(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第3976150号

(P3976150)

(45)発行日　平成19年9月12日(2007.9.12)　(24)登録日　平成19年6月29日(2007.6.29)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 1/28	(2006.01)	G01N	1/28	L
C07K 1/14	(2006.01)	G01N	1/28	K
G01N 23/20	(2006.01)	C07K	1/14	
		G01N	23/20	

請求項の数 24　(全 14 頁)

(21)出願番号	特願2004-520622 (P2004-520622)
(86)(22)出願日	平成15年7月14日 (2003.7.14)
(65)公表番号	特表2005-538345 (P2005-538345A)
(43)公表日	平成17年12月15日 (2005.12.15)
(86)国際出願番号	PCT/EP2003/007606
(87)国際公開番号	WO2004/008127
(87)国際公開日	平成16年1月22日 (2004.1.22)
審査請求日	平成17年3月10日 (2005.3.10)
(31)優先権主張番号	10232172.8
(32)優先日	平成14年7月16日 (2002.7.16)
(33)優先権主張国	ドイツ(DE)

(73)特許権者　505016333
プロテロス・バイオストラクチャーズ・ゲーエムベーハー
ドイツ連邦共和国　８２１５２　マルティンスリード　アム・クロッペルスピッツ　１９
(74)代理人　100085464
弁理士　野口　繁雄
(72)発明者　トルステン・ノイエファインド
ドイツ連邦共和国　８２１３１　ガウティング　アム・ヴァイヘル　３ａ
(72)発明者　ライネル・キーフェルザウエル
ドイツ連邦共和国　８０６４３　ミュンヘン　フォルカルトストラッセ　２８

最終頁に続く

(54)【発明の名称】粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置であって、

粒子状サンプル用の静置端を有する支持部材（２２）と、前記静置端へと向けられた開口端（３０）をもちその開口端（３０）に湿潤ガス流を生成するための装置とを備えており、

湿潤ガス流を生成するための前記装置は、

第１露点温度を有するように第１温度及び第１相対湿度を有するガスを供給するための手段（４４；９０～９８）、

前記ガスを水分の凝縮の下で冷却器温度まで冷却してその冷却器温度に一致するガスの第２露点温度を調整するための冷却器（４６）、

前記第２露点温度を有するガスを、ガスからの水分の凝縮を防止しつつ前記開口端（３０）へ導くための手段（２４、２８、３６）、及び

前記冷却器温度の調整と前記開口端におけるガス温度の調整とによって前記開口端（３０）におけるガスの相対湿度を調整するための手段を備えている装置。

【請求項２】

ガスを導くための前記手段が、前記開口端（３０）をもつ測定ヘッド（１６）及び流体配管（２８）を備え、前記流体配管（２８；３６）及び前記測定ヘッド（１６）を、前記第２露点温度を下回らない温度に保持するための手段をさらに備えている請求項１に記載の装置。

【請求項３】
調整すべき第２露点温度を、前記開口端（３０）におけるガスの所望の相対湿度及び前記開口端（３０）においてガスが調整される温度に基づいて決定するための手段（１０）を備えている請求項１又は２に記載の装置。
【請求項４】
前記温度を調整するための手段は、前記冷却器温度を前記決定した第２露点温度に調整するとともに、前記開口端（３０）へのガスの温度を一定の値に調整する請求項３に記載の装置。
【請求項５】
前記開口端（３０）における相対湿度の調整において、前記冷却器（４６）の圧力と前記開口端（３０）における圧力との間の圧力差を計算に入れるための手段をさらに備えている請求項１又は２に記載の装置。
【請求項６】
前記冷却器（４６）において検出した圧力及び前記開口端（３０）において検出した絶対圧力に基づいて、又は前記冷却器（４６）において検出した圧力及び典型的な外気圧に基づいて前記圧力差を決定するための手段をさらに備えている請求項５に記載の装置。
【請求項７】
調整すべき第２露点温度を、前記開口端（３０）におけるガスの所望の相対湿度及び前記開口端（３０）において調整されるガス温度に基づいて決定するための手段をさらに備え、
該手段は、
前記開口端においてガスに要求される露点温度を前記開口端（３０）でのガスの所望の相対湿度及び前記ガス温度に基づいて決定するための手段、
前記開口端（３０）においてガスに要求される水蒸気分圧を前記開口端（３０）における前記ガス温度及び前記開口端でのガスの前記要求される露点温度から決定するための手段、
前記冷却器（４６）において要求される水蒸気分圧を前記開口端（３０）でのガスの前記要求される水蒸気分圧及び前記圧力差に基づいて決定するための手段、
並びにガスの調整すべき前記第２露点温度を冷却器（４６）における決定された前記要求される水蒸気分圧に基づいて決定するための手段を備えている請求項６に記載の装置。
【請求項８】
前記冷却器温度及び前記開口端（３０）における前記ガス温度を調整するための手段（４８）は、ガス流の湿度の所定の経過が調整されるように前記温度を調整すべく構成されている請求項１～７のいずれか一項に記載の装置。
【請求項９】
前記湿潤ガス流へ１又は２以上の異種ガスを供給するための手段（７０、７２、ＭＦＣ）をさらに備えている請求項１～８のいずれか一項に記載の装置。
【請求項１０】
前記湿潤ガス流へ気化させた液体を供給するための直接気化器（８２）をさらに備えている請求項１～９のいずれか一項に記載の装置。
【請求項１１】
前記開口端（３０）での相対湿度の調整において、前記１もしくは２以上の異種ガスの供給及び／又は前記気化させた液体の供給による前記湿潤ガス流の露点の変化を計算に入れるための手段をさらに備えている請求項８又は９に記載の装置。
【請求項１２】
前記開口端（３０）における温度を調整するための手段は、前記開口端（３０）を備えたサンプル・ヘッド（１６）の温度を調整するための手段を備えている請求項１～１１のいずれか一項に記載の装置。
【請求項１３】
粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための方法であって、

粒子状サンプルを支持部材（２２）の静置端に支持する工程と、前記静置端に向けられた開口端（３０）に湿潤ガス流（２６）を生成する工程とを備えており、
前記湿潤ガス流の生成工程は、
第１露点温度を有するように第１温度及び第１相対湿度を有するガスを供給する副工程、
冷却器温度に一致するガスの第２露点温度を調整するために、前記第１露点温度を有するガスを水分の凝縮の下でその冷却器温度まで冷却する副工程、
前記第２露点温度を有するガスを、ガスからの水分の凝縮を防止しつつ前記開口端（３０）へ導く副工程、並びに
前記開口端におけるガスの相対湿度を調整するために前記冷却器温度及び前記開口端（３０）におけるガスの温度を調整する副工程
を備えている方法。
【請求項１４】
前記冷却器温度への冷却ののち、前記第２露点温度を有するガスを、前記第２露点温度を下回らない温度に保持する工程をさらに備えている請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
調整すべき第２露点温度を、前記開口端（３０）におけるガスの所望の相対湿度及び前記開口端（３０）においてガスが調整される温度に基づいて決定する工程をさらに備えている請求項１３又は１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記温度を調整する工程において、前記冷却器温度が前記決定された第２露点温度に調整されるとともに、前記開口端（３０）におけるガスの温度が一定の値に調整される請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記相対湿度を調整するときに、ガスを前記冷却器温度に冷却するときにあらわれる圧力と前記開口端（３０）における圧力との間の圧力差を計算に入れる工程をさらに備えている請求項１１又は１２に記載の方法。
【請求項１８】
前記圧力差を計算に入れる工程は、ガスを前記第２露点温度へ冷却する冷却器（４６）において検出した圧力及び前記開口端（３０）において検出した絶対圧力に基づいて、又は前記冷却器（４６）において検出した圧力及び典型的な外気圧に基づいて前記圧力差を決定する工程を備えている請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
調整すべき第２露点温度を、前記開口端（３０）におけるガスの所望の相対湿度及び前記開口端においてガスが調整される温度に基づいて決定するための工程をさらに備えており、
該工程が、
前記開口端においてガスに要求される露点温度を、前記開口端（３０）におけるガスの前記所望の相対湿度及び前記温度に基づいて決定する副工程、
前記開口端（３０）においてガスに要求される水蒸気分圧を、前記開口端（３０）におけるガスの前記温度及び前記開口端におけるガスの前記要求される露点温度から決定する副工程、
前記冷却器（４６）において要求される水蒸気分圧を、前記開口端（３０）におけるガスの前記要求される水蒸気分圧及び前記圧力差に基づいて決定する副工程、及び
ガスの調整すべき前記第２露点温度を、前記冷却器（４６）における前記の決定された要求される水蒸気分圧に基づいて決定する副工程
をさらに備えている請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記冷却器温度及び前記開口端（３０）におけるガスの温度を調整する工程において、ガス流（２６）の湿度の所定の経過が調整されるように前記冷却器温度及び前記ガス温度が

調整される請求項１３～１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２１】
前記湿潤ガス流（２６）へ１又は２以上の異種ガスを供給する工程をさらに備えている請求項１３～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
前記湿潤ガス流へ直接気化器によって気化させた液体を供給する工程をさらに備えている請求項１３～２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記開口端のガスの相対湿度の調整において、前記１もしくは２以上の異種ガスの供給及び／又は前記気化させた液体の供給による前記湿潤ガス流の露点の変化を計算に入れる工程をさらに備えている請求項２１又は２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記開口端におけるガス温度を調整する工程は、前記開口端（３０）を備えるサンプル・ヘッド（１６）の温度を調整する工程を備えている請求項１３～２３のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置及び方法に関し、特に、蛋白質結晶など、所定の湿度の環境中に保たれなければならない粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置及び方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
蛋白質結晶学は、回折画像から分子構造を探るべく蛋白質をＸ線又はシンクロトロン放射にさらす蛋白質の構造分析の方法である。蛋白質結晶内に不規則形状の蛋白質が付着することによって、結晶化溶液で満たされたチャンネルが成長する。蛋白質結晶は、低分子量の結晶に比べて接触が弱いだけでなく、溶解性の成分が多いことによってきわめて繊細であり、特別な環境においてのみ安定である。
【０００３】
そのような安定な環境を保証するために、蛋白質の結晶をいくらかの母液すなわち結晶の成長が行なわれた溶液とともにガラス製の細管内に入れ、次いでこの細管の両端を閉じる。このようにして、細管内において、結晶を保持することができる雰囲気が生じる。しかしながら、この方法は、結晶の操作がもはや不可能な閉鎖系であるために不都合である。また、蛋白質の結晶をループ状器具を表わすいわゆるループ内で急速冷凍し、低温で測定をおこなうことが知られている。その場合も、アニーリングを除き、もはや結晶を操作することはできない。
【０００４】
近年、蛋白質を多湿の気流中に安定に保持し、気流の湿度を調整することによって結晶における相対湿度を管理でき、同時にＸ線カメラで結晶状態を分析できるシステムが知られるようになってきた。
【０００５】
そのようなシステムは、例えばライナー・キーフェルサウアー（Reiner Kiefersauer）らの「蛋白質結晶の自由保持システム：精密に制御された湿度変化による形質転換及び回折力の改善（Free‐mounting system for protein crystals:transformation and improvement of diffraction power by accurately control humudity changes）」、ジャーナル・オブ・アプライド・クリスタログラフィ（J. Appl. Cryst.）、２０００年、３３巻、１２２３～１２３０頁、及び欧州特許出願公開第０９８７５４３号明細書にて知られている。これら既知システムは、試験しようとする蛋白質結晶のための器具及び蛋白質結晶に湿潤空気流を供給するためのガス通路の両者を備えた測定ヘッドを備えている。これら既知のシステムにおいては、湿度センサによって検出した湿度に基づいて乾燥空気流と湿

潤空気流との混合比を調整し、気流の湿度を調節するために、気流の湿度が湿度調節システムを用いて調整される。

【０００６】

同様の湿度調整方法は、キーフェルサウアー（R.Kiefersauer）らの「体積測定及びアミノ酸分析による蛋白質結晶密度（Protein‐Crystal Density by Volume measurement and Amino‐Acid Analysis）」、ジャーナル・オブ・アプライド・クリスタログラフィ、１９９６年、２９巻、３１１～３１７頁でも知られている。また、シェーグレン（T.Sjoegren）らの「蒸気流中の蛋白質結晶学：裸の水和蛋白質結晶におけるデータ収集、反応開始、及び中間捕捉（Protein crystallography in a vapour stream:data collection, reaction initiation and intermediate trapping in naked hydrated protein crystals）」、ジャーナル・オブ・アプライド・クリスタログラフィ、２００２年、３５巻、１１３～１１６頁にも、湿潤気流内での蛋白質結晶学のためのシステムが記載されている。この既知のシステムにおいては、ガスに所望の湿度を付与するためにバブラーが使用されている。そこでは、ガスが液体中を通って上昇し、液体の温度を変化させることによって、又は液体の組成を変化させることによって、ガスの湿度を操作することができる。このようにして調整された湿気を含むガスが、緩衝容器を介してノズルへ供給され、ノズルの出口端において器具に取りつけられた結晶にガスの層流が衝突する。

【０００７】

ガス流の湿度を調整するためのこれら既知のシステムは、湿度の正確な調整、特に関心がある相対湿度１００％をわずかに下回る範囲における湿度の正確な調整が実現困難である、という点で不利である。湿度センサを使用する最初に述べた方法では、測定位置と結晶が空間的に近接しているため、加湿手段を調節するために相対湿度を直接測定するためのセンサをその測定位置に配置することはできない。さらに、市販されている相対湿度センサは、要求される湿度範囲において充分な精度と長期安定性を備えていない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

本発明の目的は、粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置及び方法であって、粒子状サンプルの位置において高度に正確で、かつ長期にわたって安定な湿度調節が可能な装置及び方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

この目的は、請求項１に記載の装置及び請求項１３に記載の方法によって達成される。

【００１０】

本発明は、粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための装置であって、

粒子状サンプルのための静置端を有する支持部材と、

前記静置端へと向けられた開口端をもちその開口端に湿潤ガス流を生成するための装置とを備えており、

湿潤ガス流を生成するための前記装置は、

第１露点温度を有するように第１温度及び第１相対湿度を有するガスを供給するための手段、

ガスを水分の凝縮の下で冷却器温度まで冷却してその冷却器温度に一致するガスの第２露点温度を調整するための冷却器、

前記第２露点温度を有するガスを、ガスからの水分の凝縮を防止しつつ前記開口端まで導くための手段、及び

前記開口端におけるガスの相対湿度を調整するために、前記冷却器温度及び前記開口端におけるガスの温度を調整するための手段

を備えている装置を提供する。

【００１１】

さらに本発明は、粒子状サンプルのための所定の環境を生成するための方法であって、

粒子状サンプルを支持部材の静置端に支持する工程と、
前記静置端に向けられた開口端に湿潤ガス流を生成する工程とを備えており、
前記湿潤ガス流を生成する工程が、
第１露点温度を有するように第１温度及び第１相対湿度を有するガスを供給する副工程、
冷却器温度に一致するガスの第２露点温度を調整するために、前記第１露点温度を有するガスを水分の凝縮の下でその冷却器温度まで冷却する副工程、
前記第２露点温度を有するガスを、ガスからの水分の凝縮を防止しつつ前記開口端へ導く副工程、及び
前記開口端におけるガスの相対湿度を調整するために前記冷却器温度及び前記開口端におけるガスの温度を調整する副工程
を備えている方法を提供する。

【００１２】

本発明によれば、粒子状サンプルの位置における試験ガス、典型的には空気、の湿度値について要求される高度な正確性が、加湿器及び湿度センサからなる閉ループによる湿度調整を用いずに達成される。本発明では、湿度の調整は露点温度の事前調整によって実行され、湿度を直接測定することは行なわない。本発明によれば、露点の湿度調整のために、加湿ユニットと再冷却器方式の凝縮ユニットとを使用して、２段階の調整が採用される。加湿ユニットでは、試験ガスの露点及び温度の両者を所望の値を上回る値に調整することによって、試験ガスに過剰な水分が与えられる。その後、再冷却器においてガスが再び冷却され、ガス中の過剰な水が再び凝縮する。このようにして、ガスが冷却される戻し冷却器の温度が、ガスの所望の露点を設定する。その露点温度は、ガス中にちょうど１００％の相対湿度が存在するガス温度、すなわちガスが完全に飽和しているガス温度に相当し、そのときのガスには、もはや極小量の水さえ追加することができない。この状態が、この制御された凝縮によって実現される。

【００１３】

このようにして調整された試験ガス、典型的には空気、は測定ヘッドへ導かれ、測定ヘッドでの熱交換器で所望のガス温度となる。調節された試験ガスを測定ヘッドへ導く際に水分が凝縮するのを防ぐために、試験ガスを冷却器温度よりも高く保つように通常の加熱配管が使用される。開口端におけるガスの温度が制御されるので、相対湿度で表現される測定ガスの水分量が、「露点温度」及び「開口端におけるガス温度」という量からの計算によって明らかになる。したがって、水分量の変化は、露点温度すなわち冷却器温度、又は開口端におけるガス温度のいずれかを調整することによって調整することができる。

【００１４】

相対湿度f_{rel}、露点温度T_{dp}、及びガス温度T_gの間の関係は、いわゆるマグナス（Magnus）の式によって与えられる。これは、

$$F_{rel}=\exp\left\{a_w b_w\left[\frac{T_{dp}-T_g}{(b_w+T_{dp})(b_w+T_g)}\right]\right\}\times 100\%$$

であり、定数はa_W＝１７．５０、及びb_W＝２４１．２Ｋである。

【００１５】

ここで、開口端の試験ガスの温度の調整は、好ましくは、試験ガスが案内されるとともに開口端を備えている測定ヘッドの温度を調整することによって行なわれる。測定ヘッドの温度は、例えば加熱巻線の使用、ペルチェ素子の使用、又は液体熱交換器の使用など、既知の任意の手段によって調整することができる。測定ヘッドにおける試験ガスの加熱だけでなく、冷却用の装置を用いることによって冷却も可能であり、その結果、試験ガスをさらなる温度範囲に調整することができる。冷却によって、外部の温度に応じてきわめて高い湿度に調整することも可能である。

【００１６】

本発明によれば、好ましくは、サンプル・ヘッドの温度、したがってガスの温度を、一

定の値に制御又は調節する一方で、露点温度すなわち戻し冷却器の温度を、所望の湿度に応じて変化させる。または、露点温度を一定に保ち、サンプル・ヘッドの温度を所望の湿度に応じて変化させてもよい。

【００１７】

開口端での相対湿度、すなわち開口端の直近に配置されることが好ましい粒子状サンプル位置での相対湿度の調整の正確さを向上させるため、本発明の好ましい実施の形態は、相対湿度の調整において、すなわちガスの露点の調整又は開口端におけるガス温度の調整において、冷却器と開口端の間のガス配管を流れて通過することによる圧力損失を補償するための手段を含んでいる。

【００１８】

他の実施の形態においては、本発明の装置は、試験ガスの温度及び湿度の調節のほかに、１又は２以上の追加の異種ガス及び／もしくは気化器でガス状態に変換された液体の混合をさらに可能にする。その場合、本発明の装置はこれらすべての流体流、すなわち測定ガス、異種ガス及び／又は液体を供給するために対応する質量流量コントローラを備えており、その結果、質量流量の比の構成から、再冷却器において調整される露点又は開口端におけるガス温度の低下又は上昇を計算することができる。

【００１９】

対応する質量流量コントローラの代わりに、例えば規定された体積流を生じさせるためにステップ・モータによって駆動されるポンプを含む手段など、規定された流れ又は体積流を生み出すための他の手段を使用することもできる。

【００２０】

本発明の装置及び方法においては、湿度調整の正確さが湿度センサに依存せず、開口端におけるガス温度の調整及び冷却器温度の調整に使用される長期にわたって安定な温度センサにのみ依存している。そこでは、温度センサは試験ガスに直接接触する必要がない。したがって、相対湿度センサはセンサ材料の経年変化によって特性曲線が変動する点、相対湿度が９０％から１００％の範囲において正確さに乏しい点、この範囲において前述の経年変化がさらに顕著である点、及び適当な精度の湿度センサが高価である点において欠点をもつが、本発明によれば、そのような相対湿度センサの欠点が生じない。さらに、より安価な相対湿度センサの殆どは、限られた測定範囲しかもっていない。露点プローブも１００分の１度の範囲においては露点を一定にできないが、本発明によって行なわれるような温度プローブの使用によれば、これが保証できる。

【００２１】

本発明の実施の形態は、従属請求項に記載されている。

【００２２】

本発明のこれらの目的及び特徴並びに他の目的及び特徴は、以下の説明と添付の図面から明らかになるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【００２３】

図１は、本発明が用途を見出すことができる装置を示しており、制御コンピュータ１０、制御用電子機器１２、加湿ユニット１４、及びサンプル・ヘッド１６を備えている。

【００２４】

サンプル・ヘッド１６は、例えば前述の欧州特許出願公開ＥＰ－Ａ－０９８７５４３号明細書に記載されているような従来からのサンプル・ヘッドでよい。このサンプル・ヘッドは、外側部分１８及び内側部分２０を備えており、好ましくは内側部分が外側部分１８に対して可動である。内側部分２０には、粒子状サンプル、特に蛋白質結晶を支持するための支持部材２２が取りつけられている。しかしながら、本発明の用途は、蛋白質結晶の形式の粒子状サンプル用に限定されるわけではなく、液体成分が多くすなわち湿潤環境下に保たれなければならない任意の粒子状サンプルに有利に使用することができる。それらには、生物学的細胞や細胞成分などの生物学的物体、又は溶液成分を多く含む合成非結晶物体も含まれる。

【００２５】
図１においては、支持部材２２は、蛋白質結晶を挿入できる静置端として、ループを有するループ状器具として描かれている。このようなループ状器具は、蛋白質結晶学で、特にサンプルの急速冷凍のためのものとして知られている。または、その器具は負圧で動作する中空の細管（真空ピンセット）を備えていてもよく、もしくは端部に粒子状材料サンプルが静置されるコンパクトで細長で先端が尖った形状の部品を備えてもよい。本発明の装置においては、粒子状のサンプルを吸着力、電気力、接着材料などの効果によって支持部材の静置端に付着することができる任意の器具が適用可能である。
【００２６】
図１に示すように、サンプル・ヘッド１６はさらにガス通路２４を備えており、このガス通路２４を経由して、湿潤空気流を支持部材２２の静置端すなわち粒子状のサンプルに供給することができる。ガス通路２４にはガス管路２８が取りつけられており、このガス管路２８を介してサンプル・ヘッド１６が加湿ユニット１４に接続されている。湿潤ガス流２６は、加湿ユニット１４からガス管路２８及びガス通路２４を経由してガス通路２４の開口端３０まで、圧力下で導かれる。
【００２７】
支持部材２２の静置端は開口端３０の直近にあることが好ましいが、Ｘ線カメラを用いた結晶状態の分析を同時に行なうことができるように、通常は、ある間隔、例えば１～１０ｍｍ、好ましくは２～３ｍｍ程度の間隔が設けられる。ガス通路２４及びその開口端３０は、支持部材２２の静置端の領域において実質的に層流のガス流２６が保証されるように構成されているのが好ましい。そのためには、方向を変えることなく充分な長さをもって開口端３０へ直接つながるガス通路を備えているのが好都合である。湿潤空気流２６の流量は、支持部材２２の静置端の領域における層流の生成を助けるように調整され、好ましい流量は、０．６～２．０リットル／分とすることができる。
【００２８】
さらにサンプル・ヘッド１６は、サンプル・ヘッド１６の温度T_pを調整するための温度調整手段３２をさらに備えている。サンプル・ヘッド１６を通過するガス通路２４は、湿潤空気流がサンプル・ヘッドを通過して流れるときにサンプル・ヘッド１６の温度T_pを獲得するように形成されている。そのため、ガス通路２４は、相応する経路を有することができ、又は、例えばいくつかの副通路として形成することもできる。サンプル・ヘッド１６の温度を調整するため、さらに温度センサ（図示されていない）が、既知の方法でサンプル・ヘッド１６に設けられている。
【００２９】
温度調整手段３２は、温度を調整するための任意の既知の手段でよい。本発明の好ましい実施の形態においては、温度調整手段３２は、サンプル・ヘッド１６の加熱及び冷却の双方を可能にするサンプル・ヘッドの温度調整のための液体熱交換器である。したがって、室温を下回るか又は室温に近いガス温度も、迅速に調整することができる。また、従来からのペルチェ素子又は加熱素子を、サンプル・ヘッドの温度の調整、したがってサンプル・ヘッドを通過して流れる湿潤空気流の温度の調整に使用することができる。この点について、図１においては、分かりやすさのため、サンプル・ヘッドとシステムの残りの部分との接続としてガス管路２８のみを図示しており、例えば電気接続配線、温度調整用流体を供給するための配管、支持用細管に真空を供給するための配管など、他の接続は示されていないことに触れておかねばならない。
【００３０】
本発明は、支持部材及びガス供給を組み合わせて備えたサンプル・ヘッドに限られない。もっと適切に言うと、支持部材と、それとは別に湿潤ガス流を支持部材へ導く装置を設けてもよい。そのような装置は、例えば、ガスの層流の生成を助けるための充分な長さを有する細長いノズルを有することができる。
【００３１】
続いて、本発明において使用される加湿ユニット１４の詳細に触れる前に、湿度実験な

どを実施するための加湿ユニット１４のすべてのプログラミングは、制御コンピュータ１０及び制御用電子機器１２を介して行なうことができることを簡単に指摘しておかなければならない。図示の構成において、制御用電子機器１２は、制御コンピュータ１０の指令をサンプル・ヘッド１６だけでなく加湿ユニット１４にも供給するように機能する。制御コンピュータ１０も制御用電子機器１２も本発明の主題ではないため、これらについてこれ以上説明する必要はない。

【００３２】

以下、粒子状サンプルのために所定の環境を生成するための本発明の装置について、図２に概略的に示した実施の形態を詳細に説明する。この実施の形態は、複数の流体配管３６、３８、４０、及び４２を介してサンプル・ヘッド１６へ接続された流体モジュール３４を含んでいる。流体配管３６を介して、測定ガスがサンプル・ヘッドへ供給され、サンプル・ヘッドの開口端３０にもたらされる。所望の相対湿度に調整するために粒子状サンプルの位置、すなわち実質的に開口端、へ供給されるガスが測定ガスと称される。すでに述べたように、測定ガスは、サンプル・ヘッド１６の温度T_pを獲得する。

【００３３】

流体配管３６を通じて導かれる湿潤ガス流を生成するための加湿ユニットは、加湿器４４及び再冷却器４６を含んでいる。再冷却器４６は、再冷却器４６の冷却温度を調整するための温度制御手段４８を備えている。加湿器４４の入力は圧縮空気配管５０に接続され、一方、加湿器４４の出力は、再冷却器４６の入力に接続されている。再冷却器４６の出力は流体配管３６に接続されている。再冷却器４６は凝縮液配管５２に接続された出力をさらに備えている。

【００３４】

流体配管３８は、粒子状サンプルをサンプル・ヘッド１６に設けられた支持用細管（図示されていない）の静置端に保持するために、真空ポンプ５４及びその支持用細管に接続されている。

【００３５】

２つの流体配管４０及び４２は、サンプル・ヘッド１６の温度を調整するための温度調整用流体を供給及び回収するための配管を表わしている。そのため、これらの流体配管は、温度制御手段５６並びに温度調整用流体配管４０及び４２を通る温度調整用流体の流れをもたらすためのポンプ５８に、既知の方法で接続されている。

【００３６】

図２に示した実施の形態においては、以下のようにして、開口端３０に所定の湿度のガス流が作り出される。

【００３７】

サンプル位置において所望される湿度及びサンプル・ヘッドの温度T_pの初期値に応じて、所望の相対湿度F_{rel}に必要な露点温度T_{dp}が、前述のマグナスの式を用いて計算される。この計算は、制御コンピュータ１０にて行なうことができる。

【００３８】

サンプルの位置を所望の湿度に調整するため、冷却器温度が、計算によって得た露点温度T_{dp}に調整される。露点温度T_{dp}のガス流を生み出すため、まず加湿器４４において高すぎる湿度、すなわち所望の値よりも上の温度にある露点を与えるべく、圧縮空気が、配管５０を介して加湿器４４に供給される。この湿度過剰なガスが再冷却器４６へ供給され、冷却器温度T_Kまで冷却される。これにより、ガス中の過剰な水が凝縮し、したがって冷却器温度T_Kによって、所望のガス露点すなわち測定ガスの露点T_{dp}が設定される。ここで生み出された凝縮液は、配管５２を介して回収される。

【００３９】

所望の露点温度T_{dp}を有する測定ガスが、流体配管３６を介して前述のとおり圧力下で開口３０へ導かれる。このとき、再冷却器と測定ヘッド１６の間で凝縮が生じないようにして、露点温度の低下が生じないようにしなければならない。そのため、ガス配管３６を、例えばヒータ付きの可撓性テフロン配管など、加熱付きのガス配管で形成することが好

ましい。冷却器温度T_Kがシステムが動作する周囲温度よりも常に低いことが確実であるならば、加熱を行なわなくても再冷却器を出たのちの測定ガスの温度が冷却器温度よりも下がることはなく、したがって凝縮が生じないことが確実であるため、流体配管３６を加熱する必要はない。

【００４０】

本発明によって測定ガスを、より高い温度及び湿度から、凝縮のもとで所望の露点温度T_{dp}まで冷却することにより、露点温度すなわち所与の圧力における相対湿度が１００％である温度を、正確に調整することができる。再冷却器の後方において、測定ガスからのさらなる水分の凝縮は防止されている。したがって、開口端３０すなわち結晶における相対湿度は、前記マグナスの式に対応して決定され、測定ガスの露点温度及び開口端３０における測定ガスの温度にのみ依存する。ここに示した実施の形態において、サンプル・ヘッド１６は、温度調整用流体を用いて所与の温度T_pに調節されており、したがって、測定ガス流の相対湿度は、測定ガスの露点温度を調整することによって変化させることができる。この測定ガスの露点温度は、冷却器温度T_Kに相当し、したがって冷却器温度を調整することによって、開口端３０における測定ガスの相対湿度を調整することができる。

【００４１】

以上説明したシステムは、再冷却器及び開口端が同一の圧力である場合において、サンプル・ヘッドの開口端における相対湿度の調整を正確に行なうことが可能である。これは、実際においては実現がきわめて困難であるため、好ましい実施の形態においては、開口端と再冷却器との間の圧力差を計算に入れるために補正手段が設けられる。

【００４２】

そのような圧力補正のため、純粋物質系の水／水蒸気又は氷／水蒸気の蒸気圧曲線が使用される。この曲線ｐ（Ｔ）は、各温度Ｔについて、水又は氷の表面の上方にあらわれる対応する水蒸気の圧力ｐを示している。高精度で測定され、経過がほぼ指数関数的であるこの曲線について、計算のための方程式が存在する。

【００４３】

さらに、湿潤空気の混合物中において、水蒸気部分は、熱力学的に周囲の気体からほぼ独立であると考えることができ（理想気体混合物）、したがって蒸気圧曲線ｐ（Ｔ）は混合物中の水蒸気分圧ｅ（Ｔ）にも当てはまる。湿潤ガスの或る温度Ｔにおいて、混合物中には蒸気圧曲線によって示される水蒸気分圧ｅ（Ｔ）より多くは存在しえない。

【００４４】

再冷却の原理においては、高い湿度に調節された空気が温度T_Kまで冷却され、過剰な湿度が凝縮によって追い出される。水蒸気分圧ｅ（T_K）がそのガスにおいて生じ、使用した再冷却の原理によって冷却器温度T_Kが露点T_{dp}に一致する。

【００４５】

湿潤空気においては、理想気体について確立されたダルトン（Dalton）の法則も当てはまり、この法則によれば、混合物の全圧は各成分の分圧の和によってもたらされ、すなわち湿潤空気において$p = p_{air} + e$である。気体混合物の圧力が変化すると、すべての分圧が比例して変化する。この事実が、測定ガス配管３６における流れの通過による圧力損失の補償のための補正において考慮される。

【００４６】

本発明による圧力補正を実行するため、再冷却器の圧力と開口端における圧力との圧力差を決定しなければならない。開口端すなわちサンプル位置における圧力として、簡単な手法においては、典型的な９８０ミリバールの大気圧p_pを仮定することができる。または、このために、正確な大気圧を検出するためにサンプル・ヘッドに絶対圧センサを設けてもよい。また、再冷却器４６内に存在する圧力P_Kは圧力センサ、好ましくは差圧センサによって検出する。再冷却器の現圧力p_Kは、調整されたガスの流れ及び温度によって変化する。

【００４７】

圧力補正の実行のため、今度は付随的露点温度T_{dp}が、所望の相対湿度及びサンプル・

ヘッドの温度の初期値から、前記マグナムの式を用いて決定される。この露点温度から、付随的水蒸気分圧e_pが蒸気圧曲線を通じて計算される。これは、制御コンピュータによって直接計算でき、又は参照表にアクセスすることによって決定できる。

【００４８】

このようにして決定されたサンプル・ヘッドにおいて必要な分圧e_pから、再冷却器にて調整される水蒸気分圧e_Kが再冷却器における圧力とサンプル位置での圧力（外気絶対圧）の比に対応して、以下のように決定される。

$$e_k = e_p \frac{P_k}{P_p}$$

【００４９】

蒸気圧曲線によって、この水蒸気分圧e_Kを再冷却器において調整すべき露点温度に再び変換することができる。再冷却器温度T_Kがサンプル位置において所望の湿度を得るための露点温度に調整される。

【００５０】

このようにして、測定ガス配管３６において圧力低下が生じても、開口端３０における湿度をきわめて正確に調整することができる。

【００５１】

本発明の好ましい実施の形態においては、測定ガス流中に、異種ガス及び／又は液体を加えることができる。このために必要な手段を備えるよう変更された流体モジュール６４が、図３に示されている。このため、異種ガス配管７０及び７２が、それぞれの質量流量コントローラＭＦＣを介して測定ガス配管３６に接続されている。これらの配管７０及び７２を経由して、異種ガス１及び異種ガス２を測定ガス中に導入することができる。

【００５２】

さらに、図３に示したシステムは、気化させた液体を測定ガス中に導入することも可能である。液体８０を、質量流量コントローラＭＦＣが設けられている液体配管６８を経由して直接気化器８２へ供給することができ、直接気化器８２はガス配管８４によって測定ガス配管３６に接続されている。直接気化器は供給された液体を残余なしで気化させ、その結果、直接気化器に供給される液体の質量流量が直接気化器を出るガスに相当する。

【００５３】

図３に示したシステムにおいては、測定ガス、異種ガス１及び２、並びに液体のすべての流体流が質量流量コントローラを経由して供給されるため、質量流量の比の構成から、再冷却器において調整される露点の低下又は上昇を計算することができ、その結果、これらを開口端３０における測定ガスの湿度の調整において計算に入れることができる。供給される液体８０は、例えばイソプロパノールなど、無水の液体とすることができる。その液体が無水でない場合、これも湿度の調整において計算に入れなければならない。

【００５４】

このように、本発明によれば、異種ガス又は内部の気化器を経由した液体を、測定ガスへ任意に供給することができ、すべての流体の供給が質量流量コントローラＭＦＣを通じて行なわれるため、湿度の調整において、再冷却器で調整される露点を下げたり上げたりすることによって、異種ガス又は液体のそれぞれの供給を計算に入れることができる。

【００５５】

再冷却にさらされる前にガスの湿度及び温度を高めるため本発明において使用される加湿器は、従来からのバブラーでよい。しかしながら、本発明におけるそのような加湿器の好ましい設計が、図４に示されている。この加湿器は、入力が圧縮空気配管５０に接続され、出力が分離器９２の入力に接続されている加湿ユニット９０を備えた循環加湿器として実現されている。分離器９２の出力は、再冷却器４６に接続されている。分離器９２は、また、配管９４を介して水供給源９６へ接続されている。その水供給源は、さらに、ポンプ９８を介して加湿ユニット９０の他の入力へ接続された出力を備えている。図４に示した加湿器においては、水供給源９６からの水がポンプ９８を介して加湿ユニット９０へ

供給され、そこで測定ガスすなわち圧縮空気が、加湿ユニット９０の水で加湿される。液体の水が分離器９２で分離され、配管９４を通って水供給源９６に戻される。図４に示されているような循環加湿器は、大型バブラーとくらべ、よりコンパクトに実現できるため好都合である。

【００５６】

本発明の装置及び本発明の方法によれば、広い範囲にわたって湿度をきわめて正確に調整することが可能であり、例えば８０％と１００％の間の相対湿度など、とくに１００％をわずかに下回る蛋白質結晶学において興味深い範囲の湿度について、きわめて正確な調整が可能である。本発明によれば、粒子状サンプルを任意の温度で調べることができ、対応するガス温度を対応するサンプル・ヘッドの温度T_pを通じて調整するだけでよい。サンプル・ヘッドの温度に応じ、対応して再冷却器の温度を調節することによって露点温度を調整することができ、所望の湿度を得ることができる。このために、温度調整の安定性を向上させることができるペルチェ素子を使用してもよく、好都合である。さらに、冷却力を向上させた再冷却器を使用することによって、露点の調整範囲を広げることが可能であり、その場合、生じる湿度値の流量に対する独立性を改善するには、再冷却器において長いガス経路を使用することが好ましい。ステンレス鋼製の再冷却器として実施した場合、再冷却器の寿命延長も達成できる。ガス温度の調整範囲を例えば５℃～６０℃とし、ガス露点の調整範囲を例えば１℃～６０℃とすることによって、きわめて柔軟な湿度調整を行なえる能力、及び温度を高めて蛋白質結晶を調べることができる能力ももたらされる。

【００５７】

本発明の装置は、蛋白質結晶学の分野における適用にとくに適している。結晶の収縮によって蛋白質結晶中の結晶の状態を改善でき、このプロセスは、結晶中の水分によって直接制御できることが知られている。すでに説明したとおり、この水分を本発明によって正確に制御することができる。好ましくは、制御用電子機器１２だけでなく制御コンピュータ１０も、あらかじめ定めた湿度実験を実行するように構成される。本発明の装置は、好ましくは、湿度の開始値、湿度の終了値、及び湿度の推移など、種々のパラメータを任意に調整することができるようにする手段を備えることができる。さらに、本発明は、このような湿度実験の際にＸ線によって結晶の状態の変化を追跡できるようにするための手段を備えることができる。

【００５８】

粒子状サンプルのために所定の環境を生成するための本発明の装置によって実施できる湿度実験の一例は、例えば、まず自然の状態にある蛋白質結晶を取り付け、次いで結晶系の特徴付けのため湿度の傾きを通過させることからなる。出発点の湿度として自然の状態の相対湿度を選択でき、一方、最終の湿度として出発湿度マイナス２０％に相当する湿度値を使用する。湿度の変化は、例えばそれぞれ０．２５％の刻みで行なうことができ、したがって、２０％の湿度差において８０個の湿度レベルがもたらされる。各レベルにおける滞留時間として、３０秒の時間を採用することができ、したがって、このような湿度実験の全体の継続時間は５０分になる。湿度の変化に対する結晶の反応は、Ｘ線画像によって連続的に記録することができる。

【図面の簡単な説明】

【００５９】

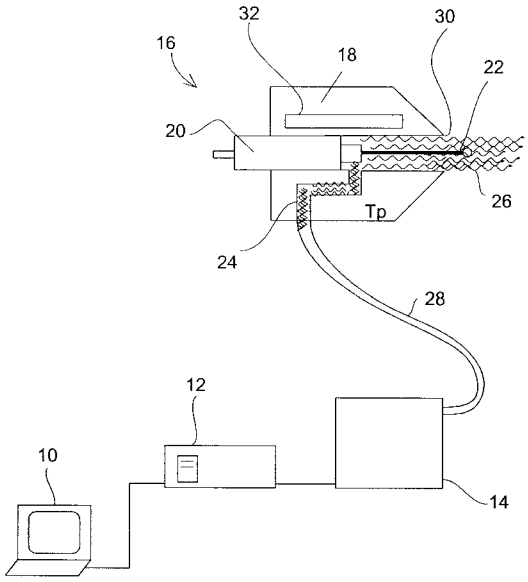
【図１】本発明の装置を使用することが可能なシステムの概略図である。

【図２】本発明の装置の一実施の形態の概略図である。

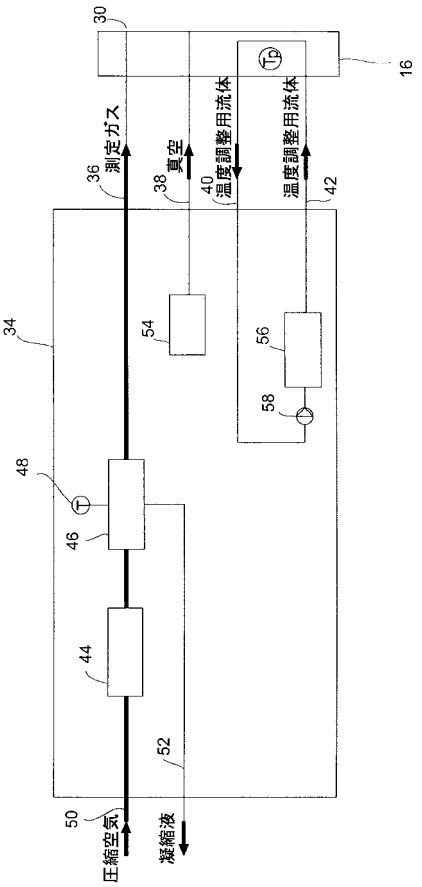
【図３】本発明の装置の他の実施の形態の概略図である。

【図４】本発明の装置のさらに他の実施の形態の概略図である。

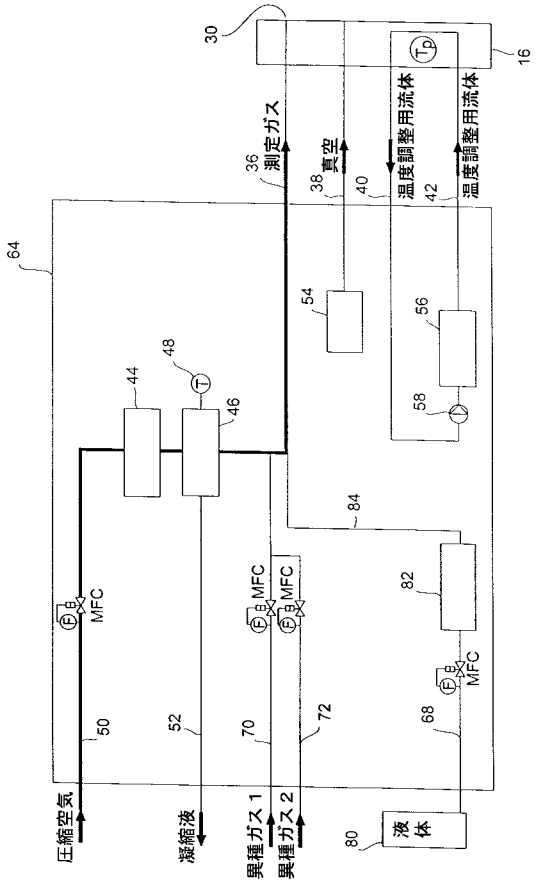
【図１】


16
32
18
30
22
20
26
Tp
24
28
12
10
14

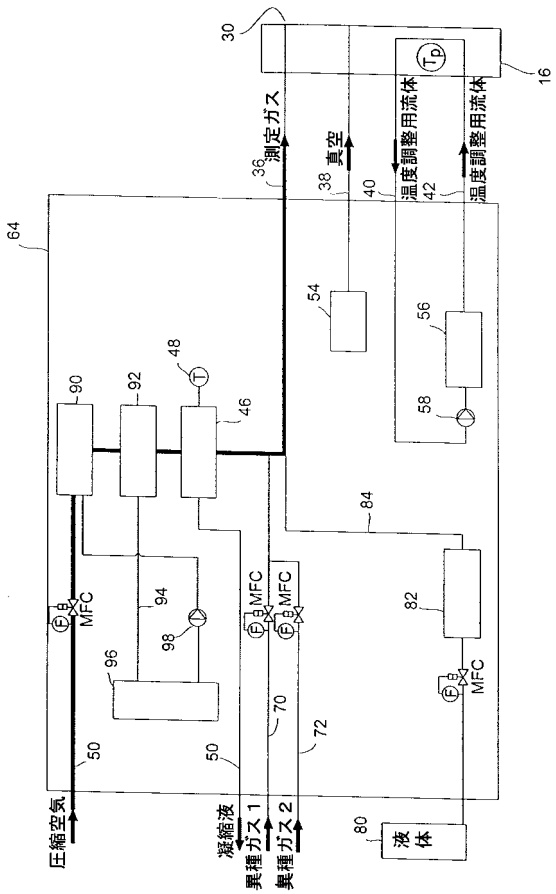
【図２】


30
16
Tp
測定ガス
真空
温度調整用流体
温度調整用流体
36
38
40
42
34
54
56
58
48
46
44
52
50
圧縮空気
凝縮液

【図３】


30
16
Tp
測定ガス
真空
温度調整用流体
温度調整用流体
36
38
40
42
64
54
56
58
48
44
46
84
82
MFC
MFC
MFC
MFC
50
52
70
72
68
80
液体
圧縮空気
凝縮液
異種ガス１
異種ガス２

【図４】


30
16
Tp
測定ガス
真空
温度調整用流体
温度調整用流体
36
38
40
42
64
54
56
58
48
90
92
46
84
82
MFC
MFC
MFC
MFC
94
98
96
50
70
72
80
液体
圧縮空気
凝縮液
異種ガス１
異種ガス２

フロントページの続き

(72)発明者　ホルゲル・ベンツケ
ドイツ連邦共和国　９０４０８　ニュールンベルグ　シュベッペルマンストラッセ　３９
(72)発明者　マルティン・スティル
ドイツ連邦共和国　９０４２９　ニュールンベルグ　モルトケストラッセ　３

審査官　郡山　順

(56)参考文献　米国特許第６３５５２１７（ＵＳ，Ｂ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
G01N　1/28
C07K　1/14
G01N　23/20