

【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29年6月8日 (2017.6.8)

【公表番号】特表2016-516449(P2016-516449A)

【公表日】平成28年6月9日 (2016.6.9)

【年通号数】公開・登録公報2016-035

【出願番号】特願2016-512364(P2016-512364)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成29年4月20日 (2017.4.20)

【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】

血液試料又は血漿試料の中の胎児核酸分率を決定する方法であって、

(a) 前記試料において、少なくとも 1 つの非母方 H L A アレルを定量的に検出すること

、

(b) 前記試料において、同じ遺伝子座にある少なくとも 1 つの母方 H L A アレルを定量的に検出すること、

(c) ステップ (a) 及びステップ (b) で検出された量を用いて前記試料中の胎児核酸分率を決定すること

を含む前記方法。

【請求項 2】

前記決定ステップが、ステップ (a) 及びステップ (b) で決定された H L A アレルの量の総和に対するステップ (a) で検出された前記非母方 H L A アレルの量の比率の 2 倍を計算することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 H L A アレルがシーケンシング、特にクローンシーケンシングを含む方法によって定量的に検出される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

シーケンシングの前に標的濃縮ステップをさらに含み、且つ、前記標的濃縮ステップが少なくとも 1 回のゲノム D N A 増幅又はターゲットキャプチャーを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 H L A アレルが

(a) フォワードプライマーとリバースプライマーを使用する増幅により H L A アンブリコンを得ること、

(b) クローンシーケンシングを実施してステップ (a) で得られた前記 H L A アンブリ

コンの配列を決定すること、

(c) 同じ遺伝子座にある少なくとも1つの母方HLAアレルと少なくとも1つの非母方HLAアレルを特定すること、

(d) ステップ(c)で特定された母方HLA配列クローンと非母方HLA配列クローンの数を比較することにより前記試料中の胎児核酸分率を決定すること

を含む方法によって定量的に検出される、請求項1から4の何れか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記HLAアレルがデジタルPCRを含む方法によって定量的に検出される、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項7】

前記HLAアレルが

(a) それぞれ0コピーと約5コピーの間の前記標的HLAアレルを含む複数の反応体積に前記試料を分割すること、

(b) 前記標的HLAアレルの存在について各反応体積をアッセイすること、

(c) 同じ遺伝子座にある前記母方HLAアレルを含む反応体積の数と前記非母方HLAアレルを含む反応体積の数を比較することにより前記試料中の前記胎児核酸の分率を決定すること

を含む方法によって定量的に検出される、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項8】

一方又は両方の親について前記少なくとも1つのHLA遺伝子座における遺伝子型情報を独立して得ることをさらに含む、請求項1から7の何れか一項に記載の方法。

【請求項9】

胎児の染色体異常を検出する方法であって、

(a) 前記胎児を宿している母親に由来する血液試料を提供すること、

(b) 少なくとも1つの非母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、同じ遺伝子座にある少なくとも1つの母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、前記母方HLAアレルと前記非母方HLAアレルの量を比較することにより前記試料中の胎児核酸の濃度を決定することを含む方法によって前記試料中の胎児核酸分率を決定すること、

(c) 異常が疑われる少なくとも1つの染色体の遺伝子座を前記試料中に定量的に検出すること、

(d) ステップ(c)で検出された前記染色体遺伝子座がステップ(b)で決定された胎児DNAの濃度と比べて異常な量で存在するか判定し、それによって前記染色体異常を検出すること

を含む前記方法。

【請求項10】

妊娠している患者の血液の中の胎児分率が閾値レベルを超えているか決定することにより前記患者が子癇前症を有しているか、又は子癇前症を発症する可能性があるか判定する方法であって、前記患者に由来する血液試料を提供すること、少なくとも1つの非母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、同じ遺伝子座にある少なくとも1つの母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、前記母方HLAアレルと前記非母方HLAアレルの量を比較することにより前記試料中の胎児分率を決定することを含む方法によって前記胎児分率を決定する前記方法。

【請求項11】

子癇前症の発症について妊娠している患者をモニターする方法であって、前記患者の血液の中の胎児分率を請求項10に記載の方法により定期的に決定し、胎児分率の増加が検出される場合に前記患者は子癇前症を有する、又は子癇前症を発症する可能性があることと診断することによる前記方法。

【請求項12】

母体血液中の胎児核酸の濃度が閾値レベルを超えているか決定することにより妊娠して

いる患者が子癰前症を有しているか、又は子癰前症を発症する可能性があるか判定する方法であって、前記患者に由来する多量の血液試料を提供すること、前試料の体積の中に少なくとも1つの非母方HLAアレルを定量的に検出することにより胎児核酸の濃度を決定することを含む方法によって胎児核酸の濃度が決定される前記方法。

【請求項13】

疾患状態に関連するアレルの胎児中の存在又はホモ接合状態を検出する方法であって、
(a) 前記胎児を宿している母親に由来する血液試料を提供すること、
(b) 少なくとも1つの非母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、同じ遺伝子座にある少なくとも1つの母方HLAアレルを前記試料中に定量的に検出すること、前記母方HLAアレルと前記非母方HLAアレルの量を比較することにより前記試料中の前記非母方HLAアレル分率を決定することを含む方法によって前記試料中の非母方HLAアレル分率を決定すること、
(c) 前記疾患状態に関連する前記アレルを前記試料中に定量的に検出すること、
(d) 前記疾患状態に関連する前記アレルの量を前記非母方HLAアレル分率と比較することにより疾患状態に関連する前記アレルが前記胎児に1コピーで存在するのか、2コピーで存在するのか、又は存在しないのか決定すること
を含む前記方法。

【請求項14】

前記少なくとも1つの非母方HLAアレルがHLA-Aのエクソン2とエクソン3、HLA-Bのエクソン2とエクソン3、HLA-Cのエクソン2とエクソン3、DQA1のエクソン2、DQB1のエクソン2とエクソン3、DPA1のエクソン2、DPB1のエクソン2、DRB1のエクソン2、DRB3のエクソン2、DRB4のエクソン2、及びDRB5のエクソン2、又は前記遺伝子のエクソン配列とイントロン配列の組合せから選択される、請求項1～13の何れか一項に記載の方法。

【請求項15】

ステップ(a)において同じ遺伝子座にある前記非母方HLAアレルと前記母方HLAアレルが2つ、3つ、又はそれより多くの遺伝子座において検出される、請求項1から13の何れか一項に記載の方法。