

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2024-69295

(P2024-69295A)

(43)公開日 令和6年5月21日(2024.5.21)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 Q	1/6869(2018.01)	C 1 2 Q	1/6869	Z
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/09	Z
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	M
		審査請求 有	請求項の数 1	O L (全83頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-32720(P2024-32720)	(71)出願人	518056003	
(22)出願日	令和6年3月5日(2024.3.5)		ザ ジョンズ ホプキンス ユニバーシティ	
(62)分割の表示	特願2020-564491(P2020-564491)		アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1	
)の分割		2 1 8、ボルチモア、ノース・チャール	
原出願日	令和1年5月17日(2019.5.17)		ズ・ストリート 3 4 0 0	
(31)優先権主張番号	62/673,516	(74)代理人	100189131	
(32)優先日	平成30年5月18日(2018.5.18)		弁理士 佐伯 拓郎	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100182486	
			弁理士 中村 正展	
(31)優先権主張番号	62/795,900	(74)代理人	100147289	
(32)優先日	平成31年1月23日(2019.1.23)		弁理士 佐伯 裕子	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	ヴェルクレスク, ヴィクター イー .	
			アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 0	
			3 6 デイトン, ビッグ ブランチ ドラ	
			イブ 1 4 0 6 4	
				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌を査定および/または処置するためのセルフリーDNA

(57)【要約】 (修正有)

【課題】癌(例えば、限局性癌)を有するとして哺乳動物を特定するための方法および材料を提供する。また、癌を有する哺乳動物を査定し、モニターし、および/または処置するための方法および材料を提供する。

【解決手段】哺乳動物のセルフリーDNA(c f DNA)断片化プロファイルを決定する方法であって、前記哺乳動物から取得された試料から取得されたc f DNA断片を加工して配列決定ライブラリーにすること;配列決定された断片を取得するために、前記配列決定ライブラリーを低カバレッジ全ゲノム配列決定に供すること;マッピングされた配列のウィンドウを取得するために、前記配列決定された断片をゲノムにマッピングすること;およびc f DNA断片長を決定するために、マッピングされた配列の前記ウィンドウを分析すること;を含む、方法である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物のセルフリーDNA (cfDNA) 断片化プロファイルを決定する方法であつて、

前記哺乳動物から取得された試料から取得されたcfDNA断片を加工して配列決定ライブラリーにすること；

配列決定された断片を取得するために、前記配列決定ライブラリーを低カバレッジ全ゲノム配列決定に供すること；

マッピングされた配列のウィンドウを取得するために、前記配列決定された断片をゲノムにマッピングすること；および

cfDNA断片長を決定するために、マッピングされた配列の前記ウィンドウを分析すること；

を含む、方法。

【請求項 2】

前記マッピングされた配列が数十～数千のウィンドウを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ウィンドウが非重複ウィンドウである、請求項 1～2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記ウィンドウが、それぞれ約500万の塩基対を含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

cfDNA断片化プロファイルが各ウィンドウ内で決定される、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

cfDNA断片化プロファイルが断片サイズ中央値を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

cfDNA断片化プロファイルが断片サイズ分布を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記cfDNA断片化プロファイルが、マッピングされた配列の前記ウィンドウ中での、大きなcfDNA断片に対する小さなcfDNA断片の比率を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなおよび大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記cfDNA断片化プロファイルが全ゲノムにわたる、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記cfDNA断片化プロファイルがサブゲノム区間にわたる、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

10

20

30

40

50

癌を有するとして哺乳動物を特定する方法であって、

前記哺乳動物から取得された試料中のセルフリーDNA (cfDNA)断片化プロファイルを決定的こと；

前記cfDNA断片化プロファイル参照cfDNA断片化プロファイルと比較すること；および

前記哺乳動物から得られた前記cfDNA断片化プロファイルが前記参照cfDNA断片化プロファイルと異なる場合に、癌を有するとして前記哺乳動物を特定すること；

を含む、方法。

【請求項15】

前記参照cfDNA断片化プロファイルが健康な哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルである、請求項14に記載の方法。 10

【請求項16】

前記参照cfDNA断片化プロファイルが、前記健康な哺乳動物から取得された試料中のcfDNA断片化プロファイルを決定的ことによって生成される、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記参照DNA断片化パターンが、参照ヌクレオソームcfDNA断片化プロファイルである、請求項14に記載の方法。

【請求項18】

前記cfDNA断片化プロファイルが断片サイズ中央値を含み、前記cfDNA断片化プロファイルの断片サイズ中央値が、前記参照cfDNA断片化プロファイルの断片サイズ中央値より短い、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項19】

前記cfDNA断片化プロファイルが断片サイズ分布を含み、前記cfDNA断片化プロファイルの断片サイズ分布が、前記参照cfDNA断片化プロファイルの断片サイズ分布と比べて、少なくとも10ヌクレオチド異なる、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記cfDNA断片化プロファイルが、マッピングされた配列の前記ウィンドウ中での、大きなcfDNA断片に対する小さなcfDNA断片の比率を含み、小さなcfDNA断片が長さ100塩基対(bp)～150bpであり、大きなcfDNA断片が長さ151bp～220bpであり、前記cfDNA断片化プロファイル中の断片比率の相関が、前記参照cfDNA断片化プロファイルの断片比率の相関より低い、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項21】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項23】

前記cfDNA断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなおよび大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含む、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

前記癌が、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌からなる群から選択される、請求項14～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記比較の工程が、全ゲノムにわたって、前記cfDNA断片化プロファイルを参照cfDNA断片化プロファイルと比較することを含む、請求項14に記載の方法。 50

【請求項 26】

前記比較の工程が、サブゲノム区間にわたって、前記 cfDNA 断片化プロファイルを参照 cfDNA 断片化プロファイルと比較することを含み、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 27】

前記哺乳動物が、癌を処置するために、以前に癌処置を実施されたことがある、請求項 14 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記癌処置が、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 27 に記載の方法。

10

【請求項 29】

手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法およびこれらの組み合わせからなる群から選択される癌処置を前記哺乳動物に実施することをさらに含み、請求項 14 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記哺乳動物が、前記癌処置の実施後における癌の存在に対してモニターされる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記試料中の 1 または複数の癌特異的な配列変動を特定することをさらに含み、請求項 14 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 32】

前記試料中の 1 または複数の染色体異常を特定することをさらに含み、請求項 14 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記 1 または複数の染色体異常が、1 または複数の染色体腕中のコピー数変化を含む、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

癌を有するとして特定された哺乳動物中の癌の原発組織を特定する方法であって、

前記哺乳動物から取得された試料中のセルフリー DNA (cfDNA) 断片化プロファイル

30

を決定すること；

前記 cfDNA 断片化プロファイルを参照 cfDNA 断片化プロファイルと比較すること；および

前記哺乳動物から取得された前記 cfDNA 断片化プロファイルが、同一の原発組織を有する癌を有するとして特定された哺乳動物から得た参照 cfDNA 断片化プロファイルと合致する場合に、哺乳動物中の前記癌の前記原発組織を特定すること；

を含む、方法。

【請求項 35】

前記参照 cfDNA 断片化プロファイルが、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌の 1 または複数を含む、請求項 34 に記載の方法。

40

【請求項 36】

前記参照 cfDNA 断片化プロファイルが、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌の 1 または複数を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 37】

前記参照 DNA 断片化パターンが、参照ヌクレオソーム cfDNA 断片化プロファイルである、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 38】

50

前記 c f D N A 断片化プロファイルが断片サイズ中央値を含み、前記 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値より短い、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが断片サイズ分布を含み、前記 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布と比べて、少なくとも 1 0 ヌクレオチド異なる、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、マッピングされた配列の前記ウィンドウ中での、大きな c f D N A 断片に対する小さな c f D N A 断片の比率を含み、小さな c f D N A 断片が長さ 1 0 0 塩基対 (b p) ~ 1 5 0 b p であり、大きな c f D N A 断片が長さ 1 5 1 b p ~ 2 2 0 b p であり、前記 c f D N A 断片化プロファイル中の断片比率の相関が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片比率の相関より低い、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 4 1】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での大きな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 4 3】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなおよび大きな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記癌が、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌からなる群から選択される、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記比較の工程が、全ゲノムにわたって、前記 c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含む、請求項 3 4 に記載の方法。

30

【請求項 4 6】

前記比較の工程が、サブゲノム区間にわたって、前記 c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含む、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記試料中の 1 または複数の癌特異的な配列変動を特定することをさらに含む、請求項 3 4 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記試料中の 1 または複数の染色体異常を特定することをさらに含む、請求項 3 4 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 4 9】

前記 1 または複数の染色体異常が、1 または複数の染色体腕中のコピー数変化を含む、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

癌を有する哺乳動物を処置する方法であって、

癌を有するとして前記哺乳動物を特定すること、ここで、前記特定は、

前記哺乳動物から取得された試料中のセルフリー D N A (c f D N A) 断片化プロファイルを決定すること；

前記 c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較すること；および

50

前記哺乳動物から取得された前記 c f D N A 断片化プロファイルが前記参照 c f D N A 断片化プロファイルと異なる場合に、癌を有するとして前記哺乳動物を特定すること；を含む、ならびに

前記哺乳動物に癌処置を実施すること、
を含む、方法。

【請求項 5 1】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記癌が、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌からなる群から選択される、請求項 5 0 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 5 3】

前記癌処置が、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 5 0 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記参照 c f D N A 断片化プロファイルが健康な哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルである、請求項 5 0 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記参照 c f D N A 断片化プロファイルが、前記健康な哺乳動物から取得された試料中の c f D N A 断片化プロファイルを決定することによって生成される、請求項 5 4 に記載の方法。

20

【請求項 5 6】

前記参照 D N A 断片化パターンが、参照ヌクレオソーム c f D N A 断片化プロファイルである、請求項 5 0 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが断片サイズ中央値を含み、前記 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値より短い、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが断片サイズ分布を含み、前記 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布と比べて、少なくとも 1 0 ヌクレオチド異なる、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5 9】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、マッピングされた配列の前記ウィンドウ中での、大きな c f D N A 断片に対する小さな c f D N A 断片の比率を含み、小さな c f D N A 断片が長さ 1 0 0 塩基対 (b p) ~ 1 5 0 b p であり、大きな c f D N A 断片が長さ 1 5 1 b p ~ 2 2 0 b p であり、前記 c f D N A 断片化プロファイル中の断片比率の相関が、前記参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片比率の相関より低い、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 6 0】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での大きな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記 c f D N A 断片化プロファイルが、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなおよび大きな c f D N A 断片の配列カバレッジを含む、請求項 5 0 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 6 3】

前記比較の工程が、全ゲノムにわたって、前記 c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含む、請求項 5 0 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記比較の工程が、サブゲノム区間にわたって、前記 c f D N A 断片化プロファイル参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含む、請求項 5 0 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記哺乳動物が、癌を処置するために、以前に癌処置を実施されたことがある、請求項 5 0 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 6 6】

前記癌処置が、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記哺乳動物が、前記癌処置の実施後における癌の存在に対してモニターされる、請求項 5 0 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本願は、2018年5月18日に出願された米国特許出願第62/673,516号の恩典を主張し、2019年1月23日に出願された米国特許出願第62/795,900号の恩典を主張する。先行出願の開示は、本願の開示の一部と考えられる（および参照により、その中に組み込まれる）。

【0 0 0 2】

連邦政府の資金拠出に関する陳述

本発明は、国立衛生研究所からの助成金番号CA121113を受けて、アメリカ合衆国政府の支援を得て為された。アメリカ合衆国政府は、本発明に一定の権利を有する。 30

【背景技術】

【0 0 0 3】

1. 技術分野

本文書は、癌を有する哺乳動物（例えば、ヒト）を査定し、および/または処置するための方法および材料に関する。例えば、本文書は、癌（例えば、限局性癌）を有するとして哺乳動物を特定するための方法および材料を提供する。例えば、本文書は、癌を有する哺乳動物をモニタリングし、および/または処置するための方法および材料を提供する。

【0 0 0 4】

2. 背景事情

全世界におけるヒトの癌の罹患率および死亡率の多くは、処置の有効性がより低いこれらの疾患の診断の遅れの結果である（Torreら、2015 CA Cancer J Clin 65:87; およびWorld Health Organization, 2017 Guide to Cancer Early Diagnosis）。残念なことに、患者を広く診断および処置するために使用することができる臨床的に証明された生物マーカーは、広く利用可能でない（Mazzucchelli, 2000 Advances in clinical pathology 4:111; Ruibal Morell, 1992 The International journal of biological markers 7:160; Galliら、2013 Clinical chemistry and laboratory medicine 51:1369; Sikaris, 2011 Heart, lung & circulat 50

ion 20:634; Linら、2016 in Screening for Colorectal Cancer: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. (Rockville, MD); Waneboら、1978 N Engl J Med 299:448; および Zaubner, 2015 Dig Dis Sci 60:681)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Torreら、2015 CA Cancer J Clin 65:87 10

【非特許文献2】World Health Organization, 2017 Guide to Cancer Early Diagnosis

【非特許文献3】Mazzucchelli, 2000 Advances in clinical pathology 4:111

【非特許文献4】Ruibal Morell, 1992 The International journal of biological markers 7:160

【非特許文献5】Galliら、2013 Clinical chemistry and laboratory medicine 51:1369

【非特許文献6】Sikaris, 2011 Heart, lung & circulation 20:634 20

【非特許文献7】Linら、2016 in Screening for Colorectal Cancer: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. (Rockville, MD)

【非特許文献8】Waneboら、1978 N Engl J Med 299:448

【非特許文献9】Zaubner, 2015 Dig Dis Sci 60:681

【発明の概要】

【0006】

セルフリーDNAの最近の分析は、このようなアプローチが早期診断のための新たな道筋を与え得ることを示唆する(Phallenら、2017 Sci Transl Med 9; Cohenら、2018 Science 359:926; Alix-Panabieresら、2016 Cancer discovery 6:479; Siravegnaraら、2017 Nature reviews. Clinical oncology 14:531; Haberら、2014 Cancer discovery 4:650; Husainら、2017 JAMA 318:1272; および Wanら、2017 Nat Rev Cancer 17:223)。

【0007】

本文書は、哺乳動物中の(例えば、哺乳動物から取得された試料中の)セルフリーDNA(cfDNA)断片化プロファイルを決定するための方法および材料を提供する。いくつかの事例では、癌を有するとして哺乳動物を特定するために、哺乳動物中のcfDNA断片化プロファイルを決定することを使用することができる。例えば、哺乳動物から(例えば、哺乳動物から取得された試料から)取得されたcfDNA断片は、低カバレッジ全ゲノム配列決定に供することができ、配列決定された断片は、cfDNA断片化プロファイルを決定するために、ゲノムに(例えば、非重複ウィンドウ中に)マッピングされ、査定されることができる。本文書は、癌を有するまたは有すると疑われる哺乳動物(例えば、ヒト)を査定し、および/または処置するための方法および材料も提供する。いくつかの事例において、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物から取得された試料(例えば、血液試料)は、少なくとも部分的にcfDNA断片化プロファイルに基づいて、当該哺乳動物が癌を有するかどうかを決定するために査定することができる。いくつかの事例において、本文書は、癌を有す 50

る哺乳動物をモニタリングし、および/または処置するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物を処置するために、(例えば、少なくとも部分的にcfDNA断片化プロファイルに基づいて)癌を有するとして特定された哺乳動物に、1または複数の癌処置を実施することができる。

【0008】

癌の早期検出および位置決定のための非侵襲性の方法が本明細書に記載されている。血中cfDNAは、癌を有する患者に非侵襲性診断の道筋を与えることができる。本明細書において実証されているように、早期遮断のための断片のDNA評価(DELFI(DNA Evaluation of Fragments for early Intereception))が開発され、乳癌、結腸直腸癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、胃癌または胆管癌を有する236人の患者の他、245人の健康な個体のcfDNAの全ゲノム断片化パターンを評価するために使用された。これらの分析は、健康な個体のcfDNAプロファイルが白血球のヌクレオソームの断片化パターンを反映するのに対して、癌を有する患者は変化した断片化プロファイルを有することを明らかにした。DELFIは、98%の特異性で、7つの癌の種類の中で、57%~99%超の範囲の検出の感度を有し、75%の症例で、癌の原発組織を限られた数の部位に特定した。(例えば、DELFIを用いて)cfDNAを査定することは、癌の早期検出のためのスクリーニングアプローチを提供することができる、これは、癌を有する患者の処置が成功する可能性を増加させることができる。(例えば、DELFIを用いて)cfDNAを査定することは、癌をモニタリングするためのアプローチを提供することもでき、これは、癌を有する患者の処置の成功および改善された転帰の可能性を増加させることができる。さらに、cfDNA断片化プロファイルは、限られた量のcfDNAから、安価な試薬および/または機器を使用して取得することができる。

10

20

【0009】

一般に、本文書の一態様は、哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルを決定するための方法の特徴とする。この方法は、前記哺乳動物から取得された試料から取得されたcfDNA断片を加工して配列決定ライブラリーにすること、配列決定された断片を取得するために、前記配列決定ライブラリーを全ゲノム配列決定(例えば、低カバレッジ全ゲノム配列決定)に供すること、マッピングされた配列のウィンドウを取得するために、前記配列決定された断片をゲノムにマッピングすること、およびcfDNA断片長を決定するために、マッピングされた配列の前記ウィンドウを分析すること、を含むことができ、または本質的にこれらからなることができる。マッピングされた配列は、数十~数千のウィンドウを含むことができる。マッピングされた配列のウィンドウは、非重複ウィンドウであり得る。マッピングされた配列のウィンドウは、それぞれ、約500万塩基対を含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、各ウィンドウ内で決定することができる。cfDNA断片化プロファイルは、断片サイズ中央値を含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、断片サイズ分布を含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、マッピングされた配列のウィンドウ中での、大きなcfDNA断片に対する小さなcfDNA断片の比率を含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、全ゲノムにわたることができる。cfDNA断片化プロファイルは、サブゲノム区間(例えば、染色体の一部中の区間)にわたることができる。

30

40

【0010】

別の態様において、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定するための方法の特徴とする。この方法は、哺乳動物から取得された試料中のcfDNA断片化プロファイルを決すること、前記cfDNA断片化プロファイルを参照cfDNA断片化プロファイルと比較すること、および前記哺乳動物から取得された試料中の前記cfDNA断片化プロファイルが前記参照cfDNA断片化プロファイルと異なる場合に、癌を有するとして前記哺乳動物を特定すること、を含むことができ、またはこれらから本質的になることができる。参照cfDNA断片化プロファイルは健康な哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルであり得る。参照cfDNA断片化プロファイルは、健康な哺乳動物から取得された

50

試料中の c f D N A 断片化プロファイルを決定することによって生成されることができる。参照 D N A 断片化パターンは、参照ヌクレオソーム c f D N A 断片化プロファイルであり得る。c f D N A 断片化プロファイルは断片サイズ中央値を含むことができ、c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値は、参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値より短いことがあり得る。c f D N A 断片化プロファイルは断片サイズ分布を含むことができ、c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布は、参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布と比べて、少なくとも 10 ヌクレオチド異なり得る。c f D N A 断片化プロファイルは、大きな c f D N A 断片に対する小さな c f D N A 断片の比率を含む、断片化パターンの位置依存的な差を含むことができ、ここで、小さな c f D N A 断片は長さ 100 塩基対 (b p) ~ 150 b p であり得、大きな c f D N A 断片は長さ 151 b p ~ 220 b p であり得、c f D N A 断片化プロファイル中の断片比率の相関は、参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片比率の相関より低いことがあり得る。c f D N A 断片化プロファイルは、ゲノムにわたる、小さな c f D N A 断片、大きな c f D N A 断片または小さな c f D N A 断片と大きな c f D N A 断片の両方の配列カバレッジを含むことができる。癌は、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胆管癌、膵臓癌、胃癌または卵巣癌であり得る。比較の工程は、全ゲノムにわたるウィンドウ中で、c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含むことができる。比較の工程は、サブゲノム区間 (例えば、染色体の一部の中の区間) にわたって、c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較することを含むことができる。哺乳動物は、癌を処置するための癌処置を以前に実施されることがあり得る。癌処置は、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法またはこれらの任意の組み合わせであり得る。前記方法は、癌処置 (手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法またはこれらの任意の組み合わせ) を哺乳動物に実施することを含むこともできる。哺乳動物は、癌処置の実施後における癌の存在に対してモニターされ得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 1 】

別の態様において、本文書は、癌を有する哺乳動物を処置するための方法を特徴とする。この方法は、癌を有するとして哺乳動物を特定することを含むことができ、または癌を有するとして哺乳動物を特定することから本質的になることができ、ここで、前記特定は、前記哺乳動物から取得された試料中の c f D N A 断片化プロファイルを決定すること、c f D N A 断片化プロファイルを参照 c f D N A 断片化プロファイルと比較すること、および前記哺乳動物から取得された c f D N A 断片化プロファイルが前記参照 c f D N A 断片化プロファイルと異なる場合に、癌を有するとして前記哺乳動物を特定すること；および前記哺乳動物に癌処置を実施すること、を含む。哺乳動物は、ヒトであり得る。癌は、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌または卵巣癌であり得る。癌処置は、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子 T 細胞療法、標的療法またはこれらの組み合わせであり得る。参照 c f D N A 断片化プロファイルは健康な哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルであり得る。参照 c f D N A 断片化プロファイルは、健康な哺乳動物から取得された試料中の c f D N A 断片化プロファイルを決定することによって生成されることができる。参照 D N A 断片化パターンは、参照ヌクレオソーム c f D N A 断片化プロファイルであり得る。c f D N A 断片化プロファイルは断片サイズ中央値を含むことができ、ここで、c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値は、参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ中央値より短い。c f D N A 断片化プロファイルは断片サイズ分布を含むことができ、ここで、c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布は、参照 c f D N A 断片化プロファイルの断片サイズ分布と比べて、少なくとも 10 ヌクレオチド異なる。c f D N A 断片化プロファイルは、マッピングされた配列のウィンドウ中で、大きな c f D N A 断片に対する小さな c f D N A 断片の比率を含むことができ、ここで、小さな c f D N A 断片は長さ 100 b p ~ 150 b p であり、大きな c f D N A 断片は長さ 151 b p ~ 220 b

pであり、cfDNA断片化プロファイル中の断片比率の相関は、参照cfDNA断片化プロファイルの断片比率の相関より低い。cfDNA断片化プロファイルは、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなcfDNA断片の配列カバレッジを含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、ゲノムにわたるウィンドウ中での大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含むことができる。cfDNA断片化プロファイルは、ゲノムにわたるウィンドウ中での小さなおよび大きなcfDNA断片の配列カバレッジを含むことができる。比較の工程は、全ゲノムにわたり、cfDNA断片化プロファイルを参照cfDNA断片化プロファイルと比較することを含むことができる。比較の工程は、サブゲノム区間にわたり、cfDNA断片化プロファイルを参照cfDNA断片化プロファイルと比較することを含むことができる。哺乳動物は、癌を処置するための癌処置を以前に実施されることがあり得る。癌処置は、手術、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子T細胞療法、標的療法またはこれらの組み合わせであり得る。前記方法は、癌処置の実施後における癌の存在に対して哺乳動物をモニタリングすることも含むことができる。

10

【0012】

別段の定義がなければ、本明細書で使用されている全ての技術用語および科学用語は、当業者によって通常理解される意味と同一の意味を有する。本発明を実施するために、本明細書に記載されているものと類似のまたは均等な方法および材料を使用することができるが、以下には、適切な方法および材料が記載されている。本明細書中に挙げられている全ての刊行物、特許出願、特許および他の参照文献は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。抵触が生じる場合には、定義を含む本明細書が優越する。さらに、材料、方法および実施例は例示に過ぎず、限定することを意図していない。

20

【0013】

本発明の1または複数の実施形態の詳細は、添付の図面および以下の記述中に記載されている。本発明の他の特徴、目的および利点が、本明細書および図面からならびに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】例示的なDELFIアプローチの模式図。健康な個体および癌を有する患者のコホートから血液を収集する。血漿画分からヌクレオソーム保護されたcfDNAを抽出し、加工して配列決定ライブラリーとし、全ゲノム配列決定を通じて調べ、ゲノムへマッピングし、ゲノムにわたる異なるウィンドウ中でcfDNA断片プロファイルを決定するために分析した。個体を健康としてまたは癌を有するとして分類するために、および全ゲノムcfDNA断片化パターンを用いて、腫瘍原発組織を特定するために、機械学習アプローチを使用する。

30

【図2】分析された変動の数および腫瘍由来cfDNA断片分布に基づいた、非侵襲性癌検出のシミュレーション。表記された割合の腫瘍由来分子での、cfDNAの癌変動を検出する確率を評価するために、異なる数の腫瘍特異的変動を用いて、モンテカルロシミュレーションを行った。平均2000ゲノム当量のcfDNAおよび任意の変動の5またはそれを超える観察の必要性を仮定して、シミュレーションを行った。これらの分析は、腫瘍特異的変動の数を増加させることは、循環する腫瘍DNAの検出感度を向上させることを示している。

40

【図3】腫瘍由来cfDNA断片の分布。乳癌、結腸直腸癌、肺癌または卵巣癌を有する30人の患者から得た腫瘍特異的変動を含有する42の座位のcfDNA断片長の累積密度関数が、95%信頼帯(青)とともに示されている。変異cfDNA断片の長さは、これらの座位における野生型cfDNA断片(赤)と比較して、サイズが著しく異なった。

【図4】図4Aおよび図4Bは、腫瘍由来cfDNAのGC含量および断片長。A、GC含量は、変異した断片および変異していない断片について類似していた。B、GC含量は断片長と相関していなかった。

【図5】生殖系列cfDNA断片の分布。乳癌、結腸直腸癌、肺癌または卵巣癌を有する

50

38人の患者から得た生殖系列変動（非腫瘍由来）を含有する44座位の断片長の累積密度関数が、95%信頼帯とともに示されている。生殖系列変異（青）を有する断片の長さは、野生型cfDNA断片長（赤）と同等であった。

【図6】造血系cfDNA断片の分布。乳癌、結腸直腸癌、肺癌または卵巣癌を有する28人の患者から得た造血系変動（非腫瘍由来）を含有する41座位の断片長の累積密度関数が、95%信頼帯とともに示されている。多重検定に対する補正後に、変異した造血系cfDNA断片（青）と野生型cfDNA断片（赤）のサイズ分布に有意な差は存在しなかった（ $p = 0.05$ ）。

【図7】図7A～図7Fは、健康な個体および癌を有する患者におけるcfDNA断片化プロファイル。A、約9x全ゲノム配列決定から得られた全ゲノムcfDNA断片化プロファイル（長い断片に対する短い断片の比率として定義される）が、30人の健康な個体（上）および8人の肺癌患者（下）に対して、5Mbのピンで示されている。B、1Mbの解像度での、1番染色体から得られた、健康なcfDNA（上）、肺癌cfDNA（中央）および健康なリンパ球（下）の断片化プロファイルならびにリンパ球プロファイルの分析。健康なcfDNAプロファイル中央値の標準偏差と等しい標準偏差で、健康なリンパ球プロファイルをスケール調整した。健康なcfDNAパターンは、健康なリンパ球中のcfDNAパターンを極めて忠実に反映していたが、肺癌cfDNAプロファイルはより多様であり、健康なプロファイルおよびリンパ球プロファイルの両方と異なっている。C、健康なcfDNA（上）およびヌクレアーゼ消化された健康なリンパ球（中央）から100kのbピンを使用し、ゼロを中央に配置した隣接ヌクレオソーム間の平滑化された距離中央値が、以前に報告されたリンパ芽球様細胞のHi-C分析（下）を通じて得られたゲノムコンタクト行列に対する第一固有ベクトルとともに図示されている。健康なcfDNAヌクレオソーム距離は、ヌクレアーゼ消化されたリンパ球中の距離およびリンパ芽球様Hi-C分析から得られた距離を極めて忠実に反映していた。健康な個体（ $n = 30$ ）からのcfDNA断片化プロファイルは、リンパ球（D）、健康なcfDNA（E）およびリンパ球ヌクレオソーム（F）距離の断片化プロファイル中央値に高い相関を有していたが、肺癌を有する患者は、より低い相関を有していた。

【図8】健康な個体および肺癌を有する患者におけるcfDNA断片長の密度。健康な個体（ $n = 30$ 、灰色）および肺癌を有する患者（ $n = 8$ 、青色）に対して、cfDNA断片長が示されている。

【図9】図9Aおよび図9Bは、cfDNA断片化プロファイルの分析のための全ゲノム配列データのサブサンプリング。A、高カバレッジ（9x）全ゲノム配列決定データを、2x、1x、0.5x、0.2xおよび0.1x倍のカバレッジになるようにサブサンプリングした。それぞれのサブサンプリングされた倍数カバレッジに対して、30人の健康な個体および8人の肺癌を有する患者に対する5Mbピンでの平均を中央に配置した全ゲノム断片化プロファイルが、青色で示されたプロファイル中央値とともに図示されている。B、健康な個体および肺癌を有する患者に対する9xカバレッジでの当初プロファイルに対するサブサンプリングされたプロファイルのピアソン相関。

【図10】治療の間のcfDNA断片化プロファイルおよび配列変動。標的化されたチロシンキナーゼ阻害剤（黒い矢印）での処置を受けているNSCLC患者（ $n = 19$ ）からの連続的採血中での癌の検出およびモニタリングを、標的化配列決定（上）および全ゲノム断片化プロファイル（下）を用いて行った。各事例について、下側パネルの縦軸は、健康cfDNA断片化プロファイル中央値に対する各試料の相関の1倍を示す。エラーバーは、変異アレル頻度に対する二項検定から得られた信頼区間および全ゲノム断片化プロファイルに対するフィッシャー変換を用いて計算された信頼区間を図示する。これらのアプローチは、cfDNAの異なる側面（特定の変動と比較される全ゲノム）を分析するが、治療に应答している患者および安定なまたは進行する疾患を有する患者について、標的化配列決定および断片化プロファイルは類似していた。断片化プロファイルはゲノム変化およびエピゲノム変動の両方を反映するのに対して、変異アレル頻度は個別の変異のみを反映するので、変異アレル頻度単独では、健康な個体に対する断片化プロファイルの相関の

10

20

30

40

50

絶対的水準を反映しないことがあり得る。

【図 1 1】図 1 1 A ~ 図 1 1 C は、健康な個体および癌を有する患者中の c f D N A 断片化プロファイル。A、腫瘍組織の平行的分析が実施された結腸直腸癌患者における、腫瘍コピー数変化（上）との関連での断片化プロファイル（下）。セグメント平均の分布および整数コピー数が、表記の色で上部右に示されている。変化された断片化プロファイルは、コピー中立であったゲノムの領域中に存在し、コピー数変化を有する領域中でさらに影響を受けた。B、健康な個体および癌を有する患者に対する 1 ~ 2 x 全ゲノム配列決定から得られた G C 調製された断片化プロファイルが、5 M b ウィンドウを用いて、癌の種類ごとに図示されている。健康プロファイル中央値が黒色で示されており、9 8 % 信頼帯が灰色で示されている。癌を有する患者については、各プロファイルは、健康な中央値に対するそれらの相関に基づいて色が付されている。C、癌試料の 1 0 % 超が健康な断片比率中央値から 3 標準偏差を超える断片比率を有していれば、ウィンドウはオレンジ色で示されている。これらの分析は、癌を有する個体の c f D N A 中におけるゲノムにわたる多数の位置依存的変動を強調する。

10

【図 1 2】図 1 2 A および図 1 2 B は、健康な個体および結腸直腸癌を有する 1 人の患者におけるコピー中立領域中の c f D N A 断片長のプロファイル。A、無作為に選択された 2 5 人の健康な個体に対する、1 ~ 6 番染色体中の 2 1 1 のコピー中立ウィンドウ中の断片化プロファイル（灰色）。2 0 % の推定変異アレル頻度を有する結腸直腸癌を有する患者（C G C R C 2 9 1）については、癌断片長プロファイルは、およそ 1 0 % の腫瘍寄与に希釈された（青）。A および B、健康な試料および癌患者に対する断片プロファイルの周辺密度は大幅な重複を示すが（A、右）、断片化プロファイルの可視化（A、左）および主成分分析における健康な試料からの結腸直腸癌患者の分離（B）によって明らかであるように、断片化プロファイルは異なる。

20

【図 1 3】図 1 3 A および図 1 3 B は、c f D N A 断片の全ゲノムにわたる G C 補正。配列決定カバレッジに対する G C 含量の効果を推測および調節するために、非重複 1 0 0 k b ゲノムウィンドウ中のカバレッジを常染色体にわたって計算した。各ウィンドウに対して、並列された断片の平均 G C を計算した。A、2 人の無作為に選択された健康な被験者（C G P L H 1 8 9 および C G P L H 3 8 0）および検出不能な異数性を有する（P A スコア < 2 . 3 5）2 人の癌患者（C G P L L U 1 6 1 および C G P L B R 2 4）に対する未加工カバレッジの l o e s s 平滑化（上列）。l o e s s モデルによって予測された平均カバレッジを差し引いた後に、常染色体カバレッジ中央値に残余のスケールを調整し直した（下列）。断片長もカバレッジバイアスをもたらし得るので、この G C 補正手順は、短い（1 5 0 b p）および長い（1 5 1 b p）断片に対して別々に行った。1 9 番染色体上の 1 0 0 k b ピン（青い点）は、l o e s s モデルによって予測されるより少ないカバレッジを一貫して有するが、このようなアプローチは、カバレッジに対する染色体のコピー数の効果を除去するので、本発明者らは、染色体的特異的補正を実施しなかった。B、総合すると、健康な被験者および 3 未満の P A スコアを有する癌患者間で、短いまたは長い断片カバレッジと補正後 G C 含量の間には、限定的な相関が見出された。

30

【図 1 4】機械学習モデルの模式図。癌患者または健康な個体の特徴を有するとして c f D N A を分類できるかどうかを調べるために、勾配木ブースティング機械学習を使用した。この機械学習モデルは、ゲノム全体を通じたウィンドウ中での断片化サイズおよびカバレッジ特性ならびに染色体腕およびミトコンドリア D N A のコピー数を含んだ。各試料が 1 つの分割に無作為に割り当てられ、分割の 9 つ（データの 9 0 %）が訓練用に使用され、1 つの分割（データの 1 0 %）が試験用に使用される 1 0 分割交差検証アプローチを使用した。単一の交差検証から得られる予測精度は、試験および訓練セットの 1 0 個の可能な組み合わせに対する平均である。この予測精度は、患者の最初の無作為化由来のバイアスを反映し得るので、分割への患者の無作為化を含め、手順全体を 1 0 回繰り返した。全ての事例について、特徴選択およびモデル推定は訓練データに対して実施され、試験データに対して検証されて、試験データは特徴選択のために決して使用されなかった。最終的に、健康であるまたは癌を有する可能性が高いとして個体を分類するために使用すること

40

50

ができる DELFI スコアが得られた。

【図 15】反復された 10 分割交差検証にわたる AUC の分布。215 人の健康な個体および 208 人の癌を有する患者のコホートに対する 100 AUC の 25、50 および 75 パーセントイルが破線によって示されている。

【図 16】図 16 A および図 16 B は、染色体腕コピー数変化およびミトコンドリアゲノム表現 (representation) の全ゲノム分析。A、各常染色体腕に対する Z スコアが、健康な個体 (n = 215) および癌を有する患者 (n = 208) に対して図示されている。縦軸は、ゼロに正常なコピーを図示しており、正および負の値は、それぞれ、腕の増加および減少を示している。50 を上回るまたは -50 を下回る Z スコアを表記値で閾値とする。B、ミトコンドリアゲノムにマッピングされている読み取りデータの割合が、健康な個体および癌を有する患者に対して図示されている。

【図 17】図 17 A および図 17 B は、DELF I を用いた癌の検出。A、機械学習アプローチにおいて、cfDNA 断片化プロファイルおよびその他の全ゲノムにわたる特徴を用いて癌を検出するための受信者操作特性が、215 人の健康な個体および 208 人の癌を有する患者のコホートに対して図示されており (DELF I、AUC = 0.94)、95% 以上の特異性には青色の影が付されている。染色体腕コピー数 (Chr コピー数 (ML)) およびミトコンドリアのゲノムコピー数 (mtDNA) の機械学習分析が表記の色で示されている。B、DELF I 複合アプローチを使用する個別の癌の種類分析は、0.86 ~ 0.99 超の範囲の AUC を有していた。

【図 18】ステージごとの癌の DELFI 検出。機械学習アプローチにおいて、cfDNA 断片化プロファイルおよびその他の全ゲノムにわたる特徴を用いて癌を検出するための受信者操作特性が、215 人の健康な個体および 208 人の癌を有する患者の各ステージのコホートに対して図示されており、95% 以上の特異性には青色の影が付されている。

【図 19】DELF I 原発組織予測。胆管癌、乳癌、結腸直腸癌、胃癌、肺癌、卵巣癌および膵臓癌の DELFI 組織予測に対する受信者操作特性が図示されている。癌の種類内の試料サイズを増加させるために、90% の特異性で検出された症例が含まれ、肺癌コホートには、従前の処置を有する 18 人の肺癌患者から得たベースライン cfDNA データの追加を補充した (例えば、Shenら、2018 Nature、563:579-583 参照)。

【図 20】DELF I および変異をベースとした cfDNA アプローチを用いた癌の検出。乳癌、胆管癌、結腸直腸癌、胃癌、肺癌または卵巣癌を有する 126 人の患者のコホートにおいて DELFI (緑) および変異特定のための標的化配列決定 (青) を独立に行った。それぞれのアプローチおよびアプローチの組み合わせによって検出された個体の数が、98% の特異性で DELFI 検出に対して、99% 超の特異性で標的化配列決定に対して、および 98% の特異性で組み合わせに対して示されている。ND は、検出されなかったことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本文書は、哺乳動物中の (例えば、哺乳動物から取得された試料中の) cfDNA 断片化プロファイルを決定するための方法および材料を提供する。本明細書において使用される「断片化プロファイル」、「断片化パターンの位置依存的差」および「ゲノムにわたる位置依存的な様式での断片サイズおよびカバレッジの差」という用語は等価であり、互換的に使用されることができる。いくつかの事例では、癌を有するとして哺乳動物を特定するために、哺乳動物中の cfDNA 断片化プロファイルを決定することを使用することができる。例えば、哺乳動物から (例えば、哺乳動物から取得された試料から) 取得された cfDNA 断片は、低カバレッジ全ゲノム配列決定に供することができ、配列決定された断片は、cfDNA 断片化プロファイルを決定するために、ゲノムに (例えば、非重複ウィンドウ中に) マッピングされ、査定されることができる。本明細書において記載されているとおり、癌を有する哺乳動物の cfDNA 断片化プロファイルは、(例えば、断片長

において)、健康な哺乳動物(例えば、癌を有さない哺乳動物)のcfDNA断片化プロファイルより不均一である。したがって、本文書は、癌を有するまたは有すると疑われる哺乳動物(例えば、ヒト)を査定し、モニタリングし、および/または処置するための方法および材料も提供する。いくつかの事例において、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物から取得された試料(例えば、血液試料)は、少なくとも部分的に当該哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて、当該哺乳動物中の癌の存在、および必要に応じて原発組織を決定するために査定することができる。いくつかの事例において、本文書は、癌を有するとして哺乳動物をモニタリングするための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物から取得された試料(例えば、血液試料)は、少なくとも部分的に当該哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて、当該哺乳動物中の癌の存在を決定するために査定することができる。いくつかの事例では、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定し、当該哺乳動物を処置するために当該哺乳動物に1または複数の癌処置を実施するための方法および材料を提供する。例えば、少なくとも部分的に哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて当該哺乳動物が癌を有するかどうかを決定するために、当該哺乳動物から取得された試料(例えば、血液試料)を査定することができ、当該哺乳動物に、1または複数の癌処置を実施することができる。

10

【0016】

cfDNA断片化プロファイルは、1または複数のcfDNA断片化パターンを含むことができる。cfDNA断片化パターンは、任意の適切なcfDNA断片化パターンを含むことができる。cfDNA断片化パターンの例としては、断片サイズ中央値、断片サイズ分布、大きなcfDNA断片に対する小さなcfDNA断片の比率およびcfDNA断片のカバレッジが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの事例では、cfDNA断片化パターンは、断片サイズ中央値、断片サイズ分布、大きなcfDNA断片に対する小さなcfDNA断片の比率およびcfDNA断片のカバレッジのうち、2またはそれより多く(例えば、2、3または4)を含む。いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、全ゲノムcfDNAプロファイル(例えば、ゲノムにわたるウィンドウ中の全ゲノムcfDNAプロファイル)であり得る。いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、標的化領域プロファイルであり得る。標的化された領域は、ゲノムの任意の適切な部分(例えば、染色体の領域)であり得る。本明細書に記載されているとおり、cfDNA断片化プロファイルを決定することができる染色体の領域の例には、染色体の一部(例えば、2q、4p、5p、6q、7p、8q、9q、10q、11q、12qおよび/または14qの一部)および染色体腕(例えば、8q、13q、11qおよび/または3pの染色体腕)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、2またはそれを超える標的化領域のプロファイルを含むことができる。

20

30

【0017】

いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、cfDNA断片長の変化(changes)(例えば、変動(alterations))を特定するために使用することができる。変動は、ゲノム全域にわたる変動であり得、または1もしくは複数の標的化された領域/座位中の変更であり得る。標的領域は、1または複数の癌特異的変動を含有する任意の領域であり得る。癌特異的変動およびその染色体の位置の例としては、表3(添付書類C)に示されているものおよび表6に示されているもの(添付書類F)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、約10の変動~約500の変動(例えば、約25~約500、約50~約500、約100~約500、約200~約500、約300~約500、約10~約400、約10~約300、約10~約200、約10~約100、約10~約50、約20~約400、約30~約300、約40~約200、約50~約100、約20~約100、約25~約75、約50~約250または約100~約200の変動)を特定する(例えば、同時に特定する)ために使用することができる。

40

50

【 0 0 1 8 】

いくつかの事例では、c f D N A 断片化プロファイルは、腫瘍由来 D N A を検出するために使用することができる。例えば、c f D N A 断片化プロファイルは、癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルを、参照 c f D N A 断片化プロファイル（例えば、健康な哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルおよび/または癌を有するもしくは癌を有すると疑われる哺乳動物からの健康な細胞のヌクレオソームの D N A 断片化プロファイル）と比較することによって腫瘍由来の D N A を検出するために使用することができる。いくつかの事例では、参照 c f D N A 断片化プロファイルは、健康な哺乳動物から以前に生成されたプロファイルである。例えば、本明細書に提供されている方法は、健康な哺乳動物中の参照 c f D N A 断片化プロファイルを決定するために使用することができ、その参照 c f D N A 断片化プロファイルは、癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物中の試験 c f D N A 断片化プロファイルと将来比較するために（例えば、コンピュータまたはその他の電子的保存媒体中に）保存することができる。いくつかの事例では、健康な哺乳動物の参照 c f D N A 断片化プロファイル（例えば、保存された c f D N A 断片化プロファイル）は、全ゲノムにわたって決定される。いくつかの事例では、健康な哺乳動物の参照 c f D N A 断片化プロファイル（例えば、保存された c f D N A 断片化プロファイル）は、サブゲノム区間にわたって決定される。

10

【 0 0 1 9 】

いくつかの事例では、c f D N A 断片化プロファイルは、癌（例えば、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および/または卵巣癌）を有するとして哺乳動物（例えば、ヒト）を特定するために使用することができる。

20

【 0 0 2 0 】

c f D N A 断片化プロファイルは、c f D N A 断片サイズパターンを含むことができ、c f D N A 断片は任意の適切なサイズであり得る。例えば、c f D N A 断片は、約 5 0 塩基対 (b p) ~ 約 4 0 0 b p の長さであり得る。本明細書に記載されているとおり、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の c f D N A 断片サイズ中央値より短い c f D N A 断片サイズ中央値を含有する c f D N A 断片サイズパターンを有することができる。健康な哺乳動物（例えば、癌を有さない哺乳動物）は、約 1 6 6 . 6 b p ~ 約 1 6 7 . 2 b p （例えば、約 1 6 6 . 9 b p ）の c f D N A 断片サイズ中央値を有する c f D N A 断片サイズを有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の c f D N A 断片サイズより平均して約 1 . 2 8 b p ~ 約 2 . 4 9 b p （例えば、約 1 . 8 8 b p ）短い c f D N A 断片サイズを有することができる。例えば、癌を有する哺乳動物は、約 1 6 4 . 1 1 b p ~ 約 1 6 5 . 9 2 b p （例えば、約 1 6 5 . 0 2 b p ）の c f D N A 断片サイズ中央値を有する c f D N A 断片サイズを有することができる。

30

【 0 0 2 1 】

c f D N A 断片化プロファイルは、c f D N A 断片サイズ分布を含むことができる。本明細書に記載されているとおり、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の c f D N A 断片サイズ分布より可変的である c f D N A サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、サイズ分布は、標的化された領域内であり得る。健康な哺乳動物（例えば、癌を有さない哺乳動物）は、約 1 または約 1 未満の標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布より長い（例えば、1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、3 5、4 0、4 5、5 0 b p もしくはそれより長いまたはこれらの数字の間の塩基対の任意の数）標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布より短い（例えば、1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、3 5、4 0、4 5、5 0 b p もしくはそれより短いまたはこれらの数字の間の塩基対の任意の数）標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の標的化された領域の c f D N A 断片サイズ分布より約 4 7 b p 小さい ~ 約 3 0 b p 長い標的化された領域の c f D N A

40

50

断片サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、c f DNA断片の長さが平均10、11、12、13、14、15、15、17、18、19、20bpまたはそれを超える差の標的化された領域のc f DNA断片サイズ分布を有することができる。例えば、癌を有する哺乳動物は、c f DNA断片の長さが平均約13bpの差の標的化された領域のc f DNA断片サイズ分布を有することができる。いくつかの事例では、サイズ分布は、全ゲノムサイズ分布であり得る。健康な哺乳動物（例えば、癌を有さない哺乳動物）は、全ゲノムに短いおよび長いc f DNA断片の極めて類似した分布を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、全ゲノムに、c f DNA断片サイズの1または複数の変動（例えば、増加および減少）を有することができる。1または複数の変動は、ゲノムの任意の適切な染色体の領域であり得る。例えば、変動は、染色体の一部の中に存在し得る。c f DNA断片サイズの1または複数の変動を含有することができる染色体の一部の例としては、2q、4p、5p、6q、7p、8q、9q、10q、11q、12qおよび14qの一部が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、変動は、染色体腕全域（例えば、染色体腕全体）であり得る。

10

【0022】

c f DNA断片化プロファイルは、大きなc f DNA断片に対する小さなc f DNA断片の比率および参照断片比率に対する断片比率の相関を含むことができる。本明細書において使用される場合、大きなc f DNA断片に対する小さなc f DNA断片の比率に関して、小さなc f DNA断片は、長さ約100bp～長さ約150bpであり得る。本明細書において使用される場合、大きなc f DNA断片に対する小さなc f DNA断片の比率 20
に関して、大きなc f DNA断片は、長さ約151bp～長さ220bpであり得る。本明細書において記載されているとおり、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物におけるより低い（2倍低い、3倍低い、4倍低い、5倍低い、6倍低い、7倍低い、8倍低い、9倍低い、10倍低いまたはそれより低い）断片比率の相関（例えば、1または複数の健康な哺乳動物から得られるDNA断片比率などの参照DNA断片比率に対するc f DNA断片比率の相関）を有することができる。健康な哺乳動物（例えば、癌を有さない哺乳動物）は、約1（例えば、約0.96）の断片比の相関（例えば、1または複数の健康な哺乳動物から得られるDNA断片比率などの参照DNA断片比率に対するc f DNA断片比率の相関）を有することができる。いくつかの事例では、癌を有する哺乳動物は、健康な哺乳動物中の断片比率の相関（例えば、1または複数の健康な哺乳動物から得られるDN 30
A断片比率などの参照DNA断片比率に対するc f DNA断片比率の相関）より平均で約0.19～約0.30（例えば、約0.25）低い断片比率の相関（例えば、1または複数の健康な哺乳動物から得られるDNA断片比率などの参照DNA断片比率に対するc f DNA断片比率の相関）を有することができる。

20

30

【0023】

c f DNA断片化プロファイルは、全ての断片のカバレッジを含むことができる。全ての断片のカバレッジは、カバレッジのウィンドウ（例えば、非重複ウィンドウ）を含むことができる。いくつかの事例では、全ての断片のカバレッジは、小さな断片（例えば、長さ約100bp～約150bpの断片）のウィンドウを含むことができる。いくつかの事例では、全ての断片のカバレッジは、大きな断片（例えば、長さ約151bp～約220 40
bpの断片）のウィンドウを含むことができる。

40

【0024】

いくつかの事例では、c f DNA断片化プロファイルは、癌（例えば、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌または卵巣癌）の原発組織を特定するために使用することができる。例えば、c f DNA断片化プロファイルは、限局性癌を特定するために使用することができる。c f DNA断片化プロファイルが標的化領域プロファイルを含む場合には、癌の原発組織を特定するために、本明細書に（例えば、表3（添付書類C）におよび/または表6（添付書類F）に）記載されている1または複数の変動を使用することができる。いくつかの事例では、癌の原発組織を特定するために、染色体領域中の1または複数の変動を使用することができる。

50

【 0 0 2 5 】

c f D N A 断片化プロファイルは、任意の適切な方法を用いて取得することができる。いくつかの事例では、哺乳動物（例えば、癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物）から得た c f D N A は、全ゲノム配列決定（例えば、低カバレッジ全ゲノム配列決定）に供され、ゲノムにマッピングされ、c f D N A 断片長を決定するために分析されることができる配列決定ライブラリーへ加工することができる。マッピングされた配列は、ゲノムを包含する非重複ウィンドウ中で分析することができる。ウィンドウは、任意の適切なサイズであり得る。例えば、ウィンドウは、長さ数千～数百万の塩基であり得る。1つの非限定的な例として、ウィンドウは、約5メガ塩基（Mb）長であり得る。任意の適切な数のウィンドウをマッピングすることができる。例えば、数十～数千のウィンドウをゲノム中でマッピングすることができる。例えば、数百～数千のウィンドウをゲノム中でマッピングすることができる。c f D N A 断片化プロファイルは、各ウィンドウ内で決定することができる。いくつかの事例では、c f D N A 断片化プロファイルは、実施例1に記載されているとおりに取得することができる。いくつかの事例では、c f D N A 断片化プロファイルは、図1に示されているとおりに取得することができる。

10

【 0 0 2 6 】

いくつかの事例では、本明細書に記載されている方法および材料は、機械学習を含むこともできる。例えば、機械学習は、（例えば、c f D N A 断片のカバレッジ、c f D N A 断片の断片サイズ、染色体のカバレッジおよび m t D N A を用いて）変化された断片化プロファイルを特定するために使用することができる。

20

【 0 0 2 7 】

いくつかの事例では、本明細書に記載されている方法および材料は、癌（例えば、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および/または卵巣癌）を有するとして哺乳動物（例えば、ヒト）を特定するために使用される唯一の方法であり得る。例えば、c f D N A 断片化プロファイルを決定することは、癌を有するとして哺乳動物を特定するために使用される唯一の方法であり得る。

【 0 0 2 8 】

いくつかの事例では、本明細書に記載されている方法および材料は、癌（例えば、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および/または卵巣癌）を有するとして哺乳動物（例えば、ヒト）を特定するために使用される1または複数のさらなる方法と一緒に使用することができる。癌を有するとして哺乳動物を特定するために使用される方法の例には、1または複数の癌特異的な配列変動を特定すること、1または複数の染色体の変動（例えば、異数性および再編成）を特定すること、およびその他の c f D N A 変動を特定することが含まれるが、これらに限定されない。例えば、c f D N A 断片化プロファイルを決定することは、癌を有するとして哺乳動物を特定するために、哺乳動物のゲノム中の1または複数の癌特異的な変異を特定することと一緒に使用することができる。例えば、c f D N A 断片化プロファイルを決定することは、癌を有するとして哺乳動物を特定するために、哺乳動物のゲノム中の1または複数の異数性を特定することと一緒に使用することができる。

30

【 0 0 2 9 】

いくつかの態様において、本文書は、癌を有するまたは有すると疑われる哺乳動物（例えば、ヒト）を査定し、モニタリングし、および/または処置するための方法および材料も提供する。いくつかの事例において、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物から取得された試料（例えば、血液試料）は、少なくとも部分的に当該哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルに基づいて、当該哺乳動物が癌を有するかどうかを決定するために査定することができる。いくつかの事例では、本文書は、哺乳動物中の癌の位置（例えば、解剖学的部位または原発組織）を特定するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物から取得された試料（例えば、血液試料）は、少なくとも部分的に当該哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルに基づいて、当該哺乳動物中の癌の原発組織を決定するために査定することができる。い

40

50

くつかの事例では、本文書は、癌を有するとして哺乳動物を特定し、当該哺乳動物を処置するために当該哺乳動物に1または複数の癌処置を実施するための方法および材料を提供する。例えば、少なくとも部分的に哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて当該哺乳動物が癌を有するかどうかを決定するために、当該哺乳動物から取得された試料（例えば、血液試料）を査定することができ、当該哺乳動物に、1または複数の癌処置を実施することができる。いくつかの事例において、本文書は、癌を有する哺乳動物を処置するための方法および材料を提供する。例えば、哺乳動物を処置するために、（例えば、少なくとも部分的に当該哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて）癌を有するとして同定された哺乳動物に、1または複数の癌処置を実施することができる。いくつかの事例では、癌処置（例えば、本明細書に記載されている癌処置のいずれも）の最中にまたは後に、哺乳動物は、モニタリングを受けることができ（または、増加したモニタリングのために選択されることができ）および/またはさらなる診断試験を受けることができる。いくつかの事例では、モニタリングは、例えば、本明細書に記載されているとおりに哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルを決定するために哺乳動物から得られた試料（例えば、血液試料）を査定することによって、癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物を査定することを含むことができ、処置に対する応答を特定するためにおよび/または癌（例えば、残存する癌）を有するとして哺乳動物を特定するために、経時的なcfDNA断片化プロファイルの変化を使用することができる。

10

【0030】

任意の適切な哺乳動物が、本明細書に記載されているとおりに、査定され、モニターされ、および/または処置されることができる。哺乳動物は、癌を有する哺乳動物であり得る。哺乳動物は、癌を有すると疑われる哺乳動物であり得る。本明細書に記載されているとおりに査定され、モニターされ、および/または処置されることができる哺乳動物の例としては、ヒト、サルなどの霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、マウスおよびラットが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、癌を有するまたは癌を有すると疑われるヒトは、本明細書に記載されているとおりにcfDNA断片化プロファイルを決定するために査定されることができ、必要に応じて、本明細書に記載されているとおりに1または複数の癌処置で処置されることができる。

20

【0031】

哺乳動物から得られる任意の適切な試料が、本発明に記載されているとおりに査定される（例えば、DNA断片化パターンに対して査定される）ことができる。いくつかの事例では、試料は、DNA（例えば、ゲノムDNA）を含むことができる。いくつかの事例では、試料は、cfDNA（例えば、循環腫瘍DNA（ctDNA））を含むことができる。いくつかの事例では、試料は流体試料（例えば、液体生検）であり得る。DNAおよび/またはポリペプチドを含有することができる試料の例としては、血液（例えば、全血、血清または血漿）、羊膜、組織、尿、脳脊髄液、唾液、痰、気管支肺胞洗浄液、胆汁、リンパ液、嚢胞液、便、腹水、パパニコロースメア、母乳および呼気凝縮液が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、血漿試料は、本明細書に記載されているとおりにcfDNA断片化プロファイルを決定するために査定することができる。

30

【0032】

本明細書に記載されているとおりに査定される（例えば、DNA断片化パターンに対して査定される）べき、哺乳動物から得られる試料は、任意の適切な量のcfDNAを含むことができる。いくつかの事例では、試料は、限られた量のDNAを含むことができる。例えば、cfDNA断片化プロファイルは、例えば、Phallenら、2017 Sci Transl Med 9; Cohenら、2018 Science 359:926; Newmanら、2014 Nat Med 20:548; およびNewmanら、2016 Nat Biotechnol 34:547)に記載されているものなどの他のcfDNA分析方法のために通例必要とされるより少ないDNAを含む試料から取得することができる。

40

【0033】

50

いくつかの事例では、試料は、(例えば、試料からDNAおよび/またはポリペプチドを単離および/または精製するために)処理することができる。例えば、DNA単離および/または精製は、細胞溶解(例えば、洗浄剤(detergents)および/または界面活性剤を用いて)、タンパク質除去(例えば、プロテアーゼを用いて)および/またはRNA除去(例えば、RNAアーゼを用いて)を含むことができる。別の例として、ポリペプチド単離および/または精製は、細胞溶解(例えば、洗浄剤(detergents)および/または界面活性剤を用いて)、DNA除去(例えば、DNAアーゼを用いて)および/またはRNA除去(例えば、RNAアーゼを用いて)を含むことができる。

【0034】

癌の任意の適切な種類を有するまたは有すると疑われる哺乳動物は、本明細書に記載されている方法および材料を用いて、(例えば、cfDNA断片化プロファイルを決定するために)査定され、および/または(例えば、1または複数の癌処置を哺乳動物に実施することによって)処置されることができる。癌は、任意のステージの癌であり得る。いくつかの事例では、癌は、早期ステージの癌であり得る。いくつかの事例では、癌は、無症候性癌であり得る。いくつかの事例では、癌は、(例えば、外科的切除後および/または癌治療後の)残存疾患および/または再発であり得る。癌は、任意の種類のカンサーであり得る。本明細書に記載されているとおりに査定、され、モニターされ、および/または処置されることができる癌の種類例としては、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、胆管癌および卵巣癌が挙げられるが、これらに限定されない。

【0035】

本明細書に記載されているとおりに癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物を処置する場合、哺乳動物は、1または複数の癌処置を実施されることができる。癌処置は、任意の適切な癌処置であり得る。本明細書に記載されている1または複数の癌処置は、任意の適切な頻度で(例えば、1回または数日から数週の範囲の期間にわたって複数回)哺乳動物に実施されることができる。癌処置の例としては、術後補助化学療法、術前補助化学療法、放射線療法、ホルモン療法、細胞傷害性療法、免疫療法、養子T細胞療法(例えば、キメラ抗原受容体および/または野生型もしくは改変されたT細胞受容体を有するT細胞)、標的療法、例えば、キナーゼ阻害剤(例えば、転座または変異など特定の遺伝的病変を標的とするキナーゼ阻害剤)、(例えば、キナーゼ阻害剤、抗体、二重特異的抗体)の投与、シグナル伝達阻害剤、二重特異的抗体または抗体断片(例えば、BiTE)、モノクローナル抗体、免疫チェックポイント阻害剤、手術(例えば、外科的切除)または上記の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの事例では、癌処置は、癌の重度を低減し、癌の症候を低減し、および/または哺乳動物内に存在する癌細胞の数を低減させることができる。

【0036】

いくつかの事例では、癌処置は、免疫チェックポイント阻害剤を含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤の非限定的な例としては、ニボルマブ(オプジーボ)、ペムブロリズマブ(キートルーダ)、アテゾリズマブ(テセントリク)、アベルマブ(バベンチオ)、デュルバルマブ(イミフィンジ)、イピリムマブ(ヤーボイ)が挙げられる。例えば、Pardoll (2012) Nat. Rev. Cancer 12: 252-264; Sunら、(2017) Eur Rev Med Pharmacol Sci 21(6): 1198-1205; Hamanishiら、(2015) J. Clin. Oncol. 33(34): 4015-22; Brahmerら、(2012) N Engl J Med 366(26): 2455-65; Ricciutiら、(2017) J. Thorac Oncol. 12(5): e51-e55; Ellisら、(2017) Clin Lung Cancer pii: S1525-7304(17)30043-8; Zou and Awad (2017) Ann Oncol 28(4): 685-687; Sorscher (2017) N Engl J Med 376(10): 996-7; Huiら、(2017) Ann Oncol 28(4): 874-881; Vansteenkisteら、(2017) Expert Opin Biol Th

10

20

30

40

50

er 17 (6) : 781 - 789 ; Hellmannら、(2017) Lancet Oncol . 18 (1) : 31 - 41 ; Chen (2017) J . Chin Med Assoc 80 (1) : 7 - 14 を参照。

【0037】

いくつかの事例では、癌処置は、養子T細胞療法（例えば、キメラ抗原受容体および/または野生型もしくは改変されたT細胞受容体を有するT細胞）であり得る。例えば、Rosenberg and Restifo (2015) Science 348 (6230) : 62 - 68 ; Chang and Chen (2017) Trends Mol Med 23 (5) : 430 - 450 ; Yee and Lizee (2016) Cancer J . 23 (2) : 144 - 148 ; Chenら、(2016) Oncoimmunology 6 (2) : e1273302 ; 米国特許出願公開第2016/0194404号 ; 米国特許出願公開第2014/0050788号 ; 米国特許第2014/0271635号 ; 米国特許第9,233,125号を参照 ; 参照により、それらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0038】

いくつかの事例では、癌処置は化学療法剤であり得る。化学療法剤の非限定的な例として、アマサクリン、アザシチジン、アキサチオプリン (axathioprine)、ペバシズマブ（またはその抗原結合断片）、プレオマイシン、プスルファン、カルボプラチン、カペシタビン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダウノルピシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキシソルピシン、エピルピシン、エルロチニブ塩酸塩、エトポシド、フィウダラビン (fludarabine)、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、イダルピシン、イホスファミド、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシン、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、プロカルバジン、全トランスレチノイン酸、ストレプトゾシン、タフルポシド、テモゾロミド、テニポシド、チオグアニン、トポテカン、ウラムスチン、バルルピシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピンデシン、ピノレルピンおよびこれらの組み合わせが挙げられる。抗癌治療のさらなる例が本分野において公知である ; 例えば、米国臨床腫瘍学会 (ASCO)、欧州臨床腫瘍学会 (ESMO) または全米総合癌情報ネットワーク (NCCN) からの治療用指針を参照。

20

30

【0039】

（例えば、少なくとも部分的に哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて）本明細書に記載されているとおりに癌を有するまたは癌を有すると疑われる哺乳動物をモニタリングする場合には、モニタリングは、癌処置の経過前、間および/または後であり得る。本明細書に提供されているモニタリングの方法は、1もしくは複数の癌処置の有効性を決定するために、および/または増加されたモニタリングのために哺乳動物を選択するために使用することができる。いくつかの事例では、モニタリングは、本明細書に記載されているとおりにcfDNA断片化プロファイルを特定することを含むことができる。例えば、cfDNA断片化プロファイルは、癌を有するまたは有すると疑われる哺乳動物へ1または複数の癌処置を投与する前に取得することができ、1または複数の癌処置を前記哺乳動物に実施することができ、1または複数のcfDNA断片化プロファイルは癌処置の経過の間に取得することができる。いくつかの事例では、cfDNA断片化プロファイルは、癌処置（例えば、本明細書に記載されている癌処置のいずれも）の間に変化することができる。例えば、哺乳動物が癌を有するという指標となるcfDNA断片化プロファイルは、哺乳動物が癌を有しないという指標となるcfDNA断片化プロファイルへ変化することができる。このようなcfDNA断片化プロファイルの変化は、癌処置が奏功していることを示し得る。逆に、cfDNA断片化プロファイルは、癌処置（例えば、本明細書に記載されている癌処置のいずれも）の間に、静止状態（例えば、同一またはおよそ同一）を保つことができる。このような静止したcfDNA断片化プロファイルは、癌処置が奏功していないことを示すことができる。いくつかの事例では、モニタリングは、

40

50

1 または複数の癌処置（例えば、1 または複数の癌処置の有効性）をモニタリングすることができる慣用の技術を含むことができる。いくつかの事例では、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物は、増加したモニタリングのために選択されていない哺乳動物と比較して増加した頻度で診断試験（例えば、本明細書に開示されている診断試験のいずれも）を実施されることができる。例えば、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物は、1 日2 回、毎日、週2 回、毎週、月2 回、毎月、3 ヶ月ごとに、半年ごとに、毎年の頻度でまたはこれらの中の任意の頻度で診断試験を実施されることができる。いくつかの事例では、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物は、増加したモニタリングのために選択されていない哺乳動物と比較して、1 または複数のさらなる診断試験を実施されることができる。例えば、増加したモニタリングのために選択される哺乳動物は、2 つの診断試験を実施されることができるのに対して、増加したモニタリングのために選択されなかった哺乳動物は、単一の診断試験のみを実施される（または診断試験を実施されない）。いくつかの事例では、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物は、さらなる診断試験のために選択することも可能である。腫瘍または癌（例えば、癌細胞）の存在が（例えば、本明細書に開示されている様々な方法のいずれかによって）特定されたら、哺乳動物は、増加したモニタリング（例えば、哺乳動物中の腫瘍もしくは癌の進行を査定するためにおよび/または変異などの1 もしくは複数の癌生物マーカーの発達を査定するために）とさらなる診断試験（例えば、腫瘍または癌のサイズおよび/または正確な位置（例えば、原発組織）を決定するために）の両方を受けることが有益であり得る。いくつかの事例では、1 または複数の癌処置は、癌生物マーカーが検出された後におよび/または哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルが改善もしくは悪化されていない後に、増加したモニタリングのために選択されている哺乳動物に対して実施することができる。本明細書に開示されているまたは本分野において公知の癌処置のいずれをも実施することができる。例えば、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物はさらにモニターすることができ、増加したモニタリング期間を通じて癌細胞の存在が維持されていれば、癌処置を実施することができる。これに加えてまたはこれに代えて、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物は癌処置を実施され、癌処置が進行するにつれてさらにモニターすることができる。いくつかの事例では、増加したモニタリングのために選択された哺乳動物が癌処置を実施された後に、増加したモニタリングは1 または複数の癌生物マーカー（例えば、変異）を明らかにするであろう。いくつかの事例では、このような1 または複数の癌生物マーカーは、異なる癌処置を実施するための原因を与えるであろう（例えば、耐性変異が癌処置の間に癌細胞中に発生し得、この耐性変異を保有する癌細胞は元の癌処置に対して耐性である）。

10

20

30

【0040】

（例えば、少なくとも部分的に哺乳動物の c f D N A 断片化プロファイルに基づいて）本明細書に記載されているとおりに癌を有するとして哺乳動物が特定される場合には、特定は、癌処置の経過前および/または間であり得る。本明細書に提供されている癌を有するとして哺乳動物を特定する方法は、（例えば、処置のいずれかの経過前に癌を有するとして）哺乳動物を特定するために、および/またはさらなる診断試験のために哺乳動物を選択するために、第一の診断として使用することができる。いくつかの事例では、哺乳動物が癌を有することが決定されたら、哺乳動物は、さらなる試験を実施され得、および/またはさらなる診断試験のために選択され得る。いくつかの事例では、本明細書に提供されている方法は、慣用技術が早期ステージ癌を有する哺乳動物を診断することが可能である期間より前の期間において、さらなる診断試験のために哺乳動物を選択するために使用することができる。例えば、さらなる診断試験のために哺乳動物を選択するための本明細書に提供されている方法は、哺乳動物が慣用の方法によって癌と診断されていないときに、および/または哺乳動物が癌を保有することが知られていないときに使用することができる。いくつかの事例では、さらなる診断試験のために選択される哺乳動物は、さらなる診断試験のために選択されていない哺乳動物と比較して増加した頻度で診断試験（例えば、本明細書に開示されている診断試験のいずれも）を実施されることができる。例えば、

40

50

さらなる診断試験のために選択される哺乳動物は、1日2回、毎日、週2回、毎週、月2回、毎月、3ヶ月ごとに、半年ごとに、毎年の頻度でまたはこれらの中の任意の頻度で診断試験を実施されることができ、いくつかの事例では、さらなる診断試験のために選択される哺乳動物は、さらなる診断試験のために選択されていない哺乳動物と比較して1または複数のさらなる診断試験を実施されることができ、例えば、さらなる診断試験のために選択された哺乳動物は、2つの診断試験を実施されることができ、さらなる診断試験のために選択されなかった哺乳動物は、単一の診断試験のみを実施される（または診断試験を実施されない）。いくつかの事例では、診断試験方法は、（例えば、少なくとも部分的に哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルに基づいて）当初検出された癌と同じ種類の癌（例えば、同じ組織または起源を有する）の存在を決定することができる。これに加えてまたはこれに代えて、診断試験方法は、当初検出された癌と異なる種類の癌の存在を決定することができる。いくつかの事例では、診断試験方法はスキャンである。いくつかの事例では、スキャンは、コンピュータ断層撮影法（CT）、CT血管造影（CTA）、食道造影図（バリウム嚥下（swallow））、バリウム注腸、磁気共鳴画像法（MRI）、PETスキャン、超音波（例えば、気管支内超音波、超音波内視鏡検査）、X線、DEXASキャンである。いくつかの事例では、診断試験方法は、肛門鏡検査、気管支鏡検査（例えば、自己蛍光気管支鏡検査、白色光気管支鏡検査、ナビゲーション気管支鏡検査）、大腸内視鏡検査、デジタル乳房トモシンセシス、内視鏡的逆行性膵胆管造影（ERCP）、食道胃十二指腸内視鏡検査（esophagogastroduodenoscopy）、マンモグラフィ、パパニコロースメア、婦人科内診、ポジトロン放出断層撮影・コンピュータ断層撮影法（PET-CT）スキャンなどの身体検査である。いくつかの事例では、さらなる診断試験のために選択された哺乳動物は、増加したモニタリングのために選択されることもできる。腫瘍または癌（例えば、癌細胞）の存在が（例えば、本明細書に開示されている様々な方法のいずれかによって）特定されたら、哺乳動物は、増加したモニタリング（例えば、哺乳動物中の腫瘍もしくは癌の進行を査定するためにおよび/または変異などの1もしくは複数の癌生物マーカーの発達を査定するために）とさらなる診断試験（例えば、腫瘍または癌のサイズおよび/または正確な位置を決定するために）の両方を受けることが有益であり得る。いくつかの事例では、癌処置は、癌生物マーカーが検出された後におよび/または哺乳動物のcfDNA断片化プロファイルが改善もしくは悪化されていない後に、さらなる診断試験のために選択されている哺乳動物に対して実施される。本明細書に開示されているまたは本分野において公知の癌処置のいずれをも実施することができる。例えば、さらなる診断試験のために選択された哺乳動物には、さらなる診断試験を実施することができ、腫瘍または癌の存在が確認されれば、癌処置を実施することができる。これに加えてまたはこれに代えて、さらなる診断試験のために選択された哺乳動物は癌処置を実施されることができ、癌処置が進行するにつれてさらにモニターされることができ、いくつかの事例では、さらなる診断試験のために選択された哺乳動物が癌処置を実施された後に、追加の試験は1または複数の癌生物マーカー（例えば、変異）を明らかにするであろう。いくつかの事例では、このような1または複数の癌生物マーカー（例えば、変異）は、異なる癌処置を実施するための原因を与えるであろう（例えば、耐性変異が癌処置の間に癌細胞中に発生し得、この耐性変異を保有する癌細胞は元の癌処置に対して耐性である）。

【0041】

本発明は、以下の実施例においてさらに記載されるが、以下の実施例は特許請求の範囲に記載されている本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【0042】

実施例1：癌を有する患者におけるセルフリーDNA断片化

セルフリーDNAの分析は、特定の遺伝子の標的化配列決定に主に焦点を当ててきた。このような研究は、癌を有する患者中の少数の腫瘍特異的変動の検出を可能にするが、全ての患者が、とりわけ、早期ステージの疾患を有する患者が検出可能な変化を有するわけ

ではない。セルフリーDNAの全ゲノム配列決定は、癌患者中の染色体異常および再編成を同定することができるが、このような変動の検出は、1つには、少数の異常な染色体変化を正常な染色体変化と区別することが難しいために困難であった(Learlyら、2010 Sci Transl Med 2:20ra14; およびLearlyら、2012 Sci Transl Med 4:162ra154)。その他の取り組みは、癌と正常な組織の間で、ヌクレオソームパターンおよびクロマチン構造が異なり得ること、ならびに癌を有する患者中のcfDNAが異常なcfDNA断片サイズおよび位置をもたらし得ることを示唆してきた(Snyderら、2016 Cell 164:57; Jahraら、2001 Cancer Res 61:1659; Ivanovら、2015 BMC Genomics 16(Suppl 13):S1)。しかしながら、cfDNAのヌクレオソームフットプリント分析のために必要とされる配列決定の量は、日常的な分析に対しては実現困難である。

10

【0043】

任意のセルフリーDNAアプローチの感度は、検査される潜在的な変動の数の他、このような変化を検出する技術的および生物学的限界に依存する。典型的な血液試料は1mLの血漿当たり約2000ゲノム当量のcfDNAを含有し(Phallenら、2017 Sci Transl Med 9)、単一の変動の検出の理論的限界は、野生型分子に対して数千に1つの変異体を超えることはできない。同数のゲノム当量中により多量の変動を検出するアプローチは、循環中に癌を検出することに関して感度がより高いであろう。モンテカルロシミュレーションは、わずかに数個~数十または数百検出される潜在的異常の数を増加させることは、cfDNA中の複数のメチル化変化の近年における確率分析と同様、何桁も検出限界を改善できる可能性を秘めることを示す(図2)。

20

【0044】

本研究は、全ゲノム配列決定を用いて、癌の検出および原発組織のさらなる特定のためのDELFIと呼ばれる新規方法を提示する(図1)。本アプローチは、健康な血液細胞DNAのパターンを腫瘍由来のDNAと区別し、原発腫瘍組織を特定するために、cfDNA断片化プロファイルおよび機械学習を使用する。245人の健康な個体および多くの患者は限局性疾患を示す、乳癌、結腸直腸癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、胃癌または胆管癌を有する236人の患者から得たcfDNAの遡及的分析のために、DELFIを使用した。このアプローチが、0.95の特異性を維持しながら、癌患者を健康な個体から識別することにに関して0.80以上の感度を有すると仮定すると、少なくとも200人の癌患者の研究は、0.95またはそれを超える所望の特異性にて、0.06の許容誤差で真の感度の推定を可能にするであろう。

30

【0045】

材料および方法

患者および試料の特徴

健康な個体から得た血漿試料ならびに乳癌、肺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胆管癌または胃癌を有する患者から得た血漿および組織試料は、ILSBio/Bioreclamation、オース大学、コペンハーゲン大学のヘアレウ病院、ヴィドローヴェ(Hvidovre)病院、ユトレヒト大学の大学附属病院、アムステルダム大学の大学附属病院、オランダ癌研究所および、カリフォルニア大学サンディエゴ校から入手した。全ての試料は、参加機関での研究使用に対するインフォームドコンセントを得て、施設内治験審査委員会によって承認されたプロトコルの下で入手した。健康な個体からの血漿試料は、大腸内視鏡検査またはパパニコロースメアなど日常的なスクリーニングの際に取得した。癌の既往歴がなく、陰性のスクリーニング結果であれば、個体は健康と考えた。

40

【0046】

乳癌、結腸直腸癌、胃癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌および胆管癌を有する個体からの血漿試料は、腫瘍切除または治療の前に、診断の際に取得した。複数の時点にわたってcfDNA断片化プロファイルの変化に関して分析された19人の肺癌患者は、抗EGFRまたは抗ERBB2治療での処置を受けていた(例えば、Phallenら、2019 Ca

50

ncer Research 15, 1204-1213 参照)。本研究に含まれた全ての患者に対する臨床データが表1(添付書類A)中に列記されている。性別は、XおよびY染色体表現のゲノム分析を通じて確認した。胃癌患者の病的ステージ決定は、術前補助療法後に行った。腫瘍ステージが不明な試料には、ステージXまたは不明と記した。

【0047】

ヌクレオソームDNA精製

生きて凍結されたリンパ球を、健康な男性(C0618)および女性(D0808-L)から得た白血球から浄化した(Advanced Biotechnologies Inc., Eldersburg, MD)。EZ Nucleosomal DNA Prep Kit(Zymo Research, Irvine, CA)を用いるヌクレオソームDNA精製のために、 1×10^6 細胞の分割試料を使用した。最初に、 $100 \mu\text{l}$ のNuclei Prep Bufferで細胞を処理し、氷上で5分間インキュベートした。200gで5分間の遠心後、上清を廃棄し、

$100 \mu\text{l}$ のAtlantis Digestion Bufferでまたは $100 \mu\text{l}$ の小球菌ヌクレアーゼ(MN) Digestion Bufferで、沈降した核を2回処理した。最後に、42℃で20分間、0.5UのAtlantis dsDNAアーゼで、または37℃で20分間、1.5UのMNアーゼで、細胞の核DNAを断片化した。5X MN Stop Bufferを用いて反応を停止させ、Zymo-Spin(商標)IIC Columnを用いて、DNAを精製した。Bioanalyzer 2100(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)を用いて、溶出された細胞核DNAの濃度および品質を分析した。

【0048】

cfDNAの試料調製および配列決定

全血は、EDTA管中に集めて、直ちにもしくは4℃での保存後1日以内に処理するか、またはモニタリング分析の一員であった3人の癌患者については、 Streck管中に集め、収集の2日以内に処理した。800gで、10分間、4℃での遠心によって、血漿および細胞成分を分離した。任意の残存する細胞破片を除去するために、再度、18,000g、室温で、血漿を遠心し、DNA抽出の時点まで-80℃で保存した。Qiagen Circulating Nucleic Acids Kit(Qiagen GmbH)を用いて、血漿からDNAを単離し、LoBind管(Eppendorf AG)中に溶出した。Bioanalyzer 2100(Agilent Technologies)を用いて、cfDNAの濃度および品質を査定した。

【0049】

他の文献に記載されているとおりに5~250ngのcfDNAを使用する全ゲノム配列決定および標的化配列決定のためにNGS cfDNAライブラリーを調製した(例えば、Phallenら、2017 Sci Transl Med 9:eaan2415参照)。簡潔に述べると、製造業者の指針に4つの主な改変を加え、NEB Next DNA Library Prep Kit for Illumina[New England Biolabs(NEB)]を用いて、ゲノムライブラリーを調製した；(i)溶出および管への移動工程に際しての試料喪失を最小化するために、ライブラリー精製工程はオンビーズAMPure XPアプローチを使用した(例えば、Fisherら、2011 Genome Biol 12;R1参照)；(ii)NEB Next End Repair, A-tailingおよびアダプター連結酵素および緩衝液体積は、オンビーズAMPure XP精製戦略を収容するのに適切のように調整した；(iii)それぞれ、6または8bpバーコードを有する標準的なIlluminaシングルまたはデュアルインデックスアダプターに代えて、連結反応において、8塩基対(bp)バーコードを有する8つのユニークなIlluminaデュアルインデックスアダプターのプールを使用した；(iv)cfDNAライブラリーは、Phusion Hot Start Polymeraseを用いて増幅した。

【0050】

10

20

30

40

50

全ゲノムライブラリーは、直接配列決定された。標的化ライブラリーについては、製造業者の指針にしたがって、Agilent SureSelect 試薬および58 遺伝子を標的とするハイブリダイゼーションプローブの特別注文の組を使用して、捕捉を行った（例えば、Phallenら、2017 Sci Transl Med 9:eaan2415 参照）。Phusion Hot Start Polymerase (NEB) を用いて、捕捉されたライブラリーを増幅した。DNA 1000 Kit (Agilent Technologies) を用いて、Bioanalyzer 2100 上で、捕捉されたcfDNAライブラリーの濃度および品質を査定した。標的化ライブラリーは、Illumina HiSeq 2000/2500 (Illumina) 上で、100bp のペアードエンドランを用いて配列決定された。

10

【0051】

cfDNA から得た標的化配列決定データの分析

cfDNA 試料に対する標的化NGSデータの分析は、他の文献に記載されているとおりに実施した（例えば、Phallenら、2017 Sci Transl Med 9:eaan2415 参照）。簡潔に述べると、Illumina CASAVA (Consensus Assessment of Sequence and Variation) ソフトウェア (バージョン1.8) を用いて、デュアルインデックスアダプター配列の逆多重化およびマスキングを含む、一次処理を完了した。NovoAlign を用いて、配列読み取りデータをヒト参照ゲノム (バージョンhg18またはhg19) に対して並列し、ニードルマン・ウンシュ法を用いて、選択した領域をさらに再並列した（例えば、Jonesら、2015 Sci Transl Med 7:283ra53 参照）。配列変動の位置は、異なるゲノムビルドによって影響を受けなかった。関心対象の標的化領域にわたって、VariantDxを用いて（例えば、Jonesら、2015 Sci Transl Med 7:283ra53 参照）(Personal Genome Diagnostics, Baltimore, MD)、点変異、小さな挿入および欠失からなる候補変異を同定した。

20

【0052】

cfDNA 分子の断片長を分析するために、cfDNA 分子からの各読み取り対は、30 以上のPhredクオリティスコアを有することが必要であった。同じ開始、終末およびインデックスバーコードを有することとして定義される全ての2つ組みのctDNA断片は除去した。各変異に対して、読み取り対の一方または両方が所定位置に変異した（または野生型）塩基を含有した断片のみが含められた。この分析は、RパッケージRsamtoolsおよびGenomic Alignmentsを用いて行った。

30

【0053】

体細胞変異が特定された各ゲノム座位に対して、変異体対立遺伝子を含有する断片の長さを、野生型対立遺伝子の断片の長さと比較した。100 を超える変異体断片が同定された場合には、平均断片長を比較するために、ウェルチの2標本t検定を使用した。100 未満の変異体断片を有する座位については、ブートストラップ手順を実行した。具体的には、野生型対立遺伝子を含有する復元N断片を標本抽出した、ここで、Nは、変異を有する断片の数を表す。野生型断片の各ブートストラップ反復に対して、その長さの中央値を計算した。p値は、観察された変異体断片長中央値と同じまたはより極端な野生型断片長中央値を有するブートストラップ反復の割合として推定した。

40

【0054】

cfDNA から得た全ゲノム配列決定データの分析

Illumina CASAVA (Consensus Assessment of Sequence and Variation) ソフトウェア (バージョン1.8.2) を用いて、デュアルインデックスアダプター配列の逆多重化およびマスキングを含む、cfDNA 試料に対する全ゲノムNGSデータの一次処理を行った。配列読み取りデータは、ELANDを用いて、ヒト参照ゲノム (バージョンhg19) に対して並列した。

【0055】

50

いずれかの読み取りに対して30未満のMAPQスコアを有する読み取り対およびPCR重複を取り除いた。hg19常染色体を、26,236の隣接する非重複100kbピンにタイル化した。読み取りデータがDukeブラックリスト領域に陥るので(例えば、hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenpath/hg19/encodeDCC/wgEncodeMapability/参照)、最低のカバレッジを有する10%のピンによって示される低マッピング可能性領域は取り除いた(例えば、Fortinら、2015 Genome Biol 16:180参照)。このアプローチを用いて、セントロメアおよびテロメア領域を含むhg19参照ゲノムの361Mb(13%)が除外された。短い断片は、100~150bpの長さを有するとして定義し、長い断片は、151~220bpの長さを有するとして定義した。

10

【0056】

ゲノムのGC含量に起因するカバレッジのバイアスを考慮するために、各100kbピンに対して計算されたカバレッジに対する平均断片GCの散布図に対して、スパン3/4とする局所的に重み付けられたloess平滑化を適用した。断片長によって、血漿中でのカバレッジに対するGC効果の差が生じる可能性を考慮するために、短い断片と長い断片に対して、このloess回帰を別個に実施した(例えば、Benjaminら、2012 Nucleic Acids Res 40:e72参照)。loessモデルから得たGCによって説明される短いおよび長いカバレッジに対する予測を差し引き、GCと相関しない短および長に対する残余を得た。カバレッジの全ゲノム中央値短および長推定値を加算し直すことによって、残余を元のスケールに戻した。試料間でカバレッジに対するGC効果の差が生じる可能性を考慮するために、各試料に対してこの手順を繰り返した。特徴空間およびノイズをさらに軽減するために、5Mbピン中のGC調整された総カバレッジを計算した。

20

【0057】

健康な被験体から得た断片長の可変性を、癌を有する患者中の断片と比較するために、各個体に対する短~長断片化プロファイルの標準偏差を計算した。2つの群中の標準偏差をウィルコクソン順位和検定によって比較した。

【0058】

染色体腕コピー数変化の分析

コピー数変化に対する腕レベルでの統計を開発するために、他の文献に記載されているとおりの血漿中の異数性検出のためのアプローチ(例えば、Learlyら、2012 Sci Transl Med 4:162ra154参照)を採用した。このアプローチは、ゲノムを非重複50KBピンに分割し、スパンを3/4とするloessによる補正後に、このピンに対して、GC補正されたlog2リードデプスが得られた。このloessをベースとする補正は、上に概述されているアプローチと同等であったが、より小さなピンにおける外れ値への頑健性を増加させるためにlog2スケールで評価され、断片長によって層別化しない。コピー数変化に対する腕特異的Zスコアを得るために、それぞれ、50の健康な試料の独立した組から得られたGRスコアの平均および標準偏差によって、各腕に対するGC調整された平均リードデプス(GR)を中心配置し、スケール調整した。

40

【0059】

cfDNAからのミトコンドリアの並列された読み取りデータの分析

ミトコンドリアのゲノムに当初マッピングした全ゲノム配列読み取りデータをbamファイルから抽出し、他の文献に記載されているとおり(例えば、Langmeadら、2012 Nat Methods 9:357-359参照)、Bowtie2を用いて、エンドツーエンドモードで、hg19参照ゲノムに再並列した。両方のメイトが30以上のMAPQでミトコンドリアゲノムに並列するように、得られた並列された読み取りデータにフィルターをかけた。ミトコンドリアゲノムにマッピングする断片の数を計数し、元のbamファイル中の断片の総数の百分率に変換した。

【0060】

50

癌分類のための予測モデル

断片化プロファイルを用いて健康者を癌患者と区別するために、確率的勾配ブースティングモデルを使用した (`gbm` (`gradient boosting model`); 例えば、Friedmanら、2001 *Ann Stat* 29:1189-1232; およびFriedmanら、2002 *Comput Stat Data An* 38:367-378参照)。平均0および単位標準偏差を有するように、各試料について、全ての504のピンに対するGC補正された総および短断片カバレッジを中心配置し、スケール調整した。さらなる特徴には、39の常染色体腕およびミトコンドリア表現の各々に対するZスコアが含まれた (\log_{10} 変換された、ミトコンドリアにマッピングされた読み取りデータの割合)。このアプローチの予測誤差を推定するために、他の文献に記載されているとおりに、10分割交差検証を使用した (例えば、Efronら、1997 *J Am Stat Assoc* 92, 548-560参照)。各交差検証実行において訓練データに対してのみ行われた特徴選択は、高度に相関した (相関 > 0.9) またはほぼゼロの分散を有するピンを除去した。パラメータを `n.trees = 150`、`interaction.depth = 3`、`shrinkage = 0.1` および `n.minsize = 10` として、Rパッケージ、`gbm` パッケージを用いて、確率的勾配ブースト機械学習を実行した。分割への患者の無作為化から生じる予測誤差を平均するために、10分割交差検証手順を10回繰り返した。2000ブートストラップの反復から98%に固定された感度および95%特異性に対する信頼区間が得られた。

10

20

【0061】

腫瘍原発組織分類のための予測モデル

90%の特異性で癌患者として正しく分類される試料に対して ($n = 174$)、原発組織を分類するために、別個の確率的勾配ブースティングモデルを訓練した。予測のために使用した肺試料の数が少ないことを考慮するために、後期ステージ肺癌患者から得た18cfDNAベースライン試料がモニタリング分析から含められた。10分割交差検証を10回反復することによって、モデルの性能特性を評価した。この`gbm`モデルは、癌分類モデルにおけるのと同じ特徴を用いて訓練された。先述のとおり、交差検証の間に各訓練データセット内で、互いに0.9を上回る相関を示した特徴またはほぼゼロの分散を有した特徴は除去した。組織クラス確率は、各患者につき10回の反復にわたって平均し、最高の確率を有するクラスを予測される組織とみなした。

30

【0062】

ヒトリンパ球由来のヌクレオソームDNAおよびcfDNAの分析

ヌクレアーゼ処理されたリンパ球から、全ゲノムcfDNA分析に関して記載されているとおりに、断片サイズを5Mbピンで分析した。ヌクレアーゼ処理されたリンパ球細胞株から、ヌクレオソーム位置の全ゲノムマップを構築した。このアプローチによって、循環する断片のカバレッジの局所的なバイアスが特定され、分解から保護された領域を示している。ゲノム中の各塩基対にスコア付けするために、「ウィンドウ・ポジショニング・スコア」(WPS)を使用した (例えば、Snyderら、2016 *Cell* 164:57参照)。各塩基周囲を中心とした60bpのスライドするウィンドウを用いて、ウィンドウに完全にまたがる断片の数から1つの末端のみがウィンドウ中に存在する断片の数を差し引いたものとして、WPSを計算した。ヌクレオソームから生じる断片は167bpの中央値長を有するので、高いWPSは、ヌクレオソームの位置の可能性を示唆した。移動中央値を用いて、WPSスコアをゼロで中央に配置し、コルモゴロフ・ズルベンコフィルターを用いて平滑化した (例えば、Zurbenko, *The spectral analysis of time series. North-Holland series in statistics and probability*; Elsevier, New York, NY, 1986参照)。50~450bpの正のWPSのスパンについては、ヌクレオソームピークは、そのウィンドウにおける中央値を上回るWPSを有する塩基対の組として定義した。9xの配列カバレッジでの、30人の健康な個体から得たcfDNAに対するヌクレオソーム位置の計算を、リンパ球DNA

40

50

に対するのと同様に決定した。健康な cfDNA 中のヌクレオソームが代表的であったことを確保するために、2 またはそれを超える個体中に同定されたヌクレオソームのみからなる、ヌクレオソームのコンセンサストラックを定義した。隣接するヌクレオソーム間の距離中央値をコンセンサストラックから計算した。

【0063】

検出感度のモンテカルロシミュレーション

腫瘍由来の変動を有する分子を検出する確率を推定するために、モンテカルロシミュレーションを使用した。簡潔に述べると、多項分布から 100 万分子を生成した。m 変動でのシミュレーションのために、確率 p で野生型分子をシミュレートし、m 腫瘍変動の各々を確率 $(1 - p) / m$ でシミュレートした。次に、 $g * m$ 分子を復元的に無作為抽出した、ここで、g は、血漿 1 ml 中のゲノム当量の数を表す。腫瘍変動が s またはそれを超える回数抽出されれば、そのサンプルは癌由来と分類した。シミュレーションを 1000 回繰り返して、癌指標によって、コンピュータシミュレーションでのサンプルが癌として正しく分類される確率を推定する。g = 2000 および s = 5 に設定して、腫瘍変動の数を 2 乗ずつ 1 から 256 まで、腫瘍由来分子の割合を 0.0001% から 1% まで変動させた。

10

【0064】

統計解析

全ての統計解析は、R バージョン 3.4.3 を用いて行った。健康対癌および原発組織の分類を実施するために、R パッケージ caret (バージョン 6.0-79) および gbm (バージョン 2.1-4) を使用した。モデル出力からの信頼区間は、pROC (バージョン 1.13) R パッケージを用いて取得した (例えば、Robinら、2011 BMC bioinformatics 12:77 参照)。この集団中での診断されていない癌症例の有病率が高い (100 人の健康者当たり 1 または 2 症例) と仮定すると、0.95 の特異性および 0.8 の感度を有するゲノムアッセイは、有用な操作特性 (0.25 の陽性的中率およびほぼ 1 の陰性的中率) を有するであろう。検定力計算は、200 人超の癌患者およびほぼ等しい数の健康な対照の分析が、0.95 またはそれを超える所望の特異性で、0.06 の許容誤差での感度の推定が可能となることを示唆する。

20

【0065】

データおよびコードの利用可能性

本研究において使用された配列データは、研究アクセッション番号 EGAS00001003611 および EGAS00001002577 で、European Genome-phenome Archive に寄託した。分析のためのコードは、github.com/Cancer-Genomics/delfi_scripts で入手可能である。

30

【0066】

結果

DELFI は、断片化パターンの全ゲノム分析を通じて、cfDNA 中の多数の異常の同時分析を可能にする。この方法は、低カバレッジ全ゲノム配列決定および単離された cfDNA の分析を基礎とする。マッピングされた配列は、ゲノムを覆う非重複ウィンドウ中で分析される。概念的には、ウィンドウのサイズは、数千~数百万塩基の範囲であり得、ゲノム中に、数百~数千のウィンドウがもたらされる。1~2xゲノムカバレッジという限られた量でさえ、ウィンドウ当たり 20,000 超の読み取りデータを与えるので、cfDNA 断片化パターンを評価するために、5 Mb ウィンドウを使用した。各ウィンドウ内で、cfDNA 断片のカバレッジおよびサイズ分布を調べた。健康な集団および癌集団中での全ゲノム断片化プロファイルの変動を評価するために、このアプローチを使用した (表 1; 添付書類 A)。パターンが健康であるまたは癌に由来する可能性があるかどうかを決定するために、ある個体からの全ゲノムパターンを参照集団と比較することができる。全ゲノムプロファイルは、全般的な断片サイズ分布においては見逃され得る特定組織に付随する位置的差異を明らかにするので、これらのパターンは、cfDNA の組織源も

40

50

示唆し得る。

【0067】

癌由来のcfDNA分子は、非癌細胞由来のcfDNAよりサイズがより可変的であり得ることが見出されたので、cfDNAの断片化サイズに焦点を当てた。乳癌、結腸直腸癌、肺癌または卵巣癌を有する患者から(表1(添付書類A)、表2(添付書類B)および表3(添付書類C))捕捉され、高カバレッジで配列決定された(43,706の総カバレッジ、8,044の異なるカバレッジ)標的化領域から得たcfDNA断片を最初に調べた。81人の患者から得た165の腫瘍特異的変動(患者当たり1~7変動の範囲)を含有する座位の分析によって、中央値変異体cfDNA断片の長さ(中央値野生型cfDNA断片の長さ)の間に6.5bp(95%CI、5.4~7.6bp)の平均絶対差が明らかとなった(図3、表3(添付書類C))。変異体cfDNA断片のサイズ中央値は

10

、野生型配列の当該領域より3番染色体の位置41,266,124で30塩基小さく、11番染色体の位置108,117,753で47塩基大きいという範囲であった(表3;添付書類C)。変異した断片と変異していない断片に対してGC含量は同様であり(図4a)、GC含量と断片長の間に関連は存在しなかった(図4b)。38人の患者から得られた44の生殖系列変動の同様の分析は、異なる対立遺伝子の断片長間に1bp未満の中央値cfDNAサイズ差を特定した(図5、表3(添付書類C))。さらに、同一個体の血漿、パフィーコートおよび腫瘍から得たDNAの以前の配列比較を通じて、クローン性造血に関連する41の変動が特定された。腫瘍由来の断片とは異なり、造血性変動を有する断片と野生型断片との間に有意な差は存在しなかった(図6、表3(添付書類C))。総合すると、癌由来cfDNA断片長は、ある種のゲノム領域において、非癌cfDNA断片と比較して、有意により可変的であった($p < 0.001$ 、分散比検定)。これらの差は、高次クロマチン構造の変化の他、癌中でのその他のゲノムおよびエピゲノム異常によるものであり得ること、位置特異的な態様でのcfDNA断片化は、それ故、癌検出のための特有の生物マーカーとしての役割を果たすことが仮定された。

20

【0068】

標的化配列決定は、限られた数の座位のみを分析するので、cfDNA断片化中のさらなる異常を検出するためのより大規模な全ゲノム分析を調査した。ステージI~III疾患を有する8人の肺癌患者ならびに30人の健康な個体から得た約4mlの血漿からcfDNAを単離した(表1(添付書類A)、表4(添付書類D)および表5(添付書類E))。cfDNAを次世代配列決定ライブラリーへ変換するために高効率アプローチが使用され、約9xカバレッジで全ゲノム配列決定を実施した(表4;添付書類D)。総じて、健康な個体のcfDNA断片長はより大きく、167.3bpの断片サイズ中央値であったのに対して、癌を有する患者は163.8の断片サイズ中央値を有していた($p < 0.01$ 、ウェルチのt検定)(表5;添付書類E)。ゲノムにわたる位置依存的な態様での断片サイズおよびカバレッジの差を調べるために、配列決定された断片をそれらのゲノム起源にマッピングし、ゲノムの約2.6Gbを覆う5Mbのサイズである504ウィンドウ中で断片長を評価した。各ウィンドウに対して、より大きなcfDNA断片(151~220bp)に対する小さなcfDNA断片(長さ100~150bp)の割合の他に、全体的なカバレッジを決定し、各試料に対して全ゲノム断片化プロファイルを取得するために使用した。

30

40

【0069】

健康な個体は、ゲノム全体を通じて極めて類似した断片化プロファイルを有していた(図7および図8)。cfDNA中に通常観察される断片化パターンの起源を調べるために、2人の健康な個体の浄化されたリンパ球から核を単離し、ヌクレオソームのDNA断片を得るために、DNAヌクレアーゼで処理した。観察された健康な個体中のcfDNAパターンの分析によって、リンパ球ヌクレオソームDNA断片化プロファイル(図7bおよび7d)およびヌクレオソーム距離(図7cおよび7f)への高い相関が明らかとなった。ゲノムの三次元構造を調べるためのHi-C法(例えば、Lieberman-Aid

50

enら、2009 Science 326:289-293; およびFortinら、2015 Genome Biol 16:180参照)を用いて明らかにされたところによると、リンパ球中のヌクレオソーム間の距離中央値は、リンパ芽球様細胞の開放した(A)および閉鎖した(B)区画に相関していた(図7c)。これらの分析は、正常なcfDNAの断片化パターンが、正常な血液細胞のクロマチン構造を概ね反映するヌクレオソームDNAパターンの結果であることを示唆する。

【0070】

健康なcfDNAとは異なり、癌を有する患者は、異なる領域において断片サイズの増加および減少を伴う複数の明確なゲノムの相違を有していた(図7aおよび7b)。標的化分析から得られた本発明者らの観察と同様に、健康な個体と比べて、癌を有する患者に

10

【0071】

癌を有する患者を健康な個体と識別するためにcfDNA断片長パターンを使用することができかどうかを決定するために、健康な個体から計算された断片長中央値プロファイルと比較される、長いcfDNA断片に対する短いcfDNA断片の割合の全ゲノム相関分析を各試料に対して行った(図7a、7bおよび7e)。cfDNA断片のプロファイルは健康な個体間では極めて一貫していた(0.99の相関中央値)のに対して、癌患者間での全ゲノム断片比率の相関中央値は0.84であった(0.15低い、95%CI 0.07~0.50、 $p < 0.001$ 、ウィルコクソン順位和検定;表5(添付書類E))。癌患者の断片化プロファイルを健康なリンパ球における断片化プロファイルまたはヌクレオソーム距離と比較すると、類似の相違が観察された(図7c、7dおよび7f)。GC含量に起因する断片化プロファイルの潜在的なバイアスを考慮するために、局所的に重み付けられた平滑化を各試料に独立して適用し、この調整後にも、健康な個体と癌患者間における断片化プロファイルの差が残存することを見出した(健康者に対する癌患者の相関中央値=0.83)(表5;添付書類E)。

20

【0072】

約2x、約1x、約0.5x、約0.2xおよび約0.1xゲノムカバレッジで、癌を有する患者のcfDNAから9xカバレッジで、全ゲノム配列データのサブサンプリング分析を行い、0.5xゲノムカバレッジにおいてさえ、変化された断片化プロファイルが容易に特定されることが決定された(図9)。これらの観察に基づいて、配列変動のモニタリングと類似した様式で、標的療法の間断片化プロファイルが変化し得るかどうかを評価するために、1~2xのカバレッジで全ゲノム配列決定を行った。部分的なX線応答を有する5人、安定な疾患を有する8人、進行性疾患を有する4人および測定不能な疾患を有する2人を含む19人の非小細胞肺癌患者から、抗EGFRまたは抗ERBB2治療の間に得たcfDNAを評価した(表6;添付書類F)。図10に示されているように、治療の間の断片化プロファイルの異常の程度は、標的化配列決定を用いて決定されたEGFRまたはERBB2変異アレル頻度のレベルとよく一致した(変異アレル頻度の断片化プロファイルへのスピアマン相関=0.74)。全ゲノムおよび変異ベースの方法は統計学的に関係がなく、従前の治療によってこれらの患者中で抑制され得る異なるcfDNA変動を調べるので、この相関は特筆すべきである。注目すべきことに、6ヶ月またはそれ

30

40

【0073】

腫瘍組織の平行的分析が得られた腫瘍患者中での既知のコピー数変化との関連で、断片化プロファイル調べた。これらの分析は、変化された断片化プロファイルがコピー中立であったゲノムの領域中に存在したこと、およびコピー数変化を有する領域中でこれらが

50

さらに影響を受け得ることを実証した(図11aおよび図12a)。位置依存的な断片化パターンの差は、これらの領域中で、健康なcfDNAから癌由来のcfDNAを区別するために使用することができた(図12a、b)のに対して、全般的なcfDNA断片サイズ測定はこのような差を見逃したであろう(図12a)。

【0074】

これらの分析を、癌患者および健康な個体の独立したコホートに拡張した。乳癌(n=54)、結腸直腸癌(n=27)、肺(n=12)、卵巣癌(n=28)、膵臓癌(n=34)、胃癌(n=27)または胆管癌(n=26)を含む合計208人の癌を有する患者および癌を有さない215人の個体から得たcfDNAの、1~2xカバレッジでの全ゲノム配列決定を行った(表1(添付書類A)および表4(添付書類D))。全ての癌患者は処置未経験であり、大半が切除可能な疾患を有していた(n=183)。短いおよび長いcfDNA断片カバレッジのGC調整後に(図13a)、ゲノム全体にわたるウィンドウ中で断片のカバレッジおよびサイズ特性を調べた(図11b、表4(添付書類D)および表7(添付書類G))。GC含量へのカバレッジの全ゲノム相関は限られており、癌患者と健康な個体間でのこれらの相関の差は観察されなかった(図13b)。健康な個体は高度に一致した断片化プロファイルを有したのに対して、癌を有する患者は高い変動性を有し、健康なプロファイル中央値に対する相関が減少していた(表7:添付書類G)。癌患者の中で、ゲノム中において最も一般的に変化を受けた断片化ウィンドウの分析によって、分析された癌の種類全体にわたって中央値60の影響を受けたウィンドウが明らかになり、癌を有する個体中にcfDNAの断片化の位置依存的変動が多数存在することが強調される(図11c)。

【0075】

癌を有する個体を検出するために、位置依存的断片化変化を使用することができるかどうかを決定するために、勾配木ブースティング機械学習モデルを実施して、癌患者または健康な個体の特徴を有するとしてcfDNAを分類し、10分割交差検証を10回繰り返すことによって、このアプローチの性能特性を推定することができるかどうかを調べた(図14および15)。機械学習モデルは、ゲノム全体を通じたウィンドウ中でのGC調整された短いおよび長い断片カバレッジ特性を含んだ。単一スコアではなく、染色体腕依存性特徴からのコピー数変化に対する機械学習分類器も開発され(図16aおよび表8(添付書類H))、健康な個体から癌を区別することに同じく役立つので、ミトコンドリアのコピー数変化も含められた(図16b)。DELFIのこの実施を用いて、健康または癌を有するとして患者を分類するために使用することができるスコアが得られた。208人の癌患者のうち152人が検出された(73%の感度、95%CI 67%~79%)が、215人の健康な個体のうち4人が誤って分類された(98%の特異性)(表9)。95%の特異性の閾値において、切除可能な(ステージI~III)患者のうち79%(183人のうち145人)および転移性(ステージIV)の患者のうち82%(22人のうち18人)を含む、癌を有する患者の80%が検出された(95%CI、74%~85%)(表9)。癌を有する患者を検出するための受信者操作者特性分析は0.94のAUCを有し(95%CI 0.92~0.96)、癌の種類の間で、膵臓癌の0.86から肺癌および卵巣癌の0.99以上までの範囲にわたっており(図17aおよび17b)、全てのステージ全体で0.92以上のAUCを有していた(図18)。DELFI分類器スコアは、癌患者または健康な個体のいずれの間でも、年齢とともに異ならなかった(表1;添付書類A)。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 9. 癌検出に対する DELFI の成績

	分析された 個体	95%特異性			98%特異性			
		検出された 個体	感度	95% CI	検出された 個体	感度	95% CI	
健康	215	10	-	-	4	-	-	
癌	208	166	80%	74%-85%	152	73%	67%-79%	
種類	乳房	54	38	70%	56%-82%	31	57%	43%-71%
	胆管	26	23	88%	70%-98%	21	81%	61%-93%
	結腸直腸	27	22	81%	62%-94%	19	70%	50%-86%
	胃	27	22	81%	62%-94%	22	81%	62%-94%
	肺	12	12	100%	74%-100%	12	100%	74%-100%
	卵巣	28	25	89%	72%-98%	25	89%	72%-98%
	膵臓	34	24	71%	53%-85%	22	65%	46%-80%
ステージ	I	41	30	73%	53%-86%	28	68%	52%-82%
	II	109	85	78%	69%-85%	78	72%	62%-80%
	III	33	30	91%	76%-98%	26	79%	61%-91%
	IV	22	18	82%	60%-95%	17	77%	55%-92%
	0, X	3	3	100%	29%-100%	3	100%	29%-100%

10

20

【0076】

モデルの予測精度への断片サイズおよびカバレッジ、染色体腕コピー数またはミトコンドリアのマッピングの寄与を査定するために、反復した10分割交差検証手順を実施して、これらの特徴の性能特性を分離して査定した。断片カバレッジ特徴単独 ($AUC = 0.94$) は全ての特徴を合わせた分類器とほぼ同一であることが観察された ($AUC = 0.94$) (図17a)。これに対して、染色体のコピー数変化の分析はより低い性能 ($AUC = 0.88$) を有していたが、個別のスコア ($AUC = 0.78$) またはミトコンドリアのマッピング ($AUC = 0.72$) に基づくコピー数変化より予測性が高かった (図17a)。これらの結果は、断片カバレッジが本発明者らの分類器にとって主要な寄与因子であることを示唆する。全ての特徴は同じゲノム配列データから得ることができるので、予測モデル中に全ての特徴を含めることは、癌を有する患者の検出のために相補的な様式で寄与し得る。

30

【0077】

断片化プロファイルは組織間で異なり得る断片化の領域差を明らかにするので、cfDNAパターンがこれらの腫瘍の原発組織を特定することができるかどうかを調べるために、類似の機械学習アプローチを使用した。このアプローチは、乳癌に対する76%、胆管癌に対する44%、結腸直腸癌に対する71%、胃癌に対する67%、肺癌に対する53%、卵巣癌に対する48%および膵臓癌に対する50%を含めて、61%の精度 ($95\% CI$ 53%~67%) を有することが見出された (図19、表10)。異常なcfDNAを有する患者が2つの原発部位のうち1つに割り当てられることを考慮すると、精度は75% ($95\% CI$ 69%~81%) に増加した (表10)。全ての腫瘍の種類に対して、DELFIによる原発組織の分類は無作為な割り当てによって決定されたものより有意に高かった ($p < 0.01$ 、二項検定、表10)。

40

【表 2】

表 10. DELFI 原発組織予

癌の種類	検出された患者		最上位予測		上位2予測		無作為割り当て	
	患者	精度 (95% CI)	患者	精度 (95% CI)	患者	精度 (95% CI)	患者	精度
乳房	42	76% (61%-88%)	32	76% (61%-88%)	38	91% (77%-97%)	9	22%
胆管	23	44% (23%-66%)	10	44% (23%-66%)	15	65% (43%-84%)	3	12%
結腸直腸	24	71% (49%-87%)	17	71% (49%-87%)	19	79% (58%-93%)	3	12%
胃	24	67% (45%-84%)	16	67% (45%-84%)	19	79% (58%-93%)	3	12%
肺	30	53% (34%-72%)	16	53% (34%-72%)	23	77% (58%-90%)	2	6%
卵巣	27	48% (29%-68%)	13	48% (29%-68%)	16	59% (38%-78%)	4	14%
膵臓	24	50% (29%-71%)	12	50% (29%-71%)	16	67% (45%-84%)	3	12%
合計	194	61% (53%-67%)	116	61% (53%-67%)	146	75% (69%-81%)	26	13%

*検出された患者は、90%特異性でのDELF I 検出に基づく。肺コホートは、従前の治療を有する追加の肺癌患者を含む。

10

20

30

40

【0078】

癌特異的な配列変動は癌を有する患者を特定するために使用することができるので、DELFIをこのアプローチと組み合わせることが癌検出の感度を増加させることができるかどうかを評価した(図20)。DELFIおよび標的化配列決定の両方を使用する処置未経験の癌患者の部分集団から得たcfDNAの分析によって、患者の82%(126のうち103)が断片化プロファイルの変動を有するのに対して、66%(126のうち83)が配列変動を有することが明らかとなった。1%を超える変異アレル頻度を有する症例の89%超がDELFIによって検出されたのに対して、1%未満の変異アレル頻度を有する症例については、DELFIによって検出された頻度は、標的化配列決定を用いて

50

検出できなかった症例を含めて80%であった(表7;添付書類G)。これらのアプローチを一緒に使用すると、組み合わせた検出感度は、98%の特異性で、91%(126の患者のうち115)に増加した(図20)。

【0079】

総合すると、全ゲノムcfDNA断片化プロファイルは、癌患者と健康な個体の間で異なる。ゲノム全体を通じた位置依存的様式での断片長およびカバレッジの変動性は、特定の座位でのcfDNAのまたは全般的な断片サイズの従前の分析の一見すると矛盾する観察を説明し得る。癌を有する患者においては、cfDNA中の不均一な断片化パターンは、血液および新生物細胞の両方からのヌクレオソームDNAの混合物の結果であるように見受けられる。これらの研究は、微量のcfDNAから数十ないし可能性としては数百の腫瘍特異的異常を同時分析するための方法を提供し、cfDNAのより感度の高い分析の可能性を失わせてきた制約を克服する。DELFI分析は、配列または全般的断片化サイズに焦点を当ててきた従来のcfDNA分析法より高い割合の癌患者を検出した(例えば、Phallenら、2017 *Sci Transl Med* 9:eaan2415; Cohenら、2018 *Science* 359:926; Newmanら、2014 *Nat Med* 20:548; Bettgowdaら、2014 *Sci Transl Med* 6:224ra24; Newmanら、2016 *Nat Biotechnol* 34:547参照)。本実施例で実証されたように、DELFIを他のcfDNA変動の分析と組み合わせることは、検出の感度をさらに増加させ得る。断片化プロファイルはヌクレオソームのDNAパターンと関連するように見受けられるので、DELFIは、腫瘍由来cfDNAの原発源を決定するために使用され得る。分析された患者の半分超での循環腫瘍DNAの源の特定は、臨床的な特徴、メチル化の変化を含む他の生物マーカーおよびさらなる診断アプローチを含めることによってさらに改善され得る(Ruibal Morell, 1992 *The International journal of biological markers* 7:160; Galliら、2013 *Clinical chemistry and laboratory medicine* 51:1369; Sikaris, 2011 *Heart, lung & circulation* 20:634; Cohenら、2018 *Science* 359:926)。最後に、このアプローチは、特異的な変動に焦点を当てるアプローチに典型的なディープシーケンシングの必要がなく、少量の全ゲノム配列決定のみを必要とする。この性能特性およびDELFIのために必要とされる限られた量の配列決定は、本発明者らのアプローチが癌を有する患者のスクリーニングおよび管理のために広く適用可能であることを示唆する。

【0080】

これらの結果は、全ゲノムcfDNA断片化プロファイルが、癌患者と健康な個体の間で異なることを実証する。したがって、cfDNA断片化プロファイルは、ヒト癌を検出するための非侵襲性アプローチのさらなる研究および応用にとって重要な意義を有し得る。

他の実施形態

【0081】

その詳細な記載とともに本発明を記載してきたが、先述の記載は例示することを意図し、本発明の範囲を限定することを意図するものではなく、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によって規定されることを理解すべきである。他の態様、利点および改変が以下の特許請求の範囲内に属する。

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

添付書類B：表2. 標的化c fDNA分析の要約

患者	患者の種類	時点	断片プロファイル分析	変異分析	癌の取り長	標的領域中のc fDNAの量は	ケノビにマッピングされた塩基	標的領域にマッピングされた塩基	標的領域にマッピングされたパーセント	能力(ハット)	買収率(ハット)
CGRC231	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	750148500	3771369756	50%	44345	10359
CGRC232	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	6736035200	306896973	45%	35448	8003
CGRC233	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	6303244000	2818734206	46%	33117	5853
CGRC234	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7788979700	3911796709	50%	12071	12071
CGRC235	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	8240607200	3478069753	42%	40787	5826
CGRC236	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	5718555500	2898940356	51%	33012	10180
CGRC237	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7550826100	371722432	49%	43545	5870
CGRC238	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	12501039400	6095393764	49%	71196	9617
CGRC239	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7812692900	4121569590	53%	48098	10338
CGRC300	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	8648090300	3862265136	46%	46354	5759
CGRC301	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7538738100	3695480346	49%	43024	6618
CGRC302	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	8573658300	4349400574	51%	51006	13799
CGRC303	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	5224046400	2505714343	48%	29365	8372
CGRC304	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	5762112600	2942170530	51%	34462	10208
CGRC305	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7213394700	3726953480	52%	43516	9989
CGRC306	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7075979700	3552441899	50%	41567	7372
CGRC307	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7572687100	3462191519	46%	40783	9680
CGRC308	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7945738000	3895906096	49%	45234	11809
CGRC309	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	8487455800	3821079811	45%	45736	10739
CGRC310	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	9003580500	4676812441	52%	54713	11139
CGRC311	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	6928162700	3276953984	50%	38324	6044
CGRC312	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7683294300	3316719187	43%	38852	4622
CGRC313	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	5874099200	2886148122	49%	33821	6506
CGRC314	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	9883148500	3382767492	49%	39414	5664
CGRC315	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7497252000	3775556051	50%	44034	8666
CGRC316	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	1068472400	5533857153	52%	54693	14289
CGRC317	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7066977600	3669494216	52%	43538	10944
CGRC318	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	6880041100	3335357413	48%	39077	11571
CGRC319	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7485342900	3982677483	53%	47327	10502
CGRC320	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7038703200	3450540135	49%	40888	10198
CGRC321	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7203625000	3533366802	50%	43085	5489
CGRC322	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7229299100	3756323705	52%	44580	3243
CGRC323	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	8767144700	4189126827	48%	49181	8336
CGRC324	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7771889700	3944576290	51%	49518	5014
CGRC325	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	7972524600	4064001201	51%	46338	6151
CGRC326	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	8597346400	4333410573	50%	51390	7551
CGRC327	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7399611700	3800669198	51%	45083	8092
CGRC328	結腸癌	術前、処置後	Y	Y	100	80930	8029437700	4179383804	52%	49380	5931
CGRC329	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7936955600	4095565110	52%	48397	3806
CGRC330	結腸癌	術前、処置後	Y	N	100	80930	7214889500	3709543088	51%	49805	3014
CGRC331	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	8853159200	3698206527	42%	43106	11957
CGRC332	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	8478011500	3425540989	40%	40328	9592
CGRC333	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	6942167800	3093237737	45%	36823	2300
CGRC334	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	8192859200	2383173431	29%	28233	7573
CGRC335	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7448272300	3925056341	53%	46679	5582
CGRC336	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	5804744500	2988809912	51%	35490	4141
CGRC337	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	6943451600	3533145275	51%	41938	5782
CGRC338	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7434918400	3848522016	52%	45678	4852
CGRC339	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7306546400	3636910409	50%	43162	5205
CGRC340	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7864650300	3336936252	42%	39667	4502
CGRC341	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7591674800	3642919375	49%	43379	4659
CGRC342	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7938270200	2379066977	30%	28256	4858
CGRC343	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	6013175500	3046754984	51%	36127	3425
CGRC344	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	6013454500	3022035300	50%	35813	4759
CGRC345	結腸癌	術前、処置後	N	Y	100	80930	7227212400	3188723300	44%	37992	5286

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

薬名	薬名の種類	時点	断片プロファイル 分析	変更分析	認められた 成分	認められた 成分の質量	認められた 成分の分子量	認められた 成分の構造式	認められた 成分のCAS番号	認められた 成分の分子量	認められた 成分の構造式	認められた 成分のCAS番号
CGPRLU14	脂質	処置前、-1日	N	Y	80930	410592738	50152	4487				
CGPRLU14	脂質	処置前、-3日	N	Y	80930	3405754720	40382	6170				
CGPRLU14	脂質	処置前、0日	N	Y	80930	7149609200	40382	6170				
CGPRLU14	脂質	処置後、0、3日	N	Y	80930	6566332200	39004	4081				
CGPRLU14	脂質	処置後、7日	N	Y	80930	7410378300	3464236558	41108				
CGPRLU44	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7530180700	3752054340	4259				
CGPRLU46	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8718827400	4216576624	2483				
CGPRLU47	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8559844200	4195033040	10771				
CGPRLU61	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7416300600	3530746046	5988				
CGPRLU82	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7769148700	41302	6170				
CGPRLU83	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7625420300	3280139772	12229				
CGPRLU84	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8019233000	3470147697	10099				
CGPRLU85	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8110030600	3946533883	46471				
CGPRLU88	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8326146600	3522746236	6947				
CGPRLU89	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7690630000	3868237773	6996				
CGPRLU74	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	9376383000	4800407624	9711				
CGPRLU75	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7481844600	3067530518	10261				
CGPRLU76	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8520324200	36321	6170				
CGPRLU77	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8143860000	402541589	7862				
CGPRLU78	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8421611300	4654088228	5588				
CGPRLU79	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	9483124700	4197108809	8760				
CGPRLU180	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7774358700	4169577489	6445				
CGPRLU197	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8192813800	3304915738	6862				
CGPRLU198	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7956779200	3937592475	6556				
CGPRLU202	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7175247300	3042397881	5989				
CGPRLU203	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	5840112800	3545719100	6817				
CGPRLU204	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7489749900	3427820889	7951				
CGPRLU205	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7445028400	3702726574	9917				
CGPRLU206	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	9255429100	4356573991	6656				
CGPRLU207	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7937914600	4365573991	9810				
CGPRLU208	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7133043000	3835210206	7124				
CGPRLU209	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	7346976400	3736590111	8409				
CGPRLU244	脂質	処置前、-7日	N	Y	80930	3362944936	45762	8940				
CGPRLU244	脂質	処置前、-1日	N	Y	80930	6305580600	4182616104	11946				
CGPRLU244	脂質	処置後、6日	N	Y	80930	8051928000	3788487116	7569				
CGPRLU245	脂質	処置後、0日	N	Y	80930	8894936700	422632272	852				
CGPRLU245	脂質	処置後、7日	N	Y	80930	7679285200	4437562639	8646				
CGPRLU245	脂質	処置後、21日	N	Y	80930	8895252000	3965822054	7361				
CGPRLU246	脂質	処置前、-21日	N	Y	80930	8652929300	4834268339	7266				
CGPRLU246	脂質	処置前、0日	N	Y	80930	8518229300	4480238927	10394				
CGPRLU246	脂質	処置後、9日	N	Y	80930	9031131000	4624736475	10398				
CGPRLU246	脂質	処置後、42日	N	Y	80930	8520360800	350960306	10398				
CGPRLU264	脂質	処置前、-1日	Y	Y	80930	5451467800	42349	8086				
CGPRLU264	脂質	処置前、-1日	Y	Y	80930	8137616800	2826361657	8256				
CGPRLU264	脂質	処置前、-1日	Y	Y	80930	419508174	50121	6465				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	8365724600	4413323336	5495				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	623477730	3016336208	7303				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6186381000	3087893231	5349				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6274540300	2881143686	3703				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	5701274000	124170938	6817				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6091276800	2922586556	14886				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6430107900	2946963499	35004				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	5969510300	2792206996	38219				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	5884330000	2588386038	8423				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	5807524900	2347751476	30977				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6064263800	2086938782	5753				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6786913900	3458888605	24984				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930	6513702000	20965370387	6765				
CGPRLU265	脂質	処置前、0日	Y	Y	80930		29142	6586				

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

業者	業者の種類	時点	画像ファイル 分析	変更分析	読み取り長	目的領域中 の位置	グラムドメイン された位置	構造的領域 された位置	構造的領域 された位置	構造的領域 された位置	縦方向ハッシュ	横方向ハッシュ
CGPFLU267	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	16510761200	2576866519	38%	31096	4485	
CGPFLU267	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	61561020000	2866081726	42%	30714	5309	
CGPFLU267	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	61801397000	2013434756	33%	23602	3685	
CGPFLU269	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	52211686000	1486802843	24%	17789	6098	
CGPFLU269	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	53539616000	1688331125	30%	20094	5252	
CGPFLU269	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	56316128000	152114896	26%	18067	5210	
CGPFLU271	映像	如畫後、2.59日	Y	N	100	89930	52297040000	1481468974	24%	17608	4633	
CGPFLU271	映像	如畫後、2.59日	Y	N	100	89930	61343684000	1351029627	22%	16170	7024	
CGPFLU271	映像	如畫後、2.59日	Y	N	100	89930	64616846000	1622578435	25%	19433	5723	
CGPFLU271	映像	如畫後、2.59日	Y	N	100	89930	2346421128	2346421128	41%	28171	5723	
CGPFLU271	映像	如畫後、2.59日	Y	N	100	89930	55138930000	1695769205	31%	20320	5967	
CGPFLU43	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	3002046491	3002046491	46%	35697	5445	
CGPFLU43	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	52645009000	3016077167	49%	38162	5704	
CGPFLU43	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	59677243000	2968508757	50%	35673	6228	
CGPFLU43	映像	如畫前、-1日	Y	N	100	89930	60262615000	2881177658	48%	34568	7221	
CGPFLU68	映像	如畫前、0日	Y	Y	100	89930	82220934000	3523036966	43%	41165	3614	
CGPFLU68	映像	如畫後、0.5日	N	Y	100	89930	83357195000	4271364008	51%	48508	6891	
CGPFLU68	映像	如畫後、7日	N	Y	100	89930	67877853000	3443688418	51%	40192	3643	
CGPFLU68	映像	如畫後、1.7日	N	Y	100	89930	62132264000	3120325926	50%	36413	3660	
CGPFLU68	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	72524339000	3621578746	50%	42719	8699	
CGPFLU68	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	76799696000	4004738253	52%	46851	6367	
CGPFLU68	映像	如畫前、0日	Y	N	100	89930	85091760000	3316103733	51%	39274	2651	
CGPFLU68	映像	如畫前、0日	N	Y	100	89930	76524060000	3781636306	49%	44097	7959	
CGPFLU68	映像	如畫後、7日	N	Y	100	89930	70556966000	3338612564	48%	38677	5034	
CGPFLU68	映像	如畫後、2.2日	N	Y	100	89930	63039996000	3094796769	37%	36051	2622	
CGPLOW10	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	70735342000	3402308123	46%	39620	4059	
CGPLOW11	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	89240622000	3324593050	48%	38796	7185	
CGPLOW12	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	65520801000	3181854993	46%	37340	6114	
CGPLOW13	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	67367550000	3264697084	48%	39340	7931	
CGPLOW14	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	78565726000	3408426665	43%	36697	7712	
CGPLOW15	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	72392016000	3322265607	46%	36953	6844	
CGPLOW15	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	85707698000	4344286233	51%	51609	1947	
CGPLOW17	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	89103104000	2805243492	41%	32628	4307	
CGPLOW18	映像	映像、如畫非記録	Y	N	100	89930	81730376000	4064432407	50%	47714	5182	
CGPLOW19	映像	映像、如畫非記録	Y	N	100	89930	77321969000	3672564398	42%	43020	11127	
CGPLOW20	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	75586020000	3678700179	49%	43230	4872	
CGPLOW21	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	89460529000	4616256409	52%	54012	12777	
CGPLOW22	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	86801366000	4049534586	47%	46912	3715	
CGPLOW23	映像	映像、如畫非記録	Y	Y	100	89930	66569696000	3423531774	51%	40810	9450	
CGPLOW24	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	86342372000	427226165	49%	50736	8669	
CGPLOW25	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	69182950000	3360206388	49%	40188	5956	
CGPLOW26	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	70410383000	3768276661	53%	44941	8850	
CGPLOW28	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	74292369000	3753051715	51%	46340	4155	
CGPLOW31	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	89813940000	4621838729	51%	59429	5488	
CGPLOW32	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	63446368000	4737686323	51%	57234	6165	
CGPLOW37	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	81580632000	4184432898	51%	50648	6334	
CGPLOW38	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	86544354000	4492497085	52%	53789	8124	
CGPLOW40	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	98686407000	4834400909	50%	59049	7721	
CGPLOW41	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	76860136000	3861446828	50%	46292	4469	
CGPLOW42	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	96395163000	4864154368	49%	56302	7632	
CGPLOW43	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	87566571000	4516479916	52%	54661	4310	
CGPLOW44	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	75763106000	4120933922	54%	49903	4969	
CGPLOW46	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	93460363000	5037820346	54%	61204	3927	
CGPLOW47	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	10866262000	5491367828	50%	66363	6895	
CGPLOW48	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	76587876000	3366911337	44%	40332	4056	
CGPLOW48	映像	映像、如畫非記録	N	Y	100	89930	19076708000	5519666698	55%	67117	5067	

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

患者	患者の種類	時点	断片プロファイル 分析	変異分析	読み取り長さ	標的領域中の 塩基配列	クノヒゲマツコ マヒト塩基	標的領域マツコ 塩基配列	標的領域マツコ 塩基配列	標的領域マツコ 塩基配列	断片マツコ 塩基配列	断片マツコ 塩基配列
CGRLOV50	卵巣癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	8232920400	447280276	54%	54150	3838	
CGRPA118	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	9094827000	4828332902	53%	57021	4802	
CGRPA122	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	730323100	396160379	55%	47240	7875	
CGRPA124	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7573482600	3965807442	52%	46388	8659	
CGRPA126	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7904953600	4061463168	51%	47812	10468	
CGRPA128	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	724236300	2244188735	31%	26436	3413	
CGRPA129	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7559858800	4003725804	53%	47182	5733	
CGRPA130	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6973946500	1247144905	18%	14631	1723	
CGRPA131	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7235237900	3370564342	47%	36651	5054	
CGRPA134	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7298868100	3754545844	52%	44305	7023	
CGRPA136	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7476680700	4073978408	54%	48134	5244	
CGRPA140	胆管癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7364654600	3771765342	51%	44479	7080	
CGST102	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	5718504600	2644802854	46%	31309	4933	
CGST110	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	9178281500	4288268268	47%	51666	3673	
CGST114	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7151572300	3254567293	46%	38446	4839	
CGST13	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6448701500	3198545984	50%	36515	6731	
CGST141	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6761081300	3440327391	51%	40762	5464	
CGST16	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6398470500	2931360289	46%	36364	8140	
CGST18	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6947320000	3138567777	47%	37401	4922	
CGST28	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6288485100	2864897903	46%	34538	2886	
CGST30	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6141213100	3109594664	51%	37194	2955	
CGST32	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6663130300	3098120469	44%	36726	3635	
CGST33	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6566039400	3168371917	48%	37916	4697	
CGST36	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	7045791400	2982801875	42%	38620	6737	
CGST47	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6978053100	3224065952	46%	38300	4019	
CGST46	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6130812200	2944524276	48%	36264	4745	
CGST47	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	5961400000	3063523351	52%	37038	3112	
CGST48	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6418652700	1497330327	23%	17782	2410	
CGST58	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	5816344500	1274708429	22%	16261	2824	
CGST60	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	6368064600	3286497186	52%	39692	5280	
CGST81	胃癌	術前、処置中	N	Y	100	80930	8636631400	1513121462	18%	17988	6419	

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

患者	患者の種類	説明時の ステージ	発動の種類	遺伝子	アミノ酸 (タンパク質)	ヌクレオチド	変異の種類	ホトスボット の変動	組織中に 発動した 変異	変異アレル 頻度	観察 カレックス	腫小cDNA 画サイズ(bp)	25パーセント cDNA画サイズ (bp)	cDNA画片 サイズ中位値 (bp)	cDNA画片 サイズ範囲 (bp)
CGCR0316	結腸癌腫瘍	II	腫瘍由来	TP53	245G>S	chr7_757548_757548_C.T	腫瘍	NA	NA	5.2%	12800	103	150	186	183
CGCR0317	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	CDKN2A	IM>R	chr9_21974825_21974825_C.T	腫瘍	NA	NA	5.74%	7473	86	157	186	188
CGCR0318	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	CTNNA1	37S>C	chr3_41268113_41268113_C.G	腫瘍	NA	NA	5.47%	13682	100	146	185	182
CGCR0319	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	EGFR	2702>T	chr7_59288407_59288407_C.G	腫瘍	NA	NA	0.1%	16716	86	153	186	188
CGCR0320	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ATM	30A>R>P	chr11_108236087_108236087_C.G	腫瘍	NA	NA	0.13%	17060	100	150	186	183
CGCR0321	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	220Y>C	chr7_7576190_7576190_C.C	腫瘍	NA	NA	0.36%	4587	84	152	186	184
CGCR0322	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ATM	1028W>R	chr11_108142132_108142132_C.C	腫瘍	NA	NA	0.23%	10493	100	152	186	185
CGCR0323	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	216P>X	chr5_112128143_112128143_C.T	腫瘍	NA	NA	0.29%	3497	101	149	186	183
CGCR0324	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	698W>X	chr2_25463989_25463989_C.T	腫瘍	NA	NA	0.25%	16436	98	158	170	170
CGCR0325	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	KIT	18L>F	chr4_55504233_55504233_C.T	腫瘍	NA	NA	34.75%	8521	100	133	170	175
CGCR0326	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ERBB4	76R>W	chr2_212988475_212988475_G.A	腫瘍	NA	NA	0.1%	11633	100	182	174	174
CGCR0327	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ODM2A	12S>L	chr2_1974732_1974732_G.A	腫瘍	NA	NA	0.20%	6916	88	181	174	174
CGCR0328	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	862R>H	chr2_2547242_2547242_C.A	腫瘍	NA	NA	0.08%	5569	94	159	172	172
CGCR0329	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	EGFR	511S>Y	chr7_5522625_5522625_C.A	腫瘍	NA	NA	41.88%	6545	100	159	172	172
CGCR0330	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	120Y>R	chr7_7579313_7579313_C.C	腫瘍	NA	NA	19.98%	1005	104	170	183	176
CGCR0331	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	67A>D>G	chr7_7579313_7579313_C.C	腫瘍	NA	NA	43.3%	105	89	159	185	185
CGCR0332	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	BRCA1	600V>E	chr7_44483136_44483136_A.T	腫瘍	NA	NA	21.28%	3348	102	153	189	189
CGCR0333	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ERBB4	891E>A	chr2_212495194_212495194_T.G	腫瘍	NA	NA	1.00%	3018	102	153	189	189
CGCR0334	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	245G>S	chr7_757548_757548_C.T	腫瘍	NA	NA	13.44%	1725	105	160	170	175
CGCR0335	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	EGFR	838T>A	chr7_5522680_5522680_C.T	腫瘍	NA	NA	36.28%	1168	107	159	174	174
CGCR0336	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	104P>R	chr3_178616524_178616524_C.G	腫瘍	NA	NA	0.85%	1758	103	155	186	173
CGCR0337	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	BRCA1	600V>E	chr7_44483136_44483136_A.T	腫瘍	NA	NA	0.32%	2411	99	158	186	167
CGCR0338	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	120Y>H	chr7_7578406_7578406_C.T	腫瘍	NA	NA	73.35%	757	104	150	170	170
CGCR0339	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	KRAS	12G>V	chr12_25380284_25380284_C.A	腫瘍	NA	NA	42.87%	1080	102	150	186	167
CGCR0340	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	120R>E>X	chr5_112175147_112175147_T.A	腫瘍	NA	NA	81.61%	301	102	161	186	165
CGCR0341	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	STK11	48R>H	chr9_12207718_12207718_T.A	腫瘍	NA	NA	0.1%	8497	72	153	189	177
CGCR0342	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	48R>H	chr5_112162851_112162851_G.A	腫瘍	NA	NA	0.1%	1688	108	147	183	183
CGCR0343	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	KRAS	13C>D	chr12_25380284_25380284_C.A	腫瘍	NA	NA	26.28%	1408	105	153	186	164
CGCR0344	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	876R>X	chr5_112173817_112173817_C.T	腫瘍	NA	NA	1.94%	1256	105	159	186	189
CGCR0345	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	40T>F	chr3_178627457_178627457_C.T	腫瘍	NA	NA	2.35%	101	101	154	186	172
CGCR0346	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	158P>X	chr3_178627457_178627457_C.T	腫瘍	NA	NA	3.44%	1143	100	154	170	167
CGCR0347	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	158P>X	chr3_178627457_178627457_C.T	腫瘍	NA	NA	1.71%	1584	108	151	171	173
CGCR0348	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	241S>P	chr7_757548_757548_C.T	腫瘍	NA	NA	18.28%	876	101	152	175	175
CGCR0349	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	241S>P	chr7_757548_757548_C.T	腫瘍	NA	NA	20.57%	796	105	152	184	174
CGCR0350	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	AR	392P>R	chrX_88788163_88788163_C.G	腫瘍	NA	NA	0.53%	8584	95	158	186	166
CGCR0351	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	862P>H	chr2_2547242_2547242_C.C	腫瘍	NA	NA	1.67%	10715	78	152	188	173
CGCR0352	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	705S>T	chr2_25463989_25463989_G.A	腫瘍	NA	NA	0.41%	10837	100	155	173	173
CGCR0353	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PDGFRA	85V>M	chr4_55183698_55183698_G.A	腫瘍	NA	NA	0.13%	12840	100	159	188	171
CGCR0354	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	EGFR	859P>Q	chr2_29436901_29436901_C.T	腫瘍	NA	NA	34.81%	5031	101	154	170	170
CGCR0355	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	749P>S	chr2_25482856_25482856_G.A	腫瘍	NA	NA	0.18%	12467	101	157	180	180
CGCR0356	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	GNAS	201R>H	chr2_57484421_57484421_G.A	腫瘍	NA	NA	0.68%	6011	101	153	186	187
CGCR0357	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	EGFR	859P>Q	chr2_29436901_29436901_C.T	腫瘍	NA	NA	0.42%	3073	101	153	186	186
CGCR0358	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	403W>E	chr3_178627457_178627457_G.A	腫瘍	NA	NA	34.82%	3405	87	185	170	176
CGCR0359	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	DNMT3A	862P>H	chr2_2547242_2547242_C.T	腫瘍	NA	NA	0.11%	10259	97	157	188	168
CGCR0360	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	545E>K	chr3_178628501_178628501_G.A	腫瘍	NA	NA	0.88%	5163	100	151	167	166
CGCR0361	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ERBB4	100D>A	chr2_21228502_21228502_T.G	腫瘍	NA	NA	0.28%	6250	100	155	188	167
CGCR0362	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	CTNNA1	774E>V	chr2_25443172_25443172_T.A	腫瘍	NA	NA	0.29%	7558	100	155	188	167
CGCR0363	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	IDH1	231Y>N	chr3_41268092_41268092_A.C	腫瘍	NA	NA	41.74%	3518	101	154	189	196
CGCR0364	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	1577E>D	chr11_108218548_108218548_A.T	腫瘍	NA	NA	41.85%	8916	100	157	186	186
CGCR0365	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	532D>G	chr7_757120_757120_C.T	腫瘍	NA	NA	40.28%	3580	107	150	185	189
CGCR0366	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	APC	532D>G	chr7_757120_757120_C.T	腫瘍	NA	NA	0.10%	7930	85	156	186	168
CGCR0367	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	TP53	708S>F	chr5_11217686_11217686_A.G	腫瘍	NA	NA	44.03%	2389	100	157	170	170
CGCR0368	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ERBB4	158A>E	chr2_29474053_29474053_G.A	腫瘍	NA	NA	0.27%	11348	95	151	174	174
CGCR0369	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	AR	21-1G>T	chr2_126282833_126282833_G.T	腫瘍	NA	NA	36.52%	3422	107	153	189	189
CGCR0370	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	1047H>R	chr3_17862856_17862856_G.T	腫瘍	NA	NA	38.23%	3184	101	153	175	174
CGCR0371	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	KDR	1290S>N	chr4_55946310_55946310_C.T	腫瘍	NA	NA	0.14%	7200	103	182	173	172
CGCR0372	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PKC3A	1047H>R	chr3_17862856_17862856_G.T	腫瘍	NA	NA	36.57%	4342	104	186	172	172
CGCR0373	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	PTEN	170S>I	chr10_87711891_87711891_A.G	腫瘍	NA	NA	0.12%	11785	100	185	166	177
CGCR0374	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	CDKN2A	12S>L	chr9_21974732_21974732_G.A	腫瘍	NA	NA	2.29%	6161	100	159	188	169
CGCR0375	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	AR	728R>D	chrX_6903328_6903328_A.G	腫瘍	NA	NA	0.54%	3843	96	165	185	185
CGCR0376	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ATM	322P>K	chr2_21084433_21084433_G.A	腫瘍	NA	NA	0.26%	3479	108	162	174	174
CGCR0377	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	ERBB4	539Y>S	chr18_1223125_1223125_C.G	腫瘍	NA	NA	44.1%	1748	100	163	173	173
CGCR0378	結腸癌腫瘍	III	腫瘍由来	STK11	354F>L	chr9_1223125_1223125_C.G	腫瘍	NA	NA	40.32%	4241	88	160	188	175

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

患者	病名の種類	診断時の ステージ	変動の種類	遺伝子	アミノ酸 (タンパク質)	ヌクレオチド 配列	変異の種類	変異の 種類	ホスト細胞 の発動	組織中に 検出された 発動	変異アレル 比率	カルシウム 濃度	増殖CDNA 前増殖(9p)	251- CDNA前増 殖(9p)	CDNA前増 殖(9p)	CDNA前増 殖(9p)	CDNA前増 殖(9p)	
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	SMARCB1	265-30A-G	chr22:15181028-1451928_A.G	点変異	点変異	MA	あり	43.30%	3058	68	181	187	174	174	
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	JAK2	219D>C	chr9:585491-595491_C.T	点変異	点変異	MA	なし	0.35%	3890	101	182	198	188	184	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	862P>H	chr2:25457242-2545742_C.T	点変異	点変異	MA	なし	0.31%	8180	86	160	165	184	184	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	SMAD4	469P>C	chr16:6834624-4893464_C.T	点変異	点変異	MA	なし	0.40%	7746	108	160	160	187	172	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	AR	615S>N	chrX:58931310-8034130_G.A	点変異	点変異	MA	あり	42.94%	2285	89	165	165	200	223	223
CGPLR88	乳癌	II	生体由来	CDK6	51E>K	chr9:92492487-92492487_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.13%	17537	89	165	165	200	223	223
CGPLR88	乳癌	II	生体由来	APC	1125P>A	chr5:11274685-11274685_C.T	点変異	点変異	MA	あり	31.15%	5916	101	152	150	172	172	173
CGPLR86	乳癌	II	生体由来	TP53	237L>P	chr17:7575311-7575311_A.G	点変異	点変異	MA	あり	0.20%	15530	77	150	150	184	184	171
CGPLR86	乳癌	II	生体由来	TP53	219C>X	chr17:7575312-7575312_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.10%	9933	100	162	162	187	173	173
CGPLR86	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	531D>G	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.60%	8036	85	162	162	187	173	173
CGPLR86	乳癌	II	生体由来	AR	139D>Q	chrX:58785028-68785028_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.11%	8025	96	162	162	187	173	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	862P>H	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.11%	8025	96	162	162	187	173	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	POGFR	401A>D	chrX:56136860-55136860_C.A	点変異	点変異	MA	あり	94.12%	5322	100	161	165	165	171	171
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	GNAS	201R>H	chr2:57484421-57484421_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.13%	7010	97	158	160	160	170	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	241S>F	chr17:7577659-7577659_G.A	点変異	点変異	MA	あり	1.95%	11371	100	156	165	165	185	185
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	241S>F	chr17:7577659-7577659_G.A	点変異	点変異	MA	あり	1.95%	11371	100	156	165	165	185	185
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	KRAS	123C>G	chr12:25392925-25392925_C.A	点変異	点変異	MA	あり	5.10%	7541	100	155	155	187	187	186
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	EGFR	373P>S	chr7:52243336-52243336_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.16%	9586	100	155	155	188	188	189
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ATM	292P>L	chr11:138115721-108115721_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.22%	4858	101	154	154	166	166	169
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	PRK3CA	545E>K	chr3:176532651-176532651_G.A	点変異	点変異	MA	あり	2.94%	8540	100	155	155	170	170	174
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ERBB4	426P>K	chr2:21568841-21568841_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.16%	7648	101	155	155	164	164	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	JAZ2	617V>F	chr9:5073770-5073770_G.T	点変異	点変異	MA	あり	0.25%	5520	100	155	155	164	164	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	262P>P	chr7:7577093-7577093_C.G	点変異	点変異	MA	あり	1.30%	5520	100	155	155	166	166	166
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	737L>H	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.84%	7284	101	159	159	185	185	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	RS1	861-2T>C	chr13:46937095-46937095_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.87%	4183	103	157	157	166	166	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ATM	581L>F	chr11:108122558-108122558_A.T	点変異	点変異	MA	あり	0.20%	6778	100	157	157	168	168	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	248P>Q	chr17:7577659-7577659_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.15%	4867	100	155	155	169	170	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	241L>X	chr17:7576267-7576267_A.T	点変異	点変異	MA	あり	0.85%	5282	100	156	156	167	167	171
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ALK	1537G>E	chr2:29416343-29416343_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.94%	7122	100	158	158	174	172	172
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	POGFR	207T>S	chrX:56136860-55136860_C.A	点変異	点変異	MA	あり	43.47%	2625	101	160	160	165	165	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	CDKN2A	123S>L	chr9:21974792-21974792_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.22%	9540	95	181	181	184	174	174
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	BRAF	354R>Q	chr7:5628616-5628616_T.G	点変異	点変異	MA	あり	0.14%	13865	87	180	180	174	173	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	CDKN2A	123S>L	chr9:21974792-21974792_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.21%	1251	100	153	153	165	165	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	528Y>D	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.15%	10805	85	159	159	165	165	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	STK11	218S>Y	chr18:1220823-1220823_C.A	点変異	点変異	MA	あり	1.23%	20185	83	156	156	166	166	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	STK11	354F>L	chr18:1220823-1220823_C.A	点変異	点変異	MA	あり	4.52%	8755	91	159	159	161	165	165
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	GNM1	111-2T>C	chr18:3118919-3118919_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.20%	4591	92	157	157	184	184	169
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	278P>S	chr17:7577105-7577105_G.C	点変異	点変異	MA	あり	0.10%	8057	100	158	158	170	170	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	161A>S	chr17:7578449-7578449_C.A	点変異	点変異	MA	あり	1.79%	10066	100	157	157	168	168	169
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ERBB4	1236P>L	chr2:212246311-212246311_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.89%	5412	103	159	159	175	175	171
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ERBB4	2536W>S	chr2:212246311-212246311_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.22%	5151	101	160	160	166	166	169
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	STK11	354F>L	chr19:1223125-1223125_C.G	点変異	点変異	MA	あり	36.52%	7448	95	155	155	167	167	167
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	GNAS	201R>H	chr2:57484421-57484421_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.06%	15985	97	152	152	165	165	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	150Q>X	chr17:7578524-7578524_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.07%	11070	100	156	156	165	165	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	862L>R	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.33%	8861	88	162	162	165	165	174
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	EGFR	597-I>G-Y	chr9:5854916-5854916_G.T	点変異	点変異	MA	あり	0.40%	3896	101	162	162	187	172	172
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	JAZ2	182D>Y	chr12:25392925-25392925_G.T	点変異	点変異	MA	あり	0.16%	4941	101	162	162	187	172	172
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	KRAS	183C>G	chr2:25457216-25457216_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.29%	7597	101	163	163	188	188	173
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	862L>R	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	8.03%	10214	100	160	160	186	186	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	179H>R	chr17:7578524-7578524_C.C	点変異	点変異	MA	あり	0.21%	5739	100	160	160	188	188	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	2598-I>G-A	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.15%	5909	100	160	160	188	188	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ATM	337P>L	chr11:10811739-10811739_C.T	点変異	点変異	MA	あり	43.84%	2710	101	167	167	165	165	168
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	ERBB4	9410P>X	chr2:212246311-212246311_G.A	点変異	点変異	MA	あり	3.64%	8595	100	158	158	168	168	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	730P>S	chr2:25457216-25457216_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.92%	6513	101	164	164	168	168	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	730P>S	chr2:25457216-25457216_G.A	点変異	点変異	MA	あり	0.21%	5962	100	162	162	174	174	175
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	TP53	12CV	chr12:2536284-2536284_C.A	点変異	点変異	MA	あり	2.49%	7044	88	160	160	165	165	170
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	KRAS	12CV	chr12:2536284-2536284_C.A	点変異	点変異	MA	あり	1.53%	6950	88	160	160	169	169	171
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	862P>H	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.29%	11233	100	160	160	168	168	171
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	DNMT3A	217S>I-G-A	chr2:25457242-25457242_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.13%	10986	75	180	180	172	172	172
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	CDH1	217S>I-G-A	chr16:8844164-8844164_C.T	点変異	点変異	MA	あり	0.29%	8378	100	162	162	176	176	172
CGPLR87	乳癌	II	生体由来	PRK3CA	879N>D	chr3:17847145-17847145_C.T	点変異	点										

【表 5 - 4】

患者	発症の種類	発症時のステージ	変動の種類	遺伝子	アミノ酸 (タンパク質)	マクロアミノ酸	変異の種類	ホットスポット の変動	組織中に 検出された 変異	変異アレル 頻度	検出される カドレル	異なる CDNA 配列サイズ(bp)	251- CDNA 配列サイズ (bp)	異なる CDNA 配列 サイズ (bp)	異なる CDNA 配列 サイズ (bp)
CGFL1180	肺癌	I	腫瘍由来	STK11	207D>Y	chr19:1220681-1220681 G, T	腫瘍	なし	あり	2.43%	8505	91	158	185	170
CGFL1180	肺癌	I	腫瘍由来	TP53	209G>V	chr17:757050-757050 C, A	腫瘍	なし	あり	2.07%	8880	92	158	184	184
CGFL1180	肺癌	I	腫瘍由来	TP53	282P>P	chr17:757063-757063 C, G	腫瘍	なし	あり	1.94%	7790	92	156	187	188
CGFL1180	肺癌	I	腫瘍由来	TP53	177P>L	chr17:757040-757040 G, A	腫瘍	あり	なし	0.08%	8238	101	161	169	171
CGFL1180	肺癌	I	腫瘍由来	RB1	565S>K	chr13:4865578-4865578 G, G	腫瘍	あり	あり	1.01%	4679	102	162	169	168
CGFL1187	肺癌	I	造血	DMNT3A	862P>C	chr2:2445743-2445743 G, G	腫瘍	あり	なし	0.16%	7195	102	162	186	172
CGFL1187	肺癌	I	造血	DMNT3A	879N>D	chr2:2445725-2445725 T, C	腫瘍	なし	あり	0.36%	7147	102	161	185	172
CGFL1187	肺癌	I	腫瘍由来	TP53	1029N	chr17:7578465-7578465 A, T	腫瘍	なし	あり	0.87%	5322	97	157	185	198
CGFL1188	肺癌	I	腫瘍由来	EGFR	858L>R	chr7:5529915-5529915 T, G	腫瘍	なし	あり	0.52%	8303	102	160	173	172
CGFL1188	肺癌	I	腫瘍由来	EGFR	790T>M	chr7:5529914-5529914 C, T	腫瘍	あり	あり	0.05%	14307	90	151	185	185
CGFL1222	肺癌	I	腫瘍由来	EGFR	868E>X	chr7:5529944-5529944 G, A	腫瘍	あり	あり	0.13%	3275	51	150	168	187
CGFL1224	肺癌	I	腫瘍由来	EGFR	956P>Q	chr7:5529944-5529944 G, A	腫瘍	なし	なし	0.13%	7185	102	157	185	188
CGFL1225	肺癌	I	腫瘍由来	DMNT3A	736P>C	chr2:2446328-2446328 G, A	腫瘍	なし	あり	0.26%	10739	96	150	165	185
CGFL1225	肺癌	I	腫瘍由来	DMNT3A	656Q>X	chr2:2446328-2446328 G, A	腫瘍	なし	あり	3.47%	12065	100	154	165	185
CGFL1238	肺癌	III	造血	TP53	872>I(G>A)	chr17:7578178-7578178 T, C	腫瘍	なし	あり	26.13%	6746	94	146	165	184
CGFL1238	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	131N>S	chr17:7578538-7578538 T, C	腫瘍	なし	あり	0.21%	11225	100	147	167	184
CGFL1237	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	378>G(A>A)	chr17:7578555-7578555 A, C	腫瘍	なし	あり	0.32%	11224	100	158	185	170
CGFL1237	肺癌	III	腫瘍由来	ALK	418P>L	chr2:24808825-24808825 A, G	腫瘍	NA	あり	34.58%	4900	101	160	188	170
CGFL1237	肺癌	III	腫瘍由来	ALK	730T>M	chr17:7577532-7577532 G, T	腫瘍	あり	なし	0.05%	13218	86	161	185	172
CGFL1238	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	250P>L	chr7:5529915-5529915 T, G	腫瘍	なし	あり	1.33%	9211	86	156	186	168
CGFL1238	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	224P>H	chr7:5529915-5529915 T, G	腫瘍	NA	あり	36.34%	5253	100	159	164	170
CGFL1238	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	858L>R	chr7:5529915-5529915 T, G	腫瘍	あり	あり	0.86%	10233	100	160	170	171
CGFL1238	肺癌	III	腫瘍由来	MYC	980>W	chr8:12975075-12975075 T, C	腫瘍	なし	なし	0.17%	11421	102	158	185	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	STK11	354F>L	chr19:1223125-1223125 C, G	腫瘍	NA	あり	28.84%	11695	96	153	169	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	100Q>X	chr17:7579389-7579389 G, A	腫瘍	なし	あり	9.97%	12771	94	155	183	188
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	ODNZA	88E>X	chr9:21971698-21971698 C, A	腫瘍	なし	あり	9.13%	18557	92	157	169	170
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	PDGFRA	921A>T	chr4:5518052-5518052 G, A	腫瘍	なし	あり	9.82%	13057	97	158	167	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	567N>V	chr7:55231463-55231463 A, G	腫瘍	NA	あり	30.41%	8521	100	155	165	189
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	342R>X	chr17:7574003-7574003 G, G	腫瘍	あり	あり	3.14%	4421	101	151	165	172
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	248R>Q	chr17:7577538-7577538 C, T	腫瘍	なし	あり	0.87%	7987	100	157	164	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	53A>V	chr17:7579469-7579469 G, A	腫瘍	なし	あり	37.77%	2792	88	150	166	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	ALK	444N>C	chr2:24801296-24801296 C, A	腫瘍	なし	あり	0.12%	12072	88	157	165	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	POGFRPA	401A>D	chr4:5519880-5519880 C, A	腫瘍	なし	あり	37.98%	4107	103	159	166	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	ALK	139S>H	chr4:55964518-55964518 G, A	腫瘍	なし	あり	0.35%	8427	100	151	185	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	HNF1A	280E>K	chr12:12143484-12143484 G, A	腫瘍	なし	あり	0.14%	11418	92	154	187	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	278P>S	chr7:5523445-5523445 C, G	腫瘍	なし	あり	3.54%	7689	102	157	164	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	433H>D	chr7:5523445-5523445 C, G	腫瘍	あり	あり	0.19%	7617	101	155	167	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	PDGFRA	1071D>N	chr4:5518390-5518390 C, T	腫瘍	なし	あり	0.32%	4463	96	158	169	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	APC	1125D>A	chr5:11217405-11217405 T, C	腫瘍	なし	あり	44.11%	2944	101	157	170	170
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	FGFR3	403K>E	chr4:1818188-1818188 A, G	腫瘍	なし	あり	23.85%	2945	96	158	167	172
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	FGFR3	279P>H	chr7:7577120-7577120 C, T	腫瘍	なし	あり	38.85%	9727	96	158	167	172
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	AR	1378D>X	chr4:6979316-6979316 C, A	腫瘍	なし	あり	65.25%	4387	100	158	165	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	APC	1378D>X	chr5:112175423-112175423 C, T	腫瘍	なし	あり	48.35%	2775	99	156	170	171
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	195P>T	chr7:7578265-7578265 A, G	腫瘍	なし	あり	0.21%	5464	94	159	166	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	EGFR	253K>R	chr7:55231714-55231714 A, G	腫瘍	なし	あり	44.05%	3744	102	153	168	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	STK11	354F>L	chr19:1223125-1223125 C, G	腫瘍	なし	あり	7.65%	21823	81	153	168	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	275Q>Y	chr17:757114-757114 C, T	腫瘍	なし	あり	2.04%	18806	101	159	165	169
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	ERBB4	802S>T	chr2:21653114-21653114 C, G	腫瘍	なし	あり	14.38%	10811	89	161	186	189
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	TP53	193H>P	chr7:7578271-7578271 T, G	腫瘍	なし	あり	0.49%	11952	101	155	185	187
CGFL1239	肺癌	III	腫瘍由来	CTNNB1	411T>A	chr3:4128124-4128124 A, G	腫瘍	Y66	あり	0.34%	12389	92	156	165	164

10

20

30

40

50

【表 5 - 7】

平均cDNA 断片サイズ (bp)		75% cDNA 断片サイズ (bp)		25% cDNA 断片サイズ (bp)		cDNA断片 サイズ (bp)		平均cDNA 断片サイズ (bp)		平均cDNA断片サイズ との差(bp)		平均cDNA断片サイズと 野生型cDNA断片サイズとの 差の絶対値(bp)	
186	202	155	79	189	181	173	184	237	338	191	397	-2.45	0.251
202	203	156	142	178	178	184	184	184	338	191	377	395.30	0.114
205	203	161	142	189	189	184	184	189	380	189	390	-16.38	0.435
195	156	156	170	156	170	173	173	186	190	186	400	-8.17	0.293
152	2089	101	2089	101	2089	101	2089	101	2089	101	2089	6.80	0.000
238	200	194	125	194	125	194	125	194	207	194	207	5.51	0.574
197	184	184	108	183	108	183	108	183	195	183	195	2.87	0.065
198	191	191	103	191	103	191	103	191	188	191	188	-5.84	0.190
189	190	190	102	189	102	189	102	189	187	189	187	-4.34	0.827
184	184	184	102	184	102	184	102	184	184	184	184	-11.54	0.159
179	185	185	103	179	103	179	103	179	185	185	185	-9.68	0.571
167	185	185	103	167	103	167	103	167	174	167	174	-22.90	0.880
179	179	179	102	179	102	179	102	179	178	179	177	-1.35	0.685
172	179	183	102	172	102	172	102	172	175	172	175	-4.34	0.880
173	183	183	101	173	101	173	101	173	185	183	185	6.62	0.388
162	187	187	101	162	101	162	101	162	170	162	170	-19.62	0.077
172	177	177	101	172	101	172	101	172	184	172	184	-13.7	0.646
171	177	177	101	171	101	171	101	171	182	171	182	-7.62	0.252
180	183	183	101	180	101	180	101	180	195	183	195	14.58	0.064
184	184	184	101	184	101	184	101	184	183	184	183	-7.87	0.154
186	187	187	101	186	101	186	101	186	188	186	188	14.61	0.270
185	187	187	101	185	101	185	101	185	185	185	185	1.96	0.039
183	188	188	101	183	101	183	101	183	186	183	186	11.90	0.610
182	184	184	101	182	101	182	101	182	184	182	184	6.05	0.610
191	184	184	101	191	101	191	101	191	188	191	188	-12.0	0.624
192	185	185	101	192	101	192	101	192	189	192	189	-14.44	0.824
181	185	185	101	181	101	181	101	181	185	181	185	4.47	0.085
182	182	182	101	182	101	182	101	182	182	182	182	9.79	0.067
183	188	188	101	183	101	183	101	183	187	183	187	4.55	0.081
175	178	178	101	175	101	175	101	175	182	175	182	17.65	0.005
184	202	184	101	184	101	184	101	184	181	184	181	-3.34	0.189
184	184	184	101	184	101	184	101	184	184	184	184	4.60	0.270
160	185	185	101	160	101	160	101	160	184	160	184	24.0	0.718
183	185	185	101	183	101	183	101	183	183	183	183	2.54	0.13
186	186	186	101	186	101	186	101	186	188	186	188	4.07	0.302
180	180	180	101	180	101	180	101	180	185	180	185	-6.65	0.807
182	182	182	101	182	101	182	101	182	182	182	182	0.36	0.926
180	182	182	101	180	101	180	101	180	185	180	185	5.15	0.284
177	182	182	101	177	101	177	101	177	172	177	172	-9.88	0.190
185	185	185	101	185	101	185	101	185	184	185	184	-1.73	0.154
181	181	181	101	181	101	181	101	181	181	181	181	14.55	0.213
177	180	180	101	177	101	177	101	177	182	177	182	12.47	0.179
179	181	181	101	179	101	179	101	179	186	179	186	7.0	0.427
200	189	189	101	200	101	200	101	200	183	200	183	-17.17	0.252
164	185	185	101	164	101	164	101	164	196	164	196	30.9	0.479
182	184	184	101	182	101	182	101	182	188	182	188	6.0	0.252
188	187	187	101	188	101	188	101	188	188	188	188	-4.82	0.119
188	188	188	101	188	101	188	101	188	182	188	182	-20.55	0.415
185	185	185	101	185	101	185	101	185	182	185	182	-14.02	0.263
179	180	180	101	179	101	179	101	179	184	179	184	-27.67	0.000
181	181	181	101	181	101	181	101	181	183	181	183	-5.22	0.054
178	179	179	101	178	101	178	101	178	185	178	185	7.0	0.568
174	180	180	101	174	101	174	101	174	184	174	184	10.0	0.874
197	184	184	101	197	101	197	101	197	184	197	184	-13.24	0.224
195	184	184	101	195	101	195	101	195	184	195	184	-11.16	0.425
182	182	182	101	182	101	182	101	182	185	182	185	-3.69	0.425
183	183	183	101	183	101	183	101	183	186	183	186	3.0	0.154
185	184	184	101	185	101	185	101	185	184	185	184	-1.58	0.000
189	189	189	101	189	101	189	101	189	185	189	185	-4.0	0.600
188	187	187	101	188	101	188	101	188	188	188	188	3.80	0.241
184	188	188	101	184	101	184	101	184	184	184	184	-5.66	0.234
179	184	184	101	179	101	179	101	179	170	179	170	-9.0	0.598
185	185	185	101	185	101	185	101	185	184	185	184	-1.10	0.416
189	185	185	101	189	101	189	101	189	188	189	188	-1.10	0.270
187	187	187	101	187	101	187	101	187	185	187	185	-2.0	0.564

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

添付書類D：表4. 全ゲノムc f DNA分析の要約

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバーレッジ
CGCRC291	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	7232125000	4695396600	1.86
CGCRC292	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6794082800	4471065400	1.77
CGCRC293	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6373899500	5686178000	2.26
CGCRC294	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	8081312000	5347945800	2.12
CGCRC296	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10072029200	6770998200	2.69
CGCRC299	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10971591600	7632723200	3.03
CGCRC303	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	9894332600	6699951000	2.66
CGCRC301	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	7857346200	5021002000	1.99
CGCRC302	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	11671913000	8335275800	3.31
CGCRC304	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	19011738200	12957614200	5.14
CGCRC305	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	7177341400	4809957200	1.91
CGCRC306	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	8302233200	5608043600	2.23
CGCRC307	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	8034729400	5342620000	2.12
CGCRC308	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	8670084800	5934037200	2.35
CGCRC311	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6947634400	4704601900	1.87
CGCRC315	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	5205544000	3419565400	1.36
CGCRC316	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6405388600	4447534600	1.76
CGCRC317	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6060390400	4104618600	1.63
CGCRC318	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	6848768600	4439404800	1.76
CGCRC319	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10545294400	7355181600	2.92
CGCRC320	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	5961999200	3945054000	1.57
CGCRC321	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	8248095400	5614365000	2.23
CGCRC333	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10540267600	6915490600	2.74
CGCRC335	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10675581800	7087691800	2.81
CGCRC338	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	13788172600	8970308600	3.56
CGCRC341	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	10753467600	7311539200	2.90
CGCRC342	術前処置未経験	WGS	結腸直腸癌	100	11836968000	7552793200	3.00
CGH14	成人の浄化されたリンノド球	WGS	健康	100	36526427600	24950300200	9.90
CGH15	成人の浄化されたリンノド球	WGS	健康	100	29830855000	23764048400	9.43
CGLU316	処置前、- 5 3日	WGS	肺癌	100	10354123200	6896471400	2.74
CGLU316	処置前、- 4 日	WGS	肺癌	100	7870039200	5254938800	2.09
CGLU316	処置後、1 8日	WGS	肺癌	100	8155322000	5416262400	2.15
CGLU316	処置後、8 7日	WGS	肺癌	100	9442310400	6087893400	2.42
CGLU344	処置前、- 2 1日	WGS	肺癌	100	8728318600	5799097200	2.29
CGLU344	処置前、0日	WGS	肺癌	100	11710249400	7826902600	3.11
CGLU344	処置後、0.1875日	WGS	肺癌	100	11569683000	7654701600	3.04
CGLU344	処置後、5 9日	WGS	肺癌	100	11042459200	8320138800	2.51
CGLU369	処置前、- 2 日	WGS	肺癌	100	8636932800	5779595800	2.29
CGLU369	処置後、1 2日	WGS	肺癌	100	9227709600	6136755200	2.44
CGLU369	処置後、6 8日	WGS	肺癌	100	7995282600	5239077200	2.08
CGLU369	処置後、1 1 0日	WGS	肺癌	100	8750541000	5626139000	2.23
CGLU373	処置前、- 2 日	WGS	肺癌	100	11746059600	7547485800	3.00
CGLU373	処置後、0.125日	WGS	肺癌	100	13801136800	9255579400	3.67
CGLU373	処置後、7 日	WGS	肺癌	100	11537896800	7654111200	3.04
CGLU373	処置後、4 7日	WGS	肺癌	100	8046326400	5397702400	2.14
CGPLBR100	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8440532400	5729474800	2.27
CGPLBR101	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9785253600	6673495200	2.65
CGPLBR102	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8664980400	5669781600	2.25
CGPLBR103	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9846936200	6662883400	2.64
CGPLBR104	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9443375400	6497061000	2.58
CGPLBR12	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7017577800	4823327400	1.91
CGPLBR18	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10309652800	7130386000	2.83
CGPLBR23	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9034484800	6219625800	2.47
CGPLBR24	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9891454200	6601857400	2.62
CGPLBR28	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7997607200	5400803200	2.14
CGPLBR30	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8502597200	5885822400	2.34
CGPLBR31	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	12660086600	8551996800	3.39
CGPLBR32	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8773488600	5839034600	2.32
CGPLBR33	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10931742800	6967030600	2.76
CGPLBR34	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10861398600	7453225800	2.96
CGPLBR35	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9180193600	6158440200	2.44
CGPLBR36	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9159948400	6091817800	2.42
CGPLBR37	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10307505800	6929533600	2.75
CGPLBR38	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9983824000	6841725400	2.71
CGPLBR40	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10148823800	7024345400	2.79
CGPLBR41	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	11168192000	7562945800	3.00
CGPLBR45	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8793780600	6011109400	2.39
CGPLBR46	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7228607600	4706130000	1.87
CGPLBR47	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7906911400	5341656000	2.12
CGPLBR48	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	6992032000	4428636200	1.76
CGPLBR49	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7311195600	4559460200	1.81
CGPLBR50	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	11107962600	7582778600	3.01

10

20

30

40

【表 6 - 2】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの 長さ	配列決定された 総塩基	分析された 高品質塩基	カバーレッジ
CGPLBR51	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8393547400	5102069000	2.02
CGPLBR52	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9491894800	5141729000	2.44
CGPLBR55	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9360109800	6518855200	2.59
CGPLBR56	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	12191816900	8293011200	3.29
CGPLBR57	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9847584400	6713638000	2.66
CGPLBR59	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7476477000	5059976200	2.01
CGPLBR60	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	6531354600	4331253800	1.72
CGPLBR61	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	9311029200	6430920900	2.55
CGPLBR63	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8971949000	6044009600	2.40
CGPLBR65	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	7197201400	4835015200	1.92
CGPLBR68	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10003774000	6374918800	2.77
CGPLBR69	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10080861800	6903459200	2.74
CGPLBR70	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8824002600	6002533800	2.38
CGPLBR71	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10164138800	6994668600	2.78
CGPLBR72	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	18416841400	12328793000	4.89
CGPLBR73	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10281460200	7078613200	2.81
CGPLBR76	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10105270400	6860705000	2.70
CGPLBR81	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	5087126000	3273367200	1.30
CGPLBR82	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10576498600	7186662600	2.85
CGPLBR83	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8977124400	6847525900	2.36
CGPLBR84	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	6272538600	4066870600	1.61
CGPLBR87	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8480954800	5375710200	2.13
CGPLBR88	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	8665810400	5499898200	2.18
CGPLBR90	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	6663469200	4392442400	1.74
CGPLBR91	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10933002400	7647842000	3.03
CGPLBR92	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	10392674000	6493588000	2.58
CGPLBR93	術前処置未経験	WGS	乳癌	100	5858836000	3931108800	1.56
CGPLH189	術前処置未経験	WGS	健康	100	11400610400	7655568900	3.04
CGPLH190	術前処置未経験	WGS	健康	100	11444671680	7581175200	3.01
CGPLH192	術前処置未経験	WGS	健康	100	12199010600	8126804800	3.22
CGPLH193	術前処置未経験	WGS	健康	100	10201897600	6635285400	2.63
CGPLH194	術前処置未経験	WGS	健康	100	11005087400	7081852600	2.81
CGPLH196	術前処置未経験	WGS	健康	100	12891462800	8646881800	3.43
CGPLH197	術前処置未経験	WGS	健康	100	11981841600	8052855200	3.20
CGPLH198	術前処置未経験	WGS	健康	100	13605489000	8885716000	3.53
CGPLH199	術前処置未経験	WGS	健康	100	1818080200	5615316000	2.23
CGPLH200	術前処置未経験	WGS	健康	100	14400027600	9310342000	3.69
CGPLH201	術前処置未経験	WGS	健康	100	6208766800	4171848400	1.68
CGPLH202	術前処置未経験	WGS	健康	100	11282922800	7363530600	2.92
CGPLH203	術前処置未経験	WGS	健康	100	13640689600	9068747600	3.60
CGPLH205	術前処置未経験	WGS	健康	100	10343637800	6896988600	2.66
CGPLH208	術前処置未経験	WGS	健康	100	12796300000	8272073400	3.28
CGPLH209	術前処置未経験	WGS	健康	100	13123035400	8531813600	3.39
CGPLH210	術前処置未経験	WGS	健康	100	10184218800	6832204600	2.71
CGPLH211	術前処置未経験	WGS	健康	100	14655260200	8887067600	3.53
CGPLH300	術前処置未経験	WGS	健康	100	7062083400	4563361200	1.81
CGPLH307	術前処置未経験	WGS	健康	100	7239128200	4547687200	1.80
CGPLH308	術前処置未経験	WGS	健康	100	8512651400	5526653800	2.19
CGPLH309	術前処置未経験	WGS	健康	100	11664474200	7431836600	2.95
CGPLH310	術前処置未経験	WGS	健康	100	11045691000	7451506200	2.96
CGPLH311	術前処置未経験	WGS	健康	100	10406803200	6786479600	2.69
CGPLH314	術前処置未経験	WGS	健康	100	10371343800	6925866600	2.75
CGPLH315	術前処置未経験	WGS	健康	100	9508538400	6208744600	2.46
CGPLH316	術前処置未経験	WGS	健康	100	10131063600	6891181000	2.73
CGPLH317	術前処置未経験	WGS	健康	100	8364314400	5302232600	2.10
CGPLH319	術前処置未経験	WGS	健康	100	8780528200	5585897000	2.22
CGPLH320	術前処置未経験	WGS	健康	100	8956232600	5784619200	2.30
CGPLH322	術前処置未経験	WGS	健康	100	9563837800	6445517800	2.56
CGPLH324	術前処置未経験	WGS	健康	100	6765038600	4489201600	1.77
CGPLH325	術前処置未経験	WGS	健康	100	8008213400	5099262800	2.02
CGPLH326	術前処置未経験	WGS	健康	100	9554226200	6112544800	2.43
CGPLH327	術前処置未経験	WGS	健康	100	8239168800	5351280200	2.12
CGPLH328	術前処置未経験	WGS	健康	100	7197086600	4516894800	1.79
CGPLH329	術前処置未経験	WGS	健康	100	8921654800	5493709800	2.18
CGPLH330	術前処置未経験	WGS	健康	100	10693603400	7077936000	2.81
CGPLH331	術前処置未経験	WGS	健康	100	8982792000	5538096200	2.20
CGPLH333	術前処置未経験	WGS	健康	100	7656985400	5178829600	2.06
CGPLH335	術前処置未経験	WGS	健康	100	9370663400	6035739400	2.40
CGPLH336	術前処置未経験	WGS	健康	100	8002498200	5340331400	2.12
CGPLH337	術前処置未経験	WGS	健康	100	7399022000	4954467600	1.97
CGPLH338	術前処置未経験	WGS	健康	100	8917121600	6170927200	2.45
CGPLH339	術前処置未経験	WGS	健康	100	8591130800	5866411400	2.33
CGPLH340	術前処置未経験	WGS	健康	100	8046351000	5368062000	2.13
CGPLH341	術前処置未経験	WGS	健康	100	7914788600	5200304800	2.06

10

20

30

40

【表 6 - 3】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバーレッジ
CGPLH342	術前処置未経験	WGS	健康	100	863347300	5701972400	2.26
CGPLH343	術前処置未経験	WGS	健康	100	6694769800	4410670800	1.75
CGPLH344	術前処置未経験	WGS	健康	100	7628192400	4961476600	1.97
CGPLH345	術前処置未経験	WGS	健康	100	7121569400	4747223000	1.88
CGPLH346	術前処置未経験	WGS	健康	100	7707924600	4873321600	1.93
CGPLH35	術前処置未経験	WGS	健康	100	47305985200	4774186200	12.63
CGPLH350	術前処置未経験	WGS	健康	100	9745838800	6054055200	2.40
CGPLH351	術前処置未経験	WGS	健康	100	13317435800	8714465000	3.45
CGPLH352	術前処置未経験	WGS	健康	100	7659351600	4752309400	1.89
CGPLH353	術前処置未経験	WGS	健康	100	8435782400	5275098200	2.09
CGPLH354	術前処置未経験	WGS	健康	100	8918644000	4857577600	1.93
CGPLH355	術前処置未経験	WGS	健康	100	8624675900	5709726400	2.27
CGPLH356	術前処置未経験	WGS	健康	100	8817952800	5729595200	2.27
CGPLH357	術前処置未経験	WGS	健康	100	11931696200	7690004400	3.05
CGPLH358	術前処置未経験	WGS	健康	100	12802561200	8451274800	3.35
CGPLH36	術前処置未経験	WGS	健康	100	40173545600	3974910400	10.52
CGPLH360	術前処置未経験	WGS	健康	100	7280078400	4918566200	1.95
CGPLH361	術前処置未経験	WGS	健康	100	7493498400	4966813800	1.97
CGPLH362	術前処置未経験	WGS	健康	100	11345644200	7532133600	2.99
CGPLH363	術前処置未経験	WGS	健康	100	6117382600	3965952400	1.57
CGPLH364	術前処置未経験	WGS	健康	100	10823498400	7195657000	2.86
CGPLH365	術前処置未経験	WGS	健康	100	5936367400	3954556200	1.57
CGPLH366	術前処置未経験	WGS	健康	100	7063468800	4731853000	1.88
CGPLH367	術前処置未経験	WGS	健康	100	7119631800	4627868200	1.84
CGPLH368	術前処置未経験	WGS	健康	100	7726718400	4975233400	1.97
CGPLH369	術前処置未経験	WGS	健康	100	10967594200	7130956800	2.83
CGPLH37	術前処置未経験	WGS	健康	100	45870545400	4591328800	12.15
CGPLH370	術前処置未経験	WGS	健康	100	9237170800	6106373800	2.42
CGPLH371	術前処置未経験	WGS	健康	100	8677798800	5237970600	2.08
CGPLH380	術前処置未経験	WGS	健康	100	14049588200	8614241200	3.42
CGPLH381	術前処置未経験	WGS	健康	100	16743792000	10767882800	4.27
CGPLH382	術前処置未経験	WGS	健康	100	18474025200	12276437200	4.87
CGPLH383	術前処置未経験	WGS	健康	100	13215954000	8430420600	3.35
CGPLH384	術前処置未経験	WGS	健康	100	8481614000	5463636200	2.17
CGPLH385	術前処置未経験	WGS	健康	100	9596118800	6445445600	2.56
CGPLH386	術前処置未経験	WGS	健康	100	7399540400	4916484800	1.95
CGPLH387	術前処置未経験	WGS	健康	100	6860332600	4339724400	1.72
CGPLH388	術前処置未経験	WGS	健康	100	8679705600	5463945400	2.17
CGPLH389	術前処置未経験	WGS	健康	100	7266863600	4702368000	1.87
CGPLH390	術前処置未経験	WGS	健康	100	7509035800	4913801800	1.95
CGPLH391	術前処置未経験	WGS	健康	100	7252286000	4792404800	1.87
CGPLH392	術前処置未経験	WGS	健康	100	7302618200	4722407000	1.87
CGPLH393	術前処置未経験	WGS	健康	100	8879138000	5947871800	2.36
CGPLH394	術前処置未経験	WGS	健康	100	8737031000	5599777400	2.22
CGPLH395	術前処置未経験	WGS	健康	100	7783904800	4907148000	1.95
CGPLH396	術前処置未経験	WGS	健康	100	7585567200	5076838200	2.01
CGPLH398	術前処置未経験	WGS	健康	100	13001418200	8607025000	3.42
CGPLH399	術前処置未経験	WGS	健康	100	9867699200	5526646000	2.19
CGPLH400	術前処置未経験	WGS	健康	100	10573930000	6290438200	2.50
CGPLH401	術前処置未経験	WGS	健康	100	9415150000	6139638000	2.44
CGPLH402	術前処置未経験	WGS	健康	100	5541458000	2972927800	1.18
CGPLH403	術前処置未経験	WGS	健康	100	6470912200	3649772600	1.41
CGPLH404	術前処置未経験	WGS	健康	100	7369651800	4120205000	1.64
CGPLH405	術前処置未経験	WGS	健康	100	7360239000	4293522600	1.70
CGPLH406	術前処置未経験	WGS	健康	100	6026125400	3426007400	1.36
CGPLH407	術前処置未経験	WGS	健康	100	7073375200	4079286800	1.62
CGPLH408	術前処置未経験	WGS	健康	100	8006103200	5121285600	2.03
CGPLH409	術前処置未経験	WGS	健康	100	7343124800	4432335600	1.75
CGPLH410	術前処置未経験	WGS	健康	100	7551842000	4818779600	1.91
CGPLH411	術前処置未経験	WGS	健康	100	6119676400	3636478400	1.44
CGPLH412	術前処置未経験	WGS	健康	100	7960821200	4935752200	1.96
CGPLH413	術前処置未経験	WGS	健康	100	7623405400	4827868400	1.92
CGPLH414	術前処置未経験	WGS	健康	100	7381312400	4743337200	1.88
CGPLH415	術前処置未経験	WGS	健康	100	7240754200	4162208800	1.65
CGPLH416	術前処置未経験	WGS	健康	100	7745658600	4670228000	1.85
CGPLH417	術前処置未経験	WGS	健康	100	7627498800	4403085600	1.75
CGPLH418	術前処置未経験	WGS	健康	100	9090285000	5094814000	2.02
CGPLH419	術前処置未経験	WGS	健康	100	7914120200	5078369800	2.02
CGPLH42	術前処置未経験	WGS	健康	100	39492040600	3901039400	10.32
CGPLH420	術前処置未経験	WGS	健康	100	7014307800	4711393600	1.87
CGPLH422	術前処置未経験	WGS	健康	100	9103972800	5053959800	2.40
CGPLH423	術前処置未経験	WGS	健康	100	10154714200	6128800200	2.43
CGPLH424	術前処置未経験	WGS	健康	100	11002394000	6573756000	2.61
CGPLH425	術前処置未経験	WGS	健康	100	14681352600	9272557000	3.68

10

20

30

40

【表 6 - 4】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された商品塩基	カバーレッジ
CGPLH426	術前処置未経験	WGS	健康	100	8336731000	5177430800	2.06
CGPLH427	術前処置未経験	WGS	健康	100	8242924400	5632991800	2.24
CGPLH428	術前処置未経験	WGS	健康	100	8512550400	5604756600	2.22
CGPLH429	術前処置未経験	WGS	健康	100	8369802800	5477121400	2.17
CGPLH43	術前処置未経験	WGS	健康	100	38513193400	3815698400	10.10
CGPLH430	術前処置未経験	WGS	健康	100	10357365400	6841611000	2.71
CGPLH431	術前処置未経験	WGS	健康	100	7599876800	5006909000	1.99
CGPLH432	術前処置未経験	WGS	健康	100	7932532400	4932304200	1.96
CGPLH434	術前処置未経験	WGS	健康	100	10417028600	6965998800	2.76
CGPLH435	術前処置未経験	WGS	健康	100	8747793800	8677115200	2.25
CGPLH436	術前処置未経験	WGS	健康	100	7990589400	5228737800	2.07
CGPLH437	術前処置未経験	WGS	健康	100	10156991200	6935537200	2.75
CGPLH438	術前処置未経験	WGS	健康	100	9473604000	6445455600	2.56
CGPLH439	術前処置未経験	WGS	健康	100	8303723400	5439877200	2.16
CGPLH440	術前処置未経験	WGS	健康	100	9055233800	6018631400	2.39
CGPLH441	術前処置未経験	WGS	健康	100	10290682000	6896415200	2.74
CGPLH442	術前処置未経験	WGS	健康	100	9878551600	6591249800	2.62
CGPLH443	術前処置未経験	WGS	健康	100	9637225800	6360746800	2.52
CGPLH444	術前処置未経験	WGS	健康	100	9199271400	5756941600	2.28
CGPLH445	術前処置未経験	WGS	健康	100	8089236400	5218259800	2.07
CGPLH446	術前処置未経験	WGS	健康	100	7890664200	5181608000	2.08
CGPLH447	術前処置未経験	WGS	健康	100	7775775000	5120239800	2.03
CGPLH448	術前処置未経験	WGS	健康	100	8689964800	565079200	2.22
CGPLH449	術前処置未経験	WGS	健康	100	8604545400	5527726800	2.19
CGPLH45	術前処置未経験	WGS	健康	100	39029653000	3771601200	9.98
CGPLH450	術前処置未経験	WGS	健康	100	8428254800	543995000	2.16
CGPLH451	術前処置未経験	WGS	健康	100	8128977500	5186256600	2.06
CGPLH452	術前処置未経験	WGS	健康	100	6474313400	4216316400	1.67
CGPLH453	術前処置未経験	WGS	健康	100	9831832800	6224917600	2.47
CGPLH455	術前処置未経験	WGS	健康	100	7373753000	4593473600	1.82
CGPLH456	術前処置未経験	WGS	健康	100	8455416200	5457148200	2.17
CGPLH457	術前処置未経験	WGS	健康	100	8647618000	5534503800	2.20
CGPLH458	術前処置未経験	WGS	健康	100	6633156400	4416186000	1.75
CGPLH459	術前処置未経験	WGS	健康	100	8361048200	5497193800	2.18
CGPLH46	術前処置未経験	WGS	健康	100	36361484600	3516232800	9.30
CGPLH460	術前処置未経験	WGS	健康	100	6788635400	447282800	1.77
CGPLH463	術前処置未経験	WGS	健康	100	8534880800	5481759200	2.18
CGPLH464	術前処置未経験	WGS	健康	100	6692520000	4184463400	1.66
CGPLH465	術前処置未経験	WGS	健康	100	7772884600	4878430800	1.94
CGPLH466	術前処置未経験	WGS	健康	100	9056275000	5830877400	2.31
CGPLH467	術前処置未経験	WGS	健康	100	6931419200	4585861000	1.82
CGPLH468	術前処置未経験	WGS	健康	100	9334067400	6314830400	2.51
CGPLH469	術前処置未経験	WGS	健康	100	7376691000	4545246600	1.80
CGPLH47	術前処置未経験	WGS	健康	100	38485847600	3534883600	9.35
CGPLH470	術前処置未経験	WGS	健康	100	7899727500	5221656600	2.07
CGPLH471	術前処置未経験	WGS	健康	100	9200430600	6102371000	2.42
CGPLH472	術前処置未経験	WGS	健康	100	8143742400	5395948600	2.14
CGPLH473	術前処置未経験	WGS	健康	100	8123924600	5419825400	2.15
CGPLH474	術前処置未経験	WGS	健康	100	8953071400	6084059400	2.41
CGPLH475	術前処置未経験	WGS	健康	100	8115374000	5291718000	2.10
CGPLH476	術前処置未経験	WGS	健康	100	8163162600	5098696000	2.02
CGPLH477	術前処置未経験	WGS	健康	100	8350093200	5465468600	2.17
CGPLH478	術前処置未経験	WGS	健康	100	8259642200	5406516200	2.15
CGPLH479	術前処置未経験	WGS	健康	100	8027598300	5417376800	2.15
CGPLH48	術前処置未経験	WGS	健康	100	42232410000	4165893400	11.02
CGPLH480	術前処置未経験	WGS	健康	100	7832983200	5020127000	1.99
CGPLH481	術前処置未経験	WGS	健康	100	7578518800	4893280800	1.94
CGPLH482	術前処置未経験	WGS	健康	100	8279364800	5652263600	2.24
CGPLH483	術前処置未経験	WGS	健康	100	8660338800	5823858200	2.31
CGPLH484	術前処置未経験	WGS	健康	100	8445420000	5794328000	2.30
CGPLH485	術前処置未経験	WGS	健康	100	8571255400	5490207800	2.16
CGPLH486	術前処置未経験	WGS	健康	100	8216712200	5508871000	2.19
CGPLH487	術前処置未経験	WGS	健康	100	7936294200	5309250200	2.11
CGPLH488	術前処置未経験	WGS	健康	100	8355633600	5453160000	2.16
CGPLH49	術前処置未経験	WGS	健康	100	33612191800	3310058000	8.78
CGPLH490	術前処置未経験	WGS	健康	100	7768712400	5175567800	2.05
CGPLH491	術前処置未経験	WGS	健康	100	9070904000	6011275000	2.39
CGPLH492	術前処置未経験	WGS	健康	100	7206727200	4753213800	1.89
CGPLH493	術前処置未経験	WGS	健康	100	10542882600	7225870800	2.87
CGPLH494	術前処置未経験	WGS	健康	100	10908197600	7046645000	2.80
CGPLH495	術前処置未経験	WGS	健康	100	8945040400	5891697800	2.34
CGPLH496	術前処置未経験	WGS	健康	100	10959729400	7549608000	3.00
CGPLH497	術前処置未経験	WGS	健康	100	9630507400	6473162800	2.57
CGPLH498	術前処置未経験	WGS	健康	100	10060232600	6744622800	2.68

10

20

30

40

【表 6 - 5】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバーレッジ
CGPLH499	術前処置未経験	WGS	健康	100	10221293600	6951262800	2.76
CGPLH500	術前処置未経験	WGS	健康	100	41248860600	4073272800	10.78
CGPLH501	術前処置未経験	WGS	健康	100	9703168200	6239893800	2.46
CGPLH502	術前処置未経験	WGS	健康	100	9104779900	6161602800	2.45
CGPLH503	術前処置未経験	WGS	健康	100	8514467400	5290881400	2.10
CGPLH504	術前処置未経験	WGS	健康	100	9019992200	6100383400	2.42
CGPLH505	術前処置未経験	WGS	健康	100	9320330200	6199759200	2.46
CGPLH506	術前処置未経験	WGS	健康	100	7499497400	4914559000	1.95
CGPLH507	術前処置未経験	WGS	健康	100	10526142000	6983312600	2.76
CGPLH508	術前処置未経験	WGS	健康	100	9091018400	6146678600	2.44
CGPLH509	術前処置未経験	WGS	健康	100	10969315600	7360201400	2.92
CGPLH510	術前処置未経験	WGS	健康	100	9729084600	6702691600	2.66
CGPLH511	術前処置未経験	WGS	健康	100	35967451400	3492833200	9.24
CGPLH512	術前処置未経験	WGS	健康	100	11162691600	7626795400	3.03
CGPLH513	術前処置未経験	WGS	健康	100	11688619600	8110427600	3.22
CGPLH514	術前処置未経験	WGS	健康	100	10726438400	7110678000	2.82
CGPLH515	術前処置未経験	WGS	健康	100	10701564200	7155271400	2.84
CGPLH516	術前処置未経験	WGS	健康	100	8822067000	5958773800	2.36
CGPLH517	術前処置未経験	WGS	健康	100	7792074800	5317464600	2.11
CGPLH518	術前処置未経験	WGS	健康	100	8642620300	5846439400	2.32
CGPLH519	術前処置未経験	WGS	健康	100	11915929600	8013937000	3.18
CGPLH520	術前処置未経験	WGS	健康	100	12804517400	8606661600	3.42
CGPLH521	術前処置未経験	WGS	健康	100	11513222500	7922798400	3.14
CGPLH522	術前処置未経験	WGS	健康	100	49247304200	4849631400	12.83
CGPLH523	術前処置未経験	WGS	健康	100	8942102400	6030883400	2.39
CGPLH524	術前処置未経験	WGS	健康	100	45399346400	4466164600	11.82
CGPLH525	術前処置未経験	WGS	健康	100	42547725000	4283337600	11.33
CGPLH526	術前処置未経験	WGS	健康	100	33460308000	3226338000	8.53
CGPLH527	術前処置未経験	WGS	健康	100	36504735200	3509125000	9.28
CGPLH528	術前処置未経験	WGS	健康	100	39642810600	3820311000	10.11
CGPLH529	術前処置未経験	WGS	健康	100	6408225000	4115487600	1.63
CGPLH530	術前処置未経験	WGS	健康	100	9915493600	6381657000	2.54
CGPLH531	術前処置未経験	WGS	健康	100	37447047600	3506737000	9.28
CGPLH532	術前処置未経験	WGS	健康	100	8158965800	5216049600	2.07
CGPLH533	術前処置未経験	WGS	健康	100	34275606800	3264508000	8.63
CGPLH534	術前処置未経験	WGS	健康	100	8068876800	5333551800	2.12
CGPLH535	術前処置未経験	WGS	健康	100	7545555600	4909732800	1.95
CGPLH536	術前処置未経験	WGS	健康	100	7865776800	5254772000	2.09
CGPLH537	術前処置未経験	WGS	健康	100	6890139000	4599387400	1.83
CGPLH538	術前処置未経験	WGS	健康	100	7757219400	5077408200	2.01
CGPLH539	術前処置未経験	WGS	健康	100	23882926000	2250344400	5.95
CGPLH540	術前処置未経験	WGS	健康	100	30631483600	3086042200	8.16
CGPLH541	術前処置未経験	WGS	健康	100	31651741400	3041295200	8.04
CGPLH542	術前処置未経験	WGS	健康	100	31165831200	3130079800	8.28
CGPLH543	術前処置未経験	WGS	健康	100	31935043000	3128488200	8.27
CGPLH544	術前処置未経験	WGS	健康	100	32965093000	3311371800	8.76
CGPLH545	術前処置未経験	WGS	健康	100	27035311200	2455084400	6.49
CGPLH546	術前処置未経験	WGS	健康	100	28447051200	2853358200	7.65
CGPLH547	術前処置未経験	WGS	健康	100	26702240200	2459494000	6.50
CGPLH548	術前処置未経験	WGS	健康	100	25176861400	2524467400	6.68
CGPLLU13	処置前、- 2 日	WGS	肺癌	100	9126586600	5915061800	2.35
CGPLLU13	処置後、5 日	WGS	肺癌	100	7739120200	5071745800	2.01
CGPLLU13	処置後、2 8 日	WGS	肺癌	100	9081585400	5764371600	2.29
CGPLLU13	処置後、9 1 日	WGS	肺癌	100	9578557000	6160760200	2.44
CGPLLU14	処置前、- 3 8 日	WGS	肺癌	100	13659198400	9033455800	3.58
CGPLLU14	処置前、- 1 6 日	WGS	肺癌	100	7178855800	4856648600	1.93
CGPLLU14	処置前、- 3 日	WGS	肺癌	100	7653473000	4816193800	1.91
CGPLLU14	処置前、0 日	WGS	肺癌	100	7851997400	5193256000	2.06
CGPLLU14	処置後、0、3 3 日	WGS	肺癌	100	7193040800	4889701600	1.93
CGPLLU14	処置後、7 日	WGS	肺癌	100	7102050300	4741432600	1.88
CGPLLU144	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	4934813600	3415936400	1.36
CGPLLU147	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	24409561000	2118672800	5.61
CGPLLU161	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	8998813400	6016145000	2.39
CGPLLU162	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	9709792400	6407866400	2.54
CGPLLU163	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	9150620200	5063365800	2.41
CGPLLU165	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	28374436400	2651136600	7.01
CGPLLU166	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	5692739400	3695191000	1.47
CGPLLU169	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	9093975600	5806320800	2.30
CGPLLU175	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	33794816800	3418750400	9.04
CGPLLU176	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	8778553800	5784950200	2.30
CGPLLU177	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	3734514800	2578596200	1.02
CGPLLU180	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	28305936800	2756034200	7.29
CGPLLU198	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	23244859200	2218577200	5.86
CGPLLU202	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	21110128200	1831279400	4.84

10

20

30

40

【表 6 - 6】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバーレッジ
CGPLU203	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	4304236500	2896422000	1.15
CGPLU205	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	10502467000	7366984800	2.93
CGPLU206	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	21888248200	2026666000	5.36
CGPLU207	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	10806230600	7363049000	2.92
CGPLU208	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	7795426800	5199545800	2.06
CGPLU209	術前処置未経験	WGS	肺癌	100	26174542000	2621961800	6.93
CGPLU244	処置前、-7日	WGS	肺癌	100	9867531400	6704365800	2.66
CGPLU244	処置前、-1日	WGS	肺癌	100	9547119200	5785172600	2.30
CGPLU244	処置後、6日	WGS	肺癌	100	9535898600	6452174000	2.58
CGPLU244	処置後、62日	WGS	肺癌	100	8783628600	5914149000	2.35
CGPLU245	処置前、-32日	WGS	肺癌	100	10025823200	6313003800	2.51
CGPLU245	処置前、0日	WGS	肺癌	100	9462480400	6612867800	2.62
CGPLU245	処置後、7日	WGS	肺癌	100	9143825300	6431013200	2.55
CGPLU245	処置後、21日	WGS	肺癌	100	9072713800	6369533000	2.53
CGPLU246	処置前、-21日	WGS	肺癌	100	9579787000	6458003400	2.56
CGPLU246	処置前、0日	WGS	肺癌	100	9512703600	6440535600	2.56
CGPLU246	処置後、9日	WGS	肺癌	100	9512646000	6300939200	2.50
CGPLU246	処置後、42日	WGS	肺癌	100	11136103000	7358747400	2.92
CGPLU264	処置前、-1日	WGS	肺癌	100	9196306000	6239803600	2.48
CGPLU264	処置後、6日	WGS	肺癌	100	8247416600	5600464200	2.22
CGPLU264	処置後、27日	WGS	肺癌	100	8681022300	5856109000	2.32
CGPLU264	処置後、69日	WGS	肺癌	100	8931976400	5974246000	2.37
CGPLU265	処置前、0日	WGS	肺癌	100	9460534000	6111852000	2.43
CGPLU265	処置後、3日	WGS	肺癌	100	8051691200	4984168800	1.98
CGPLU265	処置後、7日	WGS	肺癌	100	8082224600	5110926000	2.03
CGPLU265	処置後、84日	WGS	肺癌	100	8368637400	5369526400	2.13
CGPLU266	処置前、0日	WGS	肺癌	100	8683766400	5846473600	2.32
CGPLU266	処置後、16日	WGS	肺癌	100	8795793600	5984531400	2.37
CGPLU266	処置後、83日	WGS	肺癌	100	9157947600	6227736000	2.47
CGPLU266	処置後、328日	WGS	肺癌	100	7299456400	5049379000	2.00
CGPLU267	処置前、-1日	WGS	肺癌	100	10658657800	6892067000	2.73
CGPLU267	処置後、34日	WGS	肺癌	100	8492833400	5461897800	2.02
CGPLU267	処置後、90日	WGS	肺癌	100	12030314900	7757930400	3.08
CGPLU269	処置前、0日	WGS	肺癌	100	9170168000	5830454400	2.31
CGPLU269	処置後、9日	WGS	肺癌	100	8905640400	5298461400	2.10
CGPLU269	処置後、28日	WGS	肺癌	100	8455306600	5387927400	2.14
CGPLU271	処置後、259日	WGS	肺癌	100	8112060400	5404979000	2.14
CGPLU271	処置前、0日	WGS	肺癌	100	13150818200	8570453400	3.40
CGPLU271	処置後、6日	WGS	肺癌	100	9008880600	5854051400	2.32
CGPLU271	処置後、20日	WGS	肺癌	100	8670913000	5461577000	2.17
CGPLU271	処置後、104日	WGS	肺癌	100	8887441400	5609039000	2.23
CGPLU43	処置前、-1日	WGS	肺癌	100	8407811200	5203486400	2.08
CGPLU43	処置後、6日	WGS	肺癌	100	9264335200	5626714400	2.23
CGPLU43	処置後、27日	WGS	肺癌	100	8902263000	5495656200	2.18
CGPLU43	処置後、83日	WGS	肺癌	100	9201509200	5875084200	2.33
CGPLU86	処置前、0日	WGS	肺癌	100	9152729200	6248173200	2.48
CGPLU86	処置後、0.5日	WGS	肺癌	100	6703253000	4663026800	1.85
CGPLU86	処置後、7日	WGS	肺癌	100	6590121400	4559562400	1.81
CGPLU86	処置後、17日	WGS	肺癌	100	8653651800	5800136000	2.34
CGPLU88	処置前、0日	WGS	肺癌	100	8096528000	5505475400	2.18
CGPLU88	処置後、7日	WGS	肺癌	100	8283192200	5784217600	2.30
CGPLU88	処置後、297日	WGS	肺癌	100	9297110800	6407269000	2.64
CGPLU89	処置前、0日	WGS	肺癌	100	7842145200	5356095400	2.13
CGPLU89	処置後、7日	WGS	肺癌	100	7234220200	4930375200	1.96
CGPLU89	処置後、22日	WGS	肺癌	100	6242889800	4057361000	1.61
CGPLOV11	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8885130400	5871958600	2.33
CGPLOV12	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9705820000	6430505400	2.55
CGPLOV13	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10307949400	7029712000	2.79
CGPLOV15	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8472829400	5562142400	2.21
CGPLOV16	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10977781000	7538581600	2.99
CGPLOV19	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8800876200	5855304000	2.32
CGPLOV20	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8714443600	5696165800	2.26
CGPLOV21	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10180394800	7120260400	2.83
CGPLOV22	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10107762000	6821945800	2.71
CGPLOV23	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10643369800	7206330800	2.86
CGPLOV24	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	6780929000	4623300400	1.83
CGPLOV25	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	7817548800	5359975200	2.13
CGPLOV26	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	11763101400	8178024400	3.25
CGPLOV28	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9522546400	6258423400	2.48
CGPLOV31	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9104831200	6109358400	2.42
CGPLOV32	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9222073600	6036150000	2.38
CGPLOV37	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8896328600	5971018200	2.37
CGPLOV38	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8756825200	5861538600	2.33
CGPLOV40	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9709391600	6654707200	2.64

10

20

30

40

【表 6 - 7】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバーレッジ
CGPLOW41	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	892362500	5973070400	2.37
CGPLOW42	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10719380400	7353214200	2.92
CGPLOW43	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10272169000	6423288600	2.55
CGPLOW44	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9861662600	6769185800	2.69
CGPLOW46	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8788956400	5789863400	2.30
CGPLOW47	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9380561800	6480763600	2.57
CGPLOW48	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	9258552600	6390106400	2.53
CGPLOW49	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	8787025400	6134503600	2.43
CGPLOW50	術前処置未経験	WGS	卵巣癌	100	10144154400	6984721400	2.77
CGPLPA112	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	12740651400	9045622000	3.59
CGPLPA113	術前処置未経験	WGS	十二指腸癌	100	8802479000	5909030800	2.34
CGPLPA114	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8792313600	6019061000	2.39
CGPLPA115	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8636551400	5958809000	2.36
CGPLPA117	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	9128885200	6288833200	2.50
CGPLPA118	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	7931485800	5407532800	2.15
CGPLPA122	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	10888985000	7530118800	2.99
CGPLPA124	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8562012400	5860171000	2.33
CGPLPA125	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	9715576600	6380321000	2.54
CGPLPA126	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8056768800	5651800800	2.24
CGPLPA127	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8600301000	5382867600	2.14
CGPLPA128	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	6165751600	4256521400	1.69
CGPLPA129	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	7143147400	4917370400	1.95
CGPLPA130	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	5664335000	3603919400	1.43
CGPLPA131	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8292982000	5844942000	2.32
CGPLPA134	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	7088917000	5048867600	2.00
CGPLPA135	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8759685600	5800618200	2.30
CGPLPA136	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	7539715800	5248227600	2.08
CGPLPA137	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8391815400	5901273800	2.34
CGPLPA139	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8992280200	6328314400	2.51
CGPLPA14	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8787706200	5731317600	2.27
CGPLPA140	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	16365641800	11216732000	4.45
CGPLPA141	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	15096298000	10114790200	4.01
CGPLPA15	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8255586800	5531677600	2.20
CGPLPA155	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	9457155800	6621881800	2.63
CGPLPA156	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	9845385800	6728653000	2.67
CGPLPA165	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8366604600	5829895800	2.31
CGPLPA168	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	10365661600	7048115600	2.80
CGPLPA17	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8973547400	4697809000	1.86
CGPLPA184	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	9014218400	6230922200	2.47
CGPLPA187	術前処置未経験	WGS	胆管癌	100	8883536200	6140874400	2.44
CGPLPA23	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	9835452000	6246525400	2.48
CGPLPA25	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	10077515400	6103322200	2.42
CGPLPA26	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8354272400	5725781000	2.27
CGPLPA28	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8477461600	5688846800	2.28
CGPLPA33	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	7287615600	4596723800	1.82
CGPLPA34	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	6122902400	4094828000	1.62
CGPLPA37	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	12714888200	8527779200	3.38
CGPLPA38	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8525500600	5501341400	2.18
CGPLPA39	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	10502663660	6812333000	2.70
CGPLPA40	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	9083670000	5394717800	2.14
CGPLPA42	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	5972126600	3890395200	1.54
CGPLPA46	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	4720090200	2826298800	1.04
CGPLPA47	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	7317385800	4543833000	1.80
CGPLPA48	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	7553856200	5022895600	1.99
CGPLPA52	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	5655875000	3551861600	1.41
CGPLPA53	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	9504749000	6323344800	2.51
CGPLPA58	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8088090200	5118138200	2.03
CGPLPA59	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	14547364660	9617778600	3.82
CGPLPA67	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8222177400	5351172600	2.12
CGPLPA69	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	7899181400	5006114800	1.99
CGPLPA71	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	7349620400	4855417400	1.97
CGPLPA74	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	6666371400	4571394200	1.81
CGPLPA76	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	9756658600	6412606800	2.54
CGPLPA86	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	10656223000	7309498600	2.90
CGPLPA86	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8744365400	5514523200	2.19
CGPLPA92	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	8073791200	5390492800	2.14
CGPLPA93	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	10390273000	7186589400	2.85
CGPLPA94	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	11080347600	7641336400	3.03
CGPLPA95	術前処置未経験	WGS	膵臓癌	100	12416627200	7206503800	2.86
CGST102	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	6637004600	4545072600	1.80
CGST11	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9718427800	6258679600	2.48
CGST110	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9319651600	6359317400	2.52
CGST114	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	6665213000	4841171600	1.92
CGST13	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9284554800	6360843800	2.52

10

20

30

40

【表 6 - 8】

患者	時点	分析の種類	患者の種類	読み取りの長さ	配列決定された総塩基	分析された高品質塩基	カバレッジ
CGST131	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	5924382000	3860677200	1.53
CGST141	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8486380800	5860491000	2.33
CGST16	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	13820725800	9377828000	3.72
CGST18	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	7781288000	5278962400	2.09
CGST21	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	7171165400	4103870800	1.63
CGST26	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8983961800	6053405600	2.40
CGST28	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9683035400	6745116400	2.68
CGST30	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8684086600	5741416000	2.28
CGST32	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8568194600	5783369200	2.29
CGST33	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9351699600	6448718400	2.56
CGST38	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8409876400	5770989200	2.29
CGST39	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	10573763000	7597016000	3.01
CGST41	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9434854200	6609415400	2.62
CGST46	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8203868600	5625223000	2.23
CGST47	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8338597600	6178990600	2.45
CGST48	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9106628800	6517085200	2.59
CGST53	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9005374200	5854996200	2.32
CGST58	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	10020368600	6133458400	2.43
CGST67	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	9198136600	5911071000	2.35
CGST77	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8228789400	5119116800	2.03
CGST80	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	10596963400	7283152800	2.89
CGST81	術前処置未経験	WGS	胃癌	100	8494881200	5838064000	2.32

10

20

30

40

50

【表 7】

添付書類 E : 表 5 . 健康な個体および肺癌患者の高カバレッジ全ゲノム c f DNA 分析

患者	患者の種類	分析の種類	時点	診断時のステージ	cDNA 断片サイズ 中央値 (bp)	健康な個体の断片比率 プロファイル中央値への 断片比率プロファイルの相関	健康な個体の断片比率 プロファイル中央値への GC 補正された断片比率 プロファイルの相関	リンパ球の断片比率 プロファイル中央値に対する 断片比率プロファイルの相関	リンパ球 c f DNA ソリューション に対する断片比率プロファイル の相関
CGPLH75	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.877	0.952	0.920	-0.886
CGPLH77	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.870	0.952	0.904	-0.912
CGPLH80	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.955	0.949	0.960	-0.917
CGPLH81	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.949	0.953	0.969	-0.863
CGPLH82	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.969	0.949	0.954	-0.917
CGPLH83	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.949	0.938	0.919	-0.904
CGPLH84	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.967	0.946	0.951	-0.913
CGPLH85	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.946	0.958	0.952	-0.924
CGPLH85	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.991	0.973	0.945	-0.921
CGPLH87	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.968	0.970	0.951	-0.922
CGPLH85	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.968	0.976	0.948	-0.925
CGPLH88	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.947	0.964	0.948	-0.917
CGPLH60	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.959	0.965	0.960	-0.923
CGPLH60	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.900	0.968	0.952	-0.921
CGPLH36	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.965	0.954	0.955	-0.919
CGPLH42	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.973	0.953	0.948	-0.918
CGPLH43	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	103	0.962	0.958	0.953	-0.928
CGPLH59	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.970	0.955	0.951	-0.925
CGPLH46	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.965	0.950	0.949	-0.911
CGPLH47	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.952	0.944	0.954	-0.921
CGPLH46	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.966	0.965	0.965	-0.923
CGPLH63	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.977	0.968	0.959	-0.920
CGPLH51	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.936	0.954	0.957	-0.914
CGPLH67	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	109	0.965	0.954	0.955	-0.917
CGPLH45	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.958	0.951	0.950	-0.924
CGPLH55	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.940	0.957	0.959	-0.911
CGPLH84	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	109	0.960	0.940	0.949	-0.918
CGPLH78	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	103	0.965	0.936	0.958	-0.911
CGPLH79	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	108	0.960	0.957	0.953	-0.917
CGPLH75	健康	WGS	術前処置未経緯	NA	107	0.969	0.965	0.953	-0.917
CGPLU175	肺癌	WGS	術前処置未経緯	I	105	0.916	0.284	0.244	-0.282
CGPLU190	肺癌	WGS	術前処置未経緯	I	106	0.907	0.946	0.946	-0.818
CGPLU198	肺癌	WGS	術前処置未経緯	I	106	0.972	0.946	0.928	-0.911
CGPLU202	肺癌	WGS	術前処置未経緯	I	103	0.821	0.695	0.905	-0.843
CGPLU186	肺癌	WGS	術前処置未経緯	II	103	0.924	0.961	0.815	-0.815
CGPLU209	肺癌	WGS	術前処置未経緯	II	103	0.578	0.526	0.513	-0.834
CGPLU147	肺癌	WGS	術前処置未経緯	III	108	0.653	0.919	0.938	-0.912
CGPLU208	肺癌	WGS	術前処置未経緯	III	109	0.488	0.343	0.450	-0.481

10

20

30

40

50

【表 8 - 1】

添付書類 F : 表 6 . c f DNA断片化プロファイルの全ゲノム分析および機能的変異分析を使用する治療に対する応答のモニタリング

患者	患者の種類	分析の種類	時点	ステージ	無進行生存 (月)	健康状態の悪化率 プロファイル中央値への 断片化率プロファイルの相関	リンパ球スクレオノーム距離 に対する断片化率プロファイル の相関	機能的変異	臨床変異 アレル頻度
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-3.8日	IV	15.4	0.941	0.847	EGFR 68L>Q	0.05%
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-1.6日	IV	15.4	0.933	0.833	EGFR 68L>Q	0.18%
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-3日	IV	15.4	0.908	0.814	EGFR 719S>S	0.49%
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	15.4	0.883	0.752	EGFR 68L>Q	1.39%
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、0.33日	IV	15.4	0.830	0.692	EGFR 719S>S	1.65%
CGPL114	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	15.4	0.927	0.807	EGFR 68L>Q	0.07%
CGPL188	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	18.0	0.957	0.844	EGFR 745K>L>REA>T	9.05%
CGPL188	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	18.0	0.939	0.799	EGFR 756T>M	0.15%
CGPL188	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、29.7日	IV	18.0	0.946	0.869	EGFR 745K>L>REA>T	0.63%
CGPL1244	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-7日	IV	1.2	0.880	0.766	EGFR 658L>R	4.98%
CGPL1244	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-1日	IV	1.2	0.867	0.764	EGFR 620>R	3.41%
CGPL1244	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、6日	IV	1.2	0.763	0.639	EGFR 658L>R	5.57%
CGPL1244	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、6.2日	IV	1.2	0.669	0.660	EGFR 658L>R	11.80%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-3.2日	IV	1.7	0.871	0.774	EGFR 749P>ELREA>K	10.60%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	1.7	0.736	0.668	EGFR 749P>ELREA>K	14.10%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	1.7	0.731	0.658	EGFR 749P>ELREA>K	8.55%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、2.1日	IV	1.7	0.613	0.426	EGFR 749P>ELREA>K	10.65%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-2.1日	IV	1.3	0.897	0.757	EGFR 701T>M	0.48%
CGPL1245	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	1.3	0.469	0.376	EGFR 658L>R	6.7%
CGPL1246	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、9日	IV	1.3	0.674	0.466	EGFR 658L>R	1.72%
CGPL1246	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、4.2日	IV	1.3	0.775	0.466	EGFR 658L>R	5.39%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	12.4	0.817	0.630	EGFR 746L>RELEA>T>D	0.02%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、0.5日	IV	12.4	0.916	0.811	EGFR 746L>RELEA>T>D	0.19%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	12.4	0.689	0.694	EGFR 746L>RELEA>T>D	0.05%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、17日	IV	12.4	0.932	0.648	EGFR 746L>RELEA>T>D	0.05%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	6.7	0.964	0.829	EGFR 747L>NEA>T>S>	0.42%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	6.7	0.908	0.703	EGFR 747L>NEA>T>S>	0.27%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、2.2日	IV	6.7	0.863	0.881	EGFR 747L>NEA>T>S>	0.30%
CGPL189	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-5.3日	IV	1.4	0.331	0.253	EGFR 747L>NEA>T>S>	15.72%
CGL1316	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-4日	IV	1.4	0.225	0.253	EGFR 1381Q	45.67%
CGL1316	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、1.8日	IV	1.4	0.336	0.364	EGFR 6719A	33.36%
CGL1316	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、8.7日	IV	1.4	0.340	0.364	EGFR 1381Q	86.01%
CGL1344	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-2.1日	IV	進行中	0.935	0.918	EGFR E746_A7500del	0.05%
CGL1344	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	進行中	0.918	0.774	EGFR E746_A7500del	0.22%
CGL1344	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、0.1875日	IV	進行中	0.963	0.860	EGFR E746_A7500del	0.40%
CGL1344	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、5.9日	IV	進行中	0.944	0.932	EGFR E746_A7500del	0.07%
CGL1389	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-2日	IV	7.5	0.875	0.826	EGFR L658R	20.81%
CGL1389	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、1.2日	IV	7.5	0.950	0.903	EGFR L658R	0.22%
CGL1389	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、6.8日	IV	7.5	0.945	0.889	EGFR L658R	0.18%
CGL1389	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、1.1日	IV	7.5	0.866	0.863	EGFR L658R	0.10%
CGL1373	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、0.125日	IV	進行中	0.922	0.904	EGFR E746_A7500del	0.82%
CGL1373	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	進行中	0.969	0.863	EGFR E746_A7500del	0.09%
CGL1373	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、4.7日	IV	進行中	0.951	0.886	EGFR E746_A7500del	0.15%
CGPL113	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-2日	IV	1.5	0.272	0.400	EGFR E746_A7500del	0.00%
CGPL113	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、5日	IV	1.5	0.425	0.257	EGFR E746_A7500del	7.69%
CGPL113	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、2.8日	IV	1.5	0.564	0.536	EGFR E746_A7500del	13.10%
CGPL113	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、9.1日	IV	1.5	0.274	0.257	EGFR E746_A7500del	8.09%
CGPL1264	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、-1日	IV	1.5	0.530	0.513	EGFR E746_A7500del	9.38%
CGPL1264	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、6日	IV	1.5	0.346	0.324	EGFR E746_A7500del	0.16%
CGPL1264	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、2.7日	IV	1.5	0.362	0.766	EGFR D791N	0.16%
CGPL1264	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、6.9日	IV	1.5	0.930	0.856	EGFR D791N	0.03%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	1.5	0.583	0.658	EGFR L858R	0.21%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、3日	IV	1.5	0.949	0.842	EGFR L858R	0.42%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、7日	IV	1.5	0.955	0.644	EGFR L858R	0.21%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、8.4日	IV	1.5	0.946	0.825	EGFR L858R	0.05%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置前、0日	IV	9.6	0.981	0.904	NA	0.05%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、1.6日	IV	9.6	0.958	0.896	NA	0.05%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、8.3日	IV	9.6	0.981	0.981	NA	0.05%
CGPL1265	肺癌	機能的変異分析およびCNVGS	処置後、3.2.8日	IV	9.6	0.958	0.855	NA	0.05%

10

20

30

40

50

【表 8 - 2】

患者	患者の種類	分析の種類	時点	ステージ	無進行生存 (月)	腫瘍は個体の前片比率 プロファイル中突進への 前片比率プロファイルの相関	リンパ球マクロレオノーム阻害 に対する前片比率プロファイル の相関	標的化変異	前変異 アレレル頻度
CGRLU037	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置前, -1日	IV	3.8	0.919	0.683	EGFR L858R	1.93%
CGRLU037	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 34日	IV	3.8	0.863	-0.683	EGFR L858R	0.14%
CGRLU037	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 90日	IV	3.5	0.962	-0.876	EGFR L858R	0.38%
CGRLU039	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置前, 0日	IV	進行中	0.941	-0.864	EGFR L858R	0.15%
CGRLU039	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 9日	IV	進行中	0.957	-0.876	EGFR L858R	0.05%
CGRLU039	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 28日	IV	進行中	0.971	-0.876	EGFR L858R	0.05%
CGRLU071	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置前, 0日	IV	8.2	0.944	-0.826	EGFR E746_A750del	3.38%
CGRLU071	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 6日	IV	9.2	0.952	-0.826	EGFR E746_A750del	0.17%
CGRLU071	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 20日	IV	8.2	0.944	-0.839	EGFR E746_A750del	0.05%
CGRLU071	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 104日	IV	8.2	0.944	-0.810	EGFR E746_A750del	0.05%
CGRLU071	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 259日	IV	8.2	0.944	-0.831	EGFR E746_A750del	0.44%
CGRLU43	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置前, -1日	IV	進行中	0.944	-0.903	NA	0.05%
CGRLU43	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 6日	IV	進行中	0.956	-0.899	NA	0.05%
CGRLU43	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 27日	IV	進行中	0.969	-0.901	NA	0.05%
CGRLU43	肺癌	標的化変異分析およびCWGS	処置後, 83日	IV	進行中	0.955	-0.896	NA	0.05%

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

患者	患者の種別	分析の種類	時点	診断時の ステージ	ICMIS 断片サイズ 中央値(bp)	健康な個体の断片サイズ プロファイル中の中央値への 断片サイズプロファイル の相関	健康な個体の断片サイズ プロファイル中の中央値への 断片サイズプロファイル の相関	ミトコンドリアDNA メタボリックシンドローム 発症前のプロファイルとの相関	DELFT スコア	DELFTを用いて (95%信頼性)	DELFTを用いて (98%信頼性)	断片サイズ決定 用にて検出された 異常アレル頻度*
CG-L143	健康	WGS	健康	NA	170	0.9431	0.9851	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L144	健康	WGS	健康	NA	171	0.9428	0.9851	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L145	健康	WGS	健康	NA	171	0.9446	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L146	健康	WGS	健康	NA	171	0.9446	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L147	健康	WGS	健康	NA	169	0.9421	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L148	健康	WGS	健康	NA	167	0.9555	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L149	健康	WGS	健康	NA	167	0.9555	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L150	健康	WGS	健康	NA	167	0.9572	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L151	健康	WGS	健康	NA	168	0.9548	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L152	健康	WGS	健康	NA	167	0.9498	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L153	健康	WGS	健康	NA	167	0.9498	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L154	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L155	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L156	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L157	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L158	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L159	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L160	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L161	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L162	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L163	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L164	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L165	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L166	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L167	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L168	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L169	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L170	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L171	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L172	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L173	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L174	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L175	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L176	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L177	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L178	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L179	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L180	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L181	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L182	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L183	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L184	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L185	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L186	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L187	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L188	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L189	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L190	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L191	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L192	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L193	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L194	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L195	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L196	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L197	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L198	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-
CG-L199	健康	WGS	健康	NA	168	0.9526	0.9850	0.9264	0.9269	N	N	-

10

20

30

40

50

【 図 面 】

【 図 1 】

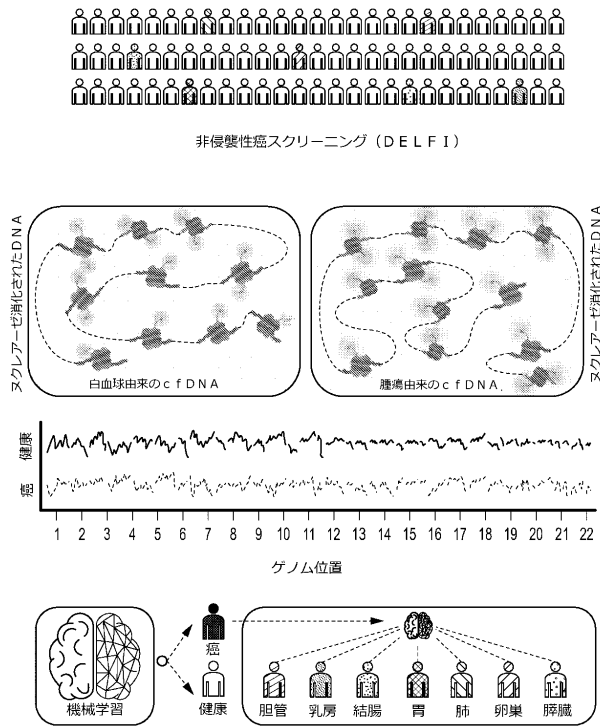


図 1

【 図 2 】

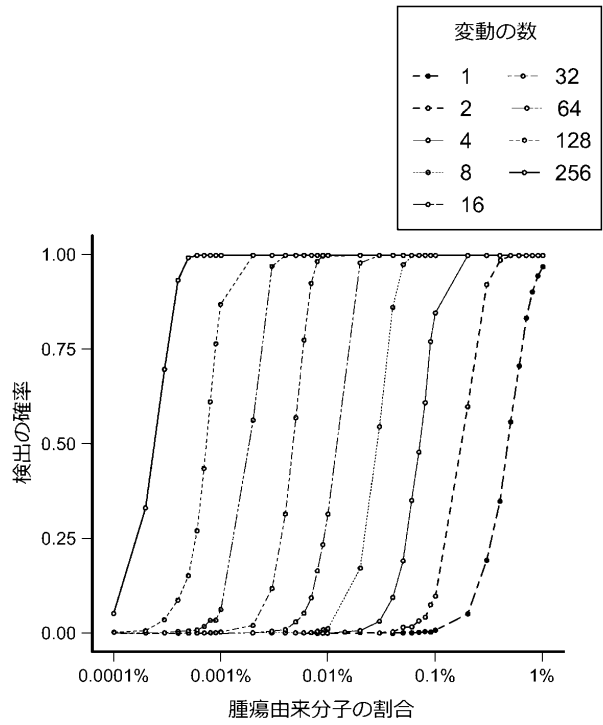


図 2

【 図 3 - 1 】

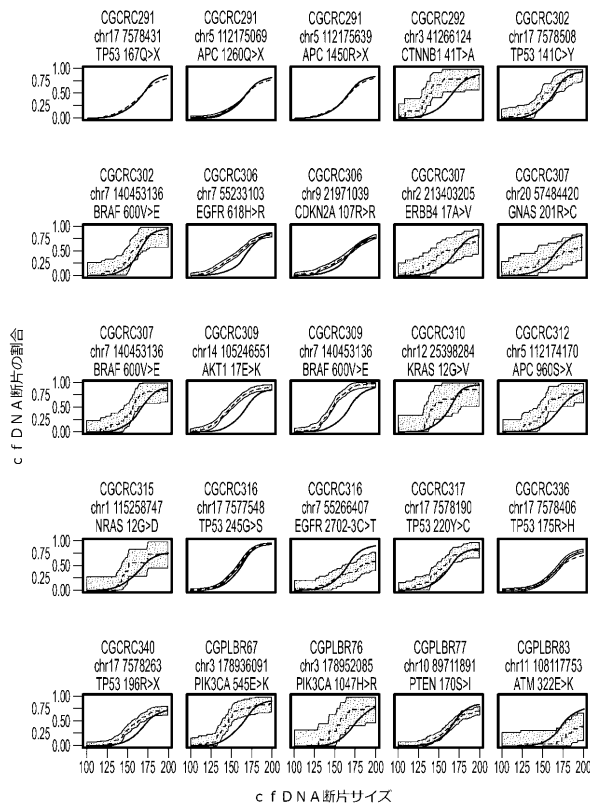


図 3

【 図 3 - 2 】

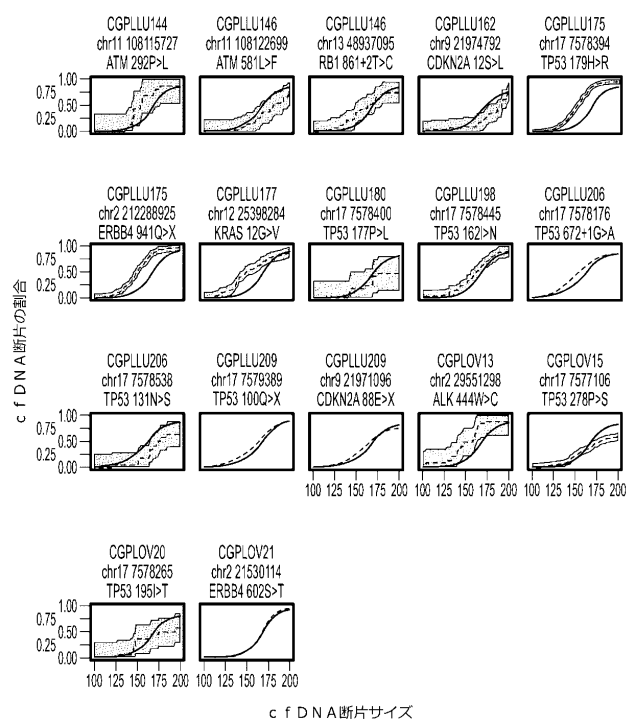


図 3 (続き)

10

20

30

40

50

【 図 4 - 1 】

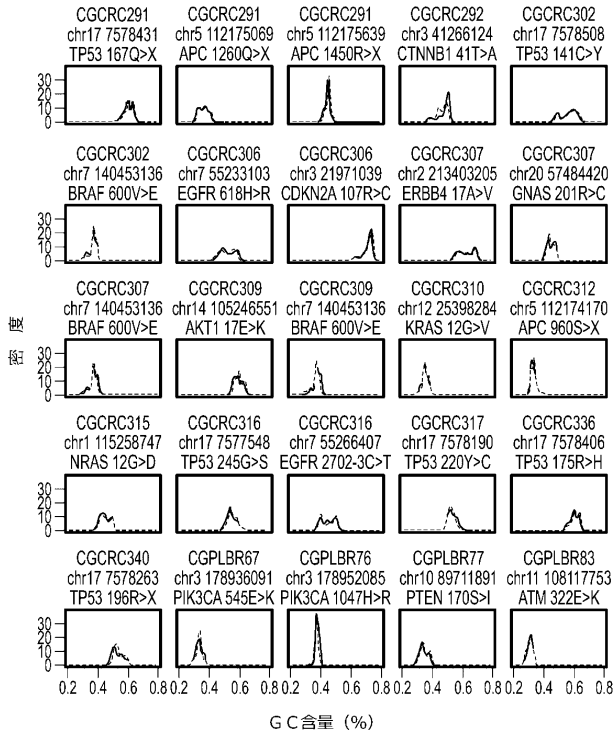
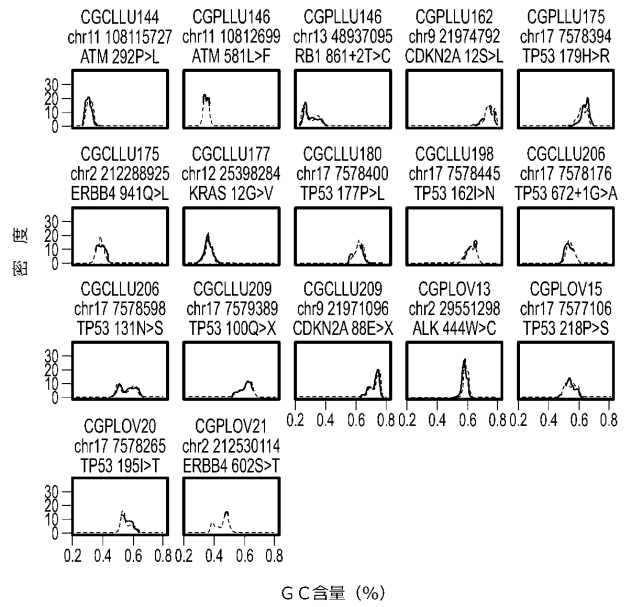


図 4 A

【 図 4 - 2 】



G C 含量 (%)

図 4 A (続き)

【 図 4 - 3 】

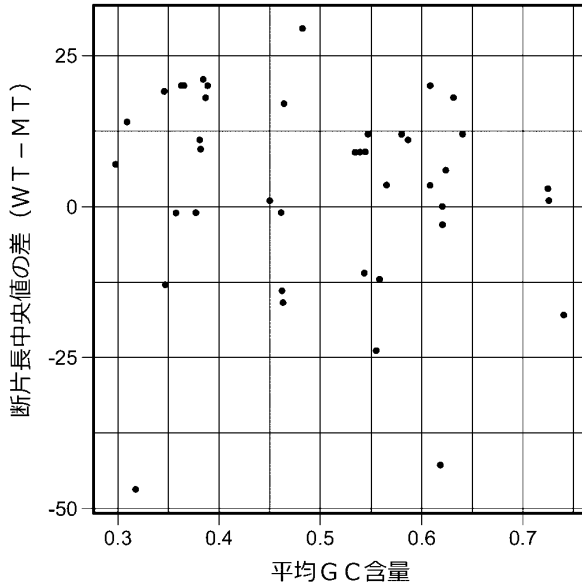
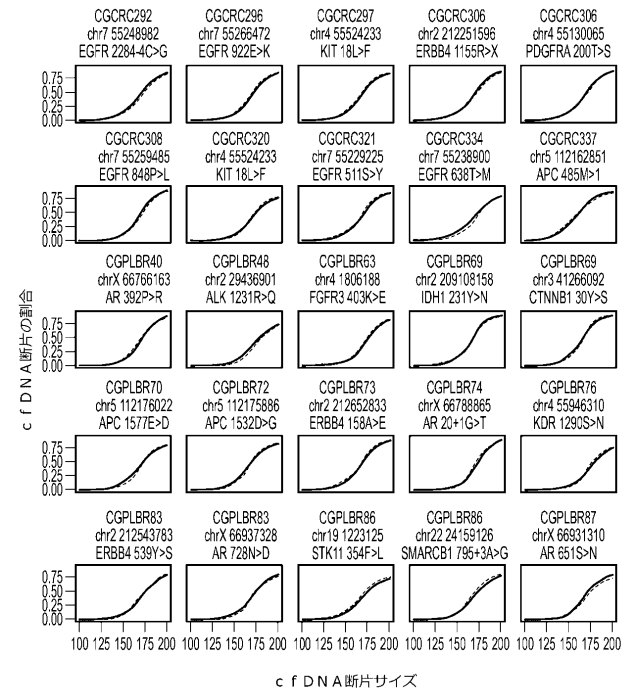


図 4 B

【 図 5 - 1 】



c f DNA 断片サイズ

図 5

10

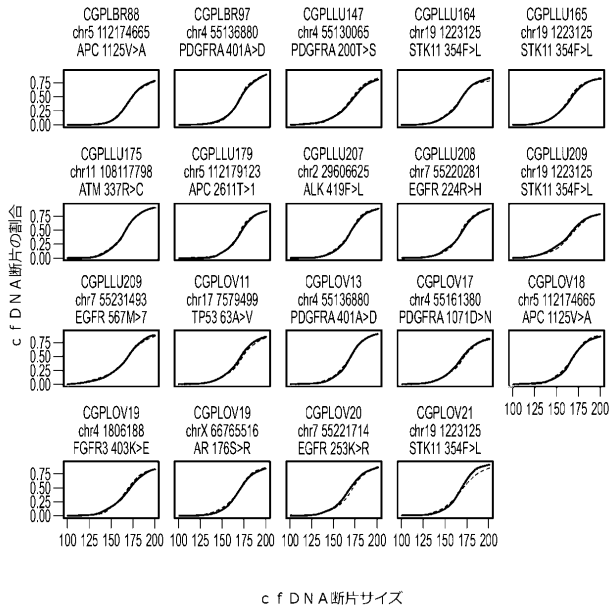
20

30

40

50

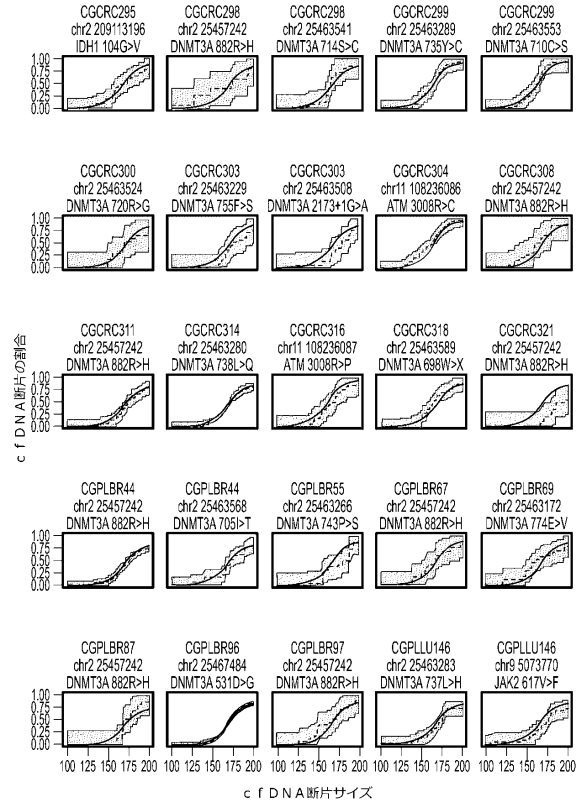
【 図 5 - 2 】



c f DNA断片サイズ

図 5 (続き)

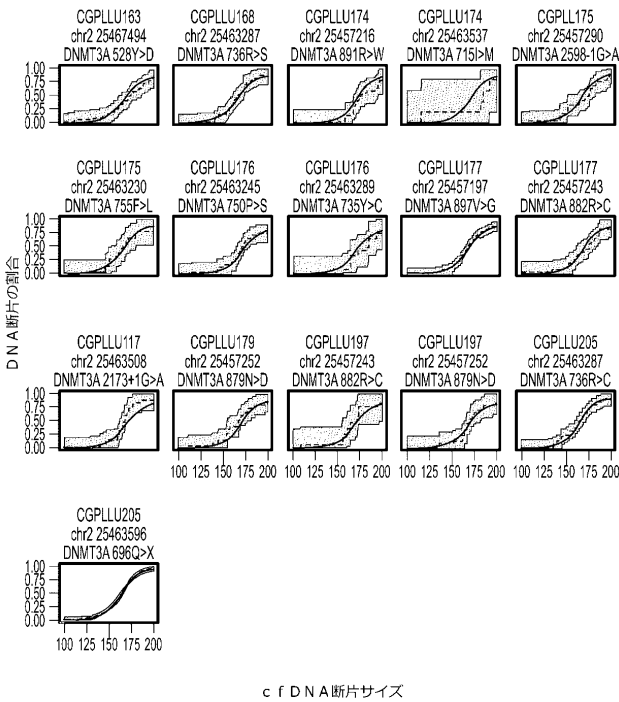
【 図 6 - 1 】



c f DNA断片サイズ

図 6

【 図 6 - 2 】



c f DNA断片サイズ

図 6 (続き)

【 図 7 - 1 】

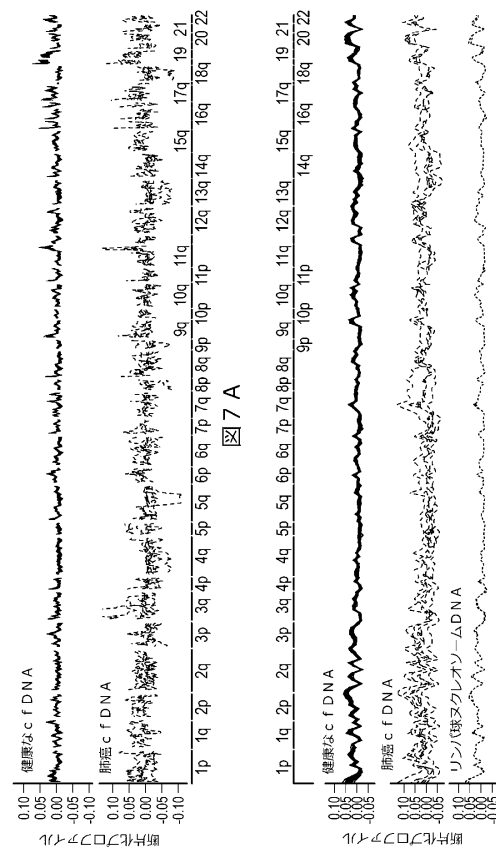


図 7 A

図 7 B

10

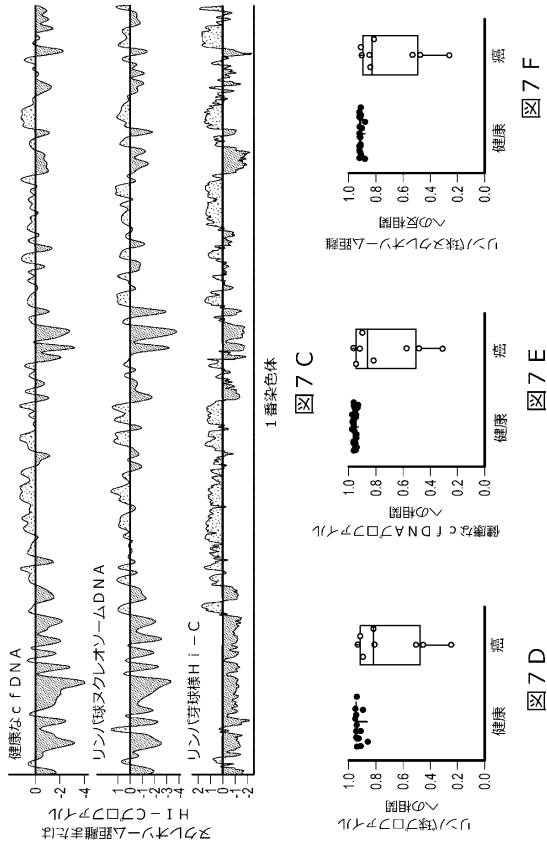
20

30

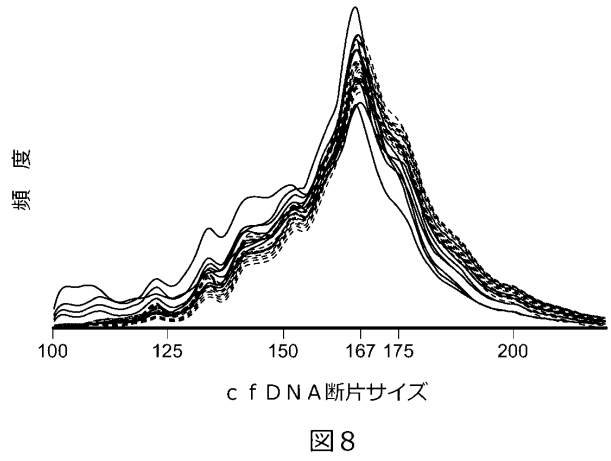
40

50

【 図 7 - 2 】



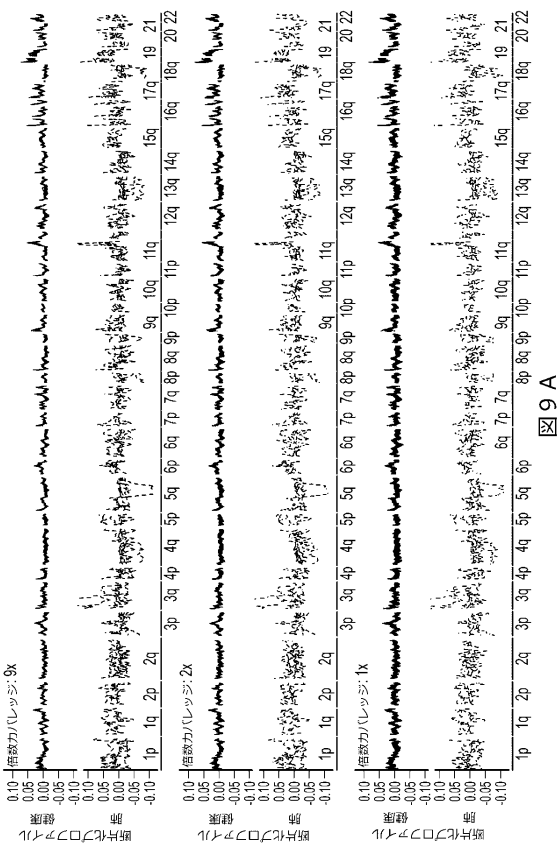
【 図 8 】



10

20

【 図 9 - 1 】



【 図 9 - 2 】

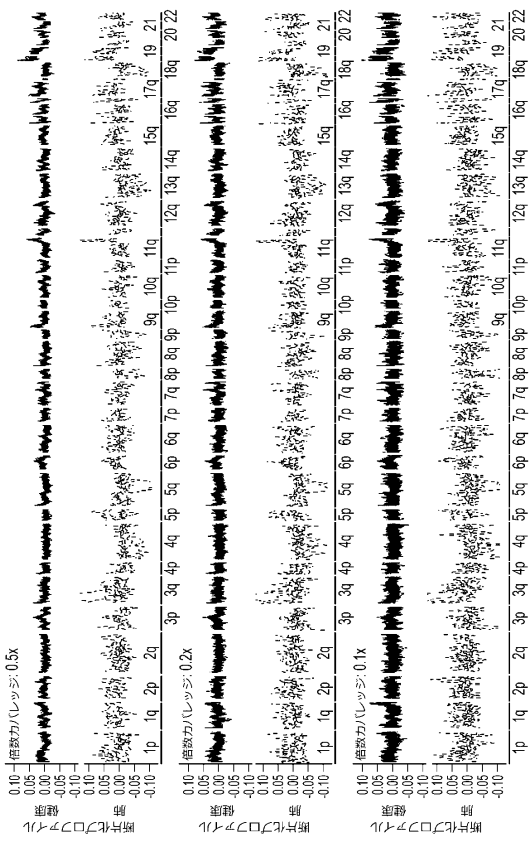


図 9 A (続き)

30

40

50

【 図 9 - 3 】

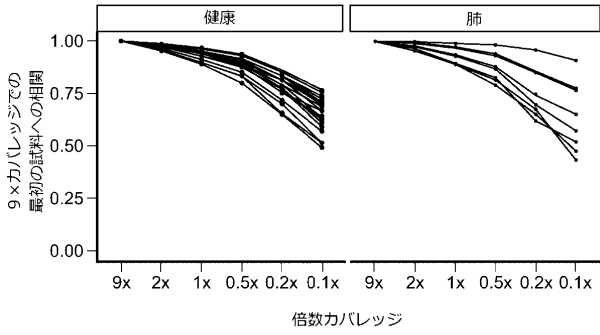


図 9 B

【 図 10 - 1 】

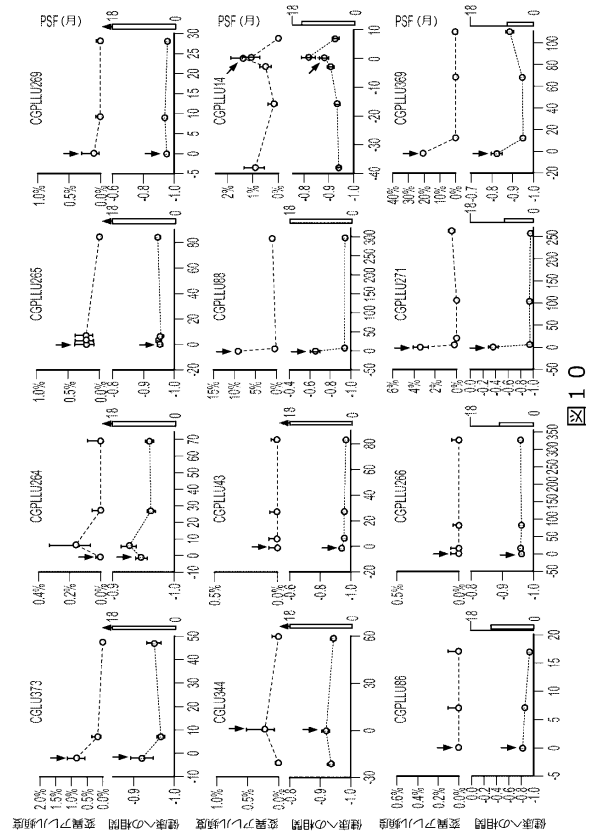


図 10

10

20

【 図 10 - 2 】

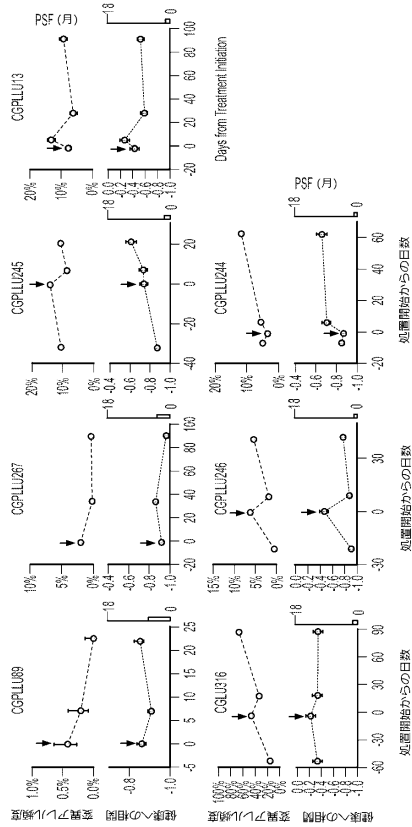


図 10 (続き)

【 図 11 - 1 】

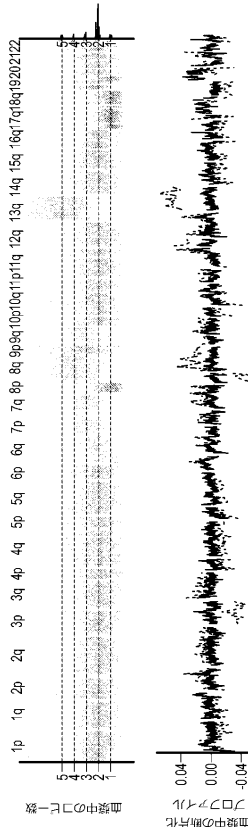


図 11 A

30

40

50

【 図 1 1 - 2 】

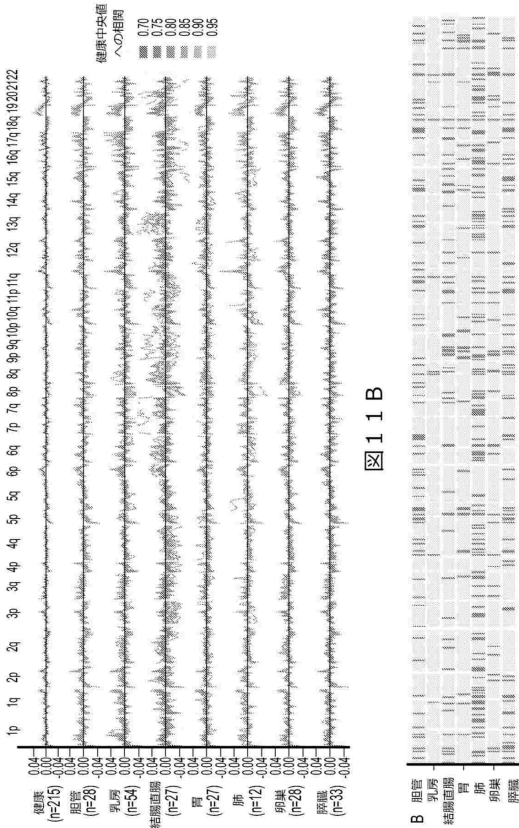


図 1 1 B

図 1 1 C

【 図 1 2 】

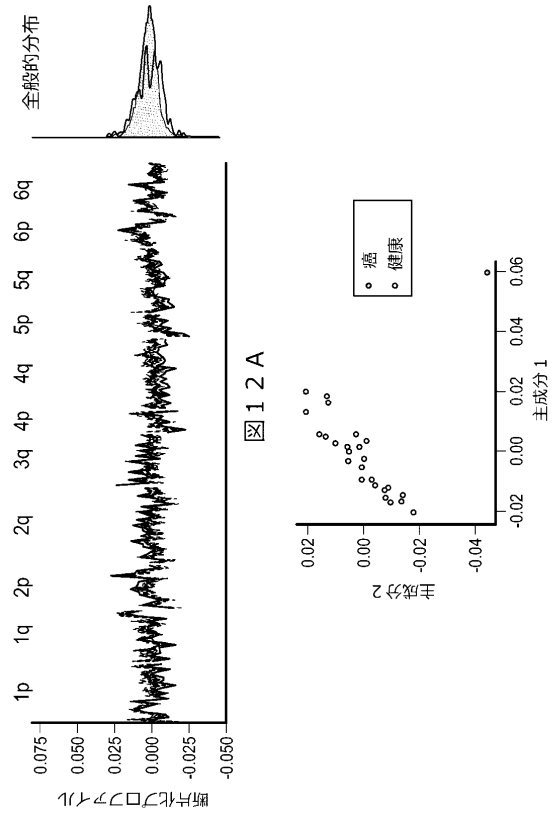


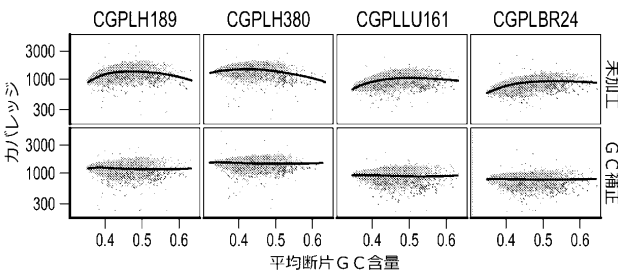
図 1 2 A

図 1 2 B

10

20

【 図 1 3 】



○ 1~18番、20~22番染色体 ● 19番染色体

図 1 3 A

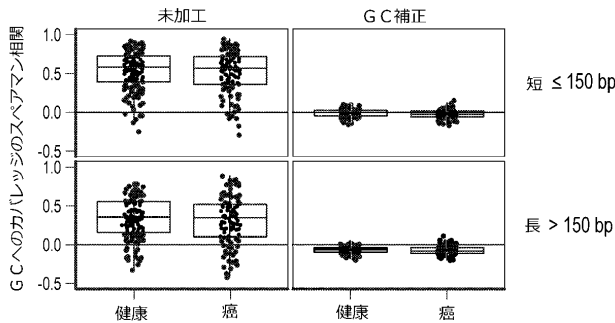


図 1 3 B

【 図 1 4 】

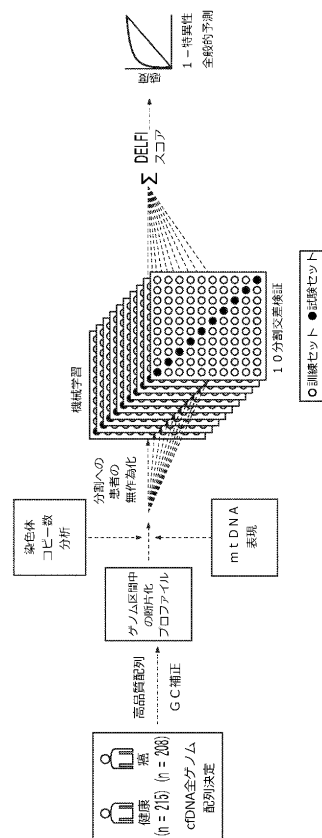


図 1 4

30

40

50

【 図 1 5 】

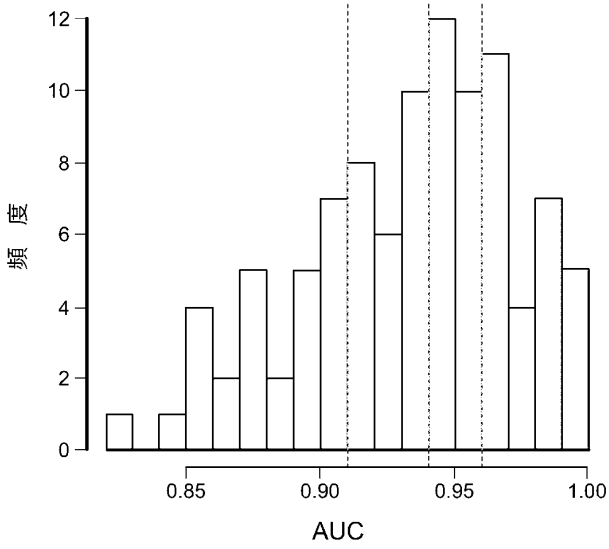


図 1 5

【 図 1 6 - 1 】

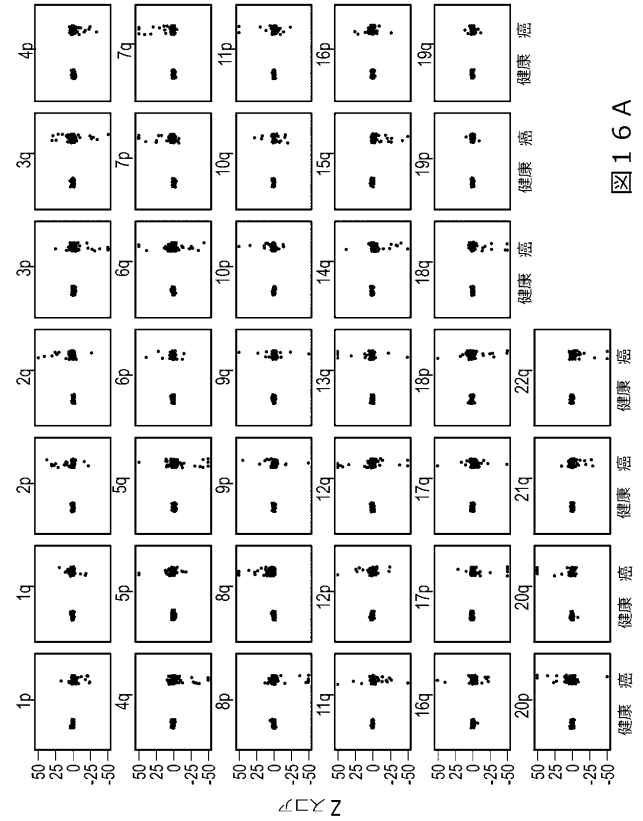


図 1 6 A

10

20

【 図 1 6 - 2 】

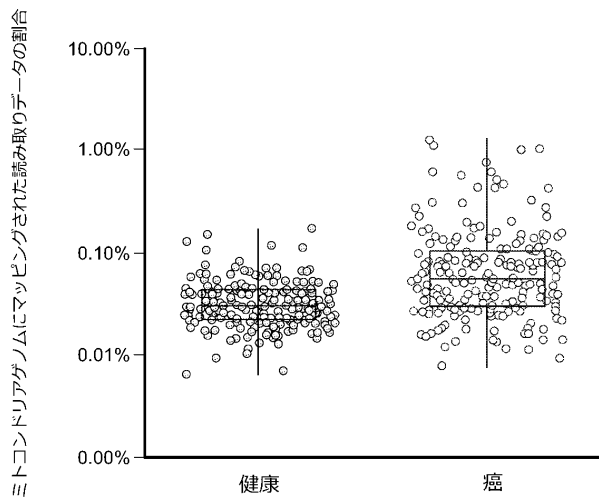


図 1 6 B

【 図 1 7 - 1 】

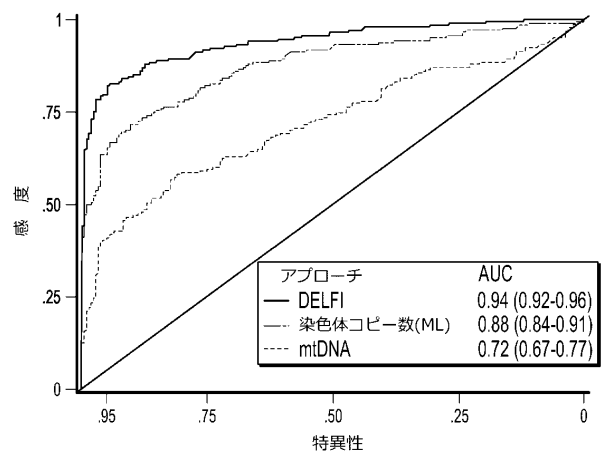


図 1 7 A

30

40

【 図 1 7 - 2 】

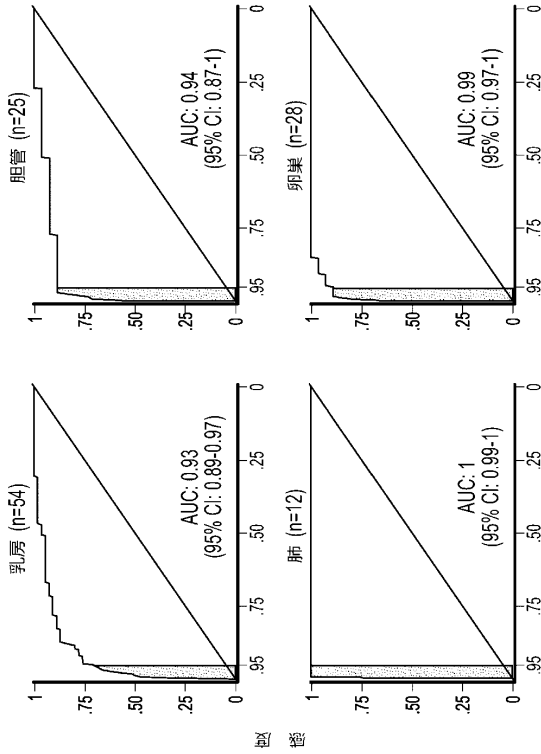


図 1 7 B

【 図 1 7 - 3 】

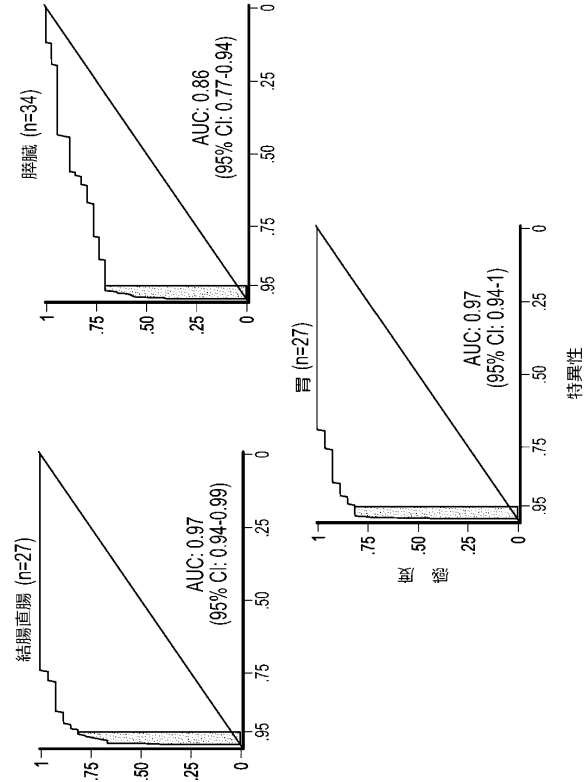


図 1 7 B (続き)

10

20

【 図 1 8 】

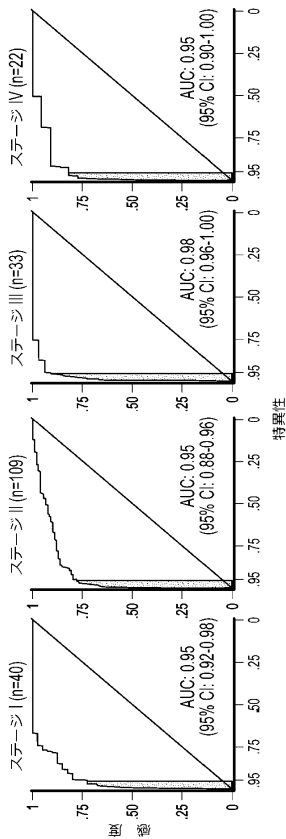


図 1 8

【 図 1 9 】

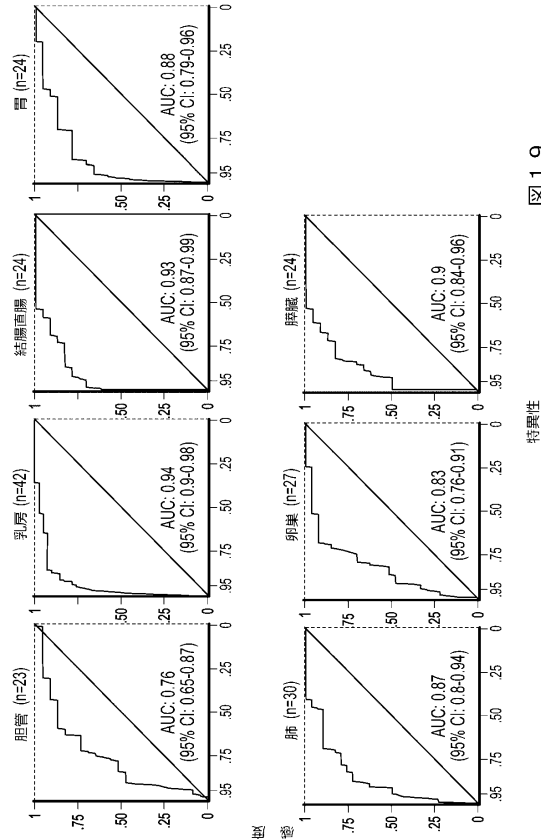


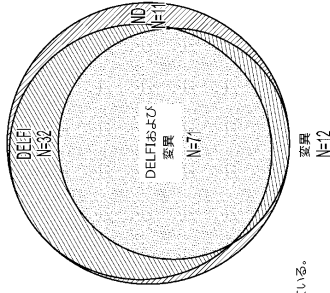
図 1 9

30

40

50

【 図 20 】



検出アプローチ*	分析された患者	検出された患者	検出された患者の割合	95% CI
DELFI	126	103	82%	74%-88%
変異	126	83	66%	57%-74%
DELFIおよび変異	126	115	91%	85%-96%
I	32	27	84%	67%-95%
II	52	48	92%	81%-98%
III	25	23	92%	74%-99%
IV	16	16	100%	78%-100%

*それぞれ、9.8%、>9.9%および9.8%の検出率で、DELFI、配列変異ならびにDELFIおよび変異の組み合わせを用いて検出 (Detection) を行った。ステータスを有する1人の患者を除くまでの症例に対して、ステータスごとに、感度が言われている。

図 20

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年4月4日(2024.4.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

哺乳動物のセルフリーDNA(c f DNA)断片化プロファイルを決定する方法であつて、 10

前記哺乳動物から取得された試料から取得されたc f DNA断片を加工して配列決定ライブラリーにすること；

配列決定された断片を取得するために、前記配列決定ライブラリーを低カバレッジ全ゲノム配列決定に供すること；

マッピングされた配列のウィンドウを取得するために、前記配列決定された断片をゲノムにマッピングすること；および

c f DNA断片長を決定するために、マッピングされた配列の前記ウィンドウを分析すること；

を含む、方法。

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

G 0 1 N 33/574(2006.01)

F I

G 0 1 N

33/574

Z

(72)発明者 クリスティアーノ, スティーブン

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 8 ボルチモア, ノース チャールズ ストリート 3 4 0 0

(72)発明者 レアル, アレサンドロ

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 8 ボルチモア, ノース チャールズ ストリート 3 4 0 0

(72)発明者 ファーレン, ジリアン エー.

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 3 1 ボルチモア, モイヤー ストリート 2 1 2 3

(72)発明者 フィクセル, ジェイコブ

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 8 ボルチモア, ノース チャールズ ストリート 3 4 0 0

(72)発明者 アドレフ, ヴィルモス

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 8 ボルチモア, ノース チャールズ ストリート 3 4 0 0

(72)発明者 シャルプ, ロバート ビー.

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 8 ボルチモア, ノース チャールズ ストリート 3 4 0 0