

【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10月19日(2017.10.19)

【公表番号】特表2015-527057(P2015-527057A)

【公表日】平成27年9月17日(2015.9.17)

【年通号数】公開・登録公報2015-058

【出願番号】特願2015-517896(P2015-517896)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成29年9月6日(2017.9.6)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象の癌または前癌性変化を検出することを補助する方法であって、

前記対象の構成的ゲノムを取得し；

前記対象の生物試料の複数のDNAフラグメントの各々の1つ以上の配列タグをコンピューターシステムに受け入れ、前記生物試料が無細胞性DNAを含み；

前記配列タグのゲノム位置をコンピューターシステムによって決定し；

第一座位の第一数を決定するために、前記配列タグを、構成的ゲノムとコンピューターシステムによって比較し、ここで、

上記第一座位の各々において、構成的ゲノムと比べた配列異型を有する配列タグ数が、カットオフ値より上で、前記カットオフ値が1より大きい；

前記第一座位における配列異型を有する配列タグのカウントに基づいてパラメーターを決定し；および

前記対象の癌のレベルの分類を決定するために、前記パラメーターを、閾値と比較すること、

を含む、方法。

【請求項2】

前記閾値が、1つ以上の他の対象からの1つ以上の試料から決定される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記座位の前記カットオフ値が、前記座位におけるゲノム位置を有する配列タグの全数に依存する、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

異なるカットオフ値が、少なくとも2つの前記第一座位に使用される、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記第一座位の1つについて第一カットオフ値を動的に決定し、前記第一座位の1つが第一領域内に属する、ことをさらに含む、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記第一カットオフ値が、前記第一座位の1つのシークエンス深度に基づいて決定され

る、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第一カットオフ値が、シーケンスエラー率、前記第一領域のシークエンス深度、および前記第一領域のヌクレオチド位置数に依存する偽陽性率に基づいて決定される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第一カットオフ値が、前記第一領域の真陽性数に基づいて決定される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記生物試料の、前記第一領域のシークエンス深度 D および腫瘍由来 DNA の分画濃度 f に基づいて、前記第一カットオフ値の 真陽性数を算出することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記真陽性数の算出が、式：

【数 1】

$$Pb = 1 - \sum_{i=0}^{r-1} Poisson(i, M_p)$$

(式中、 Pb は、真陽性を検出する確率であり、 r は、前記第一カットオフ値であり、 $M_p = D \times f / 2$ である)

に従ったポアソン分布確率を使用する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第一カットオフ値が、次の基準：

シークエンス深度が 50 より小さいならば、前記第一カットオフ値が 5 である、
シークエンス深度が 50 ~ 110 ならば、前記第一カットオフ値が 6 である、
シークエンス深度が 111 ~ 200 ならば、前記第一カットオフ値が 7 であり、
シークエンス深度が 201 ~ 310 ならば、前記第一カットオフ値が 8 であり、
シークエンス深度が 311 ~ 450 ならば、前記第一カットオフ値が 9 であり、
シークエンス深度が 451 ~ 620 ならば、前記第一カットオフ値が 10 であり、
シークエンス深度が 621 ~ 800 ならば、前記第一カットオフ値が 11 である、
のいずれか 1 つを使用して決定される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 12】

前記パラメーターが、第一座位の前記第一数の加重和であり、前記第一座位の各々の分布が、前記第一座位に割り当てられる重要度値に基づいて、重み付けされる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記パラメーターが、第一座位の前記第一数における配列異型を示す前記配列タグの和を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記和が加重和であり、1つの前記第一座位が、第二前記第一座位の第二重みより異なる第一重みを有する、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第一重みが、前記第二重みより大きく、1つの第一座位が、癌と関連し、前記第二前記第一座位が、癌と関連しない、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記パラメーターが、第一座位の前記第一数である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

配列タグのゲノム位置の決定が：

前記配列タグの少なくとも1つの部分を、参照ゲノムにアライメントさせ、前記配列タグのアライメントが、前記配列タグと前記構成的ゲノムとの間の1つ以上のミスマッチを許容すること

を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 18】

前記構成的ゲノムに対する前記配列タグの比較が、

前記参照ゲノムと比べた異型を有する第二座位の第二数を決定するために、前記構成的ゲノムを、前記参照ゲノムと比較し；

前記アライメントに基づいて、第三座位の第三数を決定し：

前記第三座位の各々において、前記参照ゲノムと関する配列異型を有する前記配列タグの数が、カットオフ値より上であり；および

第一座位の前記第一数を得るために、前記第三数と前記第二数の差を得ることを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

前記第三数と前記第二数の前記差を得ることが、前記第一座位を特定する、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

前記パラメーターの決定が、

第一座位の第一数の各座位について、

前記座位にアライメントされ、前記座位に配列異型を有する配列タグをカウントし；および

各カウントに基づいて前記パラメーターを決定することを含む、請求項19に記載の方法。

【請求項 21】

前記構成的ゲノムが、50%以上の構成的DNAを含む前記対象からの構成的試料に由来する、請求項1に記載の方法。

【請求項 22】

配列タグのゲノム位置の決定が、

前記配列タグの少なくとも1つの部分を、前記構成的ゲノムにアライメントさせ、配列タグの前記アライメントが、前記配列タグと前記構成的ゲノムとの間の1つ以上のミスマッチを許容すること

を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 23】

前記構成的ゲノムへの前記配列タグの比較が、

前記アライメントに基づいて、前記対象の前記構成的ゲノムと関連する遺伝子位置において、配列異型を有する配列タグを特定し；

各遺伝子位置に、配列異型を示し；

前記遺伝子位置にアライメントされ、前記遺伝子位置において配列異型を有する配列タグの各数をカウントし；および

前記各数に基づいて、パラメーターを決定することを含む、請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

前記各数に基づいて、前記パラメーターが、

第一和を得るために、前記各数を加算し；および

前記パラメーターを決定するために、前記第一和を使用することを含む、請求項23に記載の方法。

【請求項 25】

前記パラメーターを決定するために、前記第一和の使用が、配列異型を示す遺伝子位置

の数を、前記第一和から引くことを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記パラメーターを決定するために、前記第一和の使用が、アライメントされた配列タグの量に基づいて、前記第一和を正規化することを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記 1 つ以上の配列タグが、前記生物試料中の DNA フラグメントのランダムシーケンシングから生成される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記パラメーターが、腫瘍由来 DNA の分画濃度である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 9】

癌のレベルが、癌が存在するか否か、癌のステージ、腫瘍のサイズ、癌の重症度、又は突然変異もしくは多数の突然変異に伴う前癌病態によって分類される、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 0】

対象の 1 つ以上の腫瘍中の腫瘍細胞の多数のクローンの不均一性を解析する方法であつて、

前記対象の構成的ゲノムを取得し；

前記対象の生物試料中の複数の DNA フラグメントの各々の 1 つ以上の配列タグをコンピューターシステムによって受け、前記生物試料が、無細胞性 DNA を含み；

前記配列タグのゲノム位置をコンピューターシステムによって決定し；

第一座位の数を決定するために、前記配列タグを、前記構成的ゲノムとコンピューターシステムによって比較し：

各第一座位において、前記構成的ゲノムに関する配列異型を有する前記配列タグの第一数が、カットオフ値より上であり、前記カットオフ値が 1 より大きく；および

前記第一座位の配列タグの前記第一数に基づいて、前記 1 つ以上の腫瘍中の腫瘍細胞の多数のクローンの不均一性測度を算出すること、

ここで、不均一性測度は、多数のクローンのすべてによって共有されない突然変異の量を示す、

を含む、方法。

【請求項 3 1】

多数のクローンの内の少なくとも 2 つが单一対象に存在する、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

不均一性測度が腫瘍内不均一性測度を含む、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 3】

1 以上の腫瘍が多数の腫瘍であり、不均一性測度が腫瘍内不均一性測度を含む、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 4】

不均一性レベルの分類を決定するために、前記不均一性測度を、1 つ以上の閾値と比較することをさらに含む、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 1 つ以上の閾値が、その腫瘍が生検を行われ、不均一性レベル測定のための生検された腫瘍中の突然変異を決定するために解析された 1 つ以上の他の対象から決定され、および 1 つ以上の他の対象の無細胞性 DNA を含む生物試料からの不均一性測度が、閾値を決定するために使用される、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

1 つ以上の閾値に対する前記不均一性測度の比較が、前記不均一性測度に基づいて、不均一性レベルをアウトプットする校正機能に、前記不均一性測度をインプットすることを含む、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記不均一性測度は、DNAフラグメントのカットオフ値が、構成的ゲノムにアライメントされた第一座位の全数を含み、同時に、その座位における配列異型を有する、請求項30に記載の方法。

【請求項38】

複数の不均一性測度が算出され、不均一性測度の算出が、各第一座位で、配列変異を有する配列タグの比率を算出し；前記比率の値の、第一座位の数のヒストグラムを作成し；および前記ヒストグラム中の複数のピークを特定することを含む、請求項30に記載の方法。

【請求項39】

複数の不均一性測度の内の1つが、特定したピークの前記数に対応する、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

複数の不均一性測度の内の1つが、複数のピークの内の2つのピーク高さの比を含む、請求項38に記載の方法。

【請求項41】

前記比率各々が、特定の第一座位で測定した腫瘍DNAの分画濃度を表す、請求項38に記載の方法。

【請求項42】

前記不均一性測度が、配列変異を有する配列タグの第一特定量を有する第一座位の第一比率および配列変異を有する配列タグの第二特定量を有する第一座位の第二比率の比に対応する、請求項30に記載の方法。

【請求項43】

前記第一特定量が、前記第二特定量より小さい、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記第一特定量が、第一範囲および前記第二特定量が、第二範囲であり、前記第一範囲が、前記第二範囲より下である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記第一特定量および前記第二特定量が、分画濃度または配列変異を有する配列タグの絶対数に対応する、請求項42に記載の方法。

【請求項46】

前記不均一性測度が、前記第一数の各々に対応する第一座位の数のヒストグラムから決定される、請求項30に記載の方法。

【請求項47】

複数の不均一性測度が算出され、第一座位が、第一サブセットおよび第二サブセットを含み、前記複数の不均一性測度が、前記第一サブセットに対応する前記第一数の第一ヒストグラムおよび前記第二サブセットに対応する前記第一数の第二ヒストグラムを含む、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

前記不均一性測度が、特定値以上の対応する第一数を有する第一座位の比率を含む、請求項30に記載の方法。

【請求項49】

対象がヒトである、請求項1～48のいずれか1項に記載の方法。

【請求項50】

生物試料が、尿、胸膜液、腹水、腹腔液、唾液、涙、脳脊髄液、又は大便試料である、請求項1～49のいずれか1項に記載の方法。

【請求項51】

90%超の構成的DNAを含む対象の構成的試料を得；構成的試料中のDNA断片のランダムシーケンシングを行って、構成的試料中の複数のDNAフラグメントの各々について1以上の配列タグを得；

参照ゲノムに二配列タグの少なくとも一部をアライメントさせ、
ここで、第二配列タグのアライメントは、M以下のゲノム位置で第二配列タグと構成的
ゲノムとの間のミスマッチを可能にし（ここで、Mは、1以上の整数を示す）；及び
第二配列タグ及び当該アライメントに基づいて構成的ゲノムを構築すること、
を更に含む、請求項1～50のいずれか1項に記載の方法。

【請求項52】

構成的試料が生物試料であり、構成的ゲノムを構築することが、
2つのアレルを有するホモ接合性座位又はヘテロ接合性座位の決定を含むコンセンサス配列を決定し、
構成的ゲノムでコンセンサス配列を使用すること、
を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

対象の生物試料を準備し、
生物試料中のDNAフラグメントのランダムシーケンシングを行って、生物試料中の
多数のDNAフラグメントの各々について1以上の配列タグを作製すること、
を更に含む、請求項1～52のいずれか1項に記載の方法。

【請求項54】

請求項1～50のいずれか1項の方法を実行するために、コンピューターシステム制御
が実行されたときの複数の指示を保存しているコンピューター読み取り可能媒体。

【請求項55】

少なくとも1つのプロセッサ及びメモリを更に含む、請求項1～50のいずれか1項で
定義されたステップを実行するための手段を含むコンピューター装置。