

【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 1 年 12 月 12 日 (2019.12.12)

【公表番号】特表 2019-509068 (P2019-509068A)

【公表日】平成 31 年 4 月 4 日 (2019.4.4)

【年通号数】公開・登録公報 2019-013

【出願番号】特願 2019-500764 (P2019-500764)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6883 (2018.01)

C 4 0 B 40/06 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6883 Z

C 4 0 B 40/06 Z N A

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 10 月 30 日 (2019.10.30)

【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) 少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸の出発量を初期サンプルに加え、ここで、前記の少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸のそれぞれは (i) 識別タグ、および (ii) 少なくとも 5 縮重塩基を含む可変領域を含み、

(b) 標的核酸の一部および前記の少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸の一部に関して配列決定アッセイを行い、それにより、標的および合成核酸配列リードを得、

(c) 前記の少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸の部分に関する多様性減少値を計算することを含み、

ここで、初期サンプルにおける標的核酸の存在量は、前記多様性減少値を用いて決定される、標的核酸を含む初期サンプルにおける核酸の存在量を決定するための方法。

【請求項 2】

標的核酸が病原体核酸を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

標的核酸が、少なくとも 5 つの異なる病原体からの病原体核酸を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記の少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸が DNA を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記の少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸のそれぞれが 5 0 0 塩基対またはヌクレオチド長未満である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

初期サンプルが血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、気管支肺胞洗浄液、尿、便、唾液または鼻サンプルである、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 7】**

初期サンプルが、単離された核酸のサンプルである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

初期サンプルから配列決定ライブラリーを製造することを更に含み、ここで、配列決定ライブラリーを製造する前に前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸をサンプルに加える、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸の部分に関する多様性減少値が初期サンプルのサンプル処理中の 1 以上の核酸の減少を示す、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸のそれぞれの識別タグが、共通配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

初期サンプルがヒト対象由来である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸が少なくとも  $10^4$  個のユニーク合成核酸を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 13】**

初期サンプルに追加的合成核酸を加えることを更に含み、該追加的合成核酸が少なくとも 3 つの異なる長さを有する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 14】**

第 1 の長さを有する追加的合成核酸の第 1 群、第 2 の長さを有する追加的合成核酸の第 2 群、および第 3 の長さを有する追加的合成核酸の第 3 群を初期サンプルに加えることを更に含み、ここで、追加的合成核酸の第 1 群、追加的合成核酸の第 2 群および追加的合成核酸の第 3 群のそれぞれは、少なくとも 3 つの異なる GC 含量を有する合成核酸を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 15】**

該追加的合成核酸を使用して、初期サンプルにおける標的核酸の存在量を計算することを更に含み、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 16】**

該追加的合成核酸を使用して、該追加的合成核酸の長さ、GC 含量、または長さおよび GC 含量の両方に基づいて初期サンプルにおける標的核酸の存在量を計算することを更に含み、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 17】**

第 1 サンプル処理工程において、前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸を初期サンプルに加える、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 18】**

第 2 サンプル処理工程において、少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸の追加的プールを初期サンプルに加えることを更に含み、ここで、第 2 サンプル処理工程は第 1 サンプル処理工程とは異なる、請求項 17 に記載の方法。

**【請求項 19】**

少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸の追加的プールに関する多様性減少値を計算することを更に含み、請求項 18 に記載の方法。

**【請求項 20】**

前記の少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸に関する多様性減少値を少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸の追加的プールに関する多様性減少値と比較することにより、比較的高い多様性減少を示すサンプル処理工程を特定することを更に含み、請求項 18 に記載の方法。

**【請求項 21】**

少なくとも 1, 000 個のユニーク合成核酸の追加的プールにおけるユニーク合成核酸

のそれぞれが、少なくとも 1, 0 0 0 個のユニーク合成核酸の追加的プールのメンバーとして該合成核酸を特定するドメインを含む、請求項 1 8 記載の方法。

【請求項 2 2】

サンプル識別核酸を初期サンプルに加えることを更に含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 2 3】

( a ) が更に、非ユニーク合成核酸を初期サンプルに加えることを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 2 4】

方法の結果を、介護人、患者またはその他の人に報告することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 5】

決定される存在量が相対的存在量である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 2 6】

決定される存在量が絶対的存在量である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 2 7】

異なる可変領域を含む合成核酸配列リードの数を測定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記の少なくとも 1 0 0 0 個のユニーク合成核酸の出発量を、異なる可変領域を含む合成核酸配列リードの数と比較することによって前記多様性減少値を計算する、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

異なる可変領域を含む異なる合成核酸配列リードを参照配列とアライメントさせることで、該合成核酸配列リードの数を決定する、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 0】

異なる可変領域を含む異なる合成核酸配列リードを互いにアライメントさせ、重複配列リードを除外することにより、該合成核酸配列リードの数を定量する、請求項 2 8 に記載の方法。