

【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5年2月20日(2023.2.20)

【公開番号】特開2022-153390(P2022-153390A)
 【公開日】令和4年10月12日(2022.10.12)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-187
 【出願番号】特願2022-106377(P2022-106377)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11(2006.01)

10

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 N 15/10(2006.01)

C 1 2 Q 1/6876(2018.01)

C 4 0 B 40/06(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 1 2 N 15/10 1 1 0 Z

C 1 2 Q 1/6876 Z

C 4 0 B 40/06

20

【手続補正書】

【提出日】令和5年2月8日(2023.2.8)

【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】

30

複数のユニークオリゴヌクレオチド種を含む組成物であって、各ユニークオリゴヌクレオチド種が、

少なくとも7ヌクレオチドを含む分子バーコードを含むバーコード領域と、

標的特異的領域を含むユニフォーム領域と、

少なくとも3ヌクレオチドを含む非Gスペーサーと

を含み、

前記標的特異的領域が、標的核酸に相補的な少なくとも10ヌクレオチドを含み、前記ユニフォーム領域が、前記バーコード領域の3'側にあり、

前記スペーサーが、前記バーコード領域と前記ユニフォーム領域の間にあり、

前記ユニークオリゴヌクレオチド種が、そのバーコード領域に異なる核酸配列を含み、そのスペーサーに同じ核酸配列を含む、組成物。

40

【請求項2】

前記バーコード領域が、少なくとも3ヌクレオチドを含むサンプルバーコードをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記ユニフォーム領域が、免疫細胞レセプター又は免疫グロブリンの可変領域コード配列にフランキングする配列を含む標的特異的領域を含む、請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】

前記免疫細胞レセプターの可変領域コード配列が、T細胞レセプターの可変領域コード

50

配列、B細胞レセプターの可変領域コード配列、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項3に記載の組成物。

【請求項5】

前記標的特異的領域が、オリゴdT配列を含む、請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項6】

前記スパーサーの長さが、3～10ヌクレオチドである、請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項7】

前記スパーサーが、Tのみ、Aのみ、又はCのみを含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項8】

前記スパーサーが、Tのみを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項9】

前記スパーサーが、TTT又はTTTTTである、請求項1～8のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

各ユニークオリゴヌクレオチド種について、前記分子バーコードが、サンプルバーコードの3'側にある、請求項1～9のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項11】

前記ユニークオリゴヌクレオチド種が、少なくとも2つの空間分離されたプールに配設されており、各プールが前記ユニークオリゴヌクレオチド種の少なくとも100ユニークオリゴヌクレオチドを含み、

同一のプールのユニークオリゴヌクレオチドが同一のサンプルバーコード配列を含み、かつ

同一のプールの異なるユニークオリゴヌクレオチドが異なる分子バーコード配列を含む、請求項1～10のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項12】

前記ユニークオリゴヌクレオチド種が、少なくとも48プールに配設されている、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

前記分子バーコードではなく前記サンプルバーコードが、各基材に固定されたオリゴヌクレオチド種について同一になるように、各プールのユニークオリゴヌクレオチド種が基材に固定されている、請求項11又は12に記載の組成物。

【請求項14】

表面が2つ以上の基材を含みうるように、前記基材が離散した表面領域を含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】

前記基材がビーズを含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項16】

前記ユニークオリゴヌクレオチド種のそれぞれが、前記ユニークオリゴヌクレオチドを前記基材に固定するように構成されたアダプターをさらに含み、前記バーコード領域が前記アダプターの3'側にある、請求項13～15のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項17】

各オリゴヌクレオチド種が、少なくとも24ヌクレオチド長を有する、請求項1～16のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項18】

少なくとも1000ユニークオリゴヌクレオチド種を含む、請求項1～17のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項19】

同一のユニークオリゴヌクレオチド種の少なくとも2オリゴヌクレオチドを含む、請求

10

20

30

40

50

項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記組成物の 2 オリゴヌクレオチドは、同一のユニークオリゴヌクレオチド種ではない、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 1】

それぞれ核酸を含む 2 以上のサンプルからの複数の核酸に特異的にバーコードを付ける方法であって、

各サンプルを請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物を含むプールと接触させる工程であって、各サンプルが他のサンプルから空間分離した状態で接触される、工程と、

前記ユニークオリゴヌクレオチド種の少なくともいくつかのオリゴヌクレオチドの標的、特異的領域を、前記サンプルの核酸の少なくともいくつかにハイブリダイズさせる工程と

10

ハイブリダイズされた前記オリゴヌクレオチドを伸長させることにより、前記ユニークオリゴヌクレオチド種のオリゴヌクレオチドと前記標的に相補的な配列とを含む鎖を生成する工程であって、各サンプルについては、前記鎖が同一のサンプルバーコード及び異なる分子バーコードを含み、かつ異なるサンプルについては、前記サンプルバーコードが異なっている、工程と

を含む方法。

【請求項 2 2】

請求項 3 又は 4 に記載の組成物を含むキットであって、前記可変領域の前記標的、特異的領域とは反対側にハイブリダイズするように、かつ前記標的、特異的領域がハイブリダイズした鎖の相補鎖にハイブリダイズするように構成され、それにより、前記標的、特異的領域と共に前記可変領域を増幅するように構成されたプライマーをさらに含む、キット。

20

【請求項 2 3】

前記プライマー及び標的、特異的領域が、前記可変領域を含む少なくとも 1 k b の核酸を増幅するように構成されている、請求項 2 2 に記載のキット。

30

40

50