

【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31年4月11日(2019.4.11)

【公表番号】特表2018-514187(P2018-514187A)

【公表日】平成30年6月7日(2018.6.7)

【年通号数】公開・登録公報2018-021

【出願番号】特願2017-546066(P2017-546066)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

G 1 6 B 30/00 (2019.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/68 Z

G 0 6 F 19/22

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月1日(2019.3.1)

【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】

以下の工程を含む、対象のサンプルを分析するための方法：

(a) 該サンプル由来の核酸中の第1の遺伝子セットの遺伝子に対応する発現レベルを取得する工程；

(b) 該サンプル由来の核酸中の第2の遺伝子セットの遺伝子に対応する核酸配列の存在を判定する工程；

(c) 訓練されたアルゴリズムを用いて、(i) (a)において取得した発現レベルと(i) (b)において取得した核酸配列から同定された1つまたは複数の配列変種とを処理して、少なくとも90%の陰性的中率で該対象における疾患の発症のリスクを判定する工程であって、該第1の遺伝子セットが該第2の遺伝子セットと異なる、工程；ならびに

(d) 該疾患の発症のリスクを同定しているレポートを電子的に出力する工程。

【請求項2】

前記疾患ががんである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(a)の前に、前記対象から前記サンプルを取得する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記核酸配列を参照配列と比較して、前記1つまたは複数の配列変種を同定する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記疾患の発症のリスクが、(i) 前記対象における該疾患の再発のリスク、または(i) 前記対象における該疾患の転移のリスクを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記訓練されたアルゴリズムが、前記疾患を有すると診断された少なくとも25体の対象由来の組織サンプルを用いて訓練される、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

(c) が、前記発症のリスクを低発症リスクまたは中～高発症リスクに層別化する工程をさらに含み、該低発症リスクが、約50%～約80%の発症率を有し、かつ該中～高発症リスクが、約80%～100%の発症率を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

前記層別化する工程が、(i) 少なくとも80%の精度、または(ii) 少なくとも80%の特異度を有する、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記1つまたは複数の配列変種が、点変異、融合遺伝子、置換、欠失、挿入、逆位、変換、転座、またはそれらの任意の組み合わせの1つまたは複数を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

前記第1の遺伝子セットのまたは前記第2の遺伝子セットの前記遺伝子が、約15個未満の遺伝子である、請求項1に記載の方法。

【請求項 11】

(b) における判定する工程が、前記核酸配列を取得するために前記サンプルにおける前記核酸を配列決定する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

前記配列決定する工程が、前記第2の遺伝子セットの前記遺伝子またはその変種を濃縮する工程を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

(b) が、前記第2の遺伝子セットの前記遺伝子に選択的なプローブを用いるマイクロアレイを使用する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 14】

前記サンプルが甲状腺組織サンプルである、請求項1に記載の方法。

【請求項 15】

(i) 前記第1の遺伝子セットおよび前記第2の遺伝子セットが、COL1A1、THBS2、もしくはそれらの任意の組み合わせを含むか、(ii) 前記第2の遺伝子セットが、EPHA3、COL1A1、EHF、RAPGEF5、PRICKLE1、TMEM92、ROBO1、C6orf136、SPAG4、GALNT15、LUM、NCAM2、NUP210L、NR2F1、THBS2、PSORS1C1、もしくはそれらの任意の組み合わせを含むか、(iii) 前記第1の遺伝子セットが、COL1A1、TMEM92、C1orf87、SPAG4、EHF、COL3A1、GALNT15、NUP210L、PDZRN3、C6orf136、NA、NRXN3、COL6A3、RAPGEF5、PRICKLE1、LUM、ROBO1、BGN、AC019117.2、PRSS3P1、もしくはそれらの任意の組み合わせを含むか、(iv) 前記第2の遺伝子セットが、EPHA3、COL1A1、EHF、RAPGEF5、PRICKLE1、TMEM92、ROBO1、C6orf136、SPAG4、GALNT15、LUM、NCAM2、SYNPO2、NUP210L、AMZ1、NR2F1、THBS2、PSORS1C1、FTH1P24、もしくはそれらの任意の組み合わせを含むか、または(v) 前記第2の遺伝子セットが、AKAP9、SPRY3、SPRY3、CAMKK2、COL1A1、FITM2、COX6C、VSIG10L、CYC1、KDM1B、MAPK15、ARSG、PAXIP1、DAAM1、AVL9、DMGDH、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA、HLA-DRB5、HLA-H、IRF1、MGAT1、P2RX1、PLEK、CCDC93、PPP1R12C、SLC41A3、METTL3、CCAR2、PTPRE、SRL、SLC30A5、BMP4、ZNF133、ICE2、DCAKD、TMX1、TNFSF12、PER2、MCM3AP、もしくはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項14に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

[本発明1001]

以下の工程を含む、対象における疾患の発症のリスクを判定するために該対象の組織サンプルを評価するための方法：

(a) 該対象から取得した針吸引サンプルにおける核酸サンプル中の第1の遺伝子セット

の1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する発現レベルを取得する工程であって、該第1の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、工程；

(b) 該核酸サンプル中の第2の遺伝子セットの1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する核酸配列の存在を判定する工程であって、該第2の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、工程；

(c) 対照と、(i) (a) において取得した発現レベルおよび(ii) (b) において取得した核酸配列を別々に比較して、該対照に対する該発現レベルおよび該核酸配列の比較を提供する工程であって、該対照中の参照配列に対する該核酸配列の比較により、該第2の遺伝子セットの所定の遺伝子に関する1つまたは複数の配列変種の存在が示される、工程；  
ならびに

(d) 訓練されたアルゴリズムを用いてプログラムされたコンピュータプロセッサを使用して、(i) 該比較を分析し、かつ(ii) 該比較に基づき該疾患の発症のリスクを判定する工程。

[本発明1002]

前記疾患ががんである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

(a) の前に、前記対象から前記針吸引サンプルを取得する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

(a) の前に、前記針吸引サンプルにおける前記核酸サンプル由来の前記発現レベルを決定する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1005]

(b) の前に、前記針吸引サンプルにおける前記核酸サンプル由来の前記核酸配列を決定する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1006]

前記核酸配列を前記参照配列と比較して、前記1つまたは複数の配列変種を同定する工程をさらに含む、本発明1005の方法。

[本発明1007]

前記参照配列が、前記対象由来のハウスキーピング遺伝子である、本発明1006の方法。

[本発明1008]

前記第1の遺伝子セット中または前記第2の遺伝子セット中の前記1つまたは複数の遺伝子が、複数の遺伝子を含む、本発明1001の方法。

[本発明1009]

前記針吸引サンプルが、細胞学的に不明瞭であるとまたは疑わしいと判明している、本発明1001の方法。

[本発明1010]

前記針吸引サンプルが、約1マイクロリットルまたはそれ未満の容積を有する、本発明1001の方法。

[本発明1011]

前記針吸引サンプルが、約9.0またはそれ未満のRNA Integrity Number (RIN) 値を有する、本発明1001の方法。

[本発明1012]

前記針吸引サンプルが、約6.0またはそれ未満のRIN値を有する、本発明1010の方法。

[本発明1013]

前記疾患の発症のリスクが、前記対象における該疾患の再発のリスクを含む、本発明1001の方法。

[本発明1014]

前記がんの発症のリスクが、前記対象における転移のリスクを含む、本発明1002の方法。

[本発明1015]

前記訓練されたアルゴリズムが、前記疾患を有すると診断された少なくとも25体の対象由来の組織サンプルを用いて訓練される、本発明1001の方法。

[本発明1016]

前記訓練されたアルゴリズムが、前記疾患を有すると診断された少なくとも200体の対象由来の組織サンプルを用いて訓練される、本発明1015の方法。

[本発明1017]

(d)が手術前に行われる、本発明1001の方法。

[本発明1018]

前記対象が陽性の疾患診断を受ける前に(d)が行われる、本発明1001の方法。

[本発明1019]

(d)が、前記発症のリスクを低発症リスクまたは中～高発症リスクに層別化する工程をさらに含み、該低発症リスクが、約50%～約80%の発症率を有し、かつ該中～高発症リスクが、約80%～100%の発症率を有する、本発明1001の方法。

[本発明1020]

前記層別化する工程が、少なくとも80%の精度を有する、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記層別化する工程が、少なくとも80%の特異度を有する、本発明1019の方法。

[本発明1022]

1つもしくは複数のフィルター、1つもしくは複数のラッパー、1つもしくは複数の組み込みプロトコル、またはそれらの任意の組み合わせを前記比較に適用する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1023]

1つまたは複数の前記フィルターを前記比較に適用する工程をさらに含む、本発明1022の方法。

[本発明1024]

1つまたは複数の前記フィルターが、t検定、分散分析(ANOVA)分析、ベイズフレームワーク、ガンマ分布、ウィルコクソン順位和検定、二乗検定の級間・級内和、ランクプロダクト法(rank product method)、ランダム置換法、誤分類の閾値(TNoM)、二変数法、相関に基づく特徴選択(CFS)法、最小冗長性最大関連性(MRMR)法、マルコフブランケットフィルター法、非相関収縮重心法、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1023の方法。

[本発明1025]

前記1つまたは複数の配列変種が、点変異、融合遺伝子、置換、欠失、挿入、逆位、変換、転座、またはそれらの任意の組み合わせの1つまたは複数を含む、本発明1023の方法。

[本発明1026]

1つまたは複数の前記点変異が、約5個～約4000個の点変異である、本発明1025の方法。

[本発明1027]

1つまたは複数の前記融合遺伝子が、少なくとも2つの融合遺伝子である、本発明1025の方法。

[本発明1028]

前記第1のセットまたは前記第2のセットの前記1つまたは複数の遺伝子が、約15個未満の遺伝子である、本発明1001の方法。

[本発明1029]

前記第1のセットまたは前記第2のセットの前記1つまたは複数の遺伝子が、約75個未満の遺伝子である、本発明1001の方法。

[本発明1030]

前記第1のセットまたは前記第2のセットの前記1つまたは複数の遺伝子が、約50個～約400個の遺伝子である、本発明1001の方法。

[本発明1031]

(b)における取得する工程が、前記核酸配列を取得するために前記FNAサンプルにおける核酸サンプルを配列決定する工程を含む、本発明1001の方法。

[本発明1032]

前記配列決定する工程が、前記第2の遺伝子セットの1つもしくは複数の前記遺伝子またはその変種を濃縮する工程を含む、本発明1031の方法。

[本発明1033]

(a)が、前記第1の遺伝子セットの前記1つまたは複数の遺伝子に選択的なプローブを用いるマイクロアレイを使用する工程を含む、本発明1001の方法。

[本発明1034]

前記組織サンプルが甲状腺組織サンプルである、本発明1001の方法。

[本発明1035]

前記第1の遺伝子セットおよび前記第2の遺伝子セットが、COL1A1、THBS2、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1034の方法。

[本発明1036]

前記第2の遺伝子セットが、EPHA3、COL1A1、EHF、RAPGEF5、PRICKLE1、TMEM92、ROBO1、C6orf136、SPAG4、GALNT15、LUM、NCAM2、NUP210L、NR2F1、THBS2、PSORS1C1、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1034の方法。

[本発明1037]

前記第1の遺伝子セットが、COL1A1、TMEM92、C1orf87、SPAG4、EHF、COL3A1、GALNT15、NUP210L、PDZRN3、C6orf136、NA、NRXN3、COL6A3、RAPGEF5、PRICKLE1、LUM、ROBO1、BGN、AC019117.2、PRSS3P1、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1034の方法。

[本発明1038]

前記第2の遺伝子セットが、EPHA3、COL1A1、EHF、RAPGEF5、PRICKLE1、TMEM92、ROBO1、C6orf136、SPAG4、GALNT15、LUM、NCAM2、SYNPO2、NUP210L、AMZ1、NR2F1、THBS2、PSORS1C1、FTH1P24、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1034の方法。

[本発明1039]

前記第2の遺伝子セットが、AKAP9、SPRY3、SPRY3、CAMKK2、COL1A1、FITM2、COX6C、VSIG10L、CYC1、KDM1B、MAPK15、ARSG、PAXIP1、DAAM1、AVL9、DMGDH、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA、HLA-DRB5、HLA-H、IRF1、MGAT1、P2RX1、PLEK、CCDC93、PPP1R12C、SLC41A3、METTL3、CCAR2、PTPRE、SRL、SLC30A5、BMP4、ZNF133、ICE2、DCAKD、TMX1、TNFSF12、PER2、MCM3AP、またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1034の方法。

[本発明1040]

前記第1の遺伝子セットおよび前記第2の遺伝子セットが異なる、本発明1001の方法。

[本発明1041]

前記疾患の新規遺伝子バイオマーカーを同定する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1042]

(a)における取得する工程が、前記1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する前記発現レベルについてアッセイする工程を含む、本発明1001の方法。

[本発明1043]

前記アッセイする工程が、前記1つまたは複数の遺伝子の各々について選択されたマーカーを用いるアレイハイブリダイゼーション、核酸配列決定、または核酸増幅を含む、本発明1042の方法。

[本発明1044]

前記マーカーが、前記1つまたは複数の遺伝子の各々について選択されたプライマーである、本発明1043の方法。

[本発明1045]

前記アッセイする工程が逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を含む、本発明1043の方法。

[本発明1046]

前記判定する工程が、前記核酸サンプル中の前記第2の遺伝子セットの前記1つまたは複数の遺伝子の各々についてアッセイする工程を含む、本発明1001の方法。

[本発明1047]

前記アッセイする工程が、前記1つまたは複数の遺伝子の各々について選択されたマーカを用いるアレイハイブリダイゼーション、核酸配列決定、または核酸増幅を含む、本発明1046の方法。

[本発明1048]

前記マーカが、前記1つまたは複数の遺伝子の各々について選択されたプライマーである、本発明1047の方法。

[本発明1049]

前記アッセイする工程が逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を含む、本発明1047の方法。

[本発明1050]

前記針吸引サンプルが微細針吸引サンプルである、本発明1001の方法。

[本発明1051]

以下を備える、対象における疾患の発症のリスクを判定するために該対象の組織サンプルを評価するためのシステム：

（a）第1の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、該対象から取得した針吸引サンプルにおける核酸サンプル中の該第1の遺伝子セットの1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する発現と、（b）第2の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、該核酸サンプル中の該第2の遺伝子セットの1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する核酸配列の存在の表示とを保存する、1つまたは複数のコンピュータメモリ；ならびに

該1つまたは複数のコンピュータメモリに接続され、かつ、

（i）対照と、（1）該コンピュータメモリ中の発現レベルおよび（2）該核酸配列を別々に比較して、該対照に対する該発現レベルおよび該核酸配列の比較を提供し、該対照中の参照配列に対する該核酸配列の比較により、該第2の遺伝子セットの所定の遺伝子に関する1つまたは複数の配列変種の存在が示されるよう、かつ

（ii）訓練されたアルゴリズムを使用して、（1）該比較を分析し、かつ（2）該比較に基づき該疾患の発症のリスクを判定するよう

プログラムされた、コンピュータプロセッサ。

[本発明1052]

1つまたは複数のコンピュータプロセッサによって実行されると対象における疾患の発症のリスクを判定するために該対象の組織サンプルを評価するための方法を実施する機械実行可能なコードを備える非一時的コンピュータ読み取り可能媒体であって、該方法が以下の工程を含む、非一時的コンピュータ読み取り可能媒体：

（a）該対象から取得した針吸引サンプルにおける核酸サンプル中の第1の遺伝子セットの1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する発現レベルを取得する工程であって、該第1の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、工程；

（b）該核酸サンプル中の第2の遺伝子セットの1つまたは複数の遺伝子の各々に対応する核酸配列の存在を判定する工程であって、該第2の遺伝子セットが該対象における該疾患の発症のリスクに関連する、工程；

（c）対照と、（i）（a）において取得した発現レベルおよび（ii）（b）において取得した核酸配列を別々に比較して、該対照に対する該発現レベルおよび該核酸配列の比較を提供する工程であって、該対照中の参照配列に対する該核酸配列の比較により、該第2の遺伝子セットの所定の遺伝子に関する1つまたは複数の配列変種の存在が示される、工程；ならびに

（d）訓練されたアルゴリズムを用いてプログラムされたコンピュータプロセッサを使用して、（i）該比較を分析し、かつ（ii）該比較に基づき該疾患の発症のリスクを判定

する工程。

## 参照による組み入れ

本明細書で言及されているすべての刊行物、特許、および特許出願は、各々個々の刊行物、特許、または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み入れられることが示されているものとして、参照により本明細書に組み入れられる。参照により組み入れられる刊行物および特許または特許出願が本明細書に含まれる開示と相反する範囲では、本明細書があらゆるそのような相反するものにとって代わるかまたはそれよりも優先される。