

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4077950号  
(P4077950)

(45) 発行日 平成20年4月23日 (2008. 4. 23)

(24) 登録日 平成20年2月8日 (2008. 2. 8)

(51) Int. Cl.

F 1

C 1 2 M 3/00 (2006. 01)

C 1 2 M 3/00

Z

C 1 2 M 1/00 (2006. 01)

C 1 2 M 1/00

A

C 1 2 M 1/20 (2006. 01)

C 1 2 M 1/20

請求項の数 5 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平10-248116  
 (22) 出願日 平成10年9月2日 (1998. 9. 2)  
 (65) 公開番号 特開2000-69957 (P2000-69957A)  
 (43) 公開日 平成12年3月7日 (2000. 3. 7)  
 審査請求日 平成16年11月1日 (2004. 11. 1)

(73) 特許権者 000158208  
 A G C テクノグラス株式会社  
 千葉県船橋市行田一丁目50番1号  
 (74) 代理人 100086449  
 弁理士 熊谷 浩明  
 (72) 発明者 伊藤 亨  
 千葉県船橋市行田一丁目50番1号 岩城  
 硝子株式会社内  
 (72) 発明者 百瀬 文隆  
 千葉県船橋市行田一丁目50番1号 岩城  
 硝子株式会社内  
 (72) 発明者 本間 正充  
 東京都世田谷区上用賀1-18-1 国立  
 医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研  
 究センター内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蓋付き容器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

所要の板厚を備えた底板部の周囲に堰板部を立設して画成された囲繞空間を有してなる容器本体と、該容器本体の開口面を覆って施蓋される蓋体とで構成され、容器本体における前記底板部には、液体試料を個別に定量保持し得る複数個の穴部と、容器本体の囲繞空間内に注ぎ入れられた液体試料のうちの余剰分を吸引ノズルで吸引除去してその液面高さを調整する際に有用な少なくとも1個の液溜り穴部とを、前記底板部の平坦な上表面にそれぞれの開口部を位置させて個別に凹設したことを特徴とする蓋付き容器。

【請求項 2】

前記穴部は、その底面部から開口部に向かって次第に拡径するテーパが付された円形の平面形状を呈し、かつ、その深さが2～7mmとなってそれぞれが相互に同一の容量を有していることを特徴とする請求項1記載の蓋付き容器。

【請求項 3】

前記穴部のそれぞれは、行方向と列方向とに整列させ、かつ、行もしくは列方向で隣合う相互の距離が等しくなるように離間させて配置したことを特徴とする請求項1または2記載の蓋付き容器。

【請求項 4】

最外周に位置して堰板部と近接する一連の穴部は、堰板部の内側面側にそれぞれの外縁が到達する配置関係のもとで凹設するとともに、該内側面へと到達した部位の各穴部の拡径形状に沿わせて直上する円弧状の凹曲面を前記内側面に削成して連続させたことを特徴

10

20

とする請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の蓋付き容器。

【請求項 5】

前記容器本体と蓋体とは、透明なガラス材もしくは透明な合成樹脂材で形成されていることを特徴とする請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の蓋付き容器。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、細胞および組織の培養、特に培養細胞遺伝子突然変異試験やモノクローナル抗体作成のためのハイブリドーマのクローニングなどのための多房型細胞培養容器として好適に使用することができる蓋付き容器に関する。

10

【0002】

【従来の技術】

多房型細胞培養容器を含む細胞培養容器は、一般に細胞の生体外での培養のために使用されており、特に多房型細胞培養容器については、通常、6 個、12 個、24 個、48 個および 96 個の培養房と称される穴部を備えて形成されている。

【0003】

上記多房型細胞培養容器の具体的な構造に関しては、例えば特公昭 62 - 60075 号公報のほか、米国特許第 4349632 号、同第 4038149 号、同第 4012288 号、同第 4010078 号、同第 3597326 号及び同第 3107204 号などとして既に提案されている。

20

【0004】

これらのうち、特公昭 62 - 60075 号公報に開示されている蓋付き容器は、図 3 に示す全体斜視図からも明らかなように、容器本体 4 と、該容器本体 4 の開口面を覆って施蓋される蓋体 2 とで蓋付き容器 1 の全体が構成されている。

【0005】

この場合、容器本体 4 には、培養房と称される独立した複数個の穴部 3 が形成されており、これら穴部 3 内で細胞の培養ができるようになっていことから、培地および培養細胞も各穴部 3 ごとに独立した隔離状態を維持できるようになっている。したがって、該容器 1 を用いる場合には、例えばある特定物質に対する培養細胞の反応（増殖の様子や形態的な変化など）の観察等、様々な培養に関する試験や分析を好適に行うことができることになる。

30

【0006】

しかし、同一の容器 1 を使用して培養する場合には、通常、各穴部 3 相互間でそれぞれの試料が混入してはならないことが多いので、各穴部 3 内への試料等の分注は個別に行わなければならない。

【0007】

一方、図 4 は、小容量の細胞培養や、HLA タイピング、リンパ球分類テスト、補体結合反応などの組織血液型判定用に使用する一般に周知のテラサキプレートと称されている蓋付き容器についての全体斜視図である。

【0008】

40

テラサキプレートと称される蓋付き容器 5 の全体は、図 3 に示す多房型の容器 1 と同様に、容器本体 6 と、該容器本体 6 の開口面を覆って施蓋される蓋体 9 とで構成されている。そして、該容器 5 は、底板部 7 に凹設された複数個の穴部 8 を有する構造を備えている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、図 3 に示す蓋付き容器 1 の場合、細胞の培養に関する試験や分析作業においては、各穴部 3 のすべてに同一の試料を分注することもあり、かかる場合においては、分注段階で穴部 3 ごとに独立に液体試料を注ぎ入れる必要がなく、各穴部 3 間で試料が混入しても、各穴部 3 あたり目的の量だけ分注できさえすれば支障がないこともある。具体的には、穴部 3 のすべてに同一の細胞懸濁液を分注し、一定期間培養後、各穴部 3 の観察及び

50

形成された細胞のコロニーの計数または単離等を行う培養細胞遺伝子突然変異試験やモノクローナル抗体作製のためのハイブリドーマのスクリーニング等の実験がある。このような実験の場合、試料等の分注を各々の穴部3に対して独立に行う操作は大変煩雑で、時間を費やしてしまう。96個の穴部3を有する容器(多房型培養容器)1については、現在、市販されている8連または12連のピペットを用いれば、効率的に分注できるものの、枚数が多くなると、やはり大変煩雑な作業になる。処理数が大規模になれば、周知の自動分注機などを使用することにより、作業効率を高めることはできるものの、該自動分注器自体が非常に高価であり、中小規模の実験段階での使用には経済的に引き合わないという不都合があった。

#### 【0010】

10

また、図4に示す蓋付き容器(テラサキプレート)5の場合、容器本体6が備える各穴部8は、一般に容量が小さいため保持できる液量も少なく、また、穴部8の開口部から底部にかけて、ほぼ凹曲面状またはすり鉢状になっていて細かな顕微鏡観察には不向きであることから、培養細胞遺伝子突然変異試験等には適さないという問題があった。

#### 【0011】

本発明は従来技術にみられた上記課題に鑑み、容器本体の囲繞空間内に液体試料を注ぎ入れた後、吸引ノズルで余剰分の液体試料を単に吸い取ることによって、所定量の液体試料を各穴部内に分注できるようにして処理の迅速化を実現し、特に培養細胞遺伝子突然変異試験やモノクローナル抗体作製のためのハイブリドーマのスクリーニングなどの実験に優れた威力を発揮させることができる蓋付き容器を提供することにその目的がある。

20

#### 【0012】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明は上記目的を達成すべくなされたものであり、その構成上の特徴は、所要の板厚を備えた底板部の周囲に堰板部を立設して画成された囲繞空間を有してなる容器本体と、該容器本体の開口面を覆って施蓋される蓋体とで構成され、容器本体における前記底板部には、液体試料を個別に定量保持し得る複数個の穴部と、容器本体の囲繞空間内に注ぎ入れられた液体試料のうちの余剰分を吸引ノズルで吸引除去してその液面高さを調整する際に有用な少なくとも1個の液溜り穴部とを、前記底板部の平坦な上表面にそれぞれの開口部を位置させて個別に凹設したことにある。

#### 【0013】

30

この場合、前記穴部は、その底面部から開口部に向かって次第に拡径するテーパが付された円形の平面形状を呈し、かつ、その深さが2~7mmとなってそれぞれが相互に同一の容量を有してることが好ましい。また、前記穴部のそれぞれは、行方向と列方向とに整列させ、かつ、行もしくは列方向で隣り合う相互の距離が等しくなるように離間させて配置するのが望ましい。

#### 【0014】

さらに、最外周に位置して堰板部と近接する一連の穴部は、堰板部の内側面側にそれぞれの外縁が到達する配置関係のもとで凹設するとともに、該内側面へと到達した部位の各穴部の拡径形状に沿わせて直上する円弧状の凹曲面を前記内側面に削成して連続させるのが好ましい。なお、前記容器本体と蓋体とは、透明なガラス材もしくは透明な合成樹脂材で

40

#### 【0015】

##### 【発明の実施の形態】

図1は本発明に係る蓋付き容器の一例を開蓋状態のもとで示す全体斜視図であり、所要の板厚を備えて少なくともその上表面14が平坦となった底板部13の周囲に堰板部17を立設して画成された囲繞空間20を有してなる容器本体12と、該容器本体12の開口面12aを覆って施蓋される蓋体21とで構成されている。

#### 【0016】

このうち、容器本体12は、例えば短辺が70~90mmで、長辺が120~130mmで、板厚が3~8mmの方形の平面形状を呈する底板部13と、該底板部13における上

50

表面 14 からの高さが 4 ~ 6 mm である堰板部 17 とで構成されており、図 2 ( a ) に示されるように例えば試験管 25 から注ぎ込まれる所要量の液体試料 L を収容できるように形成されている。なお、容器本体 12 は、図示例以外にも、穴部 15 の必要個数との関係で定まる適宜の寸法のもとで適宜形成することができる。

【 0017 】

しかも、底板部 13 には、図 2 ( c ) に示されるように一定量の液体試料 L を個別に保持し得る複数個の底面部 15 b を有する穴部 15 と、容器本体 12 の囲繞空間 20 内に注ぎ込まれた液体試料 L のうちの余剰分を吸引ノズル 26 で吸引除去してその液面高さを調整する際に利用される例えば 1 個の液溜り穴部 16 とが平坦な上表面 14 にそれぞれの開口部 15 a , 16 a を位置させて個別に凹設されている。

10

【 0018 】

このうち、各穴部 15 は、その底面部 15 b から開口部 15 a に向かって次第に拡径するテーパが付された円形の平面形状を呈し、かつ、その深さが 2 ~ 7 mm となって、それぞれが倒置させた略截頭円錐形を呈する同一容量のもとで凹設するのが望ましい。

【 0019 】

特に、培養細胞遺伝子突然変異試験等の細胞培養の場合では、各穴部 15 の内部空間として 40 ~ 3500  $\mu$ l 程度の容量を確保できていれば十分なので、穴部 15 の内径を 5 ~ 25 mm の範囲で適宜設定することができる。また、穴部 15 の底面部 15 b が円形の平面形状を呈しているのが望ましい理由は、細胞が形成したコロニー等を単離する際、該穴部 15 の底面部 15 b が四角形等の角張った形状であると、コロニー等がコーナー部にできてしまった場合に回収しにくくなってしまうためである。

20

【 0020 】

各穴部 15 の深さを 2 ~ 7 mm とする理由は、底面部 15 b から開口部 15 a までの深さが 2 mm よりも浅いと、穴部 15 の内部空間体積が小さくなり、保持できる細胞培養用の培地が少なくなってしまう、培養細胞遺伝子突然変異試験を行うにあたって不都合が生じるからである。また、穴部 15 の深さが 7 mm よりも深いと、主な用途である培養細胞遺伝子突然変異試験等の細胞培養で細胞が形成するコロニーの観察および単離することに支障を生ずる恐れがあるためである。

【 0021 】

さらに、個々の穴部 15 は、例えば行もしくは列方向を 12 個とし、列もしくは行方向を 8 個とすることにより、容器本体 12 の底板部 13 に計 96 個を配列できるようにして凹設するなど、行方向と列方向とに整列させ、かつ、行もしくは列方向で隣り合う相互の距離が等しくなるように離間させて配置されている。しかも、この場合、図示は省略してあるが、例えば容器本体 12 の堰板部 17 の上端面 17 a を利用するなどして、穴部 15 の行方向に沿わせて算用数字「1」~「12」を、列方向に沿わせてアルファベット「A」~「H」をそれぞれ表示するなど、位置座標を示す適宜の記号を行方向と列方向とに各別に表示しておくならば、個々の穴部 15 の位置を迅速に特定できるので好ましい。

30

【 0022 】

また、図 1 に示すように、底板部 13 にあって最外周に位置する一連の穴部 15 を堰板部 17 の内側面 18 側にそれぞれの外縁が到達する配置関係のもとで凹設するとともに、該内側面 18 へと到達した部位の各穴部 15 の拡径形状に沿わせて直上する円弧状の凹曲面 18 a を内側面 18 に形成して連続させておくならば、容器本体 12 内に注ぎ込まれるべき液体試料 L の供給量を必要最小限の量とすることができるので好ましい。

40

【 0023 】

さらに、図 2 ( b ) に示されるように液体試料 L を吸引するための吸引ノズル 26 を差し込むために用意される液溜り穴部 16 は、その開口部 16 a が穴部 15 の開口部 15 a と同様に底板部 13 の上表面 14 に位置するものであれば、穴部 15 の深さよりも深さが浅く、かつ、穴部 15 の容量よりも小さな容量を保持するものであってもよい。また、液溜り穴部 16 の配設位置と個数とは、穴部 15 が凹設されていない底板部 13 であれば特に制限はなく、適宜の一辺の 1 箇所または複数箇所に凹設しておくのが好ましい。

50

## 【0024】

さらにまた、容器本体12にあって少なくとも前後もしくは左右のいずれか一方の側、図1に示した実施例では、左右に対となって位置する堰板部17、17のそれぞれの外側面19、19に前下がりに傾斜させて形成した斜面19a、19aをガイド面とすることにより、蓋体21をより容易に施蓋する例を示してあるが、これに限定されるものではなく、例えば垂直にするなど、所望に応じ適宜選定することができる。

## 【0025】

なお、容器本体12と蓋体21とは、ポリスチレンなどの透明性のある樹脂材や透明なガラス材などを用いて形成するのが好ましい。

## 【0026】

本発明はこのようにして構成されているので、その使用に際しては、図2(a)~(c)の過程を経ることにより各穴部15内に液体試料Lを分注することができることになる。

## 【0027】

すなわち、各種の試験や実験に従事する者は、あらかじめ試験管25内に所要量入れてある例えば調整した細胞懸濁液などの液体試料Lを容器本体12内に液面が底板部13の上表面14よりも高くなるよう単に注ぎ入れることにより、図(a)に示すように穴部15内と液溜り穴部16内とを含む囲繞空間20内に適宜の液位のもとで液体試料Lを満たすことができる。

## 【0028】

容器本体12内への液体試料Lの注入を終えた後は、図(b)に示すように液溜り穴部16内に吸引ノズル26を差し込んで液体試料Lを吸引することにより、余剰分を排除して液位を低くすることができる。

## 【0029】

しかも、液溜り穴部16の開口部16aは、穴部15の開口部15aと同様に底板部13の上表面14に位置しているので、吸引ノズル26による吸引除去作業を続けることにより、やがて、液体試料Lの液位も図(c)に示すように底板部13の上表面14にまで下げることができる。また、必要に応じて容器本体12を傾けることにより液体試料Lを液溜り穴部16側に寄せた上で液溜り穴部16に対する吸引ノズル26による吸引除去作業を続けることにより、各穴部15内にのみ液体試料Lを残して排除することができる。

## 【0030】

このため、容器本体12内へに注ぎ込まれた液体試料Lは、各穴部15内に残留するのみとなり、余剰分の液体試料Lを容器本体12内からすべて排除することができることになる。つまり、各穴部15内に個別に液体試料Lを注入するという個別分注作業を経ることなく、容器本体12の囲繞空間20内に単に液体試料Lを注ぎ入れることにより、すべての穴部15内にその容量に応じた所定分量の液体試料Lを自動的に保持させることができることになる。

## 【0031】

## 【発明の効果】

以上述べたように本発明によれば、底板部には、液体試料を個別に定量保持し得る複数個の穴部と少なくとも1個の液溜り穴部とが、平坦な上表面にそれぞれの開口部を位置させて個別に凹設されているので、各穴部内に個別に液体試料を注入するという個別分注作業を経ることなく、液溜り穴部内の液体試料を吸引ノズルで吸引除去することですべての穴部内にその容量に応じた所定分量の液体試料を自動的に保持させることができ、実験もしくは試験時における作業効率の向上に大きく寄与させることができる。

## 【0032】

また、深さが2~7mmとなって、それぞれが倒置させた略截頭円錐形を呈する同一容量のもとで各穴部が凹設されている場合には、培養細胞遺伝子突然変異試験等の細胞培養において、細胞が形成したコロニー等を単離する際にその回収を容易に行えるばかりでなく、必要にして十分な細胞培養用の培地を確保することができるほか、主な用途である培養細胞遺伝子突然変異試験等の細胞培養で細胞が形成するコロニーの観察と単離とを円滑に

10

20

30

40

50

行うこともできることになる。

【 0 0 3 3 】

さらに、個々の穴部が底板部に行方向と列方向とに整列させ、かつ、行もしくは列方向で隣り合う相互の距離が等しくなるように離間させて配置されている場合には、主な用途である培養細胞遺伝子突然変異試験等において細胞が形成するコロニーの計数作業を容易化することができる。

【 0 0 3 4 】

さらにまた、各穴部の拡張形状に沿わせて直上する凹曲面が堰板部の内側面に形成されている場合には、容器本体内に注ぎ込まれるべき液体試料の供給量を必要最小限の量とすることができるので、作業性を向上させることができる。

10

【 0 0 3 5 】

また、容器本体の堰板部の外側面に斜面を形成してある場合には、蓋体を施蓋する際のガイド面とすることができるので、例えば自動施蓋装置を利用して施蓋する際などに有効に機能させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明に係る蓋付き容器の一例を開蓋状態のもとで示す全体斜視図。

【図 2】図 1 における A - A 線矢視方向での一部を省略した縦断面図を例に本発明に係る蓋付き容器に対し液体試料を分注する際の作業手順を ( a ) ~ ( c ) として示す説明図。

【図 3】多房型細胞培養容器の従来例を開蓋状態のもとで示す全体斜視図。

【図 4】一般にテラサキプレートと称されている蓋付き容器の従来例を開蓋状態のもとで示す全体斜視図。

20

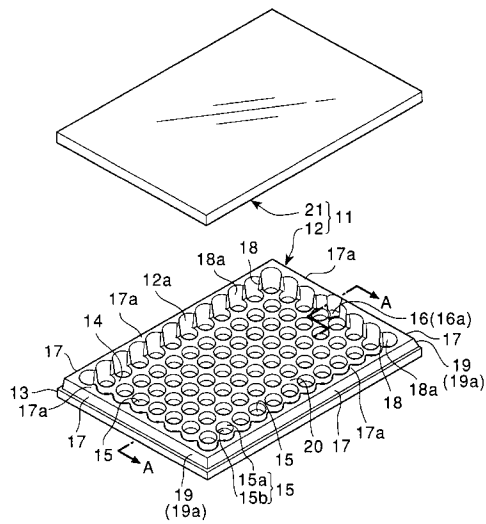
【符号の説明】

- 1 1 蓋付き容器
- 1 2 容器本体
- 1 2 a 開口面
- 1 3 底板部
- 1 4 上表面
- 1 5 穴部
- 1 5 a 開口部
- 1 5 b 底面部
- 1 6 液溜り穴部
- 1 6 a 開口部
- 1 7 堰板部
- 1 7 a 上端面
- 1 8 内側面
- 1 8 a 凹曲面
- 1 9 外側面
- 1 9 a 斜面
- 2 0 囲繞空間
- 2 1 蓋体
- 2 5 試験管
- 2 6 吸引ノズル
- L 液体試料

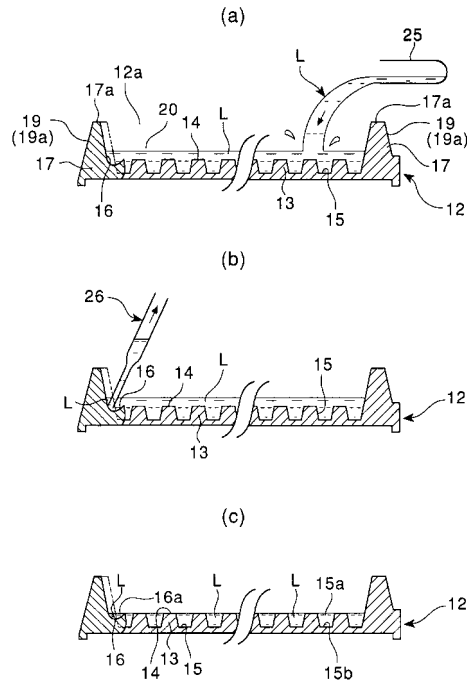
30

40

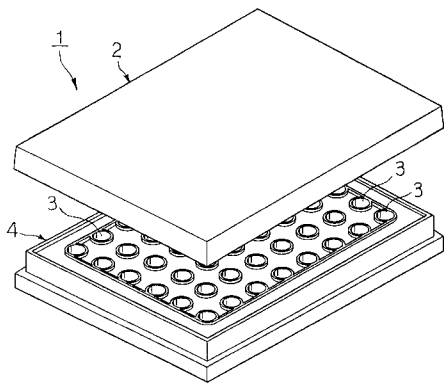
【図 1】



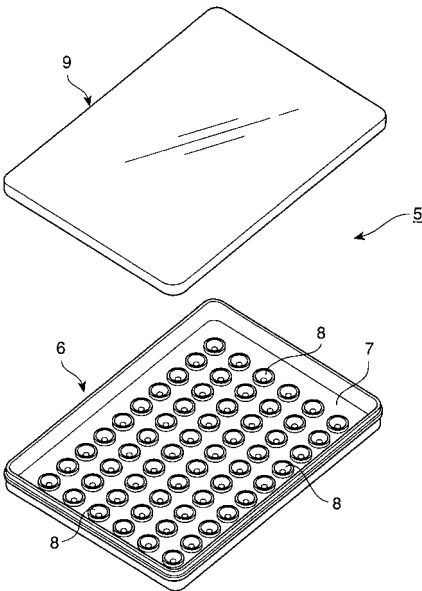
【図 2】



【図 3】



【図 4】



---

フロントページの続き

審査官 斎藤 真由美

(56)参考文献 特開平 0 8 - 2 2 4 0 7 8 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C12M 1/00-3/10

C12N 1/00—9/99

C12Q 1/00—70

G01N 33/00-98

PubMed、MEDLINE(STN)

BIOSIS/WPI(DIALOG)