【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25年2月28日(2013.2.28)

【公表番号】特表2011-521644(P2011-521644A)
【公表日】平成23年7月28日(2011.7.28)
【年通号数】公開・登録公報2011-030
【出願番号】特願2011-511655(P2011-511655)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/48　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/26　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　7/06　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　7/08　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/02　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｑ　1/48　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/26
Ｃ０７Ｋ　7/06
Ｃ０７Ｋ　7/08

【手続補正書】
【提出日】平成25年1月7日(2013.1.7)
【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】
複数のマイクロウェルを含むマイクロデバイスを提供する段階であって、該複数のマイクロウェル内のマイクロウェルが、該マイクロウェルが溶液中で細胞を空間的に分離するように、平均してマイクロウェルあたり1個の単一細胞を含む、段階；
マイクロウェル内の細胞が溶液中の関心対象の生体分子を分泌するようにマイクロデバイスを維持する段階；
光学シグナル基質をマイクロウェル内に導入することを含む溶液中の接触工程を行う段階であって、該光学シグナル基質の光学シグナルが関心対象の分泌生体分子の表現型または活性を示す、段階；および
表示光学シグナルが検出されるようにマイクロウェルを撮像し、それにより、単一細胞を同定する段階であって、該単一細胞の関心対象の分泌生体分子が、示された表現型または活性を示す、段階
を含む、スクリーニングを行う方法。
【請求項２】
前記細胞が、関心対象の生体分子の変種を分泌する、請求項1記載の方法。
【請求項３】
前記関心対象の分泌生体分子が、ペプチド、ポリペプチド、プロテアーゼ、オキシドレダクターゼ、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、リガーゼ、酵素、抗体、サイトカイン、ケモカイン、核酸、代謝物、小分子、および合成分子からなる群より選択される、請求項1記載の方法。
【請求項４】

前記関心対象の分泌生体分子が酵素である、請求項1記載の方法。
【請求項５】
前記酵素および光学シグナル基質が、いかなるタイプの固相支持体にも付着されていない、請求項4記載の方法。
【請求項６】
前記関心対象の分泌生体分子の表現型または活性が、表示光学シグナルの経時的な変化を検出することによって評価される、請求項1記載の方法。
【請求項７】
前記光学シグナルが蛍光シグナルである、請求項1記載の方法。
【請求項８】
前記関心対象の分泌生体分子の表現型または活性が、蛍光シグナルの強度の変化を検出することによって、マイクロウェル内でリアルタイムでまたはニアリアルタイム（near-real-time）でモニターされる、請求項7記載の方法。
【請求項９】
前記接触工程が、競合アッセイとして、光学シグナル基質と追加の光学シグナル基質をマイクロウェル内に導入することを含む、請求項1記載の方法。
【請求項１０】
前記2つの光学シグナル基質が、2つの光学シグナル基質の特異性または選択性を直接モニターできるように異なる蛍光体によって修飾される、請求項9記載の方法。
【請求項１１】
前記関心対象の分泌生体分子の表現型または活性が、1つまたは複数のパラメータに基づいて評価される、請求項1記載の方法。
【請求項１２】
前記パラメータが、触媒速度、反応の特異性、反応速度効率、および基質結合親和性からなる群より選択される、請求項11記載の方法。
【請求項１３】
前記パラメータが並行して評価される、請求項12記載の方法。
【請求項１４】
剛性の基質でマイクロデバイスを密封する段階をさらに含む、請求項1記載の方法。
【請求項１５】
前記関心対象の分泌生体分子の分子量が、約600 Daより大きくかつ約100,000 Da未満である、請求項1記載の方法。
【請求項１６】
前記細胞が真核細胞である、請求項1記載の方法。
【請求項１７】
前記真核細胞が酵母細胞である、請求項16記載の方法。
【請求項１８】
前記マイクロウェルが、直径約10μm～100μmの間である、請求項1記載の方法。
【請求項１９】
前記細胞が、ガラスキャピラリーによるマイクロマニピュレーションによって単離される、請求項1記載の方法。
【請求項２０】
前記関心対象の分泌生体分子をランダムに変異誘発する段階をさらに含む、請求項19記載の方法。
【請求項２１】
前記関心対象の分泌生体分子をシークエンシングする段階をさらに含む、請求項19記載の方法。
【請求項２２】
前記関心対象の分泌生体分子が、変異体グリコシルトランスフェラーゼ（GTアーゼ）またはグリコシダーゼである、請求項1記載の方法。

【請求項２３】
前記GTアーゼが、複合炭水化物の迅速かつ大規模産生に関して化学合成と競合することができる、請求項22記載の方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１６】
本発明の他の特色および長所は、その好ましい態様の以下の説明から、および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。本明細書において引用される全ての参考文献は、参照により本明細書に組み入れられる。
[本発明1001]
以下の段階を含む、液相生体分子スクリーニングを行う方法：
細胞のライブラリをマイクロデバイスに添加する段階であって、該マイクロデバイスが溶液中で該細胞を空間的に分離させるウェルを含有し、該細胞がウェルあたり約1個で分布して、複数の細胞が該溶液中に少なくとも1つの生体分子の変種を分泌する、段階；
分泌された生体分子変種に、各々が所望の生体分子表現型または活性を示す少なくとも1つの光学シグナル基質を接触させる段階；
多数のパラメータに基づいて細胞によってコードされる生体分子の表現型を評価する段階；および
該マイクロデバイスから所望の生体分子変種を分泌する細胞を単離する段階。
[本発明1002]
表現型が細胞のライブラリにおける1つまたは複数の光学シグナル基質によって生成された1つまたは複数の光学シグナルの経時的な変化を検出することによって評価されて、そのような変化が生体分子の変種の所望の生体分子の表現型または活性を示している、本発明1001の方法。
[本発明1003]
光学シグナルが蛍光シグナルである、本発明1002の方法。
[本発明1004]
生体分子表現型または活性が、蛍光シグナルの強度の変化に基づいてマイクロデバイス内でリアルタイムでまたはニアリアルタイム（near-real-time）でモニターされる、本発明1003の方法。
[本発明1005]
生体分子が、ペプチド、ポリペプチド、プロテアーゼ、オキシドレダクターゼ、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、リガーゼ、酵素、抗体、サイトカイン、ケモカイン、核酸、代謝物、小分子（＜1 kDa）および合成分子からなる群より選択される、本発明1001の方法。
[本発明1006]
生体分子の分子量が約600 Daより大きく、かつ約100,000 Da未満である、本発明1005の方法。
[本発明1007]
パラメータが、触媒速度、反応の特異性、反応速度効率、および基質結合親和性からなる群より選択される、本発明1001の方法。
[本発明1008]
パラメータが並行して評価される、本発明1007の方法。
[本発明1009]
細胞が真核細胞である、本発明1001の方法。
[本発明1010]
真核細胞が酵母細胞である、本発明1009の方法。

[本発明1011]
ウェルが、直径約10～100μｍの間である、本発明1001の方法。
[本発明1012]
細胞がガラスキャピラリーによるマイクロマニピュレーションによって単離される、本発明1001の方法。
[本発明1013]
生体分子にランダムに変異誘発させる段階をさらに含む、本発明1012の方法。
[本発明1014]
生体分子をシークエンシングする段階をさらに含む、本発明1012の方法。
[本発明1015]
生体分子が変異体グリコシルトランスフェラーゼ（GTアーゼ）またはグリコシダーゼである、本発明1001の方法。
[本発明1016]
GTアーゼが複合炭水化物の迅速かつ大規模産生に関して化学合成と競合することができる、本発明1015の方法。