

【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7年6月24日(2025.6.24)

【公開番号】特開2023-1092(P2023-1092A)

【公開日】令和5年1月4日(2023.1.4)

【年通号数】公開公報(特許)2023-001

【出願番号】特願2022-98035(P2022-98035)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/6874(2018.01)

10

C 12 Q 1/6806(2018.01)

C 12 Q 1/6816(2018.01)

C 12 Q 1/6837(2018.01)

C 12 Q 1/6844(2018.01)

C 07 K 16/00(2006.01)

C 12 N 15/115(2010.01)

C 12 N 15/12(2006.01)

C 07 K 17/00(2006.01)

C 12 N 15/29(2006.01)

【F I】

20

C 12 Q 1/6874 Z

C 12 Q 1/6806 Z

C 12 Q 1/6816 Z

C 12 Q 1/6837 Z

C 12 Q 1/6844 Z

C 07 K 16/00

C 12 N 15/115 Z

C 12 N 15/12

C 07 K 17/00

C 12 N 15/29

30

【手続補正書】

【提出日】令和7年6月16日(2025.6.16)

【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】

40

少なくとも1つのm-RNA鎖を含む試料中の標的配列の空間位置および配列情報を取得するための方法であって、

a. 少なくとも1つのm-RNA鎖に結合可能な複数のスペーサー単位と少なくとも1つの参照マーカーとを有する表面を提供する工程

b. 前記表面に少なくとも1つのm-RNA鎖を含む試料を供給する工程であって、前記試料の少なくとも1つのm-RNA鎖が少なくとも1つのスペーサー単位に結合して少なくとも1つの一本鎖オリゴマーを生成する工程

c. 前記参照マーカーを基準として前記試料の空間情報を取得するために、前記表面の第1の画像を撮影する工程

d. 表面から試料を除去する工程

50

e . 5 ' 末端および 3 ' 末端を有する 50 ~ 1000 個の核酸を含む少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドを前記一本鎖オリゴマーの相補的部分とハイブリダイズさせることによりパドロック型構造を形成し、これをライゲーションして一本鎖の環状錆型を生成する工程

f . ローリングサークル増幅が可能なポリメラーゼによって、前記一本鎖の環状錆型を複数の DNA コンカテマーに増幅することにより、ロロニーを形成する工程

g . 前記ロロニーの配列情報を取得する工程

h . 前記試料の空間情報と前記ロロニーの配列情報をとを関連付ける工程を含む、方法。

【請求項 2】

前記スペーサー単位が、抗体、抗体の F(ab) 断片、一本鎖 Fv (scFv) 断片、二価一本鎖抗体もしくはダイアボディ、またはアブタマーからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 記載の方法。 10

【請求項 3】

前記スペーサー単位が、少なくとも 5 つのチミン (pory-T) 単一分子を含むオリゴヌクレオチドからなる群から選択され、前記少なくとも 1 つのスペーサー単位への前記一本鎖オリゴマー結合が、c-DNA 鎖に逆転写され、前記 mRNA 鎖は変性によって除去されることを特徴とする、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドを前記少なくとも 1 つの一本鎖オリゴマーの相補的部分とハイブリダイズさせ、前記オリゴヌクレオチドの 5 ' 末端と 3 ' 末端との間にギャップを有するパドロック単位を作成し、前記パドロック単位の前記ギャップを標的配列と相補的な核酸で埋め、それらをライゲーションして前記一本鎖の環状錆型を生成することを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。 20

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドを前記少なくとも 1 つの一本鎖オリゴマーの相補的部分とハイブリダイズさせ、前記オリゴヌクレオチドの 5 ' 末端と 3 ' 末端とをライゲーションして前記一本鎖の環状錆型を生成し、前記少なくとも 1 つの一本鎖オリゴマーの前記相補的部分が標的配列を規定することを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。 30

【請求項 6】

前記スペーサー単位が基板上にランダムに分布していることを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

前記試料が前記表面に供給された後に浸透処理されることを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

工程 (d) において、前記試料が酵素的または化学的に表面から除去されることを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

前記オリゴヌクレオチドが、ローリングサークル増幅が可能な前記ポリメラーゼに対して少なくとも 1 つのプライマー配列を含むことを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。 40

【請求項 10】

前記オリゴヌクレオチドが、プライマーオリゴヌクレオチドのライゲーションによるローリングサークル増幅が可能な前記ポリメラーゼに対して少なくとも 1 つのプライマー配列を備えることを特徴とする、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

前記試料の空間位置と前記配列決定されたロロニーの空間位置とを前記参照マーカーの位置を基準として重ね合わせることを特徴とする、請求項 1 記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2】

前記試料を前記表面に供給した後、前記試料を染色して、前記参照マークを基準とした空間位置を取得することを特徴とする、請求項 1 から 3までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 3】

配列決定情報を sequencing by synthesis 法によって取得することを特徴とする、請求項 1 から 3までのいずれか 1 項記載の方法。

10

20

30

40

50