

【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 9 月 3 日 (2020.9.3)

【公表番号】特表 2019-528684 (P2019-528684A)

【公表日】令和 1 年 10 月 17 日 (2019.10.17)

【年通号数】公開・登録公報 2019-042

【出願番号】特願 2019-502710 (P2019-502710)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 3/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0783

G 0 1 N 37/00 1 0 1

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 3/00 Z

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 35/17 A

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 7 月 20 日 (2020.7.20)

【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】

マイクロ流体デバイスを用いて、活性化 T リンパ球が富化されたサンプルを作製する方法であって、

前記マイクロ流体デバイスが、流路を備え、

前記流路が、第 1 の領域を有し、

前記第 1 の領域が、幅を有するメインチャンネルで画定され、

前記第 1 の領域が、ポストの第 1 のアレイを備え、

前記ポストの第 1 のアレイが、前記メインチャンネルの幅全体にわたって延在し、

前記方法が、活性化 T リンパ球と休止 T リンパ球との混合物を含む流体サンプルを、前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 1 の領域を通して流動させることを含み、

前記流路の前記第 1 の領域における流体の流れの方向が、第 1 の方向を画定し、

前記第 1 のアレイの前記ポストが、行及び列において配置され、

前記第 1 のアレイのポストの前記行が、前記第 1 の領域の前記第 1 の方向と傾斜角 (ε) だけ異なる第 1 のアレイ方向を画定し、前記第 1 のアレイのポストの前記列が、 $1/\varepsilon$ に等しい周期性で周期的に繰り返し、 ε は、ラジアン単位で測定され、

前記第 1 のアレイのそれぞれの各列の隣接ポストが、前記流体サンプルの流体が前記列に対して略横方向に貫流することができるギャップによって分離され、前記ギャップの大部分が、前記第 1 のアレイの主要なギャップサイズに対応する特性サイズを有し、

前記第 1 のアレイが、4 ミクロンから 10 ミクロンの臨界サイズ (D_c) によって特徴付けられる、
方法。

【請求項 2】

前記第 1 のアレイが、4 ミクロンから 7 ミクロンの D_c によって特徴付けられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 のアレイが、 $1/5$ ラジアンから $1/30$ ラジアンの傾斜角 ε を有し、
前記第 1 のアレイの前記主要なギャップサイズが、15 ミクロンから 40 ミクロンであり、

前記第 1 のアレイの前記ポストが、30 ミクロンから 100 ミクロンの直径を有する、
請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 のアレイの前記列が、前記第 1 の領域の前記第 1 の方向に対して横方向に配置される、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記第 1 のアレイの前記ポストが、丸形状の断面又は多角形状の断面を有する、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 のアレイの前記ポストの全てが、同一の配向を有し、前記配向が、前記ポストの前記断面形状の対称軸が、前記第 1 の方向によって画定される軸に平行でないようにされている、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記マイクロ流体デバイスの前記流路が、前記流体サンプルが前記マイクロ流体デバイスの前記第 1 の領域を通して通過した後に前記流体サンプルを受容するように構成される第 2 の領域を含み、前記第 2 の領域が、前記第 2 の領域を、前記流体サンプルの第 1 の部分を受容する第 1 のチャンネルと、前記流体サンプルの第 2 の部分を受容する第 2 のチャンネルとに分離する仕切りを有し、

前記第 2 の領域の前記仕切りが、前記流体サンプルの前記第 2 の部分において、 D_c よりも大きい直径を有する T リンパ球が前記流体サンプルに対して富化されるように位置決めされる、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記流体サンプルの前記第 1 の部分が、前記流体サンプルの 85 % から 95 % を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 のチャンネルが、第 1 の長さを含み、且つ前記第 2 のチャンネルが、第 2 の長さを含み、前記第 2 のチャンネルの前記第 2 の長さが、前記第 1 のチャンネルの前記第 1 の長さの少なくとも 5 倍である、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

【請求項 10】

$CD8^+$ 、 $CD45$ RO^+/RA^- 、 $CCR7^-$ 、 $CD62L^-$ の表現型を有する T リンパ球、及び / 又は $CD8^+$ 、 $CD45$ RO^+/RA^- 、 $CCR7^+$ 、 $CD62L^-$ の表現型を有する T リンパ球が、前記流体サンプルの前記第 2 の部分において富化される、請求項 7 から 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記流体サンプルが、前記流路の前記第 1 の領域を通して 0.01 マイクロリットル / 秒から 10 マイクロリットル / 秒のレートで流動される、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記第 2 のチャンネルが幅を有し、前記第 2 のチャンネルがポストの第 2 のアレイを含む第 1 のサブ領域を含み、前記ポストの第 2 のアレイが、前記第 2 のチャンネルの幅全体にわた

って延在し、前記流体サンプルを、前記流路の前記第 1 の領域を通して流動させることが、前記流体サンプルの前記第 2 の部分が、それに含有される任意の細胞と共に、前記第 1 のサブ領域の前記ポストの第 2 のアレイを通して流動することを引き起こし、

更に、前記第 2 のチャンネルの前記第 1 のサブ領域における流体フローの方向が、第 2 の方向を画定し、

前記第 2 のアレイの前記ポストが、行及び列において配置され、

前記第 2 のアレイのポストの前記行が、前記第 2 の方向と傾斜角 (ε') だけ異なる第 2 のアレイ方向を画定し、及び前記第 2 のアレイのポストの前記列が、 $1/\varepsilon'$ に等しい周期性で周期的に繰り返し、 ε' は、ラジアン単位で測定され、

前記第 2 のアレイのそれぞれの各列の隣接ポストが、前記流体サンプルの前記第 2 の部分の流体が前記列に対して略横方向に貫流することができるギャップによって分離され、前記ギャップの大部分が、前記第 2 のアレイの二次的なギャップサイズに対応する特性サイズを有し、及び

前記第 2 のアレイが、4 ミクロンから 10 ミクロンの臨界サイズ (D_c) によって特徴付けられる、請求項 7 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記ポストの第 2 のアレイが、4 ミクロンから 7 ミクロンの D_c によって特徴付けられる、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記ポストの第 2 のアレイが、7 ミクロンから 10 ミクロンの D_c によって特徴付けられる、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 2 のアレイが、 $1/5$ ラジアンから $1/30$ ラジアンの傾斜角 ε' を有し、
前記第 2 のアレイの前記二次的なギャップサイズが、15 ミクロンから 40 ミクロンであり、

前記第 2 のアレイの前記ポストが、30 ミクロンから 100 ミクロンの直径を有する、
請求項 12 から 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記第 2 のアレイの前記列が、前記第 2 のチャンネルの前記第 1 のサブ領域の前記第 2 の方向に対して横方向に配置される、請求項 12 から 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記第 2 のアレイの前記ポストが、丸形状の断面又は多角形状の断面を有する、請求項 12 から 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記第 2 のアレイの前記ポストの全てが、同一の配向を有し、前記配向が、前記ポストの前記断面形状の対称軸が、前記第 2 の方向によって画定される軸に平行でないようなものである、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記第 2 のチャンネルが、前記流体サンプルが前記第 1 のサブ領域を通して通過した後に前記流体サンプルの前記第 2 の部分を受容するように構成される第 2 のサブ領域を含み、前記第 2 のサブ領域が、前記第 2 のチャンネルを、前記流体サンプルの前記第 2 の部分から流体の第 1 のサブ部分を受容する第 3 のチャンネルと、前記流体サンプルの前記第 2 の部分から流体の第 2 のサブ部分を受容する第 4 のチャンネルとに分離する仕切りを有し、

前記第 2 のサブ領域の前記仕切りが、前記流体の第 2 のサブ部分において、 D_c よりも大きい直径を有する T リンパ球が前記流体サンプルの前記第 2 の部分に対して富化されるように位置決めされる、請求項 12 から 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記流体の第 1 のサブ部分が、前記流体サンプルの前記第 2 の部分の少なくとも 50 % を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記流体サンプルが、対象から得られる末梢血サンプル又はそれに由来するサンプルである、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記流体サンプルが、少なくとも 1 つの非 T リンパ球細胞型が枯渇している、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記流体サンプルが、 $CD8^+$ T リンパ球が富化されている、請求項 21 又は 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記流体サンプルが、
エフェクタ T リンパ球 (T_{EFF}) が枯渇している；
ナイーブ T リンパ球 (T_{naive}) 又は $CD45RA^+$ 表現型を有する細胞が富化されている；又は
セントラルメモリ T リンパ球 (T_{CM}) 或いは $CCR7^+$ 及び / 又は $CD62L^+$ 表現型と組み合わせて $CD45RO^+$ 表現型を有する細胞が富化されている、
請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記流体サンプル中の前記 T リンパ球を活性化剤と接触させることを更に含み、
前記 T リンパ球が、少なくとも、前記流体サンプルを、前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 1 の領域を通して流動させる前に前記活性化剤に接触される、
請求項 1 から 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記活性化剤が、人工抗原提示細胞 (aAPC) を含み、前記 aAPC が、抗原ペプチドと複合体化される MHC クラス I 分子及び $CD28$ アンタゴニストを含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記活性化剤が、樹状細胞 (DC) を含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 2 のチャネルから T リンパ球集団を選択的に搬出することを更に含み、前記 T リンパ球集団が、前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 1 のチャネルを貫流した任意の細胞又は T リンパ球とは別個に搬出される、
請求項 7 から 10、12 から 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

請求項 7 から 10、12 から 20 のいずれか 1 項に記載の方法に従って選別された T リンパ球を含む組成物であって、前記 T リンパ球が、前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 2 のチャネルから細胞を搬出することによって取得され、T リンパ球集団が、前記マイクロ流体デバイスの前記流路の前記第 1 のチャネルを貫流した任意の細胞又は T リンパ球とは別個に搬出される、組成物。