

ただし、 R^1 と R^5 が H であり、o が 5 である場合、 R^A はプロモ基になり得ないものとする)

に由来するポリマーを含む、工程、および

複数の第1のオリゴヌクレオチドと複数の第2のオリゴヌクレオチドを、該ポリマーコーティングの反応性部位と反応させる工程を含み、

二二二

おり、該官能基が、アクリルアミド、アルケン、アルキン、ナイトレン、アルデヒド、ヒドラジン、活性型エステル、グリシジルエーテル、アミン、マレイミド、およびオルト位にシュタウディングガーライゲーションのためのホスフィン置換基を有するベンゾイルエステルからなる群より選択される、方法。

【請求項2】

前記ポリマー コーティングに結合された前記複数の第 1 のオリゴスクレオチドを、増幅対象の鋳型と接触させる工程をさらに含み、各鋳型が、3' 末端に、該第 1 のオリゴスクレオチドにハイブリダイズし得る配列、および 5' 末端に、その相補鎖が該第 2 のオリゴスクレオチドにハイブリダイズし得る配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項3】

前記鋳型を前記第1のオリゴヌクレオチドと前記第2のオリゴヌクレオチドを用いて増幅させ、それによりポリヌクレオチドのクラスター化アレイを作製する工程をさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

R^A がアジドである、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

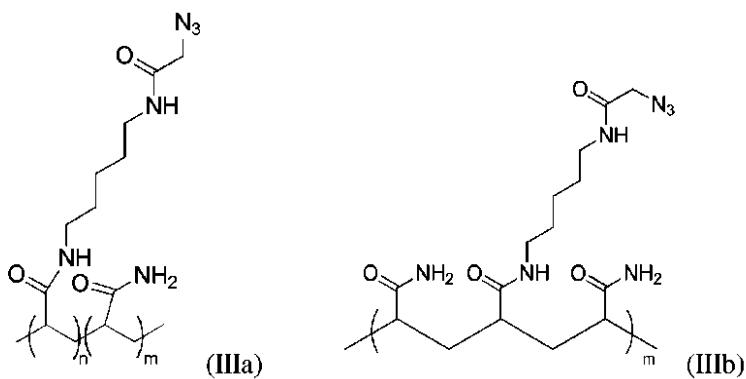
【請求項 5】

R^{-1} が水素であり、 α が 5 である。請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

式(III)または(III')に由来する前記ポリマーコーティングが、式(IIIA)または(IIIB)：

【化 28】



(式中、nは1～20,000の範囲の整数であり、mは1～100,000の範囲の整数である)

で表されるものもある、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記第1のオリゴヌクレオチドまたは前記第2のオリゴヌクレオチドが、アルキン、アミン、およびアルデヒドからなる群より選択される1つまたは1つより多くの官能基を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

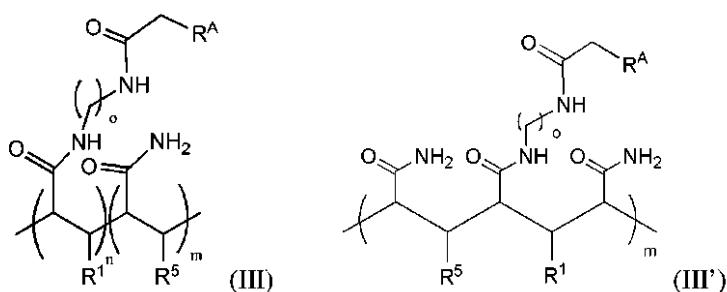
【 請求項 8 】

ポリヌクレオチドのアレイを調製する方法であって、該方法は、

基材の表面に共有結合したポリマーコーティングを有する該基材を提供する工程であって、

、該ポリマーコーティングは、式(III)または(III')：

【化 2 7】



(式中、 R^1 は、H またはアルキルから選択され；

R^Aは、水素、アミン、任意選択的に置換されているアルケン、任意選択的に置換されているアルキン、オキソ-アミン、アジド、ホルミル、ハロ、ヒドロキシ、ヒドラジニル、ヒドラゾニル、塩化シアヌル、チオシアネート、カルボン酸、グリシジル、活性型エステル、エポキシ、アジリジン、トリアゾリン、およびチオールからなる群より選択され；

各 - (C H₂) - は任意選択的に置換されていてもよく；

○は、1～50の範囲の整数であり；

R⁵ は、H またはアルキルから選択され；

n は、1 ~ 50,000 の範囲の整数であり；

mは、1～100,000の範囲の整数である；
ただし、R¹とR⁵がHであり、oが5である場合、R^Aはプロモ基になり得ないものとする。)

に由来するペリューを含む 工程 上上げ

複数の第1のオリゴヌクレオチドを該ポリマーコーティングの反応性部位と反応させて、該ポリマーコーティングに結合された複数の第1のオリゴヌクレオチドを生成する工程を含み、

ここで、該ポリマーコーティングは、該表面に結合している一連の官能基に共有結合しており、該官能基が、アクリルアミド、アルケン、アルキン、ナイトレン、アルデヒド、ヒドラジン、活性型エステル、グリシジルエーテル、アミン、マレイミド、およびオルト位にシュタウディンガーライゲーションのためのホスフィン置換基を有するベンゾイルエ斯特ルからなる群より選択される、方法。

【請求項 9】

前記ポリマーコーティングに結合された前記複数の第1のオリゴヌクレオチドを、増幅対象の鑄型と接触させる工程をさらに含み、各鑄型が、3'末端に、該第1のオリゴヌクレオチドにハイブリダイズし得る配列を含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

前記鋳型を前記第1のオリゴヌクレオチドを用いて増幅させ、それによりポリヌクレオチドのアレイを作製する工程をさらに含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

B^A がアジドである 請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法

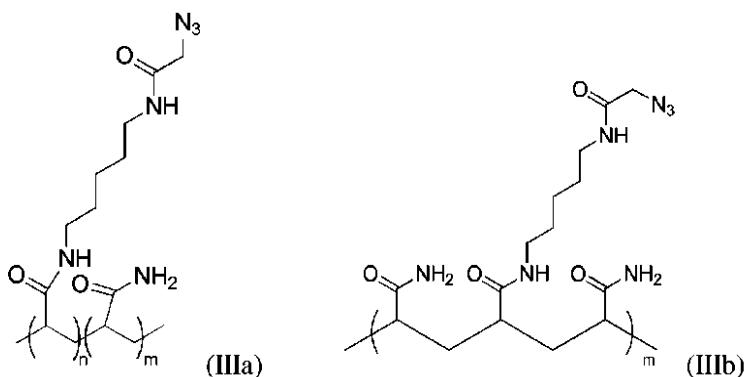
【請求項 12】

R⁻¹が水素であり、oが5である。請求項8～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

式(III)または(III')に由来する前記ポリマーが、式(IIa)または(IIb)：

【化 2 8】



(式中、nは1～20,000の範囲の整数であり、mは1～100,000の範囲の整数である)

で表されるものもある、請求項 8 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

複数の前記第2のオリゴヌクレオチドを前記ポリマーコーティングの反応性部位と反応させて、それにより前記ポリマーコーティングに結合された複数の第2のオリゴヌクレオチドを生成する工程をさらに含む、請求項10～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

鑄型の各々は、5'末端に、その相補鎖が複数の第2のオリゴヌクレオチドにハイブリダイズし得る配列をさらに含み、前記增幅は、該鑄型を前記第1のオリゴヌクレオチドと前記第2のオリゴヌクレオチドを用いて増幅させて、それによりポリヌクレオチドのアレイを作製する工程を含む、請求項9~14のいずれか一項に記載の方法。

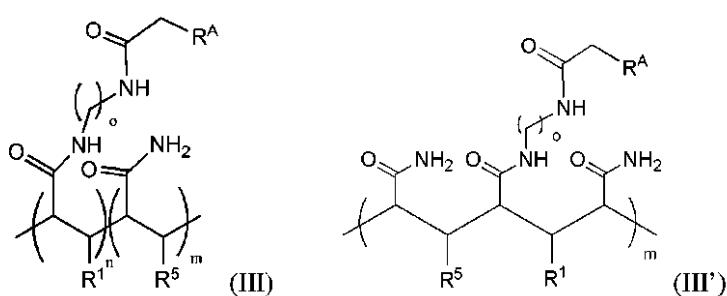
【請求項 16】

前記第1のオリゴヌクレオチドまたは前記第2のオリゴヌクレオチドがアルデヒドまたはアルキン基を含む、請求項1-4に記載の方法。

【 請求項 17 】

【請求項1】
基材を備えたフローセルであって、
該基材は、該基材に共有結合したポリマーコーティングを含む表面を有し、
該ポリマーコーティングは、式(III)または(III')：

【化 2 7】



(式中、R¹は、Hまたはアルキルから選択され；

R^Aは、アミン、任意選択的に置換されているアルケン、任意選択的に置換されているアルキン、オキソ-アミン、アジド、ホルミル、ヒドロキシ、ヒドラジニル、ヒドラゾニル、塩化シアヌル、チオシアネート、カルボン酸、グリシジル、活性型エステル、エポキシ、アジリジン、トリアゾリン、およびチオールからなる群より選択され；

各 - (C H₂) - は任意選択的に置換されていてもよく；

。は、1~50の範囲の整数であり；

R⁵ は、H またはアルキルから選択され；
n は、1 ~ 50,000 の範囲の整数であり；
m は、1 ~ 100,000 の範囲の整数である)

に由来するポリマーを含み、

ここで、該ポリマーコーティングは、該表面に結合している一連の官能基に共有結合しており、該官能基が、アクリルアミド、アルケン、アルキン、ナイトレン、アルデヒド、ヒドラジン、活性型エステル、グリシジルエーテル、アミン、マレイミド、およびオルト位にシュタウディンガーライゲーションのためのホスフィン置換基を有するベンゾイルエステルからなる群より選択される。

フロー・セル。

【請求項 18】

R^A がアジドである、請求項 17 に記載のフローセル。

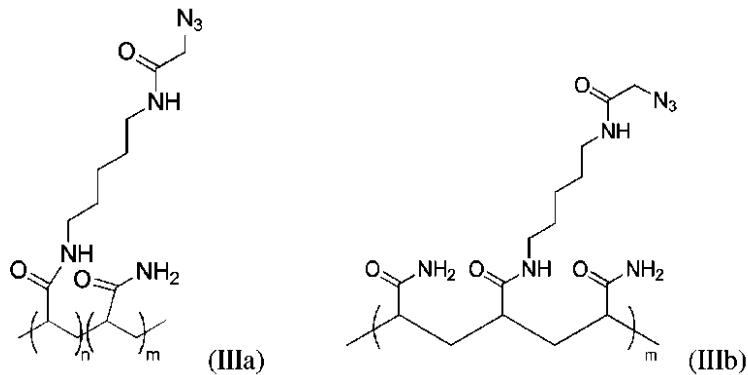
【請求項 19】

R⁻¹ が水素であり、○が5である、請求項17または18に記載のフローセル。

【請求項 20】

式 (I I I) または (I I I ') に由来する前記ポリマーが、式 (I I I a) または (I I I b) :

【化 2 8】



(式中、nは1～20,000の範囲の整数であり、mは1～100,000の範囲の整数である)

で表されるものもある、請求項17～19のいずれか一項に記載のフローセル。

【請求項 2 1】

前記ポリマーコーティングを介して前記基材の前記表面に結合されるポリヌクレオチドをさらに含む、請求項17～20のいずれか一項に記載のフローセル。

【請求項 22】

前記ポリヌクレオチドがポリヌクレオチドクラスターで存在している、請求項 21 に記載のフローキル。

【請求項 2 3】

单一のポリヌクレオチドクラスター内のポリヌクレオチドが同じヌクレオチド配列を有する。請求項22に記載のフローカル。

【請求項 24】

異なるポリヌクレオチドクラスターのポリヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列を有する請求項22に記載のフローセル

【 請求項 25 】

ボリュームタヒオ手ドのヌクヒオ手ド配列を決定する方法であつて、該方法は

(a) ポリヌクレオチドポリメラーゼを、基材の表面に共有結合したポリマーコーティングを介して、該基材の該表面に結合されたポリヌクレオチドクラスターと接触させる工程：

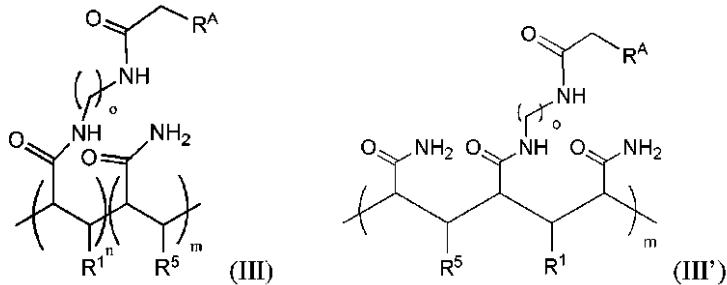
(b) 該基材の該表面にヌクレオチドを、ヌクレオチドの 1 個または 1 個より多くが該ポリヌクレオチドポリメラーゼによって利用されると検出可能なシグナルが発生するよう に、備える工程；

(c) 1つまたは1つより多くのポリヌクレオチドクラスターにおいてシグナルを検出する工程；ならびに

(d) 工程 (b) と (c) を反復し、それにより、該 1 つまたは 1 つより多くのポリ又
クレオチドクラスターに存在するポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定する工程
を含み、

該ポリマー共テイングは、式(III)または(III')：

【化27】



(式中、 R^1 は、H またはアルキルから選択され；

R[▲]は、アミン、任意選択的に置換されているアルケン、任意選択的に置換されているアルキン、オキソ-アミン、アジド、ホルミル、ヒドロキシ、ヒドラジニル、ヒドラゾニル、塩化シアヌル、チオシアネート、カルボン酸、グリシジル、活性型エステル、エポキシ、アジリジン、トリアゾリン、およびチオールからなる群より選択され；

各 - (C H₂) - は任意選択的に置換されてもよく；

○は、1～50の範囲の整数であり；

R⁵ は、H またはアルキルから選択され；

n は、1 ~ 50,000 の範囲の整数であり；

mは、1～100,000の範囲の整数である)

に由来するポリマーを含み、

ここで、該ポリマーコーティングは、該表面に結合している一連の官能基に共有結合しており、該官能基が、アクリルアミド、アルケン、アルキン、ナイトレン、アルデヒド、ヒドラジン、活性型エステル、グリシジルエーテル、アミン、マレイミド、およびオルト位にシュタウディンガーライゲーションのためのホスフィン置換基を有するベンゾイルエステルからなる群より選択される。

方法。

【請求項 26】

R^Aがアジドである、請求項25に記載の方法。

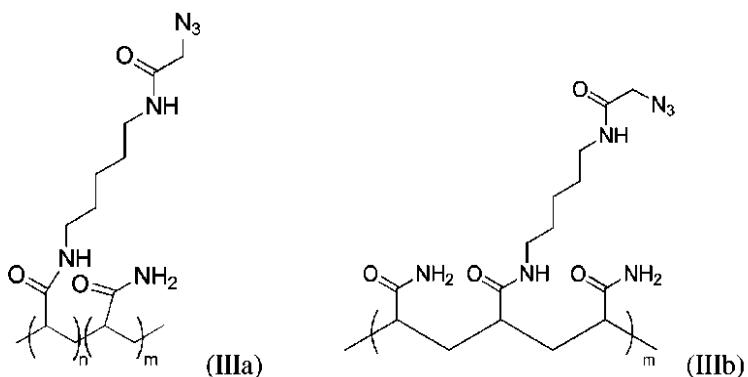
【請求項 27】

R¹が水素であり、oが5である、請求項25または26に記載の方法。

【請求項 28】

式(III)または(III')に由来する前記ポリマーが、式(IIIA)または(IIIB)：

【化 2 8】



(式中、nは1～20,000の範囲の整数であり、mは1～100,000の範囲の整数である)

で表されるものもある、請求項25～27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記基材の前記表面がフロー-セル内に存在する、請求項25～28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記検出可能なシグナルが光学的シグナルを含む、請求項25～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記検出可能なシグナルが非光学的シグナルを含む、請求項25～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記非光学的シグナルが pH の変化である、請求項 3 1 に記載の方法。