

【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 6 部門第 1 区分  
 【発行日】平成30年2月1日 (2018.2.1)

【公表番号】特表2017-504039(P2017-504039A)  
 【公表日】平成29年2月2日 (2017.2.2)  
 【年通号数】公開・登録公報2017-005  
 【出願番号】特願2016-563249(P2016-563249)  
 【国際特許分類】

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

【 F I 】

G 0 1 N 21/64 F

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 21/64 E

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月12日 (2017.12.12)

【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】

単一分子を解析するためのプロセスであって、  
 以下のステップ：

( a ) 支持体上の個々のサンプルスポットに配置された解析すべき少なくとも 1 つの単一分子を提供するステップ、ここで、前記スポットは、約 1 ~ 2 0 n m の範囲の直径を有し、各個々のスポットの間の距離は、前記スポットの直径の少なくとも約 1 0 倍、好ましくは約 2 0 ~ 5 0 0 倍である、

( b ) 個々のサンプルスポットにおいて光源を用いて単一分子を個々に照らすステップ、ここで、前記光源は、前記サンプルスポットにおいて少なくとも 1 つの照らされたボリュームエレメントを提供する、

( c ) 少なくとも 1 つの検出ピクセルを備える光検出器を用いて前記単一分子からの光を個々に検出するステップ、ここで、前記検出器上の前記検出ピクセルは、約 0 . 5  $\mu$  m ~ 5 0  $\mu$  m の範囲の直径を有し、各検出ピクセル間の距離は、前記検出ピクセルの直径の少なくとも約 2 倍、好ましくは約 3 ~ 1 0 倍である、および

( d ) 個々の検出ピクセルからの検出光を、個々のスポット上に配置された単一分子と関連する事象と関連付けるステップ、  
 を含み、

ここで、前記支持体上の検出ピクセルの光学投射は、約 1 0 0 n m ~ 5  $\mu$  m の範囲の直径を有し、個々のサンプルスポットは、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射（具体的には、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射の中央）に並べられる、  
 プロセス。

【請求項 2】

単一分子を解析するためのプロセスであって、  
 以下のステップ：

( a ) 支持体上の個々のサンプルスポットにそれぞれ配置された複数の解析すべき単一分子を提供するステップ、ここで、前記スポットは、約 1 ~ 2 0 n m の範囲の直径を有し

、個々のスポットの間の距離は、前記スポットの直径の少なくとも約 10 倍、好ましくは約 20 ~ 500 倍である

(b) 個々のスポットにおいて光源を用いて単一分子を個々に照らすステップ、ここで、前記光源は、前記サンプルスポットにおいて複数の個々の照らされたボリウムエレメントを提供する

(c) 前記単一分子から放射される光を、光検出器を用いて個々に検出するステップ、ここで、前記光検出器は、複数の検出ピクセルを備え、前記検出器上の前記検出ピクセルは、約 0.5  $\mu\text{m}$  ~ 50  $\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、各検出ピクセル間の距離は、前記検出ピクセルの直径の少なくとも約 2 倍、好ましくは約 3 ~ 10 倍である、

および

(d) 個々の検出ピクセルからの検出光を、個々のスポット上に配置された単一分子と関連する事象と関連付けるステップ

を含み、

ここで、前記支持体上の検出ピクセルの光学投射は、約 100 nm ~ 5  $\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、個々のサンプルスポットは、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射（具体的には、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射の中央）に並べられる、プロセス。

#### 【請求項 3】

請求項 1 または 2 のプロセスであって、

(i) 個々のサンプルスポットの中央は、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射の中央に、5 nm、2 nm または 1 nm の位置精度で並べられる、および / または、

(ii) 前記支持体上の個々のサンプルスポットの間の距離は、前記支持体上の検出ピクセルの光学投射の間の距離と同等である、および / または、

(iii) 前記検出光は、場合により検出可能な標識基から、具体的には蛍光標識基から、放射される、プロセス。

#### 【請求項 4】

請求項 1 から 3 のいずれか一項のプロセスであって、

単一核酸分子をシーケンスするため、具体的には、複数の単一核酸分子を並行してシーケンスするためのプロセスであり、

特に、以下のステップ：

- 前記支持体の個々のスポットにおいて、(i) 環状または線状の単一核酸分子、(ii) 核酸合成酵素分子および / または核酸分解酵素分子、および (iii) フリーの形態および / または前記核酸分子に取り込まれた蛍光標識ヌクレオチドビルディングブロック、を提供するステップ、

- 酵素反応を行なうステップ、ここで、ヌクレオチドビルディングブロックは、前記単一核酸分子に取り込まれる、および / または、前記単一核酸分子から切断される、および  
- ヌクレオチドビルディングブロックが、前記単一核酸分子に取り込まれるとき、および / または、前記単一核酸分子から切断されるときに生じる、時間依存的蛍光変化に基づき、前記核酸分子の塩基配列を個々に決定するステップ、

を含む、

プロセス。

#### 【請求項 5】

請求項 4 に記載のプロセスであって、

(i) 前記核酸合成酵素分子および / または前記核酸分解酵素分子は、固定化形態である、

または、

(ii) 前記核酸分子は、固定化形態である、プロセス。

#### 【請求項 6】

請求項 1 から 5 のいずれか一項のプロセスであって、

(i) 前記支持体は平面を有する、および / または、

(ii) 前記支持体は、ガラス、プラスチック、金属、石英、半金属、金属酸化物または複数の前記材料を含む複合材料から選択される表面を有する、および / または、

(iii) サンプルスポットは、前記支持体上の被覆された表面領域、または、前記支持体上の表面上に蒸着された粒子を備える、および / または、

(iv) サンプルスポットおよび / またはその上に蒸着された粒子の表面は、Au、Ag、Cr、Ni または Al などの金属、半金属またはシランである、および / または、

(v) サンプルスポットおよび / またはその上に蒸着された粒子の表面は、捕捉試薬、例えばビオチン、ストレプトアビジンまたはその他の高親和性捕捉試薬により修飾される  
プロセス。

【請求項 7】

請求項 1 から 6 のいずれか一項のプロセスであって、

(i) 前記支持体上の検出ピクセルの投射は、前記検出器上の検出ピクセルよりも約 10 ~ 200 倍小さい、および / または、

(ii) 前記検出器は、多点シングルフォトンアバランシェ検出器 (SPAD) である、および / または、

(iii) 前記検出器は、 $10^3 \sim 10^6$  の個々の検出ピクセルを備える、および / または、

(iv) 検出ピクセルに対するサンプルスポットの位置は、調節素子 (例えば、圧電調節素子) により並べられる、および / または、

(v) 前記光源は、多点レーザーである、  
プロセス。

【請求項 8】

請求項 1 から 7 のいずれか一項のプロセスであって、

前記の複数の個々の照らされたボリュウムエレメントは、回折光学素子により提供される、  
プロセス。

【請求項 9】

請求項 1 から 8 のいずれか一項のプロセスであって、

解析すべき前記分子は、少なくとも部分的に光透過性の支持体を通して照らされ、

ここで、前記支持体を通して放射される放射光が決定され、

光は、特に、前記支持体を通して放射され、エバネッセント励起域の形成は、照らされたサンプルスポットの領域内の支持体表面での内反射により、具体的には全内反射 (TIR) により生じる、

プロセス。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項のプロセスであって、

回折光学素子が、TIR セットアップにおいて励起光ビームに導入される、  
プロセス。

【請求項 11】

請求項 1 から 10 のいずれか一項のプロセスであって、

前記検出は、場合により波長特異的な検出と組み合わせて、励起状態の寿命の検出を含む、  
プロセス。

【請求項 12】

請求項 1 から 11 のいずれか一項のプロセスの使用であって、

配列の集団内のサブシーケンスの度数および / または分布を決定するための使用であり、

前記集団は、特に、少なくとも  $10$ 、少なくとも  $10^2$ 、少なくとも  $10^3$ 、または少なくとも  $10^4$  の個々のメンバーを含む、使用。

【請求項 13】

少なくとも 1 つの個々の単一分子を解析するため、例えば、少なくとも 1 つの核酸分子をシーケンスするための、デバイスであって：

(a) 解析すべき単一分子を個々のスポット上に配置するための少なくとも 1 つのサンプルスポットを備える支持体、ここで、前記スポットは、約  $1\text{ nm} \sim 20\text{ nm}$  の範囲の直径を有し、個々のスポットの間の距離は、前記スポットの直径の少なくとも約 10 倍、好ましくは約  $20 \sim 500$  倍である、

(b) 個々のスポットで単一分子を個々に照らすための、前記支持体上のサンプルスポットにおいて少なくとも 1 つの個々の照らされたボリュームエレメントを提供する光源

(c) 個々のスポットで単一分子から放射される光を個々に検出するための、少なくとも 1 つの検出ピクセルを備える光検出器、ここで、前記検出ピクセルは、約  $0.5\text{ }\mu\text{m} \sim 50\text{ }\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、前記検出ピクセルの間の距離は、前記検出ピクセルの直径の少なくとも約 2 倍、好ましくは約  $3 \sim 10$  倍である、および

(d) 個々の検出ピクセルからの検出シグナルを、個々のスポット上に配置された単一分子と関連する事象と関連付けるための手段、

を備え、

ここで、前記支持体上の検出ピクセルの光学投射は、約  $100\text{ nm} \sim 5\text{ }\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、個々のサンプルスポットは、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射（具体的には、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射の中央）に並べられる、デバイス。

【請求項 14】

単一分子を解析するためのデバイスであって：

(a) 解析すべき単一分子を個々のスポット上に配置するための複数のサンプルスポットを備える支持体、ここで、前記スポットは、約  $1 \sim 20\text{ nm}$  の範囲の直径を有し、個々のスポットの間の距離は、前記スポットの直径の少なくとも約 10 倍、好ましくは約  $20 \sim 500$  倍である、

(b) 個々のスポットで単一分子を個々に照らすための、前記支持体上の前記スポットにおいて複数の個々の照らされたボリュームエレメントを提供する光源

(c) 個々のスポットで単一分子から放射される光を個々に検出するための、複数の検出ピクセルを備える光検出器、ここで、前記光検出器上の前記検出ピクセルは、約  $0.5\text{ }\mu\text{m} \sim 50\text{ }\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、前記検出ピクセルの間の距離は、前記検出ピクセルの直径の少なくとも約 2 倍、好ましくは約  $3 \sim 10$  倍である、および

(d) 個々の検出ピクセルからの検出光を、個々のスポット上に配置された単一分子と関連する事象と関連付けるための手段、

を備え、

ここで、前記支持体上の検出ピクセルの光学投射は、約  $100\text{ nm} \sim 5\text{ }\mu\text{m}$  の範囲の直径を有し、個々のサンプルスポットは、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射（具体的には、前記支持体上の単一検出ピクセルの投射の中央）に並べられる、デバイス。

【請求項 15】

請求項 13 または 14 のデバイスの使用であって、

請求項 1 から 11 のいずれか一項のプロセスのための、使用。