

【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 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/02 Z N A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 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産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産生するステップと；

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産生するステップと；

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産生すべく前記 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単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 1 cm^2 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、 1 cm^2 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 5 0 0 ナノリットルであることを特徴とする方法。

【請求項 1 2】

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 1 3】

請求項 1 2 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 1 4】

請求項 1 3 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 1 5】

請求項 1 4 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 1 6】

請求項 1 又は 2 に記載の方法において、当該方法が、該接触ステップ後に、前記細胞によって産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 の面と接触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 1 7】

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単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 1 8】

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 1 9】

複数のウェルに複数の細胞を配置するステップと；
前記細胞が抗体を産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 の面と接触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触させるステップと；
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；
該溶解した細胞由来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単一のウェルに関連づけられるステップと；
前記複数のウェル由来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；
i
ヌクレオチド配列をウェルに関連づけるために前記タグを用いるステップと；
を具え、前記抗体由来の結合情報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