

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 2 年 6 月 18 日 (2020.6.18)

【公表番号】特表 2019-523635 (P2019-523635A)

【公表日】令和 1 年 8 月 29 日 (2019.8.29)

【年通号数】公開・登録公報 2019-035

【出願番号】特願 2018-558133 (P2018-558133)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6874 (2018.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6869 Z N A Z

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/543 5 0 1 D

G 0 1 N 33/566

C 1 2 Q 1/6874 Z

C 1 2 N 15/10 1 1 4 Z

C 1 2 N 15/10 1 1 0 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 5 月 1 日 (2020.5.1)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

巨大分子を解析するための方法であって、

(a) 固体支持体に接合した巨大分子および付随する記録タグを用意するステップと；

(b) 前記巨大分子を、前記巨大分子に結合することが可能な第 1 の結合性物質であって、前記第 1 の結合性物質に関する識別情報を有する第 1 のコーディングタグを含む第 1 の結合性物質と接触させるステップと；

(c) 前記第 1 のコーディングタグの情報を前記記録タグに移行させて、一次伸長記録タグを生成するステップと；

(d) 前記巨大分子を、前記巨大分子に結合することが可能な第 2 の結合性物質であって、前記第 2 の結合性物質に関する識別情報を有する第 2 のコーディングタグを含む第 2 の結合性物質と接触させるステップと；

(e) 前記第 2 のコーディングタグの情報を前記一次伸長記録タグに移行させて、二次伸長記録タグを生成するステップと；

(f) 前記二次伸長記録タグを解析するステップと

を含む方法。

【請求項 2】

ステップ (e) と (f) の間に、

(x) 前記第 2 の結合性物質を、前記巨大分子に結合することが可能な第 3 の (または

より高次の)結合性物質であって、前記第3の(またはより高次の)結合性物質に関する識別情報を有する第3の(またはより高次の)コーディングタグを含む第3の(またはより高次の)結合性物質に置き換えることにより、ステップ(d)および(e)を1回または複数回繰り返すステップと;

(y)前記第3の(またはより高次の)コーディングタグの情報を前記第2の(またはより高次の)伸長記録タグに移行させて、第3の(またはより高次の)伸長記録タグを生成するステップと

をさらに含み、

ステップ(f)において前記第3の(またはより高次の)伸長記録タグを解析する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ステップ(a)が前記固体支持体に接合した複数の巨大分子および付随する記録タグを提供することを含み、

ステップ(b)および(d)のそれぞれが、前記複数の巨大分子を、前記巨大分子に結合することが可能な第1または第2の複数の結合性物質と接触させることを含み、前記第1または第2の複数の結合性物質が、前記第1または第2の結合性物質に関する識別情報を有する第1または第2の記録タグを含む、

請求項1または請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記巨大分子が、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドである、請求項1から3までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記ペプチドが、生体試料由来のタンパク質を断片化することによって得られる、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドのN末端アミノ酸(NTAA)を化学部分で修飾子、修飾されたNTAAを産生することをさらに含む、請求項4または請求項5に記載の方法。

【請求項7】

結合性物質が前記修飾されたNTAAに結合することが可能である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記修飾されたNTAAを除去して、前記タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの新しいNTAAを露出させることをさらに含む、請求項4～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記記録タグが、DNA分子、偽相補的塩基を有するDNA、RNA分子、BNA分子、XNA分子、LNA分子、PNA分子、PNA分子、またはこれらの組合せであり、および/または

前記コーディングタグが、DNA分子、RNA分子、BNA分子、XNA分子、LNA分子、PNA分子、PNA分子、またはこれらの組合せである、
請求項1から8までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記記録タグが、
ユニバーサルプライミング部位、
一意の分子識別子(UMI)、

バーコード、

その3'末端におけるスパーサー、および/または
3'ブロック基

を含む、請求項1から9までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記複数の巨大分子の間に前記固体支持体上で平均距離 > 50 nm の間隔をあける、請求項 3 から 10 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記コーディングタグの情報の前記記録タグへの移行が、DNA リガーゼ、DNA ポリメラーゼまたは化学的ライゲーションによって媒介される、請求項 1 から 11 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記結合性物質が、前記巨大分子に選択的に結合可能である、請求項 1 から 12 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記結合性物質が、単一のアミノ酸残基、ジペプチド、トリペプチドまたは前記ペプチドの翻訳語修飾に結合する、請求項 1 から 13 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記翻訳語修飾がアシル化、アセチル化、アルキル化、ビオチン化、ブチリル化、カルバミル化、カルボニル化、脱アミド化、脱イミノ化、ジフタミド形成、ジスルフィド架橋形成、エリミニル化、フラビン付着、ホルミル化、ガンマ - カルボキシル化、グルタミル化、グリシル化、グリコシル化、グリコシルホスファチジルイノシトール付加、ヘム C 付着、ヒドロキシル化、ハイブシン形成、ヨウ素化、イソプレニル化、脂質付加、リポイル化、マロニル化、メチル化、ミリストイル化、酸化、パルミトイル化、ペグ化、ホスホパンテテイル化、リン酸化、プレニル化、プロピオニル化、レチニリデンシッフ塩基形成、S - グルタチオン化、S - ニトロシル化、S - スルフェニル化、セレン化、サクシニル化、スルフィン化、ユビキチン化、および C 末端アミド化からなる群から選択される、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記方法が前記翻訳後修飾を除去することをさらに含む、請求項 1 4 または請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記コーディングタグが、スパーサー、結合サイクル特異的配列、一意の分子識別子、ユニバーサルプライミング部位、ターミネーターヌクレオチドまたはこれらに任意の組み合わせをさらに含む、請求項 1 から 16 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記伸長記録タグの解析が、核酸配列決定法を含む、請求項 1 から 17 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記伸長記録タグが解析前に増幅される、請求項 1 から 18 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記固体支持体が、ビーズ、多孔質ビーズ、多孔質マトリックス、アレイ、ガラス表面、シリコン表面、プラスチック表面、フィルター、膜、ナイロン、シリコンウェーハチップ、フロースルーチップ、信号変換電子機器を含むバイオチップ、マイクロタイターウェル、ELISA プレート、スピン干渉ディスク、ニトロセルロースメンブレン、ニトロセルロースに基づくポリマー表面、ナノ粒子、またはマイクロスフェアである、請求項 1 から 19 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記固体支持体が、ポリスチレンビーズ、ポリマービーズ、アガロースビーズ、アクリルアミドビーズ、固体コアビーズ、多孔質ビーズ、常磁性ビーズ、ガラスビーズ、制御ポアビーズまたはそれらの組合せである、請求項 20 に記載の方法。