

【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 1 区分

【発行日】平成 19 年 3 月 22 日 (2007.3.22)

【公表番号】特表 2002-533701 (P2002-533701A)

【公表日】平成 14 年 10 月 8 日 (2002.10.8)

【出願番号】特願 2000-591227 (P2000-591227)

【国際特許分類】

**G 0 1 N 33/53 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/48 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/566 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/58 (2006.01)**

**G 0 1 N 37/00 (2006.01)**

**G 0 6 F 17/18 (2006.01)**

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/48 Z

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/58 A

G 0 1 N 37/00 1 0 2

G 0 6 F 17/18 Z

C 1 2 N 15/00 F

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 1 月 30 日 (2007.1.30)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイクロアレイ実験において、プローブスポットから測定されるシグナル誤差を見積もる方法であって、以下のステップ：

(A) 該プローブスポット上の付加誤差を計算すること、及び

(B) 該プローブスポット上の乗算誤差を計算すること、

を含み、付加誤差 (A) はプローブスポットの第 1 強度測定値の分散及びプローブスポットの第 2 強度測定値の分散により算出し、乗算誤差 (B) はプローブスポットの第 1 強度測定値及びプローブスポットの第 2 強度測定値により算出する、上記方法。

【請求項 2】

第 1 強度測定値が、第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットの第 1 蛍光団の強度に対応し、第 2 強度測定値が第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットの第 2 蛍光団の強度に対応する場合の、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

第 1 強度測定値が、第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットの蛍光団の強度に対応し、第 2 強度測定値が、第 2 のマイクロアレイ上のプローブスポットの蛍光団の強度に対応し、該第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットが該第 2 のプローブスポットに対応す

る場合の、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

第 1 のマイクロアレイが、基準状態にある生物学的系の細胞構成要素の発現レベルを表し、第 2 のマイクロアレイが摂動状態にある生物学的系の細胞構成要素の発現レベルを表す場合の、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

該生物学的系が細胞系、細胞培養物、又は被験者から得た組織サンプルである場合の、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

該生物学的系がホモサピエンスである場合の、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

該摂動状態が、薬物候補物質または薬物への生物学的系の暴露により達成される場合の、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

該摂動状態が、外因性遺伝子の生物学的系への導入または生物学的系からの遺伝子の欠失により達成される場合の、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】

該摂動状態が、生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 10】

付加誤差が次式：

【数 1】

$$\sigma_x^2 + \sigma_y^2$$

〔式中、 $\sigma_x^2$  は第 1 強度測定値の分散を表し、 $\sigma_y^2$  は第 2 強度測定値の分散を表す〕  
で計算される場合の、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

乗算誤差が次式：

【数 2】

$$f^2(X^2 + Y^2)$$

〔式中、 $X$  はプローブスポットの第 1 強度測定値を表し、 $Y$  はプローブスポットの第 2 強度測定値を表し、 $f$  は微小乗算誤差を表す〕  
で計算される場合の、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の方法であって、次式：

【数 3】

$$\sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}$$

〔式中、 $\sigma_x^2$  は第 1 強度測定値における分散を表し、 $\sigma_y^2$  は第 2 強度測定値における分散を表す〕

をマイクロアレイ上の該プローブスポットを含む複数のプローブスポットに当てはめることにより、微小乗算誤差  $f$  の値を導くことをさらに含む、上記方法。

【請求項 13】

コンピュータシステムとの接続に使う、コンピュータが読み込み可能な記憶媒体及びそれに埋め込まれたコンピュータプログラムを有するコンピュータプログラム製品であって、該コンピュータプログラムメカニズムが、マイクロアレイ実験においてプローブスポットから測定されるシグナル誤差を見積もるものであり、以下のインストラクション：

該プローブスポット上の付加誤差を計算するインストラクション、及び

該プローブスポット上の乗算誤差を計算するインストラクション、

を含み、該付加誤差の計算は該プローブスポットの第 1 強度測定値の分散及び該プローブスポットの第 2 強度測定値の分散からなされ、該乗算誤差の計算は該プローブスポットの第 1 強度測定値及び該プローブスポットの第 2 強度測定値によってなされる、上記コンピュータプログラム製品。

【請求項 14】

マイクロアレイ実験において、プローブスポットから測定されるシグナル誤差を見積もるコンピュータシステムであって、該コンピュータシステムがプロセッサと該プロセッサに接続されたメモリを含み、該メモリは 1 以上のプログラムをコードしており、該 1 以上のプログラムが該プロセッサに以下のステップ：

該プローブスポット上の付加誤差を計算すること、及び

該プローブスポット上の乗算誤差を計算すること、

を含み、該付加誤差の計算は該プローブスポットの第 1 強度測定値の分散と該プローブスポットの第 2 強度測定値の分散によってなされ、該乗算誤差の計算は該プローブスポットの第 1 強度測定値及び該プローブスポットの第 2 強度測定値によってなされる、上記コンピュータシステム。

【請求項 15】

2 蛍光団マイクロアレイ実験において、プローブスポットからのシグナル誤差を見積もる方法であって経験上、 $f$  値を次式：

【数 4】

$$\sqrt{\sigma_X^2 + \sigma_Y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}$$

〔式中、 $X_i$  は複数のプローブスポットに含まれる  $i$  番目のプローブスポットの第 1 蛍光団の強度測定値を表し、 $Y_i$  は  $i$  番目のプローブスポットの第 2 蛍光団の強度測定値を表し、 $\sigma_X^2$  は  $X_i$  の付加誤差をあらわす  $X_i^2$  の分散を表し、 $\sigma_Y^2$  は  $Y_i$  の付加誤差をあらわす  $Y_i^2$  の分散を表す〕

に当てはめることを含み、該式は該 2 蛍光団マイクロアレイ実験における複数のプローブスポットを表すものとして  $x$ - $y$  プロットと一致しており、

該  $x$ - $y$  プロットの第 1 軸は、複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットにつき、(i) 各プローブスポットの第 1 蛍光団の強度測定値と (ii) 各プローブスポットの第 2 蛍光団の強度測定値の平均値を表し、

該  $x$ - $y$  プロットの第 2 軸は、第 1 蛍光団の強度測定値 (iii) と該プローブスポットの第 2 蛍光団の強度測定値 (iv) との間の複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットの発現比を表す場合の、上記方法。

【請求項 16】

$X_i^2$  が第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットから測定され、 $Y_i^2$  が第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットから測定される場合の、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

$X_i^2$  が第 1 のマイクロアレイ上のプローブスポットから測定され、 $Y_i^2$  が第 2 のマイクロア

レイ上のプローブスポットから測定され、第1のマイクロアレイのプローブスポットが、第2のマイクロアレイのプローブスポットに対応する場合の、請求項15に記載の方法。

【請求項18】

生物学的系が基準状態にあるときに、第1のマイクロアレイが生物学的系の細胞構成要素の発現レベルを表し、生物学的系が摂動状態にあるときに、第2のマイクロアレイが生物学的系の細胞構成要素の発現レベルを表す場合の、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

該生物学的系が細胞系、細胞培養物、又は被験者から得た組織サンプルである場合の、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

該生物学的系がホモサピエンスである場合の、請求項18に記載の方法。

【請求項21】

該摂動状態が、薬物候補物質または薬物への生物学的系の暴露により達成される場合の、請求項18に記載の方法。

【請求項22】

該摂動状態が、外因性遺伝子の生物学的系への導入または生物学的系からの遺伝子の欠失により達成される場合の、請求項18に記載の方法。

【請求項23】

該摂動状態が、生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項18に記載の方法。

【請求項24】

コンピュータシステムとの接続に使う、コンピュータの読み込み可能な記憶媒体及びそれに埋め込まれたコンピュータプログラムを有する、コンピュータプログラム製品であって、該コンピュータプログラムメカニズムが、2蛍光団マイクロアレイ実験におけるプローブスポットのシグナル誤差を見積もるもので、該コンピュータプログラムメカニズムは経験上、f値を次式：

【数5】

$$\sqrt{\sigma_X^2 + \sigma_Y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}$$

〔式中、

$X_i$  は複数の該プローブスポットを含む、i番目のプローブスポットの第1蛍光団の強度測定値を表し、

$Y_i$  はi番目のプローブスポットの、第2蛍光団の強度測定値を表し、

$\sigma_X^2$  は $X_i$ の付加誤差をあらわす $X_i^2$ における分散を表し、

$\sigma_Y^2$  は $Y_i$ の付加誤差をあらわす $Y_i^2$ における分散を表す〕

に当てはめるインストラクションを有しており、該式は該2蛍光団マイクロアレイ実験における複数のプローブスポットを表すものとしてx-yプロットと一致しており、

該x-yプロットの第1軸は、複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットにつき、(i)各プローブスポットの第1蛍光団の強度測定と(ii)各プローブスポットの第2蛍光団の強度測定の平均値を表し、

該x-yプロットの第2軸は、第1蛍光団の強度測定(iii)と該プローブスポットの第2蛍光団の強度測定(iv)間の複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットの発現比を表す場合の、上記コンピュータプログラム製品。

【請求項25】

2蛍光団マイクロアレイ実験におけるプローブスポットから測定されるシグナル誤差を見積もるコンピュータシステムであって、該コンピュータシステムはプロセッサと該プロセッサに接続されたメモリを含み、該メモリは1以上のプログラムをコードしており、該1

以上のプログラムが該プロセッサに経験上、f 値を次式：

【数 6】

$$\sqrt{\sigma_X^2 + \sigma_Y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}$$

〔式中、

$X_i$  は複数の該プローブスポットに含まれる、i 番目のプローブスポットの第 1 蛍光団の強度測定値を表し、

$Y_i$  は i 番目のプローブスポットの、第 2 蛍光団の強度測定値を表し、

$\sigma_X^2$  は  $X_i$  の付加誤差をあらわす  $X_i^2$  における分散を表し、

$\sigma_Y^2$  は  $Y_i$  の付加誤差をあらわす  $Y_i^2$  における分散を表す〕

に当てはめさせ、該式は該 2 蛍光団マイクロアレイ実験における複数のプローブスポットを表すものとして x-y プロットと一致しており、

該 x-y プロットの第 1 軸は、複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットにつき、(i) 各プローブスポットの第 1 蛍光団の強度測定と (ii) 各プローブスポットの第 2 蛍光団の強度測定の平均値を表し、

該 x-y プロットの第 2 軸は、第 1 蛍光団の強度測定 (iii) と該プローブスポットの第 2 蛍光団の強度測定 (iv) 間の複数のプローブスポットに含まれるそれぞれのプローブスポットの発現比を表す場合の、上記コンピュータシステム。

【請求項 26】

生物学的系の細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度を決定する方法であって、複数の強度測定値は、複数の反復実験から得られた細胞構成要素の強度測定値を含み、該複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値に、式で得られた対応する推定誤差量だけ次式：

【数 7】

$$x = \frac{\sum (x_i / \sigma_i^2)}{\sum (1 / \sigma_i^2)}$$

〔式中、x は該細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度を表し、 $x_i$  は複数の強度測定値に含まれる該細胞構成要素のそれぞれの測定 i の強度測定値を表し、 $\sigma_i^2$  は  $x_i$  の対応する推定誤差量を表す〕

に従って逆加重することにより、加重平均強度をコンピュータで算出することを含み、複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値  $x_i$  は、生物学的系における細胞構成要素の発現レベルであり、複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値  $x_i$  に関して、各強度測定値に対応する推定誤差量  $\sigma_i^2$  の対応がある場合の、上記方法。

【請求項 27】

生物学的系の細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度を決定するためのコンピュータシステムであって、該コンピュータシステムはプロセッサ及び該プロセッサに接続されたメモリを含み、該メモリは 1 以上のプログラムをコードしており、該 1 以上のプログラムが該プロセッサに以下のステップ：

複数の強度測定値は、複数の反復実験から得られた細胞構成要素の強度測定値を含み、該複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値に、式で得られた対応する推定誤差量だけ次式：

【数 8】

$$x = \frac{\sum (x_i / \sigma_i^2)}{\sum (1 / \sigma_i^2)}$$

〔式中、 $x$ は該細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度であり、 $x_i$ は複数の強度測定値に含まれる該細胞構成要素 $i$ のそれぞれの測定 $i$ の強度測定値であり、 $\sigma_i^2$ は $x_i$ の対応する推定誤差量を表す〕

に従って逆加重することにより、加重平均強度をコンピュータで算出することを含み、かつ複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値 $x_i$ は、生物学的系における細胞構成要素の発現レベルであり、複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値 $x_i$ に関して、各強度測定値に対応する推定誤差量 $\sigma_i^2$ の対応がある場合の、上記コンピュータシステム。

【請求項 28】

請求項 26 に記載の方法であって、更に以下のステップ：

(i) マイクロアレイと、基準状態における該生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールとを接触させた後で、該マイクロアレイ上の 1 つの位置の第 1 強度を測定すること、ここで、該マイクロアレイ上の該位置は該細胞構成要素を表すこと、

(ii) 該マイクロアレイを、該摂動状態における生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールと共にインキュベートした後で、該マイクロアレイ上の該位置の第 2 強度を測定すること、

(iii) 第 1 強度から第 2 強度を差し引くことにより、該細胞構成要素の複数の強度測定値に含まれる 1 つの強度測定値を計算すること、を含む、上記方法。

【請求項 29】

第 1 プールの蛍光団標識遺伝物質および第 2 プールの蛍光団標識遺伝物質が mRNA から逆転写により誘導された cDNA を含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

該摂動状態が、生物学的系の薬物候補物質への暴露、生物学的系の薬物への暴露、外因性遺伝子の生物学的系への導入または生物学的系からの遺伝子の欠失、或いは生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 31】

該生物学的系が細胞系、細胞培養物、又は被験者から得た組織サンプルである場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 32】

該生物学的系が哺乳動物である場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 33】

該生物学的系がホモサピエンスである場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 34】

該生物学的系が、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisia*) と実質的に同一遺伝子である酵母である場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 35】

該細胞構成要素が mRNA である場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 36】

該細胞構成要素がタンパク質である場合の、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 37】

生物学的系における細胞構成要素の発現レベルが示差発現レベルであり、細胞構成要素の複数の測定強度値に含まれるそれぞれの測定強度値が、次式：

【数 9】

$$X - Y$$

〔式中、

Xはマイクロアレイと、基準状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第1のプールとを接触させた後の、該マイクロアレイ上の1つの位置の第1強度を表し、ここで、該マイクロアレイ上の該位置は細胞構成要素を表し、かつ

Yはマイクロアレイと、摂動状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第2のプールとをインキュベートさせた後の、該マイクロアレイ上の1つの位置の第2強度を表す〕

によって計算される場合の、請求項26に記載の方法。

【請求項38】

該摂動状態が、生物学的系の薬物候補物質への暴露、生物学的系の薬物への暴露、外因性遺伝子の生物学的系への導入、生物学的系からの遺伝子の欠失、または生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項37に記載の方法。

【請求項39】

複数の細胞構成要素示差発現測定値に含まれるそれぞれの細胞構成要素示差発現測定値が、マイクロアレイと、該生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質のプールとを接触させた後の、マイクロアレイ上の1つの位置の強度である、請求項26に記載の方法。

【請求項40】

請求項26に記載の方法であって、以下のステップ：

複数の細胞構成要素測定値を得ること、及び

該測定値に含まれるそれぞれの強度測定値が、それぞれの強度測定値に対応する推定誤差量を決定すること、

をさらに含む、上記方法。

【請求項41】

該生物学的系における細胞構成要素の発現レベルが示差発現レベルであり、また複数の細胞構成要素示差発現測定値に含まれるそれぞれの細胞構成要素示差発現測定値が次式：

【数10】

$$X - Y$$

〔式中、

Xはマイクロアレイと、基準状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第1のプールとを接触させた後の、該マイクロアレイ上の1つの位置の第1強度を表し、またマイクロアレイ上の該位置は細胞構成要素を表し、かつ

Yは、マイクロアレイと、摂動状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第2のプールとをインキュベートさせた後の、該マイクロアレイ上の1つの位置の第2強度を表す〕

によって計算される場合の、請求項27に記載のコンピュータシステム。

【請求項42】

該摂動状態が、生物学的系の薬物候補物質への暴露、生物学的系の薬物への暴露、外因性遺伝子の生物学的系への導入または生物学的系からの遺伝子の欠失、或いは生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項41に記載のコンピュータシステム。

【請求項43】

複数の細胞構成要素示差発現測定値に含まれるそれぞれの細胞構成要素示差発現測定値が、マイクロアレイと基準状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質のプールとを接触させた後の、該マイクロアレイ上の１つの位置の強度である場合の、請求項２７に記載のコンピュータシステム。

【請求項４４】

コンピュータシステムへの接続に使う、コンピュータの読み込み可能な記憶媒体及びそれに埋め込まれたコンピュータプログラムを有する、コンピュータプログラム製品であって、該コンピュータプログラムメカニズムが、複数の強度測定値は複数の反復実験から得られた細胞構成要素の強度測定値を含み、該複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値に、式で得られた対応する推定誤差量だけ次式：

【数１１】

$$x = \frac{\sum (x_i / \sigma_i^2)}{\sum (1 / \sigma_i^2)}$$

〔式中、 $x$ は該細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度であり、 $x_i$ は複数の強度測定値に含まれる該細胞構成要素 $i$ のそれぞれの測定 $i$ の強度測定値であり、 $\sigma_i^2$ は $x_i$ の対応する推定誤差量を表す〕

に従って逆加重することにより、加重平均強度をコンピュータで算出することを含むことにより、生物学的系における細胞構成要素の発現レベルの加重平均強度を計算するインストラクションを含んでおり、

複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値 $x_i$ は、生物学的系における細胞構成要素の発現レベルであり、複数の強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値 $x_i$ に関して、各強度測定値に対応する推定誤差量 $\sigma_i^2$ の対応がある場合の、上記コンピュータプログラム製品。

【請求項４５】

生物学的系における細胞構成要素の発現レベルが示差強度レベルであり、また複数の細胞構成要素示差発現測定値に含まれるそれぞれの強度測定値が、次式：

【数１２】

$$X - Y$$

〔式中、 $X$ はマイクロアレイと基準状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質のプールとを接触させた後の、マイクロアレイ上の１つの位置の第１強度を表し、またマイクロアレイ上の該位置は該細胞構成要素を表し、

$Y$ はマイクロアレイと摂動状態を表す生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質の第２のプールとをインキュベートさせた後の、該マイクロアレイ上の１つの位置の第２強度を表す〕

で計算される、請求項４４に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項４６】

該摂動状態が、生物学的系の薬物候補物質への暴露、生物学的系の薬物への暴露、外因性遺伝子の生物学的系への導入または生物学的系からの遺伝子の欠失、或いは生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項４５に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項４７】



複数の細胞構成要素強度測定値に含まれるそれぞれの強度測定値が、生物学的系から誘導された蛍光団標識遺伝物質のプールと接触させた後の、マイクロアレイ上の1つの位置の強度である場合の、請求項45に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項48】

第1のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値と第2のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値の間の違いに関する有意差dを見積もる方法であって、次式：

【数13】

$$d = \frac{(X - Y)}{\sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}}$$

〔式中、

Xは第1のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポットの輝度を表し、

Yは第2のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポットの輝度を表し、

$\sigma_x^2$ はXにおける付加誤差レベルを表すXの分散項であり、

$\sigma_y^2$ はYにおける付加誤差レベルを表すYの分散項であり、

fは微小乗算誤差レベルを表し、

$\sigma_x^2 + f^2 X^2$ はXの推定分散を表し、 $\sigma_y^2 + f^2 Y^2$ はYの推定分散を表す〕

によりコンピュータで計算することを含む、上記方法。

【請求項49】

第1のマイクロアレイ実験及び第2のマイクロアレイ実験が、同じマイクロアレイ上で行われる場合の、請求項48記載の方法。

【請求項50】

第1のマイクロアレイ実験及び第2のマイクロアレイ実験が、それぞれ別のマイクロアレイ上で行われる場合の、請求項48記載の方法。

【請求項51】

第1のマイクロアレイ実験が何度も反復され、第1のマイクロアレイ実験における細胞構成要素を表すプローブスポットXの輝度及び反復された第1のマイクロアレイ実験の各輝度が加重平均xを求めるために連結され；

第2のマイクロアレイ実験が何度も反復され、第2のマイクロアレイ実験における細胞構成要素を表すプローブスポットYの輝度及び反復された第2のマイクロアレイ実験の各輝度が加重平均yを求めるために連結され、ここでそれらは次式：

【数14】

$$d = \frac{(X - Y)}{\sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + f^2(X^2 + Y^2)}}$$

及び次式：

【数 1 5】

$$x = \frac{\sum \frac{x_i}{\sigma_{xi}^2}}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{xi}^2} \right)} \text{ 及び } y = \frac{\sum \frac{y_i}{\sigma_{yi}^2}}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{yi}^2} \right)}$$

【数 1 6】

$$\sigma_{xi}^2 = \sigma_X^2 + f^2 X^2 \text{ 及び } \sigma_{yi}^2 = \sigma_Y^2 + f^2 Y^2$$

で表され反復回数  $n$  の数が 0 に近いときは、 $x$  は次式：

【数 1 7】

$$\sqrt{\frac{1}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{xi}^2} \right)}}$$

に近づく、 $y$  は次式：

【数 1 8】

$$\sqrt{\frac{1}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{yi}^2} \right)}}$$

に近づく。そして、該回数が膨大な数に近づいたときには、 $x$  は  $X$  のばらつきから観察される誤差に近づく、 $y$  は  $Y$  のばらつきから観察される誤差に近づく場合における、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 52】

第 2 のマイクロアレイ実験が、第 1 のマイクロアレイ実験の公称反復である場合の、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 53】

第 1 のマイクロアレイ実験が生物学的系の 1 つの基準状態を表し、第 2 マイクロアレイ実

験が生物学的系の１つの摂動状態を表す場合の、請求項４８に記載の方法。

【請求項５４】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態を表すときに該生物学的系の薬物への暴露により達成される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５５】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態を表すときに、該第１の生物学的系の薬物候補物質の暴露により達成される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５６】

該生物学的系が該基準状態を表すときに、該生物学的系の該摂動状態が外因性遺伝子の生物学的系への導入により達成される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５７】

該生物学的系が該基準状態を表すときに、該生物学的系の該摂動状態が生物学的系からの遺伝子の欠失により達成される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５８】

該生物学的系が該基準状態を表すときに、該生物学的系の該摂動状態が生物学的系の培養条件の変化により達成される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５９】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系の疾患の発症によるものである場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６０】

該生物学的系が細胞系、細胞培養物、又は被験者から得た組織サンプルである場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６１】

該生物学的系が哺乳動物である場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６２】

該生物学的系がホモサピエンスである場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６３】

該生物学的系が、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisia*) と実質的に同一遺伝子である酵母である場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６４】

該基準状態が、該生物学的系の野生型である場合の、請求項５３に記載の方法。

【請求項６５】

該基準状態が、該生物学的系の示差摂動状態を表す、請求項５３に記載の方法。

【請求項６６】

第１のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値と第２のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値の間の違いに関する有意差dを見積もる方法であって、次式：

【数１９】

$$d = \frac{(X - Y)}{\sigma_{X-Y}}$$

〔式中、

Xは第１のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポットの輝度を表し、

Yは第２のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポットの輝度を

表し、

$x^2$  はXにおける付加誤差レベルを表すXの分散項であり、

$y^2$  はYにおける付加誤差レベルを表すYの分散項であり、

$x-y$ は第1のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素の測定値、及び第2のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素の測定値の複合誤差を表す]

によりコンピュータで計算されることを含む、上記方法。

【請求項67】

第1のマイクロアレイ実験及び第2のマイクロアレイ実験が、1つのマイクロアレイで行われる場合の、請求項66に記載の方法。

【請求項68】

第1のマイクロアレイ実験及び第2のマイクロアレイ実験がそれぞれ別のマイクロアレイで行われる場合の、請求項66に記載の方法。

【請求項69】

第2のマイクロアレイ実験が、第1のマイクロアレイ実験の公称反復である場合の、請求項66に記載の方法。

【請求項70】

第1のマイクロアレイ実験が、1つの生物学的系の基準状態を表し、該第2のマイクロアレイ実験が該生物学的系の1つの摂動状態を表す場合の、請求項69に記載の方法。

【請求項71】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態で表されるときに該生物学的系の薬物への暴露により達成される場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態で表されるときに第1生物学的系の薬物候補物質への暴露により達成される場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項73】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに外因性遺伝子の生物学的系への導入により達成される場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項74】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに生物学的系からの遺伝子の欠失により達成される場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項75】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに生物学的系の培養条件の変化により達成される場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項76】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系の疾患の発症による場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項77】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系の疾患の発症による場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項78】

該生物学的系が、細胞系、細胞培養物、組織サンプル、臓器、又は多細胞生物である場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項79】

該生物学的系が、ホモサピエンスである場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項80】

該生物学的系が、サッカロミセス・セレビスエ (*Saccaromyces cerevisia*) と実質的に同一遺伝子である酵母である場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項81】

該基準状態が、該生物学的系の野生型を表す場合の、請求項70に記載の方法。

【請求項82】

該基準状態が、該生物学的系の示差摂動状態を表す場合の、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 83】

複数の第 1 のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値と複数の第 2 のマイクロアレイ実験における細胞構成要素の測定値の間の違いに関する有意差  $d$  を見積もる方法であって、これは次式：

【数 20】

$$d = \frac{(X - Y)}{\sigma_{X-Y}}$$

〔式中、

複数の第 1 のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポット  $X$  の輝度が、加重平均  $x$  を求めるために連結され；

複数の第 2 のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素を表すプローブスポット  $Y$  の輝度が、加重平均  $y$  を求めるために連結され；

$x-y$  は、第 1 のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素の測定値と第 2 のマイクロアレイ実験における該細胞構成要素の測定値の複合誤差を表す〕

によって求められ、また次式：

【数 21】

$$\sigma_{x-y} = \sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2}$$

【数 22】

$$x = \frac{\sum \frac{x_i}{\sigma_{xi}^2}}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{xi}^2} \right)}$$

及び次式：

【数 23】

$$y = \frac{\sum \frac{y_i}{\sigma_{yi}^2}}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{yi}^2} \right)}$$

〔式中、 $x_i$ は複数の第1のマイクロアレイ実験において、マイクロアレイ実験*i*で観察されるプローブスポット*X*の輝度であり、

$y_i$ は複数の第2のマイクロアレイ実験において、マイクロアレイ実験*i*で観察されるプローブスポット*Y*の輝度であり、

$\sigma_{xi}^2$ は複数の第1マイクロアレイ実験を含む、1回のマイクロアレイ実験*i*における $x_i$ の推定誤差であり、

$\sigma_{yi}^2$ は複数の第2マイクロアレイ実験を含む、1回のマイクロアレイ実験*i*における $y_i$ の推定誤差を表す〕

で表され、ここで複数の第1マイクロアレイ実験及び第2マイクロアレイ実験の回数がそれぞれ1に近づくとき、

$x$ は次式：

【数24】

$$\sqrt{\frac{1}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{xi}^2} \right)}}$$

に近づく、 $y$ は次式：

【数25】

$$\sqrt{\frac{1}{\sum \left( \frac{1}{\sigma_{yi}^2} \right)}}$$

に近づく。そして、第1のマイクロアレイ実験と第2のマイクロアレイ実験の回数が膨大な数に近づいたときには、 $x$ は*X*のばらつきから観察される誤差に近づく、 $y$ は*Y*のばらつきから観察される誤差に近づく場合における、上記方法。

## 【請求項 8 4】

複数の第 2 のマイクロアレイ実験に含まれるそれぞれの第 2 のマイクロアレイ実験が、複数の第 1 のマイクロアレイ実験に含まれる第 1 のマイクロアレイ実験の公称反復である場合の、請求項 8 3 記載の方法。

## 【請求項 8 5】

複数の第 1 のマイクロアレイ実験に含まれるそれぞれの第 1 のマイクロアレイ実験が生物学的系の基準状態を表し、また複数の第 2 のマイクロアレイ実験に含まれるそれぞれの第 2 のマイクロアレイ実験が生物学的系の摂動状態を表す、請求項 8 3 に記載の方法。

## 【請求項 8 6】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態を表すときに、生物学的系を薬物へ暴露することで達成される、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 8 7】

該生物学的系の該摂動状態が、該基準状態を表すときに、該第 1 生物学的系を薬物候補物質へ暴露することにより達成される、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 8 8】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに、外因性遺伝子の生物学的系への導入により達成される、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 8 9】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに、生物学的系からの遺伝子の欠失により達成される、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 0】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系が該基準状態を表すときに、生物学的系の培養条件の変化により達成される、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 1】

該生物学的系の該摂動状態が、該生物学的系の疾患の発症による場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 2】

該生物学的系が、細胞系、細胞培養物、組織サンプル、臓器、又は多細胞生物である場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 3】

該生物学的系が、哺乳動物である場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 4】

該生物学的系が、ホモサピエンスある場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 5】

該生物学的系が、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisia*) と実質的に同一遺伝子である酵母である場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 6】

該基準状態が該生物学的系の野生型を表す、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 7】

該基準状態が、該生物学的系の示差摂動状態を表す場合の、請求項 8 5 に記載の方法。

## 【請求項 9 8】

細胞構成物質の定量測定値の加重平均  $\bar{x}$  の誤差  $\sigma$  を算出する方法であって、以下のステップ：

(a) 定量測定値の各例  $x_i$  が第 1 マイクロアレイ実験又は第 1 マイクロアレイ実験の公称反復からなる場合において、該定量測定において多くの  $N$  数を得ること、

(b) 次式：

## 【数 2 6】

$$x = \frac{\sum (x_i / \sigma_i^2)}{\sum (1 / \sigma_i^2)}$$

〔式中、 $x$ は該定量測定値の加重平均を表し、 $\sigma_i^2$ は該定量測定値の例 $x_i$ の推定分散を表す〕

により $x$ を計算すること、及び

(c)  $N$ が1に近づくときに、 $x$ は次式：

【数 2 7】

$$\sqrt{\frac{1}{\sum \frac{1}{\sigma_i^2}}}$$

に近づき、 $N$ が膨大な公称反復数に近づくとき、 $x$ は $x$ のばらつきから観察される誤差に近づくような平均誤差を計算すること、を含む、上記算出方法。

【請求項 9 9】

蛍光団の偏りを排除する方法であって、以下のステップ：

(a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第1のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第1のプールを得ること、

(b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第2のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを得ること、

(c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第3のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第3のプールを得ること、

(d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第4のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを得ること、

(e) 蛍光団標識遺伝物質の第1のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる該条件下で第1のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第1のプールおよび第2のプールから、第1のマイクロアレイ上の多数の異なる遺伝子座のそれぞれの第1および第2の蛍光発光シグナルをそれぞれ検出し、第1の蛍光発光シグナルと第2の蛍光発光シグナルとの間の、第1のカラー比を求めること、

(f) 蛍光団標識遺伝物質の第3のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第2のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第3のプールおよび第4のプールから、第2マイクロアレイ上の多数の異なる遺伝子座のそれぞれの第3および第4の蛍光発光シグナルをそれぞれ検出し、第3の蛍光発光シグナルと第4の蛍光発光シグナルとの間の、第2のカラー比を求めること、及び

(g) コンピュータで第1のカラー比と第2のカラー比の平均をとって平均カラー比を算出すること

を含み、



第1のマイクロアレイと第2のマイクロアレイは互い類似し、互いに正確なレプリカであり、または完全に一致しており、かつ

第1のカラー比および第2のカラー比は、蛍光団の偏りを排除することにより同様に独立した遺伝物質要素により求められる、上記方法。

【請求項100】

蛍光団の偏りを排除するためのコンピュータシステムであって、該コンピュータシステムはプロセッサと該プロセッサに接続されたメモリを含み、該メモリは1以上のプログラムをコードしており、該1以上のプログラムが該プロセッサに第1のカラー比及び第2のカラー比の平均化により平均カラー比を計算させ、ここで該第1のカラー比及び該第2のカラー比は以下のステップ：

(a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第1のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第1のプールを得ること、

(b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第2のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを得ること、

(c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第3のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第3のプールを得ること、

(d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第4のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを得ること、

(e) 蛍光団標識遺伝物質の第1のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第1のマイクロアレイに接触させること、該条件下で、第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第1及び第2のプールから、第1のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第1及び第2の蛍光放出シグナルをおのおの探知すること、及び第1の蛍光放出シグナルと第2の蛍光放出シグナルとの第1のカラー比を求めること、及び

(f) 蛍光団標識遺伝物質の第3のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第2のマイクロアレイに接触させ、該条件下で、第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第3及び第4のプールから、第2のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第3及び第4の蛍光放出シグナルをおのおの検出すること、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第3のプールと、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第4のプールと、の第2のカラー比を求めること、第3の蛍光放出シグナルと第4の蛍光放出シグナルと、の第2のカラー比を求めること、を含む方法によって求められ、

第1のマイクロアレイと第2のマイクロアレイは互い類似し、互いに正確なレプリカであり、又は完全に一致しており、かつ

第1のカラー比および第2のカラー比は同一の個々の遺伝物質構成要素によって決められる、上記コンピュータシステム。

【請求項101】

第1のカラー比と第2のカラー比の平均をとってカラー比を求めることを含む、蛍光団の偏りを排除する方法であって、ここで第1のカラー比および第2のカラー比が以下のステップ：

(a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第1のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第1のプールを得ること、

(b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第2のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを得ること、

(c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第3のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第3のプールを得ること、

(d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第4のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを得ること、

(e) 蛍光団標識遺伝物質の第1のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを、

ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第1のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第1及び第2のプールから、第1のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第1及び第2の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該条件下で第1の蛍光発光シグナルと第2の蛍光発光シグナルとの間の、第1のカラー比を求めること、及び

(f) 蛍光団標識遺伝物質の第3のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第2のマイクロアレイに接触させ、該条件下で、第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第3及び第4のプールから、第2のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第3及び第4の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第3の蛍光発光シグナルと該第4の蛍光発光シグナルと、の該第2のカラー比を求めること、により求められ、

第1のマイクロアレイ及び第2のマイクロアレイは互いに類似し、互いに正確な複製であり、または完全に一致しており、かつ

第1のカラー比および第2のカラー比は同一の個々の遺伝物質構成要素によって決められ、それにより蛍光団の偏りを排除する、上記方法。

【請求項102】

蛍光団の偏りを排除するためのコンピュータシステムであって、該コンピュータシステムはプロセッサと該プロセッサに接続されたメモリを含み、該メモリは1以上のプログラムをコードしており、該1以上のプログラムが該プロセッサに第1のカラー比と第2のカラー比の平均をとってカラー比を求めることを含む方法を実行させるものであり、ここで、第1のカラー比および第2のカラー比が以下のステップ：

(a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第1のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第1のプールを得ること、

(b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第2のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを得ること、

(c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第3のプールを、第2の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第3のプールを得ること、

(d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第4のプールを、第1の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを得ること、

(e) 蛍光団標識遺伝物質の第1のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第2のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第1のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第1のプールと、該条件下で第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第2のプールと、の第1のカラー比を求め、該条件下で第1のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第1及び第2のプールから、第1のマイクロアレイ上の複数の異なる遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第1及び第2の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第1の蛍光発光シグナルと該第2の蛍光発光シグナルと間の第1のカラー比を求めること、及び

(f) 蛍光団標識遺伝物質の第3のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第4のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第2のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第3のプールと、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第4のプールと、の第2のカラー比を求め、該条件下で第2のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第3及び第4のプールから、第2のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第3及び第4の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第3の蛍光発光シグナルと該第4の蛍光発光シグナルと、の該第2のカラー比を求めること、

を含む方法によって算出され、

第1のマイクロアレイ及び第2のマイクロアレイは互いに類似し、互いの正確なレプリカであり、または全く同じマイクロアレイであり、かつ

第1のカラー比および第2のカラー比は同一の個々の遺伝物質構成要素によって決められ

、それにより蛍光団の偏りを排除する、上記コンピュータシステム。

【請求項 1 0 3】

第 1 のプールの遺伝物質および第 3 のプールの遺伝物質が、第 1 の生物学的系から抽出された mRNA からの逆転写により誘導される cDNA である、請求項 9 9 または 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

第 2 のプールの遺伝物質および第 4 のプールの遺伝物質が、第 2 の生物学的系から抽出された mRNA からの逆転写により誘導される cDNA である、請求項 9 9 または 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 5】

平均カラー比が、次式：

【数 2 8】

$$\frac{1}{2} (\log(r_{X/Y}) - \log(r_{X/Y}^{(rev)}))$$

〔式中、 $r_{X/Y}$  は第 1 のカラー比を表し、 $r_{X/Y}^{(rev)}$  は第 2 のカラー比を表す〕  
により算出される場合の、請求項 9 9 または 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 6】

平均カラー比が、次式：

【数 2 9】

$$\frac{1}{2} (\log(r_{X/Y}) - \log(r_{X/Y}^{(rev)}))$$

〔式中、 $r_{X/Y}$  は第 1 のカラー比を表し、 $r_{X/Y}^{(rev)}$  は第 2 のカラー比を表す〕  
により算出される場合の、請求項 1 0 0 または 1 0 2 に記載のコンピュータシステム。

【請求項 1 0 7】

第 1 のマイクロアレイと第 2 のマイクロアレイとが同一であり、さらに該方法が第 1 の接触ステップのあとの第 1 のマイクロアレイの洗浄を、さらに含む方法であって、請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 8】

第 1 のマイクロアレイと第 2 のマイクロアレイとが同一であり、そのうで該方法が第 1 の接触ステップのあとの第 1 のマイクロアレイの洗浄を、さらに含む方法であって、請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 9】

第 1 のカラー比と第 2 のカラー比の平均化が、第 1 のカラー比と第 2 のカラー比間の割合を構成する、請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 0】

第 1 のカラー比と第 2 のカラー比の平均化が、第 1 のカラー比と第 2 のカラー比との間の割合を構成する、請求項 1 0 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 1】

第 1 のカラー比と第 2 のカラー比の平均化が、第 1 のカラー比と第 2 のカラー比間の割合を構成する、請求項 1 0 2 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 2】

該摂動状態が、該生物学的系の薬物への暴露により達成される、請求項 9 9 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 3】

該摂動状態が、該基準状態を表す該生物学的系を薬物候補物質へ暴露することにより達成される、請求項 1 0 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 4】

遺伝物質の各成分がメッセンジャーRNA、相補的DNA、ゲノムDNA、DNA、オリゴヌクレオチド、遺伝子断片を含む場合の、請求項 9 9 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 5】

遺伝物質の各成分がメッセンジャーRNA、相補的DNA、ゲノムDNA、DNA、オリゴヌクレオチド、遺伝子断片を含む場合の、請求項 1 0 0 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 6】

遺伝物質の各成分がメッセンジャーRNA、相補的DNA、ゲノムDNA、DNA、オリゴヌクレオチド、遺伝子断片を含む場合の、請求項 1 0 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 7】

遺伝物質の第 2 のプールと遺伝子物質の第 4 のプールが、該第 2 生物学的系から抽出した mRNA の逆転写により誘導された cDNA である場合の、請求項 1 0 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 8】

蛍光団の偏りを排除する方法であって、該方法は第 1 のカラー比と第 2 のカラー比の平均をとってカラー比を求めることを含み、ここで、第 1 のカラー比および第 2 のカラー比が以下のステップ：

- (a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 1 のプールを、第 1 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールを得ること、
  - (b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 2 のプールを、第 2 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールを得ること、
  - (c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 3 のプールを、第 2 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 3 のプールを得ること、
  - (d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 4 のプールを、第 1 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 4 のプールを得ること、
  - (e) 蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第 1 のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第 1 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第 1 及び第 2 のプールから、第 1 のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第 1 及び第 2 の蛍光放出シグナルをおのおの探知し、また該条件下で該第 1 の蛍光発光シグナルと該第 2 の蛍光発光シグナルと、の該第 1 のカラー比を求めること、及び
  - (f) 蛍光団標識遺伝物質の第 3 のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第 4 のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第 2 のマイクロアレイに接触させ、該条件下で、第 2 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第 3 及び第 4 のプールから、第 2 のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第 3 及び第 4 の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第 3 の蛍光発光シグナルと該第 4 の蛍光発光シグナルと、の該第 2 のカラー比を求めること、
- を含む方法により求められ、  
第 1 のマイクロアレイ及び第 2 のマイクロアレイは互い類似し、互いの正確なレプリカであり、または全く同じで、  
第 1 のカラー比および第 2 のカラー比は同一の個々の遺伝物質構成要素によって決められ、それにより蛍光団の偏りを排除する、上記方法。

## 【請求項 1 1 9】

コンピュータシステムへの接続に使う、コンピュータの読み込み可能な記憶媒体及びそれに埋め込まれたコンピュータプログラムを有する、コンピュータプログラム製品であって、該コンピュータプログラムメカニズムが、第 1 のカラー比と第 2 のカラー比の平均をとって平均カラー比を求め、該第 1 のカラー比及び該第 2 のカラー比は以下のステップ：

(a) 基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 1 のプールを、第 1 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールを得ること、

(b) 摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 2 のプールを、第 2 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールを得ること、

(c) 該基準状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 3 のプールを、第 2 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 3 のプールを得ること、

(d) 該摂動状態を表す生物学的系に由来する遺伝物質の第 4 のプールを、第 1 の蛍光団により標識して、蛍光団標識遺伝物質の第 4 のプールを得ること、

(e) 蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第 1 のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第 1 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第 1 のプールと、該条件下で第 1 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第 2 のプールと、の第 1 のカラー比を求め、該条件下で第 1 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第 1 及び第 2 のプールから、第 1 のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第 1 及び第 2 の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第 1 の蛍光発光シグナルと該第 2 の蛍光発光シグナルと、の第 1 のカラー比を求めること、及び

(f) 蛍光団標識遺伝物質の第 3 のプールおよび蛍光団標識遺伝物質の第 4 のプールを、ハイブリダイゼーションが起こる条件下で第 2 のマイクロアレイに接触させ、該条件下で第 2 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第 3 のプールと、該条件下で第 2 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識遺伝物質の第 4 のプールと、の第 2 のカラー比を求めること、該条件下で、第 2 のマイクロアレイに結合する蛍光団標識物質の第 3 及び第 4 のプールから、第 2 のマイクロアレイ上の複数の別々の遺伝子座につき、そのそれぞれにおいて、第 3 及び第 4 の蛍光放出シグナルをおのおの検出し、該第 3 の蛍光発光シグナルと該第 4 の蛍光発光シグナルと、の該第 2 のカラー比を求めること、

を含み方法によって求められ、

第 1 のマイクロアレイ及び第 2 のマイクロアレイは互いに類似し、互いの正確なレプリカであり、または全く同じマイクロアレイであり、

第 1 のカラー比および第 2 のカラー比は同一の個々の遺伝物質構成要素によって決められ、それにより蛍光団の偏りを排除する、上記コンピュータプログラム製品。

## 【請求項 1 2 0】

平均カラー比が次式：

【数 3 0】

$$\frac{1}{2} (\log(r_{xy}) - \log(r_{xy}^{(rev)}))$$

〔式中、 $r_{x/y}$  は第 1 のカラー比を表し、 $r_{x/y}^{(rev)}$  が第 2 のカラー比を表す〕  
によって計算される場合の、請求項 1 1 9 に記載のコンピュータプログラム製品。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 2

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0042】

図4aは2色ハイブリダイゼーション実験についてのカラー比対強度プロットでありここで使用された2つの培養物は名目上同一のバックグラウンドの酵母*S.セレビシエ*(*S.cerevisiae*)株である。2つの培養物が名目上同一であることから、マイクロアレイ上の個々のスポットは使用した蛍光団両方について同量の強度を有する蛍光を発すると予測される。実験方法は後述の実験の節に記載されている。しかしながら、図4aから容易に明らかであるように、マイクロアレイ上の幾つかのスポットは蛍光団特異的な強度を示す。例えば、酵母*S.セレビシエ*(*S.cerevisiae*)の種々の遺伝子に対応し、「赤色」蛍光団の強度が対応する「緑色」強度より2倍以上であるマイクロアレイ上のスポットは、その強力な蛍光団特異的偏りにより、印が付される。図4bは図4aでプロットした実験の蛍光団を逆にしたバージョンの結果を示す。

## 【手続補正3】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0046

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0046】

例えば、約6000遺伝子を有する酵母ゲノムをカバーするプローブに対するハイブリダイゼーションにおいて、上位5%の発現比を閾値と設定すると、1回の実験で $\sim 6000 \times 0.05 = 300$ の誤りを検出することになる。

## 【手続補正4】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0063

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0063】

## 5.6.1 コレギュレートされた遺伝子および遺伝子セット

射影プロファイルを表すのに遺伝子セットを用いることは、本節および後続の小節、並びにFriendらによる米国特許出願第09/179,569号(1998年10月27日出願; 発明の名称「Methods for using co-regulated genesets to enhance determination and classification of gene expression」; 米国特許番号6,203,987; 2001年3月20日特許取得)およびFriendらによる米国特許出願(出願番号09/220,275; 代理人整理番号9301-039-999; 1998年12月23日出願; 発明の名称「Methods for using co-regulated genesets to enhance determination and classification of gene expression」)に記載されている(両特許出願は、引用により全内容が本明細書に含まれるものとする)。特定の遺伝子には、群をなしてその発現を増加または減少させる傾向がある。遺伝子どうしが同様の調節配列パターン(即ち、転写因子結合部位)を有する場合には、その転写速度が同時に増加または低下する傾向がある。これは、特定のシグナル伝達インプットに対する協調応答の機構である(例えば、MadhaniおよびFink, 1998, The riddle of MAP kinase signaling specificity, *Transactions in Genetics* 14:151-155; ArnoneおよびDavidson, 1997, The hardwiring of development: organization and function of genomic regulatory systems, *Development* 124:1851-1864を参照)。必要なタンパク質または細胞構造の異なる構成要素を生成する別々の遺伝子は、共変する傾向がある。重複遺伝子(例えば、Wagner, 1996, Genetic redundancy caused by gene duplications and its evolution in networks of transcriptional regulators, *Biol. Cybern.* 74:557-567を参照)も、突然変異によってその調節領域に機能的な相違が生じない程度に共変する傾向がある。さらに、調節配列はモジュールからなるため(例えば、Yuhら, 1998, Genomic cis-regulatory logic: experimental and computational analysis of a sea urchin gene, *Science* 279:1896-1902を参照)、2つの遺

伝子がより多くのモジュールを共通して有するほど、これらの遺伝子の転写速度が共変すると予想される条件が多岐にわたる。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0110

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0110】

共通する5'および3'配列を含むPCR産物(Research Genetics)を鋳型として使用し、アミノ修飾順方向プライマーおよび未修飾逆方向プライマーを用いて*S. cerevisiae*ゲノムから6065個のORFをPCR増幅した。最初のパス成功率は94%であった。予測外のサイズを有する産物を生じた増幅反応を後続の解析から除外した。市販の鋳型から増幅できないORFはゲノムDNAから増幅した。100 $\mu$ lの反応液から得られたDNAサンプルをイソプロパノール沈殿させ、水に再懸濁し、3 $\times$ SSCへ添加して総容積15 $\mu$ lとし、384ウェルのマイクロタイタープレート(Genetix)へ移した。PCR産物を、1 $\times$ 3インチのポリリシン処理ガラススライドへ、Schenら(前出);DeRisiら, 1996, *Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using microarrays*, PNAS USA, 94:2150-2155;およびDeRisiら, (1997)に記載の仕様に従って組立てたロボットによってスポットティングした。印刷後、刊行物に記載されたプロトコルに従ってスライドを処理した。DeRisiら(1997)を参照されたい。