

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4415343号  
(P4415343)

(45) 発行日 平成22年2月17日(2010.2.17)

(24) 登録日 平成21年12月4日(2009.12.4)

(51) Int.Cl. F 1  
C 1 2 M 3/00 (2006.01) C 1 2 M 3/00 Z

請求項の数 2 (全 12 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2004-32877 (P2004-32877)                  (22) 出願日 平成16年2月10日(2004.2.10)                  (65) 公開番号 特開2005-224106 (P2005-224106A)                  (43) 公開日 平成17年8月25日(2005.8.25)                  審査請求日 平成18年10月17日(2006.10.17)</p>	<p>(73) 特許権者 000000941                  株式会社カネカ                  大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号                  (74) 代理人 100098017                  弁理士 吉岡 宏嗣                  (72) 発明者 荻野 敏                  東京都千代田区内神田一丁目1番14号                  株式会社日立メデイ                  コ内                  審査官 佐々木 大輔</p>
---	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞培養装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

比増殖速度を得たときの細胞の種類及び培養条件を前記比増殖速度に関連付けて格納したデータベース部と、培養によって得たい必要細胞数及び時期を入力する入力部と、設定された環境で細胞の培養を行うための細胞培養部と、該細胞培養部に收容された培養容器内の細胞の培養状態をカメラで撮影して画像データを作成する画像データ作成部と、前記細胞培養部に收容された培養容器へ培養液の供給及び排出を行う培養液給排部と、前記データベース部、前記入力部、前記細胞培養部、前記画像データ作成部及び前記培養液給排部に電氣的に接続された制御部とを備え、前記制御部は、培養を開始するときの初期細胞数と、前記必要細胞数及び前記必要時期とに基づいて比増殖速度を算出し、培養する細胞の種類に基づいて前記データベース部から最も近い前記比増殖速度を選択し、該選択した比増殖速度に対応する培養条件の情報を取得し、該取得した培養条件の情報に基づいて、前記細胞培養部及び前記培養液給排部の動作を制御してなる細胞培養装置。

【請求項2】

前記制御部は、細胞の培養中、前記画像データ作成部からの画像データに基づいて細胞数を算出し、該算出した細胞数に基づいて比増殖速度を算出し、該算出した比増殖速度に基づいて算出した必要時期に得られる細胞数と、前記必要細胞数とを比較して、前記必要時期に前記必要細胞数が得られるか否かを判定し、該判定で前記必要時期に前記必要細胞数が得られない場合には、前記算出した細胞数と、前記必要細胞数及び前記必要時期とに基づいて比増殖速度を算出し、前記細胞の種類に基づいて前記データベース部から最も近い

前記比増殖速度を選択し、該選択した比増殖速度に対応する新たな培養条件の情報を取得し、該取得した培養条件の情報に基づいて、前記細胞培養部及び前記培養液給排部の動作を制御してなることを特徴とする請求項1に記載の細胞培養装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞培養装置に係り、特に、培養している細胞を直接または顕微鏡を介してカメラで撮影することにより培養状態の情報を得て培養を制御する細胞培養装置に関する。

【背景技術】

10

【0002】

培養している細胞をカメラで撮影することにより培養状態の情報、例えば細胞数、細胞濃度、細胞占有面積などの情報を得て培養を制御する細胞培養装置として、培養状態の情報に基づいて細胞の継代の時期を判断し、継代培養を自動で行う細胞培養装置が提案されている（例えば、特許文献1参照）。

【0003】

【特許文献1】特開2001-275659号公報（第4-9頁、第1図）

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

20

ところで、再生医療のためなどにおける種々の細胞の生産や、細胞小器官、抗体やその他の細胞の生産物質などといった細胞から得られる生成物の生産などのために細胞の培養を行う場合、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることが望ましい。

【0005】

これに対し、従来の細胞培養では、作業者は、必要とする量の細胞を必要な時期に得るため、作業者の経験によって培養条件を決定し、また、細胞培養中に逐次細胞の培養状態を観察し、必要に応じて培養条件を調整するといった作業を行っている。また、培養している細胞をカメラで撮影することにより培養状態の情報を得て培養を制御する従来の細胞培養装置では、継代の時期を判断することはできても、必要とする量の細胞を必要な時期に得るといった細胞培養を行うことはできない。

30

【0006】

このように、従来の細胞培養技術では、細胞培養において作業者が煩雑な作業を行わなければならない上、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができるか否かは、作業者の経験などによって左右されてしまうなどの問題がある。このため、細胞培養における作業者の作業を軽減し、また、作業者の経験などによって必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができるか否かが左右されるなどといった問題をなくすため、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができる細胞培養装置が求められている。

【0007】

本発明の課題は、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができる細胞培養装置を提供することにある。

40

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の細胞培養装置は、比増殖速度を得たときの細胞の種類及び培養条件を前記比増殖速度に関連付けて格納したデータベース部と、培養によって得たい必要細胞数及び時期を入力する入力部と、設定された環境で細胞の培養を行うための細胞培養部と、この細胞培養部に収容された培養容器内の細胞の培養状態をカメラで撮影して画像データを作成する画像データ作成部と、細胞培養部に収容された培養容器へ培養液の供給及び排出を行う培養液給排部と、データベース部、入力部、細胞培養部、画像データ作成部及び培養液給排部に電氣的に接続された制御部とを備え、制御部は、培養を開始するときの初期細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて比増殖速度を算出し、培養する細胞の種類とに基

50

づいてデータベース部から最も近い比増殖速度を選択し、この選択した比増殖速度に対応する培養条件の情報を取得し、この取得した培養条件の情報に基づいて、細胞培養部及び前記培養液給排部の動作を制御する構成とすることにより上記課題を解決する。

【0009】

このような構成とすれば、細胞の種類及び培養を開始するときの初期細胞数と、培養によって得る必要細胞数及びこの必要細胞数を得る必要時期とから、細胞培養装置が、自動的に、必要な量の細胞を必要な時期に得るための培養条件を選択し、その培養条件にしたがって細胞培養を行うことができる。すなわち、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができる。

【0010】

また、制御部は、細胞の培養中、画像データ作成部からの画像データに基づいて細胞数を算出し、この算出した細胞数に基づいて比増殖速度を算出し、この算出した比増殖速度に基づいて算出した必要時期に得られる細胞数と、必要細胞数とを比較して、必要時期に必要な細胞数が得られるか否かを判定し、この判定で必要時期に必要な細胞数が得られない場合には、算出した細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて比増殖速度を算出し、この算出した比増殖速度と、細胞の種類とに基づいてデータベース部から最も近い比増殖速度を選択し、この選択した比増殖速度に対応する新たな培養条件の情報を取得し、この取得した培養条件の情報に基づいて、細胞培養部及び培養液給排部の動作を制御する構成とする。このような構成とすれば、細胞培養中に、必要とする比増殖速度で細胞が増殖していない場合でも、培養条件を修正して、比増殖速度を必要な比増殖速度に修正できる。このため、必要時期に必要な細胞数を得るための細胞培養の制御精度をより向上できる。

【0011】

さらに、制御部は、細胞の培養中、画像データ作成部からの画像データに基づいて算出した細胞数に基づいて比増殖速度を求め、この求めた比増殖速度の情報と、この比増殖速度を得たときの培養条件の情報とを関連付けてデータベース部に格納する構成とする。このような構成とすれば、データベースに収容された細胞の種類及び培養条件に対応する比増殖速度のデータ数を増やすことができ、よりの確な比増殖速度を選択できるようになるため、必要時期に必要な細胞数を得るための細胞培養の制御精度を一層向上できる。

【0012】

また、制御部は、画像データ作成部からの画像データに基づいて細胞の種類及び初期細胞数を検出する構成とすれば、細胞の種類及び初期細胞数を入力部から入力する作業を省略でき、細胞培養に作業者が行う作業をより軽減できる。

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができる細胞培養装置を提供できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

以下、本発明を適用してなる細胞培養装置の一実施形態について図1乃至図4を参照して説明する。図1は、本発明を適用してなる細胞培養装置の概略構成及び動作を示すブロック図である。図2及び図3は、本発明を適用してなる細胞培養装置の培養の制御動作を示すフロー図である。図4は、データベース部が有するデータベースの構成の一例を示す図である。

【0015】

本実施形態の細胞培養装置は、図1に示すように、内部に培養容器1が収容された細胞培養部となるインキュベータ3、培養容器1への培養液の供給及び排出を行う培養液給排部5、培養容器内を撮影して画像処理を行うための画像データ作成部7、インキュベータ3、培養液給排部5及び画像データ作成部7などの動作を制御する制御部9、各種設定情報などを入力するための入力部11、そして、比増殖速度や培養条件などの情報を格納したデータベース部13などを備えている。

## 【0016】

インキュベータ3は、一般的に用いられている培養容器1が収容された培養室内の温度、そして、必要に応じ雰囲気などといった培養環境を調整できるものである。このようなインキュベータ3は、ケーブル14を介して信号などの授受が可能に制御部9と電氣的に接続されている。培養液給排部5は、培養容器1への培養液の供給、培養容器1からの培養液の排出を行い、培養容器1内の培養液の交換などを行うものである。

## 【0017】

本実施形態の培養液給排部5は、細胞の種類などに応じた組成の培養液を選択して供給できるようになっているため、異なる組成の培養液を個々に収容する複数の培養液タンク15a、15b、15c、培養液タンク15a、15b、15c各々に一端が連結された培養液管路17a、17b、17c、培養液管路17a、17b、17cの他端が連結された切換弁19、切換弁19と培養容器1との間に設けられて培養容器1へ培養液を導く培養液供給管路21、そして、培養液供給管路21に設けられた供給用ポンプ23などを有している。切換弁19は、培養液供給管路21に連通する管路を培養液管路17a、17b、17cのいずれかに切り換えることにより、培養容器1へ供給する培養液を選択するものである。

## 【0018】

さらに、本実施形態の培養液給排部5は、培養容器1内の培養液を排出するため、一端が培養容器1に、他端が廃液タンク25に連結された廃液管路27、廃液管路27に培養容器1側から順に設けられた廃液の流路を開閉する弁29及び廃液用ポンプ31などを有している。培養液給排部5が有する切換弁19、供給用ポンプ23、弁29、そして、廃液用ポンプ31などは、各々、制御部9に配線33を介して電氣的に接続されている。なお、図1では、培養液給排部5は、インキュベータ3の外側に設置された状態となっているが、培養液給排部5は、インキュベータ3内に設置することもできる。また、培養容器1に供給する培養液の温度を培養温度に制御する上で、培養液タンク15a、15b、15cなどは、インキュベータ3内に設置した構成にすることもできる。

## 【0019】

このように培養液給排部5によって培養液が供給そして排出される培養容器1は、培養液給排部5によって培養液が供給そして排出により、細胞の成長への影響や流出などが生じ難いものであれば、様々な形状や構成のものを使用することができる。

## 【0020】

画像データ作成部7は、インキュベータ3内に設置され、培養容器1を撮影するCCDカメラなどのカメラ35、カメラ35で撮影した画像データの2値またはそれ以上の多値化処理などを行い、細胞数の計数などを行うための画像データを作成する画像処理手段37などで形成されている。カメラ35と画像処理手段37とは、ケーブル39を介して信号やデータなどの授受が可能に電氣的に接続されている。画像処理手段37は、ケーブル39を介して信号やデータなどが授受可能に制御部9と電氣的に接続されている。なお、画像処理手段37で作成する画像データは、各ビットの位置情報と濃淡情報などが得られるものであれば特に限定されるものではない。また、カメラ35からの画像データは、細胞の増殖速度などに応じ、動画像データにすることも、静止画像データにすることもできる。

## 【0021】

制御部9は、図示していないが、中央処理装置つまりCPU、様々な処理のためのプログラムなどを格納したハードディスクや画像データなどの一時的な格納を行うメモリといった記憶手段、画像処理手段37やその他の機器類などを接続するためのインターフェース、カメラ35で撮影した画像や、培養状態を示す表示画面、操作画面などを表示する表示手段となるディスプレイなどを備えている。また、ケーブル41を介して制御部9に電氣的に接続された入力部11は、様々な操作のためのマウスや、各種設定などを入力するためのキーやスイッチなどを有するキーボードなどで形成されている。したがって、制御部9は、パーソナルコンピュータなどを用いて形成することができる。

## 【 0 0 2 2 】

さらに、制御部 9 には、細胞の種類、培養条件、そして、比増殖速度などのデータを相互に関連付けて格納した外部記憶装置によって形成されたデータベース部 1 3 が、ケーブル 4 3 を介して信号やデータなどの授受が可能に電氣的に接続されている。

## 【 0 0 2 3 】

このような制御部 9 は、データベース用データ入力機能、培養情報設定機能、比増殖速度算出機能、培養条件選択機能、細胞数計数機能、インキュベータ制御機能、培養液給排部制御機能、画像データ作成部制御機能などを有しており、これら各機能を制御部 9 に与えるための各々のプログラムがハードディスクなどの記憶手段に格納されている。

## 【 0 0 2 4 】

データベース用データ入力機能は、入力部 1 1 などを用い、比増殖速度のデータ、その比増殖速度を得た細胞の種類、そして、培養液の組成、培養温度、培養雰囲気、培養液の交換頻度や交換時期などといった培養条件に関するデータを入力することで、制御部 9 を介してデータベース部 1 3 に、これらのデータを互いに関連付けて登録する機能である。データベース部 1 3 には、このデータベース用データ入力機能を用いて予め、手作業による培養によって得た比増殖速度、細胞の種類、培養液の組成、培養温度、さらに、必要に応じて培養雰囲気や培養液の交換頻度などのデータが複数登録され、格納されている。なお、培養液の組成は、組成が異なるものには全て名前を付けるといったように固有の識別情報を付してデータベース部 1 3 に登録している。

## 【 0 0 2 5 】

培養情報設定機能は、入力部 1 1 を用いて培養を行う細胞の種類、培養を開始するときの細胞数である初期細胞数、培養によって得たい細胞数である必要細胞数、そして、この必要細胞数を得たい日などの時期である必要時期などの実施したい培養の情報を設定する機能である。

## 【 0 0 2 6 】

比増殖速度算出機能は、培養情報設定機能によって設定した初期細胞数、必要細胞数、そして、必要時期に基づいて、必要細胞数を必要時期に得るために必要な比増殖速度を算出する機能である。

## 【 0 0 2 7 】

培養条件選択機能は、比増殖速度算出機能によって算出した比増殖速度と、入力部 1 1 を用いて入力された培養する細胞の種類とに基づいて、データベース部 1 3 の格納されたデータベースから、その細胞の種類と比増殖速度とに最も近い比増殖速度を検索して選択し、この選択した比増殖速度を得たときの培養条件のデータを取得する機能である。

## 【 0 0 2 8 】

インキュベータ制御機能は、培養条件選択機能によって取得された培養条件にしたがってインキュベータ 3 の動作を制御し、培養温度、また、必要に応じて雰囲気を調整する機能である。培養液給排部制御機能は、培養条件選択機能によって取得された培養条件にしたがって培養液給排部 5 の切換弁 1 9、供給ポンプ 2 3、弁 2 9、廃液ポンプ 3 1 などの動作を制御し、培養条件選択機能によって取得された培養条件に対応する培養液の培養容器 1 への供給を行う機能である。また、培養液給排部制御機能は、培養中に培養液の交換が必要な場合には、培養条件選択機能によって取得された培養条件の培養液の交換時期と頻度で培養容器 1 内の培養液の交換を行う機能も有している。

## 【 0 0 2 9 】

画像データ作成部制御機能は、培養中に予め設定されたタイミングで培養中の細胞を撮影することにより画像データを取得するために画像データ作成部 7 の画像処理手段 3 7 やカメラ 3 5 の動作を制御する機能である。

## 【 0 0 3 0 】

細胞数計数機能は、画像データ作成部制御機能によって画像データ作成部 7 から得た画像データに基づいて細胞数を計数する機能である。画像データからの細胞数の計数は、例えば境界が明瞭なものでは、Image Pro PLUS (Media Cybern

10

20

30

40

50

e t i c s 社)などの画像処理ソフトを用い、背景除去処理、変換などの後、収縮などの形態処理を施して自動計測することで行なわれる。一方、境界が不明瞭で自動計測が難しいものなどでは、画像上、ある一定の輝度値以下の領域の面積など、細胞数に比例する画像上のパラメータを算出して細胞数の計測を行なうことができる。

【0031】

例えば、細胞の境界が不明瞭な人骨髄幹細胞、いわゆるhMSCの対物4倍の顕微鏡画像では、Image Pro PLUSでLarge Spectral Filterを用いて背景除去処理、変換、収縮を行なった後の自動計測した値が細胞数に比例するため、比例定数を求めておけば、自動計測した値から細胞数を算出できる。

【0032】

また、画像データから細胞密度を算出し、算出した細胞密度と培養容器1の培養面積とから細胞数を算出することなどもでき、画像データからの細胞数の計数は、様々な方法を用いて行うことができる。なお、細胞数計数機能は、算出した細胞数と、培養情報設定機能によって設定した必要細胞数とを比較し、培養の終了を判定する機能も有している。

【0033】

さらに、本実施形態では、制御部9は、培養条件修正機能も有しており、この機能を制御部9に与えるためのプログラムもハードディスクなどの記憶手段に格納されている。培養条件修正機能は、設定された時間間隔で細胞数計数機能によって経時的に算出した細胞数に基づいて実際の培養での比増殖速度を算出し、この算出した実際の培養での比増殖速度と、比増殖速度算出機能で算出した必要な比増殖速度とを比較することで、実際の培養での比増殖速度で、培養情報設定機能によって設定した必要時期に必要な細胞数が得られるか否かを判定する。そして、必要時期に必要な細胞数が得られないと判定したとき、比増殖速度算出機能を用い、現在の細胞数と必要細胞数とに基づいて新たに必要な比増殖速度を算出し、培養条件選択機能を用い、この新たに算出した比増殖速度に基づいて新たな培養条件のデータを取得し、培養条件を修正する機能である。

【0034】

加えて、本実施形態では、制御部9は、培養データフィードバック機能も有しており、この機能を制御部9に与えるためのプログラムもハードディスクなどの記憶手段に格納されている。培養データフィードバック機能は、本実施形態の細胞培養装置を用いて培養を行うと、培養を行った後、この培養において画像データ作成部7と細胞数算出機能によって得た経時的な細胞数の変化から得た比増殖速度のデータ、培養した細胞の種類、そして、培養液の組成、培養温度、培養の雰囲気調整した場合には培養雰囲気、培養液の交換頻度などといった培養条件に関するデータを互いに関連付けてデータベース部13に自動的に登録する機能である。

【0035】

データベース部13には、図4に一例を示すように、データベース用データ入力機能または培養データフィードバック機能により登録された細胞の種類、比増殖速度、培養液の種類、培養温度、培養液の交換頻度や時期を決めるための培養液の交換間隔などのデータが互いに関連付けられて格納されている。なお、データベース部13には、比増殖速度だけでなく、増殖カーブのデータを他のデータと関連付けて格納し、培養条件を決定する際、比増殖速度算出機能で算出した比増殖速度に最も近い比増殖速度が得られる増殖カーブのデータを検索する構成などにもすることもできる。

【0036】

なお、本実施形態では、培養情報設定機能により、入力部11を用いて培養を行う細胞の種類、培養を開始するときの細胞数である初期細胞数を入力し設定する構成となっている。しかし、このような構成に代えて、制御部9の制御動作が複雑にはなるが、培養情報設定機能が、画像データ作成部制御機能を用い、画像データ作成部7から得た培養を開始する前の培養容器1の画像データに基づいて細胞の種類や初期細胞数などを検出して設定する構成にもすることもできる。

【0037】

10

20

30

40

50

また、本実施形態では、細胞の種類に対応する比増殖速度を選択する構成となっているが、細胞の種類が同じでも細胞形態の違いによって増殖の状態などが異なる場合がある。このような場合には、細胞の種類に加えて細胞形態に関連付けて比増殖速度をデータベース部13に格納し、また、培養情報設定機能で、細胞の種類に加えて細胞形態を設定したり、培養条件選択機能が、比増殖速度と、細胞の種類及び細胞形態に基づいて比増殖速度を検索して選択し、この選択した比増殖速度を得たときの培養条件のデータを取得したりする構成などにもすることもできる。

**【0038】**

このような構成の細胞培養装置の動作と本発明の特徴部などについて説明する。なお、以下の説明において、データベース部13には、既に手作業による培養で得た種々の種類の細胞や培養条件で得た比増殖速度のデータや、その比増殖速度を得た細胞の種類、培養条件などのデータが入力され、蓄積されている状態とする。また、制御部9が有する記憶手段には、培養液タンク15a、15b、15cの識別情報と、その識別情報に対応させて、各培養液タンク15a、15b、15cに入れた培養液の組成つまり種類の情報が予め入力されている状態とする。

10

**【0039】**

作業者は、例えば、培養する細胞に適応する緩衝液などを培養容器1内に入れ、この中に培養する細胞を植え、培養容器1内に植えた細胞の初期細胞数を計数する。初期細胞数を計数した後、培養する細胞を植えた培養容器1をインキュベータ3の培養室内に設置し、培養液給排部5の培養液供給管路21や廃液管路27などを培養容器1に連結する。

20

**【0040】**

この後、作業者が、入力部11などを用いて、培養開始を指令すると、制御部9は、図1及び図2に示すように、ディスプレイなどに培養情報の設定画面を表示し、作業者は、この設定画面にしたがって、入力部11などを用いて、培養する細胞の種類、初期細胞数、培養で得たい必要細胞数、その必要細胞数の細胞を得たい必要時期などの情報を入力し、これらの培養情報を設定する(ステップ101)。ステップ101で培養情報が設定されると、制御部9は、初期細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて必要細胞数を必要時期に得るために必要な比増殖速度を算出する(ステップ103)。

**【0041】**

ステップ103の後、制御部9は、データベース部13から、培養する細胞の種類に対応し、算出した比増殖速度に最も近い比増殖速度のデータを検索し、選択する(ステップ105)。そして、選択した比増殖速度のデータに関連付けられている培養条件、すなわち、培養液の種類、培養温度、また、必要な場合には培養雰囲気や培養液の交換時期及び頻度、などのデータをデータベース部13から取得する(ステップ107)。

30

**【0042】**

ステップ107の後、制御部9は、取得した培養条件にしたがって、培養液の種類、培養温度、培養液の交換時期及び頻度などを設定する。そして、この設定にしたがって、インキュベータ3では、培養室内の温度などが調整される。また、培養液給排部5では、切換弁19の切り換えにより、培養液タンク15a、15b、15cのうち、必要な培養液が入った培養液タンクが培養容器1に連通した状態となり、弁29が開いた状態で廃液ポンプ31が駆動されると共に、供給ポンプ23が駆動されることにより、培養容器1内の緩衝液などが、培養条件として選択された培養液に交換され、培養が開始される(ステップ109)。

40

**【0043】**

また、ステップ109で培養が開始されると同時に、制御部9は、画像データ作成部7による培養状態の観察間隔、つまり、画像データの作成間隔を設定し、画像データ作成部7を作動させ、培養状態の観察を開始する(ステップ111)。

**【0044】**

培養が開始されると、制御部9は、図1及び図3に示すように、ステップ111で設定した観察時間になると(ステップ113)、画像データ作成部7を介して画像データを取

50

得し、この取得した画像データに基づいて細胞数を計数する(ステップ115)。また、ステップ115では、初めてステップ115を行うときは、細胞数の計数のみを行うが、2回目以降の場合には、前回のステップ115で得た細胞数と、今回のステップ115で得た現在の細胞数とから実際の培養における比増殖速度を算出する。

【0045】

ステップ115の後、制御部9は、ステップ115で得た現在の細胞数と、ステップ101で設定した必要細胞数とを比較する(ステップ117)。ステップ117において、ステップ115で得た現在の細胞数が必要細胞数に達していない場合には、ステップ115で得た実際の培養での比増殖速度と、ステップ103で算出した比増殖速度とを比較し、現在の培養での比増殖速度で、ステップ101で設定した必要時期に必要な細胞数が得られるか否かを判定する(ステップ119)。なお、ステップ119は、初めてステップ115を行った後の場合、スキップされる。

10

【0046】

ステップ119において、現在の培養での比増殖速度で、必要時期に必要な細胞数が得られる場合は、ステップ113に戻り、ステップ115で得た現在の細胞数が必要細胞数に達していないとき、ステップ113からステップ119を繰り返す。一方、ステップ119において、現在の培養での比増殖速度で、必要時期に必要な細胞数が得られる場合でステップ113に戻ったとき、ステップ117において、ステップ115で得た現在の細胞数が必要細胞数に達していると判定された場合には、培養を終了する(ステップ121)。

【0047】

また、ステップ119において、現在の培養での比増殖速度で、必要時期に必要な細胞数が得られないと判定された場合、図2に示すステップ103に戻り、今度は、ステップ115で得た現在の細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて必要細胞数を必要時期に得るために必要な新たな比増殖速度を算出する。そして、ステップ105で、比増殖速度のデータの中から、算出した新たな比増殖速度に最も近いものを検索し、選択する。その後、ステップ107で、選択した比増殖速度のデータに関連付けられている培養条件、すなわち、培養液の種類、培養温度、培養液の交換時期及び頻度、また、必要な場合には培養雰囲気などのデータをデータベース部13から取得する。

20

【0048】

ステップ107の後、ステップ109において、制御部9は、取得した新たな培養条件にしたがって、培養液の種類、培養温度、また、必要に応じて培養雰囲気や培養液の交換時期及び頻度などを設定し、培養条件を修正する。このとき、画像データ作成部7による観察は継続されているため、ステップ111はスキップし、ステップ109の後、図3に示すように、ステップ113からステップ117またはステップ119が繰り返され、ステップ117において、ステップ115で得た現在の細胞数が必要細胞数に達していると判定された場合には、ステップ121に進み培養を終了する。

30

【0049】

また、本実施形態では、ステップ121では、培養を終了すると共に、図1、図3及び図4に示すように、この培養において画像データ作成部7と細胞数算出機能によって得た経時的な細胞数の変化に基づいて得た比増殖速度のデータ、培養した細胞の種類、そして、培養液の組成、培養温度、培養の雰囲気を調整した場合には培養雰囲気、培養液の交換頻度や交換間隔などといった培養条件に関するデータを互いに関連付けてデータベース部13に自動的に登録する。

40

【0050】

このように、本実施形態の細胞培養装置では、比増殖速度、細胞の種類及び培養条件を関連付けて格納したデータベース部13、必要細胞数及び必要時期を入力する入力部11、設定された環境で細胞の培養を行うためのインキュベータ3、細胞の培養状態をカメラ35で撮影して画像データを作成する画像データ作成部7、培養容器1へ培養液の供給及び排出を行う培養液給排部5を備えている。さらに、培養を開始するときの初期細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて比増殖速度を算出し、算出した比増殖速度と、培

50

養する細胞の種類とに基づいてデータベース部13から最も近い比増殖速度を選択し、選択した比増殖速度に対応する培養条件の情報を取得し、取得した培養条件の情報に基づいて、インキュベータ3や培養液給排部5などの動作を制御する各機能を有する制御部9を備えている。

【0051】

したがって、細胞の種類及び培養を開始するときの初期細胞数と、培養によって得る必要細胞数及びこの必要細胞数を得る必要時期とから、自動的に、必要な量の細胞を必要な時期に得るための培養条件を自動的に決定して培養を行うことができる。すなわち、必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができる細胞培養装置を提供できる。

【0052】

さらに、必要な量の細胞を必要な時期に得るための培養条件を自動的に決定して培養を行うことができるため、細胞培養における作業者の作業を軽減でき、また、作業者の経験などによって必要とする量の細胞を必要な時期に得ることができるか否かが左右されるなどといった問題をなくすることができる。

【0053】

加えて、制御部9は、細胞の培養中、画像データ作成部7からの画像データに基づいて細胞数を算出し、この算出した細胞数に基づいて比増殖速度を算出し、この算出した比増殖速度と、必要細胞数及び必要時期と比較して、必要時期に必要な細胞数が得られるか否かを判定する。そして、この判定で必要時期に必要な細胞数が得られない場合には、算出した細胞数と、必要細胞数及び必要時期とに基づいて新たな比増殖速度を算出し、算出した新たな比増殖速度と、細胞の種類とに基づいてデータベース部から最も近い比増殖速度を選択して新たな培養条件の情報を取得し、インキュベータ3や培養液給排部5などの動作を制御する各機能を有した構成となっている。したがって、細胞培養中に、必要とする比増殖速度で細胞が増殖していない場合でも、培養条件を修正して、比増殖速度を必要な比増殖速度に修正できる。このため、必要時期に必要な細胞数を得るための細胞培養の制御精度をより向上できる。

【0054】

さらに、制御部9は、細胞の培養中、画像データ作成部7からの画像データに基づいて算出した細胞数に基づいて比増殖速度を求め、この求めた比増殖速度の情報と、この比増殖速度を得たときの培養条件の情報とを対応させてデータベース部13に格納する機能を有する構成となっている。このため、データベース部13に収容されたデータベースの、細胞の種類及び培養条件に対応する比増殖速度のデータ数を増やすことができ、よりの確な比増殖速度を選択できるようになるため、必要時期に必要な細胞数を得るための細胞培養の制御精度を一層向上できる。

【0055】

加えて、制御部9は、画像データ作成部7からの画像データに基づいて細胞の種類及び初期細胞数を検出する機能を有する構成となっている。このため、細胞の種類及び初期細胞数を入力部から入力する作業を省略でき、細胞培養において作業者が行う作業をより軽減できる。

【0056】

また、本実施形態では、各機能を有する制御部9を、1台のパーソナルコンピュータで形成し、また、画像処理手段37は、制御部9とは別個に設けている。しかし、制御部9が有する各機能を、機能ごとに単独のコンピュータなどで形成した構成や、制御部9が有する各機能と画像処理手段37が有する機能とを合わせて有するコンピュータを用いた構成にするなど、制御部9や画像処理手段37などは、適宜、一体または複数のユニットで構成できる。

【0057】

また、本実施形態では、制御部9が、培養条件修正機能や培養データフィードバック機能を有した構成となっているが、培養条件修正機能や培養データフィードバック機能を有していない構成にすることもできる。ただし、必要な細胞数を必要な時期に得るための培

10

20

30

40

50

養の制御精度を向上する必要がある場合には、培養条件修正機能や培養データフィードバック機能を有した構成とすることが望ましい。

【0058】

また、本発明の細胞培養装置は、本実施形態に示した構成に限らず、本実施形態に示す各機能を有する制御部9を備えており、インキュベータ3と同様の機能を果たす細胞培養部、画像データ作成部7と同様の機能を果たす画像データ作成部、培養液給排部5と同様の機能を果たす培養液給排部などを備えた構成であれば、様々な構成にできる。

【0059】

また、本発明の細胞培養装置は、一代のみで培養を終了する場合に限らず、継代培養などの細胞培養を行う細胞培養装置など、様々な細胞培養装置に適用できる。継代培養を行なう場合には、例えば、データベース部13に継代の項目及び継代のタイミングとなる細胞濃度などの情報を登録し、格納しておき、これらの情報に基づいて培養液給排部5などの動作を制御し、継代のための細胞の植え継ぎを行なう構成とする。

10

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1】本発明を適用してなる細胞培養装置の一実施形態の概略構成及び動作を示すブロック図である。

【図2】本発明を適用してなる細胞培養装置の一実施形態の培養の制御動作のうち、培養を実際に開始するまでの制御動作を示すフロー図である。

【図3】本発明を適用してなる細胞培養装置の一実施形態の培養の制御動作のうち、培養を開始した後の制御動作を示すフロー図である。

20

【図4】本発明を適用してなる細胞培養装置の一実施形態のデータベース部が有するデータベースの構成の一例を示す図である。

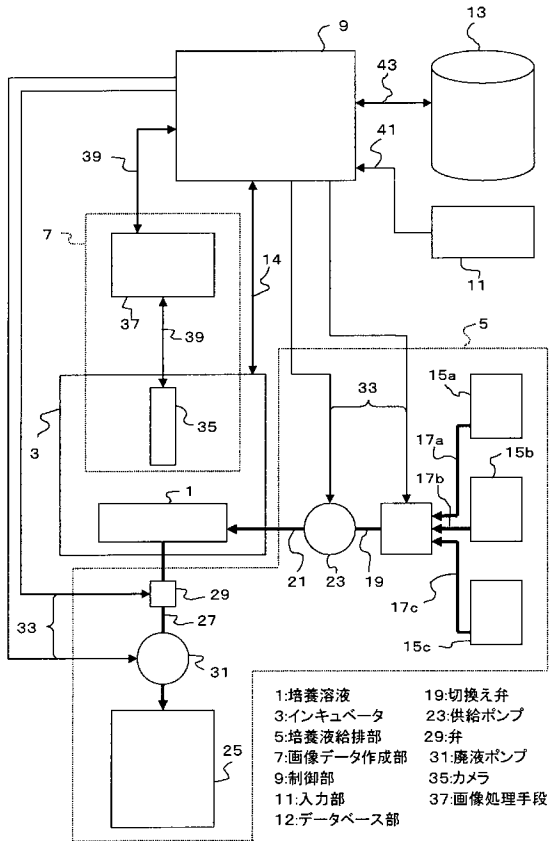
【符号の説明】

【0061】

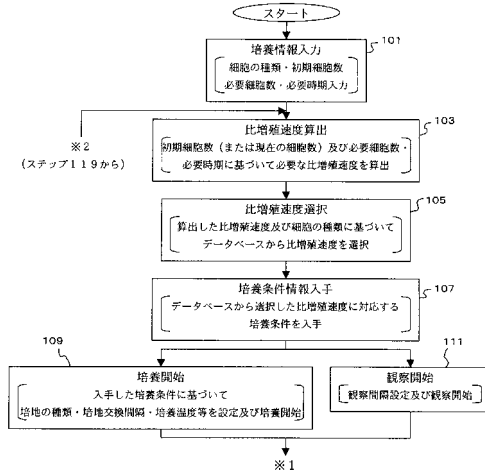
- 1 培養容器
- 3 インキュベータ
- 5 培養液給排部
- 7 画像データ作成部
- 9 制御部
- 11 入力部
- 13 データベース部
- 19 切換弁
- 23 供給ポンプ
- 29 弁
- 31 廃液ポンプ
- 35 カメラ
- 37 画像処理手段

30

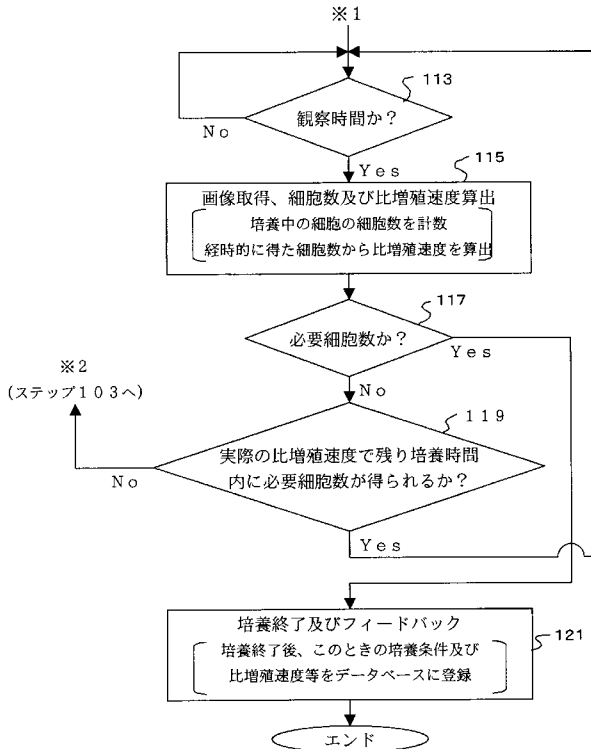
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

細胞の種類	比増殖速度 (h <sup>-1</sup> )	培地	温度 (°C)	培地交換間隔 (h)
hMSC	0.022	MSCGM	37	72
hMSC	0.02	MSCGM	37	96
hMSC	0.024	MSCGM	37	48
hMSC	0.025	MSCGM	40	72
hMSC	0.019	MSCGM	30	72

---

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2002-218995(JP,A)  
特開平7-75554(JP,A)  
国際公開第2004/011593(WO,A1)  
A. Verse, et al., Automated Fermentation Equipment, Biotechnology and Bioengineering,  
1981年, Vol.13, pp.391-404

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 3/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

MEDLINE/CAPLUS/BIOSIS/WPIDS(STN)