(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2019-531727
(P2019-531727A)
(43)公表日　令和1年11月7日(2019.11.7)

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
C12Q	1/6869	(2018.01)	C12Q	1/6869	Z	4B029
C40B	40/06	(2006.01)	C40B	40/06		4B063
C12M	1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A	
C12Q	1/686	(2018.01)	C12Q	1/686	Z	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 71 頁）

(21)出願番号　特願2019-516121 (P2019-516121)
(86)(22)出願日　平成29年9月22日 (2017.9.22)
(85)翻訳文提出日　令和1年5月24日 (2019.5.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/053058
(87)国際公開番号　WO2018/057959
(87)国際公開日　平成30年3月29日 (2018.3.29)
(31)優先権主張番号　62/399,219
(32)優先日　平成28年9月23日 (2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/398,841
(32)優先日　平成28年9月23日 (2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　516225728
アーチャーディーエックス　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　８０３０１　コロラド州　ボールダー　フィフティーフィフス　ストリート　２４７７　＃２０２
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔

最終頁に続く

(54)【発明の名称】生物学的サンプルに対してあるプロトコルを行うためのライブラリー調製システムの実行

(57)【要約】
生物学的分析システムおよびそのシステムのデバイスを作動するための方法が、提供される。上記生物学的分析システムのライブラリー調製デバイスは、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行い得る。ここでそのライブラリー調製プロトコルは、その生物学的サンプルおよびそのライブラリー調製デバイスによって使用されるリソースと関連する符号化された識別子からの情報に基づいて決定される。シーケンシングデバイスは、そのライブラリー調製デバイスによって調製されるライブラリーに対してシーケンシングプロセスを行い得る。そのプロセスを行うためのシーケンシングデバイスの構成は、そのライブラリー調製デバイスによって生成されるサンプル情報を受け取ることおよびそのサンプル情報を処理して、そのシーケンシングデバイスに関する構成情報を生成することを包含し得る。

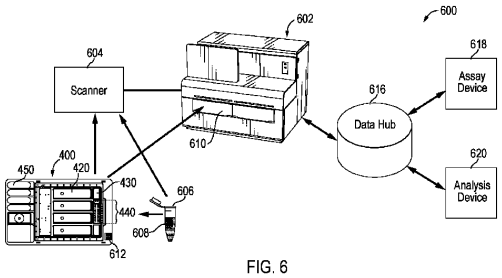

FIG. 6

【特許請求の範囲】
【請求項１】
シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために複数のライブラリー調製プロトコルを行うように構成されるライブラリー調製デバイスを作動するための方法であって、該複数のライブラリー調製プロトコルの各々は、ライブラリー調製作動の異なるセットを含み、該方法は、
該複数のライブラリー調製プロトコルのうちの１つのライブラリー調製プロトコルを生物学的サンプルに対して行って、該シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するように該ライブラリー調製デバイスを構成する工程であって、ここで該ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、
該生物学的サンプルおよび該ライブラリー調製プロトコルを行うにあたって該ライブラリー調製デバイスによって使用される少なくとも１つのリソースと関連する符号化された識別子を示す情報を受容する工程、
該符号化された識別子を示す情報における少なくとも一部に基づいて、ライブラリー調製プロトコルの該セットから実行される該ライブラリー調製プロトコルを選択する工程、ならびに
該選択する工程において選択された該ライブラリー調製プロトコルが、該生物学的サンプルに対して行われるであることを示す情報を記憶する工程、
を包含する工程；ならびに
該ライブラリー調製デバイスを、該生物学的サンプルに対して該ライブラリー調製プロトコルを行って、該シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するように作動する工程、
を包含する方法。
【請求項２】
前記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、前記符号化された識別子に基づいて前記ライブラリー調製プロトコルを自動的に選択する工程を包含する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、該選択において人間の介入なしで該ライブラリー調製プロトコルを選択する工程をさらに包含する、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記生物学的サンプルおよび前記少なくとも１つのリソースと関連する符号化された前記識別子は、電子的に読み取り可能な識別子である、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記生物学的サンプルと関連する前記符号化された識別子は、バーコードである、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記コードされた識別子を示す情報を受容する工程は、前記バーコードをスキャンする工程を包含する、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記ライブラリー調製デバイスは、バーコードスキャナーを含み；そして
前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、該バーコードを、該ライブラリー調製デバイスの該バーコードスキャナーでスキャンする工程を包含する、
請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記生物学的サンプルと関連する前記符号化された識別子は、近距離無線通信（ＮＦＣ）タグである、請求項４に記載の方法。
【請求項９】
前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、前記ＮＦＣタグをインターロゲートする工程を包含する、請求項８に記載の方法。

【請求項１０】
前記ライブラリー調製デバイスは、ＮＦＣインターロゲーターを含み；そして
前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、前記ＮＦＣタグを、該ライブラリー調製デバイスの該ＮＦＣインターロゲーターでインターロゲートする工程を包含する、
請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記生物学的サンプルおよび前記少なくとも１つのリソースと関連する前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、該生物学的サンプルと関連する情報を受容する工程を包含する、請求項１に記載の方法。
【請求項１２】
前記生物学的サンプルおよび前記少なくとも１つのリソースと関連する符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、該生物学的サンプルを同定し、かつ前記ライブラリー調製プロトコルを行う間に該生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジを同定する情報を受容する工程を包含し；そして
前記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、該カートリッジを示す情報における少なくとも一部に基づいて、該プロトコルを選択する工程を包含する、
請求項１に記載の方法。
【請求項１３】
前記カートリッジは、前記複数のライブラリー調製プロトコルのうちの１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルでの使用のために構成されたタイプのものであり、該カートリッジは、少なくとも一部が、該１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルの実施において使用される該カートリッジ内に予め配置した物質を含めることによって、実施のために配列され；
前記カートリッジを同定する情報は、該カートリッジのタイプを同定する情報を含み；そして
前記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、該カートリッジのタイプを同定する情報における少なくとも一部に基づいて、該プロトコルを選択する工程を包含する、
請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記生物学的サンプルおよび前記少なくとも１つのリソースと関連する前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、行われる前記ライブラリー調製プロトコルにおいて使用される少なくとも１つの物質を同定する情報を受容する工程を包含し；そして
前記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、該ライブラリー調製プロトコルにおいて使用される該少なくとも１つの物質を同定する情報に基づいて、該ライブラリー調製プロトコルを選択する工程を包含する、
請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
前記生物学的サンプルおよび前記少なくとも１つのリソースと関連する前記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、前記ライブラリー調製プロトコルを行う間に前記生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジと関連する符号化された識別子を受容する工程を包含し；
前記ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、少なくとも１つのデータストアからおよび該符号化された識別子に基づいて、該生物学的サンプルを同定しかつ該ライブラリー調製プロトコルによって使用される該少なくとも１つのリソースを同定する情報を検索する工程をさらに包含し；そして
該ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、該ライブラリー調製プロトコルを、該生物学的サンプルおよび該少なくとも１つのリソースを同定する検索情報に基づいて選択する工程を包含する、
請求項１に記載の方法。

【請求項１６】
前記ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、
該ライブラリー調製デバイスを作動して、前記ライブラリー調製プロトコルのライブラリー調製作動を行うスケジュールを決定する工程；および
該ライブラリー調製デバイスを作動する工程は、該ライブラリー調製デバイスを作動して、該スケジュールに従って該ライブラリー調製作動を行う工程、
をさらに包含する、
請求項１に記載の方法。
【請求項１７】
前記スケジュールを決定する工程は、
複数のスケジュール選択肢の完了予定時間を、前記ライブラリー調製デバイスで前記ライブラリー調製プロトコルのライブラリー調製作動を行うために評価する工程；および
該評価の結果に基づいて、該複数のスケジュール選択肢のうちの１つを選択する工程
を包含する、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記スケジュールを決定する工程は、前記ライブラリー調製プロトコルの前記ライブラリー調製作動の少なくとも第１の部分を行う予定継続時間に関する第１の記憶された情報を評価する工程、および該ライブラリー調製選択肢の少なくとも第２の部分に関して、作動の完了後でその後の作動を開始する前に、継続時間の許容差に対して第２の記憶された情報を評価する工程をさらに包含する、請求項１６に記載の方法。
【請求項１９】
前記ライブラリー調製デバイスは、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行う複数のサンプルウェルを含み；そして
該複数のサンプルウェルのうちの第１のサンプルウェルにおいて該ライブラリー調製プロトコルを行うためのスケジュールを決定する工程は、該ライブラリー調製デバイスの第２のサンプルウェルにおいて第２の生物学的サンプルに対する第２のライブラリー調製プロトコルを行うための第２のスケジュールを評価する工程をさらに包含する、
請求項１６に記載の方法。
【請求項２０】
前記ライブラリー調製デバイスを作動して、前記生物学的サンプルに対して前記ライブラリー調製プロトコルを行う工程は、該ライブラリー調製デバイスを作動して、ライブラリー調製作動を行う工程を包含し、該ライブラリー調製作動を行う工程は、該ライブラリー調製デバイスを作動して、該生物学的サンプルのうちの少なくとも一部を、ある継続時間にわたってある温度に曝す工程を包含する、請求項１に記載の方法。
【請求項２１】
前記ライブラリー調製デバイスを作動して、前記生物学的サンプルに対して前記ライブラリー調製プロトコルを行う工程は、前記ライブラリー調製デバイスを作動して、ライブラリー調製作動を行う工程を包含し、該ライブラリー調製作動を行う工程は、該ライブラリー調製デバイスを作動して、ある体積の物質を、該ライブラリー調製デバイス内の第１の位置から第２の位置へと移動する工程を包含する、請求項１に記載の方法。
【請求項２２】
前記ライブラリー調製プロトコルが完了したか否かの示度を提供する工程および該ライブラリー調製プロトコルが完了と示される場合に、前記ライブラリー調製デバイスの開口部のロックを外す工程
をさらに包含する、請求項１に記載の方法。
【請求項２３】
前記ライブラリー調製デバイスは、複数のカートリッジベイを含み、各々は、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行うカートリッジを保持するように構成され；
前記方法は、該ライブラリー調製プロトコルを該複数のカートリッジベイのうちの第１

のカートリッジベイに位置した第１のカートリッジにおいて行うように、該ライブラリー調製デバイスを構成する工程を包含し；そして
該方法は、該第１のカートリッジにおいて該ライブラリー調製プロトコルのうちの少なくとも一部を行う間に、該複数のカートリッジベイのうちの第２のカートリッジベイへのアクセスを防止する工程をさらに包含する、
請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
生物学的サンプルに含まれる少なくとも１つの核酸配列を決定するために、該生物学的サンプルに対して行われるシーケンシングプロセスを構成するための方法であって、該方法は、
シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために該生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行ったライブラリー調製デバイスによって生成されるサンプル情報を受容する工程であって、該サンプル情報は、少なくとも１つの核酸を含む該生物学的サンプルを同定する工程；
該ライブラリー調製デバイスによって生成されたサンプル情報を処理して、該生物学的サンプルに対して該シーケンシングプロセスを行うシーケンシングデバイスの構成情報を生成する工程であって、該構成情報は、該シーケンシングデバイスが該シーケンシングプロセスの実施を調節する少なくとも１つのパラメーターを同定する工程；ならびに
該シーケンシングデバイスの該構成情報を、少なくとも１つのデータストアに記憶する工程
を包含する方法。
【請求項２５】
前記サンプル情報を受容する工程は、前記生物学的サンプルを同定する情報を受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
前記サンプル情報を受容する工程は、組織のタイプを同定する情報を受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項２７】
前記サンプル情報を受容する工程は、前記生物学的サンプルと関連する患者を同定する情報を受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項２８】
前記サンプル情報を受容する工程は、前記生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを同定する情報を受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項２９】
前記サンプル情報を受容する工程は、ライブラリー調製プロトコルの実施の結果に関する情報を受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項３０】
前記サンプル情報を受容する工程は、前記生物学的サンプルに対してｑＰＣＲプロセスを行う工程からの結果に関する情報を受容する工程を包含する、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記ｑＰＣＲ結果に関する情報は、ｑＰＣＲプロセスの前記結果の強度に関する情報を含む、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記ｑＰＣＲ結果に関する情報は、少なくとも１つの核酸配列および該少なくとも１つの核酸配列と関連する少なくとも１つの品質スコアを含む、請求項３０に記載の方法。
【請求項３３】
前記サンプル情報を処理して、構成情報を生成する工程は、前記シーケンシングデバイスのサンプルシートを生成する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項３４】
前記サンプル情報を処理して構成情報を生成する工程は、

使用される前記シーケンシングデバイスを決定する工程；および
該シーケンシングデバイスが入力情報を受容する形式で前記サンプルシートを生成する工程、
をさらに包含する、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
前記サンプルシートは、前記生物学的サンプルを同定する情報を含む、請求項３３に記載の方法。
【請求項３６】
前記サンプルシートは、前記ライブラリー調製プロトコルを同定する情報を含む、請求項３３に記載の方法。
【請求項３７】
前記サンプルシートを前記シーケンシングデバイスに提供する工程、
をさらに包含する、請求項３３に記載の方法。
【請求項３８】
前記サンプルシートを前記シーケンシングデバイスに提供する工程は、該シーケンシングデバイスにネットワークを介して伝達する工程を包含する、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記サンプルシートをデマルチプレックスデバイスに提供して、前記シーケンシングプロセスの結果に対してデマルチプレックスプロセスを行う工程、
をさらに包含する、請求項３３に記載の方法。
【請求項４０】
前記デマルチプレックスデバイスおよび前記シーケンシングデバイスは、同じデバイスである、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
前記デマルチプレックスプロセスの結果に関する情報を受容し、該デマルチプレックスプロセスの結果を記憶する工程、
をさらに包含する、請求項３９に記載の方法。
【請求項４２】
前記サンプル情報を受容する工程は、該サンプル情報を前記ライブラリー調製デバイスから受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項４３】
前記方法は、前記ライブラリー調製デバイスによって行われ、サンプル情報を受容する工程は、サンプル情報を該ライブラリー調製デバイスのデータストアから受容する工程を包含する、請求項２４に記載の方法。
【請求項４４】
生物学的サンプルに対して行われるシーケンシングプロセスの結果を分析して、該生物学的サンプルに含まれる核酸配列を決定するための方法であって、該方法は、
シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために該サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行ったライブラリー調製デバイスによって生成されるサンプル情報を受容する工程であって、該サンプル情報は、該生物学的サンプルおよび該生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを同定する工程；
該生物学的サンプルに対して行われた該シーケンシングプロセスの結果を受容する工程であって、該結果は、該シーケンシングプロセスの間に該生物学的サンプルにおいて検出される少なくとも１つの核酸配列を同定する工程；
該ライブラリー調製デバイスによって生成された該サンプル情報の少なくとも一部に基づいて、該シーケンシングプロセスの結果に対して行われる分析プロセスを構成する工程；
該シーケンシングプロセスの結果を、該構成された分析プロセスで分析する工程；および
該構成された分析プロセスの結果を記憶する工程、

を包含する方法。
【請求項４５】
サンプル情報を受容する工程は、該サンプル情報を前記ライブラリー調製デバイスから受容する工程を包含する、請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
前記シーケンシングプロセスの結果を受容する工程は、該結果を前記サンプル情報によって同定されたデータストアの位置から受容する工程を包含する、請求項４４に記載の方法。
【請求項４７】
前記シーケンシングプロセスの結果を受容する工程は、該シーケンシングプロセスの完了が前記データストアの位置をモニターすることによって決定されたときに該シーケンシングプロセスの結果を自動的に受容する工程を包含する、請求項４６に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本願は、米国仮特許出願第６２／３９８，８４１号、第６２／３９９，１５２号、第６２／３９９，１５７号、第６２／３９９，１８４号、第６２／３９９，１９５号、第６２／３９９，２０５号、第６２／３９９，２１１号および第６２／３９９，２１９号（これらそれぞれは、２０１６年９月２３日に出願された）の米国特許法第１１９条（ｅ）項に基づく優先権を主張し、２０１７年９月１５日に出願されたＰＣＴ国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０５１９２４号（２０１６年９月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３９５，３３９号の米国特許法第１１９条（ｅ）項に基づく優先権を主張する）、および２０１７年９月１５日に出願されたＰＣＴ国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０５１９２７号（２０１６年９月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３９５，３４７号の米国特許法第１１９条（ｅ）項に基づく優先権を主張する）の米国特許法第１２０条および第３６５条（ｃ）項に基づく優先権を主張し、これらそれぞれの内容は、参照によって本願明細書に組み込まれる。
【０００２】
技術分野
本発明は一般に、分子（例えば、核酸）の自動化処理のためのシステムおよび関連方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
背景
核酸を処理するための多くのアプローチが開発されてきた。このような方法はしばしば、複数の酵素工程、精製工程、および調製工程を含んだ。これらの工程は、汚染、システム上のユーザーエラー、およびプロセスバイアスと関連するエラーを含め、困難かつ間違えやすくする。結果として、このようなプロセスを信頼性高くかつ再現可能に実行することは、特に、そのプロセスが商業的に、例えば、多重またはハイスループットの状況で行われている場合には、しばしば困難である。
【０００４】
核酸シーケンシング技術は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）内のヌクレオチドの配列を決定し得る。核酸は、生物学的サンプル内に含まれ得、そのサンプルは、そのサンプルに対して処理工程を行うことを通じてシーケンシング用に「調製され」得る。例えば、生物学的サンプルの核酸フラグメントのライブラリーは、その生物学的サンプルを分析するために使用されるシーケンシングのタイプに適切であるように「調製され」得る。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】

【０００５】
要旨
本発明は一般に、核酸を処理するためのシステムおよび関連方法に関する。いくつかの実施形態において、上記システムは、自動化核酸ライブラリー調製を含め、核酸の自動化処理を促進するカセットおよび／または微小流体チャネルを含むカートリッジを含む。いくつかの実施形態において、システムおよび関連方法は、次世代シーケンシングおよび／または他の下流の分析技術の材料を生成する核酸の自動化処理のために提供される。
【０００６】
本発明の局面は、シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために複数のライブラリー調製プロトコルを行うように構成されたライブラリー調製デバイスを作動するための方法に関し、上記複数のライブラリー調製プロトコルの各々は、ライブラリー調製作動の異なるセットを含む。いくつかの実施形態において、上記方法は、上記複数のライブラリー調製プロトコルのうちの１つのライブラリー調製プロトコルを生物学的サンプルに対して行って、上記シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するように上記ライブラリー調製デバイスを構成する工程；および上記生物学的サンプルに対して上記ライブラリー調製プロトコルを行って、上記シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するように上記ライブラリー調製デバイスを作動する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、上記生物学的サンプルおよび上記ライブラリー調製プロトコルを行うにあたって上記ライブラリー調製デバイスによって使用される少なくとも１つのリソースと関連する符号化された識別子を示す情報を受容する工程；上記符号化された識別子を示す情報の少なくとも一部に基づいて、ライブラリー調製プロトコルの上記セットから実行される上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程；ならびに上記選択されたライブラリー調製プロトコルが、上記生物学的サンプルに対して行われるであることを示す情報を記憶する工程を包含する。
【０００７】
ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記符号化された識別子に基づいて上記ライブラリー調製プロトコルを自動的に選択する工程を包含する。ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記選択において人間の介入なしで上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程をさらに包含する。
【０００８】
ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースと関連する符号化された識別子は、電子的に読み取り可能な識別子である。ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルと関連する符号化された識別子は、バーコードである。ある種の実施形態において、上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記バーコードをスキャンする工程を包含する。ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスは、バーコードスキャナーを含み；そして上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記バーコードを上記ライブラリー調製デバイスの上記バーコードスキャナーでスキャンする工程を包含する。ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルと関連する上記符号化された識別子は、近距離無線通信（ＮＦＣ）タグである。ある種の実施形態において、上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記ＮＦＣタグをインターロゲートする工程を包含する。
【０００９】
ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスは、ＮＦＣインターロゲーターを含み；そして上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記ＮＦＣタグを、上記ライブラリー調製デバイスの上記ＮＦＣインターロゲーターでインターロゲートする工程を包含する。
【００１０】
ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースと関連する上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記生物学的サンプ

ルと関連する情報を受容する工程を包含する。
【００１１】
ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースと関連する符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記生物学的サンプルを同定し、かつ上記ライブラリー調製プロトコルを行う間に上記生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジを同定する情報を受容する工程を包含し；そして上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記カートリッジを示す情報の少なくとも一部に基づいて、上記プロトコルを選択する工程を包含する。
【００１２】
ある種の実施形態において、上記カートリッジは、上記複数のライブラリー調製プロトコルのうちの１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルでの使用のために構成されたタイプのものであり、上記カートリッジは、少なくとも一部、上記１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルの実施において使用される上記カートリッジ内に予め配置した物質を含めることによって、実施のために配列され；上記カートリッジを同定する情報は、上記カートリッジのタイプを同定する情報を含み；そして上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記カートリッジのタイプを同定する情報の少なくとも一部に基づいて、上記プロトコルを選択する工程を包含する。
【００１３】
ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースと関連する上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、行われる上記ライブラリー調製プロトコルにおいて使用される少なくとも１つの物質を同定する情報を受容する工程を包含し；そして上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記ライブラリー調製プロトコルにおいて使用される上記少なくとも１つの物質を同定する情報に基づいて、上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程を包含する。
【００１４】
ある種の実施形態において、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースと関連する上記符号化された識別子を示す情報を受容する工程は、上記ライブラリー調製プロトコルを行う間に上記生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジと関連する符号化された識別子を受容する工程を包含し；上記ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、少なくとも１つのデータストアからおよび上記符号化された識別子に基づいて、上記生物学的サンプルを同定しかつ上記ライブラリー調製プロトコルによって使用される上記少なくとも１つのリソースを同定する情報を検索する工程をさらに包含し；そして上記ライブラリー調製プロトコルを選択する工程は、上記ライブラリー調製プロトコルを、上記生物学的サンプルおよび上記少なくとも１つのリソースを同定する検索情報に基づいて選択する工程を包含する。
【００１５】
いくつかの実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスを構成する工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、上記ライブラリー調製プロトコルのライブラリー調製作動を行うスケジュールを決定する工程；および上記ライブラリー調製デバイスを作動する工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、上記スケジュールに従って上記ライブラリー調製作動を行う工程をさらに包含する。
【００１６】
ある種の実施形態において、上記スケジュールを決定する工程は、複数のスケジュール選択肢の完了予定時間を、上記ライブラリー調製デバイスで上記ライブラリー調製プロトコルのライブラリー調製作動を行うために評価する工程；上記評価の結果に基づいて、上記複数のスケジュール選択肢のうちの1つを選択する工程を包含する。
【００１７】
いくつかの実施形態において、上記スケジュールを決定する工程は、上記ライブラリー調製プロトコルの上記ライブラリー調製作動の少なくとも第１の部分を行う予定継続時間に関する第１の記憶された情報を評価する工程、および上記ライブラリー調製選択肢の少

なくとも第２の部分に関して、作動の完了後でその後の作動を開始する前に、継続時間の許容差に対して第２の記憶された情報を評価する工程をさらに包含する。

【００１８】

ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスは、ライブラリー調製プロトコルを生物学的サンプルに対して行う複数のサンプルウェルを含み；そして上記複数のサンプルウェルのうちの第１のサンプルウェルにおいて上記ライブラリー調製プロトコルを行うためのスケジュールを決定する工程は、上記ライブラリー調製デバイスの第２のサンプルウェルにおいて第２の生物学的サンプルに対して第２のライブラリー調製プロトコルを行うための第２のスケジュールを評価する工程をさらに包含する。

【００１９】

いくつかの実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、上記生物学的サンプルに対して上記ライブラリー調製プロトコルを行う工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、ライブラリー調製作動を行う工程を包含し、上記ライブラリー調製作動を行う工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、上記生物学的サンプルのうちの少なくとも一部を、ある継続時間にわたってある温度に曝す工程を包含する。

【００２０】

ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、上記ライブラリー調製プロトコルを上記生物学的サンプルに対して行う工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、ライブラリー調製作動を行う工程を包含し、上記ライブラリー調製作動を行う工程は、上記ライブラリー調製デバイスを作動して、ある体積の物質を、上記ライブラリー調製デバイス内の第１の位置から第２の位置へと移動する工程を包含する。

【００２１】

いくつかの実施形態において、上記方法は、上記ライブラリー調製プロトコルが完了したか否かの示度を提供する工程および上記ライブラリー調製プロトコルが完了と示される場合に、上記ライブラリー調製デバイスの開口部のロックを外す工程をさらに包含する。

【００２２】

ある種の実施形態において、上記ライブラリー調製デバイスは、複数のカートリッジベイを含み、各々は、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行うカートリッジを保持するように構成される。ある種の実施形態において、上記方法は、上記ライブラリー調製プロトコルを上記複数のカートリッジベイのうちの第１のカートリッジベイに位置した第１のカートリッジにおいて行うように、上記ライブラリー調製デバイスを構成する工程をさらに包含する。ある種の実施形態において、上記方法は、上記第１のカートリッジにおいて上記ライブラリー調製プロトコルのうちの少なくとも一部を行う間に、上記複数のカートリッジベイのうちの第２のカートリッジベイへのアクセスを防止する工程をさらに包含する。

【００２３】

本発明のさらなる局面は、生物学的サンプルに含まれる少なくとも１つの核酸配列を決定するために、上記生物学的サンプルに対して行われるシーケンシングプロセスを構成するための方法に関する。いくつかの実施形態において、上記方法は、シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために上記生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行ったライブラリー調製デバイスによって生成されるサンプル情報を受容する工程であって、上記サンプル情報は、少なくとも１つの核酸を含む上記生物学的サンプルを同定する工程；上記ライブラリー調製デバイスによって生成されたサンプル情報を処理して、上記生物学的サンプルに対して上記シーケンシングプロセスを行うシーケンシングデバイスの構成情報を生成する工程であって、上記構成情報は、上記シーケンシングデバイスが上記シーケンシングプロセスの実施を調節する少なくとも１つのパラメーターを同定する工程；ならびに上記シーケンシングデバイスの上記構成情報を、少なくとも１つのデータストアに記憶する工程を包含する。

【００２４】

ある種の実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、上記生物学的サンプ

ルを同定する情報を受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、組織のタイプを同定する情報を受容する工程を包含する。ある種の実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、上記生物学的サンプルと関連する患者を同定する情報を受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、上記生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを同定する情報を受容する工程を包含する。

【００２５】

ある種の実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、ライブラリー調製プロトコルの実施の結果に関する情報を受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、上記生物学的サンプルに対してｑＰＣＲプロセスを行う工程からの結果に関する情報を受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記ｑＰＣＲ結果に関する情報は、上記ｑＰＣＲプロセスの結果の強度に関する情報を含む。ある種の実施形態において、上記ｑＰＣＲ結果に関する情報は、少なくとも１つの核酸配列および上記少なくとも１つの核酸配列と関連する少なくとも１つの品質スコアを含む。

【００２６】

いくつかの実施形態において、上記サンプル情報を処理して、構成情報を生成する工程は、上記シーケンシングデバイスのサンプルシートを生成する工程を包含する。ある種の実施形態において、上記サンプル情報を処理して、構成情報を生成する工程は、使用される上記シーケンシングデバイスを決定する工程；および上記シーケンシングデバイスが入力情報を受容する形式で上記サンプルシートを生成する工程をさらに包含する。いくつかの実施形態において、上記サンプルシートは、上記生物学的サンプルを同定する情報を含む。ある種の実施形態において、上記サンプルシートは、上記ライブラリー調製プロトコルを同定する情報を含む。

【００２７】

いくつかの実施形態において、上記方法は、上記サンプルシートを上記シーケンシングデバイスに提供する工程をさらに包含する。いくつかの実施形態において、上記サンプルシートを上記シーケンシングデバイスに提供する工程は、上記シーケンシングデバイスにネットワークを介して伝達する工程を包含する。

【００２８】

ある種の実施形態において、上記方法は、上記サンプルシートをデマルチプレックスデバイスに提供して、上記シーケンシングプロセスの結果に対してデマルチプレックスプロセスを行う工程をさらに包含する。ある種の実施形態において、上記デマルチプレックスデバイスおよび上記シーケンシングデバイスは、同じデバイスである。いくつかの実施形態において、上記方法は、上記デマルチプレックスプロセスの結果に関する情報を受容し、上記デマルチプレックスプロセスの結果を記憶する工程をさらに包含する。

【００２９】

いくつかの実施形態において、上記サンプル情報を受容する工程は、上記サンプル情報を上記ライブラリー調製デバイスから受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記方法は、上記ライブラリー調製デバイスによって行われ、サンプル情報を受容する工程は、サンプル情報を上記ライブラリー調製デバイスのデータストアから受容する工程を包含する。

【００３０】

なおさらなる局面において、本発明は、生物学的サンプルに対して行われるシーケンシングプロセスの結果を分析して、上記生物学的サンプルに含まれる核酸配列を決定するための方法に関する。いくつかの実施形態において、上記方法は、シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために上記サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行ったライブラリー調製デバイスによって生成されるサンプル情報を受容する工程であって、上記サンプル情報は、上記生物学的サンプルおよび上記生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを同定する工程；上記生物学的サンプルに対して行われた

上記シーケンシングプロセスの結果を受容する工程であって、上記結果は、上記シーケンシングプロセスの間に上記生物学的サンプルにおいて検出される少なくとも１つの核酸配列を同定する工程；上記ライブラリー調製デバイスによって生成された上記サンプル情報の少なくとも一部に基づいて、上記シーケンシングプロセスの結果に対して行われる分析プロセスを構成する工程；上記シーケンシングプロセスの結果を、上記構成された分析プロセスで分析する工程；および上記構成された分析プロセスの結果を記憶する工程を包含する。

【００３１】

いくつかの実施形態において、サンプル情報を受容する工程は、上記サンプル情報を上記ライブラリー調製デバイスから受容する工程を包含する。ある種の実施形態において、上記シーケンシングプロセスの結果を受容する工程は、上記結果を前記サンプル情報によって同定されたデータストアの位置から受容する工程を包含する。いくつかの実施形態において、上記シーケンシングプロセスの結果を受容する工程は、上記シーケンシングプロセスの完了が上記データストアの位置をモニターすることによって決定されたときに上記シーケンシングプロセスの結果を自動的に受容する工程を包含する。

【００３２】

本発明の他の利点および新規な特徴は、添付の図面とともに考慮される場合に、本発明の種々の非限定的実施形態の以下の詳細な説明から明らかになる。本明細書および参考として援用される文献が矛盾するおよび／または一致しない開示を含む場合には、本明細書が優先するものとする。

【００３３】

本発明の非限定的実施形態は、添付の図面を参照して例示によって記載される。図面は、模式図であり、一定の縮尺で描かれることは意図されない。図面において、図示される各同一のまたはほぼ同一の構成要素は、代表的には、ひとつの数字によって表される。明瞭にする目的で、あらゆる構成要素があらゆる図においても表示されているわけではなく、当業者に本発明を理解させるために図示が必要でない場合には、本発明の各実施形態のあらゆる構成要素が示されるわけではない。図面において：

【図面の簡単な説明】

【００３４】

【図１】図１は、核酸ライブラリー調製ワークフローの模式図である。

【００３５】

【図２Ａ】図２Ａは、微小流体カートリッジを使用する自動化核酸ライブラリー調製のためのシステムの図である。

【００３６】

【図２Ｂ】図２Ｂは、微小流体カートリッジを使用する自動化核酸ライブラリー調製のためのシステムの内部構成要素を示す図である。

【００３７】

【図３】図３は、微小流体カートリッジベイアセンブリの透視図である。

【００３８】

【図４Ａ】図４Ａは、微小流体カートリッジキャリアアセンブリの上面図である。

【００３９】

【図４Ｂ】図４Ｂは、の微小流体カートリッジ透視図である。

【００４０】

【図５】図５は、微小流体カートリッジの分解組み立て図である。

【００４１】

【図６】図６は、生物学的サンプルのライブラリー調製を行い、その生物学的サンプルをシーケンシングし、そのシーケンシング結果を分析する例示的システムの構成要素を図示する。

【００４２】

【図７】図７は、ライブラリー調製デバイスを作動して、シーケンシング用の生物学的サ

ンプルを調製し、その生物学的サンプルをシーケンシングし、そのシーケンシングからの結果を分析するための例示的方法を図示するフローチャートである。

【００４３】

【図８】図８は、生物学的サンプルに対して行うライブラリー調製プロトコルを決定するための例示的方法を図示するフローチャートである。

【００４４】

【図９】図９は、生物学的サンプルに対して行うライブラリー調製を作動するための方法を図示するフローチャートである。

【００４５】

【図１０】図１０は、生物学的サンプルに含まれる少なくとも１つの核酸配列を決定するためにその生物学的サンプルに対して行われるシーケンシングプロセスを構成するための方法を図示するフローチャートである。

【００４６】

【図１１】図１１は、生物学的サンプルに含まれる核酸配列を決定するために、その生物学的サンプルに対して行ったシーケンシングプロセスの結果を分析するための方法を図示するフローチャートである。

【００４７】

【図１２】図１２は、コンピューティングデバイス（これを用いていくつかの実施形態が作動し得る）のブロック図である。

【００４８】

【図１３】図１３は、コンピューティングデバイス（これを用いていくつかの実施形態が作動し得る）のブロック図である。

【００４９】

【図１４】図１４は、コンピューティングデバイス（これを用いていくつかの実施形態が作動し得る）のブロック図である。

【発明を実施するための形態】

【００５０】

詳細な説明

核酸を処理するためのモジュール方式の構成要素（カセット）および／または微小流体チャネルを有するカートリッジを含むシステムが一般に提供される。いくつかの実施形態において、システムおよび関連方法が、次世代シーケンシングおよび／または他の下流分析技術のための材料を生成するための核酸の自動化処理のために提供される。いくつかの実施形態において、本明細書で記載されるシステムは、フレーム、上記フレームへと挿入され得る１つまたはこれより多くのカセット、および流体を移動させるためのチャネルシステムを含むカートリッジを含む。ある種の実施形態において、その１つまたはこれより多くのカセットは、流体（例えば、貯蔵された試薬、サンプル）を含むおよび／または受容するように構成された１つもしくはこれより多くのレザバまたは容器を含む。いくつかの場合には、その貯蔵された試薬は、１つまたはこれより多くのリオスフェア（ｌｙｏｓｐｈｅｒｅ）を含み得る。本明細書で記載されるシステムおよび方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を含め、核酸処理のための反応を含む化学的および／または生物学的反応を行うために有用であり得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムおよび方法は、図１に示されるように核酸を処理するために使用され得る。例えば、いくつかの実施形態において、図１に示される核酸調製法（これは、本明細書でより詳細に記載される）は、多重様式で行われ得、複数の異なる（例えば、８までの異なる）サンプルが自動化様式で並行して処理される。このようなシステムおよび方法は、実験、臨床（例えば、病院）、または研究の状況の範囲内で実行され得る。

【００５１】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、次世代シーケンシング（ＮＧＳ）サンプル調製（例えば、ライブラリーサンプル調製）のために使用され得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、サンプル品質制御の

ために使用され得る。図２Ａおよび２Ｂは、多数の使い捨てカセット、プライマーカセット、およびバルク流体カセットを利用する実験用ベンチトップ機器として働く例示的システム２００を示す。いくつかの実施形態において、このシステムは、標準的な実験作業台上での使用に適している。

【００５２】

いくつかの実施形態において、システムは、タッチスクリーンインターフェイスを有し得る（例えば、タッチスクリーンインターフェイス２０２を含む図２Ａの例示的システムに記載されるとおり）。いくつかの実施形態において、そのインターフェイスは、１つまたはこれより多くのカートリッジベイの各々の状態を、「完了予定時間（ｅｓｔｉｍａｔｅｄ ｔｉｍｅ ｔｏ ｃｏｍｐｌｅｔｅ）」、「現在のプロセス工程（ｃｕｒｒｅｎｔ ｐｒｏｃｅｓｓ ｓｔｅｐ）」、または他のインジケーターとともに表示する。いくつかの実施形態において、ログファイルまたはレポートは、その１つまたはこれより多くのカートリッジの各々に関して作られ得る。いくつかの実施形態において、そのログファイルまたはレポートは、上記機器上で記憶され得る。いくつかの実施形態において、テキストファイルまたは出力が、その機器から、例えば、処理されているカートリッジの日付範囲に関して、または特定のシリアルナンバーを有するカートリッジに関して、送信され得る。

【００５３】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、１つまたはこれより多くの核酸調製カートリッジを受容し得る１つまたはこれより多くのカートリッジベイ（２つのカートリッジベイ２１０を含む図２Ｂの例示的システムに記載されるとおり、例えば、２つ）を含み得る。いくつかの実施形態において、そのカートリッジベイの上の空間は、光学モジュール２２６（および／またはバーコードスキャナー、例えば、２－Ｄバーコードスキャナー）を各カートリッジベイのふた２２８（例えば、加熱されたふた）の上に移動させるＸＹポジショナー２２４のために確保される。いくつかの実施形態において、そのシステムは、光学モジュール２２６およびＸＹポジショナー２２４を駆動する電子モジュール２２２を含む。いくつかの実施形態において、ＸＹポジショナー２２４は、光学モジュール２２６が容器の中の物質（例えば、発蛍光団）を励起し得るかつその発せられた蛍光を集め得るように、その光学モジュール２２６を位置づける。いくつかの実施形態において、これは、各容器の上にふた（例えば、加熱されたふた）に配置された孔を通じて起こる。いくつかの実施形態において、バーコードスキャナーは、適切なカートリッジおよびプライマーカセットが、そのシステムの中に挿入されていることを確認する。いくつかの実施形態において、光学モジュール２２６は、必要な場合には、サンプルの処理の間に、例えば、増幅された核酸のレベルを検出するために核酸の増幅の間に、各カートリッジベイにおける各カートリッジからの光シグナルを集める。いくつかの実施形態において、本明細書で記載されるシステムは、そのシステム内の構成要素の温度調節を補助する要素（例えば、１つまたはこれより多くのファンまたはファンアセンブリ（例えば、図２Ｂに示されるファンアセンブリ２２０）を含む。

【００５４】

いくつかの実施形態において、１つまたはこれより多くのカートリッジベイは、核酸調製カートリッジを、任意の組み合わせで処理し得る。いくつかの実施形態において、各カートリッジベイは、例えば、操作者によって、またはロボットアセンブリによって、装填される。図３は、微小流体カートリッジベイアセンブリ３００の例示的図面を示す。いくつかの実施形態において、カートリッジは、そのカートリッジをキャリアプレート３７０の中に配置して、キャリアプレートアセンブリ３０４を形成することによって、ベイが開いた位置にある場合にそのベイに装填される。そのキャリアプレートは、それ自体、いくつかの実施形態において、そのカートリッジベイから外され得る独立型構成要素である。このカートリッジベイは、その機器に対して既知の位置においてカートリッジを保持する。いくつかの実施形態において、ふた３２８（例えば、加熱されたふた）は、１つもしくはこれより多くの容器の中で起こる処理および／または反応のモニタリングを促進するた

めに、１つまたはこれより多くの孔３３０を含む。いくつかの実施形態において、新たなカートリッジをその機器上に装填する前に、プライマーカセットは、そのカートリッジの中に設置され得る。いくつかの実施形態において、そのプライマーカセットは、そのカートリッジとは別個にパッケージされる。いくつかの実施形態において、プライマーカセットは、カートリッジの中に配置され得る。いくつかの実施形態において、プライマーカセットおよびカートリッジの両方が識別され、その結果、これらの両方をその機器上に配置すると、その機器がこれらの両方を読み取り（例えば、バーコードスキャナーを使用して）、そのカセットと関連するプロトコルを開始することを可能にする。

【００５５】

いくつかの実施形態において、キャリアをその機器の中に設置する前に、バルク試薬がそのキャリアの中に装填され得る。いくつかの実施形態において、ユーザーまたはロボットアセンブリは、その試薬が装填されるか、およびそれらをどこに装填するかに関して、その機器または遠隔サンプル装填ステーション上のインターフェイスによって知らされ得る。いくつかの実施形態において、プライマーカセットを有するカートリッジを機器の中に装填した後、ユーザーは、ある種の反応条件（例えば、ＰＣＲサイクルの数）および／またはカートリッジ上で実行されるサンプルの量を選択するという選択肢を有する。いくつかの実施形態において、各カートリッジは、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、１０またはこれより多くのサンプルという収容力を有し得る。

【００５６】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、ＲＮＡを処理するように構成され得る。しかし、いくつかの実施形態において、そのシステムは、ＤＮＡを処理するように構成され得る。いくつかの実施形態において、種々の核酸が、そのシステム内で連続してまたは並行して処理され得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、遺伝子融合アッセイを自動化様式で行うために、例えば、ＡＬＫ、ＲＥＴ、またはＲＯＳ１における遺伝的質の変化を検出するために使用され得る。このようなアッセイは、本明細書において、ならびに米国特許出願公開番号ＵＳ　２０１３／０３０３４６１（これは、２０１３年１１月１４日に公開された）および米国特許出願公開番号２０１５／０２０１１０５０（これは、２０１３年７月２０日に公開された）において開示される（これらの各々の内容は、それらの全体において本明細書に参考として援用される）。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、自動化様式で、Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのＸｇｅｎプロトコルまたは他の類似の核酸処理プロトコルを処理し得る。

【００５７】

いくつかの実施形態において、カートリッジおよびカセットは、特定のプロトコルを行うために必要とされる試薬の全てを有する。いくつかの実施形態において、キャリアがカートリッジベイへと一旦装填されると、そのベイへのアクセスドアが閉じられ、必要に応じて、ふた（例えば、加熱されたふた）が自動的に降ろされ得る。いくつかの実施形態において、そのふた（例えば、その加熱されたふた）を降ろすと、そのカートリッジの中の１つまたはこれより多くの温度制御された容器のセットの各々に合うヒータージャケットのアレイ上へとそのカートリッジが押し下げられる（または配置される）。いくつかの実施形態において、これは、引き出しアセンブリの中に垂直に、そのカートリッジを既知の位置に配置する。いくつかの実施形態において、ふたを降ろすと、そのカートリッジは、そのカートリッジに存在するロータリーバルブが、そのカートリッジ中のバルブの回転位置を制御する、対応する駆動部とかみ合い得る位置へと押し下げられる。いくつかの実施形態において、自動制御構成要素は、そのロータリーバルブがそれらの駆動部と適切にかみ合うことを担保するために提供される。

【００５８】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、カートリッジに（例えば、カセットの容器内に）存在する核酸サンプルは、リオスフェアと混合される。いくつかの実施形態において、そのリオスフェアは、そのサンプルに付着する発蛍光団を含む。いく

つかの実施形態において、分子の（例えば、合成ＤＮＡの）既知の量を含むリオスフェアには、「参照物質（ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ　ｍａｔｅｒｉａｌ）」もまた存在する。いくつかの実施形態において、「参照物質」に付着されるのは、そのサンプルの発蛍光団とは異なる波長の光を発する別の発蛍光団である。いくつかの実施形態において、使用される発蛍光団は、インターカレート色素（例えば、ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ）またはレポーター／クエンチャー化学現象（例えば、ＴａｑＭａｎなど）を介して、そのサンプルまたは「参照物質」に付着され得る。いくつかの実施形態において、定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）サイクリングの間に、その２つの発蛍光団の蛍光はモニターされ、次いで、比較ＣＴ法によってそのサンプル中の核酸（例えば、ＤＮＡ、ｃＤＮＡ）の量を決定するために使用される。

【００５９】

有利なことには、本明細書で記載されるある種のシステムは、行われる特異的反応および／または工程の調整を可能にし得るモジュール方式の構成要素（例えば、カセット）を含み得る。いくつかの実施形態において、特定のタイプの反応を行うためのある種のカセットは、そのカートリッジの中に含まれる。例えば、ＰＣＲ反応の多数の工程を行うための種々の試薬とともにリオスフェアを含む容器を含むカセットは、そのカートリッジ中に存在し得る。フレームまたはカートリッジは、そのカートリッジの中で行われる特定の反応（または反応のセット）のための特定の流体および／または試薬を含む１つもしくはこれより多くのカセットを挿入するために、ユーザー用の空の領域をさらに含み得る。例えば、ユーザーは、特定の緩衝剤、試薬、アルコール、および／またはプライマーを含む１つもしくはこれより多くのカセットを、フレームまたはカートリッジの中へと挿入し得る。あるいは、ユーザーは、流体および／または試薬の異なるセットを含むカセットの異なるセットを、異なる反応および／または実験を行うためのフレームまたはカセットの空の領域へと挿入し得る。そのカセットがフレームまたはカートリッジへと挿入された後、それらは、反応／分析を行うために、流体を移動させるためのチャネルシステムと流体接続を形成し得る。

【００６０】

いくつかの実施形態において、異なるカセットをカートリッジへと挿入することによって、多数の分析が同時にまたは連続的に行われ得る。例えば、本明細書で記載されるシステムおよび方法は、有利なことには、システムを開けるまたはカートリッジを変更する必要性なしに、２つまたはこれより多くのサンプルを分析する能力を提供し得る。例えば、いくつかの場合には、１つまたはこれより多くのサンプルでの１つまたはこれより多くの反応は、並行して行われ得る（例えば、２つまたはこれより多くのＰＣＲ反応を並行して行う）。このようなモジュール方式および融通性は、多数のサンプルの分析を可能にし得、その分析の各々は、単一の流体システム内の１またはいくつかの反応工程を必要とし得る。よって、多数の複雑な反応および分析が、本明細書で記載されるシステムおよび方法を使用して行われ得る。

【００６１】

ある種の既存の流体システムおよび方法とは異なり、本明細書で記載されるシステムおよび方法は、再使用可能（例えば、再使用可能キャリアプレート）または使い捨て可能（例えば、カセットおよび種々の流体構成要素を含む消耗構成要素）であり得る。いくつかの場合には、本明細書で記載されるシステムは、類似の反応および実験を行うためのある種の既存の流体システムと比較して、比較的小さな設置面積を占め得る。

【００６２】

いくつかの実施形態において、そのカセットおよび／またはカートリッジは、１つまたはこれより多くのサンプルで特定の反応または分析（または反応もしくは分析のセット）を行うために必要とされる貯蔵された流体および／または試薬を含む。カセットの例としては、試薬カセット、プライマーカセット、緩衝剤カセット、廃棄物カセット、サンプルカセット、および出力カセットが挙げられるが、これらに限定されない。他の適切なモジュールまたはカセットが使用され得る。このようなカセットは、それら試薬を使用する前

にその貯蔵された試薬の汚染または喪失を防止または排除する様式で構成され得る。他の利点は、以下でより詳細に記載される。

【００６３】

一実施形態において、図４Ａおよび４Ｂに例証として示されるように、カートリッジ４００は、フレーム４１０ならびにカセット４２０、４２２、４２４、４２６、４２８、４３０、４３２、および４４０を含む。いくつかの実施形態において、これらカセットの各々は、チャネルシステムと流体伝達状態にあり得る（例えば、そのカセットの下に位置づけられる（示されない））。いくつかの実施形態において、カセット４２８（例えば、試薬カセット）、４３０（例えば、試薬カセット）、および４３２（例えば、試薬カセット）のうちの少なくとも１つは、そのカセットがそのチャネルシステムと流体伝達状態にあるように、ユーザーによってフレーム４１０へと挿入され得る。例えば、いくつかの実施形態において、カセット４２８、４３０、および４３２のうちの１つは、反応緩衝剤（例えば、Ｔｒｉｓ緩衝剤）を含む試薬カセットである。ある種の実施形態において、カセット４２８、４３０および／または４３２は、反応または反応のセットのための１つもしくはこれより多くの試薬および／または反応容器を含み得る。いくつかの実施形態において、モジュール４４０は、複数のサンプルウェルおよび／または出力ウェル（例えば、１つまたはこれより多くのサンプルを受容するように構成されたサンプルウェル）を含む。いくつかの場合には、カセット４２０、４２２、４２４、および４２６は、１つもしくはこれより多くの貯蔵された試薬または反応物（例えば、リオスフェア）を含み得る。例えば、カセット４２０、４２２、４２４、および４２６の各々は、別個の反応を行うために貯蔵された試薬または反応物の異なるセットを含み得る。例えば、カセット４２０は、第１のＰＣＲ反応を行うための第１の試薬セットを含み得、カセット４２２は、第２のＰＣＲ反応を行うための第２の試薬セットを含み得る。その第１のおよび第２の反応は、同時に（例えば、並行して）または連続的に行われ得る。

【００６４】

いくつかの実施形態において、図４Ａに例証として示されるように、キャリアプレートアセンブリ４８０は、キャリアプレート４７０ならびにモジュール４５０、４５２、４５４、４５６、４５８、および４６０を含むさらなるカセットを含む。例示的な実施形態において、カセット４５０、４５２、４５４、４５６、４５８、および４６０は各々、１つもしくはこれより多くの貯蔵された試薬を含み得、そして／または１つもしくはこれより多くの流体を受容するように構成および配列され得る（例えば、モジュール４５８は、反応廃棄物流体を集めるように構成された廃棄物モジュールであり得る）。いくつかの実施形態において、カセット４５０、４５２、４５４、４５６、４５８、および４６０のうちの１つもしくはこれより多くが、詰め替え可能であり得る。

【００６５】

図５は、実施形態の１セットに従う例示的なカートリッジ５００の分解組み立て図である。カートリッジ５００は、プライマーカセット５１０およびプライマーカセット５１５を含み、これらカセットは、フレーム５２０の中の１つまたはこれより多くの開口部へと挿入され得る。カートリッジ５００は、フレーム５２０に隣接しかつ一体化していないチャネルシステムを含む流体層アセンブリ５４０をさらに含む。いくつかの実施形態において、カセット５３２のセット（例えば、１つもしくはこれより多くのプライマーカセット、緩衝剤カセット、試薬カセット、および／または廃棄物カセットを含み、各々必要に応じて、１つまたはこれより多くの容器を含む）、反応カセット５３４のセット（これは、反応容器を含む）、入力／出力カセット５３３（これは、サンプル入力容器５３６および出力容器５３８を含む）は、フレーム５２０の中の１つまたはこれより多くの開口部へと挿入され得る。いくつかの実施形態において、カートリッジ５００は、バルブプレート５５０を含む。いくつかの実施形態において、バルブプレート５５０は、フレーム５２０へと接続し（例えば、かちっとはまり）、流体層アセンブリ５４０ならびにカセット５３２、５３３および５３４をフレーム５２０の中で適所に保持する。ある種の実施形態において、カートリッジ５００は、バルブ５６０（本明細書で記載されるとおり）、および複数

の密閉物５６５を含む。いくつかの場合には、フレーム５２０および／または１つもしくはこれより多くのモジュールは、カバー５７０、５７２、および／または５７４によって覆われ得る。

【００６６】

本出願の局面は、１またはこれより多くのライブラリーを形成することによって分析用の生物学的サンプルを調製することによるものを含め、生物学的サンプルを（例えば、核酸シーケンシングおよびそのシーケンシングの結果のその後の分析を通じて）分析するための作業フロー技術に関する。

【００６７】

より詳細には、本明細書で記載されるいくつかの実施形態において、生物学的サンプル分析システムは、そのシステムの１または多数の構成要素を作動して、分析用のサンプルを調製および／またはそのサンプルを分析するために、分析作業フローの実施を自己構成するように配列される。例えば、いくつかの実施形態において、ユーザーは、生物学的サンプルを選択し得、そしてその後の分析のためにそのサンプルを調製するにあたって使用されるリソースを選択し得る。そのサンプルおよびそのリソースがその生物学的サンプル分析システムに対して一旦特定されると、そのシステムは、生物学的サンプルの分析のための従来のプロセスと比較して、さらなるユーザーの介入なしに、または低減したユーザーの介入で、作業フローを行い得る。その作業フローは、その生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを決定する工程、ライブラリー調製システムを使用してそのライブラリー調製プロトコルを行う工程、そのライブラリー調製プロトコルの結果に関する情報を提供することによるものを含め、そのライブラリーのその後の分析を構成する工程、およびそのライブラリーのその後の分析を誘発する工程を包含し得る。以下で詳細に考察されるように、いくつかの実施形態において、その生物学的サンプル分析システムによって使用される物質は、特有に同定され得、その物質の特有の同定は、そのシステムがそれ自体を１またはこれより多くの作動の実施のために構成することを可能にし得る。例えば、その生物学的サンプル分析システムは、行われる作動および／または使用されるその物質に関するその特有の識別子の評価に基づいてその作動をどのように行うかを決定し得る。このようにして、その生物学的サンプルの分析におけるユーザーの介入は、排除または低減され得る。

【００６８】

いくつかの実施形態において、生物学的分析システムは、生物学的サンプルの分析において使用するための１またはこれより多くのライブラリーを生成するために、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行うライブラリー調製システム（例えば、図２Ａおよび２Ｂに示されるシステム２００）を含み得る。ライブラリーは、核酸（例えば、ＲＮＡ、ＤＮＡ）のフラグメントを含み得、そのフラグメントは、特定の生物学的供給源（例えば、細胞、組織、生物）と関連し得る。その核酸のフラグメントは、生物学的サンプルに対して行われる増幅プロセス（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）手順）の生成物であり得る。ライブラリーは、核酸シーケンシングに適切であり得、増幅プロセスは、そのシーケンシング結果を、例えば、ライブラリーにおける核酸フラグメントの数を増幅することによって改善し得る。ライブラリーの調製は、所望の長さを有するように核酸フラグメントを調製する工程および／または所望の１またはこれより多くのヌクレオチド配列（例えば、アダプター）を核酸セグメントに挿入して、核酸シーケンシングに適したフラグメントを作製する工程を包含し得る。核酸調製、増幅、およびアダプター挿入処理プロトコルに関するさらなる詳細は、以下でさらに考察される。

【００６９】

ライブラリーを形成するために、一連の行為（例えば、試薬を添加する工程、そのサンプルを特定の温度で保持する工程）が、その生物学的サンプルに対して行われ得る。その一連の行為は、「ライブラリー調製プロトコル（ｌｉｂｒａｒｙ　ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ　ｐｒｏｔｏｃｏｌ）」といわれ得る。ライブラリー調製プロトコルは、その行為、その行為において使用されるリソースのタイプ（例えば、装置、または物質（例えば、プラ

イマー、試薬、ポリメラーゼ）、およびそれら行為のパラメーター（例えば、温度、継続時間）において変動し得る。種々のライブラリー調製プロトコルが、種々の方法で（例えば、種々のタイプのその後の分析のために）生物学的サンプルを調製し得る。例えば、ある種のタイプのシーケンシングデバイスによる核酸シーケンシング用の生物学的サンプルの調製は、あるタイプのシーケンシングデバイスによってシーケンシングするためにある種の方法でライブラリーを調製する、その生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行う工程を包含し得る。よって、サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルは、そのサンプルのタイプ、そのサンプルに対して行われるアッセイのタイプ、シーケンシングデバイスのタイプ、および核酸をシーケンシングするために使用される手順のタイプを含む１またはこれより多くの因子に依存し得る。

【００７０】

本発明者らは、ユーザーの介入がないかまたは制限されて、ライブラリー調製プロトコルの行為を行う生物学的分析システムの利点を認識しかつ認めた。より詳細には、本発明者らは、生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを選択し、その選択されたプロトコルを行うようにそのシステムを構成することによって、自己構成するシステムを認識しかつ認めた。この様式で自己構成するようにそのシステムを配列することによって、そのプロトコルの構成または実施におけるヒューマンエラーが低減または排除され得、これは、正確なライブラリーが分析のために生成される確率の増大および／または生物学的分析システムの増大したスループットをもたらし得る。さらに、ライブラリーを調製するプロセスにおける人間の介入を低減または排除することによって、人間のユーザー（例えば、実験専門技術者）は解放され、他の仕事を行うことができ、さらに研究室のスループットをさらに増大させ得る。

【００７１】

本発明者らは、生物学的サンプル分析システムによって使用される物質の各々を特有に同定する工程が、このような自己構成生物学的分析システムを可能にし得ることをさらに認識し、認めた。例えば、上記で考察されるように、本発明者らは、種々のライブラリー調製プロトコルが、種々の生物学的サンプルに対して行われ得るか、または種々の試薬または種々の装置のような種々のリソースを使用して行われ得ることを認識し、認めた。本発明者らは、ライブラリー調製プロトコルが、そのプロトコルが行われかつリソースがそのプロトコルの実施において使用されるそのサンプルの評価に基づいて、決定論的に同定され得ることをさらに認識し、認めた。例えば、生物学的サンプル分析システムが生物学的サンプル、ライブラリー調製において使用される装置に特有の識別子、およびそのライブラリー調製において使用される物質（例えば、プライマー、試薬）とともに提供される場合、そのシステムは、その特有の識別子を評価し得、行われるライブラリー調製プロトコルを決定論的に同定し得る。具体的には、そのシステムは、行われる行為、その行為において使用されるリソース、およびその行為のパラメーターを含め、ライブラリー調製プロトコルを決定論的に同定し得る。従って、１つの具体例として、その生物学的分析システムは、特有の識別子の評価に基づいて、行われるプロトコルが、多くのＰＣＲサイクルを行う工程を含み、加熱行為、ならびにその加熱行為の温度および継続時間をさらに含むことを決定し得る。その生物学的サンプルおよびその使用されるリソースの特有の識別子に基づくその生物学的分析システムによるこのような自己構成は、ライブラリー調製において、特に、人間が以前に手動で特定した一連の長々しい詳細な行為を含むライブラリー調製プロトコルに関しては、ヒューマンエラーを顕著に低減し得る。以下で詳細に考察されるように、その特有の識別子は、符号化された識別子（例えば、２Ｄおよび／もしくは３Ｄバーコードにおいて符号化される識別子、ならびに／または無線ＩＤ（Ｒａｄｉｏ－Ｆｒｅｑｕｅｎｃｙ　Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ）（ＲＦＩＤ）タグのような近距離無線通信（ＮＦＣ）タグであり得る。

【００７２】

従って、いくつかの実施形態において、生物学的分析システムは、種々の生物学的サンプルに対して種々のライブラリー調製プロトコルを行って、種々のその後の分析のために

それらサンプルを調製するように構成可能であり得る。そのライブラリー調製システムは、生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行うことを補助し得る構成要素を含み得る。そのライブラリー調製システムのうちの微小流体システムは、１つの位置から別の位置へと流体を移動し得る。そのデバイスの加熱プレートは、そのデバイス内の領域を、そのライブラリー調製プロトコルに従ってある温度においてある期間にわたって保持し得る。そのライブラリー調製プロトコルを行う間にその生物学的サンプルを保持するように構成された複数のサンプルウェルを含むモジュール（例えば、図４Ａおよび４Ｂに示されるモジュール４４０）は、そのライブラリー調製システムの構成要素（例えば、微小流体システム、加熱プレート）がそのサンプルに対してそのプロトコルの工程を行い得るように、ライブラリー調製システムとインターフェイス接続し得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製システムは、同じカートリッジの中にまたは異なるカートリッジ上に位置した多数のサンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行い得る。

【００７３】

上記で考察されるように、そのライブラリー調製システムは、１またはこれより多くのタイプのその後の分析に供される生物学的サンプルのライブラリーを調製し得、その分析は、１またはこれより多くのタイプのアッセイであり得るか、またはこれらを含み得る。その後のアッセイのうちの１つのこのようなタイプは、そのライブラリーに対して核酸シーケンシングを行うことを含み得、そのシーケンシングプロセスの結果は、その生物学的サンプルの核酸配列を同定する。このような実施形態において、アッセイデバイスは、生物学的サンプルのライブラリーに対してシーケンシングプロセスを行うように構成されたシーケンシングデバイス（例えば、次世代シーケンサー）であり得る。そのシーケンサーによって実行されるシーケンシングプロセスは、サンプルのタイプおよび／またはそのサンプルがシーケンシングのためにどのように調製されたか（例えば、核酸のフラグメントの長さ、その核酸のフラグメント中のアダプターのタイプ）に依存し得る。

【００７４】

そのライブラリー調製システムは、その生物学的サンプルおよび／またはその生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを同定するサンプル情報を生成し得る。アッセイデバイス（例えば、シーケンシングデバイス）は、サンプル情報を受容し得、その生物学的サンプルに対してそのライブラリー調製プロトコルを実施することによって生成されるライブラリーに対して行われるアッセイプロセスを構成し得る。そのサンプル情報は、そのライブラリー調製システムによって受容される情報（例えば、サンプルと関連する符号化された識別子によって受容される情報）へのリンクを含み得る。そのアッセイデバイスは、そのサンプル情報の中に記憶されたリンクを使用して、そのライブラリー調製システム上の記憶された情報にアクセスし検索し得る。そのライブラリー調製システムによって生成されるサンプル情報は、任意の適切な形式で記憶され得、ここでそのライブラリーに対してアッセイプロセスを行うために使用されるアッセイデバイスは、その情報を検索し得る。いくつかの実施形態において、そのサンプル情報は、サンプルシートとして記憶され得る。そのライブラリー調製システムによって生成されるサンプルシートは、サンプル識別子からの情報を受容するアッセイデバイスに基づいて、そのアッセイデバイスによって自動的にアクセスされ得る。そのサンプルシートは、アッセイ結果を記憶するデータ位置を含み得る（例えば、ＦＡＳＴＱファイル）。分析デバイスは、そのアッセイデバイスがそのアッセイプロセスを完了したか否かを決定するために、そのデータ位置をモニターし得る。

【００７５】

例が、シーケンシングの状況において以下に記載される。しかし、核酸シーケンシングがアッセイの一例に過ぎず、そして実施形態は、シーケンシングと共に使用することに限定されないことは、認識されるである。むしろ、任意の適切なアッセイデバイスが、調製されたライブラリーに対してアッセイを行うために使用され得る。

【００７６】

アッセイからの結果は、その生物学的サンプルに関連する結果において述べられた情報を同定するために分析され得る。例えば、シーケンシングプロセスの結果として得られた配列リードは、その生物学的サンプルにおいて検出される１またはこれより多くの核酸配列を同定するために分析され得る。配列リードは、ライブラリーフラグメントのヌクレオチド（例えば、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ）の順序を示し得る。その配列リードと関連する品質スコアはまた、そのシーケンシングプロセスの結果として得られ得る。その品質スコアは、ヌクレオチドの特定のタイプとして個々のヌクレオチドが何であるかの精度と関連する値を含み得る。品質スコアは、例えば、Ａ、Ｔ、Ｇ、またはＣである配列中のヌクレオチドの信頼性の示度を提供し得る。分析プロセス（これは、カスタマイズされ得るかまたはそのサンプルがシーケンシングのために調製された様式で別の方法で構成され得る）および／またはそのサンプルをシーケンシングするために使用されるプロセスを使用して、個々の配列リードおよび関連した品質スコアが、その生物学的サンプルのヌクレオチド配列を同定するために分析され得る。いくつかの実施形態において、シーケンシングデバイスとは異なる分析デバイスは、そのシーケンシングプロセスからの配列リードに対して行われる分析プロセスを実行し得る。

【００７７】

いくつかの実施形態において、分析デバイスは、サンプル情報、そのライブラリー調製プロトコルの結果、および／またはシーケンシング結果に基づいて、分析プロセスを行うように構成され得る。例えば、そのライブラリー調製プロトコルの結果は、そのアッセイデバイスに提供されるそのライブラリーの品質の示度を提供し得、分析デバイスは、そのライブラリー調製プロトコルからの結果に基づいて、そのアッセイ結果の分析プロセスを構成し得る。その分析デバイスは、そのサンプルを同定する情報を受容し得、そのライブラリー調製プロトコルの結果を検索して、そのアッセイ結果に対して行う分析プロセスの構成を調節し得る。その分析プロセスの調節された構成は、そのライブラリーの品質（例えば、増幅がその生物学的サンプルにおいて起こった程度）を考慮して、アッセイ結果を分析する一部としてユーザーの介入を低減または排除し得る分析プロセスを自己構成し得る。いくつかの実施形態において、分析デバイスは、アッセイ結果が記憶されるデータ位置をモニターし得、その分析プロセスを開始するユーザー入力なしに、構成された分析プロセスをそのアッセイ結果に対して自動的に行い得る。

【００７８】

よって、生物学的サンプル分析システムの実施形態が以下に記載される。そのシステムは、生物学的サンプルの分析に関する作動を行うように自己構成し得る。そのシステムの自己構成は、進められるライブラリー調製において使用されるそのサンプルおよびリソースのシステムの最初の同定によって誘発され得る。そのサンプルおよびリソースが一旦特定されると、その生物学的サンプル分析システムは、作業フローにおけるユーザーの介入なしでまたは低減して、その生物学的サンプルに対してその作業フローを行うように自己構成され得る。しかし、その実施形態が以下の例に従う作動に限定されないことは、他の実施形態が可能であることから、認識されるである。

【００７９】

増幅（ＡＭＰ）方法

本明細書で記載されるのは、既知の標的ヌクレオチド配列に連続したヌクレオチド配列を決定するための方法である。その方法は、本明細書で開示されるシステムを使用して自動化様式で実行され得る。旧来のシーケンシング法は、配列情報を無作為に（例えば、「ショットガン（ｓｈｏｔｇｕｎ）」シーケンシング）、またはプライマーをデザインするために使用される２つの既知の配列の間で生成する。対照的に、本明細書で開示される方法のうちのある種のものは、いくつかの実施形態において、高レベルの特異性および感度で既知の配列のうちの１つの領域の上流または下流にあるヌクレオチド配列を決定する（例えば、シーケンシングする）ことを可能にする。

【００８０】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、例えば、自動化様式

で、次世代シーケンシング技術を使用して特定のヌクレオチド配列を決定する前に、その特定のヌクレオチド配列を富化するための方法を実行するように構成され得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）を含むサンプルを富化することに関し得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法は、（ａ）既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸を、ユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターとライゲーションする工程；（ｂ）その標的核酸の一部およびそのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖を、第１のアダプタープライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｃ）工程（ｂ）から得られたアンプリコンの一部を第２のアダプタープライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；ならびに（ｄ）そのＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程を包含する。いくつかの実施形態において、その方法のうちの１つまたはこれより多くの工程は、本明細書で提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。いくつかの実施形態において、そのカートリッジの中の微小流体チャネルおよびバルブは、反応物質／流体をカートリッジの中で１つの容器から別の容器へと移動させることを促進して、自動化様式で反応を進めることを可能にする。いくつかの実施形態において、ＤＮＡ溶液は、次世代シーケンシング技術を使用して、第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでその後シーケンシングされ得る。

【００８１】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムを使用して処理されるサンプルは、ゲノムＤＮＡを含む。いくつかの実施形態において、ゲノムＤＮＡを含むサンプルは、工程（ａ）の前にフラグメント化工程を包含する。いくつかの実施形態において、各ライゲーションおよび増幅工程は、必要に応じて、その後の精製工程（例えば、工程（ａ）と工程（ｂ）との間にサンプル精製、工程（ｂ）と工程（ｃ）との間にサンプル精製、ならびに／または工程（ｃ）の後にサンプル精製）を含み得る。例えば、ゲノムＤＮＡを含むサンプルを富化するための方法は、（ａ）ゲノムＤＮＡのフラグメント化；（ｂ）既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸をユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターとライゲーションする工程；（ｃ）ライゲーション後のサンプル精製；（ｄ）その標的核酸の一部およびそのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖を第１のアダプタープライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｅ）増幅後のサンプル精製；（ｆ）工程（ｄ）から得られたアンプリコンの一部を第２のアダプタープライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｇ）増幅後のサンプル精製；ならびに（ｈ）その精製されたＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程を包含し得る。いくつかの実施形態において、その方法の工程は、本明細書で提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。いくつかの実施形態において、そのカートリッジの中の微小流体チャネルおよびバルブは、反応物質／流体を、カートリッジの中で１つの容器から別の容器へと自動化様式で移動させることを促進する。その精製されたサンプルは、次世代シーケンシング技術を使用して第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでその後シーケンシングされ得る。

【００８２】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムおよび方法は、図１の例示的なワークフローに示されるように、核酸を処理するために使用され得る。核酸サンプル１２０が提供される。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、ＲＮＡを含む。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、ＤＮＡ（例えば、２本鎖の相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）および／または２本鎖のゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）１０２）を含む。いくつかの実施形態において、その核酸サンプルは、核酸末端修復および／またはｄＡテール付加を含む工程１０２に供される。いくつかの実施形態において、その核酸サンプルは、アダプターライゲーションを含む工程１０４に供される。いくつかの実施形態において、ユニバーサルオリゴヌクレオチドアダプター１２２は、その核酸サンプル中の１つまたはこれより多くの核酸にライゲーションされる。いくつかの実施形態において、そのライゲーション工程は、平滑末端ライゲーションを含む。いくつかの実施形態において、そのライ

ゲーション工程は、付着末端ライゲーションを含む。いくつかの実施形態において、そのライゲーション工程は、オーバーハングライゲーションを含む。いくつかの実施形態において、そのライゲーション工程は、ＴＡライゲーションを含む。いくつかの実施形態において、そのｄＡテール付加工程１０２は、ユニバーサルオリゴヌクレオチドアダプターにおけるオーバーハングに相補的な核酸サンプル中のオーバーハングを生成するために行われる（例えば、ＴＡライゲーション）。いくつかの実施形態において、ユニバーサルオリゴヌクレオチドアダプターは、ユニバーサルオリゴヌクレオチドアダプターが隣接する核酸１２４を生成するために、その核酸サンプルにおいて１つまたはこれより多くの核酸の両末端にライゲーションされる。いくつかの実施形態において、最初の増幅ラウンドは、アダプタープライマー１３０および第１の標的特異的プライマー１３２を使用して行われる。いくつかの実施形態において、その増幅されたサンプルは、アダプタープライマーおよび第２の標的特異的プライマー１３４を使用して第２の増幅ラウンドに供される。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、その第１の標的特異的プライマーに対してネスト化される。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、バーコード、インデックス、アダプター配列、またはシーケンシングプライマー部位を含み得るハイブリダイゼーション配列（例えば、共通配列）に対して５’側にさらなる配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、その第２の標的特異的プライマー（１３４によって示されるとおり）の共通配列とハイブリダイズするさらなるプライマーによってさらに接触される。いくつかの実施形態において、第２の増幅ラウンドは、核酸シーケンシング（例えば、次世代シーケンシング法）に適切な核酸１２６を生成する。

【００８３】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムおよび方法は、ＰＣＴ国際出願番号ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０５１９２４（これは、２０１７年９月１５日に出願され、米国特許法第１１９条（ｅ）項に基づいて、２０１６年９月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３９５，３３９号の優先権を主張する）およびＰＣＴ国際出願番号ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０５１９２７（これは、２０１７年９月１５日に出願され、米国特許法第１１９条（ｅ）項に基づいて、２０１６年９月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３９５，３４７号の優先権を主張する）（核酸ライブラリー調製に関するこれらの各々の内容全体は、参考として援用される）に記載されるように、核酸を処理するために使用され得る。

【００８４】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムを使用して処理されるサンプルは、リボ核酸（ＲＮＡ）を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、以下を包含する方法によってＲＮＡを処理するために有用であり得る：（ａ）既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸分子と、ランダムプライマーの集団とを、ハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｂ）ハイブリダイズしたランダムプライマーによってプライムされかつテンプレートとしてハイブリダイゼーション部位の下流にある標的核酸分子の一部を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｃ）工程（ｂ）の生成物と最初の標的特異的プライマーとをハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｄ）ハイブリダイズした最初の標的特異的プライマーによってプライムされかつテンプレートとしてその標的核酸分子を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｅ）その核酸を末端修復、リン酸化、およびアデニル化に供する工程；（ｆ）その既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸をユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターとライゲーションする工程；（ｇ）その標的核酸の一部およびそのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖を、第１のアダプタープライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｈ）工程（ｇ）から得られたアンプリコンの一部を第２のアダプタープライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；ならびに（ｉ）ｃＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程。いくつかの実施形態において、その方法のうちの１つまたはこれより多くの工程は、本明細書で

提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。いくつかの実施形態において、ｃＤＮＡ溶液は、その後、次世代シーケンシング技術を使用して第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでシーケンスされ得る。

【００８５】

いくつかの実施形態において、各ライゲーションおよび増幅工程は、必要に応じて、その後のサンプル精製工程（例えば、工程（ｆ）と工程（ｇ）との間にサンプル精製工程、工程（ｇ）と工程（ｈ）との間にサンプル精製工程、および／または工程（ｈ）の後にサンプル精製）を含み得る。例えば、ＲＮＡを含むサンプルを富化するための方法は、以下の工程を包含し得る：（ａ）既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸分子とランダムプライマーの集団とをハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｂ）ハイブリダイズしたランダムプライマーによってプライムされかつテンプレートとしてハイブリダイゼーション部位の下流にある標的核酸分子の一部を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｃ）工程（ｂ）の生成物と最初の標的特異的プライマーとをハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｄ）ハイブリダイズした最初の標的特異的プライマーによってプライムされかつテンプレートとしてその標的核酸分子を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｅ）その核酸を末端修復、リン酸化、およびアデニル化に供する工程；（ｆ）その既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸をユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターとライゲーションする工程；（ｇ）ライゲーション後のサンプル精製；（ｈ）その標的核酸の一部およびそのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖を第１のアダプタープライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｉ）増幅後のサンプル精製；（ｊ）工程（ｈ）から得られたアンプリコンの一部を第２のアダプタープライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｋ）増幅後のサンプル精製；ならびに（ｌ）その精製されたｃＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程。いくつかの実施形態において、その方法のうちの１つまたはこれより多くの工程は、本明細書で提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。その精製されたサンプルは、その後、次世代シーケンシング技術を使用して第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでシーケンスされ得る。

【００８６】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、例えば、自動化様式で、未知のヌクレオチド配列の隣接領域から下流に既知の標的ヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列（例えば、未知の配列を含む５’領域および既知の配列を含む３’領域を含むヌクレオチド配列）を富化するための方法を実行するように構成され得る。いくつかの実施形態において、上記方法は、以下の工程を包含する：（ａ）その既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸分子と最初の標的特異的プライマーとをハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｂ）ハイブリダイズした最初の標的特異的プライマーによってプライムされかつテンプレートとしてその標的核酸分子を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｃ）工程（ｂ）の生成物とテール付加ランダムプライマーの集団とをハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｄ）ハイブリダイズしたテール付加ランダムプライマーによってプライムされかつテンプレートとしてハイブリダイゼーション部位の下流にある標的核酸分子の一部を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｅ）その標的核酸分子の一部およびそのテール付加ランダムプライマー配列を第１のテールプライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｆ）工程（ｅ）で得られたアンプリコンの一部を第２のテールプライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；ならびに（ｇ）そのｃＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程。そのｃＤＮＡ溶液は、その後、次世代シーケンシング技術を使用して第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでシーケンシングされ得る。いくつかの実施形態において、テール付加ランダムプライマーの集団は、第１のシーケンシングプライマーと同一の５’核酸配列および約６～約１２個のランダムヌクレオチドを含む３’核酸配列を有する１本鎖オリゴヌクレオチド分子を含む。いくつかの実施形態において、その第１の標的特異的プライマーは、その標的核酸の既知の標的ヌクレオチド配列に、アニーリング温度

で特異的にアニールし得る核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、工程（ｅ）から生じるアンプリコンによって含まれる既知の標的ヌクレオチド配列の一部に特異的にアニールし得る核酸配列を含む３’部分、および第２のシーケンシングプライマーに同一の核酸配列を含む５’部分を含み、その第２の標的特異的プライマーは、第１の標的特異的プライマーに関してネスト化され得る。いくつかの実施形態において、その第１のテールプライマーは、テール付加ランダムプライマーと同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２のテールプライマーは、その第１のシーケンシングプライマーの一部と同一の核酸配列を含み、第１のテールプライマーに関してネスト化される。いくつかの実施形態において、その方法のうちの１つまたはこれより多くの工程は、本明細書で提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。

【００８７】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、例えば、自動化様式で、未知のヌクレオチド配列の隣接領域から上流にある既知の標的ヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列（例えば、既知の配列を含む５’領域および未知の配列を含む３’領域を含むヌクレオチド配列）を富化するための方法を実行するように構成され得る。いくつかの実施形態において、その方法は、以下を包含する：（ａ）その既知の標的ヌクレオチド配列を含む標的核酸分子とテール付加ランダムプライマーの集団とを、ハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｂ）ハイブリダイズしたテール付加ランダムプライマーによってプライムされかつテンプレートとしてハイブリダイゼーション部位の下流にある標的核酸分子の一部を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｃ）工程（ｂ）の生成物と最初の標的特異的プライマーとを、ハイブリダイゼーション条件下で接触させる工程；（ｄ）ハイブリダイズした最初の標的特異的プライマーによってプライムされかつテンプレートとしてその標的核酸分子を使用するテンプレート依存性伸長反応を行う工程；（ｅ）その標的核酸分子の一部およびそのテール付加ランダムプライマー配列を、第１のテールプライマーおよび第１の標的特異的プライマーで増幅する工程；（ｆ）工程（ｅ）から得られたアンプリコンの一部を第２のテールプライマーおよび第２の標的特異的プライマーで増幅する工程；ならびに（ｇ）そのｃＤＮＡ溶液をユーザーへと移動させる工程。そのｃＤＮＡ溶液は、その後、次世代シーケンシング技術を使用して第１のおよび第２のシーケンシングプライマーでシーケンシングされ得る。いくつかの実施形態において、テール付加ランダムプライマーの集団は、第１のシーケンシングプライマーと同一の５’核酸配列および約６～約１２のランダムヌクレオチドを含む３’核酸配列を有する１本鎖オリゴヌクレオチド分子を含む。いくつかの実施形態において、その第１の標的特異的プライマーは、その標的核酸の既知の標的ヌクレオチド配列にアニーリング温度で特異的にアニールし得る核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、工程（ｃ）から得られたアンプリコンによって含まれる既知の標的ヌクレオチド配列の一部に特異的にアニールし得る核酸配列を含む３’部分および第２のシーケンシングプライマーと同一の核酸配列を含む５’部分を含み、その第２の標的特異的プライマーは、その第１の標的特異的プライマーに関してネスト化される。いくつかの実施形態において、その第１のテールプライマーは、テール付加ランダムプライマーと同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２のテールプライマーは、その第１のシーケンシングプライマーの一部と同一の核酸配列を含み、その第１のテールプライマーに関してネスト化される。いくつかの実施形態において、その方法のうちの１つまたはこれより多くの工程は、本明細書で提供されるカートリッジの異なる容器内で行われ得る。いくつかの実施形態において、その方法は、そのサンプルとＲＮａｓｅとをその最初の標的特異的プライマーの伸長後に接触させる工程をさらに包含する。いくつかの実施形態において、そのテール付加ランダムプライマーは、ヘアピンループ構造を形成し得る。いくつかの実施形態において、その最初の標的特異的プライマーおよびその第１の標的特異的プライマーは、同一である。いくつかの実施形態において、そのテール付加ランダムプライマーは、第１のシーケンシングプライマーと同一の５’核酸配列と６～１

２個のランダムヌクレオチドを含む３’核酸配列との間に６～１２個のランダムヌクレオチドを含むバーコード部分をさらに含む。

【００８８】

ユニバーサルオリゴヌクレオチドテールアダプター

本明細書で使用される場合、用語「ユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプター（ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ｔａｉｌ－ａｄａｐｔｅｒ）」とは、２本の鎖（ブロッキング鎖および増幅鎖）から構成され、第１のライゲーション可能な二重鎖末端（ｄｕｐｌｅｘ　ｅｎｄ）および第２の不対末端を含む核酸分子をいう。そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターのブロッキング鎖は、５’二重鎖部分を含む。その増幅鎖は、不対５’部分、３’二重鎖部分、３’Ｔオーバーハング、ならびに第１のおよび第２のシーケンシングプライマーと同一の核酸配列を含む。そのブロッキング鎖および増幅鎖の二重鎖部分は、実質的に相補的であり、３’Ｔオーバーハングを含む第１のライゲーション可能な二重鎖末端を形成し、その二重鎖部分は、ライゲーション温度において二重鎖形態を保持するために十分な長さである。

【００８９】

いくつかの実施形態において、その第１のおよび第２のシーケンシングプライマーと同一の核酸配列を含む増幅鎖の一部は、少なくとも部分的に、その増幅鎖の５’不対部分によって含まれ得る。

【００９０】

いくつかの実施形態において、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターは、二重鎖部分および不対部分を含み得、ここでその不対部分は、その増幅鎖の５’部分のみを含む、すなわち、そのブロッキング鎖の全体は、二重鎖部分である。

【００９１】

いくつかの実施形態において、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターは、「Ｙ」形状を有し得る、すなわち、その不対部分は、ブロッキング鎖および増幅鎖の両方の部分を含み得、これらの鎖は不対である。そのブロッキング鎖の不対部分は、その増幅鎖の不対部分より短くてもよいし、長くてもよいし、長さが等しくてもよい。いくつかの実施形態において、そのブロッキング鎖の不対部分は、その増幅鎖の不対部分より短い可能性がある。Ｙ形状のユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターは、そのブロッキング鎖の不対部分がＰＣＲレジメンの間の３’伸長に左右されないという利点を有する。

【００９２】

いくつかの実施形態において、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターのブロッキング鎖は、その増幅鎖の５’不対部分に実質的に相補的でない３’不対部分をさらに含み得る；そしてここでそのブロッキング鎖の３’不対部分は、プライマーのうちのいずれにも実質的に相補的でないか、または実質的に同一でない。いくつかの実施形態において、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターのブロッキング鎖は、その増幅鎖の５’不対部分にアニーリング温度で特異的にアニールしない３’不対部分をさらに含み得る；そしてここでそのブロッキング鎖の３’不対部分は、プライマーまたはその相補体のうちのいずれにも、アニーリング温度で特異的にアニールしない。

【００９３】

第１の増幅工程

本明細書で使用される場合、用語「第１の標的特異的プライマー（ｆｉｒｓｔ　ｔａｒｇｅｔ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ｐｒｉｍｅｒ）」とは、適したアニーリング条件下で標的核酸に特徴的な鎖を有する核酸テンプレートに特異的にアニールし得る核酸配列を含む１本鎖オリゴヌクレオチドに言及する。

【００９４】

いくつかの実施形態において、プライマー（例えば、標的特異的プライマー）は、５’タグ配列部分を含み得る。いくつかの実施形態において、反応中に存在する多数のプライマー（例えば、全ての第１の標的特異的プライマー）は、同一の５’タグ配列部分を含み

得る。いくつかの実施形態において、多重ＰＣＲ反応において、種々のプライマー種が、互いとオフターゲット様式で相互作用し得、プライマー伸長およびその後にＤＮＡポリメラーゼによる増幅をもたらす。このような実施形態において、これらプライマーダイマーは、短い傾向にあり、それらの効率的増幅は、反応を追い越して優位を占め得、所望の標的配列の不十分な増幅を生じ得る。よって、いくつかの実施形態において、プライマーに（例えば、標的特異的プライマー上に）５’タグ配列を含めることは、両方の鎖上に同じ相補的テールを含むプライマーダイマーの形成を生じ得る。いくつかの実施形態において、その後の増幅サイクルにおいて、このようなプライマーダイマーは、１本鎖ＤＮＡプライマーダイマーへと変性し、各々は、５’タグによって導入されるそれらの２つの末端上に相補的な配列を含む。いくつかの実施形態において、これらの１本鎖ＤＮＡプライマーダイマーにアニールするプライマーの代わりに、分子内ヘアピン（フライパンの柄様の構造）形成は、別個の分子上の新たなプライマーとの分子間相互作用の代わりに、同じプライマーダイマー分子上の相補的タグの近位のアクセスしやすさに起因して起こり得る。よって、いくつかの実施形態において、これらのプライマーダイマーは、不十分にしか増幅されない可能性があり、その結果、プライマーは、増幅のためのダイマーによって指数関数的に消費されない；むしろそのタグ化プライマーは、標的配列の所望の特異的増幅のために高いかつ十分な濃度で残り得る。いくつかの実施形態において、プライマーダイマーの蓄積は、多重増幅の状況で望ましくない可能性がある。なぜならそれらは、その反応の中で他の試薬と競合し、消費するからである。

【００９５】

いくつかの実施形態において、５’タグ配列は、ＧＣリッチ配列であり得る。いくつかの実施形態において、５’タグ配列は、少なくとも５０％　ＧＣ含量、少なくとも５５％　ＧＣ含量、少なくとも６０％　ＧＣ含量、少なくとも６５％　ＧＣ含量、少なくとも７０％　ＧＣ含量、少なくとも７５％　ＧＣ含量、少なくとも８０％　ＧＣ含量、またはより高いＧＣ含量を含み得る。いくつかの実施形態において、タグ配列は、少なくとも６０％　ＧＣ含量を含み得る。いくつかの実施形態において、タグ配列は、少なくとも６５％　ＧＣ含量を含み得る。

【００９６】

本明細書で使用される場合、用語「第１のアダプタープライマー（ｆｉｒｓｔ　ａｄａｐｔｅｒ　ｐｒｉｍｅｒ）」とは、第１のシーケンシングプライマーの５’部分と同一の核酸配列を含む核酸分子に言及する。従って、第１のテール－アダプタープライマーが増幅鎖（相補鎖とは対照的に）の配列のうちの少なくとも一部と同一であるので、ユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプター自体の任意の部分に特異的にアニールできない。

【００９７】

第１の増幅工程の第１のＰＣＲ増幅サイクルにおいて、その第１の標的特異的プライマーは、既知の標的ヌクレオチド配列を含む任意の核酸のテンプレート鎖に特異的にアニールし得る。その第１の標的特異的プライマーがデザインされた配向に依存して、その既知の標的ヌクレオチド配列の上流または下流にある配列は、そのテンプレート鎖に相補的な鎖として合成される。ＰＣＲの伸長相の間に、そのテンプレート鎖の５’末端がライゲーションされたユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターにおいて終了する場合、その新たに合成された生成物鎖の３’末端は、その第１のテール－アダプタープライマーに相補的な配列を含む。その後のＰＣＲ増幅サイクルでは、その第１の標的特異的プライマーおよびその第１のテール－アダプタープライマーの両方が、その標的核酸配列の適切な鎖に特異的にアニールし得、その既知のヌクレオチド標的配列とそのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターとの間の配列が、増幅され得る（すなわち、コピーされ得る）。

【００９８】

第２の増幅工程

本明細書で使用される場合、用語「第２の標的特異的プライマー（ｓｅｃｏｎｄ　ｔａ

ｒｇｅｔ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ｐｒｉｍｅｒ）」とは、先立つ増幅工程から生じるアンプリコンによって含まれる既知の標的ヌクレオチド配列の一部に特異的にアニールし得る核酸配列を含む３’部分、および第２のシーケンシングプライマーと同一の核酸配列を含む５’部分を含む１本鎖オリゴヌクレオチドに言及する。その第２の標的特異的プライマーは、その第２の標的特異的プライマーの共通配列とハイブリダイズするさらなるプライマー（例えば、３’シーケンシングアダプター／インデックス配列を有するプライマー）によってさらに接触され得る。いくつかの実施形態において、そのさらなるプライマーは、バーコード、インデックス、アダプター配列、またはシーケンシングプライマー部位を含み得るハイブリダイゼーション配列の５’側にさらなる配列を含み得る。いくつかの実施形態において、そのさらなるプライマーは、包括的シーケンシングアダプター／インデクスプライマーである。その第２の標的特異的プライマーは、その第１の標的特異的プライマーに関してネスト化される。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーは、第１の標的特異的プライマーに関して、少なくとも３ヌクレオチド、例えば、３もしくはこれより多くの、４もしくはこれより多くの、５もしくはこれより多くの、６もしくはこれより多くの、７もしくはこれより多くの、８もしくはこれより多くの、９もしくはこれより多くの、１０もしくはこれより多くの、または１５もしくはこれより多くのヌクレオチドがネスト化される。

【００９９】

いくつかの実施形態において、反応に存在するその第２の標的特異的プライマーのうちの全ては、同じ５’部分を含む。いくつかの実施形態において、その第２の標的特異的プライマーの５’部分は、本明細書中上記の第１の標的特異的プライマーの５’タグに関して記載されるように、プライマーダイマーを抑制するように働き得る。

【０１００】

いくつかの実施形態において、その第１のおよび第２の標的特異的プライマーは、その標的核酸の同じ鎖に実質的に相補的である。いくつかの実施形態において、その既知の標的配列に特異的にアニールするその第１のおよび第２の標的特異的プライマーの一部は、合計で、その既知の標的ヌクレオチド配列の少なくとも２０個の特有の塩基、例えば、２０個もしくはこれより多くの特有の塩基、２５個もしくはこれより多くの特有の塩基、３０個もしくはこれより多くの特有の塩基、３５個もしくはこれより多くの特有の塩基、４０個もしくはこれより多くの特有の塩基、または５０個もしくはこれより多くの特有の塩基を含み得る。いくつかの実施形態において、その既知の標的配列に特異的にアニールするその第１のおよび第２の標的特異的プライマーの一部は、合計で、その既知の標的ヌクレオチド配列の少なくとも３０個の特有の塩基を含み得る。

【０１０１】

本明細書で使用される場合、用語「第２のアダプタープライマー（ｓｅｃｏｎｄ　ａｄａｐｔｅｒ　ｐｒｉｍｅｒ）」とは、その第１のシーケンシングプライマーの一部と同一の核酸配列を含む核酸分子に言及し、その第１のアダプタープライマーに関してネスト化される。従って、その第２のテール－アダプタープライマーは、増幅鎖（相補鎖とは対照的に）の配列の少なくとも一部と同一であるので、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプター自体のいかなる部分にも特異的にアニールできない。いくつかの実施形態において、その第２のアダプタープライマーは、その第１のシーケンシングプライマーと同一である。

【０１０２】

その第２のアダプタープライマーは、第１のアダプタープライマーに関してネスト化されるはずである、すなわち、その第１のアダプタープライマーは、第２のアダプタープライマーによって含まれずかつその第２のアダプタープライマーによって含まれる増幅鎖と同一の配列のうちのいずれとも異なる、その増幅プライマーの５’末端の近位に位置するその増幅鎖に同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、その第２のアダプタープライマーは、少なくとも３個のヌクレオチド、例えば、３個のヌクレオチド、４個のヌクレオチド、５個のヌクレオチド、６個のヌクレオチド、７個のヌクレオチド、８個の

ヌクレオチド、９個のヌクレオチド、１０個のヌクレオチド、またはこれより多くがネスト化される。

【０１０３】

いくつかの実施形態において、その第１のアダプタープライマーは、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖の約２０個の最も５’側の塩基と同一の核酸配列を含み得、その第２のアダプタープライマーは、そのユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターの増幅鎖の約３０個の塩基と同一の核酸配列と、その増幅鎖の５’末端の３’側にある少なくとも３個のヌクレオチドである５’塩基とを含み得る。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、ネスト化されたプライマーセットが使用され得る。いくつかの実施形態において、ネスト化されたアダプタープライマーの使用は、増幅可能である（例えば、ブリッジＰＣＲまたはエマルジョンＰＣＲの間に）が、ある種の技術を使用して効率的にシーケンシングできない最終アンプリコンを生成する可能性を排除する。いくつかの実施形態において、半ネスト化されたプライマーセットが使用され得る。

【０１０５】

サンプル精製工程

いくつかの実施形態において、標的核酸および／またはその増幅生成物は、１つの方法のうちの任意の適切な工程の前および／または後で、酵素、プライマー、または緩衝剤構成要素から単離され得る。核酸を単離するための任意の適切な方法が、使用され得る。いくつかの実施形態において、その単離は、固相可逆的固定法（Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｒｅｖｅｒｓｉｂｌｅ　Ｉｍｍｏｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ（ＳＰＲＩ））クリーンアップを含み得る。ＳＰＲＩクリーンアップのための方法は、当該分野で周知である（例えば、Ａｇｅｎｃｏｕｒｔ　ＡＭＰｕｒｅ　ＸＰ　－　ＰＣＲ　Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ（カタログ番号Ａ６３８８０、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ；　Ｂｒｅａ，　ＣＡ））。いくつかの実施形態において、酵素は、加熱処理によって不活性化され得る。

【０１０６】

いくつかの実施形態において、ハイブリダイズしなかったプライマーは、適切な方法（例えば、精製、消化など）を使用して核酸調製物から除去され得る。いくつかの実施形態において、ヌクレアーゼ（例えば、エキソヌクレアーゼＩ）は、調製物からプライマーを除去するために使用される。いくつかの実施形態において、このようなヌクレアーゼは、プライマー消化後に熱不活性化される。そのヌクレアーゼが一旦不活性化されると、プライマーのさらなるセットが、さらなる増幅反応を行うために、他の適切な構成要素（例えば、酵素、緩衝剤）と一緒に添加され得る。

【０１０７】

シーケンシング

いくつかの局面において、本明細書で記載される技術は、オリゴヌクレオチドシーケンシングのために核酸サンプルを富化するための方法に関する。いくつかの実施形態において、そのシーケンシングは、次世代シーケンシング法によって行われ得る。本明細書で使用される場合、「次世代シーケンシング（ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ）」とは、数千から数百万のシーケンシング反応を並行して行いかつ読み取ることに起因して、従来のシーケンシング法（例えば、サンガーシーケンシング法）で可能な速度を上回る速度でオリゴヌクレオチドをシーケンシングする能力を有するオリゴヌクレオチドシーケンシング技術をいう。次世代シーケンシング法／プラットフォームの非限定的な例としては、以下が挙げられる：大規模並行シグネチャーシーケンシング（Ｍａｓｓｉｖｅｌｙ　Ｐａｒａｌｌｅｌ　Ｓｉｇｎａｔｕｒｅ　Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ）（Ｌｙｎｘ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）；４５４パイロシーケンシング（４５４　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ／　Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）；固相可逆的ダイターミネーターシーケンシング（ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ，　ｒｅｖｅｒｓｉｂｌｅ　ｄｙｅ－ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ　ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ）（Ｓｏｌｅｘａ／Ｉｌｌｕｍｉｎａ）；ＳＯＬｉＤ技術（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）；イオン半導体シーケンシング

（Ｉｏｎ ｓｅｍｉｃｏｎｄｕｃｔｏｒ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ）（ＩＯＮ Ｔｏｒｒｅｎｔ）；ＤＮＡナノボールシーケンシング（Ｃｏｍｐｌｅｔｅ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ）；ならびにＰａｃｉｆｉｃ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｉｎｔｅｌｌｉｇｅｎ Ｂｉｏ－ｓｙｓｔｅｍｓ、およびＯｘｆｏｒｄ Ｎａｎｏｐｏｒｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから入手可能な技術。いくつかの実施形態において、そのシーケンシングプライマーは、選択された次世代シーケンシング法と適合性の部分を含み得る。次世代シーケンシング技術およびその制約、ならびに関連したシーケンシングプライマーのデザインパラメーターは、当該分野で周知である（例えば、Ｓｈｅｎｄｕｒｅら，「Ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ」，Ｎａｔｕｒｅ，２００８，ｖｏｌ．２６，Ｎｏ．１０，１１３５－１１４５；Ｍａｒｄｉｓ，「Ｔｈｅ ｉｍｐａｃｔ ｏｆ ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ｏｎ ｇｅｎｅｔｉｃｓ」，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，２００７，ｖｏｌ．２４，Ｎｏ．３，ｐｐ．１３３－１４１；Ｓｕら，「Ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ａｎｄ ｉｔｓ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ」Ｅｘｐｅｒｔ Ｒｅｖ Ｍｏｌ Ｄｉａｇｎ，２０１１，１１（３）：３３３－４３；Ｚｈａｎｇら，「Ｔｈｅ ｉｍｐａｃｔ ｏｆ ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｏｎ ｇｅｎｏｍｉｃｓ」，Ｊ Ｇｅｎｅｔ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，２０１１，３８（３）：９５－１０９；（Ｎｙｒｅｎ，Ｐ．ら Ａｎａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ ２０８：１７１７５（１９９３）；Ｂｅｎｔｌｅｙ，Ｄ．Ｒ．Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｇｅｎｅｔ Ｄｅｖ １６：５４５－５２（２００６）；Ｓｔｒａｕｓｂｅｒｇ，Ｒ．Ｌ．ら，Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃ Ｔｏｄａｙ １３：５６９－７７（２００８）；米国特許第７，２８２，３３７号；米国特許第７，２７９，５６３号；米国特許第７，２２６，７２０号；米国特許第７，２２０，５４９号；米国特許第７，１６９，５６０号；米国特許第６，８１８，３９５号；米国特許第６，９１１，３４５号；米国公開番号２００６／０２５２０７７；同２００７／００７０３４９；および同２００７００７０３４９を参照のこと；これらは、それらの全体において本明細書に参考として援用される）。

【０１０８】

いくつかの実施形態において、そのシーケンシング工程は、第１のおよび第２のシーケンシングプライマーの使用に依拠する。いくつかの実施形態において、その第１のおよび第２のシーケンシングプライマーは、本明細書で記載されるとおりの次世代シーケンシング法と適合性であるように選択される。

【０１０９】

シーケンシングリードをゲノムおよび／またはｃＤＮＡ配列の既知の配列データベースに整列させるための方法は、当該分野で周知であり、ソフトウェアは、このプロセスのために市販される。いくつかの実施形態において、それらの全体において、野生型配列データベースにマッピングされないリード（より小さいシーケンシングプライマーおよび／またはアダプターヌクレオチド配列）は、ゲノム再編成または大きなインデル変異であり得る。いくつかの実施形態において、ゲノム中の多数の位置にマッピングされる配列を含むリード（より小さいシーケンシングプライマーおよび／またはアダプターヌクレオチド配列）は、ゲノム再編成であり得る。

【０１１０】

ＡＭＰプライマー

いくつかの実施形態において、プライマーの４タイプ（第１のおよび第２の標的特異的プライマー、ならびに第１のおよび第２のアダプタープライマー）を、これらが、約６１～７２℃、例えば、約６１～６９℃、約６３～６９℃、約６３～６７℃、約６４～６６℃のアニーリング温度において、これらの相補的配列に特異的にアニールするように、デザインされる。いくつかの実施形態において、プライマーのその４タイプは、これらが７２℃未満のアニーリング温度でこれらの相補的配列に特異的にアニールするようにデザインされる。いくつかの実施形態において、プライマーのその４タイプは、これらが７０℃未

満のアニーリング温度でこれらの相補的配列に特異的にアニールするようにデザインされる。いくつかの実施形態において、プライマーのその４タイプは、これらが６８℃未満のアニーリング温度でこれらの相補的配列に特異的にアニールするようにデザインされる。いくつかの実施形態において、プライマーのその４タイプは、これらが約６５℃のアニーリング温度でこれらの相補的配列に特異的にアニールするようにデザインされる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、容器温度を（例えば、種々の温度範囲の間でサイクリングすることによって）変更して、プライマーアニーリングを促進するように構成される。

【０１１１】

いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチド配列に特異的にアニールする標的特異的プライマーの一部は、約６１～７２℃、例えば、約６１～６９℃、約６３～６９℃、約６３～６７℃、約６４～６６℃の温度で特異的にアニールする。いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチド配列に特異的にアニールする標的特異的プライマーの一部は、約６５℃の温度で、ＰＣＲ緩衝剤中で特異的にアニールする。

【０１１２】

いくつかの実施形態において、本明細書で記載されるプライマーおよび／またはアダプターは、改変された塩基を含むことができない（例えば、そのプライマーおよび／またはアダプターは、ブロッキング３’アミンを含むことができない）。

【０１１３】

核酸伸長、増幅、およびＰＣＲ

いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、伸長レジメンまたは工程を含む。このような実施形態において、伸長は、１つまたはこれより多くのハイブリダイズしたテール付加ランダムプライマーから、プライマーがテンプレートに関してハイブリダイズされる核酸分子を使用して、進み得る。伸長工程は、本明細書で記載される。いくつかの実施形態において、１つまたはこれより多くのテール付加ランダムプライマーは、サンプル中の核酸の実質的に全てにハイブリダイズし得、そのうちの多くは、既知の標的ヌクレオチド配列を含まなくてもよい。よって、いくつかの実施形態において、ランダムプライマーの伸長は、既知の標的ヌクレオチド配列を含まないテンプレートとのハイブリダイゼーションに起因して起こり得る。

【０１１４】

いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅レジメンを包含し得る（１つまたはこれより多くの増幅サイクルを包含する）。本明細書で記載される方法の増幅工程は、各々ＰＣＲ増幅レジメンを、すなわち、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅サイクルのセットを含み得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、容器温度を（例えば、種々の温度範囲の間でサイクルすることによって）変更して、種々のＰＣＲ工程、例えば、融解、アニーリング、伸長などを促進するように構成される。

【０１１５】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、自動化様式で増幅レジメンを実行するように構成される。本明細書で使用される場合、用語「増幅レジメン（ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｒｅｇｉｍｅｎ）」とは、目的の核酸を特異的に増幅する（その存在量を増大させる）プロセスをいう。いくつかの実施形態において、指数関数的増幅は、以前のポリメラーゼ伸長の生成物が連続する伸長ラウンドにわたってテンプレートとして働く場合に起こる。いくつかの実施形態において、本明細書で開示される方法に従うＰＣＲ増幅レジメンは、少なくとも１回、およびいくつかの場合には、少なくとも５回またはこれより多くの反復サイクルを含み得る。いくつかの実施形態において、各反復サイクルは、１）鎖分離（例えば、熱変性）；２）テンプレート分子へのオリゴヌクレオチドプライマーアニーリング；および３）そのアニールしたプライマーの核酸ポリメラーゼ伸長という工程を含み得る。これらの工程の各々に関与する任意の適切な条件および時間が使用され得ることは、認識されるである。いくつかの実施形態において、選択される

条件および時間は、長さ、配列の内容、融解温度、二次構造特徴、または反応において使用される核酸テンプレートおよび／もしくはプライマーに関する他の因子に依存し得る。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法に従う増幅レジメンは、サーマルサイクラー（そのうちの多くは市販されている）で行われる。

【０１１６】

いくつかの実施形態において、核酸伸長反応は、核酸ポリメラーゼの使用を包含する。本明細書で使用される場合、語句「核酸ポリメラーゼ（ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ）」とは、ヌクレオシド三リン酸のテンプレート依存性重合を触媒して、テンプレート核酸配列に相補的なプライマー伸長生成物を形成する酵素をいう。核酸ポリメラーゼ酵素は、アニールしたプライマーの３’末端における合成を開始し、そのテンプレートの５’末端に向かう方向で進む。多くの核酸ポリメラーゼは、当該分野で公知であり、市販されている。核酸ポリメラーゼのうちの１グループは、熱安定性である。すなわち、それらは、相補的な核酸のアニールした鎖を変性させるために十分な温度（例えば、９４℃、または時にはより高い）に供された後に機能を保持する。増幅のためのプロトコルの非限定的な例は、以下の条件下でポリメラーゼ（例えば、Ｐｈｏｅｎｉｘ Ｔａｑ、ＶｅｒａＳｅｑ）を使用することを包含する：９８℃で３０秒間、続いて、以下を含む１４～２２回のサイクル（９８℃で１０秒間での融解、続いて、６８℃で３０秒間のアニーリング、続いて、７２℃で３分間の伸長、続いて、４℃での反応の保持）。しかし、他の適切な反応条件が使用されてもよい。いくつかの実施形態において、アニーリング／伸長温度は、塩濃度における差異を考慮するために調節され得る（例えば、より高い塩濃度に対して３℃高い）。いくつかの実施形態において、例えば、９８℃から６５℃への傾斜率を（例えば、１℃／秒、０．５℃／秒、０．２８℃／秒、０．１℃／秒またはよりゆっくりと）遅らせることは、より多重化したサンプル中でプライマー性能および適用範囲の均一性を改善する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、容器温度を（例えば、種々の温度範囲の間でサイクルさせ、制御された上昇率または下降率を有することによって）変更して、増幅を促進するように構成される。

【０１１７】

いくつかの実施形態において、核酸ポリメラーゼは、その酵素がテンプレート依存性伸長を行う条件下で使用される。いくつかの実施形態において、その核酸ポリメラーゼは、ＤＮＡポリメラーゼＩ、Ｔａｑポリメラーゼ、Ｐｈｏｅｎｉｘ Ｔａｑポリメラーゼ、Ｐｈｕｓｉｏｎポリメラーゼ、Ｔ４ポリメラーゼ、Ｔ７ポリメラーゼ、Ｋｌｅｎｏｗフラグメント、Ｋｌｅｎｏｗ ｅｘｏ－、ｐｈｉ２９ポリメラーゼ、ＡＭＶ逆転写酵素、Ｍ－ＭｕＬＶ逆転写酵素、ＨＩＶ－１逆転写酵素、ＶｅｒａＳｅｑ ＵＬｔｒａポリメラーゼ、ＶｅｒａＳｅｑ ＨＦ ２．０ポリメラーゼ、ＥｎｚＳｃｒｉｐｔ、または別の適切なポリメラーゼである。いくつかの実施形態において、核酸ポリメラーゼは、逆転写酵素ではない。いくつかの実施形態において、核酸ポリメラーゼは、ＤＮＡテンプレートに対して作用する。いくつかの実施形態において、その核酸ポリメラーゼは、ＲＮＡテンプレートに対して作用する。いくつかの実施形態において、伸長反応は、相補的なＤＮＡ分子を生成するために、ＲＮＡに対して行われる逆転写を包含する（ＲＮＡ依存性ＤＮＡポリメラーゼ活性）。いくつかの実施形態において、逆転写酵素は、マウスのモロニーマウス白血病ウイルス（Ｍ－ＭＬＶ）ポリメラーゼ、ＡＭＶ逆転写酵素、ＲＳＶ逆転写酵素、ＨＩＶ－１逆転写酵素、ＨＩＶ－２逆転写酵素、または別の適切な逆転写酵素である。

【０１１８】

いくつかの実施形態において、核酸増幅反応は、反応混合物の加熱を概して要する鎖分離工程を包含するサイクルを要する。本明細書で使用される場合、用語「鎖分離（ｓｔｒａｎｄ ｓｅｐａｒａｔｉｏｎ）」または「鎖を分離する（ｓｅｐａｒａｔｉｎｇ ｔｈｅ ｓｔｒａｎｄ）」とは、相補的な２本鎖分子が、オリゴヌクレオチドプライマーにアニールするために利用可能な２本の単一の鎖へと分離されるようにする核酸サンプルの処理を意味する。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法に従う鎖分離は、核酸サンプルをその融解点（T_m）を上回って加熱することによって達成される。いく

つかの実施形態において、核酸ポリメラーゼに適した反応調製物における核酸分子を含むサンプルに関しては、９４℃への加熱は、鎖分離を達成するために十分である。いくつかの実施形態において、適切な反応調製物は、１種またはこれより多くの塩（例えば、１～１００ｍＭ　ＫＣｌ、０．１～１０ｍＭ　$MgCl_2$）、少なくとも１種の緩衝化剤（例えば、１～２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ）、およびキャリア（例えば、０．０１～０．５％　ＢＳＡ）を含む。適切な緩衝剤の非限定的な例は、５０ｍＭ　ＫＣｌ、１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（２５℃でｐＨ８．８）、０．５～３ｍＭ　$MgCl_2$、および０．１％　ＢＳＡを含む。

【０１１９】

いくつかの実施形態において、核酸増幅は、標的核酸に特徴的な鎖を有する核酸テンプレートにプライマーをアニールさせることを包含する。いくつかの実施形態において、標的核酸の鎖は、テンプレート核酸として働き得る。

【０１２０】

本明細書で使用される場合、用語「アニールする（ａｎｎｅａｌ）とは、２つの核酸の間での１つまたはこれより多くの相補的塩基対の形成をいう。いくつかの実施形態において、アニーリング（ａｎｎｅａｌｉｎｇ）は、２つの相補的または実質的に相補的な核酸鎖が一緒にハイブリダイズすることを要する。いくつかの実施形態において、伸長反応の状況では、アニーリングは、テンプレート依存性ポリメラーゼ酵素のプライマー伸長基質が形成されるように、テンプレートへのプライマーのハイブリダイゼーションを要する。いくつかの実施形態において、アニーリング（例えば、プライマーと核酸テンプレートとの間）の条件は、プライマーの長さおよび配列に基づいて変動し得る。いくつかの実施形態において、アニーリングの条件は、プライマーのT_m（例えば、計算されたT_m）に基づく。いくつかの実施形態において、伸長レジメンのアニーリング工程は、鎖分離工程後の温度を、プライマーのT_m（例えば、計算されたT_m）に基づく温度へと、このようなアニーリングを可能にするために十分な時間にわたって低下させることを要する。いくつかの実施形態において、T_mは、多くのアルゴリズム（例えば、ＯＬＩＧＯ^{TM}（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　Ｉｎｓｉｇｈｔｓ　Ｉｎｃ．　Ｃｏｌｏｒａｄｏ）プライマーデザインソフトウェアおよびＶＥＮＴＲＯ　ＮＴＩ^{TM}（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，　Ｉｎｃ．　Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）プライマーデザインソフトウェアおよびインターネット上で入手可能なプログラム（Ｐｒｉｍｅｒ３、Ｏｌｉｇｏ　Ｃａｌｃｕｌａｔｏｒ、およびＮｅｔＰｒｉｍｅｒ（Ｐｒｅｍｉｅｒ　Ｂｉｏｓｏｆｔ；　Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ，　ＣＡ；およびワールドワイドウェブ上で（例えば、ａｔ　ｐｒｅｍｉｅｒｂｉｏｓｏｆｔ．ｃｏｍ／ｎｅｔｐｒｉｍｅｒ／ｎｅｔｐｒｌａｕｎｃｈ／Ｈｅｌｐ／ｘｎｅｔｐｒｌａｕｎｃｈ．ｈｔｍｌにおいて）無料で入手可能なものが挙げられる）のうちのいずれかを使用して決定され得る。いくつかの実施形態において、プライマーのT_mは、以下の式を使用して計算され得る（これは、ＮｅｔＰｒｉｍｅｒソフトウェアによって使用され、Ｆｒｉｅｉｒ，ら　ＰＮＡＳ　１９８６　８３：９３７３－９３７７（これは、その全体において本明細書に参考として援用される）により詳細に記載される）

$T_m = \Delta H / (\Delta S + R \times \ln(C/4)) + 16.6 \log([K^+]/(1+0.7[K^+])) - 273.15$

ここで：ΔＨは，ヘリックス形成のエンタルピーであり；ΔＳは、ヘリックス形成のエントロピーであり；Ｒは、モル気体定数（１．９８７ｃａｌ／℃×ｍｏｌ）であり；Ｃは、核酸濃度であり；そして［K^+］は、塩濃度である。大部分の増幅レジメンに関して、アニーリング温度は、推定T_mより約５℃低いように選択されるが、例えば、推定T_mより５℃より大きく低い温度（例えば、６℃低い、８℃低い、１０℃低い、またはより低い）であり得るように、T_mにより近く、T_mを上回る温度（例えば、推定T_mより１℃～５℃の間または低い、推定T_mより１℃～５℃の間高い）が使用され得る。いくつかの実施形態において、アニーリング温度がT_mに近いほど、アニーリングはより特異的になる。いくつかの実施形態において、伸長反応の間（例えば、ＰＣＲ増幅レジメンの状況内で）プライマーアニーリングに使用される時間は、少なくとも部分的に、反応の体積に基づい

て決定される（例えば、体積が大きいほど、より長い時間を要する）。いくつかの実施形態において、伸長反応の間に（例えば、ＰＣＲ増幅レジメンの状況内で）プライマーアニーリングに使用される時間は、少なくとも部分的に、プライマーおよびテンプレート濃度に基づいて決定される（例えば、テンプレートに対するプライマーの相対的濃度が高いほど、より低い相対的濃度より、より短い時間を要する）。いくつかの実施形態において、体積および相対的プライマー／テンプレート濃度に依存して、伸長反応における（例えば、増幅レジメンの状況内での）プライマーアニーリング工程は、１秒～５分、１０秒～２分、または３０秒～２分の範囲内であり得る。本明細書で使用される場合、「実質的にアニールする（ｓｕｂｓｔａｎｔｉａｌｌｙ　ａｎｎｅａｌ）」とは、相補的塩基対が、ＰＣＲ増幅レジメンの状況において使用される場合に、特異的に増幅された生成物の検出可能なレベルを生じるために十分である２つの核酸の間で形成する程度に言及する。

【０１２１】

本明細書で使用される場合、用語「ポリメラーゼ伸長（ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ）」とは、核酸ポリメラーゼによる、核酸テンプレートにアニールされるプライマーの３’末端への少なくとも１個の相補的ヌクレオチドのテンプレート依存性付加をいう。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ伸長は、例えば、テンプレートの全長に相当するヌクレオチドまでおよびそれを含む１個より多くのヌクレオチドを付加する。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ伸長の条件は、少なくとも部分的に、使用されるポリメラーゼが何であるかに基づく。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ伸長に使用されるテンプレートは、その酵素の既知の活性特性に基づく。アニーリング温度がその酵素の至適温度を下回るいくつかの実施形態において、より低い伸長温度を使用することは、許容可能であり得る。いくつかの実施形態において、酵素は、それらの至適伸長温度より下で少なくとも部分的活性を保持し得る。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ伸長（例えば、Ｔａｑポリメラーゼおよびその改変体のような熱安定性ポリメラーゼで行われる）は、６５℃～７５℃または６８℃～７２℃で行われる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法は、ＰＣＲ増幅レジメンの各サイクルにおいて核酸テンプレートにアニールされるプライマーのポリメラーゼ伸長を要する。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ伸長は、比較的強い鎖置換活性を有するポリメラーゼを使用して行われる。いくつかの実施形態において、強い鎖置換を有するポリメラーゼは、融合物（例えば、５’融合物）を検出する目的で核酸を調製するために有用である。

【０１２２】

いくつかの実施形態において、プライマー伸長は、アニールしたオリゴヌクレオチドプライマーの伸長を可能にする条件下で行われる。本明細書で使用される場合、用語「伸長生成物が生成されるようにアニールしたオリゴヌクレオチドの伸長を可能にする条件（ｃｏｎｄｉｔｉｏｎｓ　ｔｈａｔ　ｐｅｒｍｉｔ　ｔｈｅ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ　ｏｆ　ａｎ　ａｎｎｅａｌｅｄ　ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ｓｕｃｈ　ｔｈａｔ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ　ｐｒｏｄｕｃｔｓ　ａｒｅ　ｇｅｎｅｒａｔｅｄ）」とは、核酸ポリメラーゼがプライマー伸長を触媒する条件のセット（例えば、温度、塩および補因子濃度、ｐＨ、ならびに酵素濃度）をいう。いくつかの実施形態において、このような条件は、少なくとも部分的に、使用されている核酸ポリメラーゼに基づく。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは、適切な反応調製物中でプライマー伸長反応を行い得る。いくつかの実施形態において、適切な反応調製物は、１つまたはこれより多くの塩（例えば、１～１００ｍＭ　ＫＣｌ、０．１～１０ｍＭ　$MgCl_2$）、少なくとも１つの緩衝化剤（例えば、１～２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ）、キャリア（例えば、０．０１～０．５％　ＢＳＡ）、および１つまたはこれより多くのＮＴＰ（例えば、ｄＡＴＰ、ｄＴＴＰ、ｄＣＴＰ、およびｄＧＴＰの各々が１０～２００μＭ）を含む。条件の非限定的なセットは、ポリメラーゼ（例えば、Ｔａｑポリメラーゼ）がプライマー伸長を触媒する７２℃において５０ｍＭ　ＫＣｌ、１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（２５℃でｐＨ８．８）、０．５～３ｍＭ　$MgCl_2$、２００μＭ　各ｄＮＴＰ、および０．１％　ＢＳＡである。いくつかの実施形態において、開始および伸長の条件は、適切な緩衝剤中に、１種、２種、３種または

４種の種々のデオキシリボヌクレオシド三リン酸（例えば、ｄＡＴＰ、ｄＴＴＰ、ｄＣＴＰ、およびｄＧＴＰから選択される）および重合誘導剤（例えば、ＤＮＡポリメラーゼまたは逆転写酵素）の存在を含み得る。いくつかの実施形態において、「緩衝剤（ｂｕｆｆｅｒ）」とは、溶媒（例えば、水性溶媒）に加えて、ｐＨ、イオン強度などに影響を及ぼす適切な補因子および試薬を含み得る。

【０１２３】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、自動化様式で、多数の核酸増幅サイクルを実行するように構成される。いくつかの実施形態において、核酸増幅は、５回まで、１０まで、２０まで、３０まで、４０まで、またはこれより多くのラウンド（サイクル）の増幅を要する。いくつかの実施形態において、核酸増幅は、長さが５サイクル～２０サイクルのＰＣＲ増幅レジメンのサイクルのセットを含み得る。いくつかの実施形態において、増幅工程は、長さが１０サイクル～２０サイクルのＰＣＲ増幅レジメンのサイクルのセットを含み得る。いくつかの実施形態において、各増幅工程は、長さが１２サイクル～１６サイクルのＰＣＲ増幅レジメンのサイクルのセットを含み得る。いくつかの実施形態において、アニーリング温度は、７０℃未満であり得る。いくつかの実施形態において、アニーリング温度は、７２℃未満であり得る。いくつかの実施形態において、アニーリング温度は、約６５℃であり得る。いくつかの実施形態において、アニーリング温度は、約６１～約７２℃であり得る。

【０１２４】

種々の実施形態において、本明細書で記載される方法および組成物は、本明細書で記載されるプライマーのタイプのうちの１つまたはこれより多くを用いてＰＣＲ増幅レジメンを行うことに関する。本明細書で使用される場合、「プライマー（ｐｒｉｍｅｒ）」とは、核酸テンプレートに特異的にアニーリングし、テンプレート依存性ポリメラーゼの基質として働く３’末端を提供して、そのテンプレートに相補的な伸長生成物を生成し得るオリゴヌクレオチドをいう。いくつかの実施形態において、プライマーは、プライマーおよびその相補体がアニールして２つの鎖を形成し得るようにする１本鎖である。本明細書に記載される方法および組成物に従うプライマーは、長さが３００ヌクレオチド以下であり、例えば、３００以下、または２５０、または２００、または１５０、または１００、または９０、または８０、または７０、または６０、または５０、または４０、または３０、またはこれより少ない、または２０もしくはこれより少ない、または１５もしくはこれより少ないが、長さが少なくとも６ヌクレオチドであるハイブリダイゼーション配列（例えば、核酸テンプレートとアニールする配列）を含み得る。いくつかの実施形態において、プライマーのハイブリダイゼーション配列は、長さが６～５０ヌクレオチド、長さが６～３５ヌクレオチド、長さが６～２０ヌクレオチド、長さが１０～２５ヌクレオチドであり得る。

【０１２５】

任意の適切な方法が、オリゴヌクレオチドおよびプライマーを合成するために使用され得る。いくつかの実施形態において、市販の供給源は、本明細書で記載される方法および組成物における使用のためのプライマーを提供するために適したオリゴヌクレオチド合成サービス（例えば、ＩＮＶＩＴＲＯＧＥＮ™ Ｃｕｓｔｏｍ ＤＮＡ Ｏｌｉｇｏｓ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ，ＮＹ）またはＩｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃｏｒａｌｖｉｌｌｅ，ＩＡ）からの特注のＤＮＡ Ｏｌｉｇｏ）を提供する。

【０１２６】

ＤＮＡ剪断／フラグメント化

本明細書で使用される核酸（例えば、シーケンシングの前）は、任意の所望のサイズのフラグメントを生成するために、剪断され得る（例えば、機械的にまたは酵素により剪断され得る）。機械的剪断プロセスの非限定的な例としては、超音波処理、ネブライゼーション、およびＣｏｖａｒｉｓ（Ｗｏｂｕｒｎ，ＭＡ）から市販されるＡＦＡ™剪断技術が挙げられる。いくつかの実施形態において、核酸は、超音波処理によって機械的に剪

断され得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるシステムは、核酸が、例えば、機械的にまたは酵素により剪断され得る、例えば、カートリッジ内に嵌められているカセット内に１つまたはこれより多くの容器を有し得る。

【０１２７】

いくつかの実施形態において、標的核酸は、剪断も消化もされない。いくつかの実施形態において、調製工程の核酸生成物（例えば、伸長生成物、増幅生成物）は、剪断も酵素消化もされない。

【０１２８】

いくつかの実施形態において、標的核酸がＲＮＡである場合、そのサンプルは、ＤＮＡテンプレートを生成するために逆転写酵素レジメンに供され得、次いで、そのＤＮＡテンプレートは、剪断され得る。いくつかの実施形態において、標的ＲＮＡは、逆転写酵素レジメンを行う前に剪断され得る。いくつかの実施形態において、標的ＲＮＡを含むサンプルは、新鮮なまたは分解された標本のいずれかから抽出された全核酸を使用して；ｃＤＮＡシーケンシングのためにゲノムＤＮＡを除去する必要性なしに；ｃＤＮＡシーケンシングのためにリボソームＲＮＡを枯渇させる必要性なしに；工程のうちのいずれかにおける機械的剪断または酵素による剪断の必要性もなしに；ランダムヘキサマーを使用して２本鎖ｃＤＮＡ合成のためにＲＮＡを供することによって、本明細書で記載される方法において使用され得る。

【０１２９】

標的核酸

本明細書で使用される場合、用語「標的核酸（ｔａｒｇｅｔ　ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ）」とは、目的の核酸分子（例えば、分析される核酸）をいう。いくつかの実施形態において、標的核酸は、標的ヌクレオチド配列（例えば、既知のまたは所定のヌクレオチド配列）および決定される隣接するヌクレオチド配列（これは、未知の配列といわれ得る）の両方を含む。標的核酸は、任意の適切な長さのものであり得る。いくつかの実施形態において、標的核酸は、２本鎖である。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、ＤＮＡである。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、ゲノムＤＮＡまたは染色体ＤＮＡ（ｇＤＮＡ）である。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）であり得る。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、１本鎖である。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ、長い非コードＲＮＡ、マイクロＲＮＡ）であり得る。

【０１３０】

いくつかの実施形態において、その標的核酸は、ゲノムＤＮＡによって含まれ得る。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、リボ核酸（ＲＮＡ）、例えば、ｍＲＮＡによって含まれ得る。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、ｃＤＮＡによって含まれ得る。本明細書で記載される方法における使用に適したシーケンシング法のうちの多くは、数十から数百のヌクレオチド塩基の至適リード長でのシーケンシング実行を提供する（例えば、Ｉｏｎ　Ｔｏｒｒｅｎｔ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙは、２００～４００ｂｐのリード長を生成し得る）。例えば、ゲノムＤＮＡまたはｍＲＮＡによって含まれる標的核酸は、この至適リード長より実質的に長い核酸分子によって含まれ得る。第２の増幅工程から生じる増幅された核酸部分が特定のシーケンシング技術における使用のための適切な長さのものであるために、その既知の標的ヌクレオチド配列とユニバーサルオリゴヌクレオチドテール－アダプターがライゲーションされ得る標的核酸の末端との間の平均距離は、選択された技術の至適リード長に可能な限り近いである。例えば、所定のシーケンシング技術の至適リード長が２００ｂｐである場合、本明細書で記載される方法に従って増幅される核酸分子は、約４００ｂｐまたはこれより短い平均長を有するである。例えば、ゲノムＤＮＡまたはｍＲＮＡによって含まれる標的核酸は、任意の所望のサイズのフラグメントを生成するために、剪断され得る（例えば、機械的にまたは酵素により剪断され得る）。機械的剪断プロセスの非限定的な例としては、超音波処理、ネブライゼーション、およびＣｏｖａｒｉｓ（Ｗｏｂｕｒｎ，　ＭＡ）から市販されるＡＦＡ™剪断技術が挙げ

られる。いくつかの実施形態において、ゲノムＤＮＡによって含まれる標的核酸は、超音波処理によって機械的に剪断され得る。

【０１３１】

いくつかの実施形態において、その標的核酸がＲＮＡによって含まれる場合、そのサンプルは、ＤＮＡテンプレートを生成するために逆転写酵素レジメンに供され得、次いで、そのＤＮＡテンプレートは、剪断され得る。いくつかの実施形態において、標的ＲＮＡは、逆転写酵素レジメンを行う前に剪断され得る。いくつかの実施形態において、標的ＲＮＡを含むサンプルは、新鮮なまたは分解された標本のいずれかから抽出された全核酸を使用して；ｃＤＮＡシーケンシングのためにゲノムＤＮＡを除去する必要性なしに；ｃＤＮＡシーケンシングのためにリボソームＲＮＡを枯渇させる必要性なしに；工程のうちのいずれかにおける機械的剪断または酵素による剪断の必要性もなしに；ランダムヘキサマーを使用して２本鎖ｃＤＮＡ合成のためにＲＮＡを供することによって；およびその核酸を末端修復、リン酸化、およびアデニル化に供することによって、本明細書で記載される方法において使用され得る。

【０１３２】

いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチド配列は、遺伝子再編成によって含まれ得る。本明細書で記載される方法は、遺伝子再編成の存在および／または何であるかを決定するために適合される。なぜならその遺伝子再編成の半分のみが何であるかが、先に決定されなければならないからである（すなわち、遺伝子特異的プライマーによって標的化される遺伝子再編成の半分）。いくつかの実施形態において、その遺伝子再編成は、発がん遺伝子を含み得る。いくつかの実施形態において、その遺伝子再編成は、融合発がん遺伝子を含み得る。

【０１３３】

本明細書で使用される場合、用語「既知の標的ヌクレオチド配列（ｋｎｏｗｎ　ｔａｒｇｅｔ　ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ）」とは、その配列（例えば、その核酸が何であるかおよびその核酸のヌクレオチド塩基の順序）が既知である標的核酸の一部をいう。例えば、いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチド配列は、既知であるかまたはその核酸の隣接する未知の配列のインターロゲーションより先に決定された核酸のヌクレオチド配列である。既知の標的ヌクレオチド配列は、任意の適切な長さであり得る。

【０１３４】

いくつかの実施形態において、標的ヌクレオチド配列（例えば、既知の標的ヌクレオチド配列）は、１０個もしくはこれより多くのヌクレオチド、３０個もしくはこれより多くのヌクレオチド、４０個もしくはこれより多くのヌクレオチド、５０個もしくはこれより多くのヌクレオチド、１００個もしくはこれより多くのヌクレオチド、２００個もしくはこれより多くのヌクレオチド、３００個もしくはこれより多くのヌクレオチド、４００個もしくはこれより多くのヌクレオチド、５００個もしくはこれより多くのヌクレオチドの長さを有する。いくつかの実施形態において、標的ヌクレオチド配列（例えば、既知の標的ヌクレオチド配列）は、１０～１００個のヌクレオチド、１０～５００個のヌクレオチド、１０～１０００個のヌクレオチド、１００～５００個のヌクレオチド、１００～１０００個のヌクレオチド、５００～１０００個のヌクレオチド、５００～５０００個のヌクレオチドの範囲の長さを有する。

【０１３５】

いくつかの実施形態において、方法は、核酸の連続する（または隣接する）部分の配列を決定するために、本明細書で提供される。本明細書で使用される場合、用語「に連続するヌクレオチド配列（ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｃｏｎｔｉｇｕｏｕｓ　ｔｏ）」とは、別のヌクレオチド配列（例えば、既知のヌクレオチド配列）の直ぐ上流または下流にある核酸分子（例えば、標的核酸）のヌクレオチド配列に言及する。いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチド配列に連続するヌクレオチド配列は、任意の適切な長さのものであり得る。いくつかの実施形態において、既知の標的ヌクレオチ

ド配列に連続するヌクレオチド配列は、１ｋｂまたはこれより短いヌクレオチド配列、例えば、１ｋｂまたはこれより短いヌクレオチド配列、７５０ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列、５００ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列、４００ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列、３００ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列、２００ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列、１００ｂｐまたはこれより短いヌクレオチド配列を含む。サンプルが既知の標的ヌクレオチド配列を含む種々の標的核酸（例えば、既知の標的ヌクレオチド配列が、そのゲノムに、または別個の同一でない染色体上に何度も出現する細胞）を含むいくつかの実施形態において、その既知の標的ヌクレオチド配列「に連続するヌクレオチド配列」を含む多数の配列が存在し得る。本明細書で使用される場合、用語「ヌクレオチド配列（またはそのヌクレオチド配列）を決定する（ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ　ａ（ｏｒ　ｔｈｅ）　ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ）」とは、核酸のヌクレオチド塩基が何であるかおよびその相対的位置を決定することに言及する。

【０１３６】

いくつかの実施形態において、既知の標的核酸は、遺伝子再編成から生じる融合配列を含み得る。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、遺伝子再編成の存在および／または何であるかを決定するために適している。いくつかの実施形態において、遺伝子再編成の１つの部分が何であるかは、先に既知であり（例えば、遺伝子特異的プライマーによって標的化される遺伝子再編成の一部）、他の部分の配列は、本明細書で開示される方法を使用して決定され得る。いくつかの実施形態において、遺伝子再編成は、発がん遺伝子を要し得る。いくつかの実施形態において、遺伝子再編成は、融合発がん遺伝子を含み得る。

【０１３７】

サンプル

いくつかの実施形態において、標的核酸は、適切なサンプル（例えば、食品サンプル、環境サンプル、生物学的サンプル、例えば、血液サンプルなど）中に存在するかまたはこれらサンプルから得られる。いくつかの実施形態において、その標的核酸は、被験体から得られる生物学的サンプルである。いくつかの実施形態において、サンプルは、被験体から得られる診断サンプルであり得る。いくつかの実施形態において、サンプルは、タンパク質、細胞、流体、生物学的流体、保存剤、および／または他の物質をさらに含み得る。非限定的な例によれば、サンプルは、口内スワブ、血液、血清、血漿、喀痰、脳脊髄液、尿、涙液、肺胞単離物、胸膜液、心膜液、嚢胞液、腫瘍組織、組織、生検物、唾液、吸引物、またはこれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態において、サンプルは、切除物または生検物によって得られ得る。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、そのサンプルは、遺伝子変化（ｇｅｎｅｔｉｃ　ａｌｔｅｒａｔｉｏｎ）と関連する疾患（例えば、がんまたは遺伝性疾患）の処置の必要性のある被験体から得られ得る。いくつかの実施形態において、既知の標的配列は、疾患関連遺伝子に存在する。

【０１３９】

いくつかの実施形態において、サンプルは、がんの処置の必要性のある被験体から得られる。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、腫瘍細胞の集団、例えば、少なくとも１個の腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、腫瘍生検物（非処理の生検組織物または処理生検組織物（例えば、ホルマリン固定および／またはパラフィン包埋した生検組織）が挙げられるが、これらに限定されない）を含む。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、そのサンプルは、新たに集められる。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、本明細書で記載される方法および組成物において使用される前に貯蔵される。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、非処理サンプルである。本明細書で使用される場合、「非処理サンプル（ｕｎｔｒｅａｔｅｄ　ｓａｍｐｌｅ）」とは、溶液中での希釈および／または懸濁を除いて、いかなる事前のサンプル事前処

理をも有しなかった生物学的サンプルをいう。いくつかの実施形態において、サンプルは、被験体から得られ、本明細書で記載される方法および組成物において利用される前に保存または処理される。非限定的な例によれば、サンプルは、パラフィンワックス中に包埋され得るか、冷蔵され得るか、または凍結され得る。凍結サンプルは、本明細書で記載される方法および組成物に従って、核酸の存在を決定する前に融解され得る。いくつかの実施形態において、そのサンプルは、処理された（ｐｒｏｃｅｓｓｅｄ　ｏｒ　ｔｒｅａｔｅｄ）サンプルであり得る。サンプルを処理する（ｔｒｅａｔｉｎｇ　ｏｒ　ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ）ための例示的な方法としては、遠心分離、濾過、超音波処理、ホモジナイゼーション、加熱、凍結および融解、保存剤（例えば、抗凝固剤またはヌクレアーゼインヒビター）との接触、ならびにこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、サンプルは、化学的および／または生物学的試薬で処理され得る。化学的および／または生物学的試薬は、処理および／または貯蔵の間に、サンプルの安定性またはそのサンプルによって含まれる核酸を保護および／または維持するために使用され得る。さらに、または代わりに、化学的および／または生物学的試薬は、そのサンプルの他の構成要素から核酸を放出するために使用され得る。非限定的な例によれば、血液サンプルは、本明細書で記載される方法および組成物において利用される前に、抗凝固剤で処理され得る。核酸分析のためのサンプルの処理、保存、または処理に適切な方法およびプロセスは、本明細書で開示される方法において使用され得る。いくつかの実施形態において、サンプルは、清澄にした流体サンプルであり得る。いくつかの実施形態において、サンプルは、その清澄にされる流体サンプルを含む上清の低速遠心分離（例えば、３，０００×ｇまたはこれより小さい）および収集によって清澄にされ得る。

【０１４１】

いくつかの実施形態において、サンプル中に存在する核酸は、本明細書で記載される方法および組成物において利用される前に単離され得るか、富化され得るか、または精製され得る。サンプルから核酸を単離、富化、または精製するために適した方法は、使用され得る。例えば、ゲノムＤＮＡを種々のサンプルタイプから単離するためのキットは、市販されている（例えば、カタログ番号５１１０４、５１３０４、５６５０４、および５６４０４；　Ｑｉａｇｅｎ；　Ｇｅｒｍａｎｔｏｗｎ，　ＭＤ）。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、例えば、標的核酸のシーケンシングの前に、標的核酸を富化するための方法に関する。いくつかの実施形態において、富化される標的核酸の一方の末端の配列は、シーケンシングの前には知られていない。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、次世代シーケンシング技術を使用してヌクレオチド配列を決定する前に、特定のヌクレオチド配列を富化するための方法に関する。いくつかの実施形態において、特定のヌクレオチド配列を富化するための方法は、ハイブリダイゼーション富化を含まない。

【０１４２】

標的遺伝子（ＡＬＫ、ＲＯＳ１、ＲＥＴ）および治療適用

本明細書で記載される方法のいくつかの実施形態において、既知のオリゴヌクレオチド標的配列に連続する配列の決定は、疾患の処置と直接関連する情報を提供し得る。従って、いくつかの実施形態において、本明細書で開示される方法は、疾患を処置することを補助するために使用され得る。いくつかの実施形態において、サンプルは、遺伝的変化と関連する疾患の処置の必要性のある被験体に由来し得る。いくつかの実施形態において、既知の標的配列は、疾患関連遺伝子、例えば、発がん遺伝子の配列である。いくつかの実施形態において、既知のオリゴヌクレオチド標的配列に連続する配列および／またはその既知のオリゴヌクレオチド標的配列は、疾患に関連する変異または遺伝的異常（例えば、ＳＮＰ、挿入、欠失、および／または遺伝子再編成）を含み得る。いくつかの実施形態において、サンプル中に存在する既知の標的配列に連続する配列および／または既知の標的配列は、遺伝子再編成生成物の配列を含んだ。いくつかの実施形態において、遺伝子再編成は、発がん遺伝子、例えば、融合発がん遺伝子であり得る。

【０１４３】

がんのある種の処置は、ある種の発がん遺伝子を含む腫瘍に対して特に有効である。例えば、所定の融合発がん遺伝子の作用または発現を標的化する処置薬剤は、その融合発がん遺伝子を含む腫瘍に対して有効であり得るが、その融合発がん遺伝子を欠く腫瘍に対しては有効でない。本明細書で記載される方法は、発がん遺伝子状態（例えば、変異、ＳＮＰ、および／または再編成）を明らかにする特定の配列の決定を促進し得る。いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、隣接する領域の配列が既知である場合に、特定の配列の決定をさらに可能にし得る。例えば、本明細書で記載される方法は、精密な位置および／または再編成パートナーが、本明細書で記載される方法が行われる前に既知ではない既知の遺伝子（例えば、発がん遺伝子）を要する遺伝子再編成の存在および何であるかを決定し得る。

【０１４４】

いくつかの実施形態において、被験体は、肺がんの処置の必要性がある。いくつかの実施形態において、例えば、そのサンプルが、肺がんの処置の必要性のある被験体から得られる場合、その既知の標的配列は、ＡＬＫ、ＲＯＳ１、およびＲＥＴの群から選択される遺伝子に由来する配列を含み得る。よって、いくつかの実施形態において、遺伝子再編成は、ＡＬＫ、ＲＯＳ１、またはＲＥＴを含む融合物を生じる。ＡＬＫ、ＲＯＳ１、またはＲＥＴを含む遺伝子再編成の非限定的な例は、例えば、以下に記載される：Ｓｏｄａら Ｎａｔｕｒｅ ２００７ ４４８５６１－６： Ｒｉｋｏｖａら Ｃｅｌｌ ２００７ １３１：１１９０－１２０３； Ｋｏｈｎｏら Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２０１２ １８：３７５－７； Ｔａｋｏｕｃｈｉら Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２０１２ １８：３７８－８１；これらは、それらの全体において本明細書に参考として援用される。しかし、再編成に関与する第２の遺伝子の遺伝子再編成の精密な位置および何であるかが予め既知でなくてもよいことは、認識されるである。よって、本明細書で記載される方法において、このような再編成の存在および何であるかは、遺伝子再編成に関与する第２の遺伝子の再編成の位置または何であるかを知る必要なしに検出され得る。

【０１４５】

いくつかの実施形態において、その既知の標的配列は、ＡＬＫ、ＲＯＳ１、およびＲＥＴの群から選択される遺伝子に由来する配列を含み得る。

【０１４６】

いくつかの実施形態において、被験体における腫瘍から得られるサンプル中のＡＬＫの遺伝子再編成の存在は、その腫瘍が以下からなる群より選択される処置での処置に影響を受けやすいことを示し得る：ＡＬＫインヒビター；クリゾチニブ（ＰＦ－０２３４１０６６）；ＡＰ２６１１３；ＬＤＫ３７８；３－３９；ＡＦ８０２；ＩＰＩ－５０４；ＡＳＰ３０２６；ＡＰ－２６１１３；Ｘ－３９６；ＧＳＫ－１８３８７０５Ａ；ＣＨ５４２４８０２；ＡＬＫキナーゼ活性のジアミノおよびアミノピリミジンインヒビター（例えば、ＮＶＰ－ＴＡＥ６８４およびＰＦ－０２３４１０６６（例えば、Ｇａｌｋｉｎら， Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ， ２００７， １０４：２７０－２７５； Ｚｏｕら， Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ， ２００７， ６７：４４０８－４４１７； Ｈａｌｌｂｅｒｇ ａｎｄ Ｐａｌｍｅｒ Ｆ１０００ Ｍｅｄ Ｒｅｐｏｒｔｓ ２０１１ ３：２１； Ｓａｋａｍｏｔｏら， Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ ２０１１ １９：６７９－６９０；およびＷＯ ０４／０７９３２６で開示される分子を参照のこと）。前述の参考文献の全ては、それらの全体において本明細書に参考として援用される。ＡＬＫインヒビターは、ＡＬＫまたはその一部の発現および／またはキナーゼ活性を低減する任意の薬剤（ＡＬＫまたはその一部の発現および／または活性を低減する例えば、オリゴヌクレオチド、低分子、および／またはペプチドを含む）を含み得る。本明細書で使用される場合「未分化リンパ腫キナーゼ（ａｎａｐｌａｓｔｉｃ ｌｙｍｐｈｏｍａ ｋｉｎａｓｅ）」または「ＡＬＫ」とは、代表的には野生型形態におけるニューロン調節に関与する膜貫通チロシンキナーゼ（ｔｙＲＯＳ１ｉｎｅ ｋｉｎａｓｅ）をいう。ＡＬＫ遺伝子およびｍＲＮＡのヌクレオチド配列は、多くの種（ヒトを含む）に関して公知である（例えば、ＮＣＢＩ Ｇｅｎｅ ＩＤ：２３８の下で註釈されるとおり）。

【０１４７】
いくつかの実施形態において、被験体における腫瘍から得られるサンプル中のＲＯＳ１の遺伝子再編成の存在は、腫瘍がＲＯＳ１インヒビターおよび上記で記載されるとおりのＡＬＫインヒビター（例えば、ククリゾチニブ）からなる群より選択される処置での処置に影響を受けやすいことを示し得る。ＲＯＳ１インヒビターは、ＲＯＳ１またはその一部の発現および／またはキナーゼ活性を低減する任意の薬剤（ＲＯＳ１またはその一部の発現および／または活性を低減する、例えば、オリゴヌクレオチド、低分子、および／またはペプチドを含む）を含み得る。本明細書で使用される場合「ｃ－ｒｏｓ発癌遺伝子１（ｃ－ｒｏｓ　ｏｎｃｏｇｅｎｅ　１）」または「ＲＯＳ１」（当該分野ではｒｏｓ－１ともいわれる）は、ｓｅｖｅｎｌｅｓｓサブファミリーの膜貫通チロシンキナーゼに言及し、これは、ＰＴＰＮ６と相互作用する。ＲＯＳ１遺伝子およびｍＲＮＡのヌクレオチド配列は、多くの種（ヒトを含む）に関して公知である（例えば、ＮＣＢＩ　Ｇｅｎｅ　ＩＤ：６０９８の下で註釈されるとおり）。

【０１４８】
いくつかの実施形態において、被験体における腫瘍から得られるサンプル中のＲＥＴの遺伝子再編成の存在は、その腫瘍が以下からなる群より選択される処置での処置に影響を受けやすいことを示し得る：ＲＥＴインヒビター；ＤＰ－２４９０、ＤＰ－３６３６、ＳＵ５４１６；ＢＡＹ　４３－９００６、ＢＡＹ　７３－４５０６（レゴラフェニブ）、ＺＤ６４７４、ＮＶＰ－ＡＳＴ４８７、ソラフェニブ、ＲＰＩ－１、ＸＬ１８４、バンデタニブ、スニチニブ、イマチニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、モテサニブ、ゲフィチニブ、およびウィザフェリンＡ（例えば、Ｓａｍａｄｉら，　Ｓｕｒｇｅｒｙ　２０１０　１４８：１２２８－３６；　Ｃｕｃｃｕｒｕら，　ＪＮＣＩ　２００４　１３：１００６－１０１４；　Ａｋｅｎｏ－Ｓｔｕａｒｔら，　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　２００７　６７：６９５６；　Ｇｒａｚｍａら，　Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ　２０１０　２８：１５ｓ　５５５９；　Ｍｏｌｏｇｎｉら，　Ｊ　Ｍｏｌ　Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ　２００６　３７：１９９－２１２；　Ｃａｌｍｏｍａｇｎｏら，　Ｊｏｕｒｎａｌ　ＮＣＩ　２００６　９８：３２６－３３４；　Ｍｏｌｏｇｎｉ，　Ｃｕｒｒ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ　２０１１　１８：１６２－１７５；ならびにＷＯ　０６／０３４８３３で開示される化合物；米国特許公開２０１１／０２０１５９８および米国特許第８，０６７，４３４号で開示される化合物を参照のこと）。前述の参考文献の全ては、それらの全体において本明細書に参考として援用される。ＲＥＴインヒビターは、ＲＥＴまたはその一部の発現および／またはキナーゼ活性を低減する任意の薬剤（ＲＥＴまたはその一部の発現および／または活性を低減する、例えば、オリゴヌクレオチド、低分子、および／またはペプチドを含む）を含み得る。本明細書で使用される場合、「トランスフェクションの間に再編成（ｒｅａｒｒａｎｇｅｄ　ｄｕｒｉｎｇ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」または「ＲＥＴ」とは、神経堤発生に関与し、グリア細胞由来神経栄養因子ファミリーシグナル伝達分子を認識するカドヘリンスーパーファミリーのレセプターチロシンキナーゼをいう。ＲＥＴ遺伝子およびｍＲＮＡのヌクレオチド配列は、多くの種（ヒトを含む）に関して公知である（例えば、ＮＣＢＩ　Ｇｅｎｅ　ＩＤ：５９７９の下で註釈されるとおり）。

【０１４９】
本明細書で記載される方法の適用のさらなる非限定的な例としては、造血悪性腫瘍マーカーおよびその一団の検出（例えば、リンパ腫および白血病においてゲノム再編成を検出するものが挙げられる）、肉腫関連ゲノム再編成およびその一団の検出；ならびにリンパ腫検査のためのＩＧＨ／ＴＣＲ遺伝子再編成およびその一団の検出が挙げられる。

【０１５０】
いくつかの実施形態において、本明細書で記載される方法は、例えば、がんを有するまたはがんを有すると診断された被験体を、がんの処置で処置することに関する。がんを有する被験体は、がんを診断するための現在の方法を使用して医師によって同定され得る。例えば、肺がんの状態を特徴付けかつ診断を補助する、肺がんの症状および／または合併症は、当該分野で周知であり、呼吸の虚弱（ｗｅａｋ　ｂｒｅａｔｈｉｎｇ）、鎖骨上リ

ンパ節腫脹、肺の異常音、胸部を軽くたたいた場合の濁音（ｄｕｌｌｎｅｓｓ）および胸痛が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、肺がんの診断を補助し得る検査としては、ｘ線、高レベルのある種の物質（例えば、カルシウム）に関する血液検査、ＣＴスキャン、および腫瘍生検が挙げられるが、これらに限定されない。肺がんの家族歴、または肺がんのリスク因子への曝露（例えば、喫煙または煙および／もしくは空気汚染への曝露）はまた、被験体が肺がんを有するようであるか否かを決定するか、または肺がんの診断を行うことを補助し得る。

【０１５１】

がんとしては、以下が挙げられ得るが、これらに限定されない：癌腫（腺がん、リンパ腫、芽細胞腫、黒色腫、肉腫、白血病、扁平細胞がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、消化管がん、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、膵臓がん、膠芽腫、基底細胞がん、胆管がん、膀胱がん、脳のがん（膠芽腫および髄芽腫が挙げられる）が挙げられる）；乳がん、子宮頚がん、絨毛がん；結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、子宮内膜がん；食道がん、胃がん；種々のタイプの頭頚部がん、上皮内新生物（ボーエン病およびパジェット病が挙げられる）；血液新生物（急性リンパ性白血病および骨髄性白血病が挙げられる）；カポジ肉腫、ヘアリーセル白血病；慢性骨髄性白血病、ＡＩＤＳ関連白血病および成人Ｔ細胞白血病リンパ腫；腎臓がん（例えば、腎細胞がん）、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫、リンパ腫（ホジキン病およびリンパ球性リンパ腫が挙げられる）；肝臓がん（例えば、肝臓癌腫および肝細胞がん）、メル血細胞がん、黒色腫、多発性骨髄腫；神経芽腫；口腔がん（扁平上皮がんが挙げられる）；卵巣がん（上皮細胞に由来するものが挙げられる）、肉腫（平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、脂肪肉腫、線維肉腫（ｆｉｂＲＯＳ１ａｒｃｏｍａ）、および骨肉腫が挙げられる）；膵臓がん；皮膚がん（黒色腫、間質細胞、胚細胞および間葉系細胞が挙げられる）；前立腺がん（ｐＲＯＳ１ｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ）、直腸がん；外陰部がん（ｖｕｌｖａｌ ｃａｎｃｅｒ）、腎がん（腺癌を含む）；精巣がん（胚細胞腫瘍（例えば、精上皮腫、非精上皮腫（奇形腫、絨毛がん）、間質腫瘍、および胚細胞腫瘍が挙げられる）；甲状腺がん（甲状腺腺がんおよび髄様がんを含む）；食道がん、唾液腺がん、およびウィルムス腫瘍。いくつかの実施形態において、そのがんは、肺がんであり得る。

【０１５２】

多重方法

本明細書で記載される方法は、多重形式で使用され得る。本明細書で記載される方法の実施形態において、多重適用は、１つまたはこれより多くの既知の標的ヌクレオチド配列に連続するヌクレオチド配列を決定することを含み得る。本明細書で使用される場合、「多重増幅（ｍｕｌｔｉｐｌｅｘ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ）」とは、１つまたはこれより多くの反応容器において１より多くの標的核酸の同時増幅を包含するプロセスをいう。いくつかの実施形態において、方法は、プライマーの１つまたはこれより多くのセットを使用して、多重増幅生成物の配列のその後の決定を包含する。多重とは、約２～１，０００個の間の異なる標的配列を１つの反応において検出することを指し得る。本明細書で使用される場合、多重とは、２～１，０００の間の任意の範囲、例えば、５～５００個、２５～１，０００個、または１０～１００個などの間の異なる標的配列を１つの反応において検出することに言及する。ＰＣＲに当てはまる場合の用語「多重（ｍｕｌｔｉｐｌｅｘ）」とは、同じＰＣＲ反応において少なくとも２個の異なる標的配列に特異的なプライマーが存在することを示唆する。

【０１５３】

いくつかの実施形態において、サンプル中の標的核酸、またはサンプルの別個の部分は、複数のプライマー（例えば、複数の第１のおよび第２の標的特異的プライマー）で増幅され得る。いくつかの実施形態において、その複数のプライマー（例えば、複数の第１のおよび第２の標的特異的プライマー）は、１つの反応混合物中に存在し得る。例えば、多数の増幅生成物は、同じ反応混合物中で生成され得る。いくつかの実施形態において、その複数のプライマー（例えば、第１のおよび第２の標的特異的プライマーの複数のセット

）は、別個の遺伝子によって含まれる既知の標的配列に特異的にアニールし得る。いくつかの実施形態において、少なくとも２セットのプライマー（例えば、少なくとも２セットの第１のおよび第２の標的特異的プライマー）は、既知の標的配列の異なる部分に特異的にアニールし得る。いくつかの実施形態において、少なくとも２セットのプライマー（例えば、少なくとも２セットの第１のおよび第２の標的特異的プライマー）は、１つの遺伝子によって含まれる既知の標的配列の異なる部分に特異的にアニールし得る。いくつかの実施形態において、少なくとも２セットのプライマー（例えば、少なくとも２セットの第１のおよび第２の標的特異的プライマー）は、既知の標的配列を含む遺伝子の異なるエキソンに特異的にアニールし得る。いくつかの実施形態において、その複数のプライマー（例えば、第１の標的特異的プライマー）は、同一の５’タグ配列部分を含み得る。

【０１５４】

本明細書で記載される方法の実施形態において、多重適用は、１つのシーケンシング反応またはシーケンシング実行において多数のサンプル中の１つまたはこれより多くの既知の標的ヌクレオチド配列に連続するヌクレオチド配列を決定する工程を包含し得る。いくつかの実施形態において、多数のサンプルは、異なる起源のもの、例えば、異なる組織および／または異なる被験体に由来するものであり得る。このような実施形態において、プライマー（例えば、テール付加ランダムプライマー）は、バーコード部分をさらに含み得る。いくつかの実施形態において、特有のバーコード部分を有するプライマー（例えば、テール付加ランダムプライマー）は、各サンプルに添加され得、その中の核酸にライゲーションされ得る；そのサンプルはその後、プールされ得る。このような実施形態において、増幅生成物の各得られたシーケンシングリードは、増幅生成物が由来するテンプレート核酸を含むサンプルを同定するバーコードを含む。

【０１５５】

分子バーコード

いくつかの実施形態において、プライマーは、識別子配列（例えば、バーコード、インデックス）、シーケンシングプライマーハイブリダイゼーション配列（例えば、Ｒｄ１）、およびアダプター配列のようなさらなる配列を含み得る。いくつかの実施形態において、そのアダプター配列は、次世代シーケンシングシステムとともに使用される配列である。いくつかの実施形態において、そのアダプター配列は、Ｉｌｌｕｍｉｎａベースのシーケンシング技術のためのＰ５およびＰ７配列である。いくつかの実施形態において、そのアダプター配列は、Ｉｏｎ　Ｔｏｒｒｅｎｔシーケンシング技術と適合性のＰ１およびＡである。

【０１５６】

いくつかの実施形態において、本明細書で使用される場合、「分子バーコード（ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂａｒｃｏｄｅ）」、「分子バーコードタグ（ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂａｒｃｏｄｅ　ｔａｇ）」および「インデックス（ｉｎｄｅｘ）」は、交換可能に使用され得、そして一般に、識別子（例えば、その核酸の供給源識別子、位置識別子、日付もしくは時間識別子（例えば、サンプリングまたは処理の日付もしくは時間）、または他の識別子のような）として有用である核酸のヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態において、このような分子バーコードまたはインデックス配列は、核酸の集団に存在する核酸の異なる局面を同定するために有用である。いくつかの実施形態において、分子バーコードまたはインデックス配列は、標的核酸の供給源または位置識別子を提供し得る。例えば、分子バーコードまたはインデックス配列は、核酸が得られる患者を同定するように働き得る。いくつかの実施形態において、分子バーコードまたはインデックス配列は、１つの反応（例えば、１つのフローセルで行われる）での多数の異なるサンプルのシーケンシングを可能にする。いくつかの実施形態において、インデックス配列は、個々のシーケンシング反応を検出する目的で配列イメージャーを配向するために使用され得る。いくつかの実施形態において、分子バーコードまたはインデックス配列は、長さが２～２５ヌクレオチド、長さが２～１５ヌクレオチド、長さが２～１０ヌクレオチド、長さが２～６ヌクレオチドであり得る。いくつかの実施形態において、バーコードまたはインデックスは、少

なくとも２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個、２４個、または少なくとも２５個のヌクレオチドを含む。

【０１５７】

いくつかの実施形態において、テール付加ランダムプライマーの集団が、本明細書で記載される方法に従って使用される場合、多数の区別可能な増幅生成物は、増幅後に存在し得る。いくつかの実施形態において、テール付加ランダムプライマーは、サンプルの核酸分子全体を通じて種々の位置においてハイブリダイズするので、標的特異的プライマーのセットは、１回より多くのハイブリダイゼーション事象によって作られる伸長生成物をハイブリダイズ（および増幅）し得る。例えば、１つのテール付加ランダムプライマーは、標的特異的プライマーハイブリダイゼーション部位から第１の距離（例えば、１００ヌクレオチド）においてハイブリダイズし得、別のテール付加ランダムプライマーは、標的特異的プライマーハイブリダイゼーション部位から第２の距離（例えば、２００ヌクレオチド）においてハイブリダイズし得、それによって、２つの増幅生成物（例えば、約１００ｂｐを含む第１の増幅生成物および約２００ｂｐを含む第２の増幅生成物）を生じ得る。いくつかの実施形態において、これらの多数の増幅生成物は各々、次世代シーケンシング技術を使用してシーケンシングされ得る。いくつかの実施形態において、これらの多数の増幅生成物のシーケンシングは、増幅またはシーケンシングプロセスの間に導入される配列エラーを検出するために互いと比較され得る多数の重なり合う配列リードを提供することから有利である。いくつかの実施形態において、個々の増幅生成物が整列され得、それらが特定の塩基において存在する配列の中で異なる場合、ＰＣＲおよび／またはシーケンシングのアーチファクトまたはエラーが存在し得る。

【０１５８】

コンピューターおよび制御装置

本明細書で提供されるシステムは、いくつかの構成要素（センサー、環境制御システム（例えば、ヒーター、ファン）、ロボット（例えば、ＸＹポジショナー）などが挙げられる）を含み、これらは、コンピューター、プロセッサー、マイクロコントローラーまたは他のコントローラーの指示で一緒に作動し得る。その構成要素としては、例えば、ＸＹポジショナー、液体取り扱いデバイス、微小流体ポンプ、リニアアクチュエーター、バルブドライバー、ドア作動システム、光学アセンブリ、バーコードスキャナー、画像化または検出デバイス、タッチスクリーンインターフェイスなどが挙げられ得る。

【０１５９】

いくつかの場合には、作動（例えば、中で提供されるかまたはともにインターフェイス接続するシステムおよび／または構成要素の作動制御）は、ハードウェア、ソフトウェアまたはこれらの組み合わせを使用して実行され得る。ソフトウェアで実行される場合、ソフトウェアコードは、単一の構成要素において提供されようと、多数の構成要素の中で割り振られようと、任意の適切なプロセッサーまたはプロセッサーの集まり上で実行され得る。このようなプロセッサーは、集積回路として、集積回路構成要素の中の１つまたはこれより多くのプロセッサーで実行され得る。プロセッサーは、任意の適切な形式で回路を使用して実行され得る。

【０１６０】

コンピューターは、多くの形態のうちのいずれか（例えば、ラックマウント式コンピューター、デスクトップコンピューター、ラップトップコンピューター、またはタブレットコンピューター）において具現化され得る。さらに、コンピューターは、コンピューターとしては概して見做されないが、適切な処理能力を有するデバイス（パーソナルデジタルアシスタント（ＰＤＡ）、スマートフォンまたは任意の他の適切なポータブル、モバイルまたは固定の電子デバイス（システム自体を含む）が挙げられる）の中に埋め込まれ得る。

【０１６１】

いくつかの場合には、コンピューターは、１つまたはこれより多くの入力および出力デ

バイスを有し得る。これらのデバイスは、とりわけ、ユーザーインターフェイスを提示するために使用され得る。ユーザーインターフェイスを提供するために使用され得る出力デバイスの例としては、出力の視覚的提示のためのプリンターまたはディスプレイスクリーン、および出力の可聴式提示のためのスピーカーまたは他の音声生成デバイスが挙げられる。ユーザーインターフェイスのために使用され得る入力デバイスの例としては、キーボード、およびポインティングデバイス（例えば、マウス、タッチパッド、およびディジタイザータブレット（ｄｉｇｉｔｉｚｉｎｇ　ｔａｂｌｅｔ））が挙げられる。他の例では、コンピューターは、音声認識を通じて、または他の可聴式形式において、視覚的なジェスチャーを通じて、触覚入力（例えば、振動、触知できるおよび／または他の力を含む）を通じて、またはこれらの任意の組み合わせを通じて、入力情報を受容し得る。

【０１６２】

１つまたはこれより多くのコンピューターは、任意の適切な形式で１つまたはこれより多くのネットワーク（ローカルエリアネットワークまたはワイドエリアネットワーク（例えば、エンタープライズネットワークまたはインターネット）として含まれる）によって相互接続され得る。このようなネットワークは、任意の適切な技術に基づき得、任意の適切なプロトコルに従って作動し得、そして無線ネットワーク、有線ネットワーク、または光ファイバーネットワークを含み得る。

【０１６３】

本明細書で概説される種々の方法またはプロセスは、種々のオペレーティングシステムまたはプラットフォームのうちのいずれか１つを使用する１つまたはこれより多くのプロセッサー上で実行可能なソフトウェアとしてコードされ得る。このようなソフトウェアは、多くの適切なプログラミング言語および／またはプログラミングもしくはスクリプトツールのうちのいずれかを使用して書かれ得、機械言語コードまたはフレームワークもしくは仮想マシン上で実行される実行可能な中間コードとしてコンパイルされ得る。

【０１６４】

本明細書で提供される方法またはプロセスを制御するための１つまたはこれより多くのアルゴリズムは、１つまたはこれより多くのコンピューターまたは他のプロセッサー上で実行される場合に、本明細書で記載される種々の方法またはプロセスを実行する方法を行う１つまたはこれより多くのプログラムで符号化される読み取り可能な記憶媒体（または多数の読み取り可能な媒体）（例えば、コンピューターメモリ、１つまたはこれより多くのフロッピー（登録商標）ディスク、コンパクトディスク（ＣＤ）、光学ディスク、デジタルビデオディスク（ＤＶＤ）、磁気テープ、フラッシュメモリ、フィールドプログラマブルゲートアレイにある回路構成もしくは他の半導体デバイス、または他の触知可能な記憶媒体）として具現化され得る。

【０１６５】

いくつかの実施形態において、コンピューター読み取り可能な記憶媒体は、一過性でない形態でコンピューター実行可能な指示を提供するために十分な時間にわたって情報を保持し得る。このようなコンピューター読み取り可能な記憶媒体は、その中に記憶されたプログラムが本明細書で記載される方法またはプロセスの種々の局面を実行するために、１つまたはこれより多くの異なるコンピューターまたは他のプロセッサー上にロードされ得るように可搬性であり得る。本明細書で使用される場合、用語「コンピューター読み取り可能な記憶媒体（ｃｏｍｐｕｔｅｒ－ｒｅａｄａｂｌｅ　ｓｔｏｒａｇｅ　ｍｅｄｉｕｍ）」は、製造品（例えば、製造物品）または機械であると考えられ得るコンピューター読み取り可能な媒体のみを包含する。代わりにまたはさらに、本明細書で記載される方法またはプロセスは、コンピューター読み取り可能な記憶媒体以外のコンピューター読み取り可能な媒体（例えば、伝播シグナル）として具現化され得る。

【０１６６】

用語「プログラム（ｐｒｏｇｒａｍ）」または「ソフトウェア（ｓｏｆｔｗａｒｅ）」とは、コンピューターまたは他のプロセッサーをプログラムして、本明細書で記載される方法またはプロセスの種々の局面を実行するために使用され得る実行可能なコードまたは

指示のセットのいずれかのタイプを指すために、包括的な意味において本明細書で使用される。さらに、この実施形態の一局面によれば、実行される場合に、本明細書で記載される方法またはプロセスを行う１つまたはこれより多くのプログラムは、１つのコンピューターまたはプロセッサー上にある必要はないが、種々の手順または作動を実行するために、多くの異なるコンピューターまたはプロセッサーの中で、モジュラー様式で割り振られていてもよいことは、認識されるである。

【０１６７】

実行可能な指示は、１つまたはこれより多くのコンピューターまたは他のデバイスによって実行される多くの形態（例えば、プログラムモジュール）で存在し得る。一般に、プログラムモジュールは、特定のタスクを行うかまたは特定の抽象データ型を実行する、ルーチン、プログラム、オブジェクト、コンポーネント、データ構造などを含む。代表的には、そのプログラムモジュールの機能性は、種々の実施形態において望ましい場合、組み合わされ得るかまたは割り振られ得る。

【０１６８】

また、データ構造は、任意の適切な形態でコンピューター読み取り可能な媒体に記憶され得る。データ記憶の非限定的な例としては、構造化、非構造化、ローカライズされた、割り振られた、短期間および／または長期間の記憶が挙げられる。データを伝達するために使用され得るプロトコルの非限定的な例としては、所有権によって保護されたおよび／または業界標準プロトコル（例えば、ＨＴＴＰ、ＨＴＭＬ、ＸＭＬ、ＪＳＯＮ、ＳＱＬ、ウェブサービス、テキスト、スプレッドシートなど、またはこれらの任意の組み合わせ）が挙げられる。例証を単純化するために、データ構造は、そのデータ構造における位置を通じて関連するフィールドを有することが示され得る。このような関連性は、そのフィールドに関する記憶を、そのフィールド間の関連性を伝えるコンピューター読み取り可能な媒体における位置とともに割り当てることによって、同様に達成され得る。しかし、任意の適切な機構は、データ構造のフィールドにおける情報間の関係性を確立するために使用され得る（ポインター、タグ、またはデータ要素間の関係性を確立する他の機構の使用を通じるものを含む）。

【０１６９】

いくつかの実施形態において、そのシステムの作動に関する情報（例えば、温度、画像化または光学的情報）、蛍光シグナル、構成要素の位置（例えば、加熱されたふたの位置、ロータリーバルブの位置）、液体取り扱い状態、バーコード状態、ベイアクセスドアの位置、またはこれらの任意の組み合わせ）は、そのシステムと関連した（例えば、そのシステム内に位置した）１つまたはこれより多くのセンサーまたはリーダーから得られ得、プロセス（例えば、自動化ライブラリー調製プロセス）の間の状態についての情報を提供するためにコンピューター読み取り可能な媒体の中に記憶され得る。いくつかの実施形態において、その読み取り可能な媒体は、データベースを含む。いくつかの実施形態において、上記データベースは、１つのシステムから（例えば、１つまたはこれより多くのベイから）のデータを含む。いくつかの実施形態において、上記データベースは、複数のシステムからのデータを含む。いくつかの実施形態において、データは、これを改竄防止にする様式で記憶される。いくつかの実施形態において、そのシステムによって生成される全てのデータは、記憶される。いくつかの実施形態において、データの部分セットが記憶される。

【実施例】

【０１７０】

以下の実施例は、本発明のある種の局面を含め、本明細書で記載されるある種の実施形態を例証することが意図されるが、本発明の全範囲を例示するのではない。

【０１７１】

生物学的分析システムを構成し、作動するために、実施形態において実行され得る実施形態および技術とともに、システムおよび方法の例が以下に記載される。しかし、実施形態が、以下の実施形態のうちのいずれかに従って作動することに限定されず、他の実施形

態が可能であることは、認識されるである。

【０１７２】

図６は、いくつかの実施形態が作動し得る生物学的分析システム６００を図示する。図６の生物学的分析システム６００は、シーケンシング用の生物学的サンプルを調製するために複数のライブラリー調製プロトコルを行うように構成されたライブラリー調製デバイス６０２を含む。その複数のライブラリー調製プロトコルのうちの１つのライブラリー調製プロトコルは、ライブラリー調製作動の異なるセットを含む。ライブラリー調製デバイス６０２（例えば、図２Ａおよび２Ｂに示されるシステム２００）は、カセット４２０、４３０、および４５０、ならびにモジュール４４０を有するカートリッジ４００を受容するように構成され得る。カセット４２０、４３０、および４５０は、生物学的サンプルに対するライブラリー調製プロトコルの作動の間に使用される１またはこれより多くのリソースを含むように構成された容器を含み得る。カセットに含まれる適切なリソースの例は、本明細書で考察され、プライマー、試薬、および緩衝剤を含む。生物学的サンプル６０６は、モジュール４４０のサンプルウェルへと、例えば、ユーザーによって配置され得る。この様式において、カートリッジ４００は、その生物学的サンプル６０６のうちの少なくとも一部およびその生物学的サンプル６０６に対してライブラリー調製プロトコルを行うために使用される１またはこれより多くのカセットに配置された少なくとも１つのリソースの両方を含み得る。そのカートリッジ４００は、ライブラリー調製デバイス６０２と、例えば、カートリッジベイ６１０を介してそのカートリッジ４００を受容するライブラリー調製デバイス６０２によって、インターフェイス接続し得る。そのライブラリー調製デバイス６０２は、そのカートリッジ４００のサンプルウェル内に配置された生物学的サンプル６０６に対してライブラリー調製プロトコルを行い得る。その生物学的サンプル６０６と関連するライブラリーは、そのライブラリー調製プロトコルを行うことから生じ得る。

【０１７３】

生物学的分析システム６００はまた、その生物学的サンプルと関連するライブラリーに対してその後のアッセイを行うように構成されたアッセイデバイス６１８を含み得る。その後のアッセイは、シーケンシングプロセスであり得、アッセイデバイス６１８は、シーケンシングデバイスであり得る。生物学的分析システム６００はまた、アッセイデバイス６１８によってその生物学的サンプルに対して行われるアッセイの結果を分析するように構成された分析デバイス６２０を含み得る。その生物学的サンプルは、そのライブラリー調製デバイス６０２によって調製されたその生物学的サンプルと関連するライブラリーを含み得る。いくつかの実施形態において、分析デバイスは、その生物学的サンプルに含まれる核酸配列を決定するためにシーケンシング結果を分析し得る。

【０１７４】

本出願の局面は、そのライブラリー調製デバイス６０２、アッセイデバイス６１８、および／または分析デバイス６２０の自己構成を提供する技術に関する。これらの自己構成技術は、そのライブラリー調製プロトコルの選択、そのアッセイデバイスに関する構成情報の生成、および／または人間の介入なしでの分析プロセスの構成を可能にし得る。

【０１７５】

技術の１つのタイプは、そのライブラリー調製デバイスによって使用される生物学的サンプルおよび少なくとも１つのリソースと関連する識別子（符号化された識別子を含む）を示す情報を受容することを含む。その受容した情報は、その生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを選択するために使用され得る。その生物学的サンプルと関連する識別子を示すその受容した情報は、その生物学的サンプル（例えば、サンプルＩＤ）、組織のタイプ、その生物学的サンプルと関連する患者（例えば、患者ＩＤ）を同定し得る。リソースと関連する識別子を示すその受容した情報は、ライブラリー調製プロトコルを行うために使用される試薬、緩衝剤、またはプライマーのタイプとして、そのリソースを同定し得る。行われるライブラリー調製プロトコルは、その受容した情報に基づいて選択され得る。

【０１７６】
図６に示されるように、識別子６０８は、生物学的サンプル６０６と関連し、識別子６１２は、カートリッジ４００と関連する。さらにまたは代わりに、１またはこれより多くの識別子は、カートリッジのカセット（例えば、カートリッジ４００のカセット４２０、４３０、および４５０）と関連し得る。生物学的サンプルに対して行うライブラリー調製プロトコルを調製プロトコルのセットから選択することは、その識別子を示す情報に基づき得る。その識別子を示す情報は、ライブラリー調製プロトコルの選択がその識別子に基づいて自動的に起こることを可能にし得る。その生物学的サンプルおよびリソースと関連する識別子は、電子的に読み取り可能な識別子、バー符号化、および近距離無線通信（ＮＦＣ）タグを含み得る。図６に示されるように、生物学的分析システム６００はまた、スキャナー６０４、または他の適切なインターロゲーションデバイスを含み得る。そのスキャナー６０４は、その識別子を示す情報を受容するためにその識別子のスキャンを可能にするスキャン設備を有し得る。いくつかの実施形態において、スキャナー６０４は、バー符号化スキャナーであり、生物学的サンプルおよび／またはリソースと関連するバーコードを示す情報は、そのバーコードをスキャンすることによって受容され得る。いくつかの実施形態において、生物学的分析システム６００は、ＮＦＣインターロゲーターを含み、生物学的サンプルおよび／またはリソースと関連するＮＦＣタグを示す情報は、そのＮＦＣインターロゲーターをインターロゲートすることによって受容され得る。

【０１７７】
識別子のスキャンまたはインターロゲートは、異なる時間または位置で起こり得る。いくつかの実施形態において、生物学的サンプルと関連する識別子は、そのライブラリー調製デバイスの外部にあるスキャナーまたはインターロゲーターによって、そのカートリッジをそのライブラリー調製デバイスへと装填する前に、スキャンまたはインターロゲートされる。このような実施形態において、ユーザーは、そのカートリッジをライブラリー調製デバイスに装填する前に、生物学的サンプルと関連する識別子および少なくとも１つのリソースと関連する識別子をスキャンし得る。スキャンまたはインターロゲートすることによって受容されるその情報は、そのライブラリー調製デバイスまたは他の適切なコンピューティングデバイスにおいて、その生物学的サンプルについての情報とそのリソースについての情報とを関連付ける様式で記憶され得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製デバイスは、カートリッジがそのライブラリー調製デバイスの中に装填される間に、そのカートリッジまたはそのカートリッジの中に装填されるリソースと関連する識別子をスキャンまたはインターロゲートするように構成されたスキャナーおよび／またはインターロゲーターを含む。

【０１７８】
そのライブラリー調製プロトコルの選択は、そのカートリッジを示す情報（これは、そのカートリッジの中に装填されるプライマー、試薬、および緩衝剤のタイプについての情報を含み得る）の少なくとも一部に基づくプロトコルを選択することを包含し得る。いくつかの実施形態において、その受容された情報は、その生物学的サンプル６０６および／またはそのライブラリー調製プロトコルを行う間にその生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジ４００を同定し得る。いくつかの実施形態において、そのカートリッジを示す情報は、その生物学的サンプルおよび／またはその生物学的サンプルのタイプを同定する情報を含み得る。先に考察されたように、カートリッジ４００は、１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルでの使用のために構成され得る。カートリッジ４００は、その１またはこれより多くのライブラリー調製プロトコルの実施において使用されるカートリッジ４００内に予め配置された物質を含み得る。カートリッジ４００と関連する識別子６１２は、そのカートリッジを同定する情報（そのカートリッジのタイプを同定する情報を含む）を提供し得る。そのカートリッジのタイプは、特定のライブラリー調製プロトコルと関連付けられ得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製プロトコルの選択は、そのカートリッジのタイプを同定する情報に基づき得る。いくつかの実施形態において、識別子を示す受容した情報は、そのライブラリー調製プロト

コルによって使用される少なくとも１つの物質を同定する情報を含み得、そのライブラリー調製プロトコルの選択は、その少なくとも１つの物質を同定する情報に基づき得る。

【０１７９】

いくつかの実施形態において、その生物学的サンプルを同定する情報およびそのライブラリー調製プロトコルによって使用されるその少なくとも１つのリソースを同定する情報は、その生物学的サンプルを保持するように構成されたカートリッジと関連する識別子に基づいて、データストアから検索され得る。そのライブラリー調製プロトコルの選択は、その検索した情報に基づき得る。例として、データストア（例えば、ライブラリー調製デバイス６０２上の）は、１またはこれより多くのリソースを同定する情報と関連して、生物学的サンプルを同定する情報を記憶し得る。その生物学的サンプルおよび１またはこれより多くのリソースを保持する（ｈｏｌｅ）ように構成されたカートリッジ４００と関連する情報を、例えば、バーコード６１２をスキャナー６０４でスキャンすることによって受容すると、その受容した情報は、その生物学的サンプルおよびその１またはこれより多くのリソースを同定する情報をそのデータストアから検索するようにそのライブラリー調製デバイス６０２を構成するために使用され得る。

【０１８０】

そのライブラリー調製デバイスの自己構成を提供して、その選択されたライブラリー調製プロトコルを作動する技術のうちの別のタイプは、そのライブラリー調製デバイスの作動をそのライブラリー調製プロトコルを行うようにスケジュールを作成し、そしてそのスケジュールに従ってそのライブラリー調製デバイスの作動を実行することを含む。そのライブラリー調製デバイスの作動は、バルブを開け閉めして、ある体積の物質を１つの位置から別の位置へと移動して、微小流体システム内での流体の移動を可能にすること、およびサンプルウェルに近位の領域を加熱して、そのサンプルウェルに配置された生物学的サンプルを、その選択されたライブラリー調製プロトコルに従ってある温度においてある継続時間にわたって曝露することを包含し得る。いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイスを作動するためにそのスケジュールを決定することは、そのライブラリー調製デバイスでそのプロトコルのライブラリー調製作動を行うために、多数のスケジュール選択肢の完了予定時間を評価することを含み得る。そのスケジュール選択肢は、ライブラリー調製プロトコルを行うことの完了時間の変動を考慮に入れ得る。いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイスの作動は、そのプロトコルを完了させる全体的な時間を短縮するために並行して行われ得る。いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイスの作動のシーケンスは、完了時間を変化させ得る。よって、いくつかの実施形態は、その完了予定時間の評価の結果に基づいて、そのスケジュールを決定することに関する。いくつかの実施形態において、多数のスケジュール選択肢の完了予定時間の評価は、その選択肢の中から最短の完了予定時間を有するスケジュール選択肢を同定することを包含し得、そのライブラリー調製デバイスは、その同定したスケジュール選択肢を行うために作動され得る。

【０１８１】

完了予定時間は、そのライブラリー調製プロトコルの１またはこれより多くの作動（例えば、ある種の温度への加熱、バルブを開ける、流体を移動する）を行う予定継続時間に基づいて決定され得る。作動を行う予定継続時間は、そのライブラリー調製デバイスが作動を行う期間を測定することに事前に基づく、そのライブラリー調製デバイスによって個々の作動を行うための所定の時間であり得る。実施の予定継続時間は、適切なデータストア（そのライブラリー調製デバイス６０２と関連するデータストアを含む）に記憶され得る。ライブラリー調製プロトコルの完了時間を予測することは、その所定の時間を使用して、そのプロトコルに従う作動を行うための完了時間を評価することを含み得る。

【０１８２】

いくつかの実施形態において、スケジュールを決定することは、その後の作動の間の時間量における許容差を考慮に入れ得る。場合によって、その生物学的サンプルと関連するその調製されたライブラリーの品質は、継続時間に依存し得、その生物学的サンプルは、

ある種の温度において、例えば、作動後に保持される。その後の作動を開始する前の継続時間の許容差は、適切なスケジュール選択肢を提供することの利点と、その調製されたライブラリーの品質との釣り合わせであり得る。継続時間の許容差は、ユーザー入力として、いくつかの実施形態では、その生物学的サンプルを同定する情報および／または少なくとも１つのリソースを同定する情報に基づいて提供される、１またはこれより多くの値であり得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製デバイスを作動するスケジュールを決定することは、ライブラリー調製プロトコルのライブラリー調製作動のうちの少なくとも第１の部分を行う予定継続時間に関する記憶された情報を評価すること、およびそのライブラリー調製作動のうちの第２の部分について、作動の完了後でその後の作動を開始する前に継続時間の許容差に対して記憶された情報を評価することを含み得る。

【０１８３】

いくつかの実施形態は、多数のライブラリー調製プロトコルを並行して種々の生物学的サンプルに対して作動することに関する。このような実施形態において、ライブラリー調製プロトコルを行うために作動のスケジュールを作成することは、同時に種々のプロトコルを行うためにその作動を考慮し得る。よって、カートリッジの第１のサンプルウェルにおいてライブラリー調製プロトコルを行うためのスケジュールを決定することは、その同じカートリッジまたは異なるカートリッジのいずれにしても、第２のサンプルウェルにおいて第２の生物学的サンプルに対して第２のライブラリー調製プロトコルを行うための第２のスケジュールを評価することを含み得る。

【０１８４】

いくつかの実施形態は、ライブラリー調製プロトコルが完了しているか否かの示度を提供することを含む。その示度は、視覚的示度（例えば、光、記号、テキストディスプレイ）および／または可聴性の示度（例えば、特徴的ノイズ）を含み得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製デバイスは、カートリッジがそのカートリッジベイの中に挿入されている間にカートリッジベイの開口部にロックをかけ得、そのライブラリー調製プロトコルが完了と示されているときにその開口部のロックを外し得る。

【０１８５】

そのライブラリー調製デバイスが多数のカートリッジベイを有する実施形態において、そのカートリッジベイのうちの１つへのアクセスは、ライブラリー調製プロトコルが別のカートリッジベイに位置するカートリッジにおいて生物学的サンプルに対して行われる間に防止され得る。いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製デバイスは、第１のカートリッジベイにおいてそのライブラリー調製プロトコルを行い得、その第１のチャンバにおいてそのライブラリー調製プロトコルのうちの少なくとも一部を行う間に、第２のカートリッジベイへのアクセスを防止し得る。

【０１８６】

いくつかの実施形態において、そのライブラリー調製デバイス６０２は、生物学的サンプルおよび／または生物学的サンプルと関連するライブラリーに対して定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を行うように構成される。そのライブラリー調製デバイスは、その生物学的サンプル対して行われるように選択されたライブラリー調製プロトコルのうちの一部として、ｑＰＣＲを行い得る。

【０１８７】

その生物学的分析システム６００の自己構成を提供する技術のうちの別のタイプは、そのライブラリー調製デバイス６００、アッセイデバイス６１８、および／または分析デバイス６２０の中で情報を伝達および受容することを含む。データハブ６１６は、その生物学的サンプル、プロトコルを行うそのライブラリー調製デバイス６０２によって使用される少なくとも１つのリソース、その生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコル、およびその生物学的サンプルに対してそのプロトコルを行うことからの結果（例えば、ｑＰＣＲ結果）を示す情報の共有、移動、および記憶を容易にし得る。データハブ６１６は、いくつかの実施形態によれば、ライブラリー調製デバイス６０２、アッセイデバイス６１８、および分析デバイス６２０から分離されたコンピューティングデバイ

スであり得る。いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイス６０２は、データハブ６１６の機能性を提供する１またはこれより多くのコンピューティングデバイスを有し得る。

【０１８８】

アッセイデバイス６１８は、このような情報を受容し得、ライブラリー調製デバイス６０２によって調製されるその生物学的サンプルと関連するライブラリーに対して行うアッセイプロセスを決定し得る。ユーザーは、その調製されたライブラリーを、そのライブラリー調製プロトコルの完了の際にカートリッジ４００から、アッセイデバイス６１８によってアッセイを行うために適切な容器へと物理的に移動させ得る。そのアッセイデバイス６１８は、データハブ６１６から受容した情報に基づいて、行うアッセイプロセスを決定し得る。その情報は、そのユーザーがその調製されたライブラリーと関連するさらなる情報を提供する必要性なしに、そのアッセイプロセスが決定されることを可能にし得る。いくつかの実施形態において、その調製されたライブラリーに含まれる核酸フラグメントと関連する分子バーコードは、その調製されたライブラリーと関連するさらなる情報を同定する示度として作用し得る。いくつかの実施形態において、ユーザーは、その調製されたライブラリーの示度（例えば、その生物学的サンプルを同定する情報（例えば、サンプルＩＤ））としてアッセイデバイス６１８に入力を提供し得、アッセイデバイス６１８は、その調製されたライブラリーのためのアッセイプロセスを決定するために使用されるデータハブ６１６からさらなる情報を受容し得る。

【０１８９】

いくつかの実施形態において、アッセイデバイス６１８は、シーケンシングデバイスであり、核酸フラグメントを含む生物学的サンプルおよび／またはその生物学的サンプルと関連するライブラリーに対してシーケンシングプロセスを行って、その生物学的サンプルに含まれる少なくとも１つの核酸配列を決定するように構成される。そのシーケンシングプロセスの構成は、そのシーケンシング用の生物学的サンプルを調製するためにその生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行ったライブラリー調製デバイス６０２によって生成されるサンプル情報を受容すること、およびそのサンプル情報を処理して、そのシーケンシングデバイスに関する構成情報を生成することを含み得る。そのシーケンシングデバイスの構成情報は、少なくとも１つのデータストア（例えば、データハブ６１６および／またはアッセイデバイス６１８と関連するデータストア）に記憶され得る。

【０１９０】

そのサンプル情報は、その生物学的サンプル、組織のタイプ、その生物学的サンプルと関連する患者、その生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコル、ライブラリー調製プロトコルの実施の結果（ｑＰＣＲ結果を含む）を同定する情報を含み得る。その情報がｑＰＣＲ結果を含む実施形態において、その情報は、ｑＰＣＲプロセスの結果の強度に関する情報を含み得る。そのｑＰＣＲ結果に関する情報は、１またはこれより多くの核酸配列およびその１またはこれより多くの核酸配列と関連する１またはこれより多くの品質スコアを含み得る。いくつかの実施形態において、そのサンプル情報は、そのライブラリー調製デバイス６０２から受容される。他の実施形態において、構成情報を生成することは、そのライブラリー調製デバイスによって行われ、サンプル情報は、そのライブラリー調製デバイスのデータストアから受容される。

【０１９１】

いくつかの実施形態は、サンプルシートを生成することによってアッセイデバイス６１８に関する構成情報を生成するための技術に関する。そのサンプルシートは、種々のアッセイデバイスで変動する形式を有し得、これは、その生物学的分析システムが、多数のタイプのアッセイデバイスを含むことを可能にし得る。いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイス６０２は、種々のシーケンシングデバイスに適合させた１またはこれより多くの生物学的サンプルと関連する調製されたライブラリーを生成し得る。例として、その調製されたライブラリーは、その核酸フラグメントの長さの分布、そのフラグメ

ントの平均長、および個々のフラグメントを標識するために使用される分子バーコードにおいて変動し得る。その個々の調製されたライブラリーと関連するサンプルシートは、形式において変動し得、その形式に従って、シーケンシングデバイスが調製されたライブラリーをシーケンシングするにあたって使用されることが意図される。よって、シーケンシングデバイスに関する構成情報を生成することは、使用されるシーケンシングデバイスを決定すること、およびそのシーケンシングデバイスが入力情報を受容する形式でサンプルシートを生成することを含み得る。そのサンプルシートは、その生物学的サンプルを同定する情報および／またはその生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを同定する情報を含み得る。そのサンプルシートは、そのアッセイデバイス６１８に、例えば、データハブ６１６によって容易にされるネットワークを通じて提供され得、そのアッセイデバイスへと、そのネットワークを介して伝達され得る。

【０１９２】

いくつかの実施形態において、生物学的分析システム６００は、シーケンシングプロセスの結果に対してデマルチプレックスプロセスを行うように構成されたデマルチプレックスデバイスを含む。そのデマルチプレックスプロセスは、その調製されたライブラリーに含まれる核酸フラグメントを標識するために使用される分子バーコードと関連する核酸配列に基づいてシーケンシング結果をソートすることを含み得る。いくつかの実施形態において、そのデマルチプレックスデバイスおよびそのシーケンシングデバイスは、同じデバイス上にある。データハブ６１６は、そのデマルチプレックスプロセスの結果に関する情報を受容し得、その結果を記憶し得る。

【０１９３】

分析デバイス６２０は、生物学的サンプルに対して行われたシーケンシングプロセスの結果を分析して、その生物学的サンプルに含まれる核酸配列を決定する構成を有し得る。分析デバイス６２０は、そのライブラリー調製デバイス６０２によって生成されたサンプル情報およびその生物学的サンプルに対して行われたシーケンシングプロセスの結果を受容し得る。そのサンプル情報は、その生物学的サンプルおよびその生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを同定し得る。そのシーケンシングプロセスの結果は、そのシーケンシングプロセスの間にその生物学的サンプルにおいて検出される少なくとも１つの核酸配列を同定し得る。分析デバイス６２０によって行われる分析プロセスは、そのサンプル情報に基づいて構成され得る。場合によっては、生物学的サンプルのタイプ（例えば、ＲＮＡ、ＤＮＡ）は、そのシーケンシング結果に対して行われる分析のタイプがそのタイプに依存して変動し得るので、その分析プロセスを構成するために使用され得る。分析デバイス６２０は、そのシーケンシングプロセスの結果をその構成された分析プロセスで分析し得、その構成された分析プロセスの結果を記憶し得る。

【０１９４】

データハブ６１６は、サンプル情報および／または分析デバイス６２０によるシーケンシングプロセスの結果を受容することを容易にし得る。いくつかの実施形態において、サンプル情報は、その分析デバイス６２０によってそのライブラリー調製デバイス６０２から受容される。いくつかの実施形態において、そのシーケンシングプロセスの結果は、その分析デバイス６２０によって、そのサンプル情報によって同定されるデータストアの位置から受容される。そのデータストアの位置は、データハブ６１６および／またはアッセイデバイス６１８上にあり得る。いくつかの実施形態において、そのシーケンシングプロセスの結果は、そのシーケンシングプロセスの完了がそのデータストアの位置をモニターすることによって決定されるときに自動的に受容される。その様式では、そのデータストアの位置は、シーケンシング結果がその監視された位置において記憶されると、その分析デバイス６２０がそのシーケンシングプロセスがいつ完了するかを決定するためにモニターされるように、分析デバイス６２０によって監視された位置と見做され得る。完了すると、そのシーケンシング結果は、人間の介入の必要性なしに、そのシーケンシング結果に対する分析プロセスを行うために、その分析デバイス６２０によってアクセスされ得る。

【０１９５】

図７は、例示的なプロセス７００を図示する。このプロセスは、いくつかの実施形態において、自己構成生物学的分析システム（例えば、図６に示されるシステム６００）を使用して、生物学的サンプルを分析するように実行され得る。そのプロセス７００は、ブロック７１０において始まり、このブロックでは、スキャン設備が、生物学的サンプル、ならびにその後のアッセイのためにその生物学的サンプルを調製する一部として使用されるリソースおよび／またはプライマーの識別子をスキャンする。その生物学的サンプルに関する識別子からの情報は、その生物学的サンプルのサンプルタイプ（例えば、ＲＮＡ、ＤＮＡ）を含み得る。そのリソースおよび／またはプライマーに関する識別子からの情報は、カートリッジと関連する、リソースおよび／またはプライマーのタイプについての情報を含み得る。

【０１９６】

ブロック７２０では、調製設備は、そのリソースを使用してその生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを行うようにそのライブラリー調製デバイスを構成し、自動化設備は、この構成プロセスをその識別子に基づいて自動的に行う。

【０１９７】

ブロック７３０では、その調製設備は、ライブラリー調製デバイスを、その生物学的サンプルに対してそのライブラリー調製プロトコルを行うように作動する。その調製設備は、スケジュール作成設備によって決定されたスケジュールに従って、そのライブラリー調製プロトコルを行い得る。

【０１９８】

ブロック７４０では、アッセイデバイス（例えば、核酸シーケンシングデバイス）は、その生物学的サンプルに対してシーケンシングプロセスを行う。

【０１９９】

ブロック７５０では、分析設備は、そのシーケンシングプロセスの結果を分析する。

【０２００】

ブロック７６０では、その分析設備によって行われる分析からの情報は、その生物学的分析システムのデータストアおよび／またはユーザーインターフェイスに出力される。

【０２０１】

図８は、例示的プロセス８００を図示する。そのプロセスは、いくつかの実施形態において、生物学的サンプルに対して行うライブラリー調製プロトコルを同定するように実行され得る。そのプロセス８００は、ブロック８１０において始まり、このブロックでは、生物学的サンプルを同定する情報が受容される。スキャン設備は、その生物学的サンプルを、例えば、符号化された識別子をスキャンすることによって同定する情報を受容するために使用され得る。

【０２０２】

ブロック８２０では、ライブラリー調製デバイスは、その生物学的サンプルが配置されるサンプルウェル（例えば、図４Ａおよび４Ｂに示されるカートリッジのモジュール４４０におけるサンプルウェル）を有するカートリッジを受容する。そのカートリッジは、そのライブラリー調製デバイスのカートリッジベイ（例えば、図２Ｂに示されるカートリッジベイ２１０）の中に受容され得る。

【０２０３】

ブロック８３０では、スキャン設備は、ライブラリー調製プロトコルにおいて使用される１またはこれより多くの試薬を同定する情報を受容し得る。そのスキャン設備によって作動されるスキャン装置は、ライブラリー調製デバイスへと組み込まれ得る（例えば、図２Ｂに示される光学モジュール２２６の一部としてのバーコードスキャナー）。しかし、いくつかの実施形態において、スキャン装置は、そのライブラリー調製デバイスに対して外部に位置する１またはこれより多くのスキャンデバイスを含み得る。いくつかの実施形態において、そのスキャン設備は、試薬を含むおよび／または受容するように構成された１またはこれより多くのレザバを含むカセットと関連するバーコードをスキャンすることによって、その試薬を同定する情報を受容し得る。

【０２０４】
生物学的サンプルを同定する情報を受容すること、およびライブラリー調製プロトコルにおいて使用される１またはこれより多くの試薬を同定する情報を受容することは、異なる時間においておよび／または異なるスキャン装置で起こり得ることは、認識されるである。いくつかの実施形態において、その生物学的サンプルと関連する識別子および１またはこれより多くの試薬と関連する識別子のスキャンは、外部スキャン装置によって、そのライブラリー調製デバイスの外側で起こり得る。その生物学的サンプルを同定するその受容した情報は、１またはこれより多くの試薬を同定するその受容した情報と関連付けて記憶され得る。いくつかの実施形態において、識別子のスキャンは、その生物学的サンプルをサンプルウェルへと配置し、そのカートリッジをライブラリー調製デバイスへと装填した後に起こり得る。そのカートリッジと関連する識別子は、その生物学的サンプルおよび１またはこれより多くの試薬を同定する情報を提供し得る。そのライブラリー調製デバイスの内部に位置したスキャン装置は、カートリッジと関連するその識別子をスキャンして、その生物学的サンプルおよび１またはこれより多くの試薬を同定する情報を受容し得る。
【０２０５】
ブロック８４０では、プロトコル決定設備は、その受容した情報を評価して、ライブラリー調製プロトコルを同定する。いくつかの実施形態において、そのプロトコル決定設備は、その生物学的サンプルを同定する情報および／または１またはこれより多くの試薬を同定する情報に基づいて、複数のライブラリー調製プロトコルの中からライブラリー調製プロトコルを選択し得る。その受容した情報は、そのライブラリー調製プロトコルの同定および／または選択プロセスに対する拘束を提供し得る。
【０２０６】
ブロック８５０では、そのプロトコル決定設備は、その同定したライブラリー調製プロトコルを示す情報をそのカートリッジと関連付けて記憶する。
【０２０７】
図９は、例示的プロセス９００を図示する。このプロセスは、いくつかの実施形態において、ライブラリー調製デバイスを作動して、その生物学的サンプルに対してライブラリー調製プロトコルを実行することによって、その後の分析のための生物学的サンプルを調製するように実行され得る。そのプロセスは、ブロック９１０において開始し、このブロックにおいて、生物学的サンプルを同定する情報が受容される。その生物学的サンプルを同定する情報は、スキャン設備によって受容され得る。
【０２０８】
ブロック９２０では、スキャン設備は、１またはこれより多くのリソースを同定する情報を受容する。
【０２０９】
ブロック９３０では、プロトコル決定設備は、その生物学的サンプルおよびその１またはこれより多くのリソースのためのライブラリー調製プロトコルを検索する。
【０２１０】
ブロック９４０では、スケジュール作成設備は、そのライブラリー調製デバイスを作動して、そのライブラリー調製プロトコルを行うようにスケジュールを決定する。
【０２１１】
ブロック９５０では、調製設備は、その生物学的サンプルに対してそのスケジュールを実行する。自動化設備は、そのスケジュールがさらなるユーザーの介入なしに決定された後に、その調製設備に、そのスケジュールをその生物学的サンプルに対して自動的に実行するように命令し得る。
【０２１２】
ブロック９６０では、その調製設備は、データストアおよび／またはユーザーインターフェイスに結果を出力する。
【０２１３】

図１０は、例示的プロセス１０００を図示する。そのプロセスは、いくつかの実施形態において、サンプルシートからのサンプル情報を処理することによって生成された構成情報に基づいて、生物学的サンプルと関連するライブラリーに対してシーケンシングプロセスを行うように実行され得る。そのシーケンシングプロセスは、シーケンサーまたは他のアッセイデバイス（例えば、図６に示されるアッセイデバイス６１８）によって行われ得る。プロセス１０００を開始する前に、ライブラリー調製プロトコルは、生物学的サンプルと関連するライブラリーを形成するために、ライブラリー調製デバイスによってその生物学的サンプルに対して行われ得る。そのライブラリー調製デバイスは、生物学的サンプルを同定する情報を受容していてもよく、その生物学的サンプルは、ライブラリー調製プロトコルを同定するために評価されたことがあってもよい。

【０２１４】

そのプロセス１０００は、ブロック１０１０において開始する。このブロックでは、データハブは、そのライブラリー調製デバイスによって受容されるサンプル情報を含むように、サンプルシートを生成する。そのサンプル情報は、その生物学的サンプルを同定する情報を含み得る。

【０２１５】

ブロック１０２０では、そのデータハブは、シーケンシングデバイスによって使用されるそのサンプルシートを形式に従って作成する。いくつかの実施形態において、シーケンシングデバイスのタイプは、そのサンプル情報に基づいて同定され得、そのサンプル情報は、その生物学的サンプルに対して行われるライブラリー調製プロトコルを含み得る。そのサンプルシートの形式は、その同定されたタイプのシーケンシングデバイスがそのサンプルシートに記憶される情報にアクセスすることを可能にし得る。

【０２１６】

ブロック１０３０では、そのデータハブは、そのサンプル情報を処理して、そのシーケンシングデバイスに関する構成情報を生成する。

【０２１７】

ブロック１０４０では、そのデータハブは、その構成情報を使用して、その生物学的サンプルと関連するライブラリーに対してシーケンシングプロセスを行うように、そのシーケンシングデバイスを実行する。自動化設備は、そのシーケンシングプロセスの実行を、ユーザーの介入なしに自動的に促進し得る。

【０２１８】

ブロック１０５０では、そのデータハブは、シーケンシング結果をデータストアおよび／またはユーザーインターフェイスへと出力する。

【０２１９】

図１１は、例示的プロセス１１００を図示する。そのプロセスは、いくつかの実施形態において、シーケンシング結果を分析するように実行され得る。そのプロセス１１００は、分析デバイス（例えば、分析デバイス６２０）によって行われ得る。プロセス１１００を開始する前に、ライブラリー調製プロトコルは、生物学的サンプルと関連するライブラリーを形成するために、ライブラリー調製デバイスによってその生物学的サンプルに対して行われ得る。そのライブラリーに対して行われるシーケンシングプロセスは、その生物学的サンプルと関連するシーケンシング結果を提供し得る。

【０２２０】

ブロック１１１０では、その分析デバイスは、そのライブラリー調製デバイスによって受容される生物学的サンプルに関するサンプル情報を含むサンプルシートを受容する。

【０２２１】

ブロック１１２０では、その分析デバイスは、そのライブラリー調製デバイスによってその生物学的サンプルに対して行われたライブラリー調製プロトコルを検索し得る。そのライブラリー調製プロトコルの検索は、そのサンプル情報をそのサンプルシートから同定すること、およびその同定された生物学的サンプルと関連するライブラリー調製プロトコルを同定することを包含し得る。

【０２２２】
ブロック１１３０では、構成設備は、そのサンプルシートおよびそのライブラリー調製プロトコルを分析して、その生物学的サンプルと関連するシーケンシング結果に対して行う分析プロセスの構成を調節する。
【０２２３】
ブロック１１４０では、分析設備は、その調節した構成を使用して、そのシーケンシング結果を分析する。
【０２２４】
ブロック１１５０では、その分析設備は、データストアおよび／またはユーザーインターフェイスへと結果を出力する。
【０２２５】
図１２は、本明細書で記載される技術を実行するシステムにおいて使用され得るコンピューティングデバイス１２００の形態で、コンピューティングデバイスの１つの例示的実行を図示するが、他も可能である。コンピューティングデバイス１２００は、ライブラリー調製デバイスを作動し得、そのライブラリー調製デバイスの機能性を制御し得る。コンピューティングデバイス１２００は、そのライブラリー調製デバイス内に一体化され得るか、またはライブラリー調製デバイスを遠隔から作動し得る。図１２が、本明細書で記載される原理に従って作動するコンピューティングデバイスに関する必要な構成要素の描写であることも、包括的な描写であることも意図しないことは、認識されるである。
【０２２６】
コンピューティングデバイス１２００は、少なくとも１つのプロセッサ１２０２、ネットワークアダプター１２０４、およびコンピューター読み取り可能な記憶媒体１２０６を含み得る。コンピューティングデバイス１２００は、例えば、デスクトップ型またはラップトップ型のパーソナルコンピューター、パーソナルデジタルアシスタント（ＰＤＡ）、スマートモバイルフォン、サーバー、または任意の他の適切なコンピューティングデバイスであり得る。ネットワークアダプター１２０４は、そのコンピューティングデバイス１２００が、任意の適切なコンピューティングネットワークにわたって、有線でおよび／または無線で任意の他の適切なコンピューティングデバイスと伝達することを可能にする任意の適切なハードウェアおよび／またはソフトウェアであり得る。そのコンピューティングネットワークは、無線アクセスポイント、スイッチ、ゲートウェイ、ルーター、ゲートウェイ、および／または他のネットワーキング装置、ならびに２もしくはこれより多くのコンピューターとの間でデータを交換するための任意の適切な有線および／または無線伝達媒体（インターネットを含む）を含み得る。コンピューター読み取り可能な媒体１２０６は、処理されるデータおよび／またはプロセッサ１２０２によって実行される命令を記憶するために適合され得る。プロセッサ１２０２は、データの処理および命令の実行を可能にする。そのデータおよび命令は、そのコンピューター読み取り可能な記憶媒体１２０６上に記憶され得、例えば、そのコンピューティングデバイス１２００の構成要素の間での伝達を可能にし得る。
【０２２７】
コンピューター読み取り可能な記憶媒体１２０６上に記憶されるそのデータおよび命令は、本明細書で記載される原理に従って作動する技術を実行するコンピューター実行可能な命令を含み得る。図１２の例では、コンピューター読み取り可能な記憶媒体１２０６は、種々の設備を実行させかつ上記で記載されるとおりの種々の情報を記憶するコンピューター実行可能な命令を記憶する。コンピューター読み取り可能な記憶媒体１２０６は、スキャン設備１２０８、プロトコル決定設備１２１０、スケジュール作成設備１２１２、自動化設備１２１４、および調製設備１２１６を記憶し得る。これら設備の各々は、上記の技術を実行し得る。
【０２２８】
図１３は、本明細書で記載される技術を実行するシステムにおいて使用され得るコンピューティングデバイス１３００の形態で、コンピューティングデバイスの１つの例示的な

実行を図示するが、他も可能である。コンピューティングデバイス１３００は、アッセイデバイスを作動し得、そのアッセイデバイスの機能性を制御し得る。コンピューティングデバイス１３００は、そのアッセイデバイス内で一体化され得るか、またはそのアッセイデバイスを遠隔から作動し得る。図１３が、本明細書で記載される原理に従って作動するコンピューティングデバイスに関する必要な構成要素の描写であることも、包括的な描写であることも意図しないことは、認識されるである。

【０２２９】

コンピューティングデバイス１３００は、少なくとも１つのプロセッサ１３０２、ネットワークアダプター１３０４、およびコンピューター読み取り可能な記憶媒体１３０６を含み得る。コンピューティングデバイス１３００は、例えば、デスクトップ型またはラップトップ型のパーソナルコンピューター、パーソナルデジタルアシスタント（ＰＤＡ）、スマートモバイルフォン、サーバー、または任意の他の適切なコンピューティングデバイスであり得る。ネットワークアダプター１３０４は、そのコンピューティングデバイス１３００が、任意の適切なコンピューティングネットワークにわたって、有線でおよび／または無線で任意の他の適切なコンピューティングデバイスと伝達することを可能にする任意の適切なハードウェアおよび／またはソフトウェアであり得る。そのコンピューティングネットワークは、無線アクセスポイント、スイッチ、ルーター、ゲートウェイ、および／または他のネットワーキング装置、ならびに２もしくはこれより多くのコンピューターとの間でデータを交換するための任意の適切な有線および／または無線伝達媒体（インターネットを含む）を含み得る。コンピューター読み取り可能な媒体１３０６は、処理されるデータおよび／またはプロセッサ１３０２によって実行される命令を記憶するために適合され得る。プロセッサ１３０２は、データの処理および命令の実行を可能にする。そのデータおよび命令は、そのコンピューター読み取り可能な記憶媒体１３０６上に記憶され得、例えば、そのコンピューティングデバイス１３００の構成要素の間での伝達を可能にし得る。

【０２３０】

コンピューター読み取り可能な記憶媒体１３０６上に記憶されるそのデータおよび命令は、本明細書で記載される原理に従って作動する技術を実行するコンピューター実行可能な命令を含み得る。図１３の例では、コンピューター読み取り可能な記憶媒体１３０６は、種々の設備を実行させかつ上記で記載されるとおりの種々の情報を記憶するコンピューター実行可能な命令を記憶する。コンピューター読み取り可能な記憶媒体１３０６は、自動化設備１３０８を記憶し得る。この設備は、上記の技術を実行し得る。

【０２３１】

図１４は、本明細書で記載される技術を実行するシステムにおいて使用され得るコンピューティングデバイス１４００の形態で、コンピューティングデバイスの１つの例示的な実行を図示するが、他も可能である。コンピューティングデバイス１４００は、データハブ（例えば、図６に示されるデータハブ６１６）として作動し得る。コンピューティングデバイス１４００は、ライブラリー調製デバイス、アッセイデバイス、および／または分析デバイス内で一体化され得る。いくつかの実施形態において、コンピューティングデバイス１４００は、遠隔デバイスとして作動し得る。図１４が、本明細書で記載される原理に従って作動するコンピューティングデバイスに関する必要な構成要素の描写であることも、包括的な描写であることも意図しないことは、認識されるである。

【０２３２】

コンピューティングデバイス１４００は、少なくとも１つのプロセッサ１４０２、ネットワークアダプター１４０４、およびコンピューター読み取り可能な記憶媒体１４０６を含み得る。コンピューティングデバイス１４００は、例えば、デスクトップ型またはラップトップ型のパーソナルコンピューター、パーソナルデジタルアシスタント（ＰＤＡ）、スマートモバイルフォン、サーバー、または任意の他の適切なコンピューティングデバイスであり得る。ネットワークアダプター１４０４は、そのコンピューティングデバイス１４００が、任意の適切なコンピューティングネットワークにわたって、有線でおよび／ま

たは無線で任意の他の適切なコンピューティングデバイスと伝達することを可能にする任意の適切なハードウェアおよび／またはソフトウェアであり得る。そのコンピューティングネットワークは、無線アクセスポイント、スイッチ、ルーター、ゲートウェイ、および／または他のネットワーキング装置、ならびに２もしくはこれより多くのコンピューターとの間でデータを交換するための任意の適切な有線および／または無線伝達媒体（インターネットを含む）を含み得る。コンピューター読み取り可能な媒体１４０６は、処理されるデータおよび／またはプロセッサ１４０２によって実行される命令を記憶するために適合され得る。プロセッサ１４０２は、データの処理および命令の実行を可能にする。そのデータおよび命令は、そのコンピューター読み取り可能な記憶媒体１４０６上に記憶され得、例えば、そのコンピューティングデバイス１４００の構成要素の間での伝達を可能にし得る。

【０２３３】

コンピューター読み取り可能な記憶媒体１４０６上に記憶されるそのデータおよび命令は、本明細書で記載される原理に従って作動する技術を実行するコンピューター実行可能な命令を含み得る。図１４の例では、コンピューター読み取り可能な記憶媒体１４０６は、種々の設備を実行させかつ上記で記載されるとおりの種々の情報を記憶するコンピューター実行可能な命令を記憶する。コンピューター読み取り可能な記憶媒体１４０６は、分析設備１４０８および構成設備１４１０を記憶し得る。これら設備の各々は、上記の技術を実行し得る。

【０２３４】

図１２、図１３、および図１４では図示されないが、コンピューティングデバイス１２００、１３００、および１４００は、入力および出力デバイスを含め、１またはこれより多くの構成要素および周辺機器をさらに有し得る。これらのデバイスは、とりわけ、ユーザーインターフェイスを提示するために使用され得る。ユーザーインターフェイスを提供するために使用され得る出力デバイスの例としては、出力の視覚的提示のためのプリンターまたはディスプレイスクリーン、および出力の可聴式提示のためのスピーカーまたは他の音声生成デバイスが挙げられる。ユーザーインターフェイスのために使用され得る入力デバイスの例としては、キーボード、およびポインティングデバイス（例えば、マウス、タッチパッド、およびディジタイザータブレット（ｄｉｇｉｔｉｚｉｎｇ　ｔａｂｌｅｔ））が挙げられる。別の例として、コンピューティングデバイスは、音声認識を通じて、または他の可聴式形式において、入力情報を受容し得る。

【０２３５】

その技術が回路および／またはコンピューター実行可能な命令において実行される実施形態が、記載されてきた。いくつかの実施形態が、方法の形態にあり得、そのうち、少なくとも１つの例が提供されたことは認識されるである。その方法の一部として行われる行為は、任意の適切な方法で命令されうる。よって、例証となる実施形態において連続的な行為として示されているとしても、図示されるものとは異なる順序で行為が行われ得、いくつかの行為を同時に行うことを含み得る実施形態が構築され得る。

【０２３６】

本発明のいくつかの実施形態は、本明細書で記載および例証されてきたが、当業者は、その機能を行うならびに／または結果および／もしくは本明細書で記載される利点のうちの１つもしくはこれより多くを得るための、種々の他の手段および／または指示を容易に想定し得、このようなバリエーションおよび／または改変の各々は、本発明の範囲内にあると見做される。より一般には、当業者は、本明細書で記載される全てのパラメーター、寸法、物質、および構成が、例示的であることが意味され、その実際のパラメーター、寸法、物質、および／または構成が、本発明の教示が使用される特定の適用に依存することを容易に認識する。当業者は、慣用的に過ぎない実験を使用して、本明細書で記載される発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するかまたは確認し得る。従って、前述の実施形態が例示によって提示されるに過ぎず、そして添付の請求項およびその均等物の範囲内で、本発明が具体的に記載されかつ請求項に記載されるとおりのもの以外の方法

で実施され得ることは、理解されるである。本発明は、本明細書で記載される各個々の特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法に関する。さらに、２つまたはこれより多くのこのような特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法の任意の組み合わせは、このような特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法が相互に矛盾しなければ、本発明の範囲内に含まれる。

【０２３７】

不定冠詞「１つの、ある（ａ）」および「１つの、ある（ａｎ）」は、本明細書においておよび特許請求の範囲においてここに使用される場合、そうでないことが明確に示されなければ、「少なくとも１」を意味することが理解されるである。

【０２３８】

語句「および／または（ａｎｄ／ｏｒ）」は、本明細書においておよび特許請求の範囲においてここに使用される場合、そのように結合された要素のうちの「いずれかまたは両方（ｅｉｔｈｅｒ　ｏｒ　ｂｏｔｈ）」、すなわち、いくつかの場合には結合的に存在し、他の場合には分離して存在する要素を意味することが理解されるである。他の要素は、必要に応じて、そうでないことが明確に示されなければ、具体的に識別されるそれら要素に関連しようが関連しまいが、その「および／または」節によって具体的に識別される要素以外に存在し得る。従って、非限定的な例として、「Ａおよび／またはＢ」への言及は、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」のような制約のない文言とともに使用される場合、一実施形態において、ＢなしのＡ（必要に応じて、Ｂ以外の要素を含む）；別の実施形態において、ＡなしのＢ（必要に応じて、Ａ以外の要素を含む）；さらに別の実施形態においてＡおよびＢの両方（必要に応じて、他の要素を含む）；などに言及し得る。

【０２３９】

本明細書においておよび特許請求の範囲においてここに使用される場合、「または（ｏｒ）」は、上記で定義されるとおりの「および／または」と同じ意味を有すると理解されるである。例えば、リストの中で項目を分離する場合、「または」または「および／または」は、包括的である、すなわち、多くの要素または要素のリストのうちの少なくとも１（しかし１より多くを含む）、そして必要に応じて、さらなる列挙されない項目をも包含すると解釈されるものとする。そうでないことが明確に示される用語のみ、例えば、「のうちの１のみ（ｏｎｌｙ　ｏｎｅ　ｏｆ）」もしくは「のうちの正確に１（ｅｘａｃｔｌｙ　ｏｎｅ　ｏｆ）」、または請求項において使用される場合に、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」は、多くの要素または要素のリストのうちの正確に１つの要素の包含を指す。一般に、用語「または」は、本明細書で使用される場合、排他的な用語（例えば、「いずれか（ｅｉｔｈｅｒ）」、「のうちの１（ｏｎｅ　ｏｆ）」、「のうちの１のみ」、または「のうちの正確に１」が先行する時に排他的な選択肢（すなわち、「一方または他方であるが、両方ではない（ｏｎｅ　ｏｒ　ｔｈｅ　ｏｔｈｅｒ　ｂｕｔ　ｎｏｔ　ｂｏｔｈ）」を示すと解釈されるに過ぎないものとする。「から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」とは、特許請求の範囲において使用される場合、特許法の分野で使用されるとおりのその通常の意味を有するものとする。

【０２４０】

本明細書においておよび特許請求の範囲においてここに使用される場合、１つまたはこれより多くの要素のリストへの言及において語句「少なくとも１（ａｔ　ｌｅａｓｔ　ｏｎｅ）とは、要素のリスト中にある要素のうちのいずれか１つまたはこれより多くから選択される少なくとも１つの要素を意味すると理解されるであるが、要素のリスト内に具体的に列挙される各要素およびあらゆる要素のうちの少なくとも１を必ずしも含むわけではなく、要素のリスト中にある要素の任意の組み合わせを排除しない。この定義はまた、具体的に識別されるそれら要素に関連しようが関連しまいが、要素のリスト（これに対して文言「少なくとも１」が言及する）内で具体的に識別される要素以外の要素が必要に応じて存在し得ることを可能にする。従って、非限定的な例としては、「ＡおよびＢのうちの少なくとも一方（ａｔ　ｌｅａｓｔ　ｏｎｅ　ｏｆ　Ａ　ａｎｄ　Ｂ）」（または、等しくは、「ＡまたはＢのうちの少なくとも一方（ａｔ　ｌｅａｓｔ　ｏｎｅ　ｏｆ　Ａ　ｏ

ｒ　Ｂ）」、または、等しくは、「Ａおよび／またはＢのうちの少なくとも一方（ａｔ　ｌｅａｓｔ　ｏｎｅ　ｏｆ　Ａ　ａｎｄ／ｏｒ　Ｂ）」は、一実施形態において、少なくとも１つの（必要に応じて、１つより多くのを含む）ＡであってＢは存在しない（および必要に応じて、Ｂ以外の要素を含む）に；別の実施形態において、少なくとも１つの（必要に応じて、１つより多くのを含む）Ｂであって、Ａは存在しない（および必要に応じて、Ａ以外の要素を含む）；さらに別の実施形態において、少なくとも１つの（必要に応じて、１つより多くのを含む）Ａ、および少なくとも１つの（必要に応じて、１つより多くのを含む）Ｂ（および必要に応じて、他の要素を含む）；などに言及し得る。

【０２４１】

請求項において、上記の明細書においても同様に、全ての移行句（例えば、「含む、包含する（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む、包含する（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「有する（ｃａｒｒｙｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」、「含む、含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」、「包含する（ｉｎｖｏｌｖｉｎｇ）」、「保持する（ｈｏｌｄｉｎｇ）」などは、制約がないこと、すなわち、が挙げられるが、これらに限定されないことを意味すると理解されるである。移行句「からなる」および「から本質的になる」のみが、米国特許審査基準２１１１．０３節に示されるように、それぞれ、制約のあるまたは半制約の移行句であるものとする。

【０２４２】

例えば、１つもしくはこれより多くの物品、構造、力、フィールド、流れ、方向／軌跡、および／もしくはこれらの部分構成要素および／もしくはこれらの組み合わせならびに／またはこのような用語による特徴付けに従う上記で列挙されない任意の他の触知可能なまたは触知不能な要素のあるいはこれらの間の形状、配向、アラインメント、および／または幾何的関係性に関して本明細書で使用される場合の任意の用語は、別段定義されるかまたは示されることがなければ、このような用語の数理的定義への絶対的適合を要しないと理解されるものとするが、むしろ、このような主題に最も近く関連する当業者によって理解されるように特徴づけられるような主題に関して考えられる程度まで、このような用語の数理的定義への適合を示すと理解されるものとする。形状、配向、および／または幾何的関連性に関するこのような用語の例としては、以下を記載する用語が挙げられるが、これらに限定されない：形状（例えば、丸い、四角の、環状の／環、矩形の／矩形、三角形の／三角形、円筒状の／円筒、楕円状の／楕円、（ｎ）角形の／（ｎ）角形など）；角度配向（例えば、垂直の、直交の、平行の、鉛直の、水平の、共線の、など）；輪郭および／または軌跡（例えば、平面／平面状、同一平面上、半球状（ｈｅｍｉｓｐｈｅｒｉｃａｌ）、半球状（ｓｅｍｉ－ｈｅｍｉｓｐｈｅｒｉｃａｌ）、直線／直線状、双曲線の、放物線の、平らな、弯曲した、まっすぐな、弓状の、正弦波の、接線／接線のなど）；方向（例えば、北、南、東、西など）；表面および／またはバルク物質特性および／または空間／時間分解および／または分布（例えば、滑らかな、反射性の、透明な、透き通った、不透明な、剛性の、不浸透性の、均一な（に）、不活性な、非湿潤性の（ｎｏｎ－ｗｅｔｔａｂｌｅ）、不溶性の、固定した、不変の、一定の、均質な、など）；ならびに関連分野の当業者に明らかな多くの他のもの。一例として、「四角」であると本明細書で記載される製作された物品は、このような物品が、完全に平面のまたは直線状でありかつ正確に９０度の角度で横断する面または側面を有することは要求されない（実際に、このような物品は、数理的抽象化として存在し得るに過ぎない）が、むしろ、このような物品の形状は、「四角の」（数理的に定義されるとおり）を、代表的には、当業者によって理解されるかまたは具体的に記載されるとおりの記載される製作技術のために達成可能でありかつ達成される程度に近いと解釈されるである。別の例として、「整列され（ａｌｉｇｎｅｄ）」る本明細書で記載される２つまたはこれより多くの製作された物品は、このような物品が完璧に整列される面または側面を有することは要求されない（実際に、このような物品は、数理的抽象化として存在し得るに過ぎない）が、むしろ、このような物品の配置は、「整列される」（数理的に定義されるとおり）を、代表的には、当業者によって理解されるかまたは具体的に記載されるとおりの記載される製作技術のために達成可能であり

かつ達成される程度に近いと解釈されるである。

【図１】

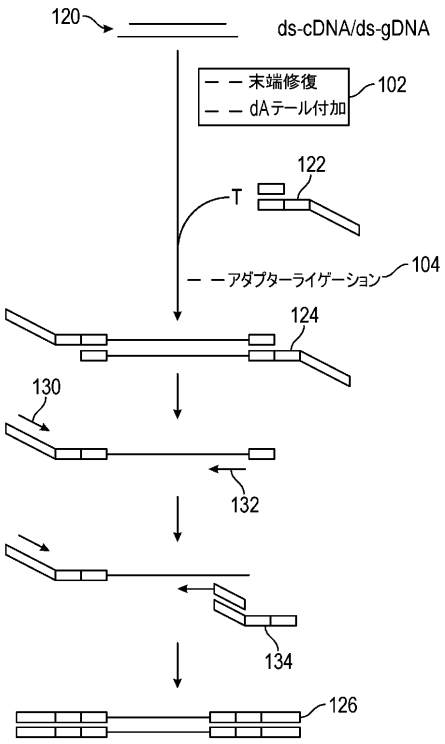

FIG. 1

【図２Ａ】

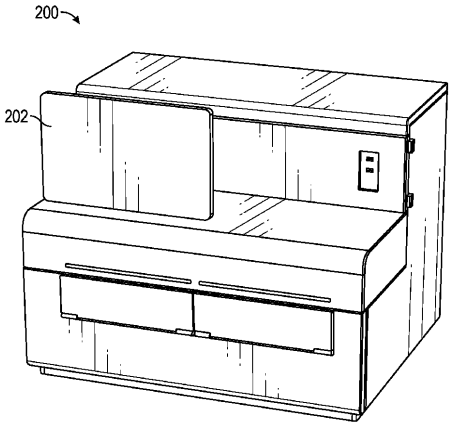

FIG. 2A

【図２Ｂ】

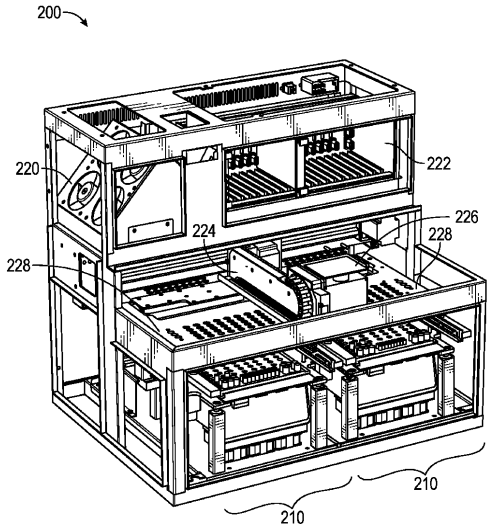

FIG. 2B

【図３】

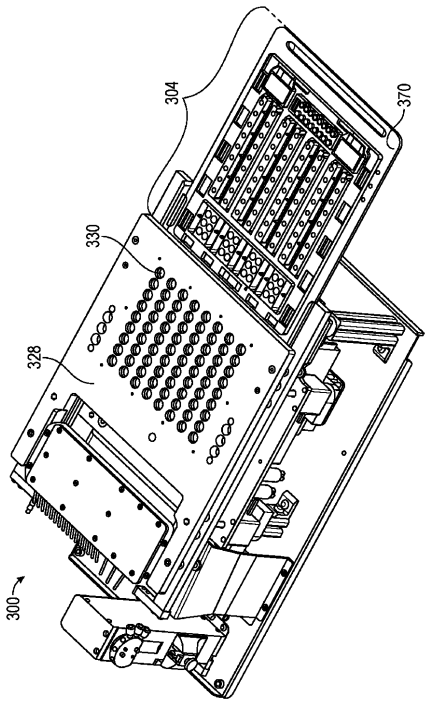

FIG. 3

【図４Ａ】

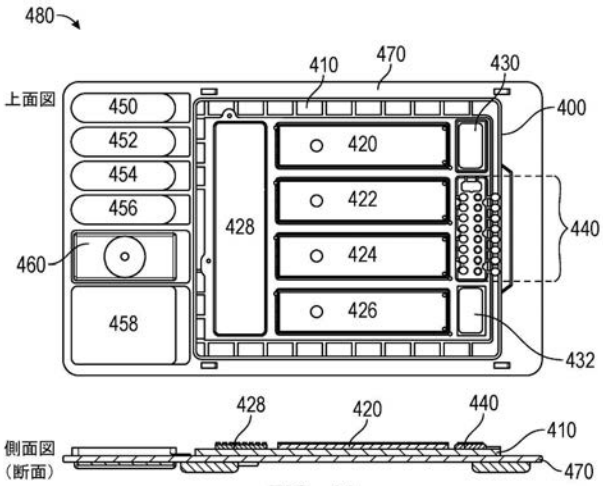

FIG. 4A

【図４Ｂ】

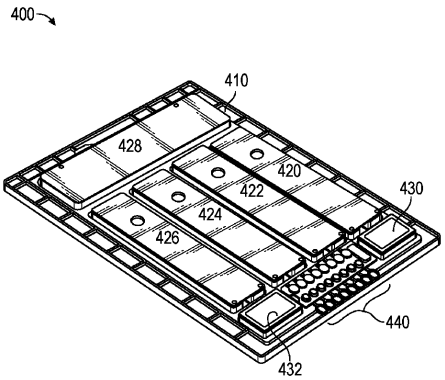

FIG. 4B

【図５】

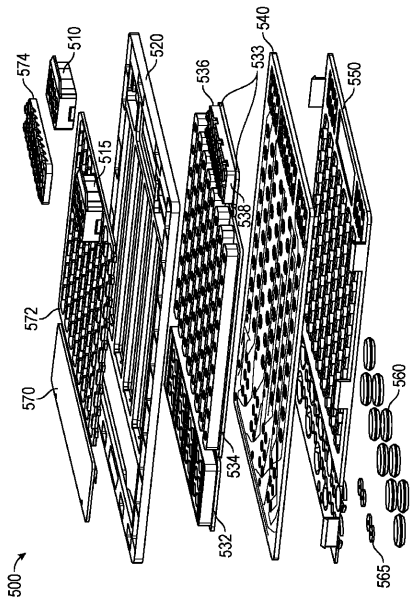

FIG. 5

【図６】

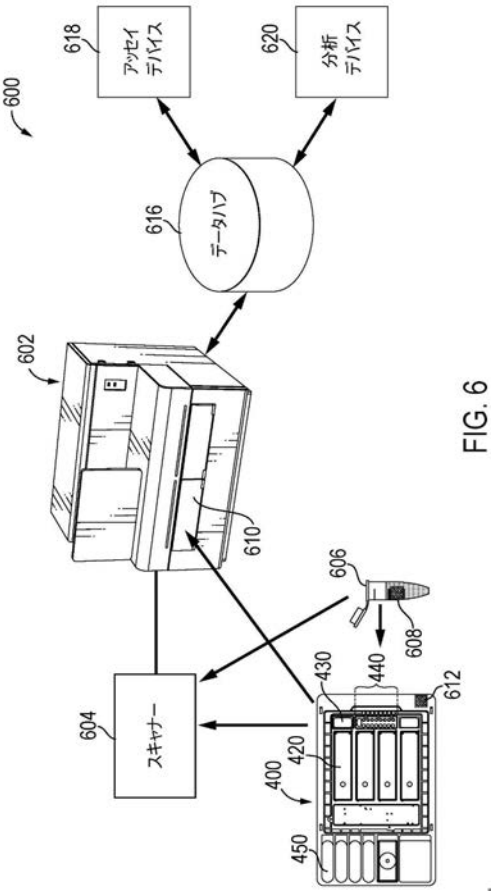

FIG. 6

【図７】

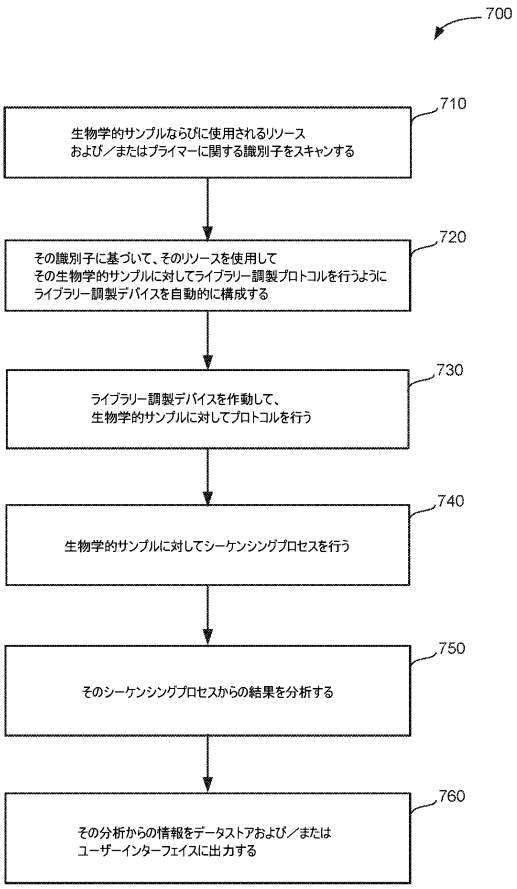

FIG. 7

【図８】

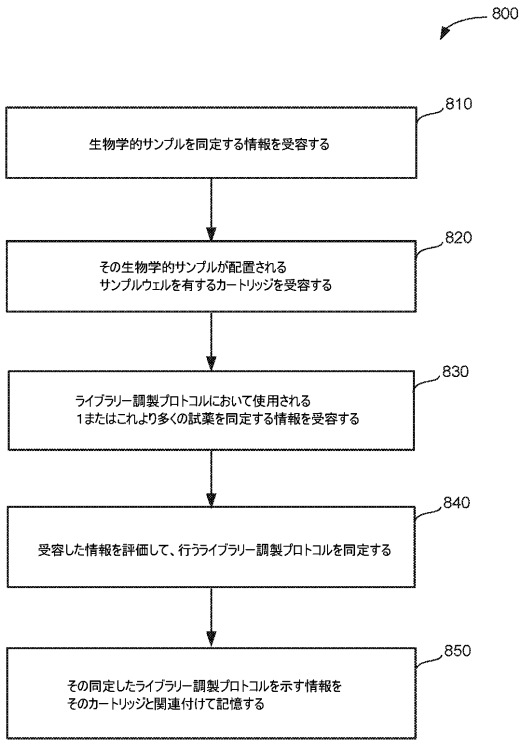

FIG. 8

【図９】

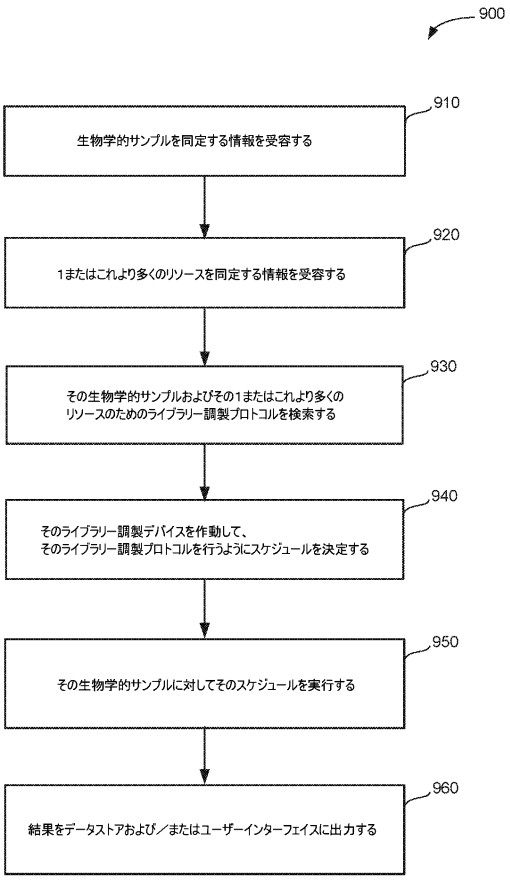

FIG. 9

【図１０】

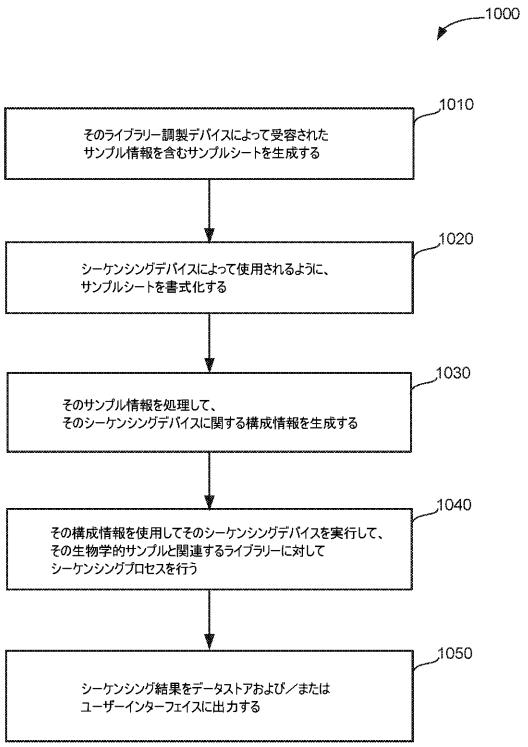

FIG. 10

【図１１】

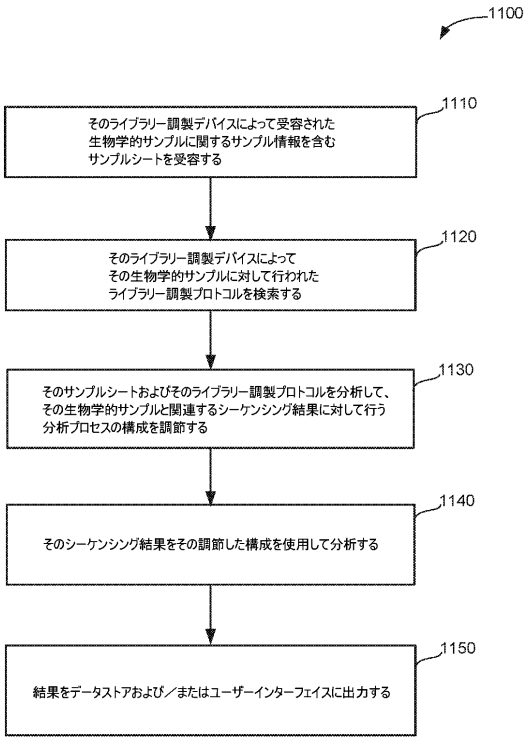

FIG. 11

【図１２】

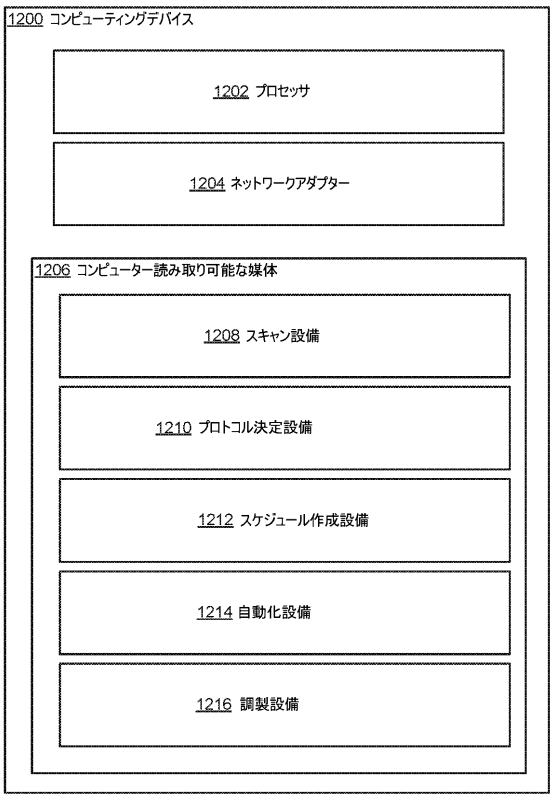

FIG. 12

【図１３】

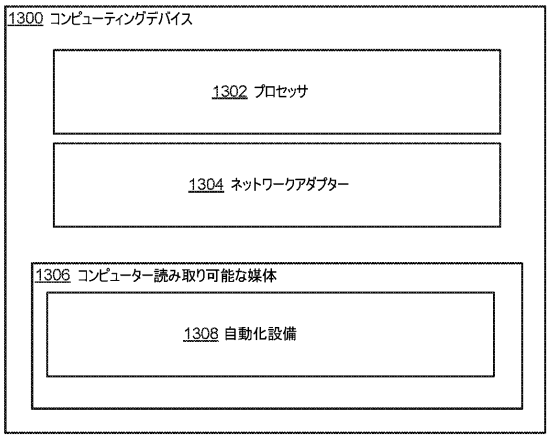

FIG. 13

【図１４】

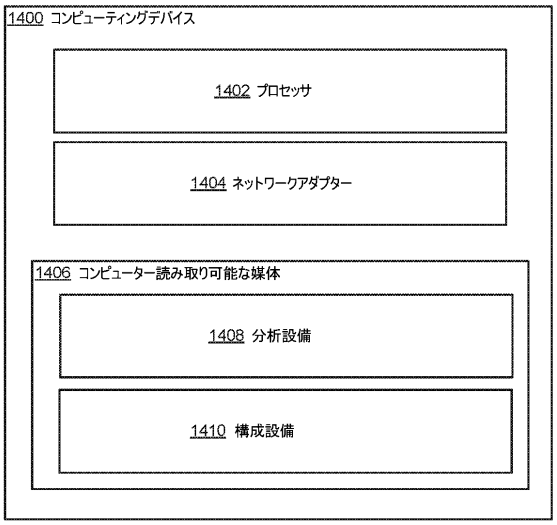

FIG. 14

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/53058

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C40B 60/14, 60/06, 50/06; C12Q 1/68; G01N 35/00 (2018.01)
CPC - C40B 60/14, 60/06, 50/06; C12Q 1/6806, 1/6855; G01N 35/0072; B01L 2300/023

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History Document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History Document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2013/0203634 A1 (Jovanovich et al.) 08 August 2013 (08.08.2013). Especially abstract, para [0023], [0249], [0270], [0279], [0283], [0361]	1-23
Y	US 2014/0187448 A1 (Life Technologies Corporation) 03 July 2015 (03.07.2014). Especially [0012], [0014], [0017], [0063], [0064], [0089], [0139], [0200], claim 55.	1-23
Y	US 5,737,498 A (Murray) 07 April 1998 (07.04.1998). Especially col 3 ln 38-45, col 3 ln 50-55, col 5 ln 49-51, col 11 ln 59-62, col 13 ln 62-64.	16-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
08 January 2018	05 FEB 2018
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/53058

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-----Go to Extra Sheet for continuation-------

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-23

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/53058

Continuation of Box III: Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-23, drawn to a method of operating a device for library preparation.

Group II: Claims 24-43, drawn to a method of operating a device for nucleic acid sequencing.

Group III: Claims 44-47, drawn to a method of analyzing results of a sequencing process to determine a nucleic acid sequence.

The inventions listed as Groups I, II, III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I has the special technical feature of performing a nucleic acid library preparation protocol, not required by Groups II or III.

Group II has the special technical feature of performing a sequencing process on a nucleic acid library, not required by Groups I or III.

Group III has the special technical feature of analyzing nucleic acid sequences, not required by Groups I or II.

Common Technical Features:

1. Group I-III share the common technical feature of a nucleic acid

2. Groups I-III share the common technical feature of receiving sample information.

3. Group I-III share the common technical feature of configuring a device to perform processing of biological material or performing an analysis of the biological material

4. Groups I-III share the common technical feature of transferring information from one module to another.

5. Group I-III share the common technical feature of storing information based on a configuration and/or outcome.

6. Groups I-III share the common technical feature of encoded identifiers.

However, said common technical features do not represent a contribution over the prior art, and is obvious over US 2013/0203634 A1 to Jovanovich et al. (hereinafter "Jovanovich"), in view of US 2007/0122797 A1 to de la Torre-Bueno (hereinafter "Torre").

As to common technical features #1 and #2, Jovanovich teaches (para [0278]; library construction module; para [0005]; The invention provides for an automated "Integrated Sample-to-Sequence" (ISS) system comprising: a first module configured to receive a sample comprising a target polynucleotide and modify said target polynucleotide; a second module fluidically connected to the first module configured to receive said modified polynucleotide and perform a sequencing reaction on said modified polynucleotide; and computer logic for controlling the first module and the second module").

As to common technical feature #3, Jovanovich teaches (para [0361]: "The user can start automated sample processing and sequencing through a user interface that interacts with the programmable control module. Optionally, the user can select a specific protocol or input information regarding the samples through the interface. Additional input from the user is not required for the system to obtain sequence information from the input samples"; para [0278]; The integrated analysis of the sample can include one or more processing steps. The processing steps can include lysing cells, isolating and/or purifying nucleic acids, modifying nucleic acids (including fragmenting nucleic acids, cDNA synthesis, creating a nucleotide library, and amplifying the nucleotide library), and sequencing. In some embodiments, the processing steps also include transferring materials from one module or submodule to another module or submodule; para [0275]-"In some embodiments, after sequence data has been collected, the data can be automatically converted to a standard FASTA sequence format. The master control script can delegate data archival and processing to a custom "Numerical Analysis" engine that performs pattern recognition against known target sequences.....The computer and software can also be used to combine or analyze multiple data sets, such as from multiple samples or from different sample runs. Final result presentation can be delegated to a report generator that can runs under automated script control ").

As to common technical feature #4, Jovanovich teaches (para [0278]; "The transferring step can be from a sample processing module to a library construction module, from a library construction module to an amplification module, from an amplification module to a sequencing module, or from a submodule of one of the above mentioned modules to a downstream submodule. These processing steps can be controlled and/or automated by a computer or by computer logic").

--------continued on next sheet——

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/53058

——continued from previous sheet——

As to common technical feature #5, Jovanovich teaches (para [0275]: "In some embodiments, raw or partially processed data can be saved or transferred to another location for processing, analysis, reporting, or database storage or query. In some embodiments, data, including raw data, converted data, or reports generated from such data, can be imported or exported"; para [0361]).

As to common technical feature #6, Torre teaches encoded identifiers (claim 1; 1. A method, comprising: obtaining a biological sample and obtaining a unique identifier which is unique across both space and time, and associating the unique identifier with the biological sample; carrying out at least one test on the biological sample; and storing results of said at least one test, along with the unique identifier, and along with information indicative of a time when the test was carried out and a place where the test was carried out")

As the common technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered common special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Groups I - III lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 62/399,211
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/399,184
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/399,195
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/399,205
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 PCT/US2017/051924
(32)優先日 平成29年9月15日(2017.9.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 PCT/US2017/051927
(32)優先日 平成29年9月15日(2017.9.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/399,152
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/399,157
(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 スタール, ジョシュア
アメリカ合衆国 コロラド ８０３０１, ボールダー, ５５ティーエイチ ストリート ２４７７, スイート ２０２
(72)発明者 マイヤーズ, ジェイソン
アメリカ合衆国 コロラド ８０３０１, ボールダー, ５５ティーエイチ ストリート ２４

７７，　スイート　２０２

Ｆターム(参考) 4B029 AA07 AA23 BB20 FA15
4B063 QA13 QA18 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR62 QS25