

【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30年2月1日 (2018.2.1)

【公表番号】特表2017-504315(P2017-504315A)
 【公表日】平成29年2月9日 (2017.2.9)
 【年通号数】公開・登録公報2017-006
 【出願番号】特願2016-540965(P2016-540965)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/26 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 1/26

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月18日 (2017.12.18)

【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】

個々の生体細胞から核酸材料を捕捉する方法であって、

個々の生体細胞をマイクロ流体デバイスのチャンネルに対して開口した単離囲い中へ置くステップであって、ここで、前記単離囲いは、

開口であって、前記囲い内の第一液体媒体と、前記チャンネル内の前記開口に流出する第二液体媒体とを拡散によって交換するように構成された前記開口と、

筐体であって、前記単離囲いの内側空間を含み、前記内側空間内の生体細胞または物体と、前記マイクロ流体デバイスのもう一つの単離囲いの内側空間内の生体細胞または物体とが混合することを防ぐように十分に囲む、前記筐体を含む、前記ステップ；

前記単離囲いにおける前記個々の細胞を溶解するステップ；

前記溶解された細胞から前記単離囲いにおける捕捉物体の核酸を捕捉するステップ；および

前記捕捉の後に、前記単離囲いから前記捕捉物体を取り除くステップを含む、前記方法

。

【請求項 2】

置くステップが：

前記マイクロ流体デバイスにおける共有空間における生体細胞の群から前記個々の生体細胞を選択すること；および

前記共有空間から前記マイクロ流体デバイスにおける前記単離囲い中へ前記個々の細胞を移動することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記選択するステップが、前記マイクロ流体デバイスにおける前記生体細胞の群の特定の特徴をテストすることを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記個々の生体細胞が、前記特定の特徴のテストで陽性である前記群における前記生体

細胞の 1 つである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記選択するステップが、前記マイクロ流体デバイスの内側の前記共有空間中へ投影される光パターンによって前記個々の細胞を捕える個々の光ケージを生成することをさらに含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記移動するステップが、前記個々の光ケージを前記共有空間から前記単離囲い中へ移動することをさらに含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記特定の特徴が、前記生体細胞のサイズまたは前記生体細胞の形態を含む、または、前記特定の特徴が、前記生体細胞が特定の材料を含むか、または前記生体細胞が特定の材料を作り出すかどうかを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】

各単離囲いが単一の個々の細胞を包含するように、複数の個々の細胞が対応する複数の単離囲い中へ置かれる、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記溶解するステップが：

溶解試薬を前記単離囲いが位置する前記マイクロ流体デバイスにおけるチャンネルを通して流すこと、

電磁エネルギーのビームを前記個々の細胞に向けること、

前記個々の細胞を電気穿孔すること、

前記個々の細胞を十分に溶解するように前記細胞の温度を変化させること、または

前記個々の細胞を溶解するように前記個々の細胞に十分な音響エネルギーを適用することを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記溶解するステップが、前記個々の細胞の第 1 の内部要素の膜を傷つけることなしに、前記個々の細胞の外側膜を傷つけることを含み、

前記外側の膜を傷つけることで、前記個々の細胞から第 1 の種類の核酸を解放し、および、

前記捕捉物体が、前記第 1 の種類の核酸を捕捉するように構成された第 1 の捕捉物体である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記溶解するステップおよび前記捕捉するステップを以下のように繰り返すことをさらに含む、請求項 10 に記載の方法であって、

前記第 1 の内部要素の前記膜を傷つけることによって、前記単離囲いにおける前記個々の細胞の前記第 1 の内部要素を溶解する、および

前記第 1 の内部要素を溶解することによって解放された第 2 の種類の核酸材料を前記単離囲いにおける第 2 の捕捉物体によって捕捉する、前記方法。

【請求項 12】

前記第 1 の内部要素が、細胞核の 1 つまたは前記細胞の前記 1 つの細胞小器官である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞の前記 1 つを溶解することが、前記細胞の前記 1 つの第 2 の内部要素の膜を傷つけることなしに、前記細胞の前記 1 つの前記外側膜を傷つけることをさらに含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記溶解するステップおよび前記捕捉するステップを以下のように再び繰り返すことをさらに含む、請求項 13 に記載の方法であって、

前記第 2 の内部要素の前記膜を傷つけることによって、前記単離囲いにおける前記個々の細胞の前記第 2 の内部要素を溶解する、

前記第 2 の内部要素を溶解することによって解放された第 3 の種類の核酸材料を前記単離囲いにおける第 3 の捕捉物体として捕捉する、前記方法。

【請求項 1 5】

前記第 1 の内部要素または前記第 2 の内部要素の 1 つが、前記細胞の前記 1 つの細胞核である、および、

前記第 1 の内部要素または前記第 2 の内部要素の別の 1 つが、前記細胞の前記 1 つの細胞小器官である、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記第 1 の種類の核酸材料が、前記第 2 の種類の核酸材料とは異なる種類の核酸材料である、

前記第 2 の種類の核酸材料が、前記第 3 の種類の核酸材料とは異なる種類の核酸材料である、および

前記第 1 の種類の核酸材料が、前記第 3 の種類の核酸材料とは異なる種類の核酸材料である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記溶解するステップが、前記複数の単離囲いにおける前記複数の個々の細胞を溶解することを含み、

前記捕捉するステップが、前記溶解された細胞から前記複数の単離囲いの核酸材料における複数の捕捉物体を捕捉することを含み、および

前記取り除くステップが、前記複数の単離囲いから前記複数の捕捉物体を取り除くことを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記捕捉物体の各々が、前記複数の他の捕捉物体毎から前記各捕捉物体を一意的に識別する識別子を含み、

前記方法が、前記各捕捉物体と、前記捕捉物体によって捕捉された核酸材料に関するデータとの相関関係をメモリデバイスに格納することを含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記データが、前記捕捉物体によって捕捉された前記核酸材料の種類を含む、または、前記相関関係が、前記捕捉物体によって捕捉された前記核酸材料が由来する前記溶解された細胞の 1 つの特徴を含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記単離囲いの開口にブロック物体を実質的に置くことをさらに含み、前記ブロック物体が前記溶解された細胞から核酸材料を捕捉するように構成されている、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記個々の生体細胞が、クローン細胞集団からの細胞である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記置くことが、前記マイクロ流体デバイスにおけるクローン細胞集団から前記単離囲い中へ前記個々の細胞を移動することを含む、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記溶解するステップが、前記単離囲いにおける前記個々の細胞を溶解することを含み、

前記捕捉するステップが、前記溶解された細胞から前記単離囲いにおける核酸材料の 1 または 2 以上の捕捉物体を捕捉することを含み、および

前記取り除くステップが、前記単離囲いから前記 1 または 2 以上の捕捉物体を取り除くことを含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記捕捉物体の各々が、前記捕捉物体の他の 1 つ毎から前記各捕捉物体を一意的に識別する識別子を含み、

前記方法が、前記各捕捉物体の識別子と、前記捕捉物体によって捕捉された核酸材料が由来する前記細胞の前記 1 つからの前記クローン細胞集団の識別との相関関係をメモリデバイスに格納することを含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記溶解することが、前記単離囲いの前記 1 つにおける前記細胞の前記 1 つを第 1 回目に溶解することを含み、

前記方法が、前記単離囲いの第 2 の 1 つにおける前記細胞の第 2 の 1 つを第 2 回目に溶解することをさらに含み、および

前記第 2 回目が、前記第 1 回目の後である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記マイクロ流体デバイス内部の事象のために前記マイクロ流体デバイスを監視することをさらに含み、請求項 2 5 に記載の方法であって、

前記第 1 回目が、前記事象の検出からの第 1 期間であり、および

前記第 2 回目が、前記事象の前記検出からの第 2 期間である、前記方法。

【請求項 2 7】

前記マイクロ流体デバイスにおける生体細胞の群の特定の特徴をテストすることをさらに含み、請求項 2 5 に記載の方法であって、

前記細胞の前記 1 つを、前記特徴の第 1 の 1 つで陽性であるとテストする、および

前記細胞の前記第 2 の 1 つを、前記特徴の第 2 の 1 つで陽性であるとテストする、前記方法。

【請求項 2 8】

マイクロ流体デバイスであって、

電極起動基板であって、前記基板の表面に誘電泳動 (DEP) 電極を含み、前記各電極が選択的に起動および停止されるように構成される、前記電極起動基板；

前記基板の前記表面と共にマイクロ流体チャネルを画定する、マイクロ流体構造；

前記チャネルにおいて配置された複数の単離囲いであって、各単離囲いは前記マイクロ流体デバイスのチャネルに対して開口しており、さらに、各単離囲いは、

開口であって、前記囲い内の第一液体媒体と、前記チャネル内の前記開口に流出する第二液体媒体とを拡散によって交換するように構成された前記開口と、

筐体であって、前記単離囲いの内側空間を含み、前記内側空間内の生体細胞または物体と、前記複数の単離囲いのもう一つの単離囲いの内側空間内の生体細胞または物体とが混合することを防ぐように十分に囲む、前記筐体を含む、前記複数の単離囲い；および

前記単離囲いの 1 つにおいて置かれるように寸法決めされた捕捉物体であって、前記各捕捉物体は、他の種類の核酸材料よりも特定の種類の核酸材料に少なくとも 2 倍の特異性を有する捕捉材料を含む、前記捕捉物体を含む、前記マイクロ流体デバイス。

【請求項 2 9】

前記単離囲いにおける生体細胞を溶解するための溶解手段をさらに含み、請求項 2 8 に記載のデバイス。

【請求項 3 0】

前記電極の起動された 1 つが、前記電極の前記起動された 1 つに隣接する前記チャネルにおける生体細胞を捕えるのに十分な DEP 力を生み出す、請求項 2 8 または 2 9 に記載のデバイス。

【請求項 3 1】

前記電極が、前記基板の前記表面上の仮想電極である、または、

前記各電極が、前記基板の前記表面に固定された電気導電端子を含む、請求項 2 8 ~ 3 0 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 2】

前記各電極が、前記基板の前記表面上に向けられた変化する光のパターンに応じて選択的に起動および停止される、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 3】

前記捕捉物体の各々が、前記捕捉物体の他の１つ毎から前記捕捉物体を一意的に識別する識別子を含む、請求項 2 8 ~ 3 2 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 4】

生体細胞および前記生体細胞から核酸を捕捉するように構成された捕捉物体を含有するように各々が寸法決めされた単離囲いを含む、マイクロ流体デバイスを制御するコントローラであって、

前記流体デバイスにおける生体細胞の個々の１つを選択し、および前記細胞の前記選択された１つを前記単離囲い中へ移動するための、選択／移動手段；

前記単離囲いにおける前記生体細胞の溶解を制御するように構成された制御モジュール；および

前記単離囲いにおける前記複数の捕捉物体の各々の１つと、前記捕捉物体の前記１つによって捕捉された核酸材料が由来する前記単離囲いにおける対応する生体細胞の１つとを相関させる相関記録を生み出すための相関手段を含む、前記コントローラ。

【請求項 3 5】

前記相関記録が、前記捕捉物体の各々の１つと、前記細胞の前記対応する１つが由来する細胞のクローン集団との相関である、請求項 3 4 に記載のコントローラ。

【請求項 3 6】

前記移動／選択手段が、前記デバイスにおける前記生体細胞の任意の所期の１つを選択的に捕える前記デバイにおけるＤＥＰ力を生み出すための誘電泳動（ＤＥＰ）デバイスの一部である、請求項 3 3 または 3 4 のデバイス。

【請求項 3 7】

前記選択／移動手段が、光電ピンセットデバイスを含む、または、

前記選択／移動手段が、ＯＥＷデバイスを含む、請求項 3 3 ~ 3 6 に記載のデバイス。