

【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4年8月4日(2022.8.4)

【公開番号】特開2022-23100(P2022-23100A)

【公開日】令和4年2月7日(2022.2.7)

【年通号数】公開公報(特許)2022-022

【出願番号】特願2021-164668(P2021-164668)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/6876(2018.01)

10

C 12 Q 1/6869(2018.01)

C 12 N 15/09(2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/6876 Z Z N A

C 12 Q 1/6869 Z

C 12 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和4年7月27日(2022.7.27)

20

【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】

標的結合ドメインとバーコードドメインとを含むプローブであって、

前記標的結合ドメインは、少なくとも12個のヌクレオチドを含み、かつ標的核酸に結合することができ、

前記バーコードドメインは合成主鎖を含み、前記バーコードドメインは少なくとも4つの付着位置を含み、各付着位置は、少なくとも1つの付着領域を含み、かつ前記付着領域は、相補的核酸分子により結合することができる少なくとも1つの核酸配列を含み、前記少なくとも4つの付着位置は、標的結合ドメインの配列に相当し、前記少なくとも4つの付着位置の各々は、異なった核酸配列を有し、

前記少なくとも4つの付着位置の各位置の前記核酸配列は、前記標的結合ドメインにより結合される前記標的核酸中の本体を決定する、プローブ。

【請求項2】

前記合成主鎖が1本鎖DNAを含む、請求項1に記載のプローブ。

【請求項3】

主鎖ドメインの各位置が、(a)同一数の付着領域、(b)1つの付着領域、または(c)2つ以上の付着領域を含む、請求項1に記載のプローブ。

【請求項4】

各付着位置が、8ヌクレオチド～20ヌクレオチドを含む、請求項1に記載のプローブ。

【請求項5】

各付着位置が14ヌクレオチドを含む、請求項4に記載のプローブ。

【請求項6】

前記バーコードドメインの第1の付着位置の第1の付着領域にハイブリダイズした相補的核酸分子を更に含む、請求項1～5のいずれか1項に記載のプローブ。

【請求項7】

前記相補的核酸分子が検出可能標識物を含む、請求項6に記載のプローブ。

50

**【請求項 8】**

前記相補的核酸分子がレポーター複合体の相補的核酸分子である、請求項6に記載のプローブ。

**【請求項 9】**

前記相補的核酸分子が、1次核酸分子に直接または間接に連結されている、請求項8に記載のプローブ。

**【請求項 10】**

前記1次核酸分子が、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの2次核酸分子にハイブリダイズしている、請求項9に記載のプローブ。

**【請求項 11】**

各2次核酸分子が、少なくとも1つの検出可能標識物を含む、請求項10に記載の配列決定プローブ。

**【請求項 12】**

各2次核酸分子が、少なくとも1つの検出可能標識物を含む、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたは7つの3次核酸分子にハイブリダイズしている、請求項10に記載のプローブ。

**【請求項 13】**

請求項1～5のいずれか1項に記載の複数のプローブを含むプローブ集団。

**【請求項 14】**

(1) 請求項1～5のいずれか1項に記載の複数のプローブを含む第1のプローブの少なくとも第1の集団を、標的核酸にハイブリダイズするステップ、

(2) 検出可能標識物を含む第1の相補的核酸分子、または検出可能標識物を含む第1のレポーター複合体の第1の相補的核酸分子を、少なくとも4つの付着位置の第1の付着位置に結合させるステップ、

(3) 前記結合された第1の相補的核酸分子の検出可能標識物、または前記結合された第1のレポーター複合体の検出可能標識物を検出するステップ、

(4) 前記第1の相補的核酸分子または前記第1のレポーター複合体の検出可能標識物を、前記第1の付着位置から結合をはずすステップ、

(5) 検出可能標識物を含む第2の相補的核酸分子、または検出可能標識物を含む第2のレポーター複合体の第2の相補的核酸分子を、少なくとも4つの付着位置の第2の付着位置に結合させるステップ、

(6) 前記結合された第2の相補的核酸分子の検出可能標識物、または前記結合された第2のレポーター複合体の検出可能標識物を検出するステップ、

(7) 前記少なくとも4つの付着位置の各付着位置が、検出可能標識物を含む相補的核酸分子、または検出可能標識物を含むレポーター複合体の相補的核酸分子によって結合され、前記結合された相補的核酸分子の検出可能標識物、または前記結合されたレポーター複合体の検出可能標識物が検出され、それによって、前記第1のプローブの前記標的結合ドメインによってハイブリダイズされた標的核酸を同定するまで、ステップ(4)～(6)を繰り返す工程

を含む、方法。

**【請求項 15】**

ステップ(4)および(5)が連続してまたは同時に行われる、請求項14に記載の方法。

**【請求項 16】**

検出可能な標識物を含む第1のレポーター複合体の第1の相補的核酸分子が、1次核酸分子に直接または間接に連結される、請求項14に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記1次核酸分子が、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの2次核酸分子にハイブリダイズされている、請求項16に記載の方法。

**【請求項 18】**

10

20

30

40

50

各 2 次核酸分子が、少なくとも 1 つの検出可能標識物を含む、請求項 1 7 に記載の方法。

**【請求項 1 9】**

各 2 次核酸分子が、少なくとも 1 つの検出可能標識物を含む、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つまたは 7 つの 3 次核酸分子にハイブリダイズしている、請求項 1 6 に記載の方法。

10

20

30

40

50