

【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 2 年 4 月 23 日 (2020.4.23)

【公表番号】特表 2019-508059 (P2019-508059A)

【公表日】平成 31 年 3 月 28 日 (2019.3.28)

【年通号数】公開・登録公報 2019-012

【出願番号】特願 2018-548883 (P2018-548883)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/26 (2006.01)

C 0 7 K 14/52 (2006.01)

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 M 1/00 A

C 0 7 K 14/705

C 0 7 K 16/00

C 1 2 M 1/26

C 0 7 K 14/52

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 N 15/13

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 3 月 13 日 (2020.3.13)

【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】

抗体分泌細胞 (A S C) の分泌抗体による細胞外効果を示す、A S C を含む細胞集団を
同定する方法であって、

0. 6 以上の平均アスペクト比 (チャンバーの高さ：最小横寸法) を有する複数のオープンチャンバー内に、それぞれ約 10 ～ 約 100 個の細胞を含む複数の細胞集団を保持するステップであって、前記異なる複数のオープンチャンバーが、それぞれ第 1 の構成要素及び任意選択の第 2 の構成要素を備えるマイクロ流体装置の第 1 の構成要素に存在し、前記第 1 の構成要素が前記任意選択の第 2 の構成要素と共に可逆的なシールを形成し、

前記複数の細胞集団のうちの少なくとも 1 つの個々の細胞集団が、1 つ以上の A S C を含み、

前記複数のオープンチャンバーのうちの前記個々のオープンチャンバー又はそのサブ

セットが、1つ以上の読み出し粒子を含む読み出し粒子集団をさらに含む、ステップ、
前記オープンチャンバーの内容物をインキュベートするステップ、

前記複数のオープンチャンバー又はそのサブセットを細胞外効果の存在についてアッセイするステップであって、前記読み出し粒子集団又はその亜集団が、前記細胞外効果の直接的又は間接的な読み出しを提供する、ステップ、及び

前記アッセイするステップの結果に基づいて、少なくとも1つの個々の細胞集団内の1つ以上の前記ASCが前記細胞外効果を示すか否かを決定するステップを含む、方法。

【請求項2】

前記マイクロ流体装置が、前記第2の構成要素を備える、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記1つ以上のASCが、形質細胞、B細胞、形質芽球、記憶B細胞の増殖によって産生される細胞、ハイブリドーマ細胞、抗体を産生するようにエンジニアリングされた組換え細胞、又はこれらの組み合わせを含む、請求項1 または2に記載の方法。

【請求項4】

前記読み出し粒子集団のうちの1つ以上が、1つ以上の読み出しビーズ、1つ以上の読み出し細胞、又はこれらの組み合わせを含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

前記複数の読み出し粒子集団又はそのサブセットが、その表面にGタンパク質共役受容体（GPCR）又は可溶化GPCRを発現する1つ以上の読み出し細胞を含み、かつ

前記細胞外効果が、GPCRのアンタゴニズム、GPCRのアゴニズム、又は前記1つ以上のASCによって分泌される抗体によるGPCRへの結合である、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記複数の読み出し粒子集団又はそのサブセットが、その表面にイオンチャネルを発現する1つ以上の読み出し細胞を含み、かつ

前記細胞外効果が、前記イオンチャネルのアンタゴニズム、前記イオンチャネルのアゴニズム、又は前記1つ以上のASCによって分泌される抗体による前記イオンチャネルへの結合である、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

前記読み出し粒子集団のうちの1つ以上が、抗原又はエピトープで官能化されている、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記読み出し粒子集団のうちの1つ以上が、抗体結合部分で官能化されている、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

前記抗体結合部分が、プロテインA、プロテインA/G、プロテインG、免疫グロブリンに結合するモノクローナル抗体、免疫グロブリンに結合するモノクローナル抗体断片、免疫グロブリンに結合するポリクローナル抗体、免疫グロブリンに結合するポリクローナル抗体断片、又はこれらの組み合わせである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記複数の細胞集団が、液体カラムによって生成される静水圧によって、ディスペンサーによって、又は前記上部構成要素若しくは前記底部構成要素を上下に動かして流体をマイクロチャンバーに移動させることによって前記オープンチャンバーに充填される、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記複数の読み出し粒子集団又はそのサブセットが、液体カラムによって生成される静水圧によって、ディスペンサーによって、又は前記上部構成要素若しくは前記底部構成要素を上下に動かして流体をマイクロチャンバーに移動させることによって前記オープンチャンバーに充填される、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記細胞外効果が、前記 1 つ以上の A S C 又はそのサブセットによって分泌される 抗体 と前記読み出し粒子集団又はその亜集団との間の結合相互作用である、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記結合相互作用が、抗原－抗体結合特異性相互作用、抗原－抗体結合親和性相互作用、又は抗原－抗体結合動力学相互作用である、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記細胞外効果が、アポトーシスの調節、細胞増殖の調節、読み出し粒子の形態学的外観の変化、読み出し粒子内のタンパク質の局在の変化、読み出し粒子によるタンパク質の発現、アクセサリ粒子の生物活性の中和、前記 A S C によって誘導される読み出し細胞の細胞溶解、前記 A S C によって誘導される前記読み出し細胞の細胞アポトーシス、読み出し細胞の壊死、抗体の内在化、アクセサリ粒子の内在化、前記 A S C による酵素中和、可溶性シグナル伝達分子の中和、又はこれらの組み合わせである、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記細胞集団のうちの 1 つ以上を、前記複数のチャンバーのうちの 1 つ以上のチャンバーにおいて実質的に単一平面で維持するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記読み出し粒子集団のうちの 1 つ以上を、前記 1 つ以上の細胞集団と実質的に同一平面で維持するステップをさらに含む、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記細胞外効果が検出されるチャンバーから細胞集団を回収するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

第 1 の構成要素及び任意選択の第 2 の構成要素を備えるマイクロ流体装置の、0.6 以上の平均アスペクト比（チャンバーの高さ：最小横寸法）を有する複数の異なるオープンチャンバー内において、前記回収された細胞集団に由来する複数の細胞亜集団を保持するステップであって、前記第 1 の構成要素が、前記任意選択の第 2 の構成要素と共に可逆的なシールを形成し、

前記複数のオープンチャンバーは、前記第 1 の構成要素に存在し、

前記複数の細胞亜集団のうちの個々の細胞亜集団が、1 つ以上の抗体分泌細胞（A S C）を含み、かつ前記複数のオープンチャンバーのうちの個々のオープンチャンバー内に保持され、

前記複数のオープンチャンバーのうちの個々のオープンチャンバー又はそのサブセットが、1 つ以上の読み出し粒子を含む読み出し粒子集団をさらに含む、ステップ、

前記チャンバーの内容物をインキュベートするステップ、

前記複数のチャンバー又はそのサブセットを前記細胞外効果の存在についてアッセイするステップであって、前記読み出し粒子集団又はその亜集団が、前記細胞外効果の直接的又は間接的な読み出しを提供する、ステップ、並びに

前記アッセイするステップの結果に基づいて、前記細胞外効果を示す 1 つ以上の A S C を含む複数の細胞亜集団の中から細胞亜集団を同定するステップをさらに含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記複数の細胞亜集団のうちの前記細胞亜集団が平均約 1 ～約 2.5 個の細胞を含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記第 2 の構成要素が存在し、前記第 2 の構成要素がエラストマーである、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記第 2 の構成要素が複数の層を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記第 2 の構成要素がパターン化されていない、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記第 2 の構成要素が、1 つ以上の流路及び 1 つ以上のプッシュダウン弁構造を備える、請求項 2 0 に記載の方法。