

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006年5月18日 (18.05.2006)

PCT

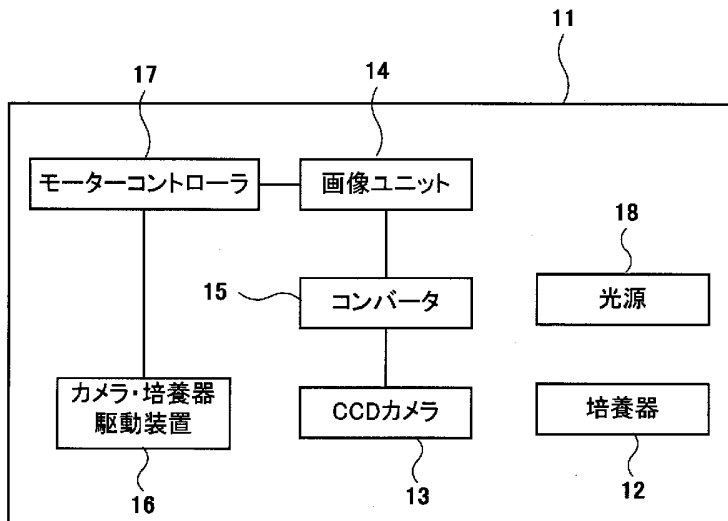
(10) 国際公開番号
WO 2006/051813 A1

- (51) 国際特許分類: *C12M 1/34* (2006.01) *G06T 1/00* (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01) *G06T 5/50* (2006.01)
G02B 21/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/020529
- (22) 国際出願日: 2005年11月9日 (09.11.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2004-324456 2004年11月9日 (09.11.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社日立メディコ (HITACHI MEDICAL CORPORATION) [JP/JP]; 〒1010047 東京都千代田区内神田一丁目1番14号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小森 義広 (Komori, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒2701132 千葉県我孫子市湖北台9-9-5 Chiba (JP). 鈴木 力 (Suzuki, Tsutomu) [JP/JP]; 〒2701102 千葉県我孫子市都7-5 Chiba (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MC, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,

[続葉有]

(54) Title: CELL CULTIVATING DEVICE, IMAGE PROCESSING DEVICE AND CELL DETECTING SYSTEM

(54) 発明の名称: 細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システム



- 17 MOTOR CONTROLLER
- 14 IMAGE UNIT
- 15 CONVERTER
- 18 LIGHT SOURCE
- 16 CAMERA/CULTIVATOR DRIVER
- 13 CCD CAMERA
- 12 CULTIVATOR

(57) Abstract: In a container of a cell cultivating device, a light source and a camera are arranged on both side of a cultivator, and the camera or cultivator can be relatively moved. An image of cells in the cultivator is captured with a given focus. The medium, image density, and noise component of images captured while varying the focus of the camera have substantially similar pixel values. Consequently, by subjecting the data on the images captured with such different focuses to differential processing, only the cell portion can be extracted without being influenced by the color variation of the medium, the variation of the amount of light, the difference in brightness between the central and peripheral areas of the image, and the noise.

(57) 要約: 細胞培養装置の収納容器内に、培養器を挟んで、光源とカメラを対向して配置すると共に、カメラあるいは培養器を相対的に移動可能な構造とし、任意の焦点で培養器内の細胞の画像を取得する。カメラの焦点を変化させて撮影した複数枚の画像は培地、画像濃度、ノ

イズ成分はほぼ同様な画素値を持つので、このように異なる焦点で撮影した複数枚の画像データを差分処

[続葉有]

WO 2006/051813 A1



SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システム

技術分野

[0001] この発明は、細胞培養中に取得した複数枚の画像データから細胞部分を抽出することのできる細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システムに関する。

背景技術

[0002] 従来から、細胞培養を行う過程において、微細な細胞の培養状態を画像観察することは行われているが、それは主に大学や研究所等の実験室においてであり、研究者が高温槽から培養中のシャーレを取り出し、細胞を顕微鏡で観察する方法が採られている。

また、培養中に取得した画像データから細胞を抽出するには、画素値の分布をもとに閾値を算出し、その閾値以上あるいは閾値以下の画素を細胞として抽出していた。しかしながら、上記閾値処理による方法では、細胞に照射された光の強さによっては画像が白っぽくなり、実際の細胞量以上に細胞が存在するように検出されることがあった。すなわち、培地の色変化、光源の光量の変化、画像中心部と周辺部の明暗差、画像に含まれるノイズなどの影響を受けずに安定して細胞を抽出するためには、細胞抽出処理の前にノイズ除去、平滑化フィルタ、輪郭強調などのフィルタ処理が必須であった。

[0003] 特許文献1には、画像データ内で明るさの変化をモニタし、特定の閾値でトリガ信号を発生して、所定の遅延時間後に繰り返しカメラで撮像してその加算平均を求めるようにしたものが記載されている。

特許文献1：特開2000-275539号公報

[0004] また、培養装置内に、培養器を間に挟んで光源とCCDカメラを対向して配置し、CCDカメラによって培養器内の培養初期段階における細胞を撮影し、細胞の運動状態を観測することができるようにした技術が非特許文献1に記載されている。

非特許文献1：Journal of Bioscience and Bioengineering Vol.94,no.4,351-356.2002“
Characterization of Cellular Motion Through Direct Observation of Individual Cells

at Early Stage in Anchorage-Dependent Culture”

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] 従来のように、培養中の細胞を恒温槽から取り出して顕微鏡で観察する方法では、細胞が実験室中の雰囲気に触れるために、培養目的ではない菌が混入することが危惧され、顕微鏡観察終了後、再び培養を継続することが困難になるという問題を有していた。

この問題を解決するために、顕微鏡を培養装置内へ組み込むことも考えられ得るが、この場合には、培養装置が大型化して、コストも上昇してしまうという問題が新たに生ずる。

また、従来のように、フィルタ処理を行なうものは、細胞抽出処理前のフィルタ処理が細胞抽出精度に大きな影響を与えていた。このフィルタ処理によって、画像中心部と周辺部の明暗差、画像に含まれるノイズなどをある程度除去することができ、また、特許文献1に記載されたものも画像に含まれるノイズなどをある程度除去することができる。ところが、画像データによってはその効果が少なかったり、細胞の輪郭が不明瞭になったりする場合などがあった。

また、上記非特許文献1に記載された技術は、培養器内の細胞を単純に撮影するものであるので、培養の初期段階では個々の細胞を分離識別可能であるが、培養過程が進行してくると、ここの細胞を分離識別しにくくなると考えられるものであった。

[0006] この発明は、上述の点に鑑みなされたものであり、細胞培養の進み具合を装置外へ細胞を取り出すことなく観測することができる細胞培養装置を提供することを目的としてなされたものである。

また、本発明は、培地の色変化、光量の変化、画像の中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響を受けずに細胞を画像で抽出することができる細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システムを提供することにある。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明に係る細胞培養装置は、外部雰囲気と遮断された空間を形成することができる容器を有し、細胞を培養する培養容器と、前記培養容器内の培養過程にある細

胞へ光を照射する光源と、前記光源に対して培養容器の背面に設置され培養過程にある細胞の画像を撮影する画像取得装置とが前記容器内に配置されると共に、前記画像取得装置によって取得画像を処理し細胞を抽出するための画像データを生成する手段を備えたことを特徴としている。

また、本発明の細胞培養装置は、細胞を培養中の培養器手段と、前記培養器手段から前記細胞の画像を取得する画像取得手段と、前記画像取得手段及び前記培養器手段のいずれか一方を移動させて前記画像取得手段の焦点を前記培養器手段の培養中の細胞の前後に位置するように調整する焦点位置調整手段と、前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施し、差分処理された画像を二値化処理することにより細胞部分のみを抽出する抽出手段とを備えたことを特徴としている。

これは、画像取得手段であるカメラあるいは培養器を相対的に移動可能な構造とし、任意の焦点での画像取得を可能とする。そしてカメラの焦点位置を変化させて撮影した複数枚の画像は培地、ノイズ成分はほぼ同様な画素値を持つ。従って、この発明のように異なる焦点で撮影した複数枚の画像データを差分処理することにより、培地の色変化、光量の変化、画像の中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響は消失し、細胞部分のみが抽出される。

[0008] さらに、本発明に係る細胞培養装置は、前記細胞培養装置において、前記抽出手段による細胞部分のみを抽出するための最適な画像を取得するために前記画像取得手段の焦点位置を算出する焦点位置算出手段を備えたことにある。

これは、取得した画像に対してプロファイル、フーリエ変換、微分などを用いて細胞の輪郭が明瞭となる焦点位置または画像取得手段の位置を算出する。算出された焦点位置で取得された画像は、細胞抽出処理に適した画像となる。そして、算出された焦点位置へ次回の計測時に画像取得手段の位置決めを行うことにより、常に同じ精度で焦点を合わせることができる。

[0009] 本発明に係る細胞培養装置は、前記画像取得手段によって取得された複数枚の画像データの位置を補正する位置補正手段を備えたことにある。

これは、焦点を変化させる際に生じる画像のX、Y方向と回転方向の位置ずれを画像処理により補正することで、複数枚の画像の位置ずれに起因する細胞抽出精度の低下を防止することができる。

[0010] 本発明に係る画像処理装置は、平面上に散在し所定範囲の厚みを有する物体の画像を取得する画像取得手段と、前記画像取得手段の焦点を前記物体の厚さ方向の前後に位置するように調整する焦点位置調整手段と、前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において、前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施すことにより物体のみを抽出する抽出手段とを備えたことにある。

これは、画像取得手段を用いて異なる焦点で撮影した複数枚の画像データを差分処理することにより、培地の色変化、光量の変化、画像中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響を受けずに細胞部分のみを抽出することができるようにしたものである。

[0011] 本発明に係る細胞検出システムは、平面上に延在する細胞の画像を取得する画像取得手段と、前記画像取得手段の焦点を前記平面上に延在する細胞の上記平面の直交方向の上下に調整する焦点位置調整手段と、前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において、前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施すことにより前記細胞部分のみを抽出する抽出手段とを備えたことにある。

これは、画像取得手段を用いて異なる焦点で撮影した複数枚の画像データを差分処理することにより、培地の色変化、光量の変化、画像の中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響を受けずに細胞部分のみを抽出することができるようにしたものである。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、培養過程にある細胞を装置外へ取り出すことなく観察することができるので、培養対象外の菌が混入することはなくなる。

また、本発明によれば、培地の色変化、光量の変化、画像の中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響を受けずに細胞部分のみを抽出することができる。

図面の簡単な説明

- [0013] [図1]この実施の形態に係る細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システムの構成を示すブロック図である。
- [図2]培養装置内の各構成手段の配置の概略を示す図である。
- [図3]図1の画像処理ユニットの詳細を示す図である。
- [図4]画像処理ユニットの実行する細胞抽出処理の一例を示すフローチャート図である。
- [図5]カメラの移動距離と隣り合う画素値の差の総和との関係を示す図である。
- [図6]対物レンズの焦点位置が培養器の底面に位置する場合の画像の一例を示す図である。
- [図7]対物レンズの焦点位置が培養器の底面よりも前側(カメラ側)にある場合の画像の一例を示す図である。
- [図8]対物レンズの焦点位置が培養器の底面よりも後側(光源側)にある場合の画像の一例を示す図である。
- [図9]図7及び図8の画像に対して差分・位置合わせ処理及び二値化処理を施した場合の画像を示す図である。

符号の説明

- [0014] 11 細胞培養装置、12 培養器、13 CCDカメラ、14 画像処理ユニット、15 コンバータ、16 カメラ・培養器駆動装置、17 モータコントローラ、18 光源、21 移動用ガイド、22 対物レンズ、31 データバス、32 CPU、33 主メモリ、34 外部記憶装置、35 通信ポート、36 モニタ、37 キーボード

発明を実施するための最良の形態

- [0015] 以下、本発明の実施の形態を添付図面に基づいて説明する。図1は、この実施の形態に係る細胞培養装置、画像処理装置及び細胞検出システムの構成を示すブロック図である。図に示すように細胞培養装置11はその内部が外部空間と遮断される箱型構造を有し、その内部に、細胞を培養する培養器12と、この培養器12内の細胞を撮影するためのCCDカメラ13と、このCCDカメラ13から得られる画像データを画像処理ユニット14に転送するためのコンバータ15と、CCDカメラ13又は培養器12を移動

するためのカメラ・培養器駆動装置16と、カメラ・培養器駆動装置16を任意の位置に移動するためのモータコントローラ17と、CCDカメラ13の上部に設置した光源18から構成されている。培養器12は、底面が透明となっており、CCDカメラ13は、光源18から照射された光であって、培養器12の底面を透過した透過光を撮影するように構成されている。なお、上記構成において、CCDカメラ13は40万画素程度のCCDデバイスを備えていることが望ましく、また光源18は平行光ではなく拡散光を発するLEDや豆電球が望ましい。

[0016] 図2は、培養装置11内の各構成手段の配置の概略を示す図であり、培養装置11の中でCCDカメラ13を移動する場合の培養器12、カメラ・培養器駆動ユニット16、移動用ガイド21、対物レンズ22の配置をそれぞれ示す図である。図から明らかなように、培養装置11内の上面部に光源18が取り付けられている。この光源18の下側に培養器12が配置され、さらにこの培養器12の中央付近下側に対物レンズ22を備えたCCDカメラ13が配置されている。CCDカメラ13はCPU32から出力される指令によって動作させられるカメラ・培養器駆動装置16の駆動制御によって、移動用ガイド21に沿って上下に移動し、焦点位置を上下方向に変更して培養器12内の細胞の画像を撮影する。なお、CCDカメラ13と対物レンズ22とを組み合わせた撮像装置は、培養器12の中心付近に位置する底面近傍の微小面積、例えば1.5mm(縦)×2.0mm(横)程度の微小領域を撮影可能なように構成することが望ましい。

[0017] 図3は、図1の画像処理ユニット14の詳細を示す図である。画像処理ユニット14は、データベース31を介して演算処理を行うCPU32と、このCPU32が一時的に記憶領域として使用する主メモリ33と、画像データや位置情報を格納する外部記憶装置34と、モータコントローラ17と通信するための通信ポート35と、細胞抽出後の画像を表示するモニタ36と、ユーザの入力を受け付けるキーボード37とから構成される。この画像処理ユニット14は、CCDカメラ13からの画像をコンバータ15を介して取り込み、種々の画像処理を行なう。

[0018] 図4は、画像処理ユニットにより実行される細胞抽出処理の一例を示すフローチャート図である。以下、図4に示す細胞抽出処理ステップを説明する。

[0019] 図4に記載された一連のステップは、予めインストールされたソフトウェアによって、

細胞培養過程における所定時間間隔で、例えば1回／日の頻度で繰り返して、CPU 32から出力される指令によって図1乃至図3に記載されたユニットが順次駆動制御されて実行されるものである。なお、図4に記載された一連のステップを所定時間間隔で繰り返し実行するための計時はCPU32に備えられたクロック発生器の出力を用いることができる。

[0020] [ステップS41]

このステップS41では、CPU32がモータコントローラ17に命令を出してCCDカメラ13を上下方向に移動させながら、所定ピッチ間隔で、例えば27 μ m間隔で画像を撮影する画像取得動作が実行される。この画像取得動作によって取得された複数の画像データは、コンバータ15を経由して外部記憶装置34に保存される。

[0021] [ステップS42]

このステップS42では、全ての画像を取り終えた後、画像選択処理が実行される。この画像選択処理では、外部記憶装置34に記憶された複数画像から、細胞の辺縁が明瞭な画像が少なくとも2枚以上選択される。細胞の辺縁が明瞭な画像では不明瞭な画像におけるものに比べて画素値の変化が大きくなる。そこで隣り合う画素値の差の絶対値を算出し、それらの総和を求め主メモリ33に保持する。図5は、カメラの移動距離と隣り合う画素値の差の総和との関係を示す図である。図5では、2箇所ピークがあり、このピーク値を示す画像が細胞の辺縁が明瞭な画像となる。図6乃至図8は図5における代表的なカメラの焦点位置における画像を示している。ここに、図6は、対物レンズ22の焦点位置が培養器12の底面に位置する場合の画像の一例を示す図であり、図7は、対物レンズ22の焦点位置が培養器12の底面よりも前側(カメラ側)にある場合の画像の一例を示す図であり、図8は、対物レンズ22の焦点位置が培養器12の底面よりも後側(光源側)にある場合の画像の一例を示す図である。これらの画像はいずれも焦点距離をごくわずかしき違わない位置に設定して取得された画像であるために、それらの画像の濃度差はほぼ同じものとなっている。これらの図から明らかのように、対物レンズ22の焦点位置が培養器12の底面に対し前後いずれかにずれている方が細胞の辺縁が明瞭な画像を取得することができることが発明者の実験によって明らかになった。

[0022] [ステップS43]

このステップS43では、前述の2箇所のピークに相当する2枚以上の画像を選択することができたか否か、すなわち図7及び図8に示す細胞の辺縁が明瞭な画像が取得されたか否か(その位置がCPU32によって算出されたか否か)の判定が行われ、yesの場合は次のステップS44に進み、noの場合はステップS42にリターンする。この画像選択ステップにおいて、前記外部記憶装置34に記憶された画像に対し、プロファイル処理、フーリエ変換、微分などを用いて画像処理を行い、細胞画像の輪郭抽出を行う。そして、細胞画像の輪郭が明瞭な画像を取得したCCDカメラ13の位置を求めることが含まれている。この細胞画像が明瞭に得られたCCDカメラ13の位置は前記主メモリ33等へ記憶され、次の細胞抽出処理時に用いられるようにする。

[0023] [ステップS44]

このステップS44では、ステップS42～S43で選択された2枚の画像に対し、画像の中心部へ256ピクセル×256ピクセルの小画像領域を設定すると共に、一方の画像の小画像領域を他方の画像の小画像領域に対してX(横)方向、Y方向に1ピクセルずつずらし差分を取り、両画像中の細胞の位置を合わせるための差分・位置合わせ処理が行なわれる。ここで、両画像の位置合わせステップを実施形態へ含めてある理由は、CCDカメラ13が培養器12の方向へ移動すると、装置の組立精度の良し悪しにもよるが、各撮影位置において画像上で若干の位置ずれが生ずることが考えられるからである。したがって、CCDカメラ13を移動しても撮影される画像の位置ずれが生じない装置では、位置合わせのステップを省略することができる。

[0024] [ステップS45]

前のステップS44の差分・位置合わせ処理の結果に基づいて次の判定が行われる。すなわち、前記小画像領域中に描出された細胞の画像が縦方向に大きく傾斜している場合には、細胞数が最小であるか否かを判定する。この理由は、細胞が大きく傾斜している場合には、位置合わせが正確でないと差分により細胞が2重となり、あたかも細胞が数多く存在するように観えるからである。また、前記小画像領域中に描出された細胞の画像が横方向に大きく傾斜している場合には、その細胞の長さの合計が最小であるか否かの判定が行われる。この理由は、細胞が横向きに並んでいる場合

には、位置合わせが正確でないと。差分により細胞が実際よりも横長に観えるからである。判定の結果、yesの場合は、その位置で2枚の画像の差分・位置合わせ処理が終了し、ステップS46に進み、noの場合は、ステップS44にリターンする。このステップS45の判定がyesとなるまで差分・位置合わせ処理が行なわれる。ここで、差分・位置合わせ処理によって2つの画像の位置合わせが完了すると、その時の差分画像には、細胞が描出される。この理由は定かではないが、LEDランプのような点光源から照射された光が細胞に当たってもたらされた焦点位置が異なる2つの画像は、細胞の表面における光の散乱状態が異なった情報を有しているからであると発明者は推定している。また、ステップS42で説明したように、差分処理に供される画像同士は、図5に示すように濃度差が約19%あるが、差分を採ることによって、培地の色変化、光量の変化、画像の中心部と周辺部の明暗差、ノイズなどの影響はほとんど消失させることが可能となる。

[0025] [ステップS46]

このステップS46では、細胞の長さ、個数、形状などの解析を容易にするために画像の二値化処理を行なう。図9は、図7及び図8の画像に対する差分・位置合わせ処理の結果、細胞数が最小で、かつ、その細胞の長さの合計が最小となった差分画像について、二値化処理を施した結果の画像を示す図である。このように、細胞数が最小で、かつ、その細胞の長さの合計が最小となった差分画像を二値化することにより、個々の細胞が白色部分として明瞭に描出される。なお、このステップS46における二値化処理は、この後のデータのコンピュータによる取り扱い、例えば後述の細胞数のカウント、細胞同士の間隔測定、細胞の大きさ測定等を容易にするもので、それを行わないのであれば、本ステップS46を省略しても良い。

[0026] 図9の画像に基づいて、細胞の長さ、個数、形状などの解析を容易に行なうことが可能となる。すなわち、図9の二値化画像中の白色部分は細胞を示しているので、その画素数をカウントすることで細胞の増殖率が推定でき、また、細胞の間隔すなわち黒色の幅を測定することでも細胞の増殖率が推定できる。さらには、細胞の長さを測定することで、細胞の成長度合いを推定することができる。

[0027] 以上説明したように、本発明によれば、その内部が外部空間と遮断される箱型構造

を有し、その内部に、細胞を培養する培養器12と、この培養器12内の細胞を撮影するためのCCDカメラ13と、このCCDカメラ13から得られる画像データを画像処理ユニット14に転送するためのコンバータ15と、CCDカメラ13又は培養器12を移動するためのカメラ・培養器駆動装置16と、カメラ・培養器駆動装置16を任意の位置に移動するためのモータコントローラ17と、CCDカメラ13の上部に設置した光源18を含んで細胞培養装置が構成されているので、培養過程にある細胞を装置外へ取り出すことなく、細胞の増殖程度を観測することができる。また、予めインストールされたソフトウェアにより、細胞の画像解析が定期的に自動で行われるので、細胞培養の省力化が計れる。

[0028] 本発明は、本発明の要旨を変更しない限りにおいて種々の変形が可能である。例えば、図1の構成において、画像ユニット14へモニタ用ディスプレイ、例えば液晶ディスプレイを接続し、モニタ用ディスプレイへ画像情報を供給することで、カメラによって撮影された細胞の画像や、差分処理を行った画像を表示することが可能となる。さらには、CPU32によって画像上で細胞の大きさ(長さや径)や培養器内における細胞の分布密度を計測し、その計測結果をモニタ用ディスプレイへ表示するようにすることも可能である。

請求の範囲

- [1] 外部雰囲気と遮断された空間を形成することができる収納容器を有し、細胞を培養する培養容器と、前記培養容器内の培養過程にある細胞へ光を照射する光源と、前記光源に対して培養容器の背面に設置され培養過程にある細胞の画像を撮影する画像取得装置とが前記収納容器内に配置されると共に、前記画像取得装置によって取得された画像を処理し細胞を抽出する画像データを生成する手段を備えたことを特徴とする細胞培養装置。
- [2] 前記画像取得装置は、光源方向へ移動可能に設けられ、異なった複数の位置へ焦点を設定されて、前記細胞画像を焦点位置毎に取得することを特徴とする請求項1に記載の細胞培養装置。
- [3] 前記画像データ生成手段は、前記焦点位置を変えて取得された画像から、細胞の辺縁が明瞭な少なくとも二つの画像を選択する手段と、選択された画像同士の位置合わせを行う手段と、位置合わせが行われた画像同士の差分処理を行う手段とを備えることを特徴とする請求項2に記載の細胞培養装置。
- [4] 前記画像データ生成手段は、さらに差分処理された画像データを二値化処理する手段を備えることを特徴とする請求項3に記載の細胞培養装置。
- [5] 前記画像の位置合わせ及び差分処理は、取得された画像よりも小さい領域について実行されることを特徴とする請求項3に記載の細胞培養装置。
- [6] 前記画像取得、画像解析並びに細胞の培養度合いの判定用データの生成を、所定期間を持って自動的に繰返し行う手段を備えたことを特徴とする請求項1に記載の細胞培養装置。
- [7] 前記画像取得手段によって取得された画像に基づく画像データを表示するディスプレイユニットを備えたことを特徴とする請求項1に記載の細胞培養装置。
- [8] 細胞を培養中の培養器手段と、
前記培養器手段から前記細胞の画像を取得する画像取得手段と、
前記画像取得手段及び前記培養器手段のいずれか一方を移動させて前記画像取得手段の焦点を前記培養器手段の培養中の細胞の前後に位置するように調整する焦点位置調整手段と、

前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において、前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施すことにより細胞部分のみを抽出する抽出手段と

を備えたことを特徴とする細胞培養装置。

[9] 前記抽出手段による細胞部分のみを抽出するための最適な画像を取得するために前記画像取得手段の焦点位置を算出する焦点位置算出手段を備えたことを特徴とする請求項8に記載された細胞培養装置。

[10] 前記画像取得手段によって取得された複数枚の画像データの位置を補正する位置補正手段を備えたことを特徴とする請求項8に記載された細胞培養装置。

[11] 平面上に散在し所定範囲の厚みを有する物体の画像を取得する画像取得手段と、前記画像取得手段の焦点を前記物体の厚さ方向の前後に位置するように調整する焦点位置調整手段と、

前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において、前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施すことにより物体のみを抽出する抽出手段と

を備えたことを特徴とする画像処理装置。

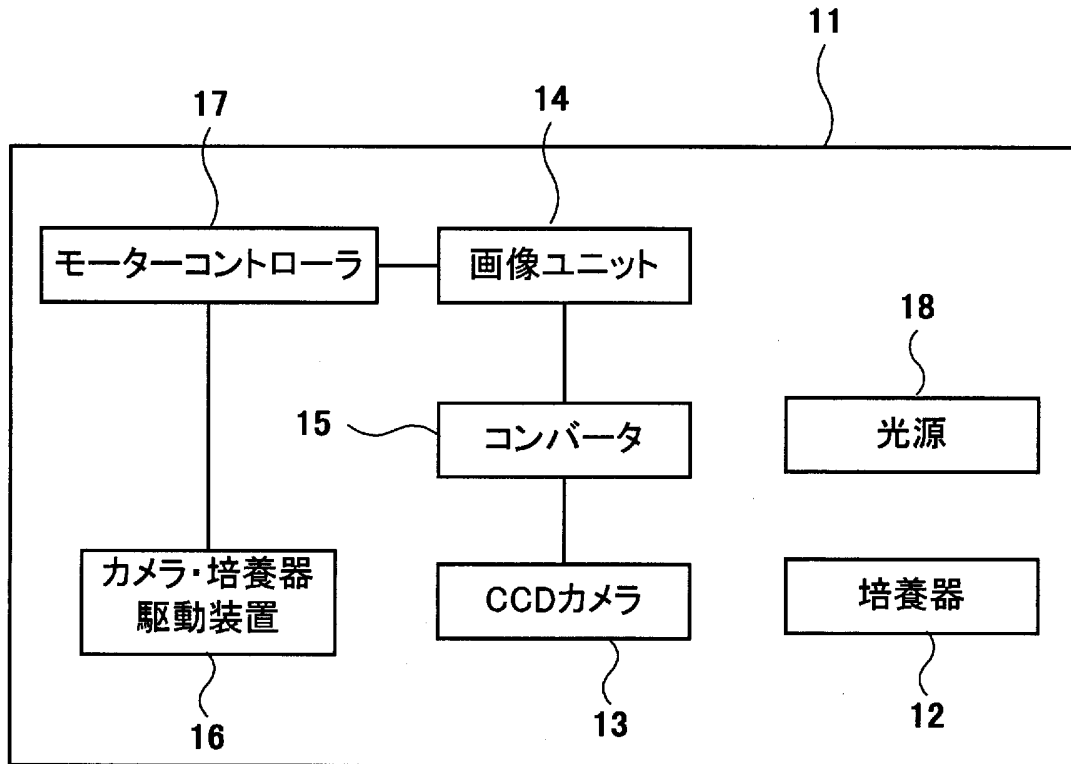
[12] 平面上に延在する細胞の画像を取得する画像取得手段と、

前記画像取得手段の焦点を前記平面上に延在する細胞の上記平面の直交方向の上下に調整する焦点位置調整手段と、

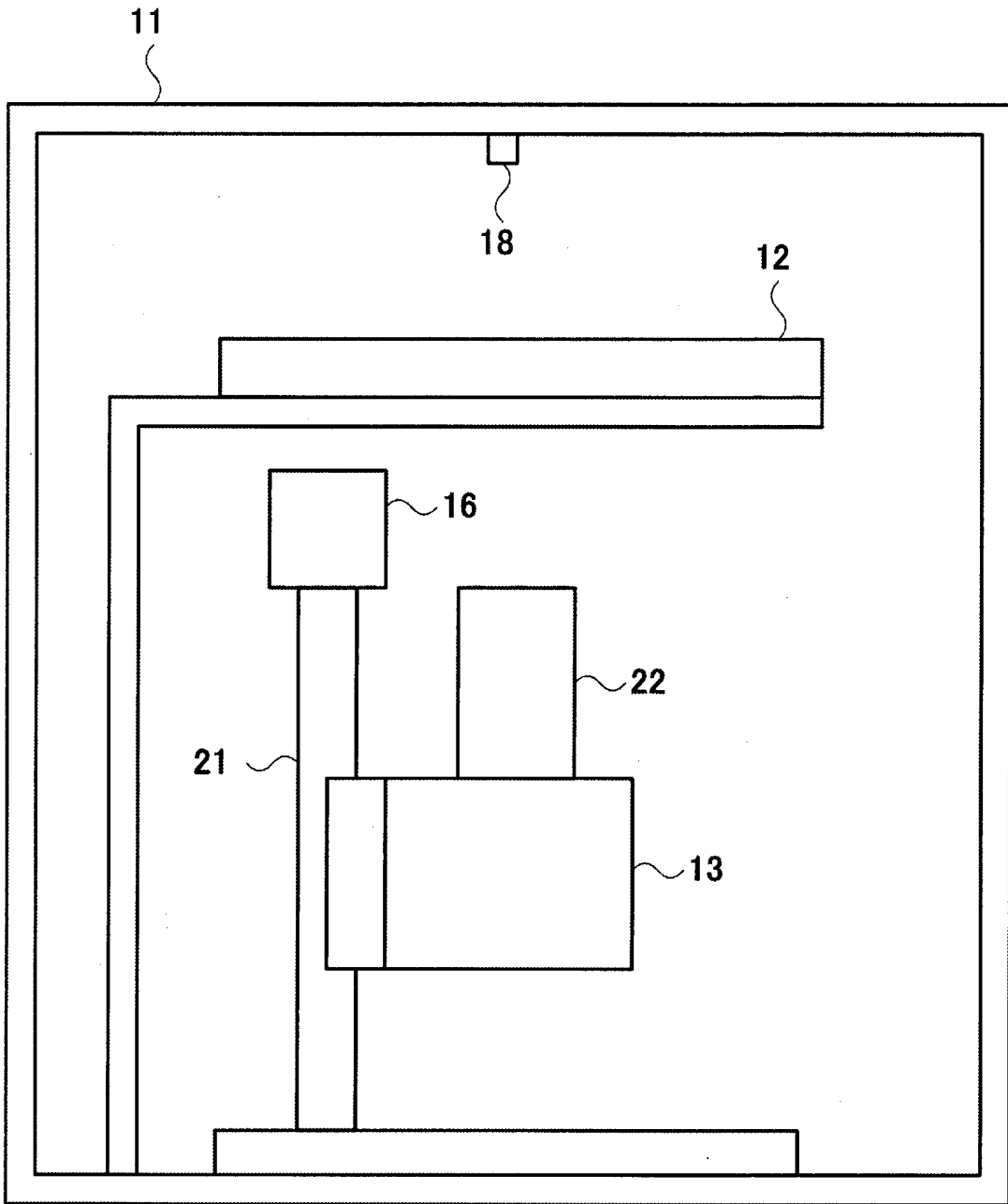
前記焦点位置調整手段によって設定された複数の焦点位置において、前記画像取得手段によって取得された前記焦点位置の異なる複数枚の画像データに対して差分処理を施すことにより前記細胞部分のみを抽出する抽出手段と

を備えたことを特徴とする細胞検出システム。

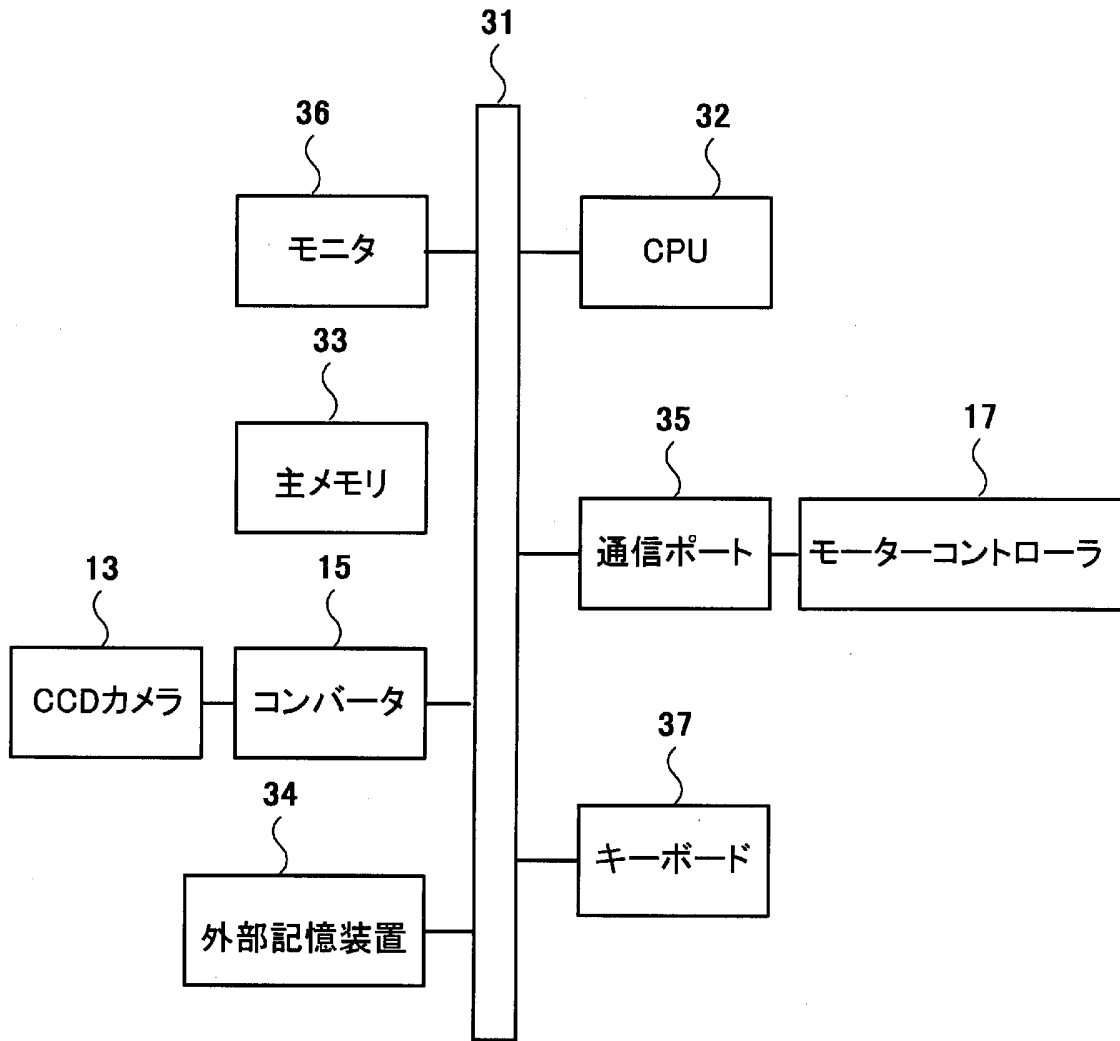
[図1]



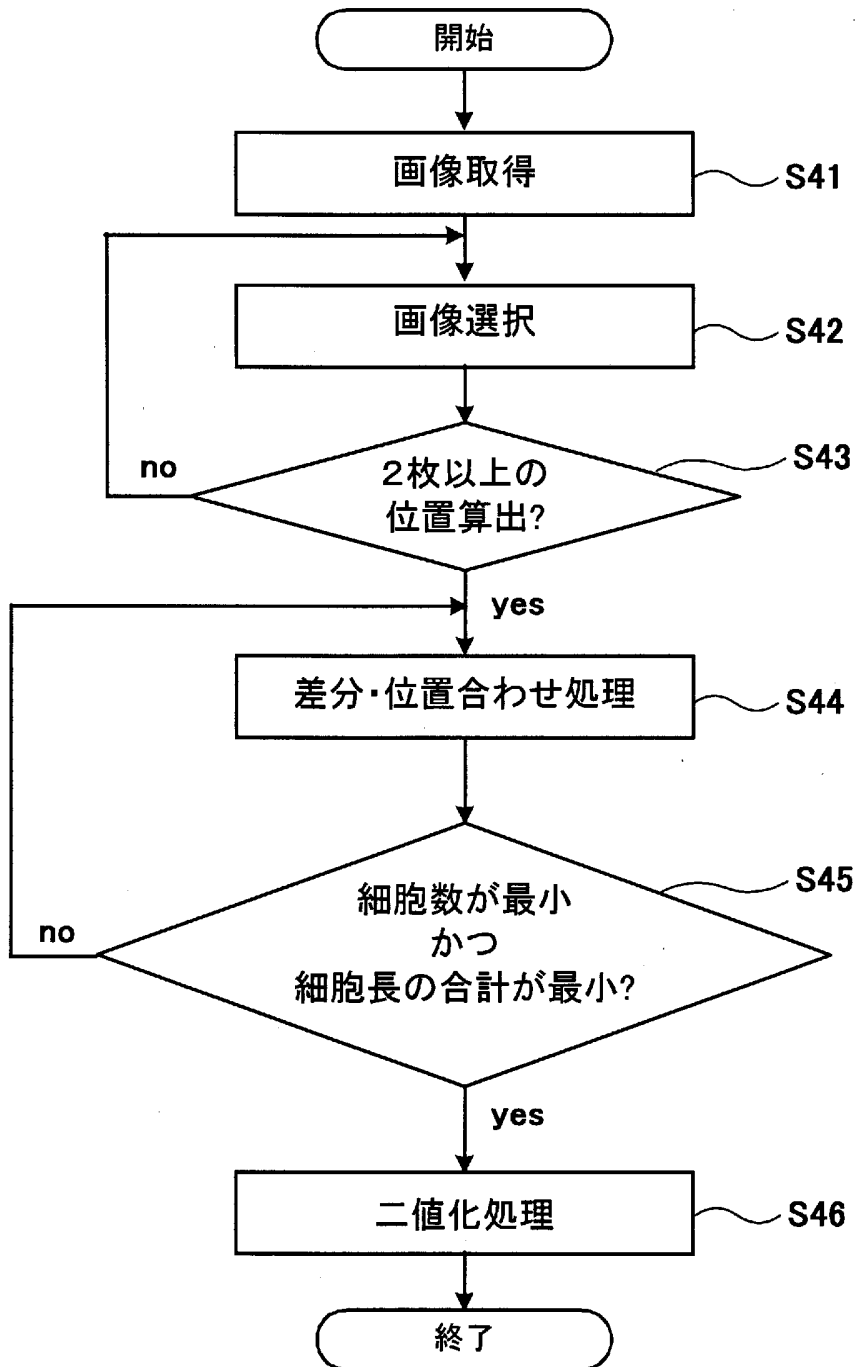
[図2]



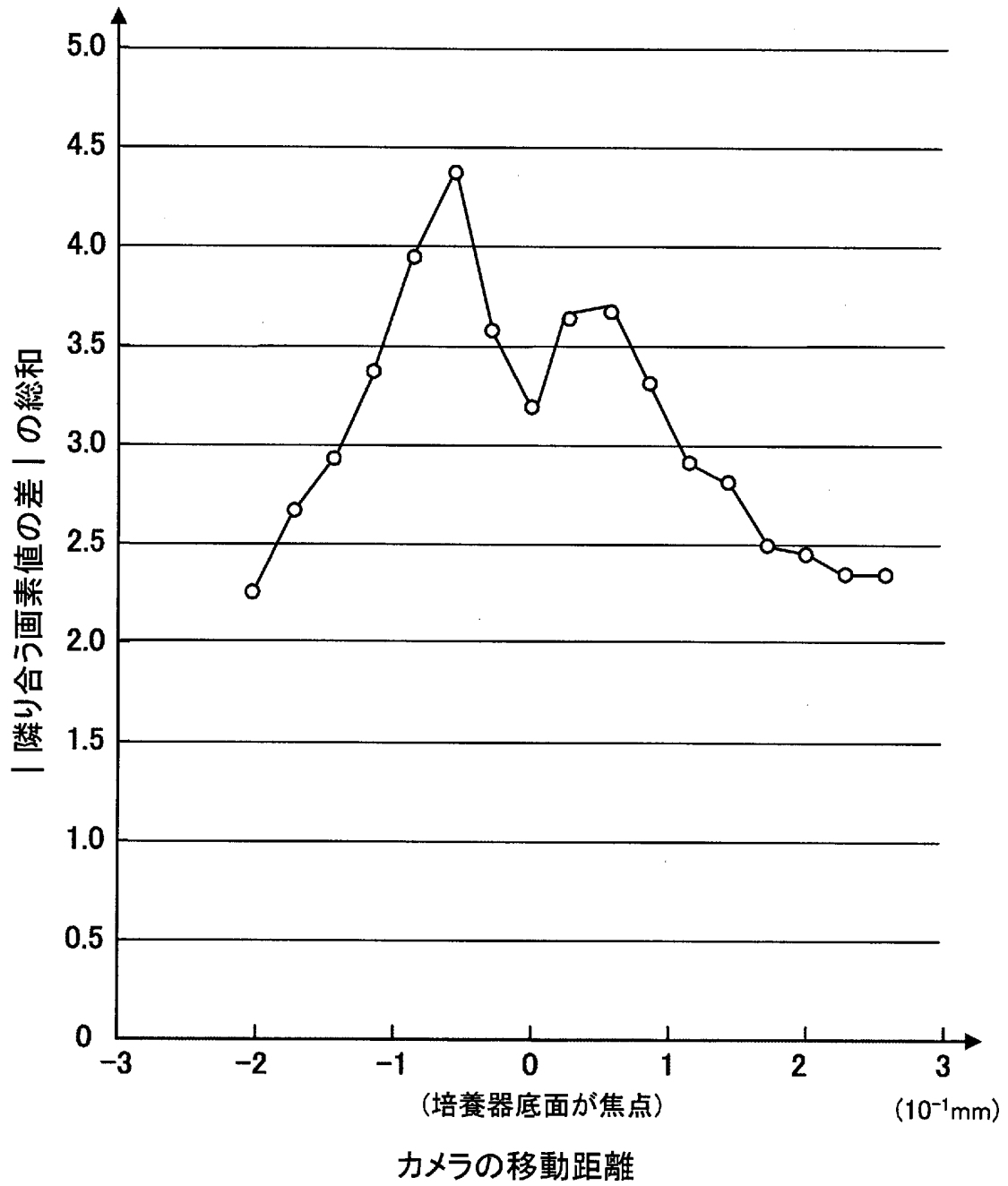
[図3]



[図4]

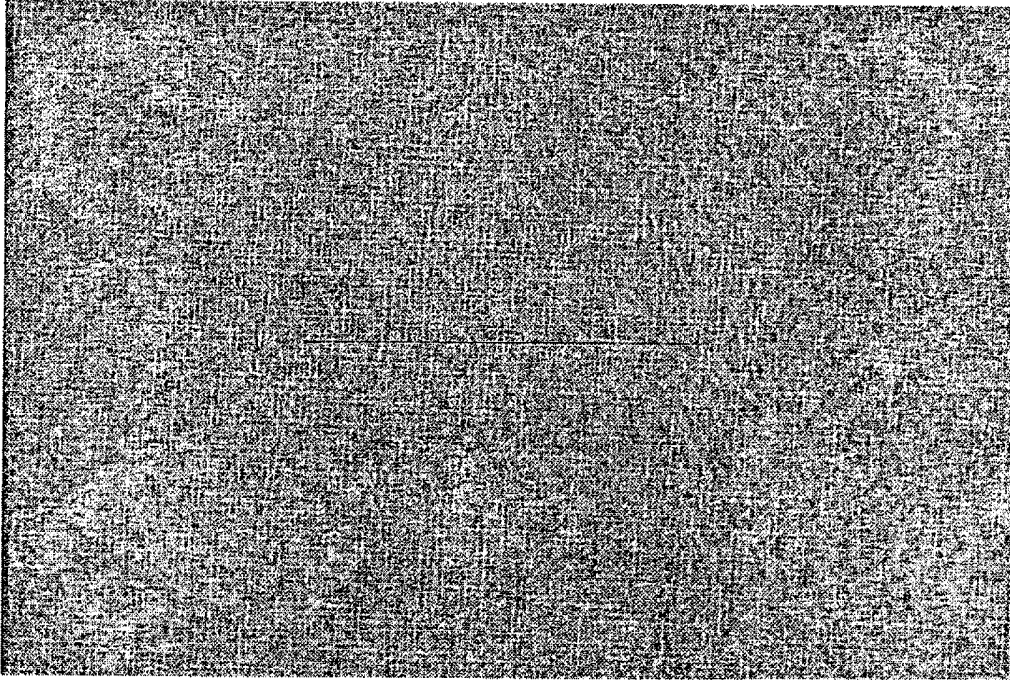


[図5]



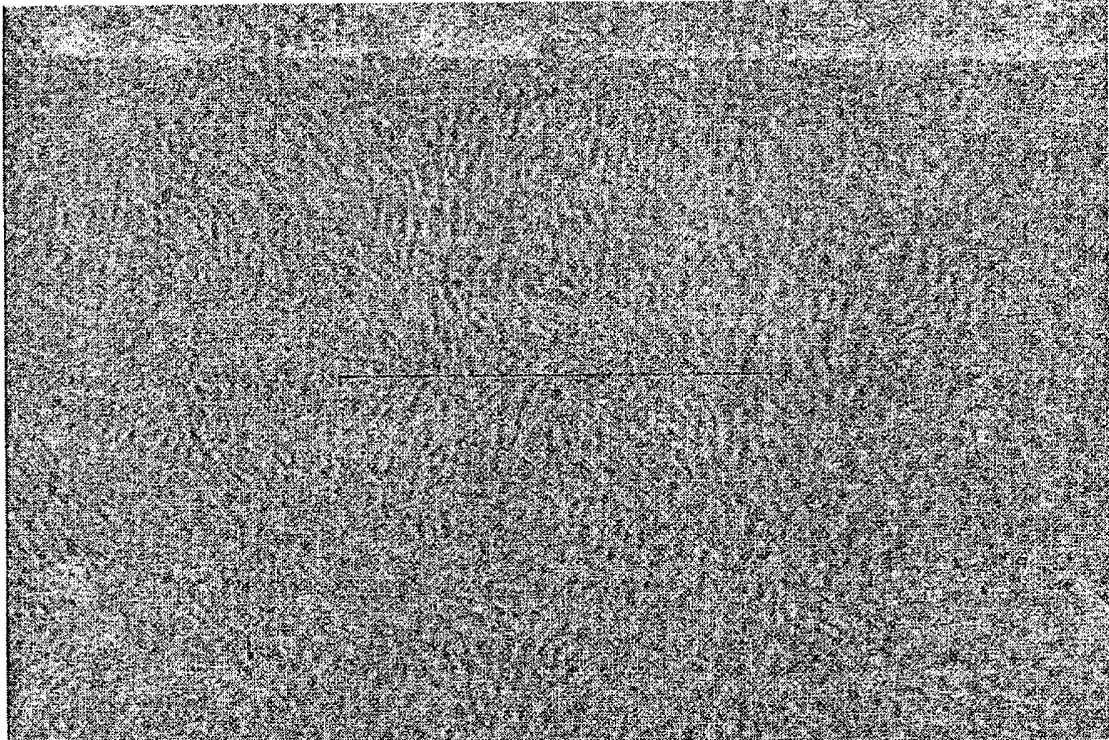
[図6]

焦点(培養器底面)



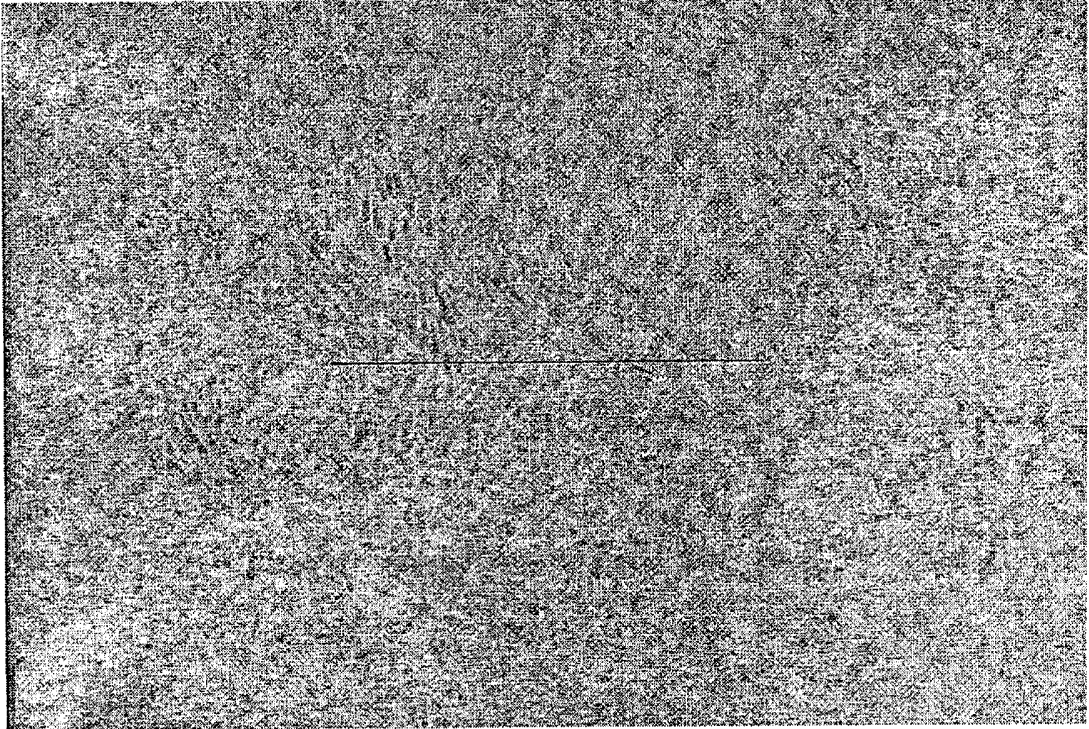
[図7]

焦点(前)



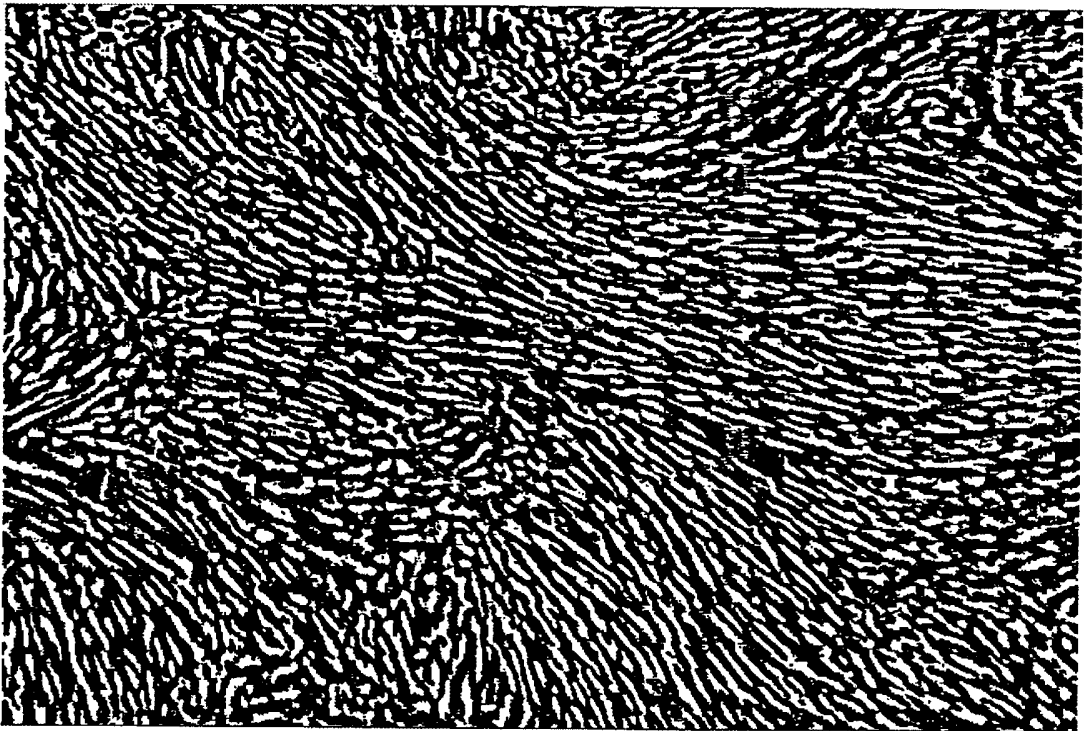
[図8]

焦点(後)



[図9]

差分処理後



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/020529

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12M1/34(2006.01), C12M1/00(2006.01), G02B21/00(2006.01), G06T1/00(2006.01), G06T5/50(2006.01)</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>														
<p>B. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M1/34(2006.01), C12M1/00(2006.01), G02B21/00(2006.01), G06T1/00(2006.01), G06T5/50(2006.01)</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus (JOIS)</p>														
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X/ Y</td> <td>JP 2003-21628 A (Kabushiki Kaisha Japan Thishshu Enjiniaringu), 24 January, 2003 (24.01.03), (Family: none)</td> <td>1, 7/ 2-6, 8-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2004-271337 A (Hiroo IWATA), 30 September, 2004 (30.09.04), (Family: none)</td> <td>2-6, 8-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2002-312761 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 25 October, 2002 (25.10.02), (Family: none)</td> <td>2-6, 8-10</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X/ Y	JP 2003-21628 A (Kabushiki Kaisha Japan Thishshu Enjiniaringu), 24 January, 2003 (24.01.03), (Family: none)	1, 7/ 2-6, 8-10	Y	JP 2004-271337 A (Hiroo IWATA), 30 September, 2004 (30.09.04), (Family: none)	2-6, 8-10	Y	JP 2002-312761 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 25 October, 2002 (25.10.02), (Family: none)	2-6, 8-10
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X/ Y	JP 2003-21628 A (Kabushiki Kaisha Japan Thishshu Enjiniaringu), 24 January, 2003 (24.01.03), (Family: none)	1, 7/ 2-6, 8-10												
Y	JP 2004-271337 A (Hiroo IWATA), 30 September, 2004 (30.09.04), (Family: none)	2-6, 8-10												
Y	JP 2002-312761 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 25 October, 2002 (25.10.02), (Family: none)	2-6, 8-10												
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.</p>														
<p>* Special categories of cited documents:</p> <table border="0"> <tr> <td>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>“&” document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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	“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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	“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“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	“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	“&” document member of the same patent family	“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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													
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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													
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“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													
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	“&” document member of the same patent family													
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
<p>Date of the actual completion of the international search 08 February, 2006 (08.02.06)</p>		<p>Date of mailing of the international search report 14 February, 2006 (14.02.06)</p>												
<p>Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office</p>		<p>Authorized officer</p>												
<p>Facsimile No.</p>		<p>Telephone No.</p>												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/020529

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2003-235540 A (Kabushiki Kaisha Japan Thisshu Enjiniaringu), 26 August, 2003 (26.08.03), (Family: none)	1-10
A	JP 2001-275659 A (Kabushiki Kaisha Japan Thisshu Enjiniaringu), 09 October, 2001 (09.10.01), (Family: none)	1-10
P,A	JP 2005-192485 A (Hitachi Medical Corp.), 21 July, 2005 (21.07.05), (Family: none)	1-10
P,A	JP 2005-192485 A (Hitachi Medical Corp.), 27 October, 2005 (27.10.05), (Family: none)	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/020529

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The image acquiring unit employed in a cell cultivating device of claim 1 is only a unit in which the positional relationship of a cultivating container with a light source is specified and the procedure of imaging cells in a cultivating state is specified. Meanwhile, the image processing device itself of claim 11 and the cell detecting system of claim 12 are limited to those characterized by comprising specific means such as image acquiring means and focus position adjusting means. Therefore, they do not relate to the cultivated state of cells.

Therefore, both are not inventions of the significance group so linked as to form a single general inventive concept.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1 - 10

Remark on Protest
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/34(2006.01), C12M1/00(2006.01), G02B21/00(2006.01), G06T1/00(2006.01), G06T5/50(2006.01)										
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/34(2006.01), C12M1/00(2006.01), G02B21/00(2006.01), G06T1/00(2006.01), G06T5/50(2006.01)										
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table style="width:100%; border:none;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2006年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2006年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2006年	日本国実用新案登録公報	1996-2006年	日本国登録実用新案公報	1994-2006年
日本国実用新案公報	1922-1996年									
日本国公開実用新案公報	1971-2006年									
日本国実用新案登録公報	1996-2006年									
日本国登録実用新案公報	1994-2006年									
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus(JOIS)										
C. 関連すると認められる文献										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号								
X/ Y	JP 2003-21628 A (株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング) 2003.01.24 (ファミリーなし)	1,7/ 2-6,8-10								
Y	JP 2004-271337 A (岩田博夫) 2004.09.30 (ファミリーなし)	2-6,8-10								
Y	JP 2002-312761 A (松下電器産業株式会社) 2002.10.25 (ファミリーなし)	2-6,8-10								
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。										
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献										
国際調査を完了した日 08.02.2006	国際調査報告の発送日 14.02.2006									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4 B 9455								

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2003-235540 A (株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング) 2003. 08. 26 (ファミリーなし)	1-10
A	JP 2001-275659 A (株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング) 2001. 10. 09 (ファミリーなし)	1-10
P, A	JP 2005-192485 A (株式会社日立メディコ) 2005. 07. 21 (ファミリーなし)	1-10
P, A	JP 2005-192485 A (株式会社日立メディコ) 2005. 10. 27 (ファミリーなし)	1-10

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1に記載された細胞培養装置において採用されている画像取得装置は、光源に対する培養容器の位置関係と、培養過程にある細胞の画像を撮影するということが特定されているだけのものにすぎないのに対して、請求の範囲11に記載された画像処理装置自体や、請求の範囲12に記載された細胞検出システムは、画像所得手段や焦点位置調整手段といった特定の手段を備えていることを特徴とするものに限られており、細胞の培養状態を何ら問題にしていない。

したがって、上記両者は、単一の発明概念を形成するように関連している意義群の発明であるとは認められない。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲1-10

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。