

【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24年5月24日(2012.5.24)

【公表番号】特表2011-516064(P2011-516064A)

【公表日】平成23年5月26日(2011.5.26)

【年通号数】公開・登録公報2011-021

【出願番号】特願2011-502993(P2011-502993)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/02 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/02 Z N A

C 12 Q 1/68 A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年4月2日(2012.4.2)

【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】

対象としている分離細胞から產生したタンパク質に関するタンパク質及び核酸の配列情報を得る方法において：

複数の個別ウェルに複数の個別細胞を配置するステップであって、細胞のそれぞれが少なくとも1つの対象としているタンパク質を产生するステップと；

ウェル中の前記少なくとも1つの対象としているタンパク質を、少なくとも1つのタンパク質結合剤を含む第1の表面に接触させるステップであって、前記対象としているタンパク質のうちの少なくとも1つを選択的に結合し、かつ、前記第1の表面が、前記個別ウェルに関連づけられ得る位置特定可能な領域を含むステップと；

前記対象としている少なくとも1つのタンパク質の1以上の特性を決定するステップと；

前記1以上の特性を前記第1の表面の位置特定された特定領域に関連付けることによって、特定の対象とするウェルを識別するステップと；

前記ウェルにおける該細胞を溶解するステップと；

該溶解した細胞由来の核酸を、第2の表面に結合したタグを含むオリゴヌクレオチドプローブとハイブリダイズするステップであって、前記第2の表面が前記個別ウェルに関連づけられ得る領域を含み、各々の領域における前記タグが異なるステップと；

前記核酸を前記第2の表面上の前記領域に特異的な前記タグを含む核酸のコピーに変換するステップと；

タグを付した前記核酸のコピーを貯留するステップと；

前記タグを付した核酸のコピーを配列決定するステップと；

特定のウェルに核酸配列の前記コピーを関連づけるために前記タグを用いるステップと；

を具え、前記対象としているタンパク質の特性と前記核酸配列のコピーを関連づけることを特徴とする方法。

【請求項 2】

複数の個別ウェル中の細胞集団に由来する複数の個別細胞を配置し、前記細胞が少なくとも1つの対象としているタンパク質を产生するステップと；

第1の面に結合した少なくとも1つのタンパク質結合剤を用いて、前記対象としているタンパク質を接触させ、分離するステップと；

前記ウェルにおける該細胞を溶解するステップと；

該溶解した細胞由来の核酸を、第2の表面に結合したタグを含むオリゴヌクレオチドドローブとハイブリダイズするステップであって、前記第2の表面が前記個別ウェルに関連づけられ得る領域を含み、各々の領域における前記タグが異なるステップと；

前記核酸を前記第2の表面上の前記領域に特異的な前記タグを含む核酸のコピーに変換するステップと；

タグを付した前記核酸のコピーを貯留するステップと；

前記タグを付した核酸のコピーを配列決定するステップと；

特定のウェルに核酸配列の前記コピーを関連づけるために前記タグを用いるステップと；

を具え、前記対象としているタンパク質とヌクレオチド配列を関連づけることを特徴とする方法。

【請求項 3】

請求項1又は2に記載の方法において、前記溶解した細胞由来の核酸がmRNAであり、前記核酸のコピーがcDNAであることを特徴とする方法。

【請求項 4】

請求項3に記載の方法が、対象としているタンパク質に対応する1以上のcDNA配列を同定するステップと、前記対象としているタンパク質を产生すべく前記cDNAを手術で組み込むように細胞を遺伝子操作するステップとを更に具えることを特徴とする方法。

【請求項 5】

請求項1又は2に記載の方法において、前記細胞が抗体産生細胞であり、前記対象としているタンパク質が抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 6】

請求項5に記載の方法において、前記抗体産生細胞が单一の生物由来のリンパ球、同一種の複数の生物由来のリンパ球、又は複数種の複数の生物由来のリンパ球からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 7】

請求項1又は2に記載の方法において、前記対象としているタンパク質が酵素であることを特徴とする方法。

【請求項 8】

請求項1又は2に記載の方法において、前記対象としているタンパク質が酵素用の基質であることを特徴とする方法。

【請求項 9】

請求項1又は2に記載の方法において、前記第1の面に結合した前記少なくとも1つのタンパク質結合剤が、タンパクA、タンパクG、タンパクL、タンパクA/G、又は抗IgG Fc サブクラス特異的抗体からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 10】

請求項1又は2に記載の方法において、1,000個以上の個別細胞は、ウェル密度が1cm²当たり100以上となるウェルトレイの、対応する数の個別ウェル内に配置されることを特徴とする方法。

【請求項 11】

請求項1又は2に記載の方法において、10,000個以上の個別細胞が対応する数の個別ウェル内に配置され、前記第1の面及び前記第2の面上には対応する数の位置特定された領域があり、前記ウェルが、1cm²当たり100を超えるマイクロウェルの密度で生成されたマイクロウェルであり、それぞれのマイクロウェルの容積が1ピコリットルな

いし500ナノリットルであることを特徴とする方法。

【請求項12】

請求項1又は2に記載の方法において、前記対象としているタンパク質が抗体であり、前記タグを付した核酸のコピーを配列するステップが、前記抗体の重鎖及び軽鎖のヌクレオチド配列を得るステップを具えることを特徴とする方法。

【請求項13】

請求項12に記載の方法が、前記ヌクレオチド配列を用いて前記対象としている抗体に関するメタデータを生成するステップを更に具えることを特徴とする方法。

【請求項14】

請求項13に記載の方法において、前記メタデータが、前記ヌクレオチド配列に基づいた前記対象としている抗体の結合特性を含むことを特徴とする方法。

【請求項15】

請求項14に記載の方法において、前記メタデータが、前記細胞集団における前記ヌクレオチド配列の出現頻度に基づいた前記細胞集団における対象としている前記抗体の出現頻度を含むことを特徴とする方法。

【請求項16】

請求項1又は2に記載の方法において、当該方法が、該接觸ステップ後に、前記細胞によって產生した更なるタンパク質を結合すべく、タンパク質結合剤を含む第3の面と接觸させるステップを反復するステップを具えることを特徴とする方法。

【請求項17】

請求項1又は2に記載の方法において、2以上の細胞を含むウェルの数を单一細胞を含むウェルの数で除算した比率が1:5未満であることを特徴とする方法。

【請求項18】

請求項1又は2に記載の方法において、該配列決定ステップが超高処理型DNA塩基配列決定技術によって達成されることを特徴とする方法。

【請求項19】

複数のウェルに複数の細胞を配置するステップと；
前記細胞が抗体を產生するような条件下で、前記ウェルにおける前記細胞を存在可能にするステップと；
前記ウェルにおける前記抗体を前記ウェルと関連づけられ得る領域を含む第1の面と接觸させるステップであって、前記第1の表面が抗体結合剤を含むステップと；
前記第1の面にある前記領域に結合した前記抗体を1以上の抗体結合剤と接觸させるステップと；
前記1以上の抗体結合剤の前記第1の面の前記領域にある前記抗体との結合に関連づけられる結合情報を決定するステップと；
前記ウェルにおける前記細胞を溶解するステップと；
該溶解した細胞由來の核酸の核酸のコピーにタグを組み込むステップであって、それぞれのタグが独自に单一のウェルに接觸づけられるステップと；
前記複数のウェル由來の核酸のコピーを貯留するステップと；
該貯留した核酸を超高処理型DNA塩基配列決定技術を用いて配列決定するステップと；
ヌクレオチド配列をウェルに接觸づけるために前記タグを用いるステップと；
を具え、前記抗体由來の結合情報をヌクレオチド配列を接觸づけることを特徴とする方法。
。