

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-502113

(P2007-502113A)

(43) 公表日 平成19年2月8日(2007.2.8)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)		C 1 2 N	15/00	Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)		C 1 2 Q	1/04		4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)		C 1 2 Q	1/68	A	
G O 6 F 19/00 (2006.01)		G O 6 F	19/00	6 O O	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 210 頁)

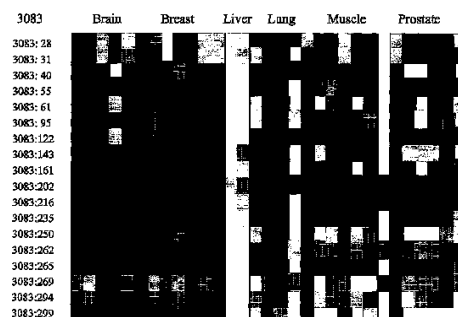
(21) 出願番号	特願2006-523343 (P2006-523343)	(71) 出願人	506051278
(86) (22) 出願日	平成16年8月12日 (2004.8.12)		エピゲノミクス アクチェンゲゼルシャフト
(85) 翻訳文提出日	平成18年4月10日 (2006.4.10)		ト
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/026071		ドイツ連邦共和国, デー ー 1 0 1 7 8
(87) 国際公開番号	W02005/019477		ベルリン, クリーネ プラジデンテンシュト
(87) 国際公開日	平成17年3月3日 (2005.3.3)		ラーセ 1
(31) 優先権主張番号	10/641, 321	(74) 代理人	100099759
(32) 優先日	平成15年8月12日 (2003.8.12)		弁理士 青木 篤
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100077517
			弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 エピジェネティック・マーカーを使用して組織または細胞タイプを鑑別するための方法および組成物

(57) 【要約】

本発明は特に、メチル化可変CpG位置(MVP)とゲノムDNAサンプルタイプとの間の相関を含む全ゲノム的なエピゲノム地図(epigenomic map)を生成させる新規な方法に関する。MVPはサンプルタイプ間で定量的メチル化レベルに差が生じやすいCpG位置である。特定の関心ゲノム領域(ROI)は好ましくは近接した複数のMVPを含む、サンプルタイプの識別に役立つ好ましい新規のマーカー配列をもたらす。該エピゲノム地図は、たとえばサンプルタイプの特定またはサンプルタイプ間の鑑別など、幅広い用途分野がある。特定の好ましい実施態様では、エピゲノム地図は主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)内のメチル化可変領域(MVP)に基づき、またたとえばゲノムDNAの由来源としての細胞または組織を特定したり、単数または複数の細胞または組織タイプを他の細胞または組織タイプから識別したりするのに役立つ。本発明のエピゲノム地図に基づく単数または複数の核酸配列の新規なエピジェネティック特性の分析は、該核酸の由来源の特定を可能にする。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

全ゲノムのメチル化地図を生成するための、次のステップを含む方法：

- a) 少なくとも2タイプの生体サンプルについてタイプごとに、ゲノムDNAをもつ複数のまたは一群の生体サンプルを獲得するステップ；
- b) 該サンプルまたは該サンプルから単離したDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品と接触させることにより、該サンプルのゲノムDNAを前処理するステップ；
- c) 前処理したDNAのセグメントを増幅して、増幅セグメントが全ゲノムまたはその一部分を表し、かつ各々の場合に、対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応する少なくとも1つのジヌクレオチド配列位置を含むようにするステップであって、該増幅に使用されるプライマー分子は、対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応するジヌクレオチド配列位置を含まないことを特徴とするステップ；
- d) 増幅後の前処理核酸の配列を決定するステップ；
- e) 該配列を分析して特定CpG位置のメチル化レベルを定量するステップ；
- f) 特定CpG位置の該定量メチル化レベルを、少なくとも2タイプの生体サンプルに対応する種々のサンプル群間で比較するステップ；および
- g) 種々のサンプル群間で定量メチル化レベルに検出可能な差異が存在するゲノムCpG位置であるメチル化可変位置を特定し、以って全ゲノムまたはその一部分にわたるエピゲノム地図が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

【請求項 2】

生体サンプルのタイプが組織、臓器または細胞である請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

ステップc)において、対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応するジヌクレオチド配列位置はCpGまたはTpGジヌクレオチド配列位置である請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

ステップd)の配列決定はメチル化レベルの定量に使用するための配列トレースまたはエレクトロフェログラムを生成させるステップを含む請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

ステップe)の配列分析は全ゲノムまたはその一部にわたる定量メチル化レベルのプロファイルを生成させるステップを含む請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

ステップe)におけるメチルレベルの定量はそのための好適なソフトウェアプログラムの使用を伴うことを特徴とする先行請求項のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

好適なソフトウェアプログラムは、亜硫酸水素塩処理DNA中の不均等な塩基分布を考慮または斟酌し、配列トレース(エレクトロフェログラム)を正規化して、配列トレース内のメチル化シグナルの定量を可能にするESMEであることを特徴とする請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

ステップb)の一薬品または一連の薬品は亜硫酸水素塩試薬を含む請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

ステップb)の一薬品または一連の薬品は酵素を含む請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

ステップb)の前処理はシトシンのウラシルへの修飾を含む請求項1に記載の方法。

【請求項 11】

ステップc)の増幅は遺伝子の調節領域内にある、または調節領域を含む、1セグメント以上の増幅を含む請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

10

20

30

40

50

ステップc)の増幅はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法の使用を含む請求項1に記載の方法。

【請求項 1 3】

SEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーであって、該連続配列は少なくとも1つのメチル化可変位置を、または少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチド配列を含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする核酸またはオリゴマー。

10

【請求項 1 4】

第1オリゴマーと第2オリゴマーとを含むオリゴマーセットであって、第1オリゴマーと第2オリゴマーはそれぞれ、第1オリゴマーの場合にはSEQ ID NOS: 1~136からなる第1配列群より選択される、また第2オリゴマーの場合には第1配列群の配列の相補配列からなる群より選択される、前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とするオリゴマーセット。

【請求項 1 5】

核酸増幅産物生成用として好適である請求項14に記載のオリゴマーセット。

20

【請求項 1 6】

SEQ ID NOS: 137~204およびSEQ ID NOS: 206~221からなる群より選択される配列を含む核酸またはオリゴマー。

【請求項 1 7】

SEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134およびSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136;およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーであって、該連続配列は少なくとも1つのメチル化可変位置を、または少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチド配列を含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする核酸またはオリゴマー。

30

40

【請求項 1 8】

第1オリゴマーと第2オリゴマーとを含むオリゴマーセットであって、第1オリゴマーと第2オリゴマーはそれぞれ、第1オリゴマーの場合にはSEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ I

50

D NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134およびSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136からなる4配列編成下位群で構成される第1配列群より選択される、また第2オリゴマーの場合には第1配列群を構成する各下位群配列の相補配列からなる4配列編成下位群で構成される第2配列群より選択される、前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とするオリゴマーセット。

【請求項 19】

核酸増幅産物生成用として好適である請求項18に記載のオリゴマーセット。

【請求項 20】

肝細胞、臓器または組織を特定する、肝細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肝細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法:

- a) ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ;
- c) 該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、肝細胞、臓器または組織を特定する、肝細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肝細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。

【請求項 21】

ステップb)の決定ステップにおいて、次のうち少なくとも一方の使用を含む請求項20に記載の方法: SEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノム

DNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【請求項 2 2】

脳細胞、臓器または組織を特定する、脳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または脳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法:

- a) ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および
- c) 該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、脳細胞、臓器または組織を特定する、脳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または脳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。

【請求項 2 3】

ステップb)の決定ステップにおいて、次のうち少なくとも一方の使用を含む請求項22に記載の方法: SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【請求項 2 4】

乳細胞、臓器または組織を特定する、乳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または乳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法:

- a) ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および
- c) 該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、乳細胞、臓器または組織を特定する、乳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または乳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。

【請求項 2 5】

ステップb)の決定ステップにおいて、次のうち少なくとも一方の使用を含む請求項24に記載の方法：SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【請求項 2 6】

筋細胞、臓器または組織を特定する、筋細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または筋細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法:

- a) ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および
- c) 該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、筋細胞、臓器または組織を特定する、筋細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または筋細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。

【請求項 2 7】

ステップb)の決定ステップにおいて、次のうち少なくとも一方の使用を含む請求項26に記載の方法：SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【請求項 2 8】

肺細胞、臓器または組織を特定する、肺細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肺細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法:

- a) ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および該

c) 1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、肺細胞、臓器または組織を特定する、肺細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肺細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。

【請求項 29】

ステップb)の決定ステップにおいて、次のうち少なくとも一方の使用を含む請求項28に記載の方法: SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【請求項 30】

肝細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肝細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用。

【請求項 31】

肝細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肝細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 137, 138; 143, 144; 145, 146; 147, 148; 149, 150; 161, 162; 163, 164; 171, 172; 173, 174; 187, 188; 189, 190; 19, 196からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用。

【請求項 32】

脳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての脳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72;

10

20

30

40

50

SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 3】

脳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての脳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 139, 140; 153, 154; 155, 156; 157, 158; 165, 166; 185, 186; 193, 194; 197, 198; 203, 204からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 4】

乳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての乳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 5】

乳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての乳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 139, 140; 141, 142; 151, 152; 155, 156; 157, 158; 159, 160; 165, 166, 175, 176; 177, 178; 181, 182; 199, 200; 201, 202; 203, 204からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 6】

筋細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての筋細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 7】

筋細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、

または該核酸の由来源としての筋細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 152, 152; 155, 156; 157, 158; 163, 164; 165, 166; 179, 180; 181, 182; 183, 184; 191, 192; 193, 194; 199, 200からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 8】

肺細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肺細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用。

【請求項 3 9】

肺細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肺細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 155, 156; 157, 158; 165, 166; 167, 168; 169, 170; 191, 192からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用。

【請求項 4 0】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 155および156からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肝、肺および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項 4 1】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 157および158からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、肝および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺および脳細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項 4 2】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA

NA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 163および164からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は肝および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳および肺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項43】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 165および166からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項44】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 175および176からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および前立腺細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳、肺および肝細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項45】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 181, 182, 199および200からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、脳、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項46】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配

10

20

30

40

50

列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 203および204からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および脳細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、筋、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項47】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 193および194からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、乳、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項48】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 153および154からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および肺細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳、筋、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする使用。

【請求項49】

疾患関連細胞または組織中の、または体液由来サンプル中のゲノムDNAの1つまたは複数のメチル化可変位置の特定のメチル化レベルまたはメチル化状態を特徴とする症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法:

- a) その1つまたは複数の領域内に1つまたは複数のメチル化可変位置をもつゲノムDNAを含む検査細胞、組織サンプルまたは体液サンプルを獲得するステップ;
- b) 該1つまたは複数のメチル化可変位置のメチル化状態または定量メチル化レベルを決定するステップ; および
- c) 該メチル化状態またはレベルを請求項1に記載の、対応する正常または病変細胞または組織のうちの少なくとも1つに関するメチル化レベル値を含む全ゲノムのメチル化地図のそれと比較し、以って症状または疾患の診断が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

【請求項50】

臓器、細胞タイプまたは組織における病状の存在または不存在を検出するための、次のステップを含む方法:

- a) 体液サンプルを回収するステップ;
- b) SEQ ID NOS: 1~204、SEQ ID NOS: 206~221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用により、組

10

20

30

40

50

組織-、臓器-または細胞-特有のDNAメチル化パターンを示す浮遊DNAの量または存否の少なくとも一方を決定するステップ; および

c) 該組織、細胞タイプまたは臓器に由来する、異常レベルの浮遊DNAの存否を決定し、それを以って該組織、細胞タイプまたは臓器に関連する病状の存在または非存在について結論を下すステップ。

【請求項 5 1】

個人の体液中の臓器-または組織-特異的浮遊DNAの存在を特徴とする該個人の症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法:

a) 体液サンプルを回収するステップ;

b) SEQ ID NOS: 1~204、SEQ ID NOS: 206~221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用により、組織-、臓器-または細胞-特有のDNAメチル化パターンを示す浮遊DNAの量または存否の少なくとも一方を決定するステップ; および

c) 該組織、細胞タイプまたは臓器に由来する、異常レベルの浮遊DNAの存否をさらに決定し、少なくとも部分的にはそれを以って、該組織、細胞タイプまたは臓器に関連する病状の存在または非存在について結論を下すステップ。

【請求項 5 2】

個人の体液中の臓器-または組織-特異的浮遊DNAの存在を特徴とする該個人の症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法:

a) 体液サンプルを回収するステップ;

b) SEQ ID NOS: 1~204、SEQ ID NOS: 206~221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマー内のMVPのメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ;

c) 該メチル化状態またはメチル化レベルを、複数の正常な臓器、細胞または組織の対応する核酸のメチル化レベル値を含む請求項1に記載の全ゲノムのメチル化地図のそれと比較するステップ; および

d) ステップb)のメチル化状態またはメチル化レベルが既知の値に匹敵するかどうか、また特定の臓器または組織が支配的であるかどうかを決定し、以って症状または疾患の診断が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

【請求項 5 3】

浮遊DNAは肺、肝臓、筋肉、乳房、脳または前立腺からなる群より選択される組織または臓器に由来する、請求項49~52に記載の方法。

【請求項 5 4】

治療コースの選択または監視のうち少なくとも一方を行うための方法であって、請求項49~52の要領で診断を確定し、以って治療コースの選択または監視のうち少なくとも一方が、少なくとも部分的にもたらされるようにするステップを含む方法。

【請求項 5 5】

請求項49~53のうちいずれか1項に記載の方法の、個人の疾患の診断、個人の症状の診断、個人の疾患の予後診断、疾患の進行監視、治療反応の監視、治療副作用の発生の監視、または細胞増殖性疾患の分類、鑑別、悪性度評価、病期評価または診断への、またはそれらの組み合わせへの、使用。

【請求項 5 6】

ある臓器、細胞または組織タイプの特定、または核酸サンプルの由来源としてのある臓器、細胞または組織タイプを別のものからの識別のうち少なくとも一方を行うための、次のステップを含む方法:

a) ゲノムDNAをもつ核酸サンプルを獲得するステップ;

10

20

30

40

50

b) 5位非メチル化シトシン塩基をウラシルに、またはハイブリダイゼーション特性がシトシンとは検出可能に異なる別の塩基へと変換するための1つまたは複数の薬品で該ゲノムDNAまたはその断片を前処理するステップ;

c) 前処理ゲノムDNAまたはその断片を増幅酵素および少なくとも1セットのプライマーと接触させて、前処理ゲノムDNAまたはその断片が増幅されて1つまたは複数の増幅産物を生成するかまたは増幅されずに終わるようにするステップであって、該プライマーセットは各々第1および第2プライマーを含み、各プライマーは第1プライマーの場合にはSEQ ID NOS: 1~136からなる第1群より選択される配列と、また第2プライマーの場合には第1群の配列の相補配列からなる第2群より選択される配列と、それぞれ相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をもつことを特徴とするステップ; および

d) 該増幅産物の存否または特性に基づき、前処理版SEQ ID NO:205内の、またはその連続領域内の、少なくとも1つのMVPのメチル化状態またはレベルを、あるいは前処理版SEQ ID NO:205内の、またはその連続領域内の、複数のMVPの平均メチル化状態または平均メチル化状態を反映する値を、決定し、以ってある臓器、細胞または組織タイプの特定、または核酸サンプルの由来源としてのある臓器、細胞または組織タイプを別のものからの識別のうち少なくとも一方が、少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

【請求項57】

ゲノムDNAまたはその断片を処理するステップb)において亜硫酸水素塩、亜硫酸水素、二亜硫酸塩およびそれらの組み合わせからなる群より選択される溶液の使用を含む、請求項56に記載の方法。

【請求項58】

接触させるステップc)または決定するステップd)の少なくとも一方はMSP、MethyLight（登録商標）、HeavyMethyl（登録商標）、MS-SNuPE（登録商標）およびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法の使用を含む請求項56または57のどちらか1項に記載の方法。

【請求項59】

プライマーのうち少なくとも1つはSEQ ID NOS: 137~204からなる群より選択される配列を含む、請求項56または57のどちらか1項に記載の方法。

【請求項60】

プライマーのうちの1つまたは複数の連続配列に少なくとも1つの5'-CG-3'、5'-tG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチドを含む、請求項56~58のいずれか1項に記載の方法。

【請求項61】

請求項54のステップb)における前処理の前にはCGジヌクレオチドであった1つまたは複数の5'-CG-3'、5'-tG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチドをもつ鎖長16ヌクレオチド以上の連続配列を含む少なくとも1つのオリゴマーの使用をステップc)においてさらに含む請求項55~59のいずれか1項に記載の方法であって、該オリゴマーの連続配列はSEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるかまたは一致し、また該オリゴマーはそのハイブリダイジング相手たる核酸の増幅を抑制することを特徴とする使用。

【請求項62】

メチル化状態、メチル化レベル、平均メチル化状態または平均メチル化レベルを決定するステップは、1つまたは複数の5'-CG-3'、5'-TG-3'または5'-CA-3'ジヌクレオチドと、前処理前には5'-CG-3'ジヌクレオチドであった位置でハイブリダイズする少なくとも1つのレポーターまたはプローブ・オリゴマーの使用を含み、以って1つまたは複数の標的配列の増幅が少なくとも部分的にもたらされるようにすることを特徴とする請求項56~61のいずれか1項に記載の方法。

【請求項63】

細胞増殖性疾患またはその素因の分析、特性解析、分類、鑑別、悪性度評価、病期評価

、診断または予後診断、またはそれらの組み合わせへの、請求項56～62のいずれか1項に記載の方法の使用。

【請求項64】

前立腺がん、乳がん、肺がん、肝がんまたは脳腫瘍の、または各タイプのがん・腫瘍の素因の、分析、特性解析、分類、鑑別、悪性度評価、病期評価、診断またはそれらの組み合わせへの、請求項56～62のいずれか1項に記載の方法の使用。

【請求項65】

核酸の由来源としてのある組織、臓器または細胞タイプを特定するための、または組織、臓器または細胞タイプ群からある組織、臓器または細胞タイプを核酸の由来源として識別するためのキットであって、

10

a) 亜硫酸水素塩試薬またはメチル化感受性デアミナーゼ；および

b) SEQ ID NOS: 1～136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長9ヌクレオチド以上の連続配列を各々含む少なくとも1つのオリゴマー；
を含むキット。

【請求項66】

組織タイプ群は前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳からなる群より選択される少なくとも2つの組織タイプを含むことを特徴とする請求項65に記載のキット。

【請求項67】

20

前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳の細胞増殖性疾患を発見、診断、予後診断または鑑別するための、または前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳の細胞増殖性疾患を識別するためのキットであって、

a) 亜硫酸水素塩試薬またはメチル化感受性デアミナーゼ；および

b) SEQ ID NOS: 1～136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長9ヌクレオチド以上の連続配列を各々含む少なくとも1つのオリゴマー；
を含むキット。

【請求項68】

30

MS-SNuPE（登録商標）、MSP、MethylLight（登録商標）、HeavyMethyl（登録商標）、COBRA（登録商標）、核酸配列分析法およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるメチル化アッセイ法を行うための標準試薬をさらに含む請求項65～67のいずれか1項に記載のキット。

【請求項69】

がんに関する診断情報を提供する、次のステップを含む方法：

a) 細胞増殖性疾患を患っていると疑われる患者の体液サンプル中の全浮遊DNA量に対する特定臓器または組織に由来する浮遊DNAの相対量を決定するステップであって、該体液サンプル中の、表37～70で特定される群より選択される少なくとも3つのMVPまたはCpGsのメチル化レベルの決定を含み、またメチル化パターンが提供されることを特徴とするステップ；

40

b) 該メチル化パターンを、他臓器または組織群に由来する特定臓器または組織に特有であることがすでに判明しているような、複数のサンプルで見られるメチル化パターンと比較するステップ；

c) 健康なドナーな由来するサンプルとの関連で、ステップa)で決定されるメチル化パターンが該体液サンプル中の全浮遊DNA量に対する特定臓器または組織に由来する浮遊DNAの相対量の増加を示すかどうかを判定し、以って該患者はがん発症のリスクが高いかどうかの結論が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

【請求項70】

ステップa)のメチル化パターンは少なくとも5つのCpG位置のメチル化レベルを含む請求

50

項69に記載の方法。

【請求項71】

メチル化レベルが決定されるMVPまたはCpG位置のうち少なくとも3つは500bpのゲノム領域内に位置する請求項69に記載の方法。

【請求項72】

組織検体に関する情報を会員に提供するための、

A) 特性を共有する被検者集合の部分集合に由来する1つ以上の組織タイプに対応する組織サンプルを獲得するステップ；

B) 組織サンプルの各々のゲノムDNAを、好適なメチル化アッセイ法で検査するステップ；

C) ステップB)での検査に基づき組織タイプごとに、1つまたは複数のメチル化CpG位置のメチル化レベルに関する数値の分布を決定するステップ；

D) ステップC)の数値分布ごとに平均指数を計算するステップ；

E) 平均指数および分散指数をデータベースに保存するステップ；および

F) ユーザーまたは会員に対して、会費と引き換えに、該データベース中の該平均指数および分散指数へのアクセスを提供するステップ；

を含むコンピューター実装型の方法であって、ステップA)のサンプル数は、該指数が該集合全体に関するそうした指数の統計的に有意な表示に対応するに足る数であることを特徴とするコンピューター実装型の方法。

【請求項73】

組織サンプルは正常組織を含む請求項72に記載の方法。

【請求項74】

組織サンプルは異常組織を含む請求項72に記載の方法。

【請求項75】

組織サンプルは同じ組織タイプの異常および正常組織を含み、数値分布および対応する指数の決定では、正常組織に由来するデータを使用して正常組織に関する数値の分布および対応する指数を決定し、また異常組織に由来するデータを使用して異常組織に関する数値の分布および対応する指数を決定することの特徴とする請求項72に記載の方法。

【請求項76】

組織タイプは乳房を含む請求項72に記載の方法。

【請求項77】

組織タイプは肝臓を含む請求項72に記載の方法。

【請求項78】

組織タイプは前立腺を含む請求項72に記載の方法。

【請求項79】

組織タイプは筋肉を含む請求項72に記載の方法。

【請求項80】

組織タイプは脳を含む請求項72に記載の方法。

【請求項81】

組織タイプは肺を含む請求項72に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、分子診断マーカー、およびメチル化可変CpG位置(MVP)とゲノムDNAサンプルタイプとの間の相関を含む全ゲノム的なエピゲノム地図(epigenomic map)を生成させる新規な方法に関する。本発明のエピゲノム地図(epigenic maps)は、たとえばサンプルタイプの特定またはサンプルタイプ間の鑑別など、幅広い用途分野がある。特定の好ましい実施態様では、主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)に由来する核酸配列の新規なエピジェネティック特性、および組織または細胞タイプの同定および/または鑑別へのそうしたマーカーの使用を開示する。

10

20

30

40

50

【0002】

配列表

配列表は、米連邦規則集第37編1.52条(e)項(5)に従って、1536927v1.txtという名前の6.104 MBファイルとしてコンパクトディスク(1/1)に収めた。同ファイルは参照によりここにその全体が開示される。

【背景技術】

【0003】

ゲノムのメチル化。ゲノムはグアニン残基を直後に伴うメチル化シトシン(5-メチルシトシン)塩基(本明細書では「5番目の」塩基ともいう)をDNA配列中に約4,000万個含むが、そうしたCpGジヌクレオチドは全ゲノムの約1.4%を占める。こうした塩基の比率が異常の10高いのは遺伝子の調節およびコード領域である。DNA中のシトシン残基のメチル化は今日、正常な細胞発達を制御する仕組みに直接関与すると考えられている。メチル化と転写不活性化の間には密接な相関があることは種々の研究報告ですでに証明されている。しかし、転写に活発に関与しているDNA領域は5-メチルシトシン残基を欠く。

【0004】

多数のCpGジヌクレオチドを含むメチル化パターンもまた遺伝子の発現と、また多くの重大な、一般的かつ複雑な疾患の表現型と、相関する。メチル化位置はたとえばがんと相関するものばかりでなく、多くの刊行物で確認されているように、II型糖尿病、動脈硬化症、関節リウマチおよびCNS疾患と相関するものも、すでに同定されている。同様に、他20位置でのメチル化は年齢、性別、栄養状態、薬物使用、および他の諸々の環境影響と相関する。メチル化は、ゲノム機能を変化させうる外因性の影響を受ける唯一のフレキシブルな(可逆的な)ゲノムパラメーターであり、従って疾患の遺伝学と目下の生物医学研究の焦点となっているほぼすべてのヒト病変で決定的な役割を果たすことが広く認められている環境要素との間の主要な(しかもこれまで失われていた)環を構成する。

【0005】

メチル化は疾患分析で重要な役割を果たす。メチル化位置は多種多様な基礎的細胞過程に応じて変化するからである。ただし、それ以外にも多くの位置が確率的にはメチル化されるが、それは関連情報には何ら寄与しない。

【0006】

メチル化の含量、レベル、プロファイルおよびパターン ゲノムのメチル化はメチル化30含量、メチル化レベルおよびメチル化パターンなどを区別しながら特性を解析することができる。「メチル化率」または「5-メチルシトシン含量」は本明細書ではDNAサンプル中の5-メチルシトシンの存在量(塩基組成の尺度)をいい、この5番目の塩基の分布状況に関する情報を含まない。ゲノムのメチル化率は被検DNAが由来する組織に応じて異なることがすでに示されている(Ehrlich M, et al., Nucleic Acids Res. 10:2709, 1982)。しかし、Ehrlichらは数種の正常ヒト組織および8種の同質ヒト細胞個体群の間の組織特異的および細胞特異的なメチル化率差異を示したものの、その分析は特定のゲノム領域という点でも特定のCpG位置という点でも具体的ではなかった。組織または細胞を特定するためのマーカーとして役立つような遺伝子またはCpG位置が分析のために選択されたわけではないし、また分析によって特定されたわけでもない。単にゲノムのメチル化の全般的な40度合い(メチル化率)が求められたにすぎない。

【0007】

それに対して「メチル化レベル」または「メチル化度」は個別CpGジヌクレオチドにおけるメチル化の平均的な度合いをいう。多数の種々のCpGジヌクレオチド位置におけるメチル化レベルの測定からメチル化プロファイルまたはメチル化パターンが得られる。

【0008】

メチル化プロファイルは(ゲノム全体に分散した)多数のCpGの平均メチル化レベルを求めることによって得られる。個々の単一CpG位置はゲノム中の他CpGとは独立に分析するが、メチル化差異のあるDNA分子プール中の諸々の相同DNA分子については横断的に一括して分析する(Huang et al., in The Epigenome, S. Beck and A. Olek, eds., Wiley-VCH We 50

inheim, p. 58, 2003)。

【0009】

他方、メチル化パターンは互いに近接する多数のCpG位置の個別メチル化レベルからなる。たとえば5~10の密接に関連したCpG位置の全メチル化は、まれではあろうが特定のDNA由来源に特異的であるようなメチル化パターンを構成しよう。

【0010】

先行技術におけるDNAメチル化絡みの相関。個別遺伝子メチル化パターンの、特定組織との相関は当技術分野ではすでに指摘されている(Grunau et al., Hum. Mol. Gen. 9:2651-2663, 2000)。しかし、同研究報告ではわずか2人の個人に由来する組織についてわずか4つの特定遺伝子のメチル化パターンが分析されたにすぎず、研究の狙いは既知遺伝子発現レベルとそれぞれのメチル化パターンの間の相関を分析することであった。 10

【0011】

Adorjanらは、前立腺や腎臓などのような組織はメチル化マーカーの使用によって鑑別しうることを示すデータを発表した(Adorjan et al., Nuc. Acids Res. 30: e21, 2002)。同研究報告はき大勢の個人(比較的多数のサンプル)の分析に基づき腫瘍マーカーを同定している。適切なメチル化アッセイで腎臓と前立腺の組織を、病変組織、正常組織の区別なく、鑑別するためのマーカーとして使用しうるようないくつかのCpG位置が同定されている。

【0012】

しかし、GrunauらとAdorjanらの研究報告は共に、多種多様な既知細胞タイプのごく小さな部分を検出するためのごく少数のマーカーを提示しているにすぎない。 20

【0013】

同様に、国際公報第W0 03/025215号(Carroll et al.)明細書はメチローム(methylome)(ゲノムメチル化の印と称される)の地図を、メチル化プロファイル分析を基に、またメチル化感受性制限酵素消化産物および消化産物依存性の増幅ステップを使用して、作成するための方法を開示している。この方法は開示によれば、メチル化プロファイリングとマッピングの合体である。しかし、この試みは少なくとも3つの理由により厳しく制限される。第1に、この先行技術の方法は関心ゲノム中のあるゲノムCpG位置のシトシンのメチル化状態について「イエス」、「ノー」(メチル化か非メチル化か)という定性的評価をもたらすにすぎない。 30

【0014】

第2に、Carrollらの方法は手間がかかり、高速大量処理には不向きである。というのは、この方法では手間のかかるもう1つのステップが、すなわち制限酵素に基づくメチル化分析作業を完了し特定の増幅産物を潜在的なメチル化マーカーとして同定した後に、これらの消化依存性増幅マーカー(増幅産物)を個別にクローニングし配列分析してゲノムにマッピングするというステップが、必要となるからである。

【0015】

第3に、生成した情報を組織マーカーとして利用するための手段をCarrollらは何ら開示していない。特に、Carrollらはマウスの種々の特定組織が異なる「メチローム」を有すること(国際公報第W0 03/025215号明細書の図6)、および精子細胞と血液細胞という2タイプのヒト組織が異なる増幅プロファイルと相関する可能性のあること(あるシナリオでは非メチル化状態にあり他のシナリオではメチル化状態にあるというCpG位置が同定されている同図4および10)を開示しているが、特異的な組織マーカーとしてのこの情報の使用をサポートするための手段または可能性は開示されていない。 40

【0016】

タンパク質またはmRNA発現ベースの先行技術の組織タイプ鑑別方法は固有の難点によって制限される。

【0017】

タンパク質発現ベースの先行技術的アプローチ。インタクトな生物の細胞タイプまたは細胞起源の組織タイプを決定するための標準的な方法としては免疫組織化学アッセイが使 50

用される。この種の方法は特定タンパク質の検出をベースとする。たとえばドイツ細胞バンクDSMZ (German Center for Collection of Microorganisms and Cell Cultures)は、すべての新規寄託ヒト細胞系について十分に解析されたモノクローナル抗体(mAbs)パネルを用いて組織マーカーの発現試験を日常的に行っている(Quentmeier H, et al., J. Histochem. Cytochem. 49:1369-1378, 2001)。一般に、組織マーカーの発現パターンは起源細胞タイプの発現パターンを反映する。しかし、個別mAbsによって検出されるタンパク質、糖質または脂質構造の発現は長期的には必ずしも安定的ではない。

【0018】

同様に、細胞系の組織学的起源の確認と理科学的応用のための有用情報の顧客への提供とを目的に行うことができる免疫学的マーカー診断も細胞表面マーカーの発現の安定性と強度の検査を基礎とする。免疫学的マーカー診断は一般に2ステップ染色法を使用して、第1ステップで抗原特異的マウスmAbsを細胞に加え、次いでFITC標識抗マウスIg二次抗血清を使用する免疫蛍光法によりmAbsの結合を評価する。抗原の分布状況はフローサイトメトリーおよび/または光学顕鏡法で分析する。 10

【0019】

多数のタンパク質が組織特異的に、または臓器特異的に、発現する模様である。しかし、そのマーカーとしての用途が手間のかかる免疫染色法に限られるばかりでなく、そうした方法自体もインタクト細胞を、また十分な量の組織試料または細胞を、非分解/非変性状態で確保しなければならないという限界がある。血清、タンパク質類、それにRNA類は、血流にとって「外因性」であるものは急速に分解するであろうから、それぞれの由来組織を決定するための十分な確保が不可能なことも多い。 20

【0020】

加えて、タンパク質の発現を測定するにはタンパク質ごとのアッセイが必要である。従って、こうした発現に基づく方法の使用による細胞タイプまたは組織タイプの決定は単純ではなく、かなり複雑である。既知のマーカータンパク質が多ければ多いほど、細胞の起源状態を正確に決定することができる。RNAベースのcDNA/オリゴ-マイクロアレイまたは複雑なプロテオミクス試験などのような、比較的多数の変化を同時に眺められるようにする分子生物学的手法を使用しなければ、特定細胞タイプの同定にはかなり複雑なタンパク質発現パターンを検出するための一連の面倒で時間のかかるアッセイが必要となろう。最後に、プロテオミクスのアプローチは十分な感度の実現といった基本的な困難を克服するに至っていない。 30

【0021】

RNA発現ベースの先行技術的アプローチ。RNAベースの発現パターン分析手法は周知であり、広く使用されている。特に細胞タイプおよび臓器の鑑別を目的としたマイクロアレイベースの発現分析研究はすでに開示されており、また発現差異のある遺伝子の精密なパターンは特定の細胞タイプに特異的であることを示すために利用されている。

【0022】

DNAマイクロアレイハイブリダイゼーションに由来する全ゲノム発現データに関するクラスター分析システムがEisenらによって開示されている(Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:14863-8, 1998)。Eisenらは遺伝子発現データ群の、特に既知の類似機能をもつ遺伝子についてのデータの、クラスター化を、また発見されたパターンの細胞過程状態の指数としての解釈を、教示する。しかし、Eisenの教示は酵母に関するものであり、人間または他のもっと高等複雑な生物および動物に有用な組織または臓器マーカーの特定にまで拡大適用することはできない。同様に、この種の教示は人間の疾患の予後および診断という分野にも拡大適用することはできない。 40

【0023】

同様に、Ben-Dorらはヒト組織分類のための発現ベースのアプローチを開示している。しかし、ほぼすべての関連刊行物の場合と同様、その範囲は腫瘍同定のためのマーカーに限定される(Ben-Dor et al. J. Comput Biol. 7:559-83, 2000)。

【0024】

また、Enardらは最近、特定組織サンプル内の発現パターンの異種横断的な比較分析の結果を発表し、mRNAおよびタンパク質発現パターンの同種異個体間の差異(種内変異)および異種間の差異(種間変異)を教示した。しかし、Enardらはそうした発現レベルの、異組織間の識別への使用を教示または可能化しなかった。

【0025】

cDNAアレイもオリゴヌクレオチドベースのチップ(たとえばAffymetrix(登録商標)チップ)も共に細胞発現パターンの変化の複雑微妙な分析を可能にする。しかし、これらの技術の大きな欠点はそのRNA依存性である。RNAによる広範囲にわたる研究にもかかわらず、その不安定性という基本的な問題は未解決であり、RNAを使用する各個別試験では試験中のRNAの分解を考慮しなければならない。加えて、RNA発現レベルは徐々に変化するという事実があり、それがランダムな分解と結び付くと大多数の遺伝子では実際の発現の変化が重複したり、境目が曖昧になったりする。

【0026】

規制当局の承認を欠く先行技術的方法。注目すべきことに、規制当局は発現ベースのマイクロアレイに依存した技術プラットフォームの承認を、前述のような難点を理由に、渋っている。

【0027】

米国特許第6,581,011号(TissueInformatics Inc.)明細書は、広範囲の正常組織のプロファイリングと分類のための組織情報データベースを教示し、また組織分類を可能にするようなツールの技術的な必要性を説明している。

【0028】

先行技術の「腫瘍マーカー」遺伝子アプローチ。今日、血液または他体液中の既知の腫瘍指数タンパク質の、または既知腫瘍関連遺伝子(いわゆる腫瘍マーカー遺伝子)のmRNAの、存在または不存在を検出するための核酸ベースのアッセイ法が日増しに開発されている。そうしたアッセイ法は、遺伝病を示唆する突然変異の有無によるDNAスクリーニングを基にしたアッセイ法すなわちmRNAだけでなくゲノムDNAもまた分析することができるが、患者の実際の症状に関する情報の収集はできないアッセイ法とは区別される。

【0029】

マーカー遺伝子アプローチを使用して急性病期を発見するには、被検DNAは腫瘍細胞などのような病変細胞に由来しなければならない。発がんに関与する遺伝子のがん特異的な変化(がん遺伝子の変異または欠失、腫瘍抑制遺伝子の変異または欠失、マイクロサテライト変化など)の検出は、患者に腫瘍がありそうかなさそうかの見極めを容易にする(たとえば国際公報第W0 95/16792号(Stroun et al.)明細書を参照)。多数のサンプルの効率的で正確なスクリーニングを可能にするキットが開発されている場合もある。そうしたキットは予防医学の向上やがんの早期発見のために重要であるばかりか、治療後の腫瘍の進行/退縮をモニターするうえで有用でもある。

【0030】

マーカー遺伝子の高メチル化。ある種の「腫瘍マーカー遺伝子」の、特にある種のプロモーター領域の、高メチル化は、腫瘍の有無に関する重要な指数と認められている。しかし注目すべきことに、そうした先行技術のメチル化分析は既知マーカー遺伝子のメチル化状態の決定に基づくものに限られ、従来、機能に基づいて関係があるとはされてこなかったゲノム領域には拡大適用されない。なお「腫瘍マーカー」遺伝子とは、発がんの調節に関与することが判明している遺伝子または発がんスイッチのオン、オフを決定すると信じられている遺伝子である。

【0031】

腫瘍マーカー遺伝子のメチル化とがんとの相関について最先端の知見が得られるの前立腺がんの場合である。たとえば体液由来のDNAを使用する方法であって、前立腺がんの予測指数としての腫瘍マーカー遺伝子GSTP1のメチル化分析を含む方法がすでに特許を付与されている(米国特許第5,52,277号)。

【0032】

10

20

30

40

50

注目すべきことに、先行技術の腫瘍マーカースクリーニング・アプローチは特定タイプ(たとえばがんタイプ)の疾患に限定される。これは、そうしたアプローチがマーカー遺伝子の分析に、または特定のタイプの体液から検出される場合があるがんを主体とするある種の疾患に大いに特異的である遺伝子産物の分析に、限定されるためである。たとえばUsadelらは肺がん患者の血清サンプルでは家族性大腸腺腫(APC)遺伝子のプロモーター領域の腫瘍特異的メチル化が検出されるが、健康なドナーの血清サンプルからはメチル化APCプロモーターDNAが検出されないことを教示する(Usadel et al. Cancer Research 6:371-375, 2002)。こうして、このマーカーは肺がんの合理的指数としての資格を与えられるし、また肺がんと診断される人々のスクリーニングに、または外科的腫瘍切除後の患者の肺への腫瘍転移のモニタリングに、有用である。

10

【0033】

さらにUsadelらの教示は、エピジェネティックなAPC遺伝子変化が肺がんの特異的ではなく、消化管腫瘍の形成など他のがんでもよく見られるという事実によっても限定される。従ってAPCだけを腫瘍マーカーとする血液スクリーニングでは診断上の実用性は患者が腫瘍を形成しつつあることを示す点に限定され、腫瘍がどこにあるか、またはどこに由来するかは示されない。結局、医師は特定の臓器のもっと詳しい診断に関して、あるいはそれぞれの病状の治療選択肢に関して、何ら情報を与えられないであろう。従って、実行可能な診断または治療処置は臓器特異的または腫瘍発生源特異的なものとなる。これは、病変のサイズが小さく、さらなる診断および治療を狙うのはきわめて困難であるような場合には特に言えることである。

20

【0034】

前述のような遺伝子としてのマーカー遺伝子の性質を考えると、先行技術においてマーカー遺伝子が早期診断に使用される場合は特定の病状がすでに念頭に置かれている。たとえば大腸がんが疑われる患者をもつ医師は患者の便サンプルの検査によりK-rasなどのマーカー遺伝子の有無を調べてもらうことができる。前立腺がんの発症が疑われる患者なら、その精液検査によりGSTPiなどのような前立腺がんマーカーの有無を調べてもらうことができる。

【0035】

しかし注目すべきことに、どの臓器または組織で細胞増殖性疾患が発症しているかについて患者が(たとえば以前に高レベルの放射線に被曝しているといった)特定の前兆または心当たりを欠く場合に、患者またはその体液の効率的かつ効果的な全般的スクリーニングのための方法は先行技術では何ら開示されていない。ただし、特殊な場合には適切な組織特異的マーカーの使用によりこの種の診断が可能となることもあるかもしれない(たとえば国際公報第W0 03/074730号(Berlin and Sledziewski)明細書は、体液から分離した核酸サンプルに対するメチル化の実行を含み、循環核酸レベルの上昇が検出可能であることを特徴とする方法を教示している)。

30

【0036】

主要組織適合性遺伝子複合体。主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)は我々の免疫系には必須であり、従ってヒトゲノムの他のいかなる領域よりも数多くの疾患に関連している。MHCにはたとえば一般的な遺伝性皮膚疾患である乾癬に影響する因子が結合する。MHC分子の主要な免疫機能は抗原ペプチドに結合し細胞表面に「提示」して、抗原特異的Tリンパ球受容体(TCRs)による認識(結合)を可能にすることである。MHCクラスIおよびクラスII分子はそれぞれの構造特性の差異に応じて、異なるTリンパ球個体群を活性化するという役割を果たす。すなわちMHCクラスI分子が提示する抗原ペプチドには細胞傷害性のTCRリンパ球が結合し、MHCクラスII分子が提示する抗原ペプチドにはヘルパーのTHリンパ球が結合する。

40

【0037】

MHCはある確定範囲の領域であり、そのようなものとして、ヒト・ゲノムでは特性解析が最も進んでいる領域の1つである。この領域は全範囲にわたって信頼性の高い配列情報が得られる。しかし、どのMHC領域が病態または病状の同定および/または識別に有用であ

50

るかは未だに不明である。

【0038】

不十分な全ゲノムのスクリーニングのアプローチ。あいにく、CpGジヌクレオチドの全ゲノムの評価への先行技術のアプローチはどれも、メチル化感受性酵素によるゲノムDNAの消化を用いるものであり、そのために分析対象はメチル化感受性酵素が有効である部位に限られる。これらの手法は大変手間のかかるものがほとんどであり、自動化しえない。

【0039】

従って、多数の遺伝子内のCpG位置のメチル化状態およびレベルの並行的評価を目的とした全ゲノムの効率的なスクリーニングのための高速大量処理アプローチが、当技術分野では大いに必要とされている。

10

【0040】

分解しやすいRNA分子ではなく比較的安定したDNA分子に依存する方法であって、RNA依存性の技術よりも感度も信頼性も高い方法の必要性も大きい。

規制当局の承認が得られそうな診断プラットフォームも必要である。

【0041】

ゲノム中のどの位置が疾患関連の、または症状関連の情報を含んでいるか知ることも当技術分野では大いに必要とされている。

高次クロマチン構造のフレキシブルレベルを、また人間の生涯にわたる外的(たとえば環境の)影響と内的(たとえば細胞タイプ特異的な)影響に関連するゲノムセグメントのメチル化パターンを、示すような機能的「エピゲノム」地図も当技術分野では大いに必要とされている。

20

【0042】

細胞または組織タイプおよび/または由来細胞または組織を同定することが当技術分野では臨床的見地からも大いに必要とされている。たとえば、播種性腫瘍細胞の効率的かつ効果的な分類、由来組織(すなわち腫瘍が由来する組織または臓器のタイプ)の決定が当技術分野では必要とされている。

【0043】

先行技術では、開示されている若干の単離マーカーを別にすれば、そうした手段または方法は得られない。同様に、ゲノムDNAサンプルが由来する細胞タイプまたは組織タイプを決定するための汎用性の方法も先行技術では得られない。

30

【0044】

定量的メチル化レベルを示してくれるエピゲノム的な方法が当技術分野では必要とされている。

【発明の開示】

【0045】

本発明の概要

本発明の特定の実施態様は機能的「エピゲノム」地図を構築する方法を開示する。遺伝子発現(たとえばRNA、cDNAまたはタンパク質発現)の分析は、本明細書で開示し教示していくように、エピゲノム地図作成の必要条件ではない。

【0046】

40

ゲノムDNAの分析には、温度変化や他の環境影響に対する感受性がずっと低いという意味でかなり堅牢な物質に基づく信頼性の高い方法であるという強みがある。たとえば個人の血流または他の体液からはある種の臓器に由来するゲノムDNAを検出することが可能であり、それらは由来組織の疾患を示唆する可能性がある。このように、本発明の実施態様は分解しやすいRNA分子ではなく比較的安定したDNA分子に基づくし、また(メチル化の有無という塩基の2値状態を反映した)デジタル(0/1)信号に依存する。従って、本発明の方法はRNA依存技術に基づく方法よりも感度と信頼性が高い。本発明の技術に基づくプラットフォームのほうが、より規制当局の承認を得られそうである。

【0047】

本発明は、メチル化プロファイルの生成に必要な定性的情報を求めるだけでなく定量的

50

メチル化パターンをも求めるための新規な方法を提供する。本発明の方法は関心ゲノム内のCpG位置におけるシトシンのメチル化レベルに関する定量的情報をもたらす。そうした定量的方法は先行技術には欠けている。

【0048】

本発明は特定の実施態様で、マトリックス内に定量的(絶対的)メチル化レベル値を生成する方法を提供する。該マトリックスは一方の軸にヒト・ゲノム内の全CpG位置の完全なリストを含み、他方の軸に外的影響(環境影響など)、年齢、由来組織のタイプなどを非限定的に含む全細胞変数または兆候の完全なリストを含む。これらの軸によって形成されるフィールドがエピゲノムのメチル化地図(すなわち機能的エピゲノム地図)である。好ましい例示的な実施態様では、全MHC CpG位置を含む、または特定MHC小領域のCpG位置を含むサブマトリックス内にメチル化レベル値を生成させる方法が提供されるが、該サブマトリックスは特に細胞または組織タイプの同定に、および/またはそれぞれのゲノムDNA由来の種々の細胞または組織タイプの鑑別に、有用である。

10

【0049】

本発明によれば、特定CpG位置のメチル化分析によりDNA由来の細胞タイプまたは組織タイプの決定が可能になり、以って適正な治療法の正確かつ効率的な決定のためのさらなる検査が行えるようになるが、そうした検査は疾患ががんである場合には特に不可欠である。

【0050】

本発明は特定の実施態様では全ゲノムをカバーする多数のマーカーを特定する方法を提供する。この基本的な方法は特定の実施態様では、種々のDNA増幅産物や種々のサンプルを横断して比較することができるメチル化レベルの「絶対」値を確定して、多様なゲノムDNAが由来する源泉(たとえば臓器、組織タイプ、細胞系など)および(たとえば種々の単離法、DNA亜硫酸水素塩前処理の種々の効率、種々のチューブなど)のような種々の増幅/PCR条件などに対応する)条件に対応するDNAメチル化データの比較を可能にするステップを含む。

20

【0051】

本発明は、前処理後に有用なマーカーとなるようなゲノム中の領域の包括的な特定のための方法を提供するだけでなく、被検ゲノムDNAが由来する臓器、組織または細胞タイプを特定するための手段(たとえばマーカー核酸およびそれらの組織特異的メチル化パターンなど)をも提供する。

30

【0052】

特に好ましい例示的な実施態様は、細胞ドナーのうち喫煙群と非喫煙群の差異などのような環境(外的)影響との相関ではなく、特定マーカー領域のゲノムDNAメチル化状態またはメチル化レベルの、DNAが由来する組織との相関(すなわちDNAメチル化の組織または細胞特異性;メチル化差異[特異的メチル化?])に基づく機能的な主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)エピゲノム地図を提供する。本発明のこの態様における内的影響は、特定細胞または組織タイプへの細胞の発達または分化を決定する誘因および状況に関連する。しかし、方法自体は実用性が組織の鑑別に限定されることなく、内的、外的を問わずあらゆる種類の細胞分類のためのマーカー配列の特定にも有用である。

40

【0053】

本明細書で開示する好ましい例示的な実施態様では、本発明の方法は組織特異的マーカー(すなわち本発明に従って適切なアッセイ法に使用した場合に特定細胞タイプのマーカーとして機能する核酸)のスクリーニングを目的にゲノムのヒト主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)領域に適用される。本発明の方法では、組織特異的マーカーを含むマーカーとしての実用性が大きい特定のMHC領域が特定される。

【0054】

特に本発明は、全ゲノムのメチル化地図を生成するための、次のステップを含む方法を提供する:少なくとも2タイプの生体サンプルについてタイプごとに、ゲノムDNAをもつ複数のまたは一群の生体サンプルを獲得するステップ;該サンプルまたは該サンプルから単

50

離したDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品と接触させることにより、該サンプルのゲノムDNAを前処理するステップ；前処理したDNAのセグメントを増幅して、増幅セグメントが全ゲノムまたはその一部分を表し、かつ各々の場合に、対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応する少なくとも1つのジヌクレオチド配列位置を含むようにするステップであって、該増幅に使用されるプライマー分子は、対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応するジヌクレオチド配列位置を含まないことを特徴とするステップ；増幅後の前処理核酸の配列を決定するステップ；該配列を分析して特定CpG位置のメチル化レベルを定量するステップ；特定CpG位置の該定量メチル化レベルを、少なくとも2タイプの生体サンプルに対応する種々のサンプル群間で比較するステップ；および種々のサンプル群間で定量メチル化レベルに検出可能な差異が存在するゲノムCpG位置であるメチル化可変位置を特定し、以って全ゲノムまたはその一部分にわたるエピゲノム地図が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。

10

【0055】

生体サンプルのタイプは組織、臓器または細胞であるのが好ましい。対応する非処理ゲノムDNA中のCpG位置に対応するジヌクレオチド配列位置はCpGまたはTpGジヌクレオチド配列位置であるのが好ましい。配列分析ステップはメチル化レベル定量用の配列トレースまたはエレクトロフェログラムの生成を含むのが好ましい。配列分析ステップは全ゲノムまたはその一部分にわたる定量メチル化レベル・プロファイルの作成を含むのが好ましい。メチル化レベル定量ステップではそれに適したソフトウェアプログラムを使用するのが好ましい。好適なソフトウェアプログラムはESMEであるのが好ましいが、ESMEは亜硫酸水素塩処理DNA中の不均等な塩基分布を考慮または斟酌し、配列トレース(エレクトロフェログラム)を正規化して、配列トレース内のメチル化シグナルの定量を可能にする。一薬品または一連の薬品は亜硫酸水素塩試薬であるのが好ましい。一薬品または一連の薬品は酵素を含むのが好ましい。前処理ステップはシトシンの修飾によるウラシルへの変換を含むのが好ましい。セグメント増幅ステップは遺伝子中に位置する、または遺伝子の調節領域を含む、少なくとも1つのセグメントの増幅を含むのが好ましい。増幅ステップはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法の使用を含むのが好ましい。

20

【0056】

追加の実施態様は、SEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーを提供するが、該連続配列は少なくとも1つのメチル化可変位置を、または少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチド配列を含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする。

30

【0057】

さらなる実施態様は、第1オリゴマーと第2オリゴマーとを含むオリゴマーセットを提供するが、第1オリゴマーと第2オリゴマーはそれぞれ、第1オリゴマーの場合にはSEQ ID NOS: 1~136からなる第1配列群より選択される、また第2オリゴマーの場合には第1配列群の配列の相補配列からなる群より選択される、前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする。該オリゴマーセットは核酸増幅産物生成用として好適であるのが好ましい。

40

【0058】

さらに別の実施態様は、SEQ ID NOS: 137~204およびSEQ ID NOS: 206~221からなる群より選択される配列を含む核酸またはオリゴマーを提供する。

50

追加の実施態様は、SEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134およびSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136;およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーを提供するが、該連続配列は少なくとも1つのメチル化可変位置を、または少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチド配列を含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする。

10

20

【0059】

さらなる実施態様は、第1オリゴマーと第2オリゴマーとを含むオリゴマーセットを提供するが、第1オリゴマーと第2オリゴマーはそれぞれ、第1オリゴマーの場合にはSEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134およびSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136からなる4配列編成下位群で構成される第1配列群より選択される、また第2オリゴマーの場合には第1配列群を構成する各下位群配列の相補配列からなる4配列編成下位群で構成される第2配列群より選択される、前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、また前処理はゲノムDNAを、非メチル化シトシンは修飾するがメチル化シトシンは基本的に非修飾状態のままにしておく一薬品または一連の薬品で処理するステップを含むことを特徴とする。該オリゴマーセットは核酸増幅産物生成用として好適であるのが好ましい。

30

40

【0060】

さらなる追加の実施態様は肝細胞、臓器または組織を特定する、肝細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肝細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法を提供する：ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ；該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であ

50

るかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、肝細胞、臓器または組織を特定する、肝細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肝細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。好ましくは、メチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップは次のうち少なくとも1つを含む: SEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76; SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78; SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80; SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82; SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104; SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106; SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120; SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122; SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【0061】

追加の実施態様は脳細胞、臓器または組織を特定する、脳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または脳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法を提供する: ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ; 該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ; および該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、脳細胞、臓器または組織を特定する、脳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または脳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。好ましくは、メチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップは次のうち少なくとも1つを含む: SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用; またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【0062】

さらなる追加の実施態様は乳細胞、臓器または組織を特定する、乳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または乳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法を提供する：ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ；該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ；および該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、乳細胞、臓器または組織を特定する、乳細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または乳細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。好ましくは、メチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップは次のうち少なくとも1つを含む：SEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用；またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【0063】

追加の実施態様は筋細胞、臓器または組織を特定する、筋細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または筋細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法を提供する：ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ；該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ；および該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、筋細胞、臓器または組織を特定する、筋細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または筋細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。好ましくは、メチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップは次のうち少なくとも1つを含む：SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリ

ンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用；またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【0064】

肺細胞、臓器または組織を特定する、肺細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肺細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを行うための、次のステップを含む方法もまた提供される：ゲノムDNAを含む1つ以上の細胞、組織、体液または他のサンプルを獲得するステップ；該1つ以上のサンプルについて、好適なアッセイ法を用いて、SEQ ID NO:205、鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ；および該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを好適な標準または対照と比較する、または該1つ以上のメチル化状態またはメチル化レベルを、サンプルの、対応するメチル化可変位置間で比較することにより、肺細胞、臓器または組織を特定する、肺細胞、臓器または組織を1つまたは複数の他細胞または組織タイプから識別する、または肺細胞、臓器または組織をDNAサンプルの由来源として特定する、のうち少なくとも1つを少なくとも部分的に可能にするステップ。好ましくは、メチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップは次のうち少なくとも1つを含む：SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90；SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98；SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100；SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102；SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124；およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をそれぞれ少なくとも1つ含む1つまたは複数の核酸またはオリゴマーの使用；またはSEQ ID NO:205、鎖長16ヌクレオチド以上のその断片、SEQ ID NO:205と相補的であるかまたは中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列および鎖長16連続ヌクレオチド以上のその断片からなる群より選択されるゲノムDNA配列へのメチル化感受性制限酵素の使用。

【0065】

さらに別の実施態様は、肝細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肝細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70；SEQ ID NOS: 7, 8, 75, 76；SEQ ID NOS: 9, 10, 77, 78；SEQ ID NOS: 11, 12, 79, 80；SEQ ID NOS: 13, 14, 81, 82；SEQ ID NOS: 25, 26, 93, 94；SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96；SEQ ID NOS: 35, 36, 103, 104；SEQ ID NOS: 37, 38, 105, 106；SEQ ID NOS: 51, 52, 119, 120；SEQ ID NOS: 53, 54, 121, 122；SEQ ID NOS: 59, 60, 127, 128；およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用を含む。

【0066】

加えて、肝細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肝細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 137, 138；143, 144；145, 146；147, 148；149, 150；161, 162；163, 164；171, 172；173, 1

74; 187, 188; 189, 190; 19, 196からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用も提供される。

【0067】

さらなる実施態様は、脳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての脳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 49, 50, 117, 118; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 61, 62, 129, 130; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用を含む。

【0068】

追加の実施態様は、脳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての脳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 139, 140; 153, 154; 155, 156; 157, 158; 165, 166; 185, 186; 193, 194; 197, 198; 203, 204からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用を含む。

【0069】

さらなる実施態様は、乳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての乳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; SEQ ID NOS: 5, 6, 73, 74; SEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 23, 24, 91, 92; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; SEQ ID NOS: 41, 42, 109, 110; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; SEQ ID NOS: 65, 66, 133, 134; SEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用を含む。

【0070】

別のさらなる実施態様は、乳細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての乳細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 139, 140; 141, 142; 151, 152; 155, 156; 157, 158; 159, 160; 165, 166, 175, 176; 177, 178; 181, 182; 199, 200; 201, 202; 203, 204からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用を含む。

【0071】

追加の実施態様は、筋細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての筋細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; SEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; SEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 43, 44, 111, 112; SEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; SEQ ID NOS: 47, 48, 115, 116; SEQ ID NOS: 55, 56

、123, 124; SEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; SEQ ID NOS: 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用を含む。

【0072】

別のさらなる実施態様は、筋細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての筋細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 152, 152; 155, 156; 157, 158; 163, 164; 165, 166; 179, 180; 181, 182; 183, 184; 191, 192; 193, 194; 199, 200からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用を含む。

【0073】

追加の実施態様は、肺細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肺細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; SEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; SEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; SEQ ID NOS: 33, 34, 101, 102; SEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; およびその相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は該配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化レベルを決定するステップを含むことを特徴とする使用を含む。

【0074】

別のさらなる実施態様は、肺細胞、臓器または組織、またはそれらに由来する核酸を特定または識別するための、または該核酸の由来源としての肺細胞、臓器または組織を特定するための方法への核酸またはオリゴマーの使用であって、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 155, 156; 157, 158; 165, 166; 167, 168; 169, 170; 191, 192からなる群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むことを特徴とする使用を含む。

【0075】

さらなる態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 155および156からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肝、肺および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。

【0076】

核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用もまた提供されるが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 157および158からなる第2群より選択

される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、肝および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺および脳細胞または組織を含むことを特徴とする。

【0077】

別のさらなる態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 163および164からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は肝および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳および肺細胞または組織を含むことを特徴とする。

10

【0078】

特定の態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 165および166からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳、脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。

20

【0079】

さらなる特定の態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 175および176からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および前立腺細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳、肺および肝細胞または組織を含むことを特徴とする。

30

40

【0080】

別のさらなる特定の態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; 63, 64, 131, 132; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 181, 182, 199および200からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配

50

列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、脳、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。

【0081】

追加の態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 67, 68, 135, 136; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 203および204からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、筋、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。 10

【0082】

追加の態様では、本発明は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 57, 58, 125, 126; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 193および194からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は脳および筋細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は肺、乳、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。 20

【0083】

追加の実施態様は核酸サンプルの由来源としての第1組織または細胞群を第2組織または細胞群から識別するための方法への核酸またはオリゴマーの使用を含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 17, 18, 85, 86; およびその相補配列からなる第1群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含むかまたはSEQ ID NOS: 153および154からなる第2群より選択される鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、該方法は第1配列群の1つまたは複数の配列内の少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップを含み、また第1組織または細胞群は乳および肺細胞または組織を含み、第2組織または細胞群は脳、筋、肝および前立腺細胞または組織を含むことを特徴とする。 30 40

【0084】

本発明は、疾患関連細胞または組織中の、または体液由来サンプル中のゲノムDNAの1つまたは複数のメチル化可変位置の特定のメチル化レベルまたはメチル化状態を特徴とする症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法を提供する: その1つまたは複数の領域内に1つまたは複数のメチル化可変位置をもつゲノムDNAを含む検査細胞、組織サンプルまたは体液サンプルを獲得するステップ; 該1つまたは複数のメチル化可変位置のメチル化状態または定量メチル化レベルを決定するステップ; および該メチル化状態またはレベルを請求項1に記載の、対応する正常または病変細胞または組織のうちの少なくとも1つに関するメチル化レベル値を含む全ゲノムのメチル化地図のそれと比較し、以て症状または疾患の診断が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。 40 50

別のさらなる実施態様は、臓器、細胞タイプまたは組織における病状の存在または不存在を検出するための、次のステップを含む方法を提供する：体液サンプルを回収するステップ；SEQ ID NOS：1～204、SEQ ID NOS：206～221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用により、組織-、臓器-または細胞-特有のDNAメチル化パターンを示す浮遊DNAの量または存否の少なくとも一方を決定するステップ；および該組織、細胞タイプまたは臓器に由来する、異常レベルの浮遊DNAの存否を決定し、それを以って該組織、細胞タイプまたは臓器に関連する病状の存在または非存在について結論を下すステップ。

10

【0085】

また、個人の体液中の臓器-または組織-特異的浮遊DNAの存在を特徴とする該個人の症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法も提供される：体液サンプルを回収するステップ；SEQ ID NOS：1～204、SEQ ID NOS：206～221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用により、組織-、臓器-または細胞-特有のDNAメチル化パターンを示す浮遊DNAの量または存否の少なくとも一方を決定するステップ；および該組織、細胞タイプまたは臓器に由来する、異常レベルの浮遊DNAの存否をさらに決定し、少なくとも部分的にはそれを以って、該組織、細胞タイプまたは臓器に関連する病状の存在または非存在について結論を下すステップ。

20

【0086】

特定の実施態様では、本発明は個人の体液中の臓器-または組織-特異的浮遊DNAの存在を特徴とする該個人の症状または疾患を診断するための、次のステップを含む方法を提供する：体液サンプルを回収するステップ；SEQ ID NOS：1～204、SEQ ID NOS：206～221およびそれらの相補配列からなる群より選択される前処理ゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマー内のMVPのメチル化状態またはメチル化レベルを決定するステップ；および該メチル化状態またはメチル化レベルを、複数の正常な臓器、細胞または組織の対応する核酸のメチル化レベル値を含む請求項1に記載の全ゲノムのメチル化地図のそれと比較するステップ；およびb)のメチル化状態またはメチル化レベルが既知の値に匹敵するかどうか、また特定の臓器または組織が支配的であるかどうかを決定し、以って症状または疾患の診断が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。該浮遊DNAは肺、肝臓、筋肉、乳房、脳または前立腺からなる群より選択される組織または臓器に由来するのが好ましい。

30

【0087】

追加の実施態様は、治療コースの選択または監視のうち少なくとも一方を行うための方法であって、前述の要領で診断を確定し、以って治療コースの選択または監視のうち少なくとも一方が、少なくとも部分的にもたらされるようにするステップを含む方法を提供する。

40

【0088】

また、請求項49～53のうちいずれか1項に記載の方法の、個人の疾患の診断、個人の症状の診断、個人の疾患の予後診断、疾患の進行監視、治療反応の監視、治療副作用の発生の監視、または細胞増殖性疾患の分類、鑑別、悪性度評価、病期評価または診断への、またはそれらの組み合わせへの、使用も提供される。

【0089】

さらなる実施態様は、ある臓器、細胞または組織タイプの特定、または核酸サンプルの由来源としてのある臓器、細胞または組織タイプを別のものからの識別のうち少なくとも

50

一方を行うための方法であって、次のステップを含む方法を提供する：ゲノムDNAをもつ核酸サンプルを獲得するステップ；5位非メチル化シトシン塩基をウラシルに、またはハイブリダイゼーション特性がシトシンとは検出可能に異なる別の塩基へと変換するための1つまたは複数の薬品で該ゲノムDNAまたはその断片を前処理するステップ；前処理ゲノムDNAまたはその断片を増幅酵素および少なくとも1セットのプライマーと接触させて、前処理ゲノムDNAまたはその断片が増幅されて1つまたは複数の増幅産物を生成するかまたは増幅されずに終わるようにするステップであって、該プライマーセットは各々第1および第2プライマーを含み、各プライマーは第1プライマーの場合にはSEQ ID NOS: 1~136からなる第1群より選択される配列と、また第2プライマーの場合には第1群の配列の相補配列からなる第2群より選択される配列と、それぞれ相補的であるような、または中程度にストリンジントなあるいはストリンジントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上の連続塩基配列をもつことを特徴とするステップ；および該増幅産物の存否または特性に基づき、前処理版SEQ ID NO:205内の、またはその連続領域内の、少なくとも1つのMVPのメチル化状態またはレベルを、あるいは前処理版SEQ ID NO:205内の、またはその連続領域内の、複数のMVPの平均メチル化状態または平均メチル化状態を反映する値を、決定し、以ってある臓器、細胞または組織タイプの特定、または核酸サンプルの由来源としてのある臓器、細胞または組織タイプを別のものからの識別のうち少なくとも一方が、少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。ゲノムDNAまたはその断片を処理するステップは亜硫酸水素塩、亜硫酸水素、二亜硫酸塩およびそれらの組み合わせからなる群より選択される溶液の使用を含むのが好ましい。接触させるステップまたは決定するステップの少なくとも一方はMSP、MethyLight（登録商標）、HeavyMethyl（登録商標）、MS-SNuPE（登録商標）およびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法の使用を含むのが好ましい。該プライマーのうち少なくとも1つはSEQ ID NOS: 137~204からなる群より選択される配列を含むのが好ましい。該プライマーのうちの1つまたは複数の連続配列に少なくとも1つの5'-CG-3'、5'-tG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチドを含むのが好ましい。該方法は、前処理前にはCGジヌクレオチドであった1つまたは複数の5'-CG-3'、5'-tG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチドをもつ鎖長16ヌクレオチド以上の連続配列を含む少なくとも1つのオリゴマーの使用であって、該オリゴマーの連続配列はSEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるかまたは一致し、また該オリゴマーはそのハイブリダイジング相手たる核酸の増幅を抑制することを特徴とする使用を含むのが好ましい。メチル化状態、メチル化レベル、平均メチル化状態または平均メチル化レベルを決定するステップは、1つまたは複数の5'-CG-3'、5'-tG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチドと、前処理前には5'-CG-3'ジヌクレオチドであった位置でハイブリダイズする少なくとも1つのレポーターまたはプローブ・オリゴマーの使用を含み、以って1つまたは複数の標的配列の増幅が少なくとも部分的にもたらされるようにするのが好ましい。

【0090】

特定の実施態様は細胞増殖性疾患またはその素因の分析、特性解析、分類、鑑別、悪性度評価、病期評価、診断または予後診断、またはそれらの組み合わせへの本発明の方法の使用を含む。

【0091】

特定の実施態様は前立腺がん、乳がん、肺がん、肝がんまたは脳腫瘍の、または各タイプのがん・腫瘍の素因の、分析、特性解析、分類、鑑別、悪性度評価、病期評価、診断またはそれらの組み合わせへの本発明の方法の使用を含む。

追加の実施態様は、核酸の由来源としての1つの組織、臓器または細胞タイプを特定するための、または組織、臓器または細胞タイプ群から1つの組織、臓器または細胞タイプを核酸の由来源として識別するためのキットを提供するが、該キットは亜硫酸水素塩試薬またはメチル化感受性デアミナーゼ；およびSEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるような、または中程度にストリンジントなあるいはストリンジントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長9ヌクレオチド以上

の連続配列を各々含む少なくとも1つのオリゴマー；を含む。組織タイプ群は前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳からなる群より選択される少なくとも2つの組織タイプを含むのが好ましい。前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳の細胞増殖性疾患を発見、診断、予後診断または鑑別するための、または前立腺、乳房、肺、肝臓、筋肉および脳の細胞増殖性疾患を識別するためのキットもまた提供されるが、該キットは、亜硫酸水素塩試薬またはメチル化感受性デアミナーゼ；およびSEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長9ヌクレオチド以上の連続配列を各々含む少なくとも1つのオリゴマー；を含む。

【0092】

前記のキットはMS-SNuPE（登録商標）、MSP、MethylLight（登録商標）、HeavyMethyl（登録商標）、COBRA（登録商標）、核酸配列分析法およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるメチル化アッセイ法を行うための標準試薬を含む。

別のさらなる実施態様は、がんに関する診断情報を提供する、次のステップを含む方法を提供する：細胞増殖性疾患を患っていると疑われる患者の体液サンプル中の全浮遊DNA量に対する特定臓器または組織に由来する浮遊DNAの相対量を決定するステップであって、該体液サンプル中の、表37~70で特定される群より選択される少なくとも3つのMVPまたはCpGsのメチル化レベルの決定を含み、またメチル化パターンが提供されることを特徴とするステップ；該メチル化パターンを、他臓器または組織群に由来する特定臓器または組織に特有的在であることがすでに判明しているような、複数のサンプルで見られるメチル化パターンと比較するステップ；健康なドナーな由来するサンプルとの関連で、a)で決定されるメチル化パターンが該体液サンプル中の全浮遊DNA量に対する特定臓器または組織に由来する浮遊DNAの相対量の増加を示すかどうかを判定し、以って該患者はがん発症のリスクが高いかどうかの結論が少なくとも部分的にもたらされるようにするステップ。該メチル化パターンは少なくとも5つのCpG位置のメチル化レベルを含むのが好ましい。メチル化レベルが決定されるMVPまたはCpG位置のうち少なくとも3つは500bpのゲノム領域内に位置するのが好ましい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0093】

用語：

本発明では、「DNA由来のクラス」は任意の識別可能なDNA含有サンプル集合をいう。該クラスは生体物質の集合であるのが好ましく、またそうした場合には本明細書では「生体サンプルのクラス」という。

【0094】

これに関連して、用語「組織」は協力して特定の機能を果たす一群または一層の類似細胞をいう。

【0095】

語句「表現型の上で識別可能な」は現行技術による観測および/または検出が可能な1つまたは複数の特性によって識別される生物、組織、細胞、またはそれらの構成要素をいう。そうした特性は各々、該表現型の定義に寄与するパラメーターとしても定義されるかもしれない。ある表現型が1つまたは複数のパラメーターで定義されるとき、1つまたは複数の該パラメーターに合致しない生物は該表現型の生物とは相異なるまたは識別可能であると定義されよう。それらの特性から除外されるのは該生物の(または構成要素の)シトシン・メチル化パターンの差異およびそのDNA配列の差異である。

【0096】

用語「異常(な)」は生物、組織、細胞、またはそれらの構成要素との関連では、「正常な」(期待される)特性をそれぞれ示す生物、組織、細胞、またはそれらの構成要素とは観測または検出可能な少なくとも1つの特性の点で異なる生物、組織、細胞、またはそれらの構成要素をいう。ある細胞または組織型では「正常な、または期待される」特性も、異なる細胞または組織型では「異常」であるかもしれない。

10

20

30

40

50

【0097】

用語「オリゴマー」はオリゴヌクレオチド、PNA-オリゴマーおよびLNAオリゴマーを包含し、またオリゴヌクレオチドの代替使用を、またはオリゴヌクレオチドとしては扱えないPNA-オリゴマーまたはLNAオリゴマーを、説明する用語が必要とされるときにはいつでも使用される。該オリゴマーは技術上周知の要領で修飾することができる。用語「オリゴ」はまた、少なくとも1つの検出可能な標識を付けたオリゴマーを包含するが、該標識には好ましくは蛍光標識が包含されるものとする。ただし、該標識は技術上周知の任意の種類の標識でもよいものとする。

【0098】

用語「実測/予測比(0/E比)」は特定DNA配列内のCpGジヌクレオチドの出現頻度をいい、各断片の $[\text{CpG部位数}/(\text{C塩基数} \times \text{G塩基数})] \times \text{バンド長}$ に対応する。

10

【0099】

用語「CpG島」はゲノムDNAの連続領域のうち、(1) 実測/予測比 >0.6 に対応するCpGジヌクレオチドの出現頻度、および(2)「GC含量」 >0.5 という基準を満たすものをいう。CpG島は一般に、必ずしもそうではないが、鎖長が約0.2kb~約1kbであり、鎖長3kbほどでもよい。

【0100】

用語「メチル化状態」はあるDNA配列内の1つまたは複数のCpGジヌクレオチドにおける5-メチルシトシン(5-mCyt)の存否をいう。単一对立遺伝子のDNA配列内の1つまたは複数の特定CpGメチル化部位におけるメチル化状態には「非メチル化」、「全メチル化」および「ヘミメチル化」がある。

20

【0101】

用語「ヘミメチル化」はCpGメチル化部位のメチル化状態であって、CpGジヌクレオチド配列のうち一方の鎖のシトシンだけがメチル化されている状態をいう[たとえば5'-TTC^MGTA-3'(トップ鎖): 3'-AAGCAT-5(ボトム鎖)]。

【0102】

用語「高メチル化」は、正常対照DNAサンプル内の対応するCpGジヌクレオチドに見られる5-mCyt量と比較した場合の、検査DNAサンプルのDNA配列内の1つまたは複数のCpGジヌクレオチドにおける5-mCytの存在量の増加に対応する平均メチル化状態をいう。

【0103】

用語「低メチル化」は、正常対照DNAサンプル内の対応するCpGジヌクレオチドに見られる5-mCyt量と比較した場合の、検査DNAサンプルのDNA配列内の1つまたは複数のCpGジヌクレオチドにおける5-mCytの存在量の減少に対応する平均メチル化状態をいう。

30

【0104】

「メチル化レベル」または「メチル化度」は個別CpGジヌクレオチドにおけるメチル化の平均的な度合いをいう。「メチル化レベル」は百分率で表してもよい。多数の異なるCpGジヌクレオチド位置におけるメチル化レベルの測定からメチル化プロファイルまたはメチル化パターンが得られる。

【0105】

用語「メチル化プロファイル」は(ゲノム全体に分散した)多数のCpGの平均メチル化レベルを求めることによって得られる。個々の単一CpG位置はゲノム中の他CpGとは独立に分析するが、メチル化差異のあるDNA分子プール中の諸々の相同DNA分子については横断的に一括して分析する。

40

【0106】

用語「メチル化パターン」は互いに近接する多数のCpG位置の個別メチル化状態の描写をいう。たとえば5~10の密接に関連したCpG位置の全メチル化は、特定のDNA分子に大いに特異的であるような、ごく稀なメチル化パターンを構成しよう。用語「メチル化パターン」はまた、メチル化差異のあるDNA分子プール中の多数のDNA分子について測定した場合の、そうした多数の近接CpG位置の個別メチル化レベルの描写をいう。その場合には、5~10の密接に関連したCpG位置の100%のメチル化レベルは、組織または細胞型などのような

50

特定のDNA由来源に大いに特異的であるような、ごく稀なメチル化パターンを構成しよう。

【0107】

用語「マイクロアレイ」は広い意味で「DNAマイクロアレイ」と「DNAチップ」の両方といい、技術的に承認されている諸々の固相担体を包摂し、またそれに核酸分子を付着させるための、またはその上で核酸分子を合成するための、技術的に承認されている諸々の方法を包摂する。

【0108】

本明細書で使用する「遺伝的パラメーター」は遺伝子およびその調節に必要とされるさらなる配列の突然変異および多型である。例示的な突然変異は特に挿入や欠失、点変異、逆位、多型、および特に好ましくはSNP(一塩基多型)などである。

10

【0109】

「エピジェネティック(非遺伝的)パラメーター」は特にシトシンのメチル化である。さらなる非遺伝的パラメーターの例はヒストンのアセチル化であるが、それは開示の方法を使用して直接分析することができないものの、それはそれでDNAメチル化と相関する。

【0110】

用語「亜硫酸水素塩試薬」は、本明細書で開示するようなメチル化および非メチル化CpGジヌクレオチド配列の識別に有用である、亜硫酸水素塩、二亜硫酸塩、亜硫酸水素またはそれらの組み合わせを含む試薬をいう。

【0111】

用語「メチル化アッセイ」はあるDNA配列内の1つまたは複数のCpGジヌクレオチド配列のメチル化状態またはメチル化レベルを決定するための任意のアッセイ法をいう。

20

【0112】

用語「MS AP-PCR」(Methylation-Sensitive Arbitrarily-Primed Polymerase Chain Reaction)は技術的に認められた技術であって、CpGジヌクレオチドを含む可能性が最も高い領域に重点を置くための、CGに富むプライマーの使用による大域的なゲノムスキャンを可能にする、かつGonzalogo et al., Cancer Res. 57:594-599, 1997で開示されている技術をいう。

【0113】

用語「MethyLight(登録商標)」はEads et al., Cancer Res., 59:2302-2306, 1999で開示されている、技術的に認められた蛍光ベースのリアルタイムPCR技術をいう。

30

【0114】

用語「HeavyMethyl(登録商標)」アッセイは本明細書で開示した実施態様では、MethyLight(登録商標)アッセイを増幅プライマーの間のCpG位置をカバーするメチル化特異的ブロッキングプローブと結合したMethyLight(登録商標)アッセイの変法であるHeavyMethyl(登録商標)MethyLight(登録商標)アッセイをいう。

【0115】

用語「Ms-SNuPE」(Methylation-sensitive Single Nucleotide Primer Extension、メチル化感受性一塩基プライマー伸長)は、Gonzalogo & Jones, Nucleic Acids Res. 25:2529-2531, 1997で開示されている技術的に認められたアッセイをいう。

40

【0116】

用語「MSP」(Methylation-specific PCR、メチル化特異的PCR)はHerman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:9821-9826, 1996および米国特許第5,786,146号明細書で開示されている技術的に認められたアッセイをいう。

【0117】

用語「COBRA」(Combined Bisulfite Restriction Analysis)はXiong & Laird, Nucleic Acids Res. 25:2523-2534, 1997で開示されている技術的に認められたメチル化アッセイをいう。

【0118】

用語「MCA」(Methylated CpG Island Amplification、メチル化CpG島増幅)はToyota et 50

al., Cancer Res. 59:2307-12, 1999および国際公開公報第W0 00/26401A1号明細書で開示されているメチル化アッセイをいう。

【0119】

用語「ハイブリダイゼーション」は、ワトソン-クリック型塩基対合に沿った、ウラシルとアデニンとの対合を含む、サンプルDNA中のオリゴヌクレオチドとその相補配列との結合による2本鎖構造の形成をいう。

【0120】

「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」は本明細書での定義では、5×SSC/5×デンハーツ溶液/1.0%SDS中68℃でのハイブリダイゼーションと0.2×SSC/0.1%SDS中室温での洗浄、または技術的に認められているその等価物(たとえば2.5×SSCバッファーによる60℃でのハイブリダイゼーション、それに続く低濃度バッファーによる37℃での数回の洗浄、それに続く安定した状態での保持といった条件)を伴う。中程度にストリンジェントな条件は本明細書での定義では、3×SSC中42℃での洗浄または技術的に認められているその等価物を伴う。プローブと標的核酸の間の至適レベルの同一性を達成するためには塩濃度および温度条件を変えることができる。そうした条件に関する手引きについては、たとえばSambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, N.Y.; およびAusubel et al. (eds.), 1995, Current Protocols in Molecular Biology, (John Wiley & Sons, N.Y.) at Unit 2.10に求めることができる。

【0121】

用語「MVP」は、種々の組織を非限定的に含む表現型が識別可能な種々のタイプのサンプルにおいてメチル化に差異があるCpG位置であり、従って種々の組織間でメチル化変動を示すCpG位置であるメチル化可変位置をいう。

【0122】

用語「前後配列(sequence context)」は特定CpGジヌクレオチド配列との関連では、本発明の発見方法によって特定されるメチル化差異を示すCpGジヌクレオチド(MVP)を囲むまたは含む2ヌクレオチド塩基ないし3Kbのゲノム領域をいう。該前後領域は本発明では、少なくとも1つの二次的メチル化差異CpGジヌクレオチド配列を含むか、または該一次のおよび少なくとも1つの二次的メチル化差異CpGジヌクレオチド配列を含む複数のメチル化差異CpGジヌクレオチド配列をもつパターンを含む。そうした前後領域内の該一次のおよび二次的メチル化差異CpGジヌクレオチド配列は、所与の組織サンプルのゲノムDNAにおいて同じメチル化状態を共有するという意味で同時メチル化されるのが好ましい。該一次のおよび二次的CpGジヌクレオチド配列は、該ゲノムDNA内のメチル化差異CpGジヌクレオチド配列のもっと大きな同時メチル化パターンの一部として同時メチル化されるのが好ましい。そうした前後配列のサイズは変化するものの、一般に前述のCpG島のサイズを、または最初の1または2エクソンを含めた遺伝子プロモーター領域のサイズを、反映することになる。

【0123】

用語「MVPデータベース」は、利用可能な表現型的特質の全部または一部および臨床的指標を含む詳しいサンプル記述との関連でメチル化差異CpG位置のメチル化レベルと場所を含むデータベースをいう。該データベースは、たとえば表現型が識別可能なタイプの組織/サンプル間でメチル化差異のあるCpG位置について検索可能である。

【0124】

「CpG、tpGおよびCpa」という語句内のジヌクレオチドの記号表示に関して、小文字のtは前処理によりシトシンがウラシルに変換された場合のシトシン位置のチミンを示し、大文字のTは前処理前もチミンであったチミン位置を示す。同様に、小文字のaはシトシン位置の小文字tに対応するアデニンを示し、また大文字のAは処理前もアデニンであったアデニンを示す。

【0125】

用語「腫瘍マーカー」は特定の腫瘍を反映するような、血液等の体液中に、または組織中に、認められる可能性のある特徴的なまたは特有の物質をいう。該物質はたとえばタン

パク質、酵素、RNA分子またはDNA分子などでもよい。あるいは、この用語は該物質を他の点では同じである物質から識別することを可能にする、特定のメチル化パターンを非限定的に含む特定の特性をいう場合もある。高レベルの腫瘍マーカーはある種のがんが体内にできていることを示す場合もある。一般に、この物質は腫瘍自体に由来する。腫瘍マーカーの非限定的な例はCA 125(卵巣がん)やCA 15-3(乳がん)、CEA(卵巣、肺、乳、膵および消化管がん)、PSA(前立腺がん)などである。

【0126】

用語「組織マーカー」は血液等の体液中に、だが主に特定組織の細胞中に、認められる可能性のある特徴的なまたは特有の物質をいう。該物質はたとえばタンパク質、酵素、RNA分子またはDNA分子などでもよい。あるいは、この用語は該物質を他の点では同じである物質から識別することを可能にする、特定のメチル化パターンを非限定的に含む特定の特性をいう場合もある。細胞中に認められる高レベルの組織マーカーは、該細胞がそれぞれの組織の細胞であることを意味しよう。体液中に認められる高レベルの組織マーカーは、それぞれのタイプの組織が該マーカーを含む細胞を体液中に広げているか、または該マーカー自体を血液または他の体液中に広げていることを意味するかもしれない。

10

【0127】

用語「ESME」は亜硫酸水素塩処理DNA中の不均等な塩基分布を考慮または斟酌し、配列トレース(エレクトロフェログラム)を正規化して、配列トレース内のメチル化シグナルの定量を可能にする、新規な、特に好ましいソフトウェアプログラムをいう。加えて、ESMEは対応する非処理DNA配列に関する情報を基に特定位置のチミンのシグナル強度を比較することにより亜硫酸水素塩処理による変換率を計算する(いずれも参照をもってその全文が開示に含まれる米国公報第20040023279号および欧州公報第1 369 493号(ドイツ)の各明細書を参照)。

20

【0128】

用語「散らばり」は、獲得されたメチル化データに関しては、データのバラツキをいい、(標本および/または母)標準偏差(各データ要素の、平均からの距離)、レンジ(最高と最低のデータ要素間の距離)、分散(標準偏差の二乗)など、様々な表し方がある。

特に断らない限り、本明細書で使用する諸々の専門および学術用語は当業者が一般に理解するのと同じ意味を有する。本発明の試験には本明細書で開示するものと類似するまたは同等である任意の方法および材料を使用することができるが、本明細書では好ましい方法および材料を開示する。本明細書で引用する諸々の文献は参照により開示される。

30

【0129】

概観

本発明は特に、諸々の主要組織の諸々のヒト遺伝子の全ゲノムのDNAメチル化パターンを特定し、目録を作成し、また解釈する方法を含む。もっと正確に言えば、該方法は種々のサンプルタイプたとえば種々の組織、臓器または細胞タイプでメチル化差異のある5'-CG-3'ジヌクレオチド(すなわちCpG位置)との関連でのシトシンの特定に関する。そうしたメチル化差異のあるシトシン塩基はここでは「メチル化可変位置」(MVP)という。サンプルタイプ特異的メチル化パターンはいくつかの種々のサンプルタイプに由来するDNAの特定ゲノム領域内の1つまたはいくつかのMVPにおけるメチル化レベルの比較により特定することができる。これらのMVPを1つまたは好ましくはいくつか含む関心領域(ROI)などのような識別可能なゲノム領域はマーカー(たとえば組織タイプマーカー)として利用することができる。これらのMVPは互いに近接して存在するのが特に好ましい。孤立したMVPでもマーカーとしては十分であるかもしれないが、MethyLight(登録商標)、HeavyMethyl(登録商標)またはMSP(登録商標)などのような好適なメチル化アッセイ法では互いに密接に結び付いたいくつかのCpG位置を同時に分析するのが大いに好ましい。

40

【0130】

本発明は特定の実施態様で、実施例1で開示するように、本発明の方法の実行により選択される1つまたは複数のマーカーを提供する。

追加の実施態様では、実施例2~6で示すように、これらの組織マーカーの例示的な、新

50

規な使用を提供する。

【0131】

本明細書で開示する堅牢な発見方法はMVPの発見を、従ってゲノムDNAのマーカー領域を識別することの発見を、可能にし、また他の形でもたらし。本発明は、CpGのメチル化状態に関する定量的情報(すなわち特定部位のメチル化レベル; またメチル化の有無にとどまらない)を提供するという点で他の公知のメチル化発見方法とは異なる。本発明の方法はDNA配列分析を土台とするため、追加の利点が3つある。第1に、特定されたMVPはさらなる実験を俟たずにすぐゲノムにマッピングすることができる。すなわち後続のクローニングが不要であり、従って増幅産物のクローニングまたは配列分析の過程で結果が失われたり、混ぜこぜになったりする危険がなくなる。

10

【0132】

第2に、好適なマーカーを特定するための本発明の方法は亜硫酸水素塩配列分析に基づくものであり、ヒト・ゲノムの配列情報の解明に関わる大きな配列分析施設により拡大実用規模ですでに立証されているように、高速大量処理に適する。この高速大量処理という側面が不可欠であるのは、正確かつ有用な結果を獲得するには、種々の代表的な、明確な核酸源たとえば明確なヒト組織、臓器または細胞系などに由来する十分に大きな数のサンプルの分析が必要となるからである。

【0133】

先行技術の発見方法と比べた場合の第3の利点として、本発明の方法は互いに隣接し合う多数のCpG位置のメチル化レベルの同時比較分析(すなわち「近接」CpG位置の分析)を可能にする。近接CpG位置は一般に同時メチル化されるが、注目すべきことに、その必要は必ずしもない。本発明の発見方法は単一のCpGまたはMVP位置だけの特定ではなく、(複数のCpGまたはMVP位置を含む)複数領域のマーカーとしての特定を可能にする。

20

注目すべきことに、先行技術では単一CpGだけがメチル化差異を示すと特定され、また複数のCpGを含むマーカーとされるものは、近接CpG位置は同時メチル化されるという想定に立って、暫定的に特定されているにすぎない。

【0134】

しかし、本明細書で開示する本発明の方法はそうした想定に立つ必要性をなくし、従って、サンプルタイプを識別するための有用な手段としての確認済み実用性を有するマーカーを提供する。注目すべきは、本発明によるいくつかの近接CpG位置の定量分析を含む方法の実用性と比べると先行技術の単一CpG分析の鑑別面の実用性はずっと小さい。

30

【0135】

加えて、また好ましくは、マーカー領域内のCpG位置の分析は各サンプルタイプの多数のサンプル中の、対応する個別位置の分析を含み、1つまたは複数の近接個別MVPの特定されたマーカー領域の質の、従って実用性の、向上を図るようにする。

【0136】

特定の実施態様は、多数の異なる核酸源について、たとえばいくつかの、またはすべてのヒト染色体の全遺伝子の全部または一部を含む数千遺伝子座を、これらメチル化レベルの間の有益な比較を可能にするようなやり方で、分析する方法を提供する。

【0137】

本発明によれば、亜硫酸水素塩配列分析は高速大量処理用途に応じた十分な堅牢性をもたらし、またデータの定量化および標準化が、定量的メチル化レベルの決定を可能にする1つまたは複数のアルゴリズム、またはソフトウェアプログラムによってもたらされる。本明細書で開示する特に好ましい実施態様では、該アルゴリズムまたはソフトウェアはESMEである。

40

【0138】

本発明によれば、特定メチル化パターンと年齢、性別または疾患などの表現型との相関を決定することができるし、また特定メチル化パターンと種々の細胞、組織または臓器タイプとの相関も同様である。もたらされる全ゲノム的なメチル化パターンの知見は遺伝子調節、遺伝子のインプリンティング、発生、ゲノム安定性、罹病性、および遺伝と環境の

50

相互作用などのような基礎的な生体過程の理解のための新規な情報を与えてもくれる。さらに、そうした知見は、メチル化パターンが栄養、喫煙などのような環境影響に反応するかどうか、またどのような仕組みで反応するかの評価に使用することができる。

【0139】

さらに本発明は、メチル化パターンと、腫瘍の形成、進行および転移、幹細胞とその分化、増殖および細胞周期、疾患と障害、および代謝などのようなパラメーターとの相関の生成を可能にする。

【0140】

好ましい実施態様では、本発明の方法は異種細胞タイプ間でメチル化レベルが異なるメチル化位置およびマーカーの全ゲノムにわたる特定に使用される。この実施態様では、十分に大きなサンプル集合を分析し、該メチル化レベルに関する情報を含むメチル化可変位置(MVP)地図を作成する。本発明によれば、試験した諸々の代表的なサンプルタイプ間でメチル化が保存されているような非可変CpG位置は疾患または組織特異的な情報を含みそうもない。

【0141】

本発明に従ってもたらされ生成されるメチル化データは研究に役立つ情報となると同時に、組織特異的マーカー(たとえば実施例1で開示する本発明のMHCマーカー)などのような有用な手段の特定に直接使用される。

【0142】

本発明によれば、健康な組織中で特定される特定のメチル化可変CpG位置(MVP)は病変組織では変化している。これは該MVPの、病変組織中の他の位置との比較による、本発明のメチル化分析によって試験、立証される。こうして、細胞分化できわめて重要であり、またその変化が疾患と相関する特定のMVP下位集合を確立することができる。

【0143】

特定タイプの細胞内の活性遺伝子のパターンを反映し、従ってある種の細胞が所与の時点で実行する仕事を説明する該細胞タイプのメチル化パターンは、本明細書で開示する新規な方法で確立することができる。これらのパターンに関する知見は、メチル化差異のある遺伝子の集合を与えることにより、診断治療の標的を発見し、(たとえば再生医療の分野で)細胞分化を監視し、また健康、病変といった異なる細胞タイプ間で一般的な鑑別または識別を行うための新しい方策を可能にする。後者は、たとえば診断薬開発の増進、標的の特定、治療における患者の層別化、および将来的な個別化医療および治療のための手段をもたらす。

【0144】

本発明の方法は、メチル化分野における先行技術の取り組みとは異なり、「候補」遺伝子アプローチに基づく、または限定されるものではなく、全ゲノム的なメチル化差異パターンの発見と使用を提供する。生成されるメチル化の青写真(地図)はゲノムの非コード領域のメチル化に影響を及ぼす諸因子の理解に寄与するだけでなく、ゲノム内で実際には可変的である5'-CG-3'位置の定量的メチル化レベルを提供することによりヒト・サンプルに関する事実上すべてのメチル化研究のための手段としても役立つ。

【0145】

サンプルとサンプル情報の収集

本発明の方法では、十分な出発物質(たとえば十分な数のサンプル、または十分な数のサンプルに由来する核酸)を獲得するのが好ましい。使用サンプルタイプに関する諸々の関連する、利用可能な情報(指数)を収集、記録して、必要に応じて随時サンプルをプールしうるようにするのが好ましい。十分な背景情報は、得られる程度の少量のサンプルから可能な限り多くの情報を得るためにはプールするサンプルまたはサンプルタイプをどれにするかについて、賢明な決定を可能にする。

【0146】

本発明の方法の1ステップとして、プールした、またはプールしないサンプルタイプの特定の特性を、本明細書で開示するメチル化分析で扱う多種多様な分析上の「問い」と関

10

20

30

40

50

連または相関させるサンプルマトリックスを設計するのが好ましい。

【0147】

遺伝子座の選定

本発明の全ゲノムのメチル化分析方法の第1ステップとして、後続ステップで調べる遺伝子座を選定する。関心遺伝子座(LOI)は多数のCpG位置を含むゲノム領域を含む。ゲノムの非コード領域にあって近隣遺伝子の調節に関与すると予想される遺伝子座を選ぶのが好ましい。該遺伝子座は無作為に選ぶが、ゲノムまたはその一部分の代表的な対象範囲(カバレッジが実現されることが唯一の選定基準となる。

【0148】

得られるマトリックスとサンプルタイプ選定

次のステップは、選択された諸々の異なる被検サンプルタイプをサンプルタイプユニットとして表組みするステップを含む。この表組みステップは、一方の次元に表現型の相異なる、識別可能な各細胞タイプを独立した単一ユニットとして記載し、他方の次元に特定遺伝子座内の諸々のCpG位置を、好ましくは全ゲノム内の諸々のCpG位置を記載して、大きな2次元マトリックスが得られるようにする。

【0149】

本発明によれば、該当する定量的メチル化情報で該マトリックスを埋めることにより機能的エピゲノム地図が生成される。そうした地図の生成は単純ではない。というのは、必要な多数のメチル化分析は1回の実験では行えないからである。それどころか、多数の実験を標準化して実験横断的にメチル化データの有益な比較が行えるようにしなければならない。つまり幅広い分析を行わなければならない。本発明の分析方法のような好適な幅広い分析では、堅牢なデータを生成し、また幅広い分析データを正規化すして実験横断的な結果の比較を可能にするためのデータ評価手段を含むようなシステムの提供が大きな課題となる。

【0150】

本発明のエピゲノム地図の2次元マトリックスに入る明確な値を獲得するうえでの実用性をもつには、メチル化データは次の2つの次元または側面で比較可能でなければならない。第1に、同じ組織内の異なるCpGのメチル化レベルが互いに比較可能でなければならない。

【0151】

第2に、異なるサンプルタイプで測定される、同じCpG位置のメチル化レベルが互いに比較可能でなければならない。有益かつ有用な比較が可能になるのは、これらの要件が満たされ、データ集合の相対化(正規化)が実現されうる場合に限られる。本発明によれば、これらの要件は亜硫酸塩配列分析を新規なデータ評価手段、たとえば好ましい実施態様におけるESMEと組み合わせて使用することにより、満たされる。ESMEについては本明細書で後述するが、参照をもって開示に含まれる欧州特許出願EP 02 090 203号(2002年6月5日出願)明細書で詳述されている。

【0152】

DNAの単離

本発明で使用する種々の生体サンプルは核酸を、好ましくはゲノムDNAを含む。一般に、該サンプルはCpG位置につきメチル化および非メチル化シトシン塩基の混合を含む。MVPスクリーニングに使用するゲノムDNAは後続の前処理(後述)の前に単離するのが好ましく、また該前処理の前に精製するのが最も好ましい。あるいは、生体サンプル環境内で関心核酸を前処理する。前処理自体またはその同等物は本発明の「定量的配列分析」では必要ステップである(ただし、そうした確定マーカーおよびMVPについての本発明の使用方法では必要ステップではない)。

【0153】

DNAの単離は技術的に認められた任意の方法で行ってよい。そうしたプロトコールは技術上周知であり、たとえばSambrook, Fritsh and Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, CSH Press, 2nd edition, 1989: Isolation of genomic DNA from mamma

10

20

30

40

50

lian cells(哺乳動物細胞からのゲノムDNAの単離), Protocol I, p.9.16-9.19に求めることができる。生体サンプルから核酸を単離するための有用な手段は、必要な試薬やプロトコルを備えたQIAamp DNAミニキット(Qiagen, Hilden, Germany)である。血漿および血清サンプル由来のDNAはQIAamp Blood Kit(Qiagen, Hilden, Germany)および同社推奨の「血液および体液プロトコル」を使用して抽出するのが好ましい。DNAの精製はたとえばこのQiaamp Blood Kitに含まれるQiagenカラムを使用して行ってもよい。

【0154】

亜硫酸水素塩処理

前記関心領域(ROI、すなわち選定した遺伝子座の配列)のゲノム配列は既知で、かつ公開されているものが好ましい。実施例1では、本発明の分析の適用対象となるゲノム配列は主要組織適合性遺伝子複合体(MHC, SEQ ID NO:205)である。該配列内のメチル化および非メチル化シトシン塩基をゲノム配列データだけから識別することは不可能である。しかし、そうした鑑別はメチル化および非メチル化シトシン塩基を差別化する一薬品または一連の薬品による核酸の前処理により可能になる。本発明によれば、そうした薬品はメチル化体と非メチル化体のうち一方とは特異的に相互作用し他方とは相互作用しないような酵素、たとえばメチル化感受性の制限酵素またはメチル化感受性の脱グリコシル化酵素またはデアミナーゼ(たとえばBransteiner et al., Proc Natl Acad Sci USA. 100: 4102-7, 2003で開示されているシチジンデアミナーゼ)、または化学薬品などでもよい。好ましい実施態様では、5'位非メチル化シトシン塩基がウラシル、チミン、またはシトシンとはハイブリダイゼーション挙動を検出可能に異にする他塩基へと変換されるように核酸を前処理する。核酸の前処理は亜硫酸水素塩(亜硫酸塩、二亜硫酸塩)試薬で行い、また続いてアルカリ加水分解が起こり、結果として非メチル化シトシン核酸塩基がウラシルシに、またはトシンとは塩基対合挙動を異にする他塩基に、変換されるようにするのが好ましい。

【0155】

亜硫酸水素塩処理によるゲノム配列の「亜硫酸水素塩配列」への変換は任意の標準的な、技術的に認められた形式で起きてもよい。これはアガロースゲル内または変性溶媒中の修飾などを非限定的に含む。核酸は核酸サンプルを該薬品で処理する前に濃縮および/または他の状態調節をしてもよい。亜硫酸水素塩処理はサンプル内で行ってもよいし、核酸を単離した後に行ってもよい。亜硫酸水素塩処理は核酸を単離、精製した後に行うのが好ましい。

【0156】

2本鎖DNAは選択的に変性させてから亜硫酸水素塩で処理する。従って、亜硫酸水素塩による変換はシトシンのスルホン化とそれに続くその脱アミノ化という2つの大きなステップからなる。反応の平衡は各反応段階とも2つの異なる温度で正しい側に向かう。各段階が行われる温度と時間的な長さは個別の事情に応じて変化してもよい。

【0157】

好ましくは亜硫酸水素ナトリウムを国際公報第W0 02/072880号明細書に開示されている要領で使用する。特に好ましいのは、DNAをアガロースのマトリックス中に閉じ込め、以ってDNAの拡散と再生を防ぎ(亜硫酸水素塩は1本鎖DNAとしか反応しない)、また諸々の沈降、精製ステップを高速透析に切り替えるいわゆるアガロースビーズ法である (Olek et al., Nucleic Acids Res. 24: 5064-5066, 1996)。亜硫酸水素塩による前処理はオリゴエチレングリコールジアシルエーテルまたは好ましくはジオキサンなどのような浮遊基捕捉剤またはDNA変性剤の存在下に行うのがさらに好ましい。この場合、DNAはさらなる精製ステップを俟たずに増幅することができる。

【0158】

しかし、該化学変換は技術上標準となっている任意の形式で起きてもよい。これはアガロースゲル内、変性溶媒中、またはキャピラリー内の修飾などを非限定的に含む。

【0159】

一般に、亜硫酸水素塩前処理は非メチル化シトシン塩基を変換するが、メチル化シトシン塩基は変化しないままである。亜硫酸水素塩前処理が100%うまくいくと、全非メチル化

シトシン塩基のウラシルへの完全変換が起こる。続くハイブリダイゼーション・ステップでは、ウラシル塩基はチミン塩基として振舞い、アデニン塩基とワトソン-クリック塩基対を形成する。メチル化される可能性がある(in vivoで正常にメチル化されうる)のはCpG位置(すなわち5'-CG-3'ジヌクレオチド)内のシトシン塩基だけであることが判明している。従って、CpG位置外の他のシトシンはどれも非メチル化状態にあり、従って増幅時にアデニンと対合することになり、またそうしたものとして、増幅産物(たとえばPCR産物)中ではチミン塩基として現れることになるウラシルに変換される。亜硫酸水素塩処理した核酸の増幅および/または配列分析をするときはいつでも、配列中にチミンとして現れる位置は真のチミン位置か(変換後の)シトシン位置のいずれかを示すことになる。これらは、ただ亜硫酸水素塩配列データを既知の非処理ゲノム配列データと比較することによって識別することができる。 10

【0160】

しかし、CpG位置内のシトシンは潜在的メチル化シトシンと、もっと正確には潜在的にメチル化差異のあるシトシンと、みなさなければならない。注目すべきことに、生体サンプルは常に若干のバックグラウンドDNAを含むため、CpG位置における100%シトシンまたは100%チミングナルは稀であろう。従って本発明の方法によれば、特定のCpG位置に現れるチミン/シトシン比は可能な限り正確に決定される。これはたとえば、不完全変換に起因するこの比の歪曲またはバイアスを考慮に入れる配列評価ソフトウェアESMEの使用により可能となる(下文を参照。また参照をもって開示に含まれる欧州出願EP 02 090 203号明細書を参照)。 20

【0161】

プライマー設計

亜硫酸水素塩処理DNAはそのまま配列分析するのではなく、まず増幅する。関心領域(ROI)の増幅に使用するためのプライマー分子を設計する。関心領域はPCR法で増幅するのが特に好ましい。これにより、定量的自動分析法のためのDNA量が十分に確保しうる。増幅のためのプライマー分子は慎重に設計し、ゲノムCpG位置(すなわち亜硫酸水素塩配列中の5'-tG-3'または5'-CG-3'または5'-Ca-3'ジヌクレオチド)でのプライミングを避けるようにしなければならない(大文字のTは前処理前もチミンであったチミン位置を示すのに使用し、小文字のtは前処理によりシトシンがウラシルに変換された場合のシトシン位置のチミンを示すのに使用する。また小文字のaはシトシン位置にあるそうしたチミンに対応するアデニンを示すのに使用する)。亜硫酸水素塩処理核酸に結合したときにあるゲノムCpG位置をカバーするプライマー分子は、鋳型としての「前処理前」のメチル化および非メチル化核酸を識別するので、あるメチル化状態だけを増幅する方向へのバイアスをもたらすであろう。従って、亜硫酸水素塩処理した核酸の増幅に使用される本発明のバイアスのないプライマー分子は3種類のヌクレオチド(すなわちA、T、C)だけからなるのが好ましく、また5'-CA-3'配列だけを含むのが好ましいが、これは対応する相補5'-TG-3'配列がたとえば亜硫酸水素塩処理などのような前処理の前には5'-TG-3'配列であることが分かっている場合である。 30

【0162】

従って、本発明のプライマー分子は増幅バイアスを防ぐ意味で任意のCpG位置をカバーしないように設計するのが好ましい。 40

【0163】

好ましいプライマー設計についてのさらなる詳細は、特に亜硫酸水素塩処理核酸を対象に多重PCR実験を行う場合には、ドイツ特許出願第DE 102 36 406号明細書(2002年8月2日提出; またPCT出願として英文でも提出。どちらも参照をもって開示に含まれる)に見られる。

【0164】

一般に、ゲノム配列内のCpG位置のメチル化レベルの分析にはゲノムDNAのセンス鎖またはマイナス鎖を使用することができる。両鎖は亜硫酸水素塩処理後に対応性(相補性)を失うに至るほど互いに差異を生じ、また互いに効率的にハイブリダイズしなくなる。両鎖は 50

本明細書ではBISU 1およびBISU 2という。どちらもメチル化分析に使用することができる。両鎖が本発明の教示に包摂される理由もそこにある。亜硫酸水素塩配列には処理前の対応するゲノムメチル化状態に応じた差異もあるため、両BISU配列はあるときはアップメチル化(どの5'-CG-3'もメチル化されている)として開示され、またあるときはダウンメチル化(どの5'-CG-3'もメチル化されていない)として開示される。従って、ゲノムROIあたり4つの亜硫酸水素塩配列が開示される。

【0165】

本明細書の配列プロトコールでは、実施例1由来の合計34のROIのアップメチル化版の両鎖をまず与えるが(SEQ ID NOS: 1~68)、そこでは奇数の配列番号はBISU 1を示し、偶数の配列番号はBISU 2配列を示す。次いで、該ROIの対応するダウンメチル化版の配列を与える(SEQ ID NOS: 69~136)。そこでもやはり奇数の配列番号はBISU 1を示し、偶数の配列番号はBISU 2配列を示す。これら4配列のうちのいずれかに、中程度にストリンジェントな、またはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする鎖長16ヌクレオチド以上(または少なくとも18, 20, 22, 23, 25, 30または35ヌクレオチド)の連続配列を含む核酸およびオリゴマーは、これらの関心領域(ROI)内の核酸の特定CpGのメチル化レベルまたは短セグメントのメチル化パターンの分析に使用することができる。

10

【0166】

両鎖のうち的一方だけを対象としたプライマー分子を設計すれば一方の分子鎖だけが選定されることになる。ROIのBISU 1版の増幅は、亜硫酸水素塩処理センス鎖のBISU 1を対象として設計された1組のプライマー分子の使用により実現される。これらの増幅産物は、一般にBISU 2の増幅産物と同様に、ゲノムCpG位置のメチル化レベルの決定に有用である。従って、本願の範囲は一方の分子鎖だけの分析に使用されたプライマー分子の開示によって限定されはしないものとする。

20

【0167】

得られた増幅産物は次のステップで、開示の要領で配列分析する。2本鎖DNA増幅産物(PCR産物)は一方の分子鎖には非メチル化シトシンの代りにチミンを、またそれに対応して逆相補鎖にはアデニンを、それぞれ含む。従って、CpG位置内の元のシトシン位置のチミンシグナル強度を決定することにより、このCpG位置における非メチル化シトシンの混合割合を求めることができる。各増幅産物は両端から一度に亜硫酸水素塩配列を分析し、また特に好ましい実施態様では、それによって2つの配列トレースを生成する。

30

【0168】

PCR法を使用して関心領域を増幅する場合には、本来PCR用のプライマーを配列分析に使用するのが好ましいが、配列分析専用のプライマーを設計してもよい。

【0169】

両配列トレースは1つまたは複数のアルゴリズムで、または亜硫酸水素塩処理DNA中の不均等な塩基分布を考慮または斟酌し、配列トレース(エレクトロフェログラム)を正規化して、配列トレース内のメチル化シグナルの定量を可能にするようなソフトウェアプログラムで、分析するのが好ましい。該プログラムは、下文で詳しく述べるように、ESMEであるか、またはその機能的同等物であるのが好ましい。1つのCpGにおけるメチル化レベルに関する両トレースに由来する平均値を被検領域内の各CpG位置について計算するのが好ましい。

40

【0170】

合計34のROIの各々における多数(5~32)の被検CpG位置に関する平均値は実施例1で示す(図1~34と表3~36を参照)。

【0171】

DNA配列分析法

本発明よれば、全ゲノム的なメチル化地図の生成には数千個のPCR増幅産物が必要であり、またそのほぼ2倍の数の読み取り配列が生成され、そのメチル化差異が分析される。前処理核酸の増幅産物は、Sangerらによって開示され(Sanger F, et al., Proc Natl Acad Sci USA 74: 5463-5467, 1977)、亜硫酸水素塩配列決定用に若干改造(Feil R, et al.,

50

Nucleic Acids Res. 22: 695-6, 1994)されたジデオキシ法で、まず配列分析するのが好ましい。

【0172】

次に、標識した反応生成物を、空間的に分離された複数レーン内で、または単一レーン内で識別可能な異なるカラー標識によって、そのサイズに応じて分析する。たとえば4種類の蛍光標識ddNTPを使用してもよいが、分析を4塩基よりも少ない配列の決定に限定することもできる。

【0173】

配列分析によりエレクトロフェログラムが得られるが、それは塩基配列の定性的決定にしか使えない。しかし、好ましい配列データ評価手段であるESMEまたはその機能的同等物を使用すれば、このエレクトロフェログラムから、またこれらのデータと元の配列すなわち亜硫酸水素塩処理前の対応するDNA領域の配列との比較から、シトシンのメチル化レベルに関する定量的データもまた得られる。

【0174】

ESME

ESMEは特定CpG位置のメチル化レベルを、シグナル強度の比較と不完全亜硫酸水素塩変換に関する補正とにより計算する。ESMEは亜硫酸水素塩配列トレースにおけるすべてのシトシン(=メチル化C)とC→T転移(=非メチル化C)についてスコアをつけ、また全CpG部位についてメチル化率をさらに計算する。ESMEは個別細胞内のDNA混合物と複数細胞に由来するDNA混合物の両方の分析を可能にする。この方法は、亜硫酸水素塩で処理していない対応DNA領域のゲノムヌクレオチド配列が判明しており、かつ配列エレクトロフェログラム(トレース)を生成することもできるような、任意の亜硫酸水素塩処理核酸に適用することができる。

【0175】

ESMEはエレクトロフェログラムを利用して、少なくとも1つの塩基タイプ(C、T、AまたはG)の平均シグナル強度を、1つまたは複数の残りの塩基タイプに関して得られる平均シグナル強度に照らして標準化する。シトシンシグナル強度はチミンシグナル強度との関連で標準化し、またシトシンの平均シグナル強度の、チミンのそれに対する比を求めるのが好ましい。

【0176】

平均シグナル強度は、増幅産物の無作為確定領域内に存在する数塩基のシグナル強度を考慮に入れて計算する。この塩基タイプの複数の位置の平均は増幅産物の任意確定領域内で求める。この領域は増幅産物の全体またはその一部分を含むことができる。

注目すべきことに、こうした平均化は数理的に妥当な、および/または統計的に信頼性の高い値をもたらす。

【0177】

加えて、ESMEの基本的な特徴は、(亜硫酸水素塩処理の結果としての)シトシンのウラシルへの変換の「変換率」(f_{CON})の、標準化シグナル強度に基づく計算を含む。これは前処理のためにハイブリダイゼーション挙動が変化する位置で標準化された少なくとも1つのシグナル強度の、少なくとも1つの他のシグナル強度に対する比として特徴付けられる。それは確定配列領域内の、亜硫酸水素塩処理によってハイブリダイゼーション挙動が(チミンのハイブリダイゼーション挙動へと)変化した非メチル化シトシン塩基の、ハイブリダイゼーション挙動の変化の有無を問わない諸々の非メチル化シトシン塩基に対する比であるのが好ましい。考慮すべき該領域は増幅産物の全鎖長またはその一部分だけを含んでもよいし、またセンス鎖とその逆相補鎖の両方を利用することができる。

【0178】

シグナル強度を標準化するための標準化係数の計算および変換率の計算はシグナル強度に関する正確な知見を基礎とする。そうした知見は可能な限り正確であるのが好ましい。

エレクトロフェログラムは単位時間当たりの検出シグナル数を反映する曲線であるが、該シグナル数自体は(DNA配列決定法の固有の特性としての)2塩基間の空間的距離を反映す

る。従って、シグナル強度とそのシグナルを支える分子の数とはピーク下(すなわちこの曲線の極大値の下)面積によって計算することができる。考慮される面積は、この曲線を積分することによって最もよく表現される。そうした面積値は積分の極限 X_1 および X_2 により求められるが、 X_1 は極大値の左に位置し、 X_2 は極大値の右に位置する。

【0179】

ESMEのもう1つの基本的な特徴は、実際のメチル化の数字 f_{MET} を与えてくれる点にある(「実際の」は変換率をたとえば95%と想定した場合よりも現実に著しく近い場合をいう)。標準化シグナル強度と変換率 f_{CON} (該標準化シグナル強度を考慮して求められる)はどちらも、問題のシトシン位置の実際のメチル化度(レベル)の計算に使用される。

【0180】

好ましい実施態様によれば、メチル化率のレベルはゲノムを代表する全CpG位置についてESMEまたはその同等物により計算され、その情報はヒト・ゲノム配列の最新の集合において対応する位置に関連付けられ、また組織および疾患状態に応じて分類される。好ましい実施態様では、この情報はさらなる研究に利用される。特に好ましい実施態様では、この情報は特定の細胞タイプに由来するDNAの特異的マーカーをもたらすために直接利用される(実施例1を参照)。

【0181】

メチル化データはその定量的側面を含めて、使いやすい2次元マトリックスで簡単に表され、識別パターンの即座の特定が可能になる。たとえばゲノム内のCpG位置の場所は一方の軸に沿って表され、サンプルタイプは他方の軸に沿って現される。表現型が合い異なるサンプルタイプを並べてグループ化すると、メチル化差異は2軸によって形成されるフィールド内に表示することができる。この視覚化された表示によりメチル化可変位置(MVP)の(たとえば目視による)特定が可能になるし、また有効なマーカーとして使えるROIの選択も容易になる。メチル化可変位置(すなわち表現型が相異なる細胞タイプ様々な群間でメチル化差異を示すCpG位置)の正確な場所は、こうした表示を使用すれば、容易に開示し分析することができる。

【0182】

有用性

本発明の実施態様は技術開発者、医薬品研究者、法医学専門家などを非限定的に含むDNA分析に関わる任意の研究者には具体的かつ多大な実用性を有する。本発明の方法および手段はたとえば体液から検出されたDNAまたは犯罪現場で発見されたDNAの由来源、もっと具体的に言えばDNAの由来源としての臓器または組織タイプを特定するうえできわめて有用である。

【0183】

追加の実施態様では、本発明のマーカーは適切な集合としてチップ表面に配置し、大きな数のMVPの特異的なメチル化度(レベル)を同時に検出するために使用する。この場合の用語「適切な」は、使用マーカーの特異性および取り上げる問題との相関によって決まる。そうした実施態様は、DNAの由来源を一切の予備知識無しに特定しなければならない場合に特に有用である。これらの場合にはメチル化度分析の対象とされるマーカーの集合はフィンガープリントまたはパターンを生成し、結果としてDNAの由来源の正確な特定につながる。

【0184】

しかしながら、本発明によれば、当面の課題が問題になっている2つの特定組織間の識別にあるのなら、単一マーカーROIの使用で間に合うことも多い。同様に、2、3種のマーカーROIの分析だけで明白な結論を導き出すための十分な情報が得られる場合には、特定位置のメチル化レベルの決定を可能にするような、任意のメチル化分析アッセイ法で十分である。そうしたアッセイ法は、情報を与えてくれるMVPが適切な認識モチーフ配列内にある限りで、メチル化感受性制限酵素アッセイに基づくものでもよい。あるいは、亜硫酸水素塩処理DNAまたはメチル化および非メチル化シトシンを識別するための他の前処理を受けたDNAに依存するアッセイ法でもよい。前処理DNAは次に、配列決定法または亜硫酸水

10

20

30

40

50

素塩配列決定法(たとえばパイロシーケンシング法またはMS-SNuPE(登録商標)法)で分析することができる。前処理DNAはまた、メチル化特異的ライゲーションアッセイ法、メチル化特異的プライマーによる増幅(MSP)、メチル化特異的ブロッカーを使用する増幅()、またはPCR産物のメチル化特異的検出(MethyLight)(登録商標)法)、あるいはこれらの任意の組み合わせによって分析してもよい。

【0185】

いわゆるHeavyMethyl(登録商標)(HM)アッセイ法は少なくとも1つのブロッキングオリゴマーの使用を含むが、該オリゴマーは核酸またはペプチド核酸分子であり、前処理前はCGジヌクレオチドであったCG、TGまたはCAジヌクレオチドを含む配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長9ヌクレオチド以上の連続配列を各々含み、また該核酸は標的配列とのハイブリダイゼーションにより標的配列の増幅を妨げる。

【0186】

このブロッキングオリゴマーは各々その5'末端で修飾を受け、5'-3'エキソヌクレアーゼ活性を有する酵素による分解を妨げるのが好ましい。該オリゴマーは各々3'ヒドロキシル基を欠くのが好ましい。

【0187】

これらのメチル化アッセイ法はみな技術上周知である。

本発明は少なくとも部分的には、種々のサンプルタイプを対象としたいくつかのゲノム領域のメチル化レベルの定量的測定を高速大量処理方式で行い、その結果として容易に特定しうるバイオマーカーを得ることが可能であるとの発見に依拠している。

【0188】

本発明は従って、一実施態様で、ヒト・ゲノム内のかなり多数のメチル化可変位置(MVP)を特定することにより全ゲノムのメチル化地図(エピゲノム地図)生成するための方法を提供するが、該方法は次のような数ステップを含む:

【0189】

第1に、表現型を異にする多数の生体サンプルを採取するが、そうしたサンプルは異なるタイプの組織、臓器、体液または細胞に、または異なる疾患を患う患者に、同じ疾患を患うが病期の異なる患者に由来してよいし、またゲノムDNAを含むことを特徴とする。

【0190】

第2に、該ゲノムDNAを、単離および/または精製の前または後に、非メチル化シトシンは修飾するが、メチル化シトシンはまた区、または少なくとも同様には修飾しない一薬品または一連の薬品に接触させて前処理する。

【0191】

第3に、ゲノムの全体または特定部分を代表し各々少なくとも1つのCpG位置を含むゲノム領域セグメントを増幅するが、CpG位置はステップ2で前処理を行う前にはCGジヌクレオチドであったCGまたはTGジヌクレオチドの位置であり、また該増幅は前処理した核酸を鋳型として、当初メチル化および当初非メチル化DNAを識別しないプライマー分子を使用し行う。このステップは表現型を異にする問題の生体サンプルのタイプごとに別々に行う。

【0192】

第4ステップでは、該増幅前処理核酸を配列分析する。

第5ステップでは、各タイプの生体サンプルに由来する配列トレース(たとえばエレクトロフェログラム)を分析して、いくつかの特定CpG位置の定量的メチル化レベルを決定し、以ってゲノムの全体または特定部分にわたるメチル化レベルのパターンを生成させる。

次に、いくつかの特定CpG位置の該定量的メチル化レベルを少なくとも2タイプの生体サンプルの異なる群の間で比較し、メチル化可変位置(MVP)を特定するが、MVPはCpG位置を含み、そのメチル化レベルの、異なる生体サンプル・タイプ間の差異を検出することができる。

【0193】

10

20

30

40

50

いくつかの特定CpG位置の定量的メチル化レベルを決定するステップは配列トレースの分析に使用されるソフトウェアプログラムまたはその機能的同等物の根底にあるアルゴリズムおよび基本思想を含むのが好ましい。

【0194】

好ましくは、ステップ2の前処理は非メチル化シトシンのウラシルへの変換を含むが、メチル化シトシンは該前処理によって変換されない。

【0195】

また、ステップ2の一薬品または一連の薬品は亜硫酸水素塩試薬を含むのが好ましい。あるいは、ステップ2の一薬品または一連の薬品はシチジンデアミナーゼなどのような酵素を含むのが好ましい。

ステップ3で選択されるゲノムDNAセグメントは遺伝子の5'調節領域に、またはその近くに位置するのが好ましい。

増幅ステップはPCR法によるのが特に好ましい。

【0196】

さらに、本発明の実施態様は核酸またはオリゴマーを含むが、該核酸またはオリゴマーはSEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列からなる群より選択される、前処理したゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、またメチル化可変位置を少なくとも1つ含む。

【0197】

これらのヌクレオチドおよびオリゴマーは、たとえばメチル化対非メチル化ヌクレオチドの比を検出するような配列分析または他の定量化アッセイ法[たとえば少なくとも1つのMVPを含むメチル化感受性プライマー分子を使用するMSPアッセイ法、または(国際公報第W00 02/072880号明細書で開示されているような)メチル化感受性ブロッキングオリゴヌクレオチドを使用するHeavyMethyl(登録商標)アッセイ法、またはメチル化感受性検出用オリゴヌクレオチドを使用するMethyLight(登録商標)アッセイ法]において該MVPのメチル化レベルを分析するのにきわめて有用である。

【0198】

本発明の別の実施態様は、核酸増幅産物の生成を可能にする2個オリゴマーセットを含むが、第1オリゴマーはSEQ ID NOS: 1~136からなる群より選択される、前処理したゲノムDNA配列と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含み、また第2オリゴマーは各々、SEQ ID NOS: 1~136からなる群より選択される、前処理したゲノムDNA配列と基本的に同じである鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む。

【0199】

たとえばSEQ ID NO: 1のポリヌクレオチド位置によって示されるような(ヌクレオチド数表示の)鎖長Xの本発明オリゴヌクレオチドの例は、鎖長Xの連続重複オリゴヌクレオチドの(たとえばセンス鎖とアンチセンス鎖の)集合に対応するオリゴヌクレオチドであり、(任意のX値に対応する)各連続重複集合内のオリゴヌクレオチドはヌクレオチド位置からZオリゴヌクレオチドの有限集合として定義される:

$n \sim (n+(X-1));$

式中 $n=1, 2, 3, \dots (Y-(X-1));$

式中YはSEQ ID NO:1の鎖長(ヌクレオチド数または塩基対数)(2,500);

式中Xは集合内の各オリゴヌクレオチドの共通鎖長(ヌクレオチド数)(たとえば連続重複20マーの集合なら $X=20$); また

鎖長Yの任意のSEQ ID NO:1に対応する鎖長Xの連続重複オリゴマーの数(Z)は $(Y-(X-1))$ に等しい。たとえば $X=20$ であるSEQ ID NO:1のセンス鎖またはアンチセンス鎖の集合では $Z=2$

10

20

30

40

50

,500-19=2,481となる。

【0200】

特定の実施態様では、好ましい集合は少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチドを含むオリゴマーに限られる集合である。

本発明の20マー・オリゴヌクレオチドの例は2,418オリゴマーのうちの次の、SEQ ID NO: 1に関するポリヌクレオチド位置で示す集合(およびアンチセンス相補鎖の集合)である: 1~20、2~21、3~22、4~23、5~24、……2,480~2,498、2,481~2,499および2481~2,500。

【0201】

特定の実施態様では、好ましい集合は少なくとも1つのCpG、tpGまたはCpaジヌクレオチドを含むオリゴマーに限られる集合である。 10

本発明はSEQ ID NO: 1~SEQ ID NO: 136(センス鎖とアンチセンス鎖)の各々について、鎖長X以上のオリゴヌクレオチドまたは修飾オリゴヌクレオチドの多数の連続重複集合を包摂する。この場合、Xはたとえば9、10、17、18、20、22、23、25、27、30または35ヌクレオチドである。

【0202】

本発明のオリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドを1つまたは複数の化合物残基および複合体に結合させることにより修飾して、該オリゴヌクレオチドの活性、安定性または検出を高めるようにすることもできる。そうした化合物残基および複合体は発色団、蛍光体、脂質たとえばコレステロール、コール酸、チオエーテル、脂肪族鎖、リン脂質、ポリアミン、ポリエチレングリコール(PEG)、パルミチル基、および他の、たとえば米国特許第5,514,758号、第5,565,552号、第5,567,810号、第5,574,142号、第5,585,481号、第5,587,371号、第5,597,696号および第5,958,773号の各明細書で開示されているものなどを含む。プローブは特に好ましい対合特性をもつPNA(ペプチド核酸)の形で存在してもよい。従って、該オリゴヌクレオチドはペプチドなどのような他の追加群を含んでもよいし、またハイブリダイゼーションを誘因とする切断剤(Krol et al., BioTechniques 6:95 8-976, 1988)、またはインターカレート剤(Zon, Pharm. Res. 5:539-549, 1988)を含んでもよい。この目的のために、該オリゴヌクレオチドは別の分子たとえば発色団、蛍光体、ペプチド、ハイブリダイゼーションを誘因とする架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーションを誘因とする切断剤などと結合させてもよい。 20 30

【0203】

該オリゴヌクレオチドはまた、技術的に承認されている少なくとも1つの修飾糖および/または塩基鎖を含んでもよいし、また修飾された骨格または非天然型ヌクレオシド間結合を含んでもよい。

好ましい実施態様では、オリゴヌクレオチド集合の少なくとも1つの、またもっと好ましくはすべての、メンバーを固相に結合する。

【0204】

特定の実施態様では、本発明に従って作製される種々のオリゴヌクレオチドおよび/またはPNA-オリゴマーの配置(いわゆる「アレイ」)もまた同様に固相に結合して提示するのが好ましい。種々のオリゴヌクレオチド-および/またはPNA-オリゴマー-配列のそうしたアレイは、たとえば固相上に四角形または六角形の格子状に配置されることを特徴としてもよい。該固相表面は好ましくはケイ素、ガラス、ポリスチレン、アルミニウム、銅、鉄、銅、ニッケル、銀、または金からなるのが好ましい。しかし、ペレットの形であるいは樹脂母材としても存在しうるようなニトロセルロースやプラスチックたとえばナイロンを使用してもよい。 40

【0205】

従って本発明は、さらなる実施態様で、たとえば細胞または組織タイプの特特定あるいはある細胞または組織タイプ他タイプからの識別に関連する分析のための、担体材料に固定したアレイの製造方法であって、本発明に従う少なくとも1つのオリゴマーを固相に結合させることを特徴とする方法を提供する。そうしたアレイの製造方法は固相化学および 50

光解離性保護基の使用によるものが周知であり、また米国特許第5,744,305号明細書などで開示されている。

【0206】

本発明はさらに、たとえば細胞または組織タイプの特特定あるいはある細胞または組織タイプの他タイプからの識別に関連する分析のための、DNAチップを提供する。DNAチップは周知であり、また米国特許第5,837,832号明細書などで開示されている。

【0207】

特に好ましいのは、基本的にSQE ID NO: 137~SEQ ID NO: 204からなる群より選択される配列のうちの1つからなる核酸またはオリゴマーである。これらの好ましい核酸分子は実施例1でプライマーとして使用し、少なくとも2つのMVPを含む増幅産物を生成させたが、それは増幅産物配列の決定による組織の鑑別に使用することができる。

10

【0208】

本発明の別の実施態様はある特定タイプの細胞を、特定の他タイプの細胞群から、被検核酸の由来源として特定するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NO: 205、鎖長16連続ヌクレオチド(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド)以上のその断片、およびSEQ ID NO: 205と、または鎖長16連続ヌクレオチド(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド)以上のその断片と相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような配列からなる群より選択される任意のMHC配列内の1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはメチル化レベルの決定を含む。

20

【0209】

好ましくは、該メチル化状態またはメチル化レベルの分析および決定は、SEQ ID NOS: 1~136またはその相補配列からなる群より選択され前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーを使用することによって行う。

【0210】

特に好ましくは、該メチル化状態またはメチル化レベルの分析は、SEQ ID NOS: 1~136およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーを使用することによって行うが、該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置を含むことを特徴とする。

30

また、該メチル化状態またはメチル化レベルの分析は、メチル化感受性制限酵素アッセイ法の使用およびSEQ ID NO: 1~136に対応する34のゲノム核酸配列またはその断片のうち1つまたはいくつかの使用を含む方法で行うのが好ましいが、該ゲノム配列は少なくとも1つのCpG位置を含むことを特徴とする。

【0211】

本発明の別の実施態様は、肝DNA、細胞または組織を特定するための、または肝細胞を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 1, 2, 69, 70; 7, 8, 75, 76; 9, 10, 77, 78; 11, 12, 79, 80; 13, 14, 81, 82; 25, 26, 93, 94; 35, 36, 103, 104; 37, 38, 105, 106; 51, 52, 119, 120; 53, 54, 121, 122; 59, 60, 127, 128; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

40

【0212】

50

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、脳DNA、細胞または組織を特定するための、または脳細胞を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; 17, 18, 85, 86; 49, 50, 117, 118; 61, 62, 129, 130; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

10

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

【0213】

本発明の別の実施態様は、乳DNA、細胞または組織を特定するための、または乳細胞を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 3, 4, 71, 72; 5, 6, 73, 74; 15, 16, 83, 84; 23, 24, 91, 92; 41, 42, 109, 110; 65, 66, 133, 134; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

20

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

【0214】

本発明の別の実施態様は、筋DNA、細胞または組織を特定するための、または筋細胞を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 15, 16, 83, 84; 43, 44, 112, 113; 47, 48, 115, 116; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

30

【0215】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、肺DNA、細胞または組織を特定するための、または肺細胞または組織を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 31, 32, 99, 100; 43, 34, 101, 102; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

40

【0216】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、乳または肺DNA、細胞または組織を特定するための、または乳または肺細胞または組織を、特定の他タイプの細胞または組織群から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 45, 46, 113, 114; 63, 64, 131, 132; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または

50

中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

【0217】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、肺細胞または組織を筋細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 55, 56, 123, 124; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

10

【0218】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、脳、乳および筋細胞または組織を肝、肺および前立腺細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 19, 20, 87, 88; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

20

【0219】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、脳、乳および筋細胞または組織を肺および前立腺細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 29, 30, 97, 98; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

30

【0220】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、肝、乳および筋細胞または組織を脳および肺細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 21, 22, 89, 90; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

40

【0221】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、肝および筋細胞または組織を脳および乳細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 27, 28, 95, 96; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程

50

度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

【0222】

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

本発明の別の実施態様は、脳、肝および肺細胞または組織を前立腺および乳細胞または組織から、被検核酸の由来源として識別するための方法を含むが、該方法はSEQ ID NOS: 39, 40, 107, 108; およびその相補配列に従う前処理ゲノムDNAと相補的であるような、または中程度にストリンジェントなあるいはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするような、鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を少なくとも1つ含む核酸またはオリゴマーの使用による1つまたは複数のMVPのメチル化状態またはレベルの分析を含む。

該核酸またはオリゴマー配列は少なくとも1つのメチル化可変位置(MVP)を含むのが特に好ましい。

【実施例】

【0223】

(本発明の方法に従って、主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)中のMVPと複数MVPを含むマーカーとを特定した)

本実施例の特定遺伝子座はみな、SEQ ID NO: 205に開示するような主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)内に位置する。

【0224】

クローンDNAは本実施例の目的には使用できない。メチル化情報がクローニングの際に失われるためである。そこで、プライマー設計とMHC内遺伝子の増幅産物の生成のためのプロトコルを開発した。この目的のためにはMHCからの利用可能な配列情報を使用し、また推定可変メチル化情報を含む(遺伝子由来)断片または領域の増幅に使用する特異的プライマーセットを設計した。多重PCR実験で増幅産物を獲得したが、そのために設計したプライマー分子(上文参照)は表1に、SEQ ID NO: 137~SEQ ID NO: 204として記載する(配列表を参照)。

【0225】

表1は前処理DNAの特定領域の増幅に使用したプライマー対のSEQ ID番号(第3欄)をROI識別子(第1欄)に従って列挙している。ROI識別子は(表2にROI SEQ ID番号として示す)配列情報を、これらの領域内の過半数のCpG部位で測定されたメチル化レベルに関する(表3~36および図1~34に示す)情報に、特にこれらの領域内の特定メチル化可変CpG部位(MVP)のメチル化レベルに関する情報に、結び付ける。

【0226】

表1の第2欄は被検ゲノム配列に関連する遺伝子の名前を示すが、ROIは該遺伝子内に、またはその5'末端近くに位置するという意味である。遺伝子名が知られていない場合には、代りにゲノムクローン名を示す。プライマーで増幅する領域は本明細書で開示するように、1つまたは複数のMVP(すなわちメチル化差意を示すCpG位置)を含む。表1の最後2つの欄は各特定プライマー対に対応する鋳型として使用することができる該ROIの2本鎖の各SEQ ID番号である。

【0227】

【表 1】

表 1:

R01 識別子	関連 遺伝子名	プライマー SEQ ID	図/表 番号	鎖	アップ/ダウンメチル 化R01 SEQ ID内に位置 する増幅産物	
3083	BF	137	1	BISU2	2	70
		138	3			
3084	BF	139	2	BISU2	4	72
		140	4			
3091	C2	141	3	BISU2	6	74
		142	5			
3093	C4B	143	4	BISU1	7	75
		144	6			
3094	C4B	145	5	BISU2	10	78
		146	7			
3103	CYP21A2	147	6	BISU2	12	80
		148	8			
3104	CYP21A2	149	7	BISU1	13	81
		150	9			
3105	DAXX	151	8	BISU1	15	83
		152	10			
3107	DDAH2	153	9	BISU1	17	85
		154	11			
3110	DDR1	155	10	BISU2	20	88
		156	12			
3113	DOM3-Z	157	11	BISU2	22	90
		158	13			
3127	G6d	159	12	BISU2	24	92
		160	14			
3129	G7a	161	13	BISU2	26	94
		162	15			
3145	HLA-A	163	14	BISU2	28	96
		164	16			
3152	HLA-DMA	165	15	BISU1	29	97
		166	17			
3170	HLA-DRB3	167	16	BISU2	32	100
		168	18			
3192	MICB	169	17	BISU2	34	102
		170	19			
3200	NG22	171	18	BISU1	35	103
		172	20			

【表 2】

ROI 識別子	関連 遺伝子名	プライマー SEQ ID	図/表 番号	鎖	アップ/ダウンメチル 化ROI SEQ ID内に位置 する増幅産物	
3208	PBX2	173	19	BISU1	37	105
		174	21			
3239	TAPBP	175	20	BISU1	39	107
		176	22			
3243	TNF	177	21	BISU2	42	110
		178	23			
3244	TNXB	179	22	BISU2	44	112
		180	24			
3252	ZNF297	181	23	BISU2	46	114
		182	25			
3265	dj570F3	183	24	BISU2	48	116
		184	26			
3291	BTNL2	185	25	BISU2	50	118
		186	27			
3312	SKIV2L	187	26	BISU2	52	120
		188	28			
3329	C2	189	27	BISU1	53	121
		190	29			
3330	ABCB2	191	28	BISU1	55	123
		192	30			
3347	dj570F3	193	29	BISU2	58	126
		194	31			
3348	DDX16	195	30	BISU2	60	128
		196	32			
3364	TNXB	197	31	BISU2	62	130
		198	33			
3374	RAB2L	199	32	BISU2	64	132
		200	34			
3377	BAT2	201	33	BISU2	66	134
		202	35			
3382	DDX16	203	34	BISU1	67	135

【0229】

しかし、表1のプライマー分子リストは該方法の範囲をこれらのプライマー分子の使用に限定するものと解されてはならない。むしろ、該リストは実施例を説明し可能にしようとするものである。当業者には自明であろうが、他の亜硫酸水素塩処理鎖(たとえばBISU2)を、好ましくはPCR法によって、増幅するプライマー分子もまた、これらのゲノム領域内のまったく同じCpGのメチル化レベルを分析する手段を提供してくれる。従って、そうした他鎖の増幅の使用もまた、たとえその配列が表1に明記されていないとしても、可能である。

【0230】

本発明のさらなる実施態様はROI(関心領域)の増幅に使用するプライマーおよびプライマーセットを含むが、その土台となるのはゲノム領域MHCの開示、ROIのBISU 1(またはBISU 2)の開示によるROIの明細、および記載のMVPを含むセグメントのバイアスのない増幅を実現するためにこれらのプライマーを最適設計する方法の開示である。

特に好ましいプライマー対は表1に示すとおりである。

【0231】

得られたPCR増幅産物は前述のような、高速大量処理の亜硫酸水素塩DNA配列分析およびメチル化分析法にかけた。

この実施例では、32タイプのサンプルについて253ゲノム領域を増幅し順逆両方向に配列分析して、16,192以上の読み取り配列が得られた。これらの読み取りのトレースファイルをESME(前述)で分析して、(前立腺、筋、肺、肝、脳および心の)6組織の全3,302 CpG位置のメチル化レベルを決定し、メチル化可変位置(MVP)候補を特定した。

【0232】

各増幅産物は当初のPCRプライマーを用いて両末端から一度に亜硫酸水素塩配列を分析した。これには最大限の精度を確保するためABI Prism(登録商標) BigDye ターミネーター標識法および3700/3730キャピラリーシー型ケンサーを用いた。個別の読み取りはPHREDアルゴリズムを使用してベースコールするが、該アルゴリズムは各塩基について質の高い値を与えてくれる。この内部品質試験をパスした亜硫酸水素塩配列はESMEソフトウェアで分析した。生の配列分析データは校正し標準化した。

【0233】

このMHC研究で例亜硫酸水素塩配列決定法により特定されたMVPの例は図36に示す。2タイプの健康な組織を分析した。左の配列トレースは健康な肺組織から単離したDNAのものであり、関心シトシンがメチル化されている。右のトレースは健康な脳組織から単離したDNAのものであり、対応するシトシン位置はメチル化されていない。亜硫酸水素塩配列決定法はゲノムDNAの亜硫酸水素塩処理により非メチル化シトシンをすべてウラシルに変換することを基礎とする。従って配列トレースでは、非メチル化シトシンはTとして、またメチル化CはCとして、それぞれ現れる(図36参照)。

【0234】

特定CpG部位で求められたメチル化レベルを表3~36に百分率で示す。しかし、さらにデータを分かりやすく視覚化するために、6つのサンプルタイプに応じて約25のサンプルの各被検位置のメチル化レベルを濃淡マトリックスでも示した(図1~34)。濃淡の度合いは図35で示すようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。表3~36では、これらの位置はNA(該当データなし)とした。

【0235】

表3~36では、ROI配列内の関連CpG位置を示す。各ROIの4種すべての(すなわち完全アップメチル化配列と完全ダウンメチル化配列に対応する4種すべての)亜硫酸水素塩配列は配列表で示しているため、該配列内のMVP位置を含むすべてのCpG位置は容易に特定することができる。特定のROIが有用なマーカーであるかどうかは、図の濃淡表示に対応する表3~36の定量的メチル化レベルを調べれば分かる。組織サンプルおよび被検CpG位置によって決定される特定データポイントの低レベルのメチル化は薄いグレーの四角形で表し、また高レベルのメチル化は濃いグレーで表している。図35は種々のメチル化レベルが図1~34の濃淡とどう相関するかを示す。データポイントは同じ組織に由来するサンプル群として表されるので、どのCpG位置を含むどのROIセグメントが特定の組織または組織群を他から識別するための有効なマーカーとして使用できるかが見極めやすくなる。もしも図1~34でわずか1タイプまたは2タイプの組織に対応する領域の濃淡パターンが残りの組織と比べて明らかに薄いまたは濃いとすれば、このROIは該組織に関するメチル化マーカーであり、特定の実施態様では、実施例6で後述するように、好適なアッセイ法に組織マーカーとして使用することもできる。たまたま、被検DNAの由来源としての組織タイプ次第で、被検10~15位置のうち若干の特定CpG位置に限って異なるメチル化レベルを示す。

【0236】

各CpG位置の鑑別力を示すP値を計算し、やはり表3~36に収めた。しかし、この値は各CpG位置の「指数能」を示すものの、このデータ集合の統計的適切性を説明しようとするも

10

20

30

40

50

のである。メチル化マーカ-の実際の質は最終的には約200~500 bpセグメント内の複数の鑑別的CpG位置の集積によって決定される。特に好ましいのは、近接し合う合計約5つのCpG位置内(合計約5隣接CpG位置内)に3以上のメチル化差意CpG位置を含むセグメントである。

【0237】

マーカ-R0Iが、R0I 3105のように、各々独立に異なる組織間または異なる組織群間の鑑別に使用しうるような2つの異なるセグメントからなる場合には、各CpG位置につき2つの異なるP値が与えられる。

メチル化パターン分析の目視検査によって、従って有用性の最初の印によって、特定されたR0Iの例を表2に示す。

10

【0238】

たとえば図8はR0I 3105の増幅産物3105中に位置するCpGのメチル化レベルを示す。左手側の数字は該増幅産物中の被検CpGの位置を示す。たとえば3105_45は、該CpGのシトシンは増幅産物3105の5'末端から45番目のヌクレオチドであることを示す。増幅産物内の該MVPの位置(たとえば表10のCpG識別子欄に示すR0I 3105増幅産物内のMVP位置)は表3~36および図1~34のCpG識別子欄に示す。R0I 3105内の増幅産物3105の位置は増幅用プライマーの結合位置によって決まる。記載のR0I 3105に関するプライマー対(SEQ ID NO: 151とSEQ ID NO: 152)は表1に示すようにR0I SEQ ID NO: 15またはR0I SEQ ID NO: 83のいずれかでプライミングする。増幅鎖の最初のコピーとハイブリダイズするプライマー、従って亜硫酸水素塩配列自体と同じプライマーは通常、R0I内の増幅配列の始まりの印となるため、順方向プライマーという。このプライマーの最初のヌクレオチドの位置はR0I内の増幅産物の先頭であり、やはり表2に示す。従って、R0I(SEQ ID NOで開示される)内のMVPの位置はこれら2つの数字を足すだけで簡単かつ正確に特定することができる。

20

【0239】

加えて、R0I内の各CpGおよびMVPの明示の位置も表3~36に示す。

【0240】

【表 3】

表 2:

ROI 識別子	ROI SEQ ID アップ		ROI SEQ ID ダウン		図 番号	増幅産物 の先頭	識別対象	排除対象他 タイプ
3083	1	2	69	70	1	414	肝	全
3084	3	4	71	72	2	976	脳	全
3084	3	4	71	72	2	976	乳	全
3091	5	6	73	74	3	1667	乳	全
3093	7	8	75	76	4	1098	肝	全
3094	9	10	77	78	5	470	肝	全
3103	11	12	79	80	6	1711	肝	全
3104	13	14	81	82	7	1743	肝	全
3105-1	15	16	83	84	8	255	乳	全
3105-2	15	16	83	84	8	255	筋	全(乳を除く)
3107	17	18	85	86	9	278	脳	乳、肺
3107	17	18	85	86	9	278	乳、肺	全
3110	19	20	87	88	10	1901	脳、乳、筋	肝、脳、前立腺
3113	21	22	89	90	11	19	乳、肝、筋	脳、肺
3127	23	24	91	92	12	1731	乳	全
3129	25	26	93	94	13	1900	肝	全
3145	27	28	95	96	14	618	肝、筋	乳、脳
3152	29	30	97	98	15	1795	脳、乳、筋	肺、前立腺
3170	31	32	99	100	16	1688	肺	全
3192	33	34	101	102	17	346	肺	全(脳を除く)
3200	35	36	103	104	18	1861	肝	全
3208	37	38	105	106	19	696	肝	全
3239	39	40	107	108	20	585	乳、前立腺	脳、肺、肝
3243	41	42	109	110	21	1519	乳	全
3244	43	44	111	112	22	101	筋	全
3252	45	46	113	114	23	701	乳、筋	全
3265	47	48	115	116	24	654	筋	全
3291	49	50	117	118	25	205	脳	全
3312	51	52	119	120	26	1427	肝	全
3329	53	54	121	122	27	1099	肝	全
3330	55	56	123	124	28	1988	肺	筋
3347	57	58	125	126	29	1875	筋、脳	全
3348	59	60	127	128	30	1556	肝	全
3364	61	62	129	130	31	1888	脳	全
3374	63	64	131	132	32	941	乳、筋	全
3377	65	66	133	134	33	2006	乳	全
3382	67	68	135	136	34	1191	脳、乳	全

【0241】

組織タイプの識別という点での(対応ROI内)の該MVPの実用性は、図1~34の検討および表3~36(後掲)から決定しうる。

【0242】

こうして、たとえば特定組織同士を識別しそうなCpG位置の数に応じてROIにスコアを付けることができる。ROIはそこに含まれる識別力のあるMVPの数が多ければ多いほどよい。ROIにスコアを付けるもう1つの方法は、そうしたマーカーのうち隣接または近接MVPを含むものを高スコアにする方法である。細胞タイプまたは組織タイプの特定、鑑別または識

10

20

30

40

50

別に最も有用なROIを特定する第3の方法は、表3～36のデータを使用して、異なるメチル化レベルのP値を計算する方法である。

【0243】

特に有用な各MVPとその格別の実用性は表37～70(後掲)に示す。これらのMVP、およびMVPの5'末端側と3'末端側にそれぞれ3個の塩基を含む鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を含むヌクレオチド配列は本発明の好ましい実施態様である。特に好ましいのは、表37～70に示すような「優良マーカ位置」(P値0.05未満)とみなされるMVPを含むオリゴマーである。しかし、ここで示すP値は主にある組織の、それ以外の全タイプの組織サンプル群からの鑑別に関して計算してある。たとえばROI 3091のP値は乳組織サンプルのメチル化レベルを、それ以外の全サンプルのメチル化レベルと比較して計算しているが、乳組織サンプルを肝組織サンプルだけと比較するように計算するほうがましだったかもしれない。従って、こうした選択は本発明の範囲をP値0.05未満のMVPだけに限定するものと解されてはならない。

10

【0244】

加えて、これらのMVPを含む該配列の、際立ったメチル化パターンを示す組織の特定を目的とした使用は本発明の好ましい実施態様である。特に好ましいのは、該MVPを含むような、特にMVPの5'末端側と3'末端側にそれぞれ3個の塩基を含む鎖長16ヌクレオチド以上(または18、20、22、23、25、30または35ヌクレオチド以上)の連続塩基配列を含むような核酸およびオリゴマーである。

【0245】

以下は表3～36、および表37～70である。

20

【0246】

表3 (3083) (その1):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3083: 28	442	0.91	1	0.49	1	0.5	1	NA	1
3083: 31	445	1	1	1	1	0.55	1	NA	1
3083: 40	454	1	1	NA	NA	1	1	NA	1
3083: 55	469	1	1	1	1	0.76	1	0.81	0.83
3083: 61	475	1	1	0.45	NA	1	1	NA	0.73
3083: 95	509	0.65	1	NA	0	1	0.75	NA	0.61
3083: 122	536	1	1	1	1	0.87	1	NA	1
3083: 143	557	1	0.5	NA	0.5	1	0.5	NA	1
3083: 161	575	1	1	0.75	NA	0.96	1	NA	0.87
3083: 202	616	1	1	1	1	1	1	1	1
3083: 216	630	1	0.83	0.87	0.83	1	0.91	0.84	0.94
3083: 235	649	0.92	1	0.51	1	0.88	1	1	1
3083: 250	664	0.6	NA	0.47	NA	0.79	0.69	0.46	0.92
3083: 262	676	0.92	0.62	0.79	0.57	1	0.85	0.63	0.69
3083: 265	679	1	0.8	0.63	0.82	1	0.95	0.91	0.95
3083: 269	683	0.8	0.61	0.61	0.6	0.69	0.55	1	0.75
3083: 294	708	0.86	0.72	0.21	0.59	0.93	0.17	NA	0.74
3083: 299	713	NA	NA	0.22	NA	1	0.44	NA	NA

40

【表 5】

表3 (その2) :

CoG識別子	ROI内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3083: 28	442	1	0.5	1	1	0.29	0.15	0.5	0.5	0.82	NA	0.65	
3083: 31	445	0.5	1	NA	1	0.8	0.55	0.42	0.5	1	NA	1	
3083: 40	454	1	1	1	1	0.3	0.31	1	1	1	1	1	
3083: 55	469	1	1	0	1	1	0.24	0.11	1	0.83	1	0.86	
3083: 61	475	0.43	1	NA	1	1	0.14	0.41	1	1	1	1	
3083: 95	509	0.4	0.78	0.42	0.8	0.86	0.094	0.16	1	1	0.8	0.69	
3083: 122	536	1	1	1	0.93	1	0.23	0.11	0.88	0.96	0.93	0.75	
3083: 143	557	1	1	NA	1	1	0.66	0.14	1	1	1	1	
3083: 161	575	0.83	0.97	NA	1	0.95	0.44	0.19	0.93	0.92	1	1	
3083: 202	616	1	1	1	1	1	0.68	0.47	1	1	1	1	
3083: 216	630	0.91	1	NA	1	1	0.45	0.12	1	0.97	0.99	1	
3083: 235	649	1	0.94	NA	0.91	0.9	0.11	0.25	0.83	0.91	0.84	0.8	
3083: 250	664	0.54	0.9	NA	0.88	0.91	0.38	0.12	0.8	0.89	0.8	0.82	
3083: 262	676	0.89	0.98	0.42	0.97	0.99	0.38	0.27	0.96	1	0.99	0.93	
3083: 265	679	0.96	0.98	NA	0.98	0.98	0.21	0.21	0.96	1	0.99	0.97	
3083: 269	683	0.38	0.82	0.64	0.87	0.76	0.079	0.052	0.76	0.65	0.81	0.58	
3083: 294	708	0.66	0.94	0.4	0.87	0.91	0.16	0.065	0.94	0.91	0.89	0.73	
3083: 299	713	0.42	1	0.28	0.58	0.99	0.14	0	1	1	0.93	0.84	

【表 6】

表3 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	乳房	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3083: 28	442	1	1	0.39	1	0.5	0.88	1
3083: 31	445	0.86	1	0.6	1	0.5	1	1
3083: 40	454	0.65	1	0.84	NA	1	1	1
3083: 55	469	1	1	0.9	1	0.9	1	1
3083: 61	475	1	1	1	0.5	1	0.8	1
3083: 95	509	1	0.86	1	1	0.9	0.92	1
3083: 122	536	0.89	0.98	1	0.5	1	0.95	1
3083: 143	557	1	0.92	1	1	0.97	0.94	0.95
3083: 161	575	0.95	0.95	1	1	0.93	0.93	0.93
3083: 202	616	1	1	1	1	1	1	1
3083: 216	630	0.91	1	1	1	1	0.9	1
3083: 235	649	0.77	0.97	0.98	1	0.91	0.73	0.94
3083: 250	664	0.71	0.96	0.89	1	0.85	0.9	0.95
3083: 262	676	0.96	1	1	1	0.98	1	0.97
3083: 265	679	0.91	0.97	0.99	1	0.97	0.99	1
3083: 269	683	0.56	0.79	0.7	1	0.96	0.5	0.66
3083: 294	708	0.66	0.81	0.89	1	0.9	0.67	0.89
3083: 299	713	0.74	0.96	1	0.78	0.93	1	0.96

【 0 2 4 9 】

10

20

30

表4 (3084) {その1} :

[illegible]

【表 8】

表4(その2):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳
3084: 41	1017	0.7	0.25	0.68	1	0.51	1	0.29	0.87	0	1	0.85	1
3084: 56	1032	0.69	0.81	0.56	0.78	0.43	0.64	0.61	0.85	1	0.81	0.88	0.84
3084: 69	1045	0.84	1	0.52	0.91	0.63	0.41	0.75	0.88	1	0.87	0.95	0.86
3084: 72	1048	0.84	0.9	0	0.93	0.62	0.95	0.81	0.8	1	0.88	0.88	0.87
3084: 77	1053	1	1	0.67	1	0.62	0.76	0.69	1	1	0.78	0.87	1
3084: 101	1077	1	0.93	0.5	0.87	0.8	0.74	0.88	0.87	1	0.92	0.89	0.92
3084: 201	1177	0.49	0.45	0.45	0.75	0.48	0.72	0.75	0.72	1	0.86	0.64	0.83
3084: 276	1252	0.27	0.19	0.17	0.33	0	0.27	0.35	0.43	0.71	0.64	0.72	0.46
3084: 301	1277	0.81	0.57	0.22	0.4	0.66	0.38	0.55	0.47	0.95	0.8	0.85	0.79
3084: 349	1325	0.097	0.045	0.094	0.11	0.15	0.25	0.4	0.29	0.93	0.64	0.8	0.41
3084: 364	1340	0.09	0.17	0.19	0.19	0.42	0.38	0.21	0.22	0.9	0.71	1	0.83

【表 9】

表5 (3091) (その1) :

CoG識別子	R01内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓
3091: 99	1766	1	1	0.45	1	0.84	0.88	0.78	0.81	0.85	1	0.97	1	1
3091: 159	1826	0.63	0.89	1	1	0.58	0.68	0.49	0.61	0.66	0.5	0.71	1	0.89
3091: 198	1865	1	1	1	1	1	1	1	1	0.86	1	1	1	1
3091: 205	1872	1	0.98	1	1	1	1	0.93	1	1	1	1	0.89	1
3091: 217	1884	1	1	1	0.95	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3091: 241	1908	1	0.96	1	1	0.98	0.82	1	1	1	1	0.91	1	1
3091: 247	1914	1	0.92	1	1	1	0.83	1	1	0.78	1	1	1	1
3091: 257	1924	0.72	0.95	1	0.98	0.72	0.95	1	0.9	0.67	1	0.86	1	0.8
3091: 272	1939	1	1	1	1	0.97	1	1	1	0.95	1	1	1	1
3091: 281	1948	0.89	0.96	1	0.92	1	0.83	1	0.91	1	0.89	1	1	1
3091: 286	1953	1	0.94	1	1	1	0.85	1	0.97	0.67	1	1	1	1
3091: 303	1970	1	1	1	0.94	0.81	0.96	1	0.77	0.67	1	1	1	1
3091: 320	1987	1	1	1	0.18	1	0.72	1	0.88	0.98	1	1	0.87	0.97
3091: 334	2001	0.96	0.85	1	0.94	0.87	0.57	0.94	1	0.77	1	0.98	1	1
3091: 337	2004	1	0.82	0.92	1	0.68	0.81	0.56	0.56	0.67	0.7	0.74	0.91	1
3091: 370	2037	0.89	0.81	0.77	0.82	0.91	1	0.87	0.89	0.64	0.77	1	0.78	0.86
3091: 379	2046	0.95	0.82	1	1	0.97	0.72	1	0.88	0.73	1	0.93	1	0.93
3091: 391	2058	1	1	0.93	1	0.9	0.77	1	0.92	0.46	1	0.93	0.98	0.84
3091: 449	2116	0.45	0.0081	0.37	0.5	0.69	0.98	0.56	0.47	0.54	0.22	0.62	0.36	0.96

【表 1 0】

表5(その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳	脳
3091: 99	1766	1	0.88	0.66	0.88	0.92	0.98	0.93	0.93	1	1	1	0.87	0.97
3091: 159	1826	1	0.55	0.94	0.6	0.23	0.51	0.69	0.77	1	0.41	1	0.63	0.93
3091: 198	1865	1	1	1	1	0.75	1	1	1	1	1	1	0.97	1
3091: 205	1872	1	0.97	0.78	1	0.76	1	1	1	1	0.92	1	1	1
3091: 217	1884	1	1	1	1	0.74	1	1	1	1	1	1	1	1
3091: 241	1908	1	0.91	0.92	0.97	0.83	1	1	1	1	1	0.96	0.83	1
3091: 247	1914	1	0.97	0.95	0.98	1	1	1	1	1	1	0.98	1	1
3091: 257	1924	0.55	0.73	0.55	0.57	0.81	0.91	0.73	0.97	1	0.76	0.94	0.83	0.96
3091: 272	1939	1	1	0.84	1	0.65	1	0.79	1	0.93	0.87	0.87	0.83	1
3091: 281	1948	0.97	0.76	0.82	0.86	0.75	1	1	1	1	0.89	1	0.86	0.92
3091: 286	1953	1	1	0.82	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3091: 303	1970	1	0.86	0.83	0.83	0.87	0.73	0.59	1	1	1	0.88	0.97	1
3091: 320	1987	1	0.94	0.85	0.71	0.68	0.65	0.66	1	1	1	1	1	1
3091: 334	2001	1	0.94	0.9	0.78	1	0.94	1	1	1	1	0.94	0.97	0.91
3091: 337	2004	1	0.57	0.67	0.3	0.79	0.6	0.7	0.92	1	1	1	0.9	0.83
3091: 370	2037	0.84	0.72	0.63	0.59	1	0.85	0.71	0.9	0.38	0.75	0.91	0.71	0.87
3091: 379	2046	1	0.85	0.65	0.61	0.95	0.91	0.82	1	1	0.88	1	0.73	1
3091: 391	2058	1	0.8	0.56	0.65	1	0.79	0.79	1	0.96	0.6	0.98	0.84	1
3091: 449	2116	0.87	0.42	0.64	0.64	0.76	0.55	0.56	0.8	0.79	1	0.52	0.52	0.91

【 0 2 5 3 】

10

20

30

40

【表 1 1】

表6 (3093) (その1) :

CpG識別子	ROI内のMVP位置	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房
3093: 24	1122	NA	0.66	NA	0	0.66	1	0.67	0.14	0.37	0.53	0	1	
3093: 31	1129	NA	NA	NA	0.6	1	1	NA	1	0.32	0.78	0.5	NA	
3093: 39	1137	NA	0.59	0.5	NA	0.76	1	0.9	NA	1	1	0.18	1	
3093: 99	1197	1	1	0.78	0.77	0.97	1	1	1	1	0.82	0.8	NA	
3093: 104	1202	NA	1	NA	0.92	1	1	0.96	NA	1	1	1	NA	
3093: 182	1280	1	1	0.35	0.63	0	NA	1	1	NA	0.17	0	0.41	
3093: 193	1291	1	0.95	1	0.62	0.62	NA	0.93	1	0.41	0.4	0.44	0.85	
3093: 217	1315	1	1	NA	1	1	1	0.92	1	1	NA	0	1	
3093: 232	1330	0.89	0.9	0.34	0.93	0.64	NA	1	0.96	0.58	0.69	0.62	0.88	
3093: 240	1338	1	0.65	0.61	0.93	1	NA	1	0.76	NA	0.84	0.63	0.87	
3093: 247	1345	0.77	0.5	0.51	0.63	0.34	0.78	0.34	0.91	0.71	0.38	0.32	0.7	
3093: 256	1354	0.39	0.6	0.19	0.15	0.8	NA	0	0.6	NA	0.15	0.64	0.33	
3093: 258	1356	1	1	0.64	0.98	NA	1	NA	1	1	0.76	0.74	0.95	
3093: 269	1367	1	0.75	0.41	0.74	1	0	NA	1	0.36	1	0.57	1	
3093: 277	1375	0.84	0.91	0.17	0.93	0.83	0.75	NA	1	0.91	0.43	0.27	0.7	
3093: 319	1417	1	1	0.56	0.98	1	1	NA	1	1	0.89	0.73	1	
3093: 347	1445	0.95	0.96	0.62	0.88	1	1	NA	1	0.94	0.76	0.53	0.45	
3093: 358	1456	0.76	0.45	0	0	0.31	0.43	NA	0.12	0.54	0.18	0	0.32	
3093: 395	1493	1	1	0.6	0.81	1	1	NA	1	1	0	1	1	
3093: 398	1496	1	1	0.65	0.94	1	1	NA	1	1	1	1	1	
3093: 415	1513	1	1	0.73	1	1	1	NA	1	1	1	1	1	
3093: 433	1531	1	1	1	1	1	1	NA	1	1	1	1	1	
3093: 440	1538	1	0.86	1	NA	1	1	NA	1	1	1	0.89	NA	

【0 2 5 4】

10

20

30

40

【表 1 2】

表6(その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳	脳
3093: 24	1122	1	0.61	1	0.67	0.39	1	0.44	0.54	0.94	1	1
3093: 31	1129	1	0.79	NA	0.77	0.35	NA	0.72	1	0	1	0.63
3093: 39	1137	0.72	0.56	1	0.81	0.97	1	0.75	1	0	1	1
3093: 99	1197	0.76	0.85	0.67	0.5	0.89	1	0.89	1	0	1	0.86
3093: 104	1202	NA	1	1	0.5	1	1	1	1	1	1	0.89
3093: 182	1280	NA	0.5	0.56	0.29	1	1	0.39	0.96	NA	0.5	0.89
3093: 193	1291	0.55	0.62	0.66	0.7	0.91	0.66	0.49	1	NA	0.85	0.94
3093: 217	1315	1	0.95	1	1	1	1	1	1	0.23	1	0.8
3093: 232	1330	0.85	0.66	0.77	0.87	0.95	NA	0.85	1	NA	NA	0.92
3093: 240	1338	1	0.57	1	0.88	0.97	1	0.85	0.86	NA	1	0.96
3093: 247	1345	0.75	0.44	0.73	0.77	0.94	0.64	0.39	1	NA	0.62	1
3093: 256	1354	1	0.39	0.46	0.66	0.84	NA	0.8	0.89	NA	0.65	0.76
3093: 258	1356	NA	1	1	1	1	1	0.94	1	NA	NA	1
3093: 269	1367	1	NA	1	1	0.92	1	0.87	0.78	NA	1	0.89
3093: 277	1375	0.77	0.71	0.85	0.86	1	1	0.9	1	NA	0.89	0.98
3093: 319	1417	1	1	1	1	0.92	1	0.97	0.99	NA	1	0.98
3093: 347	1445	0.96	0.94	1	1	0.82	0.95	1	1	NA	1	0.87
3093: 358	1456	0.24	0.24	0.26	0.82	0.42	0.35	0.57	1	NA	0.48	1
3093: 395	1493	0.94	1	0.98	0.5	0.9	1	0.93	0.11	NA	1	1
3093: 398	1496	1	1	1	1	1	NA	0.93	0.54	NA	1	1
3093: 415	1513	1	1	0.96	1	1	1	1	1	NA	1	0.97
3093: 433	1531	0.88	1	1	1	1	1	1	1	NA	1	1
3093: 440	1538	1	0.96	0.86	1	1	NA	1	1	NA	0.9	1

【0 2 5 5】

10

20

30

40

【表 1 3】

CpG識別子	ROI内のMVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉
3094: 79	549	0.85	1	0.91	1	1	1	0.98	1	0.9
3094: 103	573	0.93	1	1	0.62	1	0.75	1	1	1
3094: 118	588	0.4	0.79	0.85	0.97	0.65	0.44	0.95	0.91	0.82
3094: 148	618	0.18	1	0.99	1	1	0.99	1	0.66	1
3094: 151	621	0.63	1	1	1	1	1	1	0.91	1
3094: 155	625	0.48	NA	0.62	0.57	NA	0.48	0.61	0.66	0.72
3094: 162	632	1	0.63	0.66	0.9	0.23	0.89	0.7	0.41	0.65
3094: 169	639	0.72	1	1	1	1	1	1	0.094	1
3094: 195	665	0.15	0.87	0.89	0.95	0.66	0.98	0.83	0.93	0.71
3094: 342	812	0.51	0.33	0.7	1	0.96	0.95	0.86	1	0.82
3094: 393	863	1	1	1	0.82	NA	0.94	0.82	0.78	0.72

表7 (3094) {その1}:

【表 1 4】

表7 (その2) :

CpG識別子	R0I内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3094: 79	549	0.93	0.96	1	1	0.9	1	0.4	0.78	0.93	0.92	1	1	1
3094: 103	573	1	1	1	1	1	0.88	1	0.59	1	1	1	1	1
3094: 118	588	0.85	0.89	0.94	0.81	0.91	0.94	1	0.23	0.94	0.87	1	0.7	0.83
3094: 148	618	0.97	0.98	1	1	1	0.98	0.79	0.56	1	1	1	1	0.96
3094: 151	621	1	1	1	1	1	1	0.67	0.51	1	1	1	1	1
3094: 155	625	0.66	0.6	1	NA	0.61	1	0.88	NA	0.77	NA	NA	NA	0.66
3094: 162	632	0.57	0.77	0.87	0.67	0.83	0.98	0.19	0.12	0.6	0.65	0.82	0.62	0.63
3094: 169	639	0.96	1	1	1	1	1	0.6	0.75	1	1	1	1	1
3094: 195	665	0.8	0.79	1	0.091	0.92	1	0.54	0.36	0.94	0.89	0.96	0.9	0.87
3094: 342	812	0.84	0.97	1	0.37	0.85	0.96	0.86	1	0.82	0.98	0.97	1	0.63
3094: 393	863	1	0.91	0.93	1	0.96	0.85	0.94	0.88	0.92	0.94	0.89	0.92	0.87

【0 2 5 7】

10

20

30

40

【表 1 5】

表7(その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3094: 79	549	0.9	0.5	1	0.92	1	1
3094: 103	573	1	1	1	1	1	1
3094: 118	588	1	0.5	1	0.89	0.87	0.87
3094: 148	618	1	1	0.92	0.97	1	1
3094: 151	621	1	1	1	1	1	1
3094: 155	625	0.9	1	0.61	0.81	NA	NA
3094: 162	632	1	0.91	0.93	0.62	0.7	0.75
3094: 169	639	1	1	1	1	1	1
3094: 195	665	0.94	0.5	0.89	0.89	0.9	0.92
3094: 342	812	1	0.5	0.95	0.79	0.9	1
3094: 393	863	0.95	0.5	1	0.97	1	0.96

10

20

【 0 2 5 8】

30

10

[illegible]

【表 1 7】

表8(その2) :

CoG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3103: 41	1752	0.61	1	0	NA	1	1	NA	1	1	NA	1	0.14	NA	0.36
3103: 47	1758	0.88	0.82	1	1	1	1	0	1	1	NA	1	0.3	1	NA
3103: 76	1787	1	1	1	0.68	0.76	1	1	1	0.93	NA	0.77	1	1	0.5
3103: 89	1800	1	1	1	NA	1	1	1	1	1	NA	0.94	1	1	1
3103: 106	1817	0.64	1	1	1	1	1	1	1	0.55	NA	0.75	0.96	0.94	0.75
3103: 152	1863	0.84	1	1	0.73	1	1	1	1	0.79	NA	0.89	0.83	1	0.9
3103: 163	1874	0.55	0.88	1	NA	0.87	1	1	1	0.68	NA	0.36	0.31	1	0.37
3103: 190	1901	1	0.97	1	0.65	0.98	1	1	1	0.9	NA	0.84	0.43	0.85	0.89
3103: 196	1907	0.91	1	1	0.52	0.98	1	1	1	0.91	NA	0.83	0.93	0.77	0.83
3103: 203	1914	0.58	0.66	1	1	0.48	1	1	1	0.71	NA	0.59	0.46	0.48	0.2
3103: 227	1938	0.62	0.56	1	0.89	0.58	0.8	1	1	0.83	NA	0.69	0.31	0.69	0.53
3103: 231	1942	0.87	0.9	1	0.49	0.9	0.89	1	1	0.88	NA	0.89	0.82	0.79	0.78
3103: 238	1949	0.95	1	1	NA	1	1	1	1	0.66	NA	0.82	0.94	0.9	1
3103: 279	1990	0.57	0.75	0.62	NA	0.74	0.2	1	1	0.78	0.74	0.75	0.62	0.57	0.77
3103: 285	1996	0.47	0.63	0.54	0.24	0.64	0.56	1	NA	0.78	0.056	0.73	0.65	0.76	0.61
3103: 292	2003	0.87	0.9	NA	0.53	0.88	NA	1	1	1	0.75	0.93	0.97	0.88	0.97
3103: 294	2005	0.32	0.54	1	NA	0.56	1	0.86	1	0.5	0.62	0.52	0.52	0.59	0.48
3103: 306	2017	0.83	0.86	0.27	0.4	0.83	0.003	1	NA	0.87	0.56	0.87	1	0.85	0.63
3103: 311	2022	0.9	0.83	1	0.67	0.87	NA	1	1	0.92	0.57	0.86	0.76	0.91	0.88
3103: 317	2028	1	1	1	1	1	1	1	1	0.98	1	0.97	1	0.97	0.96
3103: 319	2030	0.93	0.97	1	NA	1	1	1	1	0.9	1	0.94	0.82	0.96	0.96
3103: 333	2044	0.4	0.6	1	0.22	0.55	1	1	1	0.55	0.53	0.58	0.56	0.53	0.59
3103: 346	2057	0.43	0.5	NA	0	0.78	1	1	NA	0.77	0.64	0.82	0.56	0.76	0.76
3103: 365	2076	0.45	0.56	1	NA	0.34	1	1	NA	0.75	0.23	0.6	0.52	0.67	0.29
3103: 378	2089	0.55	0.45	NA	NA	0.52	1	1	1	0.79	0	0.69	1	0.54	1
3103: 384	2095	0.56	0.56	1	0.5	0.62	NA	1	NA	0.85	0.59	0.77	0.81	0.74	0.55

【0 2 6 0】

10

20

30

40

【表 18】

表8 (その3) :

CpC識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3103: 41	1752	NA	1	NA	1	NA	1	NA
3103: 47	1758	1	0	NA	1	NA	1	0.82
3103: 76	1787	1	1	1	1	1	1	1
3103: 89	1800	1	1	1	1	1	1	1
3103: 106	1817	1	1	1	1	1	1	1
3103: 152	1863	0.87	0.86	0.13	1	0.79	1	1
3103: 163	1874	0.76	0.97	0.12	0.95	0.76	0.39	0.39
3103: 190	1901	0.96	1	1	1	0.75	0.43	0.43
3103: 196	1907	0.93	1	1	1	0.9	0.84	0.84
3103: 203	1914	NA	1	0.91	0.76	0.71	0.28	0.28
3103: 227	1938	0.58	0.78	0.64	0.78	0.69	0.65	0.65
3103: 231	1942	0.93	0.93	1	0.95	0.78	0.96	0.96
3103: 238	1949	0.94	0.84	1	0.91	0.86	0.96	0.96
3103: 279	1990	0.82	0.88	0.98	1	0.72	0.74	0.74
3103: 285	1996	0.5	0.77	0.66	0.68	0.7	0.47	0.47
3103: 292	2003	0.89	0.87	1	1	0.88	0.88	0.88
3103: 294	2005	0.55	0.5	0.022	0.73	0.52	0.75	0.75
3103: 306	2017	1	0.87	0.97	0.9	0.82	0.77	0.77
3103: 311	2022	0.94	0.9	1	1	0.9	0.96	0.96
3103: 317	2028	0.96	0.97	1	1	0.95	1	1
3103: 319	2030	0.95	0.97	0.96	1	0.88	0.98	0.98
3103: 333	2044	0.61	0.7	0.93	0.65	0.65	0.81	0.81
3103: 346	2057	0.76	0.86	0.92	0.39	0.61	0.91	0.91
3103: 365	2076	0.77	1	1	1	0.6	0.65	0.65
3103: 378	2089	0.54	0.5	0.62	0.53	0.67	1	1
3103: 384	2095	0.83	0.85	1	0.93	0.73	1	1

【0261】

【表 1 9】

表9 (3104) (その1) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺	肺
3104: 75	1818	0.54	0	0.96	0.89	0.85	0.96	1	0.93	0.82	1	0.69	1		
3104: 79	1822	0.75	0.93	1	0.86	1	0.89	0.95	0.97	0.95	1	0.45	1		
3104: 132	1875	0.93	0.21	0.86	0.68	0.83	0.019	0.69	0.81	0.85	1	0	0		
3104: 137	1880	1	0.25	0.72	0.75	0.84	NA	0.77	0.91	0.52	1	0.74	0.74		
3104: 245	1988	1	1	1	0.96	0.79	0	0.78	0.9	1	1	0.92	1		
3104: 249	1992	1	1	1	0.96	0.47	1	1	1	1	1	0.71	0.82		
3104: 254	1997	0.92	0	0.66	0.59	1	1	0.48	0.64	0.61	1	0.19	0.33		
3104: 302	2045	0.87	1	1	1	1	NA	1	1	0.96	1	1	1		
3104: 306	2049	1	1	1	1	1	0.47	0.87	0.74	1	1	0.91	0.69		
3104: 333	2076	1	0.97	1	0.72	1	0	0.84	0.47	0.81	0.13	1	1		
3104: 349	2092	1	0.67	0.93	0.75	1	1	0.63	0.55	0.83	1	0.34	0.36		
3104: 361	2104	1	1	1	0.78	0.69	0.65	0.92	1	1	0.5	0.91	1		
3104: 386	2129	NA	1	1	0.87	1	0.86	0.87	0.67	0.92	0.5	1	1		
3104: 425	2168	1	0.96	1	0.68	1	1	1	0.69	0.7	0.63	1	1		
3104: 475	2218	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1	0.92	NA	NA		

【 0 2 6 2 】

10

20

30

40

表9(その2):

CpG識別子	ROI内のMVP位置	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳
3104: 75	1818	0.44	0.15	0.88	0.58	0.82	1	0.86	0.6	0.98	0.98	1	1
3104: 79	1822	0	0.13	0.92	0.77	0.87	0.97	0.99	0.81	1	1	1	1
3104: 132	1875	0.27	0.32	0.28	0.54	0.55	0.72	0.68	0.61	0.73	0.95	1	0.57
3104: 137	1880	0.42	0.41	0.6	0.41	0.43	0.73	0.74	0.6	0.82	0.74	1	0.75
3104: 245	1988	0.75	0.6	0.96	1	1	0.97	0.94	0.92	1	1	1	0.89
3104: 249	1992	0.55	0.61	1	1	0.91	1	1	1	1	1	1	1
3104: 254	1997	0.55	0.31	0.39	0.67	0.49	0.58	1	0.5	0.6	0.94	1	0.78
3104: 302	2045	0.93	1	1	1	0.78	0.95	1	1	1	1	1	1
3104: 306	2049	1	0.76	0.94	0.96	1	1	1	1	1	1	1	0.5
3104: 333	2076	0.64	0.38	0.9	0.85	0.8	1	0.73	0.85	1	1	1	1
3104: 349	2092	0.7	0.49	0.48	0.9	0.66	0.88	0.83	0.56	0.82	1	1	1
3104: 361	2104	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3104: 386	2129	1	1	1	1	1	1	0.72	1	1	1	1	1
3104: 425	2168	0.85	1	0.85	1	1	1	0.79	0.83	0.88	1	1	0.9
3104: 475	2218	NA	1	NA	0.87	NA	NA	NA	NA	NA	0.9	0	NA

【表 2 1】

表10 (3105) (その1):

CpG識別子	ROI内の MNP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3105: 45	300	1	1	1	0.74	1	1	0.75	0.95	1	1	0.5	1
3105: 64	319	0.76	0.51	0.59	1	0.66	0.55	0	0.29	0.23	0.25	0.074	0.42
3105: 73	328	1	1	1	0.61	1	1	0.88	1	1	1	0.97	1
3105: 85	340	1	0.95	1	1	1	1	0.86	0.94	0.92	1	1	1
3105: 97	352	0.87	1	0.42	0.67	0.74	0	0.88	0.9	0.67	0.79	0.68	0.69
3105: 132	387	0.97	1	1	1	0.98	1	0.026	0.86	0.78	1	1	0.94
3105: 136	391	1	0.95	1	0.61	0.94	1	0.075	0.78	1	0.9	0.8	0.96
3105: 151	406	1	1	1	0.73	1	1	0.081	1	1	1	1	1
3105: 163	418	1	0.69	0.74	0.65	0.77	0.08	0.84	0.71	0.76	0.96	0.71	0.92
3105: 172	427	1	1	1	1	1	1	0.86	1	1	1	1	1
3105: 193	448	1	1	1	0.56	1	1	0.73	0.96	1	1	0.91	1
3105: 202	457	1	1	1	0.13	0.98	0.84	0	1	0.9	1	0.84	1
3105: 256	511	0.96	0.94	0.98	0.76	1	0.79	0.91	0.68	0.36	0.7	0.67	0.95
3105: 280	535	1	0.83	0.82	0.77	0.88	0.67	0.95	0.53	0.86	0.26	0.33	0.61
3105: 301	556	0.97	1	0.38	0.5	0.94	0.5	0.95	0.44	0	0.51	0.19	0.45
3105: 337	592	1	0.93	1	1	0.36	0.81	0.85	0.19	0.25	0.38	0.33	0.48
3105: 364	619	1	1	1	0.06	1	1	0	0.9	1	1	0.9	1
3105: 367	622	0.92	0.57	1	0	0.79	1	0	0.14	0	0.18	0.026	0.31
3105: 375	630	1	1	1	0.67	0.93	0.4	0	0.43	0	0.39	0.24	0.92

【0 2 6 4】

10

20

30

40

【表 2 2】

表10 (その2) :

Cp認識別子	R01内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳
3105: 45	300	1	1	1	1	1	1	1	0.5	0.62	0.58	0.74	0.23	0.41	1	1
3105: 64	319	0.77	0.79	1	0.91	0.9	1	0.88	0.2	0.098	0.1	0.79	0.18	0.19	0.9	0.9
3105: 73	328	1	0.94	1	1	1	1	1	0.53	0.61	0.5	0.96	0.53	0.79	1	1
3105: 85	340	1	1	1	1	0.97	1	1	0.66	0.87	0.69	0.71	0.78	0.58	0.72	0.72
3105: 97	352	0.98	0.5	0	1	1	1	1	0.29	0.83	0.26	0.92	0.78	0.75	0.99	0.99
3105: 132	387	1	1	1	0.99	1	1	1	0.32	0.64	0.59	0.92	0.68	0.72	0.98	0.98
3105: 136	391	1	1	0	1	1	1	1	0.53	0.56	0.76	0.83	0.57	0.49	0.96	0.96
3105: 151	406	1	1	1	1	1	1	1	0.71	0.93	0.77	1	0.96	0.93	1	1
3105: 163	418	1	0.9	1	0.82	1	1	1	0.44	0.6	0.39	0.65	0.38	0.48	0.97	0.97
3105: 172	427	1	1	1	1	1	1	1	0.88	0.94	1	1	0.93	1	1	1
3105: 193	448	1	0.97	1	1	1	1	1	0.67	0.9	0.81	0.88	0.69	0.72	1	1
3105: 202	457	1	0.98	1	1	1	1	1	0.63	0.82	0.67	0.94	0.66	0.74	1	1
3105: 256	511	0.87	0.9	1	0.97	1	0.89	0.9	0.41	0.56	0.4	0.87	0.45	0.6	0.95	0.95
3105: 280	535	1	0.6	1	1	0.96	1	1	0.45	0.68	0.33	0.84	0.37	0.5	1	1
3105: 301	556	1	0.77	1	1	0.5	1	1	0.47	0.49	0.62	0.96	0.51	0.74	1	1
3105: 337	592	1	1	1	1	1	0.95	1	0.48	0.62	0.88	0.59	0.38	0.47	1	1
3105: 364	619	1	1	1	1	1	1	1	0.81	0.85	0.84	1	0.81	0.83	1	1
3105: 367	622	0.85	1	1	0	1	1	1	0.24	0	0.42	1	0	0.74	0.93	0.93
3105: 375	630	0.92	0.83	1	0.97	NA	0.94	0.96	0.4	0.29	0.22	1	0.46	0.29	1	1

【0 2 6 5】

10

20

30

40

【表 2 3】

表10 (その3) :

CpC識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3105: 45	300	1	1	1	1	1	0.92
3105: 64	319	0.87	0.027	0.68	0.81	0.8	0.8
3105: 73	328	1	1	1	1	1	0.97
3105: 85	340	0.97	1	1	1	1	1
3105: 97	352	0.91	1	1	0.99	0.93	0.93
3105: 132	387	1	1	0.8	1	0.9	0.9
3105: 136	391	1	1	1	0.97	1	1
3105: 151	406	1	1	1	1	1	1
3105: 163	418	1	1	1	1	1	1
3105: 172	427	1	1	1	1	1	1
3105: 193	448	1	1	1	1	1	1
3105: 202	457	1	1	0.98	1	0.98	0.98
3105: 256	511	1	0.95	1	1	0.97	0.97
3105: 280	535	1	1	1	1	1	1
3105: 301	556	0.9	1	1	1	1	1
3105: 337	592	1	1	1	0.89	0.85	0.85
3105: 364	619	1	1	0.9	1	1	1
3105: 367	622	1	1	1	0.93	0.87	0.87
3105: 375	630	1	1	1	1	1	1

【 0 2 6 6 】

【表 2 4】

表11 (3107) (その1):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓
3107: 58	336	1	1	1	0.83	1	1	1	1	1	1	1	0.72
3107: 60	338	0.97	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3107: 80	358	1	1	1	0.94	1	1	1	1	0.59	1	1	1
3107: 97	375	0.99	1	1	1	1	1	1	1	0.66	1	0.97	1
3107: 100	378	1	1	1	0.96	0.38	1	1	1	0.9	1	0.98	1
3107: 120	398	1	0.82	0.77	0.97	0.57	1	1	0.95	0.94	0.85	0.88	0.97
3107: 137	415	0.98	0.95	0.94	1	1	1	1	1	1	0.95	0.96	0.99
3107: 139	417	0.98	1	1	1	1	1	1	0.86	1	1	0.96	0.98
3107: 148	426	1	0.98	0.81	1	0.99	0.98	0.95	1	1	0.92	0.97	1
3107: 164	442	1	0.95	1	1	1	0.95	0.75	0.98	1	1	0.72	0.98
3107: 187	465	0.82	0.98	0.92	1	0.57	0.83	0.81	0.91	0.99	1	0.92	0.79
3107: 190	468	0.71	0.94	1	0.81	0.15	0.75	0.77	0.85	1	0.66	0.89	0.75
3107: 209	487	0.95	0.87	0.65	0.69	0.91	0.68	0.53	0.33	1	0.63	0.64	0.59
3107: 224	502	0.84	0.93	1	1	0.97	0.97	0.84	0.79	0.97	0.88	0.93	0.97
3107: 233	511	0.76	0.83	0.55	0.84	0.69	0.77	0.68	0.58	0.65	0.83	0.68	0.49
3107: 243	521	1	0.96	0.88	0.97	0.98	0.93	0.95	0.83	0.82	0.73	0.89	0.68
3107: 257	535	0.82	1	0.78	0.72	1	0.72	0.79	0.44	0.56	0.58	0.74	0.43
3107: 265	543	0.95	0.94	1	0.98	0.96	0.87	1	0.69	0.64	0.65	0.79	0.54
3107: 400	678	0.65	0.94	0.81	1	0.98	1	0.99	0.37	0.34	0.53	0.76	0.84

【0 2 6 7】

10

20

30

40

【表 2 5】

表11 (その3) :

CpG識別子	R0I内の MVP位置	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳
3107: 58	336	1	1	1	0.91	1	1	1	1	0.88	1	0.5	1
3107: 60	338	1	1	0.96	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3107: 80	358	1	1	0.94	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3107: 97	375	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3107: 100	378	1	0.95	0.96	0.99	0.85	0.93	1	1	0.93	1	1	0.94
3107: 120	398	1	0.84	0.78	0.87	0.84	0.88	0.72	1	0.89	1	0.91	0.88
3107: 137	415	1	0.9	0.85	0.98	0.96	0.89	0.93	0.94	0.92	0.94	1	0.95
3107: 139	417	1	0.93	0.88	0.99	0.97	0.98	0.98	0.98	0.95	0.98	0.93	0.95
3107: 148	426	1	0.88	0.88	0.94	0.86	0.94	0.91	1	0.92	1	1	0.85
3107: 164	442	1	0.88	0.96	0.87	0.67	0.93	0.54	1	0.96	1	1	0.85
3107: 187	465	0.94	0.8	0.79	0.72	0.64	0.75	0.72	0.96	0.91	0.96	0.78	0.89
3107: 190	468	0.93	0.58	0.63	0.56	0.45	0.8	0.46	0.93	0.79	0.93	0.68	0.66
3107: 209	487	0.88	0.61	0.7	0.41	0.3	0.66	0.42	1	0.73	1	0.77	0.74
3107: 224	502	0.93	0.86	0.78	0.73	0.9	0.94	0.83	0.95	0.95	0.95	0.96	0.93
3107: 233	511	0.81	0.49	0.76	0.52	0.52	0.7	0.5	0.83	0.77	0.83	0.84	0.8
3107: 243	521	0.87	0.7	0.78	0.75	0.56	0.8	0.71	0.96	0.81	0.96	0.88	0.91
3107: 257	535	0.94	0.62	0.91	0.61	0.53	0.64	0.28	0.97	0.7	0.97	0.79	0.83
3107: 265	543	0.92	0.66	0.69	0.8	0.53	0.89	0.3	0.82	0.97	0.82	0.85	0.87
3107: 400	678	1	0.88	0.93	1	0.77	1	1	NA	0.93	1	1	1

【0 2 6 8】

10

20

30

40

【表 2 6】

CpG識別子	R01内のMVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺
3110: 32	1933	0.82	NA	0.86	0.72	0.9	0.66	0.73	0.94	0.73	0.83
3110: 84	1985	0.83	NA	1	0.7	1	0.12	0.34	0	0.2	0.86
3110: 286	2187	1	NA	1	1	1	0.95	0.71	0.9	0.97	1
3110: 310	2211	1	NA	1	0.87	1	0.28	0.43	0.43	0.59	0.6
3110: 366	2267	1	1	0	0.84	1	0.74	0.68	0.91	0.86	0.97
3110: 370	2271	1	0.68	1	0.92	1	0.67	0.69	0.93	0.88	1
3110: 415	2316	1	0.53	1	0.79	1	0.61	0.55	1	0.79	1

10

20

30

40

【表 2 7】

表12(その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳	脳
3110: 32	1933	0.86	1	0.88	0.87	1	0.87	0.83	0.89	0.55	0.63	1	0.52	0.51	0.69
3110: 84	1985	1	1	0.86	1	0.8	0.75	0.86	0.5	0.51	0.17	1	0.23	0.4	0.83
3110: 286	2187	1	1	1	0.98	0.81	1	1	1	0.78	0.84	1	0.7	0.88	0.91
3110: 310	2211	0.95	1	0.94	0.61	0	0.63	0.69	0.76	0.54	0.7	1	0.54	0.7	0.8
3110: 366	2267	1	1	1	0.78	0.35	0.84	0.98	0.84	0.87	0.84	1	0.71	0.86	0.87
3110: 370	2271	1	1	1	0.79	0.61	0.91	1	0.95	0.89	0.85	1	0.71	0.93	1
3110: 415	2316	0.89	0.68	1	0.6	0.27	0.65	1	0.66	0.88	0.65	1	0.67	0.79	1

10

20

30

40

【表 2 8】

表13 (3113) (その1) :

CoG識別子	R01内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺
3113: 42	61	0.7	1	NA	0.82	1	NA	0.42	0.55	0	0.23	0.79	0.35	1
3113: 47	66	NA	NA	NA	NA	1	NA	1	0.5	0	0.8	0.65	1	1
3113: 72	91	0.89	NA	0	0.78	1	NA	0.37	0.076	0.59	0.3	0.26	0.85	1
3113: 78	97	0.47	1	0	0.75	1	NA	0.5	0.51	0.6	0.36	0.033	0.77	1
3113: 86	105	0.66	1	0	0.83	1	NA	0.5	0.4	0	0	0	0.79	0.82
3113: 116	135	0.63	1	0	0.6	1	0.081	0.4	0.69	0.24	0.31	0.48	0.59	0.91
3113: 156	175	0.96	0.96	0.18	0.73	1	0.36	0.5	0.56	0.067	0.46	0.12	1	1
3113: 160	179	0.65	0.58	0	1	1	NA	0.41	0.61	0.64	0.59	1	0.95	1
3113: 164	183	0.79	0.78	0	0.5	1	0	0.49	0.38	0.082	0.27	0.12	1	0.91
3113: 182	201	0.76	1	0	0.68	1	NA	0.24	0.56	0.34	0.47	0.54	0.91	1
3113: 189	208	1	1	0.086	0.92	1	NA	0.8	0.82	0	0.85	0.64	1	1
3113: 197	216	1	1	0	0.88	1	NA	0.84	0.8	0.32	0.74	0.83	1	0.31
3113: 298	317	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3113: 303	322	0.57	0.037	0.78	0.82	1	NA	0.76	0.68	0.73	0.85	0.88	0.95	0.97
3113: 378	397	0.35	0.37	0	0	1	NA	0.28	0.1	0.14	0	0	0.28	0.48
3113: 400	419	1	0.81	0.25	1	1	NA	0.73	0.84	0.18	0.95	0.62	0.75	1
3113: 406	425	0.92	1	1	0.94	1	NA	0.95	0.68	1	0.79	0.93	0.99	1

【表 2 9】

表13 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3113: 42	61	1	NA	0.83	0	NA	0.77	0.54	0.89	0.92	1	1	0.5	0.85	NA	NA
3113: 47	66	0.82	NA	1	NA	NA	1	1	0.37	0.8	0.78	0.74	1	0.66	NA	NA
3113: 72	91	1	0	0.33	0.55	0	0.58	0.21	0.58	0.67	0.62	0.87	0	0.75	0	0
3113: 78	97	1	0.31	0.37	0.55	0	0.5	0.6	0.4	0.92	1	0.86	1	0.85	1	1
3113: 86	105	0.93	0.56	0.75	0.23	0	0.21	0.7	0.17	0.98	1	0.93	1	1	1	1
3113: 116	135	1	0.45	0.59	0.31	0.41	0.31	0.53	0.43	0.8	1	0.74	0.87	0.6	1	1
3113: 156	175	1	0	0.63	0.56	1	0.82	0.74	0.22	1	1	0.95	1	1	1	1
3113: 160	179	0.78	0.37	0.75	0.62	0.29	0.65	0.63	0.6	0.9	0.87	1	0.83	1	1	1
3113: 164	183	0.84	NA	0.31	0.43	0.75	0.29	0.72	0.39	1	0.75	0.92	0.89	0.43	1	1
3113: 182	201	1	0	0.43	0.47	0.78	0.53	0.63	0.26	1	0.9	0.87	1	NA	0.71	0.71
3113: 189	208	1	1	0.87	0.57	1	0.76	0.8	0.52	1	1	1	1	1	1	1
3113: 197	216	1	NA	0.88	0.37	1	0.61	0.7	0.41	1	1	1	1	1	0.9	0.9
3113: 298	317	NA	1	0	NA	0.46	NA	NA	NA	0.57	NA	0.92	NA	NA	NA	NA
3113: 303	322	1	1	0.93	0.56	0.56	0.75	0.59	0.62	0.92	0.95	0.89	0.91	0.76	0.94	0.94
3113: 378	397	0.46	0.52	0	0.15	0.21	0.39	0.065	0.45	0.4	0.56	0.22	0.43	NA	0.6	0.6
3113: 400	419	1	1	1	0.6	0.87	0.71	0.92	0.64	0.94	0.96	1	1	1	1	1
3113: 406	425	1	1	1	0.57	0.91	0.66	0.73	0.56	0.97	1	0.47	0.96	1	0.96	0.96

【表 3 0】

CoG識別子	R01内のMVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3127: 25	1756	NA	0.93	0.86	1	0.61	0.44	0.57	1	0.88	0.78	0.82	0.93	0.86
3127: 28	1759	1	0.92	0.87	1	NA	NA	0.73	0.84	0.89	0.85	0.95	0.95	0.82
3127: 63	1794	0.8	0.62	0.77	0.7	0.17	0.57	0.47	0.46	0.79	0.53	0.54	0.71	0.58
3127: 73	1804	0.96	0.84	0.86	1	0.72	0.72	0.62	0.98	0.87	0.78	0.85	0.95	0.86
3127: 124	1855	0.94	1	0.86	0.79	0.79	0.63	0.6	0.88	0.74	0.83	0.77	0.86	0.8
3127: 127	1858	0.8	0.77	0.6	0.88	0.41	0.58	0.44	0.71	0.66	0.64	0.75	0.69	0.54
3127: 175	1906	0.65	NA	0.67	0.88	NA	0.5	0.34	0.85	0.81	0.69	0.72	0.83	0.81

10

20

30

40

【表 3 1】

表14 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3127: 25	1756	0.73	0.89	1	0.87	NA	0.76	NA	0.51	0.46	0.38	0.79	0.52
3127: 28	1759	0.86	0.91	1	0.87	NA	0.76	NA	0.71	0.7	0.61	1	0.65
3127: 63	1794	0.73	0.83	0.61	0.79	1	0.38	0.85	0.61	0.52	0.34	0.45	0.28
3127: 73	1804	0.89	0.96	0.56	0.94	NA	0.74	1	0.72	0.48	0.68	0.76	0.34
3127: 124	1855	0.8	0.99	0.67	0.68	0.68	0.71	0.59	0.57	0.61	0.63	0.71	0.6
3127: 127	1858	0.7	0.82	0.18	0.68	0.72	0.51	0.54	0.44	0.36	0.41	0.5	0.5
3127: 175	1906	0.69	0.94	0.54	0.65	0.66	0.59	0.53	0.42	0.38	0.49	0.78	0.58
													NA

10

20

30

40

【表 3 2】

表14(その3):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3127: 25	1756	0.97	0.97	1	0.92	0.96	1
3127: 28	1759	0.95	0.02	1	0.89	0.91	0.99
3127: 63	1794	0.75	0.85	0.69	0.75	0.62	0.86
3127: 73	1804	1	0.99	1	0.92	0.83	0.87
3127: 124	1855	0.9	0.87	0.9	0.87	0.97	0.99
3127: 127	1858	0.82	0.82	0.33	0.81	0.65	0.9
3127: 175	1906	0.78	0.78	NA	0.8	NA	0.97

10

20

【 0 2 7 5】

30

【表 3 3】

表15 (3129) (その1):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺
3129: 99	1999	1	0.14	0.75	0.76	NA	0.77	0.7	0.16	0.71	0.55	1	0.44	0.79
3129: 111	2011	1	1	0.97	1	NA	1	1	0.97	1	1	1	1	1
3129: 125	2025	1	0.95	1	1	NA	1	1	1	1	1	1	1	1
3129: 137	2037	1	0.97	1	1	NA	1	1	1	0.95	0.95	1	1	1
3129: 139	2039	0.89	0.78	0.73	1	NA	1	1	1	1	0.64	0.76	1	0.95
3129: 144	2044	1	0.98	1	1	NA	0.79	0.92	1	0.92	0.57	1	1	1
3129: 148	2048	1	1	1	1	NA	1	1	1	1	0.85	1	1	1
3129: 157	2057	0.75	1	0.77	0.92	NA	0.69	1	0.77	1	1	0.8	1	0.72
3129: 162	2062	1	0.93	0.85	0.52	NA	1	1	0.95	0.56	0.88	1	0.84	0.87
3129: 178	2078	0.92	0.84	0.85	0.91	NA	0.83	1	0.88	1	0.72	0.9	NA	0.85
3129: 184	2084	0.86	0.9	0.73	0.93	1	1	0.96	1	0.83	0.92	1	0	0.89
3129: 216	2116	0.95	0.98	0.91	0.92	NA	1	1	1	0.86	1	0.83	1	1
3129: 261	2161	1	0.13	0.86	0.82	0.71	0.66	0.49	0.32	0.97	0.42	1	0.7	0.89
3129: 341	2241	0.94	1	1	1	1	1	0.79	0.93	1	1	1	0.93	1
3129: 353	2253	0.46	0.05	0.69	0.79	NA	0.034	0.92	0.16	0.77	0.29	1	0.97	1
3129: 357	2257	1	1	1	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3129: 368	2268	0.83	0.86	1	0.91	0.45	0.57	0.9	0.08	0.63	0.59	1	0.96	0.98
3129: 371	2271	1	0.86	0.79	0.86	0.86	0.77	0.59	0.055	1	1	1	1	0.91
3129: 377	2277	1	1	1	1	0.77	0.92	0.82	1	1	0.78	1	1	1
3129: 384	2284	1	0.93	0.98	0.88	0.76	0.84	0.81	1	0.55	0.31	1	0.94	0.95
3129: 402	2302	1	1	1	0.92	1	0.97	1	1	0.89	1	1	0.91	0.93
3129: 438	2338	NA	0.77	0.57	1	1	1	1	0.64	0.87	0.8	1	1	0.5
3129: 453	2353	1	1	0.94	1	NA	1	1	0.86	1	0	0.97	1	0.93
3129: 475	2375	0.99	1	1	1	1	1	1	0.91	1	0.85	1	NA	1

【表 3 4】

表15(その2):

CrG識別子	ROI内のMVP位置	肝臓		乳房		乳房		乳房		乳房		脳		脳		脳	
		肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3129: 99	1999	1	0.64	0.74	0.52	1	0.65	1	1	1	1	0.85	0.68	0.27	1	0.7	1
3129: 111	2011	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3129: 125	2025	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.98
3129: 137	2037	1	1	1	0.97	1	0.91	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
3129: 139	2039	1	1	0.8	1	1	0.82	1	1	0.5	0.79	1	0.73	1	1	1	1
3129: 144	2044	1	1	0.98	1	1	0.93	0.92	0.83	0.97	1	1	1	1	1	1	1
3129: 148	2048	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3129: 157	2057	1	1	0.8	0.79	1	0.75	0.73	1	1	1	1	0.82	1	1	1	0.78
3129: 162	2062	0.89	1	0.92	1	1	1	1	1	0.78	1	1	0.86	0.65	1	1	0.98
3129: 178	2078	1	1	0.91	0.81	1	0.87	1	1	0.82	0.85	0.88	0.87	1	0.84	0.64	1
3129: 184	2084	1	1	0.89	0.95	1	0.97	0.87	1	1	0.87	0.86	0.9	0.97	0.87	0.98	1
3129: 216	2116	0.92	1	1	1	1	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3129: 261	2161	0.066	0.48	0.74	0.66	0.74	0.91	0.59	0.99	0.78	0.74	0.94	0.94	1	0.73	0.92	1
3129: 341	2241	0.4	0.64	0.93	0.94	0.96	1	1	1	0.9	1	0.83	0.99	1	1	0.92	1
3129: 353	2253	0.27	0.36	0.63	0.58	0.61	0.9	0.67	0.93	0.78	0.8	0.86	0.94	0.86	0.91	0.93	1
3129: 357	2257	0.56	0.78	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.93	1
3129: 368	2268	0.064	0.34	0.68	0.6	0.53	0.57	0.54	0.82	0.86	0.97	0.82	0.95	0.97	1	1	1
3129: 371	2271	0.42	0.12	0.95	0.96	0.75	0.9	0.97	0.9	1	0.83	0.88	0.87	0.79	0.85	0.85	1
3129: 377	2277	0.24	0.4	1	1	0.92	1	1	0.78	0.91	1	1	1	1	0.88	0.89	1
3129: 384	2284	0.44	0.17	0.83	0.98	0.49	0.98	0.77	1	0.96	0.85	1	0.91	0.91	1	1	1
3129: 402	2302	0.49	0.31	0.85	0.93	0.62	0.93	0.9	1	0.97	0.97	1	0.99	0.96	0.92	0.92	1
3129: 438	2338	0.78	0.94	1	1	1	0.87	1	0.95	1	0.8	1	1	1	1	1	1
3129: 453	2353	1	1	0.83	0.98	0.93	1	1	0.93	0.96	0.73	1	1	1	0.82	1	1
3129: 475	2375	1	1	1	1	1	0.75	1	0.91	1	1	1	1	1	1	1	1

表16 (3145) (その1) :

CpG識別子	R01内のMVP位置	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	肺	肺	肺	肝臓	肝臓
3145: 46	664	1	1	0.87	1	1	1	1	0.93	0.73	0.67	1
3145: 94	712	0.9	0.93	0.38	0.84	1	1	1	0.45	0.51	0.64	1
3145: 102	720	0.67	1	0.82	0.92	1	1	1	0.57	0.45	0.57	1
3145: 110	728	1	0.91	0.95	0.95	1	1	0.13	0.67	0.48	0.8	1
3145: 140	758	0.82	0.95	0.7	0.86	0.95	0.95	1	0.62	0.46	0.44	1
3145: 158	776	0.85	0.92	0.9	1	0.73	0.63	0.83	0.15	0.14	0.41	1
3145: 268	886	1	0.9	0.76	0.95	1	1	0.94	0.85	0.45	0.68	1
3145: 354	972	0.73	0.82	0.89	0.83	0.63	0.78	0.019	0.54	0.25	0.55	0.91
3145: 388	1006	1	1	1	1	1	1	1	0.73	1	0.4	1
3145: 445	1063	0.84	1	0.37	NA	0.68	0.9	0.83	0.37	0.28	0.69	0.92

【表 3 6】

表16 (その2):

CpG識別子	R01内の MWP位置	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳	脳
3145: 46	664	0.92	0.86	1	1	0.65	0.91	0.97	0.5	1	0.57
3145: 94	712	0.59	0.37	0.89	0.5	0.52	0.81	0.88	0.29	0.77	0.88
3145: 102	720	0.48	0.3	0.71	0.84	0.5	0.82	0.79	0.2	0.58	0.78
3145: 110	728	0.64	0.21	0.79	0.39	0.36	0.78	0.85	0.084	0.58	0.92
3145: 140	758	0.76	0.76	0.89	0.56	0.54	0.63	0.74	0.13	0.61	0.7
3145: 158	776	0.68	0.62	0.73	0.2	0.67	0.63	0.59	0	0.5	0.7
3145: 268	886	0.69	0.7	0.78	0.59	0.56	0.84	0.88	0.91	0.69	0.92
3145: 354	972	0.51	0.73	0.56	0.59	0.45	0.74	0.7	0.18	0.51	0.69
3145: 388	1006	0.00049	0.015	0.016	0	0	0.42	0.0043	1	0.15	0.5
3145: 445	1063	0.67	0.37	0.8	0.82	0.58	0.42	0.96	1	0.55	0.87

【表 3 7】

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉
3152: 23	1818	4.3e-0.5	0.099	0.18	0	0.33	NA	0.15	0
3152: 56	1851	0.00013	0.34	0.19	0	0.026	0.56	0.23	0.24
3152: 138	1933	0	0.07	0.0042	0.084	0	0.041	0.087	0.25
3152: 24	2029	0.072	0.58	0.4	0	0	0.61	0.59	0.85
3152: 283	2078	0.0092	0.65	0.44	0.11	0	0.64	0.74	0
3152: 361	2156	0.17	0.67	0.28	0.33	0	0.4	0.84	0.67

10

20

30

40

【表 3 8】

表17 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	肺	肺	乳房	乳房	乳房	乳房	脳	脳	脳
3152: 23	1818	0.0087	0.32	NA	0.76	0.31	0.34	0	NA	NA
3152: 56	1851	0.00062	0.08	NA	0.49	0.29	1	0.35	NA	NA
3152: 138	1933	0	0.19	0.71	0.079	0.037	0.19	0.047	NA	NA
3152: 24	2029	0.089	0.25	0.73	0.91	0.67	1	0.68	NA	NA
3152: 283	2078	0.012	0.22	0.49	0.92	0.84	1	0.77	NA	NA
3152: 361	2156	0.69	0.19	1	0.86	0.72	1	0.6	1	1

【 0 2 8 1 】

10

20

30

【表 3 9】

表18 (3170) (その1) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3170: 170	1858	0	0.54	0.55	0.78	0.93	0	0	0.4	0.37	0	0.39	0.57
3170: 175	1863	0	0.072	0.13	0.65	NA	0	0	0	0.22	0	0.022	0.093
3170: 353	2041	0.87	0.64	1	0.9	NA	0.97	NA	0.87	NA	1	0.62	0.95
3170: 385	2073	NA	0.43	0.58	0.69	NA	NA	1	0.51	NA	NA	0.34	0.61
3170: 396	2084	NA	0.67	0.7	0.86	NA	NA	NA	1	NA	NA	0.97	0.93
3170: 409	2097	0.57	0.49	0.79	0.82	N	0.67	NA	1	NA	1	0.91	1
3170: 412	2100	0.64	0.66	0.97	0.81	NA	0.83	NA	0.94	NA	1	0.74	0.95

10

20

30

40

【表 4 0】

表18 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	
3170: 170	1858	0.84	0.42	0.51	0.22	0	0.62	0.86	0.53	NA	0	0.061	0.49	0.97
3170: 175	1863	0.15	0.052	0.23	0.013	0	0.33	0.49	0.21	0	0	0.12	0.29	0
3170: 353	2041	1	NA	0.28	0.21	0.55	0.89	0.88	0.71	1	0.87	0.87	0.78	1
3170: 385	2073	NA	0	0.35	0.2	NA	0.7	0.87	0.55	NA	1	NA	0.51	NA
3170: 396	2084	NA	0.023	0.37	0.36	NA	0.91	0.97	0.86	NA	NA	NA	0.74	NA
3170: 409	2097	0.88	0.32	0.36	0.16	0.41	0.67	0.88	0.81	1	0.52	0.35	0.72	1
3170: 412	2100	1	0.42	0.2	0.22	0.42	0.68	0.74	0.67	1	0.62	0.7	0.76	1

【 0 2 8 3 】

10

20

30

40

【表 4 1】

表18 (その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3170: 170	1858	1	0	0	1	0.81	0.82
3170: 175	1863	0.6	0.013	0	0.63	0.91	0.48
3170: 353	2041	0.87	NA	1	1	1	0.94
3170: 385	2073	0.69	NA	NA	0.67	0.72	0.63
3170: 396	2084	0.88	NA	NA	0.67	1	1
3170: 409	2097	0.88	NA	0.54	0.95	0.83	0.93
3170: 412	2100	0.75	NA	1	0.81	0.98	0.74

10

20

【 0 2 8 4 】

30

【表 4 2】

表19 (3192) (その1) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3192: 29	375	0.13	0.49	0.19	0.12	0.2	0	0.1	0	0.28	0.38	0	0
3192: 108	454	0.49	0.47	0.41	0.35	0.38	0.5	0.32	0.15	0.47	0.38	0	0.099
3192: 128	474	0.48	0.35	0.37	0.3	0.33	0.33	0.34	0.18	0.52	0.082	0	0.2
3192: 160	506	0.59	0.52	0.49	0.37	0.38	0.45	0.33	0.32	0.58	0.14	0.27	0.15
3192: 166	512	0.5	0.44	0.41	0.26	0.41	0.32	0.31	0.17	0.4	0.079	0.44	0.048
3192: 172	518	0.29	0.18	0.18	0.077	0.086	0.048	0.17	0.075	0.12	0.11	0.097	0
3192: 191	537	0.59	0.48	0.43	0.33	0.36	0.15	0.53	0.25	0.54	0.1	0.3	0.46
3192: 265	611	0.54	0.54	0.49	0.37	0.49	0.44	0.43	0.31	0.85	0.76	0.69	0.31
3192: 268	614	0.69	0.64	0.66	0.5	0.64	0.57	0.51	0.8	0.68	0.84	0.34	0.38
3192: 362	708	0.63	0.66	0.56	0.5	0.73	0.55	0.57	0.62	0.76	0.76	0.82	0.47
3192: 368	714	0.64	0.64	0.58	0.69	0.66	0.64	0.52	0.44	0.74	0.44	0.34	0.52
3192: 427	773	0.68	0.41	0.35	0.87	0.51	0.4	0.41	0.12	0.78	0.54	0.43	0.42

【0 2 8 5】

10

20

30

40

【表 4 3】

表19 (その2) :

CaG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3192: 29	375	0.19	1	1	0.72	1	0	NA	NA	0	0.12	0.32	0.26	0	0.37
3192: 108	454	0.34	0.69	1	1	0.87	0.63	0.62	0.29	0.43	0.51	0.32	0.57	0.13	0.58
3192: 128	474	0.38	0.58	1	1	0.64	0.6	NA	0.33	0.37	0.62	0.36	0.32	0.47	0.37
3192: 160	506	0.47	0.64	0.81	0.54	0.73	0.69	0.40.38	0.26	0.38	0.34	0.34	0.43	0.49	0.55
3192: 166	512	0.32	0.58	0.91	0.59	0.54	0.69	0.38	0.26	0.41	0.33	0.29	0	0	0.39
3192: 172	518	0.064	0.53	0.68	0.44	0.45	0.35	0.38	0.1	0.17	0.22	0.11	0	0	0.034
3192: 191	537	0.52	0.64	0.58	0.67	0.7	0.67	0.68	0.28	0.44	0.46	0.45	0.44	0.52	0.56
3192: 265	611	0.67	0.77	0.53	0.92	1	0.88	1	0.5	0.54	0.76	0.6	0.72	0.67	0.59
3192: 268	614	0.75	0.76	0.64	0.87	0.91	0.8	1	0.42	0.64	0.84	0.7	0.78	0.59	0.81
3192: 362	708	0.62	0.88	0.77	1	0.94	0.8	0.83	0.78	0.67	0.63	0.72	0.84	0.54	0.76
3192: 368	714	0.69	0.76	0.91	0.87	0.93	0.76	0.93	0.63	0.61	0.55	0.61	0.77	0.56	0.61
3192: 427	773	0.55	0.7	0.71	0.51	0.85	0.76	1	0.73	0.64	0.51	0.55	0.47	0.83	0.77

【0 2 8 6】

10

20

30

40

【表 4 4】

表19 (その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3192: 29	375	0.25	0	0.085	0.46	NA	0.38	
3192: 108	454	0.46	0.39	1	1	0.36	0.5	
3192: 128	474	0.38	0.41	0.93	0.61	0.38	0.36	
3192: 160	506	0.39	0.33	0.97	0.65	0.27	0.46	
3192: 166	512	0.3	0.35	1	0.43	0.3	0.23	
3192: 172	518	0.13	0	0	0.14	0.12	0.051	
3192: 191	537	0.46	0.4	0.96	0.68	0.31	0.5	
3192: 265	611	0.56	0.56	0.96	0.94	0.63	0.57	
3192: 268	614	0.68	0.66	1	0.86	0.57	0.62	
3192: 362	708	0.75	0.82	0.87	1	0.74	0.62	
3192: 368	714	0.65	0.7	0.83	1	0.61	0.75	
3192: 427	773	0.33	0.51	1	0.67	0.47	0.51	

【 0 2 8 7 】

【表 4 5】

CoG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3200: 36	1897	0.46	0.48	0.39	0.35	0.47	0	1	0.32	0.54	0.33	0.31
3200: 49	1910	0.65	0.39	0.27	0.42	0.28	0	0.48	0.43	0.93	0.91	1
3200: 66	1927	0.11	0.15	0.084	0.083	0.16	0	0	0.078	0.28	0.14	0.25
3200: 78	1939	0.057	0.46	0.36	0.48	0.6	0.7	0.53	0.26	0.51	0.6	0.68
3200: 83	1944	0.11	0.25	0	0.068	0.092	0.11	0.28	0.15	0.13	0.1	0.34
3200: 99	1960	0.39	0.34	0.52	0.25	0.32	0.29	0.35	0.27	0.53	0.46	0.58
3200: 127	1988	0.29	0.3	0.24	0.2	0.19	0.41	0.31	0.19	0.37	0.2	0.21
3200: 155	2016	0.49	0.46	0.42	0.39	0.45	0.62	0.57	0.63	0.87	0.56	0.7
3200: 160	2021	0.3	0.4	0.26	0.22	0.23	0.39	0.47	0.27	0.54	0.34	0.64
3200: 169	2030	0.5	0.47	0.29	0.42	0.36	0.39	0.49	0.36	0.74	0.83	0.92
3200: 178	2039	0.54	0.61	0.39	0.29	0.32	0.44	0.55	0.4	0.54	0.54	0.41
3200: 192	2053	0.74	0.92	0.64	0.49	0.71	0.84	0.86	0.7	1	1	0.97
3200: 199	2060	0.3	0.44	0.37	0.23	0.42	0.42	0.5	0.18	0.36	0.13	0.61
3200: 225	2086	0.45	0.68	0.39	0.48	0.55	0.48	0.66	0.59	0.78	0.56	0.66
3200: 305	2166	0.53	0.5	0.3	0.3	0.45	0.63	0.74	0.39	0.47	0.51	0.41
3200: 312	2173	0.44	0.53	0.24	0.36	0.53	0.38	0.41	0.16	0.51	0.4	0.6
3200: 361	2222	0.6	0.96	0.79	0.41	0.52	0.64	0.83	0.73	0.92	0.94	0.67

10

20

30

40

【表 4 6】

表20 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3200: 36	1897	1	0.39	0.33	0.63	0.77	0.26	1	0.91	0.68	0.84	0.37	0.51	0.67	0.44
3200: 49	1910	0.76	0.45	0.46	NA	0.52	0.29	0.87	0.81	0.71	0.86	0.49	0.62	0.9	0.57
3200: 66	1927	0.2	0.17	0.26	NA	0.35	0.12	0.91	0.55	0.18	0.34	0.093	0.37	0.064	0.19
3200: 78	1939	0.45	0.52	0.46	0.46	0.54	0.49	0.96	0.83	0.79	0.5	0.41	0.77	0.62	0.51
3200: 83	1944	0.18	0.2	0.35	0.25	0.26	0.12	0.56	0.75	0.49	0.35	0.22	0.56	0.082	0.082
3200: 99	1960	0.52	0.24	0.3	0.44	0.45	NA	0.96	0.39	0.2	0.48	0.5	0.66	0.43	0.29
3200: 127	1988	0.22	0.32	0.69	0.12	0.39	0.29	0.93	0.67	0.44	0.28	0.37	0.34	0.31	0.41
3200: 155	2016	0.62	0.43	0.75	0.71	0.65	0.35	0.85	0.65	0.58	0.74	0.86	0.79	0.86	0.55
3200: 160	2021	0.35	0.15	0.62	0.28	0.5	0.51	1	0.86	0.53	0.36	0.47	0.79	0.89	0.39
3200: 169	2030	0.5	0.27	0.59	0.57	0.58	0.65	1	0.84	0.66	0.51	0.54	0.81	0.66	0.36
3200: 178	2039	0.53	0.3	0.61	0.28	0.46	0.49	0.9	0.91	0.66	0.57	0.65	0.71	0.41	0.38
3200: 192	2053	0.94	0.51	0.84	0.82	0.78	0.61	1	0.91	0.97	0.87	0.82	0.89	1	0.77
3200: 199	2060	0.36	0.45	0.44	0.34	0.47	0.28	0.88	0.83	0.65	0.86	0.71	0.77	0.76	0.33
3200: 225	2086	0.8	0.42	0.65	0.53	0.63	0.38	1	0.87	0.78	0.47	0.7	0.95	0.84	0.66
3200: 305	2166	0.31	0.45	0.8	0.63	0.5	0.63	1	1	0.7	0.55	0.29	0.43	0.46	0.3
3200: 312	2173	0.38	0.42	0.65	0.14	0.7	0.36	1	0.93	0.55	0.44	0.49	0.3	0.71	0.29
3200: 361	2222	0.4	0.5	0.61	0.64	0.59	0.69	1	0.91	1	0.73	0.63	0.9	0.79	0.85

【表 4 7】

表20(その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3200: 36	1897	1	0.36	0.45	0.63	0.23
3200: 49	1910	0.54	0.72	0.69	0.62	0.42
3200: 66	1927	0.28	0.37	0.58	0.23	0.18
3200: 78	1939	0.66	0.5	0.6	0.57	0.35
3200: 83	1944	0.2	0.42	0.45	0.088	0.2
3200: 99	1960	0.66	0.5	0.69	0.4	0.51
3200: 127	1988	0.35	0.36	0.48	0.41	0.53
3200: 155	2016	0.67	0.73	NA	0.56	0.41
3200: 160	2021	0.59	0.55	0.57	0.44	0.52
3200: 169	2030	0.81	0.64	0.63	0.68	0.57
3200: 178	2039	0.77	0.53	0.57	0.42	0.46
3200: 192	2053	0.91	1	0.95	0.85	0.89
3200: 199	2060	0.49	0.37	0.53	0.31	0.43
3200: 225	2086	0.86	0.73	0.82	0.66	0.66
3200: 305	2166	0.75	0.46	0.56	0.53	0.53
3200: 312	2173	0.73	0.4	0.39	0.45	0.53
3200: 361	2222	0.48	0.91	0.94	0.45	0.75

【 0 2 9 0 】

【表 4 9】

表21 (その2) :

C/G識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3208: 33	729	0	0.36	0.64	0.011	0.32	0	0.7	0.64	NA	0	0	0.91	0.079	0.15
3208: 45	741	0.56	0.62	0.86	0.53	0.76	0.55	1	1	0.59	0.15	0.63	0.96	0.5	0.67
3208: 69	765	0.4	0.66	0.95	0.49	0.49	0.27	1	1	0.6	0.47	0.34	1	0.36	0.63
3208: 111	807	0	0.16	NA	0.074	1	0.62	0.63	1	0.65	0.14	0.35	1	0.49	0.47
3208: 119	815	0.62	0.27	0.59	1	0.5	0.34	0.89	1	0.58	0.21	0.35	0.48	0.26	0.66
3208: 127	823	0.3	0.55	0.71	0.13	0.66	0.44	0.89	0.85	0.47	0.23	0.6	0.63	0.43	0.7
3208: 148	844	0.8	0.73	0.84	0.52	0.8	0.84	0.96	1	0.78	0.53	0.7	1	0.84	0.78
3208: 164	860	0.48	0.5	0.58	0.51	0.82	0.29	1	0.89	0.83	0.64	0.71	0.86	0.56	0.62
3208: 303	999	0.52	0.81	1	0.98	0.91	0.7	1	1	0.75	0.85	0.69	0.94	0.59	0.76
3208: 338	1034	0.5	0.84	NA	0.33	0.9	1	0.92	0.86	0.59	0.89	0.65	0.94	0.76	0.86
3208: 349	1045	0.45	0.81	1	0.069	0.72	0.81	1	0.84	0.62	0.33	0.45	0.95	0.71	0.77
3208: 371	1067	0.88	1	NA	0.56	0.95	1	1	1	1	1	0.94	1	0.9	0.96
3208: 392	1088	1	0.89	1	1	0.95	0.78	0.76	1	1	1	1	1	1	1
3208: 403	1099	1	1	NA	0.66	1	1	1	1	1	1	1	1	0.94	1
3208: 436	1132	0.86	1	1	1	1	0.91	1	1	1	1	0.92	0.87	0.88	1
3208: 455	1151	NA	1	NA	1	NA	1	NA	1	NA	1	NA	1	1	NA
3208: 461	1157	NA	1	NA	1	NA	0.55	NA	1	NA	0.24	NA	1	1	NA

【 0 2 9 2 】

10

20

30

40

【表 5 0】

表21(その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3208: 33	729	0.12	0.2	0.5	0.23	0.034	0
3208: 45	741	0.65	0.65	0.24	0.27	0	0.054
3208: 69	765	0.38	0.53	1	0.3	0.52	1
3208: 111	807	0	0	0.12	0.5	0.28	0.85
3208: 119	815	0.66	0.71	0	NA	0.63	0.48
3208: 127	823	0.49	0.43	0.16	0.48	0.62	0.67
3208: 148	844	0.9	0.91	0.14	0.82	0.88	0.85
3208: 164	860	0.67	0.58	1	0.84	0.73	0.69
3208: 303	999	0.94	0.99	1	0.91	0.83	0.77
3208: 338	1034	0.72	0.75	0.94	1	0.8	0.71
3208: 349	1045	1	0.85	0.76	0.65	0.91	0.87
3208: 371	1067	1	1	1	1	1	1
3208: 392	1088	1	1	0.94	1	1	1
3208: 403	1099	1	1	0.97	1	1	1
3208: 436	1132	1	1	1	1	0.7	1
3208: 455	1151	NA	NA	0	1	NA	NA
3208: 461	1157	NA	NA	1	1	NA	NA

【 0 2 9 3 】

【表 5 1】

表22 (3239) (その1) :

CpD識別子	R0I内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3239: 38	623	0.9	0.76	0.82	0.73	0.73	0.96	0.76	0.89	0.91	1	0.88	0.89
3239: 44	629	0.99	0.98	1	0.95	0.95	1	0.96	0.97	1	0.43	1	1
3239: 49	634	0.34	0.49	0.4	0.4	0.15	0.051	0.45	0.28	0.36	0.37	0.69	0.45
3239: 71	656	0.59	0.59	0.65	0.56	0.59	0.54	0.51	0.55	0.59	0.46	0.55	0.62
3239: 75	660	0.24	0.18	0.23	0.17	0.27	0.3	0.11	0.12	0.09	0	0.27	0.28
3239: 88	673	0.37	0.42	0.35	0.2	0.091	0.09	0.088	0.11	0.075	0.0093	0	0.063
3239: 141	726	0.43	0.49	0.41	0.29	0.42	0.63	0.24	0.33	0.39	0.099	0.23	0.47
3239: 163	748	0.12	0.25	0.13	0.28	0.16	0.25	0.032	0.22	0.18	0	0.23	0.14
3239: 169	754	0.42	0.57	0.55	0.5	0.36	0.26	0.45	0.49	0.58	0.48	0.18	0.73
3239: 178	763	0.58	0.54	0.64	0.5	0.49	0.78	0.43	0.58	0.76	0.31	0.63	0.8
3239: 197	782	0.63	0.61	0.3	0.4	0.44	0.85	0.26	0.52	0.67	0.2	0.24	0.73
3239: 212	797	0.59	0.63	0.58	0.52	0.5	0.5	0.5	0.6	0.75	0.24	0.27	0.74
3239: 218	803	0.43	0.52	0.52	0.41	0.38	0.33	0.37	0.46	0.41	0.16	0	0.37
3239: 233	818	0.41	0.69	0.59	0.48	0.3	0.42	0.33	0.56	0.56	0.71	0.37	0.73
3239: 236	821	0.46	0.42	0.39	0.39	0.22	0.44	0.24	0.44	0.36	0	0.25	0.31
3239: 242	827	0.41	0.41	0.35	0.27	0.2	0.41	0.12	0.36	0.49	0.08	0.43	0.57
3239: 250	835	0.57	0.31	0.52	0.4	0.47	0.16	0.46	0.54	0.59	0.45	0.33	0.78
3239: 256	841	0.37	0.27	0.42	0.39	0.21	0.18	0.27	0.44	0.4	0	0.9	0.29
3239: 262	847	0.17	0	0.27	0	0.075	0.015	0.064	0.11	0.19	0	0	0.1
3239: 285	870	0.13	0	0	0.27	0.052	0.0058	0.005	0.035	0.042	0	0	0.0028
3239: 300	885	0.1	0.25	0	0.056	0	0	0	0.1	0.18	0.5	0.17	0.064
3239: 319	904	0	0	0.03	0	0	0.054	0	0	0	0	0	0
3239: 328	913	0.086	0.15	0.15	0	0.19	0.15	0.059	0.13	0.35	0	0.019	0.46
3239: 337	922	0.14	0	0.12	0.21	0.18	0.19	0.14	0.24	0	0	0.02	0.23
3239: 340	925	0	0	0	0	0	0.17	0.064	0	0	0	0	0
3239: 343	928	0	0.05	0	0.067	0	0.13	0.097	0	0.37	0	0.033	0
3239: 348	933	0	0.31	0.14	0.095	0	0.098	0.089	0	0	0.34	0.2	0
3239: 354	939	0.073	0	0.1	0	0	0	0.08	0	0	0	0	0
3239: 360	945	0.17	0.62	0.11	0	0.18	0.26	0.082	0.33	0.19	0.28	0.027	0.2
3239: 366	951	0.27	0	0.3	0.11	0.11	0.3	0.12	0.24	0.24	0	0.029	0.15
3239: 377	962	0	0	0	0	0.045	0.057	0	0.24	0.35	0	0	0.0039
3239: 421	1006	0.54	1	0.17	0	0	0.5	0.26	0.06	0.065	1	0.39	0.35

【表 5 2】

表22 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3239: 38	623	0.85	0.87	NA	1	0.86	0.89	1	0.99	0.68	0.62	0.43	0.97	0.87	0.69
3239: 44	629	0.97	0.96	0.87	0.5	0.98	1	1	1	0.69	0.7	0.75	0.95	0.54	0.72
3239: 49	634	0.37	0.54	0.74	0.78	0.42	0.25	0.75	0.73	0.24	0.2	0.18	1	0.66	0.31
3239: 71	656	0.38	0.63	0.66	0.76	0.64	0.85	1	0.76	0.45	0.17	0.4	0.78	0.17	0.28
3239: 75	660	0.078	0.21	0.046	0.0054	0.16	0.17	0	0.15	0.045	0.05	0.073	0	0	0
3239: 88	673	0.12	0.26	0.45	0	0.23	0.06	0	0.39	0.097	0.018	0.055	0	0.39	0.22
3239: 141	726	0.3	0.47	0.5	0.13	0.42	0.13	0.3	0.63	0.2	0.23	0.38	0.55	0.72	0.016
3239: 163	748	0.071	0.13	0.6	1	0.33	0.24	NA	0.28	0.084	0.099	0.064	0	0.24	0.13
3239: 169	754	0.51	0.64	0.78	1	0.62	0.78	0	0.87	0.45	0.28	0.23	0.5	0.23	0.22
3239: 178	763	0.65	0.65	0.86	1	0.7	0.88	NA	0.86	0.31	0.19	0.061	0.37	0.89	0.41
3239: 197	782	0.5	0.8	0.94	1	0.77	0.58	0.75	0.97	0.61	0.45	0.33	0.59	0.7	0.46
3239: 212	797	0.57	0.74	0.92	0.93	0.75	0.62	NA	0.96	0.42	0.39	0.19	0.17	0.73	0.46
3239: 218	803	0.39	0.43	0.75	0.8	0.53	0.12	NA	0.86	0.13	0.4	0.091	0.5	0.61	0.16
3239: 233	818	0.48	0.62	0.56	0.97	0.57	0.73	NA	0.77	0.21	0.3	0.16	0.13	0.73	0.31
3239: 236	821	0.34	0.46	0.6	0.89	0.46	0.75	NA	0.57	0.1	0.0083	0	-	0.35	0.075
3239: 242	827	0.42	0.46	0.73	0.84	0.43	0.54	NA	0.57	0.1	0.16	0.14	0.48	0.77	0.37
3239: 250	835	0.64	0.53	0.61	0.91	0.51	0.52	0	0.68	0.35	0.3	0	0.56	0.27	0.38
3239: 256	841	0.31	0.28	0.31	0.49	0.39	0.41	1	0.25	0.28	0	0	0	0.0058	0.084
3239: 262	847	0.37	0.12	0.0095	0.8	0.07	0.11	NA	0.04	0.046	0	0	0	0	0
3239: 285	870	0.038	0.053	0	0.7	0.25	0	1	0	0	0	0	0	0	0.11
3239: 300	885	0.18	0.12	0.21	0	0.035	0	NA	0.19	0.34	0.14	0.061	0.21	0.31	0.25
3239: 319	904	0	0.037	0	0	0.084	0.069	NA	0	0	0	0.077	0	0	0
3239: 328	913	0.056	0	0	0.84	0.23	0.26	NA	0.3	0	0	0	0	0	0.086
3239: 337	922	0	0	0.34	0	0.13	0.2	NA	0.1	0	0	0	0	0	0.1
3239: 340	925	0	0	0	0	0.12	0.29	NA	0	0	0	0	0	0	0.067
3239: 343	928	0	0	0.086	0	0.047	0.065	NA	0	0	0	0	0	0	0.099
3239: 348	933	0	0	0.17	0	0.2	0.26	NA	0.24	0.32	0.2	0.12	0.2	0.36	0.34
3239: 354	939	0	0	0	0.27	0.24	0.37	NA	0.0094	0	0	0	0	0	0.22
3239: 360	945	0	0.32	0.066	0	0.28	0.57	NA	0.29	0	0.11	0.018	0.037	0.47	0.75
3239: 366	951	0	0	0	0.016	0.17	0.38	NA	0	0	0	0	0.052	0	0
3239: 377	962	0	0	0	0	0.31	0	NA	0.018	0	0	0	0	0	0
3239: 421	1006	0	0	0	NA	0.076	0.14	NA	0.25	0	0	NA	0.13	0.036	0.19

【表 5 3】

表22 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3239: 38	623	0.98	0.87	0.8	1	0.94
3239: 44	629	1	1	1	1	0.93
3239: 49	634	0.77	0.98	0.33	0.74	0.72
3239: 71	656	0.86	1	0.46	0.89	0.93
3239: 75	660	0.25	0.25	0.16	0.28	0.27
3239: 88	673	0.49	0.47	0	0.45	0.32
3239: 141	726	0.67	1	0.36	0.66	0.85
3239: 163	748	0.59	0.58	0	0.53	0.45
3239: 169	754	0.95	0.92	0.34	0.84	0.68
3239: 178	763	0.94	0.86	0.3	0.81	0.94
3239: 197	782	1	1	0.67	0.96	1
3239: 212	797	0.98	1	0.55	0.97	0.98
3239: 218	803	0.8	1	0.088	0.78	0.65
3239: 233	818	0.95	1	0.45	0.92	0.92
3239: 236	821	0.68	0.69	0.16	0.66	0.62
3239: 242	827	0.71	1	0.54	0.7	0.65
3239: 250	835	0.75	0.83	0.44	0.66	0.75
3239: 256	841	0.54	0.8	0	0.49	0.5
3239: 262	847	0.37	0.17	0.048	0.48	0.37
3239: 285	870	0.22	0.39	0.036	0.17	0.14
3239: 300	885	0.17	0.27	0.29	0.064	0
3239: 319	904	0.22	0.34	0	0.14	0.084
3239: 328	913	0.66	0.78	0.26	0.62	0.45
3239: 337	922	0.15	0.2	0.19	0.12	0
3239: 340	925	0.2	0.55	0	0.42	0.0049
3239: 343	928	0.12	0.11	0.11	0.011	0
3239: 348	933	0.17	0.27	0.36	0.076	0.28
3239: 354	939	0.4	0.56	0.32	0.33	0.082
3239: 360	945	0.52	0.6	0.11	0.41	0.25
3239: 366	951	0.44	0.21	0	0.51	0.2
3239: 377	962	0.057	0.24	0	0	0
3239: 421	1006	0.38	0.46	0.49	1	1

【 0 2 9 6 】

【表 5 4】

表23 (3243) (その1):

Cp認識別子	R0I内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3243: 57	1576	NA	1	NA	NA	NA	1	NA	1	1	NA	NA	1
3243: 63	1582	NA	1	1	1	1	1	NA	NA	NA	1	1	1
3243: 132	1651	0.72	0.47	0.81	0.73	0.75	0.84	0.75	0.65	0.64	1	0.84	0.69
3243: 138	1657	0.66	0.43	0.97	0.83	0.75	0.77	0.73	0.71	0.87	1	0.88	0.94
3243: 140	1659	0.78	0.68	1	0.71	1	0.64	0.5	1	0.86	1	0.92	1
3243: 155	1674	1	0.46	0.94	1	1	1	0.89	0.78	1	1	0.73	0.93
3243: 182	1701	0.62	0.75	0.9	0.82	0.87	0.87	0.82	0.81	0.74	1	1	0.76
3243: 229	1748	0.36	0.26	0.54	0.63	NA	0.9	0.3	0.55	NA	0.58	0.51	0.64
3243: 252	1771	0.39	0.25	0.3	0.29	0.47	0.82	0.45	0.19	0.18	0.16	NA	0.41
3243: 263	1782	0.56	0.29	0.41	0.24	0.54	0.71	0.7	0.27	0.21	1	0.33	0.58
3243: 311	1830	0.71	0.26	0.77	0.47	0.74	0.6	0.77	0.86	0.62	0	0.69	0.43
3243: 392	1911	NA	NA	NA	0.51	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0.84

【表 5 5】

表23 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳
3243: 57	1576	NA	1	0	1	NA	1	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	1
3243: 63	1582	1	1	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA	1
3243: 132	1651	0.83	0.76	0.6	0.49	0.86	0.8	0.17	0.85	0.72	0.47	0.48	0.72	0.74	0.64	0.64
3243: 138	1657	1	0.89	0.5	0.39	0.66	0.69	0.24	0.7	0.54	0.69	0.48	0.52	0.44	1	1
3243: 140	1659	1	1	0.41	0.47	1	0.91	0	1	0.76	0.66	0.51	0.68	0.26	1	1
3243: 155	1674	0.93	1	0.89	0.55	0.92	0.86	0.037	0.91	0.31	0.35	0.3	0.73	0.24	1	1
3243: 182	1701	0.87	0.81	0.69	0.6	0.75	0.94	0	1	0.65	0.59	0.57	0.6	0.41	0.98	0.98
3243: 229	1748	0.4	0.74	0.98	0.39	0.73	0.75	0	0.68	0.27	0.3	0.24	0.25	0.38	0.88	0.88
3243: 252	1771	0.49	0.62	0.15	0.27	0.64	0.66	0	0.81	0.5	0.15	0.25	0	0.22	0.75	0.75
3243: 263	1782	0.94	0.75	0.78	0	0.53	0.8	NA	1	0.29	0.35	0.23	0	0.55	0.91	0.91
3243: 311	1830	0.36	0.58	NA	0	0.87	0.71	0.2	0.67	0.14	0.23	0.26	0	0.24	0.86	0.86
3243: 392	1911	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

【表 5 6】

表23 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	乳房
3243: 57	1576	NA	NA	1	1	1	1
3243: 63	1582	1	1	1	1	1	1
3243: 132	1651	0.62	0.58	0.93	0.72	0.57	0.57
3243: 138	1657	0.92	0.78	0.97	0.85	0.51	0.51
3243: 140	1659	0.78	0.78	1	1	0.63	0.63
3243: 155	1674	0.82	0.74	1	1	0.32	0.32
3243: 182	1701	1	0.77	0.92	0.92	0.65	0.65
3243: 229	1748	1	0.6	0.91	0.65	0.33	0.33
3243: 252	1771	0.72	0.44	0.76	0.69	0.34	0.34
3243: 263	1782	1	0.56	1	1	0.31	0.31
3243: 311	1830	0.82	0.5	1	0.67	0.6	0.6
3243: 392	1911	NA	0.65	1	1	NA	NA

【 0 2 9 9 】

【表 5 7】

表24 (3244) (その1):

CpC識別子	R0I内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3244: 40	141	1	1	0.75	0.97	0.71	0.92	0.69	0.91	0.54	0.5	0.88	0.5
3244: 79	180	0.93	0.86	0.91	1	0.95	0.9	0.92	0.91	0.87	0.5	0.64	1
3244: 173	274	0.61	0.59	0.63	0.63	0.65	0.53	0.87	0.67	0.45	0.13	0.41	0.21
3244: 208	309	0.62	0.59	0.58	0.59	0.5	0.89	0.6	0.64	0.27	0	0.19	0.11
3244: 217	318	0.63	0.7	0.6	0.64	0.53	0.65	0.77	0.58	0.36	0.14	0.33	0.21
3244: 223	324	0.56	0.57	0.55	0.56	0.54	0.5	0.82	0.59	0.31	0.12	0.13	0.16
3244: 228	329	0.62	0.66	0.29	0.68	0.75	0.71	0.81	0.69	0.59	0.28	0.4	0.25
3244: 240	341	0.87	0.95	0.74	0.86	0.83	0.87	0.86	0.88	0.4	0.76	0.62	0.15

【0 3 0 0】

10

20

30

40

【表 5 8】

表24 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3244: 40	141	0.5	1	0.93	0.82	1	0.5	1	0.7	1	0.84	0.66	0.81	1	1
3244: 79	180	1	0.8	0.89	0.74	1	0.84	0.73	0.9	1	0.86	0.92	0.79	0.9	0.85
3244: 173	274	0.19	0.51	0.54	0.78	0.56	0.78	0.43	0.65	0.78	0.61	0.64	0.38	0.77	0.6
3244: 208	309	0.14	0.46	0.69	0.71	0.56	0.78	1	0.49	0.64	0.59	0.58	0.22	0.5	0.48
3244: 217	318	0.16	0.46	0.67	0.62	0.53	0.71	0.71	0.52	0.74	0.5	0.65	0.66	0.65	0.64
3244: 223	324	0.15	0.51	0.58	0.35	0.47	0.41	0.77	0.43	0.78	0.48	0.52	0.77	0.36	0.37
3244: 228	329	0.35	0.74	0.57	0.64	0.26	0.67	NA	0.63	0.84	0.59	0.75	1	0.64	0.62
3244: 240	341	0.19	0.82	0.88	0.93	0.91	0.97	0.2	0.83	0.83	0.54	0.9	0.78	0.78	1

【表 5 9】

表24 (その3) :

CoG識別子	R0I内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3244: 40	141	1	0.4	1	0.9	0.5	NA
3244: 79	180	1	0.43	0.7	0.87	1	1
3244: 173	274	0.8	0.72	0.73	0.38	0.81	0.78
3244: 208	309	0.6	0.46	0.65	0.81	0.61	0.47
3244: 217	318	0.73	0.41	0.72	0.48	0.78	0.67
3244: 223	324	0.87	0.19	0.42	0.34	0.79	0.6
3244: 228	329	0.68	0.27	0.55	0.43	0.83	0.77
3244: 240	341	0.85	0.85	0	0.8	0.71	0.71

10

20

【 0 3 0 2 】

30

【表 6 0】

表25 (3252) (その1):

Cp識別子	R0I内のMVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3252: 39	740	1	NA	0.82	0.51	1	NA	1	1	0.68	NA	NA	0.35
3252: 43	744	1	NA	1	1	1	1	1	1	1	NA	NA	0.97
3252: 88	789	0.95	NA	1	0.97	1	1	0.94	0.91	0.69	NA	NA	0.86
3252: 91	792	1	NA	0.85	0.91	0.87	1	0.9	0.85	0.57	0	NA	0.55
3252: 94	795	1	NA	0.73	0.73	1	0.67	1	0.93	0.78	1	NA	0.64
3252: 152	853	0.72	0.41	0.48	0.6	0.63	0.73	0.8	0.68	0.44	0	0	0.53
3252: 164	865	0.86	NA	0.59	0.66	0.64	0.52	0.71	0.77	0.46	0.17	NA	0.6
3252: 175	876	0.87	0.94	0.82	0.81	0.7	0.78	0.83	0.8	0.54	0.0087	NA	0.63
3252: 178	879	0.74	0.6	0.64	0.66	0.54	0.55	0.64	0.67	0.42	0.26	0.34	0.46
3252: 199	900	0.95	1	0.95	0.9	0.84	0.93	0.94	0.85	0.53	0.1	1	0.64
3252: 206	907	0.8	0.88	0.84	0.82	0.62	0.81	0.84	0.67	0.36	0	0.32	0.49
3252: 242	943	0.95	NA	0.77	0.74	0.56	0.68	0.67	0.74	0.38	0.34	1	0.57
3252: 297	998	1	NA	1	0.91	0.86	0.97	0.81	0.92	0.77	0.23	1	0.87
3252: 303	1004	1	NA	1	0.98	0.81	1	0.93	0.96	1	0.06	1	0.99
3252: 308	1009	0.76	NA	0.5	0.57	0.26	0.51	0.35	0.52	0.35	0.0054	0.95	0.58
3252: 330	1031	0.62	NA	0.61	0.48	0.39	0.32	0.38	0.35	0.28	0	0.43	0.51
3252: 334	1035	0.44	NA	0.49	0.31	0	0.15	0.21	0.29	0	0.054	0.044	0.33
3252: 347	1048	0.57	NA	NA	0.29	NA	0.26	NA	0.31	0	0.0088	NA	0.5

【0 3 0 3】

10

20

30

40

【表 6 1】

表 23 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	脳
3252: 39	740	0.33	0.91	NA	1	0.84	1	NA	0.88	0.68	1	0.7	1	0.33
3252: 43	744	1	1	1	1	1	1	NA	1	1	1	1	NA	1
3252: 88	789	0.31	0.91	1	1	1	0.94	NA	1	1	0.85	0.86	0.79	1
3252: 91	792	0.31	1	1	1	1	0.74	NA	1	0.7	0.75	0.66	0.79	0.89
3252: 94	795	0.3	1	0.41	1	0.8	0.71	NA	0.85	0.68	1	0.71	0.68	0.69
3252: 152	853	0.19	0.86	0.64	1	0.72	1	NA	0.86	0.44	0.62	0.54	0.83	0.95
3252: 164	865	0.21	0.82	0.68	1	0.72	0.66	NA	0.81	0.41	0.64	0.51	0.65	0.71
3252: 175	876	0.28	0.85	1	1	0.93	0.63	NA	1	0.61	0.67	0.55	1	0.98
3252: 178	879	0.18	0.67	0.33	1	0.62	0.85	NA	0.69	0.33	0.43	0.49	0.43	0.59
3252: 199	900	0.33	0.91	1	1	0.93	0.86	NA	0.99	0.59	0.75	0.73	1	0.72
3252: 206	907	0.2	0.8	1	0.82	0.83	0.85	NA	0.87	0.54	0.24	0.45	1	0.57
3252: 242	943	0.58	0.77	0.96	0.79	0.86	0.97	NA	0.8	0.38	0.34	0.38	0.94	0.58
3252: 297	998	0.55	0.97	1	0.95	0.92	0.97	NA	1	0.72	0.82	0.7	1	0.52
3252: 303	1004	1	1	1	1	1	0.98	NA	1	0.53	0.85	0.78	0.84	0.63
3252: 308	1009	0.19	0.64	0.92	0.7	0.64	0.9	NA	0.83	0.31	0.5	0.27	0.86	0.88
3252: 330	1031	0	0.54	1	0.62	0.7	0.61	NA	0.49	0.45	0.34	0.51	0.89	0.25
3252: 334	1035	0	0.26	0.59	0.58	0.43	0.66	NA	0.11	0.17	0.15	0.19	0.74	0.11
3252: 347	1048	NA	0.47	NA	0	NA	0.52	NA	0.19	0.46	0.43	NA	0.67	0.093

【0 3 0 4】

10

20

30

40

【表 6 2】

表23 (その3) :

CoG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3252: 39	740	NA	NA	NA	1	0.82
3252: 43	744	0.98	NA	NA	1	1
3252: 88	789	1	NA	NA	0.96	1
3252: 91	792	0.69	NA	1	0.77	0.82
3252: 94	795	0.46	NA	NA	0.91	0.75
3252: 152	853	0.19	NA	NA	0.66	0.7
3252: 164	865	0.35	NA	0.28	0.8	0.78
3252: 175	876	1	NA	0.89	0.97	0.92
3252: 178	879	0.49	NA	0.73	0.51	0.64
3252: 199	900	1	NA	1	0.98	0.93
3252: 206	907	0.95	NA	1	0.85	0.76
3252: 242	943	0.98	NA	NA	0.89	0.67
3252: 297	998	1	NA	1	1	1
3252: 303	1004	1	NA	1	1	1
3252: 308	1009	0.86	NA	0.42	0.9	0.75
3252: 330	1031	1	NA	0.72	0.77	0.73
3252: 334	1035	0.75	NA	0.67	0.3	0.49
3252: 347	1048	NA	NA	0	0.62	0

【 0 3 0 5】

【表 6 3】

表26 (3265) (その1) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3265: 62	716	0	0.016	0.019	0.12	0.046	0	0.11	0	0.41	0.26	0.062	0.37	0.039	0.22
3265: 81	735	0	0	0.014	0	0	0	0	0	0.048	0.047	0	0.039	0.22	0.36
3265: 84	738	0.054	0	0.062	0.055	0.044	0.027	0	0	0.23	0.38	0.34	0.23	0.01	0.23
3265: 137	791	0.083	0	0.047	0.23	0.23	0.055	0.18	0.021	0.2	0.3	0.23	0.01	0.01	0.23
3265: 139	793	0.087	0	0.067	0.037	0.08	0.077	0.19	0.021	0.092	0.081	0.054	0.47	0.35	0.2
3265: 259	913	0	0.032	0	0.000.031	0.079	0	0.11	0.029	0.3	0.38	0.054	0.47	0.35	0.2
3265: 337	991	0.25	0.47	0.015	0	0.1	0.3	0.0081	0.063	0.37	0.4	0.39	0.35	0.2	0.27
3265: 350	1004	0	0.055	0.31	0.029	0.13	0.25	0.34	0.0035	0.071	0.27	0.13	0.0078	0.7	0.33
3265: 362	1016	0	0	0	0.0039	0.024	0.0065	0.019	0.038	0.13	0.36	0.0078	0.27	0.33	0.51
3265: 395	1049	0.042	0	0.035	0.008	0.15	0.091	0.084	0.067	0.33	0.43	0.7	0.33	0.57	0.51
3265: 404	1058	0.23	0.11	0.11	0.06	0.049	0.14	0.23	0.08	0.098	0.35	0.57	0.51	0.57	0.51

【 0 3 0 6 】

10

20

30

40

【表 6 4】

表26 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3265: 62	716	0.11	0.086	0.18	0	0	0.15	0.11	NA	0.02	0	0.052	0	0.39	0.091
3265: 81	735	0.018	0	0	0	0.043	0	0.023	NA	0	0	0	0.2	0	0.14
3265: 84	738	0.4	0	0.033	0	0	0.036	0.098	NA	0.0031	0	0.046	0.15	0.0074	0.037
3265: 137	791	0.33	0	0.29	0	0.085	0.14	0.092	0	0.22	0.063	0.076	0	0	0.18
3265: 139	793	0.22	0.13	0.12	0.14	0.088	0	0.12	0	0	0.037	0.097	0.027	0	0.22
3265: 259	913	0.43	0.11	0.033	NA	0	0	0.31	0	0.3	0.14	0.083	0	0.3	0
3265: 337	991	0.54	0.15	0.041	0	0.028	0.29	0.48	0.89	0.45	0.067	0.18	0.17	0.65	0.12
3265: 350	1004	0/35	0.11	0.074	0	0.058	0	0.11	0.22	0	0	0	0.077	0	0
3265: 362	1016	0.21	0.0025	0	0	0.096	0	0.027	NA	0	0	0	0.031	0	0
3265: 395	1049	0.4	0.14	0.085	0	0.12	0.018	0.046	1	0	0	0.11	0.049	0.21	0
3265: 404	1058	0.57	0.14	0.1	0	0.1	0.2	0.36	0.7	0.3	0.048	0.27	0.022	0.16	0.6

【表 6 5】

表26 (その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3265: 62	716	0	0.095	0.12	0.25	0.14
3265: 81	735	0	0	0	0.0014	0.09
3265: 84	738	0.06	0	0.052	0.05	0.048
3265: 137	791	0.15	0	0.48	0.21	0.19
3265: 139	793	0.0092	0.077	0	0.18	0
3265: 259	913	0.033	0.13	0	0.22	0
3265: 337	991	0.092	0.5		0.26	0.065
3265: 350	1004	0	0.037	0.37	0	0
3265: 362	1016	0.024	0.024	0.3	0.0081	0.19
3265: 395	1049	0	0.02	0	0.21	0.11
3265: 404	1058	0.42	0.14	0.25	0.22	0.089

【 0 3 0 8 】

【表 6 6】

表27 (3291) (その1):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3291: 42	247	0.92	0.75	1	0.97	0.89	0.97	0.95	0.75	0.85	0.64	0.8	0.72
3291: 64	269	0.52	0.45	0.56	0.55	0.4	0.63	0.47	0.34	0.6	0.42	0.5	0.44
3291: 71	276	0.8	0.8	0.74	0.92	0.83	0.85	0.36	0.68	0.84	0.74	0.82	0.64
3291: 81	286	0.48	0.43	0.48	0.41	0.47	0.52	0.49	0.34	0.45	0.27	0.5	0.48
3291: 369	574	0.89	0.87	1	1	0.91	1	1	0.94	0.91	1	0.94	0.91

【0 3 0 9】

10

20

30

40

【表 6 7】

表27 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3291: 42	247	0.68	0.55	0.38	0.27	0.35	0.75	0.54	0.36	0.66	0.91	0.87
3291: 64	269	0.37	0.22	0.22	0.64	0.46	0.39	0.2	0.24	0.2	0.4	0.68
3291: 71	276	0.67	0.55	0.53	0.57	0.41	0.88	0.5	0.5	0.63	0.62	0.91
3291: 81	286	0.41	0.075	0.0075	0.26	0.23	0.22	0.56	0.00053	0.44	0.23	0.41
3291: 369	574	0.92	0.94	0.76	0.68	0.76	0.92	0.86	1	0.86	1	NA

【 0 3 1 0 】

10

20

30

40

【表 6 8】

表27 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3291: 42	247	0.81	1	0.73	1	1	0.86
3291: 64	269	0.79	0.6	NA	0.12	1	0.58
3291: 71	276	0.86	0.95	0.84	NA	1	0.87
3291: 81	286	0.65	0.67	0.61	0	0.79	0.79
3291: 369	574	1	1	NA	1	1	0.97

10

20

【 0 3 1 1 】

30

10

CpG識別子	R01内のMVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉
3312: 71	1498	1	1	NA	0.54	1	1	1	0.88	1
3312: 95	1522	1	1	1	0.71	1	1	1		0.72
3312: 103	1530	1	1	1	0.70	1	0.81	0.6	10.58	1
3312: 119	1546	1	1	1	1	1	1	0.74	0.71	0.88
3312: 158	1585	0.9	0.94	0.91	0.83	0.86	0.87	0.47	0.47	0.79
3312: 167	1594	1	1	1	1	1	1	0.96	0.92	0.88
3312: 193	1620	0.84	0.94	0.93	0.89	0.71	0.76	0.73	0.73	0.7
3312: 215	1642	0.88	0.92	0.88	0.88	0.94	0.88	0.82	0.8	1
3312: 223	1650	0.9	0.96	0.9	1	1	0.97	0.88	0.88	0.56
3312: 242	1669	0.89	0.93	0.91	1	1	0.96	0.9	0.93	0.9
3312: 259	1686	1	0.97	1	1	1	NA	1	1	1
3312: 273	1700	1	0.95	0.91	1	1	1	0.84	0.84	0.85
3312: 314	1741	0.76	0.7	0.71	1	0.73	0.83	0.73	0.67	0.29
3312: 404	1831	0.91	0.86	0.77	1	0.54	0.87	0.76	0.75	0.35
3312: 412	1839	0.95	1	0.93	0.98	1	0.97	1	1	NA

【表 7 0】

表28 (その2) :

CcG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3312: 71	1498	1	1	1	1	NA	1	0.8	0	1	1	1	1
3312: 95	1522	1	1	1	1	1	1	0.53	0.22	1	1	1	1
3312: 103	1530	0.58	1	1	1	1	0.79	0.51	0.27	0.87	1	0.74	1
3312: 119	1546	0.91	1	1	1	1	1	NA	0	0.82	1	0.87	1
3312: 158	1585	0.4	0.9	0.91	0.92	0.92	0.84	0.64	0	0.69	0.66	0.52	0.58
3312: 167	1594	0.95	1	1	1	1	1	0.22	0	1	0.96	1	1
3312: 193	1620	0.64	0.91	0.85	0.89	1	0.87	0.65	0.045	0.81	0.79	0.82	0.86
3312: 215	1642	0.81	0.88	0.89	1	0.91	0.9	0	0.3	0.83	0.84	0.75	0.73
3312: 223	1650	0.87	0.93	0.94	0.9	0.9	0.97	NA	0	0.78	0.86	0.82	0.79
3312: 242	1669	0.89	0.91	0.9	0.88	0.96	0.94	NA	0	0.93	0.87	0.86	1
3312: 259	1686	1	0.97	0.97	0.96	0.95	1	1	1	1	1	1	1
3312: 273	1700	0.85	0.97	0.89	0.94	0.91	1	0.56	1	0.91	0.84	0.93	0.74
3312: 314	1741	0.64	0.66	0.81	0.68	0.8	0.85	1	0.56	0.63	1	0.74	0.85
3312: 404	1831	0.72	1	0.79	1	0.8	0.75	1	0.42	0.81	0.7	1	0.63
3312: 412	1839	1	0.98	0.97	0.93	0.89	1	NA	0.88	1	1	1	1

【0 3 1 3】

10

20

30

40

【表 7 1】

表28 (その3) :

CoG識別子	R0I内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3312: 71	1498	1	1	1	1	1
3312: 95	1522	1	1	1	1	1
3312: 103	1530	0.84	1	1	1	1
3312: 119	1546	1	0.79	1	1	1
3312: 158	1585	0.88	0.88	1	0.91	0.93
3312: 167	1594	1	1	1	1	1
3312: 193	1620	0.76	0.66	0.81	0.83	0.79
3312: 215	1642	0.82	0.82	0.73	0.86	0.88
3312: 223	1650	0.81	0.77	0.95	0.9	0.92
3312: 242	1669	0.92	0.89	0.93	0.94	0.94
3312: 259	1686	0.98	1	1	1	0.97
3312: 273	1700	0.9	0.87	1	0.96	1
3312: 314	1741	0.58	0.85	0.69	0.68	0.71
3312: 404	1831	1	0.76	0.84	0.8	0.83
3312: 412	1839	1	0.96	1	1	1

【 0 3 1 4】

【表 7 2】

表29 (3329) (その1) :

CpG識別子	R0I内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3329: 52	1151	1	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA
3329: 135	1234	0.93	0.9	0.94	0.93	0.92	0.96	0.95	0.91	0.91	1	NA	0.67	1
3329: 154	1253	0.88	0.91	0.91	0.92	0.91	0.95	0.92	0.92	0.82	0.92	1	1	0.87
3329: 187	1286	0.9	1	1	0.92	0.96	0.96	0.99	0.92	0.92	0.93	1	0.8	0.95
3329: 241	1340	0.91	0.95	0.98	0.92	0.96	0.96	0.94	0.97	0.97	0.9	0.89	1	0.97
3329: 251	1350	1	1	0.96	0.98	0.98	1	1	0.97	0.97	0.99	1	0.9	1
3329: 303	1402	0.96	0.49	0.95	0.87	0.75	1	0.96	0.93	0.93	0.85	NA	0.88	0.67
3329: 315	1414	0.84	0.84	0.75	0.92	0.94	0.85	0.98	0.82	0.82	0.9	1	0.81	0.91
3329: 420	1519	0.27	0.4	0.37	0.48	0.48	0.36	0.36	0.18	0.18	0.45	0.57	0.35	0.53
3329: 440	1539	0.5	0.65	0.55	0.62	0.67	1	0.62	0.53	0.53	0.66	NA	1	0.57

【表 7 3】

表29 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3329: 52	1151	NA	NA	NA	1	0.85	0.65	NA	0.83	NA	NA	NA	NA	NA	0.5	NA
3329: 135	1234	0.92	1	0.8	0.96	0.95	0.64	0	1	1	1	1	1	1	1	0.9
3329: 154	1253	0.84	0.85	0.91	0.94	0.92	0.55	0.13	0.94	0.82	0.9	0.92	0.91	0.92	0.91	0.92
3329: 187	1286	0.93	0.92	0.95	1	0.9	0.55	0.097	0.95	0.97	0.95	0.85	1	0.93	1	0.93
3329: 241	1340	0.97	0.98	1	1	0.96	0.57	0.17	0.95	1	0.95	1	0.94	0.97	0.94	0.97
3329: 251	1350	1	0.98	1	0.95	1	0.79	0.35	1	0.98	0.98	1	1	1	1	0.91
3329: 303	1402	0.87	0.95	0.92	1	0.95	0.32	0.079	0.91	0.98	0.9	1	0.97	0.82	0.97	0.82
3329: 315	1414	0.83	0.89	0.96	0.91	0.87	0.71	0.21	0.8	0.98	0.92	0.59	0.82	0.81	0.82	0.81
3329: 420	1519	0.35	0.33	0.46	0.39	NA	0.34	0.61	0.31	0.5	0.43	0.47	0.49	0.39	0.49	0.39
3329: 440	1539	0.56	0.62	0.67	0.63	0.72	0.65	0.87	0.61	0.59	1	0.69	0.59	0.64	0.59	0.64

【表 7 4】

表29 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3329: 52	1151	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3329: 135	1234	1	0.93	0.91	1	1	1	1
3329: 154	1253	0.92	0.95	0.73	0.83	0.97	0.97	0.96
3329: 187	1286	1	1	1	1	1	1	1
3329: 241	1340	0.99	0.97	1	0.94	0.97	0.97	1
3329: 251	1350	1	1	0.77	1	1	1	1
3329: 303	1402	0.79	0.74	0.45	0.91	0.88	0.88	0.87
3329: 315	1414	1	0.95	NA	0.74	0.94	0.94	0.95
3329: 420	1519	0.48	0.49	NA	0.38	0.54	0.54	0.48
3329: 440	1539	0.75	0.72	0.22	0.72	0.76	0.76	0.64

【 0 3 1 7 】

【表 7 5】

表30 (3330) (その1):

Cp認識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3330: 45	2033	0.9	0.7	0.85	0.96	0.94	0.84	0.9	0.96	1	1	1	1	1
3330: 127	2115	0.81	0.61	0.87	0.87	0.82	0.82	0.89	0.93	0.95	1	1	1	0.86
3330: 151	2139	0.22	0.2	0.44	0.45	0.35	0.41	0.37	0.41	0.3	0.37	0.47	0.37	0.37
3330: 251	2239	0.67	0.66	0.52	0.76	0.63	0.49	0.55	0.59	0.75	0.86	0.37	0.73	0.73
3330: 260	2248	0.68	0.35	0.62	0.82	0.8	0.74	0.74	0.82	0.84	0.91	0.8	0.94	0.94
3330: 265	2253	0.69	0.52	0.87	0.83	0.77	0.72	0.83	0.87	0.63	0.71	0.74	0.69	0.69
3330: 298	2286	0.87	0	0.61	0.81	0.73	0.68	0.7	0.75	0.71	0.83	0.97	0.81	0.81
3330: 311	2299	0.82	0.54	0.82	0.87	0.77	0.8	0.85	0.88	0.96	1	1	1	1
3330: 320	2308	0.76	0.54	0.81	0.88	0.86	0.84	0.76	0.89	0.95	0.93	1	0.91	0.91
3330: 394	2382	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3330: 401	2389	1	0	0.57	1	1	0.37	0.58	1	1	1	1	1	0.74

【表 7 6】

表30 (その2) :

CcG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3330: 45	2033	1	0.8	1	0	0.92	0.86	0.88	1	1	0.88	0.92	0.84
3330: 127	2115	0.97	0.81	0.77	0.74	0.82	0.92	0.83	1	1	0.92	0.94	1
3330: 151	2139	0.4	0.22	0.2	0	0.2	0.23	0.36	0.99	0.43	0.23	0.41	0.18
3330: 251	2239	0.74	0.53	0.66	0.31	0.52	0.64	0.51	0.7	0.57	0.55	0.76	0.72
3330: 260	2248	0.95	0.59	0.34	0	0.28	0.57	0.48	0.96	0.75	0.64	0.69	0.73
3330: 265	2253	0.71	0.59	0.52	0.8	0.61	0.6	0.48	0.83	0.83	0.63	0.82	0.34
3330: 298	2286	0.84	0.44	0.29	0.75	0.43	0.49	0.11	0.94	0.67	0.53	0.69	0.26
3330: 311	2299	1	0.7	0.35	0.78	0.63	0.73	0.66	0.94	0.97	0.8	0.86	0.85
3330: 320	2308	0.93	0.79	0.45	0.51	0.6	0.73	0.56	0.8	0.82	0.67	0.75	0.6
3330: 394	2382	1	0.67	0.3	0.5	0.81	0.88	1	NA	1	1	1	0.5
3330: 401	2389	1	1	0.5	0	0.5	1	0	0.62	0.44	1	1	0

【表 7 7】

表30 (その3) :

CpG識別子	R0I内の WVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3330: 45	2033	1	1	1	0.86	1	1
3330: 127	2115	1	1	0.94	1	0.98	1
3330: 151	2139	0.23	0.41	1	0.6	0.45	0.58
3330: 251	2239	0.87	0.66	0.93	0.85	0.8	0.6
3330: 260	2248	1	0.87	1	0.58	0.89	0.86
3330: 265	2253	0.85	0.92	0.88	0.78	0.74	0.78
3330: 298	2286	0.93	0.8	1	0.71	0.77	0.79
3330: 311	2299	1	1	1	0.86	1	1
3330: 320	2308	1	1	0.084	0.81	1	0.93
3330: 394	2382	1	1	1	1	1	1
3330: 401	2389	1	1	1	1	1	NA

【 0 3 2 0 】

表31 (3347) (その1) :

[illegible]

40

【表 7 9】

表31 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房
3347: 32	1907	0	0.041	NA	0	0.32	NA	0.4	0	NA	0.29	1
3347: 63	1939	0.55	0.56	0.64	0.6	0.76	0.83	0.82	0.88	0.95	0.75	0.76
3347: 65	1940	0.25	0.075	0.13	0.94	0.69	0	0.054	0.68	0.66	0.13	0.45
3347: 71	1946	0.88	0.39	0.67	1	0.64	0.27	0.58	0.73	0.72	0.62	0.54
3347: 85	1960	0.19	0.27	0.05	0	0.13	0.055	0	0	0.12	0.21	0.17
3347: 92	1967	NA	0.18	0.033	0.48	0.17	0.37	NA	0	0.66	0.062	NA
3347: 100	1975	0	0.27	0.75	1	0.61	0.41	0.8	0.25	0.28	0.077	0.4
3347: 103	1978	0.45	NA	0.66	0.71	0.56	0.2	0.88	0.73	0.47	0.37	0.51
3347: 105	1980	0.49	0.59	0.83	0.29	0.76	0.7	0.95	0.61	0.81	0.43	0.55
3347: 111	1986	0.21	0.053	0.71	1	0.57	0.26	0.63	0.087	0.68	0.082	0.31
3347: 127	2002	0.32	0.32	0.9	0.67	0.48	0.78	0.93	0.65	0.76	0.53	0.41
3347: 133	2008	0.25	0.16	0.77	0.95	0.7	0.65	0.8	0.61	0.79	0.61	0.43
3347: 185	2060	0.39	0.68	1	1	0.88	1	0.91	0.85	0.93	0.74	0.49
3347: 232	2107	0.82	0.79	0.85	0.98	0.97	0.98	0.93	0.89	0.99	0.87	0.95
3347: 342	2217	0.28	0.19	0.66	0.65	0.46	0.54	0.5	0.41	0.8	0.51	0.28
3347: 351	2226	0.56	0.49	0.85	0.84	0.75	0.88	0.57	1	0.87	0.66	0.39

【 0 3 2 2 】

10

20

30

40

【表 8 0】

表31 (その3) :

CpG識別子	R0 内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3347: 32	1907	0	0	NA	0.25	1
3347: 63	1939	0.27	0	1	0.35	0.64
3347: 65	1940	0.29	0.23	0.55	0.5	0.28
3347: 71	1946	0.39	NA	1	0.39	0.67
3347: 85	1960	0	0.16	0	0	0
3347: 92	1967	0	0	0.095	0	0.067
3347: 100	1975	0.091	0.1	0.54	0.17	0.35
3347: 103	1978	0.19	0.13	0.86	0.39	0.5
3347: 105	1980	0.28	0.29	0.47	0.43	0.34
3347: 111	1986	0.71	0.076	0	0	0.11
3347: 127	2002	0.12	0	0.85	0.44	0.15
3347: 133	2008	0.092	0.95	0.5	0.4	0.13
3347: 185	2060	0.51	0.95	0.82	0.56	0.55
3347: 232	2107	0.81	0.97	1	0.63	0.72
3347: 342	2217	0.2	0.0077	0.43	0.15	0.052
3347: 351	2226	0.51	0.76	0.41	0.46	0.27

【 0 3 2 3 】

【表 8 1】

表32 (3348) (その1):

[illegible]

【表 8 2】

表32(その2) :

CoG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3348: 95	1651	0.93	0.95	1	1	1	1	0.56	0.88	0.86	0.84	0.87	1	1
3348: 112	1668	1	0.96	0.94	1	1	1	0.73	0.86	0.96	1	0.92	1	1
3348: 131	1687	0.94	1	1	0.93	0.97	1	0.51	0.89	0.96	0.93	0.98	1	1
3348: 154	1710	1	1	0.8	1	1	1	0.56	0.98	1	1	1	0.66	0.92
3348: 347	1903	0.83	1	1	1	1	1	0.49	0.94	1	0.9	1	0.88	0.6
3348: 352	1908	1	1	1	1	1	1	0.84	1	1	1	1	1	1
3348: 355	1911	0.88	1	1	1	1	1	0.66	0.97	0.96	0.95	1	0.91	1
3348: 361	1917	0.95	1	1	1	1	1	0.6	0.98	0.96	0.91	0.96	1	1
3348: 370	1926	1	1	1	1	1	1	0.51	1	1	1	1	0.73	1
3348: 397	1953	0.69	0.91	1	0.92	0.98	1	0.41	0.91	0.93	1	0.94	1	1
3348: 439	1995	0.42	0.92	NA	0.94	0.66	1	0.5	0.47	0.55	0.65	0.76	1	0.63
3348: 445	2001	1	1	NA	1	1	1	0.86	1	1	1	1	1	1

【 0 3 2 5】

10

20

30

40

【表 8 3】

表32 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳
3348: 95	1651	1	1	1	1	1
3348: 112	1668	1	0.89	1	1	1
3348: 131	1687	1	1	1	1	1
3348: 154	1710	1	0.8	0.81	1	1
3348: 347	1903	1	0.97	1	1	1
3348: 352	1908	1	1	1	1	1
3348: 355	1911	1	0.97	1	1	1
3348: 361	1917	1	1	1	1	1
3348: 370	1926	1	1	1	1	1
3348: 397	1953	0.91	1	1	0.92	0.9
3348: 439	1995	1	1	1	1	0.96
3348: 445	2001	1	1	1	1	1

【 0 3 2 6 】

【表 8 4】

表33 (3364) (その1):

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉
3364: 33	1921	0.87	1	0.73	0.9	1	0.8	0.93	1	0.89	NA	1
3364: 117	2005	0.62	0.78	1	0.78	0.8	0.93	1	0.78	1	1	1
3364: 142	2030	0.62	0.91	0.79	0.93	0.89	1	1	0.8	0.78	1	0.74
3364: 163	2051	0.84	0.95	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3364: 168	2056	0.72	0.95	0.82	0.95	1	1	1	1	1	1	1
3364: 204	2092	0.76	0.9	NA	0.9	NA	0.88	0.95	0.56	0.57	0.91	0.98
3364: 251	2139	0.54	0.7	0.61	0.8	0.62	0.7	0.75	0.56	0.45	0.45	0.62
3364: 423	2311	0.86	NA	1	1	NA	1	1	1	1	1	NA
3364: 431	2319	0.77	NA	0.73	1	1	1	0.91	1	0.59	1	1
3364: 445	2333	0.73	NA	NA	1	1	1	1	0.82	0.81	1	1
3364: 471	2359	NA	NA	0.51	1	NA	1	NA	0	NA	1	0.5
3364: 474	2362	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	0.85	0.37	1	0.72

【表 8 5】

表33(その2) :

Cp認識別子	ROI内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3364: 33	1921	1	NA	NA	0.87	NA	NA	NA	NA	1	NA	1	NA
3364: 117	2005	1	1	1	0.96	1	1	1	1	1	1	1	0.93
3364: 142	2030	1	1	1	1	0.5	1	1	0.95	1	0.93	1	0.98
3364: 163	2051	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3364: 168	2056	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.92
3364: 204	2092	0.79	0.84	0.85	0.83	1	1	1	1	0.93	0.85	0.4	0.96
3364: 251	2139	0.68	0.85	0.89	0.79	0.95	1	NA	0.66	0.65	0.64	0.86	0.63
3364: 423	2311	1	1	1	1	NA	NA	NA	1	1	1	1	1
3364: 431	2319	0.8	1	0.64	0.95	1	NA	NA	1	0.85	0.89	0.68	1
3364: 445	2333	1	1	1	NA	0.82	NA	NA	1	1	0.92	1	0.93
3364: 471	2359	1	1	1	0	NA	NA	NA	1	1	1	1	1
3364: 474	2362	1	1	1	1	NA	NA	NA	NA	1	1	1	1

【表 8 6】

表33 (その3) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3364: 33	1921	0.21	NA	NA	NA	NA	0.59
3364: 117	2005	1	NA	1	0.79	0.43	0.8
3364: 142	2030	0.64	0.11	0.93	0.61	0.72	0.48
3364: 163	2051	0.83	0.062	0.75	0.55	0.61	0.61
3364: 168	2056	0.76	0.63	0.93	0.44	0.33	0.48
3364: 204	2092	0.45	0	1	0.88	NA	1
3364: 251	2139	0.44	0.46	0.58	0.73	0.64	NA
3364: 423	2311	0.74	NA	NA	0.49	0.16	NA
3364: 431	2319	0.45	NA	NA	NA	0.65	NA
3364: 445	2333	0.73	NA	0.74	0.73	0.64	NA
3364: 471	2359	1	NA	0.49	0.16	0.65	NA
3364: 474	2362	1	NA	NA	0.65	NA	NA

【 0 3 2 9 】

【表 8 7】

表34 (3374) (その1):

Cp認識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3374: 38	979	0.82	0.88	0.46	0.73	0.56	0	0.62	0.73	0.36	0.54	0.64	0.22
3374: 89	1030	0.91	1	0.81	0.71	0.83	0.89	0.89	0.9	0.55	0.48	0.75	0.51
3374: 98	1039	1	1	1	0.99	1	0.98	1	1	0.97	0.98	0.83	1
3374: 117	1058	0.89	0.98	1	0.97	0.98	0.93	0.96	0.96	0.88	0.47	0.93	0.92
3374: 238	1179	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.96
3374: 255	1196	1	1	1	1	0.98	1	1	1	1	1	1	1
3374: 280	1221	1	0.98	1	1	0.98	0.98	1	1	0.98	0.98	1	0.95
3374: 309	1250	0.83	0.93	0.83	0.87	0.79	0.58	0.75	0.93	0.81	1	0.72	0.84
3374: 350	1291	0.95	1	0.89	0.92	0.85	0.92	0.94	1	0.93	0.68	0.96	0.91
3374: 449	1390	0.87	0.74	0.76	0.64	0.65	0.52	0.71	0.84	0.57	0.87	1	0.7

【 0 3 3 0 】

10

20

30

40

【表 8 8】

表34 (その2) :

CpG識別子	R01内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3374: 38	979	0.49	0.55	0.85	1	0.76	0.87	0.87	0.44	0.59	0.55	0.2	0.18	0.49
3374: 89	1030	0.58	0.79	0.94	0.65	0.81	0.86	0.94	1	0.65	0.77	0.69	0.77	0.65
3374: 98	1039	1	1	1	0.86	1	1	1	1	0.97	1	0.99	0.68	0.98
3374: 117	1058	0.91	0.93	0.99	1	0.96	0.96	0.94	1	0.92	0.93	0.96	0.88	0.89
3374: 238	1179	1	1	1	1	1	1	0.99	1	1	1	1	1	1
3374: 255	1196	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3374: 280	1221	0.99	1	0.98	1	1	1	1	1	0.96	1	1	1	0.98
3374: 309	1250	0.76	0.89	0.9	0.64	0.9	0.91	0.98	0.73	0.65	0.68	0.77	0.54	0.71
3374: 350	1291	0.92	0.93	0.97	0.97	0.95	0.99	0.93	0.88	0.91	0.95	0.88	0.98	0.84
3374: 449	1390	0.72	0.89	0.92	0.97	0.85	1	0.9	0.82	0.95	1	0.85	0.39	0.86

【表 8 9】

表34 (その3) :

CpG識別子	R0I内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3374: 38	979	0.9	1	1	0.92	0.76	
3374: 89	1030	0.9	0.94	0.88	0.84	1	
3374: 98	1039	1	0.97	1	1	1	
3374: 117	1058	0.93	1	1	0.96	0.91	
3374: 238	1179	1	0.96	1	1	1	
3374: 255	1196	1	1	1	1	1	
3374: 280	1221	1	1	1	0.97	1	
3374: 309	1250	0.95	0.76	0.39	0.9	0.83	
3374: 350	1291	1	0.87	1	0.99	0.97	
3374: 449	1390	0.92	0.88	0.88	0.78	74	

【 0 3 3 2 】

【表 9 0】

表35 (3377) (その1) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉
3377: 30	2036	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3377: 83	2089	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3377: 109	2115	0.88	1	1	1	1	1	1	0.96	1	0.87	0.86
3377: 183	2189	0.79	0.81	0.72	0.78	0.74	0.79	0.77	0.74	1	0.85	0.68
3377: 222	2228	0.77	0.79	0.67	0.62	0.72	0.75	0.65	0.7	0.9	0.65	0.88
3377: 235	2241	0.96	1	1	1	1	1	0.98	1	0.68	0.84	1
3377: 261	2267	1	1	1	1	1	1	1	0.9	0.85	0.89	1
3377: 270	2276	0.86	0.94	1	1	0.91	1	1	0.8	1	0.77	1
3377: 272	2278	1	0.97	0.91	0.96	0.97	1	0.93	0.89	0.75	1	0.92
3377: 275	2281	0.82	0.84	0.42	0.74	0.78	0.85	0.8	0.7	1	0.85	0.77
3377: 327	2333	0.34	0.39	0.45	0.3	0.42	0.4	0.45	0.31	0.45	0.21	0.24

【 0 3 3 3 3】

10

20

30

40

【表 9 1】

表35 (その2) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	筋肉	肺	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3377: 30	2036	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA
3377: 83	2089	1	1	1	1	1	1	1	0.82	1	1	1	0.7	1
3377: 109	2115	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.75	1
3377: 183	2189	0.68	0.81	0.93	0.84	0.79	0.86	0.95	0.7	0.65	0.73	0.68	1	0.74
3377: 222	2228	0.82	0.8	0.84	0.81	0.8	0.81	1	1	0.61	0.71	0.62	0.84	0.68
3377: 235	2241	1	1	1	1	1	1	1	0.95	0.95	1	0.96	0.85	0.96
3377: 261	2267	1	0.95	1	1	1	1	1	0.64	0.89	0.95	0.83	1	0.94
3377: 270	2276	0.89	0.92	1	0.96	1	0.89	0.96	1	0.89	0.77	0.78	0.96	0.84
3377: 272	2278	0.88	0.95	0.96	1	0.97	1	1	1	0.79	0.7	0.74	1	0.68
3377: 275	2281	0.43	0.52	0.8	0.47	0.84	0.89	0.5	0.89	0.39	0.55	0.22	0.47	0.24
3377: 327	2333	0.2	0.46	0.41	0.34	0.33	0.68	0.58	0.23	0.17	0.34	0.23	0.22	0.47

10

20

30

40

【表 9 2】

表35 (その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3377: 30	2036	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3377: 83	2089	1	1	1	1	1	1
3377: 109	2115	1	1	0.78	1	0.93	1
3377: 183	2189	0.82	0.81	0.67	0.79	0.76	0.76
3377: 222	2228	0.75	1	1	0.7	0.68	1
3377: 235	2241	1	0.87	1	1	1	1
3377: 261	2267	0.93	1	0.89	0.92	0.94	0.94
3377: 270	2276	0.9	0.92	1	0.96	0.88	0.88
3377: 272	2278	0.92	0.77	1	0.97	1	1
3377: 275	2281	0.89	1	1	0.41	0.8	0.8
3377: 327	2333	0.6	0.21	0.42	0.34	0.59	0.59

【 0 3 3 5】

【表 9 3】

表36 (3382) (その1):

Cp認識別子	R01内の MVP位置	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	筋肉	筋肉	筋肉	筋肉
3382: 33	1224	0.6	0.63	0.7	0.66	0.66	0.66	0.5	0.85	0.51	0.55	0.84	0.7
3382: 42	1233	0.85	0.84	0.87	0.84	1	0.92	0.92	0.93	0.88	0.91	0.93	0.76
3382: 63	1254	0.8	0.89	0.79	0.88	0.78	0.85	0.85	0.86	0.76	0.83	0.58	0.7
3382: 231	1422	0.78	0.61	0.78	0.76	0.54	0.88	0.88	0.79	0.54	0.45	0.51	0.48
3382: 248	1439	0.67	0.8	0.71	0.66	0.68	0.84	0.84	0.73	0.62	0.51	0.72	0.61
3382: 257	1448	0.97	0.96	0.91	0.98	0.91	0.98	0.98	0.98	0.92	0.93	0.99	0.94
3382: 263	1454	0.84	0.8	0.86	0.8	0.79	0.76	0.76	0.83	0.7	0.66	0.74	0.67
3382: 284	1475	1	1	0.96	1	0.91	0.87	0.87	0.96	0.93	0.97	0.98	0.91
3382: 302	1493	1	1	0.94	1	0.96	0.99	0.99	1	1	0.96	0.93	1
3382: 308	1499	0.9	0.91	0.82	0.87	0.9	0.9	0.9	0.94	0.9	0.84	0.74	0.82
3382: 314	1505	0.96	1	0.99	1	0.92	0.97	0.97	1	1	1	0.99	0.96
3382: 326	1517	0.97	0.95	0.95	1	0.91	0.95	0.95	0.96	0.92	0.97	0.96	0.94
3382: 332	1523	0.96	1	1	0.95	0.97	1	1	1	0.87	1	1	0.98
3382: 347	1538	0.9	1	0.85	0.79	0.86	1	1	0.89	0.87	0.78	1	0.74

【0 3 3 6】

10

20

30

40

【表 9 4】

表36(その2)：

CpG識別子	R0I内の MVP位置	肺	肺	肺	肺	肝臓	肝臓	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房	乳房
3382: 33	1224	0.58	0.8	0.77	0.65	0.73	0.37	0.13	0.42	0.23	0.38	0.34	0.46	0.4
3382: 42	1233	0.67	0.93	0.91	0.78	0.74	0.73	0.48	0.84	0.53	0.77	0.39	0.72	1
3382: 63	1254	0.56	0.83	0.69	0.77	0.76	0.55	0.14	0.53	0.53	0.62	0.25	0.57	0.53
3382: 231	1422	0.53	0.63	0.6	0.66	0.72	0.87	0.71	0.28	0.26	0.46	0.42	0.39	0.52
3382: 248	1439	0.62	0.82	0.72	0.73	0.76	0.9	0.67	0.45	0.37	0.16	0.65	0.68	0.26
3382: 257	1448	0.83	0.88	0.72	1	0.98	0.91	0.86	0.8	0.91	0.62	0.88	0.52	0.63
3382: 263	1454	0.68	0.94	0.54	0.67	0.82	0.84	0.7	0.43	0.42	0.36	0.4	0.45	0.37
3382: 284	1475	0.93	0.92	0.96	0.97	1	0.97	1	0.72	0.73	0.64	0.98	0.84	0.81
3382: 302	1493	0.91	1	0.99	0.99	1	1	0.96	0.73	1	0.8	0.96	0.78	0.88
3382: 308	1499	0.83	1	0.91	0.87	0.96	0.8	0.79	0.54	0.52	0.53	0.57	0.55	0.43
3382: 314	1505	0.98	1	1	1	1	0.94	0.97	0.78	0.9	0.7	0.98	0.86	0.85
3382: 326	1517	0.99	0.93	0.94	1	1	0.97	0.95	0.83	0.62	0.59	0.73	0.69	0.71
3382: 332	1523	0.94	1	1	0.98	1	0.91	0.89	0.94	0.75	0.6	1	1	0.66
3382: 347	1538	0.88	1	0.85	0.98	0.86	0.93	0.98	0.58	0.71	0.56	0.62	0.64	0.6

【0 3 3 7】

10

20

30

40

【表 9 5】

表36 (その3) :

CpG識別子	ROI内の MVP位置	脳	脳	脳	脳	脳	脳
3382: 33	1224	0.44	0.67	1	0.75	0.43	0.35
3382: 42	1233	0.72	0.94	0.14	0.95	0.93	0.64
3382: 63	1254	0.72	0.79	0.75	0.91	0.79	0.69
3382: 231	1422	0.42	0.33	0.29	0.51	0.42	0.23
3382: 248	1439	0.42	0.5	0.12	0.32	0.51	0.44
3382: 257	1448	0.82	0.81	0.19	0.9	0.92	0.81
3382: 263	1454	0.66	0.65	0.62	0.61	0.6	0.48
3382: 284	1475	0.78	0.87	0.76	1	0.77	0.77
3382: 302	1493	0.84	1	0.74	0.97	0.94	0.79
3382: 308	1499	0.65	0.78	0.57	0.77	0.76	0.63
3382: 314	1505	0.86	1	0.64	0.98	0.9	0.87
3382: 326	1517	0.84	0.93	0.75	1	0.82	0.69
3382: 332	1523	0.89	0.97	0.55	1	0.77	0.79
3382: 347	1538	0.78	0.82	0.97	0.99	0.81	0.78

【 0 3 3 8 】

【表 9 6】

表37 (3083)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3083: 28	442	肝臓	全	0. 0152	√
3083: 31	445	肝臓	全	0. 0476	√
3083: 40	454	肝臓	全	0. 00102	√
3083: 55	469	肝臓	全	0. 0167	√
3083: 61	475	肝臓	全	0. 0038	√
3083: 95	509	肝臓	全	0. 00287	√
3083: 122	536	肝臓	全	0. 00984	√
3083: 143	557	肝臓	全	0. 0293	√
3083: 161	575	肝臓	全	0. 0208	√
3083: 202	616	肝臓	全	7. 46E-08	√
3083: 216	630	肝臓	全	0. 0145	√
3083: 235	649	肝臓	全	0. 0206	√
3083: 250	664	肝臓	全	0. 00667	√
3083: 262	676	肝臓	全	0. 0215	√
3083: 265	679	肝臓	全	0. 0336	√
3083: 269	683	肝臓	全	0. 0219	√
3083: 294	708	肝臓	全	0. 0046	√
3083: 299	713	肝臓	全	0. 0241	√

10

20

【 0 3 3 9 】

30

【表 9 7】

表38 (3084)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3084: 41	1017	乳房	全	0. 626	-
3084: 56	1032	乳房	全	0. 00904	√
3084: 69	1045	乳房	全	0. 00536	√
3084: 72	1048	乳房	全	0. 0607	-
3084: 77	1053	乳房	全	0. 197	-
3084: 101	1077	乳房	全	0. 0027	√
3084: 201	1177	乳房	全	0. 0877	-
3084: 276	1252	乳房	全	0. 00034	√
3084: 301	1277	乳房	全	0. 00034	√
3084: 349	1325	乳房	全	5. 31E-06	√
3084: 364	1340	乳房	全	1. 06E-05	√

10

20

【 0 3 4 0 】

【表 9 8】

表39 (3091)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3091: 99	1766	乳房	全	0.159	-
3091: 159	1826	乳房	全	0.105	-
3091: 198	1865	乳房	全	0.622	-
3091: 205	1872	乳房	全	0.11	-
3091: 217	1884	乳房	全	0.357	-
3091: 241	1908	乳房	全	0.135	-
3091: 247	1914	乳房	全	0.293	-
3091: 257	1924	乳房	全	0.0351	√
3091: 272	1939	乳房	全	0.162	-
3091: 281	1948	乳房	全	0.0678	-
3091: 286	1953	乳房	全	0.592	-
3091: 303	1970	乳房	全	0.00249	√
3091: 320	1987	乳房	全	0.00104	√
3091: 334	2001	乳房	全	0.548	-
3091: 337	2004	乳房	全	0.00752	√
3091: 370	2037	乳房	全	0.152	-
3091: 379	2046	乳房	全	0.0188	√
3091: 391	2058	乳房	全	0.0503	-
3091: 449	2116	乳房	全	0.929	-

10

20

30

【0 3 4 1】

【表 9 9】

表40 (3093)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3093: 24	1122	肝臓	全	0.112	-
3093: 31	1129	肝臓	全	0.568	-
3093: 39	1137	肝臓	全	0.741	-
3093: 99	1197	肝臓	全	0.375	-
3093: 104	1202	肝臓	全	0.5	-
3093: 182	1280	肝臓	全	0.0428	√
3093: 193	1291	肝臓	全	0.0354	√
3093: 217	1315	肝臓	全	NA	-
3093: 232	1330	肝臓	全	0.163	-
3093: 240	1338	肝臓	全	0.139	-
3093: 247	1345	肝臓	全	0.0456	√
3093: 256	1354	肝臓	全	0.491	-
3093: 258	1356	肝臓	全	0.0239	√
3093: 269	1367	肝臓	全	0.893	-
3093: 277	1375	肝臓	全	0.0473	√
3093: 319	1417	肝臓	全	0.0237	√
3093: 347	1445	肝臓	全	0.0562	-
3093: 358	1456	肝臓	全	0.0819	-
3093: 395	1493	肝臓	全	0.507	-
3093: 398	1496	肝臓	全	0.528	-
3093: 415	1513	肝臓	全	0.623	-
3093: 433	1531	肝臓	全	0.871	-
3093: 440	1538	肝臓	全	0.534	-

10

20

30

【 0 3 4 2 】

【表 1 0 0】

表41 (3094)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ－ 位置
3094: 79	549	肝臓	全	0. 0144	√
3094: 103	573	肝臓	全	0. 124	-
3094: 118	588	肝臓	全	0. 845	-
3094: 148	618	肝臓	全	0. 0177	√
3094: 151	621	肝臓	全	0. 00013	√
3094: 155	625	肝臓	全	NA	
3094: 162	632	肝臓	全	0. 0216	√
3094: 169	639	肝臓	全	0. 00245	√
3094: 195	665	肝臓	全	0. 0673	
3094: 342	812	肝臓	全	0. 555	
3094: 393	863	肝臓	全	0. 653	

10

20

【 0 3 4 3】

【表 1 0 1】

表42 (3103)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3103: 41	1752	肝臓	全	NA	-
3103: 47	1758	肝臓	全	0. 643	-
3103: 76	1787	肝臓	全	0. 324	-
3103: 89	1800	肝臓	全	0. 564	-
3103: 106	1817	肝臓	全	0. 263	-
3103: 152	1863	肝臓	全	0. 186	-
3103: 163	1874	肝臓	全	0. 0597	-
3103: 190	1901	肝臓	全	0. 109	-
3103: 196	1907	肝臓	全	0. 152	-
3103: 203	1914	肝臓	全	0. 0986	-
3103: 227	1938	肝臓	全	0. 0574	-
3103: 231	1942	肝臓	全	0. 068	-
3103: 238	1949	肝臓	全	0. 141	-
3103: 279	1990	肝臓	全	0. 0399	√
3103: 285	1996	肝臓	全	NA	-
3103: 292	2003	肝臓	全	0. 0746	-
3103: 294	2005	肝臓	全	0. 0671	-
3103: 306	2017	肝臓	全	NA	-
3103: 311	2022	肝臓	全	0. 104	-
3103: 317	2028	肝臓	全	0. 246	-
3103: 319	2030	肝臓	全	0. 109	-
3103: 333	2044	肝臓	全	0. 048	√
3103: 346	2057	肝臓	全	NA	-
3103: 365	2076	肝臓	全	NA	-
3103: 378	2089	肝臓	全	0. 0884	-
3103: 384	2095	肝臓	全	NA	-

【 0 3 4 4】

【表 1 0 2】

表43 (3104)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3104: 75	1818	肝臓	全	0. 0358	√
3104: 79	1822	肝臓	全	0. 0199	√
3104: 132	1875	肝臓	全	0. 163	-
3104: 137	1880	肝臓	全	0. 0506	-
3104: 245	1988	肝臓	全	0. 0402	√
3104: 249	1992	肝臓	全	0. 00809	√
3104: 254	1997	肝臓	全	0. 209	-
3104: 302	2045	肝臓	全	0. 316	-
3104: 306	2049	肝臓	全	0. 826	-
3104: 333	2076	肝臓	全	0. 0609	-
3104: 349	2092	肝臓	全	0. 308	-
3104: 361	2104	肝臓	全	0. 474	-
3104: 386	2129	肝臓	全	0. 411	-
3104: 425	2168	肝臓	全	0. 957	-
3104: 475	2218	肝臓	全	NA	-

10

20

【 0 3 4 5】

【表 1 0 3】

表44 (3105)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ- 位置
3105: 45	300	乳房	全	4.86e-05	√
3105: 64	319	乳房	全	0.026	√
3105: 73	328	乳房	全	3.78E-05	√
3105: 85	340	乳房	全	6.74E-05	√
3105: 97	352	乳房	全	0.152	-
3105: 132	387	乳房	全	0.000617	√
3105: 136	391	乳房	全	0.00215	√
3105: 151	406	乳房	全	0.000385	√
3105: 163	418	乳房	全	0.000556	√
3105: 172	427	乳房	全	0.00529	√
3105: 193	448	乳房	全	0.000129	√
3105: 202	457	乳房	全	0.00136	√
3105: 256	511	乳房	全	0.00171	√
3105: 280	535	乳房	全	0.00685	√
3105: 301	556	乳房	全	0.21	-
3105: 337	592	乳房	全	0.0455	√
3105: 364	619	乳房	全	0.00288	√
3105: 367	622	乳房	全	0.174	-
3105: 375	630	乳房	全	0.0666	-
および					
3105: 45	300	筋肉	前立腺、肝、脳、肺	0.243	-
3105: 64	319	筋肉	全	0.00724	√
3105: 73	328	筋肉	全	0.961	-
3105: 85	340	筋肉	全	0.493	-
3105: 97	352	筋肉	全	0.159	-
3105: 132	387	筋肉	全	0.206	-
3105: 136	391	筋肉	全	0.0999	-
3105: 151	406	筋肉	全	0.516	-
3105: 163	418	筋肉	全	0.0952	-
3105: 172	427	筋肉	全	0.689	-
3105: 193	448	筋肉	全	0.285	-
3105: 202	457	筋肉	全	0.752	-
3105: 256	511	筋肉	全	0.0069	√
3105: 280	535	筋肉	全	0.00173	√
3105: 301	556	筋肉	全	0.00199	√
3105: 337	592	筋肉	全	0.000502	√
3105: 364	619	筋肉	全	0.331	-
3105: 367	622	筋肉	全	0.0113	√
3105: 375	630	筋肉	全	0.00565	√

【0 3 4 6】

【表 1 0 4】

表45 (3107)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ- 位置
3107: 58	336	脳	乳、肺	0. 161	-
3107: 60	338	脳	乳、肺	0. 572	-
3107: 80	358	脳	乳、肺	0. 352	-
3107: 97	375	脳	乳、肺	0. 352	-
3107: 100	378	脳	乳、肺	0. 527	-
3107: 120	398	脳	乳、肺	0. 028	√
3107: 137	415	脳	乳、肺	0. 667	-
3107: 139	417	脳	乳、肺	0. 668	-
3107: 148	426	脳	乳、肺	0. 853	-
3107: 164	442	脳	乳、肺	0. 354	-
3107: 187	465	脳	乳、肺	0. 371	-
3107: 190	468	脳	乳、肺	0. 513	-
3107: 209	487	脳	乳、肺	0. 0142	√
3107: 224	502	脳	乳、肺	0. 0193	√
3107: 233	511	脳	乳、肺	0. 00466	√
3107: 243	521	脳	乳、肺	0. 0127	√
3107: 257	535	脳	乳、肺	0. 0127	√
3107: 265	543	脳	乳、肺	0. 00799	√
3107: 400	678	脳	乳、肺	0. 0773	-
および					
3107: 58	336	乳、肺	全	0. 127	-
3107: 60	338	乳、肺	全	0. 807	-
3107: 80	358	乳、肺	全	0. 333	-
3107: 97	375	乳、肺	全	0. 685	-
3107: 100	378	乳、肺	全	0. 211	-
3107: 120	398	乳、肺	全	0. 0493	√
3107: 137	415	乳、肺	全	0. 273	-
3107: 139	417	乳、肺	全	0. 125	-
3107: 148	426	乳、肺	全	0. 161	-
3107: 164	442	乳、肺	全	0. 0666	-
3107: 187	465	乳、肺	全	0. 266	-
3107: 190	468	乳、肺	全	0. 266	-
3107: 209	487	乳、肺	全	0. 0139	√
3107: 224	502	乳、肺	全	0. 00911	√
3107: 233	511	乳、肺	全	0. 0185	√
3107: 243	521	乳、肺	全	0. 000884	√
3107: 257	535	乳、肺	全	0. 0045	√
3107: 265	543	乳、肺	全	0. 000936	√
3107: 400	678	乳、肺	全	0. 0902	-

【 0 3 4 7】

【表 1 0 5】

表46 (3110)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3110: 32	442	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 2150	-
3110: 84	445	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 00146	√
3110: 286	454	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 000644	√
3110: 310	469	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 000156	√
3110: 366	475	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 0045	√
3110: 370	509	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 0246	√
3110: 415	536	乳、脳、筋	肝、肺、前立腺	0. 108	-

10

【 0 3 4 8】

【表 1 0 6】

表47 (3113)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3113: 42	61	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0432	√
3113: 47	66	乳、肝、筋	脳、肺	0. 321	-
3113: 72	91	乳、肝、筋	脳、肺	0. 013	√
3113: 78	97	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0000741	√
3113: 86	105	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0000488	√
3113: 116	135	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0000893	√
3113: 156	175	乳、肝、筋	脳、肺	0. 000525	√
3113: 160	179	乳、肝、筋	脳、肺	0. 000508	√
3113: 164	183	乳、肝、筋	脳、肺	0. 000217	√
3113: 182	201	乳、肝、筋	脳、肺	0. 000637	√
3113: 189	208	乳、肝、筋	脳、肺	0. 000212	√
3113: 197	216	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0027	√
3113: 298	317	乳、肝、筋	脳、肺	0. 8	-
3113: 303	322	乳、肝、筋	脳、肺	0. 00676	√
3113: 378	397	乳、肝、筋	脳、肺	0. 00615	√
3113: 400	419	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0046	√
3113: 406	425	乳、肝、筋	脳、肺	0. 0585	-

20

30

40

【 0 3 4 9】

【表 1 0 7】

表48 (3127)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3127: 25	1756	乳房	全	0. 00132	√
3127: 28	1759	乳房	全	0. 0106	√
3127: 63	1794	乳房	全	0. 00176	√
3127: 73	1804	乳房	全	0. 00104	√
3127: 124	1855	乳房	全	0. 0011	√
3127: 127	1858	乳房	全	0. 0022	√
3127: 175	1906	乳房	全	0. 0279	√

10

【 0 3 5 0 】

【表 1 0 8】

表49 (3129)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3129: 99	1999	肝臓	全	0. 887	-
3129: 111	2011	肝臓	全	0. 76	-
3129: 125	2025	肝臓	全	0. 672	-
3129: 137	2037	肝臓	全	0. 435	-
3129: 139	2039	肝臓	全	0. 275	-
3129: 144	2044	肝臓	全	0. 31	-
3129: 148	2048	肝臓	全	0. 888	-
3129: 157	2057	肝臓	全	0. 212	-
3129: 162	2062	肝臓	全	0. 698	-
3129: 178	2078	肝臓	全	0. 0875	-
3129: 184	2084	肝臓	全	0. 0933	-
3129: 216	2116	肝臓	全	0. 606	-
3129: 261	2161	肝臓	全	0. 0444	√
3129: 341	2241	肝臓	全	0. 0134	√
3129: 353	2253	肝臓	全	0. 105	-
3129: 357	2257	肝臓	全	0. 000186	√
3129: 368	2268	肝臓	全	0. 0288	√
3129: 371	2271	肝臓	全	0. 0346	√
3129: 377	2277	肝臓	全	0. 00985	√
3129: 384	2284	肝臓	全	0. 0281	√
3129: 402	2302	肝臓	全	0. 019	√
3129: 438	2338	肝臓	全	0. 286	-
3129: 453	2353	肝臓	全	0. 242	-
3129: 475	2375	肝臓	全	0. 539	-

【 0 3 5 1】

【表 1 0 9】

表50 (3145)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3145: 46	664	肝、筋	乳、脳	0. 0589	-
3145: 94	712	肝、筋	乳、脳	0. 0143	√
3145: 102	720	肝、筋	乳、脳	0. 000709	√
3145: 110	728	肝、筋	乳、脳	0. 000756	√
3145: 140	758	肝、筋	乳、脳	0. 0143	√
3145: 158	776	肝、筋	乳、脳	0. 00656	√
3145: 268	886	肝、筋	乳、脳	0. 0233	√
3145: 354	972	肝、筋	乳、脳	0. 00123	√
3145: 388	1006	肝、筋	乳、脳	0. 00139	√
3145: 445	1063	肝、筋	乳、脳	0. 385	-

10

20

【 0 3 5 2】

【表 1 1 0】

表51 (ROI 3152)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3152: 23	1818	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 808	-
3152: 56	1851	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 0464	√
3152: 138	1933	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 0516	-
3152: 234	2029	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 000278	√
3152: 283	2078	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 000919	√
3152: 361	2156	脳、乳、筋	肺、前立腺	0. 00859	√

30

【 0 3 5 3】

【表 1 1 1】

表52 (3170)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3170: 170	1858	肺	全	0. 673	-
3170: 175	1863	肺	全	0. 755	-
3170: 353	2041	肺	全	0. 0714	-
3170: 385	2073	肺	全	0. 0118	√
3170: 396	2084	肺	全	0. 00962	√
3170: 409	2097	肺	全	0. 0159	√
3170: 412	2100	肺	全	0. 0308	√

10

【0 3 5 4】

【表 1 1 2】

表53 (3192)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3192: 29	375	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 0256	√
3192: 108	454	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000715	√
3192: 128	474	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 00125	√
3192: 160	506	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000213	√
3192: 166	512	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000715	√
3192: 172	518	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000899	√
3192: 191	537	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000213	√
3192: 265	611	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 00221	√
3192: 268	614	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 0985	√
3192: 362	708	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000213	√
3192: 368	714	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 000882	√
3192: 427	773	肺	乳、前立腺、筋、肝	0. 178	-

20

30

【0 3 5 5】

40

【表 1 1 3】

表54 (3200)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3200: 36	1897	肝	全	0. 0534	-
3200: 49	1910	肝	全	0. 193	-
3200: 66	1927	肝	全	0. 0276	√
3200: 78	1939	肝	全	0. 0043	√
3200: 83	1944	肝	全	0. 0086	√
3200: 99	1960	肝	全	0. 46	-
3200: 127	1988	肝	全	0. 0086	√
3200: 155	2016	肝	全	0. 294	√
3200: 160	2021	肝	全	0. 0086	√
3200: 169	2030	肝	全	0. 0086	√
3200: 178	2039	肝	全	0. 0043	√
3200: 192	2053	肝	全	0. 184	-
3200: 199	2060	肝	全	0. 0086	√
3200: 225	2086	肝	全	0. 0086	√
3200: 305	2166	肝	全	0. 0219	√
3200: 312	2173	肝	全	0. 0043	√
3200: 361	2222	肝	全	0. 0644	-

10

20

【0 3 5 6】

【表 1 1 4】

表55 (3208)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3208: 33	729	肝	全	0. 0376	√
3208: 45	741	肝	全	0. 0219	√
3208: 69	765	肝	全	0. 048	√
3208: 111	807	肝	全	0. 093	-
3208: 119	815	肝	全	0. 0219	√
3208: 127	823	肝	全	0. 00403	√
3208: 148	844	肝	全	0. 039	√
3208: 164	860	肝	全	0. 0293	√
3208: 303	999	肝	全	0. 0321	√
3208: 338	1034	肝	全	0. 355	-
3208: 349	1045	肝	全	0. 11	-
3208: 371	1067	肝	全	0. 358	-
3208: 392	1088	肝	全	0. 404	-
3208: 403	1099	肝	全	0. 695	-
3208: 436	1132	肝	全	0. 358	-
3208: 455	1151	肝	全	NA	-
3208: 461	1157	肝	全	NA	-

10

20

【 0 3 5 7 】

【表 1 1 5】

表56 (3239)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ－ 位置
3239: 38	623	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00402	√
3239: 44	629	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.0622	-
3239: 49	634	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00448	√
3239: 71	656	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.000516	√
3239: 75	660	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.41	-
3239: 88	673	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.354	-
3239: 141	726	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.212	-
3239: 163	748	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00371	√
3239: 169	754	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00107	√
3239: 178	763	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00141	√
3239: 197	782	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.000187	√
3239: 212	797	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00002020	√
3239: 218	803	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.0152	√
3239: 233	818	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.000225	√
3239: 236	821	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.000271	√
3239: 242	827	乳、前立腺	脳、肺、肝	8.75E-05	√
3239: 250	835	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00547	√
3239: 256	841	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00632	√
3239: 262	847	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00615	√
3239: 285	870	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.0299	√
3239: 300	885	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.934	-
3239: 319	904	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.0123	√
3239: 328	913	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00291	√
3239: 337	922	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.484	-
3239: 340	925	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.056	-
3239: 343	928	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.275	-
3239: 348	933	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.68	-
3239: 354	939	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.00231	√
3239: 360	945	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.261	-
3239: 366	951	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.479	-
3239: 377	962	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.369	-
3239: 421	1006	乳、前立腺	脳、肺、肝	0.332	-

10

20

30

40

【表 1 1 6】

表57 (3243)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3243: 57	1576	乳	全	0. 196	-
3243: 63	1582	乳	全	NA	-
3243: 132	1651	乳	全	0. 105	-
3243: 138	1657	乳	全	0. 0133	√
3243: 140	1659	乳	全	0. 0144	√
3243: 155	1674	乳	全	0. 000866	√
3243: 182	1701	乳	全	0. 00148	√
3243: 229	1748	乳	全	0. 00163	√
3243: 252	1771	乳	全	0. 0695	-
3243: 263	1782	乳	全	0. 0194	√
3243: 311	1830	乳	全	0. 0102	√
3243: 392	1911	乳	全	NA	-

10

20

【 0 3 5 9】

【表 1 1 7】

表58 (3244)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3244: 40	141	筋肉	全	0. 0149	√
3244: 79	180	筋肉	全	0. 719	-
3244: 173	274	筋肉	全	0. 000189	√
3244: 208	309	筋肉	全	0. 00001990	√
3244: 217	318	筋肉	全	0. 00000993	√
3244: 223	324	筋肉	全	0. 00001990	√
3244: 228	329	筋肉	全	0. 0048	√
3244: 240	341	筋肉	全	0. 00252	√

30

40

【 0 3 6 0】

【表 1 1 8】

表59 (3252)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3252: 39	740	乳、筋	全	0. 251	-
3252: 43	744	乳、筋	全	0. 508	-
3252: 88	789	乳、筋	全	0. 000727	√
3252: 91	792	乳、筋	全	0. 000777	√
3252: 94	795	乳、筋	全	0. 192	-
3252: 152	853	乳、筋	全	0. 00432	√
3252: 164	865	乳、筋	全	0. 00191	√
3252: 175	876	乳、筋	全	0. 00113	√
3252: 178	879	乳、筋	全	0. 0000139	√
3252: 199	900	乳、筋	全	0. 00449	√
3252: 206	907	乳、筋	全	0. 000445	√
3252: 242	943	乳、筋	全	0. 0079	√
3252: 297	998	乳、筋	全	0. 00325	√
3252: 303	1004	乳、筋	全	0. 0107	√
3252: 308	1009	乳、筋	全	0. 04	√
3252: 330	1031	乳、筋	全	0. 0118	√
3252: 334	1035	乳、筋	全	0. 0135	√
3252: 347	1048	乳、筋	全	0. 865	-

10

20

【0 3 6 1】

30

【表 1 1 9】

表60 (3265)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3265: 62	716	筋肉	全	0. 0285	√
3265: 81	735	筋肉	全	0. 0393	√
3265: 84	738	筋肉	全	0. 000496	√
3265: 137	791	筋肉	全	0. 00386	√
3265: 139	793	筋肉	全	0. 137	-
3265: 259	913	筋肉	全	0. 00383	√
3265: 337	991	筋肉	全	0. 0499	√
3265: 350	1004	筋肉	全	0. 0195	√
3265: 362	1016	筋肉	全	0. 00732	√
3265: 395	1049	筋肉	全	0. 00131	√
3265: 404	1058	筋肉	全	0. 0547	-

10

20

【 0 3 6 2 】

【表 1 2 0】

表61 (3291)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3291: 42	247	脳	全	0. 0461	√
3291: 64	269	脳	全	0. 121	-
3291: 71	276	脳	全	0. 00305	√
3291: 81	286	脳	全	0. 0113	√
3291: 369	574	脳	全	0. 0304	√

30

【 0 3 6 3 】

【表 1 2 1】

表62 (3312)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ－ 位置
3312: 71	1498	肝	全	0. 000433	√
3312: 95	1522	肝	全	0. 000429	√
3312: 103	1530	肝	全	0. 0131	√
3312: 119	1546	肝	全	NA	-
3312: 158	1585	肝	全	0. 0738	-
3312: 167	1594	肝	全	0. 00331	√
3312: 193	1620	肝	全	0. 0092	√
3312: 215	1642	肝	全	0. 0222	√
3312: 223	1650	肝	全	NA	-
3312: 242	1669	肝	全	NA	-
3312: 259	1686	肝	全	0. 456	-
3312: 273	1700	肝	全	0. 735	-
3312: 314	1741	肝	全	0. 967	-
3312: 404	1831	肝	全	0. 867	-
3312: 412	1839	肝	全	NA	-

10

20

【 0 3 6 4】

【表 1 2 2】

表63 (3329)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ－ 位置
3329: 52	1151	肝	全	NA	-
3329: 135	1234	肝	全	0. 0182	√
3329: 154	1253	肝	全	0. 0216	√
3329: 187	1286	肝	全	0. 0191	√
3329: 241	1340	肝	全	0. 0206	√
3329: 251	1350	肝	全	0. 0144	√
3329: 303	1402	肝	全	0. 0219	√
3329: 315	1414	肝	全	0. 027	√
3329: 420	1519	肝	全	0. 777	-
3329: 440	1539	肝	全	0. 268	-

30

40

【 0 3 6 5】

【表 1 2 3】

表64 (3330)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3330: 45	2033	肺	筋	0. 0254	√
3330: 127	2115	肺	筋	0. 0212	√
3330: 151	2139	肺	筋	0. 00794	√
3330: 251	2239	肺	筋	0. 0952	-
3330: 260	2248	肺	筋	0. 00794	√
3330: 265	2253	肺	筋	0. 151	-
3330: 298	2286	肺	筋	0. 0159	√
3330: 311	2299	肺	筋	0. 0097	√
3330: 320	2308	肺	筋	0. 00794	√
3330: 394	2382	肺	筋	0. 00749	√
3330: 401	2389	肺	筋	0. 156	-

10

20

【0 3 6 6】

【表 1 2 4】

表65 (3347)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3347: 32	1907	筋、脳	全	0. 0917	-
3347: 63	1939	筋、脳	全	0. 00198	√
3347: 65	1940	筋、脳	全	0. 063	-
3347: 71	1946	筋、脳	全	0. 525	-
3347: 85	1960	筋、脳	全	0. 018	√
3347: 92	1967	筋、脳	全	0. 00117	√
3347: 100	1975	筋、脳	全	0. 0173	√
3347: 103	1978	筋、脳	全	0. 00232	√
3347: 105	1980	筋、脳	全	0. 00776	√
3347: 111	1986	筋、脳	全	0. 00825	√
3347: 127	2002	筋、脳	全	0. 00412	√
3347: 133	2008	筋、脳	全	0. 0132	√
3347: 185	2060	筋、脳	全	0. 00307	√
3347: 232	2107	筋、脳	全	0. 0769	-
3347: 342	2217	筋、脳	全	0. 00181	√
3347: 351	2226	筋、脳	全	0. 0062	√

30

40

【0 3 6 7】

50

【表 1 2 5】

表66 (3348)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値
3348: 95	1651	肝	全	NA
3348: 112	1668	肝	全	NA
3348: 131	1687	肝	全	NA
3348: 154	1710	肝	全	NA
3348: 347	1903	肝	全	NA
3348: 352	1908	肝	全	NA
3348: 355	1911	肝	全	NA
3348: 361	1917	肝	全	NA
3348: 370	1926	肝	全	NA
3348: 397	1953	肝	全	NA
3348: 439	1995	肝	全	NA
3348: 445	2001	肝	全	NA

10

20

【0 3 6 8】

【表 1 2 6】

表67 (3364)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ 位置
3364: 33	1921	脳	全	0. 0289	√
3364: 117	2005	脳	全	0. 566	-
3364: 142	2030	脳	全	0. 00399	√
3364: 163	2051	脳	全	0. 000004760	√
3364: 168	2056	脳	全	0. 000311	√
3364: 204	2092	脳	全	0. 043	√
3364: 251	2139	脳	全	0. 0023	√
3364: 423	2311	脳	全	0. 000826	√
3364: 431	2319	脳	全	0. 169	-
3364: 445	2333	脳	全	0. 00148	√
3364: 471	2359	脳	全	0. 365	-
3364: 474	2362	脳	全	0. 404	-

30

40

【0 3 6 9】

【表 1 2 7】

表68 (3374)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3374: 38	979	乳、筋	全	0.00165	√
3374: 89	1030	乳、筋	全	0.000046800	√
3374: 98	1039	乳、筋	全	0.0101	√
3374: 117	1058	乳、筋	全	0.00102	√
3374: 238	1179	乳、筋	全	0.766	-
3374: 255	1196	乳、筋	全	0.525	-
3374: 280	1221	乳、筋	全	0.0562	-
3374: 309	1250	乳、筋	全	0.0906	-
3374: 350	1291	乳、筋	全	0.0554	-
3374: 449	1390	乳、筋	全	0.947	-

10

【0 3 7 0】

【表 1 2 8】

20

表69 (3377)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカー 位置
3377: 30	2036	乳	全	NA	-
3377: 83	2089	乳	全	0.393	-
3377: 109	2115	乳	全	1	-
3377: 183	2189	乳	全	0.156	-
3377: 222	2228	乳	全	0.0842	-
3377: 235	2241	乳	全	0.0263	√
3377: 261	2267	乳	全	0.139	-
3377: 270	2276	乳	全	0.0148	√
3377: 272	2278	乳	全	0.0225	√
3377: 275	2281	乳	全	0.00537	√
3377: 327	2333	乳	全	0.208	-

30

40

【0 3 7 1】

【表 1 2 9】

表70 (3382)

増幅産物内 MVP位置	ROI内MVP 位置	識別 対象	排除対象 他タイプ	P値	優良マーカ- 位置
3382: 33	1224	脳、乳	全	0. 0284	√
3382: 42	1233	脳、乳	全	0. 311	-
3382: 63	1254	脳、乳	全	0. 0775	-
3382: 231	1422	脳、乳	全	0. 000001370	√
3382: 248	1439	脳、乳	全	0. 000003850	√
3382: 257	1448	脳、乳	全	0. 000331	√
3382: 263	1454	脳、乳	全	6. 38E-07	√
3382: 284	1475	脳、乳	全	0. 00073	√
3382: 302	1493	脳、乳	全	0. 00394	√
3382: 308	1499	脳、乳	全	0. 000000099	√
3382: 314	1505	脳、乳	全	0. 000719	√
3382: 326	1517	脳、乳	全	0. 00016	√
3382: 332	1523	脳、乳	全	0. 0108	√
3382: 347	1538	脳、乳	全	0. 00285	√

10

20

【0 3 7 2】

以下の実施例では、以上の開示マーカ-を使用した組織の特定、分類または目録作成、あるいは異なるタイプ間の組織の識別のための方法を説明する。

【0 3 7 3】

実施例 2

(マーカ-ROI 3083と付随するエピゲノム地図(epigenetic map)を使用してゲノムDNAを含むサンプルの由来源としての肝組織を特定する。肝組織の他組織との鑑別にはHeavyMethyl (登録商標) アッセイ法を使用する。)

30

本実施例での実験は、診断検査施設内で、それぞれ2つの異なる組織サンプルの一方に由来する単離ゲノムDNAを入れた2本のチューブが図らずもランダム化されてしまったことを背景とする。ただし、一方のサンプルは肝生検に由来する(がんの分子検査に使用する)ものであり、他方のサンプルは死体の筋細胞に由来する(法医学研究のためのSNP系検査に使用する)ことが分かっている。抽出(DNA単離)を繰り返すだけの十分な量の組織試料がないため、本発明の肝マーカ-のうちの1つを使用して各DNAを検査してその由来源の解明を図ることとする。

【0 3 7 4】

40

本発明では、使用マーカ-をROI 3083(プロペルジン(BF)中のnt 571~nt 3701; アクセションgi: 25070930)とする。本明細書で開示するように、該遺伝子の特定領域は肝臓ではメチル化されないが、他組織ではメチル化される(表3および37を参照)。本発明に従い該ROIを対象として高感度検出アッセイ法(たとえばHeavyMethyl (登録商標) アッセイ法)を行うことにより、この点を検査に利用しうることも開示している。そうしたアッセイ法を行うには、SEQ ID NOS: 1および2の配列情報を使用してプライマー、プローブおよびブロッカーをまず設計する。次のプライマー、プローブおよびブロッカーは、ROI SEQ ID NO:1を鋳型として使用して設計する:

【0 3 7 5】

順方向プライマー: (SEQ ID NO:206; 5' -GGG GTT TTA GGT TTT AGT GTT TAT TT-3');

50

逆方向プライマー: (SEQ ID NO:207; 5' -CTC CAA AAA CCA CCT TCC TAA CAC-3');

ブロッカーオリゴヌクレオチド: (含CG鑄型の増幅を特異的に阻止)(SEQ ID NO: 218; 5' -CCT AAC ACg TTCg CCg CTA AAA ACC ACg CAA AAT AAA CC-3');

ブロッカーオリゴヌクレオチドー対照: (含TG鑄型の増幅を特異的に阻止)(SEQ ID NO: 210; 5' -CCT AAC ACa TTC aCC aCT AAA AAC CAC Aca AAA TAA ACC-3');

フルオレseinアンカープローブ: (SEQ ID NO: 216; 5' -AAT TtG GGT ATT TTT ATT G GT ATA AGG AAG GTG GGT AG-fluo);

【0376】

検出プローブ: (SEQ ID NO: 217; red640-GTA TtG TTT TGA AGA TAG tGT TAT TTA TTA TTG TAG TtG G-phosphate);

10

フルオレseinアンカープローブー対照: (SEQ ID NO: 208; 5' -AAT TCG GGT ATT TTT ATT GGT ATA AGG AAG GTG GGT AG-fluo);

検出プローブー対照: (SEQ ID NO: 209; red640-GTA TCG TTT TGA AGA TAG CGT TAT TT A TTA TTG TAG TCG G-phosphate)。

【0377】

該(DNA由来)検査は次の要領で行う:

Olek et al. Nucleic Acids Res. 24:5064-6, 1996に記載の要領で両サンプルのうちの一方に由来するゲノムDNAを亜硫酸水素塩溶液で処理する。この処理の結果として、非メチル化シトシン塩基はチミンへと変換される。亜硫酸水素塩溶液処理後のDNA量を260nmでのUV吸収で測定する。約100pgの前処理DNAを鑄型として使用する。

20

【0378】

全量20μlで、LightCycler (登録商標) 装置(Roche Diagnostics)を使用してHeavyMethyl (登録商標) アッセイ法を行う。リアルタイムPCR反応混合液は次のものを含む: 10μlの鑄型DNA(合計500pg); 2μlのFastStart LightCycler (登録商標) 反応混合液(ハイブリダイゼーションプローブ用) (Roche Diagnostics, Penzberg); 0.30 μM 順方向プライマー: (SEQ ID NO:206; 5' -GGG GTT TTA GGT TTT AGT GTT TAT TT-3'); 0.30 μM逆方向プライマー: (SEQ ID NO:207; 5' -CTC CAA AAA CCA CCT TCC TAA CAC-3'); 0.15 μMフルオレseinアンカープローブ: (SEQ ID NO: 216; 5' -AAT TtG GGT ATT TTT ATT GGT A TA AGG AAG GTG GGT AG-fluo; TIB-MolBiol, Berlin); 0.15 μM検出プローブ: (SEQ ID NO: 217; red640-GTA ttG ttT TGA AGA tAG tGT tAt tTA ttA tTG tAG ttG G-phosphate; TIB-MolBiol, Berlin); 1 μMブロッカーオリゴヌクレオチド (SEQ ID NO: 218; 5' -CC T AAC Acg TTC gCC gCT AAA AAC CAC gCA AAA TAA ACC-3'); および3mMのMgCl₂。

30

【0379】

対照として、該領域中のメチル化シトシンの存在を検出するための並行実験を第2のPCRチューブで行う。この場合、増幅産物の、従って蛍光シグナルの存在は、該DNAが肝以外の組織たとえば脳または乳組織に由来することを示すことになる。リアルタイムPCR反応混合液は次のものを含む: 10μlの鑄型DNA(合計500pg); 2μlのFastStart LightCycler (登録商標) 反応混合液(ハイブリダイゼーションプローブ用) (Roche Diagnostics, Penzberg); 0.30 μM 順方向プライマー: (SEQ ID NO:206; 5' -GGG GTT TTA GGT TTT AGT GTT TAT TT-3'); 0.30 μM逆方向プライマー: (SEQ ID NO:207; 5' -CTC CAA AAA CCA CCT TCC TAA CAC-3'); 0.15 μMフルオレseinアンカープローブ (SEQ ID NO: 208; 5' -AAT TCG GGT ATT TTT ATT GGT ATA AGG AAG GTG GGT AG-fluo; TIB-MolBiol, Berlin); 0.15 μM検出プローブ (SEQ ID NO: 209; red640-GTA tCG ttT TGA AGA tAG CGT tAt tTA ttA tTG tAG tCG G-phosphate; TIB-MolBiol, Berlin); 1 μMブロッカーオリゴヌクレオチド (SEQ ID NO: 210; 5' -CCT AAC ACA TTC ACC ACT AAA AAC CAC ACA AAA TAA ACC-3'); および3mMのMgCl₂。

40

【0380】

熱サイクル条件はどちらの場合も同じであり、95℃で10分間のインキュベーションで始まり、次いで次のステップを55サイクルとする: 95℃10秒、56℃30秒、72℃10秒。蛍光検出は各サイクルの56℃アニーリング段階の後で行うが、(トップでの)非メチル化感受性

50

アッセイに限り強いシグナルが得られる。この結果を開示データ(図1、表3および37)と比較することにより、被検DNAは肝臓に由来すると断定される。

【0381】

実施例 3

(マーカーROI 3105と付随するエピゲノム地図(epigenetic map)を高感度検出アッセイ法に使用してゲノムDNAの由来源としての乳組織を明確に特定する。乳組織の他組織との鑑別にはHeavyMethyl(登録商標)アッセイ法を使用する。)

本実施例での実験はやはり診断検査施設が舞台である。同じ開業医から同じ日に2本のチューブが届くが、それらはスミスという2人の同姓女性患者の生検サンプルである。他には何の説明もないが、一方は(腫瘍の外科的切除と放射線療法の後の腫瘍細胞の消失をモニターするためのサンプルで)乳生検に由来し()、他方は肺生検に由来するサンプルであることが分かっている。両者の区別ができなくなる時点ですでにゲノムDNAは単離されており、目視の鑑別はもはや不可能である。

【0382】

本発明では、どちらのDNAがどちらのスミス姓のものであるかを判定するには、開示の乳マーカーの1つを使用する簡易検査を行うだけで済む。メチル化されにくい乳組織とメチル化されやすい肺(または肝または脳)組織とを明確に鑑別するという理由で(表10および44を参照)、マーカーROI 3105(DAXX遺伝子のnt 512~nt 3012; アクセッションGI: 3319283)を選択する。開示の配列情報(SEQ ID NOS:15および16とSEQ ID NOS:83および84の3105)とMVP位置から、適切なアッセイ法(たとえば後述のHeavyMethyl(登録商標)アッセイ法)の設計が可能になる。

【0383】

Olek et al. Nucleic Acids Res. 1996 Dec 15; 24:5064-6記載の要領で両サンプルのうちの一方に由来するゲノムDNAを亜硫酸水素塩溶液で処理する。この処理の結果として、非メチル化シトシン塩基はチミンへと変換される。亜硫酸水素塩溶液処理後のDNA量を260nmでのUV吸収で測定する。約100pgの前処理DNAを鋳型として使用する。

【0384】

全量20 μ lで、LightCycler(登録商標)装置(Roche Diagnostics)を使用して非メチル化MVP特異的HeavyMethyl(登録商標)アッセイ法を行う。リアルタイムPCR反応混合液は次のものを含む: 10 μ lの鋳型DNA(合計100pg); 2 μ lのFastStart LightCycler(登録商標)反応混合液(ハイブリダイゼーションプローブ用)(Roche Diagnostics, Penzberg); 0.30 μ M順方向プライマー: (SEQ ID NO:211; 5'-GTA TTT TGA GTT ATG AGT TGG AGT TGT TGT-3'); 0.30 μ M逆方向プライマー: (SEQ ID NO:212; 5'-AAC TAT ATA AAC TAA ACT CTT CAC TAA CC-3'); 0.15 μ Mフルオレセインアンカープローブ: (SEQ ID NO: 219; 5'-TTT GGT TTG TTG ATG AGT TGT TTA ATG TGT T-fluo; TIB-MolBiol, Berlin); 0.15 μ M検出プローブ: (SEQ ID NO: 220; red640-TTA ATT TTT GGG TAG TGG TGT TTA TGG TA-phosphate; TIB-MolBiol, Berlin); 1 μ Mブロッカーオリゴヌクレオチド (SEQ ID NO: 221; 5'-CTC TTC ACT AAC CgA CCg TAT CAT AAA ACA ACg CAT CCc-3'); および3mMのMgCl₂。

【0385】

強い蛍光シグナルが検出され、増幅産物が得られたことを示唆するが、それはこのアッセイ法に使用したメチル化特異的ブロッカーが鋳型に結合していないことの証明であり、鋳型がCGではなくTGを含んでいること示唆する。ブロッカー配列によってカバーされるMVPはメチル化されていないことが分かるので、図8または表10の結果との比較から、サンプルDNAは乳組織に由来すると断定される。

【0386】

対照として、該領域中のメチル化シトシンの存在を検出するための並行実験を第2のPCRチューブで行う。全量20 μ lで、LightCycler(登録商標)装置(Roche Diagnostics)を使用してアップメチル化MVP特異的HeavyMethyl(登録商標)アッセイ法を行う。リアルタイムPCR反応混合液は次のものを含む: 10 μ lの鋳型DNA(合計100pg); 2 μ lのFastStart Ligh

10

20

30

40

50

tCycler (登録商標) 反応混合液 (ハイブリダイゼーションプローブ用) (Roche Diagnostics, Penzberg); 0.30 μ M 順方向プライマー: (SEQ ID NO:211; 5' -GTA TTT TGA GTT ATG AGT TGG AGT TGT TGT-3'); 0.30 μ M 逆方向プライマー: (SEQ ID NO:212; 5' -AAC TAT ATA AAC TAA AAA ACTTACT CTT CAC TAA CC-3'); 0.15 μ M フルオレセインアンカープローブ (SEQ ID NO: 213; 5' -TTT GGT TTG TTG ATG AGT CGT TTA ATG CGT T-fluo; TIB-MolBiol, Berlin); 0.15 μ M 検出プローブ (SEQ ID NO: 214; red640-TTA ATT TTT GGG TAG CGG GTG TTA CGG TA-phosphate; TIB-MolBiol, Berlin); 1 μ M ブロッカーオリゴヌクレオチド (SEQ ID NO: 215; 5' -CTC TTC ACT AAC CAA CCA TAT CAT AAA ACA ACA CAT CCc--3'); および 3mM の $MgCl_2$ 。

【0387】

熱サイクル条件は 95°C、10 分間のインキュベーション → 55 サイクル × (95°C 10 秒、56°C 3 0 秒、72°C 10 秒) である。蛍光検出は各サイクルの 56°C アニール段階の後で行う。

【0388】

この場合、増幅産物は、従ってまた蛍光シグナルは、該 DNA が乳以外の、たとえば脳、肝または肺組織に由来することを示唆しよう。しかし、シグナルが検出できない場合もある。被検サンプルは乳組織に由来する DNA として特定することができるので、開業医が求めてきた両サンプルについての本来の分析が可能になる。

【0389】

アッセイは、亜硫酸水素塩処理前にメチル化されていた特定 ROI 配列の量の、該 ROI 断片のメチル化特異的増幅による定量を可能にするようなデュプレックス PCR アッセイとして 20 行うのが好ましい。合計鋳型 DNA 量の追加的な定量も、同じリアルタイム PCR チューブで同時的に行われる対照 PCR に、好適な対照断片を鋳型として使用することにより、実現することができる。

【0390】

実施例 4

(浮遊 DNA の生成部位 / 由来源を高感度分析法により特定する)

本実施例での実験は、兵役時代に高レベル放射線を浴びたことがあるという事実気付いた患者から採取した血液サンプルに絡む。この患者はがんなどのような腫瘍性疾患を発症していないかどうかを知りたい。掛かりつけの医師は、患者が頭痛を含めて様々な臓器の不特定の痛みを訴えている以外には、典型他的な兆候をまだ何も認めていない。 30

【0391】

20ml の血液サンプルをヘパリン採取する。Ficoll グラジエントにより血漿とリンパ球を分離する。対照リンパ球および血漿 DNA を Qiagen カラム (Qiamp Blood Kit, Qiagen, Basel, Switzerland) で、「血液および体液プロトコール」に従って精製する。同じカラムに血漿を通す。血漿約 10ml の精製後、350ng の DNA が得られる。該 DNA を Olek et al. Nucleic Acids Res. 24:5064-6, 1996 に記載の要領で亜硫酸水素ナトリウム処理する。一定分量の処理 DNA を一連のメチル化アッセイ法に使用する。

【0392】

被検領域は図 1~34 から選ぶ。ROI 3083 (BF、図 1)、3152 (HLA-DMA、図 15)、3172 (HLA-DR B3、図 16)、3243 (TNF、図 21)、3244 (TNBX、図 22) および 3382 (DDX16、図 34) を選択する。 40 これらの ROI のうち、3 以上の MVP を含むセグメントを、開示の MVP のメチル化レベルの検出に適したアッセイ法 (たとえば MSP 法または HeavyMethyl 法など) で分析する。該個人の検査結果を図 1、15、16、22 および 34、それに表 3、17、18、23、24 および 36 に示すデータ集合と比較する。それらの比較から、患者血液中の該 DNA のかなりの部分は患者の肺に由来すると結論される。この場合、鋳型としての ROI 3170 を対象とする単一アッセイでも十分であろうが、該浮遊 DNA が肺に由来することは分かっていないので、一度に複数のマーカーを使用して検査し、正確かつ信頼性の高い結果を可能な限り迅速に得られるようにする必要がある。得られた結果は医師に返送され、医師は炎症性または細胞増殖性肺疾患を専門とする病院に該患者を委ねる。

【0393】

10

20

30

40

50

実施例 5

(ルーチン検査アッセイ法の組織分析施設への導入)

本実施例での実験は、組織分析施設で高速大量処理プロセスに品質保証ステップを導入するために行われる。この品質保証ステップは施設に送られてくる各組織サンプルの、サンプルが精密分析のための種々の分析軌道に乗る前の、ルーチン検査を含む。この品質保証ステップの導入により、該施設は分子レベル簡易検査でサンプルのタイプを確認することができる。

【0394】

本発明に従い、各サンプルに由来するゲノムDNAを抽出し、前述のように亜硫酸水素塩で処理する。この亜硫酸水素塩処理DNAを次に配列分析にかける。

10

ROI 3083(図1)、3152(図15)、3172(図16)、3243(図21)、3244(図22)および3382(図34)を選択する。各ROIの、開示のMVPを含むセグメント(領域)を配列分析する。この配列分析には表1に示すプライマー対SEQ ID NOS: 137, 138; 165, 166; 167, 168; 177, 178; 179, 180; および203, 204を使用する。

【0395】

各セグメントの配列は両末端から一度に分析する。従って、12件の配列分析が行われる。各検査結果を図1、15、16、21、22および34、それに表3、17、18、23、24および36に示すデータ集合と比較する。

種々の分析経路に沿った詳しい分析が始まるのは、これらの品質保証ステップの結果から、該施設へのサンプル到着時のサンプル情報についての確認が終わった後にすぎない。

20

【0396】

実施例 6

(法医学的事例)

本実施例での実験は法医学的な事例の中で行われる。物証の1つとして、被害者を死に至らしめたと疑われるナイフに組織片が付着しているのが発見された。この場合、ナイフに付着した組織のタイプを特定することが大いに重要である。数人の容疑者が存在し、その全員がそれぞれのナイフで被害者を傷害しているからである。致命傷を与えたのは被害者の肝臓に達したナイフである。この物証は真夏に凍結保存されることもなく、ニューヨークの犯行現場で犯行2日後に発見されているので、この種の分析に使用される物質としてDNAが選択される。

30

【0397】

本発明に従い、また大した苦もなく、インタクトなゲノムDNAが凶器から単離され、2件の高感度検出アッセイが行われ[肝マーカーROI 3312(遺伝子SKIV2L)およびROI 3384(遺伝子DDX16)、それに筋マーカー3265および3347(どちらもゲノムクローンDASS-97D12内に存在)]を使用]、問題の各組織が実際に肝臓に由来しており、筋肉には由来していないことが明らかになる。該組織のメチル化レベルを検出するために2つのMSP/MethyLight(登録商標)アッセイ法を設計し、またTaqman(登録商標)プローブによって検出される生成物だけを増幅するように設計する。

【0398】

本発明により、凶器に付着した組織サンプルには筋組織が混じっている可能性もあるが、対照として使用する純粋な筋サンプルと比較すると、シグナル強度の差から凶器の特定が容易になり、また犯行が明確となる。

40

【0399】

実施例 7

(本発明のコンピューター-およびオンライン-アプリケーション; 会員制エピゲノム地図配信サービス)

本発明は特定の実施態様で、情報システム理論およびエキスパートシステム理論に関する。消費者は、定量化されたメチル化を基礎とする情報サービスを評価するためのインテリジェントで、高速かつ信頼性の高い方法をもたない。本発明の特定の態様は、消費者/ユーザーを1つまたは複数の機能的エピゲノム・データベースにリンクすることを可能に

50

するソフトウェアプログラムを提供することにより、このニーズに対処するものである。

【0400】

現在、人体の肉眼解剖学(肉眼レベルの構造情報)については理解が十分に進んでいる。組織(1~1000ミクロン;顕微鏡的~メゾスコピック)レベルでの顕微解剖学についてもかなり解明されている。加えて、ヒト・ゲノムの配列決定により遺伝子(分子および超顕微鏡的)レベルの情報ももたらされるに至った。しかし、組織レベルでの信頼性の高いエピゲノム情報(CpGメチル化データなど)は比較的少ないし、またそれを役立てられそうな人々には入手しにくい。

【0401】

従って、本発明の好ましい実施態様に従い組織レベルのメチル化データを含む信頼性の高いデータベースにアクセスできるようになれば、再生医療、薬物設計、遺伝子発見、ゲノム研究、診断、組織分類および鑑別などの分野で新たな前進が促進されよう。

【0402】

本発明の特定の実施態様は特に、種々の組織タイプのプロファイリング、再生、製造、分類および鑑別のための実用的な方法に関する。好ましい態様は、正常およびがん組織を非限定的に含む種々の組織タイプの再生、製造、分類および鑑別のための実用的な、新規なエピゲノム組織情報データベースの開発と使用に関する。該新規データベースはゲノムCpGメチル化データを含み、また種々の組織集合に関連する組織特性の統計的に有意な表現に対応する構造的、細胞機能的および/または機械的指数を追加的に含んでもよい(たとえば、参照により全文が開示される米国特許第6,581,011号(Johnson et al)明細書を参照)。好ましくは、メチル化データは特定ゲノムCpGメチル化部位のメチル化レベルに関する定量データを含む。

【0403】

特定の態様はゲノムDNAを含むサンプル(DNA、細胞、組織、体液など)に関する情報をユーザーまたは会員に提供するための方法と装置を提供する。好ましい態様では、該方法および装置は組織特異的定量メチル化データを含むデータベースに基づくそうしたサンプルの特定または識別を可能にする。

【0404】

組織タイプは特性を共有する組織被検者の集合に対応する。たとえば組織タイプはヒトの肺組織、腸組織、軟骨組織などに対応する。加えて、組織タイプは共通の年齢層、人種および/または性別に該当する被検者の集合として再特定してもよい。従って、たとえば分析対象に選ばれる組織タイプは年齢15~36歳の白人男性に関連する肺組織被検者の集合に対応してもよい。分析対象に選ばれる組織タイプは正常、異常いずれの組織タイプでもよい。さらに、分析対象に選ばれる組織タイプは、ヒト組織に加えて、特定動植物種または食物に関連する組織タイプに対応してもよい。

【0405】

好ましい態様は、組織被検者の集合についての指数を含むオンラインデータベースに関する。一態様では、特性を共有する被検者集合の部分集合から得られた正常組織検体のサンプルをプロファイリングしてゲノムCpGメチル化指数を、また随意に、該集合に関連する組織の特性の統計的に有意な表現に対応する複数の追加指数を、生成させるようにする。該追加指数は構造的指数(細胞密度、マトリックス密度、血管密度、血管壁の厚さなど)、機械的指数(弾性係数、機械的強度など)、および細胞機能的指数(DNA、RNA、タンパク質、脂質、イオンなどの生成部位、タイプおよび量)を含んでもよい。加えて、前記の各指数について、たとえば標準偏差、平均の標準誤差、または数値の分布レンジを表す分散指数を確定してもよい。

【0406】

一態様では、メチル化指数(メチル化CpG位置の所在、レベルなど)が(正常、がん、年齢関連、説別関連などの)特性を共有する組織検体から決定される。本発明のこの態様では、特性を共有する被検者集合の部分集合に由来する組織検体のサンプルを対象に1つまたは複数のメチル化アッセイ法が行われる。アッセイの結果を使用して、該集合に関連する

組織特性の統計的に有意な表現に対応する1つまたは複数のDNAメチル化指数を生成させる。このDNAメチル化指数は随意に、組織情報データベースに保存されるメチル化地図の生成に使用する。別の実施態様では、細胞機能的指数(および/または細胞機能地図)、構造的指数または機械的指数もまた求められる。本発明のこの態様に関連して使用される細胞機能指数が対応するのはたとえば(i)該部分集合に由来する正常組織検体中のDNAの生成部位、タイプおよび量、(ii) 該部分集合に由来する正常組織検体中のmRNAの生成部位、タイプおよび量、(iii) 該部分集合に由来する正常組織検体中の細胞タンパク質の生成部位、タイプおよび量、(iv) 該部分集合に由来する正常組織検体中の細胞脂質の生成部位、タイプおよび量、および/または(v) 該部分集合に由来する正常組織検体中の細胞イオン分布の生成部位、タイプおよび量である。

10

【0407】

本発明のさらなる態様では、前述の指数のうち任意のもの同士の相関を求めてもよい。たとえばDNAメチル化指数と構造的指数、機械的指数および細胞機能的指数のうち少なくとも1つの指数との相関である。

【0408】

前述のようなメチル化、構造的、機械的および/または細胞機能的の各指数を生成させるためのプロファイリングの対象となる組織検体はたとえば正常組織、がん組織いずれかの集合に対応する。たとえば正常組織は次の検体から選択される：正常腸組織、正常軟骨組織、正常眼組織、正常骨組織、正常脂肪組織、正常筋組織、正常腎組織、正常脳組織、正常心組織、正常肝組織、正常皮膚組織、正常胸膜組織、正常腹膜組織、正常心膜組織、正常硬膜組織、正常口鼻粘膜組織、正常膵臓組織、正常脾臓組織、正常胆のう組織、正常血管組織、正常膀胱組織、正常子宮組織、正常卵巢組織、正常尿道組織、正常陰茎組織、正常膣組織、正常食道組織、正常肛門組織、正常副腎組織、正常靱帯組織、正常椎間板組織、正常のう(嚢)組織、正常半月板組織、正常筋膜組織、正常骨髓組織、正常腱組織、正常pulley組織、正常腱鞘組織、正常リンパ節組織、または正常神経組織。さらなる実施態様では、プロファイリング対象の組織検体は植物または動物組織タイプ、複合組織タイプ、仮想組織タイプ、食物組織タイプ、がん組織、年齢関連組織、性別関連組織、法医学関連組織などに対応する。

20

【0409】

好ましい実施態様では、定量的メチル化データは当初、たとえば本書で開示する好ましいESME実施態様などのようなDNA配列トレース分析ソフトウェアを使用することによって提供される。ESMEは亜硫酸水素塩処理で変換されたDNA中の不均等な塩基分布を考慮または斟酌し、配列トレース(エレクトロフェログラム)を正規化して、配列トレース内のメチル化シグナルの定量を可能にする(本明細書中の「用語」を参照)。さらにESMEは亜硫酸水素塩処理による変換率を、対応する非処理DNA配列に関する情報を基に特定位置のチミンのシグナル強度を比較することにより、計算する。

30

【0410】

本発明は好ましい態様では、複数の組織タイプを表す情報を会員に提供するためのコンピューター実装型の方法に関する。複数の組織タイプを表す組織情報(たとえば前述のような複数の組織タイプに関するメチル化、構造的、機械的および/または細胞機能的の各指数および複数の組織タイプに関する相関結果)はデータベースに保存される。たとえば該データベースは組織タイプごとに、特性を共有する被検者集合の部分集合に由来する組織検体のサンプルから生成させた1つまたは複数のDNAメチル化指数を含む。該DNAメチル化指数は該集合に関連する組織特性の統計的に有意な表現に対応する。随意に、該DNAメチル化指数と組み合わせて、前述のような構造的指数(細胞密度、マトリックス密度、血管密度、血管壁の厚さなど)、細胞機能的および/または機械的指数といった1つまたは複数の追加指数がデータベースに保存される。組織の再生、分類、製造、分析または識別に関心のある会員またはユーザーは会費制で該データベースを利用することができる。会員は随意に、会員供給組織サンプルに関してパラメーターを計測してもよい。次いで会員供給組織サンプルは、会員供給組織サンプルに関する実測パラメーターをデータベースに保存

40

50

されている組織情報(たとえば前述のDNAメチル化指数および/または前述の相関結果)と比較して、分類される。データベースは随意に、1つまたは複数の正常および/または異常組織タイプを表す指数を保存するし、また会員供給組織サンプルは会員供給組織サンプルに関する実測パラメーターをデータベースに保存されている組織情報と比較して正常、異常いずれかに分類される。会員供給組織検体が製造組織検体に対応していて、たとえばそうした製造組織検体が全体としては正常に見えないものの、正常に見えるおよび/または機能する要素を含む場合には、会員供給組織サンプルに関する実測パラメーターをデータベースに保存されている組織情報と比較して、そうした製造組織検体の正常要素を特定するようにしてもよい。

【0411】

10

特定の態様では、該方法は次のステップを含む：(特性を共有する) 検体サンプルを特定集合から獲得するステップであって、該サンプルは該集合全体の統計的に有意な分析を可能にする(すなわち、該サンプルから生成されるメチル化、構造的、機械的および細胞機能的指数が該集合全体に関するそうした指数の、統計的に有意な表示に対応する)に足る数の検体を含むことを特徴とするステップ；1つまたは複数のメチル化指数を、また随意に1つまたは複数の構造的、機械的または機能的指数を計測し、その値をデータベースに保存するステップ；随意に種々の指数を対象に相関演算を行う(たとえばメチル化指数を構造的、機械的および機能的指数のいずれか1つ以上と相関させる)ステップ；および有料会員にオンラインデータベースアクセスを提供するステップ。

【0412】

20

前述のプロセスは関心組織集合ごとに繰り返してもよい。関心集合ごとにこのプロセスを繰り返すことにより、本発明を使用して多種多様な組織集合に関するメチル化指数を随意に構造的、機械的および細胞機能的指数と共に含むデータ集合を生成させてもよい。そうしたメチル化指数は該組織集合のエピゲノム地図となり、またたとえば単独で、あるいは各組織集合に関する構造的、機械的および/または細胞機能的指数と共に、使用することにより、該組織集合に対応する再生組織を分類し、識別し、または合理的に設計・製造するようにしてもよい。

【0413】

好ましい実施態様では、本発明は組織検体に関する情報をユーザーまたは会員に提供するための、次のステップを含むコンピューター実装型の方法を提供する：特性を共有する被検者集合の部分集合に由来する単数または複数の組織タイプに対応するDNA、細胞または組織サンプルを獲得するステップであって、該サンプルはゲノムDNAを有することを特徴とするステップ；組織サンプルの各々のゲノムDNAを、好適なメチル化アッセイ法で検査するステップ；該検査に基づき組織タイプごとに、1つまたは複数のゲノムDNA領域内のメチル化CpG位置の場所とメチル化レベルの各々に関する数値の分布を決定するステップ(ただし場所は該DNA内のCpG位置を、またメチル化レベルはこの位置のメチル化レベルを、それぞれいう)；数値分布ごとに平均指数を計算するステップ；平均指数ごとに分散指数を計算するステップ；該平均指数および分散指数をデータベースに保存するステップ；およびユーザーまたは会員に対して、会費と引き換えに、該データベース中の該平均指数および分散指数へのアクセスを提供するステップ。サンプル数は、そうした分散および平均指数が該集合全体に関するそうした指数の統計的に有意な表示に対応するに足る数とする。

30

40

【0414】

組織サンプルは正常組織または異常組織を含むのが好ましい。組織サンプルが同じ組織タイプの異常および正常組織を含む場合には、正常組織に由来するデータを使用して正常組織に関する数値の分布および対応する指数を決定し、また異常組織に由来するデータを使用して異常組織に関する数値の分布および対応する指数を決定するのが好ましい。組織タイプは乳房、肝臓、前立腺、筋肉、脳、肺およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるタイプを含むのが好ましい。

【0415】

50

消費者は定量化されたメチル化を基礎とする情報サービスを評価するためのインテリジェントで、高速かつ信頼性の高い方法を必要としている。本発明は、消費者/ユーザーを「MVPデータベース」などのような1つまたは複数の機能的エピゲノム・データベースにリンクすることを可能にするソフトウェアプログラムを提供することにより、消費者のこうしたニーズに対処するものである。MVPデータベースは、たとえば利用可能な表現型特性の全部または一部および臨床的パラメーターなどを含めた詳しいサンプル記述との関連でメチル化レベルを含むデータベースおよびメチル化差異のあるCpG位置の場所を含むエピゲノム・データベースをいう。該データベースはたとえば表現型が識別可能なタイプの組織/サンプル間でメチル化差異のあるCpG位置について検索可能である。特定の実施態様では、消費者はコンピューターまたは携帯端末を使用してインターネットにアクセスすることができる。追加の実施態様では、本発明のソフトウェアプログラムはスタンドアロンのコンピューターシステムに使用することができる。

【0416】

本発明の装置はコンピューター、またはサーバー、ネットワーク接続手段(たとえばユーザーモデム)を介して該サーバーに接続される少なくとも1つのユーザーサブシステムを含むコンピューターネットワークである。モデムとしてはいるが、該ユーザーモデムはネットワーク通信を可能にする他の任意の通信手段たとえばイーサネット(登録商標)回線などでもよい。モデムは地上公衆電話回線、専用データ回線、携帯電話回線、マイクロ波回線、または衛星通信などを含む多様な接続手段によってサーバーと接続することができる。

【0417】

該サーバーは基本的に、1つまたは複数の関係型データベースに接続された演算処理装置を具備する大容量高速コンピューターであり、該データベースは利用可能な表現型特性の全部または一部および臨床的パラメーターなどを含めた詳しいサンプル記述との関連でメチル化レベルを含む「MVPデータベース」およびメチル化差異のあるCpG位置の場所を含むエピゲノム・データベースなどである。該データベースはたとえば表現型が識別可能なタイプの組織/サンプル間でメチル化差異のあるCpG位置について検索可能である。該サーバーには随意に追加のデータベースを付加してよい。たとえばどのサンプルタイプの識別にはどのMVP位置が有用であることを示すリストを含む検索可能なデータベースを含めてもよい。

【0418】

演算処理装置には十分な記憶装置と適切な通信用ハードウェアも接続される。通信用ハードウェアはモデム、イーサネット(登録商標)接続機器、または他の任意好適の通信用ハードウェアでもよい。該サーバーは中央演算処理装置を具備する1台のコンピューターでもよいが、それぞれ独自の演算処理装置を具備し1つまたは複数のデータベースを常駐させた数台のネットワーク接続コンピューターに分散させることも可能である。

【0419】

該サーバーは以上の要素に加えて、基本ソフトと該サーバーと他コンピューターとの通信を可能にする通信ソフトとをさらに具備する。種々の基本ソフトと通信ソフトが使用可能である。たとえば基本ソフトはMicrosoft Windows(登録商標) NT(登録商標)でもよいし、また通信ソフトは関連プログラム類を備えたMicrosoft IIS(登録商標)(Internation Information Server)サーバーでもよい。

【0420】

サーバー上のデータベースは該装置およびプロセスを機能させるための必要情報を含む。該データベースは関係型であり、任意の市販データベースソフトたとえばMicrosoft Access(登録商標)、Oracle(登録商標)、Microsoft SQL(登録商標) Version 6.5などを使用して構築しアクセスする。

【0421】

ユーザーサブシステムは一般に記憶装置に取り付けた処理装置、通信制御装置およびディスプレイ制御装置を具備する。ディスプレイ制御装置は、ユーザーがユーザーサブシ

テムと対話するための手段となるディスプレイ装置を作動させる。要するにユーザーサブシステムは、サーバーとの通信手段を与えてくれるソフトウェアを実行することができるコンピュータである。このソフトウェアはインターネット(ウェブ)ブラウザーたとえばMicrosoft Internet Explorer、Netscape Navigator、または他の好適なブラウザーである。ユーザーサブシステムはコンピュータでも携帯端末たとえば電話機やインターネットアクセスを可能にする他装置でもよい。

【0422】

特定の実施態様は中央演算処理装置(CPU)、ハード記憶装置(ハードディスク)、ソフト記憶装置(RAM)およびI/Oインターフェース(I/O)を具備する基本的なコンピュータモデルを含む。ユーザーインターフェース側の消費者/ユーザーは特定の情報、サービスへのアクセスに関心があるか、または1つまたは複数のサンプルの特定または識別に関心がある。ホストサイトにログオンすると、主画面が表示され、登録ユーザーとしてログインし、「スマート」検索を使用するか、またはオンラインエピゲノム地図配信サービスインターフェースに直接アクセスする。好ましい実施態様では、該システムは完全対話型サービスとして実装される。

10

【0423】

従って、開示のエピゲノム・データベースは複数の組織タイプを表す情報をインターネットなどのようなコンピュータネットワークを介して会員に提供するために使用される。そうした情報の提供を受ける会員はたとえば再生医療、薬物設計、遺伝子発見、ゲノミクス、診断および法医学研究といった分野の個人または企業などであろう。好ましい態様では、各会員は支払う会費に応じてデータベースの全部または一部にアクセスすることができる(たとえばある会員は特定の組織タイプまたは特定の組織集合に対応する情報に限ってアクセスが許される)。会員は、データベース中の情報を一般研究目的に使用するだけでなく、特定会員によって提供される組織検体(ヒト組織検体、動物組織検体、植物組織検体、食物組織検体、または製造組織検体など)の分類に使用してもよい。たとえばユーザーはその組織検体に関連するパラメーター(たとえばメチル化、および随意に構造的、機械的および/または細胞機能的指数)を計測し、次いでこの情報をデータベース中の正常組織に関する対応指標と比較して、その組織検体を正常、異常のいずれかに分類することができる。こうして、たとえば会員は、正常な肺組織検体に対応すると考えられる会員供給組織検体の常態を、データベース中に保存されている正常肺組織に対応するメチル化指数(および随意に構造的、機械的および/または細胞機能的指数)と比較することにより、評価することができる。

20

30

【0424】

実測パラメーターと任意の会員供給検体に関するデータベース保存指数との食い違いがある閾値を超えると、会員供給検体は異常と分類されよう。会員供給組織検体が製造組織検体に対応していて、たとえばそうした製造組織検体が全体としては正常に見えないものの、正常に見えるおよび/または機能する要素を含む場合には、会員供給組織サンプルに関する実測パラメーターをデータベースに保存されている組織情報と比較して、そうした製造組織検体の正常要素を特定するようにしてもよい。

【0425】

特定の態様では、データベース中のエピゲノム情報の使用による組織検体の分類は会員が行うものの、データベースの構築と維持管理に責任を負う当事者が分類を行ってもよい。その場合にはデータベースのユーザーは前述の会費を負担することなくデータベースに保存されている組織情報を閲覧することになりそうである。

40

【図面の簡単な説明】

【0426】

【図1】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳

50

、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図2】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図3】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図4】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図5】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値

10

20

30

40

50

が得られなかったことを示す。

【図6】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 10

【図7】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 20

【図8】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 30

【図9】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 40

【図10】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを 50

示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図11】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図12】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図13】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図14】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図15】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 10

【図16】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 20

【図17】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 30

【図18】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 40

【図19】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表して 50

いる。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図20】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

10

【図21】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

20

【図22】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

30

【図23】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

40

【図24】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベル

50

を示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

10

【図25】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは

20

【図26】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは

30

【図27】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは

40

【図28】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒の

50

ボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図29】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 10

【図30】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 20

【図31】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 30

【図32】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。 40

【図33】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増 50

幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図34】濃淡パターンの左側の数字によって明示される特定CpG位置のメチル化レベルを示す。この数字は、表1に記載のプライマーを使用した場合の増幅セグメント内の、増幅産物の5'-末端からのヌクレオチド数で表示した、各CpGの位置(さらに具体的には、亜硫酸水素塩試薬による前処理前はシトシンであった塩基の位置)を示す。図の上部の用語(脳、乳房、肝臓、肺、筋肉および前立腺)は被検サンプルの由来源である組織のタイプを示す。メチル化「パターン」(後述の定義を参照)は各フィールドの濃淡ボックスで表している。濃淡の度合いは図35で詳しく開示するようにメチル化レベルと直接相関する。黒のボックスはメチル化率が100%であること、すなわち被検サンプル内の個別DNA分子がすべて、対応する位置でメチル化されていたことを表す。しかし、ごく薄いグレーのボックスはどのDNA分子も対応する位置でメチル化されていなかったことを示す。白のボックスは値が得られなかったことを示す。

【図35】図35は種々の濃淡と対応するメチル化レベル(%表示)との相関を示す。

【図36】図36は本発明の「腫瘍組織適合性遺伝子複合体」(MHC)実施態様で特定された例示的なメチル化可変位置(MVP)に対応する、2回の亜硫酸水素塩配列分析の実行による配列トレースである。2タイプの健康な組織の亜硫酸水素塩処理DNAを配列分析で同じプライマーを使用して分析した。左側のシーケンスは健康な肺組織から単離後の亜硫酸水素塩処理DNAの分析結果であるが(大文字のLで示す)、非処理DNAでは対応するシトシンはメチル化されていた。右側のトレースは健康な脳組織から単離後の亜硫酸水素塩処理DNAの分析結果であるが(大文字のBで示す)、非処理DNAでは対応するシトシンはメチル化されていなかった。亜硫酸水素塩配列分析ではゲノムDNAを亜硫酸水素塩で処理することにより、非メチル化シトシンをすべてウラシルへと変換しておく。従って、配列トレースには非メチル化シトシンは(配列分析の前のdNTPsによるDNA増幅時に事実上Uに置き換わり)Tとして現れるが、メチル化Cは(配列分析の前のdNTPsによるDNA増幅時に事実上5-mCytに置き換わり)Cとして現れる。この場合のチミンシグナルは亜硫酸水素塩処理前にチミンであった塩基を表すのか、それとも変換後のシトシンを表すのかが問題であり、前処理DNA配列の、対応する非処理ゲノムDNA配列との比較が必要なる。種々の点線は、図で説明されているようにオリジナルトレース出力ファイル中の色違いの線に対応する。

【図 1】

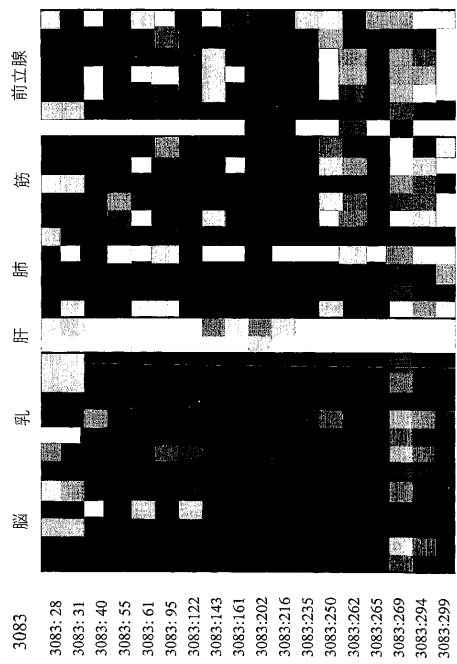


Figure 1

【図 2】



Figure 2

【図 3】

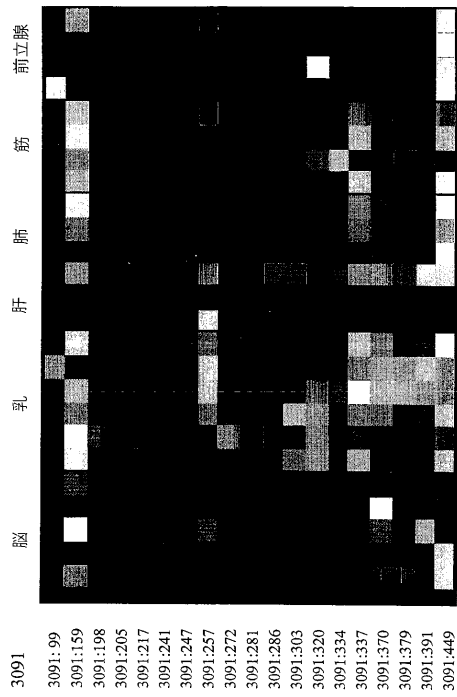


Figure 3

【図 4】

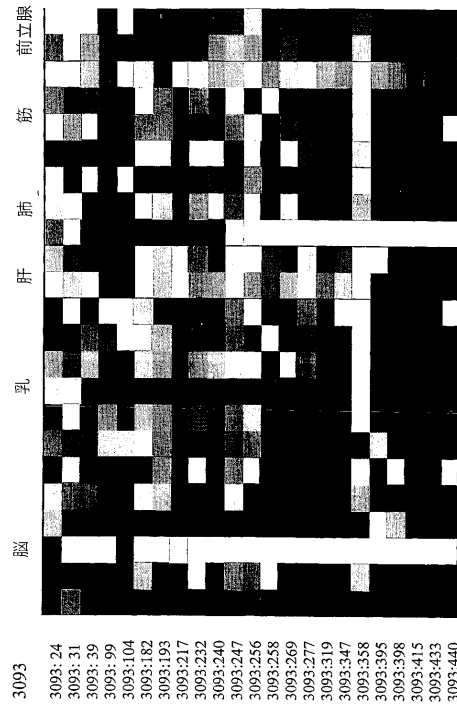


Figure 4

【図 5】

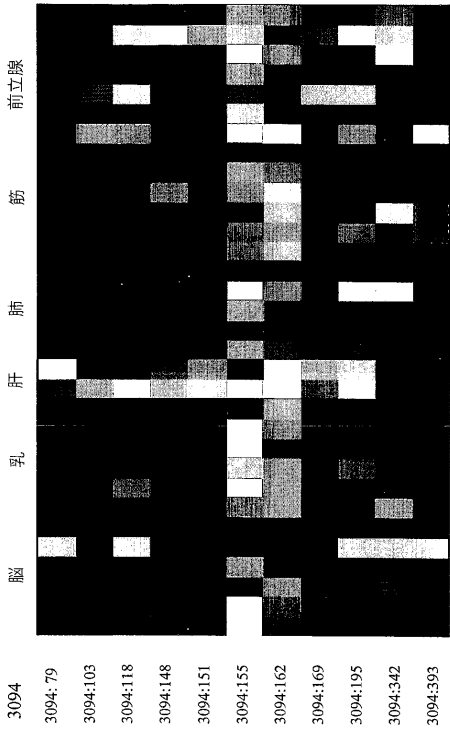


Figure 5

【図 6】

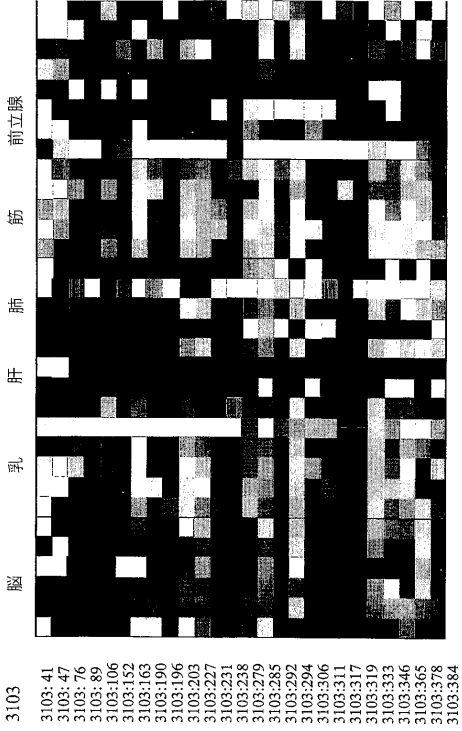


Figure 6

【図 7】

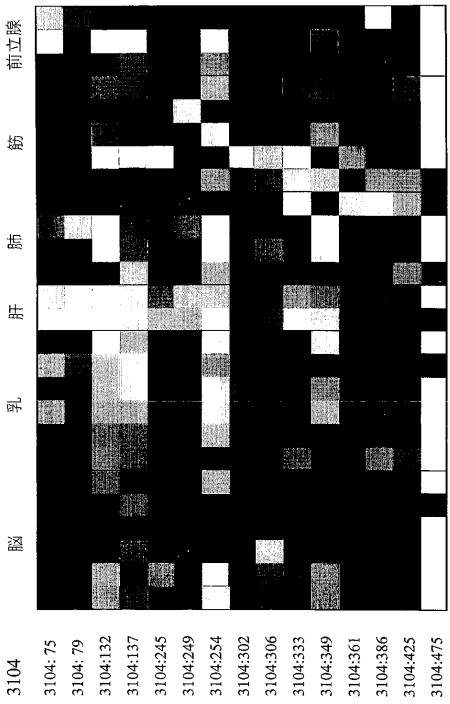


Figure 7

【図 8】

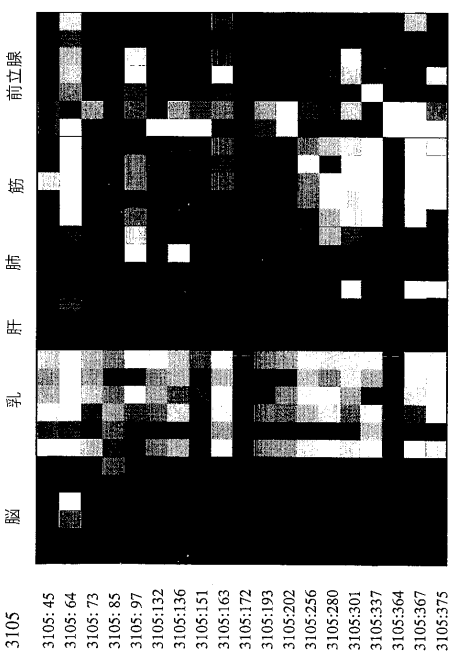


Figure 8

【図 9】

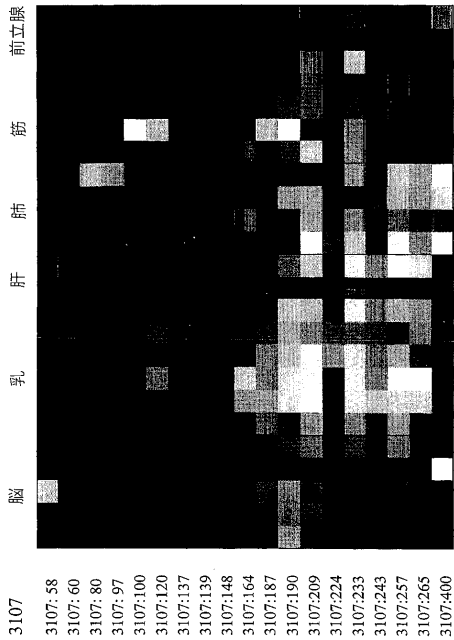


Figure 9

【図 10】

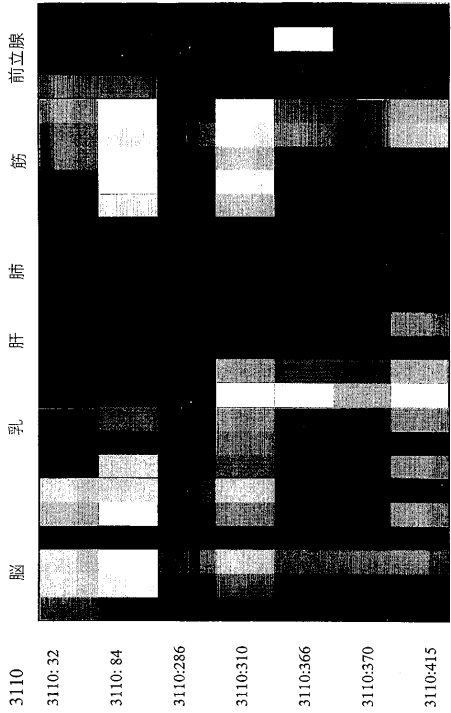


Figure 10

【図 11】

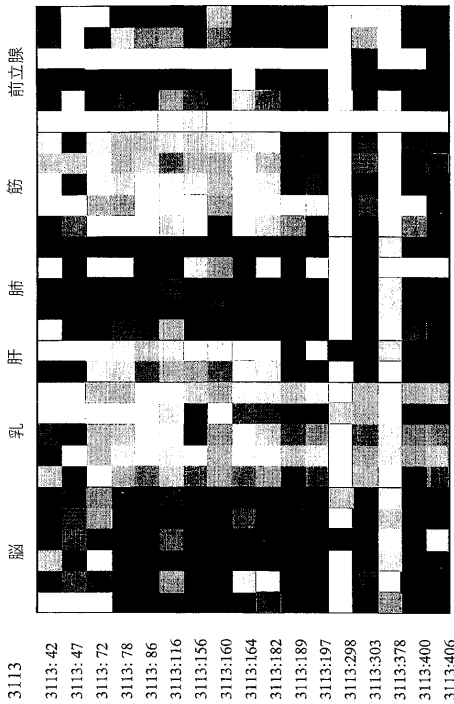


Figure 11

【図 12】



Figure 12

【図 1 3】

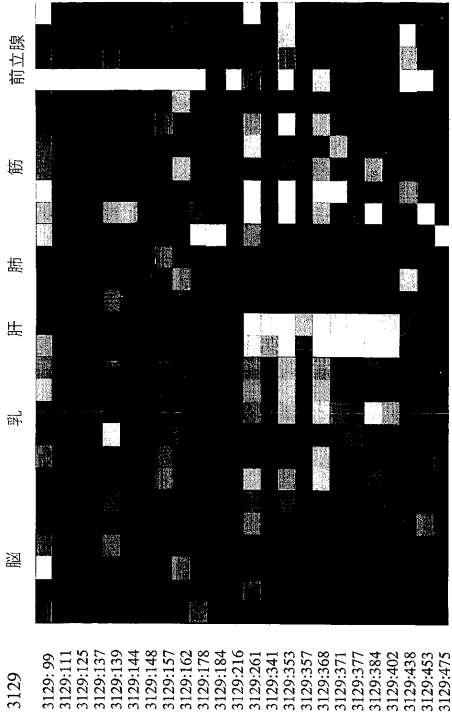


Figure 13

【図 1 4】

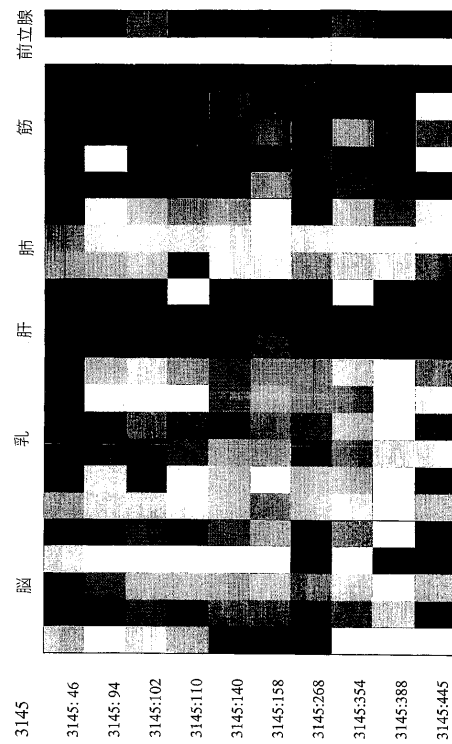


Figure 14

【図 1 5】

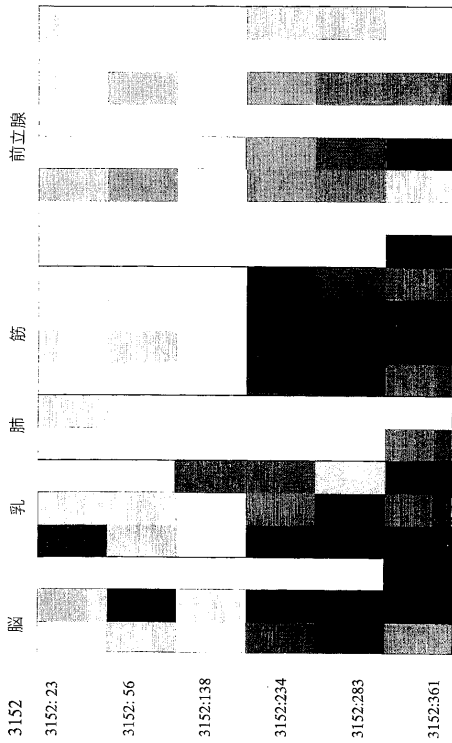


Figure 15

【図 1 6】

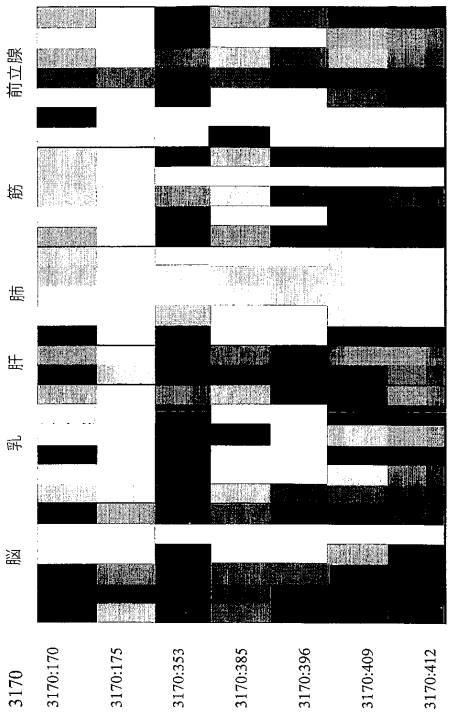


Figure 16

【図 1 7】



Figure 17

【図 1 8】

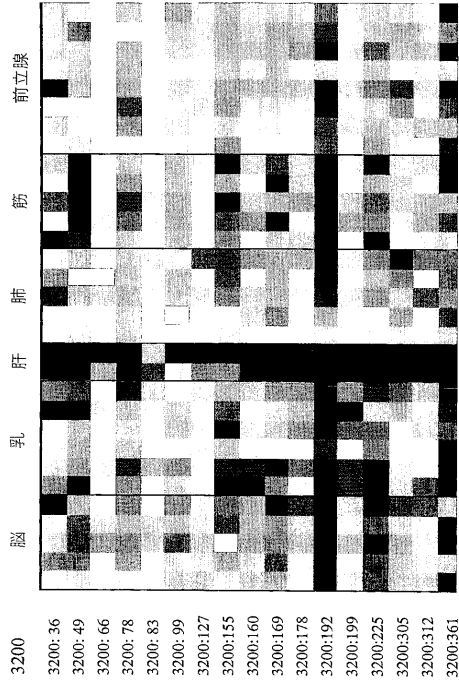


Figure 18

【図 1 9】

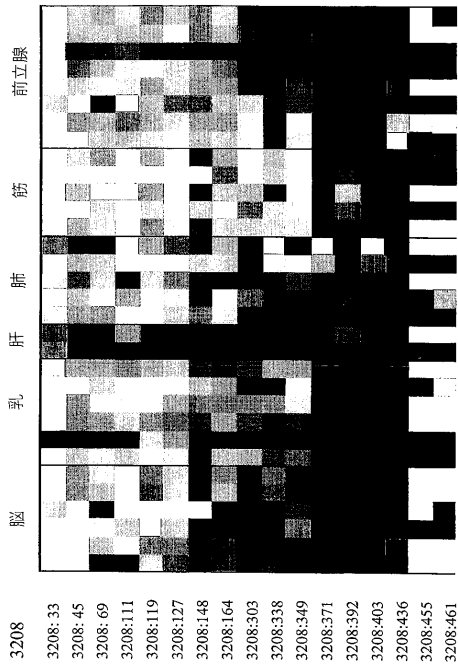


Figure 19

【図 2 0】



Figure 20

【図 2 1】

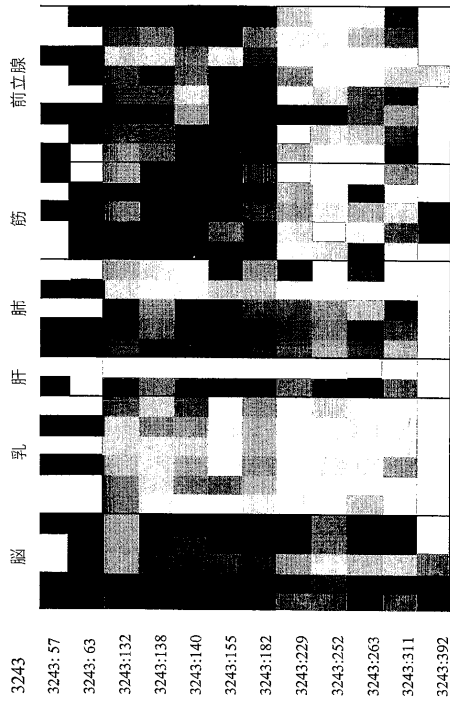


Figure 21

【図 2 2】

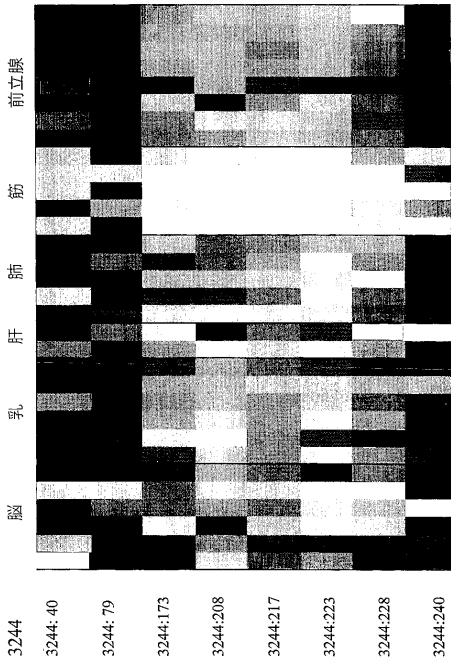


Figure 22

【図 2 3】

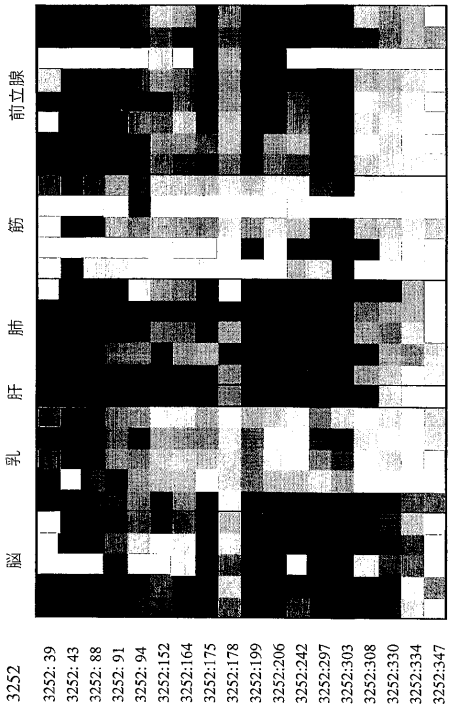


Figure 23

【図 2 4】

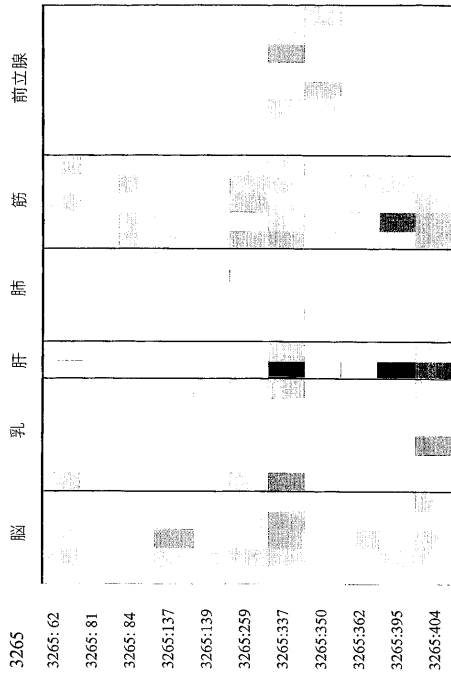


Figure 24

【図 2 5】

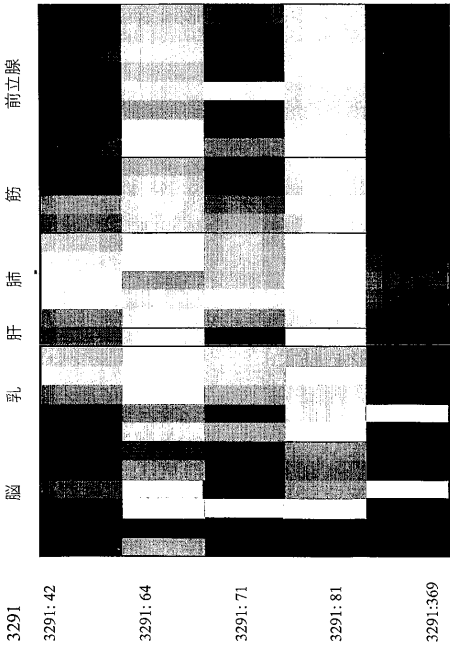


Figure 25

【図 2 6】

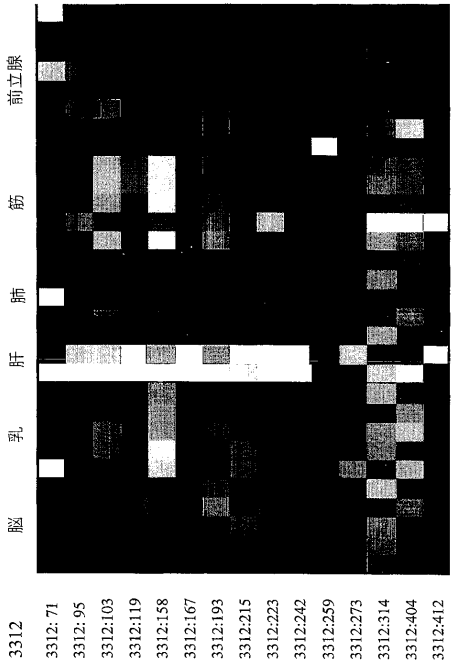


Figure 26

【図 2 7】



Figure 27

【図 2 8】



Figure 28

【図 29】

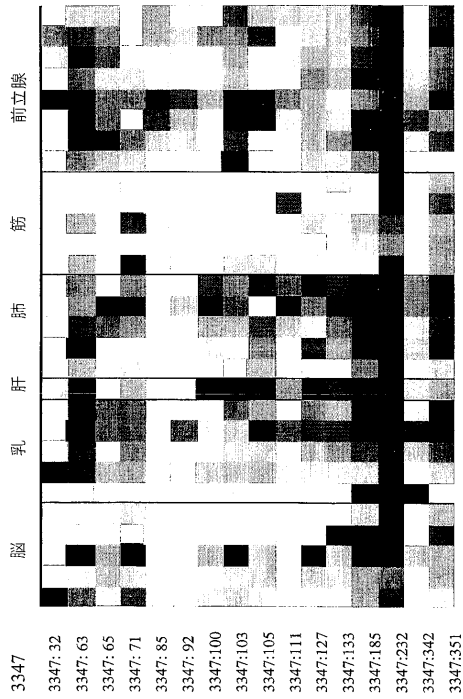


Figure 29

【図 30】

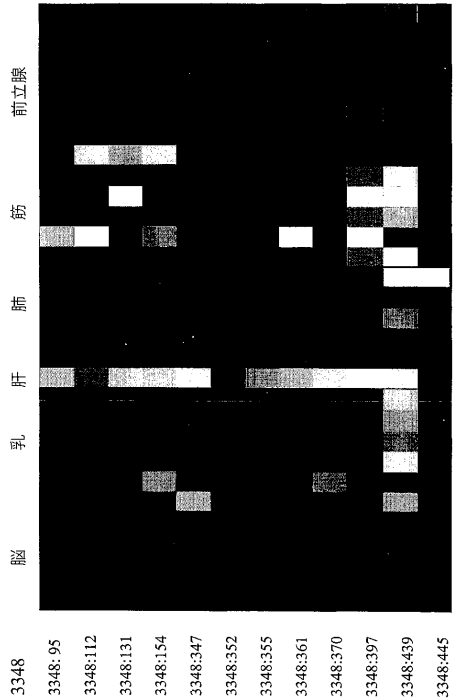


Figure 30

【図 31】



Figure 31

【図 32】

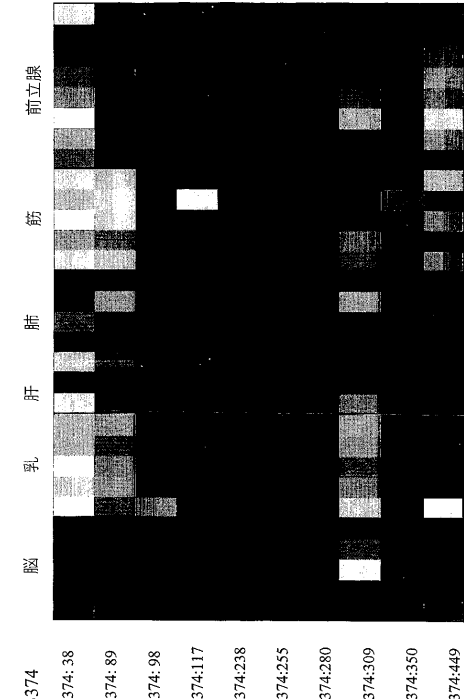


Figure 32

【図 3 3】



Figure 33

【図 3 4】

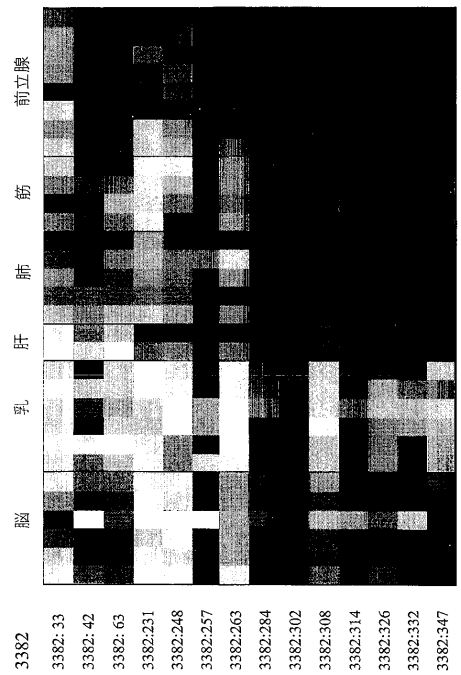


Figure 34

【図 3 5】

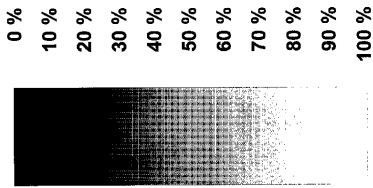


Figure 35

【図 3 6】

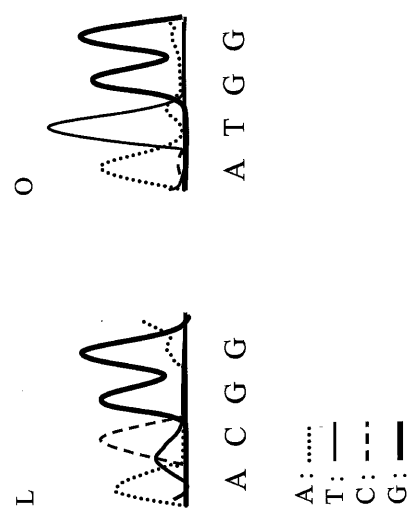


Figure 36

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US2004/026071

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/00932 A (PIEPENBROCK CHRISTIAN ; BERLIN KURT (DE); EPIGENOMICS AG (DE); OLEK AL) 3 January 2002 (2002-01-03) see whole doc. esp. claims	1-81
X	WO 98/56952 A (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA) 17 December 1998 (1998-12-17) see whole doc. esp. claims	1-81
X	WO 02/34942 A (GULDBERG PER ; CANCER RES VENTURES LTD (GB)) 2 May 2002 (2002-05-02) see whole doc. esp. claims	1-81
X	WO 97/46705 A (UNIV JOHNS HOPKINS MED) 11 December 1997 (1997-12-11) see whole doc. esp. claims	1-81
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 October 2004

Date of mailing of the international search report

14. 04. 2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mueller, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US2004/026071

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 213 360 A (UNIV TOKYO) 12 June 2002 (2002-06-12) see whole doc. esp. claims and col. 8 last par. ff. -----	1-81
X	US 6 214 556 B1 (OLEK ALEXANDER ET AL) 10 April 2001 (2001-04-10) the whole document -----	1-81
A	SHIOTA K ET AL: "Epigenetic marks by DNA methylation specific to stem, germ and somatic cells in mice" GENES TO CELLS, OXFORD, GB, vol. 7, no. 9, September 2002 (2002-09), pages 961-969, XP002242365 ISSN: 1356-9597 the whole document -----	1-81
P,X	WO 03/074730 A (BERLIN KURT ; EPIGENOMICS AG (DE); SLEDZIEWSKI ANDRZEJ (US)) 12 September 2003 (2003-09-12) the whole document -----	1-81
X	US 6 310 270 B1 (MOSKOWITZ MICHAEL A ET AL) 30 October 2001 (2001-10-30) see primer seq ARI76165, seq id 1 -----	13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/026071**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 20 (a), 22(a), 24(a), 26(a), 28(a), 49(a), 50(a), 51(a), 52(a), etc. are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-81 (partial)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2004/026071

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-81 (partial)

subject-matter which is defined by the wording of the claims
in combination with seq id 137.

2. claims: 1-81 (partial)

subject-matter which is defined by the wording of the claims
in combination with seq id 138.

3. claims: invention 3-82: claims 1-81 (partial)

subject-matter which is defined by the wording of the claims
in combination with seq ids 139-204,206-221 for each
sequence individually.

International Application No. PCT/US2004 /026071

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 20 (a), 22(a), 24(a), 26(a), 28(a), 49(a), 50(a), 51(a), 52(a), etc. are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Present claims 1-81 relate to an extremely large number of possible compounds (primer sequences which are also used in methods) . In fact, the claims contain so many options, variables, possible permutations and provisos

that a lack of clarity (and conciseness) within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. Consequently, subject-matter which has been considered as basis for the search were those parts of the application which do appear to be clear (and concise), namely primer sequences with a defined sequence (seq id s 137-204, 206-221).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2004/026071

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0200932	A	03-01-2002	DE 10032529 A1	07-02-2002
			AU 4835201 A	24-09-2001
			AU 5038101 A	24-09-2001
			AU 5478801 A	23-10-2001
			AU 5479401 A	23-10-2001
			AU 7566301 A	23-10-2001
			AU 7633001 A	23-10-2001
			AU 7633101 A	23-10-2001
			AU 7637101 A	14-01-2002
			AU 7748701 A	23-10-2001
			AU 7752101 A	14-01-2002
			AU 7765301 A	08-01-2002
			AU 7842001 A	07-11-2001
			AU 7970701 A	14-01-2002
			AU 8391501 A	08-01-2002
			AU 8391601 A	14-01-2002
			AU 8757501 A	08-01-2002
			AU 8757601 A	08-01-2002
			AU 8960001 A	11-12-2001
			AU 8961701 A	08-01-2002
			DE 20121960 U1	15-01-2004
			DE 20121961 U1	18-12-2003
			DE 20121963 U1	18-12-2003
			DE 20121964 U1	15-01-2004
			DE 20121965 U1	24-12-2003
			DE 20121966 U1	20-11-2003
			DE 20121967 U1	18-12-2003
			DE 20121968 U1	18-12-2003
			DE 20121969 U1	24-12-2003
			DE 20121970 U1	24-12-2003
			DE 20121971 U1	24-12-2003
			DE 20121972 U1	24-12-2003
			DE 20121973 U1	24-12-2003
			DE 20121974 U1	24-12-2003
			DE 20121975 U1	15-01-2004
			DE 20121977 U1	24-12-2003
			DE 20121978 U1	15-01-2004
			DE 20121979 U1	24-12-2003
			WO 0168911 A2	20-09-2001
			WO 0168912 A2	20-09-2001
			WO 0177375 A2	18-10-2001
			WO 0177164 A2	18-10-2001
			WO 0177376 A2	18-10-2001
			WO 0177377 A2	18-10-2001
			WO 0181622 A2	01-11-2001
			WO 0192565 A2	06-12-2001
			WO 0177378 A2	18-10-2001
			WO 0176451 A2	18-10-2001
			WO 0202806 A2	10-01-2002
			WO 0202807 A2	10-01-2002
WO 9856952	A	17-12-1998	AU 7829398 A	30-12-1998
			US 6251594 B1	26-06-2001
			WO 9856952 A1	17-12-1998
			US 2002177154 A1	28-11-2002
			US 2003211473 A1	13-11-2003
WO 0234942	A	02-05-2002	AU 1070002 A	06-05-2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2004/026071

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0234942	A		CA 2425904 A1	02-05-2002
			EP 1334209 A2	13-08-2003
			WO 0234942 A2	02-05-2002
			JP 2004512050 T	22-04-2004
			US 2004048275 A1	11-03-2004
WO 9746705	A	11-12-1997	US 5786146 A	28-07-1998
			US 6017704 A	25-01-2000
			CA 2257104 A1	11-12-1997
			EP 0954608 A1	10-11-1999
			IL 127342 A	25-07-2002
			JP 3612080 B2	19-01-2005
			JP 2000511776 T	12-09-2000
			JP 2004290200 A	21-10-2004
			WO 9746705 A1	11-12-1997
			US 6200756 B1	13-03-2001
			US 6265171 B1	24-07-2001
EP 1213360	A	12-06-2002	JP 2002171973 A	18-06-2002
			EP 1213360 A1	12-06-2002
			US 2002072059 A1	13-06-2002
US 6214556	B1	10-04-2001	DE 19754482 A1	01-07-1999
			AT 217348 T	15-05-2002
			AU 753368 B2	17-10-2002
			AU 2408599 A	16-06-1999
			CA 2310384 A1	10-06-1999
			CN 1283235 A	07-02-2001
			CZ 20001934 A3	15-11-2000
			WO 9928498 A2	10-06-1999
			DE 59804090 D1	13-06-2002
			DK 1034309 T3	26-08-2002
			EP 1034309 A2	13-09-2000
			ES 2173669 T3	16-10-2002
			HU 0100424 A2	28-06-2001
			IL 136158 A	25-07-2004
			JP 2001525181 T	11-12-2001
			NZ 504586 A	25-10-2002
			PL 341681 A1	23-04-2001
			PT 1034309 T	31-10-2002
			RU 2223324 C2	10-02-2004
			SI 1034309 T1	31-08-2002
WO 03074730	A	12-09-2003	EP 1342794 A1	10-09-2003
			AU 2003218691 A1	16-09-2003
			CA 2478493 A1	12-09-2003
			WO 03074730 A1	12-09-2003
			EP 1483410 A1	08-12-2004
US 6310270	B1	30-10-2001	US 6630347 B1	07-10-2003
			WO 9733989 A1	18-09-1997

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100108903

弁理士 中村 和広

(74)代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72)発明者 レービン, イェルン

ドイツ連邦共和国, デー 1 0 7 8 7 ベルリン, リュッツボウファー 2 4

(72)発明者 ベルリン, クルト

ドイツ連邦共和国, デー 1 4 5 3 2 スターンスドルフ, マリーンケーフェルベーク 4

(72)発明者 ヒルドマン, トーマス

ドイツ連邦共和国, デー 1 0 9 6 7 ベルリン, ハゼンハイデ 6 7

(72)発明者 オレク, アレクサンダー

ドイツ連邦共和国, デー 1 0 4 0 7 ベルリン, パストイルシュトラッセ 5

(72)発明者 ベック, ステファン

イギリス国, ケンブリッジ ウィットルズフォード シービー 2 4 エヌゼット, ウットルズフォード, ノース ロード 4 5

(72)発明者 ノビック, カレン

カナダ国, ブリティッシュ コロンビア ブイ7エイチ 1 シー 1, ノース バンクーバー, エデューストーン クレセント 2 9 8 7

Fターム(参考) 4B024 AA11 AA20 CA01 CA20 HA14

4B063 QA01 QA13 QA19 QQ03 QQ42 QR14 QR32 QR40 QR62 QS25

QS34