

【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】平成25年11月7日(2013.11.7)

【公表番号】特表2013-509884(P2013-509884A)
 【公表日】平成25年3月21日(2013.3.21)
 【年通号数】公開・登録公報2013-014
 【出願番号】特願2012-538035(P2012-538035)
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 G 0 1 N 37/00 (2006.01)
 G 0 1 N 33/48 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A Z
 C 1 2 N 15/00 A
 G 0 1 N 33/53 M
 G 0 1 N 37/00 1 0 2
 G 0 1 N 33/48 Z

【手続補正書】

【提出日】平成25年9月19日(2013.9.19)

【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】

妊娠女性の出生前胎児(unborn fetus)のゲノムの少なくとも一部を決定するための方法であって、ここで、該胎児は父親及び妊娠女性である母親を有し、さらに、父親は父親ハロタイプをもつ父親ゲノムを有し、母親は母親ハロタイプをもつ母親ゲノムを有し、該方法は、

妊娠女性から得られた生物試料から複数の核酸分子を分析すること、この場合、該生物試料は、母親核酸及び胎児核酸の混合物を含み、ここで、核酸分子の分析は、

ヒトゲノムにおける核酸分子の場所を特定し、及び該核酸分子のそれぞれの対立遺伝子を決定し、

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から胎児に遺伝された父親対立遺伝子を決定し、ここで、母親ゲノムは該第 1 の複数の遺伝子座でヘテロ接合であることを含む；

該第 1 の複数の遺伝子座の 2 つの母親ハロタイプの各々を決定し、

核酸分子の決定された対立遺伝子に基づいて、該第 1 の複数の遺伝子座の各々でそれぞれの対立遺伝子の量をコンピュータシステムで決定し；

該第 1 の複数の遺伝子座の 1 を超える遺伝子座で核酸分子のそれぞれの対立遺伝子の相対量を比較し；並びに

該比較に基づいて、2 つの母親ハロタイプのどれが、該第 1 の複数の遺伝子座によってカバーされたゲノムの一部で母親から胎児に遺伝されたかを決定することを含む前記方法。

【請求項 2】

相対量が核酸分子のサイズ分布を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

第 1 の複数の遺伝子座の 2 つの母親ハロタイプの各々を決定することが、生物試料からの複数の核酸分子の分析に基づいている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を決定することが、ヘテロ接合である父親ゲノムの第 2 の複数の遺伝子座を決定し、ここで、母親ゲノムは第 2 の複数の遺伝子座でヘテロ接合であり；

複数の核酸分子において、第 2 の複数の遺伝子座のそれぞれで父親ゲノムに存在し、母親ゲノムに存在しない対立遺伝子を同定し；

同定された対立遺伝子を有するハロタイプとして遺伝された父親ハロタイプを同定し；並びに

遺伝された父親ハロタイプを用いて、第 1 の複数の遺伝子座で父親から遺伝された対立遺伝子を決定する

ことを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

第 1 の複数の遺伝子座の 2 つの母親ハロタイプの各々を決定することが、

それぞれの遺伝子座での核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の量に基づいて、第 1 の複数の遺伝子座の 1 以上で母親ゲノムの対立遺伝子を同定し；

複数の参照ハロタイプを同定し；並びに

母親ゲノムの同定された対立遺伝子と、複数の参照ハロタイプの対応する遺伝子座を比較し、2 つの母親ハロタイプを同定する

ことを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

第 1 の複数の遺伝子座の 2 つの母親ハロタイプの各々を決定することが、

2 つの母親ハロタイプの各々が固有に同定されるまで、母親ゲノムの同定された対立遺伝子と複数の参照ハロタイプとを繰り返して比較すること

をさらに含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を決定することが、生物試料からの複数の核酸分子の分析に基づき、ここで、第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を決定することが、

胎児ゲノムがヘテロ接合であり、母親ゲノムがホモ接合である第 2 の複数の遺伝子座を決定し；

第 2 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を、

第 2 の複数の遺伝子座のそれぞれの遺伝子座で核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の相対量を決定し；及び

それぞれの遺伝子座で遺伝された対立遺伝子であるものとして、少なくとも相対量を有する対立遺伝子を同定する

ことによって決定し；

複数の参照ハロタイプを同定し；

第 2 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を用いて、参照ハロタイプのうちどれが父親から遺伝されたかを決定し、該決定されたハロタイプが第 1 の複数の遺伝子座を含み；及び

父親から遺伝されることが決定されたハロタイプ由来の第 1 の複数の遺伝子座で父親から遺伝された対立遺伝子を決定する

ことを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

参照ハロタイプのどれが父親から遺伝されたかを決定することが、

父親から遺伝された参照ハロタイプが固有に同定されるまで、第 2 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝されたことが決定された対立遺伝子と、複数の参照ハロタイプの対応

する遺伝子座における対立遺伝子とを繰り返して比較することを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

特定の遺伝子座が、胎児ゲノムがヘテロ接合であり、母親ゲノムがホモ接合である第 2 の複数の遺伝子座の 1 つであることを決定することが、

特定の遺伝子座で対立遺伝子の予測されたカウントの数についてカットオフ値を決定し、該カットオフ値が母親ゲノムがホモ接合であり、胎児ゲノムがヘテロ接合であるかどうかを予測し、ここで、該カットオフ値は、特定の遺伝子座でホモ接合及びヘテロ接合の異なる組み合わせについてカウントの数の統計的分布に基づいて決定され；

生物試料由来の核酸分子の分析に基づいて、特定の遺伝子座で第 1 の対立遺伝子と第 2 の対立遺伝子を検出し；

生物試料由来の複数の核酸分子の配列決定に基づいて、第 1 の対立遺伝子の実際のカウント数を決定し；及び

実際のカウント数がカットオフ値未満であるとき、胎児ゲノムが第 1 の対立遺伝子についてヘテロ接合であり、及び母親ゲノムが第 2 の対立遺伝子についてホモ接合であると決定する

ことを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

統計的分布が、胎児由来である生物試料由来の核酸分子の分画濃度に依存している、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

統計的分布が、さらに、特定の遺伝子座に対応する複数の核酸分子の数に依存している、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を決定することが、

父親ゲノムを分析することによってホモ接合である父親ゲノムの第 2 の複数の遺伝子座を決定し、ここで、第 1 の複数の遺伝子座は第 2 の複数の遺伝子座であり；

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親ゲノムの対立遺伝子を決定し；及び

第 1 の複数の遺伝子座でのそれぞれの対立遺伝子を父親から遺伝された対立遺伝子であると帰属する

ことを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

核酸分子を決定することが、大規模並列配列決定、マイクロアレイ、ハイブリダイゼーション、PCR、デジタル PCR、及び質量分析からなる群から選択される少なくとも 1 つの技術を、核酸分子の少なくとも一部に対して実施することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

第 1 の複数の遺伝子座の第 1 のサブセットの隣接遺伝子座の各々について、

ハロタイプが、第 1 のサブセットの隣接遺伝子座を含む第 1 のゲノム区分について、母親からの胎児によって遺伝されたかどうかを決定することが、

(a) 第 1 のサブセットの連続した遺伝子座に関して、2 つの母親ハロタイプのうちの一方と合致する核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の第 1 の量を決定し；

(b) 第 1 のサブセットの連続した遺伝子座に関して、2 つの母親ハロタイプのうちの他方と合致する核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の第 2 の量を決定し；及び

(c) 第 1 の量と第 2 の量との比較に基づいて、第 1 のゲノム区分について遺伝されたハロタイプを決定する

ことをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

第 1 の量と第 2 の量との比較が逐次確率比検定を用いる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

第 1 の量と第 2 の量を決定することが、第 1 のサブセットの隣接遺伝子座に関して、ともに連続して行われる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

第 1 のサブセットの隣接遺伝子座が 2 つのサブグループにさらに分割され、ここで、第 1 のサブグループは、父親の遺伝子型が母親の第 1 のハロタイプの構成遺伝子型と合致する遺伝子座からなり、第 2 のサブグループは、父親の遺伝子型が母親の第 2 のハロタイプの構成遺伝子型と合致する遺伝子座からなり；及び、ここで、(a) ~ (c) は 2 つのサブグループについて個別に行われる方法であって、該方法は、

これらの 2 つのサブグループについての (c) の結果に基づいて、第 1 のゲノム区分に対して遺伝されたハロタイプを決定する

ことをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

胎児が母親から突然変異を遺伝したことを

胎児によって遺伝された母親のハロタイプを分析し；及び

遺伝されたハロタイプにおいて突然変異を同定する

ことによって決定する

ことをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

生物試料由来の複数の核酸分子を分析することが、

ゲノムの標的領域において核酸に関して生物試料を富化し；及び / 又は

標的領域において核酸を選択的に配列決定し、ここで、第 1 の複数の遺伝子座が該標的領域にある

を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

標的領域が、多数の有益な遺伝子座を含むものとして同定される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

配列決定が、標的領域における核酸だけを配列決定する、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

妊娠女性の胎児のゲノムの少なくとも一部を決定する方法であって、胎児は父親及び妊娠女性である母親を有し、父親は父親ハロタイプを含む父親ゲノムを有し、母親は、母親ハロタイプを含む母親ゲノムを有し、該方法は、

妊娠女性から得られる生物試料由来の複数の核酸分子を分析し、この場合、生物試料は、母親核酸及び胎児の核酸の混合物を含み、ここで、核酸分子の分析は、

ヒトゲノムにおいて核酸分子の位置を同定し；及び

核酸分子のそれぞれの対立遺伝子を決定する

ことを含み；

ヘテロ接合である父親ゲノムの第 1 の複数の遺伝子座を決定し、ここで、該父親ゲノムは、胎児の父親から得られ、ここで、母親ゲノムは第 1 の複数の遺伝子座でホモ接合であり；及び

第 1 の複数の遺伝子座で決定されたそれぞれの対立遺伝子に基づいて、第 1 の複数の遺伝子座によってカバーされたゲノムの一部で父親から胎児に遺伝されるハロタイプをコンピュータシステムで決定する

ことを含む方法。

【請求項 23】

父親から胎児に遺伝されるハロタイプを決定することが、

複数の核酸分子において、第 1 の複数の遺伝子座のそれぞれで父親ゲノムに存在し、母親ゲノムに存在しない対立遺伝子を同定し；及び

同定された対立遺伝子を有するハロタイプとして遺伝された父親ハロタイプを同定することを含み、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 2 4】

胎児が父親から突然変異を遺伝したことを、

胎児によって遺伝された父親のハロタイプを分析し；及び

遺伝されたハロタイプにおいて突然変異を同定する

ことによって決定する

ことをさらに含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

妊娠女性の胎児のゲノムの少なくとも一部を決定する方法であって、胎児は父親と妊娠女性である母親を有し、父親は父親ハロタイプを含む父親ゲノムを有し、母親は母親ハロタイプを含む母親ゲノムを有し、該方法は、

ヘテロ接合である父親ゲノムの第 1 の複数の遺伝子座を決定し、ここで、父親ゲノムは胎児の父親から得られ、胎児の母親から得られる母親ゲノムはまた第 1 の複数の遺伝子座でヘテロ接合であり、ここで、第 1 の複数の遺伝子座での 2 つの父親ハロタイプの各々、及び 2 つの母親ハロタイプの各々は知られ；

ヘテロ接合である父親ゲノムの 1 以上の第 2 の複数の遺伝子座を決定し、ここで、母親ゲノムは第 2 の遺伝子座でホモ接合であり、第 1 の複数の遺伝子座及び第 2 の遺伝子座は同じ染色体上に存在し；

妊娠女性から得られた生物試料から複数の核酸分子を分析し、この場合、生物試料は、母親核酸及び胎児の核酸の混合物を含み、ここで、核酸分子を分析することが、

ヒトゲノムにおける核酸分子の位置を同定し；及び

核酸分子のそれぞれの対立遺伝子を決定する

ことを含む；

2 つの父親ハロタイプのうちのどれが胎児に遺伝されたかを、少なくとも 1 つの第 2 の遺伝子座で生物試料由来の複数の核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子を分析することによって決定し；

第 1 の複数の対立遺伝子の 1 を超える遺伝子座で核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の相対量をコンピュータシステムで比較し；及び

胎児に遺伝されたことが決定された父親ハロタイプに基づいて、かつ相対量の比較に基づいて、第 1 の複数の遺伝子座でカバーされたゲノムの一部で母親から胎児に遺伝されるハロタイプを決定する

ことを含む方法。

【請求項 2 6】

妊娠女性の胎児のゲノムの少なくとも一部を決定する方法であって、胎児は父親と妊娠女性である母親を有し、胎児は父親ハロタイプを含む父親ゲノムを有し、母親は母親ハロタイプを有する母親ゲノムを有し、該方法は、

妊娠女性から得られる生物試料由来の複数の核酸を分析し、この場合、生物試料は、母親核酸及び胎児の核酸の混合物を含み、ここで、核酸分子の分析は、

ヒトゲノムにおける核酸分子の位置を同定し；及び

核酸分子のそれぞれの遺伝子座を決定する

ことを含む；

胎児ゲノムがヘテロ接合であり、母親ゲノムがホモ接合である第 1 の複数の遺伝子座を決定し；

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から得られる対立遺伝子を、

第 1 の複数の遺伝子座のそれぞれの遺伝子座で核酸分子の決定されたそれぞれの対立遺伝子の相対量を決定し；及び

それぞれの遺伝子座で遺伝された対立遺伝子であるものとして少なくとも相対量を有する対立遺伝子を同定する

ことによって第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子をコンピュータシステムで決定し；

複数の参照ハロタイプを同定し；及び

第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝された対立遺伝子を用いて、第 1 の複数の遺伝子座によってカバーされたゲノムの一部で、参照ハロタイプのうちのどれが父親から遺伝されたかを決定する

ことを含む方法。

【請求項 27】

参照ハロタイプのうちのどれが父親から遺伝されたかを決定することが、

父親から遺伝された参照ハロタイプが固有に同定されるまで、第 1 の複数の遺伝子座の各々で父親から遺伝されることが決定された対立遺伝子と、複数の参照ハロタイプの対応する遺伝子座における対立遺伝子とを繰り返し比較する

ことを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

父親ゲノムがヘテロ接合であり、母親ゲノムがホモ接合である第 1 の複数の遺伝子座の 1 つである特定の遺伝子座を決定することが、

特定の遺伝子座で対立遺伝子の予測されたカウントの数についてカットオフ値を決定し、該カットオフ値が母親ゲノムがホモ接合であり、胎児ゲノムがヘテロ接合であるかどうかを予測し、ここで、該カットオフ値は、特定の遺伝子座でホモ接合及びヘテロ接合の異なる組み合わせについてカウントの数の統計的分布に基づいて決定され；

生物試料由来の核酸分子の分析に基づいて、特定の遺伝子座で第 1 の対立遺伝子と第 2 の対立遺伝子を検出し；

生物試料由来の複数の核酸分子の配列決定に基づいて、第 1 の対立遺伝子の実際のカウント数を決定し；及び

実際のカウント数がカットオフ値未満であるとき、胎児ゲノムが第 1 の対立遺伝子についてヘテロ接合であり、及び母親ゲノムが第 2 の対立遺伝子についてホモ接合であると決定する

ことを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 29】

妊娠女性から採取された生物使用における胎児 DNA の分画濃度を決定する方法であって、胎児は父親と妊娠女性である母親を有し、ここで、生物試料は、母親核酸と胎児の核酸の混合物を含み、該方法は、

生物試料由来の複数の核酸分子を分析し、ここで核酸分子の分析は

ヒトゲノムにおける核酸分子の位置を同定し；及び

核酸分子のそれぞれの対立遺伝子を決定する

ことを含み；

1 以上の第 1 の遺伝子座をコンピュータシステムで同定し、ここで、胎児ゲノムが第 1 の遺伝子座でそれぞれの第 1 の対立遺伝子及び第 2 の対立遺伝子を有するように、胎児ゲノムは各々の第 1 の遺伝子座でヘテロ接合であり、ここで、母親ゲノムが第 1 の遺伝子座でそれぞれ第 2 の対立遺伝子の 2 つを有するように、母親ゲノムは各々第 1 の遺伝子座でホモ接合であり、第 1 の対立遺伝子は第 2 の対立遺伝子とは異なり、ここで、1 以上の第 1 の遺伝子座の 1 つである特定の遺伝子座の決定が、

特定の遺伝子座でそれぞれの第 1 の対立遺伝子の予測されたカウントの数についてカットオフ値を決定し、該カットオフ値が母親ゲノムがホモ接合であり、胎児ゲノムがヘテロ接合であるかどうかを予測し、ここで、該カットオフ値は、特定の遺伝子座でホモ接合及びヘテロ接合の異なる組み合わせについてカウントの数の統計的分布に基づいて決定され；

複数の核酸分子の分析に基づいて、特定の遺伝子座でそれぞれの第 1 の対立遺伝子及びそれぞれの第 2 の対立遺伝子を検出し；

生物試料由来の複数の核酸の分析に基づいてそれぞれの第 1 の対立遺伝子の実際のカウント数を決定し；及び

実際のカウント数がカットオフ値未満である場合に、特定の遺伝子座が第 1 の遺伝子座の 1 つであると決定する

ことを含み；

少なくとも 1 つの第 1 の遺伝子座について

それぞれの第 1 の対立遺伝子のカウントの第 1 の数 P、及びそれぞれの第 2 の対立遺伝子のカウントの第 2 の数 Q を決定し；及び

第 1 の数と第 2 の数に基づいて分画濃度を計算する

ことを含む方法。

【請求項 30】

分画濃度が $2 \times p / (p + q)$ として決定される、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

P 及び Q が複数の第 1 の遺伝子座について決定され、この場合、分画濃度 f は、

【数 1】

$$f = \frac{\sum_{i=1}^n 2p_i}{\sum_{i=1}^n (p_i + q_i)}$$

として決定され、式中、 p_i は i 番目の第 1 の遺伝子座についての第 1 の数であり、 q_i は i 番目の第 2 の遺伝子座についての第 2 の数である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 32】

カットオフ値の決定が、最大及び最小の分画濃度についての統計的分布を決定することを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 33】

請求項 1 ～ 18 及び 22 ～ 32 のいずれか 1 項に記載の方法に対して演算を行うプロセッサを制御するための複数の指令を記憶するコンピュータ読み取り可能な媒体。