

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5801410号
(P5801410)

(45) 発行日 平成27年10月28日 (2015. 10. 28)

(24) 登録日 平成27年9月4日 (2015. 9. 4)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 1/28 (2006. 01)	GO 1 N 1/28 J
GO 1 N 1/30 (2006. 01)	GO 1 N 1/30
	GO 1 N 1/28 V

請求項の数 31 (全 54 頁)

(21) 出願番号	特願2013-538860 (P2013-538860)	(73) 特許権者	511259429
(86) (22) 出願日	平成23年11月9日 (2011. 11. 9)		コンスティテューション・メディカル・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2013-545981 (P2013-545981A)		CONSTITUTION MEDICAL, INC.
(43) 公表日	平成25年12月26日 (2013. 12. 26)		アメリカ合衆国、02110 マサチューセッツ州、ボストン、リンカーン・ストリート、186
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/060028		
(87) 国際公開番号	W02012/064873	(74) 代理人	110001195
(87) 国際公開日	平成24年5月18日 (2012. 5. 18)		特許業務法人深見特許事務所
審査請求日	平成26年7月10日 (2014. 7. 10)	(72) 発明者	ラベン, ダニエル
(31) 優先権主張番号	61/510, 180		アメリカ合衆国、01523 マサチューセッツ州、ランカスター、パッカード・ストリート、95、ピー・オー・ボックス・11
(32) 優先日	平成23年7月21日 (2011. 7. 21)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/460, 775		
(32) 優先日	平成22年11月10日 (2010. 11. 10)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 検査用に生物試料を準備するための自動化されたシステムおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検査用に基板上に生物試料を準備するための装置であって、
 基板グリッパを含む基板アームと、
 前記基板アームに接続され、開放位置と試料処理位置との間で前記基板アームを動かすように構成される第1のアクチュエータと、
 前記基板アーム上に前記基板グリッパで把持される基板上の流体を攪拌するように配置されかつ構成される第2のアクチュエータと、
 前記基板アームが前記試料処理位置にある場合に前記基板の生物試料を担持する側の表面に面する頂面を有するプラットフォームと、
 前記プラットフォームの前記頂面の上に配置される2つ以上のオフセットと、を備え、
 前記基板の前記表面が前記基板処理位置で前記オフセットのすべてに接触するときに前記基板の前記表面と前記プラットフォームの前記頂面とが実質的に平行でありかつ少なくとも約50ミクロンの前記流体が保持される離間部を形成する、装置。

【請求項 2】

前記第1および第2のアクチュエータは、前記基板を動かすことおよび前記基板アーム上に前記基板グリッパで把持される基板を攪拌することの両方を行なうように構成される同じアクチュエータである、請求項1に記載の装置。

【請求項 3】

前記プラットフォームの前記頂面の合計表面積は前記基板の合計表面積よりも小さい、

請求項 1 に記載の装置。

【請求項 4】

前記プラットフォームの前記頂面の外側端縁に配置される少なくとも 3 つのオフセットが存在し、前記オフセットの先端は平面を規定する、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記基板グリッパの上に位置する吸引ポートをさらに備え、前記吸引ポートは吸引チューブを通して前記吸引ポートへの吸引を与えることにより前記基板を前記基板グリッパに保持するための吸引源に接続可能である、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 1 の染料ポートと、第 1 の染料貯蔵部と、前記第 1 の染料ポートに接続されて染料が前記第 1 の染料貯蔵部から前記第 1 の染料ポートへかつ前記離間部の中にポンピングされる流体経路を設けるための第 1 の染料導管とをさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

10

【請求項 7】

前記プラットフォームの前記頂面上であって前記第 1 の染料ポートの場所とは異なる場所に位置する第 2 の染料ポートと、第 2 の染料貯蔵部と、第 2 の染料導管とをさらに備え、前記第 1 および第 2 の染料ポートの両者は、前記基板が前記試料処理位置にあるときに前記基板上の試料区域から間隔を空けて前記頂面上に配置され、前記第 2 の染料導管は、前記第 2 の染料ポートに接続されて染料が前記第 2 の染料貯蔵部から前記第 2 の染料ポートへかつ前記離間部の中へポンピングされる流体経路を設ける、請求項 6 に記載の装置。

20

【請求項 8】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 1 の固定剤ポートと、固定剤貯蔵部と、前記第 1 の固定剤ポートに接続されて固定剤が前記固定剤貯蔵部から前記第 1 の固定剤ポートへかつ前記離間部の中にポンピングされるための流体経路を設ける固定剤導管とをさらに備える、請求項 6 に記載の装置。

【請求項 9】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 1 の濯ぎポートと、濯ぎ溶液貯蔵部と、前記第 1 の濯ぎポートに接続されて濯ぎ流体が前記濯ぎ溶液貯蔵部から前記第 1 の濯ぎポートへかつ前記離間部の中にポンピングされるための流体経路を設ける濯ぎチューブとをさらに備える、請求項 8 に記載の装置。

30

【請求項 10】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 1 の真空ポートと、第 1 の廃棄物容器と、前記第 1 の真空ポートに接続されて前記離間部または基板から流体を排出して前記流体を前記第 1 の廃棄物容器の中に入れる負圧の経路を設けるための第 1 の廃棄物導管とをさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 2 の真空ポートと、前記第 2 の真空ポートに接続されて前記離間部または基板から流体を排出して前記流体を前記第 1 の廃棄物容器の中に入れる負圧の経路を設けるための第 2 の廃棄物導管とをさらに備える、請求項 10 に記載の装置。

40

【請求項 12】

前記第 1 および第 2 の真空ポートは前記プラットフォームの前記頂面の対向端の上に位置する、請求項 11 に記載の装置。

【請求項 13】

前記プラットフォームは、
固定剤ポートと、
第 1 の染料ポートと、
第 2 の染料ポートと、
濯ぎポートと、
第 1 の真空ポートと、

50

第 2 の真空ポートとをさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 1 4】

前記プラットフォームを支持するように配置されるブロックをさらに備え、前記ブロックは、

固定剤ポートと、
第 1 の染料ポートと、
第 2 の染料ポートと、
濯ぎポートと、
第 1 の真空ポートと、
第 2 の真空ポートとを備え、

10

前記ブロック上の各々のポートは前記プラットフォームの中に位置するポートに対応する場所にある、請求項 1 3 に記載の装置。

【請求項 1 5】

第 1 の染料貯蔵部と、
第 2 の染料貯蔵部と、
固定剤貯蔵部と、
濯ぎ溶液貯蔵部と、
廃棄物容器と、
ポンプと、

前記ポンプおよび前記貯蔵部に接続され、かつ前記貯蔵部のうち任意の 1 つ以上から流体を供給するように配置される複数の流体導管と、

20

前記基板から前記廃棄物容器の中へ流体を排出するための真空源とをさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 1 6】

前記基板が前記開放位置に位置する場合に前記試料にわたって空気の流れを方向付けるように位置決めされる乾燥機をさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 1 7】

自動化された試料検査システムであって、
サンプル試料を基板に塗布するアプリケーションと、
請求項 1 に記載の生物試料準備装置と、

30

前記試料準備装置による準備の後で前記生物試料を画像化する画像化ステーションとを備える、システム。

【請求項 1 8】

前記基板アームに対して前記基板グリッパを位置決めするように構成される整列機構をさらに備え、前記整列機構は、

前記基板アームに接続され、開口およびクランプ部材を備える第 1 の部材と、

前記基板グリッパに接続され、前記開口内に位置決めされるように構成される第 2 の部材とを備え、

前記第 2 の部材が前記開口内に位置決めされると、前記第 2 の部材の第 1 の側は前記第 1 の部材の表面に接するように位置決めされ、前記クランプ部材は、前記第 1 の側とは反対の前記第 2 の部材の第 2 の側に力を加えるように位置決めされる、請求項 1 に記載の装置。

40

【請求項 1 9】

前記整列機構は、前記第 2 の部材と前記基板グリッパとの間に位置決めされる偏向要素をさらに備え、前記第 2 の部材の外面の少なくとも部分は球形を有する、請求項 1 8 に記載の装置。

【請求項 2 0】

凹部を有する支持ブロックをさらに備え、

前記プラットフォームは前記支持ブロックの前記凹部内に位置決めされ、

前記基板の前記頂面からの流体を前記凹部内で集めることができるように、前記基板の

50

前記頂面は前記支持ブロックの頂面に対して持ち上げられる、請求項 3 に記載の装置。

【請求項 2 1】

前記基板アームは第 1 の基板アームであり、前記基板グリッパは第 1 の基板グリッパであり、さらに装置は、

第 2 の基板グリッパを含む第 2 の基板アームと、

少なくとも 2 つの位置の間で前記装置を平行移動させるように構成される平行移動装置とを備え、前記位置の第 1 の位置では、前記第 1 の基板グリッパは基板移動機から基板を取り出すように位置決めされ、前記位置の第 2 の位置では、前記第 2 の基板グリッパは前記基板移動機から基板を取り出すように位置決めされる、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 2 2】

前記プラットフォームの前記頂面の対向側に位置する第 1 および第 2 の真空ポートと、少なくとも 1 つの廃棄物容器と、

前記第 1 および第 2 の真空ポートに接続されて前記離間部または基板から流体を排出して前記流体を前記少なくとも 1 つの廃棄物容器の中に入れる負圧の通路を設けるための廃棄物導管とをさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 2 3】

前記第 1 および第 2 のアクチュエータに接続される制御システムをさらに備え、前記制御システムは、前記装置の動作の間、前記制御システムが前記第 1 のアクチュエータを活性化して、流体が前記離間部から除去される前に前記基板を前記試料処理位置から移動させる、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 2 4】

平行移動機構に接続される制御システムをさらに備え、前記制御システムは、前記装置の動作の間、前記制御システムが前記平行移動機構を活性化させ、それにより

基板が前記第 2 の基板グリッパに装着され、前記第 2 の基板アームが前記開放位置にある場合に、前記試料処理位置でまたは前記開放位置と前記試料処理位置との間の中間位置で、前記第 1 の基板グリッパが前記基板移動機から基板を取り出すように位置決めされ、かつ

基板が前記第 1 の基板グリッパに装着され、前記第 1 の基板アームが前記開放位置にある場合に、前記試料処理位置でまたは前記開放位置と前記試料処理位置との間の中間位置で、前記第 2 の基板グリッパが前記基板移動機から基板を取り出すように位置決めされる、ように構成される、請求項 2 1 に記載の装置。

【請求項 2 5】

前記プラットフォームの前記頂面上に位置する固定剤ポートと、固定剤貯蔵部と、固定剤導管とを備える 固定剤分散サブシステム に接続される制御システムをさらに備え、前記制御システムは、

前記固定剤分散サブシステムを用いて前記基板上に固定剤溶液を分散させること、および

前記第 1 のアクチュエータを活性化して前記基板を攪拌することによって、基板上に生物試料を準備するように構成される、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 2 6】

前記制御システムは、前記プラットフォームの前記頂面上に位置する真空ポートと、廃棄物容器と、前記真空ポートに接続されて前記離間部または基板から流体を排出して前記流体を前記廃棄物容器の中に入れる負圧の経路を設けるための廃棄物導管とを備える真空サブシステムに接続され、前記制御システムは、前記真空サブシステムを用いて前記基板から前記固定剤溶液を排出することによって前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項 2 5 に記載の装置。

【請求項 2 7】

前記制御システムは、前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第 1 の染料ポートと、第 1 の染料貯蔵部と、前記第 1 の染料ポートに接続されて染料が前記第 1 の染料貯蔵部から前記第 1 の染料ポートへかつ前記離間部の中にポンピングされる流体経路を設ける

10

20

30

40

50

ための第1の染料導管とを備える第1の染料サブシステムに接続され、前記制御システムは、

前記第1の染料サブシステムを用いて前記基板上に第1の染料溶液を分散させること、
前記第1のアクチュエータを活性化して前記基板を攪拌すること、および
前記真空サブシステムを用いて前記基板から前記第1の染料溶液を排出すること
によって、前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項26に記載の装置。

【請求項28】

前記制御システムは、前記プラットフォームの前記頂面上に位置する第2の染料ポートと、第2の染料貯蔵部と、前記第2の染料ポートに接続されて染料が前記第2の染料貯蔵部から前記第2の染料ポートへかつ前記離間部の中にポンピングされる流体経路を設けるための第2の染料導管とを備える第2の染料サブシステムに接続され、前記制御システムは、

前記第2の染料サブシステムを用いて前記基板上に第2の染料溶液を分散させること、
前記第1のアクチュエータを活性化して前記基板を攪拌すること、および
前記真空サブシステムを用いて前記基板から前記第2の染料溶液を排出すること
によって、前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項27に記載の装置。

【請求項29】

前記制御システムは、前記プラットフォームの前記頂面上に位置する濯ぎポートと、濯ぎ溶液貯蔵部と、前記濯ぎポートに接続されて濯ぎ流体が前記濯ぎ溶液貯蔵部から前記濯ぎポートへかつ前記離間部の中にポンピングされるための流体経路を設ける濯ぎチューブとを備える濯ぎサブシステムに接続され、前記制御システムは、

前記濯ぎサブシステムを用いて前記基板上に濯ぎ溶液を分散させること、
前記第1のアクチュエータを活性化して前記基板を攪拌すること、および
前記真空サブシステムを用いて前記基板から前記濯ぎ溶液を排出すること
によって、前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項28に記載の装置。

【請求項30】

前記制御システムは、二度目に前記基板を濯ぐように、前記濯ぎサブシステムを用いて前記基板上に濯ぎ溶液を分散させるステップ、前記第1のアクチュエータを活性化して前記基板を攪拌するステップ、および前記真空サブシステムを用いて前記基板から前記濯ぎ溶液を排出するステップを繰り返すことによって、前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項29に記載の装置。

【請求項31】

前記制御システムは乾燥機に接続され、前記制御システムは、前記基板にわたって空気の流れを方向付けるように前記乾燥機を用いることによって前記基板上に前記生物試料を準備するようにさらに構成される、請求項30に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

この出願は、2010年11月10日に出願された米国特許出願番号第12/943,687号の一部継続出願であり、米国特許法第120条に基づく優先権を主張する。この出願は、2011年7月21日に出願された米国仮特許出願番号第61/510,180号に対する米国特許法第119条(e)(1)に基づく優先権も主張する。以上の出願の各々の内容の全体が引用により援用される。

【背景技術】

【0002】

背景

何年にもわたって、検査技師は、検査の間の試料のコントラストを改善するように生物試料を準備するために、ロマノフスキー染色で用いられるものなどの色素および染料を用いてきた。そのような検査は典型的に、試料の画像を捕捉する別の機器である顕微鏡、または他の事例では肉眼での検査を利用する。検査用に試料を準備するためのいくつかの異なるシステムおよび方法が公知である。たとえば、米国特許第6,096,271号、第7,318,913号、および第5,419,279号、ならびに公開米国特許出願番号第2008/0102006号および第2006/0073074号は、試料処理の際に基板を染色するための機械および方法に関する。これらの刊行物は検査用に試料を染色することおよび準備することに対するさまざまな詳細を与える。

【発明の概要】

10

【課題を解決するための手段】

【0003】

概要

本開示は、検査用に生物試料を準備するための自動化されたシステムおよび方法に関する。試料は、たとえば顕微鏡スライドまたはカバースリップなどの基板に塗布される、たとえば赤血球、白血球、および血小板を含有する血液サンプルを含むことができる。異なる実施形態を用いて、骨髓、尿、膣組織、上皮組織、腫瘍、精液、唾液、および他の体液を含む生物サンプルから他の生物試料を準備することができる。開示の付加的な局面は、試料を固定し、染色し、濯ぎ、かつ攪拌するためのシステムおよび方法を含む。一般的に、本明細書中に開示されるシステムおよび方法は、最小限の流体量を用いて、迅速で、効率的で、かつ高度に均一な試料処理を提供する。方法は、固定、染色、および濯ぎ段階のうち1つ以上の間にまたはその後1つまたは複数の攪拌段階を含む、1つ以上の固定、染色、および濯ぎ段階を含む。システムは、生物試料を準備しかつ検査するためのスタンドアロン機器またはより大きなシステム中の構成要素として実現可能である。

20

【0004】

一般的に、第1の局面では、開示は、検査用に基板上に生物試料を準備するための装置を特徴とし、装置は、(a)基板グリッパを含む基板アームと、(b)基板アームに接続され、かつ開放位置と試料処理位置との間で基板アームを動かすように構成される第1のアクチュエータと、(c)基板アーム上に基板グリッパで把持される基板を攪拌するように配置されかつ構成される第2のアクチュエータと、(d)基板アームが試料処理位置にあるときに基板と反対に位置する頂面を有するプラットフォームと、(e)基板が基板処理位置でオフセットのすべてに接触するときに基板とプラットフォームの頂面とが実質的に平行であり、かつ少なくとも約50ミクロンの離間部を形成するようにプラットフォームの頂面上に配置される2つ以上のオフセットとを含む。

30

【0005】

装置の実施形態は、個別にまたは組合せて、以下の特徴のうち任意の1つ以上を含むことができる。

【0006】

第1および第2のアクチュエータは、基板アームを動かすことおよび基板アーム上の基板グリッパで把持される基板を攪拌することの両方を行なうように構成される同じアクチュエータであることができる。プラットフォームの頂面の合計表面積は基板の合計表面積よりも小さいものであり得る。プラットフォームの頂面の外側端縁に配置される少なくとも3つ以上のオフセットが存在することができ、この場合、オフセットの先端は平面を規定する。

40

【0007】

基板グリッパの上に吸引ポートが位置することができ、吸引ポートは、吸引チューブを通して吸引ポートへの吸引を与えることにより基板を基板グリッパに保持するための吸引源に接続されることができる。装置は、プラットフォームの頂面上に位置する第1の染料ポートと、第1の染料貯蔵部と、第1の染料ポートに接続されて染料が第1の染料貯蔵部から第1の染料ポートへかつ離間部の中へポンピングされる流体経路を設けるための第1

50

の染料導管とを含むことができる。装置は、プラットフォームの頂面上であって第1の染料ポートの場所とは異なる場所に位置する第2の染料ポートと、第2の染料貯蔵部と、第2の染料導管とを含むことができ、第1および第2の染料ポートの両方は、基板が試料処理位置にあるときに基板上の試料区域から間隔を空けて頂面上に配置され、第2の染料導管は、第2の染料ポートに接続されて染料が第2の染料貯蔵部から第2の染料ポートへかつ離間部の中にポンピングされる流体経路を設ける。

【0008】

装置は、プラットフォームの頂面上に位置する第1の固定剤ポートと、固定剤貯蔵部と、第1の固定剤ポートに接続されて固定剤が固定剤貯蔵部から第1の固定剤ポートへかつ離間部の中にポンピングされる流体通路を設けるための固定剤導管とを含むことができる。装置は、プラットフォームの頂面上に位置する第1の濯ぎポートと、濯ぎ溶液貯蔵部と、第1の濯ぎポートに接続されて濯ぎ流体が濯ぎ溶液貯蔵部から第1の濯ぎポートへかつ離間部の中へポンピングされる流体通路を設けるための濯ぎチューブとを含むことができる。

10

【0009】

装置は、プラットフォームの頂面上に位置する第1の真空ポートと、第1の廃棄物容器と、第1の真空ポートに接続されて離間部または基板から流体を排出して流体を第1の廃棄物容器の中に入れる負圧の通路を設けるための第1の廃棄物導管とを含むことができる。装置は、プラットフォームの頂面上に位置する第2の真空ポートと、第2の真空ポートに接続されて離間部または基板から流体を排出しかつ流体を第1の廃棄物容器に入れる負圧の経路を設けるための第2の廃棄物導管とを含むことができる。第1および第2の真空ポートはプラットフォームの頂面の対向する端に位置することができる。

20

【0010】

プラットフォームは、固定剤ポートと、第1の染料ポートと、第2の染料ポートと、濯ぎポートと、第1の真空ポートと、第2の真空ポートとを含むことができる。装置は、プラットフォームを支持するように配置されるブロックを含むことができ、ブロックは、固定剤ポートと、第1の染料ポートと、第2の染料ポートと、濯ぎポートと、第1の真空ポートと、第2の真空ポートとを含み、ブロック上の各々のポートはプラットフォームの中に位置するポートに対応する場所にある。

【0011】

30

装置は、第1の染料貯蔵部と、第2の染料貯蔵部と、固定剤貯蔵部と、濯ぎ溶液貯蔵部と、廃棄物容器と、ポンプと、ポンプおよび貯蔵部に接続され、貯蔵部のうちいずれか1つ以上から流体を供給するように配置される複数の流体導管と、基板から廃棄物容器の中に流体を排出するための真空源とを含むことができる。装置は、基板が開放位置に位置するときに試料にわたって空気の流れを方向付けるように位置決めされる乾燥機を含むことができる。

【0012】

装置の実施形態は適宜、本明細書に開示される他の特徴のいずれかおよび特徴の任意の組合せも含むことができる。

【0013】

40

さらなる局面では、開示は、検査用に基板上に生物試料を準備する方法を特徴とし、方法は、(a) 生物試料が表面に面するように、かつ基板と表面とが実質的に平行でありかつ少なくとも約100ミクロンの離間部を形成するように、表面に対して基板を位置決めするステップと、(b) 試料および表面に接触するのに十分な量の(i) 第1の固定剤溶液、(ii) 第1の染料溶液、(iii) 第2の染料溶液、および(iv) 第1の濯ぎ溶液を基板と表面との間の離間部の中に順次供給するステップと、(c) ステップ(b)で溶液(i)、(ii)、(iii)、および(iv)の各々1つを供給した後であってステップ(b)で溶液(i)、(ii)、(iii)、および(iv)のうち次の1つを供給する前に、少なくとも第1の攪拌サイクルを行なうステップとを含み、第1の攪拌サイクルは、供給された溶液が第1の攪拌サイクルの持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変

50

更することを含み、さらに、供給された溶液を離間部および試料の接触から除去するステップを含む。

【0014】

方法の実施形態は以下の特徴のうち任意の1つ以上を含むことができる。

各々の順次供給するステップは、わずか3秒間、1秒当たり少なくとも70マイクロリットルの流量で、ステップ(b)で溶液のうち1つを供給するステップを含むことができる。第1の攪拌サイクルは、少なくとも10ミクロンだけ基板と表面との間の距離を大きくすることと、少なくとも5ミクロンだけ基板と表面との間の距離を小さくすることとを含むことができる。供給された溶液を除去するステップは、少なくとも2秒間、大気圧よりも平方インチ当たり少なくとも1ポンド低い圧力を離間部に加えるステップを含むことができる。

10

【0015】

方法の実施形態は、適宜、本明細書中に開示される他の特徴のうちいずれかおよび特徴の任意の組合せも含むことができる。

【0016】

別の局面では、開示は、検査用に基板上に生物試料を準備する方法を特徴とし、方法は、(a)生物試料が表面に面するように、かつ基板と表面とが実質的に平行でありかつ少なくとも約50ミクロンの離間部を形成するように、表面に対して基板を位置決めするステップと、(b)試料および表面に接触するのに十分な量の第1の染料を基板と表面との間の離間部の中に供給するステップと、(c)少なくとも第1の攪拌段階を行なうステップとを含み、第1の攪拌段階は、第1の染料が第1の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに方法は、(d)離間部および試料から第1の染料を除去するステップを含む。

20

【0017】

方法の実施形態は、以下の特徴のうち任意の1つ以上を含むことができる。

供給するステップは、わずか3秒間、1秒当たり少なくとも70マイクロリットルの流量で染料を供給するステップを含むことができる。攪拌段階は、少なくとも10ミクロンだけ基板と表面との間の距離を大きくすることと、少なくとも5ミクロンだけ基板と表面との間の距離を小さくすることとを含むことができる。染料を除去するステップは、少なくとも2秒間、平方インチ当たり少なくとも1ポンドの真空力を離間部中の第1の染料に加えるステップを含むことができる。

30

【0018】

方法は、試料および表面に接触するのに十分な量の第2の染料を基板と表面との間の離間部の中に供給するステップと、第2の攪拌段階を行なうステップとを含むことができ、第2の攪拌段階は、第2の染料が第2の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに、離間部および試料から第2の染料を除去するステップを含む。

【0019】

方法の実施形態は、適宜、本明細書中に開示される他の特徴および／またはステップのうちいずれか、ならびにその任意の組合せも含むことができる。

40

【0020】

さらなる局面では、開示は、検査用に基板上に生物試料を準備する方法を特徴とし、方法は、(a)試料が表面に面するように、かつ基板が表面と基板の少なくとも部分との間に少なくとも約50～250ミクロン、たとえば50、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、または250ミクロンの離間部を形成するように位置決めされるように、表面に対して基板を位置決めするステップと、(b)固定段階を行なうステップとを含み、固定段階は、(i)試料および表面に接触するのに十分な量の固定剤を基板と表面との間の離間部の中に供給することと、(ii)少なくとも第1の攪拌段階を行なうこととを含み、第1の攪拌段階は、固定剤が第1の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更するこ

50

とを含み、さらに固定段階は (iii) 離間部および試料から固定剤を除去することを含み、さらに方法は、(c) 第1の染色段階を行なうステップを含み、第1の染色段階は、(i) 試料および表面に接触するのに十分な量の第1の染料を基板と表面との間の離間部の中に供給することと、(ii) 少なくとも第2の攪拌段階を行なうこととを含み、第2の攪拌段階は、第1の染料が第2の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに第1の染色段階は (iii) 離間部および試料から第1の染料を除去することを含み、さらに方法は、(d) 第2の染色段階を行なうステップを含み、第2の染色段階は、(i) 試料および表面に接触するのに十分な量の第2の染料を基板と表面との間の離間部の中に供給することと、(ii) 少なくとも第3の攪拌段階を行なうこととを含み、第3の攪拌段階は、第2の染料が第3の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに第2の染色段階は (iii) 離間部および試料から第2の染料を除去することを含み、さらに方法は、(e) 第1の濯ぎ段階を行なうステップを含み、第1の濯ぎ段階は、(i) 試料および表面に接触するのに十分な量の第1の濯ぎ液を基板と表面との間の離間部の中に供給することと、(ii) 少なくとも第4の攪拌段階を行なうこととを含み、第4の攪拌段階は、第1の濯ぎ液が第4の攪拌段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに第1の濯ぎ段階は (iii) 離間部および試料から第1の濯ぎ液を除去することを含む。

10

【0021】

方法の実施形態は、以下の特徴のうち任意の1つ以上を含むことができる。

20

方法は第2の濯ぎ段階を行なうことを含むことができ、第2の濯ぎ段階は、(i) 試料および表面に接触するのに十分な量の第2の濯ぎ液を基板と表面との間の離間部の中に供給することと、(ii) 少なくとも第5の攪拌段階を行なうこととを含み、第5の攪拌段階は、第2の濯ぎ液が第5の濯ぎ段階の持続時間の間試料に接触しつつ基板と表面との間の距離を変更することを含み、さらに第2の濯ぎ段階は (iii) 第2の濯ぎ液を離間部および試料から除去することを含む。方法はさらに、試料にわたって空気の流れを方向付けることによって乾燥サイクルを行なうステップを含むことができる。

【0022】

たとえば70秒未満で（たとえば60秒未満で）、組合せられた方法ステップを行なうことができる。いくつかの実施形態では、方法は650マイクロリットル未満の固定剤、第1の染料、第2の染料、および第1の濯ぎ流体を消費することができる。ある実施形態では、方法は、850マイクロリットル未満の固定剤、第1の染料、第2の染料、第1の濯ぎ液、および第2の濯ぎ流体を消費することができる。

30

【0023】

方法の実施形態は、適宜、本明細書中に開示される他の特徴および／またはステップのいずれか、ならびにその任意の組合せも含むことができる。

【0024】

別の局面では、開示は自動化された試料検査システムを特徴とし、このシステムは、基板にサンプル試料を塗布するアプリケーションと、本明細書中に開示される生物試料準備装置のうち任意の1つと、試料準備装置による準備の後に生物試料を画像化する画像化ステーションとを含む。

40

【0025】

自動化された試料検査システムの実施形態は、適宜、本明細書中に開示される生物試料準備装置の特徴のうち任意の1つ以上を含む、本明細書中に開示される特徴のうち任意の1つ以上を含むことができる。

【0026】

他に規定されなければ、本明細書中で用いられるすべての技術的および科学的用語は、この発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中に記載されるのと同様のまたは均等の方法および材料を本発明の実践または試験において用いることができるが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書中で言

50

及するすべての刊行物、特許出願、特許、および他の文献は、その全体が引用により援用される。競合の場合は、定義を含めて本明細書が優先する。さらに、材料、方法、および例は単に例示的なものであり、限定することを意図するものではない。

【0027】

発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および請求項から明らかになるであろう。

【0028】

さまざまな図面中の同じ参照符号は同じ要素を示す。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】両方のサンプルグリッパ20Aおよび20Bが開放位置にある、検査用に生物試料を準備するための装置の実施形態の斜視図である。

【図2】（基板アームおよびサンプルグリッパが図示されていない）図1の装置の部分の別の斜視図である。

【図3A】サンプルグリッパ20Aが開放位置にあり、サンプルグリッパ20Bが閉じた（試料処理）位置にある、図1の装置のさらなる斜視図である。

【図3B】図1の装置の割り出し機構の斜視図である。

【図4】複数の流体導管による、装置と流体貯蔵部との間の接続を示す、図1の装置の斜視図である。

【図5】自動化された基板移動機および本明細書中に記載されるような試料準備装置の実施形態を含む試料検査システムの斜視図である。

【図6A】試料グリッパ20B、プラットフォーム60B、およびブロック80Bを詳細に示す、図1の装置の部分の拡大斜視図である。

【図6B】図1の装置の玉継手機構の斜視図である。

【図6C】図6Bの玉継手機構の断面図である。

【図7A】基板アームを開放位置から閉じた（試料処理）位置へ動かすための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図7B】本明細書中に記載のような試料準備装置の実施形態の概略図である。

【図8A】基板アームを開放位置から試料処理位置へ動かすための別の一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図8B】2つのアクチュエータを含む、検査用に生物試料を準備するための装置の概略図である。

【図9】固定剤を試料に塗布するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図10】染料を試料に塗布するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図11A】過剰な流体を基板から除去するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図11B】過剰な流体を基板から除去するための別の一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図12】試料を濯ぐための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図13】試料を攪拌するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図14】試料を乾燥するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図15】より大きな試料検査システムで用いるような試料準備装置の斜視図である。

【図16】基板の上に搭載される試料を処理するための一連のステップを示すフローチャートの図である。

【図17】図16のフローチャート中で時間の関数として消費される流体の容積を示すグラフの図である。

【図18A】自動化された基板移動機による基板アーム上への基板の載置を示す、図1の装置の斜視図である。

10

20

30

40

50

【図 1 8 B】自動化された基板移動機による基板アーム上への基板の載置を示す、図 1 の装置の斜視図である。

【発明を実施するための形態】

【0030】

詳細な説明

自動化された生物試料処理のための方法およびシステムを本明細書中に開示する。本明細書中に記載する自動化された試料処理方法およびシステムは、最小限の試薬容積を用いつつ、また同時に手または他のシステムによって処理される試料と比較して染料、固定剤、および他の試薬の塗布と関連の変動性を大幅に低減する高度に均一なサンプル準備を生じつつ、向上した処理速度を含む、手動のおよび他の自動化された処理方法に勝る利点を与える。

10

【0031】

従来の自動化された処理方法は、典型的に、同時に大量の処理流体を消費しながら比較的高い処理スループットを有するか、または低減された量の流体を消費しながら比較的低い処理スループットを有する。しかしながら、多数の適用例にとっては、高いスループット動作および低い流体消費の両方が望ましい。高いスループットを維持することにより、その後の検査のために試料を効率的に処理することができる。流体消費を低く保つことにより、必要とされる処理試薬の量とともに処理廃棄物の量が低減され、運用コストを低く保つ。本明細書中に開示するシステムおよび方法は、高度に均一でかつ繰返し可能な結果を生じながら、（たとえば試料当たり 1 mL 未満の流体という）少量の処理流体を用いて、試料（たとえば単一の機械による 1 時間当たり 100 を超える試料）の迅速な自動化処理を可能にする。

20

【0032】

生物試料準備システムおよび方法

試料のある特徴の外観をよくするために、試料を検査する前に、試料を一連のステップで準備する。図 1 は、顕微鏡スライド、カバースリップ、または他の透明な表面などの基板 2 の上に検査または画像化用に生物試料を準備するための装置または機械 1 の実施形態を図示する。機械 1 は、図 1 5 に示しかつ以下に説明するシステム 2000 などの、体液または細胞を含有する他の生物サンプルを備える試料を準備しかつ分析するための全体的なシステムの中に組み込み可能である。機械 1 は、一般的に、試料を取得する第 1 のステーションと、試料を基板に塗布する第 2 のステーションと、試料をそれぞれ固定し染色するための第 3 および第 4 のステーションと、試料を乾燥させる第 5 のステーションと、試料を画像化する第 6 のステーションと、試料から得られた画像およびデータを分析するための第 7 のステーションとを特徴とするシステムを含むか、またはその部分を形成することができる。機械 1 のある実施形態はシステム 2000 と整合する。機械 1 のいくつかの実施形態は、他の試料準備システム中でおおよそ／またはスタンドアロン機器として用いることができる。

30

【0033】

機械 1 は、機械 1 の別の斜視図を提供する図 4 に示されるような制御システム 5 を含むかまたはこれに接続することができる。制御システム 5 は、ハードドライブ、光学式ドライブ、またはメモリなどのコンピュータ読出可能媒体に記憶されたソフトウェア指示を実行することができる中央処理装置を各々が内蔵する 1 つ以上のコンピュータを含むことができる。加えて、制御システム 5 は、ソフトウェア指示を実行するための電気回路構成を含むことができる。制御システム 5 は、ユーザコマンドを受信して機械 1 の動作を制御するためのユーザインターフェイスを含むことができる。コンピュータに記憶されたまたはコンピュータに与えられるソフトウェアは、試料処理の際に流体ポンプおよび真空装置などの機械 1 の構成要素の動作を制御するプログラムを含むことができる。たとえば、ソフトウェアは、さまざまな固定剤、染料、および濯ぎ剤を試料に塗布するように、かつ試料処理の際にいくつかの攪拌ステップを行なうように機械 1 に命令するための指示を含むことができる。

40

50

【0034】

さらに、ソフトウェアはデフォルト設定を含むことができ、ユーザインターフェイスは、ユーザがこれらのデフォルト設定を変更できるようにするためのカスタマイズ特徴を内蔵してもよい。たとえば、ユーザインターフェイスは、ユーザが固定、染色、および濯ぎ段階の速度、頻度、または順序、ならびに（以下にさらに説明する）攪拌パラメータをカスタマイズできるようにするカスタマイズ特徴を内蔵することができる。制御システム5は、(Appletalk（登録商標）、I P X、またはT C P / I Pなどの) ネットワークプロトコルを介して通信することもできる。たとえば、ネットワークプロトコルは（ツイストペアケーブルなどの）ケーブルおよび／またはW i F i などの無線接続を用いてもよい。制御システムは、ネットワークプロトコルを用いて研究室情報システムに接続されてもよい。研究室情報システムは、機械1で処理される試料に関する情報を記憶するためのサーバおよび／またはデータベースを内蔵することができる。たとえば、データベースは、人または試料の源についての情報（たとえば、名前、誕生日（D O B）、住所、試料が採取された時間、性別など）、試料の処理に関する情報（日付##／##／#####などに処理、試料番号#など）、試料から取得された任意の画像のコピー、画像を分析することによって得られた任意の結果のコピーを提供するテーブルを内蔵してもよい。

10

【0035】

図1を参照して、機械1は、システムまたは研究室ワークステーション内の場所に機器をしっかりと固定する支持部110Aおよび110Bを含むことができる。機械1は、各々がそれらの基部でアクチュエータ30Aおよび30Bに接続される1つ以上の基板アーム10Aおよび10Bも含む。基板アーム10Aおよび10Bの両端は、試料処理の間に基板を受けかつ保持するための基板グリッパ20Aおよび20Bを含む。各々の基板グリッパ20Aおよび20Bは、機械1が（以下に説明する）すべての試料処理ステップを完了する間、基板2を受けかつ保持する。基板は、試料の処理および試料の処理後の顕微鏡検査の間に試料を保持するのに好適な顕微鏡スライド、カバースリップ、または他の透明な材料であってもよく、またはこれを含んでもよい。図1の実施形態は、生物試料3を含むガラスの顕微鏡スライド、基板2を示す。吸引ポートを用いて、基板グリッパ20A、20Bは、試料処理の間、基板2を基板アーム10A、10Bに保持することができる。吸引チューブ23は吸引ポート21Aおよび21Bならびに22Aおよび22Bを通して基板グリッパ20Aおよび20Bに吸引を与える（ポート21Aおよび22Aは図1のスライド2の裏に位置決めされ、破線で示されていることに留意されたい）。

20

30

【0036】

図1－図3に示す機械1の実施形態は、基板アーム10Aおよび10Bの各々の上に基板を保持しかつ処理することができるデュアル基板機械である。他の実施形態は、逐次にまたは同時に単一の基板または3枚以上の基板を処理することを提供する。さらに、図1－図6に示す実施形態は基板2を基板アーム10Aおよび10Bに付着するのに吸引を用いる一方で、代替的な実施形態は、試料処理の間基板2を基板アーム10Aに付着するのにさまざまな種類のクランプ、フィンガ、または（基板が磁化される場合は）磁石を用いることができる。

【0037】

40

図5および図18A－Bに示す実施形態では、機械1は、自動化された基板移動機120からまたは個人から手作業で、試料3を担持する基板2を受ける。一例として、基板移動機120は、ステーション同士の間で（たとえばステーション121からステーション122へ、ステーション123へ、ステーション124へ、かつステーション125へ）基板を運搬する機器であり得る。図5は、第1の標識読取器ステーション121、アプリケーションステーション122、機械1を含む染色ステーション123、カメラまたは画像化ステーション124、および第2の標識読取器ステーション125を有するシステムを示す。第1の標識読取器ステーション121は、特定の基板2およびその上の試料3を同定するのに用いられるバーコードおよび／または「フィンガプリント」情報などの情報を基板2から読取るように構成される。第2の標識読取器ステーション125は同じ態様で機

50

能し、それが読取る情報は、ステーション 1 2 4 で画像化される試料 3 が処理された基板と同じであることを検証するのに用いられる。

【0038】

基板移動機 1 2 0 は、基板 2 を保持するためのグリッパ 1 2 7 と、基板 2 が移動機 1 2 0 の中に搭載されているか否かを移動機 1 2 0 が判断できるようにする位置合わせ回路構成またはソフトウェアとを含むことができる。1 つの実施形態では、基板移動機 1 2 0 は、第 1 のステーション 1 2 1 から第 2 のステーション 1 2 2 へ基板 2 を動かすための液圧式シリンダを含むことができる。試料処理の後、基板移動機 1 2 0 は、染色ステーション 1 2 3 から処理済み基板を外し、顕微鏡またはステーション 1 2 4 などの基板検査用の別のステーションへ基板 2 を運搬してもよい。これに代えて、試料処理後に個人が手作業で基板を機械 1 から外してもよい。

10

【0039】

基板アーム 1 0 A および 1 0 B は軸の周りを回転して、搬入のための開放位置から試料処理位置へ、かつ試料処理後に搬出のために開放位置へ戻るように基板を動かせるようにすることができる。図 7 A は、開放位置から処理位置へ基板アームを動かすための一連のステップを含むフローチャート 5 0 0 を示す。機械 1 の概略図を示す図 7 B を参照して、以下にさらにフローチャート 5 0 0 を説明する。

【0040】

図 1 の機械 1 は 2 枚の基板を受入れかつ検査するように構成されることに留意すべきである。以下の考察および図では、機械 1 中の 1 組の構成要素（たとえば、基板グリッパ 2 0 A、アクチュエータ 3 0 A、基板アーム 1 0 A など）のみを参照することがある。しかしながら、一方の組の構成要素と関連して開示する同じステップ、特徴、および属性は、機械 1 の他方の組の構成要素（たとえば、基板グリッパ 2 0 B、アクチュエータ 3 0 B、基板アーム 1 0 B など）にも適用可能であることを理解すべきである。このように、本明細書中の考察は、明瞭性および簡潔性のために 1 組の構成要素にのみ焦点を合わせるが、機械 1 などの試料検査用の機械は、各々の組が本明細書中で論じる特徴のうちいくつかまたはすべてを有する 2 組または 2 組よりも多くの組の構成要素を含むことができることが理解される。

20

【0041】

図 7 A および図 7 B に戻って、フローチャート 5 0 0 の第 1 のステップ 5 0 2 では、基板移動機 1 2 0 は、基板グリッパ 2 0 A に接して基板 2 を置く。ステップ 5 0 4 で、基板 2 は、基板グリッパ上に「試料上向き」または「開放」位置に位置決めされる。次に、ステップ 5 0 6 で、アクチュエータ 3 0 A は基板アーム 1 0 A を約 1 8 0 ° 回転させて（図 7 B を参照）、プラットフォーム 6 0 A のすぐ上の「試料下向き」または「試料処理」または「閉じた」位置に基板 2 を位置決めして（ステップ 5 0 8）、これによりステップ 5 1 0 で基板 2 が処理位置に存在する。

30

【0042】

次に、ステップ 5 1 2 で、機械 1 は、染料、洗浄流体、および固定剤を含む好適な流体が貯蔵部 2 1 0 A、2 1 1 A、2 1 2 A、および 2 1 3 A からポート 4 2 A、4 3 A、4 4 A、および 4 5 A を通って試料 3 に接触するようにポンピングされるように命令することによって、基板 2 上に位置決めされた試料 3 を染色する。過剰な流体はポート 4 0 A および 4 1 A を通した真空ポンピングによって試料 3 から除去され、廃棄物収集器 2 3 0 および 2 3 1 の中に収集される。

40

【0043】

ステップ 5 1 4 で、試料 3 の染色に引続いて、アクチュエータ 3 0 A は基板アーム 1 0 を約 1 8 0 ° 回転させて（ステップ 5 0 6 の回転とは逆）、基板を「試料上向き」位置に戻す。最後に、ステップ 5 1 6 で、基板移動機 1 2 0 は基板グリッパ 2 0 A から処理済み基板を外す。オペレータまたは自動化された基板移動機が機械 1 から基板を搬入および搬出することができる限り、他の開放または「試料上向き」位置も用いることができる。たとえば、試料上向き位置を、試料処理位置から 1 0 0 ° 以上（たとえば、1 2 0 ° 以上、

50

130°以上、140°以上)回転させることができる。いくつかの実施形態では、オペレータまたは基板移動機が機械1から基板を搬入および搬出することができる限り、基板上向き位置を、試料処理位置から100°未満(たとえば、90°未満、80°未満、70°未満)回転させることができる。

【0044】

アクチュエータ30Aおよび/または30Bは、アーム10Aおよび/または10Bを動かす電気モータ、気圧式装置、磁気システム、または他のハードウェア(たとえばウォーム歯車装置)を含んでもよい。基板アーム10Aおよび10Bが図1に示すような開放位置にある場合、グリッパ20Aおよび20Bは各々基板2を受けることができる。基板グリッパ20Aまたは20B上に一旦載せられると、次にアクチュエータ30Aおよび/または30Bはアーム10Aおよび/または10Bを回転させ、こうして基板2を、開放(「試料上向き」)位置から、攪拌ステップを含む固定剤、染料、および濯ぎ溶液の塗布のための処理位置(図3Aのアーム10Bについて示すような「試料下向き」)へ、かつ処理後の搬出のための開放位置へ戻すように回転させる。

10

【0045】

図3Aを参照して、アクチュエータ30Bは、図1に示す開放位置から「閉じた」または処理位置へ基板アーム10Bを回転させた。図3Aは、基板アーム10B上の基板2がひっくり返されて、図1に示すその搬入位置から、基板2上の試料3がプラットフォーム60Bの表面と実質的に平行な下向きに面した位置へ約180°回転されたことを示す。以上の図7Aと関連して論じたように、示す試料処理位置のプラットフォーム60Bに近接して基板2が位置決めされている間、機械1は、いくつかの処理段階を通してさまざまな固定剤、染料、および濯ぎ剤を基板2上の試料3に塗布し、このことを以下により詳細に説明する。処理位置から基板2を外すため、アクチュエータ30Bは、図1(両方のアーム)および(アーム10Aのみが開放位置にある)図3Aに示す開放位置へ基板アーム10Bを回転させて戻す。

20

【0046】

ある実施形態では、制御システム5は(図1および図3に示すような)インジケータアーム101Aおよび101Bを検出する1つ以上のセンサ105Aおよび105Bを利用してアームの位置を検出することができる。センサ105Aおよび105Bは、アームの有無を検出する、たとえば赤外線光またはさまざまな他の技術(レーザ、動作検出器など)を利用する、たとえば光電センサなどの近接センサであり得る。たとえば、近接センサ105Aまたは105Bは検出範囲を有することができ、センサは、基板アーム(たとえばアーム10Aおよび/または10B)または基板グリッパ(たとえばグリッパ20Aおよび/または20B)が検出範囲内にあるか否かを判断することができる。制御システム5は、センサから情報を受信して基板アーム10の位置を判断することができる。たとえば、(図3Aには図示しない)基板アーム10Bが処理位置に回転されると、インジケータアーム101Bの近端上の近接センサ105Bが対象基板グリッパ20Bを検知し、基板アーム10Bが試料処理位置に回転されることを制御システム5に通知する。この位置で、インジケータアーム101Bの遠端上の近接センサ105Bは制御システム5へ信号を送信しない。なぜなら、センサはいずれの対象(たとえば基板アームまたは基板グリッパ)も検出しないからである。

30

40

【0047】

基板アーム10Bが(図1に示すような)開放位置に回転すると、インジケータアーム101Bの遠端上の近接センサ105Bは対象基板グリッパ20Bを検知し、基板アーム10Bが開放位置に回転されると制御システム5に通知する。言い方を変えると、基板アーム10Bがセンサ105Bから離れるように回転されると、センサは制御システム5に「存在せず」信号を送る。アーム10Bが開放位置に回転されると、アーム10Bはセンサ105Bにより近づき、センサは制御システム5に「存在」信号を送ることができる。代替的な構成では、センサを基板10B上に搭載することができ、センサはインジケータアーム101Bの存在を検出することができる。いくつかの実施形態では、制御システム

50

5を用いて、わかっている開放位置および試料処理位置へアクチュエータ30Aおよび30Bの位置を較正する、ならびに／またはアクチュエータ30Aおよび30Bから受信する制御信号および／もしくはフィードバックに基づいて、基板アーム10Aおよび10Bの動きおよび位置を能動的にモニタすることができる。

【0048】

図1の基板アーム10Aおよび10Bのための構造および回転軸は、発明の他の実施形態では異なってもよい。図8Aは、開放位置から処理位置へ基板アームを動かすための代替的な一連のステップを含むフローチャート600を示す。機械1の概略図を示す図8Bを参照してフローチャート600を以下にさらに説明する。

【0049】

フローチャート600のステップ602で、基板移動機120は「試料上向き」の向きに基板グリッパ20A上に基板2を載置する。次に、ステップ604で、第1のアクチュエータ30Aは、図8Bの平面に対して垂直な平面で基板2を約180°回転させ、これにより基板2はプラットフォーム60A上方の「試料上向き」位置に向けられたままととなる。ステップ606で、第2のアクチュエータ35Aは、「試料上向き」位置に向けられた基板2を受ける。次に、ステップ608で、(たとえば、基板アーム10Aと基板グリッパ20Aとの間に位置決めされる)第2のアクチュエータ35Aは、基板2を「試料下向き」の向きに回転させる。第2のアクチュエータ35Aは、プラットフォーム60Aに向けて下向きに基板2を動かすこともでき、これにより基板2はオフセット70Aおよび70Bに接触する。

【0050】

次に、ステップ610で基板2が処理位置にある場合、機械1は、フローチャート500のステップ512と関連して以上で論じたように、染料、固定剤、および洗浄溶液を塗布することによって基板2上の試料3を染色する。染色が完了した後、第2のアクチュエータ35Aは、「試料下向き」の向きから「試料上向き」の向きへ基板2を回転させ(ステップ614)、次に第1のアクチュエータ30Aが基板2を約180°回転させ(たとえば、図8Bの平面に対して垂直の平面において、ステップ606で適用された回転を逆転させ)、これにより基板は「試料上向き」位置に向けられたままととなる。最後に、ステップ618で、基板移動機120は処理済み基板を基板グリッパ20Aから外す。

【0051】

一般的に、機械1は、試料処理のために、図1ー図3に示すような1つ以上の(たとえば、2つの、3つの、4つの、5つの、または5つよりも多くの)プラットフォーム60Aおよび60Bを含んでもよい。図2に示すように、プラットフォーム60Aは、プラットフォームの頂部側を支持するための横方向側を含むことができる。図1および図3に示すシールド100をプラットフォーム60Aと60Bとの間に位置決めしてプラットフォーム60同士の間で流体が飛び散らないようにすることができる。いくつかの実施形態では、シールド100は、プラットフォーム60Aおよび60Bのうち一方からの流体が他方のプラットフォームを汚さないようにする透明な材料から形成可能である。ある実施形態では、シールド100は、半透明または不透明の材料から形成可能である。図1および図3では、シールド100を透明な材料で形成して、シールド100の裏に位置決めされる他の構成要素を同じ図の中で図示できるようにして示す。シールド100を不透明な材料で形成するように示すことも可能であったであろう。この場合、プラットフォーム60Aおよびブロック80Aなどのいくつかの構成要素の部分は見えなくなったであろう。

【0052】

図3Bは、基板グリッパ20A、20Bの各々から試料処理のための位置へ基板2を与えるように機械1を平行移動させるのに用いることができる割り出し(indexing)機構50Aを示す。割り出し機構50Aは、電気化学機器(たとえば、電気モータで電力供給されるラックピニオンギヤの組)、線形アクチュエータ(たとえば気圧式アクチュエータ、液圧式アクチュエータ、または電磁アクチュエータ)などの多数の形態にあり得る。図示する実施形態では、割り出し機構50Aは2つの位置の間で機械1を線形に平行移動させ

10

20

30

40

50

るが、機械1上に含まれるプラットフォームの数、ならびに円形または半円形などのそれらの構成およびレイアウト（たとえばアーチ形状の経路の中を動くことができる割り出しテーブル）に基づいて、他の平行移動経路が可能である。示すように、割り出し機構50Aは、機械1の基部50Cに取付けられるギヤラック50Bと、基部50Cに固定される電気モータ50Eに取付けられるピニオンギヤ50Dとを含むことができる。機械1は、1つ以上の摺動機器50Fを用いて基部50Cに取付け可能であり、これにより機械1は割り出し機構50Aによって平行移動されるとスムーズに動くことができる。使用の際、割り出し機構50Aが機械1を動かすことができ、これにより、機械1が基板2上に配設されるサンプルを準備することができ、かつ一旦準備されると、基板グリッパ20Aおよび/または20Bが準備されたサンプルを有する基板2を与えることもできるように、（図5に示す）基板移動機120から基板2を受けるように機械1の複数の基板グリッパ20Aおよび/または20Bをサンプル処理のために基板移動機102に与えることができる。

10

【0053】

2つのプラットフォーム60Aおよび60Bを有する機械については、図示する実施形態のように、基板2は、典型的に交互の態様で基板移動機120へおよび基板移動機120から与えられる。いくつかの実施形態では、第1の基板2は、第1のプラットフォーム60Aでの処理のために基板移動機120から第1の基板グリッパ20Aに与えられ、その間、機械1は第1の位置にある。第1の基板2が第1のプラットフォーム60Aで処理される間、割り出し機構50Aは機械1を第2の位置へ平行移動させることができ、これにより第2の基板グリッパ20Bは第2のプラットフォーム60Bで処理すべき第2の基板を基板移動機120から受けることができる。第2の基板が第2のプラットフォーム60Bで処理される間、割り出し機構50Aは機械1を第1の位置へ平行移動させて戻すことができ、これにより基板移動機120は第1の基板2を第1の基板グリッパ20Aから外すことができる。基板2が第1の把持プラットフォーム20Aから一旦外されると、次の基板を第1の把持プラットフォーム20Aに与えることができる。交互の把持プラットフォームに基板を与えるためのこの方法は、2つよりも多く（たとえば、3つ、4つ、5つ、または5つよりも多く）のプラットフォームについて実現可能であり、これにより、以後の評価のために準備される試料のスループットが増大する。

20

【0054】

プラットフォーム60Aおよび60Bは典型的に、試料処理の間に用いられる流体に対して比較的化学的に不活性であり、かつ好適な表面張力を与える1つ以上の材料から形成される。プラットフォーム60Aおよび60Bを形成するのに用いることができる例示的な材料は、処理流体を基板2とプラットフォームとの間の空間に一様に分布しかつそこに閉じ込めて処理流体の好適な排出をも可能にするのを補助するように働く好適な表面張力を与えるように製造されおよび/または処理される限り、ポリオキシメチレン（たとえばDuPontが製造するデルリン（登録商標））などのエンジニアリング熱プラスチック、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）（たとえばDuPontが製造するテフロン（登録商標））などの高分子量フルオロカーボン、ならびに、アルミニウム、銅、およびチタンなどの金属を含む。好適な材料の選択により、プラットフォームは、有利には、流体が分布される際の流体内の気泡または空間の形成を低減するかまたは最小限にするとともに、同時に十分な表面張力を維持することもでき、これによりプラットフォームと基板2との間の離間部からの流体の漏れが少なくなるかまたはなくなる。

30

40

【0055】

一般的に、プラットフォーム60Aおよび60Bの表面積は、基板の取扱いおよび流体の送出の目的のために、所望のように選択することができる。プラットフォーム60Aおよび60Bの表面積などの要因は、基板2の選択された表面積にも影響を及ぼす可能性がある。たとえば、いくつかの実施形態では、プラットフォーム60Aの表面積（たとえば、基板2に面するプラットフォーム60Aの表面の面積）は、プラットフォーム60Aに面する基板2の表面の面積よりもわずかに小さい。プラットフォーム60Aおよび基板2

50

の対向する表面同士の面積の間のそのような関係を維持することにより、表面同士の間の領域からの流体の漏れを少なくするかまたはなくすることができる。典型的には、たとえば、基板 2 に面する基板 60A の表面の面積は、基板 2 の表面の面積よりも、2%以上（たとえば、3%以上、5%以上、7%以上、10%以上、15%以上、20%以上、25%以上、30%以上）小さい。

【0056】

プラットフォーム 60A および 60B をそれぞれブロック 80A および 80B に取付けることができる。図 2 に示すように、ブロック 80A は、頂部側 85A を支持する横方向側 81A-84A を含む。ブロック 80A および 80B は、金属、セラミック、および／またはプラスチックを含む、プラットフォームに用いるのと同じまたは同様の材料から作

10

【0057】

いくつかの実施形態では、図 1-図 3 に示すように、プラットフォーム 60A および／または 60B を上昇させることができる。これに代えて、ある実施形態では、プラットフォーム 60A および／または 60B は、それぞれブロック 80A および 80B の上側表面と同一平面に存在することができる。いずれの場合も、機械 1 のある特徴、ならびに流体の表面張力およびプラットフォームまたはブロックの表面エネルギーは、過剰な流体がプラ

20

【0058】

図 1 および図 2 に示すように、プラットフォーム 60A は、プラットフォーム 60A の表面と基板 2 との間に離間部を設け、かつ基板 2 がプラットフォーム 60A に接しないようにするオフセット 70A-70D を含むことができる。プラットフォーム 60B は、対応の組のオフセット 71A-71D を含むことができる。オフセットは、プラットフォーム 60A および／または 60B の表面と基板 2 との間の離間部を設ける隔離碍子 (standoffs)、ピン、ペグ、ロッド、ビーズ、壁、または他の構造を含むことができる。オフセ

30

【0059】

本明細書中で用いるように、「実質的に平行」という表現は、基板 2 の表面の平坦性の不完全性が基板 2 がオフセットに接触する際に低減されるかまたはなくなるようにまったく平行であるかまたはほぼ平行であることを意味する。たとえば、基板の生産には細心の注意が払われるが、ある基板は捩じれおよび／または同一平面にない角などの不完全部を有することがある。本明細書中に開示するシステムおよび方法では、オフセットを用いることにより、必要な場合に基板 2 の表面平坦性を向上させることによってこれらの不完全部の補正が補助され、プロセス中、プラットフォーム 60A および 60B に対して実質的に平行な関係に基板 2 が向けられる。「実質的に平行」という表現は、2つの表面が完全に平坦ではない状況を包含するが、オフセットはすべて同じ大きさまたは高さであり、これによりオフセットを有する基板の表面の少なくともとも接点は同じ平面にある。

40

【0060】

図 6A は、試料 3 を有する基板 2（試料は図示せず）、基板グリッパ 20B、ブロック 80A、80B、プラットフォーム 60A、60B、オフセット 70A-70D および 7

50

1 A-7 1 D、ならびに基板 2 とプラットフォーム 6 0 B との間の離間部 9 2 を示す。離間部 9 2 は、流体がポート 4 0 B-4 5 B を含有するプラットフォーム 6 0 B の表面と試料 3 を含有する基板 2 との間を移動できるようにする。最適な試料固定、染色、および濯ぎのために必要な離間部の距離は、ポート 4 0 B-4 5 B (および/またはポート 4 0 A-4 5 A) から供給される流体の流量、ポートの直径、処理の間に塗布される流体の粘度、ならびに基板、離間部、およびプラットフォームから流体を除去するのに利用可能な吸引の量に依存して異なる。

【0061】

いくつかの実施形態では、たとえば、プラットフォーム 6 0 B の表面と基板 2 との間の約 1 0 0-2 0 0 ミクロンの離間部 9 2 を与えるオフセットは、5 0 0-1, 5 0 0 ミクロンの範囲にわたる直径を有するポート 4 0 B-4 5 B から、1 秒当たり 7 0-1 4 0 マイクロリットル (たとえば 1 秒当たり 9 0、1 1 5、または 1 2 5 マイクロリットル) の範囲にわたる流量で流体を供給することができる実施形態中の血球を備える試料の固定、染色、および濯ぎを可能にする。一般的に、離間部 9 2 の大きさまたは高さは、ある実施形態については、そのような実施形態が試料処理の間に流体を供給しかつ除去しながら離間部中の流体からの表面張力に打ち勝つことができる限り、約 5 0 ミクロン-1, 0 0 0 ミクロン (たとえば、約 5 0-5 0 0 ミクロン、約 7 5-2 5 0 ミクロン、約 1 0 0-2 0 0 ミクロン) に異なり得る。さらに、ある実施形態では、プラットフォーム 6 0 A および/または 6 0 B 上に位置するポートの直径は、約 1 2 5 ミクロン-5, 0 0 0 ミクロンに異なり得る。

【0062】

図 6 B および図 6 C は、プラットフォーム 6 0 A と平行になるように基板グリッパ 2 0 A を整列させるのに用いることができる玉継手機構 2 5 を示す。玉継手機構 2 5 は、基板グリッパ 2 0 A に固く固定される玉部材 2 5 A と、偏向要素 2 5 B (たとえばばね) と、基板アーム 1 0 A に固く接続される下側ソケット 2 5 C と、上側ソケット 2 5 D と、(たとえば締結具を用いて) 下側ソケット 2 5 C に固定されるキャップ 2 5 E と、留めねじ 2 5 F とを含むことができる。いくつかの実施形態では、機械 1 ならびに基板グリッパ 2 0 A および/または 2 0 B の製造および/または設置の間、玉継手機構 2 5 は、公差の積み重ねまたは作製の問題によって存在し得るいずれの整列不良も補うように調整可能である。玉継手機構 2 5 を調整するため、いくつかの実施形態では、留めねじ 2 5 F を緩めて基板アーム 1 0 A を閉じた位置に動かす。留めねじ 2 5 F が緩められるので、基板グリッパ 2 0 A は、基板 2 を把持しながら、基板 2 が接触オフセット 7 0 に沿って位置決めされつつプラットフォーム 6 0 A と実質的に平行になることができる。これに代えて、いくつかの実施形態では、プラットフォーム 6 0 上のオフセットの数を減らすかまたは完全になくすることができる。所望の離間部の距離に対応する厚みを有するシムを玉継手機構 2 5 と関連して機械 1 の設置または較正の際に一時的に用いて、試料処理のために所望の距離に離間部 9 2 を設定することができる。玉継手機構 2 5 が緩められるが、偏向要素 2 5 B が力を加えて基板グリッパ 2 0 A を基板アーム 1 0 A に半固定したまま保つため、これは独立して動くことができるが、これは、機械 1 の他の構成要素と干渉するまたはそれらを損傷するほどには緩くなく、また自由に動くわけではない。基板 2 が閉じた位置に一旦固く押圧されて、このために基板 2 がプラットフォーム 6 0 A と実質的に平行になると、留めねじ 2 5 F を締めて玉継手機構 2 5 をしっかりと固定することができる。示すように、締められると、留めねじ 2 5 F は、上側ソケット 2 5 D に対して下向きの力を加え、こうして上側ソケット 2 5 D を介して玉部材 2 5 A の頂部に摩擦力を加える。下側ソケット 2 5 C はキャップ 2 5 E に固定されるので、留めねじ 2 5 F が生じる力は、下側ソケット 2 5 C も持ち上げて、これにより下側ソケット 2 5 C は玉部材 2 5 A の底部側に摩擦力を加えて、上側および下側ソケット 2 5 C、2 5 D 内に玉部材 2 5 A を拘束する。一旦玉部材 2 5 A に拘束されると、基板グリッパ 2 0 A は基板アーム 1 0 A に固定されるようになる。

【0063】

典型的には、基板グリッパ 2 0 A が位置決めされ、留めねじ 2 5 F を用いて一旦拘束さ

10

20

30

40

50

れると、通常使用の際は玉継手機構 25 を再調整する必要はない。しかしながら、基板グリッパ 20 A が整列不良になり、したがって（たとえば、損傷、機械の修理、性能不足、または他の理由により）玉継手機構 25 の調整が必要になると、留めねじ 25 F を緩めることができ、基板グリッパ 20 A を、閉じた位置に、基板グリッパ 20 A が把持する基板がプラットフォーム 60 A と実質的に平行になるような位置に動かすことができ、次に玉継手機構 25 をしっかりと固定するように留めねじ 25 F を締めることができる。

【0064】

一般的に、アクチュエータ 30 A および／または 30 B は、基板アーム 10 A および／または 10 B の位置を調整して、プラットフォーム 60 A および／または 60 B の表面と基板 2 との間の離間の程度を変更するように構成可能である。この離間を変化させることにより、各ポートに割当てられる流体、流量、流体の粘度、ならびにプラットフォーム 60 A および／または 60 B からの排出力を調整できるようにする実施形態中のより高い柔軟性が与えられる。たとえば、100 ミクロンの離間部 92 は、500 ミクロン～1, 500 ミクロンの範囲にわたるポート直径を有するポート 40 A－45 A から 1 秒当たり 70 マイクロリットルの流量でプラットフォーム 60 A から塗布される流体が供給される場合に、十分な試料の固定、染色、および濯ぎを提供することができる。これに代えて、プラットフォーム 60 A の表面と基板 2 との間の離間部 92 の距離が約 200 ミクロンである場合は、1 秒当たり 115－140 マイクロリットルなどの、ポート 40 A－45 A から供給される流体のより高い流量を試料処理のために用いることができる。

【0065】

以上開示したように、機械 1 は、試料処理の間に塗布される流体を分散させかつ除去するための一連のポートおよびチューブを含有してもよい。以下の考察は、プラットフォーム 60 A と関連付けられるさまざまなポート、チューブ、および他の構成要素を記載するが、同様の検討はプラットフォーム 60 B およびその関連の構成要素に適用される。図 2 は、図 1 に示す装置の接近図を示し、プラットフォーム 60 A 上のポート 40 A－45 A と、ブロック 80 A に接続されるチューブ 50 A－55 A とを詳細に示す。チューブ 52 A－55 A は、1 つ以上の固定剤、染料、および濯ぎ溶液を含むある流体を、プラットフォームにわたって離間部の中へかつ基板の上に分布させる。

【0066】

図 2 を参照して、プラットフォーム 60 A の頂部側は、チューブ 50 A－55 A に接続される 6 つのポート 40 A－45 A を含む。流体は、基板 2 の上に対して、チューブおよびポートを通して 1 つ以上のポンプによって駆動される。たとえば図 4 に示すような（第 1 の染料貯蔵部 211 A、第 2 の染料貯蔵部 212 A、固定剤貯蔵部 210 A、および濯ぎ溶液貯蔵部 213 A などの）1 つ以上の流体貯蔵部 210 A－213 A は、プラットフォーム 60 A および基板 2 に対して流体を方向付けることができる。図 1－図 3 に示すポート 40 A－45 A の直径は、約 500 ミクロン～1, 500 ミクロンの範囲にわたる。もっとも、直径はある実施形態ではより小さくてもまたはより大きくてもよい。いくつかの実施形態では、真空ポート 40 A および 41 A の直径は流体ポート 42 A－45 A の直径の 2 倍よりも大きい。

【0067】

ポート 40 A－45 A の各々は、典型的には、特定の流体または真空源に専用のものである。これに代えて、1 つよりも多くのポートを各々の流体もしくは真空源に用いてもよく、またはさまざまな流体および真空源からの複数のチューブをプラットフォーム 60 A 上に位置する単一のポートに接続してもよい。たとえば、いくつかの実施形態では、プラットフォーム 60 A 上の唯一のポートを廃棄物除去のために用いてもよいが、より多くの高粘度の流体を用いる場合は、単一のポートは残留流体をプラットフォームから排出するのに十分な吸引を与えないかもしれない。このように、ある実施形態では、図 2 のポート 40 A および 41 A で示すように、過剰な染料、固定剤、および濯ぎ流体を除去するために、プラットフォーム上の異なる位置に 2 つの吸引ポート（たとえば、プラットフォームの各端に 1 つの吸引ポート）を設けることが望ましいことがある。流体－ポート構成の変

動性をさらに強調すると、ある実施形態では、プラットフォーム60A上の単一のポートは特定の染料専用であってもよい一方で、他の実施形態では、試料処理の間に染料を塗布するのに複数のポートを用いる。実際には、ポートの数、ポートの場所、ならびに各々のポートおよび流体チューブに割当てられる流体に関するさまざまな組合せを発明の異なる実施形態で用いてもよい。

【0068】

ポート40A-45Aは、一般的に、基板2への流体の送出およびそこからの流体の除去を与えるように所望によりプラットフォーム60A上に位置決め可能である。典型的に、流体ポートの各々は、試料が処理されている際にポートのアパーチャが基板2上の試料3に直接隣接してまたはその下に位置決めされないように、プラットフォーム60A上に位置決めされる。試料と染料とのある組合せでは、たとえば、染料が試料3の部分に直接に隣接するまたはその下に位置するポートから供給される場合、(ポートの近傍の)その部分の細胞に対して、試料の他の部分の細胞に対してよりも多量の染料を塗布してもよい。その結果、より多くの量の染料を受ける細胞は試料の画像中でより暗く現われることがあり、試料の細胞のこの非均一な染色は、試料の手作業でのおよび自動化された評価を複雑にし、画像に基づく診断測定および分析結果に誤差を導入する可能性がある。このように、染色結果を向上させるため、染料を試料3に送出する流体ポートを、スライドの試料含有区域からある距離だけ間隔を空けることができる。

10

【0069】

さらに、たとえば互いに反対に位置する複数の対のポートなどのポートの対を用いることも、染色の均一性を向上させることができる。たとえば、いくつかの実施形態では、2つのポートを用いて染料を試料3に送出する。2つのポートは、プラットフォーム60A上の、試料3の端縁からある距離だけ間隔を空けられた(たとえばオフセットされた)位置に位置することができ、プラットフォーム60Aの短い端縁に平行な方向に互いに反対に位置することができる。2つの間隔を空けられたポートから染料が供給される場合、比較的均一な量の染料が試料3の異なる領域中の細胞の上に載せられ、試料の画像中で改良された染色均質性が観察される。

20

【0070】

同様に、ポート40A-45Aは、1つ以上の真空源を用いて基板2の表面から過剰な流体を除去するように所望により位置決め可能である一方で、いくつかの実施形態では、流体の除去に用いられるポートは、基板2上の試料3内の細胞のすぐ下のプラットフォーム60A上の位置からある距離に間隔を空けられる。このように(すなわち、試料3の部分に直接に対向せずに)廃棄物除去ポートを位置決めすることにより、そのようなポートを作動させて流体を基板2から排出する場合に、試料3からの細胞が不注意に損傷したり、流体除去ポートの中に引込まれてしまう確率が低くなる。ある実施形態では、プラットフォーム60Aの長辺および短辺の長さの差により、廃棄物除去ポートが試料区域の端縁から間隔をあけられ、プラットフォーム60Aの長い端縁に平行な方向に沿って互いに反対に配置される。

30

【0071】

固定剤段階

流体チューブ52A-55Aおよび52B-55Bは、試料処理の際に固定剤をプラットフォーム60Aおよび60B、離間部92、基板2、および試料3に送出するように位置決め可能である。使用可能な固定剤は、生物サンプルを腐敗から保護するために用いられる化学物質を含み、そのような固定剤は、試料中で起こる生物化学的反応を妨げ、試料の機械的強度および安定性を増すことができる。メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、EDTA、表面活性剤、金属塩、金属イオン、尿素、およびアミノ化合物を含むがこれらに限定されないさまざまな固定剤を用いることができる。

40

【0072】

図4を参照して、1つ以上の流体チューブ52A-55Aをプラットフォーム60A内

50

部のポートおよびそれぞれの固定剤貯蔵部 210 A に接続可能である。流体チューブは、貯蔵部からプラットフォーム上に位置するチューブおよびポートを通して基板および試料の上に固定剤を方向付けることができるポンプ 200 A および／または弁への接続部も含んでもよい。一例として、ポンプ 200 A は、固定剤を、貯蔵部 210 A から、チューブ 54 A を通って、ブロック 80 A を通って、ポート 44 A から外へ、プラットフォーム 60 A 上へ、プラットフォーム 60 A と基板 2 との間の離間部 92 の中へ、かつ試料 3 を含有する基板 2 の上に方向付けることができる。特定の量の固定剤を基板 2 に塗布した後、真空装置または他の吸引源 220 A および／または 221 A は、残留固定剤を、プラットフォーム 60 A、離間部 92、および基板 2 から、廃棄物容器 230 A および／または 231 A の中へ、1 つ以上のポート 40 A および／または 41 A を介して、廃棄物チューブ 50 A および 51 A を通して排出することができる。

10

【0073】

図 9 は、固定剤を試料に塗布するための一連のステップを含むフローチャート 700 を示す。ステップ 702 で、ポンプ（たとえばポンプ 200 A）は、貯蔵部（たとえば貯蔵部 210 A）から、固定剤チューブ（たとえばチューブ 54 A）の中へ固定剤（たとえばメタノール）を方向付ける。ステップ 704 で、固定剤は、ブロック 80 A に取付けられるポート 44 A の中に方向付けられる。次に、ステップ 706 で、固定剤は、プラットフォーム 60 A 中のポート 44 A から外へ方向付けられる。ステップ 708 で、固定剤は、ポート 44 A を通って外に、かつ基板 2 とプラットフォーム 60 A との間の離間部 92 の中に方向付けられる。最後に、ステップ 710 で、基板 2 上の試料 3 が固定剤溶液によっ

20

【0074】

いくつかの実施形態では、ポンプ 200 A は、チューブ 54 A およびポート 44 A を通して、プラットフォーム 60 A の上かつ離間部 92 の中へ、4 秒の期間、1 秒当たり 70 マイクロリットルの流量でメタノールを方向付ける。次に、真空装置および他の吸引源 220 A および／または 221 A は、ポート 40 A および／または 41 A ならびに（以下にさらに説明する）廃棄物チューブ 50 A および／または 51 A を用いて、離間部 92 の中にならびに／またはプラットフォーム 60 A および基板 2 の上に存在する残留メタノールを除去する。次に、ポンプ 200 A は、再び、チューブ 54 A およびポート 44 A を通して、プラットフォーム 60 A の上に、4 秒の期間、1 秒当たり 70 マイクロリットルの流量でメタノールを方向付けることができ、その後に第 2 の流体排出プロセスが続く。この固定および排出のプロセスは、固定を必要とする生物試料の種類に依存して同じまたは異なる固定剤を用いて再び繰返すことができる。さらに、機械 1 は、各々の固定段階毎に頻度および流量を変化させることができる。離間部 92 中に位置する流体の如何なる表面張力にも打ち勝ち、かつ以後の処理および評価のために試料 3 を固定するのに十分な他の流量も用いることができる。固定段階の頻度および／または流量を調整することにより、機械 1 は、いくつかの異なる固定剤を用いてさまざまな試料の最適な固定を達成することができる。異なる種類の試料のための機械指示を制御ユニット 5 に物理的に組込むかまたは予めプログラミングして、必要に応じてシステムオペレータがこれを選択することができる。

30

40

【0075】

一般的に、固定剤段階の間に多様な固定剤を試料に塗布することができる。たとえば、固定剤として 85 % メタノールを用いることができる。いくつかの染料には、エチルアルコールまたはホルムアルデヒド系の固定剤を用いることができる。試料を準備するのに使用可能な付加的な固定剤処方、たとえば、米国仮特許出願番号第 61 / 505, 011 号に開示されており、その全内容が本明細書中に引用により援用される。

【0076】

染色段階

機械 1 は、1 つ以上の染色段階で、基板に固定された試料に 1 つ以上の色素または染料を塗布するように構成されるチューブおよびポートも含む。試料の染色は、試料を顕微鏡

50

または他の画像化機器で見るまたは画像化する場合に、試料のコントラストを増す。ロマノフスキー染色および／または他の色素もしくは染料を用いることができ、これは、抗体、核酸プローブ、ならびに／または金属塩およびイオンを用いる、ヘマトキシリンおよびエオシン、フルオレセイン、チアジン染料を含む。試料を準備するのに使用可能な付加的な染料処方、たとえば、米国仮特許出願番号第61／505,011号に開示されている。

【0077】

図10は、染料を試料に塗布するための一連のステップを含むフローチャート800である。ステップ802で、ポンプ（たとえばポンプ201A）は、貯蔵部（たとえば貯蔵部211A）から染料チューブ（たとえばチューブ52A）の中へ、色素または染料を方向付ける。ステップ804で、染料は、ブロック80Aに取付けられたポート（たとえばポート42A）の中へ方向付けられる。次に、ステップ806で、染料は、プラットフォーム60A中のポート42Aから外へ流れる。ステップ808で、染料は、基板2とプラットフォーム60Aとの間の離間部92の中に流れ込み、その後ステップ810で、基板2上の試料3を染色する。

10

【0078】

いくつかの実施形態では、染料を試料3に塗布するのに複数のチューブおよびポートを用いることができる。たとえば、第2のポンプ（たとえばポンプ202A）は、貯蔵部212Aから、チューブ53Aおよびポート43Aを通して、プラットフォーム60A上に、染料（たとえば、同じ染料または貯蔵部211Aから供給されたものとは異なる染料）を方向付けることができる。ある実施形態では、ポートを通してプラットフォーム上に染料を方向付けるのに用いられる共有の染料貯蔵部またはポンプおよび／もしくは弁に2つ以上の流体チューブを接続してもよい。図2を再び参照して、チューブ52Aは、フルオレセイン色素などの赤い染料をプラットフォーム、基板3、および試料2に送出してもよい。チューブ53Aは、チアジン色素などの青い染料を送出してもよい。図1－図6では、プラットフォーム60A上のポートの数、場所、および大きさは、基板に固定される試料への染料の塗布を最適化するように選択される。他の染料を選択する場合は、染料の粘度に依存して、異なる数、場所、および大きさのポートが好ましいことがある。

20

【0079】

ポート40A－45A（および40B－45B）の各々は、流体を受けるための入力チャンネルおよび流体を出力するための出力チャンネルの両方を含むことができる。いくつかの実施形態では、濯ぎ液45A、固定剤44A、および染色ポート42A－43Aの出力チャンネルはプラットフォーム60Aの上側表面上にあり、真空ポート40Aおよび41Aの入力チャンネルはプラットフォーム60Aの上側表面の対向端上にあってもよい。濯ぎ液45A、固定剤44A、および染色ポート42A－43Aの入力チャンネルはブロック80Aの同じ横方向側の上に位置してもよく、真空ポート40Aおよび41Aの出力チャンネルはブロック80Aの反対の横方向側の上に位置決めされ得る。

30

【0080】

一例としてかつ図2および図10を参照して、制御システム5は、ステップ802で、染料（たとえば、フルオレセイン色素を備える染料）を染料貯蔵部から流体チューブ52Aの中に方向付けるようにポンプ（たとえばポンプ201A）に指示する。ステップ804で、染料は流体チューブからポート42Aに入る。次に、ステップ806で、染料は、5秒の期間、1秒当たり140マイクロリットルの流量でポート42Aを離れ、ステップ808で、染料はプラットフォーム60Aと試料3を含有する基板2との間の離間部92の中に入れられる。ステップ810で、基板2上の試料3が染色される。染色の後、次に、真空装置または他の吸引源（たとえばポンプ220および／または221）は、ポート40A－41Aおよび廃棄物チューブ50A－51Aを用いて、離間部92の中、プラットフォーム60Aの上、かつ基板3の上に存在する残留染料を排出してもよい。

40

【0081】

機械1は、第1の染色段階に引続いて、ある遅延（たとえば、5秒の遅延などの3秒～

50

10秒の間の遅延)の後にこれらの染色および排出段階を繰返すようにプログラミング可能である。第2のポンプ202Aは、たとえば3秒間などのある期間、染料貯蔵部から、流体チューブ53Aを通して、ポート43Aから外へ、かつプラットフォーム60Aの上に、1秒当たり140マイクロリットルの流量でシアジン色素を方向付けるように制御システム5によって指示され得る。次に、真空装置または他の吸引源(たとえばポンプ220Aおよび/または221)は、ポート40A-41Aおよび廃棄物チューブ50A-51Aを用いて、離間部92の中、および/またはプラットフォーム60Aの上、および/または基板2の上に存在する残留シアジン色素を排出してもよい。固定段階の場合と同様に、機械1は、各染色段階毎に、頻度、遅延時間、および流量を変化させることができる。流量は、たとえば1秒当たり70~140マイクロリットルの範囲にわたってもよく、流量が離間部92中に位置する流体中に存在するいずれの表面張力にも打ち勝ち、かつ意図される評価のために試料を望ましく染色するのに十分である限りは、この範囲の外側限界(たとえば、1秒当たり10~500マイクロリットル)よりも小さくてもまたは大きくてもよい。

【0082】

試料に塗布可能な例示的な染料は、ライトーギムザ染料、ギムザ染料、およびロマノフスキー染料を含むが、これらに限定されるものではない。免疫細胞化学試薬または特定の細胞成分の他のマーカーなどの他の剤も試料に塗布可能である。

【0083】

廃棄物流体除去

以上で参照したように、真空装置または他の吸引源220および/または221は、固定および染色段階の間または固定段階と染色段階との間に、基板2、離間部92、およびプラットフォーム60Aから残留流体を排出することができる。図1を参照して、1つ以上の廃棄物チューブをブロック80Aの側82Aおよび84Aに接続することができる。廃棄物または真空チューブ50Aおよび51Aを用いて、プラットフォーム60A、離間部92、および基板2から、機械1とは別個の廃棄物容器または他の場所の中へ、流体および小さい粒子状物質を抜く。図2を参照して、廃棄物チューブ51Aおよび51Bは、廃棄物チューブの遠端で、別個の真空源220および221ならびに廃棄物容器230および231に接続されてもよい。これに代えて、図4に示すように、2つ以上の廃棄物チューブを単一の真空源および同じ廃棄物容器に接続することができる。廃棄物チューブ50Aおよび50Bはそれぞれピンチ弁90Aおよび90Bを通して延在してもよい。

【0084】

吸引を加えるための真空装置または他の源(たとえば真空ポンプ220および/または221)を廃棄物チューブ50A、50B、51A、および51Bのうち1つ以上に接続して、プラットフォーム60Aおよび/または60B、離間部92、および基板2から廃棄物容器230および231の中へ流体を引いてもよい。廃棄物チューブ内に加えられる真空力は、基板2とプラットフォームとの間の離間が100~200ミクロンの間である場合に流体を除去するのに十分な吸引を与えるように、1平方インチ当たり-1から-10ポンド(「psi」)と同等であってもよい。一般的に、本明細書中で用いるように、「負」圧は、機械1または機械1の周囲の環境内の大気圧よりも低い圧力を指す。たとえば、いくつかの実施形態では、機械1の周囲の環境は、約1気圧の周囲気圧を有する。「負」圧は、この周囲気圧よりも低い圧力を指す(たとえば、流体に加えられる-1psiの圧力は、流体にかかる周囲気圧よりも1psi低い圧力である)。そのような真空が離間部中に存在する流体の如何なる表面張力にも打ち勝ちかつ離間部の中ならびに基板および試料の上の残留流体のすべてを除去するのに十分である限り、-0.1psiから-14psiの範囲にわたる他の真空(たとえば-6psi)またはそれ以上を用いることができる。さらに、離間部から流体を排出するために真空を適用する直前に、アクチュエータ30Aは、試料処理位置から15-35ミクロンの距離だけ基板2の近接端縁を持上げることができる。基板2とプラットフォーム60との間のこの増大した離間は、真空段階の間の離間部92中のいずれの残留流体の排出も向上させることができる。

【0085】

いくつかの実施形態では、制御システム5は、試料処理の間の流体除去のために適用される頻度および真空を変化させるように構成される。図11Aは、基板から過剰な流体を除去するための一連のステップを特徴とするフローチャート900を含む。固定段階に引続いて、たとえば、制御システム5は、ステップ902で、ピンチ弁90Aおよび／または90Cを開いて、5秒の期間、廃棄物チューブ（たとえば廃棄物チューブ50Aおよび51A）中に -5 psi の真空を加えることができる。この期間の間、ポート40Aおよび41Aを通して離間部、基板、およびプラットフォームから固定剤が除去される（ステップ904）。ステップ906で、流体は廃棄物チューブを通して移動し、ステップ908で、1つ以上の廃棄物容器（たとえば容器230および／または231）の中に入れられる。排出期間が一旦満了すると、制御システム5は、ステップ910で廃棄物チューブ50Aおよび／または51Aを閉じるようにピンチ弁90A、90Cのうち1つ以上に指示することができ、これにより真空装置220-221によるさらなる排出がされないようになる。制御システム5は、各々の固定段階後にこの流体除去ステップを繰返すように機械1に命令してもよい。

10

【0086】

図11Bは、基板から過剰な流体を除去するための代替的な一連のステップを特徴とするフローチャート1000を含む。フローチャート1000中の方法は、廃棄物チューブを封止するのにピンチ弁を用いない。代わりに、流体塗布段階の後に、ステップ1002で吸引源220および／または221が初期化され、ステップ1004で活性状態になる。吸引源は、4秒の期間、排気部チューブ50Aおよび／または51Aの中に -3 psi の真空を加えて、ステップ1006で、ポート40Aおよび41Aを通して離間部92、基板2、およびプラットフォーム60Aから流体を除去する。ステップ1008で、排出された流体はチューブ50Aおよび／または51Aを通して移動し、ステップ1010で、1つ以上の廃棄物容器230、231の中に入れられる。機械1は、各々の流体塗布段階の後にこの流体除去ステップを繰返してもよい。流体除去ステップの間に適用される頻度および圧力を変化させることにより、機械1は、生物試料の最適な固定、染色、および濯ぎを達成し得る。

20

【0087】

ピンチ弁90A、90B、90C、および90Dは、図1に示すように廃棄物チューブ50A、50B、51A、および51Bを閉じる。ピンチ弁90A-90Dは、弁内に内蔵されるまたは弁外部のアクチュエータを通して機械的に、電氣的に、液圧的に、または気圧的に作動されてもよい。ピンチ弁90A-90Dは、廃棄物チューブ50A、50B、51A、および51Bを通る流体の流れを禁じるように動作する。たとえば、機械1から満タンの廃棄物容器230を変更するまたは空にする場合、廃棄物チューブ中に存在する残留流体の漏れを防止するには、ピンチ弁（90A-90D）を閉じることが望ましいことがある。廃棄物チューブ50A、50B、51A、および51Bを閉じるのに、異なる弁の種類またはクランプもしくはストッパなどの他の機構を機械1の実施形態とともに用いてもよい。

30

【0088】

濯ぎ段階

1つ以上の濯ぎ段階で、機械1を用いて、試料処理の際に濯ぎ溶液を塗布することができる。たとえば、固定段階同士の間、染色段階同士の間、および／または固定段階と染色段階との間に、基板2上の試料3、離間部92、ならびにプラットフォーム60Aおよび／または60Bから残留および／または過剰流体を除去することが望ましいことがある。本システムおよび方法と整合する濯ぎ溶液は、蒸留水、バッファリングされた水溶液、有機溶媒、およびバッファリングされるまたはされない水性溶媒と有機溶媒との混合物を含む。試料を準備するのに使用可能な濯ぎ溶液のための付加的な処方、たとえば、米国仮特許出願番号第61/505,011号に開示されている。

40

【0089】

50

図12は、試料を濯ぐための一連のステップを特徴とするフローチャート1100を含む。ステップ1102で、ポンプ（たとえばポンプ203A）は、貯蔵部（たとえば貯蔵部213A）から濯ぎチューブ（たとえば濯ぎチューブ55A）の中へ、（たとえば蒸留水を備える）濯ぎ溶液を方向付ける。ステップ1104で、濯ぎ溶液は、ブロック80Aに接続されるポート45Aに入る。ステップ1106で、濯ぎ溶液はポート45Aの出力チャンネルを通してプラットフォーム60A上に流れ、ステップ1108で、濯ぎ溶液は基板2とプラットフォーム60Aとの間の離間部92に入る。ステップ1110で、試料3の濯ぎが行なわれる。最後に、ステップ1112で、真空源220、221が廃棄物チューブ50Aおよび51Aのうち1つ以上に吸引を加えて、離間部92および基板2から濯ぎ溶液を除去する。濯ぎ溶液は廃棄物容器230および／または231に運搬される。

10

【0090】

いくつかの実施形態では、制御システム5は、たとえば5秒の期間、たとえば1秒当たり70マイクロリットルの流量で濯ぎ溶液を塗布するようにポンプ203Aに命令してもよい。固定段階の場合と同様に、制御システム5は、各々の濯ぎ段階の持続時間および流量ならびに濯ぎ段階の数を変化させてもよい。さらに、制御システム5は、試料処理の間の1つ以上の濯ぎ段階の置き方を調整してもよい。たとえば、制御システム5は、すべての固定段階の完了後に濯ぎ段階が1回行なわれるように、かつ第2の濯ぎ段階がすべての染色段階の完了後に1回行なわれるように命令してもよい。これに代えて、濯ぎ段階は、2つ以上の固定段階の間または2つ以上の染色段階の間に散らばるようにされてもよい。

【0091】

20

攪拌段階

ある実施形態における試料処理は、固定、染色、および／または濯ぎ段階の間に、離間部92、試料3を含有する基板2、ならびにプラットフォーム60Aおよび／または60Bを通して固定剤、染料、および／または濯ぎ流体を分散させるための1つ以上の攪拌段階を含んでもよい。図13は、試料を攪拌するための一連のステップを特徴とするフローチャート1200を含む。図3Aに示されるアクチュエータ30Aおよび／または30Bは、プラットフォーム60Aおよび／または60Bに対する基板2の位置を変更するための微細な動き調整を与えることができる。

【0092】

制御システム5は、攪拌段階を開始するようにアクチュエータ30Aおよび／または30Bに指示するためのソフトウェアおよび／またはハードウェアを含むことができる。アクチュエータ30Aおよび／または30Bは、制御システムからの攪拌開始コマンドの際、基板アーム20Aおよび／または20Bを上下に動かすように構成可能である。予め定められた数の攪拌サイクルの間、攪拌段階を繰返してもよい。本明細書中で用いるような「攪拌サイクル」という用語は、開始位置から上向き方向への運動であって、その後上向き方向とは反対の下向き方向への動きを伴う運動を指す。いくつかの実施形態では、1つ以上の攪拌サイクルは、各サイクルの終了時にまたはいくつかのサイクルの少なくとも終了時に基板2を開始位置に戻す。ある実施形態では、基板2は攪拌サイクルのいくつかまたはすべての終了時に開始位置に戻らないが、各サイクルは依然として下向き運動を後に伴う上向きの運動を含む。アクチュエータ30Aおよび／または30Bは典型的に、停止コマンドが制御システム5からアクチュエータに送られるまで、1つ以上の攪拌サイクル中、基板2を動かし続ける。攪拌段階は、基板2とプラットフォーム60Aおよび／または60Bの表面との間の離間の大きさ（離間距離）を一時的に大きくして、次に基板を試料処理位置に戻してもよい。さらに、攪拌段階は、プラットフォーム60Aおよび／または60Bの表面に対する角度付けられた位置と試料処理位置との間で基板2をシフトさせる一連の動きを含んでもよい。プラットフォームと基板2との間の離間部に供給される流体の表面張力は、攪拌段階の間に基板が試料処理位置から動くときに基板上の流体分子の再分布を生じさせ、有利には試料にわたる流体の分布を向上させることができる。

30

40

【0093】

攪拌段階の際にプラットフォームに対して基板2を動かすのに他の方法も用いることが

50

できる。たとえば、いくつかの実施形態では、オフセット70A-Dおよび／または71A-Dのうち1つ以上の位置（たとえば、プラットフォーム60Aおよび／または60Bの表面上方にオフセットが延在する量）を迅速に調整して試料3を攪拌することができる。ある実施形態では、試料3の攪拌を生じさせるようにプラットフォーム60Aおよび／または60Bの位置を調整することができる。たとえば、プラットフォーム60Aおよび／または60Bは、試料3の攪拌を生じさせるように、（たとえば、上述の基板2の動きの方向に対応する）上下に交互に動くことができる。

【0094】

いくつかの実施形態では、以下に論じるように基板アームが屈曲する材料からなる場合は、試料3の攪拌は、アクチュエータ30Aおよび／または30Bがオフセット70A-Dおよび／または71A-Dに向けて基板2を駆動する程度を変化させることによって実行可能である。歪みゲージを用いて時間の関数としての基板アームの歪みの変化を検出することにより、基板2に加えられる攪拌の頻度を測定して調整することができる。

【0095】

図13を参照して、第1のステップ1202で、攪拌段階が開始される。ステップ1204で、制御システム5は、攪拌サイクルを始めるようにアクチュエータ30Aに指示する。この指示に応答して、ステップ1206で、アクチュエータ30Aは、基板2を上向きに回転させ、基板2とプラットフォーム60Aとの間の距離を大きくする。次に、ステップ1208で、アクチュエータ30Aは、プラットフォーム60Aに向けて下向きに基板2を回転させて、基板とプラットフォーム60Aとの間の距離を小さくする。決定ステップ1210で、攪拌段階を続けるべきであれば、制御はステップ1204に戻り、再び別の攪拌サイクルでアクチュエータ30Aによる基板2の回転が行なわれる。攪拌段階を終了すべき場合は、制御はステップ1210からステップ1212に移り、ここでは基板2は攪拌が完了するとその初期位置に戻される。

【0096】

攪拌段階は、アクチュエータ30Aおよび／または30Bを通して適用される1つ以上の攪拌サイクルを含むことができる。さらに、攪拌段階は、固定剤、染色、および／または濯ぎ段階の各々の間、ならびに固定、染色、および／または濯ぎ段階の各々の間で頻度を変化させる際に、1回または複数回行なうことができる。たとえば、また図3Aを参照して、アクチュエータ30Aおよび／または30Bは、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げて、その後、固定、染色、および濯ぎの各段階の後に1回の3回、基板2を試料処理位置に戻してもよい。アクチュエータ30Aおよび／または30Bは、2秒（たとえば、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げるのに1秒と、基板を試料処理位置へ戻すのに1秒）で各攪拌サイクルを完了してもよい。機械1は、各攪拌サイクルおよび／または段階毎に攪拌頻度および距離を変化させるように指示を実行することができる。たとえば、攪拌段階は、試料処理位置から5ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げ、次に1秒当たり10～20回試料処理位置に基板を戻すアクチュエータ30Aおよび／または30Bを含んでもよい。

【0097】

攪拌距離と頻度との代替的な組合せも用いることができる。たとえば、いくつかの実施形態では、攪拌距離は5ミクロン以上（たとえば、15ミクロン以上、25ミクロン以上、50ミクロン以上、100ミクロン以上、150ミクロン以上、200ミクロン以上、250ミクロン以上、300ミクロン以上、500ミクロン以上、700ミクロン以上、1mm以上である。たとえば、ある実施形態では、攪拌距離は35ミクロン～350ミクロンの間である。

【0098】

いくつかの実施形態では、攪拌サイクルの頻度は、1秒当たり1サイクル以上（たとえば、1秒当たり2サイクル以上、1秒当たり3サイクル以上、1秒当たり4サイクル以上、1秒当たり5サイクル以上、1秒当たり7サイクル以上、1秒当たり10サイクル以上

)である。

【0099】

付加的な攪拌技術も用いることができる。たとえば、いくつかの実施形態では、基板グリッパ20Aおよび／または20Bは、図1および図3に示すアクチュエータ30Aおよび／または30Bの回転軸に対して垂直な軸の周りで基板を回転させるアクチュエータを含んでもよい。

【0100】

これに代えて、プラットフォーム60Aおよび／または60Bには、固定、染色、および濯ぎ段階の間に1つ以上のオフセット70A-Dおよび／または71A-Dを上げるまたは下げるためのオフセット調整器が備えられてもよい。オフセット調整器を実現するため、プラットフォーム60Aおよび／または60Bは、プラットフォーム中の内部プレートに取付けられるオフセットを含むことができる。内部アクチュエータを用いてプレートの高さを変化させてもよく、こうしてオフセットの高さを変化させる。これに代えて、プラットフォーム60Aおよび／または60Bまたはブロック80Aおよび／または80Bを動かすようにアクチュエータに指示して、これにより攪拌段階の間に離間距離を変化させることによって、基板2に対するオフセット70A-Dおよび71A-Dの位置を変更することができる。制御システム5は、試料準備プロセスの際に従来の染色および準備技術と比較して大幅に少ない流体容積を用いてより効率的に試料を処理するために、流体サイクルの頻度、流量、オフセットの高さ、離間距離、ならびに攪拌パラメータおよび頻度を調整することができる。

【0101】

いくつかの実施形態では、試料処理位置にある基板がプラットフォームから延在するオフセット2つのみに対して静止している場合に、アクチュエータまたは他の動力要素が、すべての4つのオフセットに対してスライドが静止するまでプラットフォーム表面にさらに向けてスライドを回転させ得るように、基板アームは屈曲する材料からなってもよい。これらの2つの位置の間で基板の位置を変化させることにより、試料処理の際の十分な攪拌を達成し得る。基板アームは、基板アームの歪みをモニタする歪みゲージを含んでもよく、プラットフォームオフセットに対する基板の位置を制御システム5に知らせるように用いられてもよい。さらに、制御システムは、基板の厚み不完全に対応する情報を含んでもよく、これについては、基板を試料処理位置に置く際にまたは攪拌段階の間に制御システムが対処してもよい。

【0102】

乾燥段階

ある実施形態では、制御システム5は、機械1に取付けた乾燥機4を用いて試料を乾燥させることができる。図14は、試料を乾燥させるための一連のステップを特徴とするフローチャート1300を含む。染色および他の段階（たとえば1つ以上の濯ぎ段階）の完了を検証する最初のステップ1302の後、ステップ1304で、乾燥機4は、試料にわたって空気の流れを方向付ける。乾燥プロセスは、乾燥を停止する信号が制御ユニットから受信されるまでステップ1306で継続する。信号を受信すると、乾燥機は試料にわたる空気の流れを停止し、ステップ1308で乾燥段階が終了する。

【0103】

一般的に、機械1は、試料3を乾燥させるための試料処理の間に、空気の温度、流量、適用される空気の流れの持続時間、および段階を変化させるように制御可能である。たとえば、染色段階を完了した後、乾燥機4は、試料にわたって7秒の期間、1分当たり10リットルの速度で約120°Fの空気の流れを方向付けることができる。他の空気温度（たとえば300°Fまでの周囲温度）、空気の流量（たとえば1分当たり100リットルに対する1分当たり1リットル）、および空気の流れの期間（たとえば数秒～数分）も用いることができる。

【0104】

試料検査システム

本明細書に開示する、機械 1 を含む自動化された試料準備機械および装置は、一般的に、その全内容が本明細書に引用により援用される米国特許出願公開番号第 2 0 0 9 / 0 2 6 9 7 9 9 号に記載のものなどのような、より大きな試料検査システムとともに用いられるおよび／またはその中に組込まれることができる。たとえば、図 1 5 は、試料検査システム 2 0 0 0 の 1 つの可能な実施形態を図示する概略図を示す。システム 2 0 0 0 は、プラットフォーム 2 1 0 0、受光機器 2 2 0 0、コンピュータ 2 3 0 0、アプリケーション 2 4 0 0、気体循環機器 2 5 0 0、光源 2 6 0 0、ディスペンサ 2 8 0 0、吐出機器 2 9 0 0、スライドラベラー 3 0 0 0、およびスライド標識読取器 3 1 0 0 を含む。前進装置 2 1 1 0 は、1 つ以上のスライドまたは他の基板 2 7 0 0 を受けるように構成されてもよい。前進装置 2 1 1 0 は、プラットフォームの頂面 2 1 0 1 などの表面に取付けられてもよい。前進装置 2 1 1 0 はベルトの形態を取ってもよく、システムは、機械アーム、重力、磁気、液圧機器、ギヤ、またはプラットフォームの表面 2 1 0 1 に沿って基板搭載試料を動かす他の移動技術を用いてもよい。

10

【0105】

プラットフォーム 2 1 0 0 は、積層体もしくはラックからまたは積層体もしくはラックへ基板 2 7 0 0（たとえばスライド）をそれぞれ供給するおよび収集するフィーダ 2 1 0 2 および収集器 2 1 0 6 も含んでもよい。フィーダ 2 1 0 2 には、試料を前進装置 2 1 1 0 上に押すための（ゴム被覆ホイールなどの）フィーダ推進機構 2 1 0 3 が備えられてもよい。これに代えて、機械アームを用いて基板 2 7 0 0 を掴み、直接に基板を前進装置上に置くことができる。磁石または液圧機器などの、基板をフィーダ 2 1 0 2 から推進して外に出す代替的な機構を用いてもよい。フィーダは、何枚のスライドが存在するかを判定するためのセンサを含んでもよい。センサは、たとえば基板 2 7 0 0 の重量を測定して何枚の基板が存在するかを判定することができる。収集器 2 1 0 6 も、何枚の基板が存在するかを判定するためのセンサを含むことができる。センサは、予め設定された数の試料が分析されたときをコンピュータ 2 3 0 0 に知らせるように構成可能である、および／または継続的に基板上に搭載される試料の受取りをコンピュータに知らせることができる。

20

【0106】

受光機器 2 2 0 0 は、（明視野顕微鏡などの）顕微鏡、ビデオカメラ、スチルカメラ、または受光する他の光学機器であり得る。標準的な明視野顕微鏡を含む実施形態は、自動化ステージ（たとえば基板移動機 2 2 0 1）および自動化焦点も含むことができる。いくつかの実施形態では、顕微鏡を電動式ステージおよび焦点モータ取付部に取付けることができる。顕微鏡は、異なる倍率のレンズをコンピュータ 2 3 0 0 の制御下で選択できるようにする電動式対物レンズ装着部（nosepiece）を有することができる。フィルタホイールを用いて、コンピュータ 2 3 0 0 が光経路中の狭帯域カラーフィルタを自動的に選択できるようにすることができる。LED 照明をフィルタの代わりに用いることができ、LED を使用すると、フィルタホイールの回転に必要な時間と比較して画像取得時間を短縮することができる。たとえば、1 6 0 0 × 1 2 0 0 画素の Firewire（登録商標）（IEEE 1 3 9 4 高速シリアルバス）カメラを用いて狭帯域画像を取得することができる。

30

【0107】

いくつかの実施形態では、受光機器 2 2 0 0 は、基板 2 7 0 0 から反射された光を受け、反射光によって形成される 1 つ以上の画像を記憶する。これに代えてまたは加えて、いくつかの実施形態では、受光機器 2 2 0 0 が基板上の試料からの蛍光発光を検出可能である。

40

【0108】

ある実施形態では、受光機器 2 2 0 0 は、基板上の試料の透過画像を得るように構成される。たとえば、発光源 2 6 0 0 をプラットフォームの下に位置決め可能であり、光がプラットフォーム 2 1 0 0 および基板 2 7 0 0 を通過して受光機器 2 2 0 0 に入るように光を方向付けてもよい。

【0109】

受光機器 2 2 0 0 および図 1 5 に示す他の構成要素のうち任意のものは、リンク（2 0

50

11-2014)を通してコンピュータ2300とインターフェイスすることができ、これは、構成要素にエネルギーを与え、コンピュータ2300から構成要素に指示を与え、および／または構成要素がコンピュータ2300に情報を送れるようにすることができる。リンク2011-2014は有線リンクまたは無線リンクであり得る。

【0110】

受光機器2200は、X、Y、およびZ軸方向の動きが可能であってもよい（他の実施形態では、電動式ステージまたは基板移動機2201がX、Y、およびZの動きを与えてもよい）。受光機器2200は、コンピュータ2300が受光機器2200を適切な位置に位置決めできるようにするパン、チルト、および／または移動アクチュエータを含むことができる。受光機器2200は、入来する光を焦点合わせするレンズ2210を含むことができる。

10

【0111】

受光機器2200は、白黒および／またはカラー画像を捕捉するように選択可能である。いくつかの実施形態では、2つ以上の受光機器を用いて画像の捕捉と関連の処理時間を分割することができる。たとえば、低倍率画像化ステーションの後に高倍率画像化ステーションが続くことができる。同様に、いくつかの実施形態では、システム2000、プラットフォーム2100、コンピュータ2300、および／または受光機器2200は、基板2700を動かすように基板移動機2201に命令して、基板上のまたは基板の特定の部分上の細胞のうちすべてまたは大部分の1つ以上の画像の捕捉および記憶を確実にすることができる。

20

【0112】

コンピュータ2300は、ラップトップ、サーバ、ワークステーション、または任意の他の種類の計算機器であり得る。コンピュータは、プロセッサ、ディスプレイ2320、インターフェイス2310、ならびに内部メモリおよび／またはディスクドライブを含むことができる。コンピュータ2300は、メモリにまたは光学式ドライブなどのコンピュータ読取可能有形媒体上に記憶されるソフトウェアも含むことができる。ソフトウェアは、コンピュータに、受光機器2200、アプリケーション2400、気体循環機器2500、プラットフォーム2100、前進装置2110、光源2600、ディスペンサ2450および／もしくは2800、試料準備機械1、またはこれらの構成要素のうち1つ内もしくはこれらの構成要素のうち1つに接続される任意の構成要素を動作させるための指示を含んでもよい。同様に、コンピュータは、これらの構成要素のうち任意のものから情報を受信するように配置される。

30

【0113】

たとえば、ソフトウェアは、フィーダ2102からの基板の分散の速度を制御してもよく、フィーダ2102は存在する基板の数についてコンピュータに知らせてもよい。さらに、コンピュータ2300は、受光機器2200が捕捉した画像の分析の実行も担うことができる。分析プロセスを通して、コンピュータは、たとえば血液、赤血球、白血球、および血小板の計数のために特定の量の血液中の特定の種類の細胞の数を算出するように配置されかつ制御されることができ、ヘモグロビン含有量、赤血球形態、または白血球百分率などの全血計数などの他の測定されかつ導出される成分を算出することができる。画像分析ソフトウェアは各々個別の視野を分析することができ、赤血球および白血球計数の合計の和を求めることができる。患者の血液サンプル中のマイクロリットル当たりの合計計数を算出するため、スライド上で計数された数に希釈率および副サンプル(sub-sample)の容積を乗算することができる。計数、形態測定、ならびにスライドからの赤血球および白血球の画像の結果をディスプレイ2320上に示してもよい。

40

【0114】

いくつかの実施形態では、コンピュータ2300は、モニタ上に表示される血球の画像を用いて、数値データ、細胞集団ヒストグラム、散布図、および細胞形態の直接評定を表示するように構成される。細胞形態を表示できることにより、システム2000のユーザに細胞形態学上の異常の有無を迅速に確立する能力が与えられ、これは、経験豊富な技術

50

者または他の専門家による手作業での検討のために付加的なスライドを準備することを保証するかもしれない。ソフトウェアは、受光機器から受ける画像 2 3 3 1 を表示する指示をコンピュータに与えることもできる、またはディスプレイ 2 3 3 0 に画像の分析の結果 2 3 3 2 を（たとえば、おそらくは表もしくはグラフで）示させてもよい。同様に、コンピュータ 2 3 0 0 は、特定の血液容積中の特定の種類の細胞の数を数える、または特定の量の血液中の損傷した細胞、癌細胞、もしくは溶解細胞の数を数えるように制御可能である。ソフトウェアは、コンピュータが分析プロセスを行なえるようにする。コンピュータは分析の際に 1 つ以上の倍率を用いることができる。

【0 1 1 5】

1 つの構成要素として示されるが、コンピュータ 2 3 0 0 は複数のコンピュータを含むことができる。システム 2 0 0 0 の構成要素を制御するために第 1 のコンピュータを用いることができ、受光機器 2 2 0 0 からの画像を処理するために第 2 のコンピュータを用いることができる。コンピュータが情報を共有できるようにさまざまなコンピュータをともにリンクさせることができる。コンピュータ 2 3 0 0 は、コンピュータが他のコンピュータに情報を送りかつこれを受けられるようにするネットワークまたは研究室情報システムに接続されることもできる。

10

【0 1 1 6】

ある実施形態では、アプリケータ 2 4 0 0 は、シリンジ、手動式もしくはモータ駆動式分注器、またはチューブを通して分注器先端に取付けられるモータ制御ポンプを含むことができる。アプリケータ 2 4 0 0 は、制御された態様で試料を基板 2 7 0 0 に塗布する。アプリケータ 2 4 0 0 を用いる例示的な特徴、属性および方法は、たとえば、米国特許出願公開番号第 2 0 0 9 / 0 2 6 9 7 9 9 号に開示されている。試料は、1 つ以上の血液成分、細胞、組織、または他の生物学的成分を含むことができる。

20

【0 1 1 7】

試料が基板 2 7 0 0 に一旦塗布されると、塗布された試料は機械 1 を用いて処理される。機械 1 は本明細書中に記載のように機能して、1 つ以上の染料、固定剤、および／または他の溶液を基板上の試料に塗布する。

【0 1 1 8】

いくつかの実施形態では、システム 2 0 0 0 は、アプリケータ 2 4 0 0 の先端から互いに接触していない（non-touching）細胞の列を置くことにより、基板 2 7 0 0 の上に載せられた細胞同士の間での重なりが最小限になるように構成可能である。希釈された流体の粘度の上昇または希釈液の種類もしくは量は、アプリケータからの試料の流れの最終的な定着位置の幅に影響を及ぼすことがある。血液サンプル中の典型的なばらつきを許すように列同士の間隔を選択することにより、すべての細胞をすべてのサンプル中で計数することができる。

30

【0 1 1 9】

図 1 5 に示すような別個の機器であり得る、または以前論じたように機械 1 に組入れ可能である気体移動機器 2 5 0 0 はファンを含むことができる、および／またはたとえばコンプレッサもしくはペローズなどの他の気体移動機器を含んでもよい。気体移動機器 2 5 0 0 はコンピュータ 2 3 0 0 に直接に接続されてもよく、またはプラットフォーム 2 1 0 0 もしくはアプリケータ 2 4 0 0 などの別の構成要素を通して接続されてもよい。気体移動機器は、基板にわたって気体（ある場合は大気）を押して、基板上の物質が乾く速度を制御する。あまりに多くの空気をあまりに迅速に（すなわち、ファン速度をあまりに高くして）基板にわたって動かすと、試料中の細胞が急速乾燥のために破裂してしまう可能性があり、あまりに少ない空気をあまりにゆっくり（すなわち、ファン速度をあまりに低くして）基板にわたって移動させると、細胞があまりにゆっくり乾燥して縮んだように見える可能性がある。

40

【0 1 2 0】

コンピュータ 2 3 0 0 は、気体移動機器が基板から離れている距離、分析される流体の種類、流れの幅、気体（たとえば空気）の温度、流れの平均厚みに基づいて、ある期間に

50

基板にわたって動く空気の量（すなわち、1秒当たりの空気の立方フィートまたは立方センチ）を選択および制御することができる。約15～20秒の期間、気体が30°～60°の角度（たとえば45°）で基板に当たるように機器が気体を方向付けるように、ガス移動機器2500を位置決め可能である。いくつかの実施形態では、コンピュータ2300は、気体移動機器2500を使用せずに乾燥プロセスを行なえるように、システムの近傍で湿度および温度設定を制御することができる。

【0121】

発光機器2600およびそのさまざまな構成要素は、一例として、米国特許出願公開番号第2009/0269799号に記載されている。光のさまざまな波長を発光機器2600によって生成可能であり、かつ受光機器2200によって検出可能である。たとえば、RBC形態学およびヘモグロビン含有量を評定するためのヘモグロビンのみの画像を得るには、415nmなどの波長が有用である。600nmで発せられる光は、血小板および核の高コントラスト画像を与えるのに有利であり得る。好塩基球、単球、リンパ球（すべて青の影付き）、好酸球（赤）、および好中球（中間色）の色を最もよく区別するために他の波長を選んでよい。

【0122】

実施例

以下の実施例によって開示をさらに説明するが、これらは請求項に記載する発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【実施例1】

【0123】

図16は、基板上に搭載した試料を処理するための一連の例示的なステップを示すフローチャート1400である。検査用に生物試料を準備するのにフローチャート1400中のステップを用いることができる。このプロセスの説明は、特定の範囲を有する特定のステップを参照するおよび／または特定の順で行なわれるステップを開示することがあるが、この説明は非限定的な例としてのみ意図される。図16を参照して、機械1は、処理ステップの際にさまざまな機械構成要素の動作に命令を与えるための制御システム5に接続される。試料開始ステップでは、血液のアリコートからの赤血球、白血球、および血小板を含む生物試料3がガラス顕微鏡スライドからなる基板2に塗布される。これは、同時係属中の米国特許出願公開番号第2008/0102006号に記載のステーションのうち1つ以上などの異なるステーションを用いて行なうことができる。位置決めステップ1402で、図1に示すように、試料3を含有する基板2が基板アーム10Aの基板グリッパ20Aの上に載せられる。制御システム5は、基板グリッパ20Aから空気を排出するように吸引源222に指示する（ステップ1404）。吸引ポート21および22を通して適用される吸引（ステップ1406）は、試料処理の間、基板2を基板グリッパ20Aに付着させる。制御システム5は、図1に示す開放位置から図3Aに示す試料処理位置へ基板3を回転させるようにアクチュエータ30Aに指示する（ステップ1408）。試料処理位置で、試料3は、基板2が図2に示すオフセット70A-Dに対して静止している間、プラットフォーム60Aの表面に面している。オフセットは、基板2がプラットフォーム60Aの表面と接触しないようにする。この例のプロセスでは、基板2の試料含有表面とプラットフォーム60Aの表面との間の離間92は約100ミクロンである。

【0124】

固定段階（ステップ1412、図10も参照）の際、ステップ1414で、ポンプは固定剤を試料3に塗布する。図2に示す流体チューブ54Aに接続されるポンプ200Aは、メタノールを備える固定剤を、固定剤貯蔵部210から、チューブ54Aを通して、ポート44Aから外へ、プラットフォーム60Aの上へ、試料3を含有する基板2の上へ、かつプラットフォーム60Aと基板2との離間部92の中へ押出す。ポンプ200Aは、2秒の期間T1、1秒当たり70マイクロリットルの流量でポート44AからメタノールV1を押出し、これにより試料3を含有する基板2の上に合計140マイクロリットルのメタノールV1を方向付ける。

【0125】

次に、第1の攪拌ステップ1416で、制御システム5は、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げるようにアクチュエータ30Aに命令し（ステップ1418）、基板をその試料処理位置へ戻すことによって基板を攪拌する。機械1はこの攪拌ステップをあと4回繰返す。図17に示すように、機械1は、約10秒T2で5回の攪拌の動きを完了する。攪拌の後、制御システムは真空または排出ステップ1420を開始する。1.5秒T3の間、-5psiの真空力が加えられ、離間部の中、プラットフォームの上、または基板の上に存在するいずれの残留メタノールもポート40Aおよび41Aならびに廃棄物チューブ50Aおよび51Aを介して排出される（ステップ1422）。排出されたメタノールは廃棄物容器230および/または231の中に収集される。

10

【0126】

固定段階に続いて、制御システム5は第1の染色段階を始める（ステップ1424）。そうする際、制御システム5は、試料を染色するように機械1に命令する（ステップ1426）。図2および図11のフローチャートを参照して、流体チューブ52Aに接続されるポンプ201は、染料貯蔵部211Aから、ポート42Aから外へ、プラットフォーム60Aの上に、試料3を含有する基板2の上に、かつプラットフォーム60Aと基板2との間の離間部92の中へフルオレセイン色素を押出す。ポンプ201は、2秒の期間T4、1秒当たり70マイクロリットルの流量で、ポート42Aを通してフルオレセイン色素を供給し、これにより基板に対して140マイクロリットルの色素V2を方向付ける。

20

【0127】

フルオレセイン色素を試料3に塗布した後、ステップ1430で、機械1は、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げて、次に基板をその試料処理位置に戻すようにアクチュエータ30Aに命令することによって、第2の攪拌ステップ1428を行なう。制御システム5は、機械1にこの攪拌ステップをあと2回繰返させ、図17に示すように、約6秒T5の期間にわたって3回の攪拌を完了させる。

【0128】

次に、ステップ1432で第2の真空または排出段階が開始される。ステップ1434で、3秒T6の間、-5psiの真空を加えて、離間部92の中またはプラットフォームおよび基板上に存在するいずれの残留フルオレセイン色素も、ポート40Aおよび/または41Aならびに廃棄物チューブ50Aおよび51Aを介して排出する。排出されたフルオレセイン色素は廃棄物容器230Aおよび/または231Aの中に収集される。

30

【0129】

フルオレセイン色素で試料を染色した後、ステップ1436で、機械1は、チアジン色素を用いて第2の染色段階を始める。流体チューブ53Aに接続されるポンプ202は、染料貯蔵部から、ポート43Aを通して、プラットフォーム60Aの上に、基板2の上に、かつプラットフォーム60Aと基板2との間の離間部92の中にチアジン色素を押出す（ステップ1438）。機械1は、2秒の期間T7、1秒当たり70マイクロリットルの流量で、ポート43Aを通してチアジン色素を供給し、これにより基板に対して合計140マイクロリットルのチアジン色素V3を方向付ける。

40

【0130】

染料を試料3に塗布した後、機械1は、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ基板2の近接端縁を持上げ（ステップ1442）、次に試料3を含有する基板をその試料処理位置へ戻すようにアクチュエータ30Aに命令することによって、ステップ1440で第3の攪拌段階を開始する。機械1はこの攪拌ステップをあと3回繰返す。機械は、約8秒T8の期間にわたって4回の攪拌の動きを完了する。

【0131】

次に第3の真空または排出ステップ1444が開始される。-5psiの真空が2秒間T9加えられて、攪拌の後、離間部の中またはプラットフォーム60Aおよび基板2の上に存在する残留チアジン色素を、ポート40Aおよび/または41Aならびに廃棄物チュ

50

ーブ50Aおよび／または51Aを介して排出する。排出されたチアジン色素は廃棄物容器230Aおよび／または231Aの中に収集される。

【0132】

次に、機械1は2つの濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスを行なう。第1のシーケンスの段階は、制御システム5が第1の濯ぎ段階を開始するように機械1に指示するステップ1448で開始される。蒸留水の濯ぎ溶液を含有する貯蔵部213Aがポンプ203および流体チューブ55Aに接続される。ポンプ203は、ポート45Aの中に入る洗浄チューブ55Aを通して、離間部92の中に、かつプラットフォーム60Aおよび基板2の上に蒸留水を方向付けて、ステップ1450で試料3を濯ぐ。これに代えて、いくつかの実施形態では、流体ポート42A～45Aのうち2つ以上を通して洗浄流体が方向付けられる。ポンプ203は、2秒T10の間、1秒当たり70マイクロリットルの流量で、ポート45Aから外へ蒸留水を方向付けて、これにより試料を含有する基板の上に合計140マイクロリットルV4の水を方向付ける。

10

【0133】

次に、制御システム5は、ステップ1452で第4の攪拌段階を始め、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げるようにアクチュエータ30Aに命令し（ステップ1454）、基板をその試料処理位置に戻す。制御システム5はこの攪拌段階を機械1に繰返させるように命令し、約4秒T11で2回の攪拌を完了してもよい。

【0134】

20

次に、ステップ1456で真空または排出段階が開始される。ステップ1458で5.5秒T12の間加えられる5psiの真空は、攪拌の後、離間部92の中またはプラットフォーム60Aおよび基板2の上に存在する残留蒸留水を、ポート40Aおよび／または41Aならびに廃棄物チューブ50Aおよび／または51Aを介して排出する。

【0135】

その後、ステップ1460で、制御システム5は、第2の濯ぎ段階を始めることによって、第2の濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスを始めるように機械1に命令する。第2の濯ぎ段階（ステップ1460、1462）、第5の攪拌段階（ステップ1464、1466）、および第5の真空段階（ステップ1468、1470）は、第1の濯ぎ－攪拌－真空段階について以上で開示したのと同じ態様で行なわれる。第2の濯ぎ－攪拌－真空段階の間、洗浄流体V5の量ならびに処理時間T13、T14、およびT15は一般的に、第1の濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスにおけるものと同じである。

30

【0136】

試料を固定し、フルオレセインおよびチアジン染料で染色し、かつ濯いだ後、機械1は、ステップ1472で乾燥段階を開始する。乾燥機4は、試料にわたって8秒の期間T16、1分当たり10リットルの流量で、約120°の空気の流れを方向付ける（ステップ1474）。

【0137】

これらのステップの完了に続いて、ステップ1476で、基板2はその元の位置に戻される。このステップで、図1に示すように、アクチュエータ30Aは試料処理位置から開放位置に基板2を回転させる。次に、基板移動機が基板2を外してもよく、新しい試料の処理のために新しい基板を搬入してもよい。

40

【実施例2】

【0138】

実施例1について上述した処理ステップを、発明の他の実施形態では以下のように調整してもよい。さらに、米国仮特許出願番号第61／505,011号に開示される固定剤、染料および濯ぎ溶液処方を以下の実施例の処理ステップで用いることができる。

【0139】

第1の固定段階（ステップ1412、図10も参照）の間、ステップ1414で、ポンプは、試料3に固定剤溶液を塗布する。図2に示す流体チューブ54Aに接続されるポン

50

プ 2 0 0 A は、固定剤貯蔵部 2 1 0 から、チューブ 5 4 A を通して、ポート 4 4 A から外へ、プラットフォーム 6 0 A の上に、基板 2 の上に、かつプラットフォーム 6 0 A と基板 2 との間の離間部 9 2 の中へ、メタノールを備える固定剤溶液を押出す。ポンプ 2 0 0 A は、2 秒の期間 T 1、1 秒当たり 1 1 5 マイクロリットルの流量で、ポート 4 4 A から固定剤溶液を押出し、これにより基板 2 に対して合計 2 3 0 マイクロリットルの固定剤溶液 V 1 を方向付ける。

【0 1 4 0】

次に、第 1 の攪拌ステップ 1 4 1 6 で、制御システム 5 は、試料処理位置から 3 5 ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板 2 の近接端縁を持上げるようにアクチュエータ 3 0 A に命令し（ステップ 1 4 1 8）、試料をその試料処理位置に戻すことによって基板を攪拌する。機械 1 はこの攪拌ステップをあと 5 回繰返す。機械 1 は、約 1 2 秒で 6 回の攪拌の動きを完了する。攪拌の後、制御システムは真空ステップ 1 4 2 0 を開始する。1. 5 秒 T 3 の間、 -6 psi の真空力を加え、離間部の中、プラットフォームの上、または基板の上に存在するいずれの残留固定剤溶液も、ポート 4 0 A および 4 1 A ならびに廃棄物チューブ 5 0 A および 5 1 A を介して排出される（ステップ 1 4 2 2）。排出された固定剤溶液は廃棄物容器 2 3 0 および／または 2 3 1 の中に収集される。

【0 1 4 1】

その後、第 2 の攪拌ステップを含む第 2 の固定段階で、第 1 の固定段階および第 1 の攪拌ステップの以上のステップを繰返す。

【0 1 4 2】

固定段階に引続き、制御システム 5 は第 1 の染色段階を開始する（ステップ 1 4 2 4）。そうする際、制御システム 5 は、試料を染色するように機械 1 に命令する（ステップ 1 4 2 6）。図 2 および図 1 1 のフローチャートを参照して、流体チューブ 5 2 A に接続されるポンプ 2 0 1 は、染料貯蔵部 2 1 1 A から、ポート 4 2 A から外へ、プラットフォーム 6 0 A の上に、試料 3 を含む基板 2 の上に、かつプラットフォーム 6 0 A と基板 2 との間の離間部 9 2 の中へ、エオシン Y を備える第 1 の染料溶液を押出す。ポンプ 2 0 1 は、2 秒の期間 T 4、1 秒当たり 1 1 5 マイクロリットルの流量で、ポート 4 2 A を通して第 1 の染料溶液を供給し、これにより基板に対して 2 3 0 マイクロリットルの第 1 の染料溶液 V 2 を方向付ける。

【0 1 4 3】

第 1 の染料溶液を試料 3 に塗布した後、機械 1 は、ステップ 1 4 3 0 で試料処理位置から 3 5 ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板 2 の近接端縁を持上げ、次に試料をその試料処理位置へ戻すようにアクチュエータ 3 0 A に命令することによって、第 2 の攪拌ステップ 1 4 2 8 を行なう。制御システム 5 はこの攪拌ステップを機械 1 にあと 2 回繰返させ、図 1 7 に示すように、約 6 秒 T 5 の期間にわたって 3 回の攪拌を完了させる。

【0 1 4 4】

次に、ステップ 1 4 3 2 で第 2 の真空段階が開始される。ステップ 1 4 3 4 で 3 秒 T 6 の間、 -5 psi の真空を加えて、離間部 9 2 の中またはプラットフォームおよび基板の上に存在するいずれの残留第 1 染料溶液も、ポート 4 0 A および／または 4 1 A ならびに廃棄物チューブ 5 0 A および 5 1 A を介して排出される。排出された第 1 の染料溶液は廃棄物容器 2 3 0 A および／または 2 3 1 A の中に収集される。

【0 1 4 5】

エオシン Y を含む第 1 の染料溶液で試料を染色した後、機械 1 は、アズール B およびメチレンブルーを含む第 2 の染料溶液を用いて、ステップ 1 4 3 6 で第 2 の染色段階を開始する。流体チューブ 5 3 A に接続されるポンプ 2 0 2 は、染料貯蔵部から、ポート 4 3 A を通して、プラットフォーム 6 0 A の上に、基板 2 の上に、かつプラットフォーム 6 0 A と基板 2 との間の離間部 9 2 の中へ、第 2 の染料溶液を押出す（ステップ 1 4 3 8）。機械 1 は、2 秒の期間 T 7、1 秒当たり 1 1 5 マイクロリットルの流量で、ポート 4 3 A を通して第 2 の染料溶液を供給し、これにより基板に対して合計 2 3 0 マイクロリットルの第 2 の染料溶液 V 3 を方向付ける。

【0146】

染料を試料3に塗布した後、機械1は、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ基板2の近接端縁を持上げるように（ステップ1442）、次に試料3をその試料処理位置に戻すようにアクチュエータ30Aに命令することによって、ステップ1440で第3の攪拌段階を開始する。機械1はこの攪拌ステップをあと2回繰返す。機械は、約6秒T8の期間にわたって3回の攪拌の動きを完了する。

【0147】

次に第3の真空ステップ1444が開始される。2秒T9の間、 -6 psi の真空を加え、攪拌の後、ステップ1446で、離間部の中またはプラットフォーム60Aおよび基板2の上に存在する残留第2染料溶液を、ポート40Aおよび／または41Aならびに廃棄物チューブ50Aおよび／または51Aを介して排出する。排出された第2の染料溶液は廃棄物容器230Aおよび／または231Aの中に収集される。

10

【0148】

次に機械1は、2つの濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスを行なう。第1のシーケンスの段階は、制御システム5が第1の濯ぎ段階を開始するように機械1に指示するステップ1448で開始される。濯ぎ溶液を含有する貯蔵部213Aがポンプ203および流体チューブ55Aに接続される。ポンプ203は、ステップ1450で、ポート45Aの中に入る洗浄チューブ55Aを通して、離間部92の中へ、かつプラットフォーム60Aおよび基板2の上に濯ぎ溶液を方向付けて、試料3を濯ぐ。これに代えて、いくつかの実施形態では、濯ぎ溶液は流体ポート42A～45Aのうち2つ以上を通して方向付けられる。ポンプ203は、2秒T10の間、1秒当たり115マイクロリットルの流量で、ポート45Aから外へ濯ぎ溶液を方向付けて、これにより基板に対して合計230マイクロリットルV4の水を方向付ける。

20

【0149】

次に、制御システム5は、ステップ1452で第4の攪拌段階を開始し、試料処理位置から35ミクロンの距離だけ鉛直方向に基板2の近接端縁を持上げるようにアクチュエータ30Aに命令し（ステップ1454）、試料をその試料処理位置に戻す。次に、制御システム5は、この攪拌段階をあと3回繰返し、約8秒T11で4回の攪拌を完了するように機械1に命令する。

【0150】

30

次にステップ1456で真空段階が開始される。ステップ1458で、5.5秒T12の間加えられる5 psiの真空は、攪拌の後、離間部92の中またはプラットフォーム60Aおよび基板2の上に存在する残留濯ぎ溶液を、ポート40Aおよび／または41Aならびに廃棄物チューブ50Aおよび／または51Aを介して排出する。

【0151】

その後、ステップ1460で、制御システム5は、第2の濯ぎ段階を開始することによって、第2の濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスを始めるように機械1に命令する。第2の濯ぎ段階（ステップ1460、1462）、約12秒で完了する6回の攪拌を備える第5の攪拌段階、および第5の真空段階（ステップ1468、1470）は、第1の濯ぎ－攪拌－真空段階について以上で開示したのと同じ態様で行なわれる。第2の濯ぎ－攪拌－真空段階の間、濯ぎ溶液V5の量ならびに処理時間T13、T14、およびT15は、第1の濯ぎ－攪拌－真空段階シーケンスにおけるものとはほぼ同じである。さらに、真空段階の直前に、アクチュエータ30Aは、試料処理位置から15－35ミクロンの距離だけ基板2の近接端縁を持上げる。基板2とプラットフォーム60との間のこの増大した離間は、最終真空段階の際の離間部92中のいずれの残留流体の排出も向上させる。

40

【0152】

試料を固定し、エオシンYを含有する第1の染料溶液ならびにアズールBおよびメチレンブルーを含有する第2の染色溶液で染色し、かつ濯いだ後、ステップ1472で、機械1は乾燥段階を開始する。乾燥機4は、8秒の期間T16、1分当たり10リットルの流量で、試料にわたって約120°の空気の流れを方向付ける（ステップ1474）。

50

【0153】

これらのステップの完了に引続いて、ステップ1476で基板2はその元の位置に戻れる。このステップで、図7に示すように、アクチュエータ30Aは、試料処理位置から開放位置へ基板2を回転させる。次に、基板移動機が基板2を外してもよく、新しい試料の処理のために新しい基板を搬入してもよい。

【0154】

上述の実施例の試料の処理ステップで図示するように、本明細書中に開示するシステムおよび方法は、自動化されたおよび手動での試料準備技術を含む従来の試料処理方法と比較して消費する試薬がより少ないことにより、より効率的な試料処理を提供する。実施例2を参照して、機械1が例示的な処理ステップの間に試料を固定し、染色し、かつ濯ぐために消費した試薬は1.5ミリリットル未満であった（たとえば、460マイクロリットルの固定剤溶液+230マイクロリットルの第1の染色溶液+230マイクロリットルの第2の染色溶液+460マイクロリットルの濯ぎ溶液=1380マイクロリットルの試薬）。いくつかの実施形態では、試料処理の際に1380マイクロリットルよりも多いまたはそれよりも少ない流体を用いることができる。たとえば、試料を処理するのに用いる流体の量は、（たとえば濯ぎ段階のうち1つを省くことにより）約1150マイクロリットル、または（固定剤段階のうち1つをさらに省くことにより）1,000マイクロリットル未満であり得る。

10

【0155】

図17に関して、実施例1について、例示的な処理ステップの際に、試料を固定し、染色し、かつ濯ぐために機械1が消費した試薬は1ミリリットル未満であった（たとえば、140マイクロリットルのメタノール固定剤+140マイクロリットルのフルオレセイン色素+140マイクロリットルのチアジン色素+280マイクロリットルの濯ぎ溶液=700マイクロリットルの試薬）。いくつかの実施形態では、試料処理の際に700マイクロリットルよりも多いまたは少ない流体を用いることができる。たとえば、試料を処理するのに用いる流体の量は、（たとえば、濯ぎ段階のうち1つを省くことにより）約560マイクロリットルであり得る。

20

【0156】

一般的に、消費される流体の合計容積は、500マイクロリットル以上（たとえば、520マイクロリットル以上、540マイクロリットル以上、560マイクロリットル以上、580マイクロリットル以上、600マイクロリットル以上、650マイクロリットル以上、700マイクロリットル以上、750マイクロリットル以上）および／または2mL以下（たとえば、1.5mL以下、1.4mL以下、1.3mL以下、1.2mL以下、1.1mL以下、1.0mL以下、900マイクロリットル以下）であり得る。

30

【0157】

図17および実施例1を参照して、試料準備プロセスは1分よりもわずかに長い時間で完了する（たとえば、固定段階の間に経過する13.5秒+フルオレセイン色素段階の間に経過する11秒+チアジン色素段階の間に経過する12秒+濯ぎ段階の間に経過する23秒+乾燥段階の間に経過する8秒=67.5秒の合計経過時間）。ある実施形態では、試料の準備は、実施例2のように、67.5秒よりも長いまたはそれよりも短い時間で完了可能である。たとえば、試料処理は180秒以下（たとえば、150秒以下、120秒以下、90秒以下、80秒以下、70秒以下、60秒以下、50秒以下、または40秒以下）で完了可能である。

40

【0158】

さらに、以上の例示的なプロセスは単一の試料についての処理時間を説明する一方で、複数の基板を処理するためのシステムおよび方法（たとえば、2枚の基板を処理するように構成される図1の機械1、および／または3枚以上の基板を処理するように構成されるシステム）は、1時間当たり100個よりも多くの試料（たとえば、1時間当たり60個の試料から120個の試料の間）を処理することができる。研究室設定で本明細書中に開示するシステムおよび方法を使用する結果、従来の自動化されたシステムおよび手動での

50

【図 3 A】

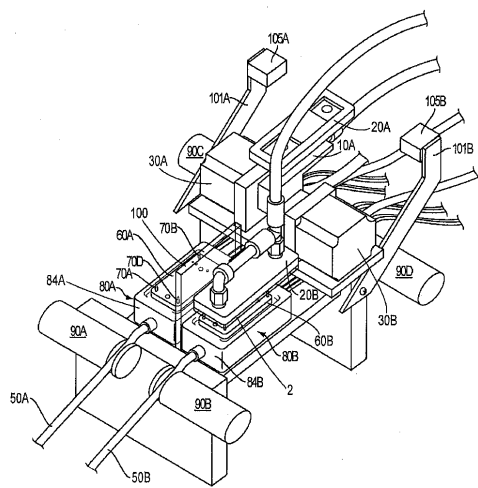


FIG. 3A

【図 3 B】

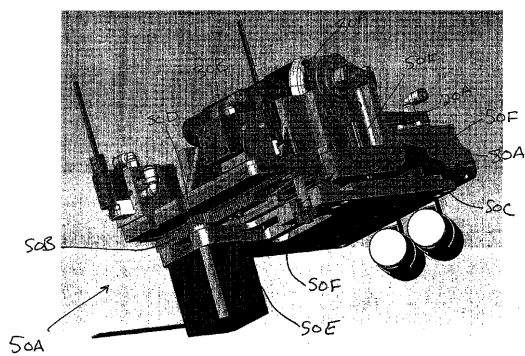


FIG. 3B

【図 4】

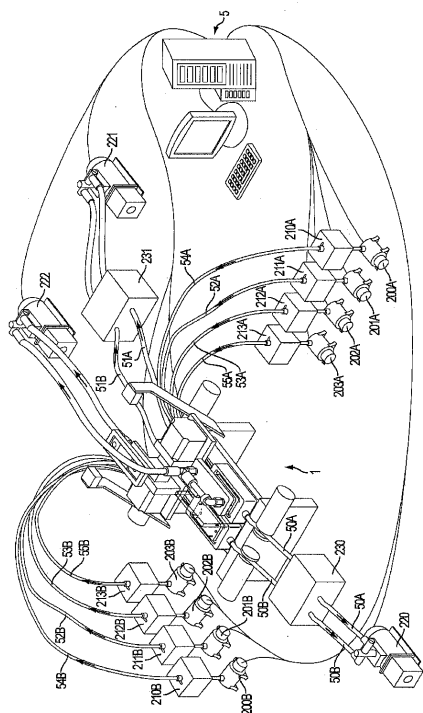


FIG.4

【図 5】

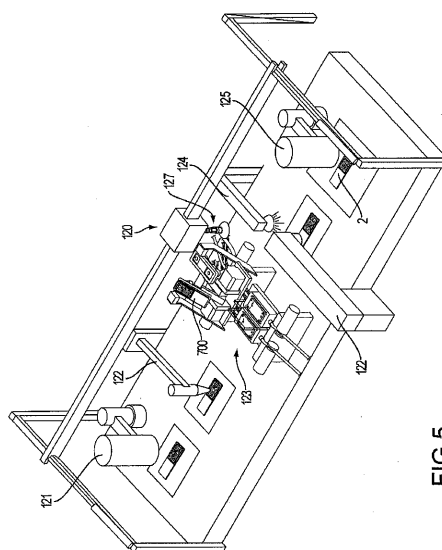


FIG. 5

【図 6 A】

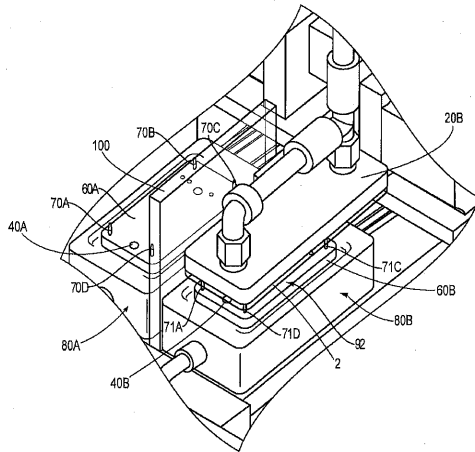


FIG. 6A

【図 6 B】

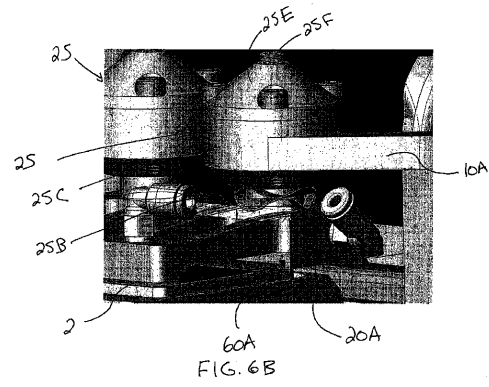


FIG. 6B

【図 6 C】

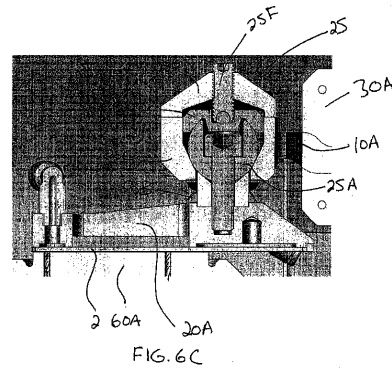


FIG. 6C

【図 15】

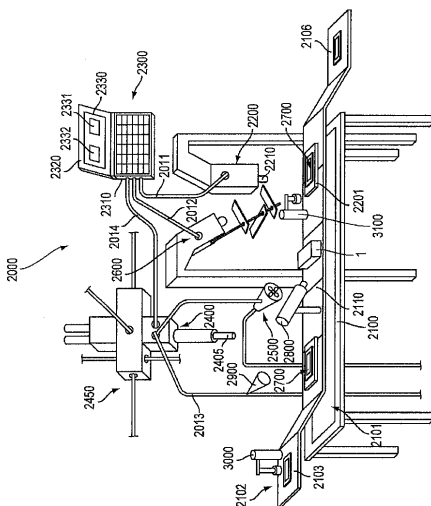


FIG. 15

【図 18 A】

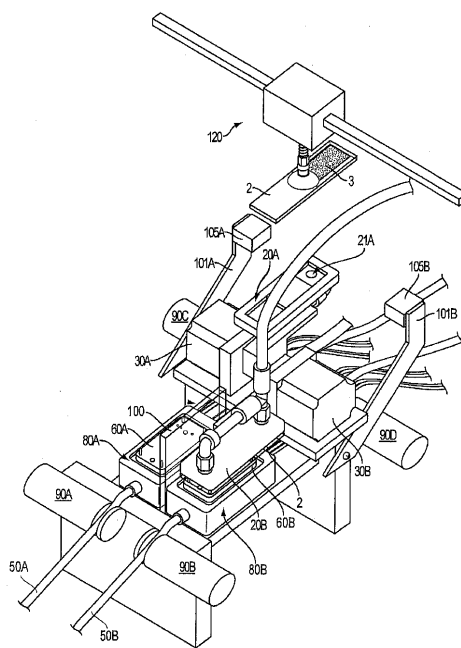


FIG. 18A

【図 7 A】

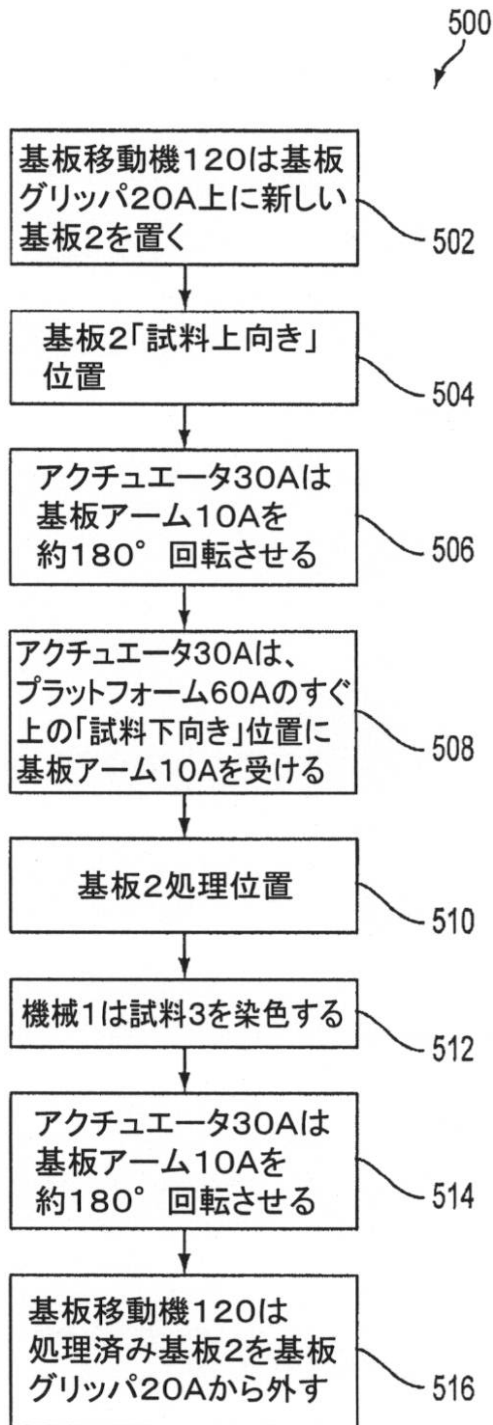


FIG. 7A

【図7B】

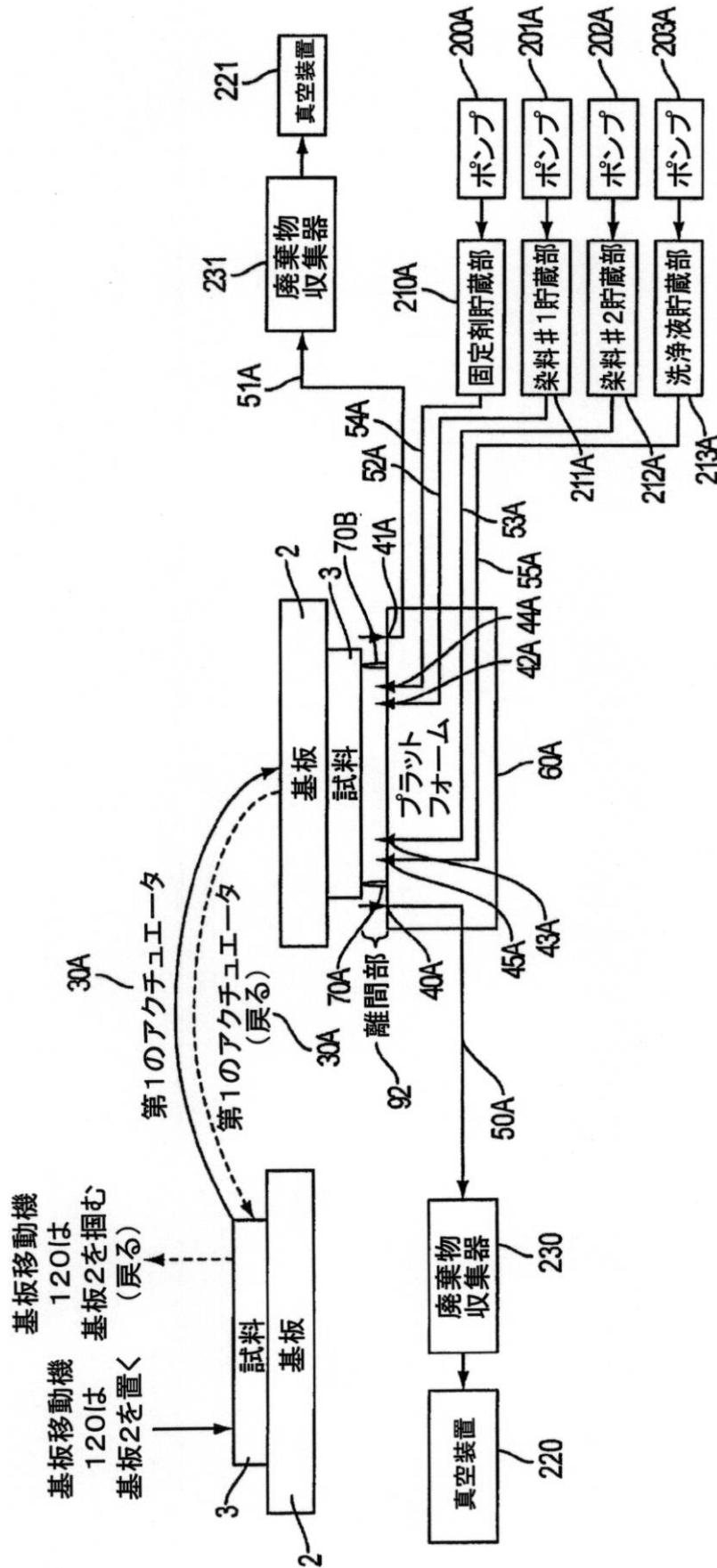


FIG. 7B

【図 8 A】

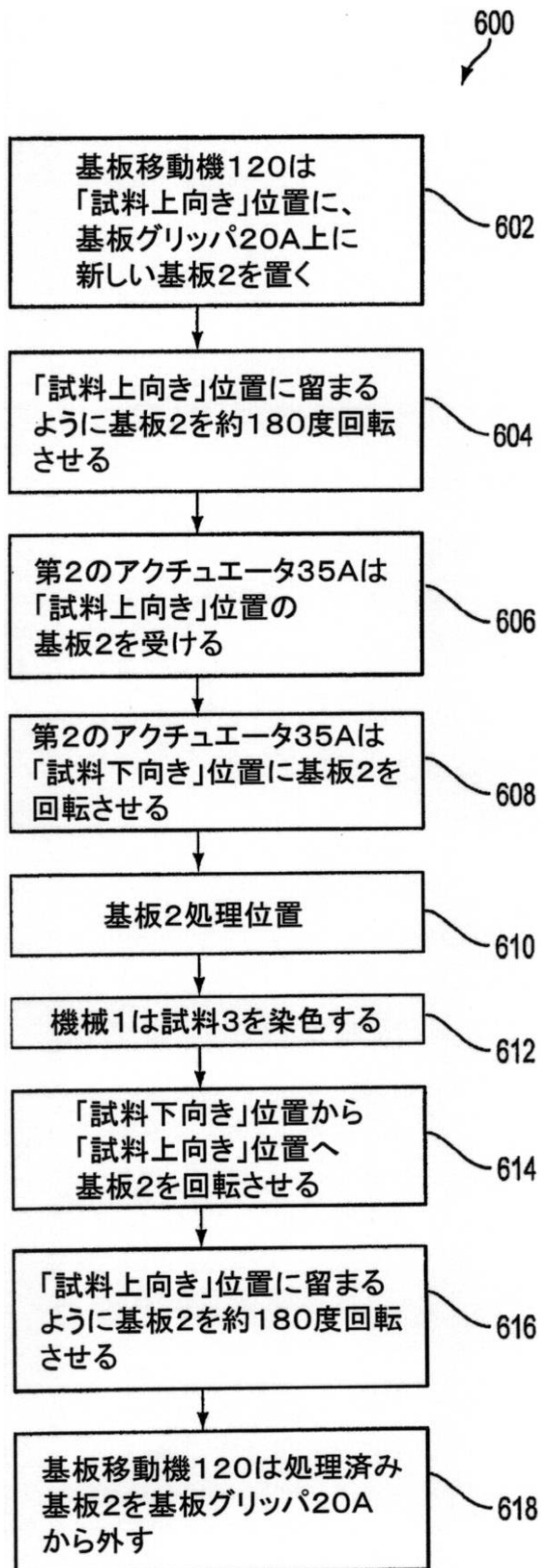
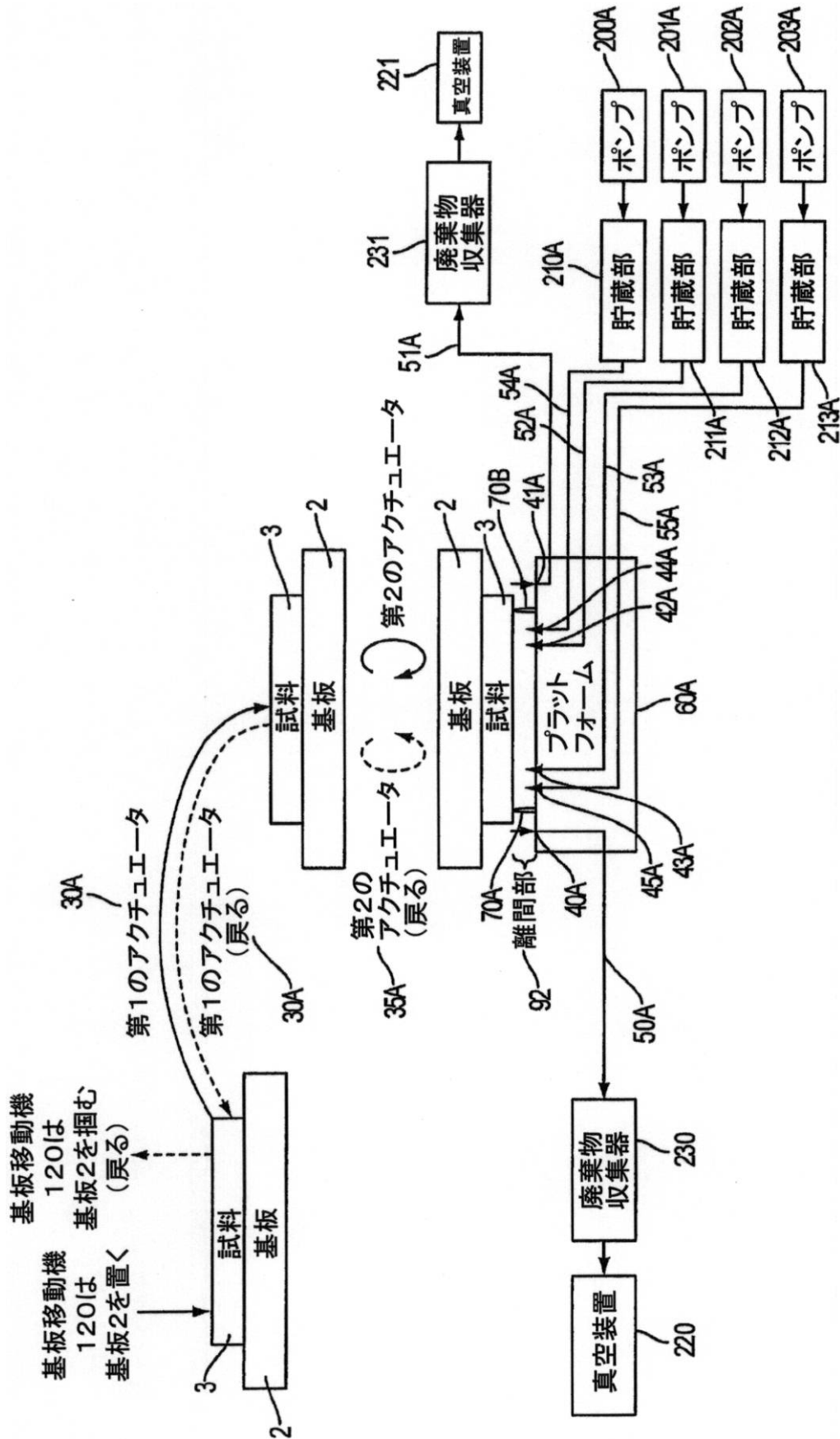


FIG. 8A

FIG. 8B



【図 9】

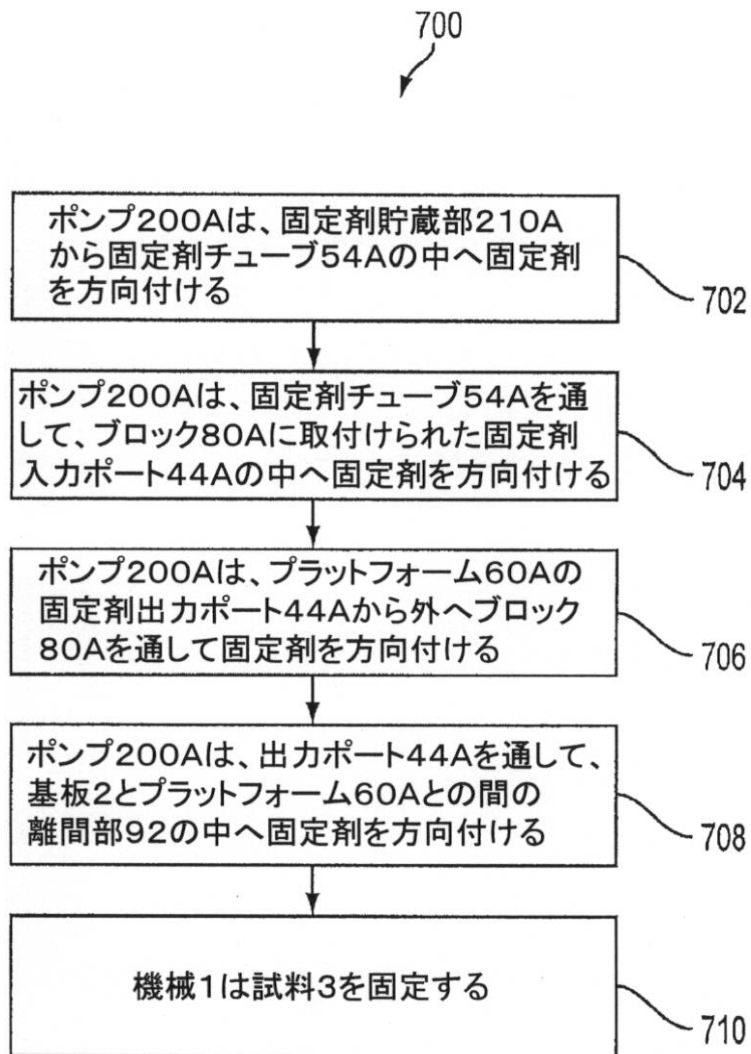


FIG. 9

【図10】

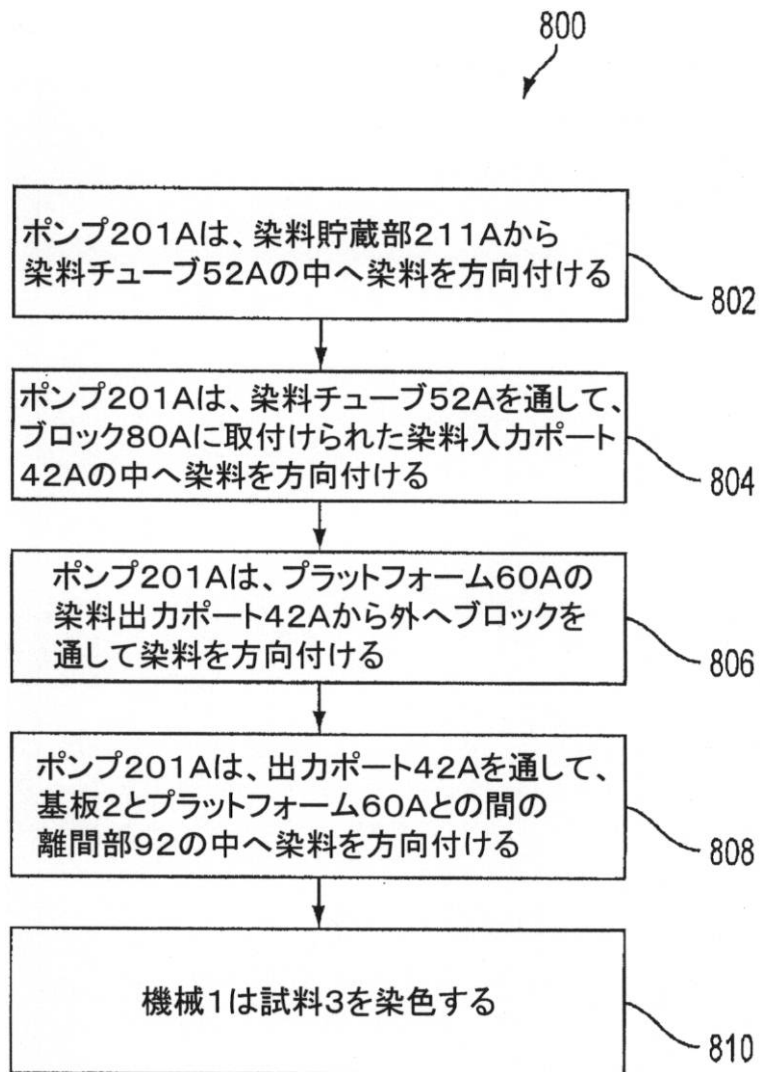


FIG. 10

【図 1 1 A】

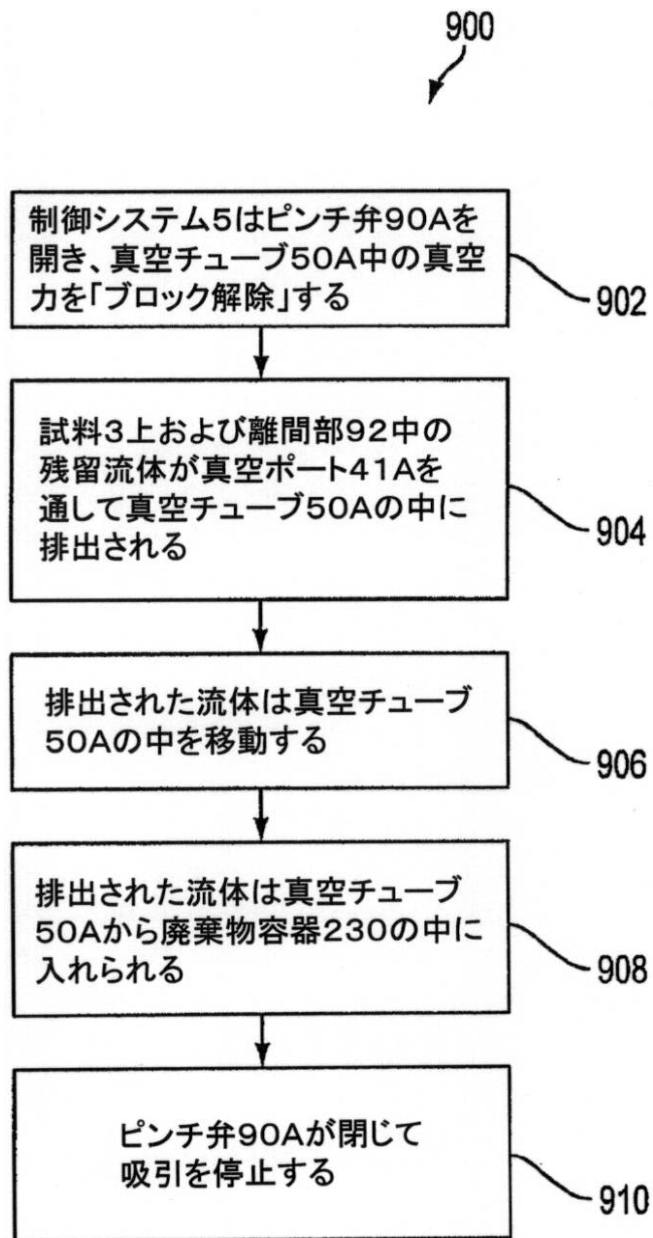


FIG. 11A

【図 1 1 B】

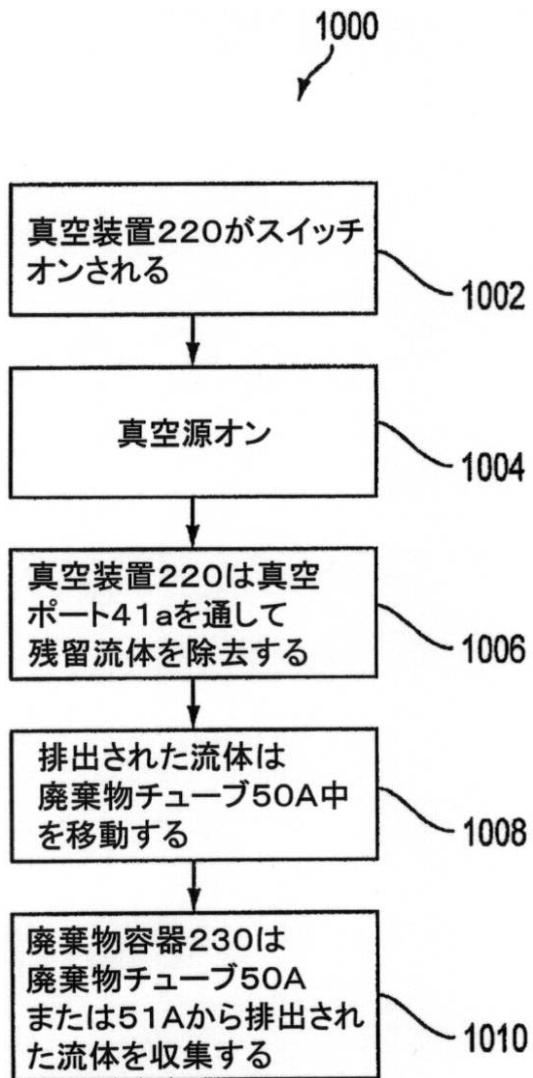


FIG. 11B

【図 12】

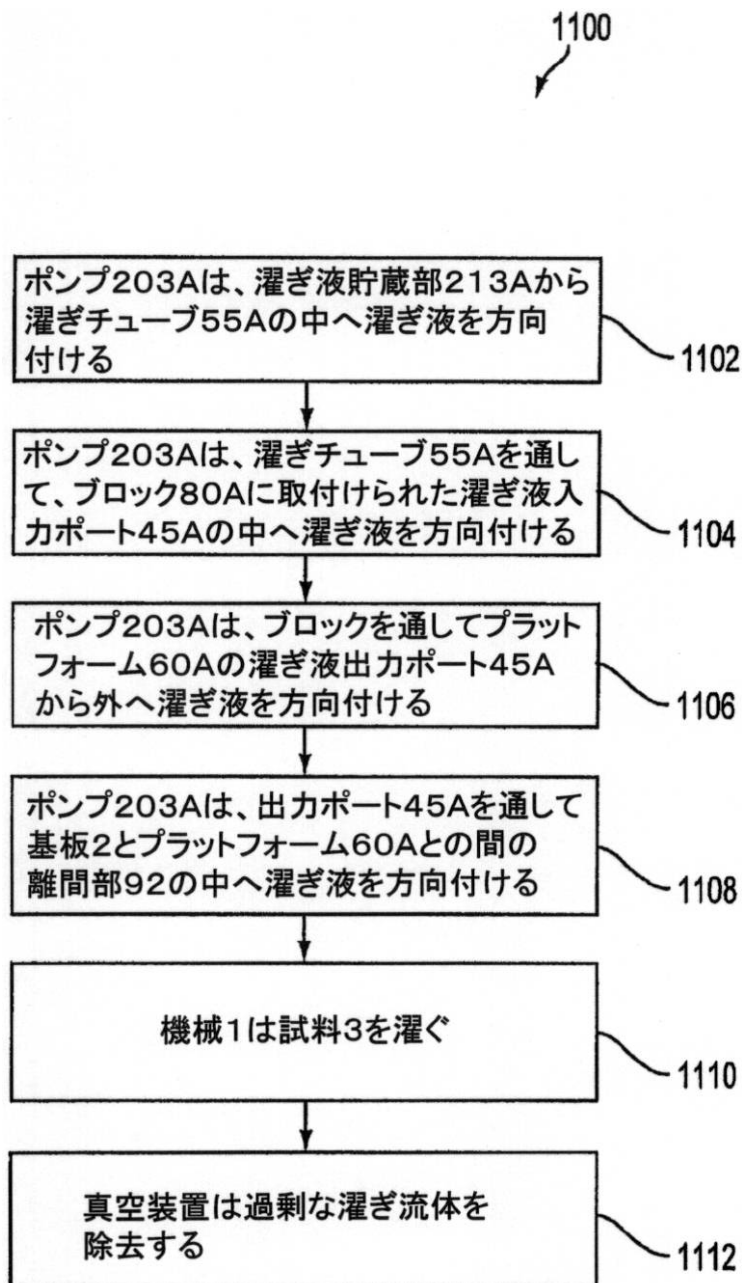


FIG. 12

【図 13】

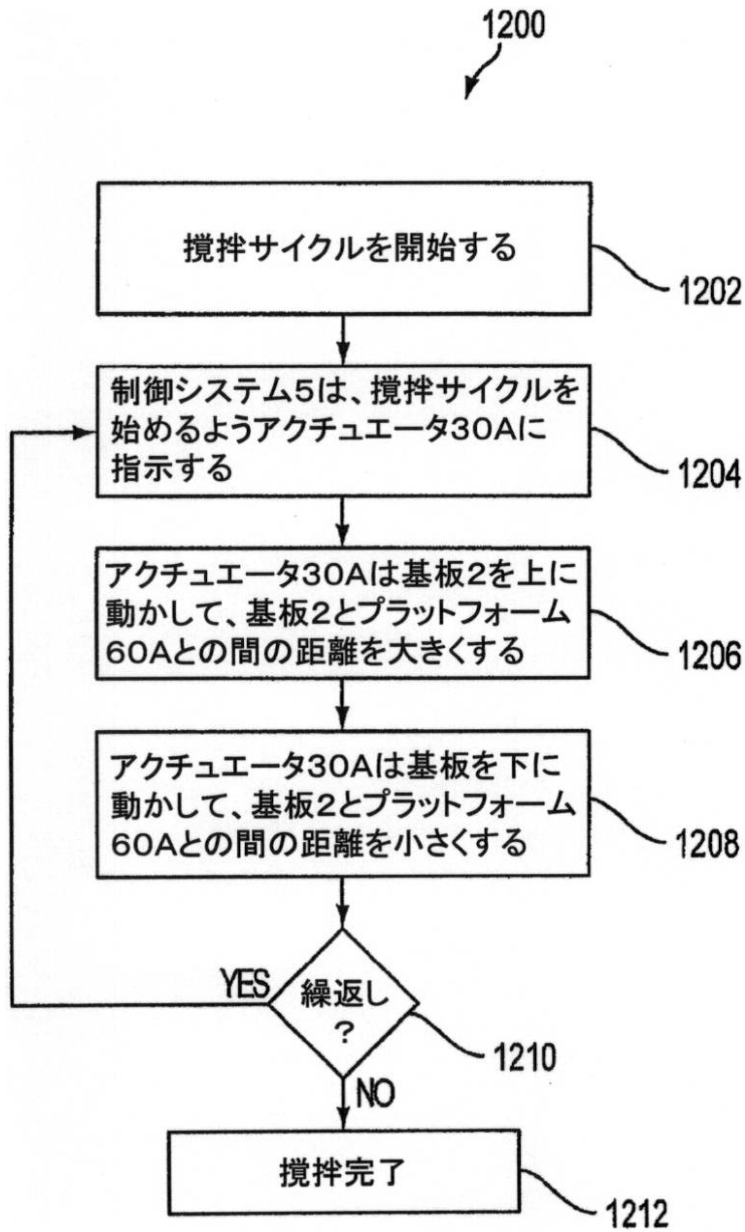


FIG. 13

【図 1 4】

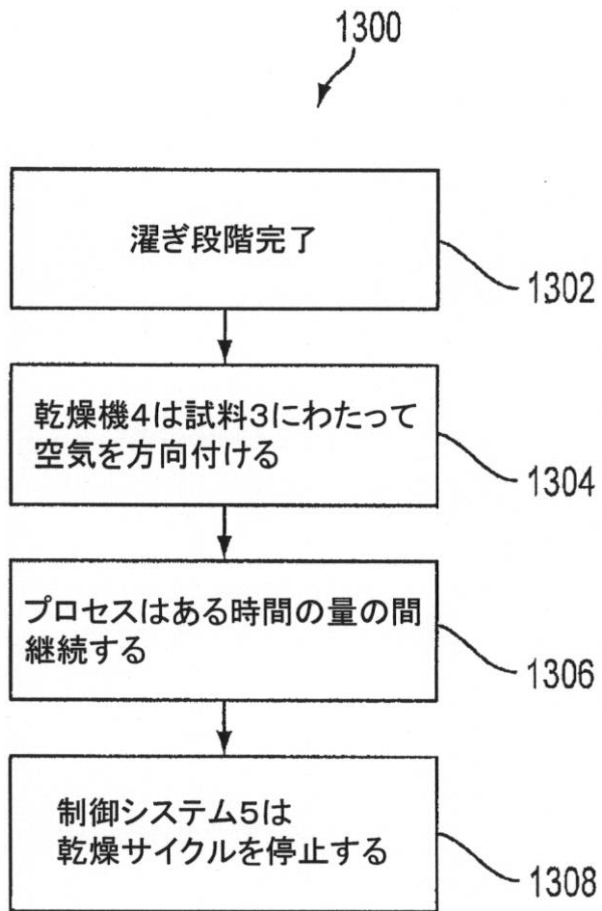


FIG. 14

【図16】

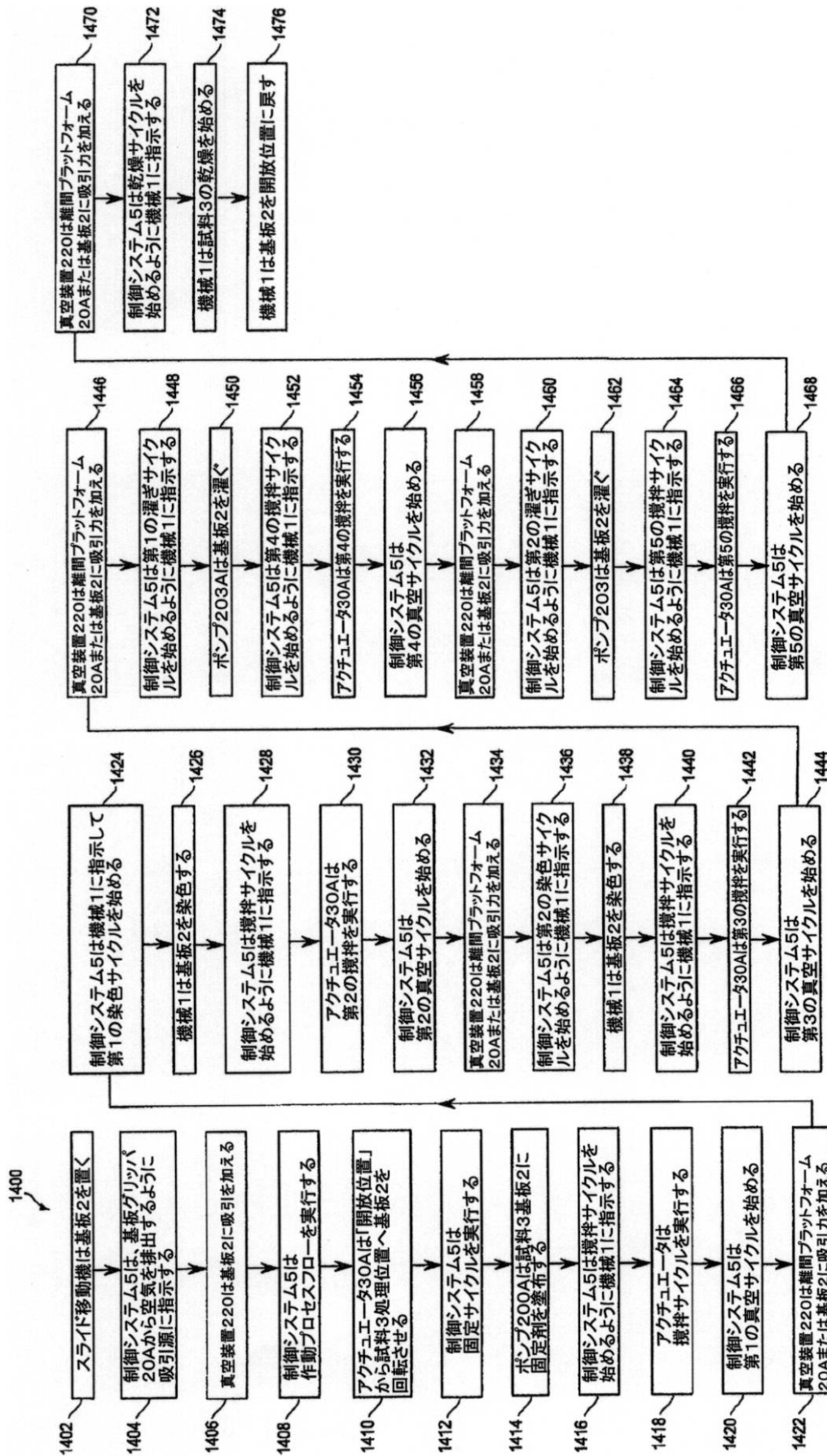
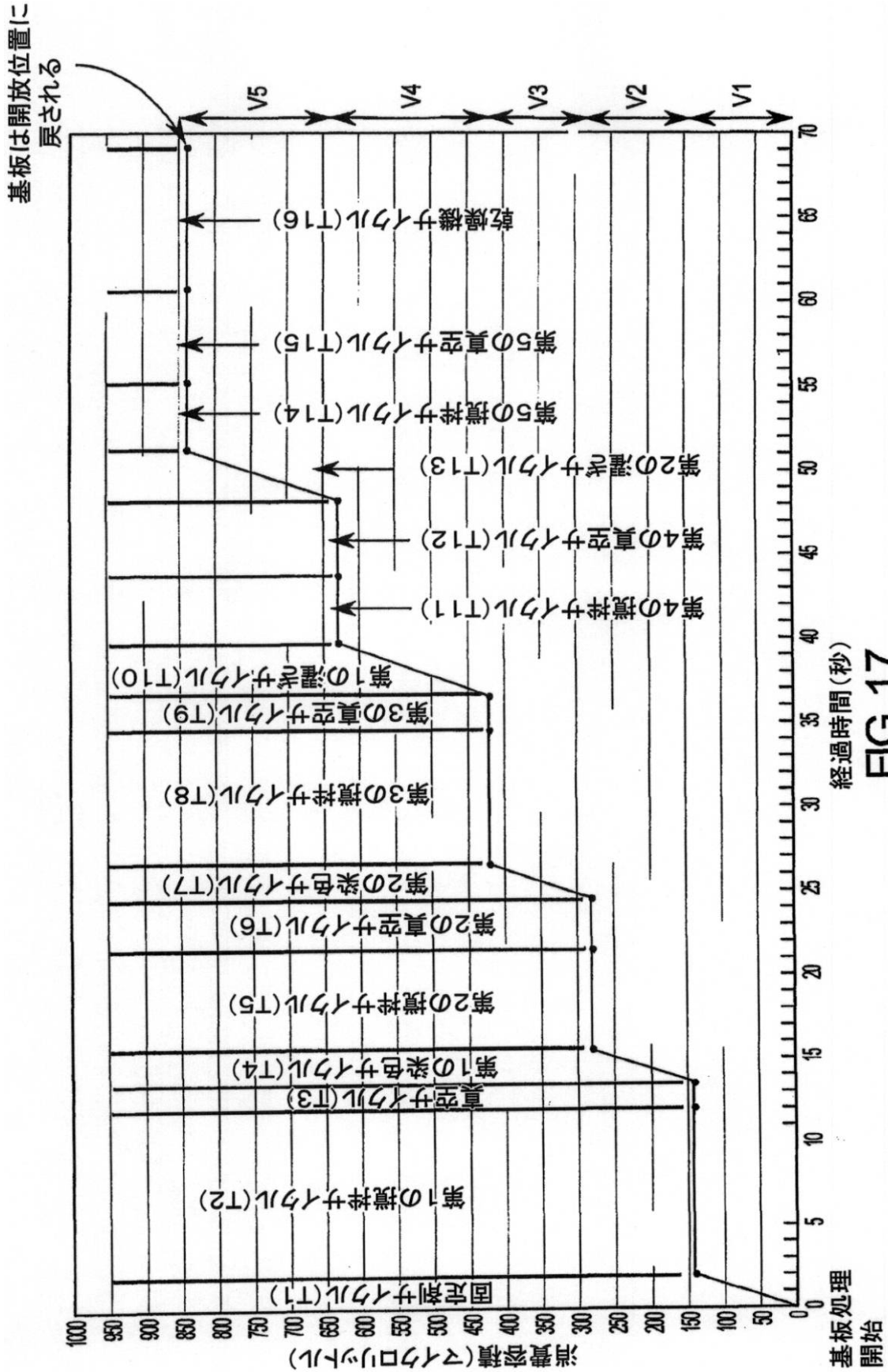


FIG. 16

【図 17】



フロントページの続き

- (72)発明者 ザーニサー, デイビッド
アメリカ合衆国、02481 マサチューセッツ州、ウェルスレイ、シェリダン・ロード、33
- (72)発明者 リカリ, マーク
アメリカ合衆国、01720 マサチューセッツ州、アクトン、チャーチ・ストリート、11
- (72)発明者 マッキーン, ブライアン・ジェイ
アメリカ合衆国、03304 ニュー・ハンプシャー州、ボウ、ノース・ボウ・ダンバートン・ロード、15
- (72)発明者 イートン, エリック・ディー
アメリカ合衆国、03234 ニュー・ハンプシャー州、エプサム、オールド・ターンパイク・ロード、59
- (72)発明者 プール, デニス
アメリカ合衆国、03038 ニュー・ハンプシャー州、イースト・デリー、バターナット・レーン、2

審査官 長谷 潮

- (56)参考文献 特開平09-021799 (JP, A)
特表2000-508423 (JP, A)
実開昭61-105846 (JP, U)
特表2008-537149 (JP, A)
特開平11-202215 (JP, A)
特表平11-502926 (JP, A)
特表2003-530545 (JP, A)
国際公開第00/063670 (WO, A1)
特表2008-507701 (JP, A)
特開平11-337460 (JP, A)
特開2006-220654 (JP, A)
特表2008-516203 (JP, A)
特表2000-503768 (JP, A)
実開平05-045549 (JP, U)
特開平09-043250 (JP, A)
国際公開第2010/074915 (WO, A2)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 1/28
G01N 1/30