



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103667055 B

(45)授权公告日 2017.09.15

(21)申请号 201310428778.8

(22)申请日 2013.09.18

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103667055 A

(43)申请公布日 2014.03.26

(30) 优先权数据

2012-211480 2012.09.25 JP

(73)专利权人 索尼公司

地址 日本东京

(72)发明人 田中英一 芳贺伸介 长谷川真

皆川込也 堂脇优 松居惠理子

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司

责任公司 11240

代理人 余刚 吴孟秋

(51) Int.Cl.

C12M 3/00(2006.01)

C12M 1/34(2006.01)

C12Q 1/02(2006.01)

(56)对比文件

JP H1028576 A, 1998.02.03.

US 4301252 ,1981.11.17,

US 2009141345 A1, 2009.06.04.

审查员 刘宝

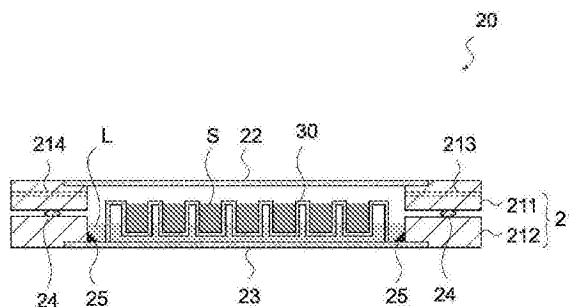
权利要求书2页 说明书13页 附图19页

(54)发明名称

培养容器、培养观察装置和培养观察方法

(57)摘要

本发明涉及培养容器、培养观察装置和培养观察方法。该培养容器,包括能够保持预定温度的第一透明构件;面向第一透明构件的第二透明构件;第一透明构件和第二透明构件附着的框体构件,该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间;以及密封构件,用于在第一透明构件和框体构件之间密封注入到培养空间的液体。



1. 一种培养容器,包括:

第一透明构件,能够保持预定温度;

第二透明构件,面向所述第一透明构件;

框体构件,所述第一透明构件和所述第二透明构件附着到所述框体构件,所述框体构件与所述第一透明构件和所述第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间;以及

密封构件,用于在所述第一透明构件和所述框体构件之间密封被注入到所述培养空间的液体;

所述培养容器进一步包括:

多孔构件,用于包覆被注入到所述培养空间的所述液体的液面。

2. 根据权利要求1所述的培养容器,进一步包括:

防飞散构件,附着到所述多孔构件以包覆在所述培养空间中容纳的所述孔板和所述多孔构件之间的缝隙。

3. 根据权利要求1所述的培养容器,其中,

在所述第一透明构件上形成有凹口,所述凹口在所述第一透明构件和布置在所述第一透明构件上的所述孔板之间形成缝隙。

4. 根据权利要求1所述的培养容器,进一步包括:

支撑构件,由绝热材料构成以支撑容纳在所述培养空间中的所述孔板。

5. 根据权利要求1所述的培养容器,其中,

所述第一透明构件包括具有光学透明性的透明板、在所述透明板上在所述透明板的每段形成的电极对、以及在所述透明板上形成并且连接到所述透明板的每段的所述电极对的透明导电膜。

6. 一种培养观察装置,包括:

培养容器,包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向所述第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件,其中,所述第一透明构件和所述第二透明构件附着到所述框体构件,所述框体构件与所述第一透明构件和所述第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间,并且所述密封构件用于在所述第一透明构件和所述框体构件之间密封被注入到所述培养空间的液体,所述培养容器进一步包括:多孔构件,用于包覆被注入到所述培养空间的所述液体的液面;

照明光学系统,用于以照明光照射所述培养容器;以及

显微镜光学系统,用从所述照明光学系统照射并且透过所述培养容器的所述照明光生成相差图像。

7. 根据权利要求6所述的培养观察装置,进一步包括:

送风器,将空气吹至所述第一透明构件。

8. 根据权利要求6所述的培养观察装置,其中,

所述第一透明构件包括红外吸收材料,以及

所述照明光学系统用所述照明光和红外线照射所述第二透明构件。

9. 根据权利要求8所述的培养观察装置,其中,

所述照明光学系统包括具有环形狭缝的牵引环和红外照明单元,所述红外照明单元布置在所述环形狭缝的所述培养容器侧并且在所述环形狭缝的内周。

10. 一种培养观察方法,包括:

准备培养容器,所述培养容器包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向所述第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件,其中,所述第一透明构件和所述第二透明构件附着到所述框体构件,所述框体构件与所述第一透明构件和所述第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间,并且所述密封构件用于在所述第一透明构件和所述框体构件之间密封被注入到所述培养空间的液体,所述培养容器进一步包括:多孔构件,用于包覆被注入到所述培养空间的所述液体的液面;

将容纳有待观察对象的所述孔板容纳在所述培养空间中;

将所述液体注入到所述培养空间;以及

将所述培养空间保持为所述待观察对象的培养环境。

培养容器、培养观察装置和培养观察方法

技术领域

[0001] 本公开涉及能够观察正在培养的待观察对象的培养容器、利用该培养容器的培养观察装置、以及培养观察方法。

背景技术

[0002] 当观察待观察对象例如活细胞时,培养容器用来观察正在培养的待观察对象。培养容器经配置为可以调整温度、湿度、气体(例如CO₂)局部压力等,以便保持适合于培养待观察对象的环境(在下文中称为“培养环境”)。一般地,待观察对象容纳在孔板(well plate)(其上布置多个孔的板件)的每个孔中,并且通过将孔板容纳在培养容器中,将该对象保持在培养环境下。

[0003] 这里,希望培养容器可以提供尽可能均匀的每个孔的培养环境。如果每个孔都具有不同的培养环境,那么待观察对象例如细胞的生长速度等是不同的,这不适合于观察。例如,日本专利申请公开第10-28576号披露了包括布置在孔板的顶部表面的“透明发热板”的培养容器。发热板允许孔板的底部表面被均匀加热并且培养环境均匀化。

发明内容

[0004] 然而,即使使用在日本专利申请公开第10-28576号中描述的发热板,该发热板生成的热也可能产生温度不规则性(temperature irregularity,温度不均匀性),并且培养环境可能没有充分地均匀。特别地,由于发热板布置在孔板的底部表面,因此为了观察发热板应该是透明的。此外,加热元件的配置可能受到约束。

[0005] 此外,培养容器经常打开以替换孔板等。为了在培养容器打开时维持该培养环境,应该高准确度地控制发热板。在此情况下,发热板的响应等可能是很重要的。

[0006] 希望提供适合于保持培养环境的培养容器、培养观察装置和培养观察方法。

[0007] 根据本技术的实施方式的发热板包括第一透明构件、第二透明构件、框体构件和密封构件。

[0008] 第一透明构件能够保持预定温度。

[0009] 第二透明构件面向第一透明构件。

[0010] 第一透明构件和第二透明构件附着的框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间。

[0011] 密封构件在第一透明构件和框体构件之间密封注入到培养空间的液体。

[0012] 该配置允许液体注入到培养空间。当培养空间打开时,培养环境(温度、湿度)可以由该液体的高导热率和高热容量稳定维持。同样,液体可以减轻第一透明构件的温度不规则性,并且可以与孔板中孔的位置无关地将培养环境均匀化。

[0013] 培养容器可以进一步包括用于包覆注入到培养空间的液体的液面的多孔构件。

[0014] 通过该配置,多孔构件可以防止注入到培养空间的液体波动和不当地进入到孔板的孔。另一方面,多孔构件可以透过液体蒸汽,由此该液体可以维持培养环境。

[0015] 培养容器可以进一步包括附着到多孔构件的防飞散构件以包覆在培养空间中容纳的孔板和多孔构件之间的缝隙。

[0016] 通过该配置,多孔构件可以防止在多孔构件和孔板之间的液体飞散。

[0017] 凹口在第一透明构件上形成,该凹口在该第一透明构件和布置在该第一透明构件上的孔板之间形成缝隙。

[0018] 该配置允许在孔板安装在第一透明构件上并且液体注入到培养空间之后,液体在孔板和第一透明构件之间容易渗透。

[0019] 培养容器可以进一步包括由绝热材料构成的支撑构件以支撑容纳在培养空间中的孔板。

[0020] 该配置可以防止孔板与第一透明构件接触,并且也可以防止在第一透明构件中的温度不规则性的影响。

[0021] 第一透明构件包括具有光学透明性的透明板、在该透明板上在所述透明板的每段(segment,部分)形成的电极对、以及透明导电膜,该透明导电膜在透明板上形成并且连接到透明板的每段的电极对。

[0022] 该配置允许在每段控制第一透明构件的温度(发热),并且可以防止温度不规则性在第一透明构件中产生。

[0023] 根据本技术的实施方式的培养观察装置包括培养容器、照明光学系统和显微镜光学系统。

[0024] 培养容器包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向该第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件,第一透明构件和第二透明构件附着到该框体构件,该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间,以及该密封构件用于在第一透明构件和框体构件之间密封注入到培养空间的液体密封。

[0025] 照明光学系统用照明光照射培养容器。

[0026] 显微镜光学系统从照明光生成相差图像,该照明光从照明光学系统照射并且透过培养容器。

[0027] 通过该配置,可以使用在上面描述的培养容器观察待观察对象的相差图像。

[0028] 培养观察装置可以进一步包括将空气吹到第一透明构件的送风器。

[0029] 通过该配置,空气被吹到第一透明构件,从而将该第一透明构件的温度梯度从第一透明构件的平面方向变成第一透明构件的厚度方向,由此在第一透明构件的平面方向上避免温度不规则性。另外,当培养容器的顶盖关闭时由该配置同时吹动空气,由此抑制在孔板中培养基的温度提高。

[0030] 第一透明构件可以包括红外吸收材料。

[0031] 照明光学系统用照明光和红外线照射第二透明构件。

[0032] 通过该配置,红外线照射高响应地加热第二透明构件。另外,通过在照明光学系统中调整在透镜之间的距离,可以调整照明光在第二透明构件上的强度分布,由此调整温度分布。

[0033] 照明光学系统可以包括具有环形狭缝的牵引环和红外照明单元,该红外照明单元布置在该环形狭缝的培养容器侧并且在该环形狭缝的内周。

[0034] 通过该配置,可以在不阻挡照明光的情况下用红外线照射孔板。

[0035] 培养观察方法包括：

[0036] 准备培养容器，其包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向该第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件，第一透明构件和第二透明构件附着到该框体构件，该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间，以及该密封构件用于在第一透明构件和框体构件之间密封注入到培养空间的液体；

[0037] 将容纳待观察对象的孔板容纳在培养空间中；

[0038] 将液体注入到培养空间；以及

[0039] 将培养空间保持为待观察对象的培养环境。

[0040] 通过该方法，可以在稳定维持培养环境的情况下观察待观察对象。

[0041] 如在上面描述，根据本技术的实施方式，提供适合于保持培养环境的培养容器、培养观察装置和培养观察方法。

[0042] 根据如在附图中示出的最优模式实施方式的以下详细描述，本公开的上述和其他目标、特征和优点将变得更明显。

附图说明

[0043] 图1是根据第一实施方式的培养观察装置的示意图；

[0044] 图2A和图2B均是根据第一实施方式的培养容器的示意图；

[0045] 图3是培养容器的第一透明构件的示意图；

[0046] 图4A、图4B和图4C都是容纳在培养容器中的孔板的示意图；

[0047] 图5是示出培养容器的使用配置的示意图；

[0048] 图6是示出在根据比较实施方式的培养容器上布置的每个加热器和待观察对象的温度的变化的曲线图；

[0049] 图7A和图7B都是示出在根据第一实施方式的培养容器中液体的液面和待观察对象的温度降低量的表格；

[0050] 图8是根据第二实施方式的培养容器的示意图；

[0051] 图9是根据第三实施方式的培养容器的示意图；

[0052] 图10A和图10B都是根据第四实施方式的培养容器的示意图；

[0053] 图11A和图11B都是根据第四实施方式的培养容器的示意图；

[0054] 图12A和图12B都是根据第五实施方式的培养容器的示意图；

[0055] 图13是根据第六实施方式的培养容器的示意图；

[0056] 图14是根据第七实施方式的培养观察装置的示意图；

[0057] 图15A和图15B都是示出在培养观察装置的第一透明构件中的温度分布的示意图；

[0058] 图16是根据第八实施方式的培养观察装置的示意图；

[0059] 图17是示出在培养观察装置中红外照射单元到牵引环(絞リリング)的配置的示意图；

[0060] 图18是示出根据第九实施方式的培养观察装置的控制单元的功能配置的示意图；

[0061] 图19是示出在培养观察装置的盖打开之前和之后的测量温度的曲线图；

[0062] 图20是示出在培养观察装置的盖打开之前和之后的测量温度的曲线图；

[0063] 图21是示出在培养观察装置的盖打开之前和之后的测量温度的曲线图；

- [0064] 图22是示出根据实施方式的孔和在孔上布置的温度传感器的示意图；
[0065] 图23是示出根据实施方式的液面的示意图；
[0066] 图24是示出根据实施方式的测量值的表格；
[0067] 图25是示出根据实施方式的测量值的表格；以及
[0068] 图26是示出根据实施方式的测量值的曲线图。

具体实施方式

[0069] 在下文中,参考附图描述本公开的实施方式。

[0070] (第一实施方式)

[0071] 描述根据第一实施方式的培养观察装置和培养容器。

[0072] [培养观察装置的配置]

[0073] 图1是根据第一实施方式的培养观察装置1的示意图。如在图1中示出,培养观察装置1包括照明光源11、光纤12、照明光学系统13、镜台14、显微镜光学系统15、图像捕捉传感器16和控制单元17。在镜台14安装其中容纳待观察对象(细胞等)的培养容器20。培养观察装置1可以是捕捉待观察对象(细胞等)的相差图像的相差显微镜。

[0074] 照明光源11可以是任何光源例如卤素灯。照明光源11可以由控制单元17控制以便控制发光定时。光纤12将从照明光源11照射的照明光透射到照明光学系统13。可以使用任何光纤12。

[0075] 照明光学系统13调整从光纤12传输的照明光从而提供适合于形成相差图像的均匀照明的光。照明光学系统13可以具有第一透镜131、第二透镜132、牵引环133和聚光透镜134。第一和第二透镜131和132可以是在照明光学系统中一般使用的场透镜。牵引环133是在后面描述的具有环形狭缝的板状构件,并且将经过第一和第二透镜131和132的照明光收窄地聚焦。聚光透镜134是用于将经过牵引环133的照明光聚集到待观察对象的透镜。

[0076] 镜台14支撑培养容器20,并且调整培养容器20的位置。优选镜台14可以由电动机等在垂直方向(沿光轴的方向)和水平方向(垂直于光轴的方向)上移动。镜台14可以由控制单元17驱动控制,并且可以移动培养容器20。

[0077] 显微镜光学系统15用从照明光学系统13照射并且透过培养容器20(以及容纳在其中的待观察对象)的光形成相差图像。显微镜光学系统15可以具有物镜、相差板、图像形成透镜等(未示出)。

[0078] 图像捕捉传感器16捕捉待观察对象的相差图像。相差图像由显微镜光学系统15形成。相差图像由显微镜光学系统15形成。图像捕捉传感器16可以是CCD(电荷耦合器件)图像传感器或CMOS(互补型金属氧化物半导体)图像传感器。图像捕捉传感器16的输出被提供给控制单元17。

[0079] 控制单元17是例如信息处理设备,向镜台14或其他配置提供控制信号,控制待观察对象的图像捕捉,并且从图像捕捉传感器16的输出生成相差图像。另外,控制单元17可以获取关于培养容器20的环境(温度等)的信息,并且控制该环境,这在后面描述。

[0080] 培养观察装置1具有在上面描述的配置。培养观察装置1的在上面描述的配置仅是说明性的并且可以被更改。例如,培养观察装置1可以具有目镜等,以便由人眼代替图像捕捉传感器16观察待观察对象。

[0081] [培养容器的配置]

[0082] 将描述可以在上述的培养观察装置1中使用的培养容器20。图2A和图2B每个都是培养容器20的示意图。培养容器20被配置为使得孔板30可以容纳在培养容器20里面。图2A示出孔板30容纳在其中的培养容器20。图2B分开示出孔板30和培养容器20。

[0083] 如在图2A和图2B所示,培养容器20具有框体构件21、第一透明构件23、第二透明构件22、密封环24和防水构件25。框体构件21、第一透明构件23和第二透明构件22形成空间(培养空间)。

[0084] 框体构件21与第一透明构件23和第二透明构件22一起形成培养空间。框体构件21的形状不特别受限制,但可以具有圆柱形或长方体形状。框体构件21的材料没有特别受限制,但可以是合成树脂等。

[0085] 框体构件21可以包括盖211和主体212。盖211从主体打开或关闭,由此可以更换孔板30。例如,盖211和主体212可以通过铰链(未示出)打开和关闭。盖211具有开口以将第二透明构件22装入该开口,并且主体212具有开口以将第一透明构件23装入该开口。

[0086] 盖211具有供气孔213和排气孔214。供气孔213连接到气源(气瓶等),并且可以向培养空间供应预定气体(例如二氧化碳)。排气孔214可以将培养空间内的气体排出。当不在使用时,供气孔213和排气孔214可以关闭。

[0087] 第一透明构件23装入主体212的开口从而形成培养空间的底部表面。容纳在培养空间中的孔板30安装到第一透明构件23上。第一透明构件23可以由透光材料例如玻璃和合成树脂构成。第一透明构件23的大小使得该第一透明构件23面向孔板30的几乎全部或全部以使透过孔板30(以及容纳在其中的待观察对象)的照明光到达显微镜光学系统15是合适的。

[0088] 第一透明构件23可以是用于保持预定温度的加热器。图3是示出第一透明构件23的示意图。如在图3中示出,第一透明构件23包括具有透光性的透明板231和在其上形成的透明导电膜232。透明导电膜232连接到电极233,并且由该电极233供应的电力而产生热。第一透明构件23不限于这样的配置。只要第一透明构件23具有光学透明性并且可以产生电流,则第一透明构件23可以在其面内均匀加热并产生电流(没有不规则性)是合适的。

[0089] 第二透明构件22装入盖211的开口从而面向第一透明构件23。第二透明构件22可以由透光材料例如玻璃和合成树脂构成。第二透明构件22的大小使得该第二透明构件22面向孔板30的几乎全部或全部以使从照明光学系统13照射的照明光到达孔板30(以及容纳在其中的待观察对象)是合适的。与第一透明构件23相似,第二透明构件22可以是用于保持预定温度的加热器。

[0090] 密封环24布置在框体构件21的盖211和主体212之间,并且将盖211和主体212之间的培养空间密封。密封环24可以是由弹性材料例如橡胶构成的环形构件。

[0091] 防水构件25可以防止液体(如在后面描述)在第一透明构件23和主体212之间漏泄。防水构件25可以是在第一透明构件23装入主体212之后涂布于在第一透明构件23和主体212之间接合部的合成树脂。可替换地,防水构件25可以具有可以防止在第一透明构件23和主体212之间的液体漏泄的其他配置。

[0092] [孔板]

[0093] 将描述容纳在培养空间中的孔板30。孔板30可以是市售的。图4A、图4B和图4C每个

都是容纳在培养容器中的孔板的示意图。图4A是孔板30的透视图。图4B是孔板30的剖面图。如图4B所示,孔板30具有二维排列的多个孔31。每个孔31都具有相同的孔径和深度,并且可以容纳待观察对象(细胞等)。同样,每个孔31都可以将细胞的培养液与待观察对象一起容纳。

[0094] 在孔板30中,裙缘32布置在孔31周围。裙缘32比每个孔31的深度更长(更高)地形成,因此孔31的底部表面与孔板30的安装表面隔开。

[0095] 孔板30可以没有裙缘32。图4C是示出没有裙缘32的孔板30的示意图。在此情况下,每个孔31的底部表面都与孔板30的安装表面接触。

[0096] 在第一实施方式中,可以使用带有或没有裙缘32的孔板30。孔板30容纳在培养容器20中,然后安装在第一透明构件23上。当孔板30具有裙缘32时,孔31的底部表面与第一透明构件23隔开。当孔板30没有裙缘32时,孔31的底部表面与第一透明构件23接触。

[0097] [培养容器的使用配置]

[0098] 将描述具有上面描述配置的培养容器20的使用配置。图5是示出培养容器的使用配置的示意图。

[0099] 如图5所示,在培养容器20的培养空间中,液体L与孔板30一起被容纳。在孔板30的每个孔31中,容纳待观察对象S(包括细胞等的培养基)。作为液体L,具有高导热率的液体例如水是优选的。特别地,为防止气泡生成,由除气器除气的蒸馏水是优选的。优选液体L的量使得该液体L填充孔板30的每个孔31周围,如在图5中示出,这将在后面描述。

[0100] [实施方式的效果]

[0101] 将描述根据第一实施方式的培养容器20的效果。作为比较,使用其中没有液体L注入到培养空间的培养容器(在下文中称为培养容器a)。

[0102] 如下确认在培养容器a中的培养环境改变:培养容器a容纳能够保持温度和湿度的热处理室(thermal chamber)(25℃)。此外,用于测量温度和湿度的传感器布置在培养容器a内。基于传感器的输出,布置在培养容器a和镜台上的加热器被反馈控制。

[0103] 图6是示出当培养容器a打开时,布置在培养容器a上的每个加热器(每个透明构件)和待观察对象的温度的曲线图。培养容器a的打开意思是就根据第一实施方式的培养容器20而言,盖211相对于主体212打开,并且假设培养容器a打开以更换孔板30。

[0104] 如图6所示,当培养容器a的培养空间保持在预定状况(37℃的温度)下并且培养容器a打开时,培养空间的温度降低。为保持培养环境,每个加热器都生成更多热。然而,由加热器加热赶不上培养环境的改变(温度降低)。待观察对象的温度暂时降低1.5℃。相似地,培养容器a关闭,每个加热器的温度都不能立即降低。因此,待观察对象的温度暂时提高。

[0105] 因此,根据比较实施方式的培养容器a不可以跟随培养环境的改变,即使如果每个加热器都被反馈控制。待观察对象可能受培养环境的改变影响。如果是待观察对象的细胞损坏,那么后面的观察将受到显著影响。

[0106] 相反,根据第一实施方式的培养容器20通过将液体L注入到培养空间,阻止培养环境的改变。图7A和图7B各自为示出液体L的液面和孔31中容纳的待观察对象的温度降低量的表格。图7A示出具有裙缘32(见于图4A)的孔板的温度降低量。图7B示出没有裙缘32的孔板的温度降低量。在图7A的孔板30中,在每个孔31的底部表面和第一透明构件23之间的距离是7mm。在图7B中的孔板30中,该距离是0mm(相互接触)。

[0107] 图7A和图7B表明待观察对象的温度降低量由于液体L而减少。它们也表明每个孔31的底部表面和第一透明构件23越短并且液体L的液面越高,温度降低量越小。因此,待观察对象不会由于培养环境的改变而受损,即可以将待观察对象保持在用于观察的合适状况。

[0108] 这样,在根据第一实施方式的培养容器20中,液体L可以注入到培养空间。通过注入到培养空间的液体L的高导热率,可以在培养容器20打开时抑制培养环境的变化。

[0109] (第二实施方式)

[0110] [培养容器的配置]

[0111] 将描述根据第二实施方式的培养容器。培养观察装置与第一实施方式相似。图8是根据第二实施方式的培养容器40的示意图。

[0112] 如图8所示,除了与第一实施方式类似的框体构件21、第一透明构件23、第二透明构件22、密封环24和防水构件25之外,根据第二实施方式的培养容器40还具有侧加热器41。液体L与在第一实施方式中一样被注入到培养空间。

[0113] 侧加热器41是当孔板30容纳在培养空间内时在孔板30周围布置的圆形加热器。侧加热器41可以是带状加热器或橡胶加热器。侧加热器41由控制单元17(见于图1)设定到预定温度(例如在37℃)。

[0114] 在第一实施方式中,液体L注入到培养空间,借此在培养容器20打开时阻止培养环境的变化。在第二实施方式中,可以在孔板30的面内将培养环境均匀化。

[0115] 具体地,在孔板30的每个孔31中,外周(圆周部分)的每个孔31的温度可能低于内周(中心部分)的每个孔31的温度。这似乎是第一透明构件23产生热,该热流动到电极的另一末端,并且产生的温度分布直接传送到孔31。根据第二实施方式,通过用侧加热器41加热孔板30的外周,可以防止在孔31中外周温度的降低,并且可以阻止内周的孔和外周的孔之间的温差(参考实施例)。在该测试中,使用具有与孔板30相似大小的第一透明构件23。当第一透明构件23具有更大的外径并且孔板30布置在具有平坦温度分布的中心部分上的时候,第一透明构件23的温度分布不影响孔板30。一旦在孔31中的培养基(在待观察对象S中含有)蒸发,则外周的温度变得高于内周的温度。这样的影响是显著的。通过将液体注入到孔板30的周围,一旦液体L蒸发,则将孔板30的内周和外周调湿到几乎相同的蒸发程度。因此,在内周和外周之间的温差可以受抑制(参见图26)。

[0116] (第三实施方式)

[0117] [培养容器的配置]

[0118] 将描述根据第三实施方式的培养容器。培养观察装置与第一实施方式相似。图9是根据第三实施方式的培养容器50的示意图。

[0119] 如图9所示,除了与第一实施方式相似的框体构件21、第一透明构件23、第二透明构件22、密封环24和防水构件25之外,根据第三实施方式的培养容器50还具有孔板支撑构件51。不同于第一实施方式,液体L不注入到培养空间。

[0120] 孔板支撑构件51附着到主体212,并且可以支撑与第一透明构件23分离的孔板30。孔板支撑构件51可以由具有高绝热性质的材料构成。

[0121] 孔板支撑构件51防止孔板30与第一透明构件23接触,借此可以阻止从第一透明构件23到裙缘32的不规则热传导。因此可能抑制在孔板30中内周和外周的孔31之间的温差。

在此情况下,由于没有液体L,因此在显微镜光学系统15和待观察对象S之间的光学距离不构成问题。

[0122] (第四实施方式)

[0123] [培养容器的配置]

[0124] 将描述根据第四实施方式的培养容器。培养观察装置与第一实施方式类似。图10A和图10B每个都是根据第四实施方式的培养容器60的示意图。图10A是培养容器60的剖面图。图10B是培养容器60的部分配置的平面图。

[0125] 如图10A和图10B所示,除了与第一实施方式类似的框体构件21、第一透明构件23、第二透明构件22、密封环24和防水构件25之外,根据第四实施方式的培养容器50还具有多孔构件61。与第一实施方式类似,液体L注入到培养空间。

[0126] 多孔构件61是多孔材料例如湿度控制建筑材料的构件,并且被布置为与液体L的液面接触。多孔构件61可以附着到主体212,或可以在液体L的液面浮动。

[0127] 用于注入液体L的注入孔611可以布置在多孔构件61上。由此在布置了多孔构件61之后也可以用注入孔611注入液体L。

[0128] 多孔构件61提供以下益处。具体地,当镜台60被驱动时培养容器60移动,如上面描述。由于该移动,液面L波动,并且液体L被不利地引入到孔31。根据第四实施方式,液面L用多孔构件61包覆,由此防止液面L引入到孔31。另外,由于多孔构件61的多孔性,由此该多孔构件61可以透过液体L的蒸汽。结果,液体L仍可以发挥阻止培养环境改变的益处。

[0129] 除了多孔构件61之外,培养容器60还可以具有防飞散构件62。图11A和图11B每个都是具有防飞散构件62的培养容器60的示意图。图11A是培养容器60的剖面图。图11B是培养容器60的部分配置的平面图。

[0130] 如在图11A和11B中示出,防飞散构件62附着到多孔构件61,并且被布置为包覆孔板30的圆周部分。防飞散构件62可以是柔性材料,例如橡胶片。防飞散构件62可以防止液体L在多孔构件61和孔板30之间飞散以及不希望地引入到孔31。

[0131] (第五实施方式)

[0132] [培养容器的配置]

[0133] 将描述根据第五实施方式的培养容器。培养观察装置与第一实施方式类似。图12A和图12B每个都是根据第五实施方式的培养容器70的示意图。图12A是培养容器70的剖面图。图12B是培养容器70的部分配置的平面图。

[0134] 与第一实施方式类似,根据第五实施方式的培养容器70具有框体构件21、第二透明构件22、密封环24和防水构件25(参见图5)。如在图12A和图12B中示出,第一透明构件71具有不同于第二透明构件22的配置。第一透明构件71具有凹口711。

[0135] 凹口711在第一透明构件71中的与孔板30的裙缘32接触的位置形成。在图12A和图12B中,凹口711布置在四个点,但不限于此。凹口711允许即使液体L在孔板30布置之后被注入,液体L可在孔板30和第一透明构件71之间流动。

[0136] (第六实施方式)

[0137] [培养容器的配置]

[0138] 将描述根据第六实施方式的培养容器。培养观察装置与第一实施方式相似。与第一实施方式类似,根据第六实施方式的培养容器80具有框体构件21、第二透明构件22、密封

环24和防水构件25(参见图5)。第二透明构件81具有不同于第二透明构件22的配置。图13是根据第六实施方式的培养容器80的第二透明构件81的示意图。

[0139] 如图13所示,不同于根据第一实施方式的第一透明构件23(参见图3),第二透明构件81包括具有透光性的透明板811,以及在透明板811的每段(由点划线示出)形成的透明导电膜812。在相应段中形成的透明导电膜812连接到每个相应段的相应的电极对813,并且通过从该电极813供应的电力产生热。这样的第二透明构件81配置允许每段地调整发热温度。此外,在第一透明构件23的发热温度方面,在孔板30的每个孔31中的培养环境(温度)可以是均匀的。特别地,温度传感器(未示出)可以每段地在每个孔31中布置,并且可以每段地反馈控制。

[0140] (第七实施方式)

[0141] [培养容器的配置]

[0142] 将描述根据第七实施方式的培养观察装置。图14是根据第七实施方式的培养观察装置90的示意图。如图14所示,与根据第一实施方式的培养观察装置1相似,培养观察装置90包括照明光源11、光纤12、照明光学系统13、镜台14、显微镜光学系统15、图像捕捉传感器16和控制单元17。除了在上面描述的组成之外,培养观察装置90进一步包括送风器91。在第一到第六实施方式中示出的培养容器中的任何都可以设定到培养观察装置90。这里,根据第一实施方式的培养容器20将作为例子描述。

[0143] 如在图14中示出,送风器91在显微镜光学系统15周围将空气吹动到培养容器20的第一透明构件23。每个送风器91都可以是连接到气源例如气瓶的喷口,或可以是配备风扇的送风器。如在图14中示出,两个送风器91间隔显微镜光学系统15布置,但可以布置一个或更多送风器91。

[0144] 当送风器91将空气吹动到第一透明构件23时,第一透明构件23的发热温度可以是均匀的。图15A和图15B每个都是示出在第一透明构件23中温度分布的示意图。图15A示出当送风器91不吹动空气时的温度分布。图15B示出当送风器91吹动空气时的温度分布。

[0145] 如图15A所示,当没有布置送风器91时,在第一透明构件23中的中心部分和圆周部分之间具有温差。这是因为热沿第一透明构件23的平面方向(垂直于厚度的方向)的流动。如图15B所示,当送风器91将空气吹动到第一透明构件23时,在第一透明构件23中的中心部分和圆周部分之间的温差减小。可以认为通过吹动空气将第一透明构件23的下表面(培养容器外面)冷却,并且热流动方向变成厚度方向。

[0146] 因此,在根据第七实施方式的培养观察装置90中,可以将第一透明构件23的发热温度均匀化,即将孔板30的每个孔31的培养环境均匀化。

[0147] (第八实施方式)

[0148] [培养观察装置的配置]

[0149] 将描述根据第八实施方式的培养观察装置。图16是根据第八实施方式的培养观察装置100的示意图。如在图16中示出,与根据第一实施方式的培养观察装置1类似,培养观察装置100包括照明光源11、光纤12、镜台14、显微镜光学系统15、图像捕捉传感器16和控制单元17,但包括不同的照明光学系统13。培养观察装置100进一步包括红外光源102和光纤103。在第一到第六实施方式中示出的任何培养容器都可以设定到培养观察装置100。这里,根据第一实施方式的培养容器20作为例子描述。

[0150] 红外光源102生成红外线。任何光源例如卤素灯都可以用作红外光源102。光纤103将从红外光源102照射的红外线透射到照明光学系统104。

[0151] 照明光学系统104可以具有第一透镜1041、第二透镜1042、牵引环1043、红外照明单元1044和聚光透镜1045。与第一实施方式相似，第一和第二透镜1041和1042、牵引环1043和聚光透镜1045是用于发出由照明光源11生成，并且由光纤12传输到待观察对象的照明光的光学系统。

[0152] 红外照明单元1044是连接到光纤103，并且发出从光纤103传输到培养容器20的第二透明构件22的照明光的光学系统。红外照明单元1044可以由万花筒或蝇眼阵列透镜(fly array lens)配置。

[0153] 红外照明单元1044可以被布置为具有与牵引环1043的预定位置关系。图17是红外照明单元1044到牵引环1043的配置的示意图。如在图17中示出，红外照明单元1044可以布置在牵引环1043的狭缝的内周，并且布置在牵引环1043的待观察对象侧(培养容器20)。

[0154] 通过这样的配置，以源自照明光学系统104的用于捕捉相差图像的照明光以及红外线照射培养容器20。如图16所示，在红外照明单元1044和牵引环1043之间的上述位置关系允许照明光A1和红外线A2的光轴相同。

[0155] 当培养容器20的第二透明构件22(参见图5)由红外吸收材料构成时，该第二透明构件22可以由从红外照明单元1044照射的红外线产生热。这样，当培养容器20打开时，第二透明构件22也可以与第一透明构件23一起加热培养空间，由此容易保持培养环境。通过在照明光学系统104中调整在透镜之间的距离，照明光在第二透明构件22上的亮度分布可以调整，由此调整温度分布。

[0156] 与第七实施方式相似，根据第八实施方式的培养观察装置100可以具有送风器以便将空气吹动到第一透明构件23。通过送风器，第一透明构件23的发热温度可以是均匀的，并且培养环境也可以是均匀的。

[0157] [第九实施方式]

[0158] [培养观察装置的配置]

[0159] 将描述根据第九实施方式的培养观察装置。根据第九实施方式的培养观察装置110包括具有以下配置的控制单元1101：在培养观察装置110中，除了控制单元1101之外的配置与根据第一实施方式的培养观察装置1描述的配置类似(参见图1)。在第一到第六实施方式中示出的任何培养容器都可以设定到培养观察装置110。这里，根据第一实施方式的培养容器20作为例子描述。

[0160] 图18是示出控制单元1101的功能配置的示意图。如图18所示，控制单元1101具有加热器电源1102、开关1103、第一温度控制器1104、第二温度控制器1105、计数器1106、时钟信号发生器1107、顶盖打开和关闭开关1108、以及通电/断电计时器设定单元1109。在培养容器20上，布置用于测量孔31的温度的温度传感器1110。第二温度控制器1105可以是布置在第一温度控制器1104上的体积控制旋钮。

[0161] 图19到图21每个都是示出在顶盖(盖211)的打开之前和之后由温度传感器1110测量的测量温度的曲线图。图19示出当液体L不注入到培养环境20时伴随顶盖打开的温度改变。在此时的温度降低量是2.5℃。这是因为即使由第一透明构件23的第一温度控制器1104的PID(比例/积分/微分)控制设定到最大(最快)，仍然不能防止由培养物蒸发导致的温度

降低。

[0162] 图20示出根据如在图18中的逻辑由在现有技术中的温度控制器获得的结果。这里,除了当顶盖打开时以外,温度控制由第一温度控制器1104通过PID控制执行,并且由第二温度控制器1105切换到迅速响应开/关控制。

[0163] 然而,如果保持这样,那么该设备可以通电直到其达到控制温度,如在图20中示出。即使热量输入结束,可能由于余热而温度继续升高。图21示出通过在加热器电源1102上加电,然后在某个时间过去之后将其断电的温度控制的结果。这改善温度降低量,低至约1℃。(由于当顶盖不打开/关闭时第一温度控制器1104的PID控制没有问题,因此在温度稳定之后切换到第一温度控制器1104)。尽管第二温度控制器1105用于控制温度,但其可以是不损害该功能的加热器电源1101的“输出控制器”。

[0164] 在顶盖关闭之后,温度提高并且因此设定另一断电时间(在图18中的(2))。为减少温度提高量,第二透明构件22的加热器电源1102可以同时关闭。时间由从时钟信号发生器1107生成的时钟信号并且使用计数器1106计数来控制。

[0165] 通过打开和关闭顶盖而生成信号的顶盖打开和关闭开关1108可以用电开关代替。例如,时钟信号发生器1107可以是晶体振荡器,并且计数器1106可以是计数器电路。开关1103将第一温度控制器1104切换到第二温度控制器1105。通常,可以使用继电器电路、多路复用器等。

[0166] 如在上面描述,根据第九实施方式,控制器1101将PID控制切换到开/关控制,反之亦然,从而控制第一透明构件23的加热温度。因此可以在盖211打开时减少培养环境的改变。

[0167] [实施例]

[0168] 将描述在上面描述的相应实施方式的实施例。在下面的测量中,温度传感器放置在孔板30的指定孔31中,从而测量注入到孔31的水(培养基的替换物)的温度。图22示出其中放置温度传感器的孔31,以及对应于放置在孔31上的温度传感器的编号。如在图23中示出,在孔31的底部表面和第一透明构件23之间的距离表示为B1,并且液体L的液面(距第一透明构件23)表示为B2。

[0169] 图24和25每个都是示出在相应状况下由温度传感器(参见图22)测量的测量值的表格。图26是示出当布置多孔材料时由温度传感器测量的测量值的曲线图。测量1、2、3显示在距离B1变得更短时温度不规则性更优。在测量1中,外周的温度低,这趋向于直接反映第一透明材料23的温度分布。通过提供侧加热器41(参见第二实施方式),可以防止外周的温度降至低于内周,如在测量结果1-(1)中示出。

[0170] 相反,在测量2和3中,第一透明构件23的温度分布被间接示出。孔板的外周的温度高于孔板的内周。同样,这应用于其中没有液体L注入的测量4和5,并且其原因在后面描述。在测量4和5中,温度不规则性相对小,但温度降低量大(在测量4中约1.5℃,并且在测量5中约2.5℃)。另一方面,当使用具有裙缘32(参见图3)的孔板30,即,如图9所示使用孔板支撑构件51升高裙缘32时,图25示出温度测量结果。

[0171] 在测量6中,温度不规则性具有方向相关性。但在测量7中,温度不规则性变得更优。温度不规则性由裙缘32与第一透明构件23的接触导致的不规则热传导引起。确认了由孔板支撑构件51改善温度不规则性。因此,在其中液体L直接注入的测量8中,温度不规则性

变差。

[0172] 当升高裙缘32下注入液体L时,在显微镜光学系统15和待观察对象之间的光程过大,并且光学像差构成问题。在测量9和10中,分别使用侧加热器41。在测量10中,温度不规则性比侧加热器41在37℃时更优。

[0173] 在测量2、3、4和5中孔板30的外周具有高温的原因是由周围环境湿气的蒸发。通过围绕如在图10中示出的孔板30的外周布置含有液体L并且使该液体L饱和的多孔构件61(参见第四实施方式),确认了孔板30外周的温度与如在图26中示出的孔板30内周的温度一致(具有与环境相同温度的水代替培养基)。

[0174] 本公开可以具有以下配置。

[0175] (1)一种培养容器,包括:

[0176] 能够保持预定温度的第一透明构件;

[0177] 面向第一透明构件的第二透明构件;

[0178] 第一透明构件和第二透明构件附着的框体构件,该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间;以及

[0179] 密封构件,用于在第一透明构件和框体构件之间密封注入到培养空间的液体。

[0180] (2)根据上面(1)的培养容器,进一步包括:

[0181] 用于包覆注入到培养空间的液体的液面的多孔构件。

[0182] (3)根据上面(1)或(2)的培养容器,进一步包括:

[0183] 附着到多孔构件的防飞散构件,以便包覆在培养空间中容纳的孔板和该多孔构件之间的缝隙。

[0184] (4)根据上面(1)到(3)中任何一项的培养容器,其中,

[0185] 在第一透明构件上形成有凹口,该凹口在该第一透明构件和布置在该第一透明构件上的孔板之间形成缝隙。

[0186] (5)根据上面(1)到(4)中任何一项的培养容器,进一步包括:

[0187] 由绝热材料构成的支撑构件,以便支撑容纳在培养空间中的孔板。

[0188] (6)根据上面(1)到(5)中任何一项的培养容器,其中,

[0189] 第一透明构件包括具有光学透明性的透明板、在该透明板上在透明板的每段形成电极对、以及透明导电膜,该透明导电膜在该透明板上形成并且连接到透明板的每段的电极对。

[0190] (7)一种培养观察装置,包括:

[0191] 培养容器,包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向该第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件,第一透明构件和第二透明构件附着到该框体构件,该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间,并且该密封构件用于在第一透明构件和框体构件之间密封被注入到培养空间的液体;

[0192] 用于以照明光照射培养容器的照明光学系统;以及

[0193] 显微镜光学系统,从照明光生成相差图像,该照明光从照明光学系统照射并且透过培养容器。

[0194] (8)根据上面(7)的培养观察装置,进一步包括:

[0195] 将空气吹至第一透明构件的送风器。

- [0196] (9)根据上面(7)或(8)的培养观察装置,其中,
- [0197] 第一透明构件包括红外吸收材料,以及
- [0198] 照明光学系统用照明光和红外线照射第二透明构件。
- [0199] (10)根据上面(7)到(9)中任何一项的培养观察装置,其中,
- [0200] 照明光学系统包括具有环形狭缝的牵引环和红外照明单元,该红外照明单元布置在该环形狭缝的培养容器侧并且在该环形狭缝的内周。
- [0201] (11)一种培养观察方法,包括:
- [0202] 准备培养容器,其包括能够保持预定温度的第一透明构件、面向该第一透明构件的第二透明构件、框体构件和密封构件,第一透明构件和第二透明构件附着到该框体构件,该框体构件与第一透明构件和第二透明构件一起形成能够容纳孔板的培养空间,并且该密封构件用于在第一透明构件和框体构件之间密封被注入到培养空间的液体;
- [0203] 将容纳有待观察对象的所述孔板容纳在培养空间中;
- [0204] 将液体注入到培养空间;以及
- [0205] 将培养空间保持为待观察对象的培养环境。
- [0206] 本公开含有在2012年9月25日提交至日本专利局的日本在先专利申请JP2012-211480中披露的主题有关的主题,其全部内容通过引用结合到本文。
- [0207] 本领域技术人员应理解可以在权利要求或其等效范围内取决于设计需求和其他因素进行各种修改、组合、子组合和更改。

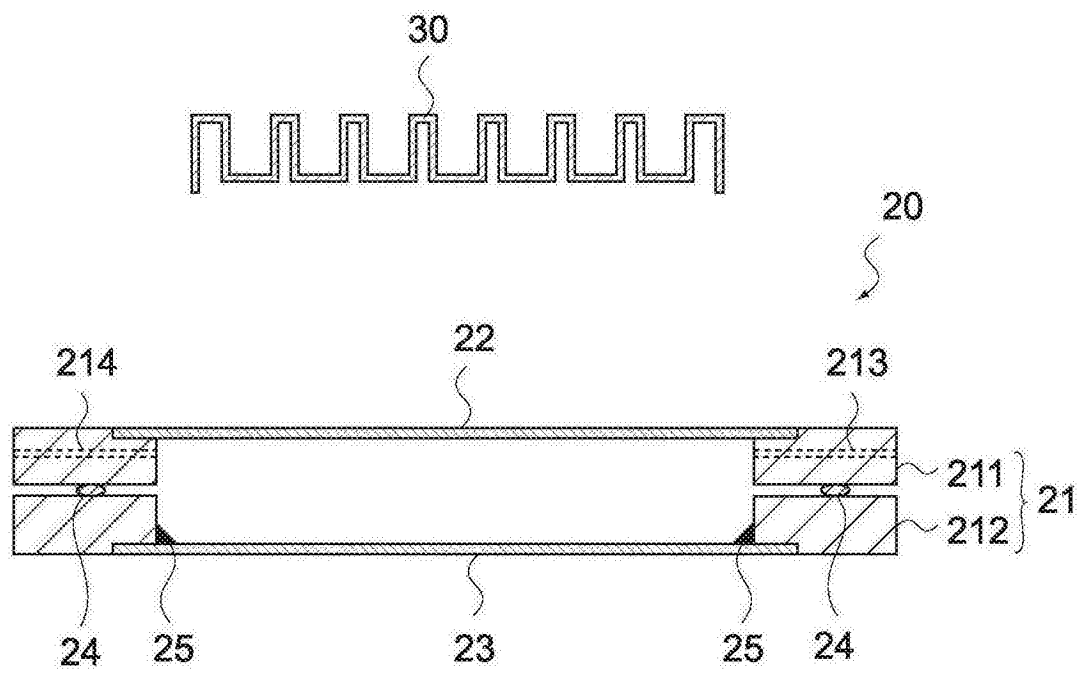


图2B

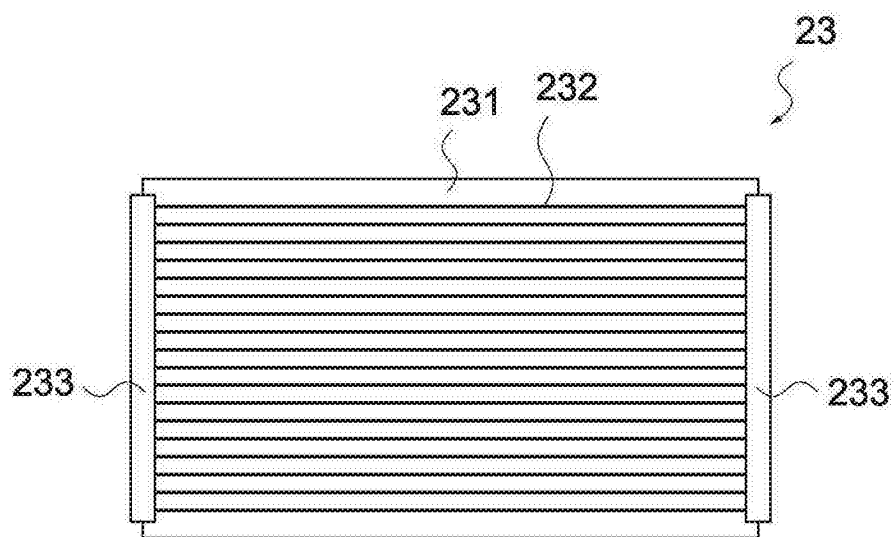


图3

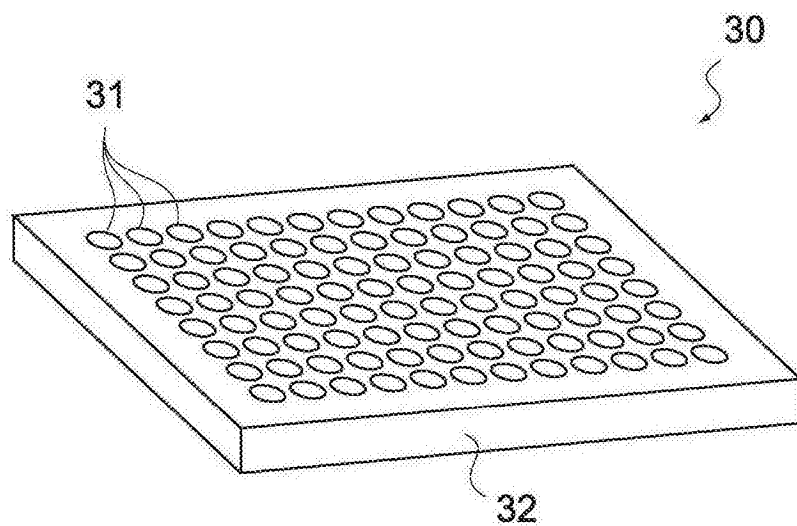


图4A

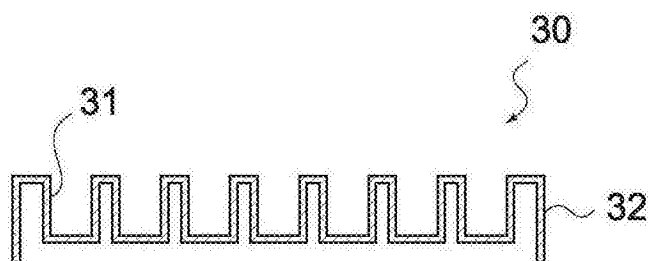


图4B

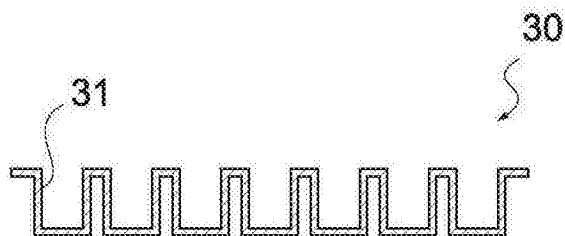


图4C

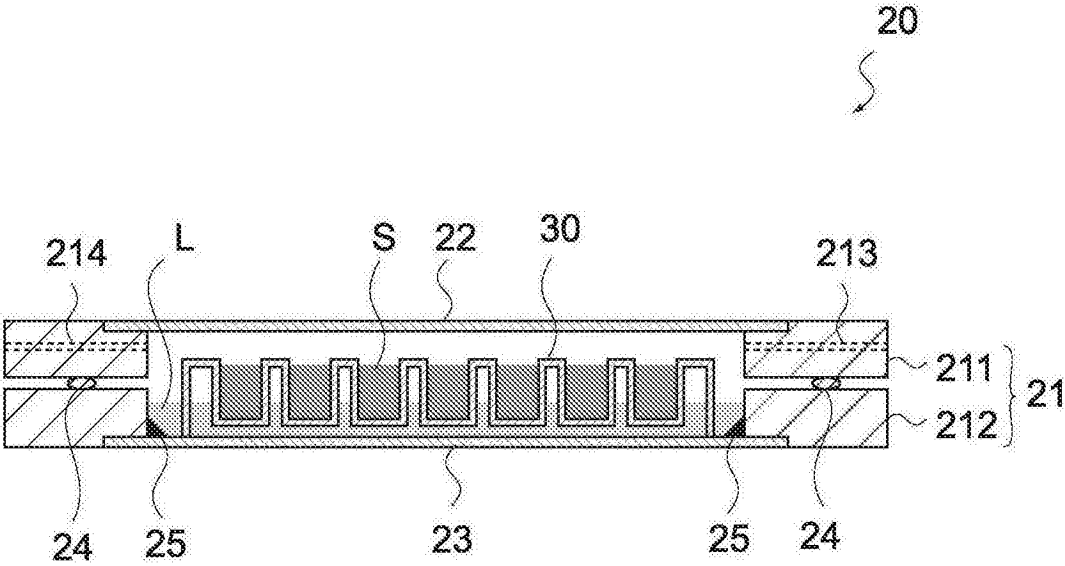


图5

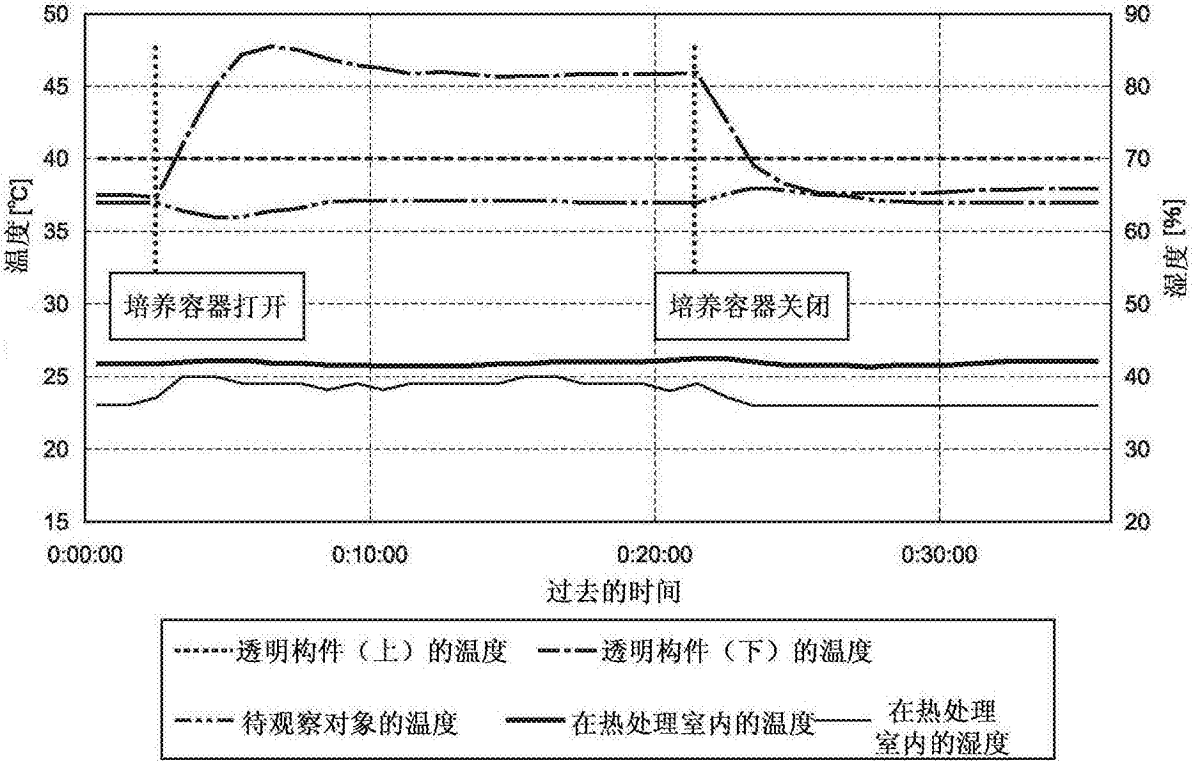


图6

水位	温度降低量
13mm	0.7℃
2mm	1.5℃

图7A

	温度降低量
9.5mm	0.4℃

图7B

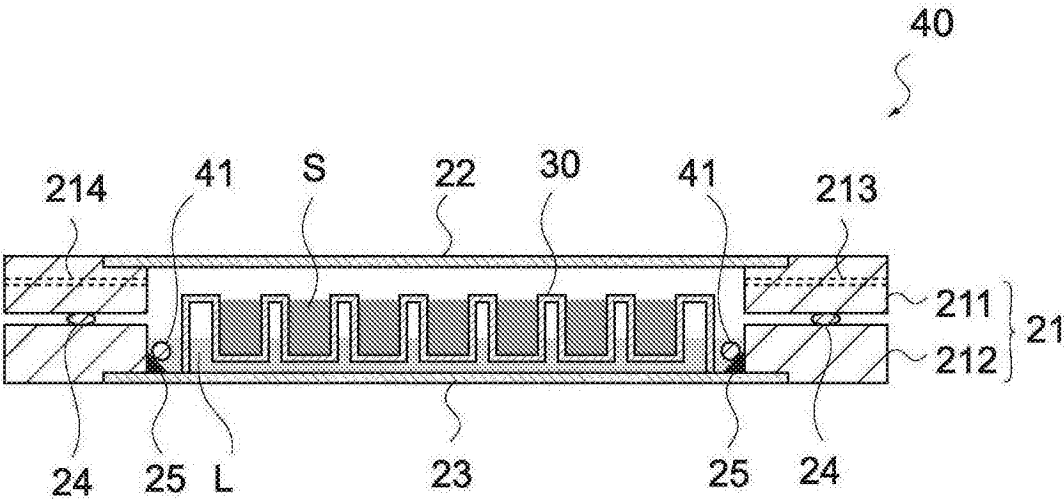


图8

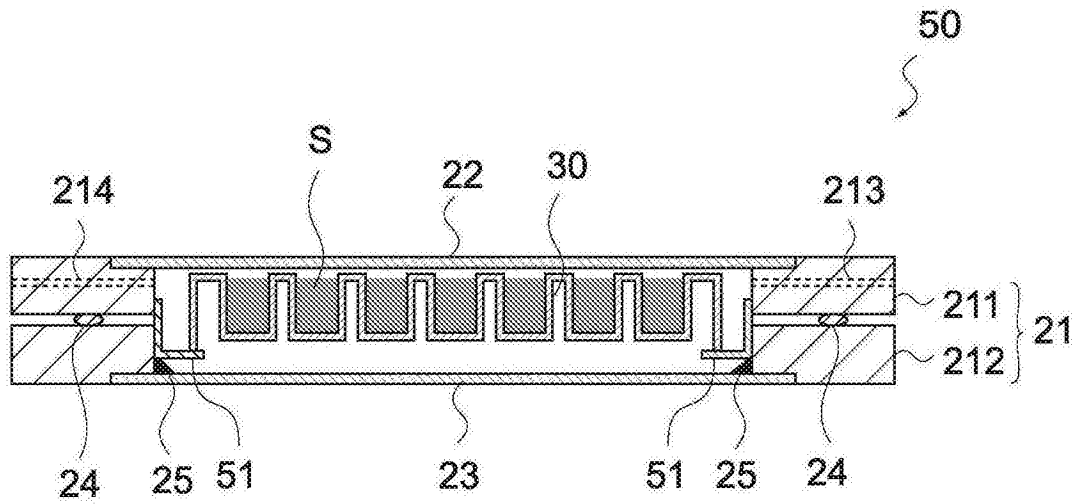


图9

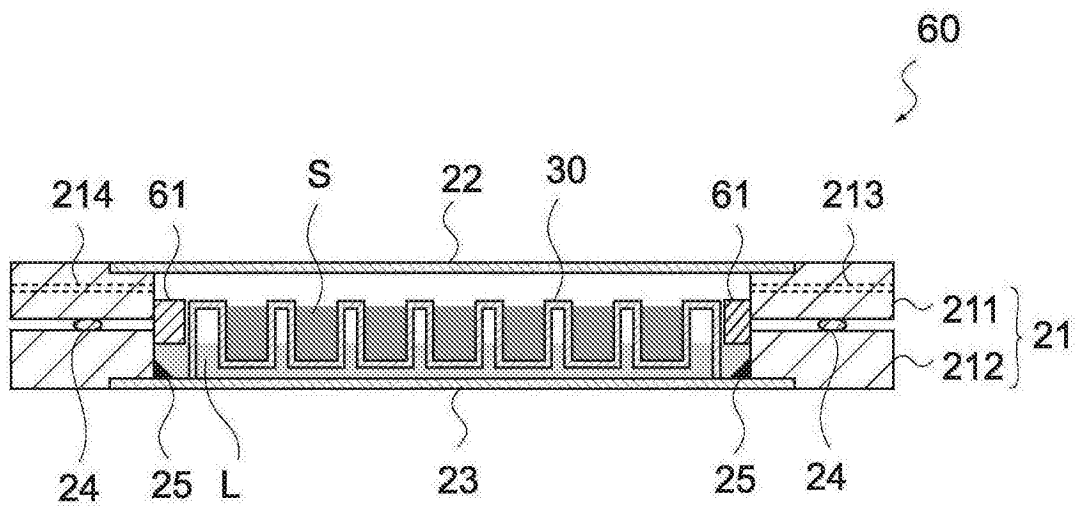


图10A

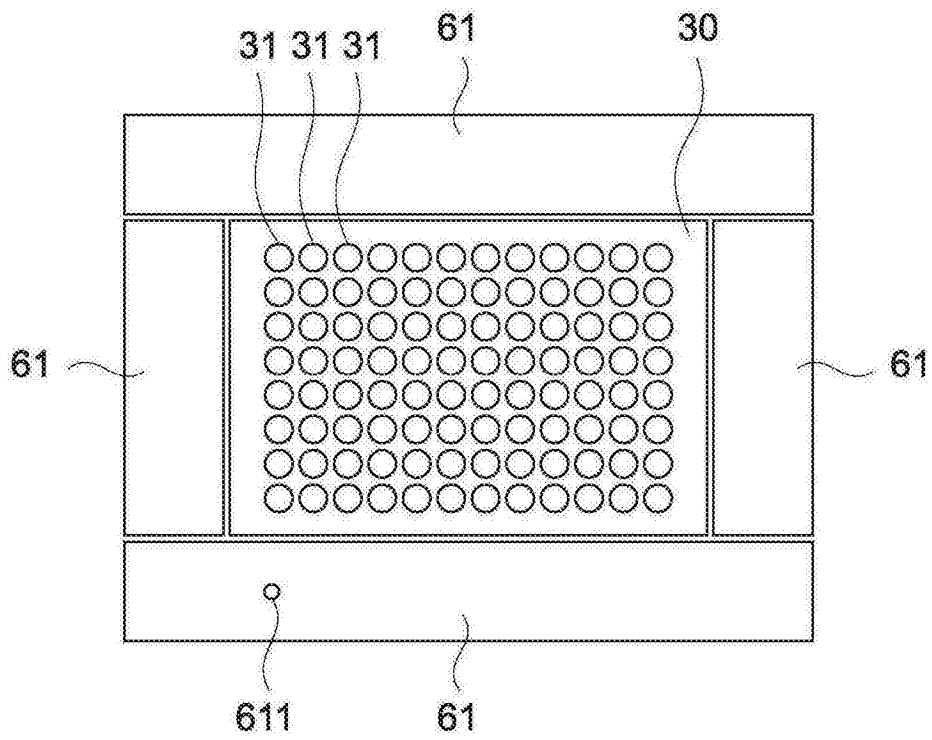


图10B

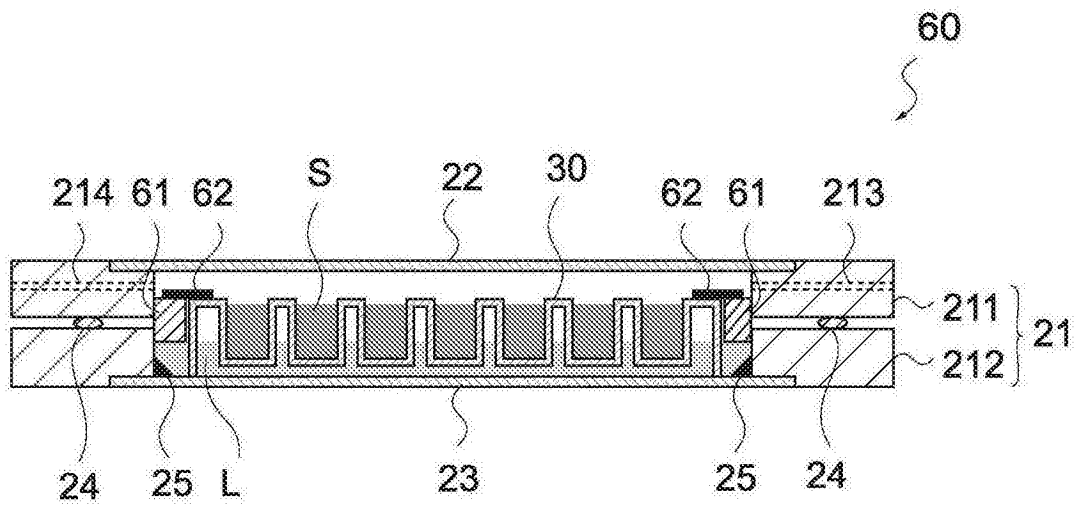


图11A

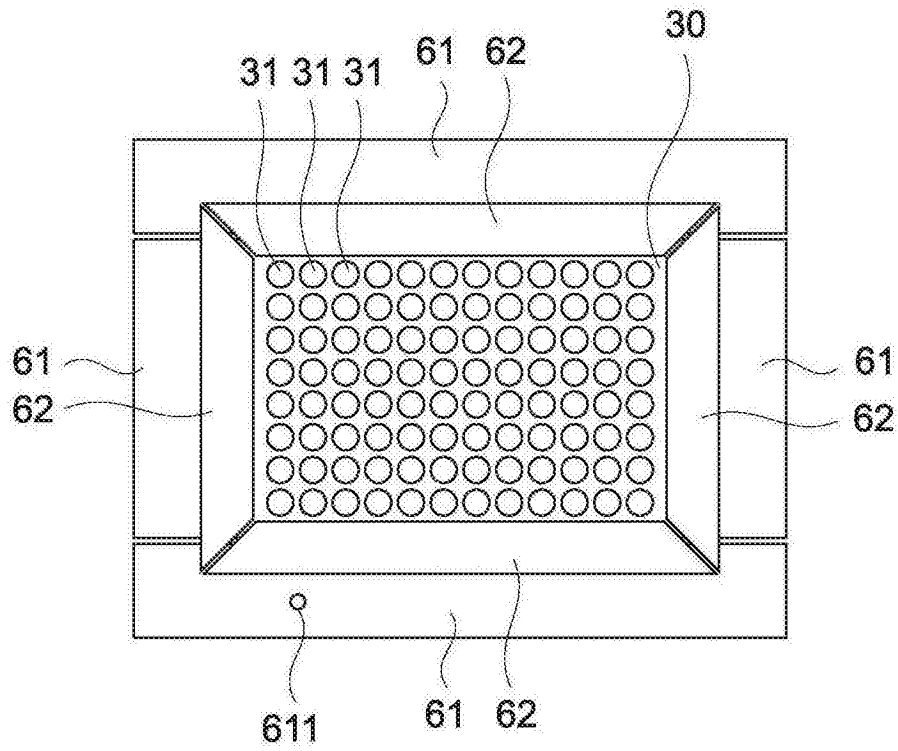


图11B

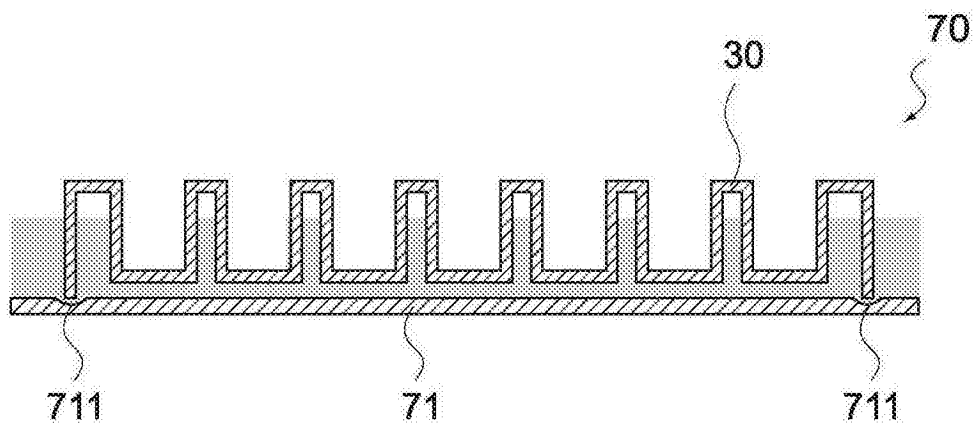


图12A

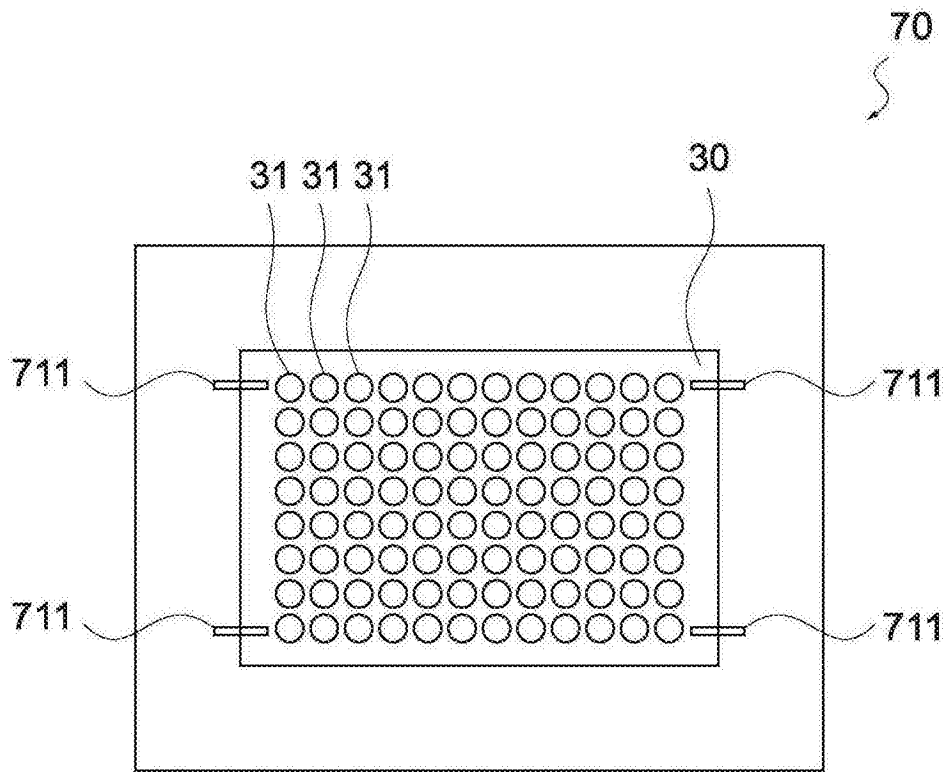


图12B

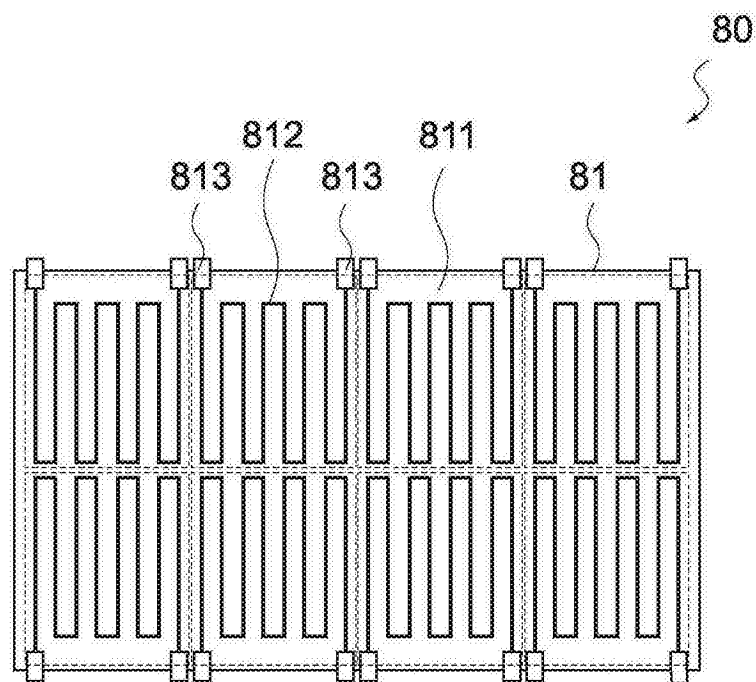


图13

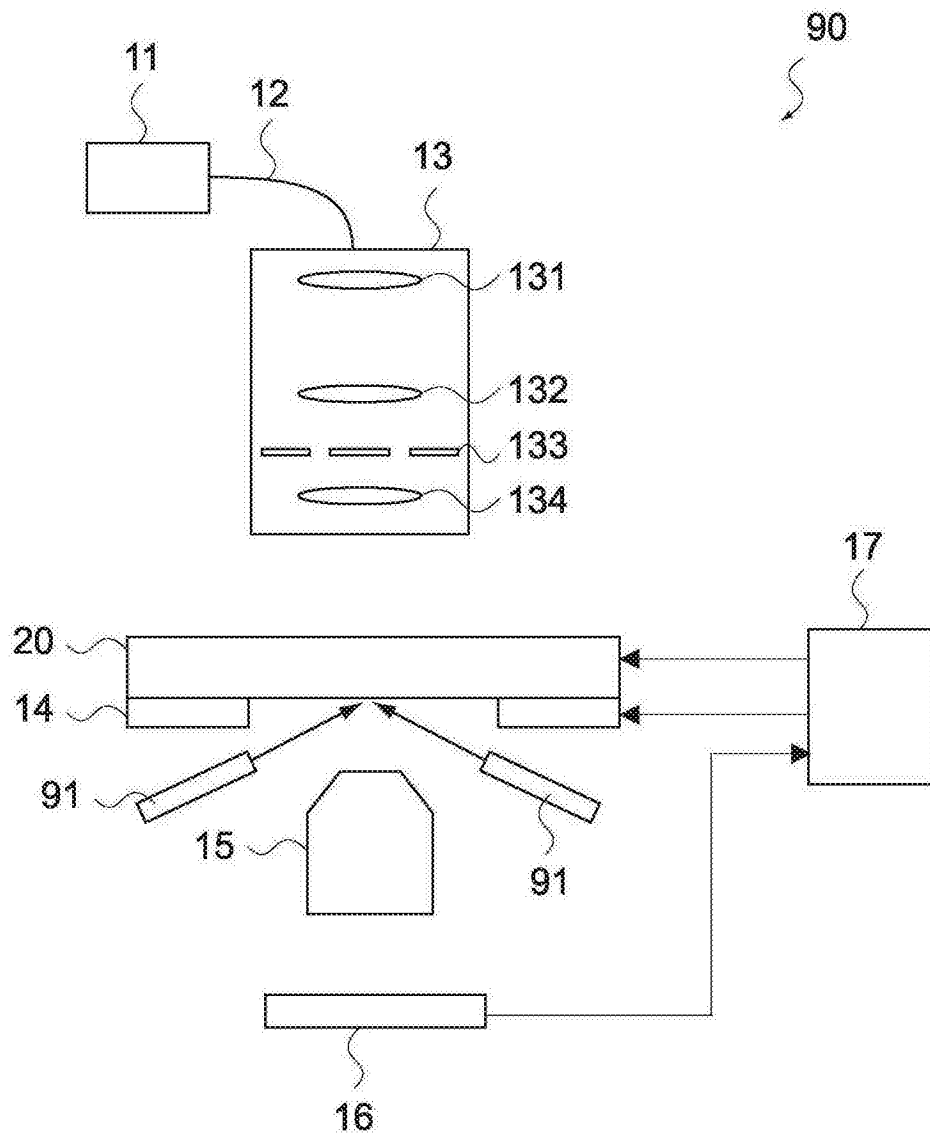


图14

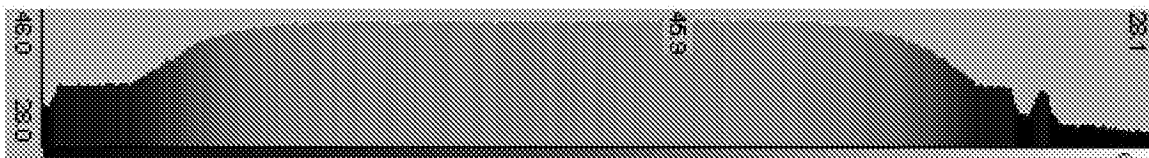


图15A

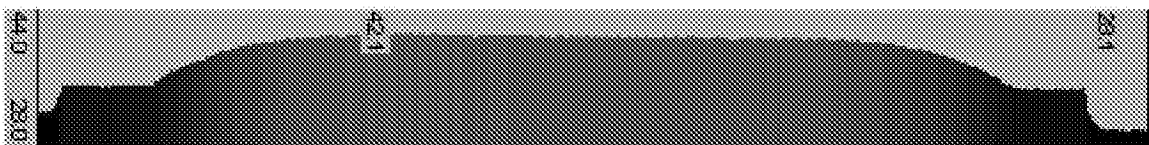


图15B

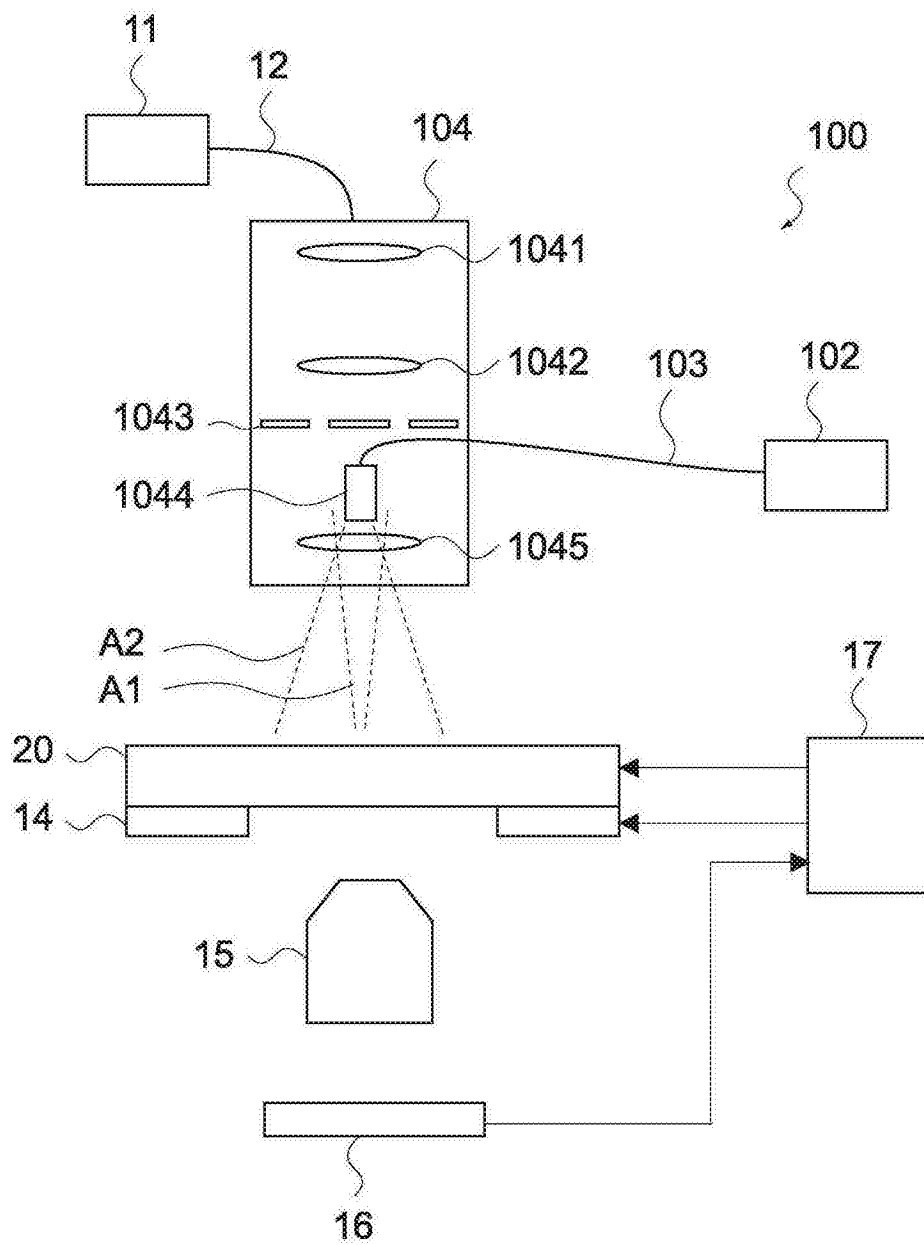


图16

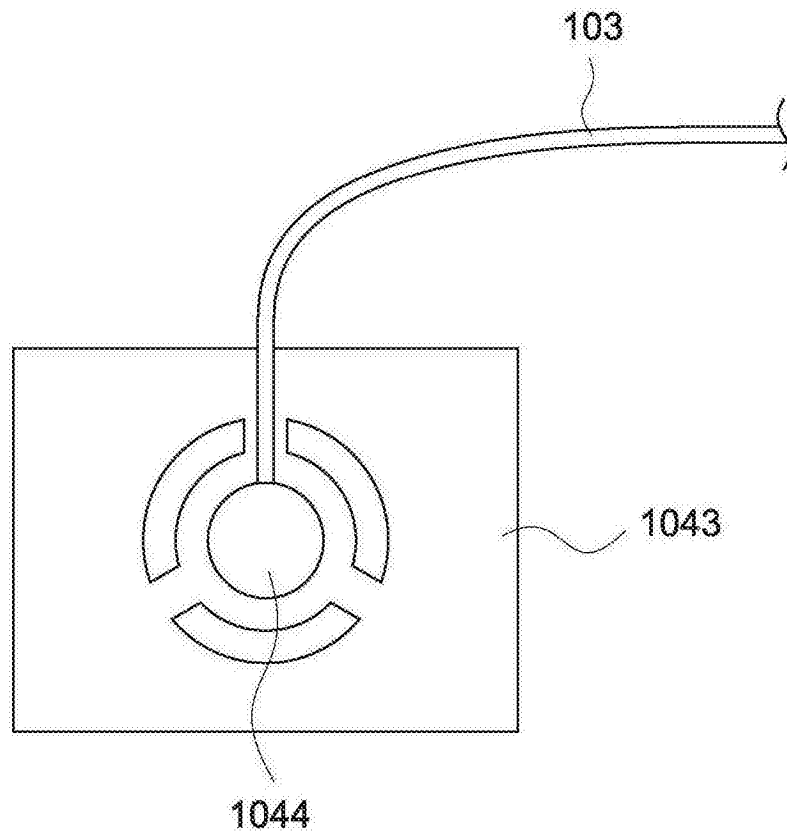


图17

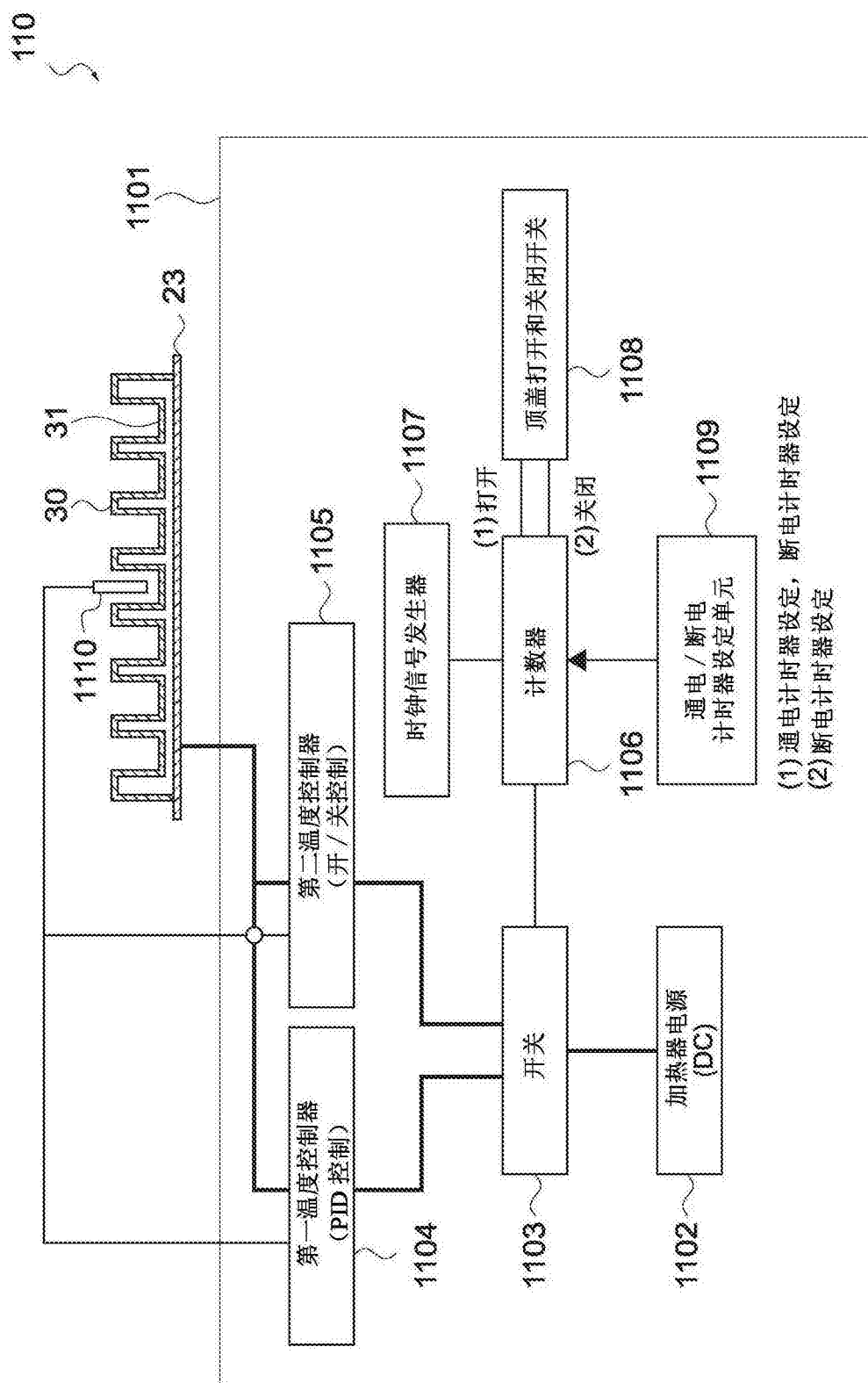


图18

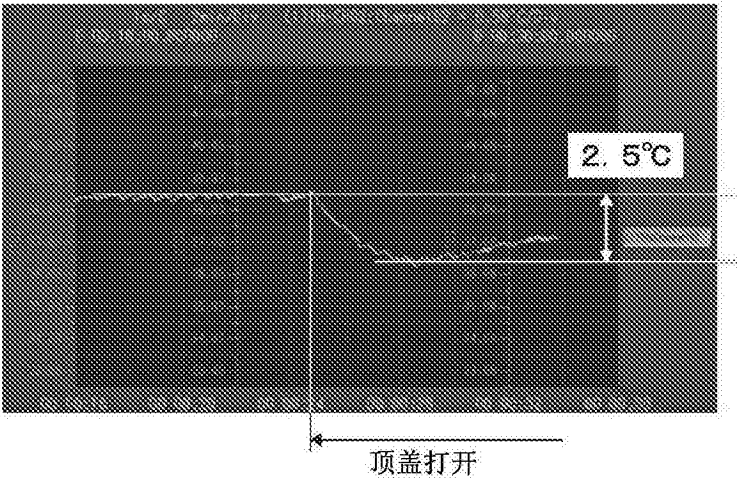


图19

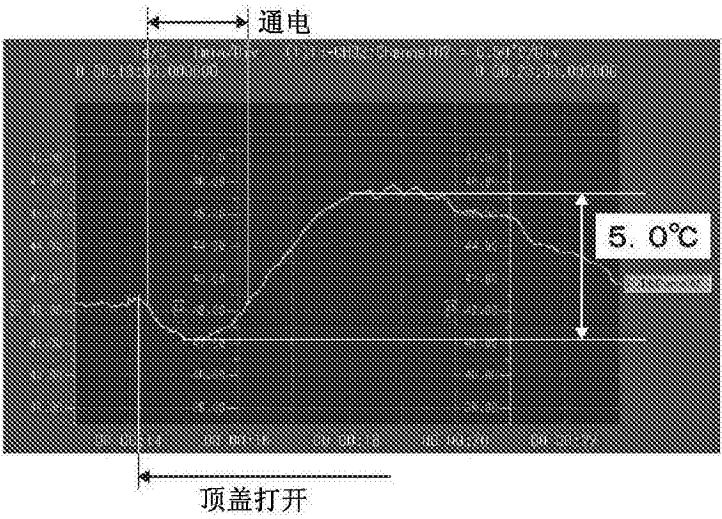


图20

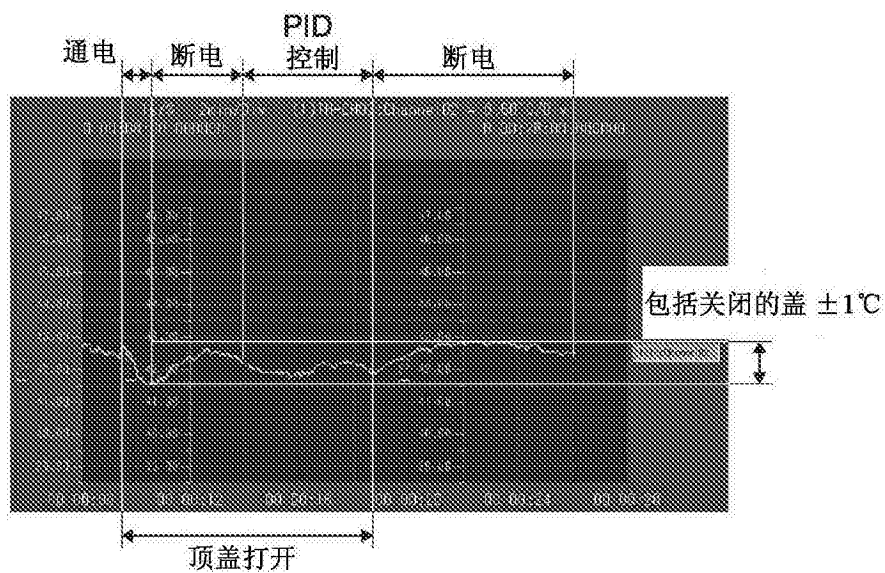


图21

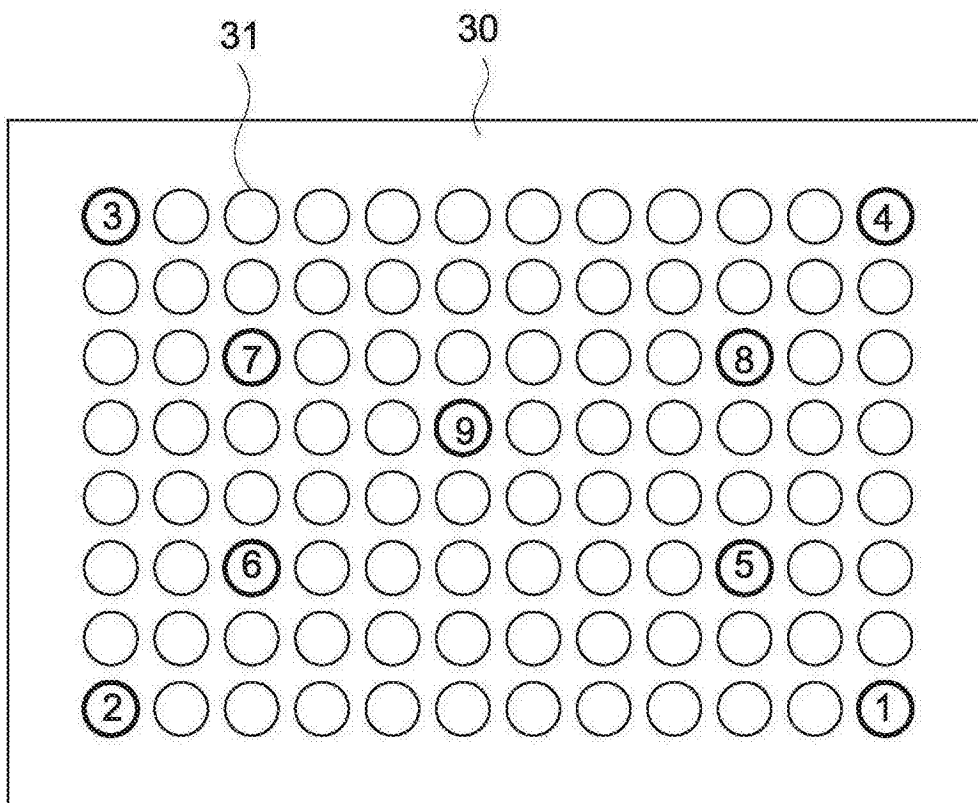


图22

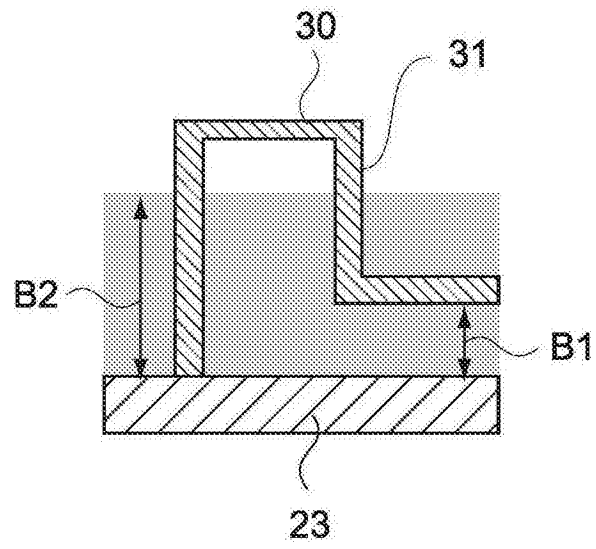


图23

测量 1 液体 L (距离 B1: 0 mm, 水位 B2: 4 mm)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	35	35	34.2	34.6	36.4	37.1	37.7	36.3	37.7	3.5	
孔水温平均值	34.7		37.04						-2.34		
测量 1-(1) 液体 L (距离 B1: 0 mm, 水位 B2: 4 mm), 侧加热器打开 (37°C)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	39.2	39.8	37.8	38.7	39.1	39.5	38.8	39	38.5	2	
孔水温平均值	38.875		38.98						-0.105		
测量 2 液体 L (距离 B1: 2 mm, 水位 B2: 6 mm)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	43.8	43	40.9	41.8	40.8	40.4	39.2	38.7	38.2	5.6	
孔水温平均值	42.375		39.46						2.915		
测量 3 液体 L (距离 B1: 9 mm, 水位 B2: 11 mm)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	40.8	40.2	39	39.3	37	38.3	37.2	36.6	37.4	4.2	
孔水温平均值	39.825		37.3						2.525		
测量 4 没有液体 L (距离 B1: 0 mm)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	38.9	38.6	38.8	38.5	38.5	37.5	38	38	37	1.9	
孔水温平均值	38.7		37.8						0.9		
测量 5 没有液体 L (距离 B1: 2 mm)											
外周				内周					差		
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	38.4	38.2	38.3	38.9	38.2	36.9	38	37.3	37	2	
孔水温平均值	38.45		37.48						0.97		

图 24

测量 6 没有液体 L, 裙缘位置: 0 mm											
外周				内周				差			
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	38.3	39.3	38.3	37.4	36.3	36.7	35.4	35.8	35.8	3.9	
孔水温平均值	38.325			36			2.325				
测量 7 没有液体 L, 裙缘位置: 2 mm											
外周				内周				差			
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	37.2	36.9	37.2	37.3	36.7	36.2	37.2	37.7	37.2	1.5	
孔水温平均值	37.15			37			0.15				
测量 8 没有液体 L, 裙缘位置: 0 mm, 水位 B2: 6 mm											
外周				内周				差			
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	39	38.3	34.7	32.9	36.6	38.6	37.3	33.8	37	6.1	
孔水温平均值	36.225			36.66			-0.435				
测量 9 没有液体 L, 裙缘位置: 2 mm, 侧加热器打开(41°C)											
外周				内周				差			
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	38	37.6	38.3	38.9	37.3	36.7	37.7	38.2	37.4	2.2	
孔水温平均值	38.2			37.46			0.74				
测量 10 没有液体 L, 裙缘位置: 2 mm, 侧加热器打开(37°C)											
外周				内周				差			
编号	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	最大值 - 最小值	
孔水温	37.7	37.2	37.8	38.2	37.2	37.2	38	38	37.3	1	
孔水温平均值	37.725			37.54			0.185				

图 25

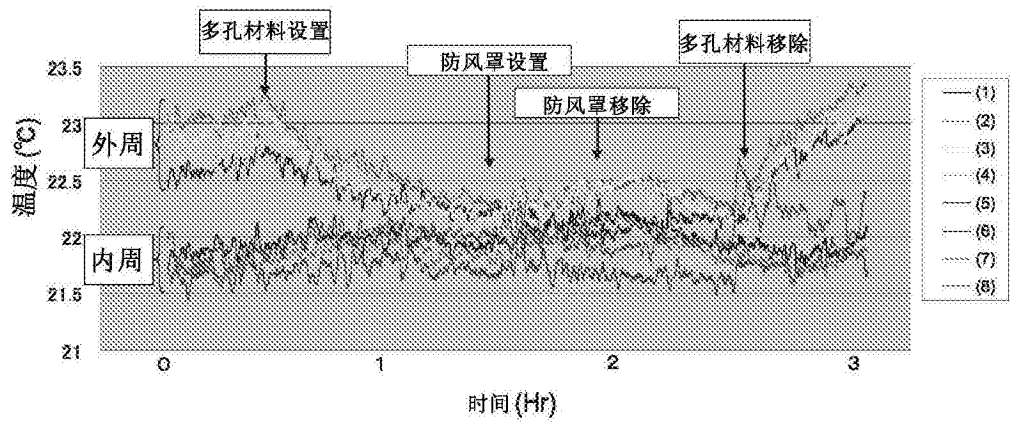


图26