

【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28年9月29日(2016.9.29)

【公表番号】特表2015-525575(P2015-525575A)

【公表日】平成27年9月7日(2015.9.7)

【年通号数】公開・登録公報2015-056

【出願番号】特願2015-526715(P2015-526715)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/532	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 Q	1/68	Z
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 Q	1/02	
C 0 7 K	16/00	
G 0 1 N	33/53	Y
G 0 1 N	33/532	A

【手続補正書】

【提出日】平成28年8月8日(2016.8.8)

【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】

複数の標的が複数の細胞に存在するか否かを同定するための方法であつて、該方法は、該標的に複数の核酸タグを結合する工程を包含し、核酸タグは、

a) 該標的の同一性、および

b) 該核酸タグが結合している該細胞の同一性

を表すコードを含み、ここで、該複数のうちの少なくとも第1の標的対は、100倍よりも多くその相対存在量が変化する、方法。

【請求項2】

少なくとも第3の標的が、前記第1の標的対における両方の標的よりも10倍よりも多くその相対存在量が変化する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

同じ標的の同一性および細胞の同一性を有する少なくとも2個の異なる核酸タグをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記少なくとも2個の異なる核酸タグが、同じプライマーのセットを用いて様々な速度で増幅する、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

個々の細胞または標的の分離または単離は、前記検出する工程に必要である、請求項

1に記載の方法。

【請求項6】

前記コードを検出する工程をさらに包含し、個々の細胞の分離または単離は、該検出する工程に必要である、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記検出する工程が配列決定することを含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

各標的が、タンパク質または核酸である、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

各標的がmRNAである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記核酸タグが、前記標的のうちの1つに特異的である第1のUBAを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記第1のUBAが、標識されたUBAと非標識のUBAとの混合物を含む、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記第1のUBAが、抗体を含む、請求項10に記載の方法。

【請求項13】

前記核酸タグが、前記標的の同一性をコードする核酸ESBを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項14】

前記ESBが、標識ESBと未標識ESBとの混合物を含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記核酸タグが、検出可能に異なるコードユニットを含む少なくとも2個の核酸APSを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項16】

前記結合する工程中に、前記少なくとも2個のAPSが、分割プール合成の連続したラウンドにおいて順序づけられた様式で前記核酸タグに付加される、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記核酸タグが、ライゲーションによって連結された、複数個のAPS、ESBおよびUBAを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項18】

前記複数個のAPS、前記ESBまたは前記UBAが、クリックケミストリーにより連結されることが可能である、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記APSまたは前記ESBが、増幅プライマー結合領域を含む、請求項17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】0055

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0055】

いくつかの実施形態において、本発明は、a) 標識UBAおよび未標識UBAを既知の比で含む混合物をサンプルに加える工程、b) 標的に結合した標識UBAの量を検出することによって、そのサンプル中の標的の量の近似値を生成する工程を包含する方法を提供し、ここで、前記生成工程は、検出された標識UBAの量に、標識UBAと未標識UBA

との比によって決定される係数を乗算することを含む。いくつかの実施形態において、標識 U B A は、 E S B と会合する。いくつかの実施形態において、標識 U B A は、 A P S と会合する。いくつかの実施形態において、標識 U B A は、 C O B と会合する。いくつかの実施形態において、サンプルは、細胞のサンプルである。いくつかの実施形態において、細胞は、分割プール合成に供される。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

複数の標的が複数の細胞に存在するか否かを同定するための方法であって、該方法は、該標的に複数のタグを結合する工程を包含し、タグは、

a) 該標的の同一性、および

b) タグが結合している該細胞の同一性

を表すコードを含み、ここで、該複数のうちの少なくとも第 1 の標的対は、100 倍よりも多くその相対存在量が変化する、方法。

(項目 2)

前記複数のうちの少なくとも第 1 の標的対は、1000 倍よりも多くその相対存在量が変化する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記複数のうちの少なくとも第 1 の標的対は、10000 倍よりも多くその相対存在量が変化する、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

少なくとも第 3 の標的が、前記第 1 の標的対における両方の標的よりも 10 倍よりも多くその相対存在量が変化する、項目 1 ~ 3 のうちの一項に記載の方法。

(項目 5)

少なくとも第 3 の標的が、前記第 1 の標的対における両方の標的よりも 100 倍よりも多くその相対存在量が変化する、項目 1 ~ 3 のうちの一項に記載の方法。

(項目 6)

少なくとも第 3 の標的が、前記第 1 の標的対における両方の標的よりも 1000 倍よりも多くその相対存在量が変化する、項目 1 ~ 3 のうちの一項に記載の方法。

(項目 7)

前記複数の標的は、少なくとも 5 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

前記複数の標的は、少なくとも 10 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 9)

前記複数の標的は、少なくとも 25 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 10)

前記複数の標的は、少なくとも 50 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 11)

前記複数の標的は、少なくとも 100 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

同じ標的の同一性および細胞の同一性を有する少なくとも 2 個の異なるタグをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 13)

前記少なくとも 2 個の異なるタグが、同じプライマーのセットを用いて様々な速度で増幅する、項目 1 2 に記載の方法。

(項目 14)

個々の細胞または標的の分離または単離は、前記検出する工程に必要である、項目 1 に記載の方法。

(項目 15)

前記コードを検出する工程をさらに包含し、個々の細胞の分離または単離は、該検出する工程に必要である、項目 1 に記載の方法。

(項目16)

前記検出する工程が配列決定することを含む、項目15に記載の方法。

(項目17)

各標的が、タンパク質または核酸である、項目1に記載の方法。

(項目18)

各標的がmRNAである、項目17に記載の方法。

(項目19)

前記タグが、核酸である、項目1に記載の方法。

(項目20)

前記タグが、UBAを含む、項目1に記載の方法。

(項目21)

前記UBAが、前記標的のうちの1つに特異的である、項目20に記載の方法。

(項目22)

前記UBAが、標識されたUBAと非標識のUBAとの混合物を含む、項目21に記載の方法。

(項目23)

前記UBAが、抗体を含む、項目21に記載の方法。

(項目24)

前記タグが、ESBを含む、項目1に記載の方法。

(項目25)

前記ESBが、共通リンカー(CL)を含む、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記ESBが、該標的の同一性をコードする、項目24に記載の方法。

(項目27)

前記ESBが、標識ESBと未標識ESBとの混合物を含む、項目26に記載の方法。

(項目28)

前記ESBが、核酸を含む、項目24に記載の方法。

(項目29)

前記タグが、APSを含む、項目1に記載の方法。

(項目30)

前記APSが、検出可能に異なるコードユニットを含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記結合する工程中に、複数個のAPSが、分割プール合成の連続したラウンドにおいて順序づけられた様式で該タグに付加される、項目29に記載の方法。

(項目32)

前記タグが、少なくとも2個のAPSを含む、項目1に記載の方法。

(項目33)

前記APSが、核酸を含む、項目29に記載の方法。

(項目34)

前記タグが、ライゲーションによって連結された、複数個のAPS、ESBおよびUBAを含む、項目1に記載の方法。

(項目35)

前記複数個のAPS、前記ESBまたは前記UBAが、クリックケミストリーで連結されることが可能である、項目34に記載の方法。

(項目36)

前記APSまたは前記ESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目34に記載の方法。

(項目37)

前記UBA、ESBまたはAPSが、鋳型になり得る、項目34に記載の方法。

(項目38)

a) 第 1 の標的分子、

b) 該第 1 の標的分子に特異的な第 1 のユニーク結合物質 (U B A) 、

c) 少なくとも 2 個の異なる連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード (E S B) 、および

d) 複数の順序づけられたアッセイ可能ポリマーサブユニット (A P S) を含み、該 A P S の順序は、検出可能である、組成物。

(項目 3 9)

前記少なくとも 2 個の異なる U B A が、同じプライマーのセットを用いる増幅に様々な割合で影響する少なくとも 2 個の異なるプライマー結合領域を含む、項目 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 0)

前記少なくとも 2 個の異なる U B A が、同じプライマーのセットを用いる増幅に様々な割合で影響する少なくとも 2 個の異なるプライマー結合領域に連結されている、項目 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 1)

前記少なくとも 2 個の異なる U B A が、 E S B または C O B を様々な効率で補充する 1 つ以上の結合領域を含む、項目 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 2)

前記少なくとも 2 個の異なる U B A が、様々な効率で結合パートナーと会合する 1 つ以上の捕捉領域を含む、項目 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 3)

組成物であって、該組成物は、

a) 第 1 の標的分子、

b) 該第 1 の標的分子に特異的な第 1 のユニーク結合物質 (U B A) 、

第 1 の連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード (E S B) 、および

c) 少なくとも 2 つの連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード (E S B) 、および

d) 複数の順序づけられたアッセイ可能ポリマーサブユニット (A P S) を含み、

ここで、 A P S の順序が検出可能である、組成物。

(項目 4 4)

前記少なくとも 2 個の異なる E S B が、同じプライマーのセットを用いる増幅に様々な割合で影響する少なくとも 2 個の異なるプライマー結合領域を含む、項目 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 5)

前記少なくとも 2 個の異なる E S B が、同じプライマーのセットを用いる増幅に様々な割合で影響する少なくとも 2 個の異なるプライマー結合領域に連結されている、項目 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 6)

前記少なくとも 2 個の異なる E S B が、 U B A または C O B を様々な効率で補充する 1 つ以上の結合領域を含む、項目 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 7)

前記少なくとも 2 個の異なる E S B が、様々な効率で結合パートナーと会合する 1 つ以上の捕捉領域を含む、項目 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 8)

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目 3 8 または 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 9)

前記複数の順序づけられたAPSは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20個のAPSを含む、項目38または43に記載の組成物。

(項目50)

前記UBA、ESBまたはAPSが、鋳型になり得る、項目38または43に記載の組成物。

(項目51)

個々のAPS、ESBまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目38または43に記載の組成物。

(項目52)

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目51に記載の組成物。

(項目53)

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、

(a) m個のアッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)のn個のセットであって、各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形式で連結されることが可能である、セット；および

(b) 同じ標的に特異的な少なくとも2個のユニーク結合物質(UBA)を備える、キット。

(項目54)

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、

(a) m個のアッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)のn個のセットであって、各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形式で連結されることが可能である、セット；および

(b) 標的分子特異的な複数のユニーク結合物質(UBA)であって、各々は、UBA特異的なエピトープ特異的バーコード(ESB)と連結されており、少なくとも1個のUBAの2個のサブタイプをさらに含み、ここで、該2個のサブタイプが異なるESBに連結されている、標的分子特異的な複数のユニーク結合物質(UBA)を備える、キット。

(項目55)

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、

(a) m個のアッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)のn個のセットであって、各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形式で連結されることが可能である、セット；

(b) 標的分子特異的な複数のユニーク結合物質(UBA)；および

(c) UBA特異的な複数のエピトープ特異的バーコード(ESB)であって、各ESBは、指定のUBAと連結することが可能であり、同じUBAに特異的である少なくとも1このESBの少なくとも2個のサブタイプをさらに含む、UBA特異的な複数のエピトープ特異的バーコード(ESB)

を備える、キット。

(項目56)

nが、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目57)

mが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20である、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目58)

nが、10より大きい、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目59)

mが、20より大きい、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目60)

個々のAPS、ESBまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目61)

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目60に記載のキット。

(項目62)

APSまたはESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目63)

プローブをさらに含む、項目53～55のうちの一項に記載のキット。

(項目64)

サンプル中の標的分子を検出するための方法であって、該方法は、

(a)

(i) 該標的分子を含む細胞の集団、

(ii) 複数の標的特異的UBA混合物であって、少なくとも1つのUBA混合物は、標識UBAおよび未標識UBAを所定の比で含む、複数の標的特異的UBA混合物、

(iii) 該UBAと会合することができる複数のESB、および

(iv) 複数のラウンド特異的なAPSセットであって、各セットは、互いに検出可能に異なる複数のAPSを含む、複数のラウンド特異的なAPSセットを得る工程；

(b) 該UBAの混合物を該細胞の集団と接触させる工程であって、該標識UBAおよび該未標識UBAは、該標的分子に結合する、工程；

(c) 該複数のESBを該細胞の集団と接触させる工程；および

(d) ラウンド特異的な該複数のAPSを使用して分割プール合成を行う工程を包含する、方法。

(項目65)

第1の標識UBAが、同じ標的に対する第1の未標識UBAよりも少なくとも10倍、ESBと優先的に会合する、項目64に記載の方法。

(項目66)

第2の標識UBAが、同じ標的に対する第2の未標識UBAよりも少なくとも10倍、ESBと優先的に会合する、項目65に記載の方法。

(項目67)

第1の標識UBAが、同じ標的に対する第1の未標識UBAよりも少なくとも10倍、COBと優先的に会合する、項目64に記載の方法。

(項目68)

第2の標識UBAが、第2の未標識UBAよりも少なくとも10倍、COBと優先的に会合する、項目67に記載の方法。

(項目69)

第1の標識UBAが、同じ標的に対する第1の未標識UBAよりも少なくとも10倍、優先的に検出される、項目64に記載の方法。

(項目70)

第2の標識UBAが、同じ標的に対する第2の未標識UBAよりも少なくとも10倍、優先的に検出される、項目69に記載の方法。

(項目71)

第1の標識UBAが、同じ標的に対する第1の未標識UBAよりも少なくとも10倍、優先的に増幅される、項目64に記載の方法。

(項目72)

第2の標識UBAが、同じ標的に対する第2の未標識UBAよりも少なくとも10倍、

優先的に増幅される、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 3)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 6 4 に記載の方法。

(項目 7 4)

第 2 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 7 3 に記載の方法。

(項目 7 5)

サンプル中の標的分子を検出するための方法であって、該方法は、

(a)

(i) 該標的分子を含む細胞の集団、

(ii) 複数の標的特異的 U B A、

(iii) 複数の E S B 混合物であって、各々は、該 U B A 混合物のうちの 1 つと会合することができ、少なくとも 1 つの E S B 混合物は、標識 E S B および未標識 E S B を所定の比で含む、複数の E S B 混合物、および

(iv) 複数のラウンド特異的な A P S セットであって、各セットは、互いに検出可能に異なる複数の A P S を含む、複数のラウンド特異的な A P S セットを得る工程；

(b) 該 U B A を該細胞の集団と接触させる工程；

(c) 該複数の E S B を該細胞の集団と接触させる工程であって、該標識 E S B および該未標識 E S B は、該 U B A に結合する、工程；および

(d) 該複数のラウンド特異的な A P S を使用して分割プール合成を行う工程を包含する、方法。

(項目 7 6)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、U B A と優先的に会合する、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、U B A と優先的に会合する、項目 7 6 に記載の方法。

(項目 7 8)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 9)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 1)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 8 0 に記載の方法。

(項目 8 2)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 3)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 5)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記 U B A - E S B - A P S 複合体の少なくとも一部を検出することによって、少なくとも 1 つの標的特異的シグナルを得る工程をさらに包含する、項目 6 4 または 7 5 のうちの一項に記載の方法。

(項目 8 7)

前記標的特異的シグナルを乗数で正規化することによって、該標的特異的シグナルと関連している標的分子を定量する工程をさらに包含し、ここで、該乗数は、前記所定の比に基づく、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記検出工程が、配列決定することを含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記乗数が、前記所定の比の逆数である、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 0)

a) 細胞を含むサンプルを、標識 U B A および未標識 U B A を所定の比で含む混合物と接触させる工程、および

b) 細胞に関連する標的に結合した標識 U B A の量を検出し、該検出値を該所定の比に基づく係数で正規化することによって、該標的の量の近似値を生成する工程を包含する方法であって、ここで、該細胞は、分割プール合成に供される、方法。

(項目 9 1)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、E S B と優先的に会合する、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 2)

第 2 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、E S B と優先的に会合する、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 3)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 4)

第 2 の標識 U B A が、第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 5)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 6)

第 2 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 7)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 8)

第 2 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 9 7 に記載の方法。

(項目 9 9)

第 1 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 1 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

第 2 の標識 U B A が、同じ標的に対する第 2 の未標識 U B A よりも少なくとも 10 倍、

優先的に枯渇される、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 1)

a) 細胞を含むサンプルを、U B A ならびに標識 E S B および未標識 E S B を所定の比で含む混合物と接触させる工程、および

b) 細胞に関連する標的に結合した標識 E S B の量を検出し、該検出値を該所定の比に基づく係数で正規化することによって、該標的の量の近似値を生成する工程を包含する方法であって、ここで、該細胞は、分割プール合成に供される、方法。

(項目 1 0 2)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、U B A と優先的に会合する、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 3)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、U B A と優先的に会合する、項目 1 0 2 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、C O B と優先的に会合する、項目 1 0 4 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 7)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に検出される、項目 1 0 6 に記載の方法。

(項目 1 0 8)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 9)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に増幅される、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 0)

第 1 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 1 の未標識 E S B よりも、少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 1 1)

第 2 の標識 E S B が、同じ標的に対する第 2 の未標識 E S B よりも少なくとも 10 倍、優先的に枯渇される、項目 1 1 0 に記載の方法。