

【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7年3月17日(2025.3.17)

【国際公開番号】WO2022/204358

【公表番号】特表2024-512627(P2024-512627A)

【公表日】令和6年3月19日(2024.3.19)

【年通号数】公開公報(特許)2024-051

【出願番号】特願2023-559736(P2023-559736)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 Q 1/686(2018.01)

C 1 2 Q 1/6869(2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z Z N A

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 Q 1/6869 Z

10

【手続補正書】

【提出日】令和7年3月7日(2025.3.7)

【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】

対象由来の無細胞デオキシリボ核酸(c f DNA)試料のメチル化プロファイルを判定するための方法であって、

a) c f DNA試料の核酸分子の中で非メチル化シトシンをウラシルに変換して複数の変換された核酸分子を生成するための条件を提供する工程と、

b) 前記複数の変換された核酸分子を、少なくとも2つの細胞増殖性障害に特徴的な予め同定されたメチル化シグネチャーパネルに相補的な核酸プローブに接触させる工程であって、前記予め同定されたメチル化シグネチャーパネルは、表1~17のゲノム領域からなる群から選択される1つ以上のゲノム領域を含み、前記予め同定されたメチル化シグネチャーパネルに対応する配列を濃縮する、工程と、

c) 前記複数の変換された核酸分子の核酸配列を判定する工程と、

d) 前記複数の変換された核酸分子の核酸配列を参照核酸配列に対してアラインメントさせ、それによって前記対象の前記メチル化プロファイルを判定する工程と

を含む、方法。

20

30

40

【請求項2】

前記複数の変換された核酸分子を増幅する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記増幅する工程が、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

核酸シーケンシングライブラリを調製する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記複数の変換された核酸分子を増幅する工程をさらに含み、前記核酸シーケンシングライブラリが前記複数の変換された核酸分子を増幅する工程に先立って調製されている、請求項4に記載の方法。

50

## 【請求項 6】

前記複数の変換された核酸分子の核酸配列を1000×超、2000×超、3000×超、4000×超、または5000×超の深度で判定する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記参照核酸配列がヒト参照ゲノムの少なくとも一部である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記予め同定されたメチル化シグネチャーパネルが、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの3つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの4つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの5つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの6つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの7つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの8つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの9つ以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの10以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの11以上のメチル化ゲノム領域、表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの12以上のメチル化ゲノム領域、または表1～17のメチル化ゲノム領域からなる群からの13以上のメチル化ゲノム領域を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記対象の前記メチル化プロファイルが、細胞増殖性障害に関連付けられるとともに、前記対象が前記細胞増殖性障害を有するかどうかを示す、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記cfDNA試料の前記核酸分子の中で非メチル化シトシンをウラシルに変換するための前記条件は、化学的方法、酵素的方法、またはそれらの組合せを含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記cfDNA試料を、重亜硫酸塩、亜硫酸水素塩、二亜硫酸塩、およびそれらの組合せからなる群から選択される試薬で処理する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記対象由来の前記cfDNA試料が、体液、糞便、結腸流出物、尿、血漿、血清、全血、単離された血液細胞、血液から単離された細胞、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 13】

訓練された機械学習分類子を前記対象の前記メチル化プロファイルに適用する工程であって、前記訓練された機械学習分類子が、健康な対象と細胞増殖性障害を有する対象とを鑑別することで、細胞増殖性障害の存在に関連付けられる出力値を提供し、それによって前記対象における前記細胞増殖性障害の存在または非存在を検出可能となるように訓練される、工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 14】

前記出力値が少なくとも15%である、請求項13に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記細胞増殖性障害が、ステージ1の癌、ステージ2の癌、ステージ3の癌、およびステージ4の癌からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 16】

疾患について以前に処置された対象において微小残存病変をモニタリングする工程をさらに含み、前記モニタリングする工程が、メチル化プロファイルを、本明細書に記載のとおり、ベースラインメチル化状態として判定し、分析を繰り返して、1つ以上の所定の時点で前記メチル化プロファイルを判定することを含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 17】

10

20

30

40

50

前記ベースラインメチル化状態からの変化が、前記対象におけるベースラインでの前記最小残存疾患の状態の変化を示す、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記 1 つ以上のゲノム領域が、表 2、表 3、または表 4 のゲノム領域からなる群から選択されるとともに、大腸癌に関連付けられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記 1 つ以上のゲノム領域が、表 5、表 6、または表 7 のゲノム領域からなる群から選択されるとともに、肝臓癌に関連付けられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記 1 つ以上のゲノム領域が、表 1 0、表 1 1、または表 1 2 のゲノム領域からなる群から選択されるとともに、卵巣癌に関連付けられる、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50