

【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 3 月 26 日 (2020.3.26)

【公表番号】特表 2019-506872 (P2019-506872A)

【公表日】平成 31 年 3 月 14 日 (2019.3.14)

【年通号数】公開・登録公報 2019-010

【出願番号】特願 2018-543210 (P2018-543210)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6844 (2018.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 Q 1/6844 Z N A Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 19/34 A

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 2 月 13 日 (2020.2.13)

【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】

プライマー交換反応方法であって、

(a) (i) 不對 3 ' トーホールドドメイン、(i i) 分子の 3 ' サブドメインと分子の 5 ' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (i i i) 結合ドメインを含む初期触媒ヘアピン分子、

(b) (i) 不對 3 ' トーホールドドメイン、(i i) 第 2 触媒ヘアピン分子の 3 ' サブドメインと第 2 触媒ヘアピン分子の 5 ' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (i i i) ループドメインを含む第 2 触媒ヘアピン分子であって、前記第 2 触媒ヘアピン分子の 3 ' トーホールドドメインが、前記初期触媒ヘアピン分子の 5 ' サブドメインと相補的である、第 2 触媒ヘアピン分子、

(c) 前記初期ヘアピン分子の不對 3 ' トーホールドドメインと相補的なプライマー、

(d) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ、並びに

(e) デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (d N T P)

を反応バッファー中で合わせることにより、反応混合物を形成した後；

一本鎖核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングをもたらす条件下で前記反応混合物をインキュベートすることを含む、方法。

【請求項 2】

プライマー交換反応方法であって、

(a) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ及びデオキシリボヌクレオチド三リン酸 (d N T P) の存在下で、インプットプライマーを触媒分子と接触させるが、ここで、前記触媒分子は、(i) 不對 3 ' トーホールドドメイン及び (i i) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5 ' 側に位置する対ドメインを含み、前記インプットプライマーは、前記触媒分子の 3 ' トーホールドドメインと相補的であり；

(b) 前記触媒分子の対ドメインを介して前記プライマーを延長することにより、前記置換鎖を置換して、延長アウトプットプライマーを形成し；

(c) 前記置換鎖と前記テンプレート鎖同士の分子内ヌクレオチド塩基対によって、前記ヘアピン分子から前記延長アウトプットプライマーを置換し；

(d) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ及び d N T P の存在下で、(c) の前記置換延長アウトプットプライマーを第 2 触媒分子と接触させることを含み、ここで、前記第 2 触媒分子は、(i) 不對 3 ' トーホールドドメイン及び (i i) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5 ' 側に位置する対ドメインを含み、前記延長アウトプットプライマーは、前記第 2 触媒分子の 3 ' トーホールドドメインと相補的である、方法。

【請求項 3】

一本鎖核酸を生成する方法であって、

(a) (i) 不對 3 ' トーホールドドメイン、(i i) 分子の 3 ' サブドメインと分子の 5 ' サブドメイン同士の分子間ヌクレオチド塩基対により形成される、対ステムドメイン、及び (i i i) ヘアピンループドメインを含む初期ヘアピン分子、

(b) 各ヘアピン分子が、(i) 不對 3 ' トーホールドドメイン、(i i) 複数のうち 1 ヘアピン分子の 3 ' サブドメインと複数のうち 1 ヘアピン分子の 5 ' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (i i i) ループドメインを含む、複数の異なるヘアピン分子であって、各ヘアピン分子の前記 3 ' トーホールドドメインが、前記複数のうち 1 つの他のヘアピン分子の 5 ' サブドメインと相補的である、複数の異なるヘアピン分子、

(c) 前記初期ヘアピン分子の不對 3 ' トーホールドドメインと相補的な初期プライマー、

(d) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ、並びに

(e) デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (d N T P)

を反応バッファー中で合わせることにより、反応混合物を形成した後；

前記初期プライマーよりも長い一本鎖核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングをもたらす条件下で前記反応混合物をインキュベートすることを含む方法。

【請求項 4】

以下の (A)、(B)、(C)、(D)、又は (E) を含むキットであって、

(A) が

(a) 不對 3 ' トーホールドドメイン、及び前記トーホールドドメインから 5 ' 側に位置し、且つ置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、対ドメインを含む初期触媒分子；

(b) 前記不對 3 ' トーホールドドメインと相補的な初期プライマー；並びに

(c) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ
を含み、

(B) が

(a) (i) 不對 3 ' トーホールドドメイン、(i i) 分子の 3 ' サブドメインと分子の 5 ' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (i i i) 結合ドメインを含む初期触媒ヘアピン分子；

(b) 前記 3' トーホールドドメインと相補的で、これと結合する初期プライマー；並びに

(c) 鎖置換活性を有するポリメラーゼを含み、

(C) が

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 5' サブドメインと分子の 3' サブドメイン同士の間内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む初期触媒ヘアピン分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 第 2 ヘアピン分子の 3' サブドメインと第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の間内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) 結合ドメインを含む第 2 触媒ヘアピン分子であって、前記第 2 ヘアピン分子の 3' トーホールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、第 2 触媒ヘアピン分子；並びに

(c) 前記初期ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的な初期プライマーを含み、

(D) が

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む初期核酸分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む第 2 核酸分子であって、前記第 2 核酸分子の不對 3' トーホールドドメインが、前記初期核酸分子の置換鎖と相補的である、第 2 核酸分子；

(c) 前記初期核酸分子の不對 3' トーホールドドメイン内に位置するヌクレオチドと相補的なプライマーを含み、

(E) が

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の間内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む初期ヘアピン分子であって、標的生体分子と連結している初期ヘアピン分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の間内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む第 2 ヘアピン分子であって、前記第 2 ヘアピン分子が、標的生体分子と連結しており、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、第 2 ヘアピン分子；

(c) 一方が、前記初期ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的であり、他方が、前記第 2 ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的である、2 つのプライマー；

(d) 各分子が、(i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の間内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む、複数の触媒ヘアピン分子であって、前記複数のヘアピン分子各々の 5' サブドメインが、前記複数のうち 1 つの他のヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的であり、前記複数のヘアピン分子の 1 つの 3' トーホールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的であり、前記複数のうちの別のヘアピン分子の 3' トーホールドドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、複数の触媒ヘアピン分子；並びに

(e) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ

を含む、キット。

【請求項 5】

(a) 不對 3' トーホールドドメイン、及び前記トーホールドドメインから 5' 側に位置し、且つ置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、対ドメインを含む初期触媒分子；

(b) 前記不對 3' トーホールドドメインと相補的な初期プライマー；並びに

(c) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ

を含む、請求項 4 に記載のキット。

【請求項 6】

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) 結合ドメインを含む初期触媒ヘアピン分子；

(b) 前記 3' トーホールドドメインと相補的で、これと結合する初期プライマー；並びに

(c) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ

を含む、請求項 4 に記載のキット。

【請求項 7】

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 5' サブドメインと分子の 3' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む初期触媒ヘアピン分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 第 2 ヘアピン分子の 3' サブドメインと第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) 結合ドメインを含む第 2 触媒ヘアピン分子であって、前記第 2 ヘアピン分子の 3' トーホールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、第 2 触媒ヘアピン分子；並びに

(c) 前記初期ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的な初期プライマ

ー

を含む、請求項 4 に記載のキット。

【請求項 8】

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む初期核酸分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む第 2 核酸分子であって、前記第 2 核酸分子の不對 3' トーホールドドメインが、前記初期核酸分子の置換鎖と相補的である、第 2 核酸分子；

(c) 前記初期核酸分子の不對 3' トーホールドドメイン内に位置するヌクレオチドと相補的なプライマー

を含む、請求項 4 に記載のキット。

【請求項 9】

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む初期ヘアピン分子であって、標的生体分子と連結している初期ヘアピン分子；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む第 2 ヘアピン分子であって、前記第 2 ヘアピン分子が、標的生体分子と連結しており、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、第 2 ヘアピン分子；

(c) 一方が、前記初期ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的であり、他方が、前記第 2 ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的である、2 つのプライマー；

(d) 各分子が、(i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む、複数の触媒ヘアピン分子であって、前記複数のヘアピン分子各々の 5' サブドメインが、前記複数のうち 1 つの他のヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的であり、前記複数のヘアピン分子の 1 つの 3' トーホールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的であり、前記複数のうちの別のヘアピン分子の 3' トーホールドドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、複数の触媒ヘアピン分子；並びに

(e) 鎖置換活性を有するポリメラーゼを含む、請求項 4 に記載のキット。

【請求項 10】

前記結合ドメインが、ループドメインである、請求項 4 ~ 9 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 11】

(d) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 第 2 ヘアピン分子の 3' サブドメインと第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む第 2 触媒ヘアピン分子をさらに含み、ここで、前記第 2 ヘアピン分子の 3' トーホールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、請求項 4 ~ 10 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 12】

前記第 2 ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメイン内に位置するヌクレオチドと相補的なヌクレオチドを含む第 2 プライマーをさらに含む、請求項 11 に記載のキット。

【請求項 13】

(e) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 第 3 ヘアピン分子の 3' サブドメインと第 3 ヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む第 3 触媒ヘアピン分子をさらに含み、ここで、前記第 3 ヘアピン分子の 3' トーホールドドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、請求項 11 又は 12 に記載のキット。

【請求項 14】

前記第 3 ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的な第 3 プライマーをさらに含む、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 15】

複数の触媒ヘアピン分子をさらに含み、各ヘアピン分子は、(i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 前記複数のうち 1 ヘアピン分子の 3' サブドメインと、前記複数のうち 1 ヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含み、ここで、各ヘアピン分子の前記 3' トーホールドドメインが、前記複数のうち 1 つの他のヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 16】

複数のプライマーをさらに含み、各プライマーは、前記複数のうち 1 つのヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的である、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 17】

前記プライマーが、検出可能な分子と連結される、請求項 4 ~ 10 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 18】

請求項 4 ~ 17 のいずれか一項に記載のキットを含む細胞。

【請求項 19】

少なくとも2つの核酸を含み、これらの各々が、(i) 不対3' トーホールドドメイン、(ii) 触媒ヘアピン分子の3' サブドメインと、同じ前記触媒ヘアピン分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) ループドメインを含む触媒ヘアピン分子をコードする、ベクター。

【請求項 20】

少なくとも3つ、少なくとも4つ、又は少なくとも5つの核酸をコードし、これらの各々が、(i) 不対3' トーホールドドメイン、(ii) 触媒ヘアピン分子の3' サブドメインと、同じ前記触媒ヘアピン分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) ループドメインを含む触媒ヘアピン分子をコードする、請求項19に記載のベクター。

【請求項 21】

請求項19又は20に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 22】

(a) (i) 不対3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の3' サブドメインと分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) 結合ドメインを含む触媒ヘアピン分子であって、(a) (i) 及び(a) (ii) の前記ドメインが、タンDEM反復配列を形成する、触媒ヘアピン分子、

(b) (i) 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の3' サブドメインと分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) 結合ドメインを含む少なくとも1つの他の触媒ヘアピン分子であって、(b) (i) 及び(b) (ii) の前記ドメインが、シグナル配列により分断されるタンDEM反復配列を形成し、(b) (i) の前記3' トーホールドドメインは、プロテクター鎖と不可逆的に結合している、少なくとも1つの他の触媒ヘアピン分子、並びに

(c) (a) の前記触媒ヘアピン分子の3' トーホールドドメインと相補的で、且つ(b) の前記触媒ヘアピン分子の3' トーホールドドメインと相補的であるドメインを含む核酸プライマーを含む組成物。

【請求項 23】

標的分子をさらに含む、請求項22に記載の組成物。

【請求項 24】

標的分子を検出する方法であって、

標的分子、鎖置換ポリメラーゼ、及びデオキシリボヌクレオチド三リン酸(dNTP) を含有する反応バッファー中で、

(a) (i) 不対3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の3' サブドメインと分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) 結合ドメインを含む触媒ヘアピン分子であって、(a) (i) 及び(a) (ii) の前記ドメインが、タンDEM反復配列を形成する、触媒ヘアピン分子；

(b) (i) 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の3' サブドメインと分子の5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) 結合ドメインを含む少なくとも1つの他の触媒ヘアピン分子であって、(b) (i) 及び(b) (ii) の前記ドメインは、シグナル配列により分断されるタンDEM反復配列を形成し、(b) (i) の前記3' トーホールドドメインは、前記標的分子と結合することができるプロテクター鎖と不可逆的に結合している、少なくとも1つの他の触媒ヘアピン分子、並びに

(c) (a) の前記触媒ヘアピン分子の3' トーホールドドメインと相補的で、且つ(b) の前記触媒ヘアピン分子の3' トーホールドドメインと相補的であるドメインを含む核酸プライマーを合わせ、

前記初期プライマーよりも長く、且つ前記シグナル配列の少なくとも1つを含む一本鎖

核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングを達成する条件下で、前記反応混合物をインキュベートすることを含む方法。

【請求項 25】

分子事象間の時間を計測する方法であって、

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ヘアピンループドメインを含む初期触媒ヘアピン分子、

(b) 各ヘアピン分子が、(i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) ヘアピン分子の 3' サブドメインとヘアピン分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む複数の異なる触媒ヘアピン分子であって、各ヘアピン分子の前記 3' トーホールドドメインが、前記複数のうち 1 つの他のヘアピン分子の前記 5' サブドメインと相補的である、複数の異なる触媒ヘアピン分子、

(c) 前記初期ヘアピン分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的な初期プライマー、

(d) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ、並びに

(e) デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (dNTP) を反応バッファー中で合わせることにより、反応混合物を形成し；

第 1 分子事象に前記反応混合物を曝露し；

一本鎖核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングを達成する条件下で前記反応混合物をインキュベートした後；

第 2 分子事象に前記反応混合物を曝露することを含む方法。

【請求項 26】

標的生体分子間の距離を記録する方法であって、

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む初期核酸分子であって、標的生体分子と連結している初期核酸分子、

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、及び (ii) 置換鎖と、前記トーホールドドメインを含有するテンプレート鎖とのヌクレオチド塩基対により形成される、前記トーホールドドメインから 5' 側に位置する対ドメインを含む第 2 核酸分子であって、前記第 2 核酸分子の不對 3' トーホールドドメインが、前記初期核酸分子の置換鎖と相補的であり、また、前記第 2 核酸分子が、標的生体分子と連結している、第 2 核酸分子、

(c) 前記初期核酸分子の不對 3' トーホールドドメインと相補的なプライマー、

(d) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ、並びに

(e) デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (dNTP) を反応バッファー中で合わせることにより、反応混合物を形成し；

一本鎖核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングを達成する条件下で前記反応混合物をインキュベートすることを含む方法。

【請求項 27】

標的生体分子間の距離を記録する方法であって、

(a) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む初期ヘアピン分子（前記初期ヘアピン分子は、標的生体分子と連結している）；

(b) (i) 不對 3' トーホールドドメイン、(ii) 分子の 3' サブドメインと分子の 5' サブドメイン同士の分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び (iii) ループドメインを含む第 2 ヘアピン分子（前記第 2 ヘアピン分子は、標的生体分子と連結しており、前記初期ヘアピン分子の 5' サブドメインは、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドメインと相補的である）；

(c) 一方が、前記初期ヘアピン分子の不對3'トールドドメインと相補的であり、他方が、前記第2ヘアピン分子の不對3'トールドドメインと相補的である、2つのプライマー；

(d) 各分子が、(i) 不對3'トールドドメイン、(ii) 分子の3'サブドメインと分子の5'サブドメイン同士の間分子内ヌクレオチド塩基対により形成される対ステムドメイン、及び(iii) ループドメインを含む、前記複数のヘアピン分子であって、前記複数のヘアピン分子各々の5'サブドメインが、前記複数のうち1つの他のヘアピン分子の5'サブドメインと相補的であり、前記複数のヘアピン分子の1つの3'トールドドメインが、前記初期ヘアピン分子の5'サブドメインと相補的であり、前記複数のうち別のヘアピン分子の3'トールドドメインは、第2ヘアピン分子の5'サブドメインと相補的である、複数のヘアピン分子；並びに

(e) 鎖置換活性を有するポリメラーゼ並びにデオキシリボヌクレオチド三リン酸(dNTP)を反応バッファー中で合わせることにより、前記反応混合物を形成した後；

二本鎖核酸記録を生成するのに十分な時間にわたって、核酸重合、鎖置換及びアニーリングを達成する条件下で前記反応混合物をインキュベートすることを含む方法。