

【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】平成27年3月19日(2015.3.19)

【公表番号】特表2014-513916(P2014-513916A)

【公表日】平成26年6月19日(2014.6.19)

【年通号数】公開・登録公報2014-032

【出願番号】特願2013-551435(P2013-551435)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	14/00	(2006.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/68	Z
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	14/00	
C 0 7 K	16/00	

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月30日(2015.1.30)

【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】

複数の標的が複数の細胞に存在するか否かを同定するための方法であって、該方法は、該標的に複数のタグを結合する工程であって、タグは、該標的の同一性を表すコードを含む核酸である、工程；および

複数個のAPSを該タグに付加して、該タグが結合している該細胞の同一性を表す、工程を包含する、方法。

【請求項2】

個々の細胞の分離または単離が、前記結合する工程に不必要である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記結合する工程中、单一細胞は、複数の細胞から単離されず、かつ該单一細胞を表すコードは、該結合する工程の前は未知である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記コードを検出する工程をさらに包含し、個々の細胞の分離または単離は、該検出する工程に不必要である、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

各標的が、タンパク質または核酸である、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記タグが、核酸である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記タグが、UBAを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記 U B A が、前記標的のうちの 1 つに特異的である、請求項7に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記 U B A が、抗体を含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記タグが、E S B を含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記 E S B が、共通リンカー（C L）を含む、請求項10に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記 E S B が、前記標的の同一性をコードする、請求項10に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記 E S B が、核酸を含む、請求項10に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記タグが、複数個のA P S、E S B およびU B A を含む、請求項10に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記 A P S が、検出可能に異なるコードユニットである、請求項14に記載の方法。

**【請求項 16】**

A P S が、分割プール合成の連続したラウンドにおいて順序づけられた様式で前記タグに付加される、請求項14に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記タグが、4 ~ 1 0 0 0 個（またはそれより多く）の個々に異なるコードのプールから各々に得られる少なくとも2個のA P S を含む、請求項14に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記 A P S が、核酸を含む、請求項14に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記複数個のA P S、前記E S B および前記U B A が、ライゲーションによって連結されている、請求項14に記載の方法。

**【請求項 20】**

前記複数個のA P S、前記E S B および / または前記U B A が、クリックケミストリーにによって連結されることが可能である、請求項14に記載の方法。

**【請求項 21】**

前記 A P S または前記 E S B が、増幅プライマー結合領域を含む、請求項14に記載の方法。

**【請求項 22】**

前記 U B A 、E S B または A P S が、鑄型になり得る、請求項14に記載の方法。

**【請求項 23】**

- a ) 第 1 の標的分子、
- b ) 該第 1 の標的分子に特異的な第 1 のユニーク結合物質（U B A）、
- c ) 第 1 の連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード（E S B）、および
- d ) 複数の順序づけられたアッセイ可能ポリマーサブユニット（A P S）

を含み、該 A P S の順序は、検出可能である、組成物。

**【請求項 24】**

前記結合する工程中、单一細胞は、前記複数の細胞から単離されず、かつ該单一細胞を表すコードは、該結合する工程の前に予測可能である、請求項1に記載の方法。

**【手続補正 2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 4】

いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書中に記載されるような UBA、ESB および / または APS の集団を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書中に記載されるような UBA、ESB および APS の集団ならびにそれを使用するための指示書を備えるキットを提供する。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

複数の標的が複数の細胞に存在するか否かを同定するための方法であって、該方法は、該標的に複数のタグを結合する工程を包含し、タグは、

a) 該標的の同一性、および

b) タグが結合している該細胞の同一性

を表すコードを含む、方法。

(項目 2)

個々の細胞の分離または単離が、前記結合する工程に必要である、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

標的に関連する単一細胞を同定するための方法であって、該方法は、該標的にタグを結合する工程を包含し、該タグは、

a) 該標的、および

b) 該単一細胞

を表すコードを含み、該結合する工程中、該単一細胞は、細胞の集団から単離されず、かつ該単一細胞を表す該コードは、該結合する工程の前は未知である、方法。

(項目 4)

前記コードを検出する工程をさらに包含し、個々の細胞の分離または単離は、該検出する工程に必要である、項目 1 ~ 3 に記載の方法。

(項目 5)

各標的が、タンパク質または核酸である、項目 1 ~ 4 に記載の方法。

(項目 6)

前記タグが、核酸である、項目 1 ~ 5 に記載の方法。

(項目 7)

前記タグが、UBA を含む、項目 1 ~ 6 に記載の方法。

(項目 8)

前記UBA が、前記標的のうちの 1 つに特異的である、項目 1 ~ 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記タグが、UBA を含む、項目 1 ~ 8 に記載の方法。

(項目 10)

前記UBA が、抗体を含む、項目 1 ~ 9 に記載の方法。

(項目 11)

前記タグが、ESB を含む、項目 1 ~ 10 に記載の方法。

(項目 12)

前記ESB が、共通リンカー (CL) を含む、項目 1 ~ 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記ESB が、該標的の同一性をコードする、項目 1 ~ 12 に記載の方法。

(項目 14)

前記ESB が、核酸を含む、項目 1 ~ 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記タグが、APS を含む、項目 1 ~ 14 に記載の方法。

(項目 16)

前記APS が、検出可能な検出可能に異なるコードユニットである、項目 1 ~ 15 に記載の方法。

(項目 17)

前記結合する工程中に、複数個のAPSが、分割プール合成の連続したラウンドにおいて順序づけられた様式で該タグに付加される、項目1～16に記載の方法。

(項目18)

前記タグが、少なくとも10個のAPSを含む、項目1～17に記載の方法。

(項目19)

前記APSが、核酸を含む、項目1～18に記載の方法。

(項目20)

前記タグが、ライゲーションによって連結された、複数個のAPS、ESBおよびUBAを含む、項目1～19に記載の方法。

(項目21)

複数個のAPS、前記ESBおよび／または前記UBAが、クリックケミストリーで連結されることが可能である、項目1～20に記載の方法。

(項目22)

前記APSまたは前記ESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目1～21に記載の方法。

(項目23)

前記UBA、ESBまたはAPSが、铸型になり得る、項目1～22に記載の方法。

(項目24)

a) 第1の標的分子、

b) 該第1の標的分子に特異的な第1のユニーク結合物質(UBA)、

c) 第1の連結可能なUBA依存性のエピトープ特異的バーコード(ESB)、および

d) 複数の順序づけられたアッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)

を含み、該APSの順序は、検出可能である、組成物。

(項目25)

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目24に記載の組成物。

(項目26)

粒子の集団を含む組成物であって、該粒子の各々は、少なくとも第1の標的分子を含み、該第1の標的分子は、

(a) 該第1の標的分子に特異的な第1のユニーク結合物質(UBA)、

(b) 第1の連結可能なUBA依存性のエピトープ特異的バーコード(ESB)、および

(c) 第1の複数の順序づけられたアッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)

と関連しており、ここで、該集団中の第1の粒子の該第1の標的分子と関連している該複数の順序づけられたAPSは、該集団中の第2の粒子の該第1の標的分子と関連している該複数の順序づけられたAPSと検出可能に異なる、組成物。

(項目27)

前記複数の順序づけられたAPSは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20個のAPSを含む、項目24～26に記載の組成物。

(項目28)

前記複数の順序づけられたAPSは、20個より多いAPSを含む、項目24～27に記載の組成物。

(項目29)

前記APSは、铸型になり得る、項目24～28に記載の組成物。

(項目30)

少なくとも1つの粒子が、細胞、リポソーム、細胞小器官、ミセル、液滴およびビーズからなる群より選択される、項目26～29に記載の組成物。

(項目31)

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目26～30に記載の組成物。

(項目32)

前記第1のESBが、第1の共通リンカー(CL)を含む、項目24～31に記載の組成物。

(項目33)

前記第1の標的分子が、前記第1のUBAに直接結合されており、前記第1のESBが、該第1のUBAに直接結合されている、項目24～32に記載の組成物。

(項目34)

前記複数の順序づけられたAPSが、別個のラウンドにおけるAPSの段階的付加によって形成されている、項目24～33に記載の組成物。

(項目35)

各ラウンドにおいて付加された前記APSが、第1の複合体に連結されている、34に記載の組成物。

(項目36)

前記連結が、ラウンドの順序においてされている、項目34～35に記載の組成物。

(項目37)

APS、ESBまたはUBAの前記連結が、化学的方法を用いて行われている、項目24～36に記載の組成物。

(項目38)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目37に記載の組成物。

(項目39)

前記連結が、Cu<sup>I</sup>の存在下で行われている、項目35～38に記載の組成物。

(項目40)

UBA、APSまたはESBが、核酸を含む、項目24～39に記載の組成物。

(項目41)

UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する第1および第2の相補的領域を含む第1の連結オリゴヌクレオチドをさらに含む、40に記載の組成物。

(項目42)

UBA、APSまたはESBが、UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する前記第1および第2の相補的領域を含む連結オリゴヌクレオチドを用いて連結されている、項目40～41に記載の組成物。

(項目43)

UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する第3および第4の相補的領域を含む第2の連結オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目40～42に記載の組成物。

(項目44)

UBA、APSまたはESBが、UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する前記第3および第4の相補的領域を含む連結オリゴヌクレオチドを用いて連結されている、項目40～43に記載の組成物。

(項目45)

前記第2および第4の相補的領域が、同一である、項目43～44に記載の組成物。

(項目46)

前記第2および第4の相補的領域が、同一である、項目43～45に記載の組成物。

(項目47)

前記第1または第2の相補的領域が、前記複数のAPSのうちの2つのAPS間で共有されている、項目41～46に記載の組成物。

(項目48)

前記連結が、ライゲーションによって行われている、項目42～47に記載の組成物。

(項目49)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記APSまたは前記ESBの起源をコードするサブコードを含む、項目41～48に記載の組成物。

(項目50)

前記APSが、該APSの起源をコードするサブコードを有する、項目24～49に記載の組成物。

(項目51)

前記ESBが、該ESBの起源をコードするサブコードを有する、項目24～50に記載の組成物。

(項目52)

個別のAPS、ESBまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目24～51に記載の組成物。

(項目53)

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目52に記載の組成物。

(項目54)

前記ESBが、前記連結オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結されている、項目41～53に記載の組成物。

(項目55)

APSまたはESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目24～54に記載の組成物。

。

(項目56)

前記APSおよびESBが、連結される場合、二次産物をコードすることが可能である、項目24～55に記載の組成物。

(項目57)

前記二次産物が、RNAまたはペプチドである、項目56に記載の組成物。

(項目58)

前記APSおよびESBが、連結される場合、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目24～57に記載の組成物。

(項目59)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目57～58に記載の組成物。

(項目60)

前記親和性タグが、Hisタグである、項目59に記載の組成物。

(項目61)

前記UBA、ESBまたはAPSが、鋳型になり得る、項目24～60に記載の組成物。

(項目62)

プローブをさらに含む、項目24～61に記載の組成物。

(項目63)

前記プローブが、表面に付着させられている、項目24～62に記載の組成物。

(項目64)

前記表面が、アレイを含む、項目24～63に記載の組成物。

(項目65)

前記表面が、ビーズを含む、項目24～64に記載の組成物。

(項目66)

前記UBAが、抗体、ペプチド、アプタマー、ペプトイドおよび核酸からなる群より選択される、項目24～65に記載の組成物。

(項目67)

前記ESBが、核酸、ビーズおよび化学サブユニットからなる群より選択される、項目24～66に記載の組成物。

(項目68)

前記APSが、決定論的重量の核酸、小分子または組立可能な複合分子を含む、項目24

~ 6 7 に記載の組成物。

( 項目 6 9 )

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、  
( a ) m 個のアッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) の n 個のセットであって、  
各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形  
式で連結されることが可能である、セット；

( b ) 標的分子特異的なユニーク結合物質 ( U B A )  
を備える、キット。

( 項目 7 0 )

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、  
( a ) m 個のアッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) の n 個のセットであって、  
各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形  
式で連結されることが可能である、セット；

( b ) 標的分子特異的な複数のユニーク結合物質 ( U B A ) であって、各々は、 U B A  
特異的なエピトープ特異的バーコード ( E S B ) と連結されている、標的分子特異的な複  
数のユニーク結合物質 ( U B A )  
を備える、キット。

( 項目 7 1 )

細胞の集団中の細胞の標的分子を細胞起源バーコードで標識するためのキットであって、  
( a ) m 個のアッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) の n 個のセットであって、  
各々は、異なる情報パッケージを含み；ここで、該情報パッケージは、順序づけられた形  
式で連結されることが可能である、セット；

( b ) 標的分子特異的な複数のユニーク結合物質 ( U B A ) ；  
( c ) U B A 特異的な複数のエピトープ特異的バーコード ( E S B ) であって、各 E S  
B は、指定の U B A と連結することが可能である、 U B A 特異的な複数のエピトープ特異  
的バーコード ( E S B )  
を備える、キット。

( 項目 7 2 )

n が、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 または 10 である、項目 6 9 ~ 7 1 に記載の  
キット。

( 項目 7 3 )

m が、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、  
17 、 18 、 19 または 20 である、項目 6 9 ~ 7 2 に記載のキット。

( 項目 7 4 )

n が、 10 より大きい、項目 6 9 ~ 7 3 に記載のキット。

( 項目 7 5 )

m が、 20 より大きい、項目 6 9 ~ 7 4 に記載のキット。

( 項目 7 6 )

第 1 の E S B が、第 1 の共通リンカー ( C L ) を含む、項目 7 0 ~ 7 5 に記載のキット。

( 項目 7 7 )

前記 E S B が、前記 U B A に直接結合することが可能である、項目 7 0 ~ 7 6 に記載のキ  
ット。

( 項目 7 8 )

前記 U B A が、前記標的分子に直接結合することが可能である、項目 6 9 ~ 7 7 に記載の  
キット。

( 項目 7 9 )

前記アッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) のセットのうちの少なくとも 2 つが、  
同一である、項目 6 9 ~ 7 8 に記載のキット。

( 項目 8 0 )

第 1 のセット中の前記 A P S が、第 2 のセット中の前記 A P S と連結可能である、項目 6

9～79に記載のキット。

(項目81)

第1のセット中の前記APSが、順序づけられた形式で第2のセット中の前記APSとさらに連結可能である、項目80に記載のキット。

(項目82)

APS、ESBまたはUBAが、化学的方法を用いて連結されることが可能である、項目79～81に記載のキット。

(項目83)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目82に記載のキット。

(項目84)

Cu<sup>I</sup>の存在が、連結のために必要とされる、項目82～83に記載のキット。

(項目85)

UBA、APSまたはESBが、核酸を含む、項目69～84に記載のキット。

(項目86)

UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する第1および第2の相補的領域を含む第1の連結オリゴヌクレオチドをさらに備える、項目85に記載のキット。

。

(項目87)

UBA、APSおよびESBから選択される2つの構成要素に対する第3および第4の相補的領域を含む第2の連結オリゴヌクレオチドをさらに備える、項目86に記載のキット。

。

(項目88)

前記第1および第3の相補的領域が、同一である、項目87に記載のキット。

(項目89)

前記第2および第4の相補的領域が、同一である、項目86～87に記載のキット。

(項目90)

APS、ESBまたはUBAが、ライゲーションによって連結されることが可能である、項目85～89に記載のキット。

(項目91)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記APSまたは前記ESBの起源のセットをコードするサブコードを含む、項目86～90に記載のキット。

(項目92)

前記APSが、該APSの起源集団をコードするサブコードを有する、項目69～91に記載のキット。

(項目93)

前記ESBが、該ESBの起源集団をコードするサブコードを有する、項目69～92に記載のキット。

(項目94)

個々のAPS、ESBまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目69～93に記載のキット。

(項目95)

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目94に記載のキット。

(項目96)

前記ESBが、前記連結オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結される、項目86～95に記載のキット。

(項目97)

APSまたはESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目69～96に記載のキット。

。

(項目98)

前記APSおよびESBが、連結される場合、二次産物をコードすることが可能である、

項目 6 9 ~ 9 7 に記載のキット。

( 項目 9 9 )

前記二次産物が、 R N A またはペプチドである、 項目 9 8 に記載のキット。

( 項目 1 0 0 )

前記 A P S および E S B が、 連結される場合、 ポリメラーゼ開始部位を含む、 項目 6 9 ~ 9 9 に記載のキット。

( 項目 1 0 1 )

前記ペプチドが、 親和性タグを含む、 項目 9 9 ~ 1 0 0 に記載のキット。

( 項目 1 0 2 )

前記親和性タグが、 H i s タグである、 項目 1 0 1 に記載のキット。

( 項目 1 0 3 )

前記 U B A 、 E S B または A P S が、 鑄型になり得る、 項目 6 9 ~ 1 0 2 に記載のキット

。

( 項目 1 0 4 )

プローブをさらに備える、 項目 6 9 ~ 1 0 3 に記載のキット。

( 項目 1 0 5 )

前記プローブが、 表面に付着させられている、 項目 6 9 ~ 1 0 4 に記載のキット。

( 項目 1 0 6 )

前記表面が、 アレイを含む、 項目 6 9 ~ 1 0 5 に記載のキット。

( 項目 1 0 7 )

前記表面が、 ビーズを含む、 項目 6 9 ~ 1 0 6 に記載のキット。

( 項目 1 0 8 )

前記複数の U B A が、 2 、 3 、 4 、 5 、 1 0 、 2 0 、 3 0 、 5 0 、 1 0 0 、 2 0 0 、 3 0 0 、 5 0 0 、 6 0 0 、 7 0 0 、 8 0 0 、 9 0 0 、 1 0 0 0 個または 1 0 0 0 個より多い U B A を含む、 項目 6 9 ~ 1 0 7 に記載のキット。

( 項目 1 0 9 )

前記複数の U B A が、 最大 2 0 0 0 個の U B A を含む、 項目 6 9 ~ 1 0 8 に記載のキット

。

( 項目 1 1 0 )

前記 U B A が、 抗体、 ペプチド、 アブタマー、 ペプトイドおよび核酸からなる群より選択される、 項目 6 9 ~ 1 0 9 に記載のキット。

( 項目 1 1 1 )

前記 E S B が、 核酸、 ビーズおよび化学サブユニットからなる群より選択される、 項目 6 9 ~ 1 1 0 に記載のキット。

( 項目 1 1 2 )

前記 A P S が、 決定論的重量の核酸、 小分子または組立可能な複合分子を含む、 項目 6 9 ~ 1 1 1 に記載のキット。

( 項目 1 1 3 )

共通の粒子起源を共有している標的分子を同定するための方法であって、 該方法は、  
x 個の粒子の集団中の第 1 の粒子の第 1 の複数の標的を第 1 の起源バーコードで標識する工程； および

x 個の粒子の集団中の第 2 の粒子の第 2 の複数の標的を第 2 の起源バーコードで標識する工程；

を包含し、 ここで、 各起源バーコードは、 n 個のアッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) のセットを含み、 ここで、 該 A P S の第 1 および第 2 のセット中の該 n 個の A P S の各々は、 m 個の異なる A P S を含む群から選択され、 ここで、 該第 1 および第 2 の起源バーコードは、  $c = 1 - [ ( 1 - 1 / x ) ^ { ( m ^ n ) } ]$  の確実性で互いと検出可能に異なる、 方法。

( 項目 1 1 4 )

x が、 1 , 0 0 0 , 0 0 0 より大きい、 項目 1 1 3 に記載の方法。

(項目115)

cが、99.9%より大きい、項目113～114に記載の方法。

(項目116)

cが、99.99%より大きい、項目113～115に記載の方法。

(項目117)

cが、99.999%より大きい、項目113～116に記載の方法。

(項目118)

cが、99.9999%より大きい、項目113～117に記載の方法。

(項目119)

cが、99.99999%より大きい、項目113～118に記載の方法。

(項目120)

nが、2、3、4、5、6、7、8、9または10である、項目113～119に記載の方法。

(項目121)

mが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20である、項目113～120に記載の方法。

(項目122)

nが、10より大きい、項目113～121に記載の方法。

(項目123)

mが、20より大きい、項目113～122に記載の方法。

(項目124)

少なくとも1つの別々の粒子が、細胞、リポソーム、細胞小器官、ミセル、液滴およびビーズからなる群より選択される、項目113～123に記載の方法。

(項目125)

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目113～124に記載の方法。

(項目126)

m個の異なるAPSを含む少なくとも2つの群が、同一である、項目113～125に記載の方法。

(項目127)

前記n個のAPSが、別個のラウンドにおいて付加される、項目113～126に記載の方法。

(項目128)

別個のラウンドの前記APSが、連結される、項目113～127に記載の方法。

(項目129)

前記連結が、ラウンドの順序においてされる、項目128に記載の方法。

(項目130)

粒子の集団の粒子の構成要素に粒子特異的コードを付与する方法であって、該方法は、アッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)の第1の順序づけられたセットを粒子の集団の第1の粒子の第1の構成要素に連結する工程を包含し、ここで、該APSの順序は、検出方法によって検出可能である、方法。

(項目131)

前記第1の構成要素と連結されたAPSの前記第1の順序づけられたセットを検出することによって、該第1の構成要素の粒子の起源を決定する工程をさらに包含する、項目130に記載の方法。

(項目132)

アッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)の第2の順序づけられたセットを粒子の集団の前記第1の粒子の第2の構成要素に連結する工程をさらに包含し、ここで、該APSの順序は、検出可能である、項目130～131に記載の方法。

(項目133)

前記第2の構成要素と連結されたAPSの前記第2の順序づけられたセットを検出することによって、該第2の構成要素の粒子の起源を決定する工程をさらに包含する、項目132に記載の方法。

(項目134)

前記第1の粒子の前記第1および第2の構成要素と連結されたAPSの前記第1および第2の順序づけられたセットが、同じである、項目130～133に記載の方法。

(項目135)

アッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)の第3の順序づけられたセットを粒子の集団の第2の粒子の第1の構成要素に連結する工程をさらに包含し、ここで、該APSの順序は、検出可能である、項目130～134に記載の方法。

(項目136)

前記第1の粒子の前記第1の構成要素と連結されたAPSの前記第1の順序づけられたセットが、前記第2の粒子の前記第1の構成要素と連結されたアッセイ可能ポリマーサブユニットの前記第3の順序づけられたセットと異なる、項目135に記載の方法。

(項目137)

構成要素特異的なエピトープ特異的バーコード(ESB)を前記第1の構成要素に連結する工程をさらに包含する、項目130～136に記載の方法。

(項目138)

構成要素特異的なESBを前記第2の構成要素に連結する工程をさらに包含する、項目130～137に記載の方法。

(項目139)

少なくとも前記粒子が、細胞、リポソーム、細胞小器官、ミセル、液滴およびビーズからなる群より選択される、項目130～138に記載の方法。

(項目140)

少なくとも1つの標的分子が、前記第1のUBAに直接結合され、前記ESBが、該UBAに直接結合される、項目130～139に記載の方法。

(項目141)

前記アッセイ可能ポリマーサブユニット(APS)のセットのうちの少なくとも2つが、同一である、項目130～140に記載の方法。

(項目142)

APSの前記順序づけられたセットの各APSが、第1の複合体に連結される、項目130～141に記載の方法。

(項目143)

前記連結が、ラウンドの順序においてされる、項目142に記載の方法。

(項目144)

前記UBA、ESBまたはAPSが、二次産物をコードする、項目130～143に記載の方法。

(項目145)

前記二次産物が、RNAまたはペプチドである、項目144に記載の方法。

(項目146)

前記UBA、ESBまたはAPSが、鋳型になり得る、項目130～145に記載の方法。

。

(項目147)

前記ESBが、ユニークなカウンタータグをさらに含む、項目137～146に記載の方法。

(項目148)

分子の前記標的分子の量が、前記カウンタータグを用いて推定される、項目147に記載の方法。

(項目149)

前記 A P S が、ラウンド特異的サブコードをさらに含む、前述の項目 1 4 3 ~ 1 4 8 のいずれかに記載の方法。

(項目 1 5 0 )

前記検出が、指定のラウンドの A P S の存在の決定をさらに含む、項目 1 4 9 に記載の方法。

(項目 1 5 1 )

検出が、デジタルである、項目 1 3 0 ~ 1 5 0 に記載の方法。

(項目 1 5 2 )

検出が、間接的である、項目 1 3 0 ~ 1 5 1 に記載の方法。

(項目 1 5 3 )

検出が、質量分析を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 2 に記載の方法。

(項目 1 5 4 )

検出が、核酸配列決定を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 5 )

検出が、ペプチド配列決定を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 4 に記載の方法。

(項目 1 5 6 )

検出が、大規模ゲル電気泳動を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 5 に記載の方法。

(項目 1 5 7 )

検出が、H P L C または他のクロマトグラフィー分離を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 6 に記載の方法。

(項目 1 5 8 )

検出が、1 つ以上の個々の A P S に関連する 1 つ以上のシグナルの検出を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 7 に記載の方法。

(項目 1 5 9 )

前記シグナルが、順序づけられている、項目 1 5 8 に記載の方法。

(項目 1 6 0 )

検出が、1 つ以上のプローブの使用を含む、項目 1 3 0 ~ 1 5 9 に記載の方法。

(項目 1 6 1 )

前記プローブが、表面に付着させられている、項目 1 6 0 に記載の方法。

(項目 1 6 2 )

前記表面が、アレイを含む、項目 1 6 1 に記載の方法。

(項目 1 6 3 )

前記表面が、ビーズを含む、項目 1 6 1 に記載の方法。

(項目 1 6 4 )

検出が、分離を含む、項目 1 3 0 ~ 1 6 3 に記載の方法。

(項目 1 6 5 )

前記分離が、多次元的である、項目 1 6 4 に記載の方法。

(項目 1 6 6 )

前記分離が、第 1 の連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード ( E S B ) を第 2 の連結可能な U B A 依存性のエピトープ特異的バーコード ( E S B ) から分ける、項目 1 6 4 ~ 1 6 5 に記載の方法。

(項目 1 6 7 )

3 、 4 、 5 、 1 0 、 2 0 、 3 0 、 5 0 、 1 0 0 、 2 0 0 、 3 0 0 、 5 0 0 、 6 0 0 、 7 0 0 、 8 0 0 、 9 0 0 、 1 0 0 0 個または 1 0 0 0 個より多い異なる標的分子が、検出される、項目 1 3 0 ~ 1 6 6 に記載の方法。

(項目 1 6 8 )

最大 2 0 0 0 個の異なる標的分子が、検出される、項目 1 3 0 ~ 1 6 7 に記載の方法。

(項目 1 6 9 )

前記 U B A が、抗体、ペプチド、アプタマー、ペプトイドおよび核酸からなる群より選択される、項目 1 3 0 ~ 1 6 8 に記載の方法。

(項目170)

前記E S Bが、核酸、ビーズおよび化学サブユニットからなる群より選択される、項目130～169に記載の方法。

(項目171)

前記A P Sが、決定論的重量の核酸、小分子または組立可能な複合分子を含む、項目130～170に記載の方法。

(項目172)

前記A P Sが、ライゲーションまたは重合を介した伸長によって連結される、項目130～171に記載の方法。

(項目173)

細胞起源バーコード(C O B)が、前記A P Sの前記順序づけられたセットのA P Sを用いて生成される、項目130～172に記載の方法。

(項目174)

複数の複合体内の各C O Bが、該C O Bと細胞の前記集団中の他のC O Bとを区別する検出可能なシグナルまたは配列を有する、項目173に記載の方法。

(項目175)

A P S、E S BまたはU B Aが、化学的方法を用いて連結される、項目130～174に記載の方法。

(項目176)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目175に記載の方法。

(項目177)

前記連結が、Cu<sup>I</sup>の存在下で行われる、項目175～176に記載の方法。

(項目178)

U B A、A P SまたはE S Bが、核酸を含む、項目130～177に記載の方法。

(項目179)

U B A、A P SまたはE S Bの前記連結が、連結される2つの構成要素に対する第1および第2の相補的領域を含む連結オリゴヌクレオチドを用いて行われる、項目178に記載の方法。

(項目180)

前記第1または第2の相補的領域が、A P Sの集団内のA P S間で共有されている、項目179に記載の方法。

(項目181)

前記第1または第2の相補的領域が、A P Sの2つの異なるラウンド特異的セットに関して異なる、項目179～180に記載の方法。

(項目182)

ライゲーションをさらに含む、項目179～181に記載の方法。

(項目183)

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目130～182に記載の方法。

(項目184)

前記第1のE S Bが、第1の共通リンカー(C L)を含む、項目130～183に記載の方法。

(項目185)

前記第1のE S Bが、第1の共通リンカー(C L)を含む、項目130～184に記載の方法。

(項目186)

個々のA P S、E S Bまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目130～185に記載の方法。

(項目187)

検出が、前記ユニークなカウンタータグの検出を含む、項目186に記載の方法。

(項目188)

特定のE S Bと関連しているユニークなカウンタータグの数が決定される、項目187に記載の方法。

(項目189)

検出されたユニークなカウンタータグの数が、前記特定のE S Bの初期量に関係する、項目188に記載の方法。

(項目190)

前記E S Bが、前記連結オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結される、項目179～189に記載の方法。

(項目191)

A P SまたはE S Bが、増幅プライマー結合領域を含む、項目130～190に記載の方法。

(項目192)

C O Bが、ペプチド配列をコードする、項目173～191に記載の方法。

(項目193)

前記C O Bが、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目173～192に記載の方法。

(項目194)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目192～193に記載の方法。

(項目195)

前記親和性タグが、H i sタグである、項目194に記載の方法。

(項目196)

複数の別々の粒子を起源とする複数の特性を検出するための方法であって、該方法は、

a )

i ) 少なくとも第1の標的分子を含む粒子の集団、

i i ) 該第1の標的分子に特異的な第1のユニーク結合物質(U B A)、

i i i ) 第1の連結可能なU B A依存性のエピトープ特異的バーコード(E S B)、

i v ) ラウンド特異的な複数のアッセイ可能ポリマーサブユニット(A P S)のセットであって、各セットは、互いに検出可能に異なる複数のA P Sを含む、セットを提供する工程、

b ) 該少なくとも第1の標的分子、該第1のU B Aプローブおよび該第1のE S Bを含む少なくとも第1の複合体を形成する工程、

c ) nラウンドの分割プール合成を行う工程であって、各ラウンドは、

i ) 粒子の該集団をm個の反応体積に分割する工程、

i i ) 該ラウンドに特異的な該A P SのセットのA P Sと1つ以上の反応体積とを接触させる工程、

i i i ) 2つ以上の反応体積をプールする工程

を含む、工程、

d ) 粒子の該集団の少なくとも1つの粒子から複数の特性を検出する工程、を包含し、ここで、該特性の少なくとも1つは、該粒子に関連する標的分子についての量または同一性に関係する、方法。

(項目197)

複数の別々の粒子を起源とする複数の特性を検出するための方法であって、該方法は、

a )

i ) 少なくとも第1の標的分子を含む粒子の集団、

i i ) 該第1の標的分子に特異的な第1のユニーク結合物質(U B A)、

i i i ) 第1の連結可能なU B A依存性のエピトープ特異的バーコード(E S B)、および

i v ) ラウンド特異的な複数のアッセイ可能ポリマーサブユニット(A P S)のセットであって、各セットは、互いに検出可能に異なる複数のA P Sを含む、セット

を提供する工程、

b ) 該少なくとも第 1 の標的分子、該第 1 の U B A プローブおよび該第 1 の E S B を含む少なくとも第 1 の複合体を形成する工程、

c ) n ラウンドの分割プール合成を行う工程であって、各ラウンドは、

i ) 粒子の該集団を m 個の反応体積に分割する工程、

i i ) 該ラウンドに特異的な該 A P S のセットの A P S と 1 つ以上の反応体積とを接觸させる工程、および

i i i ) 2 つ以上の反応体積をプールする工程

を含む、工程、

d ) 工程 c ) の i ) および c ) の i i ) を含む分割プール合成の別のラウンドを行う工程、

e ) 粒子の該集団の少なくとも 1 つの粒子から複数の特性を検出する工程、  
を包含し、ここで、該特性の少なくとも 1 つは、該粒子に関連する標的分子についての量  
または同一性に関係する、方法。

( 項目 198 )

n が、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 または 20 である、項目 196 ~ 197 に記載の方法。

( 項目 199 )

n が、 20 より大きい、項目 196 ~ 198 に記載の方法。

( 項目 200 )

m が、少なくとも 2 ラウンドの間で異なる、項目 196 ~ 199 に記載の方法。

( 項目 201 )

m が、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 または 20 である、項目 196 ~ 200 に記載の方法。

( 項目 202 )

m が、 20 より大きい、項目 196 ~ 201 に記載の方法。

( 項目 203 )

少なくとも 1 つの別々の粒子が、細胞、リポソーム、細胞小器官、ミセル、液滴およびビーズからなる群より選択される、項目 196 ~ 202 に記載の方法。

( 項目 204 )

前記標的分子が、ペプチド、ポリペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、リンタンパク質、抗体、核酸、ペプチド核酸、合成小分子、二糖、三糖、オリゴ糖、多糖、脂質、ステロイドおよびリン脂質からなる群より選択される、項目 196 ~ 203 に記載の方法。

( 項目 205 )

前記第 1 の E S B が、第 1 の共通リンクマーク ( C L ) を含む、項目 196 ~ 204 に記載の方法。

( 項目 206 )

前記少なくとも 1 つの標的分子が、前記第 1 の U B A に直接結合され、前記 E S B が、該 U B A に直接結合される、項目 196 ~ 205 に記載の方法。

( 項目 207 )

前記アッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) のセットのうちの少なくとも 2 つが、同一である、項目 196 ~ 206 に記載の方法。

( 項目 208 )

各ラウンドにおいて付加される前記 A P S が、前記第 1 の複合体に連結される、項目 196 ~ 207 に記載の方法。

( 項目 209 )

前記連結が、ラウンドの順序においてされる、項目 208 に記載の方法。

( 項目 210 )

前記 U B A 、 E S B または A P S が、二次産物をコードする、項目 196 ~ 209 に記載の方法。

(項目211)

前記二次産物が、R N A またはペプチドである、項目210に記載の方法。

(項目212)

前記U B A、E S B またはA P S が、鑄型になり得る、項目196～211に記載の方法。

(項目213)

前記E S B が、ユニークなカウンタータグをさらに含む、項目196～212に記載の方法。

(項目214)

分子の標的分子の量が、前記カウンタータグを用いて推定される、項目213に記載の方法。

(項目215)

前記A P S が、ラウンド特異的サブコードをさらに含む、項目196～214に記載の方法。

(項目216)

前記検出が、指定のラウンドのA P S の存在の決定をさらに含む、項目215に記載の方法。

(項目217)

検出が、デジタルである、項目196～216に記載の方法。

(項目218)

検出が、間接的である、項目196～217に記載の方法。

(項目219)

検出が、質量分析を含む、項目196～218に記載の方法。

(項目220)

検出が、核酸配列決定を含む、項目196～219に記載の方法。

(項目221)

検出が、ペプチド配列決定を含む、項目196～220に記載の方法。

(項目222)

検出が、1つ以上の個々のA P S に関連する1つ以上のシグナルの検出を含む、項目196～221に記載の方法。

(項目223)

前記シグナルが、順序づけられている、項目222に記載の方法。

(項目224)

検出が、1つ以上のプローブの使用を含む、項目196～223に記載の方法。

(項目225)

前記プローブが、表面に付着させられている、項目224に記載の方法。

(項目226)

前記表面が、アレイを含む、項目225に記載の方法。

(項目227)

前記表面が、ビーズを含む、項目225に記載の方法。

(項目228)

検出が、分離を含む、項目196～227に記載の方法。

(項目229)

前記分離が、多次元的である、項目228に記載の方法。

(項目230)

前記分離が、前記第1の連結可能なU B A 依存性のエピトープ特異的バーコード(E S B )を第2の連結可能なU B A 依存性のエピトープ特異的バーコード(E S B )から分ける、項目228～229に記載の方法。

(項目231)

3、4、5、10、20、30、50、100、200、300、500、600、700

0、800、900、1000個または1000個より多い異なる標的分子が、検出される、項目196～230に記載の方法。

(項目232)

最大2000個の異なる標的分子が、検出される、項目196～231に記載の方法。

(項目233)

前記UBAが、抗体、ペプチド、アブタマー、ペプトイドおよび核酸からなる群より選択される、項目196～232に記載の方法。

(項目234)

前記ESBが、核酸、ビーズおよび化学サブユニットからなる群より選択される、項目196～233に記載の方法。

(項目235)

前記APSが、決定論的重量の核酸、小分子または組立可能な複合分子を含む、項目196～234に記載の方法。

(項目236)

前記APSが、ライゲーションまたは重合を介した伸長によって連結される、項目196～235に記載の方法。

(項目237)

細胞起源バーコード(COB)が、ラウンド特異的なAPSのセットのAPSから生成される、項目196～236に記載の方法。

(項目238)

複数の複合体内の各COBが、該COBと細胞の前記集団中の他のCOBとを区別する検出可能なシグナルまたは配列を有する、項目237に記載の方法。

(項目239)

APS、ESBまたはUBAが、化学的方法を用いて連結される、項目196～238に記載の方法。

(項目240)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目239に記載の方法。

(項目241)

前記連結が、Cu<sup>I</sup>の存在下で行われる、項目239～240に記載の方法。

(項目242)

UBA、APSまたはESBが、核酸を含む、項目196～241に記載の方法。

(項目243)

UBA、APSまたはESBの前記連結が、連結される2つの構成要素に対する第1および第2の相補的領域を含む連結オリゴヌクレオチドを用いて行われる、項目242に記載の方法。

(項目244)

前記第1または第2の相補的領域が、APSの集団内のAPS間で共有される、項目243に記載の方法。

(項目245)

前記第1または第2の相補的領域が、APSの2つの異なるラウンド特異的セットに関して異なる、項目243～244に記載の方法。

(項目246)

ライゲーションをさらに含む、項目243～245に記載の方法。

(項目247)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記APSまたは前記ESBの起源集団をコードするサブコードを含む、項目243～246に記載の方法。

(項目248)

前記APSが、該APSのラウンド特異的セットをコードするサブコードを有する、項目196～247に記載の方法。

(項目249)

前記 E S B が、該 E S B の起源の存在をコードするサブコードを有する、項目 1 9 6 ~ 2 4 8 に記載の方法。

(項目 2 5 0)

個々の A P S 、 E S B または連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークなカウンタータグを含む、項目 1 9 6 ~ 2 4 9 に記載の方法。

(項目 2 5 1)

検出が、前記ユニークなカウンタータグの検出を含む、項目 2 5 0 に記載の方法。

(項目 2 5 2)

特定の E S B と関連しているユニークなカウンタータグの数が決定される、項目 2 5 1 に記載の方法。

(項目 2 5 3)

検出されたユニークなカウンタータグの数が、前記特定の E S B の初期量に関係する、項目 2 5 2 に記載の方法。

(項目 2 5 4)

前記 E S B が、前記連結オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結される、項目 2 4 3 ~ 2 5 3 に記載の方法。

(項目 2 5 5)

A P S または E S B が、増幅プライマー結合領域を含む、項目 1 9 6 ~ 2 5 4 に記載の方法。

(項目 2 5 6)

C O B が、ペプチド配列をコードする、項目 2 3 7 ~ 2 5 5 に記載の方法。

(項目 2 5 7)

前記 C O B が、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目 2 3 7 ~ 2 5 6 に記載の方法。

(項目 2 5 8)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目 2 5 6 ~ 2 5 7 に記載の方法。

(項目 2 5 9)

前記親和性タグが、H i s タグである、項目 2 5 8 に記載の方法。

(項目 2 6 0)

直前の分割によって作製された反応体積の各々に、前記 A P S のセットの異なる A P S を投入する、項目 1 9 6 ~ 2 5 9 に記載の方法。

(項目 2 6 1)

サンプル中の少なくとも 1 つの標的分子を検出するための方法であって、

(a)

(i) 少なくとも 1 つの標的分子を潜在的に含む細胞の集団、

(i i) 第 1 の標的分子に特異的な第 1 のユニーク結合物質 ( U B A ) 、

(i i i) 該第 1 の U B A のある領域に特異的な第 1 のエピトープ特異的バーコード

( E S B ) であって、ここで、該 E S B は、第 1 の共通リンカー部分を含む、第 1 のエピトープ特異的バーコード ( E S B ) 、および

(i v) アッセイ可能ポリマーサブユニット ( A P S ) の集団であって、ここで、該 A P S は、第 2 の共通リンカー部分および第 3 の共通リンカー部分を含み、該第 2 のリンカー部分は、該第 1 の E S B の該第 1 の共通リンカー部分と相補的である、集団を提供する工程；

(b) 該少なくとも 1 つの標的分子、該第 1 の U B A プローブおよび該第 1 の E S B を含む少なくとも第 1 の複合体を形成する工程であって、ここで、該少なくとも 1 つの標的分子は、該第 1 の U B A に結合され、該 E S B は、該 U B A に結合される、工程、

(c) 該集団を 2 つ以上のサンプルに分割する工程、

(d) 工程 ( c ) の該 2 つ以上のサンプルに A P S の該集団の A P S を 1 サンプルあたり 1 つ加える工程であって、ここで、該少なくとも 1 つの標的分子、該第 1 の U B A プローブ、該第 1 の E S B および第 1 の A P S によって第 2 の複合体が形成され、該第 1 の A P S の該第 2 の共通リンカー部分は、該第 1 の E S B の該第 1 のリンカー部分に結合され

る、工程、

(e) 工程 (c) の該 2 つ以上のサンプルを 1 つのサンプルにプールする工程、

(f) 工程 (e) の該サンプルを 2 つ以上のサンプルに分割する工程、

(g) 工程 (e) の該 2 つ以上のサンプルに A P S の該集団の A P S を 1 サンプルあたり 1 つ加える工程であって、ここで、該少なくとも 1 つの標的分子、該第 1 の U B A プローブ、該第 1 の E S B、該第 1 の A P S および第 2 の A P S によって第 3 の複合体が形成され、該第 2 の A P S の該第 2 の共通リンカー部分は、該第 1 の A P S の該第 3 のリンカー部分に結合され、該第 1 の A P S および該第 2 の A P S は、細胞起源バーコード (C O B) を形成する、工程、および

(c) 該第 3 の複合体または該第 3 の複合体の少なくとも一部を検出する工程を包含する、方法。

(項目 262)

工程 (e) から (g) を繰り返す工程をさらに包含する、項目 261 に記載の方法。

(項目 263)

工程 (b) において複数の複合体を形成する工程を包含する方法によって複数の標的分子を検出する工程をさらに包含し、各複合体は、(i) 少なくとも 1 つの標的分子、(ii) 第 1 の U B A、および (iii) 該第 1 の U B A のある領域に特異的な第 1 のエピトープ特異的バーコード (E S B) を含み、ここで、該 E S B は、第 1 の共通リンカー部分を含み、該少なくとも 1 つの標的分子は、該第 1 の U B A に結合され、該 E S B は、該 U B A に結合される、項目 261 に記載の方法。

(項目 264)

前記複数の複合体中の各 C O B が、該 C O B と細胞の前記集団中の他の C O B とを区別する検出可能なシグナルまたは配列を有する、項目 263 に記載の方法。

(項目 265)

前記複合体が、配列決定または質量分析によって検出される、項目 261 ~ 264 に記載の方法。

(項目 266)

前記第 3 の複合体が、該第 3 の複合体の 1 つ以上の分子の存在を個別に計数する工程を包含する方法によって検出され、ここで、該第 3 の複合体の該 1 つ以上の分子の存在は、細胞内の前記標的分子の濃度または存在を示す、項目 261 に記載の方法。

(項目 267)

個別に検出する工程が、デジタルのシグナルを検出する工程をさらに包含する、項目 266 に記載の方法。

(項目 268)

3、4、5、10、20、30、50、100、200、300、500、600、700、800、900、1000 個または 1000 個より多い異なる標的分子が、検出される、項目 263 に記載の方法。

(項目 269)

最大 2000 個の異なる標的分子が、検出される、項目 263 に記載の方法。

(項目 270)

前記 U B A が、抗体、ペプチド、アプタマー、ペプトイドおよび核酸または任意の組み合わせからなる群より選択される構造を含む、項目 261 に記載の方法。

(項目 271)

前記 E S B が、核酸、ビーズおよび化学サブユニットまたは任意の組み合せからなる群より選択される構造を含む、項目 261 に記載の方法。

(項目 272)

前記 A P S が、決定論的重量の核酸、小分子または組立可能な複合分子を含む、項目 261 に記載の方法。

(項目 273)

前記 A P S が、検出可能な標識が付着させられている相補的なポリヌクレオチド配列にハ

イブリダイズされる一本鎖核酸を含む、項目 261 に記載の方法。

(項目 274)

前記第 1 のAPS が、ライゲーションまたは重合を介した伸長によって前記第 1 のESB に付着させられる、項目 261 に記載の方法。

(項目 275)

前記第 2 のAPS が、ライゲーションまたは重合を介した伸長によって前記第 1 のAPS に付着させられる、項目 261 に記載の方法。

(項目 276)

前記共通リンカー部分が、核酸である、項目 261 に記載の方法。

(項目 277)

前記ESB が、前記USB に付着させられる、項目 261 ~ 276 に記載の方法。

(項目 278)

サンプル中の少なくとも 1 つの標的分子を検出するための方法であって、

(a)

(i) 少なくとも 1 つの標的分子を潜在的に含む細胞の集団、

(ii) 第 1 の標的分子に特異的な第 1 のUBA、

(iii) 該第 1 のUBA のある領域に特異的な第 1 のエピトープ特異的バーコード ESB であって、ここで、該 ESB は、第 1 の共通リンカー部分を含む、第 1 のエピトープ特異的バーコード ESB、および

(iv) COB の集団であって、COB の該集団は、第 2 の共通リンカー部分を含み、該第 2 のリンカー部分は、該第 1 のESB の該第 1 の共通リンカー部分と相補的である、集団

を提供する工程、

(b) 該少なくとも 1 つの標的分子、該第 1 のUBA プローブおよび該第 1 のESB を含む少なくとも第 1 の複合体を形成する工程であって、ここで、該少なくとも 1 つの標的分子は、該第 1 のUBA に結合され、該 ESB は、該UBA に結合される、工程、

(c) COB の該集団を加える工程であって、ここで、該少なくとも 1 つの標的分子、該第 1 のUBA プローブ、該第 1 のESB および第 1 のCOB によって第 2 の複合体が形成され、該第 1 のCOB の該第 2 の共通リンカー部分は、該第 1 のESB の該第 1 のリンカー部分に結合され、COB の該集団の該COB は、細胞の該集団の細胞に関連している、工程、および

(d) 該第 2 の複合体または第 3 の複合体の少なくとも一部を検出する工程を包含する、方法。

(項目 279)

前記第 1 のCOB が、複数のAPS を含む、項目 278 に記載の方法。

(項目 280)

工程 (b) において複数の複合体を形成する工程を包含する方法によって複数の標的分子を検出する工程をさらに包含し、各複合体は、(i) 少なくとも 1 つの標的分子、(ii) 第 1 のUBA、および (iii) 該第 1 のUBA のある領域に特異的な第 1 のエピトープ特異的バーコード (ESB) を含み、ここで該 ESB は、第 1 の共通リンカー部分を含み、該少なくとも 1 つの標的分子は、該第 1 のUBA に関連させられ、該 ESB は、該UBA に関連させられる、項目 278 に記載の方法。

(項目 281)

前記複数の複合体内の各COB が、該COB と細胞の前記集団中の他のCOB とを区別する検出可能なシグナルまたは配列を有する、項目 263 に記載の方法。

(項目 282)

APS、ESB またはUBA の前記連結が、化学的方法を用いて行われる、項目 261 ~ 281 に記載の方法。

(項目 283)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目 282 に記載の方法。

(項目284)

前記連結が、Cu<sup>I</sup>の存在下で行われる、項目282～283に記載の方法。

(項目285)

ABSm、ESBまたはUBAの連結が、結合親和性を用いて行われる、項目264～284に記載の方法。

(項目286)

UBA、APSまたはESBが、核酸を含む、項目261～285に記載の方法。

(項目287)

UBA、APSまたはESBの前記連結が、連結される2つの構成要素に対する第1および第2の相補的領域を含む連結オリゴヌクレオチドを用いて行われる、項目286に記載の方法。

(項目288)

前記第1または第2の相補的領域が、APSの集団内のAPS間で共有される、項目287に記載の方法。

(項目289)

前記第1または第2の相補的領域が、APSの異なる集団に関して異なる、項目287～288に記載の方法。

(項目290)

ライゲーションをさらに含む、項目287～289に記載の方法。

(項目291)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記APSまたは前記ESBの起源集団をコードするサブコードを含む、項目287～290に記載の方法。

(項目292)

前記APSが、該APSの起源集団をコードするサブコードを有する、項目261～290に記載の方法。

(項目293)

前記ESBが、該ESBの起源集団をコードするサブコードを有する、項目261～292に記載の方法。

(項目294)

個々のAPS、ESBまたは連結オリゴヌクレオチド分子が、ユニークタグを含む、項目261～293に記載の方法。

(項目295)

検出が、前記ユニークタグの検出を含む、項目294に記載の方法。

(項目296)

特定のESBと関連しているユニークタグの数が決定される、項目295に記載の方法。

(項目297)

検出されたユニークタグの数が、前記特定のESBの初期量に関係する、項目296に記載の方法。

(項目298)

前記ESBが、前記連結オリゴヌクレオチドに共有結合的に連結される、項目287～297に記載の方法。

(項目299)

APSまたはESBが、増幅プライマー結合領域を含む、項目261～298に記載の方法。

(項目300)

COBが、ペプチド配列をコードする、項目261～299に記載の方法。

(項目301)

前記COBが、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目261～300に記載の方法。

(項目302)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目300～301に記載の方法。

(項目303)

前記親和性タグが、H<sub>i</sub>sタグである、項目302に記載の方法。

(項目304)

前記2つ以上のサンプルが、少なくとも5個のサンプルを含む、項目261に記載の方法。

(項目305)

前記2つ以上のサンプルが、少なくとも10個のサンプルを含む、項目261に記載の方法。

(項目306)

前記2つ以上のサンプルが、少なくとも20個のサンプルを含む、項目261に記載の方法。

(項目307)

直前の分割によって作製された前記サンプルの各々に、異なるAPSを投入する、項目261に記載の方法。

(項目308)

細胞の集団中の細胞のESBに連結された標的分子を細胞起源バーコード(COB)で標識するための方法であって、

各細胞を個々の反応体積に分離する工程、および  
化学的手段または親和性手段を介して該COBを該ESBに付加する工程  
を包含する、方法。

(項目309)

前記反応体積が、微小気泡、微小滴、ウェル、微小ウェルおよびマイクロ流体デバイス内の囲われた空間からなる群より選択される、項目308に記載の方法。

(項目310)

細胞を起源とする種々のタイプの構成要素を解離させる工程および該構成要素を粒子上に配置する工程を包含する方法であって、該構成要素は、該粒子上で標識される、方法。

(項目311)

前記標識する工程が、細胞の起源に従って標識することを包含する、項目310に記載の方法。

(項目312)

前記標識する工程が、構成要素のタイプに従って標識することを包含する、項目310～311に記載の方法。