

【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 3 年 5 月 27 日 (2021.5.27)

【公表番号】特表 2020-517304 (P2020-517304A)

【公表日】令和 2 年 6 月 18 日 (2020.6.18)

【年通号数】公開・登録公報 2020-024

【出願番号】特願 2020-507747 (P2020-507747)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6813 (2018.01)

G 1 6 B 30/00 (2019.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/6813 Z

G 1 6 B 30/00

C 1 2 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 4 月 9 日 (2021.4.9)

【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】

妊娠した雌の生体試料中における胎児のヘテロ接合性の欠如 (LOH) の有無をゲノムワイドで決定するための方法であって、前記試料が母体および胎児の両方のセルフリー DNA を含み、前記方法が、

a) 前記生体試料から母体および胎児の DNA を得るステップ、

b) 前記 DNA と、1 つまたは複数の標識された RNA プロブまたは DNA プロブとを接触させるステップと、それによって前記プロブの前記母体または胎児の DNA へのハイブリダイゼーションを可能にし、

c) 前記ハイブリダイズした DNA : プロブを捕捉するステップと、

d) 捕捉された前記 DNA のシーケンシングを実施するステップと、それによってリードが得られ、

e) 前記リードを参照ゲノムにマッピングするステップと、

f) オンターゲットリードとオフターゲットリードとを分離するステップと、

g) 前記オフターゲットリードを参照セットに基づいて正規化するステップと、

h) オフターゲットリードカウントを得るステップと、

前記オフターゲットリードカウントを胎児の LOH の有無の決定のために使用するステップと

を含む方法。

【請求項 2】

ディープシーケンシングを実施する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

オフターゲットリードカウントの最少量が  $1 \times 10^6$  である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記プローブが予め規定された標的を対象とすることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記プローブが前記 DNA または領域の繰り返し領域を対象とすることを特徴とする、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記プローブが無作為標的を対象とすることを特徴とする、前記請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記オンターゲットリードがさらなる分析のために排除されることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記得られたオフターゲットの正規化が参照セットを考慮して行われ、参照セットとの比較によりスコアが得られる、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 9】**

1 つまたは複数のパラメータが前記オンターゲットリードから得られ、それによって胎児画分の決定がさらに可能になる、請求項 1 または 2 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】** 0 1 0 4

**【補正方法】** 変更

**【補正の内容】**

**【0 1 0 4】**

好ましくは、前述の操作は、様々なコンピュータ実施操作によって試料の分子分析を可能にするデジタルプラットフォームの一部である。

出願時の特許請求の範囲は以下の通りである。

**[ 請求項 1 ]**

妊娠した雌から得られた生体試料中における胎児の染色体異数性および / またはヘテロ接合性の欠如 ( LOH ) の有無を決定するための方法であって、

- 母体および胎児の核酸の両方を含む生体試料のターゲットキャプチャー超並列シーケンシングの指標となる配列情報を得るステップと、
- 前記ターゲットキャプチャー超並列シーケンシングから得られたオフターゲットリードの量を決定するステップと、
- 前記異数性または LOH の有無を決定するための情報を前記オフターゲットリードカウント情報から得るステップと

を含む方法。

**[ 請求項 2 ]**

妊娠した雌の生体試料中における胎児異数性および / またはヘテロ接合性の欠如 ( LOH ) の有無を決定するための方法であって、前記試料が母体および胎児の両方のセルフリード DNA を含み、前記方法が、

- a ) 前記生体試料から母体および胎児の DNA を得るステップ、
- b ) 前記 DNA と、1 つまたは複数の標識された RNA プローブまたは DNA プローブとを接触させるステップと、それによって前記プローブの前記母体または胎児の DNA へのハイブリダイゼーションを可能にし、
- c ) 前記ハイブリダイズした DNA : プローブを捕捉するステップと、
- d ) 捕捉された前記 DNA のシーケンシングを実施するステップと、それによってリードが得られ、
- e ) 前記リードを参照ゲノムにマッピングするステップと、
- f ) オンターゲットリードとオフターゲットリードとを分離するステップと、

g) オフターゲットリードカウントを得るステップと、  
前記オフターゲットリードカウントを胎児異数性または L O H の有無の決定のために使用するステップと  
を含む方法。

[ 請求項 3 ]

ディープシーケンシングを実施する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

[ 請求項 4 ]

オフターゲットリードカウントの最少量が  $1 \times 10^6$  である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 5 ]

前記プローブが予め規定された標的を対象とすることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 6 ]

前記プローブが前記 D N A または領域の繰り返し領域を対象とすることを特徴とする、請求項 5 に記載の方法。

[ 請求項 7 ]

前記プローブが、反復性 C N V または前記反復性 C N V に隣接する領域を含有することが知られている 1 つまたは複数の領域を対象とすることを特徴とする、請求項 5 に記載の方法。

[ 請求項 8 ]

前記プローブが  $1 \times 10^3 \sim 10 \times 10^6$  塩基対の間の配列長を有する C N V 標的を対象とすることを特徴とする、請求項 5 に記載の方法。

[ 請求項 9 ]

前記プローブが無作為標的を対象とすることを特徴とする、前記請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 10 ]

前記オンターゲットリードがさらなる分析のために排除されることを特徴とする、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 11 ]

前記得られたオフターゲットが参照セットに基づいて正規化されることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 12 ]

1 つまたは複数のパラメータが前記オンターゲットリードから得られ、それによって胎児画分の決定および / または微少欠失の有無の検出が可能になる、請求項 1 または 2 に記載の方法。

[ 請求項 13 ]

対象から得られた生体試料中におけるヘテロ接合性の欠如事象の存在を検出するための方法であって、前記試料が核酸を含み、前記方法が、

- 前記試料から得られた D N A のターゲットキャプチャー超並列シーケンシングから配列情報を得るステップと、
  - 前記ターゲットキャプチャー超並列シーケンシングから得られたオフターゲットリードの量を決定するステップと、
  - 前記 L O H の有無を決定するための情報を前記オフターゲットリードカウントから得るステップと
- を含む方法。