

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-171344

(P2015-171344A)

(43) 公開日 平成27年10月1日(2015.10.1)

(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	D	4 B 0 2 9		
C 1 2 M	3/00	(2006.01)	C 1 2 M	3/00	A	4 B 0 6 5		
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	C 1 2 M	1/00	C			
C 1 2 N	5/071	(2010.01)	C 1 2 N	5/00	2 0 2 A			

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2014-48734 (P2014-48734)
 (22) 出願日 平成26年3月12日 (2014.3.12)

(71) 出願人 000000376
 オリンパス株式会社
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
 (74) 代理人 100118913
 弁理士 上田 邦生
 (74) 代理人 100112737
 弁理士 藤田 考晴
 (72) 発明者 木村 博之
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オリンパス株式会社内
 Fターム(参考) 4B029 AA01 AA08 BB11 CC01 CC02
 CC07 CC08 DF10 EA18 EA20
 FA11 GA02 GB06 GB10
 4B065 AA01X AA57X AA87X AA90X BC50
 CA44

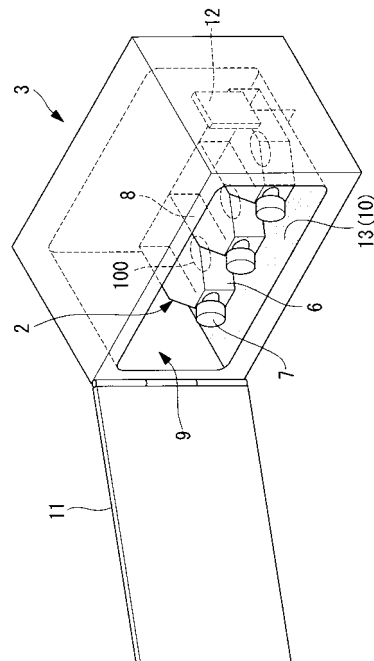
(54) 【発明の名称】 細胞培養容器、細胞培養装置および細胞培養方法

(57) 【要約】

【課題】 培養装置内から培養容器を取り出すことなく、培養容器内の細胞の培養状況を簡易にかつ適時に判断する。

【解決手段】 細胞 1 0 0 を内部に収容可能な培養容器 2 を収容し、所定の温度および湿度に保持する培養室 9 と、該培養室 9 内の培養容器 2 を搭載する搭載面 1 0 に配置され、培養容器 2 の底面 8 の外表面に密着させられるタッチパネルセンサ 1 3 と、該タッチパネルセンサ 1 3 の出力を培養室 9 外に取り出す出力部 1 2 とを備える細胞培養装置を提供する。

【選択図】 図 2



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

培養容器を収容する培養室と、
該培養室内の前記培養容器を搭載する搭載面に配置され前記培養容器の底面の外表面に密着させられるタッチパネルセンサと、
該タッチパネルセンサの出力を前記培養室外に取り出す出力部とを備える細胞培養装置。

【請求項 2】

前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部である請求項 1 に記載の細胞培養装置。

10

【請求項 3】

前記培養室の外部に配置され前記出力部により取り出された前記タッチパネルセンサの出力が入力される入力部と、
該入力部に入力された前記タッチパネルセンサの出力に基づいて前記培養容器内の細胞の培養状況を判定する判定部とを備える請求項 1 に記載の細胞培養装置。

【請求項 4】

前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部であり、
前記入力部が、前記送信部により無線によって送信された前記タッチパネルセンサの出力を受信する受信部である請求項 3 に記載の細胞培養装置。

【請求項 5】

細胞が接着させられる底面に配置されたタッチパネルセンサと、
該タッチパネルセンサの出力を外部に出力する出力部とを備える細胞培養容器。

20

【請求項 6】

前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部である請求項 5 に記載の細胞培養容器。

【請求項 7】

フィルムにより構成され内面に細胞が接着させられる底面と、
該底面の外表面に密着させられるタッチパネルセンサとを備える細胞培養容器。

【請求項 8】

培養容器内に細胞を収容するステップと、
細胞が収容された前記培養容器の底面の外表面にタッチパネルセンサを密着させた状態で培養装置の培養室内に収容するステップと、
前記培養室内を所定の温度および湿度に維持し、前記タッチパネルセンサの出力を観察するステップとを含む細胞培養方法。

30

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、細胞培養容器、細胞培養装置および細胞培養方法に関するものである。

【背景技術】**【0002】**

従来、細胞の継代時期や培養終了時期を判定するために、細胞の培養状況や増殖状況の確認が行われている。培養容器の底面に接着する細胞の培養状況や増殖状況の確認は、透明な培養容器の外側から顕微鏡等で観察して、接着面積を計測することにより行われている（例えば、特許文献 1 参照。）。接着面積の計測は、顕微鏡の接眼レンズにより取得される細胞の像を観察者が目視観察しながらカウントしたり、顕微鏡により取得された細胞の画像を判定プログラムによって解析して数値化したりすることにより行われる。

40

【先行技術文献】**【特許文献】****【0003】**

50

【特許文献1】特開2012-80869号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、細胞の培養状況や増殖状況の確認は、培養装置内において培養されている細胞を培養容器ごと培養装置内から取り出して顕微鏡に設置して行わなければならないという不都合がある。すなわち、顕微鏡観察の結果、培養状況や増殖状況が十分ではない場合には、再度培養装置内に戻して培養を継続する必要があり、作業が無駄になったり、細菌等の他細胞、ウイルス等のコンタミネーションのリスクを高めたりしてしまうという不都合がある。一方、培養状況や増殖状況の確認作業が適時に行われない場合には、適正な継代時期を途過してしまう虞もある。

10

【0005】

本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、培養装置内から培養容器を取り出すことなく、培養容器内の細胞の培養状況や増殖状況を簡易にかつ適時に判断することができる細胞培養容器、細胞培養装置および細胞培養方法を提供することを目的としている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記目的を達成するために、本発明は以下の手段を提供する。

本発明の一態様は、培養容器を収容する培養室と、該培養室内の前記培養容器を搭載する搭載面に配置され前記培養容器の底面の外表面に密着させられるタッチパネルセンサと、該タッチパネルセンサの出力を前記培養室外に取り出す出力部とを備える細胞培養装置を提供する。

20

【0007】

本態様によれば、培養容器内に細胞を収容して、培養室内の搭載面に培養容器を搭載すると、搭載面に設けられたタッチパネルセンサが培養容器の底面の外表面に密着させられる。この状態で培養室内を所定の温度および湿度に維持することにより、培養容器内の細胞が培養容器の底面に接着して増殖する。培養容器の底面の外表面に密着させられているタッチパネルセンサは、培養容器内部の底面に接着している細胞の接着位置を検出する。検出された細胞の接着位置はタッチパネルセンサの出力として出力部により培養室外に取り出される。これにより、取り出された細胞の接着位置を確認することにより、培養容器を培養室外に取り出すことなく、細胞の接着面積を容易に確認することができる。

30

【0008】

また、上記態様においては、前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部であってもよい。

このようにすることで、出力部が培養室の壁面を内外に貫通することなく、タッチパネルセンサの出力を外部に送信することができ、培養室の密閉性を維持することができる。

【0009】

また、上記態様においては、前記培養室の外部に配置され前記出力部により取り出された前記タッチパネルセンサの出力が入力される入力部と、該入力部に入力された前記タッチパネルセンサの出力に基づいて前記培養容器内の細胞の培養状況を判定する判定部とを備えていてもよい。

40

このようにすることで、出力部により培養室外に出力されたタッチパネルセンサの出力が培養室外の入力部に入力され判定部により細胞の培養状況が判定される。これにより、細胞の培養状況をモニタリングすることができる。

【0010】

また、上記態様においては、前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部であり、前記入力部が、前記送信部により無線によって送信された前記タッチパネルセンサの出力を受信する受信部であってもよい。

50

このようにすることで、培養室内において培養されている細胞の培養状況を、培養室から取り出すことなく、遠隔地において簡易にモニタリングすることができる。

【0011】

また、本発明の他の態様は、細胞が接着させられる底面に配置されたタッチパネルセンサと、該タッチパネルセンサの出力を外部に出力する出力部とを備える細胞培養容器を提供する。

本態様によれば、細胞培養容器内に細胞を収容して培養すると、細胞が底面のタッチパネルセンサに接着して増殖する。タッチパネルセンサは細胞が接着している位置を検出し出力部を介して外部に出力するので、出力されたタッチパネルセンサの出力を監視することにより細胞培養容器毎の細胞の培養状況をモニタリングすることができる。

10

【0012】

上記態様においては、前記出力部が、前記タッチパネルセンサの出力を無線により送信する送信部であってもよい。

また、本発明の他の態様は、フィルムにより構成され内面に細胞が接着させられる底面と、該底面の外表面に密着させられるタッチパネルセンサとを備える細胞培養容器を提供する。

【0013】

本態様によれば、フィルムにより構成された底面の内面に接着した細胞の接着位置が、底面の外表面に密着しているタッチパネルセンサによって底面越しに検出される。これにより細胞培養容器内の密閉性を維持しつつ、細胞の培養状況を細胞培養容器毎にモニタリングすることができる。

20

【0014】

また、本発明の他の態様は、培養容器内に細胞を収容するステップと、細胞が収容された前記培養容器の底面の外表面にタッチパネルセンサを密着させた状態で培養装置の培養室内に収容するステップと、前記培養室内を所定の温度および湿度に維持し、前記タッチパネルセンサの出力を観察するステップとを含む細胞培養方法を提供する。

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば、培養装置内から培養容器を取り出すことなく、培養容器内の細胞の培養状況や増殖状況を簡易にかつ適時に判断することができるという効果を奏する。

30

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本発明の一実施形態に係る細胞培養装置を示す全体構成図である。

【図2】図1の細胞培養装置の装置本体内に培養容器を収容した状態を示す図である。

【図3】本発明の一実施形態に係る培養容器を示す全体構成図である。

【図4】培養容器を着脱可能に取り付ける検出装置の一例を示す分解斜視図である。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明の一実施形態に係る細胞培養装置1および細胞培養方法について、図面を参照して以下に説明する。

40

本実施形態に係る細胞培養装置1は、図1および図2に示されるように、内部に細胞100を収容している培養容器(細胞培養容器)2を収容して、所定の温度および湿度に保つことにより細胞100を培養する装置本体3と、該装置本体3に対して遠隔に配置され、装置本体3により培養されている細胞100の状態を解析する解析部4とを備えている。

【0018】

培養容器2は、図2に示されるように、一端に開口部5を有し、内部に細胞100を収容可能な容器本体6と、開口部5に取り付けられて容器本体6を密閉する蓋体7とを備えている。

【0019】

50

容器本体 6 は、光学的に透明な部材（例えば、ポリスチレン等の樹脂、ガラス等）で形成され、細胞 100 を載置する容器本体 6 の底面 8 は、薄膜状のフィルムにより構成されている。この薄膜状のフィルムは、タッチパネルセンサ 13 がフィルム反対面に付着している細胞 100 の接着位置や接着面積を、フィルムを介して検出することができる厚さ寸法であればよい。好ましくは、底面 8 を構成するフィルムの厚さ寸法は、 $150\ \mu\text{m} \pm 50\ \mu\text{m}$ である。また、フィルムの素材としても、タッチパネルセンサ 13 がフィルムを介して細胞 100 の接着位置や接着面積を検出できる素材であればよい。フィルムの素材は、例えば、PET (polyethylene terephthalate) やシリコンなどである。

【0020】

装置本体 3 は、図 1 および図 2 に示されるように、複数の培養容器 2 を搭載可能な搭載面 10 を底面に有する培養室 9 と、該培養室 9 を開閉するためのドア 11 とを備えている。搭載面 10 には、タッチパネルセンサ 13 が配置されている。

【0021】

タッチパネルセンサ 13 は、図 1 および図 2 に示されるように、複数の培養容器 2 を並列に載置して全ての培養容器 2 の底面 8 全域を密着させることができる大きさを有する単一の平坦な抵抗膜方式のセンサである。タッチパネルセンサ 13 は、培養容器 2 の底面 8 に接着して成長する細胞 100 の接着位置を、底面 8 越しに検出可能な感度を有している。また、タッチパネルセンサ 13 の分解能は $10\ \text{nm}$ 程度であることが好ましい。

【0022】

すなわち、タッチパネルセンサ 13 は、培養容器 2 の底面 8 の上面（内面）に接着している細胞 100 から受ける圧力から、細胞 100 の位置を検出するようになっている。

本実施形態においては、複数の培養容器 2 を単一のタッチパネルセンサ 13 に搭載するので、タッチパネルセンサ 13 の検出領域を培養容器 2 に対応して区画しておき、検出領域毎に細胞 100 の位置を検出するようになっている。

また、本実施形態に係る細胞培養装置 1 は、タッチパネルセンサ 13 によって検出された細胞 100 の位置情報を外部に無線で送信する送信部（出力部）12 を備えている。

【0023】

解析部 4 は、図 1 に示されるように、送信部 12 から送信されてきた細胞 100 の位置情報を受信する受信部（入力部）14 と、該受信部 14 に受信されたタッチパネルセンサ 13 の情報信号に基づいて各培養容器 2 内における細胞 100 の培養状況を判定する判定部 15 と、該判定部 15 により判定された培養状況を表示するモニタ 16 とを備えている。

【0024】

受信部 14 は、送信部 12 からの無線による細胞 100 の位置情報を受信して判定部 15 に情報を入力するようになっている。

判定部 15 は、タッチパネルセンサ 13 が検出した細胞 100 の位置情報に基づいて底面 8 に接着している細胞 100 の接着面積を算出する。判定部 15 は、算出した細胞 100 の接着面積が設定されている所定面積に達したか否かを判定し、判定結果を細胞 100 の培養状況としてモニタ 16 に出力するようになっている。

【0025】

このように構成された本実施形態に係る細胞培養装置 1 の作用および細胞培養方法について、以下に説明する。

本実施形態に係る細胞培養装置 1 を用いて細胞を培養するには、まず、内部が無菌状態に保たれている培養容器 2 の開口部 5 から蓋体 7 を取り外し、細胞 100 を開口部 5 から容器本体 6 内に培養液（図示省略）とともに投入し、蓋体 7 を開口部 5 に取り付けて培養容器 2 を密閉する（培養容器 2 内に収容するステップ）。

【0026】

このようにして細胞 100 を収容した複数の培養容器 2 を、図 2 に示されるように、培養室 9 内の搭載面 10 に、底面 8 が下向きになるようにして並列に載置する。これにより

10

20

30

40

50

、全ての培養容器 2 の底面 8 が搭載面 10 に設けられたタッチパネルセンサ 13 に密着させられた状態となる。

このとき、タッチパネルセンサ 13 は複数の領域に区画され、領域毎に検出を行うようになっているので、各培養容器 2 が別々の領域内に位置するように配置する。そして、培養装置のドア 11 を閉めて培養室 9 を密閉する（培養室 9 内に収容するステップ）。

【0027】

この状態で、培養室 9 内を所定の温度および湿度に保つことにより、細胞 100 が培養される。培養容器 2 内の細胞 100 は当初、培養液内に浮遊状態であったとしても、培養の進行に伴って培養容器 2 の底面 8 に接着して成長が促進され、培養容器 2 の底面 8 に沿って増殖していく。

10

【0028】

細胞 100 が培養容器 2 の底面 8 に接着すると、タッチパネルセンサ 13 により培養容器 2 の底面 8 越しに細胞 100 の接着位置が検出される。検出された細胞 100 の接着位置情報は、送信部 12 にタッチパネルセンサ 13 の領域毎に出力され、送信部 12 によって培養装置 1 の外部に無線により送信される。

【0029】

送信された細胞 100 の接着位置の情報は、受信部 14 により受信され、判定部 15 に入力される。そして、判定部 15 により、入力された接着位置の情報に基づいて細胞 100 の接着面積を培養容器 2 毎に算出され、算出された細胞 100 の接着面積が所定面積に達したか否かが判定される。そして、判定部 15 による判定結果が細胞 100 の培養状況としてモニタ 16 に表示される（観察するステップ）。

20

【0030】

すなわち、本実施形態に係る細胞培養装置 1 および細胞培養方法によれば、培養容器 2 を培養室 9 外に取り出すことなく、培養容器 2 内の細胞 100 の培養状況を簡易にかつ適時に確認することができるという利点がある。

この場合において、細胞 100 の接着面積が所定面積に達すると、培養容器 2 に対応して区画された検出領域毎における各細胞 100 の位置情報から、各培養容器 2 のどの細胞 100 の培養が終了したのかを観察者が正確に把握することができるという利点がある。

【0031】

なお、本実施形態において、培養容器 2 内で培養する細胞 100 としては、例えば、ES 細胞、iPS 細胞、幹細胞（骨髄、脂肪、筋、神経、肝、胎盤、臍帯血、末梢血由来）、軟骨細胞、肝細胞、骨細胞、皮膚細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、血管内皮細胞、神経細胞等が挙げられる。

30

【0032】

また、本実施形態においては、タッチパネルセンサ 13 として、抵抗膜方式のセンサを例示したが、細胞 100 の培養状況を検出できるならば、これに限られるものではない。例えば、タッチパネルセンサ 13 として超音波表面弾性波方式のものを採用してもよい。また、培養容器 2 の底面 8 を透明導電性を有する薄膜状のフィルムにより構成し、静電容量方式や電磁誘導方式、赤外線光学イメージング方式のセンサを採用してもよい。すなわち、タッチパネルセンサ 13 が薄膜状のフィルムを介してフィルム反対面に付着している細胞 100 からの圧力シグナルや電氣的シグナル、電磁波シグナルなどを検出することで、細胞 100 の接着位置を検出することができるセンサであればよい。

40

【0033】

また、本実施形態においては、解析部 4 として、算出した細胞 100 の接着面積に基づいて細胞 100 の培養状況を判定する判定部 15 を有する場合を例示したが、これに限られるものではない。例えば、解析部 4 が、細胞 100 の接着面積を時系列でグラフ化したり、細胞 100 の増殖状態がコンフルエントに達するまでの到達率等を算出してモニタ 16 に表示したりすることにより、観察者に培養状況や増殖状態を判断するための材料を提示することにもよい。

【0034】

50

次に、本実施形態の一実施形態に係る培養容器 17 について図面を参照して以下に説明する。

本実施形態の説明において、上述した実施形態と構成を共通とする箇所には同一符号を付して説明を省略する。

本実施形態に係る培養容器（細胞培養容器）17は、図3に示されるように、容器本体6の底面8がタッチパネルセンサ13により構成され、容器本体2の外部に送信部18が設けられている。

【0035】

このように構成された本実施形態に係る培養容器17によれば、細胞100を内部に収容した培養容器17を一般的な細胞培養装置内に収容して、所定温度および所定湿度に維持することにより培養すると、培養の進行に伴って細胞100は容器本体6内のタッチパネルセンサ13の上面に直接接着してタッチパネルセンサ13の上面に沿って増殖する。

10

【0036】

このとき、タッチパネルセンサ13は、細胞100の接着位置を検出し、細胞100の位置情報を培養容器17の外部に設けられた送信部（出力部）18により細胞培養装置の外部に無線により送信する。これにより、タッチパネルセンサ13により検出された細胞100の位置情報が受信部14により受信され判定部15によって細胞100の培養状況が判定されるので、培養容器17を細胞培養装置内から取り出すことなく、培養容器17毎の細胞100の培養状況をモニタ16によって確認することができる。

【0037】

20

このように、本実施形態に係る培養容器17によれば、細胞培養装置として一般的なものをを用いることができ、大がかりな設備が不要であるという利点がある。

また、本実施形態に係る培養容器17によれば、図2に示されるように、複数の培養容器2を並列に配列することに代えて、複数積み重ねて細胞培養装置内に収容することもでき、多数の細胞100を一度に培養することもできるという効果を奏する。

【0038】

なお、本実施形態においては、タッチパネルセンサ13自体が培養容器17の底面8を構成する場合を例示したが、これに代えて、図4に示されるように、タッチパネルセンサ13と送信部18とを備え、タッチパネルセンサ13の表面に、培養容器17のフィルム状の底面8を着脱可能に取り付ける検出装置19を採用してもよい。このようにすることで培養容器17をディスプレイに利用して検出装置19を再利用することができるという利点がある。

30

【0039】

また、本実施形態においては、培養容器2, 17として、図2から図4に示されるように、角型の容器を用いる場合を例示したが、少なくとも細胞100が接着する面が薄膜状のフィルムで構成されていれば、容器の形状はこれに限られるものではない。例えば、シャーレ状のものや、容器全体がフィルムからなる袋状（パック状）のものなどを採用してタッチパネルセンサ13上に配置してもよい。このとき、細胞100が接着する面のみが薄膜状のフィルムであっても良いし、全体が薄膜状フィルムであってもよい。また、袋状の容器は、開口部5および蓋体7を有していてもよい。

40

【0040】

本発明の細胞培養装置1においては、上述したように細胞100の接着位置や接着面積などの培養状況の検出に加え、短時間の細胞100の動きや細胞100の電位（電流）変化などの検出も可能である。以下に一例を示すが、これに限定されるものではない。

【0041】

例えば、心筋細胞の拍動の検出として、タッチパネルセンサ13が未分化細胞（例えば、幹細胞、iPS細胞など）から心筋細胞への分化の過程で発生する拍動を検出することで、未分化細胞の分化誘導が成功したかどうかの検出が可能となる。また、化合物等が心筋細胞に及ぼす影響の検出も可能である。

【0042】

50

すなわち、拍動している心筋細胞に化合物等を添加し、拍動の有無を検出することで当該化合物等の心筋細胞に対する影響（例えば、阻害や促進など）を評価することができる。このとき、心筋細胞を含む細胞構造体（例えば、多種細胞からなる細胞シートなど）を評価対象とすることもできる。

また、細胞100を含まない群や細胞100を分化誘導しない群などのコントロール群と比較することで、より精度よく細胞100の拍動を検出することができる。

【0043】

また、例えば、脳・神経細胞や心筋細胞の電位の検出として、タッチパネルセンサ13が脳・神経細胞や心筋細胞の電位変化を検出することで、当該細胞の活性程度を評価することができる。また、未分化細胞から脳・神経細胞や心筋細胞への分化誘導を検出することができる。このとき、化合物等を添加することで、当該化合物等が細胞活性に及ぼす影響を評価することができる。

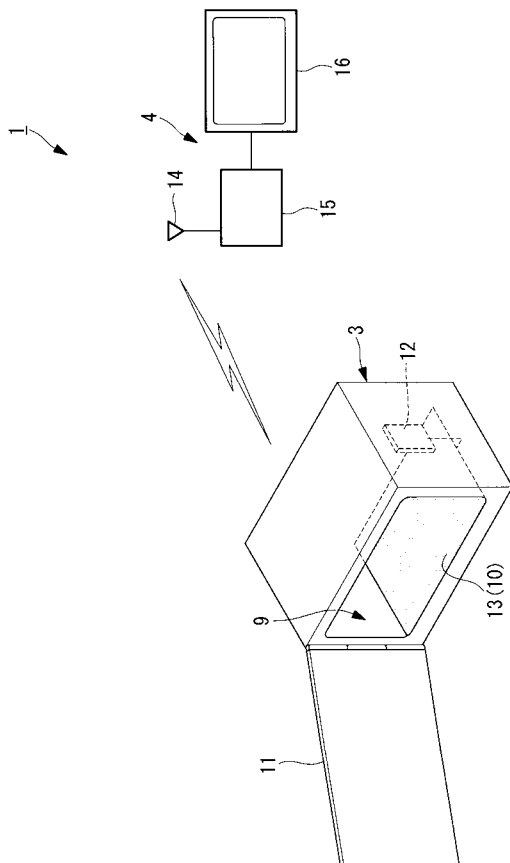
また、細胞100を含まない群や細胞100を分化誘導しない群などのコントロール群と比較することで、より精度よく細胞100の電位変化を検出することができる。

【符号の説明】

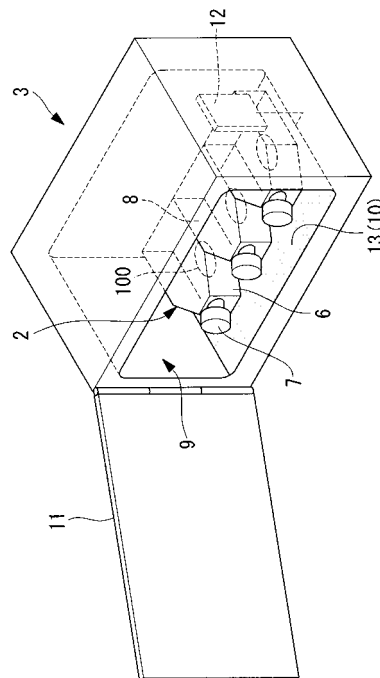
【0044】

- 1 細胞培養装置
- 2, 17 培養容器（細胞培養容器）
- 8 培養容器の底面
- 9 培養室
- 10 搭載面
- 12, 18 送信部（出力部）
- 13 タッチパネルセンサ
- 14 受信部（入力部）
- 15 判定部

【図1】



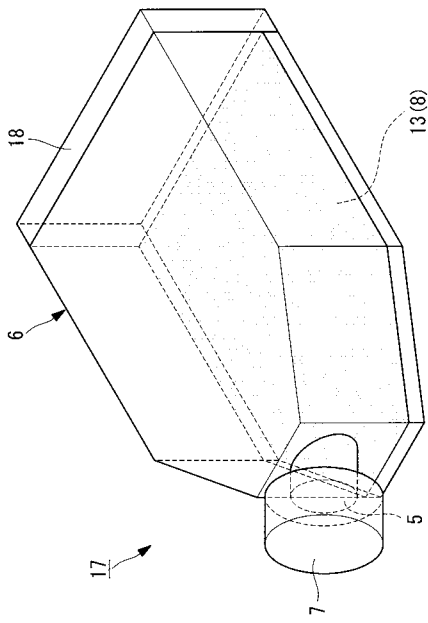
【図2】



10

20

【 図 3 】



【 図 4 】

