

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2006-234559
(P2006-234559A)

(43) 公開日 平成18年9月7日(2006.9.7)

(51) Int. Cl.

GO 1 N 15/14 (2006.01)

F I

GO 1 N 15/14

K

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2005-49160 (P2005-49160)</p> <p>(22) 出願日 平成17年2月24日 (2005.2.24)</p>	<p>(71) 出願人 000005902 三井造船株式会社 東京都中央区築地5丁目6番4号</p> <p>(74) 代理人 100091306 弁理士 村上 友一</p> <p>(74) 代理人 100086922 弁理士 大久保 操</p> <p>(72) 発明者 久谷 益士郎 東京都中央区築地5丁目6番4号 三井造船株式会社内</p> <p>(72) 発明者 中田 成幸 岡山県玉野市玉3丁目1番1号 三井造船株式会社玉野事業所内</p>
--	---

最終頁に続く

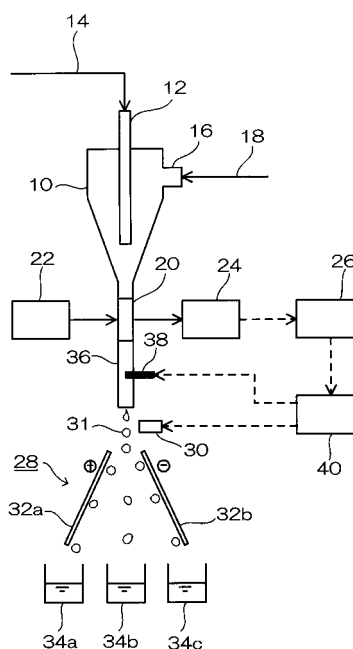
(54) 【発明の名称】 フローサイトメータ

(57) 【要約】

【課題】 種類の異なる2個の微粒子を取り込んだ液滴の発生を抑制し、分取精度を向上させる。

【解決手段】 複数の微粒子が浮遊するサンプル液14をフローセル20内に流す過程で微粒子を個々に識別するようにした本体部と、フローセル20のサンプル液の排出側に微粒子の分取手段28とを具備したフローサイトメータにおいて、フローセル20と分取手段28とを結ぶサンプル液の流路36に当該流路36を絞る仕切手段38を取り付けた。制御器40は本体部で識別した微粒子が仕切手段38を通過する時刻に合わせて仕切手段38の作動を制御する。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複数の微粒子が浮遊するサンプル液をフローセル内に流す過程で前記微粒子を個々に識別するようにした本体部と、前記フローセルのサンプル液の排出側に微粒子の分取手段とを具備したフローサイトメータにおいて、前記フローセルと分取手段とを結ぶサンプル液の流路に当該流路を絞る仕切手段を取り付けたこと特徴とするフローサイトメータ。

【請求項 2】

前記本体部で識別した微粒子が前記仕切手段を通過する時刻に合わせて仕切手段の作動を制御する制御手段を具備したことを特徴とする請求項 1 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 3】

前記流路には前記仕切手段が上下方向に 2 段に配設されていることを特徴とする請求項 1 又は請求項 2 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 4】

前記仕切手段による流路を絞り量が流路断面の 70 ~ 80 % であり、残りの 20 ~ 30 % の流路断面ではサンプル液は流れるが、前記微粒子は通過できないようにされたことを特徴とする請求項 1 乃至請求項 3 のいずれかに記載のフローサイトメータ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はフローサイトメータに係り、特にサンプル液の排出側に微粒子の分取手段を具備したフローサイトメータに関する。

【背景技術】

【0002】

フローサイトメータは、サンプル液を透明なフローセル内に細長く流すことによって、サンプル液中に存在する細胞、微生物、マイクロビーズなどの微粒子をその特性に応じて光学的に識別し、計数するようにした測定解析装置である。また、必要に応じてサンプル液の排出側に分取手段を取り付け、識別した微粒子を分取手段によって分取することもできる。

【0003】

図 4 は一般的なフローサイトメータの概念図である。フローチャンバ 10 にはインサージョンノズル 12 が奥深く挿入され、このインサージョンノズル 12 の下端開口から微粒子を含んだサンプル液 14 がフローチャンバ 10 内に注入される。フローチャンバ 10 にはシース液の供給口 16 が接続している。供給口 16 から流れ込んだシース液 18 がサンプル液 14 を包むようにしてフローチャンバ 10 の下部に設けたフローセル 20 に向けて細長い押し出し流を形成する。この際シース液 18 とサンプル液 14 の流量を制御することにより、フローセル 20 には微粒子が 1 個ずつ縦に並んだ状態で流れるようにする。

【0004】

フローセル 20 の位置にはレーザ光源 22 が配置されており、フローセル 20 内にレーザ光を照射している。サンプル液 14 中に微粒子が存在するとレーザ光が散乱する。また、微粒子に予め蛍光色素を付与しておくことでレーザ光の照射によって微粒子が蛍光を発する。レーザ光源 22 の対向位置（又は側向位置）には発生した散乱光や蛍光を測定する検出器 24 が配置されている。検出器 24 で測定した散乱光や蛍光をデータ処理器 26 で解析することによってフローセル 20 を通過した個々の微粒子の種類を特定するとともに、所定時間当たりにはフローセル 20 を通過した微粒子をその種類毎にカウントする。

【0005】

フローセル 20 のサンプル液の排出側には微粒子の分取手段 28 が設けられている。分取手段 28 は制御器 29 と荷電器 30 と一對の偏向板 32 a, 32 b と 3 個の採取容器 34 a, 34 b, 34 c とによって構成される。超音波振動などによってフローセル 20 の下端ノズルから連続的に滴下する液滴は例えば目的の微粒子 1 個を含む液滴、微粒子を含まない液滴、目的外の微粒子 1 個を含む液滴の 3 種類に区分される。したがって、分取手

10

20

30

40

50

段 2 8 はこの 3 種類の液滴をそれぞれ別の採取容器 3 4 a , 3 4 b , 3 4 c に分取する目的で作動する。

【 0 0 0 6 】

すなわち、制御器 2 9 はデータ処理器 2 6 からの信号に基いて、荷電器 3 0 の側方位置を落下する液滴 3 1 が上記 3 種類の区分のいずれであるかを判別し、液滴 3 1 が目的の微粒子 1 個を含む液滴である時には例えば液滴 3 1 が - 帯電するように荷電器 3 0 を作動させる。また、液滴 3 1 が目的外の微粒子 1 個を含む液滴である時には液滴 3 1 が + 帯電するように荷電器 3 0 を作動させる。また、液滴 3 1 が微粒子を含まない液滴である時には液滴 3 1 が帯電しないように荷電器 3 0 を作動させる。なお、液滴 3 1 が荷電器 3 0 によって - + に帯電しやすいように、サンプル液を包むシース液としては電解質溶液が使用される。

10

【 0 0 0 7 】

荷電器 3 0 の下方には一对の偏向板 3 2 a , 3 2 b が末広がり配置されている。偏向板 3 2 a は + 極板であり、偏向板 3 2 b は - 極板である。したがって、荷電器 3 0 によって - 帯電した液滴 3 1 は偏向板 3 2 a , 3 2 b 間の空間を落下する過程で + 極板である偏向板 3 2 a 側に引き寄せられ、偏向板 3 2 a の下方に配置された採取容器 3 4 a に採取される。一方、荷電器 3 0 によって + 帯電した液滴 3 1 は - 極板である偏向板 3 2 b 側に引き寄せられ、偏向板 3 2 b の下方に配置された採取容器 3 4 c に採取される。帯電していない液滴 3 1 は中央の採取容器 3 4 b に採取される。

【 0 0 0 8 】

その結果、目的の微粒子は採取容器 3 4 a に、目的外の微粒子は採取容器 3 4 c に分取される。また、上記と同様の操作によって、例えば第 1 目的の微粒子を採取容器 3 4 a に、第 2 目的の微粒子を採取容器 3 4 c に、目的外の微粒子を採取容器 3 4 b に分取することも可能である。このようにして、サンプル液中の微粒子を目的に応じて 2 ~ 3 種類に分取することができる（以上、例えば非特許文献 1 又は特許文献 1 参照）。

20

【非特許文献 1】FCM の原理入門講座、[online]、ベックマンコールター社、[平成 1 7 年 1 月 2 5 日検索]、インターネット < URL : <http://www.bc-cytometry.com/FCM/fcmprinciple.html> >

【特許文献 1】特表 2 0 0 3 - 5 1 2 6 0 5 号公報

【発明の開示】

30

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 9 】

しかしながら、上記従来技術に係るフローサイトメータではサンプル液中の微粒子相互が接近又は接触状態でフローセル 2 0 に流れ込み、そのままフローセル 2 0 の出口流路から排出される場合がある。このため、排出される 1 つの液滴中に 2 個の微粒子が取り込まれる場合がある。上記した分取手段 2 8 は 1 つの液滴を単位として微粒子を分取するものであるから、1 つの液滴に種類の異なる 2 個の微粒子が取り込まれている時には、これらの微粒子を分けることが不可能である。このため、種類の異なる 2 個の微粒子を取り込んだ液滴が発生すると、分取精度が低下するという問題点があった。

【 0 0 1 0 】

40

本発明の目的は上記従来技術の問題点を改善し、種類の異なる 2 個の微粒子を取り込んだ液滴の発生を抑制し、分取精度を向上させることが可能なフローサイトメータを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

上記目的を達成するために本発明に係るフローサイトメータは、複数の微粒子が浮遊するサンプル液をフローセル内に流す過程で前記微粒子を個々に識別するようにした本体部と、前記フローセルのサンプル液の排出側に微粒子の分取手段とを具備したフローサイトメータにおいて、前記フローセルと分取手段とを結ぶサンプル液の流路に当該流路を絞る仕切手段を取り付けたこと特徴とする。この構成のフローサイトメータにおいては、前記

50

本体部で識別した微粒子が前記仕切手段を通過する時刻に合わせて仕切手段の作動を制御する制御手段を具備したことが望ましい。また、前記流路には前記仕切手段を上下方向に2段に配設することができる。前記仕切手段による流路の絞り量は流路断面の70～80%とし、残りの20～30%の流路断面ではサンプル液は流れるが、微粒子は通過できないようにする。

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、フローセルと分取手段とを結ぶサンプル液の流路に当該流路を絞る仕切手段を取り付けた構成とされている。このため、種類の異なる微粒子が互いに接近・接触状態で仕切手段の位置を通過する際に、仕切手段を作動させることによって微粒子同士を切り離すことができる。このため、流路の下端開口から滴下する液滴には微粒子が1個づつ取り込まれることになり、後段の分取手段での分取精度が向上する。

10

【0013】

また、本発明では本体部で識別した微粒子が仕切手段を通過する時刻に合わせて仕切手段の作動を制御する制御手段を具備しているため、微粒子同士の切り離し操作を適正、確実に行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

図1は本発明に係るフローサイトメータの実施形態を示す系統図である。図1において、図4と同一の符号を付した要素は、図4に示したものと同一の構成、機能を備えており、その説明を省略する。本実施形態に係るフローセル20のサンプル液の排出側には、フローセル20と分取手段28とを結ぶサンプル液の流路36が設けられており、この流路36に当該流路を絞る仕切手段38が取り付けられている。仕切手段38としては制御性、作動の敏速性の観点から圧電素子によって作動する仕切弁が好ましく採用される。仕切手段38は本体部であるデータ処理器26で識別した微粒子が当該仕切手段38を通過する時刻に合わせて、その作動が制御器40によって制御される。

20

【0015】

図2は仕切手段38の作動状況を示した説明図である。図2(1)はフローセル20において種類の異なる微粒子Cと微粒子Dが接近又は接触状態で検出された状況を示しており、フローセル20の下流側の流路36には微粒子Aと微粒子Bが先行して流れている。このような状況でサンプル液を流し続けると微粒子Aや微粒子Bはそれぞれ一つの液滴に取り込まれて問題なく分取されるが、微粒子Cと微粒子Dは一つの液滴に取り込まれた状態で流路36の下端開口から滴下する恐れが強い。

30

【0016】

したがって、図2(1)に示した種類の異なる微粒子Cと微粒子Dの接近・接触状態をデータ処理器26が検出すると、データ処理器26は検出信号を制御器40に送る。フローセル20内及び流路36を流れるサンプル液の流速は一定であるから、フローセル20内の所定位置で検出された微粒子Cと微粒子Dが仕切手段38の取り付け位置を通過するまでの時間は一定である。したがって、制御器40はデータ処理器26からの検出信号に基づき、微粒子Cと微粒子Dが仕切手段38の取り付け位置を通過する時刻に合わせて仕切手段38が流路36を絞る方向に仕切手段38を作動させる。

40

【0017】

図2(2)は仕切手段38が流路36を絞った直後の状況を示している。すなわち、仕切手段38をタイミングよく作動させることによって、微粒子Cと微粒子Dとを上下に切り離すようにして流路36が絞られる。仕切手段38による流路36の絞り量は流路断面積の70～80%とし、残りの20～30%の流路断面ではサンプル液は流れるが、微粒子Dは通過できないようにする。その結果、図2(3)に示したように、微粒子Dは仕切手段38の上方に留まるとともに、微粒子Cは絞り部から流入したサンプル液に押し流され、微粒子Dと微粒子Cとの間隔が大きくなる。

【0018】

50

そこで、仕切手段 38 を開くとサンプル液の流れが回復する。微粒子 D と微粒子 C との間隔が大きくなった結果、図 2 (4) に示したように、微粒子 C を含む液滴に微粒子 D が同伴することを防止できる。このため、流路 36 の下端開口から滴下する液滴には微粒子 C や微粒子 D が 1 個ずつ取り込まれることになり、後段の分取手段 28 での分取精度が向上する。

【0019】

なお、フローセル 20 において微粒子が適正な間隔を保持して流れているか、又は同種類の微粒子が相互に接近・接触状態である時は、分取操作上の問題が発生しないので、制御器 40 は仕切手段 38 を格別に作動させる必要はない。

【0020】

図 3 は本発明に係るフローサイトメータの他の実施形態とその作動状況を示した説明図である。本実施形態では流路 36 に仕切手段 38 A, 38 B が所定の間隔で上下 2 段に配設されている。図 3 (1) はフローセル 20 において種類の異なる 3 個の微粒子 F, G, H が接近又は接触状態で検出された状況を示している。このような状況でサンプル液を流し続けると種類の異なる微粒子同士が一つの液滴に取り込まれた状態で流路 36 の下端開口から滴下する恐れが強い。

10

【0021】

したがって、このような状態をデータ処理器 26 が検出すると、データ処理器 26 は検出信号を制御器 40 に送る。すると、制御器 40 はデータ処理器 26 からの検出信号に基づき、微粒子 F, G, H が第 1 段の仕切手段 38 A の取り付け位置を通過する時刻に合わせて流路 36 を絞る方向に仕切手段 38 A を作動させる。

20

【0022】

図 3 (2) は仕切手段 38 A が流路 36 を絞った直後の状況を示している。すなわち、仕切手段 38 A をタイミングよく作動させることによって、微粒子 F を微粒子 G, H から切り離すようにして流路 36 が絞られる。その結果、図 3 (3) に示したように、微粒子 G, H は仕切手段 38 A の上方に留まるとともに、微粒子 F は絞り部から流入したサンプル液に押し流され、微粒子 F と微粒子 G, H との間隔が大きくなる。

【0023】

そこで、仕切手段 38 A を開くとサンプル液の流れが回復し、図 3 (4) に示したように、微粒子 F と間隔をあけた微粒子 G, H が接近・接触状態で流れる。このような状況でサンプル液を流し続けると、微粒子 F は問題ないが、種類の異なる微粒子 G, H 同士が一つの液滴に取り込まれた状態で流路 36 の下端開口から滴下する恐れが強い。したがって、制御器 40 は微粒子 G, H が第 2 段の仕切手段 38 B の取り付け位置を通過する時刻に合わせて流路 36 を絞る方向に仕切手段 38 B を作動させる。

30

【0024】

図 3 (5) は仕切手段 38 B が流路 36 を絞った直後の状況を示している。すなわち、仕切手段 38 B をタイミングよく作動させることによって、微粒子 G を微粒子 H から切り離すようにして流路 36 が絞られる。その結果、図 3 (6) に示したように、微粒子 H は仕切手段 38 B の上方に留まるとともに、微粒子 G は絞り部から流入したサンプル液に押し流され、微粒子 G と微粒子 H との間隔が大きくなる。次に図 3 (7) に示したように、仕切手段 38 を開くとサンプル液の流れが回復し、微粒子 G と微粒子 H は適正な間隔を有して流路 36 を流れることになる。

40

【0025】

このため、流路 36 の下端開口から滴下する液滴にはフローセル 20 を通過した時点では接近・接触状態であった 3 個の微粒子 F, G, H がそれぞれ間隔をあけて流路 36 に流れることになる。したがって、流路 36 の出口では微粒子 F, G, H がそれぞれ 1 個ずつ液滴に取り込まれて滴下することになり、後段の分取手段 28 での分取精度が向上する。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図 1】本発明に係るフローサイトメータの実施形態を示す系統図である。

50

【図2】仕切手段38の作動状況を示した説明図である。

【図3】本発明に係るフローサイトメータの他の実施形態とその作動状況を示した説明図である。

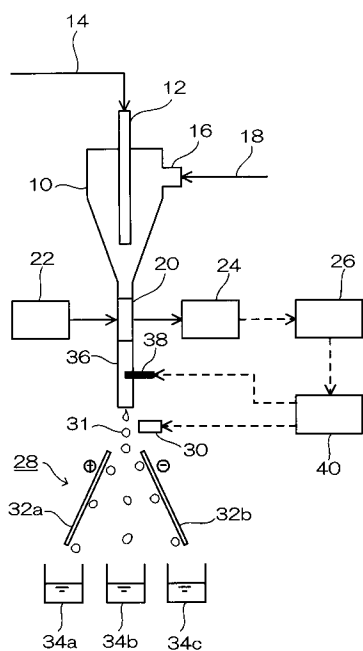
【図4】従来技術の一般的なフローサイトメータの概念図である。

【符号の説明】

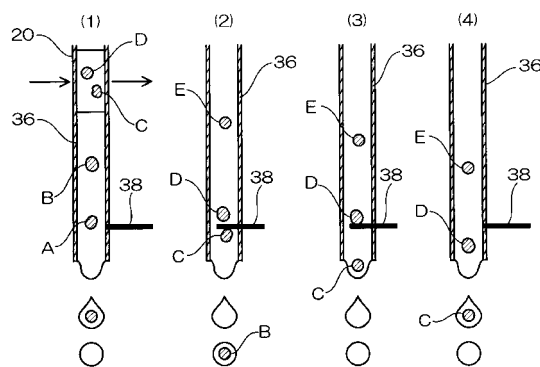
【0027】

10 フローチャンバ、 12 インサクションノズル、 14 サンプル液、
 16 (シース液の) 供給口、 18 シース液、 20 フローセル、 22 ...
 レーザ光源、 24 検出器、 26 データ処理器、 28 分取手段、 3
 0 荷電器、 32 a , 32 b 偏向板、 34 a , 34 b , 34 c 採取容器
 、 36 流路、 38 , 38 A , 38 B 仕切手段、 40 制御器。

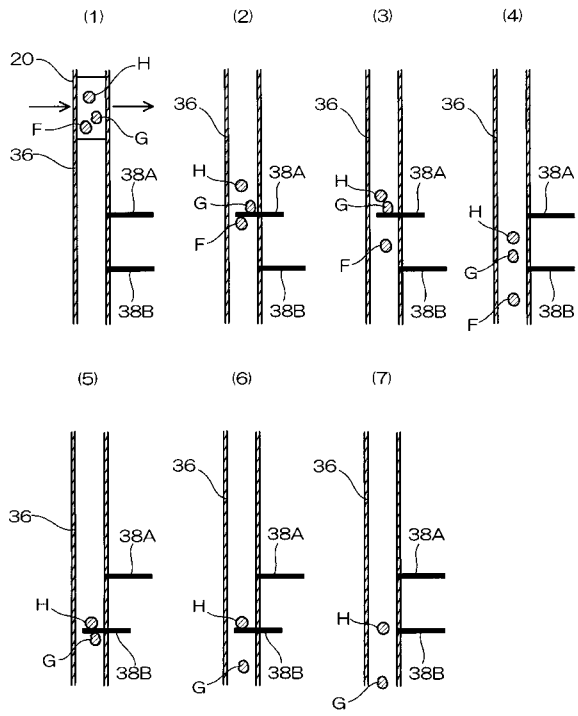
【図1】



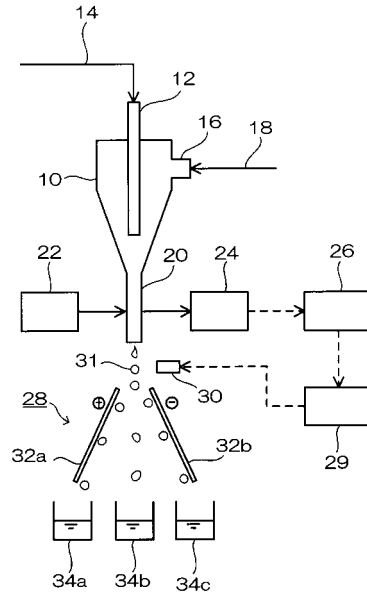
【図2】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

- (72)発明者 林 弘能
岡山県玉野市玉3丁目1番1号 三井造船株式会社玉野事業所内
- (72)発明者 伊藤 彰英
東京都中央区築地5丁目6番4号 三井造船株式会社内