

【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27年11月12日(2015.11.12)

【公表番号】特表2014-531901(P2014-531901A)  
 【公表日】平成26年12月4日(2014.12.4)  
 【年通号数】公開・登録公報2014-066  
 【出願番号】特願2014-531315(P2014-531315)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)  
 C 1 2 M 1/00 (2006.01)  
 C 1 2 M 1/34 (2006.01)  
 G 0 1 N 27/00 (2006.01)  
 G 0 1 N 27/02 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A Z  
 C 1 2 M 1/00 A  
 C 1 2 M 1/34 Z  
 G 0 1 N 27/00 Z  
 G 0 1 N 27/02 D  
 C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】  
 【提出日】平成27年9月24日(2015.9.24)  
 【手続補正1】  
 【補正対象書類名】明細書  
 【補正対象項目名】0032  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【0032】

さらに、本発明の第二および第三の態様によれば、類似の方法を実行する解析装置が提供される。

ポリマーに関係する少なくとも1つのシリーズの測定からポリマー中のポリマー単位の配列を推定する方法であって、それぞれの測定値が、kが正整数であるk個のポリマー単位のグループであるkマーに依拠しており、可能なkマーのセットについて、起点kマーから目的地kマーまでの遷移の可能性を表す遷移重み付け、およびそのkマーについての所与の測定値を観測する可能性を表すそれぞれのkマーに関する放出重み付けを含むモデルを提供するステップ、ならびに前記モデルを参照する解析技法を使用して測定のシリーズを解析し、測定のシリーズがポリマー単位の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度に基づいて、ポリマー中のポリマー単位の少なくとも1つの推定された配列を推定するステップを含む方法が好ましい。

遷移重み付けおよび放出重み付けのうちの少なくとも1つが非2値変数の値を含んでもよい。

遷移重み付けと放出重み付けの両方が非2値変数の値を含んでもよい。

放出重み付けがあらゆる可能な測定を観測する非ゼロの可能性を表してもよい。

それぞれのkマーに関する放出重み付けが測定値にわたり単峰性または多峰性分布を有してもよい。

それぞれのkマーに関する放出重み付けが測定値にわたりガウス分布、ラプラス分布、四角分布または三角分布を有してもよい。

k が複数の整数であってもよい。

遷移重み付けが、起点 k マーから、最初の ( k - 1 ) 個のポリマー単位が前記起点 k マーの最後の ( k - 1 ) 個のポリマー単位である配列を有する目的地 k マーまでの遷移である好ましい遷移の非ゼロ可能性を表し、起点 k マーから前記起点 k マーとは異なる配列を有し、最初の ( k - 1 ) 個のポリマー単位が前記起点 k マーの最後の ( k - 1 ) 個のポリマー単位ではない目的地 k マーまでの遷移である好ましくない遷移のより低い可能性を表してもよい。

遷移重み付けが前記好ましくない遷移のうちの少なくとも一部の非ゼロ可能性を表してもよい。

遷移重み付けが、起点 k マーから、最初の ( k - 2 ) 個のポリマー単位が前記起点 k マーの最後の ( k - 2 ) 個のポリマー単位である配列を有する目的地 k マーまでの好ましくない遷移の非ゼロ可能性を表してもよい。

解析技法が確率的技法であってもよい。

遷移重み付けが確率であり、および / または放出重み付けが確率であってもよい。

モデルが隠れマルコフモデルであってもよい。

解析のステップが、測定シリーズがポリマー単位の推定された配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表す推定された配列またはそれぞれの推定された配列に関してクオリティスコアを導き出すことをさらに含んでもよい。

解析のステップが、ポリマー単位の推定された配列に対応する個々の k マーに関するクオリティスコアであって、測定シリーズが個々の k マーを含む配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表すクオリティスコアを導き出すことをさらに含んでもよい。

解析のステップが、ポリマー単位の推定された配列に対応する k マーの配列に関するクオリティスコアであって、測定シリーズが k マーの所与の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表すクオリティスコアを導き出すことをさらに含んでもよい。

解析のステップがポリマー中のポリマー単位の複数の推定された配列を導き出してもよい。

ポリマー中のポリマー単位の少なくとも 1 つの推定された配列を推定するステップが、測定シリーズが個々の k マーにより生み出されるというモデルにより予測される尤度に基づいて k マーの配列を推定するステップ、および k マーの推定された配列からポリマー単位の配列を推定するステップを含んでもよい。

ポリマー中のポリマー単位の少なくとも 1 つの推定された配列を推定するステップが、測定シリーズが k マーの全体の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度に基づいて k マーの少なくとも 1 つの配列を推定するステップ、および k マーの推定された配列からポリマー単位の配列を推定するステップを含んでもよい。

測定の少なくとも 1 つのシリーズにおいて、予め定められた数の測定がそれぞれの k マーに依拠しており、予め定められた数が 1 以上であってもよい。

グループにおける測定の数についての先験的知識なしで、複数の測定のグループが同じ k マーに依拠している測定の入力シリーズを含む少なくとも 1 つの入力シグナルを受けるステップ、および解析のステップ前に、少なくとも 1 つの入力シグナルを処理して、連続するグループの測定を同定し、それぞれの同定されたグループに関して前記予め定められた数の測定を導き出し、解析のステップがこのようにして導き出された測定のシリーズまたはそれぞれの測定のシリーズで実施されるステップを含んでもよい。

少なくとも 1 つのシリーズの測定において、複数の測定のグループが、前記グループにおける測定の数について先験的知識なしで同じ k マーに依拠してもよい。

ポリマーの前記測定を行うことをさらに含んでもよい。

ポリマーの前記測定がナノポア中を通るポリマーの移行中に行われてもよい。

ポリマーの移行が、複数の測定のグループが同じ k マーに依拠するように実施されてもよい。

ナノポア中を通るポリマーの移行は一方向のみに動く様式で実施されてもよい。

ポリマーがポリヌクレオチドであり、ポリマー単位がヌクレオチドであってもよい。

測定シリーズが、ナノポア中を通るポリマーの移行中に行われる測定であってもよい。

。

ナノポアが生物学的ポアであってもよい。

測定が、電流測定、インピーダンス測定、トンネリング測定、FET測定および光学的測定のうちの1つまたは複数を含んでもよい。

方法が、それぞれが前記ポリマーに関係している測定の複数のシリーズで実施され、それぞれの測定の値がkマーに依拠しており、解析技法が、複数のそれぞれの次元で配置されている測定の複数のシリーズを扱ってもよい。

測定のそれぞれのシリーズが同じポリマーの同じ領域の測定であってもよい。

測定の複数のシリーズが測定の2つのシリーズを含み、測定の最初のシリーズがポリマーの第1の領域の測定であり、測定の第2のシリーズが前記第1の領域に関係しているポリマーの第2の領域の測定であってもよい。

前記第1の領域と第2の領域が同じポリマーの関係する領域であってもよい。

前記関係する領域が相補的であってもよい。

モデルがメモリに記憶されてもよい。

モデルを提供し測定を解析するステップが、ハードウェア装置においてまたはコンピュータ装置において実行されてもよい。

前記方法を実施するように構成されたデバイスが好ましい。

ポリマー中のポリマー単位の配列を前記ポリマーに関係のある測定の少なくとも1つのシリーズから推定するための解析デバイスであって、それぞれの測定の値が、kが複数の整数であるk個のポリマー単位のグループであるkマーに依拠しており、方法が可能なkマーのセットについて、起点kマーから目的地kマーまでの遷移の可能性を表す遷移重み付け、およびそのkマーの所与の測定値を観測する可能性を表すそれぞれのkマーに関する放出重み付けを含むモデルを記憶するメモリ、ならびに前記モデルを参照する解析技法を使用して、測定のシリーズを解析し、測定のシリーズがポリマー単位の配列により生み出されるといふモデルにより予測される尤度に基づいて、ポリマー中のポリマー単位の少なくとも1つの推定された配列を推定するように構成された解析ユニットを含む、解析デバイスが好ましい。

ポリマーの前記測定を行うように構成された測定デバイス、および請求項38または39に記載の解析デバイスを備える塩基配列決定装置が好ましい。

ポリマー単位を含むポリマーを解析する方法であって、ナノポアを横断して電圧が印加されている間にナノポア中を通るポリマーの移行中に、kが正整数である前記ポリマーのk個のポリマー単位であるナノポア中のkマーの正体に依拠している測定を行い、前記測定が個々のkマーに関して、ナノポアを横断して印加される前記電圧の異なるレベルで行われる別々の測定を含むステップ、および前記電圧の前記異なるレベルで測定を解析してポリマーの少なくとも一部の正体を決定するステップを含む方法が好ましい。

測定を行う前記ステップが、異なる移行において電圧がナノポアを横断して異なるレベルで印加されている間に、ナノポア中を通る前記ポリマーの複数の移行を実施するステップ、前記異なる移行中に、ナノポアを横断する前記電圧の前記異なるレベルでの前記kマーの測定を行うステップを含んでもよい。

前記複数の移行がナノポア中を通る第1の方向への移行およびナノポア中を通る前記第1の方向とは反対の方向への移行を含んでもよい。

測定を行う前記ステップが、電圧がナノポアを横断して印加されている間に、ナノポア中を通る前記ポリマーの移行を実施するステップ、ナノポア中を通るポリマーの前記移行中に、前記測定が前記個々のkマーに依拠している状態の持続期間よりも短い繰返し周期を有する周期で前記電圧の前記異なるレベルを印加するステップ、および前記周期において前記電圧の前記異なるレベルでの前記個々のkマーに関して前記別々の測定を行うステップを含んでもよい。

ポリマー単位を含むポリマーの測定を行う方法であって、電圧がナノポアを横断して印加されている間に、ナノポア中を通る前記ポリマーの移行を実施するステップ、ナノポア中を通るポリマーの前記移行中に、前記電圧の異なるレベルを周期的に印加するステップ、およびkが正整数である前記ポリマーのk個のポリマー単位であるナノポア中のkマーの正体に依拠している測定であり、前記測定が個々のkマーに依拠している状態よりも短い繰返し周期を有する前記周期で前記電圧の前記異なるレベルでの前記個々のkマーに関する別々の測定を含む測定を行うステップを含む方法が好ましい。

繰返し周期が最長で3秒であってもよい。

繰返し周期が少なくとも0.5msであってもよい。

前記電圧の異なるレベルがそれぞれ、前記周期の部分的期間連続して印加されてもよい。

前記周期における前記電圧の前記異なるレベル間の遷移が、電圧変化により引き起こされる測定の容量性遷移を減少するように形作られてもよい。

測定を解析してポリマーの正体を決定することをさらにも含む。

測定を解析してポリマーの正体を推定するステップが、測定を解析してポリマー中のポリマー単位の配列を推定することをさらにも含む。

測定を解析してポリマー中のポリマー単位の配列を推定するステップが、可能なkマーのセットについて、起点kマーから目的地kマーまでの遷移の可能性を表す遷移重み付け、およびそのkマーについての所与の測定値を観測する可能性を表すそれぞれのkマーに関する放出重み付けを含むモデルを提供するステップ、ならびに前記モデルを参照し、ナノポアを横断する電圧の異なるレベルの印加下で行われる測定を扱う解析技法を使用して測定を複数の次元での測定として解析し、測定のシリーズがポリマー単位の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度に基づいて、ポリマー中のポリマー単位の少なくとも1つの推定された配列を推定するステップをさらにも含む。

測定を解析してポリマーの正体を決定するステップが、前記異なる電圧レベルで行われる別々の測定を比較して、前記測定が前記個々のkマーに依拠している状態間の遷移を決定することをさらにも含む。

電圧の前記異なるレベル間の違いが10mVから1.5Vの範囲であってもよい。

前記異なるレベルが2つの異なるレベルからなってもよい。

電圧の異なるレベルが同じ極性であってもよい。

前記測定がナノポア中を通るイオン電流の流れの測定であってもよい。

ナノポア中を通るイオン電流の流れの前記測定が、ナノポア中を通るDCイオン電流の流れの測定であってもよい。

前記電圧の前記異なるレベルのそれぞれ1つでグループの複数の測定を行うステップ、および前記異なるレベルのそれぞれ1つでの複数の測定のそれぞれのグループから1つまたは複数のサマリー測定を導き出して、個々のkマーに関して前記別々の測定を構成するステップをさらにも含む。

前記電圧の異なるレベルがそれぞれ一定期間連続して印加され、それぞれ各自の期間中、それぞれの期間中に印加される前記電圧の前記異なるレベルのうちの1つでグループのうちの1つの複数の測定を行ってもよい。

ポリマーがポリヌクレオチドであり、ポリマー単位がヌクレオチドであってもよい。

ナノポアが生物学的ポアであってもよい。

ナノポア中を通るポリマーの前記移行が、連続するkマーがナノポアで登録される一方向のみに動く様式で実施されてもよい。

ポリマーの移行が分子歯止めにより制御されてもよい。

分子歯止めが酵素であってもよい。

ポリマー単位を含むポリマーを解析するための装置であって、ポリマーが中を通って移行しうるナノポア、ナノポア中を通るポリマーの移行中にナノポアを横断して電圧を印加するように配置された制御回路、およびkが正整数であるポリマーのk個のポリマー単位

である k マーの正体に依拠している測定をナノポア中で行うように配置された測定回路であって、前記制御回路がナノポアを横断して電圧の異なるレベルを印加するように配置され、前記測定回路がナノポアを横断して印加される前記電圧の異なるレベルで、個々の k マーに関して別々の測定を行うように配置されている、測定回路、および前記電圧の前記異なるレベルで測定を解析してポリマーの少なくとも一部の正体を決定するように配置されている解析ユニットを備える装置が好ましい。

制御回路が、ナノポア中を通る前記ポリマーの異なる移行中にナノポアを横断して電圧の異なるレベルを印加するように配置されており、測定回路が前記電圧の異なるレベルでの前記異なる移行中に、個々の k マーに関して別々の測定を行うように配置されていてもよい。

制御回路が、ナノポア中を通るポリマーの前記移行中に、前記測定が前記個々の k マーに依拠している状態の持続時間よりも短い繰返し周期を有する周期で前記電圧の前記異なるレベルを印加するように配置されており、測定回路が前記周期において前記電圧の前記異なるレベルで、個々の k マーに関して別々の測定を行うように配置されていてもよい。

ポリマー単位を含むポリマーを測定するための装置であって、ポリマーが中を通過して移行しうるナノポア、ナノポア中を通るポリマーの移行中に、前記測定が前記個々の k マーに依拠している状態の持続時間よりも短い繰返し周期を有する周期で前記電圧の異なるレベルを印加するように配置されている制御回路、およびナノポアを横断して印加される前記電圧の異なるレベルで、個々の k マーに関して別々の測定を行うように配置されている測定回路を備える装置が好ましい。

前記電圧の前記異なるレベルで測定を解析して、ポリマーの少なくとも一部の正体を決定するように配置されている解析ユニットをさらに備えてもよい。

【手続補正 2】

【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】

ナノポア中を通るポリマーの移行中に行われる測定からポリマー中のポリマー単位の配列を推定する方法であって、それぞれの測定値が、k が複数の正整数である k 個のポリマー単位のグループである k マーに依拠しており、

可能な k マーのセットについて、

起点 k マーから目的地 k マーまでの遷移の可能性を表す遷移重み付け、および

その k マーについての所与の測定値を観測する可能性を表すそれぞれの k マーに関する放出重み付け

を含むモデルを提供するステップ、

グループにおける測定の数についての先験的知識なしで、複数の測定のグループが同じ k マーに依拠している測定の入力シリーズを含む少なくとも 1 つの入力シグナルを受けるステップ、

少なくとも 1 つの入力シグナルを処理して、連続するグループの測定を同定し、それぞれの同定されたグループに関して予め定められた数の測定を導き出し、前記予め定められた数は 1 以上であり、これにより入力シグナルまたはそれぞれの入力シグナルに関する測定のシリーズを導き出すステップ、ならびに

これにより導き出された測定のシリーズを前記モデルを参照する解析技法を使用して解析し、測定のシリーズがポリマー単位の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度に基づいて、ポリマー中のポリマー単位の少なくとも 1 つの推定された配列を推定するステップ

を含む方法。

【請求項 2】

放出重み付けがあらゆる可能な測定を観測する非ゼロの可能性を表す、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

それぞれの  $k$  マーに関する放出重み付けが測定値にわたり単峰性または多峰性分布を有する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

それぞれの  $k$  マーに関する放出重み付けが測定値にわたりガウス分布、ラプラス分布、四角分布または三角分布を有する、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

遷移重み付けが、起点  $k$  マーから、最初の  $(k - 1)$  個のポリマー単位が前記起点  $k$  マーの最後の  $(k - 1)$  個のポリマー単位である配列を有する目的地  $k$  マーまでの遷移である好ましい遷移の非ゼロ可能性を表し、起点  $k$  マーから前記起点  $k$  マーとは異なる配列を有し、最初の  $(k - 1)$  個のポリマー単位が前記起点  $k$  マーの最後の  $(k - 1)$  個のポリマー単位ではない目的地  $k$  マーまでの遷移である好ましくない遷移のより低い可能性を表す、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

遷移重み付けが前記好ましくない遷移のうちの少なくとも一部の非ゼロ可能性を表す、請求項5に記載の方法。

【請求項 7】

遷移重み付けが、起点  $k$  マーから、最初の  $(k - 2)$  個のポリマー単位が前記起点  $k$  マーの最後の  $(k - 2)$  個のポリマー単位である配列を有する目的地  $k$  マーまでの好ましくない遷移の非ゼロ可能性を表す、請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

解析技法が確率的技法である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

遷移重み付けが確率であり、および / または放出重み付けが確率である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

モデルが隠れマルコフモデルである、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

解析のステップが、測定のシリーズがポリマー単位の推定された配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表す推定された配列またはそれぞれの推定された配列に関してクオリティスコアを導き出すことをさらに含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

解析のステップが、ポリマー単位の推定された配列に対応する個々の  $k$  マーに関するクオリティスコアであって、測定のシリーズが個々の  $k$  マーを含む配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表すクオリティスコアを導き出すことをさらに含む、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

解析のステップが、ポリマー単位の推定された配列に対応する  $k$  マーの配列に関するクオリティスコアであって、測定のシリーズが  $k$  マーの所与の配列により生み出されるというモデルにより予測される尤度を表すクオリティスコアを導き出すことをさらに含む、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

解析のステップがポリマー中のポリマー単位の複数の推定された配列を導き出す、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

ポリマー中のポリマー単位の少なくとも 1 つの推定された配列を推定するステップが、測定のシリーズが個々の  $k$  マーにより生み出されるというモデルにより予測される尤度に

基づいてkマーの配列を推定するステップ、および  
kマーの推定された配列からポリマー単位の配列を推定するステップ  
を含む、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

ポリマー中のポリマー単位の少なくとも1つの推定された配列を推定するステップが、  
測定シリーズがkマーの全体の配列により生み出されるといモデルにより予測される  
尤度に基づいてkマーの少なくとも1つの配列を推定するステップ、および  
kマーの推定された配列からポリマー単位の配列を推定するステップ  
を含む、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

前記測定は、一方向のみに動く様式でナノポア中を通るポリマーの移行中に行われる、  
請求項1から16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

ポリマーがポリヌクレオチドであり、ポリマー単位がヌクレオチドである、請求項24  
から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

ナノポアが生物学的ポアである、請求項1から18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

測定が、電流測定、インピーダンス測定、トンネリング測定、FET測定および光学的  
測定のうちの一つまたは複数を含む、請求項1から19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

方法が、それぞれが前記ポリマーに関係している測定の複数の入力シリーズで実施され  
、それぞれの測定の値がkマーに依拠しており、  
解析技法が、複数のそれぞれの次元で配置されている測定の前記複数のシリーズを扱う、  
請求項1から20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

測定のそれぞれの入力シリーズが同じポリマーの同じ領域の測定である、請求項21に  
記載の方法。

【請求項23】

測定の複数の入力シリーズが測定の2つのシリーズを含み、測定の最初の入力シリーズ  
がポリマーの第1の領域の測定であり、測定の第2の入力シリーズが前記第1の領域に関  
係しているポリマーの第2の領域の測定である、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

前記第1の領域と第2の領域が同じポリマーの関係する領域である、請求項23に記載  
の方法。

【請求項25】

前記関係する領域が相補的である、請求項23または24に記載の方法。

【請求項26】

モデルがメモリに記憶される、請求項1から25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

モデルを提供し測定を解析するステップが、ハードウェア装置においてまたはコンピュ  
ータ装置において実行される、請求項1から26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

ポリマーの前記測定を行うことをさらに含む、請求項1から27のいずれか一項に記載  
の方法。

【請求項29】

請求項1から27のいずれか一項に記載の方法を実施するように構成された解析デバイ  
ス。

【請求項30】

請求項29に記載の解析デバイス、およびポリマーの前記測定を行うように構成された

測定デバイス  
を備える塩基配列決定装置。