

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5244801号
(P5244801)

(45) 発行日 平成25年7月24日 (2013. 7. 24)

(24) 登録日 平成25年4月12日 (2013. 4. 12)

(51) Int. Cl.	F 1
C 1 2 N 1/02 (2006. 01)	C 1 2 N 1/02
C 1 2 M 1/00 (2006. 01)	C 1 2 M 1/00 A

請求項の数 30 (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2009-528723 (P2009-528723)	(73) 特許権者	512072809
(86) (22) 出願日	平成19年9月20日 (2007. 9. 20)		アーエルエス アウトメーテッド ラブ
(65) 公表番号	特表2010-504086 (P2010-504086A)		ソリューションズ ゲーエムペーハー
(43) 公表日	平成22年2月12日 (2010. 2. 12)		ドイツ国 07747 イェーナ, ストッ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2007/059951		クホルマー シュトラーセ 10
(87) 国際公開番号	W02008/034868	(74) 代理人	110001427
(87) 国際公開日	平成20年3月27日 (2008. 3. 27)		特許業務法人前田特許事務所
審査請求日	平成21年4月23日 (2009. 4. 23)	(72) 発明者	ラファエル バックハウス
(31) 優先権主張番号	102006045262.3		ドイツ国 50933 ケルン, マールヴ
(32) 優先日	平成18年9月22日 (2006. 9. 22)		ェク 82
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)	(72) 発明者	イェンス エーベルハルト
			ドイツ国 07548 ゲラ, マックスー
			ブランクーシュトラーセ 4

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞及び／又は細胞コロニーの自動化した除去のための方法及び装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞培養から細胞及び／又は細胞コロニーを自動的に取り出すための方法であって、
 第1の検出データを得るために、表面域、サイズ、外形、スペクトル・パラメータ及び
 それらの組合せからなる群から選択される形態的又は定性的な第1のパラメータに関する
 細胞及び／又は細胞コロニーの識別を行い、位置データを検出し、識別された上記細胞及
 び／又は細胞コロニーの検出された位置データを位置データベースに格納する第1の検出
 ステップを実行することと、

第2の検出データを得るために、上記第1の検出ステップで細胞及び／又は細胞コロ
 ニーが識別された領域においてのみ上記細胞及び／又は細胞コロニーの蛍光性、明視野信号
 又は位相差のパラメータである少なくとも1つの第2のパラメータを検出するための少な
 くとも1つの第2の検出ステップを実行することと、

上記第1及び第2の検出データから比較データをつくって、該比較データを位置デー
 タに割り当てることと、

個々の蛍光性、明視野又は位相差信号の有無に関して指定された比較データを有する上
 記細胞及び／又は細胞コロニーを選択することと、

該比較データとリンクされた位置データを上記位置データベースから採取装置まで転送
 することと、

採取ユニットにより細胞培養から選択された細胞及び／又は細胞コロニーを取り出すこ
 ととを備えていることを特徴とする方法。

10

20

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法において、
 x y テーブルが上記細胞培養の容器の支持物として設けられ、
 上記 x y テーブルの動きにより、上記細胞培養の走査と採取装置の移動とが実行される
 ことを特徴とする方法。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の方法において、
 上記細胞培養の部分的な画像が走査の間に記録され、
 上記部分的な画像に関して、上記第 1 の及び／又は第 2 の検出ステップが行われる
 ことを特徴とする方法。

10

【請求項 4】

請求項 1 又は 2 に記載の方法において、
 上記細胞培養を覆う部分的な画像の全部が走査の間記録され、
 上記部分的な画像の画像データは、上記細胞培養の輪郭画像の画像データを形成するた
 めに、画像評価ユニットにおいて結合される
 ことを特徴とする方法。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の方法において、
 上記位置データの検出の間、上記細胞又は細胞コロニーの確認された形に関連する画像
 点の各一組から形状重心を算出することにより、該確認された形の形状重心の決定がなさ
 れ、
 上記形状重心の座標は、上記位置データベースの確認された形のための位置データとし
 て格納される
 ことを特徴とする方法。

20

【請求項 6】

請求項 5 に記載の方法において、
 上記形状認識及び位置データの検出は、上記確認された形の間の距離の測定を含み、
 2 つの任意の形状重心 S_i 及び S_j の間の距離 $|S_{ij}|$ 並びにそれらの座標 (x_i, y_i) 又は
 (x_j, y_j) は、ピタゴラス関係を使用して算出される

【数 1】

30

$$|S_{ij}| = \sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}$$

ことを特徴とする方法。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 つに記載の方法において、
 上記走査、形状認識及び／又は位置データの検出の間、上記画像データのリアルタイム
 表示がモニタになされる
 ことを特徴とする方法。

【請求項 8】

40

請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の方法において、
 上記第 2 の検出ステップは、さまざまな第 2 のパラメータが検出される任意の多くの個
 々のステップからなる
 ことを特徴とする方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法において、
 上記第 2 の検出ステップで、多くの異なる蛍光チャネル及び励振波長が走査され、評価
 されるように、上記各ステップのパラメータが曝露の異なるタイプにより記録される
 ことを特徴とする方法。

【請求項 10】

50

請求項 1～9 のいずれか 1 つに記載の方法において、

上記第 1 の検出ステップにおける細胞及び／又は細胞コロニーの識別が、第 1 のインタラクティブ選択項目リストによって、第 1 のパラメータを参照することでなされ、

上記インタラクティブ選択項目リストにより、細胞及び／又は細胞コロニーの自動化したより抜きと共に、手動で位置データベースを見て自動的に発見した細胞又は細胞コロニーを調べて選択することが可能となる

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 1】

請求項 1～10 のいずれか 1 つに記載の方法において、

上記細胞及び／又は細胞コロニーの選択が、第 2 のインタラクティブ選択項目リスト又はインタラクティブ散布図による比較データを参照することでなされ、

上記インタラクティブ選択項目リスト又はインタラクティブ散布図により、細胞及び／又は細胞コロニーの自動化したより抜きと共に、手動で位置データベースを見て自動的に発見した細胞又は細胞コロニーを調べて選択することが可能となる

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 2】

請求項 10 に記載の方法において、

上記第 1 のインタラクティブ選択項目リストは、上記第 1 の検出ステップによる少なくとも重力及び画像データ並びに／又はデータの形状中央の座標を含む

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 3】

請求項 11 に記載の方法において、

上記第 2 のインタラクティブ選択項目リストは、少なくとも上記第 1 の選択項目リスト及び第 2 の検出ステップ並びに／又は上記比較データからのデータを含む

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 4】

請求項 10～13 のいずれか 1 つに記載の方法において、

上記細胞及び／又は細胞コロニーの選択が、論理フィルタによってなされる

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 5】

請求項 1～14 のいずれか 1 つに記載の方法において、

先端部を取り出し、該先端部に酵素又は溶媒を装填し、

クローニング・ドームを取り出し、該クローニング・ドームによって、細胞及び／又は細胞コロニーを囲み、

上記クローニング・ドームの内部に酵素又は溶媒を上記先端部から分配し、

上記クローニング・ドームをすすぎ、細胞及び／又は細胞コロニーを分離し、

上記細胞及び／又は細胞コロニーを吸引する各プロセスにより、

付着した細胞培養の細胞及び／又は細胞コロニーを取り出す

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 6】

請求項 1～14 のいずれか 1 つに記載の方法において、

細胞及び／又は細胞コロニーをカニューレの先端部で囲み、

x y 平面及び／又は囲まれた細胞をこすり取るための x y テーブル及び／又は細胞培養の相対運動のカニューレ先端部の相対運動を実行し、

こすられて外れた細胞及び／又は細胞コロニーをカニューレに取り出す各プロセスにより、

強く付着した細胞培養の細胞及び／又は細胞コロニーを取り出す

ことを特徴とする方法。

【請求項 1 7】

請求項 15 に記載の方法において、

上記カニューレ先端部及び／又はx yテーブルの相対運動が、該カニューレ先端部の吸引及び／又はすぎと結合されることを特徴とする方法。

【請求項18】

請求項1～14のいずれか1つに記載の方法において、
先端部を取り出し、
細胞及び／又は細胞コロニーの上に上記先端部を位置決めし、該細胞及び／又は細胞コロニーを囲み、

上記先端部に細胞及び／又は細胞コロニーの近くで該細胞及び／又は細胞コロニー及び栄養を含む基板を吸い込む各プロセスにより、

10

上記細胞及び／又は細胞コロニーを半固体栄養を含む基板、特に特定の寒天又はメチルセルロースから拾い上げる

ことを特徴とする方法。

【請求項19】

請求項1～14のいずれか1つに記載の方法において、
細管に調整された量の流体、特に空気又は液体を装填し、
上記個々の細胞及び／又は個々のコロニーよりも上に開いている細管を位置し、
上記細管に上記個々の細胞及び／又は個々のコロニーの近くで媒体を吸い込み、
上記個々の細胞及び／又は個々の細胞コロニーを上記細管に運び込む各プロセスにより

20

、
位置的に固定された個々の細胞及び／又は個々のコロニーの選択が行われることを特徴とする方法。

【請求項20】

請求項19に記載の方法において、
上記細管に調整された量の流体を装填することが、画像処理ユニットの画像データ評価に関連して上記細管の画像取得と同時に行われることを特徴とする方法。

【請求項21】

請求項15～20のいずれか1つに記載の方法において、
サイズが使用可能な上記先端部、カニューレ又は細管の直径を上回る細胞コロニーが、
分けて連続的に集められることを特徴とする方法。

30

【請求項22】

請求項15～20のいずれか1つに記載の方法において、
上記個々のパーツが上記先端部、カニューレ又は細管を用いて、上記細胞コロニーから外へ分解されることを特徴とする方法。

【請求項23】

請求項15～20のいずれか1つに記載の方法において、
個々の部位が固体の細胞グループから外へ分解されることを特徴とする方法。

40

【請求項24】

請求項1～23のいずれか1つに記載の方法において、
固定によって分類された上記細胞及び／又は細胞コロニーが堆積用容器に堆積し、
上記堆積した細胞及び／又は細胞コロニーの位置データが、検出されて処理されることを特徴とする方法。

【請求項25】

請求項16又は17に記載の方法において、
幹細胞を除去することを特徴とする方法。

50

【請求項 26】

請求項 1～24 のいずれか 1 つに記載の方法において、
生物学的及び／又は化学的な粒子を除去する
ことを特徴とする方法。

【請求項 27】

請求項 1～24 のいずれか 1 つに記載の方法において、
固体、特にビードを取り除く
ことを特徴とする方法。

【請求項 28】

請求項 1～27 のいずれか 1 つによる細胞培養から細胞及び／又は細胞コロニーを取り除く装置であって、

画像取得ユニット(2)と結合する細胞培養(8)の顕微鏡的な走査のための顕微鏡装置(1)と、

上記細胞培養(8)内の細胞及び／又は細胞コロニーの位置を検出するための画像評価ユニット(3)と、

上記細胞及び／又は細胞コロニーの検出位置を格納するための制御・記憶装置(4)と、
上記細胞及び／又は細胞コロニーの検出した位置において上記細胞及び／又は細胞コロニーを取り除くための除去ツール(10a)を有する採取モジュール(5)と、

内側コーン(31)及び／又は外側コーン(26)から形成され、除去ツール(10a)を保持するレセプタクル(32)を有するツールヘッド(10)とを備え、

上記除去ツール(10a)は、上記レセプタクル(32)に嵌合される内側コーン(27)及び／又は外側コーン(30)を有し、

上記除去ツール(10a)は、第1の除去ツール、第2の除去ツール、第3の除去ツール及び第4の除去ツールからなる群から選択され、

上記第1の除去ツールは、

溶解しているか酵素の液体が充填された先端部(12)と、

上記先端部(12)と結合されることができ、上記選択された細胞及び／又は細胞コロニーを覆い、上記先端部(12)に含まれる液体を装填され得るクローニング・ドーム(13)と、

上記先端部(12)及び上記クローニング・ドームの搭載及び吸引装置と、を備え、

上記第2の除去ツールは、

異径のカニューレ(15)を内部に有するマガジン(14)の形をしており、

上記マガジン(14)及び該マガジン(14)に統合された交換可能なヘッド(16)から上記カニューレ(15)を自動的に除去するための結合装置を備え、

上記第3の除去ツールは、

先端部位において横断面が大きくなる吸入先端部(17)を有する除去ツールを備え、

上記第4の除去ツールは、

カニューレ(18)と、

上記カニューレ(18)に含まれる流体の量をモニタするための画像撮影装置(19)と

、

上記カニューレ(18)の画像情報を処理するための画像処理装置と、

上記カニューレ(18)に細胞及び／又は細胞コロニーを吸い出すための吸引装置と、を備えていることを特徴とする装置。

【請求項 29】

請求項 28 に記載の装置において、

上記第2の除去ツールの上記カニューレ(15)又はその先端部は、異サイズ、形状及び／又は材料で形成されていることを特徴とする装置。

【請求項 30】

請求項 28 に記載の装置において、

上記レセプタクル(32)の内側コーン(31)及び／又は外側コーン(26)は、上

10

20

30

40

50

記除去ツール（10a）が保持されるステップ（28）からなることを特徴とする装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞及び／又は細胞コロニーの自動化した除去のための方法及び装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

本発明は細胞及び／又は細胞コロニーの自動化した除去のための方法及びその使用に関する。さらに、本発明は、その方法を実施する装置に関する。

10

【0003】

生物学的又は医学的な調査の枠組みの範囲内で、細胞培養の細胞及び／又は細胞コロニーの保護、ふるい分け及び選択の研究は、大部分の多様な基準に関して実施されなければならない。同時に、細胞及び／又は細胞コロニーは、特定して選択され、他のサンプル容器又は細胞培養に移動させなければならない。

【0004】

生物学的及び医学的な調査の連続的に発達する市場は、現在、主に手動による細胞培養選択及び保護から、特定の基準に関して細胞を選択して分離する、部分的に、そして、完全に自動化されたシステムの方へ変化していることで特徴付けられる。この領域の非常に異なる細胞タイプの結果として、非常にさまざまな特性を有するものから同じ習性のものが採取されて処理される細胞種に適合される特別な溶液が主に生成される。

20

【0005】

大学の領域やこの分野の商業的研究では、使用する細胞のラインが調査作業が変わることではしばしば変えられるので、特別な用途だけを有するこれらの高価な装置を購入することは、より小さい調査チームにとって経済的に興味をひかない。

【0006】

これまでの実用的な実施態様は、媒体から粒子を除去するためのさまざまな市販のプラスチック先端部を取り出し、粒子を粘性媒体から拾い上げるための大開口を有する特別なプラスチック先端部を取り出し、より小さいか、付着していないか、かろうじて付着した粒子を分離するためのアダプタに嵌入されるガラス細管をこするか又は巻き取ることによって、異サイズの強く付着した粒子を取り出すことにより実行される。

30

【0007】

このワークの自動化の比較的普遍的に有用な装置は、強く付着した細胞及びコロニーの分離及び培養組織の保護に利用できない。重大な課題は、サンプル容器に対する細胞の強い付着である。例えば、特許文献1の方法のように、サンプル容器から細胞膜の接合を自由にするための酵素を用いた目標クローニングが知られている。これは、あまりに長い所望の効果発生までの酵素の作用の時間や、細胞死及び酵素を用いて引き起こされる細胞膜への損害によって始められる生命力の激しい減少により失敗する。このように、この種の細胞を目標とするより抜きの自動化は、周知の方法で可能でない。これらの課題は、幹細胞調査で特に起こる。

40

【0008】

実用的な実施態様は、異径を有するステンレス網でできたカニューレをこすること、円錐アダプタに接着されたガラス又は金属のカニューレをこすること、又はより小さい直径のセラミックでできたカニューレをこすることで実行される。

【0009】

汚損からサンプルを保護するための無菌性に対する主に高い要求事項のため、使用するカニューレは、通常各分離サイクルの後、交換しなければならない。高い処理量で、これが結果的にしばしば起こって、手動で行うのは合理的でない。

【0010】

50

半自動式の処理、特に細胞クローン及び個々の細胞の分離、隔離及び処置の処理で、多くの機械装置及びロボット・システムがすでに知られている。

【0011】

例えば、特許文献2は、細胞クローン及び個々の細胞を分離して扱うロボット・システムのための駆動装置を開示する。駆動装置は、2つの異なる軸方位において移動でき、サンプルへの分離ツールを動かすのに役立つモーター駆動スリットを備えている。

【0012】

特許文献3は、自動隔離のためのツールヘッド及び細胞クローンの処置を開示する。このツールヘッドは、次々にクローニング・ドームを受け容れるピペットを受けるのに役立つ。ピペット先端部材及びクローニング・ドーム間の所定の力閉鎖は、重ね板ばねの千鳥状配列により可能である。

10

【0013】

特許文献1は、除去の間、細胞及び／又は細胞コロニーを囲むクローニング・ドームを開示する。そして、このクローニング・ドームで、細胞及び／又は細胞コロニーが容器から自由にされることによってすすぎプロセスが行われる。すすぎことによって、解放される細胞及び／又は細胞コロニーは、クローニング・ドームによって吸い出される。

【0014】

例えば、特許文献4において、動物の細胞コロニーを選ぶ自動化した方法が開示されている。細胞培養は光学装置で走査され、細胞培養の画像データができる。これらの画像データは、画像処理ユニットへ移される。画像処理ユニットにおいて、形状認識が画像データを使用してなされる。同時に、細胞及び／又は細胞コロニーの位置データが検出される。このように決定される位置データは、位置データベースに格納される。それから、位置データは、位置データベースから採取装置へ移される。採取装置は、前もって決定された位置データに従ってキャリアに固定された細胞培養の空間位置へ移動する。細胞及び／又は細胞コロニーは、それから細胞培養の空間位置で、採取装置によって取り出される。ピックアップヘッドの中空針は、細胞培養から吸引によって細胞コロニーを取り出す。採取装置は、取り出した細胞及び／又は細胞コロニーを目的地に移送して、そこで細胞及び／又は細胞コロニーを堆積させる。

20

【0015】

特許文献5は、動物の細胞コロニーを選択する方法を記載し、この方法では、細胞コロニーは、細胞コロニーの明るさが探し求めるタンパク質の内容に対応することから分類されたタンパク質と接触するように持ってこられる。それから細胞コロニーが明るさにより選択される。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0016】

【特許文献1】 独国特許出願公開第197 42 163号明細書

【特許文献2】 独国特許出願公開第10 2004 027 661号明細書

【特許文献3】 独国特許出願公開第10 2004 046 740号明細書

【特許文献4】 欧州特許出願公開第1 502 649号明細書

40

【特許文献5】 欧州特許出願公開第1 754 537号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

しかしながら、周知の方法においては、細胞コロニー又は特定の特性を有する細胞コロニーの位置だけが検出される。

【0018】

従って、特別な特性を有する細胞及び／又は細胞コロニーを、検出される細胞及び／又は細胞コロニーから選択することが目的である。

【課題を解決するための手段】

50

【0019】

上記目的は、請求項1の特徴を有する細胞培養から細胞及び／又は細胞コロニーを自動的に除去する方法と、請求項27の特徴を有する細胞及び／又は細胞コロニーの除去のための装置により達成される。従属クレームは、上記方法又は装置の好都合であるか有利な実施例及び特徴を含む。

【0020】

本発明による方法に以下が含まれている。

【0021】

細胞及び／又は細胞コロニーを細胞培養から自動的に除去するものであり、物質的及び／又は物理的なパラメータに関連付けて細胞及び／又は細胞コロニーを選択し、位置データを検出し、選択された細胞及び／又は細胞コロニーの検出位置データを位置データベースに格納する第1の検出を実行する。

10

【0022】

その後で、細胞及び／又は細胞コロニーの少なくとも1つのさらなるパラメータの検出のための第2のステップが実施され、比較データが第2の検出ステップのデータ及び第1の検出ステップのデータからつくられる。そして、細胞及び／又は細胞コロニーのデータは比較データを参照することで選択される。そして、位置データは位置データベースから採取装置へ移される。

【0023】

第1の検出ステップを実行するために、画像処理の間、物質的及び／又は物理的なパラメータ、特に表面域、サイズ及び／又は外形及び／又はスペクトル・パラメータ（特に、明るさ及び／又は蛍光強度）が検出される。この種のパラメータが、採される細胞及び／又は細胞コロニーの識別のための基準として使われることができ、また、単に相対的に検出画像情報の画像点から推論され得る。

20

【0024】

第2の検出ステップは、さらなるパラメータに関してすでに確認された細胞及び／又は細胞コロニーを調査するために、走査及び形状認識の後、細胞及び／又は細胞コロニーのさらなる調査のために導入される。この分析の間、もはや全ての散在するプレートを走査せず、形状認識で興味深い材料が見つかった領域だけが走査される。これは、実行時間と、また、蛍光分析の場合の細胞及び／又は細胞コロニーを蛍光で照らす時間（それはサンプルの中で白くなるのを妨げるためにできるだけ短くなければならない）を最適化する。

30

【0025】

従って、本発明についての基本的な考えは、自動化した多段階プロセスよりなり、細胞培養内で複数の特定の特性を有する細胞及び／又は細胞コロニーを位置付けすることと、所望の特性に従ってこれらを選択して、それらを採集して、さらにそれら进行处理することよりなる。

【0026】

好都合な実施形態において、x y テーブルが細胞培養の容器の支持物として設けられる。この場合、細胞培養を走査すること及び採取装置の接近は、x y テーブルの動きにより実行される。従って、この手順において、x y テーブルは、個々の座標点による画像取得ユニットの下で画像取得ユニットに沿って段階的に細胞培養を導き、そこにおいて、一連の画像は、記録されて処理される。x y テーブルが採取装置に関して細胞培養を移動させるように、確認された位置は、採取装置が対応する座標位置よりも上に位置付けされ、採取装置によって対応する方法で接近される。その結果、高価な画像取得用の変位・調節機構及び採取装置が省かれ、1つの調整装置だけが両方のプロセスセクションで必要とされる。

40

【0027】

好ましくは、細胞培養の部分的な画像は、走査の間記録される。そして、この部分的な画像に関して第1及び／又は第2の検出ステップが実行される。これは、検出の間、必要な画像記憶装置及び画質に関する主要な効果の構成要素となる。加えて、画像認識は、ソ

50

フトウェア側の不変の画像データ上に、したがって物理的に最高の解像度及び画像忠実度でなされ得る。後述する合成映像を分析するときに、より近くにズームインすることは、通常、フレームの範囲内で画像データの量を保つために使用されるが、設定された倍率で完全な解像度で働くことが可能である。

【0028】

これにかえて、細胞培養を覆う部分的な画像の全部は、走査プロセスステップの間、適切に記録される。この場合、部分的な画像の画像データは、細胞培養の輪郭画像の画像データを形成するために、画像処理ユニットに組み込まれる。顕微鏡的な画像化の条件の下では、1つの細胞培養の断面しか検出できないが、細胞培養における細胞又は細胞コロニーの絶対位置がその次の除去で知られていなければならないので、この種の手順は好都合である。これらの条件下では、細胞培養の輪郭画像は、必然的に部分的な画像のモザイクからなる。

10

【0029】

位置データの検出の間、確認された形の形状重心の決定がなされる。この場合、形状重心の座標は、位置データベースの確認された形のための位置データとして格納される。検出形状又は輪郭のために、この好都合な手順は、比較的少ないデータ量の位置を定める。この場合、1つの形状に関連する画像点は、決定された細胞又は細胞コロニーの位置を特定する参照画像点を形成するために結合される。

【0030】

形状認識及び位置データの検出は、便宜上確認された形の間距離の測定を含む。上記方法のこの実施例のため、検出細胞又は細胞コロニーがまだ検出グループに属するか又は個々に取り除かれなければならないかを検出することで、特定され得る。この場合、特に、決定された位置データの近くの細胞又は細胞コロニーが単一のアクセスによって取り除かれ得る範囲は、一定の採取ツールのために考慮され得る。より遠隔に位置する細胞又は細胞コロニーは、それから別に接近されなければならない。

20

【0031】

走査、形状認識及び／又は位置データの検出の間、画像データのリアルタイム表示は、モニタに便宜上なされる。この手段によって、全手順は、必要に応じてモニタされ、影響され得る。

【0032】

第2の検出ステップは、好ましくは、さまざまなパラメータが検出される任意に多くの個々のステップからなる。そして、個々のステップのパラメータが異なる曝露のタイプにより記録される。このように、第2の検出ステップで、多くの異なる蛍光チャネル及び励振波長が走査され、評価され得る。この場合、ソフトウェアは、単に画像データよりもデータ集約型でない粒子データを集めるだけである。

30

【0033】

本発明の有利な実施例において、細胞及び／又は細胞コロニーの選択は、第1のインタラクティブ選択項目リストによって、物質的及び／又は物理的なパラメータを参照することでなされる。細胞及び／又は細胞コロニーの選択は、第2のインタラクティブ選択項目リスト又はインタラクティブ散布図による比較データを参照することでなされる。散布図において、2つの異なる粒子値は、結果リストから互いに関して撮像される。細胞及び／又は細胞コロニーの自動化したより抜きは、インタラクティブ選択項目リスト又はインタラクティブ散布図により可能となる。

40

【0034】

第1のインタラクティブ選択項目リストは、好ましくは少なくとも重力の形状中央の座標及び画像データ及び／又は第1の検出ステップからのデータを含む。第2のインタラクティブ選択項目リストは、少なくとも第1の選択項目リスト及び第2の検出ステップからのデータ及び／又は比較データを含む。選択項目リストを用いて、手動で位置データベースを見て、自動的に発見した細胞又は細胞コロニーを調べて選択することが可能である。その結果、選択エラーを訂正できる。加えて、これらのデータの記憶は、画像データの記

50

憶と比べて複雑でない。

【0035】

好ましくは細胞及び／又は細胞コロニーの選択は論理フィルタによって行われる。このことにより、細胞及び／又は細胞コロニーは、個々の蛍光性又は明視野信号の有無によって、論理的に選別され得る。

【0036】

付着性のある細胞培養内の細胞及び／又は細胞コロニー、すなわち容器の底に付着したものを取り出すことは、以下の好都合なステップにより起こる。第1に、先端部が取り出され、酵素又は溶媒を装填される。それから、クローニング・ドームが取り出され、細胞及び／又は細胞コロニーがクローニング・ドームによって囲まれる。先端部に含まれる酵素又は溶媒は、それから先端部からクローニング・ドームの内部に分配される。クローニング・ドームは、すすがれ、このことにより細胞及び／又は細胞コロニーを解放する。そして、細胞及び／又は細胞コロニーが吸い出される。

10

【0037】

強く付着した細胞培養において、細胞及び／又は細胞コロニーの選出は、以下の好都合なステップにより起こる。

【0038】

第1に、細胞及び／又は細胞コロニーは、カニューレの先端部で囲まれる。それから、カニューレ先端部の相対運動はx y平面において実行され、細胞及び／又は細胞コロニーがこすり取られる。こすり取られた細胞及び／又は細胞コロニーは、それからカニューレを選び出される。この種の手順は、細胞又は細胞コロニーが強くその基部に付着し、溶媒又は酵素による解放が、細胞又は細胞コロニーの破壊又は損傷の危険度を激しく増やす場合に推奨される。

20

【0039】

代替実施形態では、カニューレ先端部及び／又はx yテーブルの相対運動は、カニューレ先端部の吸引及び／又はすすぎプロセスと結合される。幹細胞が取り出されることになっているときに、これは特に有利である。

【0040】

所望の決定された細胞及び／又はコロニー及び／又はコロニーの部分的な領域がカニューレ管によって囲まれて、ツールの相対運動及び／又はクロス・テーブル上のサンプル容器によってサンプル容器の底から自由にされて、カニューレに選ばれれば、対応する細胞及び／又はコロニーは、従来の方法に比べて実質的により短い時間において実質的により穏やかに切り離され得る。しばしば、細胞の型特定のためのこれらのプロセスの自動化は、この方法を用いて初めて可能となる。

30

【0041】

強く付着した細胞を分離するこの新型の技術の適用の主要領域は、動物やヒトの幹細胞の分野の研究である。固体の細胞グループ（細胞菌叢）の領域からの目標とされた解放は、この方法によって可能でもある。

【0042】

細胞コロニー（例えばすでに分化した幹細胞により包囲される未分化幹細胞）の部分的な領域の目標とされた分離は、このことにより自動化した方法で可能である。

40

【0043】

従来の発振方法と比較して、上述した削り取り方法は、振動することによるコロニー・グループからの個々の細胞の望ましくない制御不能な解放がほとんど起こらないという効果がある。集められるコロニーの構造は、主に保護されたままである。

【0044】

次のプロセスは、半固体栄養を含む基板（特に寒天又はメチルセルロース）から細胞及び／又は細胞コロニーの取り出しのために便宜上実施される。

【0045】

第1に、先端部が取り出される。それから先端部は細胞及び／又は細胞コロニー上に位

50

置決めされ、細胞及び／又は細胞コロニーが先端部によって囲まれる。次いで、細胞及び／又は細胞コロニーと、細胞及び／又は細胞コロニーの近くの栄養を含む基板とが先端部に吸い出される。

【0046】

位置的に一定の個々の細胞は、次のプロセスによって、便宜上選出される。

【0047】

第1のステップにおいて、細管は、流体（特に空気又は調整された量の液体）を装填される。毛管の開口部は、個々の細胞及び／又は個々のコロニーの上に位置決めされる。個々の細胞及び／又は個々のコロニーの近くの媒体は、細管に吸い込まれる。そこにおいて、個々の細胞及び／又は個々の細胞コロニーは、細管に取り出される。

10

【0048】

好都合な別の形態において、細管に調整された量の流体を装填することが、画像処理ユニットの画像データ評価に関連して細管の画像取得と付随して行われる。

【0049】

好ましくは、サイズが先端部、カニューレ又は細管の有用な直径を上回る細胞コロニーが、分けて連続的に集められる。このような方法で、比較的大きい細胞コロニーを集めることができる。

【0050】

あるいは、個々のパーツは、先端部、カニューレ又は細管を用いて、細胞コロニーから外へ分離される。このような方法で、特定の特性を有する細胞コロニーの領域は、他の領域から別に収集され得る。この種の方法は、分化する幹細胞により包囲される未分化幹細胞の採取に特に適している。

20

【0051】

さらなる別の実施例において、個々の領域は、固体の細胞グループから外へ切り離される。このような方法で、所望の特性を有する指定された領域は、望まれていない特性を有する領域から切り離され得る。

【0052】

好ましくは固定によって分類された細胞及び／又は細胞コロニーは、堆積容器に置かれ、堆積した細胞及び／又は細胞コロニーの位置データは検出されて処理される。このように、収集された細胞及び／又は細胞コロニーが、種類（密度、蛍光その他）により分類された堆積容器に置かれることが可能であり、それは下流側処理部のために貴重であり得る。加えて、各採取プロセスの後、画像処理ソフトウェアは、どの容器に、そして、この容器のどの位置にロボット・コントローラが細胞及び／又は細胞コロニーを堆積させたかという情報を受け、こうして全プロセスの完全な記録を確実にする。

30

【0053】

好ましくは上記方法は、幹細胞、生物学的及び／又は化学的な粒子、又は固体（特にビード）を取り除くために用いられる。

【0054】

細胞培養から細胞及び／又は細胞コロニーを取り除く装置は、細胞培養の顕微鏡的な走査のための顕微鏡装置と、細胞培養内の細胞及び／又は細胞コロニーの位置を検出するための画像取得ユニット及び画像評価ユニットと、細胞及び／又は細胞コロニーの検出位置を格納するための制御・記憶装置と、その細胞及び／又は細胞コロニーの検出位置で細胞及び／又は細胞コロニーを取り除く除去ツールを有する採取モジュールとの組み合わせによって特徴付けられる。

40

【0055】

本発明による装置の供給は、複数の完全に異なる細胞タイプが単一装置で処理され得る方法を示さなければならない。このために、モジュールの装置に異なるツール及びソフトウェア・シーケンスを備えることが可能である。

【0056】

これらの装置は、特許文献2のドライブ装置と、特許文献3のツールヘッドにおいて使

50

用される特有細胞除去ヘッドとを備え、広範囲にわたる個々の細胞及び細胞コロニーを切り離すための自動化した細胞採取のために使用するさまざまな方法を実装できる。

【0057】

これらの方法では、異サイズ、形状及び材料を有する細管が、通常、クローン又は粒子を解放し及び／又は取り出すために用いられる。

【0058】

主に、これらの異なる形のためのカニユーレで標準アダプタを実装することによって、広範囲にわたる適用のために同じツールを使用し、主に高い費用効果性、現像支出及び現像時間の急激な減少をもたらすことが可能である。

【0059】

装置の1つの実施形態において、除去ツールは、溶解又は酵素の液体が充填され得る先端部と、この先端部に結合されることができ、選択された細胞及び／又は細胞コロニーを覆い、先端部内に含まれる液体で充填され得るクローニング・ドームと、先端部及びクローニング・ドームの吸引装置とからなる。

【0060】

さらなる態様において、除去ツールは、内部に取り付けられる異径のカニユーレの配置を有するマガジン、そして、そのマガジンからのカニユーレの自動除去と、交換可能なヘッドとの統合のための結合装置との形で設けられる。

【0061】

好ましくはカニユーレは、異なるサイズ、形状及び／又は材料で形成される。集められる細胞及び／又は細胞コロニーの特性に適応することは、このことにより可能である。

【0062】

これらの、また他の方法は、今後、ツールヘッドに対するわずかな機械的な改良とシーケンスソフトウェアの適用とによって大きな技術開発支出なしで、有用なカニユーレの範囲が追加され、より広範囲なアプリケーションが開発されることで実行され得る。

【0063】

さらなる実施形態において、先端部位に増大する横断面を有する吸入先端部を有する除去ツールが設けられる。

【0064】

最後に、さらに好都合な実施形態の除去ツールは、カニユーレと、そのカニユーレに含まれる流体の量をモニタするための画像記録装置と、そのカニユーレの画像情報を処理するための画像処理装置と、そのカニユーレに細胞及び／又は細胞コロニーを吸い出すための吸引装置とを備えている。

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】図1は1つの例示的实施形態における方法を実装する装置を示す。

【図2】図2は、先端部及びクローニング・ドームからなる典型的な除去ツールを示す。

【図3】図3は多くのカニユーレ及びアダプタを有するツールヘッドを含んでいる典型的なカニユーレマガジンを示す。

【図4】図4が先端領域に拡大する横断面を有する典型的な吸入先端部の2つの実施形態を示す。

【図5】図5は測定のための画像記録装置を有する典型的な細管を示す。

【図6】図6は部分的な画像を記録して、輪郭画像を形成するために部分的な画像を結合することからなる第1のプロセスステップを示す。

【図7】図7は、細胞及び細胞コロニーの典型的な選択された一部分の画像図である。

【図8】図8は、選択された細胞及び細胞コロニーの模式的な形状認識図である。

【図9】図9は、細胞及び細胞コロニーの重力及び位置座標の中央を模式的に示す図である。

【図10】図10は、装置を使用している自動細胞採取の基本列の典型的な系統図を示す。

。

10

20

30

40

50

【図 1 1】図 1 1 は、ツールヘッドに取り付けられるレセプタクルを示す。

【図 1 2】図 1 2 は、レセプタクルの別の実施例を示す。

【発明を実施するための形態】

【0066】

ここで、上記方法及び装置が、例示的实施形態に関して以下に詳細に説明される。添付の図は、説明として役に立つ。同一参照番号が、同一又は同じ効果を有する部品又はプロセスステップのために使われる。

【0067】

図 1 は、細胞及び／又は細胞培養を取り除く装置の例示的实施形態を示す。装置は、多くの光学部品（特に、光線誘導及び顕微鏡的な画像化のための偏向プリズム 1 a 及びレンズシステム 1 b の組合せ）を有する顕微鏡装置 1 を備える。この顕微鏡装置 1 は、画像記録ユニット 2（通常 CCD カメラ又は CCD 配列）と結合される。画像評価ユニット 3 a は、画像記録ユニット 2 から読み出される画像情報を処理するために設けられる。画像処理ユニット 3 a は、パーソナル・コンピュータ 3 からなり、このパーソナル・コンピュータ 3 では、画像処理ソフトウェアが動作している。制御・記憶装置 4 をさらに備え、それはパーソナル・コンピュータ 3 において統合されると共に、その機能はさらなるソフトウェア構成要素により実行される。制御・記憶装置 4 には、モニタ又は表示 4 a が設けられている。

【0068】

装置は、さらに、変位機構に載置される採取モジュール 5 を含む。この変位機構は、昇降支柱 5 a と、変位ドライブ 5 b とを含む。昇降支柱 5 a 及び変位ドライブ 5 b が、より大きな変位距離のために設計され、採取モジュール 5 をサンプル容器に位置する細胞培養 8 の方へ持ってくることで、採取モジュール 5 の荒調整と、除去された細胞及び／又は細胞コロニーの対応する分離位置の方へ除去ツール 10 a を移動させることのために使われる。

【0069】

上述した顕微鏡装置 1 は、トランスミッション顕微鏡として構成される。このために、一連のスイッチで切り替え可能な照明フィルタ 7 を有する照明 6 が設けられている。この照明 6 は、サンプル容器に位置する細胞培養 8 を透照する。この細胞培養 8 は、x y テーブル 9 の形の支持物に固定される。この x y テーブル 9 によって、細胞培養 8 が、照明 6 と、その下に位置付けられた偏向プリズム 1 a とからなる光学装置の下、x 方向と y の方向の両方で数マイクロメートルの顕微鏡的な調整精度で移動可能となる。この場合、x y テーブル 9 の調節座標は、制御・記憶装置 4 に発信されるか又は制御・記憶装置 4 により調整される。

【0070】

顕微鏡装置 1 は、モーターを有する x y テーブル 9 を備える市販の顕微鏡架台からなる。任意選択として、この顕微鏡装置 1 は、市販の蛍光装置を備え得る。蛍光装置は、最高 3 つのフィルタ立方体（励起フィルタ、二色性ミラー及び発光フィルタからなる）を調節することができて、市販のガスバーナによって、又は、ガラス繊維により中で結合される外部照明 6 によって、照らされ得る。対応する蛍光装置の 3 つ又は 4 つのバンドのフィルタ立方体で同時に蛍光性を走査するために、照明 6 の前のモーターを備えられたフィルタホイールに発光フィルタを置くことができる。加えて、CCD 先端部を有する画像記録ユニット 2 は、サンプルの走査が可能な手段としての顕微鏡装置 1 の上に置かれる。市販の位相比対スライダを用いて、物理的に最適な位相コントラスト照明が可能である。

【0071】

市販の PC は、ネットワーク接続を介して基本的な装置に接続されている。市販の標準画像処理ソフトウェアが PC で実行され、これは、この画像処理ソフトウェアのために特別にプログラムされたロボット・コントローラ及び特別に開発されたモジュールと共に、装置の駆動と画像データの分析とを引き受ける。

【0072】

10

20

30

40

50

その後詳細に後述するように、x y テーブル 9 の動きに関連して、細胞培養の全ての領域が探査される。それによって、細胞培養の多くの顕微鏡的な個々の画像が、画像検出装置により記録される。

【0073】

x y テーブルの動きも、確認された細胞又は細胞コロニーの除去のための細胞培養の位置に位置決めするのに役立つ。このために、x y テーブルは確認された細胞及び細胞コロニーの前もって決定された位置に合わせられ、採取モジュール 5 が細胞又は細胞コロニーを取り除くことを可能にする間、採取モジュール 5 は細胞培養 8 の上方の変位機構によって位置決めされる。

【0074】

サンプル容器に位置する細胞培養 8 からの細胞又は細胞コロニーの除去は、除去ツール 10 a の細胞培養 8 への降下と、細胞又は細胞コロニーの選択と、それらの分離とを必要とする。このために、除去モジュール 5 は、降下又は吸入メカニズムを有するツールヘッド 10 を備える。除去ツール 10 a は、ツールヘッド 10 の端にある。取り出された細胞又は細胞コロニーは、分離バッテリー 11 に置かれる。これは、試験管の列又は昇降支柱及び変位ドライブによって個々に駆動され得る管からなり、その中に除去された細胞及び細胞コロニーがツールヘッドによって堆積され得る。

【0075】

加えて、分離バッテリーは、その後詳細に後述するように、所望の様にツールヘッド 10 上へ結合され得る除去ツール 10 a を準備するために、マガジンとしての部品で構成され得る。

【0076】

原則として、ここで記載されている機能は、だいたい制御・記憶装置 4 により制御され、実質的に完全に自動的に動く。しかしながら、モニタ又は表示上の機能のモニタリングのため、ユーザには、周知の入力手段（例えば、キーパッド、マウス、制御・記憶装置内部で動作しているソフトウェア構成要素の対応するユーザ・インタフェース）によって、大きく機能が影響され得る。

【0077】

このように、特に、重要要因の調整及び画像記録装置の解像能の変化は、顕微鏡装置の制御へのアクセスによって可能である。

【0078】

さらに、照明及び照明フィルタを制御することによって、スペクトル範囲を修正でき、又は、顕微鏡装置を蛍光又は暗い視野運転に切り替え得る。さらにまた、採取モジュール 5 に注力すること可能であり、それによって、顕微鏡装置で測定される個々の細胞又は細胞コロニーが、メニュー制御の方法で選択され得、分離バッテリー 11 の指定された場所に割り当てられ得る。加えて、採取モジュールの操作モードを選択でき、その操作モードでは、特定の方法で選択された細胞を取り除くために、選択された細胞又は細胞コロニーに応じて上記除去ツール 10 a は、ツールヘッド 10 の円錐レセプタクル 32 から取り外され得る。

【0079】

この時点から、各ケースにおいて選択された分離方法により、異なる除去ツール 10 a が動きだし、異なるカニューレ 15, 18 及び／又は細管と異なるシーケンスとを用いて、粒子を分離することができ、それらに対応する目標容器に移動させることができる。これらの方法は、以下に詳述する。

【0080】

除去ツール 10 a は、ドライブ装置の上端部に位置付けられ、アプリケーションに従って自由に交換され得る。5 つの異なる除去ツール 10 a が、「酵素による付着細胞コロニーの採取」「酵素なしでこすることによる付着細胞コロニーの採取」「寒天からの採取」「メチルセルロースからの採取」及び「位置的に一定の個々の細胞からの採取」というアプリケーションのために使うことができる。これらの全ての除去ツール 10 a は、除去ツ

10

20

30

40

50

ール10aが定位置に置かれたときに、PCソフトウェアが自動的に正しいアプリケーションを実行して供給レセプタクルに正しい消耗品を持ってくるように、特定アプリケーション向けソフトウェア部品が除去ツール10aに直接取り付けられるという共通点がある。ツールヘッドとしてのいくつかの除去ツール10aに使用する構造については、特許文献3が参照される。上述した個々のアプリケーションについては、以下に記載されている。

【0081】

全てのアプリケーションは、走査及び分析方法が同様に起こるという点で共通している。プロセスは、アプリケーションに従って、ゆえに粒子の採取又は選択の間に使用される除去ツール10aに従って異なるだけである。

10

【0082】

－酵素による付着細胞コロニーの採取－

この方法は、サンプル容器の底に付着する細胞コロニーの完全もしくは部分的分離のために用いられる。（この種の細胞については、細胞及びそれらの増殖の残存のために、粘着力が必要である。）

ユーザが関心を持つ目的物の走査及び検出のプロセスは、さらに後述され、これらは、採取のために位置決めされる。特許文献3に従うツールヘッドが、採取のために用意され、最初にプラスチックでできている市販の先端部12を取り出し、その後、特許文献1によるクローニング・カップ13を取り出すためにそれぞれの細胞種のために最適化された酵素又は溶媒（できる限り温度により制御される）をこの先端部12に装填する。切り離されたコロニーは、このクローニング・カップ13で囲まれ、そして、クローニング・カップ13の内部に、したがって関係する目的物上へ、酵素又は溶媒を先端部12から分配し、すすぎのサイクルと動作時間に一致させ、最後にクローニング・カップ13の内容物を先端部12に取り出すことによって、所望のコロニーが、サンプル容器から切り離され、それから他のサンプル容器に移動され、さらに処理されて、そこで調査され得る。

20

【0083】

図2は、このための第1の除去ツール10aを示す。液体、特に溶媒又は酵素を装填され得る先端部12は、クローニング・カップ13と結合される。ここで示される先端部12には、ピペット又はクローニング・カップ12の受けコーン13aに嵌入されて明らかにそこで係合する端円錐12aを有するカニューレの形の管構造が設けられている。先端部12は、便宜上最初に液体を装填され、細胞培養8の外側でクローニング・カップ13を受け容れる。先端部12と、このように形成されたクローニング・カップ13との結合物は、細胞培養8内の選択された細胞又は細胞コロニーの上に位置付けられる。液体は、それから先端部12内でクローニング・カップ13に分配される。このことにより分離された細胞は、それからクローニング・カップ13から先端部12に吸い込まれる。この種の除去ツール10aは、特に、付着細胞及び細胞コロニー（すなわち、容器の底に付着している）に適している。クローニング・カップ13は、このことにより、その半径により明記される細胞培養8の領域を覆う。クローニング・カップ13の半径は、この場合細胞集団の密度に応じて選択されなければならない。クローニング・カップ13の特定の効果は、上述したxyテーブル9により実行される除去ツール10aと細胞培養8との間の相対的な位置指示が比較的限られた精度により行われ得るということである。

30

40

【0084】

経験により細胞構造の損傷が酵素又は溶媒の作用の下で発生することが分かっているの、細胞の機械的な分離は、付着した細胞及び細胞コロニーの除去のために使われ得る。このために、選択された細胞又は細胞コロニーは、カニューレ15の先端部によって囲まれ、カニューレ15及び容器の相対運動の結果としてこすられて基部から自由にされる。アプリケーション又は付着強さに応じてカニューレ15は、さまざまな材料、例えばガラス、プラスチック又は金属よりなり、異なる内径を有する。そこにおいて、異なる構造の複数のカニューレ15は、1つのマガジンにおいて、準備を整えている状態に保たれ得る。

50

【0085】

無菌性及び処理能力の要求事項によれば、カニユーレ15は、手動で又は自動的に交換され得る。カニユーレマガジン14は、自動的にカニユーレ15を交換するために用いられる。図3は、多くのカニユーレ15が配置されたカニユーレマガジン14を示す。この装置は、図1に示された特にこのために用意された分離マガジン11の部分として構成され得る。

【0086】

このために設けられる交換可能なヘッド16は、カニユーレ15をカニユーレマガジン14から掴んで取り出すためのアダプタ16aを有する。交換可能なヘッド16は、カニユーレ15の上を移動して降下させられる。交換可能なヘッド16は、カニユーレ15を掴んでこのカニユーレ15を細胞培養の上に移動させる。そこで、選択された細胞又は細胞コロニーの位置に対するx yテーブル9の変位が行われる。カニユーレ15は、降下させられて細胞を囲む。次いでx yテーブル9が遅い振動運動を実行し、それによってカニユーレ15において負圧が発生し、細胞を吸い込む。

10

【0087】

—機械的動作による強く付着した細胞コロニー（幹細胞、培養水路細胞上の細胞など）の採取—

この方法は、強く、サンプル容器（この種の細胞において、粘着力は細胞及びそれらの繁殖の残存のために必要である）の底に付着する細胞コロニーの完全もしくは部分的分離のために用いられる。

20

【0088】

特許文献3に従うツールヘッド10は、前に説明された除去ツール10aとしてカニユーレ15を用いるツールヘッド10と異なる。アプリケーションに応じて、カニユーレ15は、異なる材質（プラスチック、ガラス、金属）からなることができ、採取されるコロニーのサイズに応じて、異なる内外径を有することができる。無菌性及び処理量の要求事項に応じて、カニユーレ15は手動で（通常、採取プロセスの間の消毒ステップと結合される）又は、自動的に（特別なカニユーレ15が先端部17と類似のラックにおいて設けられる）交換され得る。

【0089】

走査のプロセスステップ及びユーザが関心を持つ目的物の検出後の、さらに後述されるこれらの目的物は、採取のために位置決めされる。切り離されるコロニーは、カニユーレ15（カニユーレの端が、サンプル容器の底にある）で囲まれる。強く付着したコロニーの分離は、おそらく、注入器の吸引及びすぎプロセスと組み合わせて手動で、カニユーレ15の相対運動（容器の底上の囲まれたコロニーを削ったことによる変位）によって、遂行される。

30

【0090】

相対運動は、x yテーブル9、除去ツール10a又はそれらの両方ともが移動することによって行われる。カニユーレ15内部の細胞を溶かす酵素を付加的に使用することができる。

【0091】

これは、コロニーの分離の後、カニユーレ15において始められ、他の容器へ転送される。次いで、カニユーレ15はアプリケーションに応じて消毒され、又は、新規なカニユーレ15が取り出される。次のコロニーは、それから集められ得る。

40

【0092】

分離の間に問題が発生した後、カニユーレ15を有するこのツールヘッド16が取り出され、さまざまな細胞タイプのための酵素によって付着細胞を収集する際の先端部12を有する上述したツールヘッド10の場合、このために時間が必要とされた。細胞の分離のための酵素が細胞膜を攻撃する。強く付着した細胞のために必要とされているように、酵素の高すぎる投与量又は長すぎる作用時間は、しばしば細胞の損害又は破壊に至る。しかしながら、装置の主なアプリケーションが、採取の後、さらに培養され繁殖されることに

50

なっている、生きている細胞の分離のために用いられる。このように、新規な自動化可能な方法は、これらの強く付着した細胞を分離することを可能とするために、これらの細胞タイプのためには必要であった。

【0093】

平坦な端を有する異なる径及び材料のカニューレ15並びに、巻き取り、分配し、貯蔵することを可能にする特許文献3による円錐アダプタを用いて、そして、特許文献3のカニューレ15を取り出すためのツールヘッド10と同様の自動シーケンスを有する対応する装置を用いて、強く付着した細胞タイプの採取をうまく行うことができる。

【0094】

カニューレ15の使用に加えて、個々の細胞及び／又はコロニーの穏やかな分離のための相対運動の使用は、さらなる本発明の特徴である。相対運動は、カニューレ15（除去ツールの移動）、サンプル（x yテーブル9の動き）又はそれら両方ともにより実行される。方向、移動及び速度は、それぞれの細胞種に従って決定される。

【0095】

カニューレ15の直径の選択は、切り離される細胞及び／又はコロニーのサイズに関して、実行される。アダプタ（特許文献3を参照）としての円錐レセプタクル32を用いて、これらの非常にさまざまなサイズ及び材料のカニューレが、同じツールで扱われ得る。特別な（主により小さい直径又は非金属材料の）カニューレ15は、対応する円錐アダプタに接着され得る。

【0096】

細胞を分離マガジン11に置き、さらに任意の消毒プロセスが行われた後に、カニューレ15は、カニューレマガジン14及び取り出された新規なカニューレ15に置かれ得る。

【0097】

上記方法を支持細胞に関して以下に記載する。支持細胞の選択を含む支持細胞のコロニーの採取は、こすりモジュールにより遂行される。コロニーは、こすりモジュールの金属細管によって完全に囲まれ、又は、コロニーの一部が金属細管によって類別される。このために、金属細管は、採取の間、培養プレートの底部に位置付けられる。コロニーを包囲している支持細胞又はコロニーの下に位置付けされる支持細胞は、こすり運動によって、分離されて取り出される。それらは、目標容器に置かれる。これは、通常、支持細胞は、もはや分かれず、しばらくして死滅することはないので、混乱しない。

【0098】

支持細胞を取り出すことのない支持細胞のコロニーの採取は、ガラス細管で遂行される。このために、コロニーの上部域が、目標コロニーよりも上に0～50マイクロメートル離れたところでの吸引により採集される。コロニーは立体物であるので、吸引力はプレートの底部から間隔を置いて対向して配置されるコロニーの上部域に、そしてエッジゾーン又はコロニーの外側の領域以外に作用するだけである。選択される部分のサイズ及び深さは、このことにより細管の直径、コロニーからの距離、吸引の量及び吸引速度により特定され、各細胞種のために経験的に決定されなければならない。その結果、細胞だけ又はコロニーの一部だけが、周囲の又はその下で位置付けされる支持細胞なしで集められる。同じ位置で反復選択によって、コロニーのいくつかのクローンの（遺伝的に同一の）部分を集めることが、さらに可能である。このために、コロニーからの毛管先端部の距離は、常に同じ吸引力を発生するために、各回再調整されなければならない。

【0099】

一半固体栄養を含む基板（寒天、メチル細胞ロース）からのコロニーの採取—

この方法は、基部上に又は栄養を含む媒体内部で位置付けされる細胞コロニーの完全もしくは部分的除去のために用いられる。

【0100】

さらに後述される、ユーザが関心を持つ目的物の走査及び検出のプロセスステップに続き、これらは、採取のために位置決めされる。（以前よりも短くなった）市販のプラスチ

ック先端部と比較して、その選出量に関してその先端でより大きい内径により特徴を描写される特別なプラスチック先端部 17 を取り出すことによって採取するために、特許文献 3 のツールヘッドが用意される。この先端部 17 は切り離されるコロニーの上に位置決めされ、又は、コロニーは上記先端部によって囲まれる。コロニーの近くの栄養を含む媒体又は特別な先端部 17 に含まれた内容物を吸い込むことによって、コロニーは、栄養を含む媒体でいっぱいになされて取り出され、それから他のサンプル容器へ移され、さらに処理されて研究され得る。

【0101】

(寒天)

寒天から採取するときに、粒子が除去ツール 10 a の先端部 17 に付着するようにするには、寒天により包囲されるコロニーへの挿入でしばしば充分であり、次いで、これは、栄養を含む媒体が装填された目標容器においてすすぎ落とされる。このアプリケーションのための特殊ツールは、それから、粒子を吸い込むための n 注入器ドライブを必要とする。

10

【0102】

図 4 は、半固体栄養を含む基板、特に寒天又はメチルセルロースから細胞を除去するための広げられた内径を有する頂部を備えた 2 つの典型的な先端部 17 を示す。先端部 17 は、便宜上ガラス又はプラスチックからなる。それは、前に選択された細胞の上に位置決めされて、降下せられる。それによって、細胞又は細胞コロニーは、先端部の頂部に囲まれる。その中で含まれる細胞又は細胞コロニーと共に栄養を含む媒体は、それから拡張された先端部によって取り出されて、分離マガジンへ移され得る。

20

【0103】

ー位置的に一定の個々の細胞の採取ー

この方法は、サンプル容器の底部に置かれ、そこに主に位置的に固定して残るが、全く付着しない又は最小の付着しか示さない、個々の細胞又は小さい細胞コロニーを取り除くために用いられる。

【0104】

さらに後述される、ユーザが関心を持つ目的物の走査及び検出のプロセスステップに続き、これらは、採取のために位置決めされる。しかしながら、特許文献 3 のツールヘッド 10 は、本アプリケーションのプラスチック先端部ではなく、細管を取り出す。これは、細胞種及びアプリケーションの要件に応じて被接続注入器ドライブを介して空気又は流体を装填され、画像処理により調整され、このように採取プロセスのために準備される。

30

【0105】

細管開口部（細胞及びコロニーのサイズにより異なる外径）は、切り離される細胞又はコロニーの上に位置決めされる。個々の細胞又はコロニーの近くで栄養を含む媒体又は緩衝材を吸い出すことによって、所望の細胞又はコロニーは、媒体と共に取り出されて、それから他のサンプル容器へ移され、さらに処理されて調査され得る。

【0106】

図 5 は、位置的に一定の個々の細胞を取り除くためのカニューレ 18 を示す。この種のカニューレ 18 は、サンプル容器の底部に置かれて、位置的に固定されたようにそこに残るが粘着性のない、個々の細胞又は細胞コロニーを取り除くことに適している。カニューレ 18 は、空気又は流体を装填され、カニューレ 18 の流体レベル 18 a が画像取得システム 19 により記録されて調整される。細胞又は細胞コロニーの除去のために、カニューレ 18 の開口部は、細胞又は細胞コロニーの上に位置決めされる。細胞の上の栄養を含む媒体又は緩衝材の吸引によって、媒体と共にこれらは、カニューレ 18 の内部に入って、その後、転送され得る。この場合、カニューレ開口部の直径は、細胞の寸法に適合されなければならない。

40

【0107】

この方法及び他のさらなる方法は、特許文献 2 の装置及びその軸方向のシステムのベースプラットフォームを供給し、また完全な顕微鏡光学を使用することにより、実行され得

50

る。

【0108】

細胞検出及び画像処理の方法は、以下において、詳細に説明される。

【0109】

第1に、ユーザは、ターゲットプレート、消耗品及び液体に対応する供給レセプタクルを装填し、集められる細胞培養が位置付けされたスターティングプレートを有する顕微鏡十字テーブルを備える。これらのプレートは、自由に定められることができ、画像処理ソフトウェアで調整され得る。これらのプレートは、それから走査され得る。

【0110】

走査のために、テーブルは、光学的カメラシステムの画像断面に対応するパターンで移動する。完全なプレートの内容は、このように画像による走査画像となり得る。これらの個々の画像のうちの1つが走査された後、粒子検出は灰色の閾値（したがって、明るさの違い）に基づいてすぐ起こる。対応する数学的フィルタが、例えば、対照を最適化するか又はより良好な検出のための画像を準備しなさいという指令におけるこの検出の前に用いられ得る。この検出は、画像、すなわち走査の間に製作された画像による。この場合、端で重なり合う粒子は、自動的にソフトウェアにより確認されて、1つの粒子を形成するために結合される。この種の検出は、従って、端で重なり合う検出としても指定される。その結果、バイナリ形式で確認された粒子がどこに位置付けされているか、どこに位置付けされていないかを示す、いわゆる粒子マップだけが主に残る。このように、画像データは、単に検出結果の地図だけでなく、メモリにおいても費用をかけて保持される必要はない。任意選択で、減少するサイズの輪郭画像がつくられて格納され得る。画像処理のためのすでに言及されたフィルタに加えて、さらなるフィルタが、検出の後、用いられ得る。このように、確認された粒子は、評価されることができて、それらの形態的（形状、サイズその他）で質的なパラメータ（密度、明るさの差その他）に関して選別され得る。この手順は、できる限り品質を減らした輪郭画像ではなく、粒子の分析が100%の解像度により記録される個々の画像を参照することでなされるという効果がある。

【0111】

全ての残留する粒子は、粒子リストに出力されて個々に接近されることができて、ユーザによって、評価されて再処理される。図6は、図式的に左側の部分的な画像の細胞培養8を示す。x y テーブル9の動きによって、細胞培養は、一連の個々の顕微鏡画像20により走査される。個々の画像のサイズは、顕微鏡装置1でセットされる拡大要因に依存する。拡大因数が小さくなればなるほど、細胞培養8の断面は個々の画像20によってより大きく覆われ、細胞培養8の完全記録のために必要な個々の画像20の数がより少なくなり、そして、顕微鏡装置の下で次に続く画像断面を持ってくるためのx y テーブル9により実行されるステップ運動がより大きくなる。したがって、x y テーブル9のステップ運動を顕微鏡装置1の拡大要因と適合させることが必要である。この調査は、制御・記憶装置4により遂行される。この場合、記録された個々の画像20の各々は、その中で、そして、x y テーブル9の位置決めによるy座標で独自に定義可能である。同時に、その中で含まれる画像点の個々の画像20内部で与えられる座標は、単に個々の画像の座標に結合され得る。その結果、個々の画像の各画像点は、走査された細胞培養8内での位置を独自に特定する。

【0112】

細胞培養8の記録された個々の画像20を参照することで、さらに後述する第1の及び／又は第2の検出ステップは、指定されたパラメータに従って細胞及び／又は細胞コロニーを選択するために実行され得る。

【0113】

これにかえて、このように記録される個々の画像20は、全ての細胞培養8の輪郭画像21を形成するために、画像評価ユニット3aにおいて結合される。それぞれの個々の画像20の端で記録された構造が完全な目的物を形成するために完了されるので、この組み合わせは一方では適当である。他方では、輪郭画像21は、走査された細胞培養8の無段

10

20

30

40

50

で連続的に実行可能な輪郭をユーザに与える。輪郭画像 2 1 は、画像処理ソフトウェアによってこのために処理されることができ、モニタ 4 a 上のさまざまな解像度ステージでユーザに表示され得る。輪郭画像 2 1 の生成に関連して、個々の画像 2 0 の座標及び個々の画像に隣接する範囲内の画像点の座標の調合は、同じ画像範囲のオーバーラップを除去するために行われる。

【0114】

細胞検出、すなわち個々の画像 2 0 の範囲内の細胞又は細胞コロニーの自動識別が、以下に説明される形状認識によって行われる。図 7 は、このために典型的な個々の画像 2 0（そこに含まれる細胞 2 2 及び細胞コロニー 2 3 と共に顕微鏡画像の輪郭画像 2 1 から撮られる）を示す。細胞の信頼性が高い形状認識の必要条件は、顕微鏡画像における細胞又は細胞コロニーとそれらの背景との間の十分に高いコントラストである。これは、顕微鏡検査におけるさまざまな方法により達成され得る。第 1 の可能性は、顕微鏡装置 1 の光学システムを、細胞があると予想される細胞培養 8 の画像平面上に焦点を合わせることにあ

10

【0115】

付着細胞の場合、これは、細胞培養のサンプル容器の底の表層である。半固体栄養を含む媒体（例えば寒天）の細胞は、通常寒天の表面にあって、そこで焦点を合わせられ得る。異なる画像平面の細胞培養内に位置できる細胞又は細胞コロニーの場合、微生物学的な目的物の蛍光ラベリングに関与している技術が用いられ得る。このために、対応する励振波長を有する光が照明システムを介して明るくされる間、確認されるべき細胞は、蛍光標識で印を付けられる。標識の蛍光波長領域における画像取得の間、細胞又は細胞コロニーは、暗い背景に対して十分なカラー対照を形成する、光束又は照明構造として区別される。

20

【0116】

図 8 は、画像処理のさらに模式的なステップを示す。左側の線図は、灰色のトーンに変わる個々の画像 2 0 を示す。細胞が十分に強く顕微鏡画像の背景から目立つときに、灰色のトーンへの転換は特に有利である。当然、画像の単一色値の強調又は 1 つの色値に対する画像の減少もなされ得る。同様に、検出される細胞の画像点の色値は、基準としてあらかじめ定義され得る。そこにおいて、個々の画像 2 0 内の個々の画像点は、この基準値と比較される。

30

【0117】

所定の基準値（すなわちカラー値、灰色のレベル他同程度の値）に対応する画像点は、形状、サイズ及び輪郭を分析可能な点集合を形成するために画像処理の間に結合される。細胞 2 2 は、例えば、コンパクトに画像の指定された領域を囲み、その端が滑らかに実質的に動作する比較的大きな閉形状 2 4 によって特徴付けられる。細胞コロニー 2 3 は、一方では画像領域において 1 組の個々のより小さい密接に隣接する構造 2 5 を形成する。両方の形状は、一般的に用いられる画像検出ルーチンの範囲内で容易に確認され得る。

【0118】

確認された形状を基礎として、さらなる画像処理ステップが実行され、そこで、形状の位置及び互いの距離が算出される。位置の決定は、細胞又は細胞コロニーの次の除去によって重要であり、距離の測定は、見つけた細胞又は細胞コロニーが単一の除去プロセスによって、又は、細胞培養の他の隣接細胞と共に取り除かれなければならないかどうか特定するために必要である。

40

【0119】

図 9 は、位置及び距離の測定のための実施例を示す。図 9 の線図は、図式的に図 8 に示される画像処理の結果を使用する。

【0120】

ここで示される実施例において、形状重心 S 1、S 2 又は S 3 は、確認された形状（すなわち細胞又は細胞コロニー）に関連する、画像点の各 1 組のために算出される。それによってこの算出がなされるモード及びその算出のために選択される画像断面のサイズは、

50

ユーザによって、前もって特定され得る。その結果、一群の確認された細胞がどんなポイントで細胞コロニーか一群の個々の細胞として取り扱われるべきかは、特に定められ得る。ここで示される実施例において、それ自身の形状重心 S_1 又は S_2 は個々の形状 2 4 のための各ケースで算出される。そして、各々が x 座標 x_1 又は x_2 及び y 座標 y_1 又は y_2 を割り当てられる。密接に隣接する形状 2 5 のために、座標 x_3 及び y_3 を有する形状重心 S_3 が算出される。そして、それがこれらの構造の 1 組全てにあてはまって、このように、これらの形状の中間範囲にある。形状重心の算出及びそれらの座標の明確化と蓄積と共に、細胞又は細胞コロニーは、それらの位置において独自に確認される。座標は、位置データベース内の細胞及び細胞コロニーの画像データと共に格納されて、位置データベースを検索することによって、独自に位置付けされ得る。

10

【0121】

確認された形状の、したがって細胞又は細胞コロニーの距離を決定するために、決定された座標が使用される。そこにおいて、2つの任意の形状重心 S_i 及び S_j の間の距離 $|S_i S_j|$ 並びにそれらの座標 (x_i, y_i) 又は (x_j, y_j) は、ピタゴラス関係を使用して算出される。

【0122】

【数1】

$$|S_{ij}| = \sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}$$

20

【0123】

決定された細胞又は細胞コロニーが、前に指定された限界値の中で互いの近くに見つかる場合、この算出は画像処理の一部として自動的になされ得る。加えて、手動距離算出が、位置データベースを編集することの一部としてユーザによってなされることは、当然可能である。この場合、双方向グラフィック・ユーザガイダンス及び画像編集のための手段が、ソフトウェア側で用いられ、特に個々の細胞がマウスのクリックによってマークされ得る。そうすると、印のある細胞間の距離は、画像処理プログラムにより算出される。

【0124】

使用する標準画像処理ソフトウェアには、例えばグラフィック評価、レポート・ジェネレータなど検出画像及び結果のさらなる文書化の広範囲な可能性がある。従って、方法の連続的な文書化が可能である。

30

【0125】

第2の検出ステップにおいて、さらなるパラメータに関してすでに確認された粒子を調査することが可能である。この分析において、完全なスターティングプレートは、もはや走査されないが、興味深い細胞材料が第1の分析ステップで見つかった領域だけは操作される。これは実行時間を最適化し、そしてまた、蛍光分析の場合、蛍光を有するサンプルの照明時間は、サンプルの中で白くなるのを妨げるために、最低限に保たなければならない。第2の検出ステップは、任意数の個々のステップからなることができる。そして、それぞれは他のタイプの露光でいっぱいになっていることがあり得る。このように、この第2の検出において、多くの異なる蛍光チャネル及び励振波長が走査され、評価され得る。ソフトウェアはこの場合、粒子データを集めるだけであり、そして、それは画像データよりもデータ集約型でない。

40

【0126】

この第2の検出ステップ終了後、得られた全てのデータは、対応する最初の粒子のためのすでに利用できる粒子リストに挿入される。その結果、第1の分析からのデータが同じ粒子のための第2の分析のデータと比較され得るように、対応する重なり合う効果が得られる。このように、例えば、蛍光域（面積、第2の分析）を明視野粒子の領域（面積、第1の分析）で割った商により、抗体製造（小さい明視野のコロニーのための蛍光信号が明るければ明るいほどそして大きければ大きいほど、このコロニーはより多くの抗体を生産する）のための品質特徴が得られる。

50

【0127】

この粒子リストは、個々の蛍光又は明視野信号の存在又は欠如によって、論理的にさらに選別され得る。さらに、ユーザは、二次元の散布図によって粒子を選別し得る。この場合、結果テーブルからの2つの異なる粒子値が互いに関して撮像される。

【0128】

テーブルが完全に選別されるときに、このリストは、線精度によって自動的に又は個々にも集められ得る。AVISIO ロボット制御ソフトウェアは、画像処理ソフトウェアから信号に応答してプロセスを起動する実際の採取プロセスを実行する役割を果たす。この場合の画像処理ソフトウェアは、クロステーブルの位置決めを引き継ぎ、それぞれの場合に、以前この位置に調整された採取ツールが、細胞に遭遇してそれらを採集できるように、集められる次の目的物を正確にカメラの視野の中央に位置付けすることを保証する。

10

【0129】

2つのソフトウェア構成要素の間のコミュニケーションが双方向的に起こる。これは、採取プロセスを開始する前にロボット制御にマルチ・ウェルプレートを使用するときの、粒径又は位置指標のような情報を送っている画像処理ソフトウェアを含む。その結果、シーケンスの統制は、採取プロセスがそれぞれの採取候補のために柔軟に実行され得る位置に入れられる。ここでの典型的アプリケーションは、細胞の異なるサイズを考慮した、異なる形状、サイズ及び材料の自動的に変更可能なカニユーレ及び／又は細管が使用され、最適な採取結果が成し遂げられる。

20

【0130】

下流側処理部のために非常に貴重であり得る種類（密度、蛍光等）によって分類された分配容器に置かれた細胞を収集することも、可能である。これと独立して、各採取プロセスの後、画像処理ソフトウェアは、ロボット・コントローラが細胞を沈澱させた、どの容器上の及び容器のどの位置かという情報を得、このように確実に全プロセスの記録を完了する。

【0131】

サイズが有用なカニユーレの直径を上回る粒子は、部品において連続的に集められることが可能である。コロニーの部品（例えば、分化されたものにより包囲される未分化幹細胞）だけを外へ分解することも、可能である。

【0132】

いずれの場合においても集められるコロニー、部分的なコロニー又は個々の細胞は、顕微鏡の光軸上の顕微鏡クロステーブルによって位置決めされる。採取の前の粒子の画像が、記録されて格納される。同じことは、成功した採取の証拠として、採取の後、行われる。正確に容器内の粒子がさらなる調査のために上手に文書化されるように、両方の画像は、この粒子のための標的容器の対応する窪みに割り当てられる。

30

【0133】

次いで、細胞又は細胞コロニーの座標が、細胞を除去するために使われる。このために、記載したように採取モジュールは細胞培養8の上に移動する。それによって、x y テーブル9は、各座標に接近して対応する座標で除去ツール10aを有するツールヘッド10の採取モジュール5を降下させ、細胞除去装置を起動させる。

40

【0134】

図10は、装置を使用している自動化した細胞採取の基本列を示す。プロセスの初めにおいて、識別及び採取パラメータの定義が起こる。それから、これらのパラメータを参照することで、走査プロセスが、細胞及び／又は細胞コロニーの識別と同時に実行される。

【0135】

そこから決定されるデータは、発見された細胞及び／又は細胞コロニーと共に結果リストに格納される。発見された細胞及び／又は細胞コロニーは、この結果リストからさらに選別され得る。これは手動の再処理プロセス、すなわち、細胞及び／又は細胞コロニーの除去／追加／分別／結合によって、又は、付加的な分析機能を発見した細胞及び／又は細胞コロニーに適用することによって、遂行される。例えば、異なる蛍光性のための検査が

50

なされ得る。

【0136】

細胞及び／又は細胞コロニーがこのような方法で選択された後、自動採取を開始できる。このために、細胞及び／又は細胞コロニーがそのサイズのために現在の除去ツールで採取され得るかどうかが、そして、他の細胞及び／又は細胞コロニーが除去ツールの取り込み領域にあるかどうか、第1に分析されなければならない。採取が可能な場合、これはその後実施される。採取の結果は、画像の前の／後の文書を含む採取の結果リストに格納される。それから、上記の採取可能性の分析は、次の細胞及び／又は細胞コロニーのために新たに行われ、そして、可能ならば採取が続く。採取が可能でない場合、その理由は第1に決定され、そして、その結果は画像の前の／後の文書を含む採取の結果リストに格納される。ここで、再び次の細胞及び／又は細胞コロニーのために上述の分析が再び続き、そして、可能ならば採取が続く。

10

【0137】

最後の細胞及び／又は細胞コロニーを集めた後に、プロセスは自動的に終わる。

【0138】

図11は、ツールヘッド10に取り付けられるレセプタクル32を示す。レセプタクル32に段28で評価付けされる外側コーン26が設けられている。この外側コーン26は、この先端である除去ツール10aを受け容れ、レセプタクル32の外側コーン26の相当品を形成する内側コーン27を有する。レセプタクル32の外側コーン26及び除去ツール10aの内側コーン27をかみ合わせるために、完全でない着脱可能な接続が、レセプタクル32と除去ツール10aとの間に形成される。

20

【0139】

図12は、レセプタクル32の別の実施例を示す。ここでのレセプタクル32には、内側コーン31が設けられている。この内側コーン31は、この細管であって、以下（レセプタクル32の内側コーン31の対称物を形成する外側コーン30）を含む除去ツール10aを受け容れる。レセプタクル32の内側コーン31と、除去ツール10aの外側コーン30とをかみ合わせるため、完全でない着脱可能な接続が、レセプタクル32と除去ツール10aとの間に形成される。

【0140】

異なる円錐レセプタクル32を用いて、それらのサイズ及び設計において調合され、非常に多様でしばしば新しく開発された使用される消耗品のために、交換可能なカニューレの形で、主に同一のツール結合構造を保持できる。

30

【0141】

ツールによって受け容れられるときに、円錐レセプタクル32は、結果として高い精度によって、部分的に位置決めされる消耗品（カニューレ）の中で自動中心にある。円錐レセプタクル32及び同一の力分布の高安定性のため、例えばレセプタクル32内の交換可能なカニューレの位置決め精度の損失又はゆるみなしにこすることの間、交換可能な細管に対する比較的高い横向きの力の加圧が可能である。ツールヘッド上の円錐レセプタクル32の下で厚くすることを用いて、交換可能なカニューレは、次の交換可能なカニューレを受け取れることを許容するために、単純な除去装置（図示せず）によって、再びツールから取り除かれ得る。

40

【0142】

同時に、このカラーも感受性が高い消耗品（例えば小径のガラス細管）のマガジンが、自動プロセスでかなりの多数のカラーを供給するのを許容するのに役立つ。そして、通常、96のラックが、このために使われる。

【0143】

個々の細胞又は細胞コロニーの自動化した調査及び分離のための同じタイプのツール上の非常に多様なサイズ、形状及び材料の自動的に交換可能な細管及びカニューレの広範囲にわたり適応させるためのさまざまな円錐レセプタクル32を使用することが可能である。

50

【0144】

ガラス、金属又はセラミックの細管を用いることができる。

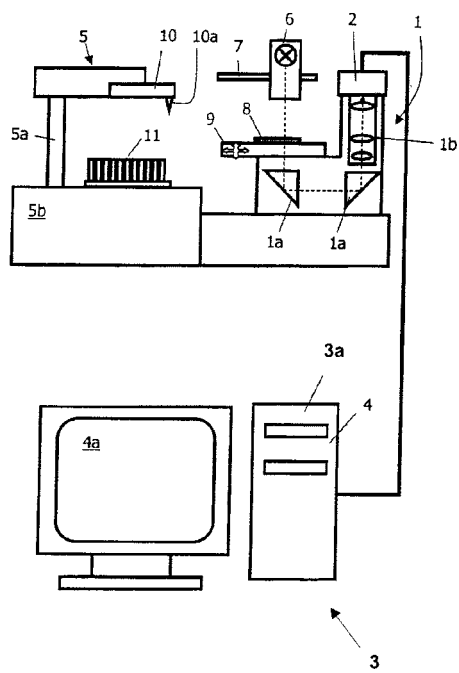
【符号の説明】

【0145】

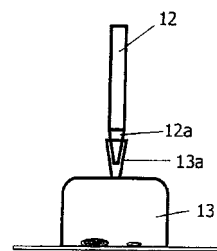
1	顕微鏡装置	
1 a	偏向プリズム	
1 b	レンズシステム	
2	画像記録ユニット	
3	PC (パーソナルコンピュータ)	
3 a	画像評価ユニット	10
4	制御・記憶装置	
4 a	モニタ、表示	
5	採取モジュール	
5 a	昇降支柱	
5 b	変位ドライブ	
6	照明	
7	照明フィルタ	
8	細胞培養	
9	x y テーブル	
10	ツールヘッド	20
10 a	除去ツール	
11	分離バッテリー	
12	先端部	
12 a	端円錐	
13	クローニング・カップ	
13 a	選択円錐	
14	カニューレマガジン	
15	カニューレ	
16	交換可能なヘッド	
16 a	アダプタ	30
17	先端部	
18	位置的に一定の個々の細胞のためのカニューレ	
18 a	流体レベル	
19	画像取得の調整	
20	個々の画像	
21	輪郭画像	
22	細胞	
23	細胞コロニー	
24	細胞形状	
25	細胞コロニー構造	40
S1	第1の形状重心	
S2	第2の形状重心	
S3	第3の形状重心	
x1	第1のx座標	
x2	第2のx座標	
x3	第3のx座標	
y1	第1のy座標	
y2	第2のy座標	
y3	第3のy座標	
26	外側コーン	50

- 2 7 内側コーン
- 2 8 段
- 3 0 外側コーン
- 3 1 内側コーン
- 3 2 レセプタクル

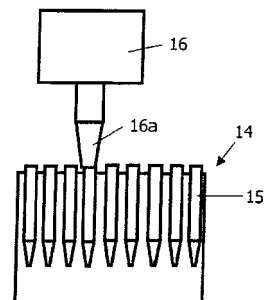
【図 1】



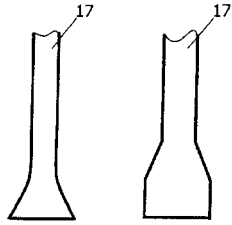
【図 2】



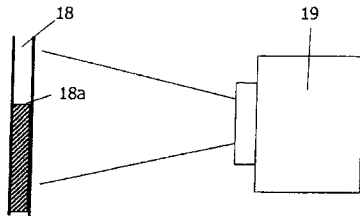
【図 3】



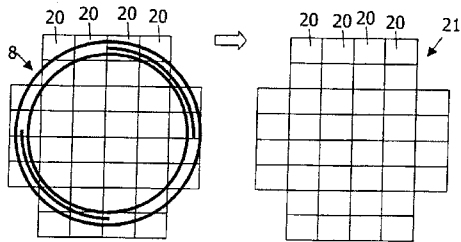
【図 4】



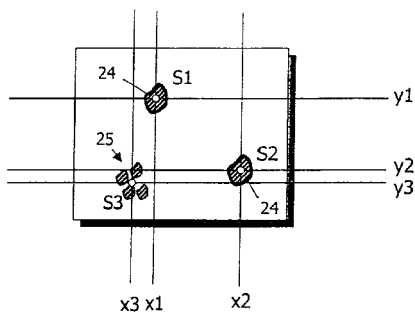
【図 5】



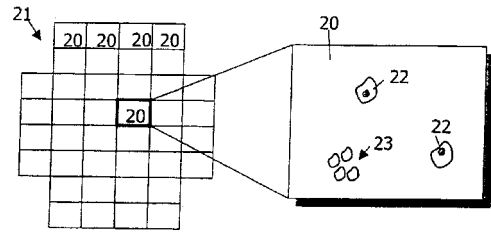
【図 6】



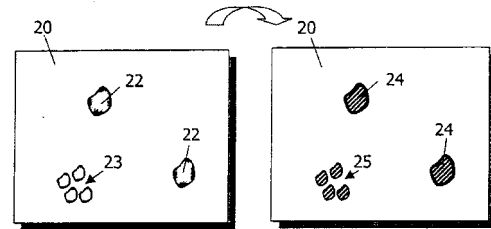
【図 9】



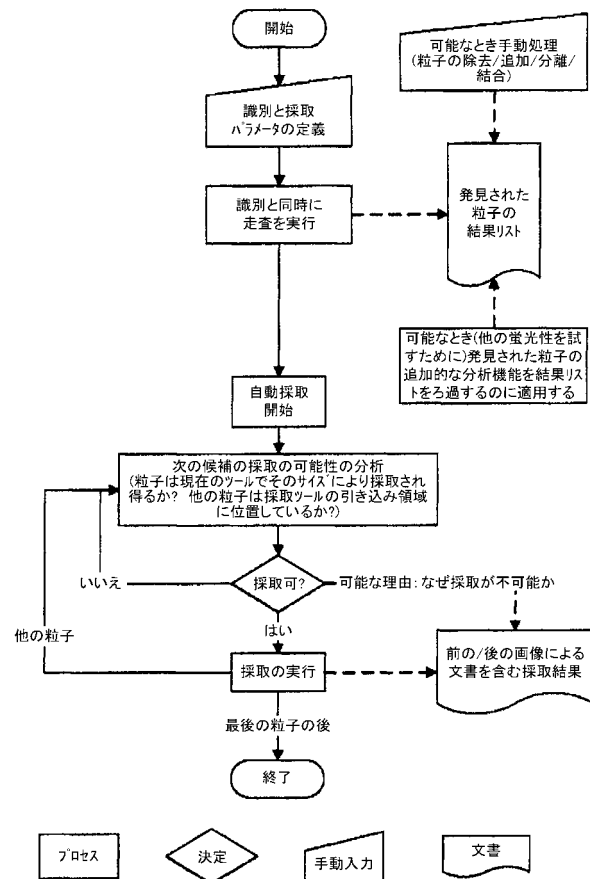
【図 7】



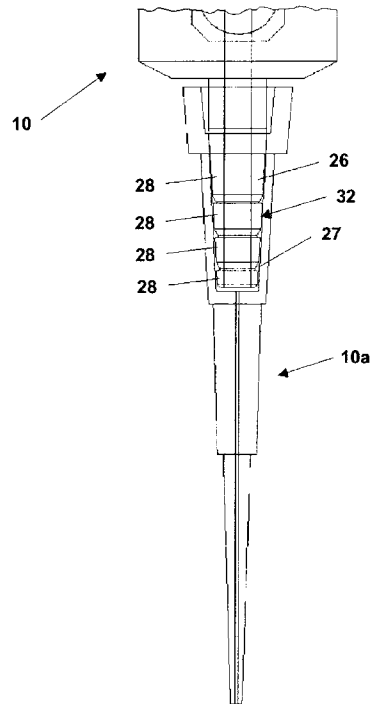
【図 8】



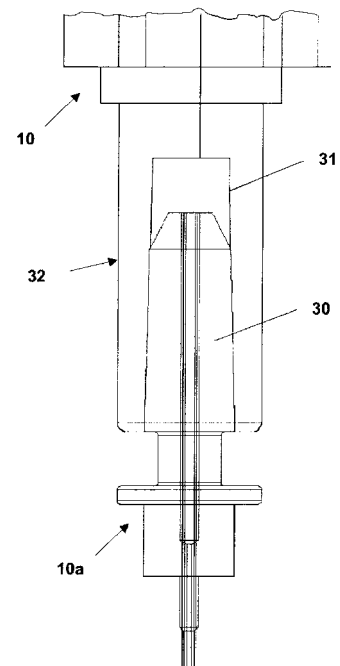
【図 10】



【図 1 1】



【図 1 2】



フロントページの続き

(72)発明者 マルコ マインハルト

ドイツ国 04626 シュメールン, マルクト 40

(72)発明者 ゲルト ボルンマン

ドイツ国 99427 ヴァイマル, リュッツェンドルファー シュトラーセ 30

審査官 名和 大輔

(56)参考文献 欧州特許出願公開第01502649 (EP, A1)

米国特許第06122396 (US, A)

国際公開第2000/013609 (WO, A1)

Cancer Genet.Cytogenet.,2002,138(1),p.64-8

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/02

C12M 1/00-1/42

WPI