

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7079433号
(P7079433)

(45)発行日 令和4年6月2日(2022.6.2)

(24)登録日 令和4年5月25日(2022.5.25)

(51)国際特許分類 F I
G 1 6 B 20/00 (2019.01) G 1 6 B 20/00

請求項の数 20 (全14頁)

(21)出願番号	特願2018-533694(P2018-533694)	(73)特許権者	518219251
(86)(22)出願日	平成28年12月21日(2016.12.21)		ユアジーン ヘルス ユーケー リミテッド
(65)公表番号	特表2019-508781(P2019-508781 A)		YOURGENE HEALTH UK LTD
(43)公表日	平成31年3月28日(2019.3.28)		イギリス国 エム13 9エヌキュー マンチェスター ネルソン ストリート シティラボス 1. 0
(86)国際出願番号	PCT/GB2016/054019		CITYLABS 1. 0 NELSON STREET MANCHESTER M13 9NQ UNITED KINGDOM
(87)国際公開番号	WO2017/109487	(74)代理人	110000729
(87)国際公開日	平成29年6月29日(2017.6.29)		特許業務法人 ユニアス国際特許事務所
審査請求日	令和1年12月17日(2019.12.17)	(72)発明者	フォアマン、マシュー チャールズ
(31)優先権主張番号	1522665.7		イギリス国 エルイー2 6ディーダブリ
(32)優先日	平成27年12月22日(2015.12.22)		最終頁に続く
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)		

(54)【発明の名称】 染色体異常の検出

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

胎児の染色体の異常の確率を判定するコンピュータ実装方法を実行するように構成された装置であって、

前記方法が、女性被験者から取得された生体試料から標的染色体に対して一致した核酸の数を示す第1のパラメータおよび染色体配列密度を表す第2のパラメータを示すデータを決定することと、

胎児の染色体の異常を示す尤度比を決定することであって、該尤度比が、該第1のパラメータおよび該第2のパラメータに基づいてそれぞれの異常モデルおよび正常モデルに従って染色体の異常の確率と染色体の正常の確率の比として決定することと、

性能パラメータが、胎児に由来する常染色体断片の割合を示すものであって、染色体配列密度を表す該第2のパラメータに基づいて決定される、1つまたは複数の該性能パラメータ閾値を決定することと、

該尤度比の信頼性を決定するために、該試料に関連付けられた1つまたは複数の性能パラメータの推定値を該1つまたは複数の性能パラメータ閾値と比較し、それに依存して該尤度比を出力することと

を含む装置。

【請求項2】

前記性能パラメータ閾値のうちの少なくとも1つが、前記異常モデルおよび前記正常モデルの一方または両方から決定される、請求項1記載の装置。

【請求項 3】

前記 1 つまたは複数の性能パラメータ閾値が胎児由来断片閾値を含む、請求項 1 記載の装置。

【請求項 4】

前記胎児由来断片閾値が前記正常モデルに基づいて決定される、請求項 3 記載の装置。

【請求項 5】

前記比較することが、前記試料に対する胎児由来断片の推定値を前記胎児由来断片閾値と比較することを含む、請求項 3 または 4 記載の装置。

【請求項 6】

前記方法が、前記性能パラメータの前記推定値が前記性能パラメータ閾値よりも小さいとき、前記生体試料を、低い性能パラメータを有すると判定することを含む、請求項 1 から 5 のいずれか記載の装置。

10

【請求項 7】

前記方法が、前記胎児由来断片の推定値が前記胎児由来断片閾値よりも小さいとき、前記生体試料中の胎児由来断片が少ないと判定することを含む、請求項 5 記載の装置。

【請求項 8】

前記性能パラメータ閾値が、前記第 1 のパラメータおよび前記第 2 のパラメータに基づいて動的に決定される、請求項 1 から 7 のいずれか記載の装置。

【請求項 9】

前記胎児由来断片閾値が、前記第 1 のパラメータおよび前記第 2 のパラメータに基づいて動的に決定される、請求項 3 またはそれに従属するいずれかの請求項に従属する場合の、請求項 8 記載の装置。

20

【請求項 10】

前記胎児由来断片閾値が最小カウント比に基づいて決定され、
前記最小カウント比が、前記正常モデルからの確率密度関数下面積が所定の最低感度であることに基づく、請求項 2 または 3 記載の装置。

【請求項 11】

前記胎児由来断片閾値 F_{FN_min} が、

【数 1】

$$F_{FN_min} = 2 \left(\frac{R_{FN_min}}{R_{nonmean}} - 1 \right)$$

30

として決定され、ここで、 R_{FN_min} は最小カウント比であり、

【数 2】

$$R_{nonmean}$$

40

は、前記標的染色体に関する平均無影響染色体カウント比である、請求項 3 記載の装置。

【請求項 12】

前記尤度比 (LR) が、

【数 3】

$$LR = \frac{D_{Tri}(R_{in}, A)}{D_{Non}(R_{in}, A)}$$

として決定され、ここで、 $D_{Tri}(R_{in}, A)$ は前記異常モデルに従って決定される染色体の異常の確率であり、 $D_{Non}(R_{in}, A)$ は前記正常モデルに従って決定され

50

る染色体の正常の確率であり、 R_{ijn} は前記標的染色体に関する前記第1のパラメータであり、 A は染色体配列密度を表す前記第2のパラメータである、請求項1から11のいずれか記載の装置。

【請求項13】

染色体カウント比が、1つまたは複数の参照染色体の各々に割り当てられたマッピングされた核酸の総数に対する標的染色体に割り当てられたマッピングされた核酸の総数の比である、請求項1から12のいずれか記載の装置。

【請求項14】

前記第1のパラメータが染色体カウント比を示す、請求項1から13のいずれか記載の装置。

【請求項15】

前記第2のパラメータが常染色体カウント数を示す、請求項1から14のいずれか記載の装置。

【請求項16】

処理ユニットと、

異常モデルおよび正常モデルを表すデータと、該処理ユニットによって実行されると、女性被験者から取得された生体試料から標的染色体に対して一致した核酸の数を示す第1のパラメータおよび染色体配列密度を表す第2のパラメータを示すデータを決定するステップと、

胎児の染色体の異常を示す尤度比を決定するステップであって、該尤度比が、該第1のパラメータおよび該第2のパラメータに基づいて該それぞれの異常モデルおよび正常モデルに従って染色体の異常の確率と染色体の正常の確率の比として決定するステップと、性能パラメータが、胎児に由来する常染色体断片の割合を示すものであって、染色体配列密度を表す該第2のパラメータに基づいて決定される、1つまたは複数の性能パラメータ閾値を決定するステップと、

該尤度比の信頼性を決定するために、該試料に関連付けられた1つまたは複数の性能パラメータの推定値を該1つまたは複数の性能パラメータ閾値と比較し、それに依存して該尤度比を出力するステップと

を実行するコンピュータ実行可能命令とを記憶するメモリ・ユニットと

を備える装置。

【請求項17】

DNA処理システムからデータを受け取るためのインタフェース・ユニットを備える、請求項16記載の装置。

【請求項18】

コンピュータによって実行されると、前記方法を実行するために請求項1から15のいずれか記載の装置を制御するように構成されるコンピュータ・ソフトウェア。

【請求項19】

コンピュータ可読媒体上に記憶された、請求項18記載のコンピュータ・ソフトウェア。

【請求項20】

コンピュータ可読媒体上に有形に記憶された、請求項18記載のコンピュータ・ソフトウェア。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、染色体の異常の検出に関する。より詳細には、本発明は、生体試料から胎児の染色体の異常の確率を決定することに関する。

【背景技術】

【0002】

ダウン症候群は、比較的一般的な遺伝的疾患である。この症候群は、過剰な染色体21（トリソミー21すなわちT21）の存在、または、それほど頻繁ではないが、その染色体

10

20

30

40

50

の過剰な実質的部分の存在によって引き起こされる。T 1 3 または T 1 8 などの他のトリソミーも知られている。母体血漿からの DNA 分子の DNA 塩基配列決定法に基づいた、そのような状態の出生前診断の方法が知られている。生体試料から異常染色体を確実に判定することは、DNA の処理に関連付けられた変数を考えると、問題がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明の実施形態の目的は、従来技術の問題のうちの1つまたは複数を少なくとも軽減することである。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明の実施形態は、胎児の染色体の異常の確率を決定することに関する。本発明の実施形態では、標的染色体に対する胎児の染色体の異常を示す尤度比が決定される。尤度比は、後で説明するように、第1のモデルおよび第2のモデルに基づいて決定される。そのような異常を検出する際、誤った結果が判定されないことを可能な限り保証することが重要である。特に、偽陰性結果が決定される確率を低下させることが特に望ましい。しかしながら、データが効率的に使用されることを保証することも重要である。それは、結果が、許容可能な数のケースまたは検査において生成されるということである。検査が、その検査に関連付けられた1つまたは複数のパラメータにより結果が信頼できないことを示すのではなく、検査結果は、理想的には、可能ならば宣言されるべきである。たとえば、検査パラメータに関連付けられた所定のカットオフ値の使用によって、検査結果が生成されない、または検査結果が信頼できないと示され、それによって、検査を繰り返す、またはさらなる生体試料が必要とされる。

【0005】

次に、本発明の実施形態について、添付の図を参照しながら、単に例として説明する。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】本発明の一実施形態による装置の説明図である。

【図2】本発明の一実施形態による方法を示す流れ図である。

【図3】本発明の一実施形態によるモデルを形成するデータの図示である。

【図4】本発明の一実施形態によるモデルを形成するデータの図示である。

【図5】本発明の一実施形態による特定の染色体配列密度におけるモデルに対する密度曲線を示すグラフである。

【図6】本発明の一実施形態による異なる特定の染色体配列密度におけるモデルに対する密度曲線を示すグラフである。

【図7】標的染色体に関する第1のモデルおよび第2のモデルのための密度等高線 (density contour) を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0007】

図1は、本発明の一実施形態による装置100を示す。装置100は、メモリ・ユニット120に通信可能に結合された処理ユニット110を備える。処理ユニット110は、コンピュータ実行可能コードまたはソフトウェアを形成する命令を実行するように動作可能である。処理ユニット110は、1つまたは複数のプロセッサを備えてよい。処理ユニット110は、後で説明するように、コンピュータ実行可能コードに従って、生体試料から決定されたデータに対する動作を実行するように動作可能である。コンピュータ実行可能コードは、図2を参照して説明される本発明の一実施形態による方法を実行するように構成されてよい。メモリ・ユニット120は、ROMデバイスおよびRAMデバイスのうちの1つまたは複数などの1つまたは複数のメモリ・デバイスによって形成されてよい。メモリ・ユニット120は、記憶されたデータを読み出すために、およびデータをメモリ・ユニット120に記憶するために、処理ユニット110によってアクセス可能である。コ

10

20

30

40

50

ンピュータ実行可能コードは、メモリ・ユニット１２０に記憶されてよい。メモリ・ユニット１２０は、後で説明するように、第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２を表すデータを記憶してよい。

【０００８】

装置１００は、データを受け取るためのインタフェース・ユニット１３０をさらに備える。特に、データは、ＤＮＡ処理システム１５０から受け取られる。データ通信経路１５１が、インタフェース・ユニット１３０とＤＮＡ処理システム１５０の間に存在してよい。通信経路１５１は、インターネットを含む１つまたは複数の通信ネットワークを備えてよい。装置１００は、後で説明するように、結果を示すデータを出力するための出力ユニット１４０をさらに備えてよい。

10

【０００９】

図２は、本発明の一実施形態による方法２００を示す。方法２００は、胎児の染色体の異常の確率を決定する方法である。

【００１０】

方法２００は、女性被験者から取得された生体試料から標的染色体に関する第１のパラメータおよび染色体配列密度を表す第２のパラメータを示すデータを決定するステップ２０１を含む。このデータは、データをＤＮＡ処理システム１５０から受け取ることによって決定されてよい。データは、通信経路１５１を介してインタフェース・ユニット１３０によって受け取られてよい。

【００１１】

例として、染色体の異常を検出する方法を開示し、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれるWO 2014/033455に対する参照がなされる。WO '455に対する参照がなされるが、本発明の実施形態はこの点に限定されないことが理解されるであろう。

20

【００１２】

WO '455では、配列データが、生体試料内の核酸分子に関して取得され、マッピング解析が、配列データ内の各核酸配列と参照ゲノムの一意の部分に対応する配列との間で実行され、したがって、各マッピングされた核酸は、参照ゲノム内の特定の染色体または前記染色体の一部に割り当てられる。１つまたは複数の参照染色体の各々に割り当てられたマッピングされた核酸の総数に対する標的染色体に割り当てられたマッピングされた核酸の総数の比が測定される。正常妊娠における比に対する、測定された比における統計的に有意な差は、胎児の標的染色体の異常を示す。標的染色体はT21に相当し得るが、標的染色体は他の染色体にも相当してよい。

30

【００１３】

標的染色体に関する第１のパラメータは、いくつかの実施形態では、染色体２１、染色体１８、または染色体１３のうちの１つまたは複数などの１つまたは複数の標的染色体に割り当てられたマッピングされた核酸の総数を示し得るが、他の染色体が使用されてよいことが諒解されるであろう。

【００１４】

いくつかの実施形態では、第１のパラメータは、染色体カウント比、すなわち、１つまたは複数の参照染色体の各々に割り当てられたマッピングされた核酸の総数に対する各標的染色体に割り当てられたマッピングされた核酸の総数の比に対応してよい。しかしながら、いくつかの実施形態では、この比は、後で説明するように、第２のパラメータに基づいて装置１００によって計算されてよい。

40

【００１５】

生体試料からの染色体配列密度を表す第２のパラメータは、いくつかの実施形態では、１つまたは複数の参照染色体の各々に割り当てられたマッピングされた核酸の総数を示してよい。いくつかの実施形態では、第２のパラメータは、常染色体片カウント数であってよい。常染色体片カウント数は、ＤＮＡ処理システム１５０によってカウントされた常染色体片の数である。他の実施形態では、第２のパラメータは、参照染色体のシーケンシング

50

・カバレッジの尺度であってよい。一実施形態では、第２のパラメータは、カバレッジの平均深度を示してよい。

【００１６】

方法２００は、胎児の染色体の異常を示す尤度比を決定するステップ２２０を含む。尤度比は、それぞれのモデル１２１、１２２による染色体の異常の確率と染色体の正常の確率との比として決定されてよい。それぞれのモデルは、メモリ・ユニット１２０に記憶されてよい。

【００１７】

前述のように、装置１００のメモリ・ユニット１２０は、第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２を表すデータを記憶する。第１のモデル１２１は、染色体異常の確率を示す。第２のモデル１２２は、染色体正常を示す。第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２は各々、第１のパラメータおよび第２のパラメータに基づいてパラメータ化される。

【００１８】

図３は、染色体異常の確率を示す第１のモデル１２１の説明図３００である。図４は、染色体正常を示す第２のモデル１２２の説明図４００である。説明図３００、４００は、トリソミー２１に関連するモデルであるが、これは制限的でないことを理解されたい。各モデル１２１、１２２は、 x 軸に沿って示される染色体カウント比と、 y 軸に沿って示される、常染色体片カウント数すなわちアライメントされた片の総数であってよい染色体配列密度によってパラメータ化される。第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２は、確率密度関数を表す。確率密度関数は、複合モデルを使用して決定されてよい。

【００１９】

第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２の各々は、最小パラメータ値から最大パラメータ値の間で、すなわち、最小染色体カウント比值から最大染色体カウント比值の間、および最小常染色体片カウント数から最大常染色体片カウント数の間で、パラメータに対するそれぞれの確率を決定し得る。第１のモデルおよび第２のモデル１２１、１２２は、連続確率密度関数または不連続確率密度関数であってよい、すなわち、確率密度は、モデル１２１、１２２によって、最小パラメータ値から最大パラメータ値の間の範囲内の複数のパラメータ値に指定されてよい。パラメータ値が、指定された値の間にある場合、密度値は、特定のパラメータ値に対して補間されてよい。補間は、隣接する指定されたパラメータ値間の線形補間であってよい。

【００２０】

したがって、異常の確率染色体を示す第１のモデル１２１の場合、密度値は、

$D_{Non}(R_{in}, A)$

と決定され得、ここで、 R_{in} は入力された染色体カウント比、 A は入力された常染色体片カウント数である。同様に、染色体正常を示す第２のモデル１２２の場合、密度値は、

$D_{Tri}(R_{in}, A)$

と決定され得る。

【００２１】

いくつかの実施形態では、モデル１２１、１２２の一方または両方は、

【数１】

$R_{nonmean}$

それぞれの染色体またはトリソミーに関する平均無影響（*unaffected*）染色体カウント比を示す値を含んでよい。

【数２】

$R_{nonmean}$

の値は、

1. トリソミー13: 0.037036
2. トリソミー18: 0.030858
3. トリソミー21: 0.012843

であってよい。

【0022】

上記の値は単に例に過ぎず、他の値も使用されてよいことが諒解されるであろう。

【0023】

いくつかの実施形態では、モデル121、122の一方または両方は、第1の閾値 $R_{threshold1}$ を含んでよい。第1の閾値は、それぞれの染色体またはトリソミーに関連付けられてよい。第1の閾値 $R_{threshold1}$ は、それより下では尤度比がゼロにきわめて近いと考えられ、非常に小さい値に設定されるべき染色体カウント比に対応してよい。 $R_{threshold1}$ の値は、いくつかの実施形態では、

1. トリソミー13: 0.037036
2. トリソミー18: 0.030858
3. トリソミー21: 0.012843

のうちの1つまたは複数であってよい。

【0024】

上記の値は単に例に過ぎず、他の値も使用されてよいことが諒解されるであろう。

【0025】

いくつかの実施形態では、モデル121、122の一方または両方は、第2の閾値 $R_{threshold2}$ を含んでよい。第2の閾値は、それぞれの染色体またはトリソミーに関連付けられてよい。第2の閾値 $R_{threshold2}$ は、それより上では尤度比が事実上無限と考えられ、非常に大きな値に設定されるべき影響された染色体カウント比を示す。第2の閾値 $R_{threshold2}$ の値は、いくつかの実施形態では、

4. トリソミー13: 0.039153
5. トリソミー18: 0.032622
6. トリソミー21: 0.013577

のうちの1つまたは複数であってよい。

【0026】

上記の値は単に例に過ぎず、他の値も使用されてよいことが諒解されるであろう。

【0027】

いくつかの実施形態では、モデル121、122の一方または両方は、任意選択の尤度比較正係数 k_{LR} を含んでよい。尤度比較正係数は、1というデフォルト値を有してよい。

【0028】

図4から特に諒解され得るように、染色体正常に関する確率密度は、常染色体カウント数を減少させるにつれて、著しく減少する。この減少は、約300万の常染色体カウント数よりも下で特に観測可能である。すなわち、常染色体カウントの数が特に 3×10^6 未満に減少するにつれて、同じ染色体カウント比値の場合でも、第2のモデル122によって決定される確率密度値は減少する。類似の影響は、第1のモデル121に対しても発生する。確率密度が減少するにつれて、各曲線の分散が増加してよく、すなわち、曲線は、より広い裾 (tail) を有し、したがって、各曲線下面積は一定のままであってよい。

【0029】

特定の入力パラメータ、すなわち、標的染色体に関する特定のカウント比および特定の常染色体片カウント数に対して、確率密度値は、第1のモデルおよび第2のモデル121、122の各々を使用して決定されてよい。たとえば、図5および図6は、第1の常染色体片カウント数および第2の常染色体片カウント数における、第1のモデルおよび第2のモデル121、122の各々に対する確率密度曲線を示す。図5は、2372258カウントの常染色体片カウント数の場合であり、図6は、5588457カウントの常染色体片カウント数の場合である。第2のモデルすなわち正常モデル122のための密度関数510、610と第1のモデルすなわち異常モデル121のための密度関数520、620と

10

20

30

40

50

の形状の差が観測可能である。

【0030】

図5および図6から諒解され得るように、常染色体片カウント数における標的染色体のためのカウント比に基づいて、染色体の正常の確率は、正常確率分布510、610から決定可能であり、染色体の異常の確率は、異常確率分布520、620から決定可能である。

【0031】

0.012715の染色体カウント比における、すなわち染色体片の約1.27%が染色体21に由来する、ライン530によって示される図5に示すように、染色体の正常の確率密度は4922.1であるが、染色体の異常の確率密度は0.00054354である。

【0032】

尤度比(LR)は、

【数3】

$$LR = k_{LR} \frac{D_{Tri}(R_{in}, A)}{D_{Non}(R_{in}, A)}$$

と決定され得る。

【0033】

したがって、図5の場合、尤度比(LR)は1:9.05551e6である。

【0034】

0.013218の染色体カウント比における、すなわち染色体片の約1.32%が染色体21に由来する、ライン630によって示される図6を参照すると、染色体の正常の確率密度は1.2288e-5であるが、染色体の異常の確率密度は6.68444e7である。したがって、LRは、6.68444e7:1と決定される。

【0035】

いくつかの実施形態では、 $R_{in} > R_{thresh2}$ (ここで、上記で説明したように、 $R_{thresh2}$ は第2の閾値である)であり、かつ $D_{Tri} = 0$ である場合、LRは、比較的に高い値などの所定の値を有するように決定され得る。LRの所定の値は、メモリ・ユニット120によって記憶され得る最大値などの、無限を表す値であってよいが、他の所定の値が使用されてもよいことが理解されよう。

【0036】

いくつかの実施形態では、 $R_{in} < R_{thresh1}$ (ここで、上記で説明したように、 $R_{thresh1}$ は第1の閾値である)かつ $D_{Non} = 0$ である場合、LRは、比較的に低い値などの所定の値を有するように決定され得る。LRの所定の値は、ゼロの値であってよい。LRの所定の値は、メモリ・ユニット120によって記憶され得る最小値であってよいが、他の所定の値が使用されてもよいことが理解されよう。値は、最小の非ゼロ値であってよい。

【0037】

上記の第1の閾値および／または第2の閾値の状況のどちらも発生せず、ゼロの値にされた D_{Non} によりLRが不定の場合、いくつかの実施形態では、LRは、メモリ・ユニット120に記憶され得る、機械が表すことができる最大値であるように決定されることがある。

【0038】

図7は、第1のモデルおよび第2のモデル121、122に基づいた密度等高線を示す。各モデル121、122に対して、複数の特定の密度を表す密度等高線が示されている。図7に示されている特定の密度等高線は、各モデル121、122に対する総密度の50、80、90、および99.5%を囲む。染色体異常の確率を示す第1のモデル121および染色体正常の確率を示す第2のモデル122に対する密度等高線710が示されているが、わかりやすくするために、図7では、すべてにラベルが付されているとは限らない。図7では、重複領域が、点線の境界線730とともに示されている。この重複領域は、

10

20

30

40

50

第1のモデルおよび第2のモデル121、122が重複する領域を示す。重複は、第1の所定の尤度比から第2の所定の尤度比の間にあり、図7では、第1の所定の尤度比および第2の所定の尤度比は1:100および100:1であるが、重複領域は、他の所定の尤度比に対しても決定されてよい。同様に、1の尤度比(1:1)の線が、参照740とともに示されている。諒解され得るように、重複領域は、湾曲した境界線を有し、1のLRの線740も湾曲している。特に、重複領域は、常染色体カウント数の減少とともに広がるのが諒解され得る。したがって、図7は、決定された密度およびLR上で常染色体カウント数および染色体カウント比を変化させる影響を示す。図7は染色体21に関するが、これは限定的でないことが理解されるであろう。

【0039】

図2に戻ると、ステップ230では、いくつかの誤った結果を減少させるための性能パラメータ閾値が決定される。一実施形態では、決定される性能パラメータは胎児由来断片閾値(FFT)である。いくつかの実施形態では、FFTはFFN_minと呼ばれる。FFTは、偽陰性結果すなわち検査が染色体の異常に対して陰性であると間違えて決定される場合の数を減少させるために使用される。FFTは、本発明の実施形態では、動的に決定される。動的決定は、過剰な数の検査を信頼できないと宣言させ得る、所定の胎児由来断片閾値すなわち固定された胎児由来断片閾値の使用を回避することができる。FFTの動的決定は、常染色体片カウントなどの染色体配列密度を表す第2のパラメータまたはシーケンシング・カバレッジを示す他のパラメータに基づく。

【0040】

性能パラメータの推定値は、DNA処理システムによって提供される。特に、いくつかの実施形態では、胎児由来断片の推定値

【数4】

$\hat{F}$

は、DNA処理システム150によって決定される。胎児由来断片推定値は、胎児から発生した常染色体片の断片の推定値である。本発明の実施形態は、胎児の染色体の異常を決定することを目的とするので、十分な常染色体片が母親ではなく胎児から発生することが必要である。胎児由来断片の推定値は、この推定値に関連付けられた不確定値の指示を伴うことがある。

【0041】

動的胎児由来断片推定をサポートするために必要とされる最小カウント比 R_{FN_min} はカウント比の値として決定され、この値より下では、第1のモデル121からの比例する正常確率密度関数下面積 $D_{Non}(R_{in}, A)$ は、所定の最低感度すなわち $MinSensitivity$ であり、上記のように、 A は総常染色体片カウントである。所定の最低感度すなわち $MinSensitivity$ は、各それぞれの染色体またはトリソミーに対して決定されてよい。 $MinSensitivity$ は、

- ・トリソミー13:0.80
- ・トリソミー18:0.98
- ・トリソミー21:0.99

であってよいが、他の値が選択されてもよいことが理解されよう。最小カウント比 R_{FN_min} は、次のように、最小胎児由来断片値に変換されてよい。

【数5】

$$F_{FN_min} = 2 \left(\frac{R_{FN_min}}{R_{non_mean}} - 1 \right) + F_{offs}.$$

ここで、上記のように、

【数6】

R_{non_mean}

10

20

30

40

50

は、それぞれの染色体またはトリソミーに関する平均無影響染色体カウント比を示す。

【0042】

F_{offs} は、胎児由来断片妥当性検査閾値オフセットであり、

$$F_{offs} = a_{FT} + b_{FT} \sigma_F$$

と定義され得、ここで、 σ_F は胎児由来断片推定段階によって生成される胎児由来断片推定分布の標準偏差、 a_{FT} および b_{FT} は妥当性検査閾値決定パラメータである。胎児由来断片推定分布の標準偏差は、経験的誤差分布に適合するなどのために、あらかじめ決定されている可能性がある。これらの決定パラメータは、 $a_{FT} = 0$ および

【数7】

$$b_{FT} = 1.96\sqrt{2}$$

10

の一方または両方の初期値を有してよいが、他の初期値が使用されてもよいことが理解されよう。

【0043】

ステップ230では、試料に対する胎児由来断片の推定値

【数8】

$$\hat{F}$$

が動的 F_{FTFN_min} よりも小さいかどうか判定される。いくつかの実施形態では、胎児由来断片推定値は、胎児の数に応じてスケーリングされる。ステップ230は、

20

【数9】

$$\frac{\hat{F}}{\tau} < F_{FTFN_min}$$

であるかどうかを判定することを含んでよく、ここで、 τ は多胎妊娠補正である。生体試料が多胎妊娠からの試料である場合、 τ は、妊娠において身ごもる胎児の数に等しくなるべきであり、そうでない場合、 τ は1であるべきである。

【0044】

ステップ240において、

30

【数10】

$$\hat{F}$$

または

【数11】

$$\frac{\hat{F}}{\tau}$$

閾値よりも小さいと決定される場合、検査は信頼できない可能性があるとして判定され、方法200はステップ250に進む。ステップ250では、生体試料中の胎児由来断片が少ないことを示す適切な警告が出力されてよい。そうでない場合、ステップ260では、検査の出力が出力されてよい。出力は、試料に対して決定されたLRであってよい。

40

【0045】

有利には、本発明の実施形態は、片カウントまたは胎児由来断片検査が検査結果を否認する正確な検査結果が生成されることを可能にすることによって、たとえばプレフィルタリング手法よりも効率的なデータの使用をもたらす。たとえば、本発明の実施形態は、片カウントが少ないまたは胎児由来断片が少ないにもかかわらず、片カウント割合は十分に決定的な「陽性」結果を表す結果を生じさせる。

【0046】

本発明の実施形態は、ハードウェア、ソフトウェア、またはハードウェアとソフトウェア

50

の組み合わせの形で実現可能であることが諒解されるであろう。任意のそのようなソフトウェアは、消去可能または書き換え可能であろうとなかろうと、たとえばROMのような記憶デバイスなどの、揮発性記憶または不揮発性記憶の形で記憶されてもよいし、たとえば、RAM、メモリ・チップ、デバイス、もしくは集積回路などのメモリの形で記憶されてもよいし、たとえば、CD、DVD、磁気ディスク、または磁気テープなどの、光学的または磁氣的に可読な媒体上に記憶されてもよい。記憶デバイスおよび記憶媒体は、実行されると本発明の実施形態を実施する1つまたは複数のプログラムを記憶するのに適した機械可読媒体の実施形態であることが諒解されるであろう。したがって、実施形態は、任意の先行請求項において特許請求されるシステムまたは方法を実施するためのコードを備えるプログラムと、そのようなプログラムを記憶する機械可読記憶とを提供する。またさらに、本発明の実施形態は、ワイヤード接続またはワイヤレス接続上で搬送される通信信号などの任意の媒体を介して電子的に搬送されてよく、実施形態は、それらを適切に包含する。

10

【0047】

本明細書（あらゆる添付の特許請求の範囲、要約書、および図面を含む）に開示されている特徴のすべて、および／またはそのように開示されるあらゆる方法もしくはプロセスのステップのすべては、そのような特徴および／またはステップのうちの少なくともいくつか相互に排他的である組み合わせを除いて、任意の組み合わせで組み合わせられてよい。

【0048】

本明細書（あらゆる添付の特許請求の範囲、要約書、および図面を含む）に開示されている各特徴は、別段に明記されていない限り、同じ目的、等価な目的、または類似の目的にかなう代替特徴によって置き換えられてよい。したがって、別段に明記されていない限り、開示されている各特徴は、一般的な一連の等価な特徴または類似の特徴の一例に過ぎない。

20

【0049】

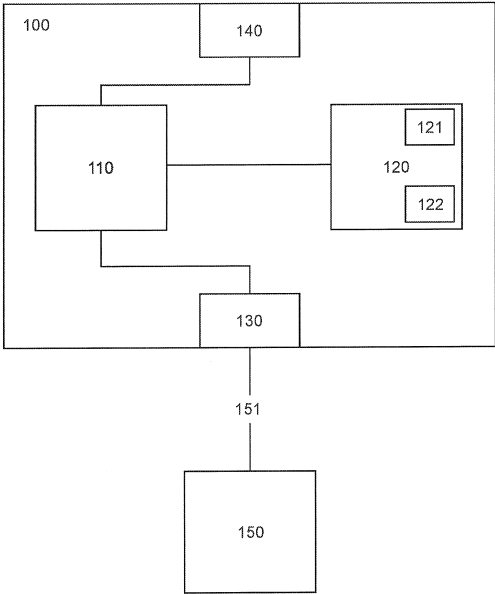
本発明は、任意の前述の実施形態の詳細に制限されない。本発明は、本明細書（あらゆる添付の特許請求の範囲、要約書、および図面を含む）に開示されている特徴の任意の新規な特徴もしくは任意の新規な組み合わせ、またはそのように開示される任意の方法もしくはプロセスのステップの任意の新規なステップもしくは任意の新規な組み合わせに拡張される。特許請求の範囲は、単に前述の実施形態だけでなく、特許請求の範囲に含まれる任意の実施形態も包含するように解釈されるべきである。

30

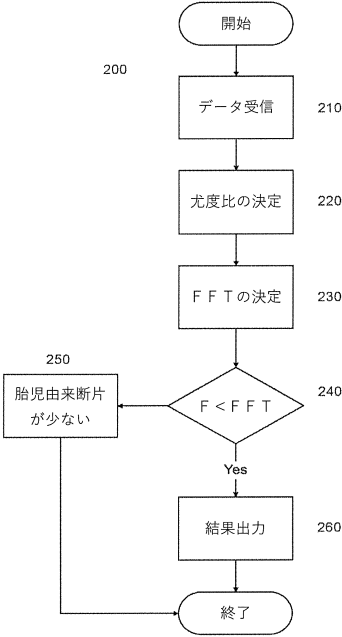
40

50

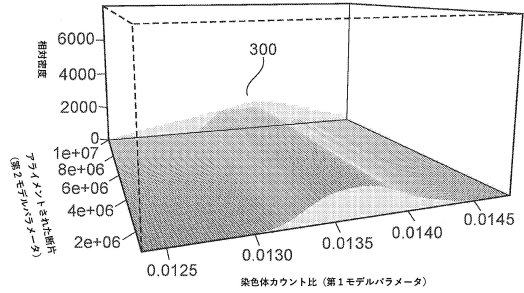
【図面】
【図 1】



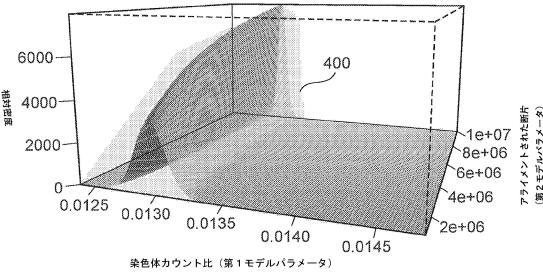
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

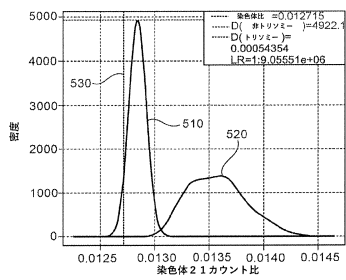
20

30

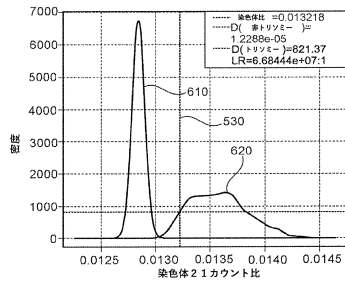
40

50

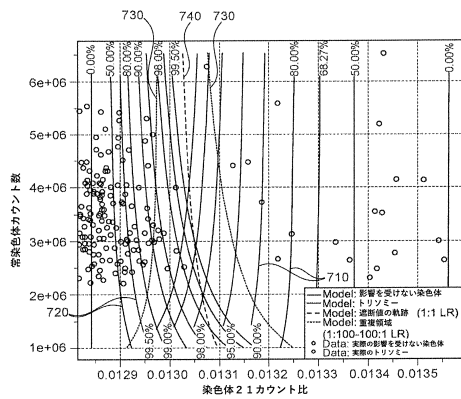
【図 5】



【図 6】



【図 7】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

ユー、レスターシャー、レスター、ナイトン フィールズ、スコット ストリート 37

審査官 山内 裕史

(56)参考文献

米国特許出願公開第2015/0267255 (US, A1)

米国特許出願公開第2012/0190557 (US, A1)

米国特許出願公開第2007/0148631 (US, A1)

国際公開第2013/050383 (WO, A2)

米国特許出願公開第2010/0112590 (US, A1)

Optimal Detection of Fetal Chromosomal Abnormalities by Massively Parallel DNA Sequencing of Cell-Free Fetal DNA from Maternal Blood, Clinical Chemistry, 2011年, Vol.57 No.7, pp.1042-1049

(58)調査した分野

(Int.Cl., DB名)

G16B 5/00 - 99/00