

【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】平成30年5月31日(2018.5.31)

【公表番号】特表2017-515469(P2017-515469A)

【公表日】平成29年6月15日(2017.6.15)

【年通号数】公開・登録公報2017-022

【出願番号】特願2016-564093(P2016-564093)

【国際特許分類】

C 1 2 N 11/04 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 11/04 Z N A

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 Q 1/00 C

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年4月16日(2018.4.16)

【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】

複数の粒子を提供し；

第一オリゴヌクレオチドを、粒子の少なくとも約 90 % がそれに共有結合した第一オリゴヌクレオチド 1 個のみを有するように複数の粒子に結合し、ここで、第一オリゴヌクレオチドは、少なくとも 10 の一意的な第一オリゴヌクレオチドのプールから取られるものであり；そして

第二オリゴヌクレオチドを、第一オリゴヌクレオチドの少なくとも約 90 % がそれに共有結合した第二オリゴヌクレオチド 1 個のみを有するように第一オリゴヌクレオチドに結合することを含み、ここで、第二オリゴヌクレオチドは、少なくとも 10 の一意的な第二オリゴヌクレオチドのプールから取られるものである、

方法。

【請求項 2】

複数の少なくとも 10,000 の微小流体液滴内に複数の細胞および複数の粒子を封入し、少なくとも 10,000 の液滴の複数の液滴が複数の液滴の他の液滴に含まれるオリゴヌクレオチドタグと区別可能な 1 以上のオリゴヌクレオチドタグを含むように、粒子の少なくともいくつかはそれに共有結合したオリゴヌクレオチドタグを含み；

細胞から核酸を遊離させるために液滴内で少なくともいくつかの細胞を溶解させ；そして遊離核酸と液滴の少なくともいくつか内のオリゴヌクレオチドタグを結合させる

ことを含む、方法。

【請求項 3】

複数の細胞を、微小流体液滴の少なくとも約 90 % が 1 細胞を含むかまたは細胞を含ま

ないように複数の微小流体液滴に封入することを含む、請求項 1 ~ 2 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかが少ないとも 2 バーコード配列を含み、少なくとも 2 バーコード配列が異なるバーコード配列のプールから選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

さらにオリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかを粒子から遊離することを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかを粒子から光の適用により遊離することを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

複数の少なくとも 10,000 の微小流体液滴を含み、液滴の少なくともいくつかは核酸フラグメントを含む細胞溶解物を含むものであり、ここで、液滴内の複数の核酸フラグメントがオリゴヌクレオチドタグに結合し、液滴内のオリゴヌクレオチドタグが複数の 10,000 微小流体液滴の他の液滴内のオリゴヌクレオチドタグと区別可能である、物品。

【請求項 8】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかが開裂可能リンカーを含む、請求項 7 に記載の物品。

【請求項 9】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかが少ないとも一つのバーコード配列を含む、請求項 7 ~ 8 のいずれかに記載の物品。

【請求項 10】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかがプライマー配列を含む、請求項 7 ~ 9 のいずれかに記載の物品。

【請求項 11】

オリゴヌクレオチドタグの少なくともいくつかが開裂可能リンカーを含む、請求項 7 ~ 10 のいずれかに記載の物品。

【請求項 12】

細胞を含む複数の少なくとも 10,000 の微小流体液滴を提供し、複数の液滴の少なくとも約 90% は 1 細胞を含むかまたは細胞を含まず；

細胞から核酸を遊離させるための複数の微小流体液滴内で細胞を溶解させ；そして

遊離核酸とオリゴヌクレオチドタグを結合させることを含み、ここで、液滴の少なくとも約 90% について、液滴内のオリゴヌクレオチドタグは、複数の液滴の他の液滴内のオリゴヌクレオチドタグと区別可能である、方法。

【請求項 13】

複数の少なくとも 10,000 の微小流体液滴を含み、細胞溶解物を含む液滴の少なくともいくつかを含み、ここで、複数の 10,000 の微小流体液滴の少なくとも約 90% は一粒子のみを含み、粒子はそれに共有結合したオリゴヌクレオチドを含み、液滴内のオリゴヌクレオチドが複数の 10,000 の微小流体液滴の他の液滴内のオリゴヌクレオチドから区別可能である、物品。

【請求項 14】

細胞およびヒドロゲル粒子を液滴内に封入し、ヒドロゲル粒子はそれに結合したバーコード化核酸を有し；

細胞から核酸を遊離させるために液滴内で細胞を溶解し；そして

遊離核酸とバーコード化核酸を酵素的に反応させることを含む、方法。

【請求項 15】

オリゴヌクレオチドを複数の粒子に結合し；
第一バーコードの所定のプールから選択された第一バーコードを用いてオリゴヌクレオチドを酵素的に伸長し；そして
第二バーコードの所定のプールから選択された第二バーコードを用いてオリゴヌクレオチドを酵素的に伸長させる
ことを含む、方法。