

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-123874

(P2017-123874A)

(43) 公開日 平成29年7月20日(2017.7.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 M 1/42 (2006.01)	C 1 2 M 1/42	4 B O 2 9
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	

審査請求 未請求 請求項の数 20 O L 外国語出願 (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2017-78807 (P2017-78807)	(71) 出願人	516025173
(22) 出願日	平成29年4月12日 (2017. 4. 12)		アクション バイオシステムズ, インコ
(62) 分割の表示	特願2016-550845 (P2016-550845)		ーボレイテッド
原出願日	平成27年6月12日 (2015. 6. 12)		アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 3 0 9
(31) 優先権主張番号	62/011, 291		, アトランタ, ピーチツリー ロード
(32) 優先日	平成26年6月12日 (2014. 6. 12)		エヌイー 1 8 1 9, スイート 3 5
(33) 優先権主張国	米国 (US)		O
		(74) 代理人	100078282
			弁理士 山本 秀策
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
		(74) 代理人	100181674
			弁理士 飯田 貴敏
		(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学的刺激を有するマルチウェル微小電極アレイ

(57) 【要約】

【課題】 好適な光学的刺激を有するマルチウェル微小電極アレイを提供すること。

【解決手段】 基板と、その基板に連結された複数のウェルとを含む、電気光学的刺激及び記録システムが開示される。本システムは、複数のウェルのそれぞれのウェルに近接して配置された少なくとも1つの電極セットも含み、この電極セットは、それぞれのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するように構成された少なくとも1つの電極を備える。本システムは、ウェルのそれぞれのウェルに対応し、それぞれのウェルの少なくとも一部分に光学的刺激を送達するように構成された発光素子セットも含む。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

光学的刺激システムであって、
複数のウェルを備えるマイクロプレートと、
前記マイクロプレートに連結するように構成された蓋であって、前記蓋の少なくとも一部分が、前記マイクロプレートに接触する、蓋と、
前記複数のウェルのうちの少なくとも 1 つのウェルに対応する少なくとも 1 つの発光素子セットであって、前記少なくとも 1 つの発光素子セットは、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに光学的刺激を送達するように構成されており、前記少なくとも 1 つの発光素子セットは、前記蓋に取り外し可能に連結されるように構成されている、
少なくとも 1 つの発光素子セットと
を備える、システム。

10

【請求項 2】

前記蓋が、凹部、レンズ、フィルタ、格子又は反射性表面のうちの少なくとも 1 つを備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 3】

前記蓋が、前記凹部、前記レンズ、前記格子、前記フィルタ又は前記反射性表面のうちの前記少なくとも 1 つを介して、送達される光の光学的特性を修正するように構成される、請求項 2 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記蓋が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの基部への送達される光を増大するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

20

【請求項 5】

前記蓋が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに隣接する 1 つ以上のウェルへの送達される光の損失を防止するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 6】

前記蓋が、少なくとも 1 つの凹部を備え、前記少なくとも 1 つの凹部が、前記少なくとも 1 つの発光素子セットが前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの基部のより近くに位置付けられることを可能にするように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

30

【請求項 7】

前記蓋が、少なくとも 1 つのレンズを備え、前記少なくとも 1 つのレンズが、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの基部への送達される光を増大するか、又は前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに隣接する 1 つ以上のウェルへの送達される光の損失を防止するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 8】

前記蓋が、少なくとも 1 つの反射性表面を備え、前記少なくとも 1 つの反射性表面が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの基部への送達される光を増大するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

40

【請求項 9】

前記蓋が、少なくとも 1 つの反射性表面を備え、前記少なくとも 1 つの反射性表面が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに隣接する 1 つ以上のウェルへの送達される光の損失を防止するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 10】

前記蓋が前記マイクロプレートに連結されるときに前記蓋と前記マイクロプレートとの間に間隙が画定される、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 11】

複数の発光素子セットを更に備え、前記複数の発光素子セットの各々が、前記複数のウェルのそれぞれのウェルに対応する、請求項 1 に記載のシステム。

50

【請求項 1 2】

前記複数の発光素子セットの各々が、独立制御のために構成される、請求項 1 1 に記載のシステム。

【請求項 1 3】

前記蓋が、更に、前記蓋を加熱するシステムを備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 1 4】

前記マイクロプレートが、少なくとも 1 つの反射性表面を備え、前記少なくとも 1 つの反射性表面が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの基部への送達される光を増大するか、又は前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに隣接する 1 つ以上のウェルへの送達される光の損失を防止するように構成される、請求項 1 に記載のシステム。

10

【請求項 1 5】

前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルが、湾曲した壁を備え、前記湾曲した壁が、送達される光を前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの前記基部に向けて集中させるように構成される、請求項 1 4 に記載のシステム。

【請求項 1 6】

前記マイクロプレートが、前記複数のウェルの下の透明な床を備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 1 7】

前記マイクロプレートの前記透明な床の下に配置される反射性材料を更に備える、請求項 1 6 に記載のシステム。

20

【請求項 1 8】

電気光学的刺激及び記録システムであって、

請求項 1 に記載の光学的刺激システムと、

プロセッサと

を備え、

前記プロセッサが、

前記少なくとも 1 つの発光素子セットに照明パターンを有する光を放出させるための制御信号を提供することと、

前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの一部分と関連付けられた信号の変化を分析することと

30

を行うように構成される、電気光学的刺激及び記録システム。

【請求項 1 9】

電気光学的刺激及び記録システムであって、

請求項 1 に記載の光学的刺激システムと、

前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルに近接して配置された少なくとも 1 つの電極と

を備え、

前記少なくとも 1 つの電極が、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するか、又は前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの少なくとも一部分に電気刺激を送達するように構成される、電気光学的刺激及び記録システム。

40

【請求項 2 0】

プロセッサを更に備え、

前記プロセッサが、

前記少なくとも 1 つの発光素子セットに照明パターンを有する光を放出させるための制御信号を提供することと、

前記少なくとも 1 つの電極を介して、前記複数のウェルのうちの前記少なくとも 1 つのウェルの前記一部分と関連付けられた前記電気信号を検出することと

を行うように構成される、請求項 1 9 に記載の電気光学的刺激及び記録システム。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、概して、細胞及び組織の光遺伝学的刺激を促進するためのツールに関し、より具体的には、光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ、及びそれらを使用するための関連方法に関する。

【背景技術】

【0002】

微小電極アレイ(MEA)は、科学的発見及び医学研究のための非常に重要なツールである。MEAが電気刺激/記録を使用して細胞活性を(単一細胞及び組織レベルの両方で)能動的に監視及び操作することができるため、MEAは、細胞ネットワーク相互作用に関する卓越した識見を提供する。多くの従来のMEAは、単一ウェル種のものであり、即ち、一度に単一の細胞又は組織培養物しか試験/分析し得ない。それ故、従来の単一ウェルマイクロプレートを使用する複数の細胞又は組織試料の試験は、典型的には、複数の単一ウェル測定試験台への著しい金銭的投資、各細胞若しくは組織試料を連続して試験するための著しい時間配分、又はこれらの2つのある組み合わせを必要とする。

【0003】

複数の細胞又は組織培養物を同時に試験するためのより費用効率及び時間効率のよいプラットフォームを提供するために、マルチウェルMEAが開発された。それらの単一ウェルの同等物とは異なり、マルチウェルMEAは、培養ウェルアレイを提供し、それらは各々、ウェルの内容物からの電気活性を記録する(及び/又はウェルの内容物に電気刺激を送達する)ための対応する電極アレイを有する。現在のマルチウェルMEAは、サイズが多様であり、4、12、24、48、72、96、及び384ウェル構成を含み、ほとんどの実験設定の必要を満たすインピット試験を拡張するためのかなりの数の選択肢を提供する。マルチウェルMEAは単一ウェルMEAに関連する拡張性の問題を確実に軽減しているが、異なるモードの刺激(例えば、電氣的、光学的、熱的など)を送達するそれらの能力は一般に制限されている。

【0004】

より具体的には、マルチウェルMEAシステムの相対的成功にもかかわらず、この技術の影響は、電気刺激の固有の限界によって制限される場合がある。MEA微小電極からの電気刺激パルスは、電極の場所に限定され、細胞の垂型にかかわらず、付近の全ての電気活性細胞を興奮させる。細胞の活性の電氣的に媒介された抑制は、非実用的な信頼できない複雑な刺激パラダイムを必要とする。それに加えて、細胞外刺激に必要とされる電荷注入の量は、高感度電子機器を飽和させ、電極上に残留電荷を残す場合がある。次いで、この電荷は、刺激時間前後の重要な活性を覆い隠す電氣的記録の盲点を作り出す。したがって、電気生理学的記録において歪み又はアーチファクトを作り出すことなく細胞ネットワークをより選択的に制御することのできる新たな刺激の解決法が必要とされている。

【0005】

光遺伝学的刺激技術は、細胞培養物を操作するためのより選択的なメカニズムを提供する。光遺伝学方法論において、選択された細胞は、オプシンと呼ばれる感光性の膜タンパク質を発現するように遺伝子操作される。次に、不均質な培養物中の特定の細胞型が、特定の波長の光による活性化又は抑制に関して遺伝子的に標的され得る。この光は、正確にパルス化され、培養物全体により均一に送達され、最小限の刺激アーチファクトしか作り出さずに、標的された細胞型のみを刺激(又は抑制)し得る。異なる方法論を使用して、光遺伝学的刺激は、細胞内信号伝達に影響を及ぼす能力を代替的に提供し得る。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

培養物又は組織試料中の異なる種類の細胞を選択的に標的する強化された能力を有するマルチウェルMEAの解決法を提供するために、統合された、独立して制御可能な光学的

10

20

30

40

50

刺激能力を有するマルチウェルMEAシステムが有利であろう。本開示の光学的刺激能力が統合されたマルチウェル微小電極アレイ、及びそれらを使用するための関連方法は、上記の問題及び／又は当該技術分野における他の問題のうちの１つ以上を克服することに関する。

【課題を解決するための手段】

【０００７】

一態様によると、本開示は、基板と、その基板に連結された複数のウェルとを備える電気光学的刺激及び記録システムに関する。マルチウェルプレートは、１つ以上の電極セットも含んでもよく、各電極セットは、複数のウェルのそれぞれのウェルに近接して配置される。各電極セットは、それぞれのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するように構成された少なくとも１つの電極を備える。マルチウェルプレートは、ウェルのそれぞれのウェルに対応し、それぞれのウェルの少なくとも一部分に光学的刺激を送達するように構成された少なくとも１つの発光素子セットも含んでもよい。

10

【０００８】

別の態様によると、本開示は、細胞培養物の大規模インビトロ試験又は操作のための方法に関する。本方法は、発光素子のある照明パターンで発光させるための制御信号を提供することを含んでもよく、この発光素子は、マルチウェルプレートのウェルに近接して配置される。本方法は、ウェルに近接して配置された電極を介して、このウェルの少なくとも一部分と関連付けられた信号を検出することも含んでもよい。本方法は、検出された信号を分析することと、その分析を示す情報を出力することも含んでもよい。本方法は、検出された信号をベンチマークデータと比較することも含んでもよい。本方法は、その比較に基づいて、照明パターンの調節が必要であると決定することも含んでもよい。本方法は、その決定に基づいて、照明パターンを修正することも含んでもよい。検出された信号が分析されてもよく、その分析を示す情報は、ユーザインターフェース素子を介してディスプレイ上に出力されてもよい。光学的刺激パラメータは、１ウェル当たりの検出された信号に基づいて自動的に調節されてもよい。かかる自動的なアルゴリズム的調節は、例えば、ウェル毎に光パターンを最適に調節するために有用であり得る。ソフトウェアツールは、光パターンが生成され、選択されるウェルに方向付けられ、検出された電気活性の可視化と共に送達された光の可視化を提供することを可能にし得る。

20

【０００９】

別の態様によると、本開示は、第１のウェルに近接して配置され、第１のウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するように構成された第１の電極を備える電極セットを備える電気光学的刺激及び記録システムに関する。本システムは、第１のウェルの少なくとも一部分に光学的刺激を送達するように構成された第１の発光素子セットと、プロセッサとも備えてもよい。プロセッサは、第１の発光素子を第１の照明パターンにて発光させるための第１の制御信号を提供することと、第１の電極を介して、それぞれのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた第１の信号を検出することと、を行うように構成されてもよい。

30

【００１０】

別の実施形態例では、本開示は、複数のウェルを有するマイクロプレートを備える光学的刺激システムに関する。本システムは、複数のウェルのうちの少なくとも１つに対応し、少なくとも１つのウェルに光学的刺激を送達するように構成された少なくとも１つの発光素子セットも備えてもよい。本システムは、マイクロプレートに連結するように構成された蓋も備えてもよく、この蓋は、凹部、レンズ、及び反射性表面のうちの少なくとも１つを介して蓋を通る光の送達を強化する。

40

本発明は、例えば、以下を提供する。

(項目１)

電気光学的刺激及び記録システムであって、
基板と、
前記基板に連結された複数のウェルと、

50

前記複数のウェルのそれぞれのウェルに近接して配置された少なくとも１つの電極セットであって、前記電極セットが、前記それぞれのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するように構成された少なくとも１つの電極を備える、電極セットと、

前記複数のウェルの前記それぞれのウェルに対応し、前記それぞれのウェルの少なくとも一部分に光学的刺激を送達するように構成された少なくとも１つの発光素子セットと、を備える、システム。

(項目２)

前記少なくとも１つの電極が、前記それぞれのウェルの少なくとも一部分に電気刺激を送達するように更に構成される、項目１に記載のシステム。

10

(項目３)

前記少なくとも１つの電極セットが、前記それぞれのウェルの少なくとも一部分に電気刺激を送達するように構成された少なくとも１つの電極を更に備える、項目１又は２に記載のシステム。

(項目４)

複数の発光素子セットを更に備え、前記発光素子セットのうちの少なくとも第１のセットが、前記発光素子セットのうちの少なくとも第２のセットとは独立して照明されるように構成される、項目１～３のいずれか一項に記載のシステム。

(項目５)

前記少なくとも１つの発光素子セットが、前記それぞれのウェルの壁内に配置されるか、前記基板内に配置されるか、前記それぞれのウェルに連結するように構成された蓋内に配置されるか、前記それぞれのウェルの底部内に配置されるか、前記基板と前記それぞれのウェルとの間に配置されるか、前記それぞれのウェルの下に配置されるか、又は前記それぞれのウェルの上に配置される、項目１～４のいずれか一項に記載のシステム。

20

(項目６)

前記少なくとも１つの発光素子セットが、光学的刺激デバイスに動作可能に連結され、前記光学的刺激デバイスが、マルチウェルプレートに取り外し可能に連結するように構成される、項目１～５のいずれか一項に記載のシステム。

(項目７)

前記光学的刺激デバイスは、前記光学的刺激デバイスが前記マルチウェルプレートの上に位置するように、前記マルチウェルプレートに連結するように構成される、項目１～６のいずれか一項に記載のシステム。

30

(項目８)

前記基板が透明であり、前記光学的刺激デバイスは、それが前記それぞれのウェルの基部を介して光学的刺激を提供するように、前記マルチウェルプレートに連結するように構成される、項目１～６のいずれか一項に記載のシステム。

(項目９)

前記少なくとも１つの発光素子が、電気生理学的記録システムに統合される、項目１～６のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１０)

40

前記光学的刺激デバイスが、熱を放散させるためのヒートシンクを備える、項目１～６のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１１)

前記少なくとも１つの発光素子セットと前記それぞれのウェルとの間にインジウムスズ酸化物(ITO)の透明な導電性層を更に備える、項目１～１０のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１２)

前記少なくとも１つの発光素子セットと前記複数のウェルとの間に配置された蓋を更に備える、項目１～１１のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１３)

50

前記少なくとも１つの発光素子セットと前記複数のウェルとの間に配置された蓋を更に備え、前記蓋が、反射性材料でコーティングされる、項目８に記載のシステム。

(項目１４)

前記蓋が、前記蓋を通して移動する光に影響を及ぼすように構成された複数のレンズを備える、項目１２に記載のシステム。

(項目１５)

前記複数のウェルのうちの少なくとも１つが、光を集中させる、光を成形する、及び／又は隣接するウェル間の光の漏れを遮断するように構成された湾曲した壁及び／又は反射性材料を備える、項目１～１４のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１６)

前記少なくとも１つの発光素子セットが、光遺伝学方法論に使用されるオプシンを活性化するのに好適な波長及び光強度を提供する、項目１～１５のいずれか一項に記載のシステム。

(項目１７)

細胞培養物の大規模インピトロ試験のための方法であって、

発光素子がある照明パターンで発光させるための制御信号を提供することであって、前記発光素子が、マルチウェルプレートのウェルに近接して配置される、提供することと、

前記ウェルに近接して配置された電極を介して、前記ウェルの少なくとも一部分と関連付けられた信号を検出することと、

前記検出された信号を分析することと、

前記分析を示す情報を出力することと、を含む、方法。

(項目１８)

前記検出された信号をベンチマークデータと比較することと、

前記比較に基づいて、前記照明パターンの調節が必要であると決定することと、

前記決定に基づいて、１つの前記照明パターンを修正することと、を更に含む、項目１７に記載の方法。

(項目１９)

前記照明パターンが、光信号の振幅、光信号の波長、及び前記ウェルに送達される光信号と関連付けられたパルス列の構成のうちの少なくとも１つを含む、項目１７又は１８に記載の方法。

(項目２０)

前記制御信号が、細胞の活性若しくは興奮性を変更する、タンパク質発現を変化させる、及び／又は細胞の成長又は発達を変更するのに必要な程度まで、前記ウェル内の試料のオプシンを興奮させるように構成される、項目１７～１９のいずれか一項に記載の方法。

(項目２１)

電気光学的刺激及び記録システムであって、

第１のウェルに近接して配置され、前記第１のウェルの少なくとも一部分と関連付けられた電気信号を収集するように構成された第１の電極を備える、電極セットと、

前記第１のウェルの少なくとも一部分に光学的刺激を送達するように構成された第１の発光素子セットと、

プロセッサであって、

前記第１の発光素子を第１の照明パターンにて発光させるための第１の制御信号を提供することと、

前記第１の電極を介して、前記それぞれのウェルの少なくとも一部分と関連付けられた第１の信号を検出することと、を行うように構成される、プロセッサと、を備える、システム。

(項目２２)

前記プロセッサが、

第２の発光素子を第２の照明パターンにて発光させるための第２の制御信号を提供することであって、前記第２の発光素子が、第２のウェルに近接して配置され、前記第１及び

10

20

30

40

50

第 2 の発光素子が、互いに独立して照明されるように構成される、提供することと、

第 2 の電極を介して、前記第 2 のウェルの少なくとも一部分と関連付けられた第 2 の信号を検出することと、を行うように更に構成される、項目 2 1 に記載のシステム。

(項目 2 3)

前記プロセッサが、

前記検出された第 1 の信号をそれぞれの第 1 のベンチマークデータと比較することと、

前記比較に基づいて、前記第 1 の照明パターンの調節が必要であると決定することと、

前記決定に基づいて、前記第 1 の照明パターンを修正することと、を行うように更に構成される、項目 2 1 又は 2 2 に記載のシステム。

(項目 2 4)

前記プロセッサが、ユーザインターフェース上に、前記第 1 の検出された信号の表現を表示するように更に構成される、項目 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載のシステム。

(項目 2 5)

前記プロセッサが、ユーザインターフェース上に、前記第 1 の制御信号の表現を表示するように更に構成される、項目 2 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載のシステム。

(項目 2 6)

前記プロセッサが、ユーザインターフェース上に、前記第 1 の制御信号及び前記第 1 の検出された信号の表現を表示するように更に構成される、項目 2 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載のシステム。

(項目 2 7)

前記プロセッサが、ユーザインターフェース上に、前記第 1 のウェルに関して発せられる光の色、強度、持続時間、タイミング、及び / 又は場所に対応する前記第 1 の制御信号の表現を表示するように更に構成される、項目 2 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のシステム。

(項目 2 8)

前記プロセッサが、前記検出された信号から得られた測定基準に基づいて、光学的刺激パラメータを更新するように更に構成される、項目 2 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のシステム。

(項目 2 9)

光学的刺激システムであって、

複数のウェルを備えるマイクロプレートと、

前記複数のウェルのうちの少なくとも 1 つに対応し、前記少なくとも 1 つのウェルに光学的刺激を送達するように構成された少なくとも 1 つの発光素子セットと、

前記マイクロプレートに連結するように構成された蓋であって、前記蓋が、凹部、レンズ、及び反射性表面のうちの少なくとも 1 つを介して前記蓋を通る光の送達を強化する、蓋と、を備える、システム。

(項目 3 0)

前記マイクロプレートが、前記複数のウェルの各々内の光の送達を強化する、及び / 又は前記ウェル間の光の漏れを低減するように構成される、項目 2 9 に記載のシステム。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 1 】

【図 1】特定の開示される実施形態による、培養ウェルの制御可能な刺激のための光学的刺激送達能力を有するマルチウェル微小電極アレイを有するシステム例を例証する。

【図 2】特定の開示される実施形態と一致する、図 1 に例証されるシステムの光学的刺激制御及び送達部分の詳細図を提供する。

【図 3 A】特定の開示される実施形態と一致する、48 ウェル微小電極アレイ (M E A) 例の概略斜視図を提供する。

【図 3 B】特定の開示される実施形態による、48 ウェル微小電極アレイ (M E A) のウェルの選択の拡大された概略斜視図を提供する。

【図 4】特定の開示される実施形態と一致する、マルチウェル微小電極アレイ (M E A)

10

20

30

40

50

に連結された取り外し可能な光学的刺激モジュールを有するMEAの概略斜視図を提供する。

【図5】特定の開示される実施形態による、マルチウェル微小電極アレイ(MEA)に連結された取り外し可能な光学的刺激モジュールを有するMEAの断面の概略ブロック図を提供する。

【図6】特定の開示される実施形態と一致する、マルチウェル微小電極アレイ(MEA)に連結された取り外し可能な光学的刺激モジュールを有するMEAの別の実施形態の断面の概略ブロック図を提供する。

【図7A】特定の開示される実施形態による、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)において使用される電極の例示的な単一ウェル(即ち、マルチウェルMEAの単一の培養ウェルに対応する)8×8グリッドの俯瞰(上面)図を提供する。

【図7B】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)において使用される例示的な単一の(即ち、マルチウェルMEAの単一の培養ウェルに対応する)8微小電極アレイの詳細な俯瞰(上面)拡大図を提供する。

【図7C】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)において使用される例示的な単一の(即ち、マルチウェルMEAの単一の培養ウェルに対応する)8微小電極アレイの詳細な俯瞰(上面)拡大図を提供する。

【図8】特定の開示される実施形態による、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して種々の実験を制御及び実行するために使用される統合型データ分析及び制御スーツを有するプロセッサベースコンピューティングシステムのブロック図を提供する。

【図9A】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して実施され得る種々の実験を実行及び可視化するために使用される統合型データ分析及び制御スーツと関連付けられた、ユーザインターフェース例と関連付けられたスクリーンショットを提供する。

【図9B】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して実施され得る種々の実験を実行及び可視化するために使用される統合型データ分析及び制御スーツと関連付けられた、ユーザインターフェース例と関連付けられたスクリーンショットを提供する。

【図9C】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して実施され得る種々の実験を実行及び可視化するために使用される統合型データ分析及び制御スーツと関連付けられた、ユーザインターフェース例と関連付けられたスクリーンショットを提供する。

【図9D】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して実施され得る種々の実験を実行及び可視化するために使用される統合型データ分析及び制御スーツと関連付けられた、ユーザインターフェース例と関連付けられたスクリーンショットを提供する。

【図9E】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ(MEA)を使用して実施され得る種々の実験を実行及び可視化するために使用される統合型データ分析及び制御スーツと関連付けられた、ユーザインターフェース例と関連付けられたスクリーンショットを提供する。

【図10】特定の開示される実施形態による、48ウェルマルチウェル微小電極アレイプレートと、個々の培養ウェルを光学的に刺激するための取り外し可能な光学的刺激デバイスを含む例示的なマルチウェル微小電極アレイシステムを例証する。

【図11】図10に例証される例示的なインターフェースシステムと関連付けられる特定の構成要素、並びにマルチウェルMEAプレート300と制御及び監視システム800との間の、その対応する相互作用の概略ブロック図を提供する。

10

20

30

40

50

【図 1 2】特定の開示される実施形態と一致する、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ (MEA) の使用及び制御のための例示的なプロセスと関連付けられる機能的なブロック図を提供する。

【図 1 3】特定の開示される実施形態と一致する、その上を覆う取り外し可能な光学的刺激モジュールを伴う、例示的なマルチウェル微小電極アレイ (MEA) プレート内の個々の培養ウェルの概略斜視図を提供する。

【図 1 4 A】MEA プレートに連結して示される、その上を覆う取り外し可能な光学的刺激モジュールを伴う、マルチウェル微小電極アレイ (MEA) プレートの異なる例における個々の培養ウェルの概略断面を提供する。図 1 4 A、1 4 B、及び 1 4 C のマルチウェル MEA プレート蓋及び LED 反射体は、特定の開示される実施形態と一致して、光学的送達を強化する、及び / 又は隣接するウェル間の光の通過を防止するように特殊化される。

10

【図 1 4 B】MEA プレートに連結して示される、その上を覆う取り外し可能な光学的刺激モジュールを伴う、マルチウェル微小電極アレイ (MEA) プレートの異なる例における個々の培養ウェルの概略断面を提供する。図 1 4 A、1 4 B、及び 1 4 C のマルチウェル MEA プレート蓋及び LED 反射体は、特定の開示される実施形態と一致して、光学的送達を強化する、及び / 又は隣接するウェル間の光の通過を防止するように特殊化される。

【図 1 4 C】MEA プレートに連結して示される、その上を覆う取り外し可能な光学的刺激モジュールを伴う、マルチウェル微小電極アレイ (MEA) プレートの異なる例における個々の培養ウェルの概略断面を提供する。図 1 4 A、1 4 B、及び 1 4 C のマルチウェル MEA プレート蓋及び LED 反射体は、特定の開示される実施形態と一致して、光学的送達を強化する、及び / 又は隣接するウェル間の光の通過を防止するように特殊化される。

20

【発明を実施するための形態】

【0012】

図 1 は、特定の開示される実施形態による、マルチウェル微小電極アレイ及び光学的刺激送達能力を有する例示的な電気光学的刺激送達システム 100 を例証する。図 1 に例証される電気光学的刺激送達システム 100 は、培養ウェルの一部への光学的 (また場合により、電氣的) 刺激の送達を制御し、ウェル内に含有される細胞と関連付けられた電気活性を能動的に監視するためのプラットフォームを提供してもよい。電気光学的刺激送達システム 100 は、とりわけ、光学的刺激モジュール 210、マルチウェル微小電極アレイ 300、及び MEA プレートインターフェース 1000 を含んでもよい。

30

【0013】

光学的刺激モジュール 210 は、本明細書において「光学的刺激デバイス」とも称される。幾つかの実施形態では、光学的刺激モジュールは、MEA プレートと統合されてもよい。他の実施形態例では、光学的刺激モジュールは、MEA プレートに取り外し可能に連結する独立型デバイスであってもよい。例えば、光学的刺激モジュールは、MEA プレートの上部に連結されてもよく、又は MEA プレートの底部に連結されてもよい。他の構成も可能であり、本明細書における言語は、光学的刺激モジュールの可能な実装を制限するように意図されない。

40

【0014】

当業者は、電気光学的刺激送達システム 100 に関して上述される構成要素は、単に例示的なものであり、限定的であるように意図されないことを理解するであろう。それ故、電気光学的刺激送達システム 100 は、本開示の範囲から逸脱することなく、追加の、及び / 又は図 1 に示される構成要素とは異なる構成要素を含んでもよい。図 1 に例証される実施形態に示される電気光学的刺激送達システム 100 の個々の構成要素の各々は、下記により詳細に説明される。

【0015】

図 1 は、光学的刺激モジュール 210 とマルチウェル MEA プレート 300 とを別個の

50

素子として例証しているが、光学的刺激モジュール 210 の機構のうちの 1 つ以上は、マルチウェル M E A プレート 300 の一部として含まれてもよいことが企図される（又はその逆も同様である）。実際に、特定の実施形態は、光学的刺激能力が分離した独立型システム（図 1 に示されるように）によって提供されるか、又はマルチウェル M E A プレート 300 の一部として統合的な解決法によって提供されるかにかかわらず、統合された光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイを企図する。

【0016】

図 2 は、光学的刺激送達システム 200 の概略ブロック図を例証する。光学的刺激送達システム 200 は、M E A プレート 300 への光学的刺激の送達を制御する複数の構成要素を含む。図 2 に例証されるように、かつ一実施形態によると、光学的刺激送達システム 200 は、光学的刺激モジュール 210 と、光学的刺激モジュール 210 を制御するようにプログラムされた制御及び監視システム 800 とを含んでもよい。

10

【0017】

光学的刺激モジュール 210 は、必要とされ得るほとんどの電力及び熱基準を満たすように最適化 / 調整され得る 1 つ以上の発光素子セット 230 を含んでもよい。光学的刺激モジュール 210 は、高時間分解能の光パターン、及び細かく段階分けされた出力強度の制御と共に、発光素子を独立して制御するための制御回路 220 も含んでもよい。本システムは、調整可能な刺激波形の生成及びこれらの送達される刺激波形の可視化を可能にするであろう相互作用的なソフトウェアも含んでもよい。したがって、本開示のシステムは、マルチウェル M E A 内の複数の培養物に関して細胞標的された活性化又は抑制を管理するように構成されてもよい。「発光素子セット」という用語は、所与の「セット」内の発光素子の数を限定するように意図されない。例えば、発光素子セットは、1 つ又は複数の発光素子を備えてもよい。

20

【0018】

図 2 に示されるように、発光素子セット 230 の各々は、光学的エネルギーを、発光素子が関連付けられるそれぞれの培養ウェルに送達するための任意の好適な構成要素を含むか、又は具現化してもよい。一実施形態によると（図 4 に例証されるように）、発光ダイオード（L E D）は、その上を覆うか又は蓋に基づくアレイ（1 ウェル当たり少なくとも 1 つの L E D）で提供されてもよい。この構成は、小型の上部 - 側部（top-side）形態因子が必要とされ得る状況において特に有利である。しかしながら、重要なことに、特定の実施形態は 1 ウェル当たりの単一の L E D を必要とするにもかかわらず、発光素子セットが（例えば、図 6 に例証されるように）1 ウェル当たり複数の発光素子を含み得ることが確実に企図される。L E D は特定の例示的な実施形態において発光素子として説明されているが、多数の発光源のうちのいずれかが実装のために適合され得ることが企図される。例えば、発光素子は、レーザー、有機発光ダイオード（O L E D）、2 D ピクセルディスプレイ、デジタル光投影（D L P）技術、光導波路素子、発光カーボンナノチューブ、又は光学的エネルギーを培養ウェルに送達するために制御可能な光源を提供するのに好適な任意の他の素子のいずれか（又は組み合わせ）を含むか、又は具現化してもよい。

30

【0019】

図 2 に例証されるように、各発光素子 230 は、制御回路 220 を介して制御及び監視システム 800 に連結されてもよい。発光素子 230 は、多数の市販の制御モジュールのうちのいずれかによって制御されてもよい。L E D を発光素子として実装する実施形態では、電流制御モジュール（例えば、R C D 24 - 1 . 0、R E C O M）が使用されてもよい。かかる回路は、1 つ以上の波長の高強度 L E D（例えば、O s l o n S S L、O s r a m O p t o S e m i c o n d u c t o r s）を制御するために使用されてもよい。発光素子 230 は、実施されている実験の種類（及び / 又は、光遺伝学用途の場合は、標的されている光反応性オプシンの種類）に応じて、赤外光エネルギー、紫外光エネルギー、又は可視光エネルギーのうちの 1 つ以上を送達するように構成されてもよい。

40

【0020】

光学的刺激デバイスのための制御回路 220 は、個々の発光素子を独立して制御するよ

50

うに構成されてもよく、又は複数の発光素子のセットをまとめて制御してもよい。システム制御は、32ビットマイクロコントローラ（例えば、MCF 5213；FreeScale）によって操縦されてもよい。アレイ内の各LEDは、RCD24-1.0 LEDドライバによって駆動される場合もある。このドライバは、高チャネル数デジタル・アナログ変換器（AD5391、Analog Devices）を通じてマイクロコントローラによって設定され得るアナログ入力信号でLED強度を制御し得る。このドライバは、パルス化又はトリガされた波形のデジタルオン/オフ信号も受け取ってもよい。マイクロコントローラは、高速USB-to-UART/FIFO（FT232RL、FTDI）チップを介してプログラムされてもよい。

【0021】

10

例示的な実施形態によると、発光素子230は、nウェルMEAプレート上の個々のウェルの上に位置付けられ、電氣的記録中に固定又は可変電流にて連続的に駆動されるか、又は変調されてもよい。本開示の連結された光学的刺激モジュールを有するマルチウェル微小電極アレイは、発光素子によって引き起こされる定常状態雑音及び過渡雑音の両方を低減するように構成されてもよい。定常状態電氣的雑音は、LEDドライバ回路の適切な接地により排除され得る。電氣的に誘発される過渡雑音は、透明な導電性の設置層（例えば、インジウムスズ酸化物（ITO））をLEDとMEAウェルとの間に定置することによって低減/排除され得る。存在する場合、光電子アーチファクトは、例えば、電気活性細胞の記録に使用される典型的な帯域通過フィルタリング（例えば、（例えば、神経又は心臓の）スパイク信号に関して、200~3000Hz帯域通過フィルタ）によって低減され得る。

20

【0022】

説明されるように、電気光学的刺激送達システム100は、光学的（また幾つかの実施形態では、電氣的）刺激をマルチウェル微小電極アレイデバイス300内の複数の培養ウェルのうちの1つ以上に送達し、刺激に対する細胞応答を示す信号を含む、培養ウェルからの電気信号を同時に検出するように協働する、1つ以上の構成要素を備える。図3A及び3Bは各々、マルチウェル培養アレイ300の構造的な構成要素の概略斜視図を提供する。図3A及び3Bに例証されるように、マルチウェル培養デバイスは（それがマルチウェルMEAとして構成されるか、又は光学的刺激能力を有するマルチウェルMEAとして構成されるかにかかわらず）、典型的には、基板312上に配置された複数の培養ウェル310を含む。図3Aは、マルチウェルアレイ300を48ウェルデバイスとして例証する。しかしながら、任意の数のウェルが、本開示の範囲から逸脱することなく提供されることが企図される。更に、図3Aに示される寸法は単に例示的なものであり、限定的であるように意図されない。例示的な実施形態によると、本開示のマルチウェルアレイは、伝統的なプレートリード及び自動計器と互換性のあるANSI-SLAS準拠フォーマットでサイズ決め及び構成されてもよい。

30

【0023】

マルチウェルMEA 300は、無菌状態を維持し、培地の蒸発を低減するために設計された適合した蓋を含む。各培養ウェルは、細胞培養材料をウェルの上部の開口にて受容するための内部体積を備える。一実施形態では、細胞は、（MEA電極が存在する）ウェルの中心に小さい滴で添加され得る。細胞が基板に付着する機会を得た後、ウェルは、より多くの細胞培地で満たされ得る。細胞反応から得られる電氣的信号は、培養ウェルの底部に位置付けられた電極によって監視され得る。電極をMEAプレートインターフェース1000に接続するための電氣的接続は、デバイスの底部側に位置付けられる。マルチウェルMEAは、細胞培養物とは別に、他の生物、環境、又は化学試料と共に使用されることが企図される。

40

【0024】

図3Bに示されるように、各培養ウェル310は、ウェルの上部の開口を通して細胞培養及び/又は組織材料を受容するための容器を具現化してもよい。一実施形態によると、培養ウェル310の壁311及び/又は基板及び/又は蓋は、ウェルの基部への光の送達

50

を最大化し、ウェルの壁を通じた光の吸収又は損失を防止するために、反射性材料からなるか、又は反射性材料でコーティングされてもよい。一実施形態によると、反射性の白色壁マルチウェルプレートが、隣接するウェルへの光の通過を遮断しながら、ウェル内に光を反射及び集中させることによって、光の送達を増加させるために使用されてもよい。それに加えて、フェノールレッドで染色した培地は青色及び緑色の光を著しく吸収することが見出されたため、光の送達は、市販の透明な媒体の使用を通じて増加することができる。培養ウェル 310 の基部 312 に位置付けられた電極（図示せず）は、電気刺激を提供し、所与のウェル内の任意の電気細胞、生物、若しくは化学活性、又は細胞、生物、若しくは化学試料特性を監視するように構成され得る。

【0025】

図4、5、及び6は、開示される実施形態に一致する、光学的刺激モジュール210に連結されたマルチウェル微小電極アレイ300の例示的な構成を例証する。典型的な中～高電力LEDは、高電流負荷を引き出し、著しい熱を放散させ得る。例えば、高電力465nm青色LEDは、350mAの適度な供給電流にて稼働するときに、1Wの電力を消費し、0.5Wの熱を放散させ得る。これらの種類の電力及び熱費用は、LED数、必要な光強度、及び刺激デューティサイクルに対応する。それ故、本開示のシステムは、各LED（230A、230B、230N）に送達される電流の専用制御を有する堅固な電源回路410を含む。図4及び5に示されるように、マルチウェルMEA 300は、放熱を管理して、効率的なLED動作を確実にし、LEDデバイスの損傷を防止し、細胞培養物に送達される熱の量を低減するための1つ以上の構成要素を含んでもよい。本システムは、金属コア印刷回路ボードを利用してもよく、幾つかの実施形態では、任意追加的な能動冷却システムと共にカスタムアルミニウム又は銅ヒートシンク420を利用してもよい。図4及び5は1セット当たり単一のLEDを有する光学的刺激モジュール210を例証しているが、各セットは、各ウェルに複数の波長の光を送達するように構成された複数の独立して制御可能な発光素子650を含み得ることが企図される。

【0026】

図6は、連結された光学的刺激モジュールを有する例示的なマルチウェル微小電極アレイを例証し、各発光素子セットは、複数の発光構成要素650を含む。各発光構成要素は、異なる波長及び/又は強度の光を送達して、実施され得る実験の種類においてより大きな柔軟性を提供するように構成されてもよい。複数の発光素子に加えて、マルチウェルMEA 300は、培養ウェルへの光学的エネルギーの送達を強化するための1つ以上のデバイスも含んでもよい。例えば、図6に例証されるように、マルチウェルMEA 300は、培養ウェルの中心に光学的エネルギーを方向付けるための1つ以上の光コリメート反射体640を含んでもよい。別法として又はそれに加えて、マルチウェルMEA 300は、実験の特異的な必要に応じて、他の構成要素、例えば、レンズ、フィルタ、格子、及び光学的特性を修正するための他の構成要素なども含んでもよい。これらの機構は、マルチウェルプレートの蓋610内に組み込まれてもよい。例えば、レンズ及び凹部は、低費用の使い捨てのマルチウェルプレート蓋内に安価に成形され得る。

【0027】

同様に図6に例証されるように、光学的刺激モジュール210は、マルチウェルMEA 300と関連付けられた透明な蓋610を覆うように構成されてもよい。この構成は、光学的刺激モジュール210が、試験中に培養物を潜在的に汚染することなく、マルチウェルMEA 300に連結及び分離されることを可能にし得る。この構成では、光学的刺激モジュール210は、蓋610に/から除去可能に連結するように設計されてもよい。分離した蓋に除去可能に連結されている光学的刺激モジュール210の代わりに、光学的刺激モジュール210は、蓋610と統合されてもよく、又はマルチウェルMEA 300の蓋であるように構築されてもよいことが企図される。

【0028】

図6は、マルチウェルMEA 300の開口（即ち、上方）に位置付けるために構成された発光素子を例証しているが、発光素子はそれぞれのウェルの透明な床の下の回路ボー

10

20

30

40

50

ド内に埋め込まれ得ることが企図される。1つの例示的な実施形態によると、発光素子は、電極のグリッドがその上に配置される基板620の下又は中に提供されてもよい。この実施形態では、電極は、それを通して光が通過し得る透明基板（例えば、印刷回路ボード（PCB）、フレックス回路、又は透明バイオセンサレイ）上に印刷されてもよい。他の実施形態によると、発光素子は、電極がその上に配置される同一の透明基板の一部として含まれてもよい。かかる統合された透明OLED-MEA基板を達成するために、有機発光ダイオード（OLED）技術がマイクロバイオセンサ製造技術と併用され得る。

【0029】

追加の及び/又は異なる実施形態によると、マルチウェルMEA 300は、光学的刺激モジュール210によって発せられた光の効率的な保持/送達を促進するための強化も含んでもよい。例えば、マルチウェルMEA 300は、ウェルの底部の中心位置に向かうより多くの集中した光の送達を確実にするために、戦略的に成形又は湾曲した壁660を含んでもよい。あるいは、又は更に、マルチウェルMEAは、各ウェルの下に配置され、ウェルの底部を通して伝送される光をウェルへと反射させて戻すように構成された反射性材料630を含んでもよい（透明基板620の場合）。MEA蓋610は、MEA培養物への光の送達を増大させる、強化する、成形する、ないしは別の方法でそれに影響を及ぼすための修正も組み込んでもよい。例えば、ウェルの中心へ光をコリメートする又は屈折させるためにレンズが蓋内に成形されてもよい。フレネルレンズ設計は、ウェル内に最小に延在しながら、これを達成し得る。光は、LED又は光ファイバなどの光源が、ウェル内へある深さまで延在することを可能にし、光の送達を増加させるか、又は培養物の1つ以上の特定の領域へ光を方向付けるための凹部を有してもよい。光の伝達を妨げる可能性のある、典型的な使用の過程で蓋の上に集まる凝縮を最小化するために、蓋を加熱するシステムが用いられてもよい。一例では、蓋を加熱し、凝縮を最小化するために、透明ITO層が使用されてもよい。底部側の光の送達の場合、蓋は、光を培養ウェル内でと再び方向付け、集中させるために反射性であってもよい。

【0030】

説明されるように、マルチウェルMEA 300は、1つ以上の電極を含み、それらは各々、周辺エリアの電気活性を測定するように構成される。マルチウェルMEA 300は、1つ以上の電極セットを含み、各電極セットは、1つ以上の（例えば、8個の）電極を備え、各セットは、基板312と監視されるように構成されたそれぞれの培養ウェルの基部との間に配置される。「電極セット」という用語は、「セット」内の電極の数を限定することを意味されない。例えば、電極セットは、単一の電極又は複数の電極を備えてもよい。

【0031】

図7Aは、例示的な電極アレイの概略を例証する。図7Aに示されるように、電極アレイは、密に離間配置された電極のグリッドからなり、各電極は、個々の細胞の活性を同時に監視することができる。図7Aに例証されるように、グリッド内の複数の電極の配置は、相対的に大きいエリアにわたり記録範囲を拡大し、単一の細胞及び組織レベル又はネットワークレベルの活性の両方への同時アクセスを提供する。この細胞活性の制御及び監視は、各電極に複数の機能を付与する電子部品によって可能となる。

【0032】

アレイの各電極は、調査されている組織への事実上破壊的な干渉を伴わずに、長期間の単一細胞及びネットワークレベルの活性の監視を促進する。実際に、ネットワーク情報への広範なアクセスはまさしく、デバイスの低侵襲性質と共に、MEAを並外れた単一細胞及びネットワークレベル研究ツールにしている。高スループットMEA内の各電極は、電気活性細胞及び組織（例えば、神経、心臓、筋肉、及び脊椎組織）の調査に理想的に適している。先に説明されるように、MEA-ウェルは、伝統的なプレートリダ及び自動計器と互換性のあるANSI-SLAS準拠フォーマットで構造化される。各ウェル内で、統合された接地電極を有する大部分（例えば、例示的な実施形態によると、4~64個の個々の埋め込まれた微小電極（約30~50µm直径、約200~350µm中心間隔

）は、個々の細胞の活性を同時に監視することができる。これらの電極のグリッド内への配置は、記録範囲を最大 1.5×1.5 mm の面積まで拡大し、単一細胞及びネットワークレベルの活性の両方への同時アクセスを提供する。

【0033】

図7B及び7Cは、本開示と一致する、マルチウェルMEA 300の実施形態と関連付けられた各電極セットのより詳細な図（即ち、拡大）図を提供する。一実施形態によると、各電極は、細胞培養物の増加した放射照度のために培養ウェル内へ光を反射させて戻すための任意追加的な反射性の白色オーバーレイと共に、FR4エポキシ樹脂上のナノテクスチャ金から構築される。金のナノテクスチャ加工は、金の表面積を増大させ、それによって電極インピーダンス及び雑音を低下させるように設計された独自のプロセスを通して達成される。

10

【0034】

1つ以上の電極の各セット内の電極の各々は、培養ウェルに刺激を提供し、同時に細胞の刺激から得られる電気信号を記録するように構成されてもよい。あるいは、又は更に、セット内の電極のうちの幾つかは、刺激のみを提供するように構成されてもよく、一方、他の電極が細胞活性を記録するように特化される。

【0035】

説明されるように、開示される実施形態と一致するプロセス及び方法は、マルチウェルMEA 300内に光学的刺激を統合するための解決法を提供する。マルチウェルMEA 300の構造的及び機能的態様に加えて、本開示は、マルチウェルMEA 300を使用して、光遺伝学技術に基づいた試験などの高スループット大規模試験を実施するためのプロセス及び方法に関する。それ故、本開示の電気光学的刺激送達システム100は、培養ウェルの刺激を制御し、刺激から得られる細胞活性を収集/分析するためのインターフェースを提供するように調整されたコンピュータシステム（又は刺激GUI）を含む。

20

【0036】

図8は、光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ（MEA）とインターフェースするように適合された制御及び監視システム800と関連付けられた例示的な概略図を例証する。説明されるように、制御及び監視システム800は、それ自身のマイクロコントローラを含むプロセッサベースデバイス、揮発性及び不揮発性メモリ、1つ以上のデータベース、並びにユーザとデータを通信するための1つ以上のインターフェースを含んでもよい。

30

【0037】

一実施形態によると、制御及び監視システム800は、例えば、中央処理装置（CPU）又はマイクロプロセッサ811、ランダムアクセスメモリ（RAM）モジュール812、読み出し専用メモリ（ROM）モジュール813、メモリ又はデータ記憶装置モジュール814、データベース815、1つ以上の入力/出力（I/O）デバイス816、及びインターフェース817を含む、1つ以上のハードウェア構成要素を含んでもよい。あるいは、かつ/又は更に、制御及び監視システム800は、例えば、特定の開示される実施形態と一致する方法を実施するためのコンピュータ実行可能命令を含むコンピュータ可読媒体などの1つ以上のソフトウェア媒体構成要素を含んでもよい。上記に列挙されるハードウェア構成要素のうちの1つ以上がソフトウェアを使用して実装され得ることが企図される。例えば、記憶装置814は、制御及び監視システム800の1つ以上の他のハードウェア構成要素と関連付けられたソフトウェアパーティションを含んでもよい。制御及び監視システム800は、追加の、より少ない、及び/又は上記に列挙されるものとは異なる構成要素を含んでもよい。上記に列挙される構成要素が単に例示的なものであり、限定的であるように意図されるものではないことが理解される。

40

【0038】

CPU 811は、命令を実行し、データを処理して、制御及び監視システム800と関連付けられた1つ以上の機能を実施するように各々構成された1つ以上のプロセッサを含んでもよい。図8に例証されるように、CPU 811は、RAM 812、ROM

50

８１３、記憶装置８１４、データベース８１５、Ｉ／Ｏデバイス８１６、及びインターフェース８１７に通信可能に連結されてもよい。ＣＰＵ ８１１は、一連のコンピュータプログラム命令を実行して、種々のプロセスを実施するように構成されてもよく、それらは下記により詳細に説明される。コンピュータプログラム命令は、ＣＰＵ ８１１による実行のためにＲＡＭ ８１２内にロードされてもよい。

【００３９】

ＲＡＭ ８１２及びＲＯＭ ８１３は各々、制御及び監視システム８００及び／又はＣＰＵ ８１１の動作と関連付けられた情報を記憶するための１つ以上のデバイスを含んでもよい。例えば、ＲＯＭ ８１３は、例えば、異なる種類の実験のための刺激計画を含む、制御及び監視システム８００と関連付けられた情報にアクセスし、それを記憶するように構成されたメモリデバイスを含んでもよい。ＲＡＭ ８１２は、ＣＰＵ ８１１の１つ以上の動作と関連付けられたデータを記憶するためのメモリデバイスを含んでもよい。例えば、ＲＯＭ ３０３は、ＣＰＵ ８１１による実行のためにＲＡＭ ３０２内に命令をロードしてもよい。

【００４０】

記憶装置８１４は、ＣＰＵ ８１１が開示される実施形態と一致するプロセスを実施するために必要とし得る情報を記憶するように構成された任意の種類の大容量記憶デバイスを含んでもよい。例えば、記憶装置８１４は、１つ以上の磁気及び／又は光ディスクデバイス、例えば、ハードドライブ、ＣＤ－ＲＯＭ、ＤＶＤ－ＲＯＭ、又は任意の他の種類の大量伝達媒体デバイスなどを含んでもよい。あるいは、又は更に、記憶装置８１４は、フラッシュメモリ大量伝達媒体記憶装置又は他の半導体系記憶媒体を含んでもよい。データベース８１５は、１つ以上のソフトウェア及び／又はハードウェア構成要素を含んでもよく、それらが協働して、制御及び監視システム８００及び／又はＣＰＵ ８１１によって使用されるデータを記憶する、構造化する、ソートする、フィルタリングする、及び／又は配置する。

【００４１】

Ｉ／Ｏデバイス８１６は、制御及び監視システム８００と関連付けられた構成要素又はユーザと情報を通信するように構成された１つ以上の構成要素を含んでもよい。例えば、Ｉ／Ｏデバイス８１６は、ユーザが制御及び監視システム８００と関連付けられたパラメータを入力することを可能にする統合されたキーボード及びマウスを有するコンソールを含んでもよい。Ｉ／Ｏデバイス８１６は、制御及び監視システム８００を構成するためのネットワーク管理者用のネットワーク管理コンソールを提供するためのグラフィカルユーザインターフェース（ＧＵＩ）を含むディスプレイも含んでもよい。Ｉ／Ｏデバイス８１６は、例えば、制御及び監視システム８００と関連付けられた情報を印刷するためのプリンタ、ユーザが携帯媒体デバイス上にデータを入力することを可能にするユーザアクセス可能ディスクドライブ（例えば、ＵＳＢポート、フロッピー（登録商標）、ＣＤ－ＲＯＭ、又はＤＶＤ－ＲＯＭドライブなど）、マイクロフォン、スピーカシステム、又は任意の他の好適な種類のインターフェースデバイスなどの周辺デバイスも含んでもよい。Ｉ／Ｏデバイスは、ネットワーク分析結果及びトラフィック特徴を出力するように構成されてもよい。

【００４２】

インターフェース８１７は、通信ネットワーク、例えば、インターネット、ローカルエリアネットワーク、ワークステーションピア・ツー・ピアネットワーク、直接リンクネットワーク、無線ネットワーク、又は任意の他の好適な通信プラットフォームなどを介してデータを伝送及び受信するよう構成された１つ以上の構成要素を含んでもよい。例えば、インターフェース８１７は、１つ以上の変調器、復調器、マルチプレクサ、デマルチプレクサ、ネットワーク通信デバイス、無線デバイス、アンテナ、モデム、及び通信ネットワークを介してデータ通信を可能にするように構成された任意の他の種類のデバイスを含んでもよい。一実施形態によると、インターフェース８１７は、例えば、Ｗｉ－Ｆｉ又はＢｌｕｅｔｏｏｔｈ（登録商標）無線プロトコルを使用して無線で情報を伝送するように構

10

20

30

40

50

成されたモジュール（単数又は複数）などの無線通信デバイスに連結されるか、又はそれを含んでもよい。

【0043】

図9A、9B、9C、9D、及び9Eは、制御及び監視システム800と関連付けられた例示的なユーザインターフェーススクリーンショットを提供する。一実施形態によると、ソフトウェアは、Atlanta, GAのAxion BioSystemsによって提供されるソフトウェアのAxion's Integrated Studio (AXIS) スーツであってもよい。このソフトウェアは、ユーザがI/Oデバイス816及び/又はインターフェース817を介して精緻な刺激実験を作成することを可能にするインターフェースを提供してもよい。このソフトウェアは、全てモジュラーレイアウトの同一アプリケーション内で、チャンネル記録、デジタル及びアナログフィルタ調節、電極割り当て、並びに刺激波形設計を同時に監視することを可能にする。

10

【0044】

刺激GUIと関連付けられたソフトウェアは、ユーザが電極及び発光素子と関連付けられた刺激パラメータを制御することを可能にするインターフェースを提供する。図9Aは、各培養ウェルに関して刺激パラメータを独立して制御するための例示的なソフトウェアインターフェースを例証する。ソフトウェアインターフェースは、ユーザが標的培養ウェル910の異なる群と関連付けられた刺激パラメータ900を確立及び制御することも可能にし得る。一実施形態によると、ユーザは、電気刺激と関連付けられた電流レベル及び波形種類を制御し得る。あるいは、又は更に、ソフトウェアインターフェースは、ユーザが、光学的放射の周波数及び振幅などの光学的刺激パラメータを制御することを可能に得る。

20

【0045】

刺激GUIと関連付けられたソフトウェアは、即時実験データを監視するためのインターフェースを提供してもよい。図9Bは、試料MEAウェル内の各電極によって検出された活動電位の即時又は実験後のスクローリング「ラスタ」プロット表示を表示するモジュールを記録するソフトウェアのスクリーンショットを例証する。各検出された活動電位信号のタイミングが、試料MEAウェル内の各電極に関する垂直線920によって区切られている。ある波長930又はより多い波長940の送達された光学的刺激パターンの描写が、同一ディスプレイ上に示される。この概念的な例は、送達された光刺激が可視化され、更に電氣的記録及び/又はMEA電極からの電気刺激と時間的に整列された方法で可視化され得る1つの方法を例証する。

30

【0046】

図9Cは、光によって誘起されるように更に分類及び可視化される検出された信号の測定基準を例証する、例示的な概念的ソフトウェア可視化を提供する。この例では、心臓細胞培養からの拍動が検出及び分析され、拍動周期と称される連続的な拍動間のタイミングが算出され、即時拍動950として表示される。拍動が送達される光によって誘起されるように分類される場合、それらは、拍動960によって例証されるように、異なって表現されて、実験者が光学的刺激の効果を視覚的に評価することを可能にする。

40

【0047】

図9Dは、それによって活性測定基準が算出され、送達された光学的刺激に関して表示される、別の例示的な概念的ソフトウェア可視化を提供する。この例では、送達された光のパルスに関する検出された活動電位の刺激前後時間ヒストグラムが生成され、継続的に更新される。指示980は、光の送達のタイミングを示し、ヒストグラム970は、各送達された光パルス後の経過時間の瓶内の活動電位数を含む。

【0048】

図9Eは、それによって、各記録電極によって検出された電気活性990が即時又は実験後に表示される、別の例示的な概念的ソフトウェア可視化を提供する。タイミング、強度、又は波長995を含む、送達された光パターンの特徴は、図形的に示され、検出された活性のプロット上に重ね合わせられる。光学的刺激パターンは、検出された電気活性の

50

可視化と時刻同期された様式で表示される。かかる表現は、実験者が検出された信号に対する光学的刺激の影響を容易に視覚的に評価することを可能にする。

【 0 0 4 9 】

図 1 0 は、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ (M E A) を、統合型データ分析及び制御スーツを有するプロセッサベースコンピューティングシステムと通信可能に連結するための例示的なインターフェースシステムを例証する。ここでは、プレートがインターフェースシステム 1 0 2 0 内にドッキングされるのに対し、光学的刺激モジュール 1 0 0 0 は、マルチウェル M E A プレート 1 0 1 0 上に定置され得る取り外し可能なプラットフォームとして示される。

【 0 0 5 0 】

図 1 1 は、図 1 0 に例証される例示的なインターフェースシステムと関連付けられる特定の構成要素構成要素、並びにマルチウェル M E A プレート 3 0 0 と制御及び監視システム 8 0 0 との間の、その対応する相互作用の概略ブロック図を提供する。かかるインターフェースシステムは、7 6 8 個の電極を有するプレートへの完全な刺激及び記録アクセスを提供してもよい。3つの64 - チャネル I C バンクは、電極をインターフェースし、係数 8 によって得られた信号を多重化する。更なる多重化は、A D C バンクを、データ通信、システム調整、及びデータ処理機能を提供する F P G A とインターフェースするために使用される。

【 0 0 5 1 】

図 1 2 は、本開示の光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ (M E A) の使用及び制御のための例示的なプロセスと関連付けられる機能的なブロック図を提供する。光学的パターンが、1つ以上の M E A ウェルに送達される (1 2 1 0) 。その後には又は同時に、電気的信号が、1つ以上の M E A ウェル内の1つ以上の電極によって検出される (1 2 2 0) 。これらの検出された信号は、本システムによって分析され (1 2 3 0) 、出力される (1 2 4 0) 。任意追加的に、検出された信号の分析 (1 2 3 0) に基づいて、照明パターンが、実験者によってか、又は光学的刺激モジュール若しくはプロセッサによって自動的にかのいずれかによって調節されてもよい (1 2 5 0) 。例えば、送達される光パルスの強度は、神経又は心臓細胞培養活性の検出された測定基準に基づいて、最適なレベルまでウェル毎に自動的に調節されてもよい (1 2 6 0) 。このフィードバックによる送達された光の調整は、ウェル毎の細胞培養物の状態の高度なアルゴリズム的制御を可能にし、標的細胞及び細胞ネットワークの高度な制御及び分析を可能にし得る。

【 0 0 5 2 】

図 1 3 は、マルチウェル M E A プレート 3 0 0 内の区分された M E A ウェルの概念的な斜視図を提供する。この実施形態では、使用中、透明 M E A プレート蓋 1 3 3 0 は M E A プレート上に留まる。電子ボード 1 3 0 0 基板上の L E D アレイ 1 3 1 0 及び反射体 1 3 2 0 又はレンズアレイを含む、光送達プラットフォームが、マルチウェルプレート上に適合される。プレート蓋内の凹部は、機械的整列を可能にし、隣接するウェルへの光の逃げを低減し、光の送達の光学を改善する。光は、細胞培地 1 3 5 0 の体積を通過し、それは任意追加的に、透明な色であってもよく、又は送達される光が培地によって吸収されないように着色されていてもよい。蓋、反射体、及び M E A プレートの修正は、効率を最大化する、及び / 又は微小電極のグリッドの上の中心標的細胞培養領域 1 3 6 0 への均一な光の送達を提供する目的のために組み込まれてもよい。

【 0 0 5 3 】

図 1 4 A は、図 1 3 に示される蓋 1 4 0 0 、反射体 1 4 4 0 、及び L E D 1 4 3 0 の代替構成を提供する。図 1 4 A では、蓋 1 4 0 0 は、L E D 反射体の機械的フィッティングを可能にして、ウェルから光が逃げるのを防止し、L E D 及び反射体が M E A ウェルの底部において標的組織又は細胞のより近くに移動することを可能にするように凹んでいる。蓋は更に、光をウェルの中心に向かって屈折させて、試料の光の送達を強化するように、レンズと共に成形される。1 4 B では、蓋は、ウェル内へ遠くに延在せずに光の類似した屈折を提供するように、フレネルレンズ内に成形される。1 4 C では、蓋は、より大き

10

20

30

40

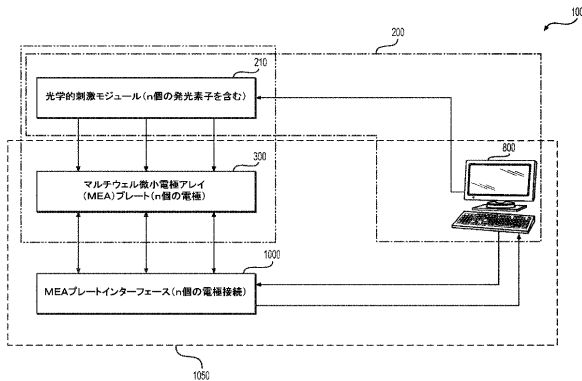
50

な程度に凹んでおり、LED又はLED反射体は、ウェル内へより深く延在し、改善された光の送達又は標的組織の領域に向かって集中した光の送達の可能性を提供する。

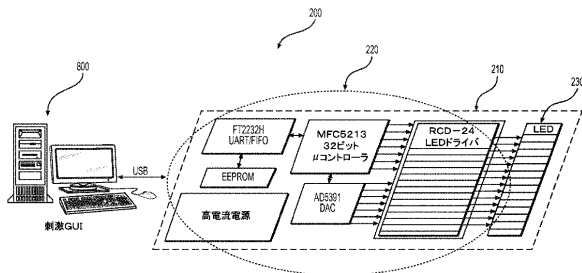
【0054】

開示される統合された光学的刺激能力を有するマルチウェル微小電極アレイ及びそれらを使用するための関連方法に対して、種々の修正及び変形が行われ得ることは、当業者には明らかであろう。本開示の他の実施形態は、本開示の明細書及び実践を考慮すれば、当業者には明らかであろう。本明細書及び実施例は、単に例示的なものと見なされ、本開示の真の範囲は以下の特許請求の範囲及びそれらの等価物によって示されることが意図される。

【図1】



【図2】



【図3A】

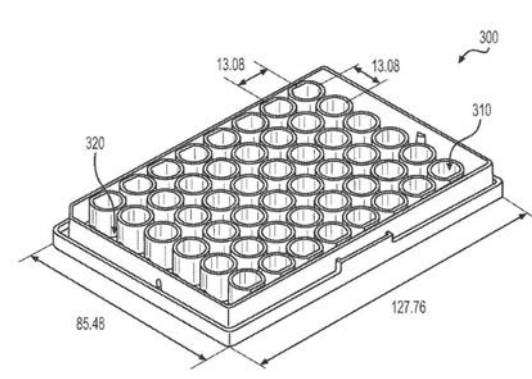


FIG. 3A

【図3B】

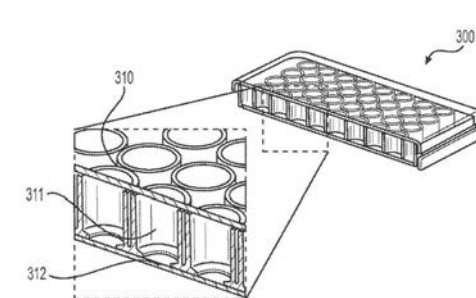


FIG. 3B

【 図 4 】

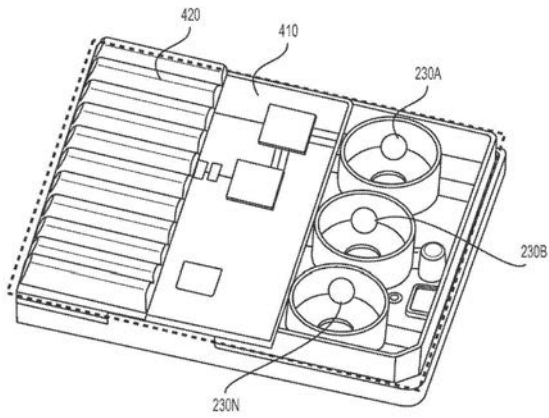


FIG. 4

【 図 5 】

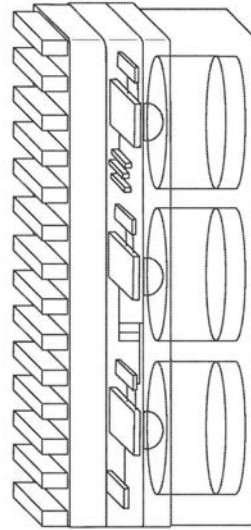


FIG. 5

【 図 6 】

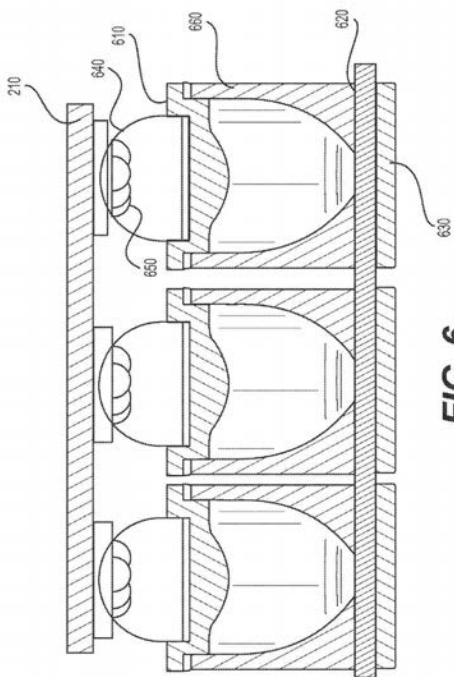


FIG. 6

【 図 7 A 】

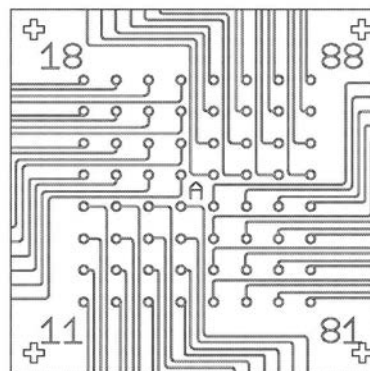
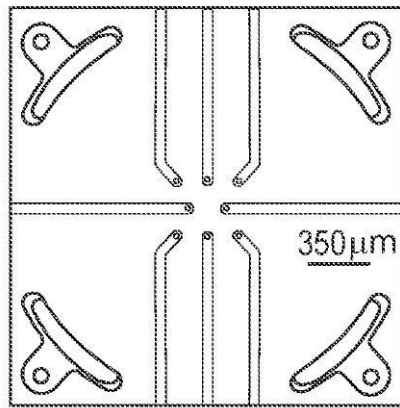
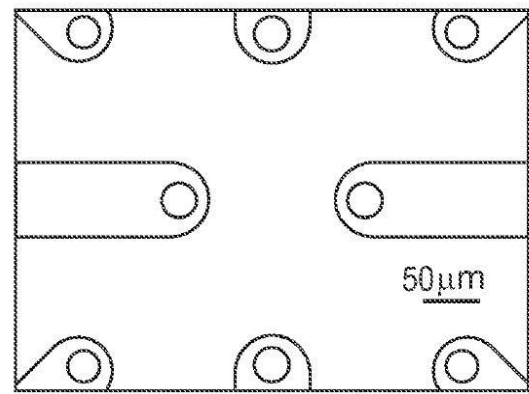


FIG. 7A

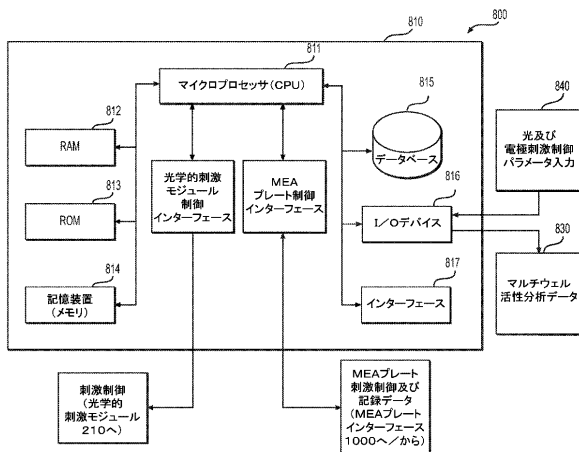
【図 7 B】

**FIG. 7B**

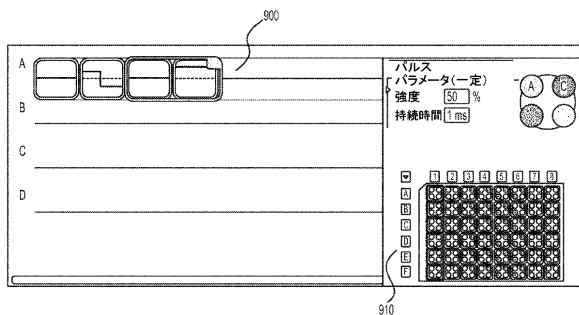
【図 7 C】

**FIG. 7C**

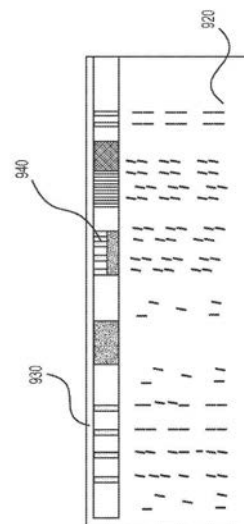
【図 8】



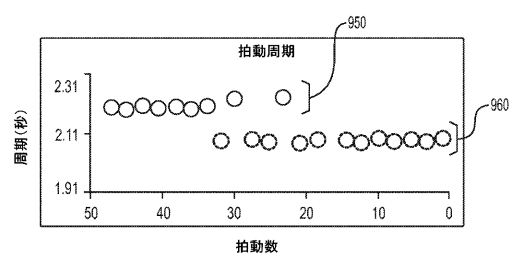
【図 9 A】



【図 9 B】

**FIG. 9B**

【図 9 C】



【図 9 D】

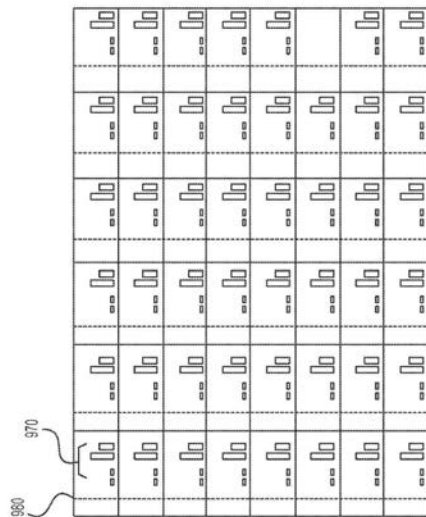


FIG. 9D

【図 9 E】

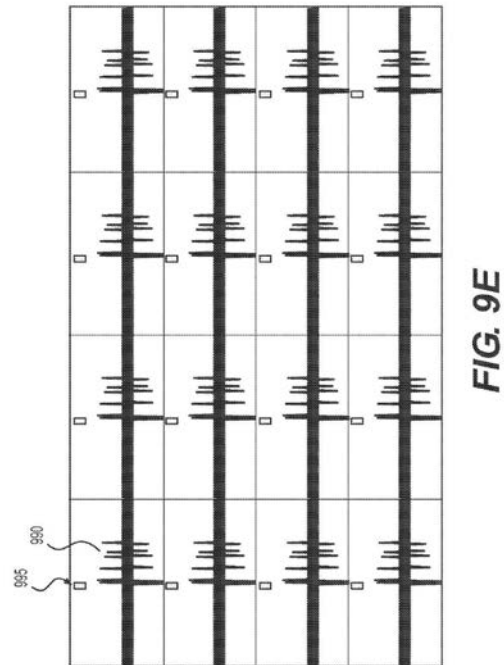


FIG. 9E

【図 10】

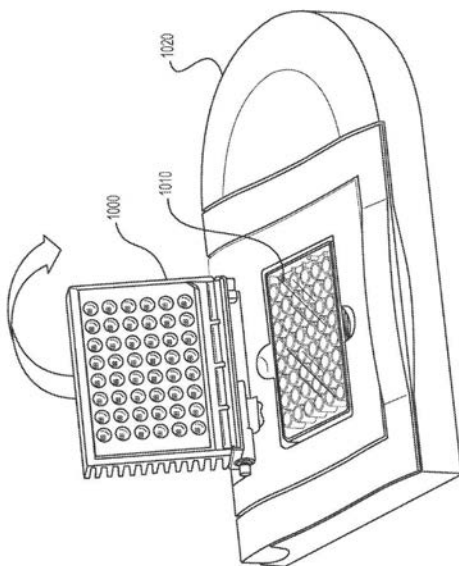
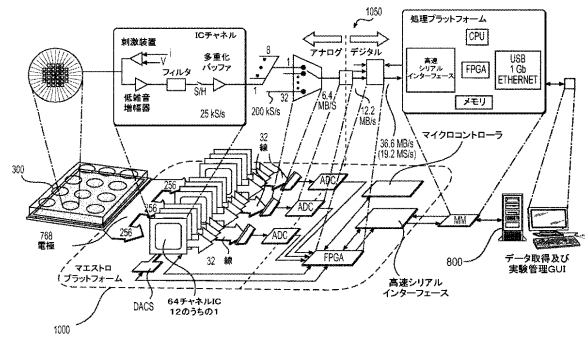
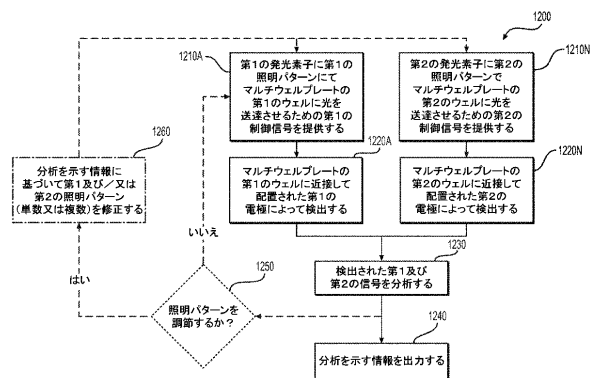


FIG. 10

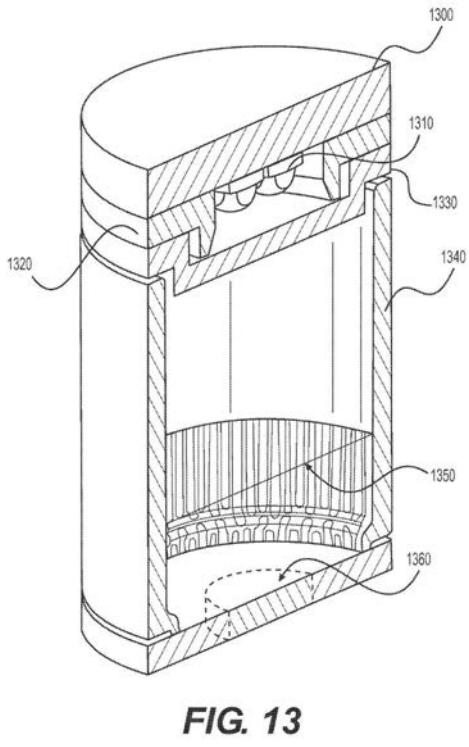
【図 11】



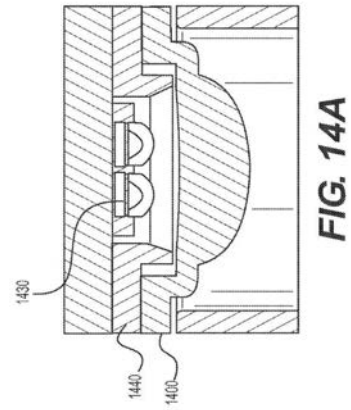
【図 12】



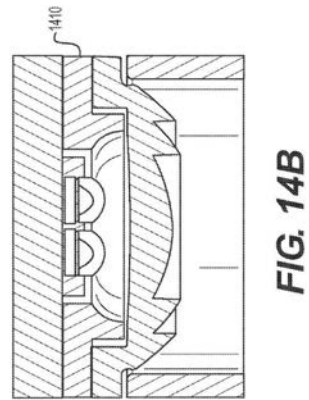
【図 13】



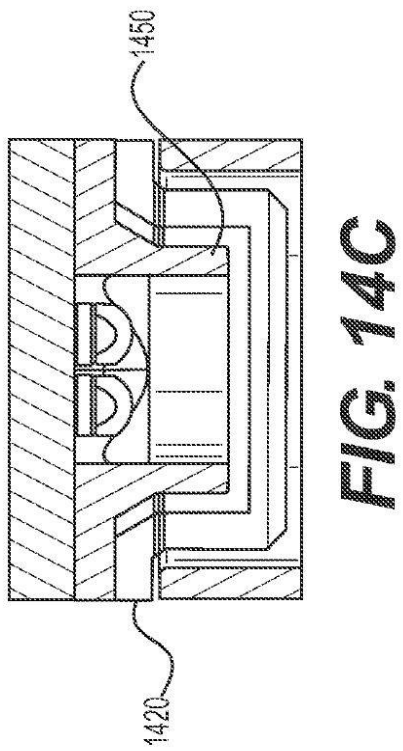
【図 14 A】



【図 14 B】



【図 14 C】



フロントページの続き

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 アイザック ベリー クレメンツ

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 0 6 7 , マリエッタ , ウィンドグローブ ロード エスイー 6 7 4

(72)発明者 アマンダ ジャービス プレイアー

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 3 1 9 , アトランタ , コープ サークル エヌイー 2 6 2 5

(72)発明者 スワミナサン ラジャラマン

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 0 3 3 , ディケーター , ノース ドルイド ヒルズ ロード 3 4 4 5 , ナンバーディー

(72)発明者 ダニエル クリストファー ミラード

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 3 1 2 , アトランタ , エディー アベニュー エスイー 1 1 8 7

(72)発明者 ジェイムズ デイビッド ロス

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 0 3 0 , ディケーター , グレンデール アベニュー 5 1 8

F ターム(参考) 4B029 AA08 AA27 BB11 GA03 GB10

【外国語明細書】
2017123874000001.pdf