

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7653546号
(P7653546)

(45)発行日 令和7年3月28日(2025.3.28)

(24)登録日 令和7年3月19日(2025.3.19)

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N 27/26 (2006.01)

G 0 1 N 27/26 3 7 1 C

G 0 1 N 27/416(2006.01)

G 0 1 N 27/416 3 3 8

請求項の数 11 (全19頁)

(21)出願番号	特願2023-576695(P2023-576695)	(73)特許権者	314005768
(86)(22)出願日	令和4年12月19日(2022.12.19)		P H C ホールディングス株式会社
(86)国際出願番号	PCT/JP2022/046633		東京都千代田区有楽町一丁目 1 3 番 2 号
(87)国際公開番号	WO2023/145300	(74)代理人	100129012
(87)国際公開日	令和5年8月3日(2023.8.3)		弁理士 元山 雅史
審査請求日	令和6年5月20日(2024.5.20)	(72)発明者	池谷 生一郎
(31)優先権主張番号	特願2022-10830(P2022-10830)		愛媛県東温市南方 2 1 3 1 番地 1 P H
(32)優先日	令和4年1月27日(2022.1.27)		C 株式会社内
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)	(72)発明者	藤田 純孝
			愛媛県東温市南方 2 1 3 1 番地 1 P H
			C 株式会社内
		(72)発明者	福本 悟史
			愛媛県東温市南方 2 1 3 1 番地 1 P H
			C 株式会社内
		審査官	小澤 理

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 試料測定装置、試料測定方法および試料測定プログラム

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料測定センサの少なくとも作用極、対極および参照極を含む電極部が試料に浸漬された状態で、前記電極部に電圧を印加する電圧印加部と、

前記電極部に印加された電圧によって前記試料測定センサに流れる電流値を測定する電流測定部と、

前記電流測定部における測定結果に基づいて、前記試料に含まれる分析物の濃度を算出する濃度測定部と、

前記電圧印加部によって電圧が印加された状態で、前記電極部に含まれる前記対極の端子電圧を測定する対極端子電圧測定部と、

前記対極端子電圧測定部において測定された前記対極の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する測定エラー検出部と、

を備え、

前記測定エラー検出部は、前記試料以外の不純物の混入に起因するコンタミエラーの有無を検出するとともに、

前記測定エラー検出部は、前記対極端子電圧測定部における測定結果の変動速度が所定の閾値以下である場合には、前記コンタミエラーであると判定する、

試料測定装置。

【請求項 2】

前記測定エラー検出部は、前記電圧印加部から電圧が印加されてから所定時間経過する

まで前記測定を行わない見逃し期間を設定し、前記見逃し期間が経過した後で前記コンタミエラーの有無の判定を実施する、
請求項 1 に記載の試料測定装置。

【請求項 3】

前記測定エラー検出部は、前記電極部が前記試料に適切に浸漬されていない浸漬不良に起因する浸漬不良エラーの有無を検出する、
請求項 1 または 2 に記載の試料測定装置。

【請求項 4】

前記測定エラー検出部は、前記電圧印加部から電圧が印加されてから所定時間経過するまで前記測定を行わない見逃し期間を設定する、
請求項 3 に記載の試料測定装置。

10

【請求項 5】

前記測定エラー検出部は、前記見逃し期間において検出される前記対極の端子電圧が所定の範囲外である場合には、前記浸漬不良エラーであると判定する、
請求項 4 に記載の試料測定装置。

【請求項 6】

前記電圧印加部は、前記浸漬不良エラーがあると判定されると、電圧の印加を停止する、
請求項 5 に記載の試料測定装置。

【請求項 7】

前記測定エラー検出部における前記測定エラーの検出結果を表示する表示部を、さらに備えている、
請求項 1 または 2 に記載の試料測定装置。

20

【請求項 8】

試料測定センサの少なくとも作用極、対極および参照極を含む電極部が試料に浸漬された状態で、前記電極部に電圧を印加する電圧印加部と、
前記電極部に印加された電圧によって前記試料測定センサに流れる電流値を測定する電流測定部と、
前記電流測定部における測定結果に基づいて、前記試料に含まれる分析物の濃度を算出する濃度測定部と、
前記電圧印加部によって電圧が印加された状態で、前記電極部に含まれる前記対極の端子電圧を測定する対極端子電圧測定部と、
前記対極端子電圧測定部において測定された前記対極の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する測定エラー検出部と、
を備え、

30

前記試料測定センサは、少なくとも前記作用極、前記対極および前記参照極を含む前記電極部を備えており、

前記作用極は、電極部分の表面に塗布された試薬が保護膜によって覆われており、

前記参照極は、電極部分の表面が保護膜によって覆われており、

前記対極は、前記試料に対して電極部分が露出している、

試料測定装置。

40

【請求項 9】

前記対極の電極部分は、カーボンによって形成されている、
請求項 8 に記載の試料測定装置。

【請求項 10】

試料測定センサの少なくとも作用極、対極および参照極を含む電極部が試料に浸漬された状態で、前記電極部に電圧を印加する電圧印加ステップと、

前記電圧印加ステップにおいて印加された電圧によって前記試料測定センサに流れる電流値を測定する電流測定ステップと、

前記電流測定ステップにおける測定結果に基づいて、前記試料に含まれる分析物の濃度を算出する濃度測定ステップと、

50

前記電圧印加ステップにおいて電圧が印加された状態で、前記電極部に含まれる前記対極の端子電圧を測定する対極端子電圧測定ステップと、

前記対極端子電圧測定ステップにおいて測定された前記対極の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する測定エラー検出ステップと、
を備え、

前記測定エラー検出ステップでは、前記試料以外の不純物の混入に起因するコンタミエラーの有無を検出するとともに、

前記測定エラー検出ステップでは、前記対極端子電圧測定ステップにおける測定結果の変動速度が所定の閾値以下である場合には、前記コンタミエラーであると判定する、
試料測定方法。

10

【請求項 1 1】

試料測定センサの少なくとも作用極、対極および参照極を含む電極部が試料に浸漬された状態で、前記電極部に電圧を印加する電圧印加ステップと、

前記電圧印加ステップにおいて印加された電圧によって前記試料測定センサに流れる電流値を測定する電流測定ステップと、

前記電流測定ステップにおける測定結果に基づいて、前記試料に含まれる分析物の濃度を算出する濃度測定ステップと、

前記電圧印加ステップにおいて電圧が印加された状態で、前記電極部に含まれる前記対極の端子電圧を測定する対極端子電圧測定ステップと、

前記対極端子電圧測定ステップにおいて測定された前記対極の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する測定エラー検出ステップと、
を備え、

20

前記測定エラー検出ステップでは、前記試料以外の不純物の混入に起因するコンタミエラーの有無を検出するとともに、

前記測定エラー検出ステップでは、前記対極端子電圧測定ステップにおける測定結果の変動速度が所定の閾値以下である場合には、前記コンタミエラーであると判定する、
試料測定方法をコンピュータに実行させる試料測定プログラム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

30

本発明は、例えば、細胞培養を行う際に試料の測定を行う試料測定装置、試料測定方法および試料測定プログラムに関する。

【背景技術】

【0002】

従来の細胞培養分析装置は、基体と、基体に設けられた貫通孔部分に固定されたセンサと、センサに接続され信号を取り出すためのリード線とを備えていた。

例えば、特許文献 1 には、液体細胞培地に浸漬された状態で、培地内の細胞培養環境の測定を行うセンサについて開示されている。

特許文献 2 には、培地にセンサを配置するための昇降機構（エレベータ）を備えた構成について開示されている。

40

【0003】

特許文献 3 には、培地内にセンサが浸漬されて容器内の培地に含まれる細胞を分析する装置および方法について開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【文献】米国特許出願公開第 2014 / 0186876 号明細書

【文献】米国特許出願公開第 2016 / 0077083 号明細書

【文献】米国特許第 7638321 号明細書

【発明の概要】

50

【 0 0 0 5 】

しかしながら、上記従来のセンサ、装置および方法では、以下に示すような問題点を有している。

一般的に、細胞培養は、複数の窪み部分（ウェル）を含むウェルプレートに培地を注入して行われるため、1個1個のウェルに注入される培地の量にばらつきが生じる場合がある。よって、培地にセンサを浸漬させた状態で細胞培養を行う際に、培地の入れ忘れ、培地の量のバラツキ等によってセンサの測定電極を含む部分が十分に浸漬されず、測定エラーが発生するおそれがある。

【 0 0 0 6 】

また、細胞培養は、高温高湿環境下において行われるため、カビ等の不純物（コンタミ）がセンサに付着して測定結果に悪影響を及ぼすおそれがある。

10

このため、上記従来の構成では、センサの浸漬不良やカビ等のコンタミ発生を考慮した構成にはなっておらず、センサ浸漬不良やコンタミ発生等に起因する測定エラーの発生を正確に検出することは困難であった。

【 0 0 0 7 】

本発明の課題は、正確な測定を行うために、センサ浸漬不良やコンタミ発生等に起因する測定エラーの発生を検出することが可能な試料測定装置、試料測定方法および試料測定プログラムを提供することにある。

【 0 0 0 8 】

本発明に係る試料測定装置は、電圧印加部と、電流測定部と、濃度測定部と、対極端子電圧測定部と、測定エラー検出部と、を備えている。電圧印加部は、少なくとも作用極、対極および参照極を含む電極部が試料に浸漬された状態で電圧が印加される試料測定センサの電極部に電圧を印加する。電流測定部は、電極部に印加された電圧によって試料測定センサに流れる電流値を測定する。濃度測定部は、電流測定部における測定結果に基づいて、試料に含まれる分析物の濃度を算出する。対極端子電圧測定部は、電圧印加部によって電圧が印加された状態で、電極部に含まれる対極の端子電圧を測定する。測定エラー検出部は、対極端子電圧測定部において測定された対極の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する。

20

【 0 0 0 9 】

（発明の効果）

30

本発明に係る試料測定装置によれば、正確な測定を行うために、センサ浸漬不良やコンタミ発生等に起因する測定エラーの発生を検出することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図 1】本発明の一実施形態に係るセンサユニットを備えた細胞培養分析装置を示す全体図。

【図 2】図 1 の細胞培養分析装置に含まれる分析ユニットの構成を示す斜視図。

【図 3】図 2 の分析ユニット内にセンサ付き培養モジュールがセットされる状態を示す斜視図。

【図 4】室温環境下の安全キャビネット内におけるセンサ付き培養モジュールに対する処理を示す概略図。

40

【図 5】図 4 のセンサ付き培養モジュールに含まれるセンサの下端部が浸漬される複数のウェルを含むウェルプレートを示す上面図。

【図 6】図 4 のセンサ付き培養モジュールに含まれる複数のセンサを示す斜視図。

【図 7】図 6 のセンサの下端部がウェル内の培地に浸漬された状態を示す斜視図。

【図 8】図 6 のセンサの構成を示す平面図。

【図 9】（ a ）は、図 8 のセンサの電極部に含まれる作用極の部分の構成を示す断面図。

（ b ）は、図 8 のセンサの電極部に含まれる対極および参照極の部分の構成を示す断面図。

【図 1 0】図 1 の細胞培養分析装置の制御ブロック図。

【図 1 1】図 8 のセンサの測定部の回路構成における対極の挙動について説明する図。

50

【図 1 2】(a) は、経過時間とセンサ電流値との関係を示すグラフ。(b) は、経過時間と対極の端子電圧との関係を示すグラフ。

【図 1 3】(a), (b), (c) は、正常時、コンタミ発生時、浸漬不良時の対極の端子電圧と経過時間との関係を示すグラフ。

【図 1 4】図 1 の細胞培養分析装置による試料測定方法の処理の流れを示すフローチャート。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明の一実施形態に係る細胞培養測定装置（試料測定装置）1 について、図 1 ～ 図 1 4 を用いて説明すれば以下の通りである。

10

なお、本実施形態では、必要以上に詳細な説明は省略する場合がある。例えば、既によく知られた事項の詳細説明や実質的に同一の構成に対する重複説明を省略する場合がある。これは、以下の説明が不必要に冗長になるのを避け、当業者の理解を容易にするためである。

また、出願人は、当業者が本発明を十分に理解するために添付図面および以下の説明を提供するのであって、これらによって特許請求の範囲に記載の主題を限定することを意図するものではない。

【0012】

<細胞培養分析装置 1 の概要説明>

本実施形態の細胞培養分析装置 1 は、複数のウェル（培養容器）25 a を含むウェルプレート 25（図 5 参照）に入れられた培地（液体試料）X（図 7 参照）内にセンサ（試料測定センサ）30 の一部を浸漬させた状態で電気化学的に培地 X に含まれる特定の成分（例えば、グルコース、乳酸等）の濃度を検出し、培養状態（細胞の代謝等）の分析を行う。

20

【0013】

細胞培養分析装置 1 は、図 1 に示すように、分析ユニット 2 と、分析ユニット 2 が内部空間に載置されるインキュベータ 3 と、分析ユニット 2 を制御するとともに分析結果を表示する制御ユニット 4 と、を備えている。また、分析ユニット 2 と制御ユニット 4 とは、電気ケーブル 5 によって接続されている。

分析ユニット 2 は、インキュベータ 3 の正面に開閉可能に取り付けられた透明な扉 3 a を開けて、内部空間にセットされる。そして、分析ユニット 2 と電気ケーブル 5 を介して接続された制御ユニット 4 は、インキュベータ 3 の外部に配置されている。

30

【0014】

これにより、使用者は、インキュベータ 3 の扉 3 a を開閉することなく、インキュベータ 3 内の培養状態を制御ユニット 4 によって分析することで、インキュベータ 3 内のコンタミネーションによる空気汚染を防止することができる。

分析ユニット 2 は、インキュベータ 3 内に複数台設置できるように、横（幅）方向は短く、高さ方向は低く、奥行き方向に長くなるように設計されている。

【0015】

分析ユニット 2 は、図 2 および図 3 に示すように、センサ付き培養モジュール 20、本体部 21、引き出し部 22 および昇降機構 23 を備えている。

40

また、分析ユニット 2 は、図 1 に示すように、予めインキュベータ 3 内に配置され、電気ケーブル 5 によって制御ユニット 4 に接続される。そして、細胞の培養分析を行う時に、組み立てられたセンサ付き培養モジュール 20 が、図 3 に示すように、使用者によってインキュベータ 3 内の本体部 21 にセットされる。

【0016】

分析ユニット 2 は、引き出し部 22 によって本体部 21 の内部にセンサ付き培養モジュール 20 を引き入れた状態で、昇降機構 23 によって、プローブホルダ（図示せず）側へ持ち上げられるように構成されている。

なお、分析ユニット 2 の詳細な構成については、後段にて詳述する。

センサ付き培養モジュール 20 は、図 4 に示すように、例えば、室温環境下（例えば、

50

気温 25 度) の安全キャビネット C 1 内において、図 5 に示すウェルプレート 25 の各ウェル 25 a に培地 X が充填され (図 7 参照)、細胞が播種された後、組み立てられる。組み立てられたセンサ付き培養モジュール 20 は、高温多湿環境 (37 度、湿度 90 % 以上) に保持されたインキュベータ 3 内の分析ユニット 2 にセットされる。つまり、組み立てられたセンサ付き培養モジュール 20 は、室温環境下から高温多湿環境下 (例えば、気温 37 度、湿度 90 % 以上) に移動される。

【0017】

なお、センサ付き培養モジュール 20 が室温環境下から高温多湿環境下へ移動した後、カビ等の不純物のセンサ表面への付着に起因するコンタミエラー、あるいはセンサ 30 が十分に培地 X へ浸漬されない浸漬不良エラー等を含む測定エラーの発生を抑制する構成については、後段にて詳述する。

10

センサ 30 は、例えば、樹脂材料である PET (ポリエチレンテレフタレート) フィルム上面に、スパッタリングによってカーボンの電極層が形成されて構成されている。そして、センサ 30 は、図 6 に示すように、本体部 31、検出部 (電極部) 31 a、接続端子部 31 b、折り曲げ部 32 および連結部 33 を有している。

【0018】

本体部 31 は、略長方形の平板状の部材であって、その上端部において折り曲げ部 32 と連結されている。

検出部 (電極部) 31 a は、図 7 に示すように、本体部 31 の下端部に設けられ、ウェル 25 a に入れられた培地 X に浸漬された状態で各測定電極に所定の電圧が印加されることで、電気化学的に培地 X に含まれる特定の成分 (例えば、グルコース、乳酸等) の濃度を測定する。検出部 31 a は、図 8 に示すように、下向きの略 T 字形状の本体部 31 の下端部の幅が広い部分の表面に設けられており、測定電極 (作用極 31 a a、31 a d、対極 31 a b、参照極 31 a c) を含む。

20

【0019】

検出部 31 a に含まれる各測定電極は、レーザによって電極層を蒸散させ、分割されることによって形成される。なお、各測定電極は、配線間の絶縁性向上のため、スクリーン印刷によって電極パターンが形成されてもよい。

ここで、例えば、培地 X に含まれるグルコースの濃度を測定する場合には、作用極の表面に固定化された試薬層には、グルコース酸化酵素として、例えば、グルコースオキシダーゼ (GOx)、グルコースデヒドロゲナーゼ (GDH)、さらにはレドックスメディエータが含まれ得る。

30

【0020】

グルコースの濃度は、保護膜を通して培地 X から透過してきたグルコースが、試薬層の酵素 (例えば、GOx、GDH) との反応で酸化されてグルコノラクトンとなり、同時に生成されるレドックスメディエータの還元体、もしくは過酸化水素の酸化反応によって生じる電子を電流値に変換することで測定される。

折り曲げ部 32 は、図 6 に示すように、本体部 31 と連結部 33 との間を連結する部分であって、所定の折り曲げ線に沿って略直角に折り曲げられる。これにより、連結部 33 は、本体部 31 に対して略直角に配置される。

40

【0021】

連結部 33 は、図 6 および図 8 に示すように、折り曲げ部 32 を介して、横方向に配置された 4 つのセンサ 30 の本体部 31 の上端部を互いに連結する。

接続端子部 31 b は、図 8 に示すように、4 つ 1 組で 1 つのセンサ 30 の検出部 31 a の各測定電極に対応して配置された 4 つの電極 31 c と接続されている。

検出部 31 a に含まれる 4 つの測定電極のうち、作用極 31 a a は、センサ 30 の本体部 31 における左端に配置されており、乳酸を測定するための試薬が塗布された試薬層 35 を含んでいる。また、作用極 31 a a は、図 9 (a) に示すように、基材 34 の上面に形成された電極として設けられている。そして、作用極 31 a a の電極として使用される部分の上面に、試薬層 35 が設けられている。試薬層 35 の周囲には、試薬層 35 を取り

50

囲むように絶縁層 3 8 が設けられている。さらに、試薬層 3 5 の上面には、測定対象（乳酸）を透過させる保護膜 3 7 が設けられている。絶縁層 3 8 の上面には、粘着層 3 6 を介して、さらに絶縁層 3 8 が設けられている。

【 0 0 2 2 】

これにより、作用極 3 1 a a の上面には、試薬層 3 5 が設けられているため、保護膜 3 7 を通じて浸透してきた乳酸が試薬層 3 5 において試薬と反応することで、作用極 3 1 a a において測定される電流値が変化する。よって、この電流値の変化を検出することで、培地 X に含まれる乳酸の濃度変化を検出することができる。

対極 3 1 a b は、センサ 3 0 の本体部 3 1 における作用極 3 1 a a と参照極 3 1 a c との間に配置されている。また、対極 3 1 a b は、図 9 (b) に示すように、その表面が培地 X と直接接触するように、試薬層や保護膜が設けられておらず、露出した状態で設けられている。

10

【 0 0 2 3 】

これにより、後述する対極端子電圧を測定する際に、例えば、対極 3 1 a b の表面を覆うようにカビ等の不純物（コンタミ）が発生した場合には、対極 3 1 a b の表面積が小さくなることで生じる対極端子電圧の変化を感度良く検出して、コンタミエラーを高精度に検出することができる。

また、対極 3 1 a b の電極部分は、カーボンによって成形されている。カーボンは、金等の電極と比較して凹凸があり多孔質であることから、対極 3 1 a b の表面には、カビが付着しやすく、電極の反応面積が低下してコンタミの発生を検知し易くなる。

20

【 0 0 2 4 】

参照極 3 1 a c は、図 8 に示すように、センサ 3 0 の本体部 3 1 における対極 3 1 a b と作用極 3 1 a d との間に配置されている。そして、参照極 3 1 a c は、銀塩化銀によって形成されており、図 9 (b) に示すように、その表面が保護膜 3 7 によって覆われている。

作用極 3 1 a d は、センサ 3 0 の本体部 3 1 における右端に配置されており、グルコースを測定するための試薬が塗布された試薬層 3 5 を含んでいる。また、作用極 3 1 a d は、図 9 (a) に示すように、作用極 3 1 a a と同様に、基材 3 4 の上面に形成された電極として設けられている。そして、作用極 3 1 a d の電極として使用される部分の上面に、試薬層 3 5 が設けられている。試薬層 3 5 の周囲には、試薬層 3 5 を取り囲むように絶縁層 3 8 が設けられている。さらに、試薬層 3 5 の上面には、測定対象（グルコース）を透過させる保護膜 3 7 が設けられている。絶縁層 3 8 の上面には、粘着層 3 6 を介して、さらに絶縁層 3 8 が設けられている。

30

【 0 0 2 5 】

これにより、作用極 3 1 a d の上面には、試薬層 3 5 が設けられているため、保護膜 3 7 を通じて浸透してきたグルコースが試薬層 3 5 において試薬と反応することで、作用極 3 1 a d において測定される電流値が変化する。よって、この電流値の変化を検出することで、培地 X に含まれるグルコースの濃度変化を検出することができる。

保護膜 3 7 は、培養中の細胞に対して毒性のある試薬を含む試薬層 3 5 および参照極 3 1 a c 上に設けられた銀塩化銀等が、培地 X 中に溶出しなくするために設けられている。また、保護膜 3 7 が設けられていることで、分析対象（グルコースおよび乳酸）の透過性を抑制し、試薬層 3 5 に含まれる試薬の反応性を制限することで、例えば、1 4 日間の長期測定が可能になる。

40

【 0 0 2 6 】

ここで、作用極 3 1 a a , 3 1 a d は、平面視において略円形の開口から露出するように形成されている。これにより、作用極 3 1 a a , 3 1 a d の上面に設けられる保護膜 3 7 を、略均等に塗布することができる。

一方、対極 3 1 a b は、上述したように、試薬層や保護膜が設けられないため、培地 X と接触する表面積ができるだけ大きくなるように、略四角形の開口から吐出するように形成されている。これにより、後述する測定エラーの検出時に測定される対極端子電圧の測

50

定感度を向上させることができる。

【0027】

4つの電極31cは、細胞培養分析装置1（プローブホルダ（図示せず））と電氣的に接続される接点として、センサ30の上部に設けられている。電極31cは、センサ30の本体部31の下部に配置された検出部31aに含まれる各測定電極（作用極31aa、31ad、対極31ab、参照極31ac）に電氣的に接続されている。

本実施形態では、センサユニット28に含まれる複数のセンサ30は、図6に示すように、本体部31と、本体部31の下端側に配置され培地X内に浸漬されて培地Xの成分を測定する検出部31aと、本体部31の上端側において複数のセンサ30を連結する連結部33と、を備えている。

10

【0028】

これにより、複数のセンサ30は、連結部33によって互いに連結された状態でボトムプレート27の上面に対して取り付けられるため、互いに連結されたセンサ30同士的位置を正確に規定することができる。

よって、ウェルプレート25に含まれる複数のウェル（培養容器）25aに対する個々のセンサ30の位置精度（位置・角度等）を向上させることができる。

【0029】

この結果、ウェル25a内に入れられた培地Xに対する個々のセンサ30の浸漬深さがほぼ一定になるため、安定した測定結果を得ることができる。

一方、ウェル15aに対する個々のセンサ30の位置精度は向上するものの、ウェルプレート25には、複数（本実施形態では24個）のウェル25aが含まれている。このため、個々のウェル25aに、規定量の培地Xを正確に注入することは困難であるとともに、人為的な培地Xの入れ忘れ、注入量の間違い等のミスも生じるおそれがある。よって、ウェル25aごとに入れられた培地Xの量にばらつきが生じ、センサ30の検出部31aをウェル25a内の培地Xに浸漬する際に、培地Xの量が少なすぎて検出部31aが十分に浸漬されない浸漬不良エラーが発生するおそれがある。

20

【0030】

さらに、細胞培養を行う環境は、上述したように、高温多湿環境となるため、細胞の培養中にカビ等の不純物（コンタミ）が発生しやすい。例えば、このようなカビ等の不純物（コンタミ）が、ウェル25a内の培地Xに浸漬された状態でセンサ30の表面等に付着して成長すると、測定対象（グルコース、乳酸）の測定結果に悪影響を及ぼすおそれがある。

30

【0031】

本実施形態の細胞培養分析装置1では、このような測定エラー（浸漬不良エラー、コンタミエラー）の発生を高精度に検出するために、分析ユニット2が、図10に示すように、電気化学測定部11と、制御部12と、記憶部13と、通信部14と、を備えている。

電気化学測定部11は、3極構成のセンサ30の電極に対して所定の電圧を印加して測定対象の濃度を測定するポテンショスタットであって、図10に示すように、電圧印加部11aと、電流測定部11bと、電圧測定部（対極端子電圧測定部）11cとを有している。

40

【0032】

電圧印加部11aは、上述した3極構成のセンサ30に対して、培地Xに含まれるグルコース、乳酸の濃度を測定するための所定の電圧を印加する。

電流測定部11bは、電圧印加部11aからセンサ30の電極に対して電圧が印加されて測定されるセンサ30を流れる電流値の変化を検出する。これにより、作用極31aaを流れる電流値の変化に応じて、乳酸の濃度を測定し、作用極31adを流れる電流値の変化に応じて、グルコースの濃度を測定することができる（図11参照）。

【0033】

電圧測定部11cは、測定エラー（浸漬不良エラー、コンタミエラー）の発生を検出するために、センサ30の対極31abの端子電圧を測定する。電圧測定部11cにおいて

50

測定された結果は、通信部 14 を介して、制御ユニット 4 へ送信される。

制御部 12 は、図 10 に示すように、電圧印加部 11a、電流測定部 11b、電圧測定部 11c、記憶部 13 および通信部 14 と接続されている。制御部 12 は、電圧印加部 11a に対して、センサ 30 に対して所定の電圧を印加するように制御するとともに、電流測定部 11b および電圧測定部 11c における測定結果を、制御ユニット 4 に送信するように、通信部 14 を制御する。

【0034】

記憶部 13 は、図 10 に示すように、制御部 12 と接続されており、例えば、測定対象ごとに予め設定された印加電圧の値、電流測定部 11b および電圧測定部 11c における測定結果等のデータを保存する。

10

通信部 14 は、図 10 に示すように、制御部 12 によって制御され、制御ユニット 4 の解析部 42 に対して、電流測定部 11b および電圧測定部 11c における測定結果等のデータを送信する。

【0035】

制御ユニット 4 は、図 10 に示すように、通信部 14 を介して分析ユニット 2 との間で通信可能であって、表示部 41 と、解析部 42 とを備えている。

表示部 41 は、解析部 42 における解析の結果として、例えば、電流測定部 11b において測定されたセンサ電流値からグルコース、乳酸の濃度変化、電圧測定部 11c において測定された対極端子電圧の値から測定エラーの検出結果等を表示する。

【0036】

20

解析部 42 は、例えば、PC (Personal Computer) であって、電流測定部 11b において測定された作用極 31aa, 31ad を流れるセンサ電流値の変化に基づいて、測定対象となる乳酸、グルコースの濃度を測定することで、培養中の細胞の代謝分析を行う。また、解析部 42 は、電圧測定部 11c において測定された対極端子電圧の変化に基づいて、後述する測定エラー (コンタミエラー、浸漬不良エラー) の有無を検出する。

【0037】

< 測定エラーの検出 >

本実施形態の細胞培養分析装置 1 は、上述した構成を備えており、電圧測定部 11c において測定された対極端子電圧を測定することで、カビ等の不純物がセンサ表面に付着して測定結果の精度が低下するコンタミエラー、あるいはウェルプレート 25 のウェル 25a に入れられた培地 X の充填量のバラツキによってセンサが十分に浸漬されない浸漬不良エラー等を含む測定エラーを検出する。

30

【0038】

ここで、図 11、図 12 (a) および図 12 (b) を用いて、対極端子電圧の測定によって、測定エラーの検出が可能となる原理について説明する。

なお、図 12 (a) および図 12 (b) は、対極端子電圧の振る舞いを分かりやすく説明するためのグラフであって、実際の測定では、細胞代謝はグルコースを消費して乳酸を産生するため、グルコース電流値は時間経過とともに減少し、乳酸電流は増加するものとする。

【0039】

40

図 11 に示すセンサ 30 内の回路が正常に動作しているとき、対極 31ab と作用極 31aa, 31ad に流れる電流 i_{Lac} , i_{Glc} は等価である。そして、図 12 (a) に示すように、作用極 31aa, 31ad に流れる電流 i_{Lac} , i_{Glc} が増加すると、対極 31ab 側の電流が増加する方向に対極端子電圧が変化する。

換言すれば、対極 31ab 側の電流が増加する方向に対極端子電圧が変化すると、対極 31ab における単位電極面積当たりの反応が増加することと同義である。これは、対極 31ab の駆動力が大きくなる、すなわち、図 12 (b) に示すように、参照極 31ac と対極 31ab との間の電圧差 (RE - CE) が大きくなる、ことを意味している。

【0040】

よって、回路的には、図 12 (b) に示すように、対極 31ab に接続されているオペ

50

アンプ出力（対極端子電圧）が、マイナス方向へ変化する。すなわち、センサ電流が増加すると、対極端子電圧は低下していく。

これにより、例えば、高温多湿環境下に設置されたセンサ 30 の表面、特に対極 31 a b の表面に、カビ等の不純物が発生し増殖されていくと、対極端子電圧は急激に低下していく。

【0041】

本実施形態の細胞培養分析装置 1 では、以上のことから、対極端子電圧を測定することで、センサ 30 において生じたコンタミエラーおよび浸漬不良エラーを検出し、精度が低下した状態でグルコース濃度および乳酸の濃度の測定が実施されることを回避する。

より具体的には、本実施形態の細胞培養分析装置 1 では、解析部 42 が、図 13 (a) に示すように、センサ 30 に対する電圧の印加開始からの所定の期間、測定を実施しない見逃し期間を設定している。

【0042】

この見逃し期間の設定は、センサ 30 への電圧印加を開始した直後の数時間は、電圧印加前のセンサ 30 の状態によって対極端子電圧が大きく変化するおそれがあり、測定結果にばらつきが生じるおそれがあるためである。

なお、センサ 30 を培地 X へ浸漬した後、電圧の印加前の状態ではメディエータ試薬の作用によって還元物質が増加していく。そのためセンサ 30 の浸漬から電圧印加までの時間によって、電圧印加直後に流れるセンサ電流の大きさに差が生じる。すなわち、浸漬から電圧印加までの時間が長いほど、大きなセンサ電流が流れる。よって、回路的には、作用極 31 a a , 31 a d と等価の大きな電流を対極 31 a b に流すために、対極 31 a b の端子電圧を下げるよう制御する。

【0043】

このため、対極端子電圧の変動速度が大きくなりやすい電圧印加開始直後の数時間が、見逃し期間（不感帯）として設定される。

次に、コンタミエラーの検出について、図 13 (b) を用いて説明する。

図 13 (b) に示すように、見逃し期間を経過後、カビ等の不純物（コンタミ）がセンサ 30 の表面に発生して増殖されると、途中から急激に対極端子電圧が低下していく。

【0044】

このとき、対極端子電圧は、細胞代謝によっても低下するが、コンタミ発生時には、細胞代謝時よりもさらに急峻に低下する（細胞代謝と比較してマイナスの変化速度が大きい）。

よって、解析部 42 は、対極端子電圧のマイナス変化率が所定の閾値未満であるか否かを判定し、所定の閾値未満であった場合には、コンタミエラー発生と判定するとともに、表示部 41 へコンタミエラー発生と表示することで、使用者に対して異常の発生を報知することができる。

【0045】

次に、浸漬不良エラーの検出について、図 13 (c) を用いて説明する。

センサ 30 の検出部 31 a が培地 X に十分浸漬されている場合には、対極 31 a b に接続されているオペアンプ出力と、参照極 31 a c に接続されているオペアンプ反転入力とが液を介して接続され、クローズドループが形成される。対極 31 a b に接続されているオペアンプ出力電圧は、参照極参照極 31 a c に接続されている「オペアンプ反転入力の電圧」と、参照極電圧設定用 D/A コンバータに接続されている「オペアンプ非反転入力の電圧」とが、等しくなるように所定の範囲内で推移する。

【0046】

一方で、センサ 30 の検出部 31 a が培地 X に十分浸漬されていない浸漬エラーが発生している場合には、対極 31 a b に接続されているオペアンプ出力と、参照極 31 a c に接続されているオペアンプ反転入力とが液を介して接続されないため、オープンループとなる。

そのためオペアンプは、コンパレータとして動作し、対極 31 a b に接続されているオ

10

20

30

40

50

ペアンプ出力電圧（対極端子電圧）は、初期の段階（見逃し期間中）でLoかHiかいずれかの状態となる。すなわち、対極端子電圧が底打ちする（ほぼ0になる）か、頭打ちする（ほぼオペアンプの最大出力電圧）ことになる。

【0047】

なお、電圧印加開始時に浸漬状態に問題がない場合には、高温多湿環境下の細胞培養中に途中から浸漬エラーとなるケースは考えにくい。すなわち、ウェル25aに規定量の培地Xが注入されていれば、細胞培養中に培地Xの一部が蒸発したとしても浸漬エラーとなることはない。

よって、解析部42は、見逃し期間中に、対極端子電圧が所定の範囲を逸脱したか否かを判定し、所定の範囲を逸脱した場合には、浸漬エラー発生と判定するとともに、表示部41へ浸漬エラー発生と表示することで、使用者に対して異常の発生を報知することができる。

10

【0048】

<測定エラーの検出方法>

本実施形態の細胞培養分析装置1では、上述したように、3極構成のセンサ30の対極31abに係る対極端子電圧を測定することで、上述した測定エラー（コンタミエラーおよび浸漬不良エラー）を検出する。

ここでは、図14のフローチャートを用いて、測定エラーの検出方法の処理の流れを説明する。

すなわち、ステップS11では、分析ユニット2の電気化学測定部11に含まれる電圧印加部11aが、センサ30に対して所定の電圧を印加した後、解析部42が、電圧測定部11cから、通信部14を介して、センサ30の対極31abに掛かる対極端子電圧を受信する。

20

【0049】

次に、ステップS12では、解析部42が、受信した対極端子電圧が見逃し期間内に測定された結果であるか否かを判定する。

ここで、見逃し期間の測定結果であった場合には、ステップS13以降の浸漬エラーの判定処理へ進む。一方、見逃し期間内の測定結果ではなく、見逃し期間が経過した後の測定結果であった場合には、ステップS17以降のコンタミエラーの判定処理へ進む。

【0050】

30

次に、ステップS13では、受信した対極端子電圧がステップS12において見逃し期間内の測定結果であると判定されたため、解析部42が、浸漬エラーの有無を判定するために、対極端子電圧の値が所定の範囲外であるか否かを判定する。

ここで、対極端子電圧の値が所定の範囲外である場合には、浸漬エラー発生ありと判断し、ステップS14へ進む。一方、対極端子電圧の値が所定の範囲内である場合には、浸漬エラーは発生していないと判断し、ステップS16へ進む。

【0051】

次に、ステップS14では、ステップS13において、対極端子電圧の値が所定の範囲外であると判定されたため、発生していると思われる浸漬エラーを、表示部41において使用者に報知済みであるか否かを判定する。

40

ここで、報知済みである場合には、ステップS16へ進み、報知されていない場合には、ステップS15へ進む。

【0052】

次に、ステップS15では、まだ報知されていない浸漬エラーの発生を報知するために、表示部41が、浸漬エラーが発生している旨の表示を行う。そして、培地Xにセンサ30の検出部31aが十分に浸漬されていない状態で電圧が印加されたままでは、センサ30が故障してしまうおそれがあるため、制御部12が、電圧印加部11aからセンサ30に対する電圧の印加を停止させ、ステップS22へ進む。

【0053】

次に、ステップS16では、ステップS13において対極端子電圧の値が所定の範囲内

50

であると判定された、あるいは、ステップ S 1 4 において浸漬エラー発生を報知済みと判定されたため、培養を継続するか否かが判定される。

ここで、使用者が培養を継続することを選択すると、ステップ S 1 1 へ戻って、測定エラーの判定処理を繰り返す。一方、使用者が培養を継続しないことを選択すると、処理を終了する。

【 0 0 5 4 】

一方、ステップ S 1 7 では、受信した対極端子電圧がステップ S 1 2 において見逃し期間外の測定結果であると判定されたため、解析部 4 2 が、コンタミエラーの有無を判定するために、経過時間における対極端子電圧のマイナスの変化速度を算出する。

次に、ステップ S 1 8 では、ステップ S 1 7 において算出された対極端子電圧のマイナスの変化速度が、所定の閾値未満であるか否かを判定する。

10

【 0 0 5 5 】

ここで、閾値未満である場合には、コンタミエラー発生ありと判定し、ステップ S 1 9 へ進む。一方、閾値以上である場合には、ステップ S 2 1 へ進む。

次に、ステップ S 1 9 では、ステップ S 1 8 において、対極端子電圧のマイナスの変化速度が所定の閾値未満であると判定されたため、発生していると思われるコンタミエラーの発生を、表示部 4 1 において使用者に報知済みであるか否かを判定する。

【 0 0 5 6 】

ここで、報知済みである場合には、ステップ S 2 1 へ進み、報知されていない場合には、ステップ S 2 0 へ進む。

20

次に、ステップ S 2 0 では、まだ報知されていないコンタミエラーの発生を報知するために、表示部 4 1 が、コンタミエラーが発生している旨の表示を行う。

次に、ステップ S 2 1 では、ステップ S 1 8 において対極端子電圧の変化速度が所定の閾値以上であると判定された、あるいは、ステップ S 1 9 においてコンタミエラー発生を報知済みと判定されたため、培養を継続するか否かが判定される。ここで、使用者が培養を継続することを選択すると、ステップ S 1 1 へ戻って、測定エラーの判定処理を繰り返す。一方、使用者が培養を継続しないことを選択すると、処理を終了する。

【 0 0 5 7 】

次に、ステップ S 2 2 では、ステップ S 1 5 において浸漬エラーの発生を報知、ステップ S 2 0 においてコンタミエラーの発生を報知した後、培養を中断するか否かが選択される。

30

このとき、使用者の判断によって培養を中断するか否かを選択可能であるが、通常は、カビ等の付着がある場合には、培養の継続は不可能と判断して、処理を終了する。

【 0 0 5 8 】

< 主な特徴 >

本実施形態の細胞培養分析装置 1 は、図 1 0 に示すように、電圧印加部 1 1 a と、電流測定部 1 1 b と、電圧測定部 1 1 c と、解析部 4 2 と、を備えている。電圧印加部 1 1 a は、センサ 3 0 の作用極 3 1 a a , 3 1 a d、対極 3 1 a b および参照極 3 1 a c を含む検出部 3 1 a が培地 X に浸漬された状態で、検出部 3 1 a に電圧を印加する。電流測定部 1 1 b は、検出部 3 1 a に印加された電圧によってセンサ 3 0 に流れる電流値を測定する。解析部 4 2 は、電流測定部 1 1 b における測定結果に基づいて、培地 X に含まれるグルコース、乳酸の濃度を算出する。電圧測定部 1 1 c は、電圧印加部 1 1 a によって印加された電圧によって、検出部 3 1 a に含まれる対極 3 1 a b の端子電圧を測定する。解析部 4 2 は、電圧測定部 1 1 c において測定された対極 3 1 a b の端子電圧に基づいて、測定エラーを検出する。

40

【 0 0 5 9 】

これにより、センサ 3 0 の検出部 3 1 a が十分に培地 X 内に浸漬されていない場合や、センサ 3 0 の表面にカビ等の不純物が付着した場合に、一定の挙動を示す対極端子電圧の変化をモニタリングすることで、測定エラーの発生を高精度に検出することができる。

この結果、センサ浸漬不良やコンタミ発生等に起因する測定エラーの発生を高精度に検

50

出して、測定対象となるグルコース、乳酸等の測定を精度良く実施することができる。

【 0 0 6 0 】

[他の実施形態]

以上、本発明の一実施形態について説明したが、本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、発明の要旨を逸脱しない範囲で種々の変更が可能である。

(A)

上記実施形態では、試料測定装置および試料測定方法として、本発明を実現した例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、上述した試料測定装置による試料測定方法をコンピュータに実行させる試料測定プログラムとして本発明を実現してもよい。

10

【 0 0 6 1 】

この試料測定プログラムは、試料測定装置に搭載されたメモリ（記憶部）に保存されており、CPUがメモリに保存された試料測定プログラムを読み込んで、ハードウェアに各ステップを実行させる。より具体的には、CPUが試料測定プログラムを読み込んで、上述した電圧印加ステップと、電流測定ステップと、濃度測定ステップと、対極端子電圧測定ステップと、測定エラー検出ステップと、を実行することで、上記と同様の効果を得ることができる。

また、本発明は、試料測定プログラムを保存した記録媒体として実現されてもよい。

【 0 0 6 2 】

(B)

20

上記実施形態では、本発明の試料測定装置に含まれる濃度測定部および測定エラー検出部が、制御ユニット4側の解析部42として設けられている例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、分析ユニット2側の制御部12が、濃度測定部および測定エラー検出部として機能する構成であってもよい。

【 0 0 6 3 】

(C)

上記実施形態では、グルコース測定用と乳酸測定用の2つの作用極31aa, 31adを含むセンサ30を用いた例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

30

例えば、作用極、対極、参照極が1つずつ設けられた3極構成のセンサを用いた構成であってもよい。

【 0 0 6 4 】

(D)

上記実施形態では、本発明の試料測定装置を、細胞培養分析装置1に対して適用した例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、細胞培養以外の装置であって、試料の測定を行う測定装置に対して、本発明が適用されてもよい。

【 0 0 6 5 】

(E)

40

上記実施形態では、測定対象として、グルコースと乳酸の濃度を測定するセンサ30が用いられた例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、測定対象物としては、グルコースと乳酸に限らず、他の物質であってもよい。

【 0 0 6 6 】

(F)

上記実施形態では、センサ30が折り曲げ部32において折り曲げた状態で使用される例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、センサが折り曲げられることなく使用される構成であってもよい。

この場合でも、センサの本体部の上端部分において、複数のセンサが連結部によって連結された構成にすることで、センサの位置精度を向上させるという上記と同様の効果を得

50

ることができる。

【 0 0 6 7 】

(G)

上記実施形態では、逆向きに略 T 字形状のセンサ 3 0 を用いた例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、略 I 字形状あるいは略 L 字形状のセンサが用いられていてもよい。

【 0 0 6 8 】

(H)

上記実施形態では、本発明の試料測定装置を、細胞培養分析装置に適用した例を挙げて説明した。しかし、本発明はこれに限定されるものではない。

例えば、細胞培養以外でも、試料の測定を行う装置に対して、本発明を適用してもよい。

【産業上の利用可能性】

【 0 0 6 9 】

本発明の試料測定装置は、正確な測定を行うために、センサ浸漬不良やコンタミ発生等に起因する測定エラーの発生を検出することができるという効果を奏することから、細胞培養の分野に限らず、各種試料の測定を行う装置に対して広く適用可能である。

【符号の説明】

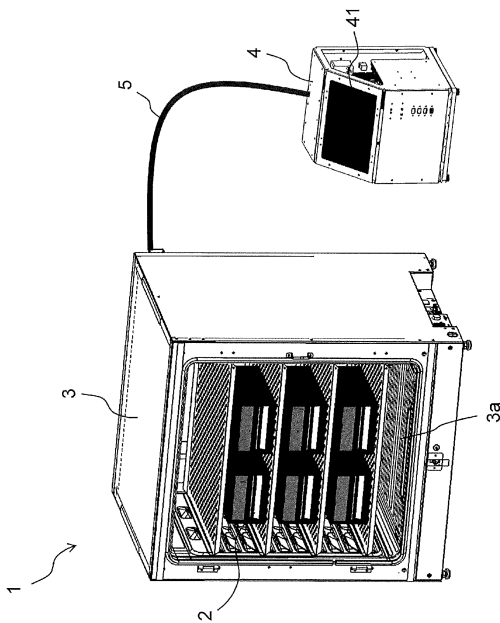
【 0 0 7 0 】

1	細胞培養分析装置（試料測定装置）	
2	分析ユニット	20
3	インキュベータ	
3 a	扉	
4	制御ユニット	
5	電気ケーブル	
1 1	電気化学測定部	
1 1 a	電圧印加部	
1 1 b	電流測定部	
1 1 c	電圧測定部（対極端子電圧測定部）	
1 2	制御部	
1 3	記憶部	30
1 4	通信部	
2 0	センサ付き培養モジュール	
2 1	本体部	
2 2	引き出し部	
2 3	昇降機構	
2 5	ウェルプレート	
2 5 a	ウェル	
2 7	ボトムプレート	
2 8	センサユニット	
3 0	センサ（試料測定センサ）	40
3 1	本体部	
3 1 a	検出部（電極部）	
3 1 a a	作用極	
3 1 a b	対極	
3 1 a c	参照極	
3 1 a d	作用極	
3 1 b	接続端子部	
3 1 c	電極	
3 2	折り曲げ部	
3 3	連結部	50

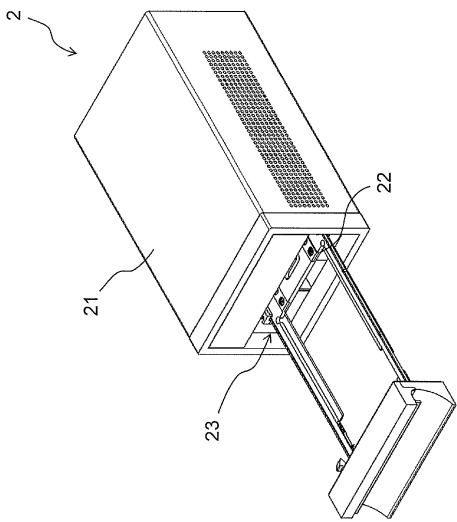
- 3 4 基材（ P E Tシート ）
- 3 5 試薬層
- 3 6 粘着層
- 3 7 保護膜
- 3 8 絶縁層
- 4 1 表示部
- 4 2 解析部（濃度測定部、測定エラー検出部）
- C 1 安全キャビネット
- i 電流
- X 培地

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

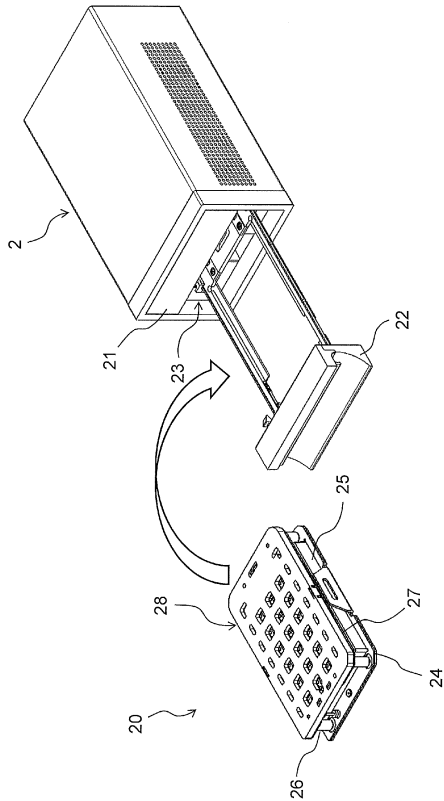
20

30

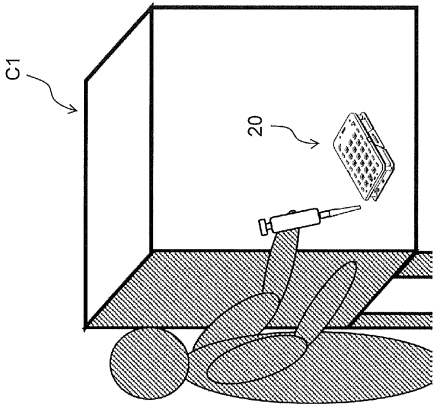
40

50

【図 3】



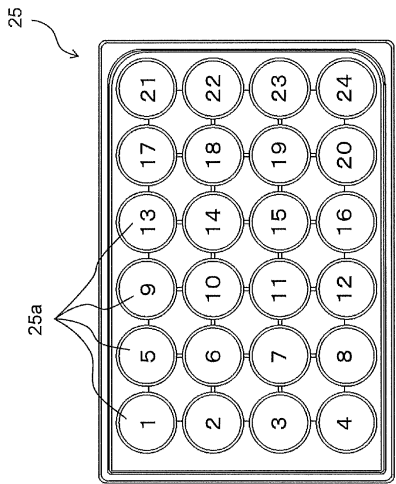
【図 4】



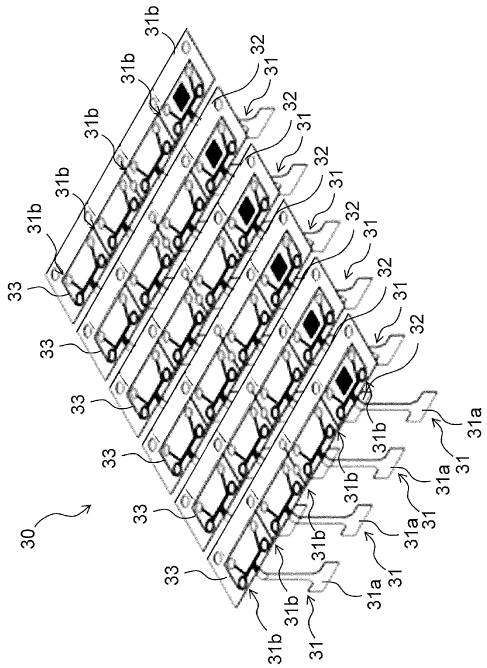
10

20

【図 5】



【図 6】

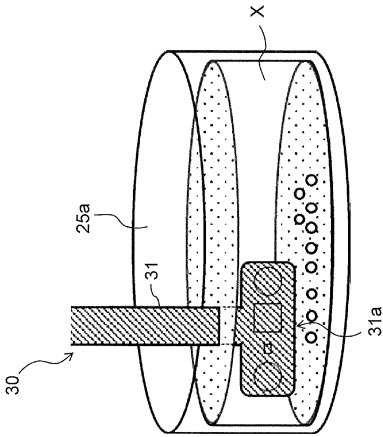


30

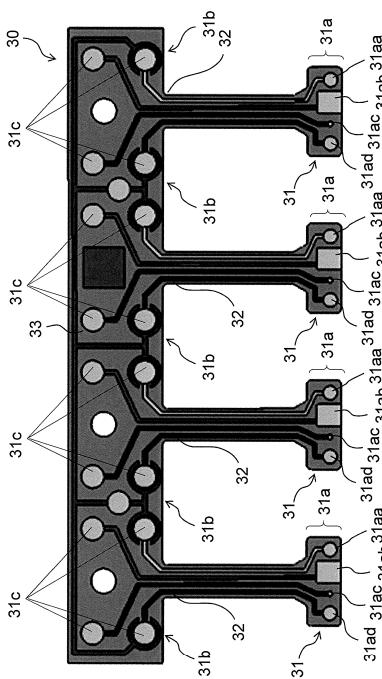
40

50

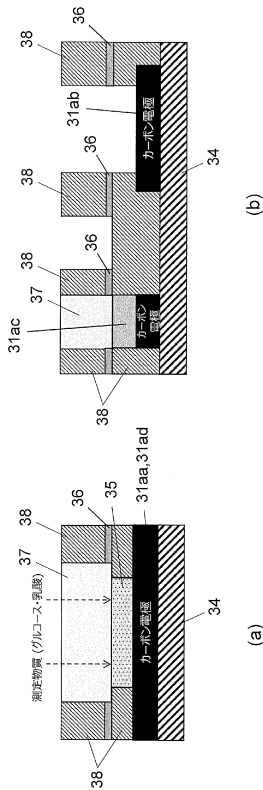
【図 7】



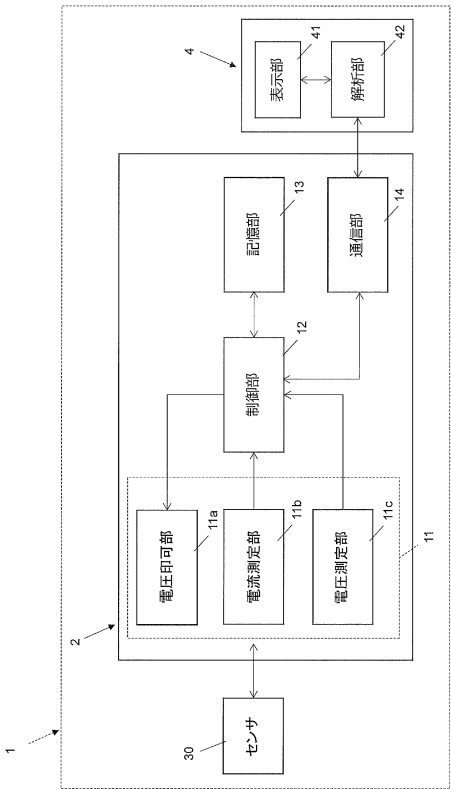
【図 8】



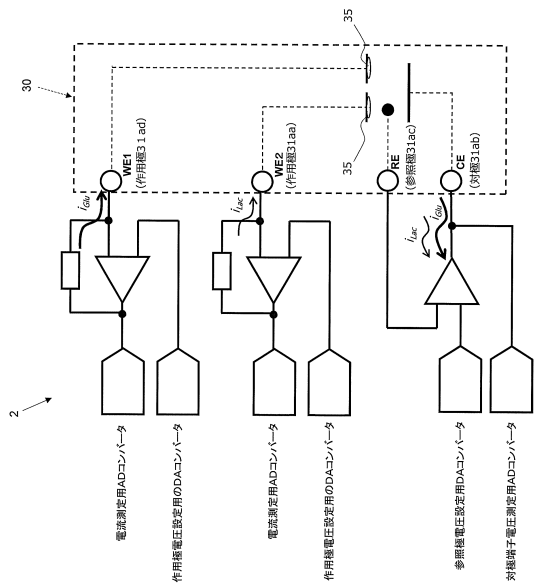
【図 9】



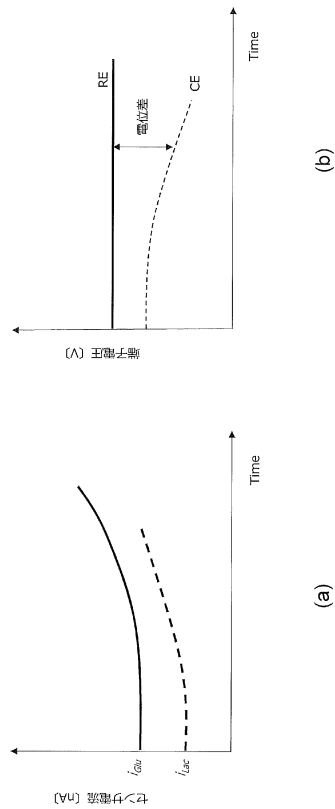
【図 10】



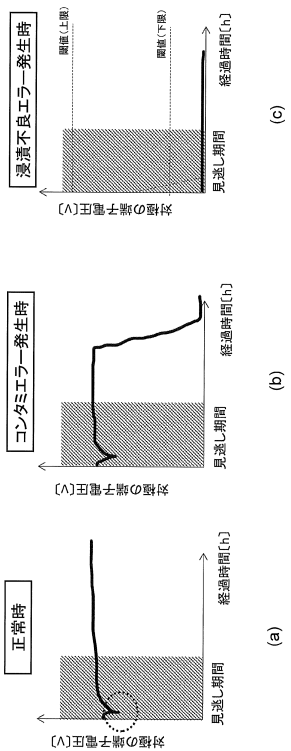
【図 1 1】



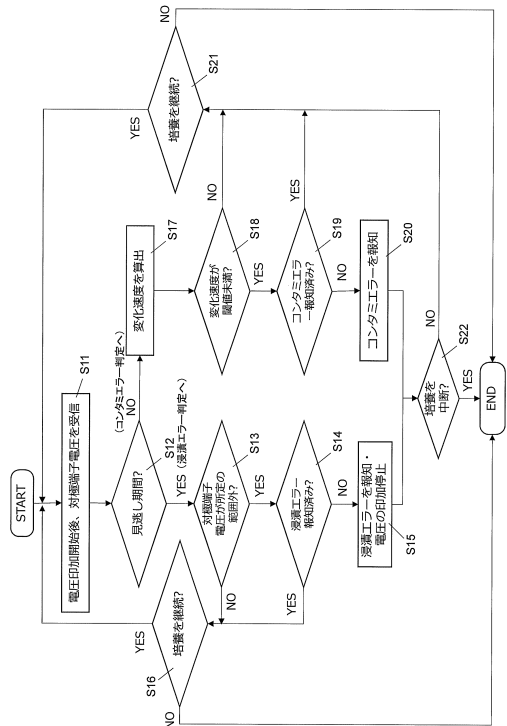
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開 2 0 0 1 - 0 6 6 2 7 5 (J P , A)
 特開 2 0 0 1 - 1 7 4 4 3 6 (J P , A)
 特開 2 0 1 1 - 0 9 9 7 1 7 (J P , A)
 特開 2 0 0 9 - 0 5 6 3 1 1 (J P , A)
 特開 2 0 2 1 - 1 8 5 8 5 0 (J P , A)
 特開 2 0 1 1 - 0 1 3 0 7 2 (J P , A)
 国際公開第 2 0 1 3 / 0 7 3 0 7 4 (W O , A 1)
 特開平 1 1 - 2 8 1 6 0 9 (J P , A)
 特開 2 0 1 6 - 1 9 7 1 0 9 (J P , A)
 国際公開第 2 0 0 6 / 1 3 2 2 5 0 (W O , A 1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)
- G 0 1 N 2 7 / 2 6
 G 0 1 N 2 7 / 4 1 6
 G 0 1 N 2 7 / 2 8
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 S c o p u s