

【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4月23日(2020.4.23)

【公表番号】特表2019-507602(P2019-507602A)

【公表日】平成31年3月22日(2019.3.22)

【年通号数】公開・登録公報2019-011

【出願番号】特願2018-547340(P2018-547340)

【国際特許分類】

C 12 N 5/071 (2010.01)

C 12 M 3/00 (2006.01)

C 12 M 1/34 (2006.01)

C 12 N 5/0775 (2010.01)

【F I】

C 12 N 5/071

C 12 M 3/00 Z

C 12 M 1/34 A

C 12 N 5/0775

【手続補正書】

【提出日】令和2年3月9日(2020.3.9)

【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】

マイクロ流体チャネルネットワークを備えるマイクロ流体細胞培養システムを使用して、上皮細胞を培養および／またはモニタリングする方法であって、

a) 前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に間葉系細胞を導入するステップであって、前記間葉系細胞を前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に

a 1) 水性培地を使用して導入し、または

a 2) ゲル前駆体を使用して導入し、前記ゲル前駆体は、前記マイクロ流体チャネルネットワーク中でゲル化することが可能となり、それによって、前記マイクロ流体チャネルネットワークの少なくとも一部分を占めるステップ、

b) ステップa 1)の場合において、好ましくはステップa 2)の場合において、前記マイクロ流体チャネルネットワークの少なくとも一部分が間葉系細胞で被覆され、間葉系細胞の少なくとも群／層／シートが形成されるまで、前記間葉系細胞が増殖および／または分化することを可能とするステップ、

c) 前記間葉系細胞を含む前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に上皮細胞を導入するステップ、ならびに

d) 前記マイクロ流体チャネルネットワークの少なくとも一部分が上皮細胞で被覆されるまで、および／または前記間葉系細胞の少なくとも一部分が上皮細胞で被覆され、上皮細胞の少なくとも群／層／シートが形成されるまで、前記上皮細胞が増殖および／または分化することを可能とするステップ  
を含む方法。

【請求項2】

ゲル前駆体が前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に導入され、前記ゲル前駆体は前記マイクロ流体チャネルネットワーク中でゲル化することが可能となり、それによって

、前記マイクロ流体チャネルネットワークの少なくとも一部分を占める、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ゲルを、好ましくは、毛細管圧力障壁の使用によって、UVパターン化によって、またはゲル化後に針を引っ込ませることによって、またはゲル化後に除去される犠牲層を有することによって、パターン化する、請求項 1 または 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ b )において、間葉系細胞の少なくとも管状構造体が前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に形成されるまで、前記間葉系細胞を増殖および／または分化させる；及び

ステップ d )において、上皮細胞の少なくとも管状構造体が前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に形成されるまで、前記上皮細胞を増殖および／または分化させる、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記管状構造体の内腔を通して増殖培地の流れが適用され、前記流れは一方向性であっても二方向性であってもよい、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ d )において、前記上皮細胞は、頂端側および基底側を備える細胞の層を形成することが可能となり、前記基底側は前記間葉系細胞に面している、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記間葉系細胞の少なくとも一部分は前記上皮細胞の少なくとも一部分と直接接觸し、かつ／または、間葉系細胞シートと上皮細胞シートとの間の距離は、基底板の厚さ以下である、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記間葉系細胞は、筋線維芽細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、骨芽細胞、平滑筋細胞および間質細胞から選択され、好ましくは、前記間葉系細胞は、哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞、好ましくは初代細胞であり；及び、

前記上皮細胞は、単層上皮細胞、単層扁平上皮細胞、重層上皮細胞、または円柱上皮細胞から選択され、好ましくは、前記上皮細胞は哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞、好ましくは初代細胞である、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記マイクロ流体細胞培養システムは培養チャンバを備え、ここに、ステップ a )における前記間葉系細胞およびステップ c )における前記上皮細胞を導入する、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

ステップ a )において様々な種類の間葉系細胞を導入し、および／または、ステップ c )において様々な種類の上皮細胞を同一のマイクロ流体チャネル中に導入する、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記マイクロ流体細胞培養システムによって、前記マイクロ流体チャネルネットワーク中の前記細胞におよび／もしくは前記ゲルにならびに／またはさらなるマイクロ流体チャネルネットワークに、連続した光路をもたらす、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

ステップ a )～d )のいずれかと同時にまたはその後に、前記細胞を試験化合物と接觸させる、請求項 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の前記方法により得られるマイクロ流体細胞培養システム中の前記細胞の使用であって、上皮障壁を越えての輸送の評価、毒性研究、マ

イクロバイオームとの共培養、食品の吸収の研究、炎症の研究、炎症性腸疾患、囊胞性線維症、COPD、喘息、がんなどの疾患モデルの提供のため、健常および疾患条件での上皮機能に関する機構研究のための使用。

【請求項 1 4】

マイクロ流体チャネルネットワークを備えるマイクロ流体細胞培養システムを使用して、上皮細胞を培養および／またはモニタリングする方法であって、

a ) 上皮細胞および間葉系細胞の混合物を前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に導入するステップであって、水性培地を使用して細胞の前記混合物を前記マイクロ流体チャネルネットワーク中に導入するステップ、

b ) 前記マイクロ流体チャネルネットワークの少なくとも一部分が前記細胞で被覆されるまで、前記間葉系細胞および前記上皮細胞が増殖および／または分化することを可能とするステップ、

を含む方法。

【請求項 1 5】

間葉系細胞および上皮細胞が管状構造体を形成する、前記間葉系細胞および上皮細胞を含むマイクロ流体チャネルネットワークを備えるマイクロ流体細胞培養システム。