

【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って、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不必要である、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、該検出する工程に不必要である、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 U B A を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 1 の U B A が、標識された U B A と非標識の U B A 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 U B A 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 E S B を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記 E S B が、標識 E S B と未標識 E S B 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 A P S 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 A P S 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 A P S、E S B および U B A を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記複数個の A P S、前記 E S B または前記 U B A 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 A P S または前記 E S B 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 U B A および未標識 U B A 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 U B A 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 U B A の量に、標識 U B A と未標識 U B A

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、1 0 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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、1 0 0 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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、1 0 0 0 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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 1 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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 1 0 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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 1 0 0 0 倍よりも多くその相対存在量に変化する、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 1 0 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 2 5 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 0)

前記複数の標的は、少なくとも 5 0 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 1)

前記複数の標的は、少なくとも 1 0 0 の標的を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 2)

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 1 3)

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 1 4)

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不必要である、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 5)

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、該検出する工程に不必要である、項目 1 に記載の方法。

( 項目 1 6 )

前記検出する工程が配列決定することを含む、項目 1 5 に記載の方法。

( 項目 1 7 )

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 1 8 )

各標的が m R N A である、項目 1 7 に記載の方法。

( 項目 1 9 )

前記タグが、核酸である、項目 1 に記載の方法。

( 項目 2 0 )

前記タグが、U B A を含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 2 1 )

前記 U B A が、前記標的のうちの 1 つに特異的である、項目 2 0 に記載の方法。

( 項目 2 2 )

前記 U B A が、標識された U B A と非標識の U B A との混合物を含む、項目 2 1 に記載の方法。

( 項目 2 3 )

前記 U B A が、抗体を含む、項目 2 1 に記載の方法。

( 項目 2 4 )

前記タグが、E S B を含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 2 5 )

前記 E S B が、共通リンカー ( C L ) を含む、項目 2 4 に記載の方法。

( 項目 2 6 )

前記 E S B が、該標的の同一性をコードする、項目 2 4 に記載の方法。

( 項目 2 7 )

前記 E S B が、標識 E S B と未標識 E S B との混合物を含む、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 2 8 )

前記 E S B が、核酸を含む、項目 2 4 に記載の方法。

( 項目 2 9 )

前記タグが、A P S を含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 3 0 )

前記 A P S が、検出可能に異なるコードユニットを含む、項目 2 9 に記載の方法。

( 項目 3 1 )

前記結合する工程中に、複数個の A P S 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 2 9 に記載の方法。

( 項目 3 2 )

前記タグが、少なくとも 2 個の A P S を含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 3 3 )

前記 A P S が、核酸を含む、項目 2 9 に記載の方法。

( 項目 3 4 )

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 A P S 、 E S B および U B A を含む、項目 1 に記載の方法。

( 項目 3 5 )

前記複数個の A P S 、前記 E S B または前記 U B A 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 3 4 に記載の方法。

( 項目 3 6 )

前記 A P S または前記 E S B が、増幅プライマー結合領域を含む、項目 3 4 に記載の方法。

( 項目 3 7 )

前記 U B A 、 E S B または A P S が、鋳型になり得る、項目 3 4 に記載の方法。

( 項目 3 8 )

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 A P S 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 A P S を含む、項目 38 または 43 に記載の組成物。

(項目 50)

前記 U B A、E S B または A P S 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 A P S、E S B 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 (A P S) 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 (U B A) 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 (A P S) 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 (U B A) であって、各々は、U B A 特異的なエピトープ特異的バーコード (E S B) と連結されており、少なくとも 1 個の U B A 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 E S B 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 (U B A) 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 (A P S) 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 (U B A) ；および

(c) U B A 特異的な複数のエピトープ特異的バーコード (E S B) であって、各 E S B は、指定の U B A と連結することが可能であり、同じ U B A に特異的である少なくとも 1 個の E S B の少なくとも 2 個のサブタイプをさらに含む、U B A 特異的な複数のエピトープ特異的バーコード (E S B) 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 のうちの一項目に記載のキット。

(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 のうちの一項目に記載のキット。

(項目 58)

n が、10 より大きい、項目 53 ~ 55 のうちの一項目に記載のキット。

( 項目 5 9 )

m が、2 0 より大きい、項目 5 3 ~ 5 5 のうちの一項に記載のキット。

( 項目 6 0 )

個々の A P S、E S B 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 5 3 ~ 5 5 のうちの一項に記載のキット。

( 項目 6 1 )

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目 6 0 に記載のキット。

( 項目 6 2 )

A P S または E S B が、増幅プライマー結合領域を含む、項目 5 3 ~ 5 5 のうちの一項に記載のキット。

( 項目 6 3 )

プローブをさらに含む、項目 5 3 ~ 5 5 のうちの一項に記載のキット。

( 項目 6 4 )

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、

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

( i i i ) 該 U B A と会合することができる複数の E S B、および

( i v ) 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 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 U B A および該未標識 U B A は、該標的分子に結合する、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；および

( d ) ラウンド特異的な該複数の 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 6 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 1 0 倍、E S B と優先的に会合する、項目 6 4 に記載の方法。

( 項目 6 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 1 0 倍、E S B と優先的に会合する、項目 6 5 に記載の方法。

( 項目 6 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 1 0 倍、C O B と優先的に会合する、項目 6 4 に記載の方法。

( 項目 6 8 )

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 1 0 倍、C O B と優先的に会合する、項目 6 7 に記載の方法。

( 項目 6 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 1 0 倍、優先的に検出される、項目 6 4 に記載の方法。

( 項目 7 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 1 0 倍、優先的に検出される、項目 6 9 に記載の方法。

( 項目 7 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 1 0 倍、優先的に増幅される、項目 6 4 に記載の方法。

( 項目 7 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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、

( i i ) 複数の標的特異的 U B A、

( i i i ) 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

( i v ) 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 のうちの一項目に記載の方法。

( 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 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 1 0 倍、優先的に枯渇される、項目 1 1 0 に記載の方法。