

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成31年4月11日(2019.4.11)

【公表番号】特表2017-500015(P2017-500015A)

【公表日】平成29年1月5日(2017.1.5)

【年通号数】公開・登録公報2017-001

【出願番号】特願2016-528200(P2016-528200)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2018.01)

G 16 B 30/00 (2019.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z

C 12 Q 1/68 A

G 06 F 19/22

【誤訳訂正書】

【提出日】平成31年2月28日(2019.2.28)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0037

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0037】

病原性寄生生物には、トリコモナス(*Trichomonas*)、トキソプラズマ(*Toxoplasma*)、ジアルジア(*Giardia*)、クリプトスporidium(*Cryptosporidium*)、プラスモジウム(*Plasmodium*)、リーシュマニア(*Leishmania*)、トリパノソーマ(*Trypanosoma*)、エントアメーバ(*Entamoeba*)、シストソーマ(*Schistosoma*)、フィラリエ(*Filariae*)、アスカリア(*Ascaria*)、ファスシオラ(*Fasciola*)が含まれ、限定的なものではないが、トリコモナス・バジナリス(*Trichomonas vaginalis*)、トキソプラズマ・ゴンジ(*Toxoplasma gondii*)、ジアルジア・インテスチナリス(*Giardia intestinalis*)、クリプトスporidium・パルバ(*Cryptosporidium parva*)、プラスモジウム・ファルシパラム(*Plasmodium falciparum*)、トリパノソーマ・クルージ(*Trypanosoma cruzi*)、エントアメーバ・ヒストリチカ(*Entamoeba histolytica*)、ジアルジア・ランブリア(*Giardia lamblia*)、ファスシオラ・ヘパチカ(*Fasciola hepatica*)などが含まれる。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0185

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0185】

本明細書には本発明の好ましい実施形態が示され記載されているが、そのような実施形態は単なる例示として記載されているに過ぎないことが当業者に明らかであろう。本発明から逸脱することなく多数の変更、変化および置換が今や当業者に認識されるであろう。本明細書に記載されている本発明の実施形態の種々の代替物が本発明の実施において使用されうると理解されるべきである。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定めるもので

あり、これらの特許請求の範囲の範囲内の方法および構造ならびにそれらの均等物が本発明に含まれると意図される。

本発明は一態様において、以下のものを提供する。

[項目 1]

非微生物宿主からの無細胞核酸のサンプルにおける微生物配列の存在および保有率を決定する方法であって、

(i) 個体からの無細胞核酸のサンプルを準備し、

(ii) 該核酸のハイスループット配列決定を行い、

(iii) バイオインフォマティクス分析を行って、分析から宿主配列を差し引き、

(iv) 該非微生物宿主のミクロビオーム評価のために微生物配列の存在および保有率を決定することを含む方法。

[項目 2]

複数の微生物の存在および保有率を決定する、項目 1 記載の方法。

[項目 3]

不偏性方法により増幅された核酸サンプルに関してハイスループット配列決定を行う、項目 1 記載の方法。

[項目 4]

少なくとも  $10^6$  個の配列リードを行う、項目 1 記載の方法。

[項目 5]

工程 (iv) が、微生物参照配列に位置づけられる配列の被覆率を宿主参照配列の被覆率と比較することを含む、項目 1 記載の方法。

[項目 6]

工程 (iii) が、参照宿主配列を特定し、参照宿主ゲノム内に存在する微生物配列または微生物擬態配列をマスクすることを含む、項目 1 記載の方法。

[項目 7]

工程 (iii) が、参照微生物配列を特定し、参照微生物ゲノム内に存在する宿主配列または宿主擬態配列をマスクすることを含む、項目 1 記載の方法。

[項目 8]

1 以上の病原性微生物の存在を確認する、項目 1 記載の方法。

[項目 9]

2 以上の時点で分析を行う、項目 1 記載の方法。

[項目 10]

前記の 1 以上の微生物核酸の量が感染状態または治療結果の指標となる、項目 1 記載の方法。

[項目 11]

所定閾値を超える前記の 1 以上の核酸の量が感染状態または治療結果の指標となる、項目 10 記載の方法。

[項目 12]

該サンプルが、血液、血清、尿および糞便からなる群から選択される、項目 1 記載の方法。

[項目 13]

該核酸が、二本鎖 DNA、一本鎖 DNA、一本鎖 DNA ヘアピン、DNA / RNA ハイブリッド、一本鎖 RNA、二本鎖 RNA および RNA ヘアピンからなる群から選択される、項目 1 記載の方法。

[項目 14]

該核酸が、二本鎖 DNA、一本鎖 DNA および cDNA からなる群から選択される、項目 1 記載の方法。

[項目 15]

該ミクロビオームの評価を該個体に提供することを更に含む、項目 1 記載の方法。

[項目 16]

該ミクロビオームの評価が治療に対する応答の決定をもたらす、項目1記載の方法。

[項目17]

該ミクロビオームの評価が人間生理機能の測定をもたらす、項目1記載の方法。

[項目18]

該ミクロビオームの評価を、該非微生物宿主に存在する微生物に関する病原性スコアを計算するために用いる、項目1記載の方法。

[項目19]

コンピュータ可読媒体であつて、

(i) 被験者からのサンプルにおいて検出された1以上の無細胞核酸からのハイスループットデータを受け取り、

(ii) バイオインフォマティクス分析を行つて、分析から宿主配列を差し引き、

(iv) 微生物配列の存在および保有率を決定する工程をコンピュータが実行するよう

に該コンピュータ可読媒体に記録された一組の命令を含むコンピュータ可読媒体。

[項目20]

被験者からのサンプルを準備し、

該サンプルにおける1以上のミクロビオーム核酸の存在または非存在を決定し、

前記の1以上のミクロビオーム核酸の存在に基づいて免疫能を評価することを含む、個体の免疫能を評価する方法。

[項目21]

該ミクロビオームのウイローム成分を分析する、項目20記載の方法。

[項目22]

前記の1以上のウイローム核酸の量の時間的相違が免疫能状態の指標となる、項目21記載の方法。

[項目23]

該個体におけるウイルス負荷を定量することを含む、項目21記載の方法。

[項目24]

アネロウイルスのウイルス負荷に関してウイロームを分析する、項目23記載の方法。

[項目25]

該個体が免疫抑制レジメンを受けている、項目20記載の方法。

[項目26]

該個体が移植を受けている、項目20記載の方法。

[項目27]

該移植が、骨髄移植、腎臓移植、心臓移植、肝臓移植、膵臓移植、肺移植、腸移植および皮膚移植からなる群から選択される、項目26記載の方法。

[項目28]

該核酸が循環性無細胞DNAである、項目20記載の方法。

[項目29]

前記の1以上の核酸の存在または非存在を、配列決定、核酸アレイまたはPCRからなる群から選択される方法により決定する、項目20記載の方法。

[項目30]

前記の1以上の核酸の量が移植状態または結果の指標となる、項目20記載の方法。

[項目31]

所定閾値を超える前記の1以上の核酸の量が移植状態または結果の指標となる、項目30記載の方法。

[項目32]

該閾値が、移植拒絶または他の病状の証拠を示さない臨床的に安定な移植後患者に関する規範値である、項目30記載の方法。

[項目33]

移植の結果または状態によって異なる所定閾値が存在する、項目30記載の方法。

[項目34]

免疫能の評価に従い該個体を治療することを更に含む、項目30記載の方法。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

非微生物宿主からの無細胞核酸を含むサンプル中の、少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物を検出する方法であって、

(i) 前記非微生物宿主からの無細胞核酸を含む前記サンプルであって、前記無細胞核酸が微生物無細胞核酸であるサンプルを準備し、

(ii) 前記無細胞核酸のハイスループット配列決定を行い、前記微生物無細胞核酸からの配列リード(Sequence reads)を含む、配列リードを生成し、

(iii) 前記微生物無細胞核酸からの配列リードに基づいて、前記サンプル中の、前記少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物を、種または株レベルで検出することを含む方法。

【請求項2】

複数の細菌、真菌または寄生生物を検出する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

不偏性方法により生成された核酸サンプルに関して前記ハイスループット配列決定を行う、請求項1記載の方法。

【請求項4】

少なくとも $10^6$ 個の配列リードを行う、請求項1記載の方法。

【請求項5】

前記(iii)が、微生物参照配列に位置づけられる配列の被覆率を宿主参照配列の被覆率と比較することを含む、請求項1記載の方法。

【請求項6】

前記微生物無細胞核酸からの配列リードについて、バイオインフォマティクス分析を行うことを更に含む、請求項1記載の方法。

【請求項7】

前記工程(iii)で検出される前記少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物が病原性である、請求項1記載の方法。

【請求項8】

2以上の時点で前記検出を行う、請求項1記載の方法。

【請求項9】

前記少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物の量が感染状態または治療結果の指標となる、請求項1記載の方法。

【請求項10】

所定閾値を超える前記少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物の量が感染状態または治療結果の指標となる、請求項9記載の方法。

【請求項11】

前記サンプルが、血液、血清および糞便からなる群から選択される、請求項1記載の方法。

【請求項12】

前記微生物無細胞核酸が、一本鎖RNA、二本鎖RNAおよびRNAヘアピンからなる群から選択される、少なくとも一つの核酸を含む、請求項1記載の方法。

【請求項13】

前記微生物無細胞核酸が、二本鎖DNA、一本鎖DNAからなる群から選択される、少なくとも一つの核酸を含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 1 4】**

少なくとも 1 0 0 0 個の配列リードを行う、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 1 5】**

前記不偏性方法が、ユニバーサルプライマーでの増幅を行うことを含む、請求項 3 記載の方法。

**【請求項 1 6】**

前記不偏性方法が、前記核酸にアダプターを連結し、前記アダプターに特異的なプライマーで増幅を行うことを含む、請求項 3 記載の方法。

**【請求項 1 7】**

前記真菌が検出される、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 1 8】**

前記細菌が検出される、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 1 9】**

前記無細胞核酸が、少なくとも 5 個の異なる標的核酸を含む、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 2 0】**

前記無細胞核酸が、少なくとも 2 0 個の異なる標的核酸を含む、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 2 1】**

前記感染状態が、感染の存在または非存在である、請求項 9 記載の方法。

**【請求項 2 2】**

前記少なくとも一つの細菌、真菌または寄生生物の量が、前記感染状態を示し、前記感染状態が潜伏ウイルスの活発な感染である、請求項 9 記載の方法。

**【請求項 2 3】**

前記サンプルが血清または血漿である、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 2 4】**

前記バイオインフォマティクス分析の実行が、前記バイオインフォマティクス分析において用いられるデータベースから、宿主参照配列を差し引くことを含む、請求項 6 記載の方法。

**【請求項 2 5】**

前記寄生生物が検出される、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 2 6】**

前記少なくとも一つの細菌を、種または株レベルで同定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 2 7】**

前記少なくとも一つの真菌を、種または株レベルで同定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 2 8】**

前記少なくとも一つの寄生生物を、種または株レベルで同定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 2 9】**

前記工程 ( i i ) の前に、前記微生物無細胞核酸にアダプターを付加し、アダプター付加微生物無細胞核酸を作り出すことを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3 0】**

第 2 のサンプルが、異なる時点で前記非微生物宿主から採取され、分析される、請求項 1 に記載の方法。