

【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初期触媒ヘアピン分子、

(b) (i) 不対3'トーホールドドメイン、(ii) 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(iii)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対3'トーホールドドメインと相補的なプライマー、

(d) 鎮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に合わせることより、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、鎮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(dNTP)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) 不対3'トールドドメイン及び(ii)置換鎖と、前記ト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dNTP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) 不対3'トールドドomain及び(ii)置換鎖と、前記トールドドomain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、前記トールドドomainから5'側に位置する対ドomain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'トールドドomain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) 不対3'トールドドomain、(ii)分子の3'サブドomainと分子の5'サブドomain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(iii)ヘアピンループドomainを含む初期ヘアピン分子、

(b) 各ヘアピン分子が、(i)不対3'トールドドomain、(ii)複数のうち1ヘアピン分子の3'サブドomainと複数のうち1ヘアピン分子の5'サブドomain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omain、及び(iii)ループドomain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'トールドドomainが、前記複数のうち1つの他のヘアピン分子の5'サブドomain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対3'トールドドomain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に含わせることにより、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) 不対3'トールドドomain、及び前記トールドドomainから5'側に位置し、且つ置換鎖と、前記トールドドomain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omainを含む初期触媒分子；

(b) 前記不対3'トールドドomain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) 不対3'トールドドomain、(ii)分子の3'サブドomainと分子の5'サブドomain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omain、及び(iii)結合ドomainを含む初期触媒ヘアピン分子；

( b ) 前記 3' ト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 ) 不対 3' トールドドメイン、( 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 ) 不対 3' トールドドメイン、( 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対 3' ト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 ) 不対 3' トールドドメイン及び( ii ) 置換鎖と、前記ト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 ) 不対 3' トールドドメイン及び( ii ) 置換鎖と、前記ト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 核酸分子の不対 3' トールドドメインが、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対 3' ト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 ) 不対 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 ) 不対 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対 3' トールドドメインと相補的であり、他方が、前記第 2 ヘアピン分子の不対 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 ) 不対 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、前記複数のヘアピン分子の 1 つの 3' トールドドメインは、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) 不対 3' トールドドメイン、及び前記ト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) 前記不対 3' ト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) 不対 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) 不対 3' トールドドメイン、(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) 不対 3' トールドドメイン、(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対 3' トールドドメインと相補的な初期プライマー

二

を含む、請求項 4 に記載のキット。

**【請求項 8】**

(a) (i) 不対 3' トールドドメイン及び (ii) 置換鎖と、前記ト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) 不対 3' トールドドomain 及び (ii) 置換鎖と、前記トールドドomain 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、前記トールドドomain から 5' 側に位置する対ドomain を含む第 2 核酸分子であって、前記第 2 核酸分子の不対 3' トールドドomain 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対 3' トールドドomain 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) 不対 3' トールドドomain、(ii) 分子の 3' サブドomainと分子の 5' サブドomain 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omain、及び (iii) ループドomain 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) 不対 3' トールドドomain、(ii) 分子の 3' サブドomainと分子の 5' サブドomain 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omain、及び (iii) ループドomain 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omain は、前記第 2 ヘアピン分子の 5' サブドomain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対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ヘアピン分子の不対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) 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) 不対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ヘアピン分子の不対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) 不対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ヘアピン分子の不対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) 不対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対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、( i i ) 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( i i i ) 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、( i i ) 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( i i i ) 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、( 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触媒ヘアピン分子であって、( a ) ( i ) 及び( a ) ( i i ) の前記ドメインが、タンデム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、( 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 ) ( i i ) の前記ドメインが、シグナル配列により分断されるタンデム反復配列を形成し、( 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、( 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触媒ヘアピン分子であって、( a ) ( i ) 及び( a ) ( i i ) の前記ドメインが、タンデム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、( 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 ) ( i i ) の前記ドメインは、シグナル配列により分断されるタンデム反復配列を形成し、( 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) 不対 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) 各ヘアピン分子が、(i) 不対 3' トールドドメイン、(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対 3' ト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に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) 不対 3' トールドドメイン、及び(ii) 置換鎖と、前記ト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) 不対 3' トールドドメイン、及び(ii) 置換鎖と、前記ト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 核酸分子の不対 3' トールドドメインが、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対 3' ト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に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) 不対 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) 不対 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対 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 ヘアピン分子の不対 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) 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、前記複数のうち別のヘアピン分子の 3' トーホールドドメインは、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) 鎮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に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、鎮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。