

(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
2017年7月20日(20.07.2017)



(10) 国際公開番号

WO 2017/122658 A1

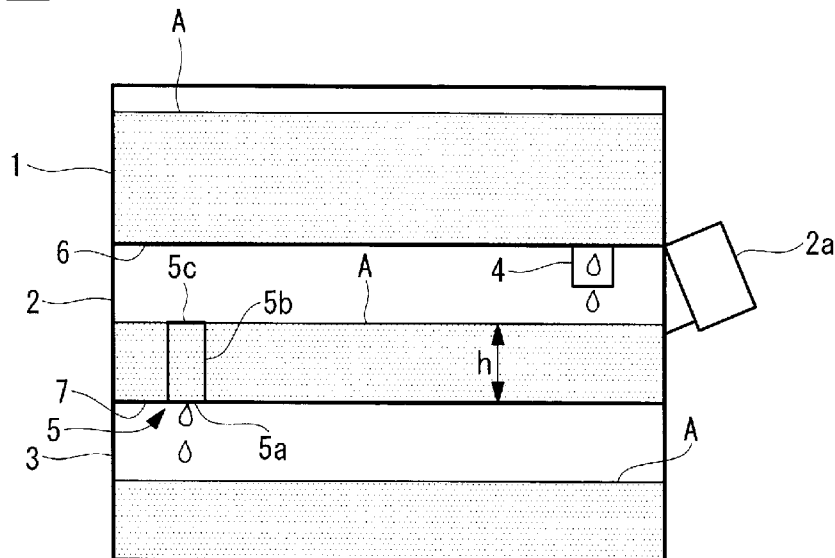
- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) C12M 3/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2017/000569
- (22) 国際出願日: 2017年1月11日(11.01.2017)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2016-005056 2016年1月14日(14.01.2016) JP
特願 2016-184413 2016年9月21日(21.09.2016) JP
- (71) 出願人: オリンパス株式会社 (OLYMPUS CORPORATION) [JP/JP]; 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 木村 博之 (KIMURA, Hiroyuki); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP). 南 達哉 (MINAMI, Tatsuya); 〒1928507 東京都八王子市石川町2951番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 上田 邦生, 外 (UEDA, Kunio et al.); 〒2208137 神奈川県横浜市西区みなとみらい2-2-1 横浜ランドマークタワー37F Kanagawa (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, DJ, 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, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, 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,

[続葉有]

(54) Title: CELL CULTURE VESSEL, AND CULTURE MEDIUM EXCHANGE SYSTEM

(54) 発明の名称: 細胞培養容器および培地交換システム

100



(57) Abstract: This cell culture vessel (100) has, provided in order from the top in the direction of gravity, a culture medium holding vessel (1), a cell holding vessel (2) which holds cells and a culture medium (A) supplied from the culture medium holding vessel (1) via a supply port (4) in the upper surface, a waste liquid holding vessel (3) for holding the culture medium (A) discharged from the cell holding vessel (2), and a discharge mechanism (5) for discharging, from the cell holding vessel (2), to the waste liquid holding vessel (3), the culture medium (A) exceeding a prescribed quantity.

(57) 要約: 本発明の細胞培養容器 (100) は、重力方向において上から順に、培地保持容器 (1) と、上面の供給口 (4) を介して培地保持容器 (1) から供給された培地 (A) および細胞を保持する細胞保持容器 (2) と、該細胞保持容器 (2) から排出された培地 (A) を保持する廃液保持容器 (3) と、所定量を超えた培地 (A) を細胞保持容器 (2) から廃液保持容器 (3) へ排出させる排出機構 (5) とを備える。

WO 2017/122658 A1



MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユー
ラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨー
ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：細胞培養容器および培地交換システム

技術分野

[0001] 本発明は、細胞を長期間培養することが可能な細胞培養容器および培地交換システムに関するものである。

背景技術

[0002] 近年、幹細胞研究や再生医療の進展に伴い、三次元構造を維持しながら細胞を培養することが要求されるようになってきた。細胞は通常、生育に適した環境を維持できるインキュベータ（保温槽）内で培養され、定期的に培地を交換するために細胞および培地が入った培養容器をインキュベータ外に取り出して作業をする必要がある（例えば、特許文献1参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2010-273603号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 培地交換の操作は細胞に対して衝撃を加えることになり、細胞の三次元構造が破壊される等、細胞に影響を与えてしまう可能性がある。したがって、細胞および培地が入った培養容器をインキュベータから取り出して培地交換せずに、インキュベータ内に静置した状態で細胞を長期間培養することが好ましいが、培地の劣化は避けられず、劣化が進めば細胞に対する影響は増大してしまう。

[0005] 本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、培地の劣化速度を遅くすることで、インキュベータ内に静置した状態で細胞を長期間培養できる細胞培養容器および培地交換システムを提供することを目的としている。

課題を解決するための手段

[0006] 上記目的を達成するために、本発明は以下の手段を提供する。

本発明の一態様は、細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器と、該培地保持容器から培地が供給される供給口を上面に有し、該供給口を介して前記培地保持容器から供給された培地および細胞を保持する細胞保持容器と、該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器と、前記細胞保持容器内の培地が所定量を超えたときに前記細胞保持容器から前記廃液保持容器へ培地を排出するための排出機構と、を備えた細胞培養容器である。

[0007] 本態様によれば、未使用培地と劣化した培地とを経時的に置き換えることで培地の劣化速度を遅くすることができ、細胞培養容器をインキュベータ内に静置した状態で長期間細胞を培養することができる。

[0008] 上記態様においては、前記培地保持容器の底面と前記細胞保持容器の上面が隣接して配置されて境界面を形成し、該境界面に前記供給口が開口していても良い。

[0009] 上記態様においては、前記培地保持容器が、管状部材を介して前記供給口と連通し、前記培地保持容器が、前記細胞保持容器よりも重力方向において上側に配置されていても良い。このことにより、培地保持容器を着脱しやすくなるので、培地保持容器に未使用の培地を補充しやすくなる。また、未使用の培地を保持した別の培地保持容器と取り替えることも可能になる。

[0010] 上記態様においては、前記培地保持容器が、前記供給口に対して着脱可能なバッグであっても良い。

[0011] 上記態様においては、前記細胞保持容器が、底面に前記細胞保持容器から前記廃液保持容器へ培地を排出するための排出口を有し、前記排出機構が、前記排出口から前記細胞保持容器の内部空間上方に向かって突出し所定の高さにおいて開口する流路を備えていても良い。このことにより、所定の高さを越えた余分な培地だけが排出され、常に一定量の培地が残るため、細胞保持容器内の培地の量が減少したり培地が枯渇したりしてしまうことを防止することができる。

- [0012] 上記態様においては、前記細胞保持容器の底面と前記廃液保持容器の上面が隣接して配置されて第2境界面を形成し、該第2境界面に前記排出口が開口していても良い。
- [0013] 上記態様においては、前記細胞保持容器が、底面から所定の高さにおいて側面に、培地を排出するための排出口を有し、前記排出機構が、前記排出口から前記廃液保持容器へ培地を排出するための流路を備えていても良い。このことにより、所定の高さを越えた余分な培地だけが排出され、常に一定量の培地が残るため、細胞保持容器内の培地の量が減少したり培地が枯渇したりしてしまうことを防止することができる。
- [0014] 上記態様においては、前記細胞保持容器の底面と前記廃液保持容器の上面が隣接して配置されて第2境界面を形成していても良い。
- [0015] 本発明の別の態様は、重力方向において上から順に、培地保持空間、細胞保持空間、および廃液保持空間に内部空間を仕切られた細胞培養容器であって、前記培地保持空間と前記細胞保持空間とを仕切る第1隔壁と、前記細胞保持空間と前記廃液保持空間とを仕切る第2隔壁と、前記第1隔壁に開口し前記培地保持空間と前記細胞保持空間とを連通する第1開口と、前記第2隔壁に開口し前記細胞保持空間と前記廃液保持空間とを連通する第2開口とを備える細胞培養容器である。
- [0016] 本態様によれば、未使用培地と劣化した培地を経時的に置き換えることで培地の劣化速度を遅くすることができ、細胞培養容器をインキュベータ内に静置した状態で長期間細胞を培養することができる。
- [0017] 本発明の別の態様は、重力方向において上から順に配置された、細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器、該培地保持容器から供給された培地および細胞を保持する細胞保持容器、ならびに該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器を備える細胞培養容器と、該細胞培養容器を搭載する容器ホルダとを備え、前記細胞培養容器は、前記培地保持容器と前記細胞保持容器とを連通する第1管状部材と、前記細胞保持容器と前記廃液保持容器とを連通する第2管状部材とを備え、前記第1管状部材を通

して培地が前記培地保持容器から前記細胞保持容器に移動するとともに、前記第2管状部材を通して培地が前記細胞保持容器から前記廃液保持容器に移動し、前記容器ホルダは、前記細胞培養容器を搭載するベースと、前記第1管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第1流速制御手段と、前記第2管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第2流速制御手段と、前記第1流速制御手段および前記第2流速制御手段を制御する制御部とを備える培地交換システムである。

発明の効果

[0018] 本発明によれば、未使用培地と劣化した培地とを経時的に置き換えることで培地の劣化速度を遅くすることができ、細胞培養容器をインキュベータ内に静置した状態で長期間細胞を培養することができる。このことにより、三次元構造を形成する細胞もその構造を壊すことなく培養することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0019] [図1]本発明の第1実施形態に係る細胞培養容器の概略構成を示す説明図である。

[図2]本発明の第2実施形態に係る細胞培養容器の概略構成を示す説明図である。

[図3]本発明の第3実施形態に係る細胞培養容器の概略構成を示す説明図である。

[図4]本発明の第3実施形態に係る細胞培養容器の変形例の概略構成を示す説明図である。

[図5]本発明の各実施形態に係る細胞培養容器の変形例の概略構成を示す説明図である。

[図6]本発明の各実施形態に係る細胞培養容器の変形例の概略構成を示す説明図である。

[図7]本発明の第4実施形態に係る培地交換システムの概略構成を示す説明図である。

[図8A]図7の培地交換システムにおける流速制御手段の概略構成を示す説明図である。

[図8B]図7の培地交換システムにおける流速制御手段の概略構成を示す説明図である。

[図8C]図7の培地交換システムにおける流速制御手段の概略構成を示す説明図である。

[図8D]図7の培地交換システムにおける流速制御手段の概略構成を示す説明図である。

[図9]本発明の第3実施形態に係る細胞培養容器の変形例の概略構成を示す説明図である。

発明を実施するための形態

[0020] 本発明の実施形態に係る細胞培養容器および培地交換システムについて、図面を参照して以下に説明する。

(第1実施形態)

本発明の第1実施形態に係る細胞培養容器100は、図1に示される構成の容器であり、培地保持容器1、細胞保持容器2、廃液保持容器3を備えている。

[0021] 培地保持容器1、細胞保持容器2、廃液保持容器3の順に重力方向の上から隣接して配置されている。培地保持容器1と細胞保持容器2は第1境界面6により互いに仕切られ、細胞保持容器2と廃液保持容器3は第2境界面7により互いに仕切られている。

[0022] 培地保持容器1は、内部に未使用の培地Aを保持することができ、第1境界面6に開口した供給口4を通して、細胞保持容器2に培地Aを供給することができる。培地保持容器1は、内部に未使用の培地Aを補充するための開口(図示せず)を有している。

[0023] 細胞保持容器2は、内部に培地Aおよび細胞を保持することができ、培地Aおよび細胞を出し入れ可能な開口2aを有している。

培地保持容器1内の培地Aは、供給口4から細胞保持容器2の内部空間に

滴下されて供給される。滴下速度は供給口 4 の口径により決定される。培地 A が細胞保持容器 2 内に滴下されることで培地 A の逆流を防止することができ、培地保持容器 1 内の培地 A が汚染される可能性を軽減できる。

[0024] 第 2 境界面 7 には、細胞保持容器 2 から廃液保持容器 3 に培地 A を排出するための排出口 5 a が開口している。細胞保持容器 2 内には、排出口 5 a から細胞保持容器 2 の内部空間上方に向かって所定の高さ h まで突出し該所定の高さ h において開口した流路を形成する管状部材 5 b が設置されている。

細胞保持容器 2 内の培地 A が所定量に達して高さ h を超えると、培地 A が開口 5 c から管状部材 5 b 内部にあふれ出し、排出口 5 a を通って廃液保持容器 3 内に滴下される。培地 A が廃液保持容器 3 内に滴下されることで培地 A の逆流を防止することができ、細胞保持容器 2 の培地 A が汚染される可能性を軽減できる。ここで、排出口 5 a、管状部材 5 b、および、開口 5 c は、排出機構 5 として機能する。

[0025] 廃液保持容器 3 は、細胞保持容器 2 から排出された培地 A を保持することができる。廃液保持容器 3 は、内部から廃液（培地 A）を排出するための開口部を有していても良い。

[0026] 次に、本実施形態に係る細胞培養容器 100 を用いて細胞を培養する手順について一例を説明する。

本細胞培養容器 100 のユーザは、まず、開口 2 a から細胞保持容器 2 内に培地 A および培養対象の細胞を供給する。また、培地保持容器 1 の開口（図示せず）から該培地保持容器 1 内に未使用の培地 A を供給する。この状態で細胞培養容器 100 をインキュベータの中に設置して培養を開始する。

[0027] 培地保持容器 1 内に保持された未使用の培地 A は、供給口 4 から細胞保持容器 2 内の空間に滴下されて供給される。

細胞保持容器 2 内の培地 A の量は時間の経過とともに増大する。細胞保持容器 2 内の培地 A の高さが h を超えると余分な培地が開口 5 c から管状部材 5 b 内部にあふれ出し、排出口 5 a を通って廃液保持容器 3 内に滴下される。このことにより、未使用の培地 A が劣化した培地 A と経時的に置き換わり

、培地Aの劣化速度を遅くすることができる。

なお、供給口4と排出口5aを水平方向にできるだけ離して配置することで培地Aの交換効率を上げることができる。

[0028] (第2実施形態)

本発明の第2実施形態に係る細胞培養容器200は、図2に示すように、排出機構5に代えて排出機構8を備えた点で第1実施形態と異なっている。それ以外は第1実施形態と同様である。

[0029] 培地保持容器1、細胞保持容器2、廃液保持容器3の順に重力方向の上から隣接して配置されている。培地保持容器1と細胞保持容器2は第1境界面6により互いに仕切られ、細胞保持容器2と廃液保持容器3は第2境界面7により互いに仕切られている。

[0030] 培地保持容器1は、内部に未使用の培地Aを保持することができ、第1境界面6に開口した供給口4を通して、細胞保持容器2に培地Aを供給することができる。培地保持容器1は内部に未使用の培地Aを補充するための開口(図示せず)を有している。

[0031] 細胞保持容器2は、内部に培地Aおよび細胞を保持することができ、培地Aおよび細胞を出し入れ可能な開口2aを有している。

培地保持容器1内の培地Aは、供給口4から細胞保持容器2の内部空間に滴下されて供給される。滴下速度は、供給口4の口径により決定される。培地Aが細胞保持容器2内に滴下されることで培地Aの逆流を防止することができ、培地保持容器1内の培地Aが汚染される可能性を軽減できる。

[0032] 細胞保持容器2の側面には、底面から所定の高さhに、培地Aを排出するための排出口8cが開口している。細胞保持容器2の外部には、排出口8cから廃液保持容器3の開口8aへ流路を形成する管状部材8bが設置されている。

細胞保持容器2内の培地Aが高さhを超えると、培地Aが排出口8cから管状部材8b内部にあふれ出し、開口8aを通して廃液保持容器3内に排出される。

ここで、開口 8 a、管状部材 8 b、および、排出口 8 c は、排出機構 8 として機能する。

[0033] 廃液保持容器 3 は、細胞保持容器 2 から排出された培地 A を保持することができる。廃液保持容器 3 は、内部から廃液（培地 A）を排出するための開口部を有していても良い。

[0034] 次に、本実施形態に係る細胞培養容器 200 を用いて細胞を培養する手順について一例を説明する。

本細胞培養容器 200 のユーザは、まず、開口 2 a から細胞保持容器 2 内に培地 A および培養対象の細胞を供給する。また、培地保持容器 1 に開口（図示せず）から未使用の培地 A を供給する。この状態で細胞培養容器 200 をインキュベータの中に設置して培養を開始する。

[0035] 培地保持容器 1 内に保持された未使用の培地 A は、供給口 4 から細胞保持容器 2 内の空間に滴下されて供給される。

細胞保持容器 2 内の培地 A の量は時間の経過とともに増大する。細胞保持容器 2 内の培地 A の高さが h を超えると余分な培地 A が排出口 8 c から管状部材 8 b 内部にあふれ出し、開口 8 a を通って廃液保持容器 3 内に排出される。このことにより、未使用の培地 A が劣化した培地 A と経時的に置き換わり、培地 A の劣化速度を遅くすることができる。

なお、供給口 4 と排出口 8 c を水平方向にできるだけ離して配置することで培地 A の交換効率を上げることができる。

[0036] （第 3 実施形態）

本発明の第 3 実施形態に係る細胞培養容器 300 は、図 3 に示すように、培地保持容器 1 に代えて培地保持容器 11 を備え、管状部材 12 を介して細胞保持容器 2 に培地 A を供給する点で第 1 実施形態と異なっている。それ以外は第 1 実施形態と同様である。

[0037] 培地保持容器 11、細胞保持容器 2、廃液保持容器 3 の順に重力方向の上から配置されている。培地保持容器 11 と細胞保持容器 2 は、管状部材 12 を介して連通している。細胞保持容器 2 と廃液保持容器 3 は第 2 境界面 7 に

より互いに仕切られている。

[0038] 培地保持容器 1 1 は、内部に未使用の培地 A を保持することができ、細胞保持容器 2 よりも重力方向において上に配置されている。培地保持容器 1 1 内の培地 A は、重力により管状部材 1 2 を介して供給口 4 から細胞保持容器 2 内に供給される。

[0039] 細胞保持容器 2 は、内部に培地 A および細胞を保持することができ、培地 A および細胞を出し入れ可能な開口 2 a を有している。

培地保持容器 1 1 内の培地 A は、供給口 4 から細胞保持容器 2 内の空間に滴下されて供給される。滴下速度は、供給口 4 の口径により決定される。培地 A が細胞保持容器 2 内に滴下されることで培地 A の逆流を防止することができ、培地保持容器 1 1 内の培地 A が汚染される可能性を軽減できる。

[0040] 第 2 境界面 7 には、細胞保持容器 2 から廃液保持容器 3 に培地 A を排出するための排出口 5 a が開口している。細胞保持容器 2 内には、排出口 5 a から細胞保持容器 2 の内部空間上方に向かって所定の高さ h まで突出し該所定の高さ h において開口した流路を形成する管状部材 5 b が設置されている。

細胞保持容器 2 内の培地 A が所定量に達して高さ h を超えると、培地 A が開口 5 c から管状部材 5 b 内部にあふれ出し、排出口 5 a を通って廃液保持容器 3 内に滴下される。培地 A が廃液保持容器 3 内に滴下されることで培地 A の逆流を防止することができ、細胞保持容器 2 内の培地 A が汚染される可能性を軽減できる。ここで、排出口 5 a、管状部材 5 b、および、開口 5 c は、排出機構 5 として機能する。

[0041] 廃液保持容器 3 は、細胞保持容器 2 から排出された培地 A を保持することができる。廃液保持容器 3 は、内部から廃液（培地 A）を排出するための開口部を有していても良い。

[0042] 次に、本実施形態に係る細胞培養容器 3 0 0 を用いて細胞を培養する手順について一例を説明する。

本細胞培養容器 3 0 0 のユーザは、まず、開口 2 a から細胞保持容器 2 内に培地 A および培養対象の細胞を供給する。また、未使用の培地 A を内部に

保持した培地保持容器 11 を管状部材 12 を介して供給口 4 と接続する。このとき、培地保持容器 11 を細胞保持容器 2 よりも重力方向において上に配置する。この状態で細胞培養容器 300 をインキュベータの中に設置して培養を開始する。

[0043] 培地保持容器 11 内に保持された未使用の培地 A は、供給口 4 から細胞保持容器 2 の内部空間に滴下されて供給される。

細胞保持容器 2 内の培地 A の量は時間の経過とともに増大する。細胞保持容器 2 内の培地 A の高さが h を超えると余分な培地 A が開口 5c から管状部材 5b 内部にあふれ出し、排出口 5a を通って廃液保持容器 3 内に滴下される。このことにより、未使用の培地 A が劣化した培地 A と経時的に置き換わり、培地 A の劣化速度を遅くすることができる。

なお、供給口 4 と排出口 5a を水平方向にできるだけ離して配置することで培地 A の交換効率を上げることができる。

[0044] 本実施形態に係る細胞培養容器 300 は、第 1 実施形態に係る細胞培養容器 100 の変形例であるが、図 4 に示すように第 2 実施形態に係る細胞培養容器 200 の変形例であってもよい。すなわち、第 2 実施形態の培地保持容器 1 に代えて培地保持容器 11 を備え、管状部材 12 を介して細胞保持容器 2 に培地 A を供給する細胞培養容器 400 であっても良い。

[0045] 本実施形態において、培地保持容器 11 は内部に未使用の培地を補充するための開口（図示せず）を有していても良い。

また、培地保持容器 11 および管状部材 12 が供給口 4 に対して着脱可能になっていても良いし、培地保持容器 11 が管状部材 12 に対して着脱可能になっていても良い。このことにより、培地保持容器 11 を交換することで未使用の培地を補充することができる。

培地保持容器 11 は、バッグであっても良い。

[0046] 上記各実施形態において、細胞保持容器 2 に供給される培地 A の滴下速度は、供給口 4 の口径により適宜設定することができる。培養対象の細胞の種類や培養条件等により、滴下速度と培地保持容器 1 内に保持する培地 A の量

を調整すれば良い。

また、供給口 4 を構成する部材の素材によって滴下速度を設定しても良い。

[0047] 上記第 1 実施形態および第 2 実施形態の細胞培養容器 100、200 は、培地保持容器 1、細胞保持容器 2、及び、廃液保持容器 3 が一体成型されていても良い。すなわち、細胞培養容器 100、200 の内部空間が、上側から順に培地保持空間と細胞保持空間と廃液保持空間とに仕切られ、培地保持空間と細胞保持空間とを仕切る第 1 隔壁に培地保持空間と細胞保持空間とを連通する第 1 開口が開口し、細胞保持空間と廃液保持空間とを仕切る第 2 隔壁に細胞保持空間と廃液保持空間とを連通する第 2 開口が開口していてもよい。

または、培地保持容器 1、細胞保持容器 2、及び、廃液保持容器 3 が各々別個の容器として構成され、互いに結合させることとで細胞培養容器 100、200 を構成しても良い。この場合、培地保持容器 1 の底面と細胞保持容器 2 の上面が第 1 境界面 6 を構成し、細胞保持容器 2 の底面と廃液保持容器 3 の上面が第 2 境界面 7 を構成すれば良い。

[0048] 上記第 3 実施形態の細胞培養容器 300 は、細胞保持容器 2 及び廃液保持容器 3 が一体成型されていても良い。

または、細胞保持容器 2 及び廃液保持容器 3 が各々別個の容器として構成され、互いに結合させることとで細胞培養容器 300 を構成しても良い。この場合、細胞保持容器 2 の底面と廃液保持容器 3 の上面が第 2 境界面 7 を構成すれば良い。

[0049] 上記各実施形態において、例えば図 6 に示すように、細胞保持容器 2 が、廃液保持容器 3 と接しない底面 7a を有していても良い。この場合、少なくとも底面 7a は光学的に透明な部材から構成されていることが好ましい。このような態様によれば、細胞保持容器 2 内の細胞を底面 7a を介して観察し易くなる。図 6 には第 1 実施形態の変形例が示されているが、本変形例は第 2 実施形態および第 3 実施形態にも同様に適用できる。

また、細胞保持容器 2 が、培地保持容器 1 と接しない上面を有していても良い。

[0050] 上記各実施形態において、細胞保持容器 2 内の培地 A が所定量を超えた時に細胞保持容器 2 から廃液保持容器 3 へ培地 A を排出するための排出機構 5、8 を備えた態様を示したが、例えば図 5 に一例を示すように、排出機構 5、8 に代え第 2 境界面 7 に開口 9 を設け、当該開口 9 を通して細胞保持容器 2 から廃液保持容器 3 内に培地 A を滴下させる態様でも良い。この場合、開口 9 の口径により滴下速度を適宜設定すれば良い。または、開口 9 を構成する部材の素材によって滴下速度を設定しても良い。

[0051] (第 4 実施形態)

次に、図 7 を用いて、本発明の第 4 実施形態に係る培地交換システム 500 を説明する。

培地交換システム 500 は、細胞培養容器 510 と、容器ホルダ 520 とを備えている。

[0052] 本実施形態に係る細胞培養容器 510 は、図 7 に示される構成の容器であり、培地保持容器 101、細胞保持容器 102、廃液保持容器 103 を備えている。

培地保持容器 101、細胞保持容器 102、廃液保持容器 103 の順に重力方向において上から隣接して配置されている。培地保持容器 101 と細胞保持容器 102 は第 1 境界面 106 により互いに仕切られ、細胞保持容器 102 と廃液保持容器 103 は第 2 境界面 107 により互いに仕切られている。

[0053] 培地保持容器 101 は、内部に未使用の培地 A を保持することができ、側面の底部に開口した排出口 111 を備えている。排出口 111 は、管状部材（第 1 管状部材）115 を介して、細胞保持容器 102 に開口した供給口 112 に連通しており、培地 A を培地保持容器 101 から細胞保持容器 102 に供給することができる。培地保持容器 101 は、内部に未使用の培地 A を補充するための開口（図示せず）を備えている。

[0054] 細胞保持容器 102 は、内部に培地 A および細胞を保持することができ、側面の底部に開口した排出口 113 を備えている。排出口 113 は、管状部材（第 2 管状部材）116 を介して、廃液保持容器 103 に開口した供給口 114 に連通しており、培地 A を細胞保持容器 102 から廃液保持容器 103 に供給することができる。細胞保持容器 102 は、培地 A および細胞を出し入れ可能な開口 102a を備えている。

排出口 113 は、必ずしも側面の底部に開口していなくても良く、容器 102 の側面において、培地 A を排出できる任意の位置に開口していれば良い。

[0055] 廃液保持容器 3 は、細胞保持容器 2 から排出された培地 A を保持することができる。廃液保持容器 3 は、内部から廃液（培地 A）を排出するための開口部を備えていても良い。

[0056] 本実施形態に係る細胞培養容器 510 によれば、培地保持容器 101 内の培地 A は管状部材 115 を通って細胞保持容器 102 に重力により移動し、細胞保持容器 102 内の培地 A は管状部材 116 を通って廃液保持容器 103 に重力により移動する。

[0057] 容器ホルダ 520 は、細胞培養容器 510 を搭載するベース 121 と、細胞培養容器 510 の管状部材 115 内部を流れる培地 A の流速を制御する流速制御手段（第 1 流速制御手段）122 と、管状部材 116 内部を流れる培地 A の流速を制御する流速制御手段（第 2 流速制御手段）123 と、ベース 121 内に配置され流速制御手段 122 および流速制御手段 123 を制御する制御部（図示せず）とを備えている。

[0058] 流速制御手段 122、123 は、それぞれ、管状部材 115、116 を通すための開口を備え、当該開口に通された管状部材 115、116 に径方向に外力を加えて変形させ、管状部材 115、116 の内腔の断面積を小さくすることで溶液の流量を制限して流速を抑制する（流速を 0 にすることもできる）。逆に外力を解除すると、管状部材 115、116 の弾性力により管状部材 115、116 が元の状態に戻り、流速を上げることができる。この

ように、流速制御手段 1 2 2、1 2 3 は、管状部材 1 1 5、1 1 6 に対する外力の強弱により管状部材 1 1 5、1 1 6 内に流れる溶液の流速を調整する。

[0059] 流速制御手段 1 2 2、1 2 3 による管状部材 1 1 5、1 1 6 への外力の加え方について図 8 A から図 8 D に例を示す。図 8 A は、2 枚の板状部材 2 1 により管状部材 2 0 (1 1 5、1 1 6) を挟む例を示している。図 8 B は、複数の球状 (または円柱状) 部材 2 2 により貫通穴 2 3 に通した管状部材 2 0 を挟む例を示している。図 8 C は、シャッター状部材 2 4 で貫通穴 2 5 に通した管状部材 2 0 を挟む例を示している。図 8 D は、管状部材 2 0 を通した貫通穴 2 6 の内径が小さくなり管状部材 2 0 を変形させる例である。上記の例以外に、外力を径方向に加えて管状部材 2 0 を変形させることができる任意の機構を流速制御手段 1 2 2、1 2 3 に採用してもよく、流速制御手段 1 2 2、1 2 3 として、送液ポンプを採用してもよい。

[0060] 制御部は、タイマー (図示せず) を備え、あらかじめ設定したタイムスケジュールにしたがって流速制御手段 1 2 2、1 2 3 を制御し、細胞培養容器 5 1 0 内を流れる培地 A を制御することができる。つまり、流速制御手段 1 2 2 を制御することにより細胞保持容器 1 0 2 への培地供給を制御し、流速制御手段 1 2 3 を制御することにより細胞保持容器 1 0 2 からの培地排出を制御することができ、細胞保持容器 1 0 2 内の培地交換を制御することができる。または、制御部は、有線又は無線で外部制御部 (図示せず) と信号を送受信する送受信部 (図示せず) を備え、外部制御部 (図示せず) からの信号に従って流速制御手段 1 2 2、1 2 3 を制御し、細胞培養容器 5 1 0 内を流れる培地 A を遠隔的に制御してもよい。外部制御部の例としてはパーソナルコンピュータ (P C) を挙げることができる。例えば、P C は、C P U とメモリを有し、メモリに記憶された制御プログラムを C P U が実行することで外部制御手段としての機能を実現してもよい。

[0061] 上記第 4 実施形態において、排出口 1 1 3、第 2 管状部材 1 1 6、供給口 1 1 4、および、第 2 流速制御手段 1 2 3 に代えて、第 1 実施形態の排出機

構 5（排出口 5 a、管状部材 5 b、および、開口 5 c）を備えていてもよい。

[0062] 上記第 3 実施形態において、図 9 に示すように、管状部材 1 2 に流速制御手段 1 3 1 を備えていても良い。流速制御手段 1 3 1 は、管状部材 1 2 を通すための開口を備え、当該開口に通された管状部材 1 2 に径方向に外力を加えて変形させ、管状部材 1 2 内腔の断面積を小さくすることで溶液の流量を制限して流速を抑制する（流速を 0 にすることもできる）。逆に外力を解除すると、管状部材 1 2 の弾性力により管状部材 1 2 が元の状態に戻り、流速を上げることができる。このように、流速制御手段 1 3 1 は、管状部材 1 2 に対する外力の強弱により管状部材 1 2 内に流れる溶液の流速を調整する。流速制御手段 1 3 1 による管状部材 1 2 への外力の加え方については、上記第 4 実施形態の流速制御手段 1 2 2、1 2 3 と同様であれば良い。外力を径方向に加えて管状部材 1 2 を変形させることができる任意の機構を流速制御手段 1 3 1 に採用してもよい。例えば、送液ポンプを流速制御手段 1 3 1 に採用してもよい。

[0063] 流速制御手段 1 3 1 は、タイマー（図示せず）及び制御部（図示せず）を備えており、あらかじめ設定したタイムスケジュールにしたがって管状部材 1 2 内を流れる培地 A を制御することができる。または、制御部（図示せず）は、有線又は無線で外部制御部（図示せず）と信号を送受信する送受信部（図示せず）を備え、外部制御部（図示せず）からの信号にしたがって管状部材 1 2 内を流れる培地 A を制御してもよい。外部制御部の例としてはパーソナルコンピュータ（PC）を挙げることができる。例えば、PC は、CPU とメモリを有し、メモリに記憶された制御プログラムを CPU が実行することで外部制御手段としての機能を実現しても良い。

[0064] 本発明によれば、細胞培養容器と、該細胞培養容器を搭載する容器ホルダとを備えた培地交換システムであって、

前記細胞培養容器は、重力方向において上から順に配置された、細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器、該培地保持容器から供給された

培地および細胞を保持する細胞保持容器、ならびに該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器と、前記培地保持容器と前記細胞保持容器とを連通する第1管状部材と、前記細胞保持容器と前記廃液保持容器とを連通する第2管状部材とを備え、前記第1管状部材を通して培地が前記培地保持容器から前記細胞保持容器に重力により移動するとともに、前記第2管状部材を通して培地が前記細胞保持容器から前記廃液保持容器に重力により移動し、

前記容器ホルダは、前記細胞培養容器を搭載するベースと、前記第1管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第1流速制御手段と、前記第2管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第2流速制御手段と、前記第1流速制御手段および前記第2流速制御手段を制御する制御部とを備えた培地交換システムを提供することができる。

[0065] 本発明によれば、細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器と、該培地保持容器から供給された培地および細胞を保持する細胞保持容器と、該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器とを備えた細胞培養容器を提供することができる。

符号の説明

- [0066] 1、11 培地保持容器
2 細胞保持容器
3 廃液保持容器
4 供給口
5、8 排出機構
5a 排出口
5b 管状部材（流路）
6、7 境界面
12 管状部材
100、200、300、400 細胞培養容器
500 培地交換システム

請求の範囲

- [請求項1] 細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器と、
該培地保持容器から培地が供給される供給口を上面に有し、該供給口を介して前記培地保持容器から供給された培地および細胞を保持する細胞保持容器と、
該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器と、
前記細胞保持容器内の培地が所定量を超えたときに前記細胞保持容器から前記廃液保持容器へ培地を排出するための排出機構と、を備えた細胞培養容器。
- [請求項2] 前記培地保持容器の底面と前記細胞保持容器の上面が隣接して配置されて境界面を形成し、該境界面に前記供給口が開口している請求項1に記載の細胞培養容器。
- [請求項3] 前記培地保持容器が、管状部材を介して前記供給口と連通し、
前記培地保持容器が、前記細胞保持容器よりも重力方向において上側に配置されている請求項1に記載の細胞培養容器。
- [請求項4] 前記培地保持容器が、前記供給口に対して着脱可能なバッグである請求項3に記載の細胞培養容器。
- [請求項5] 前記細胞保持容器が、底面に前記細胞保持容器から前記廃液保持容器へ培地を排出するための排出口を有し、
前記排出機構が、前記排出口から前記細胞保持容器の内部空間上方に向かって突出し所定の高さにおいて開口する流路を備えた請求項1から4いずれかに記載の細胞培養容器。
- [請求項6] 前記細胞保持容器の底面と前記廃液保持容器の上面が隣接して配置されて第2境界面を形成し、該第2境界面に前記排出口が開口している請求項5に記載の細胞培養容器。
- [請求項7] 前記細胞保持容器が、底面から所定の高さにおいて側面に、培地を排出するための排出口を有し、
前記排出機構が、前記排出口から前記廃液保持容器へ培地を排出す

るための流路を備えた請求項 1 から 4 いずれかに記載の細胞培養容器。
。

[請求項8] 前記細胞保持容器の底面と前記廃液保持容器の上面が隣接して配置されて第 2 境界面を形成している請求項 7 に記載の細胞培養容器。

[請求項9] 重力方向において上から順に、培地保持空間、細胞保持空間、および廃液保持空間に内部空間を仕切られた細胞培養容器であって、
前記培地保持空間と前記細胞保持空間とを仕切る第 1 隔壁と、
前記細胞保持空間と前記廃液保持空間とを仕切る第 2 隔壁と、
前記第 1 隔壁に開口し前記培地保持空間と前記細胞保持空間とを連通する第 1 開口と、
前記第 2 隔壁に開口し前記細胞保持空間と前記廃液保持空間とを連通する第 2 開口とを備える細胞培養容器。

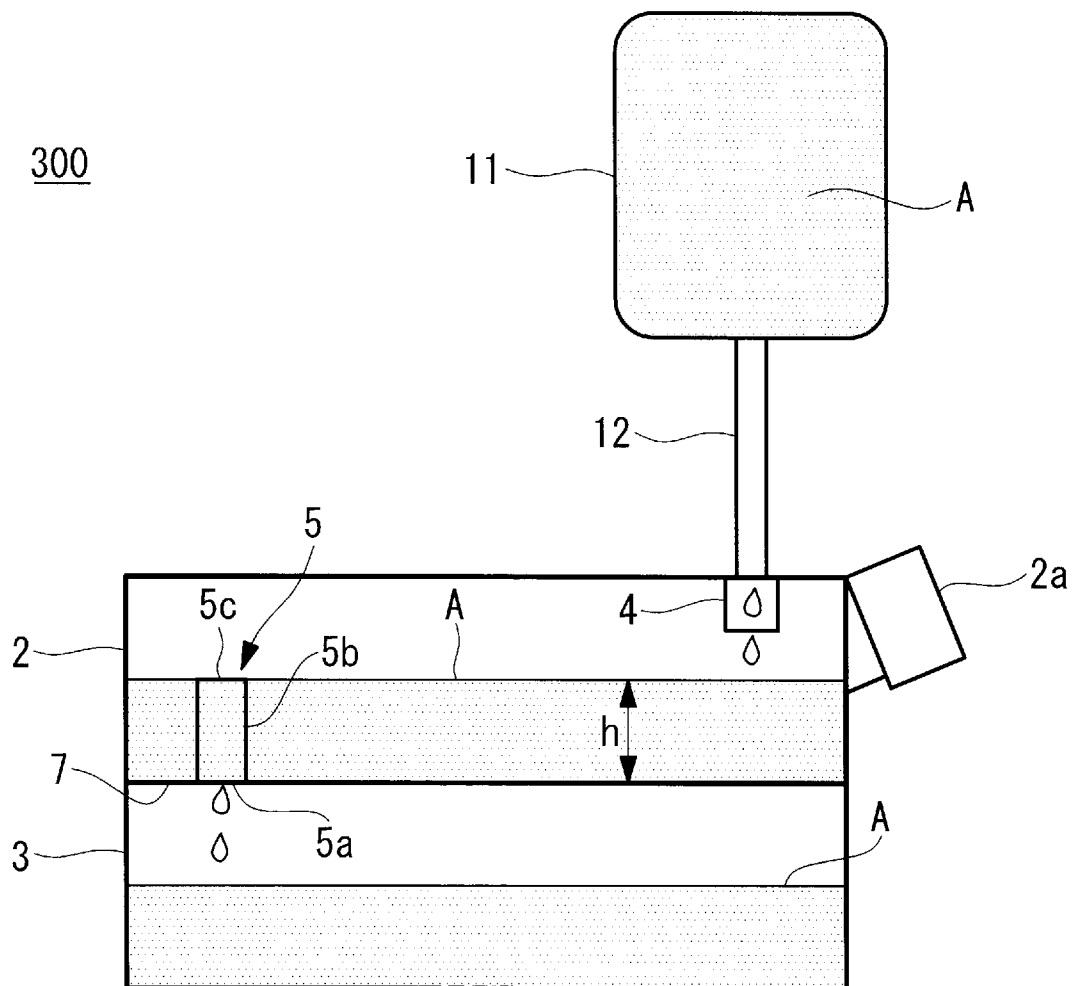
[請求項10] 重力方向において上から順に配置された、細胞を培養するための培地を保持する培地保持容器、該培地保持容器から供給された培地および細胞を保持する細胞保持容器、ならびに該細胞保持容器から排出された培地を保持する廃液保持容器を備える細胞培養容器と、
該細胞培養容器を搭載する容器ホルダとを備え、
前記細胞培養容器は、
前記培地保持容器と前記細胞保持容器とを連通する第 1 管状部材と、
、
前記細胞保持容器と前記廃液保持容器とを連通する第 2 管状部材とを備え、
前記第 1 管状部材を通して培地が前記培地保持容器から前記細胞保持容器に移動するとともに、前記第 2 管状部材を通して培地が前記細胞保持容器から前記廃液保持容器に移動し、
前記容器ホルダは、
前記細胞培養容器を搭載するベースと、
前記第 1 管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第 1 流速制

御手段と、

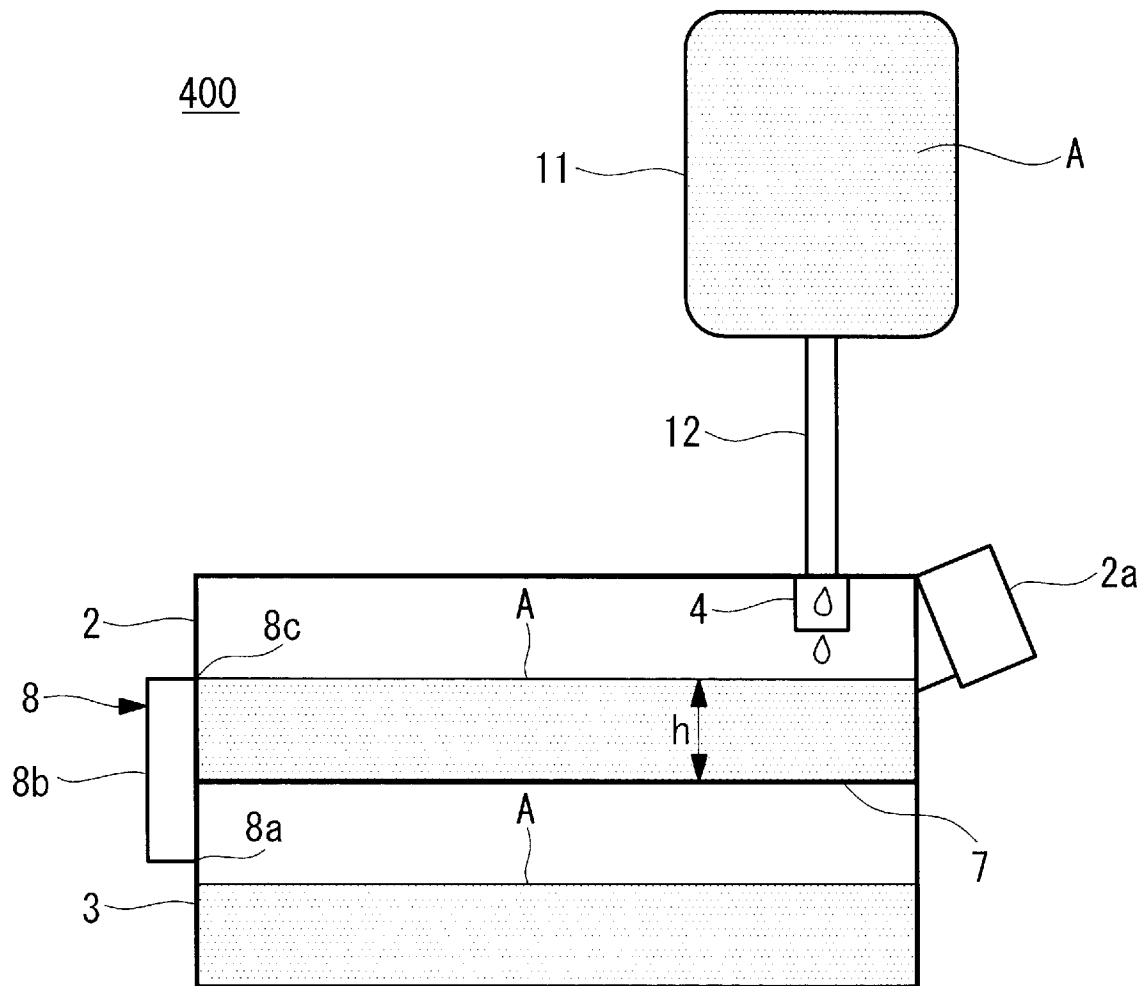
前記第 2 管状部材の内部を流れる培地の流速を制御する第 2 流速制御手段と、

前記第 1 流速制御手段および前記第 2 流速制御手段を制御する制御部とを備える培地交換システム。

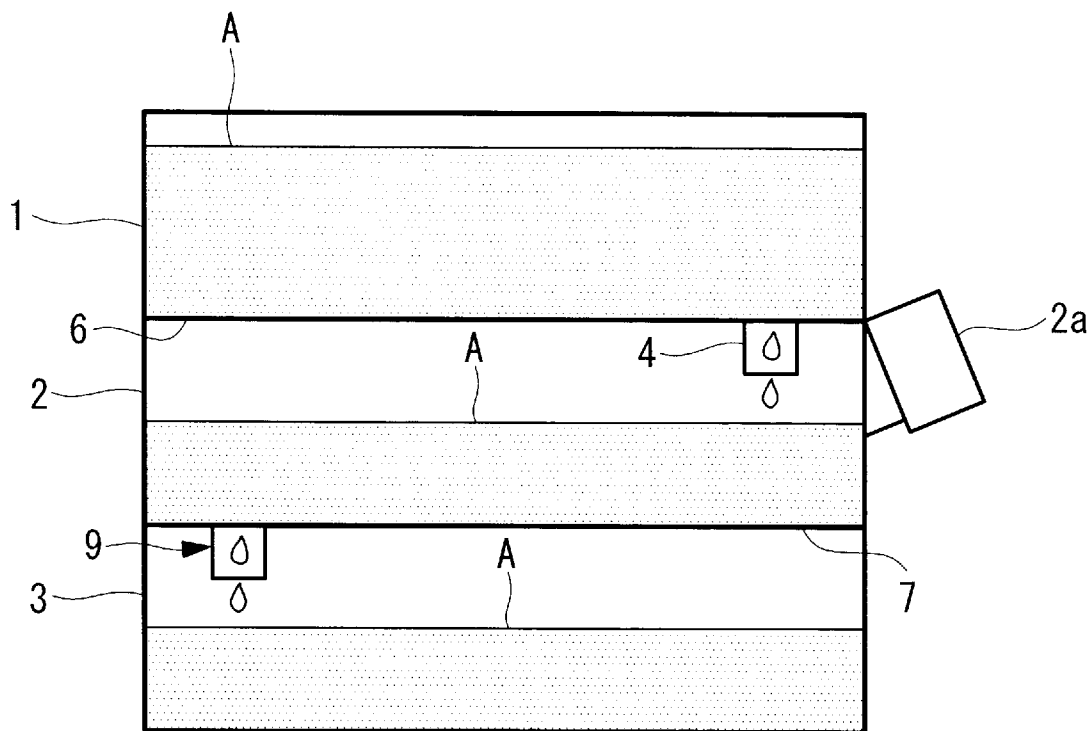
[図3]



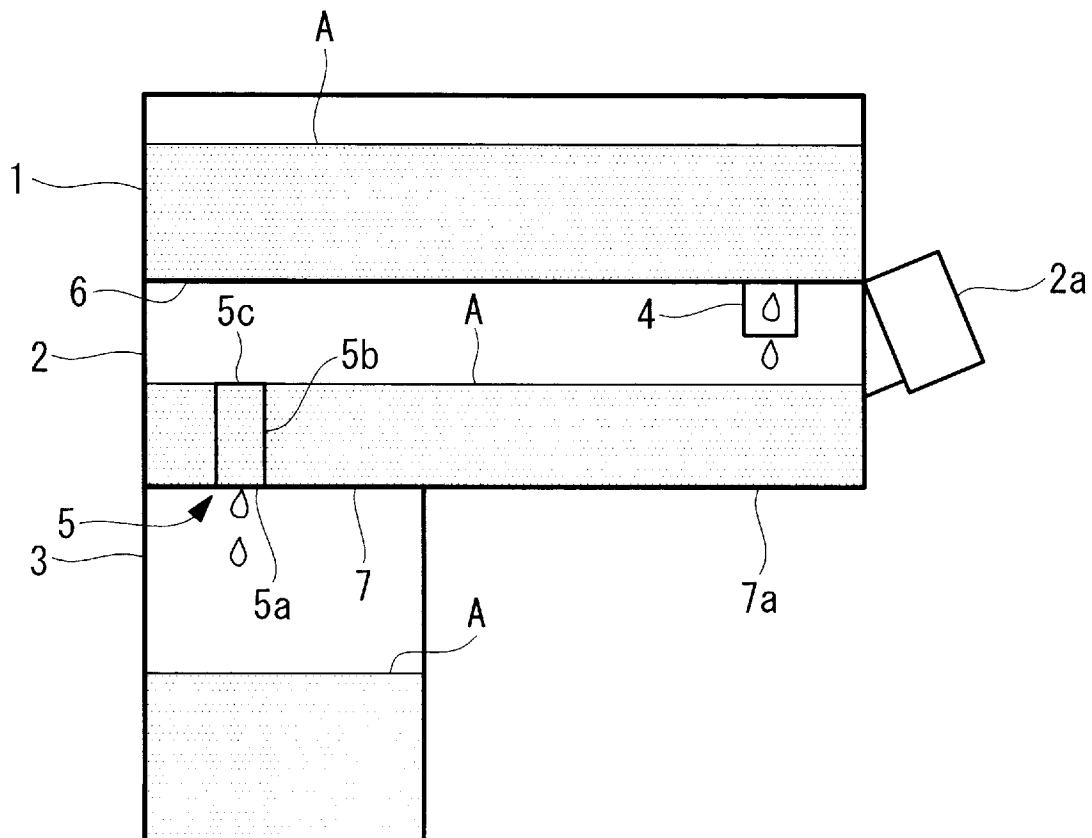
[図4]



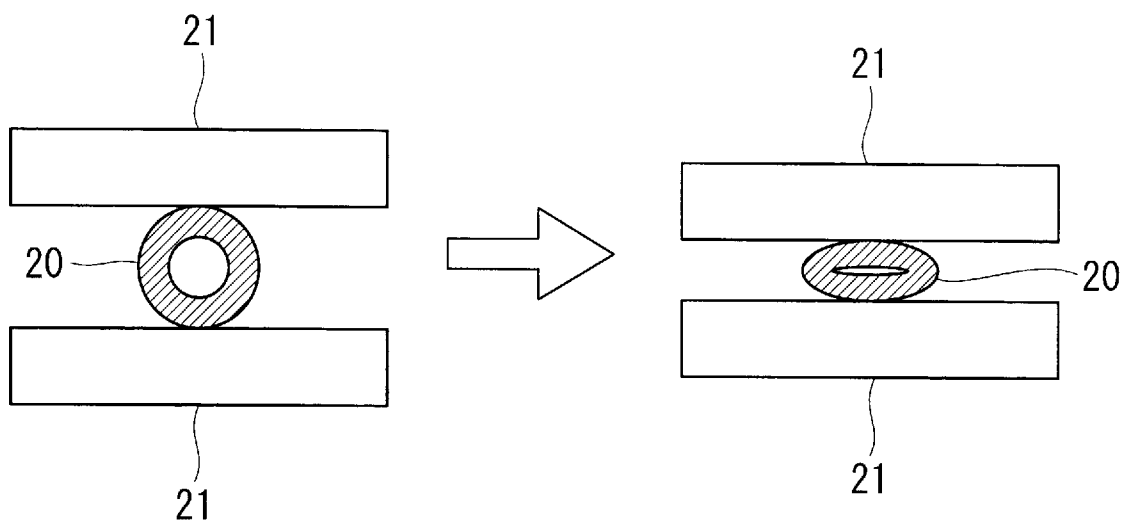
[図5]



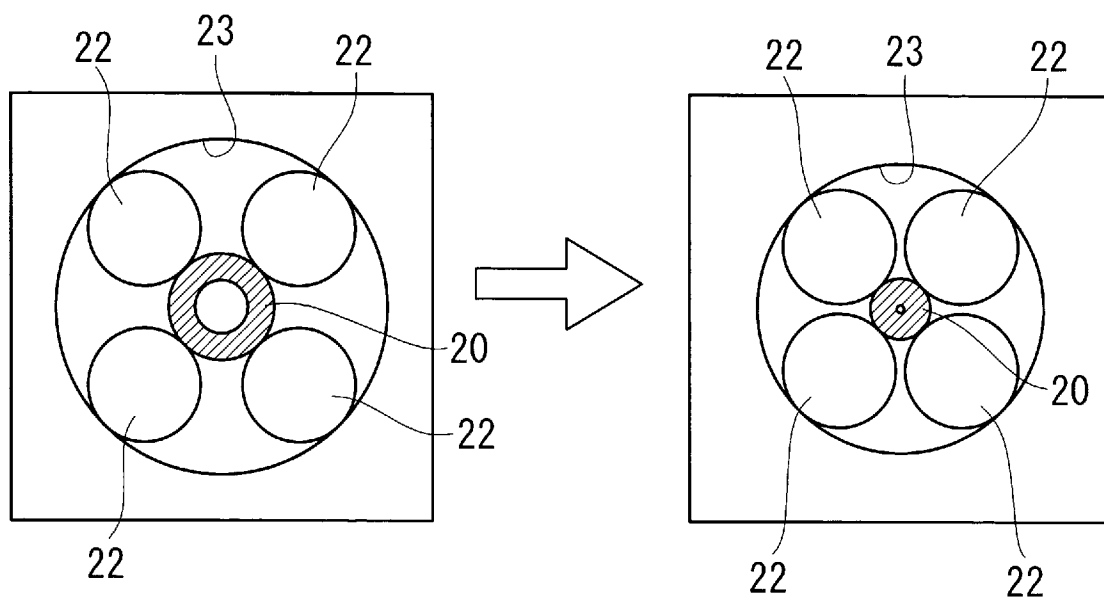
[図6]



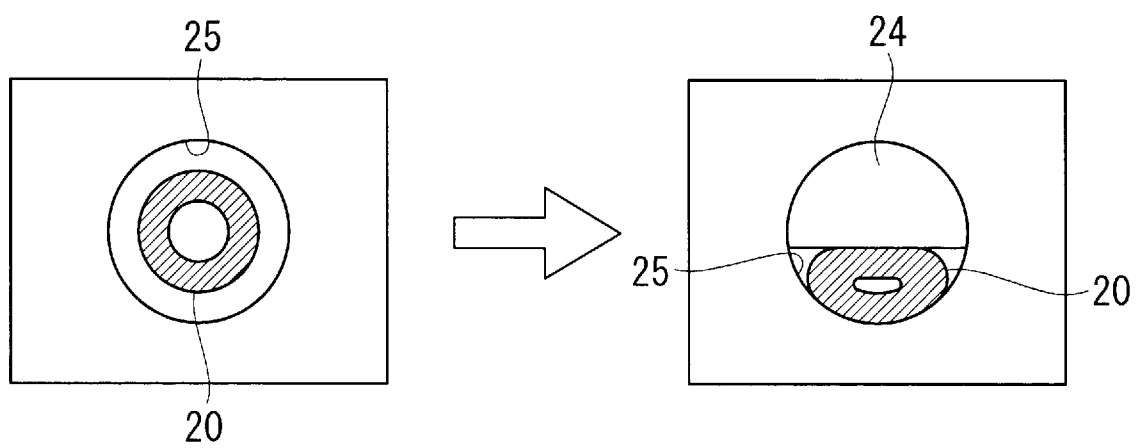
[図8A]



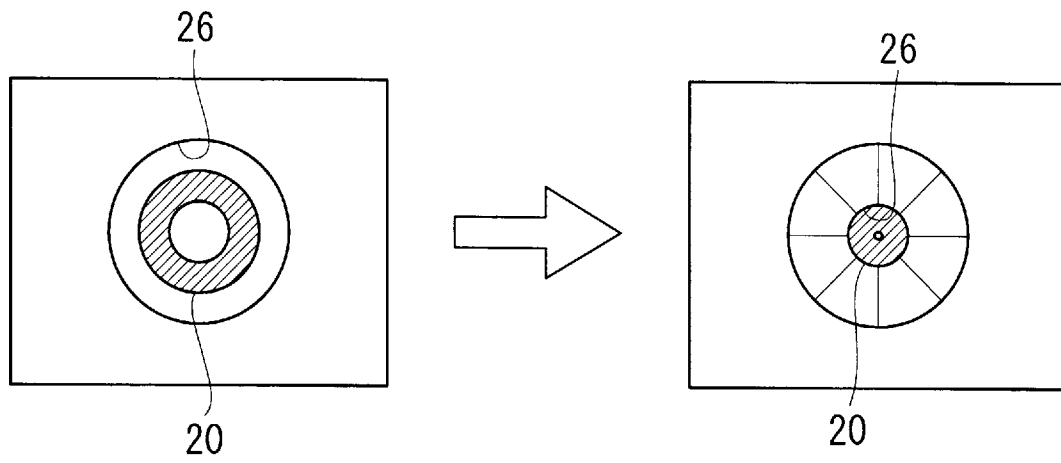
[図8B]



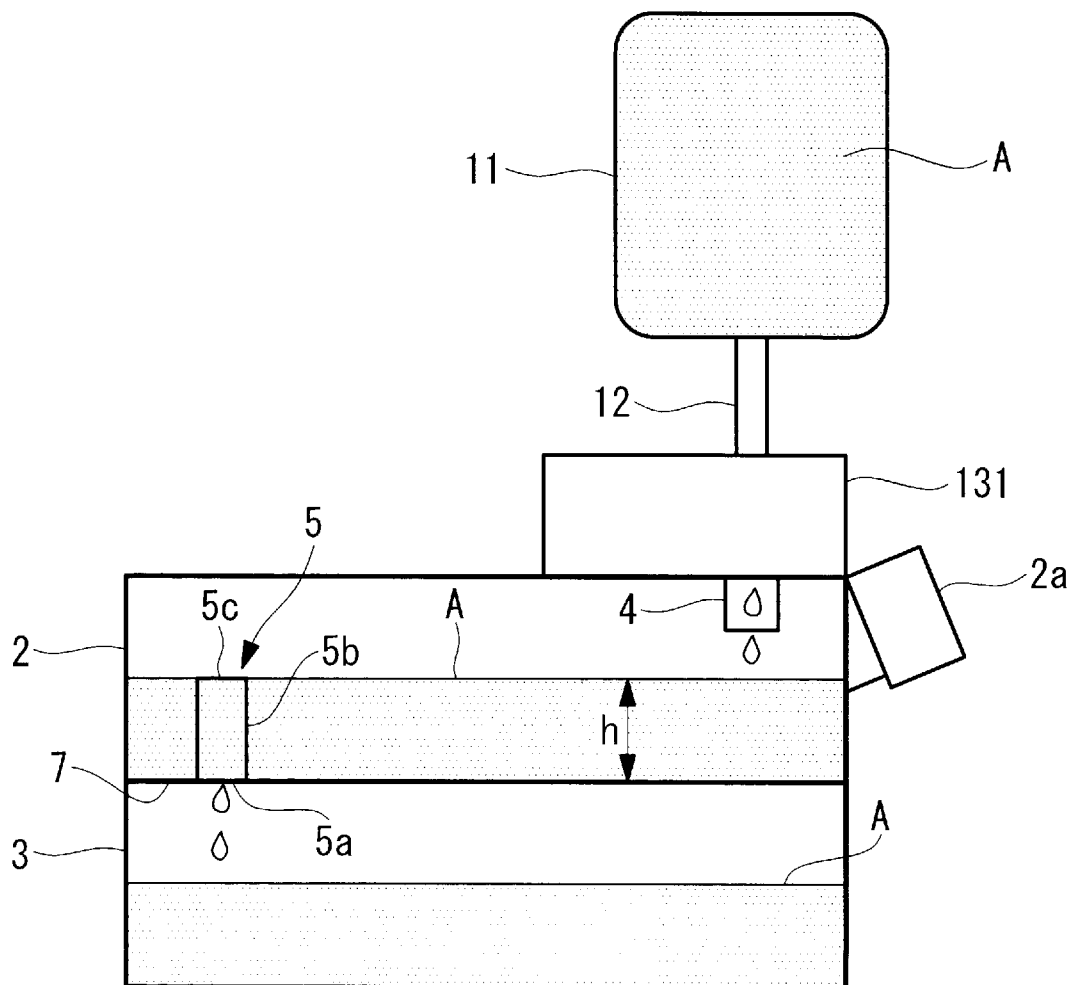
[図8C]



[図8D]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/000569

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/00(2006.01)i, C12M3/00(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)

C12M1/00, C12M3/00

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	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

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

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	US 2012/0315694 A1 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY), 13 December 2012 (13.12.2012), claims; fig. 1, 3; paragraphs [0009], [0040] & KR 10-2011-0098512 A	1-4, 7/5, 6, 8, 9
Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 104870/1985 (Laid-open No. 13155/1987) (Seiwa Co., Ltd.), 27 January 1987 (27.01.1987), fig. 1 (Family: none)	5, 6, 9

☒ 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
29 March 2017 (29.03.17)

Date of mailing of the international search report
11 April 2017 (11.04.17)

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/JP2017/000569

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2013-051941 A (Taikisha Ltd.), 21 March 2013 (21.03.2013), paragraph [0078]; fig. 9 (Family: none)	5, 6, 9
Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 58816/1985 (Laid-open No. 175955/1986) (Rinnai Corp.), 01 November 1986 (01.11.1986), fig. 1, 2 (Family: none)	5, 6, 9
X/Y	JP 2004-089138 A (Olympus Corp.), 25 March 2004 (25.03.2004), claims; fig. 4; paragraphs [0034] to [0040] (Family: none)	10/6, 8-10
Y	JP 2015-223169 A (Olympus Corp.), 14 December 2015 (14.12.2015), fig. 2; paragraphs [0030] to [0032] & US 2015/0344833 A1 fig. 2; paragraphs [0075] to [0077] & EP 2949744 A1 & CN 105274001 A	10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

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

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	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (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/Y	US 2012/0315694 A1 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 2012.12.13, CLAIMS, Figs.1,3, [0009], [0040] & KR 10-2011-0098512 A	1-4, 7/5, 6, 8, 9
Y	日本国実用新案登録出願60-104870号(日本国実用新案登録出願公開62-13155号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム (株式会社 誠和) 1987.01.27, 第1図 (ファミリーなし)	5, 6, 9

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

29.03.2017

国際調査報告の発送日

11.04.2017

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)

北田 祐介

4 B

4868

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

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	JP 2013-051941 A (株式会社大気社) 2013. 03. 21, [0078]、図 9 (ファミリーなし)	5, 6, 9
Y	日本国実用新案登録出願 60-58816 号(日本国実用新案登録出願公開 61-175955 号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマ イクロフィルム (リンナイ株式会社) 1986. 11. 01, 第1、2図 (フ ァミリーなし)	5, 6, 9
X/Y	JP 2004-089138 A (オリンパス株式会社) 2004. 03. 25, 特許請求の 範囲、図4、[0034] - [0040] (ファミリーなし)	10/6, 8-10
Y	JP 2015-223169 A (オリンパス株式会社) 2015. 12. 14, 図2、[00 30] - [0032] & US 2015/0344833 A1, Fig. 2, [0075]-[0077] & EP 2949744 A1 & CN 105274001 A	10