

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-534016
(P2019-534016A)

(43) 公表日 令和1年11月28日(2019.11.28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/686 (2018.01)	C12Q 1/686	Z 4B063
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53	M
C12Q 1/6869 (2018.01)	C12Q 1/6869	Z
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/09	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁)

(21) 出願番号 特願2019-523590 (P2019-523590)
 (86) (22) 出願日 平成29年11月2日 (2017.11.2)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年7月5日 (2019.7.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/059808
 (87) 国際公開番号 W02018/085603
 (87) 国際公開日 平成30年5月11日 (2018.5.11)
 (31) 優先権主張番号 PCT/US2017/030293
 (32) 優先日 平成29年4月29日 (2017.4.29)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/416,689
 (32) 優先日 平成28年11月2日 (2016.11.2)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 510321893
 ザ メディカル カレッジ オブ ウィス
 コンシン, インコーポレイテッド
 The Medical College
 of Wisconsin, Inc.
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53
 226 ミルウォーキー ウォータータウ
 ン プランク ロード 8701
 (74) 代理人 100102842
 弁理士 葛和 清司
 (72) 発明者 ミッチェル, アオイ, トミタ
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53
 122、エルム グローブ、ストーンフィ
 ールド コート 13835

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 全および特異的な無細胞DNAを使用しリスクを評価するための方法

(57) 【要約】

本発明は、対象における全および特異的な無細胞核酸 (DNAなど) を測定することにより、対象におけるリスクを評価するための、方法および組成物に関する。本明細書で提供される方法および組成物は、移植拒絶反応などの状態のリスクを決定するために、使用することができる。

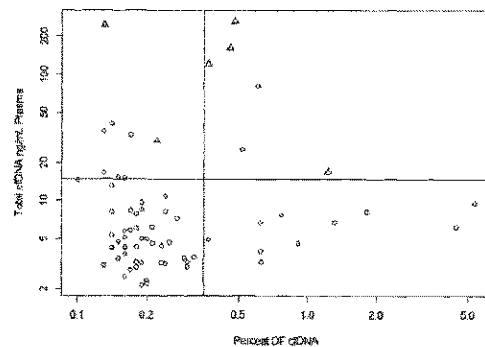


Fig. 9

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象からの 1 つ以上の試料を評価する方法であって、
対象からの 1 つ以上の試料における全無細胞 DNA の量の値を決定すること、および
対象からの 1 つ以上の試料における特異的な無細胞 DNA の量の値を決定すること
を含む、前記方法。

【請求項 2】

対象から 1 つ以上の試料を得ることをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

対象からの 1 つ以上の試料における全無細胞 DNA の量の値、および対象からの 1 つ以
上の試料における特異的な無細胞 DNA の量の値を提供することをさらに含む、請求項 1
または 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおいて提
供される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、手術の 24 時間以内
に採られた 1 つ以上の試料において決定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方
法。

【請求項 6】

手術が移植手術である、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、クロスクランプ除去
の 24 時間以内に採られた 1 つ以上の試料において決定される、請求項 1 ~ 6 のいずれか
一項に記載の方法。

【請求項 8】

対象からの 1 つ以上の他の試料における全無細胞 DNA の量の値を決定すること、および
対象からの 1 つ以上の他の試料における特異的な無細胞 DNA の量の値を決定すること、
をさらに含み、ここで、該 1 つ以上の他の試料が、その次の時点からのものである、請求
項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 9】

その次の時点が、少なくとも 1 週間後である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

その次の時点が、少なくとも 2 週間後である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

その次の時点が、1 か月後である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

対象からの 1 つ以上のさらなる試料における全無細胞 DNA の量の値を決定すること、お
よび
対象からの 1 つ以上のさらなる試料における特異的な無細胞 DNA の量の値を決定するこ
と、
をさらに含み、ここで、1 つ以上のさらなる試料が、1 つ以上の他のその次の時点からの
ものである、請求項 8 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 13】

1 つ以上の他のその次の時点が、1 週間隔である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

1 つ以上の他のその次の時点が、2 週間隔である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

50

1つ以上の他のその次の時点が、1か月間隔である、請求項12に記載の方法。

【請求項16】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて提供される、請求項8～15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて別々に提供される、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される、請求項17に記載の方法。

10

【請求項19】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて一緒に提供される、請求項16に記載の方法。

【請求項20】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて、同一のグラフにおいて提供される、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

グラフが、散布図である、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて別々におよび一緒に提供される、請求項16に記載の方法。

20

【請求項23】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供され、および、全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

別のグラフが散布図である、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

対象が、移植レシピエントである、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項26】

移植レシピエントが、心臓移植レシピエントである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

対象が、小児の心臓移植レシピエントである、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

特異的な無細胞DNAが、ドナー特異的な無細胞DNAである、請求項1～27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項29】

全無細胞DNAが、リアルタイムPCRなどのPCRを使用して測定される、請求項1～28のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項30】

特異的な無細胞DNAが、次世代シーケンシング方法またはミスマッチ増幅方法を使用して測定される、請求項1～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項31】

対象におけるリスクを評価する方法であって、
対象からの1つ以上の試料における全無細胞DNAの量の値を得ること、
対象からの1つ以上の試料における特異的な無細胞DNAの量の値を得ること、および
対象におけるリスクを評価すること
を含む、前記方法。

【請求項32】

50

対象からの1つ以上の試料を得ることをさらに含む、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

対象からの1つ以上の試料を提供することをさらに含む、請求項31に記載の方法。

【請求項34】

1つ以上の試料が、手術の24時間以内の対象からのものである、請求項32または33に記載の方法。

【請求項35】

手術が、移植手術である、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

1つ以上の試料が、クロスクランプ除去の24時間以内の対象からのものである、請求項31～35のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項37】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートから得られる、請求項31～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項38】

対象からの1つ以上の他の試料における全無細胞DNAの量の値を得ること、および対象からの1つ以上の他の試料における特異的な無細胞DNAの量の値を得ることをさらに含み、ここで、1つ以上の他の試料が、その次の時点からのものである、請求項31～37のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項39】

対象からの1つ以上の他の試料を得ること、および/または提供することをさらに含む、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

その次の時点が、少なくとも1週間後である、請求項38または39に記載の方法。

【請求項41】

その次の時点が、少なくとも2週間後である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

その次の時点が、1か月後である、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

対象からの1つ以上のさらなる試料における全無細胞DNAの量の値を得ること、および、対象からの1つ以上のさらなる試料における特異的な無細胞DNAの量の値を得ることをさらに含み、ここで、1つ以上のさらなる試料が、1つ以上の他のその次の時点からのものである、請求項38～42のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項44】

対象からの1つ以上のさらなる試料を得ること、および/または提供することをさらに含む、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

1つ以上の他のその次の時点が、1週間隔である、請求項43または44に記載の方法。

40

【請求項46】

1つ以上の他のその次の時点が、2週間隔である、請求項43または44に記載の方法。

【請求項47】

1つ以上の他のその次の時点が、1か月間隔である、請求項43または44に記載の方法。

【請求項48】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートから得られる、請求項38～47のいずれか一項に記載の方法。

【請求項49】

50

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて別々に提供される、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて一緒に提供される、請求項48に記載の方法。

【請求項52】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおける同一のグラフにおいて提供される、請求項51に記載の方法。

10

【請求項53】

グラフが、散布図である、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおいて、別々におよび一緒に提供される、請求項48に記載の方法。

【請求項55】

全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供され、および全無細胞DNAの量の値および特異的な無細胞DNAの量の値が、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される、請求項54に記載の方法。

20

【請求項56】

別のグラフが、散布図である、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

対象が移植レシピエントである、請求項31～56のいずれか一項に記載の方法。

【請求項58】

移植レシピエントが、心臓移植レシピエントである、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

移植レシピエントが、小児の心臓移植レシピエントである、請求項58に記載の方法。

【請求項60】

特異的な無細胞DNAがドナー特異的な無細胞DNAである、請求項31～59のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項61】

全無細胞DNAの量の値が、閾値より高く、および特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より高い場合、拒絶反応または有害事象または予後が指摘される、請求項1～60のいずれか一項に記載の方法。

【請求項62】

全無細胞DNAの量の値が、閾値より高く、および特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より高い場合、抗拒絶反応処置が対象に投与されるまたは提案される、またはさらなるモニタリングが実施されるまたは提案される、請求項1～61のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項63】

抗拒絶反応処置が、ステロイドおよび/または病院への入院を含む、請求項62に記載の方法。

【請求項64】

全無細胞DNAの量の値が閾値より高く、および特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より低い場合、感染が指摘される、請求項1～63のいずれか一項に記載の方法。

【請求項65】

全無細胞DNAの量の値が閾値より高く、および特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より低い場合、抗感染処置が対象に投与されるまたは提案される、またはさらなるモニタ

50

リングが実施されるまたは提案される、請求項 1 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 6】

抗感染処置、抗生物質または免疫抑制療法における削減または変化を含む、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

全無細胞 DNA の量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞 DNA の量の値が閾値より高い場合、初期段階の拒絶反応が指摘される、請求項 1 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

全無細胞 DNA の量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞 DNA の量の値が閾値より高い場合、拒絶反応処置が、対象に投与されるまたは提案される、またはさらなるモニタリングが実施されるまたは提案される、請求項 1 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6 9】

拒絶反応処置が、ステロイドを含む、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 0】

拒絶反応処置が、病院への入院を含まない、請求項 6 8 または 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】

全無細胞 DNA の量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞 DNA の量の値が閾値より低い場合、臨床状態が全く指摘されない、請求項 1 ~ 7 0 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 7 2】

全無細胞 DNA の量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞 DNA の量の値が閾値より低い場合、対象にさらなるモニタリングが実施されるまたは提案される、請求項 1 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 3】

対象のモニタリングが、請求項 1 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の方法を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 4】

試料が、血液、血漿、または血清を含む、請求項 1 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7 5】

対象からの 1 つ以上の試料における全無細胞 DNA の量の値、および対象からの 1 つ以上の試料における特異的な無細胞 DNA の量の値を含む、レポート。

【請求項 7 6】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、手術の 2 4 時間以内に採られた 1 つ以上の試料からのものである、請求項 7 5 に記載のレポート。

【請求項 7 7】

手術が、移植手術である、請求項 7 6 に記載のレポート。

【請求項 7 8】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、クロスクランプ除去の 2 4 時間以内に採られた 1 つ以上の試料からのものである、請求項 7 5 ~ 7 7 のいずれか一項に記載のレポート。

40

【請求項 7 9】

請求項 7 5 ~ 7 8 のいずれか一項に記載のレポートであって、対象からの 1 つ以上の他の試料からの全無細胞 DNA の量の値、および対象からの 1 つ以上の他の試料の特異的な無細胞 DNA の量の値をさらに含み、ここで、1 つ以上の他の試料が、その次の時点からのものである、前記レポート。

【請求項 8 0】

その次の時点が、少なくとも 1 週間後である、請求項 7 9 に記載のレポート。

50

【請求項 8 1】

その次の時点が、少なくとも 2 週間後である、請求項 8 0 に記載のレポート。

【請求項 8 2】

その次の時点が、1 か月後である、請求項 8 1 に記載のレポート。

【請求項 8 3】

請求項 7 9 ~ 8 2 のいずれか一項に記載のレポートであって、対象からの 1 つ以上のさらなる試料からの全無細胞 DNA の量の値、および対象からの 1 つ以上のさらなる試料からの特異的な無細胞 DNA の量の値を含み、ここで、1 つ以上のさらなる試料が 1 つ以上の他のその次の時点からのものである、前記レポート。

【請求項 8 4】

1 つ以上の他のその次の時点が、1 週間隔である、請求項 8 3 に記載のレポート。

【請求項 8 5】

1 つ以上の他のその次の時点が、2 週間隔である、請求項 8 3 に記載のレポート。

【請求項 8 6】

1 つ以上の他のその次の時点が、1 か月間隔である、請求項 8 3 に記載のレポート。

【請求項 8 7】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおいて別々に提供される、請求項 7 5 ~ 8 6 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 8 8】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される、請求項 8 7 に記載のレポート。

【請求項 8 9】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおいて一緒に提供される、請求項 8 8 に記載のレポート。

【請求項 9 0】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおいて同一のグラフにおいて提供される、請求項 8 9 に記載のレポート。

【請求項 9 1】

グラフが散布図である、請求項 9 0 に記載のレポート。

【請求項 9 2】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおいて、別々におよび一緒に提供される、請求項 7 5 ~ 8 6 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 9 3】

全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供され、および全無細胞 DNA の量の値および特異的な無細胞 DNA の量の値が、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される、請求項 9 2 に記載のレポート。

【請求項 9 4】

別のグラフが散布図である、請求項 9 3 に記載のレポート。

【請求項 9 5】

対象が移植レシピエントである、請求項 7 5 ~ 9 4 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 9 6】

移植レシピエントが心臓移植レシピエントである、請求項 9 5 に記載のレポート。

【請求項 9 7】

対象が、小児の心臓移植レシピエントである、請求項 9 6 に記載のレポート。

【請求項 9 8】

特異的な無細胞 DNA が、ドナー特異的な無細胞 DNA である、請求項 7 5 ~ 9 7 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 9 9】

全無細胞 DNA が、リアルタイム PCR などの PCR を使用して測定される、請求項 7

10

20

30

40

50

5 ~ 98 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 100】

特異的な無細胞 DNA が、次世代シーケンシング方法またはミスマッチ増幅方法を使用して測定される、請求項 75 ~ 99 のいずれか一項に記載のレポート。

【請求項 101】

対象におけるリスクを決定すること、および / または対象におけるリスクのレベルの指摘を提供することをさらに含む、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 102】

請求項 1 ~ 74 に記載のいずれか 1 つの方法の値を含むレポートであって、本明細書において提供されるレポートにおける値を提供するやり方のいずれか 1 つにより、値がレポートにおいて提供される、前記レポート。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、35 U.S.C. § 119(e)、§ 120、および § 365(c) の元で、2016 年 11 月 2 日に出願された米国仮出願番号第 62/416689 号および 2017 年 4 月 29 日に出願され国際出願番号 PCT/US2017/030293 号の出願日の利益を主張し、この仮出願の各々の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

20

発明の分野

本発明は、無細胞 DNA など、全および特異的な無細胞核を測定することにより、対象におけるリスクを評価するための、方法および組成物に関する。本明細書で提供される方法および組成物は、移植拒絶反応または他の不利な移植結果などの、状態のリスクを決定するために使用することがある。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

試料中の低いレベルの核酸を検出しおよび定量する能力は、移植拒絶反応または他の有害な移植の事象などの状態の早期検出の余地を与えることができるだろう。核酸集団の定量分析のための現在の方法（例えば、天然および非天然核酸の混合物）は、しかしながら限定される。

30

【発明の概要】

【0004】

ある側面において、対象からの 1 つ以上の試料における全無細胞核酸（DNA など）の量の値を決定することを含み、および対象からの 1 つ以上の試料における特異的な無細胞核酸（DNA など）の量の値を決定することを含む、対象からの 1 つ以上の試料を評価する方法が、提供される。ある態様において、方法はさらに、対象からの 1 つ以上の試料における全無細胞核酸（DNA など）の量の値、および対象からの 1 つ以上の試料における特異的な無細胞核酸（DNA など）の量の値を、提供することを含む。

40

【0005】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の 1 つのある態様において、方法はさらに対象からの 1 つ以上の試料を得ることを含む。

本明細書において提供される方法の任意の 1 つのある態様において、無細胞核酸（DNA など）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNA など）の量の値は、レポートにおいて提供される。

【0006】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の 1 つのある態様において、全無細胞核酸（DNA など）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNA など）の量の値は、手術の 14 時間以内に採られる 1 つ以上の試料からのものである。本明細書において提

50

供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、手術の24時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、手術は移植手術である。

【0007】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、クロスクランプ除去の14時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、クロスクランプ除去の24時間以内に採られた1つ以上の試料からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、クロスクランプ除去は、心臓移植などの移植である。

10

【0008】

ある態様において、提供される方法の任意の1つはさらに、対象からの1つ以上の他の試料における全無細胞（DNAなど）の量の値を決定すること、および対象からの1つ以上の他の試料において特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値を決定することを含むことがあり、ここにおいて1つ以上の他の試料はその次の時点からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は少なくとも1日後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は少なくとも、1、2、3、4、5、または6日後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は少なくとも、1週間後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は少なくとも、2週間後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、1か月後である。

20

【0009】

ある態様において、本明細書において提供される任意の1つの方法はさらに、対象からの1つ以上のさらなる試料における全無細胞核酸（DNAなど）の量の値を決定すること、および対象からの1つ以上のさらなる試料における特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値を決定することを含むことがあり、ここにおいて1つ以上のさらなる試料は、1つ以上のその次の時点からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、1週間隔である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、2週間隔である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、1か月間隔である。

30

【0010】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて別々に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、各々の量の値を経時的に示すグラフに分けて提供される。

40

【0011】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて一緒に提供される。本明細書において提供される方法またはレポート

50

の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポート中の同一のグラフにおいて提供される。

【0012】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、グラフは、散布図である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて別々におよび一緒に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供され、および全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、別のグラフは散布図である。

10

【0013】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象は、小児の移植レシピエントなどの移植レシピエントである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、移植レシピエントは心臓移植レシピエントである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、移植レシピエントは小児の心臓移植レシピエントである。

【0014】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、ドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）は、リアルタイムPCRなどのPCRを使用して、測定される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、次世代シーケンシング方法またはミスマッチ増幅に基づく定量方法を使用して、測定される。

20

【0015】

ある側面において、対象からの1つ以上の試料における全無細胞核酸（DNAなど）の量の値を得ること、対象からの1つ以上の試料における特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値を得ること、および対象におけるリスクを評価することを含む、対象におけるリスクを評価する方法が、提供される。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上の試料を得ることを含む。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上の試料を提供することを含む。

30

【0016】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の試料は、手術の14時間以内の対象からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の試料は、手術の24時間以内の対象からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、手術は移植手術である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の試料は、1つ以上の試料は、クロスクランプ除去の14時間以内の対象からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の試料は、1つ以上の試料は、クロスクランプ除去の24時間以内の対象からのものである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、クロスクランプ除去は、心臓移植手術などの、移植手術のものである。

40

【0017】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値はレポートから得

50

られる。

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上の他の試料において全無細胞核酸(DNAなど)の量の値を得ること、および対象からの1つ以上の他の試料において特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値を得ることを含み、ここにおいて、1つ以上の他の試料がその次の時点からのものである。

【0018】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上の他の試料を得ること、および/または提供することをさらに含む。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1日後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1、2、3、4、5、または6日後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1週間後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも2週間後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、1か月後である。

10

【0019】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上のさらなる試料において全無細胞核酸(DNAなど)の量の値を得ること、および対象からの1つ以上のさらなる試料において特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値を得ることを含み、ここにおいて1つ以上のさらなる試料が1つ以上のその次の時点からのものである。

20

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、対象からの1つ以上のさらなる試料を得ることおよび/または提供することを含む。

【0020】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、1週間隔である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、2週間隔である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、1か月間隔である。

30

【0021】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、レポートから得られる。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、レポートにおいて別々に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される。

40

【0022】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、レポートにおいて一緒に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、レポートにおける同一のグラフにおいて提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、グラフは、散布図である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値は、レポートにおいて、別々におよび一緒に、提供される。

50

【 0 0 2 3 】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供され、および全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、別のグラフは散布図である。

【 0 0 2 4 】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、そこにおいて提供されるレポートまたはグラフは、1つ以上の閾値のインディケータを含む。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、それらのレポートまたはグラフにおいて指摘されるドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、0.8%、0.9%、1%、1.1%、1.2%、1.3%であるか、またはより大きい。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、それらのレポートまたはグラフにおいて指摘される全無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50 ng/mL 血漿であるか、またはより大きい。

【 0 0 2 5 】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、それらのレポートまたはグラフにおいて指摘される、ドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、0.8%、0.9%、1%、1.1%、1.2%、1.3%であるかまたはより大きく、およびそれらのレポートまたはグラフにおいて指摘される全無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50 ng/mL 血漿であるか、またはより大きい。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、それらのレポートまたはグラフにおいて指摘されるドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、0.8%であり、およびそれらのレポートまたはグラフにおいて指摘される全無細胞核酸（DNAなど）についての閾値は、15 ng/mL 血漿である。

【 0 0 2 6 】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象は移植レシピエントである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、移植レシピエントは心臓移植レシピエントである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象は、小児の心臓移植レシピエントである。

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、ドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）である。

【 0 0 2 7 】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高く、および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高い場合、拒絶反応または他の有害事象または移植対象における予後不良（死など）が指摘される。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高く、および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高い場合、抗拒絶反応処置などの治療が、および/または、対象のさらなるまたは増加したモニタリングが実施されるまたは提案される。

【 0 0 2 8 】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、抗拒絶反応処置は、ステロイドおよび/または病院への入院を含む。本明細書において提供される方法または

レポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高く、および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が、閾値より低い場合、感染が指摘される。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量についての値が、閾値より高く、および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が、閾値より低い場合、抗感染処置が、対象に投与されるまたは提案され、および/または対象のさらなるまたは増加したモニタリングが、実施されるか、または提案される。

【0029】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、抗感染処置は、抗生物質、または免疫抑制療法における減量または変更を含む。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低くおよび特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高い場合、初期段階の拒絶反応が指摘される。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低くおよび特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より高い場合、抗拒絶反応処置が対象に投与されるかまたは提供され、および/または対象のさらなるまたは増加したモニタリングが実施されるか、または提案される。

10

【0030】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、抗拒絶反応処置は、ステロイドを含む。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、抗拒絶反応処置は、病院への入院を含まない。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低くおよび特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低い場合、臨床状態は全く指摘されない。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が閾値より低い場合、さらなるまたは減少したモニタリングが実施されるか、または提案される。

20

【0031】

本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、対象のモニタリングは、本明細書において提供される任意の1つの方法を含む。

30

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、試料は、血液、血漿または血清を含む。

【0032】

ある側面において、本明細書において提供される値の任意の1つ以上の値を含むレポートが、提供される。ある態様において、レポートは、対象からの1つ以上の試料中の全無細胞核酸（DNAなど）の量の値、および対象からの1つ以上の試料中の特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値が含まれる。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、手術の14時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、手術の24時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。

40

【0033】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、手術は、移植手術である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、クロスクランプ除去の14時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、クロスクランプ除去の24時間以内に採られる1つ以上の試料からのものである。

50

【 0 0 3 4 】

提供されるレポートの任意の1つのある態様において、レポートはさらに、対象からの1つ以上の他の試料の全無細胞核酸（DNAなど）の量の値、および対象からの1つ以上の他の試料からの特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値を含み、ここにおいて1つ以上の他の試料は、その次のなど、異なる時点からのものである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1日後である。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1、2、3、4、5、または6日後である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも1週間後である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、少なくとも2週間後である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、その次の時点は、1か月後である。

10

【 0 0 3 5 】

提供されるレポートの任意の1つのある態様において、レポートはさらに、対象からの1つ以上のさらなる試料からの全無細胞核酸（DNAなど）の量の値、および対象からの1つ以上のさらなる試料からの特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値を含み、ここにおいて、1つ以上のさらなる試料は、その次の時点などの、1つ以上の他の時点からのものである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、2週間隔である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、1つ以上の他のその次の時点は、1か月間隔である。

20

【 0 0 3 6 】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象からの基底量の全無細胞核酸（DNAなど）は、手術の前、またはいくつかの他の早い時点に、および対象からの特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、手術の前、またはいくつかの他の早い時点に、本明細書において提供される任意の1つの方法および/または提供されるレポートの任意の1つにおいてなどにおいて提供されることにより、得られる。

【 0 0 3 7 】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて別々に提供される。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて一緒に提供される。

30

【 0 0 3 8 】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおける同一のグラフにおいて提供される。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、グラフは散布図である。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおいて、別々におよび一緒に、提供される。

40

【 0 0 3 9 】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、各々の量の値を経時的に示す別々のグラフにおいて提供される。および全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量の値は、レポートにおける別のグラフにおいて一緒に提供される。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、別のグラフは散布図である。

【 0 0 4 0 】

50

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象は、移植レシピエントである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、移植レシピエントは、心臓移植レシピエントである。提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、対象は小児の心臓移植レシピエントである。

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、ドナー特異的な無細胞核酸（DNAなど）である。

【0041】

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、全無細胞核酸（DNAなど）は、リアルタイムPCRなどのPCRを使用して、測定される。

提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、次世代シーケンシング方法またはミスマッチ増幅に基づく定量方法を使用して、測定される。

【0042】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、ミスマッチ増幅に基づく定量方法は、本明細書において提供されるかかる方法の任意の1つである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、各々の複数の一塩基バリエーション（SNV）標的のため、試料またはその部分などにおける少なくとも1つのプライマー対を用いる、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によるなどの核酸増幅からの結果を得ることを含み、ここにおいて、少なくとも1つのプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、ここにおいて少なくとも1つのプライマー対は、SNV標的の1つの配列（例えば、アレル）と比較して、3'ミスマッチを伴うプライマー（例えば、末端から2番目であるミスマッチ）、しかしSNV標的の別の配列（例えば、アレル）と比較して、3'2重ミスマッチ、およびSNV標的の1つの配列（例えば、アレル）を特異的に増幅する、別の配列を含む。

【0043】

本明細書で提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法はさらに、各々のSNV標的のために、少なくとも1つのプライマー対を伴う定量的アッセイから結果を得ることを含み、ここにおいて、少なくとも1つ別のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、ここにおいて、少なくとも1つ別のプライマー対は、SNV標的の1つ別の配列（例えば、アレル）を、特異的に増幅する。

【0044】

本明細書で提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、複数の一塩基バリエーション（SNV）標的の各々に、少なくとも2つのプライマー対を用いる、試料、またはその一部におけるPCRなどによる核酸増幅を実施することを含み、ここにおいて各々のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、ここにおいて、少なくとも2つのプライマー対の1つは、SNV標的の別の配列（例えば、アレル）と比較して、3'ミスマッチ（例えば、末端から2番目である）を含み、しかし3'二重ミスマッチに対して、SNV標的の1つ別の配列（例えば、アレル）を含み、およびSNV標的の1つの配列（例えば、アレル）を特異的に増幅し、および少なくとも2つのプライマー対の1つ別が、SNV標的の1つ別の配列（例えば、アレル）を、特異的に増幅する。

【0045】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、各々の複数の一塩基バリエーション（SNV）標的について、少なくとも2つのプライマー対を用いて、試料またはその部分において実施されるPCRによるなど、核酸増幅から結果を得ること、ここにおいて、各々のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、少なくとも2つのプライマー対の1つが、SNV標的のある配列と比較して（例えば、アレル）、3'ミスマッチ（例えば、最後か

ら 2 番目の)を含み、しかしSNV標的の別の配列と比較して(例えば、アレル)、3'二重ミスマッチを含み、およびSNV標的のある配列(例えば、アレル)を、特異的に増幅し、少なくとも2つのプライマー対のSNV標的の別の配列(例えば、アレル)を、特異的に増幅する。

【0046】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、試料の少なくとも1つのプライマー対を用いる試料のPCRなどの核酸増幅から結果を得ること、ここにおいて各々のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、特異的な核酸および/または非特異的な核酸の遺伝子型に基づく情報提供的な結果を選択し、および情報提供的な結果に基づき、試料中の非特異的な核酸の量を決定することを含む。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法はさらに、複数のSNV標的を同定することを含む。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法はさらに、非特異的な核酸の遺伝子型を推論することを含む。

10

【0047】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、1)試料またはその部分において実施される、少なくとも2つのプライマー対などの少なくとも1つのプライマー対をもちいる、複数のSNV標的の各々について、PCRなどの核酸増幅から結果を得ることを含む、ここにおいて、各々のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、ここにおいて、2つ以上などの1つ以上のうち1つのプライマー対が、SNV標的の1つの配列(例えば、アレル)について3'ミスマッチ(例えば、末端から2番目の)を、しかしSNV標的の別の配列(例えば、アレル)と比較して、3'二重ミスマッチを含み、および2)SNV標的の1つの配列(例えば、アレル)を特異的に増幅し、および特異的な遺伝子型および/または可能性の高い非特異的な遺伝子型の予測に基づき情報提供的な結果を決定することを含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、少なくとも2つのプライマー対がある場合、別のプライマー対が特異的に各々のSNV標的の別の配列(例えば、アレル)を特異的に増幅し、定量結果は、各々のSNV標的の別のプライマー対により得られる。

20

30

【0048】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法は、1)試料またはその部分において実施される、少なくとも2つのプライマー対などの少なくとも1つのプライマー対をもちいる、複数のSNV標的の各々について、PCRなどの核酸増幅から結果を得ることを含む、ここにおいて、各々のプライマー対は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを含み、ここにおいて、2つ以上などの1つ以上のうち1つのプライマー対が、SNV標的の1つの配列(例えば、アレル)について3'ミスマッチ(例えば、末端から2番目の)を、しかしSNV標的の別の配列(例えば、アレル)と比較して、3'二重ミスマッチを含み、および2)SNV標的の1つの配列(例えば、アレル)を特異的に増幅し、および特異的な遺伝子型および/または可能性の高い非特異的な遺伝子型の予測に基づき情報提供的な結果を決定することを含む。

40

【0049】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法はさらに、各々のSNV標的について少なくとも1つ別のプライマー対、および/またはそれらによるPCRなどの、核酸増幅による結果を得ることをそれと共に含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、少なくとも1つ別のプライマー対は、SNV標的の1つの配列(例えば、アレル)と比較して、3'ミスマッチ(例えば、最後から2番目の)を、しかしSNV標的のその1つの配列(例えば、アレル)と比較して、3'二重ミスマッチを含み、およびSNV標的のその別の配列(例えば

50

、アレル)を特異的に増幅する。

【0050】

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法はさらに、結果に基づき、特異的な核酸の量を評価することを含む。

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、結果は情報提供的な結果である。

【0051】

かかるミスマッチ方法のいずれ1つのある態様において、方法はさらに、PCRなどの情報提供的な結果の選択を含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、情報提供的な結果は、中央値平均などに平均される。本明細書で提供されるかかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、ロバストな統計を用いて結果をさらに分析することができる。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、結果は、ロバストな標準偏差などの標準偏差、および/またはロバストな変動係数などの変動係数、または%ロバストな%変動係数などの%変動係数を用いてさらに分析されることがある。

10

【0052】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、PCRなどの核酸増幅の情報提供的な結果は、非特異的な核酸および/または特異的な核酸の遺伝子型に基づき選択される。

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、非特異的な核酸および/または特異的な核酸の遺伝子型を得ることを含む。

20

【0053】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、特異的な遺伝子型および/または可能性の高い非特異的な遺伝子型の予測に基づき情報提供的な結果を選択することを含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、非特異的な核酸の遺伝子型が、知られないまたは得られないとき、ミスマッチ方法はさらに、可能性の高い非特異的な遺伝子型の予測に基づき結果を評価することを含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、方法は、試料における非特異的な核酸の量を情報提供的な結果および予測に基づき評価することを含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、分析または予測が期待値最大化アルゴリズムをもちいて実施される。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において期待値最大化は、可能性の高い非特異的な遺伝子型を予測するために使用される

30

【0054】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、期待値最大化は、非特異的な核酸の量を計算するために使用される。

本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのある態様において、特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量は、全または非特異的な核酸に対する特異的な核酸の比率またはパーセントである。

【0055】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、SNV標的当たり、少なくとも1つのプライマー対、少なくとも2つのプライマー対、少なくとも3つのプライマー対、少なくとも4つのプライマー対またはより多くある。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、複数のSNV標的は、少なくとも45、48、50、60、65、70、75、85、90またはより多い。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、複数のSNV標的は、少なくとも90、95またはより多くの標的である。提供される方法の任意の1つのある態様において、複数のSNV標的は、90、95より少ない、またはより多くの標的である。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、複数のSNV標的は、105または100標的より少ない。

40

【0056】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、ミスマッチのプライマーは、

50

フォワードプライマーである。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、プライマー対についてのリバースプライマーは、各々のSNV標的についてと同一である。

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、試料から核酸を抽出することを含む。

【0057】

かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、方法はさらに、追加の増幅ステップを含む。かかるミスマッチ方法の任意の1つのある態様において、増幅は、ミスマッチプライマーを用いた定量のための増幅より前に実施される。

ある態様において、本明細書において提供される方法の任意の1つについてのある態様が、提供されるレポートの任意の1つのある態様であることができる。ある態様において、本明細書において提供されるレポートの任意の1つについてのある態様が、本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様であることができる。

【図面の簡単な説明】

【0058】

添付の図面は、一定の縮尺で描くことを意図していない。これらの図は例示的なものに過ぎず、開示を可能にするためには必要とされない。

【図1】図1は、PCT出願番号：PCT/US2016/030313のようなものなどの、ミスマッチ増幅に基づく定量的アッセイにおいて使用されることがある「MOMA」プライマーの例示的で非限定的な図を提供し、このアッセイは本明細書全体において、引用により組み込まれる。ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）アッセイにおいて、SNV Aを含有する配列の伸長が起こることが予想され、これによりSNV Aの検出が行われ、これは続いて定量されてもよい。しかしSNV Bの伸長は、二重ミスマッチのために起こることは予想されない。

【0059】

【図2】図2は、ミスマッチ増幅方法を使用し、無細胞DNAを測定する能力を立証する、再構築実験の結果を示す。

【図3】図3は、ミスマッチ増幅方法を用いて、移植レシピエント患者からの血漿試料により測定されるパーセント無細胞DNAを提供する。すべてのデータは、生検を受けた患者に由来する。濃い点は、拒絶反応を意味する。

【図4】図4は、血漿試料におけるミスマッチ増幅方法からのさらなるデータを提供する。移植手術の後、ドナーパーセント(donor percent)レベルは、降下する。

【0060】

【図5】図5は、採血で感染処置を受けた、または受けなかった対象における全無細胞DNAの測定のデータを提供する。

【図6】図6は、全無細胞核酸（DNAなど）の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の値が、経時的にどのようにレポートにおいて表示されることができるかの例を示す2つの分かれたグラフを提供する。

【0061】

【図7】図7は、全無細胞核酸（DNAなど）の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の値が、様々な時点について、どのようにレポートにおいて一緒に表示されることができるかの例を示す、1つのグラフ（散布図）を提供する。全無細胞DNAおよび特異的な無細胞DNAについての両方の値が、高いと考えられる場合、拒絶反応が起こる可能性が高く、および炎症プロセスを駆動すること、または移植対象のために有害事象または予後が、指摘される。全無細胞DNAが高いと認められ、しかし特異的な無細胞DNAはそうではなく、対象において感染が起こる可能性が高く、しかし拒絶反応ではない。しかしながら、特異的な無細胞DNAが高いと考えられるものと一緒に、全無細胞DNAが、低いと考慮される場合、それは対象が、拒絶反応の初期段階であり、およびさもなくては無症状であると考慮される可能性が高い。抗拒絶反応処置は、それでも必要とされるだろう。最後に、全無細胞DNAおよび特異的な無細胞DNAの両方が、低いと考慮される場合、

10

20

30

40

50

患者のモニタリングを続けることがそれでも必要である可能性があるものの、いかなる処置も正当化されないと予想される。

【 0 0 6 2 】

【 図 8 】 図 8 は、いくつかの態様が動作してもよいコンピュータシステムの例を示す。

【 図 9 】 図 9 は、全無細胞核酸（DNA など）の値および特異的な無細胞核酸（DNA など）の値が、どのようにレポートにおいて一緒に表示されることができるかの例を示すグラフ（散布図）を提供する。

【 0 0 6 3 】

発明の詳細な説明

本開示の側面は、対象におけるリスクを評価する方法に関する。リスクは、いくつかの態様において、対象における全無細胞核酸（DNA など）の量について1つ以上の値および特異的な無細胞核酸（DNA など）について、1つ以上の値の組み合わせなどを使用して評価されることがある。本明細書において提供されるかまたはさもなければ、当該技術分野において知られる方法は、かかる値を経時的に得るのに、複数回使用されることがある。また、包含されるのは、それらの値の1つ以上を包含することができるレポートである。かかるレポートは、価値のある情報を臨書に提供することがある。いくつかの態様において、臨床医は、対象におけるリスクを次いで評価することがある。

10

【 0 0 6 4 】

本明細書において提供されるように、リスクは、対象（移植レシピエントなど）における、いかなる望ましくない状態の有無、または例えば移植拒絶反応、感染の状態などの有無の可能性の増大を指す。本明細書において提供されるように、「リスクの増大」は、対象において、任意の望ましくない状態があること、またはかかる状態があることの可能性の増大を、指す。本明細書において提供されるように、「リスクの減少」は、対象において任意の望ましくない状態がないこと、またはかかる状態があることへの可能性の減少（またはないことの可能性の増大）を指す。ある例としては、移植（例えば、心臓移植）の埋め込みに次ぐ拒絶反応の早期検出は、処置を容易にし、および臨床結果を改善することがある。移植拒絶反応は、移植不全および後期死亡のメジャーな原因となっていて、および一般的に、一生に渡る見張りモニタリングが要求される。免疫抑制療法による移植拒絶反応の処置は、特に拒絶反応が早期に検出された場合、処置の成果を改善することが示された。

20

30

【 0 0 6 5 】

したがって、提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、対象は、移植のレシピエントであり、およびリスクは、移植に関するリスクである。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、移植に関するリスクは、移植拒絶反応のリスクであり、移植を伴う解剖学的問題、または移植片への損傷、感染、または対象における他の有害事象また予後である。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、移植片への損傷は、初期または持続する損傷である提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、移植に関するリスクは、急性の状態または慢性の状態である。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、急性の状態は、細胞性の拒絶反応または抗体を介する拒絶反応を包含する、移植拒絶反応である。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、慢性の状態は移植脈管障害である。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、移植に関するリスクは、損傷の深刻さを指し示している。

40

【 0 0 6 6 】

本明細書で使用される場合、「移植」は、レシピエントの破損したまたは欠損した臓器を交換する目的のための、ドナーからレシピエントへの臓器の移動を指す。

移植は、1つの臓器の、または1より多くの臓器のもであってもよい。いくつかの態様において、用語「移植」は、移植される臓器（単数）または臓器（複数）を指し、およびかかる意味は、用語が使用される文脈から、明らかであるだろう。移植されることがある臓器の例は、しかしこれらに限定されないが、以下：心臓、腎臓（単数または複数）、腎臓、肝臓、肺（単数または複数）、すい臓、小腸、などを包含する。本明細書において提供さ

50

れる方法またはレポートの任意の1つは、本明細書において提供される、いかなる1つ以上の臓器の移植を受けた対象からの試料について、使用されてもよい。

【0067】

本明細書で使用されるように、対象からの試料は、生体試料であることがある。かかる生体試料の例は、全血、血漿、血清などを包含する。

いくつかの側面において、方法は全無細胞核酸(DNAなど)の量の値および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値を決定するためのステップを含む。本明細書で使用されるように、「値」は、量についての情報を運ぶ、任意のインディケータである。インディケータは、絶対または比較量の値であることができる。本明細書で使用されるように、「量」は、無細胞核酸(DNAなど)の含量を指す。さらに、値は、量、頻度、比率、パーセント、などであることができる。

10

【0068】

いくつかの例において、値は閾値と比較されることがある。本明細書で使用されるように、「閾値」は、容態、状態の有無またはリスクの有無を指し示す、任意のあらかじめ決定されるレベルまたはレベルの範囲を指す。閾値は、多様な形状を採ることができる。それは、中央値または平均などの、単一カットオフ値であることがある。1つの定義されたグループにおけるリスクが、別の定義されたグループにおけるリスクの2倍である場合など、比較グループに基づいて確立されることがある。それは、例としては、テストされる集団が、低リスクグループ、中リスクグループおよび高リスクグループなどのグループの中に均等に(または不均等に)分けられるか、または、四分の中に最も低い四分が最も低いリスクを伴う対象であり、および最も高い四分が最も高いリスクを持つ対象である場合の範囲であることがある。

20

【0069】

閾値は、選択される特定の集団に依拠することがある。例としては、外見的に健康な集団は、異なる「正常な」範囲を有するだろう。別の例として、閾値は、容態、状態またはリスクがあることの前に、または一連の処置の後に、基底値から決定されることがある。かかる基底は、対象における正常なまたは他の容態を指し示すことがあり、テストされるリスクまたは状態に連携しない。いくつかの態様において、閾値は、テストされる対象の規定値であることがある。したがって、選択される、あらかじめ決定された値は、対象がその中に該当するカテゴリーを考慮してもよい。適切な範囲およびカテゴリーは、当業者による日常的な実験に過ぎないものを用いて選択される。

30

【0070】

心臓移植レシピエントに関連する、本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、ドナー特異的な無細胞DNAについてのかかる閾値は、0.8%、0.9%、または1%と同等またはより大きく、ここにおいて、より高いレベルは、それぞれ、リスクの増大を指し示し、およびここにおいてそこにおけるレベルまたは下のレベルは、リスクの減少を指し示す。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、心臓移植レシピエントについては、かかる閾値は、1.1%、1.2%または1.3%と同等またはより大きく、ここにおいて、それぞれ、リスクの増大のより高いレベルのリスクの増大が指し示され、ここにおいて、そこにおけるレベルまたは下のレベルのリスクの減少が指し示される。

40

【0071】

感染または他の移植対象のための望ましくない成果などのリスクについてなど、本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、mL血漿当たり、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、または50ng/mLより大きいまたは同等であってもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、50ng/mL血漿より大きいまたは同等であってもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、100ng/mL血漿より大きいまたは同等であってもよい。

50

【 0 0 7 2 】

本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、mL血漿あたりなどで、ゲノム等価/mLにおいてであってもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、感染などの、リスクについてなどは、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、mL血漿あたりなどで、2,800ゲノム等価/mLであってもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、敗血症についてなどのリスクについてなど、全無細胞DNAについてのかかる閾値は、mL血漿あたりなどで、14,000ゲノム等価/mLであってもよい。

【 0 0 7 3 】

本明細書で使用されるように、「特異的な無細胞核酸」は、一般的に低いレベルの全無細胞核酸(DNAなど)の中の、無細胞核酸(DNAなど)のサブセットを、指す。いくつかの態様において、特異的な無細胞核酸(DNAなど)は、ドナー特異的な(DS)無細胞核酸(DNAなど)である。DScf-DNAは、おそらく移植される臓器から放たれるDNAを指し、その配列は、移植される臓器を寄付したドナーの遺伝子型に一致する(全体において、または部分において)。本明細書で使用されるように、「DScf-DNA」は、配列が、レシピエントのcf-DNAから認識可能であり(例えば、特定のヌクレオチドの位置(単数または複数)において、異なる配列を有する)、またはDScf-DNA全体のある一定の配列またはDScf-DNA集団における、ある一定の配列を指してもよく、またはそれはDScf-DNA集団の全体を指してもよい。

【 0 0 7 4 】

全無細胞核酸は、例えば、対象の血液、血漿、血清などの対象の細胞の外側にある、核酸(DNAなど)のタイプの合計を指す。いかなる特定の理論により、限定されることを望まないが、かかる核酸は、例えば、細胞のアポトーシスを経由して、細胞から放出されると考えられている。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つのいくつかの態様において、「特異的な無細胞核酸」は、対象に天然型ではない、または野生型ではないものを指す。非特異的な無細胞核酸は、かかる例において、対象に天然型であるかまたは野生型であるものである。

【 0 0 7 5 】

無細胞核酸(DNAなど)の量についての値は、本明細書において提供される任意の1つの方法により、「得られる」ことがあり、および得ることのステップ(単数または複数)は、本明細書において引用により組み込まれるか、またはさもなくが本明細書において提供される方法の任意の1つを包含することがある。本明細書で使用される場合、「得ること」は、それにより各情報または材料が取得されることがある、任意の方法を指す。よって、各情報または材料は、実験的な方法により取得されることができる。各材料は、様々な実験的なまたは研究室の方法を用いて、創造、設計などされることがある。各情報または材料は、レポートまたは材料においてなど、情報を与えられることまたは提供されることによりもまた、取得されることがある。いくつかの態様において、材料は、商業的手段(すなわち、購入することにより)を通して、与えられてもまたは提供されてもよい。

【 0 0 7 6 】

本明細書において提供されるように、リスクは、対象からの試料における全無細胞核酸(DNAなど)の量についての1つ以上の値、並びに特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量についての1つ以上の値の組み合わせを使用し、決定されることがある。かかる方法は、いくつかの態様において、値の組み合わせに基づき、対象における移植に関するリスクを評価することを、さらに包含する。いくつかの態様において、本明細書において提供される任意の1つの方法は、全および/または特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値における増大を、移植拒絶反応などの状態のリスクの増大と相互に関連付けることを含むことがある。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、相互に関連付けることは、全および特異的な無細胞核酸(DNAなど)のレベル(例えば、同

10

20

30

40

50

度、比率またはパーセント)を、閾値に対して比較し、対象がリスクの増大または減少におけるかを同定することを含む。

【0077】

例としては、全無細胞DNAの量の値が閾値より高いおよび特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より高い場合、拒絶反応、または他の有害事象または予後が指摘される。別の例としては、全無細胞DNAの量の値が閾値より高く、および全無細胞DNAの量の値が閾値より低い場合、感染が指摘される。さらなる例として、全無細胞DNAの量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞DNAの量の値が閾値より高い場合、初期段階または無症候の拒絶反応が指摘される。

別の例としてしかし、全無細胞DNAの量の値が閾値より低く、および特異的な無細胞DNAの量が閾値より低い場合、臨床状態は全く指摘されず、および対象のさらなるモニタリングは、実施されるか、または対象に提案されてもよい。

10

【0078】

よって、レベルにおける変化もまた、経時的にモニターされることがある。臓器移植において、これは拒絶反応またはそれに関連する状態のリスクについて、個別化された非侵襲的なスクリーニング試験の基礎を形成することがある。本明細書において提供される任意の1つの方法のある態様において、方法は、移植拒絶反応、移植片損傷などの状態を評価するための追加のテスト(単数または複数)を、さらに包含してもよい。追加のテスト(単数または複数)は、本明細書において提供される任意の1つの方法であってもよい。いくつかの態様において、移植レシピエントのために、追加のテストは、対象からの試料における全無細胞核酸(DNAなど)および特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値の決定である。さらに、かかる方法は、処置または治療の選択、投与および/またはモニタリングを、援助することができる。

20

【0079】

処置は、指摘されてもよい。よって、本明細書において提供される任意の1つの方法は、処置の1つ以上のステップ、または対象に処置を提案することを包含してもよい(いくつかの態様において、対象に処置についての情報を提供することを含めて)。例としては、拒絶反応が指摘されるところで、抗拒絶反応療法が、投与されることがある。「投与すること」または「投与」または「投与する」またはその様なものは、薬理的に直接的にまたは間接的に有用であるやり方において、材料を対象に対して提供することを指す。よって、該用語は、処方することなど、対象または別の相手に材料を投与することを指示することを包含する。処置または治療の投与は、当該技術分野において知られる任意の方法により、成し遂げられてもよい(例えば、Harrison's Principle of Internal Medicine, McGraw Hill Inc.を参照)。好ましくは、処置または治療の投与は、治療的に有効な量において起こる。異なるルートでの投与のための組成物は、当該技術分野において知られる(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences by E. W. Martinを参照)。

30

【0080】

本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、方法はさらに、量に基づいて処置のレジユメを決定することを含んでもよい。「処置のレジユメを決定すること」は、本明細書で使用されるように、一連の対象の処置のための行動の決定を指す。本明細書において提供される方法の任意の1つのある態様において、処置のレジユメを決定することは、適切な治療を決定することまたは適切な治療を対象に提供することを包含する。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、決定することは、対象に対して適切な治療または適切な治療についての情報を提供することを包含する。本明細書で使用されるように、処置または治療またはモニタリングについての情報は、書状または電子形式において提供されてもよい。いくつかの態様において、情報は、コンピュータで読むことのできる説明書として提供されてもよい。いくつかの態様において、情報は口頭で提供されてもよい。

40

【0081】

抗拒絶反応療法は、例としては、免疫抑制剤を包含する。免疫抑制剤は、しかしこれら

50

に限定されないが、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾロンまたはヒドロコルチゾン）、グルココルチコイド、細胞増殖抑制剤、アルキル化剤（例えば、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソ尿素、プラチナ化合物、シクロホスファミド（サイトキサン）、代謝拮抗薬（例えば、メトトレキサートなどの葉酸類似体、アザチオプリンやメルカプトプリンなどのプリン類似体、ピリミジン類似体、タンパク質合成阻害剤）、細胞傷害性抗生物質（例えば、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン）、抗体（例えば、抗CD20、抗IL-1、抗IL-2Rアルファ、抗T細胞または抗CD-3モノクローナル、およびウマ由来抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン、サイモグロブリン（Thymoglobuline）などのポリクローナル、イムノフィリンに作用する薬剤、シクロスポリン、タクロリムス、シロリムス、インターフェロン、オピオイド（opiod）、TNF結合タンパク質、ミコフェノール酸、フィンゴリモドおよびミリオシンを包含する。いくつかの態様において、抗拒絶反応療法は、輸血また髄移植を含む。

10

【0082】

治療は、敗血症などの、全身的な状態を処置するための治療もまた包含する。敗血症の治療は、静脈内輸液、抗生物質、外科的ドレナージ、早期目標指向治療（EGDT）、バソプレッサ、ステロイド、活性化プロテインC、ドロトレコギンアルファ（活性化）、酸素および臓器機能不全に対する適切な支援を包含することができる。これは、腎不全における血液透析、肺機能障害における機械的換気、血液製剤の輸血、および循環不全のための薬物および輸液治療が包含されてもよい。好ましくは経腸栄養によるが、しかし必要であれば腸管外栄養によって適切な栄養を確保することもまた、特に長引く疾病の間に包含されることができる。他の関連する治療法は、インスリンおよび深部静脈血栓症および胃潰瘍を予防するための薬物療法を包含できる。

20

【0083】

感染が指摘される、いくつかの態様において、移植のレシピエントを処置するための治療は、バクテリアの、真菌の、および/またはウィルスの感染を処置するための治療もまた、包含することができる。かかる治療は抗生物質を包含する。他の例は、しかしこれらに限定されないが、抗アメーバ剤、アミノグリコシド、駆虫剤、抗真菌剤、アゾール系抗真菌剤、エキノカンジン、ポリエン、ジアリールキノリン、ヒドラジド誘導体、ニコチン酸誘導体、リファマイシン誘導体、ストレプトミセス誘導体、抗ウィルス剤、ケモカイン受容体アンタゴニスト、インテグラゼ鎖転移阻害剤、ノイラミニダーゼ阻害剤、NNRTI、NS5A阻害剤、ヌクレオシドリバーストランスクリプターゼ阻害剤（NRTI）、プロテアーゼ阻害剤、プリンヌクレオシド、カルバペネム、セファロスポリン、グリシシルサイクリン、抗らい菌薬、リンコマイシン誘導体、マクロライド誘導体、ケトライド、マクロライド、オキサゾリジノン抗生物質、ペニシリン、 β -ラクタミナーゼ阻害剤、キノロン系抗菌剤、スルホンアミド、およびテトラサイクリンを包含する。

30

【0084】

他のかかる治療は、当業者に知られる。本明細書において提供される任意の1つの方法は、対象に抗感染処置を投与することまたは提案することを包含することがある（いくつかの態様において、処置についての情報を対象に提供することを含めて）。いくつかの態様において、抗感染処置は、免疫抑制療法における量または頻度における減少であってもよく、または対象に投与される免疫抑制療法における変化であってもよい。

40

【0085】

特に臨床医に有用であるのは、本明細書において提供される値（単数または複数）であることが見いだされた。ある側面において、したがって、かかるレポートが提供される。レポートは、口述、書面（またはハード版）または、視覚化されるまたは表示されることができる形式においてなど電子形式であってもよい。いくつかの態様において、本明細書において提供されるような各々のアッセイについての「生」の結果は、レポートにおいて提供され、およびこのレポートから、さらなるステップが、全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量を分析するために採られることができる。

50

【 0 0 8 6 】

他の態様において、レポートは、複数の全無細胞核酸（DNAなど）の量の値および特異的な無細胞核酸（DNAなど）を提供する。例としては、複数の値は、異なる時から採られた試料からのものである。提供される方法またはレポートの任意の1つのいくつかの態様において、全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、分けて提供されるレポートである。本明細書において提供される方法またはレポートの任意の1つの他の態様において、全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）は、同一のレポートにおいて提供される。

【 0 0 8 7 】

レポート（単数または複数）は、閾値に関して値を表示する、および/または1つ以上の閾値を包含するように形式化されてもよい。かかるアレンジメントまたはプレゼンテーションは、臨床医のために、より早くおよびより簡単な解釈を、産出する可能性がある。例としては、1つ以上の閾値は、ある人が閾値（単数または複数）の情報を得ることができるところを可能にし、および/または閾値（単数または複数）の値とレポートにおける1つ以上の他の値を比較することを可能にする、グラフ上の線または影づけまたはいくつか他のインディケータを使用して指摘されてもよい。

10

【 0 0 8 8 】

提供されるレポートの任意の1つのいくつかの態様において、インディケータは、単に、任意の1つ以上の値が閾値であることを証明するものであってもよい。提供されるレポートの任意の1つのいくつかの態様において、DNAなどの全無細胞核酸の値（単数または複数）、および/またはDNAなどの特異的な無細胞核酸についての値（単数または複数）は、次いで、それらの閾値インディケータ（単数または複数）に比較した位置によってなど、指摘される閾値（単数または複数）との比較に基づき解釈されてもよく、例としては、全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の値を含有するグラフが散布図であり、および閾値が線またはその様なものを用いて明示され、対象におけるリスクを指し示す可能性のあるものである4分円が、形成されてもよい。

20

【 0 0 8 9 】

別の例として、グラフが、線または他のインディケータを伴う、全無細胞核酸（DNAなど）または特異的な無細胞核酸（DNAなど）の値を経時的に提供するものであるならば、グラフにおける核酸の値は、1つ以上の閾値の指摘と比較されてもよい。本明細書において提供されるレポートの任意の1つまたはそのグラフ（単数または複数）は、任意の1つ以上の閾値のインディケータを包含してもよい。

30

【 0 0 9 0 】

レポートは、アッセイの結果の数値的なアウトプットを、表示してもまた良い。これによって、いくつかの態様において、臨床医は、対象のための処置についての必要性、または対象を経時的にモニターする必要性を評価してもよい。

【 0 0 9 1 】

したがって、本明細書において提供される任意の1つの方法において、方法は、時または時々における別の点での対象における、全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量を評価することを包含することがある。例としては、対象における全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量は、より早い時点から1、2、3、4、5、または6日、または1、2、または3週、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10または11か月、または1年などの1つ以上のその次の時点において評価されてもよい。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、対象における全無細胞核酸（DNAなど）および特異的な無細胞核酸（DNAなど）の量は、3、6、または9か月、1、2、またはより多い年などの期間の間、毎日、隔週、毎週、隔月、または毎月、評価されてもよい。かかる評価することは、本明細書において提供される任意の1つの方法により実施され得る。

40

【 0 0 9 2 】

全無細胞核酸（DNAなど）ならびに特異的な無細胞核酸（DNAなど）を決定するた

50

めの方法は、本明細書において提供される、またはさもなくば、当該技術分野において知られる。例としては、PCT出願番号PCT/US2016/030313の方法は、本明細書において提供されるように、試料における特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値について、決定するために使用されてもよい。よって、本明細書において提供される任意の1つの方法は、PCT出願番号PCT/US2016/030313において記載される任意の1つの方法のステップを包含してもよく、およびかかる方法およびステップは、本明細書において引用により組み込まれる。

【0093】

任意の好適な次世代またはハイスループットシーケンシングおよび/または遺伝子型解析テクニックが、いくつかの態様において、全無細胞核酸(DNAなど)並びに特異的な無細胞核酸(DNAなど)を分析するために使用されてもよい。次世代およびハイスループットシーケンシングおよび/または遺伝子型解析テクニックの例は、しかし限定されないが超並列特性(massively parallel signature)シーケンシング、polonyシーケンシング、454パイロシーケンシング、イルミナ(Solexa)シーケンシング、SOLIDシーケンシング、イオン半導体シーケンシング、DNAナノボールシーケンシング、ヘリオスコープ単一分子シーケンシング、単一分子リアルタイム(SMART)シーケンシング、MassARRAY(登録商標)、およびDigital Analysis of Selected Regions(DANSR(商標))を包含する。(例えば、Stein RA (1 September 2008を参照)。“Next Generation Sequencing Update”. Genetic Engineering & Biotechnology News 28 (15); Quail, Michael; Smith, Miriam E; Coupland, Paul; Otto, Thomas D; Harris, Simon R; Connor, Thomas R; Bertoni, Anna; Swerdlow, Harold P; Gu, Yong (1 January 2012)を参照。

【0094】

"A tale of three next generation platforms: Comparison of Ion torrent, pacific biosciences and illumina MiSeq Sequencers". BMC Genomics 13 (1): 341; Liu, Lin; Li, Yinhu; Li, Siliang; Hu, Ni; He, Yimin; Pong, Ray; Lin, Danni; Lu, Lihua; Law, Maggie (1 January 2012). "Comparison of Next Generation Sequencing Systems". Journal of Biomedicine and Biotechnology 2012: 111; Qualitative and quantitative genotyping using single base primer extension coupled with matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MassARRAY(登録商標)). Methods Mol Biol. 2009;578:307-43; Chu T, Bunce K, Hogge WA, Peters DG. A novel approach toward the challenge of accurately quantifying fetal DNA in maternal plasma. Prenat Diagn 2010;30:1226-9; and Suzuki N, Kamataki A, Yamaki J, Homma Y. Characterization of circulating DNA in healthy human serum. Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry 2008;387:55-8を参照)。

【0095】

同様に、米国公開番号: 2015 0086477 A1の無細胞DNAを測定する方法もまた、本明細書において引用により組み込まれ、およびかかる方法は、無細胞核酸(DNAなど)の量の値を決定するための本明細書において提供される任意の1つの方法の部分として、包含されることがある。

【0096】

本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、PCRは、核酸の量が決定されることができるとを意味する、定量的PCRである。定量的PCRは、リアルタイムPCR、デジタルPCR、TAQMAN(商標)などを包含する。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、PCRは「リアルタイムPCR」である。かかるPCRは、増幅過程がまだ続行している一方で、反応動態が、液体相においてモニターされることがあるPCR反応を指す。従来のPCRと対照に、リアルタイムPCRは、増幅反応においてリアルタイムで、連続的に検出するまたは定量する能力を差し出す。特異的な色素からの蛍光強度の増大に基づいて、標的の濃度が、増幅がそのプラトーに達する前にさえ、決定されることがある。

【 0 0 9 7 】

複数のプローブの使用は、単一プローブリアルタイムPCRの能力を、広げることがある。多重性リアルタイムPCRは、複数のプローブに基づくアッセイを使用し、そして各々のアッセイは、独特の蛍光色素を用いてラベル付けされる特異的なプローブを有することがあり、各々のアッセイについて異なる観察色という結果になる。リアルタイムPCR装置は、異なる色素から生成される傾向の間を、区別することがある。異なるプローブは、各々が独特の放出スペクトラを有する、異なる色素を用いてラベル付けされることがある。スペクトルのシグナルは、離散性工学を用いて回収され、一連のフィルターの組を通され、および多く並んだ検出器を用いて回収される。色素間のスペクトルの重なりは、純粋色素スペクトラを使用することにより、行列計算で実験的なデータの絡まりを解き、訂正されてもよい。他の方法は、当業者に明らかであるだろう。

10

【 0 0 9 8 】

上の通り、いくつかの態様において、本明細書において提供される任意の1つの方法は、「ミスマッチ増幅方法」のステップ、「ミスマッチ増幅に基づく定量的アッセイ」またはその様なものなど、特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量の値を決定するために、包含されてもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、ミスマッチ増幅に基づく定量的アッセイは、それにより、本明細書において記載されるように、MOMAプライマーを用いて核酸が増幅され、および核酸の量が決定されることができ任意の定量的アッセイである。かかる方法は、複数のSNV標的からの複数の増幅を含む。

20

【 0 0 9 9 】

かかる方法は、PCT出願番号PCT/US2016/030313の方法を包含し、および本明細書において提供される任意の1つの方法は、PCT出願番号PCT/US2016/030313において記載される任意の1つの方法のステップを包含してもよく、およびかかる方法およびステップは、本明細書において引用により組み込まれる。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、複数の増幅のかかる結果は、中央値、ロバストな標準偏差、ロバストな変動係数、および不一致な値を包含する1つ以上の統計の方法を使用することにより、試料における非天然核酸の量を決定することに使用されてもよい。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、ミスマッチ増幅に基づく定量的アッセイは、本明細書において記載されるように、それにより核酸がMOMAプライマーを用いて増幅され、および核酸の量が決定されることができ、任意の定量的アッセイである。

30

【 0 1 0 0 】

かかるアッセイにおける使用のためのプライマーが、得られる可能性があり、および本明細書において提供される任意の1つの方法は、定量的アッセイを実施するための1つ以上のプライマー対を得ることのステップを包含することがある。一般的に、プライマーは、核酸の量の定量における使用を容易にする独特の特質を所有する。例としては、プライマー対のフォワードプライマーは、3'ヌクレオチド(例えば、最後から2番目の3'ヌクレオチド)においてミスマッチであることがある。提供される任意の1つの方法または組成物のいくつかの態様において、このミスマッチは、3'ヌクレオチドにおいてであり、しかしSNVの位置と隣接する。提供される任意の1つの方法または組成物のいくつかの態様において、SNV標的と比較したプライマーのミスマッチの位置づけは、図1に示される通りである。

40

【 0 1 0 1 】

一般的に、増幅反応において増幅生成物(好適なりバースプライマーと連携して)を生成し、よって増幅を許容し、各SNAを伴う核酸の検出という結果となる、3'ミスマッチさえも伴うかかるフォワードプライマー。特定のSNVが存在せず、および二重ミスマッチに関するSNV標的の他のアレルが存在するならば、増幅生成物は、一般的に生成されないだろう。好ましくは、本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、各々のSNV標的についてのプライマー対が得られ、それにより各々のアレルの特

50

異的な増幅が、それ以外のアレル（単数または複数）の増幅なしに、起こることがある。「特異的な増幅」は、別の核酸の実質的な増幅なしの、または上のバックグラウンドまたはノイズである別の核酸配列の増幅なしの、特異的なアレルの増幅を指す。いくつかの態様において、特異的な増幅は、特異的なアレルの増幅のみの結果になる。

【0102】

本明細書で使用する場合、「一塩基バリエーション」は、単一ヌクレオチドにおいて配列可変性がある中に存在する、核酸配列を指す。いくつかの態様において、SNVは両アレル（両アレル）SNVであり、SNVについて1つのメジャーなアレルおよび1つのマイナーなアレルが存在することを意味する。

いくつかの態様において、SNVは、集団内などに2つより多くのアレルを有することができる。一般的に、「マイナーなアレル」は、遺伝子座について、集団などにおいて頻度が少ないアレルを指し、一方、「メジャーなアレル」は、1セットの核酸などにおいてより頻度が高いアレルを指す。本明細書で提供される方法は、いくつかの態様において、核酸の混合物内のメジャーおよびマイナーなアレルの核酸が低レベルで存在する場合であっても、定量することができる。

【0103】

SNVなどの、配列同一性に可変性が存在する核酸配列は、一般に「標的」と呼ばれる。本明細書で使用する場合、「SNV標的」は、個体の集団などにおける、単一ヌクレオチドなどにおいて配列可変性が存在するところの核酸配列を指す。SNV標的は1つより多くのアレルを有し、好ましい態様において、SNV標的は両アレルである。本明細書で提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、SNV標的は、一塩基多型（SNP）標的である。これらの態様のいくつかにおいて、SNP標的は両アレルである。非天然核酸は、極めて低いレベルであっても、PCRアッセイなどの増幅に基づく定量的アッセイを本明細書で提供されるようにSNV標的に特異的なプライマーを用いて実施することにより、定量可能であることが発見されている。

【0104】

いくつかの態様において、非天然核酸の量は、定量的PCRアッセイなどの増幅に基づく定量的アッセイを、複数のSNV標的についてのプライマーを用いて試みることにより、決定される。「複数のSNV標的」は、各々の標的に対して少なくとも2つのアレルが存在する、1つより多くのSNV標的を指す。好ましくは、いくつかの態様において、各SNV標的は両アレルであると予想され、SNV標的の各々のアレルに特異的なプライマー対を使用して、各々のアレルの核酸を特異的に増幅し、ここで増幅は、特異的なアレルの核酸が試料中に存在する場合に起こる。

【0105】

本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、両アレルである各々のSNV標的について、各々2つアレルの1つに対して特異的な、2つのプライマー対があり、よってアレルに関して単一のミスマッチを有し、それは、増幅しおよびアレルに関する二重ミスマッチに関して、それは増幅しないことである（再度、それらのアレルの核酸が存在するならば）。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、三須町プライマーは、フォワードプライマーである。本明細書で提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、各々のSNV標的のための2つのプライマーのリバースプライマーは、同一である。

【0106】

これらの概念は、本明細書において提供される任意の1つの方法のプライマー対の設計において使用され得る。フォワードおよびリバースプライマーは、テンプレートの特異的な遺伝子座のフラグメントを増幅するために、逆ストランド（例えば、センス鎖、およびアンチセンス鎖）に結び付くように設計されることを理解されたい。プライマー対のフォワードおよびリバースプライマーは、任意の好適なサイズの核酸フラグメントを増幅するために設計され、例としては、本開示に従ってSNV標的のアレルの存在を、検出する可能性がある。本明細書において提供される任意の1つの方法は、本明細書において記載され

10

20

30

40

50

るように、1つ以上のプライマー対を得るための1つ以上のステップを包含することができる。

【0107】

いくつかの態様において、定量的PCRなどの増幅に基づく定量的アッセイは、少なくとも40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、91、92、93、94、95またはより多くの標的についてのプライマー対を用いて実施される。いくつかの態様において、定量的アッセイは、105、104、103、102、101、100、99、98または97、より少ない標的についてのプライマー対を用いて実施される。いくつかの態様において、十分な情報提供的な結果は、40~105、45~105、50~105、55~105、60~105、65~105、70~105、75~105、80~105、85~105、90~105、90~104、90~103、90~102、90~101、90~100、90~99、91~99、92~99、93、99、94~99、95~99、または90~95の間の標的についてのプライマー対を用いて得られる。いくつかの態様において、十分な情報提供的な結果は、40~99、45~99、50~99、55~99、60~99、65~99、70~99、75~99、80~99、85~99、90~99、90~99、90~98、90~97、または90~96の間の標的についてのプライマー対を用いて得られる。

10

【0108】

さらなる他の態様において、十分な情報提供的な結果は、40~95、45~95、50~95、55~95、60~95、65~95、70~95、75~95、80~95、85~95、または90~95の間の標的についてのプライマー対を用いて得られる。さらなる他の態様において、十分な情報提供的な結果は、40~90、45~90、50~90、55~90、60~90、65~90、70~90、75~90、80~90、または85~90の間についてのプライマー対を用いて得られる。さらなる他の態様において、十分な情報提供的な結果は、40~85、45~85、50~85、55~85、60~85、65~85、70~85、75~85、または80~85の間についてのプライマー対を用いて得られる。さらなる他の態様において、十分な情報提供的な結果は、40~80、45~80、50~80、55~80、60~80、65~80、70~80、または75~80の間についてのプライマー対を用いて得られる。さらなる他の態様において、十分な情報提供的な結果は、40~75、45~75、50~75、55~75、60~75、65~75、または70~75の間の標的についてのプライマー対を用いて得られる。

20

30

【0109】

一般的に、本明細書で提供される「情報提供的な結果」とは、試料中の特異的天然核酸および/または非特異的な核酸のレベルを定量するために使用することがある結果である。情報提供的な結果は、天然核酸が特定のSNV標的についてヘテロ接合性である場合の結果および、「コールなし」または誤ったコール結果を除外することがある。提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、特異的天然核酸および/または非特異的な核酸の量は、それぞれ核酸の情報提供的な結果にわたる平均値を表す。本明細書において提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、平均は絶対量として、またはパーセントとして与えられる。

40

【0110】

好ましくは、本明細書において提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、この平均は中央値である。本明細書において提供される任意の1つの方法の他の態様において、平均は、刈り込まれた平均である。本明細書において使用する場合、「刈り込まれた平均」は、最も低いレポートする標的(2つの最も低いものなど)とレポートする標的の最も高いもの(2つの最も高いものなど)と組み合わせの、除去を指す。本明細書において提供される任意の1つの方法のさらなる他の態様において、平均(average)は平均(mean)である。

【0111】

50

本明細書において提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、方法は、ロバストな統計（例えば、B D F A C D i v a T M ソフトウェア）の使用をさらに含み得る。いくつかのかかる態様において、かかる統計の使用は、終わりに結果の品質チェックとして行われ得る。いくつかのかかる態様において、統計はやり直す必要がある可能性のある試料、または破棄されるべきいくつかの結果を指摘する可能性がある。いくつかの態様において、本明細書において提供される任意の1つの方法は、ロバストな標準偏差（ rSD ）などの標準偏差、および/またはロバストな変動係数（ rCV ）などの変動係数、または%ロバストな変動係数などの%変動係数が、それにより計算されることができ、ステップを包含することがある。

【0112】

本明細書において使用されるように、ロバストな SD は、個々のデータポイントの集団の中央値に対するに対する偏差に基づく。

それは、

$$rSD = (\{ |X_i - \text{中央値}_x| \} \text{の中央値}) \times 1.4826$$

として計算されることができ。

1.4826という値は、結果として生じるロバストな値を、正常な集団分布の等価物へ調節する定数因数である。よって、正常に分布される集団のために SD および rSD は、同等である。

類似的に、ロバストな CV およびロバストな CV のパーセントは、それぞれ：

$$rCV = rSD / \text{中央値}_x \text{ および } \%rCV = rSD / \text{中央値}_x \times 100\%,$$

として計算されることができ。

【0113】

よって、本明細書において提供される任意の1つの方法において、最終量は、 rSD などの標準偏差、および/または rCV などの変動係数、または% rCV などの%変動係数を使用する結果の分析において、少なくとも部分的に決定されることができ。

本明細書において提供される任意の1つの方法のいくつかの態様において、方法はさらに、不一致な値（ dQC ）を含むことができる。例としては、ホモ接合型レシピエントのマイナーなアレル割合の平均値および非情報提供的な標的は、試料の混同および汚染から守るために評定されることができ。それらは、非特異的なアレルのノイズを条件として、理論的に、ほぼゼロパーセントと読めるはずである。もし回収または処理する間に試料の交換が起こったならば、間違った遺伝子型レシピエントが使用され、 dQC は、情報価値のない標的と想定される最大50または100%の示度まで直ちに上がる。 dQC はまた、試料の汚染および多分遺伝的な不安定性をとらえることができる。一般的に、健康的な試料は、 $dQC 0.5\%$ 以下を有するだろう。

【0114】

比率またはパーセンテージなどの特異的な核酸の量は、必要に応じて、天然および/または非天然核酸のメジャーおよびマイナーなアレルの量ならびに遺伝子型を用いて決定されてもよい。本明細書に提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、アレルは、以前の遺伝子型解析（例えば、それぞれレシピエントおよび/またはドナーのもの）に基づき、決定されることがある。遺伝子型解析のための方法は、当テクニク分野において知られている。かかる方法には、次世代、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイなどのシーケンシング、他の分離テクニクまたはPCRアッセイを含む。本明細書で提供される方法の任意の1つは、かかる遺伝子型を得るステップを含むことができる。

【0115】

本明細書に記載のプライマー対は、多重PCRアッセイに使用されることがあることが理解されるべきである。したがって、本明細書で提供される方法のいくつかの態様において、プライマー対は、PCR反応において他のプライマー対と適合するように設計される。例えばプライマー対は、PCR反応における他のプライマー対の少なくとも2個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも20個、少なくとも25個、少なくとも30個、少なくとも40個等と適合するように設計されてもよい。本明細書で使用する場合、

10

20

30

40

50

PCR反応におけるプライマー対は、それらの標的を同じPCR反応において増幅することができる場合に、「適合的」である。

【0116】

いくつかの態様においてプライマー対が適合的であるのは、同じPCR反応に多重化されている場合に、それらの標的核酸(DNAなど)の増幅が、1%以下、2%以下、5%以下、10%以下、15%以下、20%以下、25%以下、30%以下、35%以下、40%以下、45%以下、50%以下、または60%以下阻害されている場合である。プライマー対は多くの理由で適合的でない可能性があり、その理由としては、限定はされないが、プライマー二量体の形成、および他のプライマー対と干渉することができる、鋳型上の標的外部位への結合を含む。したがって、本開示のプライマー対は、他のプライマー対との二量体の形成を妨げるか、または標的外結合部位の数を制限するように、設計されることがある。多重PCRアッセイにおいて使用するためのプライマーを設計するための例示的な方法は、当テクニク分野で知られており、および本明細書に別途記載される。

10

【0117】

本明細書で提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、定量的アッセイは定量的PCRアッセイを包含する。本明細書で提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、定量的アッセイは定量的PCRアッセイである。定量的PCRには、リアルタイムPCR、デジタルPCR、TAQMAN(商標)などが含まれる。本明細書で提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、PCRは「リアルタイムPCR」である。かかるPCRは、増幅プロセスがまだ進行している間に反応動態を液相でモニタリングすることがある、PCR反応を指す。従来のPCRとは対照的に、リアルタイムPCRは、増幅反応においてリアルタイムで同時に検出または定量する能力を提供する。特定の色素からの蛍光強度の増加に基づき、標的の濃度を、増幅がそのプラトーに達する前であっても決定することがある。

20

【0118】

複数プローブの使用は、単一プローブリアルタイムPCRの能力を拡大することがある。多重リアルタイムPCRは、各アッセイが固有の蛍光色素で標識された特異的プローブを有し得、各アッセイについて異なる観察色をもたらす、複数のプローブに基づくアッセイを使用する。リアルタイムPCR装置は、異なる色素から生成される蛍光を区別することがある。異なるプローブは、それぞれ固有の発光スペクトルを有する異なる色素で標識することがある。スペクトル信号は、離散光学系で収集され、一連のフィルタセットを通過し、検出器のアレイによって収集されることがある。色素間のスペクトルの重なりを補正は、純粋な色素スペクトルを用いて行列代数により実験データをデコンボリューションすることにより、実施されてもよい。

30

【0119】

本明細書で提供される方法の任意の1つにおいて、PCRはデジタルPCRであってもよい。デジタルPCRは、希釈された増幅産物を複数の個別試験部位に分割して、ほとんどの個別試験部位が、ゼロまたは1つの増幅産物を含むようにすることを含む。次いで増幅産物を分析して、試料中の選択された関心対象のゲノム領域の頻度の表示を提供する。個別試験部位ごとに1つの増幅産物を分析すると、各個別試験部位について2値の「イエスまたはノー」の結果が得られ、選択された関心のあるゲノム領域が定量化され、選択された関心のあるゲノム領域の相互の頻度が決定される。

40

【0120】

ある一定の側面において、これに加えて、または代替として、複数の分析を、所定の領域からのゲノム領域に対応する増幅産物を使用して行うことがある。2つ以上の所定の領域の分析結果を用いて、増幅産物の数の相対的な頻度を定量し、決定することがある。2つ以上の所定の領域を使用して試料中の頻度を決定することにより、単一の検出アッセイによっては容易には明らかにされない、増幅効率の変動などを介したバイアスの可能性が低減される。デジタルPCRを使用してDNAを定量する方法は、当テクニク分野で知られており、例えば米国特許公開番号US2014 0242582に記載されている。

50

【 0 1 2 1 】

本明細書で提供される方法の任意の1つは、例えば移植のレシピエントなどの対象から得られた試料から、例えば無細胞DNAなどの核酸を抽出することを含むことがある。かかる抽出は、当テクニック分野で知られている任意の方法または本明細書に提供される他の方法を用いて行うことがある（例えば、Current Protocols in Molecular Biology、最新版またはQIAamp循環核酸キットまたは他の適切な市販キットを参照）。無細胞DNAを血液から単離するための例示的な方法は、記載されている。EDTAまたはDTAなどの抗凝固剤を含有する血液を、対象から採取する。cf-DNAを含む血漿を、血液中に存在する細胞から分離する（例えば、遠心分離または濾過によって）。所望の二次分離を行って、任意の残存する細胞を血漿から除去することがある（例えば、第2の遠心分離または濾過ステップ）。

10

【 0 1 2 2 】

その後cf-DNAを、当分野で知られている任意の方法、例えばQiagenにより製造されたものなどの市販のキットを用いて、抽出することがある。cf-DNAを抽出するための他の例示的な方法も、当テクニック分野で知られている。cf-DNAを抽出するための他の例示的な方法も、当テクニック分野で知られている（例えば、Cell Free Plasma DNA as a Predictor of Outcome in Severe Sepsis and Septic Shock. Clin. Chem. 2008, v. 54, p. 1000-1007; Prediction of MYCN Amplification in Neuroblastoma Using Serum DNA and Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction. JCO 2005, v. 23, p.5205-5210; Circulating Nucleic Acids in Blood of Healthy Male and Female Donors. Clin. Chem. 2005, v. 51, p.1317-1319; Use of Magnetic Beads for Plasma Cell free DNA Extraction: Toward Automation of Plasma DNA Analysis for Molecular Diagnostics. Clin. Chem. 2003, v. 49, p. 1953-1955; Chiu RWK, Poon LLM, Lau TK, Leung TN, Wong EMC, Lo YMD. Effects of blood processing protocols on fetal and total DNA quantification in maternal plasma. Clin Chem 2001;47:1607-1613; およびSwinkels et al. Effects of Blood Processing Protocols on Cell free DNA quantification in Plasma. Clinical Chemistry, 2003, vol. 49, no. 3, 525-526を参照）。

20

【 0 1 2 3 】

本明細書で提供される方法の任意の1つのいくつかの態様において、初期追加増幅ステップが実施される。例示的なかかる増幅方法は以下の通りであり、かかる方法は、本明細書で提供される方法の任意の1つに含めることができる。15 ngの無細胞血漿DNAを、約100個の標的とQ5 DNAポリメラーゼを用いてPCRで増幅する；ここでプールされたプライマーは合計で6 μMであった。試料を、約35サイクルに供する。反応は合計で25 μlである。増幅後、試料は、AMPUREビーズクリーンアップ、ビーズ精製、または簡単にExoSAP-IT（商標）またはZymoを含む、いくつかのアプローチを用いて洗浄することがある。

30

【 0 1 2 4 】

本発明の様々な側面は、単独で、組み合わせて、または前述の態様で具体的に論じられていない様々な構成で使用されてもよく、したがって、それらの用途においては、前述の説明または図面に示された構成要素の詳細および配置に限定されない。例えば、ある態様に記載された側面は、他の態様に記載された側面と任意の様式で組み合わせてもよい。

40

【 0 1 2 5 】

また、本発明の態様は、その一例が提供されている、1つ以上の方法として実装されてもよい。方法の一部として実行される行為は、任意の適切な手段で順序付けられる。したがって、図示されていない順序で行為が実施される態様が構成されてもよく、これは、例示的な態様において連続的な行為として示されている場合でも、いくつかの行為を同時に実行することを含んでよい。

特許請求の範囲における順序を示す用語、例えば「第1」、「第2」、「第3」などの、クレーム要素を修飾するための使用は、それ自体、任意の優先順位、序列、または1つのクレーム要素の他の要素に対する順序、または方法の行為が実施される時間的順序を示

50

さない。かかる用語は、特定の名称を有する1つのクレーム要素を、同じ名称を有する別の要素（但し、順序を示す用語の使用は除く）から区別するための、ラベルとしてのみ使用される。

【0126】

本明細書で使用される語法および専門用語は、説明目的のものであり、限定的であると見なされるべきではない。「含む (including)」、「含む (comprising)」、「有する」、「含有する (containing)」、「伴う (involving)」、およびそれらの変形の使用は、その後に列挙される項目および追加の項目を包含することを意味する。

本発明のいくつかの態様を詳細に説明したので、当業者には様々な改変および改良が容易に思い浮かぶであろう。かかる改変および改良は、本発明の精神および範囲内にあることが意図される。したがって、前述の説明は単なる例示に過ぎず、限定を意図するものではない。以下の説明は、本明細書で提供される方法の例を提供する。

【0127】

例

例1 - ミスマッチ増幅アッセイ (MOMA)

SNV 標的選択

開示による多重化のための標的の同定は、現在記載されているように、以下のステップの1つ以上を含み得る。第1に、既知の困難領域を除いて、いくつかの民族対照集団 (Hardy Weinberg $p > 0.25$) で高度にヘテロ接合性のSNPをスクリーニングすることがある。困難領域は、患者および染色体の動原体およびテロメアを含む低い複雑性の領域で異常である可能性のある症候性領域を含む。次いで、所望の長さの標的フラグメントを *in silico* で設計することがある。具体的には、それぞれのSNPの70bpウィンドウにわたる2つの20~26bpプライマーを設計することがある。次いで、BLASTを使用して全ての候補プライマーをGC R h 37に照会することがある。

【0128】

十分に特異的であることが見出されたプライマーは保持され得、オフターゲットヒット、特にフラグメントの3'末端でモニタリングされ得る。オフターゲット候補のヒットを、サイズ選択を生き延びるペアワイズフラグメント生成について分析することがある。次いで、選択されたプライマーを *in silico* 多重化評価に供すことがある。プライマーの計算された融解温度およびグアニン - シトシンパーセンテージ (GC%) を使用して、中程度の範囲の配列をフィルタリングすることがある。反復遺伝子アルゴリズムおよび模擬アニーリングを使用して、400の標的に適合する候補プライマーを選択し、最終的に800のプライマーを選択することがある。

【0129】

800のプライマーを生成し、共通の溶解温度で共通の溶液で多重能力を物理的に試験することがある。具体的には、マルチプレックス画面および中程度の読み取り深度ウィンドウにおいて偶数倍の増幅に基づいてプライマーをフィルタリングすることがある。最高性能の多重化SNPを使用してMOMAについて48のアッセイを設計することがある。それぞれのSNPは、4つのミスマッチの選択肢でWT/MUTで設計されたプローブを有していた。アッセイ当たり8つのプローブがあることがある。新しく入れ子になったプライマーを、70bpの豊富なフラグメント内に設計することがある。最終的に、増幅効率を評価するために、プライマーを実験的に増幅することがある (TAQMAN (商標) を使用して、3回で8プローブ x 48アッセイ)。

【0130】

各アッセイの推測的遺伝子型解析の情報提供性

例としては、それぞれのアッセイされたSNPでの既知のまたは可能性のある天然および非天然遺伝子型を使用して、情報提供的なアッセイのサブセットを選択した。対象のホモ接合部位を、非天然型が任意の他の遺伝子型である場合に使用されることがあることに留意されたい。さらに、非天然の遺伝子型がわからない場合、それは推論することがある。遺伝子型は、シーケンシング、SNPマイクロアレイ、または既知の0% (クリーンレ

10

20

30

40

50

シピエント) 試料に対するMOMAアッセイの適用によっても学習することがある。

【0131】

多重アッセイ性能の後処理分析

患者特異的MOMAプローブバイアスを、実験コホートにわたって推定することがある。反復的な選択を洗練して最終的な非天然型・パーセント・コールを行うことがある。

再構成実験

アッセイの感度と精度を、既知の混合比で再構成された血漿試料を使用して評定することがある。特異的には、比率1:10、1:20、1:100、1:200、および1:1000を評価することがある。一般的に、95SNV標的についてのプライマーを、本明細書において提供されるいくつかの態様において記載されるように、使用することがある。

10

【0132】

非天然型の情報なしで機能するには、以下の手順を情報提供的なアッセイを推論し、および結晶試料における非天然で特異的な無細胞DNAの定量化を可能にして実施してもよい。すべてのアッセイを、完全情報提供シナリオにおけるパフォーマンスについて評定することがある。よって、この手順は、各々のアッセイでクリーンAA/AB/BB遺伝子型および各々の定量化の偏見のない挙動を推定した。天然遺伝子型で、対象においてホモ接合性であると知られるアッセイを、選択することがある。非天然核酸に汚染があるとし得、およびアッセイ回収物は、非、半、および完全情報提供的なアッセイに対応する3つのクラスターのアッセイを伴う、3モード分布を創造した。十分な数のホモ接合のアッセイレシピエントで、非天然完全情報提供的なアッセイの存在を、推定することがある。

20

【0133】

もし天然遺伝子型を、ホモ接合で知る場合、次いでもし、非天然遺伝子型ではない測定を観察する場合、真に非天然ホモ接合性であるプローブは、最も高いクラスターを有しおよび予想に等しく、ところが非天然ヘテロ接合性であるものは、予想の半分であるだろう。確率分布をプロットし得、および期待値の最大化アルゴリズム(EM)は、非天然遺伝子型を推論するために用い得る。かかることを、本明細書において提供される任意の1つの方法において、非天然遺伝子型頻度を推論するために使用することがある。

【0134】

したがって、EMアルゴリズムを、すべてのアッセイされたSNV標的において、最も可能性の高い非天然遺伝子型を推論するために使用された。推論される非天然遺伝子型を用いて、定量化は、完全情報シナリオにおいてとして進行してもよい。EMは、アッセイで見いだされるマイナーなアレル比率が、すべてのアッセイは対象において「AA」である条件で、対象と非天然の各々の組み合わせについて1つ(または一般性を失うことなしに、「BB」から反転する)に続く、という推論と共に始まり得る。すべての非天然遺伝子型が知られずに、いかなるアッセイで、マイナーなアレルをほぼ0表現するのは、非天然AAであり、および最も高いのは非天然BBであるという知識から、ブートストラップすることは可能である。すべての非天然遺伝子型についての最初の予想を記録し、および各々のクラスターの平均が計算された。非天然BBアッセイの平均が、非天然ABのその2倍であることを施行することは、検索を制限する。アルゴリズムは、次いでクラスターに基づいて予想される非天然遺伝子型、および内蔵の推測を再度適用する。プロセスは、変化がなくなるまで反復された。最終の結果は、それらの測定されたバックグラウンドからの逸脱において、もっとも可能性の高い非天然遺伝子型の1組である。一般的に、すべての標的はモデルに分類され、結果は最大化の後でグループ間の場合、繰り上げられるだろう。

30

40

【0135】

再構成実験の結果は、概念の証拠を証明する。(図2)1つの標的は完全情報提供的であり、ここではホモ接合性ドナーがホモ接合性レシピエントに対して存在する(陰影付けしたデータ点)。他の標的は半情報提供的であり、ここではヘテロ接合性ドナーがホモ接合性レシピエントに対して存在する(白抜きのデータ点)。さらに、本明細書に記載される

50

ように、移植レシピエント患者からの血漿試料をミスマッチ法で分析した(図3)。すべてのデータは、生検を受けた患者からのものである。濃い点は拒絶反応を意味する。図4に示すさらなるデータは、本明細書で提供されるミスマッチ法が、実際の血漿試料で機能したことを実証する。移植手術後、ドナーのパーセントレベルは低下した。本明細書に記載の95個のSNV標的に対するプライマーが使用された。

【0136】

例2、例示的なアッセイ

遺伝子型解析

多重性の、アレルト異的なPCRに基づくアッセイは、ドナーフラクション(DF)を、cf-DNAのパーセントとして計算できるだろう。高い頻度のSNPのパネルは、これらのアレル間を確実に区別するための能力について、選択される。手短に、全cf-DNAの15ngが、多重性のライブラリマスター混合物に、各々の試料の中にスパイクされる外因的な基準(4.5E+03コピー)と共に追加され、および0.005UQ5(NEB)DNAポリメラーゼ、0.2mMdNTP、96標的の3μMフォワードプライマープール、96標的の3μMリバースプライマープールを含有する25μl反応で、最終的な濃度2mMのMgCl2で、35サイクルのPCRにより増幅される。

【0137】

サイクルの状態は、98 30秒間であり、次いで、98 10秒間、55 40秒間、および72 30秒間である。これは、72 における2分の培養により終了されることができ、および次いで4 で保管される。10マイクロリットルの最終反応は、37 で15分、次いで80 で15分の間、培養することにより、ExoSAP-IT(Thermo Fisher Scientific)を用いて清掃される。ライブラリは、次いで保存緩衝液で希釈され、および遺伝解析のために処理されるか、または-80 で保管される。定量的遺伝子型解析(qGT)は、1:100に希釈された保存ライブラリの1:100希釈の3.8μlから始まり実施され、および適切な対照および検量用試料を伴う3μl反応において、Roche LightCycler 480 platform (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)で、重複で行う。手順は、使用され、レシピエントまたはドナーの遺伝的DNA(gDNA)へ、各々の標的の遺伝座で3つの可能性のある遺伝子型の1つ(つまり、ホモ接合のAA、ヘテロ接合のABおよびホモ接合のBB)をあてがう。

【0138】

ドナーフラクション(特異的な)分析

ヘテロ結合のDNAソースの標準曲線は、各々の標的におけるアレルを定量化することに使用される。品質管理手順は、各々の標準曲線および試料増幅を評定することに使用されることがある。定量可能な標的は、解釈に至るまで続行されることがある。容認性の基準は、歴史的な増幅形状、第2アレルに関するアレルト異的なPCRアッセイの特異性、シグナルに対するノイズ、標準曲線の組の傾きおよびr平方、対象の増幅、およびネガティブ対照の汚染を、包含することがある。

【0139】

レシピエントおよび/またはドナーの各々の標的において可能な遺伝子型のラベル(例えば、ホモ接合のAA、ヘテロ接合のAB、およびホモ接合のBB)と共に、情報提供的な標的が、レシピエントがホモ接合と知られおよびドナーが、異なる得遺伝子型を有する場合のとおり定義されることができ。ドナーがホモ接合であり、およびレシピエントと異なる場合、観察されるBアレル比率がおよそ全体のDFレベルであるから、標的は、完全情報提供的であると言及される。貢献がAおよびBアレルの両方であり、および測定した貢献が2倍されるから、ドナーがヘテロ結合の場合、標的は半情報提供的であると呼ばれる。情報提供的なおよび品質管理合格のアレル比率が、計算され、全cf-DNAのDF(%)としてレポートされる。

【0140】

各々の定量的遺伝子型解析プロセスは、2つの品質管理測定値、rCVおよびdQCを産出することがある。標準化されたロバストな変動係数(rCV)は、情報提供的なおよ

10

20

30

40

50

び定量可能な標的の分布を使用して、コンピュータ計算される。第一に、ロバストな標準偏差 (rSD) は、マイナーな種の部分の中央値からの絶対相違の中央値としてコンピュータ計算される。 rSD は、それが標準化された後、中央値で割ることにより、変動係数に転換される。 rCV は、それらの中央値付近のアッセイされた標的の広がりを測定し、および精密さまたは試料品質の基準として、機能することがある。 dQC は、レシピエントホモ接合のおよび非情報提供的な標的の平均マイナーなアレル割合の評定など汚染に対するセーフガードとして実施されることがある。) 不一致な品質チェックである。

【 0 1 4 1 】

例 3 - 全無細胞 DNA の決定

いくつかの態様において、全無細胞 DNA ($cf-DNA$) が決定される。

3 から 10 ミリリットル (ml) の抗凝固剤処置された血液は、 10 ml の Cell Free DNA Blood Collection Tubes (BCT) tubes (Streck, Omaha, NE) に、回収される。血漿は、遠心分離により、全血から分離され、および DNA 抽出するまで - 80 で保管される。 $cf-DNA$ 抽出は、 eliaPrep™ HT Circulating Nucleic Acid Kit、カスタム (Pomona, Madison, WI) を使用して実施される。

【 0 1 4 2 】

血漿から全 $cf-DNA$ の内容は、前に記載されたように、定量的リアルタイム PCR により、三重で評定される (Hidestrand et al., Influence of temperature during transportation on cell free DNA analysis. Fetal Diagn Ther 31, 122-128 (2012))。 PCR 分析は、 Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex Real time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) において、実行される。

【 0 1 4 3 】

例 4 - リスクを全および特異的な無細胞 DNA を使用して評価する

図 7 において示されるように、全無細胞核酸 (DNA など) の値および特異的な無細胞核酸 (DNA など) の値は、様々な時点について一緒に、レポートにおいて表示されることがある。

【 0 1 4 4 】

図 9 は、データの両方のタイプを示すレポートの別の例を示す。

68 の患者からのデータが、分析された。期待されるように、全無細胞 DNA および特異的な無細胞 DNA についての両方の値が高いと考えられる場合、拒絶反応が起こることおよび炎症プロセス (右上四分円) を駆動することの可能性が高く、または死などの有害事象または予後が、指摘される。全無細胞 DNA が高いと認められ、しかし特異的な無細胞 DNA が低い場合、対象において感染が起こっている可能性が高く、しかし拒絶反応ではない (左上四分円)。しかしながら、特異的な無細胞 DNA が高いと考えが得られることと一緒に、全無細胞 DNA が低いと考えられる場合、対象が、拒絶反応の初期段階における可能性が高くおよびさもなければ、症状がないと考慮されるだろう (右下四分円)。抗拒絶反応処置および / またはさらなるモニタリングが、必要とされることがあるだろう。最後に、全無細胞 DNA および特異的な無細胞 DNA が、低いと考えられる場合、患者のモニタリングを続けることはいまだ必要である可能性があるものの、正当化される処置は全くないと予測される (左下四分円)。

【 0 1 4 5 】

例 5 - コンピュータで実施される態様の例

いくつかの態様において、上述の診断テクニックは、 1 つ以上のソフトウェアファシリティを実行する 1 つ以上のコンピュータ計算機器を介して実施され、経時的に対象の試料を分析し、試料中の無細胞核酸 (DNA など) を測定し、 1 つ以上の試料に基づく診断結果を生み出すことができる。図 8 は、いくつかの態様が動作することがあるコンピュータシステムの例を示しているが、態様は図 8 に示すタイプのシステムでの動作に限定されないことを理解されたい。

【 0 1 4 6 】

図 8 のコンピュータシステムは、対象 806 から試料 806 を得ることができる対象 8

10

20

30

40

50

02および臨床医804を含む。上記から理解されるように、試料806は、対象802のための任意の適切な生物学的材料の試料(対象802の無細胞核酸(DNAなど)の存在を測定するために使用され得、血液試料を含む)であり得る。試料806は分析装置808に提供し得、これは、当業者が前述のことから理解するように、試料808を分析して、無細胞核酸(DNAなど)の全量、および試料806および/または対象802の特異的な無細胞核酸(DNAなど)の量を決定する(推定を含む)。図示を容易にするために、分析装置808は単一の装置として示されているが、分析装置808は、任意の適切な形態をとることができ、いくつかの態様において、複数の装置として実施することができることを理解されたい。

【0147】

試料806および/または対象802における無細胞核酸(DNAなど)の量を決定するために、分析装置808は、上記の任意のテクニックを実施し得、特定の分析を実施することに限定されない。分析装置808は、他のハードウェアを動作させ、他のハードウェアによって実施されるタスクの結果を受け取るようにプロセッサ(単数または複数)を駆動して、分析の全体的な結果(試料806および/または対象802の無細胞核酸(DNAなど)の量であってもよい)を決定するソフトウェアに実施された分析ファシリティを実行する1つ以上のプロセッサを含むことができる。

【0148】

分析ファシリティは、1つ以上のコンピュータ可読記憶媒体(装置808のメモリーなど)に保存され得る。他の態様において、試料を分析するための本明細書に記載のテクニックは、特定用途向け集積回路(ASIC)などの1つ以上の専用コンピュータ構成要素、またはソフトウェア実施の代わりになる他の適切な形態のコンピュータ構成要素で部分的または全体的に実行されてもよい。

【0149】

いくつかの態様において、臨床医804は、試料806を分析装置808に直接提供し得、対象802から試料806を得ることに加えて装置808を作動させることができ、他の態様において、装置808は臨床医804および対象802から地理的に離れていてもよく、試料806は出荷され得、または分析装置808に場所へ転送され得る。いくつかの態様において、試料806は、試料806が得られた日付および/または時間に関する試料806および/または対象802、または試料806を記載または同定する他の情報の識別子(例えば、任意の適切なインターフェースを介した入力)とともに分析装置808に提供される。

【0150】

分析装置808は、いくつかの態様において、試料806に対して実行された分析の結果を、データベースまたは他の適切なデータストアとして実施され得るデータストア810Aを含み得るコンピュータ計算機器810に提供するように構成され得る。いくつかの態様において、コンピュータ計算機器810は、クラウドサービスプロバイダなどの分散計算プラットフォームの1つ以上の物理的および/または仮想的な機械を含む1つ以上のサーバとして実施され得る。他の態様において、装置810は、デスクトップまたはラップトップパーソナルコンピュータ、スマート携帯電話、タブレットコンピュータ、専用ハードウェア装置、または他のコンピュータ計算機器として実施することがある。

【0151】

いくつかの態様において、分析装置808は、その分析の結果を、インターネットを含む1つ以上の有線および/または無線、ローカルおよび/またはワイドエリアコンピュータ通信ネットワークを介して装置810に通信することがある。分析の結果は、任意の適切なプロトコルを使用して通信されてもよく、試料806および/または対象802の識別子、または試料806が得られた日付および/または時間など、試料806を記載または同定する情報とともに通信され得る。

【0152】

計算機器810は、本明細書に記載の診断テクニックを実行するためのプロセッサ(単

10

20

30

40

50

数または複数)を駆動することがあるソフトウェアに実施された診断ファシリティを実行するための1つ以上のプロセッサを含むことができる。診断ファシリティは、装置810のメモリなどの1つ以上のコンピュータ可読記憶媒体に保存することがある。他の態様において、試料を分析するための本明細書に記載されたテクニックは、特定用途向け集積回路(ASIC)などの1つ以上の専用コンピュータ構成要素、またはソフトウェア実施の代わりになり得る他の任意の好適な形態のコンピュータ構成要素で部分的または全体的に実施することがある。

【0153】

診断ファシリティは、分析の結果および試料806を記載または同定する情報を受け取り、その情報をデータストア810Aに保存することがある。情報は、対象802の以前の試料に関する情報が診断ファシリティによって以前に受信され、保存されている場合など、対象802の他の情報に関連して、データストア810Aに保存されてもよい。複数の試料に関する情報は、対象802の識別子などの共通の識別子を使用して関連付けることができる。いくつかの場合において、データストア810Aは、複数の異なる対象について情報を含むことがある。

10

【0154】

診断ファシリティはまた、対象802の診断を決定するために、ユーザ入力によって特定された特定の対象802に対する1つ以上の試料806の分析の結果を分析するように動作されてもよい。診断は、対象802が特定の状態を有している、有することがある、または将来的に発症することがあるというリスクの結論であってもよい。診断ファシリティは、特定の試料806について決定された無細胞核酸(DNAなど)の量を1つ以上の閾値と比較すること、または試料806について経時的に決定された無細胞核酸(DNAなど)の量の経時的な変化を1つ以上の閾値と比較することを含む、上記の様々な例のいずれかを使用して診断を決定することがある。例えば、診断ファシリティは、試料806する1つ以上の無細胞核酸(DNAなど)の全量に対する閾値および同じ試料(単数または複数)について特異的な核酸(DNAなど)の全量を別の閾値と比較することによって、ある状態の対象802に対するリスクを決定することがある。閾値との比較に基づいて、診断ファシリティは、ある状態の対象802に対するリスクを示す出力を生成することがある。

20

【0155】

前述から理解されるように、いくつかの態様において、無細胞核酸(DNAなど)の量を比較し得る異なる閾値で診断ファシリティを構成することがある。異なる閾値は、例えば、異なる人口統計学的群(年齢、性別、人種、経済的クラス、病歴における特定の処置/状態/他の有無、または他の人口統計学的分類)、異なる状態、および/または他のパラメータまたはパラメータの組み合わせに対応する。かかる態様において、診断ファシリティは、計算機器810のメモリに保存された異なる閾値を用いて、無細胞核酸(DNAなど)の量と比較される閾値を選択するように構成することがある。

30

【0156】

したがって、選択は、人口統計学的群に基づいて閾値が異なる態様における対象802の人口統計学的情報に基づき、これらの場合、対象802の人口統計学的情報は、診断ファシリティに提供されるか、または対象802の識別子を使用する診断ファシリティによって(別の計算機器、またはデータストア810Aと同じかまたは異なるデータストア、または任意の他の適切な供給源から)回収される。選択は、追加的または代替的に、リスクが決定されるべき条件に基づいてもよく、診断ファシリティは、リスク受信を入力として条件を決定する前に、リスクの決定の基礎となる閾値を選択する条件を使用し得る。診断ファシリティは、複数の閾値がサポートされる態様において、任意の特定の 방법으로閾値を選択することに限定されないことを理解されたい。

40

【0157】

したがって、選択は、人口統計学的群に基づいて閾値が異なる態様における対象802の人口統計学的情報に基づき、これらの場合、対象802の人口統計学的情報は、診断フ

50

ァシリティに提供されるか、または対象 8 0 2 の識別子を使用する診断ファシリティによって（別の計算機器、またはデータストア 8 1 0 A と同じかまたは異なるデータストア、または任意の他の適切な供給源から）回収される。選択は、追加的または代替的に、リスクが決定されるべき条件に基づいてもよく、診断ファシリティは、リスク受信を入力として条件を決定する前に、リスクの決定の基礎となる閾値を選択する条件を使用し得る。診断ファシリティは、複数の閾値がサポートされる態様において、任意の特定の 방법으로閾値を選択することに限定されないことを理解されたい。

【 0 1 5 8 】

いくつかの態様において、診断ファシリティは、リスクの診断および/または対象 8 0 2 の診断のための基礎を含むユーザインターフェースをユーザに提示するために出力するように構成されてもよい。診断の基礎は、例えば、対象 8 0 2 について 1 つ以上の試料 8 0 6 に検出された無細胞核酸（DNA など）の量を含み得る。いくつかの態様において、ユーザインターフェースは、上述の結果、値、量、グラフなどの任意の例を含み得る。それらは経時的な結果、値、量などを含み得る。いくつかの場合、グラフには、グラフに表示されたデータの分析から生成されることがある異なる診断に、グラフの異なる領域がどのように対応しているかをユーザに示すために注釈を付けることができる。例えば、グラフ化データと比較して分析を決定し得る閾値をグラフ（単数または複数）に課すことがある。図 7 または図 9 のグラフの場合、これは、グラフに 2 本の線を追加すること、グラフを区画に分けることなどを包含してもよい。いくつかの態様において、区画は、追加にまたは代わりに異なる透明性および/または色彩の影などを用いて、影がつけられてもよい。診断ファシリティが 2 つより多くの閾値を評定する態様においては、線および/または影より大きい面積を指摘してもよい。

【 0 1 5 9 】

図 7 または図 9 のグラフを包含する特に線および/または影を有するグラフを含むユーザインターフェースは、無細胞核酸（DNA など）の量に基づいて対象 8 0 2 のリスクを決定するための、他のユーザインターフェースを介して提供されることができてもよい。より直感的で迅速なレビューインターフェースをユーザに提供することができる。例としては、図 7 または図 9 に基づくユーザインターフェースは、完全に図 6 に基づくユーザインターフェースより直感的であり、およびより早くレビューできる。そのため、図 7 または図 9 のグラフを使用する、ユーザインターフェースに対する特異的および実質的な利点があり得るだろう。

【 0 1 6 0 】

ユーザインターフェース、特に線および/または影を有するものはまた、ユーザに無細胞核酸（DNA など）の量に基づく 8 0 2 の対象のリスクを決定する、他のユーザインターフェースを通して提供されることがあるだろうものより、はるかにより直感的で迅速なレビューインターフェースをユーザに提供するであろう。図 6 および図 7 または図 9 は、より直感的でおよびより早くレビューできる。そのため、そのため、両方のグラフを使用する、ユーザインターフェースに対する特異的および実質的な利点があり得るだろう。しかしながら、態様が、任意の特定のユーザインターフェースで実施されることに限定されないことを理解されたい。

【 0 1 6 1 】

いくつかの態様において、診断ファシリティは、対象 8 0 2 および/または臨床医 8 0 4 または別の臨床医であり得る臨床医によって操作されることがある 1 つ以上の他の計算機器 8 1 4（装置 8 1 4 A、8 1 4 B を含む）に診断またはユーザインターフェースをアウトプットし得る。診断ファシリティは、ネットワーク（単数または複数）8 1 2 を介して診断および/またはユーザインターフェースをデバイス 8 1 4 に送信することができる。

【 0 1 6 2 】

本明細書で説明される原理に従って動作するテクニックは、任意の適切な方法で実施されてもよい。上記の議論には、無細胞核酸（DNA など）の量の分析に基づく状態のリス

クを決定する様々なプロセスのステップおよび動作を示す一連のフローチャートが含まれている。上述の処理ブロックおよび決定ブロックは、これらの様々なプロセスを実行するアルゴリズムに含まれ得るステップおよび動作を表す。これらのプロセスから導出されたアルゴリズムは、1つ以上の単一または多目的プロセッサの動作に統合され、その動作を指示するソフトウェアとして実施されてもよく、デジタル信号処理(DSP)回路または特定用途向け集積回路(ASIC)などの機能的に等価な回路として実施されてもよく、あるいは他の適切な方法で実施することがある。

【0163】

態様は、任意の特定の回路または任意の特定のプログラミング言語またはプログラミング言語のタイプの任意の特定の構文または動作に限定されないことを理解されたい。むしろ、当業者であれば、上記の説明を使用して回路を製作するか、または本明細書で説明したタイプのテクニックを実行する特定の装置の処理を実行するコンピュータソフトウェアアルゴリズムを実施することがある。本明細書で別段の指示がない限り、上述のステップおよび/または動作の特定のシーケンスは、本明細書に記載された原理の実施および態様において実施され、変更されることがあるアルゴリズムの単なる例示であることも理解されたい。

10

【0164】

したがって、いくつかの態様において、本明細書に記載のテクニックは、アプリケーションソフトウェア、システムソフトウェア、ファームウェア、ミドルウェア、埋め込みコード、または任意の他の適切なタイプのコンピュータコードを含む、ソフトウェアとして実施されるコンピュータ実行可能命令で実行し得る。かかるコンピュータ実行可能命令は、任意の多数の適切なプログラミング言語および/またはプログラミングツールまたはスクリプトツールを使用して記述し得、フレームワークまたは仮想機械上で実行される実行可能な機械言語コードまたは中間コードとしてコンパイルすることもある。

20

【0165】

本明細書で説明されるテクニックがコンピュータ実行可能命令として実行されるとき、これらのコンピュータ実行可能命令は、これらのテクニックに従って動作するアルゴリズムの実行を完了する1つ以上の動作をそれぞれ提供する多数の機能的ファシリティを含む任意の適切な方法で実施されることがある。「機能的ファシリティ」は、例えば、1つ以上のコンピュータと統合され、実行されると、1つ以上のコンピュータに特定の動作上の役割を実施させるコンピュータシステムの構造的な構成要素である。

30

【0166】

機能的ファシリティは、ソフトウェア要素の一部または全部であってもよい。例えば、機能的ファシリティは、プロセスの機能として、または個別プロセスとして、または任意の他の適切な処理のユニットとして実施されてもよい。本明細書に記載されたテクニックが複数の機能ファシリティとして実施される場合、それぞれの機能ファシリティはそれ自身の方法で実施されてもよく、すべて同じ方法で実施する必要はない。さらに、これらの機能的ファシリティは、必要に応じて並列および/または直列に実行し得、それらが実行しているコンピュータ(単数または複数)上の共有メモリを使用して、メッセージパッシングプロトコルまたは他の適切な方法を使用して、互いに情報を渡すことがある。

40

【0167】

一般に、機能的ファシリティは、特定のタスクを実行するか、または特定の抽象データタイプを実施するルーチン、プログラム、オブジェクト、コンポーネント、データ構造などを含む。典型的には、機能的ファシリティの機能性は、それらが動作するシステムにおいて所望に応じて組み合わせられ、または分散されてもよい。いくつかの実施において、本明細書でテクニックを実行する1つ以上の機能的ファシリティは一緒になって完全なソフトウェアパッケージを形成し得る。これらの機能的ファシリティは、代替的な態様において、ソフトウェアプログラムアプリケーションを実施するために、他の無関係の機能的ファシリティおよび/またはプロセスと相互作用するように適合されてもよい。

【0168】

50

1つ以上のタスクを実行するために、いくつかの例示的な機能的ファシリティが本明細書で説明されている。しかし、説明された機能的ファシリティおよびタスクの分割は、本明細書に記載された例示的テクニックを実施することがある機能的ファシリティのタイプの単なる例示であり、態様は、機能的ファシリティの任意の特定の数、分割またはタイプで実施されることに限定されないことを理解されたい。いくつかの実施において、すべての機能性が単一の機能的ファシリティで実施されてもよい。いくつかの実施において、本明細書で説明される機能的ファシリティのいくつかは他のものと一緒にまたは別々に（すなわち、単一のユニットまたは別個のユニットとして）実施されることがあるか、またはこれらの機能的ファシリティのいくつかが実施され得ないことを理解されたい。

【0169】

本明細書で説明されるテクニックを（1つ以上の機能的ファシリティとして実施される時、または他の任意の方法で）実施するコンピュータ実行可能命令は、いくつかの態様において、1つ以上のコンピュータ可読媒体上にコードされ、媒体に機能性を提供し得る。コンピュータ可読媒体は、ハードディスクドライブなどの磁気媒体、コンパクトディスク（CD）またはデジタル多用途ディスク（DVD）などの光媒体、永続的または非永続的なソリッドステートメモリ（例えば、フラッシュメモリ、磁気RAMなど）、または任意の他の適切な記憶媒体を含む。かかるコンピュータ可読媒体は、計算機器の一部またはスタンドアロンの別個の記憶媒体を含む、任意の適切な方法で実施することがある。

【0170】

本明細書で使用する場合、「コンピュータ可読媒体」（「コンピュータ可読記憶媒体」とも呼ばれる）は、有形の記憶媒体を指す。有形の記憶媒体は、非一時的であり、少なくとも1つの物理的な構造的構成要素を有する。本明細書で使用する場合、「コンピュータ可読媒体」において、少なくとも1つの物理的構造的構成要素は、埋め込まれた情報を有する媒体を作成するプロセス、それに情報を記録するプロセス、または情報で媒体をコードする任意の他のプロセスの間に何らかの形で変更されることがある少なくとも1つの物理的特性を有する。例えば、コンピュータ可読媒体の物理的構造の一部の磁化状態は、記録プロセスの間に変更されてもよい。

【0171】

テクニックがコンピュータ実行可能命令として実施されることがあるいくつかの（すべてではない）実施において、これらの命令は、図8の例示的なコンピュータシステムを含む任意の適切なコンピュータシステムで動作する1つ以上の適切な計算機器（単数または複数）上で実効され得、または、または1つ以上の計算機器（または1つ以上の計算機器の1つ以上のプロセッサ）は、コンピュータ実行可能命令を実行するようにプログラムされてもよい。計算機器またはプロセッサは、命令が、データストア（例えば、オンチップキャッシュまたは命令レジスタ、バスを介してアクセス可能なコンピュータ可読記憶媒体など）など、計算機器またはプロセッサにアクセス可能な方法で保存されているときに命令を実行するようにプログラムされることがある。

【0172】

これらのコンピュータ実行可能命令を含む機能的ファシリティは、単一の多目的プログラム可能デジタル計算機器、処理能力を共有し本明細書に記載のテクニックを共同して実行する2以上の多目的計算機器の調整されたシステム、本明細書に記載されたテクニックを実行するための（共同配置または地理的に分散された）単一の計算機器または計算機器の調整されたシステム、本明細書に記載のテクニックを実行するための1つ以上のフィールドプログラム可能ゲートアレイ（FPGA）、または任意の他の適切なシステムと統合し、それを指示し得る。

【0173】

テクニックが回路および/またはコンピュータ実行可能命令で実施される態様を説明した。いくつかの態様において、少なくとも1つの例が提供された方法の形態であってもよいことを理解されたい。方法の一部として実施される行為は、任意の適切な方法で順序付けられ得る。したがって、例示的な態様では連続的な動作として示されていても、いくつ

10

20

30

40

50

かの動作を同時に実行することを含み得る、示されていない順序で動作が行われる態様が構築されてもよい。上述のデバイス、システム、態様、方法、テクニック、アルゴリズム、媒体、ハードウェア、ソフトウェア、インターフェース、プロセッサ、ディスプレイ、ネットワーク、入力、出力、またはそれらの任意の組合せを含む、上記の任意の1つが、他の側面において本明細書で提供される。

【 図 1 】

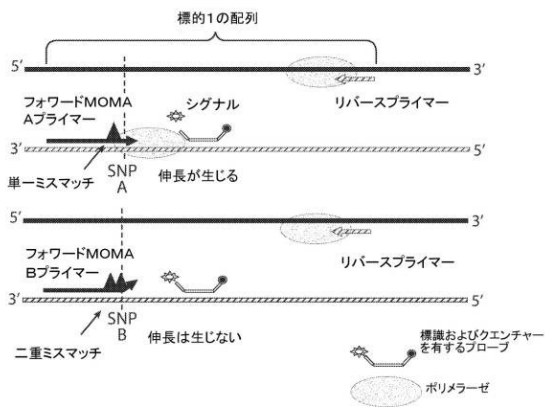


図 1

【 図 2 】

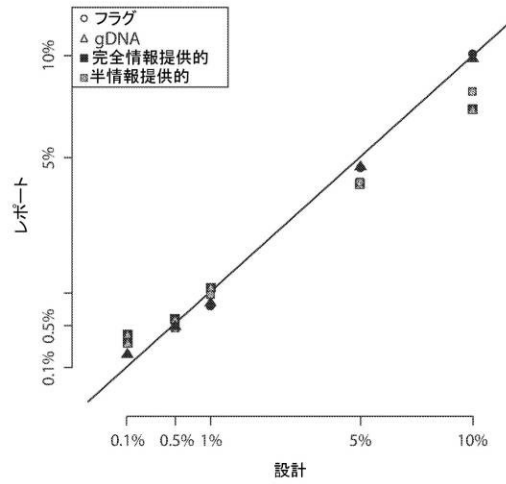


図 2

【 図 3 】

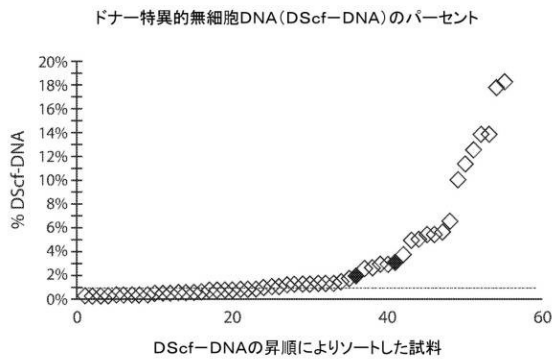


図 3

【 図 4 】

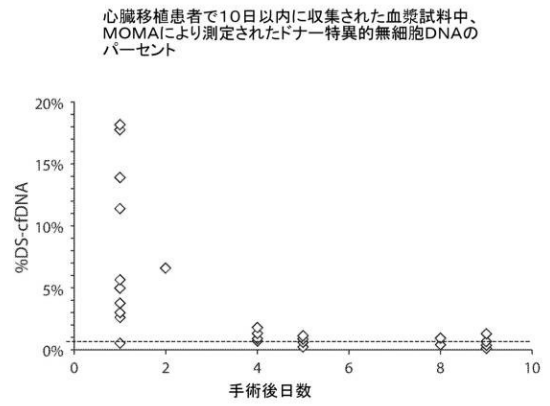


図 4

【 図 5 】

記述的な統計+推定

	引き際 (at draw)での感染症のための処置?		帰無仮説	統計的なテスト
	ノー	イエス	平均または中央値がノーおよびイエス感染処置にわたって同一である。	
N	275	35		
最小	1.27	4.40		
最大	574.76	599.54		
平均 (SD)	28.40 (51.04)	115.62 (133.31)	p < 0.001	Tテスト
中央値 [IQR]	11.52 [5.99, 27.10]	57.67 [18.31, 168.99]	p < 0.001	中央値テスト
幾何平均 (SD)	13.21 (2.89)	57.15 (3.74)	p < 0.001	Tテスト

図 5

【 図 6 】

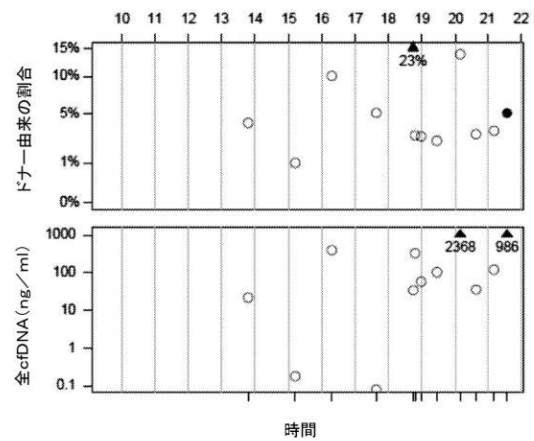


図 6

【 図 7 】

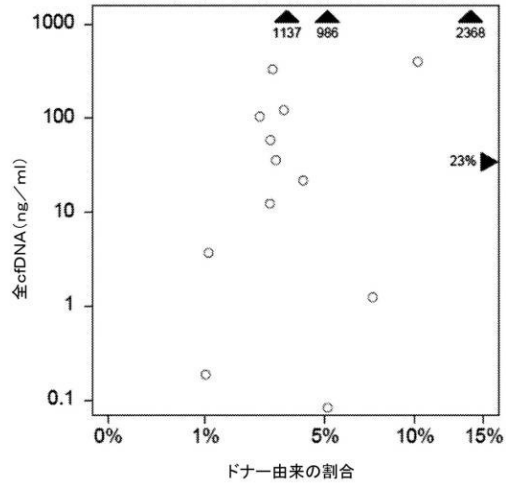


図 7

【 図 8 】

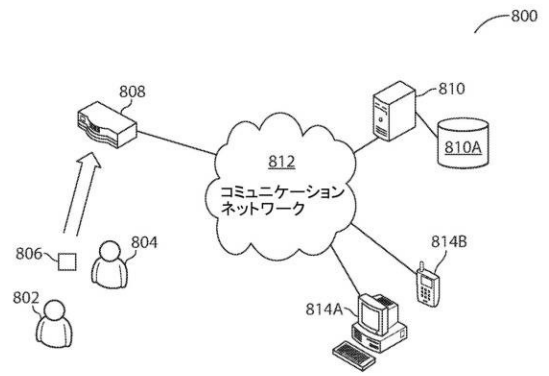


図 8

【 図 9 】

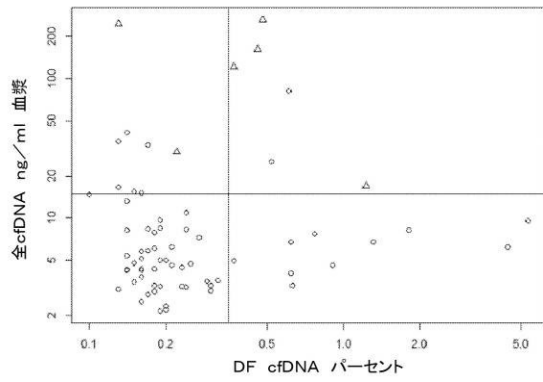


図 9

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/059808

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	
INV. C12Q1/68 C12Q1/6883 C12Q1/6809 ADD.	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
B. FIELDS SEARCHED	
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
	Relevant to claim No.
X	MARICA GRSKOVIC ET AL: "Validation of a Clinical-Grade Assay to Measure Donor-Derived Cell-Free DNA in Solid Organ Transplant Recipients", JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS, THE, vol. 18, no. 6, 7 October 2016 (2016-10-07), pages 890-902, XP055440489, US ISSN: 1525-1578, DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.07.003 abstract; figures 1-6 page 892 - page 893 ----- -/--
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.
<input checked="" type="checkbox"/>	See patent family annex.
* Special categories of cited documents :	
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 January 2018	25/01/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Tilkorn, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/059808

2(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PAUL M. K. GORDON ET AL: "An Algorithm Measuring Donor Cell-Free DNA in Plasma of Cellular and Solid Organ Transplant Recipients That Does Not Require Donor or Recipient Genotyping", FRONTIERS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE, vol. 3, 22 September 2016 (2016-09-22), XP055440493, DOI: 10.3389/fcvm.2016.00033	1-61
A	abstract; figures 1-8 page 2 - page 3	62-74
X	WO 2016/123698 A1 (UTI LIMITED PARTNERSHIP [CA]) 11 August 2016 (2016-08-11) abstract; claims 1-15; examples 2-3 page 3	1-74
X	WO 2014/194113 A2 (CHRONIX BIOMEDICAL [US]) 4 December 2014 (2014-12-04) abstract; claims 1-40; examples 1-5 paragraph [0050] - paragraph [0052] paragraph [0058] - paragraph [0062]	1-74
X	ADAMEK MARTINA ET AL: "A fast and simple method for detecting and quantifying donor-derived cell-free DNA in sera of solid organ transplant recipients as a biomarker for graft function", CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE : JOURNAL OF THE FORUM OF THE EUROPEAN SOCIETIES OF CLINICAL CHEMISTRY,, vol. 54, no. 7, 1 July 2016 (2016-07-01), pages 1147-1155, XP009502752, ISSN: 1437-4331, DOI: 10.1515/CCLM-2015-0622 [retrieved on 2015-11-17]	1-25, 28-30
A	abstract; figures 1-4 page 1148 - page 1150 page 1153 - page 1154	26, 27, 31-74
X	HIDESTRAND MATS ET AL: "Highly Sensitive Noninvasive Cardiac Transplant Rejection Monitoring Using Targeted Quantification of Donor-Specific Cell-Free Deoxyribonucleic Acid", JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY, vol. 63, no. 12, 1 April 2014 (2014-04-01) , pages 1224-1226, XP028831507, ISSN: 0735-1097, DOI: 10.1016/J.JACC.2013.09.029 the whole document	1-74
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/059808

(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2016/063122 A1 (INSERM INST NAT DE LA SANTE ET DE LA RECH MEDICALE [FR]; INST REGIONAL) 28 April 2016 (2016-04-28)</p> <p>abstract; claims 1-37; figures 1,7,8,11; examples 1-4</p> <p>-----</p>	<p>1-4, 29-33, 37,38, 72-74</p>
X,P	<p>WO 2016/176662 A1 (MEDICAL COLLEGE OF WISCONSIN INC [US]; MITCHELL AOY TOMITA) 3 November 2016 (2016-11-03)</p> <p>cited in the application</p> <p>abstract; claims 1-115</p> <p>-----</p>	<p>1-74</p>
X,P	<p>BERGALLO MASSIMILIANO ET AL: "A novel TaqMAMA assay for allelic discrimination of TLR9 rs352140 polymorphism", JOURNAL OF VIROLOGICAL METHODS, vol. 243, 31 January 2017 (2017-01-31), pages 25-30, XP029939454, ISSN: 0166-0934, DOI: 10.1016/J.JVIROMET.2017.01.015</p> <p>abstract; figure 1; tables 1,2</p> <p>pages 26-27</p> <p>-----</p>	<p>1-74</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/059808

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016123698 A1	11-08-2016	NONE	
WO 2014194113 A2	04-12-2014	EP 3004388 A2 US 2016115541 A1 WO 2014194113 A2	13-04-2016 28-04-2016 04-12-2014
WO 2016063122 A1	28-04-2016	EP 3209797 A1 US 2017240975 A1 WO 2016063122 A1	30-08-2017 24-08-2017 28-04-2016
WO 2016176662 A1	03-11-2016	AU 2016255573 A1 CA 2984352 A1 WO 2016176662 A1	21-12-2017 03-11-2016 03-11-2016

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 ミッチェル, ミカエル

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 1 2 2、エルム グローブ、ストーンフィールド コー
ト 1 3 8 3 5

(72)発明者 シュタム, カール

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 2 1 3、ウォーワトサ、エヌ . グレンビュー アヴェニ
ュー 8 6 8、# 1 0 3

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ42 QR08 QR32 QR35 QR55 QR62 QS25 QS34
QX02

专利名称(译)	使用完整和特定的无细胞dna评估风险的方法		
公开(公告)号	JP2019534016A	公开(公告)日	2019-11-28
申请号	JP2019523590	申请日	2017-11-02
[标]申请(专利权)人(译)	威斯康星州医药大学股份有限公司		
[标]发明人	ミッチェルミカエル		
发明人	ミッチェル,アオイ,トミタ ミッチェル,ミカエル シュタム,カール		
IPC分类号	C12Q1/686 G01N33/53 C12Q1/6869 C12N15/09		
CPC分类号	C12Q1/6809 C12Q1/6851 C12Q1/6883 C12Q2600/156 C12Q2537/165 C12Q2545/114 C12Q2525/185 C12Q2535/125 C12Q2537/143		
FI分类号	C12Q1/686.Z G01N33/53.M C12Q1/6869.Z C12N15/09.Z		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063 /QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02		
优先权	PCT/US2017/030293 2017-04-29 WO 62/416689 2016-11-02 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及通过测量受试者中总的和特定的无细胞核酸(例如DNA)来评估风险的方法和组合物。本文提供的方法和组合物可用于确定病症风险,例如移植排斥。

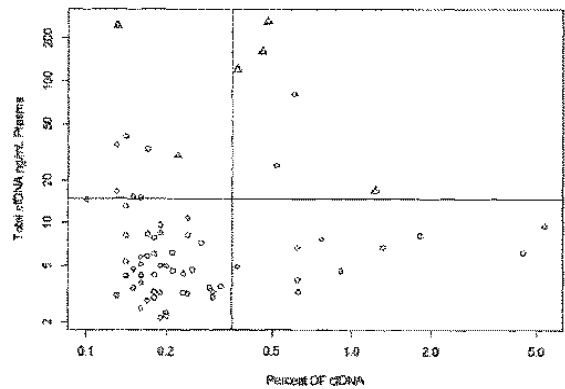


Fig. 9