

明 細 書

発明の名称：細胞培養装置及び細胞培養方法

技術分野

[0001] 本発明は、細胞培養装置及び細胞培養方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、「持続可能な開発目標（SDGs）」の達成に向け、世界各国で真に持続可能な食料生産システムの開発が行われており、中でも「細胞性食品」に関する開発が広がりを見せている。また、本技術分野の背景技術として、例えば特許文献1には、パーミエーター（Permeator）の管状のガス透過性膜を介する間接的通気を用いる組織細胞培養物の液中培養法が記載されている。この方法を実施するための装置として、特許文献1は、管状パーミエーターが細胞培養装置の容器内の垂直中心管を形成する構成を開示している。そして、パーミエーターの下部には攪拌機が固定されており、この攪拌機が回転することで、ガスが液中に拡散する。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特公平03-021149号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] しかしながら、特許文献1に記載の細胞培養装置は、管状パーミエーターの上部が開放されているため、パーミエーターの上部から細胞培養物が内部に入り込む可能性がある。マイクロキャリアに結合した細胞培養物がパーミエーター内部に入り込むと、攪拌機により細胞培養物が剪断される。その結果、細胞がマイクロキャリアから剥離したり、細胞が破壊されたりして、細胞培養効率の低下を招く虞がある。

[0005] 本発明は、このような実情に鑑みてなされたもので、その目的は、足場に付着した細胞が剥離するのを防止して、細胞培養効率の低下を抑止すること

にある。

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、本発明の第一の態様は、細胞を培養する細胞培養装置であって、培養液を貯留する培養槽と、前記培養槽を少なくとも第1空間と第2空間とに仕切る仕切手段と、前記培養液を攪拌する攪拌手段と、を備え、前記第1空間は、前記細胞が付着する足場が収容される空間であり、前記第2空間は、前記攪拌手段が設けられる空間であり、前記仕切手段は、前記培養液の通過が可能、かつ、前記足場の前記第1空間から前記第2空間への侵入が不能に構成される、ことを特徴とする。

[0007] また、上記目的を達成するために、本発明の第二の態様は、上記した第一の態様に記載の細胞培養装置を用いた細胞培養方法であって、前記第1空間に足場を投入し、前記培養槽に前記培養液を供給する工程と、前記攪拌手段を駆動して前記培養液を攪拌する工程と、前記第1空間から前記足場の一部を取り出す工程と、前記第1空間に新しい足場を投入して、前記第1空間に残っている前記足場と混ぜる工程と、を含む、ことを特徴とする。

発明の効果

[0008] 本発明によれば、足場に付着した細胞が剥離するのを防止して、細胞培養効率の低下を抑止できる。なお、上記した以外の課題、構成及び効果は、以下の実施形態の説明により明らかにされる。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]本発明の第1実施形態に係る細胞培養装置の全体構成と培養槽の縦断面を模式的に示した図である。

[図2]培養槽の横断面を模式的に示した図である。

[図3]培養槽内に設けられる円筒部材の斜視図である。

[図4]細胞培養の手順を示すフローチャートである。

[図5]足場の回収・補充処理の手順を示すフローチャートである。

[図6]本発明の第2実施形態に係る細胞培養装置の全体構成と培養槽の縦断面を模式的に示した図である。

[図7]培養槽内に設けられる円筒部材の斜視図である。

[図8A]円筒部材が拡張した状態を示す図である。

[図8B]円筒部材が縮径した状態を示す図である。

[図9]第2実施形態における足場の回収・補充処理の手順を示すフローチャートである。

[図10A]変形例1に係る細胞培養装置の縦断面を模式的に示した図である。

[図10B]図10Aに示す培養槽の横断面を模式的に示した図である。

[図11A]変形例2に係る細胞培養装置の横断面を模式的に示す図である。

[図11B]図11Aに示すB部の拡大図である。

[図12A]培養槽の形状のバリエーションを示す図である。

[図12B]培養槽の形状のバリエーションを示す図である。

[図12C]培養槽の形状のバリエーションを示す図である。

[図12D]培養槽の形状のバリエーションを示す図である。

[図13]変形例4に係る細胞培養装置の縦断面を模式的に示した図である。

[図14]変形例5に係る細胞培養装置の縦断面を模式的に示した図である。

[図15A]バスケットの平面図である。

[図15B]バスケットの縦断面図である。

[図16A]変形例6に係るバスケットの平面図である。

[図16B]図16AのXV-B-XV-B断面図である。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、本発明の実施形態について、動物細胞を培養する場合を例に挙げて、図面を参照しながら説明する。

[0011] (第1実施形態)

図1は、本発明の第1実施形態に係る細胞培養装置100の全体構成と培養槽10の縦断面を模式的に示した図であり、図2は、培養槽10の横断面を模式的に示した図であり、図3は、培養槽10内に設けられる円筒部材20の斜視図である。なお、図2において、図1に示す攪拌手段30の図示は省略している。

- [0012] 図1に示すように、本実施形態に係る細胞培養装置100は、培養槽10と、円筒部材20と、攪拌手段30と、を主に備える。
- [0013] 培養槽10は、胴体部11と底部12とにより形成された有底円筒状の容器と、胴体部11の上部を覆う円盤状の蓋体13と、を備える。培養槽10は、その内部に培養液50を貯留する。培養槽10は、例えばステンレス鋼から成るが、その他の材料（ガラス、シリコン樹脂など）で構成されても良い。なお、培養槽10がシリコン樹脂で構成される場合、培養槽10は、培養バッグと称されることもある。
- [0014] 蓋体13は、胴体部11と図示しないパッキンを介して密着されている。これにより、培養槽10の内部が密閉される。蓋体13には、供給管15, 16が設けられている。供給ラインから供給される足場40（後述）及び培養液50は、供給管15, 16を介して培養槽10内に導入される。また、蓋体13には、供給管15, 16のほか、図示しない様々な管やホース、ノズル等が設けられている。これらは、各種センサの接続、酸素等の供給、あるいはサンプリングなどのあらゆる目的のために用いられる。
- [0015] 培養槽10の底部12には、電磁弁60が1つ設けられている。勿論、電磁弁60の数は複数であっても良い。また、培養槽10の胴体部11には、培養液50の液面高さを検出するためのレベルスイッチ65, 66が設けられている。レベルスイッチ65は、培養液50の液面高さが適正レベルPLにあるか否かを検出する。レベルスイッチ65は、培養液50の液面高さが適正レベルPLを超えた場合に、レベル高信号を出力する。ここで、適正レベルPLとは、培養液50が培養槽10内に概ね満杯になる位置である。
- [0016] 一方、レベルスイッチ66は、培養液50の液面高さが特定レベルSLにあるか否かを検出する。レベルスイッチ66は、培養液50の液面高さが特定レベルSLを下回った場合に、レベル低信号を出力する。ここで、本実施形態では、適正レベルPLの略半分の高さ位置を特定レベルSLに定めているが、特定レベルSLは、足場40の回収・補充に好適な位置に任意に設定することができる。

- [0017] 電磁弁60は、電気配線E1を介してコントローラ70と接続され、レベルスイッチ65、66は、電気配線E3を介してコントローラ70と接続されている。コントローラ70は、レベルスイッチ65、66からの入力（レベル低信号／レベル高信号）に基づいて、電磁弁60の開閉動作を制御する。電磁弁60が開くと、培養槽10内の任意の量の足場40や培養液50が回収ラインへと回収（排出）され、電磁弁60が閉じると、残りの足場40及び培養液50は培養槽10に貯留され、その後、さらに足場40と培養液50が補充され、それにより、補充された足場40に動物細胞が付着する。
- [0018] 円筒部材（仕切手段）20は、例えばステンレス鋼から成る円筒状の部材で構成される。図2に示すように、円筒部材20は、培養槽10と同軸（中心軸O）上に設けられ、培養槽10の内部空間を同心円状に二分する。具体的には、培養槽10は、円筒部材20の内部空間である第2空間R2と、培養槽10と円筒部材20との間に形成された円環状の空間である第1空間R1とに仕切られる。第1空間R1には、足場40が収容される。第2空間R2には、攪拌手段30が設けられるが、足場40は存在しない（図1参照）。
- [0019] また、図3に示すように、円筒部材20は、全周に亘って多数の孔21が設けられている。孔21の直径は、足場40が通過しない程度の大きさに決定される。例えば、孔21の直径は500ミクロン程度である。この程度の大きさの孔21にすることにより、第1空間R1と第2空間R2とは多数の孔21により連通し、培養液50は、円筒部材20の孔21を介して第1空間R1と第2空間R2との間を流通する。一方、足場40は孔21の直径より大きいため、足場40が第1空間R1から第2空間R2へ侵入できない。即ち、円筒部材20は、培養液50の通過を許容するが、足場40の通過を阻止する構成である。
- [0020] なお、図1に示すように、円筒部材20は培養槽10の胴体部11と略同じ高さで構成されているため、足場40が円筒部材20の内部に回り込んで侵入することもできない。このように、円筒部材20は、培養槽10を完全

に2つの空間R1, R2に隔離して、第1空間R1から第2空間R2への足場40の侵入や回り込みを完全に阻止している。

[0021] ここで、円筒部材20は、第1空間R1に收容された足場40が第2空間R2に侵入しないように両空間R1, R2を仕切ることができれば良く、必ずしも培養槽10を完全に2つの空間に隔離しなくても良い。仮に、円筒部材20と蓋体13との間に隙間があったとしても、足場40が隙間を介して第2空間R2に侵入しない場合、そのような円筒部材20は本発明の仕切手段に含まれる。

[0022] なお、円筒部材20を、例えば14～100メッシュ（1インチ辺りの網目の数が14～100個）の金網で構成しても良い。この構成であっても、図3に示す円筒部材20と同等の作用効果を奏することができる。

[0023] 次に、足場40について説明する。足場40は、動物細胞が付着するためのものであり、シートや三次元の形状で、多孔質状やゲル状の構造体から成る。足場40の材質としては、特に限定しないが、PETやPP等の樹脂製のものや、植物由来や動物由来のものが挙げられる。本実施形態において、足場40は植物由来や動物由来の食用足場である。足場40は、例えば、タンパク質及び多糖類を含む。ここで、食用とは、体内に安全に摂取され得る組成物を指す。この足場40を基質として動物細胞が付着・増殖することで細胞性食品が生成される。足場40に付着される動物細胞としては、筋肉由来の細胞、皮膚由来の細胞、腸由来の細胞、心臓由来の細胞、脳由来の細胞、胃由来の細胞、胚膜由来の細胞、肝臓由来の細胞、腎臓由来の細胞、および肺由来の細胞が挙げられる。なお、足場40は、図1及び図2に示すように、第1空間R1に万遍なく高い密度で詰められており、第1空間R1内の流動が抑制されている。

[0024] 攪拌手段30は、培養液50を攪拌するためのものであって、図1に示すように、駆動源であるモータ31と、回転軸32と、攪拌翼33と、を備える。即ち、本実施形態では、プロペラ式の攪拌手段30が用いられている。攪拌翼33が高さ方向に対して多段で配置されることにより、高さ方向にお

いてより均一に培養液 50 が培養槽 10 の中心から第 1 空間 R1 に万遍なく行き渡る。さらには、大型の培養槽 10 にも適用可能となる。本実施形態では攪拌翼 33 が多段に配置されているが、攪拌翼 33 は高さ方向に連続した一枚の攪拌翼でもよく、遠心ポンプを代表とする液体を外周方向に送液する装置を用いてもよい。

[0025] モータ 31 は、蓋体 13 に固定されている。モータ 31 の出力軸と回転軸 32 とは、図示しないカップリングを介して接続されている。回転軸 32 には、複数（例えば 3 つ）の攪拌翼 33 が上下 2 段に設けられている。モータ 31 が回転すると、モータ 31 の回転に従動して回転軸 32 が回転し、上下一对の攪拌翼 33 が回転軸 32 を中心に水平方向に回転する。こうして、第 2 空間 R2 内の培養液 50 が攪拌される。そして、培養液 50 は、円筒部材 20 に設けられた多数の孔 21 を介して第 1 空間 R1 に万遍なく導入される。なお、モータ 31 は、コントローラ 70 と電気配線 E2 を介して接続されており、コントローラ 70 からの指令に従って、回転が制御されている。

[0026] コントローラ 70 は、CPU や記憶装置である ROM 及び RAM、その他の周辺回路などを有する演算処理装置を含んで構成される。ROM には制御プログラムが格納されており、CPU が制御プログラムを読み出して、種々の処理を実行する。細胞培養装置 100 に取り付けられた各種センサ（図示せず）は、コントローラ 70 と電氣的に接続される。コントローラ 70 は、入力されたセンサデータに基づいて、例えばモータ 31 の回転速度を制御したり、後述するように電磁弁 60 の開閉動作を制御したりする。

[0027] （細胞培養方法）

次に、細胞培養装置 100 を用いた細胞培養方法について説明する。図 4 は、細胞培養の手順を示すフローチャートである。図 4 に示す各工程は、コントローラ 70 により制御されている。まず、前段階として、作業者が、細胞培養装置 100 内の殺菌処理を行い、微生物を除去してコンタミ発生を防止する。次いで、コントローラ 70 からの指令に従い、供給ラインから供給管 15, 16 を介して第 1 空間 R1 内に足場 40 が投入される（S1）。次

いで、培養液 50 の液面が適正レベル PL に到達するまで、培養液 50 が培養槽 10 の第 2 空間 R2 に供給される (S2)。このとき、酸素等の栄養素も適宜、培養槽 10 に供給される。そして、コントローラ 70 に予め記憶されたプログラムに従い、コントローラ 70 が攪拌手段 30 のモータ 31 を定期的または連続的に任意に駆動する (S3)。こうして、培養液 50 が攪拌され、動物細胞の培養が促進される。即ち、動物細胞が足場 40 を基質として効率良く増殖する。足場 40 に十分、動物細胞が付着した後、足場 40 の一部は回収され、新しい足場 40 が補充される (S4)。これら S1～S4 の工程を、所望の足場 40 が回収される繰り返し行われる (S5)。

[0028] 次に、工程 S4 に示す、足場 40 の回収・補充の処理手順について詳しく説明する。図 5 は、足場の回収・補充処理の手順を示すフローチャートである。図 5 に示すように、コントローラ 70 からの指令により電磁弁 60 が開き (S41)、足場 40 が培養液 50 と共に回収ラインへ排出される (S42)。即ち、培養槽 10 の第 1 空間 R1 から足場 40 の一部が培養液 50 と共に回収され、培養液 50 の液面が徐々に低下する。

[0029] 次いで、コントローラ 70 は、レベルスイッチ 66 からのレベル低信号が入力されたこと (S43/YES) に基づいて、電磁弁 60 を閉じる (S44)。そして、コントローラ 70 からの指令により、供給ラインから供給管 15, 16 を介して、新しい足場 40 が第 1 空間 R1 に補充され、培養液 50 が第 2 空間 R2 に補充される (S45)。具体的には、S42 において回収された足場 40 と同じ量だけ新しい足場 40 が第 1 空間 R1 に補充される。よって、この S45 において、古い足場 40 (細胞が付着した足場 40) と新しい足場 40 (細胞が付着していない足場 40) とが約 1 : 1 の比率で、第 1 空間 R1 において混ざり合うこととなる。

[0030] そして、培養液 50 の供給に伴い培養液 50 の液面高さが上昇し、培養液 50 の液面高さが適正レベル PL まで到達したら、レベルスイッチ 65 からのレベル高信号がコントローラ 70 に入力される。コントローラ 70 はレベル高信号に基づいて、培養液 50 の供給を停止して、処理を終了する (S4

6／YES)する。こうして、動物細胞が付着した足場40の約半分が新しい足場40に交換されることとなる。

[0031] 以上説明した本実施形態によれば、以下の作用効果を奏することができる。

[0032] 第1空間R1と第2空間R2とが円筒部材20により隔離されており、かつ、円筒部材20の孔21は足場40の通過が不能な構成である。そのため、足場40が第2空間R2に侵入することができない。その結果、足場40が攪拌翼33と衝突するのを防止でき、足場40に付着した動物細胞が剥離するのを防止できる。よって、本実施形態によれば、細胞培養効率を高めることができる。加えて、本実施形態によれば、持続可能な開発目標(SDGs)の達成にも貢献する。

[0033] また、培養液50は、攪拌翼33によって攪拌され、足場40に万遍なく行き渡るため、足場40に均一に動物細胞を付着させることができる。さらに、多数の孔21により攪拌時の渦が緩衝されるため、動物細胞に与えるストレスは大幅に低減される。よって、良好な細胞性食品を得ることができる。

[0034] また、全体の約半分の足場40のみ交換する工程(S4)を含むことにより、足場40を全て交換する場合と比べて、細胞培養効率が向上する。より詳細に説明すると、動物細胞が付着した足場40を全て収穫すると、大量に細胞が増えた状態がリセットされ、次の生産を開始する際に細胞量が少ない初期状態から改めて細胞を増やさなければならない。

[0035] 細胞は概ね1日で2倍に増えるため、仮に1kgの細胞を初期細胞量として培養開始する場合、7日間の培養期間で100kgの細胞量となり、1日あたりの生産量に換算すると約14kg/日となる。一方で、50kgの細胞を初期細胞量として生産開始する場合、細胞は概ね1日で2倍に増えるため、1日間の培養期間で100kgの細胞量となり、1日あたりの生産量に換算すると約50kg/日となる。

[0036] つまり、古い足場40を半分程度残しつつ、新しい足場40と混在させる

ことで、次回生産開始時に投入すべき細胞を使用せずに残った細胞を用い、初期細胞量が多い状態で培養を開始することができる。これにより、1日あたりの生産量を向上させることができる。

[0037] なお、古い足場40と新しい足場40の交換比率を変更したい場合には、レベルスイッチ66の位置を変えれば良い。

[0038] また、本実施形態に係る細胞培養装置100は、培養液50を貯留する培養槽10と、培養槽10内に設けられた円筒部材20と、培養液50を攪拌する攪拌手段30と、を備えるだけの簡単な構成であるため、製造設備を低コストで実現できる利点もある。

[0039] (第2実施形態)

次に、本発明の第2実施形態に係る細胞培養装置について説明する。図6は、本発明の第2実施形態に係る細胞培養装置200の全体構成と培養槽10の縦断面を模式的に示した図であり、図7は、培養槽10内に設けられる円筒部材20-1の斜視図であり、図8A及び図8Bは、円筒部材20-1の変位状態を示す図である。図8Aは円筒部材20-1が拡張した状態を示し、図8Bは円筒部材20-1が縮径した状態を示している。なお、図8A及び図8Bにおいて、足場40の図示は省略している。

[0040] 第2実施形態に係る細胞培養装置200は、円筒部材20-1が拡張及び縮径する構成である点に特徴がある。図6、7に示すように、円筒部材20-1の上端側には拡張手段25が設けられている。拡張手段25は、電気配線E4を介してコントローラ70と接続されている。拡張手段25は、コントローラ70からの指令に従い、円筒部材20-1を軸方向に伸縮させることで、円筒部材20-1の外径を拡大または縮小する。なお、円筒部材20-1は拡張手段25と協働して拡張または縮径する構成であれば、あらゆる形式を採用可能であるが、ステント方式、ヒンジ方式、ネジ方式、空圧拡張方式が挙げられる。

[0041] そして、図8Aに示す円筒部材20-1が拡張した状態と、図8Bに示す円筒部材20-1が縮径した状態とでは、第1空間R1と第2空間R2の体

積比率が変化する。具体的には、円筒部材20-1が拡張した状態より円筒部材20-1が縮径した状態の方が、第1空間R1の体積比率が大きくなる。即ち、円筒部材20-1が縮径すると、足場40の収容空間が広がることになる。なお、本実施形態では、常態において円筒部材20-1は拡張しており、後述するように足場40を回収・補充する場合に円筒部材20-1は縮径する。

[0042] 次に、第2実施形態における足場40の回収・補充の処理手順について詳しく説明する。図9は、第2実施形態における足場の回収・補充処理の手順を示すフローチャートである。第2実施形態において特徴的な処理は、S44-1、S46-1、S47-1である。そこで、これらの処理について詳しく説明し、第1実施形態と同じ処理についての説明は省略する。

[0043] 図9に示すように、電磁弁60が閉じると(S44)、コントローラ70は、拡張手段25を駆動して、図8Bに示すように、円筒部材20-1を縮径する(S44-1)。円筒部材20-1が縮径すると、第1空間R1の体積が増加することとなる。そして、新しい足場40が補充され、培養液50が適正レベルPLまで上昇すると、コントローラ70は、その状態を所定時間維持する。この状態では、第1空間R1の体積が増加しているため、円筒部材20-1が拡張した状態と比べて、足場40が第1空間R1内を比較的自由に移動できる。そのため、第1実施形態と比べて、培養液50がより均一に第1空間R1内に充填する。そして、所定時間が経過すると(S46-1/YES)、コントローラ70は、拡張手段25を駆動して、円筒部材20-1を拡張する(S47-1)。

[0044] 以上説明したように、第2実施形態によれば、第1実施形態と同様の作用効果を奏することができる。さらに、第2実施形態では、円筒部材20-1が拡張または縮径する構成であるため、足場40を補充した際、第1空間R1の体積が増加することで、全ての足場40に培養液50を均一に供給することができる。また、第1空間R1が増加しているときに、攪拌手段30により培養液50を攪拌すると、細胞が付着した足場40と新しく補充した足

場４０とをより均一に混ぜることができる。その結果、古い足場４０を基質として培養された細胞が、新しい足場４０へと移動し付着する確率が上がり、新しい足場４０を基質として増殖する細胞が増えるため、細胞培養効率がより一層向上する。

[0045] なお、本発明は上記実施形態に限定されず、本発明の要旨を逸脱しない範囲で種々の変形が可能であり、特許請求の範囲に記載された技術思想に含まれる技術的事項の全てが本発明の対象となる。上記実施形態は、好適な例を示したものであるが、当業者ならば、本明細書に開示の内容から、各種の代替例、修正例、変形例あるいは改良例を実現することができ、これらは添付の特許請求の範囲に記載された技術的範囲に含まれる。

[0046] 例えば、上記実施形態は、以下のように変形できる。

[0047] (変形例１)

図１０Ａは、変形例１に係る細胞培養装置１００－１の縦断面を模式的に示した図である。図１０Ｂは、図１０Ａに示す培養槽１０の横断面を模式的に示す図である。図１０Ａ及び図１０Ｂに示すように、変形例１に係る細胞培養装置１００－１は、培養槽１０を２つの円筒部材２０、２０－２を用いて同心円状に３つの空間に仕切られた構成である。なお、円筒部材２０－２（第２円筒部材）は円筒部材２０と直径以外は同一の構成となっている。培養槽１０の外周側に形成された第３空間Ｒ３（別言すれば、第１空間Ｒ１の径方向の外側に形成された第３空間Ｒ３）には、第２空間Ｒ２と同様に培養液５０のみが貯留され、足場４０は侵入しない（存在しない）。

[0048] この変形例１では、第３空間Ｒ３と第２空間Ｒ２とを培養液５０が循環する循環流路Ｃ１が設けられている。循環流路Ｃ１には循環ポンプ６８が設けられており、循環ポンプ６８が駆動すると、第３空間Ｒ３内の培養液５０が循環ポンプ６８により吸入され、循環流路Ｃ１を介して第２空間Ｒ２へと吐出される（戻される）。これら循環流路Ｃと循環ポンプ６８とは、本発明の培養液循環手段に相当する。

[0049] 循環ポンプ６８により第３空間Ｒ３内の培養液５０が吸入されると、第３

空間 R 3 の液圧が若干下がるため、第 2 空間 R 2 の液圧が相対的に高くなる。これにより、第 2 空間 R 2 から円筒部材 20、20-2 のそれぞれの孔 21 を介して、培養液 50 が第 3 空間 R 3 へと流動し、培養液 50 の循環が効率的に行われる。

[0050] これにより、足場 40 への培養液 50 の供給がより一層、均一化され、細胞培養効率がより一層向上する。

[0051] なお、この変形例 1 では、第 3 空間 R 3 から培養液 50 を吸入して第 2 空間 R 2 に戻す構成としたが、第 2 空間 R 2 から培養液 50 を吸入して、第 3 空間 R 3 に戻す構成としても良い。このように構成しても、培養液 50 の循環により、第 1 空間 R 1 内の足場 40 に万遍なく培養液 50 を供給することができる。

[0052] (変形例 2)

図 11A は、変形例 2 に係る細胞培養装置 100-2 の横断面を模式的に示す図であり、図 11B は、図 11A に示す B 部の拡大図である。図 11A に示すように、変形例 2 に係る細胞培養装置 100-2 も変形例 1 と同様に、培養槽 10 を 2 つの円筒部材 20、20-2 を用いて同心円状に 3 つの空間に仕切られた構成である。さらに、第 1 空間 R 1 は、複数の整流板 45 によって周方向に 4 等分に仕切られ、4 つの空間、即ち、第 1 分割空間 R 1-1、第 2 分割空間 R 1-2、第 3 分割空間 R 1-3、及び第 4 分割空間 R 1-4 に分割されている。

[0053] そして、一对の整流板 45 の間に形成された流路 46 を介して、第 2 空間 R 2 と第 3 空間 R 3 とが連通している。本実施形態では、図 11A に示すように、一对の整流板 45 が円周方向に 90 度間隔を空けて 4 つ設けられており、各一对の整流板 45 の間にそれぞれ流路 46 が形成されている。なお、図示していないが、整流板 45 には多数の孔またはスリットが設けられている。勿論、孔やスリットの数や形状は任意である。

[0054] 次に、変形例 2 の作用効果について説明する。上記で説明した第 2 空間 R 2 から第 1 空間 R 1 に培養液 50 が流れる時、形状が不均一な足場 40 を用

いる場合などでは乱流（不図示）が生じる場合がある。乱流の制御は難しいため、培養槽 10 内の栄養素や酸素など分子的な均一性が下がり、培養効率に悪影響を与える可能性がある。そこで、変形例 2 に示すように、一对の整流板 45 の間に第 2 空間 R2 と第 3 空間 R3 とを繋ぐ流路 46 を形成することで、常に層流 F1 となる部分を作り出すことができる。このように、培養液 50 の流れを制御可能な層流 F1 を作り出すための流路 46 を設けることで、第 1 空間 R1 において乱流の発生を低減し、培養槽 10 内の分子的な均一性が上がるため、培養効率が向上する。

[0055] なお、整流板 45 の数、即ち、流路 46 の数は任意であって良い。培養槽 10 の大きさや、足場 40 の形状などの条件に応じて、最適な数の流路 46 を設ければ良い。

[0056] また、図 11B に示すように、流路 46 の入口に R 形状 47 を設けることで、流路 46 の入口損失（抵抗）を低減できるため、第 2 空間 R2 から第 3 空間 R3 への培養液 50 の流れがスムーズになり、良好な培養環境を維持することができる。

[0057] （変形例 3）

図 12A～D は、培養槽 10 の形状のバリエーションを示している。図 12A は、筒状の培養槽 10 の内部空間を同心円状に仕切った構成例であり、第 1 実施形態に相当する。図 12B は、筒状の培養槽 10-1 の内部空間を上下方向に仕切った構成例である。図 12C は、矩形箱状の培養槽 10-2 の内部空間を左右方向に仕切った構成例である。図 12D は、矩形箱状の培養槽 10-3 の内部空間を上下方向に仕切った構成例である。これらの構成例に示すように、本発明に係る培養槽は、あらゆる形状とすることができ、また、内部空間をどのような方向に仕切ることもできる。また、仕切られた空間の数は 2 つでなくても良い。3 つ以上に仕切られていても良い（図 10A, B 参照）。

[0058] さらに、図 12B、図 12C、図 12D に示すような仕切板 23-1, 23-2, 23-3 を移動させて第 1 空間 R1 と第 2 空間 R2 との体積比率を

変更するに構成に変形することもできる。この場合、仕切板 23-1, 23-2, 23-3 を、例えば、スライド機構などに接続し、スライド機構をコントローラ 70 により駆動して、体積比率を変更すれば良い。あるいは、仕切板 23-1, 23-2, 23-3 をダイヤフラムのように作動させて、体積比率を変更する構成も適用可能である。

[0059] (変形例 4)

図 13 は、変形例 4 に係る細胞培養装置 100-3 の縦断面を模式的に示した図である。図 13 に示すように、変形例 4 に係る細胞培養装置 100-3 は、培養槽 10 を 2 つの円筒部材 20, 20-2 を用いて同心円状に 3 つの空間に仕切り、さらに、円板部材 80 を用いて上下方向に 2 つの空間に仕切った構成である。なお、円筒部材 20-2 (第 2 円筒部材) は円筒部材 20 と直径以外は同一の構成となっている。また、円板部材 80 も多数の孔を有しているかまたは網状に形成されており、これら多数の孔または網目により、培養液 50 の通過は可能であるものの足場 40 の通過は不能である。

[0060] よって、培養槽 10 の外周側に形成された第 3 空間 R3 には、第 2 空間 R2 と同様に培養液 50 のみが貯留され、足場 40 は侵入しない (存在しない)。また、円板部材 80 で仕切られた培養槽 10 の下部に形成された第 4 空間 R4 も同様に、培養液 50 のみが貯留され、足場 40 は侵入しない。

[0061] そして、細胞培養装置 100-3 は、第 3 空間 R3 と第 2 空間 R2 と第 4 空間 R4 とを培養液 50 が循環する循環流路 C1 が設けられている。循環流路 C1 には循環ポンプ 68 が設けられており、循環ポンプ 68 が駆動すると、第 3 空間 R3 と第 4 空間 R4 内の培養液 50 が循環ポンプ 68 により吸入され、循環流路 C1 を介して第 2 空間 R2 へと吐出される (戻される)。これら循環流路 C と循環ポンプ 68 とは、本発明の培養液循環手段に相当する。

[0062] 循環ポンプ 68 により第 3 空間 R3 及び第 4 空間 R4 内の培養液 50 が吸入されると、第 3 空間 R3 及び第 4 空間 R4 の液圧が若干下がるため、第 2 空間 R2 の液圧が相対的に高くなる。これにより、第 2 空間 R2 から円筒部

材 2 0, 2 0-2 のそれぞれの孔 2 1 を介して、培養液 5 0 が第 3 空間 R 3 及び第 4 空間 R 4 へと流動し、培養液 5 0 の循環が効率的に行われる。これにより、足場 4 0 への培養液 5 0 の供給がより一層、均一化され、細胞培養効率がより一層向上する。

[0063] また、変形例 4 では、棚部材 8 1 が培養槽 1 0 を上下方向に略 2 等分する位置に設けられている。この棚部材 8 1 も、円板部材 8 0 と同様に、多数の孔を有しているかまたは網状に形成されており、培養液 5 0 の通過は可能であるものの、足場 4 0 の通過が不能となっている。そのため、棚部材 8 1 の直下に培養液 5 0 が流動可能な流動空間 T を形成することができる。この流動空間 T を培養液 5 0 が通過することにより、足場 4 0 に付着する細胞の培養効率をさらに向上させることができる。

[0064] ここで、棚部材 8 1 は、円筒部材 2 0-2 の内周面に適宜の手段により取り付けられて良い。例えば、円筒部材 2 0-2 に設けられた突起（図示せず）に係止される構成であれば、棚部材 8 1 を容易に着脱できるため、足場 4 0 の交換が簡単となる。

[0065] なお、この変形例 4 では、第 3 空間 R 3 及び第 4 空間 R 4 から培養液 5 0 を吸入して第 2 空間 R 2 に戻す構成としたが、第 2 空間 R 2 から培養液 5 0 を吸入して、第 3 空間 R 3 及び第 4 空間 R 4 に戻す構成としても良い。また、円板部材 8 0 と棚部材 8 1 とは、共通の部材で構成しても良いし、孔や網目の大きさを異なる構成としても良い。

[0066] （変形例 5）

図 1 4 は、変形例 5 に係る細胞培養装置 1 0 0-4 の縦断面を模式的に示した図である。図 1 4 に示すように、変形例 5 に係る細胞培養装置 1 0 0-4 は、培養槽 1 0 の内部に、内部空間を仕切るための仕切手段としての 4 つのバスケット 8 5-1, 8 5-2, 8 5-3, 8 5-4 が同軸上に積層配置されている。そして、最下段のバスケット 8 5-4 が支持部材 8 7 を介して支持されることで、4 つのバスケット 8 5-1, 8 5-2, 8 5-3, 8 5-4 は、培養槽 1 0 の底部 1 2 から支持部材 8 7 の高さの分だけ距離を空け

て配置されている。別言すれば、最下段のバスケット85-4と培養槽10の底部12との間には空間（第4空間R4）が形成されている。

[0067] 次に、バスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4の構造の詳細について説明する。図15Aはバスケット85-1の平面図、図15Bはバスケット85-1の縦断面図である。なお、4つのバスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4は同一の構成であるため、ここでは、バスケット85-1について説明する。

[0068] 図15A及び図15Bに示すように、バスケット85-1は、内筒85a-1と、外筒85b-1と、内筒85a-1と外筒85b-1との下部を繋ぐ円環状の底板85c-1とを有する。内筒85a-1、外筒85b-1、及び底板85c-1は、いずれも多数の孔を有しているかまたは網状に形成されており、これらの孔または網目により、培養液50の通過が可能、かつ、足場40の通過が不能になっている。この構成により、足場40は、底板85c-1上に載置され、内筒85a-1と外筒85b-1との間の空間に収容される。

[0069] そして、バスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4を積層配置すると、図14に示すように、4つの内筒85a-1, 85a-2, 85a-3, 85a-4の内側に第2空間R2が形成され、4つの内筒85a-1, 85a-2, 85a-3, 85a-4と4つの外筒85b-1, 85b-2, 85b-3, 85b-4との間に第1空間R1が形成され、4つの外筒85b-1, 85b-2, 85b-3, 85b-4と培養槽10の胴体部11との間に第3空間R3が形成され、最下段にあるバスケット85-4の底板85c-4と培養槽10の底部12との間に第4空間R4が形成される。

[0070] また、変形例5では、バスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4の段数と同じ数である4つの攪拌翼33が設けられている。これにより、各攪拌翼33によって各バスケット内を培養液50が効率良く循環することができる。勿論、攪拌翼33の数は、バスケットの段数より少なくても良い。

[0071] そして、この変形例5では、バスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4に足場40を収容した状態において、各バスケットの上部に培養液50が流動する流動空間Tを形成することができる。そのため、培養液50が、各バスケットの流動空間Tを図中の白抜き矢印のように循環する。これにより、足場40に付着した細胞が効率良く培養される。

[0072] なお、変形例5において、バスケットの形状は必ずしも円筒状でなくても良い。例えば、有底の矩形筒状のバスケットなどあらゆる形状のものを採用できる。

[0073] (変形例6)

変形例6は、変形例5に係る細胞培養装置100-4において、バスケットの構造を改良したものである。図16Aは、変形例6に係るバスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4の平面図、図16Bは、変形例6に係るバスケット85-1, 85-2, 85-3, 85-4を積層配置した状態の縦断面図であって、図16AのXVIB-XVIB断面図である。

[0074] 図16A及び図16Bに示すように、最上段のバスケット85-1は、3つの通過路86-1a, 86-1b, 86-1cを備えている。この例において、3つの通過路86-1a, 86-1b, 86-1cは同一形状であっても良いし、異なる形状であっても良い。以下の説明では、3つの通過路86-1a, 86-1b, 86-1cが同一形状の場合であることを前提として説明する。

[0075] 通過路86-1aは、バスケット85-1の底板85c-1を貫通する円筒体から成る。通過路86-1aの高さ(軸方向の長さ)は、バスケット85-1の高さの略 $1/2 \sim 2/3$ 程度である。この通過路86-1aは、足場40が通過可能な直径で形成されている。

[0076] 上から2段目のバスケット85-2は、通過路86-1aと同じ形状の通過路86-2a, 86-2bが2つ設けられており、通過路86-2aは、最上段の通過路86-1aと、通過路86-2bは通過路86-1bと、それぞれ平面視で中心が同じ位置に設けられている。上から3段目のバスケット

ト 85-3 は、通過路 86-1 a と同じ形状の通過路 86-3 a が 1 つ設けられており、通過路 86-3 a は、最上段の通過路 86-1 a 及び 2 段目の通過路 86-2 a と平面視で中心が同じ位置に設けられている。なお、最下段のバスケット 85-4 には通過路は設けられていない。

[0077] このように構成された各バスケットが積層配置されると、図 16 A に示すように、通過路 86-1 a と通過路 86-2 a と通過路 86-3 a とが平面視で一致している（Z 1 軸上に配置されている）から、図 16 B に示すように、Z 1 軸上に沿って、足場 40 を通過路 86-1 a に投入すると、足場 40 は、通過路 86-1 a、通過路 86-2 a、通過路 86-3 a の順に通過して、最下段のバスケット 85-4 の内筒 85 a-4 と外筒 85 b-4 との間の空間に落下して、收容される。

[0078] 同様に、通過路 86-1 b と通過路 86-2 b とが平面視で一致している（Z 2 軸上に配置されている）から、図 16 B に示すように、Z 2 軸上に沿って、足場 40 を通過路 86-1 b に投入すると、足場 40 は、通過路 86-1 b、通過路 86-2 b の順に通過して、3 段目のバスケット 85-3 の内筒 85 a-3 と外筒 85 b-3 との間の空間に落下して、收容される。

[0079] また、上から 2 段目のバスケット 85-2 に足場 40 を收容する場合には、Z 3 軸上に沿って足場 40 を通過路 86-1 c に落下すれば良い。

[0080] この変形例 6 によれば、バスケット 85-1, 85-2, 85-3, 85-4 への足場 40 の投入が簡単に行えるため、変形例 5 と比べて作業効率が向上する。

[0081] なお、例えば、通過路 86-1 a と通過路 86-2 a と通過路 86-3 a とは、厳密に Z 1 軸上に配置されていなくても良く、足場 40 の落下がスムーズに行える範囲であれば、必ずしもすべての通過路が同軸上に配置されていなくても良い。平面視において、各通過路が少なくとも重なっていれば良い。また、通過路 86-1 b と通過路 86-2 b との配置についても同様である。

[0082] また、上記した各変形例 1, 2, 3, 4, 5, 6 は、第 2 実施形態に係る

細胞培養装置にも適用することもできることは言うまでもない。

[0083] ここで、本発明は、動物由来の細胞以外の細胞（例えば植物由来の細胞など）を培養するための装置としても適用可能である。また、培養槽 10 が小型の場合には、攪拌手段 30 として、例えば、マグネチックスターラーを用いても良い。この場合、構造を簡素化できる利点がある。

[0084] また、円筒部材 20、20-1、20-2 に設けられる孔 21 の形状は任意である。例えば、丸孔、角孔、長孔であっても良い。また、本発明は、スリットが多数設けられた円筒部材を適用できる。

[0085] また、上記した実施形態では、レベルスイッチ 65、66 を用いて、足場 40 を回収・補充する構成としたが、レベルスイッチ 65、66 に替えて重量センサ等を用いても良い。例えば、培養液 50 が適正レベル PL まで満たされており、かつ、足場 40 が十分投入されたときの培養槽 10 の重量を第 1 閾値とし、第 1 閾値の約 50% の重量を第 2 閾値とする。そして、重量センサが第 2 閾値を検出すると電磁弁 60 を閉じ（図 5 の S43、S44 に相当）、重量センサが第 1 閾値を検出すると足場 40 の回収・補充処理を終了する（図 5 の S46 に相当）ように構成すれば、第 1 実施形態と同様の制御を行うことができる。

[0086] 勿論、コントローラ 70 の代わりに、例えば図 4 に示す手順を、作業者が手動で行っても良い。

符号の説明

- [0087]
- 10 培養槽
 - 11 胴体部
 - 12 底部
 - 13 蓋体
 - 15, 16 供給管
 - 20, 20-1 円筒部材（仕切手段）
 - 20-2 円筒部材（第 2 円筒部材／仕切手段）
 - 21 孔

2 3 - 1, 2 3 - 2, 2 3 - 3 仕切板 (仕切手段)

2 5 拡縮手段

3 0 攪拌手段

3 1 モータ

3 2 回転軸

3 3 攪拌翼

4 0 足場

4 5 整流板

4 6 流路

5 0 培養液

6 0 電磁弁

6 5, 6 6 レベルスイッチ

6 8 循環ポンプ (培養液循環手段)

7 0 コントローラ

8 0 円板部材 (仕切手段)

8 1 棚部材

8 5 - 1, 8 5 - 2, 8 5 - 3, 8 5 - 4 バスケット (仕切手段)

8 5 a - 1, 8 5 a - 2, 8 5 a - 3, 8 5 a - 4 内筒

8 5 b - 1, 8 5 b - 2, 8 5 b - 3, 8 5 b - 4 外筒

8 5 c - 1, 8 5 c - 2, 8 5 c - 3, 8 5 c - 4 底板

8 6 - 1 a, 8 6 - 1 b, 8 6 - 1 c 通過路

8 6 - 2 a, 8 6 - 2 b 通過路

8 6 - 3 a 通過路

8 7 支持部材

1 0 0, 1 0 0 - 1, 1 0 0 - 2, 2 0 0 細胞培養装置

C 1 循環流路 (培養液循環手段)

E 1 ~ E 4 電気配線

R 1 第 1 空間

R 1 - 1、R 1 - 2, R 1 - 3, R 1 - 4 第 1 分割空間 (第 1 空間)

R 2 第 2 空間

R 3 第 3 空間

R 4 第 4 空間

T 流動空間

請求の範囲

- [請求項1] 細胞を培養する細胞培養装置であって、
培養液を貯留する培養槽と、
前記培養槽を少なくとも第1空間と第2空間とに仕切る仕切手段と、
、
前記培養液を攪拌する攪拌手段と、を備え、
前記第1空間は、前記細胞が付着する足場が収容される空間であり、
、
前記第2空間は、前記攪拌手段が設けられる空間であり、
前記仕切手段は、前記培養液の通過が可能、かつ、前記足場の前記第1空間から前記第2空間への侵入が不能に構成される、
ことを特徴とする細胞培養装置。
- [請求項2] 請求項1に記載の細胞培養装置において、
前記仕切手段の動作により、前記第1空間と前記第2空間との体積比が変化する、
ことを特徴とする細胞培養装置。
- [請求項3] 請求項1に記載の細胞培養装置において、
前記仕切手段は、多数の孔を有するまたは網状の円筒部材から成り、
、
前記培養槽と前記円筒部材との間の円環状空間が前記第1空間であり、
、
前記円筒部材の内部空間が前記第2空間である、
ことを特徴とする細胞培養装置。
- [請求項4] 請求項3に記載の細胞培養装置において、
前記円筒部材は、前記培養槽内での縮径及び拡張が可能に構成され、
、
前記円筒部材が縮径または拡張することで、前記第1空間と前記第2空間との体積比が変化する、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項5]

請求項1に記載の細胞培養装置において、

前記第1空間に貯留された前記培養液を吸入して前記培養槽に戻す
培養液循環手段を備えた、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項6]

請求項1に記載の細胞培養装置を用いた細胞培養方法であって、

前記第1空間に足場を投入し、前記培養槽に前記培養液を供給する
工程と、

前記攪拌手段を駆動して前記培養液を攪拌する工程と、

前記第1空間から前記足場の一部を回収する工程と、

前記第1空間に新しい足場を投入して、前記第1空間に残っている
前記足場と混ぜる工程と、を含む、

ことを特徴とする細胞培養方法。

[請求項7]

請求項2に記載の細胞培養装置を用いた細胞培養方法であって、

前記第1空間に足場を投入し、前記培養槽に前記培養液を供給する
工程と、

前記攪拌手段を駆動して前記培養液を攪拌する工程と、

前記第1空間から前記足場の一部を回収する工程と、

前記仕切手段の動作により、前記第1空間の体積を広げる工程と、

体積が広げられた前記第1空間に新しい足場を投入して、前記第1
空間に残っている前記足場と混ぜる工程と、

前記仕切手段の動作により、体積が広げられた前記第1空間を元の
体積に戻す工程と、を含む、

ことを特徴とする細胞培養方法。

[請求項8]

請求項3に記載の細胞培養装置において、

前記培養槽は、

前記第1空間の径方向の外側の空間であって、多数の孔を有するま
たは網状の第2円筒部材を介して前記第1空間と仕切られた、円環状

の第3空間をさらに有し、

前記第2円筒部材は、前記培養液の通過が可能、かつ、前記足場の前記第1空間から前記第3空間への侵入が不能に構成されている、
ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項9]

請求項8に記載の細胞培養装置において、
前記培養槽は、

前記第1空間及び前記第2空間の下方の空間であって、多数の孔を有するまたは網状の円板部材を介して前記第1空間及び前記第2空間と仕切られた第4空間をさらに有し、

前記円板部材は、前記培養液の通過が可能、かつ、前記足場の前記第1空間から前記第4空間への侵入が不能に構成されている、
ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項10]

請求項8または9に記載の細胞培養装置において、

前記足場が載置される少なくとも1つの棚部材をさらに有し、

前記少なくとも1つの棚部材は、前記第1空間を上下方向に仕切るように配置され、

前記少なくとも1つの棚部材は、多数の孔を有するまたは網状に形成されていると共に、前記培養液の通過が可能、かつ、前記足場の通過が不能に構成されている、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項11]

請求項1に記載の細胞培養装置において、

前記培養槽は、前記仕切手段により、中心から前記第2空間、前記第1空間、第3空間の順に同心円状に3つの空間に仕切られ、

前記細胞培養装置は、前記仕切手段である複数のバスケットをさらに備え、

前記複数のバスケットは、それぞれ、

多数の孔を有するまたは網状に形成された内筒と、前記内筒と同心円状に配置され、多数の孔を有するまたは網状に形成された外筒と、

前記内筒と前記外筒との間の底部を繋ぐと共に、多数の孔を有するまたは網状に形成された円環状の底板と、を備え、前記内筒と前記外筒との間に前記足場を収容可能に構成され、

前記複数のバスケットは、前記培養槽の中心軸上に積層して配置され、

前記培養槽は、前記複数のバスケットが積層配置された状態において、前記複数の外筒により前記第1空間と前記第3空間とが仕切られ、前記複数の内筒により前記第1空間と前記第2空間とが仕切られている、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項12]

請求項11に記載の細胞培養装置において、

前記複数のバスケットのうち最下段のバスケットを除く全てのバスケットは、それぞれの前記底板を貫通して、前記足場が通過可能な少なくとも1つの円筒状の通過路を有し、

前記通過路の数は、前記複数のバスケットの下段側から上段側に行くに連れて増加する、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項13]

請求項12に記載の細胞培養装置において、

積層配置された前記複数のバスケットを前記培養槽の軸方向から見たときに、前記通過路の中心位置が一致する、

ことを特徴とする細胞培養装置。

[請求項14]

請求項11に記載の細胞培養装置において、

前記複数のバスケットのうち最下段に位置するバスケットは、前記培養槽の底部と間隔を空けて支持されている、

ことを特徴とする細胞培養装置。