



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114341341 A

(43) 申请公布日 2022.04.12

(21) 申请号 202080062103.4

(22) 申请日 2020.05.28

(30) 优先权数据

62/893,605 2019.08.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.02.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2020/021240 2020.05.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/038996 JA 2021.03.04

(71) 申请人 发那科株式会社

地址 日本山梨县

申请人 爱佩斯公司

(72) 发明人 伴一训 木下聪 田边刚士

平出亮二

(74) 专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司 11243

代理人 金成哲 郑毅

(51) Int.Cl.

G12M 3/00 (2006.01)

G12M 1/36 (2006.01)

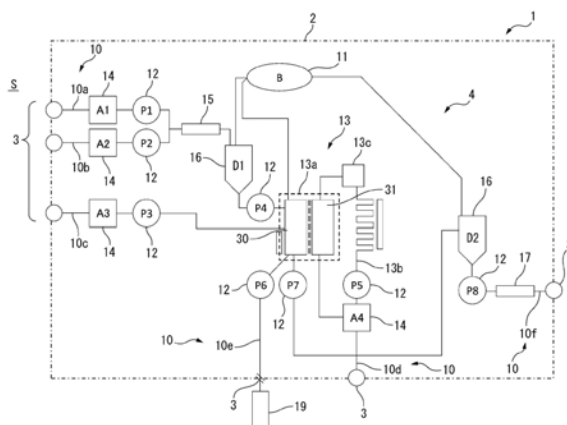
权利要求书2页 说明书9页 附图8页

(54) 发明名称

细胞制造装置及其制造方法

(57) 摘要

细胞制造装置具备：细胞制作板，其具备汇集了多个功能部位的流体回路；以及封闭式连接器，其将流体回路相对于外部空间封闭地连接，流体回路具备注入排出部、容积可变部以及细胞诱导培养部作为多个功能部位，上述注入排出部经由封闭式连接器将流体注入到流体回路内或排出到流体回路外；上述容积可变部贮存由注入或排出的流体挤出或引出的流体；上述细胞诱导培养部基于注入的流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。



1. 一种细胞制造装置,其特征在于,具备:
细胞制作板,其具备汇集了多个功能部位的流体回路;以及
封闭式连接器,其相对于外部空间封闭地连接上述流体回路,
上述流体回路具备注入排出部、容积可变部以及细胞诱导培养部作为上述多个功能部位,
上述注入排出部经由上述封闭式连接器将流体注入到上述流体回路内或排出到流体回路外,
上述容积可变部贮存由注入或排出的上述流体挤出或引出的流体,
上述细胞诱导培养部基于注入的上述流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。
2. 根据权利要求1所述的细胞制造,其特征在于,
上述容积可变部具备物理或化学容积可变材料。
3. 根据权利要求2所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述物理容积可变材料具备柔性袋或注射器。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体回路还具备移送部,该移送部在上述流体回路内移送所注入的上述流体。
5. 根据权利要求4所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体回路在上述移送部的前段或后段还具备流量测量部。
6. 根据权利要求5所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流量测量部具备流量传感器,该流量传感器与连通于上述移送部的流路及贮存槽中的至少一方相邻设置。
7. 根据权利要求5所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流量测量部具备图像识别传感器,该图像识别传感器将连通于上述移送部的流路及贮存槽中的至少一方中的流体的经时变化捕捉为图像。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述注入排出部具备注入排出通道,该注入排出通道能够将流体作为样本排出到上述流体回路外或注入到上述流体回路内,该流体包含实施了上述诱导及上述培养中的至少一方的细胞。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体回路还具备流体混合部,该流体混合部将相互不混合的多个流体混合。
10. 根据权利要求9所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体混合部使流路宽度及流路深度中的至少一方在与上述流体的行进方向不同的方向上变化。
11. 根据权利要求1至10中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体回路还具备细胞分离部,该细胞分离部分离细胞或细胞块。
12. 根据权利要求1至11中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述细胞制作板的至少一部分呈透明。
13. 根据权利要求1至12中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,
上述流体回路在上述细胞制作板的表面侧具备:在第一方向上延伸的第一流路;以及
在与上述第一方向不同的第二方向上延伸的第二流路,

上述第一流路具备迂回路,该迂回路朝向上述细胞制作板的背面侧延伸并绕过上述第二流路。

14. 根据权利要求13所述的细胞制造装置,其特征在于,

上述细胞制作板具备:平板;以及盖,其覆盖上述平板,

上述迂回路具备:多个贯通孔,其从上述平板的表面向背面贯通;以及连通路,其在上述平板的上述背面将上述贯通孔彼此连通。

15. 根据权利要求1至14中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,还具备:

底板,其能够装卸地连结于上述细胞制作板;以及

板密封部件,其安装于上述细胞制作板及上述底板的连结面。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的细胞制造装置,其特征在于,

具备底板,该底板能够装卸地连结于上述细胞制作板,

上述流体回路具备蠕动泵,该蠕动泵在上述流体回路内移送所注入的上述流体,

上述底板具备驱动上述蠕动泵的驱动部。

17. 根据权利要求16所述的细胞制造装置,其特征在于,

还具备图像识别传感器,该图像识别传感器将上述蠕动泵的旋转运动的状态捕捉为图像。

18. 一种细胞制造装置的制造方法,其特征在于,具备:

对平板进行成型的工序,该平板具备汇集了多个功能部位的流体回路;

以覆盖上述流体回路的方式将盖固定于上述平板而形成细胞制作板的工序;以及

将封闭式连接器安装于上述细胞制作板的工序,该封闭式连接器相对于外部空间封闭地连接上述流体回路,

上述流体回路具备注入排出部、容积可变部、移送部以及细胞诱导培养部中的至少一个作为上述多个功能部位,

上述注入排出部经由上述封闭式连接器将流体注入到上述流体回路内或排出到流体回路外,

上述容积可变部贮存由注入或排出的上述流体挤出或引出的流体,

上述移送部在上述流体回路内移送所注入的上述流体,

上述细胞诱导培养部基于移送的上述流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。

19. 根据权利要求18所述的细胞制造装置的制造方法,其特征在于,

对上述平板进行成型的工序包括:在上述平板的表面和背面中的至少一方形成槽或贮存槽作为上述流体回路的工序。

20. 一种细胞制造装置,其特征在于,具备:

细胞制作板,其具备汇集了多个功能部位的流体回路;以及

封闭式连接器,其相对于外部空间封闭地连接上述流体回路,

上述流体回路具备注入排出部以及细胞诱导培养部作为上述多个功能部位,

上述注入排出部经由上述封闭式连接器将流体注入到上述流体回路内或排出到流体回路外,

上述细胞诱导培养部基于注入的上述流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。

细胞制造装置及其制造方法

技术领域

[0001] 本发明涉及细胞制造装置及其制造方法,尤其涉及同时实现了细胞制造装置的制造的合理化和对自动化系统的适应性的细胞制造装置及其制造方法。

背景技术

[0002] 胚胎干细胞(ES细胞)是从人、小鼠的早期胚胎中建立的干细胞,具有能够分化为存在于生物体的所有细胞的多能性。人ES细胞被认为可以用于帕金森病、幼年型糖尿病和白血病等多种疾病的细胞移植法中。但是,ES细胞的移植与脏器移植同样,存在引起排斥反应的问题。另外,对于破坏人胚胎而建立的ES细胞的利用,从伦理观点出发,有很多反对意见。

[0003] 相对于此,京都大学的山中伸弥教授通过将四种基因即Oct3/4、Klf4、c-Myc以及Sox2导入体细胞,成功建立了诱导多能干细胞(iPS细胞),并获得了2012年诺贝尔生理学或医学奖(例如,参照专利文献1)。iPS细胞是没有排斥反应、伦理问题的理想的多能性细胞,期待用于细胞移植法。

[0004] iPS细胞这样的诱导干细胞通过向细胞导入基因等诱导因子而建立,并进行放大培养、冷冻保存。但是,例如在制作临床用iPS细胞(GLP、GMP等级)等时,需要保持得非常干净的无尘室,并花费高额的维持成本。为了产业化,如何使无尘室的运用方法高效化并努力削减成本成为课题。

[0005] 另外,iPS细胞的制作在很大程度上依赖于手工作业,但能够制作临床用iPS细胞的技术人员较少。存在从干细胞的建立到保存的一系列的作业复杂的问题。在临床用的细胞培养中,需要进行标准工序(SOP:Standard Of Process)的确认、按照SOP的操作、以及是否按照SOP实施的确认这三个步骤,人工进行这些步骤是非常非生产性的。细胞培养需要每天进行24小时管理,而干细胞的保存长达几十年,因此仅靠人才管理是有局限性的。

[0006] 因此,开发出了不需要高度清洁的无尘室,且能够在通常管理区域(例如在WHO-GMP标准中,微生物及微粒中的至少一方的等级为D级或其以上)进行作业的封闭系统的细胞制造装置(例如,参照专利文献2)。另外,为了将人才管理也排除而使复杂的细胞制造工序自动化,还开发了具备辅助细胞制造的机器人的细胞制造系统。作为与这种细胞制造装置相关的现有技术,公知有以下文献。

[0007] 专利文献3中公开了一种体细胞制造系统,其将导入前细胞送液通路、向导入前细胞导入体细胞诱导因子而制作诱导因子导入细胞的因子导入装置、以及培养诱导因子导入细胞而制作体细胞的细胞制作装置封装在一个框体内。

[0008] 专利文献4中公开了一种将培养容器和流路设为封闭系统的细胞培养容器,通过细胞培养容器将第二容器偏心地保持在第一容器内,能够清晰地观察细胞培养的培育状态。

[0009] 专利文献5中公开了一种培养基贮存单元、细胞接种单元以及培养容器由封闭系统构成的细胞培养装置。细胞培养装置根据培养容器内的细胞的图像判定细胞的培养状

况,基于该判定执行培养操作,由此减轻操作者的劳力。

[0010] 专利文献6中公开了一种细胞培养装置,其具备:主体,其具有包围细胞培养腔室的容积的侧壁;盖,其覆盖细胞培养腔室;以及底板,其配置于主体下部,在主体中一体形成有使流入排出连接器与细胞培养腔室之间流体连通的微流体导管。

[0011] 专利文献7中公开了一种具备使微芯片的内部空间的气泡移动到外部空间的气泡去除单元的微芯片反应装置。专利文献8中公开了一种细胞培养装置,其具备能够从第一培养液贮存室以及第二培养液贮存室排出气体的通气孔,且在通气孔上设置有空气过滤器。

[0012] 专利文献9中公开了一种具备两个流路合流的液体混合部的细胞培养板。专利文献10中公开了一种具备支撑呈放射状分布的微小通道部件的基板以及配置在基板上的盖板,并进行细胞增殖和细胞测定的装置。微小通道部件具备导入液体试样的导入通道、相对增大了流路面积的细胞增殖腔室及测定腔室、以及除去液体试样的排出通道。

[0013] 专利文献11公开了一种具备划定第一微流体通道的第一层以及划定第二微流体通道的第二层的培养装置。

[0014] 专利文献12中公开了一种具备流路一体板以及底板的细胞培养装置。流路一体板具备:形成有培养液的流路的流路板;以及配置有进行培养液的供给及排出的蠕动泵组的泵部,底板具备马达等驱动源。

[0015] 现有技术文献

[0016] 专利文献

[0017] 专利文献1:日本专利第4183742号公报

[0018] 专利文献2:日本特开2018-019685号公报

[0019] 专利文献3:国际公开第2018/154788号

[0020] 专利文献4:国际公开第2014/049701号

[0021] 专利文献5:国际公开第2007/052716号

[0022] 专利文献6:日本特表2014-514926号公报

[0023] 专利文献7:日本特开2014-226623号公报

[0024] 专利文献8:国际公开第2017/154880号

[0025] 专利文献9:日本特开2005-80607号公报

[0026] 专利文献10:日本特表2002-512783号公报

[0027] 专利文献11:日本特表2017-513483号公报

[0028] 专利文献12:日本特开2017-221166号公报

发明内容

[0029] 发明所要解决的课题

[0030] 在以往的装置中,仅一体地构成培养基贮存容器、培养基供给排出流路、细胞培养容器这样的细胞培养功能的细胞培养装置较多,而将通过导入诱导因子而进行的细胞的初始化、重编程、命运转换、直接重编程、分化转换、分化诱导、转化这样的细胞诱导功能也一体化的装置较少。为了用封闭系统构成这些各种功能部位,需要将独立的部件经由管、泵、连接器等进行封闭连接这样的繁杂的工序,因此,存在使制造工时、制造成本等增大的可能性。另外,如果将利用这种装置进行的细胞制造完全自动化,则由独立的部件构成的细胞制

造装置对于机器人来说是难以处理的。

[0031] 因此,需要一种技术能够同时实现细胞制造装置的制造的合理化和对自动化系统的适应性。

[0032] 用于解决课题的方案

[0033] 本公开的一个方案提供一种细胞制造装置,其具备:细胞制作板,其具备汇集了多个功能部位的流体回路;以及封闭式连接器,其相对于外部空间封闭地连接流体回路,流体回路具备注入排出部、容积可变部以及细胞诱导培养部作为多个功能部位,该注入排出部经由封闭式连接器将流体注入到流体回路内或排出到流体回路外,该容积可变部贮存由注入或排出的流体挤出或引出的流体,该细胞诱导培养部基于注入的流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。

[0034] 本公开的另一方案提供一种细胞制造装置的制造方法,其包括:对平板进行成型的工序,该平板具备汇集了多个功能部位的流体回路;以覆盖流体回路的方式将盖固定于平板而形成细胞制作板的工序;以及将封闭式连接器安装于细胞制作板的工序,该封闭式连接器相对于外部空间封闭地连接流体回路,流体回路具备注入排出部、容积可变部以及细胞诱导培养部中的至少一个作为多个功能部位,该注入排出部经由封闭式连接器将流体注入到流体回路内或排出到流体回路外,该容积可变部贮存由注入或排出的流体挤出或引出的流体,该细胞诱导培养部基于注入的流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。

[0035] 本公开的另一方案提供一种细胞制造装置,其具备:细胞制作板,其具备汇集了多个功能部位的流体回路;以及封闭式连接器,其相对于外部空间封闭地连接流体回路,流体回路具备注入排出部以及细胞诱导培养部作为多个功能部位,该注入排出部经由封闭式连接器将流体注入到流体回路内或排出到流体回路外,该细胞诱导培养部基于注入的流体进行细胞的诱导及培养中的至少一个。

[0036] 发明效果

[0037] 根据本公开的方案,由于多个功能部位汇集于一个细胞制作板内,因此不需要经由管、泵、连接器等将独立的部件封闭地连接这样的制造工序,削减了细胞制造装置的制造工时、制造成本等。另外,同时,由于由注入或排出的流体挤出或引出的流体被封入在流体回路内,因此不需要将流体逸出到细胞制作板的外部或将流体从外部吸入,能够在保持流体回路的密闭性的同时将细胞制作板形成为板状。这样的细胞制作板对于机器人来说较容易处理,能够提高对自动化系统的适应性。

附图说明

[0038] 图1是一个实施方式中的细胞制造装置的结构图。

[0039] 图2是表示细胞制作板的一例的分解立体图。

[0040] 图3A是表示平板与盖的固定方法的一例的放大剖视图。

[0041] 图3B是表示平板与盖的固定方法的一例的放大剖视图。

[0042] 图4A是表示混合流路的一例的俯视图。

[0043] 图4B是表示混合流路的一例的B-B' 剖视图。

[0044] 图5是表示破碎流路的一例的放大立体图。

[0045] 图6是表示交叉流路的一例的放大立体图。

[0046] 图7A是表示底板的一例的正面立体图。

[0047] 图7B是表示底板的一例的背面立体图。

具体实施方式

[0048] 以下,参照附图详细说明本公开的实施方式。在各附图中,对相同或类似的构成要素赋予相同或类似的符号。另外,以下所记载的实施方式并不用于限定权利要求书所记载的发明的技术范围以及用语的意义。需要说明的是,本说明书中的术语“封闭”是指微生物、病毒等污染源不会侵入装置内部而产生生物污染、和/或装置内部的流体(包含细胞、微生物、病毒粒子、蛋白质、核酸等物质)不会漏出而产生交叉污染、和/或即使在装置内部处理感染了病原体的供体的流体也不会产生生物危害。但是,本说明书中的装置也可以构成为例如二氧化碳、氮、氧等非污染源流体侵入装置内部或向装置外部漏出。

[0049] 图1表示本实施方式中的细胞制造装置1的结构。细胞制造装置1是具备通过导入诱导因子而进行细胞的初始化、重编程、命运转换、直接重编程、分化转换、分化诱导、转化等的细胞诱导功能的细胞诱导装置,但也可以是仅具备只进行培养、放大培养等的细胞培养功能的细胞培养装置。细胞制造装置1注入包含原细胞(例如血液细胞、成纤维细胞等体细胞、或ES细胞、iPS细胞等干细胞)的流体,从原细胞制造目标细胞(例如干细胞、前体细胞、最终分化细胞),并且排出包含目标细胞的流体。作为目标细胞,也可以制作成纤维细胞、神经细胞、视网膜上皮细胞、肝细胞、 β 细胞、肾细胞、间充质干细胞、血液细胞、巨核细胞、T细胞、软骨细胞、心肌细胞、肌肉细胞、血管细胞、上皮细胞、肾细胞、或其他体细胞等分化细胞。细胞制造装置1是将应该高度清洁的部分全部汇集到内部的封闭系统的细胞处理装置,也可以在通常管理区域中使用。装置内部的封闭空间构成为不与外部交换气体、病毒、微生物、杂质等。但是,也可以构成为通过将后述的流体更换过滤器等附加地设置于装置,从而能够在装置内部和外部更换非污染源流体。

[0050] 如图1所示,细胞制造装置1具备细胞制作板2和封闭式连接器3。细胞制作板2具备与外部空间S隔断的封闭系统的流体回路4,流体回路4具备高度地汇集了多个功能部位的流路。封闭式连接器3是用于向流体回路4注入流体或者从流体回路4排出流体的连接器,其安装于细胞制作板2。封闭式连接器3是将流体回路4和流体容器相对于外部空间S封闭地连接的连接器,例如可以是无菌连接连接器、无针连接器、针连接器、热熔断管等。无针连接器可以是分裂隔膜型,也可以是机械阀型。流体容器是指注射器、容积可变袋等,在封闭式连接器3与流体容器连接时,流体回路4与流体容器流体连通,另一方面,在封闭式连接器3与流体容器非连接时,流体回路4与外部空间S隔断。由此,能够防止流体回路4的生物学污染、交叉污染以及生物危害。为了能够进行多种流体的注入或排出,优选细胞制造装置1具备多个封闭式连接器3。

[0051] 图2表示细胞制作板2的一例。如图2所示,细胞制作板2具备平板20以及盖21。平板20例如能够由生物学上安全的树脂、金属等成形。平板20优选通过使用模具的成型加工、例如注射成形、压缩成形等来成型,但也可以使用3D打印机等来成形平板20。作为3D打印机,可以采用光造型、热熔层叠、粉末烧结、喷墨等各种造型方式。在平板20的表面和背面中的至少一方设置槽20a作为供流体流动的流路,通过组合多个槽20a来形成流体回路4。另外,在流体回路4的一部分设置使槽20a的宽度或深度相对增大的部位,形成暂时贮存流体的贮

存槽20b。可以在槽20a以及贮存槽20b的壁面涂布poly-HEMA (poly 2-hydroxyethyl methacrylate) 从而提供细胞非粘接性。相反,在细胞难以进入槽20a或贮存槽20b的情况下,可以使槽20a和贮存槽20b的壁面具有低蛋白吸附性。为了利用图像识别传感器、超声波识别传感器等观察流体、细胞、细胞块等的经时变化,优选槽20a以及贮存槽20b的至少一部分为白色或黑色。

[0052] 盖21例如可以由生物学上安全的树脂、石英玻璃等形成。为了利用图像识别传感器、超声波识别传感器等观察流体回路4内的流体、细胞、细胞块等的经时变化,优选盖21(即,细胞制作板2的至少一部分)透明。通过该观察,能够在适当的时机转移到下一个细胞制造工序。为了将流体回路4与外部空间隔断,盖21通过生物学上安全的固定方法、例如化学结合、熔接结合、粘接结合等以覆盖流体回路4的方式固定于平板20。作为化学结合,可以使用硅烷偶联剂、等离子体照射等。另外,作为熔接结合,可以使用激光熔接、超声波熔接等,作为粘接结合,可以使用紫外线固化粘接剂等。在固定平板20和盖21后,对细胞制作板2实施杀菌处理,例如加热灭菌、 γ 射线灭菌、紫外线灭菌、电子束灭菌等,使流体回路4成为高度清洁的状态。

[0053] 图3A~图3B表示平板与盖的固定方法的一例。为了将流体回路4与外部空间隔断,也可以在槽20a和贮存槽20b的两侧预先形成堤部20c,利用盖21覆盖平板20,至少对堤部20c照射或施加激光、超声波等来加热堤部20c,通过熔接平板20和盖21来密封槽20a和贮存槽20b。或者,也可以对包含槽20a及贮存槽20b的平板20盖上盖21,至少对槽20a及贮存槽20b以外的部分照射或施加激光、超声波等而进行加热,通过将平板20与盖21熔接来密封槽20a和贮存槽20b。在该情况下,槽20a和贮存槽20b以外的部分全部被固定,因此固定强度提高。

[0054] 再次参照图1,流体回路4至少具备注入排出部10和细胞诱导培养部13作为多个功能部位。流体回路4根据需要也可以具备容积可变部11、移送部12、流体存积部14、流体混合部15、细胞分离部16以及细胞块破碎部17。这些各种功能部位汇集于一个细胞制作板2内,因此不需要经由管、泵、连接器等将独立的部件封闭地连接这样的制造工序,削减了细胞制造装置1的制造工时、制造成本等。

[0055] 注入排出部10具备经由封闭式连接器3将流体注入或排出到流体回路4内的注入排出通道。为了能够注入或排出多种流体,注入排出部10优选具备多个注入排出通道10a~10f。例如,第一注入排出通道10a能够注入或排出包含原细胞的流体等,第二注入排出通道10b能够注入或排出原细胞分离用试剂、抗凝剂、磷酸缓冲生理盐水等流体。另外,第三注入排出通道10c能够注入或排出诱导因子导入试剂等流体,第四注入排出通道10d能够注入或排出初始化用或诱导用培养基等各种培养基、胰蛋白酶替代重组酶等细胞剥离试剂、单细胞分离试剂、细胞间粘附剥离剂等流体。诱导用培养基包含初始化用培养基、重编程用培养基、命运转换用培养基、直接编程用培养基、分化转换用培养基、分化诱导用培养基、转化用培养基等。并且,第五注入排出通道10e能够将包含实施了诱导和培养中的至少一者的细胞的流体作为样本排出或注入到流体容器19中,第六注入排出通道10f能够将含有目标细胞的流体排出或注入到流体容器中。样本排出用的流体容器19可以是与封闭式连接器3、例如热熔断管连接的容积可变袋等。另外,在排出含有目标细胞的流体时,可以向第六注入排出通道10f的周围供给液氮等制冷剂,使含有目标细胞的流体冻结从而密封细胞制作板,或者

也可以利用液氮等制冷剂将从第六注入排出通道10f经由封闭式连接器3排出的流体容器冻结。

[0056] 容积可变部11具备贮存由注入或排出的流体挤出或引出的流体的物理或化学容积可变材料。在流体回路4内设置使原本进入的流体逸出的流体逸出流路,将物理容积可变材料与流体逸出流路连接,或者在流体逸出流路中设置以恒定的压力进行开闭的压力阀从而将化学容积可变材料留置在贮存槽中,由此能够在保持流体回路4的密闭性的同时使流体移动。物理容积可变材料可以是例如柔性袋、注射器等。化学容积可变材料可以包括例如碱石灰、硅胶等流体吸收剂和留置在与留置流体吸收剂的贮存槽不同的贮存槽中的流体放出剂。通过容积可变材料,封闭的流体回路4的内压大致恒定,并且,由注入或排出的流体挤出或引出的流体被封入在细胞制作板2内,因此不需要将流体逸出到细胞制作板2的外部或将流体从外部吸入,能够在保持流体回路4的密闭性的同时将细胞制作板2形成为板状。这样的细胞制作板2对于机器人来说较容易处理。

[0057] 移送部12具备在流体回路4内移送流体的泵。泵可以是能够控制流量的容积式泵,例如旋转泵、往复泵等。作为旋转泵,优选蠕动泵。在蠕动泵的情况下,将柔性管与设置于流路的端部的连接器密闭连接,通过用辊对管进行处理来移送流体。由于管被辊隔断,因此在泵停止时,流体的流动被隔断,能够进行流量控制。另外,作为往复泵,优选隔膜泵。但是,在隔膜泵的情况下,由于隔膜不隔断流路,因此通过并用流路截止阀,能够进行流量控制。

[0058] 为了在适当的时机向适当的功能部位移送流体,移送部12优选具备多个泵P1~P8。例如,第一泵P1~第三泵P3在适当的时机移送贮存在流体积存部A1~A3中的流体,第四泵P4以及第八泵P8在适当的时机移送贮存在细胞分离部16中的流体。第五泵P5在适当的时机移送贮存在流体积存部A4中的流体,第六泵P6~第七泵P7在适当的时机移送贮存在细胞诱导培养部13中的流体。在使用例如蠕动泵作为泵的情况下,为了获取泵是否可靠地旋转、或者是否旋转了适当的角度等泵是否 ze 正常工作的信息,可以在泵的旋转主轴上具备能够检测旋转量的旋转编码器。或者也可以例如在泵的旋转主轴端部预先设置视觉标记,通过图像识别传感器来直接捕捉标记的旋转运动。为了确认泵的移送正在可靠地进行,还可以在泵的前段或后段具备流量测量部(未图示)。流量测量部可以是例如与连通于移送部的流路以及贮存槽中的至少一方相邻设置的流量传感器、或者将连通于移送部的流路以及贮存槽中的至少一方中的流体的经时变化捕捉为图像的图像识别传感器等。流量传感器能够采用例如卡曼涡旋式、叶轮式、隔膜式等,不会对细胞造成不良影响的各种测量方式,直接获取流体的流量信息。图像识别传感器经由透明的盖21从外部照相机等进行图像识别,由此根据流体的运动取得流量信息。图像识别传感器也可以沿用本说明书所记载的其他图像识别传感器,由此能够降低部件数量以及制造成本。

[0059] 细胞诱导培养部13具备:细胞诱导培养槽13a,其基于移送的流体进行细胞的诱导及培养中的至少一者;以及培养基循环路13b,其与细胞诱导培养槽13a流体连通并使培养基循环。细胞诱导培养槽13a通过加温元件加温至预定的培养温度、例如37℃。培养基循环路13b由冷却元件冷却至预定的培养基质量保持温度、例如4℃~8℃。细胞诱导培养槽13a为密闭的状态,可以不供给二氧化碳、氮、氧等流体,但也可以在细胞诱导培养槽13a和培养基循环路13b中的至少一方还具备在装置内部和外部交换二氧化碳、氮、氧等流体的流体交换过滤器。另外,细胞诱导培养槽13a可以是进行细胞悬浮培养的三维培养槽,也可以是进

行粘附培养的二维培养槽。为了进行粘附培养,细胞诱导培养槽13a可以用基质胶、胶原蛋白、聚赖氨酸、纤连蛋白、玻连蛋白、明胶、以及层粘连蛋白、层粘连蛋白片段等细胞粘附用涂布剂来涂布,或者也可以填充中空纤维。进而,细胞诱导培养槽13a也可以一体地具备培养槽30和向培养槽30供给培养基的培养基槽31。在该情况下,细胞诱导培养槽13a优选在培养槽30与培养基槽31之间具备仅允许特定成分往来的特定成分透过部件32、例如半透膜。特定成分透过部件32透过例如各种培养基、细胞粘附用涂布剂、细胞剥离用试剂等特定成分。

[0060] 细胞诱导培养部13还可以具备测定所使用的培养基的pH值的pH测定部13c。为了测定所使用的培养基的pH值,pH测定部13c优选设置于培养基循环路13b或细胞诱导培养槽13a中。pH测定部13c可以是例如图像识别传感器、电极测量传感器等。图像识别传感器经由透明的盖通过外部照相机等对pH值进行色调测量。电极测量传感器通过玻璃电极法测量pH值。在色调测量的情况下,通过将培养基循环路13b的至少一部分(例如,色调测量部位的底面等)设为白色,能够准确地检测色调。通过该pH值,能够定量地掌握培养基的状态。另外,为了使图像上的细胞的图像轮廓鲜明,优选还具备从细胞诱导培养槽13a的前方、周围方向(例如,与观察面正交的方向)、以及后方中的至少一个方向照射照明的照明部。照明部包括例如LED照明等,可以埋入细胞制作板2的内部,或者使细胞诱导培养槽13a相比于细胞制作板2呈凸状地设置于细胞制作板2的外部。为了使照明到达细胞,培养槽30可以由透光的透明部件覆盖。

[0061] 流体贮存部14具备贮存应该向流体回路4内注入或者向流体回路4外排出的流体的贮存槽。为了能够贮存多种流体,流体贮存部14优选具备多个贮存槽A1~A4。贮存槽A1~A4形成为使流路的宽度或深度相对增大的部位,能够在适当的时机利用预定量的各种流体。例如,第一贮存槽A1贮存包含原细胞的流体,第二贮存槽A2贮存原细胞分离用试剂、抗凝剂、磷酸缓冲生理盐水等流体,第三贮存槽A3贮存诱导因子导入试剂等流体,第四贮存槽A4贮存各种培养基、细胞粘附用涂布剂、细胞剥离用试剂等流体。也可以具备贮存含有目标细胞的流体等的贮存槽。

[0062] 流体混合部15具备将相互不混合的多个流体混合的混合流路。图4A~图4B表示混合流路的一例。混合流路40优选具备流体合流路41以及混合流产生路42。流体合流路41是使相互不混合的流体L1~L2合流于一条流路的流路,混合流产生路42是使合流后的流体L1~L2产生混合流的流路。混合流产生路42例如是使流路的截面积不连续地变化的流路,优选使流路宽度以及流路深度中的至少一方在与流体的行进方向不同的方向上变化。例如,混合流产生路42相对于流体的行进方向交替地具备流路宽度变化部42a以及流路深度变化部42b。由此,流动在流路宽度方向上变化的混合流和流动在流路深度方向上变化的混合流交替地产生,使得相互不混合的流体L1~L2容易混合。另外,作为替代实施方式,混合流产生路42也可以是从平板的表面向背面贯通的螺旋流路。为了使流体从平板的背面向表面返回,设置贯通平板的两个螺旋流路,在平板的背面设置将这些螺旋流路间流体连通的连通路。

[0063] 再次参照图1,细胞分离部16具备分离细胞或细胞块的分离槽D1~D2。例如,分离槽D1~D2是使流路的宽度或深度相对增大而形成的贮存槽,第一分离槽D1从包含原细胞的流体分离成仅包含原细胞的流体,第二分离槽D2仅使比较大的细胞块沉降,由此与除此以

外的细胞块分离。作为原细胞的分离方法,可以使用原细胞分离用试剂、选淘分离、磁细胞分离(MACS)、流式细胞仪等。

[0064] 细胞块破碎部17具备将分离的细胞块(一个以上的细胞的块)进一步破碎的破碎流路。图5表示破碎流路的一例。破碎流路50优选具有与上游流路51相比相对较小的流路面积,且蜿蜒曲折。通过使流路蜿蜒曲折,从而产生潜流,对细胞块施加剪切应力而将较大地生长的细胞块分解为小的细胞块。潜流是指例如产生涡旋的流动、紊流、逆流、产生流速不同的部分的流动、产生剪切力的流动、以及产生行进方向不同的流动发生碰撞的部分的流动中的任一种。

[0065] 由于以上那样的多个功能部位汇集于一个细胞制作板2内的流体回路4中,因此,流体回路4具备向各种方向延伸并复杂地交叉的交叉流路。图6表示交叉流路的一例。交叉流路在细胞制作板2的表面侧具备沿X方向延伸的第一流路60和沿与X方向不同的Y方向延伸的第二流路61,第一流路60具备朝向细胞制作板2的背面侧延伸并绕过第二流路61的迂回路62。例如,优选迂回路62具备从平板20的表面向背面贯通的两个贯通孔62a~62b以及在平板20的背面将贯通孔62a~62b彼此连通的连通路62c。为了覆盖形成于平板20的背面的连通路62c,盖21优选具备覆盖平板20的表面的表面盖21a和覆盖平板20的背面的背面盖21b。通过这样的交叉流路,能够提供具备高度集聚的流体回路4的小型细胞制作板2。

[0066] 细胞制造装置1优选还具备可装卸地连结于细胞制作板2的底板。图7A~图7B表示底板的一例。底板5进行细胞制作板2的流体控制、温度控制等。细胞制作板2以朝向机器人等会作用到的危险区域侧70的方式配置,相对于此,底板5以朝向与危险区域侧70相反侧的安全区域侧71的方式配置。从防止生物学污染的观点出发,可以使细胞制作板2为一次性的,并使底板5为可重复使用的。另外,细胞制造装置1构成为能够从安全区域侧71进行维护。通过使细胞制造装置1具备这样的双面结构,机器人等能够以一对多的方式与多个细胞制造装置1相关联。

[0067] 细胞制造装置1还可以在细胞制作板2与底板5的连结面上具备定位部件72以及板密封部件73。定位部件72可以是相互嵌合的凸部及凹部,对细胞制作板2与底板5的连结位置进行定位。板密封部件73可以是安装于连结面外周的垫圈、衬垫等,通过连结细胞制作板2和底板5,板密封部件73的内侧与外部空间隔断,从而能够抑制气体从细胞制作板2的背面透过。底板5具备驱动移送部12的驱动部74。驱动部74例如具备驱动蠕动泵的马达。进而,优选在细胞制作板2与底板5的连结面上具备向配置于细胞制作板2的电气元件例如加温元件、冷却元件、流量传感器等供给电力的电接点75。

[0068] 根据以上的实施方式,由于多个功能部位汇集于一个细胞制作板2内,因此无需经由管、泵、连接器等将独立的部件封闭地连接这样的麻烦工序,能够使细胞制造装置1的制造合理化。另外,同时,由于由注入或排出的流体挤出或引出的流体被封入在细胞制作板2内,因此不需要将流体逸出到细胞制作板2的外部或将流体从外部吸入,能够在保持流体回路的密闭性的同时将细胞制作板2形成为板状。这样的板状的细胞制作板2对于机器人来说比较容易处理,能够提高对自动化系统的适应性。

[0069] 虽然在本说明书中对各种实施方式进行了说明,但本发明并不限于上述各种实施方式,应当理解,可以在权利要求书所记载的范围内进行各种变更。

[0070] 符号说明

[0071] 1—细胞制造装置;2—细胞制作板;3—封闭式连接器;4—流体回路;5—底板;10—注入排出部;10a~10f—第一注入排出通道~第六注入排出通道;11—容积可变部;12—移送部;13—细胞诱导培养部;13a—细胞诱导培养槽;13b—培养基循环路;13c—pH测定部;14—流体贮存部;15—流体混合部;16—细胞分离部;17—细胞块破碎部;19—流体容器;20—平板;20a—槽;20b—贮存槽;20c—堤部;21—盖;21a—表面盖;21b—背面盖;30—培养槽;31—培养基槽;32—特定成分透过部件;40—混合流路;41—流体合流路;42—混合流产生路;42a—流路宽度变化部;42b—流路深度变化部;50—破碎流路;51—上游流路;60—第一流路;61—第二流路;62—迂回路;62a~62b—贯通孔;62c—连通路;70—危险区域侧;71—安全区域侧;72—定位部件;73—板密封部件;74—驱动部;75—电接点;A1~A4—第一贮存槽~第四贮存槽;D1~D2—第一分离槽~第二分离槽;L1~L2—第一流体~第二流体;P1~P8—第一泵~第八泵;S—外部空间。

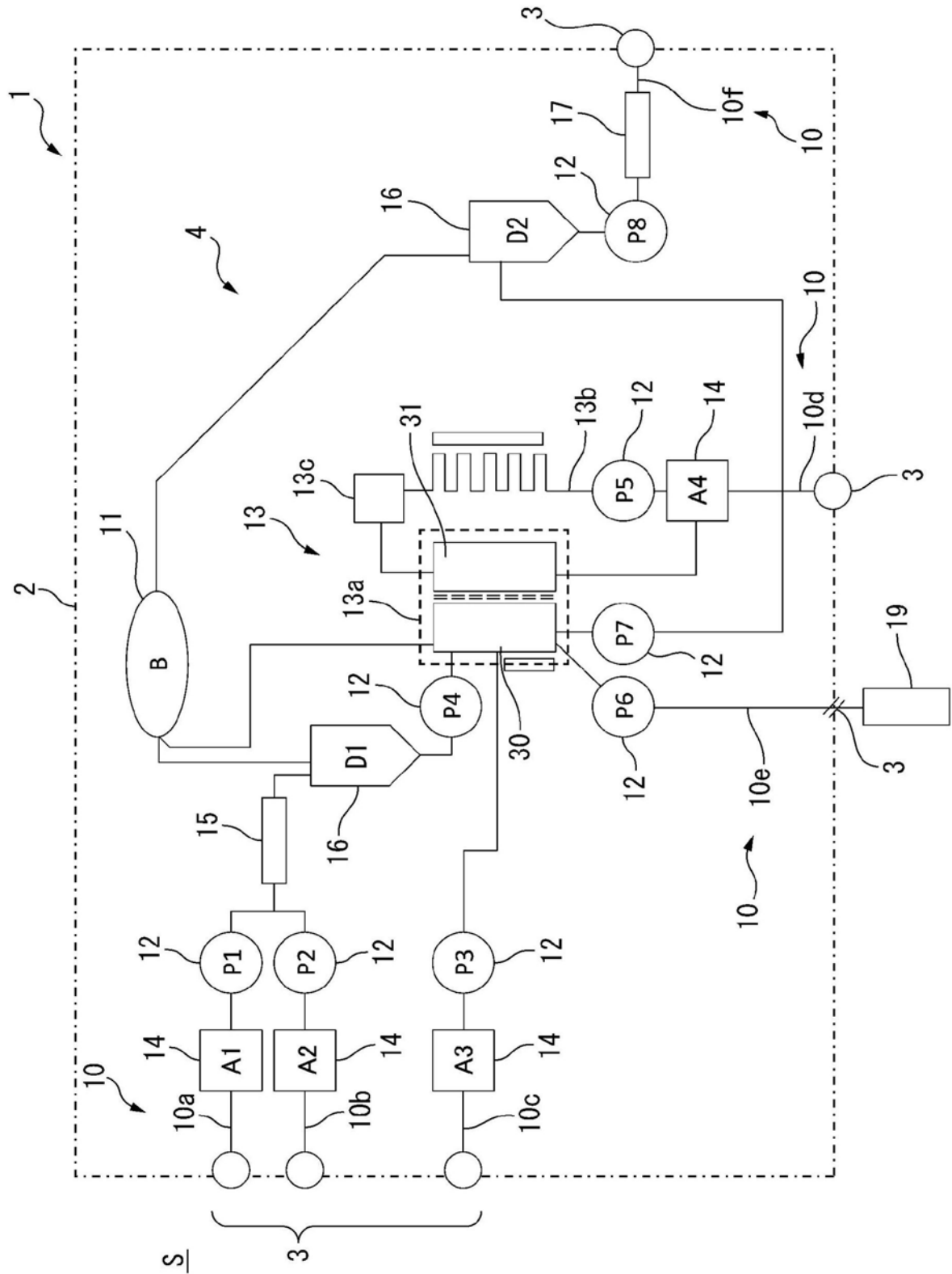


图1

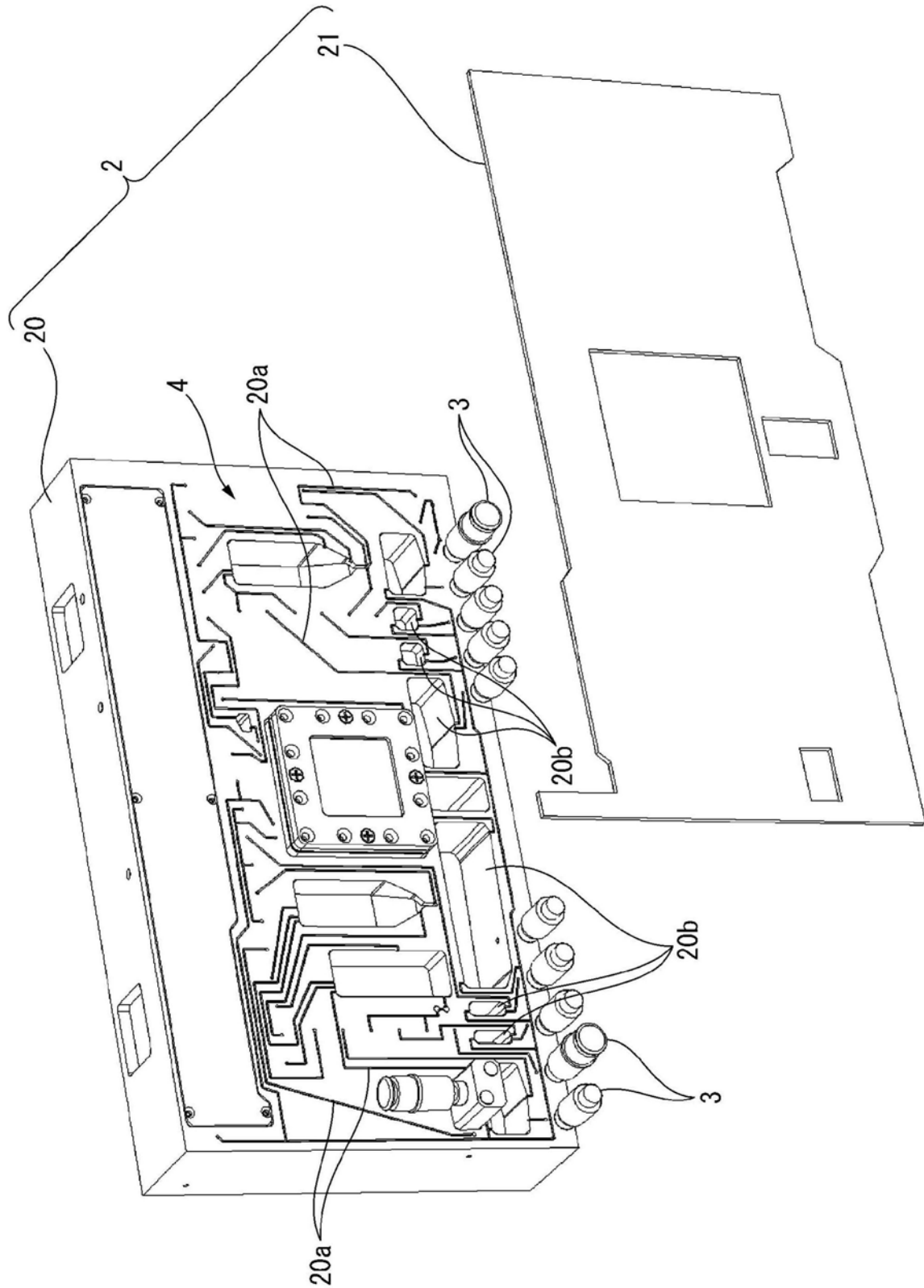


图2

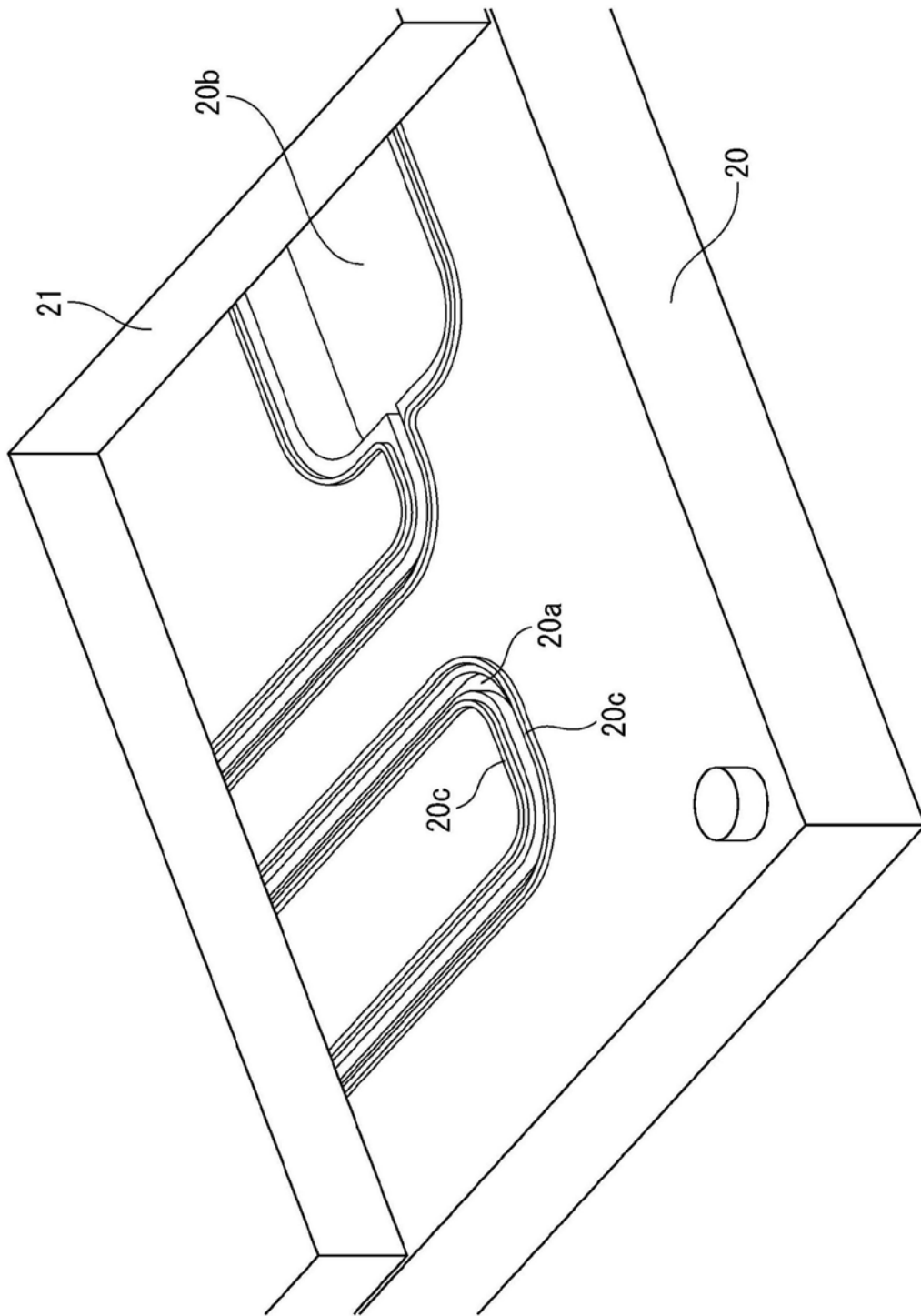


图3A

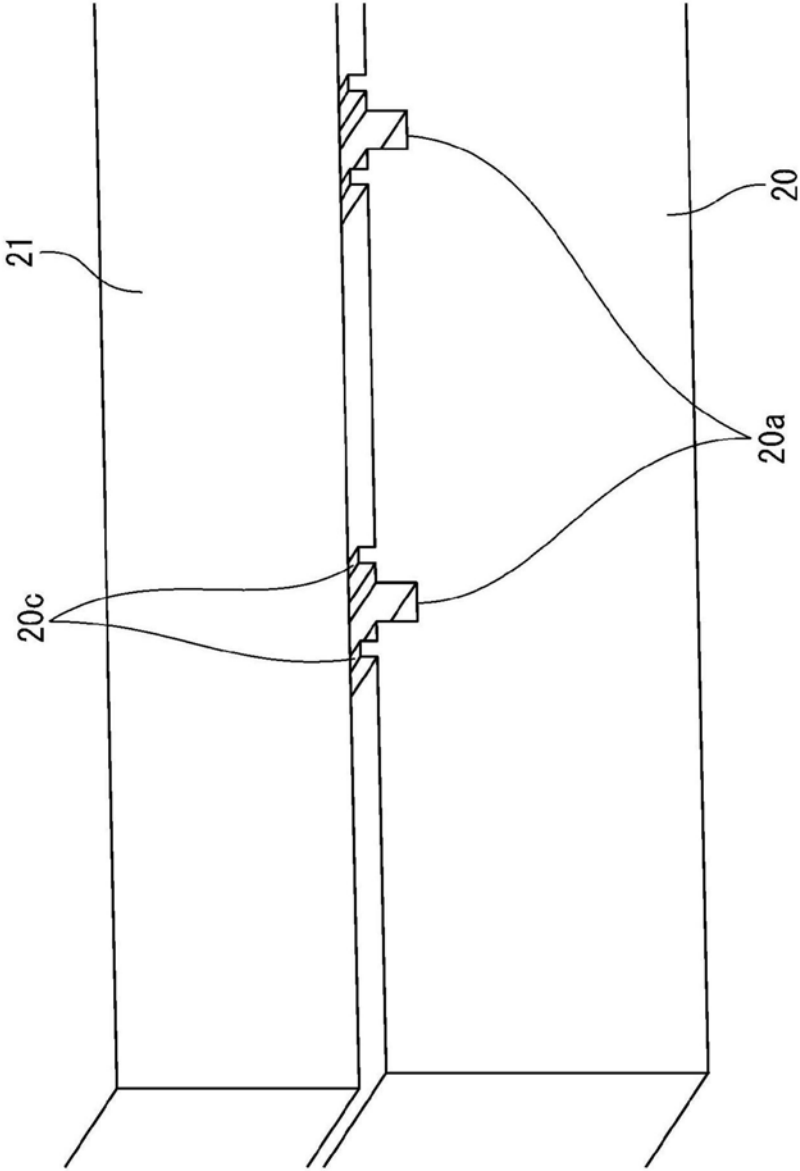


图3B

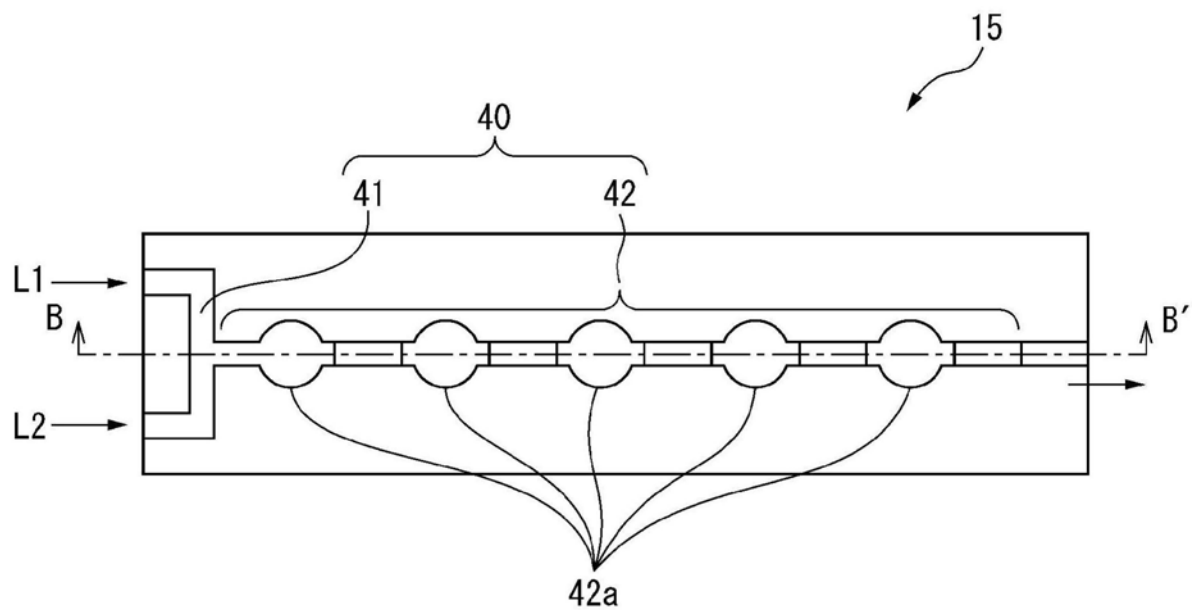


图4A

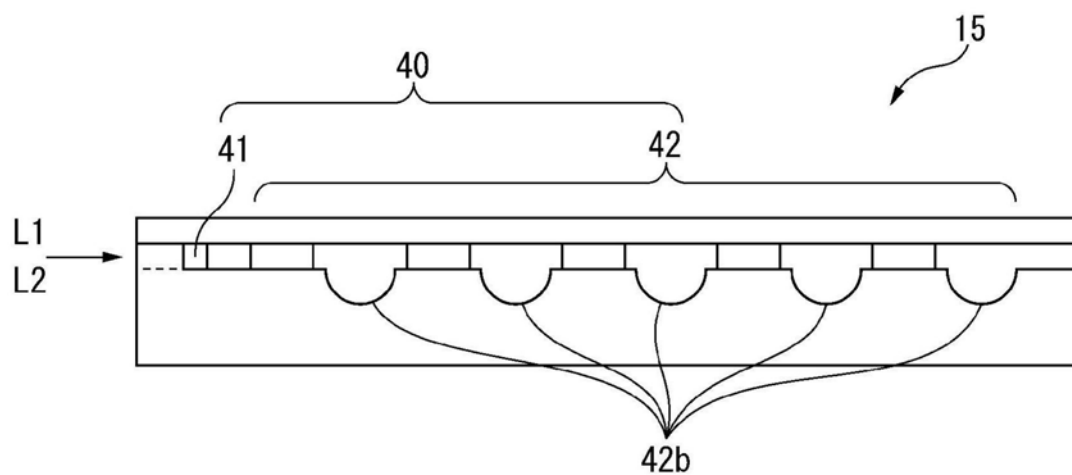


图4B

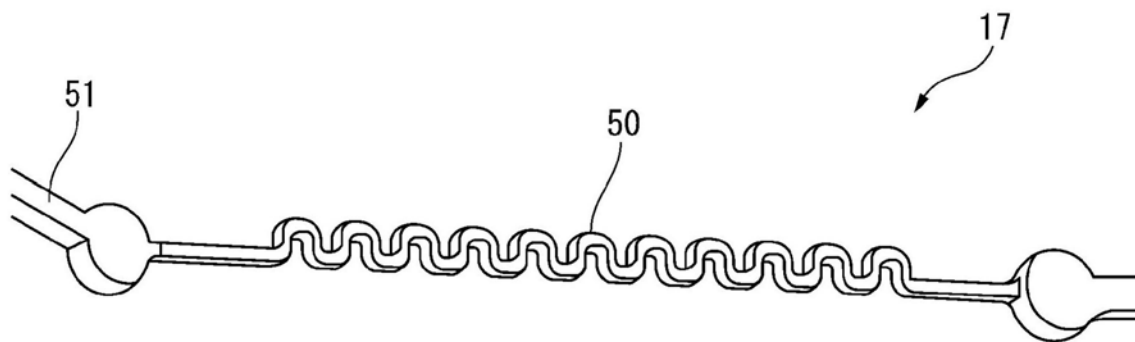
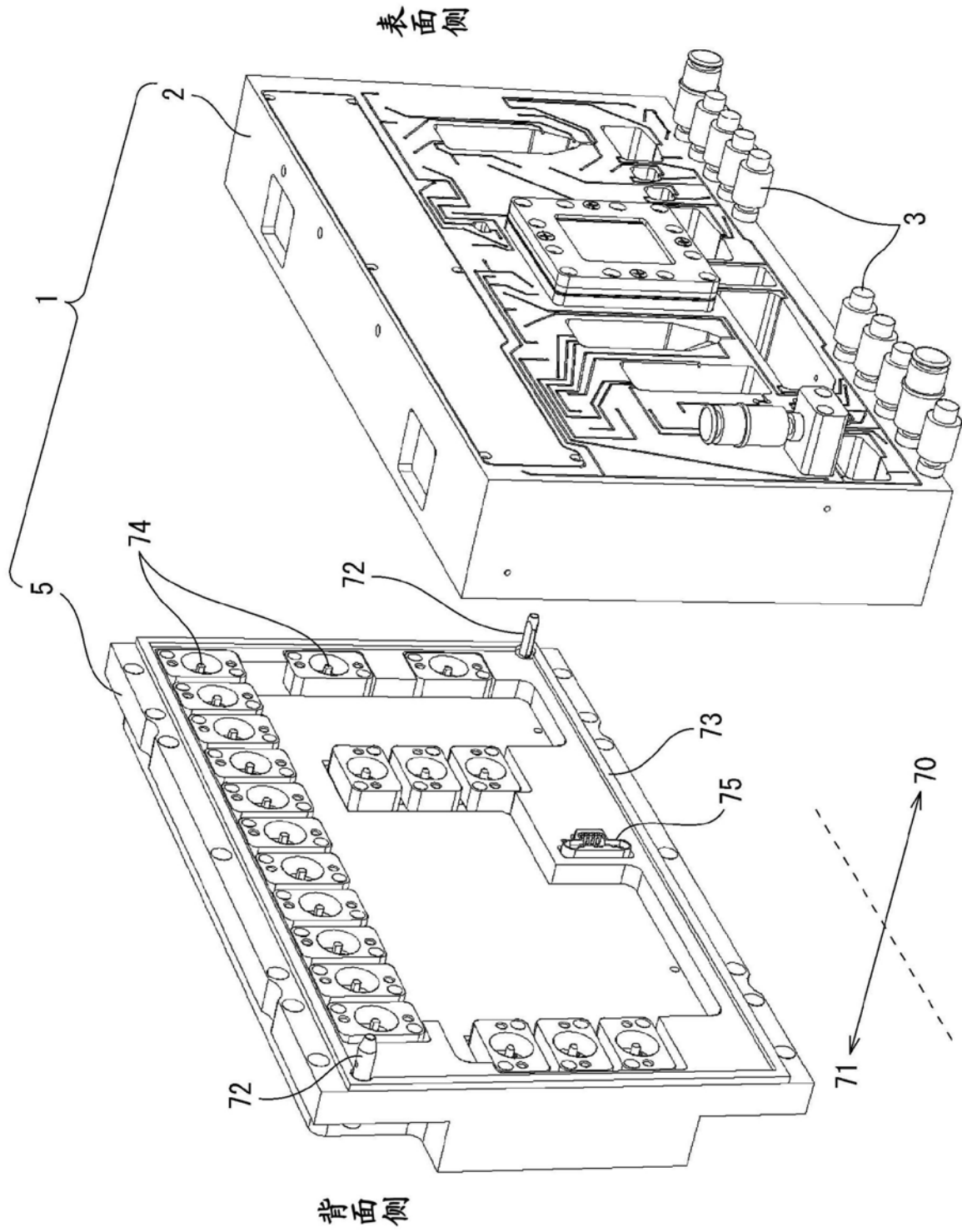


图5



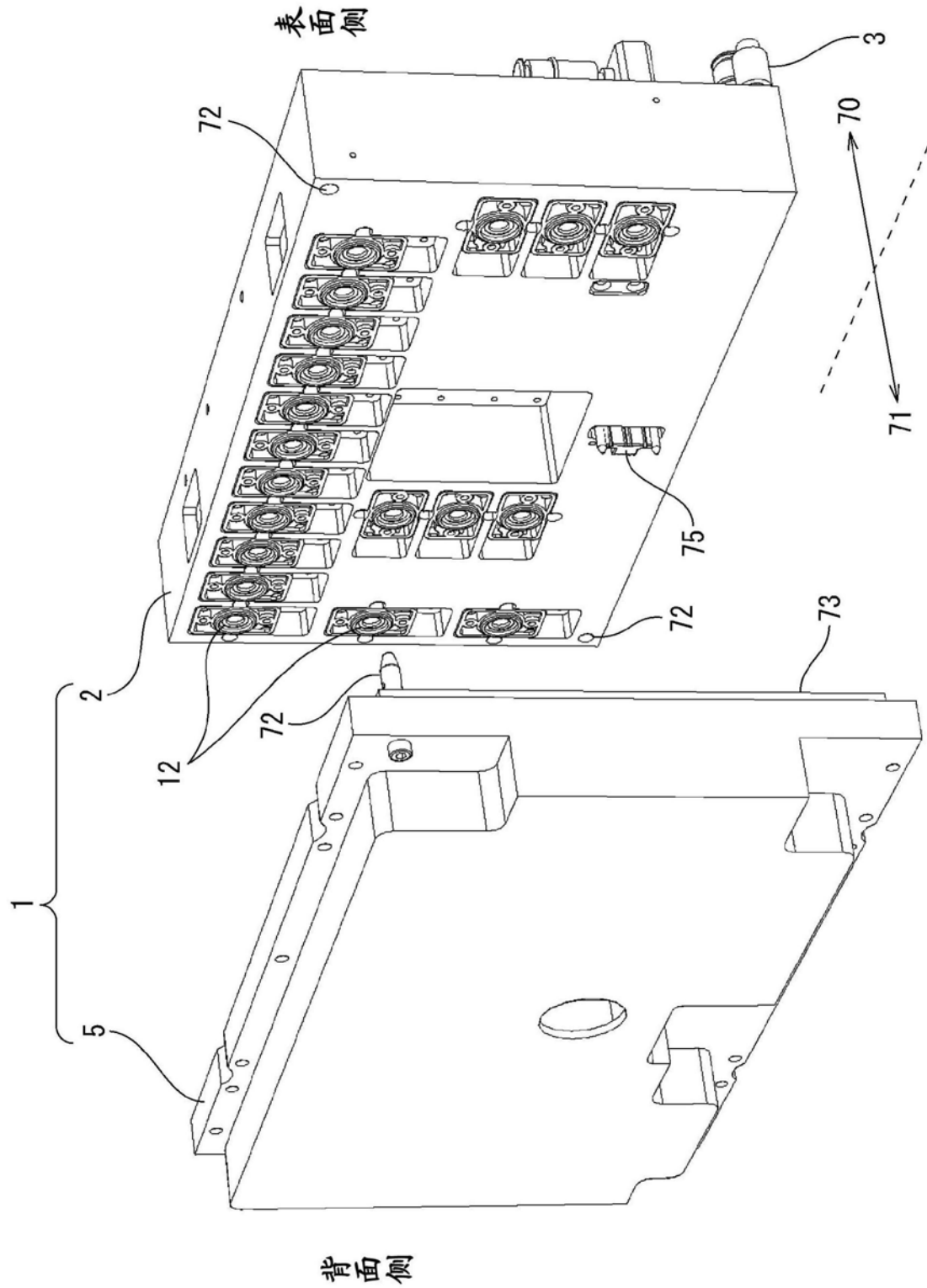


图7B