(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
2022年9月29日(29.09.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/202043 A1

(51) 国際特許分類:
C12M 3/00 (2006.01) *C12N 5/071* (2010.01)
C12M 1/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/007072

(22) 国際出願日： 2022年2月22日(22.02.2022)

(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 2021-050919 2021年3月25日(25.03.2021) JP

(71) 出願人: 豊田合成株式会社 (**TOYODA GOSEI CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒4528564 愛知県清須市春日長畑１番地 Aichi (JP).

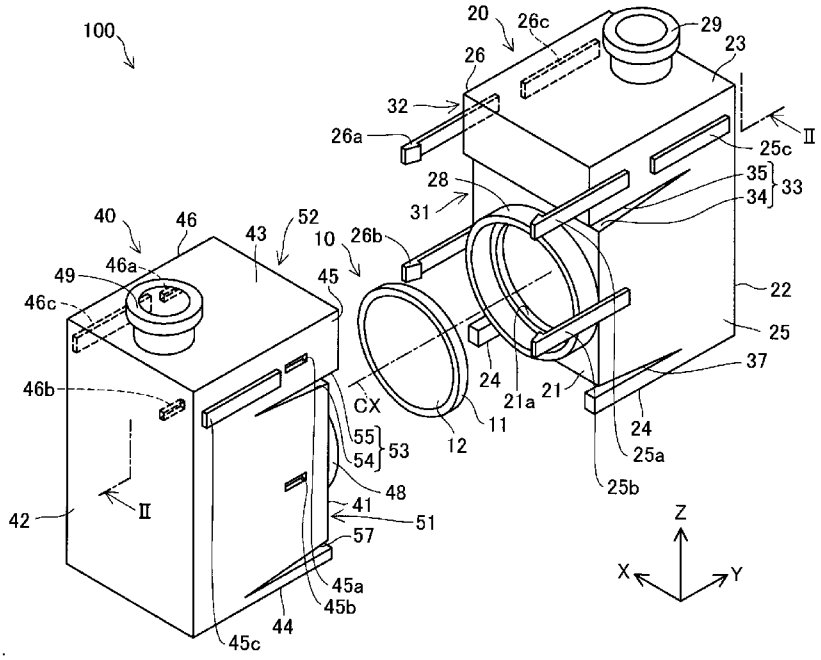
(72) 発明者: ▲高▼城 誠太郎 (**TAKI Seitaro**); 〒4528564 愛知県清須市春日長畑１番地 豊田合成株式会社内 Aichi (JP). 山▲崎▼ 真輝 (**YAMAZAKI Masateru**); 〒4528564 愛知県清須市春日長畑１番地 豊田合成株式会社内 Aichi (JP). 日野 清香(**HINO Sayaka**); 〒4600004 愛知県名古屋市中区新栄町１－５ 栄中央ビル６Ｆ パーソルテンプスタッフ株式会社内 Aichi (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人 明成国際特許事務所 (**BENRISHIHOJIN MEISEI INTERNATIONAL PATENT FIRM**); 〒4600008 愛知県名古屋市中区栄一丁目１２番１７号 Aichi (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,

(54) **Title:** CELL CULTURE CONTAINER AND CELL CULTURE METHOD

(54) 発明の名称： 細胞培養容器および細胞培養方法



(57) **Abstract:** A cell culture container provided with a first container, a second container, and a culture membrane retained between the first container and the second container, in which each of the first container and the second container is provided with a first surface having a retention unit on which the culture membrane is retained, a second surface which faces the first surface, a first cell and a second cell which are located adjacent to each other in a second direction that is orthogonal to a first direction that extends from the first surface toward the second surface, a partitioning wall

WO 2022/202043 A1

[続葉有]

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, IT, JM, 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, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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))

which partitions between the first cell and the second cell and extends from the first surface toward the second surface, a communication unit which is formed between the partitioning wall and the second surface and allows the first cell and the second cell to be communicated with each other, and a third surface which faces the partitioning wall in the second direction and zones the second cell in conjunction with the second surface, and in which an insertion port is formed.

(57) 要約:第１容器と、第２容器と、第１容器と、第２容器との間に保持される培養膜と、を備え、第１容器と、第２容器とは、それぞれ、培養膜を保持する保持部を有する第１面と、第１面と対向する第２面と、第１面から第２面に向かう第１方向と直交する第２方向に隣り合う第１セルおよび第２セルと、第１セルと第２セルとを区画する隔壁であって、第１面から第２面へ向かって延びる隔壁と、隔壁と第２面との間に形成された第１セルと第２セルとを連通させる連通部と、隔壁と第２方向において対向し、第２面と共に第２セルを区画する第３面であって、挿入口が形成された第３面と、を備える、細胞培養容器。

明　細　書

発明の名称 ： 細胞培養容器および細胞培養方法

技術分野

[0001]　本開示は、細胞培養容器および細胞培養方法に関する。

背景技術

[0002]　従来、両面において細胞を培養する培養膜を備える細胞培養器具が知られている（例えば、特許文献１）。特許文献１の細胞培養器具は、内筒の一方の端部に培養膜が配置されており、内筒の他方の端部が開放されている。そして、例えばピペットなどの器具が内筒の内部に挿入される際には、他方の端部から、培養膜に向かって、器具が挿入される。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２０１５－２０８２８３号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004]　しかしながら、特許文献１に記載の細胞培養器具では、器具が培養膜に向かって内筒に挿入されるため、器具の先端が細胞膜と接触する可能性が高くなる。器具の先端が細胞膜に接触した場合、細胞膜が傷つくおそれが生じる。よって、従来の技術では、器具の先端が細胞膜に接触しないように慎重な操作が要求されるため、作業性が低下するおそれがある。

課題を解決するための手段

[0005]　本開示は、以下の形態として実現することが可能である。

[0006]（１）本開示の一形態によれば、細胞培養容器が提供される。この細胞培養容器は、第１容器と、第２容器と、前記第１容器と、前記第２容器との間に保持される培養膜と、を備え、前記第１容器と、前記第２容器とは、それぞれ、前記培養膜を保持する保持部を有する第１面と、前記第１面と対向する第２面と、前記第１面から前記第２面に向かう第１方向と直交する第２方向

に隣り合う第１セルおよび第２セルと、前記第１セルと前記第２セルとを区画する隔壁であって、前記第１面から前記第２面へ向かって延びる隔壁と、前記隔壁と前記第２面との間に形成された前記第１セルと前記第２セルとを連通させる連通部と、前記隔壁と前記第２方向において対向し、前記第２面と共に前記第２セルを区画する第３面であって、挿入口が形成された第３面と、を備える。この形態によれば、ピペットなどの器具が挿入口から挿入される際、ピペットの培養膜への接触の可能性は、隔壁によって低減される。これにより、ピペットが培養膜に接触しないようにピペットの操作を慎重に行う程度を低減できるため、作業性を向上させることができる。

（２）上記形態の細胞培養容器において、前記第２方向に前記細胞培養容器を投影した場合に、前記挿入口の少なくとも一部は、前記連通部と重なる位置に形成されていてもよい。この形態によれば、器具を挿入口から連通部を通るように、第２方向に沿って挿入することができるため、作業性を向上させることができる。

（３）上記形態の細胞培養容器において、前記隔壁は、さらに、第１セルを区画する第１セル面であって、前記第２面に近づくにつれ、前記第３面に近づくように傾斜する第１セル面を有していてもよい。この形態によれば、細胞培養容器が、第２セルに対して第１セルが下方に位置する第１姿勢に配置された場合、細胞培養容器に入れられた液体に混入した空気は、浮力により、傾斜している第１セル面に沿って、上方に移動する。よって、培養膜の下における空気の残留は抑制されるため、培養膜での培養を良好に行うことができる。

（４）上記形態の細胞培養容器において、前記第１セルは、さらに、前記隔壁と対向し、前記第１面から前記第２面に向かって延びる第２セル面であって、前記第２面に近づくにつれ、前記第３面から遠ざかるように傾斜する第２セル面を有していてもよい。この形態によれば、細胞培養容器が、第２セルに対して第１セルが下方に位置する第１姿勢に配置された場合、細胞培養容器に入れられた液体は、重力により傾斜している第２セル面に沿って、下

方に移動する。細胞培養容器に入れられた液体は、第１セルの第２セル面の下方に溜まるため、液体を吸い出し易くすることができる。

（５）上記形態の細胞培養容器において、前記第１容器および前記第２容器の少なくとも何れか一方は、さらに、前記第２セル面と対向する第４面であって、前記第４面が水平面に設置された前記細胞培養容器の姿勢において、前記第２セル面が水平方向に対して傾斜するように支持する第４面を備えていてもよい。この形態によれば、細胞培養容器の第４面が水平面に設置されることにより、第２セル面は水平面に対して傾斜した状態となるため、液体の吸い出しなどの作業の作業性を向上させることができる。

（６）上記形態の細胞培養容器を用いた細胞培養方法であって、前記細胞培養容器を前記第２セルに対して前記第１セルが下方に位置する第１姿勢に配置し、前記第１容器の前記挿入口を介して前記第１容器に第１細胞懸濁液を注入する第１工程と、前記第１工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１容器が前記第２容器の上方に位置する第２姿勢に配置し、前記第１細胞懸濁液に含まれる第１細胞が前記培養膜に定着するまで前記培養容器を前記第２姿勢に維持する第２工程と、前記第２工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１姿勢となるように配置し、前記細胞培養容器を前記第１姿勢に維持して前記第１細胞の培養を継続するための第３工程と、前記第３工程の後に、前記第１姿勢に配置された前記細胞培養容器の前記第２容器に第２細胞懸濁液を前記第２容器の前記挿入口を介して注入する第４工程と、前記第４工程の後に、前記細胞培養容器を前記第２容器が前記第１容器の上方に位置する第３姿勢に配置し、前記第２細胞懸濁液に含まれる第２細胞が前記培養膜に定着するまで前記細胞培養容器を前記第３姿勢に維持する第５工程と、前記第５工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１姿勢となるように配置し、前記細胞培養容器を前記第１姿勢に維持して前記第２細胞の培養を継続するための第６工程と、を備えていてもよい。この形態によれば、上記形態の細胞培養容器において、良好に共培養を行うことができる。

図面の簡単な説明

[0007] [図1]細胞培養容器の分解斜視図である。

[図2]一部断面にて示す細胞培養容器の側面図である。

[図3]液－気細胞培養方法の工程を示すフローチャートである。

[図4]第１工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図5]第２工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図6]第３工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図7]第４工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図8]第３姿勢への回転途中の細胞培養容器を示す図である。

[図9]第５工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図10]第６工程に対応する細胞培養容器の模式図である。

[図11]液－液細胞培養方法の工程を示すフローチャートである。

発明を実施するための形態

[0008] Ａ．実施形態：

Ａ１．細胞培養容器の構成：

図１は、細胞培養容器１００の分解斜視図である。図２は、一部断面にて示す細胞培養容器１００の側面図である。図２に示す断面は、図１のＩＩ－ＩＩ線を切断線とする断面図である。図１および図２では、互いに直交する、Ｘ軸と、Ｙ軸と、Ｚ軸とを示している。細胞培養容器１００は、典型的には、Ｚ方向が鉛直方向と沿うように配置されて使用される。以下では、＋Ｚ方向を上方向、－Ｚ方向を下方向として説明する場合がある。細胞培養容器１００は、培養膜１０と、第１容器２０と、第２容器４０とを備える。細胞培養容器１００が細胞培養に用いられる際には、第１容器２０と第２容器４０との間に培養膜１０が挟まれた状態で、一体化されて用いられる。細胞培養容器１００は、培養膜１０の両面に細胞を培養する共培養のために用いられる容器である。第１容器２０と第２容器４０とは、概ね面対称となる形状を有している。第１容器２０および第２容器４０は、例えば、硬質樹脂材料で形成されている。硬質樹脂材料としては、ポリスチレンや、ポリカーボネート、アクリル樹脂等が挙げられ、特に透明な樹脂が好ましい。

[0009] 図１に示すように、培養膜１０は、膜支持部１１と、細胞培養膜１２とを有する。膜支持部１１は、円環形状の枠である。そして、膜支持部１１に円形の細胞培養膜１２が接合されている。細胞培養膜１２は、細胞培養を行う際に、細胞培養の足場となる膜である。細胞培養膜１２として、膜の厚み方向に貫通する多数の細孔を有する、合成高分子製の多孔質膜や天然高分子製の多孔質膜を用いることができる。具体的には、多孔質膜として、トラックエッチング膜や、ナノファイバー膜や、コラーゲンビトリゲル膜や、多孔質ポリウレタン膜などが挙げられる。多孔質ポリウレタン膜としては、次に記載する、第１工程および第２工程を備える製造方法を用いて製造された多孔質ポリウレタン膜などが挙げられる。第１工程は、基板上に未硬化であるポリウレタン原料の層を形成する工程である。第２工程は、基板上に形成されたポリウレタン原料の層における基板から離間した露出面に対して水蒸気の供給を行なって、ポリウレタン原料の層において、ポリウレタン原料の硬化を進行させると共に複数の凹凸を露出面に有する多孔質形状を形成させる工程である。

[0010] 第１容器２０は、概ね直方体の外形形状を有し、内部空間を有する容器である。第１容器２０は、第１面２１と、第２面２２と、第３面２３と、第４面２４と、第５面２５と、第６面２６と、保持部２８と、挿入口２９と、を有する。第１面２１は、第２容器４０と一体化される際に、第２容器４０と対向する面であり、培養膜１０を保持するための保持部２８を有する。保持部２８は、円環形状であり、第１面２１を基端として、第１面２１と直交する－Ｙ方向に突設されている。そして、第１面２１には、保持部２８の内周面に沿って、保持部２８の内周面の直径よりも直径の小さい孔２１ａが形成されている。したがって、保持部２８を介して、第１容器２０の内部空間と外部とが連通している。図２に示すように、第１容器２０と第２容器４０とが一体化された場合には、保持部２８の内側、かつ、第１面２１の外側に、培養膜１０が配置される。孔２１ａの直径は、保持部２８の内周面の直径よりも小さい。よって、保持部２８の内周面に対して、第１面２１は径方向に

おいて保持部２８の中心軸ＣＸに向かって突出している。これにより、培養膜１０の第１容器２０の内部空間側への移動が規制される。

[0011] 図１に示すように、第２面２２は、Ｙ方向において、第１面２１と対向する面である。第１面２１から第２面２２へ向かう方向を第１方向とも呼ぶ。本実施形態の第１容器２０においては、＋Ｙ方向が第１方向である。第３面２３および第４面２４は、第１面２１および第２面２２と交差する面である。ここで、２つの面が「交差する」とは、２つの面が相互に交差する状態に加え、一方の面の延長面が他方の面に交差する状態と、２つの面の延長面が相互に交差する状態と、のいずれかの状態であることを意味する。第３面２３と、第４面２４とは、Ｚ方向において互いに対向する面である。第５面２５および第６面２６は、第１面２１と、第２面２２と、第３面２３と、第４面２４と交差する面である。第５面２５と、第６面２６とは、互いに対向する面である。

[0012] 第３面２３には、挿入口２９が設けられている。挿入口２９は、ピペットなどの器具が、第１容器２０に挿入される際に用いられる。挿入口２９は、円筒形状を有し、第３面２３を基端として、第３面２３と直交する＋Ｚ方向に突設されている。そして、第３面２３には、挿入口２９の内周面に沿って孔が形成されている。よって、挿入口２９を介して、第１容器２０の内部空間と外部とが連通している。挿入口２９の側壁の厚さは均一ではなく、先端部の外周面が、基端部の外周面に対して、径方向において、外側に突出している。これにより、後述する第１蓋２０１が取り付けられた場合における、第１蓋２０１の脱落を抑制することができる。

[0013] 第５面２５には、第１係止部２５ａと、第２係止部２５ｂと、蓋係止部２５ｃとが形成されている。第１係止部２５ａと、第２係止部２５ｂとは、同様の形状を有している。第１係止部２５ａは、Ｚ方向において、第５面２５の中央よりも上側に形成されている。また、第１係止部２５ａは、Ｙ方向において、第２面２２よりも第１面２１に近い位置の第５面２５に形成されている。第１係止部２５ａは、Ｙ方向に長い板形状を有しており、基端部は第

５面４５に固定されている。そして、第１係止部２５ａの先端は、第５面４５の－Ｙ方向の端辺から突出している。第１係止部２５ａの先端には、第２容器４０の第１係止凹部４５ａと係合するための爪が形成されている。具体的には、第１係止部２５ａの先端は、＋Ｘ方向に向かって突出している。第２係止部２５ｂは、第１係止部２５ａよりも下方に配置されている。蓋係止部２５ｃは、後述する第２蓋２０２を係止するための凸部である。蓋係止部２５ｃのＺ方向における位置は、第１係止部２５ａと同程度である。また、蓋係止部２５ｃは、Ｙ方向において、第１面２１よりも第２面２２に近い位置の第５面２５に形成されている。蓋係止部２５ｃは、Ｙ方向に長い矩形形状を有し、第５面２５に突設されている。第５面２５と同様に、第６面４６にも、第１係止部２６ａと、第２係止部２６ｂと、蓋係止部２６ｃとが形成されている。第１係止部２６ａ、第２係止部２６ｂ、および蓋係止部２６ｃは、中心軸ＣＸを通るＹＺ平面を対称面として、それぞれ、第１係止部２５ａ、第２係止部２５ｂ、および蓋係止部２５ｃと面対称となる位置に形成されている。第１係止部２６ａ、第２係止部２６ｂ、および蓋係止部２６ｃのそれぞれは、第１係止部２５ａ、第２係止部２５ｂ、および蓋係止部２５ｃのそれぞれと同様の形状を有するため、説明を省略する。

[0014] 図２に示すように、第１容器２０は、上記構成の他に、第１セル３１と、第２セル３２と、隔壁３３と、連通部３６とを有する。第１セル３１と第２セル３２とは、第１容器２０の内部空間が隔壁３３により区画されて形成された空間である。第１セル３１および第２セル３２は、第１面２１から第２面２２に向かう第１方向である＋Ｙ方向と直交する第２方向であるＺ方向に隣り合う。第２セル３２は、隔壁３３と第２方向において対向する第３面２３と、第２面２２とにより区画されている。隔壁３３は、第１面２１を基端として、第１面２１から第２面２２へ向かう方向に延びる。そして、隔壁３３の先端は、第２面２２と離れている。本実施形態において、隔壁３３の先端は、第１方向について、第１面２１の内面と第２面２２の内面との中央部ＣＰと、第２面２２との間に位置する。

[0015] 隔壁３３は、第１セル面３４と第３セル面３５とを有する。第１セル３１は、さらに第２セル面３７を有する。第２セル面３７は、隔壁３３と対向する面である。第１セル面３４および第２セル面３７は、第１セル３１を区画する面である。第１セル面３４は、第２面２２に近づくにつれ、第３面２３に近づくように傾斜する。これにより、後に詳述するように、第１セル３１に液体が入れられた場合、液体に混入した空気を抜け易くすることができる。

[0016] 連通部３６は、隔壁３３と第２面２２との間に形成されており、第１セル３１と第２セル３２とを連通させる。つまり、連通部３６は、隔壁３３の先端と第２面２２との隙間であるとも言える。第１セル３１と第２セル３２とは、連通部３６のみによって連通している。本実施形態では、連通部３６は、第１方向、すなわち第１容器２０については＋Ｙ方向について、中央部ＣＰと第２面２２の内面との間に位置する。

[0017] 第２セル面３７は、第１面２１と、第４面２４とを連結する。第２セル面３７は、第２面２２に近づくにつれ、第３面２３から遠ざかるように傾斜する。つまり、第４面２４が水平面に設置され底面となり、第３面２３が上面となる第１姿勢において、第２セル面３７は、第２面２２に近づくにつれ下方に位置するように傾斜する。これにより、後に詳述するように、第１セル３１に入れられた液体を吸い出し易くすることができる。なお、第１姿勢では、第２セル３２に対して第１セル３１が下方に位置する。第１姿勢では、後述するように、挿入口２９からピペット３００が挿入されて第１細胞懸濁液４０１が注入される。

[0018] 本実施形態では、第２セル面３７と第４面２４との間には、隙間が形成されている。図１に示すように、第４面２４は、Ｘ方向の中央部分が切り欠かれており、第１容器２０の＋Ｘ方向の端部と、－Ｘ方向の端部とに形成されている。第４面２４が形成されていることにより、細胞培養容器１００の第１姿勢では、第１セル面３４および第２セル面３７が水平面に対して傾斜した状態を容易に維持することができる。

[0019] 図２に示すように、挿入口２９の少なくとも一部は、第１面２１から第２面２２に向かう第１方向と直交する第２方向であるＺ方向に細胞培養容器１００を投影した場合に、連通部３６と重なる位置に形成されている。これにより、ピペット３００などの器具を挿入口２９から連通部３６を通るように、概ね第２方向に沿うように挿入することができるため、作業性を向上させることができる。本実施形態では、第１方向、すなわち、第１容器２０については＋Ｙ方向において、挿入口２９は、投影した場合に、第１面２１の内面と第２面２２の内面との中央部ＣＰと、第２面２２との間に位置する。

[0020] 図１に示すように、第２容器４０は、第１容器２０と同様に、第１面４１と、第２面４２と、第３面４３と、第４面４４と、第５面４５と、第６面４６と、保持部４８と、挿入口４９と、を有する。第２容器４０の保持部４８は、第１容器２０の保持部２８と、大きさが異なる。具体的には、円環形状である保持部４８の外径は、保持部２８の内径よりも小さい。そして、図２に示すように、第１容器２０と第２容器４０とが一体化された際、保持部４８は保持部２８により覆われる。また、保持部４８の外径は、培養膜１０の外径と略同一である。保持部４８の＋Ｙ方向端面と、第１容器２０の保持部２８より内側の第１面２１との間に培養膜１０が挟まれた状態で、第１容器２０と第２容器４０とが一体化される。これにより、培養膜１０は、第１容器２０と第２容器４０とにより保持される。

[0021] 図１に示すように、第５面４５には、第１係止凹部４５ａと、第２係止凹部４５ｂと、蓋係止部４５ｃとが形成されている。蓋係止部４５ｃは、第１容器２０に係る蓋係止部２５ｃと同様の構成であるため、説明を省略する。第１係止凹部４５ａおよび第２係止凹部４５ｂのそれぞれは、第１容器２０と第２容器４０とが一体化された場合に、第１容器の第１係止部２５ａおよび第２係止部２５ｂのそれぞれの先端に対応する位置に形成されている。第１係止凹部４５ａおよび第２係止凹部４５ｂは、Ｙ方向に長い矩形形状を有し、第５面２５に対して凹んでいる。第１容器２０と、第２容器４０とが一体化される際には、第１係止部２５ａの先端が第１係止凹部４５ａに嵌り、

第２係止部２５ｂの先端が第２係止凹部４５ｂに嵌る。第６面４６にも、第５面２５と同様に、第１容器２０の第１係止部２６ａおよび第２係止部２６ｂに対応する、第１係止凹部４６ａおよび第２係止凹部４６ｂが形成されている。そして、第１容器２０と、第２容器４０とが一体化される際には、第１係止部２６ａおよび第２係止部２６ｂのそれぞれの先端が、第１係止凹部４６ａおよび第２係止凹部４６ｂのそれぞれに嵌る。このように、第１容器２０の第１係止部２５ａ，２６ａ、第２係止部２５ｂ，２６ｂのそれぞれと、第２容器４０の第１係止凹部４５ａ，４６ａ、第２係止凹部４５ｂ，４６ｂのそれぞれとが係合されることにより、第１容器２０と第２容器４０とが一体化される。例えば、培養膜１０を交換する際は、第１容器２０と第２容器４０との係合を解き、培養を行う場合には、第１容器２０と第２容器４０とを係合させ、第１容器２０と第２容器４０とを一体に扱うことができる。よって、細胞培養容器１００を用いた作業の作業性を向上させることができる。

[0022] 第１面４１、第２面４２、第３面４３、第４面４４、第５面４５、第６面４６、および挿入口４９は、それぞれ、第１容器２０の第１面２１、第２面２２、第３面２３、第４面２４、第５面２５、第６面２６、および挿入口２９と同様の構成であるため、説明を省略する。図２に示すように、第２容器４０は、上記構成の他に、第１セル５１と、第２セル５２と、隔壁５３と、連通部５６とを有する。隔壁５３は、第１セル面５４および第３セル面５５を有する。第１セル５１は、さらに、第２セル面５７を有する。第１セル５１と、第２セル５２と、隔壁５３と、連通部５６、第２セル面５７は、それぞれ、第１容器２０の第１セル３１と、第２セル３２と、隔壁３３と、連通部３６、および第２セル面３７と同様の構成であるため、説明を省略する。

[0023] Ａ２．細胞培養容器を用いた液－気細胞培養方法：

細胞培養容器１００を用いた液－気細胞培養方法について説明する。図３は、細胞培養容器１００を用いた細胞の液－気細胞培養方法の工程を示すフローチャートである。図４～図１０は、図３に示す各工程を説明するための

細胞培養容器１００の模式図である。図４～図１０には、細胞培養容器１００の使用態様における、Ｘ軸と、Ｙ軸と、Ｚ軸とが示されている。Ｚ方向は、鉛直方向を示し、ＸＹ平面は、水平面を示す。＋Ｚ方向を上、－Ｚ方向を下とも呼ぶ。

[0024] まず図３の工程Ｐ１０にて、図４に示す、第２容器４０の挿入口４９に第１蓋２０１が装着されている細胞培養容器１００が用意される。第１蓋２０１は、例えば、軟質樹脂や、エラストマーなどの弾性を有する材料で作製されている。軟質樹脂としては、ＬＤＰＥ（Low Density Polyethylene）、ＰＰ（polypropylene）を挙げることができる。エラストマーとしては、シリコーンゴム、ポリウレタン、オレフィン系熱可塑性エラストマー等を挙げることができる。第１蓋２０１は、挿入口４９を覆う形状を有する。挿入口４９に取り付けられる際には、第１蓋２０１が引き延ばされて、挿入口４９を覆うように装着される。これにより、挿入口４９のＺ方向の端面は、第１蓋２０１と密着し、第２容器４０は、気密に保たれる。

[0025] 図３の第１工程Ｐ２０では、細胞培養容器１００は第２セル３２に対して第１セル３１が下方に位置する第１姿勢（注入姿勢）に配置される。この第１姿勢にて、第１容器２０の挿入口２９を介して第１容器２０に第１細胞懸濁液４０１が注入される。第１細胞懸濁液４０１には、第１細胞４０２と、第１細胞４０２用の液体である第１培地とが含まれている。第１細胞懸濁液４０１が注入されることにより、第１細胞４０２が培養膜１０に播種される。図４に示すように、第１工程Ｐ２０では、ピペット３００を用いて、第１細胞懸濁液４０１が注入される。この際、ピペット３００は、挿入口２９から連通部３６を通り、先端が第４面２４近傍まで挿入される。培養膜１０は、第４面と交差する第１面２１に配置されており、また、ピペット３００の培養膜１０に向かう移動は、隔壁３３により制限される。よって、ピペット３００と培養膜１０との接触を抑制することができる。これにより、培養膜１０の破損を抑制することができる。なお、本実施形態では、作業者によりピペット３００を用いて作業されるが、人の手を介さず、装置などを用いて

自動で注入作業が行われてもよい。本実施形態に係る細胞培養容器１００によれば、器具の培養膜１０に向かう移動は、隔壁３３により制限される。このため、培養膜１０を損傷させないための器具の操作に係る高い位置精度は要求されず、自動で行うことができる。これにより、作業時間を短縮することができる。第１細胞懸濁液４０１が注入された後、挿入口２９に第１蓋２０１が装着される。

[0026] 図３の第２工程Ｐ３０では、細胞培養容器１００は、図５に示すように第１容器２０が第２容器４０の上方に位置する第２姿勢（第１定着姿勢）に配置され、第１細胞懸濁液４０１に含まれる第１細胞４０２が培養膜１０に定着するまで細胞培養容器１００は第２姿勢に維持される。第２姿勢は、第２容器４０の第２面４２が底面となり、第１容器２０の第２面２２が上面となる姿勢である。

[0027] 第２工程Ｐ３０では、細胞培養容器１００は、図４に示す第１姿勢の状態から図５に示す第２姿勢となるように回転される。挿入口２９には、第１蓋２０１が装着されているため、挿入口２９からの第１細胞懸濁液４０１の流出は抑制される。なお、図５では、第１細胞懸濁液４０１が第１セル３１のみに入っている状態が描かれているが、第１細胞懸濁液４０１の量が多い場合などには、第２セル３２にも第１細胞懸濁液４０１が入る場合がある。培養膜１０の膜面が水平方向に配置されることにより、第１細胞４０２の培養膜１０への定着が促される。第１細胞４０２が培養膜１０に定着するまでの期間は、例えば、半日から１日で程度である。

[0028] 図３の第３工程Ｐ４０では、細胞培養容器１００は第１姿勢となるように配置され、細胞培養容器１００は第１姿勢に維持され、第１細胞４０２の培養が継続される。第３工程Ｐ４０では、細胞培養容器１００は、図５に示す第２姿勢の状態から、図６に示す第１姿勢となるように回転される。その後、挿入口２９，４９の各々に装着されていた第１蓋２０１，２０１が取り外され、第２蓋２０２が装着される。

[0029] ここで、第２蓋２０２について説明する。第２蓋２０２は、硬質樹脂材料

で作製されている。硬質樹脂材料としては、ポリスチレンや、ポリカーボネート、アクリル樹脂等が挙げられ、特に透明な樹脂が好ましい。第２蓋２０２は、挿入口２９，４９を覆うように細胞培養容器１００に装着される。第２蓋２０２は、－Ｚ方向に向かって開放された箱形状を有する。第２蓋２０２の内周面には、内側に向かって突出する４つの突出部２０２ａが形成されている。４つの突出部２０２ａの各々は、第２蓋２０２が細胞培養容器１００に装着された場合に、細胞培養容器１００の蓋係止部２５ｃ，２６ｃ，４５ｃ，４６ｃの各々と対応する位置に形成されている。これにより、４つの突出部２０２ａの各々は、蓋係止部２５ｃ，２６ｃ，４５ｃ，４６ｃの各々と当接し、第２蓋２０２の底面が挿入口２９，４９と離隔した状態で配置される。第２蓋２０２が装着されることにより、培養中のコンタミネーションが抑制される。第２蓋２０２は、挿入口２９，４９の端面と離隔した状態で細胞培養容器１００に装着されるため、細胞培養容器１００の内部空間と、外部とは連通した状態が維持される。これにより、細胞培養容器１００の内部空間の気体の置換を行うことができる。培養中は、細胞培養容器１００は、目標の酸素濃度や二酸化炭素濃度に調整されたインキュベータ内に配置される。適宜、第１培地の交換が行われ、第１細胞４０２がコンフルエントになるまで培養される。培養期間は、例えば、数日程度である。

[0030] 図３の工程Ｐ５０では、第２蓋２０２が取り外され、第１セル３１に第１培地が加えられ、挿入口２９に第１蓋２０１が装着される。第４工程Ｐ６０では、第１姿勢に配置された細胞培養容器１００の第２容器４０に第２細胞懸濁液４０３が第２容器４０の挿入口４９を介して注入される。第２細胞懸濁液４０３には、第２細胞４０４と、第２細胞４０４用の液体である第２培地とが含まれている。第２細胞懸濁液４０３が注入されることにより、第２細胞懸濁液４０３に含まれる第２細胞４０４が培養膜１０に播種される。図７に示すように、第４工程Ｐ６０では、第１工程Ｐ２０と同様にピペット３００を用いて第２細胞懸濁液４０３が注入される。培養膜１０は、第４面４４と交差する第１面４１に配置されており、また、ピペット３００の培養膜

１０に向かう移動は、隔壁５３により制限される。よって、ピペット３００と培養膜１０との接触を抑制することができる。第２細胞懸濁液４０３が注入された後、挿入口４９に第１蓋２０１が装着される。

[0031] 図３の第５工程Ｐ７０にて、細胞培養容器１００は第２容器４０が第１容器２０の上方に位置する第３姿勢（第２定着姿勢）に配置され、第２細胞懸濁液４０３に含まれる第２細胞４０４が培養膜１０に定着するまで、細胞培養容器１００は第３姿勢に維持される。第３姿勢は、第１容器２０の第２面２２が底面となり、第２容器４０の第２面４２が上面となる姿勢である。

[0032] 図８は、細胞培養容器１００が、第１姿勢から第３姿勢になるように回転される途中の状態を示す図である。第１容器２０には、上部に空間を残した状態で、第１細胞懸濁液４０１が入れられている。空間の空気は、細胞培養容器１００の回転に応じて、第１容器２０の上方へ移動する。ここで、第１容器２０の内部空間が、隔壁３３により区画されていない場合には、空気は、培養膜１０の下方へ移動してしまう。この点、本実施形態では、第１容器２０の内部空間は、隔壁３３により区画されているため、空気は、第２セル３２内に留められる。これにより、培養膜１０の下方における空気の残留が抑制され、第１細胞４０２は第１培地と接触された状態が確保される。さらに、回転の際に、第１細胞懸濁液４０１に泡が生じた場合にも、泡は第２セル３２に留められる。よって、培養を良好に行うことができる。図９に示す第３姿勢では、培養膜１０の膜面が水平方向に配置されることにより、第２細胞４０４の培養膜１０への定着が促される。第２細胞４０４が培養膜１０に定着するまでの期間は、例えば、半日から１日で程度である。

[0033] 図３の第６工程Ｐ８０では、細胞培養容器１００は第１姿勢となるように配置され、細胞培養容器１００は、第１姿勢に維持されることで、第２細胞４０４の培養が継続される。第６工程Ｐ８０では、細胞培養容器１００は、図９に示す第３姿勢の状態から図１０に示す第１姿勢となるように回転される。その後、挿入口２９，４９の各々に装着されていた第１蓋２０１，２０１が取り外され、第２蓋２０２が装着される。第３工程Ｐ４０と同様に、適

宜、第２培地の交換が行われ、第２細胞４０４がコンフルエントになるまで培養される。培養期間は、例えば、数日程度である。第２細胞４０４の培養が終了すると、本培養工程は、終了する。

[0034] 培養終了後、第１細胞４０２および第２細胞４０４が培養された培養膜１０について、バリヤ性を評価するために、経上皮電気抵抗（ＴＥＥＲ）が測定される場合には、挿入口２９，４９の各々に２本のＴＥＥＲ電極の各々が挿入される。細胞培養容器１００は、培養膜１０を挟んで対向するように、挿入口２９と挿入口４９とが形成されている。よって、挿入口２９と挿入口４９とに、２本のＴＥＥＲ電極の各々を挿入することで、測定を容易に行うことができる。なお、経上皮電気抵抗が測定されるのは、培養工程の終了後に限られない。例えば、培養膜１０に第１細胞４０２が培養された後、第２容器４０に第１培地が注入された状態で、測定することもできる。すなわち、培養膜１０の片面のみに細胞が培養された状態でも、ＴＥＥＲを測定可能にすることができる。

[0035] Ａ３．細胞培養容器を用いた液－液細胞培養方法：

細胞培養容器１００を用いた液－液細胞培養方法について説明する。図１１は、細胞培養容器１００を用いた細胞の液－液細胞培養方法の工程を示すフローチャートである。図３と同じ工程については、同じ符号を付し、詳細な説明は、適宜省略する。

[0036] 第１工程Ｐ２０にて第１容器２０に第１細胞懸濁液４０１が注入された後、工程Ｐ２５では、第２容器４０に第１培地がピペット３００にて注入される。これにより、細胞培養膜１２の両面が、第１培地に接触した状態で、第１細胞４０２の培養を行うことができる。その後、第２工程Ｐ３０と、第３工程Ｐ４０とが行われ、第１細胞４０２がコンフルエントになるまで培養される。工程Ｐ６５では、第２細胞４０４の培養を行うため、第２容器４０から第１培地が例えばピペット３００を用いて吸い出され、第２細胞懸濁液４０３が注入される。工程Ｐ６５を第４工程とも呼ぶ。その後、挿入口４９に第１蓋２０１が装着される。ここで、第２セル面５７は、傾斜しているため

、第１培地は、第２セル面５７の下方に溜まる。よって、第２容器４０から第１培地を容易に吸い出すことができる。なお、第１培地の吸い出しは、アスピレーターにより行われてもよい。本実施形態に係る細胞培養容器１００によれば、器具の培養膜１０に向かう移動は、隔壁３３により制限される。このため、培養膜１０を損傷させないための器具の操作に係る高い位置精度は要求されず、自動で行うことができる。その後、第５工程Ｐ７０と、第６工程Ｐ８０とが行われることにより、第２細胞がコンフルエントになるまで培養され、本培養工程は終了する。

[0037] 以上、説明した実施形態によれば、第１容器２０は、第１セル３１と第２セル３２とを区画する隔壁３３を備え、第２容器４０は、第１セル５１と第２セル５２とを区画する隔壁５３とを有する。これにより、ピペット３００などが挿入口２９，４９から挿入される際、ピペット３００の培養膜１０への接触の可能性は、隔壁３３，５３によって低減される。これにより、ピペット３００が培養膜１０に接触しないように、ピペット３００の操作を慎重に行う程度を低減できるため、作業性を向上させることができる。また、第１面２１から第２面２２に向かう第１方向と直交する第２方向に細胞培養容器１００を投影した場合に、挿入口２９の少なくとも一部は、連通部３６と重なる位置に形成されている。これにより、ピペット３００を挿入口２９から連通部３６を通るように、第２方向に沿って挿入することができるため、作業性を向上させることができる。また、隔壁３３は、第２面２２に近づくにつれ、第３面２３に近づくように傾斜する第１セル面３４を有している。これにより、細胞培養容器１００が第１姿勢に配置された場合、培養膜１０の下における空気の残留は抑制されるため、培養膜１０での培養を良好に行うことができる。また、第１セル３１は、第２面２２に近づくにつれ、第３面２３から遠ざかるように傾斜する第２セル面３７を有する。これにより、細胞培養容器１００に入れられた液体は、第１セル３１の第２セル面３７の下方に溜まるため、液体を吸い出し易くすることができる。また、細胞培養容器１００は、第４面２４が水平面に設置された細胞培養容器１００の姿勢

において、第２セル面３７が水平方向に対して傾斜するように支持する第４面２４を備える。これにより、細胞培養容器１００の第４面２４が水平面に設置されることにより、第２セル面３７は水平面に対して傾斜されるため、液体の吸い出しなどの作業の作業性を向上させることができる。また、上記、第１工程Ｐ２０から第６工程Ｐ８０を備え、細胞培養容器１００を用いる細胞培養方法を用いることにより、上記形態の細胞培養容器において、良好に共培養を行うことができる。

[0038] Ｂ．他の実施形態：

（Ｂ１）上記実施形態では、第１容器２０と第２容器４０との両方に第４面２４，４４が形成されている。これに対して、第１容器２０と第２容器４０とのいずれか一方に第４面２４および第４面４４のいずれかが形成されている構成としてもよい。第１容器２０と第２容器４０とは、一体化されて使用されるため、第１容器２０と第２容器４０とのいずれか一方に第４面２４を有することにより、第２セル面３７，５７を水平面に対して傾斜した状態に維持することができる。

[0039] （Ｂ２）上記実施形態では、第２セル面３７は、第２面２２に至るまで傾斜している。これに対して、第２セル面３７は、第２面２２に至る途中まで傾斜している構成としてもよい。一部分が傾斜している場合にも、液体を一部分に集めることができ、液体を吸い出し易くすることができる。

[0040] （Ｂ３）上記実施形態では、隔壁３３の先端は、中央部ＣＰと、第２面２２との間に位置する。これに対して、隔壁３３の先端は、第１方向について、中央部ＣＰと第１面２１との間、または、中央部ＣＰに位置する構成としてもよい。隔壁３３の先端位置に拘わらず、隔壁３３があることによって、器具が挿入口２９から挿入される際、器具の培養膜１０への接触の可能性を低減させることができる。隔壁５３についても同様である。ただし、上記実施形態において、挿入口２９と隔壁３３と培養膜１０との位置は以下の位置関係を有することが好ましい。すなわち、挿入口２９の先端開口と培養膜１０（培養膜１０の任意の部分）とを繋ぐ線分上に、隔壁３３が位置しているこ

とが好ましい。こうすることで、ピペット３００などの棒状の器具を挿入口２９から細胞培養容器１００内部に挿入した場合に、隔壁３３が障壁となって器具が培養膜１０に接触することをより確実に防止できる。

[0041] 本開示は、上述の実施形態に限られるものではなく、その趣旨を逸脱しない範囲において種々の構成で実現することができる。例えば、発明の概要の欄に記載した各形態中の技術的特徴に対応する実施形態の技術的特徴は、上述の課題の一部又は全部を解決するために、あるいは、上述の効果の一部又は全部を達成するために、適宜、差し替えや、組み合わせを行うことが可能である。また、その技術的特徴が本明細書中に必須なものとして説明されていなければ、適宜、削除することが可能である。

符号の説明

[0042] １０…培養膜、１１…膜支持部、１２…細胞培養膜、２０…第１容器、２１，４１…第１面、２１ａ…孔、２２，４２…第２面、２３，４３…第３面、２４，４４…第４面、２５，４５…第５面、２５ａ…第１係止部、２５ｂ…第２係止部、２５ｃ，２６ｃ，４５ｃ，４６ｃ…蓋係止部、２６，４６…第６面、２６ａ…第１係止部、２６ｂ…第２係止部、２８，４８…保持部、２９，４９…挿入口、３１，５１…第１セル、３２，５２…第２セル、３３，５３…隔壁、３４，５４…第１セル面、３５，５５…第３セル面、３６，５６…連通部、３７，５７…第２セル面、４０…第２容器、４５ａ…第１係止凹部、４５ｂ…第２係止凹部、４６ａ…第１係止凹部、４６ｂ…第２係止凹部、１００…細胞培養容器、２０１…第１蓋、２０２…第２蓋、２０２ａ…突出部、３００…ピペット、４０１…第１細胞懸濁液、４０２…第１細胞、４０３…第２細胞懸濁液、４０４…第２細胞、ＣＰ…中央部、ＣＸ…中心軸、Ｐ１０，Ｐ２５，Ｐ５０，Ｐ６５…工程、Ｐ２０…第１工程、Ｐ３０…第２工程、Ｐ４０…第３工程、Ｐ６０…第４工程、Ｐ７０…第５工程、Ｐ８０…第６工程

請求の範囲

[請求項1] 細胞培養容器であって、

第１容器と、

第２容器と、

前記第１容器と、前記第２容器との間に保持される培養膜と、を備え、

前記第１容器と、前記第２容器とは、それぞれ、

前記培養膜を保持する保持部を有する第１面と、

前記第１面と対向する第２面と、

前記第１面から前記第２面に向かう第１方向と直交する第２方向に隣り合う第１セルおよび第２セルと、

前記第１セルと前記第２セルとを区画する隔壁であって、前記第１面から前記第２面へ向かって延びる隔壁と、

前記隔壁と前記第２面との間に形成された前記第１セルと前記第２セルとを連通させる連通部と、

前記隔壁と前記第２方向において対向し、前記第２面と共に前記第２セルを区画する第３面であって、挿入口が形成された第３面と、を備える、細胞培養容器。

[請求項2] 請求項１に記載の細胞培養容器であって、

前記第２方向に前記細胞培養容器を投影した場合に、前記挿入口の少なくとも一部は、前記連通部と重なる位置に形成されている、細胞培養容器。

[請求項3] 請求項１または２に記載の細胞培養容器であって、

前記隔壁は、さらに、

前記第１セルを区画する第１セル面であって、前記第２面に近づくにつれ、前記第３面に近づくように傾斜する第１セル面を有する、細胞培養容器。

[請求項4] 請求項１から３の何れか一項に記載の細胞培養容器であって、

前記第１セルは、さらに、

前記隔壁と対向し、前記第１面から前記第２面に向かって延びる第２セル面であって、前記第２面に近づくにつれ、前記第３面から遠ざかるように傾斜する第２セル面を有する、細胞培養容器。

[請求項5] 請求項４に記載の細胞培養容器であって、

前記第１容器および前記第２容器の少なくとも何れか一方は、さらに、

前記第２セル面と対向する第４面であって、前記第４面が水平面に設置された前記細胞培養容器の姿勢において、前記第２セル面が水平方向に対して傾斜するように支持する第４面を備える、細胞培養容器。

[請求項6] 請求項１から５の何れか一項に記載の細胞培養容器を用いた細胞培養方法であって、

前記細胞培養容器を前記第２セルに対して前記第１セルが下方に位置する第１姿勢に配置し、前記第１容器の前記挿入口を介して前記第１容器に第１細胞懸濁液を注入する第１工程と、

前記第１工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１容器が前記第２容器の上方に位置する第２姿勢に配置し、前記第１細胞懸濁液に含まれる第１細胞が前記培養膜に定着するまで前記細胞培養容器を前記第２姿勢に維持する第２工程と、

前記第２工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１姿勢となるように配置し、前記細胞培養容器を前記第１姿勢に維持して前記第１細胞の培養を継続するための第３工程と、

前記第３工程の後に、前記第１姿勢に配置された前記細胞培養容器の前記第２容器に第２細胞懸濁液を前記第２容器の前記挿入口を介して注入する第４工程と、

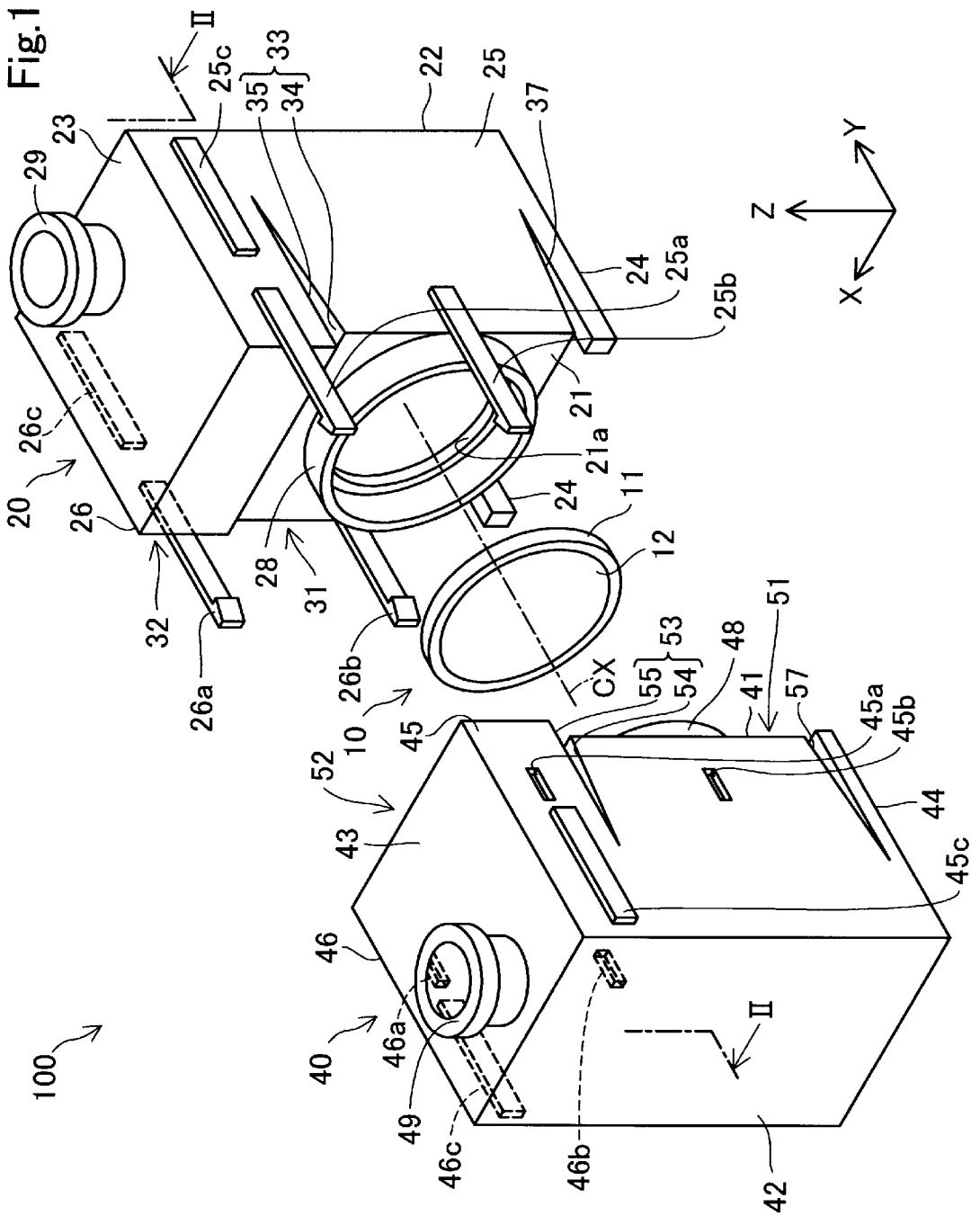
前記第４工程の後に、前記細胞培養容器を前記第２容器が前記第１容器の上方に位置する第３姿勢に配置し、前記第２細胞懸濁液に含ま

れる第２細胞が前記培養膜に定着するまで前記細胞培養容器を前記第３姿勢に維持する第５工程と、

前記第５工程の後に、前記細胞培養容器を前記第１姿勢となるように配置し、前記細胞培養容器を前記第１姿勢に維持して前記第２細胞の培養を継続するための第６工程と、を備える、細胞培養方法。

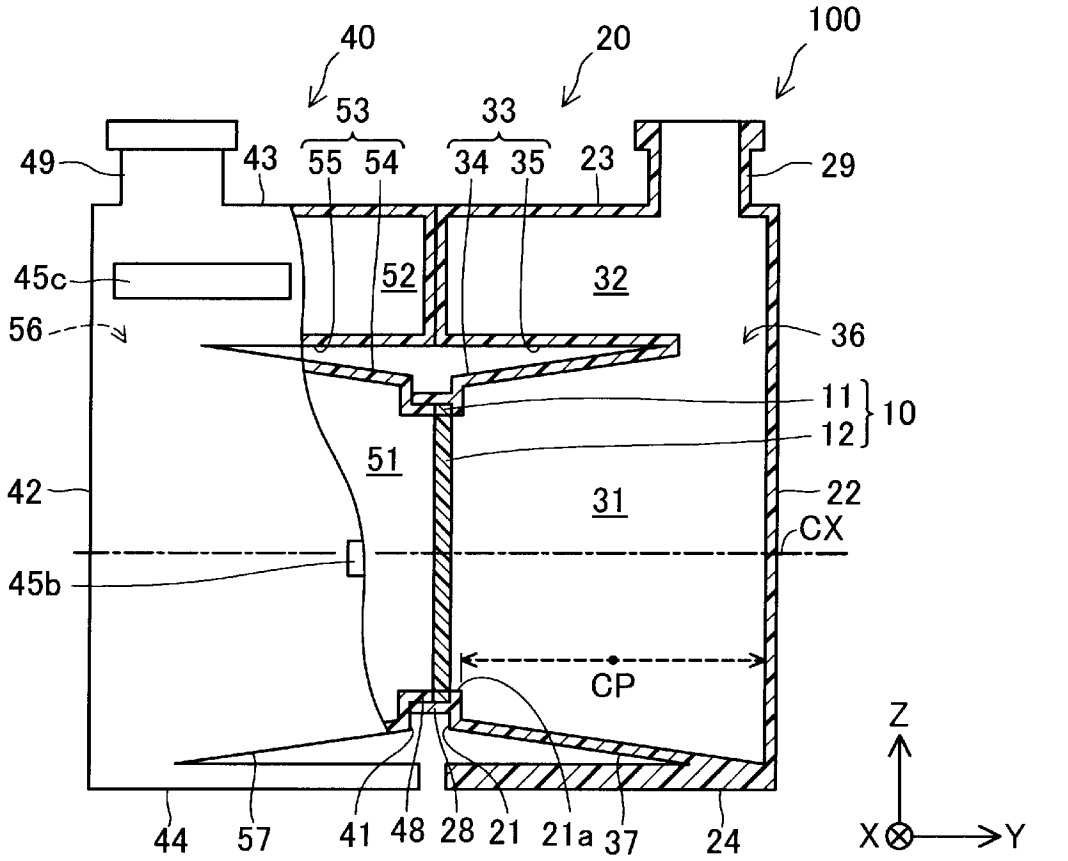
[図1]

Fig.1


II
25c
33
35
34
22
25
37
23
29
Y
Z
X
24
25a
25b
21
21a
26c
20
26
24
11
12
28
31
32
26a
26b
CX
55
54
53
48
51
41
57
45a
45b
10
45
52
44
43
45c
46
II
40
46a
49
46c
46b
42
100

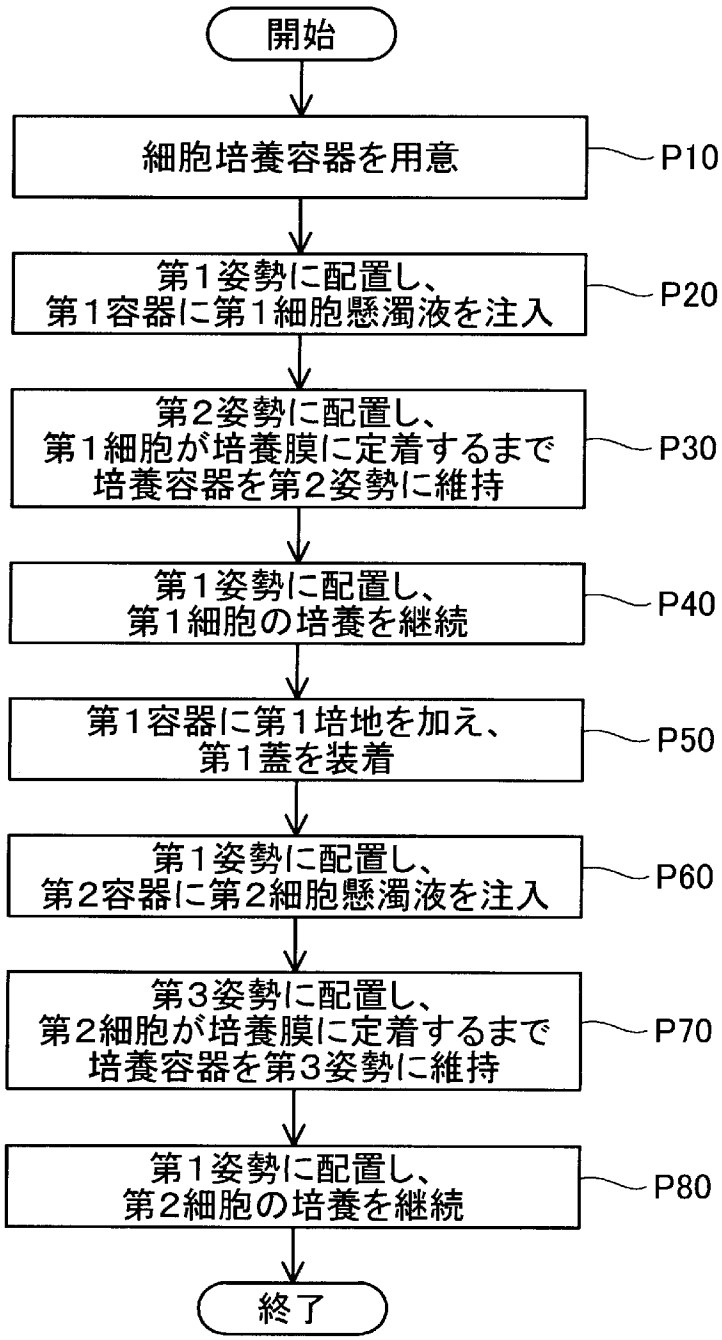
[図2]

Fig.2


40
20
100
53
33
49
43
55
54
34
35
23
29
45c
52
32
56
36
11
10
12
51
42
31
22
CX
45b
CP
Z
X
Y
44
57
41
48
28
21
21a
37
24

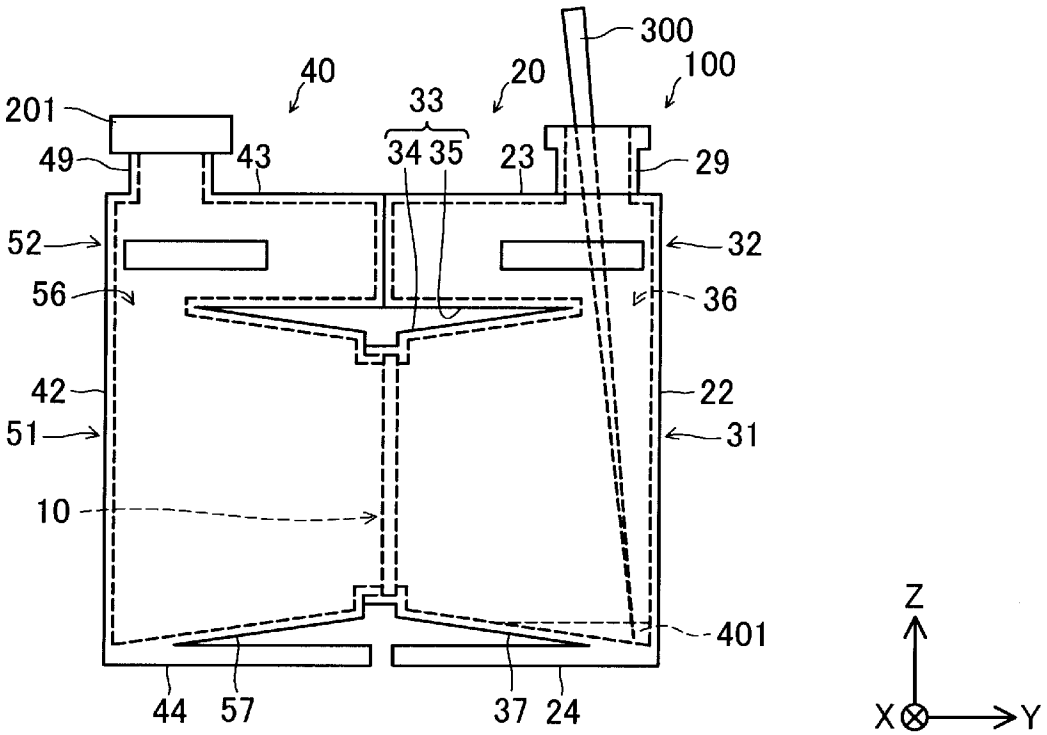
[図3]

Fig.3


開始
細胞培養容器を用意
P10
第１姿勢に配置し、
第１容器に第１細胞懸濁液を注入
P20
第２姿勢に配置し、
第１細胞が培養膜に定着するまで
培養容器を第２姿勢に維持
P30
第１姿勢に配置し、
第１細胞の培養を継続
P40
第１容器に第１培地を加え、
第１蓋を装着
P50
第１姿勢に配置し、
第２容器に第２細胞懸濁液を注入
P60
第３姿勢に配置し、
第２細胞が培養膜に定着するまで
培養容器を第３姿勢に維持
P70
第１姿勢に配置し、
第２細胞の培養を継続
P80
終了

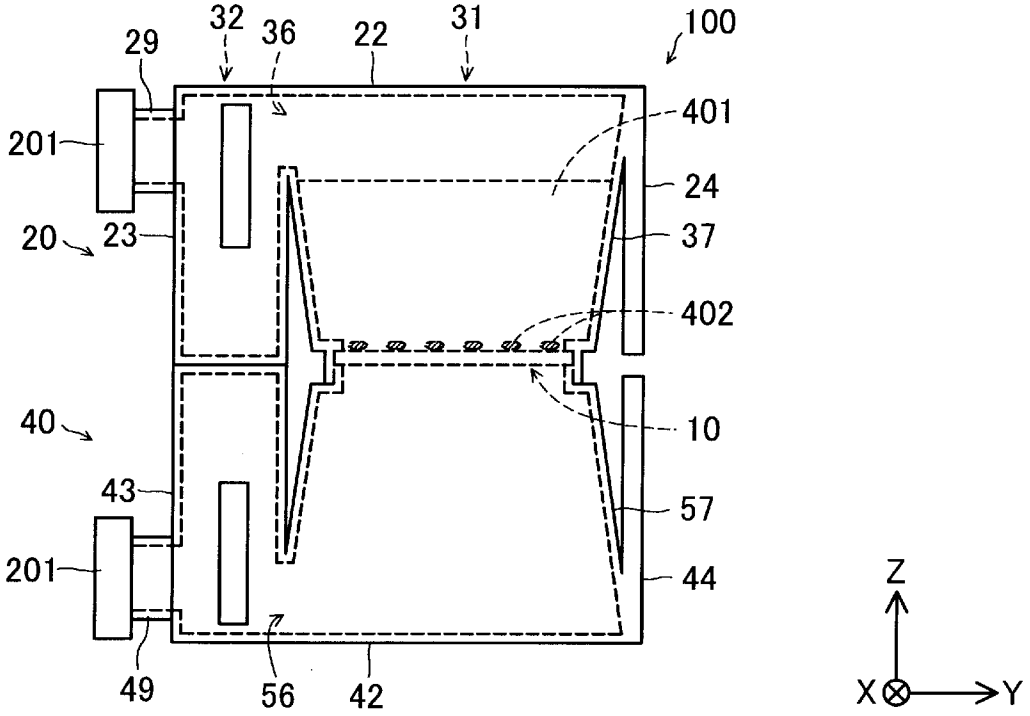
[図4]

Fig.4



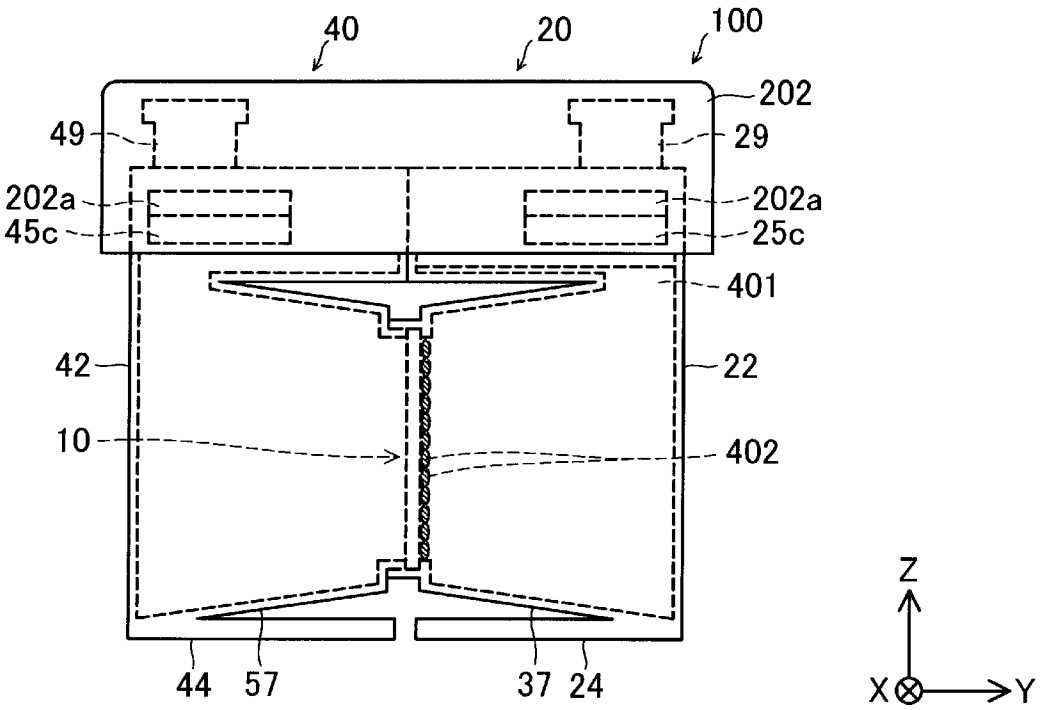
[図5]

Fig.5



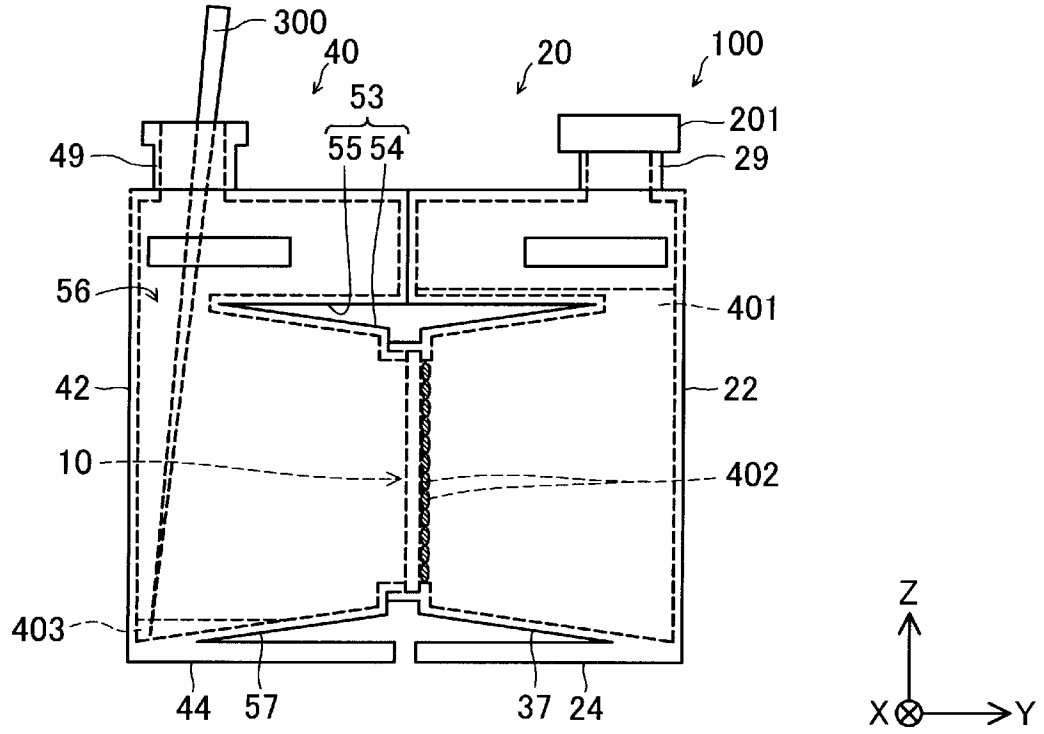
[図6]

Fig.6



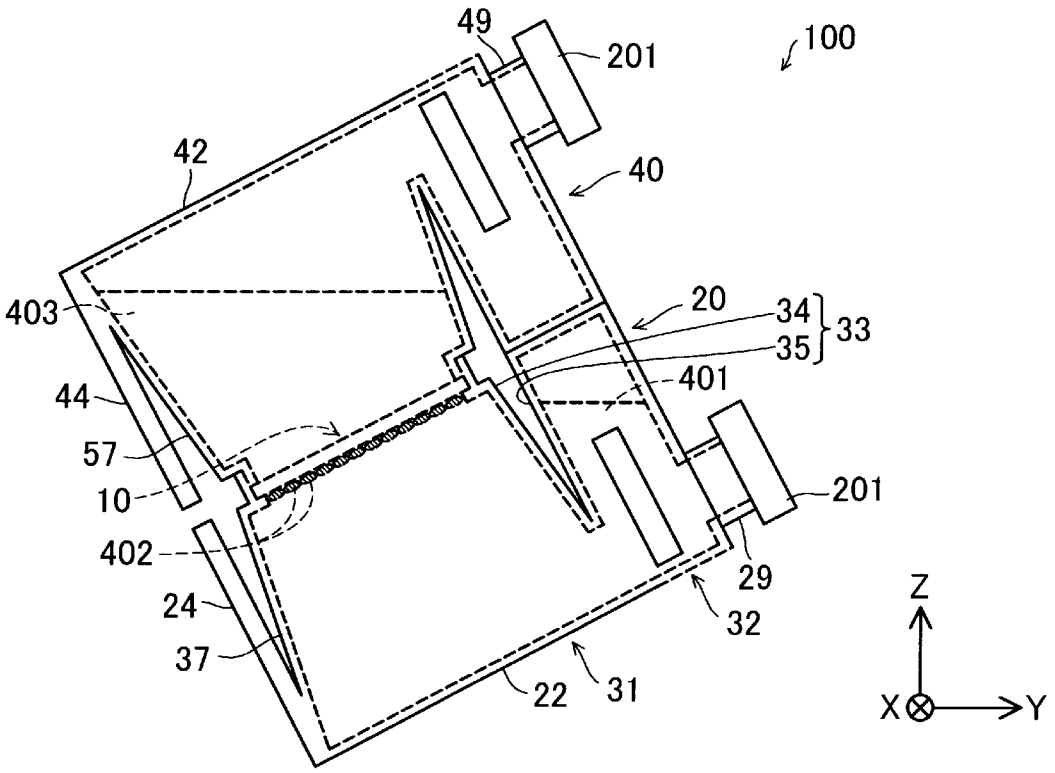
[図7]

Fig.7



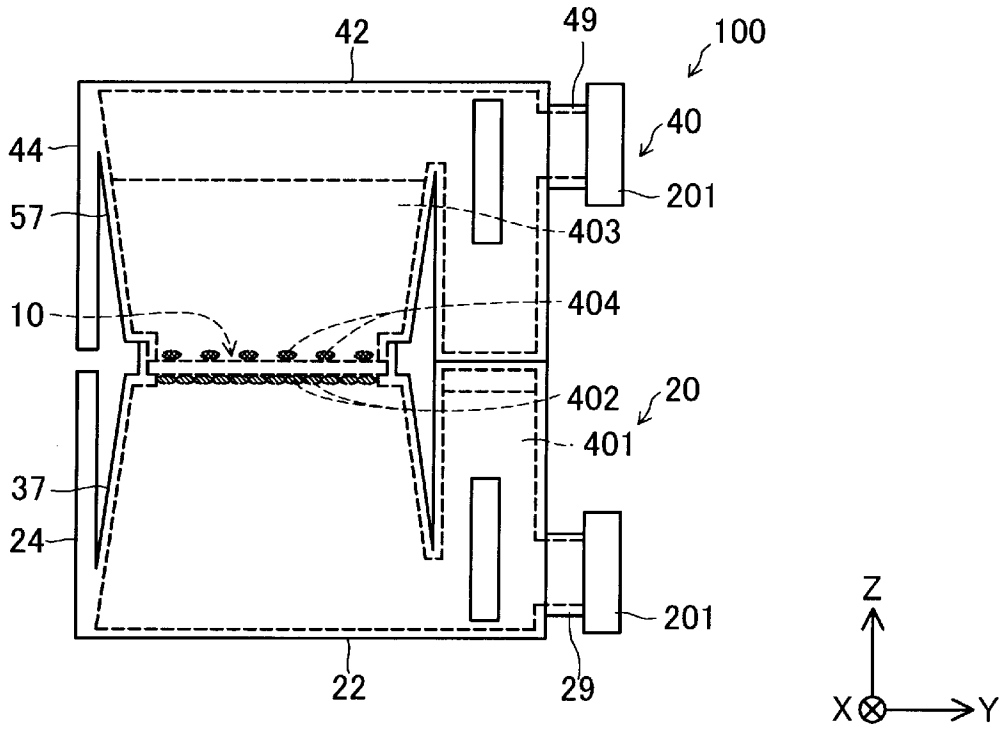
[図8]

Fig.8



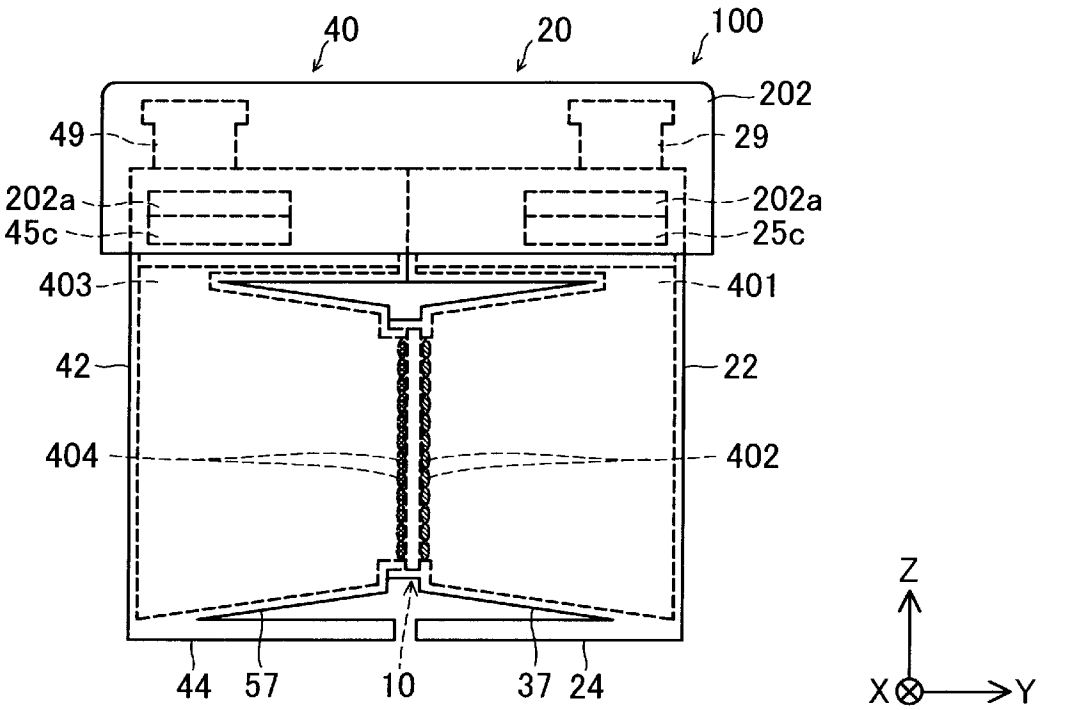
[図9]

Fig.9



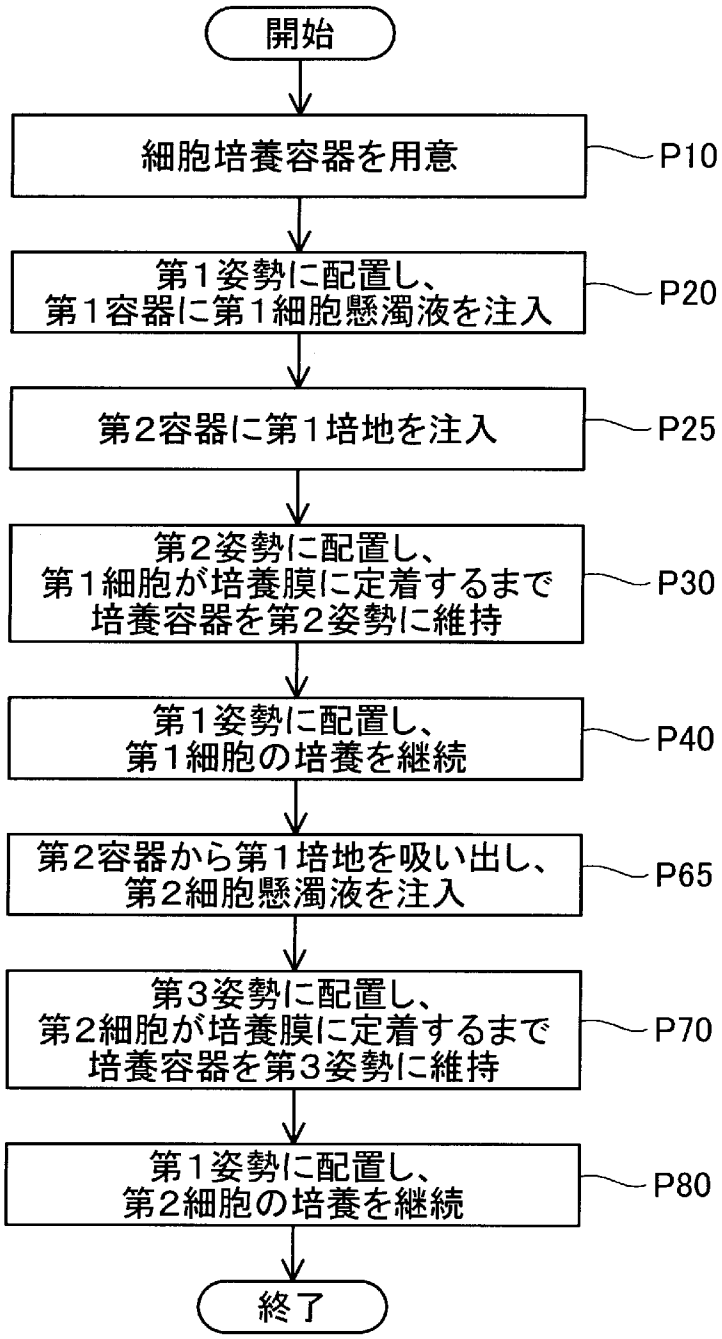
[図10]

Fig.10


40
20
100
202
49
29
202a
45c
202a
25c
403
401
42
22
404
402
44
57
10
37
24
Z
X
Y

[図11]

Fig.11


開始
細胞培養容器を用意
P10
第１姿勢に配置し、
第１容器に第１細胞懸濁液を注入
P20
第２容器に第１培地を注入
P25
第２姿勢に配置し、
第１細胞が培養膜に定着するまで
培養容器を第２姿勢に維持
P30
第１姿勢に配置し、
第１細胞の培養を継続
P40
第２容器から第１培地を吸い出し、
第２細胞懸濁液を注入
P65
第３姿勢に配置し、
第２細胞が培養膜に定着するまで
培養容器を第３姿勢に維持
P70
第１姿勢に配置し、
第２細胞の培養を継続
P80
終了

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/007072

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 3/00(2006.01)i; ***C12M 1/00***(2006.01)i; ***C12N 5/071***(2010.01)i
FI: C12M3/00 A; C12N5/071; C12M1/00 D

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)

C12M3/00; C12M1/00; C12N5/071

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 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5583037 A (MUSSI, Edward F.) 10 December 1996 (1996-12-10) abstract, claims, the fifth claim, second paragraph, fig. 4a	1-6
A	JP 2015-208283 A (TOYODA GOSEI CO., LTD.) 24 November 2015 (2015-11-24) claims, fig. 1	1-6
A	JP 2018-64519 A (TAKASAGO ELECTRIC INC.) 26 April 2018 (2018-04-26) claims, fig. 6	1-6

☐ 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
11 April 2022	**26 April 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/007072

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 5583037 A	10 December 1996	EP 735134 A2	
JP 2015-208283 A	24 November 2015	US 2017/0044480 A1 claims, fig. 1 WO 2015/166625 A1 CN 106232802 A	
JP 2018-64519 A	26 April 2018	US 2018/0112171 A1 claims, fig. 6 CN 107964500 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/007072

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i
FI: C12M3/00 A; C12N5/071; C12M1/00 D

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））

C12M3/00; C12M1/00; C12N5/071

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	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２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); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

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
A	US 5583037 A (MUSSI Edward F.) 10.12.1996 (1996-12-10) 要約・特許請求の範囲・第5項第2段落・図4a	1-6
A	JP 2015-208283 A (豊田合成株式会社) 24.11.2015 (2015-11-24) [特許請求の範囲][図1]	1-6
A	JP 2018-64519 A (高砂電気工業株式会社) 26.04.2018 (2018-04-26) [特許請求の範囲][図6]	1-6

☐ 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抵触するものではなく、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	国際調査報告の発送日
11.04.2022	26.04.2022

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

原　大樹 4N 5278

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/007072

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
US 5583037 A	10.12.1996	EP 735134 A2	
JP 2015-208283 A	24.11.2015	US 2017/0044480 A1 [特許請求の範囲][図1] WO 2015/166625 A1 CN 106232802 A	
JP 2018-64519 A	26.04.2018	US 2018/0112171 A1 [特許請求の範囲][図6] CN 107964500 A	