

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2006 年 4 月 13 日 (13.04.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/038405 A1(51) 国際特許分類:
C12N 5/06 (2006.01) C12M 1/42 (2006.01)
C12N 13/00 (2006.01)

(74) 代理人: 渡辺 喜平 (WATANABE, Kihei); 〒1010041 東京都千代田区神田須田町一丁目 2 6 番 芝信神田ビル 3 階 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/016206

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) 国際出願日: 2005 年 9 月 5 日 (05.09.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-286388 2004 年 9 月 30 日 (30.09.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人 科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小野寺 宏 (ON-ODERA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒9800813 宮城県仙台市青葉区米ヶ袋 1-1-18 Miyagi (JP). 金 哲 (KON, Satoru) [JP/JP]; 〒0200116 岩手県盛岡市箱清水 2-1-3-205 Iwate (JP). 千田 晋 (CHIDA, Susumu) [JP/JP]; 〒0200874 岩手県盛岡市南大通 3-1-2-25 Iwate (JP).

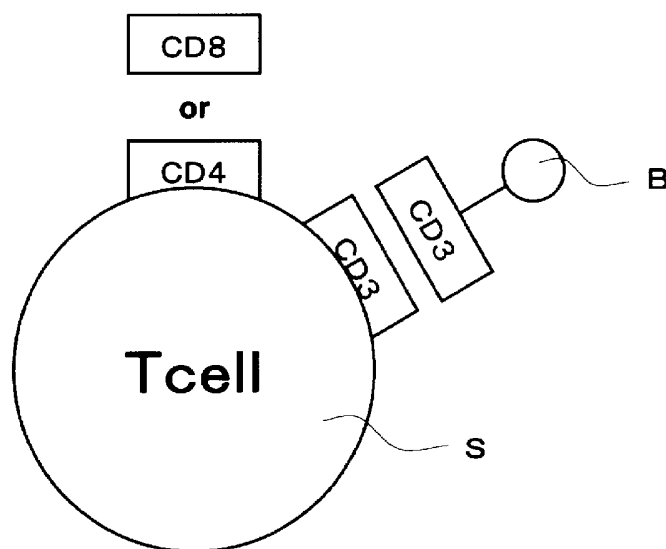
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CELL TREATMENT METHOD AND CELL TREATMENT EQUIPMENT

(54) 発明の名称: 細胞の処理方法及び細胞の処理装置

(57) Abstract: Cell treatment equipment comprises a container for containing a matter to be treated including a cell group formed by bonding magnetic beads having an antibody which can be bonded specifically to the antigen of a specific cell in the cell group where different kinds of cells are mixed, a container holding section (10) for holding the container, and a varying field generating section (20) for applying a sine wave varying field of 1-300 Hz having a field intensity of $0.01 \leq T(\text{tesla}) \leq 1$ to a matter treated in the container held by the container holding section (10). By applying a sine wave varying field to a cell group in the container it is possible to increase the existence rate of the specific cells as compared to other cells.

(57) 要約: 種類の異なる細胞が混在する細胞群のうち特定細胞に該特定細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズを結合させてなる当該細胞群を含む処理物が入れられる容器と、容器を保持する容

器保持部 (10) と、容器保持部 (10) に保持された容器内の処理物に磁場強度 $0.01 \leq T(\text{tesla}) \leq 1$, $1 \sim 300 \text{ Hz}$ の正弦波状の変動磁場を印加する変動磁場発生部 (20) とを備え、容器内の細胞群に正弦波状の変動磁場を印加して、特定細胞の生存比率を該特定細胞以外の非特定細胞の生存比率より増加させて処理する。

WO 2006/038405 A1

明 細 書

細胞の処理方法及び細胞の処理装置

技術分野

- [0001] 本発明は、種類の異なる細胞が混在する細胞群に磁場を印加して細胞を処理する細胞の処理方法及び細胞の処理装置に関する。

背景技術

- [0002] 従来、この種の細胞の処理方法としては、例えば、特許文献1(特開2004-49105号公報)に掲載されたものが知られている。

これは、図7に示すように、種類の異なる細胞が混在する細胞群のうち癌細胞等の標的細胞Saに、この標的細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズBaを結合させ、この細胞群に、シングルパルス及びマルチパルスの少なくともいずれかのパルス磁場を印加し、この標的細胞Saを選択的に死滅させようとするものである。

この死滅の原理は、磁気ビーズBaはパルス磁場の刺激を受けると磁気ビーズBaが瞬時に移動し、標的細胞Saが磁気ビーズBaより表面が強く引っ張られ、物理的に破碎されて死滅すると考えられている。

- [0003] 特許文献1:特開2004-49105号公報

- [0004] ところで、この従来の細胞の処理技術においては、磁気ビーズBaを用いて標的細胞Saを死滅させているが、このような磁気を用いた細胞処理においては、必ずしも標的細胞の死滅を目的とせず、生存させることを目的としたい場合もあり、その場合には、当該方法をでは対応できないという問題があった。

- [0005] 本発明は、上記の問題点に鑑みなされたもので、磁気ビーズを死滅目的ではなく、生存目的に利用できるようにし、磁気ビーズを用いて特定細胞の生存率を向上させて細胞群を磁場処理できるようにする細胞の処理方法及び細胞の処理装置を提供することを目的とする。

発明の開示

- [0006] このような課題を解決するため、本発明の細胞の処理方法は、種類の異なる細胞

が混在する細胞群に磁場を印加して処理する細胞の処理方法において、上記細胞群のうち特定細胞に該特定細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズを結合させ、該細胞群に正弦波状の変動磁場を印加して、上記特定細胞の生存比率を該特定細胞以外の非特定細胞の生存比率より増加させて処理する構成としている。

[0007] 本願発明者らは、変動磁場の条件、特に、正弦波状の変動磁場においては、磁気ビーズを特定細胞に結合させることにより、上記従来のパルス磁場とは逆に、むしろ、磁気ビーズを結合させない細胞に比較して、特定細胞の失活が抑制されることをつきとめた。

そのメカニズムとしては、正弦波状の変動磁場に置かれた細胞においては、イオンを主体とする核内物質が変動磁場中で移動する際に繰り返し磁気力を受けることにより、正規の分裂過程から外れ、細胞分裂が異常終了して細胞が死に至り、あるいは、細胞膜の構造異常の誘導が行なわれ、あるいはまたDNA合成の障害が生じる等の影響が少なからず生じるが、磁気ビーズを結合させた特定細胞においては、正弦波状の磁場の特徴として、急激に磁力線の方向が繰り返し反転することから磁気ビーズの移動が追従しにくくなると考えられ、そのため、磁場の細胞内小器官あるいは細胞骨格タンパクへの直接の磁場の影響を吸収(あるいは緩衝)して細胞への磁場障害効果を軽減するため、これらの傷害が抑制されることに起因すると考えられる。

[0008] この構成により、例えば、分裂の速度が比較的速い癌細胞等の悪性細胞以外の特定細胞に磁気ビーズを結合させ、悪性細胞の非特定細胞には磁気ビーズを結合させないで、正弦波状の変動磁場を印加し、特定細胞の生存率を増加させるようにして、非特定細胞の分裂能を失活させ、死滅あるいは減少を促進させることができるようになり、医療の分野での利用が期待される。

[0009] そして、必要に応じ、上記印加する磁場強度を、 $0.01 \leq T(\text{テスラ}) \leq 1$ としている。望ましくは、 $0.05 \leq T(\text{テスラ}) \leq 0.7$ である。この範囲で、特定細胞の生存比率を有効に増加させることができる。

[0010] また、必要に応じ、上記正弦波状の変動磁場の周波数を、 $1 \sim 300\text{Hz}$ にした構成としている。望ましくは、 $5 \sim 100\text{Hz}$ である。この範囲で、特定細胞の生存比率を有効

に増加させることができる。

[0011] 更に、必要に応じ、上記細胞の温度 t を、 $4^{\circ}\text{C} \leq t \leq 37^{\circ}\text{C}$ とした構成としている。望ましくは、上記細胞の温度 t を、 $25^{\circ}\text{C} \leq t \leq 37^{\circ}\text{C}$ とした。これにより、細胞が、人体の血液などと一緒に処理される場合には、良質細胞に与える影響が低減される。即ち、温度が 4°C より低い、あるいは、 37°C より高いと、特定細胞への影響が大きくなる。

[0012] 更にまた、5min～240min間、磁場を印加する構成としている。この場合、時間が5minより短いと、十分な効果が得られない。一方、時間が240minより長いと、特定細胞への影響が大きくなる。

[0013] そして、必要に応じ、上記非特定細胞の分裂速度を促進する分裂速度促進剤を添加する構成としている。これにより、非特定細胞が活性化(細胞分裂が刺激)され、より強力かつ効果的に非特定細胞の生存率を低下させることができるようになる。

[0014] 上記分裂速度促進剤として、phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (ConA), リンパ球特異的ペプチド, リンパ球特異的モノクローナル抗体, ガラクトシルセラミド, セラミド, ガンクリオシド, ジアシルグリセオール, テトラデカノイル ホルボー ルアセテート (TPA) の少なくとも1つの物質を用いることが有効である。これらの物質は、主に免疫系の細胞を刺激する物質であり、通常は必ずしも悪い作用を持つわけではなく、例えば、リンパ球特異的モノクローナル抗体は白血病の治療薬としても用いられている。

一般に、それぞれの免疫細胞(T細胞やNK細胞)は特定の分子(ペプチド, たんぱく質, 抗体あるいは糖, 脂質)より活性化されるものの他の分子による活性化をほとんど受けない。そのため、異常をきたした特定の免疫細胞(細胞)を活性化させて(分裂増殖刺激を与える)変動磁場を負荷すれば、正常の免疫細胞に障害を与えることなく異常な免疫細胞のみを選択的に、副作用なく取り除くことが可能となる。

[0015] また、上記課題を解決するための本発明の細胞の処理装置は、種類の異なる細胞が混在する細胞群のうち特定細胞に該特定細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズを結合させてなる当該細胞群を含む処理物が入れられる容器と、該容器を保持する容器保持部と、該容器保持部に保持された容器内の処理物に磁場強度 $0.01 \leq T(\text{テスラ}) \leq 1$, $1 \sim 300\text{Hz}$ の正弦波状の変動磁場を印加する変

動磁場発生部とを備えた構成にしている。これにより、細胞に正弦波状の変動磁場を確実に印加することができる。

[0016] そして、必要に応じ、上記変動磁場発生部を、上記容器保持部に保持された容器を挟んで配置され回転させられる一対の回転盤と、該各回転盤に設けられ回転により正弦波状の変動磁場を発生させる永久磁石と、該回転盤を回転駆動するモータとを備えて構成している。装置を比較的簡易で高価にならないようにすることができ、処理も容易で簡素化でき、汎用性の向上が図られる。

[0017] 本発明の細胞の処理方法及び細胞の処理装置によれば、特定細胞の生存比率を非特定細胞の生存比率より増加させて処理できる。そのため、例えば、悪性細胞以外の特定細胞に磁気ビーズを結合させ、悪性細胞の非特定細胞には磁気ビーズを結合させないで、正弦波状の変動磁場を印加し、特定細胞の生存率を増加させるようにして、非特定細胞の分裂能を失活させ、死滅あるいは減少を促進させることができるようになり、輸血用血液の精製など医学分野などへの応用が期待できるようになる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]本発明の実施の形態に係る細胞の処理装置を示す斜視図である。

[図2]本発明の実施の形態に係る細胞の処理装置において容器及び容器保持部の構成を示す斜視図である。

[図3]本発明の実施の形態に係る細胞の処理装置において、変動磁場発生部の回転盤の構成を示し、(a)は図1中A視図、(b)は図1中B視図である。

[図4]特定細胞と磁気ビーズとの関係を示す図である。

[図5]実験例における特定細胞と磁気ビーズとの関係を示す図である。

[図6]正弦波状の磁場印加環境化においてT細胞に与える磁気ビーズの影響を実験した結果を示し、対照群の細胞数を100%として、細胞数の増減を示すグラフ図である。

[図7]従来の死滅を目的とした標的細胞と磁気ビーズとの関係を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

[0019] 以下、添付図面に基づいて本発明の実施の形態に係る細胞の処理方法及び細胞

の処理装置について説明する。

実施の形態に係る細胞の処理方法は、実施の形態に係る細胞の処理装置によって実現されるので、その作用において説明する。この実施の形態に係る処理装置は、例えば、処理物として人体から採取された血液中の細胞を処理できる。細胞としては、白血病等の各種癌細胞、ウイルス感染細胞等の悪性細胞を含んだ細胞等を対象とすることができる。

[0020] 図1乃至図3に示すように、この処理装置Kは、処理する種類の異なる細胞が混在する細胞群を含む処理物を収納する容器1を備えている。容器1としては、例えば、図2に示すように、試験管状の樹脂製本体2に蓋3が樹脂ヒンジ4で一体に設けられたものが用いられる。図4に示すように、細胞群のうち特定細胞Sの抗原には、特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズBが結合させられている。磁気ビーズBとしては、特定細胞に応じて、適宜のものが用いられる。

[0021] 容器1は、樹脂製の容器保持部10に保持される。容器保持部10は、図2に示すように、機台5にネジ手段14(図1)などで着脱可能に固定されるベース11と、ベース11に立設され容器1が嵌合保持される複数の凹部12が所定の円周上に複数(実施の形態では4つ)設けられた保持板13と、保持板13の両面にクリップ15などで着脱可能に付設され凹部12に嵌合された容器1の脱落を阻止する一対の押え板16とを備えて構成されている。保持板13及び押え板16の中央には、後述の変動磁場発生部20の回転軸22が挿通される一端が開放した凹所17が形成されている。

[0022] また、機台5には、変動磁場発生部20が設けられている。変動磁場発生部20は、容器保持部10に保持された容器1内の処理物に磁場強度 $0.01 \leq T(\text{テスラ}) \leq 1$ 、実施の形態では $0.5T$ 、 $1 \sim 300\text{Hz}$ 、実施の形態では 50Hz の正弦波状の変動磁場を印加する。

詳しくは、変動磁場発生部20は、容器保持部10に保持された容器1を挟んで配置され回転させられる一対の回転盤21A、21Bを備えている。回転盤21A、21Bは、1つの回転軸22に支持されている。回転軸22の両端部は、軸受けスタンド23、24に回転可能に支持されている。

[0023] 各回転盤21A、21Bには、図3に示すように、回転により正弦波状の変動磁場を発

生させる永久磁石25が設けられている。具体的には、一方の回転盤21Aの容器保持部10に面する側に、上記凹部12が設けられる円周に対応した円周上に等角度関係で、磁極を交互に異にする永久磁石25が6個設けられている。他方の回転盤21Bの容器保持部10に面する側に、上記凹部12が設けられる円周に対応した円周上に等角度関係で、磁極を交互に異にし、かつ、一方の回転盤21Aの永久磁石25とは1つ位相をずらした位置関係で、永久磁石25が6個設けられている。即ち、保持板13を挟んで、交互に磁極の異なる永久磁石25の組が、6対配置されている。

[0024] 一方の軸受けスタンド24には、回転盤21A, 21Bの回転軸22を回転駆動するモータ26が設けられている。モータ26の回転数は、1000RPMであり、これにより、50 Hzの正弦波状の変動磁場を印加することができる。

[0025] 更に、処理装置Kは、容器1内の温度を一定範囲に保持する恒温槽(図示せず)内に置かれる。恒温槽内の温度は、例えば、 $4^{\circ}\text{C} \leq t \leq 37^{\circ}\text{C}$ の範囲、望ましくは、 $25^{\circ}\text{C} \leq t \leq 37^{\circ}\text{C}$ に保持される。実施の形態では、例えば、 $t = 25^{\circ}\text{C}$ に設定される。

[0026] そして、処理装置Kにより、容器1を容器保持部10に保持し、容器保持部10の保持板13を変動磁場発生部20の回転盤21A, 21B間に位置させ、5min~240min間、正弦波状の変動磁場を印加する。実施の形態では、例えば、120minに設定してある。

[0027] 従って、この実施の形態に係る処理装置Kにより、細胞群を処理するときは、例えば、分裂の速度が比較的速い癌細胞等の悪性細胞以外の特定細胞Sに磁気ビーズBを結合させ、悪性細胞の非特定細胞には磁気ビーズBを結合させないで置く。即ち、図4に示すように、予め、特定細胞Sの抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズBを結合させる。そして細胞群を容器1に入れる。それから、容器1を容器保持部10に保持し、容器保持部10の保持板13を変動磁場発生部20の回転盤21A, 21B間に位置させ、モータ26を作動させて、所定時間変動磁場中に保持する。

[0028] これにより、分裂速度の速い悪性細胞に対して変動磁場が作用すると、細胞群に正弦波状の変動磁場が印加され、悪性細胞の死滅あるいは減少が促進される。即ち、悪性細胞の分裂刺激時には核の分裂を伴う細胞の分化が行なわれるが、イオンを主体とする核内物質が磁場中で移動する際に磁場から磁気力を受け、正規の分裂

過程から外れるようになって、細胞障害が生じ、これにより、分裂能が失活していくのである。そして、悪性細胞は分裂速度が速く、分裂時の磁場刺激の機会が多くなることから、悪性細胞は死滅しあるいは無秩序な分裂増加が妨げられて減少していく。

一方、悪性細胞以外の特定細胞Sにおいては、磁気ビーズBの作用により、特定細胞Sの生存率が増加させられる。即ち、免疫機能変化、細胞障害性などの影響が防止される。

[0029] また、上記の実施の形態においては、必要に応じ、非特定細胞の分裂速度を促進する分裂速度促進剤を添加することが有効である。例えば、免疫系の細胞において、異常をきたした特定の免疫細胞(細胞)があつて、これを除去したい場合に、分裂速度促進剤として、phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (ConA), リンパ球特異的ペプチド, リンパ球特異的モノクローナル抗体, ガラクトシルセラミド, セラミド, ガンクリオシド, ジアシルグリセオール, テトラデカノイル ホルボールアセテート (TPA) の少なくとも1つの物質を用いることが有効である。

[0030] 一般に、それぞれの免疫細胞(T細胞やNK細胞)は特定の分子(ペプチド, たんぱく質, 抗体あるいは糖, 脂質)より活性化されるものの他の分子による活性化をほとんど受けない。そのため、異常をきたした特定の免疫細胞(細胞)を活性化させて(分裂増殖刺激を与える)変動磁場を負荷すれば、正常の免疫細胞に障害を与えることなく異常な免疫細胞のみを選択的に、副作用なく取り除くことが可能となる。従つて、この分裂速度促進剤の添加により、細胞が活性化(細胞分裂が刺激)され、より強力かつ効果的に異常細胞を除去することができるようになる。

[0031] そしてまた、上記の実施の形態においては、非特定細胞を失活させる失活補助剤を添加することが有効である。例えば、癌細胞を除去したい場合に、失活補助剤として、ビタミンA, 甲状腺ホルモン, グルココルチコイド, シクロフォスファミド, アザチオプリン, アドリアマイシン, ブレオマイシン, 代謝拮抗薬, アルキル化薬, 植物アルカロイド(ビンアルカロイド), 細胞骨格障害薬の少なくとも1つの物質を用いることが有効である。これらは、癌の治療に用いられる薬物として知られており、これらの物質の添加により、主に、癌細胞の失活処理を高効率で行なうことができるようになる。即ち、磁場による細胞の失活に加えて、失活補助剤による失活も行なわれるので、効果が

相乗的になり、より一層細胞の除去効率が向上させられる。

[実験例]

[0032] 次に、実験例を示す。

図5に示すように、細胞として、CD8・T細胞と、CD4・T細胞を用いた。磁気ビーズBとして、CD3抗体を結合させたものを用いた。これらの細胞において、磁気ビーズBを結合させたものと、結合させないものを作成し、分裂速度促進剤を添加(PHA投与)して、上記処理装置Kを用い、正弦波状の磁場下での、各細胞の生存比率を比較した。

[0033] 試験条件は、

周波数:50Hz

磁場強度:0.5T

保持温度:t=25℃

磁場印加時間:120minとした。

[0034] 結果を図6に示す。CD4・T細胞においては、磁気ビーズBを結合させないものは、生存率が65%であるのに対し、磁気ビーズBを結合したものは86%となり、生存率の増加が顕著に見られた。

また、CD8・T細胞においては、磁気ビーズBを結合させないものは、生存率が83%であるのに対し、磁気ビーズBを結合したものは91%となり、これにおいても、生存率の増加が見られた。

[0035] このように、磁気ビーズBを結合させると細胞障害が軽減する可能性があることが分かる。即ち、従来、特定の細胞の機能のみを変調させることは困難であったが、特定の細胞を認識する物質(薬物あるいはモノクローナル抗体)を用いて、標的とする細胞を特異的に認識する物質(実験では抗CD3モノクローナル抗体)に磁気ビーズを結合させた複合体を準備して、CD3抗体-磁気ビーズ複合体をヒト末梢血から調製した白血球に結合させる。この場合CD3抗体はTリンパ球(CD4リンパ球及びCD8リンパ球)のみに結合するので、Tリンパ球のみが磁場と磁気ビーズの影響を受ける。そのため、磁場強度(変動磁場)の調節によって、標的とする細胞に対して細胞の保護を図ることが可能になる。強力な変動磁場の下では、Tリンパ球の生存率が低下す

るが、磁気ビーズを結合させたTリンパ球では生存率が向上する。

[0036] 尚、細胞としては、血液以外にどのような細胞でもよく、適宜変更して差支えない。

産業上の利用可能性

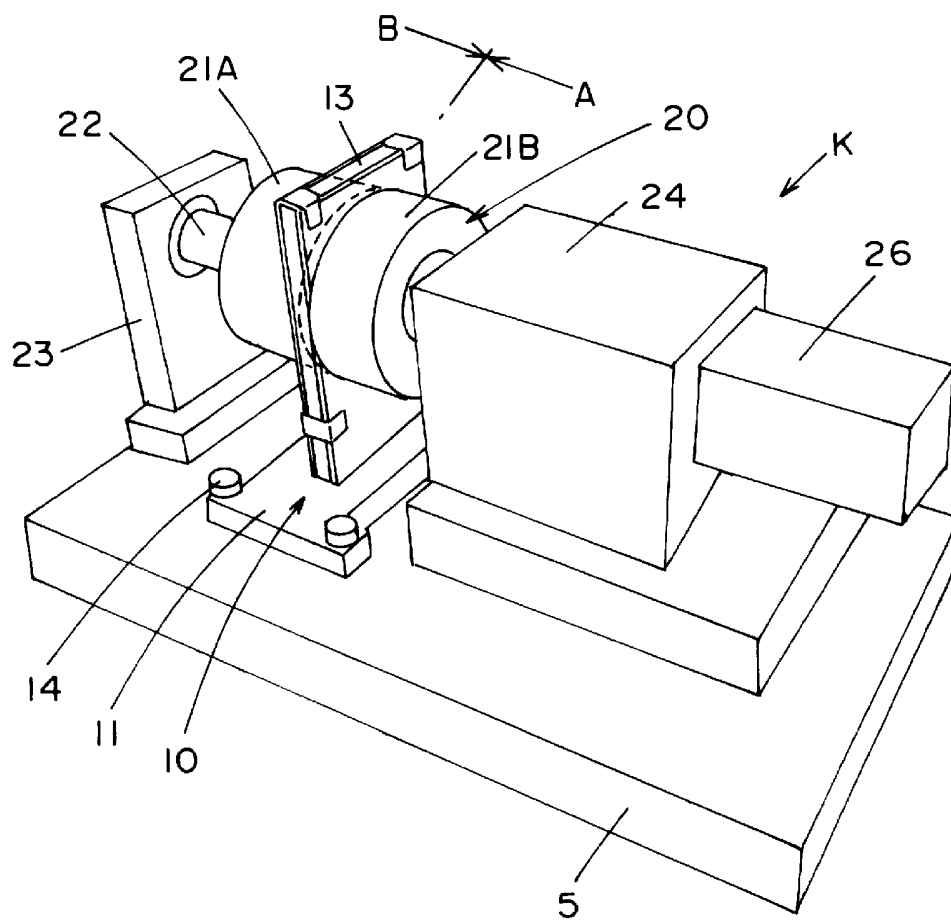
[0037] 本発明の細胞の処理方法及び細胞の処理装置は、輸血用血液の精製など医学分野などに利用できる。

請求の範囲

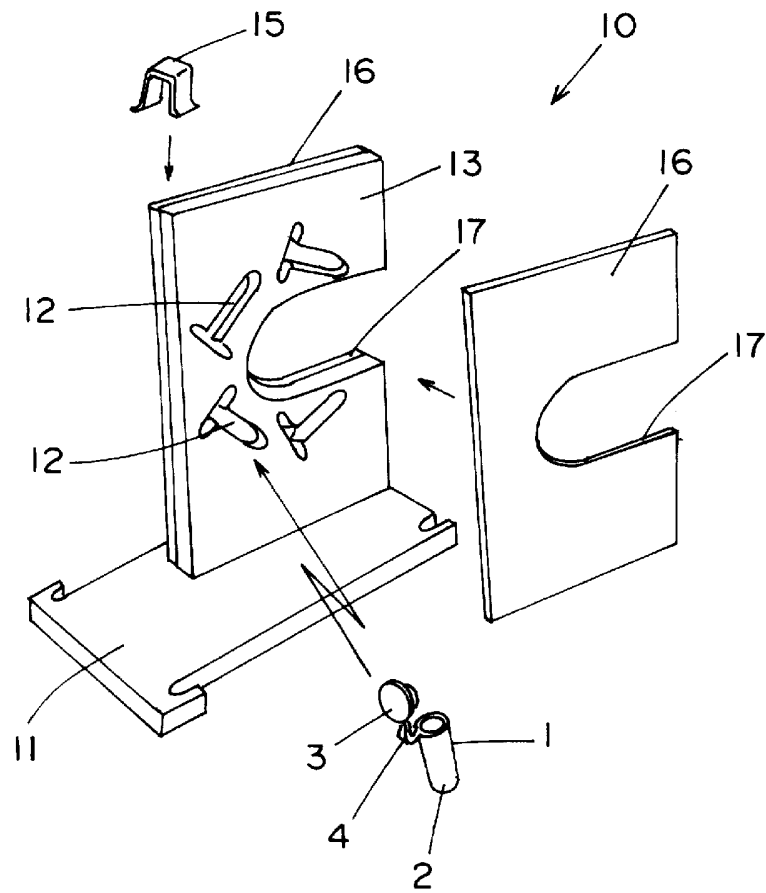
- [1] 種類の異なる細胞が混在する細胞群に磁場を印加して処理する細胞の処理方法において、
- 上記細胞群のうち特定細胞に該特定細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズを結合させ、該細胞群に正弦波状の変動磁場を印加して、上記特定細胞の生存比率を該特定細胞以外の非特定細胞の生存比率より増加させて処理することを特徴とする細胞の処理方法。
- [2] 上記印加する磁場強度を、 $0.01 \leq T(\text{テスラ}) \leq 1$ としたことを特徴とする請求項1記載の細胞の処理方法。
- [3] 上記正弦波状の変動磁場の周波数を、 $1 \sim 300\text{Hz}$ にしたことを特徴とする請求項1または2記載の細胞の処理方法。
- [4] 上記特定細胞の温度 t を、 $4^\circ\text{C} \leq t \leq 37^\circ\text{C}$ としたことを特徴とする請求項1, 2または3記載の細胞の処理方法。
- [5] $5\text{min} \sim 240\text{min}$ 間、磁場を印加することを特徴とする請求項1, 2, 3または4記載の細胞の処理方法。
- [6] 上記非特定細胞の分裂速度を促進する分裂速度促進剤を添加することを特徴とする請求項1, 2, 3, 4または5記載の細胞の処理方法。
- [7] 上記分裂速度促進剤として、phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (ConA), リンパ球特異的ペプチド, リンパ球特異的モノクローナル抗体, ガラクトシルセラミド, セラミド, ガンクリオシド, ジアシルグリセオール, テトラデカノイル ホルボー ルアセテート (TPA) の少なくとも1つの物質を用いることを特徴とする請求項6記載の細胞の処理方法。
- [8] 種類の異なる細胞が混在する細胞群のうち特定細胞に該特定細胞の抗原に特異的に結合可能な抗体を有した磁気ビーズを結合させてなる当該細胞群を含む処理物が入れられる容器と、該容器を保持する容器保持部と、該容器保持部に保持された容器内の処理物に磁場強度 $0.01 \leq T(\text{テスラ}) \leq 1$, $1 \sim 300\text{Hz}$ の正弦波状の変動磁場を印加する変動磁場発生部とを備えたことを特徴とする細胞の処理装置。
- [9] 上記変動磁場発生部を、上記容器保持部に保持された容器を挟んで配置され回

転させられる一対の回転盤と、該各回転盤に設けられ回転により正弦波状の変動磁場を発生させる永久磁石と、該回転盤を回転駆動するモータとを備えて構成したことを特徴とする請求項8記載の細胞の処理装置。

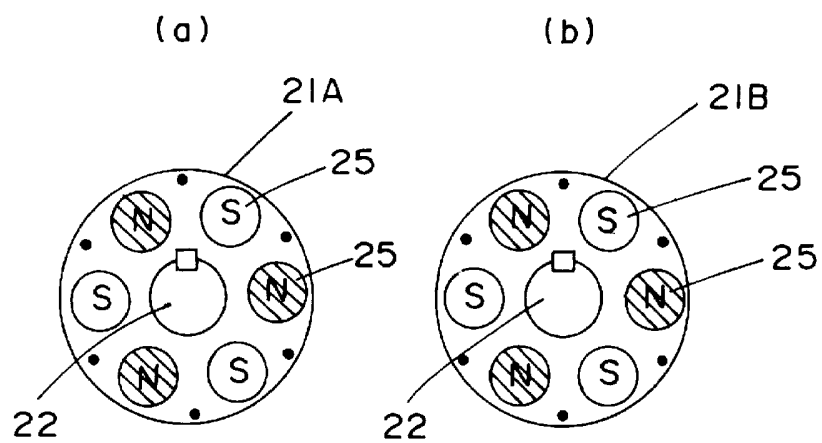
[図1]



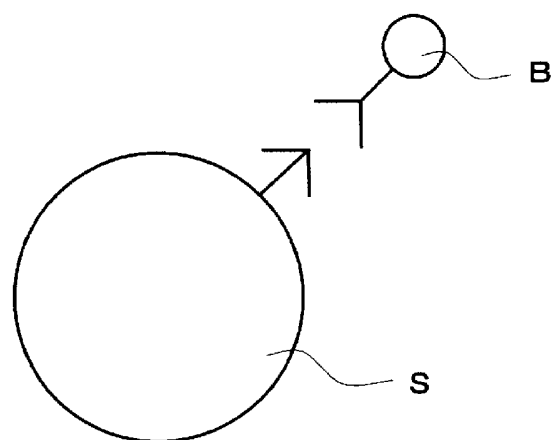
[図2]



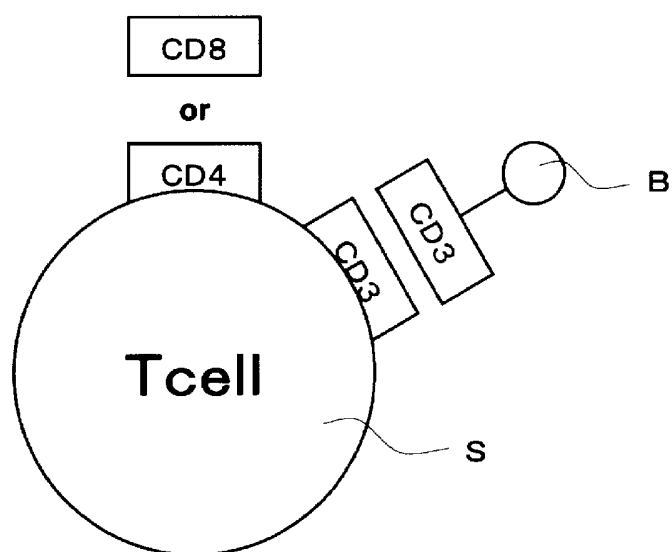
[図3]



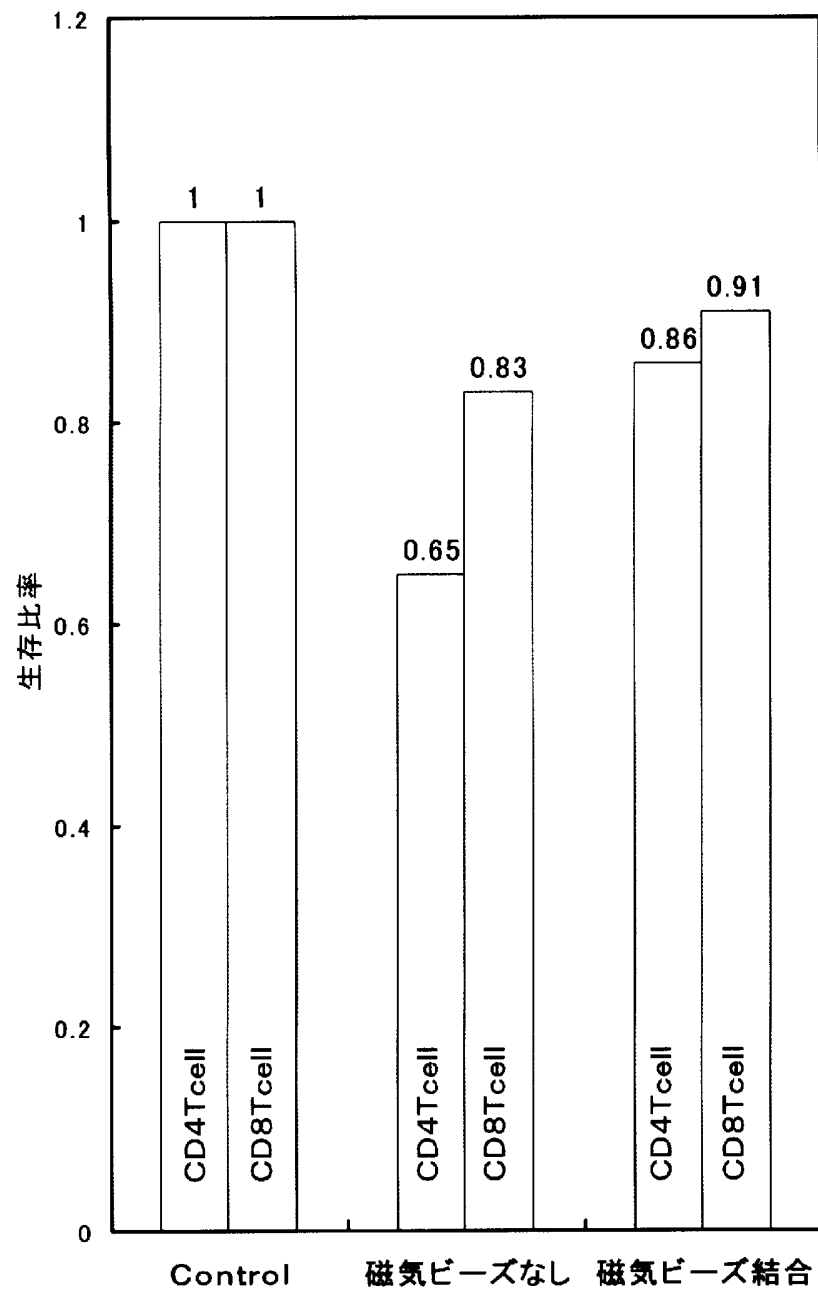
[図4]



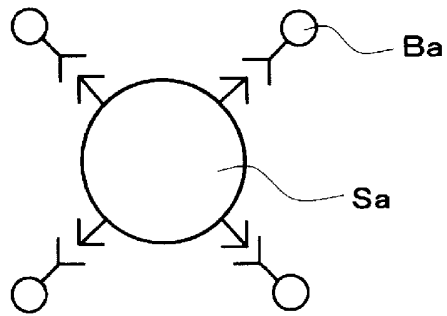
[図5]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/016206

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N5/06 (2006.01), **C12N13/00** (2006.01), **C12M1/42** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N5/06 (2006.01), **C12N13/00** (2006.01), **C12M1/42** (2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>Y</u> A	JP 2004-49105 A (Terutaka UENO), 19 February, 2004 (19.02.04) (Family: none)	<u>1-5, 8, 9</u> 6, 7
<u>Y</u> A	JP 2004-97007 A (Japan Science and Technology Corp.), 02 April, 2004 (02.04.04) & WO 2004/22726 A1 & AU 2003264381 A1 & US 2005/0153437 A1	<u>1-5, 8, 9</u> 6, 7
<u>Y</u> A	JP 2002-153268 A (Fuyuki MITSUYAMA), 28 May, 2002 (28.05.02) (Family: none)	<u>2</u> 1, 3-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 October, 2005 (13.10.05)

Date of mailing of the international search report

25 October, 2005 (25.10.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C12N5/06 (2006.01), C12N13/00 (2006.01), C12M1/42 (2006.01)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C12N5/06 (2006.01), C12N13/00 (2006.01), C12M1/42 (2006.01)

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>Y</u> A	J P 2004-49105 A (上野照剛) 2004.02.19 ファミリーなし	<u>1-5, 8, 9</u> 6, 7
<u>Y</u> A	J P 2004-97007 A (科学技術振興事業団) 2004.04.02 & WO 2004/22726 A1 & AU 2003264381 A1 & US 2005/0153437 A1	<u>1-5, 8, 9</u> 6, 7
<u>Y</u> A	J P 2002-153268 A (光山冬樹) 2002.05.28 ファミリーなし	<u>2</u> 1, 3-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13.10.2005

国際調査報告の発送日

25.10.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上 條 肇

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

4 B

9 4 5 3