

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-514475  
(P2017-514475A)

(43) 公表日 平成29年6月8日(2017.6.8)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 1 2 M 1/42 (2006.01)	C 1 2 M 1/42	4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願2016-564620 (P2016-564620)  
 (86) (22) 出願日 平成27年4月28日 (2015. 4. 28)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年12月22日 (2016. 12. 22)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/059150  
 (87) 国際公開番号 W02015/165879  
 (87) 国際公開日 平成27年11月5日 (2015. 11. 5)  
 (31) 優先権主張番号 14166918.4  
 (32) 優先日 平成26年5月2日 (2014. 5. 2)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

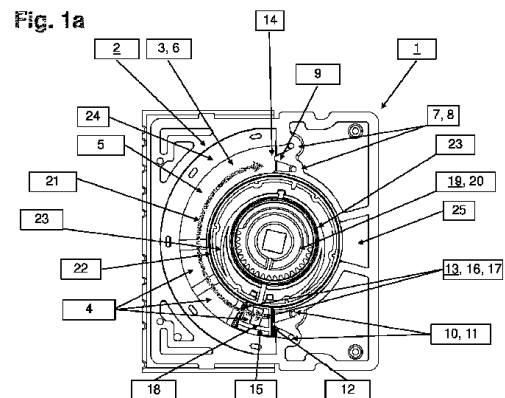
(71) 出願人 503147734  
 ロンザ ケルン ゲーエムベーハー  
 ドイツ連邦共和国 50829 ケルン  
 ナッテルマンナリー 1  
 (74) 代理人 100107456  
 弁理士 池田 成人  
 (74) 代理人 100162352  
 弁理士 酒巻 順一郎  
 (74) 代理人 100123995  
 弁理士 野田 雅一  
 (74) 代理人 100148596  
 弁理士 山口 和弘  
 (72) 発明者 アルトロッジ, ルドガー  
 ドイツ, 53894 メーターニッヒ,  
 カスタニエンヴェク 18  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 大量のトランスフェクションのためのデバイス及び方法

(57) 【要約】

チャンバ6を備える細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するためのデバイス1であって、このチャンバは、少なくとも2つの電極4と、少なくとも1つの分離要素13とを備え、この少なくとも1つの分離要素が、チャンバ内で2つの端点14、15間を移動可能であり、端点間の位置にある場合、チャンバの少なくとも1つの第1の区画26をチャンバの少なくとも1つの第2の区画27から分離する、デバイスに関する。本発明によれば、各区画が、懸濁液を保持するように設計され、チャンバから懸濁液のアリコートを放出し、同時に懸濁液のさらなるアリコートチャンバ内に充填するために懸濁液を充填又は放出するための少なくとも1つのポート7、8、10、11を備え、分離要素が、第1の方向と反対の第2の方向に動かされ、分離要素13がアリコート相互に分離する。

【選択図】 図1a



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

少なくとも1つのチャンバ(6)を備える、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するためのデバイス(1)であって、前記チャンバ(6)が、少なくとも2つの電極(4、5)と、少なくとも1つの分離要素(13)とを備え、前記分離要素(13)が、前記チャンバ(6)内で2つの端点(14、15)間を移動可能であり、前記端点(14、15)間の位置にある場合、前記チャンバ(6)の少なくとも1つの第1の区画(26)を前記チャンバ(6)の少なくとも1つの第2の区画(27)から分離する、デバイスにおいて、

前記区画(26、27)の各々が、前記懸濁液を保持するように設計され、前記懸濁液を充填又は放出するための少なくとも1つのポート(7、8、10、11)を備えることを特徴とする、デバイス。

**【請求項 2】**

少なくとも1つのポート(7、8)が前記チャンバ(6)の少なくとも1つの端部(9)に配設され、少なくとも1つのさらなるポート(10、11)が前記チャンバ(6)の反対側の端部(12)に配設されている、請求項1に記載のデバイス。

**【請求項 3】**

前記分離要素(13)が、前記チャンバ(6)の外側に配設された少なくとも1つの調整要素(19)に結合されている、請求項1又は2に記載のデバイス。

**【請求項 4】**

前記分離要素(13)が封止部材であり、可撓性及び/又は弾性材料からなる、請求項1～3のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 5】**

前記分離要素(13)が、少なくとも2つの互いに離間された部品(16、17)を備え、前記分離要素(13)の前記離間された部品(16、17)間の内部空間(18)は圧縮性材料を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 6】**

前記チャンバ(6)が少なくとも2つのセグメントを備え、前記セグメントの各々が少なくとも1つの電極(4、5)を備える、請求項1～5のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 7】**

前記セグメントの各々には、少なくとも1つの第1の電極(4)及び少なくとも1つの第2の電極(5)が設けられ、前記第2の電極(5)が少なくとも2つのセグメントの共通電極である、請求項6に記載のデバイス。

**【請求項 8】**

前記チャンバ(6)が、互いに取り付けられた2つの構成要素の対応する凹部(3)を備える、請求項1～7のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 9】**

前記凹部(3)の各々には、少なくとも1つの電極(4、5)が設けられている、請求項8に記載のデバイス。

**【請求項 10】**

前記チャンバ(6)が、少なくとも1つの基板部材(2、30)をさらに備え、前記基板部材(2、30)が、少なくとも実質的に絶縁材料から作製され電極(4、5)が取り付けられる少なくとも1つの表面を備え、前記表面が、前記電極(4、5)と少なくとも1つの電気接点(33)との間で電気接続を提供するように設計された少なくとも1つの導電領域(32)を備える、請求項1～9のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 11】**

前記調整要素(19)と前記チャンバ(6)との間に少なくとも1つのガスケット(22)が配設されている、請求項3～10のいずれか一項に記載のデバイス。

**【請求項 12】**

10

20

30

40

50

前記チャンバ(6)が、前記チャンバ(6)の一方の側に沿って少なくとも部分的に延在する少なくとも1つの封止インレイを備え、前記封止インレイ(24)が圧縮性材料からなる、請求項1~11のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項13】

細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するための方法であって、

a) 前記懸濁液のアリコート、前記懸濁液に電界を印加するためのデバイスの少なくとも1つのチャンバに充填するステップであって、前記チャンバが少なくとも2つの電極を備え、前記チャンバ内に配設された分離要素が第1の方向に動かされる、ステップと、

b) 前記チャンバの少なくとも2つの電極を介して前記アリコートに電圧パルスを印加するステップと、

c) 前記チャンバから前記アリコートを放出し、同時に前記懸濁液のさらなるアリコートを前記チャンバ内に充填するステップであって、前記分離要素が前記第1の方向と反対の第2の方向に動かされ、前記分離要素が前記アリコートを互いに分離する、ステップと、

、

d) 前記チャンバの少なくとも2つの電極を介して電圧パルスを前記さらなるアリコートに印加するステップと

を含む、方法。

【請求項14】

e) 前記チャンバから前記さらなるアリコートを放出し、同時に、前記懸濁液のさらなるアリコートを前記チャンバ内に充填するステップであって、前記分離要素が前記第2の方向と反対の第1の方向に動かされ、前記分離要素が前記アリコートを互いに分離する、ステップと、

f) 前記チャンバの少なくとも2つの電極を介して前記さらなるアリコートに電圧パルスを印加するステップと、

g) 任意選択で、前記懸濁液全体が処理されるまで前記懸濁液のさらなるアリコートについてステップc)~f)を繰り返すステップと

をさらに含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記分離要素が、前記分離要素に連動する調整要素を回転させることによって動かされる、請求項13又は14に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するためのデバイスであって、少なくとも1つのチャンバを備え、この少なくとも1つのチャンバは、少なくとも2つの電極と、少なくとも1つの分離要素とを備え、この少なくとも1つの分離要素が、チャンバ内で2つの端点間を移動可能であり、端点間の位置にある場合、チャンバの少なくとも1つの第1の区画をチャンバの少なくとも1つの第2の区画から分離する、デバイスに関する。さらに、本発明は、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

DNA、RNA、又はタンパク質のような生物活性分子の生細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞への導入は、例えば、これらの分子の生物学的機能を調べる役割を果たし、さらに、例えば、遺伝子治療における、これらの分子の治療的使用の成功のための重要な前提条件である。外部分子を細胞内に導入するための好ましい方法は、電気穿孔と呼ばれ、これは、化学的方法と異なり、標的細胞の構造及び機能の望ましくない変化を制限する。電気穿孔では、外部分子は、短い電流フロー、すなわち、例えば、細胞膜を外部分子に対して一時的に透過性にする放電キャパシタのパルスを介して、細胞

10

20

30

40

50

又は細胞培養液に特に適した緩衝液であることが好ましい水溶液から細胞内に導入される。細胞膜に形成される一時的な「孔」は、生物的に活性な分子が、まず、これらの分子が既に自身の機能を果たしているか、又は検査対象の任意の治療作用を行使している場合がある細胞質に到達することを可能にし、次に、一定の条件下で、例えば、遺伝子治療用途において必要とされるように、細胞核に到達することも可能にすることができる。

#### 【0003】

強力な電界、すなわち、高い電流密度を有する短いパルスの短い印加に起因して、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞は融合される場合もある。このいわゆる電気融合において、細胞は、例えば、最初に、不均一な交番電界によって密に膜と接触する。電界パルスのその後の印加によって、膜部間の相互作用がもたらされ、最終的に融合が生じる。電気穿孔に用いられるデバイスに匹敵するデバイスを電気融合にも用いることができる。

10

#### 【0004】

細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の少量の懸濁液は、通常、比較的単純なベッセル内でバッチプロセスにおいて処理される。しばしば、溶液又は細胞懸濁液はそれぞれ、キュベット、すなわち上部が開いた狭いベッセル内に位置し、キュベットは、底部付近に、電圧を印加する役割を果たす、外壁内の2つの対向する平行な電極を有する。一方、そのようなベッセルは、電氣的処理に利用可能な反応空間が電極間の限られた最大距離によって制限されているので、大量を処理するのに不適切である。このため、大量の電気穿孔又は電気融合の場合、細胞又は小胞の懸濁液が電極間の反応空間を連続的に又は非連続的に通されるフロースループロセスが多くの場合に用いられる。

20

#### 【0005】

例えば、米国特許第6150148号は、フロースループロセスのために偏向されたキュベットを開示している。キュベットのポートはキャップによって封止され、このキャップを通じて供給線が誘導される。電極間の領域内の底部において、キュベットは、放出部(discharge)が接続されるさらなるポートを有する。この配置に起因して、処理される懸濁液を、供給線を通じて反応空間内に供給し、放出部を通じて出すことができる。反応室内の懸濁液の繰り返された、連続した、又は不連続の交換、及びそれぞれの繰り返された電気パルスに起因して、より多くの量をこのキュベットで処理することができる。米国特許第6150148号は、管状又はスロット付きの設計であり、入力管路及び出力管路のための接続部を端部に各々が有するフロースルーチャンバをさらに開示している。チャンバ自体は、円筒形であるか、同心円状に配置されているか、又は平坦な2つの電極によって包囲された、面平行構成を有する長楕円形の反応空間を表す。これらのデバイスは、より多くの量が、反復パルスによって、チャンバを通じて供給されるときに処理されることも可能にする。一方、これらのフロースルー電気穿孔プロセス又はさらには電気融合プロセスは、フロースルー速度をパルスの周波数と一致させなくてはならないため、制御するのが困難である。懸濁液を加熱し、電気分解によって気泡を形成することによって、さらなる重大な問題が課される。これらのプロセスに多くの場合に必要とされる非常に高い電流を反復的に生成することによって、熱生成が増大し、処理される細胞又は小胞が懸濁される電解質溶液内の電気化学プロセスによって形成される小さな気泡が多数になる。これらの気泡は、チャンバを通る懸濁液のフローを乱し、結果として、既に処理された懸濁液がチャンバ内に逆流する場合がある。さらに、懸濁液がチャンバ内に不均等に分散しているため、アークのリスクが増大する。これらの問題は、一方で、もはや再生可能でない結果を引き起こし、他方で、生体細胞が処理される場合、死亡率の増大を引き起こす。

30

40

#### 【0006】

国際公開第2004/083379号は、外因性の物質を小胞に挿入するための電気穿孔方法であって、この方法によれば懸濁液の処置量がスケーリング可能であり、チャンバ内の小胞の処理時間が実質的に均一である、方法を開示している。この方法では、懸濁液の量は、電気穿孔デバイスのチャンバの容量よりも多い。懸濁液量の最初の部分はチャンバ内に動かされ、保持され、チャンバ内で処理され、チャンバから出される。次に、懸濁

50

量のさらなる部分がチャンバ内に移され、保持され、チャンバ内で処理され、チャンバから出される。懸濁液量が尽きるまで、懸濁液量のさらなる部分がチャンバ内に順番に移され、保持され、チャンバ内で処理され、チャンバから出される。

【0007】

国際公開第2005/113820号は、試料が完全に閉じられた滅菌システム内で個々の部分又は量において均一に処理される条件を可能にする、調整フロー型電気穿孔チャンバを備える電気穿孔デバイスを開示している。チャンバは、入口ポート及び出口ポートを備え、この入口ポート及び出口ポートを通じて、それぞれ、処理される細胞懸濁液のチャンバ内への投入及びチャンバからの排出を行うことができ、それによって、懸濁液の試料を、試料の未処理量と処理済み量との間に境界を設けることによって生成される単位で処理することができる。境界は、試料でない気体又は液体を循環させ、チャンバ内の試料の2つの部分間に通すことによって設けられる。試料でない気体又は液体は、チャンバの第3のポートを通じてチャンバの内外に流れることができる。

10

【0008】

米国特許出願公開第2007/0128708号は、分割されたチャンバ内に生体細胞又は小胞を保有する比較的大量の液状媒体を電気穿孔するためのスケーリング可能なデバイスを開示する。各セグメント(区分)は2つの電極を含む。チャンバの有効な容量は、チャンバの長手方向軸に沿ってプランジャを動かすことによって変更することができる。このため、選択される容量は、電気穿孔される試料の量に直接関係している。試料は、チャンバの端壁に配設されたポートを通じて、チャンバに吸引され、チャンバから除去される。チャンバ内の試料は、チャンバの個々のセグメントの電極対に電圧パルスを順番に印加することによって処理される。

20

【0009】

一方、既に処理された試料が、次の試料をチャンバ内に充填することができるようになる前に、チャンバから完全に放出されなくてはならないので、大量の処理に時間がかかることが従来のデバイス及び方法の欠点である。従来技術によるデバイス及び方法の別の欠点は、気泡及び細胞残屑が、信頼性のある方式で反応チャンバから完全に除去されないことである。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0010】

したがって、本発明の目的は、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞を処理するためのデバイス及び方法であって、このデバイス及び方法によれば、より大量の処理が加速され、再生可能な条件下での処理が可能になり、処理後の反応チャンバの信頼性のある清掃が確保される、デバイス及び方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

この目的は、最初に指定したような、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するためのデバイスであって、このデバイスにより、チャンバの各区画が、懸濁液を保持するように設計され、懸濁液を充填又は放出するための少なくとも1つのポートを備える、デバイスによって満たされる。すなわち、チャンバの各区画は、少なくとも2つのポートを通じてチャンバの内外に移動可能な懸濁液のアリコートを受容及び保持することができ、各区画には、少なくとも1つのポートが設けられ、このポートを通じて、それぞれの区画を懸濁液で満たすことができ、及び/又はこのポートを通じて、この区画から懸濁液を除去することができる。この有利な構成により、チャンバの充填及びチャンバからの放出を同時に行うことが可能になり、それによって、懸濁液の変更に必要な時間が最小になり、このため、懸濁液の2つの後続の電氣的処理間のタイムラグが最小になる。この最小化の結果として、大量、すなわち、1mlを越える量の場合の処理時間が大幅に加速される。本発明によるデバイスの別の利点は、懸濁液の繰返しの充填及び処理により、スケーリング可能なプロセスが可能になることである。例えば

40

50

、チャンバが合計 1 m l の容量を有する場合、このチャンバの任意の複数容量を、迅速化された方式で容易に処理することができる。

【 0 0 1 2 】

したがって、本発明によるデバイスは、フロールーデバイスではなく、一種のプッシュプルメカニズムにより、チャンバの充填及びチャンバからの放出を同時に行うことを可能にするデバイスである。

【 0 0 1 3 】

本発明の例示的な実施形態によれば、少なくとも 1 つのポートがチャンバの一方の端部に配設され、少なくとも 1 つのさらなるポートがチャンバの他方の端部に配設される。チャンバの反対側同士の端部にポートを設けることによって、プッシュプルメカニズムを容易に確立することが可能になり、ここで、分離要素、したがって懸濁液は、チャンバの一方の端部における 1 つの区画への充填と、チャンバの反対側の端部における別の区画からの放出とを同時に行うように、チャンバの 2 つの端点間で動くことができる。さらに、そのような幾何学的配置によって、電気穿孔システム又は電気融合システムにおいて、本発明によるデバイスの最適な統合が可能になる。なぜなら、ポートは互いに分離されており、このためデバイスの異なる端部からアクセスすることができるためである。

10

【 0 0 1 4 】

少なくとも 2 つのポートがチャンバの各端部に配設される実施形態では、一方のポートを、懸濁液を充填するための入口ポートとして用いることができる一方、他方のポートを、懸濁液を放出するための出口ポートとして用いることができる。

20

【 0 0 1 5 】

死容積の最小化は、チャンバポート、特に、入口ポートの大きさを低減することによって達成することができる。小さな死容積を確保するためのさらなる又は代替的な手段は、チャンバ出口 / 入口ポートの近くで管の Y 結線を用いることとすることができる。

【 0 0 1 6 】

さらに、デバイスの出口ポートに管を取り付けることによって、チャンバ内の圧力ピーク補償が可能になる。

【 0 0 1 7 】

本発明の別の実施形態において、分離要素は、分離要素を操作及び / 又は制御する少なくとも 1 つの調整要素に結合される。有利な実施形態では、調整要素はチャンバの外側に配設され、各区画が、本発明によるデバイスの機能に影響を及ぼし得る一切の干渉要素を欠くようにする。例えば、分離要素は、少なくとも部分的に調整要素によってチャンバ内で動かすことができる。

30

【 0 0 1 8 】

調整要素は、例えば、分離要素と連動する回転可能な本体とすることができる。例えば、回転可能な本体は、回転運動を行うように分離要素を動かす、回転子状の要素とすることができる。そのような実施形態は、特に、チャンバが湾曲形状を有する場合に、分離要素の厳密な制御及び一定の運動を確保する。一方、本発明の代替的な実施形態では、調整要素、及びこのため分離要素は、別の方向、例えば線形方向における移動を行うことができる。

40

【 0 0 1 9 】

分離要素は、ウォームギヤ、スパーギヤ、ベベルギヤ、ギヤロッド、ベルトドライブ及び角棒鋼からなる群から選択される構成要素を介して調整要素によって駆動することができる。一方、適切な場合、他のギヤメカニズム又はパワー伝達要素も用いることができる。

【 0 0 2 0 】

本発明の別の例示的な実施形態によれば、分離要素は、端点間の位置にある場合、チャンバの異なる区画の液体及び / 又は気体を通さない分離を確保する封止部材である。例えば、分離要素は、可撓性及び / 又は弾性材料を含むことができる。分離要素の弾性変形性に起因して、分離要素は、チャンバ内で圧力ピークを補償することがさらに可能である。

50

分離要素は、例えば、より良好な封止特性のために弾性材料を含む2成分プラスチック部品として設計することができる。分離要素は、チャンバを最適に清掃するためのシールリップをさらに含むことができる。このために、シールリップは、チャンバの内面及び/又は電極の表面及び/又は分離要素の他の構成要素に適した方向に向けることができる。本発明の有利な実施形態では、分離要素の起こり得る偏向又は起こり得る偏向の一部をバンブストップパによって制限し、分離要素の封止機能を維持することができる。

#### 【0021】

1つの特定の実施形態では、分離要素は、少なくとも2つの離間された部品を備え、分離要素の離間された部品間の内部空間は、圧縮性材料を含む。そのような設計により、分離素子がチャンバ内の圧力変動の平衡をとる一種の干渉物としての役割を果たすように、有効な圧縮補償が提供される。圧縮性材料は、単に空気若しくは任意の他のガスとすることができるか、又は圧縮性の発泡材料若しくは細胞物質とすることができる。

10

#### 【0022】

本発明の別の例示的な実施形態によれば、チャンバは少なくとも2つのセグメントを含み、各セグメントは少なくとも1つの電極を含む。チャンバ内の電界の制御された生成を厳密に達成することができるように、各セグメントを個々に電氣的にアドレス指定することができることがこの実施形態の利点である。例えば、アーク及び/又は懸濁液の望ましくない加熱を回避するために、電圧パルスは区画の異なるセグメントに順番に印加することができる。このために、各セグメントには、少なくとも1つの第1の電極及び少なくとも1つの第2の電極を設けることができ、第2の電極は少なくとも2つのセグメントの共通電極とすることができる。本発明の1つの実施形態では、チャンバの各区画は、少なくとも1つの電極を設けられた少なくとも1つのセグメントを含むことができる。

20

#### 【0023】

本発明によるデバイスのチャンバは、互いに取り付けられた2つの構成要素の対応する凹部を備える。すなわち、本発明によるデバイスは、例えば、2つの構成要素を互いに取り付けることによって組み立てることができる。各構成要素は、他の構成要素の凹部に対応する凹部を備える。これらの2つの構成要素が互いに取り付けられている場合、これらの構成要素の位置合わせされた凹部がデバイスのチャンバを形成する。チャンバ内で電界を生成することができるように、各凹部に少なくとも1つの電極を設けることができる。電極のうちの少なくとも幾つかを分割することができる。例えば、(対称軸の一方の側にある)電極の半分を分割することができる一方、(対称軸の他方の側にある)電極の他方の半分は、対電極として用いることができる単一の非分割電極とすることができる。有利な実施形態では、2つの構成要素は同一であり、それによってコスト効率の良い生成が確保される。同一の構成要素は回転対称であるため、構成要素を互いに取り付けることによる容易な組み立てがこの場合に依然として可能である。

30

#### 【0024】

1つの特定の実施形態では、チャンバは、少なくとも1つの基板部材であって、少なくとも実質的に絶縁材料から作製され、電極が取り付けられる少なくとも1つの表面を備える、少なくとも1つの基板部材をさらに備え、上記表面は、電極と少なくとも1つの電気接点との間で電気接続を提供するように設計された少なくとも1つの導電領域を備える。導電領域は、例えば、少なくとも1つの穴、表面の3次元特徴、又は平坦な領域とすることができる。穴は、少なくとも内面に導電材料を設けられた基板部材内の穿孔とすることができる。穴は、導電材料で少なくとも部分的に満たされ、電極から基板部材の同じ表面又は別の表面への導電性パスを提供することができる。3次元特徴は、窪み、バンブ、ライン、凹部、陥凹部、突起及びウェルからなる群から選択することができる。導電領域は、少なくとも1つの導電性パス、例えば、プリント回路基板(PCB)トラックを介して少なくとも1つの電気接点と電氣的に結合することができる。電気接点は導電材料から作製され、少なくとも1つの電気接点、例えば、ばね接点によって接触されるように設計され、電源に対し直接の又は間接的な電気接続を提供する。そのような基板部材を用いることによって、本発明によるデバイスのコスト効率の良い生成が可能になる。なぜなら、電

40

50

極及び対応する接点を含む部材は、時間を節減したワンステップ製造プロセスにおいて製造することができるためである。さらに、この実施形態では、電極設計は電気接点の場所と独立しており、最適化された電極設定を、最適な電気接続と組み合わせることができるようになっている。電極を接触させる手段は、電極の設計及び位置と独立して設計することができる。

【0025】

本発明の有利な実施形態では、基板部材はプリント回路基板（PCB）等とすることができる。PCBは、熱散逸を可能にするために懸濁処理を低速化することができるように、より良好な温度制御のための内部サーミスタ（熱抵抗器）を備えることができる。

【0026】

例えば、電極は、導電ポリマー、特に、導電材料をドーブされたポリマーから作製することができる。ポリマーは、ポリカーボネート、ポリエーテルエーテルケトン、ポリプロピレン、ポリアミド、ポリフェニレンスルファイド若しくはこれらのポリマーの混合物からなるか、又は少なくともこれらに基づくことができる。ポリマーは、例えば、カーボンファイバ、グラファイト、すす、カーボンナノチューブ及び/又は生来から導電性を持つ合成材料をドーブされることが可能である。代替的に、ポリアニリン、ポリアセチレン、ポリパラフェニレン、硫化ポリパラフェニレン、ポリピロール、ポリチオフェン、ポリプロピレン等の生来から導電性を持つポリマーを電極材料として用いてもよい。

【0027】

適切な基板部材を提供するために、ポリマーは、基板部材の1つ又は複数の側に少なくとも2つの導電領域を設けられた、基板部材の一方の側の上に成形することができ、ポリマーは少なくとも1つの導電領域に対し少なくとも部分的に、密な物理的接触を形成し、導電領域は、平坦とするか、又は基板部材内の窪み若しくは基板部材を通る穴の表面とすることができ、ポリマーは、窪み内に又は穴を通して延在し、電極から、導電ポリマーで外側被覆されていない接点への導電性パスを形成する。

【0028】

本発明の1つの態様は、細胞、細胞小器官及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するためのデバイスであって、懸濁液を保持するための少なくとも1つのチャンバを備え、チャンバは少なくとも1つの電極を備え、チャンバは少なくとも1つの基板部材をさらに備え、この少なくとも1つの基板部材は、少なくとも実質的に絶縁材料から作製され、電極が取り付けられる表面を備え、この表面は、電極と少なくとも1つの電気接点との間で電気接続を提供するように設計された少なくとも1つの導電領域を備える、デバイスを提供することである。基板部材の表面上の導電領域は、少なくとも部分的に上側被覆されるか又は導電材料で満たされ、電極から接点への導電性パスを提供する、窪み又は穴とすることができる。このデバイスによれば、電極及び導電材料が同じ材料から作成されれば有益である場合がある。例えば、電極は、導電ポリマー、特に、上記で説明されたような、導電材料をドーブされたポリマー又は生来から導電性を持つポリマーから作製することができる。ポリマーは、基板部材の一方の側の上に成形され、平坦な導電領域と密な物理的接触を形成することができるか、又は導電めっきを施された窪み内に若しくは導電めっきを施された穴を通して延在し、電極から接点までの導電性パスを形成することができる。本発明の有利な実施形態では、基板材料は、プリント回路基板（PCB）等とすることができる。

【0029】

PCBの上側被覆によって電極と接触することにより、電気接点のロケーションと独立して電極を設計することが可能になり、それによって、最適化された電極設計を、最適な電気接続と組み合わせることができる。すなわち、電極と接触するための手段は、電極の設計及び位置と独立して設計することができる。PCBは、懸濁液の処理を低速化して熱散逸を可能にすることができるように、より良好な温度制御のための内部サーミスタ又は任意の他の感温電気部品を含むことができる。

【0030】

10

20

30

40

50

代替的に、チャンバの電極は、金属、例えば、アルミニウム又は任意の他の導電材料から作製することができる。

【0031】

本発明によるデバイスは、チャンバの外側で分離要素を固定するための手段をさらに備えることができ、それによって、スケーリング可能なチャンバは、固定の容量を有する静的チャンバに容易に変換することができる。例えば、デバイスの静的な変形形態は、約0.5 ml、1.0 ml、1.5 ml又は2.0 mlの固定の処理量を有することができる。

【0032】

本発明によるデバイスの他の構成要素に対してチャンバを封止するために、少なくとも1つのガスケットを調整要素とチャンバとの間に配設することができる。

10

【0033】

チャンバは、チャンバの一方の側に沿って少なくとも部分的に延在し、この側を環境に対し封止する、少なくとも1つの封止インレイをさらに備えることができる。この封止インレイは、上述したガスケットと反対側のチャンバの一方の側に、すなわち、調整要素と反対側のチャンバの一方の側に配設することができる。封止インレイは、弾性及び圧縮性の材料を含む場合、チャンバ内の圧力補償をさらに可能にする。封止インレイは、発泡シリコン又は同様の不活性材料から作製することができる。

【0034】

別の例示的な実施形態によれば、本発明によるデバイスは、このデバイスを本発明による別のデバイスに取り付けるための積層手段をさらに備えることができる。すなわち、電気穿孔又は電気融合システムの性能は、本発明に従って複数のデバイスを積層して、時間単位あたりに処理可能な量を増大させることによって容易に向上させることができる。例えば、積層されたデバイスを、複数のチャンバが並列に接続されるように結合することができる。このようにして、システムの総容量を、例えば10倍に増大させることが可能であることが有利である。

20

【0035】

本発明によるデバイスの容量を増大させるための別の手法は、1つのデバイス内に2つ以上のチャンバを設けることである。この場合、チャンバは並列に又は同心円状に配置することができる。

30

【0036】

積層可能バージョン及び/又はマルチチャンババージョンにより、システムの総容量を、10 mlまで、又はさらには100 ml以上まで容易に増大させることができる。基本的には、処理される細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の数は、いかなる形でも制限されない。例えば、適切なスケールアップにより、 $10^7$ 個~ $10^8$ 個、 $10^7$ 個~ $10^9$ 個、又は $10^7$ 個~ $10^{10}$ 個の細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の処理が可能になる。

【0037】

本発明の有利な実施形態では、デバイスは、機能状態において直立の向きを有するように設計される。この直立の向きが、チャンバの上部に配設されたチャンバ出力ポートと組み合わされると、完全な気泡除去が保証される。

40

【0038】

目的は、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液に電界を印加するための方法であって、

a) 懸濁液のアリコート、懸濁液に電界を印加するためのデバイスの少なくとも1つのチャンバに充填することであって、このチャンバは少なくとも2つの電極を備え、チャンバ内に配設された分離要素は第1の方向に動かされることと、

b) チャンバの少なくとも2つの電極を介してアリコートに電圧パルスを印加することと、

c) チャンバからアリコートを放出し、同時に懸濁液のさらなるアリコートをチャンバ

50

内に充填することであって、分離要素は、第1の方向と反対の第2の方向に動かされ、分離要素は、アリコートを互いに分離することと、

d) チャンバの少なくとも2つの電極を介して電圧パルスを送るアリコートに印加することと、  
を含む、方法によってさらに満たされる。

【0039】

プロセスは、この時点で、チャンバからさらなるアリコートを完全に放出することによって終了することができる。ここで、分離要素は、第2の方向と反対の第1の方向に動かされる。

【0040】

本発明による有利な方法において、チャンバの同時の充填及び放出が達成され、それによって、懸濁液の変更に必要な時間が最小になり、このため、懸濁液の2つの後続の電気的処理間のタイムラグが最小になる。この最小化の結果として、大量、すなわち、1 ml を越える量の場合の処理時間が大幅に加速される。

【0041】

本発明による方法は、

e) チャンバからさらなるアリコートを放出し、同時に、懸濁液のさらなるアリコートをチャンバ内に充填することであって、分離要素は、第2の方向と反対の第1の方向に動かされ、分離要素は、アリコートを互いに分離することと、

f) チャンバの少なくとも2つの電極を介してさらなるアリコートに電圧パルスを印加することと、

g) 任意選択で、懸濁液全体が処理されるまで懸濁液のさらなるアリコートについてステップc) ~ f) を繰り返すことと、

によって、より大きな量のさらなる処理のために継続することができる。

【0042】

したがって、懸濁液の繰返しの充填及び処理に起因して、本発明による方法は、スケーリング可能なプロセスである。例えば、チャンバが合計1 ml の容量を有する場合、この容量のうちの任意の複数容量を、迅速化された方式で容易に処理することができる。

【0043】

例えば、上記方法において用いられるデバイスは、上記で説明した本発明によるデバイスとすることができる。

【0044】

例えば、分離要素は、分離要素と連動する調整要素によって、少なくとも部分的に、チャンバ内で動かすことができる。調整要素が回転可能な本体、例えば、回転子状の要素である場合、分離要素は、調整要素を回転することによって動かすことができる。そのような実施形態は、特に、チャンバが湾曲形状を有する場合に、分離要素の厳密な制御及び一定の動きを確保する。懸濁液は、ポンプ要素、例えば、真空ポンプ又は蠕動ポンプ等によってチャンバ内に充填及びチャンバから放出されることが可能である。このために、本発明によるデバイスに、このデバイスを共通ポンプシステムに適合させる、ルアースリップコネクタ又は取付け可能及び取外し可能である任意の他のコネクタを設けることができる。ポンプ圧力は、チャンバの内面に沿って拭取りを行う分離要素の動きによって支持され、それによって、処理済みの試料がチャンバから完全に排出することが確保される。さらに、圧送及び拭取りの組み合わせにより、結果として、気泡、細胞残屑及び任意の他の顆粒が効果的に除去されることになる。

【0045】

特定の用途では、処理される細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞と、基材及び反応剤とを別個の格納容器で準備し、チャンバの充填及び後続の処理の直前にこれらを混合することが必要であるか又は有利である場合がある。

【0046】

本発明は、図面を参照して詳細にさらに例示的に説明される。

10

20

30

40

50

## 【図面の簡単な説明】

## 【0047】

【図1a】回転可能な調整手段及び湾曲したチャンバ設計を備える、本発明によるデバイスの個々の構成要素の例示的な実施形態の図であり、下側の端点の位置で要素を分離した状態を示す図である。

【図1b】回転可能な調整手段及び湾曲したチャンバ設計を備える、本発明によるデバイスの個々の構成要素の例示的な実施形態の図であり、中間位置で要素を分離した状態を示す図である。

【図2a】図1によるデバイスの分離要素の、下側の端点の位置の概略図を示す図である。

【図2b】図1によるデバイスの分離要素の、上側の端点の位置の概略図を示す図である。

【図2c】図1によるデバイスの分離要素の、中間位置の概略図を示す図である。

【図2d】図1によるデバイスの分離要素の、パーキング (parking) 位置の概略図を示す図である。

【図3】図1によるデバイスの外側の斜視図を示す図である。

【図4】(a)は図3による基板部材の、電極を有する基板の内側を示す図であり、(b)は図3による基板部材の、導電領域を有する基板部材の外側を示す図である。

【図5】図3及び図4によるデバイスの3つの例示的な実施形態の詳細を示し、(a)は穴を通じて延在する電極、(b)平坦な面に取り付けられた電極、(c)凹部に取り付けられた電極を示す図である。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0048】

図1a及び図1bは、本発明によるデバイス1の個々の構成要素の例示的な実施形態を示す。デバイス1は、4つの電極4、5を設けられた湾曲凹部3を有する基板部材2を備える。これらの電極のうち3つはセグメント電極4である一方、1つの電極は対電極5である。基板部材2は、互いに取り付けられた2つの構成要素から組み立てられたデバイス1の1つの構成要素を表し、これらの構成要素の少なくとも内側は同一である。すなわち、同一の内側を有する基板部材2及び第2の基板部材(図3に示す基板部材30)は互いに取り付けられ、それによって、凹部3及び第2の基板部材の対応する凹部が、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞の懸濁液を保持するためのチャンバ6を形成するようになっている。このチャンバ6において、例えば、核酸又はタンパク質等の生物学的に活性な分子を、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞内に移動させるために、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び/又は小胞に電界を印加することができる。このために、基板部材2の電極4、5及び第2の基板部材の対応する電極は、電極対を確立し、基板部材2のセグメント電極4及び反対側に配置された第2の基板部材の対電極が3つの電極対を確立する一方で、基板部材2の対電極5及び3つの反対側に配置された第2の基板部材のセグメント電極も3つの電極対を確立する。この構成において、基板部材2の対電極5及び第2の基板部材の対電極はそれぞれ3つのセグメントの共通電極であり、チャンバ6が6つのセグメントを含むようになっており、各セグメントには、1つのセグメント電極と、1つの共通対電極の領域とが設けられる。

## 【0049】

2つのポート7、8がチャンバ6の一方の端部9に配設され、2つのポート10、11がチャンバ6の反対の端部12に配設される。上側ポート7、8のうち一方のポートは、チャンバ6に充填するための入口ポートとして用いることができ、ポート7、8のうちの他方のポートは、チャンバ6から放出するための出口ポートとして用いることができる。同様に、下側ポート10、11のうち一方のポートは、チャンバ6に充填するための入口ポートとして用いることができ、ポート10、11のうちの他方のポートは、チャンバ6から放出するための出口ポートとして用いることができる。したがって、各端部9、

10

20

30

40

50

12には、2つのポート7、8、10、11が設けられ、これらのポートを通じて、チャンバ6のそれぞれの区画を懸濁液で満たすことができ、及び/又はこれらのポートを通じて、この区画から懸濁液を除去することができる。この構成により、チャンバ6の充填及びチャンバからの放出を同時に行うことが可能になり、それによって、懸濁液の変更に必要な時間が最小になり、このため、懸濁液の2つの後続の電氣的処理間のタイムラグが最小になる。チャンバ6の反対側の端部9、12にポート7、8、10、11を設けることにより、プッシュブルメカニズムを容易に確立することが可能になり、ここで、懸濁液は、チャンバ6の一方の端部9における1つの区画への充填と、チャンバ6の反対側の端部12における別の区画からの放出を同時に行うように、チャンバ6の2つの端部9、12間で動くことができる。したがって、デバイス1はフロースルーデバイスではなく、プッシュブルメカニズムによってチャンバ6の充填及びチャンバ6からの放出とを同時に行うことを可能にするデバイスであり、液体は常に、チャンバに入った側と同じ側でチャンバから出る。

10

20

30

40

50

#### 【0050】

電界によって既に処理された懸濁液を、処理される懸濁液と分離するために、分離要素13が設けられる。分離要素13は、チャンバ6内で2つの端点14、15間を動かされることが可能であり、図1b及び図2cに示されるように2つの端点14、15の間の位置にある場合、チャンバ6を2つの区画に分ける。図1及び図2に示す例示的な実施形態では、分離要素13は、互いに離間され、圧縮性材料を含む内側空間18の側面に位置する2つの部品16、17を含む。2つの離間された部品16、17は、ワイパ状の指部であり、分離部材13が、端子点14、15間の位置にある場合(図1b及び図2c)に、チャンバ6の異なる区画間の液体及び/又は気体を通さない分離を確保する封止部材であるようになっている。このために、分離要素13は、可撓性及び/又は弾性材料から作成することができ、それによって、チャンバ6内での圧力ピークを補償することも可能である。分離要素13は、チャンバ6を最適に清掃するためのシールリップをさらに備えることができる。内部空間18を満たす圧縮性材料は、チャンバ6内に有効な圧力補償を提供するための、空気若しくは任意の他の気体、又は圧縮性の発泡材料若しくは細胞物質とすることができる。したがって、分離要素13も、チャンバ6内の圧力変動の平衡をとる一種のクッションとして動作する。

#### 【0051】

分離要素13は、分離要素13を操作及び/又は制御する調整要素19に結合される。すなわち、分離要素13は、調整要素19によって、チャンバ6内で動かすことができる。調整要素19は、チャンバ6の外側に配設され、チャンバ6の各区画が、デバイス1の機能に影響を及ぼし得る一切の干渉要素を欠くようにする。調整要素19は、分離要素13の離間された部分16、17と連動する回転可能な本体20を備える。この例示的な実施形態では、回転可能な本体20は、分離要素13が両方向矢印21に沿って回転運動を行うことができるように分離要素13を動かす、回転子状の要素である。この実施形態は、湾曲したチャンバ6内の分離要素13の厳密な制御及び一定の運動を確保する。回転可能な本体20は、チャンバ6に対し調整要素19を封止するガスケット22によって包囲される。ここで、回転可能な本体20は、弾性材料から作製されるスポーク23を介してガスケット22に接続される。

#### 【0052】

デバイス1は、上記で説明したガスケット22の反対側のチャンバ6の外面に沿って延在し、チャンバ6の区画26及び27を互いに対して封止する封止インレイ24をさらに備える。封止インレイ24は、弾性及び圧縮性の材料、例えば、発泡シリコン又は同様の不活性材料から作製され、それによって、チャンバ内の圧力補償が可能になる。

#### 【0053】

デバイス1は、チャンバ6の外側で分離要素13を固定する手段を備え、それによって、スケーリング可能なチャンバ6は、図2dに示すような固定の容量を有する静的チャンバ6に容易に変換することができることが有利である。このために、分離要素13は、調

整要素 19 によってパーキング部位 25 まで動かされ、このパーキング部位で固定され、バッチプロセスにおける懸濁液の処理のためにチャンバ 6 の容量全体を提供する。

【0054】

図 2 a ~ 図 2 d は、図 1 によるデバイス 1 の分離要素 (13) の様々な位置を示す。本発明による方法は、細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び / 又は小胞の懸濁液を電氣的に処理するためのスケーリング可能なプロセスである。図 2 a ) において、分離要素 13 は、下側の端点 15 の位置にセットされる。分離要素 13 が上側の端点 14 (図 2 b ) ) の位置まで回転する場合、懸濁液の第 1 のアリコートが下側ポート 10、11 のうちの一方に注入され、このためチャンバ 6 内に充填される。次に、第 1 のアリコートは、懸濁した細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び / 又は小胞に電界を印加することによってチャンバ 6 内で処理される。その後、処理された第 1 のアリコートは、分離要素 13 を下側端点 15 の位置に戻るように回転させることによって、下側ポート 10、11 のうちの 1 つを通して放出され、同時に、懸濁液の第 2 のアリコートが上側ポート 7、8 のうちの一方に注入され、このため、チャンバ 6 内に充填される。次に、第 2 のアリコートは、懸濁した細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び / 又は小胞に電界を印加することによって、チャンバ 6 内で処理される。その後、処理された第 2 のアリコートが、分離要素 13 を上側の端点 14 の位置に戻るように回転させることによって、上側ポート 7、8 のうちの一方を通じて放出され、同時に、懸濁液の第 3 のアリコートが下側ポート 10、11 のうちの一方に注入され、このため、チャンバ 6 内に充填される。次に、第 3 のアリコートは、懸濁した細胞、細胞誘導体、細胞小器官、細胞内顆粒及び / 又は小胞に電界を印加することによってチャンバ 6 内で処理される。懸濁液の同時の充填及び放出を用いたこのプッシュプルメカニズムは、懸濁液全体が処理されるまで繰り返すことができる。

10

20

30

40

50

【0055】

分離要素 13 は、端点 14、15 (図 2 c ) ) 間の位置にある場合、チャンバ 6 を 2 つの区画 26、27 に分離する。ここで、チャンバ 6 の各区画 26、27 は、懸濁液を保持するように設計され、チャンバ 6 の充填又はチャンバ 6 からの放出のための 2 つのポート 7、8 及び 10、11 を備える。各区画 26、27 は、ポート 7、8 及び 10、11 を通じてチャンバ 6 の内外に移動可能な懸濁液のアリコートを受容及び保持することができる。区画 26、27 は、各々が、それぞれの区画 26、27 を懸濁液で満たすことができる 1 つのポート 7、10 と、懸濁液をこの区画 26、27 から除去することができる 1 つのポート 8、11 とを設けられる。分離要素 13 が回転されると、チャンバ 6 の 1 つの区画 26、27 が試料のアリコートで満たされる一方、試料の別のアリコートが他の区画 26、27 から放出され、押し出される。到来する試料のための容器は、上側及び下側の入口ポート 7、10 に接続することができ、上側及び下側の出口ポート 8、11 は、処理済みの試料のためのリザーバに接続することができる。図 2 から明らかとなるように、デバイス 1 は、フロースルー形式で機能するのではなく、プッシュプル方式で機能し、注入される試料は、処理後に、充填されたのと同じ側で放出される。チャンバ 6 は、6 つの電極セグメントを処理し、そのうちの 1 つは、常に分離要素 13 によって覆われ、このため使用可能でない。例えば、チャンバ 6 は、サイクルあたり 1000  $\mu$ l を取得することができる。このため、この場合、完全な 1 サイクルで 2000  $\mu$ l を処理することができる。

【0056】

本発明の有利な実施形態では、分離要素は、厳密に 1 つ又は複数のセグメント電極を覆うように調整され、他の各電極セグメント内で同じ電気パラメータを確立することができるようにされる。

【0057】

デバイス 1 の静的変形形態は、分離要素 13 が回転することを可能にしない。代わりに、図 2 d に示されるように、分離要素 13 は、チャンバ 6 の外側でパーキング部位 25 に固定され、電極セグメントを一切覆わない。この変形形態では、6 つ全ての電極セグメントを用いることができ、このため、1200  $\mu$ l の試料を処理することができる。例えば

、試料は、デバイス 1 の下側又は上側入口ポート 7、10 において注入することができ、下側出口ポート 11 において収集することができる。反復して満たすことは、デバイス 1 のこの状態では可能でない。

【0058】

図 3 は、図 1 によるデバイス 1 の外側の斜視図を示す。デバイス 1 は、基板部材 30 を備え、基板部材 30 の内側（不可視）は、図 1 による基板部材 2 の内側と同一である。基板部材 30 は、互いに取り付けられた 2 つの構成要素（基板部材 2 及び 30）から組み立てられたデバイス 1 のさらなる構成要素を表す。この外側において、基板部材 30 には、図 1 及び図 2 によるチャンバ 6 のポート 7、8、10、11 に導管を接続するためのコネクタ 31 が設けられる。懸濁液が処理されるための 1 つ又は複数の容器、及び処理済みの懸濁液のための 1 つ又は複数のリザーバを、適切な導管を介してコネクタ 31 に接続することができる。懸濁液は、ポンプ要素、例えば、真空ポンプ又は蠕動ポンプ等によってチャンバ内に充填及びチャンバから放出されることが可能であり、真空及び又は蠕動ポンプは、容器 / リザーバとコネクタ 31 との間のサスペンション回路に接続することができる。デバイス 1 を共通の導管及びポンプシステムに適合させるために、コネクタ 31 は、ルアーリップコネクタ又はルアーロックコネクタとすることができる。

10

【0059】

デバイス 1 の調整要素 19 は、ウォームギヤ、スパーギヤ、ベベルギヤ、ギヤロッド、ベルトドライブ、角棒鋼、又は同様のギヤメカニズム又はパワー伝達要素（図示せず）を介して、電源ユニット（図示せず）、例えば電気モータに接続することができる。

20

【0060】

基板部材 30 は、チャンバ内の電極に電気接続を提供するための多数の導電領域 32 をさらに備える。導電領域 32 は、導電ポリマー、特に、導電材料をドーブされたポリマー又は生来から導電性を持つポリマーを含むことができる。導電領域 32 は、電極と、少なくとも 1 つの電気接点 33 との間の電氣的接続を提供するように設計される。この実施形態では、導電領域 32 は、基板部材 30 内の穴であり、少なくとも部分的に、導電性材料で満たされている。導電性領域 32 は、少なくとも 1 つの導電性経路（図示せず）を介して、少なくとも 1 つの電気接点 33 に電氣的に結合されている。電気接点は、電源に対し直接の又は間接的な電気接続を提供するために、少なくとも 1 つの電気接点によって接触することができる。

30

【0061】

図 4 の (a) 及び (b) は、図 3 による基板部材 30 の異なるビューを示す。基板部材 30 の内面 34 が図 4 の (a) に示されている。電極 4、5 は内面 34 に取り付けられている。これらの電極 4、5 のうちの 3 つがセグメント電極 4 であるのに対し、これらの電極 4、5 のうちの 1 つはより大きな対電極 5 である。電極 4、5 は、基板部材 30 の内面 34 から外面 35 に延在する導電領域 32 に取り付け及び接続される。例えば、導電領域 32 内の電極 4、5 及び導電材料は、同じ材料、例えば、導電ポリマー、特に、上記で説明されたような、導電材料をドーブされたポリマー又は生来から導電性を持つポリマーから作製される。ポリマーは、基板部材 30 の内面 34 及び導電領域 32 の上に成形され、図 5 の (a) に詳細に示すように、導電領域 32 の穴を通じて延在することができる。導電領域 32 は、少なくとも 1 つの導電性パス（図示せず）を介して少なくとも 1 つの電気接点 33 と電氣的に結合されている。電気接点 33 は、電源に対し直接の又は間接的な電気接続を提供するために、少なくとも 1 つの電気接点によって接触することができる。本発明の有利な実施形態では、基板部材 30 はプリント回路基板（PCB）である。

40

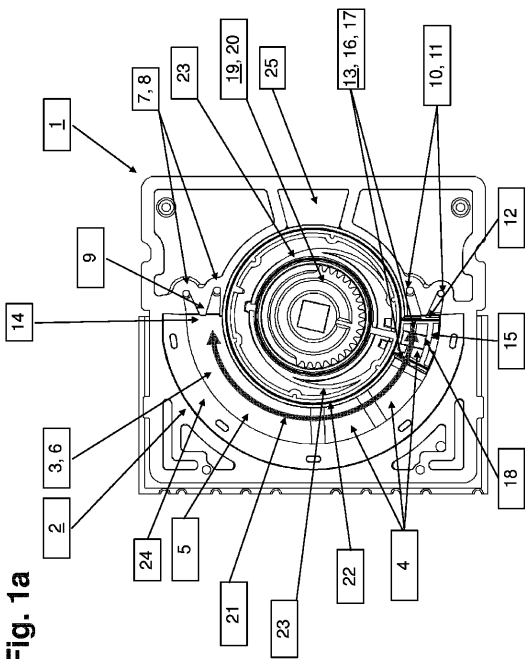
【0062】

図 5 の (a) ~ (c) は、図 3 及び図 4 によるデバイスの代替的な実施形態の詳細を示す。図 3 及び図 4 を参照して説明されるように、基板部材 30 は、電極 4 が取り付けられる導電領域 32 を有する。図 3 及び図 4 に示すデバイスにおいても実現される、図 5 の (a) に示す実施形態では、導電領域 32 は、導電材料で少なくとも部分的に満たされた穴 36 を備える。導電材料が穴 36 から突き出し、基板部材 30 の外側表面 35 において一

50

種の突起 37 を形成する場合、基板部材 30 に対する電極 4 の接続の安定性が有利に増大する。図 5 の ( b ) 及び ( c ) に示す実施形態では、導電領域 32 は、導電材料で満たされた穴を備えず、導電材料を含む平坦な面 ( 図 5 の ( b ) ) 又は凹部 ( 図 5 の ( c ) ) を備える。このため、代替的には、電極 4 は、基板部材 30 の平坦な面又は凹部に取り付けられてもよい。

【 図 1 a 】



【 図 1 b 】

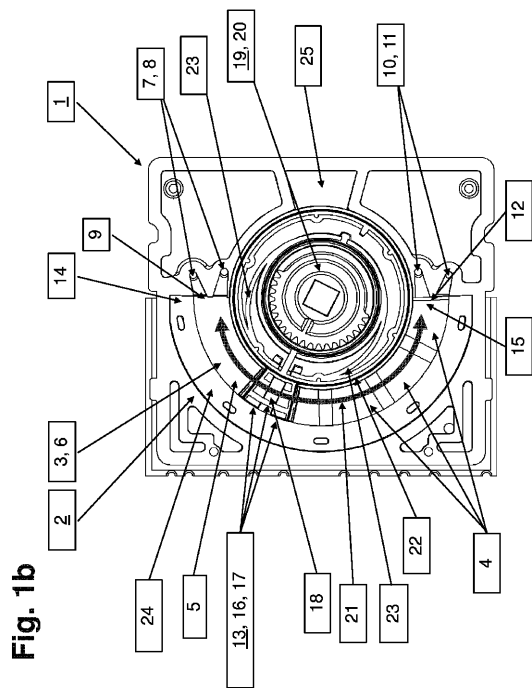


Fig. 1a

Fig. 1b

【 2 a 】

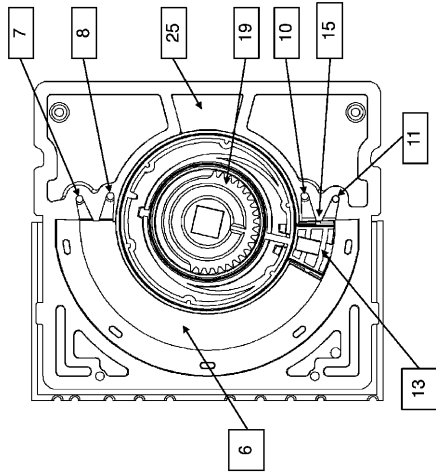


Fig. 2a

【 2 b 】

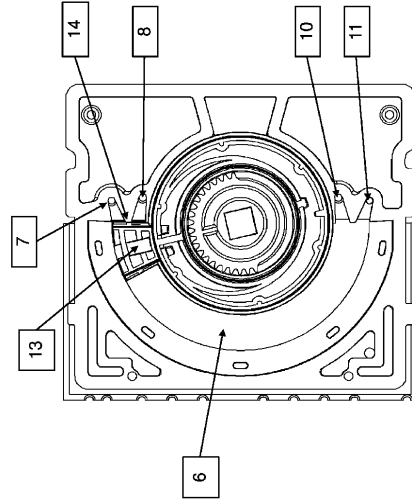


Fig. 2b

【 2 c 】

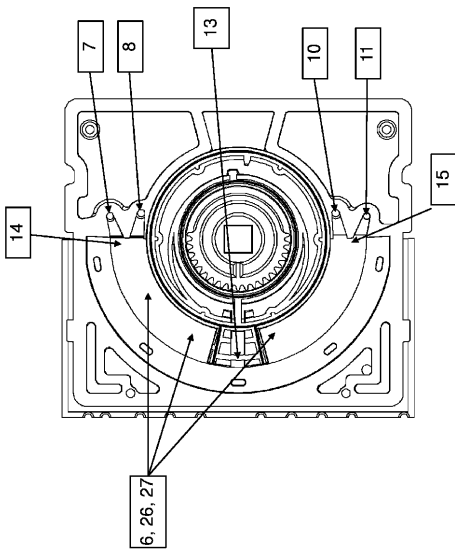


Fig. 2c

【 2 d 】

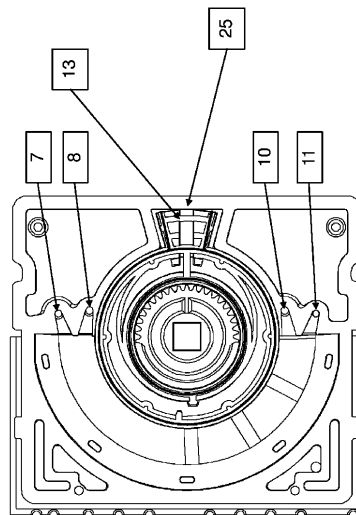


Fig. 2d

【 図 3 】

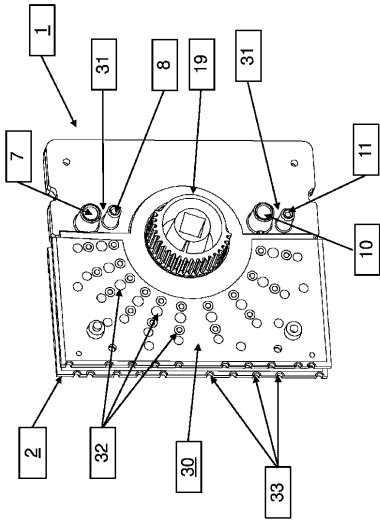


Fig. 3

【 図 4 】

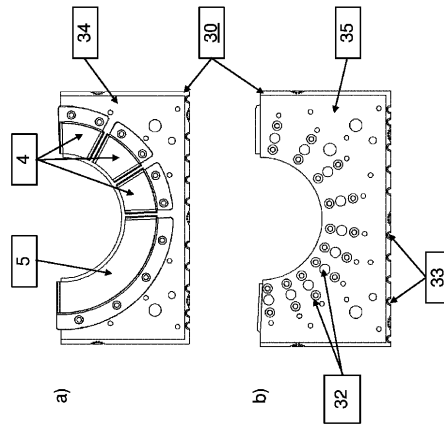
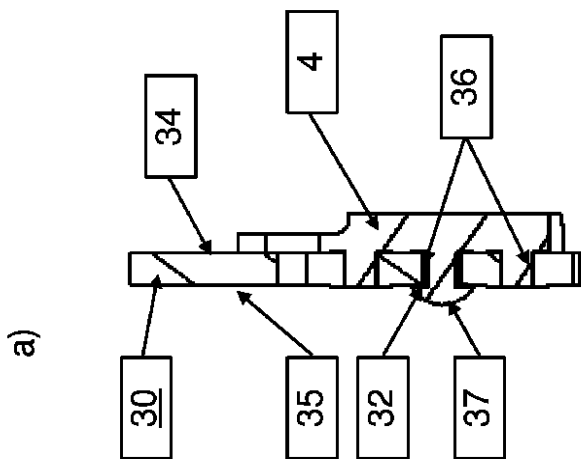


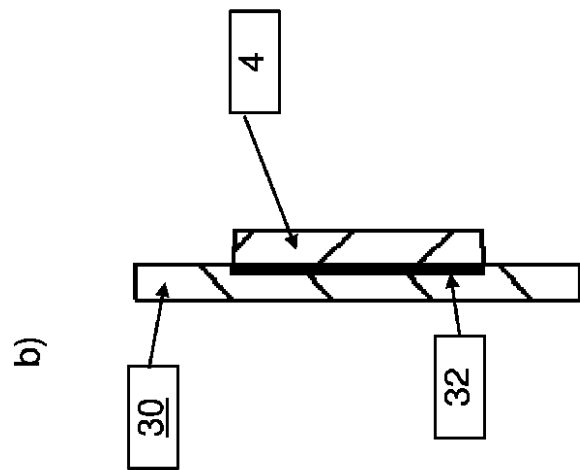
Fig. 4

【 図 5 a ) 】



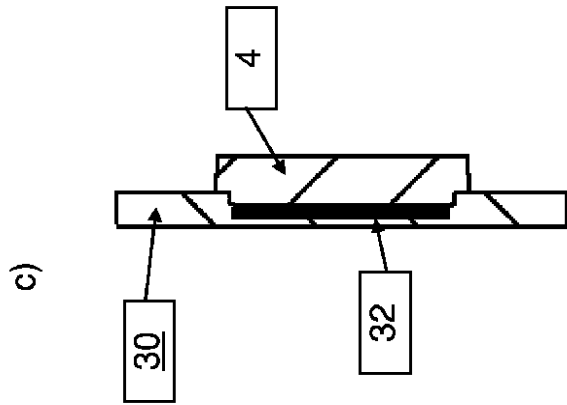
a)

【 図 5 b ) 】



b)

【図 5 c )】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/059150
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C12M1/42 A61N1/30 C12N15/87 G01N35/10 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M A61N C12N G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, INSPEC, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/113820 A2 (MAXCYTE INC [US]; DZEKUNOV SERGEY [US]; CHOPAS NICHOLAS [US]) 1 December 2005 (2005-12-01) cited in the application	1,2,4,6,13,14
Y	claims 1-17 figure 1	1-15
Y	WO 2007/120234 A2 (GENETRONICS INC [US]; GAMELIN ANDRE S [US]) 25 October 2007 (2007-10-25) claims 1-17 figures 1, 7	1-15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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		Date of mailing of the international search report
10 June 2015		18/06/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Bayer, Martin

1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/059150

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 2005113820 A2	01-12-2005	AU 2005245871 A1	01-12-2005		
		CA 2565316 A1	01-12-2005		
		CN 101426929 A	06-05-2009		
		CN 102268425 A	07-12-2011		
		DK 1766057 T3	02-03-2015		
		EP 1766057 A2	28-03-2007		
		JP 4937904 B2	23-05-2012		
		JP 2008509653 A	03-04-2008		
		KR 20070067648 A	28-06-2007		
		US 2005282200 A1	22-12-2005		
		US 2011065171 A1	17-03-2011		
		WO 2005113820 A2	01-12-2005		
		WO 2007120234 A2	25-10-2007	AU 2006342101 A1	25-10-2007
				CA 2631719 A1	25-10-2007
CN 101370927 A	18-02-2009				
EP 1957642 A2	20-08-2008				
JP 2009518044 A	07-05-2009				
KR 20080086983 A	29-09-2008				
US 2007128708 A1	07-06-2007				
WO 2007120234 A2	25-10-2007				

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 グライスナー, ティモ  
ドイツ, 53879 オイスキルヒェン, イム アウエル 83

(72)発明者 ハインツェ, アンドレアス  
ドイツ, 50739 ケルン, カイザースヴェルター シュトラッセ 3

(72)発明者 ハームズマイヤー, スヴェン  
ドイツ, 53121 ボン, カール - ユスティ - シュトラッセ 23

Fターム(参考) 4B029 AA07 AA27 BB01 FA01 FA15 GB06 GB10