

【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 12 月 17 日 (2020.12.17)

【公表番号】特表 2020-500017 (P2020-500017A)  
 【公表日】令和 2 年 1 月 9 日 (2020.1.9)  
 【年通号数】公開・登録公報 2020-001  
 【出願番号】特願 2019-523874 (P2019-523874)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 11 月 6 日 (2020.11.6)

【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】

シグナル細胞標識を特定する方法であって、

(a) 複数のバーコード付き標的の配列データを取得することであって、前記複数のバーコード付き標的は、複数のバーコードを使用してバーコーディングされた複数の細胞中の複数の標的から作成され、前記複数のバーコードのそれぞれは、細胞標識及び分子標識を含む、取得することと、

(b) 前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数に基づいて、前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれのランクを決定することと、

(c) 前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数及び (b) において決定された前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれの前記ランクに基づいて、細胞標識閾値を決定することと、

(d) 前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数及び (c) において特定された前記細胞標識閾値に基づいて、前記細胞標識のそれぞれをシグナル細胞標識又はノイズ細胞標識として識別することと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数を特定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数を特定することは、前記配列データから、前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた非一意の分子標識に関連付けられた配列情報を除去することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する

分子標識の数及び (b) において決定された前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれの前記ランクに基づいて、前記細胞標識閾値を決定することは、

前記細胞標識の各ランクの累積和を特定することであって、前記ランクの前記累積和は、より低いランクを有する前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数の和を含む、特定することと、

前記ランク  $n$  の累積及び次のランク  $n + 1$  の累積和における最大変化を有する前記細胞標識のランク  $n$  を決定することであって、前記累積和及び前記次のランク  $n + 1$  の前記累積和における最大変化を有する前記細胞標識の前記ランク  $n$  は、前記細胞標識閾値に対応する、決定することと、

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数に基づいて前記細胞標識閾値を決定することは、

ランク  $n$  を有する前記細胞標識の累積和及び次のランク  $n + 1$  を有する前記細胞標識の累積和における最大変化を有する前記細胞標識を特定することであって、前記細胞標識に関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数は、前記細胞標識閾値に対応する、特定すること

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数及び (b) において決定された前記複数のバーコードの前記細胞標識のそれぞれの前記ランクに基づいて、前記細胞標識閾値を決定することは、

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数及び (b) において決定された前記細胞標識の前記ランクに基づいて、累積和プロットを生成することと、

前記累積和プロットの二次導関数プロットを生成することと、

前記累積和プロットの前記二次導関数プロットの最小を特定することであって、前記二次導関数プロットの前記最小は前記細胞標識閾値に対応する、特定することと、

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数及び (b) において決定された前記細胞標識のそれぞれの前記ランクに基づいて、前記累積和を生成することは、

前記細胞標識の各ランクの累積和を特定することであって、前記ランクの前記累積和は、より低いランクを有する前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数の和を含む、特定すること

を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記累積和プロットの前記二次導関数プロットを生成することは、前記細胞標識の第 1 のランクの累積和と、前記細胞標識の第 2 のランクの累積和との差が、前記第 1 のランクと前記第 2 のランクとの差を超えると判断することを含む、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 のランクと前記第 2 のランクとの前記差は 1 である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記累積和プロットは、 $\log - \log$  プロット又は  $\log_{10} - \log_{10}$  プロットである、請求項 6 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記最小は大域的最小である、請求項 6 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記二次導関数プロットの前記最小を特定することは、前記二次導関数プロットの前記最小が、前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識の最小数の閾値を超えると判断することを含む、請求項6～1 1のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識の最小数の閾値は、前記複数の細胞における細胞の数に基づいて決定される、請求項1 2に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記二次導関数プロットの前記最小を特定することは、前記二次導関数プロットの前記最小が、前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識の最大数の閾値を下回ると判断することを含む、請求項6～1 3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識の最大数の閾値は、前記複数の細胞における細胞の数に基づいて決定される、請求項1 4に記載の方法。

【請求項 1 6】

( d )において、前記複数のバーコードの細胞標識がノイズ細胞標識として識別される場合、( a )において取得された前記配列データから、前記識別された細胞標識に関連付けられた配列情報を除去することを含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記複数の標的のうちの標的に関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数が、分子標識発生閾値を超える場合、( a )において取得された前記配列データから、前記複数の標的のうちの前記標的に関連付けられた別個の配列を有する分子標識に関連付けられた配列情報を除去することを含む、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記細胞標識のそれぞれは、特定された前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識を有する分子標識の数が、前記細胞標識閾値よりも大きい場合、前記シグナル細胞標識として識別される、請求項1～1 7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記細胞標識のそれぞれは、特定された前記細胞標識のそれぞれに関連付けられた分子標識を有する分子標識の数が、前記細胞標識閾値よりも大きくない場合、前記ノイズ細胞標識として識別される、請求項1～1 8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記複数のバーコードを使用して前記複数の細胞における前記複数の標的をバーコーディングして、複数のバーコード付き標的を作成することであって、前記複数のバーコードのそれぞれは、前記細胞標識及び前記分子標識を含む、バーコーディングしてバーコード付き標的を作成することを含む、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

( d )において、前記複数のバーコードの細胞標識がノイズ細胞標識として識別される場合、前記識別された細胞標識に関連付けられた配列情報を( a )において得られた前記配列データから除去することを含む、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記複数の標的のうちの標的に関連付けられた別個の配列を有する前記分子標識の数が、分子標識発生閾値を上回る場合、( a )において得られた前記配列データから、前記複数の標的のうちの前記標的に関連付けられた別個の配列を有する前記分子標識に関連付けられた配列情報を除去することを含む、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

( e ) 前記複数の標的の 1 つ又は複数について、

( 1 ) 前記配列データ中の前記標的に関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数をカウントすることと、

( 2 ) ( 1 )においてカウントされた前記配列データ中の前記標的に関連付けられた別個の配列を有する分子標識の数に基づいて、前記標的の数を推定することと、

を含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

標的の数を特定するコンピュータシステムであって、  
ハードウェアプロセッサと、  
命令が記憶された非一時的メモリと、  
を備え、前記命令は、前記ハードウェアプロセッサによって実行されると、前記プロセッサに、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法を実行させる、コンピュータシステム  
。

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法を実行する方法を実行するコードを含むコンピュータ可読媒体。