

【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3年1月28日(2021.1.28)

【公表番号】特表2020-516232(P2020-516232A)

【公表日】令和2年6月11日(2020.6.11)

【年通号数】公開・登録公報2020-023

【出願番号】特願2019-531917(P2019-531917)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/6816	(2018.01)
G 0 1 N	33/566	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	21/64	(2006.01)
C 1 2 Q	1/25	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6862	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6876	(2018.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	9/00	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/6816	Z
G 0 1 N	33/566	
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	21/64	F
C 1 2 Q	1/25	
C 1 2 Q	1/6862	Z
C 1 2 Q	1/6876	Z
C 1 2 N	15/09	Z
C 1 2 N	9/00	
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	15/11	Z
C 1 2 N	15/113	Z

【手続補正書】

【提出日】令和2年12月11日(2020.12.11)

【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】

組成物であって、前記組成物は、

検出分子およびアンチセンスオリゴマーであって、前記検出分子が、i) 試料中の標的分子に結合するリガンド；およびii) 前記リガンドに連結されている一本鎖核酸を含み、前記一本鎖核酸が、前記アンチセンスオリゴマーにハイブリダイズされて、前記一本鎖核酸または前記アンチセンスオリゴマー中の1または複数の不対合ヌクレオチドを含む才

ーバーハングを有する二本鎖核酸を形成することができる、検出分子およびアンチセンスオリゴマー、ならびに

第1の検出標識および第2の検出標識を含む複数の検出標識であって、前記第1の検出標識が、前記二本鎖核酸の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを含み、前記第2の検出標識が、前記複数の検出標識からの検出標識のオーバーハングに相補的なオーバーハングを含む、複数の検出標識

を含み、

前記検出標識のうちの少なくとも1個は、検出標識とのハイブリダイゼーションのために構成されたオーバーハングを有する多方向分枝を含む、組成物。

【請求項2】

前記第1の検出標識が、第2のオーバーハングをさらに含み、前記第2のオーバーハングが、前記第2の検出標識中のオーバーハングと相補的でかつハイブリダイズすることができる配列を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記リガンドが抗体であるか、または前記標的分子がタンパク質である、請求項1または請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記オーバーハングが、少なくとも5、10、15、20、25または30個のヌクレオチドを含む、請求項1または請求項2に記載の組成物。

【請求項5】

前記組成物が、複数の前記検出分子を含み、必要に応じて、前記複数の検出分子のそれぞれが、異なる標的分子に結合する、請求項1または請求項2に記載の組成物。

【請求項6】

前記検出標識のうちの少なくとも1個が、検出タグを含む、請求項1または請求項2に記載の組成物。

【請求項7】

前記検出タグが、フルオロフォアを含む、請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

前記多方向分枝が、前記オーバーハングを含み、前記オーバーハングのそれぞれが前記検出標識のうちの少なくとも1個にハイブリダイズすることができる、請求項1に記載の組成物。

【請求項9】

前記多方向分枝が、3方向分枝または4方向分枝である、請求項1に記載の組成物。

【請求項10】

前記多方向分枝が3個のオーバーハングを有するT字構造または4個のオーバーハングを有する十字構造を有する、請求項1に記載の組成物。

【請求項11】

前記多方向分枝および検出標識が、サイクリングによってハイブリダイズされる、請求項1に記載の組成物。

【請求項12】

前記サイクルの数は、2～10である、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

前記標的分子は細胞表面タンパク質である、請求項1または請求項2に記載の組成物。

【請求項14】

キットであって、請求項1～13のいずれか一項に記載の前記検出分子、前記アンチセンスオリゴマーおよび前記複数の検出標識を含み、前記検出標識のうちの少なくとも1個は、検出標識とのハイブリダイゼーションのために構成されたオーバーハングを有する多方向分枝を含む、キット。

【請求項15】

方法であって、請求項1～13のいずれか一項に記載の前記標的分子を前記検出分子、

前記アンチセンスオリゴマーおよび前記検出標識のうちの少なくとも1個と接触させるこ
とを含み、前記検出標識のうちの少なくとも1個は、検出標識とのハイブリダイゼーション
のために構成されたオーバーハングを有する多方向分枝を含む、方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0038

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0038】

本開示の追加的な態様および利点は、当業者であれば、本開示の単なる説明的な実施形態が示され記載されている、次の詳細な説明から容易に明らかになるであろう。理解できるであろうが、本開示は、他のおよび異なる実施形態が可能であり、そのいくつかの詳細は、様々な明らかな観点から修正が可能であり、これらは全て、本開示から逸脱するものではない。したがって、図面および記載は、本質的に制限的ではなく説明的として考慮されるべきである。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目1)

試料中の標的分子を検出カプレットと接触させるステップを含む方法であって、前記検出カプレットが、第1の核酸および第2の核酸を含み、各核酸が、標的認識領域および自己ハイブリダイゼーション領域を有し、前記第1の核酸の前記標的認識領域が、前記標的分子の第1の領域に結合し、前記第2の核酸の前記標的認識領域が、前記標的分子の第2の領域に結合し、前記第1の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域および前記第2の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域がハイブリダイズされて、二本鎖核酸標識を形成する、方法。

(項目2)

前記二本鎖核酸標識が、少なくとも3個の連続した塩基対を有する、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記二本鎖核酸標識が、オーバーハングを有する、項目1または2に記載の方法。

(項目4)

前記標的分子が、mRNA分子である、項目1～3のいずれか一項に記載の方法。

(項目5)

前記第1の核酸および前記第2の核酸が、一本鎖DNAである、項目1～4のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

前記標的分子の前記第1の領域および前記第2の領域が、2～15ヌクレオチド離れている、項目1～5のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

クロスリンカーを使用して、前記検出カプレットを前記試料に固定するステップをさらに含む、項目1～6のいずれか一項に記載の方法。

(項目8)

前記第1の核酸または前記第2の核酸が、遊離アミン(-NH₂)修飾を有する、項目1～7のいずれか一項に記載の方法。

(項目9)

前記検出カプレットを固定するステップが、前記検出カプレットをアミン特異的クロスリンカーと接触させるステップを含む、項目7または8に記載の方法。

(項目10)

前記オーバーハングが、1個のヌクレオチドを含む、項目3～9のいずれか一項に記載の方法。

(項目11)

前記オーバーハングが、複数のヌクレオチドを含む、項目3～10のいずれか一項に記載の方法。

(項目12)

前記オーバーハングが、少なくとも5、10、15、20、25または30個のヌクレオチドを含む、項目11に記載の方法。

(項目13)

前記二本鎖核酸標識をDNAリガーゼと接触させるステップをさらに含む、項目1～12のいずれか一項に記載の方法。

(項目14)

前記二本鎖核酸標識を少なくとも1個の検出標識と接触させるステップをさらに含む、項目13に記載の方法。

(項目15)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを有する二本鎖核酸である、項目14に記載の方法。

(項目16)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的な一本鎖核酸である、項目14に記載の方法。

(項目17)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出標識を含む、項目14～16のいずれか一項に記載の方法。

(項目18)

前記二本鎖核酸標識および前記少なくとも1個の検出標識が、前記DNAリガーゼを使用してライゲーションされる、項目14または15に記載の方法。

(項目19)

前記少なくとも1個の検出標識が、少なくとも5、10、15、20、25または30個の検出標識を含む、項目14～18のいずれか一項に記載の方法。

(項目20)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含む、項目14～19のいずれか一項に記載の方法。

(項目21)

前記少なくとも1個の検出標識が、検出タグを含む、項目14～20のいずれか一項に記載の方法。

(項目22)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出タグを含む、項目21に記載の方法。

(項目23)

前記検出タグが、量子ドットを含む、項目21または22に記載の方法。

(項目24)

前記検出タグが、フルオロフォアを含む、項目21または22に記載の方法。

(項目25)

前記フルオロフォアが、クマリン、ローダミン、キサンテン、フルオレセインまたはシアニンを含む、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記検出タグを検出し、これにより、前記試料中の前記標的分子の存在を検出するステップを含む、項目21～25のいずれか一項に記載の方法。

(項目27)

前記標的分子を複数の検出カプレットと接触させるステップを含む、項目1～26のいずれか一項に記載の方法。

(項目28)

前記複数の検出カプレットのそれぞれが、異なる標的分子に結合する、項目27に記載の方法。

(項目29)

前記試料が、インタクトな組織試料である、項目1～28のいずれか一項に記載の方法。

(項目30)

前記インタクトな組織試料が、20～1000nmの間の厚さの切片にスライスされ得るよう、樹脂に前記インタクトな組織試料を包埋するステップを含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記試料中の前記標的分子の存在に関連する状態または疾患を診断するステップを含む、項目26～30のいずれか一項に記載の方法。

(項目32)

試料中の標的分子を検出分子およびアンチセンスオリゴマーと接触させるステップを含む方法であって、前記検出分子が、前記標的分子に結合する少なくとも1個のリガンドを含み、前記少なくとも1個のリガンドが、一本鎖核酸に連結されており、前記一本鎖核酸が前記アンチセンスオリゴマーとハイブリダイズされて、オーバーハングを有する二本鎖核酸標識を形成する、方法。

(項目33)

前記リガンドが、抗体である、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記標的分子が、タンパク質である、項目32または33に記載の方法。

(項目35)

前記オーバーハングが、1個のヌクレオチドを含む、項目32～34のいずれか一項に記載の方法。

(項目36)

前記オーバーハングが、複数のヌクレオチドを含む、項目33～35のいずれか一項に記載の方法。

(項目37)

前記オーバーハングが、少なくとも5、10、15、20、25または30個のヌクレオチドを含む、項目33～35のいずれか一項に記載の方法。

(項目38)

前記二本鎖核酸標識をDNAリガーゼと接触させるステップをさらに含む、項目32～37のいずれか一項に記載の方法。

(項目39)

前記二本鎖核酸標識を少なくとも1個の検出標識と接触させるステップをさらに含む、項目32～38のいずれか一項に記載の方法。

(項目40)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを有する二本鎖核酸である、項目39に記載の方法。

(項目41)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出標識である、項目40に記載の方法。

(項目42)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的な一本鎖核酸である、項目40に記載の方法。

(項目43)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出標識を含む、項目41～42のいずれか一項に記載の方法。

(項目44)

前記少なくとも1個の検出標識が、少なくとも5、10、15、20、25または30個の検出標識を含む、項目39～43のいずれか一項に記載の方法。

(項目45)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含む、項目32～44のいずれか一項に記載の方法。

(項目46)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含まない、項目32～44のいずれか一項に記載の方法。

(項目47)

前記少なくとも1個の検出標識が、検出タグを含む、項目32～46のいずれか一項に記載の方法。

(項目48)

前記検出タグが、フルオロフォアを含む、項目47に記載の方法。

(項目49)

前記フルオロフォアが、クマリン、ローダミン、キサンテン、フルオレセインまたはシアニンを含む、項目48に記載の方法。

(項目50)

前記検出タグを検出し、これにより、前記試料中の前記標的分子の存在を検出するステップを含む、項目47～49のいずれか一項に記載の方法。

(項目51)

前記試料を複数の検出分子と接触させるステップを含む、項目32～50のいずれか一項に記載の方法。

(項目52)

前記複数の検出分子のそれぞれが、異なる標的分子に結合する、項目51に記載の方法。

。

(項目53)

前記試料が、インタクトな組織試料である、項目32～52のいずれか一項に記載の方法。

(項目54)

前記インタクトな組織試料が、20～1000nmの間の厚さの切片にスライスされ得るように、樹脂に前記インタクトな組織試料を包埋するステップを含む、項目53に記載の方法。

(項目55)

前記インタクトな組織試料が、骨髄組織試料、胃腸管組織試料、肺組織試料、肝臓組織試料、前立腺組織試料、神経系組織試料、泌尿生殖器系組織試料、脳組織試料、乳房組織試料、筋肉組織試料または皮膚組織試料である、項目29または53に記載の方法。

(項目56)

前記試料中の前記標的分子の存在に関連する状態または疾患を診断するステップを含む、項目26または50に記載の方法。

(項目57)

前記状態または疾患が、腎臓疾患、感染性疾患、代謝性疾患、前がん性状態、がん性状態または脳障害である、項目56に記載の方法。

(項目58)

検出カプレットを含む組成物であって、前記検出カプレットが、第1の核酸および第2の核酸を含み、各核酸が、標的認識領域および自己ハイブリダイゼーション領域を有し、前記第1の核酸の前記標的認識領域が、標的分子の領域に結合し、前記第2の核酸の前記標的認識領域が、前記標的分子の第2の領域に結合し、前記第1の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域および前記第2の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域がハイブリダイズされて、二本鎖核酸標識を形成する、組成物。

(項目59)

前記二本鎖核酸標識が、少なくとも3個の連続した塩基対を有する、項目58に記載の組成物。

(項目60)

前記二本鎖核酸標識が、オーバーハングを有する、項目58または59に記載の組成物。

(項目61)

前記オーバーハングが、1個のヌクレオチドを含む、項目60に記載の組成物。

(項目62)

前記オーバーハングが、複数のヌクレオチドを含む、項目60に記載の組成物。

(項目63)

前記オーバーハングが、少なくとも5、10、15、20、25または30個のヌクレオチドを含む、項目60に記載の組成物。

(項目64)

前記標的分子が、mRNA分子である、項目58～63のいずれか一項に記載の組成物。

(項目65)

前記第1の核酸および前記第2の核酸が、一本鎖DNAである、項目58～64のいずれか一項に記載の組成物。

(項目66)

前記第1の核酸および前記第2の核酸のそれぞれが、遊離アミン(-NH₂)修飾を有する、項目58～65のいずれか一項に記載の組成物。

(項目67)

DNAリガーゼをさらに含む、項目58～66のいずれか一項に記載の組成物。

(項目68)

少なくとも1個の検出標識をさらに含む、項目58～67のいずれか一項に記載の組成物。

(項目69)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを有する二本鎖核酸である、項目68に記載の組成物。

(項目70)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的な一本鎖核酸である、項目68に記載の組成物。

(項目71)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出標識を含む、項目68または70のいずれか一項に記載の組成物。

(項目72)

前記少なくとも1個の検出標識が、少なくとも5、10、15、20、25または30個の検出標識を含む、項目69または70に記載の組成物。

(項目73)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含む、項目68～72のいずれか一項に記載の組成物。

(項目74)

前記少なくとも1個の検出標識が、検出タグを含む、項目68～73のいずれか一項に記載の組成物。

(項目75)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出タグを含む、項目74に記載の組成物。

(項目76)

前記検出タグが、量子ドットを含む、項目74または75に記載の組成物。

(項目77)

前記検出タグが、フルオロフォアを含む、項目74または75に記載の組成物。

(項目78)

前記フルオロフォアが、クマリン、ローダミン、キサンテン、フルオレセインまたはシアニンを含む、項目77に記載の組成物。

(項目 7 9)

検出分子およびアンチセンスオリゴマーを含む組成物であって、前記検出分子が、標的分子に結合する少なくとも1個のリガンドを含み、前記少なくとも1個のリガンドが、一本鎖核酸に連結されており、前記一本鎖核酸が前記アンチセンスオリゴマーにハイブリダイズされて、オーバーハングを有する二本鎖核酸標識を形成する、組成物。

(項目 8 0)

前記リガンドが、抗体である、項目7 9 に記載の組成物。

(項目 8 1)

前記標的分子が、タンパク質である、項目7 9 または8 0 に記載の組成物。

(項目 8 2)

前記オーバーハングが、1個のヌクレオチドを含む、項目7 9 ~ 8 1 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8 3)

前記オーバーハングが、複数のヌクレオチドを含む、項目7 9 ~ 8 1 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8 4)

前記オーバーハングが、少なくとも5、10、15、20、25または30個のヌクレオチドを含む、項目7 9 ~ 8 1 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8 5)

D N A リガーゼをさらに含む、項目7 9 ~ 8 4 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8 6)

少なくとも1個の検出標識をさらに含む、項目7 9 ~ 8 5 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8 7)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを有する二本鎖核酸である、項目8 6 に記載の組成物。

(項目 8 8)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的な一本鎖核酸である、項目8 6 に記載の組成物。

(項目 8 9)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出標識を含む、項目8 6 ~ 8 8 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 0)

前記少なくとも1個の検出標識が、少なくとも5、10、15、20、25または30個の検出標識を含む、項目8 6 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 1)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含む、項目8 6 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 2)

前記少なくとも1個の検出標識が、切断可能なリンカーを含まない、項目8 6 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 3)

前記少なくとも1個の検出標識が、検出タグを含む、項目8 6 ~ 9 2 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 4)

前記少なくとも1個の検出標識が、複数の検出タグを含む、項目9 3 に記載の組成物。

(項目 9 5)

前記検出タグが、量子ドットを含む、項目9 3 または9 4 に記載の組成物。

(項目 9 6)

前記検出タグが、フルオロフォアを含む、項目9 3 または9 4 に記載の組成物。

(項目 9 7)

前記フルオロフォアが、クマリン、ローダミン、キサンテン、フルオレセインまたはシアニンを含む、項目 9 6 に記載の組成物。

(項目 9 8)

複数の検出分子を含む、項目 7 9 ~ 9 7 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9 9)

前記複数の検出分子のそれぞれが、異なる標的分子に結合する、項目 9 8 に記載の組成物。

(項目 1 0 0)

項目 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法における使用のためのキットであって、前記キットは、以下：

第 1 の核酸および第 2 の核酸を含む検出カプレットであって、各核酸が、標的認識領域および自己ハイブリダイゼーション領域を有し、前記第 1 の核酸の前記標的認識領域が、標的分子の第 1 の領域に結合し、前記第 2 の核酸の前記標的認識領域が、前記標的分子の第 2 の領域に結合し、前記第 1 の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域および前記第 2 の核酸の前記自己ハイブリダイゼーション領域がハイブリダイズされて、二本鎖核酸標識を形成する、検出カプレットと、

前記検出カプレットを前記標的分子と接触させる際に使用するための第 1 の試薬とを含む、キット。

(項目 1 0 1)

前記二本鎖核酸標識が、オーバーハングを有する、項目 1 0 0 に記載のキット。

(項目 1 0 2)

項目 3 2 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の方法における使用のためのキットであって、前記キットは、以下：

検出分子およびアンチセンスオリゴマーであって、前記検出分子が、標的分子に結合する少なくとも 1 個のリガンドを含み、前記少なくとも 1 個のリガンドが、一本鎖核酸に連結されており、前記一本鎖核酸が前記アンチセンスオリゴマーにハイブリダイズされて、オーバーハングを有する二本鎖核酸標識を形成する、検出分子およびアンチセンスオリゴマーと、

検出カプレットを前記標的分子と接触させる際に使用するための第 1 の試薬とを含む、キット。

(項目 1 0 3)

前記標的分子の検出における使用のための第 2 の試薬をさらに含む、項目 1 0 0 ~ 1 0 2 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 1 0 4)

前記標的分子が、遺伝子編集アッセイにおける構成成分を含む、項目 1 または 3 2 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記遺伝子編集アッセイが、C R I S P R アッセイである、項目 1 0 4 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記構成成分が、C a s ヌクレアーゼ、標的D N A、D N A 標的化R N A、トランスクレアーゼ、活性化c r R N A (t r a c r R N A)、ドナー修復鑄型、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目 1 0 4 または 1 0 5 に記載の方法。

(項目 1 0 7)

前記構成成分が、C a s 9 ヌクレアーゼを含む、項目 1 0 6 に記載の方法。

(項目 1 0 8)

前記遺伝子編集アッセイが、N g A g o アッセイである、項目 1 0 4 に記載の方法。

(項目 1 0 9)

前記標的分子が、細胞分子である、項目 1 または 3 2 に記載の方法。

(項目 1 1 0)

前記標的分子が、細胞表面分子である、項目1または32に記載の方法。

(項目111)

前記標的分子が、炭水化物、脂質、タンパク質または核酸である、項目109または110に記載の方法。

(項目112)

前記標的分子が、タンパク質を含む、項目111に記載の方法。

(項目113)

前記タンパク質が、細胞骨格タンパク質、細胞外マトリクスタンパク質、血漿タンパク質、凝固因子、急性期タンパク質、血液タンパク質、細胞接着、膜貫通輸送タンパク質、イオンチャネル、シンポート／アンチポートタンパク質、ホルモン、増殖因子、受容体、DNA結合タンパク質、RNA結合タンパク質、転写調節タンパク質、免疫系タンパク質、栄養素貯蔵もしくは輸送タンパク質、シャペロンタンパク質、酵素、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目112に記載の方法。

(項目114)

前記標的分子が、核酸を含む、項目111に記載の方法。

(項目115)

前記核酸が、mRNA、tRNA、rRNA、snRNA、非コードRNA分子、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目114に記載の方法。

(項目116)

前記標的分子が、遺伝子編集アッセイにおける構成成分を含む、項目58または79に記載の組成物。

(項目117)

前記遺伝子編集アッセイが、CRISPRアッセイである、項目116に記載の組成物。

(項目118)

前記構成成分が、Casヌクレアーゼ、標的DNA、DNA標的化RNA、トランスクレアーゼ活性化crrRNA(tracrRNA)、ドナー修復錫型、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目116または117に記載の組成物。

(項目119)

前記構成成分が、Cas9ヌクレアーゼを含む、項目118に記載の組成物。

(項目120)

前記遺伝子編集アッセイが、NgAgoアッセイである、項目116に記載の組成物。

(項目121)

前記標的分子が、細胞分子である、項目58または79に記載の組成物。

(項目122)

前記標的分子が、細胞表面分子である、項目58または79に記載の組成物。

(項目123)

前記標的分子が、炭水化物、脂質、タンパク質または核酸である、項目121または122に記載の組成物。

(項目124)

前記標的分子が、タンパク質を含む、項目123に記載の組成物。

(項目125)

前記タンパク質が、細胞骨格タンパク質、細胞外マトリクスタンパク質、血漿タンパク質、凝固因子、急性期タンパク質、血液タンパク質、細胞接着、膜貫通輸送タンパク質、イオンチャネル、シンポート／アンチポートタンパク質、ホルモン、増殖因子、受容体、DNA結合タンパク質、RNA結合タンパク質、転写調節タンパク質、免疫系タンパク質、栄養素貯蔵もしくは輸送タンパク質、シャペロンタンパク質、酵素、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目124に記載の組成物。

(項目126)

前記標的分子が、核酸を含む、項目123に記載の組成物。

(項目127)

前記核酸が、mRNA、tRNA、rRNA、snRNA、非コードRNA分子、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目126に記載の組成物。

(項目128)

前記標的分子が、遺伝子編集アッセイにおける構成成分を含む、項目100または102に記載のキット。

(項目129)

前記遺伝子編集アッセイが、CRISPRアッセイである、項目128に記載のキット。

(項目130)

前記構成成分が、Casヌクレアーゼ、標的DNA、DNA標的化RNA、トランスクレアーゼ、活性化cRNA (tracrRNA)、ドナー修復型、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目128または129に記載のキット。

(項目131)

前記構成成分が、Cas9ヌクレアーゼを含む、項目130に記載のキット。

(項目132)

前記遺伝子編集アッセイが、NgAgoアッセイである、項目128に記載のキット。

(項目133)

前記標的分子が、細胞分子である、項目100または102に記載のキット。

(項目134)

前記標的分子が、細胞表面分子である、項目100または102に記載のキット。

(項目135)

前記標的分子が、炭水化物、脂質、タンパク質または核酸である、項目133または134に記載のキット。

(項目136)

前記標的分子が、タンパク質を含む、項目135に記載のキット。

(項目137)

前記タンパク質が、細胞骨格タンパク質、細胞外マトリクスタンパク質、血漿タンパク質、凝固因子、急性期タンパク質、血液タンパク質、細胞接着、膜貫通輸送タンパク質、イオンチャネル、シンポート／アンチポートタンパク質、ホルモン、増殖因子、受容体、DNA結合タンパク質、RNA結合タンパク質、転写調節タンパク質、免疫系タンパク質、栄養素貯蔵もしくは輸送タンパク質、シャペロンタンパク質、酵素、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目136に記載のキット。

(項目138)

前記標的分子が、核酸を含む、項目135に記載のキット。

(項目139)

前記核酸が、mRNA、tRNA、rRNA、snRNA、非コードRNA分子、またはこれらのいずれかの組み合わせを含む、項目138に記載のキット。

(項目140)

前記二本鎖核酸標識を第3の核酸と接触させるステップをさらに含み、前記第3の核酸が、前記第1の核酸の配列、前記第2の核酸の配列またはその両方に相補的な配列を含む、項目1～31のいずれか一項に記載の方法。

(項目141)

前記第3の核酸が、前記第1の核酸の前記配列、前記第2の核酸の前記配列またはその両方に結合する、項目140に記載の方法。

(項目142)

前記第3の核酸が、前記第1の核酸の前記配列および前記第2の核酸の前記配列に結合し、これにより、3方向分枝を作り出す、項目141に記載の方法。

(項目143)

前記3方向分枝が、少なくとも2個のオーバーハングを含む、項目142に記載の方法

。

(項目 144)

前記第3の核酸を第4の核酸と接触させるステップをさらに含み、前記第4の核酸が、前記第1の核酸の配列、前記第2の核酸の配列、前記第3の核酸の配列、またはこれらのいずれかの組み合わせに相補的な配列を含む、項目140に記載の方法。

(項目 145)

前記第4の核酸が、前記第3の核酸の前記配列および前記第1の核酸の前記配列または前記第2の核酸の前記配列に結合し、これにより、4方向分枝を作り出す、項目144に記載の方法。

(項目 146)

前記4方向分枝が、少なくとも3個のオーバーハングを含む、項目145に記載の方法。

。

(項目 147)

前記オーバーハングのうち少なくとも2個が、同じ配列または特有の配列を含む、項目143または146に記載の方法。

(項目 148)

前記オーバーハングのうち少なくとも2個が、相補的配列を含む、項目143または146に記載の方法。

(項目 149)

前記オーバーハングのうち少なくとも1個を検出標識と接触させるステップをさらに含む、項目140～148のいずれか一項に記載の方法。

(項目 150)

前記検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目149に記載の方法。

(項目 151)

前記検出標識が、前記オーバーハングのうち前記少なくとも1個に相補的なオーバーハングを含む、項目149に記載の方法。

(項目 152)

前記検出標識が、直接的ハイブリダイゼーション、酵素的ライゲーションまたは化学的ライゲーションによって、前記オーバーハングのうち前記少なくとも1個に連結される、項目149～151のいずれか一項に記載の方法。

(項目 153)

第3の核酸をさらに含み、前記第3の核酸が、前記第1の核酸の配列、前記第2の核酸の配列またはその両方に相補的な配列を含む、項目58～78のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 154)

前記第3の核酸が、前記第1の核酸の前記配列および前記第2の核酸の前記配列に結合し、これにより、3方向分枝を作り出す、項目153に記載の組成物。

(項目 155)

前記3方向分枝が、少なくとも2個のオーバーハングを含む、項目154に記載の組成物。

(項目 156)

第4の核酸をさらに含み、前記第4の核酸が、前記第1の核酸の配列、前記第2の核酸の配列、前記第3の核酸の配列、またはこれらのいずれかの組み合わせに相補的な配列を含む、項目155に記載の組成物。

(項目 157)

前記第4の核酸が、前記第3の核酸の前記配列および前記第1の核酸の前記配列または前記第2の核酸の前記配列に結合し、これにより、4方向分枝を作り出す、項目156に記載の組成物。

(項目 158)

前記4方向分枝が、少なくとも3個のオーバーハングを含む、項目157に記載の組成

物。

(項目159)

前記オーバーハングのうち少なくとも2個が、同じ配列または特有の配列を含む、項目155または158に記載の組成物。

(項目160)

前記オーバーハングのうち少なくとも2個が、相補的配列を含む、項目155または158に記載の組成物。

(項目161)

検出標識をさらに含む、項目153～160のいずれか一項に記載の組成物。

(項目162)

前記検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目161に記載の組成物。

(項目163)

前記検出標識が、前記オーバーハングのうち前記少なくとも1個に相補的なオーバーハングを含む、項目162に記載の組成物。

(項目164)

前記二本鎖核酸標識を検出標識と接触させるステップをさらに含む、項目32～57のいずれか一項に記載の方法。

(項目165)

前記検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目164に記載の方法。

(項目166)

前記検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを含む、項目165に記載の方法。

(項目167)

前記検出標識が、直接的ハイブリダイゼーション、酵素的ライゲーションまたは化学的ライゲーションによって、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに連結される、項目164～166のいずれか一項に記載の方法。

(項目168)

前記検出標識を第2の検出標識と接触させるステップをさらに含む、項目164～167のいずれか一項に記載の方法。

(項目169)

前記第2の検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目168に記載の方法。

(項目170)

前記第2の検出標識が、前記検出標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを含む、項目169に記載の方法。

(項目171)

前記少なくとも1個の検出標識が、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを含む、項目86に記載の組成物。

(項目172)

前記少なくとも1個の検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目171に記載の組成物。

(項目173)

前記少なくとも1個の検出標識が、直接的ハイブリダイゼーション、酵素的ライゲーションまたは化学的ライゲーションによって、前記二本鎖核酸標識の前記オーバーハングに連結される、項目171または172に記載の組成物。

(項目174)

第2の検出標識をさらに含む、項目171～173のいずれか一項に記載の組成物。

(項目175)

前記第2の検出標識が、前記少なくとも1個の検出標識の前記オーバーハングに相補的なオーバーハングを含む、項目174に記載の組成物。

(項目176)

前記第2の検出標識が、3方向分枝または4方向分枝を含む、項目175に記載の組成物。

(項目177)

前記項目のいずれか一項に記載の組成物を含む、項目100～103および128～139のいずれか一項に記載のキット。