

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年4月22日(22.04.2021)



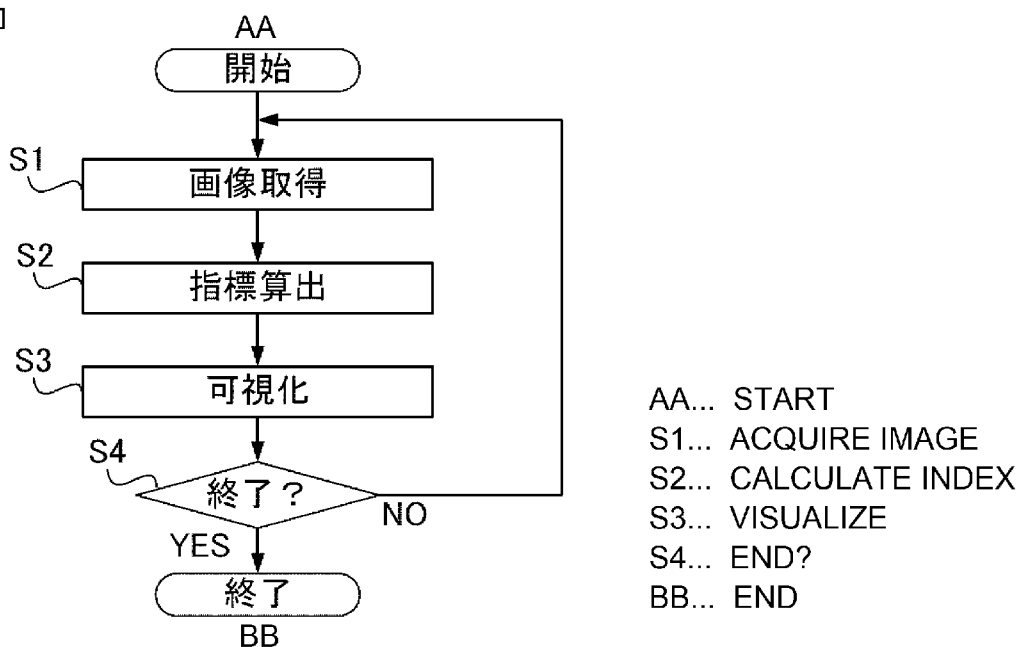
(10) 国際公開番号
WO 2021/074945 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/02 (2006.01) *C12M 1/34* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/040401
- (22) 国際出願日: 2019年10月15日(15.10.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: オリンパス株式会社 (**OLYMPUS CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 松下 朗 (**MATSUSHITA Akira**); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP). 廣澤遊 (**HIROSAWA Yu**); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP). 峯泰治 (**MINE Taiji**); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 大菅 義之, 外 (**OSUGA, Yoshiyuki et al.**); 〒1020076 東京都千代田区五番町5番地 1 J S市ヶ谷ビル5階 インフォート国際特許事務所内 Tokyo (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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,

(54) Title: CELL ISOLATION ASSISTANCE METHOD, SYSTEM, AND COMPUTER-READABLE MEDIUM

(54) 発明の名称: 細胞単離支援方法、システム、及び、コンピュータ可読媒体

[図5]



(57) Abstract: This method for assisting in isolating cells from a biological tissue section comprises: a step of acquiring a cell image which is an image of cells isolated from a biological tissue section immersed in a solution containing an enzyme; a step of calculating, from the cell image, the number of cells isolated from the biological tissue section as an index of cell isolation from the biological tissue section; and a step of visualizing a change in the index over time on the basis of the history of the index.



WO 2021/074945 A1

QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 生体組織切片からの細胞単離を支援する方法は、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、生体組織切片からの細胞単離の指標として生体組織切片から単離した細胞数を、細胞画像から算出する工程と、指標の履歴に基づいて、指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む。

明 細 書

発明の名称：

細胞単離支援方法、システム、及び、コンピュータ可読媒体

技術分野

[0001] 本明細書の開示は、細胞単離支援方法、システム、及び、コンピュータ可読媒体に関する。

背景技術

[0002] 軟骨や皮膚などの生体組織に含まれる細胞を培養する場合、生体から採取した生体組織切片から細胞を単離する必要がある。細胞単離 (cell isolation) は、例えば、コラゲナーゼ、トリプシンなどの蛋白質分解酵素を含む溶液に生体組織切片を浸すことによって行われる。このような方法は、例えば、特許文献1に記載されている。

[0003] 特許文献1には、細胞単離の望ましい条件の一例として、トリプシン濃度 1 mg/ml の溶液に 37℃ で 40分浸すことが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2004-344007号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] ところで、細胞単離に要する時間は、例えば、生体組織切片の大きさ、質量、形状、または種類など様々な条件によって変化することが予想され、これを事前に把握することは難しい。これに対して、特許文献1に記載されるような細胞単離の望ましい条件は、あくまで各作業者が経験的に見出したものである。細胞単離の確実な完了を優先して長めに見積もられた時間が望ましい条件として記載されているかもしれない。

[0006] 蛋白質分解酵素に必要以上の時間浸し続けることは、細胞にダメージを与えることになる。細胞が過度にダメージを受けると、その後の培養に悪影響

が及んでしまうことがあり、望ましくない。

[0007] 以上のような実情から、本発明の一側面に係る目的は、細胞へのダメージを抑制しながら確実に細胞を単離することを支援する技術を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明の一実施形態に係る方法は、生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、前記細胞画像から算出する工程と、前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む。

[0009] 本発明の別の実施形態に係る方法は、生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記細胞画像のコントラストを、前記細胞画像から算出する工程と、前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む。

[0010] 本発明の別の実施形態に係る方法は、生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数及び前記細胞画像のコントラストを、前記細胞画像から算出する工程と、前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む。

[0011] 本発明の一実施形態に係るシステムは、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片を撮像する撮像装置と、前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、前記制御装置は、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履

歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する。

[0012] 本発明の別の実施形態に係るシステムは、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片を撮像する撮像装置と、前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、前記制御装置は、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する。

[0013] 本発明の別の実施形態に係るシステムは、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片を撮像する撮像装置と、前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、前記制御装置は、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数及び前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する。

[0014] 本発明の一実施形態に係るコンピュータ可読媒体は、プログラムを記録したコンピュータ可読媒体であって、プログラムは、コンピュータに、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得し、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する処理を実行させる。

[0015] 本発明の一実施形態に係るコンピュータ可読媒体は、プログラムを記録したコンピュータ可読媒体であって、プログラムは、コンピュータに、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得し、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する処理を実行させる。

[0016] 本発明の一実施形態に係るコンピュータ可読媒体は、プログラムを記録したコンピュータ可読媒体であって、プログラムは、コンピュータに、酵素を

含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得し、前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数および前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する処理を実行させる。

発明の効果

[0017] 上記の態様によれば、細胞へのダメージを抑制しながら確実に細胞を単離することを支援することができる。

図面の簡単な説明

- [0018] [図1]培養細胞の準備手順を説明するための図である。
[図2]細胞単離支援システムの構成を例示した図である。
[図3]撮像装置の構成を例示した図である。
[図4]制御装置の構成を例示した図である。
[図5]細胞の単離を支援する方法の一例を示したフローチャートである。
[図6]撮像装置で取得した画像の一例を示した図である。
[図7]細胞数とコントラストの変化を可視化したグラフの一例である。
[図8]第1の実施形態に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。
[図9]第1の実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面の一例を示した図である。
[図10]第1の実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面の別の例を示した図である。
[図11]第2の実施形態に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。
[図12]第2の実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面の一例を示した図である。
[図13]撮像装置で取得した画像の別の例を示した図である。
[図14]変形例に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。
[図15]第2の実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面の別の例を示した図である。

[図16]別の変形例に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。

発明を実施するための形態

[0019] 図1は、培養細胞の準備手順を説明するための図である。細胞培養を開始するには、図1に示すように、生体から生体組織切片を採取する工程、生体組織切片から細胞を単離する工程、単離した細胞を洗浄して抽出する工程など、複数の工程を経る必要がある。

[0020] 例えば、生体から生体組織切片を採取する工程では、生体から生体組織切片を採取し、さらに所定のサイズの切片に切り分ける。生体組織切片から細胞を単離する工程では、切り分けられた切片を蛋白質分解酵素の濃度が予め調整された溶液に浸して、環境温度が管理されたインキュベータ内に配置する。その後に行われる単離した細胞を洗浄して抽出する工程では、生体組織切片から単離した細胞を遠心分離器等を用いて他の物質から分離して抽出する。抽出した細胞は、フローセルなどを通過させることでカウントし、その後、培養細胞として培養される。

[0021] 細胞培養を成功裏に行うためには、培養開始前に行われるこれらの各工程において、細胞を適切に扱うことが重要である。以下では、これらの工程のうちの細胞を単離する工程に注目して、細胞の単離をよりよく行う方法について説明する。

[0022] 図2は、細胞単離支援システムの構成を例示した図である。図3は、撮像装置の構成を例示した図である。図4は、制御装置の構成を例示した図である。以下、図2から図4を参照しながら、図2に示すシステム1の構成について説明する。

[0023] システム1は、細胞の単離を支援するシステムである。システム1は、図2に示すように、インキュベータ20内に置かれた撮像装置10と、制御装置30と、を備えている。システム1では、撮像装置10で生成した画像に基づいて、制御装置30が細胞単離の指標となる情報を算出し、その変化を可視化してユーザに提供する。また、制御装置30は、撮像装置10及びクライアント端末（クライアント端末40、クライアント端末50）と通信す

る。なお、システム1は、インキュベータ20と、クライアント端末を含んでもよい。

[0024] インキュベータ20に收容された撮像装置10上には、図2に示すように、容器100が置かれる。容器100は、特に限定しないが、例えば、ペトリディッシュ、フラスコ、マイクロプレートなどである。

[0025] 容器100には、図3に示すように、蛋白質分解酵素を含む溶液Sに浸した生体組織切片Tが收容されている。蛋白質分解酵素は、特に限定しないが、コラゲナーゼ、トリプシンなどである。また、生体組織切片Tは、特に限定しないが、例えば、ヒトの軟骨、皮膚などである。蛋白質分解酵素を含む溶液Sに生体組織切片Tが浸されることで、生体組織切片Tから細胞Cが徐々に単離する。なお、生体組織切片Tから細胞Cが蛋白質分解酵素の作用によって単離することを消化 (digestion) ともいう。

[0026] 撮像装置10は、容器100に收容された生体組織切片Tから単離した細胞を撮像することで、生体組織切片Tから単離した細胞の画像である細胞画像を生成する。さらに、撮像装置10は、生成した細胞画像を制御装置30へ送信する。撮像装置10と制御装置30の間の通信は、有線通信であっても無線通信であってもよい。

[0027] より詳細には、撮像装置10は、図3に示すように、筐体11と、容器100が載置されるステージ12を備えている。撮像装置10は、さらに、ステージ12の下方であって筐体11内部に、撮像ユニット13と、撮像ユニット13を動かす走査機構16を備えている。撮像ユニット13には、撮像素子14と、光源15と、光学系 (図示せず) などが設けられている。

[0028] 撮像素子14は、例えば、CCD (Charge-Coupled Device) イメージセンサ、CMOS (Complementary MOS) イメージセンサなどである。光源15は、例えば、発光ダイオード (LED) などであり、ステージ12の下方から容器100を照明する。光源15は、撮像素子14を挟んで向かい合わせに置かれてもよい。光源15の各々は、例えば、R (赤)、G (緑)、B (青) の3色の波長の光を切り替えることで、R (赤)、G (緑)、B (青) の

いずれかの波長の光を選択的に出射してもよいし、白色光でも良い。なお、細胞へのダメージを減らすため、波長の長いR（赤）の光を用いるのが望ましい。撮像装置10では、光源15から出射した光は、容器100の底面を透過し、容器100の上面で反射した光の一部が容器100内の生体組織切片Tから単離した細胞Cを透過する。光学系は、容器100内の生体組織切片Tから単離した細胞Cを透過した光を用いて撮像素子14上に細胞Cの光学像を形成する。

[0029] 走査機構16は、例えば、モータなどの駆動源を含み、光学系の光軸と直交する方向（XY方向）に撮像ユニット13を動かす。走査機構16が撮像ユニット13をXY方向に動かすことで、撮像装置10は、撮像対象の範囲を変更することができる。走査機構16は、さらに、光学系の光軸方向（Z方向）に撮像ユニット13を動かしてもよく、撮像装置10は、走査機構16を用いることでフォーカス位置を調整してもよい。また、撮像装置10は、光学系に含まれるレンズの少なくとも1つを光軸方向に移動することでフォーカス位置を調整してもよい。

[0030] 制御装置30は、システム1を制御するコンピュータである。制御装置30は、図4に示すように、プロセッサ31と、メモリ32と、補助記憶装置33と、入力装置34と、出力装置35と、可搬記録媒体39を駆動する可搬記録媒体駆動装置36と、通信モジュール37と、バス38を備えている。補助記憶装置33、及び、可搬記録媒体39は、それぞれプログラムを記録した非一過性のコンピュータ読取可能記録媒体の一例である。

[0031] プロセッサ31は、例えば、CPU（Central Processing Unit）、GPU（Graphics Processing Unit）などを含む1つ以上の任意の処理回路である。プロセッサ31は、補助記憶装置33又は可搬記録媒体39に格納されているプログラムをメモリ32に展開して、その後、実行することで、後述する細胞単離支援方法などのプログラムされた処理を行う。

[0032] メモリ32は、例えば、RAM（Random Access Memory）などの任意の半導体メモリである。メモリ32は、プログラムの実行の際に、補助記憶装置

33又は可搬記録媒体39に格納されているプログラムまたはデータを記憶するワークメモリとして機能する。補助記憶装置33は、例えば、ハードディスク、フラッシュメモリ等の不揮発性のメモリである。補助記憶装置33は、主に各種データ及びプログラムの格納に用いられる。

[0033] 可搬記録媒体駆動装置36は、可搬記録媒体39を収容する。可搬記録媒体駆動装置36は、メモリ32又は補助記憶装置33に記憶されているデータを可搬記録媒体39に出力することができ、また、可搬記録媒体39からプログラム及びデータ等を読み出すことができる。可搬記録媒体39は、持ち運びが可能な任意の記録媒体である。可搬記録媒体39には、例えば、SDカード、USB (Universal Serial Bus) フラッシュメモリ、CD (Compact Disc)、DVD (Digital Versatile Disc)などが含まれる。

[0034] 入力装置34は、キーボード、マウスなどである。出力装置35は、表示装置、プリンタなどである。通信モジュール37は、例えば、外部ポートを経由して接続した撮像装置10と通信する有線通信モジュールである。通信モジュール37は、無線通信モジュールであってもよい。バス38は、プロセッサ31、メモリ32、補助記憶装置33等を、相互にデータの授受可能に接続する。

[0035] なお、図4に示す構成は、制御装置30のハードウェア構成の一例である。制御装置30はこの構成に限定されるものではない。制御装置30は、汎用装置であっても専用装置であってもよい。制御装置30は、例えば、専用設計の電気回路、例えば、ASIC (Application Specific Integrated Circuit)などを備えてもよい。また、制御装置30は、FPGA (Field-Programmable Gate Array)を用いて構成されてもよい。

[0036] 制御装置30は、撮像装置10へ撮像指示を送信する。また、制御装置30は、撮像装置10が生体組織切片Tから単離した細胞Cを撮像することによって生成した細胞画像を受信する。さらに、制御装置30は、撮像装置10から取得した細胞画像に基づいて、生体組織切片Tからの細胞単離の指標となる情報を算出し、その情報の時間的な変化を可視化してユーザに提供す

る。具体的には、制御装置30は、例えば、出力装置35である表示装置に可視化した情報を含む画面を表示してもよい。

[0037] クライアント端末40は、ノート型コンピュータである。クライアント端末50は、タブレット型コンピュータである。制御装置30は、クライアント端末（クライアント端末40、クライアント端末50）からの要求に応じて画面情報をクライアント端末へ出力してもよい。クライアント端末は、表示部を備えていればよく、例えば、デスクトップ型のコンピュータ、スマートフォンなどであってもよい。

[0038] 以上のように構成されたシステム1では、インキュベータ20内に配置された撮像装置10を用いることで、従来は得ることが困難であった生体組織切片Tから細胞が単離する過程の情報を、画像情報として取得することが可能である。システム1は、この特徴を利用することで、細胞の単離がよりよく行われるようユーザの作業を支援するものである。

[0039] 図5は、細胞の単離を支援する方法の一例を示したフローチャートである。図6は、撮像装置で取得した画像の一例を示した図である。図7は、細胞数とコントラストの変化を可視化したグラフの一例である。以下、図5から図7を参照しながら、システム1によっておこなわれる生体組織切片からの細胞単離を支援する方法（以降、細胞単離支援方法と記す。）について説明する。

[0040] システム1が行う細胞単離支援方法は、図5に示すように、画像取得（ステップS1）、指標算出（ステップS2）、可視化（ステップS3）の3つのステップを含み、これらのステップが細胞の単離が終了するまで（ステップS4YES）、繰り返される。

[0041] ステップS1の画像取得工程は、撮像装置10によって生成された、酵素を含む溶液に浸した生体組織切片Tから単離した細胞の画像を、制御装置30が取得する工程である。システム1では、容器100を載せた状態でインキュベータ20に配置された撮像装置10が制御装置30によって制御されることで、容器100をインキュベータ20から取り出すことなく生体組織

切片Tから単離した細胞の画像を取得することが可能である。図6には、撮像装置10で取得した、時間の経過とともに、生体組織切片Tから単離して溶液S中に溶けだした細胞Cの画像Mが示されている。

[0042] システム1は、生体組織切片T及び細胞Cを外気に晒すことなしに、また、ユーザが容器100に触れることなしに、生体組織切片Tから細胞Cが単離する過程を画像に記録することができる。即ち、ステップS1の画像取得工程によれば、細胞Cに与えるダメージを抑制し、且つ、コンタミネーションが生じるリスクも抑制しながら、細胞単離に関する情報を得ることができる。

[0043] なお、ステップS1の画像取得工程は、上述したような培養細胞の品質の観点以外に、インキュベータ20から容器を出し入れする必要がないことによるユーザの作業負担の軽減、コンタミネーションにより無駄になる細胞を減らすことによるコスト低減などの観点においても、容器100をインキュベータ20から取り出して顕微鏡等で観察する場合と比較して大きなメリットがある。

[0044] ステップS2の指標算出工程は、撮像装置10から取得した画像に基づいて制御装置30が細胞単離の指標を算出する工程である。生体組織切片Tから細胞Cの単離がどの程度進んでいるかを示す指標はこれまで存在していなかった。これは、従来は、生体組織切片Tから細胞Cが単離する過程の画像を取得する手段が存在しなかったことが大きな原因である。これに対して、システム1では、撮像装置10を用いて細胞単離過程の画像を取得することができる。このため、細胞単離過程の画像に基づいて、細胞単離の指標を算出することができる。

[0045] ステップS2の指標算出工程では、生体組織切片Tからの細胞単離の指標として、生体組織切片Tから単離した細胞数又はコントラストの少なくとも一方を、ステップS1で取得した画像から算出する。また、指標として単離した細胞数とコントラストの両方を算出することがより望ましい。なお、コントラストは、撮影装置10で取得した細胞画像のコントラストである。細

胞画像のコントラストは、細胞画像全体のコントラストであってもよく、予め決められた注目領域のコントラストであってもよい。

[0046] 単離した細胞数は、生体組織切片Tからの細胞の単離が進むにつれて増加し、単離が完了すると一定数に収束する。このため、細胞数は、細胞単離過程において、図7(a)に示すような変化を示す。一方、コントラストは、細胞単離によって生体組織切片Tのエッジが緩やかになることによって単離開始直後に低下するが、単離が進むにつれて画像中に占める細胞の割合が多くなりピントが合う領域が広がるため高くなる。即ち、コントラストは、図7(b)に示すように、単離が始まると、一旦低下した後に上昇を開始し、その後、単離が完了するとおよそ一定の範囲に収束する。なお、コントラストのこのような変化は、撮影装置10の被写界深度が生体組織切片Tよりも薄い細胞Cに合わせて設定されることに起因している。

[0047] 細胞数とコントラストは、図7に示すように、いずれも、細胞単離が進むことによって変化し、単離完了によって一定数又は一定範囲に収束するという特徴を有しているという点において、細胞単離の指標として好適である。

[0048] ステップS3の可視化工程は、ステップS2で算出された指標の履歴に基づいて、指標の時間的な変化を可視化する工程である。指標の履歴とは、繰り返し算出された、異なる時刻に対応する指標の集合のことである。ステップS3の可視化工程では、制御装置30は、例えば、指標の時間的な変化を示すグラフを、出力装置35又はクライアント端末に表示する。システム1によって、細胞単離の指標として算出された細胞数又はコントラストの少なくとも一方の時間的な変化が可視化されることで、ユーザは細胞単離の進捗を定量的な情報から把握することが可能となる。特に、指標の時間的な変化を示すグラフを表示することで、ユーザは、細胞単離の進捗をより直感的に且つ容易に把握することが可能となる。

[0049] なお、ステップS2では、細胞数とコントラストの両方を指標として算出することが望ましく、ステップS3では、これら両方の指標の時間的な変化を可視化することが望ましい。

[0050] 細胞数は、生体組織切片Tから単離した細胞の数であるから、量的なものである。細胞数は、単離の進行を直接的に表しているため、本来的には細胞単離の指標として最適である。しかしながら、撮影装置10の視野内から視野外へ細胞の流出、視野外から視野内へ細胞の流入などによって細胞単離とは無関係に細胞数は変動することがある。このような事態が生じた場合であっても、細胞の単離の進捗を正しく評価するためには、細胞数とは異なる指標を算出することが望ましい。

[0051] 細胞数とは異なる指標としては、コントラストを用いることが望ましい。コントラストは、細胞数とは異なり細胞単離を直接的に表すものではないため、細胞数との間に一定の関係性（例えば線形性）を有しない。細胞数と一定の関係性を有しないコントラストを、細胞数とともに指標として用いることで、細胞単離の指標のロバスト性を高めることができる。特に、コントラストは、細胞数とは異なり量的なものではなく画像の質的な特徴を示すものであるため、細胞数のように視野範囲の制限に起因した変動が生じにくい。つまり、細胞数を指標として用いた場合は量的に直接単離の進行を表すことが出来、コントラストを用いた場合には細胞の移動の影響を排除して単離の進行を表すことが出来る。従って、細胞数に基づく細胞単離の進捗評価とコントラストに基づく細胞単離の進捗評価の両方が同時に信頼の低いものになってしまうという事態が生じにくいという点で、コントラストは細胞数とともに使用する指標として優れている。

[0052] 以上のように、システム1では、図5に示す処理を行うことで、細胞単離の進捗を評価するための情報を可視化することができる。特に、細胞単離の指標として細胞数とコントラストの両方を利用することで、ユーザに高いロバスト性を有する情報を提供することができる。ユーザは、システム1によって提供された情報から細胞単離の進捗、特に、細胞単離の完了、を客観的に把握することができる。このため、ユーザは、経験や勘に頼ることなく、細胞単離の完了を知ることが可能であり、単離工程を必要最小限の時間で終了することができる。従って、システム1によれば、単離工程が不必要に長

時間とならないため、細胞へのダメージを抑制しながら確実に細胞を単離することを支援することが可能であり、培養細胞を効率よく得ることができる。また、客観的に細胞単離の完了を把握することができるため、作業者によらず安定した品質の培養細胞を得ることが可能となり、培養細胞を用いた実験や移植の信頼性が向上するといったメリットもある。

[0053] 以下、システム 1 が行う細胞単離支援方法の具体例を説明する。

[第 1 の実施形態]

図 8 は、本実施形態に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。図 9 及び図 10 は、本実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面例を示した図である。以下、図 8 から図 10 を参照しながら、システム 1 が行う第 1 の実施形態に係る細胞単離支援方法について説明する。

[0054] 図 8 に示す処理が開始されると、システム 1 は、まず、細胞単離支援方法の設定を取得する（ステップ S 11）。ここでは、ユーザが入力装置 34 を用いて入力した情報に基づいて制御装置 30 が細胞単離支援方法の設定を行う。設定項目は、例えば、容器 100 内の生体組織切片 T を構成する細胞種、溶液 S 中の蛋白質分解酵素の名称及び濃度、撮像装置 10 で行うタイムラプス撮影のインターバル、細胞単離の指標としてどのパラメータ（細胞数、コントラスト）を用いるかなどである。

[0055] 次に、システム 1 は、ステップ S 11 で行われた設定に従って、画像を取得する（ステップ S 12）。ここでは、制御装置 30 がステップ S 11 で設定されたインターバルで撮像装置 10 に撮像指示を送信し、撮像指示を受信した撮像装置 10 が容器 100 内の生体組織切片 T から単離した細胞を撮像し、制御装置 30 が撮像装置 10 で生成された画像である細胞画像を撮像装置 10 から受信する。

[0056] その後、システム 1 は、ステップ S 12 で取得した画像から生体組織切片 T から単離した細胞数と画像のコントラストを算出する（ステップ S 13）。ここでは、制御装置 30 が画像を解析することで、細胞数とコントラストの両方を算出する。さらに、制御装置 30 は、算出した細胞数とコントラ

トを撮像時刻と対応付けて、細胞単離の指標として補助記憶装置 33 に格納する。

[0057] 細胞数とコントラストが算出されると、システム 1 は、グラフを出力装置 35 に表示する（ステップ S 14）。ここでは、制御装置 30 は、ステップ S 13 で算出された細胞数とコントラストを指標の履歴として撮像時刻とともに補助記憶装置 33 から読み出す。そして、制御装置 30 は、読み出した指標の履歴に基づいて、細胞単離の指標の時間的な変化を可視化する。具体的には、細胞数の時間的な変化を示すグラフ G 1 とコントラストの時間的な変化を示すグラフ G 2 を作成し、図 9 に示すように、画面 35 a 上に表示する。これにより、ユーザは、細胞単離の進捗を、グラフを参照することで容易に把握することができる。

[0058] さらに、システム 1 は、最新の画像を表示する（ステップ S 15）。ここでは、制御装置 30 は、撮像装置 10 から受信した細胞画像のうちの最新の撮像時点の画像 M 1 を、図 9 に示すように、画面 35 a 上にグラフ G 1 及びグラフ G 2 とともに表示する。これにより、従来はインキュベータ 20 から容器 100 を取り出して行われていた画像の確認を、インキュベータ 20 から容器 100 を取り出すことなく行うことができる。また、グラフを用いた定量的な進捗評価に加えて、従来から行われていた画像による進捗評価を併用することで、ユーザが安心して細胞単離の完了を判断することができる。

[0059] さらに、システム 1 は、ユーザによる入力を監視し（ステップ S 16）、入力を検出すると（ステップ S 16 YES）、選択画像を表示する（ステップ S 17）。ステップ S 17 では、制御装置 30 は、ユーザが矢印 A を用いて選択したグラフ G 1 またはグラフ G 2 上の位置を特定し、その位置が表す撮像時刻に応じた画像を選択画像 M 2 として選択し、図 10 に示すように選択画像 M 2 を例えば、ポップアップ形式で表示する。このように、グラフの選択された位置に応じた画像を表示することで、ユーザは、細胞単離過程の任意の時刻における画像を確認することができる。従って、最新の画像 M 1 と選択画像 M 2 を比較することで、細胞単離の進捗を画像の変化から確認す

ることができる。また、特定の時刻において細胞数の値やコントラスト値が異常を示している疑いがある場合に、ユーザはその時刻の細胞画像を確認することで、異常が生じているかどうかを確認することが出来、異常が生じていた場合は細胞単離を中止するなどの行動をとることが出来る。

[0060] システム1は、以上の処理をユーザから終了指示があるまで繰り返す（ステップS18）。以上のように、システム1は、図8に示す本実施形態に係る細胞単離支援方法を行うことで、ユーザに細胞単離の進捗を客観的に判断するための情報を提供することができる。これにより、ユーザは、細胞の単離完了を確実に且つ即座に把握することが可能となる。従って、システム1によれば、細胞へのダメージを抑制しながら確実に細胞を単離することを支援することが可能である。

[0061] [第2の実施形態]

図11は、本実施形態に係る細胞単離支援方法のフローチャートである。図12は、本実施形態に係る細胞単離支援方法で表示される画面例を示した図である。以下、図11及び図12を参照しながら、システム1が行う第2の実施形態に係る細胞単離支援方法について説明する。なお、本実施形態に係る細胞単離支援方法は、システム1が細胞単離の完了を判定し、その完了を報知する点が、第1の実施形態に係る細胞単離支援方法と大きく異なっている。

[0062] 図11に示す処理が開始されると、システム1は、まず、細胞単離支援方法の設定を取得する（ステップS21）。ステップS21の処理は、ステップS11の処理と同様である。ただし、ステップS21では、設定項目として、さらに、細胞単離の完了を判断するための情報を含んでもよい。

[0063] 次に、システム1は、画像を取得し（ステップS22）、取得した画像から細胞数とコントラストを細胞単離の指標として算出し（ステップS23）、グラフと最新の画像を表示する（ステップS24、ステップS25）。これらの処理は、図8のステップS12からステップS15の処理と同様である。

- [0064] その後、システム1は、ステップS23で取得した指標が収束したか否かを判定し（ステップS26）、収束したと判定すると細胞単離完了を報知する（ステップS27）。ステップS26では、制御装置30は、指標の時間的な変化が収束したか否かを判定し、指標の時間的な変化が収束したと判定した場合に、細胞単離が完了したと判定する。即ち、制御装置30は、指標の時間的な変化に基づいて、細胞単離が完了したか否かを判定する。そして、ステップS27では、制御装置30は、ステップS26の判定結果に基づいて、細胞単離の完了を報知する。より具体的には、制御装置30は、例えば、図12に示すように、画面35a上に細胞単離の完了を表示することで、細胞単離の完了を報知してもよい。これにより、ユーザが細胞単離の完了を見逃してしまう可能性を低く抑えることができる。
- [0065] システム1は、さらに、ユーザによる入力を監視し（ステップS28）、入力を検出すると（ステップS28YES）、選択画像を表示する（ステップS29）。ステップS28とステップS29の処理は、ステップS16とステップS17の処理と同様である。
- [0066] システム1は、以上の処理をユーザから終了指示があるまで繰り返す（ステップS30）。以上のように、システム1は、図11に示す本実施形態に係る細胞単離支援方法を行うことによっても、第1の実施形態に係る細胞単離支援方法を行った場合と同様に、細胞へのダメージを抑制しながら確実に細胞を単離することを支援することが可能である。また、図11に示す本実施形態に係る細胞単離支援方法では、システム1によって細胞の単離完了の判断が行われるため、ユーザの不注意による細胞単離完了の見逃しを抑制することができる。
- [0067] 上述した実施形態は、発明の理解を容易にするための具体例を示したものであり、本発明の実施形態はこれらに限定されるものではない。上述した実施形態の一部を他の実施形態に適用しても良い。細胞単離支援方法、システム、及び、コンピュータ可読媒体は、特許請求の範囲の記載を逸脱しない範囲において、さまざまな変形、変更が可能である。

[0068] 上述した実施形態では、細胞数とコントラストの両方を細胞単離の指標として算出する例を示したが、これらの少なくとも一方を算出してもよい。また、第2の実施形態では、指標の時間的な変化に基づいて細胞単離の完了を判定する例を示したが、指標の時間的な変化に基づいて細胞単離の進捗状況を判定してもよい。細胞単離の完了は、細胞単離の進捗状況の一例である。細胞単離の進捗状況は、細胞単離の完了の他に、例えば、細胞単離の開始などを含んでもよい。例えば、コントラストが低下し、且つ、細胞数が増加している状況を根拠にして、細胞単離の開始を判定してもよい。

[0069] なお、本明細書において、「細胞単離の進捗状況」とは、生体組織切片から細胞がどの程度単離しているかを意味する。細胞単離の開始や完了は細胞単離の進捗状況の一例である。細胞単離の進捗状況が、指標（細胞数、コントラスト）の時間的な変化に基づいて算出される例を示したが、細胞単離の進捗状況は、細胞数が生体組織切片の体積又は面積に対しどの程度増えているか、コントラストがどの程度増減しているか、生体組織切片の体積又は面積がどの程度減少しているかなどに基づいて、算出されてもよい。進捗状況の報知方法は、例えば、図12に示すように、ポップアップ形式で完了を報知する方法の他に、「n%進行中」などのテキストデータで表しても良く、円グラフなどで進捗状況を画面上に表示することで、進捗状況を報知してもよい。

[0070] 指標の可視化、及び、進捗状況の報知以外に、細胞単離途中経過についての情報を様々な方法で利用者に提供してもよい。例えば、細胞数が生体組織切片の質量や面積に対しどの程度増えているか、生体組織切片の面積がどの程度減少しているかなどを示すグラフを表示してもよい。また、ユーザが作成した細胞単離理想曲線(細胞数又はコントラスト - 時間)グラフを実際の細胞数(コントラスト)のグラフと重ねて表示してもよく、理想曲線上の細胞数(コントラスト)に対する実際の細胞数(コントラスト)の割合を表示してもよい。さらに、ユーザがあらかじめ指定した特定の時点での画像や各指標の値を表示してもよい。理想曲線については、ユーザが実験を積み重ね、

ユーザの環境における細胞単離にかかる時間と細胞数またはコントラストとの関係を導き出し、各自で作成すれば良い。また、ユーザがあらかじめ指定する時点については、細胞単離開始後6時間後、12時間後など、各自で自由に値を設定してもよい。

[0071] 上述した実施形態では、コントラストを細胞単離の指標として算出する例を示したが、コントラストとしては、例えば、Michelsonコントラスト $[(L_{max} - L_{min}) / (L_{max} + L_{min})]$ やコントラスト比 L_{max} / L_{min} などを用いればよい。なお L_{max} , L_{min} は、Michelsonコントラストでは画像中の輝度値の最大値と最小値、コントラスト比では L_{max} は白を表示したときの輝度、 L_{min} は黒を表示したときの輝度を表す。なお、コントラストの例はこれらに限られるものではなく、画像のコントラストを表す概念ならば特に限定されない。例えば、コントラストは、Brenner Gradientを用いて算出してもよい。Brenner Gradientは、近隣画素の画素値の差分の二乗を所定領域内で積分したものである。

[0072] また、第2の実施形態では、細胞単離の完了を報知する例を示したが、細胞単離の進捗状況が判定される場合であれば、細胞単離の進捗状況の判定結果に基づいて細胞単離の進捗状況が報知されてもよい。また、報知方法の具体例として画面表示を例示したが、ユーザが認識できる方法であれば、報知方法は画面表示に限らない。例えば、音や振動によって報知してもよい。さらに、例えば、細胞単離の完了が判断されると、制御装置30は、細胞単離の完了を通知するメールを予め登録されたメールアドレスに送信してもよい。

[0073] 加えて、ユーザが所有する携帯端末であるスマートフォン、タブレット型コンピュータなどにワイヤレス通信で通知を送ることで、細胞単離の完了を知らせても良い。これにより、ユーザはインキュベータ付近又は作業室にいなくても細胞単離の完了を知ることが出来る。ワイヤレス通信は、例えば、WiFi、LTE、NFC、Bluetooth（登録商標）などを用いて行われてよく、通知は、PAN、LAN、WANなどの任意のネットワークを経由して伝達されてもよい。

[0074] 上述した実施形態では、生体組織切片のうち一部を撮像する例を示したが、図13に示す画像M3のように、生体組織切片T全体を撮像することとしても良い。この場合、撮像装置にラインセンサを設け、生体組織切片Tをスキャンする構成が望ましい。また、撮影装置の視野よりも大きな生体組織切片Tを撮像する場合には、生体組織切片Tの複数の位置に視野を移動させて複数回撮像を行い、得られた複数の画像を貼り合わせることで生体組織切片T全体の画像を取得してもよい。さらに、撮像装置は、複数の撮像ユニットを、具体的には、生体組織切片T全体を撮像可能な撮像ユニットと、生体組織切片Tの一部を撮像する撮像ユニットとを、搭載しても良い。なお、全体撮像を行う場合の処理の流れは、図5、8、11等に記載のフローチャートと同様であるため省略する。

[0075] (変形例)

上述した実施形態では、生体組織切片の一部を撮像して細胞単離の様子を観察している。これは、切片のどの場所においても細胞単離がほとんど均一に進む前提の下で特に有益である。このような場合には、上述した実施形態のように、切片内のユーザが最も撮像に適していると判断した場所を撮像すればよい。また、図14に示すように、画像取得処理(ステップS1)の前に、生体組織切片全体の画像を取得して、生体組織切片の厚み評価を行っても良い(ステップS31)。

[0076] 生体組織切片の厚みの場所による違いが大きいと、場所によって単離の進み方に差が出てしまう。具体的には、同じ表面積であれば、厚みが厚く溶かす細胞の量(体積)が多いほど単離にかかる時間が長くなり、厚みが薄く溶かす細胞の量(体積)が小さいほど単離にかかる時間が短くなる。このため、通常、生体組織切片の厚みが場所によって大きく異なるように切片を用意するが、経験のない作業員では用意した生体組織切片の厚みが場所によって大きくなってしまふ場合がある。このような場所によって厚みの異なる生体組織切片の一部を撮像することによって算出された指標は、細胞単離の指標として十分な信頼性を有しない場合がある。

[0077] そこで、ステップS 3 1では、生体組織切片全体の撮像を行い、フォーカスの合い方を確認することで、予め生体組織切片の厚み評価を行っても良い。具体的には、薄い部分ならばフォーカスが良く合い、厚い部分ならばフォーカスが悪くなる。全体としてフォーカスの合い方が均一であれば、厚みは十分に均一であると評価することができる。また、生体組織切片全体を撮像する代わりに、生体組織切片の一部を撮像し、撮像ユニットを動かして生体組織切片の別の場所を撮像してもよく、各場所の画像を貼り合わせることで生体組織切片全体の画像としても良い。なお、生体組織切片の厚み評価の結果を用いて細胞単離の信頼度を算出し、表示しても良い。

[0078] また、上述した実施形態では、指標の各時刻における値をプロットしたグラフを表示することで指標の時間的な変化を可視化する例を示したが、指標の時間的な変化の可視化方法は、この例に限らない。例えば、図15に示すように、指標の時間微分の各時刻における値をプロットしたグラフ（グラフG3、グラフG4）を画面35bに表示してもよい。グラフは折れ線グラフ等を用いればよい。この場合、制御装置30は、値が0に収束したか否かを判定し、値が0に収束したときに細胞単離が完了したと判定してもよい。また、異なる撮像時刻での画像同士の画素値の差分を指標として用いてもよい。画像の画素値の差分の時間変化も、細胞数やコントラストの時間微分と同様に細胞単離の完了の判断基準として用いることが可能である。具体的には、細胞単離が進むと画像中の生体組織切片及び細胞の動きが小さくなっていくため、画素値の差分は小さくなる。また、単離した細胞数の代わりに画像上における生体組織切片の面積を指標として用いてもよい。画像から切片面積の増減を求める方法としては、異なる撮像時点での2画像間のコントラストの変化を求める方法や、機械学習を用いて切片面積を求めるよう学習させた学習済みモデルを用いる方法がある。切片の面積は細胞数と同じ理由で指標として適切である。切片全体が画像に収まる場合には、単離した細胞のように視野内外への流入出が起こりにくいという点で指標として優れている。

[0079] なお、指標の時間的な変化の可視化方法としては、グラフ以外に、細胞数

やコントラストの数値の履歴を表示する方法、細胞数やコントラストの数値を随時更新して表示する方法、リアルタイムでの撮像画像に色覚的情報を重畳する方法などが考えられる。具体的には、細胞単離の終了が近い場合は黄色、細胞単離が終了している場合には赤色などの色覚的情報を重畳すればよい。これにより、色の変化によって指標の時間的な変化が可視化される。

[0080] また、システム1は、インキュベータ20に置かれた培養細胞の監視にも利用可能である。システム1を培養細胞の監視にも利用することで、細胞培養の準備工程と細胞培養の実施工程の両方を同一システムを用いて行うことができる。このため、システム1を有効に活用してコスト面と作業面の両面で高い効率を実現することができる。具体的には、作業者は、インキュベータ20内で細胞単離を終えた後に容器を取り出し、遠心分離機等を用いて他の物質から単離細胞の洗浄や分離、抽出を行う。抽出した細胞は、フローセルなどを通過させることでカウントし、培養液を添加した培養容器に播種する。その後単離した細胞が入った培養容器をインキュベータ20内にセットし、システム1を用いて培養細胞の監視を行う。

[0081] また、酵素量、細胞種、生体組織切片種類、及び切片体積と、細胞単離にかかる時間、及び得られる細胞数と、を紐づけてデータベースに保存しておいても良い。ユーザは細胞単離開始前に、例えば、生体組織切片体積と種類をデータベースに入力して、細胞単離終了までにかかると予測される時間の情報を予め呼び出し、情報を把握しておいても良い。ユーザは細胞単離終了後、データベースに自らの実験結果を入力し、情報を追加してよい。これにより、ユーザは細胞単離にかかる時間や得られる細胞数を予め予測することができ、効率的に細胞単離を行うことが出来る。

[0082] また、細胞種や酵素量などのパラメータとともに細胞単離に要した時間を記録することで、細胞単離に要する時間を予測する学習モデルを作成するためのデータを得ることができる。そして、集めたデータを用いてパラメータと時間の関係を学習することで、細胞単離に要する時間を予測する学習モデルを構築することが可能となる。本実施形態に係る学習モデルは、例えば二

ューラルネットワークを用いて作成したモデルであり、例えば細胞種や酵素量、組織切片の体積や質量が入力されることで、生体組織切片からの細胞単離に要する時間を出力する。例えば、図16に示すように、ユーザは所望の生体組織切片からの細胞単離を開始する前に、該当する細胞種に関する学習モデルを選択し、細胞単離に要する時間を予め予測することができる（ステップS41）。学習モデルは外部記憶装置や外部端末、クラウドから制御装置にダウンロードされても良いし、予め制御装置に記憶されていても良い。ユーザは選択した学習モデルに細胞種や酵素量、組織切片の体積や質量などの情報を入力することで、学習モデルを用いて細胞単離に要する時間の情報を得た状態で細胞単離を開始することが出来る。また出力情報として細胞単離終了後の細胞数を学習モデルに学習させれば、予測細胞数を出力することもできる。このようにして細胞単離にかかる時間や得られる細胞数を予測することにより、ユーザは細胞培養を含めた全体の実験プロトコルを計画しやすくなる。なおユーザは、自らが得た細胞単離の結果を、使用した学習モデルに再学習させることもできる。

[付記1]

生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、
酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、
前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数又は前記細胞画像のコントラストの少なくとも一方を、前記細胞画像から算出する工程と、
前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、
を含む
ことを特徴とする方法。

[付記2]

付記1に記載の方法において、
前記画像から算出する工程は、前記指標として前記細胞数と前記細胞画像

のコントラストの両方を算出する工程を含む
ことを特徴とする方法。

[付記3]

酵素を含む溶液に浸した生体組織切片を撮影する撮像装置と、
前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画
像を取得する制御装置と、を備え、

前記制御装置は、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単
離した細胞数又は前記細胞画像のコントラストの少なくとも一方を、取得し
た前記細胞画像から算出し、

算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化す
る
ことを特徴とするシステム。

[付記4]

付記3に記載のシステムにおいて、

前記細胞画像からの算出は、前記指標として前記細胞数と前記細胞画像の
コントラストの両方を算出する
ことを特徴とするシステム。

[付記5]

コンピュータに、

酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞
画像を取得し、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離
した細胞数又は前記細胞画像のコントラストの少なくとも一方を、取得した
前記細胞画像から算出し、

算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化す
る
処理を実行させることを特徴とするプログラムを記録したコンピュータ可読

媒体。

[付記6]

付記5に記載のコンピュータ可読媒体において、
前記細胞画像からの算出は、前記指標として前記細胞数と前記細胞画像の
コントラストの両方を算出する
処理を実行させることを特徴とするプログラムを記録したコンピュータ可読
媒体。

符号の説明

[0083]	1	システム
	10	撮影装置
	14	光源
	15	撮像素子
	20	インキュベータ
	30	制御装置
	31	プロセッサ
	32	メモリ
	35	出力装置
	35 a、35 b	画面
	40、50	クライアント端末
	100	容器
	C	細胞
	G1～G4	グラフ
	M、M1～M3	画像
	S	溶液
	T	生体組織切片

請求の範囲

- [請求項1] 生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、
酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、
前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、前記細胞画像から算出する工程と、
前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む
ことを特徴とする方法。
- [請求項2] 生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、
酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、
前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記細胞画像のコントラストを、前記細胞画像から算出する工程と、
前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む
ことを特徴とする方法。
- [請求項3] 生体組織切片からの細胞単離を支援する方法であって、
酵素を含む溶液に浸した前記生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得する工程と、
前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数及び前記細胞画像のコントラストを、前記細胞画像から算出する工程と、
前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する工程と、を含む
ことを特徴とする方法。
- [請求項4] 請求項1から請求項3のいずれか1項に記載の方法において、
前記指標の時間的な変化を可視化する工程は、前記指標の時間的な

変化を示すグラフを表示する工程を含む
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、さらに、
前記細胞画像のうちの最新の撮像時点での画像を表示する工程を含む
ことを特徴とする方法。

[請求項6] 請求項4に記載の方法において、さらに、
前記細胞画像のうちの前記グラフの選択された位置が表す撮像時刻
に応じた画像を表示する工程を含む
ことを特徴とする方法。

[請求項7] 請求項1から請求項3のいずれか1項に記載の方法において、さら
に、
前記指標の時間的な変化に基づいて、前記細胞単離の進捗状況を判
定する工程と、
前記細胞単離の進捗状況の判定結果に基づいて、前記細胞単離の進
捗状況を報知する工程と、を含む
ことを特徴とする方法。

[請求項8] 請求項7に記載の方法において、さらに、
前記細胞単離の進捗状況を判定する工程は、前記指標の時間的な変
化に基づいて、前記細胞単離が完了したか否かを判定する工程を含み
、
前記細胞単離の進捗状況を報知する工程は、前記細胞単離の進捗状
況の判定結果に基づいて、前記細胞単離の完了を報知する工程と、を
含む
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、
前記細胞単離が完了したか否かを判定する工程は、
前記指標の時間的な変化が収束したか否かを判定する工程と、

前記指標の時間的な変化が収束したと判定した場合に、前記細胞単離が完了したと判定する工程と、を含むことを特徴とする方法。

[請求項10]

請求項7に記載の方法において、

前記細胞単離の進捗状況の判定結果に基づいた、前記細胞単離の進捗状況の報知が、端末への無線通信で行われることを特徴とする方法。

[請求項11]

請求項7に記載の方法において、

前記細胞単離の進捗状況を報知する工程は、前記細胞単離の進捗状況を示す画像またはテキストを視覚的に表示する工程を含むことを特徴とする方法。

[請求項12]

請求項1から請求項3のいずれか1項に記載の方法において、さらに、

データベースまたは学習済みモデルを用いて前記細胞単離の完了に要する時間を予測し表示する工程を含むことを特徴とする方法。

[請求項13]

酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞を撮像する撮像装置と、

前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した前記細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、

前記制御装置は、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、取得した前記細胞画像から算出し、

算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する

ことを特徴とするシステム。

[請求項14]

酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞を撮像する撮像装置と、

前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した前記細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、

前記制御装置は、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、

算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する

ことを特徴とするシステム。

[請求項15]

酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞を撮像する撮像装置と、

前記撮像装置から前記生体組織切片から単離した前記細胞の画像である細胞画像を取得する制御装置と、を備え、

前記制御装置は、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数及び前記細胞画像のコントラストを、取得した前記細胞画像から算出し、

算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する

ことを特徴とするシステム。

[請求項16]

コンピュータに、

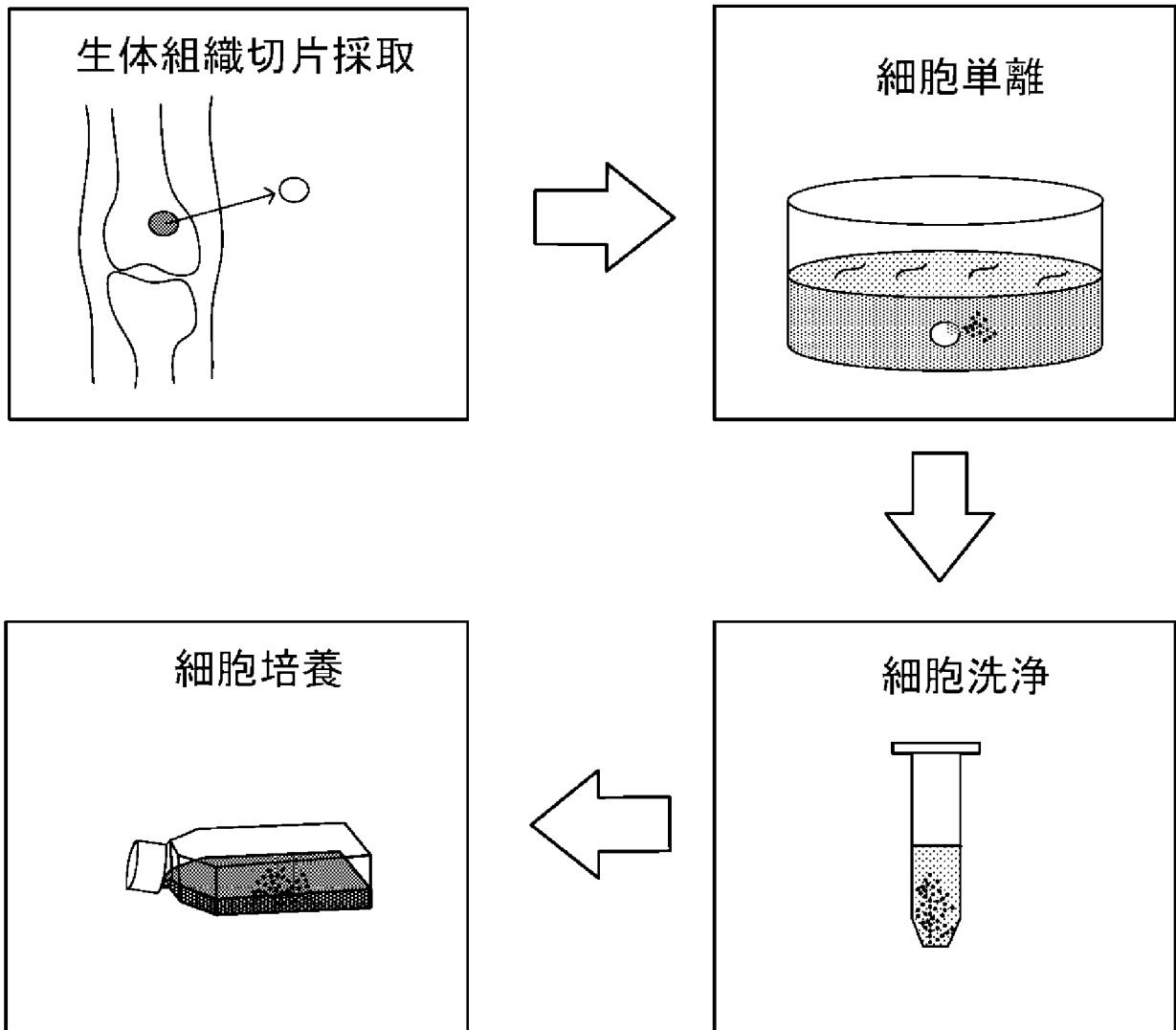
酵素を含む溶液に浸した生体組織切片から単離した細胞の画像である細胞画像を取得し、

前記生体組織切片からの細胞単離の指標として前記生体組織切片から単離した細胞数を、取得した前記細胞画像から算出し、

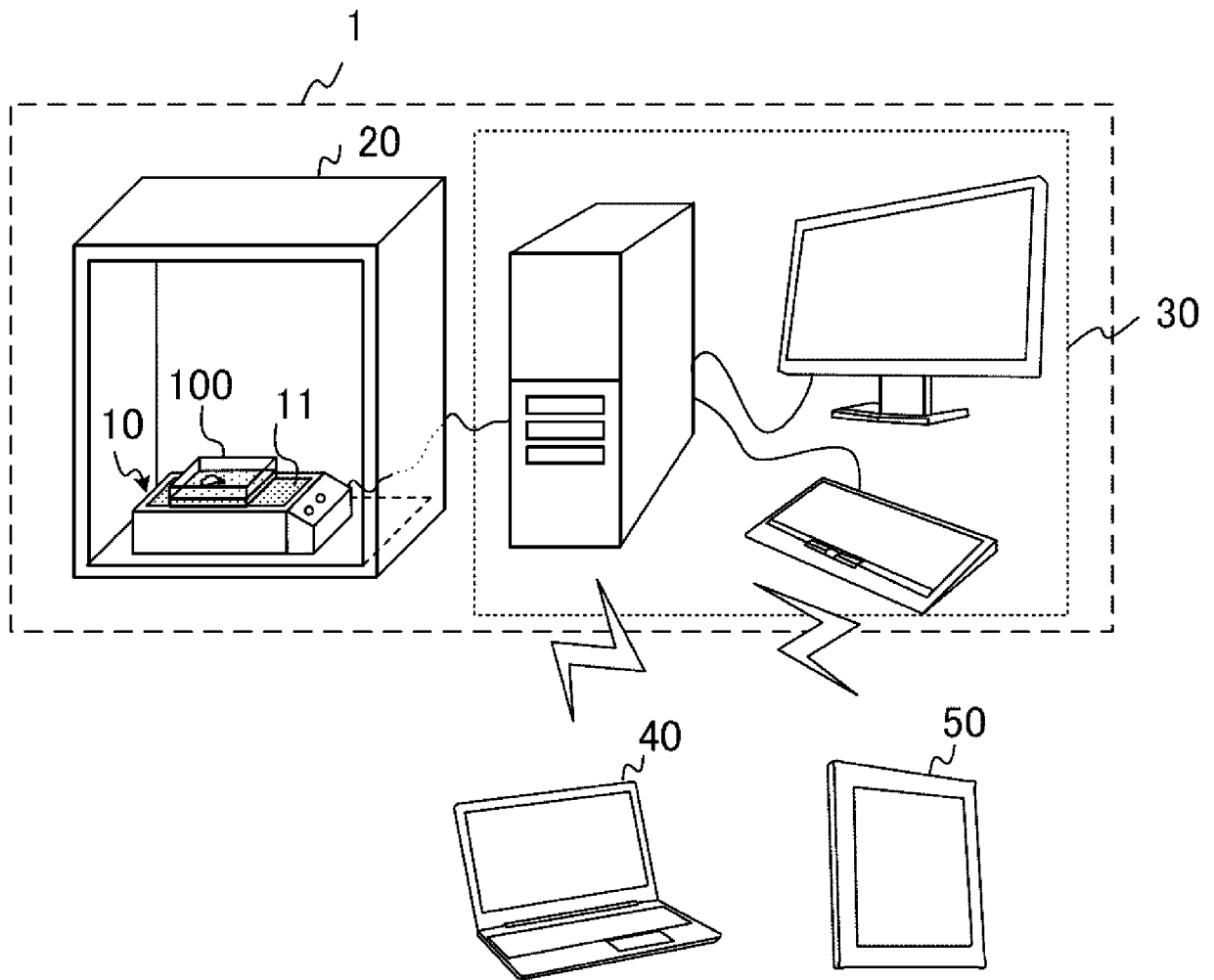
算出した前記指標の履歴に基づいて、前記指標の時間的な変化を可視化する

処理を実行させることを特徴とするプログラムを記録したコンピュータ可読媒体。

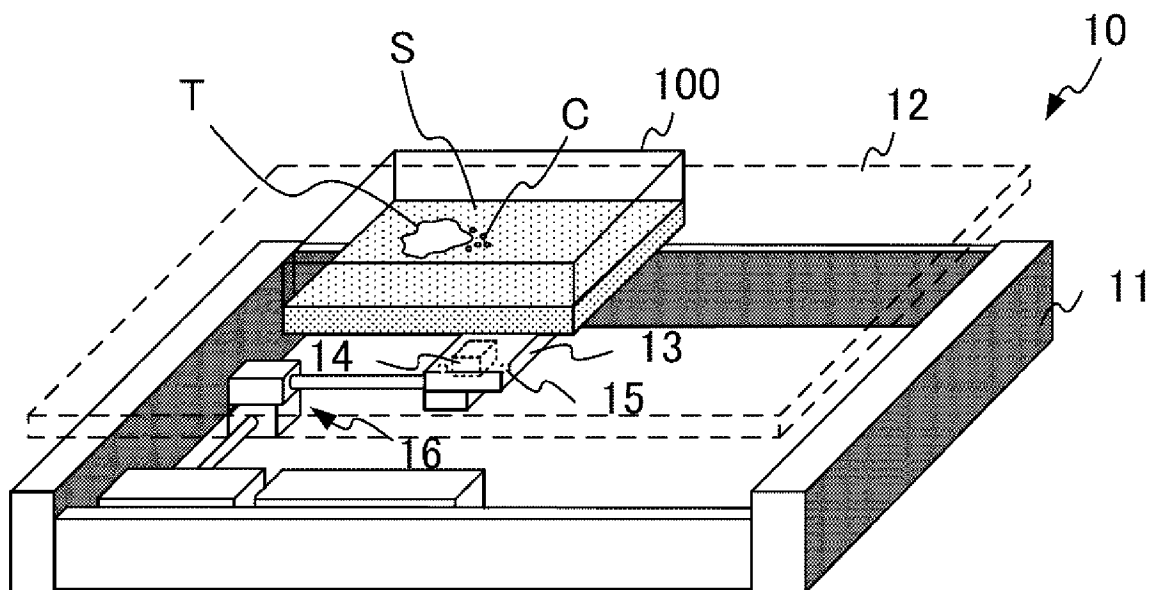
[図1]



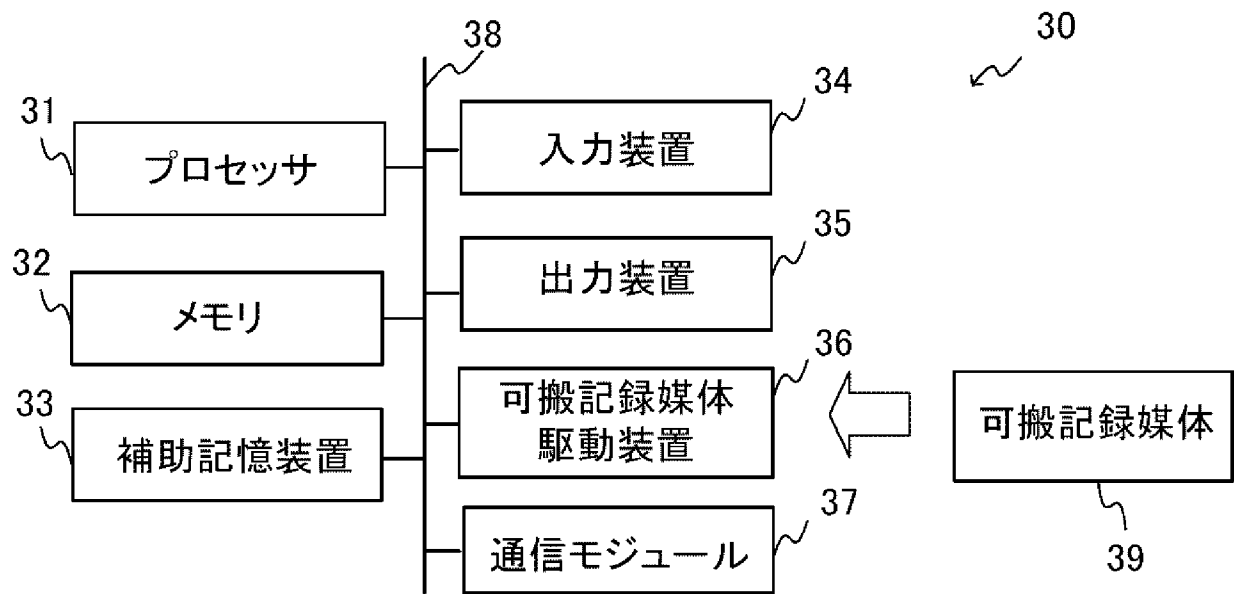
[図2]



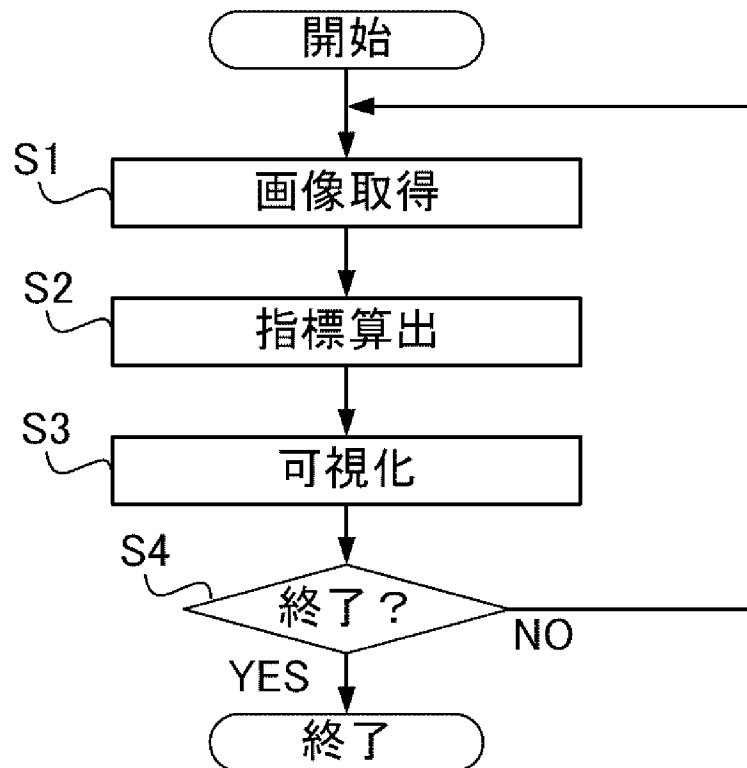
[図3]



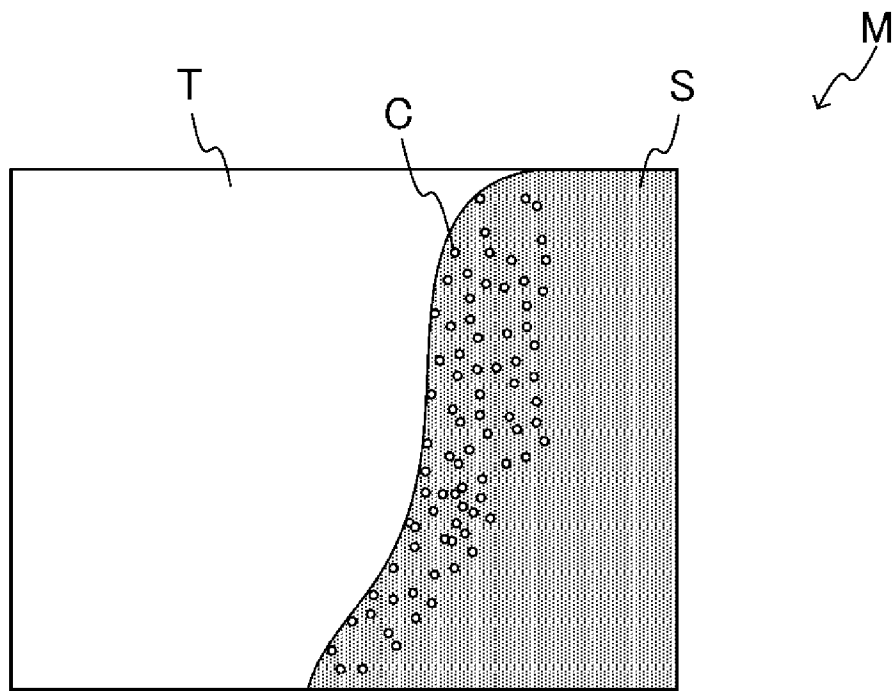
[図4]



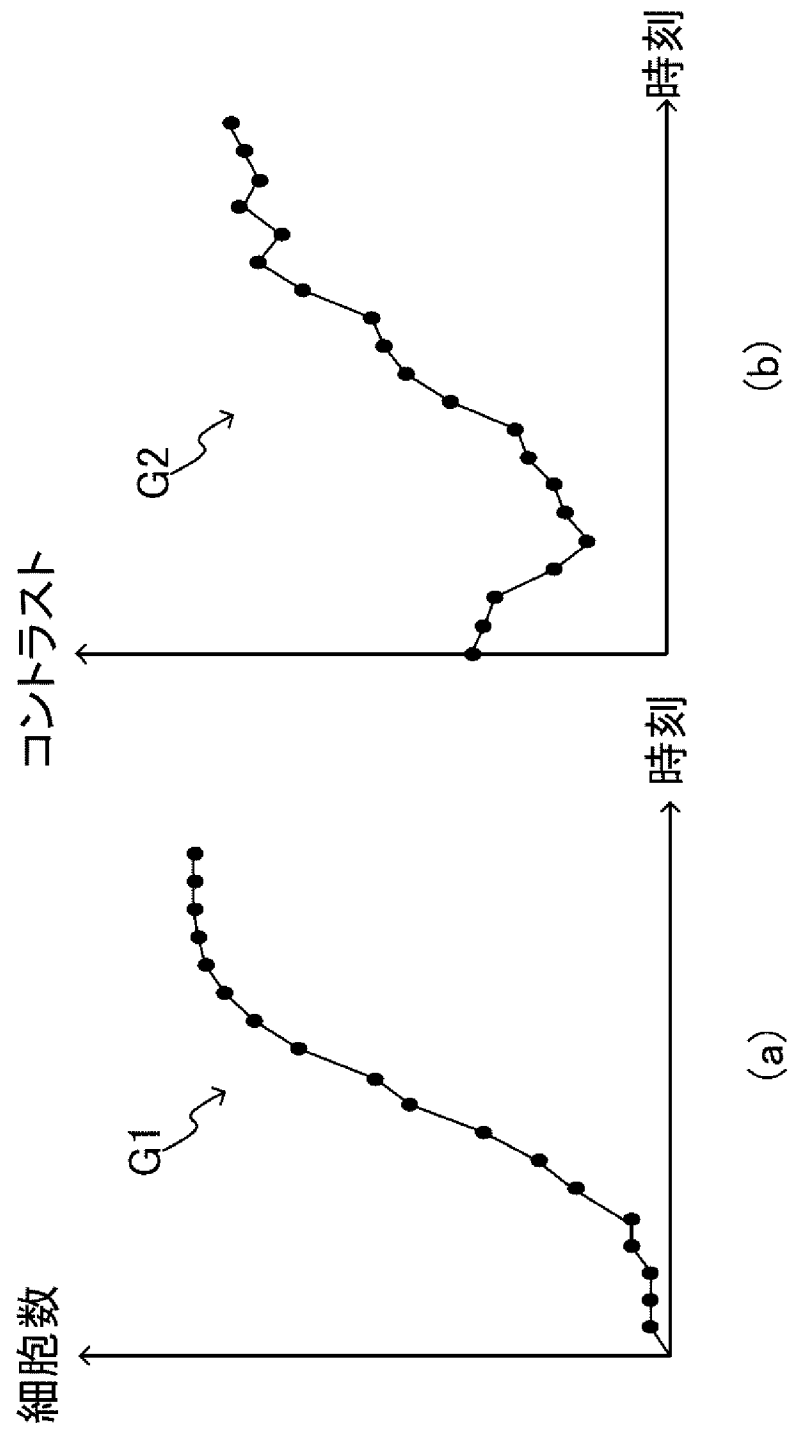
[図5]



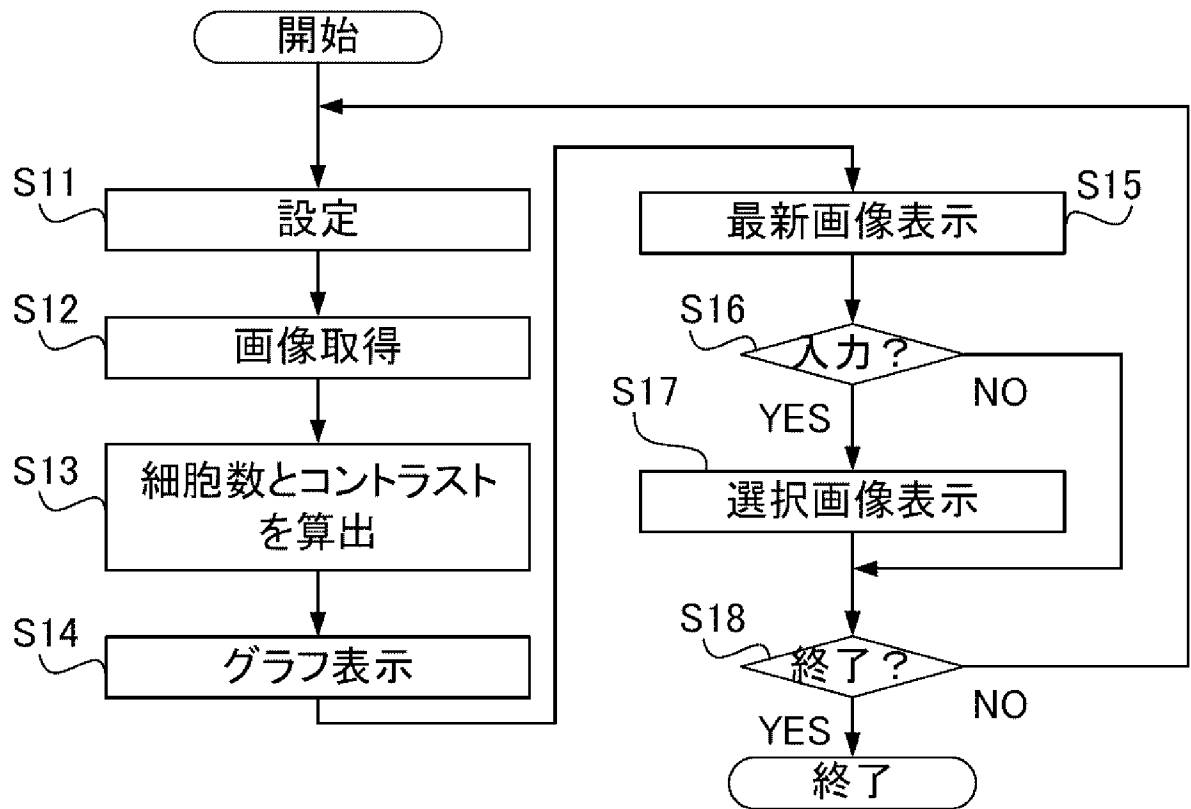
[図6]



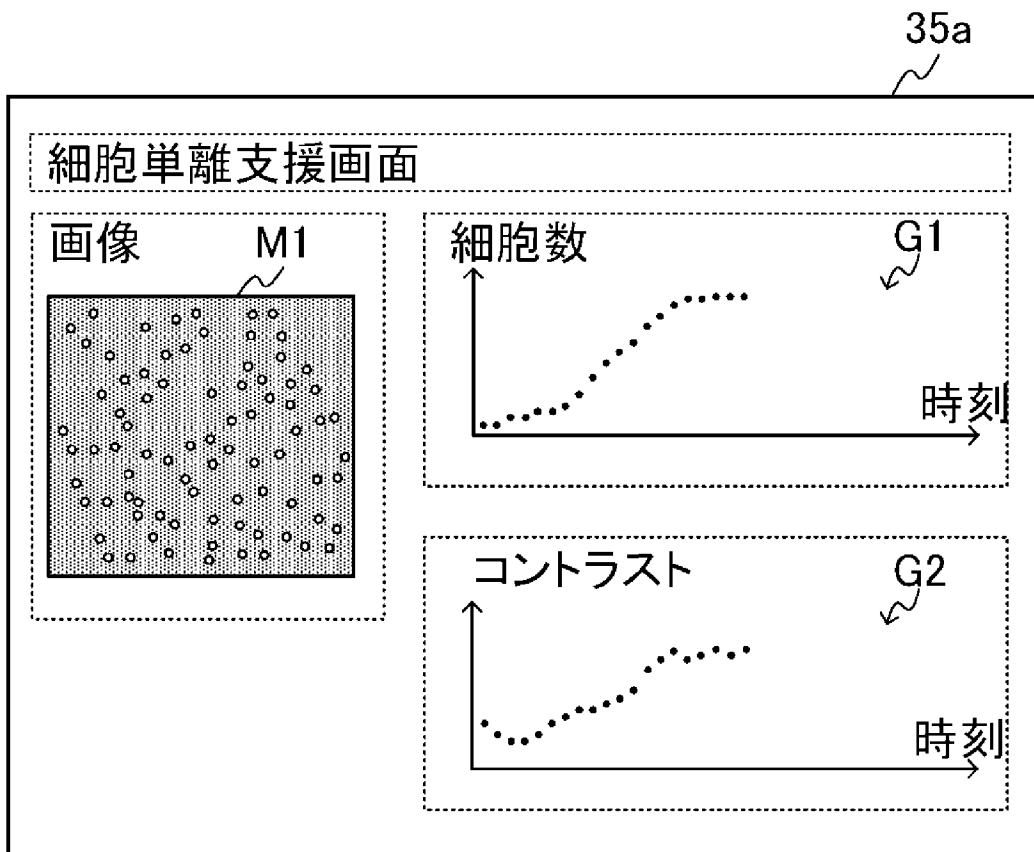
[図7]



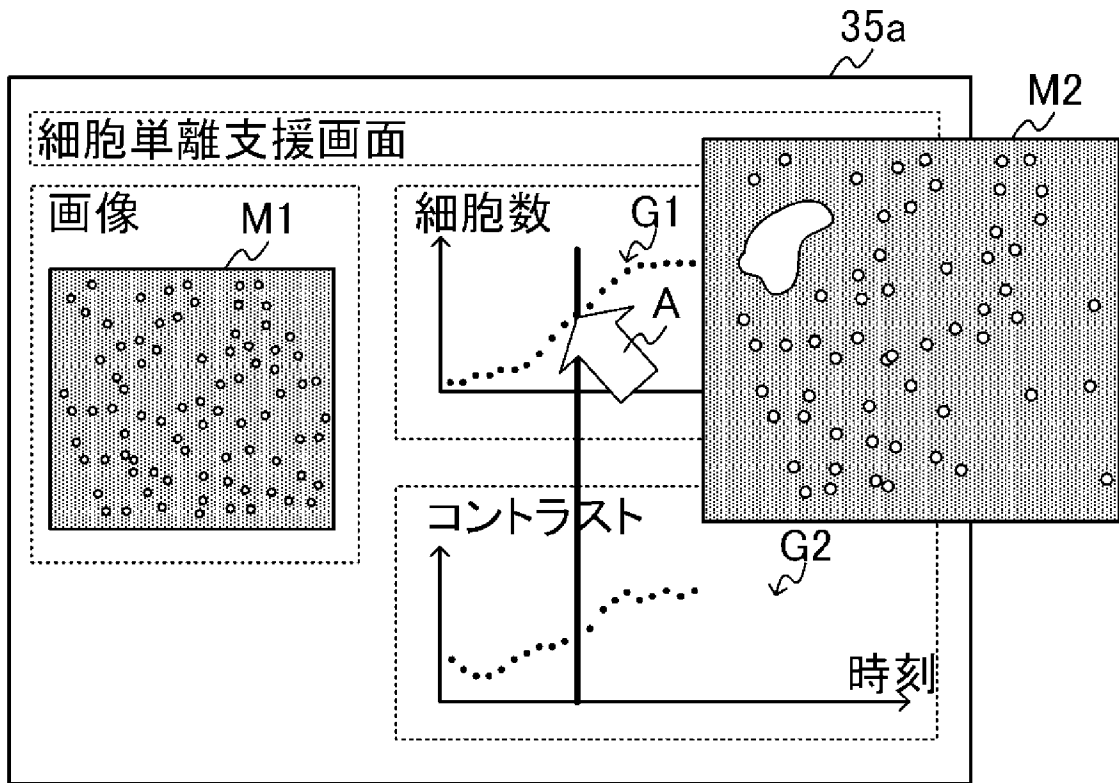
[図8]



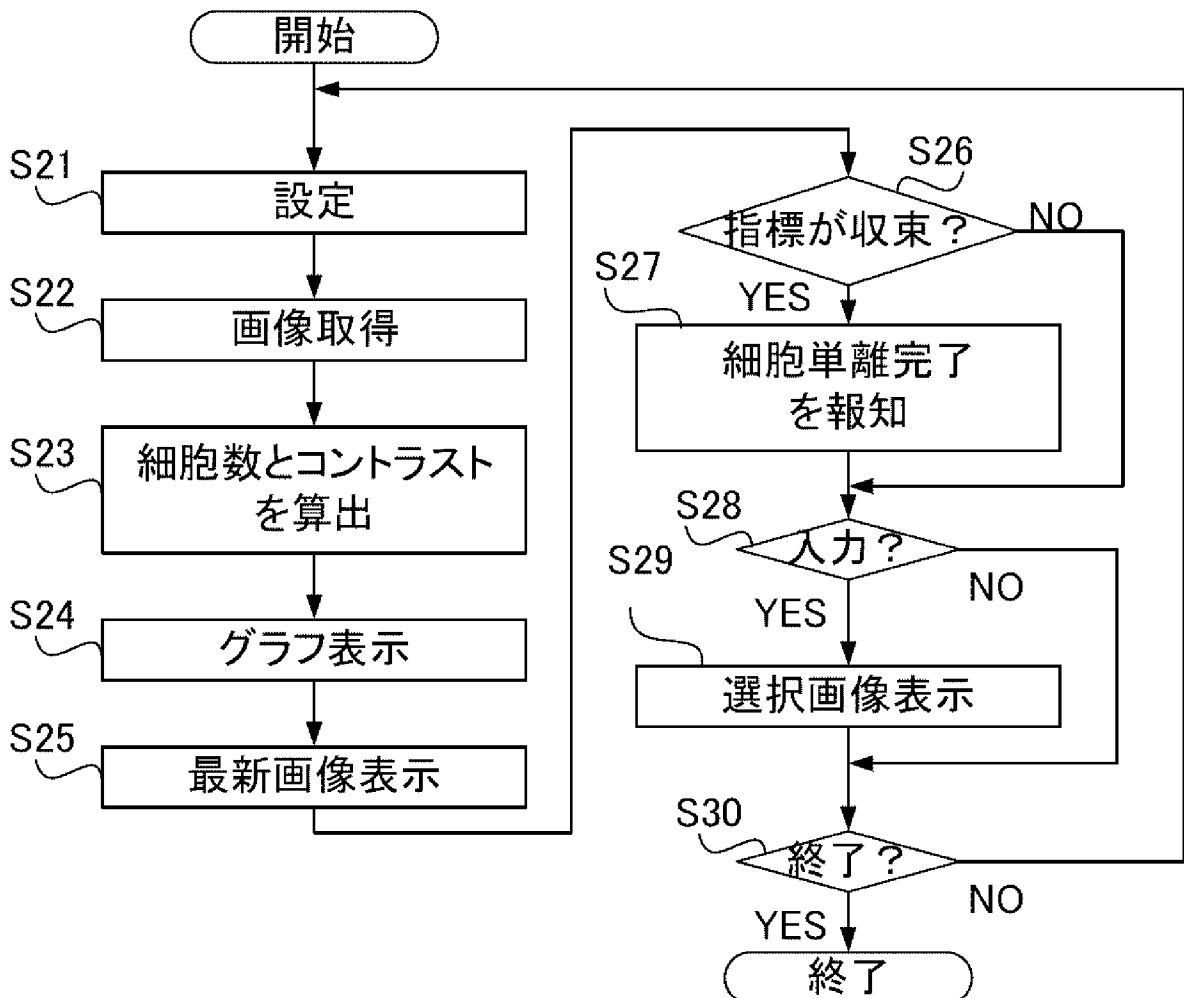
[図9]



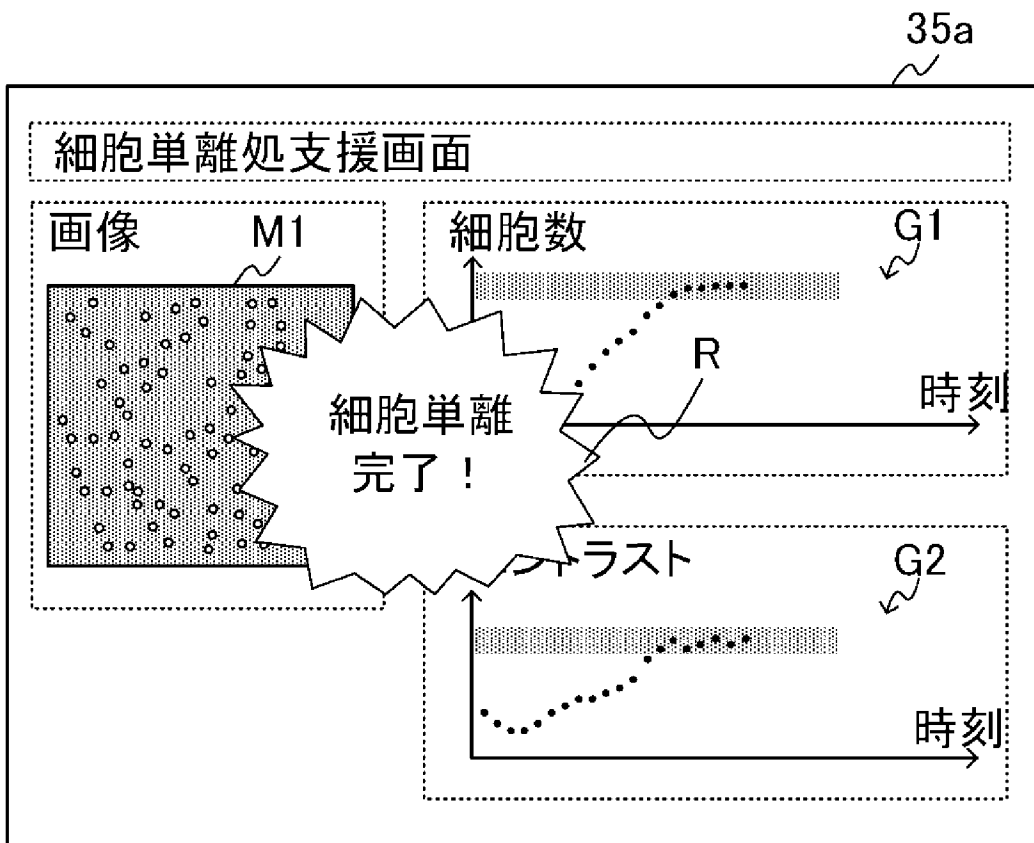
[図10]



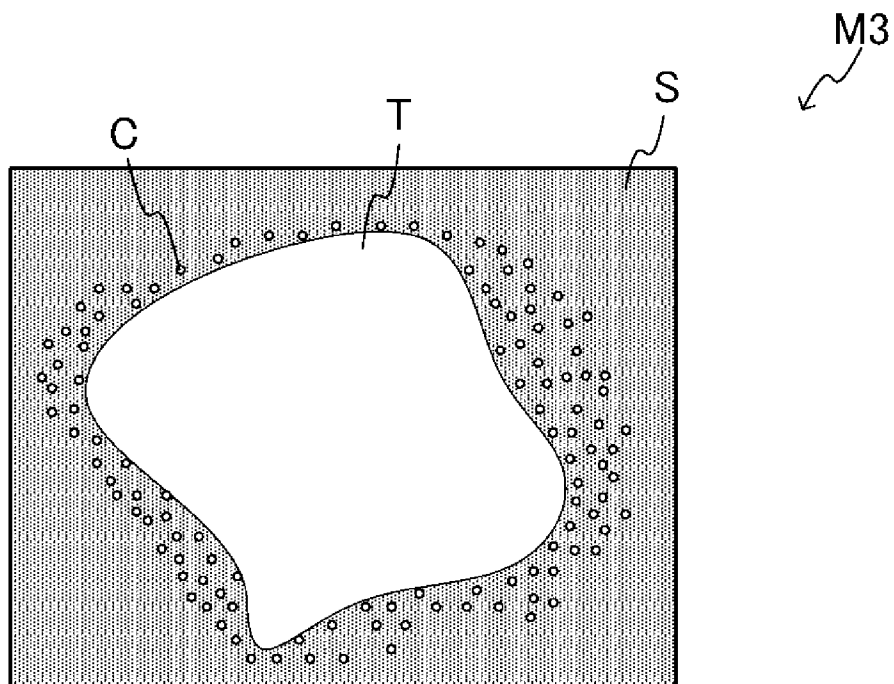
[図11]



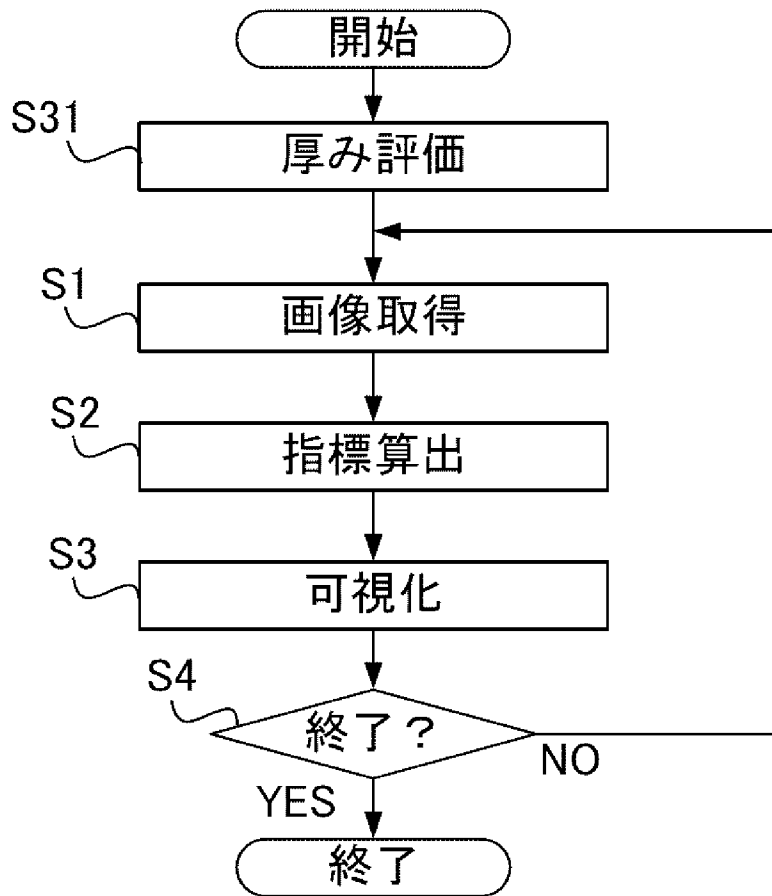
[図12]



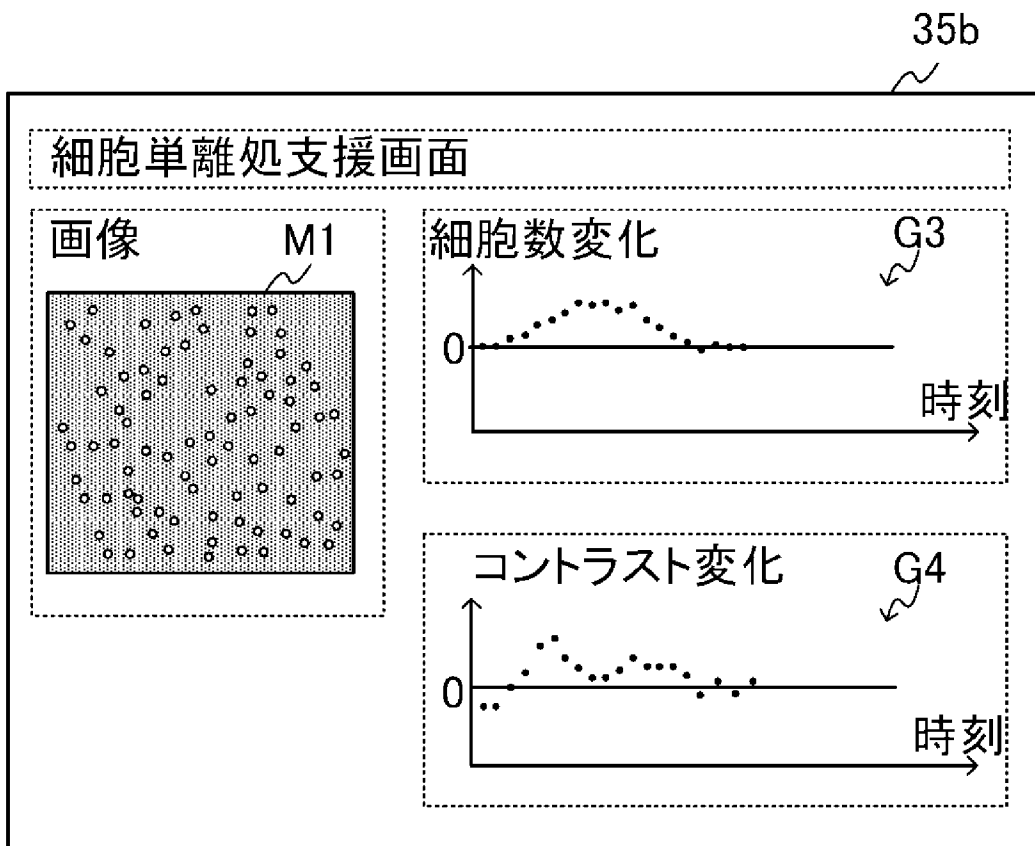
[図13]



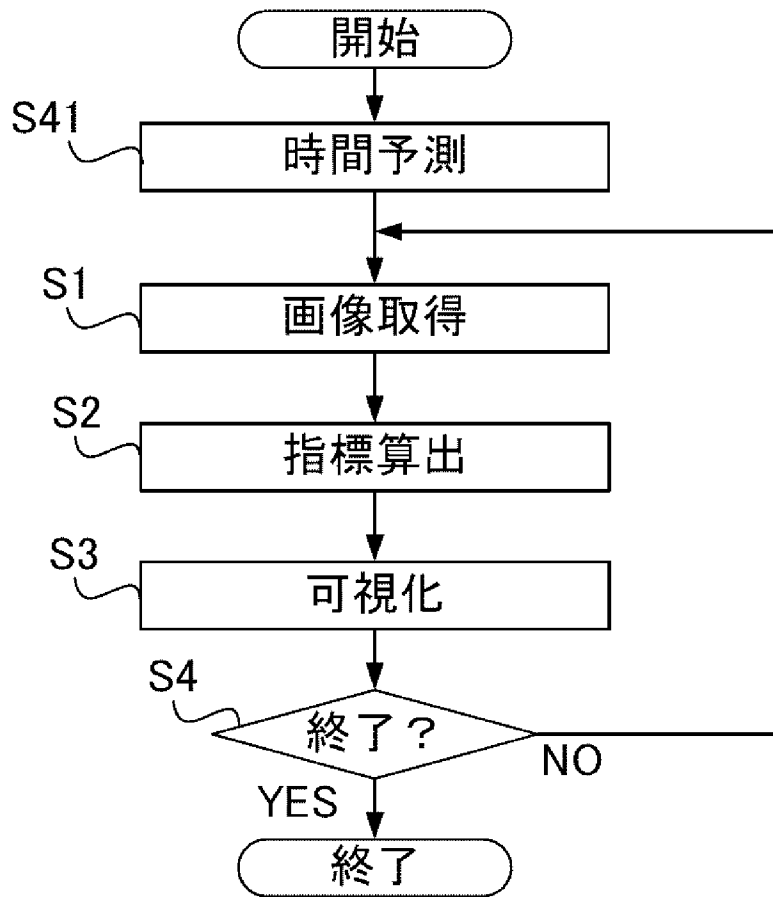
[図14]



[図15]



[図16]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/040401

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. C12Q1/02 (2006.01) i, C12M1/34 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. C12Q1/00-1/06, C12M1/00-3/10 G01N33/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN), PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2008-212021 A (OLYMPUS CORP.) 18 September 2008, claims, paragraphs [0004]-[0005], [0007] (Family: none)	1-18
Y	WO 2012/015030 A1 (TERUMO CORP.) 02 February 2012, claims, paragraphs [0051]-[0070], [0075], [0084] & US 2013/0143315 A1, claims, paragraphs [0051]-[0070], [0075], [0084]	1-18

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" 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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 11 December 2019 (11.12.2019)	Date of mailing of the international search report 24 December 2019 (24.12.2019)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/040401

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2016-116461 A (PANASONIC CORP.) 30 June 2016, claims, paragraphs [0011], [0016]-[0017] (Family: none)	1-18
Y	JP 2019-058156 A (OLYMPUS CORP.) 18 April 2019, claims & US 2019/0095692 A1, claims	1-18
Y	WO 2018/101004 A1 (FUJIFILM CORP.) 07 June 2018, claims, paragraphs [0042]-[0063] (Family: none)	1-18
Y	WO 2019/163304 A1 (NIKON CORP.) 29 August 2019, claims, paragraphs [0031]-[0132] (Family: none)	1-18
A	WO 2008/099696 A1 (OLYMPUS CORP.) 21 August 2008 & US 2010/0021994 A1	1-18
A	JP 2019-013191 A (OLYMPUS CORP.) 31 January 2019 (Family: none)	1-18
A	JP 2009-089629 A (NIKON CORP.) 30 April 2009 (Family: none)	1-18

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12Q1/02(2006.01)i, C12M1/34(2006.01)i		
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. C12Q1/00-1/06, C12M1/00-3/10 G01N33/48		
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 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019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/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN), PubMed		
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 請求項の番号
Y	JP 2008-212021 A (オリンパス株式会社) 2008.09.18, 特許請求の範囲, 段落 0004-0005, 0007 (ファミリーなし)	1-18
Y	WO 2012/015030 A1 (テルモ株式会社) 2012.02.02, 特許請求の範囲, 段落 0051-0070, 0075, 0084 & US 2013/0143315 A1, 特許請求の範囲, 段落 0051-0070, 0075, 0084	1-18
<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 11.12.2019	国際調査報告の発送日 24.12.2019	
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) 小田 浩代 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 8377

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 請求項の番号
Y	JP 2016-116461 A (パナソニック株式会社) 2016. 06. 30, 特許請求の範囲, 段落 0011, 0016-0017 (ファミリーなし)	1-18
Y	JP 2019-058156 A (オリンパス株式会社) 2019. 04. 18, 特許請求の範囲 & US 2019/0095692 A1, 特許請求の範囲	1-18
Y	WO 2018/101004 A1 (富士フイルム株式会社) 2018. 06. 07, 特許請求の範囲, 段落 0042-0063 (ファミリーなし)	1-18
Y	WO 2019/163304 A1 (株式会社ニコン) 2019. 08. 29, 特許請求の範囲, 段落 0031-0132 (ファミリーなし)	1-18
A	WO 2008/099696 A1 (オリンパス株式会社) 2008. 08. 21, & US 2010/0021994 A1	1-18
A	JP 2019-013191 A (オリンパス株式会社) 2019. 01. 31, (ファミリーなし)	1-18
A	JP 2009-089629 A (株式会社ニコン) 2009. 04. 30, (ファミリーなし)	1-18