

【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5年12月20日(2023.12.20)

【国際公開番号】WO2021/092476
 【公表番号】特表2023-501376(P2023-501376A)
 【公表日】令和5年1月18日(2023.1.18)
 【年通号数】公開公報(特許)2023-010
 【出願番号】特願2022-526119(P2022-526119)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 Q 1/6827(2018.01)
 C 1 2 Q 1/6869(2018.01)
 C 1 2 Q 1/686(2018.01)
 C 1 2 Q 1/6876(2018.01)
 A 6 1 P 35/00(2006.01)
 A 6 1 K 31/7088(2006.01)
 G 0 1 N 33/50(2006.01)
 G 0 1 N 33/53(2006.01)
 C 1 2 N 5/078(2010.01)
 C 1 2 N 5/09(2010.01)
 C 1 2 N 15/11(2006.01)

20

【F I】

C 1 2 Q 1/6827 Z
 C 1 2 Q 1/6869 Z Z N A
 C 1 2 Q 1/686 Z
 C 1 2 Q 1/6876 Z
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 31/7088
 G 0 1 N 33/50 P
 G 0 1 N 33/53 M
 C 1 2 N 5/078
 C 1 2 N 5/09
 C 1 2 N 15/11 Z

30

【手続補正書】

【提出日】令和5年12月11日(2023.12.11)

【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

40

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象の状態の第1の状況と前記対象の前記状態の第2の状況との間の比較を、前記対象の前記状態の進行のための指標とする方法であって、

(a) 前記対象から得られるまたは前記対象に由来する第1の複数の無細胞核酸分子からの1またはそれを超える無細胞核酸分子の第1のセットを同定することと、

(b) 前記対象から得られるまたは前記対象に由来する第2の複数の無細胞核酸分子からの1またはそれを超える無細胞核酸分子の第2のセットを同定することであって、

前記第2の複数の無細胞核酸分子が、前記第1の複数の無細胞核酸分子を前記対象から

50

得た後に前記対象から得られる、同定することと、を含み、

前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の各々が、少なくとも 1 つのヌクレオチドによって分離されている参照ゲノム配列に対する複数の段階的バリエーションを含み、

前記複数の段階的バリエーションの存在が、前記対象の前記状態の第 1 の状況および第 2 の状況を示し、

前記対象の前記状態の前記第 1 の状況と前記対象の前記状態の前記第 2 の状況との間の比較が、前記対象の前記状態の前記進行を示し、

前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子が、前記複数の無細胞核酸分子の中から核酸プローブのセットで捕捉され、前記核酸プローブのセットが、前記状態に関連する 1 またはそれを超えるゲノム領域を含む無細胞核酸分子の少なくとも一部にハイブリダイズするように構成され、

10

前記核酸プローブのセットが、(i) 表 1 において特定されたゲノム領域、(i i) 表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i) 表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 5 % にハイブリダイズするように設計されており、

前記状態が、B 細胞リンパ腫である、方法。

【請求項 2】

前記状態の前記進行が、前記状態の悪化である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記状態の前記進行が、前記状態の少なくとも部分的寛解である、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記第 2 の複数の無細胞核酸分子が、前記対象から前記第 1 の複数の無細胞核酸分子を得た後、少なくとも約 1 週間、少なくとも約 2 週間、少なくとも約 3 週間、少なくとも約 4 週間、少なくとも約 2 ヶ月、または少なくとも約 3 ヶ月で前記対象から得られる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記対象が、(i) 前記対象から前記第 2 の複数の無細胞核酸分子を得る前、および(i i) 前記対象から前記第 1 の複数の無細胞核酸分子を得た後に、前記状態に対する処置に供される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記状態の前記進行が、前記対象の前記状態の最小残存疾患を示す、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記状態の前記進行が、前記対象の腫瘍負荷またはがん負荷を示す、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

複数の段階的バリエーションを含む前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも 50 % が、隣接する SNV から少なくとも 2 ヌクレオチド離れた一塩基バリエーション(SNV) を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 9】

前記参照ゲノム配列が、前記対象のサンプルに由来する、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記サンプルが、健康サンプルである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記核酸プローブのセットが、(i) B 細胞リンパ腫からの配列決定データと、(i i) 前記対象または健康コホートの健康細胞からの配列決定データとを比較することによって同定される前記複数の段階的バリエーションに基づいて設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 1 2】

前記対象が、(a)の前に前記状態に対する処置に供される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記処置が、化学療法、放射線療法、化学放射線療法、免疫療法、養子細胞療法、ホルモン療法、標的薬物療法、外科手術、移植、または輸血を含む、請求項 5 または 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記複数の無細胞核酸分子が、前記対象の身体サンプルに由来する、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記身体サンプルが、血漿、血清、または血液を含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記対象が、哺乳動物である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記対象が、ヒトである、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記状態が、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫および B 細胞慢性リンパ球性白血病からなる群から選択される B 細胞リンパ腫のサブタイプを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 1 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 2 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 4 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 6 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の少なくとも 8 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記核酸プローブのセットが、(i)表 1 において特定されたゲノム領域、(i i)表 3 において特定されたゲノム領域、または(i i i)表 3 において複数の段階的バリエーションを有すると特定されたゲノム領域の約 1 0 0 % にハイブリダイズするように設計される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

(a) コンピュータシステムにより、対象に由来する少なくとも1,000個の無細胞DNA分子についての配列決定データを得ることと、
(b) 前記コンピュータシステムにより、前記配列決定データを処理して、参照ヒトゲノム由来の配列に対して複数の段階的バリエーションを含む、前記少なくとも1,000個の無細胞DNA分子のうち1またはそれを超える無細胞DNA分子を同定することであって、前記1またはそれを超える無細胞DNA分子を同定することが、前記少なくとも1,000個の無細胞DNA分子の各々に対応するリードを、前記参照ヒトゲノムに対して整理させることを含み、前記1またはそれを超える無細胞DNA分子の少なくとも10%が、前記複数の段階的バリエーションの第1の段階的バリエーションと、少なくとも1つのヌクレオチドによって分離された前記複数の段階的バリエーションの第2の段階的バリエーションとを含む、同定することと、を含む、方法。

10

【請求項 26】

インシリコで、(i) 前記同定された1またはそれを超える無細胞DNA分子の少なくとも一部を、(ii) 前記複数の段階的バリエーションを含むことが同定されていない前記複数の無細胞DNA分子の1またはそれを超える他の無細胞DNA分子から分離することをさらに含む、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

前記1またはそれを超える無細胞DNA分子の少なくとも50%が、第1の段階的バリエーションと、少なくとも1つのヌクレオチドによって分離された第2の段階的バリエーションとを含む、請求項25に記載の方法。

20

【請求項 28】

前記1またはそれを超える無細胞DNA分子の100%が、第1の段階的バリエーションと、少なくとも1つのヌクレオチドによって分離された第2の段階的バリエーションとを含む、請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

前記第1および第2の段階的バリエーションが、少なくとも2つのヌクレオチドによって分離される、請求項25に記載の方法。

【請求項 30】

前記第1の段階的バリエーションおよび前記第2の段階的バリエーションが、最大で160ヌクレオチドによって分離される、請求項25に記載の方法。

30

【請求項 31】

前記対象からの少なくとも1,000個の無細胞DNA分子を配列決定することをさらに含む、請求項25に記載の方法。

【請求項 32】

前記少なくとも1,000個の無細胞DNA分子が、前記対象からの血漿、血清、または血液サンプルに由来する、請求項25に記載の方法。

【請求項 33】

前記対象が、ヒト対象である、請求項25に記載の方法。

【請求項 34】

前記対象からの前記少なくとも1,000個の無細胞DNA分子を含む生物学的サンプルを、無細胞DNA分子を含有する段階的バリエーションについての前記少なくとも1,000個の無細胞DNA分子を富化させるように設計されたベイトセットと接触させることをさらに含む、請求項31に記載の方法。

40

【請求項 35】

前記ベイトセットが、核酸プローブのセットを含む、請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

前記核酸プローブのセットの各々の個々の核酸プローブが、プルダウンタグを含む、請求項35に記載の方法。

【請求項 37】

50

前記プルダウンタグが、ピオチンを含む、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記配列決定データを得た後、および前記配列決定データを処理する前に、段階的バリエーションを有することが既知のゲノム領域から、少なくとも 1, 0 0 0 個の無細胞 DNA 分子について前記生物学的サンプルを選択的に富化させることをさらに含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 3 9】

インシリコで、(i) 前記同定された 1 またはそれを超える無細胞 DNA 分子の少なくとも一部を、(i i) 前記複数の段階的バリエーションを含むことが同定されていない前記複数の無細胞 DNA 分子の 1 またはそれを超える他の無細胞 DNA 分子から分離することをさらに含む、請求項 2 5 に記載の方法。

10

【請求項 4 0】

(a) コンピュータシステムにより、対象から得られるまたは対象に由来する複数の無細胞核酸分子に由来する配列決定データを得ることと、

(b) 前記コンピュータシステムにより、前記配列決定データを処理して、前記複数の無細胞核酸分子のうち 1 またはそれを超える無細胞核酸分子を同定することとあって、前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の各々は、参照ゲノム配列に対して複数の段階的バリエーションを含み、前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも約 1 0 % は、前記複数の段階的バリエーションの第 1 の段階的バリエーションと、少なくとも 1 つのヌクレオチドによって分離された前記複数の段階的バリエーションの第 2 の段階的バリエーションとを含む、同定することと、

20

(c) 前記コンピュータシステムにより、前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子を分析して、前記対象の状態を判定することとあって、前記状態が、血液悪性腫瘍ではないがんを含む、判定することと、を含む、方法。

【請求項 4 1】

インシリコで、(i) 前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも一部を、(i i) 前記複数の段階的バリエーションを含むことが同定されていない前記複数の無細胞核酸分子の 1 またはそれを超える他の無細胞核酸分子から分離することをさらに含む、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記コンピュータシステムにより、(i) および (i i) を、異なる変数として分析することをさらに含む、請求項 4 1 に記載の方法。

30

【請求項 4 3】

前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の前記分析が、前記複数の段階的バリエーションを含むことが同定されていない前記複数の無細胞核酸分子の他の無細胞核酸分子に基づいていない、請求項 4 0 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記配列決定データが、(i) バックグラウンドエラーまたは (i i) 配列決定エラーのインシリコでの除去も抑制もなしに得られる、請求項 4 0 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 4 5】

前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子からの前記複数の段階的バリエーションの数が、前記対象の前記状態を示す、請求項 4 0 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

(i) 前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子からの前記複数の段階的バリエーションの前記数と (i i) 前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子からの一塩基バリエーション (S N V) の数との比が、前記対象の前記状態を示す、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子における前記複数の段階的バリエ

50

ントの頻度が、前記対象の前記状態を示す、請求項 40 ~ 46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも約 10% が、前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも約 50% を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 49】

前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも約 10% が、前記 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の少なくとも約 100% を含む、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

前記第 1 および第 2 の段階的バリエントが、少なくとも 2 ヌクレオチドによって分離されている、請求項 40 ~ 49 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 51】

前記第 1 の段階的バリエントおよび前記第 2 の段階的バリエントが、最大で約 160 ヌクレオチドによって分離されている、請求項 40 ~ 50 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

前記参照ゲノム配列が、参照コホートに由来し、hg19 ヒトゲノム、hg18 ゲノム、hg17 ゲノム、hg16 ゲノムまたは hg38 ゲノムの少なくとも一部を含む、請求項 40 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

前記参照ゲノム配列が、前記対象のサンプルに由来する、請求項 40 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 54】

前記参照ゲノム配列が、前記対象の健康細胞に由来する、請求項 40 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

前記複数の無細胞核酸分子が、複数の無細胞デオキシリボ核酸 (DNA) 分子を含む、請求項 40 ~ 54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

前記状態が、固形腫瘍を含む、請求項 40 ~ 55 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 57】

前記がんが、リンパ腫ではない、請求項 40 ~ 56 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 58】

前記がんが、肺がん、直腸がん、消化管がん、食道がん、または乳がんである、請求項 40 ~ 57 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 59】

コンピュータにより、前記複数の段階的バリエントを含む前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子に基づいて、前記対象が前記状態を有すると決定すること、または前記対象の前記状態の程度もしくは状態を決定することをさらに含み、前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子の統計モデル解析を行うことに基づいて、前記同定された 1 またはそれを超える無細胞核酸分子が、前記状態に関連するサンプルに由来する、請求項 40 ~ 58 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 60】

配列決定データが由来する前記複数の無細胞核酸分子が、核酸プローブのセットにより捕捉され、前記核酸プローブのセットが、前記状態に関連する 1 またはそれを超えるゲノム領域を含む無細胞核酸分子の少なくとも一部にハイブリダイズするように設計されている、請求項 40 ~ 59 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 61】

前記核酸プローブのセットが、(i) 前記対象の腫瘍サンプルからの配列決定データと、(ii) 前記対象または健康コホートの健康細胞からの配列決定データとを比較することによって同定される前記複数の段階的バリエントに基づいて設計される、請求項 60 に

50

記載の方法。

10

20

30

40

50