

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7631304号
(P7631304)

(45)発行日 令和7年2月18日(2025.2.18)

(24)登録日 令和7年2月7日(2025.2.7)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 M	1/00 (2006.01)	C 1 2 M	1/00	A
C 1 2 N	5/071(2010.01)	C 1 2 N	5/071	
C 1 2 M	3/00 (2006.01)	C 1 2 M	3/00	Z
C 1 2 M	1/34 (2006.01)	C 1 2 M	1/34	D
請求項の数 19 (全32頁)				
(21)出願番号	特願2022-506435(P2022-506435)	(73)特許権者	511227336	
(86)(22)出願日	令和2年7月31日(2020.7.31)		モレキュラー デバイシーズ, エルエル	
(65)公表番号	特表2022-543225(P2022-543225		シー	
	A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 1	
(43)公表日	令和4年10月11日(2022.10.11)		3 4, サン ノゼ, エヌ. ファースト	
(86)国際出願番号	PCT/US2020/044545		ストリート 3 8 6 0	
(87)国際公開番号	WO2021/026010	(74)代理人	100078282	
(87)国際公開日	令和3年2月11日(2021.2.11)		弁理士 山本 秀策	
審査請求日	令和5年7月26日(2023.7.26)	(74)代理人	100113413	
(31)優先権主張番号	62/882,363		弁理士 森下 夏樹	
(32)優先日	令和1年8月2日(2019.8.2)	(72)発明者	シレンコ, オクサナ	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 1	
			3 4, サン ノゼ, エヌ. ファースト	
			ストリート 3 8 6 0	
		(72)発明者	ケンダ, アンドレアス	
			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 培地交換ウェル内で細胞を培養する方法およびシステム

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞培養の方法であって、前記方法は、

(a) ウェル(52)の列と、第1のリザーバ(56)および第2のリザーバ(58)とを含むデバイス(50)を選択することであって、前記ウェル(52)の列の各々は、第1の端部と第2の端部とを備え、前記第1の端部は、前記第2の端部の反対にあり、前記第1のリザーバ(56)は、前記第1の端部に位置し、前記第2のリザーバ(58)は、前記第2の端部に位置し、各ウェル(52)は、下側部分(70)と、上側部分(68)とを有し、前記ウェル(52)のうちの少なくとも2つのうちの各ウェル(52)の前記下側部分は、液体(104)と接触している細胞培養物を含む、ことと、

(b) 前記デバイス(50)によって画定され、前記ウェル(52)の列のうちの各ウェル(52)の前記上側部分を通して延びている流路(62)に少なくとも部分的に沿って、前記第1のリザーバ(56)と前記第2のリザーバ(58)との間で前記液体(104)を移送することであって、それによって、前記液体(104)が、前記少なくとも2つのウェル(52)間または前記少なくとも2つのウェル(52)の中で交換される、ことと

を含み、前記ウェル(52)の列の各ウェル(52)の前記下側部分は、平面的である外面および内面を有する透明側方光学窓(90)を含み、前記外面および内面の各々は、前記デバイス(50)の縦軸(60)と平行である、方法。

【請求項2】

前記流路（６２）は、複数の通路（６４）を通して延び、各通路（６４）は、前記ウェル（５２）の列のうちの一対の隣接するウェル（５２）の上側部分間、または前記リザーバのうちの１つの上側部分と前記ウェル（５２）の列のうち隣接するウェル（５２）の前記上側部分との間に流体連通を生成する、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

前記液体（１０４）を移送することは、前記ウェル（５２）の列のうちの各ウェル（５２）の前記下側部分および上側部分内で液体のウェル内混合を促す乱流を生成することを含む、請求項１に記載の方法。

【請求項４】

前記液体（１０４）を移送することは、重力を用いて液体流を駆動することを含む、請求項１に記載の方法。

【請求項５】

液体流を駆動することは、前記液体（１０４）が前記第１のリザーバ（５６）から前記ウェル（５２）の列に、前記ウェル（５２）の列から前記第２のリザーバ（５８）まで、前記流路（６２）に沿って流動するように、前記デバイス（５０）を傾け、前記第２のリザーバ（５８）に対して前記第１のリザーバ（５６）を上昇させることを含む、請求項４に記載の方法。

【請求項６】

前記液体（１０４）を移送することは、重力が前記第１のリザーバ（５６）と前記第２のリザーバ（５８）との間で前記流路（６２）に沿って反対方向に交互に前記液体（１０４）の流動を駆動するように、前記デバイス（５０）を揺り動かすことを含む、請求項５に記載の方法。

【請求項７】

細胞の少なくとも１つの３次元集団を前記少なくとも２つのウェル（５２）のうちの少なくとも１つの中に導入することをさらに含む、請求項１に記載の方法。

【請求項８】

細胞培養のためのデバイス（５０）であって、前記デバイス（５０）は、

（ａ）各々が下側部分と上側部分とを有するウェル（５２）の列であって、前記下側部分は、細胞培養物を含むように構成されている、ウェル（５２）の列と、

（ｂ）第１のリザーバ（５６）および第２のリザーバ（５８）であって、前記ウェル（５２）の列の各々は、第１の端部と第２の端部とを備え、前記第１の端部は、前記第２の端部の反対にあり、前記第１のリザーバ（５６）は、前記第１の端部に位置し、前記第２のリザーバ（５８）は、前記第２の端部に位置する、第１のリザーバ（５６）および第２のリザーバ（５８）と

を備え、

前記デバイス（５０）は、液体のための流路（６２）を画定し、前記流路（６２）は、前記ウェル（５２）の列を介して前記第１のリザーバ（５６）から前記第２のリザーバ（５８）まで延び、前記ウェル（５２）の列のうちの各ウェル（５２）の前記上側部分を通して、

前記ウェル（５２）の列のうちの少なくとも１つのウェル（５２）の前記下側部分は、平面的である外面および内面を有する透明側方光学窓（９０）を含み、前記外面および内面の各々は、前記デバイス（５０）の縦軸（６０）と平行である、デバイス（５０）。

【請求項９】

各ウェル（５２）の前記下側部分は、前記ウェル（５２）の前記上側部分のみを介して液体を受け取るように構成されている、請求項８に記載のデバイス（５０）。

【請求項１０】

前記ウェル（５２）の列のうちの前記ウェル（５２）のうちの１つ以上は、前記ウェル（５２）のうちの前記１つ以上の内側に平坦な底部を有する、請求項８に記載のデバイス（５０）。

【請求項１１】

前記ウェル（５２）の列のうちの少なくとも１つのウェル（５２）は、前記ウェル（５２）の底部に凹状内面領域を有する、請求項８に記載のデバイス（５０）。

【請求項１２】

前記凹状内面領域は、前記ウェル（５２）の列によって画定される縦軸（６０）を含む垂直面内で凹状である、請求項１１に記載のデバイス（５０）。

【請求項１３】

前記凹状内面領域は、前記ウェル（５２）の列によって画定される縦軸（６０）に直交する垂直面内で凹状である、請求項１１に記載のデバイス（５０）。

【請求項１４】

前記ウェル（５２）の列、前記第１のリザーバ（５６）、および前記第２のリザーバ（５８）を覆うように構成された蓋（１００）をさらに備えている、請求項８に記載のデバイス（５０）。 10

【請求項１５】

前記１つ以上のウェル（５２）のうちの各ウェル（５２）は、底部外面領域を有し、前記底部外面領域は、互いに直交する一対の垂直面内で、平坦であるか、または丸みを帯びている、請求項８に記載のデバイス（５０）。

【請求項１６】

請求項８に記載のデバイス（５０）を別のデバイス（５０）と整列させて除去可能に保持するためのフレーム（４２）を備えている装置。 20

【請求項１７】

ウェルの各列（５２）内のウェル（５２）の中心間の間隔は、ウェルの隣接する列（５２）間のウェル（５２）の中心間の間隔と同じである、請求項１６に記載の装置。

【請求項１８】

前記デバイス（５０）のうちの少なくとも１つの上に適合し、前記デバイス（５０）のうちの前記少なくとも１つのウェル（５２）を覆うように構成された蓋（１００）をさらに備えている、請求項１６に記載の装置。

【請求項１９】

前記蓋（１００）は、前記ウェル（５２）の全てと前記デバイス（５０）の前記リザーバの各々とを覆うように構成されている、請求項１８に記載の装置。 30

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【０００１】

（関連出願）

本願は、その内容が参照することによってその全体として本明細書に組み込まれる２０１９年８月２日に提出された米国仮出願第６２／８８２，３６３号の優先権を主張する。

【０００２】

細胞ベースの検定の生物学的関連性を増加させる差し迫った必要性がある。この必要性を満たすために、研究者らは、オルガノイドに高まる関心を向けている。オルガノイドは、生体外で産生され、臓器特有の組織の現実的な組織学を呈すること等の臓器とのある類似点を有する異なるタイプの細胞の３次元集団である。細胞の集団は、ヒドロゲル等の基質に少数の幹細胞を播種することによって発生させられ得る。幹細胞は、次いで、基質を足場として使用しながら、基質内で増殖、分化、および自己組織化する。 40

【０００３】

とりわけ、脳、心臓、腸、腎臓、肝臓、および胃からの組織に類似するオルガノイドが、「臓器チップ（organ-on-a-chip）」システム内で発生させられている。ある場合、脳、心臓、および肝臓を表すオルガノイド等の複数の異なるタイプのオルガノイドが、培地交換の条件下で同じデバイス内に培養される。これは、臓器系を表すオルガノイドの組が、シグナリング分子を介して、ある距離を置いて互いに相互作用し得る「身体チップ」（body-on-a-chip）システムを生成する。臓器チップおよび身体チップシステムの両方は、有望な結果を生じており、それによって、動物実験から、 50

生物学的プロセスを研究し、疾患をモデル化し、薬物を試験するための３次元（３Ｄ）細胞ベースのモデルへの基本的転換を駆動している。これらの３Ｄ細胞ベースのモデルは、実験のための実践時間およびコストを削減し得るので、研究者らに魅力的である。しかしながら、オルガノイド培養のための現在利用可能な技術は、典型的に、非常に複雑であり、あまり再現可能ではなく、多くの場合、自動化と適合性がなく、あまり特性評価されていない。

【０００４】

培地交換の条件下で別個の細胞培養物を培養し、培養物間の相互作用を可能にするための新しい方法、システム、および装置が、必要とされる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

本開示は、培地交換ウェル内で細胞を培養する方法、システム、および装置を提供する。細胞培養の例示的方法では、ウェルの列と、ウェルの列の反対端に位置している第１のリザーバおよび第２のリザーバを含むデバイスが選択され得る。各ウェルは、下側部分と、上側部分とを有し得る。ウェルのうちの少なくとも２つのうちの各ウェルの下側部分は、培地と接触している細胞培養物を含み得る。液体は、培地の分子が少なくとも２つのウェルの間またはそれらの中で交換されるように、デバイスによって画定され、ウェルの列のうちの各ウェルの上側部分を通して延びている流路に少なくとも部分的に沿って、第１のリザーバと第２のリザーバとの間で移送され得る。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

（項目１）

細胞培養の方法であって、前記方法は、

（a）ウェル（５２）の列と、前記ウェル（５２）の列の反対端に位置している第１のリザーバ（５６）および第２のリザーバ（５８）を含むデバイス（５０）を選択することであって、各ウェル（５２）は、下側部分（７０）と、上側部分（６８）とを有し、前記ウェル（５２）のうちの少なくとも２つのうちの各ウェル（５２）の前記下側部分は、液体（１０４）と接触している細胞培養物を含む、ことと、

（b）前記デバイス（５０）によって画定され、前記ウェル（５２）の列のうちの各ウェル（５２）の前記上側部分を通して延びている流路（６２）に少なくとも部分的に沿って、前記第１のリザーバ（５６）と前記第２のリザーバ（５８）との間で前記液体（１０４）を移送することであって、それによって、前記液体（１０４）が、前記少なくとも２つのウェル（５２）間またはそれらの中で交換される、ことと

を含む、方法。

（項目２）

前記流路（６２）は、複数の通路（６４）を通して延び、各通路（６４）は、前記ウェル（５２）の列のうちの一对の隣接するウェル（５２）の上側部分間、または前記リザーバのうちの１つの上側部分と前記ウェル（５２）の列のうちの隣接するウェル（５２）の前記上側部分との間に流体連通を生成する、項目１に記載の方法。

（項目３）

前記液体（１０４）を移送することは、前記ウェル（５２）の列のうちの各ウェル（５２）の前記下側および上側部分内で液体のウェル内混合を促す乱流を生成することを含む、項目１に記載の方法。

（項目４）

前記液体（１０４）を移送することは、重力を用いて液体流を駆動することを含む、項目１に記載の方法。

（項目５）

液体流を駆動することは、前記液体（１０４）が前記第１のリザーバ（５６）から前記ウェル（５２）の列に、前記ウェル（５２）の列から前記第２のリザーバ（５８）まで、前記流路（６２）に沿って流動するように、前記デバイス（５０）を傾け、前記第２のリ

10

20

30

40

50

ザーバ（５８）に対して前記第１のリザーバ（５６）を上昇させることを含む、項目４に記載の方法。

（項目６）

前記液体（１０４）を移送することは、重力が前記第１のリザーバ（５６）と前記第２のリザーバ（５８）との間で前記流路（６２）に沿って反対方向に交互に前記液体（１０４）の流動を駆動するように、前記デバイス（５０）を揺り動かすことを含む、項目５に記載の方法。

（項目７）

細胞の少なくとも１つの３次元集団を前記少なくとも２つのウェル（５２）のうちの少なくとも１つの中に導入することをさらに含む、項目１に記載の方法。

（項目８）

細胞培養のためのデバイス（５０）であって、前記デバイス（５０）は、
（ａ）各々が下側部分と上側部分とを有するウェル（５２）の列であって、前記下側部分は、細胞培養物を含むように構成されている、ウェル（５２）の列と、
（ｂ）前記ウェル（５２）の列の反対端に位置している第１のリザーバ（５６）および第２のリザーバ（５８）と

を備え、

前記デバイス（５０）は、液体のための流路（６２）を画定し、前記流路（６２）は、前記ウェル（５２）の列を介して前記第１のリザーバ（５６）から前記第２のリザーバ（５８）まで延び、前記ウェル（５２）の列のうちの各ウェル（５２）の前記上側部分を通して、デバイス（５０）。

（項目９）

各ウェル（５２）の前記下側部分は、前記ウェル（５２）の前記上側部分のみを介して液体を受け取るように構成されている、項目８に記載のデバイス（５０）。

（項目１０）

前記ウェル（５２）の列のうちの前記ウェル（５２）のうちの１つ以上は、前記ウェル（５２）のうちの前記１つ以上の内側に平坦な底部を有する、項目８に記載のデバイス（５０）。

（項目１１）

前記ウェル（５２）の列のうちの少なくとも１つのウェル（５２）の前記下側部分は、平面的である外面および内面を有する透明側方光学窓（９０）を含み、前記外面および内面の各々は、前記デバイス（５０）の縦軸（６０）と平行である、項目８に記載のデバイス（５０）。

（項目１２）

前記ウェル（５２）の列のうちの少なくとも１つのウェル（５２）は、前記ウェル（５２）の底部に凹状内面領域を有する、項目８に記載のデバイス（５０）。

（項目１３）

前記凹状内面領域は、前記ウェル（５２）の列によって画定される縦軸（６０）を含む垂直面内で凹状である、項目１２に記載のデバイス（５０）。

（項目１４）

前記凹状内面領域は、前記ウェル（５２）の列によって画定される縦軸（６０）に直交する垂直面内で凹状である、項目１２に記載のデバイス（５０）。

（項目１５）

前記ウェル（５２）の列、前記第１のリザーバ（５６）、および前記第２のリザーバ（５８）を覆うように構成された蓋（１００）をさらに備えている、項目８に記載のデバイス（５０）。

（項目１６）

前記１つ以上のウェル（５２）のうちの各ウェル（５２）は、底部外面領域を有し、前記底部外面領域は、互いに直交する一対の垂直面内で、平坦であるか、または丸みを帯びている、項目８に記載のデバイス（５０）。

10

20

30

40

50

(項目 17)

項目 8 に記載のデバイス (50) を別のデバイス (50) と整列させて除去可能に保持するためのフレーム (42) を備えている装置。

(項目 18)

ウェルの各列 (52) 内のウェル (52) の中心間の間隔は、ウェルの隣接する列 (52) 間のウェル (52) の中心間の間隔と同じである、項目 17 に記載の装置。

(項目 19)

前記デバイス (50) のうちの少なくとも 1 つの上に適合し、前記デバイス (50) のうちの前記少なくとも 1 つのウェル (52) を覆うように構成された蓋 (100) をさらに備えている、項目 17 に記載の装置。

(項目 20)

前記蓋 (100) は、前記ウェル (52) の全てと前記デバイス (50) の前記リザーバの各々を覆うように構成されている、項目 19 に記載の装置。

【図面の簡単な説明】【0006】

【図 1】図 1 は、培養容器の各複製が、連通ウェルの列の上側領域を通した液体のための流路を画定し、それぞれの細胞培養物を含むウェルのうちの 2 つ以上のものの間で、培地、特に、その中の分子および／または細胞生成物の交換を可能にする標準マイクロプレート形式のフレームによって互いに整列して保持された培養容器の複数の複製を含む例示的細胞培養装置の等角図である。

【図 2】図 2 は、分離して得られた図 1 の培養容器の複製のうちの 1 つの等角図である。

【図 3】図 3 は、図 2 の培養容器の上面図である。

【図 4】図 4 は、図 2 の培養容器の側面図である。

【図 5】図 5 は、概して図 3 の線 5-5 に沿って得られた図 2 の培養容器の断面図である。

【図 6】図 6 は、概して図 3 の線 6-6 に沿って得られた図 2 の培養容器の別の断面図である。

【図 7】図 7 は、概して図 3 の線 7-7 に沿って得られた図 2 の培養容器のさらに別の断面図である。

【図 8】図 8 は、図 2 の培養容器のウェルのうちの 1 つの中に含まれた細胞の画像を捕捉するための例示的光シート顕微鏡検査構成の選択された側面の図である。

【図 9】図 9 は、培養容器が水平に向けられ、デバイスの各ウェルおよび第 1 のリザーバが培地の別個の体積を保持し、各ウェルが別個の 3D 細胞培養物を含む図 5 で得られるような図 2 の培養容器の断面図である。

【図 10】図 10 は、培養容器の第 1 のリザーバから第 2 のリザーバまでウェルの列を通した液体の正味流動後に揺動プラットフォームによって傾斜して支持される培養容器を除いて、図 9 で得られるような図 2 の培養容器の別の断面図である。

【図 11】図 11 は、培養容器が第 1 のリザーバから第 2 のリザーバまで重力を用いて液体の流動を駆動するように固定された傾斜で支持され、ポンプが少なくとも部分的に外部の流路を介して第 2 のリザーバから第 1 のリザーバに流体を戻すために利用されることを除いて、概して図 10 で得られるような図 2 の培養容器のさらに別の断面図である。

【図 12】図 12 は、本開示の培養容器のうちのいずれかを使用する細胞培養の方法で実施され得る例示的ステップのフローチャートである。

【図 13】図 13 は、ウェルの列の上側領域を通した培地等の液体のための流路を画定する別の例示的培養容器の図である。

【図 14】図 14 は、図 13 の培養容器の側面図である。

【図 15】図 15 は、概して図 14 の線 15-15 に沿って得られた図 13 の培養容器の断面図である。

【図 16】図 16 は、ウェルの列の上側領域を通した培地等の液体のための蛇行流路を画定する例示的培養容器の図である。

【図 17】図 17 は、図 16 の培養容器の側面図である。

10

20

30

40

50

【図 18】図 18 は、概して図 16 の線 18-18 に沿って得られた図 16 の培養容器の断面図である。

【図 19】図 19 は、蛇行流路が示される図 16 の培養容器の上面図である。

【図 20】図 20 は、概して図 19 の線 20-20 に沿って得られた図 16 の培養容器の断面図である。

【図 21】図 21 は、切断面が図 5 のものに対応するウェルの列の上側領域を通した培地等の液体のための流路を画定する別の例示的培養容器からのウェルの列の断片的縦方向断面図である。

【図 22】図 22 は、概して図 21 の線 22-22 に沿って得られた図 21 の培養容器のウェルのうちの 1 つの横断面図である。

10

【図 23】図 23 は、切断面が図 21 のものに対応するウェルの列の上側領域を通した培地等の液体のための流路を画定する別の例示的培養容器からのウェルの列の縦方向の断片的かつ部分的な断面図である。

【図 24】図 24 は、概して図 23 の線 24-24 に沿って得られた図 23 の培養容器のウェルのうちの 1 つの横断部分断面図である。

【図 25】図 25 は、切断面が図 21 のものに対応するウェルの列の上側領域を通した培地等の液体のための流路を画定する別の例示的培養容器からのウェルの列の断片的縦方向断面図である。

【図 26】図 26 は、概して図 25 の線 26-26 に沿って得られた図 25 の培養容器のウェルのうちの 1 つの横断面図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0007】

本開示は、培地交換ウェル内で細胞を培養する方法、システム、および装置を提供する。細胞培養の例示的方法では、ウェルの列と、ウェルの列の反対端に位置している第 1 のリザーバおよび第 2 のリザーバとを含むデバイスが選択され得る。各ウェルは、下側部分と、上側部分とを有し得る。ウェルのうちの少なくとも 2 つのうちの各ウェルの下側部分は、培地と接触している細胞培養物を含み得る。液体が、デバイスによって画定され、ウェルの列のうちの各ウェルの上側部分を通して延びている流路に少なくとも部分的に沿って、第 1 のリザーバと第 2 のリザーバとの間で移送され得、それによって、培地の分子が、少なくとも 2 つのウェルの間またはそれらの中で交換される。

30

【0008】

本明細書に開示される方法、システム、および装置は、公知の培養方法およびシステムと比べて少なくともいくつかの利点を有する。本開示の培養容器は、各ウェルの下側部分の代わりに上側部分を通過する流路を画定する。この流路は、ウェルの底部に位置する細胞培養物から間隔を置かれ、したがって、細胞培養物を避ける。故に、細胞培養物を汚染するであろう異なるウェルへの細胞の望ましくない遊走の可能性が少ない。さらに、この流路は、細胞または残渣で詰まった状態になり得る細長いマイクロ流体チャネルを要求しない。さらに、この流路の使用は、その中の細胞培養物を妨害することなく、ウェルの下側部分内の培地および／またはその中の分子および／または細胞生成物を交換するために十分な乱流を発生させることができる。

40

【0009】

培養容器の複製が、ウェルのマイクロプレート形式を有するプレートを生成するようにフレームによって保持され得る。そして、マイクロプレート取扱口ロボットおよび流体工学が、自動操作、および培地交換ウェルを有する公知の培養容器を用いるより実質的に高いスループットを提供するために、利用され得る。

【0010】

さらなる利点が、ウェルおよび／またはリザーバの設計によって提供される。例えば、ウェルは、光シート蛍光顕微鏡検査のために最適化された 1 つ以上の平面的な側面窓を有することによって、ウェルのうちの 1 つ以上の中で直径が約 100~600 マイクロメートルのスフェロイドまたはオルガノイド等のサブミリメートル 3 次元細胞培養物の撮像を

50

促進し得る。ウェルの形状は、従来のU字形またはV字形ウェルと異なり得る。各ウェルは、ウェルの下側部分内に準垂直な平面側壁を有し得る。側壁は、光シート照明を可能にするように透明であり得る。代替として、または加えて、リザーバの各々は、培養容器の比較的小さい傾斜においてウェルの列の中にそれ自体が実質的に流れ込むように構成され得る。

【0011】

本開示は、ハードウェア単独として、詳細なプロトコルを伴って、または、生細胞を用いて調製され、化合物試験のための準備ができているプレートとして、臓器チップおよび／または身体チップモデルのための検定設計および消耗品を提供する。これらの方法およびシステムは、選択された生物学的モデルに関連する貴重な情報を提供することができ、撮像および自動化と適合性があり、設定することが容易である。

10

【0012】

本開示は、撮像システム、プレートリーダー、および他の器具と適合性がある臓器チップおよび身体チップ検定のために好適な培養容器も提供する。培養容器は、スフェロイド／オルガノイドを形成するための形状（例えば、U字形またはV字形）を伴うウェルを有し得る。培養容器は、ウェルにすでに存在している事前形成された基質の有無を問わず、適切な初代または人工多能性幹細胞（iPSC）由来細胞をウェルの中に導入することによって形成され得るサイズが最大300～600 μmの（またはそれを上回る）スフェロイドまたはオルガノイドを含み得る。導入された細胞は、例えば、ウェルが互いに液体分離されている間に、2～4日でオルガノイドを形成し得る（すなわち、培地交換がウェルの間またはその中で生じない）。任意の所望の時間において、培養容器は、培地交換による互いに異なる細胞型の相互作用（すなわち、ウェルの間／中の分子および／または細胞生成物等の培地成分の交換）を可能にする。ウェルの間またはその中の培地交換のための液体流は、重力流によって（例えば、揺動プラットフォームを使用して）、および／またはポンプを用いて、駆動され得る。（細胞が、インキュベータの内側の揺動プラットフォームによって支持されている間に培養容器内で成長されることができる。）相互作用する細胞の例は、肝臓・心臓モデル、肝臓・心臓・脳モデル、腫瘍・肝臓モデル、腸・肝臓・腎臓モデル、または所望の形式および組み合わせの他の多臓器モデルを含む。

20

【0013】

培養容器は、チャンネルによって互いに接続される、ウェルのストリップであり得る。傾転されたとき、培地は、全ての過剰な培地がストリップの反対端における別のリザーバ内に収集されるまで、リザーバから第1のウェル、第2のウェル等まで流動する。

30

【0014】

本明細書に開示されるような培地交換を伴う細胞の培養は、それぞれ2次元または3次元形式で培養される異なる（正常／形質転換）細胞型または組織の間の相互作用の調査を可能にする。これらの相互作用は、限定ではないが、サイトカイン、ケモカイン、成長因子、脂質、循環DNA／RNA、真核細胞、細菌、および／またはウイルスを含む液体内で移送される細胞および／または細胞生成物の交換によって仲介されることができる。

【0015】

本明細書に開示される培養容器および培養方法を用いて実施され得る例示的研究が、限定ではないが、下記に列挙される。

40

【0016】

（1）肝臓および心臓スフェロイドが、同じ培養容器の異なるウェル内の培地交換を用いて培養され得る。心臓スフェロイドへの直接影響を生成しない化合物が、肝臓スフェロイドによる潜在的活性誘導体への化合物の代謝から生じる心臓効果に関して検査されることができる。

【0017】

（2）肝臓および腎臓細胞または組織が、薬物代謝を研究するために、同じ培養容器内の培地交換を用いて培養され得る。

【0018】

50

(3) 心臓、肝臓、および神経細胞が、化学物質の毒性影響を研究するために、同じ培養容器内の培地交換を用いて培養され得る。

【0019】

(4) 腫瘍細胞、および正常肝臓、神経、および心臓細胞が、抗癌剤および関連する毒性の影響を研究するために、同じ培養容器内の培地交換を用いて培養され得る。

【0020】

(5) 血管細胞および心臓細胞（または他の組織）が、異なる組織の炎症および影響を研究するために、同じ培養容器内の培地交換を用いて培養され得る。

【0021】

(6) 異なる組織への細菌またはウイルスの影響が、調査され得る。

10

【0022】

(7) 正常細胞へのT細胞または他の免疫細胞の影響が、調査され得る。

【0023】

(8) 悪性組織へのT細胞または他の免疫細胞の影響が、研究され得る。

【0024】

(9) 基本組織を表す5つ以上の組織型が、「身体チップ」概念に従って、培地交換を用いて培養され得る。

【0025】

本開示のさらなる側面が、以下の節、すなわち、(I) 定義、(II) システム、装置、および方法の概観、(III) 実施例、および(IV) 選択された側面に説明される。

20

【0026】

(I. 定義)

本開示で使用される技術用語は、当業者によって一般的に認識される意味を有する。しかしながら、以下の用語は、以下のようにさらに定義され得る。

【0027】

(細胞) — 生物の基本的な構造、機能、および生物学的単位。細胞は、真核または原核であり得る。例示的細胞は、幹細胞、樹立細胞（例えば、細胞株）、初代細胞、組織サンプルの細胞、トランスフェクト細胞、臨床サンプル（例えば、血液サンプル、流体吸引物、組織切片等）からの細胞等を含む。

【0028】

(細胞培養物) — 同じウェル内等の同じコンパートメント内でともに培養されている細胞の組。細胞の組は、1つの培地および／または複数の培地と接触し、それによって包囲され得る。

30

【0029】

2D（2次元）細胞培養物は、少なくとも、主に、ウェル等のコンパートメントの表面に沿って配置され、随意に、表面に付着した、その細胞を有する細胞培養物である。2D細胞培養物は、典型的に、表面に沿って（例えば、水平に）測定される細胞培養物の長さおよび幅のごく一部にすぎない、表面に直交して（例えば、垂直に）測定される平均厚を有する。平均厚は、約1つまたは2つ以下の細胞であり得る。コンパートメントの表面は、とりわけ、平面的または凹状であり得る。2D細胞培養物は、単培養物（すなわち、実質的に1つのみのタイプの細胞を含む）または共培養物（すなわち、2つ以上の異なるタイプの細胞を含む）であり得る。

40

【0030】

3D（3次元）細胞培養物は、細胞の3次元集団を形成する、細胞培養物である。隣接する支持表面に直交して（例えば、垂直に）測定される3D細胞培養物の平均厚は、とりわけ、少なくとも5または10個の細胞であり得る。集団は、凝集体として説明され得る。例示的3D細胞培養物は、スフェロイドおよびオルガノイドを含む。故に、3D細胞培養物は、単一の細胞型の単培養物または異なる細胞型の共培養物であり得る。

【0031】

(細胞生成物) — 少なくとも1つの細胞によって産生された任意の分子、分子錯体、巨

50

高分子集合体、細胞小臓器、または粒子。細胞生成物は、分泌（例えば、エキソサイトーシス）、出芽、細胞溶解等の任意の好適なプロセスによって、細胞培養物を包囲する液体の中に放出され得る。細胞生成物および／または細胞が、ウェルの間／中で交換され得る。

【0032】

（細胞培養）－人工環境内の生細胞の生存、健康、成長、および／または増殖を促進する。

【0033】

（培養容器）－少なくとも1つの細胞培養物または任意の一連の細胞培養物の培養のためのデバイス。本明細書に開示されるデバイスは、単回使用デバイス（消耗品）であり得るか、または、再使用され得る。

【0034】

（光）－紫外線放射、可視放射（すなわち、可視光）、および／または赤外線放射を含む光学的放射。

【0035】

（培地）－細胞の培養のための水性組成物。組成物は、液体または半固体であり得る。組成物は、とりわけ、炭素源（例えば、グルコース）、無機塩、ビタミン、および成長調整物質を含み得る。本明細書で使用されるような用語「培地」は、少なくとも1つの培地を意味し、例えば、培地の別個の体積、異なる組成の第1の培地および第2の培地、異なる／別個の細胞培養物と接触している実質的に同じ組成の培地、または同じ培地の前もって隔離された体積の組み合わせ／混合物を指し得る。

【0036】

（オルガノイド）－生体外で産生され、臓器特有の組織の現実的な組織学を呈すること等の臓器とのある類似点を有する異なるタイプの細胞の3次元凝集体。細胞の集団は、ヒドロゲル等の基質に少数の幹細胞を播種することによって発生させられ得る。幹細胞は、次いで、基質を足場として使用しながら、基質内で増殖、分化、および自己組織化する。

【0037】

（スフェロイド）－単一のタイプの細胞の3次元集団。

【0038】

（II. システム、装置、および方法の概観）

本節は、構造的に互いに連通し、重力駆動流および／またはポンプ駆動流によって制御可能な様式でウェル間で液体を共有することを可能にするウェル内で細胞を培養するためのシステム、装置、および方法の概観を提供する（図1－12参照）。好適であり得るシステム、装置、および方法のさらなる側面が、第I節の前および第I、III、およびIV節内等の本明細書の他の場所に説明される。

【0039】

図1は、フレーム42と、互いに連通するウェル52を有する培養容器50の複製とを含む例示的細胞培養装置40（プレートとも呼ばれる）を示す。図2－7は、孤立した単一の培養容器50を示す。フレーム42は、互いに整列して培養容器50の複製を除去可能に保持し、ウェル52の長方形アレイを形成するように構成され得る。長方形アレイは、標準的なANSI／SBSマイクロプレートウェル間隔（例えば、18、9、または4.5 mmの中心間のウェル間隔）を有し得る。各培養容器50は、とりわけ、少なくとも2つの異なる細胞培養物を含むための少なくとも2つ、3つ、4つ、または5つのウェル52の列54を有し得る。描写される実施形態では、列54は、8つのウェル52を有する。ウェル52は、列54内に互いに一樣な間隔を有し得（または有していない場合があり）、サイズおよび／または形状が実質的に一樣であり得る（またはそうではないこともある）。

【0040】

第1および第2のリザーバ56、58が、隣接するウェル52との流体連通のために列54の反対端に位置し得る。リザーバ56、58は、ここに示されるように、ウェルとして構造化され得、したがって、ピペットを使用して、上方から流体を装填可能であり得る

10

20

30

40

50

。故に、いくつかの実施形態では、ウェル 5 2 は、細胞ウェルとして、リザーバ 5 6、5 8 は、リザーバウェルとして説明され得る。リザーバ 5 6、5 8 のサイズおよび／または形状は、ウェル 5 2 と異なり得る。例えば、リザーバ 5 6、5 8 は、ウェル 5 2 より大きい流体保持容量を有し得、および／または、下記に説明されるように、より効率的および／または完全に排出されるように構成され得る。図 1 のプレートでは、各リザーバ 5 6、5 8 は、標準マイクロプレート形式（例えば、ウェルの 8×12 アレイを形成する、96 ウェルマイクロプレート）の 2 つのウェルに取って代わる。他の実施例では、各リザーバは、標準マイクロプレート形式の 1 つのみまたは少なくとも 3 つのウェルに取って代わり得る。

【0041】

培養容器 5 0 は、線形であり得る縦軸 6 0 を画定するように細長であり得る（図 1 および 2 参照）。ウェル 5 2 およびリザーバ 5 6、5 8 は、縦軸 6 0 に沿って配置され得る。故に、培養容器は、ストリップとして説明され得る。

【0042】

ウェル 5 2 間の流体進行のための流路 6 2 が、培養容器 5 0 によって画定される。流路は、チャンネルによって形成され得る。描写される実施形態では、流路 6 2 は、ウェル 5 2 の列 5 4 を介して、第 1 のリザーバ 5 6 から第 2 のリザーバ 5 8 まで延び、その逆も同様である。流路 6 2 は、少なくとも、概して、縦軸 6 0 を辿り得る。描写される実施形態では、流路 6 2 は、縦軸 6 0 上にある。他の実施形態では、流路 6 2 は、とりわけ、縦軸 6 0 と平行であるがそれからオフセットされるか、線形であるが縦軸 6 0 と平行ではないか、または、非線形（蛇行等（実施例 2 参照））であり得る。

【0043】

流路 6 2 は、ウェル 5 2 が相互およびリザーバ 5 6、5 8 と連通することを可能にする通路 6 4（同義的に開口部と呼ばれる）を通して延び得る（図 2、3、および 5-7 参照）。各通路 6 4 は、隣接する一対のウェル 5 2 間に、または列 5 4 の一方の端部におけるウェル 5 2 とリザーバ 5 6 または 5 8 との間に流体連通を提供し得る。通路 6 4 は、ウェル 6 2 の上側部分 6 8 における培養容器 5 0 の上側領域 6 6 内に位置し得、細胞は、ウェル 6 2 の下側部分 7 0 内に含まれ得る。この配置は、ウェル 5 2 間および／または列 5 4 とリザーバ 5 6、5 8 との間の液体の流れの制御を可能にする。例えば、液体進行は、ウェルおよび／またはリザーバのうちの 1 つ以上の中の液体のレベルを調節することによって、および／または（例えば、水平から傾斜に、または逆も同様に）縦軸 6 0 の向きを調節することによって、制御されることができる。各ウェルの下側部分は、細胞収容部分と呼ばれ得、各ウェルの上側部分は、交換部分と呼ばれ得る。

【0044】

通路 6 4 は、任意の好適な位置、サイズ、および形状を有し得る。各通路 6 4 は、隣接するウェル 5 2 間で、またはウェル 5 2 とリザーバ 5 6、5 8 のうちの 1 つとの間で、壁 7 2 に形成され得る。通路は、培養容器 5 0 の上面 8 0 にスロット等の陥凹 7 8 を形成するように、壁 7 2 の上縁 7 4 まで、および／または、ウェル 6 2 および／またはリザーバ 5 6、5 8 の上辺縁 7 6 まで延び得る。代替として、各通路 6 4 は、上縁 7 4、上辺縁 7 6、および上面 8 0 の下に位置付けられ、そこから間隔を置かれ得る。通路 6 4 は、各々が水平横軸 8 2 と平行に測定される隣接ウェル 5 2 のウェル幅より実質的に小さい通路幅を有し得る（図 3 参照）。例えば、通路幅は、ウェル幅の約 1/2、1/3、または 1/4 未満であり得る。狭い通路 6 4 が、有利なこととして、液体のさらなる乱流を促し、各ウェル 5 2 内の液体のさらなる混合、したがって、とりわけ、細胞生成物、添加剤（例えば、試薬および／または試験化合物）、および／または懸濁細胞のウェル 5 2 間のより効率的な交換を促進し得る。各通路 6 4 は、少なくとも略垂直（すなわち、精密に垂直の 45 度以内）に細長いことも、そうではないこともある。通路 6 4 は、直線（例えば、描写される実施形態では縦軸 6 0）に沿って配置され得るか、または、通路の少なくとも一部は、さらなる乱流を促すように直線から側方にオフセットされ得る（実施例 2 参照）。

【0045】

各ウェル52は、任意の好適な形状を有し得る。ウェルは、（縦軸60を含む）垂直縦断面内および／または（横軸82と平行な）垂直横断面内で、ウェルの上部と底部との間で下向きに延びるにつれて、段階的に、および／またはテーパを伴って狭くなり得る。この狭小化は、3D細胞培養物を形成するために、ウェルの底部において導入された細胞の集団化を促すように構成されることができ得る。いくつかの実施形態では、ウェルは、垂直縦断面および垂直横断面内で同じ一定傾斜を伴って先細になり、円錐（例えば、円錐台形）形状を有する下側部分70を生産し得る（例えば、実施例3参照）。いくつかの実施形態では、ウェルは、垂直縦断面（図5参照）および／または垂直横断面内で凹状である凹面84を有する下側部分70を形成するように、これらの面の一方または両方に減少する傾斜を伴って先細になり得る。故に、ウェルの底部内面領域86（すなわち、床面）は、平坦であるか（例えば、実施例3参照）、または（面の一方または両方で）丸みを帯びる等の非平面的であり得る（例えば、図5および7、および実施例1、3、および5参照）。同様に、内面領域86の反対側の外側底面領域88は、平坦であるか（例えば、実施例1および3参照）、または丸みを帯び得る（例えば、面の一方または両方で凸状である（図5および7、および実施例1、2、3、および5参照））。内面領域86の面積は、上部面積の約20%、10%、または5%未満等、ウェル52の内側の水平上部面積よりはるかに小さくあり得る。

【0046】

各ウェル52の幾何学形状は、（例えば、2D対3D細胞培養物のための）細胞培養および撮像（例えば、従来の撮像対光シート顕微鏡検査）のためのその意図された使用に従って選定され得る。培養容器50のウェル52は、横軸82と少なくとも略平行に（例えば、光シート顕微鏡検査のための）側方照明および／または側方集光を可能にする。各ウェル52は、対向する側面92によって形成される下側部分70内に少なくとも1つまたは一対の透明光学窓90を有し得る。各光学窓90は、略平面的かつ少なくとも略垂直であり得る（すなわち、垂直の30、20、または10度以内等の正確に垂直の45度以内）（実施例1も参照）。一対の透明光学窓90が、ウェル52によって形成される場合、それらは、互いに反対側に配置され、横軸82と平行に互いに間隔を置かれ得る。

【0047】

図8は、培養容器50の1つ以上のウェル52内に含まれる細胞の画像を捕捉するための光シート撮像構成を図示する。ウェル52のうちの1つは、一方または両方の光学窓90を通してウェルに入射し、その中に伝送される少なくとも1つの光シート94を用いて照明され得る。描写される実施形態では、1つのウェル52は、円筒レンズによって形成される一対の水平光シート94によって、両側面から照明されている。光シート94によって誘発される蛍光等の光が、ウェルの下方に位置する対物レンズ96を用いて収集され得る。

【0048】

培養容器50は、安定して、水平表面上で水平な向きにそれ自体を支持するように構成され得る（図2、4、および6参照）。例えば、培養容器50は、水平表面に接触し、随意に、水平表面の上方にウェル52の列54を上昇させるための基礎部分を有し得る。描写される実施形態では、基礎部分は、培養容器の反対端に位置する一対の間隔を置かれた足部98a、98b（随意に、リザーバ56、58に隣接し、および／または少なくともそれによって部分的に形成される）によって形成される。

【0049】

培養容器50は、組織培養皿の標準的な蓋のように機能する除去可能な蓋100（図4参照）で覆われ得る。蓋は、ウェル52の列54、随意に、リザーバ56、58を覆うように、培養容器50の上部の上に設置され、次いで、流体が培養容器に追加されるとき、またはそこから除去されるとき、除去され得る。蓋100は、培養容器50の1つのみの複製または複数の複製を覆うようにサイズを決定され得る。故に、細胞培養装置40の全てのウェル52が、単一の蓋100で覆われ得、および／または、別個の蓋が、培養容器50の各複製を覆うために使用され得る（図1も参照）。

【0050】

図9および10は、ウェル52内に複数の細胞培養物102および液体104（例えば、培地）を含む培養容器50の例示的構成を図示する。各細胞培養物102は、任意の好適な数の細胞106から成り得、1つ、2つ、またはそれを上回る異なる細胞型を含み得、各々は、2Dまたは3Dであり得る。各細胞培養物102は、異なるタイプであり得るか、または、細胞培養物のうちのいくつかは、複製であり得る（例えば、ウェル52は、各々が2回存在する4つの異なるタイプの細胞培養物102、各々が4回存在する2つの異なるタイプ等を含み得る）。8つの細胞培養物102が、ここに示されるが、ある場合、わずか2つの細胞培養物が、使用され得る。故に、液体移送がウェル間で開始される前、1つ、2つ、またはそれを上回るウェル52が液体104を含み得るが、いずれの細胞も含まないこともあるか、または、液体も細胞も含まないこともある。液体104は、ウェル52の中の液体移送の前、本質的に同じ組成物（異なる細胞生成物を除く）であるか、または、異なる組成の培地であり得る。

10

【0051】

図9は、ウェル52の中の液体104の移送の前の培養容器50を示す。培養容器50は、水平であり、液体104のレベルは、各通路64の下方にある。故に、各ウェル52の内容物（液体、細胞培養物、細胞生成物等）は、各他のウェル52およびリザーバ56、58の内容物から分離される。

【0052】

図10は、（図9と比較して）第1のリザーバ56から第2のリザーバ58までの液体104の正味の移送後の培養容器50を示す。培養容器50は、110における両頭回転矢印によって示される反対回転方向に培養容器を交互に揺り動かす揺動プラットフォーム108上に設置されている。培養容器50が、図9の水平な向きから図10の傾斜向きまで回転されると、第1のリザーバ56は、ウェル52および第2のリザーバ58に対して上昇させられた状態になり、液体104は、通路64に進入し、112、114、および116における代表的な流動矢印によって示される流路62に沿って流動する（図2および3も参照）。より具体的に、液体104は、112において示され、第1のリザーバ56から隣接するウェル52まで、114において示され、隣接するウェル52間に、および隣接するウェル52から第2のリザーバ58の中に流動する。揺動プラットフォーム108は、次いで、反対方向に回転し、第1のリザーバ56の上方に第2のリザーバ58を上昇させ得、それは、反対方向に流路62に沿って液体104の流動を駆動し、それによって、ある体積の液体104を第1のリザーバ56に戻す。このプロセスでは、各ウェル52の懸濁／可溶性内容物は、細胞培養物102の細胞生成物が、互いに影響を及ぼすこと（例えば、成長、増殖、分化、遊走、組織化、アポトーシス等を亢進／阻害すること）を可能にするように、ウェルの全てに分配されている。

20

30

【0053】

各リザーバ56、58は、列54の一方の端部における隣接する通路64から下向きに傾斜した斜面118を有し得る（図9参照）。水平に対する斜面118のための傾斜角は、例えば、とりわけ、約50、45、40、35、または30度未満であり得る。斜面118は、（例えば、図10に示されるように）培養容器50を少なくとも斜面118の傾斜の傾きまで傾けることによって、各リザーバ56、58が、液体104を実質的に排出されることを可能にし得る。結果として、培養容器50内の液体流は、より小さい範囲の角度運動を使用して、揺動プラットフォーム108によって効率的に駆動されることができる。

40

【0054】

図11は、（図10と比較して）第2のリザーバ58から第1のリザーバ56に液体を戻すためのポンプベースの方略を図示する。培養容器50は、第1のリザーバ56が、描写されるように、第2のリザーバ58に対して上昇させられるように、傾斜プラットフォーム120上で固定した傾きにおいて支持され得る。培養容器50のこの傾斜の向きは、第1のリザーバ56から第2のリザーバ58まで、112、114、および116におい

50

て示される流路 6 2（図 2 および 2 も参照）に沿って液体 1 0 4 の重力駆動流を促す。ポンプ 1 2 2 が、ポンプ 1 2 2 および関連付けられた上流および下流導管 1 2 6、1 2 8 によって画定される少なくとも部分的に外部の流路 1 2 4 を介して、第 2 のリザーバ 5 8 から第 1 のリザーバ 5 6 に戻るように液体 1 0 4 を能動的に運搬するために利用され得る。ポンプ 1 2 2 によって駆動される外部流路 1 2 4 に沿った液体流量は、重力によって駆動される容器画定流路に沿ったそれに実質的に合致し得る。傾斜プラットフォーム 1 2 0 の傾斜は、必要である場合、内部流路 6 2 に沿った液体 1 0 4 の流量を増加または減少させるように、調節され得る。いくつかの実施形態では、培養容器 5 0 は、ポンプ 1 2 2 が利用されるとき、傾斜プラットフォームの代わりに水平表面上に支持され得る。

【0055】

図 1 2 は、培養容器 5 0 または本開示の他の培養容器のうちのいずれかを使用して、細胞培養の方法 1 3 0 で実施され得る例示的ステップのフローチャートである。ステップは、任意の好適な順序および組み合わせで実施され得、本明細書の他の場所に開示される任意の他の好適なステップおよび特徴によって修正されるか、または、それらと組み合わせられ得る。

【0056】

培養容器 5 0 等のデバイスが、1 3 2 において示され、選択され得る。デバイスは、本明細書に説明される特徴および特性の任意の好適な組み合わせを有し得る。

【0057】

細胞および液体（すなわち、培地）が、1 3 4 において示され、デバイスのウェルの中に導入され得る。少なくとも 1 つの細胞が、デバイスの少なくとも 2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、またはそれを上回るウェルの中に導入され得る。随意に、導入されるべき少なくとも 1 つの細胞を含む同じまたは異なる培地の別個の体積が、各ウェルの中に分注され得る。ウェルに導入される培地の体積は、デバイスによって画定される流路の下方に各ウェル内の培地のレベルを保つために十分に小さくあり得る。いくつかの実施形態では、事前形成されたスフェロイドまたはオルガノイド等の細胞の事前形成された 3 次元集団が、デバイスの 1 つ以上のウェルの中に導入され得る。いくつかの実施形態では、オルガノイド形成のための基質もまた、随意に、細胞が少なくとも 1 つのウェルの中に導入される前、オルガノイドが形成されるべき少なくとも 1 つのウェル内に配置され得る（例えば、その中に形成される）。基質は、ウェルの内側底部上に位置し得る。

【0058】

液体が、1 3 6 において示され、デバイスの 1 つ以上のリザーバの中に導入され得る。液体は、培地であり得る。

【0059】

デバイスおよびその内容物が、1 3 8 において示され、インキュベートされ得る。インキュベーションは、随意に、制御された雰囲気内で、細胞の培養のための好適な温度にあり得る。インキュベーション中、デバイスのウェルおよびリザーバは、互いに液体分離され得る。換言すると、液体は、ウェルおよびリザーバの中で移送されない。インキュベーションは、細胞が沈殿すること、安定すること、凝集すること、成長すること、分裂すること等を可能にするように、少なくとも 0.5、1、2、3、4、またはそれを上回る日数等の任意の好適な時間の長さにわたって実施され得る。インキュベーションは、上記のステップ 1 3 6 の前または後に実施され得、液体（例えば、培地）が細胞およびリザーバの中で移送される前に実施され得る。

【0060】

液体（例えば、培地）は、1 4 0 において示され、デバイスの（2 つの）ウェル間または（3 つ以上の）ウェルの中で移送され得る。液体移送は、概して、デバイスによって画定される流路に沿って、一方向に、または交互する方向に、液体の流動を駆動する。流動は、とりわけ、（例えば、揺動プラットフォーム上の）重力、（例えば、デバイスが水平である、または傾斜している）ポンプ、または両方によって駆動されることができる。ある場合、試験化合物または他の試験物質が、デバイスのウェル／リザーバに追加され得、

10

20

30

40

50

液体移送は、試験化合物／物質にウェルの各々の中の細胞と相互作用させ得る。

【0061】

デバイス内の細胞が、撮像され得、および／または、検定が、142に示され、デバイス内の細胞／液体（例えば、培地）に実施され得る。例えば、とりわけ、従来の撮像、共焦点撮像、または光シート撮像が、ウェルのうちの少なくとも1つの中に含まれる細胞培養物の少なくとも一部の少なくとも1つの光学または記録画像を取得するように、行われ得る。撮像のための例示的器具は、従来の顕微鏡、共焦点顕微鏡、光シート蛍光顕微鏡、およびImageXpress (R) MicroまたはImageXpress (R) Pico撮像システム等を含む。

【0062】

(III. 実施例)

本節は、制御可能な様式で液体（例えば、培地）を交換するように構成される、ウェル内で細胞を培養する方法、システム、および装置のさらなる実施例を説明する。これらの実施例は、例証のみのために意図され、本発明の範囲全体を限定するべきではない。これらの実施例の側面および特徴は、互いに、および任意の好適な組み合わせで、第I、II、およびIV節内等の本明細書の他の場所に説明されるものと組み合わせられ得る。

【0063】

(実施例1. 光シート顕微鏡検査のための培養容器)

本実施例は、ウェル152の中の培地交換および光シート顕微鏡検査による撮像のために構成された別の例示的培養容器150を説明する。図13-15参照。

【0064】

培養容器150は、培養容器50に関連する（例えば、図1-7参照）。例えば、培養容器150は、U字形ウェル152の列と、ウェルの列152の反対端における第1のリザーバ156および第2のリザーバ158とを有する。通路164は、ウェル152間に、およびウェルの列152とリザーバ156、158の端部との間に連通を提供する。

【0065】

各ウェル152は、ウェルの底部に平坦な（平面的で水平な）外面領域188を有し得る（図15参照）。少なくとも1つまたは一対の透明光学窓190が、ウェルの両側面上に形成され得る（図13-15参照）。光学窓190は、培養容器50の光学窓90として、光シート照明のための類似目的を果たし得る（例えば、図8参照）。しかしながら、外側窓表面191の向きは、培養容器50の対応する窓表面より垂直からオフセットされ、内側窓表面193とあまり平行ではないこともある（図7および15参照）。これらの内側および外側窓表面の向きは、U字形ウェルの内側底の照明が可能であるように、光シート195が、側面からウェルに進入し、窓表面によって屈折されることを可能にする（図15参照）。

【0066】

スフェロイドまたはオルガノイド等の3D細胞集団は、ウェルの内側底の近傍または内側底で見出される可能性が最も高い。集団は、非常に小さく（100~300 μm）あり得る。U字形ウェルの底部は、すでに中心から側壁まで約160 μm上昇している。U字形は、細胞集団が球形を形成することに役立ち得るので、有利である。

【0067】

(実施例2. 蛇行流路を伴う培養容器)

本実施例は、ウェル252の中の制御可能な培地交換のために構成され、リザーバ256、258間に蛇行流路262を画定する例示的培養容器250を説明する。図16-20参照。

【0068】

培養容器250は、側方の少なくとも略垂直なスロットとして形成された通路264を有する。各通路は、培養容器250の上側領域内で、少なくとも部分的に横壁272のうちの1つに形成される。通路は、一対の隣接するウェル252間に、または終端ウェル252とリザーバ256、258のうちの1つとの間に位置する。各通路264は、少なく

10

20

30

40

50

とも略垂直に細長いスロットであり得る。通路は、横壁 272 の上縁まで延び得るか、または、その上側範囲は、この上縁の下方に間隔を置かれ得る。各通路 264 は、とりわけ、描写されるように、横壁 272 および培養容器 250 の反対縦側壁 273 のうちの 1 つによって協調的に、または横壁 272 によって完全に画定され得る。

【0069】

流路 262 は、非線形である（図 19 参照、図 2 の培養容器 50 の流路 62 と比較する）。より具体的に、通路 264 の少なくとも一部が、培養容器 250 によって画定される縦軸を含む中心垂直面からオフセットされ得る。描写される実施形態では、各通路 264 は、側方にオフセットされる（いずれも図 18 の中心断面図では可視ではない）。培養容器 250 は、示されるように、蛇行性流路を画定し得る。例えば、通路 264 は、中心垂直面から交互する水平方向に連続的にオフセットされ得る。流路 262 に沿った培地の蛇行流は、線形流路 62 に沿った流動よりさらなる乱流を発生させ得（図 2 参照）、これは、（例えば、培養容器 250 を揺り動かすことによって）リザーバ 256、258 の間の流路に沿って流動を駆動するとき培地交換を向上させ得る。

【0070】

培養容器 250 の各ウェル 252 は、縦垂直面内で、下側部分 270 の底部領域内に丸みを帯びた形状を有する。描写される実施形態では、この底部領域では、縦垂直面を横断して向けられる内側および外側ウェル表面は、円筒形である。ウェルの内側底部におけるこの丸みを帯びた形状は、培養容器が流体流を駆動するように培養されている場合、ウェル内のスフェロイド等の 3 次元集団の移動を限定し得る。

【0071】

各ウェル 252 は、下側部分 270 内のものと反対側に一对の側方透明光学窓 290 を有し、光シート照明を可能にする（図 16、17、および 20 参照）。各光学窓 290 は、外側平面 291 と、各々が培養容器 250 の縦軸と平行であるが、互いに対して傾斜している内側平面 293 とを有する（図 20 参照）。一对の内側平面 293 は、下側部分 270 の内側幅が下向きに先細になるように、互いに対して傾斜し得る（参照図 20）。例えば、約 10°～20°の角度が、内側平面 293 の間に形成され得る。縦垂直面内の内側ウェル幅におけるこのテーパは、縦垂直面内の丸みを帯びた内側形状とともに、各ウェルの内側底面領域 286 の中心エリアに形成される狭いスロットへの培地内の細胞の沈殿を促し得る。この幾何学形状は、3 次元細胞集団の形成を促進し得る。

【0072】

外側平面 291 は、空気・ポリマー界面における照明光の屈折を最小化するように、略垂直（例えば、垂直から約 2 度未満）であり得る。垂直からのわずかなオフセットは、製造中に金型からの培養容器の除去を促進し得る。垂直からの内側平面 293 のより大きいオフセットは、ウェルの内側のポリマー・培地界面におけるより小さい屈折率変化に起因して、光シート顕微鏡検査を実施するとき、あまり重要ではないこともある。

【0073】

照明光シートが、略垂直表面に衝突する限り、全てが、順調であり得る。しかしながら、光シートが、ウェルの内側のまさしく底に接近し、3 次元細胞集団（例えば、200 μm スフェロイド）を走査する場合、光シートは、ウェルの丸みを帯びた形状に起因して縁に衝突し得、それは、迷光を生成し、画質に悪影響を及ぼし得る。故に、スフェロイド形成および揺り動かし中のより少ない移動のための良好な条件を生じさせるより小さい半径と、光シート顕微鏡検査のためのより大きい半径または平坦な底部との間に、ウェル幾何学形状のためのトレードオフが存在し得る。

【0074】

（実施例 3．平坦底部ウェルを伴う培養容器）

本実施例は、各ウェルが、ウェルの内側および外側で平坦である底部を有するウェル 352 の中の制御可能な培地交換のために構成された例示的培養容器 350 を説明する。図 21 および 22 参照。

【0075】

培養容器 350 は、他の培養容器に関して上で説明される要素および特徴のうちのいずれかを有し得る。例えば、各ウェル 352 は、通路 364 を介してその列 354 の隣接するウェル 352 と構造連通を有し得る。通路 364 は、隣接するウェル 352 の上側部分 368 間に制御可能な液体流を可能にし得る。

【0076】

培養容器 350 が水平であるとき、細胞は、通路 364 の下方にある（通路 364 より低い高度にある）ウェル 352 のそれぞれの下側部分 370 内に含まれ得る。各下側部分 370 は、平坦な底壁 371 を伴って、示されるような円錐形であり得る（図 21 および 22 参照）。より具体的に、底壁 371 は、水平な平面的内側底面領域 386 と、水平な平面的外側底面領域 388 とを含み得る。ウェルは、下向きに急に先細になり、とりわけ、ウェル 35 の上部における水平内側面積のわずか 10%、5%、または 3% 等のこの上部面積よりはるかに小さい内面領域 386 のエリアを生成し得る。例えば、ウェルの上部における内径は、約 6 mm であり得、内径は、ウェルの底部において約 1、0.5、または 0.25 mm 未満であり得る。この幾何学形状は、細胞が沈殿するとき、内側底面領域 386 上で細胞を濃縮し得、したがって、3D 細胞培養物の形成を促し得る。他の場合、2D 細胞培養物が、内側底面領域 386 上に培養され得る。平坦な底壁 371 は、とりわけ、落射蛍光顕微鏡検査、徹照顕微鏡検査、および共焦点顕微鏡検査等の従来の撮像構成を可能にする。

10

【0077】

（実施例 4．本体に接合されたプレートを伴う培養容器）

20

本実施例は、ウェル 452 の中の制御可能な培地交換のために構成された例示的培養容器 450 を説明し、各ウェルは、底部 471 を有し、底部 471 は、ウェルの内側および外側で平坦であり、上にある本体 499 に接合されたプレート 497 によって形成されている。図 23 および 24 参照。

【0078】

培養容器 450 は、培養容器 350 等の他の培養容器に関して上で説明される要素および特徴のうちのいずれかを有し得る（実施例 3 参照）。例えば、各ウェル 452 は、通路 464 を介してその列 454 の隣接するウェル 452 と構造連通を有し得る。通路 464 は、隣接するウェル 452 の上側部分 468 の間に制御可能な液体流を可能にし得る。

【0079】

30

培養容器 450 が水平であるとき、細胞は、通路 464 の下方にある（通路 464 より低い高度にある）ウェル 452 のそれぞれの下側部分 470 内に含まれ得る。各下側部分 470 は、平坦な底壁 471 を伴って、示されるような円錐形であり得る（図 23 および 24 参照）。より具体的に、底壁 471 は、水平な平面的内側底面領域 486 と、水平な平面的外側底面領域 488 とを含み得る。

【0080】

プレート 497 および本体 499 は、互いに別個に形成され、次いで、互いに接合され得る。プレート 497 は、平面的な上および下面を伴って平坦であり得る。プレートは、任意の透明な光学グレード材料、概して、ポリマーまたはガラスから形成され得る。本体 499 は、プレート 497 への取り付けに先立って、ウェル 452 の前身である複数のコンパートメント 501 を画定し得る。各コンパートメント 501 は、垂直貫通軸を画定する開口部であり得る。コンパートメント 501 は、プレート 497 が本体 499 に接合される前、開放上端と、開放底部とを有し得る。各コンパートメント 501 の開放底端は、プレート 497 によって閉鎖され得、プレート 497 は、コンパートメントの底端において本体 499 と液密シールを形成し、ウェル 452 を生成し得る。

40

【0081】

一体的に形成された培養容器は、容器を形成するために使用される対応する金型の望ましくない寸法変動に起因して、種々の底部厚を伴うウェルを有し得る。この一貫した底部厚の不足は、撮像するときウェル内の細胞に正確に焦点を合わせる能力に影響を及ぼし得る。ウェル底部厚の変動性を減少させるための 1 つの方法は、各ウェルの底部を形成す

50

るために同じプレート 497（ガラスまたはポリマー）を利用する。プレート 497 は、ウェル 452 の底部厚より少ない厚さの変動性を伴って製造可能であり得る。

【0082】

（実施例 5．丸みを帯びた底部ウェルを伴う培養容器）

本実施例は、各ウェルが、丸みを帯びている底部 571 を有するウェル 552 の中の制御可能な培地交換のために構成された例示的培養容器 550 を説明する。図 25 および 26 参照。

【0083】

培養容器 550 は、他の培養容器に関して上で説明される要素および特徴のうちのいずれかを有し得る。例えば、各ウェル 552 は、通路 564 を介して列 554 の隣接するウェル 552 と構造連通を有し得る。通路 564 は、隣接するウェル 552 の上側部分 568 間に制御可能な液体流を可能にし得る。ウェル 552 の下側部分 568 は、互いに直交する一対の垂直面内でウェルの底部領域内で丸みを帯び得る。例えば、各ウェル 552 の底部内面領域 586 および底部外面領域 588 は、形状が球形であり得る（すなわち、完全球体の一部に対応する）。他の場合、底部内面領域 586 は、直交垂直面内で丸みを帯び得、底部外面領域 588 は、平面的かつ水平であり得る。

【0084】

（I V．選択された側面）

本節は、一連のインデックス付き段落として本開示の選択された側面を説明する。

【0085】

A 1．細胞培養の方法であって、（a）ウェルの列と、ウェルの列の反対端に位置している第 1 のリザーバおよび第 2 のリザーバとを含むデバイスを選択することであって、各ウェルは、下側部分と、上側部分とを有し、ウェルのうちの少なくとも 2 つのうちの各ウェルの下側部分は、培地と接触している細胞培養物を含む、ことと、（b）培地の分子が少なくとも 2 つのウェル間またはそれらの中で交換されるように、デバイスによって画定され、ウェルの列のうちの各ウェルの上側部分を通して延びている流路に少なくとも部分的に沿って、第 1 のリザーバと第 2 のリザーバとの間で液体（培地等）を移送することを含む方法。

【0086】

A 2．流路は、複数の通路を通して延び、各通路は、ウェルの列のうちの一対の隣接するウェルの上側部分間、またはリザーバのうちの 1 つの上側部分とウェルの列のうちの隣接するウェルの上側部分との間に流体連通を生成する、段落 A 1 に記載の方法。

【0087】

A 3．複数の通路のうちの少なくとも 1 つの通路（または各通路）は、隣接する一対のウェルのうちの各ウェルの上側部分の上辺縁に交差する、段落 A 2 に記載の方法。

【0088】

A 4．壁が、ウェルの列のうちの隣接する一対のウェルの上側部分間で共有され、複数の通路のうちの通路は、壁を通して延びている、段落 A 2 または A 3 に記載の方法。

【0089】

A 5．複数の通路のうちの少なくとも 1 つの通路（または各通路）は、デバイスの上面に形成される、段落 A 2－A 4 のいずれかに記載の方法。

【0090】

A 6．複数の通路のうちの少なくとも 1 つの通路（または各通路）は、スロットである、段落 A 2－A 5 のいずれかに記載の方法。

【0091】

A 7．スロットは、垂直に細長い、段落 A 6 に記載の方法。

【0092】

A 8．流路は、非線形であり、随意に、蛇行流路である、段落 A 1－A 7 のいずれかに記載の方法。

【0093】

10

20

30

40

50

A 9. 液体を移送することは、ウェルの列のうちの各ウェルの下側および上側部内分で液体のウェル内混合を促す乱流を生成することを含む、段落 A 1 – A 8 のいずれかに記載の方法。

【0094】

A 10. 液体を移送することは、重力を用いて液体の流動を駆動することを含む、段落 A 1 – A 9 のいずれかに記載の方法。

【0095】

A 11. 液体の流動を駆動することは、液体が、第 1 のリザーバからウェルの列に、ウェルの列から第 2 のリザーバまで、流路に沿って流動するように、デバイスを傾け、第 2 のリザーバに対して第 1 のリザーバを上昇させることを含む、段落 A 10 に記載の方法。

【0096】

A 12. 液体を移送することは、重力が第 1 のリザーバと第 2 のリザーバとの間で流路に沿って反対方向に交互に液体の流動を駆動するように、デバイスを揺り動かすことを含む、段落 A 11 に記載の方法。

【0097】

A 13. 流路は、第 1 の流路であり、液体を移送することは、第 1 の流路に沿って第 1 のリザーバから第 2 のリザーバまで液体を移動させることを含み、液体を移送することは、ポンプを使用して、少なくとも部分的にデバイスの外側に位置する第 2 の流路に沿って第 2 のリザーバから第 1 のリザーバまで液体を移動させることを含む、段落 A 1 – A 10 のいずれかに記載の方法。

【0098】

A 14. 液体を移送することは、少なくとも 2 つのウェルのうちの 1 つの細胞培養物によって産生される少なくとも 1 つの細胞生成物の 1 つ以上の複製を少なくとも 2 つのウェルのうちのもう 1 つに移動させることを含む、段落 A 1 – A 13 のいずれかに記載の方法。

【0099】

A 15. 少なくとも 1 つの細胞生成物は、分泌因子（例えば、サイトカイン、ケモカイン、または成長因子）、脂質、DNA、RNA、タンパク質、ウイルス、および／または細菌を含む、段落 A 14 に記載の方法。

【0100】

A 16. 少なくとも 2 つのウェルのうちの少なくとも 1 つは、細胞の少なくとも 1 つの 3 次元集団を含む、段落 A 1 – A 15 のいずれかに記載の方法。

【0101】

A 17. 細胞の少なくとも 1 つの 3 次元集団は、オルガノイドを含む、段落 A 16 に記載の方法。

【0102】

A 18. 少なくとも 2 つのウェルは、それぞれのウェル内に 2 つ、3 つ、4 つ、またはそれを上回る異なるタイプのオルガノイドを含む、段落 A 1 – A 17 のいずれかに記載の方法。

【0103】

A 19. 異なるタイプのオルガノイドは、脳、心臓、腸、腎臓、胃、および肝臓組織の任意の組み合わせに対応するオルガノイドを含む、段落 A 18 に記載の方法。

【0104】

A 20. 細胞の少なくとも 1 つの 3 次元集団は、スフェロイドを含む、段落 A 16 – A 19 のいずれかに記載の方法。

【0105】

A 21. 少なくとも 2 つのウェルは、2 つ、3 つ、またはそれを上回る異なるタイプのスフェロイドを含む、段落 A 20 に記載の方法。

【0106】

A 22. 少なくとも 2 つのウェルのうちの少なくとも 1 つは、2 次元細胞培養物を含む、段落 A 1 – A 21 のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【0107】

A23. 液体は、細胞培養物のうちの1つ以上への影響に関して試験されている化合物を含む、段落A1－A22のいずれかに記載の方法。

【0108】

A24. 選択する前、各細胞培養物のための1つ以上の前駆細胞を少なくとも2つのウェルの中に設置することをさらに含む、段落A1－A23のいずれかに記載の方法。

【0109】

A25. 少なくとも2つのウェルのうちの1つのウェル内に含まれる細胞培養物の少なくとも一部を撮像することをさらに含む、段落A1－A24のいずれかに記載の方法。

【0110】

A26. 撮像することは、細胞の3次元集団の少なくとも一部を撮像することを含む、段落A25に記載の方法。

【0111】

A27. 細胞の3次元集団は、スフェロイドまたはオルガノイドを含む、段落A26に記載の方法。

【0112】

A28. 撮像することは、1つのウェルの上方または下方から1つのウェルの少なくとも一部を照明することを含む、段落A25－A27のいずれかに記載の方法。

【0113】

A29. 撮像することは、1つのウェルの上部または底部を通して伝搬した光を検出することを含む、段落A25－A28のいずれかに記載の方法。

【0114】

A30. 撮像することは、蛍光撮像、位相コントラスト撮像、共焦点撮像、および／または透過光撮像を含む、段落A25－A29のいずれかに記載の方法。

【0115】

A31. 撮像は、1つのウェルの側方光学窓を通して伝搬した光を用いて、1つのウェルの少なくとも一部を照明することを含む、段落A25－A30のいずれかに記載の方法。

【0116】

A32. 撮像することは、1つのウェルの側方光学窓を通して伝搬した光を検出することを含む、段落A25－A31のいずれかに記載の方法。

【0117】

A33. 撮像することは、光シート顕微鏡検査によって実施される、段落A31またはA32に記載の方法。

【0118】

A34. 各リザーバは、リザーバの底部領域からウェルの列の端部における流路上に位置する通路まで延びている斜面を有する、段落A1－A33のいずれかに記載の方法。

【0119】

A35. 斜面は、デバイスが水平向きを有するとき、水平から45度未満の角度において傾斜している、段落A34に記載の方法。

【0120】

A36. 液体を移送することは、リザーバのうちの少なくとも1つの斜面を略水平向きに移動させることを含む、段落A34またはA35に記載の方法。

【0121】

A37. 各リザーバは、ウェルの列のうちの各ウェルより多くの液体を保持するように構成されている、段落A1－A36のいずれかに記載の方法。

【0122】

A38. デバイス上に蓋を設置し、ウェルの列を覆うことをさらに含む、段落A1－A37のいずれかに記載の方法。

【0123】

A39. 液体を移送することは、蓋が、ウェルの列、随意に、両方のリザーバを被覆し

10

20

30

40

50

ている間に、実施される、段落 A 3 8 に記載の方法。

【0124】

A 40. デバイスは、段落 B 1 – B 4 1 のいずれかによるものである、段落 A 1 – A 3 9 のいずれかに記載の方法。

【0125】

B 1. 細胞培養のためのデバイスであって、(a) 各々が下側部分と上側部分とを有するウェルの列であって、下側部分は、細胞培養物を含むように構成されている、ウェルの列と、(b) ウェルの列の反対端に位置している第 1 のリザーバおよび第 2 のリザーバとを備え、デバイスは、液体のための流路を画定し、流路は、ウェルの列を介して第 1 のリザーバから第 2 のリザーバまで延び、ウェルの列のうちの各ウェルの上側部分を通過している、デバイス。

10

【0126】

B 2. 各ウェルの下側部分は、ウェルの上側部分のみを介して液体を受け取るように構成されている、段落 B 1 に記載のデバイス。

【0127】

B 3. ウェルの列のうちの 1 つ以上のウェル（例えば、各ウェル）は、ウェルの外側に平坦な底部を有する、段落 B 1 または B 2 に記載のデバイス。

【0128】

B 4. ウェルの列のうちの 1 つ以上のウェル（例えば、各ウェル）は、ウェルの内側に平坦な底部を有する、段落 B 1 – B 3 のいずれかに記載のデバイス。

20

【0129】

B 5. ウェルの列のうちの 1 つ以上のウェル（例えば、各ウェル）の下側部分は、内部で円錐形である、段落 B 1 – B 4 のいずれかに記載のデバイス。

【0130】

B 6. ウェルの列のうちの少なくとも 1 つのウェル（例えば、各ウェル）の下側部分は、平面的である外面および内面を有する透明側方光学窓を含み、外面および内面の各々は、デバイスの縦軸と平行である、段落 B 1 – B 4 のいずれかに記載のデバイス。

【0131】

B 7. 外および内面は、互いに平行ではない、段落 B 6 に記載のデバイス。

【0132】

B 8. 少なくとも 1 つのウェルの下側部分は、ウェルの列を横断して互いに間隔を置かれた一対の透明側方光学窓を有する、段落 B 6 または B 7 に記載のデバイス。

30

【0133】

B 9. ウェルの列は、縦軸を画定し、ウェルの列のうちの 1 つ以上のウェル（例えば、各ウェル）の下側部分は、水平面内の縦軸と平行に細長い、段落 B 1 – B 8 のいずれかに記載のデバイス。

【0134】

B 10. ウェルの列のうちの少なくとも 1 つのウェル（例えば、各ウェル）は、ウェルの底部に凹状内面領域を有する、段落 B 1 – B 9 のいずれかに記載のデバイス。

【0135】

B 11. 凹状内面領域は、ウェルの列によって画定される縦軸を含む垂直面内で凹状である、段落 B 10 に記載のデバイス。

40

【0136】

B 12. 凹状内面領域は、ウェルの列によって画定される縦軸に直交する垂直面内で凹状である、段落 B 10 に記載のデバイス。

【0137】

B 13. 流路は、ウェルの列を通して直線を辿る、段落 B 1 – B 12 のいずれかに記載のデバイス。

【0138】

B 14. 流路は、ウェルの列を通した蛇行流路等の非線形流路である、段落 B 1 – B 1

50

2のいずれかに記載のデバイス。

【0139】

B15．流路は、複数の通路を通して延び、各通路は、ウェルの列のうちの一对の隣接するウェルの上側部分間、またはリザーバのうちの1つの上側部分とウェルの列のうちの隣接するウェルの上側部分との間に流体連通を生成する、段落B1－B14のいずれかに記載のデバイス。

【0140】

B16．複数の通路のうちの少なくとも1つの通路（または各通路）は、隣接する一对のウェルのうちの各ウェルの上側部分の上辺縁に交差する、段落B15に記載のデバイス。

【0141】

B17．壁が、ウェルの列のうちの隣接する一对のウェルの上側部分間で共有され、複数の通路のうちの通路は、壁を通して延びている、段落B15またはB16に記載のデバイス。

【0142】

B18．複数の通路のうちの少なくとも1つの通路（または各通路）は、デバイスの上面に形成される、段落B15－B17のいずれかに記載のデバイス。

【0143】

B19．複数の通路のうちの少なくとも1つの通路（または各通路）は、デバイスの上面の下方に形成され、それから間隔を置かれている、段落B15－B17のいずれかに記載のデバイス。

【0144】

B20．複数の通路のうちの少なくとも1つの通路（または各通路）は、スロットである、段落B15－B19のいずれかに記載のデバイス。

【0145】

B21．スロットは、少なくとも略垂直に細長い、段落B20に記載のデバイス。

【0146】

B22．第1および第2のリザーバのうちの少なくとも1つのリザーバは、ウェルの列のうちの各ウェルト異なるサイズおよび／または形状を有する、段落B1－B21のいずれかに記載のデバイス。

【0147】

B23．少なくとも1つのリザーバは、液体を保持するためにウェルの列のうちの各ウェルより大きい容量を有する、段落B22に記載のデバイス。

【0148】

B24．より大きい容量は、ウェルの列のうちの各ウェルの液体保持容量の少なくとも2、3、4、または5倍である、段落B23に記載のデバイス。

【0149】

B25．デバイスは、（移動／除去可能な部分を伴わない）単一の部品である、段落B1－B24のいずれかに記載のデバイス。

【0150】

B26．ウェルの列、第1のリザーバ、および第2のリザーバは、互いに一体的に形成される、段落B25に記載のデバイス。

【0151】

B27．デバイスは、ポリマーから成り、随意に、射出成型される、段落B1－B26のいずれかに記載のデバイス。

【0152】

B28．ウェルの列の上面は、各リザーバの辺縁と同じ平面内にある、段落B1－B27のいずれかに記載のデバイス。

【0153】

B29．デバイスは、ウェルの列と平行に細長い、段落B1－B28のいずれかに記載のデバイス。

10

20

30

40

50

【0154】

B30. デバイスは、ウェルの単一の列を有する、段落B1-B29のいずれかに記載のデバイス。

【0155】

B31. ウェルの列および各リザーバを覆うように構成された蓋をさらに備えている、段落B1-B30のいずれかに記載のデバイス。

【0156】

B32. デバイスは、実質的に無菌条件でパッケージ化されている、段落B1-B31のいずれかに記載のデバイス。

【0157】

B33. ウェルのうちの1つ以上（ウェルのそれぞれ等）は、互いに直交する一対の垂直面内で丸みを帯び、随意に、球形である底部内面領域を有する、段落B1-B32のいずれかに記載のデバイス。

【0158】

B34. 1つ以上のウェルのうちの各ウェル（デバイスの各ウェル等）は、平坦であるか、または互いに直交する一対の垂直面内で丸みを帯びている（随意に、球形である）、底部外面領域を有する、段落B1-B33のいずれかに記載のデバイス。

【0159】

B35. デバイスは、本体と、本体の底部に接合される少なくとも1つのプレートとを含み、少なくとも1つのプレートは、ウェルのうちの1つ以上（デバイスのウェルの各々等）の底部領域を形成する、段落B1-B25およびB27-B34のいずれかに記載のデバイス。

【0160】

B36. 少なくとも1つのプレートは、1つ以上のウェルのうちの各ウェルの床面を形成し、ウェルの底部領域において本体と液密シールを形成する、段落B35に記載のデバイス。

【0161】

B37. プレートがない場合、本体は、随意に、各々が垂直貫通軸を画定し、各々が開放上部と開放底部とを有する複数のコンパートメントを含み、少なくとも1つのプレートは、各コンパートメントを閉鎖底部を有するウェルに変換する、段落B35またはB36に記載のデバイス。

【0162】

B38. 少なくとも1つのプレートは、1つ以上のウェルのうちの各ウェルの底部領域において本体と液密シールを形成する、段落B35-B37のいずれかに記載のデバイス。

【0163】

B39. 本体は、ポリマーから成り、随意に、射出成型される、段落B35-B38のいずれかに記載のデバイス。

【0164】

B40. 本体は、予形成本体を切断し、予形成本体の1つ以上のウェルの底端を除去することによって、複数のウェルを有する予形成本体から形成される、段落B35-B39のいずれかに記載のデバイス。

【0165】

B41. 本体は、ポリマー本体であり、プレートは、ポリマープレートまたはガラスプレートである、段落B35-B40のいずれかに記載のデバイス。

【0166】

C1. (a) 段落B1-B41のいずれかに記載の複数のデバイスと、(b) 互いに整列して複数のデバイスを除去可能に保持するためのフレームとを備えている、装置。

【0167】

C2. 装置は、複数のデバイスのウェルの列によって形成されたウェルの長方形アレイを含む、段落C1に記載の装置。

10

20

30

40

50

【0168】

C3. ウェルの各列内のウェルの中心間の間隔は、ウェルの隣接する列間のウェルの中心間の間隔と同じである、段落C1またはC2に記載の装置。

【0169】

C4. ウェルの各列内のウェルの中心間の間隔およびウェルの隣接する列の間のウェルの中心間の間隔の両方は、18、9、または4.5 mmである、段落C3に記載の装置。

【0170】

C5. デバイスのうちの少なくとも1つの上に適合し、少なくとも1つのデバイスのウェルを覆うように構成された蓋をさらに備えている、段落C1-C4のいずれかに記載の装置。

10

【0171】

C6. 蓋は、ウェルの全てとデバイスのリザーバの各々とを覆うように構成されている、段落C5に記載の装置。

【0172】

C7. 装置は、無菌状態でパッケージ化されている、段落C1-C6のいずれかに記載の装置。

【0173】

本開示で使用されるような用語「例示的」は、「例証的」または「実施例としての役割を果たす」を意味する。同様に、用語「例示する」は、「実施例を挙げることによって例証すること」を意味する。いずれの用語も、所望性も優位性も含意しない。

20

【0174】

本発明は、上記の実施例および特徴を通して説明されたが、本明細書に開示される発明の概念から逸脱することなく、実施例および特徴の多種多様な修正、組み合わせ、および変形例が成され得ることが、当業者によって理解されるであろう。さらに、本発明は、本明細書に説明される任意の具体的目的または実施形態に限定されると見なされるべきではなく、むしろ、本明細書に説明されるもの以外の多種多様な目的を達成するために適用可能と見なされるべきである。本開示は、可能な実施例のうちのいくつかのみが示された付随する図面を参照して、技術のいくつかの実施例を説明した。しかしながら、他の側面も、多くの異なる形態で具現化されることができ、組み合わせて明白に例示されない場合でさえも、本明細書に記載される実施例に限定されると解釈されるべきではない。むしろ、これらの実施例は、本開示が、徹底的かつ完全であり、可能な実施例の範囲を当業者に完全に伝えるように、提供された。

30

40

50

【図面】

【図 1】

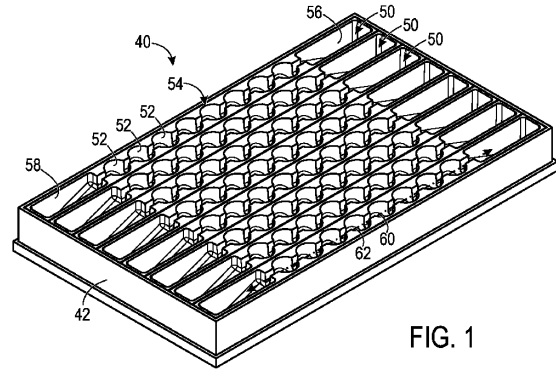


FIG. 1

【図 2】

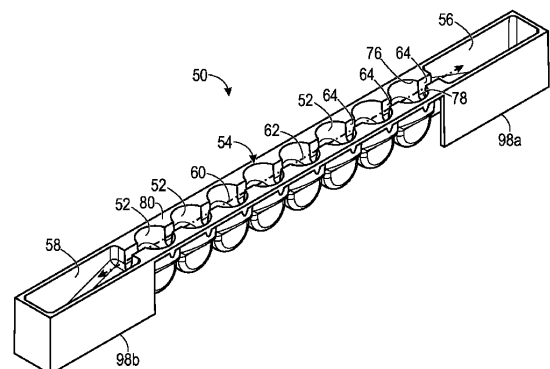


FIG. 2

【図 3】

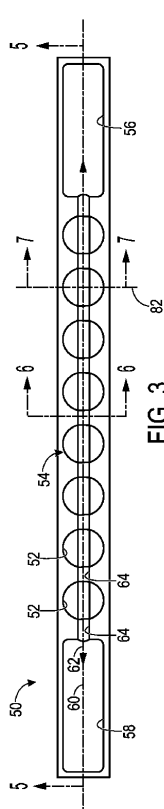


FIG. 3

【図 4】

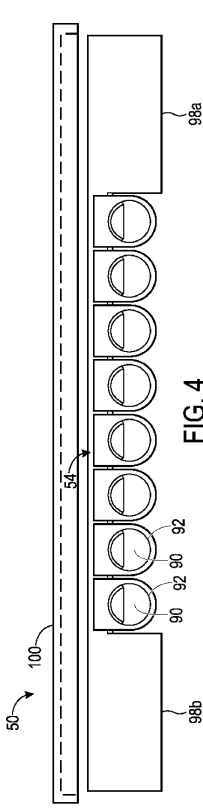


FIG. 4

10

20

30

40

50

【図 5】

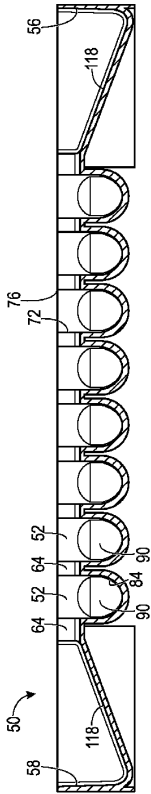


FIG. 5

【図 6】

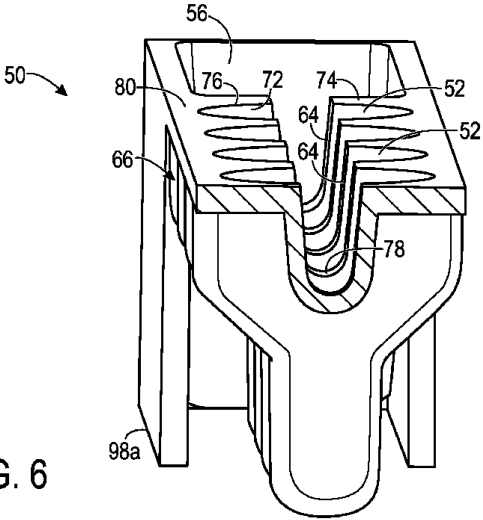


FIG. 6

【図 7】

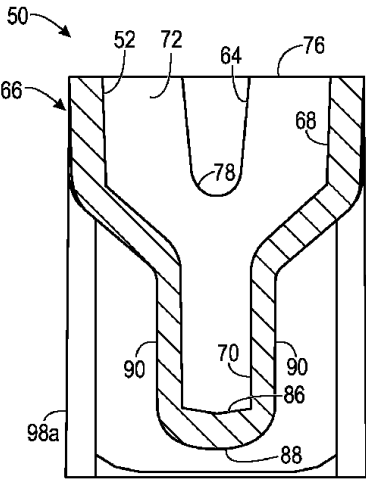


FIG. 7

【図 8】

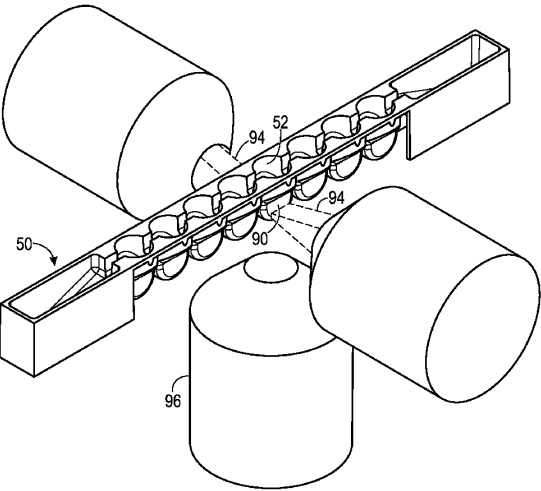


FIG. 8

10

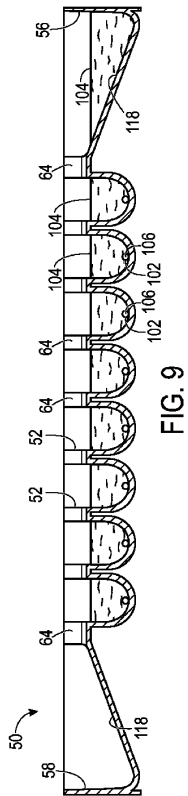
20

30

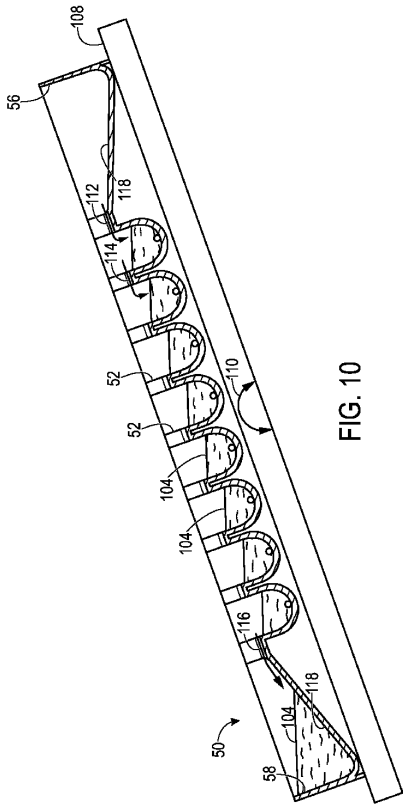
40

50

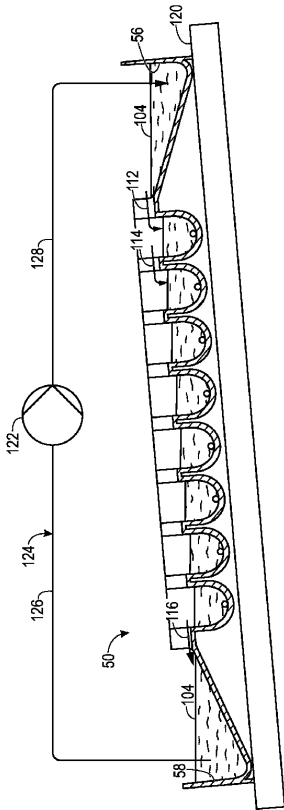
【図 9】



【図 10】



【図 11】



【図 12】

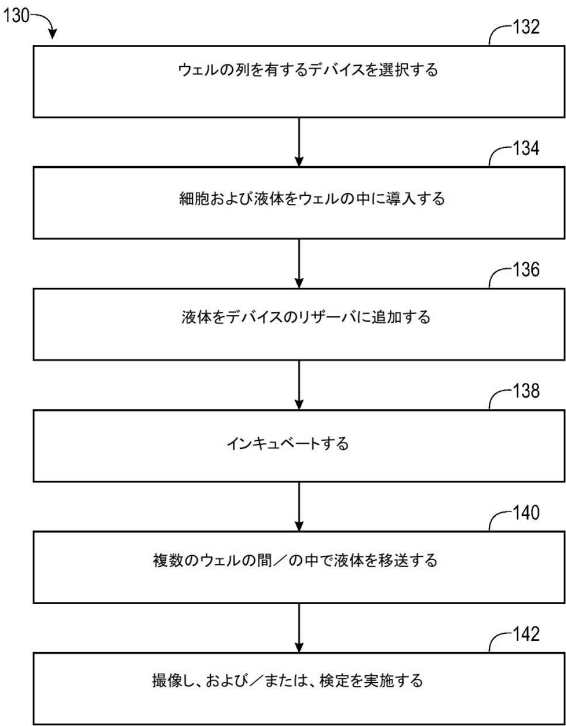


FIG. 12

【図 1 3】

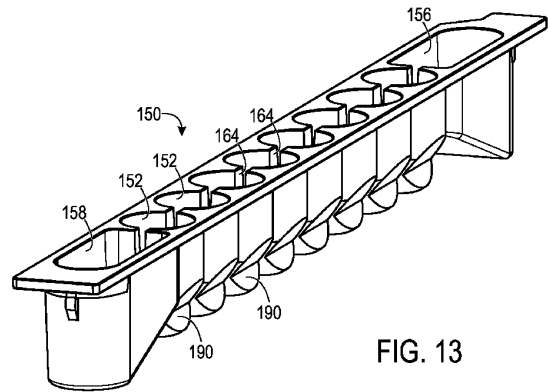


FIG. 13

【図 1 4】

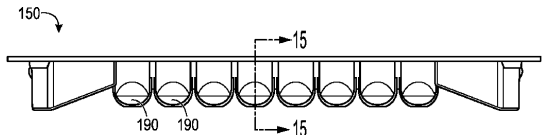


FIG. 14

【図 1 5】

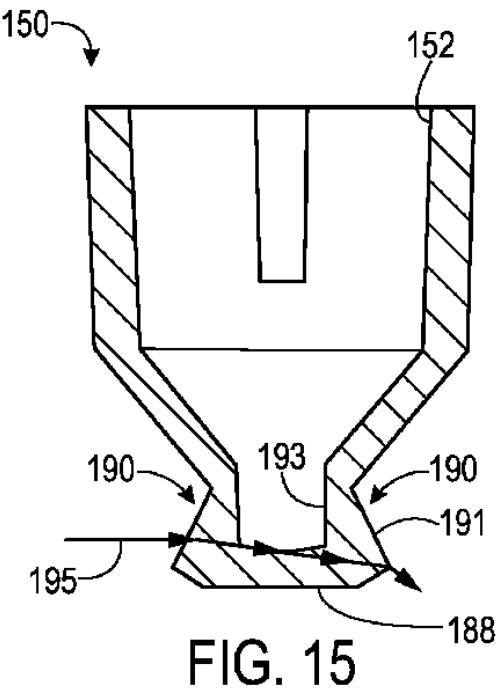


FIG. 15

【図 1 6】

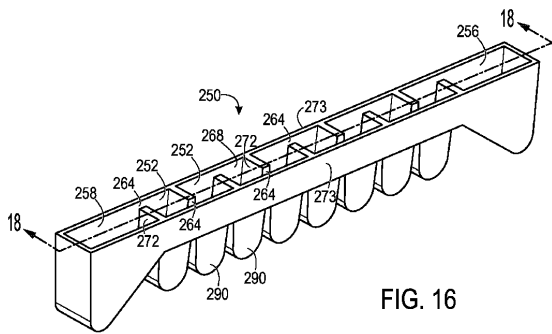


FIG. 16

10

20

30

40

50

【図 1 7】

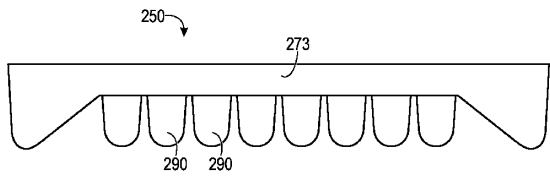


FIG. 17

【図 1 8】

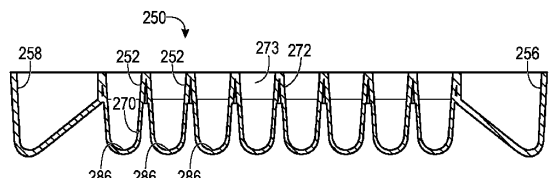


FIG. 18

【図 1 9】

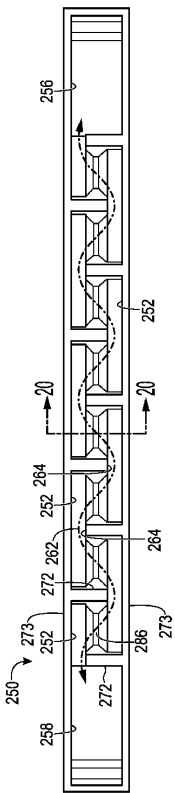


FIG. 19

【図 2 0】

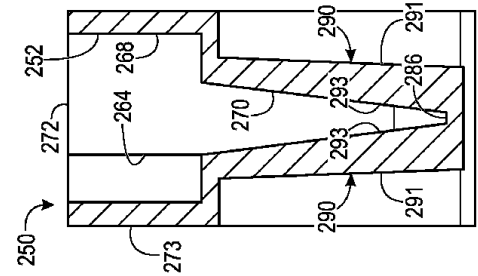


FIG. 20

10

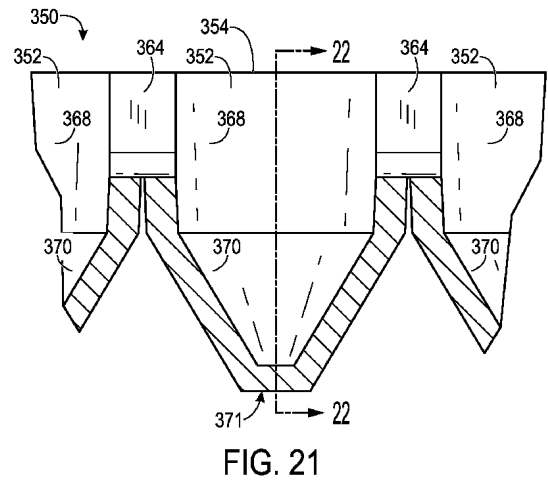
20

30

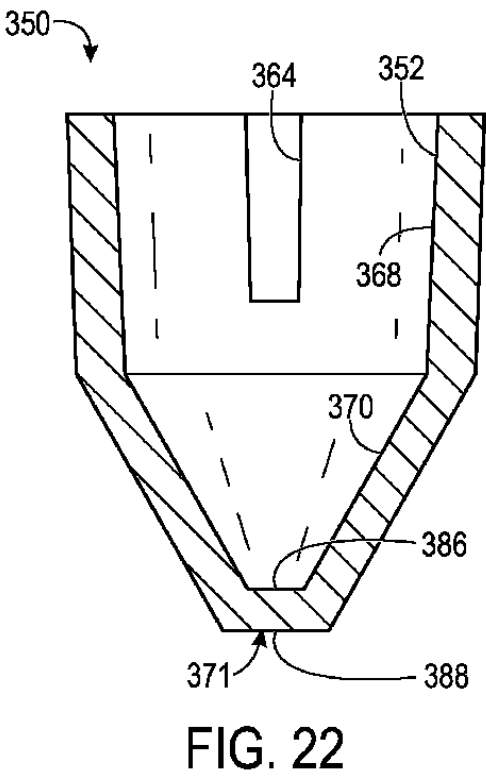
40

50

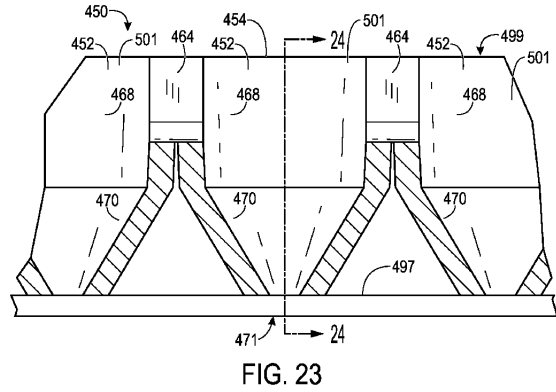
【図 2 1】



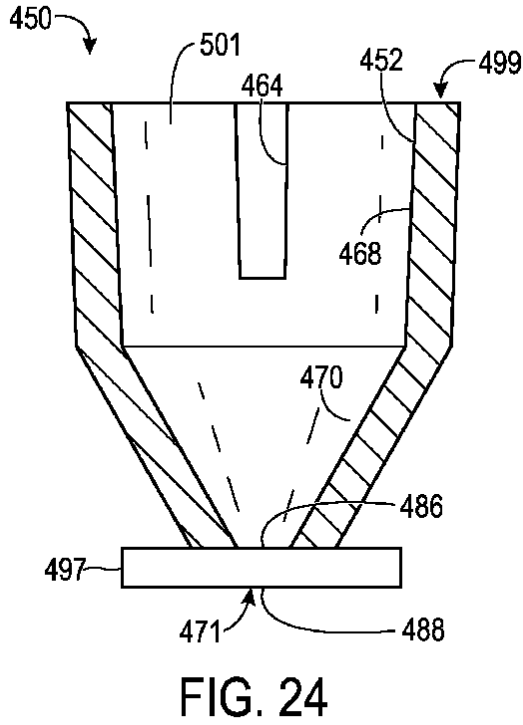
【図 2 2】



【図 2 3】



【図 2 4】



10

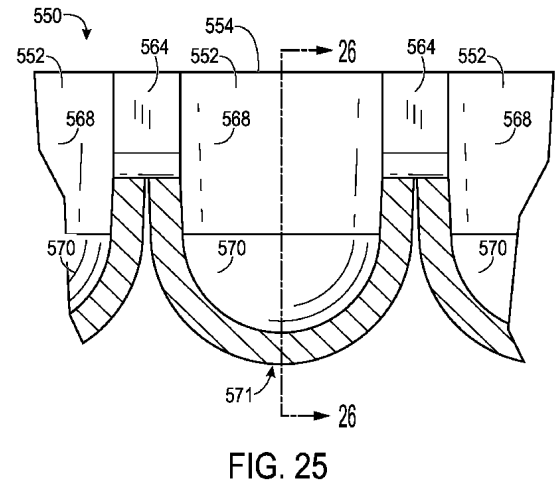
20

30

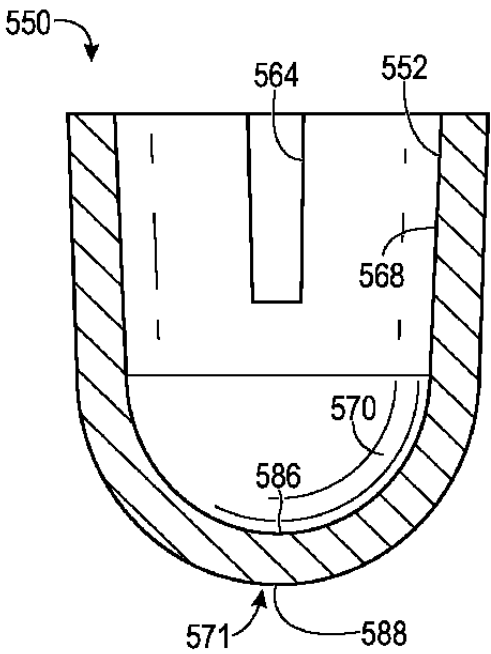
40

50

【図 2 5】



【図 2 6】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

オーストリア国 ５４１２ プフ／ハライン， ウルシュタイン スート １７
(72)発明者 アツラー， ヨーゼフ
オーストリア国 ５４１２ プフ／ハライン， ウルシュタイン スート １７
審査官 高山 敏充
(56)参考文献 特表２０１８－５１２１７１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１９／００８１８９（ＷＯ，Ａ１）
(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｍ