

(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:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 細胞分割装置は、細胞懸濁液が流れる流路と、流路内に配置された第1の孔径を有する第1のメッシュと、流路内において、第1のメッシュに対して細胞懸濁液の流れ方向の下流側に配置され、第1の孔径よりも小さい孔径を有する第2のメッシュと、第1のメッシュに対して流れ方向の上流側から第1のメッシュに至る第1の流路区間と、第1のメッシュと第2のメッシュとの間の流路区間であって、第2のメッシュに対して流れ方向の上流側から第2のメッシュに至る第2の流路区間と、を含む。第2の流路区間を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度が、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さい。

明 細 書

発明の名称：細胞分割装置

技術分野

[0001] 開示の技術は、細胞分割装置に関する。

背景技術

[0002] 複数の細胞が凝集した細胞凝集体（細胞塊）を、よりサイズの小さい細胞凝集体に分割する細胞分割装置に関する技術として、例えば、以下の技術が知られている。

[0003] 例えば、特開 2 0 1 6 - 1 3 6 9 5 6 号公報（特許文献 1）には、細胞の巨視的凝集体の寸法を所定値以下の寸法のより小さい細胞凝集体へと縮小するための装置が記載されている。この装置は、洗浄チャンバ内の入口に近い位置に設けられた第 1 の寸法縮小網と、洗浄チャンバ内の出口に近い位置に設けられた、第 2 の寸法縮小網を有する。第 1 の寸法縮小網の開口部は、第 2 の寸法縮小網の開口部よりも大きい。

[0004] また、国際公開第 2 0 1 4 / 1 3 6 5 8 1 号（特許文献 2）には、多能性幹細胞の細胞塊を分割可能なメッシュを有する継代用フィルタ部を有する培養システムが記載されている。

[0005] 特開 2 0 1 7 - 2 2 1 1 8 7 号公報（特許文献 3）には、初期化培養装置で樹立された幹細胞からなる細胞塊を複数の細胞塊に分割する第 1 の分割機構と、拡大培養装置で拡大培養された幹細胞からなる細胞塊を複数の細胞塊に分割する第 2 の分割機構を備えた幹細胞製造システムが記載されている。第 1 及び第 2 の分割機構の少なくとも一方が、内部に貫通孔を有する分割器を備え、貫通孔が、大孔径部と、小孔径部と、を交互に有する。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] i P S 細胞（induced pluripotent stem cells）等の幹細胞の培養においては、細胞を培養することによって生じる細胞凝集体（スフェア）のサイズ

が過大となると、細胞凝集体同士が接着融合し、細胞が分化を開始したり、細胞凝集体の中心部の細胞が壊死したりするといった問題が生じる。従って、細胞凝集体のサイズが過大となることを防止するために、細胞の培養期間中の適切な時期に、細胞凝集体を、より小さいサイズの複数の細胞凝集体に分割（解砕）する分割処理が行われている。

[0007] 細胞凝集体を分割する手法として、細胞凝集体を含む細胞懸濁液を、複数の開口部（網目）を有するメッシュに通過させることで細胞凝集体を機械的に分割する手法が提案されている。しかしながら、この手法によれば、処理量の増加に伴ってメッシュ表面に細胞が堆積する問題がある。この問題は、大量培養を実施した場合により顕著となる。すなわち、大量培養を実施すると、累積処理量の増加に伴って、メッシュ表面に堆積する細胞の量が増加し、メッシュの実質的な孔径が刻々と変化し、メッシュとして有効に機能する領域の面積が刻々と変化する。その結果、分割処理後における細胞凝集体のサイズのばらつきが大きくなるおそれがある。また、分割処理後におけるサイズが目標サイズから乖離した細胞凝集体の割合が大きくなるおそれがある。更に、メッシュ表面に堆積した細胞が、後続の細胞懸濁液によって押し出されて変形し、これによって、細胞の品質が低下し、細胞の増殖性が低下するといった問題が生じるおそれがある。

[0008] 開示の技術は、上記の点に鑑みてなされたものであり、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 開示の技術に係る細胞分割装置は、細胞懸濁液が流れる流路と、流路内に配置された第1の孔径を有する第1のメッシュと、流路内において、第1のメッシュに対して細胞懸濁液の流れ方向の下流側に配置され、第1の孔径よりも小さい孔径を有する第2のメッシュと、第1のメッシュに対して流れ方向の上流側から第1のメッシュに至る第1の流路区間と、第1のメッシュと第2のメッシュとの間の流路区間であって、第2のメッシュに対して流れ方向の上流側から第2のメッシュに至る第2の流路区間と、を含む。第2の流

路区間を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度が、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さい。

[0010] これにより、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することが可能となる。

[0011] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第2のメッシュの面積が、第1のメッシュの面積と同じか、これよりも大きくてもよい。

[0012] これにより、第2の流路区間を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度を、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さくすることができる。

[0013] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第2のメッシュの上流側と下流側との圧力の差が、第1のメッシュの上流側と下流側との圧力の差と同じか、これよりも小さくてもよい。

[0014] これにより、第2の流路区間を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度を、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さくすることができる。

[0015] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第1の流路区間の流れ方向に沿った長さが、流路の、第1のメッシュが配置された部位における流れ方向と交差する方向の長さの0.3倍以上であることが好ましい。これにより、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液が、第1のメッシュに到達するまでに、その流れを安定させることができ、第1のメッシュによる細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。

[0016] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第2の流路区間の流れ方向に沿った長さが、流路の、第2のメッシュが配置された部位における流れ方向と交差する方向の長さの0.3倍以上であることが好ましい。これにより、第2の流路区間を流れる細胞懸濁液が、第2のメッシュに到達するまでに、そ

の流れを安定させることができ、第2のメッシュによる細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。

[0017] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第1の流路区間の流れ方向と交差する断面の面積が、第1の流路区間の全域に亘り、流路の第1のメッシュが配置された部位における流れ方向と交差する断面の面積と同じであってもよい。

[0018] これにより、第1の流路区間を流れる細胞懸濁液の流れを安定化させる効果を促進させることができる。

[0019] 開示の技術に係る細胞分割装置は、第1の流路区間及び第1のメッシュを含む第1の分割モジュールと、第2の流路区間及び第2のメッシュを含み、第1の分割モジュールとは別体として構成された第2の分割モジュールと、第1の分割モジュールと第2の分割モジュールとを連結する配管と、を含んでもよい。

[0020] これにより、第1の分割モジュール及び第2の分割モジュールを、個別に交換することが可能である。また、処理対象となる細胞懸濁液に含まれる細胞凝集体のサイズ等に応じて、第1のメッシュ及び第2のメッシュの少なくとも一方の孔径を調整する場合にも柔軟に対応することが可能である。また、第1の分割モジュールと第2の分割モジュールの間に、更に別の分割モジュールを設ける場合にも柔軟に対応することが可能である。

[0021] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第1のメッシュの開口率が60%以上80%以下であることが好ましく、第2のメッシュの開口率が55%以上77%以下であることが好ましい。

[0022] これにより、適切な分割処理が可能となり、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することができる。

[0023] 開示の技術に係る細胞分割装置において、第1のメッシュ及び第2のメッシュは、それぞれ、繊維状部材を含んで構成され、且つ自身を構成する繊維状部材の線径の4.5倍以上の大きさの孔径を有する複数の開口部を有することが好ましい。

[0024] これにより、第1のメッシュ及び第2のメッシュのそれぞれにおいて、細胞凝集体の分割を適切に行うことが可能となる。

発明の効果

[0025] 開示の技術によれば、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0026] [図1]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置の構成の一例を示す断面図である。

[図2A]開示の技術の実施形態に係る第1のメッシュ及び第2のメッシュの平面図である。

[図2B]図2Aにおいて破線で囲んだ部分の拡大図である。

[図3]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置を用いた分割処理の様子を示す断面図である。

[図4]比較例に係る細胞分割装置を用いた分割処理の様子を示す断面図である。

[図5]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置の構成の一例を示す断面図である。

[図6]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置の構成の一例を示す断面図である。

[図7]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置を用いた分割処理の様子を示す断面図である。

[図8]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置の構成の一例を示す断面図である。

[図9]開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置の構成の一例を示す断面図である。

発明を実施するための形態

[0027] 以下、開示の技術の実施形態について図面を参照しつつ説明する。尚、各図面において、実質的に同一又は等価な構成要素又は部分には同一の参照符

号を付している。

[0028] [第1の実施形態]

図1は、開示の技術の第1の実施形態に係る細胞分割装置1の構成の一例を示す断面図である。

[0029] 細胞分割装置1は、細胞懸濁液の流路30を形成する容器10を有する。容器10の一端部には、細胞凝集体を含む細胞懸濁液を容器10の内部に導入するための流入口11が設けられ、容器10の他端部には、分割処理済みの細胞懸濁液を容器10の外部に流出させるための流出口12が設けられている。流路30の各位置における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の形状は、例えば円形である。

[0030] 細胞分割装置1は、流路30の途中の、流入口11と流出口12との間に配置された第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22を有する。図2Aは、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の平面図、図2Bは、図2Aにおいて破線で囲んだ部分P1の拡大図である。第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22は、それぞれ、図2Bに示すように、複数の繊維状部材200を例えば平織りすることによって形成された複数の開口部（網目）201を有する。なお、繊維状部材200の織り方は、平織りに限定されない。繊維状部材200の材質は、特に限定されるものではないが、耐食性の高い材料で構成されていることが好ましく、例えばナイロンまたはステンレスを好適に用いることができる。本実施形態において、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の外形は、流路30の、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の形状に合わせて円形とされている。なお、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置において使用されるメッシュとしては、不織布は除かれる。

[0031] 第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22は、複数の開口部201を有する主面が、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する方向に延在するように容器10内に設置されている。細胞懸濁液が、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22を通過することで、細胞懸濁液に含まれる細胞凝集体が機械的

に分割される。すなわち、細胞凝集体は、2つのメッシュによる2段階の分割処理によって分割される。

[0032] 第2のメッシュ22は、第1のメッシュ21に対して、細胞懸濁液の流れ方向F1の下流側に配置されている。すなわち、第1のメッシュ21は、流路30の流入口11側に設けられ、第2のメッシュ22は、流路30内の流出口12側に設けられている。従って、流路30を流れ方向F1に沿って流れる細胞懸濁液は、第1のメッシュ21を通過した後、第2のメッシュ22を通過する。

[0033] 第1のメッシュ21の開口部201の径（以下、孔径Lと称する）は、例えば、分割処理前の細胞凝集体の平均径よりも小さい大きさとされる。第2のメッシュ22の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さく、分割処理後の細胞凝集体の目標サイズに応じて定められる。第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22のそれぞれにおいて、孔径Lは、当該メッシュを構成する繊維状部材200の線径dの4.5倍以上であることが好ましい。これにより、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22のそれぞれにおいて、細胞凝集体の分割を適切に行うことが可能となる。

[0034] 第1のメッシュ21の開口率は60%以上80%以下であることが好ましく、第2のメッシュの開口率は55%以上77%以下であることが好ましい。なお、第1及び第2のメッシュの開口率Aは、下記の（1）式によって表わすことができる。但し（1）式において、Bは当該メッシュの開口部の面積の総和であり、Cは当該メッシュ全体の面積である。第1及び第2のメッシュの開口率は、当該メッシュを撮影した顕微鏡画像から孔径L及び線径dを導出し、導出した孔径L及び線径dをコンピュータソフトウェアに入力することにより算出してもよい。第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の開口率の範囲を、上記の範囲とすることで、適切な分割処理が可能となり、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することができる。

$$A = B / C \quad \cdots (1)$$

[0035] 細胞分割装置1は、第1のメッシュ21に対して細胞懸濁液の流れ方向F

1の上流側から第1のメッシュ21に至る第1の流路区間31を有する。また、細胞分割装置1は、第1のメッシュ21と第2のメッシュ22との間の流路区間であって、第2のメッシュ22に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第2のメッシュ22に至る第2の流路区間32を有する。

[0036] 第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ22に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 $V2$ [cm/s] が、第1の流路区間31を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュ21に到達するときの細胞懸濁液の線速度 $V1$ と同じか、これよりも小さいことが好ましい。なお、線速度 $V1$ 及び $V2$ は、それぞれ、下記の（2）式及び（3）式によって表わすことができる。

$$V1 \text{ [cm/s]} = Q1 \text{ [mL/s]} / S1 \text{ [cm}^2\text{]} \quad \dots (2)$$

$$V2 \text{ [cm/s]} = Q2 \text{ [mL/s]} / S2 \text{ [cm}^2\text{]} \quad \dots (3)$$

[0037] 但し、（2）式において、 $Q1$ [mL/s] は、第1のメッシュ21に到達する細胞懸濁液の単位時間当たりの流量である。（2）式において、 $S1$ は、流路30の、第1のメッシュ21が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積である。本実施形態に係る細胞分割装置1において、面積 $S1$ は、第1のメッシュ21の有効面積と同じである。（3）式において、 $Q2$ [mL/s] は、第2のメッシュ22に到達する細胞懸濁液の単位時間当たりの流量である。（3）式において、 $S2$ は、流路30の、第2のメッシュ22が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積である。本実施形態に係る細胞分割装置1において、面積 $S2$ は、第2のメッシュ22の有効面積と同じである。なお、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の有効面積とは、当該メッシュの、細胞懸濁液と接触し得る領域の面積である。また、流路30内において、任意の断面を通過する細胞懸濁液の単位時間当たりの流量は一定であるから、 $Q1$ と $Q2$ は等しい。

[0038] 線速度 $V1$ 及び $V2$ は、例えば、面積 $S1$ 及び $S2$ によって制御することが可能である。例えば、面積 $S1$ と面積 $S2$ とを同じにすることで、線速度

V 1 と線速度 V 2 とを同じにすることができる。本実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、面積 S 1 と面積 S 2 とが同じであるので、線速度 V 1 と線速度 V 2 とが等しくなる。一方、面積 S 2 を面積 S 1 よりも大きくすることで、線速度 V 2 を線速度 V 1 よりも小さくすることができる（図 8 参照）。

[0039] また、第 2 のメッシュ 2 2 の、上流側と下流側との圧力差（膜間差圧） $\Delta P 2$ が、第 1 のメッシュ 2 1 の上流側と下流側との圧力差（膜間差圧） $\Delta P 1$ と同じか、これよりも小さいことが好ましい。線速度 V 1 と線速度 V 2 とを同じにすることで、圧力差（膜間差圧） $\Delta P 2$ と、圧力差（膜間差圧） $\Delta P 1$ とを同じにすることができる。また、線速度 V 2 を線速度 V 1 よりも小さくすることで、圧力差（膜間差圧） $\Delta P 2$ を、圧力差（膜間差圧） $\Delta P 1$ よりも小さくすることができる。

[0040] 第 1 の流路区間 3 1 は、流入口 1 1 から流入した細胞懸濁液が、第 1 のメッシュ 2 1 と接触するまでの助走区間である。第 1 の流路区間 3 1 の、流れ方向 F 1 に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第 1 の流路区間 3 1 を流れる細胞懸濁液が、第 1 のメッシュ 2 1 に到達するまでに、その流れを安定させることができ、第 1 のメッシュ 2 1 による細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。第 1 の流路区間 3 1 の流れ方向 F 1 に沿った長さ A 1 は、流路 3 0 の、第 1 のメッシュ 2 1 が配置された部位における流れ方向 F 1 と交差する方向の長さ W 1 （第 1 のメッシュ 2 1 の直径に相当）の 0.3 倍以上であることが好ましい。

[0041] また、本実施形態において、第 1 の流路区間 3 1 は、容器 1 0 の円柱形状部分によって画定されている。従って、第 1 の流路区間 3 1 の、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積が、第 1 の流路区間 3 1 の全域に亘って、流路 3 0 の、第 1 のメッシュ 2 1 が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積 S 1 （第 1 のメッシュ 2 1 の有効面積に相当）と同じである。このように、第 1 の流路区間 3 1 の、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積を一定とすることで、第 1 の流路区間 3 1 を流れる細胞懸濁液の流れを安定化させる効果を促進させることができ

る。

[0042] 同様に、第2の流路区間32は、第1のメッシュ21を通過した細胞懸濁液が、第2のメッシュ22と接触するまでの助走区間である。第2の流路区間32の、流れ方向F1に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ22に到達するまでに、その流れを安定させることができ、第2のメッシュ22による細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。第2の流路区間32の流れ方向F1に沿った長さA2は、流路30の、第2のメッシュ22が配置された部位における流れ方向F1と交差する方向の長さW2（第2のメッシュ22の直径に相当）の0.3倍以上であることが好ましい。

[0043] また、本実施形態において、第2の流路区間32は、容器10の円柱形状部分によって画定されている。従って、第2の流路区間32の、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積が、第2の流路区間32の全域に亘って、流路30の、第2のメッシュ22が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積S2（第2のメッシュ22の有効面積に相当）と同じである。このように、第2の流路区間32の、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積を一定とすることで、第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液の流れを安定化させる効果を促進させることができる。

[0044] 図3は、細胞分割装置1を用いた分割処理の様子を示す断面図である。流入口11から容器10内に流入した細胞凝集体100を含む細胞懸濁液101は、第1の流路区間31を経由して、第1のメッシュ21に到達する。細胞凝集体100は、第1のメッシュ21を通過することで分割され、細胞凝集体100の平均径が小さくなる。その後、細胞懸濁液101は、第2の流路区間32を経由して、第2のメッシュ22に到達する。細胞凝集体100は、第2のメッシュ22を通過することで分割され、細胞凝集体100の平均径が更に小さくなる。第2のメッシュ22を通過した細胞懸濁液101は、流出口12を経由して、容器10の外部に排出される。

[0045] 本実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、細胞凝集体 100 は、2つのメッシュによる2段階の分割処理によって分割される。第2のメッシュ22の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さい。従って、分割処理前の細胞凝集体100の平均径をX1、第1のメッシュ21を通過した後の細胞凝集体100の平均径をX2、第2のメッシュ22を通過した後の細胞凝集体100の平均径をX3とした場合、 $X1 > X2 > X3$ となる。

[0046] ここで、図4は、比較例に係る細胞分割装置1Xを用いた分割処理の様子を示す断面図である。比較例に係る細胞分割装置1Xは、単一のメッシュ22Xを有する。メッシュ22Xの孔径は、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置1が備える第2のメッシュ22の孔径と同じである。

[0047] 比較例に係る細胞分割装置1Xによれば、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置1と比較して、分割処理対象の細胞凝集体の平均径とメッシュの孔径との乖離が大きくなる。その結果、図4に示すように、メッシュ22Xの表面に細胞凝集体100が堆積しやすくなる。従って、比較例に係る細胞分割装置1Xを用いて大量の細胞を処理すると、累積処理量の増加に伴って、メッシュとして有効に機能する領域の面積及びメッシュ22Xの孔径が、刻々と変化する。その結果、分割処理後における細胞凝集体100のサイズのばらつきが大きくなるおそれがある。また、分割処理後におけるサイズが目標サイズから乖離した細胞凝集体100の割合が大きくなる。更に、図4に示すように、メッシュ22Xの表面に堆積した細胞の一部が、後続の細胞懸濁液101によって押し出されて変形し、その結果、細胞の品質が低下し、細胞の増殖性が低下するおそれがある。

[0048] 一方、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置1によれば、上記のように、細胞凝集体100は、平均径が徐々に小さくなるように、段階的に分割されるので、メッシュ表面への細胞凝集体100の堆積を抑制することができる。従って、細胞分割装置1を用いて大量の細胞を処理する場合でも、累積処理量の増加に伴って、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の有効領域の面積及び孔径Lが変化することを抑制することができる。その結果

、比較例に係る細胞分割装置 1 X と比較して、分割処理後における細胞凝集体 100 のサイズのばらつきを小さくすることができる。また、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、メッシュ表面への細胞凝集体 100 の堆積を抑制することができるので、メッシュ表面に堆積した細胞の一部が後続の細胞懸濁液 101 に押し出されて変形することを抑制することができる。従って、細胞の品質の低下を抑制し、細胞の増殖性の低下を抑制することができる。

[0049] また、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、第 2 の流路区間 32 を流れる細胞懸濁液 101 が第 2 のメッシュ 22 に到達するときの細胞懸濁液 101 の線速度 V_2 が、第 1 の流路区間 31 を流れる細胞懸濁液 101 が第 1 のメッシュ 21 に到達するときの細胞懸濁液 101 の線速度 V_1 と同じとされる。これにより、線速度 V_2 が線速度 V_1 よりも大きくなる場合と比較して、細胞が受けるダメージを小さくすることができる。細胞凝集体 100 を構成する複数の細胞は、第 1 のメッシュ 21 を通過することで、ある程度のダメージを受けるものと考えられる。従って、第 2 のメッシュ 22 を通過する細胞が、更に受けるダメージを抑制することで、細胞の生存率を高めることができる。

[0050] 開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、第 1 の流路区間 31 の流れ方向 F_1 に沿った長さ A_1 が、流路 30 の、第 1 のメッシュ 21 が配置された部位における流れ方向 F_1 と交差する方向の長さ W_1 (第 1 のメッシュ 21 の直径に相当) の 0.3 倍以上とされる。第 1 の流路区間 31 の、流れ方向 F_1 に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第 1 の流路区間 31 を流れる細胞懸濁液 101 が、第 1 のメッシュ 21 に到達するまでに、その流れを安定させることができ、第 1 のメッシュ 21 による細胞凝集体 100 の分割を安定して行うことができる。

[0051] また、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置 1 によれば、第 2 の流路区間 32 の流れ方向 F_1 に沿った長さ A_2 が、流路 30 の、第 2 のメッシュ 22 が配置された部位における流れ方向 F_1 と交差する方向の長さ W_2 (第

2のメッシュ22の直径に相当)の0.3倍以上とされる。第2の流路区間32の、流れ方向F1に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液101が、第2のメッシュ22に到達するまでに、その流れを安定させることができ、第2のメッシュ22による細胞凝集体100の分割を安定して行うことができる。

[0052] また、開示の技術の実施形態に係る細胞分割装置1によれば、第1の流路区間31及び第2の流路区間32は、それぞれ、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積が一定とされる。これにより、第1の流路区間31及び第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液101の流れを安定化させる効果が促進される。

[0053] [第2の実施形態]

図5は、開示の技術の第2の実施形態に係る細胞分割装置1Aの構成の一例を示す断面図である。細胞分割装置1Aは、第3のメッシュ23を更に含む。第3のメッシュ23は、第1のメッシュ21と第2のメッシュ22との間に配置されている。第3のメッシュ23の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さく、且つ第2のメッシュ22の孔径Lよりも大きい。

[0054] また、細胞分割装置1Aは、第1のメッシュ21に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第1のメッシュ21に至る第1の流路区間31を有する。また、細胞分割装置1Aは、第1のメッシュ21と第3のメッシュ23との間の流路区間であって、第3のメッシュ23に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第3のメッシュ23に至る第2の流路区間32を有する。また、細胞分割装置1Aは、第3のメッシュ23と第2のメッシュ22との間の流路区間であって、第2のメッシュ22に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第2のメッシュ22に至る第3の流路区間33を有する。

[0055] 第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第3のメッシュ23に到達(接触)するときの細胞懸濁液の線速度 V_2 [cm/s]が、第1の流路区間31を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュ21に到達するときの細胞懸濁液の

線速度 V_1 と同じか、これよりも小さいことが好ましい。また、第3の流路区間33を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ22に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 V_3 [cm/s] が、第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第3のメッシュ23に到達するときの細胞懸濁液の線速度 V_2 と同じか、これよりも小さいことが好ましい。

[0056] 開示の技術の第2の実施形態に係る細胞分割装置1Aによれば、細胞凝集体は、細胞懸濁液の流れ方向F1に沿って孔径が段階的に小さくなるように配置された3つのメッシュによる3段階の分割処理によって分割される。これにより、メッシュ表面への細胞凝集の堆積を抑制する効果を促進させることができる。

[0057] なお、メッシュの段数を、4段以上とすることも可能である。この場合、細胞懸濁液の流れ方向F1の下流側に配置されたメッシュの孔径は、上流側に配置されたメッシュの孔径よりも小さくすることが好ましい。また、細胞懸濁液が下流側に配置されたメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度は、細胞懸濁液が上流側に配置されたメッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さいことが好ましい。これを実現するために、例えば、下流側のメッシュが配置された部位における流路30の断面積を、上流側のメッシュが配置された部位における流路30の断面積と同じか、これよりも大きくしてもよい。

[0058] [第3の実施形態]

図6は、開示の技術の第3の実施形態に係る細胞分割装置1Bの構成の一例を示す断面図である。細胞分割装置1Bは、第1の分割モジュール41及び第2の分割モジュール42を含んで構成されている。第1の分割モジュール41及び第2の分割モジュール42は、互いに別体として構成されており、配管50を介して互いに連結されている。第1の分割モジュール41及び第2の分割モジュール42は、互いに切り離し可能である。

[0059] 第1の分割モジュール41は、細胞懸濁液の流路30を形成する第1の容器10Aを有する。第1の容器10Aの一端部には、細胞凝集体を含む細胞

懸濁液を第1の容器10Aの内部に導入するための第1の流入口11Aが設けられ、第1の容器10Aの他端部には、細胞懸濁液を第1の容器10Aの外部に流出させるための第1の流出口12Aが設けられている。第1の分割モジュール41は、流路30内の第1の流入口11Aと第1の流出口12Aとの間に配置された第1のメッシュ21を有する。

[0060] 第2の分割モジュール42は、細胞懸濁液の流路30を形成する第2の容器10Bを有する。第2の容器10Bの一端部には、細胞凝集体を含む細胞懸濁液を第2の容器10Bの内部に導入するための第2の流入口11Bが設けられ、第2の容器10Bの他端部には、細胞懸濁液を第2の容器10Bの外部に流出させるための第2の流出口12Bが設けられている。第2の分割モジュール42は、流路30内の第2の流入口11Bと第2の流出口12Bとの間に配置された第2のメッシュ22を有する。

[0061] 第1のメッシュ21の孔径Lは、例えば、分割処理前の細胞凝集体の平均径よりも小さい大きさとされる。第2のメッシュ22の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さく、分割処理後の細胞凝集体の目標サイズに応じて定められる。

[0062] 第1の分割モジュール41の第1の流出口12Aと、第2の分割モジュール42の第2の流入口11Bは、配管50によって接続されている。配管50は、例えば、可撓性を有する部材で構成されていることが好ましい。

[0063] 第1の分割モジュール41は、第1のメッシュ21に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第1のメッシュ21に至る第1の流路区間31を有する。第2の分割モジュール42は、第1のメッシュ21と第2のメッシュ22との間の流路区間であって、第2のメッシュ22に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第2のメッシュ22に至る第2の流路区間32を有する。

[0064] 第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ22に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 $V2$ [cm/s] が、第1の流路区間31を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュ21に到達するときの細胞懸濁液の

線速度 V_1 と同じか、これよりも小さいことが好ましい。線速度 V_1 及び V_2 は、それぞれ、上記の(2)式及び(3)式によって表わすことができる。本実施形態において、(2)式における面積 S_1 は、第1のメッシュ21の有効面積と同じである。(3)式における面積 S_2 は、第2のメッシュ22の有効面積と同じである。

[0065] 線速度 V_1 及び V_2 は、例えば、面積 S_1 及び S_2 によって制御することが可能である。例えば、面積 S_1 と面積 S_2 とを同じにすることで、線速度 V_1 と線速度 V_2 とを同じにすることができる。本実施形態に係る細胞分割装置1Bによれば、面積 S_1 と面積 S_2 とが同じであるので、線速度 V_1 と線速度 V_2 とが等しくなる。一方、面積 S_2 を面積 S_1 よりも大きくすることで、線速度 V_2 を線速度 V_1 よりも小さくすることができる(図8参照)。

[0066] 第1の流路区間31は、流入口11Aから流入した細胞懸濁液が、第1のメッシュ21と接触するまでの助走区間である。第1の流路区間31の、流れ方向 F_1 に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第1の流路区間31を流れる細胞懸濁液が、第1のメッシュ21に到達するまでに、その流れを安定させることができる。これにより、第1のメッシュ21による細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。第1の流路区間31の流れ方向 F_1 に沿った長さ A_1 は、流路30の、第1のメッシュ21が配置された部位における流れ方向 F_1 と交差する方向の長さ W_1 (第1のメッシュ21の直径に相当)の0.3倍以上であることが好ましい。

[0067] また、本実施形態において、第1の流路区間31は、容器10の円柱形状部分によって画定されている。従って、第1の流路区間31の、細胞懸濁液の流れ方向 F_1 と交差する断面の面積が、第1の流路区間31の全域に亘って、流路30の、第1のメッシュ21が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向 F_1 と交差する断面の面積 S_1 (第1のメッシュ21の有効面積に相当)と同じである。このように、第1の流路区間31の、細胞懸濁液の流れ方向 F_1 と交差する断面の面積を一定とすることで、第1の流路区間

3 1 を流れる細胞懸濁液の流れを安定化させる効果を促進させることができる。

[0068] 同様に、第 2 の流路区間 3 2 は、第 1 のメッシュ 2 1 を通過した細胞懸濁液が、第 2 のメッシュ 2 2 と接触するまでの助走区間である。第 2 の流路区間 3 2 の、流れ方向 F 1 に沿った長さとして、適切な長さが確保されることで、第 2 の流路区間 3 2 を流れる細胞懸濁液が第 2 のメッシュ 2 2 に到達するまでに、その流れを安定させることができる。これにより、第 2 のメッシュ 2 2 による細胞凝集体の分割を安定して行うことができる。第 2 の流路区間 3 2 の流れ方向 F 1 に沿った長さ A 2 は、流路 3 0 の、第 2 のメッシュ 2 2 が配置された部位における流れ方向 F 1 と交差する方向の長さ W 2（第 2 のメッシュ 2 2 の直径に相当）の 0.3 倍以上であることが好ましい。

[0069] また、本実施形態において、第 2 の流路区間 3 2 は、容器 1 0 の円柱形状部分によって画定されている。従って、第 2 の流路区間 3 2 の、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積が、第 2 の流路区間 3 2 の全域に亘って、流路 3 0 の、第 2 のメッシュ 2 2 が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積 S 2（第 2 のメッシュ 2 2 の有効面積に相当）と同じである。このように、第 2 の流路区間 3 2 の、細胞懸濁液の流れ方向 F 1 と交差する断面の面積を一定とすることで、第 2 の流路区間 3 2 を流れる細胞懸濁液の流れを安定化させる効果を促進させることができる。

[0070] 図 7 は、細胞分割装置 1 B を用いた分割処理の様子を示す断面図である。第 1 の流入口 1 1 A から第 1 の分割モジュール 4 1 内に流入した細胞凝集体 1 0 0 を含む細胞懸濁液 1 0 1 は、第 1 の流路区間 3 1 を経由して、第 1 のメッシュ 2 1 に到達する。細胞凝集体 1 0 0 は、第 1 のメッシュ 2 1 を通過することで分割され、細胞凝集体 1 0 0 の平均径が小さくなる。第 1 のメッシュ 2 1 を通過した細胞懸濁液 1 0 1 は、第 1 の流出口 1 2 A、配管 5 0 及び第 2 の流入口 1 1 B を経由して第 2 の分割モジュール 4 2 内に流入する。第 2 の分割モジュール 4 2 内に流入した細胞懸濁液 1 0 1 は、第 2 の流路区

間32を経由して、第2のメッシュ22に到達する。細胞凝集体100は、第2のメッシュ22を通過することで分割され、細胞凝集体100の平均径が更に小さくなる。第2のメッシュ22を通過した細胞懸濁液101は、第2の流出口12Bを経由して、第2の分割モジュール42の外部に排出される。

[0071] 以上のように、本実施形態に係る細胞分割装置1Bによれば、細胞凝集体100は、2つのメッシュによる2段階の分割処理によって分割される。第2のメッシュ22の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さい。従って、分割処理前の細胞凝集体100の平均径をX1、第1のメッシュ21を通過した後の細胞凝集体100の平均径をX2、第2のメッシュ22を通過した後の細胞凝集体100の平均径をX3とした場合、 $X1 > X2 > X3$ となる。

[0072] 本実施形態に係る細胞分割装置1Bによれば、第1の実施形態に係る細胞分割装置1と同様、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することが可能となる。

[0073] また、第1の分割モジュール41と第2の分割モジュール42とは、互いに別体として構成されており、互いに切り離し可能である。従って、第1の分割モジュール41及び第2の分割モジュール42を、個別に交換することが可能である。また、処理対象となる細胞懸濁液101に含まれる細胞凝集体100のサイズ等に応じて、第1のメッシュ21及び第2のメッシュ22の少なくとも一方の孔径Lを調整する場合にも柔軟に対応することが可能である。また、第1の分割モジュール41と第2の分割モジュール42の間に、更に別の分割モジュールを設ける場合にも柔軟に対応することが可能である。また、第1の分割モジュール41と第2の分割モジュール42を連結する配管50を、可撓性を有する材料で構成することで、例えば、細胞培養に必要な一連の処理を自動で行う細胞培養装置（図示せず）に、本実施形態に係る細胞分割装置1Bを組み込む場合に、細胞分割装置1Bの配置の自由度を高めることができる。

[0074] [第4の実施形態]

図8は、開示の技術の第4の実施形態に係る細胞分割装置1Cの構成の一例を示す断面図である。細胞分割装置1Cは、第3の実施形態に係る細胞分割装置1Bと同様、第1のメッシュ21及び第1の流路区間31を有する第1の分割モジュール41と、第2の流路区間32及び第2のメッシュ22を有する第2の分割モジュール42と、を含んで構成されている。

[0075] ここで、流路30の、第1のメッシュ21が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積をS1とする。また、流路30の、第2のメッシュ22が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F1と交差する断面の面積をS2とする。本実施形態に係る細胞分割装置1Cにおいて、面積S1は、第1のメッシュ21の有効面積と同じであり、面積S2は、第2のメッシュ22の有効面積と同じである。また、本実施形態に係る細胞分割装置1Cにおいて、面積S2（第2のメッシュ22の有効面積）は、面積S1（第1のメッシュ21の有効面積）よりも大きい。これにより、第2の流路区間32を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ22に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 V_2 [cm/s] が、第1の流路区間31を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュ21に到達するときの細胞懸濁液の線速度 V_1 よりも小さくなる。

[0076] このように、線速度 V_2 を線速度 V_1 よりも小さくすることで、線速度 V_2 が線速度 V_1 よりも大きくなる場合と比較して、細胞が受けるダメージを小さくすることができる。細胞凝集体を構成する複数の細胞は、第1のメッシュ21を通過することで、ある程度のダメージを受けるものと考えられる。従って、第2のメッシュ22を通過する細胞が、更に受けるダメージを抑制することで、細胞の生存率を高めることができる。

[0077] また、本実施形態に係る細胞分割装置1Cによれば、第1の実施形態に係る細胞分割装置1と同様、メッシュ表面への細胞凝集体の堆積を抑制することが可能となる。

[0078] [第5の実施形態]

図9は、開示の技術の第5の実施形態に係る細胞分割装置1Dの構成の一例を示す断面図である。細胞分割装置1Dは、第3の分割モジュール43を更に備える。第3の分割モジュール43は、第1の分割モジュール41と第2の分割モジュール42との間に配置されている。

[0079] 第1の分割モジュール41、第2の分割モジュール42及び第3の分割モジュール43は、互いに別体として構成されており、配管50A、50Bを介して互いに連結されている。第1の分割モジュール41、第2の分割モジュール42及び第3の分割モジュール43は、互いに切り離し可能である。

[0080] 第3の分割モジュール43は、細胞懸濁液の流路30を形成する第3の容器10Cを有する。第3の容器10Cの一端部には、細胞凝集体を含む細胞懸濁液を第3の容器10Cの内部に導入するための第3の流入口11Cが設けられ、第3の容器10Cの他端部には、細胞懸濁液を第3の容器10Cの外部に流出させるための第3の流出口12Cが設けられている。

[0081] 第1の分割モジュール41の第1の流出口12Aと、第3の分割モジュール43の第3の流入口11Cは、配管50Aによって接続されている。第3の分割モジュール43の第3の流出口12Cと、第2の分割モジュール42の第2の流入口11Bは、配管50Bによって接続されている。配管50A及び50Bは、それぞれ、可撓性を有する部材で構成されていることが好ましい。

[0082] 第3の分割モジュール43は、流路30内の第3の流入口11Cと第3の流出口12Cとの間に配置された第3のメッシュ23を有する。すなわち、第3のメッシュ23は、第1のメッシュ21と第2のメッシュ22との間に配置されている。第3のメッシュ23の孔径Lは、第1のメッシュ21の孔径Lよりも小さく、且つ第2のメッシュ22の孔径Lよりも大きい。

[0083] 第1の分割モジュール41は、第1のメッシュ21に対して細胞懸濁液の流れ方向F1の上流側から第1のメッシュ21に至る第1の流路区間31を有する。第3の分割モジュール43は、第1のメッシュ21と第3のメッシュ23との間の流路区間であって、第3のメッシュ23に対して細胞懸濁液

の流れ方向F 1の上流側から第3のメッシュ2 3に至る第2の流路区間3 2を有する。第2の分割モジュール4 2は、第3のメッシュ2 3と第2のメッシュ2 2との間の流路区間であって、第2のメッシュ2 2に対して細胞懸濁液の流れ方向F 1の上流側から第2のメッシュ2 2に至る第3の流路区間3 3を有する。

[0084] ここで、流路3 0の、第1のメッシュ2 1が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F 1と交差する断面の面積をS 1とする。また、流路3 0の、第2のメッシュ2 2が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F 1と交差する断面の面積をS 2とする。流路3 0の、第3のメッシュ2 3が配置された部位における、細胞懸濁液の流れ方向F 1と交差する断面の面積をS 3とする

[0085] 本実施形態に係る細胞分割装置1 Dにおいて、面積S 1は、第1のメッシュ2 1の有効面積と同じであり、面積S 2は、第2のメッシュ2 2の有効面積と同じであり、面積S 3は、第3のメッシュ2 3の有効面積と同じである。また、本実施形態に係る細胞分割装置1 Dにおいて、面積S 3（第3のメッシュ2 3の有効面積）は、面積S 1（第1のメッシュ2 1の有効面積）よりも大きい。また、面積S 2（第2のメッシュ2 2の有効面積）は、面積S 3（第3のメッシュ2 3の有効面積）よりも大きい。これにより、第2の流路区間3 2を流れる細胞懸濁液が第3のメッシュ2 3に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 V_3 [cm/s] が、第1の流路区間3 1を流れる細胞懸濁液が第1のメッシュ2 1に到達するときの細胞懸濁液の線速度 V_1 よりも小さくなる。また、第3の流路区間3 3を流れる細胞懸濁液が第2のメッシュ2 2に到達（接触）するときの細胞懸濁液の線速度 V_2 [cm/s] が、第2の流路区間3 2を流れる細胞懸濁液が第3のメッシュ2 3に到達するときの細胞懸濁液の線速度 V_3 よりも小さくなる。

[0086] 開示の技術の第5の実施形態に係る細胞分割装置1 Dによれば、細胞凝集体は、細胞懸濁液の流れ方向F 1に沿って孔径が段階的に小さくなるように配置された3つのメッシュによる3段階の分割処理によって分割される。こ

れにより、メッシュ表面への細胞凝集体 100 の堆積を抑制する効果を促進させることができる。また、線速度 V3 を線速度 V1 よりも小さくし、線速度 V2 を線速度 V3 よりも小さくすることで、細胞が受けるダメージを小さくすることができる。

[0087] [実施例]

メッシュの段数、孔径及び開口率、並びに各メッシュに到達するときの細胞懸濁液の線速度を異ならせた、複数の条件で細胞培養を行った。その評価結果を下記の表 1 に示す。評価は、培養後の細胞の回収率及び品質の観点から行った。細胞の品質は、細胞凝集体の形状やサイズに反映されるが、サイズのばらつきが大きいと品質低下の懸念が大きくなる。分割直後の細胞凝集体のサイズのばらつきは、培養後のサイズばらつきに大きく影響することから、品質の評価は、分割直後の細胞凝集体のサイズのばらつきに基づいて判定した。

細胞の回収率は、分割処理後の細胞数計測結果を分割処理前の細胞数計測結果で割った値とした。

細胞凝集体サイズのばらつきは、分割処理後の細胞懸濁液を所定量サンプリングし、画像解析によって含まれる全ての細胞凝集体を球径近似して直径を測定し、統計処理によって算出した変動係数（標準偏差÷平均）を適用した。

細胞凝集体のサイズは、所定量の細胞懸濁液に含まれる全ての細胞凝集体を Cell Imager (SCREEN 社) を用いて画像に取り込み、さらに生死判定をして、生細胞のみの細胞径分布を出して、算術平均値を算出した。

メッシュの開口率は、メッシュを撮影した顕微鏡画像から当該メッシュの孔径 L 及び線径 d を導出し、導出した孔径 L 及び線径 d から算出した。

[0088] 回収率についての判定基準は、以下のとおりである。

- A : 回収率が 75 % 以上
- B : 回収率が 60 % 以上 75 % 未満
- C : 回収率が 60 % 未満

品質についての評価基準は以下のとおりである。

A：細胞凝集体の径分布の変動係数が0.32未満

B：細胞凝集体の径分布の変動係数が0.32以上0.35未満

C：細胞凝集体の径分布の変動係数が0.35以上

[表1]

メッシュ・線速度		実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	比較例1	比較例2
1段目	孔径 [μm]	110	110	240	240	80	110
	開口率 [%]	62	62	78	78	57	62
	線速度 [cm/s]	6	28	28	28	28	6
2段目	孔径 [μm]	80	80	80	110	—	80
	開口率 [%]	57	57	57	62	—	57
	線速度 [cm/s]	6	6	6	28	—	28
3段目	孔径 [μm]	—	—	—	80	—	—
	開口率 [%]	—	—	—	57	—	—
	線速度 [cm/s]	—	—	—	6	—	—
評価	回収率	B	A	A	B	C	B
	品質	A	A	B	A	C	B

[0089] 実施例1～3ではメッシュの段数を2段とし、実施例4ではメッシュの段数を3段とした。実施例1～4のそれぞれにおいて、細胞懸濁液の流れ方向の上流側から下流側に向けて、メッシュの孔径が段階的に小さくなるように各メッシュを配置した。実施例1では、細胞懸濁液が上流側のメッシュに到達するときの線速度と、細胞懸濁液が下流側のメッシュに到達するときの線速度とを同じとした。実施例2～4では、細胞懸濁液が下流側のメッシュに到達するときの線速度を、細胞懸濁液が上流側のメッシュに到達するときの線速度よりも小さくした。

[0090] 比較例1では、メッシュの段数を1段とした。比較例2では、メッシュの段数を2段とし、細胞懸濁液が下流側のメッシュに到達するときの線速度を、細胞懸濁液が上流側のメッシュに到達するときの線速度よりも大きくした。

[0091] 細胞懸濁液の流れ方向の上流側から下流側に向けて、メッシュの孔径が段階的に小さくなるように細胞分割装置を構成し、且つ細胞懸濁液が下流側の

メッシュに到達するときの線速度を、細胞懸濁液が上流側のメッシュに到達するときの線速度と同じとするか、これよりも小さくした実施例 1～4 においては、回収率及び品質の少なくとも一方について A 判定が得られ、C 判定となるものはなかった。一方、比較例 1 では、回収率及び品質の双方が C 判定となり、比較例 2 では、回収率及び品質の双方が B 判定となった。

[0092] 日本出願特願 2018-128454 号の開示はその全体が参照により本明細書に取り込まれる。

[0093] 本明細書に記載された全ての文献、特許出願、および技術規格は、個々の文献、特許出願、および技術規格が参照により取り込まれることが具体的かつ個々に記された場合と同程度に、本明細書中に参照により取り込まれる。

符号の説明

[0094] 1、1 A、1 B、1 C、1 D 細胞分割装置

10 容器

11 流入口

11 A 第 1 の流入口

11 B 第 2 の流入口

12 流出口

12 A 第 1 の流出口

12 B 第 2 の流出口

50、50 A、50 B 配管

21 第 1 のメッシュ

22 第 2 のメッシュ

22 X メッシュ

23 第 3 のメッシュ

30 流路

31 第 1 の流路区間

32 第 2 の流路区間

33 第 3 の流路区間

4 1 第 1 の分割モジュール

4 2 第 2 の分割モジュール

4 3 第 3 の分割モジュール

1 0 0 細胞凝集体

1 0 1 細胞懸濁液

2 0 0 繊維状部材

2 0 1 開口部

F 1 流れ方向

L 孔径

d 線径

請求の範囲

- [請求項1] 細胞懸濁液が流れる流路と、
前記流路内に配置された第1の孔径を有する第1のメッシュと、
前記流路内において、前記第1のメッシュに対して前記細胞懸濁液の流れ方向の下流側に配置され、前記第1の孔径よりも小さい孔径を有する第2のメッシュと、
前記第1のメッシュに対して前記流れ方向の上流側から前記第1のメッシュに至る第1の流路区間と、
前記第1のメッシュと前記第2のメッシュとの間の流路区間であって、前記第2のメッシュに対して前記流れ方向の上流側から前記第2のメッシュに至る第2の流路区間と、
を含み、
前記第2の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第2のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度が、前記第1の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第1のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さい
細胞分割装置。
- [請求項2] 前記第2のメッシュの面積が、前記第1のメッシュの面積と同じか、これよりも大きい
請求項1に記載の細胞分割装置。
- [請求項3] 前記第2のメッシュの上流側と下流側との圧力差が、前記第1のメッシュの上流側と下流側との圧力差と同じか、これよりも小さい
請求項1または請求項2に記載の細胞分割装置。
- [請求項4] 前記第1の流路区間の前記流れ方向に沿った長さが、前記流路の、前記第1のメッシュが配置された部位における前記流れ方向と交差する方向の長さの0.3倍以上である
請求項1から請求項3のいずれか1項に記載の細胞分割装置。
- [請求項5] 前記第2の流路区間の前記流れ方向に沿った長さが、前記流路の、

前記第2のメッシュが配置された部位における前記流れ方向と交差する方向の長さの0.3倍以上である

請求項1から請求項3のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

[請求項6] 前記第1の流路区間の前記流れ方向と交差する断面の面積が、前記第1の流路区間の全域に亘り、前記流路の前記第1のメッシュが配置された部位における前記流れ方向と交差する断面の面積と同じである

請求項1から請求項5のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

[請求項7] 前記第1の流路区間及び前記第1のメッシュを含む第1の分割モジュールと、

前記第2の流路区間及び前記第2のメッシュを含み、前記第1の分割モジュールとは別体として構成された第2の分割モジュールと、

前記第1の分割モジュールと前記第2の分割モジュールとを連結する配管と、

を含む請求項1から請求項6のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

[請求項8] 前記第1のメッシュの開口率は、60%以上80%以下であり、

前記第2のメッシュの開口率は、55%以上77%以下である

請求項1から請求項7のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

[請求項9] 前記第1のメッシュ及び前記第2のメッシュは、それぞれ、繊維状部材を含んで構成され、自身を構成する繊維状部材の線径の4.5倍以上の大きさの孔径を有する複数の開口部を有する

請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

[請求項10] 前記流路内において、前記第1のメッシュと前記第2のメッシュの間に配置され、前記第1の孔径よりも小さく且つ前記第2のメッシュの孔径よりも大きい孔径を有する第3のメッシュと、

前記第1のメッシュと前記第3のメッシュとの間の流路区間であって前記第3のメッシュに対して前記流れ方向の上流側から前記第3のメッシュに至る第3の流路区間と、

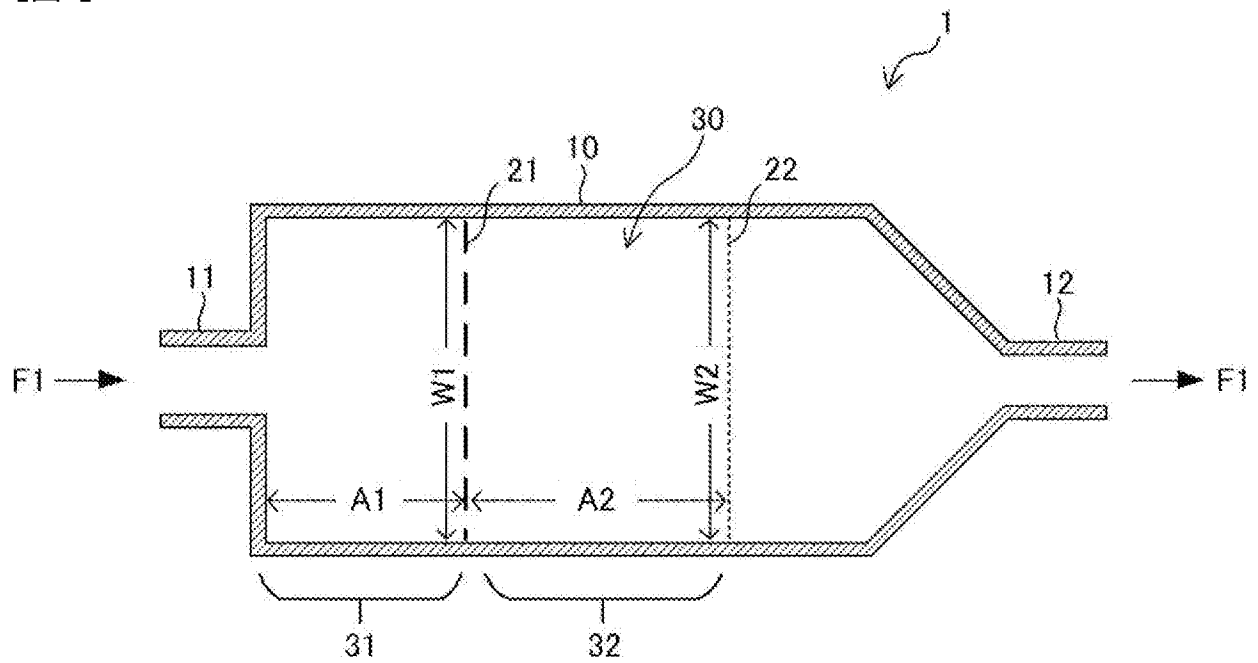
を更に含み、

前記第3の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第3のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度が、前記第1の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第1のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さく、

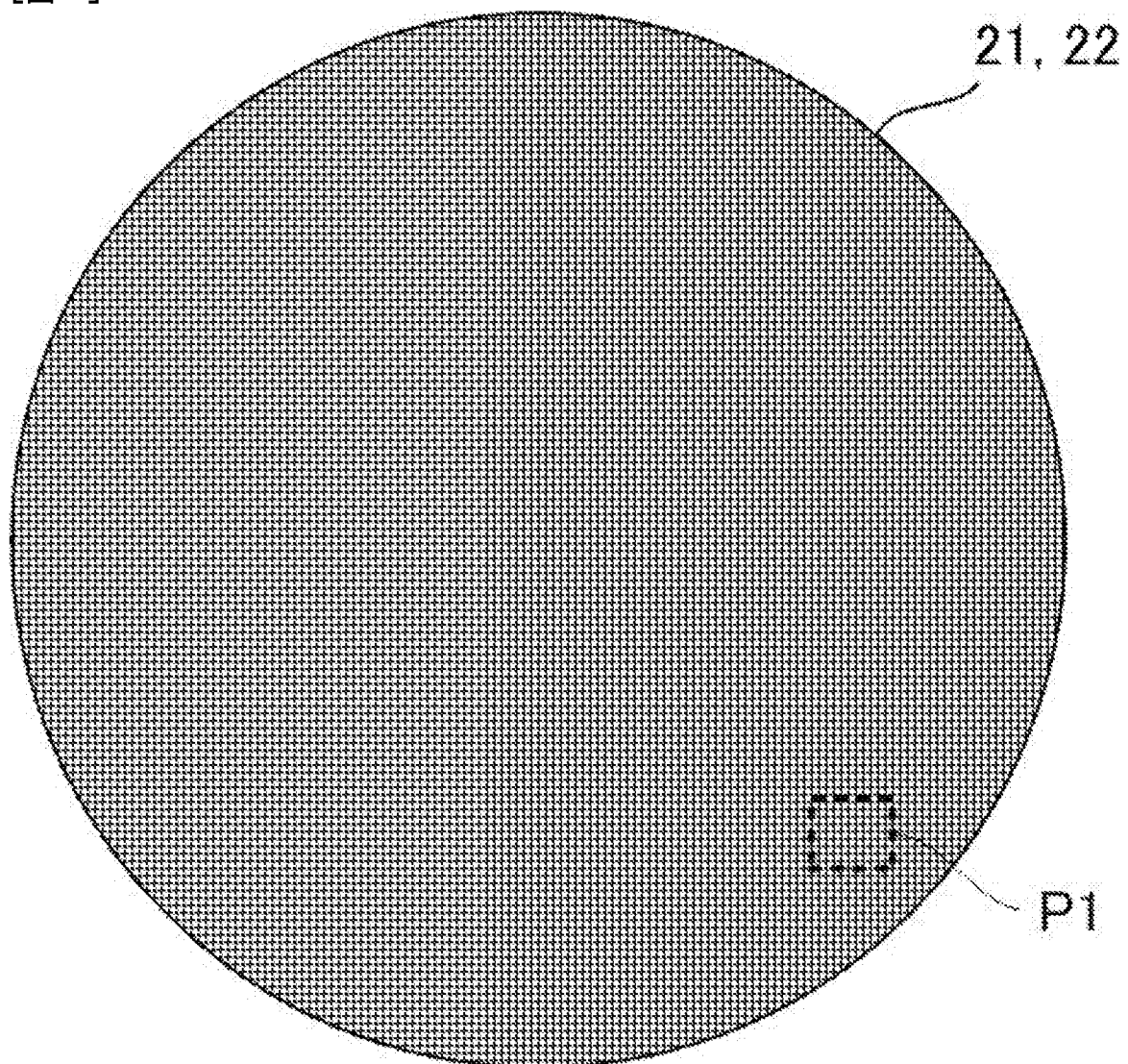
前記第2の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第2のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度が、前記第3の流路区間を流れる前記細胞懸濁液が前記第3のメッシュに到達するときの前記細胞懸濁液の線速度と同じか、これよりも小さい

請求項1から請求項9のいずれか1項に記載の細胞分割装置。

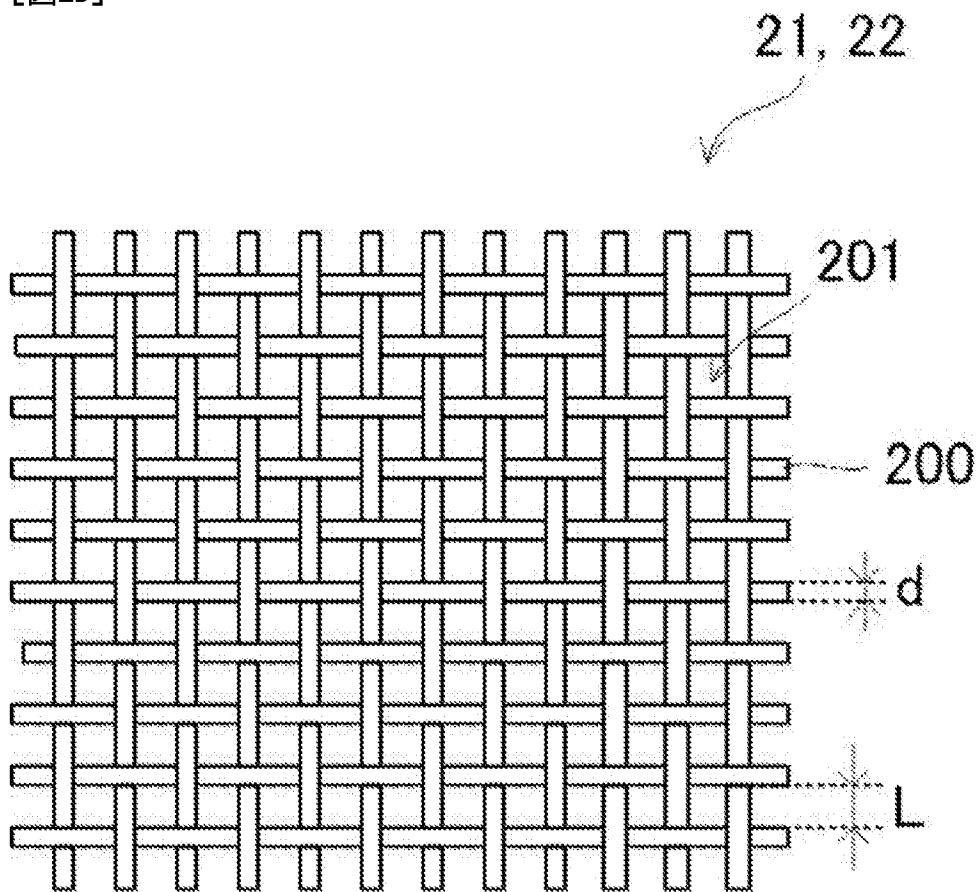
[図1]



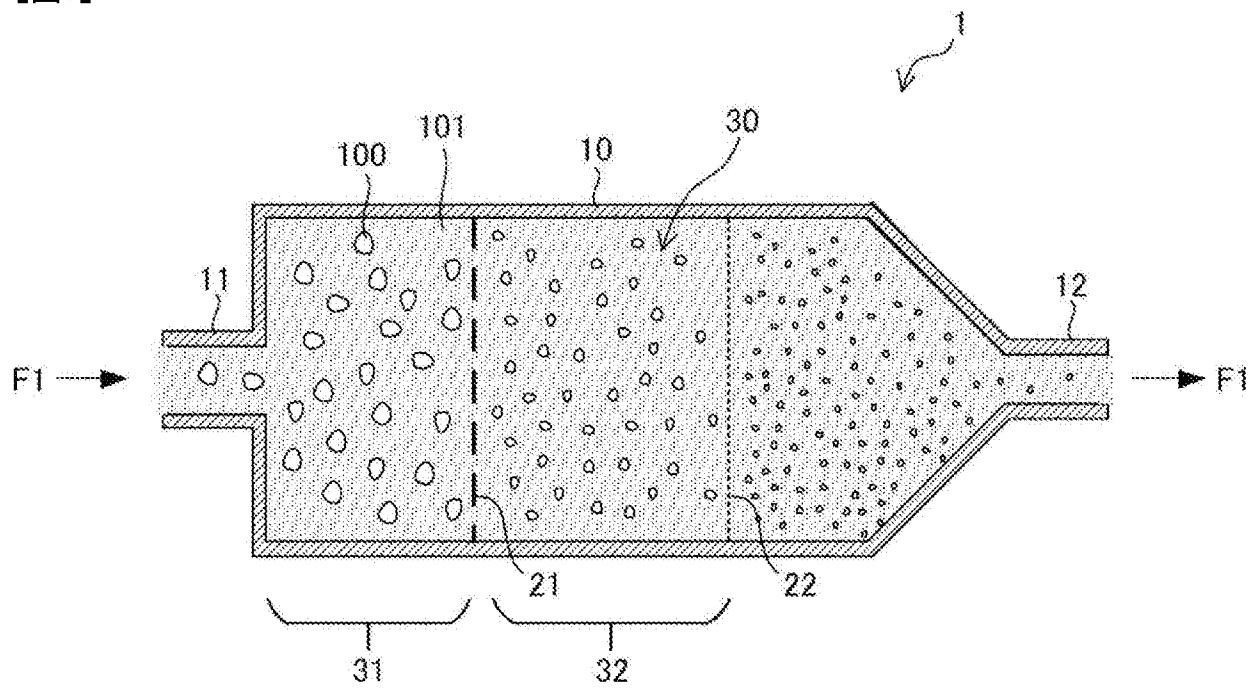
[図2A]



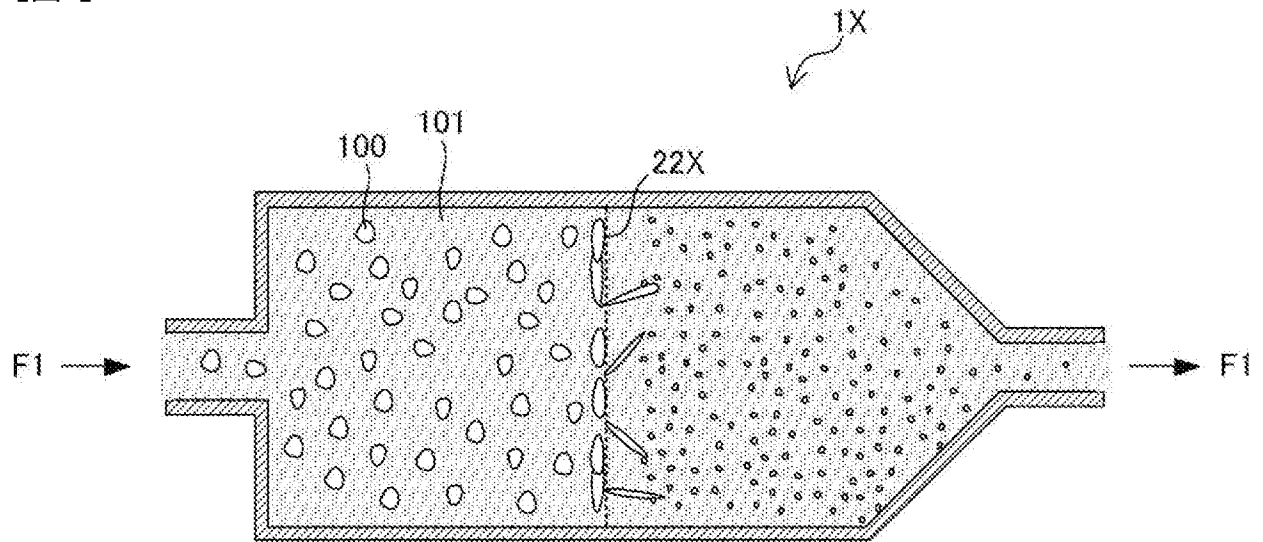
[図2B]



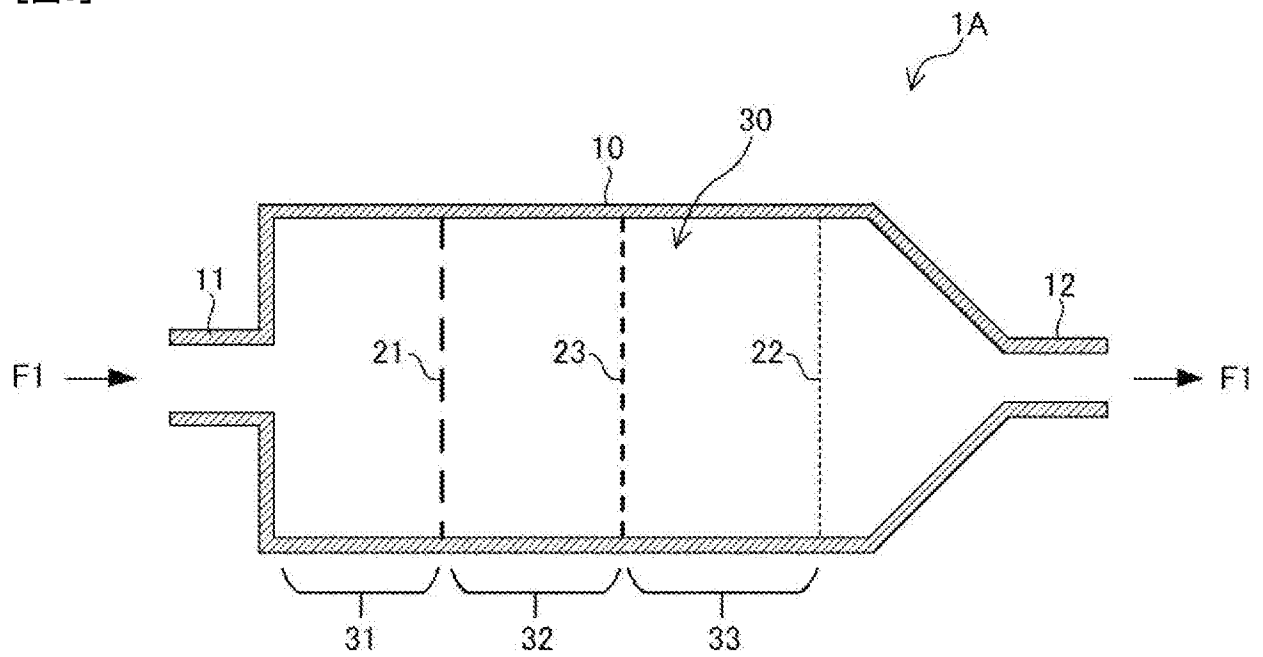
[図3]



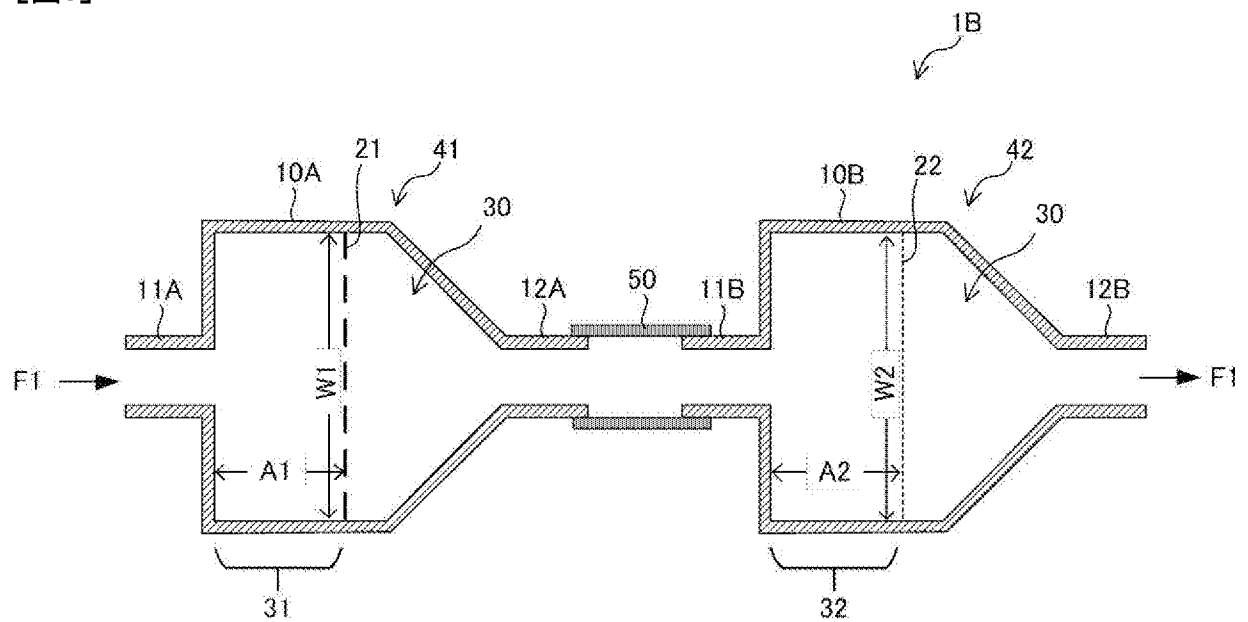
[図4]



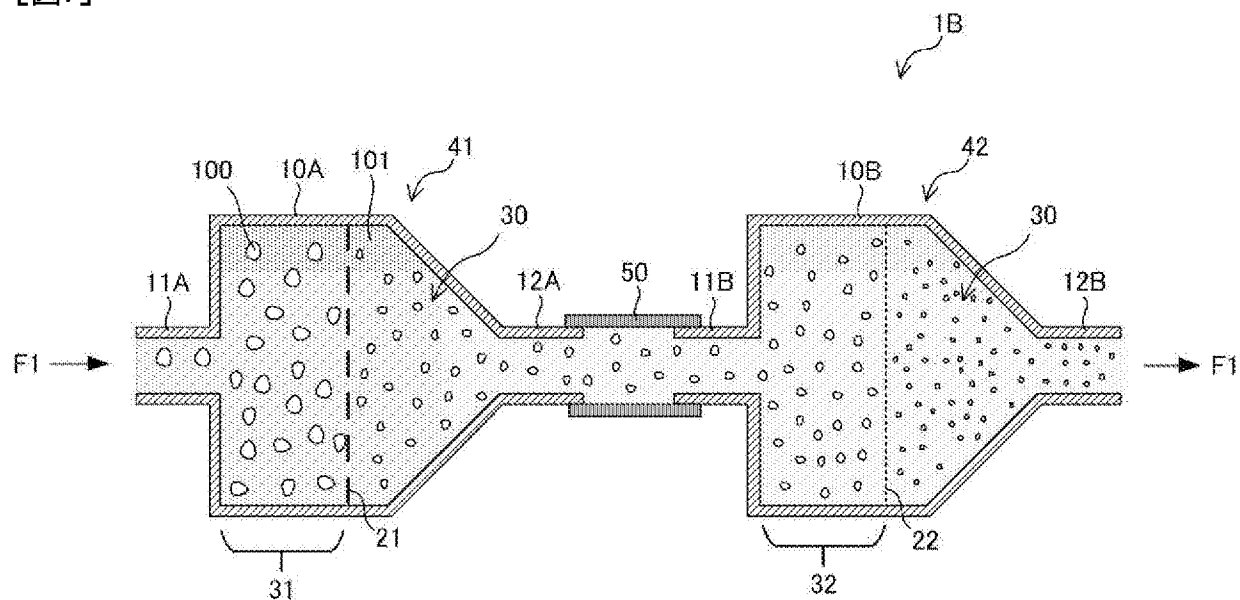
[図5]



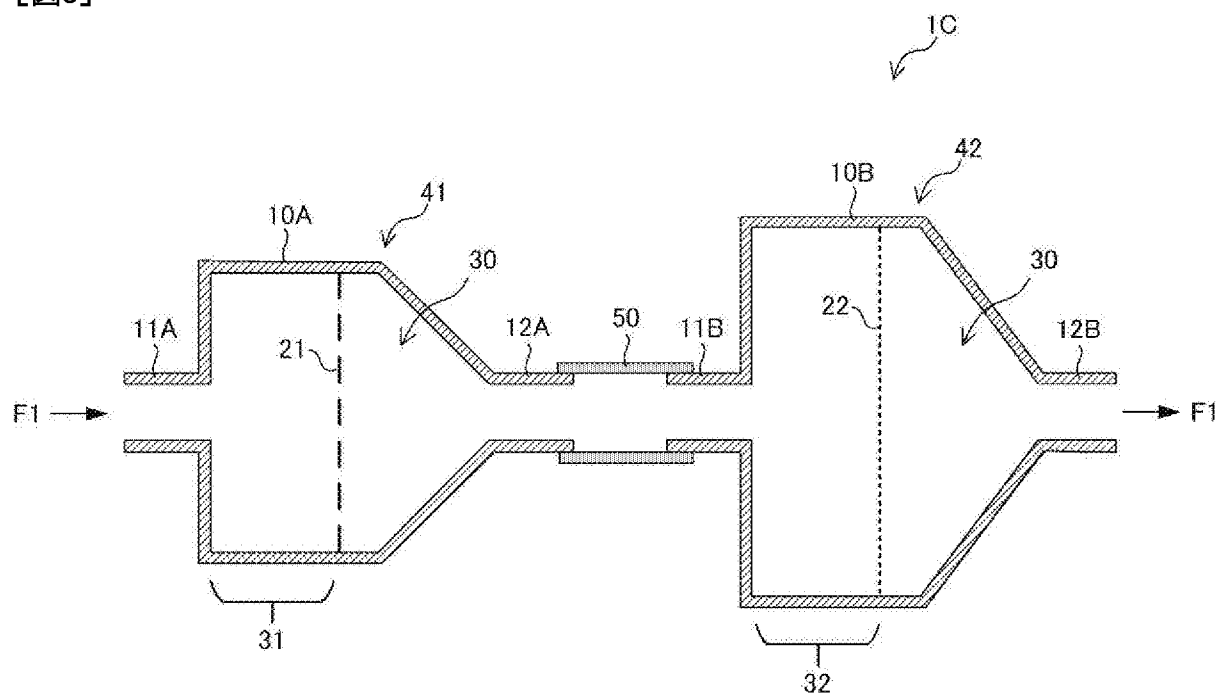
[図6]



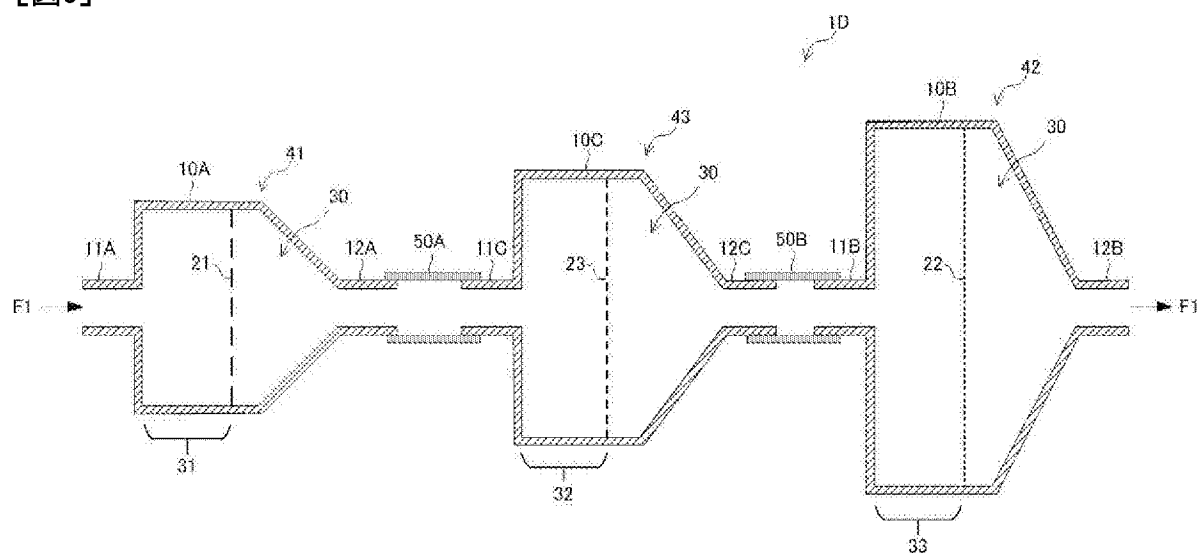
[図7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/022761

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. C12M3/02 (2006.01) i, C12M1/00 (2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. C12M3/02, C12M1/00

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/REGISTRY/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.
X	JP 2017-518767 A (CHILDREN'S MEDICAL CENTER CORPORATION, BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER, INC.) 13 July 2017, claims, fig. 1, paragraph [0017] & US 2017/0120237 A1, claims, fig. 7, paragraph [0025] & WO 2015/192020 A1 & EP 3154694 A1 & CN 106536056 A	1-6, 8-10
X	WO 2017/159367 A1 (MURATA MANUFACTURING CO., LTD.) 21 September 2017, claims, paragraphs [0041], [0067]-[0086], examples & US 2018/0362917 A1, claims, paragraphs [0091], [0117]-[0137], examples	1-10

☒ 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
27 August 2019 (27.08.2019)

Date of mailing of the international search report
03 September 2019 (03.09.2019)

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

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/022761

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2016-136956 A (LIPOGEMS INTERNATIONAL SRL) 04 August 2016, claims, paragraphs [0077]-[0084], fig. 5, paragraphs [0132], [0177], [0183], [0238]-[0244] & US 2013/0123747 A1, claims, paragraphs [0083]-[0090], fig. 5, paragraphs [0151], [0197], [0203], [0263]-[0271] & WO 2011/145075 A2 & EP 2571975 B1 & CN 103038333 A	1-10 1-10
Y	WO 2014/136581 A1 (KYOTO UNIVERSITY, NIPRO CORP.) 12 September 2014, claims, paragraphs [0037]-[0039], [0087], [0103] & US 2016/0060588 A1, paragraphs [0047]-[0049], [0097], [0115] & EP 2966163 A1	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M3/02(2006.01)i, C12M1/00(2006.01)i					
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M3/02, C12M1/00					
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 日本国公開実用新案公報 日本国実用新案登録公報 日本国登録実用新案公報 1922-1996年 1971-2019年 1996-2019年 1994-2019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), Cplus/REGISTRY/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			
X	JP 2017-518767 A (チルドレンズ メディカル センター コーポレイ ション、ベス・イスラエル・ディーコネス・メディカル・センター、 インコーポレイテッド) 2017.07.13, 特許請求の範囲、Fig.1、[O O 1 7] & US 2017/0120237 A1 Claims, Fig.7, [0025] & WO 2015/192020 A1 & EP 3154694 A1 & CN 106536056 A	1-6, 8-10			
X	WO 2017/159367 A1 (株式会社村田製作所) 2017.09.21, 特許請求の 範囲、[0041]、[0067] - [0086]、実施例 & US	1-10			
☒ 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。					
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> * 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 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> 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 </td> </tr> </table>				* 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
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献				
国際調査を完了した日 27.08.2019		国際調査報告の発送日 03.09.2019			
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 堂畑 厚志 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4 B 7880		

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
	2018/0362917 A1 Claims, [0091], [0117]-[0137], Examples	
X	JP 2016-136956 A (リポジェムズ インターナショナル ソシエタ ペ	1-10
Y	ル アチオニ) 2016.08.04, 特許請求の範囲、[0077] - [0084]、図5、[0132]、[0177]、[0183]、[0238] - [0244] & US 2013/0123747 A1 Claims, [0083]-[0090], Fig. 5, [0151], [0197], [0203], [0263]-[0271] & WO 2011/145075 A2 & EP 2571975 B1 & CN 103038333 A	1-10
Y	WO 2014/136581 A1 (国立大学法人京都大学、ニプロ株式会社) 2014.09.12, 特許請求の範囲、[0037] - [0039]、[0087]、[0103] & US 2016/0060588 A1 [0047]-[0049], [0097], [0115] & EP 2966163 A1	1-10