(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-504714
(P2025-504714A)
(43)公表日　令和7年2月17日(2025.2.17)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｐ　19/34　(2006.01)		Ｃ１２Ｐ	19/34	Ａ	４Ｂ０６４
Ｃ１２Ｎ　9/12　(2006.01)		Ｃ１２Ｎ	9/12		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全11頁）

(21)出願番号　特願2024-544784(P2024-544784)
(86)(22)出願日　令和5年2月13日(2023.2.13)
(85)翻訳文提出日　令和6年7月26日(2024.7.26)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/053437
(87)国際公開番号　WO2023/152354
(87)国際公開日　令和5年8月17日(2023.8.17)
(31)優先権主張番号　102022103440.2
(32)優先日　令和4年2月14日(2022.2.14)
(33)優先権主張国・地域又は機関
ドイツ(DE)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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
最終頁に続く

(71)出願人　520094891
ミルテニー バイオテック ベー．フェー．ウント コー．カー・ゲー
Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ Ｂ．Ｖ．＆Ｃｏ．ＫＧ
ドイツ連邦共和国 ベアギッシュ グラートバッハ フリードリヒ－エーバート－シュトラーセ ６８
Ｆｒｉｅｄｒｉｃｈ－Ｅｂｅｒｔ－Ｓｔｒａｓｓｅ ６８，５１４２９ Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ，Ｇｅｒｍａｎｙ
(74)代理人　100114890
弁理士　アインゼル・フェリックス＝ラインハルト
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ミクロトーム処理した組織スライス上でのオリゴヌクレオチドの直接合成

(57)【要約】
本発明は、生物学的試料の表面上でオリゴヌクレオチドを合成する方法であって、
ａ．　複数のプライマー分子を、確率的表面分布持つ生物学的試料の表面上の空間的位置に結合させ、それにより生物学的試料に結合したオリゴヌクレオチドを作製する工程、
ｂ．　生物学的試料に、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドを提供する工程、
ｃ．　３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドのうちの１つを、末端転移酵素の添加によって、生物学的試料に結合した少なくとも１つのオリゴヌクレオチドの３’末端に組み込み、それによりオリゴヌクレオチドを伸長する工程、
ｄ．　組み込まれた保護されたヌクレオチドから保護ユニットを除去できる、少なくとも１つの光活性化切断剤を添加する工程、
ｅ．　生物学的試料の少なくとも１つの空間的位置に供給される光で光活性化切断剤を活性化することによって、組み込まれた保護されたヌクレオチドから保護ユニッ

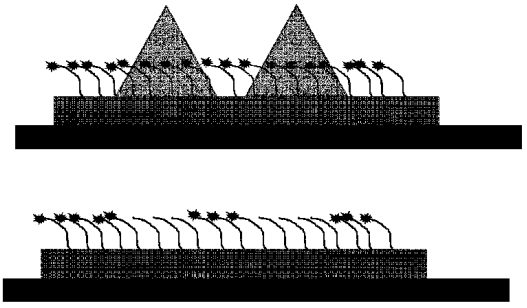


Fig. 2

【特許請求の範囲】
【請求項１】
生物学的試料の表面上にオリゴヌクレオチドを合成する方法であって、
ａ．　複数のプライマー分子を、確率的表面分布を持つ前記生物学的試料の表面上の空間的位置に結合させ、それにより前記生物学的試料に結合したオリゴヌクレオチドを作製する工程、
ｂ．　前記生物学的試料に、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドを提供する工程、
ｃ．　３’位置に保護ユニットを有する前記Ａ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドのうちの１つを、末端転移酵素の添加によって、前記生物学的試料に結合した少なくとも１つのオリゴヌクレオチドの３’末端に組み込み、それにより前記オリゴヌクレオチドを伸長する工程、
ｄ．　組み込まれた保護された前記ヌクレオチドから前記保護ユニットを除去できる、少なくとも１つの光活性化切断剤を添加する工程、
ｅ．　前記生物学的試料の少なくとも１つの空間的位置に供給される光で前記光活性化切断剤を活性化することによって、組み込まれた保護された前記ヌクレオチドから前記保護ユニットを除去する工程、
ｆ．　工程ｂ）～ｅ）を繰り返し、更なるヌクレオチドを少なくとも１つのオリゴヌクレオチドへ組み込む工程、
を含む、方法。
【請求項２】
３’位置に保護ユニットを有する前記Ａ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドは、混合物として提供されることを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
３’位置に保護ユニットを有する前記Ａ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドが提供され、続いて、工程ｃ）の後、組み込まれていない前記ヌクレオチドは、前記生物学的試料から除去されることを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記ヌクレオチドは、前記光活性化切断剤が光で活性化される前記空間的位置に提供されることを特徴とする、請求項１から３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
前記オリゴヌクレオチドは、前記試料上の前記オリゴヌクレオチドの前記空間的位置をコードしているヌクレオチドの配列を備えていることを特徴とする、請求項１から４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記オリゴヌクレオチドは、前記試料をコードしているヌクレオチドの配列を備えていることを特徴とする、請求項１から５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記生物学的試料の前記表面に複数のプライマー分子を提供した後、前記生物学的試料を画像化し、前記プライマー分子の位置の空間情報を得ることを特徴とする、請求項１から６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
３’位置に保護ユニットを有するイノシンヌクレオチドをさらに提供することを特徴とする、請求項１から７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９】
異なる波長を有する光によって活性化される少なくとも４つの光活性化切断剤を提供することを特徴とする、請求項１から８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記オリゴヌクレオチドは、光切断プライマー分子を提供することによって前記試料から除去されることを特徴とする、請求項１から９のいずれかに１項記載の方法。

【請求項１１】
前記オリゴヌクレオチドは、試料由来のｍ－ＲＮＡを結合できるポリ－Ｔ配列を少なくとも部分的に備えていることを特徴とする、請求項１から１０のいずれか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、空間的に既知のバーコードを付加するための、組織スライス上でのオリゴヌクレオチドの直接合成に関する。
【背景技術】
【０００２】
空間的に既知のバーコードオリゴヌクレオチドを使用する方法は、既に記載されており、これらの方法は、事前に合成されたオリゴヌクレオチド配列を特定の位置に関連付ける。典型的なＤＮＡ合成は、無水条件および有機溶媒でホスホロアミダイト法を使用するため、組織スライドのような生物学的材料には適合しない。
【０００３】
オリゴヌクレオチドは、ＤＮＡ合成装置において事前に合成されるため、オリゴヌクレオチドは、正しい位置にどうにかして「配置される」必要があるが、該方法は、柔軟性を欠き、正確な配置は困難である。
【０００４】
一方、水ベースのオリゴヌクレオチド合成が、既知である。これは、末端転移酵素という酵素を使用して実施され、３’で保護されたヌクレオチド三リン酸が用いられる。ＤＮＡ ｓｃｒｉｐｔやｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｓｓｅｍｂｌｉｅｓのようないくつかの企業が、当分野のキットおよび手順を商品化している。
【０００５】
よって、３’で保護されたヌクレオチドの合成および脱保護の化学的方法は、既知である。
【０００６】
本発明の目的は、好ましくは表面上または組織上でのオリゴヌクレオチドの直接合成のための方法を提供することであって、任意選択で表面または組織に対するオリゴヌクレオチドの空間的情報を得ることであった。
【発明の概要】
【０００７】
本発明は、末端転移酵素を利用して、任意選択で既存のプライマーに、表面、タンパク質、抗体、もしくは任意の生物学的試料上に同一または異なる配列を有するオリゴヌクレオチドを合成すること、またはその上に直接伸長バーコード配列を合成することに関する。末端転移酵素は、酵素であり、水系かつ生物学的に適合する条件において使用され、保護されたビルディングブロックを必要とする。ＤＮＡシーケンシング中の類似の工程と類似するため、必要な脱保護工程も、生物学的に適合している。
【０００８】
したがって、本発明の目的は、生物学的試料の表面上にオリゴヌクレオチドを合成する方法であって、
ａ．　複数のプライマー分子を、確率的表面分布を持つ生物学的試料の表面上の空間的位置に結合させ、それにより生物学的試料に結合したオリゴヌクレオチドを作製する工程、
ｂ．　生物学的試料に、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドを提供する工程、
ｃ．　３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドのうちの１つを、末端転移酵素の添加によって、生物学的試料に結合した少なくとも１つのオリゴヌクレオチドの３’末端に組み込み、それによりオリゴヌクレオチドを伸長する工程、
ｄ．　組み込まれた保護されたヌクレオチドから保護ユニットを除去できる、少なくとも

１つの光活性化切断剤を添加する工程、
ｅ．　生物学的試料の少なくとも１つの空間的位置に供給される光で光活性化切断剤を活性化することによって、組み込まれた保護されたヌクレオチドから保護ユニットを除去する工程、
ｆ．　工程ｂ）～ｅ）を繰り返し、更なるヌクレオチドを少なくとも１つのオリゴヌクレオチドへ組み込む工程、
を含む、方法である。
【０００９】
　バーコードの特定の位置は、光活性化切断剤、例えば保護されたホスフィンを用いて、更なる伸長のために３’保護基を局所的に切断すること、または組織上の様々な位置において４つの前記ヌクレオチドを物理的に分離することのいずれかによって、作製されうる。
【図面の簡単な説明】
【００１０】
【図１】図１は、本発明の一般的な方法を示す。
【図２】図２は、本発明の一般的な方法を示す。
【図３】図３は、本発明の一般的な方法を示す。
【００１１】
詳細な説明
　本発明において、ヌクレオチドの空間的に制御した脱保護のために、更には、得られたオリゴヌクレオチドの空間的に制御した伸長のために、光を使用して脱保護反応を空間的に活性化する。結果として、定義された配列を有するオリゴヌクレオチドは、試料の表面上の定義された位置へと付加されうる。
【００１２】
　光脱保護は、既知の主題であり、例えばＶａｕｇｈａｎらによるＪＡＣＳ，　２０１３，　１３５（４）　１１９７－１２００によって開示され、蛍光を消光する異なる技術において使用される。そのようなあらゆる光脱保護技術を、本発明において使用できる。例えば、シアニン色素との反応によって非活性化されるＴＣＥＰ、またはホスフィンと同様に反応する分子を、光活性化切断剤として使用できる。
【００１３】
　本発明の方法において、好ましくは、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドは、混合物として提供される。
【００１４】
　オリゴヌクレオチドの更なる使用に応じて、Ａ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドに加えて、全てのヌクレオチドに結合するヌクレオチドが、３’位置に保護ユニットを有するイノシンヌクレオチド（Ｉ）を更に提供することによって、組み込まれてよい。
【００１５】
　さらに、オリゴヌクレオチドは、複数のチミンヌクレオチド（Ｔ）を部分的に備えていてよく、それにより試料由来のｍ－ＲＮＡを結合できるポリ－Ｔ配列を有するオリゴヌクレオチドを作製する。
【００１６】
　図１は、組織（生物学的試料）を表面上に置き、プライマー分子を提供する、本発明の方法の第１の工程を示す。プライマー分子は、オリゴヌクレオチドの開始ユニットであり、３’位置の保護ユニット（「＊」で示される）を備えてよい。代替的な変形において、末端転移酵素を添加し、プライマーに、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドを提供し、それによりオリゴヌクレオチドを伸長する。再び、オリゴヌクレオチドの３’位置を、保護する（「＊」で示される）。
【００１７】
　次に、試料に、保護ユニットを除去できる少なくとも１つの光活性化切断剤を提供する。

【００１８】
好ましくは、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、Ｃ、Ｇおよび任意選択のＩヌクレオチドを、続いて提供し、ここで、工程ｃ）の後、組み込まれていないヌクレオチドを、生物学的試料から除去する。
【００１９】
ヌクレオチドを、光活性化切断剤が光で活性化される空間的位置に提供してよい。このことは、図２において示されており、光活性化切断剤は、生物学的試料の少なくとも１つの空間的位置に供給される光（灰色三角で示される）で活性化される。この工程は、生物学的試料の少なくとも１つの空間的位置で保護ユニットを除去し、これらの位置のオリゴヌクレオチドを、さらなるヌクレオチドでの伸長に備えた状態にする。
【００２０】
図３は、結果として保護されていないオリゴヌクレオチドが、末端転移酵素の存在下で、３’位置に保護ユニットを有するＡ、Ｔ、ＣまたはＧヌクレオチドの提供によって伸長されることを示す。そのようにして脱保護された部位に、３’で保護された（星）新しいヌクレオチド（丸内に十字）が、組み込まれる。
【００２１】
各々のヌクレオチドの付加（例えばＡ）および任意選択の続く過剰分の洗浄の後、活性化されていない切断溶液を、全面に塗布する。
【００２２】
次のヌクレオチド（例えばＧ）が結合される必要がある位置は、光線に曝されることとなり、切断剤が光放出される。この切断剤は、溶液中で、近傍の３’保護基を脱保護する。これらの位置において、プライマーの３’末端は、脱保護され、末端転移酵素によって次のヌクレオチドで伸長できる。
【００２３】
光に曝されていない他の位置は、切断剤が脱保護されなかったため、保護されたままとなる。これらは、新しいヌクレオチドで伸長されない。
【００２４】
オリゴヌクレオチドの数は、レーザー光線の寸法、その精度、およびその空間内での脱保護されたホスフィンの拡散を制御する方法による。該方法の空間的に制御された方法のため、オリゴヌクレオチドは、組織の更なるシーケンシングのためのバーコード情報として役立ってよく、すなわち、該バーコードは、空間的に制御された方法でオリゴヌクレオチド中に「書き込まれる」。
【００２５】
この一連の工程は、必要に応じて、および所望の試料の位置で繰り返されてよく、それによりオリゴヌクレオチドを定義された順序で空間的に制御された方法で伸長する。
【００２６】
理論上は、該一連の工程は、無限に繰り返されてよい。しかしながら、実践では、工程ｂ）～ｅ）は、更なるヌクレオチドを少なくとも１つのオリゴヌクレオチドへ組み込むために１～１００回繰り返されうる。
【００２７】
本発明の実施形態において、ヌクレオチドは、逐次の添加によって第１の空間的位置にてオリゴヌクレオチドに続いて付加され、次に、第１の空間的位置に供給された光で光活性化切断剤が活性化し、ここで、光活性化切断剤が、３’末端ヌクレオチドから３’保護ユニットを除去し、脱保護された３’末端ヌクレオチドは、新しいヌクレオチドへ結合する。
【００２８】
組織全体に共通の配列は、局在化配列（ｌｏｃａｌｉｓａｔｉｏｎ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ）に付加されうる。この配列は、プライマー「Ｂ」の標的配列として使用できる。プライマー「Ｂ」は、特定のｍＲＮＡを標的とする配列によって伸長された組織上の配列に相補的な配列を有しうる。第１のプライマーは、通常のポリメラーゼによって更に伸長できる。二本鎖が形成されると、プライマー「Ｂ」を除くことができ（ｄＵがその製造に使用さ

れ、ＵＳＥＲ酵素が用いられた場合）、そしてプライマーＡが、ｍＲＮＡを捕捉するｍＲＮＡ標的配列を有する。

【００２９】

ｍＲＮＡの捕捉およびその逆転写（ＲＴ）の後、新しく形成されたｃＤＮＡは、位置配列（ｌｏｃａｔｉｏｎ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ）およびｍＲＮＡ配列を有することとなり、両方とも別々にシーケンス解析できる。

【００３０】

本方法の変法において、オリゴヌクレオチドは、試料上のオリゴヌクレオチドの空間的位置をコードしているヌクレオチドの配列を備えている。

【００３１】

本方法の別の変法において、オリゴヌクレオチドは、試料をコードしているヌクレオチドの配列を備えている。

【００３２】

好ましくは、生物学的試料の表面に複数のプライマー分子を提供した後、生物学的試料を画像化し、プライマー分子の位置の空間情報を得る。

【００３３】

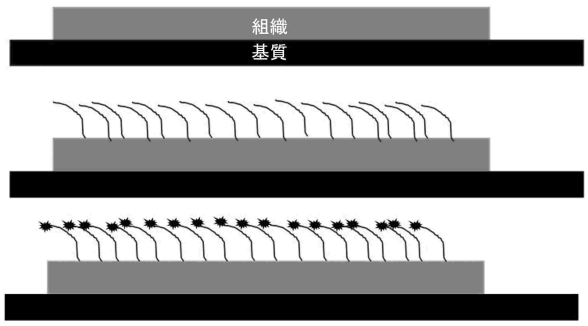
本発明の方法に従ったオリゴヌクレオチドの合成は、異なる波長を有する光によって活性化される少なくとも４つの光活性化切断剤を提供することによって制御されてよい。

【００３４】

オリゴヌクレオチドは、光切断できるプライマー分子を提供することによって試料から除去できる。

【図面】

【図１】



【図２】

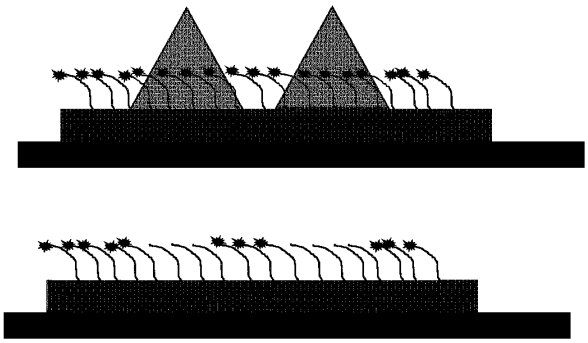


Fig. 2

【図３】

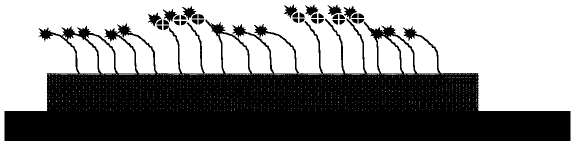


Fig. 3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/053437

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/6806 C12Q1/6841
ADD.

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)
C12Q

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/123309 A1 (10X GENOMICS INC [US]; RAMACHANDRAN IYER ESWAR PRASAD [US] ET AL.) 18 June 2020 (2020-06-18) abstract page 267, line 8 - line 24 examples 1,4,6 embodiments A23, A42, C6 claims 58,60,103,108,112 figure 26	1-11
A	WO 2020/234605 A1 (NUCLERA NUCLEICS LTD [GB]) 26 November 2020 (2020-11-26) abstract claims 1,17-18,22 figure 1	1-11

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] 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
11 May 2023	22/05/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Barz, Wolfgang

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/053437

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2016/166128 A1 (KONINKLIJKE PHILIPS NV [NL]) 20 October 2016 (2016-10-20) abstract claims 1,3 figures 1-2	1-11
A	WO 2019/224544 A1 (OXFORD NANOPORE TECH LTD [GB]) 28 November 2019 (2019-11-28) abstract claims 1,5,51 figures 1-11	1-11

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/053437

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020123309 A1	18-06-2020	CN 113439124 A	24-09-2021
		CN 113767176 A	07-12-2021
		CN 113767177 A	07-12-2021
		EP 3894585 A2	20-10-2021
		EP 3894586 A2	20-10-2021
		EP 3894587 A1	20-10-2021
		EP 3894588 A1	20-10-2021
		EP 3894589 A2	20-10-2021
		EP 3894590 A2	20-10-2021
		EP 3894591 A2	20-10-2021
		EP 3894592 A2	20-10-2021
		SG 11202105824R A	29-06-2021
		US 2020277663 A1	03-09-2020
		US 2020277664 A1	03-09-2020
		US 2022025446 A1	27-01-2022
		US 2022025447 A1	27-01-2022
		US 2022033888 A1	03-02-2022
		US 2022049294 A1	17-02-2022
		US 2022064630 A1	03-03-2022
		US 2022112486 A1	14-04-2022
		US 2022241780 A1	04-08-2022
		US 2022290217 A1	15-09-2022
		WO 2020123301 A2	18-06-2020
		WO 2020123305 A2	18-06-2020
		WO 2020123309 A1	18-06-2020
		WO 2020123311 A2	18-06-2020
		WO 2020123316 A2	18-06-2020
		WO 2020123317 A2	18-06-2020
		WO 2020123318 A1	18-06-2020
		WO 2020123319 A2	18-06-2020
		WO 2020123320 A2	18-06-2020
WO 2020234605 A1	26-11-2020	CN 114008215 A	01-02-2022
		EP 3973075 A1	30-03-2022
		WO 2020234605 A1	26-11-2020
WO 2016166128 A1	20-10-2016	BR 112017021993 A2	31-07-2018
		CN 107709574 A	16-02-2018
		EP 3283641 A1	21-02-2018
		JP 6875998 B2	26-05-2021
		JP 2018516541 A	28-06-2018
		RU 2017135434 A	08-04-2019
		US 2018112261 A1	26-04-2018
		WO 2016166128 A1	20-10-2016
WO 2019224544 A1	28-11-2019	AU 2019274939 A1	12-11-2020
		CA 3099103 A1	28-11-2019
		CN 112292456 A	29-01-2021
		EP 3797170 A1	31-03-2021
		GB 2574197 A	04-12-2019
		JP 2021524246 A	13-09-2021
		US 2021198710 A1	01-07-2021
		WO 2019224544 A1	28-11-2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100098501
弁理士 森田 拓
(74)代理人 100116403
弁理士 前川 純一
(74)代理人 100134315
弁理士 永島 秀郎
(74)代理人 100162880
弁理士 上島 類
(72)発明者 ロバート ピナード
ドイツ連邦共和国 ベアギッシュ グラートバッハ フリードリヒ－エーバート－シュトラーセ ６８ ケア・オブ ミルテニー バイオテック ベー．フェー． ウント コー． カー・ゲー
(72)発明者 ミシェル ペルボス
ドイツ連邦共和国 ベアギッシュ グラートバッハ フリードリヒ－エーバート－シュトラーセ ６８
(72)発明者 マティアス ベアンハート ヴァール
ドイツ連邦共和国 ベアギッシュ グラートバッハ フリードリヒ－エーバート－シュトラーセ ６８ ケア・オブ ミルテニー バイオテック ベー．フェー． ウント コー． カー・ゲー

Ｆターム（参考） 4B064 AF27 CA21 CB30 CC24 CC30 CD04 DA20

【要約の続き】

トを除去する工程、

ｆ． 工程ｂ）～ｅ）を繰り返し、更なるヌクレオチドを少なくとも１つのオリゴヌクレオチドへ組み込む工程、を含む、方法を目的とする。