

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6370544号
(P6370544)

(45) 発行日 平成30年8月8日(2018.8.8)

(24) 登録日 平成30年7月20日(2018.7.20)

(51) Int. Cl.	F 1	
C 1 2 M 1/42	(2006.01)	C 1 2 M 1/42
C 1 2 M 1/34	(2006.01)	C 1 2 M 1/34 D
C 1 2 N 13/00	(2006.01)	C 1 2 N 13/00
C 1 2 Q 1/02	(2006.01)	C 1 2 Q 1/02
G O 1 N 33/48	(2006.01)	G O 1 N 33/48 M
請求項の数 12 (全 16 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-233014 (P2013-233014)	(73) 特許権者	000236436
(22) 出願日	平成25年11月11日(2013.11.11)		浜松ホトニクス株式会社
(65) 公開番号	特開2015-94618 (P2015-94618A)		静岡県浜松市東区市野町1126番地の1
(43) 公開日	平成27年5月18日(2015.5.18)	(74) 代理人	100088155
審査請求日	平成28年9月8日(2016.9.8)		弁理士 長谷川 芳樹
前置審査		(74) 代理人	100113435
			弁理士 黒木 義樹
		(74) 代理人	100124291
			弁理士 石田 悟
		(74) 代理人	100124800
			弁理士 諏澤 勇司
		(74) 代理人	100165526
			弁理士 阿部 寛
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 細胞観察装置及び細胞観察方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞を含む試料を保持する保持部が複数配列された試料ケースによって保持された前記細胞を観察する細胞観察装置であって、

前記試料ケースを載置するための載置部と、

第1の電極と第2の電極とを含む電極対が複数配列された電気刺激部とを備え、

前記第1の電極及び前記第2の電極にはそれぞれ電圧が印加され、前記電極対は前記試料の上方に配置されており、

前記第1の電極及び前記第2の電極の少なくとも一方は、前記保持部と対向する先端部を除いて絶縁物で被覆されて、前記先端部によって外部に露出された電極部を形成し、

前記第1の電極と前記第2の電極との間には、前記電極対の前記先端部から前記電極対の前記先端部の反対側に、気泡、ガス、及び熱が抜ける空間が形成されており、

前記電極対は、前記電極部が前記保持部の底面に保持された前記試料と間隙を形成するように配置される、細胞観察装置。

【請求項2】

前記電極対の前記絶縁物で被覆されている部分の少なくとも一部は、濡れ性を有する、請求項1記載の細胞観察装置。

【請求項3】

前記電極対は、前記第2の電極が前記第1の電極を囲むような円筒状である、

請求項 1 又は 2 記載の細胞観察装置。

【請求項 4】

前記第 1 の電極は、前記保持部と対向する先端部を除いて絶縁物で被覆されており、
前記第 2 の電極は、全体が外部に露出している、

請求項 3 記載の細胞観察装置。

【請求項 5】

前記第 1 及び第 2 の電極は、平板状であり、互いに平行になるように配置されている、
請求項 1 又は 2 記載の細胞観察装置。

【請求項 6】

前記電気刺激部は、前記第 1 及び第 2 の電極の間に配置された平板状の絶縁体をさらに
有する、

請求項 5 に記載の細胞観察装置。

【請求項 7】

前記第 1 及び第 2 の電極は、棒状であり、互いに平行になるように配置されている、
請求項 1 又は 2 記載の細胞観察装置。

【請求項 8】

前記第 1 の電極の前記電極部及び前記第 2 の電極の前記電極部は、前記保持部の底面に
沿って互いに平行な棒状電極を成している、

請求項 7 記載の細胞観察装置。

【請求項 9】

前記第 2 の電極の前記電極部は、前記第 1 の電極の前記電極部を囲むようなリング状で
ある、

ことを特徴とする請求項 7 記載の細胞観察装置。

【請求項 10】

前記第 2 の電極の前記電極部は、前記第 1 の電極の前記電極部に対向する曲線状である、

請求項 7 記載の細胞観察装置。

【請求項 11】

前記第 1 の電極は棒状であり、

前記第 2 の電極は平板状であり、

前記第 1 の電極は、前記第 2 の電極の表面に沿って配置されている、

請求項 1 又は 2 記載の細胞観察装置。

【請求項 12】

第 1 の電極と第 2 の電極とを含む電極対を有する電気刺激部を用いて細胞を観察する細胞
観察方法であって、

細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースを配置するステップと、

前記試料ケースの前記保持部内において前記試料の上方に前記電極対を配置するステッ
プと、

前記第 1 の電極及び前記第 2 の電極のそれぞれに電圧を印加することにより、前記電極
対により電気刺激を前記試料に与えるステップと、

電気刺激が与えられた前記試料を観察するステップと、を備え、

前記第 1 の電極及び前記第 2 の電極の少なくとも一方は、前記保持部と対向する先端部
を除いて絶縁物で被覆されて、前記先端部によって外部に露出された電極部を形成し、

前記第 1 の電極と前記第 2 の電極との間には、前記電極対の前記先端部から前記電極対
の前記先端部の反対側に、気泡、ガス、及び熱が抜ける空間が形成されており、

前記電極対を配置するステップでは、前記電極部が前記保持部の底面に保持された前記
試料と間隙を形成するように、前記電極対を前記保持部内に配置する、

細胞観察方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 1 】

本発明は、細胞を含む試料を対象に電気刺激に伴う反応を観察するための細胞観察装置に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

創薬スクリーニングの分野では、細胞などの試料に投与した薬品の影響を、細胞から放出された光を測定して評価する場合がある。その際、細胞の膜電位を制御したり、心筋細胞のペースメーカーの役割を与えるために、細胞に電気刺激を与えることが行われている。特に、心筋細胞のペーシング用途では、不整脈の状況を作ることができるので、最近の幹細胞を利用した創薬研究の広がりとともに、電気刺激を利用した測定の必要性が高まっ

10

【 0 0 0 3 】

さて、創薬スクリーニングでは、複数の試薬を一括して評価するために、細胞が配置される複数のウェルが配列されたマイクロプレートを用いる。また、特許文献1には、マイクロプレートのウェル内に配置された細胞の電場刺激に応じた生物学的応答を蛍光検出によってモニターする測定装置が開示されている。この測定装置には、正極及び負極からなる平板状或いは同軸状の電極対を、細胞が配置されたウェル内に配置可能な構成が採用されている。この電極対は、正極及び負極である2つの電気伝導体の間の間隙に絶縁体が埋め込まれた構造を有している。

【 先行技術文献 】

20

【 特許文献 】

【 0 0 0 4 】

【 特許文献1 】 特表2005-514909号公報

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

ここで、上記特許文献1に記載の測定装置を用いて測定する際には、電極対が測定対象の細胞及び溶液が配置されたウェル内に挿入される。その際、電極対の間に絶縁体が埋め込まれているので、電極対の先端で発生した気泡や細胞から発生するガスがウェル内に滞留しやすい傾向にある。また、電極対による電気刺激に応じて発生した熱もウェル内に留まりやすい傾向にある。このような気泡、ガス、又は熱の影響により、細胞から生じる光を正確に観察することが困難になる場合があった。

30

【 0 0 0 6 】

そこで、本発明は、かかる課題に鑑みて為されたものであり、電気刺激に伴う細胞の観察の正確性を向上させることが可能な細胞観察装置を提供することを目的とする。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

上記課題を解決するため、本発明の細胞観察装置は、細胞を含む試料を保持する保持部が複数配列された試料ケースによって保持された細胞を観察する細胞観察装置であって、試料ケースを載置するための載置部と、第1の電極と第2の電極とを含む電極対が複数配列された電気刺激部とを備え、第1の電極及び第2の電極にはそれぞれ電圧が印加され、電極対は試料の上方に配置されており、第1の電極及び第2の電極の少なくとも一方は、保持部と対向する先端部を除いて絶縁物で被覆されて、先端部によって外部に露出された電極部を形成し、電極対は、電極部が保持部の底面に保持された試料と間隙を形成するように配置される。

40

あるいは、本発明の別の形態の細胞観察方法は、第1の電極と第2の電極とを含む電極対を有する電気刺激部を用いて細胞を観察する細胞観察方法であって、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースを配置するステップと、試料ケースの保持部内において試料の上方に電極対を配置するステップと、第1の電極及び第2の電極のそれぞれに電圧を印加することにより、電極対により電気刺激を試料に与えるステップと、電気刺激が

50

与えられた試料を観察するステップと、を備え、第1の電極及び第2の電極の少なくとも一方は、保持部と対向する先端部を除いて絶縁物で被覆されて、先端部によって外部に露出された電極部を形成し、電極対を配置するステップでは、電極部が保持部の底面に保持された試料と間隙を形成するように、電極対を保持部内に配置する。

【0008】

このような細胞観察装置あるいは細胞観察方法によれば、試料ケースに複数配列された保持部内に第1の電極と第2の電極とを含む電極対が配置されることにより、この電極対により溶液に浸された細胞を含む試料に対して電流による電気刺激が与えられる。ここで、電極対を構成する第1の電極と第2の電極との間には、いずれかの電極の先端部における外部に露出した電極部から上方に抜ける空間が形成されているので、電極対が保持部内に挿入される際に第1の電極と第2の電極との間の電極部近傍には溶液が満たされる。これにより、電極対の先端で発生した気泡や細胞から発生するガスを電極間の空間を通じて保持部外に排出させることができると同時に、電気刺激に応じて保持部内で発生する熱も電極間の溶液を通じて保持部外に拡散させることができる。その結果、電気刺激に応じた細胞の反応を、気泡、ガス、或いは熱の影響無く正確に観察することができる。

10

【0009】

上記の細胞観察装置においては、電極対の絶縁物で被覆されている部分の少なくとも一部は、濡れ性を有する、ことが好適である。かかる構成を採れば、電極対を保持部内に挿入する際に第1の電極と第2の電極との間の空間に溶液を効率よく吸い込むことができ、細胞の反応をより正確に観察することができる。

20

【0010】

また、電極対は、第2の電極が第1の電極を囲むような円筒状である、ことも好適である。この場合、第1の電極は、保持部と対向する先端部を除いて絶縁物で被覆されており、第2の電極は、全体が外部に露出している、ことも好適である。かかる構成を採れば、電極対の中心部の電流密度を効率的に高くすることができ、低い消費電力で細胞に大きな電気刺激を与えることができる。

【0011】

また、第1及び第2の電極は、平板状であり、互いに平行になるように配置されている、ことも好適である。この場合、電気刺激部は、第1及び第2の電極の間に配置された平板状の絶縁体をさらに有する、ことが好適である。かかる構成を採れば、保持部に配置された細胞近傍における電流密度を効率的に高くすることができ、低い消費電力で細胞全体に大きな電気刺激を与えることができる。

30

【0012】

さらに、第1及び第2の電極は、棒状であり、互いに平行になるように配置されている、ことも好適である。この場合、第1の電極の電極部及び第2の電極の電極部は、保持部の底面に沿って互いに平行な棒状電極を成している、ことも好適である。こうすれば、保持部に配置された細胞の広い範囲に効率的に大きな電流密度で電気刺激を与えることができる。また、この場合、第2の電極の電極部は、第1の電極の電極部を囲むようなリング状であってもよいし、第1の電極の電極部に対向する曲線状であってもよい。このような構造により、保持部に配置された細胞の広い範囲に効率的に大きな電流密度で電気刺激を与えることができる。

40

【0013】

さらに、第1の電極は棒状であり、第2の電極は平板状であり、第1の電極は、第2の電極の表面に沿って配置されている、ことも好適である。かかる構成を採れば、保持部に配置された細胞の広い範囲に効率的に大きな電流密度で電気刺激を与えることができる。

【発明の効果】

【0014】

本発明によれば、電気刺激に伴う細胞の観察の正確性を向上させることが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

50

【図 1】本発明の好適な一実施形態に係る細胞観察装置 1 の概略構成を示す図である。

【図 2】図 1 のマイクロプレート 20 の構成を示す斜視図である。

【図 3】図 1 のマイクロプレート 20 の断面構造を示す側面断面図である。

【図 4】(a) は、図 1 の電気刺激部 16 がウェル 21 に挿入された状態での電極対 17 の挿入方向に沿った縦断面図、(b) は、ウェル 21 の底面 22 側から見た図 1 の電極対 17 の平面図である。

【図 5】(a) は、本発明の変形例にかかる電極対 107 の挿入方向に沿った縦断面図、(b) は、ウェル 21 の底面 22 側から見た電極対 107 の平面図である。

【図 6】図 5 の電極対 107 を備える細胞観察装置 1 を用いた細胞の観察結果を示す波形図である。

10

【図 7】図 5 の電極対 107 を備える細胞観察装置 1 を用いた細胞の観察結果を示す波形図である。

【図 8】図 5 の電極対 107 を備える細胞観察装置 1 を用いた細胞の観察結果を示す波形図である。

【図 9】図 5 の電極対 107 を備える細胞観察装置 1 を用いた細胞の観察結果を示す波形図である。

【図 10】(a) は、本発明の別の変形例にかかる電極対 117 の挿入方向に沿った縦断面図、(b) は、ウェル 21 の底面 22 側から見た電極対 117 の平面図である。

【図 11】(a) は、本発明の別の変形例にかかる電極対 127 の挿入方向に沿った縦断面図、(b) は、ウェル 21 の底面 22 側から見た電極対 127 の平面図である。

20

【図 12】本発明の他の変形例にかかる電極対の構造を示す斜視図である。

【図 13】本発明の他の変形例にかかる電極対の構造を示す斜視図である。

【図 14】本発明の他の変形例にかかる電極対の構造を示す斜視図である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

以下、添付図面を参照しながら本発明による細胞観察装置の実施の形態を詳細に説明する。なお、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。また、各図面は説明用のために作成されたものであり、説明の対象部位を特に強調するように描かれている。そのため、図面における各部材の寸法比率は、必ずしも実際のものとは一致しない。

30

【0017】

図 1 は、本発明による細胞観察装置 1 の一実施形態を模式的に示す構成図である。また、図 2 は、マイクロプレート 20 の構成の一例を示す斜視図である。また、図 3 は、図 2 に示したマイクロプレート 20 の断面構造を示す側面断面図である。本実施形態による細胞観察装置 1 は、試料ケースとしてマイクロプレート 20 を用い、マイクロプレート 20 によって保持された状態で測定位置 P に配置された試料 S からの蛍光を測定するための装置である。

【0018】

また、試料 S は所定の細胞を含む。所定の細胞には、例えば、心筋細胞、神経細胞等がある。また、本実施形態における細胞観察装置は、蛍光測定以外にも、例えば燐光や発光など、試料から放出された光を測定する光測定に一般に適用可能である。以下、細胞観察装置 1 の構成について説明する。

40

【0019】

図 1 に示す細胞観察装置 1 は、データ取得装置 10、位置制御コントローラ 30、撮像制御コントローラ 32、及びデータ解析装置 50 を備えて構成されている。データ取得装置 10 は、蛍光観察の対象となる細胞を保持したマイクロプレート 20 が内部に収容される暗箱 15 と、暗箱 15 の内部に設置されて測定位置 P に配置された試料 S からの蛍光の測定に用いられる動画取得部 40 とを有している。

【0020】

本実施形態において試料ケースとして用いられているマイクロプレート 20 は、図 2 及

50

び図3に示すように、複数のウェル（保持部）21が二次元アレイ状に配列された板状部材であり、その複数のウェル21のそれぞれにおいて、試料Sを培養液等の溶液Lとともに保持可能な構成となっている。これらの図に示した構成例では、複数のウェル21として、 $8 \times 12 = 96$ 個の円形状のウェル21が二次元アレイ状に配置され、それぞれのウェル21は溶液Lに浸された状態の試料Sをその底面22近傍において保持する。また、複数のウェル21として、384個等の任意の数のウェル21が配列されたものであってもよい。ウェル21の断面形状としては、円形状、楕円形状、矩形状等が挙げられる。また、このマイクロプレート20の底面22は、試料Sに照射される蛍光測定用の励起光、及び試料Sから放出される蛍光を透過可能な材質によって形成されている。なお、一般に細胞観察装置1においては、マイクロプレート20の底面22は、測定対象となる試料Sから放出された光を透過可能な材質によって形成されていれば良い。

10

【0021】

図1に戻って、暗箱15内においては、マイクロプレート20は、蛍光観察用の開口を有するマイクロプレートホルダ（載置部）11に載置されている。また、これらのマイクロプレート20及びマイクロプレートホルダ11を、暗箱15内で所定の方向（図1中においては、右側から左側へと向かう方向）に搬送するマイクロプレート搬送機構12が、暗箱15内に設置されている。

【0022】

搬送機構12でのマイクロプレート20の搬送方向に対して搬入側となる暗箱15の一方側には、試料S及び溶液Lが保持された測定前のマイクロプレート20を所定枚数（例えば、25枚）ストックしておくための搬入側マイクロプレートストッカー13が設置されている。また、マイクロプレート20の搬送方向に対して搬出側となる暗箱15の他方側には、測定後のマイクロプレート20をストックしておくための搬出側マイクロプレートストッカー14が設置されている。

20

【0023】

このような構成において、搬入側マイクロプレートストッカー13から暗箱15内へと搬入されたマイクロプレート20は、マイクロプレートホルダ11によって保持されるとともに搬送機構12によって搬送される。そして、マイクロプレート20は測定位置Pで一旦停止させられ、この状態で、マイクロプレート20によって保持された試料Sに対して必要な光測定が行われる。測定完了後、マイクロプレート20は再び搬送機構12によって搬送され、搬出側マイクロプレートストッカー14へと搬出される。なお、図1においては、搬送機構12、及びストッカー13、14については、マイクロプレート20を搬入、搬送、搬出するための具体的な構成の図示を省略している。

30

【0024】

蛍光測定の実行時にマイクロプレート20及び試料Sが配置される測定位置Pの上方には、マイクロプレート20のウェル21内に挿入されて溶液Lに浸された試料Sに電流による電気刺激を与えるための電気刺激部16が設置されている。また、測定位置Pの下方には、ウェル21内に収容された試料Sからマイクロプレート20の底面22を介して放出される蛍光の検出に用いられる動画像取得部40が設置されている。

【0025】

動画像取得部40は、マイクロプレート20のウェル21内に保持された試料Sから放出された光を含むマイクロプレート20の二次元の光強度分布を表す二次元光像を検出して、二次元光像の動画像データを取得する動画像取得手段である。検出される二次元光像としては、少なくとも1つのウェル21内に保持された試料Sから放出された光を含む光強度分布であればよい。この動画像取得部40は、撮像装置45と、導光光学系41と、光学フィルタ部42と、励起光源43とによって構成されている。撮像装置45は、複数の画素が二次元に配列された二次元画素構造を有し、試料Sから放出される蛍光による二次元の光検出画像である蛍光画像を検出する。この撮像装置45としては、例えば高感度のCCDカメラやCMOSイメージカメラを用いることができる。また、必要があれば、カメラの前段にイメージ増倍管、リレーレンズ等を配置して動画像取得部40を構成して

40

50

も良い。なお、動画像取得部 40 は、静止画を取得してもよく、動画及び / 又は静止画を取得する画像取得部としての機能を有する。

【0026】

また、マイクロプレート 20 が配置される測定位置 P と、撮像装置 45 との間には、導光光学系 41 が設置されている。導光光学系 41 は、複数のウェル 21 のそれぞれに試料 S 及び溶液 L が保持されたマイクロプレート 20 を底面 22 側からみた二次元光像を撮像装置 45 へと導く光学系である。導光光学系 41 の具体的な構成については、マイクロプレート 20 及び撮像装置 45 の構成等に応じ、必要な機能（例えば集光機能、光像縮小機能等）を実現可能な光学素子によって適宜構成すれば良い。そのような光学素子としては、例えばテーパファイバがある（特開 2001-188044 号公報参照）。また、導光光学系 41 としては、凹凸を有する導光部材を有する光照射装置を用いる構成でもよい（特開 2010-230397 号公報および特開 2010-230396 号公報参照）。

10

【0027】

また、図 1 においては、さらに、導光光学系 41 と撮像装置 45 との間に、必要に応じて蛍光の導光光路上への光学フィルタの配置、切換等を行うことが可能な光学フィルタ部 42 が設置されている。このような光学フィルタ部 42 は、導光光学系 41 の裏面から出射される励起光の波長の光をカットするために用いられる。ただし、このような光学フィルタ部 42 については、不要であれば設けなくても良い。

【0028】

励起光源 43 は、試料 S に対して蛍光測定用の励起光を供給するための励起光供給手段である。励起光源 43 の具体的な構成としては、蛍光測定の対象となる試料 S の種類、試料 S に照射する励起光の波長等に応じて適宜構成すれば良いが、例えば、光を供給する LED 等の照明光源と、励起光の波長の選択、切換を行うための光学フィルタ部とによって構成することができる。また、試料 S に対して行われる光測定の種類により、励起光の供給が不要な場合には、励起光源 43 を設けない構成としても良い。

20

【0029】

本実施形態においては、導光光学系 41 は、マイクロプレート 20 及び試料 S からの二次元光像を撮像装置 45 へと導くとともに、励起光源 43 からの励起光を試料 S へと導くことが可能な光学系として構成される。このような光学系は、例えば、マイクロプレート 20 からの蛍光を通過させるとともに、励起光源 43 からの励起光を反射させるダイクロイックミラー等を用いて構成することができる。また、導光光学系 41 は、特開 2010-230397 号公報および特開 2010-230396 号公報に記載されたように、上面に凹部又は凸部を有する導光部材によって構成されていてもよいし、上面に水や油などの光出射媒体を塗布した構成であってもよい。なお、図 1 においては、導光光学系 41 における蛍光及び励起光の光路を、それぞれ実線及び破線によって模式的に示している。

30

【0030】

次に、電気刺激部 16 の構成について詳細に説明する。電気刺激部 16 は、マイクロプレート 20 に向けて垂直に伸びる複数の電極対 17 が二次元的に配列されるようにベース部 18 に固定された構造を有している。詳細には、電極対 17 は、マイクロプレート 20 のウェル 21 に対向して伸びるように、マイクロプレート 20 の複数のウェル 21 の二次元アレイ状の配列に対応して二次元状に配列されている。

40

【0031】

図 4 は、電気刺激部 16 を構成するそれぞれの電極対 17 の構造を示しており、(a) は、電気刺激部 16 がウェル 21 に挿入された状態での電極対 17 の挿入方向に沿った縦断面図、(b) は、ウェル 21 の底面 22 側から見た電極対 17 の平面図である。

【0032】

同図に示すように、それぞれの電極対 17 は、先端が開口されて陽極 17b を囲むような円筒状の形状を有する陰極（第 2 の電極）17a と、陰極 17a の中心軸上に沿って配置されるように陰極 17a の内側に挿入された棒状（例えば、円柱状の形状）の陽極（第 1 の電極）17b とによって構成され、陰極 17a の外径がウェル 21 の内径よりも小さ

50

くされている。また、陰極 17 a の先端と陽極 17 b の先端とが、それらのウェル 21 底面からの高さと同じとなるような構造となっている。つまり、陰極 17 a 及び陽極 17 b で同軸形状を形成している。さらに、これらの陰極 17 a 及び陽極 17 b は、内面及び外面に濡れ性を持たせるためのプラチナによるコーティングが施されている。

【0033】

なお、陰極 17 a の円筒状の形状としては、断面が円形状であってもよいし、楕円形状であってもよい。これにより、円筒状の形状の陰極 17 a 内に棒状の陽極 17 b が収まる。ここで、電極対 17 は、陰極 17 a と陽極 17 b とがそれぞれ一部材によって構成されるものには限定されず、どちらか或いは両方が複数部材によって構成されていてもよい。

【0034】

さらに、陰極 17 a の内面及び外面は、挿入時に試料 S と対向する先端部を除いて絶縁体（絶縁物）71 a で被覆されている。これにより、陰極 17 a においては、その先端部に外部に露出する電極部 72 a が形成される。同様に、陽極 17 b の側面は、挿入時に試料 S と対向する先端部を除いて絶縁体（絶縁物）71 b で被覆されている。これにより、陽極 17 b においては、その先端部に外部に露出する電極部 72 b が形成される。これらの絶縁体 71 a, 71 b は、絶縁収縮チューブを用いたり、絶縁性物質でコーティングすることにより形成される。

【0035】

なお、絶縁体 71 a, 71 b の表面は、電極部 72 a, 72 b 側の少なくとも一部が濡れ性を持たせるようにされてもよい。例えば、絶縁体 71 a, 71 b 自体が濡れ性を持つ材料（例えば、親水性のあるシリコンゴムなど）であってもよいし、絶縁体 71 a, 71 b の一部が濡れ性を有する材料（例えば、プラチナ、親水性セラミックなど）でコーティング加工されてもよい。

【0036】

上記のような構造の電極対 17 においては、陰極 17 a と陽極 17 b との間には、電極部 72 a, 72 b からウェル 21 の上方に抜ける空間 73 が形成され、さらに陰極 17 a 及び陽極 17 b には濡れ性が持たされている。このような構成により、電極対 17 をウェル 21 内に挿入した際に、電極部 72 a, 72 b からその空間 73 に向けて溶液 L を浸透させることができる。

【0037】

再び図 1 に戻って、電気刺激部 16 には、電極対 17 をベース部 18 を介して支持する移動機構 19 が設けられている。移動機構 19 は、電極対 17 をマイクロプレート 20 に対して接近或いは後退させるように（図 1 の Z 方向）移動させると共に、電極対 17 をマイクロプレート 20 の底面 22 に沿った方向（図 1 の X 軸 Y 軸を含む平面に沿った方向）に移動させる駆動機構であり、試料 S の観察時にそれぞれの電極対 17 を対向するウェル 21 内に配置させるように駆動すると共に、試料 S の観察終了時に電極対 17 をウェル 21 内から離脱させるように駆動する。

【0038】

このような構成のデータ取得装置 10 に対し、位置制御コントローラ 30、撮像制御コントローラ 32 が接続されている。位置制御コントローラ 30 は、移動機構 19 に電氣的に接続され、試料 S の光測定開始時に、電極対 17 をマイクロプレート 20 のウェル 21 内に配置させるように移動機構 19 を制御する。また、位置制御コントローラ 30 は、電極対 17 にも電氣的に接続され、電極対 17 の陰極 17 a と陽極 17 b との間に電位差が生じるように、陰極 17 a と陽極 17 b にそれぞれ電圧を印加する。撮像制御コントローラ 32 は、励起光源 43 による励起光の照射、及び撮像装置 45 によるマイクロプレート 20 における二次元の蛍光画像の撮像を制御する。

【0039】

さらに、位置制御コントローラ 30 及び撮像制御コントローラ 32 に対し、データ解析装置 50 が接続されている。このデータ解析装置 50 は、動画像取得部 40 によって取得された光検出画像を含む動画像データを撮像制御コントローラ 32 を経由して取得し、動

10

20

30

40

50

画像データを対象にして解析処理を行う解析処理手段である。また、データ解析装置50は、位置制御コントローラ30及び撮像制御コントローラ32を介して、データ取得装置10の各部の動作を制御することによって、細胞観察装置1における試料Sに対する蛍光測定を制御する。また、データ解析装置50には、測定結果等を表示する表示装置61と、データの入力や蛍光測定に必要な指示の入力等に用いられる入力装置62とが接続されている。

【0040】

以上説明した細胞観察装置1によれば、マイクロプレート20に複数配列されたウェル21内に陰極17a及び陽極17bを含む電極対17が配置されることにより、この電極対17により溶液Lに浸された試料Sに対して電流による電気刺激が与えられる。ここで、電極対17を構成する陰極17aと陽極17bとの間には、それらの先端部における外部に露出した電極部72a, 72bから上方に抜ける空間73が形成されているので、電極対17がウェル21内に挿入される際に陰極17aと陽極17bとの間の電極部72a, 72b近傍には溶液Lが満たされる。これにより、電極対17の先端で発生した気泡や細胞から発生するガスを電極間の空間を通じてウェル21外に排出させることができると同時に、電気刺激に応じてウェル21内で発生する熱も電極間の溶液Lを通じてウェル21外に拡散させることができる。その結果、電気刺激に応じた細胞等の試料Sの反応を、気泡、ガス、或いは熱の影響無く正確に観察することができる。

【0041】

また、陰極17a及び陽極17bの絶縁体71a, 71bで被覆されている部分の少なくとも一部は濡れ性を有するので、電極対17をウェル21内に挿入する際に陰極17aと陽極17bとの間の空間73に溶液Lを効率よく吸い込むことができ、細胞等の試料Sの反応をより正確に観察することができる。

【0042】

また、電極対17は同軸状の構造を有し、先端を除いて絶縁体71a, 71bで被覆されているので、電極対17によってウェル21内の溶液Lに流される電流の経路R1(図4参照)を、電極部72a, 72b近傍に集中させることができる。その結果、試料Sに与えられる電流の電流密度を効率的に高くすることができ、低い消費電力で細胞に大きな電気刺激を与えることができる。この場合も、試料S近傍の電流密度を十分確保できるので、心筋細胞のペーシングや細胞のイオンチャンネルの開閉制御も十分実現できる。また、電流が流れる領域が制限されることで電極対17に供給する電圧を抑えることができ、消費電力を低減することができる。特に、マイクロプレート20としてウェル21の配列数が384個等の多い構造のものをを使用する場合は、消費電力低減の効果が大きい。

【0043】

なお、本発明は、前述した実施形態に限定されるものではない。

【0044】

例えば、電気刺激部16の電極対17の構造は同軸形状には限定されず、様々な形状を採用できる。例えば、図5には、本発明の変形例にかかる電極対107の構造を示しており、(a)は、ウェル21に挿入された状態での電極対107の挿入方向に沿った縦断面図、(b)は、ウェル21の底面22側から見た電極対107の平面図である。同図に示すように、電極対107の電極対17との相違点は、絶縁体71aに被覆された陰極17aの代わりに、絶縁体で被覆されていない全体が外部に露出している円筒状の陰極107aを有する点である。このような構造の電極対107によっても、ウェル21内の溶液Lに流される電流の経路R2を、ウェル21の底面の中央部近くの電極部72b近傍に集中させることができる。また、陽極17bの先端と陰極107aとの間に上方に抜ける空間73Aが形成されているので、電極対107がウェル21内に挿入される際に空間73Aを溶液Lで満たすことができる。

【0045】

ここで、図6~9には、陽極17bの先端が1mmの長さで露出された電極対107を備える細胞観察装置1を用いた細胞の観察結果を示している。ただし、この場合の電極対

10

20

30

40

50

107は、陰極107aの先端が陽極17bの先端よりもウェル21の底面側に突出した構造を有している。図6は、ウェル21内で100 μ lの溶液(培養液)に浸された試料Sを対象に電極対107への印加電圧7Vで得られた複数のウェル21で観察される光強度の時間変化を示す波形図であり、図7は、200 μ lの溶液に浸された試料Sを対象に印加電圧7Vで得られた光強度の時間変化を示す波形図であり、図8は、100 μ lの溶液に浸された試料Sを対象に印加電圧2Vで得られた光強度の時間変化を示す波形図であり、図9は、200 μ lの溶液に浸された試料Sを対象に印加電圧2Vで得られた光強度の時間変化を示す波形図であり、それぞれの図において、(a)は、陽極17bを絶縁体71bで被覆していない場合、(b)は、陽極17bを絶縁体71bで被覆した場合の測定結果を示している。図7及び図9の測定結果は、溶液Lの量が多いため、ウェル21内での溶液Lの液面が高い場合を示す。

10

【0046】

これらの測定結果に示すように、印加電圧7Vの場合は、すべての条件で電気刺激による反応を得ることができたが、印加電圧を2Vに下げると、絶縁体71bを有する場合であって、ウェル21内での溶液Lの液面が高い場合のみ反応を得ることができた。このことより、先端部分を除いて絶縁物で被覆された電極であり、電極の間には溶液Lが上方に抜ける空間が形成された電極の構造であると、電極に印加される電圧が低くても電気刺激による細胞の反応が表れることがわかる。電極対に印加する電圧を下げても反応が現れるということは、省電力化に適した構造であるといえる。

【0047】

また、図10には、本発明の別の変形例にかかる電極対117の構造を示しており、(a)は、ウェル21に挿入された状態での電極対117の挿入方向に沿った縦断面図、(b)は、ウェル21の底面22側から見た電極対117の平面図である。同図に示すように、電極対117は、ウェル21の底面に向けて伸びる平板状の一对の陽極117a及び陰極117bを有し、それらの両面が、それぞれ、ウェル21の底面に対向する先端部である電極部119a、119bを除いて絶縁体118a、118bで被覆されている。そして、それらの陽極117a及び陰極117bは互いに平行になるように対向して配置されている。このような電極対117によっても、ウェル21内の溶液Lに流される電流の経路R3を、ウェル21の底面近くの電極部119a、119b近傍に集中させることができる。また、陽極117aの先端と陰極117bとの間に上方に抜ける空間73Bが形成されているので、電極対117がウェル21内に挿入される際に空間73Bを溶液Lで満たすことができる。

20

30

【0048】

また、図11には、本発明の別の変形例にかかる電極対127の構造を示しており、(a)は、ウェル21に挿入された状態での電極対127の挿入方向に沿った縦断面図、(b)は、ウェル21の底面22側から見た電極対127の平面図である。同図に示すように、電極対127は、平板状の陽極117a及び陰極117bの中間に、陽極117a及び陰極117bと平行に対向して伸びる平板上の絶縁板117cを有している。そして、陽極117a及び陰極117bの先端は、絶縁板117cの先端よりもウェル21の底面に向けて突出している。このような電極対127によれば、ウェル21内の溶液Lに流される電流の経路R4を、ウェル21の底面の中心部と電極部119a、119b近傍との間に集中させ、試料S全体に与えられる電流の電流密度を高めることができる。また、陽極117aの先端と絶縁板117cとの間、及び陰極117bの先端と絶縁板117cとの間に上方に抜ける空間73Cが形成されているので、電極対127がウェル21内に挿入される際に空間73Cを溶液Lで満たすことができる。

40

【0049】

さらに、図12~14には、電極対のその他の変形例の構造を示している。

【0050】

図12(a)に示す電極対137は、ウェル21の底面に向けて互いに平行に伸びる棒状の陽極137a及び陰極137bを有し、それらの先端が、ウェル21の底面に沿って

50

互いに平行になるように、L字状に折れ曲がって伸びるように構成されている。そして、陽極137a及び陰極137bは、それらの先端を除いて絶縁体138a, 138bで覆われることにより、それぞれの先端が外部に露出する電極部139a, 139bを成している。また、図12(b)に示す電極対147は、電極対137と同様に、2本の棒状の陽極147a及び陰極147bを有し、それらの先端が、ウェル21の底面に沿って互いに平行になるように、T字状に折れ曲がって伸びるように構成されている。そして、陽極147a及び陰極147bは、それぞれの先端が外部に露出する電極部149a, 149bを成している。さらに、図12(c)に示す電極対157は、それぞれが平行な2本の棒状の電極を含む陽極157a及び陰極157bを有し、それらの先端が、平行な2本の電極の先端を繋ぐようにウェル21の底面に沿ってU字状に構成されている。すなわち、陽極157a及び陰極157bの先端は、互いに平行に伸びて外部に露出する電極部159a, 159bを成している。このような構造の電極対137, 147, 157によっても、ウェル21に配置された試料Sの広い範囲に効率的に大きな電流密度で電気刺激を与えることができる。

10

【0051】

また、図13(a)に示す電極対167は、ウェル21の底面に向けて互いに平行に伸びる棒状の陽極167a及び陰極167bを有し、陽極167aの先端が、ウェル21の底面に沿ったリング状となり、陰極167bの先端が陽極167aの先端により取り囲まれるように構成されている。そして、陽極167a及び陰極167bは、それぞれの先端が外部に露出する電極部169a, 169bを成している。図13(b)に示す電極対177は、ウェル21の底面に向けて互いに平行に伸びる棒状の陽極177a及び陰極177bを有し、それぞれの棒電極の先端が外部に露出する電極部179a, 179bを成している。

20

【0052】

図14(a)に示す電極対187は、ウェル21の底面に向けて互いに平行に伸びる棒状の陽極187a及び平板状の陰極187bとを有し、それぞれの先端が外部に露出する電極部189a, 189bを成している。つまり、陽極187aは陰極187bの表面に沿って配置される。さらに、図14(b)に示す電極対197は、電極対187の陽極187aに替えて、陰極187bを両側から挟むようにウェル21の底面に向けて伸びる2本の棒状電極である陽極197aを有している。この陽極197aの先端が、外部に露出する電極部199aを成している。また、図14(c)に示す電極対207は、電極対197の平板状の陰極187bに替えて、棒状の陰極207bを有する例である。

30

【0053】

また、図14(d)、(e)に示す電極対217, 227は、電極対137の構造の変形例である。このように、電極対217の2本の電極217a, 217bの先端が逆方向に延びる構造であってもよいし、電極対227の2本の電極227a, 227bの基端側が近接して伸びていてもよい。さらに、図14(f)に示す電極対237のように、棒状の陽極237aの先端が、ウェル21の底面に沿った曲線状(例えば、弓状)となり、陽極237aの先端が棒状の陰極237bの先端に対向するように構成されていてもよい。このような構造によっても、ウェル21に配置された試料Sの広い範囲に効率的に大きな電流密度で電気刺激を与えることができる。

40

【符号の説明】

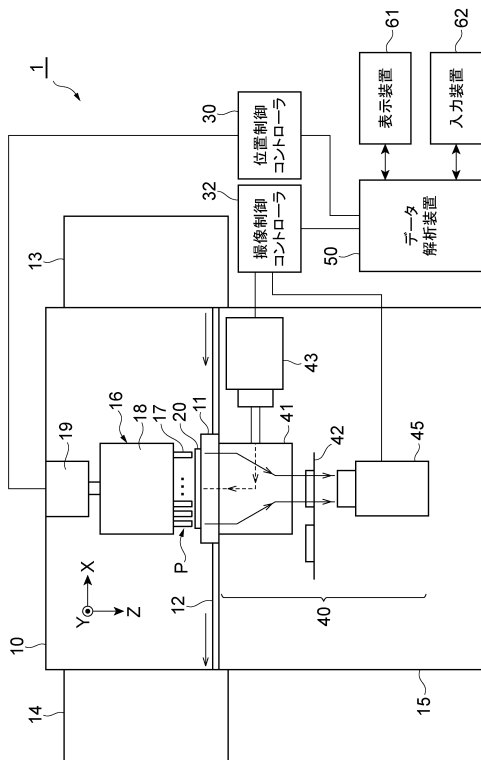
【0054】

1...細胞観察装置、11...マイクロプレートホルダ(載置部)、16...電気刺激部、17, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207, 217, 227, 237...電極対、17a, 107a, 117b, 137b, 147b, 157b, 167b, 177b, 187b, 207b, 217b, 227b, 237b...陰極(第2の電極)、17b, 117a, 137a, 147a, 157a, 167a, 177a, 187a, 197a, 217a, 227a, 237a...陽極(第1の電極)、117c...絶縁板(絶縁体)、20...マイクロプレート(試料ケース)、21

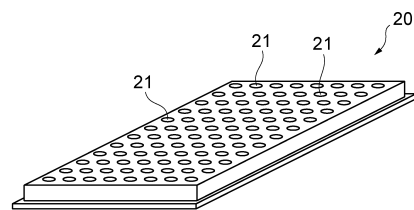
50

... ウェル (保持部)、 22 ... 底面、 71 a , 71 b , 118 a , 118 b , 138 a , 138 b ... 絶縁体 (絶縁物)、 72 a , 72 b , 119 a , 119 b , 139 a , 139 b , 149 a , 149 b , 159 a , 159 b , 169 a , 169 b , 179 a , 179 b , 189 a , 189 b , 199 a ... 電極部、 73 , 73 A ~ 73 C ... 空間、 L ... 溶液、 S ... 試料。

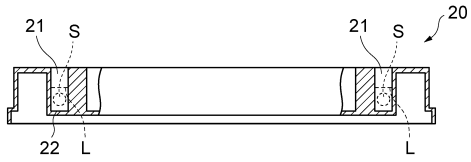
【 図 1 】



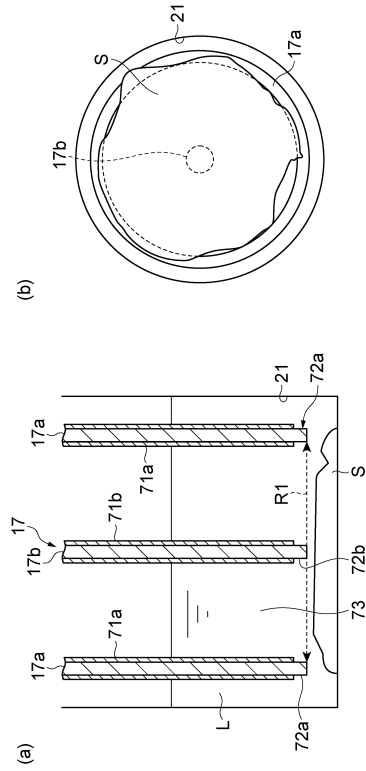
【 図 2 】



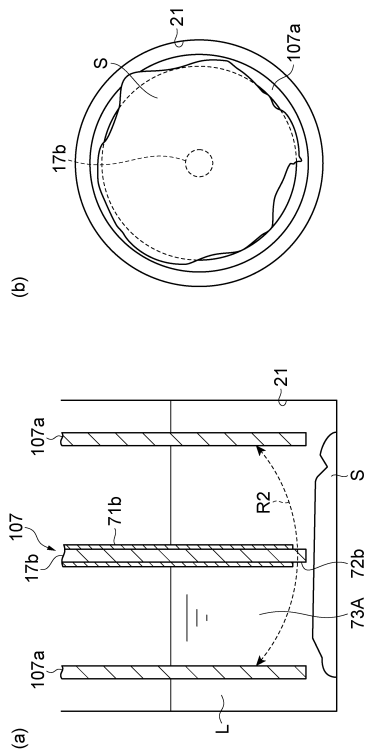
【 図 3 】



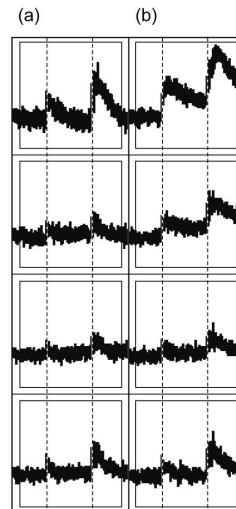
【 図 4 】



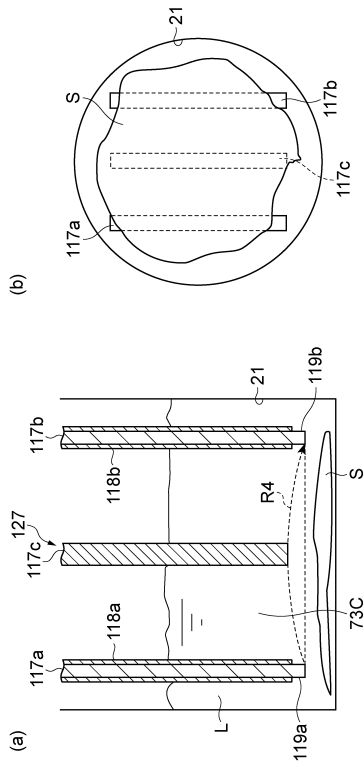
【 図 5 】



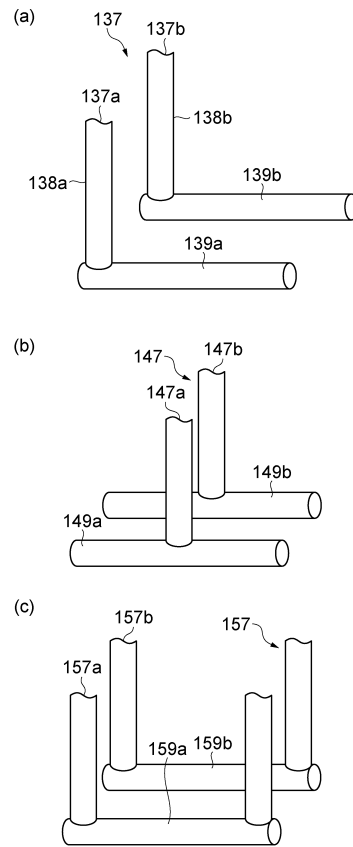
【 図 6 】



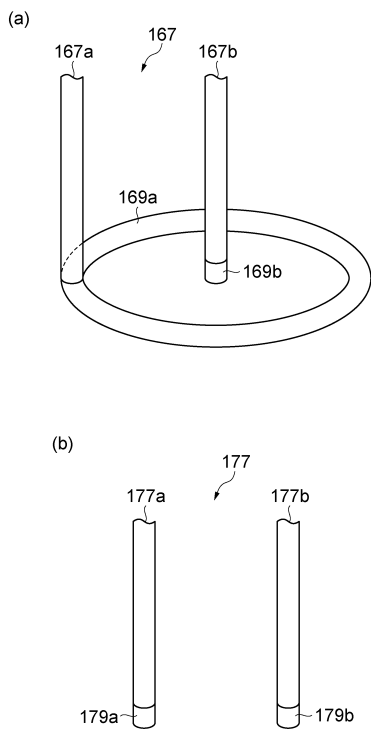
【 図 1 1 】



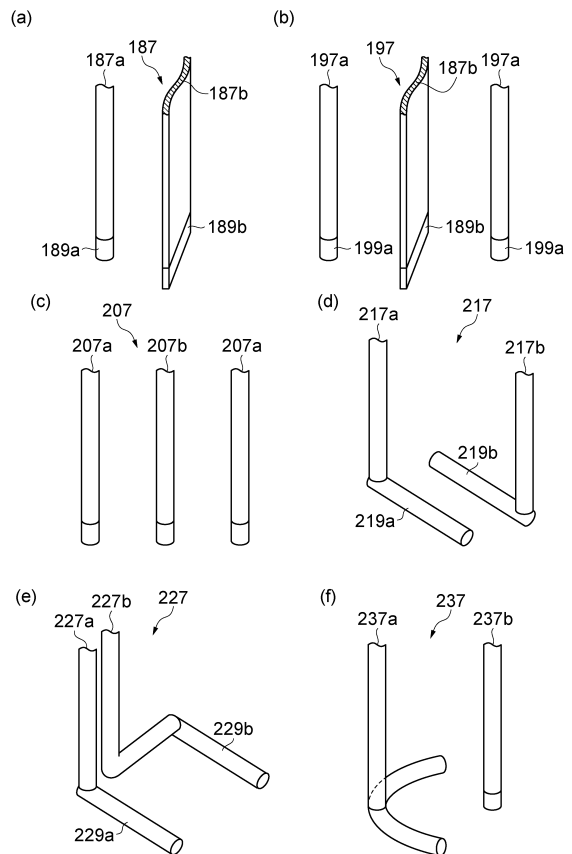
【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/483 (2006.01) G 0 1 N 33/483 E

(72)発明者 伊藤 平良
静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内

(72)発明者 高橋 聡
静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内

審査官 藤澤 雅樹

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 5 / 0 9 8 4 2 3 (W O , A 1)
特開 2 0 1 3 - 0 2 4 6 6 0 (J P , A)
特開平 0 8 - 1 4 9 9 9 8 (J P , A)
特開 2 0 0 6 - 0 5 8 2 5 5 (J P , A)
米国特許第 0 5 4 3 2 0 8 6 (U S , A)
欧州特許出願公開第 0 1 4 0 5 9 1 9 (E P , A 1)
英国特許出願公開第 0 2 2 1 1 6 1 4 (G B , A)
国際公開第 2 0 0 9 / 1 0 4 9 5 6 (W O , A 1)
特開 2 0 0 7 - 3 2 2 1 6 5 (J P , A)
特表 2 0 0 6 - 5 2 4 0 5 5 (J P , A)
特表 2 0 0 5 - 5 1 4 9 0 9 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)
C 1 2 M 1 / 0 0 - 3 / 0 0
C 1 2 N 1 3 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
T h o m s o n I n n o v a t i o n