

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成29年3月16日(2017.3.16)

【公表番号】特表2016-506733(P2016-506733A)

【公表日】平成28年3月7日(2016.3.7)

【年通号数】公開・登録公報2016-014

【出願番号】特願2015-556175(P2015-556175)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 40 B 40/08 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

C 40 B 40/08

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月30日(2017.1.30)

【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】

ゲノムアセンブリの方法であって、

複数のコンティグを取得するステップと、

ネイキッドDNAを単離された核タンパク質と複合体化させて再構成クロマチンを形成するステップと、

前記再構成クロマチンの物理的レイアウトをプロービングすることによって作製されるデータから複数のリード対を生成するステップと、

前記複数のコンティグに前記複数のリード対をマッピングしそれによりリード - マッピングデータを生成するステップと、

前記リード - マッピングデータを用いて前記複数のコンティグをアレンジして、前記複数のコンティグをゲノムアセンブリへとアセンブルし、それにより共通するリード対を有するコンティグが、ゲノム中におけるこれらのコンティグの順序を表す、前記複数のコンティグを通過する経路を決定するように配置されるようにするステップと

を含む方法。

【請求項2】

前記複数のコンティグが、

対象のDNAを不確定なサイズのランダムな断片に断片化するステップと、

高スループット配列決定法を使用して前記断片を配列決定して、複数の配列決定リードを生成するステップと、

前記複数のコンティグを形成するように前記配列決定リードをアセンブルするステップと

を含むショットガン配列決定法を使用することによって生成される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記再構成クロマチンの物理的レイアウトをプロービングすることによって作製される

データから複数のリード対を生成するステップが、架橋化を用いることを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記再構成クロマチンの物理的レイアウトをプロービングすることによって作製されるデータから複数のリード対を生成するステップが、

再構成クロマチンを固定剤で架橋して、DNA-タンパク質架橋を形成するステップと、1つ以上の制限酵素で前記架橋したDNA-タンパク質を切断して、粘着末端を含む複数のDNA-タンパク質複合体を生成するステップと、

1つ以上のマーカーを含有するヌクレオチドで前記粘着末端を埋めて、次に一緒にライゲーションされる平滑末端を作り出すステップと、

前記複数のDNA-タンパク質複合体を断片に断片化するステップと、

前記1つ以上のマーカーを使用することによって接合部を含有する断片をプルダウンするステップと、

高スループット配列決定法を使用して前記接合部を含有する断片を配列決定して、複数のリード対を生成するステップと

を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記固定剤が、ホルムアルデヒドである、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記単離された核タンパク質が単離されたヒストンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記複数のリード対について、マッピングされたコンティグの端までのあるリードの距離の関数を得ることによりリード対に重み付けして、それにより、より高い確率で長い接触よりも短い接触を組み込む、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

方法がヒト被験体のゲノムアセンブリを提供するものであり、かつ前記複数のリード対が、対象のネイキッドDNAから生成された前記ヒト被験体の再構成クロマチンを用いて生成される、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

前記方法が、

前記複数のリード対における1以上のヘテロ接合性の部位を同定するステップと、ヘテロ接合性の部位の対を含むリード対を同定するステップと

を更に含み、前記対のヘテロ接合性部位の前記同定から、対立遺伝子のバリエントに対するフェージングデータを決定することができる、請求項1に記載の方法。

【請求項10】

前記リード対データを用いて前記コンティグを配置することが、前記リードマッピングデータを用いてコンティグの隣接行列を構築するステップ、及び隣接行列を分析して、ゲノムにおけるそれらの順序を表す、前記複数のコンティグを通過する経路を決定するステップと

を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記隣接行列を分析して、ゲノムにおけるそれらの順序及び方向を表す、前記複数のコンティグを通る経路を決定するステップを含む、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

リード対が、その第1リードの第1コンティグ上のマッピングされた位置から当該第1コンティグの端までの距離と、その第2リードの第2コンティグ上のマッピングされた位置から当該第2コンティグの端までの距離との関数として重み付けされる、請求項10に記載の方法。

【請求項13】

前記複数のコンティグが、ヒト被験体のDNAから調製される、請求項10に記載の方法。

【請求項 1 4】

異なるコンティグへとマップされるリード対が、正しいゲノムアセンブリにおいてどのコンティグが隣接するかについてのデータを提供する、請求項10に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記複数のリード対について、前記複数のリード対の少なくとも約80%が、前記コンティグの端までの当該リードの距離の閾値を得ることにより重み付けされ、それによりより高い確率で長い接触よりも短い接触を組み込む、請求項10に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記隣接行列を再スケーリングして、前記ゲノムの無差別な領域を表す前記コンティグ上の多くの接触の重みを軽減する、請求項10に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記ゲノムの前記無差別な領域が、クロマチンのスキヤフォールド相互作用を調節する1つ以上の薬剤に対する1つ以上の保存結合部位を含む、請求項16に記載の方法。

【請求項 1 8】

单一DNA分子から生成される複数のコンティグをアセンブルする方法であって、
生体外で前記单一DNA分子から複数のリード対を生成するステップと、
前記リード対を使用して前記複数のコンティグをアセンブルするステップと
を含み、少なくとも1%の前記リード対が、前記单一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に
跨る、方法。

【請求項 1 9】

少なくとも10%の前記リード対が、前記单一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に跨る、
請求項18に記載の方法。

【請求項 2 0】

少なくとも1%の前記リード対が、前記单一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に跨る、
請求項18に記載の方法。

【請求項 2 1】

メタゲノミクスアセンブリの方法であって、
a) 環境から、微生物を含むサンプルを収集するステップと、
b) 前記サンプルを架橋させるステップ、
c) 1以上の酵素で前記サンプルを処理して、前記サンプル中の二本鎖DNAを切断するステップ、
d) 露出されたDNA末端を標識化するステップ、
e) 分子間で架橋された、露出されたDNA末端をライゲーションして標識化された対末端
を形成するステップ、
f) 標識化された対末端を跨いで配列決定を行い、複数のリード対配列を生成するステッ
プ、
g) 前記複数のリード対配列を、複数のコンティグにマッピングし、それによりリード -
マッピングデータを生成するステップ、ここで異なるコンティグにマッピングされるリー
ド対は、どのコンティグが同じ種由来であるかを示す、及び
h) 前記複数のコンティグを個別のゲノムアセンブリへとアセンブルし、それにより複数
のアセンブリされたゲノムを含むメタゲノムアセンブリを生成するステップ、
を含む方法。

【請求項 2 2】

前記架橋ステップがサンプルをホルムアルデヒドに接触させることを含む、請求項21に
記載の方法。

【請求項 2 3】

前記架橋ステップがサンプルをソラレンに接触させることを含む、請求項21に記載の方
法。

【請求項 2 4】

前記架橋ステップがサンプルを紫外線放射に暴露することを含む、請求項21に記載の方

法。

【請求項 25】

前記微生物をDNA結合部分に接触させる、請求項21に記載の方法。

【請求項 26】

DNA結合部分がヒストンを含む、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

前記処理が、サンプルを制限エンドヌクレアーゼに接触させることを含む、請求項21に記載の方法。

【請求項 28】

露出されたDNA末端を標識化するステップが、露出されたDNA末端にビオチン部分を付加することを含む、請求項21に記載の方法。

【請求項 29】

前記対となった配列をDNAデータベースに対して検索することを含む、請求項21に記載の方法。

【請求項 30】

微生物が、ヒトの腸から収集されたものである、請求項21に記載の方法。

【請求項 31】

微生物が病原体を保有する個体から収集されたものである、請求項21に記載の方法。

【請求項 32】

宿主集団における病原体を検出する方法であって、以下のステップ、

a) 共通する病原体を保有することが疑われる複数の個体から、それぞれ、架橋されたサンプルを取得するステップ、

b) 前記架橋されたサンプルを1以上の酵素で処理して、前記架橋されたサンプル中の二本鎖DNAを切断するステップ、

c) 露出されたDNA末端を標識化するステップ、

d) 標識化された露出されたDNA末端をライゲーションして、標識化された対末端を形成するステップ、

e) 標識化された対末端を跨いで配列決定を行い、複数の対になった配列リードを生成するステップ、及び

f) 前記複数の配列リードの対となった配列リードの各半分を、共通の起源生物に割り当てるステップ、

を含み、ここで共通する病原体を保有することが疑われる個体に共通する起源生物が前記病原体である、方法。

【請求項 33】

起源生物の配列リードが、既知の病原体にマップされる、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

起源生物の配列リードが、配列データベース検索において既知の病原体を同定するものである、請求項32に記載の方法。

【請求項 35】

前記架橋されたサンプルが、ホルムアルデヒドに接触されたものである、請求項32に記載の方法。

【請求項 36】

前記架橋されたサンプルが、ソラレンに接触されたものである、請求項32に記載の方法。

。

【請求項 37】

前記架橋されたサンプルが、UV放射に暴露されたものである、請求項32に記載の方法。

【請求項 38】

サンプルがDNA結合部分と接触されたものである、請求項32に記載の方法。

【請求項 39】

DNA結合部分がヒストンを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記二本鎖DNAを切断するために固定化されたサンプルを処置するステップが、前記サンプルを制限エンドヌクレアーゼに接触させることを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 1】

露出されたDNA末端を標識化するステップが、露出されたDNA末端にビオチン部分を付加することを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 2】

サンプルが、血液、汗、尿又は排泄物に由来するものである、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 3】

薬剤耐性マーカーの微生物宿主を同定する方法であって、以下のステップ、

a) 微生物性の薬剤耐性を示す症状を有する個体に由来する、架橋されたサンプルを用意するステップ、

b) 前記架橋されたサンプルを1以上の酵素で処理して前記架橋されたサンプル中の二本鎖DNAを切断するステップ、

c) 露出されたDNA末端を標識化するステップ、

d) 標識化された、露出されたDNA末端をライゲーションして、標識化された対となった末端を形成するステップ、及び

e) 標識化された対となった末端を跨いで配列決定を行い、対となった配列を生成するステップ、

を含み、ここで、前記薬剤耐性マーカーの配列に隣接する配列は、前記マーカーの微生物宿主を示すものである、方法。

【請求項 4 4】

前記架橋されたサンプルが、ホルムアルデヒドに接触されたものである、請求項43に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記架橋されたサンプルが、ソラレンに接触されたものである、請求項43に記載の方法

。

【請求項 4 6】

前記架橋されたサンプルが、UV放射に暴露されたものである、請求項43に記載の方法。

【請求項 4 7】

サンプルがDNA結合部分と接触されたものである、請求項43に記載の方法。

【請求項 4 8】

DNA結合部分がヒストンを含む、請求項47に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記二本鎖DNAを切断するために固定化されたサンプルを処置するステップが、前記サンプルを制限エンドヌクレアーゼに接触させることを含む、請求項43に記載の方法。

【請求項 5 0】

露出されたDNA末端を標識化するステップが、露出されたDNA末端にビオチン部分を付加することを含む、請求項43に記載の方法。

【請求項 5 1】

対となった配列をDNAデータベースに対して検索することを含む、請求項43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 2 5 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 5 4】

本開示の好ましい実施形態について本明細書に示し、記載したが、そのような実施形態がほんの一例として提供されていることは、当業者にとって明らかであろう。多数の変形

、変更及び置き換えが、本開示を逸脱することなく当業者には直ちに思いつくであろう。本明細書に記載される本開示の実施形態の様々な代替物が、本開示を実践する際に利用できることを理解すべきである。以下の請求が本開示の範囲を定義し、それによりこれらの請求及びその等価物の範囲内にある方法及び構造は網羅されるものとする。

[1] ゲノムアセンブリの方法であって、

複数のコンティグを生成するステップと、

染色体、クロマチン又は再構成クロマチンの物理的レイアウトをプロービングすることによって作製されるデータから複数のリード対を生成するステップと、

前記複数のコンティグに前記複数のリード対をマッピング又はアセンブルするステップと、

前記リードマッピング又はアセンブリデータを使用してコンティグの隣接行列を構築するステップと、

前記隣接行列を分析して、その順序及び/又はゲノムに対する方向を表す、前記コンティグを通る経路を決定するステップと
を含む方法。

[2] 前記複数のコンティグが、

対象のDNAの長いストレッチを不確定なサイズのランダムな断片に断片化するステップと、

高スループット配列決定法を使用して前記断片を配列決定して、複数の配列決定リードを生成するステップと、

複数のコンティグを形成するように前記配列決定リードをアセンブルするステップと
を含むショットガン配列決定法を使用することによって生成される、1に記載の方法。

[3] 前記複数のリード対が、Hi-Cに基づく技法を使用して染色体、クロマチン又は再構成クロマチンの前記物理的レイアウトをプロービングすることにより生成される、1又は2に記載の方法。

[4] 前記Hi-Cに基づく技法が、

染色体、クロマチン又は再構成クロマチンを固定剤で架橋して、DNA-タンパク質架橋を形成するステップと、

1つ以上の制限酵素で前記架橋したDNA-タンパク質を切断して、粘着末端を含む複数のDNA-タンパク質複合体を生成するステップと、

1つ以上のマーカーを含有するスクレオチドで前記粘着末端を埋めて、次に一緒にライゲーションされる平滑末端を作り出すステップと、

前記複数のDNA-タンパク質複合体を断片に断片化するステップと、

前記1つ以上のマーカーを使用することによって断片を含有する接合部をプルダウンするステップと、

高スループット配列決定法を使用して断片を含有する前記接合部を配列決定して、複数のリード対を生成するステップと
を含む、3に記載の方法。

[5] 前記複数のリード対が、培養細胞又は一次組織から単離された染色体若しくはクロマチンの前記物理的レイアウトをプロービングすることによって生成される、前記のいずれかに記載の方法。

[6] 前記複数のリード対が、1つ以上の対象のサンプルから得られるネイキッドDNAを単離されたヒストンと複合体形成させることによって形成される再構成クロマチンの前記物理的レイアウトをプロービングすることによって生成される、1から4のいずれか一項に記載の方法。

[7] 前記複数のリード対の場合に、前記コンティグの端までの前記リードの距離の写像を得ることにより少なくとも約80%の前記リード対に重み付けして、長い接触よりも短い接触のより高い確率を組み込む、前記のいずれかに記載の方法。

[8] 前記隣接行列を再スケーリングして、前記ゲノムの無差別な領域を表す前記コンティグ上の多くの接触の重みを軽減する、前記のいずれかに記載の方法。

[9] 前記ゲノムの前記無差別な領域が、クロマチンのスキヤフォールド相互作用を調節する1つ以上の薬剤に対する1つ以上の保存結合部位を含む、8に記載の方法。

[10] 前記1つ以上の薬剤が転写リプレッサー-CTCFを含む、9に記載の方法。

[11] ヒト対象の前記ゲノムアセンブリを提供し、前記複数のコンティグが前記ヒト対象のDNAから生成され、前記複数のリード対が、前記対象のネイキッドDNAから作られる前記ヒト対象の染色体若しくはクロマチン、又は再構成クロマチンを使用することによって生成される、前記のいずれかに記載の方法。

[12] ハプロタイプフェージングを決定する方法であって、前記のいずれかに記載の方法を含み、
前記複数のリード対中にある1つ以上のヘテロ接合性の部位を同定するステップと、
一対のヘテロ接合性部位を含むリード対を同定するステップと

を更に含み、前記対のヘテロ接合性部位の前記同定により、対立遺伝子のバリエントに対するフェージングデータを決定できる方法。

[13] メタゲノミクスアセンブリの方法であって、1に記載の方法を含み、前記複数のリード対が、
環境から微生物を収集するステップと、

固定剤を添加して、各微生物細胞内に架橋を形成するステップと
を含む改変されたHi-Cに基づく方法を使用して、複数の微生物染色体の物理的レイアウト
をプローピングすることにより決定され、異なるコンティグにマッピングされるリード対
が、どのコンティグが同じ種由来であるかを示す方法。

[14] 前記固定剤が、ホルムアルデヒドである、13に記載の方法。

[15] 単一DNA分子から生成される複数のコンティグをアセンブルする方法であって、
前記単一DNA分子から複数のリード対を生成するステップと、

リード対を使用して前記コンティグをアセンブルするステップと
を含み、少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に
跨り、前記リード対が、14日以内に生成される方法。

[16] 少なくとも10%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に
跨る、15に記載の方法。

[17] 少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも100kBの距離に
跨る、15に記載の方法。

[18] 前記リード対が、7日以内に生成される、15から17のいずれか一項に記載の方法
。

[19] 単一DNA分子に由来する複数のコンティグをアセンブルする方法であって、
in vitroで前記単一DNA分子から複数のリード対を生成するステップと、

前記リード対を使用して前記コンティグをアセンブルするステップと
を含み、少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に
跨る方法。

[20] 少なくとも10%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に
跨る、19に記載の方法。

[21] 少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に
跨る、20に記載の方法。

[22] ハプロタイプフェージングの方法であって、

单一DNA分子から複数のリード対を生成するステップと、

前記リード対を使用して前記DNA分子の複数のコンティグをアセンブルするステップと
を含み、少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に
跨り、前記ハプロタイプフェージングが、70%を超える精度で実施される方法。

[23] 少なくとも10%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に
跨る、22に記載の方法。

[24] 少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも100kBの距離に
跨る、22に記載の方法。

[25] 前記ハプロタイプフェージングが、90%を超える精度で実施される、22から24のいずれか一項に記載の方法。

[26] ハプロタイプフェージングの方法であって、

in vitroで単一DNA分子から複数のリード対を生成するステップと、

前記リード対を使用して前記DNA分子の複数のコンティグをアセンブルするステップとを含み、少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に跨り、前記ハプロタイプフェージングが、70%を超える精度で実施される方法。

[27] 少なくとも10%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも30kBの距離に跨る、26に記載の方法。

[28] 少なくとも1%の前記リード対が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kBの距離に跨る、26に記載の方法。

[29] 前記ハプロタイプフェージングが、90%を超える精度で実施される、26から28のいずれか一項に記載の方法。

[30] ハプロタイプフェージングが、70%を超える精度で実施される、in vitroハプロタイプフェージングの方法。

[31] 第1のDNA分子から第1のリード対を生成する方法であって、

(a) in vitroで第1のDNA分子を架橋するステップであって、前記第1のDNA分子が第1のDNAセグメント及び第2のDNAセグメントを含むステップと、

(b) 前記第1のDNAセグメントを前記第2のDNAセグメントと連結し、それによって連結されたDNAセグメントを形成するステップと、

(c) 前記連結DNAセグメントを配列決定し、それによって第1のリード対を得るステップとを含む方法。

[32] 複数の会合分子が前記第1のDNA分子に架橋されている、31に記載の方法。

[33] 前記会合分子がアミノ酸を含む、32に記載の方法。

[34] 前記会合分子がペプチド又はタンパク質である、33に記載の方法。

[35] 前記第1のDNA分子が、固定剤で架橋されている、31から34のいずれか一項に記載の方法。

[36] 前記固定剤が、ホルムアルデヒドである、35に記載の方法。

[37] 前記第1のDNAセグメント及び前記第2のDNAセグメントが、前記第1のDNA分子を切り離すことによって生成される、31から36のいずれか一項に記載の方法。

[38] 前記第1のリード対を使用して前記第1のDNA分子の複数のコンティグをアセンブルするステップを更に含む、31から37のいずれか一項に記載の方法。

[39] 前記第1及び前記第2のDNAセグメントのそれぞれが、少なくとも1つの親和性標識に接続され、前記連結DNAセグメントが前記親和性標識を使用して捕捉される、31から38のいずれか一項に記載の方法。

[40] (a) 複数の会合分子を少なくとも第2のDNA分子に提供するステップと、

(b) 前記会合分子を前記第2のDNA分子に架橋し、それにより in vitroで第2の複合体を形成するステップと、

(c) 前記第2の複合体を切り離し、それにより第3のDNAセグメント及び第4のセグメントを生成するステップと、

(d) 前記第3のDNAセグメントを前記第4のDNAセグメントと連結し、それにより第2の連結DNAセグメントを形成するステップと、

(e) 前記第2の連結DNAセグメントを配列決定し、それにより第2のリード対を得るステップとを更に含む、31に記載の方法。

[41] 前記DNA分子由来の前記DNAセグメントの40%未満が、他の任意のDNA分子由来のDNAセグメントと連結されている、40に記載の方法。

[42] 前記DNA分子由来の前記DNAセグメントの20%未満が、他の任意のDNA分子由来のDNAセグメントと連結されている、40に記載の方法。

[43] 既定の配列を含む第1のDNA分子から第1のリード対を生成する方法であって、
(a)1つ以上のDNA結合分子を前記第1のDNA分子に提供するステップであって、1つ以上の前記DNA結合分子が前記既定の配列に結合するステップと、
(b)in vitroで前記第1のDNA分子を架橋するステップであって、前記第1のDNA分子が第1のDNAセグメント及び第2のDNAセグメントを含むステップと、
(c)前記第1のDNAセグメントを前記第2のDNAセグメントと連結し、それによって第1の連結DNAセグメントを形成するステップと、
(d)前記第1の連結DNAセグメントを配列決定し、それによって前記第1のリード対を得るステップと

を含み、前記既定の配列が前記リード対中に現れる確率が、前記既定の配列への前記DNA結合分子の結合による影響を受ける方法。

[44] 前記DNA結合分子が、前記既定の配列にハイブリダイズできる核酸である、43に記載の方法。

[45] 前記核酸がRNAである、44に記載の方法。

[46] 前記核酸がDNAである、44に記載の方法。

[47] 前記DNA結合分子が小分子である、43に記載の方法。

[48] 前記小分子が、100 μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、47に記載の方法。

[49] 前記小分子が、1 μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、47に記載の方法。

[50] 前記DNA結合分子が、表面又は固体支持体に固定化されている、43から49のいずれか一項に記載の方法。

[51] 前記既定の配列が前記リード対中に現れる前記確率が低下する、43に記載の方法。

[52] 前記既定の配列が前記リード対中に現れる前記確率が増加する、43に記載の方法。

[53] それぞれ少なくとも第1の配列エレメント及び第2の配列エレメントを含む複数のリード対を含むin vitroライブラリーであって、前記第1及び前記第2の配列エレメントが単一DNA分子に由来し、前記リード対の少なくとも1%が、前記単一DNA分子上で少なくとも50KB離れている第1及び第2の配列エレメントを含むライブラリー。

[54] 前記リード対の少なくとも10%が、前記単一DNA分子上で少なくとも50kB離れている第1及び第2の配列エレメントを含む、53に記載のin vitroライブラリー。

[55] 前記リード対の少なくとも1%が、前記単一DNA分子上で少なくとも100kB離れている第1及び第2の配列エレメントを含む、54に記載のin vitroライブラリー。

[56] 前記リード対の20%未満が、1つ以上の既定の配列を含む、53から55のいずれか一項に記載のin vitroライブラリー。

[57] 前記リード対の10%未満が、1つ以上の既定の配列を含む、56に記載のin vitroライブラリー。

[58] 前記リード対の5%未満が、1つ以上の既定の配列を含む、57に記載のin vitroライブラリー。

[59] 前記既定の配列が、前記既定の配列にハイブリダイズできる1つ以上の核酸又は小分子によって決定される、56から58のいずれか一項に記載のin vitroライブラリー。

[60] 前記1つ以上の核酸がRNAである、59に記載のin vitroライブラリー。

[61] 前記1つ以上の核酸がDNAである、59に記載のin vitroライブラリー。

[62] 前記1つ以上の核酸が、表面又は固体支持体に固定化されている、59から61のいずれか一項に記載のin vitroライブラリー。

[63] 前記既定の配列が1つ以上的小分子によって決定される、59に記載のin vitroライブラリー。

[64] 前記1つ以上の小分子が100 μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、6

3に記載のin vitroライブラー。

[65] 前記1つ以上の小分子が1μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、63に記載のin vitroライブラー。

[66] DNA断片及び複数の会合分子を含む組成物であって、前記会合分子が、in vitro複合体中で前記DNA断片に架橋されており、前記in vitro複合体が、固体支持体に固定化されている組成物。

[67] DNA断片、複数の会合分子及びDNA結合分子を含む組成物であって、前記DNA結合分子が、前記DNA断片の既定の配列に結合しており、前記会合分子が、前記DNA断片に架橋されている組成物。

[68] 前記DNA結合分子が、前記既定の配列にハイブリダイズできる核酸である、67に記載の組成物。

[69] 前記核酸がRNAである、68に記載の組成物。

[70] 前記核酸が、DNAである、68に記載の組成物。

[71] 前記核酸が表面又は固体支持体に固定化されている、68から70のいずれか一項に記載の組成物。

[72] 前記DNA結合分子が小分子である、67に記載の組成物。

[73] 前記小分子が、100μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、72に記載の組成物。

[74] 前記小分子が、1μM未満の結合親和性で前記既定の配列に結合する、72に記載の組成物。