

(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
2018年4月19日(19.04.2018)



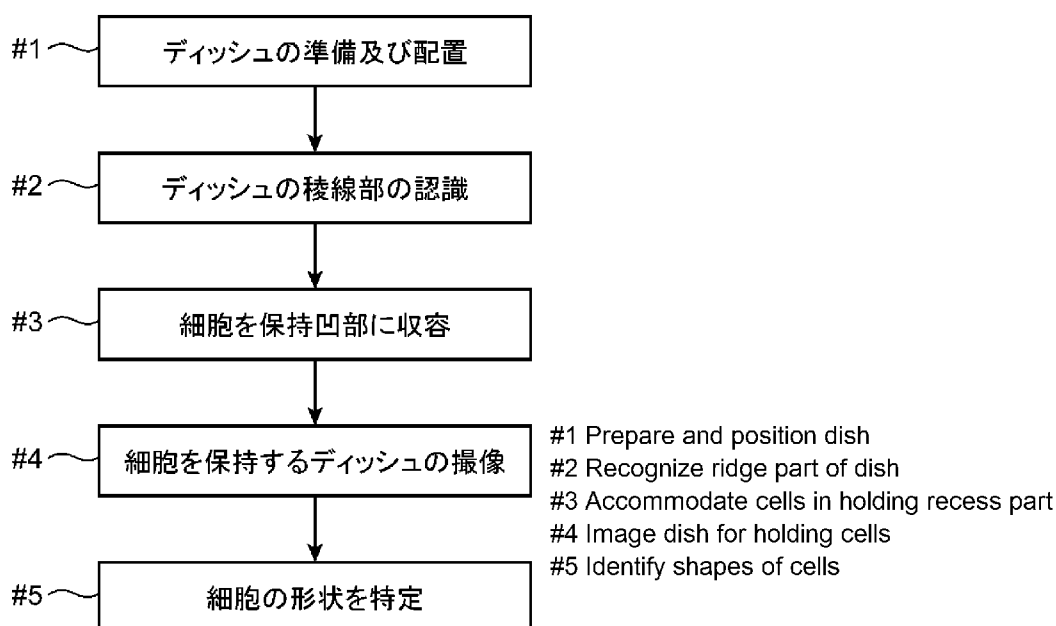
(10) 国際公開番号

WO 2018/070153 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/34 (2006.01) *G01N 15/00* (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2017/032470
- (22) 国際出願日: 2017年9月8日(08.09.2017)
- (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 2016-201943 2016年10月13日(13.10.2016) JP
- (71) 出願人: ヤマハ発動機株式会社 (YAMAHA HATSUDOKI KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒4388501 静岡県磐田市新貝2500番地 Shizuoka (JP).
- (72) 発明者: 伊藤 三郎 (ITO, Saburo); 〒4388501 静岡県磐田市新貝2500番地 ヤマハ発動機株式会社内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人: 小谷 悦司, 外 (KOTANI, Etsuji et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島2丁目2番2号大阪中之島ビル2階 Osaka (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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,

(54) Title: METHOD FOR IMAGING CELL

(54) 発明の名称: 細胞の撮像方法



(57) **Abstract:** According to the present invention, a dish has a holding recess part provided with: a first portion comprising a tapered part in the vicinity of an opening; a second portion comprising a tubular portion having a vertical inner wall surface; a third portion comprising a tapered part serving as a ground surface for cells; and a fourth portion comprising a bottom plate having a discharge hole. This imaging method includes: a first step in which the dish is horizontally disposed at a predetermined position; a second step in which the height position of a predetermined shape feature part of the dish is recognized on the basis of focus information at the time the dish is imaged; a third step in which cells are sprayed from the upper surface side of the dish, precipitated along the first portion and the second portion, and grounded to the third



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.

- (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))

portion; a fourth step in which the dish is imaged in a state in which cells are held in the holding recess part; and a fifth step in which the shapes of the cells are identified on the basis of the image data on the dish obtained by the imaging.

(57) 要約: ディッシュは、開口付近のテーパ部からなる第1部分と、垂直な内壁面を持つ筒状部分からなる第2部分と、細胞の接地面となるテーパ部からなる第3部分と、排出孔を有する底板からなる第4部分とを備える保持凹部を有する。撮像方法は、前記ディッシュを、所定位置に水平に配置する第1ステップと、前記ディッシュの撮像の際のフォーカス情報に基づいて、前記ディッシュの所定の形状特徴部の高さ位置を認識する第2ステップと、前記ディッシュの上面の側から細胞を撒き、前記第1部分及び前記第2部分に沿って沈降させて前記第3部分に接地させる第3ステップと、細胞が前記保持凹部に保持された状態の前記ディッシュの画像を撮像する第4ステップと、撮像により得られた前記ディッシュの画像データに基づき、前記細胞の形状を特定する第5ステップとを含む。

明 細 書

発明の名称：細胞の撮像方法

技術分野

[0001] 本発明は、細胞の形状認識のため、透光性のディッシュに細胞を保持させ、当該細胞を撮像装置で撮像する方法に関する。

背景技術

[0002] 例えば医療や生物学的な研究の用途では、単細胞、或いは細胞が三次元的に凝集してなる細胞凝集塊（以下、これらを本明細書では単に細胞という）が、観察、薬効確認、検査若しくは培養等の処理作業ために、マトリクス配列されたウェルを有するマイクロプレートの、前記ウェルに収容されることがある。ウェルに収容される細胞は、細胞を保持する凹部を有するディッシュ上において選別される。この選別に先立ち、ディッシュ上には多量の細胞を含有する細胞懸濁液が分散され、前記凹部に細胞が保持される。そして、細胞を保持したディッシュの画像が撮像され、画像処理技術によって使用可能な細胞と、使用不可の細胞及び夾雑物とが区分される。しかる後、使用可能な細胞が、吸引チップによって前記凹部から吸引されると共に、吸引された細胞がマイクロプレートのウェルに吐出される（例えば、特許文献1参照）。

[0003] 細胞を保持したディッシュを撮像した画像から細胞の形状等を認識する場合、前記ディッシュの構成部分と細胞とが明確に区別できること、また、細胞の形状が認識し易いことが望ましい。さらには、ミクロンオーダーの細胞を撮像する光学系の画角は自ずと小さくなり、ディッシュの全域を撮像するには多数回の撮像動作が必要となる。このため、細胞へのフォーカス合わせが迅速に行えるようにして、撮像時間の短縮化を図ることが望ましい。しかしながら現状では、これらの要請を十分に満たす細胞の撮像方法は提案されていない。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：WO 2015 / 087371 A 1

発明の概要

[0005] 本発明は、細胞を保持したディッシュの画像から細胞の形状認識を行う場合において、画像上で細胞の認識が行い易く、且つ、ディッシュの撮像時間の短縮化を図ることができる細胞の撮像方法を提供することにある。

[0006] 本発明の一局面に係る細胞の撮像方法は、透光性部材によって形成され上面と下面とを有する平板からなる本体と、前記本体の上面から下面に向けて垂直方向に延び細胞を保持する複数の保持凹部と、を有するディッシュであって、前記保持凹部は、前記垂直方向に対して第1の傾きを持つテーパ部からなる第1部分と、前記垂直方向に対して実質的に平行な内壁面を持つ筒状部分からなり、細胞を収容する空間を区画する共に、収容された細胞の水平方向の移動を規制する第2部分と、前記垂直方向に対して前記第1の傾きよりも大きい第2の傾きを持ち、細胞の接地面となるテーパ部からなる第3部分と、保持対象の細胞が通過できないサイズの排出孔を有する底板からなる第4部分と、を備え、前記上面から前記下面へ向けて、前記第1部分から前記第4部分が順次連設されることによって構成されている前記ディッシュを用いる。

[0007] 前記撮像方法は、所定位置に水平に配置する第1ステップと、撮像装置を前記下面の側に配置して前記ディッシュの画像の撮像動作を実行すると共に、前記撮像動作の際のフォーカス情報に基づいて、前記ディッシュの所定の形状特徴部の高さ位置を認識する第2ステップと、前記ディッシュが液体中に浸漬された状態で、前記上面の側から細胞を含む細胞懸濁液を撒き、重力により前記第1部分を通して前記細胞を前記保持凹部内へ導くと共に、当該細胞を前記第2部分に沿って沈降させて前記第3部分に接地させる第3ステップと、前記下面の側に配置した前記撮像装置で、前記形状特徴部の高さ位置を基準位置として、前記細胞が前記保持凹部に保持された状態の前記ディッシュの画像の撮像動作を実行する第4ステップと、前記撮像動作により得

られた前記ディッシュの画像データに基づき、前記細胞の形状を特定する第5ステップと、を含む。

図面の簡単な説明

[0008] [図1A]図1 Aは、本発明に係る細胞の撮像方法を実施するための細胞移動装置の構成の一部を示す概略図である。

[図1B]図1 Bは、前記細胞移動装置の構成の他の一部を示す概略図である。

[図2]図2は、前記細胞移動装置に使用される選別容器の斜視図である。

[図3]図3は、前記選別容器が備えるディッシュの上面図である。

[図4]図4は、図3のI V - I V線断面図である。

[図5]図5は、複数のディッシュ及び撮影範囲を示す上面図である。

[図6]図6は、本発明に係る細胞の撮像方法の手順を示す図である。

[図7]図7は、前記ディッシュの詳細を説明するための断面図である。

[図8]図8は、前記ディッシュの稜線部の撮像態様を模式的に示す図である。

[図9]図9は、前記稜線部の撮像における撮像箇所を示す平面図である。

[図10]図10は、細胞が前記ディッシュの保持凹部へ収容される態様を示す断面図である。

[図11]図11は、前記保持凹部に細胞が保持された状態で、前記ディッシュが撮像されている状態を示す断面図である。

[図12]図12 (A) は、前記撮像により得られた保持凹部及び細胞の画像、図12 (B) は、画像処理後の細胞の画像を各々示す図である。

[図13]図13は、上記細胞移動装置の電氣的構成を示すブロック図である。

[図14]図14は、前記細胞移動装置における細胞の撮像動作の全体フローを示すフローチャートである。

[図15]図15は、稜線検出処理の詳細フローチャートである。

[図16]図16は、細胞撮像処理の詳細フローチャートである。

発明を実施するための形態

[0009] 以下、本発明に係る細胞の撮像方法の実施形態を、図面に基づいて詳細に説明する。本発明において撮像対象とされるのは、生体由来の細胞、特に細

胞凝集塊（スフェロイド；spheroid）である。生体由来の細胞凝集塊は、細胞が数個～数十万個凝集して形成されている。そのため、細胞凝集塊の大きさは様々である。生きた細胞が形成する細胞凝集塊は略球形であるが、細胞凝集塊を構成する細胞の一部が変質したり、死細胞となっていたりすると、細胞凝集塊の形状は歪になる、あるいは密度が不均一となる場合がある。以下の説明では、上記のような細胞凝集塊を含む意味で、簡略的に細胞Cと表現する。

[0010] 本発明に係る細胞の撮像方法が好適に適用されるのは、例えば細胞移動装置である。細胞移動装置は、バイオ関連技術や医薬の分野における試験において、選別ステージ上のディッシュに担持された種々の形状を呈する複数の細胞の中から、使用可能な細胞をピックアップし、これをマイクロプレートまで移動する。マイクロプレートでは、細胞に対して、観察、薬効確認、検査、培養等の各種の処理が実行される。細胞の撮像は、例えばディッシュ上における使用可能な細胞凝集塊の判別のために実行される。以下、このような細胞移動装置に本発明に係る細胞の撮像方法が適用される例を主に説明する。

[0011] [細胞移動装置の全体構成]

図1A及び図1Bは、細胞移動装置Sの全体構成を概略的に示す図である。ここでは、細胞Cを3つの容器間で移動させる細胞移動装置Sを例示している。細胞移動装置Sは、分注容器100、ディッシュ10を備えた選別容器1、マイクロプレート4、カメラユニット5（撮像装置）、及び分注チップ60又はチップ6が搭載されるヘッドユニット61を備えている。大略的に細胞移動装置Sは、分注容器100から細胞Cを多数含む細胞懸濁液LCを吸引し、該細胞懸濁液LCを選別容器1のディッシュ10上に撒き、本発明に係る細胞の撮像方法を適用して使用可能な細胞Cを選別し、ディッシュ10から使用可能な細胞Cを吸引すると共にこれをマイクロプレート4に吐出する装置である。図1Aは、細胞移動装置Sの分注容器100及び選別容器1の部分、図1Bは、選別容器1及びマイクロプレート4の部分、をそれ

ぞれ図示している。

[0012] 分注容器 100 は、細胞 C を多数含む細胞懸濁液 LC を貯留する、上面開口の容器である。この細胞懸濁液 LC には、選別容器 1 において選別対象となる細胞 C と不可避免的に混在する夾雑物とが含まれている。

[0013] 選別容器 1 は、細胞 C の移動元となる容器であり、培地 L を貯留し、細胞選別用のディッシュ 10 を培地 L に浸漬される状態で保持している。ディッシュ 10 は、細胞 C を担持するプレートであり、細胞 C を個別に収容することが可能な保持凹部 3 を上面に複数有している。

[0014] 培地 L は、細胞 C の性状を劣化させないものであれば特に限定されず、細胞 C の種類により適宜選定することができる。培地 L としては、たとえば基本培地、合成培地、イーグル培地、RPMI 培地、フィッシャー培地、ハム培地、MCDB 培地、血清などの培地のほか、冷凍保存前に添加するグリセロール、セルバンカー（十慈フィールド株式会社製）等の細胞凍結液、ホルマリン、蛍光染色のための試薬、抗体、精製水、生理食塩水などを挙げることができる。たとえば、細胞 C として生体由来の細胞である BxPC-3（ヒト膵臓腺癌細胞）を用いる場合には、培地 L としては RPMI-1640 培地に牛胎児血清 FBS (Fetal Bovine Serum) を 10 % 混ぜたものに、必要に応じて抗生物質、ピルビン酸ナトリウムなどのサプリメントを添加したものをを用いることができる。このような培地 L は、細胞懸濁液 LC のベース液体としても用いることができる。

[0015] 選別容器 1 は、円柱形の形状を備え、その上面側に矩形の上部開口 1H を備えている。上部開口 1H は、細胞 C の投入、並びに、選別された細胞 C をピックアップするための開口である。ディッシュ 10 は、上部開口 1H の下方に配置されている。選別容器 1 及びディッシュ 10 は、透光性の樹脂材料やガラスで作製されたものが用いられる。これは、選別容器 1 の下方に配置されたカメラユニット 5 により、ディッシュ 10 に担持された細胞 C を観察可能とするためである。

[0016] 選別容器 1 には、分注チップ 60 から細胞懸濁液 LC が注入される。分注

チップ60は、先端開口60Hを備えたチューブ状の部材であり、分注容器100からの細胞懸濁液LCの吸引と、内部に保持した細胞懸濁液LCの選別容器1への吐出とを行う。前記吸引の際、分注チップ60の先端開口60Hが分注容器100の細胞懸濁液LCへ浸漬され、吸引動作が実行される。前記吐出の際、分注チップ60の先端開口60Hが選別容器1の培地Lに浸漬された状態で、分注チップ60内に保持された細胞懸濁液LC（細胞C）が吐出される。

[0017] マイクロプレート4は、細胞Cの移動先となる容器であり、細胞Cを受け入れる複数のウェル41を有する。1つのウェル41には、培地Lと共に必要個数（通常は1個）の細胞Cが収容される。マイクロプレート4もまた、透光性の樹脂材料やガラスで作製されたものが用いられる。これは、マイクロプレート4の下方に配置されたカメラユニット5により、マイクロプレート4に担持された細胞Cを観察可能とするためである。

[0018] カメラユニット5は、カメラレンズ51を備え、選別容器1においてディッシュ10に担持されている細胞C、或いはマイクロプレート4においてウェル41に保持されている細胞Cの画像を撮像する。カメラユニット5は、CCDイメージセンサのような撮像素子を備える。カメラレンズ51は、前記撮像素子の受光面に、細胞Cの光像を結像させる。

[0019] カメラユニット5は、カメラレンズ51が選別容器1及びマイクロプレート4の各下面と対向するように、これらの下方に配置されている。つまり、カメラユニット5は、選別容器1又はマイクロプレート4に担持されている細胞Cの画像を、これらの下面側から撮像する。カメラユニット5は、図中に矢印X2で示すように、ガイドレール52に沿って、選別容器1の下方とマイクロプレート4の下方との間を水平方向に移動可能である。

[0020] チップ6は、先端開口6Hを備えたチューブ状の部材であり、細胞Cを含む培地Lの吸引及び吐出を行う。具体的にはチップ6は、選別容器1のディッシュ10から細胞Cを、より詳しくはディッシュ10の保持凹部3（図3）に担持されている細胞Cを培地Lと共に吸引し、これらをマイクロプレー

ト4のウェル41へ吐出する。また、図示は省いているが、必要に応じてチップ6は試薬液等を吸引し、細胞Cを担持しているウェル41内へこれを吐出する。

[0021] ヘッドユニット61は、細胞懸濁液LCを分注容器100から選別容器1のディッシュ10へ移動させ、細胞Cをディッシュ10からマイクロプレート4へ移動させるために設けられ、ヘッド本体62とヘッド63とを備える。ヘッド本体62は、ヘッド63を上下方向に進退可能に保持し、ガイドレール61Rに沿って図中に矢印X1で示すように、分注容器100からマイクロプレート4の配置位置まで水平方向に移動可能である。なお、図1A及び図1Bでは図示していないが、ヘッド本体62は、図1の紙面と直交する方向（前後方向）にも移動可能である。

[0022] ヘッド63は、中空のロッドからなる。分注チップ60及びチップ6は、ヘッド63の下端に装着される。ここでは1本のヘッド63を例示しているが、複数本としても良い。また、分注チップ60用とチップ6用のヘッド63とを、各々ヘッド本体62に具備させても良い。或いは、1本のヘッド63に対して分注チップ60及びチップ6を交互に着脱するようにしても良い。ヘッド63の中空部内にはピストン機構が搭載されており、該ピストン機構の動作によって分注チップ60の先端開口60H若しくはチップ6の先端開口6Hに吸引力及び吐出力が与えられる。ヘッド本体62には、前記ピストン機構の動力部と、ヘッド63を上下方向に移動させる昇降機構及びその動力部が内蔵されている。

[0023] 細胞移動装置Sの動作を説明する。まず、分注チップ60がヘッド63に装着されたヘッドユニット61が、分注容器100の上空へ移動される。ヘッド63が下降され、分注チップ60の先端開口60Hが分注容器100の細胞懸濁液LCへ浸漬される。この状態でヘッド63に吸引力が発生され、細胞懸濁液LCが分注チップ60内に吸引される。その後、ヘッド63が上昇されると共に、ヘッドユニット61が選別容器1の上空位置へ移動される。ヘッド63が再び下降され、分注チップ60の先端開口60Hが選別容器

1の培地Lに浸漬された状態で、分注チップ60内に保持された細胞懸濁液LCが吐出される。つまり、細胞Cがディッシュ10上に撒かれる（図1A参照）。

[0024] 細胞Cのディッシュ10からマイクロプレート4への移動に際しては、チップ6がヘッド63に装着されたヘッドユニット61が、選別容器1の上空へ移動される。その前段階で、ディッシュ10に担持された細胞Cの本実施形態に係る撮像と、その撮像画像に基づいた使用可能な細胞Cの選別とが実行され、抽出対象の細胞Cの座標が求められている。そして、ヘッド63が下降され、チップ6の先端開口6Hが上部開口1Hを通してディッシュ10の上面にアクセスする。この状態でヘッド63に吸引力が発生され、ディッシュ10から使用可能な細胞Cがチップ6内に吸引される。その後、ヘッド63が上昇されると共に、ヘッドユニット61がマイクロプレート4の上空位置へ移動される。ヘッド63が再び下降され、マイクロプレート4のウェル41内にチップ6内の細胞Cが吐出される。

[0025] [ディッシュの構成]

図2は、選別容器1の斜視図、図3は、ディッシュ10の上面図、図4は、図3のI-V-I'V線断面図である。選別容器1は、底皿11、外周壁12、内周壁13及び天壁14を備える。底皿11は、選別容器1の底部を構成する上面開口の円柱型の皿部材である。外周壁12、内周壁13及び天壁14は、底皿11に被せられる蓋部材を構成している。外周壁12は底皿11の側周壁よりも径大の部分、内周壁13は、外周壁12の内部に配置された角筒状の部分である。天壁14は、選別容器1の上面側において、上部開口1H以外の領域を覆う板部材である。

[0026] 内周壁13は、上部開口1Hを区画する壁であり、上部開口1Hから下方に向けて開口面積が徐々に縮小するように傾斜している。天壁14には、上下方向への貫通孔からなる作業孔15が穿孔されている。この作業孔15を通して、選別容器1のキャビティへの培地Lの注液、薬品類の注液、若しくは培地Lの吸液又は廃液などの作業が行われる。さらに天壁14には、選別

容器 1 のキャビティ内の気圧調整を行うための配管接続口 1 6 が設置されている。

[0027] ディッシュ 1 0 は、透光性部材によって形成されたディッシュ本体 2 と、該ディッシュ本体 2 に形成される複数の保持凹部 3 とを備えている。ディッシュ本体 2 は、所定の厚みを有する平板状の部材からなり、上面 2 1 と下面 2 2 とを有する。上面 2 1 には、移動対象となる細胞 C を保持する複数の保持凹部 3 が設けられている。ディッシュ 1 0 は、下面 2 2 が選別容器 1 の底皿 1 1 に対して間隔を置いた状態で、内周壁 1 3 の下端部において保持される。ディッシュ 1 0 は、選別容器 1 内の培地 L 中に浸漬されている。つまり、ディッシュ 1 0 の上面 2 1 が培地 L の液面よりも下方に位置するよう、選別容器 1 に培地 L が注液される。

[0028] 保持凹部 3 の各々は、開口部 3 1、底部 3 2、筒状の壁面 3 3、孔部 3 4（排出孔）及び稜線部 3 5 を含む。本実施形態では、上面視で正方形の保持凹部 3 がマトリクス状に配列されている例を示している。開口部 3 1 は、上面 2 1 に設けられた正方形の開口であり、選別用のチップ 6 の先端開口 6 H の進入を許容するサイズを有する。底部 3 2 は、ディッシュ本体 2 の内部であって、下面 2 2 の近くに位置している。底部 3 2 は、中心（前記正方形の中心）に向けて緩く下り傾斜する傾斜面である。筒状の壁面 3 3 は、開口部 3 1 から底部 3 2 に向けて鉛直下方に延びる壁面である。孔部 3 4 は、底部 3 2 の前記中心と下面 2 2 との間を鉛直に貫通する貫通孔である。孔部 3 4 の形状は上面視で正方形であり、開口部 3 1 と同心である。稜線部 3 5 は、上面 2 1 に位置し、各保持凹部 3 の開口縁となる部分であって、保持凹部 3 同士を区画する稜線である。なお、保持凹部 3 の上面視形状は、丸形、三角形、五角形、六角形等であってもよく、これらがハニカム状、直線状、ランダムにディッシュ本体 2 へ配置されていても良い。この保持凹部 3 の態様については、図 7 に基づき後記でさらに詳述する。

[0029] 各保持凹部 3 の底部 3 2 及び筒状の壁面 3 3 は、細胞 C を収容する収容空間 3 H を区画している。収容空間 3 H には、一般的には 1 個の細胞 C が収容

されることが企図されている。従って、保持凹部 3 は、ターゲットとする細胞 C のサイズに応じて設定される。但し、多数の細胞 C を含む細胞培養液を選別容器 1 に分注する作業では、一つの保持凹部 3 に複数の細胞 C が入り込んでしまう場合がある。孔部 3 4 は、所望のサイズ以外の小さな細胞や夾雑物を収容空間 3 H から逃がすために設けられている。従って、孔部 3 4 のサイズは、所望のサイズの細胞 C は通過できず、所望のサイズ以外の小さな細胞や夾雑物を通過させるサイズに選ばれている。これにより、選別対象となる細胞 C は保持凹部 3 にトラップされる一方で、夾雑物等は孔部 3 4 から選別容器 1 の底皿 1 1 に落下する。

[0030] 図 5 は、選別容器 1 における実際のディッシュ 1 0 の配置例を示す図である。ここでは、4 枚の四角形の小ディッシュ 1 0 A、1 0 B、1 0 C、1 0 D が、1 つの大きな四角形を作るように配列されてなるディッシュ 1 0 を例示している。ミクロンオーダーの細胞 C を保持させるディッシュ 1 0 の保持凹部 3 は微小サイズとなり、ディッシュ本体 2 としても自ずと薄肉のプレートが用いられることとなる。この場合、プレートサイズを大きくするとプレートの平面度が出難くなるため、小サイズの小ディッシュ 1 0 A ~ 1 0 D を集合させて所要のサイズのディッシュ 1 0 を形成することが多い。マイクロプレート 4 についても同様である。

[0031] 図 5 には、カメラユニット 5 によるディッシュ 1 0 の撮影範囲 A V の一例も示されている。ミクロンオーダーの細胞 C を撮像する光学系の画角は、自ずと小さくなる。一般的には、画角 = 2 mm 程度のカメラが用いられる。従って、カメラユニット 5 による 1 回の撮像では、到底ディッシュ 1 0 の全域をカバーすることはできない。このため、ディッシュ 1 0 の一部を順次カメラユニット 5 で撮像する手法が採られる。図 5 では、小ディッシュ 1 0 A の約 1 / 4 程度をカバーする撮影範囲 A V が描かれているが、実際は 1 枚の小ディッシュ 1 0 A の全域をカバーするだけで、数十回 ~ 1 0 0 回程度の撮像が必要となる。従って、図 5 の例では 4 枚の小ディッシュ 1 0 A ~ 1 0 D が用いられているので、その 4 倍の撮像動作が必要となる。

[0032] [ディッシュ上の細胞の撮像方法]

図6は、本実施形態に係る細胞Cの撮像方法の手順を示す図である。細胞Cの撮像方法は、順次実行される、ディッシュ10を準備しこれを所定位置への配置する第1ステップ#1、ディッシュ10の稜線部35（形状特徴部）の高さ位置を認識する第2ステップ#2、細胞Cをディッシュ10の保持凹部3に收容させる第3ステップ#3、細胞Cを保持しているディッシュ10をカメラユニット5で撮像する第4ステップ#4、及び、前記撮像により得られた画像に基づいて細胞Cの形状を特定（評価）する第5ステップ#5を含んでいる。以下、各ステップについて説明する。なお、第2ステップ#2よりも先に第3ステップ#3を実行する態様としても良い。

[0033] <第1ステップ>

第1ステップ#1では、細胞Cの選別及び撮像に好適な保持凹部3を備えるディッシュ10が準備される。図7は、本実施形態で用いられるディッシュ10の詳細を説明するための断面図である。上述の通りディッシュ10は、上面21と下面22とを有するディッシュ本体2と、上面21に開口部31を有し上面21から下面22に向けて延びる保持凹部3とを備える。図7には、保持凹部3の孔芯位置に上面21及び下面22と直交する垂直線Vが描かれている。保持凹部3が延びる方向は、垂直線Vが延びる垂直方向である。

[0034] ディッシュ本体2を構成する透光性材料としては特に限定されないが、たとえば、熱可塑性樹脂、熱硬化性樹脂、光硬化性樹脂等を採用することが好ましい。より具体的には、透光性材料として、ポリエチレン樹脂、ポリエチレンナフタレート樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリイミド樹脂、ポリ塩化ビニル樹脂、シクロオレフィンポリマー（COP）、シクロオレフィンコポリマー（CPC）、含ノルボルネン樹脂、ポリエーテルスルホン樹脂、ポリエチレンナフタレート樹脂、セロファン、芳香族ポリアミド樹脂、ポリ（メタ）アクリル酸メチル等の（メタ）アクリル樹脂、ポリスチレンやスチレンーアクリロニトリル共重合体等のスチレン樹脂、ポリカーボネート樹脂、ポリ

エステル樹脂、フェノキシ樹脂、ブチラール樹脂、ポリビニルアルコール、エチルセルロースやセルロースアセテートやセルロースアセテートブチレート等のセルロース系樹脂、エポキシ樹脂、フェノール樹脂、シリコン樹脂、ポリ乳酸等が挙げられる。

[0035] 上記の中でも、耐熱性COPを用いることが望ましい。COPは、透明性に優れるため、ディッシュ10に担持された細胞Cを下面22側から撮像する場合に有利となり、耐熱性を具備させることで加熱滅菌処理に耐えることができる。さらに、COPはタンパク質が付着し難い特性を有しており、細胞Cがディッシュ10に付着しないようにすることができる。

[0036] 保持凹部3は、上面21から下面22にかけて、稜線部35、開口テーパー部31T、筒状の壁面33、底部32及び孔部34を備えている。これら各部の繋ぎ目を境界として、図7では保持凹部3を4つの特徴部分、すなわち第1部分P1、第2部分P2、第3部分P3及び第4部分P4に区分している。つまり保持凹部3は、上面21から下面22へ向けて、第1部分P1から第4部分P4が順次連設されることによって構成されている。

[0037] 第1部分P1は、上面21と面一の稜線部35と、開口テーパー部31T（第1の傾きを持つテーパー部）とを有する部分である。開口テーパー部31Tは、下方に向けて開口面積が徐々に小さくなるテーパー面からなる。当該テーパー面の垂直線Vに対する傾き角 θ_1 （第1の傾き）は、比較的小さく設定される。好ましい傾き角 θ_1 の範囲は、 $25^\circ \sim 55^\circ$ 程度である。

[0038] 本実施形態では、複数の保持凹部3がマトリクス配置されており、一の保持凹部3の開口テーパー部31Tの頂点と、他の保持凹部3の開口テーパー部31Tの頂点同士が隣接することで、上面21に稜線部35が形成されている。つまり、隣接する開口テーパー部31Tによって上面21に尖った峰が形成され、上面21の残る部分は開口部31である。従って、上面21の側に細胞懸濁液LCが撒かれた場合でも、細胞Cは上面21に滞留せず、開口テーパー部31Tによって収容空間3Hに導かれる。上記の尖った峰の好ましい頂角 θ_A は、 $50^\circ \sim 110^\circ$ 程度である。

[0039] 第2部分P2は、筒状の壁面33が存在する領域であり、第1～第4部分P1～P4の中で、最も上下方向の長さが長い部分である。筒状の壁面33は、垂直線Vに対して実質的に平行な内壁面（垂直壁面）を持つ筒状部分からなり、細胞Cを收容するための收容空間3Hの大部分を区画している。細胞Cが保持凹部3に收容される際、筒状の壁面33は重力で沈降する細胞Cを下方へガイドする。この際、筒状の壁面33は垂直壁面であるので、細胞Cは抵抗を受けることなく自重で沈降することができる。さらに、筒状の壁面33は、收容された細胞Cの水平方向の移動を規制する役目も果たす。また、後記で詳述するが、筒状の壁面33が垂直壁面であるゆえ、カメラユニット5でディッシュ本体2の下面22の側からディッシュ10を撮像すると、その画像に筒状の壁面33が映り込まないようにすることができる。

[0040] 第3部分P3は、底部32が存在する領域である。底部32は、下方に向けて開口面積が徐々に小さくなるテーパ面からなり、筒状の壁面33の下端から孔部34の上端まで延びている。当該テーパ面は、細胞Cの接地面となる。底部32のテーパ面の垂直線Vに対する傾き角 $\theta 2$ （第2の傾き）は、傾き角 $\theta 1$ よりも大きい傾きに設定されている。好ましい傾き角 $\theta 2$ の範囲は、 $55^{\circ} \sim 80^{\circ}$ 程度である。このような傾き角 $\theta 2$ とすることで、細胞Cを安定的に底部32へ接地させることができると共に、底部32のテーパ面に沿って夾雑物を孔部34へ案内することができる。さらに、第3部分P3の肉厚を薄くすることができる。図3に示されている通り、上面21の側から見た平面視では、底部32は4つの台形片からなり、錐台の形状を備えた面である。

[0041] 第4部分P4は、保持対象の細胞Cが通過できないサイズの孔部34を有する底板からなる部分である。孔部34は、保持凹部3の孔芯（図7の垂直線Vが相当）の位置に配置された、垂直方向に延びる孔である。図3に示されているように、下面22の側から見た平面視では、孔部34は正方形の形状を備えている。これにより、一般に略球形の形状を有する細胞C（細胞凝集塊）と孔部34との区別が、画像上で容易に行えるようになる。なお、孔

部 3 4 は、三角形や五角形などの多角形としても良い。また、細胞 C との区別が容易に行えるならば、円形の孔部 3 4 としても良い。

[0042] 第 4 部分 P 4 は、保持凹部 3 を構成する第 1 ～第 4 部分 P 1 ～P 4 の中で、垂直線 V の方向の厚さにおいて最も薄い部分である。第 4 部分 P 4 は、第 3 部分 P 3 の底部 3 2 に接地した細胞 C とカメラユニット 5 との間に位置することになる。このため、第 3 部分 P 3 に加えて第 4 部分 P 4 の存在は、細胞 C の撮像に際し、光量損失や像歪みの発生要因となり得る。しかし、第 4 部分 P 4 が最も薄肉とされ、底部 3 2 もまた垂直線 V に対して比較的大きい傾き角 $\theta 2$ のテーパ面とされて第 3 部分 P 3 を薄肉化しているので、画像劣化の要因を最小限に抑制することができる。

[0043] 以上の第 1 ～第 4 部分 P 1 ～P 4 の特徴を有するディッシュ 1 0 が準備され、これが所定位置に水平に配置される。本実施形態では、ディッシュ 1 0 は選別容器 1 の上部開口 1 H に臨み、培地 L に浸漬された状態で配置される。

[0044] <第 2 ステップ>

第 2 ステップ # 2 では、第 1 ステップ # 1 で所定位置に据え付けられたディッシュ 1 0 の高さ位置のキャリブレーションが行われる。具体的には、カメラユニット 5 でディッシュ 1 0 を撮像し、予め定められたディッシュ 1 0 の所定の形状特徴部の高さ位置を認識する処理が行われる。本実施形態では、認識される前記形状特徴部が、ディッシュ 1 0 の上面 2 1 に形成された稜線部 3 5 である例を示す。稜線部 3 5 は一例であり、前記形状特徴部はディッシュ 1 0 の他の部位であっても良く、例えば孔部 3 4 の下端エッジであっても良い。

[0045] 図 8 は、第 2 ステップ # 2 における稜線部 3 5 の撮像態様を模式的に示す図である。図 8 では選別容器 1 が簡略的に描かれており、ディッシュ 1 0 は、水平状態で選別容器 1 内に据え付けられ、上面 2 1 が培地 L の液面下であり、下面 2 2 が容器底面から離間した状態で培地 L 中に浸漬されている。カメラユニット 5 は、下面 2 2 の側に配置され、下方からディッシュ 1 0 の画

像の撮像動作を実行する。なお、ディッシュ10を選別容器1へ据え付けた後であって培地Lを注液する前に、前記撮像動作を行うようにしても良い。

[0046] カメラレンズ51がフォーカスを合わせるのは、稜線部35である。選別容器1、ディッシュ10及び培地Lが透光性を有するので、下面22の側からの稜線部35の撮像が可能である。このフォーカス合わせには、例えばコントラスト検出方式を採用することができる。具体的には、稜線部35の下方であると確定できる所定位置を撮像始点として、数十ミクロン単位でフォーカス位置を上方にシフトさせつつ、カメラユニット5にディッシュ10の画像を撮像させる。撮像終点は、稜線部35の上方であると確定できる所定位置である。つまり、フォーカス位置の上方シフトによりコントラスト値が徐々に上がり、最も高くなった状態（稜線部35に対する合焦位置）後、徐々にコントラスト値が低下することが確認できる位置が撮像終点となる。

[0047] 得られた画像の中で、稜線部35と推定されるラインが最も高いコントラストで写っている画像が撮像されたフォーカス位置を合焦位置と扱い、そのフォーカス距離に基づいて稜線部35の高さ位置が求められる。このように、前記撮像動作の際のフォーカス情報に基づいて、形状特徴部としての稜線部35の高さ位置が認識される。形状特徴部は稜線部35以外でも良いが、稜線部35は、細胞Cが接地する第3部分P3からは比較的遠い上面21にあり、また隣接する保持凹部3の間に位置するので細胞Cによって隠されることはなく、しかも単純な直線形状であるので、形状的特徴として画像上で認識し易い利点がある。

[0048] 第1ステップ#1にてディッシュ10を所定位置に配置しても、完全な水平状態を作ることは困難であり、またディッシュ10の反りなども生じ得る。このため、一つの稜線部35の高さ位置を求めるだけでは、全ての保持凹部3の基準位置とはなり難く、理想的には全ての保持凹部3に対応する稜線部35の高さ位置を求めることが望ましい。しかしながら、図5に基づき上述した通り、カメラユニット5の画角は小さく1枚のディッシュの全域を撮像するには多数回の撮像を要するため、全ての保持凹部3に対応する稜線部

35を撮像したのでは手間が掛かりすぎる。従って、ディッシュ10の要部のみを撮像し、得られた各要部の稜線部35の高さ位置に基づき、ディッシュ10の上面21の任意位置における稜線部35の高さ位置を算出する方式を採用することが望ましい。

[0049] 図9は、稜線部35の撮像箇所の例を示す平面図である。ディッシュ本体2は、四角形の平板である。この場合、前記要部として、ディッシュ本体2の四隅に位置する保持凹部3A、3B、3C、3D（これらの付近の保持凹部でも良い）と、ディッシュ本体2の中央の保持凹部3Eとが選ばれ、これらに対応する各稜線部35の高さ位置が、例えば上掲のコントラスト検出方式にて認識される。保持凹部3Eは、ディッシュ本体2の四隅の対角線の交点付近に存在する保持凹部である。なお、ディッシュ本体2は、四角形以外の多角形、円形、楕円形などの形状を有するものとしても良い。また、実際に撮像されるのは、図5で説明した通り撮影範囲AVの範囲に含まれる保持凹部3であり、選ばれた保持凹部3A～3Eを含むように撮影範囲AVが設定される。

[0050] このように、ディッシュ本体2の上面21の互いに離間した5箇所の稜線部35の高さ位置を認識しておくことで、上面21の任意の位置における稜線部35の高さ位置を算出することが可能となる。従って、後段の第4ステップ#4において、細胞Cの撮像の対象となる任意の保持凹部3の稜線部35の高さ位置情報を得るに際し、ディッシュ10が備える全ての保持凹部3について稜線部35の高さ位置を認識せずとも、前記四隅付近及び前記交点付近の稜線部35の高さ位置の情報に基づいて算出することが可能となる。従って、撮像に要する時間を短縮することができる。勿論、全ての保持凹部3について稜線部35の高さ位置を認識させるようにしても良い。また、保持凹部3A～3Eを撮影する際の撮影範囲AVの範囲に含まれる全ての保持凹部3の各稜線部35の高さ位置を求めるようにしても良い。そして、これらの平均値を算出し、当該平均値をディッシュ本体2の四隅及び中央の各々高さ位置情報と扱うようにしても良い。

[0051] <第3ステップ>

第3ステップ#3は、細胞Cをディッシュ10の保持凹部3に收容させるステップである。図1Aに基づき説明した通り、ディッシュ10が選別容器1内の培地L（液体）中に浸漬された状態で、上面21の側から細胞Cを含む細胞懸濁液LCが撒かれる。細胞Cは、重力により第1部分P1（開口部31）を通して保持凹部3内へ導かれる。さらに当該細胞Cは、第2部分P2（筒状の壁面33）に沿って沈降され、第3部分P3（底部32）に接地する。

[0052] 図10は、細胞Cがディッシュ10の保持凹部3へ收容される態様を示す断面図である。細胞懸濁液LCには、各種サイズ及び形状の細胞C（図10では単純に円で描いている）と、不可避免的に混入する夾雑物Cxとが含まれている。これらは重力により、培地L中を沈降し、ディッシュ本体2の上面21に至る。保持凹部3の開口部31上に沈降した細胞Cは、そのまま收容空間3Hに入る。一方、保持凹部3間の壁部の上に沈降した細胞Cは、稜線部35に衝突する。しかし、第1部分P1において稜線部35は尖った峰によって形成されており、稜線部35の下方に続く開口テーパ部31Tは比較的急峻な傾きを持つ。このため、当該細胞Cは開口テーパ部31Tに案内され、第2部分P2にスムーズに進入する。

[0053] 第2部分P2では、細胞Cは、垂直方向に延びる筒状の壁面33によって水平方向の移動を規制されつつ、自重で沈降する。この沈降の際、細胞Cは実質的に筒状の壁面33から抵抗を受けない。沈降が進むと、やがて細胞Cは第3部分P3に至り、底部32のテーパ面に接触する。保持凹部3の孔芯（孔部34の位置）から外れた位置に接面した細胞C（図10において点線で示す細胞C）は、底部32のテーパ面にガイドされて孔部34の上の位置に落ち着く。細胞Cのサイズは孔部34の開口サイズよりも大きいので、細胞Cはこれ以上沈降することはない。一方、夾雑物Cxも底部32に接面し、孔部34へ向けてガイドされる。夾雑物Cxのサイズは孔部34の開口サイズよりも小さいので、孔部34（第4部分P4）を通過する。その後、夾

雑物C_xは、選別容器1の底皿11（図2）で受け取られる。従って、保持凹部3には細胞Cだけが保持される。なお、一つの保持凹部3に複数個の細胞Cが進入した場合、孔部34を通して上方に向かう噴流を発生させ、細胞Cを分散させるようにしても良い。

[0054] <第4ステップ>

第4ステップ#4では、細胞Cが保持凹部3に保持された状態のディッシュ10の画像の撮像動作が、カメラユニット5にて行われる。図11は、ディッシュ10が撮像されている状態を示す断面図である。カメラユニット5は、光像を光電変換する撮像素子53と、撮像光学系としてのカメラレンズ51及び絞り54とを含む。図略の照明系によってディッシュ10が照明された状態で、ディッシュ本体2の下面22の側からカメラユニット5により細胞C1、C2を保持するディッシュ10の画像が撮像される。

[0055] 細胞C1、C2は、そのサイズに応じて水平方向に幅を持つ。このため、細胞C1、C2の光像M1、M2は、相応の水平幅を持つ物体として撮像素子53に結像される。このため、細胞C1、C2の輪郭を画像としてキャプチャーすることができる。これに対し、保持凹部3の筒状の壁面33は垂直壁であるので、光軸上からずれた位置にあるとしても、水平方向には殆ど幅を持たない。従って筒状の壁面33の光像M3は、撮像される画像には殆ど写り込まない（幅の狭い線として写り込む程度）。また、保持凹部3の第3部分P3及び第4部分P4は、既述の通り薄肉化されているので、光量損失や像歪みは少ない。これらのことは、キャプチャーされる細胞C1、C2の画像の明確化に貢献する。

[0056] 上記の撮像動作に際しては、第2ステップ#2で得られた稜線部35の高さ位置の情報が利用される。具体的には、稜線部35の高さ位置を基準位置とし、この基準位置から所定距離だけ下方の位置を撮像始点とする。この所定距離は、保持凹部3の深さなどを考慮して、稜線部35から保持凹部3に担持された細胞Cの下面付近に相当する位置までの距離に応じて設定することができる。例えば、垂直方向において、第1部分P1と第2部分P2との

合算長さ（稜線部 3 5 から筒状の壁面 3 3 の下端までの距離）が $293\ \mu\text{m}$ 、第 1 部分 P 1 ～第 3 部分 P 3 までの合算長さが $360\ \mu\text{m}$ 、第 1 部分 P 1 ～第 4 部分 P 4 の合算長さ（上面 2 1 ～下面 2 2 の距離）が $390\ \mu\text{m}$ のディッシュ 1 0 であるならば、前記所定距離は、例えば $360\ \mu\text{m}$ とすることができる。

[0057] 上記撮像始点においてカメラユニット 5 にディッシュ 1 0 の画像を撮像させたら、続いて、数十ミクロン単位でフォーカス位置を上方にシフトさせつつ、カメラユニット 5 にディッシュ 1 0 の画像を複数回撮像させる。上方にシフトさせるピッチは、例えば $20\ \mu\text{m}$ ～ $40\ \mu\text{m}$ である。撮像終点は、稜線部 3 5 の下方の適宜な位置である。これらの撮像で取得された画像のうち、例えば細胞 C の輪郭と推定されるラインが最も高いコントラストで写っている画像を選択し、当該画像に係る画像データを次段の第 5 ステップ # 5 の画像処理に供するようにすることができる。上記とは逆に、撮像始点をディッシュ 1 0 の上方位置に設定し、フォーカス位置を徐々に下方にシフトさせるようにしても良い。

[0058] <第 5 ステップ>

第 5 ステップ # 5 では、前記撮像動作により得られたディッシュ 1 0 の画像データに基づき、細胞 C の形状や色合いを特定する。例えば、第 4 ステップ # 4 で得られた画像データに画像処理を施し、細胞 C の存在を画像上で認識する処理、認識された細胞 C の形状を認識する処理などが実行される。さらに、特定された形状や色合いに基づき、当該細胞 C が実験や検査に用いることができる健全な細胞であるか否かの評価がなされる。

[0059] 第 4 ステップ # 4 で得られた画像には、不可避免的にディッシュ 1 0（保持凹部 3）の形状が映り込むことになる。従って、上記の画像処理では、ディッシュ 1 0 の形状部分を画像からフィルタリング処理することが望ましい。図 1 2（A）は、第 4 ステップ # 4 の撮像動作により得られた保持凹部 3 及び細胞 C の画像の一例である。当該画像には、稜線部 3 5 に相当する線、筒状の壁面 3 3 及び孔部 3 4 の輪郭線、底部 3 2 の四角錐台の線が映り込んで

いる。これらの線はいずれも直線であり、汎用の直線エッジの検出処理等で容易に検出することができる。特に、孔部３４は細胞Ｃと完全にオーバーラップする形で画像に映り込むが、本実施形態の孔部３４は正方形であるため、画像上での検出が容易である。図１２（Ｂ）は、検出された直線を消去する画像処理を行った後の細胞Ｃの画像を示す図である。前記画像処理により、細胞Ｃのクリアな画像を得ることができる。

[0060] [細胞移動装置の電氣的構成]

図２３は、細胞移動装置Ｓの電氣的構成を示すブロック図である。細胞移動装置Ｓは、ヘッドユニット６１（図１Ａ及び図１Ｂ）の移動、ヘッド６３の位置決め及び昇降、ヘッド６３による細胞Ｃの吸引及び吐出動作、並びにカメラユニット５の移動及び撮像動作を制御する制御部７を備える。また、細胞移動装置Ｓは、カメラユニット５を水平移動させる機構としてカメラ軸駆動部５５、ヘッドユニット６１を水平移動させる機構としてヘッドユニット軸駆動部６４、ヘッド６３を昇降させる機構並びに吸引及び吐出動作を行わせる機構としてヘッド駆動部６５、及び表示部６６を備えている。

[0061] カメラ軸駆動部５５は、ガイドレール５２に沿ってカメラユニット５を移動させる駆動モータを含む。好ましい態様は、ガイドレール５２に沿ってボールねじが敷設され、該ボールねじに螺合されたナット部材にカメラユニット５が取り付けられ、前記駆動モータが前記ボールねじを正回転又は逆回転させることにより、カメラユニット５を目標位置へ移動させる態様である。

[0062] ヘッドユニット軸駆動部６４は、ガイドレール６１Ｒに沿ってヘッドユニット６１（ヘッド本体６２）を移動させる駆動モータを含む。好ましい態様は、カメラ軸駆動部５５と同様に、ボールねじ及びナット部材を具備し、前記駆動モータが前記ボールねじを正回転又は逆回転させる態様である。なお、ヘッド本体６２をＸＹの２方向に移動させる場合は、ガイドレール６１Ｒに沿った第１ボールねじ（Ｘ方向）と、第１ボールねじに螺合された第１ナット部材に装着された移動板に搭載された第２ボールねじ（Ｙ方向）とを用いる。この場合、ヘッド本体６２は第２ボールねじに螺合された第２ナット

部材に装着される。

- [0063] ヘッド駆動部 65 は、ヘッド 63 を上下方向に移動させる昇降機構のための動力部、中空ロッドからなるヘッド 63 の中空部内に組み付けられるピストン機構を駆動するための動力部（例えばモータ）が相当する。上述の通り、昇降機構はヘッド本体 62 からヘッド 63 が下方に延び出した下降位置と、ヘッド本体 62 に大部分が収容された上昇位置との間で、ヘッド 63 を上下移動させる。ピストン機構の動力部は、ヘッド 63 内に配置されたピストン部材を昇降させることで、ヘッド 63 に装着されたチップ 6 の先端開口 6H 若しくは分注チップ 60 の先端開口 60H に、吸引力及び吐出力を発生させる。
- [0064] 表示部 66 は、液晶ディスプレイ等からなり、カメラユニット 5 により撮影された画像や、制御部 7 によって画像処理等がなされた画像などを表示する。
- [0065] 制御部 7 は、マイクロコンピュータ等からなり、所定のプログラムが実行されることで、撮像制御部 71、画像メモリ 72、画像処理部 73、軸制御部 74、ヘッド制御部 75 及び記憶部 76 を備えるように機能する。撮像制御部 71 は、カメラユニット 5 の移動動作及び撮像動作、特に上述の第 2 ステップ # 2 及び第 4 ステップ # 4 で説明したディッシュ 10 の撮像動作を制御するものであり、機能的に、カメラ移動制御部 711、稜線検出部 712、稜線高さ算出部 713 及び細胞検出部 714 を備える。
- [0066] カメラ移動制御部 711 は、カメラ軸駆動部 55 を制御して、カメラユニット 5 をガイドレール 52 に沿って移動させる動作を制御する。また、カメラ移動制御部 711 は、ディッシュ 10 を撮像する際、カメラユニット 5 を微小移動させる。既述の通り、カメラユニット 5 の画角はディッシュ 10 のサイズに比べて相当に小さいので、カメラ移動制御部 711 は、カメラ軸駆動部 55 を制御してカメラユニット 5 を XY 方向に微小移動させつつ、ディッシュ 10 の撮像動作を実行させる。
- [0067] 稜線検出部 712 は、上記第 2 ステップ # 2 で説明した稜線部 35 を検出

するための撮像動作を制御する。稜線高さ算出部 7 1 3 は、稜線検出部 7 1 2 により検出された幾つかの保持凹部 3（例えばディッシュ 1 0 の四隅及び中央）の稜線部 3 5 の高さ位置に基づき、任意の保持凹部 3 の稜線部 3 5 の高さ位置を算出する処理を行う。細胞検出部 7 1 4 は、上記第 4 ステップ # 4 で説明した細胞 C を検出するための撮像動作を制御する。

[0068] 画像メモリ 7 2 は、前記マイクロコンピュータに具備されている記憶領域や外部ストレージ等からなり、カメラユニット 5 により取得された画像データを一時的に格納する。

[0069] 画像処理部 7 3 は、カメラユニット 5 が撮像し、画像メモリ 7 2 に格納された画像データを画像処理する。画像処理部 7 3 は、細胞 C が分注された後のディッシュ 1 0 の画像に基づき、上記第 5 ステップ # 5 で説明したような、ディッシュ 1 0 上における細胞 C の存在を画像上で認識する処理、細胞 C の分布を認識する処理、認識された細胞 C の形状を認識する処理などを、画像処理技術を用いて実行する。また、画像処理部 7 3 は、取得された画像から保持凹部 3 に相当する線（稜線部 3 5）をフィルタリングする処理等を実行する。

[0070] 軸制御部 7 4 は、ヘッドユニット軸駆動部 6 4 の動作を制御する。すなわち、軸制御部 7 4 は、ヘッドユニット軸駆動部 6 4 を制御することで、ヘッドユニット 6 1 を水平方向の所定の目標位置へ移動させる。ヘッド 6 3（チップ 6 又は分注チップ 6 0）の、分注容器 1 0 0 と選別容器 1 との間の移動、吸引対象となるディッシュ 1 0 の保持凹部 3 の鉛直上空での位置決め、並びに吐出対象となるマイクロプレート 4 のウェル 4 1 の鉛直上空での位置決め等は、軸制御部 7 4 によるヘッドユニット軸駆動部 6 4 の制御によって実現される。

[0071] ヘッド制御部 7 5 は、ヘッド駆動部 6 5 を制御する。ヘッド制御部 7 5 は、ヘッド駆動部 6 5 の前記昇降機構のための動力部を制御することにより、制御対象とするヘッド 6 3 を所定の目標位置に向けて昇降させる。また、ヘッド制御部 7 5 は、制御対象とするヘッド 6 3 についての前記ピストン機構

の動力部を制御することにより、所定のタイミングで当該ヘッド 63 に装着されているチップ 6 又は分注チップ 60 の先端開口 6H、60H に吸引力又は吐出力を発生させる。

[0072] 記憶部 76 は、細胞移動装置 S における各種設定値やデータを記憶する。この他、記憶部 76 は、カメラユニット 5 によるディッシュ 10 の撮像シーケンス、稜線検出部 712 により検出された稜線部 35 の高さ位置データ等も記憶する。

[0073] [撮像動作のフロー]

続いて、本実施形態の細胞移動装置 S による細胞 C の撮像動作のフローについて説明する。図 14 は、前記撮像動作の全体フローを示すフローチャート、図 15 は、稜線検出処理の詳細フローチャート、図 16 は、細胞撮像処理の詳細フローチャートである。ここでは、図 5 に例示したように、4 枚のディッシュ 10（ディッシュ番号 N = 1 ~ 4）が選別容器 1 に配置されているケースの撮像動作例を示す。図 14 のフローが開始されるのは、図 6 に示した第 1 ステップ # 1 におけるディッシュ 10 の準備及び選別容器 1 への配置が完了した後である。

[0074] 図 14 を参照して、撮像動作が開始されると、制御部 7 はディッシュ 10 の配置データの読み込みを行う（ステップ S1）。配置データとは、所定の作業ステージ上に配置された選別容器 1 中における、4 枚のディッシュ 10 の位置を特定する X Y 座標データである。ここでは 4 枚のディッシュ 10 が用いられる例を示すが、5 枚以上のディッシュ 10 を用いても、或いは 3 枚以下のディッシュ 10 を用いても良い。

[0075] 次に、撮像制御部 71 の主に稜線検出部 712 により、ディッシュ 10 の稜線部 35 の高さ位置を検出する処理が実行される（ステップ S2）。この稜線検出処理は、図 6 の第 2 ステップ # 2 において説明した稜線部 35 の認識に相当する。図 15 のフローチャートでは、図 9 に示したように、ディッシュ本体 2 の上面 21 の互いに離間した 5 箇所の稜線部 35 の高さ位置を認識する場合の処理を例示している。

[0076] その後、軸制御部 7 4 及びヘッド制御部 7 5 がヘッドユニット軸駆動部 6 4 及びヘッド駆動部 6 5 を介してヘッドユニット 6 1 を動作させて、図 1 A に例示しているように、分注チップ 6 0 から選別容器 1 に細胞懸濁液 LC を吐出させる。この動作により、ディッシュ 1 0 に細胞 C が撒かれる（ステップ S 3）。細胞 C が保持凹部 3 に收容されるまで、つまり図 6 の第 3 ステップ # 3 が完了するまで、暫く待ち時間が設定され、その後に次段のステップ S 4 が開始される。なお、ステップ S 3 をステップ S 2 に先行して実行させても良い。

[0077] しかる後、撮像制御部 7 1 の主に細胞検出部 7 1 4 により、ディッシュ 1 0 に担持された細胞 C を撮像する処理が実行される（ステップ S 4）。この細胞撮像処理は、図 6 の第 4 ステップ # 4 において説明したディッシュ 1 0 の撮像に相当する。図 1 6 のフローチャートでは、図 5 に示したように、4 枚のディッシュ 1 0 A ~ 1 0 D の各々につき、ディッシュ全域の撮像には複数回の撮像が必要となる場合の処理を例示している。

[0078] <稜線検出処理>

図 1 5 を参照して、稜線検出処理の詳細を説明する。先ず制御部 7 は、ディッシュ番号 N = 1 に設定し、稜線検出処理対象とする 1 枚目のディッシュ 1 0 を指定する（ステップ S 1 1）。図 5 の例では、例えば小ディッシュ 1 0 A が処理対象に指定される。これを受けてカメラ移動制御部 7 1 1 は、カメラ軸駆動部 5 5 を制御して、カメラユニット 5 を N 番目のディッシュ 1 0 の直下へ移動させる（ステップ S 1 2）。

[0079] より詳しくは、稜線部 3 5 の撮像を行う 5 箇所の保持凹部 3 のうち、最初に撮像を行うように設定されている保持凹部 3 にカメラ光軸が合うように、カメラユニット 5 が移動される。例えば、図 9 に示す左上の角部の保持凹部 3 A の直下である。なお、中央の保持凹部 3 E を最初に撮像するように指定しても良いが、中央部は撓みが生じ易いため他の 4 隅の角部とは高さ位置が相違しがちであることから、角部のいずれかを最初に撮像し、これを残り 4 箇所の撮像の際の基準とすることが好ましい。以下のフローの説明では、図

5の4隅の角部にある保持凹部3A、3B、3C、3Dの各稜線部3を第1、第2、第3、第4角部の稜線部3と呼び、中央の保持凹部3Eの稜線部3を中央部の稜線部3と呼ぶ。

[0080] 第1角部の保持凹部3Aの直下へカメラユニット5が移動されたら、稜線検出部712は、当該第1角部の稜線部高さZ1を検出するための撮像動作をカメラユニット5に実行させる（ステップS13）。具体的には稜線検出部712は、ディッシュ10（稜線部35）の配置位置よりも明らかに下方の所定位置を撮像始点とし、フォーカス位置を所定ピッチで順次上方へシフトさせながらディッシュ10の画像の撮像を行わせる方式で、所定回数の撮像動作をカメラユニット5に実行させる。上記所定ピッチは、例えば数十ミクロンである。所定回数は、所定ピッチの上方へのシフトによって、フォーカス位置が稜線部35の上方に至ると推定できるに足りる回数である。

[0081] 稜線検出部712は、コントラスト検出方式により稜線部高さZ1を検出する。すなわち、稜線検出部712は、上記の所定回数分の撮像により得られた画像の中で、稜線部35と推定されるラインが最も高いコントラストで写っている画像を選択する。そして、稜線検出部712は、最高コントラストの画像が撮像されたフォーカス位置を合焦位置と扱い、そのフォーカス距離に基づいて稜線部高さZ1を検出する。

[0082] 続いて、稜線部高さZ1が検出できたか否かが確認される（ステップS14）。例えば、配置忘れ等の理由で、ディッシュ番号N=1のディッシュ10が所定位置に据え付けられていない場合、ステップS13の検出動作を行っても稜線部高さZ1は検出できないし、他の稜線部高さも当然検出できない。従って、稜線部高さZ1が検出できなかった場合（ステップS14でNO）、そのディッシュ10における稜線検出処理は中止され、処理はステップS20へスキップする。

[0083] 稜線部高さZ1が検出できた場合（ステップS14でYES）、第2角部の保持凹部3Bの直下へカメラユニット5が移動され、当該第2角部の稜線部高さZ2を検出するための撮像動作が実行される（ステップS15）。具

体的には、カメラ移動制御部 7 1 1 がカメラ軸駆動部 5 5 を制御して、カメラユニット 5 を第 2 角部の保持凹部 3 B の直下へ移動させる。そして、稜線検出部 7 1 2 が、ステップ S 1 3 と同様にして、保持凹部 3 B を含む領域の撮像動作をカメラユニット 5 に実行させる。すなわち、所定の撮像始点から、フォーカス位置を所定ピッチで順次上方へシフトさせながら、ディッシュ 1 0 の画像の撮像を行わせる。

[0084] この際、ステップ S 1 3 で得られた稜線部高さ Z 1 の情報が利用される。具体的には、撮像始点が、稜線部高さ Z 1 を基準位置として所定距離だけ下方の位置に設定される。つまり、稜線部高さ Z 1 が既知であるので、稜線部高さ Z 2 が存在する範囲をある程度推定することができる。これにより、撮像シフトの回数を減らし、作業時間を短縮することができる。例えば、稜線部高さ Z 1 の検出では、基準位置が未知であるため、フォーカス位置を所定ピッチで情報へシフトさせる回数が 3 0 回程度必要であるとする、稜線部高さ Z 2 の検出では前記シフトさせる回数を 1 0 回程度に減じることが可能となる。

[0085] 同様にして、第 3 角部の保持凹部 3 C の直下へカメラユニット 5 が移動され、当該第 3 角部の稜線部高さ Z 3 を検出するための撮像動作が実行される（ステップ S 1 6）。続いて、第 4 角部の保持凹部 3 D の直下へカメラユニット 5 が移動され、当該第 4 角部の稜線部高さ Z 4 を検出するための撮像動作が実行される（ステップ S 1 7）。さらに、中央部付近の保持凹部 3 E の直下へカメラユニット 5 が移動され、当該中央部の稜線部高さ Z 5 を検出するための撮像動作が実行される（ステップ S 1 8）。

[0086] 稜線検出部 7 1 2 は、以上の処理で検出した稜線部高さ Z 1 ~ Z 5 のデータを、記憶部 7 6 に記憶する（ステップ S 1 9）。これにより、上面 2 1 の任意の位置における稜線部 3 5 の高さ位置を、稜線部高さ Z 1 ~ Z 5 のデータに基づいて算出することが可能となる。従って、全ての保持凹部 3 についての稜線部高さデータを取得する手間を省くことができる。

[0087] 次に制御部 7 は、ディッシュ番号 N が Max（本実施形態では N = 4）で

あるか否かを確認する（ステップS20）。ディッシュ番号NがMaxでない場合（ステップS20でNO）、ディッシュ番号Nがインクリメントされ（ステップS21）、ステップS12に戻り、次のディッシュ10について同様の処理が実行される。一方、ディッシュ番号NがMaxである場合（ステップS20でYES）、制御部7は処理を終える。

[0088] <細胞撮像処理>

図16を参照して、細胞撮像処理の詳細を説明する。まず制御部7は、ディッシュ番号N=1に設定し、稜線検出処理対象とする1枚目のディッシュ10を指定する（ステップS31）。これを受けてカメラ移動制御部711は、カメラ軸駆動部55を制御して、カメラユニット5をN番目のディッシュ10の直下へ移動させる（ステップS32）。

[0089] 続いて制御部7は、N番目のディッシュ10について、細胞撮像ポイントM=1に設定する（ステップS33）。1枚のディッシュ10に対する細胞撮像ポイントMの数は、カメラユニット5の画角により定まる。例えば、1枚のディッシュ10の全域の撮像に80回の撮像を要するならば、細胞撮像ポイントMのMaxはM=80である。これを受けてカメラ移動制御部711は、カメラ軸駆動部55を制御して、カメラユニット5をM番目の細胞撮像ポイントの直下へ微小移動させる（ステップS34）。

[0090] その後、稜線高さ算出部713が、細胞撮像ポイントMの座標と、記憶部76に格納されている稜線部高さZ1～Z5のデータとを用いて、細胞撮像ポイントMの位置に存在する保持凹部3における稜線部35の高さ位置Zmを算出する（ステップS35）。ディッシュ10に全く反りがなく、且つ、完全に水平に配置されていれば、Z1～Z5=Zmとなる。一方、Z1～Z5にバラツキがあるならば、Zmを囲む3点の高さ位置のXY座標及び傾きと、ZmのXY座標とから、Zmを算出することができる。

[0091] しかる後、細胞検出部714は、算出された高さ位置Zmを基準位置とし、この基準位置から所定距離だけ下方の位置を撮像始点とするフォーカス調整を行う。そして、当該撮像始点において、カメラユニット5に細胞撮像ポ

イントMの位置に存在する保持凹部3に担持されている細胞Cを撮像させる。続いて、細胞検出部714は、数十ミクロン単位でフォーカス位置を上方にシフトさせつつ、カメラユニット5にディッシュ10の画像を複数回撮像させる。これらの撮像で取得された画像のうち、例えば細胞Cの輪郭と推定されるラインが最も高いコントラストで写っている画像が、当該細胞Cの画像として選択される（ステップS36）。

[0092] 次に制御部7は、細胞撮像ポイントMがMaxであるか否かを確認する（ステップS37）。細胞撮像ポイントMがMaxでない場合（ステップS37でNO）、細胞撮像ポイントMがインクリメントされ（ステップS38）、ステップS34に戻り、次の細胞撮像ポイントMについて同様の処理が実行される。一方、細胞撮像ポイントMがMaxである場合（ステップS37でYES）、制御部7はディッシュ番号NがMax（本実施形態ではN=4）であるか否かを確認する（ステップS39）。ディッシュ番号NがMaxでない場合（ステップS39でNO）、ディッシュ番号Nがインクリメントされ（ステップS40）、ステップS32に戻り、次のディッシュ10について同様の細胞撮像処理が実行される。一方、ディッシュ番号NがMaxである場合（ステップS39でYES）、制御部7は処理を終える。

[0093] [主な作用効果]

以上説明した本実施形態に係る細胞移動装置Sによれば、ディッシュ10が備える保持凹部3の第1部分P1に稜線部35と、垂直方向に対して比較的小さい傾きを持つ開口テーパ部31Tが存在するので、第3ステップ#3において細胞懸濁液LCが撒かれたとき、細胞Cはディッシュ10の上面21に滞留することなく、確実に保持凹部3内に導かれる。また、第2部分P2は、鉛直方向に延びる筒状部分からなる筒状の壁面33にて構成されるので、細胞Cは抵抗を受けることなく自重でそのまま沈降できる。

[0094] さらに、細胞Cが接地する第3部分P3の底部32は、垂直方向に対して比較的大きな傾きを持つので、水平により近い接地面となる。このため、細胞Cの接地面からディッシュ10の下面22までの距離を短くでき、第4ス

テップ#4の撮像動作における細胞Cへのフォーカス合わせの際に、ディッシュ10の存在が与える影響を小さくすることができ、また画像の解像度の向上にも寄与する。さらに、第3部分P3のテーパ部の傾きによって、細胞Cを保持凹部3の孔芯に集めることが可能となる。これに加え、保持凹部3の第2部分P2は、垂直方向に対して実質的に平行な内壁面を持つ筒状の壁面33であるので、第4ステップ#4において下面22の側からの撮像によって取得される画像に前記内壁面が映り込み難くなり、画像上での細胞Cの認識性が向上する。また、保持凹部3の第4部分P4には孔部34が備えられているので、撮像の障害物となる夾雑物などを該孔部34から逃がすことができ、細胞Cの認識性が高められる。なお、孔部34は垂直方向に延びる孔であるので、撮像によって取得される画像に孔部34も映り込み難くすることができる。

[0095] また、第2ステップ#2においてディッシュ10の稜線部35の高さ位置が認識され、第4ステップ#4において稜線部35の高さ位置を基準位置として、ディッシュ10の撮像動作が行われる。このため、保持凹部3において細胞Cが接地する第3部分P3と稜線部35との位置関係を把握しておくことで、細胞Cへのフォーカス合わせが迅速に行えるようになり、撮像時間の短縮化を図ることができる。特に稜線部35は、細胞Cが接地する第3部分P3からは比較的遠い上面21にあり、また隣接する保持凹部3の間に位置するので細胞Cによって隠されることはなく、形状的特徴として画像上で認識し易い。従って、基準位置を簡単且つ正確に求めることができる。

[0096] なお、上述した具体的実施形態には以下の構成を有する発明が主に含まれている。

[0097] 本発明の一局面に係る細胞の撮像方法は、透光性部材によって形成され上面と下面とを有する平板からなる本体と、前記本体の上面から下面に向けて垂直方向に延び細胞を保持する複数の保持凹部と、を有するディッシュであって、前記保持凹部は、前記垂直方向に対して第1の傾きを持つテーパ部からなる第1部分と、前記垂直方向に対して実質的に平行な内壁面を持つ筒状

部分からなり、細胞を収容する空間を区画する共に、収容された細胞の水平方向の移動を規制する第2部分と、前記垂直方向に対して前記第1の傾きよりも大きい第2の傾きを持ち、細胞の接地面となるテーパ部からなる第3部分と、保持対象の細胞が通過できないサイズの排出孔を有する底板からなる第4部分と、を備え、前記上面から前記下面へ向けて、前記第1部分から前記第4部分が順次連設されることによって構成されている前記ディッシュを、所定位置に水平に配置する第1ステップと、撮像装置を前記下面の側に配置して前記ディッシュの画像の撮像動作を実行すると共に、前記撮像動作の際のフォーカス情報に基づいて、前記ディッシュの所定の形状特徴部の高さ位置を認識する第2ステップと、前記ディッシュが液体中に浸漬された状態で、前記上面の側から細胞を含む細胞懸濁液を撒き、重力により前記第1部分を通して前記細胞を前記保持凹部内へ導くと共に、当該細胞を前記第2部分に沿って沈降させて前記第3部分に接地させる第3ステップと、前記下面の側に配置した前記撮像装置で、前記形状特徴部の高さ位置を基準位置として、前記細胞が前記保持凹部に保持された状態の前記ディッシュの画像の撮像動作を実行する第4ステップと、前記撮像動作により得られた前記ディッシュの画像データに基づき、前記細胞の形状を特定する第5ステップと、を含む。

[0098] この撮像方法によれば、ディッシュが備える保持凹部の第1部分に、垂直方向に対して比較的小さい第1の傾きを持つテーパ部が存在するので、第3ステップにおいて細胞懸濁液が撒かれたとき、当該テーパ部に沿って細胞は確実に保持凹部内に導かれる。また、第2部分は、鉛直方向に延びる筒状部分なので、細胞は抵抗を受けることなく自重でそのまま沈降できる。さらに、細胞が接地する第3部分は、垂直方向に対して比較的大きい第2の傾きを持つので、水平により近い接地面となる。このため、細胞の接地面からディッシュの下面までの距離を短くでき、第4ステップの撮像動作における細胞へのフォーカス合わせの際に、ディッシュの存在が与える影響を小さくすることができ、また画像の解像度の向上にも寄与する。さらに、前記第2の傾

きに沿って細胞を所期の位置へ誘導することが可能となる。例えば、前記第3部分のテーパ部が、保持凹部の孔芯（孔中心）に向けて下降するテーパ部である場合、細胞を孔芯位置に集めることが可能となる。これに加え、保持凹部の第2部分は、垂直方向に対して実質的に平行な内壁面を持つ筒状部分であるので、第4ステップにおいて下面の側からの撮像によって取得される画像に前記内壁面が映り込み難くなり、画像上での細胞の認識性が向上する。また、保持凹部の第4部分には排出孔が備えられているので、撮像の障害物となる夾雑物などを該排出口から逃がすことができ、細胞の認識性が高められる。なお、前記排出孔を垂直方向に延びる孔とすれば、撮像によって取得される画像に前記排出孔も映り込み難くすることができる。

[0099] また、上記の撮像方法によれば、第2ステップにおいてディッシュの所定の形状特徴部の高さ位置が認識され、第4ステップにおいて前記形状特徴部の高さ位置を基準位置として、ディッシュの撮像動作が行われる。このため、保持凹部において細胞が接地する第3部分と前記形状特徴部との位置関係を把握しておくことで、前記細胞へのフォーカス合わせが迅速に行えるようになり、撮像時間の短縮化を図ることができる。

[0100] 上記の撮像方法において、前記ディッシュは、一の前記保持凹部の前記第1部分の頂部が他の前記保持凹部の前記第1部分の頂部と隣接することで、前記上面に稜線部が形成されており、前記第2ステップにおいて認識される前記形状特徴部が、前記ディッシュの前記上面に形成された前記稜線部であることが望ましい。

[0101] この撮像方法によれば、第1部分に稜線部と、垂直方向に対して比較的小さい第1の傾きを持つテーパ部が存在するので、第3ステップにおいて細胞懸濁液が撒かれたとき、細胞はディッシュの上面に滞留することなく、確実に保持凹部に導かれる。前記稜線部は、細胞が接地する第3部分からは比較的遠い上面にあり、また隣接する保持凹部の間に位置するので細胞によって隠されることはなく、形状的特徴として画像上で認識し易い。従って、基準位置を簡単且つ正確に求めることができる。

- [0102] 上記の撮像方法において、前記ディッシュの前記本体が四角形の平板であり、前記第2ステップにおいて、少なくとも前記本体の四隅付近における前記稜線部と、前記四隅の対角線の交点付近における前記稜線部との高さ位置が認識され、前記第4ステップにおいて、撮像の対象となる任意の前記保持凹部の稜線部の高さ位置が、前記四隅付近及び前記交点付近の前記稜線部の高さ位置に基づいて算出され、算出された高さ位置が前記基準位置として用いられることが望ましい。
- [0103] 上記第1ステップにてディッシュを所定位置に配置しても、完全な水平状態を作ることは困難であり、またディッシュの反りなども生じ得る。このため、一つの稜線部の高さ位置を求めるだけでは、全ての保持凹部の基準位置とはなり難く、理想的には全ての保持凹部に対応する稜線部の高さ位置を求めることが望ましい。しかし、上記の撮像方法によれば、ディッシュが備える全ての保持凹部について稜線部の高さ位置を認識せずとも、ディッシュの任意の稜線部の高さ位置を、前記四隅付近及び前記交点付近の前記稜線部の高さ位置に基づいて算出することが可能となる。従って、撮像に要する時間を短縮することができる。
- [0104] 上記の撮像方法において、前記ディッシュとして、前記保持凹部を構成する前記第1～第4部分の中で、前記垂直方向の厚さにおいて前記第4部分が最も薄い形状を有するディッシュが用いられることが望ましい。
- [0105] 保持凹部の第4部分は、第3部分に接地した細胞と撮像装置との間に位置することになる。このため、第3部分に加えて第4部分の存在は、細胞の撮像に際し、光量損失や像歪みの発生要因となり得る。しかし、上記の撮像方法によれば、第4部分が最も薄肉であるので、画像劣化の要因を最小限に抑制することができる。
- [0106] 上記の撮像方法において、前記ディッシュとして、前記第4部分の前記排出孔が、前記下面の側から見た平面視で多角形の形状を有するディッシュが用いられることが望ましい。
- [0107] 第4部分の排出孔は、第4ステップの撮像によって取得される画像に不可

避的に映り込む。しかし、上記の撮像方法によれば、排出孔が多角形の形状を有するので、一般に略球形の形状を有する細胞（細胞凝集塊）と前記排出孔との区別が画像上で容易に行えるようになる。

[0108] 以上説明した本発明によれば、細胞を保持したディッシュの画像から細胞の形状認識を行う場合において、画像上で細胞の認識が行い易く、且つ、ディッシュの撮像時間の短縮化を図ることができる。

請求の範囲

[請求項1]

透光性部材によって形成され上面と下面とを有する平板からなる本体と、前記本体の上面から下面に向けて垂直方向に延び細胞を保持する複数の保持凹部と、を有するディッシュであって、前記保持凹部は、

前記垂直方向に対して第1の傾きを持つテーパ部からなる第1部分と、

前記垂直方向に対して実質的に平行な内壁面を持つ筒状部分からなり、細胞を収容する空間を区画する共に、収容された細胞の水平方向の移動を規制する第2部分と、

前記垂直方向に対して前記第1の傾きよりも大きい第2の傾きを持ち、細胞の接地面となるテーパ部からなる第3部分と、

保持対象の細胞が通過できないサイズの排出孔を有する底板からなる第4部分と、を備え、

前記上面から前記下面へ向けて、前記第1部分から前記第4部分が順次連設されることによって構成されている前記ディッシュを、所定位置に水平に配置する第1ステップと、

撮像装置を前記下面の側に配置して前記ディッシュの画像の撮像動作を実行すると共に、前記撮像動作の際のフォーカス情報に基づいて、前記ディッシュの所定の形状特徴部の高さ位置を認識する第2ステップと、

前記ディッシュが液体中に浸漬された状態で、前記上面の側から細胞を含む細胞懸濁液を撒き、重力により前記第1部分を通して前記細胞を前記保持凹部内へ導くと共に、当該細胞を前記第2部分に沿って沈降させて前記第3部分に接地させる第3ステップと、

前記下面の側に配置した前記撮像装置で、前記形状特徴部の高さ位置を基準位置として、前記細胞が前記保持凹部に保持された状態の前記ディッシュの画像の撮像動作を実行する第4ステップと、

前記撮像動作により得られた前記ディッシュの画像データに基づき、前記細胞の形状を特定する第5ステップと、を含む細胞の撮像方法。

[請求項2]

請求項1に記載の細胞の撮像方法において、

前記ディッシュは、一の前記保持凹部の前記第1部分の頂部が他の前記保持凹部の前記第1部分の頂部と隣接することで、前記上面に稜線部が形成されており、

前記第2ステップにおいて認識される前記形状特徴部が、前記ディッシュの前記上面に形成された前記稜線部である、細胞の撮像方法。

[請求項3]

請求項2に記載の細胞の撮像方法において、

前記ディッシュの前記本体が四角形の平板であり、

前記第2ステップにおいて、少なくとも前記本体の四隅付近における前記稜線部と、前記四隅の対角線の交点付近における前記稜線部との高さ位置が認識され、

前記第4ステップにおいて、撮像の対象となる任意の前記保持凹部の稜線部の高さ位置が、前記四隅付近及び前記交点付近の前記稜線部の高さ位置に基づいて算出され、算出された高さ位置が前記基準位置として用いられる、細胞の撮像方法。

[請求項4]

請求項1～3のいずれか1項に記載の細胞の撮像方法において、

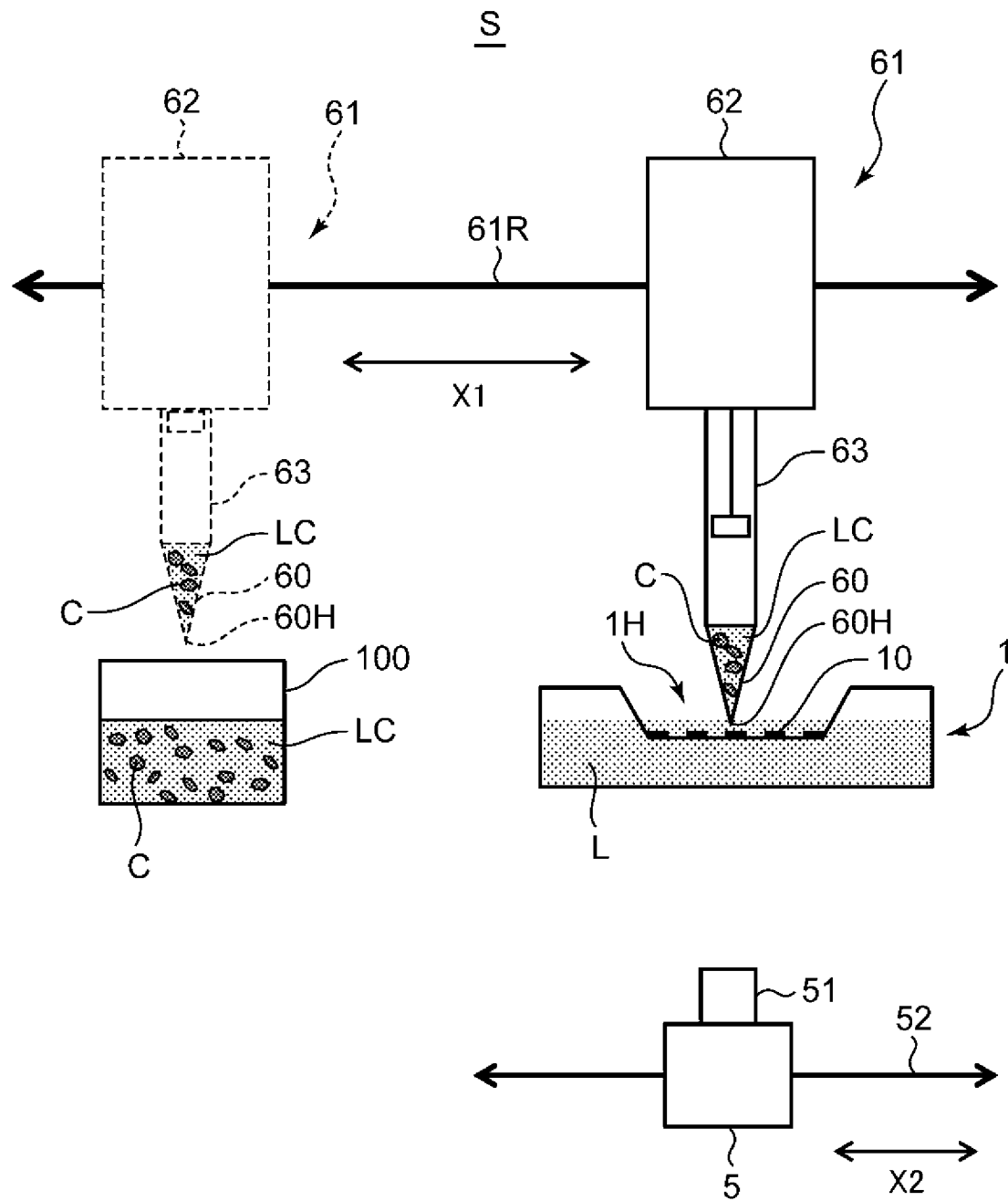
前記ディッシュとして、前記保持凹部を構成する前記第1～第4部分の中で、前記垂直方向の厚さにおいて前記第4部分が最も薄い形状を有するディッシュが用いられる、細胞の撮像方法。

[請求項5]

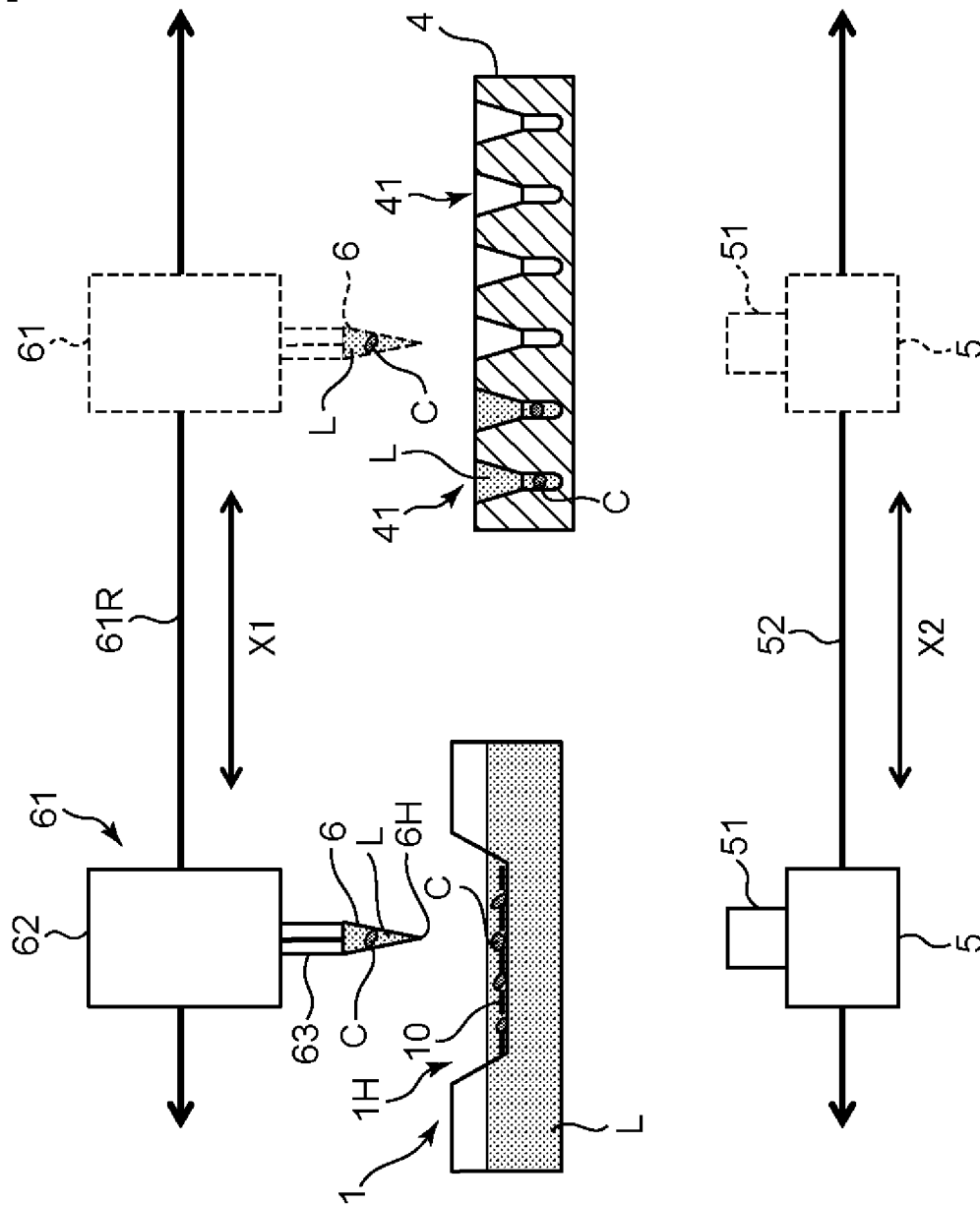
請求項1～4のいずれか1項に記載の細胞の撮像方法において、

前記ディッシュとして、前記第4部分の前記排出孔が、前記下面の側から見た平面視で多角形の形状を有するディッシュが用いられる、細胞の撮像方法。

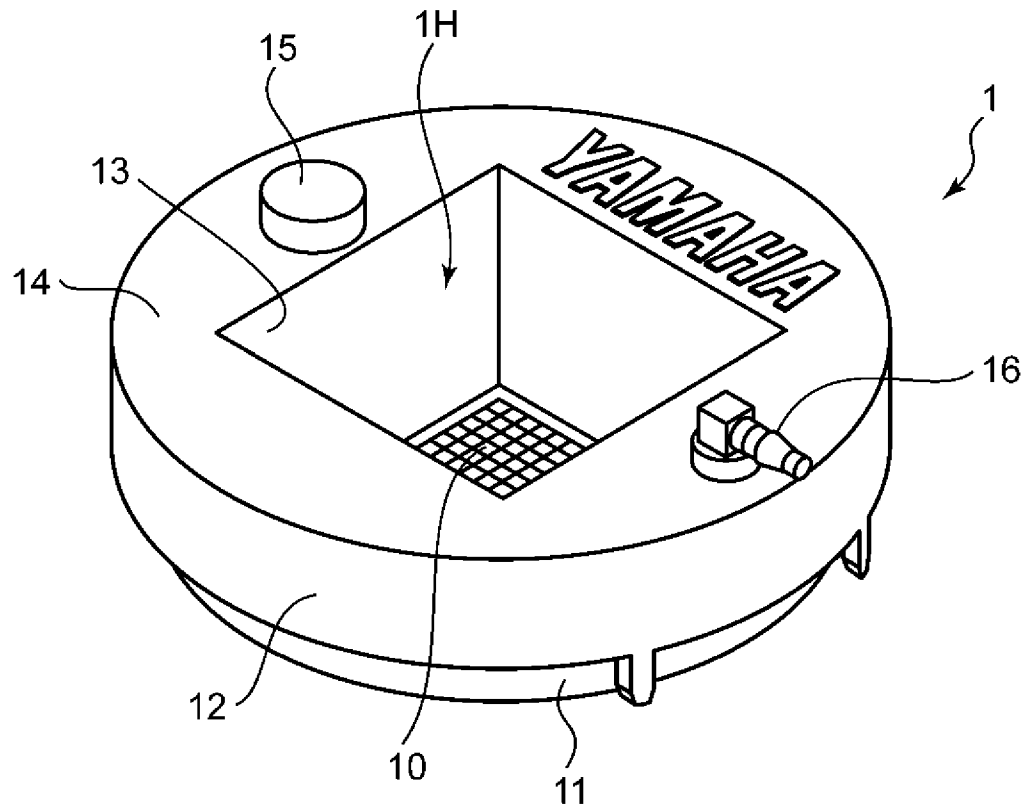
[図1A]



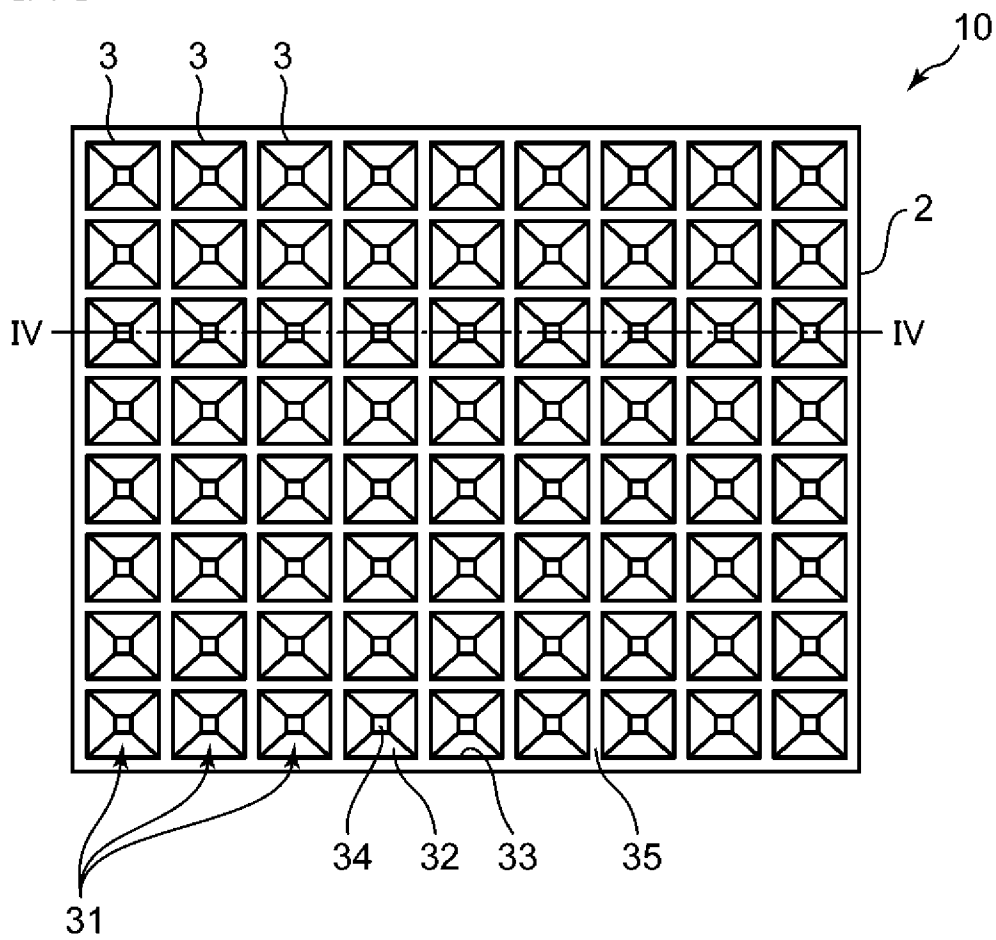
81



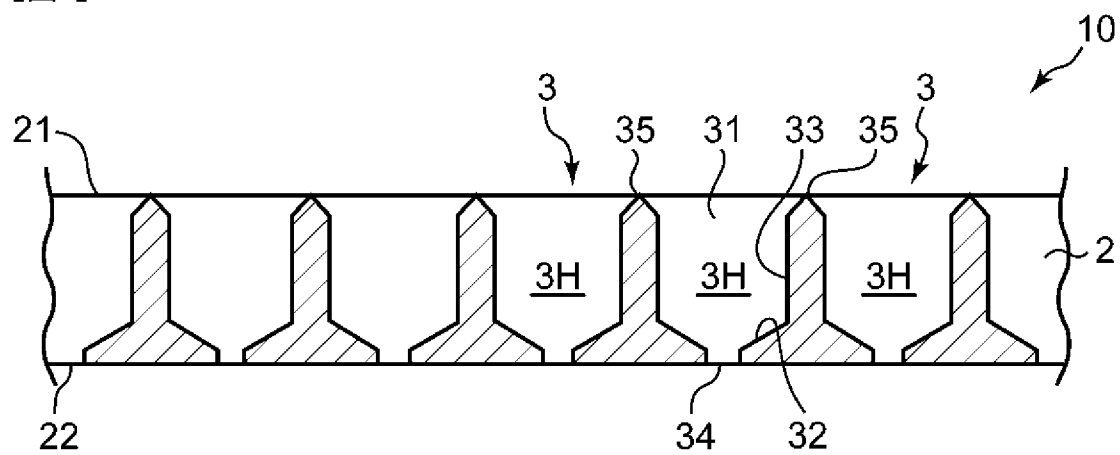
[図2]



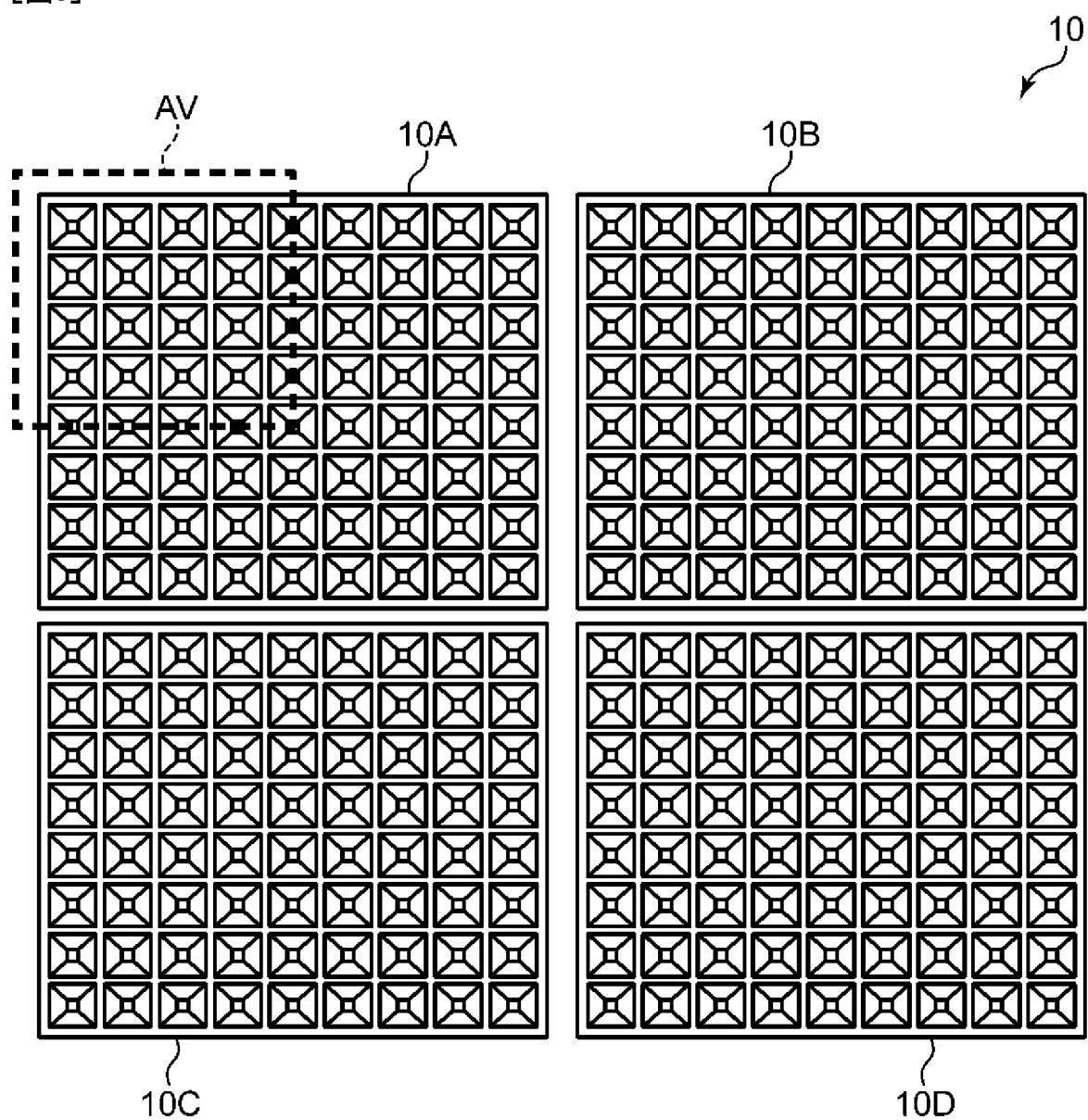
[図3]



[図4]



[図5]

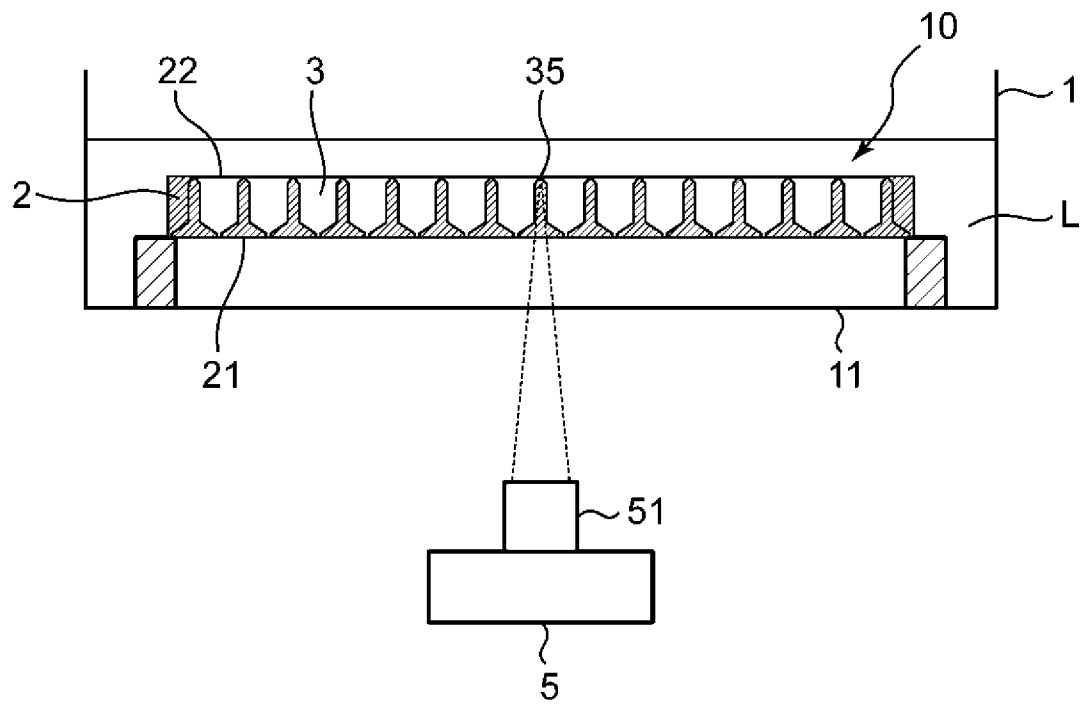


```
graph TD; S1["#1 ディッシュの準備及び配置"] --> S2["#2 ディッシュの稜線部の認識"]; S2 --> S3["#3 細胞を保持凹部に收容"]; S3 --> S4["#4 細胞を保持するディッシュの撮像"]; S4 --> S5["#5 細胞の形状を特定"];
```

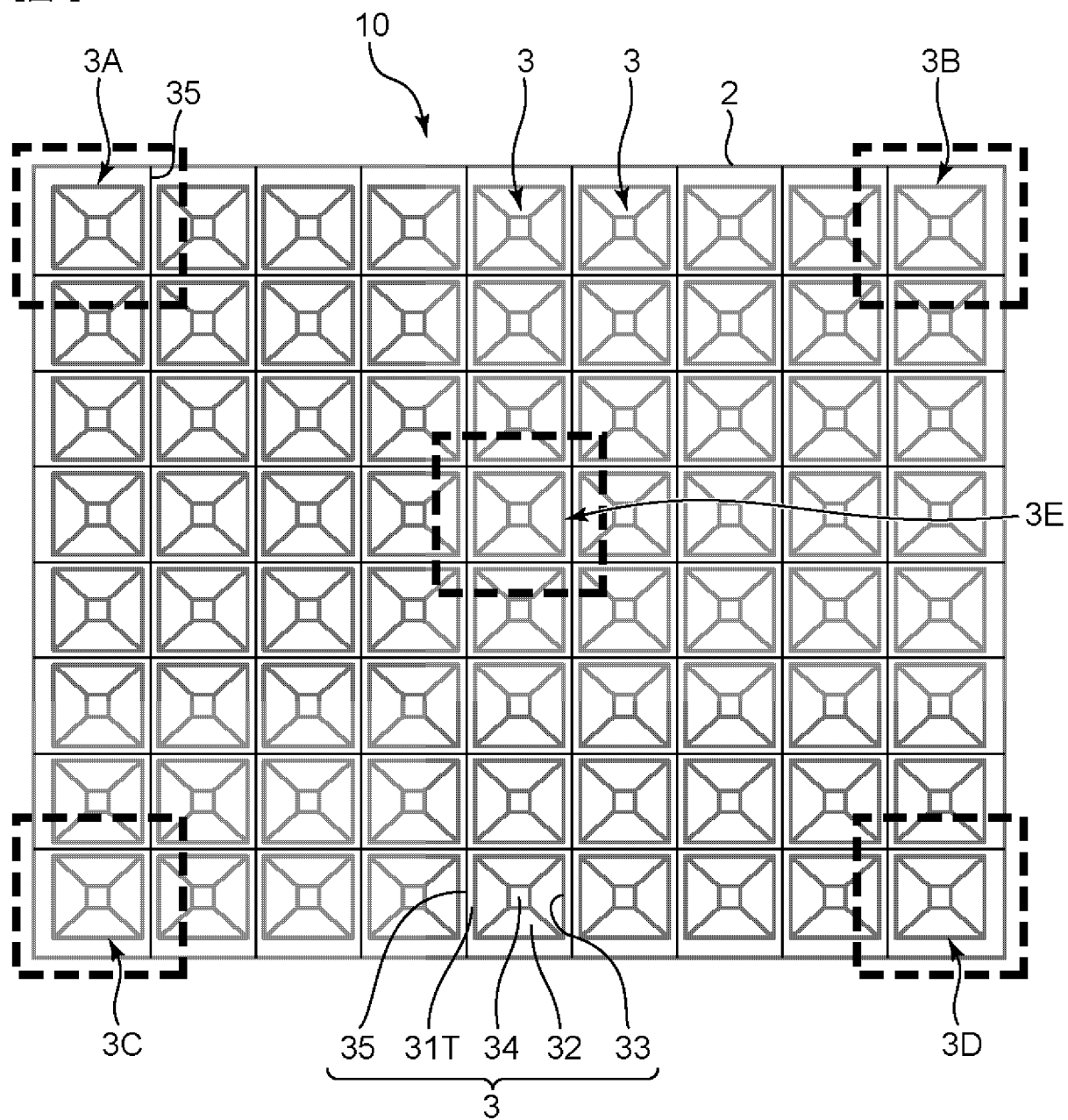
The flowchart illustrates a five-step process for determining cell shape. It begins with the preparation and arrangement of the dish (#1), followed by recognizing the ridge line of the dish (#2). The cells are then accommodated in the holding recess (#3), and the dish holding the cells is imaged (#4). Finally, the cell shape is determined (#5).

[illegible]

[図8]

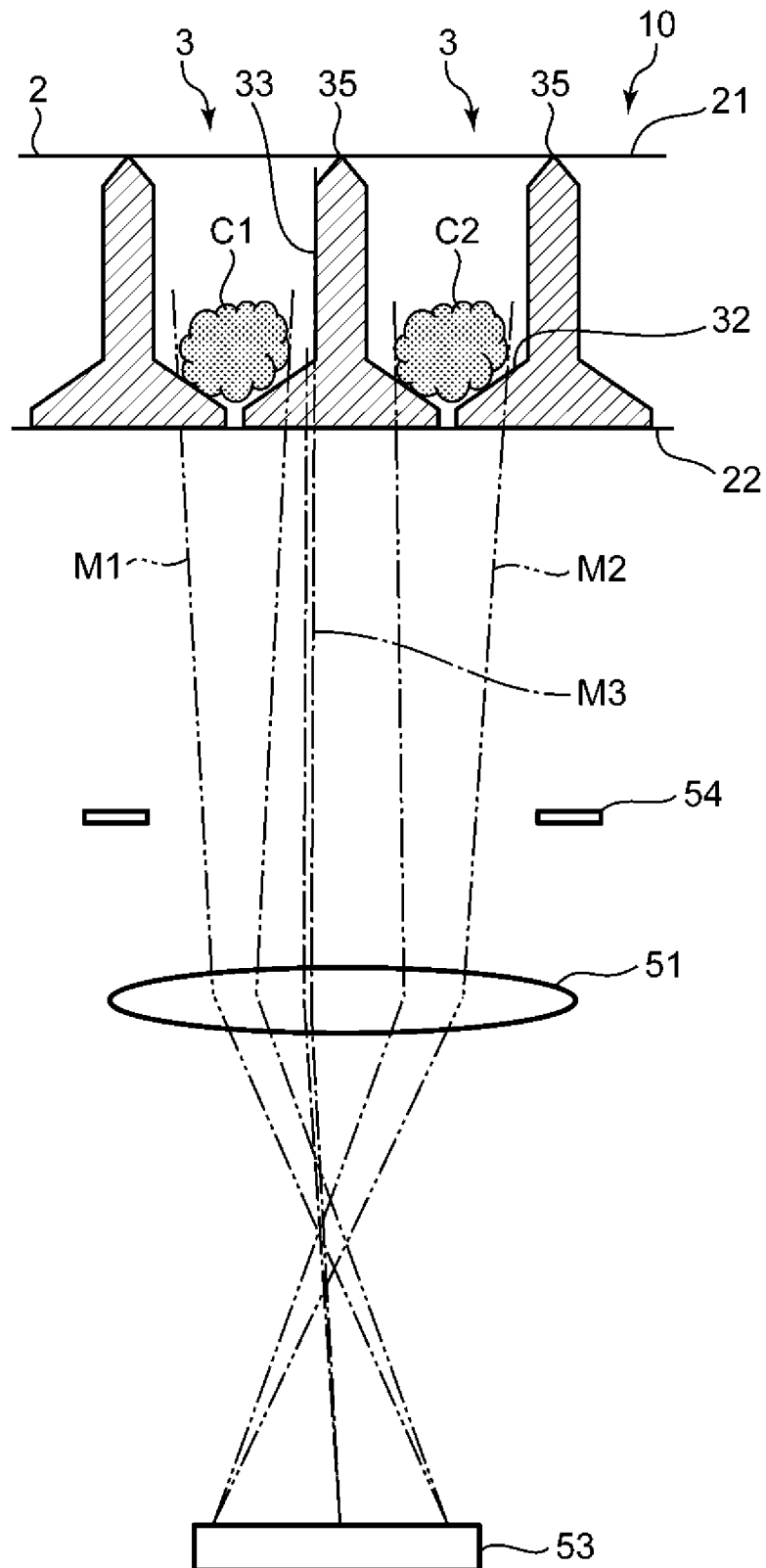


[図9]



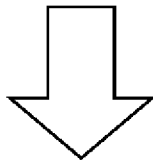
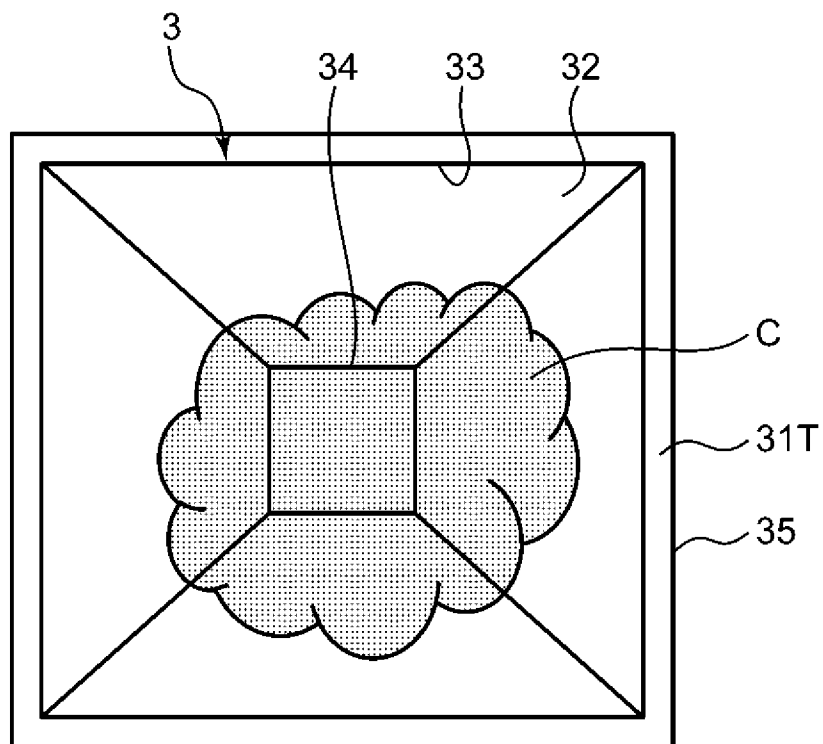
[illegible]

[図11]

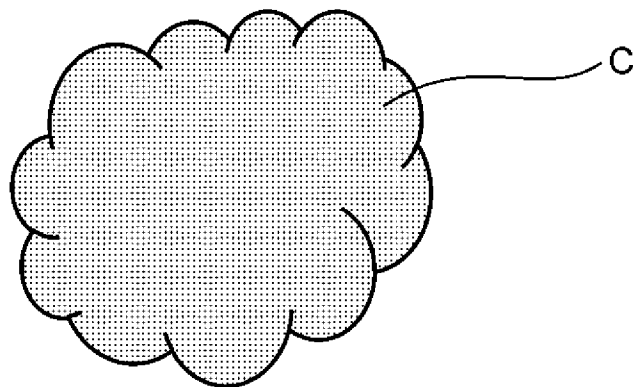


[図12]

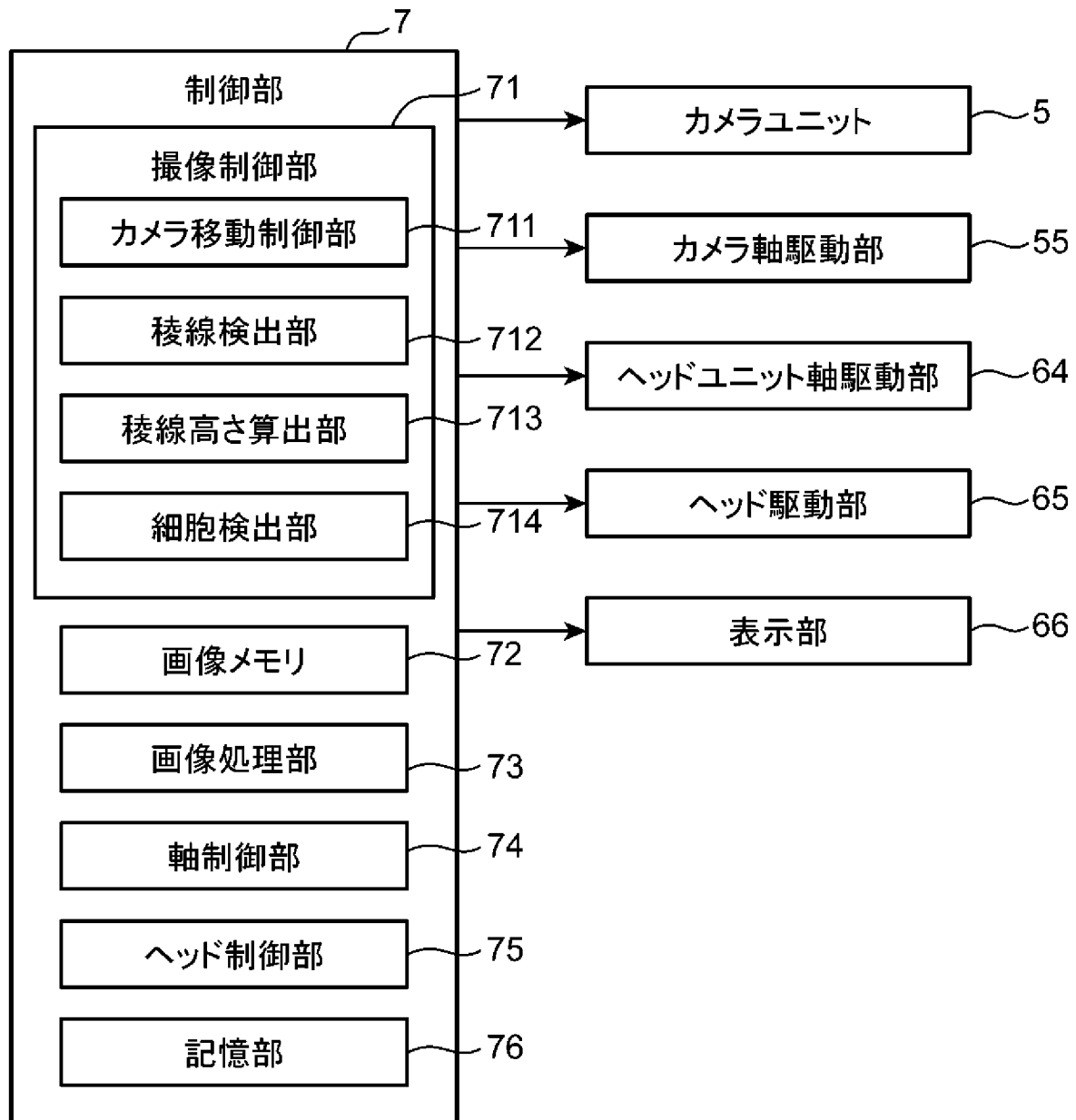
(A)



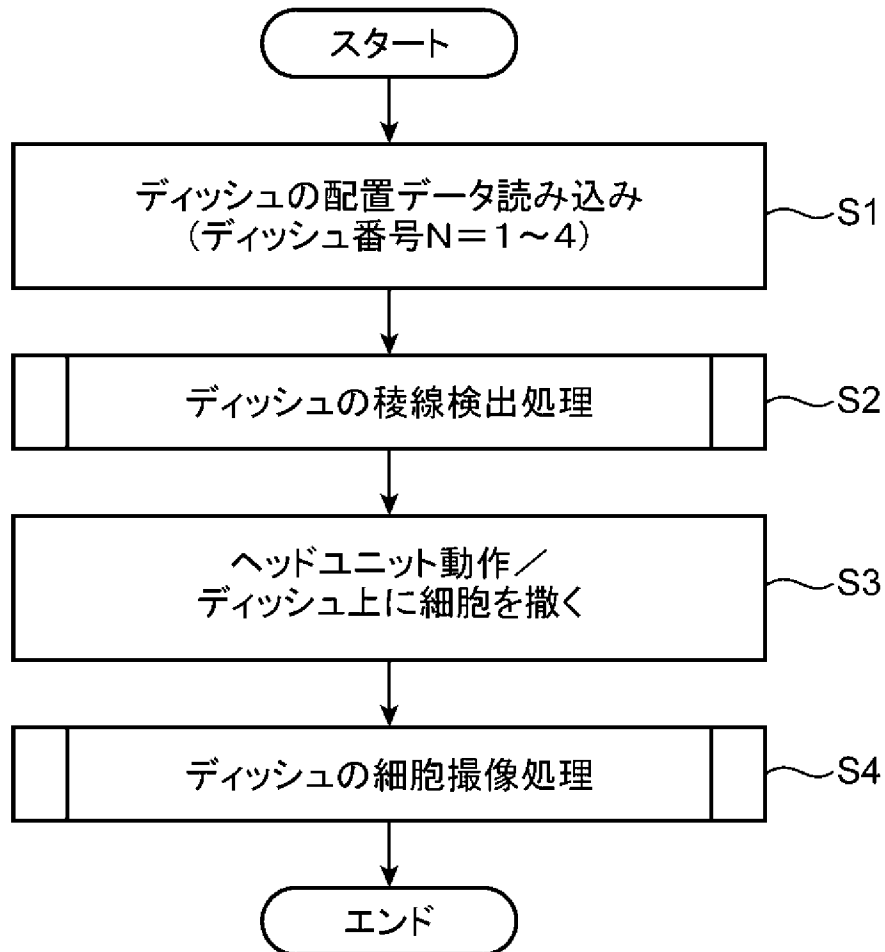
(B)



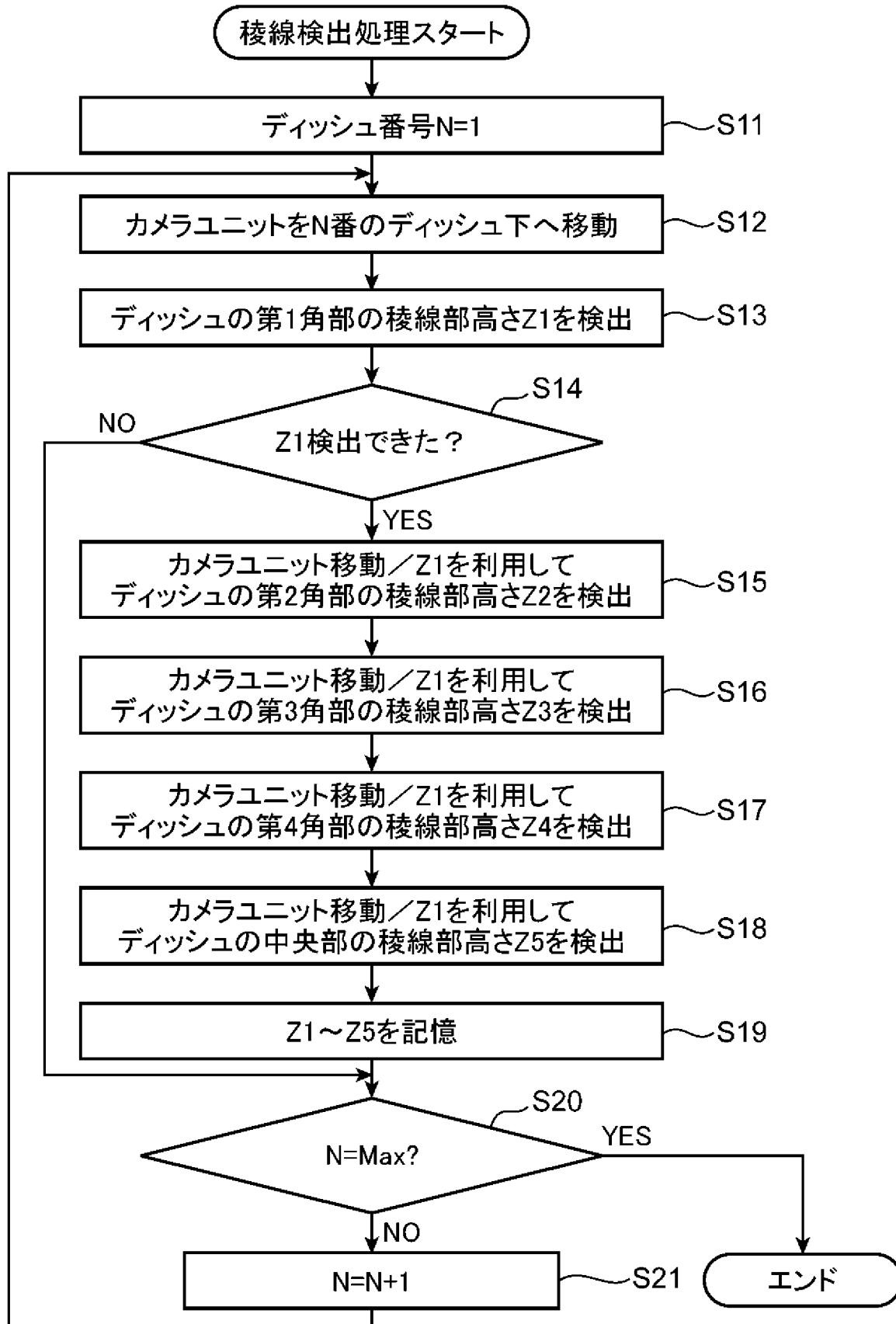
[図13]



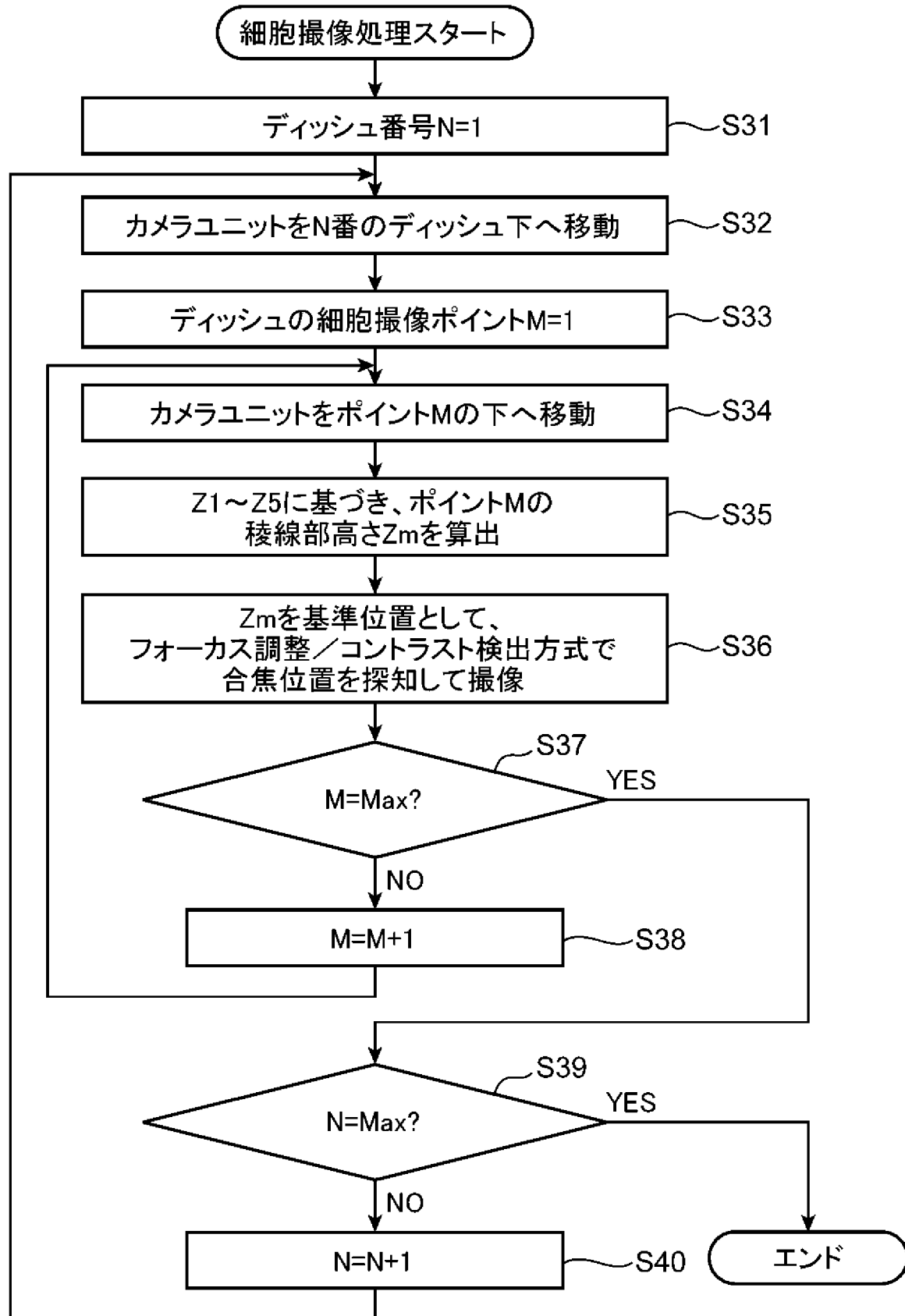
[図14]



[図15]



[図16]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/032470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/34 (2006.01) i, C12Q1/02 (2006.01) i, G01N15/00 (2006.01) i

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)

C12M1/34, C12Q1/02, G01N15/00

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2017

Registered utility model specifications of Japan 1996-2017

Published registered utility model applications of Japan 1994-2017

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), DWPI (Thomson Innovation)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/020988 A1 (YAMAHA MOTOR CO., LTD.) 11 February 2016, claims 1 and 2, paragraphs [0019], [0039], [0044], fig. 3, 10, and 11	1, 4, 5
A	& US 2017/0145362 A1, claims 1, 2, paragraphs [0049], [0069], [0074], fig. 3, 10, 11 & EP 3156478 A1 & CN 106471113 A	2, 3



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

Date of mailing of the international search report

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/JP2017/032470

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2009-204451 A (YOKOGAWA ELECTRIC CORP.) 10 September 2009, claims, paragraphs [0019], [0032], [0043] (Family: none)	1, 4, 5 2, 3
Y A	WO2015/093344 A1 (SCREEN HOLDINGS CO., LTD.) 25 June 2015, paragraphs [0016], [0017], [0021] & JP 2015-118036 A	1, 4, 5 2, 3
Y A	JP 2010-256077 A (OLYMPUS CORP.) 11 November 2010, paragraphs [0009]-[0010], [0018] (Family: none)	1, 4, 5 2, 3
Y A	WO 2014/080932 A1 (OSAKA UNIVERSITY) 30 May 2014, paragraphs [0001], [0042] & US 2015/0309298 A1, paragraphs [0001], [0047] & EP 2924487 A1	1, 4, 5 2, 3
P, A	WO 2017/110005 A1 (YAMAHA MOTOR CO., LTD.) 29 June 2017, entire text, in particular, claim 4 (Family: none)	1-5

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12M1/34(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N15/00(2006.01)i

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 (IPC))

Int.Cl. C12M1/34, C12Q1/02, G01N15/00

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	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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), DWPI (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
Y A	WO 2016/020988 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2016.02.11, 請求項1及び2、[0019]、[0039]、[0044]、図3、10、及び11 等 & US 2017/0145362 A1, Claims 1 and 2, [0049], [0069], [0074], Figs. 3, 10 and 11, etc. & EP 3156478 A1 & CN 106471113 A	1, 4, 5 2, 3

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

27.11.2017

国際調査報告の発送日

05.12.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/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)

鈴木 崇之

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

4 B

4152

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
Y	JP 2009-204451 A (横河電機株式会社) 2009. 09. 10, 要約、[0019]、[0032]、[0043]	1, 4, 5
A	(ファミリーなし)	2, 3
Y	WO 2015/093344 A1 (株式会社SCREENホールディングス) 2015. 06. 25,	1, 4, 5
A	[0016]、[0017]、[0021] & JP 2015-118036 A	2, 3
Y	JP 2010-256077 A (オリンパス株式会社) 2010. 11. 11, [0009]–[0010]、[0018]	1, 4, 5
A	(ファミリーなし)	2, 3
Y	WO 2014/080932 A1 (国立大学法人大阪大学) 2014. 05. 30, [0001]、[0042]	1, 4, 5
A	& US 2015/0309298 A1, [0001], [0047] & EP 2924487 A1	2, 3
P, A	WO 2017/110005 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2017. 06. 29, 全文、特に請求項4 (ファミリーなし)	1–5