

【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 11 月 18 日 (2021.11.18)

【公開番号】特開 2021-153588 (P2021-153588A)  
 【公開日】令和 3 年 10 月 7 日 (2021.10.7)  
 【年通号数】公開・登録公報 2021-048  
 【出願番号】特願 2021-92115 (P2021-92115)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6869 Z N A Z

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 9 月 2 日 (2021.9.2)

【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】

転写産物バリエーションをシミュレートする人工核酸 (NA) 分子の標準セットであって、  
 A) 以下の：

各ファミリーが少なくとも 2 つの異なる人工 NA 分子から成る、少なくとも 2 つの人工 NA 分子のファミリーを含み、

ここで、各ファミリーで独立に、前記各ファミリーのすべての人工 NA 分子が同じ人工遺伝子の転写産物バリエーションであり、及び

ここで、各ファミリーで独立に、前記各ファミリーの人工 NA 分子が、少なくとも 80 ヌクレオチド (nt) の長さの配列を共有し、且つ、前記各ファミリーの少なくとも 2 つの人工 NA 分子が少なくとも 80 nt の長さの少なくとも別の配列と異なり；そして

B) ここで、標準セットが：

- 以下の：選択的転写産物開始部位 (TSS)、選択的転写産物終結部位 (TES)、アンチセンス転写産物、オーバーラップ転写産物、及び以下の：スキップカセットエクソン (CE)、イントロン残存 (IR)、相互除外エクソン (MXE)、選択的 3' スプライス部位 (A3SS)、選択的 5' スプライス部位 (A5SS)、選択的第 1 エクソン (AFE)、選択的最終エクソン (ALE)、及びトランス-スプライシングの群から選択される選択的スプライシング事象、の群から選択される少なくとも 2 つの選択的転写事象をシミュレートし；及び / 又は

- 500 nt ~ 2000 nt の平均である配列長を有し；及び / 又は

- 25% ~ 55% の平均 GC 含量を有し；及び / 又は

- GAA、GAC、GAG、GAT、GCA、GCC、GCG、GCT、GGA、GGC、GGG、GGT、GTA、GTC、GTG、GTT から選択される 5' 開始トリヌクレオチド又は AA、AC、AG、AT、CA、CC、CG、CT、GA、GC、GG、GT、TA、TC、TG、TT から選択される 5' 開始ジヌクレオチド及び / 又は AC、AG、AT、CC、CG、CT、GC、GG、GT、TC、TG、TT から選択される 3' 終結ジヌクレオチドの実質的にランダムに分布して出現し；及び / 又は

ここで、標準セットの各人工 NA 分子が、5' 開始ヌクレオチドとしてグアノシンを有

し；及び／又は

ここで、人工NA分子の標準セットのすべてのエクソン配列の中のすべてのイントロン開始ジヌクレオチドのうちの少なくとも50%がGTであり、ここで、前記イントロン開始ジヌクレオチドの各々が標準セットの別の人工NA分子に存在していない配列の5'終結ジヌクレオチドであるため、それによって、前記別の人工NA分子のイントロンを示し；及び／又は

ここで、人工NA分子の標準セットのすべてのエクソン配列の中のすべてのイントロン開始ジヌクレオチドのうちの少なくとも50%がATであり、ここで、前記イントロン開始ジヌクレオチドの各々が標準セットの別の人工NA分子に存在していない配列の5'終結ジヌクレオチドであるため、それによって、前記別の人工NA分子のイントロンを示し；及び／又は

ここで、人工NA分子の標準セットのすべてのエクソン配列の中のすべてのイントロン終結ジヌクレオチドのうちの少なくとも50%、好ましくは少なくとも75%、特に少なくとも95%がATであり、ここで、前記イントロン終結ジヌクレオチドの各々が、標準セットの別の人工NA分子に存在しない配列の5'終結ジヌクレオチドであるため、それによって、前記別の人工NA分子のイントロンを示し；そして

C)ここで、前記標準セットの配列が、 $10^{-1}$ 未満の統計的有意性の閾値(期待値)で、NCBI GenBankデータベース受入番号が表3で列挙されている配列に対して類似性を有しない、ここで、該類似性は、以下のパラメーター：低複雑性領域フィルタリングを伴った、28のワードサイズ、1、-2の直鎖ギャップコスト及びマッチ/ミスマッチスコア、を用いてBLASTnプログラムによって測定される、標準セット。

【請求項2】

以下の：

A)配列番号1～148の群から選択される配列全体に対して少なくとも80%同一の配列；又は

B)配列番号156～334の群から選択される配列全体に対して少なくとも80%同一の配列を有する少なくとも1つのエクソンを有する配列、を含む人工NA分子。

【請求項3】

少なくとも80個の連続したヌクレオチドから成る配列を含み、その配列が、配列番号1～148から選択される配列の、80ntの最小サイズを有する配列断片に対して少なくとも80%である、人工NA分子。

【請求項4】

各ファミリーが少なくとも2つの、請求項2又は3に記載の異なった人工NA分子から成る、少なくとも2つの人工NA分子ファミリーを含み、

ここで、各ファミリーで独立に、前記各ファミリーのすべての人工NA分子が同じ人工遺伝子の標準転写産物バリエーションであり、且つ

ここで、各ファミリーで独立に、前記各ファミリーの人工NA分子が、少なくとも80ntの長さの配列を共有し、且つ、前記各ファミリーの少なくとも2つの人工NA分子が少なくとも80ntの長さの別の配列と異なる、転写産物バリエーションをシミュレートする人工NA分子の標準セット。

【請求項5】

少なくとも2つの人工NA分子のファミリーを含み、ここで、各ファミリーは、A)配列番号1～148の群から選択される配列の配列全体に対して少なくとも80%同一の配列、又はB)少なくとも80個の連続したヌクレオチドから成る配列であって、その配列が、配列番号1～148から選択される配列の、80ntの最小サイズを有する配列断片に対して少なくとも80%同一の配列、を含む少なくとも2つの異なった人工NA分子からなり；

ここで、独立に各ファミリーについて、前記各ファミリーの全ての人工NA分子は、同一の人工遺伝子の転写バリエーションであり、

ここで、独立に各ファミリーについて、前記各ファミリー人工 N A 分子は、少なくとも 8 0 n t 長の配列を共有し、前記各ファミリーの少なくとも 2 つの人工 N A 分子は少なくとも 8 0 n t の長さの少なくとも別の配列と異なる、請求項 4 に記載の標準セット。

【請求項 6】

前記標準セットが：

- 以下の：選択的転写産物開始部位（T S S）、選択的転写産物終結部位（T E S）、アンチセンス転写産物、オーバーラップ転写産物、及び以下の：スキップカセットエクソン（C E）、イントロン残存（I R）、相互除外エクソン（M X E）、選択的 3' スプライス部位（A 3 S S）、選択的 5' スプライス部位（A 5 S S）、選択的第 1 エクソン（A F E）、選択的最終エクソン（A L E）、及びトランス - スプライシングの群から選択される選択的スプライシング事象、の群から選択される少なくとも 2 つの選択的転写事象をシミュレートし；及び / 又は

- 5 0 0 n t ~ 2 0 0 0 n t の平均である配列長有し；及び / 又は

- 2 5 % ~ 5 5 % の平均 G C 含量を有し；及び / 又は

- G A A、G A C、G A G、G A T、G C A、G C C、G C G、G C T、G G A、G G C、G G G、G G T、G T A、G T C、G T G、G T T から選択される 5' 開始トリヌクレオチド又は A A、A C、A G、A T、C A、C C、C G、C T、G A、G C、G G、G T、T A、T C、T G、T T から選択される 5' 開始ジヌクレオチド及び / 又は A C、A G、A T、C C、C G、C T、G C、G G、G T、T C、T G、T T から選択される 3' 終結ジヌクレオチドの実質的に均一に分布して出現し；及び / 又は

ここで、標準セットの各人工 N A 分子が、5' 開始ヌクレオチドとしてグアノシンを有し；及び / 又は

ここで、人工 N A 分子の標準セットのすべてのエクソン配列の中のすべてのイントロン開始ジヌクレオチドのうちの少なくとも 5 0 % が G Tであり、ここで、前記イントロン開始ジヌクレオチドの各々が標準セットの別の人工 N A 分子に存在していない配列の 5' 終結ジヌクレオチドであるため、それによって、前記別の人工 N A 分子のイントロンを示し；及び / 又は

ここで、人工 N A 分子の標準セットのすべてのエクソン配列の中のすべてのイントロン終結ジヌクレオチドのうちの少なくとも 5 0 % が A Tであり、ここで、前記イントロン終結ジヌクレオチドの各々が、標準セットの別の人工 N A 分子に存在しない配列の 5' 終結ジヌクレオチドであるため、それによって、前記別の人工 N A 分子のイントロンを示す、請求項 4 に記載のセット。

【請求項 7】

前記標準セットの人工 N A 分子のうちの少なくとも 2 つは、あらかじめ設定されたモル量で存在する、請求項 1 及び 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のセット。

【請求項 8】

少なくとも 2 つの人工 N A 分子の各モル量が、少なくとも 2 桁異なる、請求項 7 に記載のセット。

【請求項 9】

前記人工 N A 分子が同じコンテナ内に存在する、請求項 7 又は 8 に記載のセット。

【請求項 10】

前記人工 N A 分子の標準セットをコンテナ内に乾燥させて提供する、請求項 1 及び 4 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のセット。

【請求項 11】

前記人工 N A 分子が R N A 又は D N A である、請求項 1 及び 4 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のセット。