

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4215855号
(P4215855)

(45) 発行日 平成21年1月28日(2009.1.28)

(24) 登録日 平成20年11月14日(2008.11.14)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 M 3/00 (2006.01)	C 1 2 M 3/00 Z
C 1 2 M 1/22 (2006.01)	C 1 2 M 1/22
C 1 2 N 5/06 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 E

請求項の数 10 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願平10-71051	(73) 特許権者	595117091
(22) 出願日	平成10年3月19日(1998.3.19)		ベクトン・ディキンソン・アンド・カンパニー
(65) 公開番号	特開平10-262648		BECTON, DICKINSON AND COMPANY
(43) 公開日	平成10年10月6日(1998.10.6)		アメリカ合衆国 ニュー・ジャージー O 7417-1880 フランクリン・レイクス ベクトン・ドライブ 1
審査請求日	平成17年3月22日(2005.3.22)		1 BECTON DRIVE, FRANKLIN LAKES, NEW JERSEY O7417-1880, UNITED STATES OF AMERICA
(31) 優先権主張番号	08/818,648	(74) 代理人	100077481
(32) 優先日	平成9年3月19日(1997.3.19)		弁理士 谷 義一
(33) 優先権主張国	米国(US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 培養容器アセンブリ、これに用いる蓋およびこれを用いた細胞培養方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試験プレートであって、組織培養培地または細胞培養挿入部を受け入れるための開口部を有する複数のウェルおよび当該プレートの外縁を形成する直立した側壁を備える試験プレート、

前記ウェルをおおって前記プレート上に置かれる取り外しできる蓋であって、前記ウェルをおおって広がる、上面および下面を有する本質的に平らなカバーと、前記カバーを包囲し、前記カバー上に複数の角部を形成し、かつ下向きに延びて、内面および外面を有するスカートを備える蓋、

前記カバーの前記内面および前記スカートの内面の間における前記蓋の内方の周辺部、
前記蓋の前記周辺部に設けられた封止材料、
前記アセンブリを出入りするガスの拡散を許容するための手段、および
前記蓋を前記プレートに取り外しできるように固定するための手段
を備えることを特徴とするアセンブリ。

【請求項 2】

前記アセンブリを出入りするガスの拡散を許容するための前記手段はガス透過性膜を備えた前記蓋の前記カバーにおいて少なくとも1つのオリフィスを備えることを特徴とする請求項 1 に記載のアセンブリ。

【請求項 3】

前記オリフィスおよび前記ガス透過性膜をおおって前記カバーに取り外しできるように

10

20

取り付けられたガス不透過性フィルムをさらに備えており、それによって前記フィルムを完全にまたは部分的に取り除き、前記アセンブリを出入りするガスの拡散を補助できることを特徴とする請求項 2 に記載のアセンブリ。

【請求項 4】

上面と下面を備えている本質的に平らなカバー、
前記カバー上に複数の角部を形成し、かつ下向きに延びて、内面および外面を有する前記カバーを包囲するスカート、
前記カバーの上面と前記スカートの内面の間における前記蓋の内方の周辺部、
前記周辺部に設けられた封止材料、
ガス透過性膜を備えた前記カバーに設けた少なくとも 1 つのオリフィス、
前記オリフィスと前記ガス透過性膜をおおった前記カバーに完全にまたは部分的に取り外しできるように取り付けられたガス不透過性フィルム、および
前記スカートの前記外面に設けたレバー
を備えていることを特徴とする組織培養プレートと関連して用いる蓋。

10

【請求項 5】

前記ガス不透過性フィルムが剥ぎ取り式ラベルであることを特徴とする請求項 4 に記載の蓋。

【請求項 6】

前記スカートから内方に離隔され、かつ前記カバーの前記下面から下向きに延びている複数のリブをさらに備えていることを特徴とする請求項 4 に記載の蓋。

20

【請求項 7】

本体と取り外しできる蓋を備えた装置であって、
前記本体は上面、下面、本質的に前記上面と下面の間に配置された複数のウェル、および前記本体の外縁を形成する直立した側壁を備え、
前記取り外しできる蓋は上壁と前記上壁から延びた周縁スカートを備え、前記上壁、前記上壁と前記周囲のスカートの間の前記蓋における内方の周辺部、および前記蓋における前記内方の周辺部の封止材料を通して前記装置を出入りするガスの拡散を許容する手段を備えることを特徴とするインピット口における細胞成長または組織培養のための装置。

【請求項 8】

装置を出入りするガスの拡散を許容する前記手段が、少なくとも 1 つのオリフィスおよび前記オリフィスと連結したガス透過性膜であることを特徴とする請求項 7 に記載の装置。

30

【請求項 9】

前記装置のガスの拡散を補助することができるように前記オリフィスをおおって前記カバーに対して部分的にまたは完全に取り外しできるように取り付けられたガス不透過性フィルムをさらに備えることを特徴とする請求項 7 に記載の装置。

【請求項 10】

さらに前記蓋と前記本体を取り外しできるように固定するための手段を備えたことを特徴とする請求項 7 に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

40

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はインピット口 (in vitro) で細胞成長または組織培養するための装置および方法に関する。より詳述すると、本発明はアセンブリを出入りするガスの拡散速度を変化させるための手段、およびそのアセンブリ内の細胞または組織培養に関して生物学的汚染を実質的に最低限にするための手段を有する培養容器アセンブリ、これに用いる蓋およびこれを用いた細胞培養方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

培養容器は、米国特許第 4,495,289 号、第 5,026,649 号、第 5,358,871 号および第 5,366,

50

893 号ならびにヨーロッパ特許出願公開第0 483 620 A2号および英国特許出願公開第GB 2 268 187 A号に記載されている。培養容器は、ウェル(wells)を備えており、それらのウェルは一般的に円形の形状をしているとともに細胞の付着、成長、および分化がその上で起こる膜を有する細胞培養挿入部(cell culture insert)をそれらのウェル内に導入できるサイズを有する。ウェルを含んだ培養容器は、典型的には矩形であり、標準の分析装置に適合するように標準サイズを有する。培養容器に使用される細胞培養挿入部は、米国特許第4,871,674号、第5,026,649号および第5,366,893号に記載されている(これは引用することで本明細書の一部とする)。

【0003】

細胞の培養は、細胞損傷が生じることなく細胞に十分に酸素を供給する能力に依存する。細胞呼吸用の酸素は、細胞の上にある上部空間中の大気から液体培養培地を通して供給される。

10

【0004】

例えば、スパージング、表面のエアレーション、培地灌流といった培養の通気は、酸素の利用性を増加することができる。しかしながら、かかる方法では細胞損傷が起こる可能性がある。シリコンゴム製の管を用いてウェルと大気との配管(tubing)を行うことにより細胞培養におけるガス交換を改善することがなされているが、かかる方法は不便であり、細胞懸濁液が汚染されることがある。

【0005】

多数の培養容器が市販され、特許公報に記載されているけれども、培養容器アセンブリを出入するガスの拡散速度を変化させるための手段を提供するにもかかわらず、依然として密閉系を提供し、それにより容器に対する生物学的汚染物の出入口が実質的に最低限にされるような培養容器は入手可能ではないと思われる。

20

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明の目的は、培養容器アセンブリを出入りするガスの拡散速度を変化させるための手段および生物学的汚染物の出入りを実質的に最低限にするための手段を有する培養容器アセンブリ、これに用いる蓋およびこれを用いた細胞培養方法を提供することにある。

【0007】

30

【課題を解決するための手段】

本発明のアセンブリは、試験プレートであって、組織培養培地または細胞培養挿入部を受け入れるための開口部を有する複数のウェルおよび当該プレートの外縁を形成する直立した側壁を備える試験プレート、

前記ウェルをおおって前記プレート上に置かれる取り外しできる蓋であって、前記ウェルをおおって広がる、上面および下面を有する本質的に平らなカバーと、前記カバーを包囲し、前記カバー上に複数の角部を形成し、かつ下向きに延びて、内面および外面を有するスカートを備える蓋、

前記カバーの前記内面および前記スカートの内面の間における前記蓋の内方の周辺部、

前記蓋の前記周辺部に設けられた封止材料、

40

前記アセンブリを出入りするガスの拡散を許容するための手段、および

前記蓋を前記プレートに取り外しできるように固定するための手段を備えることを特徴とする。

【0008】

本発明のアセンブリは、上記のアセンブリにおいて、前記アセンブリを出入りするガスの拡散を許容するための前記手段はガス透過性膜を備えた前記蓋の前記カバーにおいて少なくとも1つのオリフィスを備えることを特徴とする。

【0009】

本発明のアセンブリは、上記のアセンブリにおいて、前記オリフィスおよびガス透過性膜をおおって前記カバーに取り外しできるように取り付けられたガス不透過性フィルムを

50

さらに備えており、それによって前記フィルムを完全にまたは部分的に取り除き、前記アセンブリを出入りするガスの拡散を補助できることを特徴とする。

【0010】

本発明の組織培養プレートと関連して用いる蓋は、上面と下面を備えている本質的に平らなカバー、

前記カバー上に複数の角部を形成し、かつ下向きに延びて、内面および外面を有する前記カバーを包囲するスカート、

前記カバーの上面と前記スカートの内面の間における前記蓋の内方の周辺部、

前記周辺部に設けられた封止材料、

ガス透過性膜を備えた前記カバーに設けた少なくとも1つのオリフィス、

前記オリフィスと前記ガス透過性膜をおおった前記カバーに完全にまたは部分的に取り外しできるように取り付けられたガス不透過性フィルム、および

前記スカートの前記外面に設けたレバーを備えていることを特徴とする。

【0011】

本発明の蓋は、上記蓋において、前記ガス不透過性フィルムが剥ぎ取り式ラベルであることを特徴とする。

【0012】

本発明の蓋は、上記蓋において、前記スカートから内方に離隔され、かつ前記カバーの前記下面から下向きに延びている複数のリブをさらに備えていることを特徴とする。

【0013】

本発明のインビトロにおける細胞成長または組織培養のための装置は、本体および取り外しできる蓋を備えた装置であって、

前記本体は上面、下面、本質的に前記上面と下面の間に配置された複数のウェル、および前記本体の外縁を形成する直立した側壁を備え、

前記取り外しできる蓋は上壁と前記上壁から延びた周縁スカートを備え、前記上壁、前記上壁と前記周囲のスカートの間の前記蓋における内方の周辺部、および前記蓋における前記内方の周辺部の封止材料を通して前記装置を出入するガスの拡散を許容する手段を備えることを特徴とする。

【0014】

本発明の装置は、上記装置において、装置を出入りするガスの拡散を許容する前記手段が、少なくとも1つのオリフィスおよび前記オリフィスと連結したガス透過性膜であることを特徴とする。

【0015】

本発明の装置は、上記装置において、前記装置のガスの拡散を補助することができるように前記オリフィスをおおって前記カバーに対して部分的にまたは完全に取り外しできるように取り付けられたガス不透過性フィルムをさらに備えることを特徴とする。

【0016】

本発明の装置は、上記装置において、さらに前記蓋と前記本体を取り外しできるように固定するための手段を備えたことを特徴とする。

【0017】

【発明の実施の形態】

本発明は、インビトロで細胞成長または組織培養するためのアセンブリに関するものである。そのアセンブリは、組織培養挿入部のような挿入部または組織培養培地を受け入れるのに適用した形状のウェルおよび取り外しできる蓋を有する試験プレートを備えたものである。

【0018】

好適には、試験プレートは、上面、下面、および複数のウェルを備えている。各ウェルは、本質的に試験プレートの上面および下面の間に配置される。

【0019】

10

20

30

40

50

アセンブリは、さらに試験プレートの上面をおおって置くことができる取り外しできる蓋を含んでいる。蓋は、ウェルの上壁 (top wall) および上壁から下向きに延びた、周縁スカート (peripheral skirt) を含んでいる。蓋の内側に、周縁スカートの内側に沿って、スカートと上壁が合わさるところにシリコンのような封止材料がある。蓋は、ウェルの内部からのサンプルの損失を防ぎ、周囲からアセンブリ内の内容物を保護し、有害な物質または潜在的に有害な物質が含まれていればアセンブリ内の内容物から使用者を保護するのに役立つ。

【0020】

さらに、アセンブリは、取り外しできるように蓋とプレートをいっしょに固定 (securing) するための手段を備えており、それにより封止材料は蓋とプレートの境界面の間で圧縮され、アセンブリの内部は実質的に外部の環境から保護されるのでアセンブリ内は生物学的に安全な環境となる。

10

【0021】

それ故、蓋とプレートがいっしょに固定して整列するアセンブリは、ウェルの内部からのサンプルの損失を防ぎ、周囲からアセンブリ内の内容物を保護し、ウェルの間の相互汚染からアセンブリの内容物を保護し、有害な物質または潜在的に有害な物質がアセンブリ内の内容物に含まれていればそのような内容物から使用者を保護するのに役立つ。

【0022】

取り外しできるように蓋とプレートを固定するための手段には、蓋につけたレバーおよびプレートにつけたハンドルが好適である。最も好適なのは、受け入れハンドル (receiving handle) は開口部 (open area) を取り囲むフレーム形状であり、この開口部にレバーを差込み、フレームと連結することである。蓋とプレートがいっしょに置かれるとき、蓋がプレートの上面をおおって適所に下げられるにつれて下向きの力が水平軸に沿ってレバーに作用する。加圧したレバーは、受け入れハンドルの開口部内に位置し、次いで力をレバーから解放するにつれて、レバーは受け入れハンドルのフレームとパチンと合わさる (snap-fit)。

20

【0023】

受け入れハンドルとレバーをパチンと合わせる動作は、パチンと音が聞こえるようにすることもでき、もう一方では非永久ロック (non-permanent lock) を供給する。さらに、レバーと受け入れハンドルはまとめるとき、蓋とプレートをいっしょに実質的に封止し、その際、蓋の上の封止材料は蓋とプレートの境界面で圧縮される。圧縮された封止材料は、本質的に、蓋とプレートの境界面の間の液体および/またはガスの交換を妨げる。

30

【0024】

水平軸に沿って水平面に力を作用させることによりプレートから蓋を取り外し、受け入れハンドルからレバーが外れる (unsecure) ようにし、プレートから蓋を持ち上げる。

【0025】

プレートおよびこれと関連する取り外しできる蓋は、異なるサイズおよび形状に形成して異なるサイズおよび形状の細胞培養挿入部を使用するようにしてもよい。プレートの上面をおおって蓋の位置を変える場合に、ウェルの間の相互汚染を減少させるために、取り外しできる蓋は、一つの方向でプレートの上面をおおって置かれるように形成してもよい。プレートおよび取り外しできる蓋は、ウェルおよび細胞培養挿入部が容易に見えるように、光学的に透明なプラスチックから製造されたものが好ましい。

40

【0026】

蓋は、プレートのウェルを出入してガスが拡散できるようにするための手段を備えていることが好ましい。プレートのウェルを出入してガスが拡散できるようにする手段には、少なくとも1つの出入口 (ポート) があり、さらに出入口はガスが透過できる膜と連結していることが最も望ましい。このガス透過性膜は液体に対して不透過性であることが最も望ましい。

【0027】

さらに、蓋に結びつけられているのは、試験プレートから蓋を取り外すことなしに、ガス

50

透過性膜を選択的に閉塞するための手段である。膜を選択的に閉塞する手段としては、薄い不透過性のフィルムが好適である。薄いフィルムを出入口をおおう蓋の上に取り外しできるように取り付けて、ガス透過性膜を大気にさらすことを制限するようにしてもよい。蓋を試験プレートから持ち上げたりまたは取り外したりする必要がないので、薄い不透過性のフィルムは、ウェル内環境の生物学的な安全性を維持するのを助ける。

【 0 0 2 8 】

最も好適には、選択的に膜を閉塞するための手段は、剥ぎ取り式ガス不透過性ラベル (label) である。最も好適には、ラベルはプラスチックである。好適なラベルの材料としては、ガスおよび液体に不透過性のポリマー性基質樹脂 (polymeric substrate resins) があるが、これらに限定はされない。ラベルは透明でもまたは色を指定してもよい。さらに、ラベルの表面は、追加の情報をラベルの上に手書きできるようにすることもできる。

10

【 0 0 2 9 】

円形であるラベルを提供することは本発明の範囲内であるけれども、異なる形状のラベルを提供することもできる。

【 0 0 3 0 】

このラベルを用いると使用者はウェル内のガス交換を調節できるので、細胞培養の所望の成長を得るのが容易になるが、同時に試験プレートのウェル内に微生物または他の汚染物が侵入するのを本質的に防ぐ密封系を依然として提供することができる。ラベルは、ガス交換をほぼ実質的に最大にする一方で、試験プレートのウェルにおける汚染の可能性を最小にする。

20

【 0 0 3 1 】

ラベルは、試験プレートの滅菌性を弱めたりまたは漏出を招来するものではない。ラベルは再利用できるので製造かつ経済的に引き合うということは他の利点である。

【 0 0 3 2 】

出入口 (port) およびガス透過性膜の著しい利点は、蓋を部分的に開く必要なしにもっぱら膜を通してガス交換が起こり、それゆえウェル中の滅菌性が失われることおよび漏出を実質的に最小にするということである。

【 0 0 3 3 】

最も著しいのは、本発明のアセンブリが以降の利点を提供することである。すなわち、(1) 通気口がある閉じた環境で滅菌性を維持し、かつガス交換を調節していること、(2) 潜在的に有害なサンプルを収容すること、(3) 酵母、バクテリア、および / またはウイルスのような環境内の / 外因性の汚染物でアセンブリ内の試料が汚染されることを最小限にすること、および (4) 生物学的に安全な環境である。

30

【 0 0 3 4 】

さらに、本発明のアセンブリが特に有利なのは、無菌およびガス交換が制御された条件において皮膚移植のためのケラチン生成細胞を複数層生成することが望ましい皮膚の培養のように、複数層の細胞を培養する場合である。

【 0 0 3 5 】

さらに、本発明は、細胞挿入部 (cell insert) の膜の表面にある分裂中の細胞に対して直接に酸素を制御して通過することを可能にする。

40

【 0 0 3 6 】

本発明のアセンブリの原理にしたがって、現在知られておりかつ入手可能であるマルチウェル (multiwell) 組織培養アセンブリに対して著しい改善が提供される。最も重要なのは、本発明のアセンブリは、アセンブリを出入りするガスの拡散を本質的に改善するが、同時にマルチウェルプレートの内容物の滅菌性を維持し、かつウェルと外部の環境との間で十分なガス交換が起こるようにしている。従って、本発明のアセンブリは、細胞培養方法のための条件を最適にするために生物学的に安全な密閉された環境を提供するものであり、その際生物学的な汚染物、ガスおよび / または液体の出入りは、本質的に最小にされる。

【 0 0 3 7 】

50

添付図面に図示し以下に詳細に説明するのは好適な本発明の実施態様である。本発明は多くの異なる形態の実施態様によって具現化されるけれども、本開示は、本発明の原理の一例であり、本発明を例示した実施態様に限定することを意図するものではない。種々の他の変形は、本発明の範囲および精神からそれることなしに当業者によって理解されおよび容易になされる。本発明の範囲は、添付された請求項およびそれらの均等物によって判断される。

【 0 0 3 8 】

図 1 および図 2 に示したように組織培養を成長させるための装置 1 0 は、培養容器プレート 2 0 および蓋 6 0 を備えている。図 1 および図 2 に示したように、培養容器プレート 2 0 は、上面 2 2 および下面 2 4 を含んでいる。さらに培養容器プレートは、プレートの上面 2 2 からプレートの下面 2 4 まで延びた側壁 2 8 を各々備えた多数のウェル 2 6 を含んでいる。各ウェルは、上部 3 0 および底部 3 6 を備えている。上部 3 0 は、開放端 3 2 を備えており、それは閉塞端 3 8 を備えた底部 3 6 に向かって延びている。

10

【 0 0 3 9 】

6 個、12 個、24 個、48 個、および 96 個のウェルプレートが一般に知られており、かつ入手可能であるけれども、プレート 2 0 におけるウェル 2 6 の数はいくつでもよい。図 1 では、単に例示的な目的のために 6 個のウェルを有するプレートが例示されている。最も標準的なマルチウェルプレートは、使用される個々のウェルを明らかに同定できるようにするために直交した列と行に配置されたウェルを有する。もちろん、本発明により、いかなるウェルの配置も考えられるので、プレート 2 0 におけるウェルの配置は、本質的に本発明を限定するものではない。

20

【 0 0 4 0 】

図に例示したようにプレート 2 0 は、典型的には、透明であって、かつ例えば、ポリビニルクロライドまたはポリスチレンから成る成形品でもよい。

【 0 0 4 1 】

ウェルを囲み、プレート 2 0 の外側の縁取り (border) を形成しているのが側壁 4 0 である。本発明の実施態様において、プレート 2 0 は 6 個の側壁を有する。組織培養プレートが矩形または四辺形の形であることは周知であるが、本発明の目的のためには、プレートは任意の実用的な形状に、かつ任意数のウェルを含むように作製することができる。

【 0 0 4 2 】

プレートの側壁 4 0 の内側に、かつプレート 2 0 の上面の周りに設けられているのは、埋め込み式の棚 (recessed ledge) 2 1 であり、これは図 1 および図 2 に関連した図 3 および図 4 でより明らかに分かる。棚 2 1 は、プレート 2 0 の上面 2 2 のウェルを囲んで縁取りを形成し、さらにそこで側壁 4 0 は棚の上に高くした位置まで伸び、それによって棚の周辺にリム (rim) を形成している。

30

【 0 0 4 3 】

側壁 4 0 は、上の区分 4 2 および下の区分 4 6 を備えた 2 段階の区分から成る。下の区分 4 6 は、上と下の区分の間の環状肩部 4 4 によって上の区分 4 2 から段状になったものである。それ故、上の区分 4 2 は、上面 2 2 から環状肩部 4 4 まで延びており、下の区分 4 6 は、環状肩部 4 4 から下面 2 4 の底面 4 8 まで延びている。

40

【 0 0 4 4 】

本発明のマルチウェル組織培養アセンブリが使用中のときは、下の区分 4 6 は、プレート 2 0 に対して環状の基板として働く。

【 0 0 4 5 】

図 1 から図 3 に示したように、ハンドル 5 0 はプレート 2 0 の下の区分 4 6 の反対側にとりつけられる。各ハンドル 5 0 は、プレート 2 0 の下の区分から外側に延びている。各ハンドルは開口部 5 6 を取り囲む閉じたフレーム 5 4 を有する。ハンドルが 2 つの別々の部品および任意の特定の形状から成ってもよいということは、十分に本発明の範囲内である。

【 0 0 4 6 】

50

蓋 6 0 は独立していて、プレート 2 0 のウェルの全てをカバーする取り外しできる部材である。図面の全てに蓋 6 0 が例示されているけれども、蓋 6 0 の詳細は、図 2 および図 4 に最もよく例示されている。蓋 6 0 は、プレート 2 0 のウェルの全てをおおって広がるのに充分に大きい、本質的に平らなカバー 6 2 を有している。平らなカバー 6 2 は、上面 6 4 および底面 6 6 を有する。カバー 6 2 の形状は、プレート 2 0 の形状に合致する。最も好適なのは、図 1 に示したように、蓋 6 0 は、使用者がプレートをおおった蓋を再度置こうとした場合に、ウェルの間の相互汚染を減少させるために一つの方向でプレートの上面をおおって置かれるように形成することである。

【 0 0 4 7 】

カバー 6 2 の周りに延びた部分は、垂れ下がったスカート (skirt) 6 8 であり、これは蓋 6 0 の周りに縁取りを形成する。スカート 6 8 は、内壁面 7 0 および外壁面 7 2、ならびに各々がカバーから底止め面 7 4 まで下向きに延びている 6 個の側面を有している。図 4 に示したように、カバー 6 2 と付随的なスカート 6 8 の間の移行部は周辺部 (perimeter area) 6 9 である。さらに、周辺部 6 9 の中に沿ってシリコンのような封止材料がある。内部に向かって、スカート 6 8 から配列され、かつ平らなカバーの底面 6 6 から下向きに延びているのがリブ (rib) 7 8 である。かかるリブは、本質的にスカート 6 8 の内壁面 7 0 に対して平行に横たわっており、プレート中の埋め込み式の柵 2 1 に下向きに付属するようにカバーの上に位置する。

【 0 0 4 8 】

図 1 から図 4 に示したように、オリフィスまたは出入口 1 0 0 をカバー 6 2 上に設置し、次いでガスに対して透過性であり、液体に対して不透過性である膜 1 0 2 をオリフィスと連結する。ガス透過性膜の材料は、試験プレートに酸素および二酸化炭素のようなガスを自由に通過するけれども、バクテリアおよび真菌のような微生物の通過を防ぐ限りにおいて、任意の適当なガス透過性材料から作成することができる。これらの材料としては、ポリエチレン、ポリカーボネート、アクリル系コポリマーおよびポリテトラフルオロエチレンが含まれる。

【 0 0 4 9 】

図 3 に示すように、蓋 6 0 がプレート 2 0 をおおって置かれるとき、スカート 6 8 はマルチウェルプレートの環状肩部 4 4 に向かって延びており、それによって環状肩部 4 4 と底止め面 7 4 のその間に空間 8 0 が残る。図 3 および図 4 に示したように、封止材料 7 6 は周辺部 6 9 とプレートの側壁 4 0 の間で圧縮され、実質的に環境に対して出入りするいかなる漏れもせき止める。

【 0 0 5 0 】

図 1 および図 2 に示したように、レバー 9 0 はスカート 6 8 の外壁面 7 2 の反対側に取り付ける。各レバーは、スカート 6 8 の外壁面 7 2 から延びる。プレートのハンドル 5 0 と容易にかみ合う限りにおいて、レバーがいかなる特別な形状から成ってもよいということは、十分に本発明の範囲内である。図 3 および図 4 に示したように、各レバーは、外壁面 7 2 から外方へ延びる後方端 9 2 と前方または作用端 9 4 を備えた段状の形状を有している。後方端 9 2 および前方端 9 4 は、ピボット位置 9 6 で交わる。ピボット位置は、前方端に対して融通性を提供し、そのためスカートの外壁面に向かって押したりまたは縮んだりすることができる。前方端 9 4 は、前方端から外側に伸びハンドルとレバーを固定するために用いられる、クリート (cleat) 9 8 であり、それによりクリートはフレームとかみ合う。

【 0 0 5 1 】

使用時には、図 5 に示したように、使用者の手の親指と人差し指を使って前方端の各レバーに水平に力を作用し、そのことでスカートの外壁面に向かってレバーの前方端が圧縮される。次いで、蓋をプレート 2 0 の上部をおおって下げるにつれてレバーをハンドルの開口部にスライドさせ、各レバーに対する力を取り除き、そして各レバーのクリートをハンドルのフレームにパチンと合わせる。パチンとレバーを合わせる際に、パチンと音が聞こえるようにすることもできる。パチンと合わせることは、蓋とプレート間の非永久ロックを

10

20

30

40

50

生じ、および蓋の周辺部 6 9 とプレートの側壁 4 0 の間で封止材料が圧縮されることである。

【 0 0 5 2 】

図 6 に示したように、使用者の手の親指と人差し指でスカートの外壁面に向かってレバーの前方端に水平に力を作用することにより、蓋はプレートから取り外すことができ、そのためにハンドルのフレームから各レバーのクリートを離し、使用者によって上に向かって持ち上げることで、プレートから蓋を取り外すことになる。

【 0 0 5 3 】

図 7 に示したように、本発明の他の実施態様としては、図 1 の構成要素と本質的に同一である多くの構成要素を含んでいる。従って、同様の機能を果たす同様の構成要素は、図 7 においてそれらの同様の構成要素を同定するのに接尾辞 “ a ” を用いることを除いては、図 1 におけるそれらの構成要素と全く同じに番号をつける。

10

【 0 0 5 4 】

図 7 に示されたように、任意的な剥ぎ取り式の薄いフィルムのラベル（以下、薄膜ラベルともいう）1 0 4 は、カバー 6 2 a に取り外しできるように取り付けられてオリフィス 1 0 0 a の膜 1 0 2 a を選択的に閉塞する。フィルムは、特定の培養の要求にしたがって、完全にまたは部分的に取り外すか、あるいは置いたままにしておくことができる。

【 0 0 5 5 】

慣用的な方法を用いて、カバーに対して剥ぎ取り式の薄膜ラベルを適用する。これらの方法は、感圧接着材料のような接着材料を含んでおり、そこで薄膜ラベルは、必要に応じてカバーから完全にまたは部分的に取り外すことが容易にでき、そして必要に応じて適用することができる。薄膜ラベル材料はポリエチレンまたはポリエチレンテレフタレートから作成してもよく、接着材料はアクリル系接着剤を含んでなるものであってもよい。

20

【 0 0 5 6 】

図 7 に示したように、任意の剥ぎ取り式薄膜ラベル 1 0 4 は、円形であり、かつ使用しやすいようにつまみ 1 0 8 を有する。円形の剥ぎ取り式薄膜を提供することは、本発明の範囲内であるけれども、異なる形状および寸法にしてもよい。

【 0 0 5 7 】

図 8 に示したように本発明の他の実施態様としては、図 2 の構成要素と本質的に同一である多くの構成要素を含んでいる。従って、同様の機能を果たす同様の構成要素は、図 8 においてそれらの同様の構成要素を同定するのに接尾辞 “ b ” を用いることを除いては、図 2 におけるそれらの構成要素と全く同じ番号をつける。

30

【 0 0 5 8 】

図 8 に示すようにラベル 1 1 0 は、アセンブリ 1 0 b とともに使用できるラベルの他の実施態様である。図 6 に示したように本発明のこの実施態様は、蓋 6 0 b の平面的な被覆表面の全体をカバーするラベル 1 1 0 である。

【 0 0 5 9 】

図 9 に示したように本発明の他の実施態様としては、図 2 の構成要素と本質的に同一である多くの構成要素を含んでいる。従って、同様の機能を果たす同様の構成要素は、図 9 においてそれらの同様の構成要素を同定するのに接尾辞 “ c ” を用いることを除いては、図 2 におけるそれらの構成要素と全く同じ番号をつける。

40

【 0 0 6 0 】

図 9 に示したように蓋 6 0 c は、アセンブリ 1 0 c に使用することができる蓋の他の実施態様である。図 9 に示したように本発明の他の実施態様は、平らなカバーに設置された 2 つのオリフィス 1 1 2 であり、各々は液体不透過性フィルム 1 1 4 を有し、これらは連結している。図 9 では 2 つのオリフィスのみを示しているが、平らなカバーに 2 つ以上のオリフィスを有することも十分に本発明の範囲内である。

【 0 0 6 1 】

使用の際には、本発明は以下のように細胞の培養に使用することができる。すなわち、a . スカートの外部のウェル面に向かってラベルの前方に水平に力を作用することにより

50

培養容器アセンブリから蓋を取り除くこと、そのためにハンドルのフレームから各レバーのクリートを離しおよびプレートから蓋を持ち上げること培養容器アセンブリから蓋を取り除く、

b. 培養容器アセンブリ内で細胞挿入部の膜の上に細胞の層を沈着させ、

c. 細胞の層を成長培地で覆い、

d. 前方の端の各レバーに水平に力を作用させることによりプレートをおおう蓋を固定することによりスカートの外壁面に向かってレバーの各前方の端を圧縮させ、プレートの上部をおおって蓋を下げ、かつプレートのハンドルにレバーをスライドさせ、

e. オリフィスをおおったラベルを取り外したりまたは部分的に取り外したりおよび再び取り付けることによって、培養容器の蓋のオリフィスを通して空気が押し入って到達することができるようにして各細胞挿入部の膜を直接的に換気する。

10

【0062】

当業者に理解されるように、本発明の培養容器アセンブリは、単純な成形できる部品から作製することができ、それは、例えば、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリエチレンテレフタレートおよびポリプロピレンを含む種々の材料から大量生産が可能である。さらに、当業者に理解されるように、材料は、成長した培養細胞を引き続き検査するのに、使用しやすいように僅かな弾性度を与える物質を選ぶことが望ましい。

【0063】

【発明の効果】

以上のように、アセンブリを出入りするガスの拡散を許容するための手段および蓋とプレートを取り外しできるように固定する手段を備えた培養容器アセンブリに封止材料を設けることにより、蓋とプレートの境界面の間の密封性をいっそう高め、生物学的な汚染物、ガスおよび/または液体の出入りを実質的に最低限にすることができ、細胞培養の条件に最適な生物学的に密閉された環境を提供することができる。

20

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のアセンブリの透視図である。

【図2】蓋を取り外した本発明のアセンブリの透視図である。

【図3】図1の線3-3に沿って分けたアセンブリの断面図である。

【図4】図3のアセンブリの部分断面図の拡大図である。

【図5】プレート上に蓋を据えることの説明図である。

30

【図6】プレートから蓋を取り外すことの説明図である。

【図7】オリフィスをカバーする蓋上のラベルを有する本発明の他の実施態様の透視図である。

【図8】全体の蓋をカバーするラベルを有する本発明の他の実施態様の透視図である。

【図9】蓋における1以上のオリフィスを示した本発明の他の実施態様の透視図である。

【符号の説明】

10、10b、10c 培養容器アセンブリ、装置

20 培養容器プレート

21 埋め込み式棚

22 上面

40

24 下面

26 ウェル

28 側壁

30 上部

32 開放端、開口部

36 底部

38 閉塞端

40 側壁

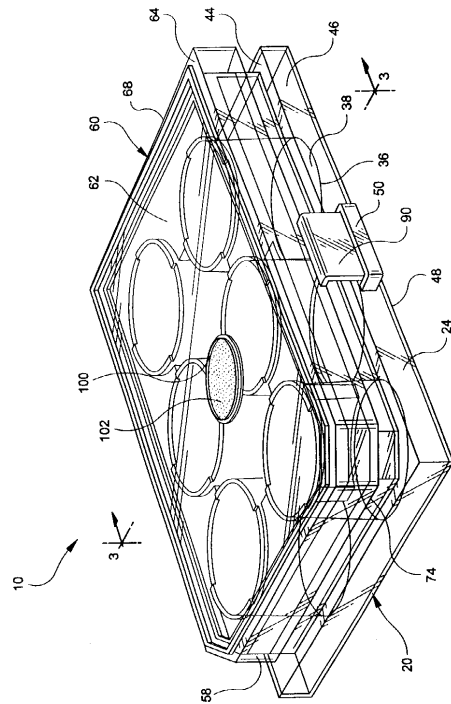
42 上の区分

44 環状肩部

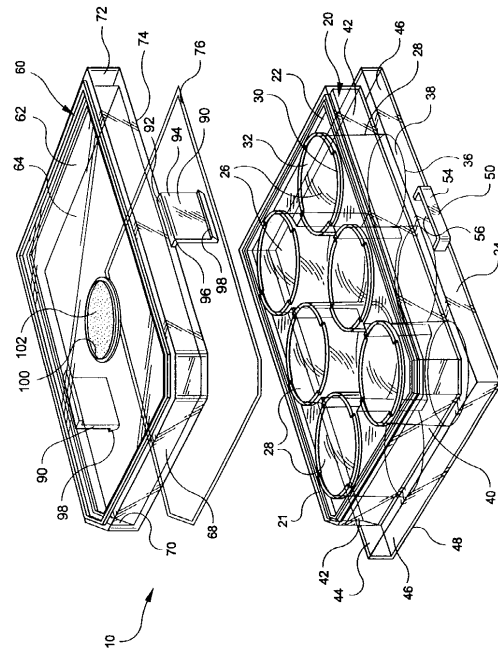
50

4 6	下の区分	
4 8	底面	
5 0	ハンドル	
5 4	フレーム	
5 6	開口部	
6 0、6 0 b、6 0 c	蓋	
6 2、6 2 a	カバー	
6 4	上面	
6 6	底面	
6 8	スカート	10
6 9	周辺部	
7 0	内壁面	
7 2	外壁面	
7 4	底止め面	
7 6	封止材料	
7 8	リブ	
8 0	空間	
9 0	レバー	
9 2	後方端	
9 4	前方端、作用端	20
9 6	ピボット位置	
9 8	クリート	
1 0 0、1 0 0 a	出入口（ポート）、オリフィス	
1 0 2、1 0 2 a	膜	
1 0 4	剥ぎ取り式薄膜ラベル	
1 0 8	つまみ	
1 1 0	ラベル	
1 1 2	オリフィス	
1 1 4	液体不透過性フィルム	

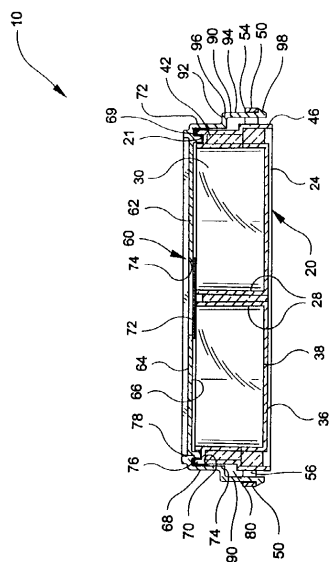
【図 1】



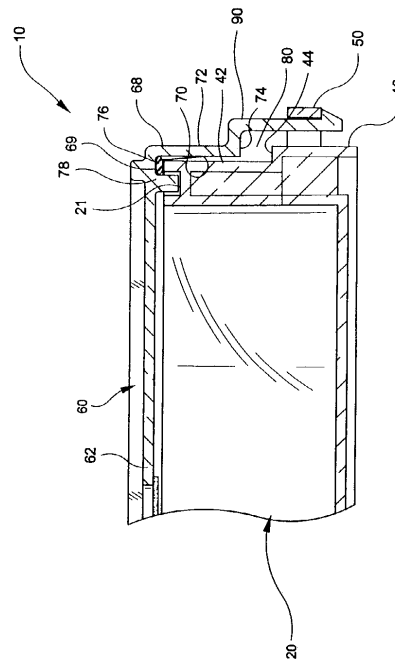
【図 2】



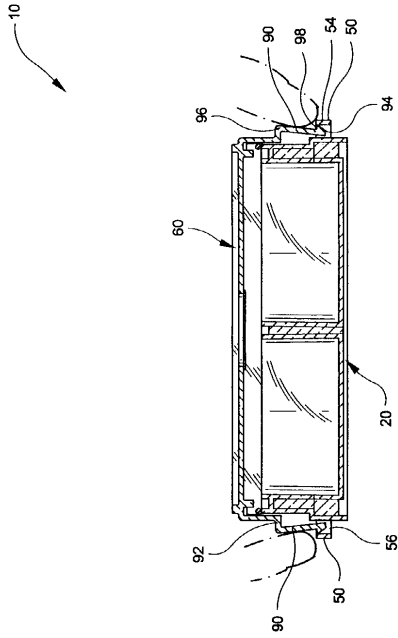
【図 3】



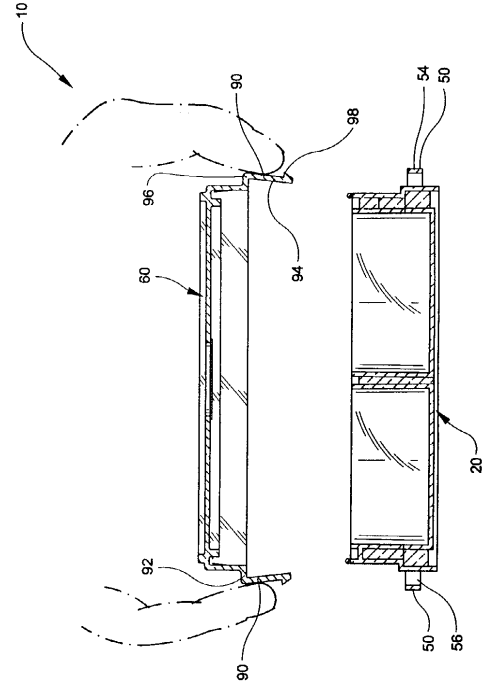
【図 4】



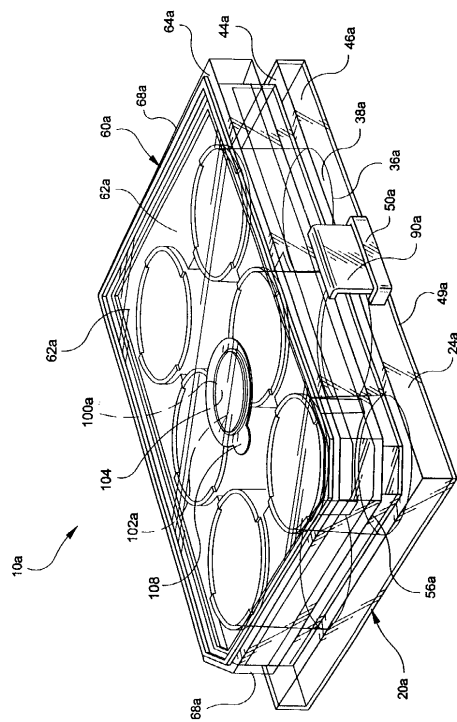
【図 5】



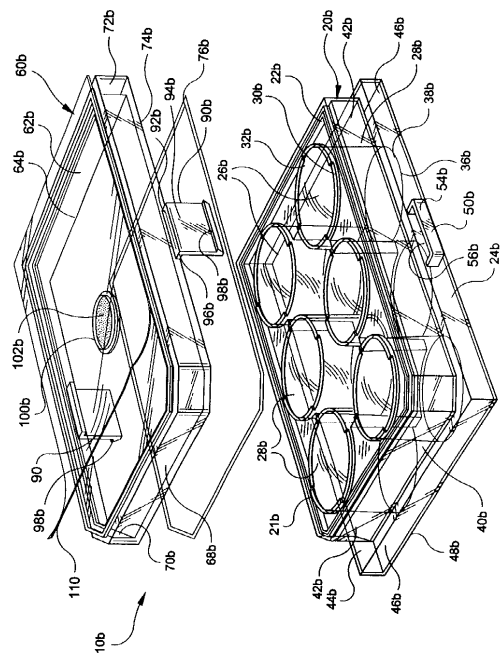
【図 6】



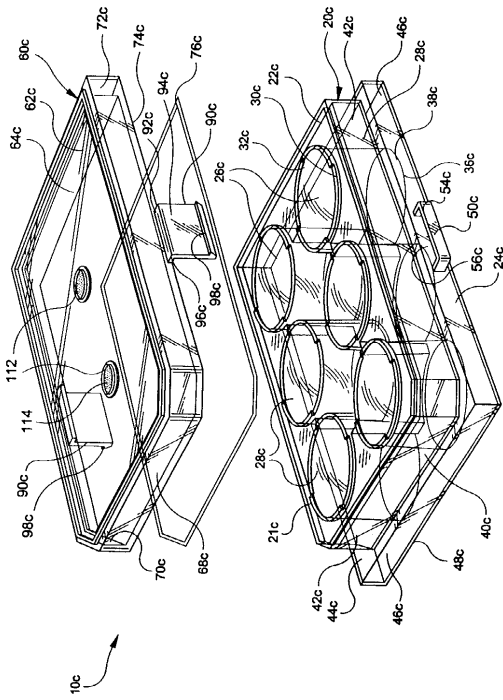
【図 7】



【図 8】



【 図 9 】



フロントページの続き

(74)代理人 100088915

弁理士 阿部 和夫

(74)代理人 100105371

弁理士 加古 進

(72)発明者 ティモシー エイ・スティーヴンス

アメリカ合衆国 1 0 9 9 0 ニューヨーク州 ウォーウィック ビッグ アイランド ロード
6 3

(72)発明者 タデューズ エイ・ティンドルフ

アメリカ合衆国 0 7 2 2 6 ニュージャージー州 マナラパン サンドパイパー ドライブ 8

審査官 斎藤 真由美

(56)参考文献 国際公開第 9 5 / 0 2 7 1 9 6 (W O , A 1)

米国特許第 0 5 6 0 2 0 2 8 (U S , A)

特開平 1 0 - 3 3 7 1 7 8 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C12M 1/00-3/10

C12Q 1/00-70

G01N 33/00-98

C12N 1/00-9/99

PubMed、MEDLINE(STN)

BIOSIS/WPI(DIALOG)