

【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11月22日 (2018.11.22)

【公表番号】特表2017-537609(P2017-537609A)

【公表日】平成29年12月21日 (2017.12.21)

【年通号数】公開・登録公報2017-049

【出願番号】特願2017-519306(P2017-519306)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 4 0 B 30/04 (2006.01)

C 4 0 B 40/06 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z

C 4 0 B 30/04

C 4 0 B 40/06

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月9日 (2018.10.9)

【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】

大規模並列核酸シーケンシングで使用するための組成物であって、

a) 複数のライブラリーインサートを含む核酸のライブラリーであって、前記ライブラリーの各核酸が、(i) 4 つ以上のサンプルのうちの 1 つから得られる少なくとも 1 つのライブラリーインサート、(ii) 第 1 の非ネイティブ核酸、及び (iii) 第 2 の非ネイティブ核酸を含み、前記第 1 の非ネイティブ核酸及び前記第 2 の非ネイティブ核酸が前記少なくとも 1 つのライブラリーインサートの反対側に位置し、及び前記第 1 の非ネイティブ核酸が第 1 の識別可能な核酸バーコードを含み、且つ前記第 2 の非ネイティブ核酸が第 2 の識別可能な核酸バーコードを含み、前記第 1 及び第 2 の識別可能な核酸バーコードが前記 4 つ以上のサンプルのうちの前記 1 つにユニークである、核酸のライブラリー；及び

b) 4 つの U ブロック核酸であって、(i) 第 1 及び第 2 の U ブロック核酸が、前記第 1 の識別可能な核酸バーコードの反対側の前記第 1 の非ネイティブ核酸とハイブリダイズするように立体配置されており、且つ (ii) 第 3 及び第 4 の U ブロック核酸が、前記第 2 の識別可能な核酸バーコードの反対側の前記第 2 の非ネイティブ核酸とハイブリダイズするように立体配置されており、且つ (iii) 前記 U ブロック核酸の各々が、前記第 1 又は第 2 の識別可能な核酸バーコードの部分と実質的にハイブリダイズしない、4 つの U ブロック核酸

を含む、組成物。

【請求項 2】

前記核酸のライブラリーが少なくとも 8 つの識別可能な核酸バーコードを含み、任意選択で前記少なくとも 8 つの識別可能な核酸バーコードの各々が前記ライブラリーの異なる核酸に存在する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記第 1 及び第 2 の U ブロック核酸が前記第 1 の非ネイティブ核酸の部分と実質的に相補的であり、且つ前記第 3 及び第 4 の U ブロック核酸が前記第 2 の非ネイティブ核酸の部分と実質的に相補的である、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

4 つ以下の U ブロック核酸を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

1 つ又は複数のキャプチャー核酸を含み、

( i ) 前記キャプチャー核酸が結合ペアのメンバーを含み；及び

( ii ) 前記キャプチャー核酸の各々が、前記ライブラリーの核酸のサブセットと特異的にハイブリダイズするように立体配置されている、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記核酸のライブラリーが 10 以上の識別可能な核酸バーコードを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記第 1 及び第 2 の非ネイティブ核酸がアダプター核酸を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記 4 つの U ブロック核酸の各々が 10 ~ 40 ヌクレオチドの長さを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記 4 つの U ブロック核酸の各々がロックド核酸を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 4 つの U ブロック核酸の各々が架橋核酸を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記 4 つの U ブロック核酸の各々が少なくとも 65 の融解温度を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記 4 つの U ブロック核酸が識別可能な核酸バーコードと実質的にハイブリダイズしないことを特徴とする、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記 4 つの U ブロック核酸が鎖ターミネータを含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

核酸ライブラリーを解析する方法であって、

a ) 複数のライブラリーインサートを含む核酸のライブラリーを得るステップであって、前記ライブラリーの各核酸が、( i ) 4 つ以上のサンプルのうちの 1 つから得られる少なくとも 1 つのライブラリーインサート、( ii ) 第 1 の非ネイティブ核酸、及び( iii ) 第 2 の非ネイティブ核酸を含み、前記第 1 の非ネイティブ核酸及び前記第 2 の非ネイティブ核酸が前記少なくとも 1 つのライブラリーインサートの反対側に位置し、及び前記第 1 の非ネイティブ核酸が第 1 の識別可能な核酸バーコードを含み、且つ前記第 2 の非ネイティブ核酸が第 2 の識別可能な核酸バーコードを含み、前記第 1 及び第 2 の識別可能な核酸バーコードが前記 4 つ以上のサンプルのうちの前記 1 つにユニークである、ステップ；

b ) 前記核酸のライブラリーを 4 つの U ブロック核酸と接触させるステップであって、( i ) 第 1 及び第 2 の U ブロック核酸が、前記第 1 の識別可能な核酸バーコードの反対側の前記第 1 の非ネイティブ核酸とハイブリダイズするように立体配置されており、且つ( ii ) 第 3 及び第 4 の U ブロック核酸が、前記第 2 の識別可能な核酸バーコードの反対側の前記第 2 の非ネイティブ核酸とハイブリダイズするように立体配置されており、且つ( iii )

i) 前記 U ブロック核酸の各々が、前記第 1 又は第 2 の識別可能な核酸バーコードの部分と実質的にハイブリダイズしない、ステップ；及び

c) 前記核酸のライブラリーを、各々が結合ペアの第 1 のメンバーを含む 1 つ又は複数のキャプチャー核酸と接触させるステップであって、前記 1 つ又は複数のキャプチャー核酸が、前記ライブラリーの前記核酸のサブセットと特異的にハイブリダイズするように立体配置されている、ステップ；

d) 前記キャプチャー核酸をキャプチャーし、それにより、前記ライブラリーの核酸の前記サブセットを含むキャプチャーされた核酸を取得するステップ；

e) 前記キャプチャーされた核酸を増幅条件下でプライマーのセットと接触させ、それにより、アンプリコンを取得するステップ；及び

f) 前記アンプリコンを解析するステップを含む、方法。

【請求項 15】

前記核酸のライブラリーが 10 以上の識別可能な核酸バーコードを含み、

前記 4 つの U ブロック核酸の各々が 10 ~ 40 ヌクレオチドの長さを含み、

前記 4 つの U ブロック核酸の各々がロッド核酸または架橋核酸を含み、かつ

前記 4 つの U ブロック核酸の各々が少なくとも 65 の融解温度を含む、請求項 14 に記載の方法。