

【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28年9月8日(2016.9.8)

【公表番号】特表2014-502845(P2014-502845A)

【公表日】平成26年2月6日(2014.2.6)

【年通号数】公開・登録公報2014-007

【出願番号】特願2013-546434(P2013-546434)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 A

C 12 N 15/00 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成28年7月14日(2016.7.14)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0013

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0013】

1つの実施形態では、擬父が実父である尤度に基づいて擬父が実父である確率の計算を、最尤推定または最大事後確率法 (maximum a posteriori technique) を使用して行う。1つの実施形態では、擬父が胎児の実父であるか否か確証する工程は、擬父が胎児の実父である計算された確率が、擬父が実父でない計算された確率より有意に高い場合に擬父が実父であることを確証すること、または擬父が実父である計算された確率が、擬父が実父でない計算された確率より有意に高い場合に擬父が胎児の実父でないことを確証することも含むことができる。1つの実施形態では、多型遺伝子座は、二染色体である尤度が高い染色体に対応する。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0014

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0014】

1つの実施形態では、胎児DNAの潜在的画分のパーティションはたった1つの胎児画分を含み、胎児画分は、定量PCR、デジタルPCR、ターゲティングPCR、循環プローブ、他のDNA增幅法、ハイブリッド形成プローブによる捕捉、他の優先的富化方法、SNPマイクロアレイ、DNAマイクロアレイ、配列決定、他の多型対立遺伝子測定技術、他の非多型対立遺伝子測定技術、父親のゲノム中に存在するが母親のゲノム中に存在しない多型対立遺伝子の測定、父親のゲノム中に存在するが母親のゲノム中に存在しない非多型対立遺伝子の測定、Y染色体に特異的な対立遺伝子の測定、父性遺伝した対立遺伝子の測定量と母性遺伝した対立遺伝子の測定量との比較、最尤推定値、最大事後確率法、およびその組み合わせからなるリストから選択した技術によって決定される。1つの実施形態では、潜在的胎児画分のパーティションがたった1つの胎児画分を含み、胎児画分が、標的個体由来のDNAおよび第2の個体由来のDNAを含むDNAの混合サンプル中に存在する前記標的個体由来のDNA画分を決定するための方法であって、前記方法は：DNAの前記混合サンプルから複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得する工程；前記第

2の個体から前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型データを得る工程；ならびにDNAの前記混合サンプル由来の遺伝子型測定値、前記第2の個体由来の遺伝子型データ、および確率推定技術を使用して前記混合サンプル中に存在する前記標的個体由来のDNA画分をコンピュータにて決定する工程を含む、方法を使用して決定される。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0053

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0053】

PARENTAL SUPPORTTM法は、既知の親の遺伝子データ（すなわち、母親および/または父親のハプロタイプおよび/または二倍体遺伝子データ）を、減数分裂機構および標的DNAの不完全な測定、ならびにおそらく1人以上の血縁個体の知識と共に、in silicoにて、複数の対立遺伝子での遺伝子型、および/または胚または任意の標的細胞の父性状態、ならびに重要な遺伝子座の位置での標的DNAを高信頼度で再構築するための集団ベースの交差頻度と共に使用する。PARENTAL SUPPORTTM法は、異なる状況についてどの遺伝子データを予想することができるかという仮説を立て、認められた遺伝子データを考慮して各状況の尤度を計算し、それにより、どの状況が最も可能性が高いかを決定するために減数分裂機構の知識および標的DNAの不完全な測定と共に既知の親遺伝子データ（すなわち、母親および/または父親のハプロタイプおよび/または二倍体遺伝子データ）を使用する。いくつかの実施形態では、問題の状況には、標的個体が目的の疾患関連ハプロタイプを有するかどうか、標的個体が目的の表現型関連ハプロタイプを遺伝しているかどうか、標的個体が1つ以上の異数体染色体を有するかどうか、および/または標的個体が目的の個体に関連するかどうか、および関係がどの程度であり得るかが含まれ得る。PARENTAL SUPPORTTM法により、ノイズの多い遺伝子データが除去される。PARENTAL SUPPORTTMは、特に、標的個体由来の遺伝物質がほんのわずかしか利用可能でない場合（例えば、NPDまたはNPPT）および遺伝子型の直接測定が別の個体由来の夾雜DNAシグナルに起因して本質的にノイズが多い場合に特に適切であり得る。PARENTAL SUPPORTTM法は、従来の順序付けられていない二倍体測定値を対立遺伝子の欠落、混入、可変増幅バイアス、および他のエラーの比率が高いことによって特徴づけることができるにもかかわらず、染色体セグメントのコピー数と共に胚上に高度に正確な順序付けた二倍体対立遺伝子配列を再構築することができる。本方法は、根底にある遺伝子モデルおよび根底にある測定エラーモデルの両方を使用することができる。遺伝子モデルは、各SNPでの対立遺伝子の確率およびSNP間での交差確率の両方を決定することができる。対立遺伝子の確率を親から得たデータに基づいて各SNPでモデリングすることができ、国際HapMap計画によって開発されたHapMapデータベースから得たデータに基づいてSNP間の交差確率をモデリングすることができる。根底にある適切な遺伝子モデルおよび測定エラーモデルを考慮して、計算効率を修正して最大事後確率(MAP)推定を使用して、胚内の各SNPでの正確で順序付けた対立遺伝子値を推定することができる。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0060

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0060】

遺伝子データ（「遺伝子型データ」ともいう）とは、1以上の個体のゲノムの態様を記載したデータを指す。遺伝子データは、1つの遺伝子座または1組の遺伝子座、配列の一部もしくは全体、染色体の一部もしくは全体、またはゲノム全体を指してもよい。遺伝子データは、1つまたは複数のヌクレオチドの種類を指してもよい。遺伝子データは、一組

の連続ヌクレオチド、またはゲノム中の異なる位置由来のヌクレオチド、またはその組み合わせを指してもよい。遺伝子型データは典型的にはコンピュータ上の情報(*in silico*)であるが、配列中の物理的ヌクレオチドを、化学的にコード化された遺伝子データと見なすことも可能である。遺伝子型データは、「個体上にある」、「個体に属する」、「個体にある」、「個体に由来する」、または「個体上にある」ということができる。遺伝子型データは、遺伝子型決定プラットフォームからの出力測定値を指してもよい。この測定値は遺伝物質に関して取得される。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0171

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0171】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の方法は、最尤法を使用して表現型または遺伝子型(例えば、染色体異常、病状、または父性関係)の有無を検出することができる。これは、条件の有無をコールするための閾値をそれぞれの場合に適切なように調整することができるので、单一仮説棄却技術を使用した方法より実質的に改良されている。これは、母体血漿中に見出される浮遊DNA中に存在する胎児DNAおよび母体DNAの混合物から利用可能な遺伝子データから懐胎している胎児の父性を決定することを目的とする診断技術に特に関連する。最尤推定法は、各仮説に関連する対立遺伝子分布を使用して各仮説を必要条件とするデータの尤度を推定することができる。次いで、これらの条件確率を、仮説コールおよび信頼度に変換することができる。同様に、最大事後確率推定法は、最尤推定値と同一の条件確率を使用するが、最良の仮説を選択し、信頼度を決定した場合に集団事前確率を組み合わせる。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0172

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0172】

したがって、最尤推定値(MLE)技術または密接に関連する最大事後確率(MAP)法の使用によって2つの利点が得られる。第1に正確なコールの機会が増大し、各コールについての信頼度も計算される。1つの実施形態では、最大確率を有する仮説に対応する父性コールの選択を、最尤推定値または最大事後確率推定値を使用して行う。1つの実施形態では、单一仮説棄却技術を使用する当該分野で公知の任意の方法を使用し、MLEまたはMAP技術を使用するように再構築する工程を含む懐胎している胎児の父性の決定方法を開示する。

【誤訳訂正7】

【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】

擬父が、妊娠中の母親が懐胎している胎児の実父であるか否かを推定するための方法であって、前記方法は：

前記擬父由来の遺伝物質に関して、複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し、前記妊娠中の母親由来の血液サンプルに由来する、胎児DNAおよび母体DNAを含むDNA混合サンプルに関して、前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し、ここで、前記擬父由来の遺伝物質に関する遺伝子型測定値、および、前記DNA混合サ

ンブルに関する遺伝子型測定値は、前記複数の多型遺伝子座におけるヌクレオチドの種類を含む、遺伝子型決定プラットフォームからの出力測定値であり、

前記擬父由来の遺伝物質に関して取得した遺伝子型測定値、および、前記DNA混合サンプルに関する遺伝子型測定値、並びに、最尤推定値又は最大事後確率(maximum a posteriori)法を使用して、前記擬父が前記胎児の実父である確率をコンピュータにて決定し、

決定された前記確率に基づき、単一仮説棄却検定、最尤推定、又は最大事後確率(maximum a posteriori)法を使用して、前記擬父が前記胎児の実父であるか否かを確認することを包含する、方法。

【請求項2】

前記母親由来の遺伝物質に由来する前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を得る工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法であって、前記擬父が前記胎児の実父である確率が、前記母親由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、前記擬父由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、および前記DNA混合サンプルに関する取得された遺伝子型測定値を使用して決定される、方法。

【請求項3】

前記多型遺伝子座が一塩基多型(SNP)を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記DNA混合サンプルが、(i)前記母親由来の血液サンプルの血漿画分中の浮遊DNA、(ii)母体全血、(iii)有核細胞を含む母体血画分、または(iv)胎児細胞および母体細胞の混合物を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記擬父が前記胎児の実父である確率を決定する工程が、

前記複数の多型遺伝子座内の各遺伝子座について対立遺伝子の集団内頻度を取得し；コンピュータを用いて、前記DNA混合サンプルにおいて胎児DNAの潜在的画分のパーティションを作製し、ここで前記胎児DNAの潜在的画分のパーティションは、2%胎児画分から30%胎児画分までの範囲に及び；

前記パーティション中の前記潜在的胎児画分の各々について前記母親由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、前記擬父由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、および前記DNA混合サンプルに関する取得された遺伝子型測定値を考慮して、最尤推定又は最大事後確率(maximum a posteriori)法を用いて、前記擬父が前記胎児の実父である確率を計算し；

前記パーティション中の前記潜在的胎児画分の各々について前記擬父が前記胎児の実父である計算された確率を組み合わせることによって、前記擬父が前記胎児の実父である確率を決定し；

前記パーティション中の前記潜在的胎児画分の各々について前記母親由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、前記擬父由来の遺伝物質に関して取得された遺伝子型測定値、および前記DNA混合サンプルに関する取得された遺伝子型測定値を考慮し、そして得られた前記対立遺伝子の集団内頻度を考慮して前記擬父が前記胎児の実父でない確率を計算し；

前記パーティション中の前記潜在的胎児画分の各々について計算された、前記擬父が前記胎児の実父ではない確率を組み合わせることによって前記擬父が前記胎児の実父でない確率を決定する

ことを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項6】

前記擬父が前記胎児の実父である確率を計算することおよび前記擬父が前記胎児の実父でない確率を計算することが、

前記複数の多型遺伝子座のそれぞれについて、プラットフォーム応答モデル、パーティション中の前記潜在的胎児画分中の1つまたは複数の画分、前記母親についての複数の対立遺伝子比、前記擬父についての複数の対立遺伝子比、および前記胎児についての複数の

対立遺伝子比を使用して、特定の遺伝子座で観察された配列データの尤度を計算すること；

前記パーティション中の全ての潜在的胎児画分、多型遺伝子座組中の前記母親の対立遺伝子比、多型遺伝子座組中の前記擬父の対立遺伝子比、および多型遺伝子座組中の前記胎児の対立遺伝子比に関して各多型遺伝子座での観察された前記配列データの尤度を組み合わせることによって前記擬父が実父である尤度を計算すること；

前記パーティション中の全ての潜在的胎児画分、多型遺伝子座組中の前記母親の対立遺伝子比、多型遺伝子座組についての集団内頻度、および多型遺伝子座組中の前記胎児の対立遺伝子比に関して各多型遺伝子座での観察された前記配列データの尤度を組み合わせることによって前記擬父が実父でない尤度を計算すること；

前記擬父が実父である尤度に基づいて前記擬父が実父である確率を計算すること；および

前記擬父が実父でない尤度に基づいて前記擬父が実父でない確率を計算することをさらに含む、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記擬父が実父である尤度に基づいて前記擬父が実父である確率を計算することを、最尤推定または最大事後確率法を使用して行う、請求項5に記載の方法。

【請求項8】

擬父が胎児の実父であるか否か確証する工程が、

前記擬父が前記胎児の実父である計算された確率が、前記擬父が実父でない計算された確率より有意に高い場合に前記擬父が実父であることを確証すること；または

前記擬父が実父でない計算された確率が、前記擬父が実父である計算された確率より有意に高い場合に前記擬父が前記胎児の実父でないことを確証することをさらに含む、請求項5に記載の方法。

【請求項9】

胎児DNAの潜在的画分の前記パーティションがたった1つの胎児画分を含み、前記胎児画分が、定量PCR、デジタルPCR、ターゲティングPCR、循環プローブ、他のDNA增幅法、ハイブリッド形成プローブによる捕捉、他の優先的富化方法、SNPマイクロアレイ、DNAマイクロアレイ、配列決定、他の多型対立遺伝子測定技術、他の非多型対立遺伝子測定技術、父親のゲノム中に存在するが母親のゲノム中に存在しない多型対立遺伝子の測定、父親のゲノム中に存在するが母親のゲノム中に存在しない非多型対立遺伝子の測定、Y染色体に特異的な対立遺伝子の測定、父性遺伝した対立遺伝子の測定量と母性遺伝した対立遺伝子の測定量との比較、最尤推定値、最大事後確率法、およびその組み合わせからなる群より選択される技術によって決定される、請求項5に記載の方法。

【請求項10】

前記擬父が前記胎児の実父であるか否かの確証された決定についての信頼度を計算する、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記母親由来の遺伝物質から遺伝子型測定値を得る工程が、母体遺伝物質から本質的になる前記母親由来の遺伝物質のサンプルに関して遺伝子型測定値を取得することを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項12】

前記母親由来の遺伝物質から遺伝子型測定値を得る工程が、

前記DNA混合サンプルに関して取得した遺伝子型測定値に由来する、どの遺伝子型測定値が前記母親由来の遺伝物質に起因する可能性が高いかを、対立遺伝子の集団内頻度を用いて推測すること；および

前記母親由来の遺伝物質に起因すると推測された遺伝子型測定値を、得られた遺伝子型測定値として使用する

ことを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項13】

請求項 1 に記載の方法を使用して作成された、前記胎児の確証された父性を開示する報告書。

【請求項 1 4】

前記方法が、

(i) 多型遺伝子座において前記胎児 D N A には存在するが、前記母体 D N A には存在しない対立遺伝子を同定する工程、および／または、(i) 多型遺伝子座において前記胎児 D N A および前記母体 D N A に存在しない対立遺伝子を同定する工程；

前記擬父が前記胎児の実父である確率をコンピュータにて決定する工程であって、前記決定する工程が、以下：

(1) (i) 多型遺伝子座において前記胎児 D N A には存在するが、前記母体 D N A には存在しない前記対立遺伝子と、(ii) 前記擬父由来の遺伝物質中の対応する多型遺伝子座における対立遺伝子とを比較すること、および／または

(2) (i) 多型遺伝子座において前記胎児 D N A および前記母体 D N A に存在しない前記対立遺伝子と、(ii) 前記擬父由来の遺伝物質中の対応する多型遺伝子座における対立遺伝子とを比較すること

を含む、工程；ならびに

前記擬父が前記胎児の実父である、決定された確率を使用して、前記擬父が前記胎児の実父であるか否かを確証する工程

を包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

擬父が、妊娠中の母親が懐胎している胎児の実父であるか否かを確証するための方法であって、前記方法は：

前記擬父由来の遺伝物質に関して複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し；

前記胎児と遺伝的に非血縁の複数の個体由来の遺伝物質に関して前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を得る工程；

前記妊娠中の母親からの血液サンプルを起源とする D N A 混合サンプルに関して前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し、ここで前記 D N A 混合サンプルが、胎児 D N A および母体 D N A の両方を含み；

ここで、前記擬父由来の遺伝物質に関する遺伝子型測定値、前記非血縁の複数の個体に関する遺伝子型測定値、および、前記妊娠中の母親の血液サンプルから得られた遺伝子型測定値は、前記複数の多型遺伝子座におけるヌクレオチドの種類を含む、遺伝子型決定プラットフォームからの出力測定値であり、

前記擬父について検定統計量を計算し、ここで前記擬父についての前記検定統計量が、前記擬父と前記胎児との間の遺伝的類似度を示し、かつ前記擬父についての前記検定統計量が、前記擬父由来の遺伝物質に関して取得した遺伝子型測定値、および前記 D N A 混合サンプルに関して取得した遺伝子型測定値に基づいており、ここで検定統計量は、選択された複数のペアレンタルコンテクストについての S N P 測定値の分布のパーセンタイル値の関数であって、値の相違を示す関数であり、ここで各ペアレンタルコンテクストは、母の遺伝子型と胎児の擬父の遺伝子型とが、各対立遺伝子について同一であるような、複数の対立遺伝子の組であり；

前記複数の非血縁の個体について複数の検定統計量を計算し、ここで非血縁の個体についての各検定統計量は、前記非血縁の個体と前記胎児との間の遺伝的類似度を示し、かつ前記非血縁の個体についての前記検定統計量が、前記非血縁の個体由来の遺伝物質に関して取得した遺伝子型測定値、および前記 D N A 混合サンプルに関して取得した遺伝子型測定値に基づき；

前記擬父についての前記検定統計量が前記複数の非血縁の個体についての前記検定統計量の分布の一部である確率を計算し；

前記擬父についての前記検定統計量が前記複数の非血縁の個体についての前記検定統計量の分布の一部である確率に基づき、単一仮説棄却検定、最尤推定、又は最大事後確率法を用いて、前記擬父が前記胎児の実父であるか否かを確証する

ことを包含する、方法。

【請求項 16】

前記擬父が前記胎児の実父であるか否か確証する工程が、

前記擬父が前記胎児の実父である確率が所定の上限閾値を超える場合に、前記擬父が前記胎児と非血縁であるという仮説を棄却することによって、前記擬父が前記胎児の実父であると確証すること；または

前記擬父が前記胎児の実父である確率が所定の下限閾値未満である場合に、前記擬父が前記胎児と非血縁であるという仮説を棄却しないことによって、前記擬父が前記胎児の実父ではないと確証すること；または

尤度が前記下限閾値と前記上限閾値との間である場合または前記尤度が十分に高い信頼度で決定されない場合に擬父が前記胎児の実父であるか否か確証しないことをさらに含む、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

擬父が、妊娠中の母親が懐胎している胎児の実父であるか否かを確証するための方法であって、前記方法は：

前記擬父由来の遺伝物質に関して、複数の多型遺伝子座中の各遺伝子座に存在する対立遺伝子の種類を含む遺伝子型測定値を取得し；

前記妊娠中の母親由来の血液サンプルを起源とする DNA 混合サンプルに関して、前記複数の多型遺伝子座中の各遺伝子座に存在する前記対立遺伝子の種類および量を含む遺伝子型測定値を取得し、ここで前記 DNA 混合サンプルは、胎児 DNA および母体 DNA の両方を含み、かつ前記胎児 DNA および前記母体 DNA は、前記混合サンプル中で物理的に混合された状態で存在し；

ここで、前記擬父由来の遺伝物質に関する遺伝子型測定値、および、前記 DNA 混合サンプルに関する遺伝子型測定値は、前記複数の多型遺伝子座におけるヌクレオチドの種類を含む、遺伝子型決定プラットフォームからの出力測定値であり、

前記 DNA 混合サンプルにおける胎児 DNA 対 全 DNA の可能性のある 1 つ以上の比に関して、前記 DNA 混合サンプルについて予想される遺伝子型測定値をコンピュータにて計算し、ここで前記 DNA 混合サンプルについて前記予想される遺伝子型測定値は、前記擬父由来の遺伝物質に関して取得された前記遺伝子型測定値から計算され；

前記 DNA 混合サンプルに関して取得された前記遺伝子型測定値と前記 DNA 混合サンプルについて前記予想される遺伝子型測定値とを比較することによって、前記擬父が前記胎児の実父である確率をコンピュータにて決定し；

決定された前記確率に基づき、单一仮説棄却検定、最尤推定、又は最大事後確率法を使用して、前記擬父が前記胎児の実父であるか否かを確証することを包含する、方法。

【請求項 18】

擬父が、妊娠中の母親が懐胎している胎児の実父であるか否かを確証するための方法であって、前記方法は：

前記擬父由来の遺伝物質に関して複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し；

前記妊娠中の母親由来の血液サンプルから単離された 40 個未満の胎児細胞から、前記複数の多型遺伝子座で遺伝子型測定値を取得し；

ここで、前記擬父由来の遺伝物質に関する遺伝子型測定値、および、前記 DNA 混合サンプルに関する遺伝子型測定値は、前記複数の多型遺伝子座におけるヌクレオチドの種類を含む、遺伝子型決定プラットフォームからの出力測定値であり、

前記擬父由来の遺伝物質に関して取得された前記遺伝子型測定値を使用して、前記胎児細胞について予想される遺伝子型測定値をコンピュータにて計算し；

前記胎児細胞に関して取得された前記遺伝子型測定値と前記胎児細胞について予想される遺伝子型測定値とを比較することによって、前記擬父が前記胎児の実父である確率をコンピュータにて決定し；

決定された、前記擬父が前記胎児の実父である確率に基づき、单一仮説棄却検定、最尤

推定、又は最大事後確率法を使用して、前記擬父が前記胎児の実父であるか否かを確証する
ことを包含する、方法。