

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3792034号
(P3792034)

(45) 発行日 平成18年6月28日(2006.6.28)

(24) 登録日 平成18年4月14日(2006.4.14)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 15/14 (2006.01)

GO 1 N 15/14 E

GO 1 N 1/00 (2006.01)

GO 1 N 1/00 1 O 1 G

GO 1 N 1/00 1 O 1 M

請求項の数 4 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願平9-353872	(73) 特許権者	390014960
(22) 出願日	平成9年12月22日(1997.12.22)		シスメックス株式会社
(65) 公開番号	特開平11-183359		兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番
(43) 公開日	平成11年7月9日(1999.7.9)		1号
審査請求日	平成16年9月9日(2004.9.9)	(74) 代理人	100065248
			弁理士 野河 信太郎
		(72) 発明者	長井 孝明
			神戸市中央区港島中町7丁目2番地の1
			東亜医用電子株式会社内
		審査官	西村 直史
		(56) 参考文献	実開平04-030462 (JP, U)
			特開平04-324925 (JP, A)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 粒子分析装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

定量された試料流体中の粒子数を測定する粒子分析装置において、

一定量の試料流体を検出器に流すための定量供給手段として、膜体と、この膜体で仕切られる室とからなり、各室の内壁には流通口部が形成され、一方の室の流通口部が圧力源と連通され、他方の室の流通口部が検出器と連通されてなるポンプを備え、

さらにこのポンプは、圧力源の切換えにより、膜体を一方の室の内壁に密着した状態から他方の室の内壁に密着した状態へと作動させ、両方の室の内容積量に対応する試料流体を検出器に流して試料流体中の粒子数を測定するよう構成されたことを特徴とする粒子分析装置。

【請求項2】

ポンプの室の形状が、流通口部に向かって収斂する円錐台形状であることを特徴とする請求項1に記載の粒子分析装置。

【請求項3】

ポンプの室の形状が、流通口部に向かって収斂する角錐台形状であることを特徴とする請求項1に記載の粒子分析装置。

【請求項4】

ポンプの内壁が、流通口部に連通し内壁中心部を横切る溝を備えたことを特徴とする請求項1乃至3のいずれか一つに記載の粒子分析装置。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【 発明の属する技術分野 】

この発明は粒子分析装置に関し、さらに詳しくは、尿、血液等の試料に含まれる血球等の粒子数を測定する粒子分析装置に関する。

【 0 0 0 2 】

【 従来技術 】

血球等の粒子を測定する方法として、フローサイトメトリー法、電気抵抗法が周知である。例えば、電気抵抗法では、検出器、すなわち電流を流した微細孔（オリフィスとしての機能を有する整流素子）に微量定量された血液試料を供給し、この微細孔を通過する際に発生する電気信号変化を検出して血球等の粒子数、粒度分布を得る。

10

このような測定法は、検出器に流す試料流体の流速を安定させ、その量が正確に定量されていなければ粒子数を正確に測定することができない。

【 0 0 0 3 】

検出器に流す試料流体の量を定量するためには、

(i) 検出器に流す試料流体の液量を定量検知する検知部を流路に設ける定量方法であり、定量検知部として、水銀U字管や球を利用したマノメータ（実公昭62-22830号公報参照）が知られている。

(ii) 試料流体を測定する時間を一定時間に設定する、すなわち測定時間を基準とした定量方法。

(iii) シリンジあるいは、しごきポンプ（ペリスタルラックポンプ）の定量供給手段で試料を加圧または吸引して検出器に流す試料流体の量を所定の量とする方法等が挙げられる。

20

【 0 0 0 4 】

【 発明が解決しようとする課題 】

しかし、前記(i)の手法では、流路に検知部を設けねばならず、血液試料等では汚れが生じやすく検知不良が起こりうる。水銀U字管は毒物である水銀を使用するので、取扱いが面倒であり、球を利用したマノメータは構造が複雑で球自体の動作不良が起こるという問題がある。

前記(ii)の手法では、流量を正確に一定にする必要がある。試料の液温が変われば、流量が変わるし、検出部に汚れが付着して微細孔が小さくなると、流量が少なくなり、定量精度が確保できないという問題がある。

30

前記(iii)の手法では、シリンジやしごきポンプを所定の量の試料流体を安定した流速にて流すためのステッピングモータ等の駆動部及び制御部を備えねばならず複雑で高価となり、又、パッキンやチューブを定期的に交換せねばならないという問題がある。

【 0 0 0 5 】

この発明は、このような事情を考慮してなされたもので、正確に定量された量の試料流体を安定した流速で検出器に供給することができ、構成が簡単な粒子分析装置を提供するものである。

【 0 0 0 6 】

【 課題を解決するための手段 】

40

本発明は、定量された試料流体中の粒子数を測定する粒子分析装置において、一定量の試料流体を検出器に流すための定量供給手段として、膜体と、この膜体で仕切られる室とからなり、各室の内壁には流通口部が形成され、一方の室の流通口部が圧力源と連通され、他方の室の流通口部が検出器と連通されてなるポンプを備え、さらにこのポンプは、圧力源の切換えにより、膜体を一方の室の内壁に密着した状態から他方の室の内壁に密着した状態へと作動させ、両方の室の内容積量に対応する試料流体を検出器に流して試料流体中の粒子数を測定するよう構成されたことを特徴とする粒子分析装置を提供する。

【 0 0 0 7 】

この発明におけるポンプとは、空気源や液体ポンプ等に広く用いられるもので膜体の作動により流体を吸引、吐出するダイヤフラム式ポンプを意味し、具体的には膜体と、この膜

50

体が両側に作動できるように支持する支持部と、膜体を作動させる圧力源とからなる。

【0008】

このようなポンプにより吸引排出される量は、膜の大きさや膜が作動できる大きさによって決められる。この量は十分な定量性を満たすものではないが、ある程度規定できるので、試料等を吸引排出する簡易手段として分析装置においてもいろいろと用いられている。例えば、吸引排出による試料攪拌（特開平5-40123号公報参照）、試料の充填（特開平5-232011号公報参照）、複数試料の混和、洗浄等がある。

【0009】

この発明では、試料を吸引・排出する量を陰圧もしくは陽圧によって膜体が片側に室に密着状態から圧を切り換え、膜体が逆側の室に密着されるまでとすることによって、両室の

10

内容積の量を規定することができる。
膜体が密着することができる室を設けることによって正確に定量できるポンプを定量供給手段として用いるため前記手法における複雑な機構も必要とせず、検知部の汚れという問題もない簡易な構成である。

【0010】

この発明における試料流体中の粒子とは、例えば、所定の希釈倍率に希釈された血液中の赤血球、血小板及び白血球、尿中の懸濁物質が挙げられる。

この発明における検出器には、例えば、血液試料中の血球を分析対象の粒子として、その粒子数、粒度分布を得るフローサイトメトリー法、電気抵抗法が挙げられる。

【0011】

20

【発明の実施の形態】

図1～6は、本発明の一つの実施形態による粒子分析装置としての血球分析装置10を示す。

図1により血球分析装置10の全体構成をその流体経路構成に基づいて説明する。なお、この血球分析装置10は、図1に示され、後述するように、血液試料を試料流体として扱い、赤血球及び血小板を赤血球検出系で、白血球を白血球検出系でそれぞれ検出するよう構成されている。血液中の血球の個数は大きく異なるため（通常赤血球400万/ μ l程度に対して白血球5000/ μ l程度）、赤血球検出系に供給される血液試料と白血球検出系に供給される血液試料は、希釈倍率が異なるとともに処理が異なる。以下の実施形態では、略同一構成の2つの検出系を備えているが、赤血球検出系では希釈液で25000

30

倍に希釈された血液試料2mlが供給され、そのうちの250 μ lが測定に供される。また、白血球検出系では希釈液と溶血剤とで500倍に希釈溶血処理された血液試料3mlが供給され、そのうちの500 μ lが測定に供される。

【0012】

血球分析装置10は、定量供給手段としてのポンプ11、12及び陰・陽圧手段である陰圧チャンバ13、陽圧チャンバ14と、検出器としての検出チャンバ31、32と、試料希釈部5とから構成される。上記したように、ポンプ11及び検出チャンバ31は赤血球検出系に、ポンプ12及び検出チャンバ32は白血球検出系に、それぞれ供される。

【0013】

試料定量希釈部5は、試料採取用ピペット51と、希釈液供給チャンバ52と、試料容器S等から試料採取用ピペット51で採取した血液試料を希釈液供給チャンバ52から供給される希釈液で所定の希釈倍率に希釈する周知のサンプリングバルブを備えた試料定量機構56とから主に構成される。試料定量機構56からは、2種類の異なる希釈倍率で希釈された血液試料を供給するための管路54、55が延出する。

40

【0014】

管路54の他端には、試料定量希釈部5により希釈された血液試料を受け入れる赤血球検出用検出チャンバ31が配設され、管路55の他端には、試料定量希釈部5により希釈された血液試料を受け入れる白血球検出用検出チャンバ32が配設される。白血球検出用検出チャンバ32には、溶血剤を供給する溶血剤供給部4に接続され延出した管路41の他端が、検出チャンバ32内に溶血剤を供給可能に接続されている。

50

各検出チャンバ 3 1、3 2 には、検出器 3 3、3 4 がそれぞれ備えられている。検出器 3 3、3 4 は、周知の電気抵抗法により粒子としての血球についてその粒度分布、粒子数を検出するオリフィスであって、一對の電極間に電圧を印加して検出器 3 3、3 4 を血球が通過する際に発生するインピーダンス変化に基づく信号を分析する機能を有する。

【0015】

ポンプ 1 1、1 2 の片方の室 2 1、2 7 は検出チャンバ 3 1、3 2 に接続されている。ポンプ 1 1、1 2 の上記とは逆側の室 2 2、2 8 には、バルブ V 7 の切り換えにより陰圧及び陽圧を印加することができる陰圧チャンバ 1 3 及び陽圧チャンバ 1 4 が接続されている。

陰圧チャンバ 1 3 には、陰圧チャンバ 1 3 を前記した検出チャンバ 3 1、3 2 の排液チャンバとして機能させるべくバルブ V 3 ~ V 6 をそれぞれ介接した管路が接続されている。

10

【0016】

図 2 ~ 5 は、本発明の一つの実施形態によるポンプ 1 1 (1 2 は同一構成のため説明を省略する) を示す。

ポンプ 1 1 は、膜体 1 及びケース 2 からなり、膜体 1 は E P D M 等のゴムを材料として成形された、液体及び気体不透過性膜である。

ケース 2 は、塩化ビニール等を材料とした合成樹脂の箱体であり、膜体 1 を挟持して室 2 1 を膜体 1 の両側に形成するよう、膜体 1 と平行に溶着してなる 2 つのケース片 2 3、2 4 からなる。

【0017】

20

室 2 1、2 2 は、ケース片 2 3、2 4 が構成する中空部を膜体 1 で 2 分して区画形成されてなり、それぞれの内壁部 2 1 a、2 2 a は、陰陽圧手段が駆動されて膜体 1 が変位したとき、内壁部 2 1 a もしくは 2 2 a の略全体が膜体 1 に略密着する形状を備える。内壁部 2 1 a、2 2 a の略中心には、各室 2 1 及び 2 2 内に開口して流体を流通させる流通口部 2 1 b、2 2 b が穿設される。ケース片 2 3、2 4 には、陰圧チャンバ 1 3 及び陽圧チャンバ 1 4 に接続可能な接続口部 2 5 が形成され、この接続口部 2 5 はケース片 2 3 に穿設された管路 2 6 を介して室 2 1 に連通する。

【0018】

室 2 1、2 2 の形状は、膜体 1 が密着し易いように形成される。

図 7 のような柱状の室のポンプでは、圧によって流通口部付近が先に密着して周辺部は密着しきらない場合がある。そうなると密着しきらなかった隅部の容積分だけ吸引もしくは排出する量が少なくなり、定量性が低下する。

30

【0019】

図 7 の形状のポンプを用いたときの、試料が検出器を通過する粒子数 (信号数) を時間あたりで表したものが図 9 となる。これは室の内壁部において隅部に膜体 1 が密着しきらないために試料吸引の切れが悪く、検出器を通過する試料の流れが不安定に終わることになる。

そこで、図 4 のように流通口部に向かって収斂する円錐台形状もしくは角錐台形状にすれば、膜体の作動する距離も少なく、膜体と室内壁略全体が密着しやすく、容量も大きなものが形成できる。

40

このような形状の室のポンプを用いたときの、試料が検出器が検出器を通過する粒子数 (信号数) を時間あたりで表したものが図 8 となる。これは膜体が室内壁に密着しやすいため、試料吸引の切れが良く検出器を通過する粒子数 (信号数) が安定して終わる。

【0020】

膜体と室の内壁とが密着しても、その間に試料等の液体が排出されきらずに残ることもあり得る。そこで室の内壁に流通口部へ連通する細い溝を形成すると、排出されきらなかった液体が溝部を伝って排出することができる。

【0021】

この実施態様では、ポンプ内の試料を排出する際、流通口部 2 1 b、2 2 b の開口周縁部には、膜体 1 の変位によりその流通口部 2 1 b、2 2 b から排出される流体の残部、すな

50

わち、内壁部 2 1 a、2 2 a と膜体 1 との間に膜状に残った流体を流通口部 2 1 b、2 2 b に導く細い溝部 2 1 c、2 2 c がそれぞれ形成されている（図 5）。これらの溝部 2 1 c、2 2 c は、流通口部 2 1 b、2 2 b の開口を中心として放射状に形成されている。

【 0 0 2 2 】

なお、上述したように、赤血球検出系に用いられるポンプ 1 1 は、1 回の作動で血液試料 2 5 0 μ l を赤血球検出器 3 3 に吸引し、白血球検出系に用いられるポンプ 1 2 は、1 回の作動で血液試料 5 0 0 μ l を白血球検出器 3 4 に吸引するので、定量室 2 1・2 2 及び定量室 2 7・2 8 の総容積は前記吸引量と同容積にそれぞれ形成されている。

【 0 0 2 3 】

図 6 のフローチャートに基づいて血球分析装置 1 0 の動作を説明する。

10

まず、ステップ S 0 において各バルブの開閉が初期状態に設定され、陰圧チャンバ 1 3、陽圧チャンバ 1 4 が駆動される。なお、バルブ V 7 は陽圧チャンバ 1 4 側に切り換えられている。次にステップ S 1 で試料定量機構 5 6 が作動され試料採取用ピペット 5 1 により試料容器 S から血液 5 0 μ l が吸引採取される。

次に、ステップ S 2 でバルブ V 5、V 6 を開く。これにより検出チャンバ 3 1、3 2 に収納されていた希釈液がそれぞれ陰圧チャンバ 1 3 に排出される。

【 0 0 2 4 】

〔赤血球測定用試料調整〕

ステップ S 3 では、ステップ S 2 においてピペット 5 1 により吸引採取された血液が、希釈液供給チャンバ 5 2 から供給される希釈液により 2 5 0 0 0 倍に希釈され検出チャンバ 3 1 に移送する。

20

〔白血球測定用試料調整〕

一方、ステップ S 4 では、ステップ S 2 においてピペット 5 1 により吸引採取された血液が、希釈液供給チャンバ 5 2 から供給される希釈液とともに検出チャンバ 3 2 に移送される。次に、ステップ S 5 で溶血剤供給部 4 から白血球測定用溶血剤を検出チャンバ 3 2 に移送して希釈液と溶血剤とにより 5 0 0 倍に希釈処理される。

【 0 0 2 5 】

ステップ S 6 では、バルブ V 1 ~ 4 を開き、バルブ V 5、6 を閉じる。これにより、希釈液供給チャンバ 4 2 から供給された希釈液の流れにて検出器 3 3、3 4 の各オリフィス付近の汚れや気泡等が除去される。

30

【 0 0 2 6 】

ステップ S 7 ~ 9 では、バルブ V 1 ~ 6 を閉じ、バルブ V 7 を陰圧チャンバ 1 3 側に切り換える。これによりポンプ 1 1、1 2 のそれぞれの室 2 2、2 8 に陰圧が負荷される。ポンプ 1 1、1 2 の内部は、室 2 1、2 7 の各内壁部に密着した膜体 1 が、陰圧の負荷により室 2 2、2 8 の逆側の各内壁部に密着する。

ポンプ 1 1 の室 2 1、2 2 の内容積量 2 5 0 μ l が吸引されて検出チャンバ 3 1 内の赤血球測定用に希釈処理された血液試料が検出器 3 3 を 2 5 0 μ l 通過することにより赤血球の測定が行われる。

ステップ S 1 1 及び 1 2 では、ポンプ 1 1 の室 2 7、2 8 の内容積量 5 0 0 μ l が吸引されて検出チャンバ 3 2 内の白血球測定用に希釈処理された血液試料が検出器 3 4 を 5 0 0 μ l 通過することにより白血球の測定が行われる。

40

【 0 0 2 7 】

次に、バルブ V 3 と V 4 を開き、バルブ V 7 を陽圧チャンバ 1 4 側に切り換えると、ポンプ内へ吸引した試料が陰圧チャンバへ排出される。次にバルブ V 3 と V 4 を閉じ、バルブ V 5 と V 6 を開くと、検出チャンバ 3 1、3 2 に残った各試料は陰圧チャンバ 1 3 に排出される（ステップ S 1 0 及び S 1 3）。次に、ステップ S 1 4 では、バルブ V 5 と V 6 を閉じ、バルブ V 1 ~ 4 を開いて希釈液供給チャンバ 4 2 から希釈液を供給して各検出器 3 3、3 4 及び各管路を洗浄する。そしてバルブ V 1 ~ 4 を閉じ、希釈液供給チャンバ 5 2 から定量希釈部 5 を通じて希釈液を充填する。

【 0 0 2 8 】

50

【発明の効果】

本願発明による粒子分析装置では、ポンプによって正確に定量された量の試料流体を安定した流速で検出器に供給することができる。そして特にポンプを膜体とこの膜体で仕切られる室とで構成し、定量された試料流体を、圧力源の切換えによりポンプの膜体を一方の室の内壁に密着した状態から他方の室の内壁に密着した状態へと作動させて両方の室の内容積量から得ることができるので、構成が簡単で測定精度の高い粒子分析装置を提供できる。

【0029】

ポンプが、圧力源が駆動されて膜体の変位したとき、内壁の略全体が前記膜体に密着する形状を備え、膜体の変位により流通口部から排出される流体の残部が残らないように流体流通口部に導く細い溝部を備える、もしくは流通口部の形状を放射状にすることにより、高精度の定量が可能となり特に微量定量に供することができる。

10

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の一つの実施態様による粒子分析装置としての血球分析装置の概略説明図。

【図2】図1のポンプの正面図。

【図3】図1のポンプの側面図。

【図4】図1のポンプのIV - IV線断面図。

【図5】図1のポンプのV - V線断面図。

【図6】図1の血球分析装置の動作を説明するフローチャート。

20

【図7】従来のポンプの内部形状を説明する、図4に対応する断面図。

【図8】図4のポンプの定量性能を説明するグラフ。

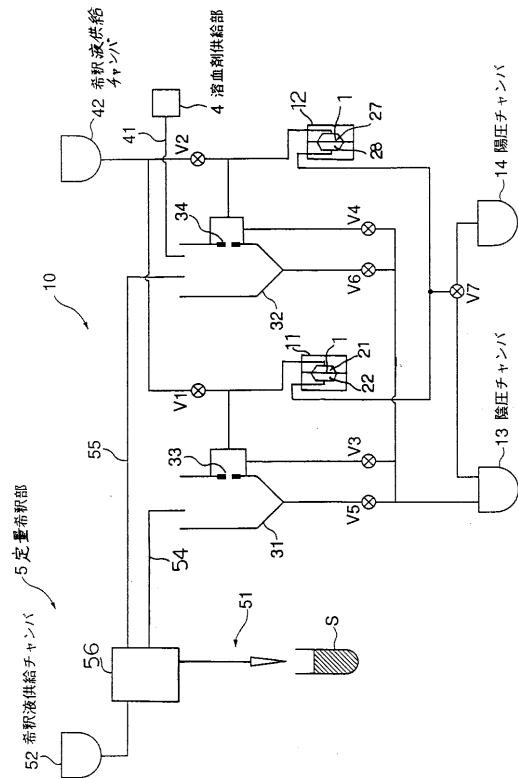
【図9】図7のポンプの定量性能を説明する、図8に対応するグラフ。

【符号の説明】

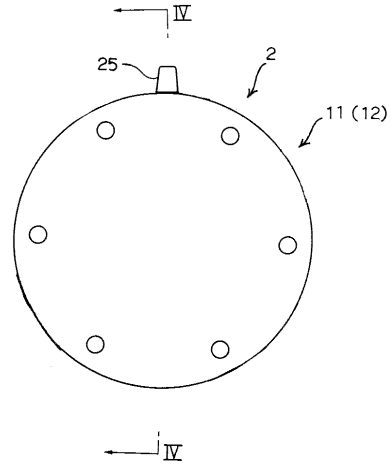
- 1 膜体
- 2 ケース
- 10 血球分析装置（粒子分析装置）
- 11、12 ポンプ（定量供給手段）
- 13 陰圧チャンバ（圧力源）
- 14 陽圧チャンバ（圧力源）
- 33、34 検出器
- 21、22 室

30

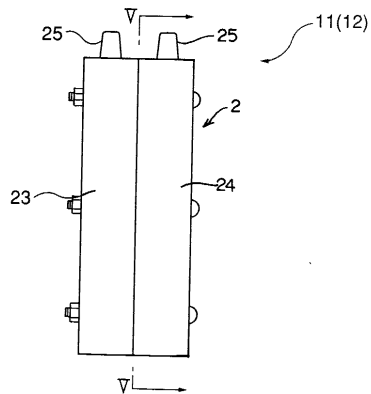
【図 1】



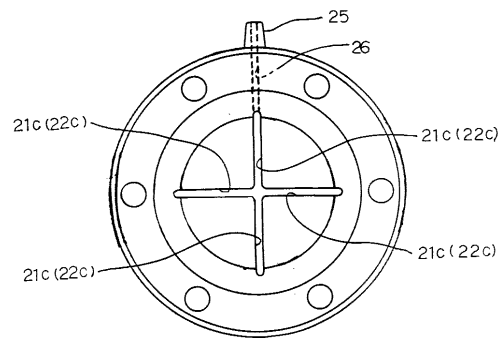
【図 2】



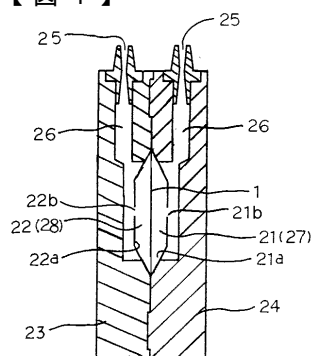
【図 3】



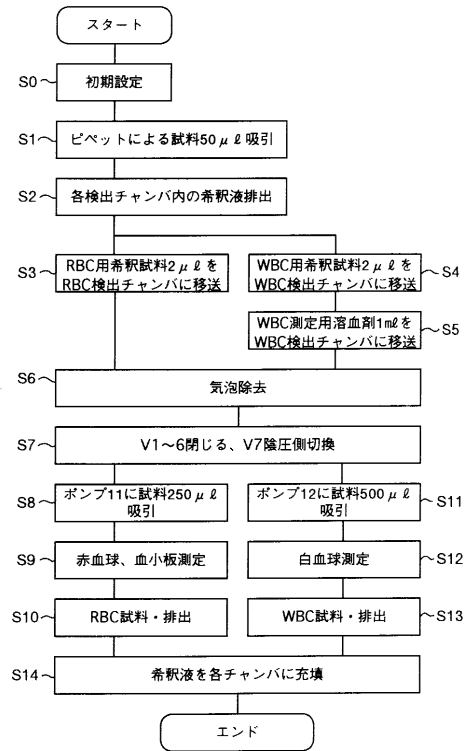
【図 5】



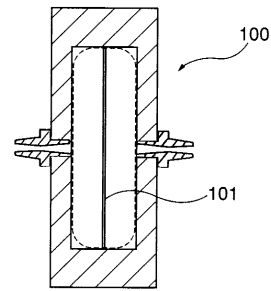
【図 4】



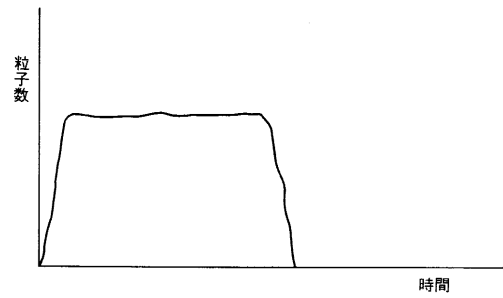
【図 6】



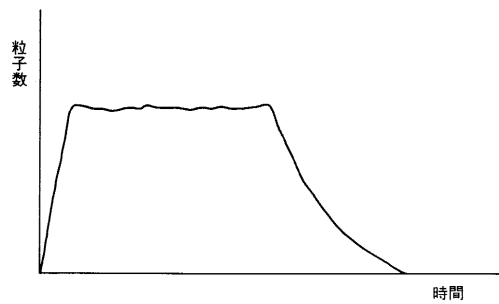
【図 7】



【図 8】



【図 9】



フロントページの続き

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 15/00-14

G01N 1/00