

【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30年10月25日(2018.10.25)

【公表番号】特表2018-509178(P2018-509178A)

【公表日】平成30年4月5日(2018.4.5)

【年通号数】公開・登録公報2018-013

【出願番号】特願2017-560901(P2017-560901)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年9月11日(2018.9.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2018509178000001.app

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0089

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0089】

【表 3】

m i R N A 標的の逆転写のためのモジュール式プライマー

第1段階：部分的に合成されたオリゴヌクレオチド3' セグメント		
RNA標的	配列	配列番号
対照標準A	A T A C G A C A G C T A G	1
対照標準B	A T A C G A C A T G A G T	2
c e l - m i r - 2	A T A C G A C G C A C A T	3
R N U 4 4	A T A C G A C A G T C A G	4
R N U 4 8	A T A C G A C G G T C A G	5
U 6	A T A C G A C C C C A C C	6
l e t - 7 a	A T A C G A C A A C T A T	7
l e t - 7 b	A T A C G A C A A C C A C	8
m i R - 1 0 0	A T A C G A C C A C A A G	9
m i R - 1 0 3	A T A C G A C T C A T A G	10
m i R - 1 0 5	A T A C G A C A C C A C A	11
m i R - 1 0 b	A T A C G A C C A C A A A	12
m i R - 1 2 5 a - 5 p	A T A C G A C T C A C A G	13
m i R - 1 2 5 b	A T A C G A C T C A C A A	14
m i R - 1 2 6	A T A C G A C C G C A T T	15
m i R - 1 2 8	A T A C G A C A A A G A G	16
m i R - 1 2 9 - 5 p	A T A C G A C G C A A G C	17
m i R - 1 3 0 a	A T A C G A C A T G C C C	18
m i R - 1 3 2	A T A C G A C C G A C C A	19
m i R - 1 3 3 a m i r - 1 9 1	A T A C G A C C A G C T G	20
m i R - 1 3 4	A T A C G A C C C C C T C	21
m i R - 1 3 5 b m i r - 2 1 6 b	A T A C G A C T C A C A T	22
m i R - 1 3 6	A T A C G A C T C C A T C	23
m i R - 1 3 7	A T A C G A C C T A C G C	24
m i R - 1 4 0 - 5 p	A T A C G A C C T A C C A	25
m i R - 1 4 1	A T A C G A C C C A T C T	26
m i R - 1 4 2 - 3 p	A T A C G A C T C C A T A	27
m i R - 1 4 3	A T A C G A C G A G C T A	28
m i R - 1 4 5	A T A C G A C A G G G A T	29
m i R - 1 4 6 a	A T A C G A C A A C C C A	30
m i R - 1 4 8 a	A T A C G A C A C A A A G	31
m i R - 1 4 9	A T A C G A C G G G A G T	32

m i R-1 5 0	A T A C G A C C A C T G G	33
m i R-1 5 4	A T A C G A C C G A A G G	34
m i R-1 6	A T A C G A C C G C C A A	35
m i R-1 8 1 a	A T A C G A C A C T C A C	36
m i R-1 8 2	A T A C G A C A G T G T G	37
m i R-1 8 3	A T A C G A C A G T G A A	38
m i R-1 8 4	A T A C G A C A C C C T T	39
m i R-1 8 5	A T A C G A C T C A G G A	40
m i R-1 8 6	A T A C G A C A G C C C A	41
m i R-1 8 a	A T A C G A C C T A T C T	42
m i R-1 9 2	A T A C G A C G G C T G T	43
m i R-1 9 4	A T A C G A C T C C A C A	44
m i R-1 9 6 b	A T A C G A C C C C A A C	45
m i R-1 9 9 a-3 p	A T A C G A C G A A C A G	46
m i R-1 9 9 a-5 p	A T A C G A C T A A C C A	47
m i R-1 9 a	A T A C G A C T C A G T T	48
m i R-2 0 0 b	A T A C G A C T C A T C A	49
m i R-2 0 3	A T A C G A C C T A G T G	50
m i R-2 0 4	A T A C G A C A G G C A T	51
m i R-2 0 5	A T A C G A C C A G A C T	52
m i R-2 1	A T A C G A C T C A A C A	53
m i R-2 1 0	A T A C G A C T C A G C C	54
m i R-2 1 8	A T A C G A C A C A T G G	55
m i R-2 2	A T A C G A C A C A G T T	56
m i R-2 2 1	A T A C G A C G A A A C C	57
m i R-2 2 2	A T A C G A C A C C C A G	58
m i R-2 2 4	A T A C G A C A A C G G A	59
m i R-2 3 a	A T A C G A C G G A A A T	60
m i R-2 4	A T A C G A C C T G T T C	61
m i R-2 5	A T A C G A C T C A G A C	62
m i R-2 6 a	A T A C G A C A G C C T A	63
m i R-2 7 b	A T A C G A C G C A G A A	64
m i R-2 8-5 p	A T A C G A C C T C A A T	65
m i R-2 9 9-5 p	A T A C G A C A T G T A T	66
m i R-2 9 c	A T A C G A C T A A C C G	67
m i R-3 0 1 a	A T A C G A C G C T T T G	68
m i R-3 0 2 a m i r-3 6 7	A T A C G A C T C A C C A	69

m i R-30 b	A T A C G A C A G C T G A	70
m i R-31	A T A C G A C A G C T A T	71
m i R-32	A T A C G A C T G C A A C	72
m i R-342-3 p	A T A C G A C A C G G G T	73
m i R-34 a	A T A C G A C A C A A C C	74
m i R-34 c-5 p	A T A C G A C G C A A T C	75
m i R-363	A T A C G A C T A C A G A	76
m i R-365	A T A C G A C A T A A G G	77
m i R-372	A T A C G A C A C G C T C	78
m i R-373	A T A C G A C A C A C C C	79
m i R-375	A T A C G A C T C A C G C	80
m i R-381	A T A C G A C A C A G A G	81
m i R-382	A T A C G A C C G A A T C	82
m i R-383	A T A C G A C A G C C A C	83
m i R-422 a	A T A C G A C G C C T T C	84
m i R-424	A T A C G A C T T C A A A	85
m i R-488	A T A C G A C G A C C A A	86
m i R-7	A T A C G A C A C A A C A	87
m i R-9	A T A C G A C T C A T A C	88
m i R-92 a	A T A C G A C A C A G G C	89
m i R-93 m i r 106 a	A T A C G A C C T A C C T	90
m i R-95	A T A C G A C T G C T C A	91
m i R-96	A T A C G A C A G C A A A	92

第2段階：次の配列を96新しいカラムで部分的に合成されたオリゴの混合物に添加した：

CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG [BC] C
GTGAGC (配列番号93)

独特な8-塩基バーコード ([BC] により表示される) を各カラムに対して使用した。バーコードは、表6にある。

相補的マスク用オリゴ： GTCGTATGCTCACGAAAAAAAAA
CTGAGTCGGAGACACGCAGGGATGAGATGG-3'-ビ
オチン (配列番号94)

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0090

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0090】

【表 5】

MAQC mRNA 標的の逆転写のためのモジュール式プライマー

第1段階：部分的に合成されたオリゴヌクレオチド3'セグメント		
標的遺伝子	配列	配列番号
ANXA5	TATCTGCAAGGTAGGCAGGTATAC	95
B2M	TATCCATGATGCTGCTTACATGTC	96
CDK9	TATCGTACAGCTCATAGTTGTCCAC	97
CDKN1A	TATGTTTGGAGTGGTAGAAATCTGTC	98
CTPS	TATCTCTTGAAGAATCATCCGCTAC	99
CYP1B1	TATGTCTGCACATCAGGATACCTG	100
CYP2D6	TATCTCATCCTTCAGCACCGATG	101
DAD1	TATAGGAAATTCAAAGAGTGAACATTC	102
ELAVL1	TATGCCTCCGACCGTTTGTCAAAC	103
FANCG	TATGAAGCAGGTGAAAGTAAGTGTC	104
FGF9	TATCTGTTCTCTGAATACACACTCTTG	105
ICAM1	TATCAGTCGGGGGCCATACAG	106
IGF2R	TATACGTTGGAACCTTCTCCTACAG	107
IGFBP2	TATGCCCGTTCAGAGACATCTTG	108
IGFBP5	TATTCCACGCACCAGCAGATG	109
IL1B	TATGCCACAGGTATTTTGTCAATTAC	110
IL8	TATTTTATGAATTCTCAGCCCTCTTC	111
KIT	TATTCATTATGTCATACATTTTCAGCAG	112
MAP2K6	TATGTAGGCCGTTCTTTGGAATTC	113
MAP3K14	TATGGCTGCAGCTGGGATCTG	114
MX2	TATTCACCTTTTATGTCTTCAATCGTG	115
MYB	TATGTACTGCTACAAGGCTGCAAG	116
RARA	TATCGGCTGCTCCAGGTCCTG	117
RB1	TATTGAGGTATCCATGCTATCATTC	118
SLC15A2	TATGGAGCACAGATTTTCATGCTAG	119
SLC2A1	TATCCACGATGCTCAGATAGGAC	120
SOD1	TATCAGCGTTTCCTGTCTTTGTAC	121
TGFBR2	TATCACTCAGTCAACGTCTCAC	122
TGM1	TATGCGCAGTGTCACCTGTTTC	123
TYMS	TATGTATAAAGTCACCTGGCTTCAG	124
POLR2領域1	TATTCATTGTCTTCACCAGGAAGCCCAC	125
POLR2領域2	TATGCACCACCTGGTGAAGGGATGTAGG	126

ACTB領域1	TATCTTGCACATGCCGGAGCCGTTGTC	127
ACTB領域2	TATCGCAACTAAGTCATAGTCCGCCTAGAA	128
第2段階 : 次の配列を96個の新しいカラムで部分的に合成されたオリゴの混合物に添加した: CCA TCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG [BC] CAA (配列番号129)		
独特な8-塩基バーコード（[BC]により表示される）を各カラムに対して使用した。バーコード配列は、表6に列挙する。		

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0091

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0091】

【表 8】

放射線反応性mRNA標的の逆転写のためのモジュール式プライマー

第1段階：部分的に合成されたオリゴヌクレオチド3' セグメント		
標的遺伝子	配列	配列番号
DHCR24	TATCATACACTGCCACACCCATCTCCAC	130
GINS2	TATCTGAATCCATTTCCTTGCAACCATCACAC	131
DB160230	TATATTCCGTCTCTATCGTTGTGTGAACGG	132
PADI4	TATAGTAGAGCTTTGACTGGTGGAGTCTTG	133
PLXNA2	TATCCCATCACTTGTCTTCCATCTGAGAC	134
GPR84	TATGATGGAGAGACTTGATTTGGGAGGCTG	135
AK024898	TATAAAGGCCTTAAGTCACTCCCAAAGCA	136
RPS27L	TATAAATGAACACCCCTTCTGTGAGTCTGGC	137
CDKN1A (Vae2)	TATTGGAGTGGTAGAAATCTGTCATGCTGG	138
GADD45A	TATACCCATTGATCCATGTAGCGACTTTCC	139
TMEM30A	TATACAGCCTGAGTATTTCCAAAGCTGAAGT	140
AK074467	TATGAAACTAAGGTAAATAAGTGCCCTGGGTTGG	141
TRIAP1	TATACACTGAGAGCTCTGAAATGGTGTTCA	142
ISG20L1	TATGATATCCGTGAACCTTGCTGCTGTGC	143
CDKN1A (Var1)	TATTCCATAGCCTCTACTGCCACCATCTTA	144
PLK2	TATATGGCCATAGTTTACAGTTACGCAGC	145
MGC5370	TATTTAGGAAACCTCTGCCATGTCTGCATC	146
LOC392454	TATCCTTCTTTCATCCTCCATCTTGGGAGC	147
BE646426	TATGGATATCCGTGTGTCTTGTCTGTGGC	148
PCNA	TATTATGCTGGCATCTTAGAAGCAGTTCTC	149
PHLDA3	TATAAAGGACCTAAGCAGCAGGAGACC	150
DDB2	TATAGATAACCTTGGTTCCAGGCTAGATACAG	151
FDXR	TATTTCCAGCATGTTCCCAACCTGGTGAC	152
ACTB	TATCGCAACTAAGTCATAGTCCGCCTAGAA	153
GAPDH	TATGCCTGCTTCACCACCTTCTTGATG	154
第2段階：次の配列を108新しいカラムで部分的に合成されたオリゴの混合物に添加した：CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG [BC] CAA（配列番号155）		
独特な8-塩基バーコード（[BC]により表示される）を各カラムに対して使用した。バーコード配列は、表6に列挙する。		

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0093

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0093】

【表 2】

合成RNAオリゴヌクレオチド

合成RNA	配列	配列番号
対照標準A	GUUACUUAUGAGAGUGGCUAGCU	156
対照標準B	UGAUCAUAUCCUGUGCACUCAU	157
c e l-m i r-2	UAUCACAGCCAGCUUUGAUGUGC	158
RNU44	GAAGGUCUUAUUAAGCUCUAAACUGACU	159
RNU48	CCAUCACCGCAGCGCUCUGACC	160
U6	GGCAUCUCGAGCUAAUCUGGUGGG	161
l e t-7 a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	162
l e t-7 b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	163
m i R-100	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	164
m i R-103	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	165
m i R-105	UCAA AUGCUCAGACUCCUGUGGU	166
m i R-106 a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	167
m i R-10 b	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	168
m i R-125 a-5 p	UCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGA	169
m i R-125 b	UCCCUGAGACCCUAAACUUGUGA	170
m i R-126	UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG	171
m i R-128	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	172
m i R-129-5 p	CUUUUUGCGGUCUGGGGCUUGC	173
m i R-130 a	CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU	174
m i R-132	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	175
m i R-133 a	UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUG	176
m i R-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	177
m i R-135 b	UAUGGCUUUUCAUUCCUAUGUGA	178
m i R-136	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA	179
m i R-137	UUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAG	180
m i R-140-5 p	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG	181
m i R-141	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG	182
m i R-142-3 p	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA	183
m i R-143	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	184
m i R-145	GUCCAGUUUUUCCCAGGAAUCCCU	185
m i R-146 a	UGAGAACUGAAUUCCAUGGGUU	186
m i R-148 a	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	187

m i R-149	UCUGGCUCGUGUCUUCACUCCC	188
m i R-150	UCUCCCAACCCUUGUACCAGUG	189
m i R-154	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	190
m i R-16	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	191
m i R-181a	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	192
m i R-182	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	193
m i R-183	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	194
m i R-184	UGGACGGAGAACUGAUAAAGGGU	195
m i R-185	UGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGA	196
m i R-186	CAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCU	197
m i R-18a	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	198
m i R-191	CAACGGAAUCCCCAAAAGCAGCUG	199
m i R-192	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	200
m i R-194	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	201
m i R-196b	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGG	202
m i R-199a-3p	CCCAGUGUUCAGACUACCUGUUC	203
m i R-199a-5p	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA	204
m i R-19a	UGUGCAAUUCUAUGCAAAACUGA	205
m i R-200b	UAAUACUGCCUGGUAAUGAUGA	206
m i R-203	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	207
m i R-204	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	208
m i R-205	UCCUUCAUUCCACCGGAGUCUG	209
m i R-21	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	210
m i R-210	CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA	211
m i R-216b	AAAUCUCUGCAGGCAAAUGUGA	212
m i R-218	UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU	213
m i R-22	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	214
m i R-221	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	215
m i R-222	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	216
m i R-224	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU	217
m i R-23a	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	218
m i R-24	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	219
m i R-25	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	220
m i R-26a	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	221
m i R-27b	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	222
m i R-28-5p	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	223
m i R-299-5p	UGGUUUACCGUCCCACAUAACAU	224
m i R-29c	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	225

m i R-3 0 1 a	C A G U G C A A U A G U A U U G U C A A A G C	226
m i R-3 0 2 a	U A A G U G C U U C C A U G U U U U G G U G A	227
m i R-3 0 b	U G U A A A C A U C C U A C A C U C A G C U	228
m i R-3 1	A G G C A A G A U G C U G G C A U A G C U	229
m i R-3 2	U A U U G C A C A U U A C U A A G U U G C A	230
m i R-3 4 2-3 p	U C U C A C A C A G A A A U C G C A C C C G U	231
m i R-3 4 a	U G G C A G U G U C U U A G C U G G U U G U	232
m i R-3 4 c-5 p	A G G C A G U G U A G U U A G C U G A U U G C	233
m i R-3 6 3	A A U U G C A C G G U A U C C A U C U G U A	234
m i R-3 6 5	U A A U G C C C C U A A A A A U C C U U A U	235
m i R-3 6 7	A A U U G C A C U U U A G C A A U G G U G A	236
m i R-3 7 2	A A A G U G C U G C G A C A U U U G A G C G U	237
m i R-3 7 3	G A A G U G C U U C G A U U U U G G G G U G U	238
m i R-3 7 5	U U U G U U C G U U C G G C U C G C G U G A	239
m i R-3 8 1	U A U A C A A G G G C A A G C U C U C U G U	240
m i R-3 8 2	G A A G U U G U U C G U G G U G G A U U C G	241
m i R-3 8 3	A G A U C A G A A G G U G A U U G U G G C U	242
m i R-4 2 2 a	A C U G G A C U U A G G G U C A G A A G G C	243
m i R-4 2 4	C A G C A G C A A U U C A U G U U U U G A A	244
m i R-4 8 8	U U G A A A G G C U A U U U C U U G G U C	245
m i R-7	U G G A A G A C U A G U G A U U U U G U U G U	246
m i R-9	U C U U U G G U U A U C U A G C U G U A U G A	247
m i R-9 2 a	U A U U G C A C U U G U C C C G G C C U G U	248
m i R-9 3	C A A A G U G C U G U U C G U G C A G G U A G	249
m i R-9 5	U U C A A C G G G U A U U U A U U G A G C A	250
m i R-9 6	U U U G G C A C U A G C A C A U U U U U G C U	251

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0099

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0099】

【表 4】

miRNA標的に対するハイブリッド捕捉オリゴヌクレオチドおよびPCRプライマー

ハイブリッド捕捉オリゴマーに対して：X=5' - ビオチン		
標的特異的PCRプライマーに対して：		
X=CCTCTCTATGGGCAGTCGGTGAT（配列番号252）		
ユニバーサルPCRプライマー：		
CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACT（配列番号253）		
標的	オリゴヌクレオチド配列	配列番号
対照標準A	X-GTTACTTATGAGAGTGGCTAG	254
対照標準B	X-TGATCATATCCTGTGCACT	255
cel-mir-2	X-TATCACAGCCAGCTTTGATG	256
RNU44	X-GAAGGTCTTAATTAGCTCTAACTG	257
RNU48	X-TCACCGCAGCGCTCTGA	258
U6	X-GGCATCTCGAGCTAATCT	259
let-7a	X-TGAGGTAGTAGGTTGTATAG	260
let-7b	X-TGAGGTAGTAGGTTGTGT	261
miR-100	X-AACCCGTAGATCCGAACCTT	262
miR-103	X-AGCAGCATTTGTACAGGGCT	263
miR-105	X-TCAAATGCTCAGACTCCTG	264
miR-106a	X-AAAAGTGCTTACAGTGCAGG	265
miR-10b	X-TACCCTGTAGAACCGAATTTG	266
miR-125a-5p	X-TCCCTGAGACCCTTTAACC	267
miR-125b	X-TCCCTGAGACCCTAACTTG	268
miR-126	X-TCGTACCGTGAGTAATAATGC	269
miR-128	X-TCACAGTGAACCGGTCTC	270
miR-129-5p	X-CTTTTTTGCGGTCTGGGC	271
miR-130a	X-CAGTGCAATGTTAAAAGGG	272
miR-132	X-TAACAGTCTACAGCCATGG	273
miR-133a	X-TTTGGTCCCCTTCAACCA	274
miR-134	X-TGTGACTGGTTGACCAGAG	275
miR-135b	X-TATGGCTTTTTCATTCTATGT	276
miR-136	X-ACTCCATTTGTTTTGATGATG	277
miR-137	X-TTATTGCTTAAAGAAATACGCGT	278
miR-140-5p	X-CAGTGGTTTTTACCCTATGGT	279
miR-141	X-TAACACTGTCTGGTAAAGATG	280
miR-142-3p	X-TGTAGTGTTTCTCTACTTTATGG	281
miR-143	X-TGAGATGAAGCACTGTAGC	282
miR-145	X-GTCCAGTTTTTCCCAGGAATC	283
miR-146a	X-TGAGAACTGAATTCCATGG	284

m i R - 1 4 8 a	X - T C A G T G C A C T A C A G A A C T T	285
m i R - 1 4 9	X - T C T G G C T C C G T G T C T T C A	286
m i R - 1 5 0	X - T C T C C C A A C C C T T G T A C C A	287
m i R - 1 5 4	X - T A G G T T A T C C G T G T T G C C T	288
m i R - 1 6	X - T A G C A G C A C G T A A A T A T T G G	289
m i R - 1 8 1 a	X - A A C A T T C A A C G C T G T C G G	290
m i R - 1 8 2	X - T T T G G C A A T G G T A G A A C T C A C	291
m i R - 1 8 3	X - T A T G G C A C T G G T A G A A T T C A	292
m i R - 1 8 4	X - T G G A C G G A G A A C T G A T A A G	293
m i R - 1 8 5	X - T G G A G A G A A A G G C A G T T C C	294
m i R - 1 8 6	X - C A A A G A A T T C T C C T T T T G G G	295
m i R - 1 8 a	X - T A A G G T G C A T C T A G T G C A G A	296
m i R - 1 9 1	X - C A A C G G A A T C C C A A A A G C A	297
m i R - 1 9 2	X - C T G A C C T A T G A A T T G A C A G C	298
m i R - 1 9 4	X - T G T A A C A G C A A C T C C A T G T	299
m i R - 1 9 6 b	X - T A G G T A G T T T C C T G T T G T T G	300
m i R - 1 9 9 a - 3 p	X - C C C A G T G T T C A G A C T A C C T	301
m i R - 1 9 9 a - 5 p	X - A C A G T A G T C T G C A C A T T G G	302
m i R - 1 9 a	X - T G T G C A A A T C T A T G C A A A A C T	303
m i R - 2 0 0 b	X - T A A T A C T G C C T G G T A A T G A T G	304
m i R - 2 0 3	X - G T G A A A T G T T T A G G A C C A C T A	305
m i R - 2 0 4	X - T T C C C T T T G T C A T C C T A T G C	306
m i R - 2 0 5	X - T C C T T C A T T C C A C C G G A G	307
m i R - 2 1	X - T A G C T T A T C A G A C T G A T G T T G	308
m i R - 2 1 0	X - C T G T G C G T G T G A C A G C G	309
m i R - 2 1 6 b	X - A A A T C T C T G C A G G C A A A T G	310
m i R - 2 1 8	X - T T G T G C T T G A T C T A A C C A T	311
m i R - 2 2	X - A A G C T G C C A G T T G A A G A A C	312
m i R - 2 2 1	X - A G C T A C A T T G T C T G C T G G	313
m i R - 2 2 2	X - A G C T A C A T C T G G C T A C T G	314
m i R - 2 2 4	X - C A A G T C A C T A G T G G T T C C	315
m i R - 2 3 a	X - A T C A C A T T G C C A G G G A T T	316
m i R - 2 4	X - T G G C T C A G T T C A G C A G G A	317
m i R - 2 5	X - C A T T G C A C T T G T C T C G G T C	318
m i R - 2 6 a	X - T T C A A G T A A T C C A G G A T A G G	319
m i R - 2 7 b	X - T T C A C A G T G G C T A A G T T C T	320
m i R - 2 8 - 5 p	X - A A G G A G C T C A C A G T C T A T T G	321
m i R - 2 9 9 - 5 p	X - T G G T T T A C C G T C C C A C A T A	322

m i R-29c	X-TAGCACCATTTGAAATCGGT	323
m i R-301a	X-CAGTGCAATAGTATTGTCAAAG	324
m i R-302a	X-TAAGTGCTTCCATGTTTTGG	325
m i R-30b	X-TGTAAACATCCTACACTCAGC	326
m i R-31	X-AGGCAAGATGCTGGCATA	327
m i R-32	X-TATTGCACATTACTAAGTTGC	328
m i R-342-3p	X-TCTCACACAGAAATCGCAC	329
m i R-34a	X-TGGCAGTGTCTTAGCTGG	330
m i R-34c-5p	X-AGGCAGTGTAGTTAGCTGAT	331
m i R-363	X-AATTGCACGGTATCCATCT	332
m i R-365	X-TAATGCCCCCTAATAATCCTTA	333
m i R-367	X-AATTGCACTTTAGCAATGGT	334
m i R-372	X-AAAGTGCTGCGACATTTGAG	335
m i R-373	X-GAAGTGCTTCGATTTTGGG	336
m i R-375	X-TTTGTTTCGTTCTGGCTCG	337
m i R-381	X-TATACAAGGGCAAGCTCTC	338
m i R-382	X-GAAGTTGTTCTGTTGGTGGAT	339
m i R-383	X-AGATCAGAAGGTGATTGTGG	340
m i R-422a	X-ACTGGACTTAGGGTCAGAA	341
m i R-424	X-CAGCAGCAATTTCATGTTTTG	342
m i R-488	X-TTGAAAGGCTATTTCTTGGT	343
m i R-7	X-TGGAAGACTAGTGATTTTGTT	344
m i R-9	X-TCTTTGGTTATCTAGCTGTAT	345
m i R-92a	X-TATTGCACTTGTCCCGGC	346
m i R-93	X-CAAAGTGCTGTTCTGTGCA	347
m i R-95	X-TTCAACGGGTATTTATTGAG	348
m i R-96	X-TTTGGCACTAGCACATTTTGT	349

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0104

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0104】

【表 7】

MAQC mRNA 標的に対するハイブリッド捕捉オリゴヌクレオチドおよび PCR プライマー

ハイブリッド捕捉オリゴに対して：X=5' - b i o t i n		
標的的特異的 PCR プライマーに対して：		
X=CCTCTCTATGGGCAGTCGGTGAT (配列番号 350)		
ユニバーサル PCR プライマー配列：		
CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACT (配列番号 351)		
標的	オリゴヌクレオチド配列	配列番号
ANXA5	X-ACCATTTGACCGCGAGACTTCTGGCAA	352
B2M	X-TGCCTGCCGTGTGAACCATGTGACT	353
CDK9	X-GCAGCACCAACTCGCCCTCATCAGT	354
CDKN1A	X-TCTTGTACCCTTGTGCCTCGCTCAGG	355
CTPS	X-CCTATAGTGACAGGAGTGGAAGCAGCTC	356
CYP1B1	X-ATCACTGACATCTTCGGCGCCAGCC	357
CYP2D6	X-TGACATCGAAGTACAGGGCTTCCGCA	358
DAD1	X-TGCCAGCACCATCCTGCACCTTGTT	359
ELAVL1	X-GGATCATCAACTCGCGGGTCCTCGT	360
FANCG	X-TAGCCAGCGGCCAGGATACCAAAGC	361
FGF9	X-AGCATTCGAGGCGTGGACAGTGGAC	362
ICAM1	X-TCTCCTGCTCTGCAACCCTGGAGGT	363
IGF2R	X-GCCTGCTGGCCCTGTTGCTCTACAA	364
IGFBP2	X-AGCACCTCTACTCCCTGCACATCCC	365
IGFBP5	X-ACCTGCCCAATTGTGACCGCAAAGGA	366
IL1B	X-AAGCTCTCCACCTCCAGGGACAGGA	367
IL8	X-TGGACCCCAAGGAAAACCTGGGTGCAG	368
KIT	X-AAGCAGCCCCTATCCTGGAATGCCG	369
MAP2K6	X-CCATCGCCACAACCTCCCAGCAGACA	370
MAP3K14	X-ACATCCGGGAGTTCCACCGGGTCAA	371
MX2	X-CCAGCAAGCTTTTCATTAAAGTGGCCAAA	372
MYB	X-AAGCTCCGTTTTTAATGGCACCAAGCA	373
RARA	X-TGCTGCCCCCTGGAGATGGATGATGC	374
RB1	X-TCTCCCAGGAGAGTCCAAATTTTCAGCA	375
SLC15A2	X-ATGCCCTGGTTACAGCTGGGGAGGT	376
SLC2A1	X-GGCATGGCGGGTGTGCCATACTCA	377
SOD1	X-GGAGACCATTTGCATCATTTGGCCGCACA	378
TGFBR2	X-TCGAGGGCGACCAGAAATTCCCAGC	379
TGM1	X-TGTCGTCTTCCGGCTCGAAGGCTCT	380
TYMS	X-GACATGGGCCTCGGTGTGCCTTTCA	381
POLR2F	X-GGACTGGCCGCTGCCAAACATGTGC	382
POLR2B	X-CAGCGGCTTCAGCCCAGGTACTCCC	383
ACTBF	X-GAGCACAGAGCCTCGCCTTTGCCGAT	384
ACTBB	X-CCTCGCTGTCCACCTTCCAGCAGATGT	385

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書
 【補正対象項目名】0105
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【0105】
 【表9】

ハイブリッド捕捉オリゴに対して：X＝5'－ビオチン

標的的特異的PCRプライマーに対して：

X＝CCTCTCTATGGGCAGTCGGTGAT（配列番号386）

ユニバーサルPCRプライマー配列：

CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACT（配列番号387）

標的	オリゴヌクレオチド配列	配列番号
DHCR24	X-AGCCAGTTTCTTTGGCCAGAAGGATGA	388
GJNS2	X-CGCTCAGGACGTGATGAGGTACTCGTGG	389
DB160230	X-ACAGCAAAGCAGCCACCAAGATGGACC	390
PAD14	X-ACCCTGACGATGAAAGTGGCCAGTGGT	391
PLXNA2	X-GAGCTGAGAGGAGGAGCCTCGCATTTCC	392
GPR84	X-GGACTGTCTCCTCCAGGACCAAAGTGGC	393
AK024898	X-TACATAAGGGTGGCATGCCCCACTGGCT	394
RPS27I	X-TGTCCAGGTTGCTACAAGATCACACGCTT	395
CDKN1A (Var2)	X-TGTCTTGTACCCTTGTGCCTCGCTCAGG	396
GADD45A	X-CTGCACTGCGTGCTGGTGACGAATCCA	397
TMEM30A	X-TGCTTGGCAGACCTTCATCTTCTGCCTCA	398
AK074467	X-AATGGAGTGAGCCCTGGATTGGGAGC	399
TRIAP1	X-ACACAGTTCCCTGCCTTCACAAAGAGGTGT	400
ISG20L1	X-CTGAGCAGCTGTGGCCCAGACAGAACT	401
CDKN1A (Var1)	X-ATCGTCCAGCGACCTTCCTCATCCACC	402
PLK2	X-GGGAGAAGGGAGGAAGCTCCCATGTTGT	403
MGC5370	X-GTTGCAGGCAGAGGAGCAGCTGGAA	404
LOC392454	X-AGAGGAGGAAGCTGTTACCATGGAGATGA	405
BE646426	X-TTGCTCTGTTGTACCTCCCGCACAGT	406
PCNA	X-AAGCCACTCCACTCTCTTCAACGGTGA	407
PIILDA3	X-CCACTCCAGAATGGCCTCTGGACTCACC	408
DDB2	X-TGCTCTGGACTTGCCTCCAGAGACTGC	409
FDXR	X-CAGGTGGAGGTGTGGGCCGATCTAACC	410
ACTB	X-CCTCGCTGTCCACCTTCCAGCAGATGT	411
GAPDH	X-AACGTGTCAAGTGGTGGACCTGACCTGC	412

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書
 【補正対象項目名】0136
 【補正方法】変更
 【補正の内容】

【 0 1 3 6 】

【 表 1 0 】

系統追跡されたPCRでおよび区画化されたPCR実験で使用されたプライマーの目録

標的化された遺伝子	プライマー配列	配列番号
遺伝子特異的順方向プライマー：		
KRAS	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNAGGCTTGCTGAAAATGACT GAATATA _a ACTTXX	413
BRAF	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNCCTCACAGTAAAAATAGGT GATTTTG _g TCTAXX	414
PPP2R1A	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNGACTCCCAGGTACTTCCGG _a ACCTXX	415
PIK3CA領域1	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNCAGCTCAAAGCAATTTCTA CACG _a GATCXX	416
PIK3CA領域2	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNGCAAGAGGCTTTGGAGTAT TTCAT _g AAACXX	417
EGFR領域1	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNGGATCCCAGAAGGTGAGAA AGTTAA _a ATTCXX	418
EGFR領域2	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNAAAACACCGCAGCATGTCA A _g ATCAXX	419
EGFR領域3	CTACACGACGCTCTTCCGATCTNN NNNNNCATCTGCCTCACCTCCA _c C GTGXX	420
遺伝子特異的逆方向プライマー：		
KRAS	CAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNN NNNNNCTGAATTAGCTGTATCGTC AAG _g CACTXX	421
BRAF	CAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNN NNNNNACTGTTCAAACCTGATGGGA C _c CACTXX	422
PPP2R1A	CAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNN NNNNNCTTGGCAAACCTCCCCCA _g C TTGXX	423

P I K 3 C A 領域 1	C A G A C G T G T G C T C T T C C G A T C T N N N N N N N A T C T C C A T T T T A G C A C T T A C C T g T G A C X X	424
P I K 3 C A 領域 2	C A G A C G T G T G C T C T T C C G A T C T N N N N N N N T C A A T G C A T G C T G T T T A A T T G T g T G G A X X	425
E G F R 領域 1	C A G A C G T G T G C T C T T C C G A T C T N N N N N N N A G C A G A A A C T C A C A T C G A G G a T T T C X X	426
E G F R 領域 2	C A G A C G T G T G C T C T T C C G A T C T N N N N N N N T G C C T C C T T C T G C A T G G T A T T c T T T C X X	427
E G F R 領域 3	C A G A C G T G T G C T C T T C C G A T C T N N N N N N N A G C C A A T A T T G T C T T T G T G T T c C C G G X X	428
ユニバーサルプライマー：		
短いユニバーサル順方向	A C A C + T C T + T T C C C + T A C A C G A C G C T G T T C C g A T C T X X	429
短いユニバーサル逆方向	G + T G A C + T G G A G T + T C A G A C G T G T G C T G T T C C g A T C T X X	430
バーコード&シークエンシングアダプタがある長いユニバーサル順方向	A A T G A T A C G G C G A C C A C C G A G A T C T A C A C [F W D B C] A C A C + T C T + T T C C C + T A C A C G A C G - C T C T T C C g A T C T X X	431
バーコード&シークエンシングアダプタがある長いユニバーサル逆方向	C A A G C A G A A G A C G G C A T A C G A G A T [R E V B C] G + T G A C + T G G A G T + T C A G A C G T G T G C T C - T T C C g A T C T X X	432
注：	X = d A - 5' - C E ホスホラミダイト (G l e n R e s e a r c h) を使用した反対方向の d A。	
	下部の場合の残基は RNA ; 上部の場合の残基は DNA である。	
	F W D B C = 順方向バーコード ; R E V B C = 逆方向バーコード。	
	順方向および逆方向バーコードを表 6 から選択した。	
	N = A、T、C または G を統合させる可能性が同等な縮重位置。	
	A 残基の前方で「+」はその位置で L N A ヌクレオチドを指す。	
	すべてのプライマーをユニバーサルポリスチレン支持体 III (G l e n R e s e a r c h) で合成した。	

【手続補正 10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0149

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0149】

5'-ビオチン-AATGATACGGCGACCCACCGAGATCTACAC [BSBC] ACACCTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCC-3' (配列番号433)

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0151

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0151】

5'-スパーサー9-TTTTTTTTTTTT-スパーサーC3-GGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAGAGTGT [BSBC] GTGTAGATCTTCGGTGGTCGCCGTATCATT-3' (配列番号434)

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0154

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0154】

5'-ビオチン-AATGATACGGCGACCCACCGAGATC-3' (配列番号435)

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0157

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0157】

5'-ビオチン-AATGATACGGCGACCCACCGAGATCTACAC [CSBC] ACACCTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCC-3' (配列番号436)

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0159

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0159】

Degen 鋳型：

5'-AATGATACGGCGACCCACCGAGATCTACACNNNNNNNNNNNACACCTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCC-3' (配列番号437)

次のプライマーをさらにカクテルに添加した：

Bio-ShortFWD：

5'-ビオチン-AA+TG+AT+ACGGCGACCCACCGAGaTCTAXX-3' (配列番号438) (100nM最終濃度で添加する)

ShortREV：

5'-GGA+AGAGCG+TCG+TGTAAGGGAaGAGTXX-3' (配列番号439) (20nM最終濃度で添加する)

X=dA-5'-CEホスホラミダイト (Glen Research) を使用した反対方向のdA。

下部の場合の残基はRNA；上部の場合の残基はDNAである。
N = A、T、CまたはGを組み込む可能性が同等な縮重位置。
A残基の前方で「+」は、その位置でLNAヌクレオチドを指す。