

【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6部門第3区分
 【発行日】令和1年11月14日(2019.11.14)

【公表番号】特表2018-535481(P2018-535481A)
 【公表日】平成30年11月29日(2018.11.29)
 【年通号数】公開・登録公報2018-046
 【出願番号】特願2018-517871(P2018-517871)
 【国際特許分類】

G 1 6 B 30/00 (2019.01)

G 0 6 F 16/00 (2019.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

【F I】

G 0 6 F 19/22

G 0 6 F 17/30 1 7 0 F

G 0 6 F 17/30 2 1 0 D

C 1 2 Q 1/68

【手続補正書】

【提出日】令和1年10月1日(2019.10.1)

【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】

(a) DNA分子を、DNAシーケンサーでシーケンシングして、配列のコレクションを生成するステップと；

(b) 前記配列のコレクションを、基準ゲノムへとマッピングするステップと；

(c) 融合リードを、前記マッピングコレクションから識別するステップであって、融合リードが、部分配列を含有し、第1の部分配列が、第1の遺伝子座へとマッピングされ、第2の部分配列が、第2の別個の遺伝子座へとマッピングされる、ステップと；

(d) 前記融合リードについて、前記第1の遺伝子座における第1の切断点と、前記第2の遺伝子座における第2の切断点とを識別するステップであって、切断点が、融合リードの配列が切り詰められた前記基準ゲノム上の点であり、前記第1の切断点と、第2の切断点とが、切断点对を形成する、ステップと；

(e) 融合リードのセットを生成するステップであって、各セットが、同じ切断点对を有する融合リードを含む、ステップと；

(f) 融合リードのセットをクラスタリングするステップであって、各クラスターを、第1の所定のヌクレオチド距離内の、第1の切断点と、第2の所定のヌクレオチド距離内の、第2の切断点とを有する融合リードのセットから形成し、前記第1の所定の距離と、第2の所定の距離とが各々、25を超えないヌクレオチドである、ステップと；

(g) 1または複数のクラスターについて、遺伝子融合を決定するステップであって、クラスターの遺伝子融合が、第1の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第1の切断点から選択される切断点を有し、かつ、第2の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第2の切断点から選択される切断点を有し、前記第1の融合遺伝子切断点と、第2の融合遺伝子切断点とが各々、選択基準に基づき選択され、前記選択基準が、前記クラスター内で、最も多くの融合リードを有する切断点を含む、ステップとを含む方法。

【請求項 2】

前記別個の遺伝子座が、異なる染色体上、または同じ染色体の、異なる遺伝子上に位置する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の所定の距離と、第 2 の所定の距離とが各々、5 を超えないヌクレオチド、または 10 を超えないヌクレオチドである、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

複数の遺伝子クラスターについて、遺伝子融合を決定するステップを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 DNA 分子が、シーケンシングの前に処理するステップに供され、必要に応じて、前記処理するステップが、得るステップ、単離するステップ、断片化するステップ、増幅ステップ、および/またはバーコード処理するステップである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 DNA 分子が、生物から直接得られるか、生物から得られる生物学的試料、例えば、血液、血清、血漿、尿、脳脊髄液、唾液、糞便、リンパ液、滑液、囊胞液、腹水、胸水、羊水、絨毛膜絨毛試料、着床前胚に由来する流体、胎盤試料、子宮頸部/膣洗浄液および子宮頸部/膣液、間質液、口腔スワブ試料、痰、気管支洗浄液、パップスメア試料、または眼液から得られる、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 DNA 分子が、非細胞由来から単離される、請求項 5 または請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

バーコード処理するステップは、前記 DNA 分子の一方または両方の末端にバーコード配列を接合させるステップを含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記生物が、がんを有するか、がんを有すると疑われている、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

固有の分子またはリード識別子(リード ID)を各々のリードに割り当てるステップを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

適切な符号を伴う 2 つの切断点に属する共通のリード ID を伴う 2 つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として選択するステップを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

マッピングする前における、元のリード内の、前記潜在的な融合候補の場所が、前記リード部分を、元々互いに隣接して位置するリード部分として示す、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

リード部分が、1 つの鎖にマッピングされる場合、前記切断点の符号の差違について点検するステップを含む、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記基準が、クラスター内に、1 つを超える分子を有するか、またはワトソン-クリック鎖の両方を伴う、少なくとも 1 つの分子を有することを含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

遺伝子情報を解析するシステムであって、
DNA シーケンサーと；
前記 DNA シーケンサーに結合されたプロセッサであって、
融合染色体 DNA 分子の、一部のシーケンシングデータを含有する融合リードを決定す

ること；

前記融合リードの少なくとも1つのマッピング部分が切り詰められる、ゲノム上の少なくとも1つの所定の点（切断点）を決定すること；

2つの切断点（切断点对）からの2つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として識別すること；

切断点对に基づき、1または複数の融合セットを創出し、前記融合セットを、1または複数の融合クラスターへとクラスタリングすること；および

所定の基準を満たす各融合クラスターを、遺伝子融合として識別することのための命令を含むコンピュータコードを実行して、試料に由来する遺伝子配列リードデータを処理するプロセッサとを含むシステム。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0014】

一部の実施形態では、状態は、がんである。一部の実施形態では、がんは、血液がん、肉腫、および前立腺がんからなる群から選択される。一部の実施形態では、方法は、処置を、対象へと投与するステップをさらに含む。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

（項目1）

試料に由来する遺伝子配列リードデータを処理するための方法であって、融合染色体DNA分子の少なくとも一部のシーケンシングデータを含有する融合リードを決定するステップと；

前記融合リードの少なくとも1つのマッピング部分が切り詰められる、ゲノム上の所定の点（切断点）を決定するステップと；

2つの切断点（切断点对）からの2つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として識別するステップと；

切断点对に基づき、1または複数の融合セットを創出し、前記融合セットを、1または複数の融合クラスターへとクラスタリングするステップと；

所定の基準を満たす各融合クラスターを、遺伝子融合として識別するステップを含む方法。

（項目2）

固有の分子またはリード識別子（リードID）を、各リードへと割り当てるステップを含む、項目1に記載の方法。

（項目3）

前記リードの各マッピング部分を、片側または両側から切り詰めるステップを含む、項目1に記載の方法。

（項目4）

前記切断点が、アイデンティティにおいて、前記リードから独立しており、符号、染色体、および位置により識別される、項目1に記載の方法。

（項目5）

前記切断点が、前記切断点で切り詰められるかまたは分割された多数のリードおよび分子と、前記切断点を通り越す、多数の野生型のリードおよび分子とを含む統計を保持する、項目4に記載の方法。

（項目6）

適切な符号を伴う2つの切断点に属する共通のリードIDを伴うあらゆる2つのマッピ

ングリード部分を、潜在的な融合候補として選択するステップを含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 7)

マッピングする前における、元のリード内の、前記潜在的な融合候補の場所が、前記リード部分を、元々互いに隣接して位置するリード部分として示す、項目 6 に記載の方法。

(項目 8)

リード部分が、1つの鎖にマッピングされる場合、前記切断点の符号の差違について点検するステップを含む、項目 6 に記載の方法。

(項目 9)

融合セット統計を追跡するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 10)

前記融合セット統計が、切断点 ID、前記セット内に含有されている、分子またはリードの数である、項目 9 に記載の方法。

(項目 11)

融合クラスター内の、同様の切断点により、融合セットを群分けするステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

前記同様の切断点が、5を超えないヌクレオチド、10を超えないヌクレオチド、または25を超えないヌクレオチド離れた切断点である、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

ゲノム内の2つの領域の間で、融合クラスターを規定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 14)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、多数の融合分子を決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 15)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、融合リードの数を決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 16)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、多数の野生型分子を決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 17)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、多数の野生型リードまたは野生型分子を決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 18)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、融合百分率を、各パートナーの、全分子に対する融合分子の比率として決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 19)

前記全分子が、野生型構成要素と、切り詰められた構成要素とを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 20)

前記融合クラスターに関して、各パートナーについて、遺伝子情報を決定するステップを含む、項目 18 に記載の方法。

(項目 21)

前記融合クラスターの、下流の遺伝子を決定するステップを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 22)

前記基準が、前記クラスター内に、1つを超える分子を有すること、またはワトソン-クリック鎖の両方を伴う、少なくとも1つの分子を有することを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目23)

遺伝子情報を解析するシステムであって、

DNAシーケンサーと；

前記DNAシーケンサーに結合されたプロセッサであって、

融合染色体DNA分子の、一部のシーケンシングデータを含む融合リードを決定すること；

前記融合リードの少なくとも1つのマッピング部分が切り詰められる、ゲノム上の少なくとも1つの所定の点(切断点)を決定すること；

2つの切断点(切断点对)からの2つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として識別すること；

切断点对に基づき、1または複数の融合セットを創出し、前記融合セットを、1または複数の融合クラスターへとクラスタリングすること；および

所定の基準を満たす各融合クラスターを、遺伝子融合として識別すること

のための命令を含むコンピュータコードを実行して、試料に由来する遺伝子配列リードデータを処理するプロセッサと

を含むシステム。

(項目24)

(a) DNA分子を、DNAシーケンサーでシーケンシングして、配列のコレクションを生成するステップと；

(b) 前記配列のコレクションを、基準ゲノムへとマッピングするステップと；

(c) 融合リードを、前記マッピングコレクションから識別するステップであって、融合リードが、部分配列を含むし、第1の部分配列が、第1の遺伝子座へとマッピングされ、第2の部分配列が、第2の別個の遺伝子座へとマッピングされる、ステップと；

(d) 各融合リードについて、前記第1の遺伝子座における第1の切断点と、前記第2の遺伝子座における第2の切断点とを識別するステップであって、切断点が、融合リードの配列が切り詰められた前記基準ゲノム上の点であり、前記第1の切断点と、第2の切断点とが、切断点对を形成する、ステップと；

(e) 融合リードのセットを生成するステップであって、各セットが、同じ切断点对を有する融合リードを含む、ステップと；

(f) 融合リードのセットをクラスタリングするステップであって、各クラスターを、第1の所定のヌクレオチド距離内の、第1の切断点と、第2の所定のヌクレオチド距離内の、第2の切断点とを有する融合リードのセットから形成する、ステップと；

(g) 1または複数のクラスターについて、遺伝子融合を決定するステップであって、クラスターの遺伝子融合が、第1の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第1の切断点から選択される切断点を有し、かつ、第2の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第2の切断点から選択される切断点を有し、前記第1の融合遺伝子切断点と、第2の融合遺伝子切断点とが各々、選択基準に基づき選択される、ステップと

を含む方法。

(項目25)

前記別個の遺伝子座が、異なる染色体上、または同じ染色体の、異なる遺伝子上に位置する、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記第1の所定の距離と、第2の所定の距離とが各々、5を超えないヌクレオチド、10を超えないヌクレオチド、または25を超えないヌクレオチドである、項目24に記載の方法。

(項目27)

前記選択基準が、前記クラスター内で、最も多くの融合リードを有する切断点を含む、項目24に記載の方法。

(項目28)

複数の遺伝子クラスターについて、遺伝子融合を決定するステップを含む、項目24に記載の方法。

(項目29)

(a) 複数のDNA分子を、DNAシーケンサーでシーケンシングするステップと；

(b) 複数の配列の分子の各々を、識別子でタグ付けするステップと；

(c) 各タグ付き配列を、基準ゲノムへとマッピングするステップと；

(d) 切り詰められたリードを、前記マッピングされたタグ付き配列から識別するステップであって、切り詰められたリードが、マッピング部分と、切り詰められた部分とを含有するタグ付き配列であり、前記マッピング部分が、遺伝子座へとマッピングされ、前記切り詰められた部分が、前記遺伝子座へとマッピングされない、ステップと；

(e) 各切り詰められたリードの切断点を決定するステップであって、切断点が、切り詰められたリードの配列が切り詰められた前記基準ゲノム上の点である、ステップと；

(f) 切断点セットを創出するステップであって、各切断点セットが、同じ切断点を有する切り詰められたリードの識別子を含む、ステップと；

(g) 切断点セットの対を比較することにより、切断点对のセットを創出するステップであって、切断点对の各セットが、切断点セットの比較される対のいずれのメンバーにおいても存在する識別子を含む、ステップと；

(h) 切断点对のセットをクラスタリングするステップであって、各クラスターが、第1の所定の遺伝子距離内にある前記対の、第1の切断点と、第2の所定の遺伝子距離内にある前記対の、第2の切断点とを有する、切断点对のセットを含む、ステップと；

(i) 前記クラスターのうちの1または複数について、遺伝子融合を決定するステップであって、クラスターの遺伝子融合が、第1の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第1の切断点から選択される切断点を有し、かつ、第2の融合遺伝子の切断点として、前記クラスター内の、前記第2の切断点から選択される切断点を有し、前記第1の融合遺伝子切断点と、第2の融合遺伝子切断点とは各々、選択基準に基づき選択される、ステップと

を含む方法。

(項目30)

前記選択基準が、前記クラスター内で、最も多くの融合リードを有する切断点を含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

融合遺伝子切断点を識別するための方法であって、

(a) 融合染色体DNA分子の、少なくとも一部のシーケンシングデータを含有する融合リードを決定するステップと；

(b) 前記融合リードの少なくとも1つのマッピング部分が切り詰められる、ゲノム上の所定の点(切断点)を決定するステップと；

(c) 2つの切断点(切断点对)からの2つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として識別するステップと；

(d) 切断点对に基づき、1または複数の融合セットを創出し、前記融合セットを、1または複数の融合クラスターへとクラスタリングするステップと；

(e) 所定の基準を満たす各融合クラスターを、遺伝子融合として識別するステップと

；

(f) 前記遺伝子融合の切断点を、前記融合遺伝子切断点として識別するステップとを含む方法。

(項目32)

対象における状態を診断するための方法であって、

(a) 融合染色体DNA分子の、少なくとも一部のシーケンシングデータを含有する融合リードを決定するステップと；

(b) 前記融合リードの少なくとも1つのマッピング部分が切り詰められる、ゲノム上の所定の点(切断点)を決定するステップと；

(c) 2つの切断点(切断点对)からの2つのマッピングリード部分を、潜在的な融合候補として識別するステップと;

(d) 切断点对に基づき、1または複数の融合セットを創出し、前記融合セットを、1または複数の融合クラスターへとクラスタリングするステップと;

(e) 所定の基準を満たす各融合クラスターを、遺伝子融合として識別するステップとを含み、

前記遺伝子融合が、前記状態を指し示す、方法。

(項目33)

前記状態が、がんである、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記がんが、血液がん、肉腫、および前立腺がんからなる群から選択される、項目33に記載の方法。

(項目35)

処置を、前記対象へと投与するステップをさらに含む、項目34に記載の方法。