

【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】令和 2 年 6 月 25 日 (2020.6.25)

【公開番号】特開 2020-39346 (P2020-39346A)

【公開日】令和 2 年 3 月 19 日 (2020.3.19)

【年通号数】公開・登録公報 2020-011

【出願番号】特願 2019-205184 (P2019-205184)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/48 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6874 (2018.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/48 Z

C 1 2 Q 1/6874 Z N A Z

C 1 2 N 9/12

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 5 月 13 日 (2020.5.13)

【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】

核酸処理または分析するための方法であって、

a) 複数の細胞を溶解して複数の細胞核を提供するステップと；

b) 前記複数の細胞核のうちの 1 つの細胞核をトランスポザーゼ複合体と接触させ、複数のタグ付き断片を生成するために、前記細胞核のポリヌクレオチドがオープンクロマチン領域でタグ付けされるステップと

を含む方法であって、前記複数の細胞核はクロマチンを含む方法。

【請求項 2】

配列決定ライブラリーを生成するために、前記タグ付き断片に対して 1 つまたは複数の核酸反応を行うことを更に含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

複数の配列決定リードを生成するために、前記配列決定ライブラリーの配列を決定することを更に含む、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記 1 つまたは複数の核酸反応が核酸増幅反応を含む、請求項 2 記載の方法。

【請求項 5】

前記核酸増幅反応は、タグ付き核酸分子またはそれらの誘導体に 1 つまたは複数の機能性配列を付加するように構成され、前記 1 つまたは複数の機能性配列は選択された次世代配列決定プラットフォームに適合する、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

前記複数のタグ付き断片のうちの 1 つのタグ付き断片が、そのタグ付き断片に対応するヌクレオチド配列を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

前記タグ付き断片がプライマー配列を更に含む、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

前記トランスポザーゼ複合体が、T n 5 トランスポザーゼまたはT n 5 由来のトランスポザーゼを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

前記 T n 5 トランスポザーゼが機能亢進性の T n 5 トランスポザーゼである、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

前記トランスポザーゼ複合体が、第 1 のアダプター配列を含む第 1 の核酸挿入エレメントを含み、ここで、1 つまたは複数の前記タグ付き断片が前記第 1 のアダプター配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 1 のアダプター配列が第 1 の配列決定アダプター配列を含む、請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

前記第 1 のアダプター配列がバーコード配列を含む、請求項 10 記載の方法。

【請求項 13】

前記第 1 のアダプター配列が第 1 のプライマー配列を含む、請求項 10 記載の方法。

【請求項 14】

前記トランスポザーゼ複合体が、第 2 のアダプター配列を含む第 2 の核酸挿入エレメントを含み、ここで、1 つまたは複数の前記タグ付き断片が第 2 のアダプター配列を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 15】

前記第 2 のアダプター配列が第 2 の配列決定アダプター配列を含む、請求項 14 記載の方法。

【請求項 16】

前記第 2 のアダプター配列がバーコード配列を含む、請求項 14 記載の方法。

【請求項 17】

前記第 2 のアダプター配列が第 2 のプライマー配列を含む、請求項 14 記載の方法。

【請求項 18】

前記細胞核のポリヌクレオチドに沿ったクロマチン到達性のプロファイルを生成するために前記配列決定リードを分析することを更に含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 19】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける 1 つまたは複数の DNA 結合タンパク質結合部位のための DNA 結合タンパク質占有率を決定するために前記配列決定リードを分析することを更に含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 20】

前記細胞核のポリヌクレオチドの 1 つまたは複数のエピジェネティックな特徴を示すエピジェネティックマップを作製するために前記配列決定リードを分析することを更に含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 21】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける 1 つまたは複数の転写開始点 (TSS) の位置を決定するために前記配列決定リードを分析することを更に含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 22】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける 1 つまたは複数のヌクレオソームの位置を決定するために前記配列決定リードを分析することを更に含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 23】

前記トランスポザーゼ複合体はクロマチンの一部であるタンパク質に特異的な抗体を含まない、請求項 1 記載の方法。

【請求項 24】

核酸処理または分析するための方法であって、

a) 複数の細胞を溶解して複数の細胞核を単離するステップと;

b) 前記複数の細胞核のうちの1つの細胞核をT n 5 トランスポザーゼ複合体と接触させ、複数のタグ付き断片を生成するために、前記細胞核のポリヌクレオチドがオープンクロマチン領域でタグ付けされるステップと

を含む方法であって、

前記複数の細胞核はクロマチンを含み、

前記T n 5 トランスポザーゼ複合体は第1の配列決定アダプター配列および第2の配列決定アダプター配列を含み、

前記T n 5 トランスポザーゼ複合体はクロマチンの一部であるタンパク質に特異的な抗体を含まず、そして、

前記複数のタグ付き断片のうちの1つのタグ付き断片は、

i . オープンクロマチンに相当する核酸配列、

i i . 第1の配列決定アダプター配列、および、

i i i . 第2の配列決定アダプター配列、を含む方法。

【請求項25】

配列決定ライブラリーを生成するために、前記タグ付き断片に対して1つまたは複数の核酸反応を行うことを更に含む、請求項24記載の方法。

【請求項26】

複数の配列リードを生成するために、前記配列決定ライブラリーの配列を決定することを更に含む、請求項25記載の方法。

【請求項27】

前記細胞核のポリヌクレオチドに沿ったクロマチン到達性のプロファイルを生成するために前記配列リードを分析することを更に含む、請求項26記載の方法。

【請求項28】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける1つまたは複数のDNA結合タンパク質結合部位のためのDNA結合タンパク質占有率を決定するために前記配列リードを分析することを更に含む、請求項26記載の方法。

【請求項29】

前記細胞核のポリヌクレオチドの1つまたは複数のエピジェネティックな特徴を示すエピジェネティックマップを作製するために前記配列リードを分析することを更に含む、請求項26記載の方法。

【請求項30】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける1つまたは複数の転写開始点(TSS)の位置を決定するために前記配列リードを分析することを更に含む、請求項26記載の方法。

【請求項31】

前記細胞核のポリヌクレオチドにおける1つまたは複数のヌクレオソームの位置を決定するために前記配列リードを分析することを更に含む、請求項26記載の方法。