

【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 1 2 Q 1/6874(2018.01)

C 1 2 Q 1/6806(2018.01)

C 1 2 Q 1/6816(2018.01)

C 1 2 Q 1/6837(2018.01)

C 1 2 Q 1/6844(2018.01)

C 0 7 K 16/00(2006.01)

C 1 2 N 15/115(2010.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 0 7 K 17/00(2006.01)

C 1 2 N 15/29(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 Q 1/6874 Z

C 1 2 Q 1/6806 Z

C 1 2 Q 1/6816 Z

C 1 2 Q 1/6837 Z

C 1 2 Q 1/6844 Z

C 0 7 K 16/00

C 1 2 N 15/115 Z

C 1 2 N 15/12

C 0 7 K 17/00

C 1 2 N 15/29

20

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 - R N A 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 - R N A 鎖に結合可能な複数のスペーサ単位と少なくとも 1 つの参照マーカ-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 - R N A 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 - R N A 鎖が少なくとも 1 つのスペーサ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-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鑄型を生成する工程

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、前記一本鎖の環状鑄型を複数のDNAコンカテマーに増幅することにより、口口ニーを形成する工程

g. 前記口口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口口ニーの配列情報とを関連付ける工程を含む、方法。

【請求項2】

前記スペーサ単位が、抗体、抗体のFab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、またはアプ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。

【請求項3】

前記スペーサ単位が、少なくとも5つのチミン(poly-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鑄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。

【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鑄型を生成し、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。

【請求項6】

前記スペーサ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。

【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口口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、前記参照マーカ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