【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３部門第２区分
【発行日】令和2年12月24日(2020.12.24)

【公表番号】特表2020-502260(P2020-502260A)
【公表日】令和2年1月23日(2020.1.23)
【年通号数】公開・登録公報2020-003
【出願番号】特願2019-546778(P2019-546778)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｋ　1/14　(2006.01)
Ｇ０１Ｎ　33/53　(2006.01)
Ｇ０１Ｎ　33/543　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/115　(2010.01)
Ｃ１２Ｎ　15/11　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/34　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/00　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｋ　1/14
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｄ
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｓ
Ｇ０１Ｎ　33/543　５０１Ａ
Ｇ０１Ｎ　33/543　５２１
Ｃ０７Ｋ　16/00
Ｃ１２Ｎ　15/115
Ｃ１２Ｎ　15/11
Ｃ１２Ｍ　1/34　Ｆ
Ｃ１２Ｍ　1/00

【手続補正書】
【提出日】令和2年11月12日(2020.11.12)
【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】
単一細胞の１種または複数種の細胞内標的のマルチプレックス解析のための方法であって、
生体試料の単一細胞と組成物を接触させるステップであって、
該組成物が、
表面であって、そこに操作可能に連結された複数の捕捉剤を含み、各捕捉剤が、別個の細胞内標的に特異的に結合し、該複数の捕捉剤が、反復パターンを形成する、表面と、
複数のチャンバーを含む基材であって、該基材が、該表面と放出可能にカップリングし、該複数のチャンバーの各チャンバーが、該表面の該複数の捕捉剤の該反復パターンの少なくとも１つの反復を含む、基材と、
細胞溶解組成物を含むコーティング組成物と、
を含み、
ここで、該コーティング組成物が、該基材および／または表面上にコーティングされて

おり、
ここで、接触させるステップが、該基材の該複数のチャンバーの各チャンバー内で、該単一細胞を溶解して単一細胞溶解物を生成するのに十分な条件下で実行され、
該複数のチャンバーの各チャンバー内で、各単一細胞溶解物は、該表面と流体連絡しており、ここで、
該複数のチャンバーの各チャンバー内で、該単一細胞溶解物が、該表面と流体連絡している、ステップと、
複数の捕捉剤の少なくとも１つの捕捉剤を少なくとも１種の細胞内標的に特異的に結合させて捕捉剤：標的複合体を生成させるのに十分な時間、該複数のチャンバーの各チャンバー内で該単一細胞溶解物をインキュベートするステップと、
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種または複数種の細胞内標的を同定するステップと
を含む方法。
【請求項２】
前記可視化するステップが、
前記少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を、該捕捉剤に結合する標識された二次抗体と接触させるステップと、該標識された二次抗体を検出するステップと
を含むか、あるいは、
第１の捕捉剤：標的複合体を、該第１の捕捉剤に結合する第１の標識された二次抗体と接触させるステップと、
第２の捕捉剤：標的複合体を、該第２の捕捉剤に結合する第２の標識された二次抗体と接触させるステップと、
該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体を検出するステップであって、該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体がそれぞれ別個の標識を含む、ステップと
を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記標識された二次抗体が、蛍光標識、金標識または銀標識を含む、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記少なくとも１種の細胞内標的を定量するステップをさらに含む、請求項２または３に記載の方法。
【請求項５】
前記定量するステップが、前記標識された二次抗体の強度および／または密度を測定するステップを含む、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記細胞内標的が、リンタンパク質である、請求項４または５に記載の方法。
【請求項７】
前記複数のチャンバーの各チャンバー内で、前記生体試料が、ビーズと流体連絡しており、
該ビーズが、少なくとも１種の細胞内標的に特異的に結合して、捕捉剤：標的複合体を生成するための複数の捕捉剤を含み、
該複数のチャンバーの少なくとも１つのチャンバーが、官能化されたバンドをさらに含み、
以下：
該少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種もしくは複数種の細胞内標的を同定するステップ、または
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種もしくは複数種の細胞内標的を同定するステップ
のうちの少なくとも１つが実行される、請求項１に記載の方法。

【請求項８】
前記ビーズ組成物が、ビーズおよびバーコードをコードする核酸配列を含み、該バーコードが、バーコードをコードする配列およびバーコードハンドルをコードする配列を含み、前記方法が、ｃＤＮＡバーコード配列を合成することにより、該バーコードを配列決定するステップを含む、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記バーコードを合成するステップが、ハイブリダイゼーションおよびｃＤＮＡ合成に十分な条件下で、前記バーコードハンドルをコードする前記配列、該バーコードハンドルをコードする該配列の部分に相補的な配列を含むプライマー、およびポリメラーゼを接触させるステップを含み、該接触させるステップが、ｃＤＮＡバーコード配列を生成する、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記配列決定するステップが、前記チャンバー内で実行される、請求項８または９に記載の方法。
【請求項１１】
前記バーコードをコードする前記核酸配列が、ＰＣＲハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列のうち１つまたは複数をさらに含む、請求項９に記載の方法。
【請求項１２】
前記バーコードをコードする核酸配列が、５’から３’へと、ＰＣＲハンドルをコードする配列、バーコードをコードする配列、バーコードハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をさらに含む、請求項９に記載の方法。
【請求項１３】
ビーズ組成物の各ビーズが、固有のバーコードを含む、または
各チャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、または
前記複数のチャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、請求項８から１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
前記バーコードをコードする前記配列が、１２ヌクレオチドを含むかまたは１２ヌクレオチドからなる、請求項８から１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記ビーズの前記バーコードをコードする前記核酸の部分へとＴＳＯをハイブリダイゼーションして、核酸／ＴＳＯ二重鎖を生成するのに十分な条件下で、該バーコードをコードする該核酸配列および該ＴＳＯを接触させるステップをさらに含む、請求項８から１４のいずれか一項に記載の方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００９９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００９９】
本開示の方法のある特定の実施形態では、この方法は、少なくとも１種の細胞内標的を定量するステップをさらに含む。ある特定の実施形態では、定量するステップは、標識された二次抗体の強度および／または密度を測定するステップを含む。ある特定の実施形態では、細胞内標的は、リンタンパク質である。
特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：
（項目１）

組成物であって、
表面であって、そこに操作可能に連結された複数の捕捉剤を含み、各捕捉剤が、別個の細胞内標的に特異的に結合し、該複数の捕捉剤が、反復パターンを形成する、表面と、
複数のチャンバーを含む基材であって、該基材が、該表面と放出可能にカップリングし、該複数のチャンバーの各チャンバーが、該表面の該複数の捕捉剤の該反復パターンの少なくとも１つの反復を含む、基材と、
細胞溶解組成物を含むコーティング組成物と、
官能化構成成分および伸長構成成分を含むリンカー組成物と
を含む組成物。
（項目２）
前記複数の捕捉剤が、２～２００種の間の別個の捕捉剤を含む、項目１に記載の組成物。
（項目３）
前記複数の捕捉剤が、２～１００種の間の別個の捕捉剤を含む、項目１に記載の組成物。
（項目４）
前記複数の捕捉剤が、２～５０種の間の別個の捕捉剤を含む、項目１に記載の組成物。
（項目５）
前記複数の捕捉剤が、２～２５種の間の別個の捕捉剤を含む、項目１に記載の組成物。
（項目６）
前記複数のチャンバーが、２～２０，０００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７）
前記複数のチャンバーが、２～１２，０００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８）
前記複数のチャンバーが、２～１０，０００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９）
前記複数のチャンバーが、２～５，０００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０）
前記複数のチャンバーが、２～２，５００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１）
前記複数のチャンバーが、２～１，０００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２）
前記複数のチャンバーが、２～５００個の間のチャンバーを含む、項目１から５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１３）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、同一の形状を有する、項目１から１２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１つの寸法に関して等しい値を有する、項目１から１３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１５）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、各寸法に関して等しい値を有する、項目１から１４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１６）

前記複数のチャンバーの各チャンバーが、円形である、項目１から１５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１７）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも１０μｍの直径を有する、項目１６に記載の組成物。
（項目１８）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも５０μｍの直径を有する、項目１６に記載の組成物。
（項目１９）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも１００μｍの直径を有する、項目１６に記載の組成物。
（項目２０）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも１０μｍの深さを有する、項目１７から１９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２１）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも５０μｍの深さを有する、項目１７から１９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２２）
前記複数のチャンバーの前記各チャンバーが、少なくとも１００μｍの深さを有する、項目１７から１９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２３）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、長方形である、項目１から１５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２４）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１０μｍの第１の側面の長さを有する、項目１から１５または２３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２５）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも５０μｍの第１の側面の長さを有する、項目１から１５または２３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２６）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１００μｍの第１の側面の長さを有する、項目１から１５または２３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２７）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１０μｍの第２の側面の長さを有する、項目１から１５または２３から２６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２８）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも５０μｍの第２の側面の長さを有する、項目１から１５または２３から２６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目２９）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１００μｍの第２の側面の長さを有する、項目１から１５または２３から２６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目３０）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１０μｍの深さを有する、項目１から１５または２３から２９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目３１）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも５０μｍの深さを有する、項目１から１５または２３から２９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目３２）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、少なくとも１００μｍの深さを有する、項目１から１５または２３から２９のいずれか一項に記載の組成物。

（項目３３）
前記基材が、ポリマーを含む、項目１から３２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目３４）
前記ポリマーが、ポリジメチルシロキサン（ＰＤＭＳ）を含む、項目３３に記載の組成物。
（項目３５）
前記基材が、酸化した表面を有する、項目３４に記載の組成物。
（項目３６）
前記ＰＤＭＳ基材が、射出成形による製造に先立ち、表面活性物質と混合されたＰＤＭＳプレポリマーから形成された、項目３４または３５に記載の組成物。
（項目３７）
前記表面活性物質が、Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ－１００を含む、項目３６に記載の組成物。
（項目３８）
前記表面が、ガラスを含む、項目１から３７のいずれか一項に記載の組成物。
（項目３９）
前記複数の捕捉剤の少なくとも１つの捕捉剤が、オリゴヌクレオチド、アプタマー、抗体、抗体の機能的断片または抗体ミメティックを含む、項目１から３８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４０）
前記複数の捕捉剤の少なくとも１つの捕捉剤が、抗体を含む、項目１から３８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４１）
前記複数の捕捉剤の各捕捉剤が、抗体を含む、項目１から３８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４２）
前記コーティング組成物が、架橋組成物をさらに含む、項目１から４１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４３）
前記架橋組成物が、生体適合性ポリマーを含む、項目４２に記載の組成物。
（項目４４）
前記細胞溶解組成物が、界面活性剤を含む、項目１から４３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４５）
前記細胞溶解組成物が、Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ－１００を含む、項目１から４４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４６）
前記架橋組成物が、ポリ（ビニルアルコール）（ＰＶＡ）を含む、項目４２から４５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４７）
前記架橋組成物が、３％ｖ／ｖ　ＰＶＡを含み、前記細胞溶解組成物が、０．２％Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ－１００を含む、項目４２から４６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目４８）
前記架橋組成物が、グルタルアルデヒド組成物および塩酸（ＨＣｌ）組成物をさらに含む、項目４７に記載の組成物。
（項目４９）
前記グルタルアルデヒド組成物が、０．１％グルタルアルデヒドを含む、項目４８に記載の組成物。
（項目５０）
前記ＨＣｌ組成物が、１０％ＨＣｌを含む、項目４８または４９に記載の組成物。
（項目５１）

前記コーティング組成物が、シグナリング剤を含む、項目１から５０のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５２）
前記コーティング組成物が、複数のマイクロスフェアとして製剤化される、項目１から５１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５３）
前記コーティング組成物が、水を含む、項目１から５２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５４）
前記コーティング組成物が、水を含まない、項目１から５２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５５）
前記リンカー組成物が、少なくとも１週間、室温で分解しない、項目１から５４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５６）
前記リンカー組成物が、少なくとも１ヶ月間、室温で分解しない、項目１から５４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５７）
前記リンカー組成物が、少なくとも６ヶ月間、室温で分解しない、項目１から５４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５８）
前記リンカー組成物が、少なくとも１年間、室温で分解しない、項目１から５４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目５９）
前記官能化構成成分が、前記基材と接触すると、少なくとも１個の官能基を該基材の表面に共有結合させる、項目１から５８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目６０）
前記表面が、前記複数のチャンバーの各チャンバーの内部表面を含む、項目５９に記載の組成物。
（項目６１）
前記表面が、前記複数のチャンバーの各チャンバーの各内部表面を含む、項目５９に記載の組成物。
（項目６２）
前記少なくとも１個の官能基が、シラン基である、項目５９から６１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目６３）
前記官能化構成成分が、有機官能性アルコキシシランを含む、項目６２に記載の組成物。
（項目６４）
前記官能化構成成分が、アミノシランを含む、項目６３に記載の組成物。
（項目６５）
前記官能化構成成分が、（３－アミノプロピル）トリエトキシシラン（ＡＰＴＥＳ）を含む、項目６３または６４に記載の組成物。
（項目６６）
前記官能化構成成分が、１％ＡＰＴＥＳを含む、項目６５に記載の組成物。
（項目６７）
前記伸長構成成分が、第１の末端において前記官能化構成成分に共有結合する有機ポリマーを含む、項目１から６６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目６８）
前記有機ポリマーが、第２の末端においてアルデヒドを含む、項目６７に記載の組成物

。
（項目６９）
前記伸長構成成分が、前記架橋組成物に結合する、項目４２から６８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７０）
前記伸長構成成分が、グルタルアルデヒドを含む、項目１から６９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７１）
前記伸長構成成分が、１％グルタルアルデヒドを含む、項目７０に記載の組成物。
（項目７２）
前記反復パターンが、複数の平行線を含む、項目１から７１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７３）
前記反復パターンが、複数のドットを含む、項目１から７１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７４）
前記細胞内標的が、ＤＮＡ分子、ＲＮＡ分子、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、タンパク質複合体、チャネル、オルガネラ、脂質、オリゴ糖、細胞骨格要素である、項目１から７３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７５）
前記細胞内標的が、癌遺伝子の転写物、癌タンパク質、腫瘍抑制因子遺伝子の転写物、腫瘍抑制因子タンパク質、癌遺伝子の調節因子、癌タンパク質の調節因子または腫瘍抑制因子遺伝子の調節因子である、項目１から７３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７６）
前記細胞内標的が、受容体、酵素、転写因子または成長因子である、項目１から７３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目７７）
前記細胞内標的が、リン酸化された受容体またはリン酸化された酵素である、項目７６に記載の組成物。
（項目７８）
前記酵素が、キナーゼである、項目７６または７７に記載の組成物。
（項目７９）
前記複数のチャンバーの少なくとも１個のチャンバーが、官能化されたバンドをさらに含む、項目１から７８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８０）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、官能化されたバンドをさらに含む、項目１から７８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８１）
前記官能化されたバンドが、ビーズを捕捉する、項目７９または８０に記載の組成物。
（項目８２）
前記官能化されたバンドが、少なくとも１個のビーズを捕捉する、項目７９または８０に記載の組成物。
（項目８３）
前記官能化されたバンドが、多くとも１個のビーズを捕捉する、項目７９または８０に記載の組成物。
（項目８４）
前記官能化されたバンドが、細胞を捕捉する、項目７９から８３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８５）
前記官能化されたバンドが、少なくとも１個の細胞を捕捉する、項目７９から８３のい

ずれか一項に記載の組成物。
（項目８６）
前記官能化されたバンドが、多くとも１個の細胞を捕捉する、項目７９から８３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８７）
前記官能化されたバンドが、１個のビーズおよび１個の細胞を捕捉する、項目７９から８６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８８）
前記官能化されたバンドが、多くとも１個のビーズおよび多くとも１個の細胞を捕捉する、項目７９から８６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目８９）
前記複数のチャンバーの少なくとも１個のチャンバーが、第２のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを防止する、１つまたは複数の寸法を有する、項目７９から８８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９０）
前記複数のチャンバーの各チャンバーが、第２のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを防止する、１つまたは複数の寸法を有する、項目７９から８８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９１）
前記チャンバーの前記１つまたは複数の寸法が、第１のビーズのいずれかの寸法よりも大きく、これにより、該第１のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを可能にする、項目８９または９０に記載の組成物。
（項目９２）
前記チャンバーの前記１つまたは複数の寸法が、前記第１のビーズのいずれかの寸法と前記第２のビーズのいずれかの寸法との和よりも小さく、これにより、該第２のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを防止する、項目９１に記載の組成物。
（項目９３）
前記チャンバーの前記１つまたは複数の寸法が、直径であり、該直径が、５０μｍまたは約５０μｍである、項目８９から９２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９４）
前記第１のビーズが、終点を含めて３０～４０μｍの間の直径を有し、これにより、該第１のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを可能にする、項目９３に記載の組成物。
（項目９５）
前記第１のビーズの直径と前記第２のビーズの直径との和が、６０～８０μｍの間であり、これにより、該第２のビーズが該チャンバーに進入することまたは前記官能化されたバンドと接触することを防止する、項目９４に記載の組成物。
（項目９６）
前記官能化されたバンドが、１０μｍまたは約１０μｍの幅を有する、項目７９から９５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９７）
前記官能化されたバンドを含む前記チャンバーが、
該チャンバーの少なくとも１個の表面をコーティング組成物と接触させて、少なくとも１個のコーティングされた表面を生成するステップと、
該チャンバーの該少なくとも１個のコーティングされた表面を不動態化して、少なくとも１個の不動態化された表面を生成するステップと、
該少なくとも１個の不動態化された表面の部分を、パターンを含むフォトマスクで覆って、少なくとも１個のマスクされた表面を生成するステップと、
該少なくとも１個のマスクされた表面をＵＶ光に曝露するステップと、

前記チャンバーの該少なくとも１個のマスクされた表面に捕捉抗体組成物を沈着させて、少なくとも１個の官能化された表面を生成するステップと、
ビーズ組成物を該チャンバーへと接触させるステップであって、該少なくとも１個の官能化された表面が、該ビーズを捕捉する、ステップと、
細胞溶解組成物を該チャンバーに導入するステップと、
細胞を該チャンバーに導入するステップと
を含む方法に従って調製される、項目７９から９６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目９８）
前記官能化されたバンドを含む前記チャンバーが、
該チャンバーから前記ビーズを除去するステップ
をさらに含む方法に従って調製される、項目９７に記載の組成物。
（項目９９）
前記官能化されたバンドを含む前記チャンバーが、
該チャンバー内にストレプトアビジン組成物を沈着させるステップであって、
該ストレプトアビジン組成物が、前記捕捉抗体組成物を沈着させた後に該チャンバー内に沈着し、
該ストレプトアビジン組成物が、該ビーズを該チャンバーに導入する前に該チャンバー内に沈着する、ステップをさらに含む方法に従って調製される、
項目９７または９８に記載の組成物。
（項目１００）
前記コーティング組成物が、ＰＶＡ－ＳｂＱ組成物を含む、項目７９から９９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０１）
前記抗体組成物が、捕捉抗体を含む、項目７９から１００のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０２）
前記抗体組成物の沈着に先立ち、少なくとも１個のマスクされた表面が、
該少なくとも１個のマスクされた表面をリンカー組成物と接触させるステップ
を含む方法に従って調製される、項目７９から１０１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０３）
前記リンカー組成物が、伸長構成成分を含む、項目１０２に記載の組成物。
（項目１０４）
前記伸長構成成分が、ＡＰＴＥＳ組成物を含む、項目１０３に記載の組成物。
（項目１０５）
前記リンカー組成物が、官能化構成成分を含む、項目１０２から１０４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０６）
前記官能化構成成分が、プロテインＧ組成物を含む、項目１０５に記載の組成物。
（項目１０７）
前記官能化されたバンドを含む前記チャンバーが、
該チャンバーの少なくとも１個の表面を不動態化するステップと、
該少なくとも１個の不動態化された表面の部分を、パターンを含むフォトマスクで覆って、少なくとも１個のマスクされた表面を生成するステップと、
該少なくとも１個のマスクされた表面をＵＶ光に曝露するステップと、
該チャンバー内に捕捉抗体組成物を沈着させるステップと、
細胞を該チャンバーに導入するステップと
を含む方法に従って調製される、項目７９から１０６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１０８）
前記不動態化するステップが、
前記チャンバーの前記少なくとも１個の表面および酸素プラズマを接触させて、少なく

とも１個の官能化された表面を生成するステップと、
該少なくとも１個の官能化された表面を前処理組成物と接触させて、前処理された表面を生成するステップと、
少なくとも１個の該前処理された表面をビオチン組成物と接触させるステップと
を含む、項目１０６に記載の組成物。
（項目１０９）
前記前処理組成物が、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル）－Ｎ’－エチルカルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシスルホスクシンイミドナトリウム塩（Ｓｕｌｆｏ－ＮＨＳ）を含む、項目１０８に記載の組成物。
（項目１１０）
前記前処理組成物が、０．０５Ｍ　ＭＥＳおよび０．５Ｍ　ＮａＣｌを含むバッファーをさらに含む、項目１０９に記載の組成物。
（項目１１１）
前記ビオチン組成物が、ＰＬＬ（２０）－ｇ［３．５］－ＰＥＧ（２）：ポリ－Ｌ－リシン－ｇ－ポリ（エチレングリコール）－ビオチン（ＰＬＬ－ｇ－ＰＥＧ－ビオチン）を含む、項目１０８から１１０のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１２）
前記ビオチン組成物が、ＨＥＰＥＳバッファーをさらに含む、項目１１１に記載の組成物。
（項目１１３）
前記前処理組成物が、１１．５ｍｇ／ｍｌのＮ－（３－ジメチルアミノプロピル）－Ｎ’－エチルカルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）、１９．２ｍｇ／ｍｌのＮ－ヒドロキシスルホスクシンイミドナトリウム塩（Ｓｕｌｆｏ－ＮＨＳ）、ならびに０．０５Ｍ　ＭＥＳおよび０．５Ｍ　ＮａＣｌバッファーを含むバッファーを含む、項目１０８から１１２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１４）
前記ビオチン組成物が、０．５ｍｇ／ｍｌのＰＬＬ（２０）－ｇ［３．５］－ＰＥＧ（２）：ポリ－Ｌ－リシン－ｇ－ポリ（エチレングリコール）－ビオチン（ＰＬＬ－ｇ－ＰＥＧ－ビオチン）および１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳバッファーを含む、項目１０８から１１３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１５）
前記不動態化するステップが、
前記チャンバーの前記少なくとも１個の表面および酸素プラズマを接触させて、少なくとも１個の官能化された表面を生成するステップと、
該少なくとも１個の官能化された表面を前処理組成物と１５分間接触させて、前処理された表面を生成するステップと、
少なくとも１個の該前処理された表面をビオチン組成物と少なくとも３時間接触させるステップと
を含む、項目１０８から１１４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１６）
前記ビーズが、ビオチン化オリゴヌクレオチドを含む組成物を含む、項目７９から１１５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１７）
細胞組成物が、ＲＮＡｓｅ阻害剤溶液を含む、項目７９から１１５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１８）
前記ビーズ組成物が、ビーズおよびバーコードをコードする核酸配列を含み、該バーコードが、バーコードをコードする配列およびバーコードハンドルをコードする配列を含む、項目８１から１１７のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１１９）

前記バーコードをコードする前記核酸配列が、ＰＣＲハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列のうち１つまたは複数をさらに含む、項目１１８に記載の組成物。
（項目１２０）
前記バーコードをコードする前記核酸配列が、ＰＣＲハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をさらに含む、項目１１８に記載の組成物。
（項目１２１）
前記バーコードをコードする前記核酸配列が、５’から３’へと、ＰＣＲハンドルをコードする配列、バーコードをコードする配列、バーコードハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列を含む、項目１１８に記載の組成物。
（項目１２２）
ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする前記配列が、ポリグアニン（ポリＧ）配列を含む、項目１１８から１２１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２３）
ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする前記配列が、ポリグアニン（ポリＧ）配列からなる、項目１１８から１２１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２４）
ビーズ組成物の各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１１８から１２３のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２５）
各チャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１１８から１２４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２６）
前記複数のチャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１１８から１２５のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２７）
前記バーコードをコードする前記配列が、１２ヌクレオチドを含む、項目１１８から１２６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２８）
前記バーコードをコードする前記配列が、１２ヌクレオチドからなる、項目１１８から１２６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１２９）
前記バーコードをコードする前記配列が、少なくとも１個の修飾されたヌクレオチドを含む、項目１１８から１２８のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１３０）
前記修飾されたヌクレオチドが、標識を含む、項目１２９に記載の組成物。
（項目１３１）
前記標識が、フルオロフォアまたは発色団を含む、項目１３０に記載の組成物。
（項目１３２）
前記標識が、蛍光標識である、項目１３０に記載の組成物。
（項目１３３）
前記バーコードをコードする前記配列の各ヌクレオチドが、標識を含む、項目１２８から１３２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１３４）
各アデニンが第１の標識を含み、各シトシンが第２の標識を含み、各グアニンが第３の

標識を含み、各チミンが第４の標識を含む、項目１３３に記載の組成物。
（項目１３５）
前記第１の標識、前記第２の標識、前記第３の標識および前記第４の標識が、別個の標識である、項目１３４に記載の組成物。
（項目１３６）
前記第１の標識、前記第２の標識、前記第３の標識および前記第４の標識が、スペクトルにより識別可能な蛍光標識である、項目１３５に記載の組成物。
（項目１３７）
鋳型スイッチングオリゴ（ＴＳＯ）をさらに含む、項目１１８から１３６のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１３８）
前記ＴＳＯが、前記ＵＭＩをコードする配列に相補的な配列、前記ＴＳＯハンドルをコードする配列に相補的な配列、ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をコードする配列に相補的な配列、および細胞内標的ＲＮＡに相補的な配列を含む、項目１３７に記載の組成物。
（項目１３９）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ｍＲＮＡである、項目１３７に記載の組成物。
（項目１４０）
前記ＴＳＯのＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をコードする配列に相補的な配列が、前記バーコードをコードする前記核酸のＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列にハイブリダイズする、項目１３７から１３９のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４１）
細胞内標的ＲＮＡをさらに含む、項目１３７から１４０に記載の組成物。
（項目１４２）
前記細胞内標的ＲＮＡが、前記ＴＳＯとハイブリダイズする、項目１３７から１４１のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４３）
フォワードプライマーおよびリバースプライマーをさらに含み、該フォワードプライマーが、前記ＰＣＲハンドルをコードする配列に相補的な配列を含み、該第２のプライマーが、前記細胞内標的ＲＮＡの配列に相補的な配列を含む、項目１３７から１４２のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４３）
前記リバースプライマーが、プライマー特異的識別配列をさらに含む、項目１４３に記載の組成物。
（項目１４４）
前記細胞内標的ＲＮＡが、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の構成成分をコードする、項目１３７から１４４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４５）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのα鎖（ＴＣＲα）をコードする、項目１４４に記載の組成物。
（項目１４６）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのβ鎖（ＴＣＲβ）をコードする、項目１４４に記載の組成物。
（項目１４７）
前記細胞内標的ＲＮＡが、天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡをコードする、項目１３７から１４４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１４８）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、合成配列、修飾配列、組換え配列またはキメラ配列を含む、項目１４７に記載の組成物。

（項目１４９）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、該配列の野生型バージョンと比較して変異を含む、項目１４７または１４８に記載の組成物。
（項目１５０）
前記変異が、置換、挿入、欠失、逆位または転位を含む、項目１４９に記載の組成物。
（項目１５１）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、ＴＣＲの構成成分をコードする、項目１４７から１５０のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１５２）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのα鎖（ＴＣＲα）をコードする、項目１５１に記載の組成物。
（項目１５３）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのβ鎖（ＴＣＲβ）をコードする、項目１５１に記載の組成物。
（項目１５４）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、融合タンパク質をコードする、項目１４７から１５０のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１５５）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする、項目１４７から１５０または１５４のいずれか一項に記載の組成物。
（項目１５６）
前記ＣＡＲが、修飾された細胞から放出される、項目１５５に記載の組成物。
（項目１５７）
前記修飾された細胞が、修飾されたＴ細胞である、項目１５６に記載の組成物。
（項目１５８）
単一細胞の１種または複数種の細胞内標的のマルチプレックス解析のための方法であって、
基材の複数のチャンバーの各チャンバー内で、細胞溶解を引き起こして細胞溶解物を生成するのに十分な条件下で、生体試料および項目１から１５７のいずれか一項に記載の組成物を接触させるステップであって、該複数のチャンバーの各チャンバーが、該生体試料の単一細胞を含み、該生体試料が、複数の細胞および流体を含み、該複数のチャンバーの各チャンバー内で、該生体試料が、表面と流体連絡している、ステップと、
複数の捕捉剤の少なくとも１つの捕捉剤を少なくとも１種の細胞内標的に特異的に結合させて捕捉剤：標的複合体を生成させるのに十分な時間、該複数のチャンバーの各チャンバー内で該細胞溶解物をインキュベートするステップと、
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種または複数種の細胞内標的を同定するステップと
を含む方法。
（項目１５９）
前記単一細胞が、健康な細胞である、項目１５８に記載の方法。
（項目１６０）
前記単一細胞が、腫瘍細胞である、項目１５８に記載の方法。
（項目１６１）
前記単一細胞が、悪性細胞である、項目１５８または１６０に記載の方法。
（項目１６２）
前記単一細胞が、神経細胞である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６３）
前記単一細胞が、グリア細胞である、項目１５８から１６２のいずれか一項に記載の方法。

（項目１６４）
前記単一細胞が、免疫細胞である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６５）
前記単一細胞が、Ｔリンパ球またはＢリンパ球である、項目１６４に記載の方法。
（項目１６６）
前記単一細胞が、細菌である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６７）
前記単一細胞が、古細菌である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６８）
前記単一細胞が、酵母細胞である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６９）
前記単一細胞が、藻類である、項目１５８から１６１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７０）
前記単一細胞が、遺伝子改変されている、項目１５８、１５９、１６２、１６３または１６６から１６９に記載の方法。
（項目１７１）
前記生体試料が、被験体から得られる、項目１５８から１７０のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７２）
前記生体試料が、血液、脳脊髄液（ＣＳＦ）、リンパ液、胸水、尿または唾液を含む、項目１７１に記載の方法。
（項目１７３）
前記生体試料が、細胞培養培地を含む、項目１７１または１７２に記載の方法。
（項目１７４）
前記生体試料が、組織試料または組織生検を含む、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７５）
前記被験体が、健康である、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７６）
前記被験体が、がんを有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７７）
前記被験体が、感染を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７８）
前記被験体が、自己免疫性障害を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７９）
前記被験体が、炎症性障害を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８０）
前記被験体が、神経学的障害を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８１）
前記被験体が、代謝性障害を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８２）
前記被験体が、変性障害を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８３）

前記被験体が、疾患または障害に関連する遺伝的変異またはエピジェネティック修飾を有する、項目１７１から１７３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８４）
前記可視化するステップが、
前記少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を、該捕捉剤に結合する標識された二次抗体と接触させるステップと、
前記標識された二次抗体を検出するステップと
を含む、項目１５８から１８３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８５）
前記標識された二次抗体が、蛍光標識、金標識または銀標識を含む、項目１８４に記載の方法。
（項目１８６）
前記可視化するステップが、
第１の捕捉剤：標的複合体を、該第１の捕捉剤に結合する第１の標識された二次抗体と接触させるステップと、
第２の捕捉剤：標的複合体を、該第２の捕捉剤に結合する第２の標識された二次抗体と接触させるステップと、
該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体を検出するステップであって、該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体がそれぞれ別個の標識を含む、ステップと
を含む、項目１８４または１８５に記載の方法。
（項目１８７）
前記少なくとも１種の細胞内標的を定量するステップをさらに含む、項目１８４から１８６のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８８）
前記定量するステップが、前記標識された二次抗体の強度および／または密度を測定するステップを含む、項目１８７に記載の方法。
（項目１８９）
前記細胞内標的が、リンタンパク質である、項目１８７または１８８に記載の方法。
（項目１９０）
単一細胞の１種または複数種の細胞内標的のマルチプレックス解析のための方法であって、
基材の複数のチャンバーの各チャンバー内で、細胞溶解を引き起こして細胞溶解物を生成するのに十分な条件下で、生体試料および項目７９から１５７のいずれか一項に記載の組成物を接触させるステップであって、該複数のチャンバーの各チャンバーが、該生体試料の単一細胞を含み、該生体試料が、複数の細胞および流体を含み、該複数のチャンバーの各チャンバー内で、該生体試料が、ビーズと流体連絡しており、該ビーズが、少なくとも１種の細胞内標的に特異的に結合して、捕捉剤：標的複合体を生成するための複数の捕捉剤を含む、ステップと、
該複数の捕捉剤の少なくとも１つの捕捉剤を少なくとも１種の細胞内標的に特異的に結合させて捕捉剤：標的複合体を生成させるのに十分な時間、該複数のチャンバーの各チャンバー内で該細胞溶解物をインキュベートするステップと、
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化し、または該少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種もしくは複数種の細胞内標的を同定するステップと
を含む方法。
（項目１９１）
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化し、該少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種または複数種の細胞内標的を同定するステップを含む、項目１９０に記載の方法。

（項目１９２）
少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を可視化し、または該少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種もしくは複数種の細胞内標的を同定するステップを含む、項目１９０に記載の方法。
（項目１９３）
前記少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種または複数種の細胞内標的を同定するステップを含む、項目１９０に記載の方法。
（項目１９４）
前記少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体の標的を配列決定して、マルチプレックス解析において単一細胞の１種または複数種の細胞内標的を同定するステップを含む、項目１９０または１９２に記載の方法。
（項目１９５）
前記ビーズ組成物が、ビーズおよびバーコードをコードする核酸配列を含み、該バーコードが、バーコードをコードする配列およびバーコードハンドルをコードする配列を含み、前記方法が、ｃＤＮＡバーコード配列を合成することにより、該バーコードを配列決定するステップを含む、項目１９０に記載の方法。
（項目１９６）
前記バーコードを合成するステップが、ハイブリダイゼーションおよびｃＤＮＡ合成に十分な条件下で、前記バーコードハンドルをコードする前記配列、該バーコードハンドルをコードする該配列の部分に相補的な配列を含むプライマー、およびポリメラーゼを接触させるステップを含み、該接触させるステップが、ｃＤＮＡバーコード配列を生成する、項目１９５に記載の方法。
（項目１９７）
前記配列決定するステップが、前記チャンバー内で実行される、項目１９５または１９６に記載の方法。
（項目１９８）
前記バーコードをコードする前記核酸配列が、ＰＣＲハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列のうち１つまたは複数をさらに含む、項目１９５から１９７のいずれか一項に記載の方法。
（項目１９９）
前記バーコードをコードする核酸配列が、ＰＣＲハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をさらに含む、項目１９５から１９７のいずれか一項に記載の方法。
（項目２００）
前記バーコードをコードする核酸配列が、５’から３’へと、ＰＣＲハンドルをコードする配列、バーコードをコードする配列、バーコードハンドルをコードする配列、固有分子識別子（ＵＭＩ）をコードする配列、鋳型スイッチングオリゴヌクレオチド（ＴＳＯ）ハンドルをコードする配列、およびＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列を含む、項目１９５から１９７のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０１）
ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする前記配列が、ポリグアニン（ポリＧ）配列を含む、項目１９５から２００のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０２）
ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする前記配列が、ポリグアニン（ポリＧ）配列からなる、項目１９５から２００のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０３）

ビーズ組成物の各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１９５から２００のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０４）
各チャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１９５から２００のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０５）
前記複数のチャンバーの各ビーズが、固有のバーコードを含む、項目１９５から２００のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０６）
前記バーコードをコードする前記配列が、１２ヌクレオチドを含む、項目１９５から２０５のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０７）
前記バーコードをコードする前記配列が、１２ヌクレオチドからなる、項目１９５から２０５のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０８）
ハイブリダイゼーションおよびｃＤＮＡ合成に十分な前記条件が、複数のデオキシヌクレオチド（ｄＮＴＰ）を含む、項目１９５から２０７のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０９）
前記複数のデオキシヌクレオチド（ｄＮＴＰ）の少なくとも１つのｄＮＴＰが、修飾を含む、項目２０８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１０）
前記複数のデオキシヌクレオチド（ｄＮＴＰ）の各ｄＮＴＰが、修飾を含む、項目２０８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１１）
前記修飾が、標識を含む、項目２１０に記載の方法。
（項目２１２）
前記標識が、フルオロフォアまたは発色団を含む、項目２１１に記載の方法。
（項目２１３）
前記標識が、蛍光標識である、項目２１１に記載の方法。
（項目２１４）
各アデニンが第１の標識を含み、各シトシンが第２の標識を含み、各グアニンが第３の標識を含み、各チミンが第４の標識を含む、項目２１０から２１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１５）
前記第１の標識、前記第２の標識、前記第３の標識および前記第４の標識が、別個の標識である、項目２１４に記載の方法。
（項目２１６）
前記第１の標識、前記第２の標識、前記第３の標識および前記第４の標識が、スペクトルにより識別可能な蛍光標識である、項目２１５に記載の方法。
（項目２１７）
項目１９５から２１７のいずれか一項に記載の方法に従って生成されるｃＤＮＡバーコード配列。
（項目２１８）
項目２１７に記載のｃＤＮＡバーコード配列を含む組成物。
（項目２１９）
前記ビーズの前記バーコードをコードする前記核酸の部分へとＴＳＯをハイブリダイゼーションして、核酸／ＴＳＯ二重鎖を生成するのに十分な条件下で、該バーコードをコードする該核酸配列および該ＴＳＯを接触させるステップをさらに含む、項目１９５から２１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２２０）

前記ＴＳＯが、前記ＵＭＩをコードする配列に相補的な配列、前記ＴＳＯハンドルをコードする配列に相補的な配列、ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列をコードする配列に相補的な配列、および細胞内標的ＲＮＡに相補的な配列を含む、項目２１９に記載の方法。

（項目２２１）

前記細胞内標的ＲＮＡが、ｍＲＮＡである、項目２２０に記載の方法。

（項目２２２）

前記ＴＳＯのＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列に相補的な配列が、前記バーコードをコードする前記核酸のＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列にハイブリダイズする、項目２１９から２２１のいずれか一項に記載の方法。

（項目２２３）

ＴＳＯが、細胞内標的ＲＮＡとハイブリダイズして、核酸：ＴＳＯ：細胞内標的ＲＮＡ三重鎖を形成する、項目２１９から２２２のいずれか一項に記載の方法。

（項目２２４）

ハイブリダイゼーションおよび増幅に十分な条件下で、前記核酸：ＴＳＯ：細胞内標的ＲＮＡ三重鎖、フォワードプライマー、リバースプライマーおよびポリメラーゼを接触させて、増幅産物を生成するステップをさらに含み、該フォワードプライマーが、前記バーコードをコードする前記核酸の前記ＰＣＲハンドルをコードする配列に相補的な配列を含み、該第２のプライマーが、該細胞内標的ＲＮＡの配列に相補的な配列を含む、項目２２３に記載の方法。

（項目２２５）

前記増幅産物が、前記バーコードをコードする配列、前記バーコードハンドルをコードする配列、ＵＭＩをコードする配列、前記ＴＳＯハンドルをコードする配列、ＴＳＯハイブリダイゼーション部位をコードする配列、および前記細胞内標的ＲＮＡをコードする配列を含む、項目２２４に記載の方法。

（項目２２６）

ハイブリダイゼーションおよび増幅に十分な条件下で、前記増幅産物を、第２のフォワードプライマー、第２のリバースプライマーおよびポリメラーゼと接触させて、第１の配列決定産物を生成するステップをさらに含み、該第２のフォワードプライマーが、該増幅産物の前記ＰＣＲハンドルをコードする配列に相補的な配列を含み、該第２のリバースプライマーが、該増幅産物の前記細胞内標的ＲＮＡの配列に相補的な配列を含む、項目２２４または２２５に記載の方法。

（項目２２７）

前記第２のリバースプライマーが、プライマー特異的識別配列をさらに含む、項目２２６に記載の方法。

（項目２２８）

前記細胞内標的ＲＮＡが、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の構成成分をコードする、項目２２０から２２８のいずれか一項に記載の方法。

（項目２２９）

前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのα鎖（ＴＣＲα）をコードする、項目２２８に記載の方法。

（項目２３０）

前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのβ鎖（ＴＣＲβ）をコードする、項目２２８に記載の方法。

（項目２３１）

前記細胞内標的ＲＮＡが、天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡをコードする、項目２２０から２３０のいずれか一項に記載の方法。

（項目２３２）

前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、合成配列、修飾配列、組換え配列またはキメラ配列を含む、項目２３１に記載の方法。

（項目２３３）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、該配列の野生型バージョンと比較して変異を含む、項目２３１または２３２に記載の方法。
（項目２３４）
前記変異が、置換、挿入、欠失、逆位または転位を含む、項目２３３に記載の方法。
（項目２３５）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、ＴＣＲの構成成分をコードする、項目２３１から２３４のいずれか一項に記載の方法。
（項目２３６）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのα鎖（ＴＣＲα）をコードする、項目２３５に記載の方法。
（項目２３７）
前記細胞内標的ＲＮＡが、ＴＣＲのβ鎖（ＴＣＲβ）をコードする、項目２３５に記載の方法。
（項目２３８）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、融合タンパク質をコードする、項目２３１から２３７のいずれか一項に記載の方法。
（項目２３９）
前記天然に存在しないＲＮＡまたはｍＲＮＡが、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする、項目２３１から２３４または２３８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２４０）
前記ＣＡＲが、修飾された細胞から放出される、項目２３９に記載の方法。
（項目２４１）
前記修飾された細胞が、修飾されたＴ細胞である、項目２４０に記載の方法。
（項目２４２）
前記可視化するステップが、
前記少なくとも１種の捕捉剤：標的複合体を、該捕捉剤に結合する標識された二次抗体と接触させるステップと、
前記標識された二次抗体を検出するステップと
を含む、項目１５８または１５９に記載の方法。
（項目２４３）
前記標識された二次抗体が、蛍光標識、金標識または銀標識を含む、項目２４２に記載の方法。
（項目２４４）
前記可視化するステップが、
第１の捕捉剤：標的複合体を、該第１の捕捉剤に結合する第１の標識された二次抗体と接触させるステップと、
第２の捕捉剤：標的複合体を、該第２の捕捉剤に結合する第２の標識された二次抗体と接触させるステップと、
該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体を検出するステップであって、該第１の標識された二次抗体および該第２の標識された二次抗体がそれぞれ別個の標識を含む、ステップと
を含む、項目２４２または２４３に記載の方法。
（項目２４５）
前記少なくとも１種の細胞内標的を定量するステップをさらに含む、項目１５８から２４４のいずれか一項に記載の方法。
（項目２４６）
前記定量するステップが、前記標識された二次抗体の強度および／または密度を測定するステップを含む、項目２４５に記載の方法。
（項目２４７）

前記定量するステップが、所定のラウンド数の増幅後に、転写物の存在量を測定するステップを含む、項目２４５に記載の方法。

（項目２４８）

前記増幅が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応を含む、項目２４７に記載の方法。