

★★★ <第31回知的財産翻訳検定試験【第15回英文和訳】> ★★★
《1級課題 -バイオテクノロジー-》

【問1】

秋と冬には、降雨が刈株からの胞子の排出を誘導する。胞子がキャノーラの子葉や若葉に付着してから2週間以内に、はっきりと目に見える灰白色の病変が現れ、病変の中で、柄子殻（暗色の斑点）が雨で飛び散った胞子を排出する。根朽ち病の感染は、子葉、葉、茎、鞘で起きることがある。植物は、実生期から結莢期に、根朽ち病に感染しやすい。葉に生じた病変は、薄汚れた白色で、円形から不規則な形状のものまでである。茎では、根朽ち病の病変はさまざまであるが、通常、茎の根元または葉の付着点に見つかる。一旦病変ができると、真菌は植物の維管束系で成長してクラウンに到達し、植物のクラウンを腐らせ、潰瘍が生じる。重度の潰瘍は、茎から根を切り離してしまうが、軽度の感染は、クラウンの内部感染にとどまり、植物内での水や栄養素の流れを制限する。茎の病変は、数インチの長さになることがあり、通常、白色か灰色で、暗色の縁を有する。茎の病変はまた、根元に、普通にみられる黒変として現れることもある。

【問2】

「組換えポリヌクレオチド」または「組換え核酸」は、天然には直接結合しているのを見いだせない、二つ以上の化学的に結合した核酸セグメントの組み合わせを含む。「直接的に結合している」とは、二つの核酸セグメントがすぐ隣りにあって、お互いに化学結合で結合していることが意図される。具体的な実施形態においては、組換えポリヌクレオチドは、目的のポリヌクレオチドの5'または3'または内部に、化学的に結合したさらなる核酸セグメントが配置されるように、そのポリヌクレオチドまたはその変異体や断片を含む。あるいは、組換えポリヌクレオチドの化学的に結合した核酸セグメントは、ある配列が欠失して形成されていてもよい。化学的に結合したさらなる核酸セグメント、または連結した核酸セグメントを結合させるために欠失した配列の長さは限定されず、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20ヌクレオチド、またはそれ以上を含む。そのような組換えポリヌクレオチドを作る様々な方法には、化学合成、およびポリヌクレオチドの単離されたセグメントの遺伝子組換え操作が含まれる。具体的な実施形態においては、組換えポリヌクレオチドは、組換えDNA配列または組換えRNA配列を含んでもよい。

【問 3】

PTG1 及び PTG2 の機能性は、予測される Cas9:gRNA 切断部位での非相同末端結合 (NHEJ) 修復により導入される挿入/欠失 (インデル) 変異を調べることにより確認した。gRNA1、及び、gRNA2 標的は、それぞれ KpnI、及び、SacI 制限酵素 (RE) 部位を、含むため (実施例 2、図 5 A)、PTG1/Cas9 及び PTG2/Cas9 により誘発される変異は、標的部位を包含する PCR 産物を、対応する RE によって消化することにより (PCR/RE アッセイ)、容易に分析することができた。PTG1/Cas9 及び PTG2/Cas9 でトランスフェクトしたイネプロトプラストでは、それぞれ、標的部位の 15% 及び 9% がインデルを有することが見出され (図 2 I)、これは我々が以前に使用した sgRNA:Cas9 構築物の変異率よりもわずかに高い (24)。tRNA が Pol III についての転写エンハンサーとして機能し得る、という我々の仮説と一致して、gRNA 特異的プライマーを用いた定量的 RT-PCR は、プロトプラストにおいて、PTG1 及び PTG2 の転写物のレベルが sgRNA1 及び sgRNA2 の転写物のレベルよりも、それぞれ、約 3 倍及び約 31 倍高いことを明らかにした (図 2 J)。合わせて考慮すると、我々の結果は、内在性 tRNA システムが、Cas9 により媒介されるゲノム編集のために、PTG から gRNA を生成するための正確かつ堅牢なツールとして利用し得ることを実証した。

【問 4】

【請求項 1】

- 1 以上の胎児染色体異数性の有無を判定するための方法であって、
 - (a) 胎児の及び母体の無細胞 DNA (cfDNA) の混合物を含む母体サンプルを取得する工程、
 - (b) 前記サンプルから、前記胎児の及び母体の cfDNA の混合物を単離する工程、
 - (c) 前記胎児の及び母体の cfDNA の混合物からシーケンシングライブラリーを調製する工程、ここで前記ライブラリーを調製することは、前記 cfDNA に dA テーリングすること及びアダプター連結することの連続工程を含み、前記調製は前記 cfDNA を末端修復することを含まない、工程、
 - (d) 前記シーケンシングライブラリーの少なくとも一部を超並列シーケンシングして、前記サンプル中の前記胎児の及び母体の無細胞 DNA についての配列情報を取得する工程、
 - (e) 前記配列情報を、少なくとも一時的に、コンピューター可読媒体に保存する工程、

(f) 前記保存された配列情報を使用して、目的の前記1以上の染色体の各々について及び目的の前記1以上の染色体についての正規化配列について、配列タグの数をコンピューターで同定する工程、

(g) 目的の前記1以上の染色体の各々についての前記配列タグの数及び目的の前記1以上の染色体の各々についての前記正規化配列についての前記配列タグの数をを用いて、目的の前記1以上の染色体の各々について染色体量をコンピューターで算出する工程、並びに

(h) 目的の前記1以上の染色体の各々についての前記染色体量を、目的の前記1以上の染色体の各々についての対応する閾値と比較し、それにより、前記サンプル中の前記胎児染色体異数性の有無を判定する工程を含み、
工程(e)～(g)は、1以上のプロセッサーを用いて実行される、前記方法。