(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
2016 年 12 月 1 日(01.12.2016)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2016/190312 A1

(51) 国際特許分類:
C12M 3/00 (2006.01) *C12M 1/10* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/065330

(22) 国際出願日: 2016 年 5 月 24 日(24.05.2016)

(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 2015-105862 2015 年 5 月 25 日(25.05.2015) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ニプロ株式会社 (NIPRO CORPORATION) [JP/JP]; 〒5318510 大阪府大阪市北区本庄西３丁目９番３号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および
(71) 出願人 (米国についてのみ): 竹内　誠亮(TAKEUCHI, Masakatsu) [JP/JP]; 〒5318510 大阪府大阪市北区本庄西３丁目９番３号　ニプロ株式会社内 Osaka (JP). 田口　淳史(TAGUCHI, Atsushi) [JP/JP]; 〒5318510 大阪府大阪市北区本庄西３丁目９番３号　ニプロ株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 西木　信夫, 外(NISHIKI, Nobuo et al.); 〒5400025 大阪府大阪市中央区徳井町１丁目１番１０号エースマンビル５階　朋信国際特許事務所 Osaka (JP).

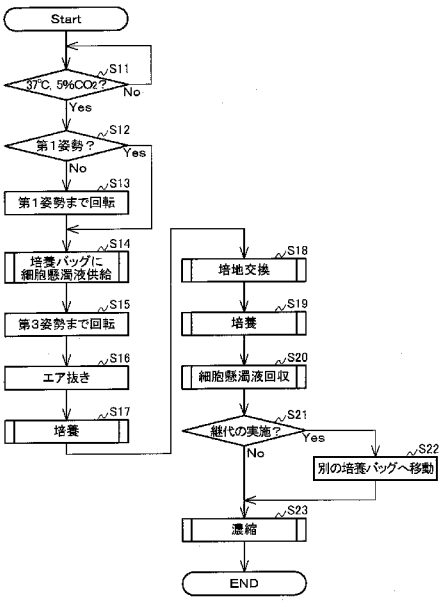
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(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

[続葉有]

(54) **Title**: CULTURING DEVICE

(54) 発明の名称 : 培養装置



S12 First position
S13 Rotate to first position
S14 Supply cell suspension to culture bag
S15 Rotate to third position
S16 Bleed air
S17, S19 Culture
S18 Exchange culture medium
S20 Collect cell suspension
S21 Perform subculture?
S22 Move to another culture bag
S23 Concentrate

(57) **Abstract**: [Problem] To provide a compact culturing device 10 capable of performing large-scale culturing in an aseptic state. [Solution] This culturing device 10 is provided with: a bag holding part 31 having ports 73, 74 through which a liquid flows, a culturing bag 70 in which cell culturing is enabled, holding plates 42, 43 which hold a culturing container 70, and rotating shafts 48, 49; a rotating mechanism 34 which supports and rotates the rotating shaft 48; a liquid supply and discharge mechanism 37 which supplies and discharges the liquid to and from the culturing bag 70; and a rotation control unit 20 which controls the rotation of the rotating mechanism 34. The rotation control unit 20 controls the bag holding part 31 to assume a first position in an approximately horizontal direction according to first information, to assume a second position when a culture medium in the culture bag 70 is discharged from the port 74 according to second information, and to assume a third position in an approximately vertical direction when a cell suspension in the culture bag 70 is discharged from at least the port 74 according to third information.

(57) 要約: 【課題】無菌状態で大規模な培養が可能であり、コンパクトな培養装置１０を提供する。 【解決手段】培養装置１０は、液体が流通するポート７３，７４を有し、細胞培養が可能な培養バッグ７０と、培養容器７０を保持する保持板４２，４３、及び回転軸４８，４９を有するバッグ保持部３１と、回転軸４８を支持して回転させる回転機構３４と、培養バッグ７０へ液体を供給及び排出する液体給排機構３７と、回転機構３４の回転を制御する回転制御部２０と、を備える。回転制御部２０は、第１情報に応じて、バッグ保持部３１を略水平方向に沿った第１姿勢とし、第２情報に応じて、ポート７４から培養バッグ７０内の培地が流出されるとき、バッグ保持部３１を第２姿勢とし、第３情報に応じて、少なくともポート７４から培養バッグ７０内の細胞懸濁液が流出されるとき、バッグ保持部３１を略鉛直方向に沿った第３姿勢とする。

WO 2016/190312 A1

ラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

明　細　書

発明の名称 ： 培養装置

技術分野

[0001] 本発明は、細胞を培養する装置に関する。

背景技術

[0002] 細胞培養においては、培養容器中の細胞を他の培養容器に移し替える工程や、培養容器中の培地を交換する工程が行われる。このような細胞培養の各工程は、無菌状態で行われる必要がある。また、細胞培養は、数日から数週間に渡って行われ、この期間に前述された各工程が複数回行われる。細胞培養において人が行う作業を簡略化したり、大量の細胞を培養したりすることを目的として、細胞培養における各工程を機械により行う装置が公開されている（特許文献１，２）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２００９－２９１１０４号公報

特許文献2：特開２００７－２９０４１号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 特許文献１に記載された細胞培養装置のように、完全に密閉されていない培養容器が用いられる手法では、培養容器が置かれる培養空間が無菌状態に保持される必要があり、装置が大型化しやすいという問題がある。また、培地交換や継代のために培養容器を扱うためのロボットアームやテーブルなどが配置される空間も無菌状態に保持されるという理由によっても、装置が大型化しやすいという問題が生じる。

[0005] バッグのように内部空間を無菌状態に保持可能な培養容器が用いられる手法では、培養容器が配置される空間が無菌状態に保持される必要はない。しかし、バッグ形状の培養容器は撓みやすいので、培地交換や継代などにおい

て、バッグの内部空間に対して液体を流出入させることが難しい。

[0006] 本発明は、これらの事情に鑑みてなされたものであり、その目的は、培養容器を用いて容易に細胞培養ができる培養装置を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0007] (1) 本発明に係る培養装置は、液体が流通するポートを有しており、内部空間において細胞培養が可能な培養容器と、上記培養容器を保持する保持板、及び回転軸を有する容器保持部と、上記回転軸を支持して回転させる回転機構と、上記培養容器へ液体を供給及び排出する液体給排機構と、上記回転機構の回転を制御する回転制御部と、を備え、上記回転制御部は、上記培養容器において細胞培養が行われることを示す第１情報に応じて、上記容器保持部を上記保持板における上記培養容器を支持する支持面が略水平方向に沿った第１姿勢とし、上記培養容器において溶液交換が行われることを示す第２情報に応じて、少なくとも上記ポートから上記培養容器内の溶液が流出されるとき、上記容器保持部を上記支持面が水平方向及び鉛直方向のいずれにも沿っていない第２姿勢とする。

[0008] 第１姿勢の容器保持部に保持された培養容器において、細胞培養が行われる。第１姿勢では、容器保持部の支持面が略水平方向に沿っているので、培養容器の内面の一方が略水平方向に沿った状態に保持される。これにより、培養容器が安定して容器保持部に支持され、例えば接着性細胞が培養容器の内面に付着して培養される。

[0009] 第２姿勢の容器保持部に保持された培養容器において、培地や試薬などに代表される溶液交換が行われる。溶液交換において、例えば、培養容器に貯留された溶液の一部が流出される。第２姿勢では、培養容器の内面が水平方向及び鉛直方向のいずれにも沿っていないので、培養容器のポートが鉛直方向の下方に位置されることによって、重力により培養容器の内部空間からポートを通じて培地が流出されるが、第３姿勢よりも重力による培養容器の変形が小さい。すなわち、培養容器において、内面同士が接触するおそれが低減される。これにより、例えば、培養容器の内面から細胞が剥がれ落ちるお

それが低減される。

[0010] (2) 好ましくは、上記回転制御部は、上記培養容器から溶液が排出されることを示す第３情報に応じて、少なくとも上記ポートから上記培養容器内の溶液が流出されるとき、上記容器保持部を上記支持面が略鉛直方向に沿った第３姿勢とする。

[0011] 第３姿勢の容器保持部に保持された培養容器において、ポートを通じて細胞懸濁液や剥離液などの溶液が流出される。第３姿勢では、容器保持部の支持面が略鉛直方向に沿っているので、培養容器の内面が略鉛直方向に沿った状態に保持される。培養容器のポートが鉛直方向の下方に位置されることによって、重力により培養容器の内部空間から細胞懸濁液や剥離液などの溶液がポートを通じて流出される。

[0012] (3) 好ましくは、上記液体給排機構を制御する給排制御部を更に備え、上記培養容器は、上記容器保持部に保持された状態において、上記回転軸と直交する方向の両端側にそれぞれ上記ポートを有するものであり、上記回転制御部は、上記第２情報又は上記第３情報に応じて、上記容器保持部を上記第２姿勢又は上記第３姿勢とし、上記給排制御部は、上記第２情報又は上記第３情報に応じて、上記液体給排機構に、上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器において下方に位置するポートから上記培養容器内の溶液を流出させる。

[0013] (4) 好ましくは、上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器においていずれか一方のポートから上記培養容器内へ溶液を流入させ、上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器において上方に位置するポートから所定量の吸引を行う。

[0014] 第２姿勢又は上記第３姿勢の容器保持部において、鉛直方向の下方に位置する培養容器のポートを通じて培養容器に貯留された培地などの溶液が流出される。その後、第１姿勢の容器保持部において、培養容器のポートを通じて内部空間に培地などの溶液が流入される。そして、第２姿勢又は第３姿勢の容器保持部において、鉛直方向の上方に位置する培養容器のポートを通じ

て、液体給排機構が所定量の吸引を行う。この吸引によって、培地などの溶液の交換において、培養容器の内部空間に気体が進入したとしても、第２姿勢又は第３姿勢において、鉛直方向の上方に位置する培養容器のポート付近に気体が集まり、その気体がポートを通じて培養容器から吸い出される。これにより、効率的に培養容器に対して気体又は液体が流出入される。

[0015] (5) 好ましくは、上記給排制御部は、上記液体給排機構に、上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器のポートから培地を流出させるステップと、上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器に剥離液を流入させるステップと、上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器から剥離液を流出させるステップと、上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器に培地を流入させるステップと、上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器から細胞懸濁液を流出させるステップと、を実行させる。

[0016] これにより、培養容器の内面に付着した細胞が細胞懸濁液として培養容器から流出される。また、遠心分離を行うことなく培地を溶媒とした細胞懸濁液を得ることができる。

[0017] (6) 好ましくは、上記第２姿勢は、上記支持面が水平方向に対して鋭角をなす角度が２０度以上７０度以下である。

[0018] (7) 好ましくは、上記培養容器の内面は、接着性細胞を培養するに適した細胞接着性を有する。

[0019] (8) 好ましくは、上記回転制御部は、上記第１情報に応じて、上記容器保持部を上記第１姿勢とした後、上記第１姿勢から上記支持面が１８０度回転された第４姿勢とする。

[0020] 第１姿勢においては、鉛直方向の上方を向く培養容器の内面に、例えば接着性細胞が付着して培養される。第４姿勢においては、第１姿勢において鉛直方向の上方を向いていた培養容器の内面が、鉛直方向の下方を向く。他方、第１姿勢において鉛直方向の下方を向いていた培養容器の内面が、鉛直方向の上方を向く。これにより、第１姿勢において接着性細胞が付着し難い内

面に、接着性細胞が付着して培養される。

[0021] (9) 好ましくは、上記回転制御部に上記第１情報、上記第２情報、及び上記第３情報を出力する培養制御部を更に具備しており、上記培養制御部は、上記第１情報を出力する培養ステップと、上記第２情報を出力する溶液交換ステップと、上記第３情報を出力する溶液排出ステップと、を実行する。

[0022] これにより、培養ステップ、培地などの溶液を交換するステップ、及び細胞懸濁液などの溶液を排出するステップが自動的に制御されて行われる。

[0023] (10) 好ましくは、上記培養制御部は、上記溶液交換ステップにおいて、上記液体給排機構を駆動して、上記培養容器内の溶液の一部又は全てを交換する。

発明の効果

[0024] 本発明に係る装置によれば、培養容器を用いた細胞培養を容易に行うことができる。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]図１は、培養装置１０の概略図である。

[図2]図２は、培養部１４の内部の斜視図である。チューブ３８は省略されている。また説明のために制御部１１が示されている。

[図3]図３は、培養部１４の内部の上方から見た概略図である。第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２及び第３バッグ保持部３３の上面の保持板４２は省略されている。

[図4]図４は、第３バッグ保持部３３の分解斜視図である。

[図5]図５（Ａ）～（Ｃ）は、培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。

[図6]図６は、濃縮装置１２０を説明するための第１バッグ保持部３１の概略図である。

[図7]図７（Ａ）～（Ｄ）は、濃縮装置１２０の概略図である。

[図8]図８は、重量検出部２３及び軸受部２４の斜視図である。

[図9]図９（Ａ）は、チューブ９９の斜視図である。図９（Ｂ）は、チューブ

９９を切断面ＩＸ－ＩＸで切断した断面の概略図である。

[図10]図１０は、培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す拡大断面図である。

[図11]図１１は、細胞培養方法のフローチャートである。

[図12]図１２は、第１バッグ保持部３１の第１姿勢を説明するための概略図である。

[図13]図１３は、液体供給ステップのフローチャートである。

[図14]図１４は、第１バッグ保持部３１の第３姿勢を説明するための概略図である。

[図15]図１５は、第１バッグ保持部３１が第３姿勢であるときの培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。

[図16]図１６は、培養ステップのフローチャートである。

[図17]図１７（Ａ）は、第１バッグ保持部３１が第１姿勢であるときの培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。図１７（Ｂ）は、第１バッグ保持部３１が第４姿勢であるときの培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。

[図18]図１８は、第１バッグ保持部３１の第４姿勢を説明するための概略図である。

[図19]図１９は、培地交換ステップのフローチャートである。

[図20]図２０は、第１バッグ保持部３１の第２姿勢を説明するための概略図である。

[図21]図２１は、第１バッグ保持部３１が第２姿勢であるときの培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。

[図22]図２２は、液体排出ステップのフローチャートである。

[図23]図２３は、細胞懸濁液回収ステップのフローチャートである。

[図24]図２４は、逆向きの第３姿勢の第１バッグ保持部３１を説明するための概略図である。

[図25]図２５は、第１バッグ保持部３１が逆向きの第３姿勢であるときの培養バッグ７０の切断面Ｖ－Ｖを示す断面図である。

[図26]図２６は、細胞懸濁液濃縮ステップのフローチャートである。

発明を実施するための形態

[0026] 以下、本発明の好ましい実施形態を説明する。なお、本実施形態は本発明の一実施態様にすぎず、本発明の要旨を変更しない範囲で実施態様を変更できることは言うまでもない。

[0027] ［培養装置１０の概要］

図１に示されるように、培養装置１０は、制御部１１、冷蔵保存部１２、常温保存部１３及び２つの培養部１４を備える。冷蔵保存部１２及び常温保存部１３は、培養部１４の外部に設けられている。２つの培養部１４は、上下に分かれて配置されている。制御部１１は、ディスプレイ１５を備えている。ディスプレイ１５は、培養装置１０の前面に配置されている。制御部１１は、不図示のデータ入力部を有しており、データ入力部を通じて制御部１１に細胞培養に関する種々の条件などが入力される。

[0028] 培養装置１０は、制御部１１に入力され保存されたプログラムに従い自動で細胞を培養する装置である。以下、培養装置１０の構成要素が詳細に説明される。以下の説明において、図１における上下に沿って上下方向１０１が定義され、図１における左右に沿って左右方向１０２が定義され、上下方向１０１及び左右方向１０２と垂直な方向（図１の紙面に垂直な方向）に沿って前後方向１０３が定義される。

[0029] 図２，３に示されるように、制御部１１は、回転制御部２０、培養制御部２１、及び給排制御部２２を有する。回転制御部２０、培養制御部２１、及び給排制御部２２は、それぞれの制御対象の動作を制御するための演算装置であり、予めプログラムや情報が格納されている。培養制御部２１は、回転制御部２０及び給排制御部２２に制御情報を出力する。また、培養制御部２１は、培養部１４の環境温度を制御するための制御情報を出力する。回転制御部２０は、回転機構３４と電気的に接続されており、回転機構３４の駆動を制御するための制御情報を出力する。給排制御部２２は、液体給排機構３７と接続されており、液体給排機構３７の各駆動部、すなわち供給ポンプ９

１，排出ポンプ９２、及びバルブＶ１～Ｖ１８を駆動するための制御情報を出力する。

[0030] 図１に示されるように、冷蔵保存部１２は、内部に試薬又は培地を貯留した容器を載置するための棚が形成された筐体である。冷蔵保存部１２の前面には、筐体の前面に設けられた開口を開閉可能な扉が設けられている。冷蔵保存部１２は、不図示の冷却機構を備える所謂冷蔵庫である。冷却機構により、冷蔵保存部１２の内部の温度は、常温より低い任意の設定温度、例えば、約１０℃や約４℃などに保たれる。常温保存部１３は、内部に試薬又は培地を貯留した容器を載置するための棚を有する筐体である。

[0031] 冷蔵保存部１２及び常温保存部１３の内部に載置された容器は、試薬又は培地を液密に貯留可能なものである。容器としては、例えば、バッグ、ボトル、カセットなどが挙げられる。各容器は、内部の液体を流出可能にチューブなどが接続されており、液体給排機構３７によって貯留された液体が流出可能である。

[0032] ［培養部１４］

２つの培養部１４は、装置における配置が異なる他は同様の構造なので、以下、１つの培養部１４を例に詳細な構成が説明される。培養部１４は、培養装置１０の内部に形成された空間であり、当該空間は、培養装置１０の筐体フレームと、トレイ１７（図２参照）により区画されている。トレイ１７は、培養装置１０の前面から手前へ引き出し可能である。トレイ１７が引き出されることにより、培養部１４が開放され、培養部１４に設けられた各構成にアクセス可能となる。

[0033] 培養部１４は、所定の温度及びCO_2濃度に保持可能である。各図には示されていないが、培養部１４には、加温装置及びCO_2供給装置が設けられている。また、培養部１４には、温度センサ及びCO_2濃度センサが設けられている。培養制御部２１は、温度センサ及びCO_2濃度センサの出力に基づいて、培養部１４の内部を設定された温度及びCO_2濃度にすべく加温装置及びCO_2供給装置を駆動する。細胞培養において、培養部１４は、例えば、３７℃、

５％CO_2の環境に保持可能である。

[0034] 図２，３に示されるように、トレイ１７には、第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３が左右方向１０２に並んで設けられている。第１バッグ保持部３１の前後方向１０３の後方には、回転機構３４が設けられている。回転機構３４によって、第１バッグ保持部３１が所定の回転姿勢に回転される。同様に、第２バッグ保持部３２の前後方向１０３の後方に回転機構３４が設けられており、また、第３バッグ保持部３３の前後方向１０３の後方に回転機構３４が設けられている。トレイ１７の前側には、液体給排機構３７が設けられている。また、第１バッグ保持部３１と同軸で回転可能に第１バッグ保持部３１と連結された濃縮装置支持部１０４が設けられている。また、トレイ１７の左右方向１０２の左側には、容器収納部２７，２８が設けられており、右側には、容器収納部２９が設けられている。

[0035] ［第３バッグ保持部３３］

第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３は、配置及び寸法が異なる他は、基本的に同様の構成なので、以下には、第３バッグ保持部３３を一例として詳細な構成が説明される。なお、第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３の外形及び寸法は、保持可能な培養バッグの外形に合わせて設計されている。

[0036] 図４及び図５に示されるように、第３バッグ保持部３３は、保持板４２，４３、ホルダ４４，４５、スペーサー４６，４７及び回転軸４８，４９を備える。保持板４２，４３は、矩形の平板である。保持板４２，４３には、厚み方向に貫通する孔が複数形成されている。この孔は、保持板４２，４３に挟まれて保持された培養バッグ９０へ培養部１４内の気体からの熱伝導を高めるためのものである。保持板４２，４３は、相互に対向して配置される。保持板４２，４３において相互に対向する面が、支持面６５，６６である。

[0037] 保持板４２，４３の間であって、培養バッグ９０（培養容器の一例）のポート７３，７４が配置される一対の対向する縁部には、スペーサー４６，４

７が配置されている。スペーサー４６，４７は、保持板４２，４３の間隔を維持するためのものである。スペーサー４６，４７は、それぞれが四角柱形状である。スペーサー４６，４７の長手方向の長さは、保持板４２，４３の一対の縁部の長さとほぼ同じである。また、スペーサー４６，４７は、断面形状が長手方向に渡って一定である。スペーサー４６，４７の長手方向の中央には、長手方向と直交する方向へ凹む凹部４６Ａ，４７Ａが形成されている。凹部４６Ａ，４７Ａは、培養バッグ９０のチューブ９９がそれぞれ挿入される空間である。なお、スペーサー４６，４７は、保持板４２，４３の一方と一体に構成されていてもよい。

[0038] スペーサー４７には、距離センサ６７が配置されている。スペーサー４７と当接する保持板４２には、距離センサ６７と対向してマグネット６８が配置されている。距離センサ６７は、マグネット６８からの磁束密度に応じた電圧を出力するものであり、例えば、ホール素子が使用される。保持板４２，４３が、培養バッグを保持した通常の状態であれば、保持板４２とスペーサー４７との距離は一定なので、距離センサ６７の出力も一定である。培養バッグに流入した液体の量が多く、培養バッグが膨らむことによって保持板４２，４３が互いに離れる方向に押し広げられるように撓んで保持板４２とスペーサー４７との距離が大きくなると、距離センサ６７が検知するマグネット６８の磁束密度が小さくなり、距離センサ６７の出力が変化する。

[0039] 制御部１１には、閾値が予め格納されている。この閾値は、保持板４２とスペーサー４７との距離が一定以上に大きくなったことを判定するためのものである。制御部１１は、距離センサ６７の出力を閾値と比較することによって、保持板４２とスペーサー４７との距離が一定以上に大きくなったことを判定できる。なお、距離センサ６７はスペーサー４７ではなく、スペーサー４６に設けられていてもよく、スペーサー４６，４７の両方に設けられていてもよい。また、マグネット６８は、距離センサ６７により磁束が検知可能であれば、保持板４２，４３のいずれに設けられてもよい。また、距離センサ６７とマグネット６８との配置は相対的なものであり、距離センサ６７

とマグネット６８との配置が入れ替わってもよいことは言うまでもない。また、保持板４２，４３に、距離センサ６７とマグネット６８とがそれぞれ対向して配置されていてもよい。

[0040] ホルダ４４，４５は、スペーサー４６，４７を介在させた状態の保持板４２，４３を挟み込んで一体に保持するものである。ホルダ４４，４５は、断面が横向きＵ時形状の細長な部材であり、横向きＵ時形状の内側に、スペーサー４６，４７を介在させた状態の保持板４２，４３の縁部が挿入される。ホルダ４４，４５に挿入される保持板４２，４３の縁部は、スペーサー４６，４７が介在されない一対の縁部である。ホルダ４４，４５のそれぞれの長手方向の両端側には、ネジ孔が形成されており、そのネジ孔にネジ１８が螺合されている。ネジ１８の先端は、ホルダ４４，４５の横向きＵ時形状の内側に突出されている。ホルダ４４，４５の横向きＵ時形状の内側に挿入されたホルダ４４，４５の一方が、ネジ１８によって押圧されることにより、ホルダ４４，４５がスペーサー４６，４７を介在させた状態に保持板４２，４３を保持する。この状態において、保持板４２，４３の支持面６５，６６の間に形成された空間が培養バッグを保持する空間となる。なお、ホルダ４４，４５は、保持板４２，４３の一方と一体に構成されてもよい。また、保持板４２，４３は、ホルダ４４，４５の一方により蝶番のごとく回動自在に連結されていてもよい。

[0041] ホルダ４４，４５には、長手方向の中央付近から、保持板４２，４３が保持される側と反対向きに突出する回転軸４８，４９がそれぞれ設けられている。回転軸４８，４９は、ホルダ４４，４５が保持板４２，４３を保持した状態において、同軸に延びる。回転軸４８，４９が延びる方向は、保持板４２，４３の支持面６５，６６と平行である。

[0042] 図５（Ａ）に示されるように、第３バッグ保持部３３が、支持面６６を支持面６５より下方として、支持面６５，６６が水平方向に沿った状態であるときに、第３バッグ保持部３３に支持されている培養バッグ９０に液体が入っていない場合、培養バッグ９０は主として支持面６６に接触している。こ

のとき、支持面６５，６６の距離は、距離Ｄ１である。図５（Ｂ）に示されるように、培養バッグ９０には、仮に貯留する液体によって培養バッグ９０が膨らんで支持面６５，６６に接触したとしても、保持板４２，４３を撓ませない程度の容量の液体が流入される。このような液体の量が、培養バッグ９０に貯留可能な液体量として予め設定されている。図５（Ｃ）に示されるように、培養バッグ９０に予め設定された量より多くの液体が流入されると、支持面６５，６６に接触している培養バッグ９０が更に膨らんで、保持板４２，４３を互いに離れる方向に押し広げられるように撓ませる。保持板４２，４３が撓むことによって支持面６５，６６の距離が大きくなる（距離Ｄ２）。保持板４２とスペーサー４７の距離に応じた距離センサ６７の検知値が前述された閾値を超えると、制御部１１が支持面６５，６６の距離が距離Ｄ２を超えたと判定する。

[0043] 第１バッグ保持部３１及び第２バッグ保持部３２の詳細な構成については、図を用いて詳細には説明されないが、第３バッグ保持部３３と同様に、保持板ホルダ、スペーサーを備える。

[0044] ［濃縮装置支持部１０４］

図６に示されるように、濃縮装置支持部１０４は、第１バッグ保持部３１の前後方向１０３の後方に配置されている。濃縮装置支持部１０４は、第１バッグ保持部３１と一体に連結されている。したがって、濃縮装置支持部１０４は、回転軸４８，４９周りに第１バッグ保持部３１と一体に回転する。濃縮装置支持部１０４は、濃縮装置１２０を支持する。濃縮装置支持部１０４に支持された濃縮装置１２０は、流入ポート１１０及び第１流出ポート１１１が、回転軸４８，４９による回転軸と交差する方向（本実施形態では直交する方向）をそれぞれ向くように配置される。これにより、濃縮装置支持部１０４と共に濃縮装置１２０が回転軸４８，４９周りに回転すると、流入ポート１１０及び第１流出ポート１１１の上下方向１０１の位置が変わる。また、濃縮装置支持部１０４に支持された濃縮装置１２０の流入ポート１１０及び第１流出ポート１１１がそれぞれ延びる方向と、第１バッグ保持部３

１に保持された培養バッグ７０のポート７３，７４がそれぞれ延びる方向とは、合致している。

[0045] 図２に示されるように、トレイ１７において、第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、第３バッグ保持部３３、及び濃縮装置支持部１０４が配置される箇所には、回転する第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、第３バッグ保持部３３、及び濃縮装置支持部１０４との干渉を避けるために開口１７Ａが３箇所に形成されている。

[0046] 各開口１７Ａの前後方向１０３の前方及び後方には、一対の軸受部２４がそれぞれ配置されている。一対の軸受部２４は、第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、第３バッグ保持部３３、及び濃縮装置支持部１０４の各回転軸４８，４９を前後方向１０３に沿った状態でそれぞれ回転自在に支持する。これにより、第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３の各保持板４２，４３、並びに濃縮装置支持部１０４は、回転軸４８，４９を回転中心として回転可能である。

[0047] 図８に示されるように、各軸受部２４は、トレイ１７上に設けられた各重量検出部２３上に積載されている。第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、又は第３バッグ保持部３３にそれぞれ対応する一対の重量検出部２３によって、対応するバッグ保持部、対応するバッグ保持部に保持されている培養バッグ、及び軸受部２４などの重量が検知される。重量検出部２３としては、例えば重量検出部２３に加えられた力（重量）を電気的な信号に変換するロードセルなどが用いられる。

[0048] ［回転機構３４］

図２及び図３に示されるように、トレイ１７において、各軸受部２４の前後方向１０３のそれぞれ後方には、回転機構３４がそれぞれ設けられている。回転機構３４は、回転軸支持部１６及び不図示のステッピングモータを有する。回転軸支持部１６は、前後方向１０３の後方に向かって延びており、各軸受部２４に支持された回転軸４９と同軸に連結されている。各図には示されていないが、ステッピングモータには、電源から電力が供給されている

。また、ステッピングモータと回転軸支持部１６とは、公知の減速ギアなどによって駆動伝達されている。回転制御部２０から出力される制御信号に基づいた電力がステッピングモータに供給されることにより、回転軸支持部１６が所定の回転角だけ回転する。なお、ステッピングモータには、原点位置、すなわち第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３の保持板４２，４３の支持面６５，６６が水平方向に沿った状態となる回転位置を検出するためのセンサが設けられていてもよい。回転制御部２０は、このセンサの出力に基づいて、支持面６５，６６が水平方向に沿った状態となるようにステッピングモータを駆動することができる。同様に、濃縮装置１２０の流入ポート１１０及び第１流出ポート１１１が水平方向に延びる状態となるようにステッピングモータを駆動することができる。なお、ステッピングモータは回転機構３４の駆動源の一例であり、ステッピングモータに代えて、例えば回転量を検出可能なエンコーダを有する直流モータなど他の駆動源が採用されてもよい。また、駆動源の回転位置はレゾルバなどの他の検知手段により検知されてもよいし、第１バッグ保持部３１などの回転位置を直接検出できるセンサが設けられてもよい。

[0049] ［液体給排機構３７］

図２，３に示されるように、液体給排機構３７は、供給ポンプ９１、排出ポンプ９２、及び複数のバルブＶ１～Ｖ１８を有する。供給ポンプ９１及び排出ポンプ９２は、チューブ内の液体を送液可能な公知のものが採用される。このようなポンプとして、例えば軟質のチューブを回動するローラによって扱くことにより送液する所謂チューブポンプが挙げられる。供給ポンプ９１及び排出ポンプ９２には電源から電力が供給されている。給排制御部２２は、供給ポンプ９１及び排出ポンプ９２に供給される電力を制御することにより、供給ポンプ９１及び排出ポンプ９２を一定時間駆動させることができる。

[0050] 複数のバルブＶ１～Ｖ１８は、供給ポンプ９１に関連するバルブＶ１～Ｖ１１と、排出ポンプ９２に関連するバルブＶ１２～Ｖ１８に大別される。供

給ポンプ９１及びバルブＶ１～Ｖ１１が、液体給排機構３７における液体供給機構８１であり、排出ポンプ９２及びバルブＶ１２～Ｖ１８が、液体給排機構３７における液体排出機構８２である。各バルブＶ１～Ｖ１８は、給排制御部２２から出力される制御信号に基づいてオン／オフが切り替えられる。各バルブＶ１～Ｖ１８のオン／オフによって、培養バッグなどに連結されている各チューブ３８における液体の流れを変更することができる。バルブＶ１～Ｖ１８としては、例えば、電磁弁が採用される。

[0051] ［培養回路］

図３に示されるように、培養回路は、３つの培養バッグ７０，８０，９０と、２つのサーババッグ３９，４０と、回収バッグ４１と、濃縮装置１２０と、冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保持される貯留容器１１６，１１７と、これらを液体が流通可能に連結する複数のチューブ３８と、を有する。培養バッグ７０は、第１バッグ保持部３１に設置されるものである。培養バッグ８０は、第２バッグ保持部３２に設置されるものである。培養バッグ９０は、第３バッグ保持部３３に設置されるものである。濃縮装置１２０は、濃縮装置支持部１０４に設置されるものである。回収バッグ４１は、培養部１４内に設置されるものである。培養バッグ７０が、培養バッグ８０，９０と比べて容量が小さいほかは、各培養バッグ７０，８０，９０は同様の構成なので、以下、培養バッグ９０を例に詳細な構成が説明される。

[0052] 図４に示されるように、培養バッグ９０は、合成樹脂製の２枚の矩形のシートの周縁が熱溶着などの公知の方法で張り合わされることにより、バッグ形状に形成されたものである。２枚の矩形のシートにおいて対向する一対の端部７７，７８の中央付近にそれぞれ合成樹脂製のチューブ９９が配置されている。図９（Ａ）、（Ｂ）に示されるように、各チューブ９９において、培養バッグ９０の内部空間７５に位置する部分には、培養バッグ９０の内部空間７５に位置する端から縁８７，８８へ向かって切欠部１０５が形成されている。図１０に示されるように、切欠部１０５は、培養バッグ９０の内部空間７５を画定する内面７１，７２と対向しない位置、すなわち、２枚の矩

形のシートにおける一対の端部７７，７８以外の端部を向いている箇所に位置している。仮に、培養バッグ９０から液体が流出されるときに、内部空間７５に負圧が生じて内面７１，７２が相互に近づいたとしても、チューブ９９付近においては内面７１，７２の間にチューブ９９が存在することにより、内面７１，７２同士が接触し難くなる。他方、チューブ９９において内面７１，７２と対向しない箇所には切欠部１０５が形成されているので、切欠部１０５を通じて、内部空間７５の縁８７，８８付近に残存する液体は、チューブ９９の内部空間へ流入可能である。

[0053] 図４に示されるように、チューブ９９の内部空間を通じて、培養バッグ９０の内部空間７５が外部と連通されている。すなわち、各チューブ９９によってポート７３，７４が形成されている。培養バッグ９０の内部空間７５を区画する縁のうち、チューブ９９が配置されている縁８７，８８は、ポート７３，７４から離れるに従って縁８７，８８間の距離が小さくなるテーパ形状である。換言すれば、縁８７，８８は、チューブ９９が配置されている中央へ向かって、培養バッグ９０の外方へ向かうように膨らんでいる形状である。培養バッグ９０が第１バッグ保持部３１に保持された状態において、チューブ９９は、回転軸４８，４９と直交する方向へ延びる。すなわち、ポート７３，７４は、回転軸４８，４９と直交する方向へ延びる。

[0054] 培養バッグ９０に用いられる合成樹脂シートとしては、可撓性を有し、培地を入れたときにバッグ形状が維持できる曲げ剛性を有するものであり、例えば、低密度ポリエチレン、超高分子量ポリエチレン、環状ポリオレフィン系樹脂、またはこれら及び他の材料とのラミネート構造を有するものが挙げられる。

[0055] 培養バッグ９０の内面７１，７２は、接着性細胞を培養するに適した細胞接着性を有する。詳細には内面７１，７２は、例えばプラズマ処理などによって細胞接着性官能基が露出されている。細胞接着性官能基としては、例えば、アミノ基、アミン基、水酸基、スルホン基、スルフェン基、スルフィン基、エーテル基、カルボキシル基、カルボニル基などが挙げられる。これら

のうち、細胞との接着性が高いアミノ基及びカルボキシル基が好ましい。

[0056] 図３に示されるサーババッグ３９，４０、回収バッグ４１、貯留容器１１６，１１７は、合成樹脂製のシートが張り合わされてバッグ形状に形成されたものであり、少なくとも１つのポート９４～９８を有する。サーババッグ３９，４０は、培地を貯留するためのものである。回収バッグ４１は、細胞懸濁液を回収するためのものである。貯留容器１１６，１１７は、剥離液やプライミング液を貯留するためのものである。サーババッグ３９，４０、回収バッグ４１、及び貯留容器１１６，１１７は、公知のバッグのほか、培地や細胞懸濁液を貯留可能な公知の容器が採用されうる。

[0057] 図３に示されるように、培養バッグ７０，８０，９０、サーババッグ３９，４０、回収バッグ４１、貯留容器１１６，１１７の各ポートには、チューブ３８がそれぞれ連結されている。培養バッグ７０，８０，９０のそれぞれの一方のポート７３に接続された各チューブ３８、濃縮装置１２０の流入ポート１１０に接続されたチューブ３８、サーババッグ３９，４０の各ポート９４，９５に接続された各チューブ３８、貯留容器１１６，１１７の各ポート９７，９８に接続された各チューブ３８は、供給ポンプ９１へ延出されている。これら各チューブ３８は、供給ポンプ９１へ到達する前にコネクタを介して１本のチューブ３８にまとめられて液体供給回路を構成している。また、これら各チューブ３８は、１本のチューブ３８にまとめられる前に、それぞれがバルブＶ６～Ｖ１１に通されており、各バルブＶ６～Ｖ１１によってチューブ３８の内部空間が液体が流通可能な開状態と、液体が流通できない閉状態とに変化可能である。

[0058] 培養バッグ７０，８０，９０のそれぞれの他方のポート７４に接続された各チューブ３８、濃縮装置１２０の第１流出ポート１１１及び第２流出ポート１１２に接続された各チューブ３８，回収バッグ４１のポート９６に接続されたチューブ３８は、排出ポンプ９２へ延出されている。これら各チューブ３８は、排出ポンプ９２へ到達する前にコネクタを介して１本のチューブ３８にまとめられて液体排出回路を構成している。また、これら各チューブ

３８は、１本のチューブ３８にまとめられる前に、それぞれがバルブＶ１２及びＶ１４～Ｖ１８に通されており、各バルブＶ１２及びＶ１４～Ｖ１８によってチューブ３８の内部空間を液体が流通可能な開状態と、液体が流通できない閉状態とに変化可能である。

[0059] 供給ポンプ９１に通ずるチューブ３８は、再び分岐されて各々がバルブＶ１～Ｖ５を通じて冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に置かれたバッグや容器に接続されている。これらバッグや容器には、細胞懸濁液や培地、剥離液などの試薬が貯留されている。排出ポンプ９２に通ずるチューブ３８は、廃液容器１９へ接続されている。

[0060] ［濃縮装置１２０］

図７（Ａ）に示されるように、濃縮装置１２０は、本体１０６、キャップ１０７、キャップ１０８、及び中空糸束１０９を有する。本体１０６は、概ね円筒形状である。本体１０６は、軸線方向（図７（Ａ）における上下方向に沿った方向）の両側において開口している。本体１０６の各開口には、キャップ１０７及びキャップ１０８がそれぞれ螺合されている。キャップ１０７には、濃縮装置１２０の内部空間と外部空間とを連通する流入ポート１１０が、本体１０６の軸線方向に沿って延びるように形成されている。キャップ１０８には、濃縮装置１２０の内部空間と外部空間とを連通する第１流出ポート１１１が、本体１０６の軸線方向に沿って延びるように形成されている。

[0061] 本体１０６の各開口付近には、不図示の一対の中空糸支持体が設けられており、この一対の中空糸支持体に支持されて、本体１０６の内部空間に中空糸束１０９が配置されている。中空糸束１０９の両端は、本体１０６の開口付近に配置されている。中空糸支持体は、中空糸束１０９の両端を支持するとともに、中空糸束１０９の両端と、本体１０６の内部空間とを液密に隔てている。したがって、キャップ１０７の流入ポート１１０を通じて本体１０６の内部空間に流入した液体は、中空子束１１４の一端へ流れ込み、本体１０６の内部空間において一対の中空糸支持体によって区画された空間には流

入しない。他方、中空糸束１０９の他端から流出した液体は、キャップ１０８の第１流出ポート１１１から外部へ流出し、本体１０６の内部空間において一対の中空糸支持体によって区画された空間から第１流出ポート１１１には液体が流出しない。

[0062] 本体１０６には、キャップ１０８が螺合される側に第２流出ポート１１２が、本体１０６の軸線方向（図７における上下方向に沿った方向）と直交する方向へ延びており、キャップ１０７が螺合される側にポート１１３が、本体１０６の軸線方向と直交する方向へ延びている。第２流出ポート１１２及びポート１１３は、本体１０６の内部空間において一対の中空糸支持体に区画された空間と本体１０６の外部とを連通する。第２排出ポート１１２を通じて、中空糸束１０９からろ過により流出した液体が外部へ流出される。なお、ポート１１３は、本実施形態では封止されている。また、流入ポート１１０、第１流出ポート１１１、第２流出ポート１１２には、前述されたチューブ３８が接続されている。

[0063] 中空糸束１０９は、透析膜が管状に形成された中空糸の束である。中空糸はそれぞれの両端において開口している。中空糸の原料としてはトリアセテートやポリエーテルスルホン等が挙げられる。中空糸の太さや膜厚、孔径、長さ、種類等は、濃縮装置１２０内でろ過される細胞のサイズ等の条件に応じて適宜設定される。

[0064] ［培養装置１０を用いた細胞培養方法］

以下に、培養装置１０を用いた細胞培養方法が説明される。培養装置１０を用いた細胞培養は、培養バッグ７０，８０，９０のいずれか一つ又は複数を任意に選択して行うことができるが、以下には、培養バッグ７０のみを用いた細胞培養方法が説明される。培養装置１０を用いた細胞培養方法は、以下に示される各ステップを含む。

（１）培養バッグ７０内で細胞を増幅する培養ステップ。

（２）培養バッグ７０内の培地を交換する培地交換ステップ。

（３）培養バッグ７０内の細胞懸濁液を回収する細胞懸濁液回収ステップ。

（４）サーババッグ４０内の細胞懸濁液を濃縮する細胞懸濁液濃縮ステップ。

[0065] 培養装置１０には、予め、培養回路がセットされる。詳細には、図３に示されるように、培養バッグ７０，８０，９０が第１バッグ保持部３１、第２バッグ保持部３２、及び第３バッグ保持部３３にそれぞれセットされ、濃縮装置１２０が濃縮装置支持部１０４にセットされ、サーババッグ３９，４０が容器収納部２７，２８にそれぞれ保持され、回収バッグ４１が容器収納部２９に保持される。また、貯留容器１１６，１１７が冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保持される。また、回路の各チューブ３８が各バルブＶ１～Ｖ１８、供給ポンプ９１、排出ポンプ９２にセットされる。

[0066] 培養制御部２１には、培養ステップ、培地交換ステップ、培養ステップ、細胞懸濁液濃縮ステップ、細胞懸濁液回収ステップが順次行われるように、予めユーザが設定を行っている。培養ステップにおける培養時間や、培地交換ステップにおける培地交換量、細胞懸濁液濃縮ステップにおける濃縮時間や培地供給量、細胞懸濁液回収ステップにおける剥離液との反応時間などの各種設定も、予めユーザが設定を行う。培養制御部２１は、培養ステップにおいて各種設定情報を含む第１情報を出力し、培地交換ステップにおいて各種設定情報を含む第２情報を出力し、細胞懸濁液回収ステップにおいて各種設定情報を含む第３情報を出力する。また、培養制御部２１は、細胞懸濁液濃縮ステップにおける各種設定情報を出力する。回転制御部２０は、培養制御部２１から出力される各情報に基づいて回転機構３４の駆動を制御する。給排制御部２２は、培養制御部２１から出力される各情報に基づいて液体給排機構３７（液体供給機構８１及び液体排出機構８２）の駆動を制御する。

[0067] 図１１に示されるように、培養装置１０における培養部１４は、培養制御部２１が培養開始の入力を受け付けることにより、予備動作を行う。詳細には、培養制御部２１からの制御情報に基づいて加温装置及びCO_2供給装置が駆動されることにより、培養部１４の
温度が３７℃に、二酸化炭素の濃度が５％に調節される（ステップＳ１１）

。続いて、回転制御部２０は、第１バッグ保持部３１が第１姿勢であるか否かを判定する（ステップＳ１２）。第１バッグ保持部３１が第１姿勢でない場合、すなわち回転機構３４におけるステッピングモータが原点位置にないと回転制御部２０が判定したときは（ステップＳ１２：Ｎｏ）、回転制御部２０が回転機構３４のステッピングモータを原点位置となるまで回転する。これにより、図１２に示されるように、第１バッグ保持部３１が、支持面６５，６６を水平方向に沿った第１姿勢で停止する（ステップＳ１３）。第１バッグ保持部３１が第１姿勢であるときは（ステップＳ１２：Ｙｅｓ）、回転制御部２０は回転機構３４を駆動しない。なお、第１姿勢における支持面６５，６６は、ほぼ水平方向に沿っていればよく、厳密に水平方向に沿っている必要はない。また、各バルブＶ１～Ｖ１８は、チューブ３８を閉状態とする。

[0068] 続いて、給排制御部２２は、培養バッグ７０に細胞懸濁液を供給する（ステップＳ１４）。培養バッグ７０への細胞懸濁液の供給は、液体供給ステップに従って行う。詳細には、図１３に示されるように、第１バッグ保持部３１が第１姿勢で停止しているときに、重量検出部２３は、培養バッグ７０及び第１バッグ保持部３１の重量を検出する。重量検出部２３から出力された重量の情報に応じて、制御部１１は、第１基準値を設定する（ステップＳ１２１）。続いて、制御部１１は、培養バッグ７０に供給すべき細胞懸濁液の重量を第１基準値に加えた値を第１目標値として算出する。培養バッグ７０に供給すべき液体の重量は、培養バッグ７０に供給すべき細胞懸濁液の容量に基づいて算出することができる。なお、細胞懸濁液や培地、剥離液などの各種液体の比重を近似的に１として容量（ｍＬ）＝重量（ｇ）として扱ってもよい。なお、ステップＳ１４において、培養バッグ７０に細胞懸濁液を供給しているが、ステップＳ１４を省略し、手動で予め培養バッグ７０に細胞懸濁液を充填してもよい。

[0069] 給排制御部２２は、第１バッグ保持部３１が第１姿勢で停止しているときに、液体供給機構８１を駆動させて、培養バッグ７０に液体を供給する。詳

細には、バルブＶ６，Ｖ９が開状態とされる（ステップＳ１２２）。続いて、供給ポンプ９１が駆動される（ステップＳ１２３）。サーババッグ４０には、予め培養すべき細胞を含む細胞懸濁液が貯留されている。したがってサーババッグ４０から細胞懸濁液が、ポート７３を通じて培養バッグ７０へ供給される。培養バッグ７０に細胞懸濁液が供給されている間に、すなわち供給ポンプ９１が駆動されている間に、制御部１１は、距離センサ６７が予め設定された閾値を超えたか否かを監視する（ステップＳ１２４）。制御部１１は、距離センサ６７の出力値が閾値を超えたと判定すると（ステップＳ１２４：Ｙｅｓ）、ブザー音を発生させたり、ライトを点灯したりして警報を発する（ステップＳ１２６）。そして、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止する（ステップＳ１２８）。

[0070] 制御部１１は、供給ポンプ９１が駆動されてから予め設定された時間が経過したか否かを監視する（ステップＳ１２５）。時間としては、供給ポンプ９１が培養バッグ７０に最大量の液体を供給するに十分な時間より長い時間が設定されている。制御部１１は、供給ポンプ９１が駆動されてから予め設定された時間が経過したと判定すると（ステップＳ１２５：Ｙｅｓ）、前述と同様にして警報を発し（ステップＳ１２６）、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止する（ステップＳ１２８）。

[0071] 制御部１１は、供給ポンプ９１が駆動されている間に、重量検出部２３の出力値が第１目標値に到達したか否かを監視する（ステップＳ１２７）。制御部１１が、重量検出部２３の出力値が第１目標値に到達したと判定すると（ステップＳ１２７：Ｙｅｓ）、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止し（ステップＳ１２８）、また、バルブＶ６，Ｖ９を閉状態とする（ステップＳ１２９）。これにより、培養バッグ７０への細胞懸濁液の供給（液体供給ステップ）が終了する（ステップＳ１４）。

[0072] 続いて、図１１に示されるように、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第１バッグ保持部３１を反時計回りに９０度回転する。これにより、図１４，１５に示されるように、第１バッグ保持部３１は、支持面６５，

６６が鉛直方向に沿い、かつポート７４が上方にあり、ポート７３が下方にある第３姿勢となる（ステップＳ１５）。第３姿勢の第１バッグ保持部３１に保持された培養バッグ７０おいて、上方にあるポート７４の縁８８には、内部空間７５に進入した気体が集まる。縁８８は、ポート７４へ向かうテーパ形状なので、縁８８に沿って移動する気体がポート７４に集まる。なお、第３姿勢における支持面６５，６６は、概ね鉛直方向にそっていればよく、必ずしも厳密に鉛直方向に沿っている必要はない。

[0073] 第１バッグ保持部３１が第３姿勢にされた後、給排制御部２２は、バルブＶ６，Ｖ９を閉状態とし、バルブＶ１３，Ｖ１５を開状態とする。続いて、給排制御部２２は、排出ポンプ９２を駆動する。これにより、培養バッグ７０のポート７４から液体又は気体が排出される。培養バッグ７０に細胞懸濁液が供給されるときに、培養バッグ７０の内部空間７５に気体が残っているときにはポート７４を通じて内部空間７５から気体が排出される（ステップＳ１６）。これにより、予備動作が終了する。

[0074] 予備動作が終了した後、培養制御部２１は、培養ステップ（ステップＳ１７）、培地交換ステップ（ステップＳ１８）、培養ステップ（ステップＳ１９）、細胞懸濁液回収ステップ（ステップＳ２０）を順次行う。各ステップの詳細は後述される。細胞懸濁液回収ステップの後、培養制御部２１に、継代を行う旨の指示が入力されていれば（ステップＳ２１：Ｙｅｓ）、継代を行うべく、別の培養バッグ８０，９０に回収された細胞懸濁液が供給される（ステップＳ２２）。継代を行う旨の指示が入力されていないときは（ステップＳ２２：Ｎｏ）、培養制御部２１は、継代を行わない。その後に細胞懸濁液濃縮ステップ（ステップＳ２３）が行われる。

[0075] ［培養ステップ］

以下、培養ステップが説明される。培養ステップが行われるときには、培養制御部２１は、第１情報を回転制御部２０及び給排制御部２２に出力する。図１２及び図１６に示されるように、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動させて、第１バッグ保持部３１を第１姿勢とする（ステップＳ２４）。

これにより、図１７（Ａ）に示されるように、培養バッグ７０において、内面７１が上方となり、内面７２が下方となる。培養バッグ７０の内部空間７５には、培養すべき細胞と培地とを含む細胞懸濁液が貯留されている。内部空間７５において、細胞は、細胞懸濁液を重力により降下して内面７２に接触する。これにより、内面７２に細胞が付着して培養される。

[0076] 図１６に示されるように、回転制御部２０は、予め設定された時間が経過するまで（ステップＳ２５：Ｎｏ）、第１バッグ保持部３１を第１姿勢に維持する。回転制御部２０は、予め設定された時間が経過した後（ステップＳ２５：Ｙｅｓ）、回転機構３４を駆動させて第１バッグ保持部３１を培養装置１０の前方から視て時計回りに１８０度回転する（ステップＳ２６）。これにより、図１７（Ｂ）及び図１８に示されるように、第１バッグ保持部３１は、支持面６５，６６が水平方向に沿っており、かつ培養バッグ７０の内面７２が上方であり、内面７１が下方となる第４姿勢となる。培養バッグ７０において、内面７２が上方となり、内面７１が下方となると、培養バッグ７０の内部空間７５に貯留された細胞懸濁液に含まれており、かつ内面７２に付着していない細胞は、細胞懸濁液内を重力により降下して内面７１に接触する。これにより、内面７１に細胞が付着して培養される。回転制御部２０は、予め設定された時間が経過するまで（ステップＳ２７：Ｎｏ）、第１バッグ保持部３１を第４姿勢に維持する。予め設定された時間が経過すると（ステップＳ２７：Ｙｅｓ）、培養ステップが終了する。

[0077] ［培地交換ステップ］

以下、培地交換ステップが説明される。培地交換ステップは、溶液交換ステップの一例である。培地交換ステップが行われるときには、培養制御部２１は、第２情報を回転制御部２０及び給排制御部２２に出力する。冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保存された新鮮培地を貯留する貯留容器１１７と接続されているチューブ３８が通されたバルブＶ１とバルブＶ７を開状態として、供給ポンプ９１を駆動して、サーババッグ３９に新鮮培地を供給する。その後、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止し、バルブＶ１を閉

状態とし、バルブＶ６を開状態とする。給排制御部２２は、サーババッグ３９，４０と接続されているチューブ３８が通されたバルブＶ６，Ｖ７を開状態として、供給ポンプ９１を逆向きに駆動して、サーババッグ４０に新鮮培地を供給する。その後、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止し、バルブＶ６，Ｖ７を閉状態とする。新鮮培地は、サーババッグ４０において３７℃に加温されるべく保持される。

[0078] 図１９に示されるように、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第１姿勢の第１バッグ保持部３１を培養装置１０の前方から視て時計回りに３０度回転する。これにより、図２０，２１に示されるように、第１バッグ保持部３１は、支持面６５，６６が水平方向に対して鋭角をなす角度が３０度となり、かつポート７３が上方にあり、ポート７４が下方にある第２姿勢となる（ステップＳ３１）。なお、第２姿勢は、支持面６５，６６が水平方向に対して鋭角をなす角度が３０度に限定されず、支持面６５，６６が水平方向及び鉛直方向に沿っていなければ任意に設定されてよい。好ましくは、第２姿勢において、支持面６５，６６が水平方向に対して鋭角をなす角度は、２０度以上７０度以下である。さらに好ましくは、３０度以上６０度以下である。

[0079] 続いて、給排制御部２２は、培養バッグ７０から培地を排出する（ステップＳ３２）。培養バッグ７０からの培地の排出は、液体供給ステップに従って行う。詳細には、図２２に示されるように、第１バッグ保持部３１が第２姿勢で停止しているときに、重量検出部２３は、培養バッグ７０及び第１バッグ保持部３１の重量を検出する。重量検出部２３から出力された重量の情報に応じて、制御部１１は、第２基準値を設定する（ステップＳ１４１）。続いて、制御部１１は、第２基準値に培養バッグ７０から排出すべき培地の重量を差し引いた値を第２目標値として算出する。

[0080] 給排制御部２２は、第１バッグ保持部３１が第２姿勢で停止しているときに、液体排出機構８２を駆動させて、培養バッグ７０から培地を排出する。詳細に説明すると、バルブＶ１３，Ｖ１５が開状態とされる（ステップＳ１

４２）。続いて、排出ポンプ９２が駆動される（ステップＳ１４３）。制御部１１は、排出ポンプ９２が駆動されてから予め設定された時間が経過したか否かを監視する（ステップＳ１４４）。時間としては、排出ポンプ９２が培養バッグ７０から半量の液体を排出するに十分な時間より長い時間が設定されている。制御部１１は、排出ポンプ９２が駆動されてから予め設定された時間が経過したと判定すると（ステップＳ１４４：Ｙｅｓ）、前述と同様にして警報を発し（ステップＳ１４５）、給排制御部２２は、排出ポンプ９２を停止する（ステップＳ１４７）。

[0081] 制御部１１は、排出ポンプ９２が駆動されている間に、重量検出部２３の出力値が第２目標値に到達したか否かを監視する（ステップＳ１４６）。制御部１１が、重量検出部２３の出力値が第２目標値に到達したと判定すると（ステップＳ１４６：Ｙｅｓ）、給排制御部２２は、排出ポンプ９２を停止し（ステップＳ１４７）、また、バルブＶ１３，Ｖ１５を閉状態とする（ステップＳ１４８）。これにより、培養バッグ７０に貯留された培地の半分が、培養バッグ７０の内部空間７５から排出（液体排出ステップ）される（ステップＳ３２）。第１バッグ保持部３１が第２姿勢に維持されることにより、ポート７４から培地が排出されやすくなり、また培地の半分が培養バッグ７０から排出されたとしても、図２１に示されるように、培養バッグ７０の内面７１，７２が接触し難い。

[0082] 図１９に示されるように、培養バッグ７０から半分の培地が排出された後、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第１バッグ保持部３１を第１姿勢とする（ステップＳ３３）。第１バッグ保持部３１が第１姿勢にされた後、バルブＶ６，Ｖ９が開状態とされ、培養バッグ７０への培地の供給が、前述された液体供給ステップと同様に行われる。これにより、サーババッグ４０に貯留されている新鮮培地が、培養バッグ７０へ供給される（ステップＳ３４）。培養バッグ７０へ供給される新鮮培地の量は、先に培養バッグ７０から排出された量と同じ、すなわち内部空間７５に貯留されていた培地の半分の量である。給排制御部２２は、培養バッグ７０に新鮮培地が供給さ

れた後、供給ポンプ９１を停止して、バルブＶ６，Ｖ９を閉状態とする。

[0083] 培養バッグ７０へ新鮮培地が供給された後、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第１姿勢の第１バッグ保持部３１を、培養装置１０の前方から視て反時計回りに９０度回転する。これにより、図１４に示されるように、第１バッグ保持部３１は、支持面６５，６６が鉛直方向に沿っており、かつポート７３が下方にあり、ポート７４が上方にある第３姿勢となる（ステップＳ３５）。第１バッグ保持部３１が第３姿勢とされた後、給排制御部２２は、バルブＶ１３，Ｖ１５を開状態として、排出ポンプ９２を駆動する。これにより、培養バッグ７０の内部空間７５に気体が混入しても、ポート７４を通じて培地とともに気体が内部空間７５から排出される（ステップＳ３６）。そして、排出ポンプ９２が停止され、バルブＶ１３，Ｖ１５が閉状態とされて、培地交換ステップ（ステップＳ１８）が終了する。

[0084] 培地交換ステップ（ステップＳ１８）が終了すると、前述と同様にして培養ステップ（ステップＳ１９）が行われる。なお、培地交換ステップ及び培養ステップは、継代後に更に繰り返されて行われてもよい。また、継代後に繰り返される培養ステップにおいて、細胞の量が増える場合には、培養バッグ７０より容量が大きい培養バッグ８０，９０が用いられるべく、細胞懸濁液が培養バッグ７０から培養バッグ８０，９０へ移動されてもよい。必要に応じて繰り返し行った培養ステップ（ステップＳ１９）の後、細胞懸濁液回収ステップ（ステップＳ２０）、細胞懸濁液濃縮ステップ（ステップＳ２３）が行われる。

[0085] ［細胞懸濁液回収ステップ］

以下、細胞懸濁液回収ステップについて説明する。細胞懸濁液回収ステップは、溶液排出ステップの一例である。細胞懸濁液回収ステップが行われるときには、培養制御部２１は、第３情報を回転制御部２０及び給排制御部２２に出力する。図２３に示されるように、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第４姿勢の第１バッグ保持部３１を、培養装置１０の前方から視て反時計回りに９０度回転する。これにより、図２４及び図２５に示され

るように、第１バッグ保持部３１は、支持面６５，６６が鉛直方向に沿っており、かつポート７３が上方にあり、ポート７４が下方にある第３姿勢となる（ステップＳ４１）。なお、本実施形態においては、第１バッグ保持部３１の支持面６５，６６が鉛直方向に沿っている姿勢であれば、ポート７３，７４のいずれが上方又は下方にあっても、第３姿勢と称している。

[0086] 図２３に示されるように、第１バッグ保持部３１が第３姿勢にされた後、培養バッグ７０からの培地の排出が行われる。給排制御部２２は、バルブＶ１３，Ｖ１５を開状態として、排出ポンプ９２を駆動する。これにより、培養バッグ７０に貯留された培地の全量が、ポート７４と通じて内部空間７５から排出される（ステップＳ４２）。培養バッグ７０から培地の全量が排出された後、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第３姿勢の第１バッグ保持部３１を第１姿勢にする（ステップＳ４３）。

[0087] 第１バッグ保持部３１が第１姿勢にされた後、培養バッグ７０への剥離液の供給が行われる。給排制御部２２は、冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保存された剥離液を貯留する容器と接続されているチューブ３８が通されたバルブＶ３～Ｖ５のいずれかと、バルブＶ９とを開状態として、供給ポンプ９１を駆動する。これにより、培養バッグ７０の内部空間７５へポート７３を通じて剥離液が供給される（ステップＳ４４）。培養バッグ７０へ剥離液が供給された後、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止して、開状態としたバルブＶ３～Ｖ５のいずれかと、Ｖ９を閉状態とする。回転制御部２０は、予め設定された時間が経過するまで（ステップＳ４５：Ｎｏ）、第１バッグ保持部３１を第１姿勢に維持する。剥離液によって、培養バッグ７０の内面７１，７２に付着していた細胞の内面７１，７２への接着が弱まる。このような内面７１，７２に対して細胞の接着を弱める作用は、剥離液の種類や濃度、内面７１，７２との接触時間、第１バッグ保持部３１などの姿勢などが適宜設定されることによって実現される。なお、培養バッグ７０へ剥離液が供給された後、必要があれば、前述と同様にして培養バッグ７０の内部空間７５から気体が排出されてもよい。

[0088] 回転制御部２０は、予め設定された時間が経過した後（ステップＳ４５：Ｙｅｓ）、回転機構３４を駆動して、第１バッグ保持部３１を培養装置１０の前方から視て反時計回りに９０度回転して第３姿勢とする（ステップＳ４６）。第１バッグ保持部３１が第３姿勢にされた後、培養バッグ７０からの剥離液の排出が、前述された液体排出ステップと同様に行われる。給排制御部２２は、バルブＶ６，Ｖ９を開状態として、供給ポンプ９１を逆向きに駆動する。これにより、培養バッグ７０において剥離液がポート７３を通じて内部空間７５から廃液容器１９へ排出される（ステップＳ４７）。培養バッグ７０から剥離液の全量が排出された後、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、第１バッグ保持部３１を培養装置１０の前方から視て時計回りに９０度回転して第１姿勢とする（ステップＳ４８）。

[0089] 第１バッグ保持部３１が第１姿勢にされた後、培養バッグ７０への培地の供給が行われる。給排制御部２２は、冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保存された培地を貯留する容器と接続されているチューブ３８が通されたバルブＶ３～Ｖ５のいずれかと、バルブＶ９とを開状態として、供給ポンプ９１を駆動する。これにより、培養バッグ７０の内部空間７５へポート７３を通じて培地が供給される（ステップＳ４９）。培養バッグ７０へ培地が供給された後、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止して、開状態としたバルブＶ３～Ｖ５のいずれかと、Ｖ９を閉状態とする。回転制御部２０は、予め設定された時間が経過するまで（ステップＳ５０）、第１バッグ保持部３１を第１姿勢に維持する。培地の供給によって、培養バッグ７０の内面７１，７２に付着していた細胞が剥離される。培地の供給による内面７１，７２からの細胞の剥離は、培地の流速や、第１バッグ保持部３１などの姿勢、放置時間などが適宜設定されることによって実現される。なお、培養バッグ７０へ培地が供給された後、必要があれば、前述と同様にして培養バッグ７０の内部空間７５から気体が排出されてもよい。

[0090] 回転制御部２０は、予め設定された時間が経過した後（ステップＳ５０）、回転機構３４を駆動して、第１バッグ保持部３１を培養装置１０の前方か

ら視て反時計回りに９０度回転して第３姿勢とする（ステップＳ５１）。第１バッグ保持部３１が第３姿勢にされた後、培養バッグ７０からの細胞懸濁液の排出が、前述された液体排出ステップと同様に行われる。給排制御部２２は、バルブＶ６，Ｖ９を開状態として、供給ポンプ９１を逆向きに駆動する。これにより、培養バッグ７０において細胞懸濁液がポート７３を通じて内部空間７５から排出され（ステップＳ５２）、サーババッグ４０に回収される。これにより、細胞懸濁液回収ステップ（ステップＳ２０）が終了する。

[0091] ［細胞懸濁液濃縮ステップ］

以下、細胞懸濁液濃縮ステップ（ステップＳ２３）が説明される。濃縮装置１２０を用いた細胞懸濁液の濃縮方法は、以下に示される各ステップを含む。

（４－１）培養バッグ７０からサーババッグ４０に細胞懸濁液を移動する移動ステップ。

（４－２）濃縮装置１２０へプライミング液を供給するプライミングステップ。

（４－３）濃縮装置１２０へ細胞懸濁液を供給するろ過ステップ。

（４－４）濃縮装置１２０から細胞懸濁液を回収する回収ステップ。

[0092] 図２６に示されるように、培養バッグ７０からサーババッグ４０に細胞懸濁液が移動される（ステップＳ１５１）。移動ステップは、前述された細胞懸濁液回収ステップにおいて実行されている。

[0093] 続いて、回転制御部２０は、濃縮装置支持部１０４が第１状態であるか否かを判定する（ステップＳ１５２）。第１状態とは、濃縮装置１２０の本体１０６の軸線方向が鉛直方向に沿っており、流入ポート１１０が第１排出ポート１１１より下方にある状態である（図７（Ｂ）参照）。濃縮装置支持部１０４が第１状態でないときは（ステップＳ１５２：Ｎｏ）、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、濃縮装置支持部１０４を第１姿勢まで回転する（ステップＳ１５３）。なお、第１状態において、濃縮装置１２０の本

体１０６の軸線方向は、かならずしも鉛直方向に沿っている必要はない。

[0094] 続いて、プライミング（ステップＳ１５４）が行われる。図７（Ｂ）に示されるように、第１状態の濃縮装置支持部１０４に支持された濃縮装置１２０へプライミング液が供給される。プライミング液は、例えばリン酸緩衝液などである。給排制御部２２は、冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保持されておりプライミング液を貯留する貯留容器１１６と接続されているバルブＶ２と、バルブＶ８，Ｖ１３，Ｖ１４とを開状態として、供給ポンプ９１を駆動する。これにより、流入ポート１１０を通じてプライミング液が濃縮装置１２０へ供給される。また、プライミング液によって押し出されるようにして、濃縮装置１２０の第１流出ポート１１１から空気や、中空糸束１０９に保存のために充填されていた物質などが排出される。給排制御部２２は、供給ポンプ９１が駆動されてから予め設定された時間が経過したか否かを監視する。時間としては、供給ポンプ９１が濃縮装置１２０の内部から気体を排出するに十分な時間より長い時間が設定されている。給排制御部２２は、供給ポンプ９１が駆動されてから予め設定された時間が経過したと判定すると、供給ポンプ９１を停止し、バルブＶ２と、バルブＶ１３，Ｖ１４とを閉状態とする。これにより、プライミングステップが終了する。

[0095] プライミングステップが終了した後、回転制御部２０は、回転機構３４を駆動して、濃縮装置支持部１０４を１８０度回転する（ステップＳ１５５）。これにより、図７（Ｃ）に示されるように、濃縮装置１２０が第２状態となる。第２状態とは、濃縮装置１２０の本体１０６の軸線方向が鉛直方向に沿っており、流入ポート１１０が第１排出ポート１１１より上方にある状態である。なお、第２状態において、濃縮装置１２０の本体１０６の軸線方向は、かならずしも鉛直方向に沿っている必要はない。

[0096] 続いて、ろ過ステップ（ステップＳ１５６）が行われる。給排制御部２２は、バルブＶ６，Ｖ１２とを開状態として、供給ポンプ９１を駆動する。これにより、サーババッグ４０から流入ポート１１０を通じて濃縮装置１２０へ細胞懸濁液が供給される。濃縮装置１２０へ供給された細胞懸濁液は、中

空糸束１０９の内部を流通し、細胞懸濁液に含まれる細胞は中空糸束１０９の内部の下方に沈殿して、第１流出ポート１１１付近に溜まる。一方、細胞懸濁液に含まれる培地などの液体は中空糸束１０９の外側へ流出し、第２流出ポート１１２を通じて濃縮装置１２０の外部へ流出される。これにより、濃縮装置１２０へ流入された細胞懸濁液は、中空糸束１０９内であって第１流出ポート１１１付近において濃縮された状態に保持される。濃縮装置１２０へ細胞懸濁液の全量が供給された後、給排制御部２２は、供給ポンプ９１を停止し、バルブＶ６，Ｖ１２を閉状態とする。これにより、ろ過ステップが終了する（ステップＳ１５６）。

[0097] 続いて、回収ステップ（ステップＳ１５７）が行われる。給排制御部２２は、冷蔵保存部１２又は常温保存部１３に保存された新鮮培地を貯留する貯留容器１１７と接続されているバルブＶ１、及びバルブＶ１４，Ｖ１８を開状態として、供給ポンプ９１を駆動する。これにより、図７（Ｄ）に示されるように、流入ポート１１０を通じて濃縮装置１２０へ新鮮培地が供給される。濃縮装置１２０において、中空糸束１０９を流通する新鮮培地は、濃縮された細胞懸濁液と共に、第１排出ポート１１１を通じて濃縮装置１２０から回収バッグ４１へ流出される。これにより、回収ステップが終了する（ステップＳ１５７）。なお、濃縮された細胞懸濁液は、回収バッグ４１へ流出させたが、培養バッグ７０，８０，９０へ流出させてもよい。

[0098] ［本実施形態の作用効果］

本実施形態によれば、第１姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０において、細胞培養が行われる。第１姿勢では、バッグ保持部３１，３２，３３の支持面６５，６６が略水平方向に沿っているので、培養バッグ７０，８０，９０の内面７１，７２の一方が略水平方向に沿った状態に保持される。これにより、培養バッグ７０，８０，９０が安定してバッグ保持部３１，３２，３３に支持され、例えば接着性細胞が培養バッグ７０，８０，９０の内面７２に付着して培養される。

[0099] 第３姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，

８０，９０において、ポート７４を通じて細胞懸濁液が流出される。第３姿勢では、バッグ保持部３１，３２，３３の支持面が略鉛直方向に沿っているので、培養バッグ７０，８０，９０の内面７１，７２が略鉛直方向に沿った状態に保持される。培養バッグ７０，８０，９０のポート７４が鉛直方向の下方に位置されることによって、重力により培養バッグ７０，８０，９０の内部空間７５から細胞懸濁液がポート７４を通じて流出される。

[0100] 第２姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０において、培地交換が行われる。培地交換において、例えば、培養バッグ７０，８０，９０に貯留された培地の一部が流出される。第２姿勢では、培養バッグ７０，８０，９０の内面７１，７２が水平方向及び鉛直方向のいずれにも沿っていないので、培養バッグ７０，８０，９０のポート７４が鉛直方向の下方に位置されることによって、重力により培養バッグ７０，８０，９０の内部空間７５からポート７４を通じて培地が流出されるが、第３姿勢よりも重力による培養バッグ７０，８０，９０の変形が小さい。すなわち、培養バッグ７０，８０，９０において、内面７１，７２同士が接触するおそれが低減される。これにより、例えば、培養バッグ７０，８０，９０の内面７１，７２から細胞が剥がれ落ちるおそれが低減される。

[0101] また、第２姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３において、鉛直方向の下方に位置する培養バッグ７０，８０，９０のポート７４を通じて培養バッグ７０，８０，９０に貯留された培地が流出される。その後、第１姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３において、培養バッグ７０，８０，９０のポート７３を通じて内部空間７５に培地が流入される。そして、第２姿勢又は第３姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３において、鉛直方向の上方に位置する培養バッグ７０，８０，９０のポート７４を通じて、液体給排機構３７が所定量の吸引を行う。この吸引によって、培地交換において、培養バッグ７０，８０，９０の内部空間７５に気体が進入したとしても、第２姿勢又は第３姿勢において、鉛直方向の上方に位置する培養バッグ７０，８０，９０のポート７４付近に気体が集まり、その気体がポート７４を通じて培養バッグ７

０，８０，９０から吸い出される。

[0102] また、培養バッグ７０，８０，９０に形成されたポート７３，７４は、バッグ保持部３１，３２，３３に保持された状態において、回転軸４８，４９と直交する方向に沿って延びているため、効率的に培養バッグ７０，８０，９０に対して気体又は液体が流出入される。

[0103] また、培養バッグ７０，８０，９０の内部空間７５を区画する縁であって、ポート７３，７４が配置されている縁８７，８８は、バッグ保持部３１，３２，３３に保持された状態において、ポート７３，７４から離れるに従って回転軸４８，４９へ近づく形状である。このため、培養バッグ７０，８０，９０のポート７４が鉛直方向の上方に位置されると、培養バッグ７０，８０，９０の内部空間７５においてポート７４へ向かって気体が集まりやすくなる。

[0104] また、回転制御部２０は、第１情報に応じて、バッグ保持部３１，３２，３３を第１姿勢とした後、第１姿勢から支持面６５，６６が１８０度回転された第４姿勢とする。これにより、第１姿勢においては、鉛直方向の上方を向く培養バッグ７０，８０，９０の内面７２に、例えば接着性細胞が付着して培養される。第４姿勢においては、第１姿勢において鉛直方向の上方を向いていた培養バッグ７０，８０，９０の内面７２が、鉛直方向の下方を向く。他方、第１姿勢において鉛直方向の下方を向いていた培養バッグ７０，８０，９０の内面７１が、鉛直方向の上方を向く。これにより、第１姿勢において接着性細胞が付着し難い内面７１に、接着性細胞が付着して培養される。

[0105] また、回転制御部２０は、第３情報に応じて、バッグ保持部３１，３２，３３を第３姿勢とした後、給排制御部２２は、液体給排機構３７に第３姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０のポート７４を通じて培地を流出させる。培養バッグ７０，８０，９０から培地を流出させた後、回転制御部２０は、バッグ保持部３１，３２，３３を第１姿勢とし、給排制御部２２は、液体給排機構３７に第１姿勢のバッグ保

持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０のポート７３を通じて剥離液を流入させる。続いて、回転制御部２０は、バッグ保持部３１，３２，３３を第３姿勢とし、給排制御部２２は、液体給排機構３７に、第３姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０のポート７４を通じて剥離液を流出させる。剥離液を完全に培養バッグ７０，８０，９０から流出させた後に、回転制御部２０は、バッグ保持部３１，３２，３３を第１姿勢とし、給排制御部２２は、液体給排機構３７に第１姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０のポート７３を通じて培地を流入させる。続いて、回転制御部２０は、バッグ保持部３１，３２，３３を第３姿勢とし、給排制御部２２は、液体給排機構３７に、第３姿勢のバッグ保持部３１，３２，３３に保持された培養バッグ７０，８０，９０のポート７４を通じて、細胞懸濁液が培養バッグ７０，８０，９０から流出される。これにより遠心分離を行うことなく培地を溶媒とする細胞懸濁液が回収される。

[0106] また、回転制御部２０に第１情報、第２情報、及び第３情報を出力する培養制御部２１を更に具備することにより、培養制御部２１は、第１情報を出力する培養ステップと、第２情報を出力する培地交換ステップと、第３情報を出力する細胞懸濁液回収ステップと、を実行する。これにより、培養ステップ、培地交換ステップ、及び細胞懸濁液回収ステップが自動的に制御されて行われる。

[0107] ［変形例］

なお、本実施形態では、培養制御部２１に、培養ステップ、培地交換ステップ、培養ステップ、細胞懸濁液回収ステップが順次行われるように設定されている例が説明されたが、各ステップは任意に設定される。また、各ステップは、それぞれが個別独立して行われるように設定されていてもよい。すなわち、各ステップ毎に培養装置１０の動作が停止され、次に行うべき培養装置１０の動作をユーザが任意に入力するように設定されていてもよい。

[0108] また、細胞培養において、培養バッグ７０，８０，９０のいずれか一つ又

は複数が任意に使用されることができる。また、サーババッグ３９，４０や回収バッグ４１などは任意の構成であり、必要に応じて用いられればよい。

[0109] また、培養バッグ７０から気体を排出するときに、第１バッグ保持部３１が第３姿勢にされているが、第３姿勢に替えて第２姿勢が採用されてもよい。

[0110] なお、本実施形態では、接着性細胞が培養される例が示されているが、接着性細胞以外の細胞の培養が培養装置１０によって行われてもよい。

[0111] また、培養バッグ７０には、２つのポート７３，７４が形成されているが、ポートは１つのみ形成されていてもよい。また、第１バッグ保持部３１の支持面６５，６６が鉛直方向に沿っている姿勢であれば、ポート７３，７４のいずれかが上方又は下方にあっても、第３姿勢と称しているが、ポートが１つのみ形成されている場合において、細胞懸濁液回収ステップにおいて、培養バッグ７０から細胞懸濁液を排出するときは、ポートが下方にある姿勢のみが第３姿勢とされる。

[0112] また、本実施形態では、培養容器として培養バッグ７０が用いられたが、培養容器はバッグ形状のものに限定されず、可撓性を有するボトルやカセットなどの形状のものが採用されてもよい。

符号の説明

[0113] １０・・・培養装置

１４・・・培養部

２０・・・回転制御部

２１・・・培養制御部

２２・・・給排制御部

３１，３２，３３・・・バッグ保持部

３４・・・回転機構

３７・・・液体給排機構

４２，４３・・・保持板

４８，４９・・・回転軸

６５，６６・・・支持面

７０，８０，９０・・・培養バッグ

７１，７２・・・内面

７３・・・ポート

７４・・・ポート

７７，７８・・・端部

８７，８８・・・縁

請求の範囲

[請求項1] 液体が流通するポートを有しており、内部空間において細胞培養が可能な培養容器と、

上記培養容器を保持する保持板、及び回転軸を有する容器保持部と、

上記回転軸を支持して回転させる回転機構と、

上記培養容器へ液体を供給及び排出する液体給排機構と、

上記回転機構の回転を制御する回転制御部と、を備え、

上記回転制御部は、

上記培養容器において細胞培養が行われることを示す第１情報に応じて、上記容器保持部を上記保持板における上記培養容器を支持する支持面が略水平方向に沿った第１姿勢とし、

上記培養容器において溶液交換が行われることを示す第２情報に応じて、少なくとも上記ポートから上記培養容器内の溶液が流出されるとき、上記容器保持部を上記支持面が水平方向及び鉛直方向のいずれにも沿っていない第２姿勢とする培養装置。

[請求項2] 上記回転制御部は、上記培養容器から溶液が排出されることを示す第３情報に応じて、少なくとも上記ポートから上記培養容器内の溶液が流出されるとき、上記容器保持部を上記支持面が略鉛直方向に沿った第３姿勢とする請求項１に記載の培養装置。

[請求項3] 上記液体給排機構を制御する給排制御部を更に備え、

上記培養容器は、上記容器保持部に保持された状態において、上記回転軸と直交する方向の両端側にそれぞれ上記ポートを有するものであり、

上記回転制御部は、上記第２情報又は上記第３情報に応じて、上記容器保持部を上記第２姿勢又は上記第３姿勢とし、

上記給排制御部は、上記第２情報又は上記第３情報に応じて、上記液体給排機構に、上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に

保持された上記培養容器において下方に位置するポートから上記培養容器内の溶液を流出させる請求項２に記載の培養装置。

[請求項4] 上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器においていずれか一方のポートから上記培養容器内へ溶液を流入させ、上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器において上方に位置するポートから所定量の吸引を行う請求項２又は３に記載の培養装置。

[請求項5] 上記給排制御部は、上記液体給排機構に、上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器のポートから培地を流出させるステップと、

上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器に剥離液を流入させるステップと、

上記第２姿勢又は上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器から剥離液を流出させるステップと、

上記第１姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器に培地を流入させるステップと、

上記第３姿勢の上記容器保持部に保持された上記培養容器から細胞懸濁液を流出させるステップと、を実行させる請求項２から４のいずれかに記載の培養装置。

[請求項6] 上記第２姿勢は、上記支持面が水平方向に対して鋭角をなす角度が２０度以上７０度以下である請求項１から５のいずれかに記載の培養装置。

[請求項7] 上記培養容器の内面は、接着性細胞を培養するに適した細胞接着性を有する請求項１から６のいずれかに記載の培養装置。

[請求項8] 上記回転制御部は、上記第１情報に応じて、上記容器保持部を上記第１姿勢とした後、

上記第１姿勢から上記支持面が１８０度回転された第４姿勢とする請求項１から７のいずれかに記載の培養装置。

[請求項9] 上記回転制御部に上記第１情報、上記第２情報、及び上記第３情報を出力する培養制御部を更に具備しており、

上記培養制御部は、

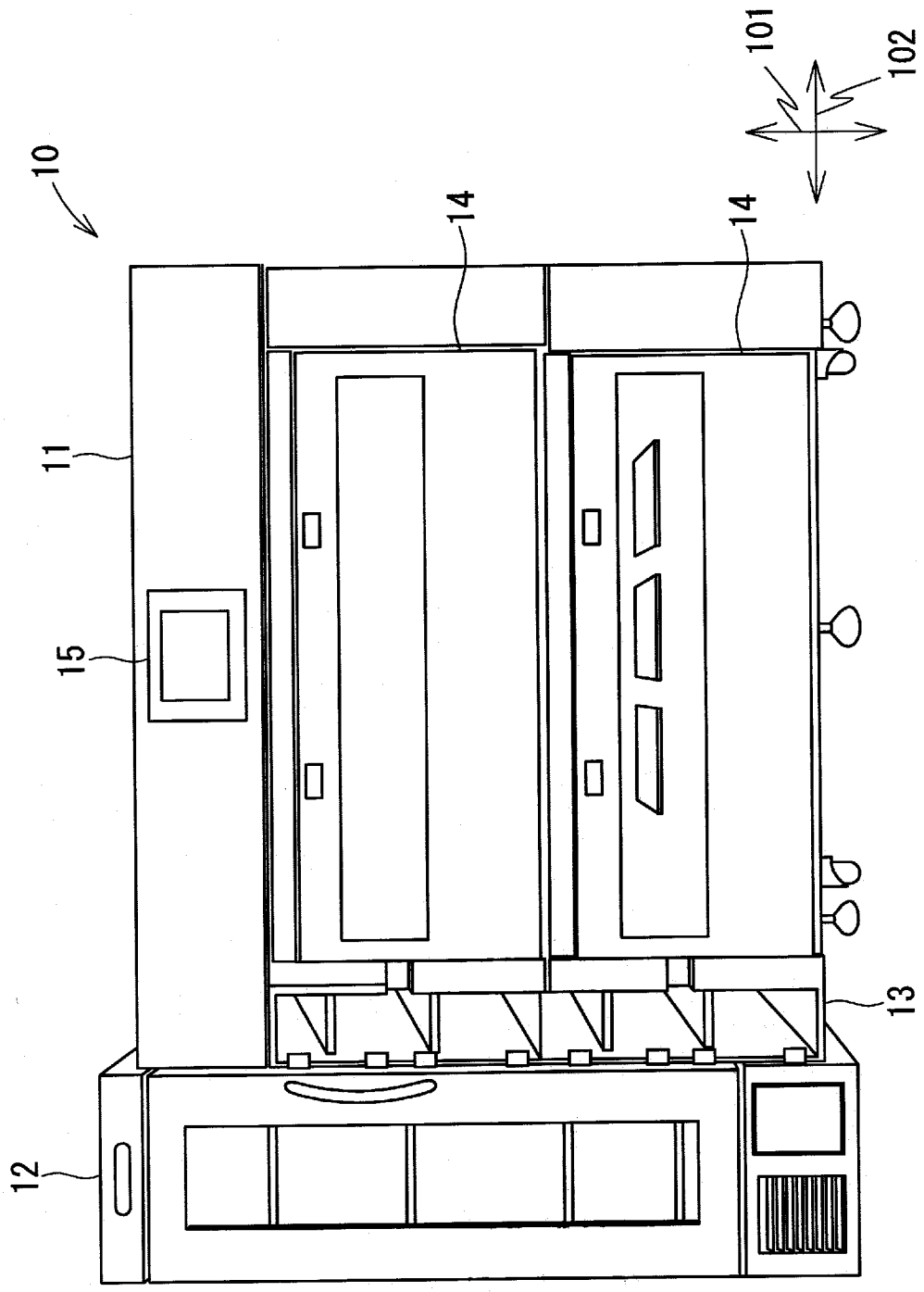
上記第１情報を出力する培養ステップと、

上記第２情報を出力する溶液交換ステップと、

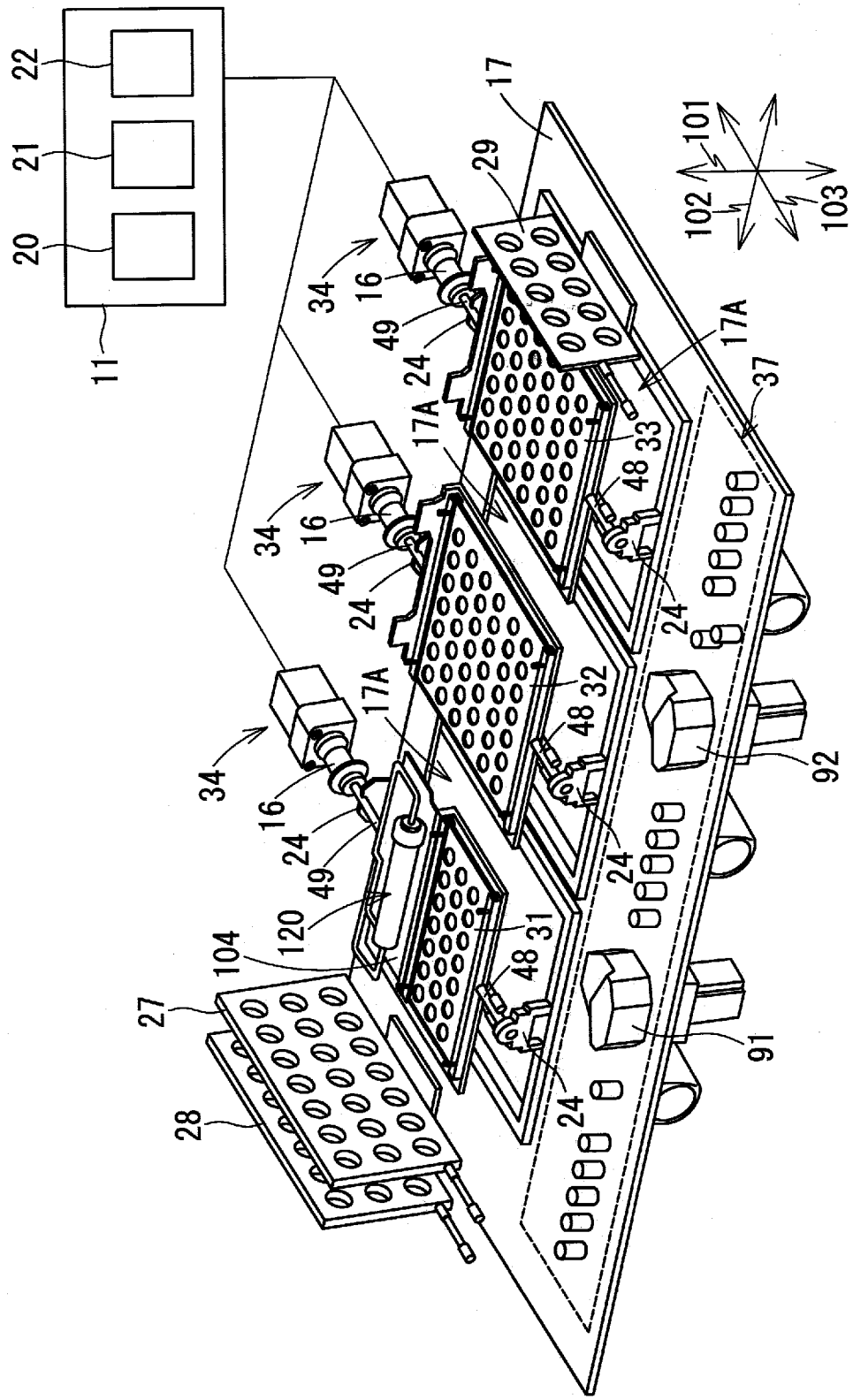
上記第３情報を出力する溶液排出ステップと、を実行する請求項１から８のいずれかに記載の培養装置。

[請求項10] 上記培養制御部は、上記溶液交換ステップにおいて、上記液体給排機構を駆動して、上記培養容器内の溶液の一部又は全てを交換する請求項９に記載の培養装置。

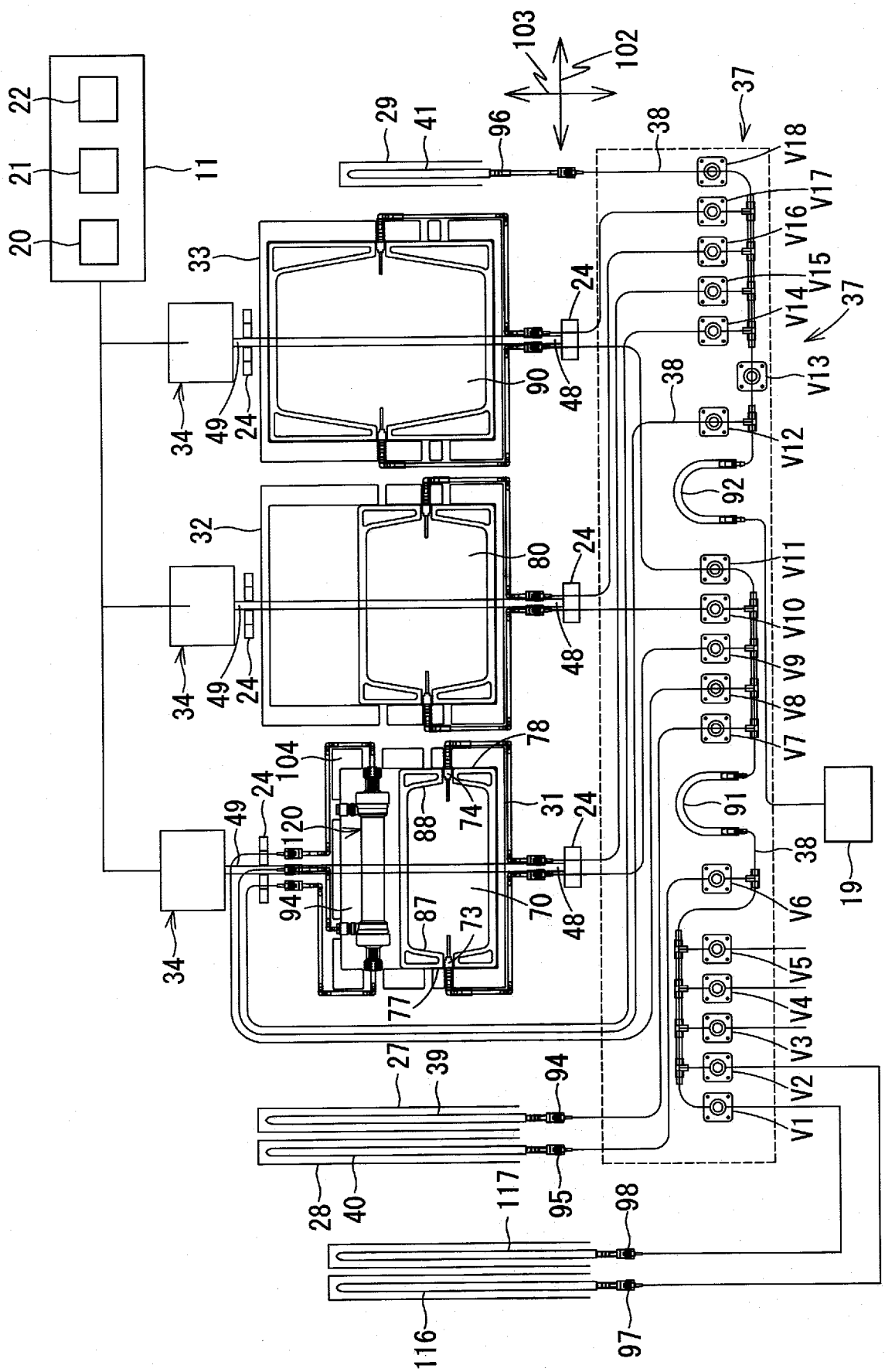
[図1]



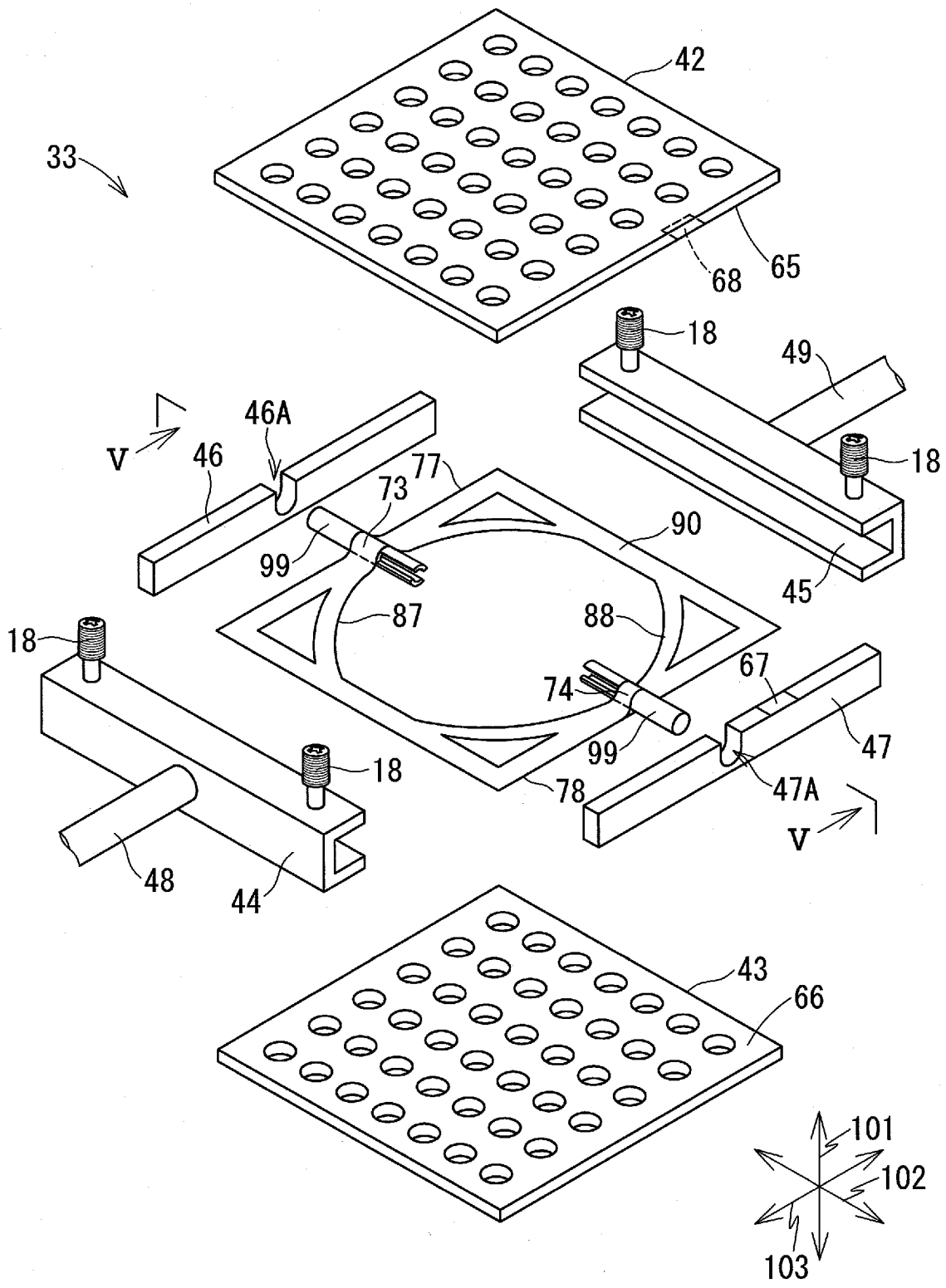
[図2]


22
21
20
11
17
29
101
102
103
34
16
49
24
17A
37
33
48
32
31
92
91
104
120
27
28

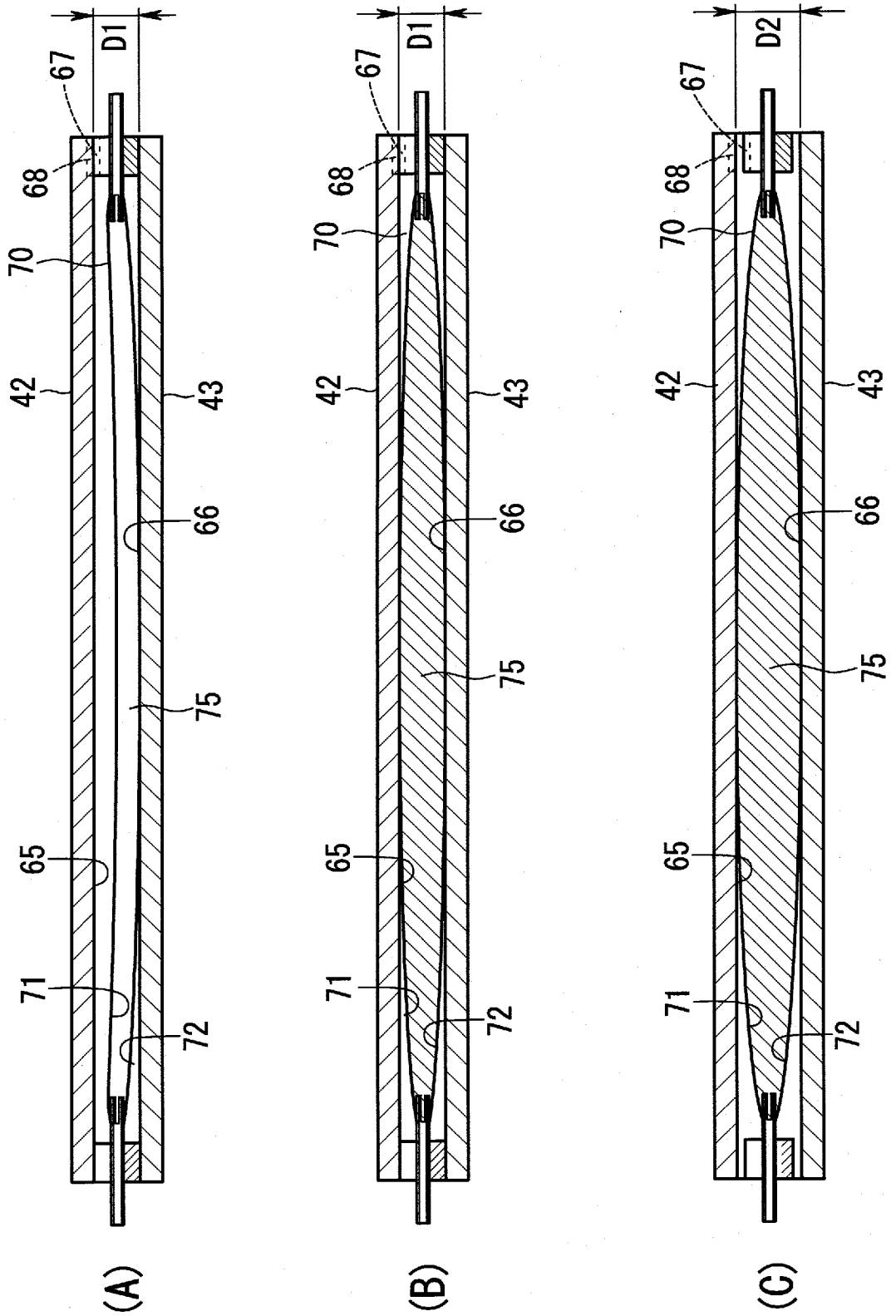
[図3]


22
21
20
11
103
102
29
41
96
38
37
V18
V17
V16
V15
V14
V13
V12
V11
V10
V9
V8
V7
V6
V5
V4
V3
V2
V1
33
24
90
48
34
49
32
80
92
91
31
78
104
74
88
120
94
87
73
70
77
27
39
28
40
117
95
98
116
97
19

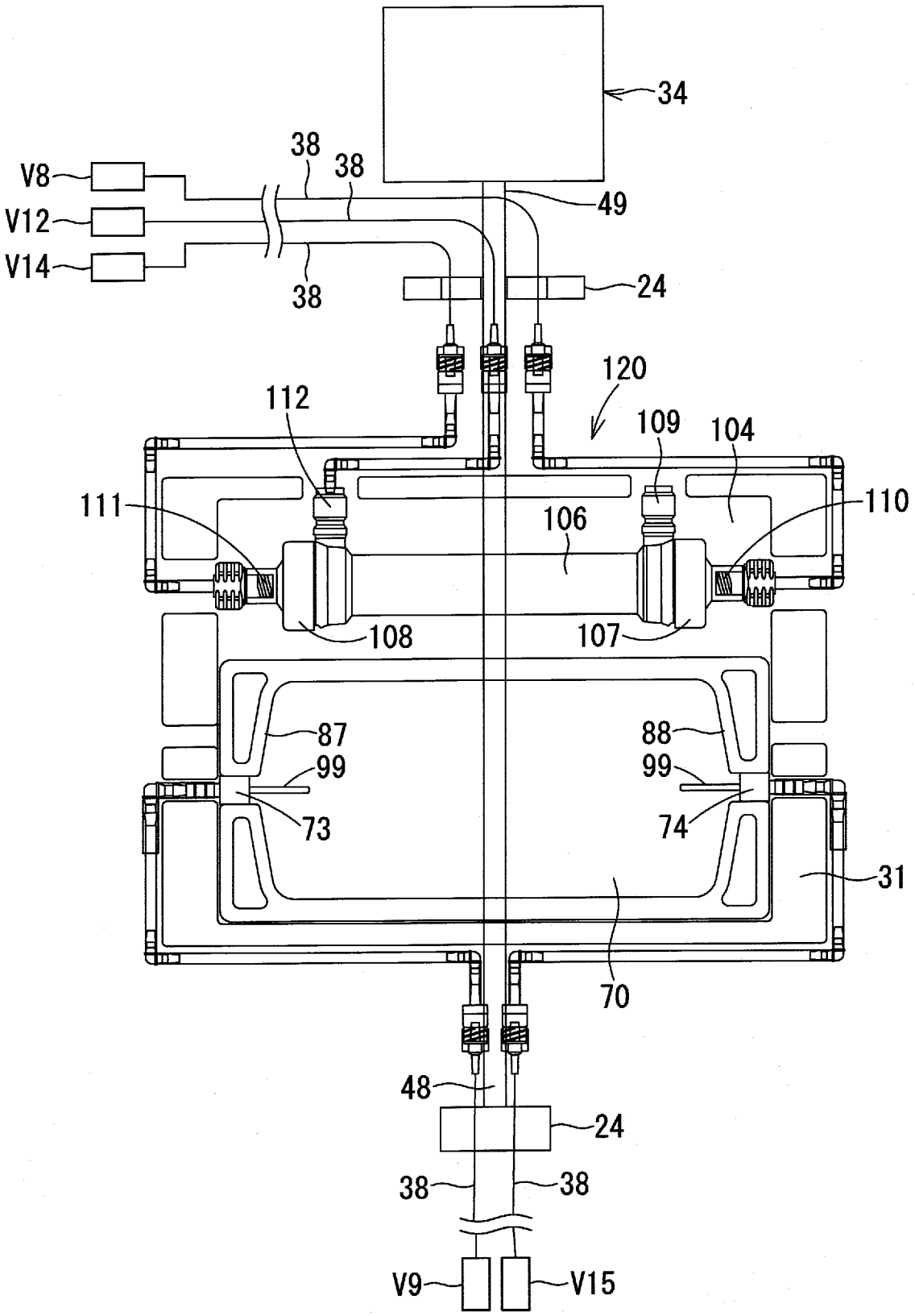
[図4]


33
42
65
68
18
49
18
45
V
46A
46
77
73
99
90
87
88
74
67
47
99
47A
78
V
18
18
48
44
43
66
101
102
103

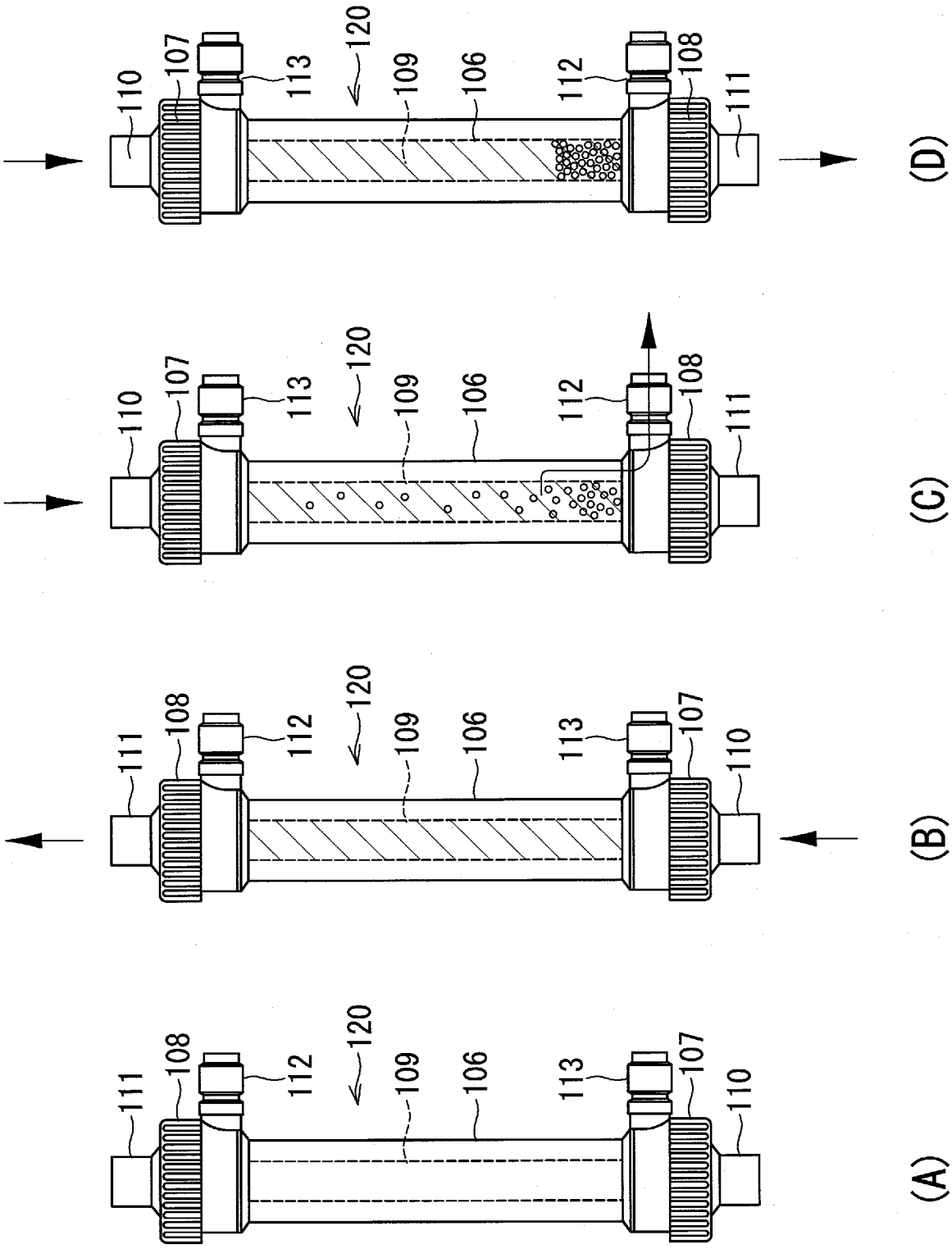
[図5]


D1
67
68
70
42
43
66
75
65
71
72
(A)
D1
67
68
70
42
43
66
75
65
71
72
(B)
D2
67
68
70
42
43
66
75
65
71
72
(C)

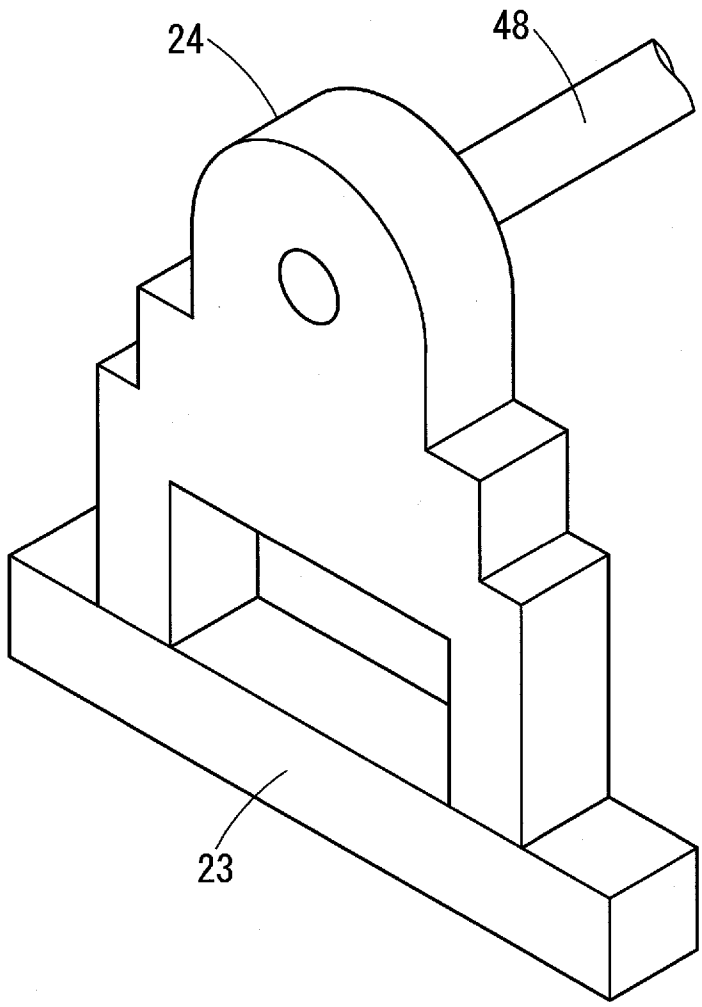
[図6]


34
38
38
V8
V12
V14
49
38
24
120
112
109
104
111
110
106
108
107
87
88
99
99
73
74
31
70
48
24
38
38
V9
V15

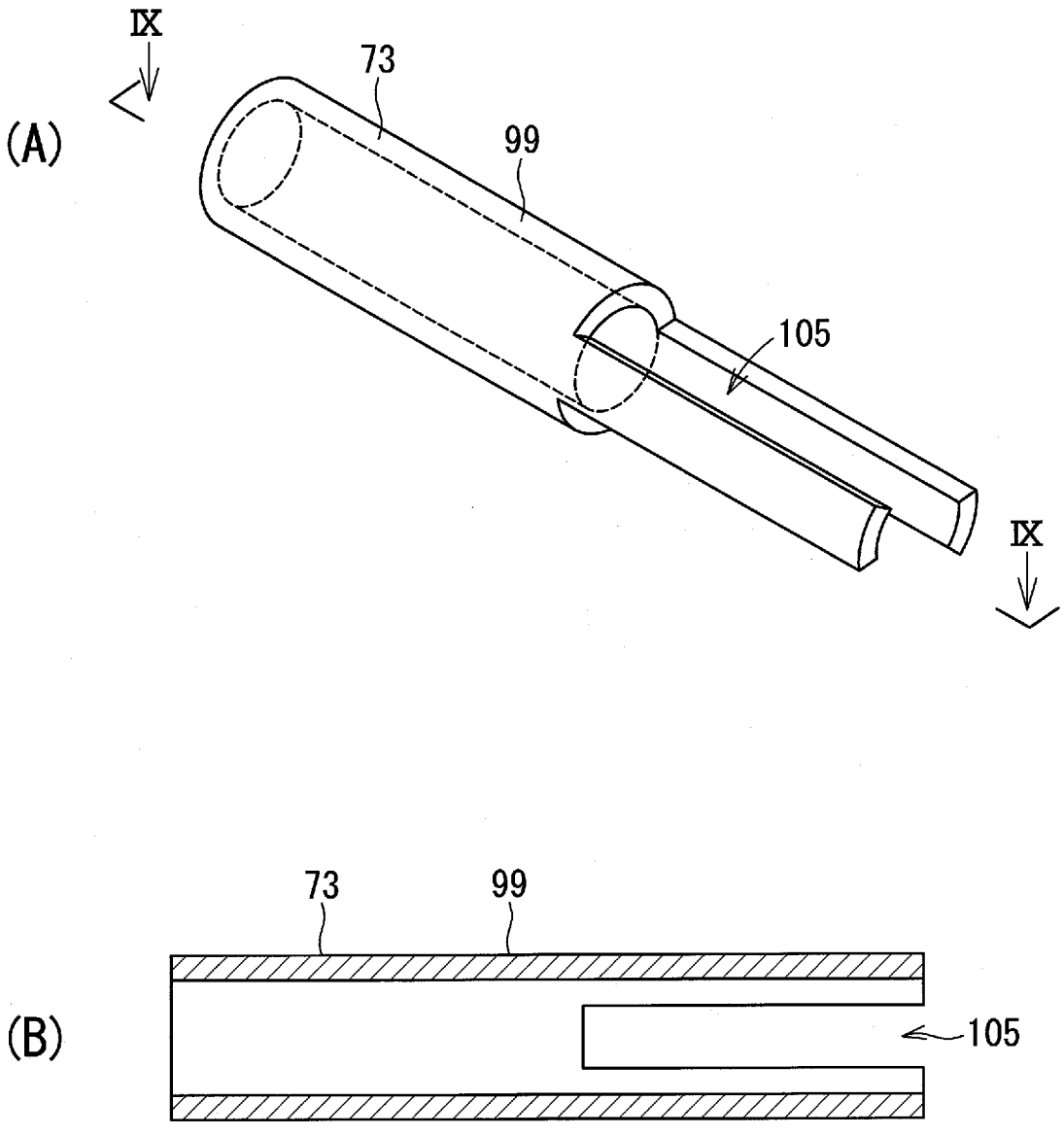
[図7]



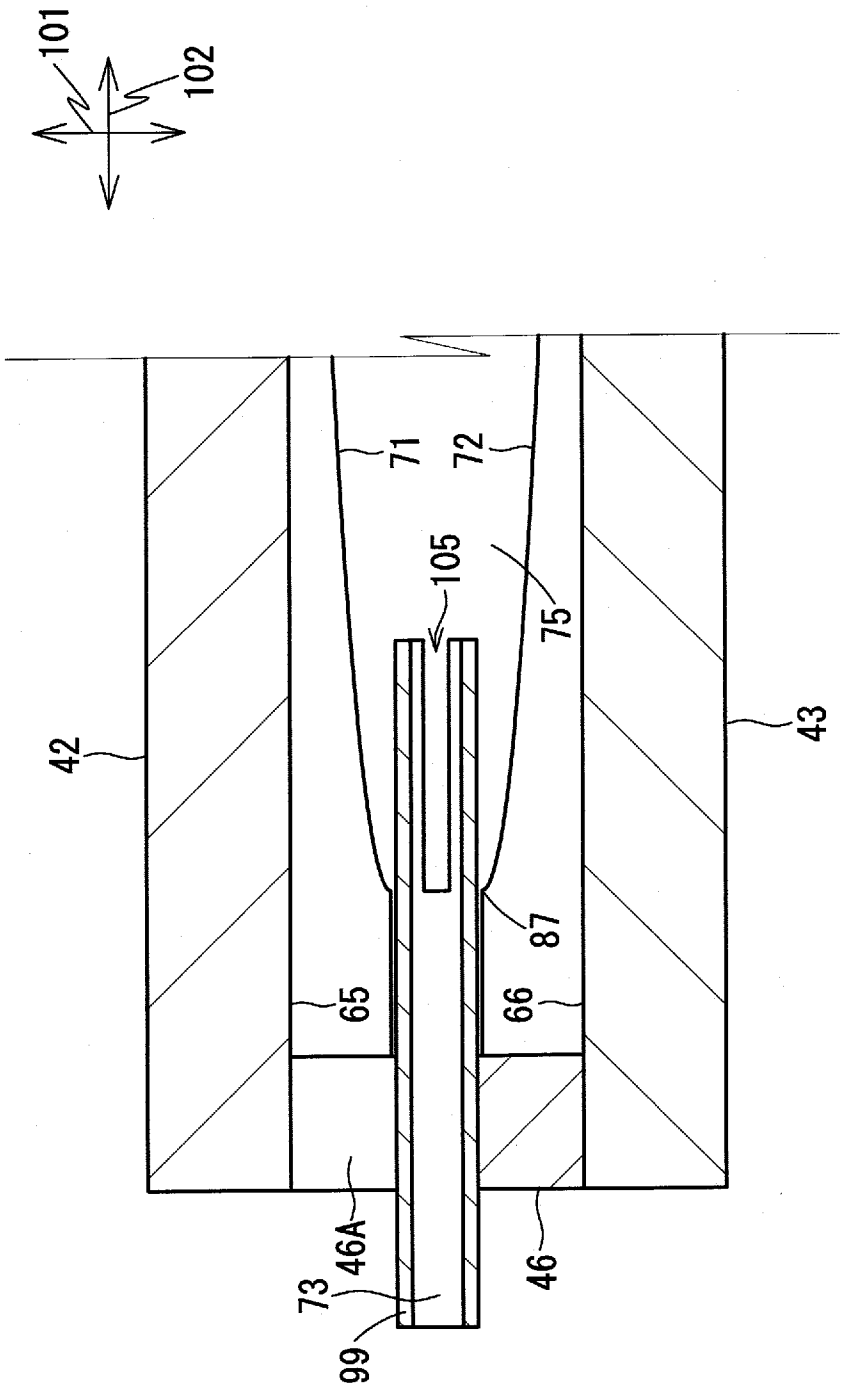
[図8]



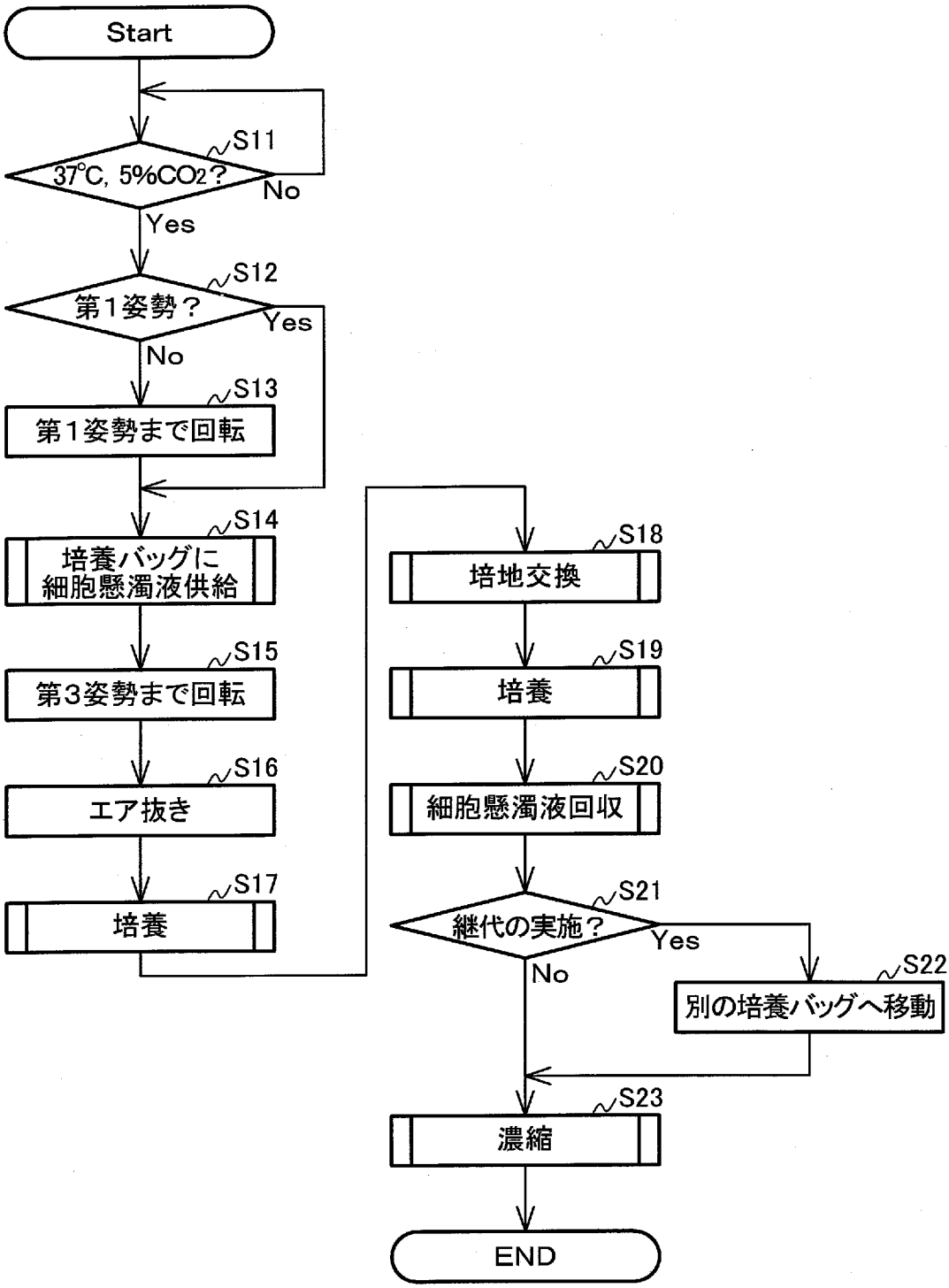
[図9]



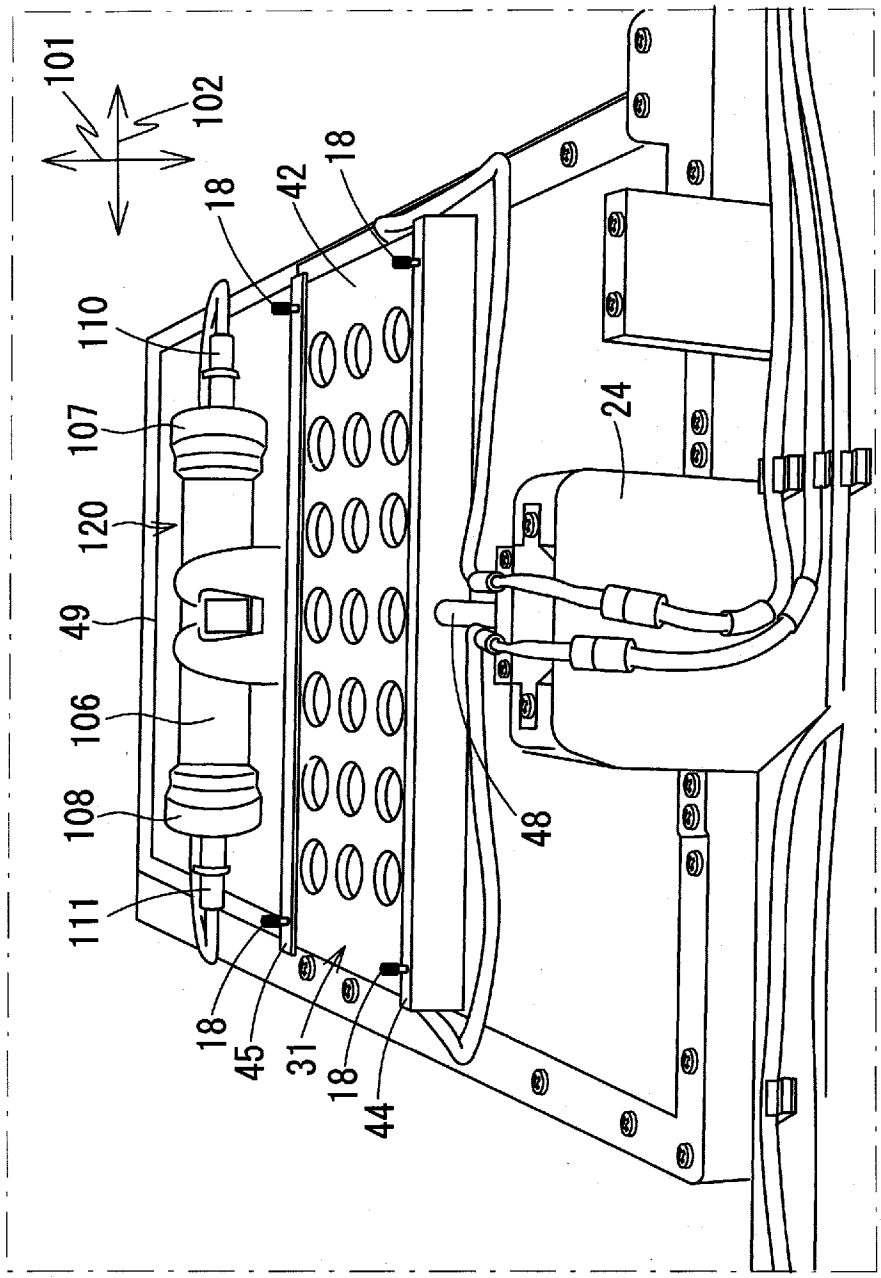
[図10]



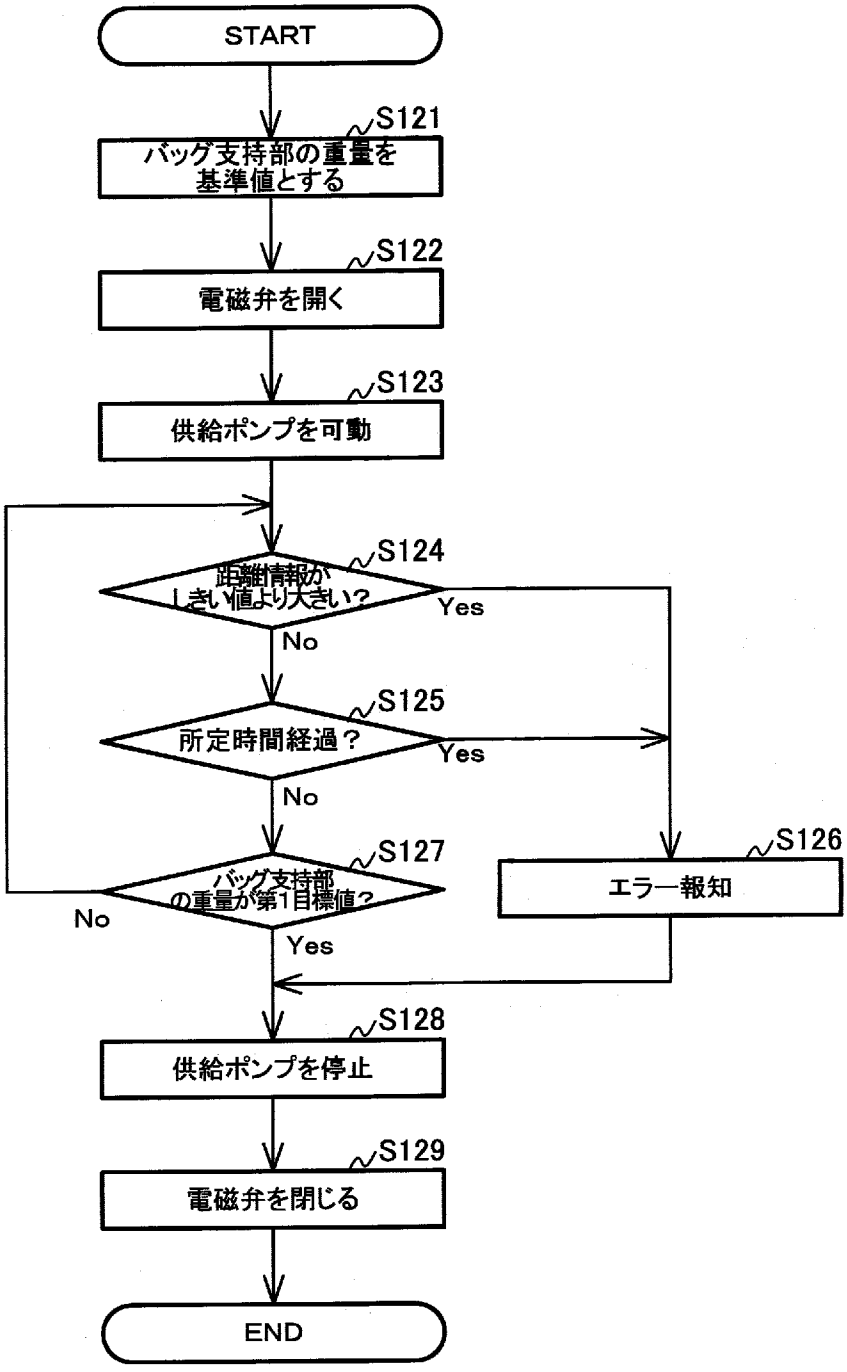
[図11]


Start
S11
37℃, 5%CO2?
No
Yes
S12
第1姿勢？
Yes
No
S13
第1姿勢まで回転
S14
培養バッグに
細胞懸濁液供給
S15
第3姿勢まで回転
S16
エア抜き
S17
培養
S18
培地交換
S19
培養
S20
細胞懸濁液回収
S21
継代の実施？
Yes
No
S22
別の培養バッグへ移動
S23
濃縮
END

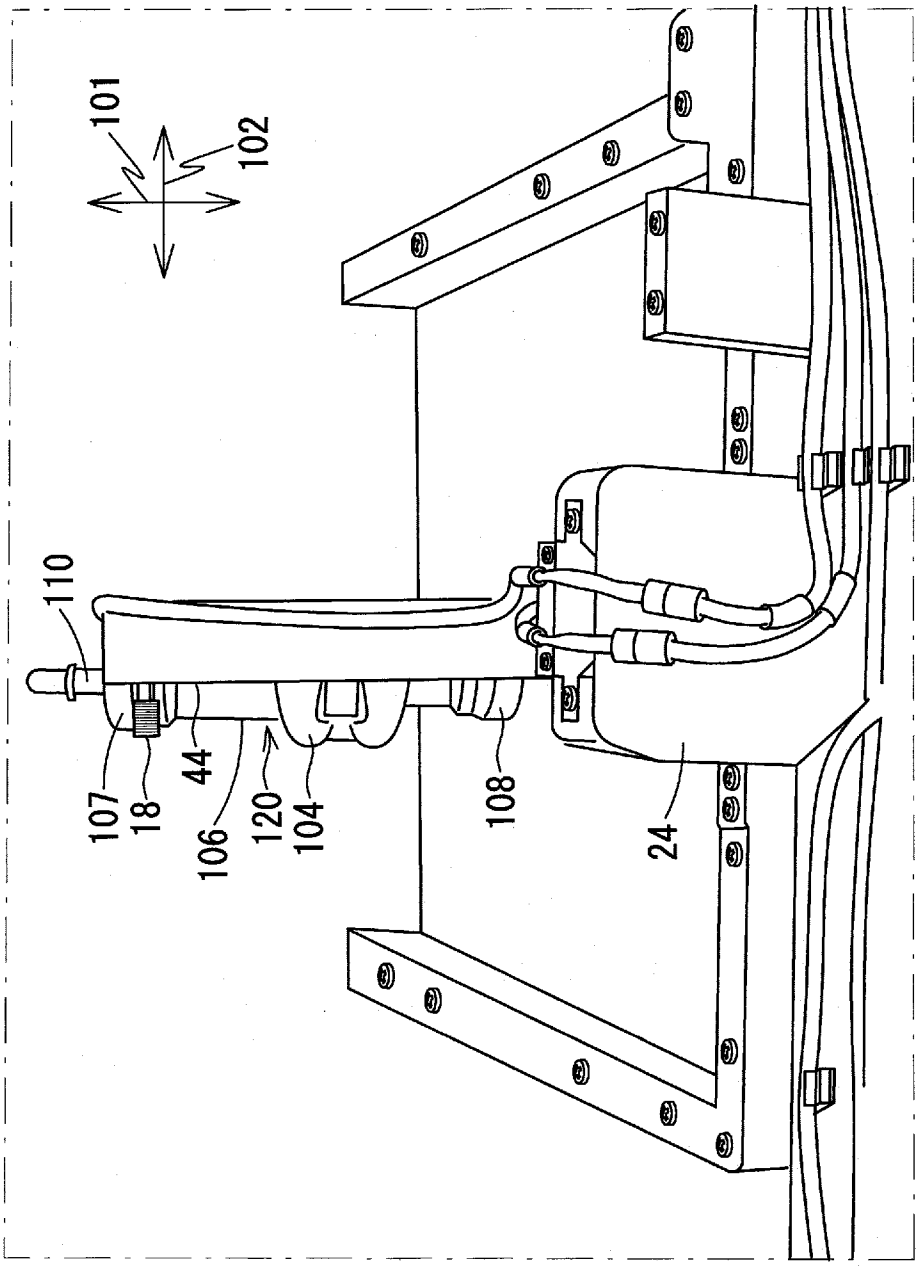
[図12]



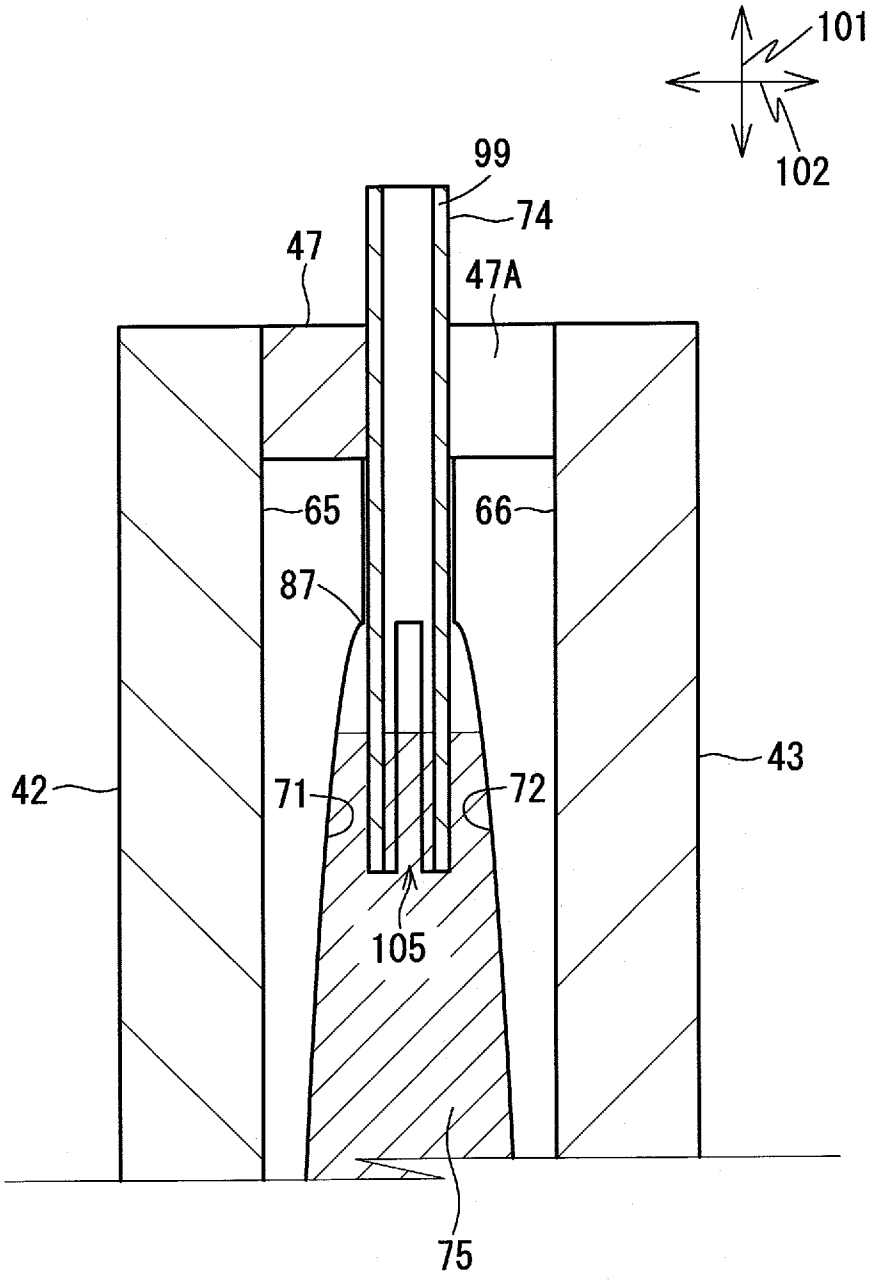
[図13]


START
S121
バッグ支持部の重量を基準値とする
S122
電磁弁を開く
S123
供給ポンプを可動
S124
距離情報がしきい値より大きい?
Yes
No
S125
所定時間経過?
Yes
No
S126
エラー報知
S127
バッグ支持部の重量が第1目標値?
No
Yes
S128
供給ポンプを停止
S129
電磁弁を閉じる
END

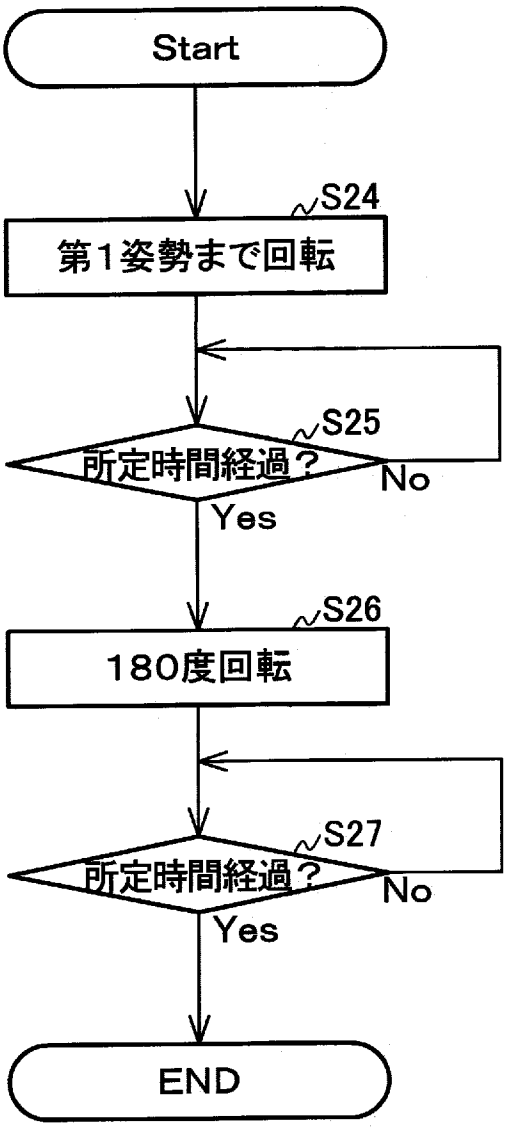
[図14]



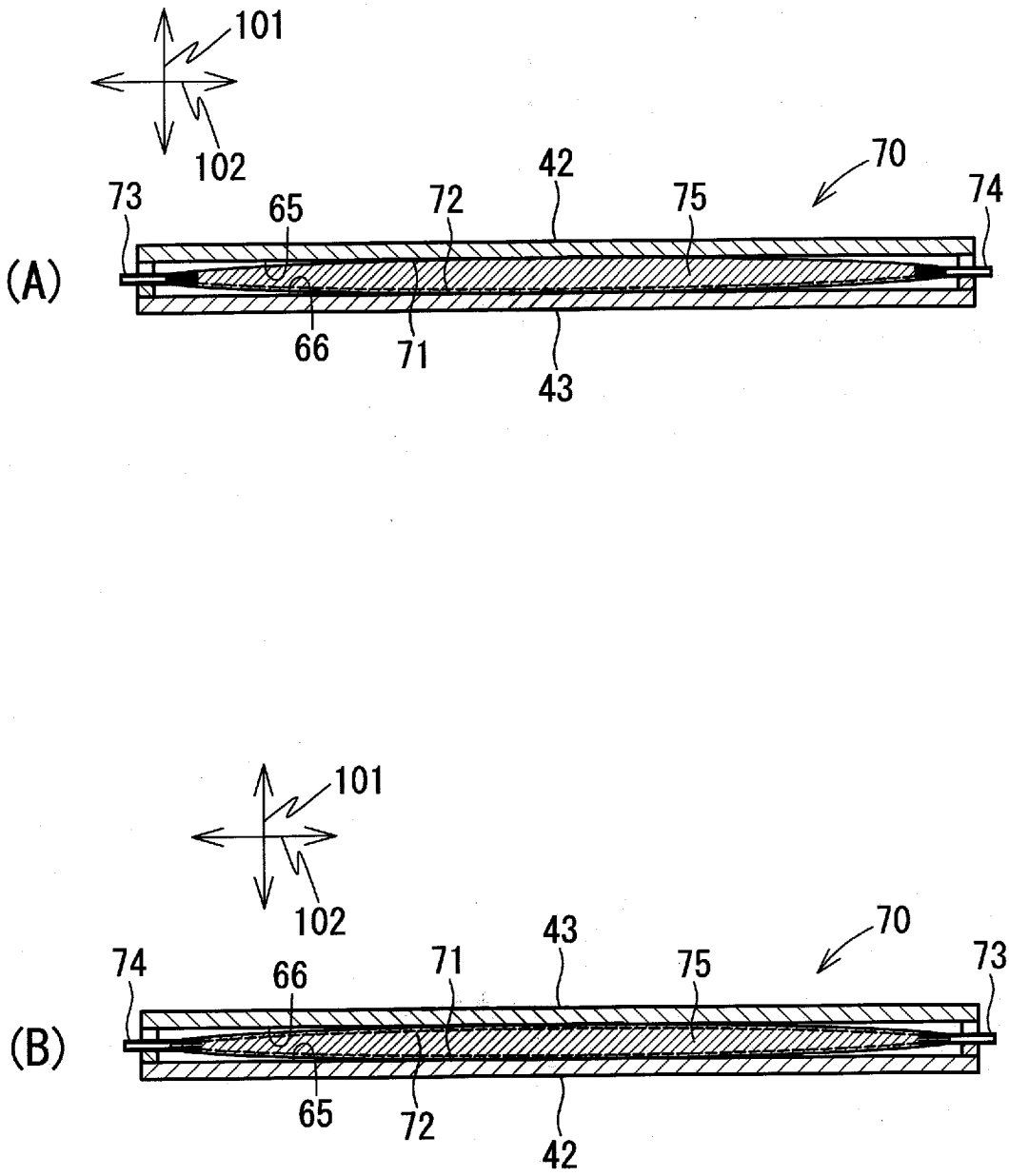
[図15]



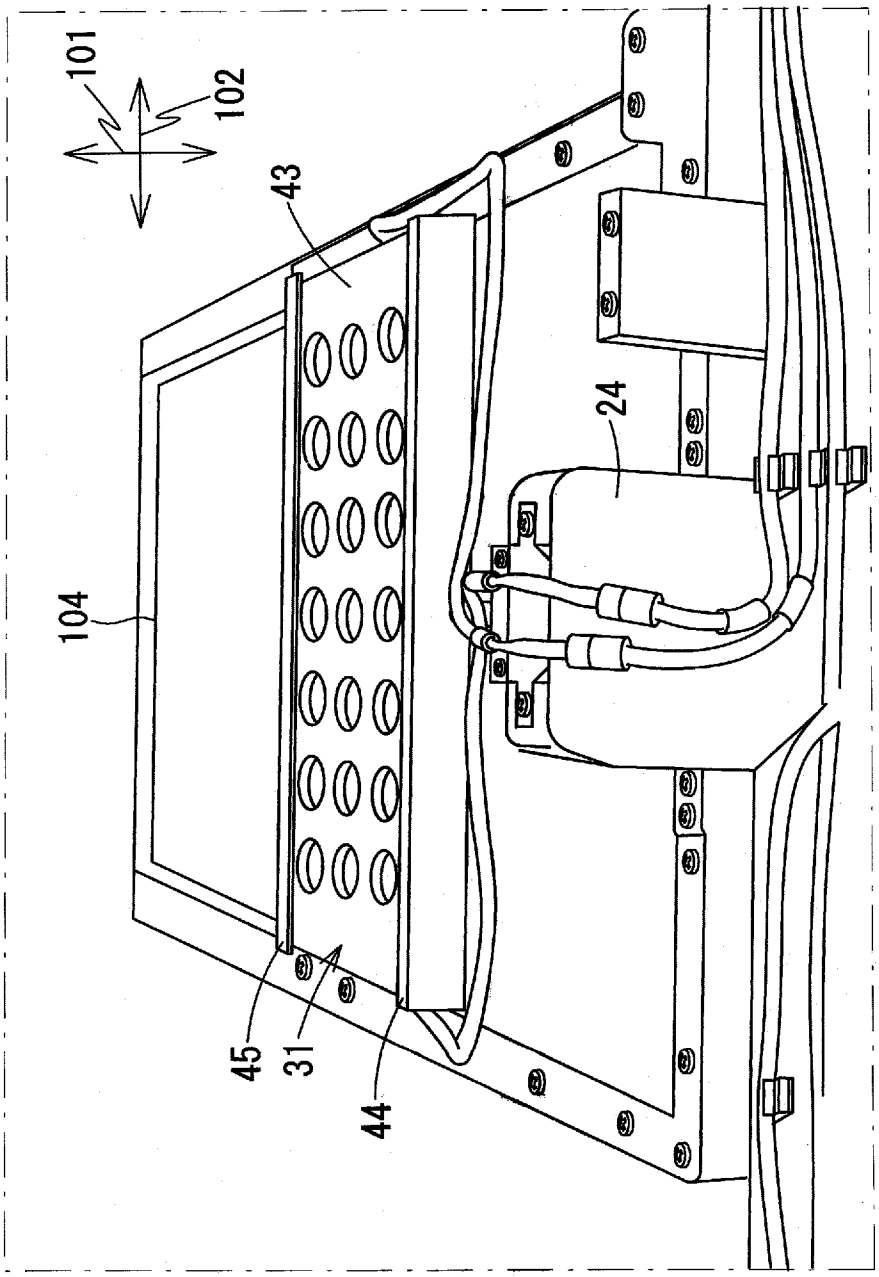
[図16]


Start
S24
第1姿勢まで回転
S25
所定時間経過？
No
Yes
S26
180度回転
S27
所定時間経過？
No
Yes
END

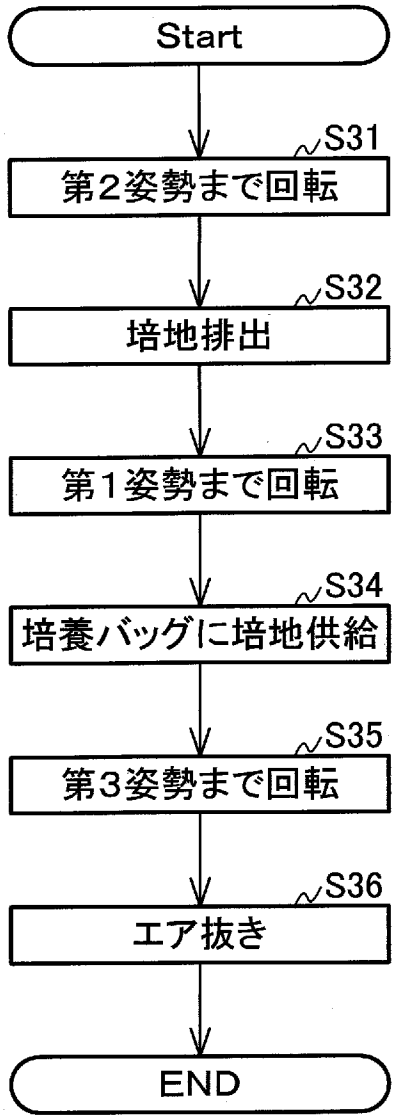
[図17]


(A)
101
102
73
65
72
42
75
70
74
66
71
43
(B)
101
102
74
66
71
43
75
70
73
65
72
42

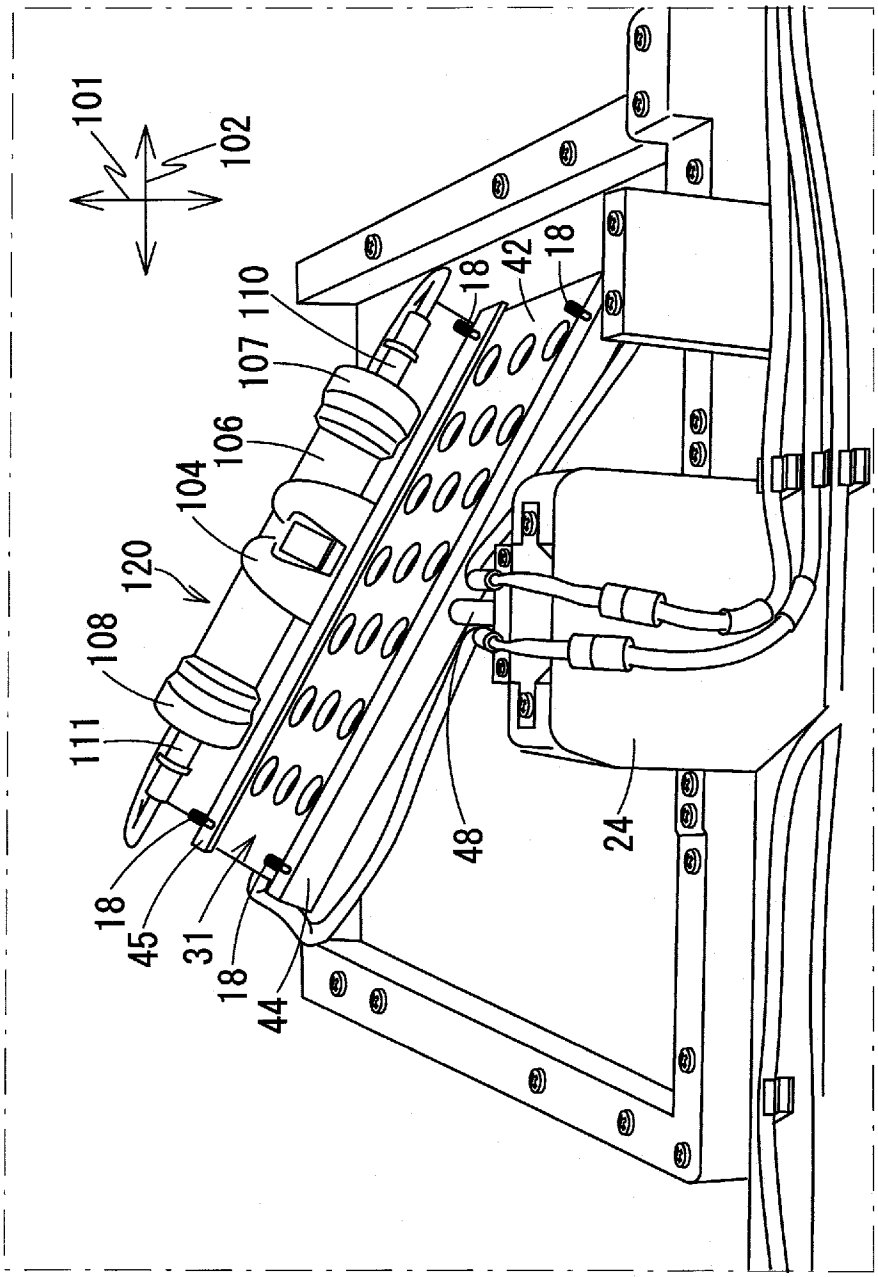
[図18]



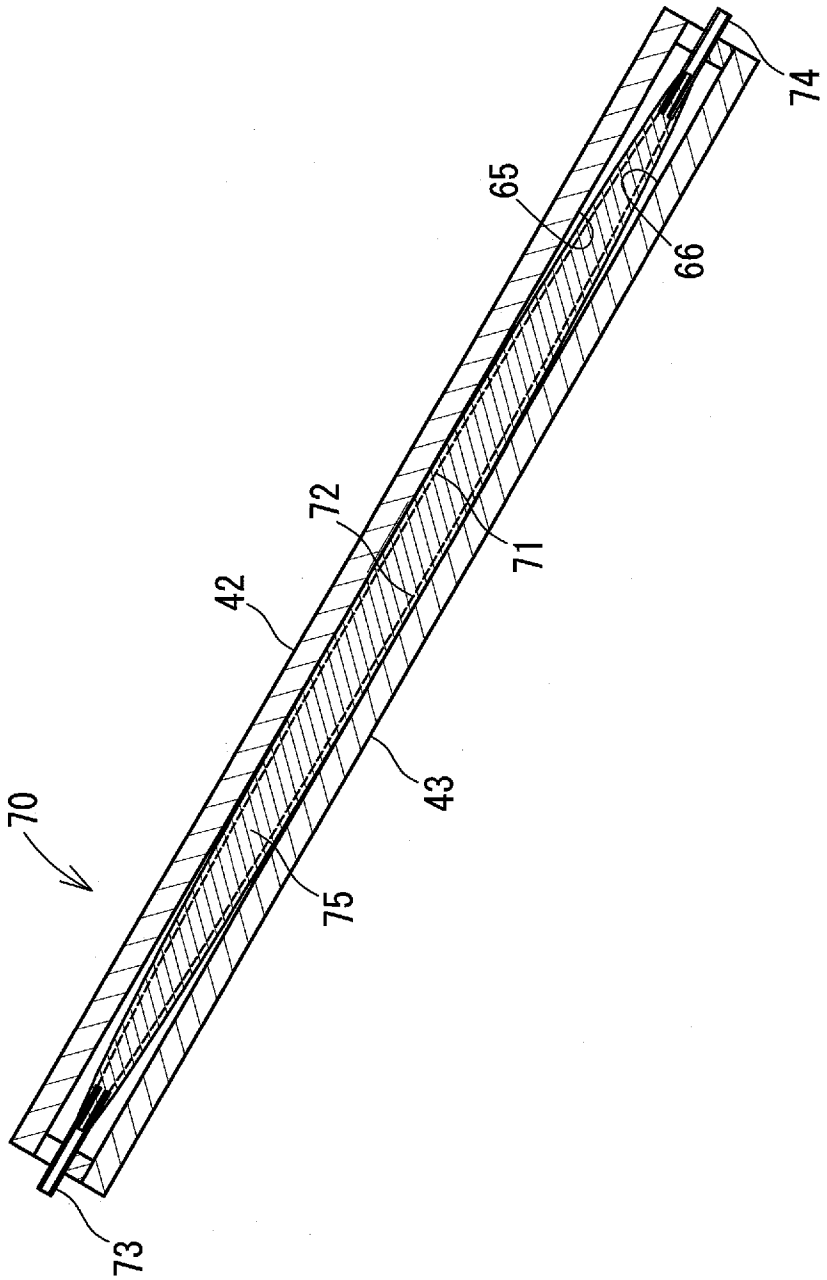
[図19]


Start
S31
第2姿勢まで回転
S32
培地排出
S33
第1姿勢まで回転
S34
培養バッグに培地供給
S35
第3姿勢まで回転
S36
エア抜き
END

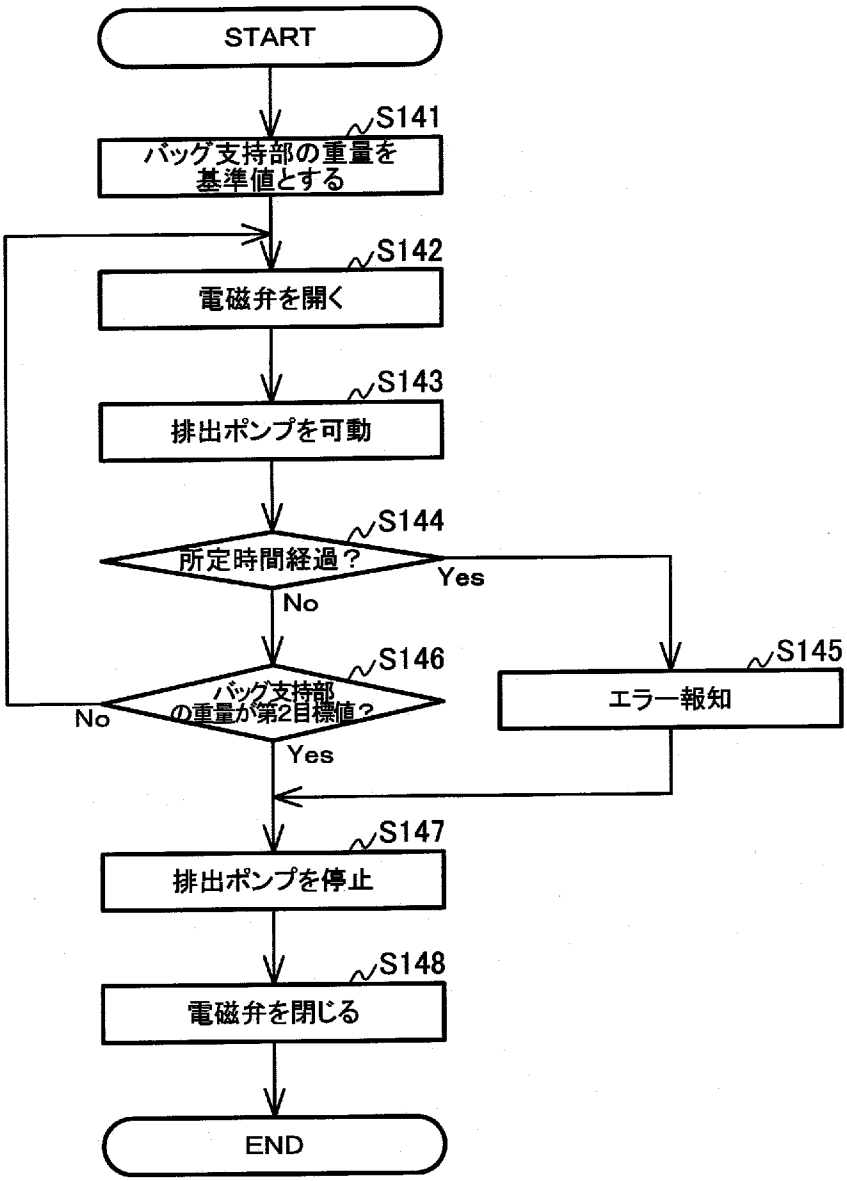
[図20]



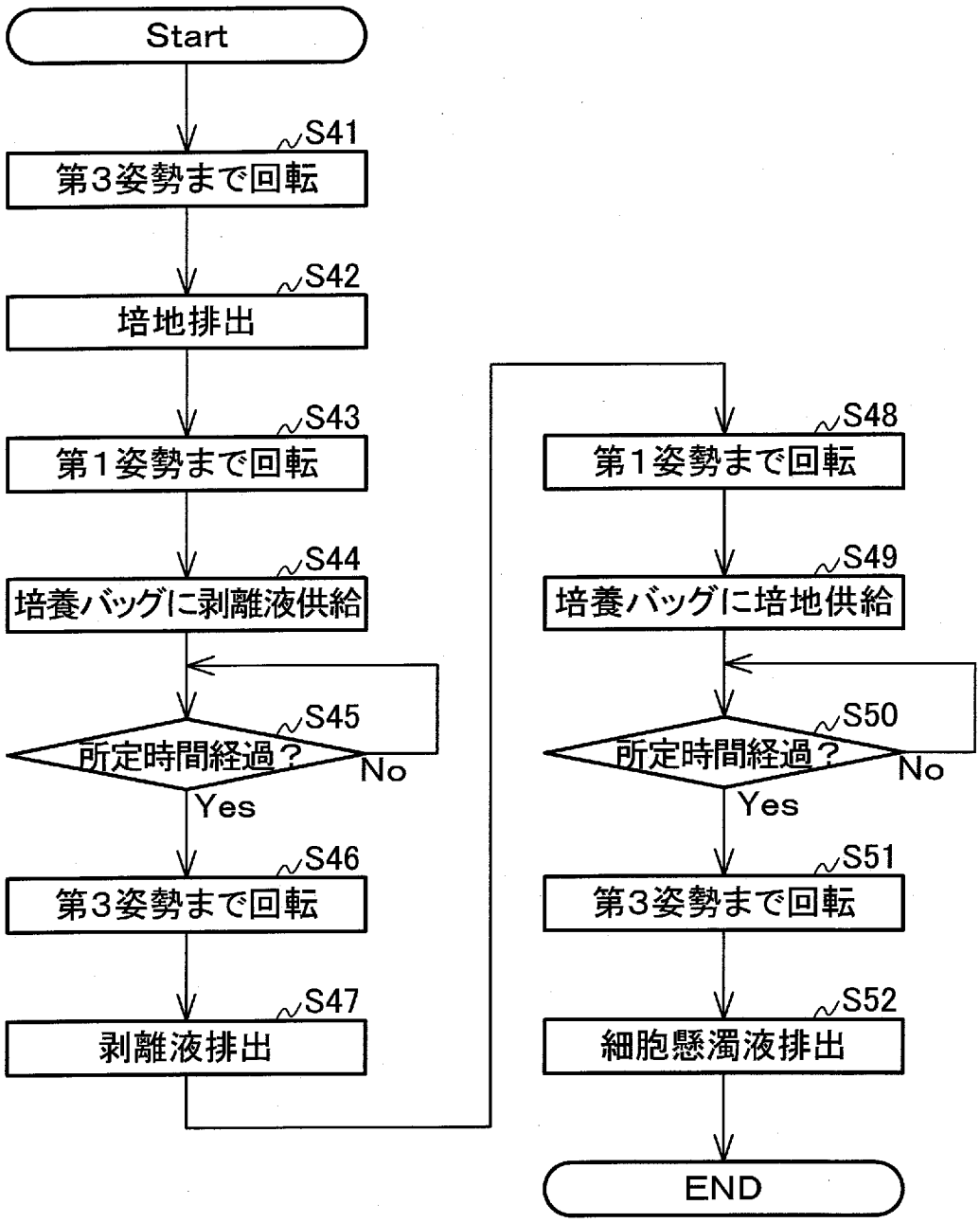
[図21]



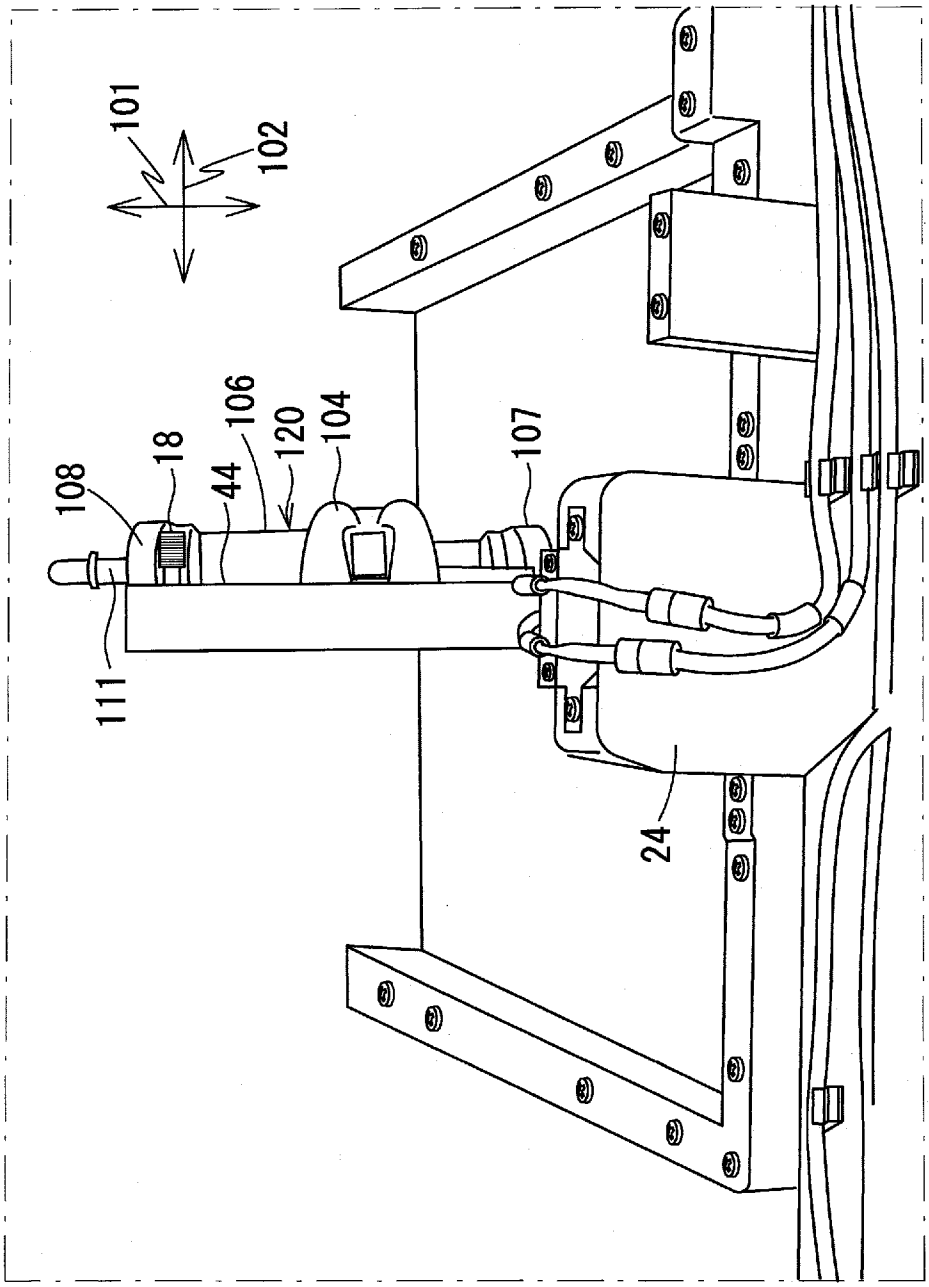
[図22]


START
S141
バッグ支持部の重量を基準値とする
S142
電磁弁を開く
S143
排出ポンプを可動
S144
所定時間経過？
Yes
No
S145
エラー報知
S146
バッグ支持部の重量が第2目標値？
No
Yes
S147
排出ポンプを停止
S148
電磁弁を閉じる
END

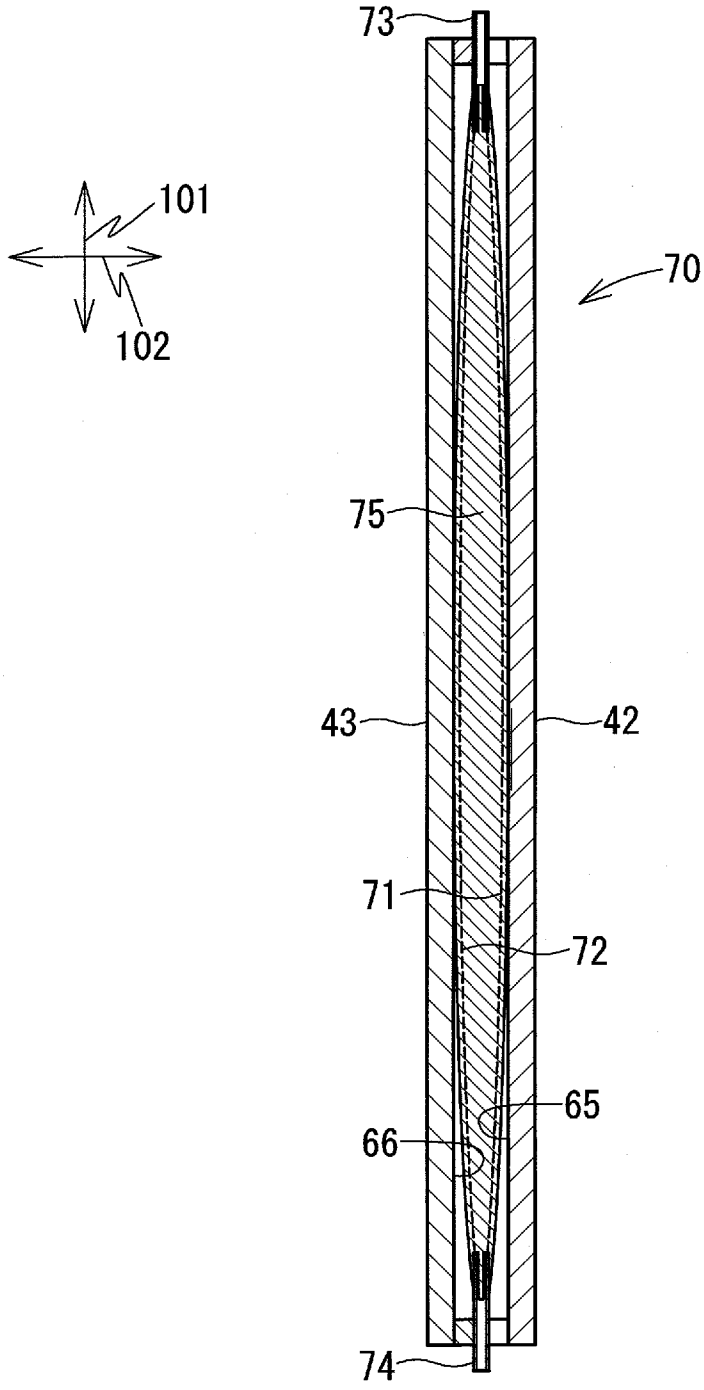
[図23]


Start
S41
第3姿勢まで回転
S42
培地排出
S43
第1姿勢まで回転
S44
培養バッグに剥離液供給
S45
所定時間経過？
No
Yes
S46
第3姿勢まで回転
S47
剥離液排出
S48
第1姿勢まで回転
S49
培養バッグに培地供給
S50
所定時間経過？
No
Yes
S51
第3姿勢まで回転
S52
細胞懸濁液排出
END

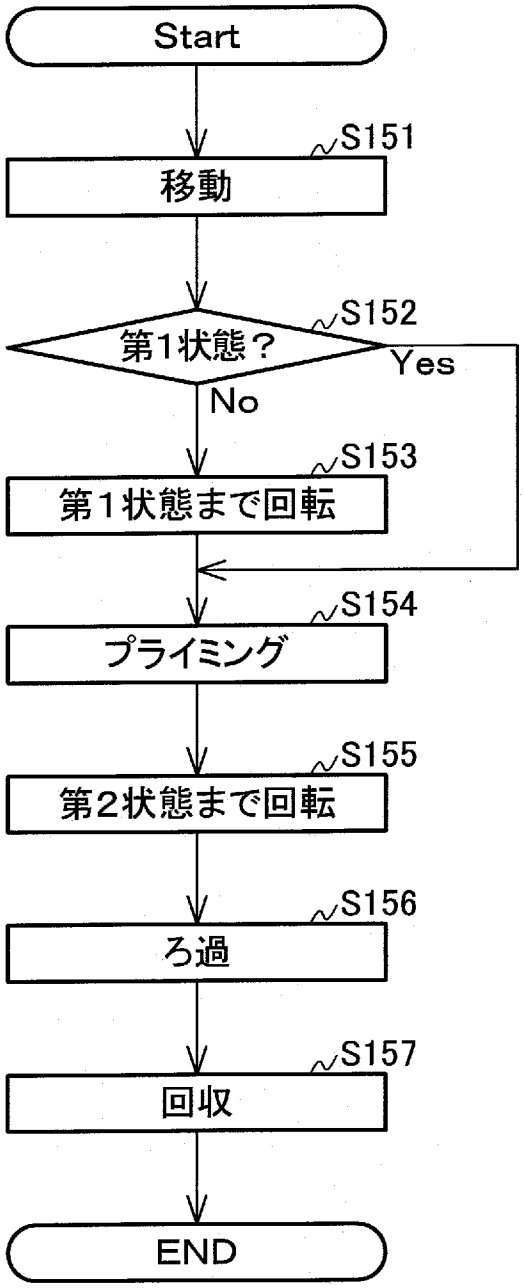
[図24]



[図25]



[図26]


Start
S151
移動
S152
第1状態？
Yes
No
S153
第１状態まで回転
S154
プライミング
S155
第2状態まで回転
S156
ろ過
S157
回収
END

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/065330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12M3/00(2006.01)i, *C12M1/10*(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)
C12M3/00, C12M1/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2015-84686 A (Olympus Corp.), 07 May 2015 (07.05.2015), claims; paragraphs [0002], [0016] to [0017], [0021] to [0022], [0035] to [0038] (Family: none)	1,6-10 2-5
Y A	JP 2008-148602 A (Hitachi, Ltd.), 03 July 2008 (03.07.2008), claims; fig. 6 & US 2008/0145924 A1 claims; fig. 6 & EP 1932904 A2	1,6-10 2-5
Y A	JP 2007-97407 A (Espec Corp.), 19 April 2007 (19.04.2007), claims (Family: none)	8 1-7,9-10

☒ 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
12 August 2016 (12.08.16)	30 August 2016 (30.08.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/065330

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 2006-55069 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 02 March 2006 (02.03.2006), paragraph [0037] (Family: none)	8 1-7,9-10
A	JP 2009-142212 A (The Foundation for the Promotion of Industrial Science), 02 July 2009 (02.07.2009), entire text (Family: none)	1-10
A	WO 2013/145235 A1 (Hitachi, Ltd.), 03 October 2013 (03.10.2013), entire text & US 2015/0072401 A1 & EP 2832847 A1	1-10
A	WO 2013/081188 A1 (National Cancer Center), 06 June 2013 (06.06.2013), entire text & US 2014/0137274 A1 & EP 2749642 A1 & CN 104080907 A & KR 10-2014-0100938 A	1-10

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／０６５３３０

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12M3/00(2006.01)i, C12M1/10(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.　C12M3/00, C12M1/10

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	１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１６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）

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	JP 2015-84686 A（オリンパス株式会社）2015.05.07, 特許請求の範囲、［０００２］、［００１６］－［００１７］、［００２１］－［００２２］、［００３５］－［００３８］（ファミリーなし）	1, 6-10 2-5
Y A	JP 2008-148602 A（株式会社日立製作所）2008.07.03, 特許請求の範囲、図６ & US 2008/0145924 A1, claims and fig. 6 & EP 1932904 A2	1, 6-10 2-5

☑　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	国際調査報告の発送日
１２．０８．２０１６	３０．０８．２０１６

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
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）　４Ｎ　４０４６
川合　理恵
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４８８

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 A	JP 2007-97407 A (エスペック株式会社) 2007.04.19, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	8 1-7, 9-10
Y A	JP 2006-55069 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2006.03.02, ［００３７］ (ファミリーなし)	8 1-7, 9-10
A	JP 2009-142212 A (財団法人生産技術研究奨励会) 2009.07.02, 全文 (ファミリーなし)	1-10
A	WO 2013/145235 A1 (株式会社日立製作所) 2013.10.03, 全文 & US 2015/0072401 A1 & EP 2832847 A1	1-10
A	WO 2013/081188 A1 (独立行政法人国立がん研究センター) 2013.06.06, 全文 & US 2014/0137274 A1 & EP 2749642 A1 & CN 104080907 A & KR 10-2014-0100938 A	1-10