



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114375324 A

(43) 申请公布日 2022. 04. 19

(21) 申请号 202080063927.3

(74) 专利代理机构 北京铭硕知识产权代理有限公司 11286

(22) 申请日 2020.10.30

代理人 周爽 金玉兰

(30) 优先权数据

62/931,471 2019.11.06 US

(51) Int.Cl.

C12M 3/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C12M 1/00 (2006.01)

2022.03.11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2020/040785 2020.10.30

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/090767 JA 2021.05.14

(71) 申请人 爱平世股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州帕罗奥图市

申请人 发那科株式会社

(72) 发明人 田边刚士 平出亮二 伴一训

木下聪

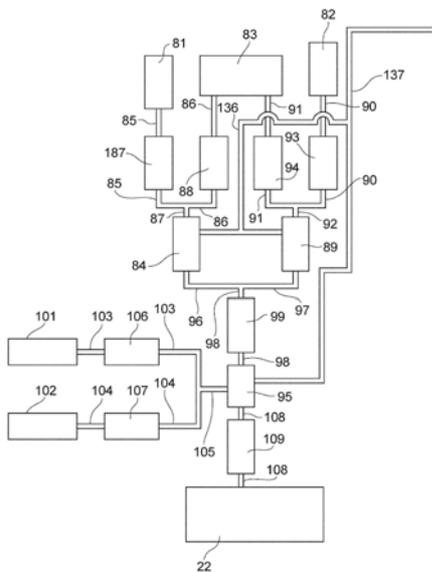
权利要求书2页 说明书23页 附图15页

(54) 发明名称

细胞培养装置

(57) 摘要

一种细胞培养装置(200),具备:细胞培养器(22),其用于培养细胞;因子容器(81),其容纳因子;试剂容器(82),其容纳用于将因子导入到细胞中的试剂;以及流路,其用于从因子容器(81)和试剂容器(82)向细胞培养器(22)输送因子和试剂。



1. 一种细胞培养装置,其特征在于,具备:
细胞培养器,其用于培养细胞;
因子容器,其容纳因子;
试剂容器,其容纳用于将所述因子导入到所述细胞中的试剂;以及
流路,其用于从所述因子容器和所述试剂容器向所述细胞培养器输送所述因子和所述试剂。
2. 根据权利要求1所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备混合槽,所述混合槽设置于所述流路,用于将所述因子与所述试剂混合。
3. 根据权利要求2所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备第一流体机械,所述第一流体机械用于从所述因子容器向所述混合槽输送所述因子。
4. 根据权利要求2所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备第二流体机械,所述第二流体机械用于从所述试剂容器向所述混合槽输送所述试剂。
5. 根据权利要求2至4中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备第三流体机械,所述第三流体机械用于从所述混合槽向所述细胞培养器输送所述试剂和所述因子。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述细胞培养装置还具备:
稀释液容器,其容纳稀释液;以及
因子稀释容器,其设置于所述流路,用于将所述因子用所述稀释液进行稀释。
7. 根据权利要求1至5中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述细胞培养装置还具备:
稀释液容器,其容纳稀释液;以及
试剂稀释容器,其设置于所述流路,用于将所述试剂用所述稀释液进行稀释。
8. 根据权利要求2至5中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述细胞培养装置还具备:
稀释液容器,其容纳稀释液;
因子稀释容器,其设置于所述流路,用于将所述因子用所述稀释液进行稀释;以及
试剂稀释容器,其设置于所述流路,用于将所述试剂用所述稀释液进行稀释,
在所述混合槽中,将所述稀释后的因子与所述稀释后的试剂混合。
9. 根据权利要求2至5中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备培养基容器,所述培养基容器与所述混合槽连接,容纳供给至所述混合槽的培养基。
10. 根据权利要求2至5中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,
所述细胞培养装置还具备多个培养基容器,所述多个培养基容器与所述混合槽连接,分别容纳供给至所述混合槽的培养基。
11. 根据权利要求1至10中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,

所述细胞培养器的内部、所述因子容器的内部、所述试剂容器的内部和所述流路的内部能够相对于外部气体封闭。

12. 根据权利要求2所述的细胞培养装置,其特征在于,所述混合槽的内部能够相对于外部气体封闭。

13. 根据权利要求6至8中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述稀释液容器的内部能够相对于外部气体封闭。

14. 根据权利要求9所述的细胞培养装置,其特征在于,所述培养基容器的内部能够相对于外部气体封闭。

15. 根据权利要求1至14中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述因子容器和所述试剂容器中的至少一者的容积是可变的。

16. 根据权利要求2至5、8至10、12和14中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述混合槽的容积是可变的。

17. 根据权利要求6至8中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述稀释液容器的容积是可变的。

18. 根据权利要求9所述的细胞培养装置,其特征在于,所述培养基容器的容积是可变的。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述因子为选自DNA、RNA、蛋白质和化合物中的至少一种。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的细胞培养装置,其特征在于,所述细胞培养器、所述因子容器、所述试剂容器和所述流路设置于平板上。

细胞培养装置

技术领域

[0001] 本发明涉及细胞技术,涉及细胞培养装置。

背景技术

[0002] 胚胎干细胞(ES细胞)是由人、小鼠的早期胚胎建立的干细胞。ES细胞具有能够分化为生物体中存在的所有细胞的多能性。目前,人ES细胞可以用于针对帕金森病、幼年型糖尿病和白血病等多种疾病的细胞移植疗法。但是,ES细胞的移植也存在障碍。特别是,ES细胞的移植可能引起与不成功的脏器移植后发生的排斥反应同样的免疫排斥反应。另外,对于破坏人胚胎而建立的ES细胞的应用而言,从伦理的观点出发,批评或反对意见多。

[0003] 在这样的背景状况下,京都大学的山中伸弥教授通过将4种基因:OCT3/4、KLF4、c-MYC和SOX2导入至体细胞中,成功建立了诱导性多能性干细胞(iPS细胞)。由此,山中教授获得了2012年的诺贝尔生理学或医学奖(例如,参照专利文献1、2)。iPS细胞是没有排斥反应、伦理问题的理想的多能性细胞。因此,期待iPS细胞在细胞移植疗法中的应用。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:日本专利第4183742号公报

[0007] 专利文献2:日本特开2014-114997号公报

发明内容

[0008] 技术问题

[0009] iPS细胞是通过向体细胞导入重编程因子而制作的。向细胞导入因子的技术不限于iPS细胞的制作,而是被用于各种用途中。例如,在制作分化细胞时,向iPS细胞等干细胞中导入分化因子。在进行基因编辑时,向细胞中导入Cas9蛋白质。在产生慢病毒时,将慢病毒载体导入至细胞。于是,本发明的目的之一在于提供一种容易向细胞导入因子的细胞培养装置。

[0010] 技术方案

[0011] 根据本发明的方式,提供一种细胞培养装置,具备:细胞培养器,其用于培养细胞;因子容器,其容纳因子;试剂容器,其容纳用于将因子导入到细胞中的试剂;以及流路,其用于从因子容器和试剂容器向细胞培养器输送因子和试剂。

[0012] 上述细胞培养装置还可以具备混合槽,所述混合槽设置于流路,用于将因子与试剂混合。

[0013] 上述细胞培养装置还可以具备第一流体机械,所述第一流体机械用于从因子容器向混合槽输送因子。

[0014] 在上述细胞培养装置中,可以是,第一流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0015] 在上述细胞培养装置中,第一流体机械可以从因子容器向混合槽定量地输送因

子。

[0016] 上述细胞培养装置还可以具备第二流体机械,所述第二流体机械用于从试剂容器向混合槽输送试剂。

[0017] 在上述细胞培养装置中,可以是,第二流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0018] 在上述细胞培养装置中,第二流体机械可以从试剂容器向混合槽定量地输送试剂。

[0019] 上述细胞培养装置还可以具备第三流体机械,所述第三流体机械用于从混合槽向细胞培养器输送试剂和因子。

[0020] 在上述细胞培养装置中,第三流体机械可以从混合槽向细胞培养器定量地输送试剂和因子。

[0021] 在上述细胞培养装置中,可以是,第三流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0022] 在上述细胞培养装置中,第三流体机械可以从混合槽向细胞培养器输送试剂和因子预定次数。

[0023] 在上述细胞培养装置中,第三流体机械可以在预定的时刻从混合槽向细胞培养器输送试剂和因子。

[0024] 上述细胞培养装置还可以具备:稀释液容器,其容纳稀释液;以及因子稀释容器,其设置于流路,用于将因子用稀释液进行稀释。

[0025] 上述细胞培养装置还可以具备第四流体机械,所述第四流体机械用于从稀释液容器向因子稀释容器输送稀释液。

[0026] 在上述细胞培养装置中,可以是,第四流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0027] 在上述细胞培养装置中,第四流体机械可以从稀释液容器向稀释容器定量地输送稀释液。

[0028] 上述细胞培养装置还可以具备:稀释液容器,其容纳稀释液;以及试剂稀释容器,其设置于流路,用于将试剂用稀释液进行稀释。

[0029] 上述细胞培养装置还具备:稀释液容器,其容纳稀释液;因子稀释容器,其设置于流路,用于将因子用稀释液进行稀释;以及试剂稀释容器,其设置于流路,用于将试剂用稀释液进行稀释,在混合槽中,可以使稀释后的因子与稀释后的试剂混合。

[0030] 上述细胞培养装置还可以具备第五流体机械,所述第五流体机械用于从稀释液容器向试剂稀释容器输送稀释液。

[0031] 在上述细胞培养装置中,可以是,第五流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0032] 在上述细胞培养装置中,第五流体机械可以从稀释液容器向试剂稀释容器定量地输送稀释液。

[0033] 上述细胞培养装置还可以具备培养基容器,所述培养基容器与混合槽连接,容纳供给至混合槽的培养基。

[0034] 上述细胞培养装置还可以具备第六流体机械,所述第六流体机械用于从培养基容

器向混合槽输送培养基。

[0035] 在上述细胞培养装置中,可以是,第六流体机械具备泵头和驱动泵头的驱动部,在基板设置所述流路,泵头与流路接触,驱动部能够从基板取下。

[0036] 在上述细胞培养装置中,第六流体机械可以从培养基容器向混合槽定量地输送培养基。

[0037] 上述细胞培养装置还可以具备多个培养基容器,所述多个培养基容器与混合槽连接,分别容纳供给至混合槽的培养基。

[0038] 在上述细胞培养装置中,多个培养基容器可以容纳不同的培养基。

[0039] 在上述细胞培养装置中,可以根据从混合槽向细胞培养器输送试剂和因子的次数,从多个培养基容器中的任一个向混合槽输送不同的培养基。

[0040] 在上述细胞培养装置中,可以根据从混合槽向细胞培养器输送试剂和因子的时刻,从多个培养基容器中的任一个向混合槽输送不同的培养基。

[0041] 在上述细胞培养装置中,可以是细胞培养器的内部、因子容器的内部、试剂容器的内部和流路的内部能够相对于外部气体封闭。

[0042] 在上述细胞培养装置中,可以是混合槽的内部能够相对于外部气体封闭。

[0043] 在上述细胞培养装置中,可以是稀释液容器的内部能够相对于外部气体封闭。

[0044] 在上述细胞培养装置中,可以是培养基容器的内部能够相对于外部气体封闭。

[0045] 在上述细胞培养装置中,因子容器和试剂容器中的至少一方的容积可以是可变的。

[0046] 在上述细胞培养装置中,混合槽的容积可以是可变的。

[0047] 在上述细胞培养装置中,稀释液容器的容积可以是可变的。

[0048] 在上述细胞培养装置中,培养基容器的容积可以是可变的。

[0049] 在上述细胞培养装置中,因子可以是选自DNA、RNA、蛋白质和化合物中的至少一种。

[0050] 在上述细胞培养装置中,细胞培养器、因子容器、试剂容器和流路可以设置于平板上。

[0051] 技术效果

[0052] 根据本发明,能够提供一种容易向细胞导入因子的细胞培养装置。

附图说明

[0053] 图1是实施方式的细胞培养系统的示意性主视图。

[0054] 图2是实施方式的细胞培养系统的示意性立体图。

[0055] 图3是实施方式的单核细胞回收器的示意图。

[0056] 图4是实施方式的细胞培养器的示意性截面图。

[0057] 图5是实施方式的细胞培养器的示意性截面图。

[0058] 图6是实施方式的细胞培养器的示意性截面图。

[0059] 图7是实施方式的细胞培养器的示意性截面图。

[0060] 图8是实施方式的细胞培养系统的示意性主视图。

[0061] 图9是实施方式的细胞培养系统的示意性立体图。

[0062] 图10是实施例1的细胞团的显微照片。

[0063] 图11是示出实施例1的iPS细胞的流式细胞术的结果的直方图。

[0064] 图12是实施例2的荧光激活细胞分选的分析结果。

[0065] 图13的(a)是实施例2的加入到单核细胞回收器之前的处理血液的显微照片(a)、图13的(b)是包含从单核细胞回收器回收的单核细胞的溶液的显微镜照片。

[0066] 图14是示出实施例2的加入到单核细胞回收器之前的处理血液的血小板的数量以及包含从单核细胞回收器回收的单核细胞的溶液的血小板的数量的图表。

[0067] 图15的(a)是实施例2的加入到单核细胞回收器之前的加入有包含血小板的处理血液的培养液的照片,图15的(b)是加入有包含除去了血小板后的单核细胞的溶液的培养液的照片。

[0068] 符号说明

[0069] 11…红细胞除去器、15…单核细胞回收器、17…流路、18…流体机械、19…流路、20…单核细胞抽吸装置、21…流体机械、22…细胞培养器、23…流路、24…流体机械、25…培养基容器、31…流路、32…培养基容器、33…流体机械、34…流路、35…涂布剂容器、36…流体机械、40…培养基保持槽、50…血液容器、51…流路、52…流体机械、53…红细胞处理剂容器、54…流路、55…流体机械、56…流路、57…混合器、58…流路、60…流路、61…稀释用液容器、62…流体机械、81…因子容器、82…试剂容器、83…稀释液容器、84…因子稀释容器、85…流路、86…流路、87…流路、88…流体机械、89…试剂稀释容器、90…流路、91…流路、92…流路、93…流体机械、94…流体机械、95…混合槽、96…流路、97…流路、98…流路、99…流体机械、100…红细胞除去装置、101…培养基容器、102…培养基容器、103…流路、104…流路、105…流路、106…流体机械、107…流体机械、108…流路、109…流体机械、115…开口、116…开口、117…流路、120…剥离剂容器、121…流路、122…流体机械、123…冷冻保存液容器、124…流路、125…流体机械、126…细胞冷冻容器、127…流路、128…流体机械、130…储存槽、131…流路、132…流路、133…流体机械、134…流路、135…流路、137…流路、187…流体机械、200…细胞培养装置、222…壳体、223…壳体、322…培养基成分透过部件、323…分区、324…分区

具体实施方式

[0070] 以下,对本发明的实施方式进行说明。在以下的附图的记载中,对相同或类似的部分用相同或类似的符号表示。然而,附图是示意性的。因此,具体的尺寸等应该对照以下的说明来判断。另外,当然在附图相互之间也包含彼此的尺寸的关系、比率不同的部分。

[0071] 如图1和图2所示,实施方式的细胞培养装置200具备:细胞培养器22,其用于培养细胞;因子容器81,其容纳因子;试剂容器82,其容纳用于将因子导入到细胞中的试剂;以及流路,其用于从因子容器81和试剂容器82向细胞培养器22输送因子和试剂。

[0072] 细胞培养装置200例如可以与红细胞除去装置100连接。红细胞除去装置100具备:血液容器50,其容纳血液;以及红细胞处理剂容器53,其容纳红细胞沉降剂或红细胞除去剂。

[0073] 血液容器50在内部容纳血液。血液容器50可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含血液容器50的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物

和杂质等的交换。血液容器50可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。血液容器50的至少一部分可以设置于平板等部件。血液容器50的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。血液容器50的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。血液容器50可以能够改变该血液容器50的容积。在这种情况下,例如,血液容器50具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,血液容器50也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。应予说明,在本发明中,流体包括气体和液体。

[0074] 红细胞处理剂容器53在内部容纳红细胞沉降剂或红细胞除去剂。红细胞处理剂容器53可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含红细胞处理剂容器53的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。红细胞处理剂容器53可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。红细胞处理剂容器53的至少一部分可以设置于平板等部件。红细胞处理剂容器53的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。红细胞处理剂容器53的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。红细胞处理剂容器53可以能够改变该红细胞处理剂容器53的容积。在这种情况下,例如,红细胞处理剂容器53具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞。通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,红细胞处理剂容器53也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0075] 红细胞除去装置100还具备例如将血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂混合的混合器57。混合器57例如具备供血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂的混合液流动的弯折流路。弯折流路可以弯折成螺旋状。在弯折流路中,流路可以蜿蜒。在弯折流路中,截面积可以反复增减。混合器57可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含混合器57的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。混合器57可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。混合器57的至少一部分可以设置于平板等部件。混合器57的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。混合器57的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0076] 在血液容器50连接有用于至少将血液从血液容器50输送至混合器57的流路51。血液容器50与流路51可以通过连接器来连接。连接器可以是内部可封闭的封闭式连接器。连接器可以是无菌连接器。连接器也可以是无针连接器。无针连接器可以是分隔膜型无针连接器,也可以是机械阀型无针连接器。对于本发明的其他连接器来说也是同样的。在红细胞处理剂容器53连接有用于至少将红细胞沉降剂或红细胞除去剂从红细胞处理剂容器53输送至混合器57的流路54。红细胞处理剂容器53与流路54可以通过连接器来连接。流路51和流路54合流于流路56。流路56连接于混合器57。

[0077] 可以在流路51设置用于使流路51内的流体移动的泵等流体机械52。可以在流路54设置用于使流路54内的流体移动的泵等流体机械55。在流路设置有流体机械的情况下,在流路51、54可以不设置除流体机械以外的阀。

[0078] 作为流体机械52、55,可以使用容积式泵。作为容积式泵的例子,可举出包括活塞泵、柱塞泵和隔膜泵的往复泵、或者包括齿轮泵、叶片泵和螺杆泵的旋转泵。作为隔膜泵的例子,可举出管式泵和压电(piezo)泵。管式泵有时也被称为蠕动泵。另外,也可以使用组合了各种泵的微流体芯片模块。本发明中的其他流体机械也是同样的。如果使用蠕动泵、管式

泵和隔膜泵等密闭型泵,则能够在泵的机构不与流路内部的流体直接接触的情况下输送流体。

[0079] 流体机械52、55可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路51,流体机械52的泵头连接于流路51,且流体机械52的驱动部能够从基板取下。另外,可以是,在基板设置流路54,流体机械55的泵头连接于流路,且流体机械55的驱动部能够从基板取下。

[0080] 流路51、54、56可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路51、54、56的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路51、54、56可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路51、54、56的至少一部分可以设置于平板等部件。流路51、54、56的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路51、54、56的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0081] 在向红细胞除去器11输送血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂的混合液时,流体机械52使血液容器50内的血液介由流路51、56移动至混合器57内。另外,流体机械55使红细胞处理剂容器53内的红细胞沉降剂或红细胞除去剂介由流路54、56移动至混合器57内。应予说明,可以不在流路51、54设置流体机械,而在流路56设置流体机械,设置于流路56的流体机械使血液容器50内的血液、红细胞处理剂容器53内的红细胞沉降剂或红细胞除去剂移动至混合器57内。在混合器57内将血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂混合。

[0082] 红细胞除去装置100还具备从血液中至少部分地除去红细胞的红细胞除去器11。在混合器57连接有用于将在混合器57内混合的血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂的混合液输送至红细胞除去器11内的流路58。在混合器57内混合的血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂的混合液介由流路58被输送至红细胞除去器11。

[0083] 流路58可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路58的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路58可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路58的至少一部分可以设置于平板等部件。流路58的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路58的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0084] 红细胞除去器11可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含红细胞除去器11的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。红细胞除去器11可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。红细胞除去器11的至少一部分可以设置于平板等部件。红细胞除去器11的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。红细胞除去器11的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。红细胞除去器11可以能够改变该红细胞除去器11的容积。

[0085] 在混合器57内使血液与红细胞沉降剂混合的情况下,红细胞在红细胞除去器11内沉降,从血液中至少部分地除去红细胞。在混合器57内使血液与红细胞除去剂混合的情况下,红细胞在红细胞除去器11内溶血,从血液中至少部分地除去红细胞。

[0086] 在红细胞除去器11例如介由流路131连接有储存槽130。储存槽130与流路131可以通过连接器连接。流路131可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路131的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路131可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路131的至少一部分可以设置于平板等部件。流

路131的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路131的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。可以在流路131设置用于使流路131内的流体移动的泵等流体机械。

[0087] 储存槽130可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含储存槽130的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。储存槽130可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。储存槽130的至少一部分可以设置于平板等部件。储存槽130的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。储存槽130的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。储存槽130可以能够改变该储存槽130的容积。在这种情况下,例如,储存槽130具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,储存槽130也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0088] 如果从流路58向红细胞除去器11内送入血液与红细胞沉降剂或红细胞除去剂的混合液,则红细胞除去器11内的空气等流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,接收从红细胞除去器11内移动而来的流体。应予说明,储存槽130可以主动地使容积膨胀,也可以受到压力而被动地使容积膨胀。

[0089] 红细胞除去装置100可以进一步具备单核细胞回收器15,该单核细胞回收器15从红细胞除去器11接收至少部分地除去了红细胞后的处理血液,并从处理血液中回收单核细胞。单核细胞回收器15可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含单核细胞回收器15的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。单核细胞回收器15可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。单核细胞回收器15的至少一部分可以设置于平板等部件。单核细胞回收器15的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。单核细胞回收器15的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。单核细胞回收器15可以能够改变该单核细胞回收器15的容积。

[0090] 如图3所示,例如,在单核细胞回收器15的底部设置有第一开口115,在单核细胞回收器15的侧面设置有第二开口116。第一开口115的位置在重力方向上低于第二开口116。

[0091] 在单核细胞回收器15的第一开口115连接有流路19。流路19可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路19的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路19可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路19的至少一部分可以设置于平板等部件。流路19的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路19的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0092] 在单核细胞回收器15的第二开口116连接有流路117。流路117可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路117的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路117可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路117的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路117的至少一部分可以设置于平板等部件。流路117的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。如图1所示,在流路117设置有用于使流路117内的流体移动的泵等流体机械21。在流路117可以不设置除流体机械以外的阀。

[0093] 流体机械21可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路117,流体机械21的泵头连接于流路117,流体机械21的驱动部能够从基板取下。

[0094] 如图3所示,单核细胞回收器15的底部可以是漏斗状。在这种情况下,例如,在单核细胞回收器15的漏斗状的底部的前端设置第一开口115,在漏斗状的底部的侧面设置第二开口116。可以在第二开口116设置单核细胞不能通过的过滤器。

[0095] 单核细胞回收器15可以在内部容纳缓冲液等稀释液。如图1所示,稀释液可以从容纳稀释用液的稀释用液容器61经由流路60导入至单核细胞回收器15内。稀释用液容器61与流路60可以通过连接器连接。可以在流路60设置用于使流路60内的流体移动的泵等流体机械62。在流路60可以不设置除流体机械以外的阀。稀释用液容器61可以能够改变该稀释用液容器的容积。另外,例如,流路19和流路117内部用稀释液填充。

[0096] 流体机械62可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路60,流体机械62的泵头连接于流路60,流体机械62的驱动部能够从基板取下。

[0097] 稀释用液容器61和流路60中的至少任一个可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含稀释用液容器61和流路60的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。稀释用液容器61和流路60可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。稀释用液容器61和流路60的至少一部分可以设置于平板等部件。稀释用液容器61和流路60的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。稀释用液容器61和流路60的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0098] 如图1所示,在红细胞除去器11与单核细胞回收器15之间设置有用于从红细胞除去器11向单核细胞回收器15输送至少部分地除去了红细胞后的处理血液的流路17。在流路17设置有用于使流路17内的流体移动的泵等流体机械18。在流路17可以不设置除流体机械以外的阀。流路17可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路17的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路17可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路17的至少一部分可以设置于平板等部件。流路17的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路17的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0099] 流体机械18介由流路17抽吸红细胞除去器11内的至少部分地除去了红细胞后的处理血液,将抽吸的至少部分地除去了红细胞后的处理血液供给至单核细胞回收器15内。在红细胞除去器11内使红细胞沉降的情况下,将红细胞除去器11内的上清液作为至少部分地除去了红细胞后的处理血液输送至单核细胞回收器15。

[0100] 流体机械18可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路17,流体机械18的泵头连接于流路17,流体机械18的驱动部能够从基板取下。

[0101] 如图3的(a)所示,被输送入至单核细胞回收器15的至少部分地除去了红细胞后的处理血液经稀释液稀释。在稀释后的处理血液溶液中,血小板漂浮,单核细胞向单核细胞回收器15的底部沉降。应予说明,稀释液可以包含红细胞除去剂。在这种情况下,处理血液溶液中残留的红细胞发生溶血。

[0102] 如图3的(b)所示,沉降了的单核细胞蓄积于单核细胞回收器15的漏斗状的底部的前端。在稀释后的处理血液溶液中单核细胞沉降后,如图3的(c)所示,设置于与单核细胞回收器15的第二开口116连接的流路117的图1示出的流体机械21抽吸作为上清液的经稀释的处理血液溶液。抽吸上清液的抽吸力设置为难以抽吸沉降了的单核细胞。上清液包含血小板和溶血的红细胞。因此,通过从单核细胞回收器15内抽吸除去上清液,能够从血小板和红

细胞分离单核细胞。所抽吸的上清液可以被输送至红细胞除去器11内。另外，所抽吸的上清液可以介由红细胞除去器11和流路131被输送至储存槽130。另外，可以将与从单核细胞回收器15内抽吸的上清液相同程度容积的气体从红细胞除去器11内输送至单核细胞回收器15内。或者，也可以将与从单核细胞回收器15内抽吸的上清液相同程度容积的稀释液从稀释用液容器61内输送至单核细胞回收器15内。

[0103] 使单核细胞沉降后，可以反复进行向单核细胞回收器15内供给稀释液、将上清液从单核细胞回收器15内抽吸除去的操作。

[0104] 在流路19设置有抽吸蓄积于单核细胞回收器15的底部的单核细胞的单核细胞抽吸装置20。作为单核细胞抽吸装置20，可以使用泵等流体机械。在流路19可以不设置除流体机械以外的阀。图3示出的第一开口115的大小例如以如下方式设定：在单核细胞抽吸装置20未抽吸单核细胞的情况下，单核细胞堵塞于第一开口115，在单核细胞抽吸装置20抽吸单核细胞的情况下，单核细胞能够通过第一开口115。如果单核细胞抽吸装置20抽吸单核细胞，则单核细胞从单核细胞回收器15内向流路19移动。

[0105] 单核细胞抽吸装置20可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是，在基板设置流路19，单核细胞抽吸装置20的泵头连接于流路19，单核细胞抽吸装置20的驱动部能够从基板取下。

[0106] 应予说明，也可以通过对单核细胞回收器15内进行加压而使单核细胞回收器15内的单核细胞移动至流路19。在这种情况下，可以在流路19设置单核细胞抽吸装置20，也可以不设置单核细胞抽吸装置20。

[0107] 如图1和图2所示，流路19连接于细胞培养器22。介由流路19，从单核细胞回收器15向细胞培养器22输送单核细胞。应予说明，细胞培养器22可以连接于单核细胞回收器15，加入到细胞培养器22中的细胞不限于单核细胞。被输送至细胞培养器22的细胞可以是干细胞、成纤维细胞、神经细胞、视网膜上皮细胞、肝细胞、B细胞、肾细胞、间充质干细胞、血液细胞、巨细胞、T细胞、软骨细胞、心肌细胞、肌细胞、血管细胞、上皮细胞、多能干细胞、ES细胞、iPS细胞或其他体细胞。输送至细胞培养器22的细胞是任意的。

[0108] 如图4所示，细胞培养器22可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含细胞培养器22的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。细胞培养器22可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。细胞培养器22的至少一部分可以设置于平板等部件。细胞培养器22的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。细胞培养器22的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。细胞培养器22的形状没有特别限定。细胞培养器22可以是相对于水平面横向较长的形状，也可以是纵向较长的形状。

[0109] 在细胞培养器22内可以对细胞进行粘附培养，也可以对细胞进行悬浮培养。在对细胞进行粘附培养的情况下，可以用基质胶、胶原蛋白、聚赖氨酸、纤连蛋白、玻连蛋白和层粘连蛋白等细胞粘附用涂布剂对细胞培养器22内进行涂布。

[0110] 如图1和图2所示，在细胞培养器22例如可以介由流路34与涂布剂容器35连接。涂布剂容器35容纳细胞粘附用涂布剂。涂布剂容器35可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含涂布剂容器35的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。涂布剂容器35可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。涂布剂容器35

的至少一部分可以设置于平板等部件。涂布剂容器35的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。涂布剂容器35的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。涂布剂容器35可以能够改变该涂布剂容器35的容积。在这种情况下,例如,涂布剂容器35具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,涂布剂容器35也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0111] 涂布剂容器35与流路34也可以通过连接器连接。流路34可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路34的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路34可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路34的至少一部分可以设置于平板等部件。流路34的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路34的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。可以在流路34设置用于使流路34内的流体移动的泵等流体机械36。在流路34可以不设置除流体机械以外的阀。

[0112] 流体机械36可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路34,流体机械36的泵头连接于流路34,流体机械36的驱动部能够从基板取下。

[0113] 在用细胞粘附用涂布剂对细胞培养器22进行涂布内时,流体机械36使涂布剂容器35内的细胞粘附用涂布剂介由流路34移动至细胞培养器22内。流体机械36可以使涂布剂容器35内的细胞粘附用涂布剂定量地移动至细胞培养器22内。在将细胞粘附用涂布剂供给至细胞培养器22时,涂布剂容器35可以使容积收缩。

[0114] 在细胞培养器22例如介由流路132或流路134与储存槽130连接。流路132、134可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路132、134的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路132、134可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路132、134的至少一部分可以设置于平板等部件。流路132、134的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路132、134的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。可以在流路132设置用于使流路132内的流体移动的泵等流体机械133。在流路132可以不设置除流体机械以外的阀。对于流路134也是同样的。

[0115] 流体机械133可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路132,流体机械133的泵头连接于流路132,流体机械133的驱动部能够从基板取下。

[0116] 如果从流路34向细胞培养器22送入细胞粘附用涂布剂,则细胞培养器22内的空气等气体等流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,接收从细胞培养器22内移动而来的流体。

[0117] 细胞培养器22内部可以被细胞无法透过但培养基成分和代谢物能够透过的培养基成分透过部件划分。在悬浮培养细胞的情况下,可以在细胞培养器22的内壁以细胞不粘附的方式涂布聚甲基丙烯酸羟基乙酯(poly2-hydroxyethyl methacrylate)等细胞非粘附性物质,使细胞培养器22的内壁成为细胞非粘附性。如图4所示,可以在细胞培养器22设置能够观察内部的窗。作为窗的材料,例如能够使用玻璃和树脂。

[0118] 可以在细胞培养器22设置用于对窗进行加热和冷却的温度调节部。温度调节部可以是配置于窗并对窗进行加热的透明导电膜等透明加热器。或者,在细胞培养器22可以具备用于对壳体进行加热和冷却的温度调节部。通过利用温度调节部对壳体进行温度调节,能够对细胞培养器22内的培养基进行温度调节。细胞培养器22中还可以具备测量细胞培养

器22内的培养基的温度的温度计。温度计可以不与培养基接触地基于细胞培养器22的温度来测量培养基的温度,也可以与培养基接触而直接测量培养基的温度。在这种情况下,也可以对温度调节部进行反馈控制,以使得培养基的温度成为预定的温度。培养基的温度例如调节为20℃~45℃。

[0119] 细胞培养器22可以一体成型。细胞培养器22可以通过3D打印法来制造。作为3D打印法,可举出材料挤出沉积法、材料喷射法、粘结剂喷射法和光造型法。或者,也可以如图5所示,细胞培养器22具备具有底面的第一壳体222和配置于第一壳体222上且具有与底面对置的上表面的第二壳体223,第一壳体222和第二壳体223组合而形成内部。与细胞培养器22连接的流路可以设置于第一壳体222和第二壳体223中的至少一方。也可以在细胞培养器22的内部配置培养皿等作为内部培养容器。在这种情况下,流路构成为向内部培养器容器内供给流体。

[0120] 如图1和图2所示,在连接于细胞培养器22的流路19连接有流路23。流路23可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路23的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路23可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路23的至少一部分可以设置于平板等部件。流路23的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路23的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。在流路23设置有用于使流路23内的流体移动的泵等流体机械24。在流路23可以不设置除流体机械以外的阀。

[0121] 流体机械24可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路23,流体机械24的泵头连接于流路23,流体机械24的驱动部能够从基板取下。

[0122] 在流路23连接有培养基容器25,该培养基容器25是容纳例如适合于导入因子前的状态的细胞的培养基。培养基容器25与流路23可以通过连接器连接。例如,在导入因子前的状态的细胞为分化细胞等体细胞的情况下,培养基容器25所容纳的培养基为体细胞培养基。例如,在导入因子前的状态的细胞为单核细胞的情况下,培养基容器25所容纳的培养基为血液细胞培养基。例如,在导入因子前的状态的细胞为干细胞的情况下,培养基容器25容纳的培养基为干细胞培养基。干细胞可以是iPS细胞、胚胎干细胞(ES细胞)、成体干细胞或者其他被人工诱导的干细胞等。作为干细胞培养基的示例,可以列举诱导培养培养基、扩增培养培养基和维持培养培养基。培养基容器25所容纳的培养基可以是凝胶,也可以是液体。可以在凝胶培养基或液体培养基中对细胞进行粘附培养(二维培养),也可以在凝胶培养基或液体培养基中对细胞进行悬浮培养(三维培养)。

[0123] 在培养基为凝胶状的情况下,培养基可以包含高分子化合物。高分子化合物例如可以为选自结冷胶、脱酰基结冷胶、透明质酸、中性树胶(Rhamsan gum)、定优胶(diutan gum)、黄原胶、角叉菜胶、褐藻糖胶、果胶、果胶酸、果胶酯酸、硫酸乙酰肝素、肝素、硫酸类肝素、硫酸角质素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸鼠李糖以及它们的盐中的至少一种。另外,培养基可以含有甲基纤维素。通过包含甲基纤维素,进一步抑制细胞彼此的凝集。

[0124] 或者,培养基也可以包含选自聚(甲基丙烯酸缩水甘油酯)(poly(glycerol monomethacrylate),PGMA)、聚(甲基丙烯酸2-羟丙基酯)(poly(2-hydroxypropyl methacrylate),PHPMA)、聚(N-异丙基丙烯酰胺)(Poly(N-isopropylacrylamide),PNIPAM)、胺封端的(amine terminated)、羧酸封端的(carboxylic acid terminated)、马

来酰亚胺封端的 (maleimide terminated)、N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 酯封端的 (N-hydroxysuccinimide ester terminated)、三乙氧基硅烷封端的 (triethoxysilane terminated) 聚 (N-异丙基丙烯酰胺-共聚-丙烯酰胺) (Poly (N-isopropylacrylamide-co-acrylamide))、聚 (N-异丙基丙烯酰胺-共聚-丙烯酸) (Poly (N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid))、聚 (N-异丙基丙烯酰胺-共聚-丙烯酸丁酯) (Poly (N-isopropylacrylamide-co-butylacrylate))、聚 (N-异丙基丙烯酰胺-共聚-甲基丙烯酸) (Poly (N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid))、聚 (N-异丙基丙烯酰胺-共聚-甲基丙烯酸-共聚-丙烯酸十八烷基酯) (Poly (N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid-co-octadecyl acrylate)) 和 N-异丙基丙烯酰胺 (N-Isopropylacrylamide) 中的少量温敏凝胶。

[0125] 应予说明,在本发明中,凝胶状的培养基或凝胶培养基包括聚合物培养基。

[0126] 培养基容器25可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含培养基容器25的内部的封闭空间可以构成不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。培养基容器25可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。培养基容器25的至少一部分可以设置于平板等部件。培养基容器25的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。培养基容器25的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。培养基容器25可以能够改变该培养基容器25的容积。在这种情况下,例如,培养基容器25具备容纳体细胞培养基的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳体细胞培养基的容积。或者,培养基容器25也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0127] 如果从单核细胞回收器15向流路19输送单核细胞,则流体机械24从培养基容器25介由流路23向流路19输送培养基。培养基容器25使可容纳培养基的容积减少。应予说明,培养基容器25可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路23内部的抽吸力而被动地使容积收缩。介由流路23输送至流路19的体细胞培养基与流路19内的单核细胞混合,被输送至细胞培养器22内。

[0128] 可以在培养基容器25设置对培养基容器25内的培养基的温度进行调节的温度调节装置。

[0129] 如果从流路19向细胞培养器22送入细胞和培养基,则细胞培养器22内的剩余的流体例如向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,从而接收从细胞培养器22内移动而来的流体。

[0130] 在细胞培养器22介由流路连接有容纳因子的因子容器81和容纳用于将因子导入到细胞中的试剂的试剂容器82。

[0131] 因子容器81在内部容纳导入细胞的因子。相对于将因子导入细胞的试剂,有时将因子称为效应分子 (payload)。因子可以是DNA、RNA和寡核苷酸等核酸,也可以是蛋白质,还可以是化合物,还可以是病毒。DNA可以是质粒DNA。RNA可以是mRNA、siRNA和miRNA。RNA可以是修饰RNA,也可以是非修饰RNA。蛋白质可以是核酸酶蛋白,例如Cas9蛋白。病毒可以是慢病毒。因子可以是将第一状态的细胞诱导为第二状态的细胞的诱导因子。

[0132] 本发明中,诱导是指重编程、初始化、转化、分化转换 (Transdifferentiation或Lineage reprogramming)、分化诱导和细胞命运重编程 (Cell fate reprogramming) 等。把将多能干细胞以外的细胞诱导为多能干细胞的因子称为重编程因子。重编程因子包括例如

OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC。把将干细胞诱导为分化细胞的因子称为分化诱导因子。作为分化细胞的示例,可列举成纤维细胞、神经细胞、视网膜上皮细胞、肝细胞、 β 细胞、肾细胞、间充质干细胞、血细胞、巨细胞、T细胞、软骨细胞、心肌细胞、肌细胞、血管细胞、上皮细胞、多能干细胞、ES细胞、iPS细胞或其他体细胞。

[0133] 因子容器81可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含因子容器81的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。因子容器81可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。因子容器81的至少一部分可以设置于平板等部件。因子容器81的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。因子容器81的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。因子容器81可以能够改变该因子容器81的容积。在这种情况下,例如,因子容器81具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞。通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,因子容器81也可以是具有挠性的波纹管 and/或袋。

[0134] 试剂容器82容纳用于将容纳于因子容器81的因子导入到细胞中的试剂。作为试剂的示例,可列举人工脂质体、阳离子脂质、氯化钙、阳离子二乙基氨基乙基葡聚糖分子、阳离子肽及其衍生物、直链或支链的合成聚合物、基于多糖的导入分子、天然聚合物以及活性和非活性聚合物。试剂例如为转染试剂。在本发明中,不仅将核酸导入细胞称为转染,将蛋白质、化合物和病毒导入细胞也称为转染。

[0135] 试剂容器82可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含试剂容器82的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。试剂容器82可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。试剂容器82的至少一部分可以设置于平板等部件。试剂容器82的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。试剂容器82的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。试剂容器82可以能够改变该试剂容器82的容积。在这种情况下,例如,试剂容器82具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞。通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,试剂容器82也可以是具有挠性的波纹管 and/或袋。

[0136] 细胞培养装置200还具备容纳用于分别稀释因子和试剂的稀释液的稀释液容器83。作为稀释液的示例,可以列举磷酸缓冲生理盐水(PBS)。

[0137] 稀释液容器83可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含稀释液容器83的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。稀释液容器83可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。稀释液容器83的至少一部分可以设置于平板等部件。稀释液容器83的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。稀释液容器83的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。稀释液容器83可以能够改变该稀释液容器83的容积。在这种情况下,例如,稀释液容器83具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,稀释液容器83也可以是具有挠性的波纹管 and/或袋。

[0138] 细胞培养装置200还具备因子稀释容器84,其用于将因子与稀释液混合,该因子稀释容器84设置于因子容器81和稀释液容器83与细胞培养器22之间的流路。在因子稀释容器84中,将来自因子容器81的因子与来自稀释液容器83的稀释液混合,制成因子的稀释液。因子稀释容器84可以是具备供因子的稀释液流动的弯折流路的混合器。弯折流路可以弯曲成

螺旋状。在弯折流路中,流路可以蜿蜒。在弯折流路中,截面积可以反复增减。

[0139] 因子稀释容器84可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含因子稀释容器84的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。因子稀释容器84可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。因子稀释容器84的至少一部分可以设置于平板等部件。因子稀释容器84的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。因子稀释容器84的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。因子稀释容器84可以能够改变该因子稀释容器84的容积。在这种情况下,例如,因子稀释容器84具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,因子稀释容器84也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0140] 在因子容器81连接有用于至少将因子从因子容器81输送至因子稀释容器84的流路85。因子容器81和流路85可以通过连接器连接。在稀释液容器83连接有用于至少将稀释液从稀释液容器83输送至因子稀释容器84的流路86。稀释液容器83和流路86可以通过连接器连接。流路85与流路86合流于流路87。流路87连接于因子稀释容器84。可以在流路85设置用于使流路85内的流体移动的流体机械187。在流路85可以不设置除流体机械以外的阀。可以在流路86设置用于使流路86内的流体移动的流体机械88。在流路86可以不设置除流体机械以外的阀。

[0141] 流体机械88、187可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路85,流体机械187的泵头连接于流路85,流体机械187的驱动部能够从基板取下。另外,可以是,在基板设置流路86,流体机械88的泵头连接于流路86,流体机械88的驱动部能够从基板取下。

[0142] 流路85、86、87可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路85、86、87的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路85、86、87可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路85、86、87的至少一部分可以设置于平板等部件。流路85、86、87的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路85、86、87的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0143] 流体机械187使因子容器81内的因子介由流路85、87移动至因子稀释容器84内。另外,流体机械88使稀释液容器83内的稀释液介由流路86、87移动至因子稀释容器84内。流体机械187可以使因子容器81内的因子定量地移动至因子稀释容器84内。流体机械88可以使稀释液容器83内的稀释液定量地移动至因子稀释容器84内。应予说明,可以不在流路85、86设置流体机械,而在流路87设置流体机械,设置于流路87的流体机械使因子容器81内的因子和稀释液容器83内的稀释液移动至因子稀释容器84内。

[0144] 因子容器81在送出因子时可以使容积收缩。因子容器81可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路85的抽吸力而被动地使容积收缩。稀释液容器83在送出稀释液时可以使容积收缩。稀释液容器83可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路86的抽吸力而被动地使容积收缩。因子稀释容器84在供给因子和稀释液时可以使容积膨胀。因子稀释容器84可以主动地使容积膨胀,也可以因来自于流路87的压力而被动地使容积膨胀。

[0145] 因子稀释容器84例如介由流路135、136、137和流路131与储存槽130连接。流路135、136、137可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路135、136、137的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路135、136、

137可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路135、136、137的至少一部分可以设置于平板等部件。流路135、136、137的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路135、136、137的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0146] 如果向因子稀释容器84送入因子和稀释液,则因子稀释容器84内的空气等气体等流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,接受从因子稀释容器84内移动而来的流体。

[0147] 细胞培养装置200还具备试剂稀释容器89,其用于将试剂与稀释液混合,该试剂稀释容器89设置于试剂容器82和稀释液容器83与细胞培养器22之间的流路。在试剂稀释容器89中,将来自试剂容器82的试剂与来自稀释液容器83的稀释液混合,制作试剂稀释液。试剂稀释容器89可以是具备供试剂的稀释液流动的弯折流路的混合器。弯折流路可以弯曲成螺旋状。在弯折流路中,流路可以蜿蜒。在弯折流路中,截面积可以反复增减。

[0148] 试剂稀释容器89可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含试剂稀释容器89的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。试剂稀释容器89可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。试剂稀释容器89的至少一部分可以设置于平板等部件。试剂稀释容器89的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。试剂稀释容器89的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。试剂稀释容器89可以能够改变该试剂稀释容器89的容积。在这种情况下,例如,试剂稀释容器89具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,试剂稀释容器89也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0149] 在试剂容器82连接有用于至少将试剂从试剂容器82输送至试剂稀释容器89的流路90。试剂容器82与流路90可以通过连接器连接。在稀释液容器83连接有用于至少将稀释液从稀释液容器83输送至试剂稀释容器89的流路91。稀释液容器83与流路91可以通过连接器连接。流路90与流路91合流于流路92。流路92连接于试剂稀释容器89。可以在流路90设置用于使流路90内的流体移动的流体机械93。在流路90可以不设置除流体机械以外的阀。可以在流路91设置用于使流路91内的流体移动的流体机械94。在流路91可以不设置除流体机械以外的阀。

[0150] 流体机械93、94可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路90,流体机械93的泵头连接于流路90,流体机械93的驱动部能够从基板取下。另外,可以是,在基板设置流路91,流体机械94的泵头连接于流路91,流体机械94的驱动部能够从基板取下。

[0151] 流路90、91、92可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路90、91、92的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路90、91、92可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路90、91、92的至少一部分可以设置于平板等部件。流路90、91、92的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路90、91、92的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0152] 流体机械93使试剂容器82内的试剂介由流路90、92移动至试剂稀释容器89内。另外,流体机械94使稀释液容器83内的稀释液介由流路91、92移动至试剂稀释容器89内。流体机械93可以使试剂容器82内的试剂定量地移动至试剂稀释容器89内。流体机械94可以使稀释液容器83内的稀释液定量地移动至试剂稀释容器89内。应予说明,可以不在流路90、91设置流体机械,而在流路92设置流体机械,设置于流路92的流体机械使试剂容器82内的试剂

和稀释液容器83内的稀释液移动至试剂稀释容器89内。

[0153] 试剂容器82在送出试剂时可以使容积收缩。试剂容器82可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路90的抽吸力而被动地使容积收缩。稀释液容器83在送出稀释液时可以使容积收缩。稀释液容器83可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路91的抽吸力而被动地使容积收缩。试剂稀释容器89在供给试剂和稀释液时可以使容积膨胀。试剂稀释容器89可以主动地使容积膨胀,也可以因来自于流路92的压力而被动地使容积膨胀。

[0154] 试剂稀释容器89例如介由流路135、136、137和流路131与储存槽130连接。如果向试剂稀释容器89送入试剂和稀释液,则试剂稀释容器89内的空气等气体等流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,接收从试剂稀释容器89内移动而来的流体。

[0155] 细胞培养装置200还具备混合槽95,其用于将因子与试剂混合,该混合槽95设置于因子稀释容器84和试剂稀释容器89与细胞培养器22之间的流路。在混合槽95中,将来自因子稀释容器84的因子的稀释液与来自试剂稀释容器89的试剂的稀释液混合,制作因子与试剂的混合液。混合槽95可以是具备供因子与试剂的混合液流动的弯折流路的混合器。弯折流路可以弯曲成螺旋状。在弯折流路中,流路可以蜿蜒。在弯折流路中,截面积可以反复增减。

[0156] 混合槽95可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含混合槽95的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。混合槽95可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。混合槽95的至少一部分可以设置于平板等部件。混合槽95的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。混合槽95的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。混合槽95可以能够改变该混合槽95的容积。在这种情况下,例如,混合槽95具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,混合槽95也可以是具有挠性的波纹管 and/或袋。

[0157] 在因子稀释容器84连接有用于至少将因子的稀释液从因子稀释容器84输送至混合槽95的流路96。在试剂稀释容器89连接有用于至少将试剂的稀释液从试剂稀释容器89输送至混合槽95的流路97。流路96与流路97合流于流路98。流路98连接于混合槽95。可以在流路98设置用于使流路98内的流体移动的流体机械99。在流路98可以不设置除流体机械以外的阀。

[0158] 流体机械99可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路98,流体机械99的泵头连接于流路98,流体机械99的驱动部能够从基板取下。

[0159] 流路96、97、98可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路96、97、98的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路96、97、98可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路96、97、98的至少一部分可以设置于平板等部件。流路96、97、98的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路96、97、98的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0160] 流体机械99使因子稀释容器84内的因子的稀释液介由流路96、98移动至混合槽95内。另外,流体机械99使试剂稀释容器89内的试剂的稀释液介由流路97、98移动至混合槽95内。流体机械99可以使因子稀释容器84内的因子的稀释液定量地移动至混合槽95内。流体机械99可以使试剂稀释容器89内的试剂的稀释液定量地移动至混合槽95内。因子稀释容器

84在送出因子的稀释液时可以使容积收缩。因子稀释容器84可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路96的抽吸力而被动地使容积收缩。试剂稀释容器89在送出试剂的稀释液时可以使容积收缩。试剂稀释容器89可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路97的抽吸力而被动地使容积收缩。混合槽95在供给因子和试剂时可以使容积膨胀。混合槽95可以主动地使容积膨胀,也可以因来自于流路98的压力而被动地使容积膨胀。

[0161] 混合槽95例如介由流路137和流路131连接于储存槽130。如果向混合槽95送入因子的稀释液和试剂的稀释液,则混合槽95内的空气等气体等流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,接收从混合槽95内移动而来的流体。

[0162] 如图8和图9所示,可以在混合槽95连接分别容纳供给至混合槽95的培养基的多个培养基容器101、102。

[0163] 培养基容器101、102可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含培养基容器101、102的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。培养基容器101、102可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。培养基容器101、102的至少一部分可以设置于平板等部件。培养基容器101、102的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。培养基容器101、102的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。培养基容器101可以能够改变该培养基容器101的容积。在这种情况下,例如,培养基容器101具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,培养基容器101也可以是具有挠性的波纹管 and/或袋。对于培养基容器101也是同样的。

[0164] 在培养基容器101连接有用于至少将培养基从培养基容器101输送至混合槽95的流路103。培养基容器101与流路103可以通过连接器连接。在培养基容器102连接有用于至少将培养基从培养基容器102输送至混合槽95的流路104。培养基容器102和流路104可以通过连接器连接。流路103和流路104合流于流路105。流路105连接于混合槽95。在流路103设置有用于使流路103内的流体移动的流体机械106。在流路103可以不设置除流体机械以外的阀。可以在流路104设置用于使流路104内的流体移动的流体机械107。在流路104可以不设置除流体机械以外的阀。

[0165] 流体机械106、107可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路103,流体机械106的泵头连接于流路103,流体机械106的驱动部能够从基板取下。另外,可以是,在基板设置流路104,流体机械107的泵头连接于流路104,流体机械107的驱动部能够从基板取下。

[0166] 流路103、104、105可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路103、104、105的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路103、104、105可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路103、104、105的至少一部分可以设置于平板等部件。流路103、104、105的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路103、104、105的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0167] 流体机械106使培养基容器101内的培养基介由流路103、105移动至混合槽95内。另外,流体机械107使培养基容器102内的培养基介由流路104、105移动至混合槽95内。流体机械106可以使培养基容器101内的培养基定量地移动至混合槽95内。流体机械107可以使培养基容器102内的试剂的稀释液定量地移动至混合槽95内。培养基容器101、102在送出培

培养基时可以分别使容积收缩。培养基容器101、102可以各自主动地使容积收缩,也可以因来自于流路103、104的抽吸力而被动地使容积收缩。

[0168] 在混合槽95中将因子、试剂、培养基混合。有时因子和试剂为微量,但通过将培养基混合而体积增大,有时向细胞培养器22的供给变得容易。

[0169] 多个培养基容器101、102可以容纳不同的培养基。例如,可以根据从混合槽95向细胞培养器22输送试剂和因子的次数,从多个培养基容器101、102中的任一个向混合槽95输送不同的培养基。另外,例如,也可以根据从混合槽95向细胞培养器22输送试剂和因子的时刻,从多个培养基容器101、102中的任一个向混合槽95输送不同的培养基。例如,在向细胞培养器22内的细胞导入因子而使细胞从第一状态变化为第二状态的情况下,可以在导入因子的初始阶段,从培养基容器101向混合槽95供给适合于第一状态的细胞的培养基,在导入因子的后期阶段,从培养基容器102向混合槽95供给适合于第二状态的细胞的培养基。

[0170] 如图1和图2所示,在混合槽95连接有流路108,该流路108用于从混合槽95向细胞培养器22输送因子和试剂。可以在流路108设置用于使流路108内的流体移动的流体机械109。

[0171] 流体机械109可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路108,流体机械109的泵头连接于流路108,流体机械109的驱动部能够从基板取下。

[0172] 流路108可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路108的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路108可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路108的至少一部分可以设置于平板等部件。流路108的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路108的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0173] 流体机械109使混合槽95内的因子和试剂介由流路108移动至细胞培养器22内。流体机械109可以使混合槽95内的因子和试剂定量地移动至细胞培养器22内。流体机械109可以从混合槽95向细胞培养器22输送试剂和因子预定次数。另外,流体机械109可以在预定的时刻从混合槽95向细胞培养器22输送试剂和因子。混合槽95在送出因子和试剂时可以使容积收缩。混合槽95可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路108的抽吸力而被动地使容积收缩。

[0174] 细胞培养器22内的细胞与因子和试剂接触而将因子导入至细胞。通过使混合槽95内的因子和试剂定量地向细胞培养器22内移动,使因子定量地导入至细胞。通过使混合槽95内的因子和试剂在细胞培养器22内移动预定次数,从而使因子导入至细胞预定次数。通过使混合槽95内的因子和试剂在预定的时刻移动至细胞培养器22内,从而使因子在预定时刻导入至细胞。

[0175] 在细胞培养器22例如介由流路31连接有培养基容器32,该培养基容器32是容纳适合于导入了因子的细胞的培养基的流体容器。在导入了因子的细胞被诱导为干细胞的情况下,培养基容器32容纳干细胞培养基。在导入了因子的细胞被诱导为分化细胞等体细胞的情况下,培养基容器32容纳体细胞培养基。培养基容器32所容纳的培养基可以是凝胶,也可以是液体。

[0176] 培养基容器32可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含培养基容器32的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。培养基

容器32可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。培养基容器32的至少一部分可以设置于平板等部件。培养基容器32的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。培养基容器32的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。培养基容器32可以能够改变该培养基容器32的容积。在这种情况下,例如,培养基容器32具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,培养基容器32也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0177] 培养基容器32与流路31可以通过连接器连接。流路31可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路31的内部的封闭空间可以构成不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路31可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路31的至少一部分可以设置于平板等部件。流路31的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路31的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。可以在流路31设置用于使流路31内的流体移动的泵等流体机械33。在流路31可以不设置除流体机械以外的阀。

[0178] 流体机械33可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路31,流体机械33的泵头连接于流路31,流体机械33的驱动部能够从基板取下。

[0179] 可以在培养基容器32设置用于对培养基容器32内的培养基的温度进行调节的温度调节装置。

[0180] 从向细胞导入因子起算经过预定的时间后,流体机械33使培养基容器32内的培养基介由流路31移动至细胞培养器22内。如图6所示,从培养基容器32供给的培养基可以与细胞培养器22内的用培养基成分透过部件322划分出的分区中存在细胞的分区323连接,也可以进入不存在细胞的分区324。或者,如图7所示,干细胞培养基可以进入被细胞培养器22内的培养基成分透过部件322划分出的分区的中在重力方向下侧的不存在细胞的分区323。在这种情况下,在重力方向下侧的分区324存在细胞。从内部抽吸了培养基的培养基容器32可以使容积收缩。应予说明,培养基容器32可以主动地使容积收缩,也可以被动地使容积收缩。

[0181] 如果从图1和图2所示的培养基容器32向细胞培养器22内送入培养基,则细胞培养器22内的剩余的流体例如可以向储存槽130内移动,储存槽130使容积膨胀,介由流路132或流路134接收从细胞培养器22内移动而来的流体。流路132或流路134可以与细胞培养器22内的被培养基成分透过部件划分的分区中的不存在细胞的分区连接。

[0182] 或者,流路132或流路134可以与细胞培养器22内的被培养基成分透过部件划分的分区中的存在细胞的分区连接。在这种情况下,细胞培养器22内的剩余的细胞介由流路132或流路134被送出至储存槽130。

[0183] 细胞培养器22内的被培养基成分透过部件划分的分区中的存在细胞的分区的培养基与不存在细胞的分区的培养基例如通过渗透压来交换培养基成分、代谢废物。作为培养成分透过构件,例如可以使用半透膜、网和中空纤维膜。半透膜包括透析膜。

[0184] 在培养成分透过构件为半透膜的情况下,半透膜的截留分子量例如为0.1KDa以上、10KDa以上或50KDa以上。半透膜例如由纤维素酯、乙基纤维素、纤维素酯类、再生纤维素、聚砜、聚丙烯腈、聚甲基丙烯酸甲酯、乙烯-乙醇共聚物、聚酯系聚合物合金、聚碳酸酯、聚酰胺、乙酸钠纤维素、二乙酸钠纤维素、三乙酸钠纤维素、铜铵人造丝、皂化纤维素、血仿膜、磷脂酰胆碱膜和维生素E涂膜等形成。

[0185] 在培养成分透过构件为网的情况下,网具有比在细胞培养器22内培养的细胞小的孔。网的材料例如为树脂和金属,但没有特别限定。培养成分透过构件的表面可以为细胞非粘附性。

[0186] 在培养成分透过构件为中空纤维膜的情况下,中空纤维膜具有比在细胞培养器22内培养的细胞小的孔。例如,可以在中空纤维膜的内侧培养细胞。

[0187] 在细胞培养器22内培养细胞的期间,流体机械33可以在预定的时刻使培养基容器32内的培养基介由流路31移动至细胞培养器22内。储存槽130可以接收通过新鲜的培养基的流入而成为细胞培养器22内的剩余的用完的培养基。流体机械33例如可以根据培养基的状态、培养基中的细胞团的状态、细胞数、细胞团数、培养基的浊度和pH的变化来控制培养基的送液量、或者进行培养基的送液的开始和结束。

[0188] 可以在细胞培养器22连接有剥离剂容器120,该剥离剂容器120容纳用于将在细胞培养器22内培养的细胞从细胞培养器22剥离的剥离剂。应予说明,剥离剂可以用于使悬浮的细胞团破碎。

[0189] 剥离剂容器120可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含剥离剂容器120的内部的封闭空间可以构成不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。剥离剂容器120可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。剥离剂容器120的至少一部分可以设置于平板等部件。剥离剂容器120的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。剥离剂容器120的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。剥离剂容器120可以能够改变该剥离剂容器120的容积。在这种情况下,例如,剥离剂容器120具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,剥离剂容器120也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0190] 在剥离剂容器120连接有用于至少将剥离剂从剥离剂容器120输送至细胞培养器22的流路121。剥离剂容器120与流路121可以通过连接器连接。可以在流路121设置用于使流路121内的流体移动的流体机械122。在流路121可以不设置除流体机械以外的阀。

[0191] 流体机械122可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路121,流体机械122的泵头连接于流路121,流体机械122的驱动部能够从基板取下。

[0192] 流路121可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路121的内部的封闭空间可以构成不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路121可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路121的至少一部分可以设置于平板等部件。流路121的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路121的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0193] 流体机械122使剥离剂容器120内的剥离剂介由流路121移动至细胞培养器22内。流体机械122可以使剥离剂容器120内的剥离剂定量地移动至细胞培养器22内。剥离剂容器120在送出剥离剂时可以使容积收缩。剥离剂容器120可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路121的抽吸力而被动地使容积收缩。

[0194] 可以在使剥离的细胞从细胞培养器22移动至流路后,使细胞的至少一部分返回至细胞培养器22,对细胞进行传代。应予说明,在悬浮培养的情况下,即使不剥离细胞也可以进行传代。用于从细胞培养器22接收细胞并使细胞再次返回到细胞培养器22的流路可以设置对细胞团进行分割的结构。细胞团可以被分割为小的细胞团,也可以被分割为单个细胞。

[0195] 在细胞培养器22连接有冷冻保存液容器123,该冷冻保存液容器123容纳用于将在细胞培养器22内培养的细胞进行冷冻保存的冷冻保存液。

[0196] 冷冻保存液容器123可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含冷冻保存液容器123的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。冷冻保存液容器123可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。冷冻保存液容器123的至少一部分可以设置于平板等部件。冷冻保存液容器123的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。冷冻保存液容器123的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。冷冻保存液容器123可以能够改变该冷冻保存液容器123的容积。在这种情况下,例如,冷冻保存液容器123具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,冷冻保存液容器123也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0197] 在冷冻保存液容器123连接有用于至少将冷冻保存液从冷冻保存液容器123输送至细胞培养器22的流路124。冷冻保存液容器123与流路124可以通过连接器连接。可以在流路124设置用于使流路124内的流体移动的流体机械125。在流路124可以不设置除流体机械以外的阀。

[0198] 流体机械125可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路124,流体机械125的泵头连接于流路124,流体机械125的驱动部能够从基板取下。

[0199] 流路124可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路124的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路124可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路124的至少一部分可以设置于平板等部件。流路124的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路124的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0200] 流体机械125使冷冻保存液容器123内的冷冻保存液介由流路124移动至在内部悬浮有细胞的细胞培养器22内。流体机械125可以使冷冻保存液容器123内的冷冻保存液定量地移动至细胞培养器22内。冷冻保存液容器123在送出冷冻保存液时可以使容积收缩。冷冻保存液容器123可以主动地使容积收缩,也可以因来自于流路124的抽吸力而被动地使容积收缩。

[0201] 在细胞培养器22可以连接有用于将细胞进行冷冻保存的细胞冷冻容器126。

[0202] 细胞冷冻容器126可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含细胞冷冻容器126的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。细胞冷冻容器126可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。细胞冷冻容器126的至少一部分可以设置于平板等部件。细胞冷冻容器126的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。细胞冷冻容器126的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。细胞冷冻容器126可以能够改变该细胞冷冻容器126的容积。在这种情况下,例如,细胞冷冻容器126具备容纳流体的注射器和插入到注射器中并且能够在注射器内移动的柱塞,通过柱塞的移动,能够改变注射器内的可容纳流体的容积。或者,细胞冷冻容器126也可以是具有挠性的波纹管和/或袋。

[0203] 在细胞冷冻容器126连接有用于至少将细胞和冷冻保存液从细胞培养器22输送至细胞冷冻容器126的流路127。可以在流路127设置对细胞团进行分割的结构。细胞冷冻容器

126与流路127可以通过连接器连接。可以在流路127设置用于使流路127内的流体移动的流体机械128。在流路127可以不设置除流体机械以外的阀。

[0204] 流体机械128可以具备泵头和驱动泵头的驱动部。可以是,在基板设置流路127,流体机械128的泵头连接于流路127,流体机械128的驱动部能够从基板取下。

[0205] 流路127可以具有能够将内部相对于外部气体封闭的结构。包含流路127的内部的封闭空间可以构成为不与外部进行气体、病毒、微生物和杂质等的交换。流路127可以嵌入并包埋于气体非透过性物质中。流路127的至少一部分可以设置于平板等部件。流路127的至少一部分可以通过刻入到部件中而形成。流路127的至少一部分可以通过刻入到部件中并使凹部重叠而形成。

[0206] 流体机械128使细胞培养器22内的细胞和冷冻保存液介由流路127移动至细胞冷冻容器126内。流体机械128可以使细胞培养器22内的细胞和冷冻保存液定量地移动至细胞冷冻容器126内。细胞冷冻容器126在接收细胞和冷冻保存液时可以使容积膨胀。细胞冷冻容器126可以主动地使容积膨胀,也可以因来自于流路127的压力而被动地使容积膨胀。

[0207] 实施方式的红细胞除去装置100和细胞培养装置200可以设置于一个基板上。红细胞除去装置100和细胞培养装置200各自的构成要素可以通过刻入到基板中而形成。红细胞除去装置100和细胞培养装置200各自的构成要素可以通过将在至少两个基板的相同位置刻入的凹部彼此合在一起而形成。红细胞除去装置100和细胞培养装置200各自的构成要素可以以不与外部气体接触的方式包埋红细胞除去装置100和细胞培养装置200。

[0208] 实施方式的红细胞除去装置100和细胞培养装置200可以具备设置有流体机械的驱动部的基板和设置有流路等的基板。红细胞除去装置100和细胞培养装置200可以通过使设置有流体机械的驱动部的基板与设置有流路等的基板重叠而构成。

[0209] 根据本发明人等的见解,细胞能够在完全封闭的密闭空间进行培养,因此也可以不积极地向细胞培养器22内供给二氧化碳气体、氮气及氧气等。因此,也可以不将细胞培养器22配置在CO₂培养箱内。另外,存在于细胞培养器22外的细胞、微生物、病毒及灰尘等不会进入到密闭的细胞培养器22内,因此细胞培养器22内的清洁度得以保持。因此,可以不将细胞培养器22配置在洁净室内。但是,并不一定妨碍向细胞所存在的封闭体系内供给二氧化碳气体、氮气及氧气等。

[0210] 根据实施方式的红细胞除去装置100,例如,由于在完全封闭体系中对血液进行处理,因此能够降低因血液从装置漏出而引起的感染的风险。根据实施方式的细胞培养装置200,例如在完全封闭体系中培养细胞,因此能够降低由细胞、因子从培养装置漏出导致的交叉污染的风险。另外,例如,即使在细胞被HIV肝炎病毒等病毒感染的情况下,也能够降低因细胞的漏出而导致的对操作者的感染的风险。进而,能够降低细胞培养器内的培养基污染细胞培养器外的空气中的细菌、病毒及霉菌等的风险。进而,根据实施方式所涉及的细胞培养器,也可以不使用CO₂培养箱地对细胞进行培养。应予说明,封闭体系可以指细菌和病毒等微生物以及尘垢不会从外部进入。在封闭体系中,可以允许气体从外部进入,也可以构成为气体无法进入。

[0211] (其他实施方式)

[0212] 如上所述,通过实施方式记载了本发明,但不应理解为构成该公开的一部分的记述及附图限定本发明。根据本发明,本领域技术人员应该明白各种代替实施方式、实施方式

和运用技术。例如,输送至图1所示的细胞培养器22的细胞不限于单核细胞。输送至细胞培养器22的细胞可以是干细胞、成纤维细胞或其他体细胞。输送至细胞培养器22的细胞是任意的。

[0213] 实施例

[0214] (实施例1)

[0215] 在本实施例中,示出在完全封闭的环境下不进行培养基更换和气体更换就能够培养细胞的例子。将生长因子添加到培养基(StemSpan H3000,注册商标,STEMCELL Technologies Inc.)中,进一步在培养基中添加脱酰基结冷胶,准备凝胶培养基。

[0216] 将准备好的凝胶培养基放入到15mL管中,在凝胶培养基中接种 2×10^5 个血液细胞。然后,将15mL管配置于CO₂培养箱内,培养血液细胞(单核细胞)7天。然后,在凝胶培养基中以感染复数(MOI)达到10.0的方式添加搭载OCT3/4、SOX2、KLF4、cMYC的仙台病毒载体,使仙台病毒感染血液细胞。

[0217] 在凝胶培养基中添加仙台病毒后,在凝胶培养基中添加15mL的经凝胶化的干细胞培养基(包含20%KnockOut SR(注册商标,ThermoFisher SCIENTIFIC)的DMEM/F12),将其中的15mL的包含感染了仙台病毒的细胞的培养基放入到可密闭的细胞培养器中,将凝胶培养基注入到细胞培养器中。然后,将细胞培养器内部密闭,使细胞培养器的内部与外部完全不发生气体交换。

[0218] 在细胞培养器内开始进行导入了初始化因子的细胞的悬浮培养。然后,将培养基保持槽40内的2mL的凝胶培养基每2天一次地更换为2mL的新鲜的凝胶培养基。

[0219] 15天后,用显微镜观察细胞,结果如图10所示,确认形成了ES细胞样集落。另外,使用4%-多聚甲醛来固定细胞,使用流式细胞仪对经固定的细胞中的细胞表面抗原TRA-1-60的表达量进行测定,结果如图11所示,90%以上为TRA-1-60阳性,确认到几乎完全被重编程。因此表明,在完全封闭的环境下,不进行培养基更换和气体更换就能够由干细胞以外的体细胞来诱导iPS细胞。

[0220] (实施例2)

[0221] 用红细胞沉降剂对血液进行处理,得到至少部分地除去了红细胞后的处理血液。用表面细胞标志物抗体对处理血液进行处理,并通过荧光激活细胞分选(FACS)进行分析,将结果示于图12。处理血液包含CD3阳性细胞、CD14阳性细胞、CD31阳性细胞、CD33阳性细胞、CD34阳性细胞、CD19阳性细胞、CD41阳性细胞、CD42阳性细胞和CD56阳性细胞。

[0222] 将至少部分地除去了红细胞后的处理血液放入到图3所示那样的单核细胞回收器中,用缓冲液稀释,除去上清液。然后,从单核细胞回收器中回收单核细胞。如图13的(a)所示,放入到单核细胞回收器之前的处理血液包含大量血小板。另一方面,如图13的(b)所示,从单核细胞回收器回收的包含单核细胞的溶液的血小板几乎被除去。将表示每相同面积中的放入到单核细胞回收器之前的处理血液中的血小板数和从单核细胞回收器中回收的包含单核细胞的溶液中的血小板数的图表示于图14。

[0223] 如果将放入到单核细胞回收器之前的包含血小板的处理血液放入到培养液中,则如图15的(a)所示,发生了凝集。与此相对,如果将从单核细胞回收器回收的包含除去了血小板的单核细胞的溶液放入到培养液中,则如图15的(b)所示,未发生凝集。

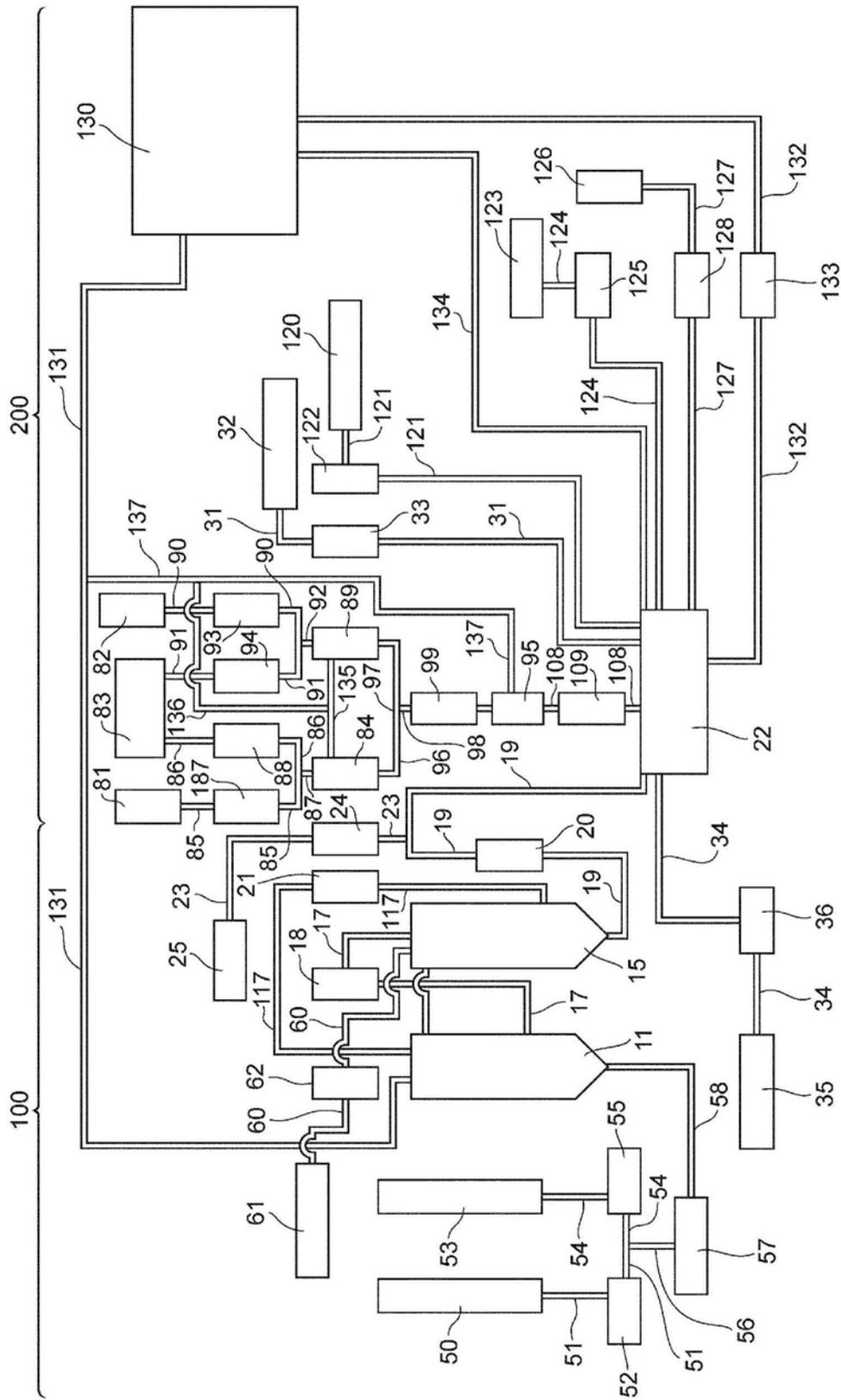


图1

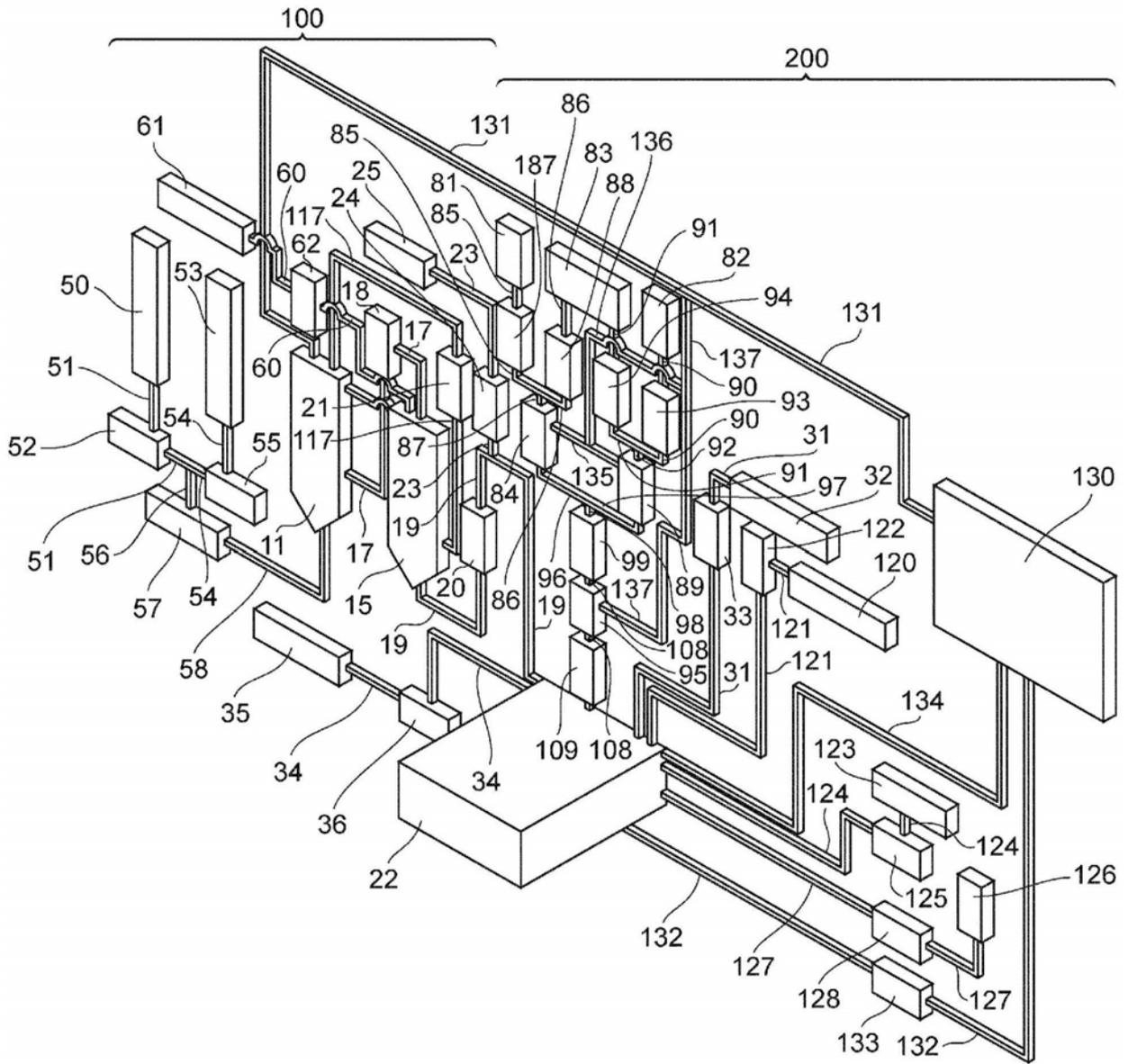


图2

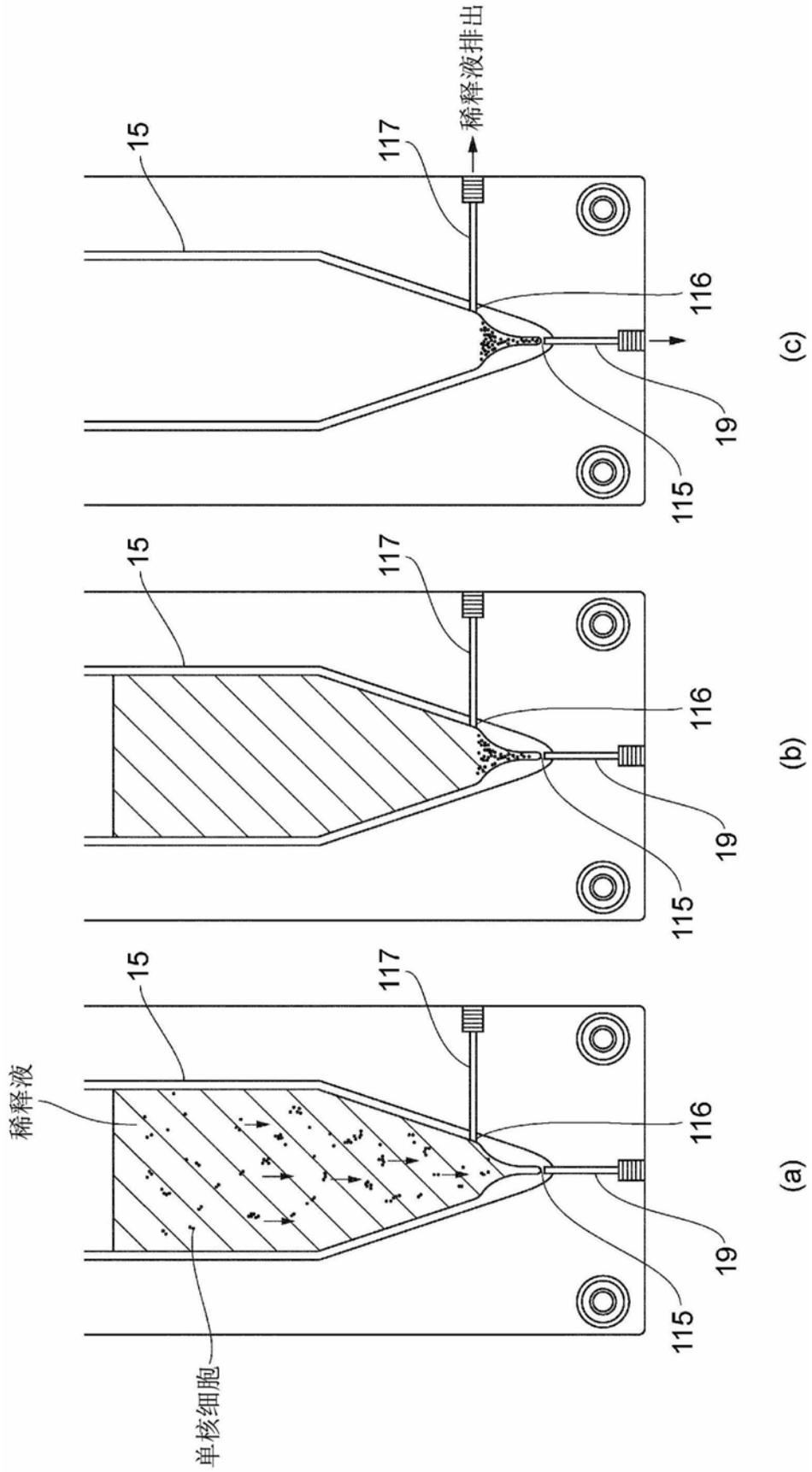


图3

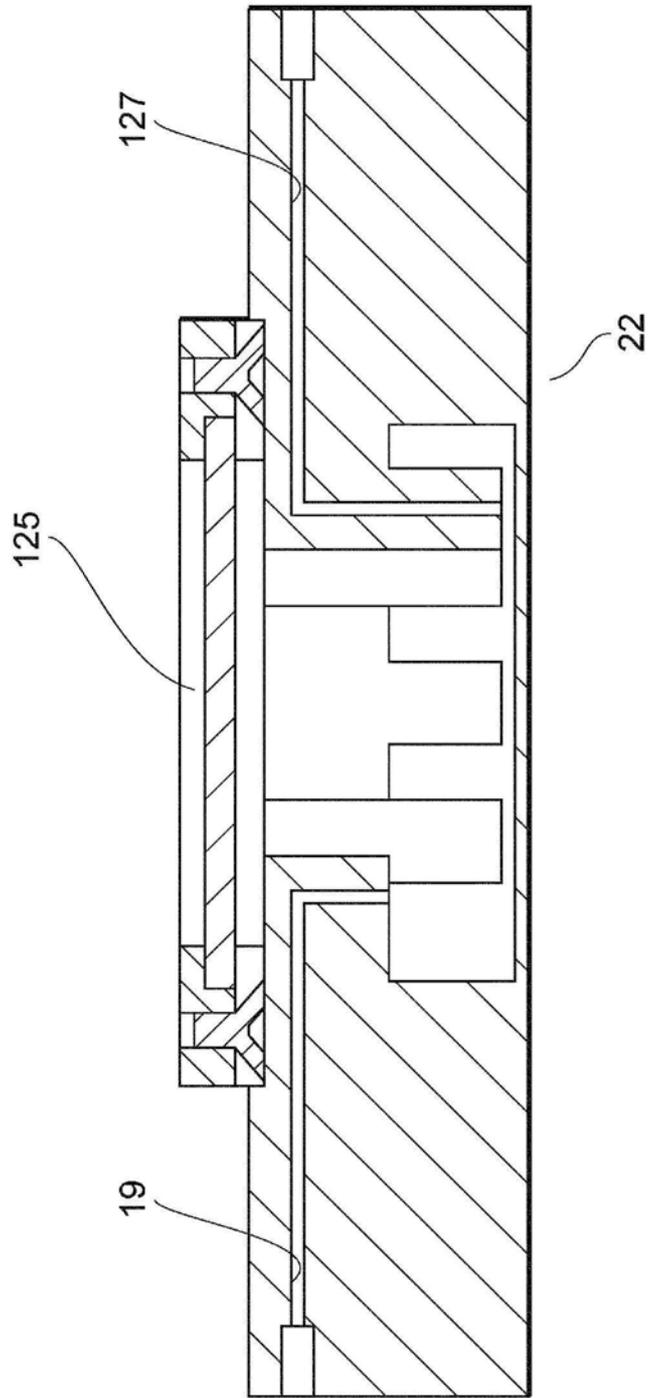


图4

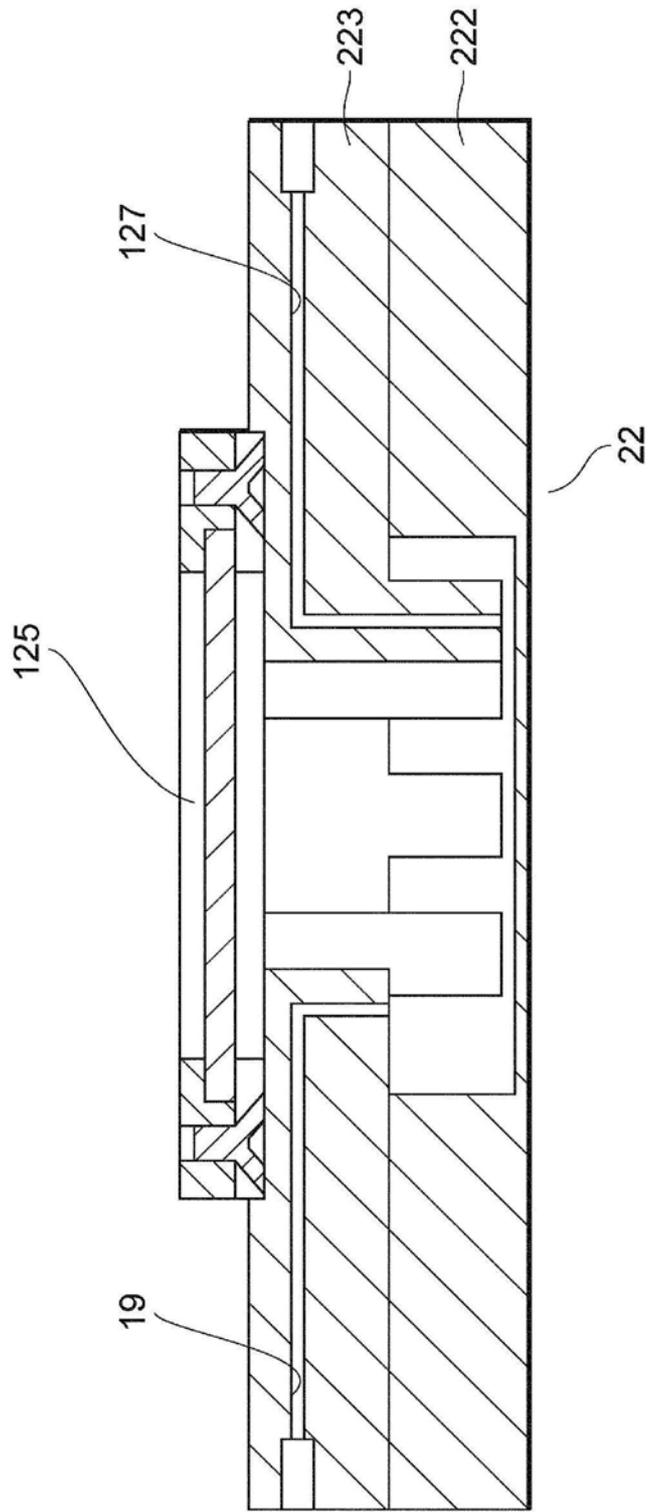


图5

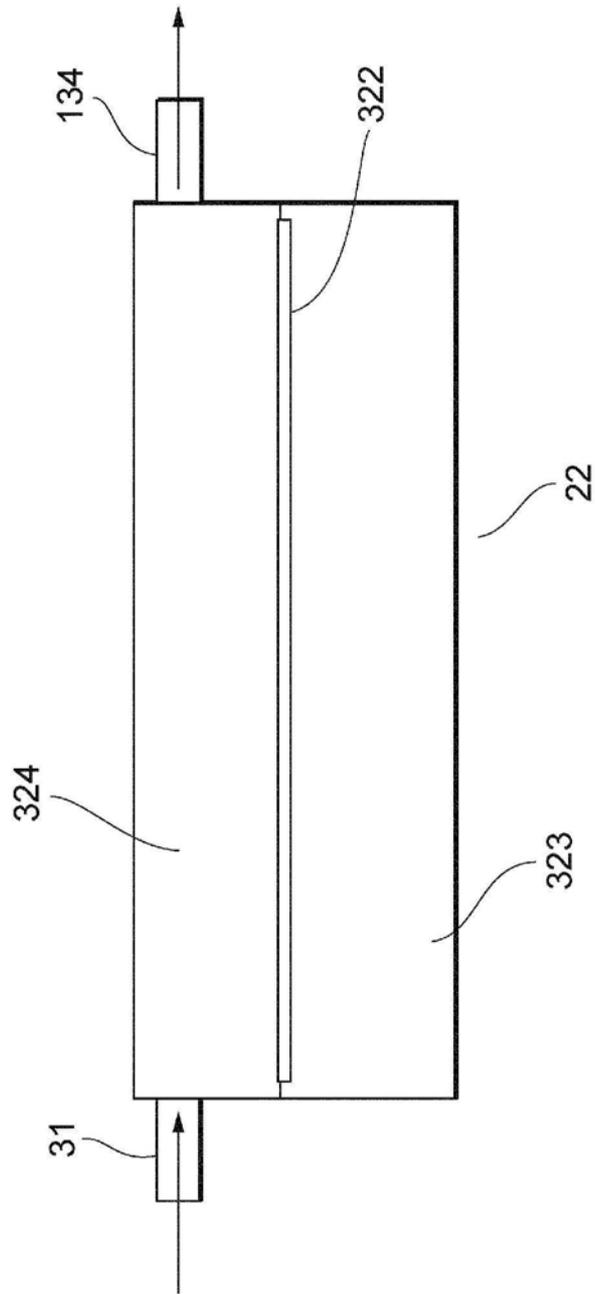


图6

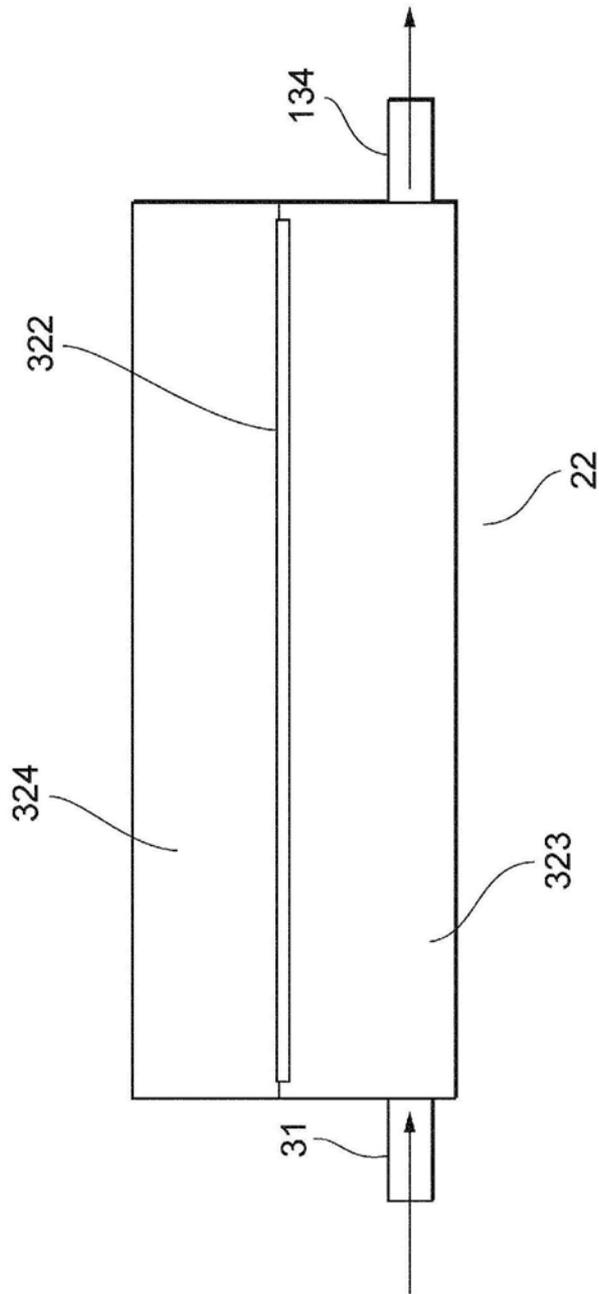


图7

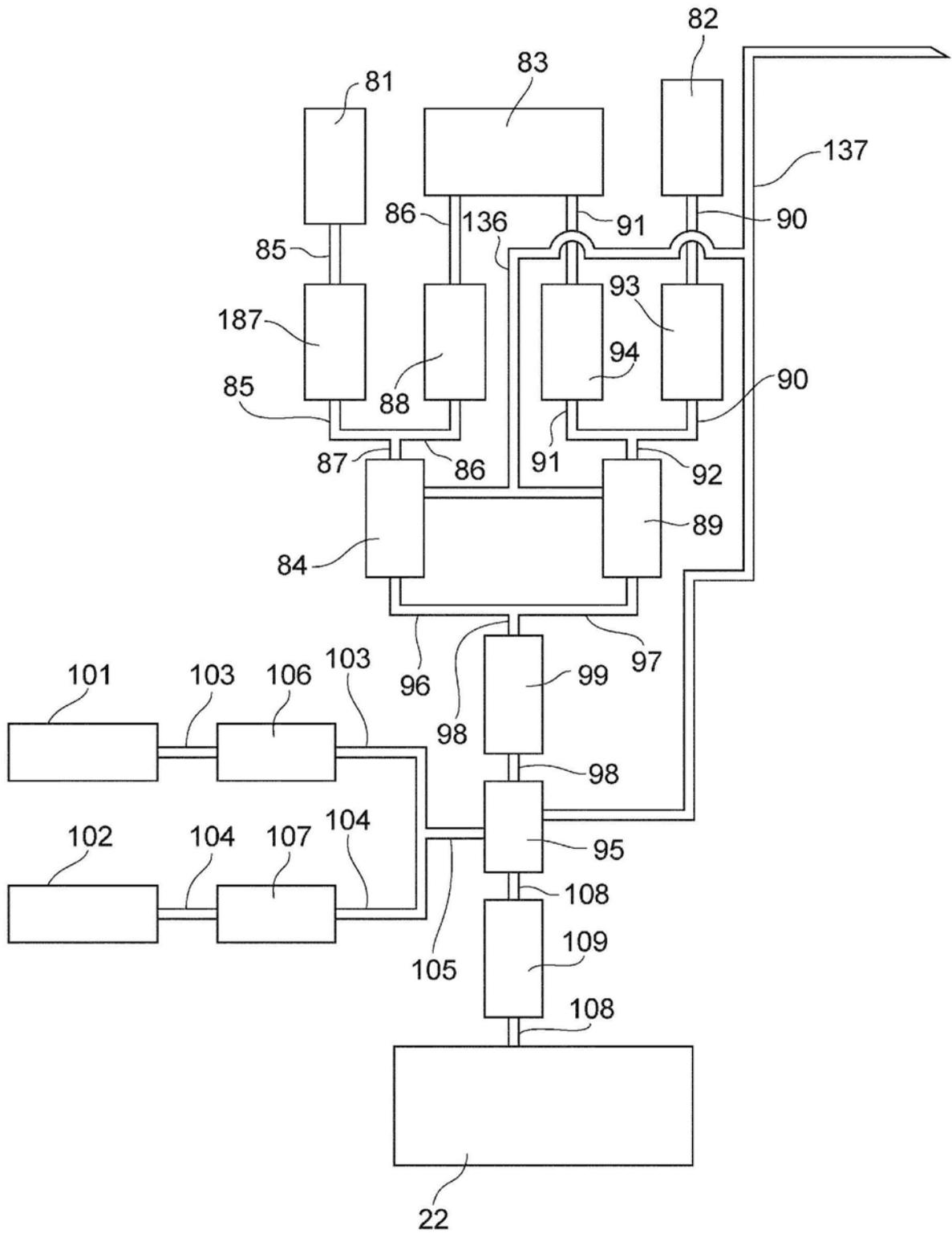


图8

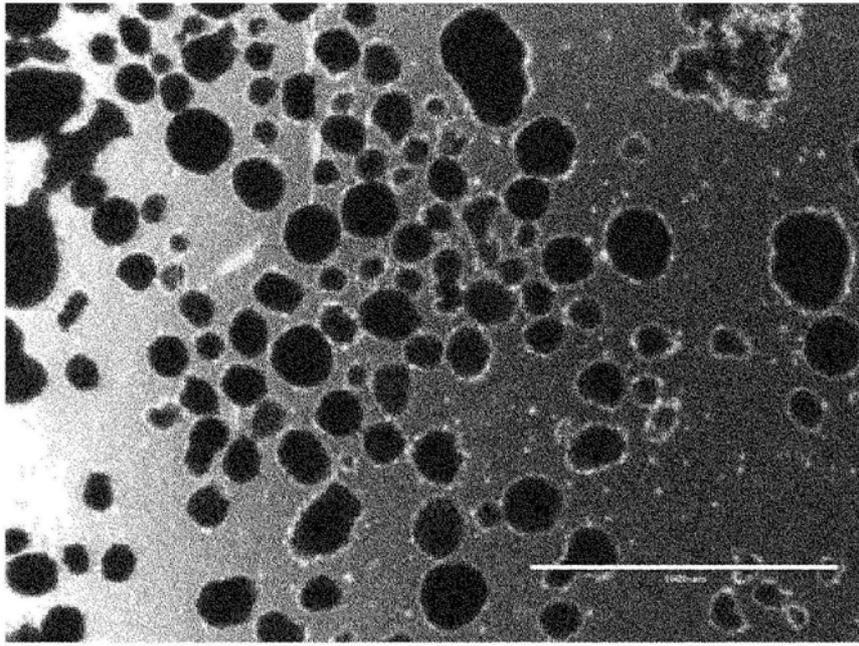


图10

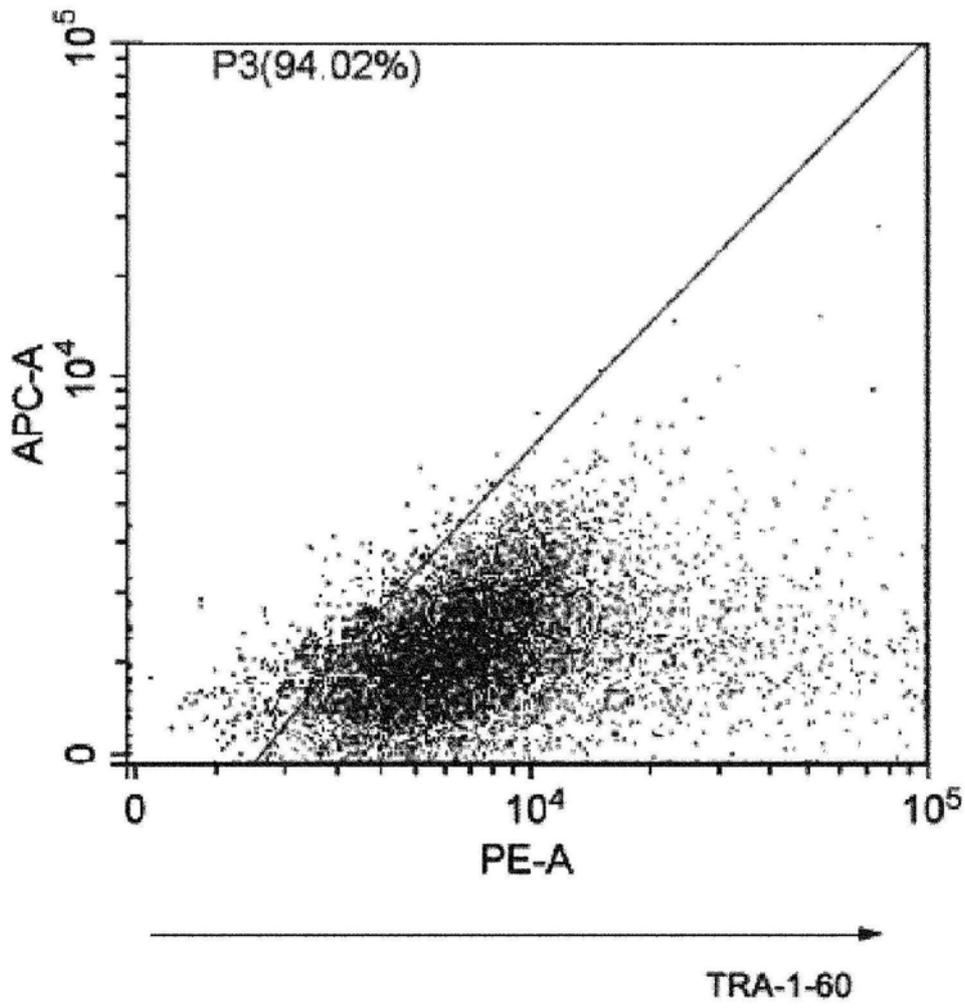


图11

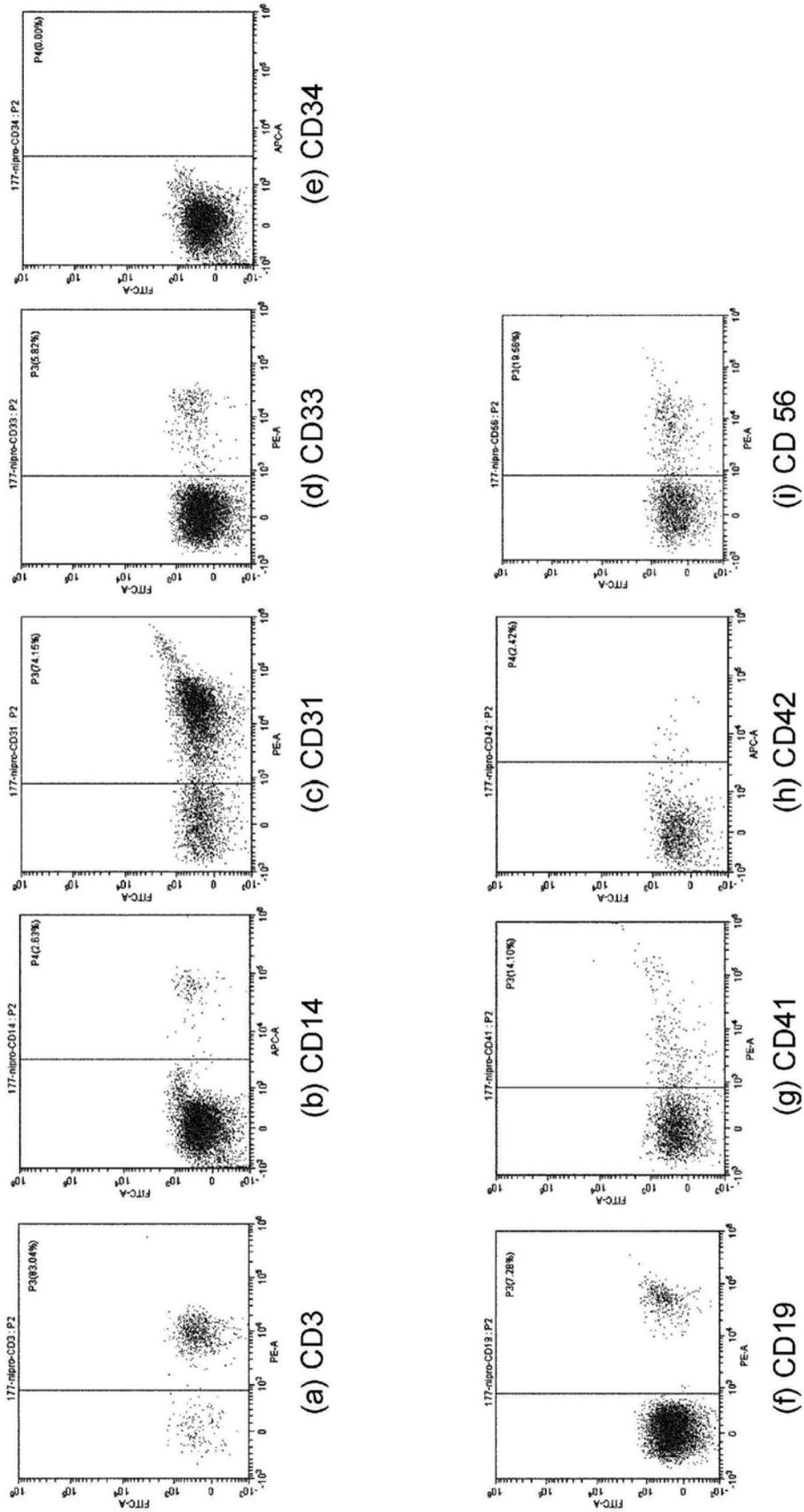


图12

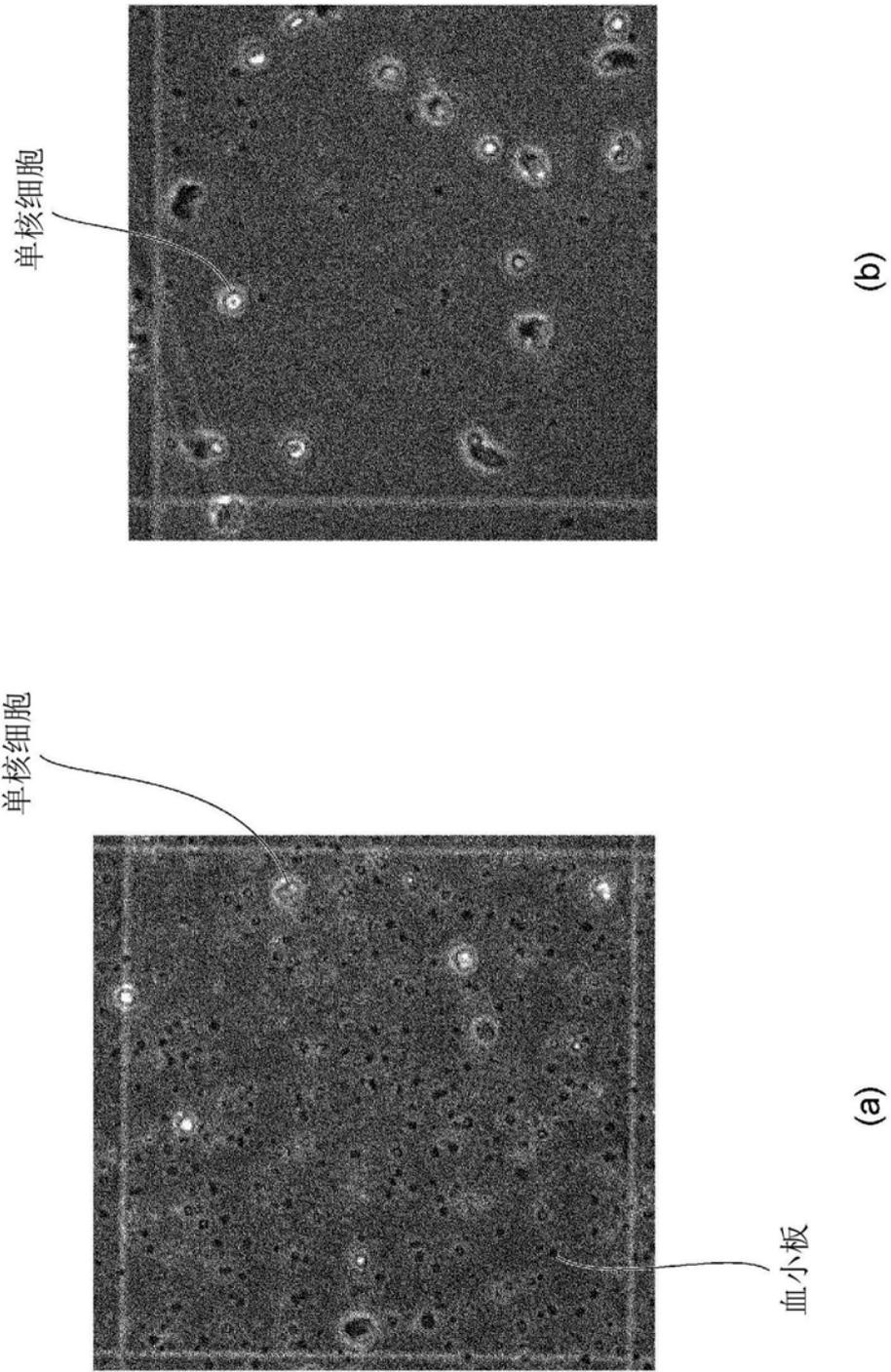


图13

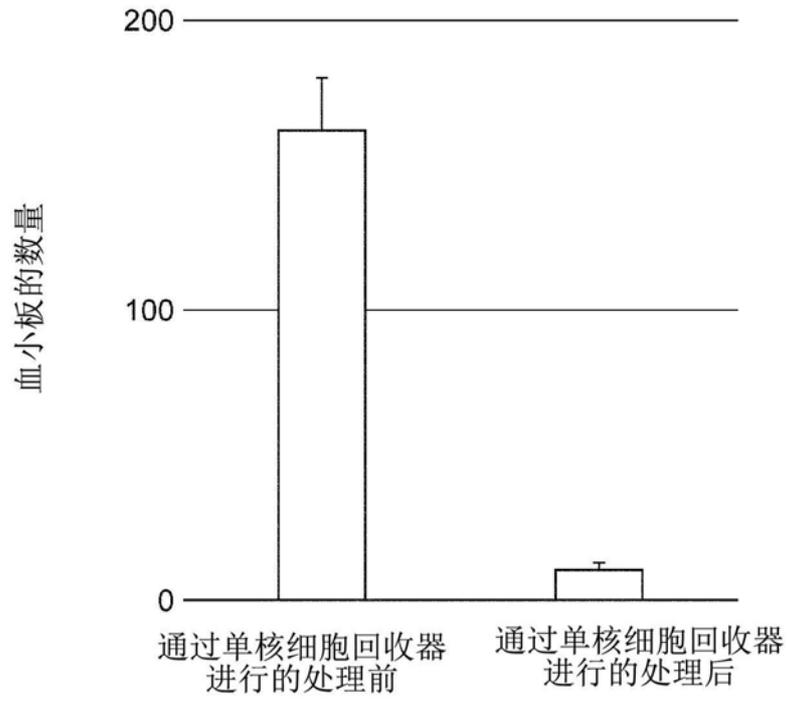
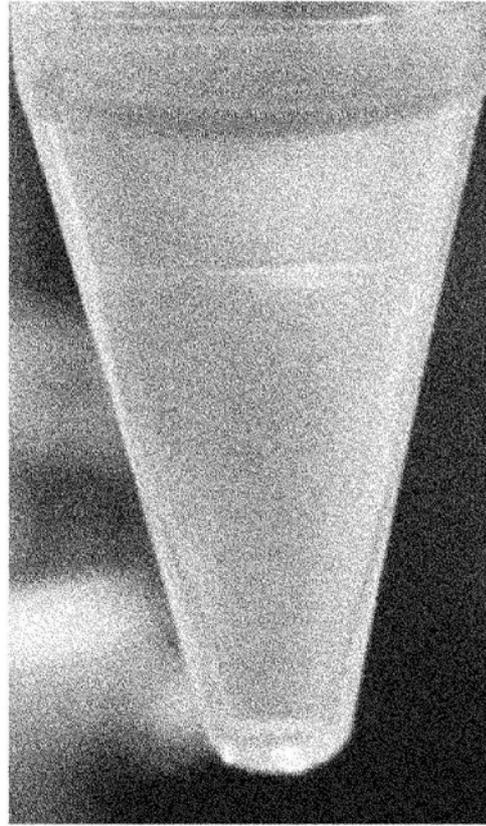


图14



(a)



(b)

图15