



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년07월16일  
 (11) 등록번호 10-1419952  
 (24) 등록일자 2014년07월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 C12M 3/00 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2008-7017352  
 (22) 출원일자(국제) 2006년12월14일  
 심사청구일자 2011년12월07일  
 (85) 번역문제출일자 2008년07월16일  
 (65) 공개번호 10-2008-0087003  
 (43) 공개일자 2008년09월29일  
 (86) 국제출원번호 PCT/JP2006/324903  
 (87) 국제공개번호 WO 2007/083465  
 국제공개일자 2007년07월26일  
 (30) 우선권주장  
 JP-P-2006-00008521 2006년01월17일 일본(JP)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2004208663 A  
 WO2005059091 A1

(73) 특허권자  
 고쿠리츠 다이가쿠 호우징 나고야 다이가쿠  
 일본국 464-8601, 아이치켄 나고야시 치구사쿠 후  
 로쥬 1  
 가부시키가이샤 가네카  
 일본국 오사카후 오사카시 기타쿠 나카노시마 2쥬  
 메 3반 18고  
 (72) 발명자  
 스즈끼, 쥬토무  
 일본 1010021 도오쿄오토 치요다쿠 소토칸다 4쥬  
 오메 14반 1고오 가부시키가이샤 히타치 메디코  
 내  
 이에지마, 다이스께  
 일본 1010021 도오쿄오토 치요다쿠 소토칸다 4쥬  
 오메 14반 1고오 가부시키가이샤 히타치 메디코  
 내  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 박보현, 김성완, 장수길

전체 청구항 수 : 총 19 항

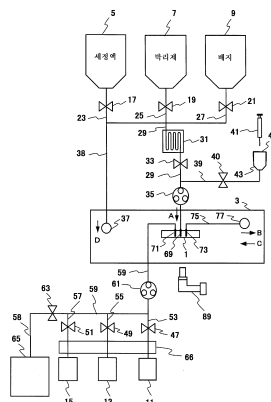
심사관 : 서대중

(54) 발명의 명칭 세포 배양 방법 및 그 방법을 이용한 자동 배양 장치

(57) 요약

본 발명의 배양 방법은 인체로부터 적출한 세포와 배지를 배양 용기에 주입하는 스텝과, (2) 배지와 상기 세포가 들어간 상기 배양 용기 내의 환기와 배지의 교환을 행하면서 세포를 배양하는 스텝과, (3) 상기 배양 용기 내에서 배양된 배양 세포의 세정을 행한 후, 상기 세정된 세포를 그 일부를 남겨서 상기 배양 용기 내에서 세포 회수 용기로 회수하는 스텝과, (4) 상기 스텝 (3)에서 상기 배양 용기 내에 남겨진 배양 세포에 대하여 배지를 주입하는 스텝과, (5) 상기 스텝 (2)와 스텝 (3)을 반복하여 실행하는 스텝으로 구성된다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

**가가미, 히데아끼**

일본 4648603 아이치켄 나고야시 치구사쿠 후로쵸  
1 고클리츠다이가쿠 호우징 나고야 다이가쿠 내

**가또, 류지**

일본 4648603 아이치켄 나고야시 치구사쿠 후로쵸  
1 고클리츠다이가쿠 호우징 나고야 다이가쿠 내

**우에다, 미노루**

일본 4648603 아이치켄 나고야시 치구사쿠 후로쵸  
1 고클리츠다이가쿠 호우징 나고야 다이가쿠 내

**오까다, 구니히코**

일본 4648603 아이치켄 나고야시 치구사쿠 후로쵸  
1 고클리츠다이가쿠 호우징 나고야 다이가쿠 내

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

배양에 필요한 복수의 약품을 개별적으로 수납하는 약품 공급 유닛과,  
 세포 배양 살레를 수납하는 인큐베이터 유닛과,  
 상기 배양 살레 내에서 배양된 배양 세포를 회수하는 회수 유닛과,  
 상기 배양 살레로의 세포의 공급과, 상기 약품 공급 유닛으로부터 상기 배양 살레로의 약품의 공급과, 상기 배양 살레로부터 상기 회수 유닛으로의 배양 세포의 배출을 행하는 급배 유닛과,  
 상기 배양 살레로의 약품 공급 동작과, 상기 배양 살레에서의 세포 배양 동작과, 상기 배양 살레로부터의 배양 세포의 배출 동작을 제어하는 제어 유닛으로서, 배양 세포의 회수 시에 상기 배양 살레 내에 남겨진 배양 세포에 대하여, 상기 급배 유닛에 의한 약품 공급 공정을 포함하는 세포 배양 공정과, 배양 세포의 배출 공정을 1회 이상 행하게 하는 수단을 갖는 제어 유닛  
 을 구비한 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 급배 유닛은 상기 약품 공급 유닛에 설치된 복수의 약품 백으로부터 선택적으로 1개의 약품을 상기 배양 살레에 공급하기 위한 공급용 튜브 배관과, 이 튜브 배관에 설치된 밸브와, 공급 펌프를 갖는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 상기 복수의 약품 백에 수납된 약품에는, 배지와 세정액이 포함되는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 상기 복수의 약품 백에 수납된 약품에는, 추가로 박리제가 포함되는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 급배 유닛은 배양 세포를 회수하는 복수의 회수 백과, 사용 종료 약품을 수용하는 폐액 용기와, 상기 배양 살레로부터 사용 종료 약품과 배양 세포를 상기 회수 백 또는 폐액 용기에 선택적으로 배출하기 위한 배출용 튜브 배관과, 이 튜브 배관에 설치된 밸브와, 배출 펌프를 갖는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 상기 배양 살레에는 상기 급배 유닛에 접속되는 노즐이 복수개 설치되어 있는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 7**

제6항에 있어서, 상기 급배 유닛의 배출용 튜브 배관에 접속되는 상기 노즐의 배양 살레 내에 위치하는 선단과 상기 배양 살레의 저면 사이에 소정의 간극이 설치되고, 이 간극에 의해서 배양 세포의 회수 시에, 배양 세포의 일부가 배양 살레 내에 남겨지는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 8**

제5항에 있어서, 상기 회수 백은 열압착성을 갖는 재료로 이루어지고, 상기 배출용 튜브 배관에 접속하기 위한 튜브 부분을 갖는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 상기 급배 유닛은 상기 제어 유닛으로부터의 지령에 의해서 특정된 회수 백의 튜브 부분을 열압착하는 열밀봉 기구를 구비하고 있는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 10**

제5항에 있어서, 상기 배출용 튜브 배관은, 상기 배양 살레에 접속된 단일의 튜브와, 복수의 회수 백과 폐액 용기에 접속된 복수의 튜브가 접속되어 구성되고, 배출 펌프는 상기 단일의 튜브에 배치되고, 밸브는 복수의 회수 백과 폐액 용기에 접속된 튜브의 각각에 배치되어 있는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 11**

제5항에 있어서, 상기 배출용 튜브 배관은, 상기 배양 살레와 폐액 용기, 및 복수의 회수 백을 개별적으로 접속시키는 수의 튜브를 갖고, 각각의 튜브에는 배출 펌프와 밸브가 배치되어 있는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 12**

제5항에 있어서, 상기 배출용 튜브 배관은, 상기 배양 살레와 폐액 용기를 접속시키는 폐액용 튜브와, 상기 배양 살레에 접속된 단일의 튜브와 이 단일의 튜브와 복수의 회수 백을 접속시키는 복수의 튜브를 포함하고, 상기 폐액용 튜브와 상기 배양 살레에 접속된 단일의 튜브의 각각에 배출 펌프와 밸브가 배치되어 있는 것을 특징으로 하는 자동 배양 장치.

**청구항 13**

- (1) 인체로부터 적출한 세포와 배지를 배양 살레에 주입하는 스텝과,
  - (2) 배지와 상기 세포가 들어간 상기 배양 살레 내의 환기와 배지의 교환을 행하면서 세포를 배양하는 스텝과,
  - (3) 상기 배양 살레 내에서 배양된 배양 세포의 세정을 행한 후, 상기 세정된 세포를 그 일부를 남겨 상기 배양 살레 내로부터 세포 회수 용기에 회수하는 스텝과,
  - (4) 상기 스텝 (3)에서 상기 배양 살레 내에 남겨진 배양 세포에 대하여 배지를 주입하는 스텝과,
  - (5) 상기 스텝 (2)와 스텝 (3)을 반복하여 실행하는 스텝
- 을 포함하는 세포 배양 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 상기 스텝 (4)와 스텝 (5)를 1회 이상 행하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**청구항 15**

제13항에 있어서, 상기 스텝 (3)에서의 세포의 회수 스텝에는, 상기 배양 살레 내의 배양 세포를 세정하는 스텝에 이어서, 박리제를 주입함으로써 상기 배양 살레로부터 배양 세포를 박리하는 스텝을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 상기 스텝 (3)에서의 박리제 주입에 이어서, 박리제의 배양 세포에 대한 영향을 약하게 하기 위해서 새로운 배지를 상기 배양 살레에 주입하는 스텝을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**청구항 17**

제13항에 있어서, 상기 스텝 (5)에서 회수되는 배양 세포는, 스텝 (3)에서 세포가 회수되는 용기와는 다른 용기에 회수되는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**청구항 18**

제15항에 있어서, 상기 스텝 (5)에서 회수되는 배양 세포는, 스텝 (3)에서 세포가 회수되는 용기와는 다른 용기에 회수되는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**청구항 19**

제16항에 있어서, 상기 스텝 (5)에서 회수되는 배양 세포는, 스텝 (3)에서 세포가 회수되는 용기와는 다른 용기에 회수되는 것을 특징으로 하는 세포 배양 방법.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 세포 배양 방법 및 그 방법을 실행하는 세포 배양 장치에 관한 것으로, 특히 인체의 배양 세포에 잡균 등을 혼입(컨테미네이션)시키지 않고 대량의 배양 세포를 얻을 수 있는 세포 배양 방법 및 자동 세포 배양 장치에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 최근 들어, 인체의 손상된 조직이나 기능이 저하된 장기 등을 재생시키는 재생 의료의 연구가 수없이 보고되고 있다. 재생 의료에서는 인체의 조직이나 장기를 구성하는 세포를 대량으로 필요로 하는데, 재생 의료에 필요로 하는 세포는 인공적으로 배양된 배양 세포가 이용된다.

[0003] 종래의 세포 배양에 관련된 장치로서는, 특허 문헌 1에 개시된 바와 같이, 배양실 내의 온도, 가스 농도 등의 분위기의 제어가 가능한 배양 장치와, 특허 문헌 2에 개시된 바와 같은, 배양실 내의 분위기의 제어에 추가하여, 배양 용기에 대한 배양 조직의 투입, 배양 약제의 급배, 또한 배양실 내의 분위기의 제어도 가능하게 한 자동 배양 장치가 있다.

[0004] 특허 문헌 1: 일본 특허 제3021789호 공보

[0005] 특허 문헌 2: 국제 공개 W02005/059091호 공보

[0006] 상기 종래의 배양 장치의 전자에 있어서는, 배양기 내의 배지의 교환, 다량의 배양 세포를 얻기 위해 세포 밀도를 조정하는 계대배양 등의 작업은 연구자 등의 수작업에 의해 행해지고 있다. 이 장치의 경우, 예를 들면 배지 교환이나 계대 등의 작업은, 작업자가 장치의 도어를 개방한 후, 균을 배양기 내에 혼입시키지 않도록 주의하면서, 살레 등의 배양기의 덮개를 들어올리고, 멸균된 피펫을 이용하여 주의 깊게 행하고 있다. 또한, 계대 배양을 반복하는 경우에는, 증가한 배양 세포를 복수의 배양기에 이식하는 작업을 복수회 행할 필요가 있기 때문에, 숙련자로서도 컨테미네이션을 야기할 가능성이 있었다.

[0007] 한편, 상기 종래의 배양 장치의 후자의 자동 배양 장치에서는, 상술한 바와 같이 세포의 투입, 배양 약제의 급배, 또한 배양실 내의 분위기의 제어도 가능하게 되어 있다. 그러나, 배양 장치 내에서 배양된 세포를 추출하여 용기 내에 주입한 채의 상태로 장치 밖으로 자동 반송하는 방식을 채용하고 있어, 배양 세포 취출 시의 컨테미네이션에는 아직 해결하여야 할 과제가 남아 있다고 생각된다.

[0008] 또한, 인체의 조직이나 장기를 재생하고자 하는 경우에는 대량의 배양 세포를 필요로 하는데, 대량의 배양 세포를 얻기 위해서는 배양기를 대형화하는 것이 필요하게 되고, 인체로부터 적출되는 세포의 양을 늘릴 필요가 있다. 그러나, 배양기를 대형화하면, 배양 장치도 당연 대형화하여 설치 스페이스가 커진다는 문제가 생긴다. 또한, 인체로부터 적출하는 세포의 양을 늘리면, 인체에 큰 손상을 준다는 문제가 생긴다.

[0009] 또한, 질신 벌레와 같은 실험용 세포를 대량으로 증식시키는 계대배양 기술에 관한 것으로서 특허 문헌 3이 있다. 이 특허 문헌 3에 기재된 기술에서는 배지가 충전된 배양 용기 내에서 배양된 배양 세포에 대하여, 새로운 배지를 공급하여 오래된 배지와 배양 세포의 일부를 씻어내어, 배양 용기 내의 배양 세포를 회식하는 것이다. 그러나, 본 기술에서는 배지로 씻어낸 세포는 그대로 계측에 제공되므로, 인체의 재생 의료에 제공되는 순수한 세포를 대량으로 취득하는 것에는 적합하지 않다고 생각된다.

[0010] 특허 문헌 3: 일본 특허 공개 제2004-208663호 공보

**발명의 상세한 설명**

[0011] <발명의 개시>

[0012] <발명이 해결하고자 하는 과제>

- [0013] 본 발명의 목적은 상기 문제에 대응하면서, 인체의 재생 의료에 이용하는 배양 세포를 대량으로 얻을 수 있는 세포 배양 방법 및 자동 배양 장치를 제공하는 데에 있다.
- [0014] <과제를 해결하기 위한 수단>
- [0015] 상기 과제를 해결하기 위해서 본 발명의 배양 방법은,
- [0016] (1) 인체로부터 적출한 세포와 배지를 배양 용기에 주입하는 스텝과, (2) 배지와 상기 세포가 들어간 상기 배양 용기 내의 환기와 배지의 교환을 행하면서 세포를 배양하는 스텝과, (3) 상기 배양기 내에서 배양된 배양 세포의 세정을 행한 후, 상기 세정된 세포를 그 일부를 남겨 상기 배양 용기 내로부터 세포 회수 용기로 회수하는 스텝과, (4) 상기 스텝 (3)에서 상기 배양 용기 내에 남겨진 배양 세포에 대하여 배지를 주입하는 스텝과, (5) 상기 스텝 (2)와 스텝 (4)를 반복하여 실행하는 스텝에 의해 구성된다.
- [0017] 또한, 상기 과제를 해결하기 위해서, 본 발명의 자동 배양 장치는, 배양에 필요한 복수의 약품을 개별적으로 수납하는 약품 공급 유닛과, 세포 배양 용기를 수납하는 인큐베이터 유닛과, 상기 배양 용기 내에서 배양된 배양 세포를 회수하는 회수 유닛과, 상기 배양 용기로의 세포의 공급과, 상기 약품 공급 유닛으로부터 상기 배양 용기로의 약품의 공급과, 상기 배양 용기로부터 상기 회수 유닛으로의 배양 세포의 배출을 행하는 급배 유닛과, 상기 배양 용기로의 약품 공급 동작과, 상기 배양 용기에서의 세포 배양 동작과, 상기 배양 용기로부터의 배양 세포의 배출 동작을 제어하는 제어 유닛으로서, 배양 세포의 회수 시에 상기 배양 용기 내에 남겨진 배양 세포에 대하여, 상기 급배 유닛에 의한 약품 공급 공정을 포함하는 세포 배양 공정과, 배양 세포의 배출 공정을 1회 이상 행하게 하는 수단을 갖는 제어 유닛을 구비한다.
- [0018] 본 발명에 따르면, 인체의 재생 의료에 이용하는 배양 세포를 대량으로 얻는 것이 가능하다.

**도면의 간단한 설명**

- [0019] 도 1은 본 발명의 자동 배양 장치의 유닛 구성을 도시하는 블록도이다.
- [0020] 도 2는 본 발명의 제1 실시 형태의 자동 배양 장치의 개략 구성을 도시하는 블록도이다.
- [0021] 도 3은 본 발명의 제1 실시 형태에서의 배양 용기의 사시도이다.
- [0022] 도 4는 도 3에 도시하는 배양 용기의 상세한 측면도이다.
- [0023] 도 5는 배양 용기의 노즐 배관부를 도시하는 단면도이다.
- [0024] 도 6은 본 발명의 배양 방법의 플로우차트이다.
- [0025] 도 7은 본 발명의 제2 실시 형태의 자동 배양 장치의 개략 구성을 도시하는 블록도이다.
- [0026] <발명을 실시하기 위한 최선의 형태>
- [0027] (제1 실시 형태)
- [0028] 이하, 본 발명을 도면을 참조하면서 설명하는데, 우선 처음에 본 발명의 세포 배양 방법을 실행하기 위한 자동 배양 장치의 제1 실시 형태를 설명한다.
- [0029] 도 1은 본 발명의 제1 실시 형태의 자동 배양 장치의 구성의 개요를 도시하는 블록도이다. 도 1에서, 200은 인체 세포의 세포 배양에 필요한 복수의 약품을 개별적으로 수납하는 약품 공급 유닛으로서, 그 내부는 수납된 약품이 열화하지 않도록 상온보다도 낮은 소정의 온도 범위로 유지할 수 있도록 구성되어 있다. 300은 인큐베이터 유닛으로서, 내부에는 배양 용기가 수납되어 있다. 400은 회수 유닛으로서, 인큐베이터 유닛 내에서 배양된 세포나, 사용 종료 약품을 회수하는 유닛이다. 500은 약품 공급 유닛 (200)과 인큐베이터 유닛 (300)과 회수 유닛 (400) 사이에서, 약품이나 세포를 공급 및 배출시키는 급배 유닛이다. 600은 환경 보전 유닛으로서, 약품 공급 유닛 (200)으로부터 배양기에 공급되는 약품의 온도나, 인큐베이터 유닛 (300) 내의 온도, 탄산 가스(CO<sub>2</sub>) 농도를 컨트롤하는 것이다. 700은 인큐베이터 유닛 (300)에 수납된 배양기 내의 세포 배양 상태를 관찰하기 위한 관찰 유닛으로서, 현미경이나, 현미경의 이동 기구나, 배양 용기 내를 비추는 조명 기구를 구비한다. 800은 상기 회수 유닛 (400), 급배 유닛 (500), 환경 보전 유닛 (600), 관찰 유닛 (700)을 컨트롤하는 중앙 연산 처리 유닛(CPU)이다. 900은 자동 배양 장치에 대한 조작 지령을 입력하는 조작기나, 상기 관찰 유닛 (700)으로 얻어진 화상을 표시하는 모니터 등을 구비한 조작 유닛이다.

- [0030] 다음으로, 도 2를 참조하여 상기 각 유닛의 상세한 설명을 행한다.
- [0031] 약품 공급 유닛 (200)은 개폐 가능한 덮개를 구비한 수납 박스(도시생략)와, 이 수납 박스의 내부에 지지 부재에 의해서 소정 위치에 배치된 복수(도시된 예에서는 3개)의 약품 수용용의 약품 백 (5, 7, 9)를 구비한다. 수납 박스는 약품 백 (5, 7, 9) 내에 넣어진 약품의 열화를 방지하기 위해서, 약품 백의 수용 공간을 외부와 차단하고, 약품 백이 수용되는 공간을 소정의 온도로 유지하기 위한 단열재를 구비한다. 약품 백 (5, 7, 9)는 절첩 가능한 유연성을 갖고, 또한 세포에 대하여 독성을 갖지 않는 재료로 형성된 수액 백을 이용하는 것이 바람직하다. 구체적으로는, 예를 들면 염화비닐제 또는 실리콘고무제의 가방을 이용하는 것이 바람직하다. 또한, 약품 백 (5, 7, 9)에는 배양에 필요한 약품, 그 예로서는, 세정액, 박리제, 배지가 각각 개별적으로 수용되어 있다. 또한, 약품 백 (7)에 수용된 박리제는 접착성을 갖는 세포를 배양 대상으로 하는 경우에 필요한 약품으로서, 배양 대상이 유리성을 갖는 세포인 경우에는 필요가 없다.
- [0032] 인큐베이터 유닛 (300)은 항온조인 인큐베이터 (3)과, 인큐베이터 (3)에 수납된 배양 용기 (1)을 구비한다. 인큐베이터 (3)은 약품 공급 유닛 (200)과 마찬가지로, 개폐 가능한 덮개를 구비하고, 덮개를 덮는 것에 의해 내부를 밀폐하는 것이 가능하게 되어 있다. 그리고, 인큐베이터 (3)은 배양 용기 (1)에 대면하는 저면이 투명한 재료로 형성된 관찰창을 갖고, 인큐베이터 (3)의 외부로부터 배양 용기 (1)을 관찰할 수 있게 되어 있다. 또한, 인큐베이터 (3)은 후술하는 히터에 의해서 내부가 소정 온도가 되도록 항온 제어가 이루어진다. 이 때문에, 히터의 가열 효율을 높이기 위해서, 상기 관찰창을 제외하는 주위는 단열재로 덮여져 있는 것이 바람직하다. 배양 용기 (1)은 인체로부터 적출된 세포를 배양하는 것으로서, 세포에 대한 독성을 갖지 않는 재료이고, 또한 투광성을 갖는 재료, 예를 들면 폴리스티렌이나 폴리에틸렌테프탈레이트를 이용하여 성형된 것이다. 또한, 배양 용기 (1)은 내부에 삽입된 세포나 배양된 세포와 잡균의 컨테미니이션이 생기지 않도록 용기의 내부가 외부 공간에 대하여 밀폐 상태로 유지된다. 이 때문에, 배양 용기 (1)에 부착되는 튜브류의 용기 부착부에는 밀봉이 실시된다.
- [0033] 회수 유닛 (400)은 배양 용기 (1)에서 배양된 배양 세포를 회수하는 복수(이 예에서는 3개)의 회수 백 (11, 13, 15)와, 사용 종료된 약품을 회수하는 폐액 용기 (65)와, 세포 회수 백 (11, 13, 15)의 튜브상의 주입부를 열밀봉하는 공지된 열밀봉 기구 (66)을 구비한다. 회수 백 (11, 13, 15)는, 약품 백 (5, 7, 9)와 마찬가지로, 절첩 가능한 유연성을 갖고, 또한 세포에 대하여 독성을 갖지 않는 재료로 형성된 수액 백을 이용하는 것이 바람직하다. 구체적으로는, 예를 들면 염화비닐제 또는 실리콘고무제의 백을 이용하는 것이 바람직하다. 그리고, 각 세포 회수 백 (11, 13, 15)의 크기는, 1회의 배양으로 배양 용기 (1)에서 배양된 세포를 수납할 수 있는 수납량을 갖는 것이 바람직하다. 또한, 회수 유닛 (400)이 구비하는 세포 회수 백의 수는, 이 예에서는 3개를 나타내고 있지만, 이 수는, 적어도 동일 조직 세포를 배양 용기 (1)에서 연속적으로 복수회 반복하여 배양을 행할 만큼의 수를 구비하는 것이 바람직하다.
- [0034] 급배 유닛 (500)은 배양 용기 (1) 내에 약품, 세포, 공기를 공급하기 위한 공급 펌프 (35)와, 배양 용기 (1) 내에서 배양된 세포나 사용 종료 약품을 배출하는 배출 펌프 (61)과, 약품 백 (5, 7, 9)와 배양 용기 (1) 사이의 유로를 형성하는 송액 튜브 (23, 25, 27, 29)와, 상기 송액 튜브 (29)와 인큐베이터 (3)의 내부에 설치된 후술하는 필터 (37)을 접속시키는 가스 튜브 (38)와, 상기 송액 튜브 (29)와 액 저장 용기 (43)을 접속시키는 세포 주입 튜브 (39)와, 인큐베이터 (3)의 내부에 설치된 필터 (77)와 배양 용기 (1)의 내부 공간을 접속시키는 가스 교환 튜브 (75)와, 상기 배관계에 설치된 핀치 밸브 (17, 19, 21, 33, 40)을 구비한다. 액 저장 용기 (43)은 생체로부터 적출되고 배지 등과 현탁 상태로 된 세포를 저류하는 것으로서, 개구부가 유연성을 갖는 필름 (45)로 덮힌 것이다. 액 저장 용기 (43)의 덮개를 이루는 필름 (45)는, 상기 현탁 상태의 세포가 들어간 실린지 (41)을 천자하기 위해서 설치된다. 따라서, 필름 (45)는 액 저장 용기 (43) 내로 잡균 등을 혼입시키지 않기 위해, 실린지 (41)의 천자흔을 밀폐하는 유연성을 갖는 소정의 두께를 갖는 것이 바람직하다.
- [0035] 또한, 급배 유닛 (500)은 배양 용기 (1) 내의 배양 세포나 사용 종료 약품을 배출하기 위한 배출 펌프 (61)과, 배양 용기 (1)과 세포 회수 백 (11, 13, 15) 및 폐액 용기 (65) 사이의 유로를 형성하는 배출 튜브 (53, 55, 57, 59)와, 상기 배출 유로에 설치된 핀치 밸브 (47, 49, 51, 63)을 구비한다. 본 실시 형태에 있어서는, 핀치 밸브는 유연성을 갖는 튜브를 찌부러뜨려 유로를 폐쇄할 수 있는 전자 구동식 개폐 밸브가 이용된다. 또한, 공급 펌프와 배출 펌프는, 유연성을 갖는 튜브를 원통형으로 배열된 복수의 롤러에 감고, 복수의 롤러를 회전시켜서 튜브 내의 유체를 압출하는, 이른바 연동식 펌프가 이용된다.
- [0036] 환경 보전 유닛 (600)은 박리제 및 배지를 수납하는 약품 백 (19, 21)로부터 배양 용기 (1)에 약품을 흘리는 송액 튜브 (29)의 일부에 설치된 히터 (31)과, 도시는 생략되어 있지만, 인큐베이터 (3)의 내부에 설치된 히터,



온도 센서, 탄산 가스(CO<sub>2</sub>) 센서 등으로 이루어진다. 또한 인큐베이터 (3)에는 CO<sub>2</sub> 공급관이 접속되고, 이 CO<sub>2</sub> 접속관은 CO<sub>2</sub> 봄베에 접속되어 있다. 히터 (31)은 박리제, 배지를 배양 용기 (1)에 공급하는 과정에서 따뜻하게 하는 것이다. 그리고, 인큐베이터 (3) 내에 설치된 히터와 온도 센서는 배양 용기 (1) 내의 온도를 소정의 온도로 유지하는 것이다. 또한, CO<sub>2</sub> 센서는 인큐베이터 (3)의 내부의 CO<sub>2</sub> 농도를 검출하는 것이다.

- [0037] 관찰 유닛 (700)은, 인큐베이터 (3)의 관찰창의 외부에 설치되고, 배양 용기 (1) 내의 세포 배양 상태를 관찰하기 위한 현미경 (89)와, 배양 용기 (1)을 사이에 두고 현미경 (89)에 대향하여 설치된 조명용의 광원(도시생략)과, 배양 용기 (1)의 저면에 평행한 평면 내에서 상기 현미경 (89)를 2차원적으로 이동시키는 현미경 이동기구(도시생략)를 구비한다. 현미경 (89)는 촬상된 화상 정보를 전기 신호로서 출력할 수 있는 카메라, 예를 들면 CCD 카메라를 포함하여 구성된다. 현미경 이동 기구는 모터와 리니어 모션 가이드 기구의 조합으로 이루어지는 이동 기구를 크로스 배치하고, 각 모터를 개별적으로 또는 연동시킴으로써, 현미경을 임의의 위치로 이동시킬 수가 있도록 한 것이면 된다.
- [0038] 중앙 연산 처리 유닛 (800)은 후술된 조작 유닛 (900)으로부터 입력된 배양 조건에 따라서, 상기 회수 유닛 (400), 급배 유닛 (500), 환경 보전 유닛 (600), 관찰 유닛 (700)을 컨트롤하는 것으로서, CPU를 포함한다. CPU (800)은 ROM을 구비하고, 그 ROM에 후술된 장치의 동작을 제어하는 소프트웨어가 저장되어 있다.
- [0039] 조작 유닛 (900)은 자동 배양 장치의 동작(배양) 조건의 입력용 조작기와, 이 조작기로부터 입력된 동작 조건이나 상기 현미경 (89)로 촬상된 화상을 표시하는 모니터를 구비한다. 또한, 이상의 자동 배양 장치에 삽입된 펌프, 밸브, 모터, 히터 외의 액츄에이터류는 구동 회로에 의해서 구동되지만, 이들은 생략되어 있다.
- [0040] 다음으로, 도 3, 도 4를 이용하여 배양 용기 (1)의 상세한 설명을 행한다.
- [0041] 배양 용기 (1)의 횡단면 형상은 특별히 한정되는 것이 아니지만, 본 실시 형태에서는 원형의 살레이고, 그 상부 개구에는 플랜지가 형성되어 있다. 이 플랜지의 평면을 이용하여, 덮개 (67)이 용착 등에 의해 고착되고, 배양 용기 (1)은 밀폐되어 있다. 그리고, 배양 용기 (1)의 측면에는 노즐 (69, 71, 73)이 삽입되고, 노즐 (69)에는 송액 튜브 (29)가, 노즐 (71)에는 배출 튜브 (59)가, 노즐 (73)에는 가스 교환 튜브 (75)가 접속되어 있다. 또한, 도 5는, 노즐 (69)와 송액 튜브 (29)의 접속 상태를 더욱 상세히 도시한 도면이다.
- [0042] 다음으로, 상기 노즐 (69, 71, 73)의 선단과 배양 용기 (1)의 저면의 위치 관계를 설명한다. 송액 튜브 (29)에 접속된 노즐 (69)의 선단은 배양 용기 (1) 내의 액층(배양시의 액면 위치) 내 또는 공기층 내에 위치시킨다. 그리고, 배출 튜브 (59)에 접속되는 노즐 (71)의 선단은 배양이 완료된 세포의 일부(소량)를 다음번의 배양을 위해 배양 용기 (1) 내에 남겨 놓을 필요가 있기 때문에, 배양 용기 (1)의 내부 저면으로부터 소정의 간극을 갖는 위치에 설정된다. 또한, 가스 교환 튜브 (75)에 접속되는 노즐 (73)의 선단은, 배양 용기 (1) 내의 가스와 인큐베이터 (3) 내의 가스의 교환을 위한 급배구로 이루어지기 때문에, 배양 용기 (1) 내의 액층보다도 높은 위치에 설정된다.
- [0043] 다음으로, 본 발명의 세포 배양 방법을, 상술한 자동 배양 장치의 동작과 관련지어 설명한다. 또한, 이하의 설명에서는 배양 대상이 접착성을 갖는 세포인 경우를 예로 들어 설명한다.
- [0044] (배양 개시의 준비)
- [0045] 배양 개시 전에, 조작자는 자동 배양 장치의 회수 유닛 (400)에 세포 회수 백 (11, 13, 15)를 장착하고, X선이나 γ선 등을 방사함으로써 자동 배양 장치 내를 멸균 처리한다. 또한, 세포 회수 백 (11, 13, 15)의 무균 상태는 백의 제조가 완료되고 나서 곧포(梱包) 시까지 방사선을 조사함으로써 확보할 수도 있다. 그리고, 상기 멸균 처리가 완료된 후, 조작자는, 세정액, 박리제, 배지가 저류된 약품 백 (5, 7, 9)를 약품 공급 유닛 (200)에 장착한다. 또한 조작자는 세포와 배지 등이 현탁 상태로 된 세포액을 실린지 (41)을 이용하여 액 저장 용기 (43)에 주입한다. 이들 작업을 끝내면, 조작자는 자동 배양 장치의 전원을 투입하고, 조작 유닛 (900)으로부터 배양 개시 지령을 입력한다. 그렇게 하면, 도 6의 플로우차트에 따라, CPU (800)이 각 유닛을 제어함으로써 세포 배양이 실행된다.
- [0046] (스텝 1: 배지 주입)
- [0047] 배양 개시의 지령이 입력되면, CPU (800)은 우선 배지의 주입을 위한 제어를 실행한다. 즉, CPU (800)은 급배 유닛 (500)의 핀치 밸브 (21)과 핀치 밸브 (33)을 개방시키는 신호를 출력하고, 이어서 공급 펌프 (35)를 동작시키는 신호를 출력한다. 이에 따라 송액 튜브 (27, 29)의 유로가 개방됨과 함께, 공급 펌프 (35)가 구동된다.



공급 펌프 (35)가 구동되면, 약품 백 (9)에 저류된 배지가 배양 용기 (1)을 향하여 송액 튜브 (27, 29) 내를 통과하여 보내어진다. 이때, 히터 (31)에는 CPU (800)의 지령에 의해서 전류가 공급되고, 그것에 의하여 배지가 튜브 내에서 데워진다. 배지가 배양 용기 (1)에 소정량 보내어지면, CPU (800)은 공급 펌프 (35)를 구동한 채로, 핀치 밸브 (21)을 닫는다. 그렇게 하면, 인큐베이터 (3) 내의 공기가 필터 (37)을 통해 가스 튜브 (38), 송액 튜브 (29)에 흡입된다. 송액 튜브 (29) 내에 잔류하였던 배지가 없어진 타이밍에, CPU (800)의 지령에 의해서 공급 펌프 (35)는 일단 정지되고, 또한 핀치 밸브 (33)이 닫힌다. 핀치 밸브 (21)을 닫은 후에 송액 튜브 (29)에 공기를 들여보냄으로써 송액 튜브 (29) 내에 잔류하고 있었던 약품(배지)은 배양 용기 (1)로 빠르게 보내진다. 그 결과, 송액 튜브 (29)의 약품에 의한 블로킹이 방지된다.

[0048] (스텝 2: 세포액 주입)

[0049] 배지의 주입이 종료되면, 세포액의 주입 제어가 CPU (800)에 의해서 행해진다. 세포액은 사전 준비로서, 조작자에 의해서 액 저장 용기 (43)에 저류되어 있고, CPU (800)으로부터 핀치 밸브 (40)을 개방시키라는 지령과, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령이 출력되면, 핀치 밸브 (40)이 개방되고, 공급 펌프 (35)가 구동된다. 이것에 의해서 액 저장 용기 (43)으로부터 세포액이 송액 튜브 (39)를 통해 배양 용기 (1) 내에 주입된다. 그리고, 세포액의 주입이 종료되면, CPU (800)으로부터의 지령에 의해 핀치 밸브 (40)은 닫히고, 공급 펌프 (35)는 정지시켜진다.

[0050] (스텝 3: 배양 개시)

[0051] 세포액의 주입이 종료되면, CPU (800)은 인큐베이터 (3)의 내부의 CO<sub>2</sub>의 농도 제어 및 인큐베이터 (3)의 내부의 온도 제어를 행하면서, 미리 설정된 기간에 걸쳐서 세포의 배양을 행한다. 이 미리 설정된 기간은 예를 들면 3일 정도로 되어 있지만, 세포의 종류, 세포의 증식 속도 등에 따라서 변경할 수 있다.

[0052] (스텝 4: 공기 보내기)

[0053] 상기 설정 기간이 경과한 후, 배양 용기 (1) 내의 환기가 행해진다. 본 실시 형태의 배양 용기 (1)의 내부는, 세포 배양 중에는 거의 밀폐 상태에 있고, 적절한 기간에 걸쳐서 배양 용기 (1) 내의 환기를 행할 필요가 있다. 이 때문에, CPU (800)은, 핀치 밸브 (33)을 개방시키라는 지령과, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령을 출력한다. 핀치 밸브 (33)이 열리고, 공급 펌프 (35)가 구동되면, 필터 (37)을 통해 흡입된 인큐베이터 (3) 내의 공기가 가스 튜브 (38), 송액 튜브 (29)를 통해 배양 용기 (1) 내에(화살표 A 방향으로) 공급되고, 그와 동시에 배양 용기 (1) 내의 공기가 가스 교환 튜브 (75), 필터 (77)을 통해 인큐베이터 (3) 내로(화살표 B 방향으로) 배출된다. 도 6의 플로우차트에서는 공기 보내기는 1회라고 되어 있지만, 후술하는 배지 교환시, 세포 회수시를 제외하면 몇 회이든, 연속하여 행할 수도 있다. 또한, 배양 용기 (1) 내의 공기의 교환은, 필터 (77)로부터 인큐베이터 (3) 내의 공기를 배양 용기 (1) 내에(화살표 C 방향으로) 공급하고, 배양 용기 (1) 내의 공기를 필터 (37)로부터 인큐베이터 (3) 내에(화살표 D 방향으로) 배출할 수도 있다.

[0054] (스텝 5: 배지 교환)

[0055] 배양 용기 (1) 내의 환기가 종료된 후, 소정 기간을 두고 배지 교환이 행해진다. 배지 교환은 배지 내에 용출하는 세포의 대사 물질의 배제를 위해 배양 용기 (1) 내의 배지를 배출하고, 새로운 배지를 배양 용기 (1) 내에 주입함으로써 영양분을 보급하기 위해 정기적으로 행해진다. 통상적으로 도 6의 스텝 3(S3)으로부터 스텝 5(S5)까지의 동작은 3일 내지 7일을 두고 실시되는데, 이 기간은, 미리 설정되거나, 또는 세포의 증식 상태에 따라서 임의로 변경할 수 있다. 배지의 배출을 위해서는, CPU (800)으로부터 핀치 밸브 (63)을 개방시키라는 지령이 출력됨과 동시에, 배출 펌프 (61)을 구동시키라는 지령이 출력된다. 이에 따라, 핀치 밸브 (63)이 개방되어, 배출 펌프 (61)이 구동되고, 배출 튜브 (59, 58)을 통해 배양 용기 (1) 내로부터 세포의 대사 물질을 포함한 배지가 폐액 용기 (65)에 배출된다. 그리고, 배지가 배양 용기 (1)로부터 배출되면, 핀치 밸브 (63)이 닫히고, 배출 펌프 (61)이 정지된다.

[0056] 배지의 배출이 완료되면, 약품 백 (9)로부터 새로운 배지가 배양 용기 (1)에 공급된다. 배지의 공급을 위해, CPU (800)은 핀치 밸브 (21, 33)을 개방시키라는 지령을 출력함과 함께, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령을 출력한다. 이에 따라, 약품 백 (9) 내의 배지가 송액 튜브 (27, 29)를 통해 보내어지고, 히터 (31)로 데워져서 배양 용기 (1)의 내부에 소정량만큼 주입된다. 이 배지 교환이 행하여지면, CPU (800)은 미리 설정된 배지 교환의 횟수가 되었는지 여부의 판정을 행한다. 그리고, 배지 교환이 설정 횟수에 도달하지 않은 경우에는, 스텝 4(S4)로 되돌아가고, 스텝 5(S5)의 공기 보내기, 스텝 6(S6)의 배지 교환이 반복하여 행해진다.

- [0057] (스텝 7: 공기 보내기)
- [0058] 그리고, 배지 교환이 설정 횟수에 달한 경우에는, 상기 스텝 7(S4)의 최후의 공기 보내기가 스텝 4(S4)와 마찬가지로 행해진다. 또한, 스텝 3(S3)으로부터 스텝 7(S7) 사이에서의 세포의 배양 기간 중에는, 인큐베이터 (3) 내의 CO<sub>2</sub> 농도 관리, 온도 관리가 CPU (800)에 의해서 계속적으로 행해진다. 또한 배양 기간 중에, 관찰 유닛 (700)이 조작자에 의해 적절하게 조작되고, 그에 따라 배양 용기 (1) 내의 배양 상태가 관찰되고, 관찰된 화상이 모니터에 표시된다. 조작자는 모니터에 표시된 화상을 관찰함으로써 배양의 진행 상태를 확인한다.
- [0059] (스텝 8: 세포의 회수 횟수의 판정)
- [0060] 스텝 7의 공기 보내기가 소정 시간, 예를 들면 수일간 행해지면, 배양 세포의 회수 스텝이 행해진다. 배양 세포의 회수 스텝에서는, 우선, 이제부터 행해지는 세포 회수의 설정 횟수에 대한 판정이 행해진다. 본 실시 형태에서는 세포가 3회 회수되도록 장치에 설정되어 있다. 그리고, 이 스텝 8(S8)에서는, 배양 세포의 회수가 3회째라고 판정되면, 다음 공정은 스텝 13(S13)의 최종의 세포 회수 공정으로 진행한다. 또한, 배양 세포의 회수가 1회째 또는 2회째이면, 다음 공정은 스텝 9(S9)로 진행한다.
- [0061] (스텝 9: 세포의 회수 횟수의 판정)
- [0062] 스텝 8(S8)에서 세포 회수가 2회째인지 여부의 판정이 행해진다. 그리고 그 판정 결과가 2회째가 아니라, 즉 1회째라고 판정되면, 다음 공정은 스텝 10(S10)의 세포 회수 공정으로 진행하고, 또한 그 판정 결과가 2회째라고 판정되면, 다음 공정은 스텝 11(S11)의 세포 회수 공정으로 진행한다.
- [0063] (스텝 10: 1회째의 세포 회수)
- [0064] 세포 회수가 1회째라고 판정되면, 배양 용기 (1) 내의 배지의 배출 공정과, 약품 백 (5)에 저류된 세정액의 주입 공정과 그것에 이어지는 배출 공정이 행해져서, 배양 세포의 세정이 행해진다. 그 후, 약품 백 (7)에 저류된 박리제를 배양 용기 (1) 내에 주입하는 공정이 실행된다. 배양 용기 (1) 내에 박리제가 주입되어 소정 시간이 경과하면, 배양 세포가 배양 용기 (1)로부터 박리된다. 이어서, 세포 회수가 1회째라고 판정된 결과에 대응하여, 배양 용기 (1)의 저면으로부터 박리된 배양 세포의 세포 회수 백 (11)로의 회수 공정이 실행된다.
- [0065] 이 때문에, CPU (800)은 우선 배지의 배출을 위해, 스텝 5(S5)에서 설명한 배지 배출과 마찬가지로, 핀치 밸브 (63)을 개방시키라는 지령과 배출 펌프 (61)을 구동시키라는 지령을 출력한다. 이것에 의해, 배양 용기 (1) 내의 배지가 배출된다. 배지의 배출이 종료되면, CPU (800)의 지령에 의해서, 핀치 밸브 (63)은 닫히고, 배출 펌프 (61)은 정지시켜진다. 이에 이어, CPU (800)은 세정액을 배양 용기 (1) 내에 주입하기 위해서, 핀치 밸브 (17, 33)을 개방시키라는 지령을 출력함과 함께, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령을 출력한다. 이에 의해서, 핀치 밸브 (17, 33)이 개방되고, 또한 공급 펌프 (35)가 구동되어, 약품 백 (5)에 저류된 세정액이 배양 용기 (1) 내에 주입된다. 필요로 하는 양의 세정액이 배양 용기 (1) 내에 주입되면, 공급 펌프 (35)가 정지되어, 핀치 밸브 (17, 33)이 닫힌다. 세정액에 의해서 배양 세포의 세정이 종료한 후, 세정액은 스텝 5에서 설명한 배지 배출과 마찬가지로 폐액 용기 (65)에 보내어진다. 그리고, 세정액이 배양 용기 (1)로부터 배출되면, CPU (800)은 박리제를 배양 용기 (1) 내에 주입하기 위해, 핀치 밸브 (19, 33)을 개방시키라는 지령과, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령을 출력한다. 이것에 의해서, 핀치 밸브 (19, 33)이 개방되고, 공급 펌프 (35)가 구동되어, 약품 백 (7)에 저류된 박리제가 배양 용기 (1) 내에 주입된다. 박리제의 주입이 종료되면, 공급 펌프 (35)가 정지되고, 핀치 밸브 (19, 33)이 닫힌다. 그리고 약간의 시간이 경과하면, 박리제가 배양 용기 (1)의 저면에 부착된 배양 세포를 부상시킨다. 배양 세포가 배양 용기 (1)의 저면으로부터 박리된 타이밍에, CPU (800)은 배양 용기 (1) 내에 배지를 주입한다. 여기서의 배지의 주입은 세포에 악영향을 제공하는 박리제의 효력을 약하게 하기 위해서 행해진다. 이를 위해, CPU (800)은 핀치 밸브 (21, 33)을 개방시키라는 지령과, 공급 펌프 (35)를 구동시키라는 지령을 출력한다. 이것에 의해, 핀치 밸브 (21, 33)이 개방되고, 공급 펌프 (35)가 구동되어, 약품 백 (9)로부터 배지가 배양 용기 (1) 내에 주입된다. 배지의 주입이 종료되면, 공급 펌프 (35)가 정지되고, 핀치 밸브 (21, 33)이 닫힌다.
- [0066] 박리제의 효력을 약하게 하기 위해서 배지를 주입하면, 박리제에 의한 배양 세포에 대한 악영향의 감소와 교환하여, 배양 세포가 다시 배양 용기 (1)에 부착되기 쉬워지기 때문에, 빠르게 배양 세포의 회수가 행해질 필요가 있다. 이 때문에, CPU (800)은 배지의 주입 후, 빠르게 핀치 밸브를 개방시키라는 지령(여기서는, 제1회째의 회수이기 때문에, 핀치 밸브 (47)이 개방됨)과, 배출 펌프 (61)을 구동시키라는 지령을 출력한다. 이것에 의해서, 배양 용기 (1) 내의 배양 세포는 배출 튜브 (59, 53)을 통하여 세포 회수 백 (11)에 회수된다. 배출 튜브 (59, 53)에 배양 세포가 흡입되지 않게 되면, CPU (800)은 핀치 밸브 (47)을 닫고, 또한 배출 펌프 (61)을 정지

시킨다. 그 후, CPU (800)으로부터 열밀봉 기구 (66)에 세포 회수 백 (11)의 튜브 부분을 열압착하라는 지령을 출력한다. 이에 따라 세포 회수 백 (11)의 튜브 부분이 열밀봉된다. 그 후, 세포 회수 백 (11)은 조작자에 의해서 장치로부터 분리된다. 장치로부터 분리된 배양 세포가 들어간 백은, 보냉고에 보관된다.

[0067] 여기서, 배양 용기 (1)에 부착된 노즐 (71)의 선단과 배양 용기 (1)의 저면 사이에는 소정의 간극이 형성되기 때문에, 배양 세포의 일부가 회수되지 않고서 배양 용기 (1) 내에 남겨진 상태가 된다. 본 발명의 요지는 이 배양 용기 (1) 내에 잔존하는, 또는 잔존시켜진 배양 세포를 반복하여 배양함으로써, 대량의 배양 세포를 얻는 것에 있다.

[0068] (2회째의 세포 배양)

[0069] 이 때문에, 스텝 10(S10)의 1회째의 세포 회수가 종료되면, CPU (800)은, 배양 용기 (1) 내에 남겨진 세포에 대하여, 스텝 3(S3)으로부터 스텝 9(S9)까지를 재실행한다. 이것에 의해서, 배양 용기 (1) 내에 남겨진 세포가 배양된다. CPU (800)은 스텝 8(S8), 스텝 9(S9)에서 이번의 세포 회수는 몇 회째인가를 판정한다. 여기서의 판정 결과는 2회째로 되어 있다.

[0070] (스텝 11: 2회째의 세포 회수)

[0071] 스텝 9(S9)에서 세포 회수가 2회째라고 판정되면, 스텝 11(S11)에서, 스텝 10(S10)에서의 세포 회수와 동일한 순서로 2회째의 세포 회수가 행해진다. 다만, 이 스텝 11(S11)에서의 2회째의 세포 회수에 있어서는, 스텝 9(S9)의 판정 결과에 대응하여, CPU (800)의 지령에 의해서, 배양 용기 (1)로부터 배출된 세포는 세포 회수 백 (13)에 회수되고, 열밀봉 기구 (66)은, 세포 회수 백 (13)의 튜브 부분을 열압착하는 점이 스텝 10(S10)과는 다르다.

[0072] (3회째의 세포 배양)

[0073] 스텝 11(S11)의 2회째의 세포 회수가 종료되면, CPU (800)은, 배양 용기 (1) 내에 남겨진 세포에 대하여, 스텝 3(S3)부터 스텝 9(S9)까지를 재차 반복하여 실행한다. 이것에 의해서, 배양 용기 (1) 내에 남겨진 세포가 배양된다. CPU (800)은 스텝 8(S8), 스텝 9(S9)에서 이번의 세포 회수는 몇회째인지를 판정한다. 여기서의 판정 결과는 3회째인 것으로 한다.

[0074] (스텝 12: 3회째의 세포 회수)

[0075] 스텝 9(S9)에서 세포 회수가 3회째라고 판정되면, 스텝 12(S12)에서 스텝 10(S10)에서의 세포 회수와 동일한 순서로 3회째의 세포 회수가 행해진다. 다만, 이 스텝 12(S12)에서의 3회째의 세포 회수에 있어서는, 스텝 9(S9)의 판정 결과에 대응하여, CPU (800)의 지령에 의해서, 배양 용기 (1)로부터 배출된 세포는 세포 회수 백 (15)에 회수되고, 열밀봉 기구 (62)는 세포 회수 백 (15)의 튜브 부분을 열압착하는 점이 스텝 10(S10)과는 다르다.

[0076] 3회째의 배양 세포의 회수가 끝나면, 회수된 배양 세포가 수용된 세포 회수 백 (11, 13, 15)는 임상의 장소에 운반되어, 배양 세포가 인체의 조직 재생에 제공된다.

[0077] 이상 설명한 바와 같이, 본 실시 형태에 따르면, 배양 용기에서 배양된 세포를 회수할 때에, 그 일부를 배양 용기에 남기고, 배양 용기에 남겨진 세포를 재차배양함으로써, 세포를 대량으로 증식시킬 수 있다. 그리고, 본 실시 형태에서는, 배양 용기에 남겨진 세포를 재차 배양함으로써, 작은 크기의 배양 용기를 사용할 수 있다. 이것을 종래의 계대배양과 같이, 한번 배양 용기에서 배양된 배양 세포를 별도의 복수의 배양 용기에 옮겨 배양을 계속하는 것과 비교하여 장치의 소형화가 도모된다. 또한, 본 실시 형태에 따르면, 생체로부터 조직 세포를 적출하는 것은 1회이면 되기 때문에, 생체의 손상을 작게 할 수 있다.

[0078] 또한, 본 실시 형태에 따르면, 생체로부터 적출한 세포는 실린지에 의해서 필터가 있는 액저장부에 주입되기 때문에, 배양 용기에 세포를 수용할 때의 세포와 잡균의 컨테미네이션을 방지할 수 있다. 또한, 본 실시 형태에 따르면, 배양 세포는 세포 회수 백에 자동적으로 회수됨과 함께, 세포 회수 백은 열밀봉하여 세포 회수 백 내와 외부 환경을 차단하여 추출되기 때문에, 세포 회수에 있어서의 세포와 잡균의 컨테미네이션을 방지할 수 있다.

[0079] 또한, 본 실시 형태에 따르면, 배양 용기 내에 약품을 공급할 때, 배양 용기 내의 공기가 인큐베이터 내를 통과하는 노즐로부터, 공급되는 약품의 양에 따른 배양 용기 내의 공기가 추출되기 때문에, 원활하게 배양 용기 내에 약품을 주입할 수 있다. 또한, 마찬가지로, 배양 용기 내의 약품 등의 액체를 배출할 때에, 인큐베이터 내

를 통과하는 노즐로부터, 배출되는 약품이나 세포를 포함하는 액체의 배출량에 따라서, 배양 용기 내에 공기가 공급되기 때문에, 원활하게 배양 용기 내의 액체의 뽑아내기를 할 수 있다.

[0080] 또한, 본 실시 형태에 따르면, 배양 용기에 대한 공기의 급배는 필터를 통해 행해지기 때문에, 깨끗한 배양 환경이 제공되어 유지된다.

[0081] 본 실시 형태에서는, 세포 배양과 회수를 반복하여 합계 3회 행하는 예를 들어 설명했지만, 본 발명은 이것에 한정되는 것은 아니다. 세포 배양과 회수의 반복 횟수는 필요한 세포의 양에 따라서 적어도 2회 이상이면 임의로 설정할 수도 있다. 그 경우, 배양 세포를 회수하는 횟수에 따라서, 회수 유닛에 설치하는 세포 회수 백의 수 및 핀치 밸브의 수를 변경할 수도 있다. 또한, 세포 회수시의 세포와 잡균의 컨테미네이션을 방지하는 장치를 설치할 수 있으면, 미리 복수의 세포 회수 백을 자동 배양 장치에 장전할 필요는 없고, 필요할 때에, 세포 회수 백을 자동 배양 장치에 장전하는 방법을 채용할 수도 있다.

[0082] 또한, 본 실시 형태에서는, 도 5에 도시된 바와 같이, 배양 용기의 측면에 노즐 (69, 71, 73)이 설치되기 때문에, 복수의 배양 용기를 중복하여 인큐베이터 내에 배치하는 변형예에도 대응이 가능하다.

[0083] 또한, 본 실시 형태의 배양 장치는 거의 계속적으로 세포를 배양할 수 있고, 또한 소정 시간 간격으로 세포를 회수할 수 있다. 따라서, 환자의 장기나 조직 등을 복수회로 나눠 재생 치료하는 경우, 예를 들면 중간엽 줄기 세포를 보조적으로 이용하는 백혈병 치료 등을 행하는 경우에, 중간엽 줄기 세포를 소정 간격으로 몇번에 걸쳐 공급할 수 있다.

[0084] 상기 실시 형태와 같이, 세포 회수 백 (11, 13, 15)와 폐액 용기 (65)를 1대의 배출 펌프 (61)의 토출관로에, 각각 핀치 밸브 (47, 49, 51, 63)을 통해 접속하면, 폐액이나 회수 세포가 관로에 남아 있는 경우가 있을 수 있다. 이들 폐액이나 사멸 세포, 나아가서는 세포의 대사 물질이 회수계 관로에 남아 있으면, 반복하여 행해지는 다음번의 배양 세포 회수 시에 컨테미네이션이 발생하게 된다. 이러한 컨테미네이션의 발생을 방지할 필요가 있다.

[0085] (제2 실시 형태)

[0086] 도 7은 이러한 컨테미네이션의 발생을 방지할 수 있는 제2 실시 형태의 자동 배양 장치의 구성을 도시하고 있다. 도 7에 도시된 바와 같이, 본 실시 형태의 자동 배양 장치는, 상기 제1 실시 형태와의 비교에 있어서, 제1 실시 형태의 배양 용기 (1)에 설치된 배출계의 노즐 (71) 대신에, 세포 회수 백 (11, 13, 15)와 폐액 용기 (65)의 수(총 4개)에 대응하는 노즐 (101, 103, 105, 107)이 설치되는 점이 다르다. 즉, 노즐 (101, 103, 105, 107)에는, 각각에 배출 튜브 (119, 121, 123, 125)가 접속되어 있다. 이들 배출 튜브 (119, 121, 123)에는, 각각에 세포 회수 백 (11, 13, 15)가 접속되고, 배출 튜브 (125)에는 폐액 용기 (65)가 접속되어 있다. 그리고, 이들 배출 튜브 (119, 121, 123, 125)의 중간에는, 각각 핀치 밸브 (47, 49, 51, 63) 및 배출 펌프 (111, 113, 115, 117)이 도면에 도시한 바와 같이 접속되어 있다. 또한, 도면에서는 핀치 밸브 (47, 49, 51, 63)은 배출 펌프의 흡인측에 부착되어 있지만, 이들은 배출 펌프의 토출측에 부착될 수도 있다. 또한, 본 실시 형태에서도 배출 펌프 (111, 113, 115, 117) 및 핀치 밸브 (47, 49, 51, 63)은 CPU (800)의 지령에 의해서 동작이 이루어진다.

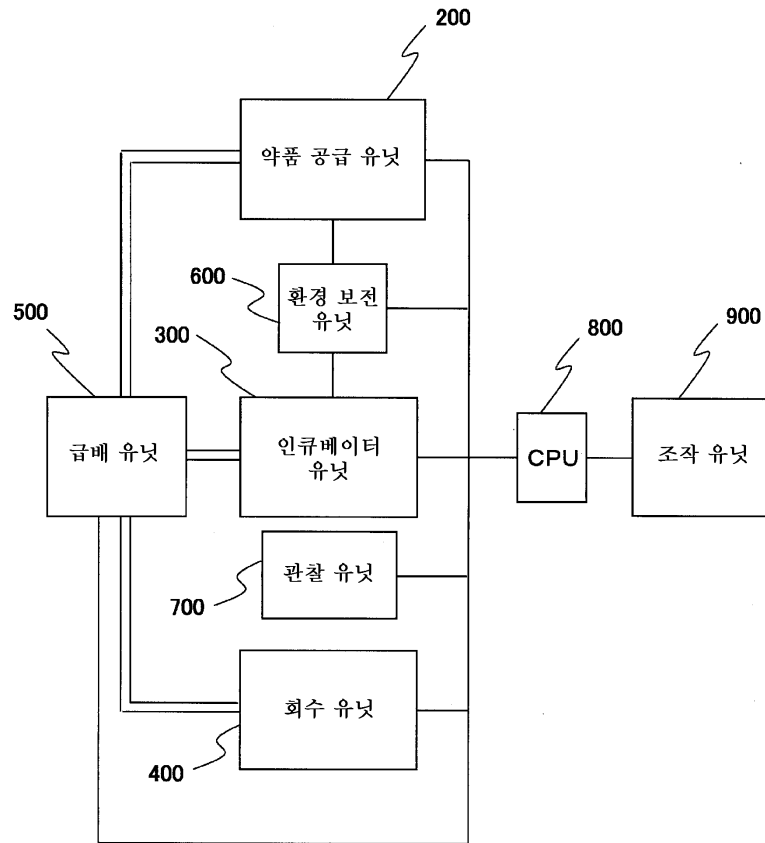
[0087] 상기한 바와 같이 구성된 본 실시 형태의 자동 배양 장치는, 제1 실시 형태의 자동 배양 장치와는, 배양 용기 (1) 내의 액체를 배출할 때의 동작이 다르다. 즉, 배양 용기 (1) 내의 폐액을 배출할 때는, 핀치 밸브 (63)이 개방되고, 배출 펌프 (117)이 구동된다. 또한, 배양 용기 (1) 내의 세포를 회수할 때는, 1회째의 세포 회수 시에는 핀치 밸브 (47)이 개방되고, 배출 펌프 (111)이 구동된다. 또한, 2회째의 세포 회수 시에는 핀치 밸브 (49)가 개방되고, 배출 펌프 (113)이 구동되고, 3회째의 세포 회수 시에는 핀치 밸브 (51)이 개방되고, 배출 펌프 (115)가 구동된다.

[0088] 본 실시 형태에 따르면, 제1 실시 형태의 효과에 추가로, 배출 튜브 (119, 121, 123, 125)가 독립적으로 설치되기 때문에, 2회째 이후에 회수되는 세포에, 폐액이나 세포의 대사 물질이 혼입되지 않게 된다. 따라서, 깨끗한 배양 세포가 얻어진다.

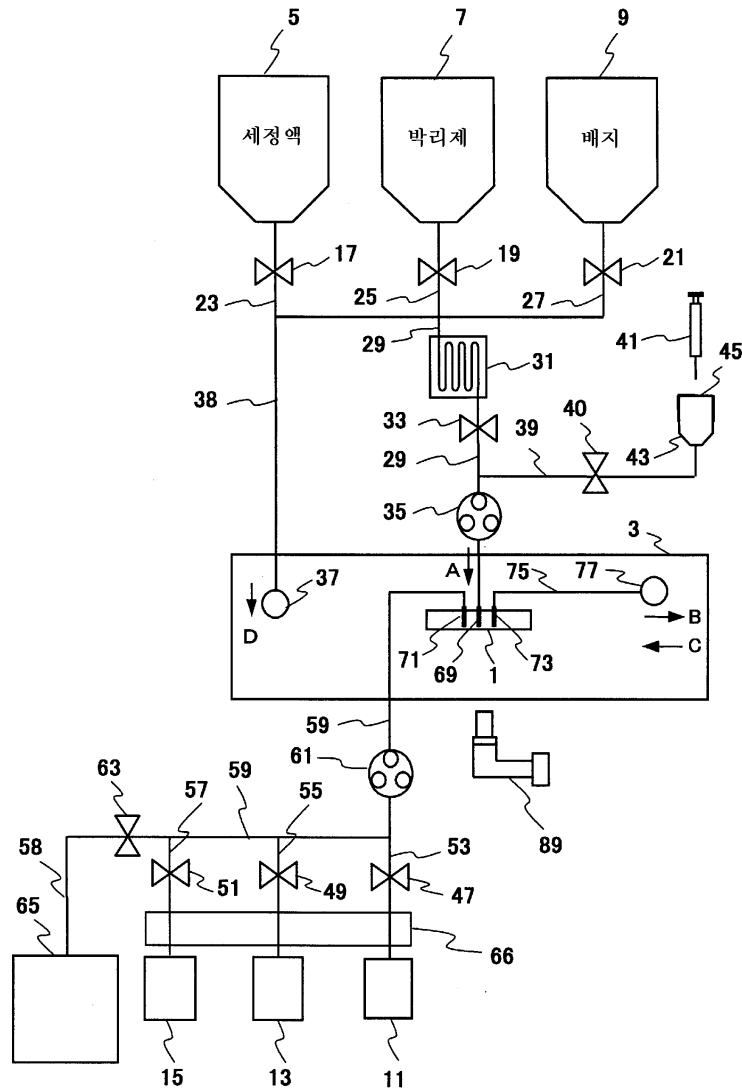
[0089] 상기 제2 실시 형태는, 2회째 이후의 회수 세포에 전회의 회수 시에 관로에 남겨진 폐액과 세포의 대사 물질의 쌍방이 혼입되는 것을 피하는 실시 형태이지만, 2회째 이후의 회수 세포에 폐액만이 혼입되지 않도록 변형할 수 있다. 그 실시 형태는, 상기 제2 실시 형태를 참조하여, 제1 실시 형태에 대하여 폐액의 회수계만을 독립적으로 설치함으로써 가능하다.

도면

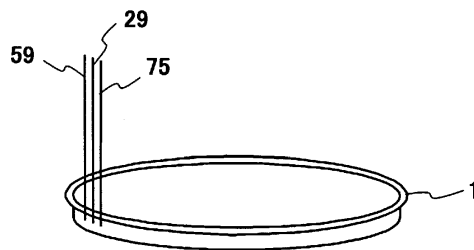
도면1



도면2

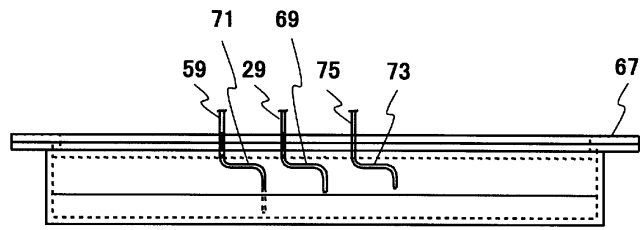


도면3

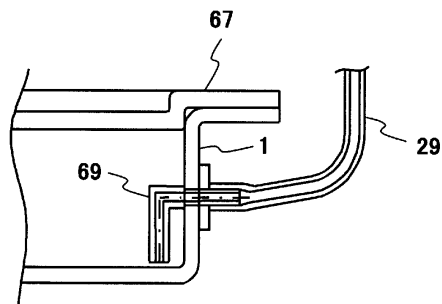




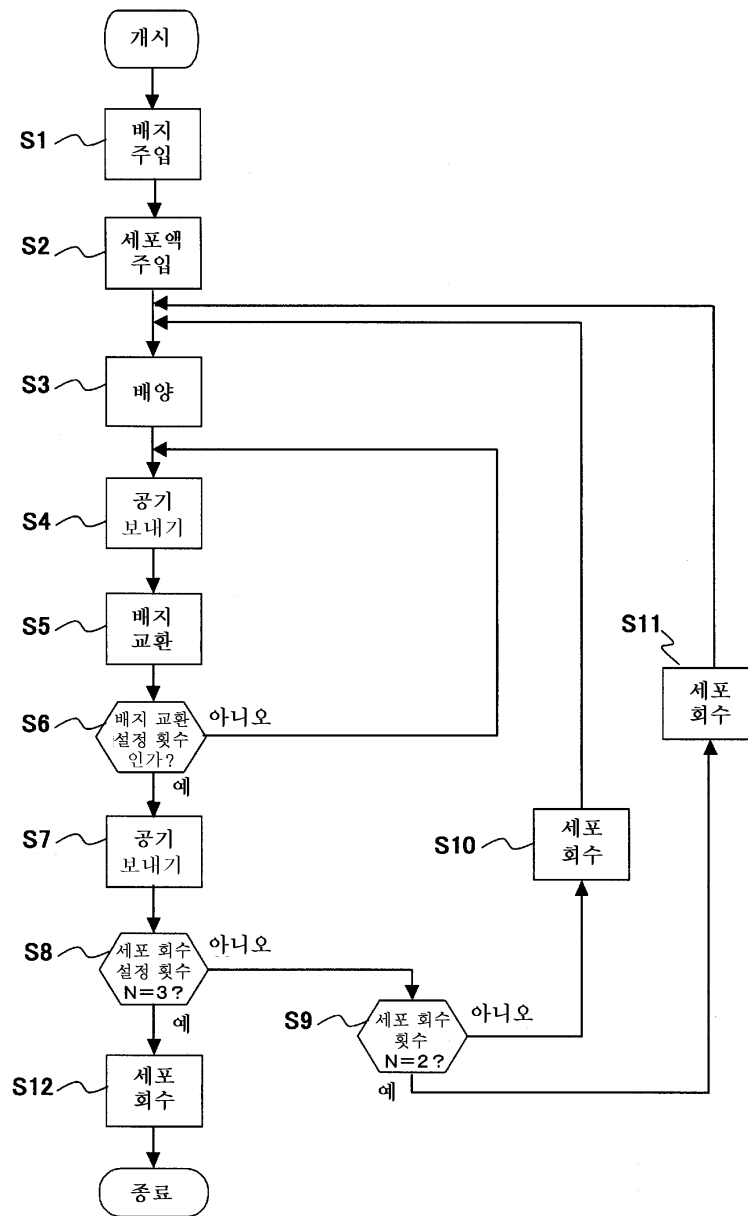
도면4



도면5



도면6



도면7

