

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4194233号
(P4194233)

(45) 発行日 平成20年12月10日(2008.12.10)

(24) 登録日 平成20年10月3日(2008.10.3)

(51) Int.Cl.

GO 1 N 15/14 (2006.01)

F 1

GO 1 N 15/14

A

請求項の数 6 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2000-248689 (P2000-248689)
 (22) 出願日 平成12年8月18日 (2000.8.18)
 (65) 公開番号 特開2002-62250 (P2002-62250A)
 (43) 公開日 平成14年2月28日 (2002.2.28)
 審査請求日 平成17年8月18日 (2005.8.18)

(73) 特許権者 390014960
 シスメックス株式会社
 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番
 1号
 (74) 代理人 100065248
 弁理士 野河 信太郎
 (72) 発明者 芝田 正治
 神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
 シスメックス株式会社内
 審査官 森 竜介

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】シース液供給装置および供給方法並びに試料分析装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンダからなるシリンジと、ピストンをシリンダ内で摺動させるステッピングモータとを備え、シリンダが、先端にシース液の注入・注出孔を、側壁にシリンダ内へ気体を導入するための気体導入孔をそれぞれ有するシース液供給装置。

【請求項 2】

シリンダが側壁にシリンダ内へ陰圧を導入する陰圧導入孔をさらに備えてなる請求項1記載のシース液供給装置。

【請求項 3】

ピストンとシリンダからなるシリンジを用いてシースフローセルにシース液を供給する方法であって、シリンダ内に気体とシース液とを収容し、シース液とピストンとの間に気体を介在させながらステッピングモータでピストンを駆動してシリンダからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給方法。

【請求項 4】

ピストンとシリンダからなるシリンジを用いてシースフローセルにシース液を供給する方法であって、シリンダ内に気体とシース液とを収容した状態で、ステッピングモータでピストンを駆動することによって、ステッピングモータによるピストンの脈動を気体によって吸収させながら、シリンダからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給方法。

10

20

【請求項 5】

ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンドからなるシリングと、ピストンをシリンド内で摺動させるステッピングモータとを備えたシース液供給装置であって、シリンド内に気体とシース液とを収容した状態で、ステッピングモータでピストンを駆動することによって、ステッピングモータによるピストンの脈動を気体によって吸収させながら、シリンドからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給装置。

【請求項 6】

ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンドからなるシリングと、シリングに接続されるシースフローセルと、ピストンを駆動することによって、シリンド内にシース液と気体とを導入し、シリンド内に導入したシース液をシースフローセルに供給するためのステッピングモータと、シースフローセルに試料を供給する試料供給部と、シースフローセルに供給された試料の光学特性を測定する測定部と、を備える試料分析装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

この発明は、シース液供給装置およびシース液供給方法並びにシース液供給状態評価方法に関し、特に、フローサイトメータにおいてシースフローセルへシリングを用いてシース液を供給する装置や方法に関する。

【0002】**【従来の技術】**

試料中の細胞、血球等の粒子を分析する装置として、シースフロー方式と呼ばれる方式を用いたフローサイトメータがよく知られている。この方式では、シースフローセルにおいてノズルから吐出される試料液（粒子の浮遊液）の周囲にシース液を流し、シースフローを形成することにより、シースフローセル内で試料液を細く絞ることができる。そして、絞られた試料液に対して光学的測定を行うことにより、試料液中の粒子の計測や分析を行うようにしている。なお、「シースフロー」とは、オリフィスを層流状態で流れるシース液の中央部で粒子の浮遊液（試料液）をほぼ粒子の外径まで絞り、粒子を精度良く一列に整列させて通過させる流れを言う。血液・尿等の試料を染色液や溶血剤や反応試薬などで調製した試料液を用いて、種々の細胞を分析することが行われている。

【0003】

そして、試料液は定量精度の高いシリングによってシースフローセルへ供給されるが、シース液はシース液チャンバーに一定の陽圧（0.2～1.6 kgf/cm²程度）を印加する方式を用いてシースフローセルへ供給されるようになっている（例えば、特開平10-260129号公報参照）。

【0004】**【発明が解決しようとする課題】**

しかしながら、シース液チャンバーに陽圧を印加する方式を用いてシース液をシースフローセルへ供給すると、環境温度が変化した場合にシース液の粘性が変化し、それに伴って流速が変化してシースフローセルにおける光学的測定に悪影響を及ぼす。

【0005】

そのためこの方式ではシース液の流速を一定に保つためのシース液温度調節機能が必要となり、またシース液チャンバーに陽圧を印加するための空圧源や圧力調整用のレギュレータも必要であることから、圧力調整およびシース液供給のための装置が複雑になるという問題もある。

【0006】

一方、ステッピングモータで駆動するシリングを用いてシース液をシースフローセルへ供給した場合、環境温度の変化によって流速に影響を受けることはなくなるものの、ステッピングモータのトルクの脈動等、機構的要因によってシース液の流速が変化し、シースフローセル内においてシース液および試料液に揺らぎが生じる。すなわち、シースフローが不安定な状態となる。その結果、光検出信号のグランドノイズが変動し、光学的測定に悪

10

20

30

40

50

影響を及ぼす。

【0007】

この発明は、このような事情を考慮してなされたもので、ステッピングモータで駆動するシリングを用いてシース液を供給し、流速が環境温度に影響されず、しかもステッピングモータのトルクの脈動によるシース液の流速変動、およびそれに伴う光検出信号のグランドノイズ変動を防止するようにしたシース液供給装置と供給方法、および供給状態評価方法を提供するものである。

【0008】

【課題を解決するための手段】

この発明は、ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンドラからなるシリングと、ピストンをシリンドラ内で摺動させるステッピングモータとを備え、シリンドラが、先端にシース液の注入・注出孔を、側壁にシリンドラ内へ気体を導入するための気体導入孔をそれぞれ有するシース液供給装置を提供するものである。

【0009】

また、この発明は、ピストンとシリンドラからなるシリングを用いてシースフローセルにシース液を供給する方法であって、シリンドラ内に気体とシース液とを収容し、シース液とピストンとの間に気体を介在させながらステッピングモータでピストンを駆動してシリンドラからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給方法を提供するものである。

さらに、この発明は、ピストンとシリンドラからなるシリングを用いてシースフローセルにシース液を供給する方法であって、シリンドラ内に気体とシース液とを収容した状態で、ステッピングモータでピストンを駆動することによって、ステッピングモータによるピストンの脈動を気体によって吸収させながら、シリンドラからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給方法を提供するものである。

さらに、この発明は、ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンドラからなるシリングと、ピストンをシリンドラ内で摺動させるステッピングモータとを備えたシース液供給装置であって、シリンドラ内に気体とシース液とを収容した状態で、ステッピングモータでピストンを駆動することによって、ステッピングモータによるピストンの脈動を気体によって吸収させながら、シリンドラからシース液をシースフローセルへ供給することを特徴とするシース液供給装置を提供するものである。

さらに、この発明は、ピストンとピストンを摺動可能に収容するシリンドラからなるシリングと、シリングに接続されるシースフローセルと、ピストンを駆動することによって、シリンドラ内にシース液と気体とを導入し、シリンドラ内に導入したシース液をシースフローセルに供給するためのステッピングモータと、シースフローセルに試料を供給する試料供給部と、シースフローセルに供給された試料の光学特性を測定する測定部と、を備える試料分析装置を提供するものである。

【0010】

さらに、この発明は、シースフローセルに屈折率の異なる2種類の液体をそれぞれシース液とサンプル液として供給し、シース液に包まれたサンプル液に光を照射すると共にその散乱光強度を受光素子で検出し、散乱光強度の脈動の程度からシースフローセルへのシース液の供給状態を評価するシース液供給状態評価方法を提供するものである。

【0011】

【発明の実施の形態】

この発明のシリングは、ピストンとシリンドラから構成され、ピストンおよびシリンドラは、耐薬品性を有する材料、例えば、ガラス、塩化ビニール、ステンレス鋼などを用いて製作可能である。

【0012】

シリングの容量は、シースフローセルにおいて少なくとも1回の測定に要するシース液を供給できる容量を必要とするが、それは、例えば3～5mL程度である。

ピストンをシリンドラ内で摺動させるステッピングモータには、市販のもの、例えば(株)

10

20

30

40

50

三龍社製の型式PK43 AG470-100(12)6TA-3を用いることができる。

【0013】

また、ステッピングモータの出力軸とピストンとは、回転運動を直線運動に変換する機構で接続されるが、この機構には、例えばブーリとベルトとの組合せや、ピニオンとラックとの組合せなどを用いることができる。

また、シリンダ先端のシース液の注入・注出孔は、ピストンの前進・後退運動に対応してシース液をシリンダへ注入およびシリンダから注出するための孔である。

【0014】

また、シリンダが側壁に有する気体導入孔は、シリンダ内へ収容されたシース液の液面とピストンとの間に気体（例えば空気）を導入して気体層を形成するために設けられるものである。その気体層の緩衝作用によってステッピングモータの回転ムラ（トルクの周期的変動）が吸収され、シース液の吐出速度が安定化される。従って、気体導入孔はシリンダのピストン挿入口の近傍に設けられることが好ましい。

なお、注入・注出孔および気体導入孔は、外部チューブ接続用のニップルが取付け可能であることが好ましい。

【0015】

シリンダが側壁にシリンダ内へ陰圧を導入する陰圧導入孔をさらに備えてもよい。陰圧導入孔はシリンダの軸方向について気体導入孔よりも注入・注出孔の近くに設けられることが好ましい。

【0016】

実施例

以下、図面に示す実施例に基づいてこの発明を詳述する。これによってこの発明が限定されるものではない。

シース液供給装置の構成

図1はこの発明によるシース液供給装置の実施例を示す側面図、図2は図1のA-A矢視断面図である。

【0017】

これらの図に示すように、供給装置本体60は、シリンジ61と駆動装置70から構成される。シリンジ61は、ピストン62と、ピストン62を矢印B、C方向に摺動可能に収容するシリンダ63を備え、シリンダ63は下端にシース液の注入・注出孔64を、側壁に気体導入孔65と陰圧導入孔66とを備える。シリンダ63の上部内面にはリング状のシール部材67が設けられシリンダ63の内面とピストン62の外側とを密封している。

【0018】

なお、陰圧導入孔66はシリンダ63の軸方向について気体導入孔65よりも注入・注出孔64の近くに設けられる。また、シリンジ61では、注入・注出孔64、気体導入孔65、陰圧導入孔66にそれぞれ外部チューブ接続用のニップル64a、65a、66aが付設されている。

【0019】

駆動装置70は、フレーム68と、フレーム68に設置されたステッピングモータ69と、ステッピングモータ69の出力軸に設けられた駆動ブーリ71aと、フレーム68に回転可能に支持された従動ブーリ71bと、ブーリ71aと71bとの間に張設されたエンドレスベルト72を備える。

【0020】

フレーム68は、垂直方向に設けられたスライドシャフト73を備え、スライドシャフト73は摺動子74を矢印B、C方向に摺動可能に支持し、摺動子74は水平に突出してピストン62の上端とエンドレスベルト72とにそれぞれ連結されたアーム75、76を備える。

【0021】

そして、ステッピングモータ69が回転すると、その回転運動がブーリ71a、71bとエンドレスベルト72により直線運動に変換され、その直線運動はアーム76、摺動子7

10

20

30

40

50

4, アーム 75 を介してピストン 62 に伝達される。それによってピストン 62 は、矢印 B, C 方向に駆動することができるようになっている。

【0022】

シース液供給装置を適用した尿中有形成分分析装置

図3は図1に示すシース液供給装置を尿中有形成分分析装置に適用した場合の流体系を示す系統図である。

この尿中有形成分分析装置では、シースフローセル1は、図9に示すような構成を有する。そして、シース液注入部5の注入孔5aにシース液供給装置60からシース液の供給を受け、ノズル6に試料液供給用のシリンジ44から試料液の供給を受けるようになっている。

10

【0023】

シース液供給装置本体60は、初期状態においては、図4に示すようにシリンダ63の底部の注入・注出孔64にピストン62の先端がほぼ到達する状態にある。そこで、図3のバルブ50が開かれ、ピストン62が矢印B方向(図1)に上昇すると、大気開放型のシース液チャンバー42のシース液がバルブ50を介してシリンダ63内へ吸引される。そして、図5に示すようにピストン62の先端が陰圧導入孔66の近傍に達すると、ピストン62は一旦上昇を停止し、バルブ51が開かれる。

【0024】

それによって、吸引装置49の陰圧が陰圧導入孔66を介してシリンダ63内に印加されるので、シース液はチャンバー42, バルブ50, 注入・注出孔64, 陰圧導入孔66, バルブ51を介して吸引装置49へ吸引され、シリンダ63内に吸引されているシース液から気泡が除去される。

20

【0025】

次にバルブ51が閉じられ、バルブ52が開かれると、再びピストン62は先端が気体導入孔65をやや通過するまで上昇する。それによって図6に示すように気体導入孔65から空気が導入されシース液の液面とピストン62の先端との間に空気層G(以下、エアダンパという)が形成される。

【0026】

所定容積のエアダンパが形成されるとピストン62は停止し、バルブ50と52は閉じられる。ここで、シース液供給装置本体60は、シース液の供給準備を完了する。そこで、次のように洗浄工程と測定工程が実行される。

30

【0027】

洗浄工程

先ず、バルブ41, 47, 50が開かれ、シース液を収容した大気開放型のチャンバー42からシース液が吸引装置49の陰圧により吸引される。そこで、シース液がバルブ50, シースフローセル1, ノズル6およびバルブ47を介して吸引装置49へ排出されると共に、バルブ41, 試料液供給用の定量シリンジ44およびバルブ47を介して吸引装置49へ排出され、所定時間後にバルブ41, 47, 50が閉じられる。これによって、定量シリンジ44, ノズル6, シースフローセル1およびその経路がシース液により洗浄される。

40

【0028】

測定工程

次に、バルブ46, 47が開かれ、尿中有形成分含有試料液を試薬で反応させて収容する反応チャンバー48から試料液が吸引装置49の陰圧により吸引される。バルブ46とノズル6との間の経路のシース液が試料液で置換されると、バルブ46, 47が閉じられる。

【0029】

次に、バルブ53が開かれ、シース液供給装置本体60のステッピングモータ69が駆動されてピストン62が図7に示すように注入・注出孔64に向かって進むと、シリンダ63内のシース液が注入・注出孔64を介してシースフローセル1へ供給され、図9に示す

50

よう に シースフローセル 1 の シース液注入部 5 の 注入孔 5 a へ 注入される。

【 0 0 3 0 】

次に、定量シリンジ 4 4 のピストン 4 4 b がモータ 4 4 a により駆動されると、バルブ 4 6 とノズル 6 間に存在する試料液は図 9 に示すようにノズル 6 から吐出されシース液によつて細く絞られてオリフィス部 1 3 を通過し、シース液と共に大気開放型の廃液チャンバー 4 5 へ排出される。

【 0 0 3 1 】

この時、オリフィス部 1 3 には、後述のようにレーザ光 L が照射され試料液中の尿中有形成分が光学的に計測される。そして、定量シリンジ 4 4 のピストン 4 4 b が所定時間だけ駆動して所定量の試料液がシースフローセル 1 へ供給されると、バルブ 5 3 が閉じられ測定工程は終了する。バルブ 5 7 は必要に応じて開かれ、廃液チャンバー 4 5 内に収容されたシース液と試料液が排出される。

10

【 0 0 3 2 】

なお、上述の測定工程においては、シース液は、シリンダ 6 3 からステッピングモータ 6 9 によって駆動するピストン 6 2 に押出されてシースフローセル 1 へ供給される。ステッピングモータ 6 9 は、本來回転ムラ（トルクの周期的変動）を有するが、その回転ムラは図 7 の示すエアダンパ G の緩衝作用によって吸収され、後述する性能試験の結果に示すように、シース液は流速が脈動することなく、一定流速で円滑にシースフローセル 1 へ供給される。

20

【 0 0 3 3 】

このようにして測定工程が終了すると、再び、シース液供給装置本体 6 0 のシリンダ 6 3 内へシース液を注入する工程および洗浄工程が実行され、次の工程に備えられる。

【 0 0 3 4 】

図 8 は上記尿中有形成分分析装置の光学系を示す斜視図である。同図においてレーザダイオード 2 1 から出射されたビーム L はコリメートレンズ 2 2 を介してシースフローセル 1 のオリフィス部 1 3 を照射する。オリフィス部 1 3 を通過する尿中有形成分から発せられる前方散乱光は、集光レンズ 2 4 とピンホール板 2 5 とを介してフォトダイオード 2 6 に入射する。

【 0 0 3 5 】

一方、オリフィス部 1 3 を通過する尿中有形成分から発せられる側方散乱光と側方蛍光について、側方散乱光は集光レンズ 2 7 とダイクロイックミラー 2 8 とを介してフォトマルチプライアチューブ（以下、フォトマルという） 2 9 に入射し、側方蛍光は集光レンズ 2 7 とダイクロイックミラー 2 8 とフィルタ 3 6 とピンホール板 3 0 を介してフォトマル 3 1 に入射する。

30

【 0 0 3 6 】

フォトダイオード 2 6 から出力される前方散乱光信号と、フォトマル 2 9 から出力される側方散乱光信号と、フォトマル 3 1 から出力される側方蛍光信号は、それぞれアンプ 3 2 , 3 3 , 3 4 により増幅され、解析部 3 5 に入力される。解析部 3 5 はマイクロコンピュータから構成され、フォトダイオード 2 6 , フォトマル 2 9 , 3 1 の出力信号を所定のプログラムに基づいて処理して分析し、その結果を表示装置やプリンタに出力するようになつている。

40

【 0 0 3 7 】

シース液供給装置の性能試験

図 3 および図 8 に示す尿中有形成分分析装置を用いて、シース液供給装置本体 6 0 のシース液流速変動（流速ムラ）の程度を次のようにして試験することができる。

まず、シース液として屈折率 N_T の液体を、試料液として屈折率 N_s ($< N_T$) の液体を準備する。

【 0 0 3 8 】

次に、準備した各液体をそれぞれ図 3 に示す流体系を用いてシースフローセル 1 に供給し、図 8 の光学系によってシースフローセル 1 のオリフィス部 1 3 にレーザビーム L を照射

50

し、その散乱光強度をフォトダイオード26で検出してアンプ32で増幅する。

そして、その増幅された信号波形をオシロスコープで観察する。

【0039】

シース液の流速変動によってオリフィス部13の試料流に揺らぎが生じると、シース液と試料流の屈折率の違いにより、レーザビームLの散乱光強度が変化し、アンプ32の出力信号が変動する（出力信号の変動の振幅は「試料液とシース液の屈折率」と「試料流の揺らぎの幅」に依存すると考えられる）。

【0040】

そこで、次のような屈折率 N_T 、 N_S を有する液体をそれぞれシース液、試料液として準備した。

10

$$N_T = 1.341$$

$$N_S = 1.334$$

なお、屈折率の異なる液体は、例えば、濃度の異なる食塩水によって調製できる。

【0041】

試料液流量は $1.7 \mu\text{L}/\text{秒}$ 、シース液のオリフィス部13における試料液流速は、層流が得られる値 $7.5 \text{ m}/\text{秒}$ に設定した。そして、エアダンパG（図6、図7）の有無について、アンプ32の出力波形をオシロスコープで記録した。その結果を図10と図11に示す。図10はエアダンパGが無い場合、図11はエアダンパGが有る場合を示す。

20

【0042】

また、図12において、波形（a）は図10の波形を、時間軸を10倍して記録したものであり、波形（b）はそれに対応するステッピングモータ69（図1）の駆動パルスの波形を示す。

【0043】

図10からエアダンパGが無い場合には、波形は変動（リップル）が大きく、従ってオリフィス部13で試料流の大きい揺らぎが生じるが、エアダンパGが有る場合には、図11に示すように波形の変動がきわめて小さく、従って、試料流は揺らぎが抑制され、安定した流れになることが分かる。

【0044】

また、図12は、波形（a）と波形（b）とが周期に相関関係を有することから、波形（a）の脈動の主原因がステッピングモータ69の回転ムラ（トルクの周期的変動）があることを示し、図10はその回転ムラがエアダンパGにより効果的に吸収されることを示している。

30

また、エアダンパGに必要な最小容積は、図10の波形の振幅が最小となるように設定すればよいことが分かる。

【0045】

【発明の効果】

この発明のシース液供給装置および方法によれば、供給装置そのものが、シリンジとステッピングモータとの組合せで簡単に構成できると共に、シリンジのピストン先端とシリンダ内のシース液との間に気体を介在させて、ステッピングモータによるピストンの脈動をその気体によって吸収させて、シース液を一定の安定した速度でシースフローセルへ供給することができる。

40

【0046】

また、この発明のシース液供給状態評価方法によれば、シース液および試料液に屈折率の異なる液体をシースフローセルに供給し、シースフローセルに光を照射した時の散乱光強度の脈動の程度から、シース液の供給状態について時間的变化や、揺らぎの周期・大きさ等の情報が得られ、その評価方法の簡便化が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明のシース液供給装置の実施例を示す側面図である。

【図2】図1のA-A矢視断面図である。

【図3】この発明のシース液供給装置を適用した尿中有形成分分析装置の流体系を示す系

50

統図である。

【図4】この発明の実施例におけるシリンジの動作を示す説明図である。

【図5】この発明の実施例におけるシリンジの動作を示す説明図である。

【図6】この発明の実施例におけるシリンジの動作を示す説明図である。

【図7】この発明の実施例におけるシリンジの動作を示す説明図である。

【図8】この発明のシース液供給装置を適用した尿中有形成分分析装置の光学系を示す系統図である。

【図9】この発明のシース液供給装置を適用した尿中有形成分分析装置のシースフローセルの断面図である。

【図10】比較例の性能を示す波形図である。

10

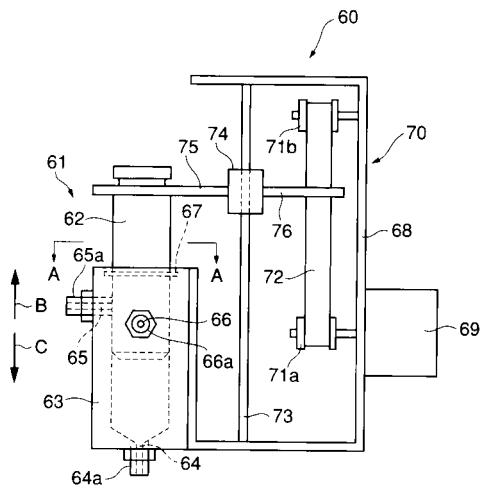
【図11】この発明の実施例の性能を示す波形図である。

【図12】比較例の性能を示す拡大波形図である。

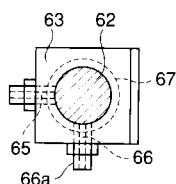
【符号の説明】

6 0	本体	
6 1	シリンジ	
6 2	ピストン	
6 3	シリンダ	
6 4	注入・注出孔	
6 4 a	ニップル	
6 5	気体導入孔	20
6 5 a	ニップル	
6 6	陰圧導入孔	
6 6 a	ニップル	
6 7	シール部材	
6 8	フレーム	
6 9	ステッピングモータ	
7 0	駆動装置	
7 1 a	駆動ブーリ	
7 1 b	従動ブーリ	
7 2	エンドレスベルト	30
7 3	スライドシャフト	
7 4	摺動子	
7 5	アーム	
7 6	アーム	

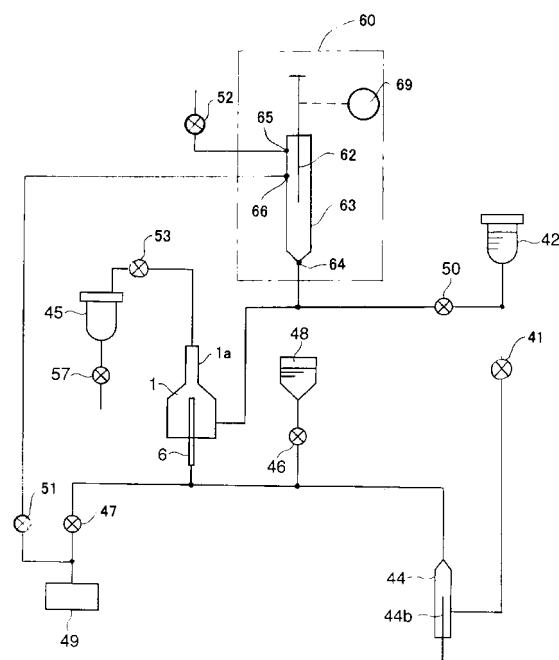
【 図 1 】



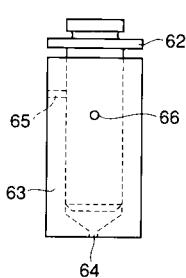
【図2】



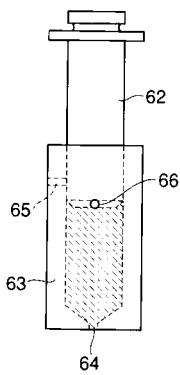
【 図 3 】



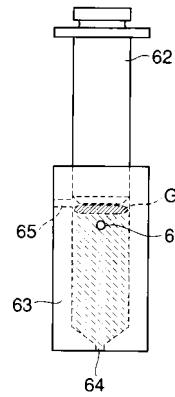
【 図 4 】



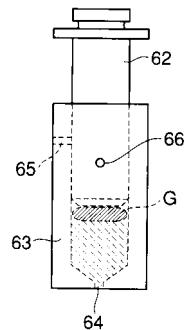
【 図 5 】



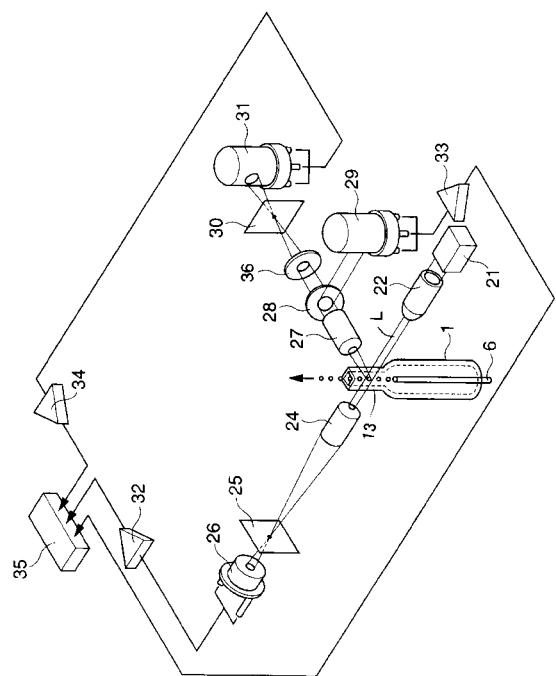
【 四 6 】



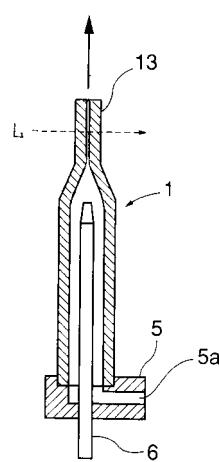
【図7】



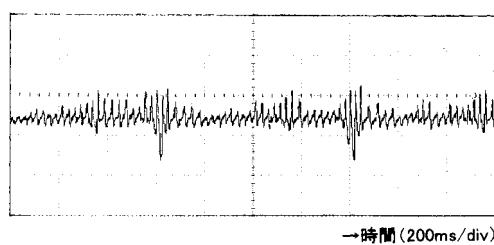
【図 8】



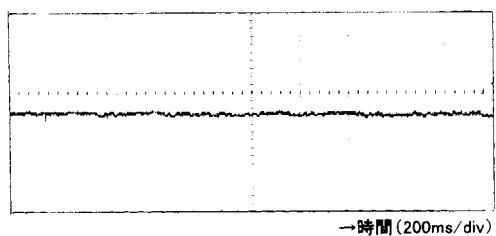
【図 9】



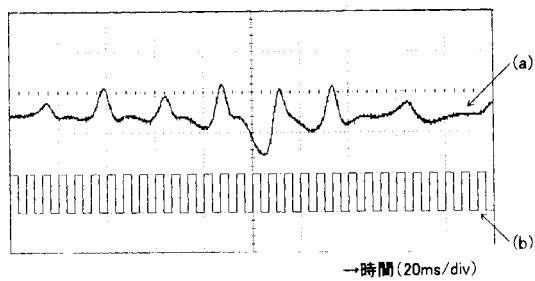
【図 10】



【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開昭63-187156(JP,A)
特開昭63-206635(JP,A)
特開平2-213745(JP,A)
特開平08-173534(JP,A)
特開平10-239323(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 15/00 ~ 15/14