

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7691981号
(P7691981)

(45)発行日 令和7年6月12日(2025.6.12)

(24)登録日 令和7年6月4日(2025.6.4)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 M 1/42 (2006.01)

C 1 2 M 1/42

C 1 2 N 15/87 (2006.01)

C 1 2 N 15/87

Z

請求項の数 13 (全37頁)

(21)出願番号	特願2022-529967(P2022-529967)	(73)特許権者	502362426
(86)(22)出願日	令和2年11月20日(2020.11.20)		ザ チャールズ スターク ドレイパー ラ
(65)公表番号	特表2023-503934(P2023-503934		ボラトリー, インク.
	A)		THE CHARLES STARK D
(43)公表日	令和5年2月1日(2023.2.1)		RAPER LABORATORY, I
(86)国際出願番号	PCT/US2020/061571		NC.
(87)国際公開番号	WO2021/102304		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(87)国際公開日	令和3年5月27日(2021.5.27)		1 3 9 ケンブリッジ テクノロジー ス
審査請求日	令和5年10月30日(2023.10.30)		クエア 5 5 5
(31)優先権主張番号	62/939,191	(74)代理人	100147485
(32)優先日	令和1年11月22日(2019.11.22)		弁理士 杉村 憲司
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	230118913
			弁護士 杉村 光嗣
		(74)代理人	100225543
			弁理士 上原 真

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 粒子のエレクトロポレーションのためのシステム

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

目的粒子を含む目的流体の流れを受け入れる入口チャンネルと、
前記入口チャンネルから前記目的粒子を含む目的流体の流れを受け入れ、前記目的粒子を、前記目的流体の流れから、カーゴ粒子を含むバッファー流体の流れに移動させる、音響泳動デバイスと、
前記音響泳動デバイスの下流側にあり、前記目的粒子及び前記カーゴ粒子を含むバッファー流体の流れを受け入れ、前記バッファー流体の流れに電界を印加して、前記バッファー流体の流れ中の前記目的粒子の一部に、前記カーゴ粒子の一部を吸収させる、エレクトロポレーションデバイスと、
前記エレクトロポレーションデバイスの入口に接続され、前記エレクトロポレーションデバイスが受け入れた前記バッファー液流の流れの導電率を測定し、前記導電率を示す信号をコントローラデバイスに供給するように構成される導電率センサと、
前記エレクトロポレーションデバイスから出力バッファー流体の流れを供給する、出口チャンネルと
を備える、システム。

【請求項2】

請求項1に記載のシステムであって、前記音響泳動デバイスは、
バッファー流体の供給源から前記カーゴ粒子を含むバッファー流体の流れを受け入れ、また、前記入口チャンネルから前記目的流体の流れを受け入れる、中央チャンネルと、

前記目的粒子を、前記目的流体の流れから第2のチャンネル内の前記バッファ流体の流れに移動させる、前記中央チャンネルに接続された圧電素子とを備える、システム。

【請求項3】

請求項1に記載のシステムであって、前記エレクトロポレーションデバイスは、前記音響泳動デバイスから出た前記バッファ流体の流れ及び第2のチャンネルから出た導電性バッファの流れを受け入れる、中央チャンネルと、前記中央チャンネルの一部に電氣的に接続された、電流を供給する電極とを備える、システム。

【請求項4】

請求項1に記載のシステムであって、さらに、前記入力流体の流れ中の前記目的粒子がリンパ球であり、前記入力流体の流れが、赤血球、顆粒球又は単球のうち少なくとも1つが含まれる不要な粒子を含む、システム。

【請求項5】

請求項1に記載のシステムであって、さらに、前記目的粒子及び不要な粒子を含む入力流体の流れを受け入れる第2の入口チャンネルと、前記第2の入口チャンネルから前記目的粒子及び前記不要な粒子を含む前記入力流体の流れを受け入れ、前記入力流体の流れを、前記目的粒子を含む目的流体の流れと、前記不要な粒子を含む不要な流体の流れとに分離する、音響分離デバイスとを備える、システム。

【請求項6】

請求項5に記載のシステムであって、前記不要な流体の流れは、1つ以上のチャンネルを介して廃棄物貯蔵器に輸送され、前記音響分離デバイスから出た前記目的流体の流れは、第2のチャンネルを介して目的物貯蔵器内に輸送され、前記システムは、さらに、前記目的物貯蔵器から前記入口チャンネルを介して前記音響泳動デバイスに前記目的流体の流れを輸送する、ポンプを備える、システム。

【請求項7】

請求項1に記載のシステムであって、さらに、入力物用貯蔵器から前記入口チャンネルを介して前記音響泳動デバイスに前記目的流体の流れを輸送する、第1のポンプと、前記音響泳動デバイスから出た前記目的粒子及び前記カーゴ粒子を含むバッファ流体の流れを、中間チャンネルを介して前記エレクトロポレーションデバイスに輸送する、第2のポンプとを備える、システム。

【請求項8】

請求項1に記載のシステムであって、前記入口チャンネル、前記音響泳動デバイス、前記エレクトロポレーションデバイス又は前記出口チャンネルのうちの2つ以上の間に、1個以上の仮置き用貯蔵器を備える、システム。

【請求項9】

請求項1に記載のシステムであって、さらに、前記出力物用チャンネルから前記出力バッファ流体の流れを受け入れ、前記出力バッファ流体の流れ中の不要な粒子から、前記出力バッファ流体の流れ中の濃縮された目的粒子を分離する、分離デバイスと、前記分離デバイスから、前記濃縮された目的粒子を受け取る、出力物用貯蔵器とを備える、システム。

【請求項10】

請求項1に記載のシステムであって、少なくとも前記入口チャンネル、前記音響泳動デバイス、前記エレクトロポレーションデバイス又は前記出口チャンネルの間の接続部が、ポリビニルクロリド管又はシリコン管のうちの少なくとも1つを備える、システム。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 に記載のシステムであって、さらに、少なくとも 1 つの前記接続部に接続された 1 個以上の流体キャパシタを備え、前記流体キャパシタは、前記システム内における流体の流量を調整するように構成される、システム。

【請求項 1 2】

請求項 1 に記載のシステムであって、さらに、前記目的流体の流れ、前記バッファ流体の流れ、又は前記出力バッファ流体の流れのうちの少なくとも 1 つの中における前記目的粒子又は不要な粒子の密度の値を表す信号をコントローラデバイスに送信するように構成された、1 個以上のセンサを備える、システム。

【請求項 1 3】

請求項 1 に記載のシステムであって、さらに、前記入口チャネル、前記音響泳動デバイス、前記エレクトロポレーションデバイス又は前記出口チャネルのうちの少なくとも 1 つの中を流れる流体の流量又は導電率を表す信号をコントローラデバイスに送信する、1 個以上のフローセンサを備える、システム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

< 関連出願の相互参照 >

本出願は、2 0 1 9 年 1 1 月 2 2 日に出願された「END-TO-END CELL THERAPY BIOPROCESSING DEVICE FOR CONTINUOUS-FLOW ENRICHMENT, WASHING, AND ELECTROTRANSFECTION OF TARGET CELLS」という題名の米国仮特許出願第 6 2 / 9 3 9 , 1 9 1 号に対する米国特許法第 1 1 9 条 (e) の優先権を主張し、その全体を参照により本明細書に組み込む。

【背景技術】

【0 0 0 2】

遺伝子操作された T 細胞の使用は、様々な血液がんを処置するために採用可能であり、FDA に承認された最初の細胞療法による処置につながる。細胞療法による処置の成功により、新たな細胞療法が研究されるようになり、細胞療法用製造 (cell therapy manufacturing) の需要が増している。現在の製造パイプラインは、大抵の場合、大規模製造用ではなく、研究で使用するために設計された旧式の細胞バイオプロセッシング設備に頼っている。この結果、処理時間が長く (例えば、概ね数週間)、処置も非常に高価になる可能性があり、患者にかかるコストは、場合によっては、1 回当たり約 4 0 0 , 0 0 0 ドルに達することもある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 3】

本開示は、細胞バイオプロセッシング及び細胞療法用製造のためのシステム及び方法を記載する。一部の実装形態において、本開示の技法は、ある組合せのマイクロ流体工学ベースのテクノロジーを用いて、細胞バイオプロセッシング又は細胞療法用製造プロセスを合理化及び自動化することができる。本開示のシステム及び方法は、血液又は血液製剤からの目的細胞の濃縮、細胞洗浄又は培地交換、並びにエレクトロトランスフェクションによる遺伝子送達を含むいくつかのステップを、製造プロセスに利用することができる。一部の实装形態において、これらの処理ステップはすべて、連続フローで実施することが可能であるため、完全に自動化されたプロセスにより、人間が介入することなく、約 1 0 億個の細胞を数時間で処理することができる。

【0 0 0 4】

一部の实装形態において、細胞バイオプロセッシング及び細胞療法用製造のためのシステムは、主にマイクロ流体モジュールから構築することができ、また、連続フロー式エンドツーエンド型細胞バイオプロセッシングを可能にし得る。慣例的に、マイクロ流体溶液は、処理能力の低さによって制限される場合がある。しかしながら、本明細書に開示される技

10

20

30

40

50

法は、並列化及びメソスケールの幾何学的形状（例えば、幅1mmのマイクロチャネル）を用いてこれらの制限を克服し、そうすることで、臨床スケールで細胞療法の製造を実施する。本開示は、流量及び電界の大きさ等の重要パラメータを自動で精密に制御するためのフィードバックセンサも記載する。このフィードバックセンサは、最終的な生成物が、500,000個超の細胞を含み得る大型のサンプルの処理を通して一貫性のあるものになることを保証するのに役立ち得る。したがって、本開示は、自動化の向上、現場の作業量（touch labor）の削減、処理能力の向上、並びに、細胞バイオプロセッシング及び細胞療法用製造のために使用されるプロセスのより精密な制御をもたらし得る技法を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示の少なくとも1つの態様は、システムを対象とする。本システムは、目的粒子を含む目的流体の流れを受け入れる入口チャネルを備えることができる。本システムは、入口チャネルから目的粒子を含む目的流体の流れを受け入れ、目的粒子を、目的流体の流れから、カーゴ粒子を含むバッファ流体の流れに移動させる、音響泳動デバイス(acousto phoresis device)を備えることができる。本システムは、目的粒子及びカーゴ粒子を含むバッファ流体の流れを受け入れる、エレクトロポレーションデバイスを備えることができる。エレクトロポレーションデバイスは、バッファ流体の流れに電界を印加して、バッファ流体の流れ中の目的粒子の一部に、カーゴ粒子の一部を吸収させることができる。本システムは、エレクトロポレーションデバイスから出力バッファ流体の流れを供給する、出口チャネルを備えることができる。

【0006】

一部の実装形態において、音響泳動デバイスは、バッファ流体の供給源からカーゴ粒子を含むバッファ流体の流れを受け入れ、入口チャネルから目的流体の流れを受け入れる、中央チャネルを備えることができる。一部の実装形態において、音響泳動デバイスは、目的粒子を、目的流体の流れから第2のチャネル内のバッファ流体の流れに移動させる、中央チャネルに接続された圧電素子を備えることができる。一部の実装形態において、エレクトロポレーションデバイスは、音響泳動デバイスから出たバッファ流体の流れ及び第2のチャネルから出た導電性バッファの流れを受け入れる、中央チャネルを備えることができる。一部の実装形態において、エレクトロポレーションデバイスは、中央チャネルの一部に電氣的に接続された、電流を供給する電極を備えることができる。

【0007】

一部の実装形態において、入力流体の流れ中の目的粒子は、リンパ球であってもよい。一部の実装形態において、入力流体の流れは、さらに、赤血球、顆粒球又は単球のうち少なくとも1つが含まれる不要な粒子を含む。一部の実装形態において、本システムは、目的粒子及び不要な粒子を含む入力流体の流れを受け入れる、第2の入口チャネルを備えることができる。一部の実装形態において、本システムは、第2の入口チャネルから目的粒子及び不要な粒子を含む入力流体の流れを受け入れ、入力流体の流れを、目的粒子を含む目的流体の流れと、不要な粒子を含む不要な流体の流れとに分離する、音響分離デバイスを備えることができる。一部の実装形態において、不要な流体の流れは、1つ以上のチャネルを介して廃棄物貯蔵器に輸送することができる。一部の実装形態において、音響分離デバイスから出た目的流体の流れは、第2のチャネルを介して目的物貯蔵器内に輸送される。一部の実装形態において、本システムは、目的物貯蔵器から入口チャネルを介して音響泳動デバイスに目的流体の流れを輸送する、ポンプを備えることができる。

【0008】

一部の実装形態において、本システムは、入力物用貯蔵器から入口チャネルを介して音響泳動デバイスに目的流体の流れを輸送する、第1のポンプを備えることができる。一部の実装形態において、本システムは、音響泳動デバイスから出た目的粒子及びカーゴ粒子を含むバッファ流体の流れを、中間チャネルを介してエレクトロポレーションデバイスに輸送する、第2のポンプを備えることができる。一部の実装形態において、本システムは、入口チャネル、音響泳動デバイス、エレクトロポレーションデバイス又は出口チャネ

10

20

30

40

50

ルのうちの2つ以上の間に、1個以上の仮置き用貯蔵器を備えることができる。一部の実装形態において、本システムは、出力物用チャンネルから出力バッファ流体の流れを受け入れ、出力バッファ流体の流れ中の不要な粒子から、出力バッファ流体の流れ中の濃縮された目的粒子を分離する、分離デバイスを備えることができる。一部の实装形態において、本システムは、分離デバイスから、濃縮された目的粒子を受け取る、出力物用貯蔵器を備えることができる。

【0009】

一部の实装形態において、少なくとも入口チャンネル、音響泳動デバイス、エレクトロポレーションデバイス又は出口チャンネルの間の接続部は、ポリビニルクロリド管又はシリコン管のうちの少なくとも1つを備える。一部の实装形態において、本システムは、少なくとも1つの接続部に接続された1個以上の流体キャパシタを備えることが可能であり、流体キャパシタは、本システム内における流体の流量を調整するように構成される。一部の实装形態において、本システムは、目的流体の流れ、バッファ流体の流れ、又は出力バッファ流体の流れのうちの少なくとも1つの中における目的粒子又は不要な粒子の密度の値を表す信号をコントローラデバイスに送信するように構成された、1個以上のセンサを備えることができる。一部の实装形態において、システムは、入口チャンネル、音響泳動デバイス、エレクトロポレーションデバイス又は出口チャンネルのうちの少なくとも1つの中を流れる流体の流量又は導電率を表す信号をコントローラデバイスに送信する、1個以上のフローセンサを備えることができる。

【0010】

本開示の少なくとも1つの他の態様は、システムを対象とする。本システムは、エレクトロポレーションデバイスに流れ込む流体の導電率を測定する、エレクトロポレーションデバイスの上流側にあるセンサを備えることができる。本システムは、エレクトロポレーションデバイス内に電圧を発生させる、電気信号発生器を備えることができる。本システムは、メモリに接続された1個以上のプロセッサを備える、コントローラデバイスを備えることができる。コントローラデバイスは、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体中に誘起すべき所望の電界の大きさを識別することができる。コントローラデバイスは、エレクトロポレーションデバイスに流れ込む流体の導電率をセンサから受信することができる。コントローラデバイスは、導電率及び電気信号発生器によって発生する電圧に基づいて、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体中の予想電界の大きさを決定することができる。コントローラは、予想電界の大きさ及び所望の電界の大きさに基づいて、電気信号発生器用の調整電圧を計算することができる。コントローラは、調整電圧を表す信号を電気信号発生器に供給して、電気信号発生器に、エレクトロポレーションデバイス内で第2の電圧を発生させることができる。

【0011】

一部の实装形態において、本システムは、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体の第2の導電率を測定する、導電率プローブを備えることができる。一部の实装形態において、本システムは、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体を通過する電流を測定する、電流センサを備えることができる。一部の实装形態において、本システムは、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体の中央部分の幅を測定する、光学センサを備えることができる。一部の实装形態において、コントローラデバイスは、第2の導電率、電流、及び流体の中央部分の幅に基づいて、予想電界の大きさを決定することができる。

【0012】

一部の实装形態において、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体は、第1の流体入力からの第1の流体と、第2の流体入力からの第2の流体とを含む。一部の实装形態において、コントローラデバイスは、第2の導電率、電流、及び流体の中央部分の幅に基づいて、第1の流体又は第2の流体のうちの少なくとも1つについて調整流量を計算することができる。一部の实装形態において、コントローラデバイスは、調整流量を表す第2の信号を、第1の流体又は第2の流体の流れを制御するポンプに供給して、第

1の流体又は第2の流体を第2の流量で流すことができる。

【0013】

一部の実装形態において、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体は、第1の流体入力からの第1の流体と、第2の流体入力からの第2の流体とを含むことができる。一部の実装形態において、エレクトロポレーションデバイスは、エレクトロポレーションデバイスの入力側における第1の流体の第1の流量と、エレクトロポレーションデバイスの入力側における第2の流体の第2の流量とを決定する、第2のセンサを備えることができる。一部の実装形態において、コントローラデバイスは、第1の流量又は第2の流量のうちの少なくとも1つに基づいて、第1の流体又は第2の流体のうちの少なくとも1つについて調整流量を計算することができる。一部の実装形態において、コントローラデバイスは、調整流量を表す第2の信号を、第1の流体の第1の流量又は第2の流体の第2の流量を制御するポンプに供給して、第1の流体又は第2の流体を第3の流量で流すことができる。

10

【0014】

本開示のさらに別の態様は、方法を対象とする。本方法は、1個以上のプロセッサ及びメモリを有するコントローラデバイスによって実施することができる。本方法は、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体中に誘起すべき所望の電界の大きさを識別することを含むことができる。本方法は、流体がエレクトロポレーションデバイスに流れ込むときの、流体の導電率を、第1のセンサから受信することを含むことができる。本方法は、導電率及び電気信号発生器によって発生する電圧に基づいて、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体中の予想電界の大きさを決定することを含むことができる。本方法は、予想電界の大きさ及び所望の電界の大きさに基づいて、電気信号発生器用の調整電圧を計算することを含むことができる。本方法は、調整電圧を表す信号を電気信号発生器に供給して、電気信号発生器に、エレクトロポレーションデバイス内で第2の電圧を発生させることを含むことができる。

20

【0015】

一部の実装形態において、本方法は、エレクトロポレーションデバイス内の流体からの信号を検出する1個以上の第2のセンサから、流体の第2の導電率、流体を流れる電流及び流体の中央部分の幅を受信することを含むことができる。一部の実装形態において、本方法は、第2の導電率、電流、及び流体の中央部分の幅に基づいて、予想電界の大きさを決定することを含むことができる。一部の実装形態において、エレクトロポレーションデバイスに流れ込む流体は、第1の流体の流れ及び第2の流体の流れから受け取られる。一部の実装形態において、本方法は、少なくとも1個の流量センサから、第1の流体の流れにおける第1の流体の流量及び第2の流体の流れにおける第2の流体の流量を受信することを含むことができる。一部の実装形態において、本方法は、第1の流体の流れ又は第2の流体の流れのうちの少なくとも1つの調整流量を計算することを含むことができる。一部の実装形態において、本方法は、調整流量を表す信号を、第1の流体の流れ又は第2の流体の流れを制御するポンプに供給して、第1の流体の流れ又は第2の流体の流れを第2の流量で流すことを含むことができる。

30

【0016】

これらの及び他の態様及び実装形態については、以下で詳細に論述する。上記の情報及び下記の詳細な説明は、様々な態様及び実装形態を説明する例を含み、また、特許請求の範囲に記載された態様及び実装形態の性質及び特徴を理解するための概要又は枠組みを提供する。図面は、様々な態様及び実装形態を例示して理解を深めさせるものであり、本明細書に組み込まれ、本明細書の一部を構成する。態様同士を組み合わせることも可能であり、また、本発明の一態様の文脈に記載された特徴を他の態様と組み合わせることができることは容易に理解されよう。態様は、任意の好都合な形態で実装することができる。

40

【0017】

添付の図面は、縮尺どおりに描かれることを意図したものではない。様々な図面中の同様の参照番号及び名称は、類似の要素を示している。わかりやすくするために、すべての

50

構成要素がすべての図面中において参照符号を付与されているとは限らないこともあり得る。添付の図面と一緒に用いられる下記の記載を参照することにより、本開示に関する上記及び他の目的、態様、特徴及び利点がより明白になり、より深く理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】 1つ以上の実装形態による、細胞療法治療製造方法のための例示的なプロセスフロー図である。

【図2】 1つ以上の実装形態による、図1のプロセスフローの第1の段階を実施するために使用可能な例示的なモジュールである。

【図3】 1つ以上の実装形態による、図1のプロセスフローの第2の段階を実施するために使用可能な例示的なモジュールである。

10

【図4】 1つ以上の実装形態による、図1のプロセスフローの第3の段階を実施するために使用可能な例示的なモジュールである。

【図5A】 1つ以上の実装形態による、図1に示されたプロセスフローに類似したプロセスフローを実施するためのシステムのブロック図である。

【図5B】 1つ以上の実装形態による、図1に示されたプロセスフローに類似したプロセスフローを実施するためのシステムのブロック図である。

【図5C】 1つ以上の実装形態による、図1に示されたプロセスフローに類似したプロセスフローを実施するためのシステムのブロック図である。

【図6】 1つ以上の実装形態による、図4のモジュール内で細胞が受ける電界を示すグラフである。

20

【図7A】 1つ以上の実装形態による、図4のモジュール内で細胞が受ける電界を制御するための例示的な制御システムのブロック図である。

【図7B】 1つ以上の実装形態による、図4のモジュール内で細胞が受ける電界を制御するための例示的な制御システムのブロック図である。

【図7C】 1つ以上の実装形態による、図4のモジュール内で細胞が受ける電界を制御するための例示的な制御システムのブロック図である。

【図7D】 1つ以上の実装形態による、図4のモジュール内で細胞が受ける電界を制御するための例示的な制御システムのブロック図である。

【図8】 1つ以上の実装形態による、図5A、図5B及び図5Cのシステムの実験結果を示すグラフである。

30

【図9A】 1つ以上の実装形態による、図5A、図5B及び図5Cのシステムの実験結果を示すグラフである。

【図9B】 1つ以上の実装形態による、図5A、図5B及び図5Cのシステムの実験結果を示すグラフである。

【図9C】 1つ以上の実装形態による、図5A、図5B及び図5Cのシステムの実験結果を示すグラフである。

【図10】 図5A、図5B及び図5Cに図示されたシステムに類似したシステムの中を流れる流体の流量又はこの流体が受ける電界を制御するための例示的なシステムのブロック図である。

40

【図11】 図5A、図5B及び図5Cに図示されたシステムに類似したシステムの中を流れる流体の流量又はこの流体が受ける電界を制御する例示的な方法のフロー図である。

【図12】 本明細書において記載及び例示されたシステム及び方法の様々な要素を実施するために採用され得るコンピュータシステムの概略的なアーキテクチャのブロック図である。

【発明を実施するための形態】

【0019】

記載された概念はいかなる特定の実装様式にも限定されないため、上記で紹介し、以下でさらに詳述する様々な概念は、数多くの様式のうちのいずれかによって実施することができる。特定の実装形態及び用途の例は、主に例示を目的として提供されている。

50

【0020】

本開示は、細胞バイオプロセッシング及び細胞療法用製造のためのシステム及び方法について記載する。一部の実装形態において、本開示の技法は、マイクロ流体力学をベースとする技術の組合せを使用することで、細胞療法用製造プロセスを合理化及び自動化することができる。本開示のシステム及び方法は、血液又は血液製剤からの目的細胞の濃縮、細胞洗浄又は培地交換、並びにエレクトロトランスフェクションによる遺伝子送達を含むいくつかのステップを、細胞バイオプロセッシング又は細胞療法用製造プロセスに採用することができる。一部の实装形態において、これらの処理ステップはすべて、連続フローで実施することが可能であるため、完全に自動化されたプロセスにより、人間が介入することなく、約10億個の細胞を数時間で処理することができる。

10

【0021】

一部の实装形態において、細胞バイオプロセッシング及び細胞療法用製造のためのシステムは、主にマイクロ流体モジュールから構築することができ、連続フロー式エンドツーエンド型細胞バイオプロセッシングを可能にし得る。例えば、それぞれが異なる技術を実施する一連のモジュールを相互に接続して、一連の細胞療法用製造に含まれる様々な単位操作を実施し、これにより、血液又は血液製剤サンプルを直接処理することができる。一部の实装形態において、サンプルは、白血球アフェレーシスによって得られたロイコパック (Leukopak) であってもよい。本システムは、サンプルを自動的に且つ連続的に処理して、細胞療法のために遺伝子操作されたリンパ球又はT細胞に変えることができる。一部の实装形態において、本システム内の各モジュールによって実施される技術は、マイクロ流体音響泳動と、マイクロ流体音響泳動式の培地交換又は細胞洗浄と、連続フロー式マイクロ流体エレクトロトランスフェクションとの任意の組合せを含み得る。これらのマイクロ流体技術を実施するモジュールは、統合型自動システムの一部として、プラスチック管 (例えば、シリコン管若しくはビニル管) 又は特注のマニフォールドと相互接続されてもよい。

20

【0022】

図1は、細胞療法用製造方法100の例示的なプロセスフロー図を示している。プロセスフロー図100は、3つの段階を含む。第1の段階105では、血液サンプルを、音響泳動によってリンパ球 (又は、他の実装形態ではT細胞等の他の種類の細胞) について濃縮することができる。例えば、音響分離を用いてサンプルをリンパ球について濃縮するように構成されたモジュールに、血液製剤を導入することができる。不要な細胞は廃棄することができ、濃縮されたサンプルは、第2の段階110に導入することができる。第2の段階110は、例えば、培地交換デバイスを使用して実施することができる。第2の段階110では、培地交換モジュール内で、目的細胞を、音響泳動によってエレクトロポレーション用培地中に移すことができる。音響泳動は、カーゴを含有する低導電率エレクトロポレーション用バッファー中に細胞を移動させるために使用することができ、第2の段階1100においてカーゴは、核酸、タンパク質又はこれらの物質の組合せを含み得る。一部の实装形態において、カーゴは、mRNAを含むことができる。次いで、目的細胞を含有する培地を、第3の段階115に送達することができる。一部の实装形態において、第3の段階115は、エレクトロポレーションデバイスを使用して実施することができる。第3の段階115において、細胞は、連続フロー型エレクトロポレーションデバイス内でエレクトロポレーションを行うことができる。

30

40

【0023】

図1に示された段階105、110及び115の配列は、例示用のものにすぎない。一部の他の実装形態では、第1の段階105、第2の段階110及び第3の段階115を実施するモジュールは、様々な順序若しくは順列で構成することが可能であり、あるいは、様々な直列及び並列ネットワークとして構成し、所望のワークフローを自動化するように相互接続することも可能である。例えば、一部の实装形態では、目的細胞の音響濃縮を最後の段階で実施し、それより前の段階で培地交換及びエレクトロポレーションが実施することもできる。図1に示された段階以外にも、本開示は、ある段階から次の段階への連続

50

フローを維持するためのインフラストラクチャー、デバイスの前端において処理ステップの間に細胞を懸濁状態に維持するために攪拌されている仮置き用貯蔵器、コントローラ、センサ及びフィードバック制御、並びにポンプを提供するが、これらはすべて、後でさらに記載する。一部の実装形態では、無菌状態を維持するために、本システム全体が閉鎖されていてもよい。

【0024】

図2は、図1のプロセスフロー100の第1の段階105を実施するために使用可能な例示的なモジュール200を示している。モジュール200では、音響泳動を用いて、血液又は血液製剤を含むサンプルからリンパ球を濃縮し、赤血球を激減させることができる。モジュール200は、1つの入口205並びに3つの出口210a、210b及び215を有する、1組のマイクロチャネルを備える。一部の实装形態において、入口チャネル205の壁は、圧電素子等の超音波オシレータに接続されていてもよく、圧電素子を電氣的に駆動させることで、いくつかの細胞がチャネルの中を流れるときに、これらの細胞がチャネルの軸方向の中央の流れに向かって移動するように、入口チャネル205を励起することができる。細胞の移動速度は、細胞のサイズ、密度、及び周囲の培地に対する相対的な圧縮率に左右され得るため、細胞の固有特性に差異があると、一部の種類の細胞は、他の種類の細胞より速く移動して、中央出口215で収集されることがある一方で、残りの細胞は、側方出口210a及び210bに収集されるようになることがある。図2の例において、赤血球、顆粒球及び単球は、中央出口215で濃縮することができ、リンパ球は、側方出口210a及び210bで濃縮することができる。中央出口215に流れ込んだ細胞及び培地は、不要な生成物であってもよく、この不要な生成物は、廃棄することができる。側方出口210a及び210bに流れ込んだ細胞及び培地を収集し、本システムの後続の段階（例えば、図1の段階110）に導入することができる。一部の实装形態では、培地に変更を加え、粒子を追加し、又は、細胞を他の状態／表現型若しくは凝集物に組み入れることにより、モジュール200内における分離プロセスをさらに促進することができる。

【0025】

図3は、図1のプロセスフローの第2の段階を実施するために使用可能な例示的なモジュール300を示している。モジュール300では、音響泳動を用いて、ある培地から別の培地中に細胞を移動させることができる。特に、モジュール300は、初期培地（例えば、血漿又は細胞培液）から、上流側マイクロ流体エレクトロポレーションモジュールと適合するエレクトロポレーション用培地中に、目的細胞を移動させることができる。モジュール300は、中央入口310並びに2つの側方入口315a及び315bを含む、3つの入口を備えることができる。モジュール300は、中央出口320並びに2つの側方出口325a及び325bを含む、3つの出口を備えることができる。中央チャネル330は、3つの入口を3つの出口と接続することができる。圧電素子335は、中央チャネル330と接続されていてもよい。

【0026】

モジュール300において、3つの平行な流れは、層流様式で確立することが可能であり、それぞれの流れは、2つの側方入口315a若しくは315b又は中央入口310のうちの1つに対応する。中央チャネル330内におけるこれらの流れの混合は、拡散及び分散によって支配され得る。圧電素子335によって発生した音響放射場は、中央チャネル330内の流れに対して粒子を操作するために用いることが可能であり、したがって、ある流れから別の流れに粒子を移動させるために用いることが可能である。中央チャネル330は、ケイ素、ガラス若しくは石英等の硬質基材、又はポリスチレン等の音響インピーダンスが高いポリマーから製作されたマイクロチャネルであってもよい。中央チャネル330の断面は長方形であってもよく、その幅及び高さの寸法は100µm～1000µmの範囲に及んでもよい。中央チャネルの長さは、5mm～200mmの範囲に及んでもよい。図3に示された構成において、中央の流体の流れは、側方の流れの密度以上の密度を有することができる。一部の实装形態では、添加剤を使用して中央の流れの密度を調整

10

20

30

40

50

して、必要な密度の差を得ることができる。

【0027】

圧電素子335によって発生した音響放射場の影響下では、主に培地は、それぞれの培地の流れの中に留まることができるが、側方出口315a及び315bに導入された細胞は、中央の流れに移動する。細胞を含む中央の流れは、中央出口320から収集することができる。側方出口325a及び325bに流れ込んだ培地は、廃棄物として廃棄することができる。したがって、目的とする細胞は、初期培地から出て、中央入口310を介して導入された培地中に移動し、この培地は、後続の段階（例えば、図1の第3の段階115）へ導入するために収集することができる。

【0028】

図4は、図1のプロセスフローの第3の段階を実施するために使用可能な例示的なモジュール400を示している。モジュール400において、細胞は、連続フローでエレクトロポレーションを行うことができる。モジュール400は、中央入口410並びに2つの側方入口415a及び415bを含む、3つの入口を備えることができる。モジュール400は、中央出口420並びに2つの側方出口425a及び425bを含む、3つの出口を備えることができる。中央チャネル430は、3つの入口を3つの出口と接続することができる。1組の電極435a及び435bは、中央チャネル430に接続されていてもよい。一部の実装形態において、細胞及びカーゴは、中央入口410を介して、低導電率培地に取り込まれた状態で中央の流れに導入することができる。刺激電極435a及び435bと接触している高導電率培地の流れは、側方入口415a及び415bを介して導入することが可能であり、中央の流れの側方に位置することができる。この構成により、細胞を大きな電界にさらしながら、細胞が電極435a及び435bと直接接触しないように保つことができる。

【0029】

一部の实装形態において、モジュール400は、連続フローでパルス電界を目的細胞に印加して、目的細胞を一時的に透過処理することで、カーゴの取込み及び遺伝子操作を行いやすい状態に変えることができる。一部の实装形態において、中央チャネル430は、硬質プラスチック（例えば、環状オレフィンコポリマー、Kapton（登録商標）、ポリスチレン、Ultem（登録商標）等）から作製されたマイクロチャネルであってもよく、3つの平行な層流を含むシースフロー又は並行流構成を支持することができる。一部の实装形態において、モジュール400内のチャネルの寸法は、幅が500 μm ～3mm、長さが1cm～5cm、高さが125 μm ～500 μm の範囲に及んでもよい。

【0030】

電極435a及び435bは、中央チャネル430の床にパターンニングされた、同一平面をなす長方形電極であってもよい。電極435a及び435bの寸法は、幅100 μm ～250 μm 及び長さ8 μm ～45mmであってもよい。一部の实装形態では、はんだ付けパッドへの接続を介して、電極435a及び435bを電源に繋げることができる。一部の实装形態において、電極435a及び435bは、中央チャネル430の壁から50 μm ～300 μm 離れた位置にあってもよい。電極435a及び435bは、白金等の電気化学的に安定な材料から形成されてもよい。

【0031】

中央チャネル430内における中央の流体の流れは、中央入口410を介して導入可能な低導電率エレクトロポレーション用バッファ（例えば、0.01～0.1S/m）に懸濁した細胞及びカーゴを含有することができる。中央チャネル430内における側方の流れは、高導電率細胞培養バッファ（例えば、1～2S/m）を含むことができる。エレクトロポレーションに関連するパラメータは、中央の流れの導電率に対する側方の流れの導電率の比であり得る。一部の实装形態において、この比は、20以上であり得る。例えば、側方の流れの導電率が20～40S/mの範囲に及ぶ場合、中央の流れの導電率は、1～2S/mの範囲に及び得る。中央チャネル430内で、側方の流れに対する中央の流れの相対的流量を調整することで、電極435a及び435bが側方の流れと接触だけ

10

20

30

40

50

するようにできる。この構成では、中央の流れが回路の電気抵抗を左右する場合があり、この結果、電圧が電極 435a 及び 435b に印加されると、電圧の大部分は、中央の流れの両端間で降下する。一部の実装形態において、印加電圧は、周期が 10 ns ~ 10 ms の範囲にわたる正弦曲線の形態をとることができる。一部の実装形態において、印加電圧は、パルス幅が 10 ns ~ 10 ms の範囲にわたるパルス列の形態をとることができる。一部の実装形態において、印加電圧の大きさは、中央の流れの両端間に、約 2 ~ 600 kV/m の範囲にわたる電界を、10 ns ~ 10 ms の範囲にわたるパルス幅で発生させるように、変化することができる。トランスフェクションされた細胞を含有するサンプルは、中央出口 420 を介して収集することができ、側方出口 425a 及び 425b から出た培地は、不要な生成物として処理し、廃棄することができる。

10

【0032】

一部の实装形態において、本明細書に記載のマイクロ流体モジュール又はデバイス（例えば、モジュール 200、モジュール 300、モジュール 400 等）を互いに相互接続して、図 5A、図 5B 及び図 5C との関連で本明細書において記載したプロセスフローシステム 500 に類似したプロセスフローを形成することもできる。本明細書に記載のマイクロ流体モジュールは、層又は基材の内部に配置されてもよい。例えば、マイクロ流体用のデバイス又はチャネルはそれぞれ、単一の基材シートの内部に配置されてもよく、これにより、1つの層を形成することができる。一部の实装形態では、本明細書に記載のマイクロ流体モジュール又はデバイスのうちの1つ以上については、異なる基材を使用することも可能であり、各基材は、管、他のマイクロ流体基材チャネル、又は他の流体接続手段を介して接続されてもよい。さらに、マイクロ流体バルブを、本明細書に記載されている他のマイクロ流体用構成要素又はマイクロ流体用機構（例えば、ポンプ、センサ、貯蔵器、廃棄物用ボトル、ピンチバルブ等）のいずれかと一緒に、上記層を形成する1個以上のマイクロ流体基材に埋め込むことで、システム 500 との関連で記載した構成要素に類似したマイクロ流体チャネルの中を流れるときの、流体の流れを制御することもできる。

20

【0033】

一部の实装形態において、マイクロ流体デバイスは、プロセスフローの層の一部を形成することが可能であり、このマイクロ流体デバイスは、複数の平行な層にわたってマイクロ流体チャネルを多重化することによってスケールアップすることもできる。プロセスフロー中の各層は、1つ以上のマイクロ流体モジュール又はデバイス（例えば、モジュール 200、モジュール 300、モジュール 400 等）、マイクロ流体モジュール又はデバイス間で流体を輸送するためのマイクロ流体チャネル、並びに、他のマイクロ流体デバイス（例えば、流体キャパシタ、流体貯蔵器、バルブ、ポンプ、本明細書に記載された任意の他のマイクロ流体用機構等）を備えることができる。マイクロ流体デバイスに属する任意の層が、プロセスフロー中の任意の段階において、特定の層から流体を導入又は抜き出すための任意の数のポート（例えば、入口ポート、出口ポート等）を備えることができることは、理解されよう。ポートは、1個以上の貯蔵器からの流体用管路等の他の流体用管路に接続可能な、1個以上のコネクタ（例えば、ねじ込み式コネクタ、スナップコネクタ、摩擦ばめ型コネクタ、プレスフィットコネクタ等）を備えることができる。したがって、マイクロ流体用のデバイス又は機構からなる複数の層を有する実装形態では、流体供給源から各層の入口ポートへの流体用管路を多重化することにより、流体供給源から出た流体を複数の層に供給することができる。

30

40

【0034】

一部の实装形態では、ある層のポートが別の層のポートに接続されていてもよく、これにより、流体は、各層の間を流れることができるようになる。複数の層を使用することで、マイクロ流体層及びデバイスの積層体を形成することができる。一部の实装形態において、マイクロ流体層積層体は、マイクロ流体積層体中の他の層と同様の構成要素を有することが可能であり、これにより、マイクロ流体デバイス（例えば、モジュール 200、モジュール 300、モジュール 400 等）によって規定されるプロセスフローを、マイクロ流体デバイスの並列ネットワーク中に規定することができる。平行な層は、横方向に層が

50

並ぶ設計により、又は、細胞分離又はトランスダクション等のステップのためにマイクロチャンネルネットワークに属する垂直方向に並んだ層を追加することにより、マイクロ流体経路（例えば、図5A、図5B及び図5Cと一緒に本明細書において後述するマイクロ流体用の経路又はチャンネル等）に属する平行なマイクロ流体部分を画定することができる。別の言い方をすれば、プロセスフローシステム又はマイクロ流体用構成要素は、マイクロ流体デバイスに属する1つ以上の層を使用して拡張又はスケールリングすることが可能であり、マイクロ流体デバイスに属する1つ以上の層は、横方向に並ぶ配置様式（例えば、連続的に並べる配置様式等）若しくは平行方向に並ぶ配置様式又はこれらの任意の組合せで配置することができる。

【0035】

図5A、図5B及び図5Cは、図1に示されたプロセスフロー100に類似したプロセスフローを実施するためのシステム500のブロック図の一部を図示している。システム500は、マイクロ流体デバイス以外にも、接続及び支持のために必要な構成要素を示している。一部の実装形態において、図5A、図5B及び図5Cに示されたマイクロ流体デバイスのうち少なくともいくつかは、図1のプロセスフロー100の段階を実施するために使用可能な図2～図4のモジュールに対応するものであってもよい。図2～図4の各モジュール200、300及び400の実施例等のマイクロ流体デバイス、並びに、バルブ、センサ及び仮置き用貯蔵器は、青色で示されている。図5Aには、図5A、図5B及び図5Cに示されているシステム500内のダンパー及びピンチバルブ用に使われている記号を指し示す、凡例が含まれている。丸は、システム500内で流体を動かすことが可能であり、また、正しい流量を維持するのに役立てることができる、ぜん動ポンプを表し得る。

【0036】

ここで図5Aを参照すると、システム500の前端で、ユーザーは、培地中の目的細胞を仮置き用貯蔵器505に入れておくことができる。貯蔵器505は、磁気駆動式インペラ等の、細胞を懸濁状態に保つための攪拌機構を有することができる。一部の实装形態において、攪拌機構は、細胞を損傷させない程度に緩やかに培地を攪拌するように構成されてもよい。システム500の前端にある貯蔵器500は、図5Aでモジュール300として図示されている音響泳動式急速培地交換デバイスの中央入口に、管を介して接続されていてもよい。図5Aのモジュール300は、図3に示されたモジュール300の一実施例であり得る。ぜん動ポンプ510は、管を変形させることで、モジュール300の中を通る流れを動かすことができる。エレクトロポレーション用バッファ内で懸濁又は溶解されたトランスフェクションすべきカーゴ（例えば、mRNA）を包含する別の貯蔵器515は、モジュール300の側方入口に接続されていてもよい。モジュール300から出た不要な生成物は、貯蔵器520内に収集することができる。別のぜん動ポンプ525は、モジュール300の側方の流れ用の入口に入るように、貯蔵器515からの流れを動かすことができる。上記のように、モジュール300内の音響場（acoustic field）により、側方の流れから中央の流れに入るように細胞を動かすことが可能であり、細胞は、エレクトロポレーション用培地中にカーゴと一緒に懸濁した状態で、中央出口から出ることができる。モジュール300の出口では、側方の流れを、廃棄物として、貯蔵器520内に収集することができる。急速培地交換モジュール300の中央出口は、管によって、仮置き用貯蔵器（holding reservoir）530の入口に接続されていてもよく、仮置き用貯蔵器530は、細胞を懸濁状態に保つための攪拌機構を有することができる。

【0037】

ここで図5Bを参照すると、図5Aに図示された仮置き用貯蔵器530の出口は、フロースルー式導電率測定センサ535に、管によって接続されていてもよく、このフロースルー式導電率測定センサ535は、図5Bでモジュール400として示されているフローエレクトロポレーションデバイス（flow electroporation device）の中央入口に接続されていてもよい。図5Bのモジュール400は、図4に示されたモジュール400の一実施例であり得る。ぜん動ポンプ540は、仮置き用貯蔵器530の出口から、導電率プロ

10

20

30

40

50

ープ535を経由して、エレクトロポレーションモジュール400の中央の流れの中を通るように、細胞懸濁液の流れを動かすことができる。高導電率細胞培地（例えば、T e x M A C S）を包含する別の外部貯蔵器545は、モジュール400の側方入口に、管を介して接続されている。それぞれの側方入口を通る流れは、別の1組のぜん動ポンプ550及び555によって動かされる。細胞がモジュール400を通るとき、電圧パルスが印加されて、細胞がトランスフェクションされる。モジュール400の側方出口から出た流体は、廃棄物として、貯蔵器560内に収集することができる。中央出口モジュール400から出た流体は、トランスフェクションされた細胞を多量に含み、この流体は、別の仮置き用貯蔵器565に流れ込むことができ、別の仮置き用貯蔵器565は、細胞を懸濁状態に維持するのに役立つ攪拌機構を有することができる。

10

【0038】

ここで図5Cを参照すると、図5Bに図示された仮置き用貯蔵器565から出た細胞懸濁液は、貯蔵器565とモジュール200とを接続する管に作用する最終ぜん動ポンプ570により、図5Cにモジュール200として示されたマイクロ流体音響アフェレーシスモジュールにある単一の入口に入るように動かすことができる。図5Cのモジュール200は、図2に示されたモジュール200の一実施例であってもよい。音響によってモジュール200を作動させると、モジュール200の出口で、細胞懸濁液をリンパ球について濃縮することができる。モジュール200の出口にあるサンプルは、最終的な生成物（例えば、トランスフェクションされたリンパ球）として貯蔵器575内に収集される。このモジュール200の廃棄用出口から出た流体は、最終廃棄物貯蔵器580の中に収集することができる。モジュール（例えば、モジュール200、300及び400等）、ポンプ（例えば、ポンプ510、525、540、550、555、570等）はそれぞれ、本明細書において記載されているように、コントローラ1005から受信した1つ以上の信号によって制御することができる。

20

【0039】

一部の実装形態において、システム500の構成要素間の接続は、様々な種類のポリマー管を使用して行うことが可能であり、例えば、ぜん動ポンプによって供給を受けることができる内径1.12mm（0.44インチ）のPVC管、構成要素間に使用することができる内径3.18mm（1/8インチ）及び4.23mm（1/6インチ）のTygon管、並びに、モジュール200、300及び400と接続するためのより細い（例えば、内径0.28mm（0.011インチ）～0.64mm（0.025インチ））シリコーン管が挙げられる。アダプタを使用して、必要に応じてサイズが異なる管の間で切替えを行うこともできる。

30

【0040】

一部の实装形態では、上記のように、システム500全体の中を通る流れを一連の流体ポンプによって動かすことができる。一部の实装形態において、これらのポンプは、ぜん動ポンプであってもよい。ぜん動ポンプ内の流れは本質的に脈動するものであるため、モジュール200、300及び400が適正に機能するには定常な流れが必要となり得るから、適合する流体キャパシタを各ポンプの後ろに導入して、流量の変動を平滑化することもできる。これらのポンプによって発生する公称流量が、例示を目的として図5A、図5B及び図5Cに示されているが、これらの流量は、他の実装形態では異なる可能性があること、及び、これらの流量は、システム500が動作するにつれて変化する可能性があることを理解すべきである。一部の实装形態において、ポンプは、貯蔵器からシステム500内に流体及びサンプルを移動させることができる。したがって、バルブを使用することで、システム500のプライミング及びセットアップを行うために使用される入力物用管路と、システム500内にサンプルを流すために使用される他の管路とを切り替えることができる。一部の实装形態において、フローセンサは、流体経路内の様々な場所（例えば、モジュール200、300及び400の入口及び出口）に配置することが可能であり、（例えば、図10との関連で本明細書において記載したコントローラ1005等による）ポンプのフィードバック制御のために使用することができる。

40

50

【0041】

図5A、図5B及び図5Cに示されているように、各モジュール200、300及び400の間には、仮置き用貯蔵器が存在してもよい。これらの貯蔵器は、バラストを提供して、あるモジュールの出力物と、次のモジュールの入力物との間にある予期せぬ流量の差に対して、システム500を頑健にすることができる。一部の実装形態では、磁気駆動式インペラ等の攪拌機構を使用することで、細胞を懸濁状態に維持し、また、これらの仮置き用貯蔵器内で沈殿することを防ぐことができる。様々な構成要素（例えば、音響泳動ベースの構成要素）が熱を発生させている間にシステム500を一定の温度に維持するために、一部の实装形態では、各モジュール200、300及び400用の共有のヒートシンク又は個別のヒートシンクを使用することができる。このようなヒートシンクは、閉ループ型熱電冷却システムと組み合わせることもできる。

10

【0042】

一部の实装形態では、センサをシステム500に組み込んで、動作不良及びフィードバック制御機構若しくはフィードフォワード制御機構についてのシステム500への問い合わせを可能にしてもよい。例えば、センサは、システム全体の構成要素として組み込まれてもよいし、又はモジュール200、300及び400に直接組み込まれてもよい。システム500に組み込み可能なあり得るセンサには、流量、導電率プローブ、シースフロー中における流れの幅の目視測定及び電流測定値を制御するためのフローセンサが含まれる。一部の实装形態では、光学センサを使用して、システム500において使用されるシースフローの品質を評価することも可能であり、このシースフローは、必要に応じて流量を調整して、適正で安定した流れを発生させるために使用することができる。一部の实装形態では、光学センサを使用して、音響泳動モジュールを校正及び調整することが可能であり、音響泳道モジュール内では、圧電部品に最適な駆動周波数を、出口分画うちの1つに含まれる細胞の濃度を観測することによって自動的に決定することができる。

20

【0043】

細胞濃度又は細胞密度のうち片方又は両方をリアルタイムで推定するために、システム500に吸光度又はインピーダンスセンサを組み込むこともできる。このセンサにより、システム500の処理能力に関する情報を提供することが可能になり、また、このセンサは、細胞の回収率が低い場合にシステム500内のどこで損失が起きている可能性があるか判定するのに役立てることができる。細胞濃度の測定値から得た情報を閉ループ制御に用いることで、モジュール200、300及び400の入口若しくは出口における流量を調整すること、音響パワー若しくは音響周波数を調整すること、又は、システム500への試薬の自動追加を調整することができる。

30

【0044】

一部の实装形態では、センサをモジュール200、300及び400のいずれかに追加し、あるいはシステム500内でこれらのモジュールの間の場所に追加して、これらのモジュールによって実施される機能の動作的な品質又は効率を表示することもできる。例えば、センサをモジュール200に追加し、又はモジュール200に対して下流側にあるシステム内の位置に追加して、モジュール200内で起きる細胞の音響泳動分離の効率を表示又は検出することもできる。このようなセンサは、流体がモジュール200を通過している最中又は通過した後に流体中の細胞を識別するように、構成することができる。一部の实装形態では、センサをモジュール400に追加し、又はモジュール400の下流側の位置に追加して、モジュール400が動作した結果として起きるトランスフェクションの効率を表示することができる。このようなセンサは、モジュール400によって実施されるエレクトロトランスフェクション操作によって、どのくらいのカーゴが流体サンプルの細胞内に導入されたかについて測定することができる。一部の实装形態では、センサをシステム500に組み込んで、細胞生存率をモニタリングすることができる。

40

【0045】

これらのセンサはいずれも、リアルタイムで出力を提供することが可能であり、コントローラ1005等の制御システムと接続して、フィードバック制御機構又はフィードフォ

50

ワード制御機構として機能することもできる。例えば、このようなセンサの出力に基づいて、モジュール200、300及び400のいずれかの調整可能なパラメータ（例えば、流体の流量、流体サンプルの比、印加電圧又は電界等）を制御することができる。したがって、エレクトロトランスフェクション効率、分離効率又は細胞生存率に関するリアルタイム情報を制御データに組み込んで、細胞の処理中のシステム500の動作特性を変更することができる。

【0046】

一部の実装形態では、モジュール200、300及び400等のシステム500の個別の構成要素の制御、並びに個別の構成要素の設計パラメータを、システム500全体の特性に応じて選択することができる。例えば、システムの構成要素のパラメータを、個別の構成要素毎に独立して選択するのではなく、相互依存するように選択することもできる。したがって、システム500全体の性能を改善するために、一部の構成要素は、その構成要素で達成可能な最大限の性能より小さい性能（例えば、流量）で動作するように設計又は制御することもできる。一部の实装形態において、このようにして選択され得る設計パラメータは、寸法的な特徴（例えば、チャンネルの高さ、チャンネルの幅、チャンネルの断面積、チャンネルの断面形状等）等、システム500の製作後では調整できない可能性もある特徴を含み得る。このようなパラメータは、パラメータの選択によってシステム500の構成要素のうち1つ以上の個別的な動作性能が最適値を下回り、又は低下することになるとしても、システム500の動作を全体的に改善するルーチン又はアルゴリズムに従って選択することが可能である。

【0047】

各構成要素に関する調整可能なパラメータは、やはり同じように選択又は制御することもできることも理解すべきである。調整可能なパラメータに関しては、適切な値の選択は、システム500の動作中であっても、時間が経つにつれて変化する可能性がある。システム500全体の性能の向上（例えば、総スループット（total throughput）の向上、細胞生存率の向上、細胞分離効率の向上等）を達成するために、調整可能なパラメータを、ある構成要素の処理能力が低下する可能性があるように選択してもよい。一例において、モジュール400等のエレクトロポレーション用構成要素のパラメータは、別の構成要素（例えば、細胞分離のために使用されるモジュール200）の性能又はシステム500の全体的な性能を改善するために、そのエレクトロポレーション用構成要素の処理能力を低下させるように選択することができる。一部の实装形態において、システム500の各構成要素のパラメータを互いに対して独立に選択することによってではなく、システム500の動作を全体的な規模で改善するために、機械学習を取り入れることができるルーチン又はアルゴリズムを使用することによって、このような調整可能なパラメータを、固定された又は調整可能でない設計パラメータとともに選択することができる。

【0048】

本明細書に記載のように、図5A、図5B及び図5Cに図示されたプロセスフローシステム500の構成要素、チャンネル又は段階はそれぞれ、マイクロ流体デバイスの1つ以上の層に設けることができる。例えば、これらの層は、平行に配置されてもよく、ここで、マイクロ流体デバイス（例えば、モジュール200、モジュール300、モジュール400等）はそれぞれ、平行なマイクロ流体層にまたがるように複製され、（例えば、バルブ、結節点又は他の流体接続部等を使用して）流体の流れを平行な層の1つ以上にわたって多重化することによって入力流体の流れを供給される。一部の实装形態において、マイクロ流体チャンネルは、単一の層上にある異なる構成要素（例えば、モジュール200、300及び400、本明細書に記載された任意の他のマイクロ流体特徴又は構成要素等）間で多重化することができる。本明細書で図5A、図5B及び図5Cと一緒に上述したポンプを利用して、平行な層のうちの1つ以上又は横方向に並んだ層のうちの1つ以上の中を通るように、流体の流れを動かすことができる。一部の实装形態において、各マイクロ流体層は、特定の層の状態（例えば、センサによってコントローラ1005等のコントローラに提供される特定の層の状態等）に基づいて流体の流れを動かす、各マイクロ流体層に対

応する固有のポンプを有することができる。

【0049】

図5A、図5B及び図5Cのシステム500の中に配置された、本明細書において上述したセンサ等のセンサを、各マイクロ流体層に組み込むことができることは、理解されよう。別の言い方をすれば、本明細書において上述したプロセスフローシステム500の一部又はすべてを、単一のマイクロ流体層の一部として埋め込み、又は形成することが可能である。前記層を平行に又は横方向に複製することにより、システムの処理能力に影響を与えることなく、プロセスフロー500をスケールリングすることができる。コントローラデバイス（例えば、図10と一緒に本明細書において後述するコントローラ1005等）に供給される信号及びこのデバイスから供給される信号を使用して、各層中の流体の流れを独立して操作及びモニタリングすることができる。したがって、コントローラ1005の機能を使用して、本明細書に記載のスケールリングされたプロセスフローシステム500の処理をモニタリング及び制御することができる。

10

【0050】

多層プロセスフロー構成には、いくつかの著しい利点がある。プロセス時間の短縮及び安全性の向上という観点から見たマイクロ流体連続フローシステム（例えば、本明細書に記載のシステム500等）の一利点は、プロセスステップが完了したら直ちに、中間生成物を次の操作に移すことができるという点に由来する。この機能は、細胞に起因する大きな力（high cell force）に不要に何度もさらされることによる細胞損傷を回避することによって、プロセスサイクルタイムを短縮し、安全性を向上することができる。したがって、連続フロープロセス方式のフローシステムは、細胞処理技術に著しい利点をもたらす。しかしながら、プロセスをバッチモードで実行すること（例えば、プロセスを1つのバッチで実施し、バッチ全体が完了したらすぐに前述のバッチを後続の段階に移動させること等）が有益な可能性がある状況もあり得る。必要に応じて、あるステップの生成物を貯蔵器内に仮置きした後で、後続のバッチプロセスに移送することにより、単一のシステム内で連続処理とバッチ処理を両方とも採用することもできる。一部の実装形態において、このようなバッチ処理用貯蔵器は、それぞれがバッチ処理部分中のステージを画定する横方向に並んだ別個の層間、又は、平行な層からなる横方向に並んだ積層体間に配置することができる。すなわち、連続フローシステムとバッチ処理システムのどちらのスケールリングも、平行に層が並んだ配置様式及び横方向に層が並んだ配置様式を用いてスケールリングすることができる。

20

30

【0051】

複数のマイクロ流体デバイス（例えば、モジュール200、300、400、本明細書に記載された任意の他のマイクロ流体等）は、1個以上のマイクロ流体マルチプレクサを介して、単一の層上に接続されていてもよい。マイクロ流体マルチプレクサは、相互接続されたマイクロ流体チャネルのネットワーク間に複数の経路を画定するために、1つの層中で使用することもできるし、本明細書において図5A、図5B及び図5Cと一緒に上述したプロセスフローシステム500の1つ又は部分又は経路を画定するために使用することもできる。マイクロ流体マルチプレクサは、1個以上の結節点、入口及び出口を備えることが可能であり、また、マイクロ流体マルチプレクサを使用することで、複数のマイクロ流体チャネルから1つ以上の層のすべてにわたる流体の経路を決定することができる。

40

【0052】

図6は、図4のモジュール400内の細胞が受ける電界を示す、グラフ600を示している。一般に、細胞に送達される電界は、中央の流れの溶液に対する側方の流れの溶液の相対的導電率と、中央の流れに対する側方の流れの相対的流量とによって影響され得、中央の流れに対する側方の流れの相対的流量は、中央の流れに対する側方の流れの幅を決定することができる。導電率比が高いほど、中央の流れにおける両端間の電圧降下が大きくなり、電界の大きさも大きくなることができる。流量比が高いほど、中央の流れを細くして、細胞の両端間で電圧が降下する距離を短縮し、電界の大きさを大きくすることができる。グラフ600は、1.5mmのチャネル幅を有するエレクトロポレーションモジュール

50

ルの一実装形態において、印加電圧が65Vのときに細胞が受ける電界の大きさを示す。グラフ600の赤い点線は、モジュール400が動作することができる例示的な流量比を示しており、四角形の枠は、mRNAを初代ヒトT細胞に送達するのに有用であり得る電界の大きさの範囲を示している。グラフ600は拡散の影響を考慮しておらず、拡散は、空間的な非一様性を電界に加える可能性がある。これにより、可能性としてあり得るフィードフォワード制御機構の1つのための枠組みを形成することができ、このフィードフォワード制御機構では、導電率を測定し、かつ、流量を調整することで、所望の電界を得る。このような制御機構については、後でさらに記載する。

【0053】

図7A～図7Dは、図4のモジュール400内で細胞が受ける電界を制御するための、例示的な制御システムのブロック図を図示している。モジュール400内で細胞に印加される電界の大きさは、重要なパラメータであり得る。電界の大きさは、印加電圧、モジュール400内における側方の流れの導電率と、細胞を含む中央の流体の流れの導電率との比、及び、細胞を含む中央の流体の流れの幅に左右され得、細胞を含む中央の流体の流れの幅は、側方の流れの流量と中央の流れの流量との比に依存し得る。一部の実装形態において、印加電圧は、モジュール400のユーザーが指令することができ、また、十分に制御することができる。流量比も、ユーザーが指令することが可能であり、フローセンサを使用するフィードバック制御機構が実装されている場合には、十分に制御することができる。しかしながら、一部の実装形態において、サンプルの流れの導電率は、サンプルの調製、使用されるカーゴの量及び種類、並びに細胞のドナーに応じて変化し得る。図7A～図7Dに示されているように、モジュール400内で細胞に印加される電界を制御するためのいくつかの異なる機構が使用され得る。図7A～図7Dに図示されている制御機構はいずれも、図10と一緒に本明細書において後述するコントローラ1005によって実施することができる。

【0054】

図7Aを参照すると、制御システム700が図示されている。制御システム700は、細胞及びカーゴの懸濁液の導電率をモジュール400の上流側で測定することができる、フィードフォワード制御システムである。制御システム700を使用した場合、側方の流れの流量と、中央の流れの流量との比を導電率の変化に応じて調整して、所望の（例えば、所定の）電界を得ることができる。図7Bを参照すると、制御システム720が図示されている。図7Aの制御システム700と同様に、図7Bの制御システム720もまた、細胞及びカーゴの懸濁液の導電率をモジュール400の上流側で測定することができる、フィードフォワード制御システムである。制御システム720を使用した場合、図7Aの制御システム700に図示するような側方の流れの流量及び中央の流れの流量ではなく、印加電圧を調整して、所望の電界を得る。

【0055】

図7Cを参照すると、制御システム740が図示されている。制御システム740は、図7A及び図7Bに示されているようなフィードフォワード制御システムではなく、フィードバック制御システムである。制御システム700を使用した場合、モジュール400内における中央の流れの幅、溶液の導電率及び電流の測定値を使用して、印加電界を計算することができ、また、流量比を調整して、所望の設定点に到達することができる。図7Dは、フィードバック制御システムを同様に実装した制御システム760を示している。制御システム760を使用した場合、モジュール400内における中央の流れの幅、溶液の導電率及び電流の測定値を使用して、印加電界を計算し、また、（流量比ではなく）印加電圧を調整して、所望の設定点に到達することができる。

【0056】

サンプルの導電率の変化に伴う電界の大きさの変化を考慮に入れるために、電界のフィードフォワード制御又はフィードバック制御（又はこれらの両方）を、図7A～図7Dのシステムによって（例えば、図10に図示されるコントローラ1005等を使用して）実施することができる。一部の実装形態において、導電率は、モジュール400の上流側で

10

20

30

40

50

測定することができる。フィードフォワード制御システムでは、この情報を使用して、側方の流れと中央の流れとの流量比を調整することにより、細胞を含む中央の流れを細くする若しくは広げること、又は印加電圧を調製すること、あるいはその両方を行うことができる。一部の実装形態において、中央の流れの幅は、光学センサを使用して直接測定することができる、モジュール400を流れる電流は、電界波形を細胞へ印加している間に測定することができる。一部の实装形態において、導電率センサは、モジュール400の側方出口に配置することが可能であり、また、出口における導電率の測定値を使用して、中央の流れの幅を推定することができる。この情報を溶液の導電率の測定値と組み合わせて用いることで、細胞に送達される電界の大きさの空間平均を計算することができる。

【0057】

一部の实装形態では、電界の測定値を、フィードバック制御のために使用することができる。例えば、側方若しくは中央の流量比又は印加電圧のうち、片方又は両方を調整して、所望の電界の大きさの設定点に近づけることができる。一部の实装形態では、センサ電極がモジュール400に組み込まれてもよい。例えば、このようなセンサ電極は、チャンネルの床に配置される薄膜電極として実装されてもよい。このようなセンサ電極を使用して、印加電界を直接測定することができる。一部の实装形態において、フィードバック制御機構及びフィードフォワード制御機構は、タンデム方式で使用する事ができる。

【0058】

本開示のシステム及び方法の機能を実証するために、ロイコパックサンプル（白血球アフェレーシス生成物）を、図5A、図5B及び図5Cに示されたシステム500に類似したシステムに導入し、mCherryとして知られる蛍光レポータータンパク質を一過的に発現させるリンパ球を製造するために処理を行った。マイクロ流体エレクトロトランスフェクションモジュール（例えば、図4のモジュール400）では、細胞及びカーゴが低導電率培地（例えば、シース流のために使用される培地に比べて約20分の1倍の低さの導電率）に懸濁していることが必要な場合もあるため、エレクトロポレーションを行う前に、モジュール300に類似したモジュールを使用して、音響泳動によって目的細胞をエレクトロポレーション用培地中に移動させた。血液製剤中の成分がエレクトロトランスフェクションに干渉するため、この導電率の低下は、単に出発用細胞サンプルを低導電率エレクトロポレーション用培地中に希釈しても、達成することはできない。図8のグラフ800に図示されているように、低導電率培地を明白に必要としない商用バルクエレクトロポレーションデバイスにおいてさえ、直接希釈する手法は、エレクトロトランスフェクションを可能にするために、希釈剤に対するサンプルの比が少なくとも1:100であることを必要とする場合がある。しかしながら、1:100以上に希釈しても、目的細胞密度を0.25~0.35M細胞/mLに低下させる可能性がある。流量が1mL/minでは、10億個の細胞を処理するのに数日間かかり、このため、場合によっては、細胞療法の患者サンプルを処理する処理能力が許容できないレベルになることもあり得る。したがって、エレクトロポレーション用培地に細胞を再懸濁させる能動的な培地交換ステップが役立つこともある。慣例的に、この培地交換ステップは、遠心分離を用いて、多大な現場の作業量を要するバッチプロセスによって達成される。この技術的課題に対処するために、本開示は、音響泳動を用いて自動的且つ連続的に上記交換を実施するための、図3に示されたモジュール300を提供する。

【0059】

図5A、図5B及び図5Cに示されたシステム500のプロセスフロー及びパラメータを使用して、約5億個の初代ヒトリンパ球を含有するロイコパックサンプルを処理した。すべての構成要素及び管は、オートクレーブ又はエチレンオキシドを使用して滅菌し、無菌操作のバイオセーフティキャビネットの中で組み立てた。システム500へ導入する前に、ロイコパックサンプルを遠心分離し、細胞を1:2希釈になるようにTexMACS中で再懸濁させることで、細胞溶液の重量密度を低下させ、適度な細胞濃度を維持し、処理時間を短縮し、必要とされるmRNAの量を減少させた。目的細胞は、図3に示された急速培地交換モジュール300を使用して、mCherryをコードするmRNA（3

10

20

30

40

50

2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するエレクトロポレーション用バッファー中に移動させ、図 4 に示されたマイクロ流体エレクトロトランスフェクションモジュール 400 を使用してエレクトロポレーション (165 kV/m で 3 回の 250 μs パルス) を行い、最後に、図 2 に示されたマイクロ流体音響アフェレーシスモジュール 200 を使用してリンパ球について濃縮した。プロセス全体は、自動式の連続フローによって、約 3.5 時間で完了した。図 9A のグラフ 900 に図示されているように、トランスフェクション効率は 75% 超であり、この効率は、エレクトロポレーションプロセスを使用してトランスフェクションされた対照サンプルのトランスフェクション効率より高かった。さらに、図 9B のグラフ 910 に図示されているように、入力サンプルに対する生存率には測定可能な低下がなく、図 9C のグラフ 920 に図示されているように、リンパ球の母集団は、約 56% から約 76% に濃縮された。

10

【0060】

ここで図 10 を参照すると、図 5A、図 5B 及び図 5C に図示されたシステム 500 に類似したシステムの中を流れる流体の流量又はこの流体が受ける電界を制御するための例示的なシステム 1000 のブロック図が図示されている。システム 1000 は、図 7A、図 7B、図 7C 及び図 7D に図示された制御システムを実施するために使用され得る。システム 1000 は、少なくとも 1 つのコントローラ 1005、1 個以上のセンサ 1040、1 個以上のポンプ 1050 及び 1 個以上の電気信号発生器 1055 を備えることができる。コントローラ 1005 は、少なくとも 1 個の電界識別装置 1010、少なくとも 1 個のセンサデータ受信装置 1015、少なくとも 1 個の予想電界計算器 1020、少なくとも 1 個の調整電圧計算器 1025、少なくとも 1 個の調整流量計算器 1030、及び少なくとも 1 個の信号供給装置 1035 を備えることができる。

20

【0061】

システム 1000 の構成要素 (例えば、コントローラ 1005、センサ 1040、ポンプ 1050 等) はそれぞれ、ハードウェアコンポーネントを使用して、又はコンピュータシステム (例えば、本明細書において図 12 と一緒に詳述されたコンピュータシステム 1200、本明細書に記載された任意の他のコンピュータシステム等) のハードウェアコンポーネントとソフトウェアとの組合せを使用して、実装することができる。コントローラ 1005 の構成要素 (例えば、電気信号発生器 1055、電界識別装置 1010、センサデータ受信装置 1015、予想電界計算器 1020、調整電圧計算器 1025、調整流量計算器 1030、信号供給装置 1035 等) はそれぞれ、本明細書において詳述された機能のいずれかを実施することができる。コントローラ 1005 又はその構成要素は、図 7A、図 7B、図 7C 及び図 7D との関連で本明細書において上述した行為のいずれかを実施することができる。

30

【0062】

コントローラ 1005 は、少なくとも 1 個のプロセッサ及びメモリ、例えば処理回路を備えることができる。メモリは、プロセッサによって実行されたときに、プロセッサに本明細書に記載の操作のうちの 1 つ以上を実施させる、プロセッサ実行可能命令を格納することができる。プロセッサは、マイクロプロセッサ、特定用途向け集積回路 (ASIC)、フィールドプログラマブルゲートアレイ (FPGA) 等、又はこれらの組合せを含み得る。メモリは、限定するわけではないが、プロセッサにプログラム命令を提供することが可能な電子的、光学的、磁氣的若しくは任意の他のストレージデバイス又は送信装置を含み得る。メモリは、フロッピーディスク、CD-ROM、DVD、磁気ディスク、メモリチップ、ASIC、FPGA、リードオンリーメモリ (ROM)、ランダムアクセスメモリ (RAM)、電氣的に消去及び書き込みが可能な ROM (EEPROM)、消去及び書き込みが可能な ROM (EPROM)、フラッシュメモリ、光学媒体、又は、プロセッサが命令を読み出すことができる任意の他の適切なメモリをさらに含み得る。命令は、任意の適切なコンピュータプログラミング言語のコードを含み得る。コントローラ 1005 は、上記構成要素のいずれか又はすべてを備えることが可能であり、図 12 と一緒に記載したコンピュータシステム 1200 の機能のいずれか又はすべてを実施することができる。

40

50

【0063】

センサ1040（「センサ1040」と呼ばれることもある）は、コントローラ1005又はコントローラ1005の構成要素からデータを送信又は受信できる1個以上のセンサであってもよい。センサは、図5A～図5Cと一緒に上述したフロースルー式導電率センサ535、流量センサ、光学センサ若しくは本明細書に記載された他の種類のセンサを含んでもよく、又はこれらに類似したものであってもよい。例えば、センサ1040は、（例えば、コントローラ1005の構成要素等によって）動作不良、及びフィードバック若しくはフィードフォワード制御機構についてシステム500に問い合わせることを可能にするために、システム500又は他の類似のフローシステムに組み込まれたセンサのいずれかであってもよい。例えば、センサは、システム全体の構成要素として組み込まれてもよいし、又は、モジュール200、300及び400若しくは本明細書に記載された任意の他のモジュール、貯蔵器、バルブ若しくは流動物用構造体（flow structure）に直接組み込まれてもよい。システム500又は他の類似のフローシステムに組み込み可能なあり得るセンサには、流量、導電率プローブ、シースフロー中における流れの幅の目視測定及び電流測定値を制御するためのフローセンサが含まれる。一部の実装形態では、光学センサを使用して、システム500において使用されるシースフローの品質を評価することも可能であり、このシースフローは、必要に応じて流量を調整して、適正で安定した流れを発生させるために使用することができる。一部の实装形態では、光学センサを使用して、音響泳動モジュールを校正及び調整することが可能であり、圧電部品に最適な駆動周波数は、出口分画のうちの1つに含まれる細胞の濃度を観測することによって、自動的に決定することができる。

10

20

【0064】

センサ1040は、細胞濃度又は細胞密度のうち片方又は両方をリアルタイムで推定するためのシステム500あるいは他の類似のフローシステムに同様に組み込まれ得る、1個以上の吸光度又はインピーダンスセンサを備えることができる。このセンサにより、システム500の処理能力についての情報をコントローラ1005の構成要素に提供することが可能になり、また、このセンサは、細胞の回収が少ない場合に、システム500又は他の類似のフローシステム内のどこで損失が起きている可能性があるかを判定するために用いることができる。細胞濃度の測定値から得た情報を閉ループ制御に用いることで、モジュール200、300及び400の入口若しくは出口における流量を調整すること、音響パワー若しくは音響周波数を調整すること、又は、システム500若しくは他の類似のフローシステムへの試薬の自動追加を調整することができる。

30

【0065】

センサ1040を、本明細書に記載のモジュール（例えば、モジュール200、300及び400等）のいずれか、又は流体システム（例えば、システム500等）内においてこれらのモジュールの間の場所に追加することで、フローシステム及びフローシステム内のモジュールの動作的な品質又は効率を表示することができる。例えば、センサ1040を分離モジュール（例えば、モジュール200等）に追加し、又は分離モジュールに対して下流側にあるシステム内の位置に追加することで、分離モジュール内で起きる細胞の音響泳動分離の効率を表示又は検出することができる。このようなセンサは、流体が分離モジュールを通過している最中又は分離モジュールを通過した後に流体中の細胞を識別するように構成され得る。一部の实装形態では、センサをエレクトロポレーションモジュール（例えば、モジュール400等）に、又はエレクトロポレーションモジュールに対して下流側にある位置に追加することで、エレクトロポレーションモジュールが動作した結果として起きるトランスフェクションの効率を表示することもできる。このようなセンサ1040は、モジュール400によって実施されるエレクトロトランスフェクション操作により、どのくらいのカーゴが流体サンプルの細胞内に導入されたのかを測定することができる。一部の实装形態では、センサをシステム500に組み込むことで、細胞生存率をモニタリングすることができる。センサ1040は、流体がモジュール400等のエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体の導電率を測定する、導電率プロー

40

50

ブを備えることができる。センサ1040は、流体がモジュール400等のエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体を通過する電流を測定する、電流センサを備えることができる。センサ1040は、流体がモジュール400等のエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体の中央部分の幅を測定する、光学センサを備えることができる。

【0066】

センサ1040は、1つ以上の通信インターフェースを介して、コントローラ1005又はコントローラ1005内の構成要素にリアルタイムで出力を提供することができる。センサ1040から受信した情報は、フィードバック制御機構又はフィードフォワード制御機構の一部として使用することができる。例えば、このようなセンサの出力に基づいて、モジュール200、300及び400のいずれかの調整可能なパラメータ（例えば、流体の流量、流体サンプルの比、印加電圧又は電界等）を制御することができる。したがって、エレクトロトランスフェクション効率、分離効率又は細胞生存率に関するリアルタイム情報を制御データに組み込んで、細胞の処理中のシステム500又は類似の流体システムの動作特性を改変することができる。

【0067】

ポンプ1050により、流体は、図5A～図5Cとの関連で本明細書に記載したシステム500等の流体流動システム内にある1個以上のパイプ又はチャネルの中を流れることができる。ポンプ1050は、例えば、図5A～図5Cとの関連で本明細書において上述したポンプ510、ポンプ525、ポンプ540、ポンプ550、ポンプ555又はポンプ570を含むことができる。ポンプ1050は、ぜん動ポンプであってもよいし、又は、本明細書に記載の任意の他の種類のポンプであってもよい。ポンプ1050を使用することで、図5A～図5Cに図示するシステム500に類似した流体システムの全体にわたって流体を輸送することができる。ポンプ1050は、1個以上の流体コネクタ、流体貯蔵器、流体キャパシタ又は他の流体と接続されてもよい。ポンプ1050が流体を輸送する速度は、コントローラ1005等のコントローラ（又はその構成要素）から受信する信号によって管理することができる。例えば、コントローラ1005から出た信号により、ポンプ1050のうちの1個以上に、流体を所望の流量で流させることができる。所望の流量は、コントローラ1005から受信した信号で指示されてもよい。信号は、ぜん動ポンプを作動させる電圧信号であってもよいし、又は、ポンプ1050のうちの1つ以上が流体を輸送できる速度を調整若しくは制御することができる別の種類の信号であってもよい。

【0068】

電気信号発生器1055は、図4との関連で本明細書において上述したモジュール400の一部であってもよい。例えば、電気信号発生器1055は、本明細書において上述した電極435A及び電極435Bの間に所望の電圧を発生させることができる。所望の電圧は、コントローラ1005（又はコントローラ1005の構成要素）から受信した信号によって指示され得る。電気信号発生器1055は、直流（DC）電圧源又は交流（AC）電圧源等の電圧源であってもよい。一部の実装形態において、電気信号発生器1055は、DC源又はAC源等の電流源であってもよい。電気信号発生器1055は、電極435A及び435B等の1個以上の電極に電氣的に接続されてもよい。電気信号発生器1055は、1個以上の電極間に電圧差を生じさせ、電界を形成することができる。図4のモジュール400の場合と同様に、電極が1個以上の流体チャネルに接続されているとき、電気信号発生器1055は、モジュールの中を流れる流体中に電界を発生させることができる。一部の实装形態において、電気信号発生器によって印加される電圧は、周期が10ns～10msの範囲にわたる正弦曲線の形態をとることができる。一部の实装形態において、電気信号発生器によって印加される電圧は、パルス幅が10ns～10msの範囲にわたるパルス列の形態をとることができる。一部の实装形態において、電気信号発生器1055によって印加される電圧の大きさは、中央の流れの両端間に約2～600kV/mの範囲にわたる電界を、10ns～10msの範囲にわたるパルス幅で発生させ

るように変化することができる。しかしながら、他の電界パルスの種類、電圧の大きさ及び電界の大きさもあり得ることを理解すべきである。

【0069】

ここで、コントローラ1005の機能について説明するが、電界識別装置1010は、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体中に誘起すべき所望の電界の大きさを識別することができる。所望の電界を識別することは、入力インターフェースを介したユーザーの入力等の、外部にある1つ以上の送信元から、コントローラ1005のメモリにロードされた構成ファイルから、又は内部設定（例えば、ジャンパー等のハードウェア設定）から、所望の電界を受信することを含むことができる。一部の実装形態では、所望の電界を、コントローラ1005のメモリに含まれる1つ以上のデータ構造中の変数として格納することができる。1個より多いエレクトロポレーションデバイス（例えば、1個より多いモジュール400等）を有する流体システムにおいて、電界識別装置1010は、エレクトロポレーションデバイス毎に所望の電界の大きさの値を識別することができる。このような実装形態において、所望の電磁場の大きさの値はそれぞれ、その電磁場の大きさの値に対応するエレクトロポレーションデバイスの識別子と関連付けられた1つ以上のデータ構造の中に格納することができる。

【0070】

センサデータ受信装置1015は、エレクトロポレーションデバイスに流れ込む又はエレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体の導電率又は流量を含むセンサ値を、センサ1040から受信することができる。センサデータ受信装置1015は、とりわけ、流体の導電率、流体の流量又は他のセンサデータの数値を表す、センサ1040からの1つ以上の信号を受信することができる。一部の实装形態において、センサデータ受信装置1015は、所定の基準により、ユーザーの入力に応答して、周期的なスケジュール又は別の種類のセンサ問い合わせ手順に基づいて、センサ1040のうちの1個以上にピングを送り（ping）又は問い合わせることができる。問い合わせに回答して、センサは、1つ以上の通信インターフェースを介して、流体の物理的特性（例えば、中央チャンネルの幅、流体の中を流れる電流、パイプ又はチャンネル内における流体の流量、本明細書に記載されたモジュール200、モジュール300又はモジュール400のいずれかの中を通る流量等）又は流体システム（例えば、システム500等）の他の特性を表す数値を含むセンサ情報を送信又は転送することができる。センサデータ受信装置1015がセンサ1040から受信したセンサ情報は、コントローラ1005のメモリに含まれる1つ以上のデータ構造の中に格納することができる。センサ情報は、様々な識別子、例えばとりわけ、センサ測定値を取得若しくは受信した時刻に相当するタイムスタンプ、又はセンサ測定値を供給したセンサ1040の識別子と一緒に格納することができる。

【0071】

予想電界計算器1020は、流体がエレクトロポレーションデバイスの中を流れるときの、流体中の予想電界の大きさを決定することができる。予想電界は、エレクトロポレーションデバイス内における流体の流れの導電率、及び電気信号発生器によって生成された電圧に基づいて計算することができる。例えば、オームの法則を用いて電界強度を計算して、エレクトロポレーションデバイス（例えば、図4との関連で本明細書に記載したモジュール400等）の中を流れる流体が受ける予想電界の大きさを決定することができる。図4に図示されているように、モジュール400は、入力物として、中央の流れ及び2つの側方の流れを受け入れることができる。非乱流では、各入力物用チャンネルから中央チャンネル430に受け入れられた流体は混ざり合わず、代わりに、これらの流体がモジュール400に入力されたときの流れに対応する流れの形状を維持することができる。各流体の導電率は異なってもよい。例えば、エレクトロポレーション用バッファ（例えば、中央チャンネル内のエレクトロポレーション用バッファ等）中の細胞溶液は、側方チャンネルによって供給されるバッファ溶液より低い導電率を有してもよい。

【0072】

電圧ポテンシャルが中央チャンネルに印加されると、各流体の流れ（例えば、中央入口4

10

20

30

40

50

10から受け入れた流体の流れ、側方入口415a及び415bが受け入れたバッファ溶液等)には、その流れの幅の両端間に異なる電圧降下が起きる可能性があり、したがって、各流体の流れは、異なる電界を受ける可能性がある。電界の大きさは、電界方程式【数1】

$$E = \frac{V_{AB}}{d}$$

(式中、Eは、電界の大きさであり、VABは、流体の流れの両端間の電圧降下であり、dは、流体の流れの幅である。)を用いて計算することができる。側方チャンネルから受け入れたバッファ溶液は導電性が高いため、中央チャンネル(例えば、エレクトロポレーションすべき細胞を包含するチャンネル等)の両端間に起きる電圧降下は、電極間の電圧降下に概ね等しくなり得ると仮定することができる。

【0073】

したがって、一部の実装形態では、電気信号発生器1055によって供給される電圧を知ることができる、電界の計算は、エレクトロポレーションデバイス内における中央の流れの幅(又は一部の实装形態では、1個以上の他のチャンネルの幅)に基づくことになる。本明細書に記載のように、中央チャンネル430の中を流れるときの中央の流れの幅は、中央の流れの流量に対する側方チャンネルの流量の比の関数であり得る。したがって、中央の流れの幅は、中央の流れの流量に対する側方チャンネルの流量の比を用いて推定することができる。電極415a及び415b間の既知の電圧と一緒に、中央の流れの幅を上記方程式に用いると、予想電界の大きさを計算することができる。本明細書において上述したように、側方チャンネルの流量及び中央の流れの流量は、例えば、センサ1040のうちの1個以上から受信することができる。一部の实装形態において、中央チャンネル内の流体が受ける電圧降下は、側方チャンネル415a及び415bから受け入れた流体と、中央チャンネル420から受け入れた流体との相対的導電率に基づいて変化し得る。中央チャンネルに進入する流体の導電率が既知である場合(例えば、センサ1040のうちの1個以上から受信した場合)、中央の流れの両端間の電圧降下は、分圧式を用いて計算することができる。次いで、推定される中央の流れの幅と一緒に電圧降下を上記式中に用いると、モジュール400内で中央の流れが受ける予想電界の大きさを計算することができる。

【0074】

一部の实装形態において、予想電界計算器1020は、電界の中を流れる流体の導電率、電界を発生させる電流、及び流体の中央の流れの幅に基づいて、予想電界の大きさを決定することができる。例えば、モジュール400は、中央入口410を介して中央チャンネル430に導入される流体の中央部分を含む。一部の实装形態において、センサ1040のうちの1個以上(例えば、光学センサ等)は、中央の流れの幅、中央の流れ及び側方の流れの導電率、並びに、中央の流れ及び側方の流れの中を流れる電流に対応する値を提供することができる。これらの値を使用することによって、予想電界強度を計算することができる。例えば、中央の流れと側方の流れとの間の電圧降下は、流れの中を流れる電流の量を、それぞれの流れの導電率の値で割ることによって計算することができる。光学センサから受信した幅の値を上記式に用いた場合、モジュール400の中を流れるときの、中央の流れが受ける電界強度を計算することができる。中央チャンネル(又はモジュール400の中を流れる他の流体)が受ける予想電界は、コントローラ1005のメモリ内にある1つ以上のデータ構造の中に格納することができる。

【0075】

調整電圧計算器1025は、予想電界の大きさ及び所望の電界の大きさに基づいて、電気信号発生器用の調整電圧を計算することができる。調整電圧計算器1025は、モジュール400の中を流れる流体が受ける電界の大きさと、所望の電界の大きさとの差を(例えば、減算等によって)計算することができる。一部の实装形態において、調整電圧計算器1025は、予想電界の大きさと、所望の電界の大きさとの百分率差を計算する

ことができる。電界は、モジュール400内の中央の流れの両端間の電圧降下に比例するため、調整電圧計算器1025は、電気信号発生器1055の現在の電圧設定に百分率差をかけることによって、調整電圧を計算することができる。例えば、所望の電界強度が中央の流れにおける予想（例えば、推定）電界強度の200%である場合、調整電圧計算器1025は、 $2.00 \times VC$ （式中、VCは、電気信号発生器の現在の電圧設定値である。）として調整電圧を計算することができる。一部の実装形態において、コントローラは、図6に図示された動作条件等の1組の動作条件の範囲内で、電圧を調整することができる。

【0076】

調整流量計算器1030は、導電率の値、エレクトロポレーションデバイス内の電流、及び流体の中央部分の幅に基づいて、モジュール400等のエレクトロポレーションデバイスに進入する1つ以上の流体の流れについて調整流量を計算することができる。一部の实装形態において、調整流量計算器1030は、第1の流量又は第2の流量のうちの少なくとも1つに基づいて、第1の流体又は第2の流体のうちの少なくとも1つについて調整流量を計算することができる。調整流量計算器1030は、モジュール400の中央チャンネル430が受け入れた中央の流れ又は側方の流れのうちの1つ以上に対する調整流量を決定することができる。本明細書に記載のように、中央チャンネルの幅は、中央チャンネルが受ける電界強度に反比例し得る。さらに、中央チャンネルの幅は、中央の流れの流量に対する側方の流れの流量の比の関数であり得る。したがって、一部の实装形態において、調整流量計算器1030は、側方の流れの流量を増大又は減少させて中央の流れの幅を変更することにより、側方の流れについて調整流量を計算することができる。例えば、予想電界の大きさが所望の電界の大きさより小さい場合、調整流量計算器1030は、側方の流れの流量を増大させることができる。一部の实装形態において、調整流量計算器1030は、中央の流れの流量を減少させて、予想電界の大きさを増大させることができる。同様に、予想電界の大きさが所望の電界の大きさより大きい場合、調整流量計算器1030は、側方の流れの流量を減少させることができる。一部の实装形態において、調整流量計算器1030は、中央の流れの流量を増大させて、予想電界強度を低下させることができる。

【0077】

一部の实装形態において、調整流量計算器1030は、中央の流れの流量と側方の流れの流量とを両方とも調整すること（例えば、中央の流れの流量を減少させて側方の流れの流量を増大させること、中央の流れの流量を増大させて側方の流れの流量を減少させること、中央の流れの流量と側方の流れの流量とを両方とも増大させること、中央の流れの流量と側方の流れの流量とを両方とも減少させること等）ができる。調整流量計算器1030によって計算された流量の調整値は、例えば、コントローラ1005のメモリ内にある1つ以上のデータ構造の中に格納することができる。一部の实装形態において、各調整流量の値は、調整されている流量を制御するポンプの識別子と関連付けられた状態で格納することができる。調整流量計算器1030によって調整された流量の値は、ポンプ1050が流体システム（例えば、システム500等）内に流体を移送する速度又は周波数を決定するために使用される、コントローラ1005のメモリに格納された値に対応することを理解すべきである。

【0078】

信号供給装置1035は、調整電圧を表す1つ以上の信号を、電気信号発生器1055に供給することができる。信号により、電気信号発生器1055は、エレクトロポレーションデバイス内に電圧を発生させることができる。例えば、信号は、電気信号発生器によって生成された信号又は電気信号の大きさを増大又は減少させるための指示を含むことができる。一部の实装形態において、信号は、調整電圧計算器1025によって計算された調整電圧の値に比例する値を表す、アナログ信号であってもよい。一部の实装形態において、信号は、調整電圧計算器1025によって計算された調整電圧の値に比例する値を表す、デジタル信号であってもよい。調整値が調整電圧計算器1025又は調整流量計算器1030によって計算されるため、信号供給装置1035によって生成及び送信される信

10

20

30

40

50

号は、リアルタイムで送信することができる。一部の実装形態において、信号供給装置 1035 は、電気信号発生器 1055 がモジュール 400 の中央チャネル 430 を介して電気パルスが発生させる周波数を制御することができる。

【0079】

信号供給装置 1035 は、調整流量を表す第 2 の信号を、第 1 の流体（例えば、側方の流れ中の流体等）又は第 2 の流体（例えば、中央の流れ中の流体）の流れを制御するポンプに供給して、第 1 の流体又は第 2 の流体を第 2 の調整流量で流すことができる。例えば、信号供給装置 1035 は、コントローラ 1005 のメモリにアクセスして、側方の流れ及び中央の流れのそれぞれの調整流量の値を検索することができる。一部の实装形態では、調整流量の値が調整流量計算器 1030 によって生成されたとき、信号供給装置 1035 は、調整流量の値を検索することができる。信号供給装置 1035 は、信号を 1 個以上のポンプ 1050 に送信して、ポンプ 1050 を作動させ、調整流量計算器 1030 によって計算された調整流量で、モジュール 400 の中央チャネル 430 を介して流体を移送することができる。一部の实装形態において、信号は、調整流量計算器 1030 によって計算された調整流量の値（例えば、側方の流れ又は中央の流れのうちの 1 つ以上の調整流量の値等）に比例する値を表す、アナログ信号であってもよい。一部の实装形態において、信号は、調整流量計算器 1030 によって計算された調整流量の値に比例する値を表す、デジタル信号であってもよい。一部の实装形態において、信号供給装置 1035 は、ポンプ 1050 を制御すること（例えば、ポンプ 1050 を周期的に作動させるための信号を送信すること等）ができる。このような実装形態において、信号供給装置 1035 が信号をポンプ 1050 に送信してポンプ 1050 を作動させる周波数は、調整流量の値に基づいてもよい。

【0080】

ここで図 11 を参照すると、図 5 A、図 5 B 及び図 5 C に図示されたシステムに類似したシステムの中を流れる流体の流量又はこの流体が受ける電界を制御するための例示的な方法 1100 のフロー図が図示されている。本方法は、例えば、コントローラデバイス（例えば、コントローラ 1005、コンピュータシステム 1200 等）によって実施することができる。方法 1100 の概要を説明すると、方法 1100 は、所望の電界の大きさを識別すること（ブロック 1102）と、エレクトロポレーションデバイス（例えば、モジュール 400 等）の中を通る流体の流れの導電率を受信すること（ブロック 1104）と、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体中の予想電界の大きさを決定すること（ブロック 1106）と、電気信号発生器用の調整電圧を計算すること（ブロック 1108）と、調整電圧を表す信号を電気信号発生器に供給すること（ブロック 1110）とを含むことができる。

【0081】

方法 1100 をさらに詳述すると、方法 1100 は、所望の電界の大きさを識別すること（ブロック 1102）を含むことができる。所望の電界を識別することは、入力インターフェースを介したユーザーの入力等の、外部にある 1 つ以上の送信元から、コントローラのメモリにロードされた構成ファイルから、又は内部設定（例えば、ジャンパー等のハードウェア設定等）から、所望の電界を受信することを含むことができる。一部の实装形態では、所望の電界を、コントローラのメモリ内にある 1 つ以上のデータ構造の中に変数として格納することができる。1 個より多いエレクトロポレーションデバイス（例えば、1 個より多いモジュール 400 等）を有する流体システムにおいて、コントローラは、エレクトロポレーションデバイス毎に所望の電界の大きさの値を識別することができる。このような実装形態において、所望の電磁場の大きさの値はそれぞれ、その電磁場の大きさの値が対応するエレクトロポレーションデバイスの識別子と関連付けられた 1 つ以上のデータ構造の中に格納することができる。

【0082】

方法 1100 は、エレクトロポレーションデバイス（例えば、モジュール 400 等）の中を通る流体の流れの導電率を受信すること（ブロック 1104）を含むことができる。

コントローラは、とりわけ、流体の導電率、流体の流量又は他のセンサデータの数値を表す、センサ（例えば、センサ１０４０等）からの１つ以上の信号を受信することができる。一部の実装形態において、コントローラは、所定の基準により、ユーザーの入力に応答して、周期的なスケジュール又は別の種類のセンサ問い合わせ手順に基づいて、センサのうちの１個以上にピングを送り又は問い合わせることができる。問い合わせに応答して、センサは、１つ以上の通信インターフェースを介して、流体の物理的特性（例えば、中央チャンネルの幅、流体の中を流れる電流、パイプ又はチャンネル内における流体の流量、本明細書に記載されたモジュール２００、モジュール３００又はモジュール４００のいずれかの中を通る流量等）又は流体システム（例えば、システム５００等）の他の特性を表す数値を含むセンサ情報を送信又は転送することができる。コントローラがセンサから受信したセンサ情報は、コントローラのメモリ内にある１つ以上のデータ構造の中に格納することができる。センサ情報は、様々な識別子、例えばとりわけ、センサ測定値を取得若しくは受信した時刻に対応するタイムスタンプ、又はセンサ測定値を供給したセンサの識別子と一緒に格納することができる。

【００８３】

方法１１００は、エレクトロポレーションデバイスの中を流れる流体中の予想電界の大きさを決定すること（ブロック１１０６）を含むことができる。予想電界は、エレクトロポレーションデバイス内における流体の流れの導電率、及び電気信号発生器によって生成された電圧に基づいて計算することができる。例えば、オームの法則を用いて電界強度を計算して、エレクトロポレーションデバイス（例えば、図４との関連で本明細書において記載したモジュール４００等）の中を流れる流体が受ける予想電界の大きさを決定することができる。図４に図示されているように、モジュール４００は、入力物として、中央の流れ及び２つの側方の流れを受け入れることができる。非乱流では、各入力物用チャンネルから中央チャンネル４３０に受け入れられた流体は混ざり合わず、代わりに、これらの流体がモジュール４００に投入されたときの流れに対応する流れの形状を維持することができる。各流体の導電率は異なってもよい。例えば、エレクトロポレーション用バッファ（例えば、中央チャンネル内のエレクトロポレーション用バッファ等）中の細胞溶液は、側方チャンネルによって供給されるバッファ溶液より低い導電率を有してもよい。

【００８４】

電圧ポテンシャルが中央チャンネルに印加されると、各流体の流れ（例えば、中央入口４１０から受け入れた流体の流れ、側方入口４１５ a 及び ４１５ b が受け入れたバッファ溶液等）には、その流れの幅の両端間に異なる電圧降下が生じる可能性があり、したがって、各流体の流れは、異なる電界を受ける可能性がある。電界の大きさは、電界方程式【数２】

$$E = \frac{V_{AB}}{d}$$

（式中、E は、電界の大きさであり、V A B は、流体の流れの両端間の電圧降下であり、d が、流体の流れの幅である。）を用いて計算することができる。側方チャンネルから受け入れたバッファ溶液は導電性が高いため、中央チャンネル（例えば、エレクトロポレーションすべき細胞を包含するチャンネル等）の両端間に生じる電圧降下は、電極間の電圧降下に概ね等しくなり得ると仮定することができる。

【００８５】

したがって、一部の实装形態では、電気信号発生器（例えば、電気信号発生器１０５５等）によって供給される電圧を知ることができ、電界の計算は、エレクトロポレーションデバイス内の中央の流れの幅（あるいは一部の实装形態では、１個以上の他のチャンネルの幅）に基づくことになる。本明細書に記載のように、中央チャンネル４３０の中を流れるときの中央の流れの幅は、中央の流れの流量に対する側方チャンネルの流量の比の関数

であり得る。したがって、中央の流れの幅は、中央の流れの流量に対する側方チャンネルの流量の比を用いて推定することができる。電極 4 1 5 a 及び 4 1 5 b の間の既知の電圧と一緒に、中央の流れの幅を上記方程式に用いると、予想電界の大きさを計算することができる。本明細書において上述したように、側方チャンネルの流量及び中央の流れの流量は、例えば、コントローラと通信している 1 個以上のセンサから受信することができる。一部の実装形態において、中央チャンバ内の流体が受ける電圧降下は、側方チャンネル 4 1 5 a 及び 4 1 5 b から受け入れた流体と、中央チャンネル 4 2 0 から受け入れた流体との相対的導電率に基づいて変化し得る。中央チャンネルに進入する流体の導電率が既知である場合（例えば、センサ 1 0 4 0 のうちの 1 個以上から受信した場合）、中央の流れの両端間の電圧降下は、分圧式を用いて計算することができる。次いで、推定される中央の流れの幅と一緒に電圧降下を上記式中に用いて、モジュール 4 0 0 内で中央の流れが受ける予想電界の大きさを計算することができる。

【0086】

一部の实装形態において、コントローラは、電界の中を流れる流体の導電率と、電界を発生させる電流と、流体の中央の流れの幅とに基づいて、予想電界の大きさを決定することができる。例えば、モジュール 4 0 0 は、中央入口 4 1 0 を介して中央チャンネル 4 3 0 に導入される流体の中央部分を含む。一部の实装形態において、1 個以上のセンサ（例えば、光学センサ等）は、中央の流れの幅、中央の流れ及び側方の流れの導電率、並びに、中央の流れ及び側方の流れの中を流れる電流に対応する値を提供することができる。これらの値を使用することにより、予想電界強度を計算することができる。例えば、中央の流れの両端間の電圧降下及び側方の流れの両端間の電圧降下は、流れの中を流れる電流の量を、それぞれの流れの導電率の値で割ることによって計算することができる。光学センサから受信した幅の値を上記式と一緒に用いた場合、モジュール 4 0 0 の中を流れるときの、中央の流れが受ける電界強度を計算することができる。中央チャンネル（又はモジュール 4 0 0 の中を流れる他の流体）が受ける予想電界は、コントローラのメモリ内にある 1 つ以上のデータ構造の中に格納することができる。

【0087】

方法 1 1 0 0 は、電気信号発生器用の調整電圧を計算すること（ブロック 1 1 0 8）を含むことができる。コントローラは、予想電界の大きさ及び所望の電界の大きさに基づいて、電気信号発生器用の調整電圧を計算することができる。コントローラは、モジュール 4 0 0 の中を流れる流体が受ける電界の大きさと、所望の電界の大きさとの差を（例えば、減算等によって）計算することができる。一部の实装形態において、コントローラは、予想電界の大きさと、所望の電界の大きさとの百分率差を計算することができる。電界は、モジュール 4 0 0 内の中央の流れの両端間の電圧降下に比例するため、コントローラは、コントローラの現在の電圧設定に百分率差をかけることによって、調整電圧を計算することができる。例えば、所望の電界強度が中央の流れにおける予想（例えば、推定）電界強度の 2 0 0 % である場合、コントローラは、 $2.00 \times V_C$ （式中、 V_C は、電気信号発生器の現在の電圧設定である。）として調整電圧を計算することができる。一部の实装形態において、コントローラは、図 6 に図示された動作条件等の 1 組の動作条件の範囲内で、電圧を調整することができる。

【0088】

コントローラは、導電率の値、エレクトロポレーションデバイス内の電流、及び流体の中央部分の幅に基づいて、モジュール 4 0 0 等のエレクトロポレーションデバイスに進入する 1 つ以上の流体の流れについて調整流量を計算することができる。一部の实装形態において、コントローラは、第 1 の流量又は第 2 の流量のうちの少なくとも 1 つに基づいて、第 1 の流体又は第 2 の流体のうちの少なくとも 1 つについて調整流量を計算することができる。コントローラは、モジュール 4 0 0 の中央チャンネル 4 3 0 が受け入れた中央の流れ又は側方の流れのうちの 1 つ以上に対する調整流量を決定することができる。本明細書に記載のように、中央チャンネルの幅は、中央チャンネルが受ける電界強度に反比例し得る。さらに、中央チャンネルの幅は、中央の流れの流量に対する側方の流れの流量の比の関数で

あり得る。したがって、一部の実装形態において、コントローラは、側方の流れの流量を増大又は減少させて中央の流れの幅を変更することにより、側方の流れのための調整流量を計算することができる。例えば、予想電界の大きさが所望の電界の大きさより小さい場合、コントローラは、側方の流れの流量を増大させることができる。一部の实装形態において、コントローラは、中央の流れの流量を減少させて、予想電界の大きさを増大させることができる。同様に、予想電界の大きさが所望の電界の大きさより大きい場合、コントローラは、側方の流れの流量を減少させることができる。一部の实装形態において、コントローラは、中央の流れの流量を増大させて、予想電界強度を低下させることができる。

【0089】

方法1100は、調整電圧を表す1つ以上の信号を、電気信号発生器に供給すること（ブロック1110）を含むことができる。信号により、電気信号発生器（例えば、電気信号発生器1055等）は、エレクトロポレーションデバイス内に電圧を発生させることができる。例えば、信号は、電気信号発生器によって生成された信号又は電気信号の大きさを増大又は減少させるための指示を含むことができる。一部の实装形態において、信号は、ブロック1108においてコントローラによって計算された調整電圧の値に比例する値を表す、アナログ信号であってもよい。一部の实装形態において、信号は、調整電圧の値に比例する値を表す、デジタル信号であってもよい。一部の实装形態において、コントローラは、電気信号発生器がモジュール400の中央チャンネル430を介して電気パルスを発生させる周波数を制御することができる。

【0090】

一部の实装形態において、コントローラは、調整流量を表す第2の信号を、第1の流体（例えば、側方の流れ中の流体等）又は第2の流体（例えば、中央の流れ中の流体）の流れを制御するポンプに供給して、第1の流体又は第2の流体を第2の調整流量で流すことができる。ブロック1108において調整流量の値が生成されたとき、コントローラは、調整流量の値を取得することができる。コントローラは、信号を1個以上のポンプ（例えば、ポンプ1050等）に送信して、ポンプを作動させ、調整流量でモジュール400の中央チャンネル430を介して流体を移送することができる。一部の实装形態において、信号は、調整流量の値（例えば、側方の流れ又は中央の流れのうちの1つ以上の調整流量の値等）に比例する値を表す、アナログ信号であってもよい。一部の实装形態において、信号は、調整流量の値に比例する値を表す、デジタル信号であってもよい。一部の实装形態において、コントローラは、ポンプを制御すること（例えば、ポンプを周期的に作動させる信号を送信すること等）ができる。このような実装形態において、コントローラが信号をポンプに送信する周波数は、調整流量の値に基づいてもよい。

【0091】

図12は、一部の实装形態による、本明細書に記載のコンピュータシステムのいずれかを実装するために採用され得る、例示的なコンピュータシステム1200の概略的なアーキテクチャを示している。コンピュータシステム1200は、本明細書において図10と一緒に記載したシステム1000に類似した制御システム内で使用することができる。コンピュータシステム1200は、1個以上の他のデバイス1230を制御することが可能であり、1個以上の他のデバイス1230は、1個以上のポンプ（例えば、ポンプ1050、本明細書に記載された任意の他のポンプ等）、1個以上の電気信号発生器（例えば、電気信号発生器1055、本明細書に記載された任意の他の電気信号発生器等）、又は、1つ以上の信号を使用して制御することができる任意の他の種類のデバイス若しくはシステムを含み得る。図12のコンピュータシステム1200は、メモリ1225に通信自在に接続された1個以上のプロセッサ1220、1つ以上の通信インターフェース1205及び1個以上の出力装置1210（例えば、1個以上のディスプレイユニット）並びに1個以上の入力装置1215を備える。プロセッサ1220は、本明細書に記載のコンピュータデバイスのいずれにも含まれ得る。

【0092】

図12のコンピュータシステム1200において、メモリ1225は、任意のコンピュ

ータ可読記憶媒体を備えることが可能であり、本明細書に記載された各システムの様々な機能を実施するためのプロセッサ実行可能命令等のコンピュータ命令と、各システムに関する任意のデータ、各システムによって生成された任意のデータ、又は、（もしあれば）通信インターフェース若しくは入力装置を介して受信した任意のデータとを格納することができる。再び図12のシステム1200を参照すると、コンピュータシステム1200は、とりわけ、本明細書に記載された情報、変数、ベクトル、データ構造又は他のコンピュータ可読情報のいずれかを格納するためのメモリ1225を備えることができる。図12に図示するプロセッサ1220を使用して、メモリ1225に格納された命令を実行することが可能であり、またそうすることで、命令の実行によって処理及び／又は生成された様々な情報をメモリから読み出し、又はメモリに書き込むこともできる。

10

【0093】

図12に示されたコンピュータシステム1200のプロセッサ1220もまた、命令の実行に応じて様々な情報を送信又は受信するための通信インターフェース1205に通信自在に接続されていてもよく、又は通信インターフェース1205を制御してもよい。例えば、通信インターフェース1205は、有線若しくは無線ネットワーク、バス又は他の通信手段に接続されていてもよく、したがって、コンピュータシステム1200は、他のデバイス（例えば、他のコンピュータシステム）に情報を送信し、又は他のデバイスから情報を受信することを可能にしてもよい。図12のシステムには明示されていないが、1つ以上の通信インターフェースによって、システム1200の構成要素間の情報の流れが容易になる。一部の実装形態において、通信インターフェースは、コンピュータシステム1200の少なくともいくつかの態様へのアクセスポータル（access portal）として1つ以上のインターフェース（例えば、アプリケーションインターフェース、コマンドラインインターフェース、ウェブサイトインターフェース等）を提供するように、（例えば、様々なハードウェアコンポーネント又はソフトウェアコンポーネントによって）構成することができる。通信インターフェース1205の例として、ユーザーインターフェース（例えば、ウェブページ）、ネットワークインターフェース、ネットワークポート、コマンドラインプロトコル、又は、ユーザーとコンピュータシステム1200との通信を可能にする任意の他の種類の通信インターフェースが挙げられる。

20

【0094】

通信インターフェース1205は、本明細書において図10と一緒に記載したセンサ1040を含む本明細書に記載された任意のセンサから情報を送信及び受信するための、1個以上のセンサインターフェースを備えることができる。通信インターフェース1205は、システム500又はシステム1000を含む本明細書に記載の他のシステムのパラメータを制御する、1つ以上の信号を送信又は受信することができる。コンピュータシステム1200によって制御可能ないくつかの例示的なパラメータとして、1つ以上の流体用結節点相互間の流量（例えば、信号を1個以上のポンプに送信して、流体の流量を変更すること等によって制御可能）、又は、電気信号発生器（例えば、電気信号発生器1055等）若しくは本明細書に記載の任意の他の制御可能なデバイス（例えば、バルブ等）によって発生した電圧が挙げられる。

30

【0095】

図12に図示するコンピュータシステム1200の出力装置1210は、例えば、命令の実行と関連付けながら様々な情報を観測又は知覚できるように提供されてもよい。入力装置1215は、例えば、ユーザーが手動調整を行い、選択を行い、データを入力し、又は、種々のやり方のいずれかにより、命令実行中のプロセッサと対話を行うことができるように提供されてもよい。本明細書に記載の様々なシステムに採用可能なコンピュータシステムの概略的なアーキテクチャに関する追加情報も、本明細書においてさらに提供される。

40

【0096】

本明細書に記載の主題及び操作のうちの一部の実装形態は、デジタル電子回路に実装し、又は、本明細書において開示された構造及びこれらの構造的均等物を含む有形媒体、フ

50

ファームウェア若しくはハードウェアに組み込まれたコンピュータソフトウェアに実装し、又は、これらの1つ以上の組合せに実装することもできる。本明細書に記載の主題の実装形態は、データ処理装置が実行するため又はデータ処理装置の動作を制御するためにコンピュータ記憶媒体にエンコードされた、1つ以上のコンピュータプログラム、例えば、コンピュータプログラム命令のうちの1つ以上のコンポーネントとして実装することができる。プログラム命令は、人為的に生成された伝搬信号、例えば、適切な受信装置型装置に送信してデータ処理装置に実行させるための情報をエンコードするために生成された、機械生成した電気信号、光学信号又は電磁信号にエンコードすることが可能である。コンピュータ記憶媒体は、コンピュータ可読記憶装置、コンピュータ可読ストレージ基板、ランダムアクセス若しくはシリアルアクセスのメモリアレイ若しくはデバイス、又はこれらの1つ以上の組合せであってもよいし、又はこれらに組み込まれてもよい。さらに、コンピュータ記憶媒体は伝搬信号ではないが、コンピュータ記憶媒体は、人為的に生成された伝搬信号中にエンコードされたコンピュータプログラム命令の送信元又は宛先を含むことができる。コンピュータ記憶媒体は、1個以上の別個の物理的な構成要素又は媒体（例えば、複数のCD、ディスク又は他の記憶装置、本明細書に記載された任意の他の記憶媒体等）であってもよいし、これらに組み込まれてもよい。

10

【0097】

図面において、操作は特定の順番で図示されているが、このような操作は、示された特定の順番又は連番で実施される必要はなく、図示されたすべての操作が実施される必要もない。本明細書に記載の行為は、異なる順番で実施することができる。

20

【0098】

様々なシステムの構成要素が分離されていることは、すべての実装形態において分離されていることを要求するわけではなく、記載されたプログラムのコンポーネントは、単一のハードウェア製品又はソフトウェア製品に組み込むことができる。

【0099】

ここまでいくつかの例示的な実装形態について記載してきたが、上記は例示的なものであって、限定を加えるものではなく、例として与えられていることは明らかである。特に、本明細書において提示された例の多くは方法の行為又はシステムの要素の特定の組合せを含むが、このような方法の行為及びシステムの要素を他のやり方で組み合わせ、同じ目的を達成することもできる。一実装形態との関連で論述した行為、要素及び特徴は、他の複数の実装形態における同様の役割から排除されることを意図していない。

30

【0100】

本明細書において使用されている表現及び用語は、説明を目的としたものであり、限定するものとしてみなされるべきではない。「含む」、「備える」、「有する」、「含有する」、「包含する」、「特徴とする」及びこれらの変形形態の使用は、これらの後に列記された事物、これらの均等物及びさらなる事物、並びに、これらの後に列記された事物のみからなる代替的な実装形態を包摂することを意味する。一実装形態において、本明細書に記載のシステム及び方法は、記載された要素、行為若しくは構成要素のうちの1つ、それぞれ、又はすべてからなる。

【0101】

本明細書において使用されているとき、「約」及び「実質的に」という用語は、当業者には理解され、これらの用語が利用されている文脈に応じてある程度の差異がある。その用語が使用されている文脈を考えても当業者にとって明確ではない用語の使用があった場合、「約」は、その特定の用語の±10%までを意味する。

40

【0102】

本明細書において単数形で言及されたシステム及び方法の実装形態又は要素若しくは行為へのいかなる言及も、当該要素を複数含む実装形態も包含し得、本明細書における複数形での任意の実装形態又は要素若しくは行為へのいかなる言及も、単一の要素のみを含む実装形態も包含し得る。単数形の又は複数形の形態における言及は、本明細書で開示されたシステム又は方法、これらの構成要素、行為又は要素を、単一の構成又は複数の構成に

50

限定するようには意図されていない。任意の行為又は要素が任意の情報、行為又は要素に基づくことへの言及は、その行為又は要素が任意の情報、行為又は要素に少なくとも部分的に基づく実装形態を含み得る。

【0103】

本明細書において開示された実装形態は、任意の他の実装形態又は実施形態と組み合わせることも可能であり、「ある実装形態」、「一部の实装形態」又は「一実装形態」等への言及は、互いに対して必ずしも排他的なものであるとは限らず、その実装形態と関連付けられて記載された特定の特徴、構造又は特性が少なくとも1つの実装形態又は実施形態に含まれてもよいことを示すように意図されている。本明細書において使用されているこのような用語は、必ずしもすべてが同じ実装形態に言及しているとは限らない。いかなる実装形態も、本明細書において開示された態様及び実装形態と整合する任意の様式で、包括的に又は排他的に、任意の他の実装形態と組み合わせることができる。

10

【0104】

本明細書及び特許請求の範囲において使用されている「1つの」という不定冠詞は、そうではないと明記されていない限り、「少なくとも1つ」を意味するものとして理解すべきである。

【0105】

「又は」への言及は、「又は」を使用して記載された任意の用語が、記載された単一の用語、記載された1つより多い用語及び記載されたすべての用語のいずれかを示し得るような包括的なものとして解釈することができる。例えば、「A」及び「B」のうち「少なくとも1つ」への言及は、「A」のみへの言及、「B」のみへの言及及び「A」と「B」との両方への言及を含み得る。「備える」又は他のオープンな用語と一緒に使用されているこのような言及は、さらなる事物を含み得る。

20

【0106】

図面、詳細な説明又は任意の請求項に含まれる技術的特徴の後に参照符号がある場合、参照符号は、図面、詳細な説明及び請求項の理解度を高めるために含まれている。したがって、参照符号があってもなくても、いかなる特許請求項の要素の範囲に限定が加えられることは決してない。

【0107】

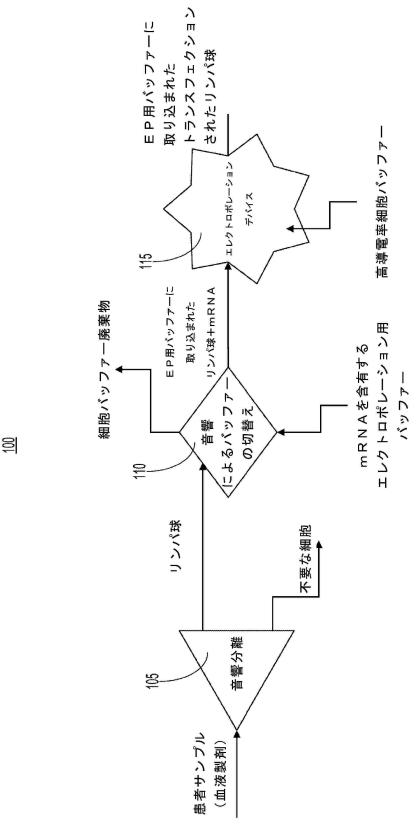
本明細書に記載のシステム及び方法は、これらのシステム及び方法の特徴から逸脱することなく、他の特定の形態においても具体化され得る。上記の実装形態は、記載されたシステム及び方法を限定するのではなく、例示用のものである。したがって、本明細書に記載のシステム及び方法の範囲は、上記の説明ではなく添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲に均等な意味及び範囲に含まれる変更も、添付の特許請求の範囲に包含される。

30

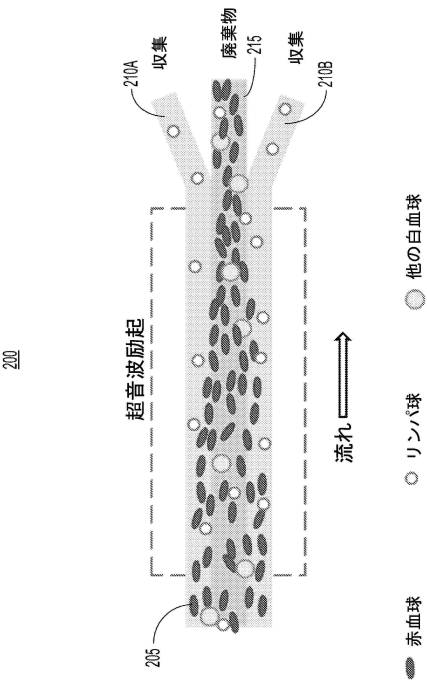
40

50

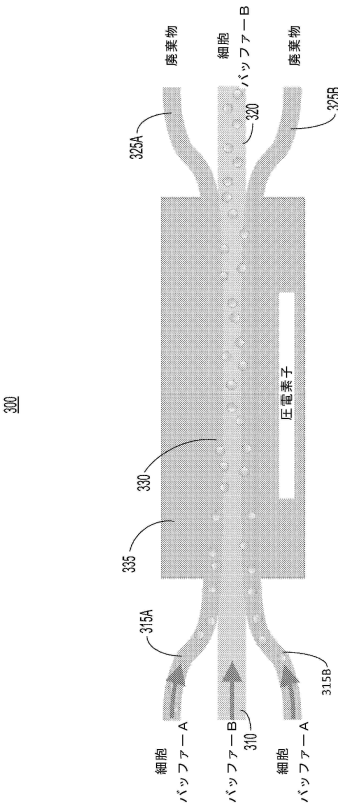
【図面】
【図 1】



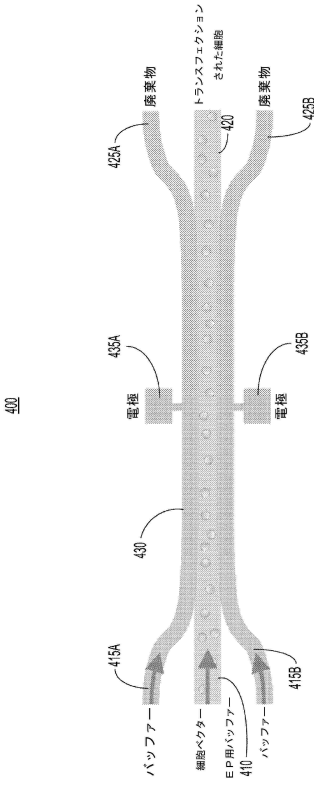
【図 2】



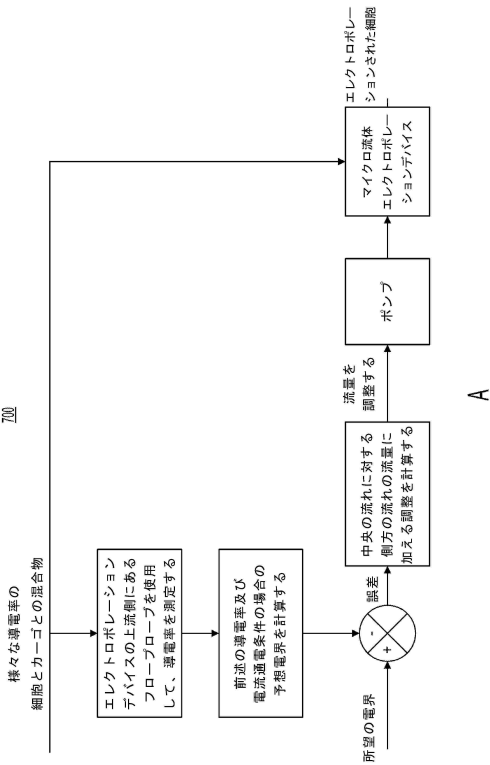
【図 3】



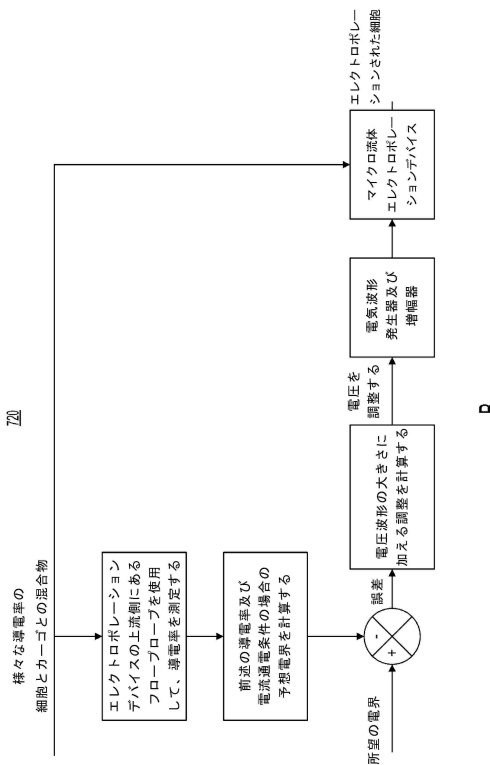
【図 4】



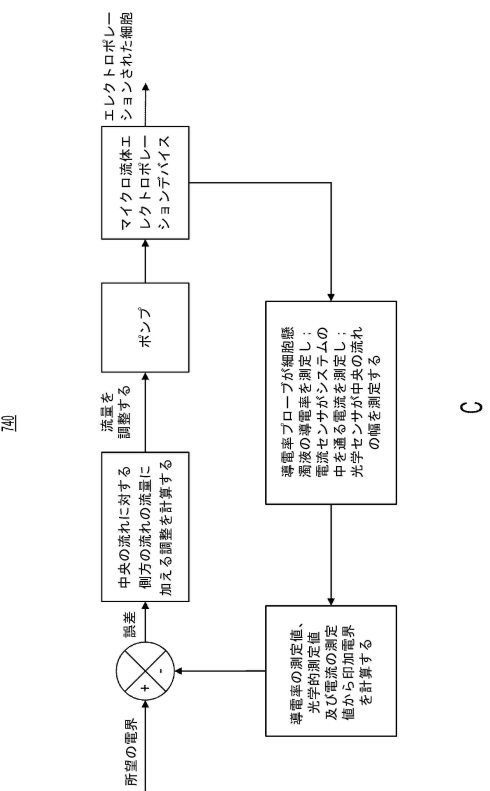
【図 7 A】



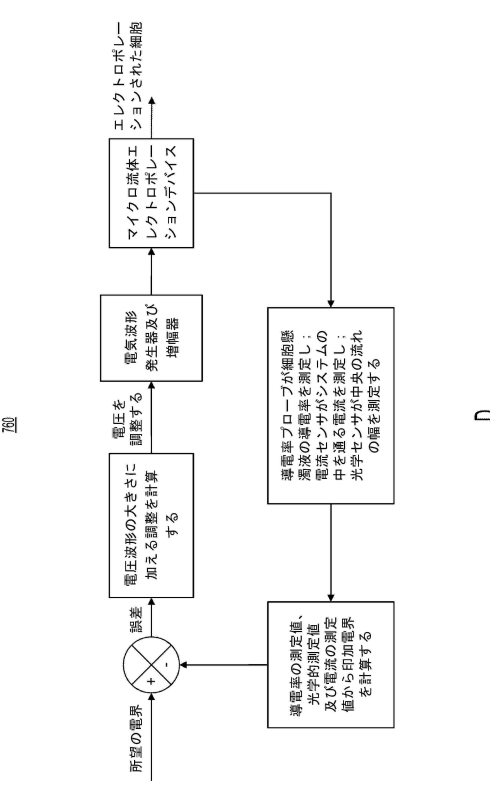
【図 7 B】



【図 7 C】



【図 7 D】



10

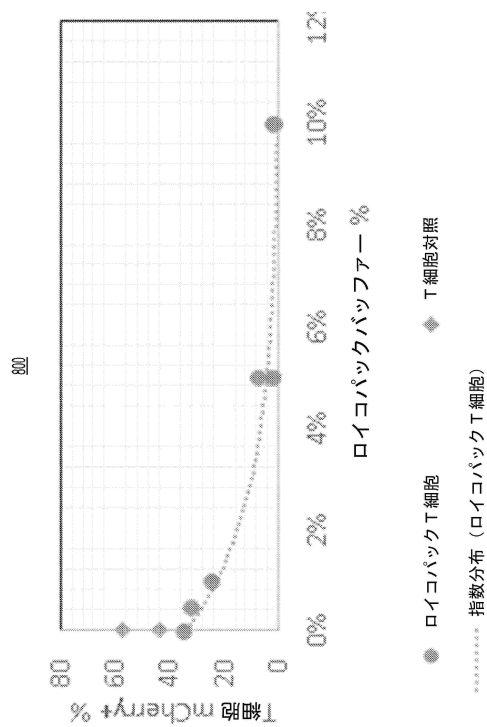
20

30

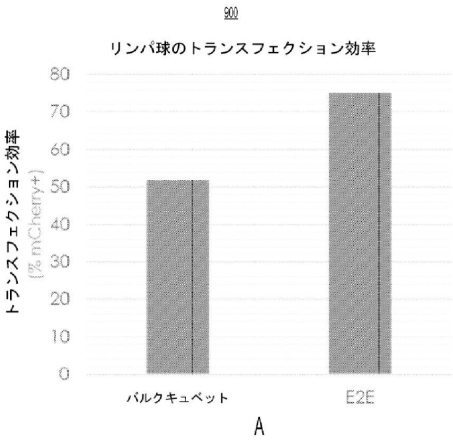
40

50

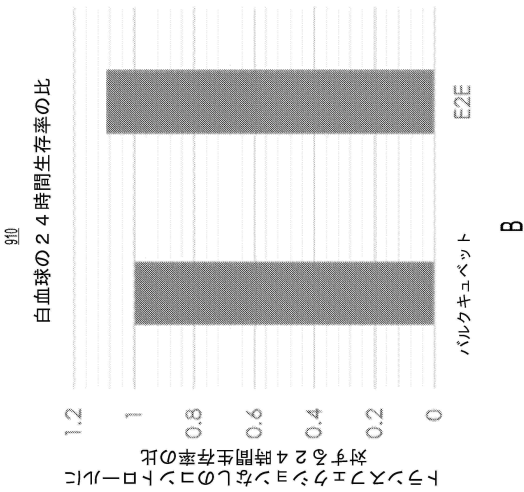
【図 8】



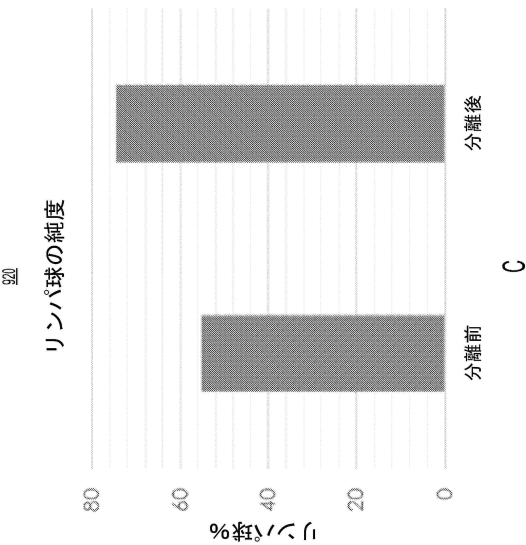
【図 9 A】



【図 9 B】



【図 9 C】



10

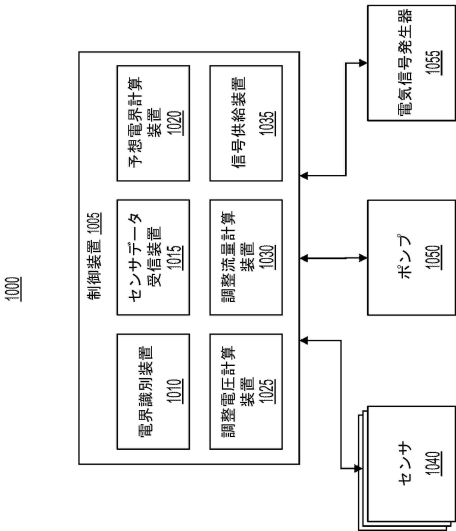
20

30

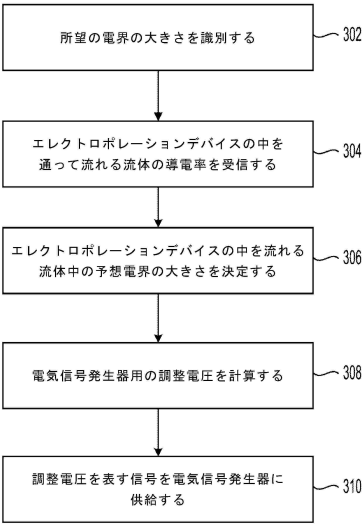
40

50

【図 10】



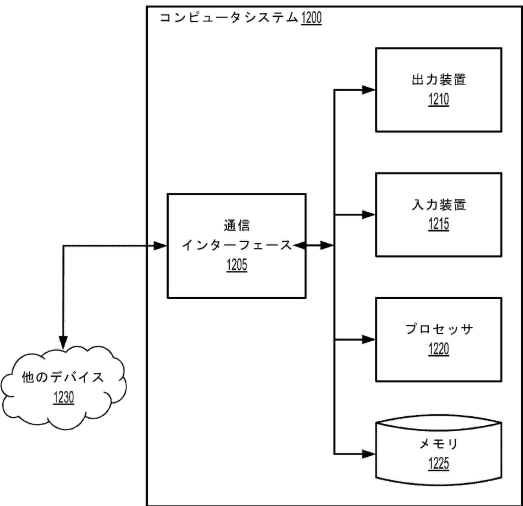
【図 11】



10

20

【図 12】



30

40

50

フロントページの続き

- (72)発明者 ヴィシャル タンドン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02144 サマービル ハイランド アベニュー 298エイ
アパートメント1
- (72)発明者 ジェフリー ボレンシュテイン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02132 ウェスト ロックスベリー ローリー アベニュー
112
- (72)発明者 ジェyson ファイアリング
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02210 ボストン サマー ストリート 300 アパート
メント 38
- (72)発明者 ジェナ バレストリニ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 555
- (72)発明者 ヘーナ ムタ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 555
- (72)発明者 ジョナサン ロバート コペッタ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 555
- (72)発明者 マーク メッシャー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 555
- 審査官 太田 雄三
- (56)参考文献 米国特許出願公開第2019/0292565 (US, A1)
特表2019-527536 (JP, A)
米国特許出願公開第2019/0290829 (US, A1)
米国特許出願公開第2019/0338235 (US, A1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12M 1/00
C12N 15/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)