

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第 1 部門第 1 区分  
 【発行日】平成23年3月3日 (2011.3.3)

【公表番号】特表2010-515448(P2010-515448A)  
 【公表日】平成22年5月13日 (2010.5.13)  
 【年通号数】公開・登録公報2010-019  
 【出願番号】特願2009-545222(P2009-545222)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/48 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 M 1/00 A

G 0 1 N 33/48 B

G 0 1 N 33/48 C

【手続補正書】  
 【提出日】平成23年1月11日 (2011.1.11)  
 【手続補正 1】  
 【補正対象書類名】特許請求の範囲  
 【補正対象項目名】全文  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【特許請求の範囲】  
 【請求項 1】

試料中で、癌に対する素因又はその発生を検出するための方法であって、FOX E 1、SYNE 1、NDRG 4 / NDRG 2 サブファミリー遺伝子、GATA 4、OSMR、GATA 5、SFRP 1、ADAM 2 3、JPH 3、SFRP 2、APC、MGMT、TFPI 2、BNI P 3、SOX 1 7、PHACTR 3、及び JAM 3 から選択される少なくとも 1 つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するステップを含み、エピジェネティックな変化の検出は、癌に対する素因又はその発生を示す方法。

【請求項 2】  
 癌は胃腸癌を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】  
 胃腸癌は、結腸直腸癌、胃癌、胃の癌、又は食道癌を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】  
 前記遺伝子のうちの少なくとも 2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、又は 6 つを含む遺伝子のパネル中のエピジェネティックな変化を検出するステップを含み、パネル中の遺伝子の少なくとも 1 つのエピジェネティックな変化の検出は、癌に対する素因又はその発生を示す、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】  
 試料は、組織試料又は体液試料を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】  
 体液試料は糞便試料を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】  
 組織試料は、結腸試料、直腸試料又は虫垂試料を含む、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 8】

体液試料は、血液試料又はその誘導体を含む、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 9】

エピジェネティックな変化はメチル化である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 10】

下記表 2 ~ 18 に記載のヌクレオチド配列を含むプライマーから選択されるプライマーを利用する、又は下記表 2 ~ 18 に記載のヌクレオチド配列を含むプローブから選択されるプローブを利用する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【表 1】

表 2

配列番号	NDRG4	プライマー	センスプライマー	配列番号	アンチセンスプライマー	アニーリング温度	PCR サイクルの数
5	プライマーセット1	Flank	GGTTYGTTYGGGATTAGTTTAGG	6	CRAACAACCAAAAACCCCTC	56	35
7	プライマーセット1	U	GATTAGTTTTAGGTTTGGTATTGTTTTGT	8	AAAACCAAACTAAAAACAAATACACCA	66	25
9	プライマーセット1	M	TTTAGGTTCCGGTATCGTTTCGC	10	CGAACTAAAAACGATACGCCG	66	25
11	プライマーセット2	Flank	ATYGGGGTGTTTTTAGGTTT	12	ATACCRAACCTAAACTAATCCC	56	35
13	プライマーセット2	U	GGGTGTTTTTAGGTTTCGC	14	CCTAAACTAATCCCAAACAAACCA	66	30
15	プライマーセット2	M	TTTTTAGGTTTCGCGTCGC	16	AAACTAATCCCGAACGAAACCG	66	30

「F l a n k」＝フランキングプライマー

「U」＝非メチル化NDRG4特異的プライマー

「M」＝メチル化NDRG4特異的プライマー

【表 2】

表 3：プライマー配列及び beacon (プローブ) 配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTTGGGTTGGTGTATGGAGGAGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTCTCG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGGATTTCGTAGCATGTCTCG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3'
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTGCGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCGATCCCTGCATGTCTCG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCTGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTGAAAACCCGCCGATTAAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGACCCGACGCCGCCCTGCATGTCTCG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTCTCG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTCTCG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCGTAACGGTGAAAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTCGACGTTTCGTAGGTTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCGTGCGTATCGTTTGCGATTGGTGAGTGTTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL

【表 3】

表 4：プライマー配列及び beacon（プローブ）配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTGGGGTGGTGTATGGAGGAGGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTCTG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGATTCTAGCATGTCTG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTGGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCATCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTCGAAAACCCGCCGATTAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGGACCCGCGCAGCCGCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCTGTAACGGTGAAGAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCGAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTGACGTTCTGATGTTTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCTGCGTATCGTTTGCGATTTGGTGAGTGTTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL

【表 4】

表5 NDRG4のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
NDRG4_ 1b	112	17	フォワード プライマー	GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		18	リバー プライマー	AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC
		57	Beacon	CGACATGCAGGGATCGCGGTCGTTTCGGGCATGTCG
NDRG4_ 13830	105	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		59	リバー プライマー	GAATATAAACGCTCGACCCGC
		60	Beacon	CGACATGCAGGTCGTTTCGGGATTAGTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_2 (MvE)	88	9	フォワード プライマー	TTTAGGTTTCGGTATCGTTTCGC
		10	リバー プライマー	CGAACTAAAAACGATACGCCG
		61	Beacon	CGTACCCGCGTTTATATTCGTTAAATTTACGCGGGTACG
NDRG4_ 66292	163	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGCGGA
		63	リバー プライマー	GACTACAAAAACGAAAACCGAAC
		64	Beacon	CGACATCGGGTACGTTTTCGCGGCGATGTCG
NDRG4_ 66293	168	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		65	リバー プライマー	CTACAAAAACGAAAACCGAAC
		66	Beacon	CGTTTCGCGGGTCGAGCGAAACG
NDRG4_ 66294	152	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGCGGA
		67	リバー プライマー	CGAAAACCGAACTAAAAACGA
		68	Beacon	CGACATGCCGCGGTCGTTTCGGGATTAGTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_ 66295	90	69	フォワード プライマー	TTTCGTTTCGTTTATCGGGT
		70	リバー プライマー	CGAACCTAAACTAATCCCGAAC
		71	Beacon	CGACACGCGTAGAAGGCGGAAGTTACGCGCGTGTCTG
NDRG4_ 66296	160	72	フォワード プライマー	GGTTTCGTAGCGTATTAGTATAGTTC
		73	リバー プライマー	GTAACCTCCGCCCTTCTACGC
		74	Beacon	CGACATGCGCGGATCGATCGGGGTGTTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_ 66297	143	75	フォワード プライマー	GAGTTGTTTTGTCTTTTCGTTT
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		77	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGTCGAGCGCGCATGTCG
NDRG4_ 66298	148	78	フォワード プライマー	GTTGTGAGTTGTTTTGTCTTTTC
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		79	Beacon	CGACATGCCGTTGTTTCGACGTCGTTATTAGAGTCGGCATGTCG

【表 5】

(表5のつづき)

NDRG4_ 66299	144	80	フォワード プライマー	TTTGTAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		81	リバース プライマー	CTACTCCTACCGCTTCGCTC
		82	Beacon	CGACATCGCGCTCCTCTCCCGATGTCG
NDRG4_ 66300	151	83	フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		84	リバース プライマー	AAGTACTCCTACCGCTTCGCT
		85	Beacon	CGACATCGGTTTTGGGTGGCGCGATGTCG
NDRG4_ 66301	120	80	フォワード プライマー	TTTGTAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		86	リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		87	Beacon	CGACATCGCTCCTCTCCCGACTCGATGTCG
NDRG4_ 66302	125	83	フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		86	リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		88	Beacon	CGACATGCCGAACGCGCTACCCCGCATGTCG
NDRG4_ 66303	95	89	フォワード プライマー	CGAGTCGTTTTAGTTTTTCGGT
		90	リバース プライマー	TACTCACAAATACCGCCCG
		91	Beacon	CGACATCGGAAAGTGGCGGTGCGTTGCGATGTCG
NDRG4_ 66304	85	92	フォワード プライマー	TTCGGTGAATTTTAGGAGGC
		93	リバース プライマー	TCGAACGACGAACACGAAA
		94	Beacon	CGACATGCGCGGGGTGGGTGCGGCATGTCG

【表 6】

表 6 G A T A 5 のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
GATA5_ 12656	94	95	フォワード プライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		96	リバー プライマー	CGAACTTCCAATCTTCGACC
		97	Beacon	CGACATGCGGCGGTGGCGGTGGGTCGGCATGTCTG
GATA5_ 12659	102	98	フォワード プライマー	GATTTTTCGGGGTTTACGAAG
		99	リバー プライマー	GAACTTAACGACAAAAACGCA
		100	Beacon	CGACATGCGTTTAGTTGTATTGGTTCGGGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 12666	107	101	フォワード プライマー	GGTTTGTATTTCGGATTCGGTC
		102	リバー プライマー	TCGATAACAACGTCCTACACG
		103	Beacon	CGACATGCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGGGAGGTCGCATGTCTG
GATA5_ 12669	111	104	フォワード プライマー	TAGGGTTCGGGTTTGTATTC
		105	リバー プライマー	AACAACGTCCTACACGACC
		106	Beacon	CGACATGCGTATTATCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66212	118	107	フォワード プライマー	TAGTTGGTGTAGTAGAGGTCGGC
		108	リバー プライマー	GACCTAAATCTCGCTTCCGT
		109	Beacon	CGACATGCCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66213	139	110	フォワード プライマー	TATAGCGTGGTGTGGTCTGT
		111	リバー プライマー	CTAAATCTCGCTTCCGTCC
		112	Beacon	CGACATGCGCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66215	80	113	フォワード プライマー	GGTGTGAGGTTTTTAAGGTTTC
		114	リバー プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		115	Beacon	CGACATGCGGGACGGGATGGGTTTTTTCGGGCATGTCTG
GATA5_ 66216	124	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		117	リバー プライマー	AAAAACGACTCTTCCGATT
		118	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66217	118	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		119	リバー プライマー	GACTCTTCCGATTACAACG
		120	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66218	71	121	フォワード プライマー	TTTTGCGTTAAAGGGTCGG
		122	リバー プライマー	CGAAACCTTAAAAACCTCGACA
		123	Beacon	CGACATGCCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGAGTTGGCATGTCTG

【表 7】

(表6のつづき)

GATA5_66219	90	124	フォワード プライマー	GATGTCGTTGCGTTCGTTT
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66220	98	127	フォワード プライマー	GTTTTGCGGATGTCGTTGC
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66221	158	128	フォワード プライマー	TAGGGGTTTTGCGGATGTC
		114	リバー プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66222	150	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		130	リバー プライマー	TAAAAACCTCGTACTCCGCC
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66223	103	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		132	リバー プライマー	GTAACCCAATCCTAAACTACCGA
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66224	112	133	フォワード プライマー	GGTTTGATTTCGATTTCGGT
		134	リバー プライマー	ACCCTTCGATAACAACGTCC
		135	Beacon	CGACATGCCGTATTTATCGAAGGTGGGTTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66225	76	136	フォワード プライマー	GTTTCGAGATTGTGGAGTTTTC
		137	リバー プライマー	GATAACAACGTCCTACACGACC
		138	Beacon	CGACATGCCGAAGGTGGGTTTGCGGTTTGGGGCATGTCG
GATA5_66226	163	139	フォワード プライマー	TTATTCGTTTCGTTTCGGG
		140	リバー プライマー	AAACCCACCTTCGATAAATACG
		141	Beacon	CGACATCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGATGTCG
GATA5_66227	164	142	フォワード プライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		143	リバー プライマー	AATACGAAAACCTCCACAATCTCG
		144	Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGCATGTCG
GATA5_66228	76	145	フォワード プライマー	CGTTTTTGGTAGGGAGGTTC
		146	リバー プライマー	ATCCGAATACAAACCCGCA
		147	Beacon	CGACATGCCGTGGGGGAGGATGAGGGGAGCGTTTCGGCATGTCG



【表 8】

(表6のつづき)

GATA5_66229	113	142 フォワードプライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		148 リバースプライマー	AAACCCGCACCCTACGAAA
		144 Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTCCGATCGCATGTCG
GATA5_66230	161	149 フォワードプライマー	ATTAGTGTAGTTAGACGGGCGG
		150 リバースプライマー	GACTCAACCACCAAACACGA
		151 Beacon	CGACATGCGTGGGTTTCGGGGAGTCGCATGTCG
GATA5_66231	116	95 フォワードプライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		152 リバースプライマー	AAACTACGAAACCTCAACGACC
		153 Beacon	CGACATGCGGTGGCGGTGGGTCGCATGTCG
GATA5_66233	134	154 フォワードプライマー	GTTACGGGAGTTTTGCGTTT
		155 リバースプライマー	CGATTCTCTCCCTCGAAT
		156 Beacon	CGACATGCGAGTTTATGTCGGGTAGGTGTCGCATGTCG
GATA5_66234	105	157 フォワードプライマー	AATCGTGTTCGTTCTGATTTTC
		158 リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		159 Beacon	CGACATGCGCGGAGTAGTTTCGTAGGTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66235	121	160 フォワードプライマー	GCGATTTAGGTTAGGGAATCGT
		158 リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		161 Beacon	CGACATGCCGGTGAGGGTTGTATGGAGGCGTCGGCATGTCG
GATA5_66237	99	162 フォワードプライマー	TTTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		163 リバースプライマー	GATTCCCTAACCTAAATCGCCT
		164 Beacon	CGACATGCGCGTTAGAAATGCGTGTGGGTAGGAGGCGCATGTCG
GATA5_66238	72	165 フォワードプライマー	ATTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		166 リバースプライマー	CACACGCATTTCTAACGCC
		167 Beacon	CGACATGCCTCTTCCCGAATCCCCGAAAACCGCATGTCG
GATA5_66243	91	168 フォワードプライマー	GGGTTTTATCGTCGCGTGT
		169 リバースプライマー	CCGAAAATAACCTAAAAACGAA
		170 Beacon	CGACATGCCCGGACCCCGCTCACC GG CATGTCG
GATA5_66244	100	171 フォワードプライマー	GGGGTTTACGGGGTTTTATC
		172 リバースプライマー	CGAAAATAACCTAAAAACGAAC
		173 Beacon	CGACATGCGATAATCCCGACCCCGCTCACC GG CATGTCG

【表 9】

(表6のつづき)

GATA5_66245	152	174 フォワードプライマー	TTGTTTAGAAATCGAGGAAATCG
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		176 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGCATGTCG
GATA5_66247	163	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		178 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGTAACGCATGTCG
GATA5_66250	151	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		179 リバースプライマー	CCCGTAAACCCCTCGTTA
		180 Beacon	CGACATGCCGCGGGGTTTCGTTAGTGTATTCGGCATGTCG
GATA5_66251	85	181 フォワードプライマー	CGTTTGTAGAAATCGAGGAAATC
		182 リバースプライマー	CATAAAACGACCGACTCGAA
		183 Beacon	CGACATGCGGGGTTTCGTTAGTGTATTCGTTTAGCATGTCG
GATA5_66252	141	184 フォワードプライマー	TTCGTATTCGTTATTTATTCGGTT
		185 リバースプライマー	GAAACTATAAAACCCCGCA
		186 Beacon	CGACATGCCGGGTTTTCGATGGTAGCGTTTTGTACGGCATGTCG
GATA5_66254	131	187 フォワードプライマー	CGAGTTTTCGTTAGGTCGTTT
		188 リバースプライマー	ACTCGACTCACACCCGAAC
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66255	119	190 フォワードプライマー	CGCGAGTTTTCGTTAGGTC
		191 リバースプライマー	CGAACAAATAAAACAACATCGAA
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66256	95	192 フォワードプライマー	TCGGGATTTTGAGGTTTC
		193 リバースプライマー	CTACGAATACCGCTACGCC
		194 Beacon	CGACATGCGGGATTTCGTCGGTTTTTGGCGTAGGGCATGTCG

【表 10】

表 7—さらなるアッセイの設計：GAT A 5 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びamp l i f l u o r 配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列
GATA5_12671_ S_AMP	90	195	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		196	リバー プライマー	ATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_12671_ AS_AMP	90	197	フォワード プライマー	TTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		198	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_66214_ S_AMP	70	199	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTCTGTAGTTTTATGTAGAGGT CG
		200	リバー プライマー	GCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66214_ AS_AMP	70	201	フォワード プライマー	TTCGTGTAGTTTTATGTAGAGGTTCG
		202	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66236_ S_AMP	73	203	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		204	リバー プライマー	CACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66236_ AS_AMP	73	205	フォワード プライマー	TTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		206	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66239_ S_AMP	101	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		208	リバー プライマー	AAAACCTACATAAAAACGCCGCTA
GATA5_66239_ AS_AMP	101	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		210	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAAACCTACATAAAAACGCCGCTA
GATA5_66240_ S_AMP	93	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		211	リバー プライマー	ATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66240_ AS_AMP	93	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		212	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66241_ S_AMP	78	213	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		214	リバー プライマー	CTACCGCGAAACAACCTCCG
GATA5_66241_ AS_AMP	78	215	フォワード プライマー	CGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		216	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACCGCGAAACAACCTCCG

【表 1 1】

(表7のつづき)

GATA5_66248_ S_AMP	86	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		218	リバー プライマー	GACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66248_ AS_AMP	86	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		220	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66249_ S_AMP	80	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		182	リバー プライマー	CATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66249_ AS_AMP	80	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		221	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66257_ S_AMP	78	222	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		223	リバー プライマー	AAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66257_ AS_AMP	78	224	フォワード プライマー	TTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		225	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66246_ S_AMP	70	226	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		227	リバー プライマー	AAACCGACTTCCATAAAAACGA
GATA5_66246_ AS_AMP	70	228	フォワード プライマー	CGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		229	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAACCGACTTCCATAAAAACGA

【表 1 2】

表8 OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (m o l e c u l a r b e a c o n) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
OSMR_1	148	230	フォワード プライマー	GTGTTAAGAGTGCCTAGTAAGACG
		231	リバー プライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
		232	Beacon	CGACATGCCGAACTATAAATCAACTACGAAACAAACGCGCATGTCTG
OSMR_2	142	233	フォワード プライマー	TTAAGTAAACGTTGGGTAGAGGC
		234	リバー プライマー	CTCGATAACTTTTCCGACGA
		235	Beacon	CGACATGCCGAGGAGGGGAACGGGTTGTTGGCATGTCTG
OSMR_25259	138	236	フォワード プライマー	TGTTCGTTCTTCGTAAAGTTC
		237	リバー プライマー	TACAATTTCCCGTCTTACTACGC
		238	Beacon	CGACATGCCGCGGTCTGTTTTTTTCGGGATTGAAGGCATGTCTG
OSMR_25260	139	47	フォワード プライマー	TTTGGTCCGGGTAGGAGTAGC
		239	リバー プライマー	CACAACCCGAACCTTACGAAC
		240	Beacon	CGACATGCCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCCGCATGTCTG
OSMR_5	130	241	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTATC
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		243	Beacon	CGACATGCCACCCATCCCGACTAAACGCGACGCATGTCTG
OSMR_66307	120	244	フォワード プライマー	GTATAGTACGGGTTCTGTTCTG
		245	リバー プライマー	ACTCGTAAACCCCTTCGCC
		246	Beacon	CGACATGCCGGTAGGGCGCGAGTAGAGCGCATGTCTG
OSMR_66308	124	247	フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		248	Beacon	CGACATGCCGGGATGGGTTGCGAAGTTGTCTGCATGTCTG
OSMR_66309	130	249	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTA
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		250	Beacon	CGACACGCGTTTAGTCGGGATGGGTTGCGTGTCTG
OSMR_66310	76	251	フォワード プライマー	CGGTATCGAGGAGGGGAAC
		252	リバー プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		253	Beacon	CGACATGCCGTTGTTGTATTTTCGGTCCGCTTTAGTCGCATGTCTG

【表 1 3】

(表8のつづき)

OSMR_ 66311	84	247 フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		252 リバース プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		254 Beacon	CGACATGCCGGGTTGTTGTATTTTCGGTCGCGGCATGTCG
OSMR_ 66312	120	255 フォワード プライマー	TAGGTAGGTAGGTCGGGGGC
		256 リバース プライマー	CGAAAATACAACAACCCGTTT
		257 Beacon	CGACATGCGTTGGGTAGAGGCGGTATCGCATGTCG
OSMR_ Sid	142	258 フォワード プライマー	TTCGTGCGTTTTTGGTCG
		259 リバース プライマー	CGAACTTTACGAACGAACG
		240 Beacon	CGACATGCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCGCATGTCG

【表 1 4】

表9ーさらなるアッセイの設計：OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びamp l i f l u o r配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド	5'-3'配列
OSMR_25258_S_AMP	135	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		261	リバープライマー	ACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25258_AS_AMP	135	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		263	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25264_S_AMP	65	264	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		265	リバープライマー	CGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_25264_AS_AMP	65	266	フォワードプライマー	GCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		267	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_66305_S_AMP	142	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		231	リバープライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66305_AS_AMP	142	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		268	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66306_S_AMP	98	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		269	リバープライマー	CTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66306_AS_AMP	98	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		270	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66313_S_AMP	71	271	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGAGGATTTTTCGAGCGTC
		272	リバープライマー	ATACCGCCTCTACCCAACG
OSMR_66313_AS_AMP	71	273	フォワードプライマー	CGAGGATTTTTCGAGCGTC
		274	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATACCGCCTCTACCCAACG

【表 15】

表10-ADAM23のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (molecular beacon) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
ADAM23_ 5	99	275	フォワード プライマー	TAACGTAAAGGGTACGGGG
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		277	Beacon	CGACATGCCCCGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG
ADAM23_ 66258	98	278	フォワード プライマー	GTAGTAGTTCGCGGTAGTCGTTT
		279	リバー プライマー	AACGCTAACAAACACCGAA
		280	Beacon	CGACATGCGCGGGTTGTAGTTTTGTCGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66259	169	281	フォワード プライマー	TTCGTAGTCGTTGAAGCGG
		282	リバー プライマー	GCGAAACTCGAAACTAAACGA
		283	Beacon	CGACATCGGGAGTGGTTGCGAGGTTAGGCGATGTCTG
ADAM23_ 66260	81	284	フォワード プライマー	GCGTCGTTTTAGTATTTTTAGGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		286	Beacon	CGACATGCGTTTTTCGTAGTCGTTGAAGCGGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66261	104	287	フォワード プライマー	GTTTTGCGGTCGTTTCGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		288	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGCGGTAGTTTTTCGTAGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66263	106	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		290	リバー プライマー	CTACCGCCTACTTCTCGTCC
		291	Beacon	CGACATCGGGACGAGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66264	90	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		292	Beacon	CGACATGCCCCCGCGCCTAAAAAACTACTACGGCATGTCTG
ADAM23_ 66265	84	293	フォワード プライマー	GGTACGGGGTTATATTTATCGTTG
		294	リバー プライマー	TCTCCTACTACCTCCGCTCG
		295	Beacon	CGACATGCCTCGTCCCGACCCCGCGCATGTCTG
ADAM23_ 66266	125	296	フォワード プライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		297	リバー プライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		298	Beacon	CGACATGCGCGGGAAAGTTAACGTAAAGGGTACGCATGTCTG



【表 16】

(表10のつづき)

ADAM23_66267	97	296 フォワードプライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		299 リバースプライマー	AACCCCGTACCCTTTACGTT
		300 Beacon	CGACGCGCGTTTTTCGTTTTTTTTGTAGGGTTTCGCGTCG
ADAM23_66268	133	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		297 リバースプライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		302 Beacon	CGACATGCGTAGGGTTTCGCGGGAAAGTTAACGGCATGTCTG
ADAM23_66269	108	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		303 リバースプライマー	TATAACCCCGTACCCTTTACGTT
		304 Beacon	CGACATGCAGTTCGGAGTATACGGATTTCGCGCATGTCTG
ADAM23_66271	97	305 フォワードプライマー	TTCGTCGGTTATACGGAGC
		306 リバースプライマー	GACAAAAC TACAACCCGCCA
		307 Beacon	CGACATGCGGGAGTTATGAGTTATGAAGTCGTTTCGCATGTCTG
ADAM23_A	112	308 フォワードプライマー	GAGGTTTTAAGTTGGCGGAGC
		309 リバースプライマー	ACTCGAAACTAAACGACGCC
		277 Beacon	CGACATGCCCGGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG

【表 17】

表11-JPH3のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (molecular beacon) 並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JPH3_1(MVE)	103	310	フォワードプライマー	TTTAATATGGTGTAGTCGTTAGCGTC
		311	リバースプライマー	CCCACCTACGACTACCGCG
		312	Beacon	CGACATGCACGAAACCCGCGAACGACGACGCATGTCTG
JPH3_12608	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAACCGATACAAACGCCA
		315	Beacon	CGACATGCGGTTGGGAGGACGGTAAGGCGGCATGTCTG
JPH3_2	123	316	フォワードプライマー	TGTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		318	Beacon	CGACATGCACCCGCGAACGACGACGACGCATGTCTG
JPH3_3	88	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		320	リバースプライマー	TTAAACCGATACAAACGCCA
		321	Beacon	CGACATGCCCCGTACGCCTTACCGTCCTCGCATGTCTG
JPH3_4	134	322	フォワードプライマー	GATATAGTAGAGTCGCGGTCGTC
		323	リバースプライマー	CGATTAACATAAAATTCCTCCGAAA
		324	Beacon	CGACATGCCCCGAAAAACGCTCGCGACCCAGCATGTCTG
JPH3_5	127	325	フォワードプライマー	GGGGTAGTTTAGGTTCCGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCAACGCC
		327	Beacon	CGACATGCCCCGCAACGCGACAACCGCAGCATGTCTG
JPH3_67326	122	328	フォワードプライマー	GTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		329	Beacon	CGACATGCGCGGTAGTCGTAGGTGGGCATGTCTG
JPH3_67329	128	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		330	リバースプライマー	GAAACCGTAACCTCCACGAAC
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67330	92	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		332	リバースプライマー	ACCCCTAAACCGATACAAACG
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67331	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAACCGATACAAACGCCA
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67332	115	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		334	リバースプライマー	AACGAAAATAAATACCGCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67333	109	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		336	リバースプライマー	AATAAATACCGCGAACCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67334	92	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		337	リバースプライマー	GAACCGAACCGAAACGAAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67335	96	51	フォワードプライマー	TTAGATTTTCGTAAACGGTGAAAC
		52	リバースプライマー	TCTCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCTGTCGGCGGTTTTGGCATGTCTG

【表 1 8】

(表 1 1 のつづき)

JPH3_67336	108	339	フォワードプライマー	TGTAATTCGGTTTTAGATTTTCGT
		52	リバースプライマー	TCTCCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67337	91	340	フォワードプライマー	GTTCGTTTTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67338	97	342	フォワードプライマー	GTTTTCGTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67339	120	343	フォワードプライマー	AGTAGTAGTAGTAATGCGGCGGT
		344	リバースプライマー	CGAACGAACGAAATACGAAC
		345	Beacon	CGACATGCGCGTTTCGGGTTTCGGTTCGGCATGTCG
JPH3_67340	126	346	フォワードプライマー	GGGTAGTTTAGGTTTCGGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCAACGCC
		347	Beacon	CGACATGCGCGGGCGTTTCGAGGGCGCATGTCG

【表 19】

表 12 プライマー配列及び beacon (プローブ) 配列

	配列 番号	
BNIP3	348 フォワード プライマー	5'-TACGCGTAGGTTTTAAGTCGC-3'
	349 リバース プライマー	5'-TCCCGAACTAAACGAAACCCCG-3'
	350 beacon	5'-FAM-CGACATGCCTACGACCGCGTCGCCATTAGCATGTCG -3'-DABCYL
FOXE1	351 フォワード プライマー	5'-TTTGTTTCGTTTTTCGATTGTTTC-3'
	352 リバース プライマー	5'-TAACGCTATAAACTCCTACCGC-3'
	353 beacon	5'-FAM-CGTCTCGTCGGGTTTCGGCGTATTTTTTAGGTAGGCGAGACG-3'-DABCYL
JAM3	354 フォワード プライマー	5'-GGGATTATAAGTCGCGTCGC-3'
	355 リバース プライマー	5'-CGAACGCAAAACCGAAATCG-3'
	356 beacon	5'-FAM-CGACACGATATGGCGTTGAGGCGGTTATCGTGTCG-3'-DABCYL
JPH3	51 フォワード プライマー	5'-TTAGATTTTCGTAAACGGTGAAAAC-3'
	52 リバース プライマー	5'-TCTCCTCCGAAAAACGCTC-3'
	53 beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
PHACTR3	357 フォワード プライマー	TTATTTTGCAGCGGTTTC
	358 リバース プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
	359 beacon	CGACATGCGGGTTCGGTCGGCGCGGGGCATGTCG
TFPI2	360 フォワード プライマー	5'-GTTTCGTTGGGTAAGGCGTTC-3'
	361 リバース プライマー	5'-CATAAAACGAACACCCGAACCG-3'
	362 beacon	5'-FAM-CGACATGCACCGCGCACCTCCTCCCGCCAAGCATGTCG-3'-DABCYL
SOX17	363 フォワード プライマー	5'-GAGATGTTTCGAGGGTTGC-3'
	364 リバース プライマー	5'-CCGCAATATCACTAAACCGA-3'
	365 beacon	5'-FAM- CGACATGCGTTTCGTGTTTTGGTTTGTGCGGTTTGGCATGTCG-3'-DABCYL
SYNE1	366 フォワード プライマー	5'-GTTGGGTTTTCTAGTTTTGTAGATCGC-3'
	367 リバース プライマー	5'-CTACGCCCAAACCTCGACG-3'
	368 beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGCCCTATCGCCGAAATCGCATGTCG -3'-DABCYL

【表 20】

表13ーさらなるアッセイの設計：BNIP3のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ 配列 番号	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
BNIP3_ 13409	94	369 フォワード プライマー	AGTGTTTAGAGAGTTCGTCGGTT
		370 リバース プライマー	CGTAACGAATAAACTACGCGAT
		371 Beacon	CGACATGCGGAGAATTCGGTTTATCGTTCGTCGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67227	159	372 フォワード プライマー	TTTtaggtggaatttttagttcgc
		373 リバース プライマー	CCCTCCTACGAACATACGAAA
		374 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGTTTAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67229	160	375 フォワード プライマー	CGGTTTAATTGCGAGACGTAG
		376 リバース プライマー	AACGTAAAAACCCGCGTA
		377 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67231	107	378 フォワード プライマー	GTTTTCGGGTTTTTGTTCGT
		379 リバース プライマー	GACTCTACTCGAACCTCCGCT
		380 Beacon	CGACATGCGGGCGTTTCGTTCTAGGAAGAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67232	141	381 フォワード プライマー	TGAGGACGTGTAGGGAAGC
		382 リバース プライマー	AAACGAACAAAAACCCGAAA
		383 Beacon	CGACATGCCGAGCGGTGGGTGCGAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67233	153	384 フォワード プライマー	GCGTTAGAGGTAATTGCG
		385 リバース プライマー	CTATAAATTCCTCCGACCGAAC
		386 Beacon	CGACATGCCGCGTTCGGTTGCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67235	94	387 フォワード プライマー	TTTGTATTTCGGGCGTTTC
		388 リバース プライマー	GCAACTAAAAACATCCCGC
		389 Beacon	CGACATGCGCGATATGGCGTTAGAGGTAATTGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67236	106	390 フォワード プライマー	GGTTTTACGGAAGTCGGG
		391 リバース プライマー	AATACAAACGCGATATAAAACGAA
		392 Beacon	CGACATGCGCGTTATTTCTGTTTCGTGGACGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67239	151	393 フォワード プライマー	GATTCGCGTATTGTTCGG
		394 リバース プライマー	GATCCAACACGAAACGCA
		395 Beacon	CGACATGCGGTTTGGATTTCGGTTCGGATCGGCATGTCTG

【表 2 1】

表 1 4ーさらなるアッセイの設計：FOX E 1 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
FOX E1_13297	108	396	フォワードプライマー	TTCGTTTCGAGAAGTATTACGC
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		398	Beacon	CGACATGCGAGTCGTCGGTTAGCGGGTATTTTCGGCATGTCG
FOX E1_13307	133	399	フォワードプライマー	TTCGTTTTCGGTAGTTATGGC
		400	リバープライマー	GATCCCCCTAAACTCTCCGC
		401	Beacon	CGACATGCCGGGTTTGGATTTCGCGGTTGTCGGCATGTCG
FOX E1_13317	111	402	フォワードプライマー	CGGAGAGTTTAGGGGATCGT
		403	リバープライマー	CTCTATCTACACCGCGCCA
		404	Beacon	CGACATCGGTTTAGGTTGGTACGCGTTGGAGGGCATGTCG
FOX E1_67265	118	405	フォワードプライマー	ATCGGTGTCGTTTTACGTTTC
		406	リバープライマー	GTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		407	Beacon	CGACATGCGCGGAGGGAGGAGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67266	125	408	フォワードプライマー	TAGGGAATCGGTGTCGTTTTAC
		409	リバープライマー	CGTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		410	Beacon	CGACATGCCGGAGGGAGGAGTCGGTTCGGGCATGTCG
FOX E1_67267	108	411	フォワードプライマー	TGAGGTTTTTCGAGTCGGTT
		412	リバープライマー	CCACAACGTCAAAACGAAA
		413	Beacon	CGACATGCCGGGTTTAGTCGATCGGGCATGTCG
FOX E1_67268	100	414	フォワードプライマー	ACGTTTCGCGTTATGATTGTC
		415	リバープライマー	CCGACCCCTACTACCGTCT
		416	Beacon	CGACATGCCGTAGTCGGAGGTGTTGGTTATCGGCATGTCG
FOX E1_67270	124	417	フォワードプライマー	GAGGTTATCGTCGTTGTTCTG
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		418	Beacon	CGACATGCCCGCGGTTGAGTCGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67271	116	419	フォワードプライマー	TTAGGGATTATTTTCGGATTTTTC
		420	リバープライマー	TTCTCGAAACGAACAACGAC
		421	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTATTAGCGCGTAAGGGGCATGTCG

【表 2 2】

(表 1 4 のつづき)

FOX1_67274	92	422	フォワード プライマー	CGGTAGAAGGGAAGCGTT
		423	リバー プライマー	CTCATCGCCATAACCATCG
		424	Beacon	CGACATGCGCGTGAGGCGGCGTTCGGCATGTCTG
FOX1_67276	90	351	フォワード プライマー	TTTGTTCTTTTCGATTGTTT
		425	リバー プライマー	CTATAAACTCCTACCGCGCC
		426	Beacon	CGACATGCGCGGTTTCGGGCGTATTTTTAGGGCATGTCTG
FOX1_67278	98	427	フォワード プライマー	TGTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		428	リバー プライマー	CGAAAACAAAACATAAACGACC
		429	Beacon	CGACATGCGGTTAGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGGCATGTCTG
FOX1_67279	90	430	フォワード プライマー	GTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		431	リバー プライマー	AAAACATAAACGACCCCCG
		432	Beacon	CGACATGCGGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGCGGCATGTCTG

【表 2 3】

表 1 5ーさらなるアッセイの設計：JAM3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JAM3_12721	104	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		434	リバー プライマー	CAATTACCATAACGACCGCC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67314	108	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		436	リバー プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCA TGTCG
JAM3_67315	113	437	フォワード プライマー	ATTTATGTGTCTGGTTTAGAGTATCG
		436	リバー プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67317	90	438	フォワード プライマー	TCGAGTTTTAGTTTTGTTGC
		439	リバー プライマー	AAATAACGATCCTAACTCCGAAA
		440	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGGATTTTCGGGAGGCATGTCTG
JAM3_67318	133	441	フォワード プライマー	TTTAGTAAGTTTTAGCGTTTACGTC
		442	リバー プライマー	GAATAAACTCCTCCCAAACGAA
		443	Beacon	CGACATGCGAGGGTCGTGTTTATCGTTCGGGCATGT CG

【表 2 4】

表 1 6－さらなるアッセイの設計：P H A C T R 3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
PHACTR3_67295	111	444	フォワードプライマー	ATTTAGGTAACGGGTTGGGC
		445	リバープライマー	ACTCCCCGAATACAAACGAA
		446	Beacon	CGACATGCGGTTTCGAGGTAGGTGGCGTTGGCATGTCG
PHACTR3_67296	128	447	フォワードプライマー	TTCGTAGAGTGATTTTAGCGTTT
		448	リバープライマー	AACGCCACCTACCTCGAAC
		449	Beacon	CGACATGCGCGGACGTCGGGGAGAATTTAGGGCATGTCG
PHACTR3_67297	92	450	フォワードプライマー	TAATTTGTTTTCGCGTCGG
		451	リバープライマー	CTAAATCACTCTACGAACGACC
		452	Beacon	CGACATGCGGACGGGAGCGGTTGTTTCGGCATGTCG
PHACTR3_67298	118	453	フォワードプライマー	CGTTTCGGATGTTTTGATTTTAC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		455	Beacon	CGACATGCCGAGGACGGGAGCGGGCATGTCG
PHACTR3_67299	136	456	フォワードプライマー	TTCGTCGGTGATTTTGGTC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		457	Beacon	CGACATGCCGTCGGTCGGGTTTATGGTCGCATGTCG
PHACTR3_67302	128	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		459	リバープライマー	AAACGCCTAACTCCAACGAAA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67303	118	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		461	リバープライマー	CTCCAACGAAACCTAACGCA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67304	110	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		463	リバープライマー	GAAACCTAACGCACCTAAACG
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67305	103	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		464	リバープライマー	AACGCACCTAAACGCGCTA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG



【表 2 5】

(表 1 6 のつづき)

PHACTR3_ 67306	93	465	フォワード プライマー	GATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTT
		358	リバー プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		466	Beacon	CGACATGCGCGGTTATGGGTTCCGGTCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67308	124	467	フォワード プライマー	GACGTTGGGGTTATTTTGC
		358	リバー プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		468	Beacon	CGACATGCGCGATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTTTTTCGGCATGTC G
PHACTR3_ 67309	92	469	フォワード プライマー	CGTCGTTTTCGTTTAGTTCGT
		470	リバー プライマー	GCAAAATAACCCCAACGTCC
		471	Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67310	133	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		473	リバー プライマー	AACGACGAACGAATCGAAA
		471	Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67311	113	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		474	リバー プライマー	AACCCGAAACAAATAACGCT
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67312	101	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		476	リバー プライマー	ATAACGCTAAAAACAAACCCCG
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67313	92	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		477	リバー プライマー	AAAACAAAACCCCGCGAAA
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG

【表 2 6】

表 1 7ーさらなるアッセイの設計：TFPI2 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
TFPI2_12620	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		480	Beacon	CGACATGCGGGTCGGTCGGACGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67243	98	481	フォワードプライマー	TAGAAATTGTTGGCGTTGTTTTTC
		482	リバースプライマー	TACCGAACCTACTTCTCCGT
		483	Beacon	CGACATGCCGTATAGGAATTGGCGGTAGTTTTGCGTGGCATGTCTG
TFPI2_67244	124	484	フォワードプライマー	TAGTCGTCGGCGTAAGGAGC
		485	リバースプライマー	AAAACTACGAAAACAACGCCA
		486	Beacon	CGACATGCTGGGTGCGCGTAGGGTAGCATGTCTG
TFPI2_67245	120	487	フォワードプライマー	GTGTTCTGTTTTATGCGGGG
		488	リバースプライマー	TCTTACACAATTTACAACGCGAA
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67246	115	490	フォワードプライマー	TTTTTGTTTTAGGCGGTTTC
		491	リバースプライマー	GACGAAATAACAATCCCCGT
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67247	106	492	フォワードプライマー	TTCGTTAGGAAAAGTAGTAGAATCG
		493	リバースプライマー	GCCAAACGCTTTCTCGAAC
		494	Beacon	CGACATGCGGGTAAGGCGTTTCGAGAAAGCGGCATGTCTG
TFPI2_67248	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		495	Beacon	CGACATGCGTCGGTCGGACGTTTCGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67250	120	496	フォワードプライマー	GTCGTTAGTTTTGTACGGGG
		497	リバースプライマー	GAAAATCCTAAATACGCGCAA
		498	Beacon	CGACATGCGGGAGGTTTGCGACGATGTTTGTGGGCATGTCTG

【表 27】

表18—さらなるアッセイの設計：SOX17のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
SOX17_66067	117	499	フォワードプライマー	GGCGTTAGAGTTTAGTTTCGGT
		500	リバープライマー	TAATCCGAATCCCACGTCC
		501	Beacon	CGACATGCGGTGTAGTTTTGGGCGCGGCATGTCTG
SOX17_66070	131	502	フォワードプライマー	CGGTTTAGTGATATTGCGGG
		503	リバープライマー	ACGTAAACTCGAACCACGAC
		504	Beacon	CGACATGCGATGTGGTTAATGGAGCGGCGAGGGCATGTCTG
SOX17_66071	110	505	フォワードプライマー	TTAGTGATATTGCGGGCGT
		506	リバープライマー	CGACCTAAACGTAAACCTAACGA
		507	Beacon	CGACATGCGGAGCGGCGAGGGCGGCATGTCTG
SOX17_66073	92	508	フォワードプライマー	TATTGAGATGTTTCGAGGGTTGC
		509	リバープライマー	CTAAATACGCTATAAACCAACCG
		510	Beacon	CGACATGCCGGTTCGAAGTCGTCGTTCTGTCATGTCTG
SOX17_66078	96	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		512	リバープライマー	TCTAAATTCTACTACGCCAACCG
		513	Beacon	CGACATGCGGTGTGGTTAAGGACGAGCGTAAGGCATGTCTG
SOX17_66079	91	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		514	リバープライマー	ATTCTACTACGCCAACCGCT
		515	Beacon	CGACATGCCGGCGGTCGATGAACGTTTTATGGGCATGTCTG
SOX17_66080	117	516	フォワードプライマー	CGAATAGCGGAGTATCGGTC
		517	リバープライマー	ACTACGCCAACCGCTTACG
		518	Beacon	CGACATGCGGGTCGAGTTAAGGGCGATGTCTG
SOX17_66082	119	519	フォワードプライマー	TTTAGTATTTTGTTAATTCGGCGT
		520	リバープライマー	AACGAATCCCGTATCCGAC
		521	Beacon	CGACATGCGGATTTTGTTCGTTAGTCGTTTTCGTCATGTCTG

## 【請求項11】

試料中で、癌、特に胃腸癌の組織病理学的ステージを決定するための方法であって、FOX E 1、SYNE 1、NDRG 4 / NDRG 2 サブファミリー遺伝子、GATA 4、OSMR、GATA 5、SFRP 1、ADAM 23、JPH 3、SFRP 2、APC、MGMT、TFPI 2、BNIP 3、SOX 17、PHACTR 3、及び JAM 3 から選択される少なくとも1つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するステップを含み、エピジェネティックな変化の検出は、癌の組織病理学的ステージを示す方法。

## 【請求項12】

DNA 脱メチル化剤及び / 又は DNA メチルトランスフェラーゼ阻害因子及び / 又は HDAC 阻害因子を用いた、癌、特に胃腸癌の治療の成功の見込み、又は治療に対する抵抗性を見込みを予測するための方法であって、FOX E 1、SYNE 1、NDRG 4 / ND

R G 2 サブファミリー遺伝子、G A T A 4、O S M R、G A T A 5、S F R P 1、A D A M 2 3、J P H 3、S F R P 2、A P C、M G M T、T F P I 2、B N I P 3、S O X 1 7、P H A C T R 3、及び J A M 3 から選択される少なくとも 1 つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するステップを含み、

エピジェネティックな変化の検出は、治療の成功の見込みが、エピジェネティックな修飾が検出されない場合よりも高いことを示し、

エピジェネティックな変化の検出は、治療に対する抵抗性の見込みが、エピジェネティックな修飾が検出されない場合よりも低いことを示す、方法。

【請求項 1 3】

癌、特に胃腸癌に適した治療レジメンを選択するための方法であって、F O X E 1、S Y N E 1、N D R G 4 / N D R G 2 サブファミリー遺伝子、G A T A 4、O S M R、G A T A 5、S F R P 1、A D A M 2 3、J P H 3、S F R P 2、A P C、M G M T、T F P I 2、B N I P 3、S O X 1 7、P H A C T R 3、及び J A M 3 から選択される少なくとも 1 つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するステップを含み、

エピジェネティックな変化を検出することにより、治療のために D N A 脱メチル化剤及び / 又は D N A メチルトランスフェラーゼ阻害因子及び / 又は H D A C 阻害因子が選択され、

エピジェネティックな変化が検出されない場合、D N A 脱メチル化剤及び / 又は D N A メチルトランスフェラーゼ阻害因子及び / 又は H D A C 阻害因子は治療のために選択されない方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法の特徴によってさらに特徴づけられる、請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法に基づいて治療が選択された対象の癌を治療するための薬剤への、D N A 脱メチル化剤及び / 又は H D A C 阻害因子及び / 又は D N A メチルトランスフェラーゼ阻害因子の使用。

【請求項 1 6】

試料中で、胃腸癌、特に結腸直腸癌に対する素因又はその発生を検出するためのキットであって、

( a ) G A T A 4、O S M R、N D R G 4、G A T A 5、S F R P 1、A D A M 2 3、J P H 3、S F R P 2、A P C、及び M G M T から選択される少なくとも 1 つの遺伝子並びに / 又は T F P I 2、B N I P 3、F O X E 1、S Y N E 1、S O X 1 7、P H A C T R 3、及び J A M 3 から選択される少なくとも 1 つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するための手段、

( b ) 糞便試料を処理するための ホモジナイゼーションバッファー、  
を含むキット。

【請求項 1 7】

試料中で、胃腸癌、特に結腸直腸癌に対する素因又はその発生を検出するためのキットであって、

( a ) O S M R、S F R P 1、N D R G 4、G A T A 5、A D A M 2 3、J P H 3、S F R P 2、及び A P C から選択される少なくとも 1 つの遺伝子並びに / 又は T F P I 2、B N I P 3、F O X E 1、S Y N E 1、S O X 1 7、P H A C T R 3、及び J A M 3 から選択される少なくとも 1 つの遺伝子のエピジェネティックな変化を検出するための手段、

( b ) 血液試料又はその誘導体から D N A を単離するための適したキット又は血液試料又はその誘導体を安定化する安定剤、  
を含むキット。

【請求項 1 8】

血漿試料又は血清試料中で、少なくとも 1 つの遺伝子のメチル化状態を決定するための方法であって、

(a) 血漿試料又は血清試料からDNAを単離するステップと、

(b) 単離DNAを、試料中に含有されるDNA中の非メチル化シトシン残基を選択的に修飾して、検出可能な修飾残基を生成するが、メチル化シトシン残基を修飾しない試薬を用いる処理にさらすステップと、

(c) 少なくとも1つの遺伝子のメチル化状態を決定するために処理された単離DNAを増幅するステップであって、0.07～0.72 mlの血漿試料又は血清試料に相当するDNAが増幅反応当たりに使用されることを特徴とするステップとを含む方法。

【請求項19】

少なくとも1つの遺伝子のメチル化状態は疾患の発生と相関しており、疾患に対する素因又はその発生を検出するために使用される、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

疾患は細胞増殖性の障害を含む、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

糞便試料中で、結腸直腸癌に対する素因又はその発生を検出するのに使用するために、糞便試料を処理してDNAを単離し、調製するための方法であって、

(a) 糞便試料からDNAを単離するステップと、

(b) 1回の増幅反応当たり必要とされる、少なくとも2.5 µgの単離DNAを、試料中に含有されるDNA中の非メチル化シトシン残基を選択的に修飾して、検出可能な修飾残基を生成するが、メチル化シトシン残基を修飾しない試薬を用いる処理にさらすステップと、

(c) 処理された単離DNAを増幅するステップとを含む方法。

【請求項22】

下記表2～18に記載のヌクレオチド配列を含むプライマー対から選択されるプライマー対。

【表28】

表2

配列番号	NDRG4	プライマー	センスプライマー	配列番号	アンチセンスプライマー	アニーリング温度	PCRサイクルの数
5	プライマーセット1	Flank	GGTTYGTTYGGGATTAGTTTAGG	6	CRAACAACCAAAAACCCCTC	56	35
7	プライマーセット1	U	GATTAGTTTTAGGTTTGGTATTGTTTTGT	8	AAAACCAAACTAAAAACAATACACCA	66	25
9	プライマーセット1	M	TTTAGGTTTCGGTATCGTTTCGC	10	CGAACTAAAAACGATACGCCG	66	25
11	プライマーセット2	Flank	ATYGGGGTGTTTTTTAGGTTT	12	ATACCRAACCTAAAACTAATCCC	56	35
13	プライマーセット2	U	GGGTGTTTTTAGGTTTCGCGTCGCG	14	CCTAAAACTAATCCCAAACAAACCA	66	30
15	プライマーセット2	M	TTTTTTAGGTTTCGCGTCGCG	16	AAACTAATCCCGAACGAAACCG	66	30

「Flank」＝フランキングプライマー

「U」＝非メチル化NDRG4特異的プライマー

「M」＝メチル化NDRG4特異的プライマー

【表 29】

表3：プライマー配列及びbeacon（プローブ）配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTTGGGTTGGTGATGGAGGAGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTGCG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGGATTCGTAGCATGTGCG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3'
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTCGGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCGATCCCTGCATGTGCG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCTGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTGAAAACCCGCCGATTAAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGACCCGACGCCGCCCTGCATGTGCG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTGCG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTGCG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCGTAACGGTGAAAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTCGACGTTTCGTAGGTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCGTGCGTATCGTTTGCGATTGGTGAGTGTTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL

【表 3 0】

表 4：プライマー配列及び beacon（プローブ）配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTGGGGTGGTGTATGGAGGAGGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTCTG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGATTCTAGCATGTCTG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTGGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCGATCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTCGAAAACCCGCCGATTAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGGACCCGCGACGCCGCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCTGTAACGGTGAAAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCGAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTGACGTTCTGTAGGTTTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCTGCGTATCGTTTGCGATTGTTGGTGAGTGTTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL

【表 3 1】

表5 NDRG4のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
NDRG4_ 1b	112	17	フォワード プライマー	GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		18	リバー プライマー	AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC
		57	Beacon	CGACATGCAGGGATCGCGGTCGTTTCGGGCATGTCG
NDRG4_ 13830	105	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		59	リバー プライマー	GAATATAAACGCTCGACCCGC
		60	Beacon	CGACATGCAGGTCGTTTCGGGATTAGTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_2 (MvE)	88	9	フォワード プライマー	TTTAGGTCGGTATCGTTTCGC
		10	リバー プライマー	CGAACTAAAAACGATACGCCG
		61	Beacon	CGTACCCGCGTTTATATTCGTTAAATTTACGCGGGTACG
NDRG4_ 66292	163	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGC GGA
		63	リバー プライマー	GACTACAAAAACGAAAACCGAAC
		64	Beacon	CGACATCGGGTACGTTTTCGCGGCATGTCG
NDRG4_ 66293	168	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		65	リバー プライマー	CTACAAAAACGAAAACCGAAC
		66	Beacon	CGTTTCGCGGGTCGAGCGAAACG
NDRG4_ 66294	152	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGC GGA
		67	リバー プライマー	CGAAAACCGAACTAAAAACGA
		68	Beacon	CGACATGCCGCGGTCGTTTCGGGATTAGTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_ 66295	90	69	フォワード プライマー	TTTCGTTTCGTTTATCGGGT
		70	リバー プライマー	CGAACCTAAACTAATCCCGAAC
		71	Beacon	CGACACGCGTAGAAGGCGGAAGTTACGCGCGTGTCTG
NDRG4_ 66296	160	72	フォワード プライマー	GGTTTCGTAGCGTATTAGTATAGTTC
		73	リバー プライマー	GTAACCTCCGCCCTTCTACGC
		74	Beacon	CGACATGCGCGGATCGATCGGGGTGTTTTTTCGGCATGTCG
NDRG4_ 66297	143	75	フォワード プライマー	GAGTTGTTTTGTCTTTTCGTTT
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		77	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGTCGAGCGCGCATGTCG
NDRG4_ 66298	148	78	フォワード プライマー	GTTGTGAGTTGTTTTGTCTTTTC
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		79	Beacon	CGACATGCCGTTGTTTCGACGTCGTTATTAGAGTCGGCATGTCG



【表 3 2】

(表5のつづき)

NDRG4_ 66299	144	80 フォワード プライマー	TTT TAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		81 リバース プライマー	CTACTCCTACCGCTTCGCTC
		82 Beacon	CGACATCGCGCTCCTCTCCCCGATGTCG
NDRG4_ 66300	151	83 フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		84 リバース プライマー	AAGTACTCCTACCGCTTCGCT
		85 Beacon	CGACATCGGTTTTGGGTGGCGCGATGTCG
NDRG4_ 66301	120	80 フォワード プライマー	TTT TAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		86 リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		87 Beacon	CGACATCGCTCCTCTCCCCGACTCGATGTCG
NDRG4_ 66302	125	83 フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		86 リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		88 Beacon	CGACATGCCGAACGCGCTACCCCGCATGTCG
NDRG4_ 66303	95	89 フォワード プライマー	CGAGTCGTTTTAGTTTTTCGGT
		90 リバース プライマー	TACTCACAAATACCGCCCG
		91 Beacon	CGACATCGGAAAGTGGCGGTGCGTTGCGATGTCG
NDRG4_ 66304	85	92 フォワード プライマー	TTCGGTGAATTTTAGGAGGC
		93 リバース プライマー	TCGAACGACGAACACGAAA
		94 Beacon	CGACATGCGCGGGGTGGGTGCGGCATGTCG

【表 3 3】

表6 GATA5のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
GATA5_ 12656	94	95	フォワード プライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		96	リバース プライマー	CGAACTTCCAATCTTCGACC
		97	Beacon	CGACATGCGGCGGTGGCGGTGGGTCGGCATGTCTG
GATA5_ 12659	102	98	フォワード プライマー	GATTTTTCGGGGTTTACGAAG
		99	リバース プライマー	GAACTTAACGACAAAAACGCA
		100	Beacon	CGACATGCGTTTAGTTGTATTGGTTCGGGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 12666	107	101	フォワード プライマー	GGTTTGTATTTCGGATTCGGTC
		102	リバース プライマー	TCGATAACAACGTCCTACACG
		103	Beacon	CGACATGCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGGGAGGTCGCATGTCTG
GATA5_ 12669	111	104	フォワード プライマー	TAGGGTTCGGGTTTGTATTC
		105	リバース プライマー	AACAACGTCCTACACGACC
		106	Beacon	CGACATGCGTATTATCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66212	118	107	フォワード プライマー	TAGTTGGTGTAGTAGAGGTCGGC
		108	リバース プライマー	GACCTAAATCTCGCTTCCGT
		109	Beacon	CGACATGCCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66213	139	110	フォワード プライマー	TATAGCGTGGTGTGGTCTGT
		111	リバース プライマー	CTAAATCTCGCTTCCGTCC
		112	Beacon	CGACATGCGCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66215	80	113	フォワード プライマー	GGTGTCGAGGTTTTTAAGGTTTC
		114	リバース プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		115	Beacon	CGACATGCGGGACGGGATGGGTTTTTTCGGGCATGTCTG
GATA5_ 66216	124	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		117	リバース プライマー	AAAAACGACTCTTCCCGATT
		118	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66217	118	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		119	リバース プライマー	GACTCTTCCCGATTACAACG
		120	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66218	71	121	フォワード プライマー	TTTTGCGTTAAAGGGTCGG
		122	リバース プライマー	CGAAACCTTAAAAACCTCGACA
		123	Beacon	CGACATGCCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGAGTTGGCATGTCTG

【表 3 4】

(表6のつづき)

GATA5_66219	90	124	フォワード プライマー	GATGTCGTTGCGTTCGTTT
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66220	98	127	フォワード プライマー	GTTTTGCGGATGTCGTTGC
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66221	158	128	フォワード プライマー	TAGGGGTTTTGCGGATGTC
		114	リバー プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66222	150	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		130	リバー プライマー	TAAAAACCTCGTACTCCGCC
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66223	103	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		132	リバー プライマー	GTAACCCAATCCTAAACTACCGA
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66224	112	133	フォワード プライマー	GGTTTGATTTCGATTTCGGT
		134	リバー プライマー	ACCCTTCGATAACAACGTCC
		135	Beacon	CGACATGCCGTATTTATCGAAGGTGGGTTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66225	76	136	フォワード プライマー	GTTTCGAGATTGTGGAGTTTTC
		137	リバー プライマー	GATAACAACGTCCTACACGACC
		138	Beacon	CGACATGCCGAAGGTGGGTTTGCGGTTTGGGGCATGTCG
GATA5_66226	163	139	フォワード プライマー	TTATTCGTTTCGTTTCGGG
		140	リバー プライマー	AAACCCACCTTCGATAAATACG
		141	Beacon	CGACATCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGATGTCG
GATA5_66227	164	142	フォワード プライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		143	リバー プライマー	AATACGAAAACCTCCACAATCTCG
		144	Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGCATGTCG
GATA5_66228	76	145	フォワード プライマー	CGTTTTTGGTAGGGAGGTTTC
		146	リバー プライマー	ATCCGAATACAAACCCGCA
		147	Beacon	CGACATGCCGTGGGGGAGGATGAGGGGAGCGTTTCGGCATGTCG

【表 3 5】

(表6のつづき)

GATA5_66229	113	142 フォワードプライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		148 リバースプライマー	AAACCCGCACCCTACGAAA
		144 Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTCCGATCGCATGTCG
GATA5_66230	161	149 フォワードプライマー	ATTAGTGTAGTTAGACGGGCGG
		150 リバースプライマー	GACTCAACCACCAAACACGA
		151 Beacon	CGACATGCGTGGGTTTCGGGGAGTCGCATGTCG
GATA5_66231	116	95 フォワードプライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		152 リバースプライマー	AAACTACGAAACCTCAACGACC
		153 Beacon	CGACATGCGGTGGCGGTGGGTCGCATGTCG
GATA5_66233	134	154 フォワードプライマー	GTTACGGGAGTTTTGCGTTT
		155 リバースプライマー	CGATTCTCTCCCTCGAAT
		156 Beacon	CGACATGCGAGTTTATGTCGGGTAGGTGTCGCATGTCG
GATA5_66234	105	157 フォワードプライマー	AATCGTGTTCGTTCGTATTTTC
		158 リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		159 Beacon	CGACATGCGCGGAGTAGTTTCGTAGGTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66235	121	160 フォワードプライマー	GCGATTTAGGTTAGGGAATCGT
		158 リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		161 Beacon	CGACATGCCGGTGAGGGTTGTATGGAGGCGTCGGCATGTCG
GATA5_66237	99	162 フォワードプライマー	TTTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		163 リバースプライマー	GATTCCCTAACCTAAATCGCCT
		164 Beacon	CGACATGCGCGTTAGAAATGCGTGTGGGTAGGAGGCGCATGTCG
GATA5_66238	72	165 フォワードプライマー	ATTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		166 リバースプライマー	CACACGCATTCTAACGCC
		167 Beacon	CGACATGCCTCTTCCCGAATCCCCGAAAACCGCATGTCG
GATA5_66243	91	168 フォワードプライマー	GGGTTTTATCGTCGCGTGT
		169 リバースプライマー	CCGAAAATAACCTAAAAACGAA
		170 Beacon	CGACATGCCCGGACCCCGCTCACC GG CATGTCG
GATA5_66244	100	171 フォワードプライマー	GGGGTTTACGGGGTTTTATC
		172 リバースプライマー	CGAAAATAACCTAAAAACGAAC
		173 Beacon	CGACATGCGATAATCCCGACCCCGCTCACC GG CATGTCG

【表 3 6】

(表6のつづき)

GATA5_66245	152	174 フォワードプライマー	TTGTTTAGAAATCGAGGAAATCG
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		176 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGCATGTCG
GATA5_66247	163	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		178 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGTAACGCATGTCG
GATA5_66250	151	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		179 リバースプライマー	CCCGTAAACCCCTCGTTA
		180 Beacon	CGACATGCCGCGGGTTCGTTAGTGTATTCGGCATGTCG
GATA5_66251	85	181 フォワードプライマー	CGTTTGTAGAAATCGAGGAAATC
		182 リバースプライマー	CATAAAACGACCGACTCGAA
		183 Beacon	CGACATGCGGGTTCGTTAGTGTATTCGTTTAGCATGTCG
GATA5_66252	141	184 フォワードプライマー	TTCGTATTCGTTATTTATTCGGTT
		185 リバースプライマー	GAAACTATAAAACCCCGCA
		186 Beacon	CGACATGCCGGGTTTTCGATGGTAGCGTTTTGTACGGCATGTCG
GATA5_66254	131	187 フォワードプライマー	CGAGTTTTCGTTAGGTCGTTT
		188 リバースプライマー	ACTCGACTCACACCCGAAC
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66255	119	190 フォワードプライマー	CGCGAGTTTTCGTTAGGTC
		191 リバースプライマー	CGAACAAATAAAACAACATCGAA
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66256	95	192 フォワードプライマー	TCGGGATTTTGAGGTTTC
		193 リバースプライマー	CTACGAATACCGCTACGCC
		194 Beacon	CGACATGCGGGATTTCGTCGGTTTTTGGCGTAGGGCATGTCG

【表 3 7】

表 7—さらなるアッセイの設計：G A T A 5 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びamp l i f l u o r 配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列
GATA5_12671_ S_AMP	90	195	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		196	リバー プライマー	ATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_12671_ AS_AMP	90	197	フォワード プライマー	TTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		198	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_66214_ S_AMP	70	199	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTCGTGTAGTTTTATGTAGAGGT CG
		200	リバー プライマー	GCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66214_ AS_AMP	70	201	フォワード プライマー	TTCGTGTAGTTTTATGTAGAGGTTCG
		202	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66236_ S_AMP	73	203	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		204	リバー プライマー	CACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66236_ AS_AMP	73	205	フォワード プライマー	TTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		206	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66239_ S_AMP	101	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		208	リバー プライマー	AAAACCTACATAAAAACGCCGCTA
GATA5_66239_ AS_AMP	101	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		210	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAAACCTACATAAAAACGCCGCTA
GATA5_66240_ S_AMP	93	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		211	リバー プライマー	ATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66240_ AS_AMP	93	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		212	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66241_ S_AMP	78	213	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		214	リバー プライマー	CTACCGCGAAACAACCTCCG
GATA5_66241_ AS_AMP	78	215	フォワード プライマー	CGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		216	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACCGCGAAACAACCTCCG

【表 3 8】

(表7のつづき)

GATA5_66248_ S_AMP	86	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		218	リバー プライマー	GACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66248_ AS_AMP	86	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		220	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66249_ S_AMP	80	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		182	リバー プライマー	CATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66249_ AS_AMP	80	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		221	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66257_ S_AMP	78	222	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		223	リバー プライマー	AAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66257_ AS_AMP	78	224	フォワード プライマー	TTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		225	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66246_ S_AMP	70	226	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		227	リバー プライマー	AAACCGACTTCCATAAAAACGA
GATA5_66246_ AS_AMP	70	228	フォワード プライマー	CGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		229	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAACCGACTTCCATAAAAACGA

【表 3 9】

表8 OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (m o l e c u l a r b e a c o n) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
OSMR_1	148	230	フォワード プライマー	GTGTTAAGAGTGCCTAGTAAGACG
		231	リバー プライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
		232	Beacon	CGACATGCCGAACTATAAATCAACTACGAAACAAACGCGCATGTCTG
OSMR_2	142	233	フォワード プライマー	TTAAGTAAACGTTGGGTAGAGGC
		234	リバー プライマー	CTCGATAACTTTTCCGACGA
		235	Beacon	CGACATGCCGAGGAGGGGAACGGGTTGTTGGCATGTCTG
OSMR_25259	138	236	フォワード プライマー	TGTTTCGTTCTTCGTAAAGTTC
		237	リバー プライマー	TACAATTTCCCGTCTTACTACGC
		238	Beacon	CGACATGCCGCGGTCTGTTTTTTTCGGGATTGAAGGCATGTCTG
OSMR_25260	139	47	フォワード プライマー	TTTGGTCCGGGTAGGAGTAGC
		239	リバー プライマー	CACAACCCGAACCTTACGAAC
		240	Beacon	CGACATGCCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCCGCATGTCTG
OSMR_5	130	241	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTATC
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		243	Beacon	CGACATGCCACCCATCCCGACTAAACGCGACGCATGTCTG
OSMR_66307	120	244	フォワード プライマー	GTATAGTACGGGTTCTGTTCTG
		245	リバー プライマー	ACTCGTAAACCCCTTCGCC
		246	Beacon	CGACATGCCGGTAGGGCGCGAGTAGAGCGCATGTCTG
OSMR_66308	124	247	フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		248	Beacon	CGACATGCCGGGATGGGTTGCGAAGTTGTCTGCATGTCTG
OSMR_66309	130	249	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTA
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		250	Beacon	CGACACGCGTTTAGTCGGGATGGGTTGCGTGTCTG
OSMR_66310	76	251	フォワード プライマー	CGGTATCGAGGAGGGGAAC
		252	リバー プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		253	Beacon	CGACATGCCGTTGTTGTATTTTCGGTCCGCTTTAGTCGCATGTCTG



【表 4 0】

(表 8 のつづき)

OSMR_ 66311	84	247 フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		252 リバース プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		254 Beacon	CGACATGCCGGGTGTTGTATTTTCGGTCGCGGCATGTCG
OSMR_ 66312	120	255 フォワード プライマー	TAGGTAGGTAGGTCGGGGGC
		256 リバース プライマー	CGAAAATACAACAACCCGTTT
		257 Beacon	CGACATGCGTTGGGTAGAGGCGGTATCGCATGTCG
OSMR_ Sid	142	258 フォワード プライマー	TTCGTGCGTTTTTGGTCG
		259 リバース プライマー	CGAACTTTACGAACGAACG
		240 Beacon	CGACATGCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCGCATGTCG

【表 4 1】

表9ーさらなるアッセイの設計：OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びamp l i f l u o r配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド	5'-3'配列
OSMR_25258_S_AMP	135	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		261	リバースプライマー	ACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25258_AS_AMP	135	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		263	リバースプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25264_S_AMP	65	264	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		265	リバースプライマー	CGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_25264_AS_AMP	65	266	フォワードプライマー	GCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		267	リバースプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_66305_S_AMP	142	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		231	リバースプライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66305_AS_AMP	142	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		268	リバースプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66306_S_AMP	98	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		269	リバースプライマー	CTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66306_AS_AMP	98	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		270	リバースプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66313_S_AMP	71	271	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGAGGATTTTTCGAGCGTC
		272	リバースプライマー	ATACCGCCTCTACCCAACG
OSMR_66313_AS_AMP	71	273	フォワードプライマー	CGAGGATTTTTCGAGCGTC
		274	リバースプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATACCGCCTCTACCCAACG

【表 4 2】

表10-ADAM23のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (molecular beacon) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
ADAM23_ 5	99	275	フォワード プライマー	TAACGTAAAGGGTACGGGG
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		277	Beacon	CGACATGCCCCGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG
ADAM23_ 66258	98	278	フォワード プライマー	GTAGTAGTTCGCGGTAGTCGTTT
		279	リバー プライマー	AACGCTAACAAACACCGAA
		280	Beacon	CGACATGCGCGGGTTGTAGTTTTGTCGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66259	169	281	フォワード プライマー	TTCGTAGTCGTTGAAGCGG
		282	リバー プライマー	GCGAAACTCGAACTAAACGA
		283	Beacon	CGACATCGGGAGTGGTTGCGAGGTTAGGCGATGTCTG
ADAM23_ 66260	81	284	フォワード プライマー	GCGTCGTTTTAGTATTTTTAGGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		286	Beacon	CGACATGCGTTTTCTGTAGTCGTTGAAGCGGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66261	104	287	フォワード プライマー	GTTTTGCGTCGTTCTGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		288	Beacon	CGACATGCGGTTCTGGCGGTAGTTTTCTGTAGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66263	106	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		290	リバー プライマー	CTACCGCCTACTTCTCGTCC
		291	Beacon	CGACATCGGGACGAGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66264	90	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		292	Beacon	CGACATGCCCCCGCGCCTAAAAAACTACTACGGCATGTCTG
ADAM23_ 66265	84	293	フォワード プライマー	GGTACGGGGTTATATTTATCGTTG
		294	リバー プライマー	TCTCCTACTACCTCCGCTCG
		295	Beacon	CGACATGCCTCGTCCCGACCCCGCGCATGTCTG
ADAM23_ 66266	125	296	フォワード プライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		297	リバー プライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		298	Beacon	CGACATGCGCGGGAAAGTTAACGTAAAGGGTACGCATGTCTG

【表 4 3】

(表 1 0 のつづき)

ADAM23_66267	97	296 フォワードプライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		299 リバースプライマー	AACCCCGTACCCTTTACGTT
		300 Beacon	CGACGCGCGTTTTTCGTTTTTTTTGTAGGGTTTCGCGTCG
ADAM23_66268	133	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		297 リバースプライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		302 Beacon	CGACATGCGTAGGGTTTCGCGGGAAAGTTAACGGCATGTCTG
ADAM23_66269	108	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		303 リバースプライマー	TATAACCCCGTACCCTTTACGTT
		304 Beacon	CGACATGCAGTTCGGAGTATACGGATTTCGCGCGCATGTCTG
ADAM23_66271	97	305 フォワードプライマー	TTCGTCGGTTATACGGAGC
		306 リバースプライマー	GACAAACTACAACCCGCCA
		307 Beacon	CGACATGCGGGAGTTATGAGTTATGAAGTCGTTTCGCATGTCTG
ADAM23_A	112	308 フォワードプライマー	GAGGTTTTAAGTTGGCGGAGC
		309 リバースプライマー	ACTCGAACTAAACGACGCC
		277 Beacon	CGACATGCCCGGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG

【表 4 4】

表11-JPH3のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (molecular beacon) 並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JPH3_1(MVE)	103	310	フォワードプライマー	TTTAATATGGTGTAGTCGTTAGCGTC
		311	リバースプライマー	CCCACCTACGACTACCGCG
		312	Beacon	CGACATGCACGAAACCCGCGAACGACGACGCATGTCTG
JPH3_12608	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAAACCGATACAAACGCCA
		315	Beacon	CGACATGCGGTTGGGAGGACGGTAAGGCGGCATGTCTG
JPH3_2	123	316	フォワードプライマー	TGTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		318	Beacon	CGACATGCACCCGCGAACGACGACGACGCATGTCTG
JPH3_3	88	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		320	リバースプライマー	TTAAACCGATACAAACGCCA
		321	Beacon	CGACATGCCCCGTACGCCTTACCGTCCTCGCATGTCTG
JPH3_4	134	322	フォワードプライマー	GATATAGTAGAGTCGCGGTCGTC
		323	リバースプライマー	CGATTAACATAAAATTCCTCCGAAA
		324	Beacon	CGACATGCCCCGAAAAACGCTCGCGACCCAGCATGTCTG
JPH3_5	127	325	フォワードプライマー	GGGGTAGTTTAGGTTCTGGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCACGCC
		327	Beacon	CGACATGCCCCGCAACGCGACAACCGCAGCATGTCTG
JPH3_67326	122	328	フォワードプライマー	GTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		329	Beacon	CGACATGCGCGGTAGTCGTAGGTGGGCATGTCTG
JPH3_67329	128	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		330	リバースプライマー	GAAACCGTAACCTCCACGAAC
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67330	92	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		332	リバースプライマー	ACCCCTAAAACCGATACAAACG
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67331	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAAACCGATACAAACGCCA
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67332	115	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		334	リバースプライマー	AACGAAAATAAATACCGCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67333	109	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		336	リバースプライマー	AATAAATACCGCGAACCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67334	92	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		337	リバースプライマー	GAACCGAACCGAAACGAAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67335	96	51	フォワードプライマー	TTAGATTTTCGTAACCGGTGAAAC
		52	リバースプライマー	TCTCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCTGTCGGCGGTTTTGGCATGTCTG

【表 4 5】

(表 1 1 のつづき)

JPH3_67336	108	339	フォワードプライマー	TGTAATTCGGTTTTAGATTTTCGT
		52	リバースプライマー	TCTCCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67337	91	340	フォワードプライマー	GTTCGTTTTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67338	97	342	フォワードプライマー	GTTTTCGTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67339	120	343	フォワードプライマー	AGTAGTAGTAGTAATGCGGCGGT
		344	リバースプライマー	CGAACGAACGAAATACGAAC
		345	Beacon	CGACATGCGCGTTTCGGGTTTCGGTTCGGCATGTCG
JPH3_67340	126	346	フォワードプライマー	GGGTAGTTTAGGTTTCGGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCAACGCC
		347	Beacon	CGACATGCGCGGGCGTTTCGAGGGCGCATGTCG

【表 4 6】

表 1 2-プライマー配列及びbeacon (プローブ) 配列

	配列 番号	
BNIP3	348 フォワード プライマー	5'-TACGCGTAGGTTTTAAGTCGC-3'
	349 リバース プライマー	5'-TCCCGAACTAAACGAAACCCCG-3'
	350 beacon	5'-FAM-CGACATGCCTACGACCGCGTCGCCCATAGCATGTCG -3'-DABCYL
FOXE1	351 フォワード プライマー	5'-TTTGTTTCGTTTTTCGATTGTTTC-3'
	352 リバース プライマー	5'-TAACGCTATAAACTCCTACCGC-3'
	353 beacon	5'-FAM-CGTCTCGTCGGGGTTCGGCGTATTTTTTAGGTAGGCGAGACG-3'-DABCYL
JAM3	354 フォワード プライマー	5'-GGGATTATAAGTCGCGTCGC-3'
	355 リバース プライマー	5'-CGAACGCAAAACCGAAATCG-3'
	356 beacon	5'-FAM-CGACACGATATGGCGTTGAGGCGGTTATCGTGTCG-3'-DABCYL
JPH3	51 フォワード プライマー	5'-TTAGATTTTCGTAAACGGTGAAAAC-3'
	52 リバース プライマー	5'-TCTCCTCCGAAAAACGCTC-3'
	53 beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
PHACTR3	357 フォワード プライマー	TTATTTTGCGAGCGGTTTC
	358 リバース プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
	359 beacon	CGACATGCGGGTTCGGTCGGCGCGGGGCATGTCG
TFPI2	360 フォワード プライマー	5'-GTTTCGTTGGGTAAGGCGTTC-3'
	361 リバース プライマー	5'-CATAAAACGAACACCCGAACCG-3'
	362 beacon	5'-FAM-CGACATGCACCGCGCACCTCCTCCCGCCAAGCATGTCG-3'-DABCYL
SOX17	363 フォワード プライマー	5'-GAGATGTTTCGAGGGTTGC-3'
	364 リバース プライマー	5'-CCGCAATATCACTAAACCGA-3'
	365 beacon	5'-FAM- CGACATGCGTTTCGTGTTTTGGTTTGTGCGGTTTGGCATGTCG-3'-DABCYL
SYNE1	366 フォワード プライマー	5'-GTTGGGTTTTCTAGTTTTGTAGATCGC-3'
	367 リバース プライマー	5'-CTACGCCCAAACTCGACG-3'
	368 beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGCCCTATCGCCGAAATCGCATGTCG -3'-DABCYL

【表 4 7】

表 1 3ーさらなるアッセイの設計：BNIP3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
BNIP3_ 13409	94	369 フォワード プライマー	AGTGTTTAGAGAGTTCGTCGGTT
		370 リバース プライマー	CGTAACGAATAAACTACGCGAT
		371 Beacon	CGACATGCGGAGAATTCGGTTTATCGTTCGTCGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67227	159	372 フォワード プライマー	TTTtaggtggaatttttagttcgc
		373 リバース プライマー	CCCTCCTACGAACATACGAAA
		374 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGTTTAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67229	160	375 フォワード プライマー	CGGTTTAATTGCGAGACGTAG
		376 リバース プライマー	AACGTAAAAACCCGCGTA
		377 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67231	107	378 フォワード プライマー	GTTTTCGGGTTTTTGTTCGT
		379 リバース プライマー	GACTCTACTCGAACCTCCGCT
		380 Beacon	CGACATGCGGGCGTTTCGTTCTAGGAAGAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67232	141	381 フォワード プライマー	TGAGGACGTGTAGGGAAGC
		382 リバース プライマー	AAACGAACAAAAACCCGAAA
		383 Beacon	CGACATGCCGAGCGGTGGGTGCGAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67233	153	384 フォワード プライマー	GCGTTAGAGGGTAATTGCG
		385 リバース プライマー	CTATAAATTCCTCCGACCGAAC
		386 Beacon	CGACATGCCGCGTTCGGTTGCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67235	94	387 フォワード プライマー	TTTGTATTTCGGGCGTTTC
		388 リバース プライマー	GCAACTAAAAACATCCCGC
		389 Beacon	CGACATGCGCGATATGGCGTTAGAGGGTAATTGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67236	106	390 フォワード プライマー	GGTTTTTACGGAAGTCGGG
		391 リバース プライマー	AATACAAACGCGATATAAAACGAA
		392 Beacon	CGACATGCGCGTTATTTCTGTTTCGTGGACGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67239	151	393 フォワード プライマー	GATTCGCGTATTGTTCGG
		394 リバース プライマー	GATCCAACACGAAACGCA
		395 Beacon	CGACATGCGGTTTGGATTTCGGTTCGGATCGGCATGTCTG



【表 4 8】

表 1 4ーさらなるアッセイの設計：FOX E 1 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
FOX E1_13297	108	396	フォワードプライマー	TTCGTTTCGAGAAGTATTACGC
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		398	Beacon	CGACATGCGAGTCGTCGGTTAGCGGGTATTTTCGGCATGTCG
FOX E1_13307	133	399	フォワードプライマー	TTCGTTTTCGGTAGTTATGGC
		400	リバープライマー	GATCCCTAAACTCTCCGC
		401	Beacon	CGACATGCCGGGTTTGGATTTCGCGGTTGTCGGCATGTCG
FOX E1_13317	111	402	フォワードプライマー	CGGAGAGTTTAGGGGATCGT
		403	リバープライマー	CTCTATCTACACCGGCCA
		404	Beacon	CGACATCGGTTTAGGTTGGTACGCGTTGGAGGGCATGTCG
FOX E1_67265	118	405	フォワードプライマー	ATCGGTGTCGTTTACGTTTC
		406	リバープライマー	GTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		407	Beacon	CGACATGCGCGGAGGGAGGAGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67266	125	408	フォワードプライマー	TAGGGAATCGGTGTCGTTTAC
		409	リバープライマー	CGTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		410	Beacon	CGACATGCCGGAGGGAGGAGTCGGTTCGGGCATGTCG
FOX E1_67267	108	411	フォワードプライマー	TGAGGTTTTTCGAGTCGGTT
		412	リバープライマー	CCACAACGTCAAAACGAAA
		413	Beacon	CGACATGCCGGGTTTAGTCGATCGGGCATGTCG
FOX E1_67268	100	414	フォワードプライマー	ACGTTTCGCGTTATGATTGTC
		415	リバープライマー	CCGACCCCTACTACCGTCT
		416	Beacon	CGACATGCCGTAGTCGGAGGTGTTGGTTATCGGCATGTCG
FOX E1_67270	124	417	フォワードプライマー	GAGGTTATCGTCGTTGTTCTG
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		418	Beacon	CGACATGCCCGCGGTTGAGTCGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67271	116	419	フォワードプライマー	TTAGGGATTATTTTCGGATTTTC
		420	リバープライマー	TTCTCGAAACGAACAACGAC
		421	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTATTAGCGCGTAAGGGGCATGTCG

【表 4 9】

(表 1 4 のつづき)

FOX1_67274	92	422	フォワード プライマー	CGGTAGAAGGGAAGCGTT
		423	リバー プライマー	CTCATCGCCATAACCATCG
		424	Beacon	CGACATGCGCGTGAGGCGGCGTTCGGCATGTCTG
FOX1_67276	90	351	フォワード プライマー	TTTGTTCTTTTTTCGATTGTTT
		425	リバー プライマー	CTATAAACTCCTACCGCGCC
		426	Beacon	CGACATGCGCGGTTTCGGGCGTATTTTTAGGGCATGTCTG
FOX1_67278	98	427	フォワード プライマー	TGTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		428	リバー プライマー	CGAAAACAAAACATAAACGACC
		429	Beacon	CGACATGCGGTTAGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGGCATGTCTG
FOX1_67279	90	430	フォワード プライマー	GTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		431	リバー プライマー	AAAACATAAACGACCCCCG
		432	Beacon	CGACATGCGGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGCGGCATGTCTG

【表 5 0】

表 1 5ーさらなるアッセイの設計：JAM3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JAM3_12721	104	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		434	リバー プライマー	CAATTACCATAACGACCGCC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67314	108	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		436	リバー プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCA TGTCG
JAM3_67315	113	437	フォワード プライマー	ATTTATGTGTCTGGTTTAGAGTATCG
		436	リバー プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67317	90	438	フォワード プライマー	TCGAGTTTTAGTTTTGTTGC
		439	リバー プライマー	AAATAACGATCCTAACTCCGAAA
		440	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGGATTTTCGGGAGGCATGTCTG
JAM3_67318	133	441	フォワード プライマー	TTTAGTAAGTTTTAGCGTTTACGTC
		442	リバー プライマー	GAATAAACTCCTCCCAAACGAA
		443	Beacon	CGACATGCGAGGGTCGTGTTTATCGTTCGGGCATGT CG

【表 5 1】

表 1 6－さらなるアッセイの設計：P H A C T R 3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
PHACTR3_67295	111	444	フォワードプライマー	ATTTAGGTAACGGGTTGGGC
		445	リバープライマー	ACTCCCCGAATACAAACGAA
		446	Beacon	CGACATGCGGTTTCGAGGTAGGTGGCGTTGGCATGTCG
PHACTR3_67296	128	447	フォワードプライマー	TTCGTAGAGTGATTTTAGCGTTT
		448	リバープライマー	AACGCCACCTACCTCGAAC
		449	Beacon	CGACATGCGCGGACGTCGGGGAGAATTTAGGGCATGTCG
PHACTR3_67297	92	450	フォワードプライマー	TAATTTGTTTTCGCGTCGG
		451	リバープライマー	CTAAATCACTCTACGAACGACC
		452	Beacon	CGACATGCGGACGGGAGCGGTTGTTTCGGCATGTCG
PHACTR3_67298	118	453	フォワードプライマー	CGTTTCGGATGTTTTGATTTTAC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		455	Beacon	CGACATGCCGAGGACGGGAGCGGGCATGTCG
PHACTR3_67299	136	456	フォワードプライマー	TTCGTCGGTGATTTTGTC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		457	Beacon	CGACATGCCGTCGGTCGGGTTTATGGTCGCATGTCG
PHACTR3_67302	128	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		459	リバープライマー	AAACGCCTAACTCCAACGAAA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67303	118	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		461	リバープライマー	CTCCAACGAAACCTAACGCA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67304	110	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		463	リバープライマー	GAAACCTAACGCACCTAAACG
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67305	103	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		464	リバープライマー	AACGCACCTAAACGCGCTA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG

【表 5 2】

(表 1 6 のつづき)

PHACTR3_ 67306	93	465	フォワード プライマー	GATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTT
		358	リバー プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		466	Beacon	CGACATGCGCGGTTATGGGTTCCGGTCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67308	124	467	フォワード プライマー	GACGTTGGGGTTATTTTGC
		358	リバー プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		468	Beacon	CGACATGCGCGATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTTTTTCGGCATGTC G
PHACTR3_ 67309	92	469	フォワード プライマー	CGTCGTTTTCGTTTAGTTCGT
		470	リバー プライマー	GCAAAATAACCCCAACGTCC
		471	Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67310	133	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		473	リバー プライマー	AACGACGAACGAATCGAAA
		471	Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67311	113	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		474	リバー プライマー	AACCCGAAACAAATAACGCT
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67312	101	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		476	リバー プライマー	ATAACGCTAAAAACAAACCCCG
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67313	92	472	フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		477	リバー プライマー	AAAACAAAACCCCGCGAAA
		475	Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG

【表 5 3】

表 1 7ーさらなるアッセイの設計：TFPI 2 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
TFPI2_12620	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		480	Beacon	CGACATGCGGGTCGGTCGGACGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67243	98	481	フォワードプライマー	TAGAAATTGTTGGCGTTGTTTTTC
		482	リバースプライマー	TACCGAACCTACTTCTCCGT
		483	Beacon	CGACATGCCGTATAGGAATTGGCGGTAGTTTTGCGTGGCATGTCTG
TFPI2_67244	124	484	フォワードプライマー	TAGTCGTCGGCGTAAGGAGC
		485	リバースプライマー	AAAACTACGAAAACAACGCCA
		486	Beacon	CGACATGCTGGGTGCGCGTAGGGTAGCATGTCTG
TFPI2_67245	120	487	フォワードプライマー	GTGTTCTGTTTTATGCGGGG
		488	リバースプライマー	TCTTACACAATTTACAACGCGAA
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67246	115	490	フォワードプライマー	TTTTTGTTTTAGGCGGTTTC
		491	リバースプライマー	GACGAAATAACAATCCCCGT
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67247	106	492	フォワードプライマー	TTCGTTAGGAAAAGTAGTAGAATCG
		493	リバースプライマー	GCCAAACGCTTTCTCGAAC
		494	Beacon	CGACATGCGGGTAAGGCGTTTCGAGAAAGCGGCATGTCTG
TFPI2_67248	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		495	Beacon	CGACATGCGTCGGTCGGACGTTTCGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67250	120	496	フォワードプライマー	GTCGTTAGTTTTGTACGGGG
		497	リバースプライマー	GAAAATCCTAAATACGCGCAA
		498	Beacon	CGACATGCGGGAGGTTTGCGACGATGTTTGTGGGCATGTCTG

【表 5 4】

表 1 8ーさらなるアッセイの設計：SOX17のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
SOX17_66067	117	499	フォワードプライマー	GGCGTTAGAGTTTAGTTTCGGT
		500	リバープライマー	TAATCCGAATCCCACGTCC
		501	Beacon	CGACATGCGGTGTAGTTTTGGCGCGGGCATGTCTG
SOX17_66070	131	502	フォワードプライマー	CGGTTTAGTGATATTGCGGG
		503	リバープライマー	ACGTAAACTCGAACCACGAC
		504	Beacon	CGACATGCGATGTGGTTAATGGAGCGGCGAGGGCATGTCTG
SOX17_66071	110	505	フォワードプライマー	TTAGTGATATTGCGGGCGT
		506	リバープライマー	CGACCTAAACGTAAACCTAACGA
		507	Beacon	CGACATGCGGAGCGGCGAGGGCGGCATGTCTG
SOX17_66073	92	508	フォワードプライマー	TATTGAGATGTTTCGAGGGTTGC
		509	リバープライマー	CTAAATACGCTATAAACCAACCG
		510	Beacon	CGACATGCCGGTTCGAAGTCGTCGTTCTGGCATGTCTG
SOX17_66078	96	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		512	リバープライマー	TCTAAATTCTACTACGCCAACCG
		513	Beacon	CGACATGCGGTGTGGGTTAAGGACGAGCGTAAGGCATGTCTG
SOX17_66079	91	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		514	リバープライマー	ATTCTACTACGCCAACCGCT
		515	Beacon	CGACATGCCGGCGGTCGATGAACGTTTTTATGGGCATGTCTG
SOX17_66080	117	516	フォワードプライマー	CGAATAGCGGAGTATCGGTC
		517	リバープライマー	ACTACGCCAACCGCTTACG
		518	Beacon	CGACATGCGGGTCGAGTTAAGGGCGATGTCTG
SOX17_66082	119	519	フォワードプライマー	TTTAGTATTTTGTTAATTCGGCGT
		520	リバープライマー	AACGAATCCCGTATCCGAC
		521	Beacon	CGACATGCGGATTTTGTTCGTTAGTCGTTTCGTTTCGCATGTCTG

【請求項 2 3】

下記表 2 ～ 1 8 に記載のヌクレオチド配列を含むプローブから選択されるプローブ。

【表 5 5】

表 2

配列 番号	NDRG4	プライマー	センスプライマー	配列 番号	アンチセンスプライマー	アニー リング 温度	PCR サイクルの 数
5	プライマー セット1	Flank	GGTTYGTTYGGGATTAGTTT TAGG	6	CRAACAACCAAAAACCCCTC	56	35
7	プライマー セット1	U	GATTAGTTTTAGGTTTGGTA TTGTTTTGT	8	AAAACCAAACTAAAAACAA TACACCA	66	25
9	プライマー セット1	M	TTTAGGTTTCGGTATCGTTTC GC	10	CGAACTAAAAACGATACG CCG	66	25
11	プライマー セット2	Flank	ATYGGGGTGTTTTTTAGGTT T	12	ATACCRAACCTAAACTAA TCCC	56	35
13	プライマー セット2	U	GGGTGTTTTTTAGGTTTCGC GTCGC	14	CCTAAAACTAATCCCAAAC AAACCA	66	30
15	プライマー セット2	M	TTTTTTAGGTTTCGCGTCGC	16	AAACTAATCCCGAACGAA CCG	66	30

「F l a n k」＝フランキングプライマー

「U」＝非メチル化NDRG4特異的プライマー

「M」＝メチル化NDRG4特異的プライマー

【表 5 6】

表3：プライマー配列及びbeacon（プローブ）配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTTGGGGTGGTGATGGAGGAGGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTGCG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGGATTTCGTAGCATGTGCG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3'
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTCGGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCGATCCCTGCATGTGCG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCTGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTGAAAACCCGCGGATTAAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGACCCGACGCCGCCCTGCATGTGCG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTGCG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCCGCGCGCAGCATGTGCG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCGTAACGGTGAAAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTCGACGTTTCGTAGGTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCGTGCGTATCGTTTGCGATTGGTGAGTGTTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL



【表 5 7】

表4：プライマー配列及びbeacon（プローブ）配列

配列 番号			
26	β- アクチン	フォワードプライマー	5' - TAGGGAGTATATAGGTTGGGGAAGTT - 3'
27		リバースプライマー	5' - AACACACAATAACAAACACAAATTCAC - 3'
28		beacon	5'-FAM-CGACTGCGTGTGGGGTGGTGTATGGAGGAGGTTTAGGCAGTCG-3'-D ABCYL
29	GATA4	フォワードプライマー	5' - AGGTTAGTTAGCGTTTTAGGGTC - 3'
30		リバースプライマー	5' - ACGACGACGAAACCTCTCG - 3'
31		beacon	5'-FAM-CGACATGCCTCGCGACTCGAATCCCCGACCCAGCATGTCTG-3'-DAB CYL
32	GATA5	フォワードプライマー	5' - AGTTCGTTTTTAGGTTAGTTTTTCGGC - 3'
33		リバースプライマー	5' - CCAATACAATAACGAACGAACCG - 3'
34		beacon	5'-FAM-CGACATGCGTAGGGAGGTAGAGGGTTTCGGATTCTAGCATGTCTG- 3'-DABCYL
35	SFRP1	フォワードプライマー	5' -TGTAGTTTTTCGGAGTTAGTGTCGCGC- 3
36		リバースプライマー	5' -CCTACGATCGAAAACGACGCGAACG- 3'
37		beacon	5'-FAM-CGACATGCTCGGGAGTCGGGCGTATTTAGTTCGTAGCGGCATGT CG-3'-DABCYL
38	SFRP2	フォワードプライマー	5' - GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC - 3'
39		リバースプライマー	5' - CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG - 3'
40		beacon	5'-FAM-CGACATGCGGTGTTTCGTTTTTCGCGTTTTAGTCGTGGGCATGT CG -3'-DABCYL
17	NDRG4	フォワードプライマー	5' - GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC - 3'
18		リバースプライマー	5' - AATTTAACAATATAAACGCTCGAC - 3'
19		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGAACGAACCGCATCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
41	APC	フォワードプライマー	5'-GAACCAAAACGCTCCCAT-3'
42		リバースプライマー	5'-TTATATGTCGGTTACGTGCGTTTATAT-3'
43		beacon	5' -FAM-CGTCTGCCCCGTCGAAAACCCGCCGATTAACGCAGACG-3'-DABCY L
44	ADAM23	フォワードプライマー	5' - GAAGGACGAGAAGTAGGCG - 3'
45		リバースプライマー	5' - CTAAACGAACATAACCTTACCGA - 3'
46		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGGACCCGCGACGCCGCCCTGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (3)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
48		リバースプライマー	5' - CGAACTTTACGAACGAACGAAC - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
47	OSMR (4)	フォワードプライマー	5' - TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC - 3'
50		リバースプライマー	5' - AAAAAGTTAAAAACCGAAAAGTCG - 3'
49		beacon	5'-FAM-CGACATGCCCGTACCCGCGCGCAGCATGTCTG-3'-DABCYL
51	JPH3	フォワードプライマー	5' - TTAGATTTCTGTAACGGTGAAAAC - 3'
52		リバースプライマー	5' - TCTCCTCCGAAAAACGCTC - 3'
53		beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCGAGACG-3'-DABCYL
54	MGMT	フォワードプライマー	5' - TTTGACGTTCTGATGTTTTTCGC - 3'
55		リバースプライマー	5' - GCACTCTTCCGAAAACGAAACG - 3'
56		beacon	5'-FAM-CGTCTCGCTGCGTATCGTTTGCGATTGAGTGTGGGGCGA GACG-3'-DABCYL

【表 5 8】

表5 NDRG4のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
NDRG4_ 1b	112	17	フォワード プライマー	GTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		18	リバー プライマー	AATTTAACGAATATAAACGCTCGAC
		57	Beacon	CGACATGCAGGGATCGCGGTTTCGTTCTGGGCATGTCG
NDRG4_ 13830	105	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		59	リバー プライマー	GAATATAAACGCTCGACCCGC
		60	Beacon	CGACATGCAGGTTTCGTTCTGGGATTAGTTTTCGTTCTGGCATGTCG
NDRG4_2 (MvE)	88	9	フォワード プライマー	TTTAGGTTTCGGTATCGTTTCGC
		10	リバー プライマー	CGAACTAAAAACGATACGCCG
		61	Beacon	CGTACCCGCGTTTATATTCGTTAAATTTACGCGGGTACG
NDRG4_ 66292	163	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGC
		63	リバー プライマー	GACTACAAAAACGAAAACCGAAC
		64	Beacon	CGACATCGGGTACGTTTTCGCGGCGATGTCG
NDRG4_ 66293	168	58	フォワード プライマー	GGTATTTTAGTCGCGTAGAAGGC
		65	リバー プライマー	CTACAAAAACGAAAACCGAAC
		66	Beacon	CGTTTCGCGGGTCGAGCGAAACG
NDRG4_ 66294	152	62	フォワード プライマー	TAGTCGCGTAGAAGGC
		67	リバー プライマー	CGAAAACCGAACTAAAAACGA
		68	Beacon	CGACATGCCGCGGTTTCGTTCTGGGATTAGTTTTCGTTCTGGCATGTCG
NDRG4_ 66295	90	69	フォワード プライマー	TTTCGTTCTGTTTATCGGGT
		70	リバー プライマー	CGAACCTAAACTAATCCCGAAC
		71	Beacon	CGACACGCGTAGAAGGCGGAAGTTACGCGCGTGTCTG
NDRG4_ 66296	160	72	フォワード プライマー	GGTTTCGTAGCGTATTAGTATAGTTC
		73	リバー プライマー	GTAACCTCCGCTTCTACGC
		74	Beacon	CGACATGCGCGGATCGATCGGGGTGTTTTTTCGTTCTGGCATGTCG
NDRG4_ 66297	143	75	フォワード プライマー	GAGTTGTTTTGTCTTTCTGTTT
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		77	Beacon	CGACATGCGGTTTCGTTCTGAGCGCGCATGTCG
NDRG4_ 66298	148	78	フォワード プライマー	GTTGTGAGTTGTTTTGTCTTTT
		76	リバー プライマー	AACACCTTCATCTCGACGC
		79	Beacon	CGACATGCCGTTGTTTTCGACGTCGTTATTTAGAGTCGGCATGTCG

【表 5 9】

(表5のつづき)

NDRG4_ 66299	144	80	フォワード プライマー	TTTGTAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		81	リバース プライマー	CTACTCCTACCGCTTCGCTC
		82	Beacon	CGACATCGCGCTCCTCTCCCCGATGTCG
NDRG4_ 66300	151	83	フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		84	リバース プライマー	AAGTACTCCTACCGCTTCGCT
		85	Beacon	CGACATCGGTTTTGGGTGGCGCGATGTCG
NDRG4_ 66301	120	80	フォワード プライマー	TTTGTAGTATTTTATTTTCGGCGTTC
		86	リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		87	Beacon	CGACATCGCTCCTCTCCCCGACTCGATGTCG
NDRG4_ 66302	125	83	フォワード プライマー	CGGTGTTTTAGTATTTTATTTTCGG
		86	リバース プライマー	CTCTCCTACCGCTCCGCTC
		88	Beacon	CGACATGCCGAACGCGCTACCCCGCATGTCG
NDRG4_ 66303	95	89	フォワード プライマー	CGAGTCGTTTTAGTTTTTCGGT
		90	リバース プライマー	TACTCACAAATACCGCCCG
		91	Beacon	CGACATCGGAAAGTGGCGGTGCGTTGCGATGTCG
NDRG4_ 66304	85	92	フォワード プライマー	TTCGGTGAATTTTAGGAGGC
		93	リバース プライマー	TCGAACGACGAACACGAAA
		94	Beacon	CGACATGCGCGGGGTGGGTGCGGCATGTCG

【表 6 0】

表 6 G A T A 5 のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
GATA5_ 12656	94	95	フォワード プライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		96	リバー プライマー	CGAACTTCCAATCTTCGACC
		97	Beacon	CGACATGCGGCGGTGGCGGTGGGTCGGCATGTCTG
GATA5_ 12659	102	98	フォワード プライマー	GATTTTTCGGGGTTTACGAAG
		99	リバー プライマー	GAACTTAACGACAAAAACGCA
		100	Beacon	CGACATGCGTTTAGTTGTATTGGTTCGGGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 12666	107	101	フォワード プライマー	GGTTTGTATTTCGGATTCGGTC
		102	リバー プライマー	TCGATAACAACGTCCTACACG
		103	Beacon	CGACATGCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGGGAGGTCGCATGTCTG
GATA5_ 12669	111	104	フォワード プライマー	TAGGGTTCGGGTTTGTATTC
		105	リバー プライマー	AACAACGTCCTACACGACC
		106	Beacon	CGACATGCGTATTATCGAAGGTGGGTTTTCGGTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66212	118	107	フォワード プライマー	TAGTTGGTGTAGTAGAGGTCGGC
		108	リバー プライマー	GACCTAAATCTCGCTTCCGT
		109	Beacon	CGACATGCCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66213	139	110	フォワード プライマー	TATAGCGTGGTGTGGTCTGT
		111	リバー プライマー	CTAAATCTCGCTTCCGTCC
		112	Beacon	CGACATGCGCGAGGGAGATTGGAGTGAGTTTCGCATGTCTG
GATA5_ 66215	80	113	フォワード プライマー	GGTGTGAGGTTTTTAAGGTTTC
		114	リバー プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		115	Beacon	CGACATGCGGGACGGGATGGGTTTTTTCGGGCATGTCTG
GATA5_ 66216	124	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		117	リバー プライマー	AAAAACGACTCTTCCCGATT
		118	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66217	118	116	フォワード プライマー	GTAGTTTCGGAGTTGGGTGTC
		119	リバー プライマー	GACTCTTCCCGATTACAACG
		120	Beacon	CGACATGCGAGGGACGGGATGGGTTTTTGCATGTCTG
GATA5_ 66218	71	121	フォワード プライマー	TTTTGCGTTAAAGGGTCGG
		122	リバー プライマー	CGAAACCTTAAAAACCTCGACA
		123	Beacon	CGACATGCCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGAGTTGGCATGTCTG

【表 6 1】

(表6のつづき)

GATA5_66219	90	124	フォワード プライマー	GATGTCGTTGCGTTCGTTT
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66220	98	127	フォワード プライマー	GTTTTGCGGATGTCGTTGC
		125	リバー プライマー	CCGAAACCTTAAAAACCTCG
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66221	158	128	フォワード プライマー	TAGGGGTTTTGCGGATGTC
		114	リバー プライマー	TCACTTTCTAACGAAAACGACT
		126	Beacon	CGACATGCCGGCGGGGTTTTAAAGGTAGTTTCGGCATGTCG
GATA5_66222	150	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		130	リバー プライマー	TAAAAACCTCGTACTCCGCC
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66223	103	129	フォワード プライマー	TCGAGATTGTGGAGTTTTCGT
		132	リバー プライマー	GTAACCCAATCCTAAACTACCGA
		131	Beacon	CGACATCGGTTTGGGAGGTCGTGTAGGACGATGTCG
GATA5_66224	112	133	フォワード プライマー	GGTTTGTATTCGATTTCGGT
		134	リバー プライマー	ACCCTTCGATAACAACGTCC
		135	Beacon	CGACATGCCGTATTTATCGAAGGTGGGTTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66225	76	136	フォワード プライマー	GTTTCGAGATTGTGGAGTTTTC
		137	リバー プライマー	GATAACAACGTCCTACACGACC
		138	Beacon	CGACATGCCGAAGGTGGGTTTGCGGTTTGGGGCATGTCG
GATA5_66226	163	139	フォワード プライマー	TTATTCGTTTCGTTTCGGG
		140	リバー プライマー	AAACCCACCTTCGATAAATACG
		141	Beacon	CGACATCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGATGTCG
GATA5_66227	164	142	フォワード プライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		143	リバー プライマー	AATACGAAAACCTCCACAATCTCG
		144	Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTTCGGATCGCATGTCG
GATA5_66228	76	145	フォワード プライマー	CGTTTTTGGTAGGGAGGTTTC
		146	リバー プライマー	ATCCGAATACAAACCCGCA
		147	Beacon	CGACATGCCGTGGGGGAGGATGAGGGGAGCGTTTCGGCATGTCG

【表 6 2】

(表6のつづき)

GATA5_66229	113	142	フォワードプライマー	CGGGGTGTTATTTAGGTTTATTC
		148	リバースプライマー	AAACCCGCACCCTACGAAA
		144	Beacon	CGACATGCGTTTTTGGTAGGGAGGTTCCGATCGCATGTCG
GATA5_66230	161	149	フォワードプライマー	ATTAGTGTAGTTAGACGGGCGG
		150	リバースプライマー	GACTCAACCACCAAACACGA
		151	Beacon	CGACATGCGTGGGTTTCGGGGAGTCGCATGTCG
GATA5_66231	116	95	フォワードプライマー	TTCGGGTTGGAGTATTTATTAGC
		152	リバースプライマー	AAACTACGAAACCTCAACGACC
		153	Beacon	CGACATGCGGTGGCGGTGGGTCGCATGTCG
GATA5_66233	134	154	フォワードプライマー	GTTACGGGAGTTTTGCGTTT
		155	リバースプライマー	CGATTCTCTCCCTCGAAT
		156	Beacon	CGACATGCGAGTTTATGTCCGGTAGGTGTCGCATGTCG
GATA5_66234	105	157	フォワードプライマー	AATCGTGTTCGTTCGTATTTTC
		158	リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		159	Beacon	CGACATGCGCGGAGTAGTTTCGTAGGTTGCGGGCATGTCG
GATA5_66235	121	160	フォワードプライマー	GCGATTTAGGTTAGGGAATCGT
		158	リバースプライマー	GATATACTCCGAACCCGCC
		161	Beacon	CGACATGCCGGTGAGGGTTGTATGGAGGCGTCGGCATGTCG
GATA5_66237	99	162	フォワードプライマー	TTTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		163	リバースプライマー	GATTCCCTAACCTAAATCGCCT
		164	Beacon	CGACATGCGCGTTAGAAATGCGTGTGGGTAGGAGGCGCATGTCG
GATA5_66238	72	165	フォワードプライマー	ATTCGGTGGGGTTTTTAGTC
		166	リバースプライマー	CACACGCATTCTAACGCC
		167	Beacon	CGACATGCCTCTTCCCGAATCCCCGAAAACCGCATGTCG
GATA5_66243	91	168	フォワードプライマー	GGGTTTTATCGTCGCGTGT
		169	リバースプライマー	CCGAAACTAACCTAAAAACGAA
		170	Beacon	CGACATGCCCGGACCCCGCTCACC GG CATGTCG
GATA5_66244	100	171	フォワードプライマー	GGGGTTTACGGGGTTTTATC
		172	リバースプライマー	CGAAACTAACCTAAAAACGAAC
		173	Beacon	CGACATGCGATAATCCCGACCCCGCTCACC GG CATGTCG

【表 6 3】

(表6のつづき)

GATA5_66245	152	174 フォワードプライマー	TTGTTTAGAAATCGAGGAAATCG
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		176 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGCATGTCG
GATA5_66247	163	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		175 リバースプライマー	CGACGATAAAACCCCGTAA
		178 Beacon	CGACATGCGAGTTTCGGGTGCGGTTACGTAACGCATGTCG
GATA5_66250	151	177 フォワードプライマー	TGTGGTTTCGTTTGTAGAAATC
		179 リバースプライマー	CCCGTAAACCCCTCGTTA
		180 Beacon	CGACATGCCGCGGGGTTTCGTTAGTGTATTCGGCATGTCG
GATA5_66251	85	181 フォワードプライマー	CGTTTGTAGAAATCGAGGAAATC
		182 リバースプライマー	CATAAAACGACCGACTCGAA
		183 Beacon	CGACATGCGGGGTTTCGTTAGTGTATTCGTTTAGCATGTCG
GATA5_66252	141	184 フォワードプライマー	TTCGTATTCGTTATTTATTCGGTT
		185 リバースプライマー	GAAACTATAAAACCCCGCA
		186 Beacon	CGACATGCCGGGTTTTCGATGGTAGCGTTTTGTACGGCATGTCG
GATA5_66254	131	187 フォワードプライマー	CGAGTTTTCGTTAGGTCGTTT
		188 リバースプライマー	ACTCGACTCACACCCGAAC
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66255	119	190 フォワードプライマー	CGCGAGTTTTCGTTAGGTC
		191 リバースプライマー	CGAACAAATAAAACAACATCGAA
		189 Beacon	CGACATGCGTACGTTTCGGGCGTCGGTTTTTCGGCATGTCG
GATA5_66256	95	192 フォワードプライマー	TCGGGATTTTGAGGTTTC
		193 リバースプライマー	CTACGAATACCGCTACGCC
		194 Beacon	CGACATGCGGGATTTCGTGCGTTTTTGGCGTAGGGCATGTCG

【表 6 4】

表 7-さらなるアッセイの設計：GAT A 5 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及び ampliflor 配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列
GATA5_12671_ S_AMP	90	195	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		196	リバー プライマー	ATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_12671_ AS_AMP	90	197	フォワード プライマー	TTTTTCGATGTTGTTTTATTGTTC
		198	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAACTATCTACGCCCAACCGA
GATA5_66214_ S_AMP	70	199	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTCTGTAGTTTTATGTAGAGGT CG
		200	リバー プライマー	GCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66214_ AS_AMP	70	201	フォワード プライマー	TTCGTGTAGTTTTATGTAGAGGTTCG
		202	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCTATAACGACGAAACTCGAA
GATA5_66236_ S_AMP	73	203	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		204	リバー プライマー	CACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66236_ AS_AMP	73	205	フォワード プライマー	TTAGGCGTTAGAAATGCGTG
		206	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCACCGAAAATACGAACGAAA
GATA5_66239_ S_AMP	101	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		208	リバー プライマー	AAAACCTACATAAAACGCCGCTA
GATA5_66239_ AS_AMP	101	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		210	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAAACCTACATAAAACGCCGCTA
GATA5_66240_ S_AMP	93	207	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		211	リバー プライマー	ATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66240_ AS_AMP	93	209	フォワード プライマー	GGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTC
		212	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATAAAAACGCCGCTACCGC
GATA5_66241_ S_AMP	78	213	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGGTCGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		214	リバー プライマー	CTACCGCGAAACAACCTCCG
GATA5_66241_ AS_AMP	78	215	フォワード プライマー	CGTTAAGTTTGGGTTTATTCGGT
		216	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACCGCGAAACAACCTCCG



【表 6 5】

(表7のつづき)

GATA5_66248_ S_AMP	86	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		218	リバー プライマー	GACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66248_ AS_AMP	86	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		220	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGACTTCCATAAAAACGACCGA
GATA5_66249_ S_AMP	80	217	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		182	リバー プライマー	CATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66249_ AS_AMP	80	219	フォワード プライマー	GTTTAGAAATCGAGGAAATCGC
		221	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCATAAAAACGACCGACTCGAA
GATA5_66257_ S_AMP	78	222	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUTTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		223	リバー プライマー	AAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66257_ AS_AMP	78	224	フォワード プライマー	TTTGCGTGGTCGTAAGGTC
		225	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAATAAACCCCGAACCGAA
GATA5_66246_ S_AMP	70	226	フォワード プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		227	リバー プライマー	AAACCGACTTCCATAAAAACGA
GATA5_66246_ AS_AMP	70	228	フォワード プライマー	CGGGGTTTTCGTTAGTGATTTTC
		229	リバー プライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAAACCGACTTCCATAAAAACGA

【表 6 6】

表8 OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (m o l e c u l a r b e a c o n) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
OSMR_1	148	230	フォワード プライマー	GTGTTAAGAGTGCCTAGTAAGACG
		231	リバー プライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
		232	Beacon	CGACATGCCGAACTATAAATCAACTACGAAACAAACGCGCATGTCTG
OSMR_2	142	233	フォワード プライマー	TTAAGTAAACGTTGGGTAGAGGC
		234	リバー プライマー	CTCGATAACTTTTCCGACGA
		235	Beacon	CGACATGCCGAGGAGGGGAACGGGTTGTTGGCATGTCTG
OSMR_25259	138	236	フォワード プライマー	TGTTTCGTTCTTCGTAAAGTTC
		237	リバー プライマー	TACAATTTCCCGTCTTACTACGC
		238	Beacon	CGACATGCCGCGGTCTGTTTTTTTCGGGATTGAAGGCATGTCTG
OSMR_25260	139	47	フォワード プライマー	TTTGGTCGGGGTAGGAGTAGC
		239	リバー プライマー	CACAACCCGAACCTTACGAAC
		240	Beacon	CGACATGCCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCGCATGTCTG
OSMR_5	130	241	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTATC
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		243	Beacon	CGACATGCACCCATCCCGACTAAACGCGACGCATGTCTG
OSMR_66307	120	244	フォワード プライマー	GTATAGTACGGGTTCTGTTCTG
		245	リバー プライマー	ACTCGTAAACCCCTTCGCC
		246	Beacon	CGACATGCCGGTAGGGCGCGAGTAGAGCGCATGTCTG
OSMR_66308	124	247	フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		248	Beacon	CGACATGCCGGGATGGGTTGCGAAGTTGTCTGCATGTCTG
OSMR_66309	130	249	フォワード プライマー	ACGTTGGGTAGAGGCGGTA
		242	リバー プライマー	ATAACTTTTCCGACGAACGAAC
		250	Beacon	CGACACGCGTTTAGTCGGGATGGGTTGCGTGTCTG
OSMR_66310	76	251	フォワード プライマー	CGGTATCGAGGAGGGGAAC
		252	リバー プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		253	Beacon	CGACATGCCGTTGTTGTATTTTCGGTCGCGTTTAGTCGCATGTCTG

【表 6 7】

(表8のつづき)

OSMR_ 66311	84	247 フォワード プライマー	GGTAGAGGCGGTATCGAGG
		252 リバース プライマー	AAATCCGACAACCTTCGCAA
		254 Beacon	CGACATGCCGGGTTGTTGTATTTTCGGTCGCGGCATGTCG
OSMR_ 66312	120	255 フォワード プライマー	TAGGTAGGTAGGTCGGGGGC
		256 リバース プライマー	CGAAAATACAACAACCCGTTT
		257 Beacon	CGACATGCGTTGGGTAGAGGCGGTATCGCATGTCG
OSMR_ Sid	142	258 フォワード プライマー	TTCGTGCGTTTTTGGTCG
		259 リバース プライマー	CGAACTTTACGAACGAACG
		240 Beacon	CGACATGCGCGGGGTACGGAGTTTCGGTCGCATGTCG

【表 6 8】

表9ーさらなるアッセイの設計：OSMRのメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びamp l i f l u o r配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド	5'-3'配列
OSMR_25258_S_AMP	135	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		261	リバープライマー	ACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25258_AS_AMP	135	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		263	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUACGTACAAAAACGACCCGAAC
OSMR_25264_S_AMP	65	264	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		265	リバープライマー	CGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_25264_AS_AMP	65	266	フォワードプライマー	GCGTAGCGTTGTTTTGTTTC
		267	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGACTTACCTCTAATTCCGCC
OSMR_66305_S_AMP	142	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		231	リバープライマー	GAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66305_AS_AMP	142	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		268	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUGAAACGAACGTACAAAAACGA
OSMR_66306_S_AMP	98	260	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUAGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		269	リバープライマー	CTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66306_AS_AMP	98	262	フォワードプライマー	AGAGTGCGTAGTAAGACGGGA
		270	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCTACGAAACAAACGCGAAA
OSMR_66313_S_AMP	71	271	フォワードプライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUCGAGGATTTTTCGAGCGTC
		272	リバープライマー	ATACCGCCTCTACCCAACG
OSMR_66313_AS_AMP	71	273	フォワードプライマー	CGAGGATTTTTCGAGCGTC
		274	リバープライマー	AGCGATGCGTTTCGAGCATCGCUATACCGCCTCTACCCAACG

【表 69】

表10-ADAM23のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (molecular beacon) 並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	配列 番号	オリゴ ヌクレオチド	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
ADAM23_ 5	99	275	フォワード プライマー	TAACGTAAAGGGTACGGGG
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		277	Beacon	CGACATGCCCCGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG
ADAM23_ 66258	98	278	フォワード プライマー	GTAGTAGTTCGCGGTAGTCGTTT
		279	リバー プライマー	AACGCTAACAAACACCGAA
		280	Beacon	CGACATGCGCGGGTTGTAGTTTTGTCGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66259	169	281	フォワード プライマー	TTCGTAGTCGTTGAAGCGG
		282	リバー プライマー	GCGAAACTCGAAACTAAACGA
		283	Beacon	CGACATCGGGAGTGGTTGCGAGGTTAGGCGATGTCTG
ADAM23_ 66260	81	284	フォワード プライマー	GCGTCGTTTTAGTATTTTTAGGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		286	Beacon	CGACATGCGTTTTTCGTAGTCGTTGAAGCGGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66261	104	287	フォワード プライマー	GTTTTGCGTCGTTTCGTTT
		285	リバー プライマー	GACTACTCCCTCCCCCGAC
		288	Beacon	CGACATGCGGTTTCGGCGGTAGTTTTTCGTAGTCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66263	106	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		290	リバー プライマー	CTACCGCCTACTTCTCGTCC
		291	Beacon	CGACATCGGGACGAGGCGGCATGTCTG
ADAM23_ 66264	90	289	フォワード プライマー	GGGTACGGGGTTATATTTATCGT
		276	リバー プライマー	GTCCTTCTCCTACTACCTCCGCT
		292	Beacon	CGACATGCCCCCGCGCCTAAAAAACTACTACGGCATGTCTG
ADAM23_ 66265	84	293	フォワード プライマー	GGTACGGGGTTATATTTATCGTTG
		294	リバー プライマー	TCTCCTACTACCTCCGCTCG
		295	Beacon	CGACATGCCTCGTCCCGACCCCGCGCATGTCTG
ADAM23_ 66266	125	296	フォワード プライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		297	リバー プライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		298	Beacon	CGACATGCGCGGGAAAGTTAACGTAAAGGGTACGCATGTCTG

【表 7 0】

(表 1 0 のつづき)

ADAM23_66267	97	296 フォワードプライマー	GTCGAGTCGGGGATAAGTTC
		299 リバースプライマー	AACCCCGTACCCTTTACGTT
		300 Beacon	CGACGCGCGTTTTTCGTTTTTTTTGTAGGGTTTCGCGTCG
ADAM23_66268	133	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		297 リバースプライマー	AAAACTACTACGCCCAACGA
		302 Beacon	CGACATGCGTAGGGTTTCGCGGGAAAGTTAACGGCATGTCTG
ADAM23_66269	108	301 フォワードプライマー	AAGGAAAGGTCGAGTCGGG
		303 リバースプライマー	TATAACCCCGTACCCTTTACGTT
		304 Beacon	CGACATGCAGTTCGGAGTATACGGATTTCGCGCGCATGTCTG
ADAM23_66271	97	305 フォワードプライマー	TTCGTCGGTTATACGGAGC
		306 リバースプライマー	GACAAAAC TACAACCCGCCA
		307 Beacon	CGACATGCGGGAGTTATGAGTTATGAAGTCGTTTCGCATGTCTG
ADAM23_A	112	308 フォワードプライマー	GAGGTTTTAAGTTGGCGGAGC
		309 リバースプライマー	ACTCGAAACTAAACGACGCC
		277 Beacon	CGACATGCCCGGACTCGCCTAACCTCGCAAGCATGTCTG

【表 7 1】

表 1 1 - JPH3 のメチル化状態を決定するためのプライマー対及びプローブ (m o l e c u l a r b e a c o n) 並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JPH3_1(MVE)	103	310	フォワードプライマー	TTTAATATGGTGTAGTCGTTAGCGTC
		311	リバースプライマー	CCCACCTACGACTACCGCG
		312	Beacon	CGACATGCACGAAACCCGCGAACGACGACGCATGTCTG
JPH3_12608	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAAACCGATACAAACGCCA
		315	Beacon	CGACATGCGGTTGGGAGGACGGTAAGGCGGCATGTCTG
JPH3_2	123	316	フォワードプライマー	TGTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		318	Beacon	CGACATGCACCCGCGAACGACGACGACGCATGTCTG
JPH3_3	88	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		320	リバースプライマー	TAAAACCGATACAAACGCCA
		321	Beacon	CGACATGCCCCGTACGCCTTACCGTCCTCGCATGTCTG
JPH3_4	134	322	フォワードプライマー	GATATAGTAGAGTCGCGGTCGTC
		323	リバースプライマー	CGATTAACATAAAATTCCTCCGAAA
		324	Beacon	CGACATGCCCCGAAAAACGCTCGCGACCCAGCATGTCTG
JPH3_5	127	325	フォワードプライマー	GGGGTAGTTTAGGTTCCGGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCAACGCC
		327	Beacon	CGACATGCCCCGCAACGCGACAACCGCAGCATGTCTG
JPH3_67326	122	328	フォワードプライマー	GTAGTCGTTAGCGTCGTCGT
		317	リバースプライマー	GAAAAACAACCTCAAACCCGAA
		329	Beacon	CGACATGCGCGGTAGTCGTAGGTGGGCATGTCTG
JPH3_67329	128	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		330	リバースプライマー	GAAACCGTAACCTCCACGAAC
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67330	92	319	フォワードプライマー	GTAGGTTTAATTTTGACGACGGA
		332	リバースプライマー	ACCCCTAAAACCGATACAAACG
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67331	90	313	フォワードプライマー	GGGGTAGGTTTAATTTTGACGAC
		314	リバースプライマー	TAAAACCGATACAAACGCCA
		331	Beacon	CGACATGCGAGGACGGTAAGGCGTACGGGCATGTCTG
JPH3_67332	115	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		334	リバースプライマー	AACGAAAATAAATACCGCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67333	109	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		336	リバースプライマー	AATAAATACCGCGAACCGAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67334	92	333	フォワードプライマー	TACGGTTTAATCGGAGGACGTAG
		337	リバースプライマー	GAACCGAACCGAAACGAAA
		335	Beacon	CGACATGCGGGCGCGATCGGAAGTACGGCATGTCTG
JPH3_67335	96	51	フォワードプライマー	TTAGATTTTCGTAACCGGTGAAAC
		52	リバースプライマー	TCTCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCTGTCGGCGGTTTTGGCATGTCTG

【表 7 2】

(表 1 1 のつづき)

JPH3_67336	108	339	フォワードプライマー	TGTAATTCGGTTTTAGATTTTCGT
		52	リバースプライマー	TCTCCTCCGAAAAACGCTC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67337	91	340	フォワードプライマー	GTTCGTTTTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67338	97	342	フォワードプライマー	GTTTTCGTTCGTTTTTCGTTT
		341	リバースプライマー	CTAACCTACTAAACCGCGCC
		338	Beacon	CGACATGCGCGGTCGTCGGCGGTTTTGGCATGTCG
JPH3_67339	120	343	フォワードプライマー	AGTAGTAGTAGTAATGCGGCGGT
		344	リバースプライマー	CGAACGAACGAAATACGAAC
		345	Beacon	CGACATGCGCGTTTCGGGTTTCGGTTCGGCATGTCG
JPH3_67340	126	346	フォワードプライマー	GGGTAGTTTAGGTTTCGGGTC
		326	リバースプライマー	ATATAATACAACCGCCAACGCC
		347	Beacon	CGACATGCGCGGGCGTTTCGAGGGCGCATGTCG



【表 7 3】

表 1 2-プライマー配列及びbeacon (プローブ) 配列

	配列 番号	
BNIP3	348 フォワード プライマー	5'-TACGCGTAGGTTTTAAGTCGC-3'
	349 リバース プライマー	5'-TCCCGAACTAAACGAAACCCCG-3'
	350 beacon	5'-FAM-CGACATGCCTACGACCGCGTCGCCCATAGCATGTCG -3'-DABCYL
FOXE1	351 フォワード プライマー	5'-TTTGTTTCGTTTTTCGATTGTTTC-3'
	352 リバース プライマー	5'-TAACGCTATAAACTCCTACCGC-3'
	353 beacon	5'-FAM-CGTCTCGTCGGGTTTCGGCGTATTTTTTAGGTAGGCGAGACG-3'-DABCYL
JAM3	354 フォワード プライマー	5'-GGGATTATAAGTCGCGTCGC-3'
	355 リバース プライマー	5'-CGAACGCAAAACCGAAATCG-3'
	356 beacon	5'-FAM-CGACACGATATGGCGTTGAGGCGGTTATCGTGTCG-3'-DABCYL
JPH3	51 フォワード プライマー	5'-TTAGATTTTCGTAAACGGTGAAAAC-3'
	52 リバース プライマー	5'-TCTCCTCCGAAAAACGCTC-3'
	53 beacon	5'-FAM-CGTCTGCAACCGCCGACGACCGCGACGCAGACG-3'-DABCYL
PHACTR3	357 フォワード プライマー	TTATTTTGCGAGCGGTTTC
	358 リバース プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
	359 beacon	CGACATGCGGGTTCGGTCGGCGCGGGGCATGTCG
TFPI2	360 フォワード プライマー	5'-GTTTCGTTGGGTAAGGCGTTC-3'
	361 リバース プライマー	5'-CATAAAACGAACACCCGAACCG-3'
	362 beacon	5'-FAM-CGACATGCACCGCGCACCTCCTCCCGCCAAGCATGTCG-3'-DABCYL
SOX17	363 フォワード プライマー	5'-GAGATGTTTCGAGGGTTGC-3'
	364 リバース プライマー	5'-CCGCAATATCACTAAACCGA-3'
	365 beacon	5'-FAM- CGACATGCGTTTCGTGTTTTGGTTTGTGCGGTTTGGCATGTCG-3'-DABCYL
SYNE1	366 フォワード プライマー	5'-GTTGGGTTTTCTAGTTTTGTAGATCGC-3'
	367 リバース プライマー	5'-CTACGCCCAAACCTCGACG-3'
	368 beacon	5'-FAM-CGACATGCCCCGCCCTATCGCCGAAATCGCATGTCG -3'-DABCYL

【表 7 4】

表 1 3ーさらなるアッセイの設計：BNIP3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ 名称	アンプリ コン長	オリゴ ヌクレオチド 及びプローブ 配列 番号	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
BNIP3_ 13409	94	369 フォワード プライマー	AGTGTTTAGAGAGTTCGTCGGTT
		370 リバース プライマー	CGTAACGAATAAACTACGCGAT
		371 Beacon	CGACATGCGGAGAATTCGGTTTATCGTTCGTCGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67227	159	372 フォワード プライマー	TTTGTAGGTGGAATTTAGTTCGC
		373 リバース プライマー	CCCTCCTACGAACATACGAAA
		374 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGTTTAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67229	160	375 フォワード プライマー	CGGTTTAATTGCGAGACGTAG
		376 リバース プライマー	AACGTAAAAACCCGCGTA
		377 Beacon	CGACATGCCGTGCGGTTTCGATTTCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67231	107	378 フォワード プライマー	GTTTTTCGGGTTTTTGTTCGT
		379 リバース プライマー	GACTCTACTCGAACCTCCGCT
		380 Beacon	CGACATGCGGGCGTTTCGTTCTAGGAAGAAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67232	141	381 フォワード プライマー	TGAGGACGTGTAGGGAAGC
		382 リバース プライマー	AAACGAACAAAAACCCGAAA
		383 Beacon	CGACATGCCGAGCGGTGGGTGCGAGGCATGTCTG
BNIP3_ 67233	153	384 フォワード プライマー	GCGTTAGAGGGTAATTGCG
		385 リバース プライマー	CTATAAATTCCTCCGACCGAAC
		386 Beacon	CGACATGCCGCGTTCGGGTTGCGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67235	94	387 フォワード プライマー	TTTGTATTTCGGGCGTTTC
		388 リバース プライマー	GCAACTAAAAACATCCCGC
		389 Beacon	CGACATGCGCGATATGGCGTTAGAGGGTAATTGCGCATGTCTG
BNIP3_ 67236	106	390 フォワード プライマー	GGTTTTTACGGAAGTCGGG
		391 リバース プライマー	AATACAAACGCGATATAAAACGAA
		392 Beacon	CGACATGCGCGTTATTTCTGTTTCGTGGACGGGCATGTCTG
BNIP3_ 67239	151	393 フォワード プライマー	GATTTTCGCGTATTGTTCGG
		394 リバース プライマー	GATCCAACACGAAACGCA
		395 Beacon	CGACATGCGGTTTGGATTTCGGTTCGGATCGGCATGTCTG

【表 7 5】

表 1 4ーさらなるアッセイの設計：FOX E 1 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
FOX E1_13297	108	396	フォワードプライマー	TTCGTTTCGAGAAGTATTACGC
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		398	Beacon	CGACATGCGAGTCGTCGGTTAGCGGGTATTTTCGGCATGTCG
FOX E1_13307	133	399	フォワードプライマー	TTCGTTTTCGGTAGTTATGGC
		400	リバープライマー	GATCCCTAAACTCTCCGC
		401	Beacon	CGACATGCCGGGTTTGGATTTCGCGGTTGTCGGCATGTCG
FOX E1_13317	111	402	フォワードプライマー	CGGAGAGTTTAGGGGATCGT
		403	リバープライマー	CTCTATCTACACCGGCCA
		404	Beacon	CGACATCGGTTTAGGTTGGTACGCGTTGGAGGGCATGTCG
FOX E1_67265	118	405	フォワードプライマー	ATCGGTGTCGTTTACGTTTC
		406	リバープライマー	GTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		407	Beacon	CGACATGCGCGGAGGGAGGAGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67266	125	408	フォワードプライマー	TAGGGAATCGGTGTCGTTTAC
		409	リバープライマー	CGTAAATCTCCAACCCTACGAAC
		410	Beacon	CGACATGCCGGAGGGAGGAGTCGGTTCGGGCATGTCG
FOX E1_67267	108	411	フォワードプライマー	TGAGGTTTTTCGAGTCGGTT
		412	リバープライマー	CCACAACGTCAAAACGAAA
		413	Beacon	CGACATGCCGGGTTTAGTCGATCGGGCATGTCG
FOX E1_67268	100	414	フォワードプライマー	ACGTTTCGCGTTATGATTGTC
		415	リバープライマー	CCGACCCCTACTACCGTCT
		416	Beacon	CGACATGCCGTAGTCGGAGGTGTTGGTTATCGGCATGTCG
FOX E1_67270	124	417	フォワードプライマー	GAGGTTATCGTCGTTGTTCTG
		397	リバープライマー	GCGCTAAAACTCAACGTCC
		418	Beacon	CGACATGCCCGGGTTGAGTCGTCGGGCATGTCG
FOX E1_67271	116	419	フォワードプライマー	TTAGGGATTATTTTCGGATTTTC
		420	リバープライマー	TTCTCGAAACGAACAACGAC
		421	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTATTAGCGCGTAAGGGGCATGTCG

【表 7 6】

(表 1 4 のつづき)

FOX E1_67274	92	422	フォワード プライマー	CGGTAGAAGGGAAGCGTT
		423	リバース プライマー	CTCATCGCCATAACCATCG
		424	Beacon	CGACATGCGCGTGAGGCGGCGTTCGGCATGTCTG
FOX E1_67276	90	351	フォワード プライマー	TTTGTTCTTTTTTCGATTGTTT
		425	リバース プライマー	CTATAAACTCCTACCGCGCC
		426	Beacon	CGACATGCCGGGTTCTGGGCGTATTTTTAGGGCATGTCTG
FOX E1_67278	98	427	フォワード プライマー	TGTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		428	リバース プライマー	CGAAAACAAAACATAAACGACC
		429	Beacon	CGACATGCGGTTAGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGGCATGTCTG
FOX E1_67279	90	430	フォワード プライマー	GTGCGCGTAGAAGAGGTTTC
		431	リバース プライマー	AAAACATAAACGACCCCCG
		432	Beacon	CGACATGCGAGCGAGGGTAGTTAGTATTGGCGGCATGTCTG

【表 7 7】

表 1 5ーさらなるアッセイの設計：JAM3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
JAM3_12721	104	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		434	リバース プライマー	CAATTACCATAACGACCGCC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67314	108	433	フォワード プライマー	TGTGTCGGTTTAGAGTATCGTTG
		436	リバース プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCA TGTCG
JAM3_67315	113	437	フォワード プライマー	ATTTATGTGTCTGGTTTAGAGTATCG
		436	リバース プライマー	GCCCCAATTACCATAACGACC
		435	Beacon	CGACATGCGTTATTATGGTGTCTGGTTCGGTTGGGCATGTCTG
JAM3_67317	90	438	フォワード プライマー	TCGAGTTTTAGTTTTGTTGC
		439	リバース プライマー	AAATAACGATCCTAACTCCGAAA
		440	Beacon	CGACATGCCGGTTCGGGATTTCTGGGAGGCATGTCTG
JAM3_67318	133	441	フォワード プライマー	TTTAGTAAGTTTTAGCGTTTACGTC
		442	リバース プライマー	GAATAAACTCCTCCCAAACGAA
		443	Beacon	CGACATGCGAGGGTCGTGTTTATCGTTCGGGCATGT CG

【表 7 8】

表 1 6－さらなるアッセイの設計：P H A C T R 3 のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプライマー配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンブリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
PHACTR3_67295	111	444	フォワードプライマー	ATTTAGGTAACGGGTTGGGC
		445	リバープライマー	ACTCCCCGAATACAAACGAA
		446	Beacon	CGACATGCGGTTTCGAGGTAGGTGGCGTTGGCATGTCG
PHACTR3_67296	128	447	フォワードプライマー	TTCGTAGAGTGATTTTAGCGTTT
		448	リバープライマー	AACGCCACCTACCTCGAAC
		449	Beacon	CGACATGCGCGGACGTCGGGGAGAATTTAGGGCATGTCG
PHACTR3_67297	92	450	フォワードプライマー	TAATTTGTTTTCGCGTCGG
		451	リバープライマー	CTAAATCACTCTACGAACGACC
		452	Beacon	CGACATGCGGACGGGAGCGGTTGTTTCGGCATGTCG
PHACTR3_67298	118	453	フォワードプライマー	CGTTTCGGATGTTTTGATTTTAC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		455	Beacon	CGACATGCCGAGGACGGGAGCGGGCATGTCG
PHACTR3_67299	136	456	フォワードプライマー	TTCGTCGGTGATTTTGTC
		454	リバープライマー	ACTCTACGAACGACCCCGC
		457	Beacon	CGACATGCCGTCGGTCGGGTTATGGTCGCATGTCG
PHACTR3_67302	128	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		459	リバープライマー	AAACGCCTAACTCCAACGAAA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67303	118	458	フォワードプライマー	ACGTTGTTACGAAATCGGG
		461	リバープライマー	CTCCAACGAAACCTAACGCA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67304	110	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		463	リバープライマー	GAAACCTAACGCACCTAAACG
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG
PHACTR3_67305	103	462	フォワードプライマー	CGTTGTTACGAAATCGGGT
		464	リバープライマー	AACGCACCTAAACGCGCTA
		460	Beacon	CGACATGCGGCGTACGTTTTTCGTTTTTTGTGGCGGCATGTCG

【表 7 9】

(表 1 6 のつづき)

PHACTR3_ 67306	93	465 フォワード プライマー	GATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTT
		358 リバース プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		466 Beacon	CGACATGCGCGGTTATGGGTTCCGGTCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67308	124	467 フォワード プライマー	GACGTTGGGGTTATTTTGC
		358 リバース プライマー	GAATACTCTAATTCCACGCGACT
		468 Beacon	CGACATGCGCGATACGAGGTAGTCGTTTTTCGTTTTTCGGCATGTC G
PHACTR3_ 67309	92	469 フォワード プライマー	CGTCGTTTTCGTTTAGTTCGT
		470 リバース プライマー	GCAAAATAACCCCAACGTCC
		471 Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67310	133	472 フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		473 リバース プライマー	AACGACGAACGAATCGAAA
		471 Beacon	CGACATGCGCGGAGGAGGTGGTCGAGGCATGTCG
PHACTR3_ 67311	113	472 フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		474 リバース プライマー	AACCCGAAACAAATAACGCT
		475 Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67312	101	472 フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		476 リバース プライマー	ATAACGCTAAAAACAAACCCCG
		475 Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG
PHACTR3_ 67313	92	472 フォワード プライマー	GATTGGGGATAGGAATCGC
		477 リバース プライマー	AAAACAAAACCCCGCGAAA
		475 Beacon	CGACATGCGCGGTTTTTCGAATGTAGGCGGGCATGTCG

【表 80】

表17ーさらなるアッセイの設計：TFPI2のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
TFPI2_12620	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		480	Beacon	CGACATGCGGGTCGGTCGGACGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67243	98	481	フォワードプライマー	TAGAAATTGTTGGCGTTGTTTTTC
		482	リバースプライマー	TACCGAACCTACTTCTCCGT
		483	Beacon	CGACATGCCGTATAGGAATTGGCGGTAGTTTTGCGTGGCATGTCTG
TFPI2_67244	124	484	フォワードプライマー	TAGTCGTCGGCGTAAGGAGC
		485	リバースプライマー	AAAACTACGAAAACAACGCCA
		486	Beacon	CGACATGCTGGGTGCGCGTAGGGTAGCATGTCTG
TFPI2_67245	120	487	フォワードプライマー	GTGTTCTGTTTTATGCGGGG
		488	リバースプライマー	TCTTACACAATTTACAACGCGAA
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67246	115	490	フォワードプライマー	TTTTTGTTTTAGGCGGTTTC
		491	リバースプライマー	GACGAAATAACAATCCCCGT
		489	Beacon	CGACATGCCGTTTCGGTCGATTTTCGTCGGGCATGTCTG
TFPI2_67247	106	492	フォワードプライマー	TTCGTTAGGAAAAGTAGTAGAATCG
		493	リバースプライマー	GCCAAACGCTTTCTCGAAC
		494	Beacon	CGACATGCGGGTAAGGCGTTTCGAGAAAGCGGCATGTCTG
TFPI2_67248	117	478	フォワードプライマー	CGGGGTGATAGTTTTCTGTG
		479	リバースプライマー	CGACTTTCTACTCCAAACGACC
		495	Beacon	CGACATGCGTCGGTCGGACGTTTCGTTTCGGCATGTCTG
TFPI2_67250	120	496	フォワードプライマー	GTCGTTAGTTTTGTACGGGG
		497	リバースプライマー	GAAAATCCTAAATACGCGCAA
		498	Beacon	CGACATGCGGGAGGTTTGCGACGATGTTTGTGGGCATGTCTG

【表 8 1】

表18ーさらなるアッセイの設計：SOX17のメチル化状態を決定するためのプライマー配列及びプローブ配列並びに予測増幅産物長

アッセイ名称	アンプリコン長	配列番号	オリゴヌクレオチド及びプローブ	5'-3'配列 (beaconはすべて5'-FAM及び3'-DABCYLである)
SOX17_66067	117	499	フォワードプライマー	GGCGTTAGAGTTTAGTTTCGGT
		500	リバープライマー	TAATCCGAATCCCACGTCC
		501	Beacon	CGACATGCGGTGTAGTTTTGGCGCGGGCATGTCTG
SOX17_66070	131	502	フォワードプライマー	CGGTTTAGTGATATTGCGGG
		503	リバープライマー	ACGTAAACTCGAACCACGAC
		504	Beacon	CGACATGCGATGTGGTTAATGGAGCGGCGAGGGCATGTCTG
SOX17_66071	110	505	フォワードプライマー	TTAGTGATATTGCGGGCGT
		506	リバープライマー	CGACCTAAACGTAAACCTAACGA
		507	Beacon	CGACATGCGGAGCGGCGAGGGCGGCATGTCTG
SOX17_66073	92	508	フォワードプライマー	TATTGAGATGTTTCGAGGGTTGC
		509	リバープライマー	CTAAATACGCTATAAACCAACCG
		510	Beacon	CGACATGCCGGTTCGAAGTCGTCGTTCTGGCATGTCTG
SOX17_66078	96	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		512	リバープライマー	TCTAAATTCTACTACGCCAACCG
		513	Beacon	CGACATGCGGTGTGGGTTAAGGACGAGCGTAAGGCATGTCTG
SOX17_66079	91	511	フォワードプライマー	TCGAGTTAAGGGCGAGTTTC
		514	リバープライマー	ATTCTACTACGCCAACCGCT
		515	Beacon	CGACATGCCGGCGGTCGATGAACGTTTTATGGGCATGTCTG
SOX17_66080	117	516	フォワードプライマー	CGAATAGCGGAGTATCGGTC
		517	リバープライマー	ACTACGCCAACCGCTTACG
		518	Beacon	CGACATGCGGGTCGAGTTAAGGGCGATGTCTG
SOX17_66082	119	519	フォワードプライマー	TTTAGTATTTTGTTAATTCGGCGT
		520	リバープライマー	AACGAATCCCGTATCCGAC
		521	Beacon	CGACATGCGGATTTTGTTCGTTAGTCGTTTCGTTTCGCATGTCTG

【請求項 2 4】

請求項 2 2 に記載のプライマー対及び請求項 2 3 に記載の対応するプローブを含むキット。