

【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】令和3年2月18日(2021.2.18)

【公表番号】特表2020-503056(P2020-503056A)

【公表日】令和2年1月30日(2020.1.30)

【年通号数】公開・登録公報2020-004

【出願番号】特願2019-536933(P2019-536933)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6844 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 M 1/34 Z

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/6844 Z N A Z

C 1 2 Q 1/6876 Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年1月5日(2021.1.5)

【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】

方法であって、

(a) 部位特異的ヌクレアーゼと接触させた細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記トランスポゾンが前記ゲノムDNA試料に挿入され、かつ前記ゲノムDNA試料が断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

(b)

(i) 前記ゲノムDNA内のあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定のプライマーと、

(ii) 前記第1の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第2の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第1の検出配列、前記核酸断片の前記5'末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第2の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(c) 前記増幅された核酸断片を配列決定することと

を含む方法。

【請求項2】

前記第1の検出配列が、第1の配列決定タグを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ステップ(c)が、前記増幅された核酸断片を、前記第1の配列決定タグとハイブリッド形成する第1の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記第2の検出配列が、第2の配列決定タグを含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

ステップ(c)が、前記増幅された核酸断片を、前記第2の配列決定タグとハイブリッド形成する第2の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記ゲノムDNA試料が、単一の細胞から得られる、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

ステップ(b)が、それぞれが前記ゲノムDNA内の異なるあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含む、複数の第1の固定プライマーを使用することを含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

ステップ(b)が、それぞれの反応が異なる第1の固定プライマーを使用する、複数の増幅反応を実施することを含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記複数の第1の固定プライマーのそれぞれが、(i)同じ配列決定タグと(ii)固有のバーコードとを含む検出配列を含む、請求項7または8に記載の方法。

【請求項10】

前記二本鎖核酸断片が、約500～約5000bp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】

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cas9である、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cpf1である、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

方法であって、

(a)細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、RNAガイド型ヌクレアーゼと、前記ヌクレアーゼによる前記ゲノムDNAの切断に好都合な条件下で接触させることと；

(b)前記切断されたゲノムDNAを、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記切断されたゲノムDNAに前記トランスポゾンが挿入され、かつ前記切断されたゲノムDNAが断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

(c)

(i)前記ゲノムDNA内のあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定プライマーと、

(ii)前記第1の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第2の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第1の検出配列、前記核酸断片の前記5'末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第2の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(d)増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

## 【請求項 14】

前記第1の検出配列が、第1の配列決定タグを含む、請求項13に記載の方法。

## 【請求項 15】

ステップ(d)が、前記増幅された核酸断片を、前記第1の配列決定タグとハイブリッド形成する第1の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項14に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記第2の検出配列が、第2の配列決定タグを含む、請求項13～15のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 17】

ステップ(d)が、前記増幅された核酸断片を、前記第2の配列決定タグとハイブリッド形成する第2の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項16に記載の方法。

## 【請求項 18】

前記ゲノムDNA試料が、単一の細胞から得られる、請求項13～17いずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 19】

ステップ(c)が、それぞれが前記ゲノムDNA内の異なるあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含む、複数の第1の固定プライマーを使用することを含む、請求項13～18のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 20】

ステップ(c)が、それぞれの反応が異なる第1の固定プライマーを使用する、複数の増幅反応を実施することを含む、請求項19に記載の方法。

## 【請求項 21】

前記複数の第1の固定プライマーのそれぞれが、(i)同じ配列決定タグと(ii)固有のバーコードとを含む検出配列を含む、請求項19または20に記載の方法。

## 【請求項 22】

前記二本鎖核酸断片が、約500～約5000bpを含む、請求項13～21のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 23】

前記RNAガイド型ヌクレアーゼが、Cas9である、請求項13～22のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 24】

前記RNAガイド型ヌクレアーゼが、Cpf1である、請求項13～22のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 25】

方法であって、

(a)細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記トランスポゾンが前記ゲノムDNAに挿入され、かつ前記ゲノムDNAが断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることであって、前記ゲノムDNAは、部位特異的ヌクレアーゼによって切断された少なくとも1つの部位に組み込まれた二本鎖オリゴヌクレオチドを含む、ことと；

(b)

(i)前記二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定プライマーと、

(ii)前記第1の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第2の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第1の検出配列

、前記核酸断片の前記5'末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第2の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(c) 前記増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

【請求項26】

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cas9である、請求項20に記載の方法。

【請求項27】

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cpf1である、請求項20に記載の方法。

【請求項28】

(a) 細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、ヌクレアーゼによるゲノムDNAの切断、および二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの切断部位への組み込みに好都合な条件下で、前記RNAガイド型ヌクレアーゼおよび前記二本鎖オリゴヌクレオチドと接触させることであって、それによって、前記組み込まれた二本鎖オリゴヌクレオチドを含むタグ付けされたゲノムDNAが産生される、ことと；

(b) 前記タグ付けされたゲノムDNAを、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記タグ付けされたゲノムDNAに前記トランスポゾンが挿入され、かつ前記タグ付けされたゲノムDNAが断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

(c)

(i) 前記二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定プライマーと、

(ii) 前記第1の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第2の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第1の検出配列、前記核酸断片の前記5'末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第2の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(d) 前記増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

【請求項29】

前記RNAガイド型ヌクレアーゼが、Cas9である、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記RNAガイド型ヌクレアーゼが、Cpf1である、請求項28に記載の方法。

【請求項31】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドのどちらの鎖も、前記ゲノムDNAに対してオルソログスである、請求項25～30のいずれか一項に記載の方法。

【請求項32】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各5'末端が、リン酸基を含む、請求項25～31のいずれか一項に記載の方法。

【請求項33】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各3'末端が、ホスホロチオエート結合を含む、請求項25～32のいずれか一項に記載の方法。

【請求項34】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各5'末端が、ホスホロチオエート結合を含む、請求項25～33のいずれか一項に記載の方法。

【請求項35】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、30～35個のヌクレオチドまたは60～65個のヌクレオチドを含む、請求項25～34のいずれか一項に記載の方法。

【請求項36】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、平滑末端化される、請求項25～35のいずれか一

項に記載の方法。

【請求項 37】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、1、2、3、または4塩基の突出ヌクレオチドを有する5'末端を含む、請求項25～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記第1の検出配列が、第1の配列決定タグを含む、請求項25～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

配列決定することが、前記増幅された核酸断片を、前記第1の配列決定タグとハイブリッド形成する第1の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項 40】

前記第2の検出配列が、第2の配列決定タグを含む、請求項25～39のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

配列決定することが、前記増幅された核酸断片を、前記第2の配列決定タグとハイブリッド形成する第2の配列決定プライマーと接触させることを含む、請求項40に記載の方法。

【請求項 42】

前記二本鎖核酸断片が、約500～約5000bpを含む、請求項20～41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

前記配列決定された核酸断片が、参照ゲノムDNA試料に対する転座を含む、請求項1～42のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

前記ゲノムDNA試料が、ウイルスによって導入された配列を含む、請求項1～43のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

前記ゲノムDNA、前記切断されたゲノムDNA、または前記タグ付けされたゲノムDNAを前記トランスポゾンと接触させる前に、ウイルスベクターを使用して、配列を前記ゲノムDNAに導入するステップをさらに含む、請求項1～44のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

前記配列決定された核酸断片を前記参照ゲノムDNA試料と比較することをさらに含む、請求項1～45のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

少なくとも1つの配列決定された核酸が、前記参照ゲノムDNA試料に対する転座を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項 48】

前記配列決定された核酸の1%未満が、前記参照ゲノムDNA試料に対する転座を含む、請求項47に記載の方法。

【請求項 49】

前記ゲノムDNA試料が、生きている細胞または組織を含有しない試料から得られる、請求項1～48のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記ゲノムDNA試料が、痕跡量の細胞および/または組織を含有する試料から得られる、請求項1～48のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記ゲノムDNA試料が、真核細胞から得られる、請求項1～48または50のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 2】

前記ゲノム DNA 試料が、原核細胞から得られる、請求項 1 ~ 4 8 または 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 3】

前記ゲノム DNA 試料が、1 つまたは複数の微生物叢から得られる、請求項 1 ~ 4 8、5 0、または 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 4】

1 つまたは複数の処理装置によって実施される方法であって、複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；前記データセットから第 1 のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第 1 のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌクレオチド配列はまた、1 つまたは複数の識別子を含み、前記 1 つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；前記第 1 のデータに基づいて、第 2 のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、変異、欠失、挿入、インデル、転座、逆位、および/または重複を含む 1 つまたは複数の予測される遺伝子編集事象の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することとを含む方法。

## 【請求項 5 5】

前記 1 つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 6】

前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 7】

バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの 1 つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 8】

整列の前に、前記ヌクレオチド配列から 1 つまたは複数のアダプターを取り除くことをさらに含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 9】

1 つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；前記 1 つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1 つまたは複数の画像を与えることとをさらに含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 0】

前記参照アンプリコンが、1 つまたは複数のベクター配列または 1 つまたは複数のプラスミド配列を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 1】

前記 1 つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス (UMI) を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 2】**

前記 1 つまたは複数の識別子が、1 つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 3】**

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列される識別子の数を計数することを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 4】**

前記データセットが、UDITaSライブラリに基づいている、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 5】**

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含むようになる、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 6】**

前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択することをさらに含む、請求項 5 4 に記載の方法。

**【請求項 6 7】**

1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体であって、  
複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；  
前記データセットから第 1 のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第 1 のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌクレオチド配列はまた、1 つまたは複数の識別子を含み、前記 1 つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；  
前記第 1 のデータに基づいて、第 2 のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象、1 つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象、または 1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象と 1 つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象との両方の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；  
前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；  
識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することと  
を含む、動作を実施するための 1 つまたは複数の処理装置によって実行可能である、命令を保存する 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

**【請求項 6 8】**

前記 1 つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ  
評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

**【請求項 6 9】**

前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

**【請求項 7 0】**

前記バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの 1 つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、請求項 6 7 に記載の 1 つ

または複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 1】

前記動作が、

整列の前に、前記ヌクレオチド配列から 1 つまたは複数のアダプターを取り除くことを含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 2】

前記動作が、

1 つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；

前記 1 つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1 つまたは複数の画像を与えることと

を含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 3】

前記参照アンプリコンが、1 つまたは複数のベクター配列または 1 つまたは複数のプラスミド配列を含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 4】

前記 1 つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス (UMI) を含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 5】

前記 1 つまたは複数の識別子が、1 つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 6】

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列される識別子の数を計数することを含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 7】

前記データセットが、UDITaSライブラリに基づいている、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 8】

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含むようになる、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 7 9】

前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択することをさらに含む、請求項 6 7 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

【請求項 8 0】

システムであって、

実行可能である命令を保存する非一過性の機械可読ストレージと；

複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；

前記データセットから第 1 のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第 1 のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌクレオチド配列はまた、1 つまたは複数の識別子を含み、前記 1 つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；

前記第 1 のデータに基づいて、第 2 のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象、1 つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象、または 1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象と 1 つまた

は複数のオフターゲット遺伝子編集事象との両方の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；

識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することと

を含む動作を実施するための前記命令を遂行するための1つまたは複数の処理装置とを含むシステム。

【請求項 8 1】

前記1つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ

評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 2】

前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 3】

バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの1つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 4】

前記動作が、

整列の前に、前記ヌクレオチド配列から1つまたは複数のアダプターを取り除くことを含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 5】

前記動作が、

1つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；

前記1つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1つまたは複数の画像を与えることと

を含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 6】

前記参照アンプリコンが、1つまたは複数のベクター配列または1つまたは複数のプラスミド配列を含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 7】

前記1つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス (UMI) を含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 8】

前記1つまたは複数の識別子が、1つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 8 9】

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列される識別子の前記数を計数することを含む、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 9 0】

前記データセットが、UDiTaSライブラリに基づいている、請求項 8 0 に記載のシステム。

【請求項 9 1】

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含む

ようになる、請求項 80 に記載のシステム。

【請求項 92】

前記命令が、前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択することをさらに含む、請求項 80 に記載のシステム。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0223

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0223】

等価物

本発明を、その詳細な説明と共に記載してきたが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲の範囲によって定義される本発明の範囲を例示することが意図され、本発明の範囲を限定しないことが理解されよう。他の態様、利点、および改変は、以下の特許請求の範囲の範囲内である。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

方法であって、

(a) 部位特異的ヌクレアーゼと接触させた細胞または組織から得られたゲノム DNA 試料を、トランスポゾンの 5' 末端に第 1 の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記トランスポゾンが前記ゲノム DNA 試料に挿入され、かつ前記ゲノム DNA 試料が断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の 5' 末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

(b)

(i) 前記ゲノム DNA 内のあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその 5' 末端に第 2 の検出配列を含む第 1 の固定のプライマーと、

(i i) 前記第 1 の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第 2 の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第 1 の検出配列、前記核酸断片の前記 5' 末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第 2 の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(c) 前記増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

(項目 2)

前記第 1 の検出配列が、第 1 の配列決定タグを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

ステップ (c) が、前記増幅された核酸断片を、前記第 1 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 1 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記第 2 の検出配列が、第 2 の配列決定タグを含む、項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5)

ステップ (c) が、前記増幅された核酸断片を、前記第 2 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 2 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 4 に記載の方法。

(項目 6)

前記ゲノム DNA 試料が、単一の細胞から得られる、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7)

ステップ ( b ) が、それぞれが前記ゲノム DNA 内の異なるあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含む、複数の第 1 の固定プライマーを使用することを含む、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8)

ステップ ( b ) が、それぞれの反応が異なる第 1 の固定プライマーを使用する、複数の増幅反応を実施することを含む、項目 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記複数の第 1 の固定プライマーのそれぞれが、( i ) 同じ配列決定タグと ( i i ) 固有のバーコードとを含む検出配列を含む、項目 7 または 8 に記載の方法。

(項目 10)

前記二本鎖核酸断片が、約 500 ~ 約 5000 bp を含む、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 11)

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cas9 である、項目 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 12)

方法であって、

( a ) 細胞または組織から得られたゲノム DNA 試料を、RNA ガイド型ヌクレアーゼと、前記ヌクレアーゼによる前記ゲノム DNA の切断に好都合な条件下で接触させることと；

( b ) 前記切断されたゲノム DNA を、トランスポゾンの 5 ' 末端に第 1 の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記切断されたゲノム DNA に前記トランスポゾンが挿入され、かつ前記切断されたゲノム DNA が断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の 5 ' 末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

( c )

( i ) 前記ゲノム DNA 内のあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその 5 ' 末端に第 2 の検出配列を含む第 1 の固定プライマーと、

( i i ) 前記第 1 の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第 2 の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第 1 の検出配列、前記核酸断片の前記 5 ' 末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第 2 の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

( d ) 増幅された核酸断片を配列決定することを含む方法。

(項目 13)

前記第 1 の検出配列が、第 1 の配列決定タグを含む、項目 12 に記載の方法。

(項目 14)

ステップ ( d ) が、前記増幅された核酸断片を、前記第 1 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 1 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記第 2 の検出配列が、第 2 の配列決定タグを含む、項目 12 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 16)

ステップ ( d ) が、前記増幅された核酸断片を、前記第 2 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 2 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

前記ゲノム DNA 試料が、単一の細胞から得られる、項目 12 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 18)

ステップ(c)が、それぞれが前記ゲノムDNA内の異なるあらかじめ決定された位置に相補的なヌクレオチド配列を含む、複数の第1の固定プライマーを使用することを含む、項目12～17のいずれか一項に記載の方法。

(項目19)

ステップ(c)が、それぞれの反応が異なる第1の固定プライマーを使用する、複数の増幅反応を実施することを含む、項目18に記載の方法。

(項目20)

前記複数の第1の固定プライマーのそれぞれが、(i)同じ配列決定タグと(ii)固有のバーコードとを含む検出配列を含む、項目18または19に記載の方法。

(項目21)

前記二本鎖核酸断片が、約500～約5000bpを含む、項目12～20のいずれか一項に記載の方法。

(項目22)

前記RNAガイド型ヌクレアーゼが、Cas9である、項目12～21のいずれか一項に記載の方法。

(項目23)

方法であって、

(a)細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記トランスポゾンが前記ゲノムDNAに挿入され、かつ前記ゲノムDNAが断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることであって、前記ゲノムDNAは、部位特異的ヌクレアーゼによって切断された少なくとも1つの部位に組み込まれた二本鎖オリゴヌクレオチドを含む、ことと；

(b)

(i)前記二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定プライマーと、

(ii)前記第1の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第2の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第1の検出配列、前記核酸断片の前記5'末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第2の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

(c)前記増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

(項目24)

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Cas9である、項目19に記載の方法。

(項目25)

(a)細胞または組織から得られたゲノムDNA試料を、ヌクレアーゼによるゲノムDNAの切断、および二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの切断部位への組み込みに好都合な条件下で、前記RNAガイド型ヌクレアーゼおよび前記二本鎖オリゴヌクレオチドと接触させることであって、それによって、前記組み込まれた二本鎖オリゴヌクレオチドを含むタグ付けされたゲノムDNAが産生される、ことと；

(b)前記タグ付けされたゲノムDNAを、トランスポゾンの5'末端に第1の検出配列を含む前記トランスポゾンと、前記タグ付けされたゲノムDNAに前記トランスポゾンが挿入され、かつ前記タグ付けされたゲノムDNAが断片化されて、複数のタグメンテーションされた二本鎖核酸断片であって、前記核酸断片の5'末端に付着された前記トランスポゾンを含む二本鎖核酸断片になる条件下で接触させることと；

(c)

(i)前記二本鎖オリゴヌクレオチドの少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつその5'末端に第2の検出配列を含む第1の固定プライマーと、

( i i ) 前記第 1 の検出配列の少なくとも一部分に相補的なヌクレオチド配列を含む第 2 の選択的プライマーと

を使用して、前記タグメンテーションされた核酸断片を増幅させて、前記第 1 の検出配列、前記核酸断片の前記 5 ' 末端に付着された前記トランスポゾン、および前記第 2 の検出配列を含む、増幅された核酸断片を形成させることと；

( d ) 前記増幅された核酸断片を配列決定することとを含む方法。

( 項目 2 6 )

前記 RNA ガイド型ヌクレアーゼが、Cas9 である、項目 2 5 に記載の方法。

( 項目 2 7 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドのどちらの鎖も、前記ゲノム DNA に対してオルソログスである、項目 2 3 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 2 8 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各 5 ' 末端が、リン酸基を含む、項目 2 3 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 2 9 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各 3 ' 末端が、ホスホロチオエート結合を含む、項目 2 3 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 0 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドの各 5 ' 末端が、ホスホロチオエート結合を含む、項目 2 3 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 1 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、30 ~ 35 個のヌクレオチドまたは 60 ~ 65 個のヌクレオチドを含む、項目 2 3 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 2 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、平滑末端化される、項目 2 3 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 3 )

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、1、2、3、または 4 塩基の突出ヌクレオチドを有する 5 ' 末端を含む、項目 2 3 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 4 )

前記第 1 の検出配列が、第 1 の配列決定タグを含む、項目 2 3 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 5 )

配列決定することが、前記増幅された核酸断片を、前記第 1 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 1 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 3 4 に記載の方法

。

( 項目 3 6 )

前記第 2 の検出配列が、第 2 の配列決定タグを含む、項目 2 3 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 7 )

配列決定することが、前記増幅された核酸断片を、前記第 2 の配列決定タグとハイブリッド形成する第 2 の配列決定プライマーと接触させることを含む、項目 3 6 に記載の方法

。

( 項目 3 8 )

前記二本鎖核酸断片が、約 500 ~ 約 5000 bp を含む、項目 1 9 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 9 )

前記配列決定された核酸断片が、参照ゲノム DNA 試料に対する転座を含む、項目 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 0)

前記ゲノム DNA 試料が、ウイルスによって導入された配列を含む、項目 1 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 1)

前記ゲノム DNA、前記切断されたゲノム DNA、または前記タグ付けされたゲノム DNA を前記トランスポゾンと接触させる前に、ウイルスベクターを使用して、配列を前記ゲノム DNA に導入するステップをさらに含む、項目 1 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 2)

前記配列決定された核酸断片を前記参照ゲノム DNA 試料と比較することをさらに含む、項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 3)

少なくとも 1 つの配列決定された核酸が、前記参照ゲノム DNA 試料に対する転座を含む、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記配列決定された核酸の 1 % 未満が、前記参照ゲノム DNA 試料に対する転座を含む、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記ゲノム DNA 試料が、生きている細胞または組織を含有しない試料から得られる、項目 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 6)

前記ゲノム DNA 試料が、痕跡量の細胞および / または組織を含有する試料から得られる、項目 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記ゲノム DNA 試料が、真核細胞から得られる、項目 1 ~ 4 4 または 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記ゲノム DNA 試料が、原核細胞から得られる、項目 1 ~ 4 4 または 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記ゲノム DNA 試料が、1 つまたは複数の微生物叢から得られる、項目 1 ~ 4 4、4 6、または 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0)

1 つまたは複数の処理装置によって実施される方法であって、複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；

前記データセットから第 1 のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第 1 のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌクレオチド配列はまた、1 つまたは複数の識別子を含み、前記 1 つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；

前記第 1 のデータに基づいて、第 2 のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、変異、欠失、挿入、インデル、転座、逆位、および / または重複を含む 1 つまたは複数の予測される遺伝子編集事象の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；  
前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；

識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することとを含む方法。

(項目 5 1)

前記1つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ  
評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、項目50に記載の方法。

(項目52)

前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、項目50に記載の方法。

(項目53)

バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの1つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、項目50に記載の方法。

(項目54)

整列の前に、前記ヌクレオチド配列から1つまたは複数のアダプターを取り除くことをさらに含む、項目50に記載の方法。

(項目55)

1つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；

前記1つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1つまたは複数の画像を与えることと

をさらに含む、項目50に記載の方法。

(項目56)

前記参照アンプリコンが、1つまたは複数のベクター配列または1つまたは複数のプラスミド配列を含む、項目50に記載の方法。

(項目57)

前記1つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス(UMI)を含む、項目50に記載の方法。

(項目58)

前記1つまたは複数の識別子が、1つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、項目50に記載の方法。

(項目59)

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列される識別子の数を計数することを含む、項目50に記載の方法。

(項目60)

前記データセットが、UDITaSライブラリに基づいている、項目50に記載の方法。

(項目61)

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含むようになる、項目50に記載の方法。

(項目62)

前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択することをさらに含む、項目50に記載の方法。

(項目63)

1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体であって、

複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；

前記データセットから第1のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第1のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌク

レオチド配列はまた、1つまたは複数の識別子を含み、前記1つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；  
前記第1のデータに基づいて、第2のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、1つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象、1つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象、または1つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象と1つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象との両方の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；  
前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；  
識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することと  
を含む、動作を実施するための1つまたは複数の処理装置によって実行可能である、命令を保存する1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目64)

前記1つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ  
評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目65)

前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目66)

前記バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの1つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目67)

前記動作が、  
整列の前に、前記ヌクレオチド配列から1つまたは複数のアダプターを取り除くことを含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目68)

前記動作が、  
1つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；  
前記1つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1つまたは複数の画像を与えることと  
を含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目69)

前記参照アンプリコンが、1つまたは複数のベクター配列または1つまたは複数のプラスミド配列を含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目70)

前記1つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス(UMI)を含む、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目71)

前記1つまたは複数の識別子が、1つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、項目63に記載の1つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目72)

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列

される識別子の数を計数することを含む、項目 6 3 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目 7 3)

前記データセットが、U D i T a S ライブラリに基づいている、項目 6 3 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目 7 4)

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含むようになる、項目 6 3 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目 7 5)

前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択すること  
をさらに含む、項目 6 3 に記載の 1 つまたは複数の非一過性の機械可読記憶媒体。

(項目 7 6)

システムであって、

実行可能である命令を保存する非一過性の機械可読ストレージと；

複数の実体についてのヌクレオチド配列を含むデータセットであって、次世代配列決定データを含むデータセットを受け取ることと；

前記データセットから第 1 のデータを得るために前記データセットを逆多重化することであって、前記第 1 のデータは、前記複数の実体の中のある実体から得られるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列は、前記実体を特定するバーコードを含み、前記ヌクレオチド配列はまた、1 つまたは複数の識別子を含み、前記 1 つまたは複数の識別子は、前記ヌクレオチド配列上で実施される遺伝子編集事象に基づいている、ことと；

前記第 1 のデータに基づいて、第 2 のデータによって表される参照アンプリコンに対して、前記ヌクレオチド配列の少なくとも一部を整列させることであって、前記参照アンプリコンは、1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象、1 つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象、または 1 つまたは複数のオンターゲット遺伝子編集事象と 1 つまたは複数のオフターゲット遺伝子編集事象との両方の提示を含む参照ヌクレオチド配列を含む、ことと；

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部に含有される、前記識別子の数を決定することと；

識別子の前記数に基づいて、前記遺伝子編集事象の結果を評価することと

を含む動作を実施するための前記命令を遂行するための 1 つまたは複数の処理装置とを含むシステム。

(項目 7 7)

前記 1 つまたは複数の識別子が、前記ヌクレオチド配列上で実施される複数の遺伝子編集事象に基づいており；かつ

評価することが、識別子の前記数に基づく前記複数の遺伝子編集事象の結果を評価することを含む、項目 7 6 に記載のシステム。

(項目 7 8)

前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部を、前記参照アンプリコンに対して整列させることが、前記ヌクレオチド配列のヌクレオチドを、前記参照アンプリコンのヌクレオチドと適合させることを含む、項目 7 6 に記載のシステム。

(項目 7 9)

バーコードを含む前記ヌクレオチド配列が、前記バーコード中の前記ヌクレオチドの 1 つを除いてすべてが適合するならば、前記実体を特定する、項目 7 6 に記載のシステム。

(項目 8 0)

前記動作が、

整列の前に、前記ヌクレオチド配列から 1 つまたは複数のアダプターを取り除くことを含む、項目 7 6 に記載のシステム。

(項目 8 1)

前記動作が、

1つまたは複数の表示装置を与えるために、前記遺伝子編集事象の精度を代表する画像データを作成することと；

前記1つまたは複数の表示装置上に、前記画像データに基づいて、1つまたは複数の画像を与えることと

を含む、項目76に記載のシステム。

(項目82)

前記参照アンプリコンが、1つまたは複数のベクター配列または1つまたは複数のプラスミド配列を含む、項目76に記載のシステム。

(項目83)

前記1つまたは複数の識別子が、固有分子インデックス(UMI)を含む、項目76に記載のシステム。

(項目84)

前記1つまたは複数の識別子が、1つまたは複数の予測される遺伝子編集事象を示すものである、項目76に記載のシステム。

(項目85)

前記参照アンプリコンに対して整列される前記ヌクレオチド配列の前記少なくとも一部における前記識別子の前記数を決定することが、予測される遺伝子編集事象に対して整列される識別子の前記数を計数することを含む、項目76に記載のシステム。

(項目86)

前記データセットが、UDiTaSライブラリに基づいている、項目76に記載のシステム。

(項目87)

前記バーコードが、前記ヌクレオチド配列に対して固有であり、その結果、前記ヌクレオチド配列に由来する配列決定ライブラリのすべてのメンバーが、同じバーコードを含むようになる、項目76に記載のシステム。

(項目88)

前記遺伝子編集事象の精度に基づいて、遺伝子編集プロセスを選択することをさらに含む、項目76に記載のシステム。