

【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29年3月9日(2017.3.9)

【公表番号】特表2016-506750(P2016-506750A)

【公表日】平成28年3月7日(2016.3.7)

【年通号数】公開・登録公報2016-014

【出願番号】特願2015-557201(P2015-557201)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 4 0 B 40/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 Q 1/04

C 4 0 B 40/08

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月27日(2017.1.27)

【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】

免疫反応細胞集団における変化を評価し、それらの変化と特定の疾患とを関連付けるための方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 少なくとも1つのヒトまたは動物対象から単離された白血球の亜集団から、RNAを単離する工程；

(b) ネステッドプライマーを用いてアンプリコンを生成するために第1増幅反応においてRT-PCRを用いてRNAを増幅する工程であって、ネステッドプライマーの少なくとも一部分が、結果として生じるアンプリコン中に共用プライマーに対する結合部位を組み込むための追加のヌクレオチドを含む、工程；

(c) 第1増幅反応由来のアンプリコンと第1増幅反応由来の1つまたは複数の未使用プライマーとを分離する工程；

(d) 第2増幅反応において共用プライマーを添加することによって、共用プライマーに対する少なくとも1つの結合部位を有する第1増幅反応のアンプリコンを増幅する工程；ならびに

(e) 細胞の亜集団における抗体および/または受容体の再構成を同定するために、第2増幅反応のアンプリコンを配列決定する工程。

【請求項2】

第2増幅反応の産物が、相補性決定領域3(CDR3)を含むポリヌクレオチドである、請求項1記載の方法。

【請求項3】

白血球の亜集団の単離が、フローサイトメトリーによって行われる、請求項1記載の方法。

【請求項4】

白血球の亜集団がT細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項5】

T細胞が、ナイーブT細胞、成熟T細胞および記憶T細胞からなる群より選択される、請求項4記載の方法。

【請求項6】

白血球の亜集団がB細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項7】

B細胞が、ナイーブB細胞、成熟B細胞および記憶B細胞からなる群より選択される、請求項6記載の方法。

【請求項8】

細胞の亜集団における再構成が、B細胞免疫グロブリン重鎖(IgH)、B細胞軽鎖、T細胞受容体、T細胞およびT細胞の再構成からなる群より選択される、請求項1記載の方法。

【請求項9】

(f) ワクチンが投与された個体の集団について同定された再構成と、ワクチンが投与されなかった個体の集団について同定された再構成とを比較する工程；および

(g) 免疫反応を生じさせることにおけるワクチンの有効性を評価する工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項10】

(f) 正常な個体の集団について同定された再構成と、疾患を有すると診断された個体の集団について同定された再構成とを比較する工程；

(g) 特定の再構成または再構成のセットと疾患との間に相関関係があるかどうかを決定する工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項11】

ヒトまたは動物についての1つまたは複数の免疫状態レポートを提供するために、半定量的配列情報を解析する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 対象の免疫プロファイルとデータベース中に保存された疾患ライブラリー由来の累積的な免疫プロファイルとの間で共有される1つまたは複数の別個のCDR3配列を同定する工程；

(b) 該共有される別個のCDR3配列に対応する、対象の検出された配列の総数を合計する工程；

(c) 対象の免疫プロファイルと疾患ライブラリーとの間で共有されるそれらの別個のCDR3を表す、検出された配列の総数の対象の免疫プロファイルにおけるパーセンテージを計算して、1つまたは複数のオリジナル・シェアリング・インデックス(original sharing indice)を作成する工程；

(d) データベース中に保存されたパブリックライブラリーから配列を無作為に選択してサブライブラリーを形成する工程であって、該サブライブラリーが、疾患ライブラリー中の別個のCDR3配列の数にほぼ等しい複数の別個のCDR3配列を含む、工程；

(e) 対象の免疫プロファイルとサブライブラリーとの間で共有される1つまたは複数の別個のCDR3配列を同定する工程；

(f) 該共有されるCDR3配列に対応する検出された配列の総数を合計し、かつ対象の免疫プロファイルとサブライブラリーとの間で共有される検出された配列の総数の対象の免疫プロファイルにおけるパーセンテージを計算して、サンプリング・シェアリング・インデックス(sampling sharing index)を作成する工程；

(g) 工程(d)～(f)を少なくとも1000回またはそれ以上繰り返す工程；および

(h) サンプリング・シェアリング・インデックスが、患者の免疫プロファイルと疾患ライブラリーとの間のオリジナル・シェアリング・インデックスに等しいかまたはそれを超える回数の割合としてP値を推定する工程。

【請求項12】

個人の免疫レポートリーのデータベースを開発するための方法であって、以下の工程を含む方法：

(a)1つまたは複数の個体に由来する白血球の亜集団由来の1つまたは複数のRNAを増幅および配列決定する工程；

(b)配列をデータベースへ入力して、コンピューター、サーバー、または他の電子記憶装置上に保存され得るデータを提供する工程；

(c)1つまたは複数のRNAの配列に対応する個体についての識別情報および特徴を、コンピューター、サーバー、または他の電子記憶装置上に保存され得るデータとして入力する工程、ならびに

(d)1つまたは複数の個体について工程(b)および工程(e)のデータを評価して、1つまたは複数のRNA配列と配列に対応する個体の1つまたは複数の特徴との間に相関関係が存在するかどうかを決定する工程。

【請求項13】

識別情報が、患者識別番号、患者のHLA型を含むコード、下されている場合がある1つまたは複数の臨床診断を含む疾患コード、サンプルの日付を含む「ステージング・コード」、RNAが増幅および配列決定された細胞亜集団の型を含む細胞型コード、ならびにサンプルについて同定された配列を含む1つまたは複数の配列コードからなる群より選択される、請求項12記載の方法。

【請求項14】

白血球の亜集団がT細胞を含む、請求項12記載の方法。

【請求項15】

T細胞が、ナイーブT細胞、成熟T細胞および記憶T細胞からなる群より選択される、請求項14記載の方法。

【請求項16】

白血球の亜集団がB細胞を含む、請求項12記載の方法。

【請求項17】

B細胞が、ナイーブB細胞、成熟B細胞および記憶B細胞からなる群より選択される、請求項16記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0014】

[本発明1001]

免疫反応細胞集団における変化を評価し、それらの変化と特定の疾患とを関連付けるための方法であって、以下の工程を含む方法；

(a)少なくとも1つのヒトまたは動物対象から白血球の亜集団を単離する工程；

(b)細胞の該亜集団からRNAを単離する工程；

(c)ネステッドプライマーを用いてアンプリコンを生成するために第1増幅反応においてRT-PCRを用いてRNAを増幅する工程であって、ネステッドプライマーの少なくとも一部分が、結果として生じるアンプリコン中に共用プライマーに対する結合部位を組み込むための追加のヌクレオチドを含む、工程；

(d)第1増幅反応由来のアンプリコンと第1増幅反応由来の1つまたは複数の未使用プライマーとを分離する工程；

(e)第2増幅反応において共用プライマーを添加することによって、共用プライマーに対する少なくとも1つの結合部位を有する第1増幅反応のアンプリコンを増幅する工程；ならびに

(f)細胞の亜集団における抗体および/または受容体の再構成を同定するために、第2増幅反応のアンプリコンを配列決定する工程。

[本発明1002]

第2増幅反応の産物が、相補性決定領域3(CDR3)を含むポリヌクレオチドである、本発

明1001の方法。

[本発明1003]

白血球の亜集団を単離する工程が、フローサイトメトリーによって行われる、本発明1001の方法。

[本発明1004]

白血球の亜集団がT細胞を含む、本発明1001の方法。

[本発明1005]

T細胞が、ナイーブT細胞、成熟T細胞および記憶T細胞からなる群より選択される、本発明1004の方法。

[本発明1006]

白血球の亜集団がB細胞を含む、本発明1001の方法。

[本発明1007]

B細胞が、ナイーブB細胞、成熟B細胞および記憶B細胞からなる群より選択される、本発明1006の方法。

[本発明1008]

細胞の亜集団における再構成が、B細胞免疫グロブリン重鎖(IgH)、B細胞軽鎖、T細胞受容体、T細胞およびT細胞の再構成からなる群より選択される、本発明1001の方法。

[本発明1009]

(g) ワクチンが投与された個体の集団について同定された再構成と、ワクチンが投与されなかった個体の集団について同定された再構成とを比較する工程；および

(h) 免疫反応を生じさせることにおけるワクチンの有効性を評価する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1010]

(g) 正常な個体の集団について同定された再構成と、疾患を有すると診断された個体の集団について同定された再構成とを比較する工程；

(h) 特定の再構成または再構成のセットと疾患との間に相関関係があるかどうかを決定する工程

をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1011]

ヒトまたは動物についての1つまたは複数の免疫状態レポートを提供するために、半定量的配列情報を解析する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 対象の免疫プロファイルとデータベース中に保存された疾患ライブラリー由来の累積的な免疫プロファイルとの間で共有される1つまたは複数の別個のCDR3配列を同定する工程；

(b) 該共有される別個のCDR3配列に対応する、対象の検出された配列の総数を合計する工程；

(c) 対象の免疫プロファイルと疾患ライブラリーとの間で共有されるそれらの別個のCDR3を表す、検出された配列の総数の対象の免疫プロファイルにおけるパーセンテージを計算して、1つまたは複数のオリジナル・シェアリング・インデックス(original sharing indice)を作成する工程；

(d) データベース中に保存されたパブリックライブラリーから配列を無作為に選択してサブライブラリーを形成する工程であって、該サブライブラリーが、疾患ライブラリー中の別個のCDR3配列の数にほぼ等しい複数の別個のCDR3配列を含む、工程；

(e) 対象の免疫プロファイルとサブライブラリーとの間で共有される1つまたは複数の別個のCDR3配列を同定する工程；

(f) 該共有されるCDR3配列に対応する検出された配列の総数を合計し、かつ対象の免疫プロファイルとサブライブラリーとの間で共有される検出された配列の総数の対象の免疫プロファイルにおけるパーセンテージを計算して、サンプリング・シェアリング・インデックス(sampling sharing index)を作成する工程；

(g) 工程(d) ~ (f)を少なくとも1000回またはそれ以上繰り返す工程；および

(h) サンプリング・シェアリング・インデックスが、患者の免疫プロファイルと疾患ライブラリーとの間のオリジナル・シェアリング・インデックスに等しいかまたはそれを超える回数の割合としてP値を推定する工程。

[本発明1012]

個人の免疫レパートリーのデータベースを開発するための方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 1つまたは複数の個体に由来する白血球の亜集団由来の1つまたは複数のRNAを増幅および配列決定する工程；

(b) 配列をデータベースへ入力して、コンピューター、サーバー、または他の電子記憶装置上に保存され得るデータを提供する工程；

(c) 1つまたは複数のRNAの配列に対応する個体についての識別情報および特徴を、コンピューター、サーバー、または他の電子記憶装置上に保存され得るデータとして入力する工程、ならびに

(d) 1つまたは複数の個体について工程(b)および工程(e)のデータを評価して、1つまたは複数のRNA配列と配列に対応する個体の1つまたは複数の特徴との間に相関関係が存在するかどうかを決定する工程。

[本発明1013]

識別情報が、患者識別番号、患者のHLA型を含むコード、下されている場合がある1つまたは複数の臨床診断を含む疾患コード、サンプルの日付を含む「ステージング・コード」、RNAが増幅および配列決定された細胞亜集団の型を含む細胞型コード、ならびにサンプルについて同定された配列を含む1つまたは複数の配列コードからなる群より選択される、本発明1012の方法。

[本発明1014]

白血球の亜集団がT細胞を含む、本発明1012の方法。

[本発明1015]

T細胞が、ナイーブT細胞、成熟T細胞および記憶T細胞からなる群より選択される、本発明1014の方法。

[本発明1016]

白血球の亜集団がB細胞を含む、本発明1012の方法。

[本発明1017]

B細胞が、ナイーブB細胞、成熟B細胞および記憶B細胞からなる群より選択される、本発明1016の方法。

本開示は、下記の図面を参照してよりよく理解することができる。図面の要素は、必ずしも互いに一定の縮尺ではなく、代わりに、本開示の原理を明確に説明することを目的として強調されている。さらに、同様の参照番号は、いくつかの図にわたって対応する部分を示す。