

【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 A P S 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、単一細胞は、複数の細胞から単離されず、かつ該単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、U B A 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 ~ 1000 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、単一細胞は、前記複数の細胞から単離されず、かつ該単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】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0044】

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U B A、E S B および / またはA P S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U B A、E S B およびA P S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不必要である、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、該検出する工程に不必要である、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、U B Aを含む、項目 1 ~ 6 に記載の方法。

(項目 8)

前記U B A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、U B Aを含む、項目 1 ~ 8 に記載の方法。

(項目 1 0)

前記U B Aが、抗体を含む、項目 1 ~ 9 に記載の方法。

(項目 1 1)

前記タグが、E S Bを含む、項目 1 ~ 1 0 に記載の方法。

(項目 1 2)

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

(項目 1 3)

前記E S Bが、該標的の同一性をコードする、項目 1 ~ 1 2 に記載の方法。

(項目 1 4)

前記E S Bが、核酸を含む、項目 1 ~ 1 3 に記載の方法。

(項目 1 5)

前記タグが、A P Sを含む、項目 1 ~ 1 4 に記載の方法。

(項目 1 6)

前記A P S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 ~ 1 5 に記載の方法。

(項目 1 7)

前記結合する工程中に、複数個の 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該タグに付加される、項目 1 ～ 1 6 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記タグが、少なくとも 1 0 個の A P S を含む、項目 1 ～ 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記 A P S が、核酸を含む、項目 1 ～ 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

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 A P S 、 E S B および U B A を含む、項目 1 ～ 1 9 に記載の方法。

(項目 2 1)

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で連結されることが可能である、項目 1 ～ 2 0 に記載の方法。

(項目 2 2)

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、項目 1 ～ 2 1 に記載の方法。

(項目 2 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 1 ～ 2 2 に記載の方法。

(項目 2 4)

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。

(項目 2 5)

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 2 4 に記載の組成物。

(項目 2 6)

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 (U B A) 、

(b) 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

(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 (A P S)

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 A P S 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 A P S と検出可能に異なる、組成物。

(項目 2 7)

前記複数の順序づけられた A P S 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 A P S を含む、項目 2 4 ～ 2 6 に記載の組成物。

(項目 2 8)

前記複数の順序づけられた A P S は、20 個より多い A P S を含む、項目 2 4 ～ 2 7 に記載の組成物。

(項目 2 9)

前記 A P S は、鑄型になり得る、項目 2 4 ～ 2 8 に記載の組成物。

(項目 3 0)

少なくとも 1 つの粒子が、細胞、リボソーム、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 2 6 ～ 2 9 に記載の組成物。

(項目 3 1)

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 2 6 ~ 3 0 に記載の組成物。

(項目 3 2)

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 2 4 ~ 3 1 に記載の組成物。

(項目 3 3)

前記第 1 の標的分子が、前記第 1 の U B A に直接結合されており、前記第 1 の E S B が、該第 1 の U B A に直接結合されている、項目 2 4 ~ 3 2 に記載の組成物。

(項目 3 4)

前記複数の順序づけられた A P S が、別個のラウンドにおける A P S の段階的付加によって形成されている、項目 2 4 ~ 3 3 に記載の組成物。

(項目 3 5)

各ラウンドにおいて付加された前記 A P S が、第 1 の複合体に連結されている、3 4 に記載の組成物。

(項目 3 6)

前記連結が、ラウンドの順序においてされている、項目 3 4 ~ 3 5 に記載の組成物。

(項目 3 7)

A P S、E S B または U B A の前記連結が、化学的方法を用いて行われている、項目 2 4 ~ 3 6 に記載の組成物。

(項目 3 8)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目 3 7 に記載の組成物。

(項目 3 9)

前記連結が、C u ^I の存在下で行われている、項目 3 5 ~ 3 8 に記載の組成物。

(項目 4 0)

U B A、A P S または E S B が、核酸を含む、項目 2 4 ~ 3 9 に記載の組成物。

(項目 4 1)

U B A、A P S および E S B 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、4 0 に記載の組成物。

(項目 4 2)

U B A、A P S または E S B が、U B A、A P S および E S B 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 4 0 ~ 4 1 に記載の組成物。

(項目 4 3)

U B A、A P S および E S B 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 4 0 ~ 4 2 に記載の組成物。

(項目 4 4)

U B A、A P S または E S B が、U B A、A P S および E S B 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 4 0 ~ 4 3 に記載の組成物。

(項目 4 5)

前記第 2 および第 4 の相補的領域が、同一である、項目 4 3 ~ 4 4 に記載の組成物。

(項目 4 6)

前記第 2 および第 4 の相補的領域が、同一である、項目 4 3 ~ 4 5 に記載の組成物。

(項目 4 7)

前記第 1 または第 2 の相補的領域が、前記複数の A P S のうちの 2 つの A P S 間で共有されている、項目 4 1 ~ 4 6 に記載の組成物。

(項目 4 8)

前記連結が、ライゲーションによって行われている、項目 4 2 ~ 4 7 に記載の組成物。

(項目 4 9)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記 A P S または前記 E S B の起源をコードするサブコードを含む、項目 4 1 ~ 4 8 に記載の組成物。

(項目 5 0)

前記 A P S が、該 A P S の起源をコードするサブコードを有する、項目 2 4 ~ 4 9 に記載の組成物。

(項目 5 1)

前記 E S B が、該 E S B の起源をコードするサブコードを有する、項目 2 4 ~ 5 0 に記載の組成物。

(項目 5 2)

個別の 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 2 4 ~ 5 1 に記載の組成物。

(項目 5 3)

前記ユニークなカウンタータグが、検出可能である、項目 5 2 に記載の組成物。

(項目 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ている、項目 4 1 ~ 5 3 に記載の組成物。

(項目 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 2 4 ~ 5 4 に記載の組成物。

(項目 5 6)

前記 A P S および E S B 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 2 4 ~ 5 5 に記載の組成物。

(項目 5 7)

前記二次産物が、R N A またはペプチドである、項目 5 6 に記載の組成物。

(項目 5 8)

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 2 4 ~ 5 7 に記載の組成物。

(項目 5 9)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目 5 7 ~ 5 8 に記載の組成物。

(項目 6 0)

前記親和性タグが、H i s タグである、項目 5 9 に記載の組成物。

(項目 6 1)

前記 U B A 、 E S B または A P S が、鋳型になり得る、項目 2 4 ~ 6 0 に記載の組成物。

(項目 6 2)

プローブをさらに含む、項目 2 4 ~ 6 1 に記載の組成物。

(項目 6 3)

前記プローブが、表面に付着させられている、項目 2 4 ~ 6 2 に記載の組成物。

(項目 6 4)

前記表面が、アレイを含む、項目 2 4 ~ 6 3 に記載の組成物。

(項目 6 5)

前記表面が、ビーズを含む、項目 2 4 ~ 6 4 に記載の組成物。

(項目 6 6)

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 2 4 ~ 6 5 に記載の組成物。

(項目 6 7)

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 2 4 ~ 6 6 に記載の組成物。

(項目 6 8)

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 2 4

～ 67 に記載の組成物。

(項目 69)

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 (APS) 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 (UBA) を備える、キット。

(項目 70)

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 (APS) 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 (UBA) であって、各々は、UBA 特異的なエピトープ特異的バーコード (ESB) 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 (UBA)

を備える、キット。

(項目 71)

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 (APS) 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 (UBA) ；

(c) UBA 特異的な複数のエピトープ特異的バーコード (ESB) であって、各 ESB は、指定の UBA と連結することが可能である、UBA 特異的な複数のエピトープ特異的バーコード (ESB)

を備える、キット。

(項目 72)

n が、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 である、項目 69 ～ 71 に記載のキット。

(項目 73)

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 69 ～ 72 に記載のキット。

(項目 74)

n が、10 より大きい、項目 69 ～ 73 に記載のキット。

(項目 75)

m が、20 より大きい、項目 69 ～ 74 に記載のキット。

(項目 76)

第 1 の ESB が、第 1 の共通リンカー (CL) を含む、項目 70 ～ 75 に記載のキット。

(項目 77)

前記 ESB が、前記 UBA に直接結合することが可能である、項目 70 ～ 76 に記載のキット。

(項目 78)

前記 UBA が、前記標的分子に直接結合することが可能である、項目 69 ～ 77 に記載のキット。

(項目 79)

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 69 ～ 78 に記載のキット。

(項目 80)

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

(項目 82)

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)

C u ^I 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)

U B A、A P S または E S B が、核酸を含む、項目 69 ～ 84 に記載のキット。

(項目 86)

U B A、A P S および E S B 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)

U B A、A P S および E S B 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)

A P S、E S B または U B A 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 A P S または前記 E S B 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 A P S が、該 A P S 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 E S B が、該 E S B 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 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 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 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 86 ～ 95 に記載のキット。

(項目 97)

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 69 ～ 96 に記載のキット。

(項目 98)

前記 A P S および E S B 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、RNA 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、His 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、10、20、30、50、100、200、300、500、600、700、800、900、1000 個または 1000 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 2000 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、アプタマー、ペプチ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, 000, 000 より大きい、項目 1 1 3 に記載の方法。

(項目 1 1 5)

c が、99.9 %より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 1 4 に記載の方法。

(項目 1 1 6)

c が、99.99 %より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 1 5 に記載の方法。

(項目 1 1 7)

c が、99.999 %より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 1 6 に記載の方法。

(項目 1 1 8)

c が、99.9999 %より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 1 7 に記載の方法。

(項目 1 1 9)

c が、99.99999 %より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 1 8 に記載の方法。

(項目 1 2 0)

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

(項目 1 2 1)

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 1 1 3 ~ 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 2)

n が、10より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

m が、20より大きい、項目 1 1 3 ~ 1 2 2 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

少なくとも1つの別々の粒子が、細胞、リボソーム、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 1 1 3 ~ 1 2 3 に記載の方法。

(項目 1 2 5)

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 1 1 3 ~ 1 2 4 に記載の方法。

(項目 1 2 6)

m個の異なる A P S を含む少なくとも2つの群が、同一である、項目 1 1 3 ~ 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 2 7)

前記 n 個の A P S が、別個のラウンドにおいて付加される、項目 1 1 3 ~ 1 2 6 に記載の方法。

(項目 1 2 8)

別個のラウンドの前記 A P S が、連結される、項目 1 1 3 ~ 1 2 7 に記載の方法。

(項目 1 2 9)

前記連結が、ラウンドの順序においてされる、項目 1 2 8 に記載の方法。

(項目 1 3 0)

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 (A P S) 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 A P S の順序は、検出方法によって検出可能である、方法。

(項目 1 3 1)

前記第1の構成要素と連結された A P S 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 1 3 0 に記載の方法。

(項目 1 3 2)

アッセイ可能ポリマーサブユニット (A P S) 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 A P S の順序は、検出可能である、項目 1 3 0 ~ 1 3 1 に記載の方法。

(項目 1 3 3)

前記第 2 の構成要素と連結された A P S 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 1 3 2 に記載の方法。

(項目 1 3 4)

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 A P S 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 1 3 0 ~ 1 3 3 に記載の方法。

(項目 1 3 5)

アッセイ可能ポリマーサブユニット (A P S) 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 A P S の順序は、検出可能である、項目 1 3 0 ~ 1 3 4 に記載の方法。

(項目 1 3 6)

前記第 1 の粒子の前記第 1 の構成要素と連結された A P S 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 1 3 5 に記載の方法。

(項目 1 3 7)

構成要素特異的なエピトープ特異的バーコード (E S B) 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 1 3 0 ~ 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 3 8)

構成要素特異的な E S B 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 1 3 0 ~ 1 3 7 に記載の方法。

(項目 1 3 9)

少なくとも前記粒子が、細胞、リボソーム、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 1 3 0 ~ 1 3 8 に記載の方法。

(項目 1 4 0)

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 1 3 0 ~ 1 3 9 に記載の方法。

(項目 1 4 1)

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 1 3 0 ~ 1 4 0 に記載の方法。

(項目 1 4 2)

A P S の前記順序づけられたセットの各 A P S が、第 1 の複合体に連結される、項目 1 3 0 ~ 1 4 1 に記載の方法。

(項目 1 4 3)

前記連結が、ラウンドの順序においてされる、項目 1 4 2 に記載の方法。

(項目 1 4 4)

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 1 3 0 ~ 1 4 3 に記載の方法。

(項目 1 4 5)

前記二次産物が、R N A またはペプチドである、項目 1 4 4 に記載の方法。

(項目 1 4 6)

前記 U B A 、 E S B または A P S が、鋳型になり得る、項目 1 3 0 ~ 1 4 5 に記載の方法。

(項目 1 4 7)

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 1 3 7 ~ 1 4 6 に記載の方法。

(項目 1 4 8)

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 1 4 7 に記載の方法。

(項目 1 4 9)

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、ペプチ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 1 7 0)

前記 E S B が、核酸、ピ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 1 3 0 ~ 1 6 9 に記載の方法。

(項目 1 7 1)

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 1 3 0 ~ 1 7 0 に記載の方法。

(項目 1 7 2)

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 1 3 0 ~ 1 7 1 に記載の方法。

(項目 1 7 3)

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 1 3 0 ~ 1 7 2 に記載の方法。

(項目 1 7 4)

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 1 7 3 に記載の方法。

(項目 1 7 5)

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 1 3 0 ~ 1 7 4 に記載の方法。

(項目 1 7 6)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目 1 7 5 に記載の方法。

(項目 1 7 7)

前記連結が、C u ^I の存在下で行われる、項目 1 7 5 ~ 1 7 6 に記載の方法。

(項目 1 7 8)

U B A 、 A P S または E S B が、核酸を含む、項目 1 3 0 ~ 1 7 7 に記載の方法。

(項目 1 7 9)

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 1 7 8 に記載の方法。

(項目 1 8 0)

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 1 7 9 に記載の方法。

(項目 1 8 1)

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 1 7 9 ~ 1 8 0 に記載の方法。

(項目 1 8 2)

ライゲーションをさらに含む、項目 1 7 9 ~ 1 8 1 に記載の方法。

(項目 1 8 3)

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 1 3 0 ~ 1 8 2 に記載の方法。

(項目 1 8 4)

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 1 3 0 ~ 1 8 3 に記載の方法。

(項目 1 8 5)

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 1 3 0 ~ 1 8 4 に記載の方法。

(項目 1 8 6)

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 3 0 ~ 1 8 5 に記載の方法。

(項目 1 8 7)

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 1 8 6 に記載の方法。

(項目 1 8 8)

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 1 8 7 に記載の方法。

(項目 1 8 9)

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 の初期量に係する、項目 1 8 8 に記載の方法。

(項目 1 9 0)

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 1 7 9 ~ 1 8 9 に記載の方法。

(項目 1 9 1)

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 3 0 ~ 1 9 0 に記載の方法。

(項目 1 9 2)

C O B が、ペプチド配列をコードする、項目 1 7 3 ~ 1 9 1 に記載の方法。

(項目 1 9 3)

前記 C O B が、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目 1 7 3 ~ 1 9 2 に記載の方法。

(項目 1 9 4)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目 1 9 2 ~ 1 9 3 に記載の方法。

(項目 1 9 5)

前記親和性タグが、H i s タグである、項目 1 9 4 に記載の方法。

(項目 1 9 6)

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係する、方法。

(項目 1 9 7)

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UBAプロープおよび該第1のESBを含む少なくとも第1の複合体を形成する工程、

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、

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

iii) 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ii)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、リボソーム、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ESBが、第1の共通リンカー(CL)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UBAに直接結合され、前記ESBが、該UBA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(APS)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APS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UBA、ESBまたはAPSが、二次産物をコードする、項目196～209に記載の方法。

(項目 2 1 1)

前記二次産物が、RNAまたはペプチドである、項目 2 1 0 に記載の方法。

(項目 2 1 2)

前記UBA、ESBまたはAPSが、鋳型になり得る、項目 1 9 6 ~ 2 1 1 に記載の方法。

(項目 2 1 3)

前記ESBが、ユニークなカウンタータグをさらに含む、項目 1 9 6 ~ 2 1 2 に記載の方法。

(項目 2 1 4)

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 2 1 3 に記載の方法。

(項目 2 1 5)

前記APSが、ラウンド特異的サブコードをさらに含む、項目 1 9 6 ~ 2 1 4 に記載の方法。

(項目 2 1 6)

前記検出が、指定のラウンドのAPSの存在の決定をさらに含む、項目 2 1 5 に記載の方法。

(項目 2 1 7)

検出が、デジタルである、項目 1 9 6 ~ 2 1 6 に記載の方法。

(項目 2 1 8)

検出が、間接的である、項目 1 9 6 ~ 2 1 7 に記載の方法。

(項目 2 1 9)

検出が、質量分析を含む、項目 1 9 6 ~ 2 1 8 に記載の方法。

(項目 2 2 0)

検出が、核酸配列決定を含む、項目 1 9 6 ~ 2 1 9 に記載の方法。

(項目 2 2 1)

検出が、ペプチド配列決定を含む、項目 1 9 6 ~ 2 2 0 に記載の方法。

(項目 2 2 2)

検出が、1つ以上の個々のAPSに関連する1つ以上のシグナルの検出を含む、項目 1 9 6 ~ 2 2 1 に記載の方法。

(項目 2 2 3)

前記シグナルが、順序づけられている、項目 2 2 2 に記載の方法。

(項目 2 2 4)

検出が、1つ以上のプローブの使用を含む、項目 1 9 6 ~ 2 2 3 に記載の方法。

(項目 2 2 5)

前記プローブが、表面に付着させられている、項目 2 2 4 に記載の方法。

(項目 2 2 6)

前記表面が、アレイを含む、項目 2 2 5 に記載の方法。

(項目 2 2 7)

前記表面が、ビーズを含む、項目 2 2 5 に記載の方法。

(項目 2 2 8)

検出が、分離を含む、項目 1 9 6 ~ 2 2 7 に記載の方法。

(項目 2 2 9)

前記分離が、多次元的である、項目 2 2 8 に記載の方法。

(項目 2 3 0)

前記分離が、前記第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)を第2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)から分ける、項目 2 2 8 ~ 2 2 9 に記載の方法。

(項目 2 3 1)

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、アプタマー、ペプチ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^I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 2 6 2)

工程 (e) から (g) を繰り返す工程をさらに包含する、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 6 3)

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、(i i) 第 1 の U B A、および (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) 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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 6 4)

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 2 6 3 に記載の方法。

(項目 2 6 5)

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 2 6 1 ~ 2 6 4 に記載の方法。

(項目 2 6 6)

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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 6 7)

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 2 6 6 に記載の方法。

(項目 2 6 8)

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 2 6 3 に記載の方法。

(項目 2 6 9)

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

(項目 2 7 0)

前記 U B A が、抗体、ペプチド、アプタマー、ペプチ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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 1)

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わせからなる群より選択される構造を含む、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 3)

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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 4)

前記第 1 の 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前記第 1 の E S B に付着させられる、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 5)

前記第 2 の 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前記第 1 の A P S に付着させられる、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 6)

前記共通リンカー部分が、核酸である、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 2 7 7)

前記 E S B が、前記 U S B に付着させられる、項目 2 6 1 ~ 2 7 6 に記載の方法。

(項目 2 7 8)

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 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) C O B の集団であって、C O B 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 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) C O B 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 U B A プローブ、該第 1 の E S B および第 1 の C O B によって第 2 の複合体が形成され、該第 1 の C O B 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、C O B の該集団の該 C O B 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 2 7 9)

前記第 1 の C O B が、複数の A P S を含む、項目 2 7 8 に記載の方法。

(項目 2 8 0)

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、(i i) 第 1 の U B A、および (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) 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 に関連させられ、該 E S B は、該 U B A に関連させられる、項目 2 7 8 に記載の方法。

(項目 2 8 1)

前記複数の複体内の各 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 2 6 3 に記載の方法。

(項目 2 8 2)

A P S、E S B または U B A の前記連結が、化学的方法を用いて行われる、項目 2 6 1 ~ 2 8 1 に記載の方法。

(項目 2 8 3)

前記化学的方法が、クリックケミストリーを含む、項目 2 8 2 に記載の方法。

(項目 2 8 4)

前記連結が、C u ^I の存在下で行われる、項目 2 8 2 ~ 2 8 3 に記載の方法。

(項目 2 8 5)

A B S m、E S B または U B A の連結が、結合親和性を用いて行われる、項目 2 6 4 ~ 2 8 4 に記載の方法。

(項目 2 8 6)

U B A、A P S または E S B が、核酸を含む、項目 2 6 1 ~ 2 8 5 に記載の方法。

(項目 2 8 7)

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 2 8 6 に記載の方法。

(項目 2 8 8)

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 間で共有される、項目 2 8 7 に記載の方法。

(項目 2 8 9)

前記第 1 または第 2 の相補的領域が、A P S の異なる集団に関して異なる、項目 2 8 7 ~ 2 8 8 に記載の方法。

(項目 2 9 0)

ライゲーションをさらに含む、項目 2 8 7 ~ 2 8 9 に記載の方法。

(項目 2 9 1)

前記連結オリゴヌクレオチドが、前記 A P S または前記 E S B の起源集団をコードするサブコードを含む、項目 2 8 7 ~ 2 9 0 に記載の方法。

(項目 2 9 2)

前記 A P S が、該 A P S の起源集団をコードするサブコードを有する、項目 2 6 1 ~ 2 9 0 に記載の方法。

(項目 2 9 3)

前記 E S B が、該 E S B の起源集団をコードするサブコードを有する、項目 2 6 1 ~ 2 9 2 に記載の方法。

(項目 2 9 4)

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、ユニークタグを含む、項目 2 6 1 ~ 2 9 3 に記載の方法。

(項目 2 9 5)

検出が、前記ユニークタグの検出を含む、項目 2 9 4 に記載の方法。

(項目 2 9 6)

特定の E S B と関連しているユニークタグの数が決定される、項目 2 9 5 に記載の方法。

(項目 2 9 7)

検出されたユニークタグの数が、前記特定の E S B の初期量に関係する、項目 2 9 6 に記載の方法。

(項目 2 9 8)

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 8 7 ~ 2 9 7 に記載の方法。

(項目 2 9 9)

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 2 6 1 ~ 2 9 8 に記載の方法。

(項目 3 0 0)

C O B が、ペプチド配列をコードする、項目 2 6 1 ~ 2 9 9 に記載の方法。

(項目 3 0 1)

前記 C O B が、ポリメラーゼ開始部位を含む、項目 2 6 1 ~ 3 0 0 に記載の方法。

(項目 3 0 2)

前記ペプチドが、親和性タグを含む、項目 3 0 0 ~ 3 0 1 に記載の方法。

(項目 3 0 3)

前記親和性タグが、H i s タグである、項目 3 0 2 に記載の方法。

(項目 3 0 4)

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 2 6 1 に記載の方法。

(項目 3 0 5)

前記 2 つ以上のサンプルが、少なくとも 1 0 個のサンプルを含む、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 3 0 6)

前記 2 つ以上のサンプルが、少なくとも 2 0 個のサンプルを含む、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 3 0 7)

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 A P S を投入する、項目 2 6 1 に記載の方法。

(項目 3 0 8)

細胞の集団中の細胞の E S B に連結された標的分子を細胞起源バーコード (C O B) 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 C O B を該 E S B に付加する工程を包含する、方法。

(項目 3 0 9)

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 3 0 8 に記載の方法。

(項目 3 1 0)

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 3 1 1)

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 3 1 0 に記載の方法。

(項目 3 1 2)

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 3 1 0 ~ 3 1 1 に記載の方法。