

【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 17 年 10 月 6 日 (2005.10.6)

【公表番号】特表 2001-512310(P2001-512310A)

【公表日】平成 13 年 8 月 21 日 (2001.8.21)

【出願番号】特願 平 10-535082

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 1/20

C 1 2 N 1/21

// (C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:19)

(C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:22)

(C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:42)

(C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:38)

(C 1 2 N 1/21

C 1 2 R 1:19)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/20 A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:19

C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:22

C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:42

C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:38

C 1 2 N 1/21

C 1 2 R 1:19

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 2 月 7 日 (2005.2.7)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】

手続補正書

平成17年2月7日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第535082号



2. 補正をする者

住所 アメリカ合衆国 メリーランド 20850, ロックビル,
メディカル センター ドライブ 9800
名称 ライフ テクノロジーズ, インコーポレイテッド

3. 代理人

住所 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号
クリスタルタワー15階
氏名 (7828) 弁理士 山本 秀策
電話 (大阪) 06-6949-3910



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおり補正します。



方 査



請求の範囲

1. 形質転換に対してコンピテントである原核生物細胞を生成するための方法であって、該方法は以下の工程：
 - (a) 該細胞を増殖促進培地中で増殖させる工程；
 - (b) 該細胞をコンピテントにする工程；および
 - (c) 該コンピテント細胞を凍結乾燥する工程、を包含する、方法。
2. 前記細胞が約10℃から約42℃で増殖される、請求項1に記載の方法。
3. 前記細胞が約12℃から37℃で増殖される、請求項1に記載の方法。
4. 前記細胞が約15℃から約32℃で増殖される、請求項1に記載の方法。
5. 前記細胞が約20℃から約25℃で増殖される、請求項1に記載の方法。
6. 前記細胞が約23℃で増殖される、請求項1に記載の方法。
7. 前記細胞がグラム陰性原核生物細胞である、請求項1に記載の方法。
8. 前記細胞が、Escherichia、Klebsiella、Salmonella、およびPseudomonasからなる群より選択される、請求項7に記載の方法。
9. 前記細胞がEscherichia細胞である、請求項8に記載の方法。
10. 前記細胞がE.coli細胞である、請求項9に記載の方法。

1 1. 請求項 1 0 に記載の方法であって、前記E.coli細胞が、DH5、DH5 α 、DH10、DH10B、HB101、RR1、JV30、DH11S、DM1、DH10B/p3、DH5 α MCR、DH5 α 5'IQ、DH5 α 5'、SCS1、Stab2、DH12S、DH5 α -E、DH10BAC、XL1-Blue MRF、XL2-Blue MRF、XL1-Blue MR、SURE株、SURE 2株、XL1-Blue、XL2-Blue、AG1、JM101、JM109、JM 110/SCS110、NM522、TOPP株、ABLE株、XL1-Red、BL21株、TK B1株、およびその誘導体からなる群より選択される、方法。

1 2. 請求項 1 に記載の方法であって、前記凍結乾燥する工程が、以下の工程：

(a) 前記細胞を凍結する工程；および

(b) 該凍結細胞を実質的に乾燥するのに十分な条件下で、該細胞を減圧に供する工程、

を包含する、方法。

1 3. 前記細胞をコンピテントにする前記工程が、該細胞をコンピテント化緩衝液中に懸濁する工程を包含する、請求項 1 に記載の方法。

1 4. 前記コンピテント化緩衝液がCCMB80緩衝液である、請求項 1 3 に記載の方法。

1 5. 前記方法が、前記凍結乾燥する工程の前に、前記細胞を凍結防止剤と混合する工程をさらに包含する、請求項 1 に記載の方法。

1 6. 前記凍結防止剤が炭水化物またはその誘導体である、請求項 1 5 に記載の方法。

1 7. 前記炭水化物が、トレハロース、スクロース、ソルビトール、グルコース、およびアカシアからなる群より選択される、請求項 1 6 に記載の方法。

18. 前記炭水化物がトレハロース、スクロース、またはその混合物である、請求項16に記載の方法。

19. 前記凍結乾燥細胞が、ほぼ室温から約-180℃の温度で保存される、請求項1に記載の方法。

20. 前記凍結乾燥細胞が、約4℃から約-80℃で保存される、請求項1に記載の方法。

21. 前記凍結乾燥細胞が、約-20℃から約-80℃で保存される、請求項1に記載の方法。

22. 前記凍結乾燥細胞が、約-20℃で保存される、請求項1に記載の方法。

23. 前記凍結乾燥細胞が、DNA 1 μ gあたり、少なくとも約 1×10^6 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項1に記載の方法。

24. 前記凍結乾燥細胞の形質転換効率が保存後に実質的に保持される、請求項1に記載の方法。

25. 前記保存が0日から約450日である、請求項24に記載の方法。

26. 前記保存が約240日から約365日である、請求項24に記載の方法。

27. 前記保存が約365日から約450日である、請求項24に記載の方法。

28. 請求項1、12、または15のいずれか1項に記載の方法により生成されたコンピテント細胞。

29. 前記コンピテント細胞がEscherichia細胞である、請求項28に記載のコンピテント細胞。

30. 前記細胞がE.coli細胞である、請求項28に記載のコンピテント細胞。

31. 凍結乾燥コンピテント細胞を形質転換するための方法であって、該方法が以下の工程：

(a) 請求項1、12、または15のいずれか1項に記載の方法により生成された凍結乾燥コンピテント細胞を得る工程；

(b) 該細胞をDNA分子と混合する工程；および

(c) 該混合物を、該細胞を該DNA分子で形質転換するのに十分な条件下でインキュベートする工程、
を包含する、方法。

32. 前記細胞がEscherichia細胞である、請求項31に記載の方法。

33. 前記細胞がE.coli細胞である、請求項32に記載の方法。

34. 前記DNA分子がベクターである、請求項31に記載の方法。

35. 前記混合する工程の前に、前記凍結乾燥細胞をコンピテント化緩衝液中で再水和する工程をさらに包含する、請求項31に記載の方法。

36. 前記混合する工程が、前記凍結乾燥細胞をコンピテント化緩衝液および前記DNA分子と混合する工程を包含する、請求項31に記載の方法。

37. 所望のタンパク質を生成する方法であって、該方法は以下の工程：

(a) 請求項1、12、または15のいずれか1項に記載の方法により生成された凍結乾燥コンピテント細胞を得る工程；

(b) 該細胞を、該所望のタンパク質を発現し得るDNA分子で形質転換する工程；および

(c) 該形質転換細胞を、該所望のタンパク質を生成するのに十分な条件下で培養する工程、
を包含する、方法。

3 8. 前記細胞がEscherichia細胞である、請求項 3 7 に記載の方法。

3 9. 前記細胞がE. coli細胞である、請求項 3 8 に記載の方法。

4 0. 前記DNA分子がベクターである、請求項 3 7 に記載の方法。

4 1. 前記形質転換する工程が、前記細胞をコンピテント化緩衝液および前記DNA分子と混合する工程を包含する、請求項 3 7 に記載の方法。

4 2. コンピテント凍結乾燥原核生物細胞。

4 3. 前記細胞がグラム陰性原核生物細胞である、請求項 4 2 に記載のコンピテント細胞。

4 4. 前記細胞が、Escherichia種、Klebsiella種、Salmonella種、およびPseudomonas種からなる群より選択される、請求項 4 3 に記載のコンピテント細胞。

4 5. 前記細胞が、Escherichia細胞である、請求項 4 4 に記載のコンピテント細胞。

4 6. 前記細胞がE. coli細胞である、請求項 4 5 に記載のコンピテント細胞。

47. 前記E. coli細胞が、DH5、DH5 α 、DH10、DH10B、HB101、RR1、JV30、DH11S、DM1、DH10B/p3、DH5 α MCR、DH5 α 5'IQ、DH5 α 5'、SCS1、Stab2、DH12S、DH5 α -E、DH10BAC、XL1-Blue MRF、XL2-Blue MRF、XL1-Blue MR、SURE株、SURE 2株、XL-1Blue、XL-2Blue、AG1、JM101、JM109、JM110/SCS110、NM522、TOPP株、ABLE株、XL1-Red、BL21株、TK B1株、およびそれらの誘導体からなる群より選択される、請求項46に記載のコンピテント細胞。

48. 前記細胞が、DNA 1マイクログラムあたり少なくとも 1×10^5 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項42に記載のコンピテント細胞。

49. 前記細胞が、DNA 1マイクログラムあたり少なくとも 1×10^6 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項48に記載のコンピテント細胞。

50. 前記細胞が、DNA 1マイクログラムあたり少なくとも 1×10^7 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項49に記載のコンピテント細胞。

51. 前記細胞が、DNA 1マイクログラムあたり少なくとも 1×10^8 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項50に記載のコンピテント細胞。

52. 前記細胞が、DNA 1マイクログラムあたり少なくとも 1×10^9 形質転換体の形質転換効率を有する、請求項51に記載のコンピテント細胞。

53. 前記細胞は、0～450日間、 -20°C で保存された後、 1×10^7 細胞/mlよりも高い生存細胞数を有する、請求項42に記載のコンピテント細胞。

54. 前記細胞は、0～450日間、 -20°C で保存された後、 1×10^8 細胞/mlよりも高い生存細胞数を有する、請求項53に記載のコンピテント細胞。

55. 前記細胞は、0～450日間、－20℃で保存された後、 1×10^9 細胞／mlよりも高い生存細胞数を有する、請求項54に記載のコンピテント細胞。

56. 前記細胞は、少なくとも1年間、－20℃で保存された後、凍結乾燥直後の該細胞の形質転換効率の40～100%の形質転換効率を有する、請求項42に記載のコンピテント細胞。

57. 前記細胞は、少なくとも1年間、－20℃で保存された後、凍結乾燥直後の該細胞の形質転換効率の60～100%の形質転換効率を有する、請求項56に記載のコンピテント細胞。

58. 前記細胞は、少なくとも1年間、－20℃で保存された後、凍結乾燥直後の該細胞の形質転換効率の70～100%の形質転換効率を有する、請求項57に記載のコンピテント細胞。

59. 前記細胞は、少なくとも1年間、－20℃で保存された後、凍結乾燥直後の該細胞の形質転換効率の80～100%の形質転換効率を有する、請求項58に記載のコンピテント細胞。