



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103207448 B

(45)授权公告日 2017. 11. 24

(21)申请号 201310012849.6

(22)申请日 2013.01.14

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103207448 A

(43)申请公布日 2013.07.17

(30)优先权数据

2012-005335 2012.01.13 JP

(73)专利权人 宝丽化学工业有限公司

地址 日本国静冈县袋井市爱野1234番地

(72)发明人 平山贤哉 藪崎次郎 山崎和広

(74)专利代理机构 北京瑞盟知识产权代理有限公司 11300

代理人 刘昕

(51)Int.Cl.

G02B 21/34(2006.01)

(56)对比文件

CN 203324569 U, 2013.12.04, 权利要求1.

JP 实开平5-27670 U, 1993.04.09, 说明书第9-16段、附图1.

JP 实开平5-27670 U, 1993.04.09, 说明书第9-16段、附图1.

JP 特开2009-115813 A, 2009.05.28, 说明书第23, 35, 41段.

JP 特许第5065237 B2, 2012.10.31, 全文.

CN 101194022 A, 2008.06.04, 全文.

审查员 李雪春

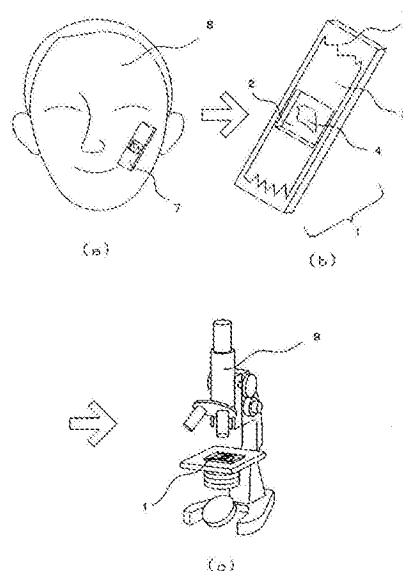
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

细胞的封入方法和细胞的观察方法

(57)摘要

本发明的目的在于提供一种在商场的柜台或店铺或者化妆品用户的顾客处,即使销售员也能简单操作的在相位差显微镜观察中使用的细胞的封入方法、以及使用相位差显微镜的细胞的观察方法。本发明的细胞的封入方法在利用相位差显微镜进行观察中使用,其特征在于,将细胞放置在透明胶带的粘接层和透明胶带的粘接层之间,用这两个胶带的粘接层来夹持并粘贴细胞。



1. 一种为了给顾客选择化妆品,而将从顾客皮肤采集的角质层细胞封入,从而利用相位差显微镜观察所述被封入的角质层细胞的角质层细胞封入方法,其特征在于,

将角质层细胞放置在透明胶带的粘接层和透明胶带的粘接层之间,利用这两个胶带的粘接层来夹持并粘贴角质层细胞,

所述透明胶带的光折射率和所述角质层细胞的光折射率的差为0.03以上。

2. 根据权利要求1所述的角质层细胞封入方法,其中,所述透明胶带的光的直线透过率为80%以上。

3. 根据权利要求1所述的角质层细胞封入方法,其特征在于,所述两个透明胶带之间没有气泡。

4. 一种为了给顾客选择化妆品,而利用相位差显微镜对从顾客皮肤采集的角质层细胞进行观察的方法,其包括:

准备在粘接层上粘贴有角质层细胞的透明胶带的工序;

将所述粘贴有角质层细胞的透明胶带的粘接层和另一个透明胶带的粘接层粘贴,准备封入有角质层细胞的透明胶带层叠体的工序;以及

用相位差显微镜观察在上述工序中准备的层叠体的工序,

所述透明胶带的光折射率和所述角质层细胞的光折射率的差为0.03以上。

细胞的封入方法和细胞的观察方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种在利用相位差显微镜进行观察中使用的细胞的封入方法、以及一种利用相位差显微镜的新的细胞的观察方法。

背景技术

[0002] 在选择适用于肌肤的状态的化妆品时,非常重要了解其所适用的肌肤的特性。作为这种了解肌肤的特性的方法,研究了使用角质层细胞的方法。因为采集角质层细胞较容易,而且角质层细胞有很多肌肤信息,因此提出了尝试观察所采集的角质层细胞,将得到的信息用于化妆品的选择的方案(例如,参照专利文献1)。

[0003] 在专利文献1中记载了用色素将从皮肤采集的角质层细胞染色,通过光学显微镜观察角质层细胞,从而鉴别皮肤的屏障功能是否良好,将该结果适用于化妆品的选择。

[0004] 使用光学显微镜时,为观察如细胞这样的无色透明的试料,需要使用染色液,在专利文献1中使用苏丹黑B。但是在观察活的试料时,染色有可能杀死试料,这种情况,若使用相位差显微镜,则不用染色也能观察近乎无色透明的试料(参照非专利文献1)。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:日本专利公开第2007-151899号公报

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1:“相位差显微镜”,科学のつまみ食い(平成23年8月26日搜索),网址:

[0010] <http://www.rikagaku.info/microscope9908/microscope07.htm>

发明内容

[0011] 由于进行肌肤状态的咨询之后选择化妆品,主要发生在商场的柜台或店铺或者化妆品用户的顾客处,因此希望可以简单地进行角质层细胞的观察。由于如使用上述相位差显微镜,则可以观察无色透明的试料,无需使用染色液,因此,对于简单地观察角质层细胞而言,是较好的方法。

[0012] 另一方面,使用相位差显微镜观察角质层等各种细胞时,如不封入细胞而直接观察,在所成的像中的物体的周边会出现被称为“光晕”的光环。因此,使用相位差显微镜观察细胞时,需要通过液体封入剂和盖片来封入细胞。在实际观察肌肤的角质层细胞,并根据其结果选择化妆品的商场的柜台或店铺或者化妆品用户的顾客处,这样的封入操作比较麻烦,而且,由于盖片薄、易碎等,操作难度大。本发明在此种情况下进行,提供一种在商场的柜台或店铺或化妆品的顾客处,销售员能够简单操作的细胞的封入方法、以及使用相位差显微镜的细胞的观察方法。

[0013] 本发明人为解决上述问题,找到简单的封入方法而进行专心研究,发现通过采用使用具有粘接层的胶带,利用该胶带从两侧夹持并粘贴细胞的简单方法,能够解决问题,因

而完成本发明。

[0014] 即,本发明如下所述。

[0015] (1)一种在利用相位差显微镜进行观察时使用的细胞的封入方法,其特征在于,将细胞放置在透明胶带的粘接层和透明胶带的粘接层之间,利用这两个胶带的粘接层来夹持并粘贴细胞。

[0016] (2)根据(1)所述的细胞的封入方法,其中,所述透明胶带的光的直线透过率为80%以上。

[0017] (3)根据(1)或(2)所述的细胞的封入方法,其中,所述透明胶带的光折射率和所述细胞的光折射率的差为0.03以上。

[0018] (4)根据(1)所述的细胞的封入方法,其特征在于,所述两个透明胶带之间没有气泡。

[0019] (5)根据(1)所述的细胞的封入方法,其中,所述细胞为角质层细胞。

[0020] (6)一种利用相位差显微镜进行的细胞的观察方法,其包括:准备在粘接层上粘贴有细胞的透明胶带的工序;将所述粘贴有细胞的透明胶带的粘接层和另一个透明胶带的粘接层粘贴,准备封入有细胞的透明胶带层叠体的工序;以及用相位差显微镜观察在上述工序中准备的层叠体的工序。

[0021] (7)一种透明胶带层叠体,其通过以彼此的粘接层相对置的方式粘贴由薄膜层和粘接层形成的透明胶带而成,其中,在粘接层和粘接层之间封入有细胞。

[0022] (8)根据(7)所述的透明胶带层叠体,其中,该层叠体用于相位差显微镜的观察。

[0023] 通过本发明的细胞的封入方法,能够简单地制备封入有细胞的胶带层叠体,即使没有专业技术,在商场的柜台或店铺或者化妆品用户的顾客处,销售员也能够简单地观察角质层细胞。由于用显微镜观察本发明的封入有细胞的胶带层叠体时不产生光晕,观察角质层细胞时能够充分观察到角质层细胞内的黑色素、核、排列规则性等,因此能够简便且即时地获得来自角质层细胞的信息。

附图说明

[0024] 图1为本发明的封入有细胞的透明胶带层叠体的剖面示意图。

[0025] 图2为表示用于本发明的用于细胞采集的部件的示例。

[0026] 图3为表示本发明的使用相位差显微镜的细胞观察方法的工序的一个例子的示意图。

[0027] 图4为在本发明的实施例1中,用相位差显微镜观察角质层细胞的结果的照片(照片)。

[0028] 图5为在本发明的参考例中,用相位差显微镜观察角质层细胞的结果的照片(照片)。

[0029] 附图标记说明

[0030] 1 透明胶带层叠体

[0031] 2、3 胶带

[0032] 4 角质层细胞

[0033] 5 薄膜层

- [0034] 6 粘接层
[0035] 7 胶带长条工具
[0036] 8 脸
[0037] 9 相位差显微镜

具体实施方式

[0038] 本发明的第一方式为在利用相位差显微镜进行观察时使用的细胞的封入方法。由于本发明的封入方法使得能够用相位差显微镜观察细胞,因此将细胞放置在透明胶带的粘接层和透明胶带的粘接层之间,利用这两个胶带的粘接层来夹持并粘贴细胞。本发明中,对观察的细胞没有特殊限定,但是,特别优选角质层细胞、角质细胞、成纤维细胞等为了分析皮肤的状态而使用的细胞。以下,以角质层细胞为例进行说明。

[0039] 角质层细胞为构成角质层的厚度为1 μ m左右的扁平细胞,由于具有很多肌肤信息,因此,通过分析角质层细胞,可以掌握在选择化妆品时应考虑的肌肤的特性。作为主要成分的角质素形成纤维并充满于角质层细胞内,构成极为坚固的细胞结构,保护皮肤内部来对抗来自外界的各种各样的刺激。但是,在角质层最外层,由于角质层细胞之间的结合力减弱,因此容易采集。在本发明中,由于已经使用从人体取得的角质层细胞,因此从人体采集角质层细胞的工序不包含在本发明的范围内。

[0040] 本发明为在使用相位差显微镜进行观察时使用的细胞的封入方法。相位差显微镜是能够将光线的相位差变换为对比度进行观察的光学显微镜,能够无染色且非冲击地观察标本。

[0041] 本发明的特征为使用透明胶带封入细胞。本发明中的透明是指可透过光,能看见胶带前面的物品,只要通过相位差显微镜能观察到观察对象即可,对于其程度和着色没有任何限定。光的直线透过率优选为80%以上,更优选为90%以上。透明胶带的光学特性的雾度(HAZE)优选不满1.5%,更优选不满1.0%。另外,优选无色。雾度是表示物体的模糊程度的值(%),数值越小表示透明胶带上不模糊,透明性高。雾度(%)= $T_d/T_t \times 100$ (T_d :扩散透过率, T_t :全光线透过率)。“光的直线透过率(平行透过率)”和“雾度”表示遵照日本工业规格JISK7136(国际标准化机构规格ISO14782)、JISK7361(国际标准化机构规格ISO13468)测定的值,例如,可以使用日本电色工业株式会社制浊度仪(HASE METER) NDH500进行测定。其中,“光的直线透过率”和“雾度”表示测定透明胶带的截面方向的值。

[0042] 本发明中使用的胶带可以使用由透明薄膜层和粘接层形成的一般胶带,可以使用市场销售的产品。具体有,Scotch(注册商标)透明美色(3M公司制造)、Scotch(注册商标)313(3M公司制造)、Scotch(注册商标)3450(3M公司制造)、Scotch(注册商标)PRO(3M公司制造)、DIAHALO(ダイアハロー、注册商标、三菱树脂公司制造)、CELLOTAPE(セロテープ、注册商标、Nichiban公司制造)、DUNPLON(ダンプロン、注册商标、日东电工公司制造)、Sekisui Orien(セキスイオリエン、注册商标、积水化学公司制造)、Sekisui cutlon(セキスイカットロン、注册商标、积水化学公司制造)、Sekisui tough light(セキスイタフライト、注册商标、积水化学公司制造)、Sekisui evercel(セキスイエバーセル、注册商标、积水化学公司制造)、Sekisuisupreme(セキスイシュプリーム、注册商标、积水化学公司制造)等。

[0043] 这些当中,如考虑相位差显微镜的特性,优选使用具有与细胞的折射率不同的折

射率的胶带,更优选使用胶带的折射率与细胞的折射率的差为0.03以上的胶带。对折射率的上限没有特殊限定,但通常在0.60以下。角质层细胞的折射率为1.55。

[0044] 胶带的薄膜层的材质如满足上述透明的要求,则没有特殊限定,对粘接层的材质也没有特殊限定。薄膜层的材质一般使用聚乙烯、聚丙烯、玻璃纸(化学名称:纤维素)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚烯烃等,粘接层的材质一般使用丙烯酸类共聚物、烯烃类共聚物、聚氨酯类共聚物、环氧类共聚物、合成橡胶、天然橡胶等。胶带的厚度没有特殊限定,能用相位差显微镜观察即可。

[0045] 本发明的封入方法的特征为,将细胞放置在两个胶带的粘接层之间,利用这两个胶带的粘接层来夹持并粘贴细胞。这样,通过将细胞夹持并粘贴在胶带之间,即使不使用液体封入剂和盖片,也能够用相位差显微镜来观察细胞,而不会产生光晕。

[0046] 在本发明的封入方法中,优选在两个胶带的粘接层之间没有气泡。在气泡进入粘接层之间时,根据该气泡的位置,有时会因为由气泡(空气)带来的折射率的变化而产生光晕。

[0047] 通过本发明的封入方法而得到的封入有细胞的透明胶带层叠体为本发明的第二方式。即,本发明的第二方式为,一种透明胶带层叠体,其通过以彼此的粘接层相对置的方式粘贴由薄膜层和粘接层形成的透明胶带而成,其中,在粘接层和粘接层之间封入有细胞。

[0048] 本发明的第三方式为利用相位差显微镜进行的细胞的观察方法,其包括,准备在粘接层上粘贴有细胞的透明胶带的工序;将所述粘贴有细胞的透明胶带的粘接层和另一个透明胶带的粘接层粘贴,准备封入有细胞的透明胶带层叠体的工序;以及用相位差显微镜观察在上述工序中准备的层叠体的工序。

[0049] 以下,利用附图来说明本发明的第一方式至第三方式。

[0050] 图1为表示本发明的第二方式的封入细胞的透明胶带层叠体的截面示意图。封入的细胞为角质层细胞。

[0051] 本发明的透明胶带层叠体1,以胶带2和胶带3彼此的粘接层6相对置的方式进行粘贴。在粘接层6和粘接层6之间封入有角质层细胞4。利用图3说明本发明的透明胶带层叠体1的制造方法、以及利用本发明的透明胶带层叠体1进行的使用相位差显微镜的角质层细胞的观察方法。

[0052] 图3为表示使用相位差显微镜的角质层细胞的观察方法的工序的一例的示意图。首先,在本发明中,准备将角质层细胞粘贴于粘接层的透明胶带。可以通过任意方法准备粘贴有角质层细胞的透明胶带均可,但是,使用图2所示的胶带长条工具7较简单。图2的胶带长条工具由塑料材质的板形成,在中央部具有采集孔。采集孔从附图内侧粘贴有胶带,采集孔部分露出胶带2的粘接层。因此,通过将胶带长条工具7的采集孔按在人的皮肤上,可简单地采集角质层细胞。

[0053] 如图3中的(a)所示,通过将胶带长条工具7按在人的脸颊等上,准备在粘接层上粘贴有角质层细胞的透明胶带。将胶带长条工具7按在人的脸颊上的工序不包含在本发明内。

[0054] 其次,将粘贴有角质层细胞的透明胶带的粘接层和另一个透明胶带的粘接层粘接,准备封入有角质层细胞的透明胶带层叠体。在粘接层上粘贴有角质层细胞4的透明胶带,如图3中的(b)所示,通过使其粘接层和另一个胶带3的粘接层相对置,使粘接层之间粘贴,从而封入存在的角质层细胞4。此时,优选不使气泡进入而封入。如此,能够制造作为本

发明的第二方式的透明胶带层叠体1。

[0055] 其次,如图3中的(c)所示,利用相位差显微镜观察准备的层叠体。如利用相位差显微镜9观察本发明的透明胶带层叠体1,即使不使用封入液和盖片,也能利用简单的方法进行角质层细胞的观察。

[0056] 实施例

[0057] 以下,利用实施例和比较例进一步详细说明本发明,但本发明不被限定性地解释为以下的实施例所示的具体方式。

[0058] <实施例1>

[0059] 使用图2所示的胶带长条工具(塑料的板状部件),从受试者的脸颊部采集角质层细胞。如图2所示的胶带长条工具上使用的胶带为DIAHALO胶带(三菱树脂公司制造),折射率为1.48~1.50,光的直线透过率为92.374%,雾度为0.55%。光的直线透过率(平行透过率)和雾度为使用日本电色工业株式会社制造的HASE METER NDH500,DIAHALO胶带的截面方向测定5次获得的平均值。

[0060] 所采集的角质层细胞,利用相同的胶带,使粘接层和粘接层相对置粘贴,封入角质层细胞,制作胶带层叠体1。此时,通过目视确认没有空气气泡的混入。

[0061] 将胶带层叠体1设置于相位差显微镜,观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。角质层细胞的观察照片如图4所示。

[0062] <实施例2>

[0063] 除将胶带变更为3M公司制造的Scotch透明美色以外,与实施例1同样,利用相位差显微镜观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。3M公司制造的Scotch透明美色的光的直线透过率为91.882%,雾度为0.82%。

[0064] <实施例3>

[0065] 除将胶带变更为Nichiban公司制造的CELLOTAPE以外,与实施例1同样,利用相位差显微镜观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。Nichiban公司制造的CELLOTAPE的光的直线透过率为89.608%,雾度为2.31%。

[0066] <实施例4>

[0067] 除将胶带变更为3M公司制造的Scotch313以外,与实施例1相同,利用相位差显微镜观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。3M公司制造的Scotch313的光的直线透过率为92.30%,雾度为0.88%。

[0068] <实施例5>

[0069] 除将胶带变更为3M公司制造的Scotch3450以外,与实施例1同样,利用相位差显微镜观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。3M公司制造的Scotch3450的光的直线透过率为91.76%,雾度为1.29%。

[0070] <实施例6>

[0071] 除将胶带变更为积水化学公司制造的透明包装用带P83T以外,与实施例1同样,利用相位差显微镜观察角质层细胞,发现没有产生光晕,可清晰地观察角质层细胞。积水化学公司制造的透明包装用带P83T的光的直线透过率为92.45%,雾度为0.48%。

[0072] <参考例>

[0073] 利用相位差显微镜通常实施的方法实施角质层细胞的观察。使用图2所示的胶带

长条工具采集角质层细胞后,将一滴液体封入剂滴入采集孔,利用盖片封入。角质层细胞的观察照片如图5所示。

[0074] 使用本发明的胶带的简单的方法,与现有的利用相位差显微镜实施的方法同样,可以清晰地观察角质层细胞。

[0075] 工业实用性

[0076] 根据本发明的封入方法、观察方法、胶带层叠体,在商场的柜台或店铺或者化妆品用户的顾客处选择化妆品时,即使销售员也能很容易地观察角质层细胞,可根据其观察结果选择合适的化妆品销售。

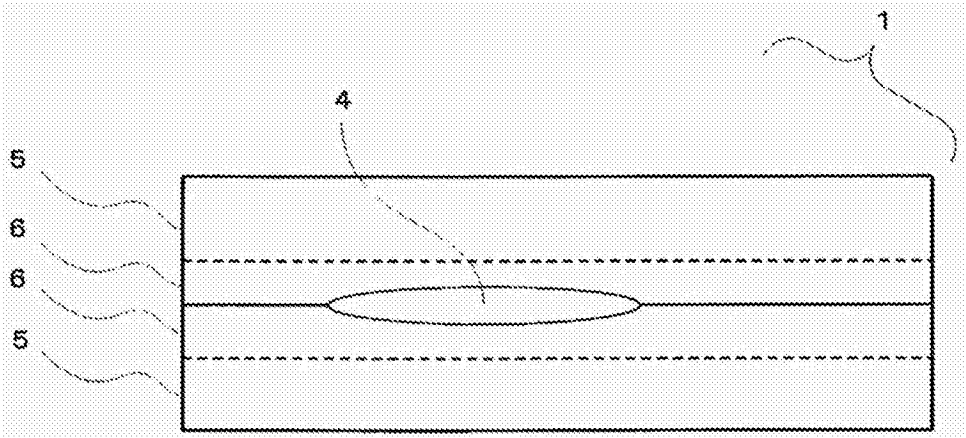


图1

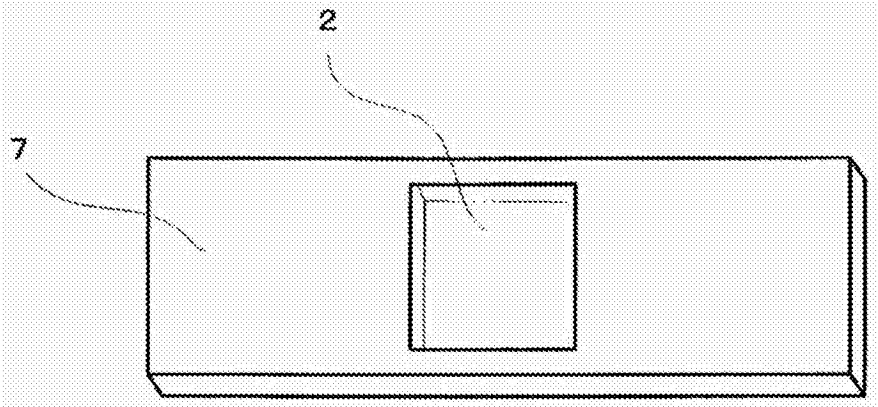


图2

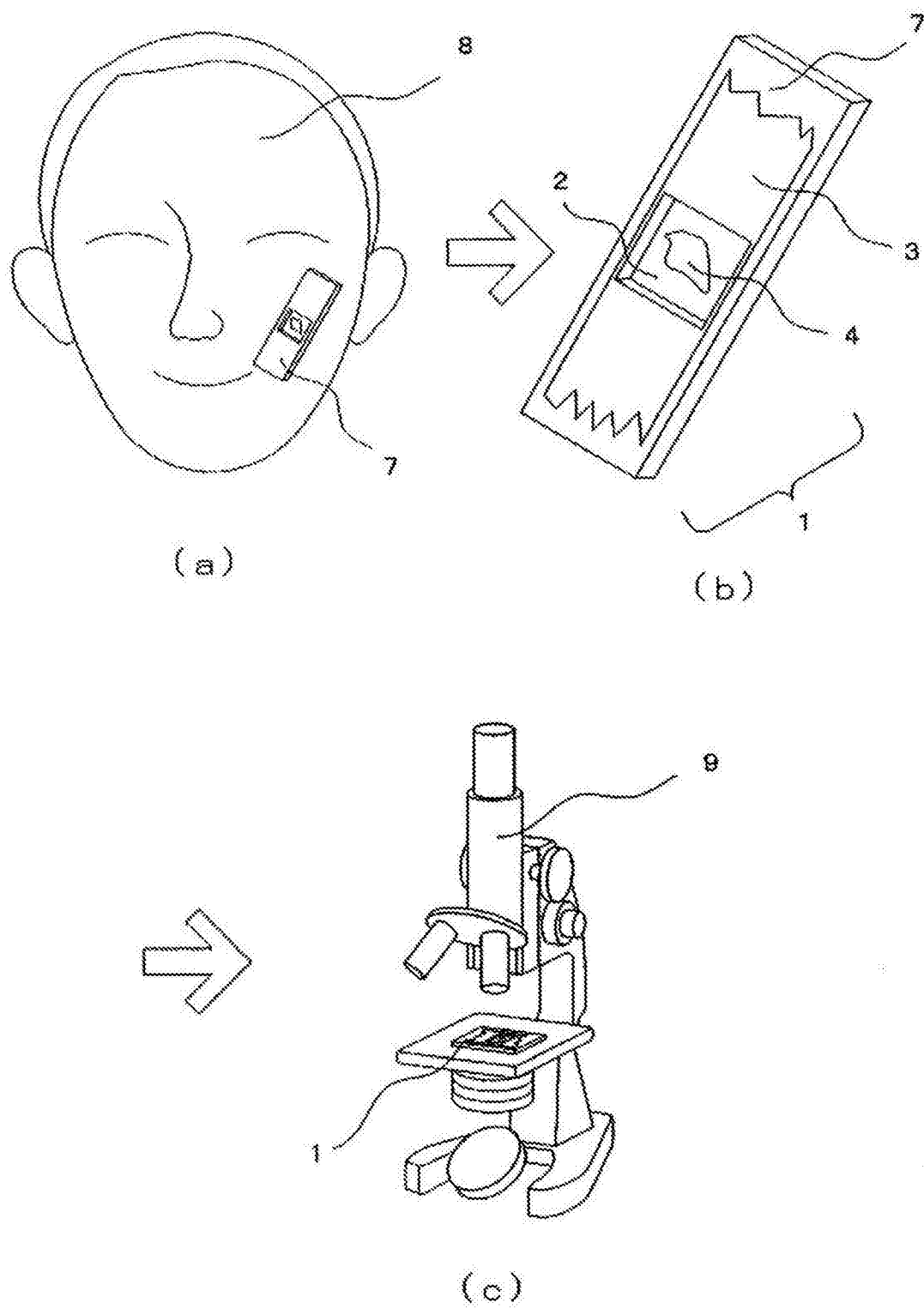


图3

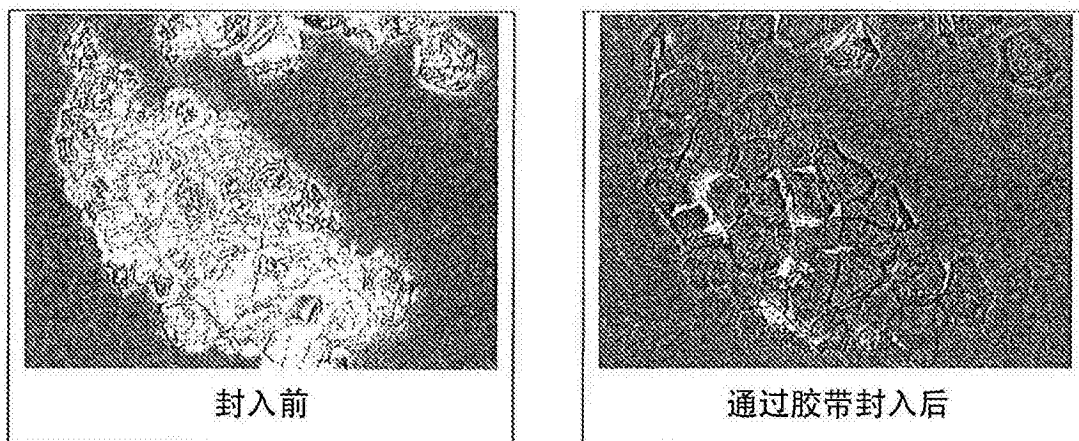


图4

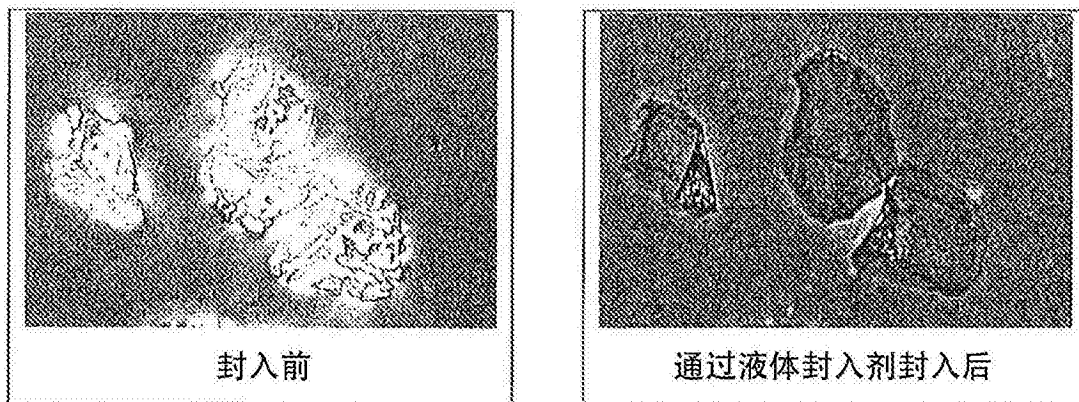


图5