

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015年7月23日(23.07.2015)



(10) 国際公開番号

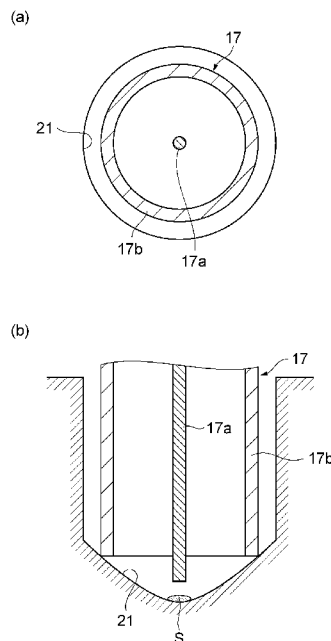
WO 2015/107761 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/42 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/079964
- (22) 国際出願日: 2014年11月12日(12.11.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-005990 2014年1月16日(16.01.2014) JP
- (71) 出願人: 浜松ホトニクス株式会社(HAMAMATSU PHOTONICS K.K.) [JP/JP]; 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 Shizuoka (JP).
- (72) 発明者: 齊藤 なつみ(SAITO Natsumi); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 伊藤 平良(ITO Taira); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 片岡 卓治(KATAOKA Takuji); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号丸の内 MY PLAZA (明治安田生命ビル) 9階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[続葉有]

- (54) Title: CELL OBSERVATION DEVICE, ELECTROSTIMULATION DEVICE, AND CELL OBSERVATION METHOD
- (54) 発明の名称: 細胞観察装置、電気刺激装置、及び細胞観察方法

[図5]



(57) Abstract: A cell observation device (1) is for observing cells that are retained by a microplate (20) having a well (21) for retaining a sample (S) that comprises cells, wherein the cell observation device is provided with: a microplate holder (11) for holding the microplate (20); an electrostimulation unit (16) having an electrode pair (17) that consists of a first electrode (17a) and a second electrode (17b); and a position controller (30) for controlling the position of the electrostimulation unit (16) when the electrode pair (17) is disposed within the well (21) of the microplate (20), with the first electrode (17a) being arranged near a center section of the well (21) with respect to the second electrode (17b). A distal end of the first electrode (17a) extends further than a distal end of the second electrode (17b).

(57) 要約: 細胞観察装置1は、細胞を含む試料Sを保持するウェル21を有するマイクロプレート20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、マイクロプレート20を載置するためのマイクロプレートホルダ11と、第1の電極17aと第2の電極17bとを含む電極対17を有する電気刺激部16と、マイクロプレート20のウェル21内に電極対17が配置される際に、第1の電極17aが第2の電極17bに対してウェル21の中心部寄りに配置された状態で、電気刺激部16の位置を制御する位置制御コントローラ30とを備え、第1の電極17aの先端は、第2の電極17bの先端よりも伸びている。



(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：細胞観察装置、電気刺激装置、及び細胞観察方法 技術分野

[0001] 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、電気刺激装置、及び細胞観察方法に関する。

背景技術

[0002] 創薬分野では、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。特許文献1には、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、この測定装置には、正極及び負極からなる同軸ケーブルの形状の電極対或いは互いに平行な板状の電極対を、細胞が配置されたウェルに配置可能な構成が採用されている。また、特許文献2には、細胞の膜電位を電気刺激を介して取り扱う測定装置に関して記載されている。この測定装置は、ウェル内の観察領域に電界を発生させるための2個の平行電極である電極対を有する。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特表2005-514909号公報

特許文献2：特表2012-110327号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] ここで、観察対象の細胞を配置させるマイクロプレートの形状としては、ウェルの底が平状のものが一般的であるが、近年では、ウェルの底がU字形状等の凹形状のものが使用されるようになってきている。このような形状のマイクロプレートを用いる場合には、上記特許文献1或いは上記特許文献2に記載の測定装置では、同軸ケーブルの形状の電極対或いは平行電極を採用しているため、ウェル内に配置された細胞に適切に電気刺激を与えることが困難な傾向にある。

[0005] 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、保持部に配置された細胞に対して適切に電気刺激を与えることが可能な細胞観察装置、電気刺激装置、及び細胞観察方法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

[0006] 本願の発明者らは、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースによって保持された細胞に、電極対によって電気刺激を印加して、それに対する細胞の反応を観察する際には、電極対の位置関係が重要であることを見出し、本願発明の後述する構成を発案するに至った。

[0007] すなわち、上記課題を解決するため、本発明の一形態に係る細胞観察装置は、細胞を含む試料を保持する保持部を有する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を有する電気刺激部と、試料ケースの保持部内に電極対が配置される際に、第1の電極が第2の電極に対して保持部の中心部寄りに配置された状態で、電気刺激部の位置を制御する位置制御部とを備え、第1の電極の先端は、第2の電極の先端よりも伸びている。

[0008] 或いは、本発明の他の形態に係る電気刺激装置は、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースに挿入されて、細胞に電気刺激を印加する電気刺激装置であって、第1の電極と第2の電極とを含む電極対を備え、第1の電極の先端は、第2の電極の先端よりも伸びており、試料ケースの保持部内に電極対が配置される際に、第1の電極が第2の電極に対して保持部の中心部寄りに配置される。

[0009] このような細胞観察装置、或いは電気刺激装置によれば、試料ケースに設けられた保持部内に第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、この電極対により細胞を含む試料に電気刺激が印加可能にされる。ここで、保持部内の中心寄りに配置された第1の電極の先端が、保持部内の外寄りに配置された第2の電極の先端よりも伸びているので、保持部が凹形状の底部を有している場合であっても、その底部上に保持された細胞を含

む試料に対して、第１の電極の先端を容易に近づけることができる。これにより、簡易な位置制御機構を用いるだけで電極対から試料に対して適切に電気刺激を与えることができ、試料に関する適切な評価結果を得ることができる。

[0010] 本発明の他の形態に係る細胞観察装置は、細胞を含む試料を保持する保持部を有する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を有する電気刺激部と、試料ケースの保持部内に電極対が配置されるように、電気刺激部の位置を制御する位置制御部と、第２の電極の先端に対する第１の電極の先端の相対的な位置を調整する位置調整部と、を備える。

[0011] 或いは、本発明の他の形態に係る電気刺激装置は、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースに挿入されて、細胞に電気刺激を印加する電気刺激装置であって、第１の電極と第２の電極とを含む電極対と、第２の電極の先端に対する第１の電極の先端の相対的な位置を調整する位置調整部と、を備える。

[0012] 或いは、本発明の他の形態に係る細胞観察方法は、第１の電極と第２の電極とを含む電極対を用いて、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースによって保持された細胞を観察する細胞観察方法であって、第２の電極の先端に対する第１の電極の先端の相対的な位置を調整するステップと、電極対を用いて試料に電気刺激を印加するステップと、を備える。

[0013] このような細胞観察装置、電気刺激装置、或いは細胞観察方法によれば、試料ケースに設けられた保持部内に第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、この電極対により細胞を含む試料に電気刺激が印加可能にされる。ここで、第２の電極の先端に対する第１の電極の先端の相対的な位置が調整可能にされているので、保持部が凹形状の底部を有している場合であっても、その底部上に保持された細胞を含む試料に対して、第１の電極の先端を容易に近づけることができる。これにより、電極対を保持部

内に配置させた際に電極対から試料に対して適切に電気刺激を与えることができ、試料に関する適切な評価結果を得ることができる。

発明の効果

[0014] 本発明によれば、凹形状のウェルに配置された細胞に対して適切に電気刺激を与えることが可能になる。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]本発明の第1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]図1のマイクロプレート20に形成されたウェルの形状のバリエーションを示す図である。

[図5]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の構造を示す図である。

[図6]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の別の構造を示す図である。

[図7]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の別の構造を示す図である。

[図8]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の別の構造を示す図である。

[図9]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の別の構造を示す図である。

[図10]図1の電気刺激部16がウェルに挿入された状態での電極対17の別の構造を示す図である。

[図11]図1の細胞観察装置1の試料Sの光測定時の動作を示すフローチャートである。

[図12]本発明の第2実施形態に係る細胞観察装置1Aの概略構成を示す図である。

[図13]図12の位置調整機構71の詳細な構成を示す側面図である。

[図14]図12の位置調整機構71の詳細な構成を示す側面図である。

[図15]図12の位置調整機構71の詳細な構成を示す側面図である。

[図16]図12の細胞観察装置1Aの試料Sの光測定時の動作を示すフローチャートである。

[図17](a)は、従来の同軸ケーブルの形状の電極を有する電気刺激装置を用いて蛍光強度の時間変化を測定した結果を示すグラフ、(b)は、本実施形態の細胞観察装置1を用いて蛍光強度の時間変化を測定した結果を示すグラフである。

[図18]本実施形態の変形例にかかる電極対17Aの構造を示す断面図である。

[図19]本実施形態の変形例にかかる電極対17Bの構造を示す断面図である。

[図20]本実施形態の変形例にかかる電極対17Cの構造を示す断面図である。

[図21]本実施形態の変形例にかかる電極対17Dの構造を示す断面図である。

[図22]本実施形態の変形例にかかる電極対17Eの構造を示す断面図である。

[図23]本実施形態の変形例にかかる電極対17Fの構造を示す断面図である。

[図24]本実施形態の変形例にかかる電極対17Gの構造を示す断面図である。

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、電気刺激装置、及び細胞観察方法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。

[0017] [第1実施形態]

[0018] 図1は、本発明の第1実施形態に係る細胞観察装置1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、図4は、マイクロプレート20に形成されたウェルの形状のバリエーションを示す図である。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。

[0019] また、試料Sは所定の細胞を含む。所定の細胞には、例えば、i P S (induced Pluripotent Stem) 細胞やE S (Embryonic Stem) 細胞などの幹細胞から分化した心筋細胞、筋細胞又は神経細胞、皮膚細胞、視細胞、生殖細胞、肝細胞等がある。また、所定の細胞は、膜電位感受性色素、カルシウム感受性色素又はナトリウムイオン感受性色素で染色した細胞であってもよい。また、本実施形態における細胞観察装置、電気刺激装置、及び細胞観察方法は、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。

[0020] 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（位置制御部）30、撮像制御コントローラ32、電気刺激制御コントローラ34及びPCなどのコンピュータ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が内部に收容される暗箱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像取得部40とを有している。なお、位置制御コントローラ30、撮像制御コントローラ32及び電気刺激制御コントローラ34は、データ取得装置10の内部に設置され

てもよい。

[0021] 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 を保持可能な構成となっている。図 2 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ている。ウェル 21 の配列数としては、6、24、364 個等の任意の個数であってもよい。ウェル 21 の開口形状（ウェル 21 の断面形状）としては、円形状、楕円形状、矩形形状等が挙げられる。図 3 に示すように、ウェル 21 の底の深さ方向の断面形状は、凹形状である U 字形状に形成されている。このような凹形状の断面形状を有するマイクロプレートを用いれば、ウェル 21 内で細胞を培養する際にウェル 21 の底部に細胞が収まりやすいので、細胞のローカリゼーションが良く、ウェル 21 内で細胞を立体的に形成しやすいというメリットがある。

[0022] 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（例えば、ガラス、石英ガラス、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレンなど）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。

[0023] 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。

[0024] 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 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

ートスタッカー 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タッカー 14 が設置されている。

[0025] このような構成において、搬入側マイクロプレートスタッカー 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タッカー 14 へと搬出される。なお、図 1 においては、搬送機構 12、及びスタッカー 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。

[0026] 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 内に挿入されて試料 S に電界（電気刺激）を印加するための電気刺激部（電気刺激装置）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。

[0027] 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イメージセンサやCMOSイメージセンサなどのエリアイメージセンサが搭載された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MCP（マイクロチャネルプレート）などのイメージ増倍素子、リレーレンズ等を配置して動画像取得部40を構成しても良い。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。

[0028] 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）。

[0029] 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。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。

[0030] 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 4 3 を設けない構成としても良い。

[0031] 本実施形態においては、導光光学系 4 1 は、マイクロプレート 2 0 及び試料 S からの二次元光像を撮像装置 4 5 へと導くとともに、励起光源 4 3 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 2 0 からの蛍光を通過させるとともに、励起光源 4 3 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。なお、図 1 においては、導光光学系 4 1 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。

[0032] なお、細胞観察装置 1 において用いられるマイクロプレート 2 0 としては、様々なウェル 2 1 の形状を有するものが採用され得る。図 4 (a) ~ (d) には、ウェル 2 1 の凹形状のバリエーションが示され、それぞれ、上部にウェル 2 1 の深さ方向に沿った断面図、下部にウェルの深さ方向から見た平面図が示されている。同図に示すように、ウェル 2 1 として、断面 U 字状の底部を有するもの、断面 V 字状の底部を有するものの他、円錐状の底部を有するもの、角錐状の底部を有するものが用いられる。このような形状のウェル 2 1 を有するマイクロプレート 2 0 を用いても、細胞のローカリゼーションが良く、ウェル 2 1 内で細胞を立体的に形成しやすいというメリットがある。

[0033] 次に、電気刺激部 1 6 の構成について詳細に説明する。

[0034] 電気刺激部 1 6 は、マイクロプレート 2 0 に向けて垂直に伸びる複数の電極対 1 7 が 2 次元的に配列されるようにベース部 1 8 に固定された構造を有している。詳細には、電極対 1 7 は、マイクロプレート 2 0 のウェル 2 1 に対向して伸びるように、マイクロプレート 2 0 の複数のウェル 2 1 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。

[0035] 図 5 は、電気刺激部 1 6 がマイクロプレート 2 0 のウェル 2 1 に挿入された状態での電極対 1 7 の構造を示し、(a) はウェル 2 1 の開口に沿った断面図、(b) はウェル 2 1 の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すよ

うに、電極対 17 は、ウェル 21 の深さ方向に伸びる棒状（例えば、円柱形状）の第 1 の電極 17 a と、先端が開口され、第 1 の電極 17 a が内部の中心軸上に位置するような円筒形状を有する第 2 の電極 17 b とによって構成され、第 2 の電極 17 b の外径がウェル 21 の内径よりも小さくされている。この電極対 17 は、第 1 の電極 17 a のウェル 21 の底部側の先端が、第 2 の電極 17 b のウェル 21 の底部側の先端よりも伸びた構造を有している。このような形状の電極対 17 は、ウェル 21 に挿入された際に、ウェル 21 の底面 22 に円筒形状の第 2 の電極 17 b が当接することにより位置決めされる。その際、第 2 の電極 17 b は U 字状や円錐状のウェル 21 にフィットしやすく、電極対 17 を容易に位置決めできる。さらには、第 1 の電極 17 a が第 2 の電極 17 b よりも伸びているため、底面 22 に位置する試料 S と第 1 の電極 17 a の先端との距離を小さくすることができ、試料 S に効率的に電気刺激を印加することができる。

[0036] 図 6 は、電気刺激部 16 がマイクロプレート 20 のウェル 21 に挿入された状態での電極対 17 の別の構造を示し、(a) はウェル 21 の開口に沿った断面図、(b) はウェル 21 の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、電極対 17 は、ウェル 21 の深さ方向に伸びる棒状（例えば、円柱形状）の第 1 の電極 17 a と、先端が開口され、第 1 の電極 17 a が内部の中心軸上に位置するような四角筒形状を有する第 2 の電極 17 b とによって構成されていてもよい。このような電極対 17 も、第 1 の電極 17 a のウェル 21 の底部側の先端が、第 2 の電極 17 b のウェル 21 の底部側の先端よりも伸びた構造を有している。このような形状の電極対 17 においては、第 2 の電極 17 b が角錐状のウェル 21 にフィットしやすく、電極対 17 をウェル 21 に対して容易に位置決めできる。さらには、第 1 の電極 17 a が第 2 の電極 17 b よりも伸びているため、底面 22 に位置する試料 S と第 1 の電極 17 a の先端との距離を小さくすることができ、試料 S に効率的に電気刺激を印加することができる。

[0037] また、電極対 17 を構成する第 1 の電極 17 a の形状としては、円柱形状

以外に様々な形状に変更されてもよい。図 7 及び図 8 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 のウェル 21 の開口に沿った断面図である。これらの図に示すように、第 1 の電極 17 a は、角柱形状であってもよく、板形状であってもよい。また、電極対 17 を構成する第 1 及び第 2 の電極 17 a, 17 b のウェル 21 の底部側の先端は、いずれか又は両方が、尖った凸形状、又は丸みをもった凸形状を有していてもよい。図 9 は、凸形状を有する電極対 17 のウェル 21 の深さ方向に沿った断面図である。このような形状の第 1 の電極 17 a によれば、第 1 の電極 17 a の近傍の試料 S に対してより効率的に電気刺激を印加することができる。また、このような形状の第 2 の電極 17 b によれば、U 字状のウェル 21 や角錐状のウェル 21 に電極対 17 がフィットしやすくなる。

[0038] さらに、電極対 17 を構成する第 1 の電極 17 a は、試料 S に電気刺激を与える先端部以外を絶縁体で被覆してもよい。図 10 は、絶縁体で被覆された電極対 17 のウェル 21 の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、第 1 の電極 17 a には、ウェル 21 の底部側の先端部を除いて絶縁体 70 で被覆されている。このような構成の第 1 の電極 17 a によれば、試料 S に対してより効率的に電気刺激を印加することができる。第 1 の電極 17 a には、絶縁材料でコーティングしたり、絶縁チューブで覆ったりすることにより、絶縁体 70 を形成することができる。

[0039] ここで、電極対 17 は、第 1 の電極 17 a と第 2 の電極 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。

[0040] 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。これにより、

第1の電極17aが第2の電極17bに対してウェル21の中心部寄りに配置された状態で、電極対17をウェル21内に配置することができる。なお、移動機構19は、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）に移動させてもよい。この場合、移動機構19は、第1の電極17aが第2の電極17bに対してウェル21の中心部寄りに配置されるように位置を調整する精度を向上することができる。また、移動機構19の代わりに、マイクロプレート20が載置されるマイクロプレートホルダ11を図1のZ方向や図1のX軸Y軸を含む面に沿った方向に移動させるような構成を採用してもよい。

[0041] 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（位置制御部）30、撮像制御コントローラ32、電気刺激制御コントローラ34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。具体的には、位置制御コントローラ30は、図5～図10に示すように、電極対17がウェル21内に配置される際に、第1の電極17aが第2の電極17bよりもウェル21の中心部寄りに配置された状態で電極対17をウェル21に出し入れするように、電極対17の位置を制御する。より詳細には、位置制御コントローラ30は、第2の電極の先端がウェル21の底面22の中心の外側に接触するように電極対17をウェル21に挿入（移動）させることにより、第1の電極17aの先端がウェル21の底面22の中心近傍に位置するように制御する。また、電気刺激制御コントローラ34は、電気刺激装置16に電氣的に接続され、電極対17の第1の電極17aと第2の電極17bとの間に電気信号を供給して、試料Sに対して電圧や電流等の電気刺激を印加する。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。

[0042] さらに、位置制御コントローラ30、撮像制御コントローラ32、及び電

気刺激制御コントローラ 34 に対し、コンピュータ 50 が接続されている。このコンピュータ 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取得し、動画像データを対象にして解析処理を行うデータ解析部 51 を有する。また、コンピュータ 50 は、位置制御コントローラ 30、撮像制御コントローラ 32、及び電気刺激制御コントローラ 34 を介して、データ取得装置 10 の各部の動作を制御する制御部 52 を有し、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（詳細は後述する）。また、図 1 においては、コンピュータ 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。

[0043] 以下、図 11 を参照しながら、細胞観察装置 1 による試料 S の光測定時の動作を説明すると共に、本実施形態にかかる細胞観察方法について詳述する。図 11 は、細胞観察装置 1 の試料 S の光測定時の動作を示すフローチャートである。

[0044] まず、細胞の光測定の開始入力が入力装置 62 を介して入力されると、マイクロプレートスタッカー 13 内の試料 S が保持された測定対象のマイクロプレート 20 が、マイクロプレートホルダ 11 に載置された状態で、マイクロプレート搬送機構 12 によって暗箱 15 内の測定位置 P まで搬送される（ステップ S01）。そして、コンピュータ 50 によって移動機構 19 を利用して電気刺激部 16 の位置が制御されることにより、複数の電極対 17 の先端がマイクロプレート 20 の対応するウェル 21 にそれぞれ挿入される（ステップ S02）。このとき、コンピュータ 50 は、電極対 17 の第 2 の電極 17b の先端がマイクロプレート 20 の底面 22 の中心より外側に接触するように電極対 17 の位置を制御する。これにより、第 1 の電極 17a は、その先端がウェル 21 の底面 22 の中心近傍から所定距離ほど離れた状態で配置される。

[0045] その後、コンピュータ 50 によって電気刺激制御コントローラ 34 が制御されることによって、電極対 17 に電気信号が供給されてマイクロプレート

20のウェル21内の試料Sに電気刺激が印加される（ステップS03）。電気刺激の印加は、所定の周期（例えば、1～10Hz）で繰り返し行われる。さらに、電気刺激の印加が開始された状態で、コンピュータ50によって撮像制御コントローラ32が制御されることによって、励起光源43による励起光の照射が開始される（ステップS04）。次に、動画像取得部40によってウェル21内に保持された試料Sから放出された蛍光を含むマイクロプレート20の二次元光像が検出され、その二次元光像を表す動画像データがコンピュータ50によって取得される。なお、動画像取得部40のフレームレートは電気信号の周波数よりも高く設定されている。さらに、取得された動画像データに含まれる二次元光像を対象に、コンピュータ50により、マイクロプレートホルダ11上のマイクロプレート20の電極対17に対面する領域に設定された解析領域における光強度が解析されることによって、試料Sに関する解析情報（モニタリング結果）が取得されて表示装置61に出力される（ステップS05）。

[0046] 例えば、試料Sに試薬にさらされた心筋細胞を含む場合には、カルシウムイオン感受性色素で染色された心筋細胞からの蛍光強度を時系列的にモニターすることで解析情報が得られる。その際、心筋細胞に電気刺激を与えることで拍動の強度や周期が揃えられるので、試薬の定量的な評価が可能にされる。これにより、試薬の心筋細胞に対する副作用を評価することができる。また、試料S中の細胞に膜電位感受性蛍光色素が付与されている場合は、電気刺激を印加したときには、細胞のイオンチャネルの開閉に伴う膜電位の変化が蛍光の強度変化として観察される。試料Sに膜電位感受性色素やナトリウムイオン感受性色素で染色した細胞を含む場合には、試料Sに電気刺激を与えることにより膜電位をコントロールすることもできる。解析領域における光強度の解析手法としては、解析領域における画素値の変化の振幅、変化率、ピーク周期、ピーク回数、ピーク時間、立ち上がり時間、立ち下がり時間、及びピーク変動幅等を評価値として算出する手法が考えられる。

[0047] 以上説明した細胞観察装置1及び細胞観察装置1による細胞観察方法によ

れば、マイクロプレート20に設けられたウェル21内に第1の電極17aと第2の電極17bとを含む電極対17が配置されることにより、この電極対17により細胞を含む試料Sに電気刺激が印加可能にされる。ここで、ウェル21内の中心寄りに配置された第1の電極17aの先端が、ウェル21内の外寄りに配置された第2の電極17bの先端よりも伸びているので、ウェル21が凹形状の底部を有している場合であっても、その底部上に保持された細胞を含む試料Sに対して、第1の電極17aの先端を容易に近づけることができる。これにより、簡易な位置制御機構を用いるだけで電極対17から試料Sに対して適切に電気刺激を与えることができ、試料Sに関する適切な評価結果を得ることができる。

[0048] また、電極対17の上述した構造により、電極対17をマイクロプレート20のウェル21内に配置する際に、電極対17の形状がウェル21の凹形状の内部形状にフィットしやすく、ウェル21の底部に保持された試料Sと第1の電極17aとの距離を小さくすることができる。その結果、試料Sに効率的に電気刺激を印加することができる。さらに、第1の電極17aが柱形状の場合、ウェル21の底部に保持された試料Sと第1の電極17aとの距離を容易に小さくすることができる。その結果、試料Sに効率的に電気刺激を印加することができる。

[0049] [第2実施形態]

[0050] 次に、本発明の第2実施形態について説明する。図12は、本発明の第2実施形態に係る細胞観察装置1Aを模式的に示す構成図である。

[0051] 同図に示す細胞観察装置1Aの第1実施形態に係る細胞観察装置1との相違点は、電気刺激部16Aに位置調整機構71が具備されている点であり、細胞観察装置1Aのその他の構成は第1実施形態と同様である。この位置調整機構71は、電気刺激部16Aのベース部18に固定されるとともに、電極対17を第1の電極17a及び第2の電極17bが独立して移動可能なように支持する。

[0052] 図13～図15には、位置調整機構71の詳細な構成を示している。これ

らの図に示すように、位置調整機構 7 1 は、複数の電極対 1 7 の第 1 の電極 1 7 a のベース部 1 8 側の基端を支持する長尺状の第 1 の支持体 7 2 a と、複数の電極対 1 7 の第 2 の電極 1 7 b のベース部 1 8 側の基端を支持する長尺状の第 2 の支持体 7 2 b と、第 1 及び第 2 の支持体 7 2 a, 7 2 b の間の距離を調整可能なように、第 1 及び第 2 の支持体 7 2 a, 7 2 b を移動させる調整部 7 3 とにより構成されている。この第 2 の支持体 7 2 b には、第 1 の電極 1 7 a が貫通する貫通孔 7 4 が設けられている。

[0053] 上記構成の位置調整機構 7 1 により、複数の電極対 1 7 の第 1 の電極 1 7 a と、複数の電極対 1 7 の第 2 の電極 1 7 b とを、それぞれ、第 2 の電極 1 7 b の中心軸方向（第 1 の電極 1 7 a の長手方向）に沿って独立に移動させることが可能にされる。その結果、複数の電極対 1 7 において、第 2 の電極 1 7 b の先端に対する第 1 の電極 1 7 a の先端の相対的な位置が同時に調整可能とされる。特に、第 1 及び第 2 の支持体 7 2 a, 7 2 b のそれぞれに複数の第 1 及び第 2 の電極 1 7 a, 1 7 b を取り付ける構成によれば、複数の電極対 1 7 の先端の位置を同時且つ容易に調整することができる。

[0054] 具体的には、図 1 3 に示すように、第 1 の電極 1 7 a の先端が第 2 の電極 1 7 b の先端よりも伸びるようにそれらの先端位置を調整することが可能にされる。また、図 1 4 及び図 1 5 に示すように、マイクロプレート 2 0 のウェル 2 1 が平底の場合には、第 1 の電極 1 7 a の先端と第 2 の電極 1 7 b の先端とがベース部 1 8 から見て同じ高さになるように調整することも可能にされ、第 2 の電極 1 7 b の先端が第 1 の電極 1 7 a の先端よりも伸びるように調整することも可能にされる。

[0055] なお、位置調整機構 7 1 は、第 2 の支持体 7 2 b の位置を固定し、第 1 の支持体 7 2 a のベース部 1 8 からの距離を調整してもよいし、第 1 の支持体 7 2 a の位置を固定し、第 2 の支持体 7 2 b のベース部 1 8 からの距離を調整してもよいし、第 1 及び第 2 の支持体 7 2 a, 7 2 b の双方のベース部 1 8 からの距離を調整してもよい。いずれの場合も、第 1 の電極 1 7 a の先端と第 2 の電極 1 7 b の先端との相対的位置を調整することができる。位置調

整機構 7 1 は、ピエゾアクチュエータやステッピングモータなどを用いた電気駆動部により構成されてもよいし、手動で位置調整可能な手動機構により構成されてもよいし、ネジ構造を採用した構造であってもよい。位置調整機構 7 1 が電気駆動部により構成されている場合には、調整部 7 3 が、位置制御コントローラ 3 0 に電氣的に接続されて、位置制御コントローラ 3 0 からの制御信号により、第 1 及び第 2 の支持体 7 2 a, 7 2 b の位置が電子制御可能に構成される。

[0056] また、位置調整機構 7 1 が電子制御可能に構成されている場合には、次のようにして電極対 1 7 の位置が制御可能とされていてもよい。まず、入力装置 6 2 により観察に使用されるマイクロプレート 2 0 のウェル 2 1 の形状の情報（例えば、平底か U 字状底かを示す情報、U 字状底の深さ情報等）、又は第 2 の電極 1 7 b の先端位置に対する第 1 の電極 1 7 a の先端位置に関する情報（幅又は高さの情報）が入力される。そして、位置制御コントローラ 3 0 により、第 2 の電極 1 7 b の先端に対する第 1 の電極 1 7 a の先端の相対位置が決定され、その相対位置の関係になるように第 1 の支持体 7 2 a 及び第 2 の支持体 7 2 b の間隔が自動調整される。このようにして、位置調整機構 7 1 による第 2 の電極 1 7 b の先端に対する第 1 の電極 1 7 a の先端の位置調整が可能にされる。

[0057] 以下、図 1 6 を参照しながら、細胞観察装置 1 A による試料 S の光測定時の動作を説明すると共に、本実施形態にかかる細胞観察方法について詳述する。図 1 6 は、細胞観察装置 1 A の試料 S の光測定時の動作を示すフローチャートである。

[0058] まず、細胞の光測定の開始入力及びウェル 2 1 の形状の情報が入力装置 6 2 を介して入力されると、位置制御コントローラ 3 0 の制御により、複数の電極対 1 7 における第 1 の電極 1 7 a の先端と第 2 の電極 1 7 b の先端との位置関係が自動調整される（ステップ S 2 1）。その後、マイクロプレートスタッカー 1 3 内の試料 S が保持された測定対象のマイクロプレート 2 0 が、マイクロプレートホルダ 1 1 に載置された状態で、マイクロプレート搬送

機構 12 によって暗箱 15 内の測定位置 P まで搬送される（ステップ S 22）。そして、コンピュータ 50 によって移動機構 19 を利用して電気刺激部 16 の位置が制御されることにより、複数の電極対 17 の先端がマイクロプレート 20 の対応するウェル 21 にそれぞれ挿入される（ステップ S 23）。このとき、コンピュータ 50 は、電極対 17 の第 2 の電極 17 b の先端がマイクロプレート 20 の底面 22 の中心より外側に接触するように電極対 17 の位置を制御する。これにより、第 1 の電極 17 a は、その先端がウェル 21 の底面 22 の中心近傍から所定距離ほど離れた状態で配置される。

[0059] その後、コンピュータ 50 によって電気刺激制御コントローラ 34 が制御されることによって、電極対 17 に電気信号が供給されてマイクロプレート 20 のウェル 21 内の試料 S に電気刺激が印加される（ステップ S 24）。電気刺激の印加は、所定の周期（例えば、1～10 Hz）で繰り返し行われる。さらに、電気刺激の印加が開始された状態で、コンピュータ 50 によって撮像制御コントローラ 32 が制御されることによって、励起光源 43 による励起光の照射が開始される（ステップ S 25）。次に、動画像取得部 40 によってウェル 21 内に保持された試料 S から放出された蛍光を含むマイクロプレート 20 の二次元光像が検出され、その二次元光像を表す動画像データがコンピュータ 50 によって取得される。なお、動画像取得部 40 のフレームレートは電気信号の周波数よりも高く設定されている。さらに、取得された動画像データに含まれる二次元光像を対象に、コンピュータ 50 により、マイクロプレートホルダ 11 上のマイクロプレート 20 の電極対 17 に対面する領域に設定された解析領域における光強度が解析されることによって、試料 S に関する解析情報（モニタリング結果）が取得されて表示装置 61 に出力される（ステップ S 26）。

[0060] ここで、上記のステップ S 21 の電極対 17 の位置調整処理は、ステップ S 22 の電極対 17 をウェル 21 に挿入する際に行われてもよい。また、ステップ S 21 の処理は、ステップ S 23 の電極対 17 をウェル 21 に挿入する処理の後であって、電気刺激を印加開始するステップ S 24 の前に実行さ

れてもよく、ステップS 2 6の試料からの光のモニタリングに基づいて、試料Sの反応を評価し、再びステップS 2 1の電極対1 7の位置調整処理を行い、ステップ2 4の電気刺激印加処理、ステップ2 5の励起光照射処理、ステップS 2 6の光モニタリング処理のサイクルを行っても良い。このサイクルは複数回繰り返されてもよい。これらにより、試料Sの反応に応じて印加する電気刺激の強度（電圧値や電流値）を調整することができる。

[0061] 以上説明した細胞観察装置1 A及び細胞観察装置1 Aによる細胞観察方法によれば、マイクロプレート2 0に設けられたウェル2 1内に第1の電極1 7 aと第2の電極1 7 bとを含む電極対1 7が配置されることにより、この電極対1 7により細胞を含む試料Sに電気刺激が印加可能にされる。ここで、第2の電極1 7 bの先端に対する第1の電極1 7 aの先端の相対的な位置が調整可能にされているので、ウェル2 1が凹形状の底部を有している場合であっても、その底部上に保持された細胞を含む試料Sに対して、第1の電極1 7 aの先端を容易に近づけることができる。さらに、ウェル2 1が平底等の他の形状を有している場合であっても、その形状に対応して第1の電極1 7 aの先端を適切に試料Sに近づけることができる。これにより、電極対1 7をウェル2 1内に配置させた際に電極対1 7から試料Sに対して適切に電気刺激を与えることができ、試料Sに関する適切な評価結果を得ることができる。

[0062] 図1 7は、ウェル2 1の底の深さ方向の断面形状がU字形状を有するマイクロプレート2 0を用いて、i P S細胞から分化した心筋細胞を観察した際の測定結果の例を示す。この心筋細胞は、 Ca^{2+} 感受性色素で染色されている。図1 7（a）には、従来の同軸ケーブルの形状の電極を有する電気刺激装置を用いて、1．0 H zの電気刺激を印加し、細胞内の Ca^{2+} 濃度の変化に伴う蛍光強度の時間変化を測定した結果を示す。また、図1 7（b）には、U字形状のウェル2 1内に電極対1 7が配置される際にウェル2 1の中心よりに配置された第1の電極1 7 aが第2の電極1 7 bよりも伸びた構造を有する細胞観察装置1を用いて、1．0 H zの電気刺激を印加し、細胞内の

Ca^{2+} 濃度の変化に伴う蛍光強度の時間変化を測定した結果を示す。図17 (a) からわかるように、従来の電極構造を用いた場合、電気刺激の印加（図中の点線が印加開始タイミングを示し、図中の矢印が1.0 Hzの各印加タイミングを示す。）に応じた蛍光強度変化が見られなかった。一方、図17 (b) からわかるように、本実施形態の電極構造を用いた場合、電気刺激の印加（図中の点線が印加開始タイミングを示し、図中の矢印が1.0 Hzの各印加タイミングを示す。）に応じた蛍光強度変化が見られた。以上の観察結果から、ウェル21の底面がU字形状などの凹形状のマイクロプレート20を用いて細胞を観察する場合、中心よりに配置された第1の電極17aが第2の電極17bよりも伸びているため、ウェル21の底面に位置する試料Sと第1の電極17aの先端との距離を小さくすることができ、試料Sに効率的に電気刺激を印加することができることがわかる。

[0063] 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。

[0064] 例えば、細胞観察装置1、1Aの電気刺激部16の電極対17の構造は、筒形状には限定されず、様々な形状を採用できる。図18は、本発明の変形例に係る電極対17Aのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態での構成を示し、(a)はウェル21の開口に沿った断面図、(b)はウェル21の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、第2の電極17bが、2つの平行に配置された板状電極で構成され、第1の電極17aが2つの板状電極の間の中心にそれらに沿って配置された棒状電極（例えば、円柱形状の電極）であってもよい。また、図19は、本発明の別の変形例に係る電極対17Bのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態での構成を示し、(a)はウェル21の開口に沿った断面図、(b)はウェル21の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、第2の電極17bが、2つの平行に配置された棒状電極（例えば、円柱形状の電極）で構成され、第1の電極17aが2つの板状電極の間の中心にそれらに沿って配置された棒状電極（例えば、円柱形状の電極）であってもよい。電極対17A、17Bにおいては、第1の電極17aが角柱形状であってもよく、板形

状であってもよいし、絶縁体で被覆されていてもよい。

[0065] また、図20は、本発明の別の変形例に係る電極対17Cのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態でウェル21の開口に沿った断面図である。同図に示す電極対17Cのように、第2の電極17bは、3つ以上で構成されていてもよい。この電極対17Cは、3つの平行に配置された棒状の第2の電極17bと、第2の電極17bの間に配置された棒状の第1の電極17aとを備えている。詳細には、第1の電極17aは、第2の電極17bのウェル21の開口に沿った断面の中心を結ぶ境界線L1で囲まれた領域の中心に配置されている。

[0066] さらに、図21は、本発明の別の変形例に係る電極対17Dのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態での構成を示し、(a)はウェル21の開口に沿った断面図、(b)はウェル21の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、第2の電極17bが、1つの棒状電極（円柱状又は角柱状の電極）で構成され、第1の電極17aがウェル21の中心寄りに第2の電極17bと平行に配置された棒状電極（円柱状又は角柱状の電極）で構成されてもよい。また、図22は、本発明の別の変形例に係る電極対17Eのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態での構成を示し、(a)はウェル21の開口に沿った断面図、(b)はウェル21の深さ方向に沿った断面図である。同図に示すように、第2の電極17bが、1つの板状電極で構成され、第1の電極17aがウェル21の中心寄りに第2の電極17bと平行に配置された棒状電極（円柱状又は角柱状の電極）で構成されてもよい。このような電極対17D、17Eは、マイクロプレート20に設けられたウェル21が364個などの100個以上の場合であって、ウェル21の横幅が狭い場合に採用される。このような場合に電極対17D、17Eを用いれば、ウェル21内に容易に挿入され、第1の電極17aの先端をウェル21の底面の中心近くに容易に配置させることができる。

[0067] ここで、細胞観察装置1に採用される電極対17A～17Eにおいては、第1の電極17aの先端が第2の電極17bの先端よりも伸びた構造を有し

ている。さらに、電極対 17, 17A~17Eにおいて、第1の電極 17aを板状電極で構成した場合には、第1の電極 17aの先端の幅を、第2の電極 17bの先端の幅よりも小さくすることが望ましい。図23及び図24は、このような場合の本発明の変形例に係る電極対 17F, 17Gのマイクロプレート20のウェル21に挿入された状態での構成をそれぞれ示し、(a)はウェル21の開口に沿った断面図、(b)はウェル21の深さ方向に沿った断面図である。電極対 17Gは、板状電極で第1の電極 17a及び第2の電極 17bが構成され、全体的に第1の電極 17aの幅が第2の電極 17bの幅よりも小さくされている。電極対 17Fは、第2の電極 17bが棒状電極で構成され、第1の電極 17aが板状電極で構成され、第1の電極 17aの幅が先端に向けて細くなるように構成され、第1の電極 17aの先端において第2の電極 17bの先端よりも小さい幅の凸部が形成されている。このような構成の電極対 17F, 17Gによれば、ウェル21の凹形状の底面22に保持された試料Sと第1の電極 17aとの距離を容易に小さくすることができる。

[0068] ここで、上記の細胞観察装置、或いは電気刺激装置においては、第2の電極は筒形状であり、第1の電極は第2の電極の内部に配置される、ことでもよい。かかる構成を採れば、電極対を試料ケースの保持部内に配置する際に、電極対の形状が保持部の凹形状の内部形状にフィットしやすく、保持部の底部に保持された試料と第1の電極との距離を小さくすることができる。その結果、試料に効率的に電気刺激を印加することができる。

[0069] また、第2の電極は複数の電極部材を含み、第1の電極は複数の電極部材の間に配置される、ことでもよい。かかる電極対を備えれば、電極対を容易に小型化することができ、かつ、保持部内の試料に適切に電気刺激を印加することができる。

[0070] さらに、第1の電極は柱形状である、ことでもよい。この場合、保持部の底部に保持された試料と第1の電極との距離を容易に小さくすることができる。その結果、試料に効率的に電気刺激を印加することができる。

[0071] またさらに、第１の電極の先端の幅は、第２の電極の先端の幅よりも小さい、ことでもよい。かかる構成を採れば、保持部の凹形状の底部に保持された試料と第１の電極との距離を小さくすることができる。その結果、試料に効率的に電気刺激を印加することができる。

産業上の利用可能性

[0072] 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、電気刺激装置、及び細胞観察方法を使用用途とし、保持部に配置された細胞に対して適切に電気刺激を与えることを可能とするものである。

符号の説明

[0073] １７，１７Ａ－１７Ｇ…電極対、１，１Ａ…細胞観察装置、１０…データ取得装置、１１…マイクロプレートホルダ（載置部）、１２…マイクロプレート搬送機構、１６，１６Ａ…電気刺激部（電気刺激装置）、１７ａ…第１の電極、１７ｂ…第２の電極、１９…移動機構、２０…マイクロプレート（試料ケース）、２１…ウェル（保持部）、２２…底面、３０…位置制御コントローラ（位置制御部）、３２…撮像制御コントローラ、３４…電気刺激制御コントローラ、４０…動画像取得部、５０…コンピュータ、５１…データ解析部、５２…制御部、７１…位置調整機構（位置調整部）、７２ａ，７２ｂ…支持体、７３…調整部、Ｓ…試料。

請求の範囲

- [請求項1] 細胞を含む試料を保持する保持部を有する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を有する電気刺激部と、
前記試料ケースの前記保持部内に前記電極対が配置される際に、前記第1の電極が前記第2の電極に対して前記保持部の中心部寄りに配置された状態で、前記電気刺激部の位置を制御する位置制御部とを備え、
前記第1の電極の先端は、前記第2の電極の先端よりも伸びている、
細胞観察装置。
- [請求項2] 前記第2の電極は筒形状であり、
前記第1の電極は前記第2の電極の内部に配置される、
請求項1記載の細胞観察装置。
- [請求項3] 前記第2の電極は複数の電極部材を含み、
前記第1の電極は前記複数の電極部材の間に配置される、
請求項1記載の細胞観察装置。
- [請求項4] 前記第1の電極は柱形状である、
請求項1～3のいずれか1項に記載の細胞観察装置。
- [請求項5] 前記第1の電極の先端の幅は、前記第2の電極の先端の幅よりも小さい、
請求項1～4のいずれか1項に記載の細胞観察装置。
- [請求項6] 細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースに挿入されて、前記細胞に電気刺激を印加する電気刺激装置であって、
第1の電極と第2の電極とを含む電極対を備え、
前記第1の電極の先端は、前記第2の電極の先端よりも伸びており、
細胞観察装置。

前記試料ケースの前記保持部内に前記電極対が配置される際に、前記第 1 の電極が前記第 2 の電極に対して前記保持部の中心部寄りに配置される、

電気刺激装置。

[請求項7] 前記第 2 の電極は筒形状であり、
前記第 1 の電極は前記第 2 の電極の内部に配置される、
請求項 6 記載の電気刺激装置。

[請求項8] 前記第 2 の電極は複数の電極部材を含み、
前記第 1 の電極は前記複数の電極部材の間に配置される、
請求項 6 記載の電気刺激装置。

[請求項9] 前記第 1 の電極は柱形状である、
請求項 6 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の電気刺激装置。

[請求項10] 前記第 1 の電極の先端の幅は、前記第 2 の電極の先端の幅よりも小さい、
請求項 6 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の電気刺激装置。

[請求項11] 細胞を含む試料を保持する保持部を有する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を有する電気刺激部と、
前記試料ケースの前記保持部内に前記電極対が配置されるように、
前記電気刺激部の位置を制御する位置制御部と、
前記第 2 の電極の先端に対する前記第 1 の電極の先端の相対的な位置を調整する位置調整部と、
を備える細胞観察装置。

[請求項12] 前記第 2 の電極は筒形状であり、
前記第 1 の電極は前記第 2 の電極の内部に配置される、
請求項 11 記載の細胞観察装置。

[請求項13] 前記第 2 の電極は複数の電極部材を含み、

前記第 1 の電極は前記複数の電極部材の間に配置される、
請求項 1 1 記載の細胞観察装置。

[請求項14] 前記第 1 の電極は柱形状である、
請求項 1 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載の細胞観察装置。

[請求項15] 前記第 1 の電極の先端の幅は、前記第 2 の電極の先端の幅よりも小さい、
請求項 1 1 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載の細胞観察装置。

[請求項16] 細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースに挿入されて、
前記細胞に電気刺激を印加する電気刺激装置であって、
第 1 の電極と第 2 の電極とを含む電極対と、
前記第 2 の電極の先端に対する前記第 1 の電極の先端の相対的な位置を調整する位置調整部と、
を備える電気刺激装置。

[請求項17] 前記第 2 の電極は筒形状であり、
前記第 1 の電極は前記第 2 の電極の内部に配置される、
請求項 1 6 記載の電気刺激装置。

[請求項18] 前記第 2 の電極は複数の電極部材を含み、
前記第 1 の電極は前記複数の電極部材の間に配置される、
請求項 1 6 記載の電気刺激装置。

[請求項19] 前記第 1 の電極は柱形状である、
請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか 1 項に記載の電気刺激装置。

[請求項20] 前記第 1 の電極の先端の幅は、前記第 2 の電極の先端の幅よりも小さい、
請求項 1 6 ～ 1 9 のいずれか 1 項に記載の電気刺激装置。

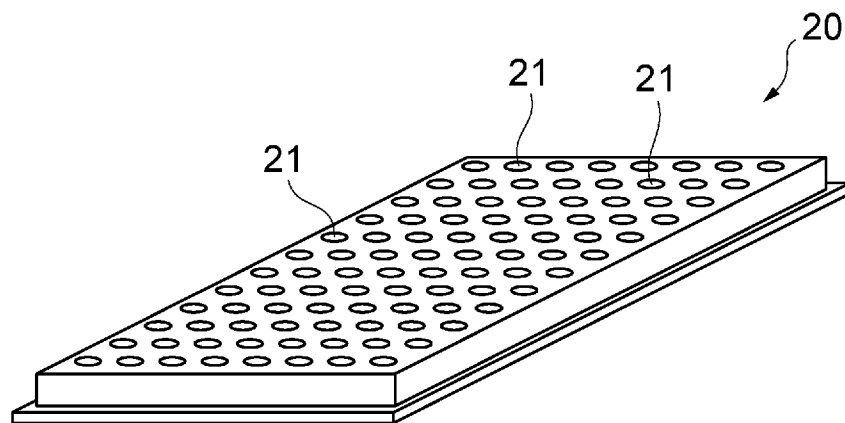
[請求項21] 第 1 の電極と第 2 の電極とを含む電極対を用いて、細胞を含む試料を保持する保持部を有する試料ケースによって保持された前記細胞を観察する細胞観察方法であって、

前記第 2 の電極の先端に対する前記第 1 の電極の先端の相対的な位

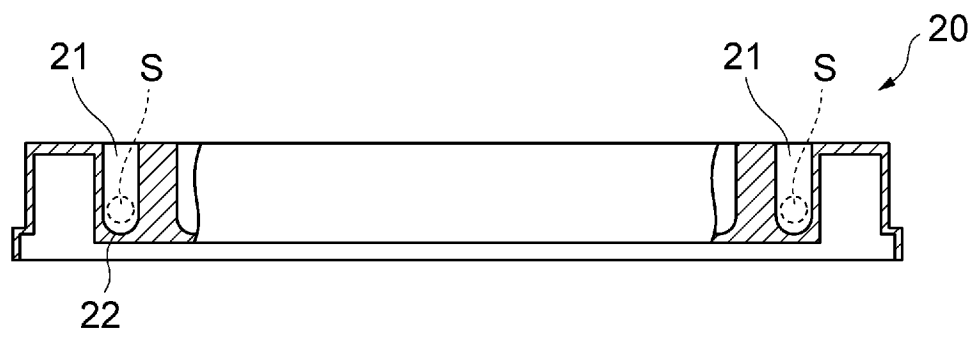
置を調整するステップと、

前記電極対を用いて前記試料に電気刺激を印加するステップと、
を備える細胞観察方法。

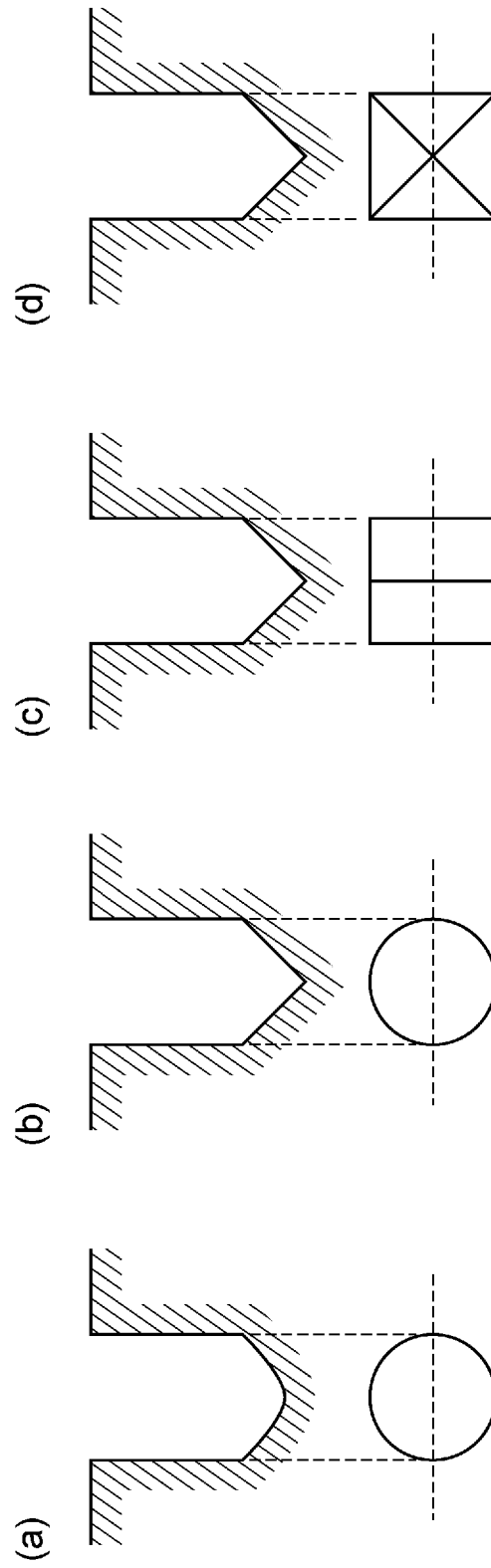
[図2]



[図3]

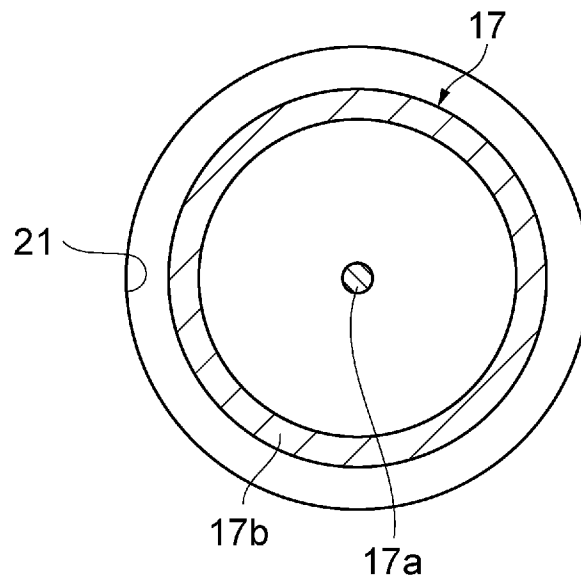


[図4]

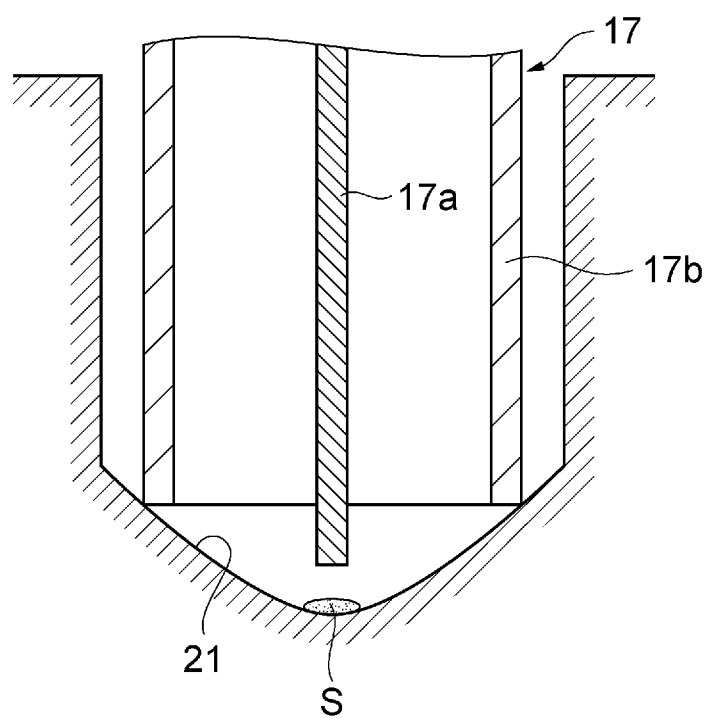


[図5]

(a)

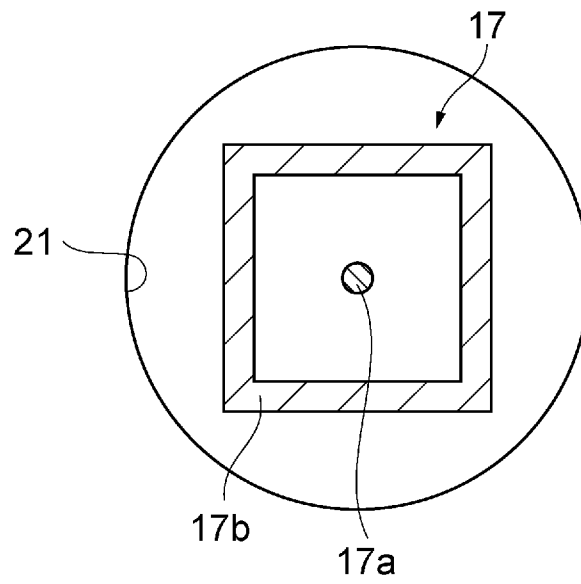


(b)

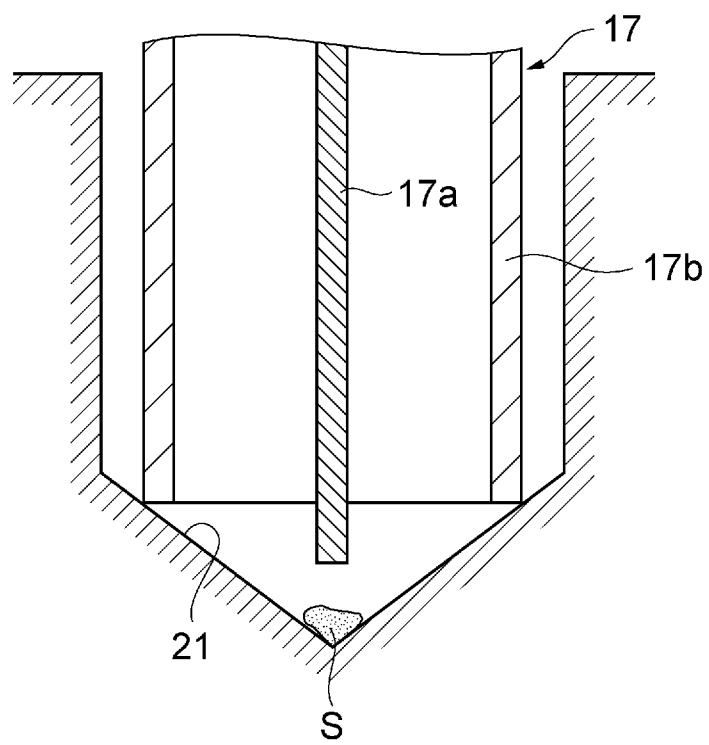


[図6]

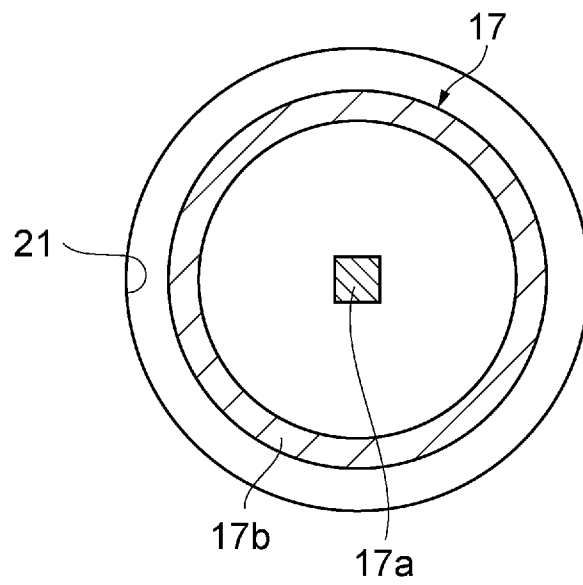
(a)



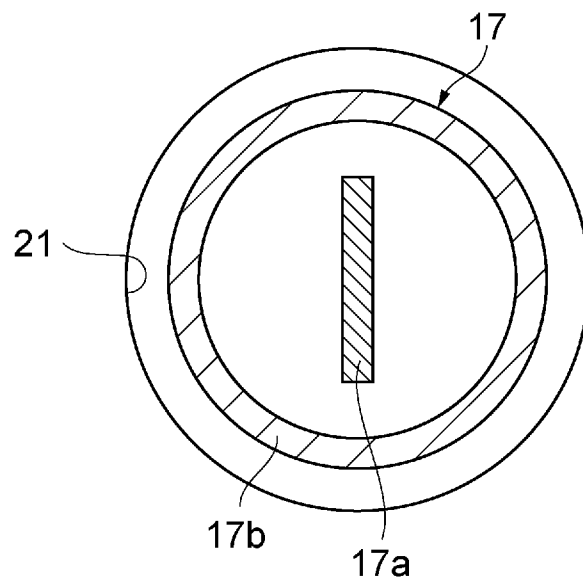
(b)



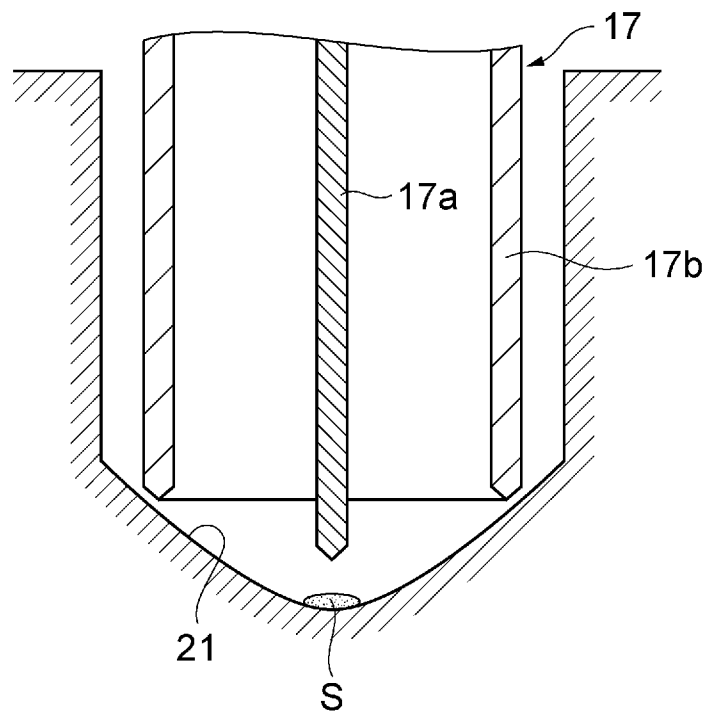
[図7]



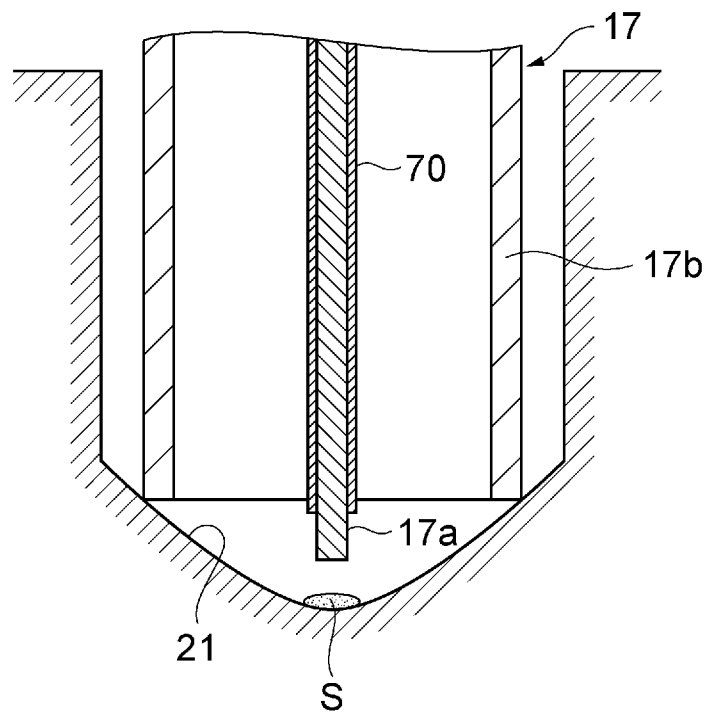
[図8]



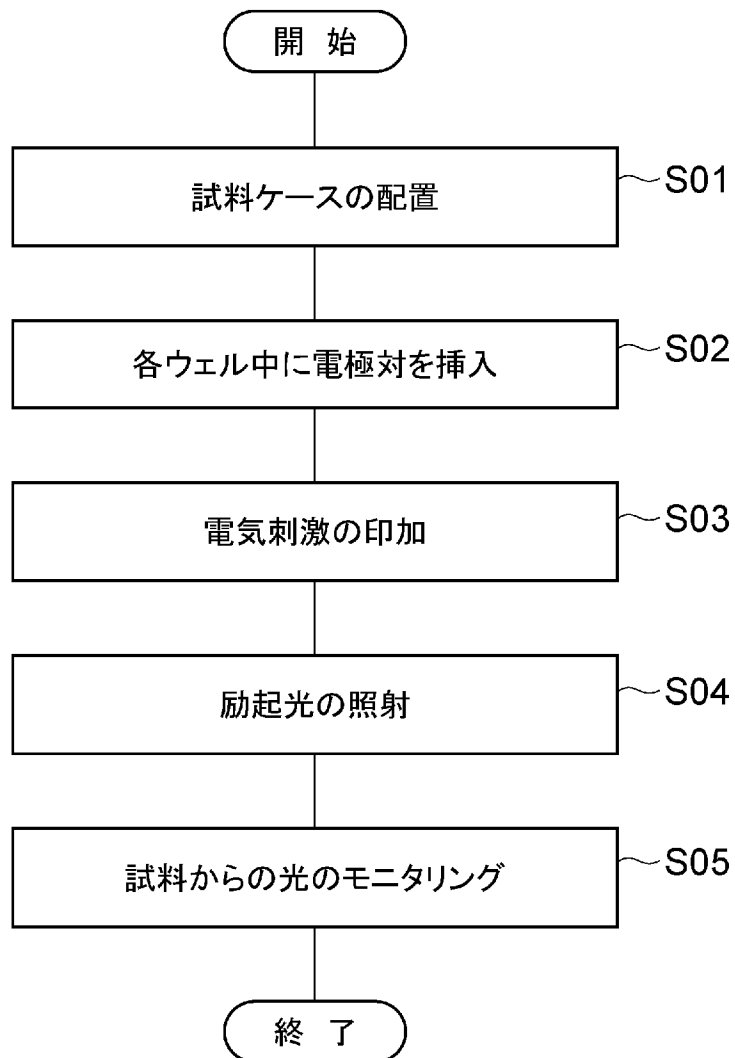
[図9]



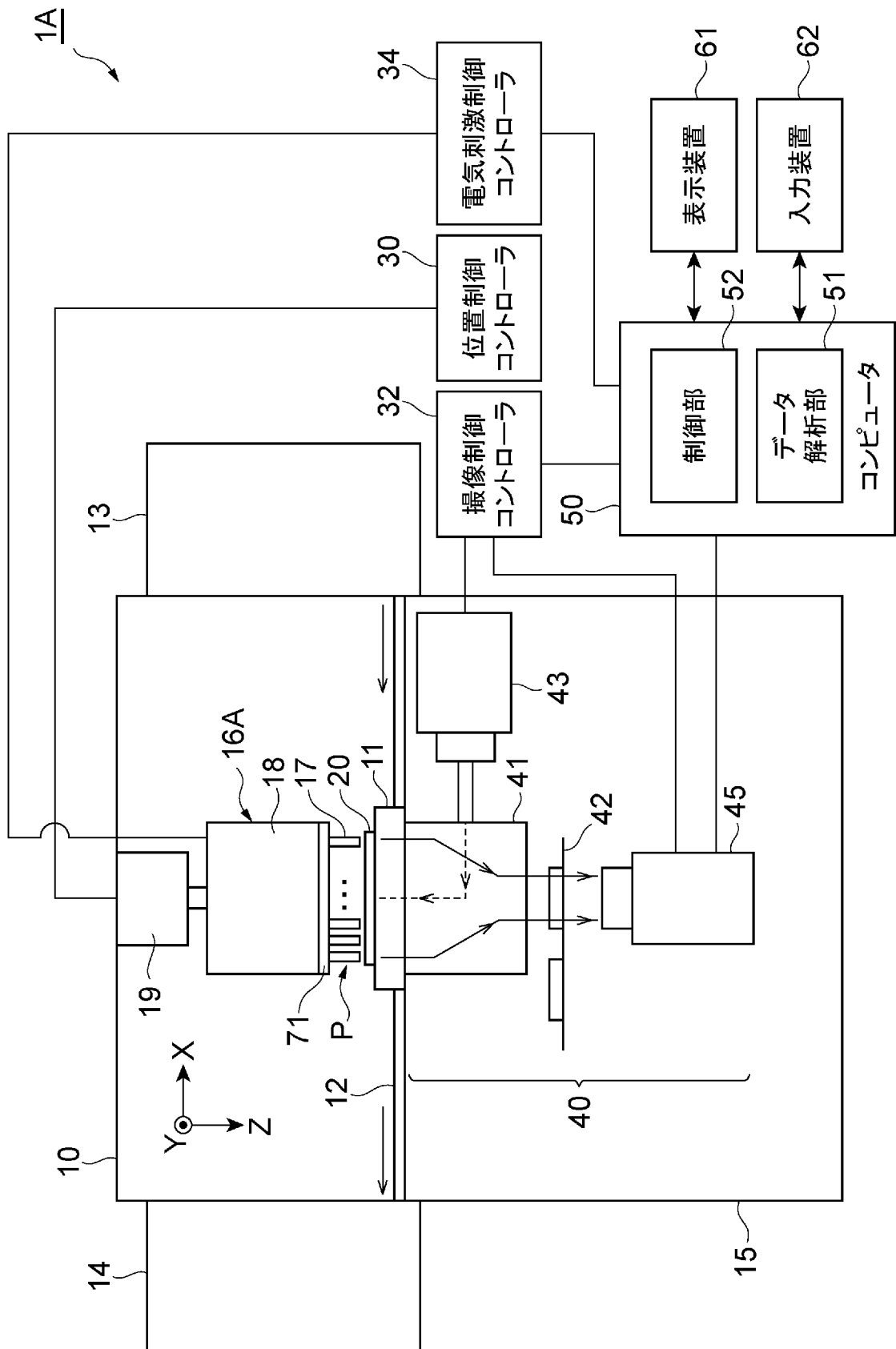
[図10]



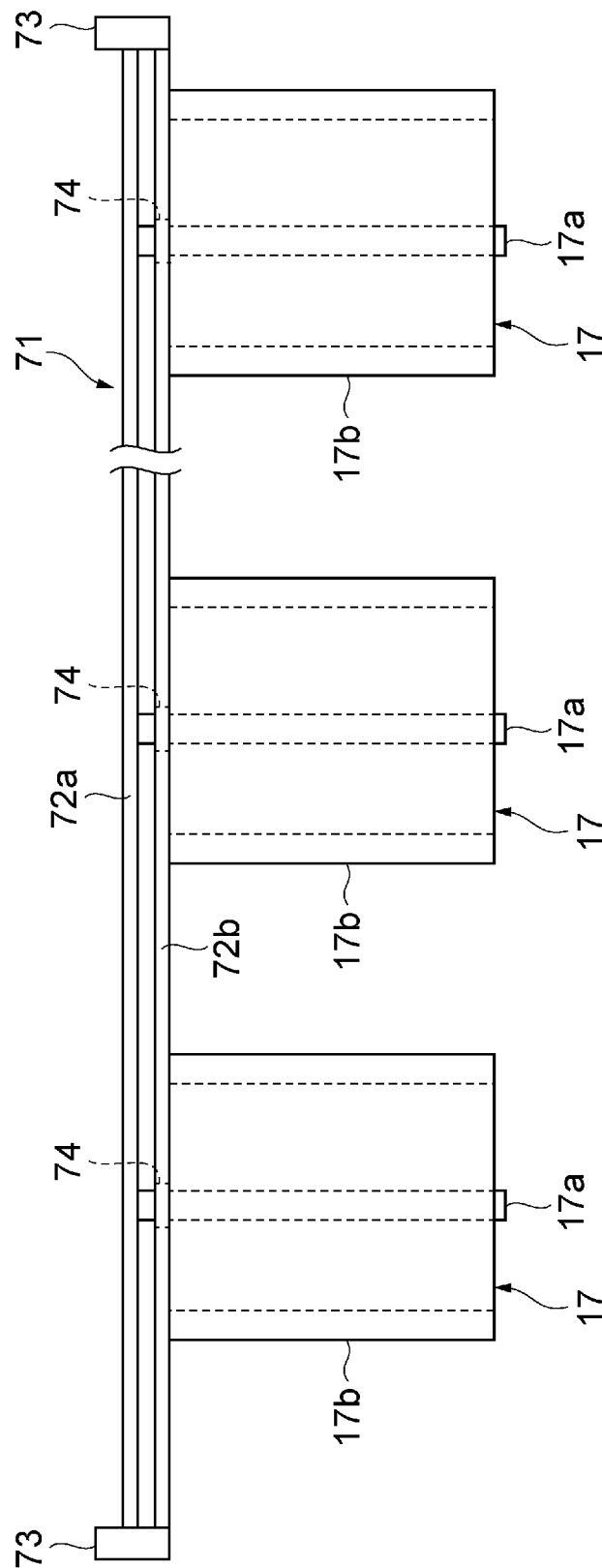
[図11]



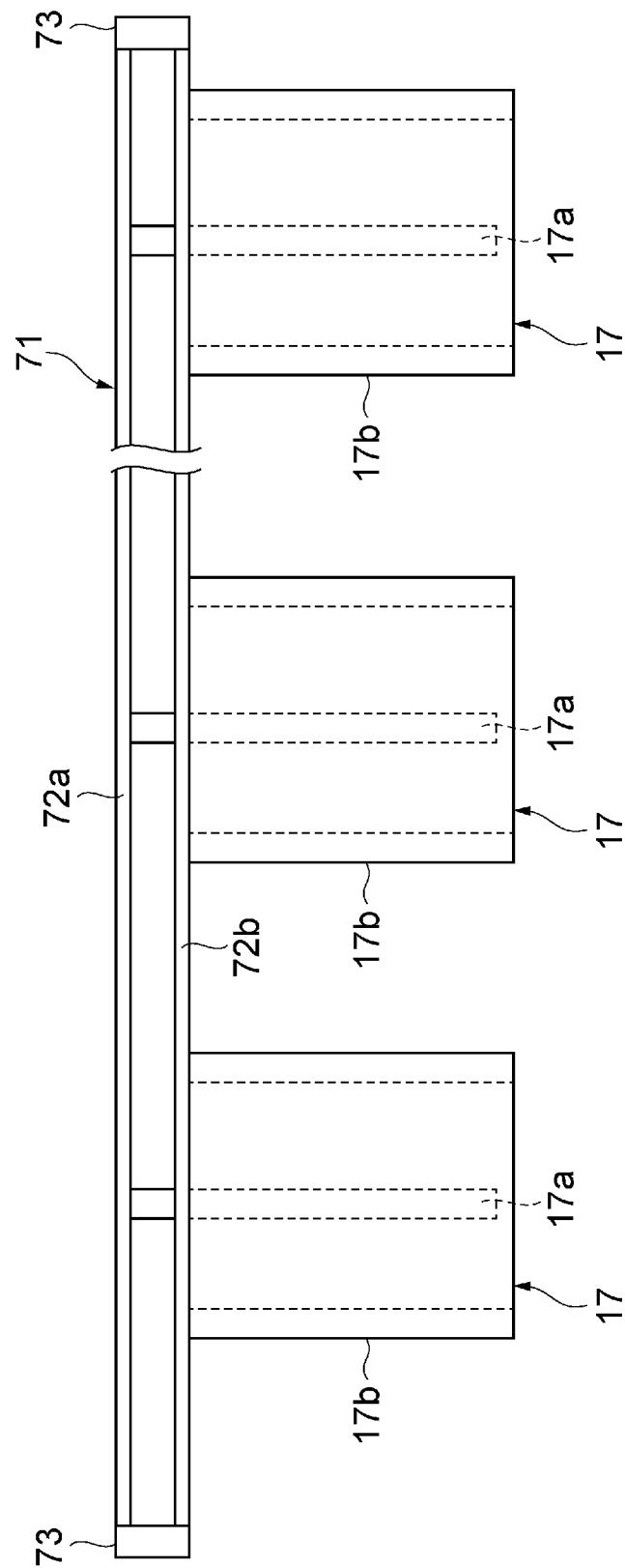
[図12]



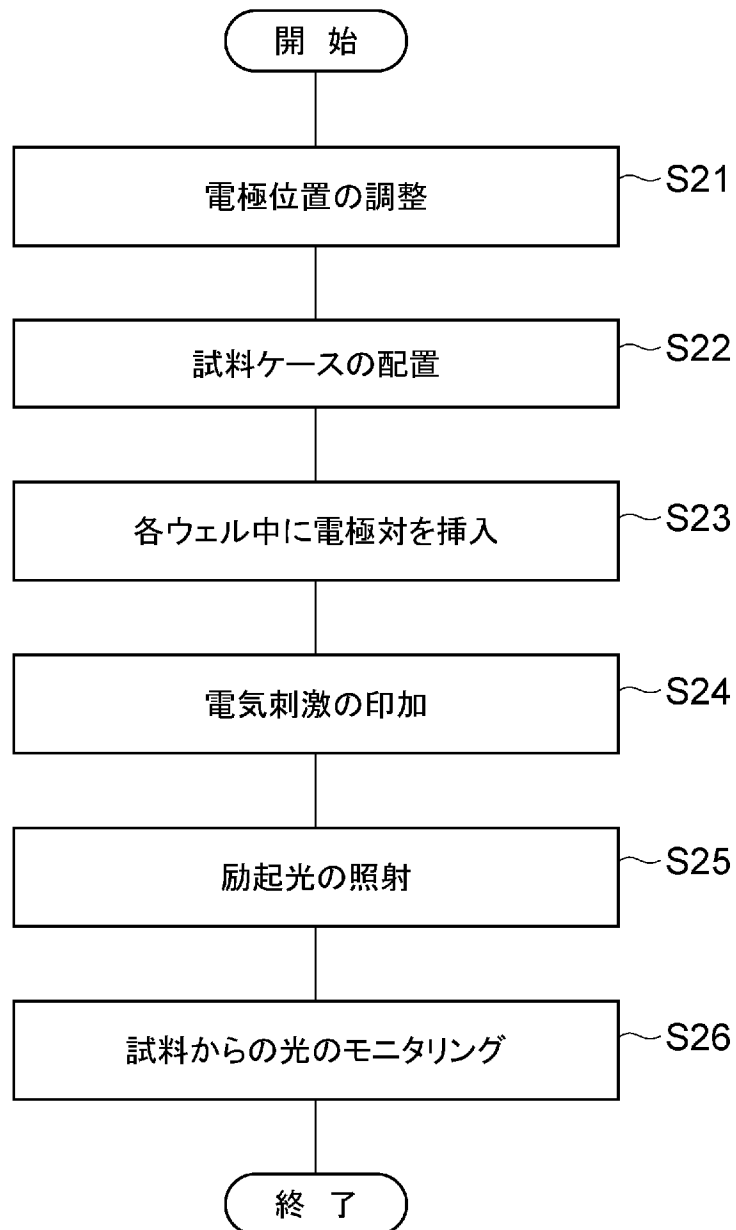
[図13]



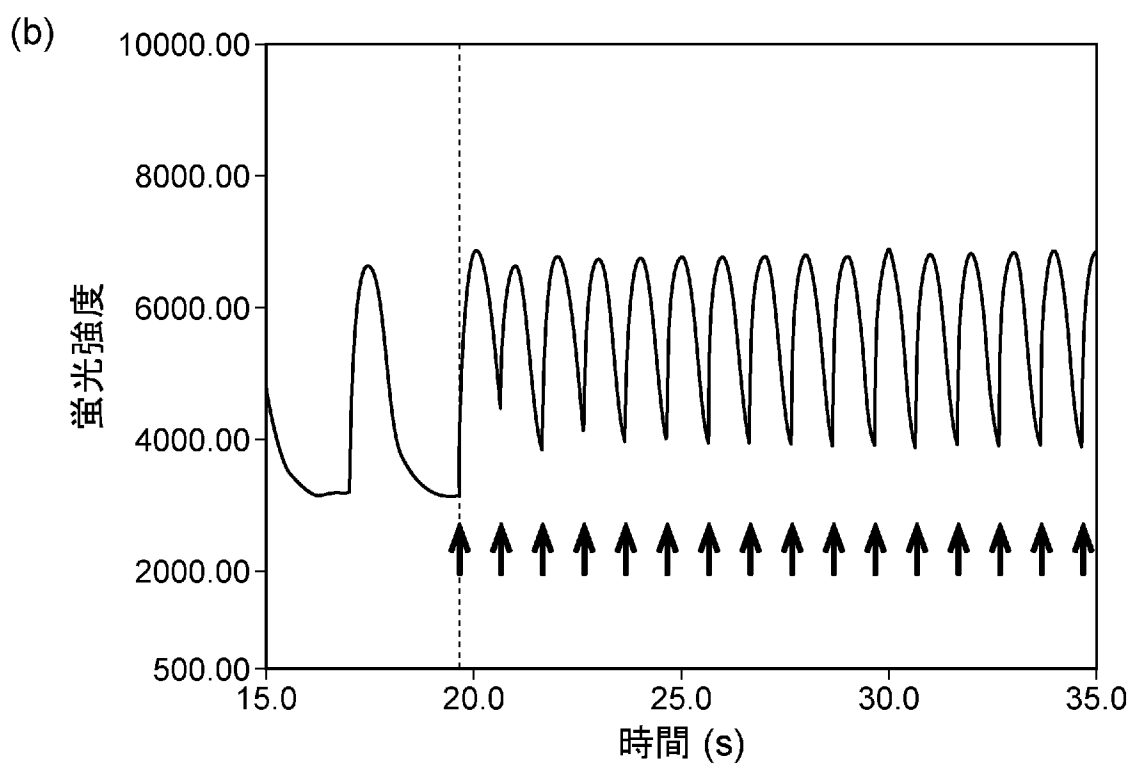
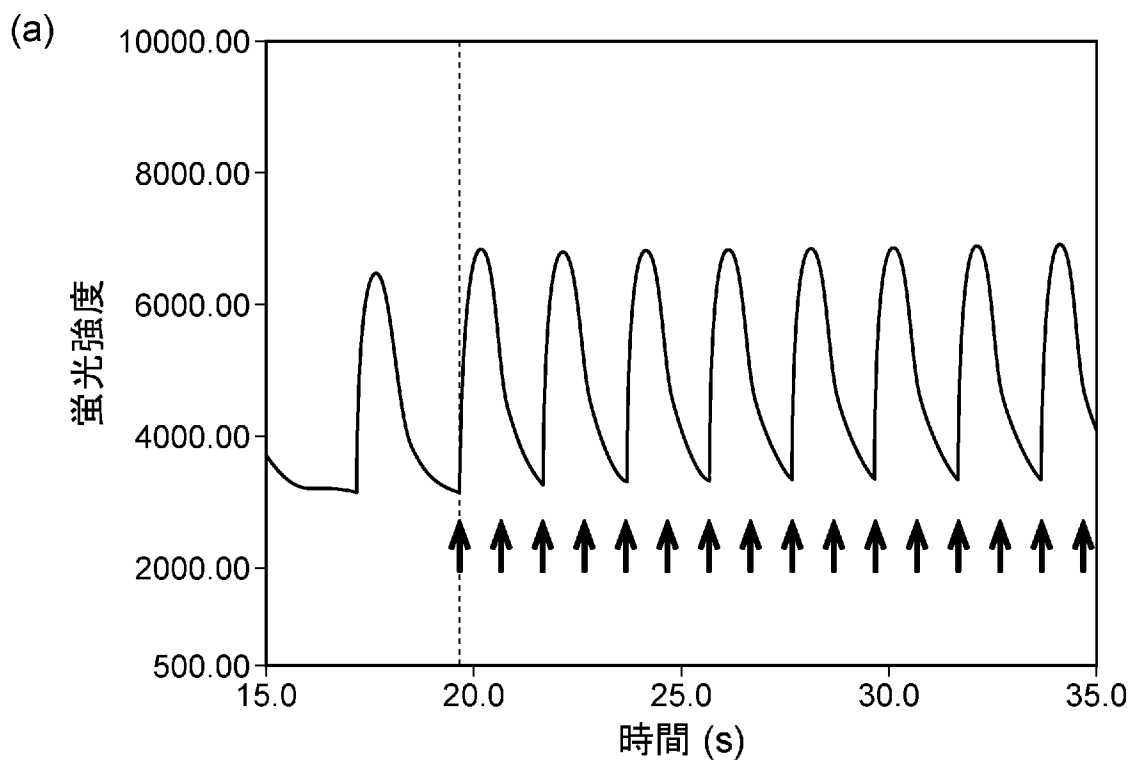
[図15]



[図16]

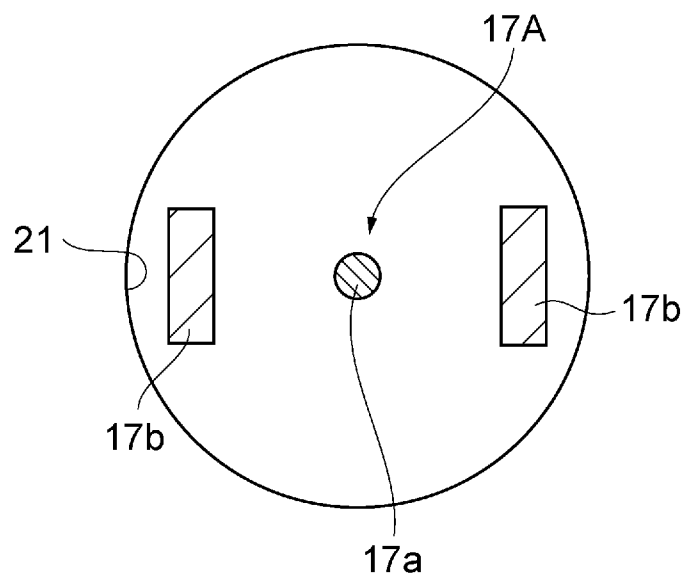


[図17]

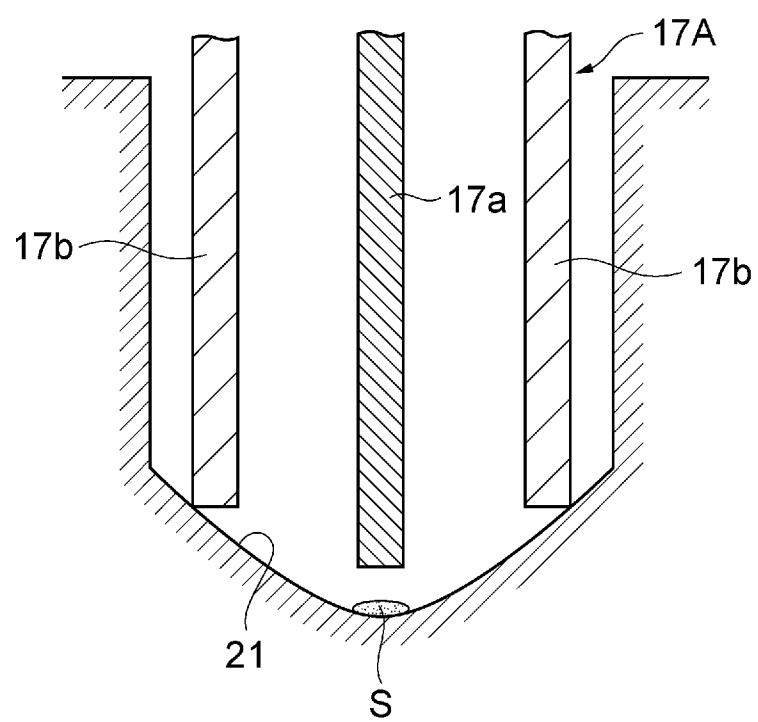


[図18]

(a)

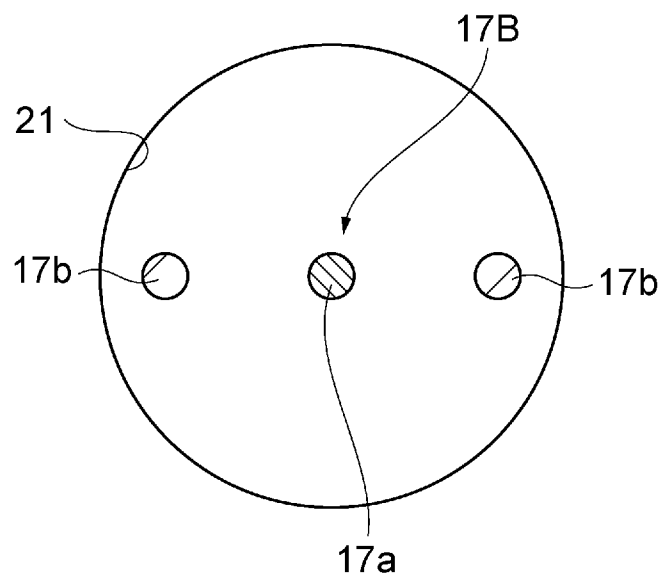


(b)

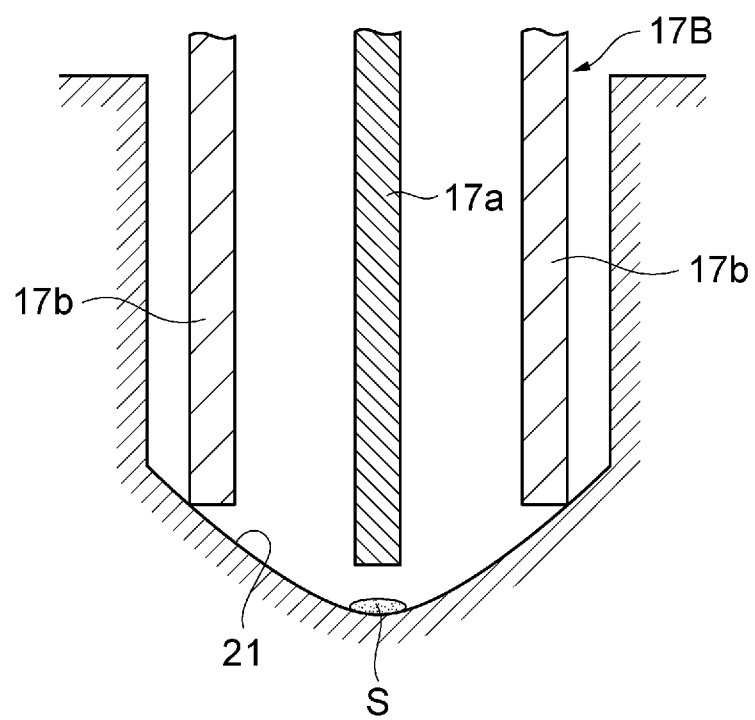


[図19]

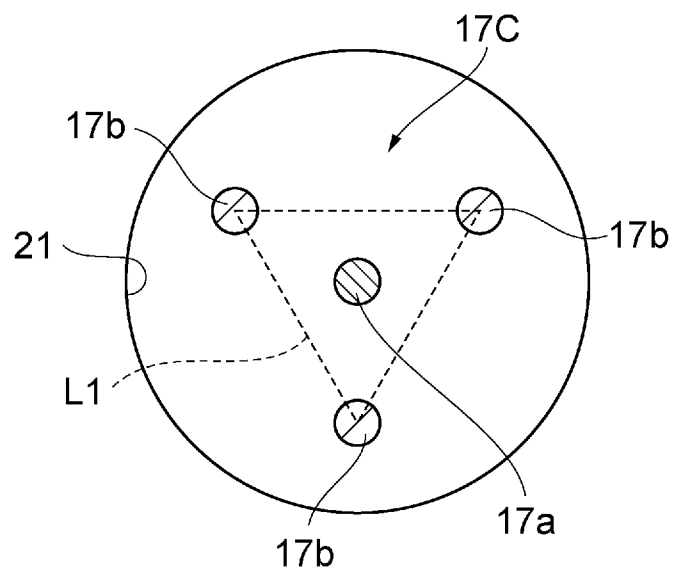
(a)



(b)

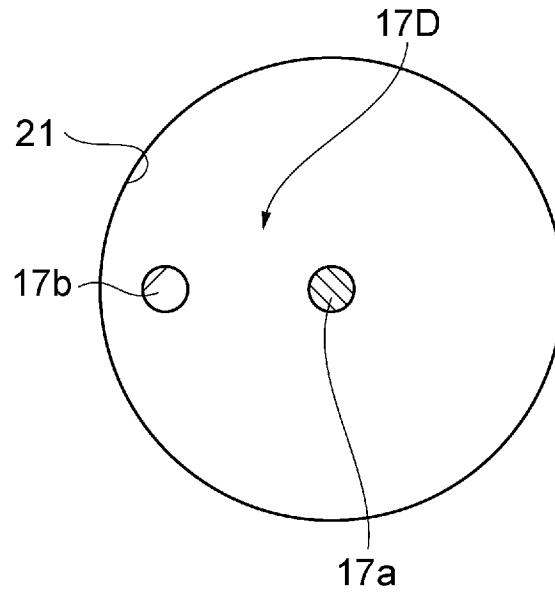


[図20]

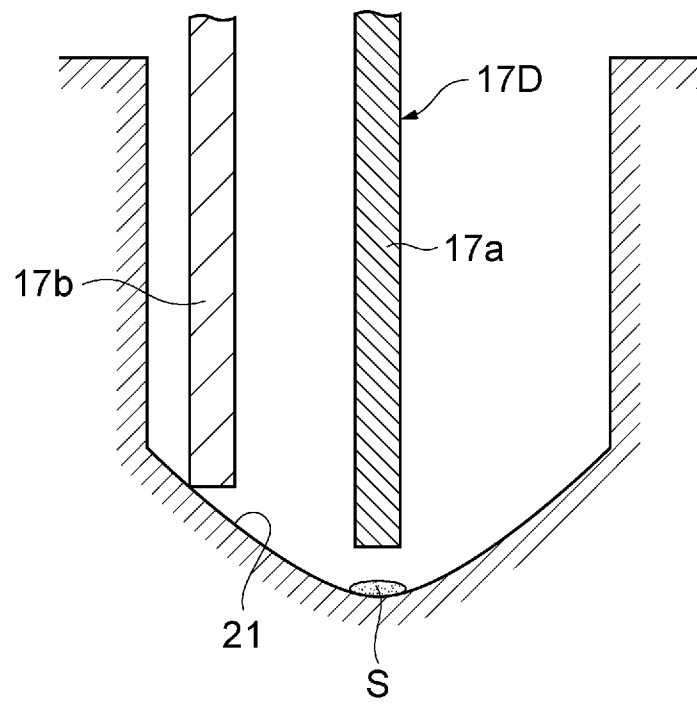


[図21]

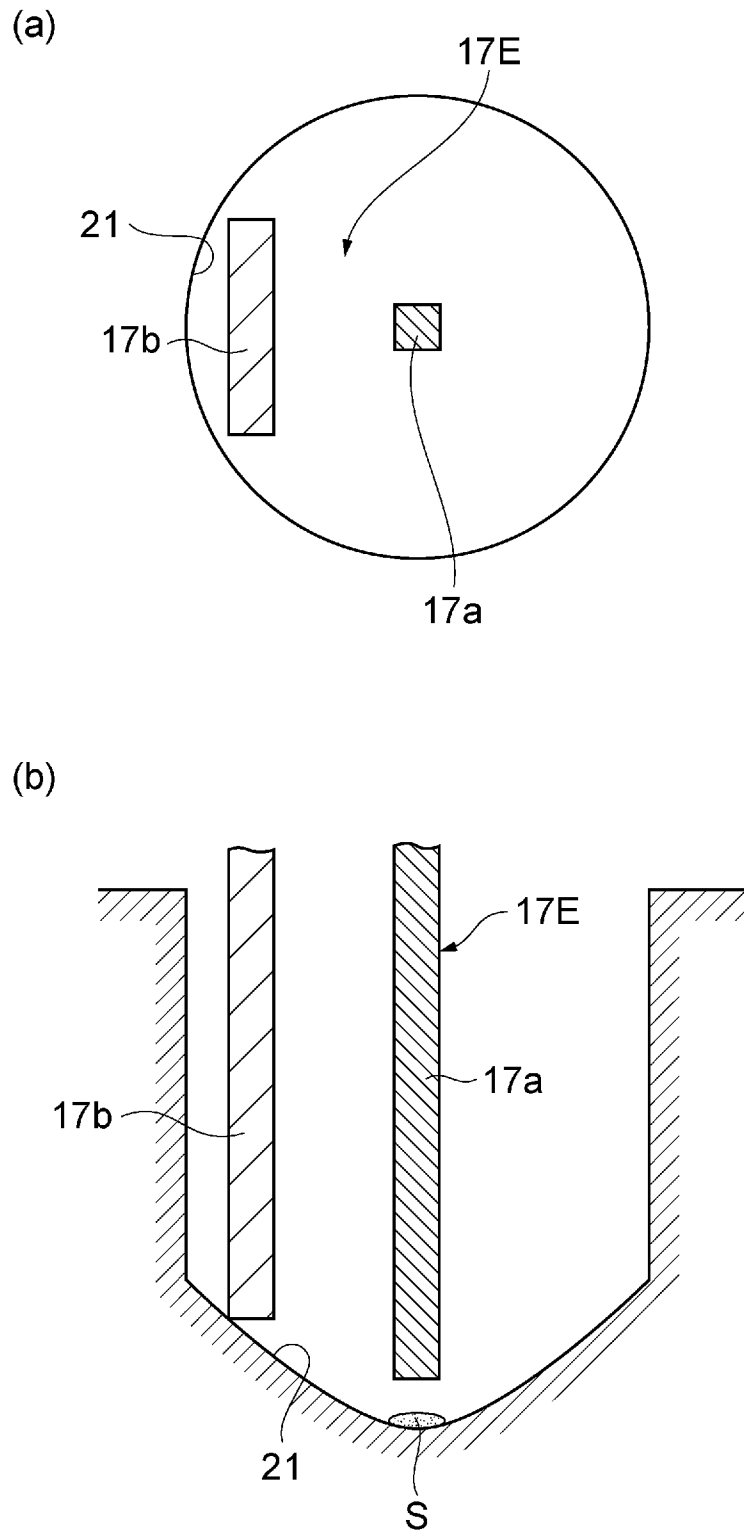
(a)



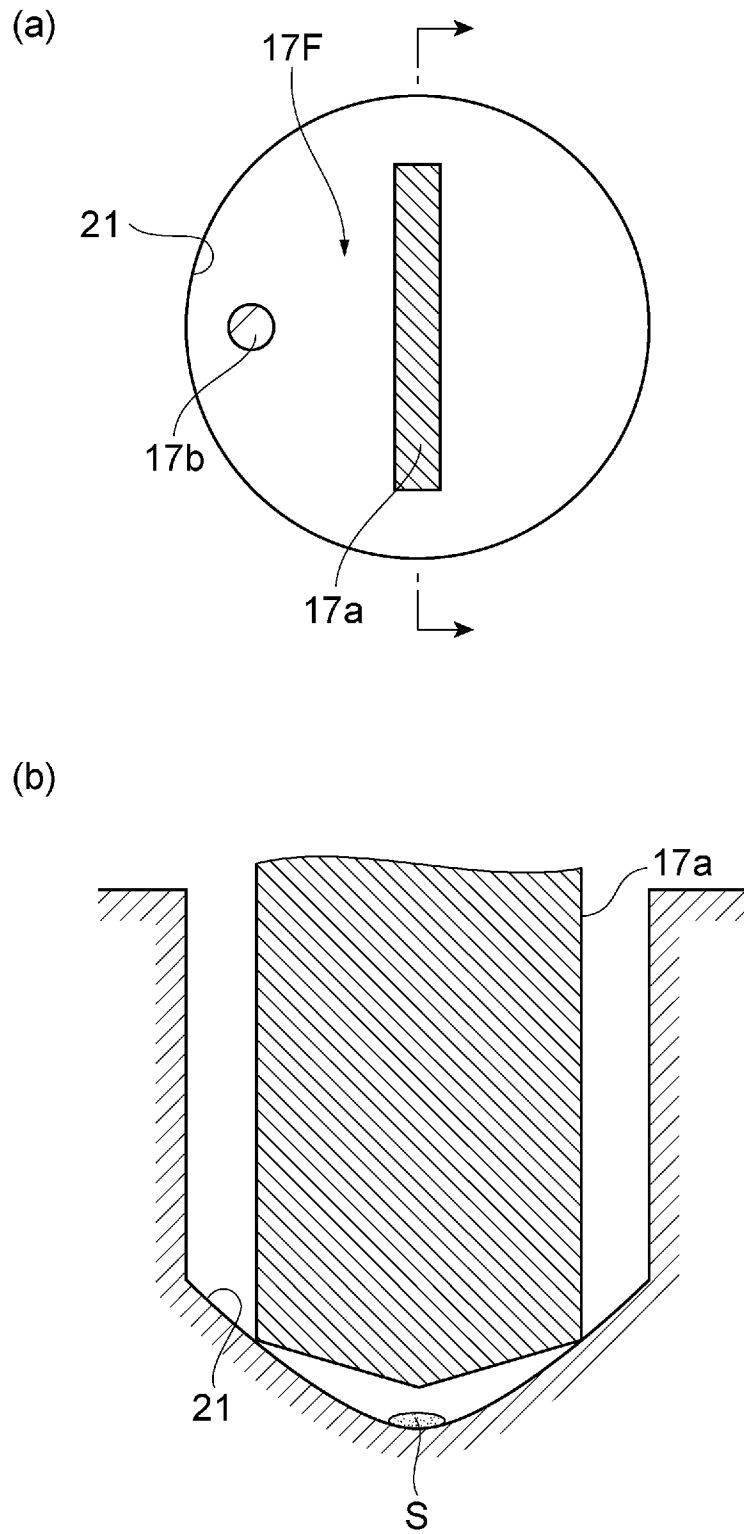
(b)



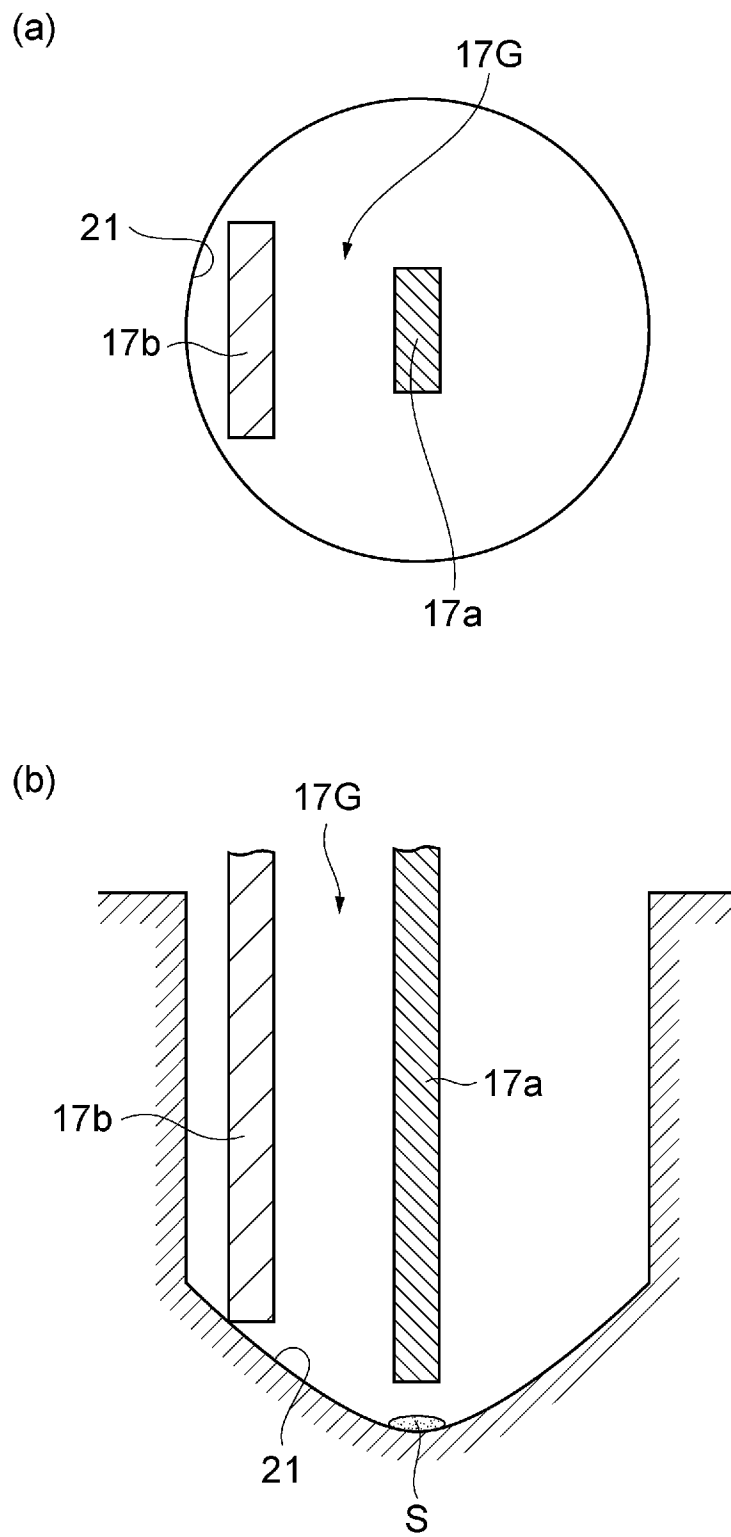
[図22]



[図23]



[図24]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/079964

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/42(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M1/42, C12Q1/02, G01N21/64

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), Thomson Innovation

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2005-204624 A (Hitachi, Ltd.), 04 August 2005 (04.08.2005), paragraphs [0011] to [0013]; fig. 8, 9 (Family: none)	16, 21 1-15, 17-20
A	JP 63-276478 A (Shimadzu Corp.), 14 November 1988 (14.11.1988), fig. 1 (Family: none)	1-21
A	JP 2012-501646 A (Galenea Corp.), 26 January 2012 (26.01.2012), fig. 2, 6 & US 2012/0053084 A1 & EP 2329275 A2 & WO 2010/027446 A2 & AU 2009288657 A & CA 2744804 A & KR 10-2011-0073494 A & CN 102203622 A	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 January 2015 (28.01.15)

Date of mailing of the international search report
10 February 2015 (10.02.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/079964

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-147517 A (Hitachi, Ltd.), 27 May 2004 (27.05.2004), fig. 5 (Family: none)	1-21
A	JP 2005-261323 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 29 September 2005 (29.09.2005), fig. 1, 2 (Family: none)	1-21

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/42(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/42, C12Q1/02, G01N21/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 5 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 5 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 5 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)Thomson Innovation

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2005-204624 A（株式会社日立製作所）2005.08.04, 段落001	16, 21
A	1～0013、図8、9（ファミリーなし）	1-15, 17-20
A	JP 63-276478 A（株式会社島津製作所）1988.11.14, 第1図（ファミリーなし）	1-21
A	JP 2012-501646 A（ガレニア コーポレーション）2012.01.26, 図2、6 & US 2012/0053084 A1 & EP 2329275 A2 & WO 2010/027446 A2 & AU 2009288657 A & CA 2744804 A & KR 10-2011-0073494 A & CN 102203622 A	1-21

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 8 . 0 1 . 2 0 1 5

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 2 . 2 0 1 5

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

田中 晴絵

4 B

9 7 3 9

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2004-147517 A (株式会社日立製作所) 2004. 05. 27, 図 5 (ファミリーなし)	1-21
A	JP 2005-261323 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2005. 09. 29, 図 1、2 (ファミリーなし)	1-21