

【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30年2月1日(2018.2.1)

【公表番号】特表2017-533703(P2017-533703A)
 【公表日】平成29年11月16日(2017.11.16)
 【年通号数】公開・登録公報2017-044
 【出願番号】特願2017-521158(P2017-521158)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/00 (2006.01)
 C 1 2 M 1/00 (2006.01)
 B 0 1 D 61/14 (2006.01)
 B 0 1 D 57/02 (2006.01)
 G 0 1 N 27/447 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A Z
 C 1 2 M 1/00 A
 B 0 1 D 61/14 5 0 0
 B 0 1 D 57/02
 G 0 1 N 27/447 3 1 5 A
 G 0 1 N 27/447 3 1 5 E
 C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月14日(2017.12.14)

【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】

試料から核酸を単離するためのシステムであって、
 核酸および非核酸要素を含む試料を固定するように構成されているヒドロゲルマトリクス

、
 前記ヒドロゲルマトリクス中に拡散し、
 固定された生体試料と反応し、
 細胞の試料の非核酸要素を放出する

ように構成されている試薬、
 ならびに

前記非核酸要素の放出後に前記ヒドロゲルマトリクスから前記核酸を溶出するための手段
 を含む、システム。

【請求項2】

前記ヒドロゲルマトリクスが、アガロースゲルを含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項3】

前記生体試料を、ヒドロゲルを含有する融解したゲルと混合して前記ヒドロゲルマトリ
 クスを調製すること、ならびに前記試薬の添加および除去を調節することのうちの少なく
 とも1つを行うように構成されている1つまたは複数の自動化された液体取扱いデバイ
 スをさらに含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項 4】

前記ヒドロゲルマトリクスが担体に付着することを可能にするために前記ヒドロゲルマトリクスと互いにかみ合う形状を有するように構成されている担体をさらに含む、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記ヒドロゲルマトリクスが、ほぼ等しい体積部のヒドロゲルおよび前記生体試料を含有する、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 6】

前記試薬が、溶解のための界面活性剤溶液、細菌、真菌、および/もしくは植物の細胞壁を消化するように構成されている酵素を含有する溶液、プロテアーゼ溶液、DNA 加工処理酵素を含有する溶液、シークエンシングライブラリーを作製するための酵素および合成アダプターを含有する溶液、ならびに/またはトランスポザソームを含有する溶液を含む、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 7】

前記ヒドロゲルマトリクスからの前記核酸の電気泳動による溶出を補助するための濾過膜をさらに含み、前記濾過膜は、前記核酸をサイズに基づいて選択的に保持するようにサイズが設定された細孔を含有する、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 8】

電場が、核酸をサイズに基づいて選択的に回収するように操作される、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 9】

核酸および非核酸要素を含有する試料から核酸を単離するための方法であって、温度調節された容器内で前記試料を融解したヒドロゲルと混合するステップ、生体試料および前記融解したヒドロゲルの混合物のゲル化を引き起こし、前記生体試料を固定するように構成されているヒドロゲルマトリクスを形成するように、前記容器の温度を低下させるステップ、固定された前記生体試料と反応し前記非核酸要素を放出するために、前記ヒドロゲルマトリクス中に拡散するように構成されている試薬を前記ヒドロゲルマトリクスに導入するステップ、ならびに前記ヒドロゲルマトリクスから前記核酸を抽出するステップを含む方法。

【請求項 10】

前記ヒドロゲルマトリクスが、アガロースゲルを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記生体試料が、DNA 分子を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記融解したヒドロゲルと前記生体試料の前記混合が、自動化された液体取扱いデバイスを介して行われる、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記試薬への前記ヒドロゲルマトリクスの前記導入が、前記ヒドロゲルマトリクスを担持する担体を前記試薬の混合物中に浸漬することによって行われる、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

前記試薬への前記ヒドロゲルマトリクスの前記導入が、前記試薬を前記ヒドロゲルマトリクス中に電気泳動によって移動させることによって行われる、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 15】

前記核酸をサイズに基づいて選択的に保持するようにサイズが設定された細孔を含有する濾過膜を介して前記核酸を濾過するステップをさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 16】

非核酸要素の放出後に前記ヒドロゲルマトリクスから前記非核酸要素を電気泳動によっ

て除去するステップをさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 17】

電気泳動バッファーを有する容器、
前記容器内に構成されている電気泳動ゲルマトリクス部分、および
前記電気泳動ゲルマトリクス部分中に構成されている試料ウェル
を含む、電気泳動カセットであって、
前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、前記容器を横切って側方に延在して前記容器を 2
つのチャンバーに分割し、2つの部分のそれぞれが、前記電気泳動バッファーで満たされ
ており、
試料ウェルが、前記電気泳動ゲルマトリクス部分によって前記電気泳動バッファーから
隔離されている、
電気泳動カセット。

【請求項 18】

前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、アガロースである、請求項 17 に記載の電気泳動
カセット。

【請求項 19】

前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、デンプン、寒天、アガロース、およびポリアクリ
ルアミドのうち少なくとも 1 種である、請求項 17 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 20】

前記電気泳動バッファーが、pH 7 および pH 9 の間の pH を有する、請求項 17 に記
載の電気泳動カセット。

【請求項 21】

前記電気泳動バッファーが、キレート剤として EDTA を含む、請求項 17 に記載の電
気泳動カセット。

【請求項 22】

少なくとも 1 つの陽極および少なくとも 1 つの陰極をさらに含み、
前記少なくとも 1 つの陽極が、前記 2 つのチャンバーのうち第 1 のチャンバーに接続さ
れており、
前記少なくとも 1 つの陰極が、前記 2 つのチャンバーのうち第 2 のチャンバーに接続さ
れている、
請求項 17 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 23】

電気泳動バッファーで満たされた前記 2 つのチャンバーが、溶解試薬を受け入れるよう
にさらに構成されている、請求項 22 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 24】

前記溶解試薬が、陰イオン性界面活性剤および界面活性剤適合性プロテアーゼのうち
少なくとも 1 種である、請求項 23 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 25】

前記陰イオン性界面活性剤が、約 0.1% から約 10% 重量 / 体積の間の濃度を有する
SDS である、請求項 24 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 26】

前記溶解試薬が、陰イオン性界面活性剤 SDS およびプロテイナーゼ K の混合物である
、請求項 24 に記載の電気泳動カセット。

【請求項 27】

電圧が前記電極間を横切って印加されると、前記溶解試薬が、前記電気泳動ゲルマトリ
クス部分を通して前記試料ウェル内に駆動される、請求項 23 に記載の電気泳動カセット
。

【請求項 28】

前記試料ウェルが生体試料を含有し、電圧を印加することにより、前記 2 つのチャンバ
ーのうち前記第 2 のチャンバーの近くの前記試料ウェルの側面に前記生体試料内の DN

A分子の蓄積が引き起こされる、請求項24に記載の電気泳動カセット。

【請求項29】

前記電圧を逆にすることによって、前記DNA分子が前記試料ウェルの前記側面から離れて移動される、請求項28に記載の電気泳動カセット。

【請求項30】

前記試料ウェルと前記2つのチャンバーのうちの前記第2のチャンバーとの間に配置された試薬ウェルをさらに含む、請求項22に記載の電気泳動カセット。

【請求項31】

第1の端部、第2の端部、長さ、幅、第1の長さ方向の側面および第2の長さ方向の側面を有する電気泳動ゲルマトリクス、

前記第1の端部に近接する電気泳動ゲルマトリクス部分中に構成されている試薬を含有する試薬ウェル、

生体細胞の試料を含有し、前記第1の端部に近接し前記試薬ウェルと前記第2の端部との間の前記電気泳動ゲルマトリクス中に構成されている試料ウェル、

前記第1の端部に配置された1対の電気泳動電極のうちの第1の陰極、

前記第2の端部に配置された前記1対の電気泳動電極のうちの第1の陽極

を含む、電気泳動システムであって、

前記1対の電気泳動電極を横切って第1のバイアス電圧を印加すると、試薬が、前記試薬ウェルから、前記試料ウェル内にかつ/または前記試料ウェルを通して駆動される、電気泳動システム。

【請求項32】

前記試料ウェルが、細胞懸濁物を含む、請求項31に記載の電気泳動システム。

【請求項33】

前記試薬ウェルが、負に荷電した溶解試薬を含む、請求項31または32に記載の電気泳動システム。

【請求項34】

溶解剤からの溶解の結果として、前記細胞懸濁物中に含有される前記細胞のDNA分子が生成される、請求項33に記載の電気泳動システム。

【請求項35】

前記DNA分子が、前記試料ウェルの少なくとも1つの側面に蓄積する、請求項34に記載の電気泳動システム。

【請求項36】

前記1対の電気泳動電極を横切って第2のバイアス電圧を印加すると、蓄積した前記DNAが前記試料ウェルの外に電気泳動されることが引き起こされる、請求項35に記載の電気泳動システム。

【請求項37】

前記ゲルの前記第1の長さ方向の側面に沿って配置された複数の溶出受け入れ領域またはチャンネルであって、それぞれの受け入れ領域が、前記ゲルの前記第1の長さ方向の側面に隣接して配置された第1の側面と、前記受け入れ領域の前記第1の側面から離れて配置された第2の側面とを有する、複数の溶出受け入れ領域またはチャンネル、ならびに

それぞれの溶出受け入れチャンネルに対応する複数対の溶出電極であって、第1の対の溶出電極の第1の溶出陰極が、第1の溶出受け入れチャンネルの前記第1の側面の反対側の前記ゲルの前記第2の長さ方向の側面に近接して配置され、前記第1の対の第1の溶出陽極が、前記第1の溶出受け入れチャンネルの前記第2の側面に近接して配置される、複数対の溶出電極

をさらに含み、ここで

第2の始動により、前記溶出受け入れチャンネルのうちの1つのチャンネルおよび/または別のチャンネルに近接して、電気泳動された前記DNAのDNA断片の蓄積が引き起こされ、

前記複数対の溶出電極のうちの1つの対および/または別の対の間を横切ってバイアス

電圧を印加することにより、前記DNA断片がそれぞれの溶出チャンネルのうちの1つのチャンネルおよび/または別のチャンネルの中に駆動される、請求項36に記載の電気泳動システム。

【請求項38】

請求項31に記載のシステムを提供するステップ、
試料ウェル内に細胞懸濁物をロードするステップ、
試薬ウェル内に試薬をロードするステップ、

第1の電圧バイアスを1対の電気泳動電極を横切って印加するステップであって、前記第1の電圧バイアスの印加により、前記試薬ウェルから前記試料ウェルへの前記試薬の移動が引き起こされる、ステップ

を含む、電気泳動方法であって、

前記試薬は、前記懸濁物中の細胞の溶解を引き起こすように構成されており、

前記細胞からのDNA分子は、前記試料ウェルの少なくとも1つの側面に蓄積する、
電気泳動方法。

【請求項39】

前記細胞懸濁物を前記試料ウェル内でインキュベートするステップをさらに含む、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記DNA分子を断片に破壊するステップをさらに含む、請求項38に記載の方法。

【請求項41】

DNA断片を前記試料ウェルから複数の溶出チャンネルに電気泳動によって駆動するステップをさらに含む、請求項38に記載の方法。

【請求項42】

インキュベーションが、

第1の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記試料ウェルの内容物である前記細胞と共にインキュベートすること、ならびに/または

第2の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記細胞と共にインキュベートすること、ならびに/または

第3の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記細胞と共にインキュベートすること

を含む、請求項39に記載の方法。

【請求項43】

前記第1の添加物、前記第2の添加物、および前記第3の添加物、ならびにそれらの対応するインキュベーションが逐次行われる、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記第1の添加物が、TnおよびPacBioアダプターであり、

前記第2の添加物が、T4pol、dNTP、E.coliリガーゼ、およびNADであり、

前記第3の添加物が、エキソヌクレアーゼT5である、

請求項42または43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】0174

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0174】

上の本明細書においてと同様に、特許請求の範囲において、「含む (comprising)」、「含む (including)」、「担持する (carrying)」、「有する (having)」、「含有する (containing)」、「伴う (invol

ving)」、「保持する(holding)」、「から構成される(composed of)」等のすべての移行句は、オープンエンド型である、すなわち、含むが限定されないことを意味するものと理解されるべきである。米国特許庁特許審査基準セクション2111.03に記載の通り、「からなる」および「から本質的になる」という移行句のみがそれぞれ、クローズドエンド型であるか、セミクローズドエンド型である移行句とする。

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

(項目1)

試料から核酸を単離するためのシステムであって、
核酸および非核酸要素を含む試料を固定するように構成されているヒドロゲルマトリクス

前記ヒドロゲルマトリクス中に拡散し、

固定された生体試料と反応し、

細胞の試料の非核酸要素を放出する

ように構成されている試薬、

ならびに

前記非核酸要素の放出後に前記ヒドロゲルマトリクスから前記核酸を溶出するための手段を含む、システム。

(項目2)

前記ヒドロゲルマトリクスが、アガロースゲルを含む、項目1に記載のシステム。

(項目3)

前記生体試料を、ヒドロゲルを含有する融解したゲルと混合して前記ヒドロゲルマトリクスを調製すること、ならびに前記試薬の添加および除去を調節することのうちの少なくとも1つを行うように構成されている1つまたは複数の自動化された液体取扱いデバイスをさらに含む、項目1に記載のシステム。

(項目4)

前記ヒドロゲルマトリクスが担体に付着することを可能にするために前記ヒドロゲルマトリクスと互いにかみ合う形状を有するように構成されている担体をさらに含む、項目1に記載のシステム。

(項目5)

前記ヒドロゲルマトリクスが、ほぼ等しい体積部のヒドロゲルおよび前記生体試料を含有する、項目1に記載のシステム。

(項目6)

前記試薬が、溶解のための界面活性剤溶液、細菌、真菌、および/もしくは植物の細胞壁を消化するように構成されている酵素を含有する溶液、プロテアーゼ溶液、DNA加工処理酵素を含有する溶液、シーケンシングライブラリーを作製するための酵素および合成アダプターを含有する溶液、ならびに/またはトランスポザソームを含有する溶液を含む、項目1に記載のシステム。

(項目7)

前記ヒドロゲルマトリクスからの前記核酸の電気泳動による溶出を補助するための濾過膜をさらに含み、前記濾過膜は、前記核酸をサイズに基づいて選択的に保持するようにサイズが設定された細孔を含有する、項目1に記載のシステム。

(項目8)

電場が、核酸をサイズに基づいて選択的に回収するように操作される、項目1に記載のシステム。

(項目9)

核酸および非核酸要素を含有する試料から核酸を単離するための方法であって、
温度調節された容器内で前記試料を融解したヒドロゲルと混合するステップ、
生体試料および前記融解したヒドロゲルの混合物のゲル化を引き起こし、前記生体試料を固定するように構成されているヒドロゲルマトリクスを形成するように、前記容器の温度

を低下させるステップ、

固定された前記生体試料と反応し前記非核酸要素を放出するために、前記ヒドロゲルマトリクス中に拡散するように構成されている試薬を前記ヒドロゲルマトリクスに導入するステップ、ならびに

前記ヒドロゲルマトリクスから前記核酸を抽出するステップを含む方法。

(項目 10)

前記ヒドロゲルマトリクスが、アガロースゲルを含む、項目 9 に記載の方法。

(項目 11)

前記生体試料が、DNA 分子を含む、項目 9 に記載の方法。

(項目 12)

前記融解したヒドロゲルと前記生体試料の前記混合が、自動化された液体取扱いデバイスを介して行われる、項目 9 に記載の方法。

(項目 13)

前記試薬への前記ヒドロゲルマトリクスの前記導入が、前記ヒドロゲルマトリクスを担持する担体を前記試薬の混合物中に浸漬することによって行われる、項目 9 に記載の方法。

(項目 14)

前記試薬への前記ヒドロゲルマトリクスの前記導入が、前記試薬を前記ヒドロゲルマトリクス中に電気泳動によって移動させることによって行われる、項目 9 に記載の方法。

(項目 15)

前記核酸をサイズに基づいて選択的に保持するようにサイズが設定された細孔を含有する濾過膜を介して前記核酸を濾過するステップをさらに含む、項目 9 に記載の方法。

(項目 16)

非核酸要素の放出後に前記ヒドロゲルマトリクスから前記非核酸要素を電気泳動によって除去するステップをさらに含む、項目 9 に記載の方法。

(項目 17)

電気泳動バッファを有する容器、

前記容器内に構成されている電気泳動ゲルマトリクス部分、および

前記電気泳動ゲルマトリクス部分中に構成されている試料ウェル

を含む、電気泳動カセットであって、

前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、前記容器を横切って側方に延在して前記容器を 2 つのチャンパーに分割し、2 つの部分のそれぞれが、前記電気泳動バッファで満たされており、

試料ウェルが、前記電気泳動ゲルマトリクス部分によって前記電気泳動バッファから隔離されている、

電気泳動カセット。

(項目 18)

前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、アガロースである、項目 17 に記載の電気泳動カセット。

(項目 19)

前記電気泳動ゲルマトリクス部分が、デンプン、寒天、アガロース、およびポリアクリルアミドのうち少なくとも 1 種である、項目 17 に記載の電気泳動カセット。

(項目 20)

前記電気泳動バッファが、pH 7 および pH 9 の間の pH を有する、前記項目のいずれかに記載の電気泳動カセット。

(項目 21)

前記電気泳動バッファが、キレート剤として EDTA を含む、前記項目のいずれかに記載の電気泳動カセット。

(項目 22)

少なくとも1つの陽極および少なくとも1つの陰極をさらに含み、
前記少なくとも1つの陽極が、前記2つのチャンバーのうちの第1のチャンバーに接続されており、
前記少なくとも1つの陰極が、前記2つのチャンバーのうちの第2のチャンバーに接続されている、
項目17に記載の電気泳動カセット。

(項目23)

電気泳動バッファで満たされた前記2つのチャンバーが、溶解試薬を受け入れるようにさらに構成されている、項目22に記載の電気泳動カセット。

(項目24)

前記溶解試薬が、陰イオン性界面活性剤および界面活性剤適合性プロテアーゼのうちの少なくとも1種である、項目23に記載の電気泳動カセット。

(項目25)

前記陰イオン性界面活性剤が、約0.1%から約10%重量/体積の間の濃度を有するSDSである、項目24に記載の電気泳動カセット。

(項目26)

前記溶解試薬が、陰イオン性界面活性剤SDSおよびプロテイナーゼKの混合物である、項目24に記載の電気泳動カセット。

(項目27)

電圧が前記電極間を横切って印加されると、前記溶解試薬が、前記電気泳動ゲルマトリクス部分を通して前記試料ウェル内に駆動される、項目23に記載の電気泳動カセット。

(項目28)

前記試料ウェルが生体試料を含有し、電圧を印加することにより、前記2つのチャンバーのうちの前記第2のチャンバーの近くの前記試料ウェルの側面に前記生体試料内のDNA分子の蓄積が引き起こされる、項目24に記載の電気泳動カセット。

(項目29)

前記電圧を逆にすることによって、前記DNA分子が前記試料ウェルの前記側面から離れて移動される、項目28に記載の電気泳動カセット。

(項目30)

前記試料ウェルと前記2つのチャンバーのうちの前記第2のチャンバーとの間に配置された試薬ウェルをさらに含む、項目22に記載の電気泳動カセット。

(項目31)

第1の端部、第2の端部、長さ、幅、第1の長さ方向の側面および第2の長さ方向の側面を有する電気泳動ゲルマトリクス、

前記第1の端部に近接する電気泳動ゲルマトリクス部分中に構成されている試薬を含有する試薬ウェル、

生体細胞の試料を含有し、前記第1の端部に近接し前記試薬ウェルと前記第2の端部との間の前記電気泳動ゲルマトリクス中に構成されている試料ウェル、

前記第1の端部に配置された1対の電気泳動電極のうちの第1の陰極、

前記第2の端部に配置された前記1対の電気泳動電極のうちの第1の陽極を含む、電気泳動システムであって、

前記1対の電気泳動電極を横切って第1のバイアス電圧を印加すると、試薬が、前記試薬ウェルから、前記試料ウェル内にかつ/または前記試料ウェルを通して駆動される、電気泳動システム。

(項目32)

前記試料ウェルが、細胞懸濁物を含む、項目31に記載の電気泳動システム。

(項目33)

前記試薬ウェルが、負に荷電した溶解試薬を含む、項目31または32に記載の電気泳動システム。

(項目34)

溶解剤からの溶解の結果として、前記細胞懸濁物中に含有される前記細胞のDNA分子が生成される、項目33に記載の電気泳動システム。

(項目35)

前記DNA分子が、前記試料ウェルの少なくとも1つの側面に蓄積する、項目34に記載の電気泳動システム。

(項目36)

前記1対の電気泳動電極を横切って第2のバイアス電圧を印加すると、蓄積した前記DNAが前記試料ウェルの外に電気泳動されることが引き起こされる、項目35に記載の電気泳動システム。

(項目37)

前記ゲルの前記第1の長さ方向の側面に沿って配置された複数の溶出受け入れ領域またはチャンネルであって、それぞれの受け入れ領域が、前記ゲルの前記第1の長さ方向の側面に隣接して配置された第1の側面と、前記受け入れ領域の前記第1の側面から離れて配置された第2の側面とを有する、複数の溶出受け入れ領域またはチャンネル、ならびに

それぞれの溶出受け入れチャンネルに対応する複数対の溶出電極であって、第1の対の溶出電極の第1の溶出陰極が、第1の溶出受け入れチャンネルの前記第1の側面の反対側の前記ゲルの前記第2の長さ方向の側面に近接して配置され、前記第1の対の第1の溶出陽極が、前記第1の溶出受け入れチャンネルの前記第2の側面に近接して配置される、複数対の溶出電極

をさらに含み、ここで

第2の始動により、前記溶出受け入れチャンネルのうちの1つのチャンネルおよび/または別のチャンネルに近接して、電気泳動された前記DNAのDNA断片の蓄積が引き起こされる、

前記複数対の溶出電極のうちの1つの対および/または別の対の間を横切ってバイアス電圧を印加することにより、前記DNA断片がそれぞれの溶出チャンネルのうちの1つのチャンネルおよび/または別のチャンネルの中に駆動される、
項目36に記載の電気泳動システム。

(項目38)

項目31に記載のシステムを提供するステップ、

試料ウェル内に細胞懸濁物をロードするステップ、

試薬ウェル内に試薬をロードするステップ、

第1の電圧バイアスを1対の電気泳動電極を横切って印加するステップであって、前記第1の電圧バイアスの印加は、前記試薬ウェルから前記試料ウェルへの前記試薬の移動が引き起こされる、ステップ

を含む、電気泳動方法であって、

前記試薬は、前記懸濁物中の細胞の溶解を引き起こすように構成されており、

前記細胞からのDNA分子は、前記試料ウェルの少なくとも1つの側面に蓄積する、
電気泳動方法。

(項目39)

前記細胞懸濁物を前記試料ウェル内でインキュベートするステップをさらに含む、項目38に記載の方法。

(項目40)

前記DNA分子を断片に破壊するステップをさらに含む、項目38に記載の方法。

(項目41)

DNA断片を前記試料ウェルから複数の溶出チャンネルに電気泳動によって駆動するステップをさらに含む、項目38に記載の方法。

(項目42)

インキュベーションが、

第1の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記試料ウェルの内容物である前記細胞と共にインキュベートすること、ならびに/または

第 2 の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記細胞と共にインキュベートすること、ならびに / または

第 3 の添加物を前記試料ウェルに添加し、その中で前記細胞と共にインキュベートすること

を含む、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記第 1 の添加物、前記第 2 の添加物、および前記第 3 の添加物、ならびにそれらの対応するインキュベーションが逐次行われる、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記第 1 の添加物が、Tn および PacBio アダプターであり、

前記第 2 の添加物が、T4 pol、dNTP、E. coli リガーゼ、および NAD であり、

前記第 3 の添加物が、エキソヌクレアーゼ T5 である、

項目 4 2 または 4 3 に記載の方法。