

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-509658
(P2011-509658A)

(43) 公表日 平成23年3月31日(2011.3.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	B 2 G 0 5 9
G O 1 N 21/17 (2006.01)	G O 1 N 21/17	A 4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁)

(21) 出願番号 特願2010-542397 (P2010-542397)
 (86) (22) 出願日 平成21年1月10日 (2009. 1. 10)
 (85) 翻訳文提出日 平成22年8月26日 (2010. 8. 26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2009/030686
 (87) 国際公開番号 W02009/089512
 (87) 国際公開日 平成21年7月16日 (2009. 7. 16)
 (31) 優先権主張番号 61/020, 310
 (32) 優先日 平成20年1月10日 (2008. 1. 10)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 510191218
 ヒューレル コーポレーション
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 902
 11, ビバリー ヒルズ, ウィルシャ
 ー ブールバード 8840, 2エメデ
 ィー フロアー
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫システムモデリング・デバイスおよび方法

(57) 【要約】

生物学的障壁を培養するように構成された障壁コンポーネント、免疫細胞を培養するように構成された免疫コンポーネント、および障壁コンポーネントおよび免疫コンポーネント間の1つまたはそれ以上のコンポーネント間マイクロ流体接続部を備える免疫モデリング・システムを用いて試験作用物質に対する免疫反応を検出するためのデバイスおよび方法が提供される。本システムは、システムの障壁コンポーネントにおいて生物学的障壁を培養すること、システムの免疫コンポーネントにおいて免疫細胞を培養すること、試験作用物質を生物学的障壁に適用すること、および試験作用物質に対する免疫反応を検出するために免疫細胞をモニターすることを提供する。

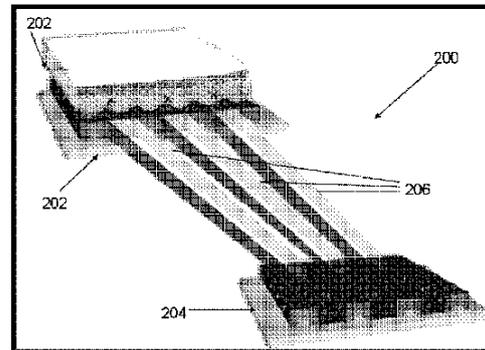


FIG. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生物学的障壁を備える細胞を培養するように構成された第 1 の培養区画；
 免疫細胞を培養するように構成された第 2 の培養区画；
 該第 1 および第 2 の区画間の 1 つまたはそれ以上の区画間マイクロ流体接続部；および
 デバイス内の細胞を見るように構成された光学観察コンポーネント
 を備える過敏性モデリング・デバイス。

【請求項 2】

前記 1 つまたはそれ以上の流体接続部は、前記第 1 の区画から前記第 2 の区画への細胞
 の遊走を可能にする、請求項 1 に記載のデバイス。

10

【請求項 3】

前記第 1 の区画に細胞をさらに含み、該細胞は、皮膚、角膜、肺の内層、消化管の内層
 、尿生殖路の内層および人工皮膚から選択される、請求項 1 に記載のデバイス。

【請求項 4】

前記第 1 の区画に樹状細胞をさらに含む、請求項 3 に記載のデバイス。

【請求項 5】

前記第 2 の区画に免疫細胞をさらに含む、請求項 3 に記載のデバイス。

【請求項 6】

T 細胞が前記第 2 の区画における唯一の細胞である、請求項 5 に記載のデバイス。

【請求項 7】

前記第 1 の培養区画は、細胞増殖を支持するように構成されたマトリックスをさらに備
 える、請求項 1 に記載のデバイス。

20

【請求項 8】

培地を供給するマイクロ流体チャンネルにより相互接続された、第 1 および第 2 の培養
 コンポーネントの複数ユニットをさらに備える、請求項 1 に記載のデバイス。

【請求項 9】

試験作用物質に対する過敏性反応を検出する方法であって、
 生物学的障壁を備える細胞を含む第 1 の培養区画；
 免疫細胞を含む第 2 の培養区画；および
 流体連絡を可能にする、前記第 1 および第 2 の区画間の 1 つまたはそれ以上の区画間マ
 イクロ流体接続部；
 を備える、過敏性モデリング・デバイスを提供すること；
 該区画間に流れる培養培地を用いて、該細胞を該デバイス内で培養すること；
 該生物学的障壁に試験作用物質を適用すること；
 過敏性反応を検出するために、該デバイスにおいて該細胞をモニターすること
 を含む方法。

30

【請求項 10】

生物学的障壁を備える細胞が、皮膚、角膜、肺の内層、消化管の内層、尿生殖路の内層
 および人工皮膚から選択される細胞である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

生物学的障壁が、培養ケラチノサイトを含む人工皮膚を含む、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 12】

生物学的障壁が、真皮層をさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

検出される過敏性反応が、遅延型接触過敏性である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

試験作用物質が、薬物、化粧品、栄養補助食品、合成化学物質、香料、潤滑剤、石鹸、
 シャンプー、ヘア製品、日焼け止め、ローションまたはオイルを含む、請求項 7 に記載の
 方法。

【請求項 15】

50

免疫細胞はT細胞を含み、前記第1の区画中に樹状細胞をさらに含む、請求項7に記載の方法。

【請求項16】

モニタリングは、樹状細胞の遊走を観察または測定することを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

モニタリングは、T細胞の増殖を決定することを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項18】

モニタリングは、細胞の遊走、およびT細胞の増殖の両方を評価することを含む、請求項15に記載の方法。

10

【請求項19】

モニタリングは、遊走する細胞の遊走速度、およびT細胞の増殖速度を測定することを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項20】

生物学的障壁は、消化管の内層からの細胞を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項21】

前記樹状細胞の前記遊走は、第1または第2の区画、或いは1つまたはそれ以上の流体接続部に位置する光学観察コンポーネントを通じてモニターされる、請求項16に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

(相互参照)

本願は、2008年1月20日に出願された米国仮特許出願第61/020,310号の利益を主張する。米国仮特許出願第61/020,310号は参考により本明細書中に援用される。

【背景技術】

【0002】

生物の免疫システムは、一様態において、一般に先天免疫システムおよび適応免疫システムを通じて、生物を感染から保護するのに役立っている。単純なレベルでは、生物は、

30

【0003】

機械的、化学的および生物学的障壁を含めて、障壁のいくつかのタイプが、生物を感染から保護している。動物の皮膚は、生物が遭遇するかもしれない暴露環境要因の前線における、生物学的障壁の例である。火傷被害患者のために有望な代用皮膚として、同種異系の無細胞真皮上に培養された自己ケラチノサイトを用いる複合皮膚交換が利用されてきた

40

【0004】

食作用は、細胞性先天免疫の重要な特徴である。食細胞に分類される細胞は、作用物質、病原体もしくは粒子を飲み込むか、または消費することができる。食細胞は、動物の体、例えば、皮膚を日常的に巡回し病原体を探し出している。

【0005】

樹状細胞(DC: Dendritic cell)は、環境に曝露された動物の組織に関連して見出される食細胞である。樹状細胞は、例えば、皮膚、角膜、鼻、肺、消化管および尿生殖路に見出すことができる。樹状細胞は、T細胞介在性免疫反応の誘発に關与する有力な抗原提示細胞として知られている。重要な樹状細胞の1つのタイプは、ランゲル

50

ハンス細胞である。最近、樹状細胞を確立し維持するための無血清閉鎖培養系が開発された（非特許文献2）。

【0006】

過敏性は、動物自身の組織に損傷を引き起こす免疫反応の一種である（非特許文献3、<http://pathmicro.med.sc.edu/ghaffar/hyper00.htm>で入手可能；最終アクセス 1 10 08）。過敏性反応は、I～IV型と呼ばれる4クラスに分類される。（上記を参照）I型過敏性は、しばしばアレルギーと関連し、マスト細胞および好塩基球から放出されるIgEが介在する即時型またはアナフィラキシー性反応を伴う。（上記を参照）II型過敏性または抗体依存性（もしくは細胞毒性）過敏性は、IgGおよびIgM抗体が介在する。（上記を参照）III型過敏性は、様々な組織に堆積された（抗原、補体タンパク質、並びにIgGおよびIgM抗体の集合体を含む）免疫複合体によって引き起こされうる。（上記を参照）IV型過敏性は、細胞介在性または遅延型過敏性と呼ばれ、多くの自己免疫疾患および感染症に關与するが、接触皮膚炎（例えば、ツタウルシ）を伴うこともある。（上記を参照）過敏性反応には、例えば、T細胞、単球、並びに（樹状細胞およびマクロファージを含めて）食細胞が介在する。

10

【0007】

環境要因免疫システムと生物の過敏性との相互作用を理解することは、医学的にも商業的にも当を得ている。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Robert L. Sheridan et al. Burns 2000. 27: 421-424

【非特許文献2】Christina M. Celluzzi and Craig Welbon. 2003. Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research, 12(5): 575-585

【非特許文献3】Ghaffar, Abdul: Hypersensitivity Reactions. Microbiology and Immunology Online Textbook. USC School of Medicine (2006)

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

一様態において、生物学的障壁を培養するように構成された障壁コンポーネント；免疫細胞を培養するように構成された免疫コンポーネント；および障壁コンポーネントおよび免疫コンポーネント間の1つまたはそれ以上のコンポーネント間マイクロ流体接続部を備える、免疫モデリング・デバイスが開示される。本免疫モデリング・デバイスの障壁コンポーネントは、細胞増殖を支持するように構成されたマトリックスをさらに備えることができる。

40

【0010】

一実施形態において、本免疫モデリング・デバイスは、デバイス内の細胞を見るように構成された光学観察コンポーネントをさらに備える。細胞の観察は、T細胞の細胞運動もしくは増殖、または両方の組み合わせを含むことができる。細胞運動は、樹状細胞のような免疫細胞の1つの区画から別の区画への運動であってもよい。光学観察コンポーネントは、いずれかの区画がまたはコンポーネント間マイクロ流体接続部に位置することができる。

【0011】

一実施形態において、本デバイスは、高スループット・スクリーニングのために、相互接続用マイクロ流体（microfluidic）チャンネルとともに多重化された複

50

数の免疫モジュール (modules) を備える。

【 0012 】

本開示の別の様態は、試験作用物質に対する免疫反応を検出する方法であって、生物学的障壁を培養するように構成された障壁コンポーネント、免疫細胞を培養するように構成された免疫コンポーネント、並びに障壁コンポーネントおよび免疫コンポーネント間の1つまたはそれ以上のコンポーネント間マイクロ流体接続部を備える、免疫モデリング・システムを提供すること；該システムの障壁コンポーネントにおいて生物学的障壁を培養すること；該システムの免疫コンポーネントにおいて免疫細胞を培養すること；試験作用物質を生物学的障壁に適用すること；および該試験作用物質に対する免疫反応を検出するために免疫細胞をモニターすること、を備える方法を含む。

10

【 0013 】

本デバイスおよび方法に用いるための生物学的障壁は、皮膚、角膜、肺の内層、消化管の内層、尿生殖路の内層、および人工皮膚からなる群から選択することができる。一実施形態において、生物学的障壁は、培養ケラチノサイトを備える人工皮膚である。生物学的障壁は、真皮層をさらに備えることもできる。一実施形態において、検出される免疫反応は、遅延型接触過敏性である。

【 0014 】

免疫細胞は、T細胞および樹状細胞、またはリンパ節からの免疫細胞のような任意の免疫細胞とすることができる。一実施形態において、免疫細胞は、T細胞を備え、生物学的障壁は、人工皮膚を備え、樹状細胞をさらに備える。別の実施形態において、免疫コンポーネントに含まれる唯一の細胞は、T細胞を備え、樹状細胞は、評価の間に試験作用物質に対する反応の過敏性を示し、免疫コンポーネントへと遊走することができる。

20

【 0015 】

本デバイスは、免疫または過敏性反応を引き起こす能力について、試験作用物質を評価するために利用することができる。試験されるとよい試験作用物質のいくつかは、薬物、化粧品、栄養補助食品、合成化学物質、香料、潤滑剤、石鹸、シャンプー、ヘア製品、日焼け止め、ローションまたはオイルを含む。

【 0016 】

免疫細胞のモニタリングは、T細胞の増殖のモニタリングを備えることができる。別の実施形態において、免疫細胞のモニタリングは、樹状細胞の遊走のモニタリングを備えることができる。一実施形態において、細胞の速度または量、および/またはT細胞の増殖速度または量をモニターするために、1つまたはそれ以上の光学観察ウィンドウを利用することができる。樹状細胞の遊走および/またはT細胞の増殖をモニターするために、他の手段を用いることもできる。

30

【 0017 】

参照による組み込み

この明細書に挙げられる刊行物、特許、および特許出願はすべて、あたかも個々の刊行物、特許、または特許出願がそれぞれ参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されるのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0018 】

本発明の新規な特徴は、添付の請求項において詳細に提示される。本発明の原理を利用した実例を示す、実施形態が説明される以下の詳細な記載、および添付図面を参照することにより、本発明の特徴および利点のより良好な理解が得られるであろう。

40

【 図面の簡単な説明 】

【 0019 】

【 図 1 】 一実施形態、免疫モデリング・システムの概略図である。

【 図 2 】 一実施形態、免疫モデリング・システムの斜視図である。

【 図 3 】 免疫モデリング・システムの障壁コンポーネントの斜視図である。

【 図 4 】 免疫細胞および勾配を含んだ、免疫モデリング・システムの障壁コンポーネントの斜視図である

50

【図5】免疫細胞を含んだ、免疫モデリング・システムの免疫コンポーネントの斜視図である。

【図6】免疫モデリング・システムの一実施形態の断面図である。

【図7】ポンプコントローラおよびリザーバを含んだ、免疫モデリング・システムの集積化された実施形態の斜視図である。

【図8】本発明の走査センシング・システムで用いるための機器と通信する、論理デバイスの代表的な例を示すブロック図である。

【図9】キットの代表的な例を示すブロック図である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

10

本明細書に記載される発明は、生物学的障壁における免疫機能のモデリングに関する。例となる生物学的障壁は、限定なしに、動物およびヒトの皮膚、角膜、肺の内層、消化管の内層、および尿生殖路の内層を含む。

【0021】

本発明がさらに詳細に記載される前に、当然のことながら、記載される特定の方法論、デバイス、解決法または機器はもちろん変化しうるので、これらの発明は、かかる方法、デバイス、解決法または機器には制限されない。同じく当然のことながら、本明細書に用いる用語法は、特定の実施形態のみを記載するためのものであり、本発明の範囲を制限する意図はもたない。

【0022】

20

単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「前記、該(the)」の使用は、コンテキストが明らかに別の指示をしなければ、複数形への参照を含む。

【0023】

値の範囲が列挙される場所では、当然のことながら、その範囲について列挙される上下限値の間に介在する各整数値およびその各端数も、かかる値の間の各部分的範囲とともに具体的に開示される。任意の範囲の上下限値は、独立に該範囲に含めることも除外することもでき、両限界値のいずれかもしくは両方を含むか、またはいずれも含まない各範囲も、本発明に包含される。議論される値が、固有の限界値をもつ場合、例えば、成分が0から100%までの濃度で存在しうる場合、或いは水溶液のpHが1から14の範囲にありうる場合、これら固有の限界値は、具体的に開示される。値が明確に列挙される場合、当然のことながら、列挙される値とほぼ等しい数量または量である値も、それらが基づく範囲と同様に本発明の範囲内にある。組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素からなる下位の組み合わせもそれぞれ具体的に開示され、本発明の範囲内にある。逆に、異なった要素または要素群が開示される場合、それらの組み合わせも開示される。発明の任意の要素が、複数の代替物をもつとして開示される場合、それぞれの代替物が単独で、または他の代替物と任意に組み合わせで除外されるその発明の例も本明細書に開示される；発明の1つより多い要素が、かかる除外を有することができ、かかる除外をもつ要素のすべての組み合わせも本明細書に開示される。

30

【0024】

別に定義されるか、またはコンテキストが明確に別の指示をしなければ、本明細書に用いられる技術および科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味をもつ。本発明を実行または試験するために、本明細書に記載されるのと同様または等価な任意の方法および物質を用いることができるが、好ましい方法および物質が以下に記載される。

40

【0025】

本明細書に開示されるデバイスおよび方法は、例えば、創薬および薬物開発に有用であり、かつインビボの代理試験を含む消費者製品および工業製品の試験に役立つ。

【0026】

(動物試験に代わる手段が利用できる場合に、化粧品の動物試験およびかかる製品のマーケティングを禁止し、かつ3つの特定カテゴリーに関する化粧品の動物試験を2009

50

年および2013年までに全面的に禁止することを定めた)欧州理事会指令76/768/EECを受けて、化粧品のインビトロ試験における厳密な予測形式の必要性は、新たに緊急レベルに達した。本明細書に記載されるのは、マウスの局所リンパ節アッセイ(「LLNA: Local Lymph Node Assay」)に代わる信頼性の高い手段である。マウスのLLNAでは、感作試験物質への曝露後に、局所リンパ節においてリンパ球の増殖が生じる。LLNAでは、耳介リンパ節で増加した(耳 曝露部位 から流れ出る)リンパ球の増殖を測定する。この増殖は、リンパ節細胞DNAへの[3H]チミジンの取り込みをLLNAを用いて測定することにより評価することができる。代わりに、リンパ節細胞DNAへのチミジン類似体、プロデオキシウリジン(BrdU)の取り込みをフローサイトメトリー法を用いて測定することによっても、この増殖を評価することができる。

10

【0027】

集積化された免疫システム・モデリング:

図1は、本明細書に開示される免疫モデリング・システムの一様態の説明図である。図示されるように、免疫モデリング・システム100は、コンポーネント間マイクロフルイディックス106を手段として免疫コンポーネント104と流体連絡された、障壁コンポーネント102を含むことができる。1つの障壁コンポーネント102、および1つの免疫コンポーネント104が示されているに過ぎないが、複数の各コンポーネントを流体連絡して配置することができると考えられる。同様に、3つの区画間マイクロフルイディックス106が示されているが、流体連絡を提供するために、単一か、または複数の区画間マイクロフルイディックスを採用することができると考えられる。かくして、流体連絡された障壁コンポーネント102および免疫コンポーネント104からなる、並列または大規模並列配置が可能と考えられる(図示されていない)。

20

【0028】

図1にさらに示されるように、(例えば、媒質用)リザーバ110および(例えば、システム100における流体の再循環を含めて、流体の流れを供給し制御するための)ポンプ/コントローラ108から、障壁コンポーネント102および免疫コンポーネント104への流体連絡のためのマイクロフルイディックス112が提供される。システム100は、所望通りに複数のポンプ/コントローラ108機能、および複数のリザーバ110機能を含むことができると考えられる。加えて、本システムは、流体の流れを制御するために必要に応じて、マイクロフルイディックスまたは区画間マイクロフルイディックス中に1つまたはそれ以上のバルブを含むことができる(図示されていない)。

30

【0029】

一様態において、インビトロの遅延型接触過敏性デバイスおよびその使用方法が提供される。特定の実施形態において、本免疫モデリング・システムは、インビトロのLLNA代用物を提供する。本システムは、例えば、1)障壁機能および皮膚代謝を提供するための生育可能な表皮、2)樹状細胞/ランゲルハンス細胞区画であって、これらの細胞がその中で活性化されうる細胞区画、3)および遊走によるT細胞の活性化を可能にするであろうT細胞区画、活性化された樹状細胞(例えば、ランゲルハンス細胞)を含むことができる。これらのコンポーネントおよび他の機能が一緒になって、例えば、遅延型接触過敏性の測定に役立つインビトロのLLNA代用物である、免疫システム・モデルを作り上げることができる。

40

【0030】

同じく図1に示されるのは、媒質のような液体を供給するための例となるポンプ108およびリザーバ110、少なくとも1つの障壁コンポーネント102および免疫コンポーネント104である。ポンプ108およびリザーバ110は、マイクロフルイディックス112、または複数のマイクロフルイディックス112を通じて、コンポーネントと流体連絡されることができる。マイクロフルイディックス112は、再循環機能を備えることもできる。ポンプ108およびリザーバ110は、より大きいサイズの流体部品、例えば、パイプのような任意の方法によってコンポーネントと流体連絡されることも、本明細書

50

において想定される。一実施形態において、ポンプ108は、自動的に、または内部もしくは外部供給源からのプロトコルにより、或いはユーザにより手動で制御される。

【0031】

一実施形態において、生物学的障壁を含んだ区画を、免疫またはT細胞を含んだ区画に接続するために利用されるマイクロ流体用マイクロチャンネルは、約10ミクロン未満の幅および高さとすることができる。

【0032】

図2に示されるように、免疫モデリング・デバイス200は、3次元の免疫コンポーネント204と流体連絡された、3次元の障壁コンポーネント202を含むことができる。図示されるように、区画間マイクロフルイディックス206は、障壁コンポーネント202および免疫コンポーネント204間の流体連絡を提供することができる。障壁コンポーネント202の一実施形態の詳細が図3に示される。一実施形態において、本免疫モデリング・デバイスは、デバイス内の細胞運動を見るように構成された光学観察コンポーネントをさらに備える。細胞運動は、樹状細胞のような免疫細胞の、1つの区画から別の区画への運動とすることができる。観察コンポーネントは、光透過性とすることができる。一実施形態において、観察コンポーネントは、区画間マイクロフルイディックス206である。別の実施形態において、観察コンポーネントは、免疫モデリング・デバイスと接触しているか、または光通信される画像化コンポーネントをさらに備える。1つの区画から別の区画への免疫細胞の運動を観察するための画像化コンポーネントとして、例えば、CCDカメラ、顕微鏡、CMOSセンサ、または光ダイオードを用いることができるであろう。複数の障壁区画202、または複数の免疫区画204のいずれかをもつ実施形態において、デバイスは、複数の観察コンポーネントを含むことができる。

10

20

【0033】

いくつかの実施形態では、単一の免疫システム・モジュールを利用することができる；しかしながら、生物学的障壁に対する生理学的影響について、多数の物質を、高スループット・スクリーンを通じて迅速にスクリーニングできることは極めて有用である。いくつかの実施形態において、単一プラットフォームまたはチップ上に多くの免疫モジュールを提示するために、免疫モジュールは、マイクロアレイとして作製される。単一プラットフォームまたはチップ上の1つ、2つ、10、12、20、24、50、70、96、100、384、または1536、或いは任意の数の個別免疫モジュールを利用することができる。かかるアレイを用いて、本明細書に記載される免疫モデリング・デバイスを動物に代わる試験システムとして、潜在的な感作または毒性を生細胞でスクリーニングするための高スループット・フォーマットに整備することができる。

30

免疫モデリング・デバイスのマイクロアレイは、チップ上のアドレス可能な位置に様々なモジュール・コンポーネントを有する、様々な実施形態をもつことができる。例えば、障壁コンポーネントまたは免疫コンポーネントのような、本明細書に記載されるデバイスの個別コンポーネントは、アレイのユニットを構成することができ、すなわち完成した免疫モジュールは、マイクロアレイ上に提示される多くのうちの単一ユニットを代表することができる。1つまたはそれ以上の観察コンポーネントを通じて免疫コンポーネントと流体連絡された障壁コンポーネントは、アレイのユニットを構成することができる。1つまたはそれ以上の観察コンポーネントを通じて複数の免疫コンポーネントと流体連絡された複数の生物学的障壁コンポーネントも、アレイのユニットを構成することができる。多くの生物学的障壁コンポーネントを、1つまたは少数の免疫コンポーネントとマイクロチャンネル連結して構成することができ、或いは1つまたは少数の生物学的障壁を、多くの免疫コンポーネントとマイクロチャンネル連結して構成することもできる。一実施形態において、アレイは、個別の生物学的障壁に対して別々に、または個々に適用され、単一の免疫コンポーネントに供される、複数の試験作用物質の複合的な反応を測定するためにモニターされる。このように、多数の物質の複合的な効果について試験することができるが、なお各個別の試験作用物質のいくつかの効果についても分離することもできる。

40

【0034】

50

アレイの各ユニットの流量を独立に制御するために利用されるマイクロ流体システムによって、アレイ上の細胞に媒質を効率的に送達することが容易になる。本システムは、マイクロアレイの個別モジュールに異なった流量が提供されるように、システムのバルブおよびセンサを利用して制御することができる。本システムは、免疫モジュールの代謝要求に対してカスタマイズされた媒質送達を制御するための、フィードバック・モニタリング・システムを含むことができる。

【0035】

図3は、免疫モデリング・デバイスの障壁コンポーネント302を示す。障壁コンポーネント302は、基板303を含むことができる。基板303の例は、限定なしに、ガラス、ポリマー、シリコン、および金属を含む。基板303は、細胞増殖に適した物質を含むことができる。基板303は、単一または複数の媒質アクセス・チャンネル305を含むことができる。別の実施形態において、媒質アクセス・チャンネル305は、基板303の表面上に位置する。媒質アクセス・チャンネル305の形状は、図3の例となる実施形態に示されるような角管、または当業者に明らかであろう任意の他の形状とすることができる。複数の媒質アクセス・チャンネル305間の間隔、または免疫モデリング・デバイスの端部に、少なくとも1つの免疫コンポーネント・アクセス・チャンネル307を含むことができる。免疫コンポーネント・アクセス・チャンネル307は、デバイスの免疫コンポーネントと流体連絡されることができる。

【0036】

一実施形態において、媒質アクセス・チャンネル305は、媒質を生物学的障壁311に供給できる単一または複数の流体用ビア309を含むことができる。媒質アクセス・チャンネル305は、複数の流体用ビア309を有することができる、いくつかの実施形態において、媒質アクセス・チャンネル305の表面上に複数の流体用ビア309を有することができると考えられる。生物学的障壁311は、結合組織および上皮細胞のような、任意の生物学的実体を含むことができる。一実施形態において、生物学的障壁311は、上皮細胞を含む。生物学的障壁311は、表皮組織および真皮層の少なくとも1つをさらに備えることができると考えられる。別の実施形態において、真皮組織は、表皮組織および媒質アクセス・チャンネル305間に位置する。生物学的障壁311は、線維芽細胞を備えることもできる。別の実施形態において、生物学的障壁311は、ランゲルハンス細胞のような樹状細胞を含む。さらに別の実施形態では、生物学的障壁311および媒質アクセス・チャンネル305の間にポリマー・マトリックスが位置する（示されていない）。該マトリックスは、障壁コンポーネントの基板に付着させることができ、例えば、生物学的障壁用の付着機構として機能することができる。

【0037】

図4は、免疫モデリング・デバイスにおける障壁コンポーネント402のまた別の例となる実施形態を示す。この図には、基板403上に位置する複数の媒質アクセス・チャンネル405における流体用ビア409が示されている。媒質は、媒質アクセス・チャンネル405を用いて生物学的障壁411に供給することができる。図4の例となる実施形態において、複数の媒質アクセス・チャンネル405間の領域および/または容積は、免疫コンポーネント・アクセス・チャンネル407として示されている。生物学的障壁411は、生物学的障壁411により培養され、そこから遠ざかって移動することが可能な、樹状細胞414のような、食細胞を備えることができる。例となる樹状細胞は、ランゲルハンス細胞である。樹状細胞414が障壁から遠ざかって移動するように、樹状細胞に影響を与える物質勾配416を、生物学的障壁411内に形成することができる。例えば、樹状細胞414が障壁から遠ざかって移動する反応を障壁内で生成する物質を、生物学的障壁411の表面に接触させることができる。別の実施形態において、勾配416は、生物学的障壁411を誘引物質と連通させることによって該層中に形成される。該誘引物質は、樹状細胞414が、生物学的障壁411から遠ざかってその中を移動する勾配416を作り出す。一実施形態において、樹状細胞414は、免疫コンポーネント・アクセス・チャンネル407内を生物学的障壁411から遠ざかって移動する。

10

20

30

40

50

【0038】

図5は、免疫モデリング・デバイスの例となる免疫コンポーネント504を示す。一実施形態において、免疫コンポーネント504は、基板503および少なくとも一つの媒質アクセス・チャンネル505を含む。媒質アクセス・チャンネル505は、単一または複数の流体用ピア509を備えることができ、媒質は、そこを通じて該チャンネルから流出することができる。免疫細胞（T細胞、または免疫リンパ節細胞）517は、媒質アクセス・チャンネル505および/または基板503と流体連絡された状態で培養されることができる。一実施形態において、T細胞または免疫リンパ節細胞517は、基板503または媒質アクセス・チャンネル505に付着している。別の実施形態において、基板503は、障壁コンポーネントについて先に論議されたのと同様にマトリックスを含む。複数の媒質アクセス・チャンネル505間の領域または容積、或いは基板の端部は、単一または複数のT細胞区画またはリンパ節区画チャンネル518を含むことができる。

10

【0039】

免疫モデリング・デバイス600の一実施形態が図6に示される。例となるデバイスは、生物学的障壁611および障壁用基板603を含んだ障壁区画、免疫用基板619および免疫細胞（T細胞または免疫リンパ節細胞）617を含んだ免疫区画615、障壁区画インタフェース623、免疫区画インタフェース621、およびマイクロフルイディックス612を含む。この例となる実施形態において、免疫モデリング・デバイス600は、デバイスを構築するために用いることができる複数の層を含む。障壁区画は、免疫区画（免疫用基板619）とは別の基板（障壁用基板603）の部分であるかまたはそれに付着している。これらの基板は、同じかまたは異なった材料を備えてもよい。一実施形態において、基板は、互いに接着される。別の実施形態において、基板は、互いに流体連絡される。

20

【0040】

図7は、コンポーネント間マイクロフルイディックス706を手段として免疫コンポーネント704と流体連絡された障壁コンポーネント702を含む、集積化された免疫モデリング・システム700の本明細書に記載される様態を示す。一実施形態において、集積化システム700は、基板703上に位置するかまたはその部分として位置する。システムは、マイクロフルイディックス712を通じて、リザーバ710からシステムのコンポーネントに流体を提供するためのポンプ708も備えることができる。集積化された免疫モデリング・システム700に役立つ流体の例は、限定なしに、細胞培養培地を含む。一実施形態において、マイクロフルイディックス712は、コンポーネントの媒質アクセス・チャンネルをリザーバ710に接続し、リザーバ710は、ポンプ708を手段として、媒質をチャンネルおよびコンポーネントに供給することができる。別の実施形態において、マイクロフルイディックス712は、毛細管作用により媒質をシステムのコンポーネントに供給する。コンポーネントに液体を供給するためのマイクロフルイディックス712は、所望通りに流体の流れに影響を与えるために、流体抵抗720を備えることができる。

30

【0041】

図7の例となる実施形態のような一実施形態において、集積化された免疫モデリング・システム700は、免疫システムの反応をモデル化するために利用される。例えば、上皮のような生物学的障壁層を、障壁コンポーネント702上に培養または配置することができる。生物学的障壁の健全性を維持するために、マイクロフルイディックス712を通じて媒質を供給することができる。生物学的障壁は、表皮および真皮を含む人工皮膚のような上皮とすることができ、人体における皮膚をより緊密にシミュレートするために該上皮を環境に暴露することができる。一実施形態において、人工皮膚は、半透膜上に維持される。免疫システムをモデル化するために、試験物質を生物学的障壁の表面に適用することができる。該試験物質は、次には樹状細胞のような免疫細胞を、生物学的障壁内で活性化させるか、または生物学的障壁から遠ざかって遊走させる（或いは、例えば誘引または忌避物質を用いて遊走するように誘導する）。樹状細胞は、システムの免疫コンポーネント7

40

50

04と流体連絡されることができる。免疫コンポーネント704は、インビボの免疫システムをモデル化するために、T細胞のような誘引性の免疫系細胞を備えることができる。樹状細胞が1つのコンポーネントから他へ移動して勾配が形成されるときに、樹状細胞の運動を測定または観察し、生物学的障壁に適用された物質の免疫反応を決定することができる。代わりに、樹状細胞の活性化の結果としてT細胞の増殖を測定してもよい。

【0042】

一実施形態において、本明細書に記載される免疫モデリング・デバイスの検出方法は、T細胞の活性化の測定と併せて、樹状細胞の化学遊走速度を備える。化学遊走速度は、免疫コンポーネントに向かって遊走する細胞数によって測定することができ、一方でT細胞の活性化は、細胞増殖の度合い、またはT細胞由来のサイトカインが分泌される程度によって測定することができる。例えば、増殖のかかるレベルを数量化するために、蛍光ベースの細胞標識を利用することができる。本明細書に記載される免疫モデリング・デバイスは、化学遊走速度をT細胞の活性化の速度または度合いと結び付けることにより、相対的な感作性、および/または細胞反応を生み出す感作試験物質の濃度に関する情報を提供することができる。同じくこれらの速度を結び付けることにより、細胞反応を引き起こす試験作用物質の閾値レベルを決定することが可能である。両パラメータの解析を利用して、より正確で動的な評価が行われる。例えば、生物学的障壁コンポーネントに様々な物質濃度を適用することができ、樹状細胞の遊走およびT細胞の活性化の間の、反応速度のような、細胞動力学における濃度に依存した変化を数量化することができる。かかる解析により、インビボ使用のための調製において許容しうる試験作用物質の感作性および/または閾値レベルの決定が促進される。一実施形態において、遊走する細胞の遊走速度、およびT細胞の増殖速度が測定される。代わりに、遊走する細胞の遊走（遊走する細胞数）、およびT細胞の増殖レベルの両方の量が測定されてもよい。

10

20

【0043】

集積化された免疫モデリング・システム700で免疫反応を引き起こす可能性がある試験物質の例は、限定なしに、薬物、化粧品、栄養補助食品、合成化学物質、香料、潤滑剤、石鹸、シャンプー、ヘア製品、日焼け止め、ローション、およびオイルを含む。

【0044】

生物学的障壁は、皮膚、角膜、肺の内層、消化管の内層、尿生殖路の内層、または培養ケラチノサイトを含む人工皮膚のような、任意の生物学的障壁からの細胞とすることができる。

30

【0045】

生物学的障壁のいずれかを用いて試験作用物質をスクリーニングし、過敏性反応を特定することが可能である。例えば、試験デバイスにおける生物学的障壁として、角膜からの細胞を利用することができる。同様に、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、または原発性硬化性胆管炎のような状態で、試験作用物質を感度についてスクリーニングするために、デバイスにおける生物学的障壁として消化管からの細胞を用いることができる。生物学的障壁を形成するために体の異なった生理的領域から特定の細胞を選択することにより、スクリーニング・プロセスを個別調整し、様々な疾患または状態、および様々な生物システムについて試験作用物質の過敏性を分析することが可能である。

40

【0046】

ケラチノサイト「人工皮膚」成分：

ここに記載される実施形態の1つの目的は、生育できる表皮モデルとして人工皮膚を提供することである。かかる人工皮膚を実現するために、ケラチノサイト培養について当技術分野で知られる標準的な技術を用いることができる。一例において、初代ケラチノサイトはヒト包皮サンプルから得ることができ、沈降した培養物を気液界面に上昇させて層状培養物を発達させることができる。別の例では、再建皮膚モデルを代用してもよい。例えば、Skin Ethic Laboratoriesによって記載されたREALSKIN FTまたはEpiSkinを用いることができる(http://www.skinethic.com/_int/_en/index.aspxを参照；ウェブサイトの

50

最終アクセス 1 4 0 9)。ケラチノサイトの成長および発達をモニター/追跡するために、増殖および分化用マーカー（例えば、Ki67、involucrinなど）を用いることができる。

【0047】

人工皮膚の多くの特徴は、限定なしに、（例えば、透過性の調査を通じた）障壁機能の評価、代謝の評価、および人工皮膚における層状組織の成熟化の評価を含めて評価することができる。人工皮膚の障壁機能は、例えば、細胞培養培地への単純な添加、または人工皮膚の上に配置された色素飽和フィルタ経由の局所的な適用のいずれかによって評価することができる。障壁機能は、例えば、ケラチノサイト単層から3次元層状表皮へと発達するいくつかの段階で、蛍光色素の透過性をモニターすることにより評価することができる。色素の透過性は、例えば、非蛍光色素を用いたHPLC手法、或いは蛍光色素を用いた共焦点顕微鏡法によって決定することができる。皮膚層における代謝は、例えば、第1級アミノ基を含んだ化合物（例えば、pアミノ安息香酸、ベンゾカイン、およびアゾ減色製品）を、例えば、ベンゾ[a]ピレンおよび/または7-エトキシマリリンのような代謝されない対照化合物とともに用いてモニターすることができる。

10

【0048】

樹状細胞/T細胞成分：

本発明の別の目的は、免疫系成分と障壁層との相互作用モデルとして、樹状細胞および/またはT細胞成分を提供することである。一実施形態において、樹状細胞を培養し、かつそれらの遊走を、例えば、DIC対物レンズ、落射蛍光照明、およびCCDカメラを装備した倒立顕微鏡を用いて微速度撮影顕微鏡法により視覚化するために、区画、セル、チャンバまたはチャンネルが提供される。本明細書に記載されるデバイスを用いて、遊走する活性化樹状細胞を観察できると考えられる。例えば、培養された人工皮膚の障壁層から樹状細胞が遊走するときそれらを顕微鏡で観察できるであろう。観察は、障壁コンポーネント、コンポーネント間マイクロ流体接続部および免疫コンポーネントのいずれか、またはすべてで生じうるであろう。

20

【0049】

特定の実施形態において、樹状細胞は、下流における同種異系刺激のために他の免疫細胞（例えば、T細胞）を含んだ、区画、セル、チャンバまたはチャンネルに向かって化学遊走する。この実施形態において、2つの細胞タイプは、相互接続された個別の区画、セル、チャンバまたはチャンネルにおいて培養することができる。相互接続は、限定なしに、チャンネル、マイクロチャンネル、チューブ、導管などを含む、流体接続の任意の形態とすることができると考えられる。培養および相互接続される数または細胞タイプは、2つのみに制限すべきではない。細胞タイプ間に所望の相互作用を提供する構成において、複数の免疫系細胞成分（例えば、3以上、または4以上など）を培養することができると考えられる。

30

【0050】

免疫系成分と障壁層との相互作用を調査するために、樹状細胞に加えて、またはその代わりに、他の食細胞タイプ、例えば、マクロファージおよび/または好中球が、樹状細胞について本明細書に記載されるようでありうると考えられる。

40

【0051】

T細胞による樹状細胞の同種異系刺激は、例えば、当技術分野でよく知られる蛍光法を用いて評価することができる。細胞の遊走およびT細胞の増殖の分析は、様々な方法を通じて評価することができる。一実施形態において、細胞を視覚的に観察するために光学的に透明な領域がデバイスに提供される。第1の区画、第2の区画、および1つまたはそれ以上の相互接続用マイクロ流体チャンネルを含む様々な位置でデバイスに集積化された、1つまたはそれ以上のかかる光学ウィンドウが存在してもよい。顕微鏡を用いて、遊走する細胞の速度および数、並びに増殖するT細胞の速度または数を観察することができる。

他の実施形態において、本明細書に記載されるデバイスは、1つまたはそれ以上の生物学的障壁に対する物質の影響を示すのに役立つバイオマーカーを特定するために、他の方

50

法を利用することができる。障壁コンポーネント外へ遊走する樹状細胞は、当技術分野で知られる分析方法によって特徴づけることができる。有用な分析方法は、RNAの発現レベル、遺伝物質の内容、糖タンパク質の組成、および細胞が作り出す生物物質を分析するために一般に用いられる方法を含む。分析方法の非限定の例は、ポリメラーゼ連鎖反応、DNA配列決定、サザンブロット法、ノーザンブロット法、ウエスタンブロット法、マイクロアレイ、2D電気泳動、およびイムノアッセイを含む。

【0052】

一実施形態において、問題の物質が生物学的障壁コンポーネントに適用される。遊走する樹状細胞は、生物学的障壁コンポーネントの外部または内部で収集されるか、さもなければ特定され、遊走する細胞の特性を決定することができる。例えば、そこから収集された細胞のタンパク質発現プロファイル进行分析することができるであろう。タンパク質プロファイルは、通常の、すなわち静止した樹状細胞の、代表的なタンパク質プロファイルと比較され、特異的に発現したタンパク質、或いは上記の収集された樹状細胞に一意的に関連付けられるタンパク質が、バイオマーカーとして特定される。別の実施形態において、本明細書に記載されるデバイスを用いて特定されたバイオマーカーが提供され、樹状細胞による検出が実質的に可能なレベルにある物質の存在が示される。さらにまた別の実施形態において、バイオマーカーのレベルが予測値と関連付けられ、それによって物質の相対的な感作性が示される。試験作用物質、および生物学的障壁コンポーネントに対するその効果に関するスクリーニングを提供するために、遊走する樹状細胞の活性化レベルを評価することができる。一実施形態において、本デバイスは、遊走する樹状細胞をもつ生物学的障壁のみを含んでもよく、遊走する樹状細胞は、活性化について評価することができる。

10

20

【0053】

一実施形態において、本デバイスの免疫コンポーネントは、リンパ節に存在する細胞のような他の細胞とともに、T細胞を備えることができる。別の実施形態において、免疫コンポーネントは、分析の初めにT細胞のみを備え、区画中にいかなる付加的な細胞も存在しない。T細胞は、従来の支持体、または細胞増殖を促進するように処方されたマトリックス上に、2D層として培養されることもでき、またはT細胞は、当技術分野で知られる従来の培養技術を用いて、懸濁培地に培養されることもできる。分析の間に、生物学的障壁区画または層からの樹状細胞は、免疫区画または層へと遊走することができる。

30

【0054】

有利なことに、一実施形態において、本システムは、移動する細胞における分子、作用物質、または(例えば、化学遊走物質の)化合物の、濃度勾配のロッキング(またはフォーカシング)を提供する。これを実現するために、特定の実施形態において、勾配の位置および傾きをリアルタイムで調整する付加的な能力をもつ、マイクロ流体チャンネル中に勾配を確立することができる。関連する実施形態において、本システムの制御は、例えば、移動する細胞の位置および形状の変化に伴って勾配の位置および傾きを調整する、コンピュータ・コントローラを含むことにより提供することができる。かかるコンピュータ制御を通じて、ケモカイン刺激の時間および空間成分を分離することが可能な、フィードバック・システムを実現することができる。さらに、移動する細胞における濃度勾配の傾きおよび位置は、オンチップパルプ・システムを用いてマイクロ流体チャンネルの内部で制御できると考えられる。該パルプは、例えば、方向性をもつ遊走における細胞の物理的変位、細胞形状の変化、または信号伝達プロセスに参与する蛍光標識分子の発現レベルを含むことができるフィードバック・ループを通じて、コンピュータ制御することができる。

40

【0055】

提供される樹状細胞は、ヒト血液、並びに成熟する(例えば、CD83、CD1aなどを発現する)ように誘導しうる、MUTZ 3のような、樹状型の細胞株から得ることができる。遊走する細胞を、形態の変化についてモニターすることができ、成熟、抗原取り込み、抗原提示および/またはT細胞活性化のレベルについて精査することができる。

50

【0056】

非限定の一例として、勾配分子は、ケモカイン・リガンド(CCL19)/MIP3 およびCCL21/SLC、リンパ節(LN: lymph node)および他の免疫細胞によって構成的に発現され、共通のケモカイン・レセプターCCR7を共有する2つのケモカインとすることができる。

【0057】

免疫モデリング・システムの製造

一実施形態において、本免疫モジュールは、生物学的障壁細胞、および随意的に樹状細胞も培養する第1の培養区画；免疫またはリンパ管細胞、例えばT細胞のみ、をリンパ球として培養する第2の区画；および区画間流体連絡部、並びに細胞の遊走を可能にするために第1および第2の区画を接続する1つまたはそれ以上のマイクロ流体チャネルからなる、比較的単純化されたコンストラクトとすることができる。免疫モジュールの構築と単一のリンパ管細胞タイプのみを含むとは、多くの試験作用物質をインピボで使用する可能性に関するインピボのスクリーニング能力を極めて迅速に提供する有効な分析デバイスに貢献する。多くのシステムによる複雑さを伴わない、単一のリンパ管細胞タイプを免疫モジュールに用いることによって、効率的な機能、および試験作用物質の迅速なスクリーニングが提供される。代替の実施形態において、本免疫モジュールは、少数のリンパ管細胞タイプのみを備える。

10

【0058】

非限定の一例として、本明細書に記載される免疫モデリング・デバイスおよびシステムを製造するための出発物質または基板は、通常、シリコン(Si)またはシリカ(SiO₂)でできたウェーハとするとよい。最も一般的に使われるウェーハ直径は、4インチ、6インチおよび8インチである。障壁コンポーネント、免疫コンポーネント、およびコンポーネント間マイクロフルイディック用の製造プロセスは、2つの基本的なプロセス、すなわち、堆積とエッチングとを含む。それらの各々について、以下に手短かに記述される。

20

【0059】

ある実施形態において、本明細書に記載されるシステムを製造する方法は、限定なしに、レーザー書き込み、UV書き込み、およびフォトリソグラフィ・バンドギャップ導波路法を含むことができる。いくつかの実施形態における製造プロセスは、堆積、マスクングおよびエッチングのうち1つまたはそれ以上のステップを含む。

30

【0060】

堆積

堆積ステップでは、よく制御された厚さをもつ明確な物質層が、ウェーハ全体にわたって堆積される。マイクロ流体層の堆積に最も一般的に用いられる材料は、ガラスとしても知られるシリカ(SiO₂)である。他の材料、例えばシリコン、ガラス、エポキシ、ニオブ酸リチウム、リン化インジウムおよびSiON(酸化シリコン)およびそれらの誘導体も使用される。

【0061】

堆積ステップは、いくつかの技術、例えばPECVD(プラズマ化学気相堆積法: Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition)、LPCVD(減圧CVD: Low Pressure CVD)、APCVD(常圧CVD: Atmospheric pressure CVD)、FHD(火炎堆積法: Flame Hydrolysis Deposition)および当技術分野でよく知られる他の技術を用いて行われる。

40

【0062】

マスクング

堆積に続いて、エッチング・ステップの前に、エッチング除去すべきでない領域をマスクすることにより、免疫モデリング・デバイスの望ましい2次元構造が堆積ウェーハに転写される。マスクングは、ウェーハを感光性物質で覆うこと；リソグラフィー・マスクを

50

通してそれを露光すること、および；マスクを所定の位置に残したまま露光された物質を除去することを含む、いくつかのステップで行われる。

【0063】

エッチング

エッチング・ステップにおいて、マスクされていない領域の物質が、基板の最上部コア1023層から除去される。エッチング速度は、既知のパラメータであり、従ってエッチング深さを時間で制御することができる。最も一般的な2つのエッチング技術は、ウェット・エッチングおよび反応性イオン・エッチング(RIO: Reactive Ion Etching)である。

【0064】

エッチング・ステップの後に、上記と同様の堆積ステップを用いてオーバー・クラッドまたはトップ・クラッド1029層が形成される。必要に応じて、上述のステップを繰り返し、順次重なったいくつかの層を形成することができる。

【0065】

ウェーハ処理が完了すると、それを個別チップにダイシングすることができる。

【0066】

システム制御

一様態において、本明細書に記載されるデバイスまたはシステムは、ユーザによる操作または制御が可能である。図8に示されるように、ユーザは、コンピュータを用いてデバイスまたはシステムと通信することができる。コンピュータのユーザ・インタフェースは、キーボード、マウス、およびモニターを含むことができる。コンピュータは、Ethernet(登録商標)、Fire Wire、USBまたは他の接続などのハードライン接続を通じて、デバイスと通信することができ、或いは、例えばワイヤレス・ネットワークまたはブルートゥースを通じて、デバイスと無線通信することができる。コンピュータは、デバイスまたはシステムからの情報を記憶するためのハードディスクを備えることができ、フラッシュ・メモリ・ドライブ、CD ROM、またはDVDのような記憶装置にデータを書き込む方法を備えることができる。

【0067】

データ解析

いくつかの実施形態において、状態、例えばアレルギー、自己免疫および/または炎症状態が、作用物質、化合物、製剤または組成物にさらされた生物学的障壁の試験サンプル(例えば、皮膚サンプル)で検出される。さらなる実施形態において、作用物質、化合物、製剤または組成物の試験サンプルに対する影響を解析した測定結果を用いて、患者の状態または病状を診断することができる。さらに別の実施形態において、本発明の検出方法は、状態または病状を診断する方法をさらに含むことができる。関連する実施形態において、病気を診断する方法は、状態または病状の検出に関するデータをレビューまたは解析すること；および状態または病気の診断に係わるデータのレビューまたは解析に基づく結論を、患者、医療従事者、または医療マネージャーに提供することを含むことができる。かかるデータのレビューまたは解析は、本明細書に記載されるように、コンピュータ、または他のデジタル・デバイスおよびネットワークを用いて促進することができる。かかるデータに関する情報は、ネットワークを通じて送信できると考えられる。

【0068】

図8は、論理デバイスの代表的な例を示すブロック図であり、これを用いて本発明に関連するデータのレビューおよび解析を達成することができる。かかるデータは、対象の病気、障害または状態に関連することができる。図8は、コンピュータ・システム(またはデジタル・デバイス)800を示しており、該システムは、例えば、結果を生成するために、免疫モデリング・システム824で用いられる機器820に接続される。コンピュータ・システム800は、媒体811、および/または固定媒体812を有するサーバ809に随意的に接続できるネットワーク・ポート805からインストラクションを読み込むことができる、ロジック機器であると解釈することもできる。図8に示されるシステムは

10

20

30

40

50

、CPU 801、ディスクドライブ 803、キーボード 815 および / または マウス 816 のような随意的な入力デバイス、並びに随意的なモニター 807 を含む。近辺または遠隔位置におけるサーバ 809 へのデータ通信は、図示された通信媒体を通じて達成することができる。通信媒体は、データを送信および / または受信する任意の手段を含むことができる。例えば、通信媒体は、ネットワーク接続、ワイヤレス接続またはインターネット接続であってもよい。本発明に関するデータは、かかるネットワークまたは接続を通じて送信できると考えられる。

【0069】

一実施形態において、コンピュータ可読媒体が、生物学的な試験サンプルの分析結果を送信するのに適した媒体を含む。該媒体は、対象の状態もしくは病気または状況に関する結果を含むことができ、かかる結果は、本明細書に記載される方法を用いて得られる。

10

【0070】

キット

本明細書に記載される方法を実施するのに役立つ試薬を含んだキットも提供される。

【0071】

いくつかの実施形態において、免疫モデリング・システム、培養培地、および本明細書に記載されるような他のコンポーネントを含んだキットは、試薬を含む。

【0072】

本キットは、随意的に次の1つまたはそれ以上：1つまたはそれ以上の免疫モデリング・システム；システムにおいて培養することができる1つまたはそれ以上の培養細胞；および様々なケモカイン、サイトカイン、成長因子などを含むことができる。

20

【0073】

キットのコンポーネントは、筐体によって維持することができる。記載される方法を実施するためのキットの使用インストラクションは、筐体とともに提供することができる、かつ任意の固定媒体中に提供することができる。該インストラクションは、筐体の内側または筐体の外側に位置してもよく、インストラクションが読みやすいように、筐体を形成する任意の表面の内部または外部に印刷されてもよい。キットは、複数の試験サンプルおよび / または複数の作用物質を試験するためのマルチプレックス形式であってもよい。

【0074】

本明細書に記載され、かつ図9に示されるように、ある実施形態において、キット903は、様々なコンポーネントを収容するための容器または筐体902を含むことができる。図9に示され、かつ本明細書に記載されるように、一実施形態において、1つまたはそれ以上の免疫モデリング・システム900、および随意的に試薬905を含んだキット903が提供される。図9に示され、かつ本明細書に記載されるように、キット903は、インストラクション901を随意的に含むことができる。コンポーネントが本明細書に記載される様々な付加的機能を含む、キット903の他の実施形態が考えられる。

30

【0075】

本発明の好ましい実施形態が本明細書に図示され、かつ記載されてきたが、当業者に明らかであろうように、かかる実施形態は、例として示されたに過ぎない。本発明から逸脱することなく、現時点で多数のバリエーション、変更、および置き換えが当業者に想起されることであろう。当然のことながら、本発明を実行するために、本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代替物を用いることができる。以下の請求項は、本発明の範囲を規定し、これら請求項の範囲内にある方法および構造、並びにそれらの等価物がそこに包含されることが意図されている。

40

【 図 1 】

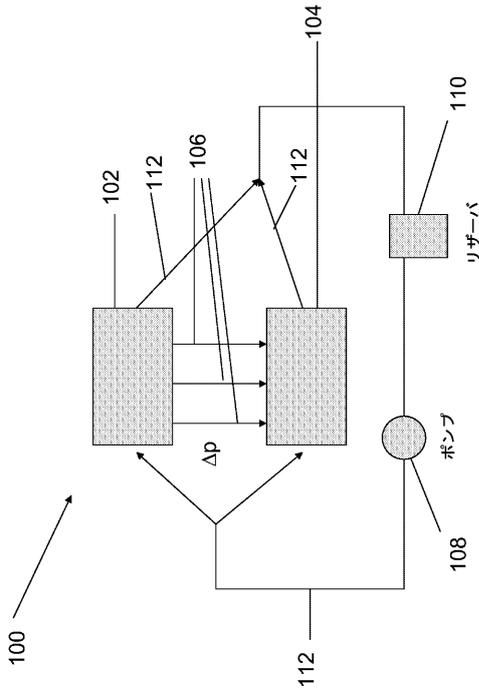


FIG. 1

【 図 2 】

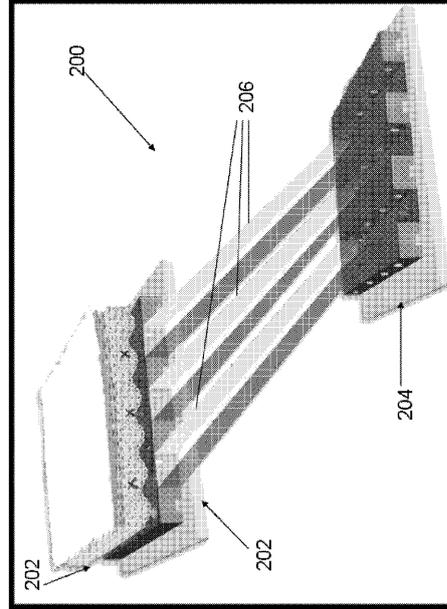


FIG. 2

【 図 3 】

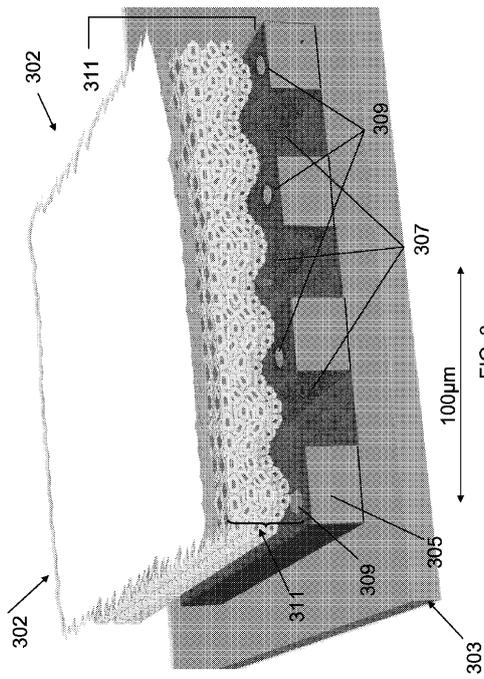


FIG. 3

【 図 4 】

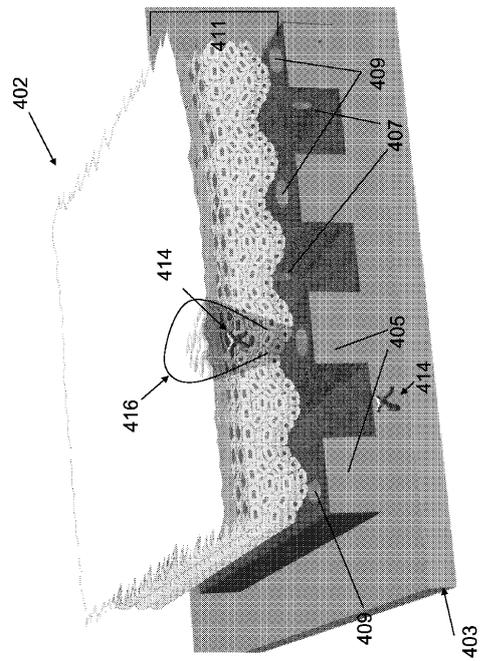


FIG. 4

【 図 5 】

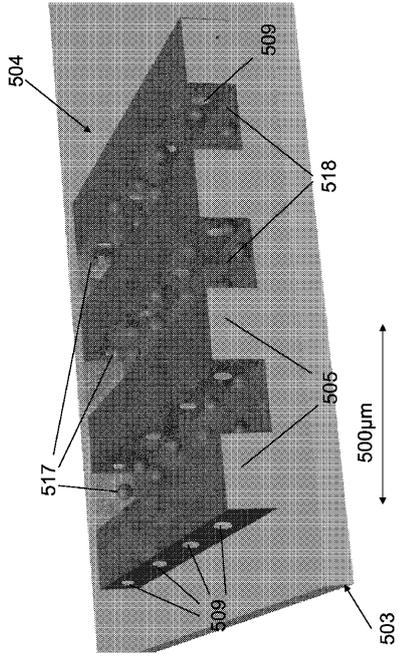


FIG. 5

【 図 6 】

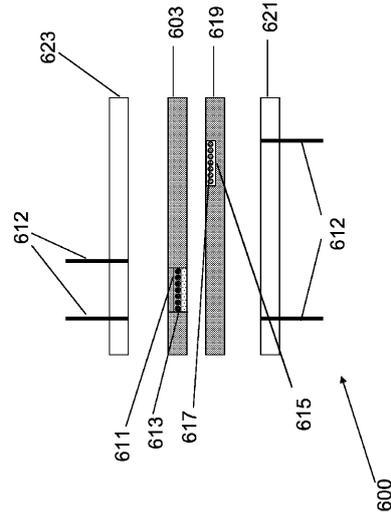


FIG. 6

【 図 8 】

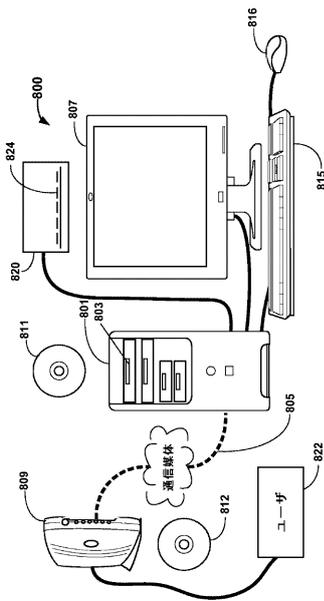


Fig. 8

【 図 9 】

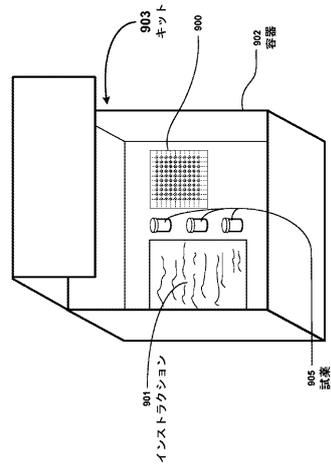


Fig. 9

【図7】

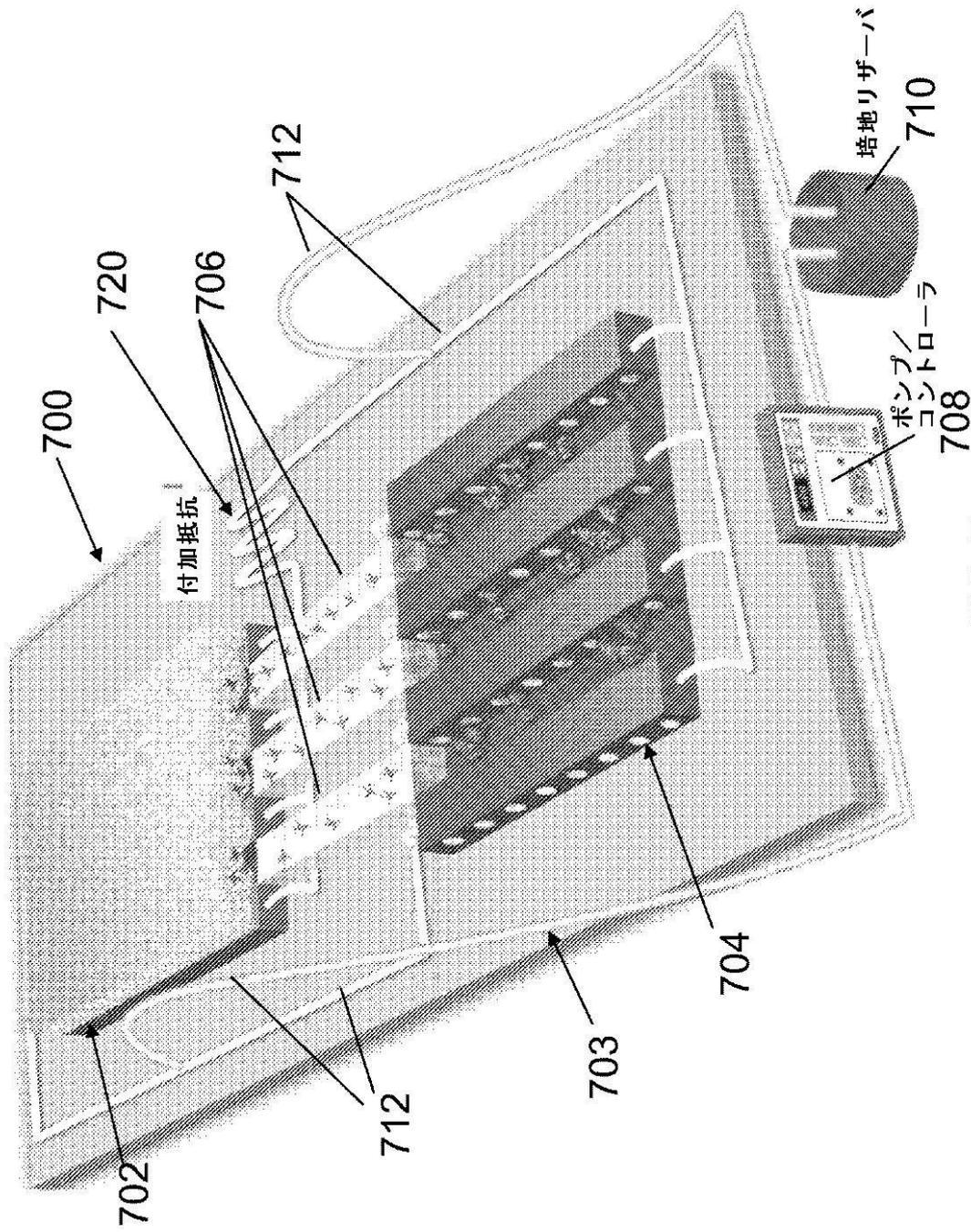


FIG. 7

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/030686
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/48(2006.01)i, G01N 33/483(2006.01)i, C12Q 1/02(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC : G01N, C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Utility models and applications for Utility models since 1975 Japanese Utility models and applications for Utility models since 1975		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal), "cell culture"		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/021343 A2 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC.) 22 February 2007. see abstract, Fig41C, and claims 1-118	1, 2, 9
A	US 4,436,824 A (DAVID C. BISHOP) 13 March 1984. see abstract, Fig 1, and claims 1-8	1-21
A	US 6,653,124 B1 (ALEX R. FREEMAN) 25 November 2003. see abstract and claims 1-41	1-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 AUGUST 2009 (19.08.2009)		Date of mailing of the international search report 20 AUGUST 2009 (20.08.2009)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer LEE, Jun Seok Telephone No. 82-42-481-8400 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/US2009/030686

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007/021343 A2	22.02.2007	CA 2607965 A1 CN 101223268 A EP 1891201 A2 JP 2008-539787 A	22.02.2007 16.07.2008 27.02.2008 20.11.2008
US 4,436,824 A	13.03.1984	EP 0067646 A1 JP 58-005660 A US 04436824 A	22.12.1982 13.01.1983 13.03.1984
US 6,653,124 B1	25.11.2003	None	

フロントページの続き

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

(72)発明者 ヤームッシュ, マーティン エル.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02459, ニュートン, ワード ストリート 164

(72)発明者 フリードマン, ロバート

アメリカ合衆国 カリフォルニア 90211, ビバリー ヒルズ, エス. クラーク ドライブ 201

Fターム(参考) 2G059 AA05 BB14 DD11 FF01 FF03 KK01 KK04 MM10 PP04 PP06
4B029 AA07 BB11 CC01 FA15
4B063 QA18 QQ08 QR77 QS39 QX01