

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7696340号
(P7696340)

(45)発行日 令和7年6月20日(2025.6.20)

(24)登録日 令和7年6月12日(2025.6.12)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 M 3/00 (2006.01) C 1 2 M 3/00 A

C 1 2 M 1/00 (2006.01) C 1 2 M 1/00 A

請求項の数 19 (全41頁)

(21)出願番号	特願2022-524043(P2022-524043)	(73)特許権者	520070448
(86)(22)出願日	令和2年10月22日(2020.10.22)		オクタン バイオテック インコーポレーテッド
(65)公表番号	特表2022-554178(P2022-554178 A)		OCTANE BIOTECH INC.
(43)公表日	令和4年12月28日(2022.12.28)		カナダ, オンタリオ州 ケー7ケー 6
(86)国際出願番号	PCT/US2020/056805		ゼット1, キングストン, ダルトン
(87)国際公開番号	WO2021/081170		アベニュー 369
(87)国際公開日	令和3年4月29日(2021.4.29)	(73)特許権者	512190365
審査請求日	令和5年10月16日(2023.10.16)		ロンザ ウォーカーズヴィル, インコーポレーテッド
(31)優先権主張番号	62/925,392		アメリカ合衆国 21793 メリーランド州, ウォーカーズヴィル, ビッグス
(32)優先日	令和1年10月24日(2019.10.24)		フォード ロード 8830
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100107456
			弁理士 池田 成人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 改善された細胞接触面を有する細胞培養チャンバ

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

自動化細胞工学システムで使用するための、取り外し可能かつ交換可能な要素としてのカセットであって、

(a) 細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するために構成された高温チャンバであって、前記高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、

(b) 試薬を貯蔵するために構成された低温チャンバと、

(c) 前記細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、前記流体経路が、前記細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに前記細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、

前記細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバであり、前記細胞培養チャンバが、前記カセット内で実質的に平面配向で維持され、

前記細胞接触面の少なくとも一部が、前記細胞接触面上に受容された細胞層に構造的サポートを提供するのに十分な厚さを有する非多孔質ガス透過性材料を含む、カセット。

【請求項2】

前記細胞培養チャンバが、

i. 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、

i i . 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに
i i i . 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位
ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、請求項1に記載のカセット。

【請求項3】

前記非多孔質ガス透過性材料が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン（F E P）、またはエチルビニルオレフィン（E V O）を含む、請求項1又は2に記載のカセット。

【請求項4】

前記カセットが、遠心分離チャンバを含まない、請求項1～3のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項5】

前記細胞接触面が、

i . 細胞を活性化する表面コーティング、
i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、
i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、
i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、
v . 細胞を阻害する表面コーティング、
v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および
v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される前記細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、請求項1～4のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項6】

前記表面コーティングが、接着分子を含む、請求項5に記載のカセット。

【請求項7】

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、請求項6に記載のカセット。

【請求項8】

前記カセットが、培養培地、活性化試薬、および任意選択でベクターで予め充填されている、請求項1～7のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項9】

p Hセンサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、および／または光学密度センサのうちの1つ以上をさらに備える、請求項1～8のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項10】

前記カセットを外部デバイスに接続するためのアクセスポートをさらに備える、請求項1～9のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項11】

前記外部デバイスが、エレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源を含む、請求項10に記載のカセット。

【請求項12】

前記流体経路のうちの1つ以上が、シリコン系チューブ構成要素であって、前記チューブ構成要素をとおした酸素供給を可能にする、シリコン系チューブ構成要素を含む、請求項1～11のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項13】

前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、請求項1～12のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項14】

前記低温チャンバが、さらに細胞培養培地を貯蔵するために構成されている、請求項1～13のいずれか一項に記載のカセット。

【請求項15】

10

20

30

40

50

前記細胞培養チャンバが約 0.5 cm～約 4 cm のチャンバ高さを有し、
前記細胞接触面の少なくとも 50 % が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン（
F E P）またはエチルビニルオレフィン（E V O）を含む非多孔質ガス透過性材料を含み、
かつ、

前記細胞培養チャンバが、

- （a）気泡の除去を可能にするように構成されている遠位ポート、
 - （b）再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、及び
 - （c）細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート
- 、のうちの少なくとも 1 つをさらに備える、請求項 1～14 のいずれか一項に記載のカセット。

10

【請求項 16】

前記細胞接触面が、

- i . 細胞を活性化する表面コーティング、
- i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、
- i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、
- i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、
- v . 細胞を阻害する表面コーティング、
- v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および
- v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される、前記細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、請求項 15 に記載のカセット。

20

【請求項 17】

前記表面コーティングが接着分子を含む、請求項 16 に記載のカセット。

【請求項 18】

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、請求項 17 に記載のカセット。

【請求項 19】

前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、請求項 15～18 のいずれか一項に記載のカセット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019 年 10 月 24 日に出願された米国仮特許出願第 62 / 925, 392 号の利益を主張し、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0002】

【技術分野】

本開示は、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバ、具体的には、改善された細胞接触面を含む細胞培養チャンバを提供する。改善された細胞接触面は、細胞成長、接着、分化、表現型の維持、および／または形質導入の改善を促進する表面コーティング、非多孔質ガス透過性材料を含む細胞接触面、ならびに細胞接触面への他の修飾を含み得る。本細胞培養チャンバを備えるカセットも提供される。

40

【0003】

【背景技術】

先進的な細胞治療の臨床導入が加速されることが期待される中、これらの療法が世界中の患者に恩恵をもたらすための基礎的な製造戦略に注目が集まっている。細胞療法は、臨床的に大きな可能性を秘めているが、診療報酬に比べて製造コストが高いため、商業化には高い障壁となっている。このため、費用対効果、プロセス効率、および製品の一貫性に対する必要性により、多数の細胞療法分野、特に T 細胞免疫療法における自動化のための取り組みが推進されている。

【0004】

50

これらの重要な免疫療法を広範な患者集団に移すには、商用製造プラットフォームへの細胞活性化、形質導入、および拡大の組み込みが不可欠である。これらの救命治療を世界中の患者集団に適用可能にするには、オーダーメイド医療を支援するように製造技術の変化を起こす必要がある。自動化の利点としては、自動化に伴う労働時間の節約、ならびに製品の一貫性の向上、部屋区分の減少、クリーンルームの設置面積の減少、複雑なトレーニングの減少、ならびに規模拡大および物流追跡の改善が挙げられる。さらに、自動生成された電子バッチ記録を使用して、すべての処理装置、試薬、患者識別、オペレータ識別、工程内センサデータなどの履歴を提供することにより、ソフトウェアを使用してドキュメンテーションプロセスを合理化することができる。

【0005】

10

これらの療法および自動化システムを進展させるために必要とされるものは、細胞出力を増加させる、または所望の細胞特性を提供する、細胞培養チャンバなどの細胞拡張システムの構成要素である。本出願は、これらのニーズを満たす。

【0006】

〔発明の概要〕

いくつかの実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、本細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバを備え、細胞接触面の少なくとも一部が、非多孔質ガス透過性材料を含む、細胞培養チャンバが本明細書で提供される。

【0007】

20

さらなる実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、本細胞培養チャンバが、約0.5cm〜約4cmのチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバを含み、細胞接触面の少なくとも50%が、シリコーン、フルオロエチレンポリプロピレン（FEP）、またはエチルビニルオレフィン（EVO）を含む非多孔質ガス透過性材料を含み、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに含む、細胞培養チャンバが本明細書で提供される。

【0008】

30

また、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、本カセットが、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバが、カセット内で実質的に平面配向で維持され、細胞接触面の少なくとも一部が、非多孔質ガス透過性材料を含む、カセットが本明細書で提供される。

【0009】

40

追加の実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、本細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバと、チャンバ上の表面コーティングであって、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される、チャンバ上の表面コーティングと、を含む、細胞培養チャンバが本明細書で提供される。

【0010】

さらなる実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、

50

本カセットが、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバが、カセット内で実質的に平面配向で維持され、細胞培養チャンバが、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される表面コーティングを有する、カセットが本明細書で提供される。

10

【0011】

また、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、本カセットが、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含み、細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバが、カセット内で実質的に平面配向で維持される、高温チャンバと、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、表面コーティング材料を細胞培養チャンバに導入するように構成されている、細胞培養チャンバに接続された流体経路であって、表面コーティング材料が、細胞を活性化する表面コーティング材料、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング材料、細胞の成長を増強する表面コーティング材料、細胞の接着性を改善する表面コーティング材料、細胞を阻害する表面コーティング材料、培地条件に応答する表面コーティング材料、および制御された溶解度を有する表面コーティング材料、からなる群から選択される、流体経路と、を備える、カセットが本明細書で提供される。

20

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1A-1Bは、自動化細胞産生、特にCAR-T産生のための一般化された製造プロセスを示す。

30

【図2】図2は、本明細書の実施形態に記載される例示的な自動化細胞工学システムを含む研究所空間を示す。

【図3】図3は、本明細書の実施形態に記載される細胞工学システムにおいて行うことができる細胞産生プロセスを示す。

【図4A】図4A-4Cは、自動化細胞工学システムの概要を示す。図4Aは、閉鎖型構成にある自動化細胞工学システムを示す。

【図4B】図4A-4Cは、自動化細胞工学システムの概要を示す。図4Bは、自動化細胞工学に挿入することができるカセットを示す。

【図4C】図4A-4Cは、自動化細胞工学システムの概要を示す。図4Cは、開構成にある自動化細胞工学システムを示す。

40

【図4D】図4D-4Eは、自動化細胞工学システムで利用される細胞培養チャンバの位置および向きを示す。

【図4E】図4D-4Eは、自動化細胞工学システムで利用される細胞培養チャンバの位置および向きを示す。

【図4F】図4Fは、自動化細胞工学システムで利用される細胞培養チャンバのより詳細な図を示す。

【図4G】図4G-4Hは、本発明の実施形態による例示的な細胞接触面を示す。

【図4H】図4G-4Hは、本発明の実施形態による例示的な細胞接触面を示す。

【図5A】図5A-5Cは、本発明の実施形態による追加の細胞培養チャンバを示す。

50

【図 5 B】図 5 A－5 C は、本発明の実施形態による追加の細胞培養チャンバを示す。

【図 5 C】図 5 A－5 C は、本発明の実施形態による追加の細胞培養チャンバを示す。

【図 5 D】図 5 D－5 E は、本発明の実施形態によるなおさらなる細胞培養チャンバを示す。

【図 5 E】図 5 D－5 E は、本発明の実施形態によるなおさらなる細胞培養チャンバを示す。

【図 5 F】図 5 F－5 I は、非多孔質ガス透過性材料を含む細胞培養チャンバを作製するために使用することができる様々な製造技術を示す。

【図 5 G】図 5 F－5 I は、非多孔質ガス透過性材料を含む細胞培養チャンバを作製するために使用することができる様々な製造技術を示す。

【図 5 H】図 5 F－5 I は、非多孔質ガス透過性材料を含む細胞培養チャンバを作製するために使用することができる様々な製造技術を示す。

【図 5 I】図 5 F－5 I は、非多孔質ガス透過性材料を含む細胞培養チャンバを作製するために使用することができる様々な製造技術を示す。

【図 6 A】図 6 A－6 B は、非多孔質ガス透過性膜がある場合とない場合とで測定した溶解酸素濃度を示す。

【図 6 B】図 6 A－6 B は、非多孔質ガス透過性膜がある場合とない場合とで測定した溶解酸素濃度を示す。

【図 6 C】図 6 C－6 D は、非多孔質ガス透過性膜がある場合とない場合とで測定した pH を示す。

【図 6 D】図 6 C－6 D は、非多孔質ガス透過性膜がある場合とない場合とで測定した pH を示す。

【図 7】非多孔質ガス透過性材料の厚さが酸素輸送に及ぼす影響を示す。

【図 8】ガス交換の増加が細胞成長に及ぼす影響を示す。

【0013】

[発明を実施するための形態]

CAR T細胞を含む遺伝子操作細胞の産生には、典型的には、産物が患者固有であることに起因して、手作業による関与が必要とされる。CAR T細胞培養の自動化は、細胞の活性化、形質導入、および拡大を含む、複数の感受性ユニット操作を理由に特に困難とされてきた。このため、完全密閉式細胞工学システムを利用したCAR T細胞産生の自動化方法、ならびにかかる細胞工学システムで使用するための構成要素、特に細胞培養チャンバが、本明細書に記載される。

【0014】

自動化細胞処理

T細胞療法などの自家細胞治療を含む遺伝子操作細胞の産生については、費用対効果、プロセス効率、および製品一貫性に対する必要性が特に深刻であり、これは、マイクロロット（1ロット当たり1患者）バッチの製造が、同種（1ロット当たり複数患者）プロセスであれば利用可能である規模の経済性を欠いているためである。マイクロロットに必要なとされる、より大規模でより現地化された労働力および施設は、特に人員の都合およびトレーニングに関して、手動生産のための物流およびGMP順守に対する相当な要求を突きつける。加えて、オペレータ間の技術のばらつきの可能性は、放出基準を一貫して満たし、安全で信頼性のある製品を確保するために望ましくないリスクをもたらし得る。

【0015】

本明細書に記載されるように、自動化製造の設置および包括的検証により、これらの物流および運用上の課題に対する解決策が提供される。生産プロセスに自動化を導入するための重要なアプローチは、オペレータが、「単位操作」と称される、生産材料に物理的または化学的变化を適用する主要なモジュール式ステップを特定することである。細胞製造の場合、これには、細胞分離、遺伝子操作、増殖、洗浄、濃縮、および細胞採取などのステップが含まれる。製造者は、焦点プロセスのボトルネックを、自動化を導入するための即時の機会と見なすことが多い。これは、別個のプロセスステップに焦点を当てがちな、

10

20

30

40

50

市販のバイオリアクターの大部分の技術的動作スペクトルに反映されている。細胞製造におけるプロセスの課題（無菌性の維持からサンプル追跡まで）が、必然的なプロセス可変性を軽減しながら一貫した細胞出力を生成する全面自動化によって、本明細書において解決される。本明細書に記載の方法により、簡略化も提供され、関連する電子記録により、GMP基準への準拠が支援される。

【0016】

特定のプロトコルはT細胞の製造に関して異なり得るものの、一般化したキメラ抗原受容体T細胞（CAR-T）プロセスを図1A-1Bに示す。図1A-1Bは、患者血液サンプルの初期処理から、自家T細胞療法のための出力細胞の製剤化までの、CAR-T細胞製造の単位操作を説明する。

【0017】

本明細書に記載されるように、細胞製造自動化を達成するため、各転移点における細胞の状態、およびそれらが特定の単位操作によってどのように影響されるかの理解が、本明細書に記載される方法により得られる。患者固有の療法のためのマイクロロット生産は、自動化の実現可能性に影響を与える主要なプロセス感度を尊重しなければならない。本明細書に記載の自動化は、様々なプロセスステップを首尾よく受け入れる。

【0018】

以下の表1は、T細胞自動化のために特定されたいくつかのプロセスステップの課題を浮き彫りにし、感度が自動化戦略に与える影響を記す。すべての単位操作について、汚染の危険性があるため、それぞれの機器間の細胞の開かれた移動が重要な感度である。

【0019】

【表1-1】

表1：自動化の課題および利点

単位操作	主要なプロセスステップの課題	自動化の利点
分画	- ドナー細胞およびオペレータの技術に基づく変動性が高い - 残留不純物は性能に影響を与える可能性がある	- 標的開始集団の純度が高い - より一貫性のある改善された製品
細胞播種	不均質な細胞分布により増殖速度の変動が生じる	均質な自動化播種戦略により、一貫性および能力が改善され得る
活性化	- 細胞と活性化試薬との間の安定した接触 - 均一な活性化—均質な分布	自動化充填により、手動の方法では一貫して達成することが困難であり得る再現可能な均質な分布および活性化を確保することができる
形質導入	- オペレータの取り扱いに基づいて変動し得る細胞—ウイルス混合の程度によって効率が影響を受け得る - 曝露時間が増加すると細胞に悪影響を及ぼし得る	- ウイルスを加える前の体積減少により、細胞—ウイルス接触度が高くなる - 時間ベースの操作により、時刻に関係なく細胞を移動させることができる - 閉型システムにより、オペレータに対するリスクが減少する

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

エレクトロポレーション	・オペレータの混合、洗浄、および濃縮技術に基づいて効率変動し得る	・標準化されたプロトコルにより、上流および下流のステップが統合される場合に一貫した結果が確保される
給餌	・培地交換のタイミングは、細胞の成長に基づく栄養要件、および37℃での成分安定性を考慮する必要がある	・バイオフィードバックにより、給餌スケジュールが最適化され、培地の使用が最小限に抑えられる ・構成要素は、安定性を延長するために冷蔵温度で保管することができ、使用前に自動で予熱することができる
選択	・大規模な取り扱いステップにより、細胞喪失が生じ得る ・オペレータの変動性	・完全自動化により一貫性が改善される
採取	・最終製剤化の前に除去されるべき非細胞材料（細胞分離ビーズなど） ・手動ピペティングの変動性により最終収量が影響を受け得る	・細胞が時刻に関係なく培養容器から自動的に移動される ・手動ピペティングよりも最終収量の一貫性が改善される

10

20

【表 1 - 3】

洗浄	・積極的な洗浄により、上清除去中に剪断応力が誘発されるか、または細胞喪失が引き起こされ得る	・培養容器を動かさない穏やかな洗浄、濾過、または沈殿を利用することで、細胞の損失を低減し、残留物を除去することができる。
濃縮	・細胞の回収は、吸引中にオペレータによって異なり得る	・自動化体積減容により、オペレータ変動性が低減する ・濾過方法によっても、細胞喪失が最小限に抑えられる
製剤化	・製品が十分に混合されていない ・作業体積が小さいと、体積の不正確さの影響が拡大する ・凍結保存剤への曝露時間が長くなるにつれて生存率が低下する	・自動化混合により、最終製剤中の細胞の均質な分布が確保される ・自動化体積付加により、手動ピペティングによる誤りまたは変動性の危険性が除去される ・自動化が強化されることで、温度感受性ステップにおける変動性が低減する

30

40

表 1 に列挙した感度を中心に手動プロセスの自動化を調整することで、細胞療法の正常な変換、維持、またはその性能の改善を支援することができる。

【 0 0 2 1 】

単一のオールインワンシステムにより、大幅に高い空間効率が提供され、高価な G M P クリーンルームで必要な設置面積を最小限に抑えることができる。例えば、図 2 に示すように、完全に一体化された自動化システムは、必要な設置面積を最大限に生かして、高価な G M P クリーンルーム空間を削減するように設計されている。図 2 は、標準的な研究所空間で実行される 9 6 個の患者固有の全面ユニットを示す。

【 0 0 2 2 】

物理的攪拌、p H、給餌、およびガスの取り扱いなどの要因を制御することによって、培養条件を感知し、それに応じて高性能バイオリクターとして応答することができる方法が本明細書に記載される。さらに、同種異系治療と比較して、自家治療に関連する技術移転には、著しく異なる課題がある。自家産物は、製造プロセスと患者治療との間の安定性に対してより多くの制限を有し得る。現場は、単一のセンターではなく、地球規模で位置することができる。オールインワンシステムをロックダウン（例えば、完全密閉）することで、現場間の技術移転プロセスが大幅に改善される。

【 0 0 2 3 】

本明細書に記載されるように、実施形態では、本明細書に記載の方法および構成要素は、単一のターンキー方式プラットフォームで複数の単位動作を統合する C O C O O N プラットフォーム（Octane Biotech（Kingston, ON））を利用する（例えば、開示全体が参照により本明細書に援用される米国公開特許出願第 2 0 1 9 / 0 1 6 9 5 7 2 号を参照されたい）。しかしながら、他の完全にまたは部分的に自動化された細胞培養装置は、本明細書の実施形態に従って使用されてもよく、これらの装置には、Miltentyi Biotech, Inc. から入手可能な P R O D I G Y、General Electric Healthcareからの X U R I および S E F I A、ならびに Atvio Biotech Ltd から利用可能なシステムなどの市販のものが含まれる。

【 0 0 2 4 】

本明細書に記載の方法およびデバイスを使用して、完全に一体化された閉鎖型自動化システム内で C A R T 細胞を拡大した（活性化、ウイルス形質導入および拡大、濃縮、ならびに洗浄を含む）（図 3）。

【 0 0 2 5 】

例示的な実施形態では、本明細書に記載の方法およびシステムは、少なくとも約 5 0 0 0 万個の生存遺伝子修飾免疫細胞を産生する。好適な実施形態では、記載の方法は、少なくとも約 1 億個の生存遺伝子修飾免疫細胞、または少なくとも約 2 億個の細胞、少なくとも約 3 億個の細胞、少なくとも約 4 億個の細胞、少なくとも約 5 億個の細胞、少なくとも約 6 億個の細胞、少なくとも約 7 億個の細胞、少なくとも約 8 億個の細胞、少なくとも約 1 0 億個の細胞、少なくとも約 1 1 億個の細胞、少なくとも約 1 2 億個の細胞、少なくとも約 1 3 億個の細胞、少なくとも約 1 4 億個の細胞、少なくとも約 1 5 億個の細胞、少なくとも約 1 6 億個の細胞、少なくとも約 1 7 億個の細胞、少なくとも約 1 8 億個の細胞、少なくとも約 1 9 億個の細胞、少なくとも約 2 0 億個の細胞、少なくとも約 2 1 億個、少なくとも約 2 2 億個、少なくとも約 2 3 億個、少なくとも約 2 4 億個、少なくとも約 2 5 億個、少なくとも約 2 6 億個、少なくとも約 2 7 億個、少なくとも約 2 8 億個、少なくとも約 2 9 億個、または少なくとも約 3 0 億個の遺伝子修飾免疫細胞を産生する。

【 0 0 2 6 】

本明細書に記載の方法およびシステムは、多能性幹細胞、造血幹細胞、または間葉系幹細胞を含む幹細胞の産生にも使用することができる。例示的な実施形態では、本明細書に記載の方法およびシステムは、少なくとも約 5 0 0 0 万個の生存幹細胞を産生する。好適な実施形態では、記載の方法は、少なくとも約 1 億個の生存幹細胞、または少なくとも約 2 億個の細胞、少なくとも約 3 億個の細胞、少なくとも約 4 億個の細胞、少なくとも約 5

10

20

30

40

50

億個の細胞、少なくとも約 6 億個の細胞、少なくとも約 7 億個の細胞、少なくとも約 8 億個の細胞、少なくとも約 10 億個の細胞、少なくとも約 11 億個の細胞、少なくとも約 12 億個の細胞、少なくとも約 13 億個の細胞、少なくとも約 14 億個の細胞、少なくとも約 15 億個の細胞、少なくとも約 16 億個の細胞、少なくとも約 17 億個の細胞、少なくとも約 18 億個の細胞、少なくとも約 19 億個の細胞、少なくとも約 20 億個の細胞、少なくとも約 21 億個、少なくとも約 22 億個、少なくとも約 23 億個、少なくとも約 24 億個、少なくとも約 25 億個、少なくとも約 26 億個、少なくとも約 27 億個、少なくとも約 28 億個、少なくとも約 29 億個、または少なくとも約 30 億個の幹細胞を産生する。

【0027】

細胞工学システム

完全密閉式細胞工学システム 400（自動化細胞工学システムとも呼ばれる）（図 4A、4B を参照）の構成要素が本明細書に記載され、好適には、その上に、活性化、形質導入、拡大、濃縮、および採取ステップを行うための説明を有する。CAR T 細胞を含む遺伝子修飾免疫細胞の自動産生のための細胞工学システムが本明細書に記載され、これは、全体をとおして自動化細胞工学システム、COCON、または COCON システムとも呼ばれる。例えば、ユーザは、細胞培養および試薬（例えば、活性化試薬、ベクター、細胞培養培地、栄養素、選択試薬など）ならびに細胞産生のためのパラメータ（例えば、開始細胞数、培地の種類、活性化試薬の種類、ベクターの種類、産生される細胞または用量の数など）で予め充填された細胞工学システムを提供することができ、本細胞工学システムは、ユーザからのさらなる入力なしに、幹細胞を含む様々な細胞、および CAR T 細胞を含む遺伝子修飾免疫細胞培養物を産生する方法を実行することができる。自動産生プロセスの終わりに、本細胞工学システムは、産生された細胞を収集するようにユーザに通知を行ってもよい（例えば、通知メッセージを再生すること、またはモバイルアプリ通知を送信することにより）。いくつかの実施形態では、本完全密閉式細胞工学システムは、無菌細胞培養チャンバを含む。いくつかの実施形態では、本完全密閉式細胞工学システムは、細胞培養物の非滅菌環境への曝露を低減することによって、細胞培養物の汚染を最小限に抑える。追加の実施形態では、本完全密閉式細胞工学システムは、細胞のユーザによる取り扱いを低減することによって、細胞培養物の汚染を最小限に抑える。

【0028】

本明細書に記載のように、本細胞工学システムは、カセット 402 を好適に含む。このため、実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットが本明細書に提供される。本明細書で使用される場合、「カセット」は、本明細書に記載の方法の様々な要素を実行するための 1 つ以上のチャンバを含み、かつ細胞培地、活性化試薬、ベクターなどのうちの 1 つ以上も好適に含む、細胞工学システムのほぼ自己完結型、取り外し可能、かつ交換可能な要素を指す。

【0029】

図 4B は、本発明の実施形態によるカセット 402 の実施形態を示す。実施形態では、カセット 402 は、任意選択で、細胞培養培地の貯蔵のための低温チャンバ 404 を含み、かつ免疫細胞培養物の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバ 406 を好適に含む。好適には、高温チャンバ 406 は、熱障壁によって低温チャンバ 404 から分離される。本明細書で使用される場合、「低温チャンバ」は、冷蔵温度で、細胞培地の維持などのために、室温より低く、より好適には約 4℃～約 8℃で、好適に維持されるチャンバを指す。低温チャンバは、約 1 L、約 2 L、約 3 L、約 4 L、または約 5 L の流体を含む、培地のためのバッグまたは他のホルダを含み得る。追加の培地バッグまたは他の流体源は、カセットに外部接続され、アクセスポートを介してカセットに接続され得る。

【0030】

本明細書で使用される場合、「高温チャンバ」は、好適に室温より高く維持される、より好適には細胞増殖および成長を可能にする温度、すなわち、約 35～40℃で、より好適には約 37℃で維持される、チャンバを指す。

【0031】

実施形態では、高温チャンバ406は、図4Dおよび図4Eに示されるように、細胞培養チャンバ410（全体をとおして、増殖チャンバまたは細胞増殖チャンバとも呼ばれる）を好適に含む。

【0032】

本カセットは、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路をさらに含み、この流体経路（図4Bのカートリッジ402内の流体経路408）は、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する。カセット402はまた、本明細書に記載される、カセットをとおして流体を駆動するための蠕動ポンプを含む1つ以上のポンプ405と、様々な流体経路を通る流れを制御するための1つ以上のバルブ407とをさらに含む。

【0033】

例示的な実施形態では、図4Dに示されるように、細胞培養チャンバ410は、容易に屈曲または屈曲しない平坦で非可撓性のチャンバ470（すなわち、プラスチックなどの実質的に可撓性でない材料で作製される）である。非可撓性チャンバの使用により、細胞を実質的に乱れていない状態に維持することが可能になる。図4Eに示されるように、細胞培養チャンバ410は、細胞培養物（好適には、免疫細胞培養物）が細胞培養チャンバの底部412全体に広がることを可能にするように配向される。図4Eに示されるように、細胞培養チャンバ410は、実質的に平坦な、すなわち、床または台と平行な位置に好適に維持され、細胞培養物を乱さない状態に維持し、細胞培養物が細胞培養チャンバの底部412の広い範囲に広がることを可能にする。細胞培養チャンバに関して本明細書で使用される場合の「平坦な」は、チャンバの底部412（ならびに上部および側面）が、チャンバの形状において（完全に平坦な表面または平面から）約5°未満、好適には約0°〜約4°、または約3°の撓みまたは反りを有することを意味する。このわずかな反りにより、底部412上の細胞の均一な播種および成長が可能になるが、気泡を最も高い所に上昇させ、除去することを可能にするのに十分な角度を提供する。

【0034】

実施形態では、細胞培養チャンバ410の全厚さ（すなわち、チャンバ高さ442）は、約0.5cm〜約5cm程度で低い。好適には、本細胞培養チャンバは、体積が、約0.50ml〜約500ml、約0.50ml〜約300ml、より好適には、約50ml〜約200mlであるか、または本細胞培養チャンバは、体積が約180mlである。低いチャンバ高さ442（5cm未満、好適には4cm未満、3cm未満、もしくは2cm未満、または約0.5cm〜約4cm、約0.5cm〜約3cm、約0.5cm〜約2cm、もしくは約1cm〜約2cm、もしくは約1cm〜約3cm、もしくは約2cm〜約3cm）の使用により、細胞に近接した効果的な媒体およびガスの交換が可能になる。ポートは、細胞を乱すことなく、流体の再循環を介して混合を可能にするように構成されている。より高さのある静的容器により、濃度勾配を生み出すことができ、これにより、細胞付近の領域で酸素および新鮮な栄養素が限定されるようになる。流動力学を制御することで、細胞を乱すことなく培地交換を行うことができる。培地は、細胞喪失のリスクなしに（細胞が存在しない）追加のチャンバから除去され得る。

【0035】

実施形態では、自動化細胞工学システム400で使用するための細胞培養チャンバ410であって、低いチャンバ高さ442および細胞接触面480を有する平坦で非可撓性のチャンバ470を備え、細胞接触面の少なくとも一部が、非多孔質ガス透過性材料482を含む、細胞培養チャンバが本明細書で提供される。

【0036】

例示的な実施形態では、細胞接触面480は、細胞培養チャンバ410の底部412を指す。しかしながら、「細胞接触面」はまた、細胞培養チャンバ410内の追加の要素、例えば、様々な足場、支持体、成長プラットフォームなどを含むことができる。「細胞接触面」はまた、細胞培養チャンバ410の1つ以上の側面416を指し得る。本明細書に

記載の細胞工学システム４００は、細胞培養チャンバ４１０を傾け、回転させる能力を有し、その間、チャンバの追加の構成要素は、細胞がチャンバ内を移動する際に細胞接触面になることができる。細胞接触面はまた、表面に切り込まれるかまたは作製されて、チャネル、波、または他の構造を生成し、細胞接着性を増加させるために表面積を追加する複数の構造を含み得る。

【００３７】

さらなる実施形態では、培養チャンバ４１０の非細胞接触面は、非多孔質ガス透過性材料４８２も含み得る。好適には、非多孔質ガス透過性材料４８２を含む細胞培養チャンバ４１０の底部４１２に加えて、細胞培養チャンバ４１０の上部４１４は、非多孔質ガス透過性材料４８２も含む。

【００３８】

本明細書で使用される場合、「非多孔質ガス透過性材料」は、気体が細胞培養チャンバ４１０を通り進入することを許容するが、液体（例えば、細胞培地）の通過または漏出を許容する細孔または穴を含まない、ガス透過性細胞培養デバイスに使用される任意の組成物、フィルム、または材料を意味する。例示的な非多孔質ガス透過性材料としては、シリコーン、フルオロエチレンポリプロピレン（ＦＥＰ）、ポリオレフィン、エチルビニルオレフィン（ＥＶＯ）、およびエチレンビニルアセテートコポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載される非多孔質ガス透過性材料は、酸素、窒素、ＣＯ₂などを含む１つ以上の気体を細胞培養チャンバ４１０内の細胞に送達するのに好適に役立つ。

【００３９】

実施形態では、非多孔質ガス透過性材料４８２は、細胞培養チャンバ４１０からの水の蒸発を許容しない。これは、水の蒸発を制限または排除する適切な材料の選択、または細胞培養チャンバ４１０内の細胞培養培地の上部にあるが、細胞培養チャンバ４１０の上部４１４に含まれるガス透過性材料４８２の下にある水層の使用のいずれによっても達成することができる。他の実施形態では、２つ以上の異なるガス透過性材料４８２、細胞培養チャンバ４１０の上部４１４で１つの材料、底部４１２で異なる材料を利用することができる。

【００４０】

例示的な実施形態では、細胞接触面４８０または上部４１４などの非細胞接触面の「一部」は、非多孔質ガス透過性材料を含む。本明細書で使用される場合、「一部」は、非多孔質ガス透過性材料で構成される細胞接触面または非細胞接触面の少なくとも約２０％を指す。つまり、細胞接触するように設計される表面（好適には細胞培養チャンバの底部４１２）、または他の足場、支持体、もしくは構造、または上部４１４などの非細胞接触面の少なくとも約２０％が、表面の主要構造要素として非多孔質ガス透過性材料から作製される。細胞接触面の１００％未満が非多孔質ガス透過性材料で作製される実施形態では、細胞接触面の残りは、細胞の接着および成長を促進する様々なプラスチック（例えば、ポリプロピレン、ポリスチロール、ポリスチレンなど）を含む他の好適な材料を含み得る。非細胞接触面の１００％未満が非多孔質ガス透過性材料で作製される実施形態では、非細胞接触面の残りは、構造的サポートを促進する様々なプラスチック（例えば、ポリプロピレン、ポリスチロール、ポリスチレンなど）を含む他の好適な材料を含み得る。

【００４１】

実施形態では、細胞接触面の少なくとも約３０％が非多孔質ガス透過性材料から構成され、より好適には、細胞接触面の少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、または少なくとも約１００％（すなわち、全体）が、非多孔質ガス透過性材料を含む。

【００４２】

実施形態では、非細胞接触面の少なくとも約３０％が非多孔質ガス透過性材料から構成され、より好適には、非細胞接触面の少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、または

10

20

30

40

50

少なくとも約 100% (すなわち、全体) が、非多孔質ガス透過性材料を含む。

【0043】

図 4G~4H は、細胞接触面 (この場合、細胞培養チャンバ 410 の底部 412) 全体未滿が非多孔質ガス透過性材料を含む、概略的な例示的構造を示す。そのような実施形態では、細胞培養チャンバは、複数の別個のセクションを含む細胞接触面 480 を含み、各セクションは、非多孔質ガス透過性材料 482 を含む。例えば、細胞接触面 480 の穴または別個のセクションは、非多孔質ガス透過性材料 482 を含み得る一方、底部 412 の他の部分は、細胞の接着および成長を促進する様々なプラスチックを含む他の好適な材料を含む。これらの穴またはセクションは、非多孔質ガス透過性材料 482 による細胞接触面 480 の所望の被覆に応じて、形状が規則的であるか、または不規則であることができ、任意のサイズまたは数であることができる。チャンバ 470 は、円筒形状として表されるが、他の形状を容易に想定することができ、図 4G~4H の形状は、例示目的のみで提供される。

【0044】

さらなる実施形態では、細胞培養チャンバ 410 の 1 つ以上の側面は、少なくとも一部が非多孔質ガス透過性材料 482 を含んで提供され得る。

【0045】

なおさらなる実施形態では、例えば、ポンプ 405、バルブ 407、および流体経路 408 を含むカセット 402 の追加の構成要素は、カセット 402 を通過する際に、ガスを細胞に移送するのを助けることができる非多孔質ガス透過性材料 482 を含むこともできる。

【0046】

本明細書で使用されるシリコーンは、炭素、水素、および時には他の元素と組み合わせられる、シロキサンの繰り返し単位で作製される合成ポリマーである。本明細書に詳述されるように、細胞培養チャンバ中の非多孔質ガス透過性材料としてシリコーンを使用することで、ガス交換が増加する。シリコーンは、優れた酸素透過性を有し、光学観察を可能にすることができ、穿刺が容易でなく、多種多様な形状に容易に加工することができる。

【0047】

例示的な実施形態では、非多孔質ガス透過性材料の厚さは、約 0.5 インチ未滿、より好適には、約 0.2 インチ未滿、約 0.1 インチ未滿、約 0.05 インチ未滿、または約 0.010~0.050 インチ、約 0.010 インチ、約 0.020 インチ、約 0.030 インチ、約 0.040 インチ、または約 0.050 インチである。

【0048】

さらなる実施形態では、非多孔質ガス透過性材料は、薄くするために延伸させ、それにより材料を通るガス交換を増加させることができる。この延伸は、細胞培養チャンバ 410 の構造に一体化される前に実行することができ、または材料を、細胞培養チャンバ 410 の調製中もしくは材料を細胞培養チャンバに含める間に張力下に置くことができ、その結果、非多孔質ガス透過性材料が延伸される。

【0049】

シリコーンおよびシリコーン系材料の例示的な供給源としては、TEFLON (登録商標)、ならびに WO 01/92462、米国特許第 4,939,151 号、同第 6,297,046 号、および同第 9,255,243 号が挙げられ、これらの各々の開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0050】

例示的な実施形態では、細胞接触面は、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の形質導入効率を増加させる表面コーティング、ある特定の種類の細胞に対する選択を改善する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に应答する表面コーティング (例えば、監視補助としての変色)、および制御された溶解度を有する表面コーティング (例えば、コーティング内容物

10

20

30

40

50

の制御された放出を得るためのもの)、からなる群から選択される表面上の表面コーティングをさらに含み得る。このため、実施形態では、細胞接触面の一部または全部を好適に構成する非多孔質ガス透過性材料は、本明細書に記載される表面コーティングをさらに含み得る。他の実施形態では、非多孔質ガス透過性材料を含まない細胞接触面の残りも、本明細書に記載される表面コーティングも含み得る。他の実施形態では、細胞接触面全体が、非多孔質ガス透過性材料を含まないものの、依然として、本明細書に記載される表面コーティングを含む。細胞の接着はまた、所望の集団の成長を促進すると同時に望ましくない集団の接着を許容しない細胞選択の機会を提供し得る。

【0051】

本明細書で使用される場合、「表面コーティング」は、細胞培養チャンバ410の1つ以上の表面上にフィルム、層、または被覆を形成する材料を指す。表面コーティングを細胞培養チャンバの表面に適用するための方法には、例えば、塗装、浸漬コーティング、層化、流動、散布、スピンコーティングを含む堆積方法などが含まれ得る。

10

【0052】

例示的な実施形態では、表面コーティングは、好適には細胞接触面480および非多孔質ガス透過性材料482を含む、細胞培養チャンバ410の底部412上に提供される。しかしながら、表面コーティングは、細胞培養チャンバの上部414および／または側面416にも提供することができる(図4Fを参照されたい)。

【0053】

本明細書で使用される場合、「細胞を活性化する表面コーティング」は、細胞を増殖および／または分化させる材料、基質、または構成要素を指す。

20

【0054】

本明細書で使用される場合、「細胞中の生物学的経路を調節する表面コーティング」は、細胞中の分子間で1つ以上の作用を引き起こし、細胞中のある特定の生成物または変化をもたらす材料、基質、または構成要素を指す。例えば、そのような表面コーティングは、脂肪またはタンパク質などの新しい分子のアセンブリを誘起するか、遺伝子をオンおよびオフにするか、または細胞を移動させることができる。

【0055】

本明細書で使用される場合、「細胞の成長を増強する表面コーティング」は、細胞の成長を、材料が存在しない場合よりも速くまたはより多くの数で引き起こす材料、基質、または構成要素を指す。

30

【0056】

本明細書で使用される場合、「細胞の接着性を改善する表面コーティング」は、細胞が表面に接着するにつれて、細胞を表面とより良好に相互作用させ、表面に付着させ、かつ他の細胞とも相互作用させる材料、基質、または構成要素を指す。

【0057】

本明細書で使用される場合、「細胞を阻害する表面コーティング」は、細胞を成長させない、および／または細胞接触面に付着させない材料、基質、または構成要素を指す。

【0058】

本明細書で使用される場合、「培地条件に応答する表面コーティング」は、培地条件が変化するときに変化する材料、基質、または構成要素を指す。例示的な変化としては、温度、pH、酸素レベルまたは濃度、毒性ガスのレベル、毒性物質の存在の変化が挙げられ、これには、例えば、監視としての変色が含まれる。

40

【0059】

本明細書で使用される場合、「制御された溶解度を有する表面コーティング」は、特定の時間に、または特定の温度もしくはpHに応答して、例えば、コーティング内容物の制御された放出を得るために、表面から放出される材料、基質、または構成要素を指す。

【0060】

細胞培養チャンバの1つ以上の表面に適用することができる例示的な表面コーティングとしては、ポリカチオン性試薬(ポリブレン、硫酸プロタミン、ポリ-L-リジン、正味

50

正電荷を有するペプチド、両親媒性カチオン性ペプチド)、ポロキサマー、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンなどの接着分子 (RETRONECTIN (登録商標))、抗体、抗体複合体、核酸などのタンパク質標的化ドメイン (DNAおよびRNAを含む)、ポリ乳酸、ポリビニルアルコール、多糖類またはデキストランまたはその誘導体、コラーゲン型 (I~VII)、ポリエチレングリコール (PEG)、フィブリン、ビトロネクチン、ラミニン、エラスチン、ゼラチン、ヒアルロン酸、硫酸ケラタン、硫酸コンドロチン、硫酸ヘパラン、プロテグリカン、ポリ-D-リジン、アビジン、ストレプトアビジン、ビオチン、ビオチンまたはタンパク質タグに対する抗体、ILsopeptag、BCCP、Mycタグ、カルモジュリンタグ、FLAGタグ、HAタグ、Hisタグ、マルトース結合タンパク質タグ、Nusタグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼタグ、緑色蛍光タンパク質タグ、チオレドキシントグ、Sタグ、Softタグ1、Softタグ3、Streptタグ、SBPタグ、Tyタグのようなタンパク質タグ、セルチア (certia)、ポリ乳酸、ポリビニルアルコール、多糖類およびデキストランが挙げられる。

【0061】

追加の表面コーティングには、特定の細胞型または細胞表面受容体への結合時に色または発光/蛍光の変化を受ける診断剤が含まれ得る。かかる実施形態では、表面コーティングは、細胞が所望の段階に到達したこと、または細胞が所望のコンフルエンスもしくは他の特徴に到達したことのシグナルとして機能し得る。

【0062】

追加の実施形態では、「表面処理」は、例えば、ポンプ405、バルブ407、および流体経路408を含む、細胞に接触する細胞培養チャンバ410の1つ以上の表面および/またはカートリッジ402内の1つ以上の表面において利用することもでき、非多孔質ガス透過性材料482にも適用することができる。例示的な表面処理には、化学処理、エッチング、マイクロエッチング、電気化学処理などが含まれる。追加の表面処理には、ポリスチレン表面などの細胞接触面を含む細胞培養チャンバの表面構造を改変するためのガスプラズマエッチングが含まれる。例示的なガスプラズマ処理としては、空気、酸素、アミンなどを使用して、細胞培養チャンバの表面上に所望の官能基を生じさせることが挙げられる。これらの表面処理により、表面の疎水性の変化をもたらす、活性化の増加、形質導入効率の増加、細胞結合の増加または減少、増殖の加速、ある特定の細胞型の選択、細胞接着の防止または増加、細胞生物学的経路の変化、細胞分化などを含む、一連の生物学的効果の変化を生じさせることができる。

【0063】

加えて、ガスプラズマ処理を使用して、底部412もしくは上部414もしくは細胞培養チャンバ410などの表面、またはポリスチレン表面を含む他の表面に接着する、糊付けする、または別様に付着する非多孔質ガス透過性材料482の能力を増加させることができる。多くの非多孔質ガス透過性材料482は疎水性であり得るため、それらを糊剤または他の接着剤でポリスチレンなどの硬質表面に接着させることは困難であり得る。細胞培養チャンバ410と非多孔質ガス透過性材料482との両方のプラズマ酸化により、構造の両方の表面エネルギーが増加する。疎水性特性への回帰はすぐに起こり得るので、強固な結合および持続的な構造的完全性を達成するためには、非多孔質ガス透過性材料482を細胞培養チャンバ410に速やかに接着、例えば、糊付けすることが望ましい。

【0064】

細胞培養環境における細胞の挙動に関するマイクロエッチングおよびナノエッチングの考察は、例えば、Martinez, et al., 「Effects of artificial micro-and nano-structure surfaces on cell behaviour,」 Annals of Anatomy 191:126-135 (2009) で提供されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0065】

非多孔質ガス透過性材料482は、本明細書に記載のガス透過性特性を提供するために

、細胞培養チャンバ 4 1 0 などの材料上または材料内に鑄造することもできる。非多孔質ガス透過性膜材料 4 8 2 の鑄造は、当該技術分野で既知の様々な方法によって実行することができる。非多孔質ガス透過性膜材料 4 8 2 を、プラスチック、ポリスチレン、チャンバなどの細胞培養チャンバ 4 1 0 上または細胞培養チャンバ 4 1 0 内に鑄造することにより、ガス透過性特性を依然として維持しながら、ガス透過性膜の構造強度および完全性も増加させることができる。

【0066】

他の実施形態では、非多孔質ガス透過性材料 4 8 2 は、本明細書に記載のガス透過性特性を提供するために、細胞培養チャンバ 4 1 0 などの材料内に注入することができる。非多孔質ガス透過性膜材料 4 8 2 を細胞培養チャンバに注入することは、当該技術分野で既知の様々な方法によって実行することができる。非多孔質ガス透過性膜材料 4 8 2 を、プラスチック、ポリスチレン、チャンバなどの細胞培養チャンバ 4 1 0 内に注入することにより、ガス透過性特性を依然として維持しながら、ガス透過性膜の構造強度および完全性も増加させることができる。

【0067】

本明細書に記載されるように、本明細書に記載の表面コーティングまたは表面処理は、好適には、免疫細胞（例えば、T細胞）、および実施形態では、幹細胞または前駆細胞を活性化するか、その生物学的経路を調節するか、その増殖を促進するか、またはその接着性を改善する。好適な実施形態では、幹細胞は、多能性幹細胞、造血幹細胞、または間葉系幹細胞である。追加の実施形態では、本明細書に記載の自動化細胞工学システムにおいて、および記載の方法を利用して成長させることができる細胞には、結合組織細胞、心臓細胞、網膜細胞、筋肉細胞、皮膚細胞などが含まれる。

【0068】

例示的な実施形態では、図 4 F に示されるように、細胞培養チャンバ 4 1 0 は、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート 4 2 0、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート 4 2 2、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート 4 2 4、のうちの少なくとも 1 つをさらに含む。

【0069】

さらなる実施形態では、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバ 4 1 0 が本明細書で提供され、本細胞培養チャンバは、約 0.5 cm ～ 約 4 cm のチャンバ高さおよび細胞接触面 4 8 0 を有する平坦で非可撓性のチャンバを備える。好適には、細胞接触面の少なくとも 50 % が、シリコンを含む非多孔質ガス透過性材料 4 8 2 を含む。

【0070】

追加の実施形態では、細胞培養チャンバは、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも 1 つをさらに含む。好適には、本細胞培養チャンバは、約 50 ml ～ 約 200 ml の体積を有する。

【0071】

本明細書に記載されるように、例示的な実施形態では、細胞接触面は、複数の別個のセクションを含み、各セクションは、非多孔質ガス透過性材料を含む。好適な実施形態では、細胞接触面の全体が、非多孔質ガス透過性材料を含む。

【0072】

さらなる実施形態では、細胞接触面は、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、および細胞の接着性を改善する表面コーティング、からなる群から選択される細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む。例示的な表面コーティングは本明細書に記載されている。

【0073】

なおさらなる実施形態では、自動化細胞工学システム400で使用するためのカセット402が本明細書で提供され、本カセットは、細胞培養物を収容するように構成されたチャンバ体積と、細胞培養物を収容することなく、培地および他の作業流体のための追加の体積を提供することによって、細胞培養チャンバの作業体積を増加させるためのサテライト体積430（すなわち、サテライト体積はいずれの細胞も含まない）とを有する、細胞培養物、好適には免疫細胞培養物の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための細胞培養チャンバ410を備える。好適には、サテライト体積は細胞培養チャンバに流体接続しており、その結果、培地が、細胞培養物を乱すことなく培養チャンバと交換されるようになる。例示的な実施形態では、サテライト体積はバッグであり、他の実施形態では、サテライト体積は非変形性チャンバである。実施形態では、サテライト体積は、約0.50ml〜約300mlであり、より好適には、約150ml〜約200mlである。図4D〜4Eは、カセット602内のサテライト体積430の位置を示す。

10

【0074】

本明細書に記載されるように、細胞培養チャンバ410は、好適には遠心分離チャンバではない。つまり、実施形態では、本細胞培養チャンバは、チャンバが回転して求心力を生成することにより、細胞を分離することを可能にする部分または構成を含まない。好適には、本明細書に記載の細胞培養チャンバは、カセット内でほぼ静止したままである。

【0075】

図5A〜図5Bは、構造セクション502、ならびに細胞培養チャンバ410の底部412および／または上部414にわたる非多孔質ガス透過性材料482のセクションまたは部分を含む、細胞培養チャンバ410の追加の例を示す。図5Bは、細胞接触面480を構成し、表面480にわたる非多孔質ガス透過性材料482のセクションまたは部分を含む、細胞培養チャンバ410の底部412を示す。これらの断面または部分は、円形、正方形、長方形、三角形、他の多角形、もしくはランダムな形状、またはそのような形状の組み合わせなど、任意の形状であることができる。構造セクション502は、底部412に支持を提供するが、依然として非多孔質ガス透過性材料482の相当数のセクションまたは部分を可能にする。図5Cは、自動化細胞工学システム400のカセット402に一体化された、構造セクション502および非多孔質ガス透過性材料482のセクションまたは部分を含む細胞培養チャンバ410の組み込みを示す。

20

30

【0076】

図5D〜図5Eは、構造セクション520、ならびに細胞培養チャンバ410の底部412および／または上部414にわたる非多孔質ガス透過性材料482を含む、細胞培養チャンバ410のなおさらなる例を示す。図5D〜5Eに示される実施形態の構造セクション520は、非多孔質ガス透過性材料482の使用を増加させるが、依然として構造安定性を維持する開放セクションを有する、メッシュ、ハニカム、または同様の構造であり得る。実施形態では、構造セクション520は、非多孔質ガス透過性材料482のシートの上に挟まれて、構造剛性を提供するが、依然としてガス透過性を増加させることができる。

【0077】

図5F〜5Iは、非多孔質ガス透過性材料482を含む細胞培養チャンバを作製するために使用することができる様々な製造技術を示す。例えば、図5Fでは、非多孔質ガス透過性材料482の厚さは、それ自体が細胞層530および必要量の培地540に十分な構造支持を提供するように増加させることができる。図5Gでは、支持材料（例えば、細胞培養チャンバ410のポリスチレン）の構造セクション520を使用して、十分な支持を提供することができる。図5Hでは、この構造支持は、依然として非多孔質ガス透過性材料482の屈曲を制限するメッシュまたはハニカム構造550の形態をとることができる。本明細書に記載されるように、図5Iでは、支持構造および非多孔質ガス透過性材料482と一緒に鋳造するか、または一緒に注入して、非多孔質ガス透過性構造材料560を創出することができる。例えば、シリコン埋め込みプラスチックまたはカスタムEVO

40

50

構成を利用することができる。

【0078】

なおさらなる実施形態では、自動化細胞工学システム400で使用するためのカセット402が本明細書で提供され、本カセットは、任意選択で、細胞培養培地の貯蔵に好適な低温チャンバ404と、任意選択で、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大の実行に好適な高温チャンバ406であって、高温チャンバが、細胞培養チャンバ410を含む、高温チャンバ406と、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備える。

10

【0079】

本明細書に記載されるように、好適には、細胞培養チャンバ410は、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバであり、本細胞培養チャンバは、カセット内で実質的に平面配向で維持される。本明細書に記載されるように、「実質的に平面」は、細胞培養チャンバが、水平線の約15°以内、より好適には約10°以内、または約5°以内（すなわち、平地に対して実質的に平行）に維持されることを意味する。

【0080】

なおさらなる実施形態では、細胞培養チャンバ410は、非平面配向（例えば、水平平面配向から±25°〜45°、または約±30°）で配向されてもよく、これにより、チャンバの異なる領域で異なる細胞密度を有する沈降細胞集団が生じ得る。

20

【0081】

好適には、細胞接触面の少なくとも一部は、本明細書に記載される非多孔質ガス透過性膜を含む。

【0082】

実施形態では、細胞培養チャンバ410、ならびに好適には細胞接触面480および非多孔質ガス透過性材料482（利用される場合）は、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、および細胞の接着性を改善する表面コーティングなどからなる群から選択される表面コーティングを有する。例示的な表面コーティングは本明細書に記載されている。実施形態では、細胞培養チャンバ410、ならびに好適には細胞接触面480および非多孔質ガス透過性材料482（利用される場合）は、本明細書に記載される表面処理を含む。

30

【0083】

なおさらなる実施形態では、自動化細胞工学システム400で使用するためのカセット402が本明細書で提供され、本カセットは、任意選択で、例えば細胞培養培地の貯蔵のための低温チャンバ404と、任意選択で、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大の実行のための高温チャンバ406であって、高温チャンバが、細胞培養チャンバ410を含む、高温チャンバ406と、を備える。

【0084】

好適には、本カセットは、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路を備え、流体経路は、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する。カートリッジ402は、好適には、表面コーティング材料を細胞培養チャンバに導入するように構成されている、細胞培養チャンバに接続された流体経路460をさらに含む。そのような実施形態では、表面コーティングを導入するための流体経路は、細胞培養チャンバ上にコーティングされるコーティング材料を含むカセット内の内部構成要素（例えば、バッグ、貯留部、または容器）であり得る。他の実施形態では、流体経路は、表面コーティング材料を送達するためにシリンジ、バッグなどに取り付けるための外部バルブへのチューブまたは同様の接続であり得る。

40

【0085】

好適な実施形態では、本明細書に記載される自動化細胞工学システムで使用するための

50

細胞培養チャンバは、細胞培養チャンバの1つ以上の表面に既にコーティングされている表面コーティング材料を含む。

【0086】

しかしながら、さらなる実施形態では、表面コーティング材料は、自動化細胞工学システム内（または自動化細胞工学システムの外部）に1つ以上の流体経路を介して提供され、その後、細胞培養チャンバに加えられて、細胞培養チャンバ上で表面コーティングを生成してもよい。例えば、接着分子または他のコーティング材料は、カセット／自動化細胞工学システム内のバッグまたはチャンバ内に含まれ、その後、細胞培養チャンバ内にポンプで送られてもよい。あるいは、接着分子は、シリンジ、バッグ、または同様のデバイスを使用して、1つ以上のポートを介して細胞培養チャンバに加えてもよい。次に、コーティングを細胞培養チャンバ上で乾燥させた後、過剰分を除去し、その後、細胞培地または他のもので任意選択で洗浄して、非結合表面コーティング材料を除去し得る。

10

【0087】

本明細書に記載されるように、例示的な実施形態では、本カセットは、細胞培養物、培養培地、活性化試薬、および／またはベクター（これらの任意の組み合わせを含む）のうちの1つ以上で予め充填される。さらなる実施形態では、これらの様々な要素は、好適な注入ポートなどを介して後で加えることができる。

【0088】

本明細書に記載されるように、実施形態では、本カセットは、好適には、pHセンサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ（lactate sensor）、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、乳酸センサ（lactic acid sensor）／モニタ、および／または光学密度センサのうちの1つ以上をさらに含む。カセットはまた、1つ以上のサンプリングポートおよび／または注入ポートを含み得る。そのようなサンプリングポートおよび注入ポートの例としては、カートリッジをエレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源などの外部デバイスに接続するためのアクセスポートを挙げることができる。

20

【0089】

細胞工学システムの例示的な構成要素としては、ガス制御シール、加温ゾーン、アクチュエータ、所望の場合細胞工学システムを揺動または傾転させるためのピボット、および低温チャンバを保持するための低温ゾーンが挙げられる。バーコードリーダを含み得るユーザインタフェース、およびタッチパッドまたは他の同様のデバイスによる入力を使用して受信する能力も含まれ得る。

30

【0090】

様々なセンサ（例えば、pHセンサ、溶解酸素センサ）、ならびにサンプリング／サンプルポートおよび様々なバルブ（制御バルブ、バイパスチェックバルブ）、ならびに構成要素を接続するシリコン系チューブ構成要素を好適に含む1つ以上の流体経路が、必要に応じて配置され得る。本明細書に記載されるように、シリコン系チューブ構成要素の使用により、チューブ構成要素を通じた酸素化が可能となり、ガス移送および細胞培養物の最適な酸素化が促進される。

【0091】

いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、複数のチャンバを含む。さらなる実施形態では、本明細書に記載の細胞のための方法の活性化ステップ、形質導入ステップ、拡大ステップ、濃縮ステップ、および採取ステップの各々は、本細胞工学システムの複数のチャンバの異なるチャンバにおいて行われる。いくつかの実施形態では、細胞は、あるチャンバから別のチャンバへの移送中に実質的に乱されない。他の実施形態では、本方法のステップは、本細胞工学システムの同じチャンバにおいて行われ、本細胞工学システムにより、チャンバ環境が本方法の各ステップに必要なとされるように自動的に調整される。これにより、様々なステップ中に細胞が乱されないようにすることができる。

40

【0092】

いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、細胞培養のための可撓性のガス透過

50

性バッグと比較して、ガス交換が改善されている。いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、ガス交換ラインを含む。ガス交換ラインは、例えばシリコンなどのガス透過性材料から作製されてもよい。いくつかの実施形態では、ガス交換ラインのガス透過係数は、可撓性のガス透過性バッグに使用される材料の透過係数よりも高い。いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、細胞産生方法中に、実質的に非変形性のチャンバにわたって酸素を再循環させる。このため、いくつかの実施形態では、本細胞工学システムにおける細胞培養物の酸素レベルは、可撓性のガス透過性バッグにおける細胞培養物の酸素レベルよりも高い。酸素レベルの増加により、細胞の成長および増殖の増加がサポートされ得るため、細胞培養拡大ステップでは、より高い酸素レベルが重要になり得る。

【0093】

いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、細胞を乱すことなく、培地をチャンバにわたって継続的に再循環させる。例えば、本細胞工学システムは、細胞をチャンバの同じ領域に留めながら、栄養素を継続的に補給し、老廃物を除去し、放出されたサイトカインおよび溶解ガスをチャンバをとおして循環させることができる。継続的な循環により、細胞を乱すことなく、好材料の均一な分布および悪材料の均一な除去を改善することができ、これにより、不均一な分布によって引き起こされる局所的効果を低減する。

【0094】

いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、細胞産生方法（CAR T産生を含む）中に二酸化炭素をチャンバにわたって提供する。CO₂は、細胞の成長および増殖に重要であり得る細胞培養物中の標的pHの維持に役立ち得る。いくつかの実施形態では、本細胞工学システムは、細胞培養物のCO₂レベルを監視し、測定されたCO₂レベルに基づいて提供されるCO₂の量を調整する。例えば、細胞培養物が増加するにつれて、細胞によって産生されるCO₂の量に対応して増加する。本細胞工学システムは、提供されるCO₂の量を減少させる。細胞培養物の所望のCO₂レベルは、ユーザによって、例えば、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、または約10%のCO₂に定義され得る。本細胞工学システムは、細胞培養物の測定されたCO₂レベルに基づいて提供されるCO₂の量を常に調整しているため、本細胞工学システムは、製造プロセスにわたって所望のCO₂レベルを維持することが可能である。細胞培養物中のCO₂の量はまた、溶解したCO₂が概して溶液を酸性化することに起因して（水と反応して炭酸を形成することにより）、培養物のpHに影響を及ぼし得る。このため、細胞培養物中で一定のCO₂レベルを維持することにより、より安定したpHを得ることができる。したがって、実施形態では、細胞培養物のpHレベルは、産生プロセス中に実質的に一定のままである。さらなる実施形態では、形質導入細胞培養物のpHレベルは、増殖ステップ中に実質的に一定のままである。

【0095】

CAR T細胞産生を含む遺伝子修飾免疫細胞の産生からの収量は、活性化および形質導入効率、ならびに細胞の成長条件に影響され得る。活性化効率は、細胞と活性化試薬との間のより安定した接触により改善することができる。培養容器内にわたる細胞の運動により、細胞の不均一な分布が生じるため、活性化試薬を細胞培養チャンバに加えると、局所的効果が創出される。可撓性培養バッグとは対照的に、非変形性チャンバ内で成長した細胞は、活性化プロセス中に乱されないままであり、このことが、より高い活性化効率に寄与し得る。

【0096】

細胞培養物の増殖条件も、細胞収量を改善し得る。例えば、ガス透過性の高いチューブおよび細胞培養チャンバ内の酸素の継続的な再循環によって促進される、本細胞工学システムにおけるより高い酸素レベルにより、細胞増殖が増加してもよい。本細胞工学システムが細胞培養物の状態を常に監視し、適宜調整を行う能力も、有利であり得る。例えば、本細胞工学システムは、細胞培養物のCO₂、O₂、N₂、および／またはpHレベルを監視し、CO₂、O₂、またはN₂のレベルを調整することができる。栄養素は、適時に、かつ一貫した様式で提供され、細胞培養物に均一に分配され得る。このため、本明細書に記

10

20

30

40

50

載される、結合組織細胞、心臓細胞、網膜細胞、幹細胞、ならびにC A R T細胞を含む遺伝子修飾免疫細胞を含む様々な細胞型を産生するための自動化された方法により、手動方法、または可撓性培養バッグを利用する方法と比較して、より高い細胞収量が有利にもたらされる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載される細胞工学システムを利用して本明細書に記載の様々な細胞を自動産生するための方法は、細胞培養のための可撓性のガス透過性バッグを利用する方法よりも、少なくとも10%多い、少なくとも15%多い、少なくとも20%多い、少なくとも25%多い、少なくとも30%多い、少なくとも35%多い、少なくとも40%多い、少なくとも45%多い、少なくとも50%多い、少なくとも55%多い、少なくとも60%多い、少なくとも65%多い、少なくとも70%多い、少なくとも75%多い、少なくとも80%多い、少なくとも85%多い、少なくとも90%多い、少なくとも95%多い、または少なくとも100%多い細胞を産生する。実施形態では、本明細書に記載の方法によって産生される細胞の数は、少なくとも約20億（すなわち、 2×10^9 ）個の細胞であり、これには、少なくとも約21億個、少なくとも約22億個、少なくとも約23億個、少なくとも約24億個、少なくとも約25億個、少なくとも約26億個、少なくとも約27億個、少なくとも約28億個、少なくとも約29億個、または少なくとも約30億個の細胞が含まれる。

【0097】

図6A～6Bは、本明細書に記載される非多孔質ガス透過性膜を含む細胞培養チャンバ（図6A）で測定された溶解酸素濃度と、ガス透過性膜を含まないチャンバ（図6B）との比較を示す。示されるように、溶解酸素濃度は、ガス透過性膜を組み込んだ方でより高かった。

【0098】

図6C～6Dは、本明細書に記載される非多孔質ガス透過性膜を含む細胞培養チャンバ（図6C）で測定されたpHと、ガス透過性膜を含まないチャンバ（図6D）との比較を示す。示されるように、pHは、ガス透過性膜を組み込んだ方でより一定のままである。

【0099】

図7は、非多孔質ガス透過性材料482の厚さが酸素輸送に及ぼす影響を示す。示されるように、ガス透過性材料の厚さが減少するにつれて（すなわち、より薄い材料）、酸素透過性が増加する。

【0100】

図8は、ガス交換の増加が細胞成長に及ぼす影響を示す。ポリスチレンのみの細胞培養チャンバと、非多孔質ガス透過性材料（シリコーン）を含む細胞培養チャンバとの両方について、表面積、流体高さ、および供給プロファイルを同じに保持した。ポリスチレンのみの細胞培養チャンバの場合、ガス交換は、細胞培養チャンバ内の細胞培地の上のヘッドスペースを介してのみ提供された。非多孔質ガス透過性材料を含むチャンバは、シリコーンを介したガス交換も可能にした。ポリスチレンのみの細胞培養チャンバの最終細胞密度は15M細胞/cm²であったが、ガス透過性が増加した細胞密度は55M細胞/cm²であり、約277%増加した。

【0101】

追加の例示の実施形態

実施形態1は、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであり、本細胞培養チャンバは、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバを備え、細胞接触面の少なくとも一部は、非多孔質ガス透過性材料を含む。

【0102】

実施形態2は、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、実施形態1に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0103】

実施形態 3 は、細胞接触面が複数の別個のセクションを含み、各セクションが非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態 1 または 2 に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0104】

実施形態 4 は、細胞接触面の少なくとも約 50 % が非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態 1 または 2 に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0105】

実施形態 5 は、細胞接触面の全体が非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態 1 または 2 に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0106】

実施形態 6 は、非多孔質ガス透過性材料が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン (FEP)、またはエチルビニルオレフィン (EVO) を含む、実施形態 1 ～ 5 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

10

【0107】

実施形態 7 は、約 0.5 cm ～ 約 4 cm のチャンバ高さを有する、実施形態 1 ～ 6 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0108】

実施形態 8 は、約 50 ml ～ 約 200 ml の体積を有する、実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0109】

実施形態 9 は、細胞培養チャンバが遠心分離チャンバではない、実施形態 1 ～ 8 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

20

【0110】

実施形態 10 は、細胞接触面が、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、実施形態 1 ～ 9 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0111】

実施形態 11 は、表面コーティングが、接着分子を含む、実施形態 10 に記載の細胞培養チャンバを含む。

30

【0112】

実施形態 12 は、接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、実施形態 11 に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0113】

実施形態 13 は、細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、実施形態 1 ～ 12 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0114】

実施形態 14 は、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであり、本細胞培養チャンバは、約 0.5 cm ～ 約 4 cm のチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバを備え、細胞接触面の少なくとも 50 % が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン (FEP)、またはエチルビニルオレフィン (EVO) を含む非多孔質ガス透過性材料を含み、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも 1 つをさらに備える。

40

【0115】

実施形態 15 は、細胞接触面が、複数の別個のセクションを含み、各セクションが、非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態 14 に記載の細胞培養チャンバを含む。

50

【0116】

実施形態16は、細胞接触面の全体が、非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態14に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0117】

実施形態17は、約50ml～約200mlの体積を有する、実施形態14～16のいずれか1つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0118】

実施形態18は、細胞培養チャンバが遠心分離チャンバではない、実施形態14～17のいずれか1つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0119】

実施形態19は、細胞接触面が、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に应答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、実施形態14～18のいずれか1つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0120】

実施形態20は、表面コーティングが、接着分子を含む、実施形態19に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0121】

実施形態21は、接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、実施形態20に記載の細胞培養チャンバを含む。

【0122】

実施形態22は、細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、実施形態14～21のいずれか1つに記載の細胞培養チャンバを含む。

【0123】

実施形態23は、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであり、本カセットは、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、細胞培養チャンバは、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバは、カセット内で実質的に平面配向で維持され、細胞接触面の少なくとも一部は、非多孔質ガス透過性材料を含む。

【0124】

実施形態24は、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、実施形態23に記載のカセットを含む。

【0125】

実施形態25は、細胞接触面が、複数の別個のセクションを含み、各セクションが、非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態23または24に記載のカセットを含む。

【0126】

実施形態26は、細胞接触面の少なくとも約50%が、非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態23または24に記載のカセットを含む。

【0127】

実施形態27は、細胞接触面の全体が、非多孔質ガス透過性材料を含む、実施形態23または請求項24に記載のカセットを含む。

10

20

30

40

50

【0128】

実施形態28は、非多孔質ガス透過性材料が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン（FEP）、またはエチルビニルオレフィン（EVO）を含む、実施形態23～27のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0129】

実施形態29は、約0.5cm～約4cmのチャンバ高さを有する、実施形態23～28のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0130】

実施形態30は、約50ml～約200mlの体積を有する、実施形態23～29のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0131】

実施形態31は、カセットが、遠心分離チャンバを含まない、実施形態23～29のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0132】

実施形態32は、細胞接触面が、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、実施形態23～31のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0133】

実施形態33は、表面コーティングが、接着分子を含む、実施形態32に記載のカセットを含む。

【0134】

実施形態34は、接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、実施形態33に記載のカセットを含む。

【0135】

実施形態35は、カセットが、培養培地、活性化試薬、および任意選択でベクターで予め充填されている、実施形態23～34のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0136】

実施形態36は、pHセンサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、および／または光学密度センサのうちの1つ以上をさらに備える、実施形態23～35のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0137】

実施形態37は、1つ以上のサンプリングポートおよび／または注入ポートをさらに備える、実施形態23～36のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0138】

実施形態38は、カセットを外部デバイスに接続するためのアクセスポートをさらに備える、実施形態23～37のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0139】

実施形態39は、外部デバイスが、エレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源を含む、実施形態38に記載のカセットを含む。

【0140】

実施形態40は、流体経路のうちの1つ以上が、シリコン系チューブ構成要素であって、チューブ構成要素をとおした酸素供給を可能にする、シリコン系チューブ構成要素を含む、実施形態23～39のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0141】

実施形態41は、細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、実施形態23～40のいずれか1つに記載のカセットを含む。

【0142】

10

20

30

40

50

実施形態 4 2 は、細胞培養培地を貯蔵するための低温チャンバをさらに備える、実施形態 2 3 ~ 4 1 のいずれか 1 つに記載のカセットを含む。

【0143】

実施形態 4 3 は、自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであり、本細胞培養チャンバは、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバと、チャンバ上の表面コーティングであって、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される、チャンバ上の表面コーティングと、を含む。

10

【0144】

実施形態 4 4 は、細胞が、免疫細胞である、実施形態 4 3 に記載の細胞培養チャンバである。

【0145】

実施形態 4 5 は、細胞が、幹細胞または前駆細胞である、実施形態 4 3 に記載の細胞培養チャンバである。

【0146】

実施形態 4 6 は、幹細胞が、多能性幹細胞、造血幹細胞、または間葉系幹細胞である、実施形態 4 5 に記載の細胞培養チャンバである。

【0147】

実施形態 4 7 は、細胞が、結合組織細胞、心臓細胞、または網膜細胞である、実施形態 4 3 に記載の細胞培養チャンバである。

20

【0148】

実施形態 4 8 は、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも 1 つをさらに備える、実施形態 4 3 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

【0149】

実施形態 4 9 は、表面コーティングが、接着分子を含む、実施形態 4 3 ~ 4 8 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

30

【0150】

実施形態 5 0 は、接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、実施形態 4 9 に記載の細胞培養チャンバである。

【0151】

実施形態 5 1 は、約 0.5 cm ~ 約 4 cm の高さを有する、実施形態 4 3 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

【0152】

実施形態 5 2 は、約 50 ml ~ 約 200 ml の体積を有する、実施形態 4 3 ~ 5 1 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

40

【0153】

実施形態 5 3 は、細胞培養チャンバが遠心分離チャンバではない、実施形態 4 3 ~ 5 2 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

【0154】

実施形態 5 4 は、チャンバの一部が、表面処理をさらに含む、実施形態 4 3 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の細胞培養チャンバである。

【0155】

実施形態 5 5 は、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであり、本カセットは、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、細胞培養チャン

50

バに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、細胞培養チャンバは、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバは、カセット内で実質的に平面配向で維持され、細胞培養チャンバは、細胞を活性化する表面コーティング、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、細胞の成長を増強する表面コーティング、細胞の接着性を改善する表面コーティング、細胞を阻害する表面コーティング、培地条件に応答する表面コーティング、および制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される表面コーティングを有する。

【0156】

実施形態56は、自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであり、本カセットは、細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、高温チャンバが、細胞培養チャンバを含み、細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、細胞培養チャンバが、カセット内で実質的に平面配向で維持される、高温チャンバと、細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、流体経路が、細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、表面コーティング材料を細胞培養チャンバに導入するように構成されている、細胞培養チャンバに接続された流体経路であって、表面コーティング材料が、細胞を活性化する表面コーティング材料、細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング材料、細胞の成長を増強する表面コーティング材料、細胞の接着性を改善する表面コーティング材料、細胞を阻害する表面コーティング材料、培地条件に応答する表面コーティング材料、および制御された溶解度を有する表面コーティング材料、からなる群から選択される、流体経路と、を備える。

【0157】

実施形態57は、細胞培養培地を貯蔵するための低温チャンバをさらに備える、請求項55または56に記載のカセットである。

【0158】

実施形態58は、細胞が、免疫細胞である、実施形態55または56に記載のカセットである。

【0159】

実施形態59は、細胞が、幹細胞である、実施形態55または56に記載のカセットである。

【0160】

実施形態60は、幹細胞が、多能性幹細胞または間葉系幹細胞である、実施形態59に記載のカセットである。

【0161】

実施形態61は、細胞が、結合組織細胞、心臓細胞、または網膜細胞である、実施形態55または56に記載のカセットである。

【0162】

実施形態62は、細胞培養チャンバが、細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、実施形態55～61のいずれか1つに記載のカセットである。

【0163】

実施形態63は、表面コーティング材料が、接着分子を含む、実施形態55～62のいずれか1つに記載のカセットである。

【0164】

実施形態64は、接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、

実施形態 63 に記載のカセットである。

【0165】

実施形態 65 は、約 0.5 cm ～ 約 4 cm の高さを有する、実施形態 55 ～ 64 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0166】

実施形態 66 は、約 50 ml ～ 約 200 ml の体積を有する、実施形態 55 ～ 65 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0167】

実施形態 67 は、細胞培養チャンバが、遠心分離チャンバではなく、カセットが、遠心分離チャンバを備えない、実施形態 55 ～ 66 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0168】

実施形態 68 は、カセットが、培養培地、活性化試薬、表面コーティング材料、および任意選択でベクターで予め充填されている、実施形態 55 ～ 67 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0169】

実施形態 69 は、pH センサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、および／または光学密度センサのうちの 1 つ以上をさらに備える、実施形態 55 ～ 68 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0170】

実施形態 70 は、1 つ以上のサンプリングポートおよび／または注入ポートをさらに備える、実施形態 55 ～ 69 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0171】

実施形態 71 は、カセットを外部デバイスに接続するためのアクセスポートをさらに備える、実施形態 55 ～ 70 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0172】

実施形態 72 は、外部デバイスが、エレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源を含む、実施形態 71 に記載のカセットである。

【0173】

実施形態 73 は、流体経路のうちの 1 つ以上が、シリコン系チューブ構成要素であって、チューブ構成要素をとおした酸素供給を可能にする、シリコン系チューブ構成要素を含む、実施形態 55 ～ 72 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0174】

実施形態 74 は、細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、実施形態 55 ～ 73 のいずれか 1 つに記載のカセットである。

【0175】

本明細書に記載の方法および用途に対する他の好適な修正および適合を、実施形態のいずれかの範囲から逸脱することなく行うことができることは、関連する技術分野の当業者には容易に明らかとなるであろう。

【0176】

ある特定の実施形態を本明細書で例示および記載しているが、特許請求の範囲は、記載および図示される部分の特定の形態または配置に限定されるべきではないことが理解される。本明細書では、例示的な実施形態が開示され、特定の用語が用いられるものの、それらは、一般的かつ説明的な意味でのみ使用され、限定を目的とするものではない。上記の教示に照らして、実施形態の修正および変形が可能である。したがって、実施形態は、具体的に記載される以外の方法で実施されてもよいことが理解される。

【0177】

本明細書中に言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、各個々の刊行物、特許、または特許出願が参照により組み込まれると具体的かつ個別に示されるのと同程度まで、参照により本明細書に組み込まれる。

本発明は以下の態様であってもよい。

10

20

30

40

50

項目 1 .

自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、
低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバ、を備え、
前記細胞接触面の少なくとも一部が、非多孔質ガス透過性材料を含む、細胞培養チャン
バ。

項目 2 .

前記細胞培養チャンバが、
(a) 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再
循環ポートとして構成されている遠位ポート、
(b) 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに
(c) 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポ
ート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、項目 1 に記載の細胞培養チャンバ。

10

項目 3 .

前記細胞接触面が、複数の別個のセクションを含み、各セクションが、前記非多孔質ガ
ス透過性材料を含む、項目 1 または 2 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 4 .

前記細胞接触面の少なくとも約 50 % が、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 1
または 2 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 .

前記細胞接触面の全体が、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 1 または 2 に記載
の細胞培養チャンバ。

20

項目 6 .

前記非多孔質ガス透過性材料が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン (F E
P)、またはエチルビニルオレフィン (E V O) を含む、項目 1 ～ 5 のいずれか一項に記
載の細胞培養チャンバ。

項目 7 .

約 0.5 cm ～ 約 4 cm のチャンバ高さを有する、項目 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の
細胞培養チャンバ。

項目 8 .

約 50 ml ～ 約 200 ml の体積を有する、項目 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の細胞培
養チャンバ。

30

項目 9 .

前記細胞培養チャンバが、遠心分離チャンバではない、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記
載の細胞培養チャンバ。

項目 10 .

前記細胞接触面が、
i . 細胞を活性化する表面コーティング、
i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、
i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、
i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、
v . 細胞を阻害する表面コーティング、
v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および
v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される前記
細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、項目 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の細胞
培養チャンバ。

40

項目 11 .

前記表面コーティングが、接着分子を含む、項目 10 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 12 .

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、項目 11 に記
載の細胞培養チャンバ。

50

項目 1 3 .

前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、項目 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 1 4 .

自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、

約 0 . 5 c m ～ 約 4 c m のチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバ、を備え、

前記細胞接触面の少なくとも 5 0 % が、シリコーン、フルオロエチレンポリプロピレン (F E P) 、またはエチルビニルオレフィン (E V O) を含む非多孔質ガス透過性材料を含み、

前記細胞培養チャンバが、

(a) 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、

(b) 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに

(c) 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも 1 つをさらに備える、細胞培養チャンバ。

項目 1 5 .

前記細胞接触面が、複数の別個のセクションを含み、各セクションが、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 1 4 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 1 6 .

前記細胞接触面の全体が、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 1 4 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 1 7 .

約 5 0 m l ～ 約 2 0 0 m l の体積を有する、項目 1 4 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 1 8 .

前記細胞培養チャンバが、遠心分離チャンバではない、項目 1 4 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 1 9 .

前記細胞接触面が、

i . 細胞を活性化する表面コーティング、

i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、

i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、

i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、

v . 細胞を阻害する表面コーティング、

v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および

v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される前記細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、項目 1 4 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 2 0 .

前記表面コーティングが、接着分子を含む、項目 1 9 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 2 1 .

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、項目 2 0 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 2 2 .

前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、項目 1 4 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 2 3 .

自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、

(a) 細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャン

10

20

30

40

50

バであって、前記高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、

(b) 前記細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、前記流体経路が、前記細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに前記細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、を備え、

前記細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さおよび細胞接触面を有する平坦で非可撓性のチャンバであり、前記細胞培養チャンバが、前記カセット内で実質的に平面配向で維持され、

前記細胞接触面の少なくとも一部が、非多孔質ガス透過性材料を含む、カセット。

項目 2 4 .

前記細胞培養チャンバが、

i . 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、

ii . 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに

iii . 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、項目 2 3 に記載のカセット。

項目 2 5 .

前記細胞接触面が、複数の別個のセクションを含み、各セクションが、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 2 3 または 2 4 に記載のカセット。

項目 2 6 .

前記細胞接触面の少なくとも約 5 0 % が、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 2 3 または 2 4 に記載のカセット。

項目 2 7 .

前記細胞接触面の全体が、前記非多孔質ガス透過性材料を含む、項目 2 3 または 2 4 に記載のカセット。

項目 2 8 .

前記非多孔質ガス透過性材料が、シリコン、フルオロエチレンポリプロピレン (F E P) 、またはエチルビニルオレフィン (E V O) を含む、項目 2 3 ～ 2 7 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 2 9 .

約 0 . 5 c m ～ 約 4 c m のチャンバ高さを有する、項目 2 3 ～ 2 8 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 0 .

約 5 0 m l ～ 約 2 0 0 m l の体積を有する、項目 2 3 ～ 2 9 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 1 .

前記カセットが、遠心分離チャンバを含まない、項目 2 3 ～ 2 9 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 2 .

前記細胞接触面が、

i . 細胞を活性化する表面コーティング、

ii . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、

iii . 細胞の成長を増強する表面コーティング、

iv . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、

v . 細胞を阻害する表面コーティング、

vi . 培地条件に応答する表面コーティング、および

vii . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される前記細胞接触面上の表面コーティングをさらに含む、項目 2 3 ～ 3 1 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 3 .

10

20

30

40

50

前記表面コーティングが、接着分子を含む、項目 3 2 に記載のカセット。

項目 3 4 .

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、項目 3 3 に記載のカセット。

項目 3 5 .

前記カセットが、培養培地、活性化試薬、および任意選択でベクターで予め充填されている、項目 2 3 ～ 3 4 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 6 .

p H センサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、および／または光学密度センサのうちの 1 つ以上をさらに備える、項目 2 3 ～ 3 5 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 7 .

1 つ以上のサンプリングポートおよび／または注入ポートをさらに備える、項目 2 3 ～ 3 6 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 8 .

前記カセットを外部デバイスに接続するためのアクセスポートをさらに備える、項目 2 3 ～ 3 7 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 3 9 .

前記外部デバイスが、エレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源を含む、項目 3 8 に記載のカセット。

項目 4 0 .

前記流体経路のうちの 1 つ以上が、シリコン系チューブ構成要素であって、前記チューブ構成要素をとおした酸素供給を可能にする、シリコン系チューブ構成要素を含む、項目 2 3 ～ 3 9 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 4 1 .

前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、項目 2 3 ～ 4 0 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 4 2 .

細胞培養培地を貯蔵するための低温チャンバをさらに備える、項目 2 3 ～ 4 1 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 4 3 .

自動化細胞工学システムで使用するための細胞培養チャンバであって、

(a) 低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバと、

(b) 前記チャンバ上の表面コーティングであって、

i . 細胞を活性化する表面コーティング、

i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、

i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、

i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、

v . 細胞を阻害する表面コーティング、

v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および

v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される、前記チャンバ上の表面コーティングと、を含む、細胞培養チャンバ。

項目 4 4 .

前記細胞が、免疫細胞である、項目 4 3 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 4 5 .

前記細胞が、幹細胞または前駆細胞である、項目 4 3 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 4 6 .

前記幹細胞が、多能性幹細胞、造血幹細胞、または間葉系幹細胞である、項目 4 5 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 4 7 .

10

20

30

40

50

前記細胞が、結合組織細胞、心臓細胞、または網膜細胞である、項目 4 3 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 4 8 .

前記細胞培養チャンバが、

(a) 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、

(b) 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに

(c) 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも 1 つをさらに備える、項目 4 3 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

10

項目 4 9 .

前記表面コーティングが、接着分子を含む、項目 4 3 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 0 .

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、項目 4 9 に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 1 .

約 0 . 5 c m ～ 約 4 c m の高さを有する、項目 5 3 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 2 .

約 5 0 m l ～ 約 2 0 0 m l の体積を有する、項目 4 3 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

20

項目 5 3 .

前記細胞培養チャンバが、遠心分離チャンバではない、項目 4 3 ～ 5 2 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 4 .

前記チャンバの一部が、表面処理をさらに含む、項目 4 3 ～ 5 3 のいずれか一項に記載の細胞培養チャンバ。

項目 5 5 .

自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、

30

(a) 細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャンバであって、前記高温チャンバが、細胞培養チャンバを含む、高温チャンバと、

(b) 前記細胞培養チャンバに接続された 1 つ以上の流体経路であって、前記流体経路が、前記細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに前記細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1 つ以上の流体経路と、を備え、

前記細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、前記細胞培養チャンバが、前記カセット内で実質的に平面配向で維持され、

前記細胞培養チャンバが、

i . 細胞を活性化する表面コーティング、

40

i i . 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング、

i i i . 細胞の成長を増強する表面コーティング、

i v . 細胞の接着性を改善する表面コーティング、

v . 細胞を阻害する表面コーティング、

v i . 培地条件に応答する表面コーティング、および

v i i . 制御された溶解度を有する表面コーティング、からなる群から選択される表面コーティングを有する、カセット。

項目 5 6 .

自動化細胞工学システムで使用するためのカセットであって、

(a) 細胞培養の活性化、形質導入、および／または拡大を実行するための高温チャン

50

バであって、前記高温チャンバが、細胞培養チャンバを含み、

前記細胞培養チャンバが、低いチャンバ高さを有する平坦で非可撓性のチャンバであり、前記細胞培養チャンバが、前記カセット内で実質的に平面配向で維持される、高温チャンバと、

(b) 前記細胞培養チャンバに接続された1つ以上の流体経路であって、前記流体経路が、前記細胞培養チャンバ内の細胞を乱すことなく、再循環、老廃物の除去、ならびに前記細胞培養チャンバへの均質なガス交換および栄養素の分配を提供する、1つ以上の流体経路と、

(c) 表面コーティング材料を前記細胞培養チャンバに導入するように構成されている、前記細胞培養チャンバに接続された流体経路であって、前記表面コーティング材料が、

i. 細胞を活性化する表面コーティング材料、

ii. 細胞内の生物学的経路を調節する表面コーティング材料、

iii. 細胞の成長を増強する表面コーティング材料、

iv. 細胞の接着性を改善する表面コーティング材料、

v. 細胞を阻害する表面コーティング材料、

vi. 培地条件に応答する表面コーティング材料、および

vii. 制御された溶解度を有する表面コーティング材料、からなる群から選択される、流体経路と、を備える、カセット。

項目57.

細胞培養培地を貯蔵するための低温チャンバをさらに備える、項目55または56に記載のカセット。

項目58.

前記細胞が、免疫細胞である、項目55または56に記載のカセット。

項目59.

前記細胞が、幹細胞である、項目55または56に記載のカセット。

項目60.

前記幹細胞が、多能性幹細胞または間葉系幹細胞である、項目59に記載のカセット。

項目61.

前記細胞が、結合組織細胞、心臓細胞、または網膜細胞である、項目55または56に記載のカセット。

項目62.

前記細胞培養チャンバが、

(a) 前記細胞培養チャンバからの気泡の除去を可能にするように、および／または再循環ポートとして構成されている遠位ポート、

(b) 再循環入口ポートとして機能するように構成されている中央ポート、ならびに

(c) 細胞除去のためのドレインポートとして機能するように構成されている近位ポート、のうちの少なくとも1つをさらに備える、項目55～61のいずれか一項に記載のカセット。

項目63.

前記表面コーティング材料が、接着分子を含む、項目55～62のいずれか一項に記載のカセット。

項目64.

前記接着分子が、フィブロネクチンまたは修飾フィブロネクチンである、項目63に記載のカセット。

項目65.

約0.5cm～約4cmの高さを有する、項目55～64のいずれか一項に記載のカセット。

項目66.

約50ml～約200mlの体積を有する、項目55～65のいずれか一項に記載のカセット。

10

20

30

40

50

項目 6 7 .

前記細胞培養チャンバが、遠心分離チャンバではなく、前記カセットが、遠心分離チャンバを備えない、項目 5 5 ～ 6 6 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 6 8 .

前記カセットが、培養培地、活性化試薬、前記表面コーティング材料、および任意選択でベクターで予め充填されている、項目 5 5 ～ 6 7 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 6 9 .

p H センサ、グルコースセンサ、酸素センサ、乳酸センサ、細胞計数モジュール、二酸化炭素センサ、および／または光学密度センサのうちの 1 つ以上をさらに備える、項目 5 5 ～ 6 8 のいずれか一項に記載のカセット。

10

項目 7 0 .

1 つ以上のサンプリングポートおよび／または注入ポートをさらに備える、項目 5 5 ～ 6 9 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 7 1 .

前記カセットを外部デバイスに接続するためのアクセスポートをさらに備える、項目 5 5 ～ 7 0 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 7 2 .

前記外部デバイスが、エレクトロポレーションユニットまたは追加の媒体源を含む、項目 7 1 に記載のカセット。

20

項目 7 3 .

前記流体経路のうちの 1 つ以上が、シリコーン系チューブ構成要素であって、前記チューブ構成要素をとおした酸素供給を可能にする、シリコーン系チューブ構成要素を含む、項目 5 5 ～ 7 2 のいずれか一項に記載のカセット。

項目 7 4 .

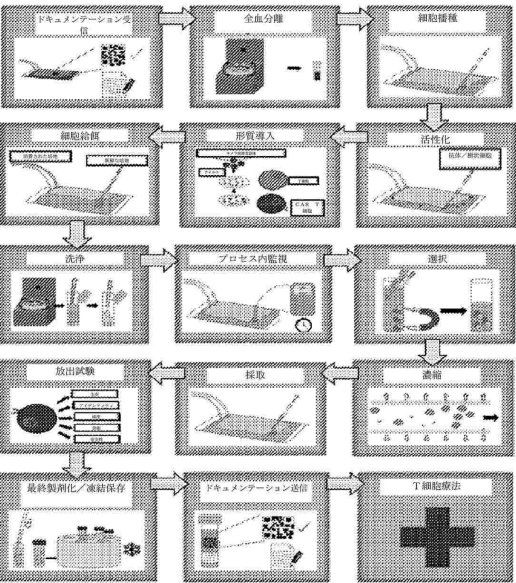
前記細胞接触面の一部が、表面処理をさらに含む、項目 5 5 ～ 7 3 のいずれか一項に記載のカセット。

30

40

50

【図面】
【図 1】



【図 2】

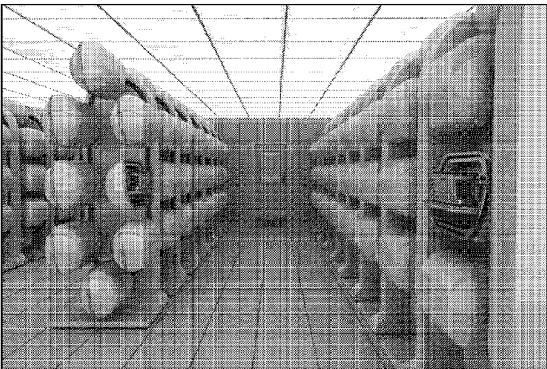
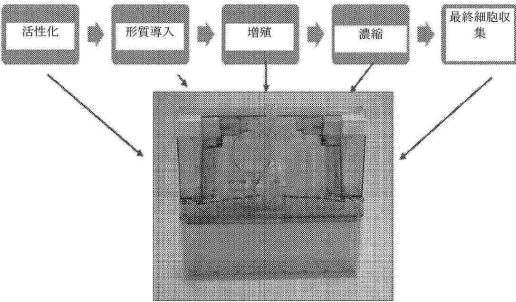


FIG. 2

【図 3】



【図 4 A】

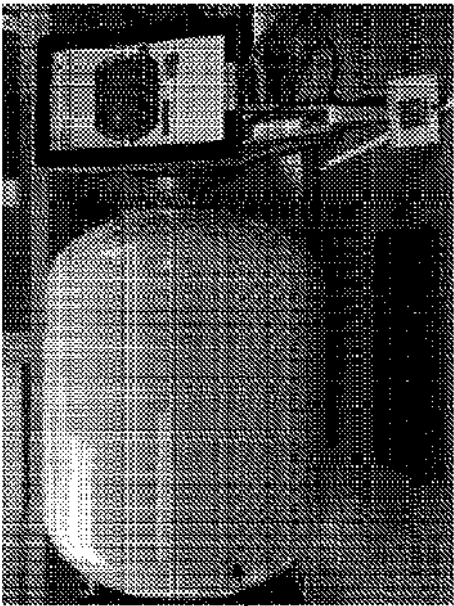
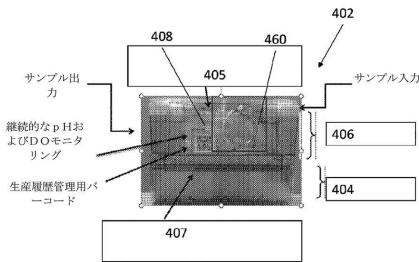


FIG. 4A

400

【図 4 B】



【図 4 C】

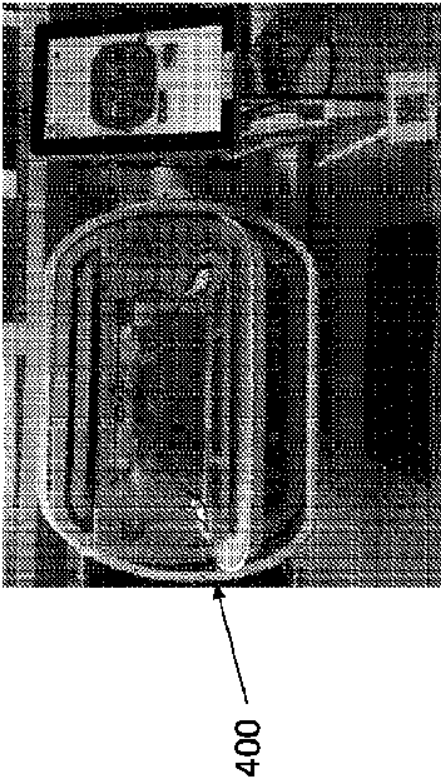


FIG. 4C

【図 4 D - 4 E】

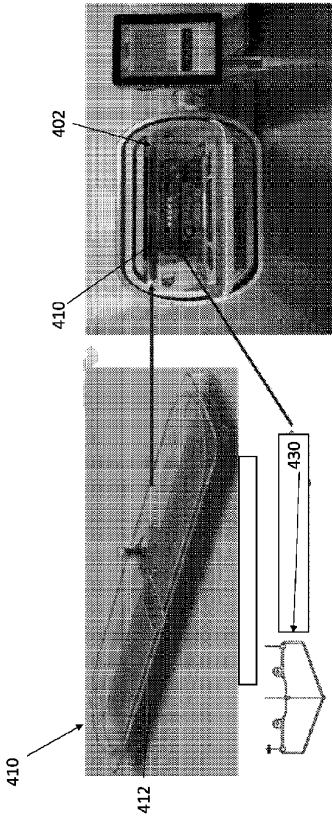


FIG. 4E

FIG. 4D

【図 4 F】

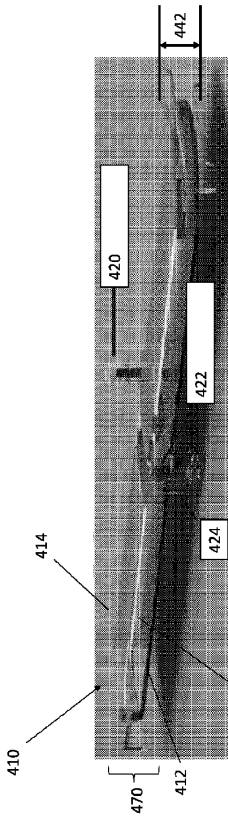


FIG. 4F

10

20

30

40

50

【図 4 G】

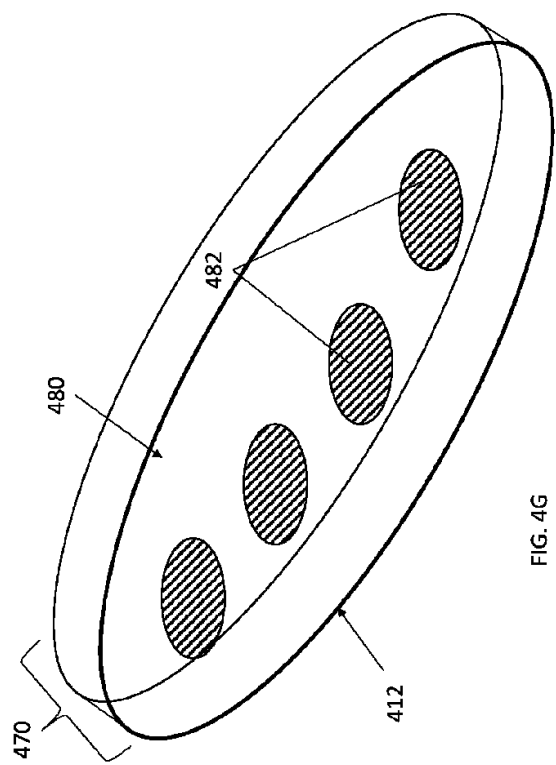


FIG. 4G

【図 4 H】

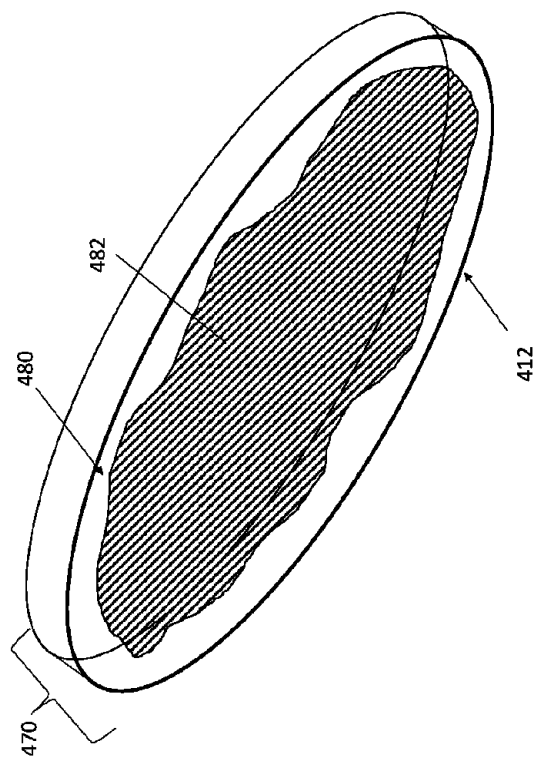


FIG. 4H

【図 5 A】

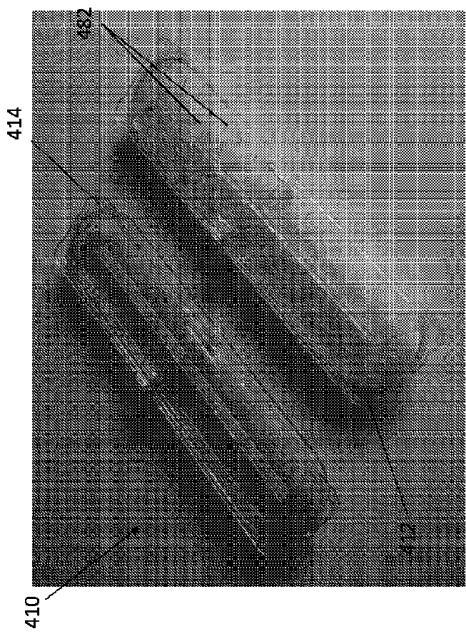


FIG. 5A

【図 5 B】

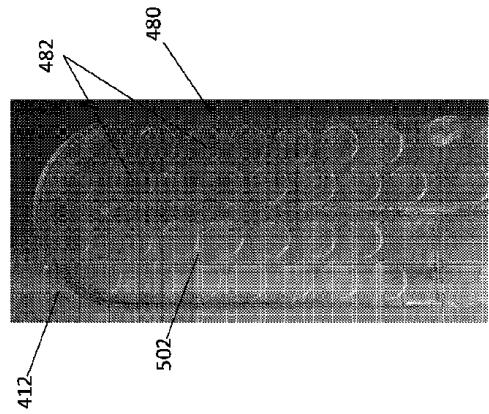


FIG. 5B

10

20

30

40

50

【図 5 C】

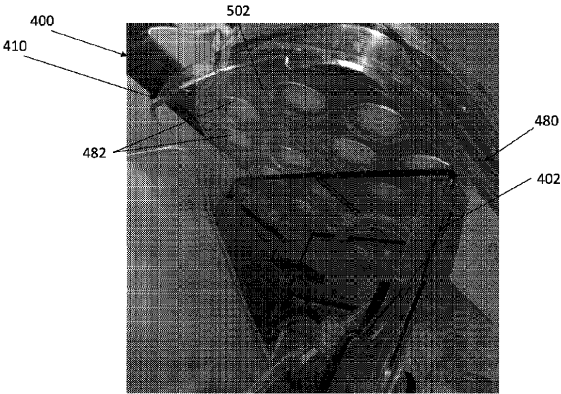
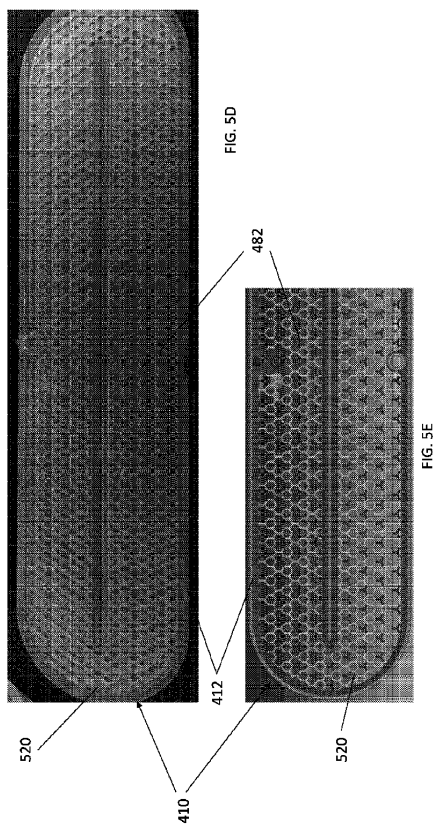
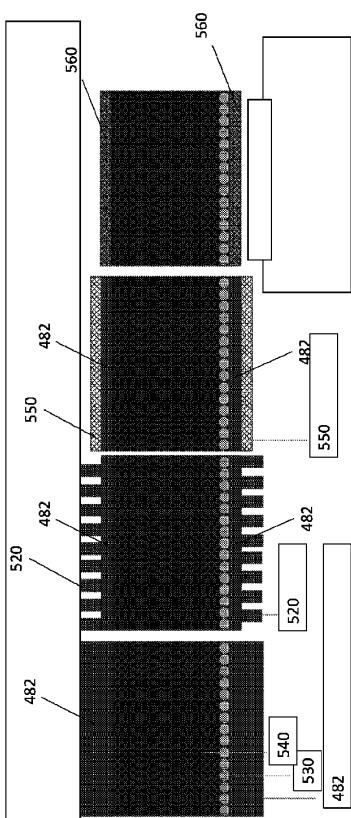


FIG. 5C

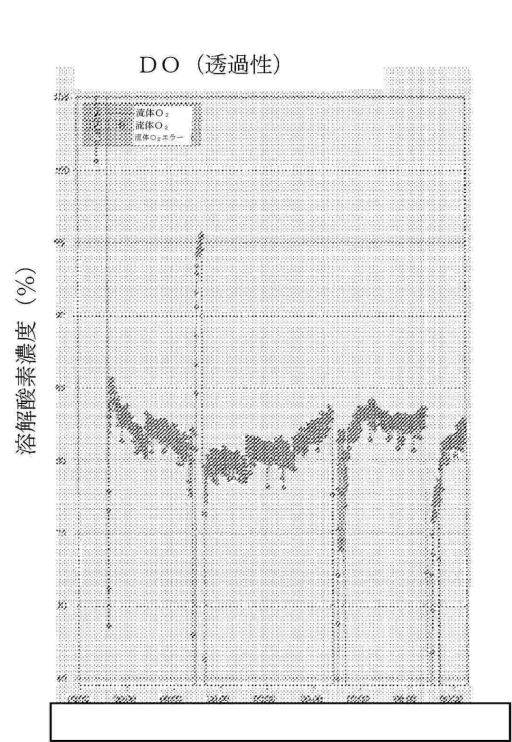
【図 5 D - 5 E】



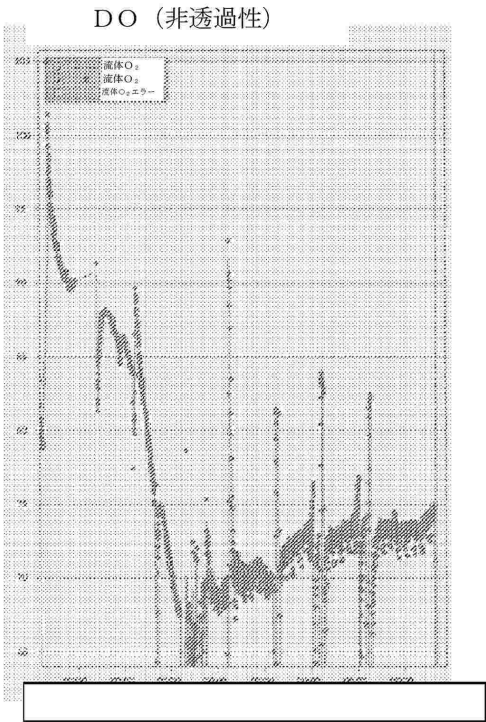
【図 5 F - 5 I】



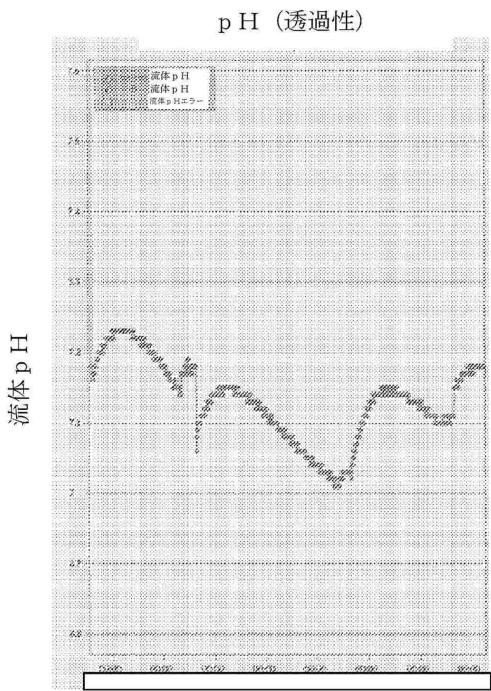
【図 6 A】



【図 6 B】



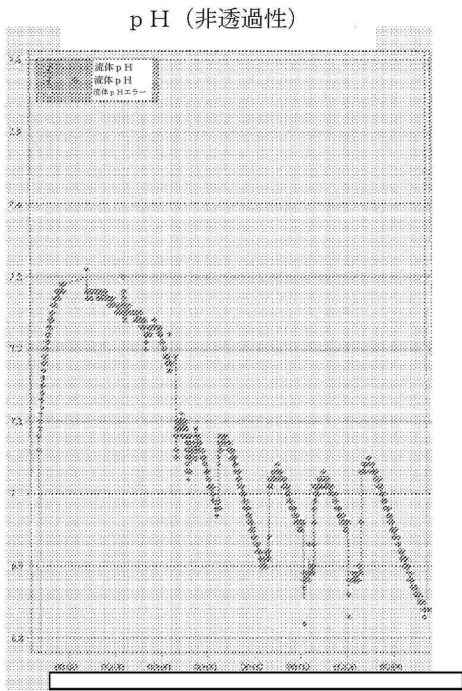
【図 6 C】



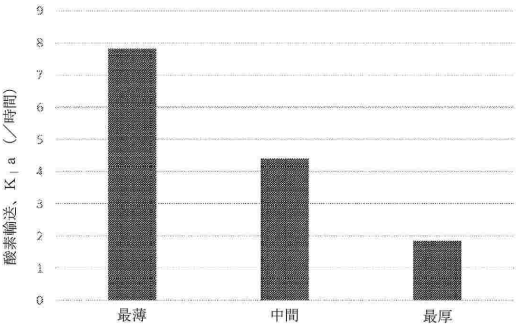
10

20

【図 6 D】



【図 7】

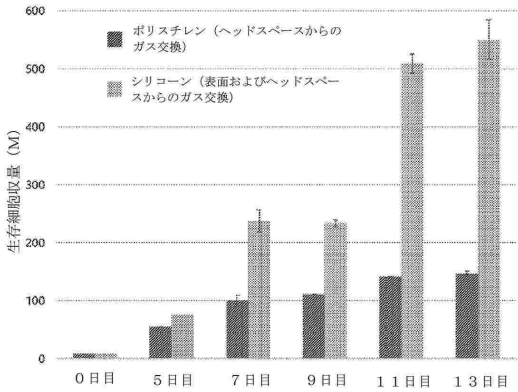


30

40

50

【図 8】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (74)代理人 100162352
弁理士 酒巻 順一郎
- (74)代理人 100123995
弁理士 野田 雅一
- (72)発明者 トレーナー, ヌアラ
カナダ, オンタリオ州 ケー7ケー 6ゼット1, キングストン, ダルトン アベニュー 369
, オクタン バイオテック インコーポレーテッド
- (72)発明者 アブラハム, エイタン
アメリカ合衆国, メリーランド州, ウォーカーズヴィル, ビッグス フォード ロード 883
0, ロンザ ウォーカーズヴィル, インコーポレーテッド
- (72)発明者 スミス, ティモシー
カナダ, オンタリオ州 ケー7ケー 6ゼット1, キングストン, ダルトン アベニュー 369
, オクタン バイオテック インコーポレーテッド
- (72)発明者 ヒューイット, マシュー
アメリカ合衆国, メリーランド州, ウォーカーズヴィル, ビッグス フォード ロード 883
0, ロンザ ウォーカーズヴィル, インコーポレーテッド
- (72)発明者 シー, ヤーリン
アメリカ合衆国, メリーランド州, ウォーカーズヴィル, ビッグス フォード ロード 883
0, ロンザ ウォーカーズヴィル, インコーポレーテッド
- (72)発明者 パープラ, ケリー
カナダ, オンタリオ州 ケー7ケー 6ゼット1, キングストン, ダルトン アベニュー 369
, オクタン バイオテック インコーポレーテッド
- (72)発明者 マクロビー, チェイス
カナダ, オンタリオ州 ケー7ケー 6ゼット1, キングストン, ダルトン アベニュー 369
, オクタン バイオテック インコーポレーテッド
- 審査官 太田 雄三
- (56)参考文献 国際公開第2019/046766 (WO, A2)
米国特許出願公開第2019/0249130 (US, A1)
特開2004-147555 (JP, A)
特表2014-506801 (JP, A)
国際公開第2012/118799 (WO, A2)
米国特許出願公開第2017/0349872 (US, A1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12M 3/00
C12M 1/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)