

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年2月28日(28.02.2019)



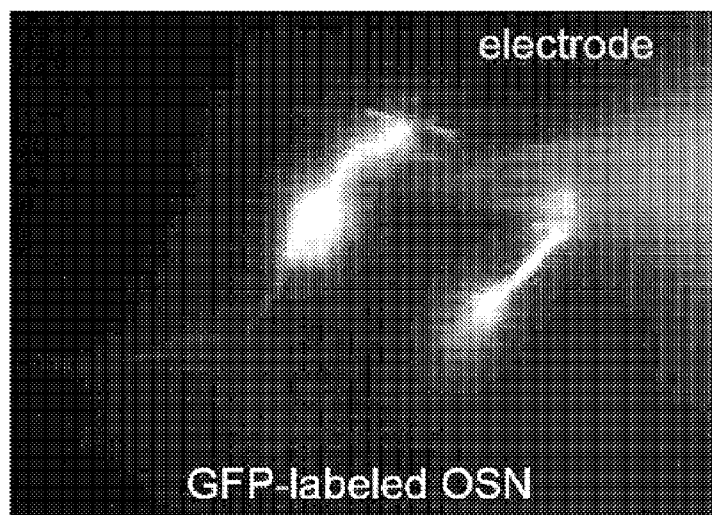
(10) 国際公開番号

WO 2019/039151 A1

- (51) 国際特許分類:
C03C 3/085 (2006.01) *C12M 1/34* (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01) *C12M 1/42* (2006.01)
G01N 27/00 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2018/027182
- (22) 国際出願日: 2018年7月19日(19.07.2018)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2017-160559 2017年8月23日(23.08.2017) JP
- (71) 出願人: A G C 株式会社 (AGC INC.) [JP/JP];
〒1008405 東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 藤井 直樹 (FUJII Naoki); 〒1008405 東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 AGC 株式会社内 Tokyo (JP). 池谷 裕二 (IKEGAYA Yuji); 〒1138654 東京都文京区本郷7丁目3番1号 国立大学法人 東京大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人サクラ国際特許事務所 (SAKURA PATENT OFFICE, P.C.); 〒1010047 東京都千代田区内神田一丁目18番14号 ヨシザワビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH,

(54) Title: ELECTRODE-ATTACHED CAPILLARY AND METHOD FOR OPERATING FLUORESCENTLY-LABELED OBJECT

(54) 発明の名称: 電極付きキャピラリおよび蛍光標識対象物の操作方法



(57) Abstract: The present invention provides: an electrode-attached capillary with which the identification of a fluorescently-labeled object and an electrical operation such as the measurement of the electrical characteristics of the object can be performed in a stable manner with accuracy from the same field of view; and a method for electrically operating the fluorescently-labeled object in a stable manner with accuracy using the electrode-attached capillary. This electrode-attached capillary has a capillary made of fluorescent glass and an electrode. This method for electrically operating the fluorescently-labeled object uses the electrode-attached capillary.

(57) 要約: 蛍光標識された対象物の同定と、該対象物の電気的特性を測定する等の電氣的な操作を、同一視野で精度をもって安定して行うことができる電極付きキャピラリおよび、該電極付きキャピラリを用いて蛍光標識された対象物を、同一視野で精度をもって安定して電氣的に操作する方法の提供。蛍光ガラスからなるキャピラリと電極を有する電極付きキャピラリおよび該電極付きキャピラリを用いて、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法。

KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：

電極付きキャピラリおよび蛍光標識対象物の操作方法

技術分野

[0001] 本発明は、電極付きキャピラリおよび蛍光標識対象物の操作方法に係り、特に電極付き蛍光ガラスキャピラリおよびそれを用いて蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、神経細胞の機構を解明するために、特定の神経細胞の活動を選択的に記録する技術が知られている。該技術には、例えば、先端に細孔の空いたガラス製のキャピラリ内に微細電極を備える電極付きキャピラリの先端部分に、特定の細胞の細胞膜を顕微鏡下で貼り付け、電位差や伝導性などの電気的特性からイオンチャネルなどの性質を調べるパッチクランプ法が使用されている。

[0003] 一方、近年の遺伝子工学の進歩により、細胞に特異的に蛍光タンパク質を発現させて蛍光標識することも行われるようになった。この蛍光標識の技術をパッチクランプ法に利用する場合、蛍光標識された細胞を暗視野で同定した後、上記電極付きキャピラリによる操作を明視野で行わなければならない、操作性の点で問題であった。

[0004] そこで、特許文献1においては、ガラス製のピペットの先端を蛍光物質で被覆して、パッチクランプ法に利用することで上記のような操作性の問題を解決している。これにより、蛍光標識された細胞の同定と、パッチクランプ法による細胞の電気的特性の測定が同一視野で行えるようになり、操作性は顕著に向上した。

[0005] しかしながら、先端が微細なガラス製のピペットやキャピラリに蛍光物質を被覆する方法では、細胞への密着性が十分でなかったり、電気的特性の測定における精度の低下を招いたりすることがあった。また、使用中に蛍光物

質の離脱等が起こることでのコンタミも懸念されている。そこで、これらの点について改善が求められていた。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2011-160726号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、蛍光標識された対象物の同定と、該対象物の電気的特性を測定する等の電気的な操作を、同一視野で精度をもって安定して行うことができる電極付きキャピラリおよび、該電極付きキャピラリを用いて蛍光標識された対象物を、同一視野で精度をもって安定して電気的に操作する方法の提供を目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明は、以下の構成を要旨とする。

[1] 蛍光ガラスからなるキャピラリと電極を有する電極付きキャピラリ。

[2] 前記蛍光ガラスは、1MHzで測定した比誘電率が9.0以下である[1]の電極付きキャピラリ。

[3] 前記蛍光ガラスは、 SiO_2 、 B_2O_3 、 Al_2O_3 、および、Tb、Tm、Sm、Dy、Eu、HoおよびErから選ばれる少なくとも1種の希土類金属の酸化物を必須成分として含有し、 SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量が酸化物換算のモル％表示で65％以上90％以下である[1]または[2]の電極付きキャピラリ。

[4] 前記蛍光ガラスは、酸化物換算のモル％表示で、前記希土類金属の酸化物を0.5～15％含有する[3]の電極付きキャピラリ。

[5] 前記蛍光ガラスは、酸化物換算のモル％表示で、 Li_2O 、 Na_2O および K_2O から選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ金属酸化物を4

～20%、MgO、CaO、SrOおよびBaOから選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ土類金属酸化物を0～15%含有する〔3〕または〔4〕の電極付きキャピラリ。

〔6〕 前記希土類金属がTbを含む〔3〕～〔5〕のいずれかの電極付きキャピラリ。

〔7〕 〔1〕～〔6〕のいずれかの電極付きキャピラリを用いて、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法。

〔8〕 前記対象物が細胞である〔7〕の方法。

〔9〕 パッチクランプ法により前記細胞の電氣的特性を測定する〔8〕の方法。

発明の効果

〔0009〕 本発明によれば、蛍光標識された対象物の同定と、該対象物の電氣的特性を測定する等の電氣的な操作を、同一視野で精度をもって安定して行うことができる電極付きキャピラリおよび、該電極付きキャピラリを用いて蛍光標識された対象物を、同一視野で精度をもって安定して電氣的に操作する方法が提供できる。

図面の簡単な説明

〔0010〕 〔図1〕実施例の電極付きキャピラリの蛍光状態をGFP発現嗅細胞と共に示す写真である。

〔図2〕実施例の電極付きキャピラリを用いて、マウスの脳スライスの膜電位をWhole-cell current-clamp法により測定した結果を示す図である。

発明を実施するための形態

〔0011〕 以下、本発明の電極付きキャピラリおよび蛍光標識対象物の操作方法の実施形態を説明する。

〔0012〕 〔電極付きキャピラリ〕

本発明の電極付きキャピラリは、蛍光ガラスからなるキャピラリ（以下、「蛍光ガラスキャピラリ」ともいう。）と電極を有する。

[0013] 本発明の電極付きキャピラリは、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する用途（後述する）に適用される。このような用途において、本発明の電極付きキャピラリを用いると、蛍光ガラスキャピラリが蛍光を発することで、蛍光標識された対象物の同定と、電氣的な操作を、暗視野において同時に行うことができる。

[0014] 電極付きキャピラリは、蛍光ガラスキャピラリと電極を有する限り、その構成は特に問わない。後述する蛍光標識された対象物を電氣的に操作する各種用途に応じて、蛍光ガラスキャピラリと電極の構成が適宜調整される。電氣的操作には、蛍光標識された対象物の電氣的特性を測定する、蛍光標識された対象物に電気刺激を与える等が挙げられる。

[0015] 本発明の電極付きキャピラリにおいては、通常、蛍光ガラスキャピラリの内側に電極を備える構成とするのが好ましい。用途に応じて、蛍光ガラスキャピラリの外側に電極を巻き付けなどして保持する構成であってよい。さらに、電極を支持部材で支持し、蛍光ガラスキャピラリの近傍に配置するのもよい。

[0016] （蛍光ガラスキャピラリ）

蛍光ガラスキャピラリは、管形状を有する成形体全般を含み、大きさ、細部形状等は特に制限されない。蛍光標識された対象物を電氣的に操作する各種用途に応じて、大きさ、形状が適宜選択される。

[0017] ＜蛍光ガラス＞

蛍光ガラスキャピラリを構成する蛍光ガラスは、本発明の電極付きキャピラリが蛍光標識された対象物を電氣的に操作する用途に用いられることから、十分な蛍光を発するとともに、高い電気絶縁性を有することが好ましい。さらに、蛍光ガラスは、キャピラリ形状とするために、結晶化や分相が抑制されたガラスであることが好ましい。

[0018] 蛍光ガラスは、蛍光成分として、通常、希土類元素の酸化物を含有する。本発明に用いる蛍光ガラスは、上記のとおり優れた成形性、蛍光特性および電気絶縁性を有することが好ましい。また、本発明に用いる蛍光ガラスは、

化学耐久性、物理耐久性、蛍光特性の耐光性に優れるとともに、光学特性にも優れることが好ましい。以下、本発明に用いる蛍光ガラスの物性について具体的に説明する。

[0019] 蛍光特性について、蛍光ガラスは、波長488nmの励起光を照射して測定される蛍光量子収率が30%以上であることが好ましい。これにより、蛍光ガラスが含有する蛍光成分、特に、希土類金属の酸化物から十分な蛍光が得られる。蛍光量子収率はより好ましくは40%以上、さらに好ましくは50%以上である。なお、上記蛍光量子収率は、波長488nmの励起光を照射した時の、発光としてサンプルから放出されたフォトン数と、サンプルにより吸収されたフォトン数との比率で表される。上記フォトン数は、積分球法で測定する。

[0020] パッチクランプ法による細胞の電気的特性測定において、極めて微弱な電流値をミリ秒という速い時間応答の領域で測定する場合もある。そのため、電極付きキャピラリー由来の容量電流が無視できない場合がある。この容量電流を押さえるために、ガラスキャピラリーのガラスの比誘電率を下げる、ガラスキャピラリーの肉厚を厚くする、ガラスキャピラリー内に充填する液の量を少なくする、ガラスキャピラリーをシルガードコートすることなどが挙げられる。

[0021] 蛍光ガラスの比誘電率について、蛍光ガラスは、1MHzで測定される比誘電率が9.0以下であることが好ましい。本明細書において、特に断りのない限り、比誘電率は、1MHzで測定される比誘電率をいう。蛍光ガラスの比誘電率が上記範囲であれば、該蛍光ガラスを用いて得られる本発明の電極付きキャピラリーを、蛍光標識された対象物の電気的な操作に適用した際に、該操作を精度よく行うことが可能となる。蛍光ガラスの比誘電率は、8.8以下がより好ましく、8.5以下がさらに好ましい。また、蛍光ガラスの比誘電率は、特に下限値を設けませんが、3.9以上が好ましい。

[0022] 蛍光ガラスは、波長587.6nm（Heのd線）で測定される屈折率が1.45～1.69であることが好ましい。屈折率が上記範囲であることで

、蛍光ガラスは反射によるロスが小さく光源からの光を有効に利用できる。屈折率は $1.48 \sim 1.60$ がより好ましく、 $1.50 \sim 1.58$ が特に好ましい。また、蛍光ガラスは、分散が小さく、異なる波長に対する像のズレ(色収差が起因)が小さい。

[0023] 蛍光ガラスは、ガラス転移点 T_g （以下、単に「 T_g 」ともいう）が 650°C 以下であることが好ましい。また、 T_g の下限値は特に限定する必要はないが、通常、ホウケイ酸ガラスでは T_g は 500°C 以上となる。 T_g が上記範囲であることで、ガラスの成形温度を低くすることができる。 T_g は 630°C 以下がより好ましく、 620°C 以下が特に好ましい。なお、本明細書においてガラスの T_g は、熱機械分析装置（TMA）により測定できる。

[0024] 蛍光ガラスは、屈伏点 A_t （以下、単に「 A_t 」ともいう）が 750°C 以下であることが好ましい。また、 A_t の下限値は特に限定する必要はないが、通常、ホウケイ酸ガラスでは A_t は 600°C 以上となる。 A_t が上記範囲であることで、ガラスの成形温度を低くすることができる。 A_t は 730°C 以下がより好ましく、 720°C 以下が特に好ましい。なお、本明細書においてガラスの A_t は、熱機械分析装置（TMA）により測定できる。

[0025] 蛍光ガラスは、アルキメデス法により測定される比重が、 $2.4 \sim 3.3$ の範囲にあることが好ましい。比重が上記範囲であることで、ガラスは脆性が低く、キャピラリとした際に欠け等の破損が生じにくい。比重は $2.5 \sim 3.2$ がより好ましく、 $2.6 \sim 3.1$ が特に好ましい。

[0026] 蛍光ガラスは、 $50^\circ\text{C} \sim 350^\circ\text{C}$ の間の平均線熱膨張係数（以下、単に「熱膨張係数」または「CTE」という。）が $100 \times 10^{-7}/^\circ\text{C}$ 以下であることが好ましい。熱膨張係数が上記範囲であることで、蛍光ガラスは熱衝撃に対する耐性を有する。熱膨張係数は $90 \times 10^{-7}/^\circ\text{C}$ 以下がより好ましく、 $85 \times 10^{-7}/^\circ\text{C}$ 以下が特に好ましい。なお、熱膨張係数は、例えば、TMAにより測定できる。

[0027] 蛍光ガラスは、 $10^\circ\text{C}/\text{分}$ の昇温速度で測定されるDTA曲線において、 $0 \sim 1000^\circ\text{C}$ の範囲で結晶化ピークを有しないことが好ましい。該性質を

有することで、本発明に用いる蛍光ガラスは、使用時における熱安定性に優れる。

[0028] 本発明に係る蛍光ガラスはキャピラリとする際に加熱成形される。したがって、蛍光ガラスは、熱成形できる温度において、結晶化も分相化も起こらないことが望ましい。ガラスが流動する温度において30分間の熱処理を施し、結晶化も分相化も起こらないことを確認することで簡易評価することができる（以下、「熱成形性試験」ともいう）。熱成形性試験は、本発明においては、概ねガラス転移点+140～220℃の温度に検体を30分間曝すことで行う。熱成形性試験における上記の熱処理温度は、例えば、1cm×1cm×1cmの立方体状の検体を加熱した際に角が丸くなる温度である。

[0029] 蛍光ガラスは、波長488nmの励起光を照射して測定される蛍光量子収率が、上記熱成形性試験される前の値から上記熱成形性試験後の値を引いた値（以下、「熱成形性試験による蛍光量子収率の低下量」ともいう）が15%以下であることが好ましい。

[0030] 熱成形性試験による蛍光量子収率の低下量が上記範囲であることで、該ガラスは熱成形を行った後も蛍光特性を熱成形前と同等に維持できる。熱成形性試験による蛍光量子収率の低下量は10%以下がより好ましい。

[0031] 化学耐久性については、蛍光ガラスは、例えば、酸性から塩基性領域において、蛍光ガラスからの溶出成分が少ない。

[0032] 蛍光ガラスは、厚さ0.7mmのガラス板として、入射角0°で測定される450～700nmの波長領域の分光透過率曲線において、ガラスが含有する希土類金属の酸化物による吸収がある波長領域（例えば、それぞれ吸収について最大吸収波長 $\lambda_{max} \pm 10\text{nm}$ ）を除く全波長領域の透過率透過率が85%以上であることが好ましい。これにより、生じた蛍光を散乱損失や吸収損失することなく利用できるという利点を有する。該透過率は87%以上が好ましく、90%以上がより好ましい。

[0033] 例えば、 Tb^{3+} を含有した蛍光ガラスの場合、485nm付近の波長領域に吸収がある。よって、485nm付近（例えば、485nm±10nmの

波長領域)の透過率は低くなる傾向があり、場合によっては、85%未満になることもあり得る。しかしながら、450~700nmにおける、上記485nm付近以外のその他の波長領域における透過率が上記範囲を満たしていれば、該蛍光ガラスは好ましく使用できる。

[0034] 本発明に用いる蛍光ガラスは、上記各種物性を満足させるために、以下の組成を有する蛍光ガラス(A)であることが好ましい。

[0035] 蛍光ガラス(A)は、 SiO_2 、 B_2O_3 、 Al_2O_3 、および、Tb、Tm、Sm、Dy、Eu、HoおよびErから選ばれる少なくとも1種の希土類金属の酸化物を必須成分として含有する。蛍光ガラス(A)は、 SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量が酸化物換算のモル%表示で65%以上90%以下である。以下、蛍光ガラス(A)が含有する成分の含有量は、特に断りのない限り、酸化物換算のモル%表示である。

[0036] 蛍光ガラス(A)は、 Li_2O 、 Na_2O および K_2O から選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ金属酸化物を4~20%、 MgO 、 CaO 、 SrO および BaO から選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ土類金属酸化物を0~15%含有することが好ましい。以下、ガラスにおける Li_2O 、 Na_2O および K_2O の合計含有量を、「 $\text{Li}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$ 」と表記することもある。同様にガラスにおける MgO 、 CaO 、 SrO および BaO の合計含有量を、「 $\text{MgO} + \text{CaO} + \text{SrO} + \text{BaO}$ 」表記することもある。他の成分についても合計含有量を同様に表記する。

以下、蛍光ガラス(A)の各成分について説明する。

[0037] SiO_2 はガラスのネットワークフォーマーであり、必須成分である。 SiO_2 は、比誘電率を下げる成分であり、ガラスの結晶化傾向を低くして安定性を高めるとともに、化学耐久性を高める成分であることから含有量は50%以上が好ましく、55%以上がより好ましく、58%以上がさらに好ましい。一方で、蛍光ガラス(A)において、 SiO_2 の含有量が高すぎると分相傾向が高まり、さらに、ガラスの熔融温度が高まる。このような観点から、 SiO_2 の含有量は、80%以下が好ましく、75%以下がより好ましく、70

%以下がさらに好ましい。

[0038] B_2O_3 はガラスのネットワークフォーマーであり、必須成分である。 B_2O_3 は比誘電率を下げる成分であり、ガラスの結晶化傾向を低くして安定性を高めるとともに、化学耐久性を高める成分である。この観点から B_2O_3 の含有量は0.1%以上が好ましく、1%以上がより好ましく、5%以上がさらに好ましい。一方で、蛍光ガラス(A)において、 B_2O_3 の含有量が高すぎると耐水性の低下を招く傾向にある。 B_2O_3 は、また、ガラスの熱成形性を高める成分である。このような観点から、 B_2O_3 の含有量は、40%以下が好ましく、30%以下がより好ましく、20%以下がさらに好ましい。

[0039] Al_2O_3 は耐水性を高め、分相や結晶化を抑制する成分であり、必須成分である。この観点から Al_2O_3 の含有量は0.5%以上が好ましく、1%以上がより好ましく、3%以上がさらに好ましい。一方で、蛍光ガラス(A)において、 Al_2O_3 の含有量が高すぎると熔融温度が高まる。このような観点から、 Al_2O_3 の含有量は、20%以下が好ましく、15%以下がより好ましく、10%以下がさらに好ましい。

[0040] SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量は65%以上90%以下である。これらの成分の合計含有量が65%以上であることで、蛍光ガラス(A)は、蛍光を発する成分である希土類金属の酸化物の所定量をガラスの結晶化や分相といった問題を起こすことなく配合してキャピラリに成形可能である。 SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量は、上記観点から70%以上が好ましい。一方、ガラス溶解時の熔融性の観点より、 SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量は、90%以下であり、85%以下が好ましい。

[0041] 蛍光ガラス(A)において、蛍光を発する成分である希土類金属の酸化物は必須成分である。希土類金属は、具体的には、Tb、Tm、Sm、Dy、Eu、Ho、およびErから選らばれる少なくとも1種である。これらの酸化物としては、 Tb_2O_3 、 Tm_2O_3 、 Sm_2O_3 、 Dy_2O_3 、 Eu_2O_3 、 Ho_2O_3 、および Er_2O_3 が挙げられる。蛍光ガラス(A)は、これらの希土類金属酸化物の1種を単独で含有してもよく、2種以上を組み合わせで含有し

てもよい。以下の記載において特に断らない限り、希土類金属の酸化物（希土類金属酸化物とも表記する）における希土類金属は、Tb、Tm、Sm、Dy、Eu、Ho、およびErから選らばれる少なくとも1種である。

[0042] 励起波長および発光波長は希土類金属酸化物の種類により異なる。よって、用途に応じて、求められる特性に合わせて、ガラスに含有させる希土類金属酸化物を選択する。表1に、希土類金属酸化物の1種または2種を組み合わせた場合の励起波長および発光波長の例を示す。

[0043] [表1]

希土類金属酸化物		励起波長 [nm]	発光波長[nm]
Tm ₂ O ₃	—	360	452
Tb ₂ O ₃	—	360	491, 543(main), 587, 624
Sm ₂ O ₃	—	360	562, 601, 648
Dy ₂ O ₃	—	360	484, 576(main)
Sm ₂ O ₃	—	405	564, 601, 648
Ho ₂ O ₃	—	405	602, 645, 717
Dy ₂ O ₃	—	450	576
Sm ₂ O ₃	—	561	648
Tb ₂ O ₃	Sm ₂ O ₃	488	543, 601, 648(main)
Tb ₂ O ₃	Eu ₂ O ₃	488	543, 593, 612(main), 705

[0044] 表1に示すように2種類以上の希土類金属酸化物を用いれば、同じ励起波長でも発光波長の選択肢を増やすことができる。例えば、Tb³⁺とSm³⁺あるいはEu³⁺の共ドーピングの例において、488nmで励起した際、Tb³⁺から他の希土類金属へのエネルギー移動も起こり、複数の輻射遷移に起因する発光が得られる。このような複数波長の発光から波長カットフィルターで検出したい波長を選ぶことで、蛍光色素や蛍光タンパク質と発光が重なっても、色を変えてマッピングすることが可能となる。

[0045] 蛍光ガラス（A）が含有する希土類金属酸化物の種類および含有量は、蛍光ガラスキャピラリの用途に応じて適宜調整される。所定の蛍光を得るために希土類金属酸化物の含有量は0.5%以上が好ましく、1%以上がより好ましく、2%以上がさらに好ましい。希土類金属酸化物の含有量が多すぎる

と、ガラスの結晶化や分相を招く。このような観点から、希土類金属酸化物の含有量は15%以下が好ましく、10%以下がより好ましく、8%以下がさらに好ましい。

[0046] 例えば、電極付きキャピラリをパッチクランプ法に用いる場合、希土類金属としてはTbが好ましく、蛍光ガラス(A)における Tb_2O_3 の含有量は、0.5%以上が好ましく、1%以上がより好ましい。また、15%以下が好ましく、10%以下がより好ましい。

[0047] Li_2O 、 Na_2O および K_2O のアルカリ金属酸化物は、熔融温度および熱成形温度を下げる成分であり、含有するのが好ましい。このような観点からアルカリ金属酸化物の含有量は $Li_2O + Na_2O + K_2O$ として4%以上が好ましく、6%以上がより好ましく、8%以上がさらに好ましい。一方で、蛍光ガラス(A)において、アルカリ金属酸化物の含有量が高すぎると耐水性の低下を招く。また、アルカリ金属酸化物は、比誘電率を高める成分である。このような観点から、アルカリ金属酸化物の含有量は、 $Li_2O + Na_2O + K_2O$ として20%以下が好ましく、18%以下がより好ましく、16%以下がさらに好ましい。

[0048] アルカリ金属酸化物の含有量は、 Li_2O 、 Na_2O および K_2O の合計含有量が上記範囲であればよく、それぞれの含有量についてはその範囲内で調整可能である。すなわち、 Li_2O 、 Na_2O および K_2O のそれぞれについて、それぞれを含む場合の含有量は、合計含有量が上記範囲となるのを前提にして、0.5%以上が好ましく、4%以上がより好ましい。 Li_2O 、 Na_2O および K_2O の含有量は、合計含有量が上記範囲となるのを前提にして、それぞれについて、20%以下が好ましく、18%以下がより好ましく、16%以下がさらに好ましい。

[0049] MgO 、 CaO 、 SrO および BaO のアルカリ土類金属酸化物は、アルカリ金属イオンの溶出を抑えるとともに、結晶化傾向を下げて、ガラスを安定化し、熔融温度、熱成形温度を下げる成分であり、含有するのが好ましい。このような観点から、アルカリ土類金属酸化物を含有する場合、その含有量

は、 $\text{MgO} + \text{CaO} + \text{SrO} + \text{BaO}$ として、0.5%以上が好ましく、2%以上がより好ましい。一方で、蛍光ガラス（A）において、アルカリ土類金属酸化物の含有量が高すぎると耐水性の低下を招く。また、アルカリ土類金属酸化物は比誘電率を高める成分である。このような観点から、アルカリ土類金属酸化物の含有量は、 $\text{MgO} + \text{CaO} + \text{SrO} + \text{BaO}$ として、15%以下が好ましく、12%以下がより好ましく、10%以下がさらに好ましい。

[0050] アルカリ土類金属酸化物の含有量は、 MgO 、 CaO 、 SrO および BaO の合計含有量が上記範囲であればよく、それぞれの含有量についてはその範囲内で調整可能である。すなわち、 MgO 、 CaO 、 SrO および BaO のそれぞれについて、それぞれを含む場合の含有量は、合計含有量が上記範囲となるのを前提にして、0.1%以上が好ましく、1%以上がより好ましい。 MgO 、 CaO 、 SrO および BaO のそれぞれについて、含有量は、合計含有量が上記範囲となるのを前提にして、15%以下が好ましく、12%以下がより好ましく、10%以下がさらに好ましい。

[0051] 蛍光ガラス（A）は、上記以外の成分として、さらに以下の成分を任意に含有してもよい。

[0052] 蛍光ガラス（A）は、 Nb_2O_5 、 Ta_2O_5 、 TiO_2 、 ZrO_2 、 Gd_2O_3 および Ga_2O_3 から選ばれる1種以上を含んでもよい。これらの成分はガラスの耐水性を高める成分であるが、ガラスの結晶化を促進するため、含有量は合計で3%以下が好ましい。

[0053] 蛍光ガラス（A）は、 CeO_2 、 Sb_2O_3 および SnO_2 から選ばれる1種以上を合計含有量で0.005%以上含有することが好ましい。これらのカチオン成分は溶融状態では二種類以上の価数の平衡状態をとり、酸化還元を調整する成分ある。例えば、Tbは原料中4価で存在するものがあるが、これを還元して3価にして安定させる作用を有する。これらの成分は含有量が多いと着色のおそれがあるため、合計含有量は、好ましくは3%以下、より好ましくは2%以下、さらに好ましくは1%以下である。

[0054] なお、Ceは、上記酸化還元の目的以外に、Ce³⁺の4f-5dの紫外域の強い光吸収を利用して、上記希土類金属の酸化物にエネルギー移動をさせて所望の波長の蛍光を発する目的で用いてもよい。

[0055] また、SnO₂は、清澄作用も有する。蛍光ガラス(A)が酸化還元の目的でSnO₂を含有する場合、後述するCl、SO₃等の清澄剤は含有しなくともよい。

[0056] 蛍光ガラス(A)は、以下の作用を有するP₂O₅、ZnO、La₂O₃、Y₂O₃、Bi₂O₃等の成分を本発明の効果を損なわない範囲、例えば、各成分について10%以下、より好ましくは5%以下の範囲で、かつ、合計含有量で15%以下の範囲で、含有してもよい。

[0057] P₂O₅は、ガラスのネットワークフォーマーであり、耐水性を向上させる成分であるが、含有量が増えるとガラスが分相する。

ZnOは、熔融温度、熱成形温度を下げる成分であるが、耐酸性を下げる成分でもある。

[0058] La₂O₃、Y₂O₃は、ガラス化範囲を広げる、化学耐久性を高める等の作用を有するが、屈折率や脆性を高めたり、結晶化傾向を高めたりする成分である。

Bi₂O₃は、ガラスを安定化させる成分であるが、高温熔融では揮発性が高い成分である。

[0059] 蛍光ガラス(A)は、さらに、必要に応じて、Fe₂O₃、CuO、Mo₂O₃、V₂O₅、Cr₂O₃、MnO₂等のガラスを着色する成分を、各成分について0.5%未満の範囲で、かつ合計含有量で0.5%未満の範囲で、含有してもよい。これらの成分は、上記希土類金属の酸化物にエネルギー移動をさせて、所望の波長の蛍光を発するように調整する成分として用いることができる。

[0060] 本発明に用いる蛍光ガラスの好ましい組成は以下のとおりである。

SiO₂; 50~80%

B₂O₃; 0.1~40%

Al_2O_3 ; 0.5 ~ 20%

$\text{SiO}_2 + \text{B}_2\text{O}_3 + \text{Al}_2\text{O}_3$; 65 ~ 90%

$\text{Tb}_2\text{O}_3 + \text{Tm}_2\text{O}_3 + \text{Sm}_2\text{O}_3 + \text{Dy}_2\text{O}_3 + \text{Eu}_2\text{O}_3 + \text{Ho}_2\text{O}_3 + \text{Er}_2\text{O}_3$; 0.5 ~ 15%

$\text{Li}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$; 4 ~ 20%

$\text{MgO} + \text{CaO} + \text{SrO} + \text{BaO}$; 0 ~ 15%

[0061] 本発明に用いる蛍光ガラスのより好ましい組成は以下のとおりである。

SiO_2 ; 50 ~ 80%

B_2O_3 ; 5 ~ 20%

Al_2O_3 ; 3 ~ 15%

$\text{SiO}_2 + \text{B}_2\text{O}_3 + \text{Al}_2\text{O}_3$; 65 ~ 90%

$\text{Tb}_2\text{O}_3 + \text{Tm}_2\text{O}_3 + \text{Sm}_2\text{O}_3 + \text{Dy}_2\text{O}_3 + \text{Eu}_2\text{O}_3 + \text{Ho}_2\text{O}_3 + \text{Er}_2\text{O}_3$; 1 ~ 8%

$\text{Li}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$; 4 ~ 20%

$\text{MgO} + \text{CaO} + \text{SrO} + \text{BaO}$; 2 ~ 15%

$\text{CeO}_2 + \text{Sb}_2\text{O}_3 + \text{SnO}_2$; 0.005 ~ 3%

$\text{Cl} + \text{SO}_3$; 上記成分の合計量100質量部に対して0.005 ~ 1質量部（ただし、 SnO_2 を含む場合は0質量部でもよい。）

[0062] なお、本発明に用いる蛍光ガラスは、環境に対する負荷が大きいAs、Cd、TlおよびPbのいずれをも、実質的に含有しないことが好ましい。ここで、「実質的に含有しない」とは、原料調合時に意図的に含有させないという意味であり、不純物レベルの混入をも排除するものではない。具体的には、成分の含有割合が、酸化物換算のモル%表示で0.005%未満をいう。As、Cd、TlおよびPbをいずれも実質的に含有しないガラスは、環境に対する負荷を最小限に抑えることができる。

[0063] 蛍光ガラス（A）を製造する際には必要に応じて清澄剤を含有させることができる。具体的には、Clおよび SO_3 から選ばれる1種以上を、外割で、すなわちClおよび SO_3 以外の全成分の合計量100質量部に対して、0.

0.05質量部以上含有させることが好ましい。これらの成分は泡を抜いた均質なガラスを得るための清澄剤として作用する。一方、これらの成分は含有量が多いと泡の消失速度が遅くなるため、上記含有量は合計で1質量部以下が好ましい。

[0064] <形状>

蛍光ガラスキャピラリは、上記蛍光ガラスを用いてキャピラリ形状に成形された、それ自体が蛍光を発するガラスキャピラリである。

[0065] 蛍光ガラスキャピラリの形状は管形状であり、それにより先端部に孔を有する形状であれば、それ以外は特に限定されない。蛍光ガラスキャピラリの形状は、電極付きキャピラリの用途に応じて適宜調整される。蛍光ガラスキャピラリは、管の内側にフィラメントが一体化されたフィラメント入りキャピラリや、複数の管が一体化されたマルチバレルキャピラリ、断面がθ形状のキャピラリ等、管の形状が変形された構造のキャピラリであってもよい。蛍光ガラスキャピラリは、典型的には細管状またはテーパー状（円錐形）等の形状を有していることが好ましい。

[0066] 蛍光ガラスキャピラリは、用途に応じて各種大きさで供給される。供給される形態における管の大きさとしては、管の外径は0.1～15mm、内径は0.05～10mmの範囲が好ましい。管の肉厚は、0.01～5mmが好ましい。長さは、10～300mmが好ましい。蛍光ガラスキャピラリは、供給される形態のまま用いてもよく、供給後に任意の形状に成形することも可能である。蛍光ガラスキャピラリが、例えば、生体用として用いられる場合、管の外径は0.1～15μm、内径は0.05～10μmの範囲が好ましい。管の肉厚は、0.01～5μmが好ましい。長さは、10～300mmが好ましい。

[0067] 蛍光ガラスキャピラリは直線的に伸長していてもよいが、曲線的な部分や折れ曲がり部分などを有していてもよい。蛍光ガラスキャピラリが先端部に有する孔の形状は、蛍光ガラスキャピラリの断面形状における内径の形状に相当する。テーパー状の場合、長さ方向の位置で断面形状は変わらないが大

きさが異なる。蛍光ガラスキャピラリーが先端部に有する孔の形状は特に限定されないが、一般的には円形、楕円形、多角形などの断面形状を有していることが好ましい。孔は通常は先端部に1個設けられていればよいが、例えば、マルチバレルキャピラリーや断面が θ 形状のキャピラリー等を用いることで、複数の孔が存在していてもよい。

[0068] 蛍光ガラスキャピラリーの長さ、内径、外径、先端部における孔の大きさ等は、電極付きキャピラリーの用途に応じて適宜調整される。例えば、電極付きキャピラリーを蛍光標識された細胞等に用いる場合について、蛍光ガラスキャピラリーが先端部に円形の孔を有する場合には、直径が0.1～50 μm 程度が好ましく、0.5～20 μm 程度がより好ましい。より具体的な用途として、例えば、パッチクランプ法に本発明の電極付きキャピラリーを用いる場合、蛍光ガラスキャピラリーが先端部に円形の孔を有する場合の孔の直径として、0.5～5 μm 程度を採用することができる。なお、この場合の先端部の肉厚は、概ね0.2～3 μm を採用できる。

[0069] <製造方法>

本発明に用いる蛍光ガラスからなるガラスキャピラリーの製造方法は特に制限されず、公知のガラスによるキャピラリーの製造方法が適用可能である。具体的には、本発明に用いる蛍光ガラスキャピラリーは、蛍光ガラス、特に、蛍光ガラス(A)を用いてリドロー成形またはダウンロード成形により製造できる。

[0070] ダウンロード成形による製造方法では、1回の工程で、蛍光ガラスキャピラリーを製造でき、生産性の点で有利である。リドロー成形による製造方法は、別の成形方法で蛍光ガラス、特に、蛍光ガラス(A)を管状に成形して蛍光ガラスキャピラリーの前駆体を得、該前駆体をリドロー成形することで蛍光ガラスキャピラリーを得る製造方法であり、より内径が細い蛍光ガラスキャピラリーが、精度よく作製できる点で有利である。

[0071] 蛍光ガラス、特に、蛍光ガラス(A)からなる管状の蛍光ガラスキャピラリーの前駆体は、ブロック状の蛍光ガラスをガラス管状に切削加工する、ブ

ロー成形により蛍光ガラスを管状に熱成形する、ダウンドロー成形、ダンナー成形あるいはアップドロー成形により前駆体となるガラス管を製造する等の方法で製造可能である。さらに、手吹き加工によっても管状の蛍光ガラスキャピラリの前駆体あるいは、蛍光ガラスキャピラリそのものを製造可能である。

[0072] 本発明に用いる蛍光ガラスキャピラリの製造方法において、蛍光ガラスを成形する際には、例えば、得られるガラスの組成が酸化物基準のモル％表示で上記の蛍光ガラス（A）の組成となるようにガラス原料を準備し、通常の方法により、該ガラス原料を溶融し溶融ガラスとした後に、各成形法が実行される。

[0073] なお、溶融ガラスは、例えば、上記蛍光ガラス（A）の組成となるように原料を秤量し、均一に混合し、作製した混合物を1000～1800℃の温度範囲で溶融し、脱泡、攪拌などにより均質化して泡切れ等を行うことで作製できる。

[0074] （電極）

本発明の電極付きキャピラリが有する電極は、電極付きキャピラリが適用される用途、具体的には、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する用途において、通常用いられる電極が使用可能である。例えば、蛍光標識された対象物が細胞等の場合、後述のパッチクランプ法による細胞の電氣的特性の測定、細胞外電位の測定、細胞への電気刺激等の各種用途に応じて電極が適宜選択される。

[0075] 電極は導電性の材料から形成され、大きさ、形状等は、蛍光ガラスキャピラリに対する配設位置、例えば、蛍光ガラスキャピラリの内側、外側または近傍等により適宜選択される。電極の抵抗値、再現性の保証範囲（環境や温度影響また、履歴現象を受けない）、成形性などは、電極付きキャピラリが適用される用途等に応じて適宜選択される。電極はリード線によりAC接続またはDC接続されてよい。また、電極としては、各種用途に応じて市販のリード線付き電極を使用できる。

[0076] [蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法]

本発明の電極付きキャピラリの用途は特に限定されないが、一般的には、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法に好適に用いられる。

[0077] 本発明において電氣的に操作される対象物は、蛍光標識されているものであれば特に限定されないが、例えば、細胞やその集合体である組織などのほか、リポソームなどの脂質膜構造体、マイクロビーズ、ゲルなどの人工物を対象とすることができる。本発明における蛍光標識された対象物の電氣的な操作は、好ましくは蛍光顕微鏡下において行われる。

[0078] 細胞や組織を蛍光標識する方法は特に限定されない。例えば、低分子の蛍光プローブを細胞内に取り込ませる方法や、緑色蛍光タンパク質（GFP）やその誘導体などを遺伝子工学的に特異的に特定の細胞に発現させるなどの手法により蛍光標識することが可能である。

[0079] 本発明の電極付きキャピラリの好ましい用途として、電気生理学などにおける研究用途を挙げることができる。特に好ましい用途としてパッチクランプ法により神経細胞などの細胞の電氣的特性を測定する方法を挙げることができる。パッチクランプ法としては全細胞記録法（ホールセル記録法；conventional法およびperforated法）と単一チャネル法（cell-attached法、inside-out法、およびoutside-out法）が利用可能であるが、本発明の電極付きキャピラリはいずれの方法にも適用可能である。

[0080] パッチクランプ法の適用範囲も特に限定されず、培養細胞や組織切片、好ましくは培養神経細胞や神経組織切片への適用、シナプス前終末、樹状突起、または軸索などの神経細胞の微小部分領域などへの適用、あるいは生体に対しての直接適用、例えば生体における脳組織や脊髄への適用などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。

[0081] 本発明の電極付きキャピラリは、脳、脳の領域、または任意のインビボ（*in vivo*）、組織スライス切片、もしくはインビトロの神経細胞の集合体等のような、神経細胞を含む神経系における神経細胞活動を電氣的に調整するために用いることができる。

[0082] 例えば、癲癇発作を抑制するために、癲癇焦点や、小脳、視床、迷走神経等の癲癇焦点から遠い部位を電氣的に刺激する操作に用いることができる。電氣的な刺激は、例えば、短い電流パルス等のかたちで組織内へ電流を注入することにより行われる。具体的に適用される電場の極性および強さは、調整される神経系から選択された標識細胞において電氣的な特性を測定し、それにしたがって調整される。

[0083] 神経細胞活動は、細胞外空間において神経系の電位を記録することによって測定することができる。神経系によって生成される場の電位を測定するために使用する電極は、「測定電極」または「記録電極」という。本発明の電極付きキャピラリは、このような場の電位を測定するために1個または2個以上を使用することができる。好ましい具体例においては、2個または3個以上の電極が利用される。与えられた細胞外部位において記録される場の電位は、細胞体および樹状突起層に対する電極の位置、神経系の構成、灌流溶液等、種々の要因に依存する。

[0084] 測定電極は、適用された場並びに神経系によって生み出された活動からの場の電位を検出することができる。適用されている場から神経細胞活動を識別するために使用できる多数の方法がある。例えば、インビトロにおいて、海馬切片は適用されている場の等電位に可能な限り接近させて配列させた1対の差分電極が、測定電極として使用される。この場合、本発明の電極付きキャピラリが組織中に、好ましくは標的神経細胞の細胞体層の近くに配置され、参照電極が好ましくは組織外の浴中に配置される。各電極から得られた値は、相互から電子工学的に減ずることができ、それによりバックグラウンド・ノイズが減少される。

[0085] 測定電極からの記録は、通常の方法で行うことができる。例えば、もし周波数と細胞外バースト数とが知りたいならば、交流増幅器によって測定を行うことができる。その場合、特定範囲より下および上の周波数を遮断して好ましい範囲、例えば50～1000Hz、好ましくは100～500Hzの信号を増幅するフィルター（バンドパスフィルター）を用いてもよい。より

遅い電位変化が知りたいならば、直流増幅器もまた使用できる。

[0086] 典型的には、電極は、神経系内の多数の神経細胞要素から活動を検出するために、相対的に広い、低抵抗の先端を有してよい。より小さい先端の電極は、単一の神経細胞や小さな集団からの活動をモニターするのに使用することができる。

実施例

[0087] 以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明する。なお、本発明はこれら実施例に限定して解釈されるものではない。製造例において、キャピラリー用の蛍光ガラスを製造し評価を行った。さらに、製造例で得られた蛍光ガラスを用いて、電極付きキャピラリーを作製し、パッチクランプ法における評価を行った。

[0088] [製造例 1 ～ 4]

(蛍光ガラスの製造)

製造例 1 ～ 3 については、酸化物換算のモル％表示で表 2 に表示した組成になるように各成分の原料を調合し、ガラス原料を混合した混合物を、1500℃で30分間攪拌、30分間静置後、1400℃で流し出し、630℃で1時間保持して、0.5℃/分の速度で徐冷して、ガラスを得た。

[0089] 製造例 4 については、酸化物換算のモル％表示で表 2 に表示した組成になるように各成分の原料を調合し、ガラス原料を混合した混合物を、1650℃で60分間攪拌、60分間静置後、1650℃で流し出し、630℃で1時間保持して、0.5℃/分の速度で徐冷して、ガラスを得た。

[0090] 各製造例のガラスには、清澄剤としてNaClおよび／またはNa₂SO₄をガラス原料中に入れて用いた。製造例 1、3、4 には外割でNaClを0.3質量部、製造例 2 には外割でNaClを0.3質量部およびNa₂SO₄を0.1質量部加えた。

[0091] 製造例 2 のガラス中のClおよびSO₃濃度を測定するために、得られたガラスを粉碎し、粉とした。Cl濃度を蛍光X線分光法（リガク社製ZSX Primus II）にて測定し、ClおよびSO₃以外の全成分の合計量100

質量部に対して 0.11 ± 0.01 質量部という結果を得た。 SO_3 濃度は硫黄分析計（堀場製E M I A - 9 2 0 V）にて測定し、Clおよび SO_3 以外の全成分の合計量100質量部に対して 0.02 ± 0.004 質量部であった。

[0092] （評価）

上記各製造例で得られたガラスを用いて以下の評価を行った。結果をガラスの組成と併せて表2に示す。

[0093] ＜基本物性＞

比重：アルキメデス法により測定した。

T_g（℃）：熱機械分析装置（TMA）を用いて、石英ガラスを参照試料として室温から5℃／分の割合で昇温した際のガラスの伸び率を屈伏点（A_t）まで測定し、得られた熱膨張曲線における屈曲点に相当する温度をガラス転移温度（T_g）とした。

測定した。

[0094] 比誘電率：厚さ0.7mmの鏡面研磨されたガラス板（大きさ30mm×30mm）を誘電率測定計（Agilent社製、商品名：E4980Aおよび16451B）を使用して、1MHzにおける比誘電率を測定した。

CTE：TMA測定により、50～350℃の温度範囲で平均線熱膨張係数（ $\times 10^{-7}/^\circ\text{C}$ ）として求めた。

A_t（屈伏点；℃）：TMA測定により求めた。

T_x（結晶化温度；℃）：示差熱分析計（リガク社製、商品名：TG8110）を使用して、10℃／分の昇温速度で、0～1000℃の範囲のDTAを測定し、得られたDTA曲線において、結晶化の発熱ピークの温度をT_xとした。発熱ピークが観察されない場合は、表2の記載を「なし」とした。

[0095] ＜光学特性＞

QY（％）：一辺が1cmの立方体状に鏡面加工したガラスを準備し、絶対PL量子収率測定装置（浜松ホトニクス社製、商品名：Quanta

u-QY)を使用して、励起光波長488nmにて蛍光量子収率を測定した。

蛍光強度：厚さ0.7mmの両面鏡面研磨されたガラス板を作製し、蛍光強度計(F-4500)を用いて、488nm励起した際の543nmの蛍光強度を測定した。製造例1のガラスを1.0として規格化した値を記載した。

[0096] 488吸収率(%)：厚さ0.7mmの鏡面研磨されたガラス板を作製し、分光光度計(PerkinElme社製、商品名：LAMBDA950)を用いて入射角0°で450~700nmの波長領域の分光透過率を測定し、550nmの透過率から488nmの透過率を引いた値を、488nmの波長での光吸収率(488吸収率)とした。

550透過率(%)：同サンプルにおいて、上記同様に測定された550nmの波長での透過率の値である。

最小透過率(%)：同サンプルにおいて、上記同様に測定された450~700nmの波長領域の分光透過率曲線における、 Tb_2O_3 による吸収波長領域(485nm $\pm$ 10nm)を除く全波長領域の透過率の最小値である。

[0097] <その他耐久性>

耐水性：ETAC社製の高温高湿槽TH401HE(商品名)を用いて85℃、85RH%の環境に、厚さ1mmの鏡面研磨されたガラス板(大きさ20mm $\times$ 20mm)を、200時間曝すことで試験した。評価結果は、ガラス板表面に、最大径が1mm以上の白い斑点が5個以上析出しているか否かにより判断した。最大径1mm以上の白い斑点が5個以上析出している場合を「×」、最大径1mm以上の白い斑点の析出が4個以下の場合を「○」として表2に示した。

[0098] 熱成形性試験：本試験では、一辺が1cmの立方体状に鏡面加工したガラスを準備し、概ねガラス転移温度+140~220℃の熱処理を30分間行った。なお、各ガラスにおける熱処理温度は、以下のようにして決定した。ガラス転移温度より50℃刻みで熱処理温度を上げていき、立方体状のガラ

スの角が丸くとなった温度を熱処理温度とした。この熱成形性試験において、熱処理後、結晶化も分相化も見られなかったガラスを「○」とした。なお、結晶化および分相化の判断は目視にて白濁しているかの有無で判断した。一方、熱処理温度に達する前、すなわち角が丸くなる前に結晶化や分相化が起こった場合を「×」とした。また、評価結果の下に熱成形性試験を行った温度を記載した。

[0099] 熱成形性試験による蛍光量子収率の低下量：上記の熱成形性試験を行ったあとのサンプルの量子収率（ QY ）を励起波長 488 nm にて測定した。得られた熱成形性試験後の QY を QY_b として表 2 に示した。また、熱成形性試験による蛍光量子収率の低下量を、上記で得られた熱成形性試験前の QY から QY_b を引いた値（ $QY - QY_b$ ）として表 2 に示した。

[0100]

[表2]

製造例		1	2	3	4
組成 「モル %」	SiO ₂	62.5	62.5	62.5	67.3
	Al ₂ O ₃	4.9	4.9	4.9	4.9
	B ₂ O ₃	9.7	9.8	9.7	9.8
	Li ₂ O	0.0	0.0	6.8	0.0
	Na ₂ O	14.0	14.0	7.3	11.6
	MgO	0.0	5.5	0.0	0.0
	CaO	5.5	0.0	5.5	3.1
	Tb ₂ O ₃	3.3	3.1	3.2	3.2
	CeO ₂	0.1	0.1	0.1	0.1
	合計	100.0	100.0	100.0	100.0
	SiO ₂ +B ₂ O ₃ +Al ₂ O ₃	77.1	77.2	77.2	82.0
物性	比重	2.841	2.758	2.873	2.866
	Tg/°C	598.7	595.1	542.9	607.1
	CTE/×10 ⁻⁷ /°C	83.6	80.1	79.9	73.3
	At/°C	663.3	659.4	606.4	679.1
	Tx/°C	なし	なし	820	なし
	QY/%	60.3	62.1	49.7	58.7
	蛍光強度	1.00	0.76	0.66	0.59
	比誘電率	8.3	7.7	7.4	7.3
	488吸収率/%	0.99	1.09	0.93	0.90
	550透過率/%	91.08	91.52	91.19	91.70
	耐水性	○	○	○	○
	熱成形性試験	○ 750°C	○ 750°C	○ 700°C	○ 800°C
	QYb/%	62.1	68.4	60.7	64.5
	QY-QYb/%	-1.8	-6.3	-11.0	-5.8
	最小透過率/%	90.6	90.8	90.7	91.2

[0101] [例1]

上記製造例2で得られた蛍光ガラスを用いて、以下のようにしてキャピラリを作製した。蛍光ガラスを溶解し、ブロック状に成形したサンプルを外径9 mm、内径4.8 mmにチューブ状に切削加工し前駆体となるチューブ管を得た。縦型の管状炉にそのチューブ管を片側固定した状態で吊るし、残り

の片側を引っ張った。炉の温度は550～650℃の範囲であった。この条件でリドロー成形を行い、外径0.5～2mmの範囲、内径0.3～1.5mmの範囲、肉厚0.3～1.0mmの範囲、長さ30～300mmの範囲の様々な大きさのガラスキャピラリーを得た。

[0102] <パッチクランプ法用のキャピラリー作製>

上記リドローで得られた蛍光ガラスキャピラリーで、外径1.5mm、内径0.8mmのものを用い、装置P-1000 Micropipette Puller (Sutter Instrument社製)を用いて、パッチクランプ法用のキャピラリーを得た。

[0103] 得られた蛍光ガラスキャピラリーは、長さ55mm、内径2.0μm、外径3.75μmの断面が円形の管状成形体であった。蛍光ガラスキャピラリーの内側にリード線付き白金電極(2～4MΩ)の電極を取り付けて、電極付きキャピラリー1とした。

[0104] <蛍光標識された細胞と蛍光ガラスを用いた電極付きキャピラリー1の蛍光顕微鏡観察像>

上記で得られた蛍光ガラスを用いた電極付きキャピラリー1と、遺伝子改変によりGFPを発現させた細胞との同視野での蛍光顕微鏡観察像の取得を行った。

[0105] (GFP発現細胞)

遺伝子改変によりマウスの嗅細胞にGFPを発現させた。

[0106] そのGFP発現嗅細胞を、27mM; NaHCO₃、1.4mM; NaH₂PO₄、2.5mM; KCl、0.5mM; アスコルビン酸、7.0mM; MgSO₄、1.0mM; CaCl₂および222mM; 95%O₂および5%CO₂で連続的にバブリングした。

[0107] 蛍光観察は、ニポウ式ディスク型共焦点顕微鏡下(暗視野)で行った。図1の写真に示すように、GFP発現嗅細胞は、アルゴン・レーザー(5～10mW、HPU50101、古川電気)を用いて488nmで励起し、507nmのロングパス発光フィルターを通し可視化した。同様に電極付きキャ

ピラリ1についても、488nmで励起し、507nmのロングパス発光フィルターを通し可視化された。なお、図1において、GFP発現嗅細胞は、写真の略中央に平行して2個存在し、電極付きキャピラリ1は左側のGFP発現嗅細胞の上部に先端を向けて、右側のGFP発現嗅細胞の上部に重なるように位置するのがわかる。

[0108] <電極付きキャピラリ1を用いた脳スライスのホールセルパッチクランプ記録>

C57BL/6Jマウスの脳スライスを127mM; NaCl、26mM; NaHCO₃、3.5mM; KCl、1.24mM; KH₂PO₄、1.4mM; MgSO₄、1.2mM; CaCl₂および10mM; グルコースからなる人工脳脊髄液(aCSF)中に通気で室温下に90分間置いた。

[0109] 脳スライスを記録チャンバー中に設置し、2~3ml/分のaCSFで灌流した。MultiClamp 700B増幅器およびpCLAMP 10ソフトウェアで制御されるDigidata 1550(モレキュラー・ディバイシーズ)を用いてホールセル記録を行った。

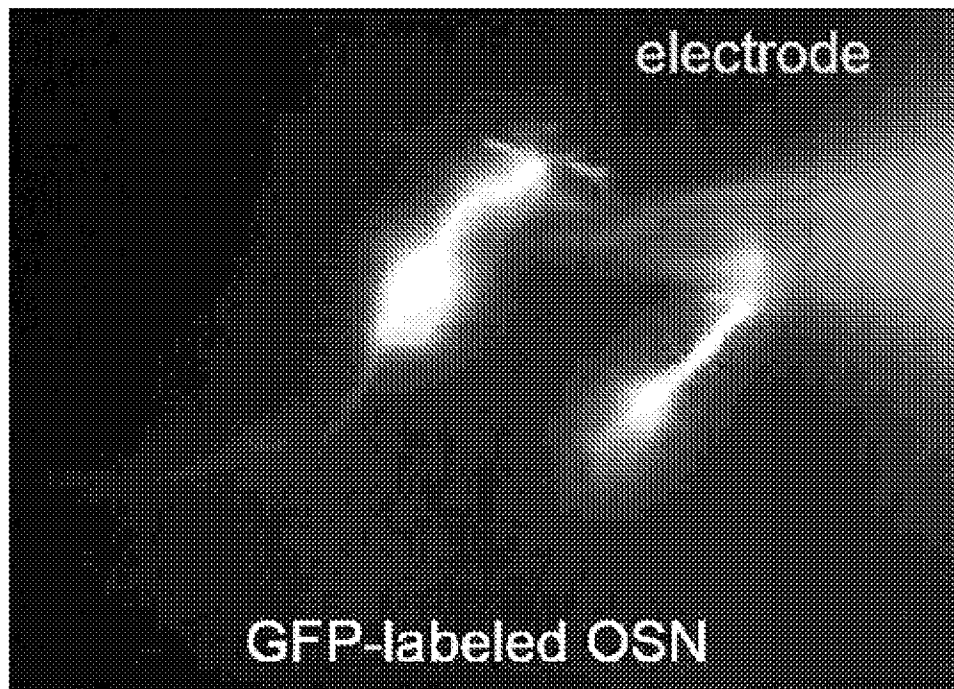
[0110] ホールセル記録を行うために、電極付きキャピラリ1に、135mM; グルコン酸カリウム、4mM; KCl、10mM; HEPES、10mM; ホスホクレアチン二ナトリウム、4mM; Mg-ATPおよび0.3mM; Na₂-GTP(pH7.2)からなる溶液を充填した。信号は、2kHzで低域フィルター処理し、20kHzでデジタル化した。

[0111] Current-clamp法により測定した結果を図2に示す。なお、静止時のmembrane potentialは-66mVであった。

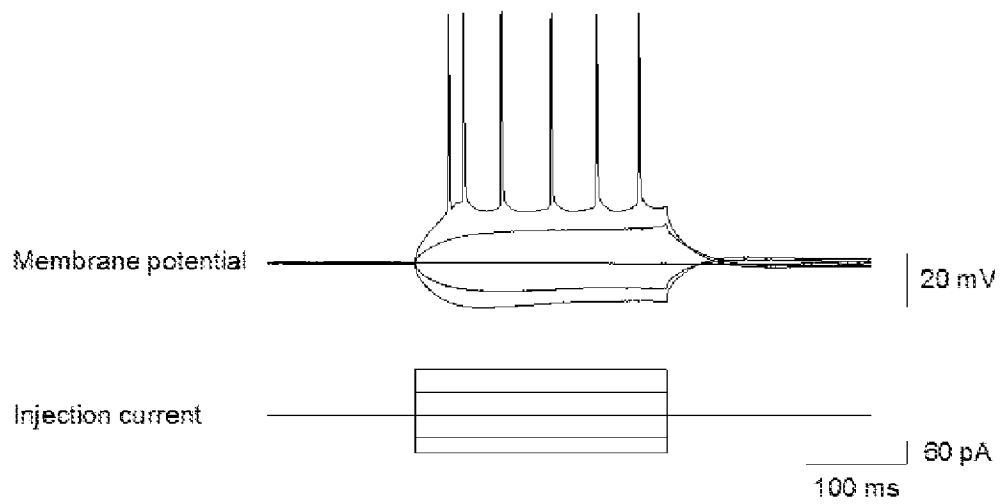
請求の範囲

- [請求項1] 蛍光ガラスからなるキャピラリと電極を有する電極付きキャピラリ。
- [請求項2] 前記蛍光ガラスは、1 MHzで測定した比誘電率が9.0以下である請求項1に記載の電極付きキャピラリ。
- [請求項3] 前記蛍光ガラスは、 SiO_2 、 B_2O_3 、 Al_2O_3 、およびTb、Tm、Sm、Dy、Eu、HoおよびErから選ばれる少なくとも1種の希土類金属の酸化物を必須成分として含有し、 SiO_2 、 B_2O_3 および Al_2O_3 の合計含有量が酸化物換算のモル％表示で65%以上90%以下である請求項1または2に記載の電極付きキャピラリ。
- [請求項4] 前記蛍光ガラスは、酸化物換算のモル％表示で、前記希土類金属の酸化物を0.5～15%含有する請求項3に記載の電極付きキャピラリ。
- [請求項5] 前記蛍光ガラスは、酸化物換算のモル％表示で、 Li_2O 、 Na_2O および K_2O から選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ金属酸化物を4～20%、 MgO 、 CaO 、 SrO および BaO から選ばれる少なくとも1種からなるアルカリ土類金属酸化物を0～15%含有する請求項3または4に記載の電極付きキャピラリ。
- [請求項6] 前記希土類金属がTbを含む請求項3～5のいずれか1項に記載の電極付きキャピラリ。
- [請求項7] 請求項1～6のいずれか1項に記載の電極付きキャピラリを用いて、蛍光標識された対象物を電氣的に操作する方法。
- [請求項8] 前記対象物が細胞である請求項7に記載の方法。
- [請求項9] パッチクランプ法により前記細胞の電氣的特性を測定する請求項8に記載の方法。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/027182

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. C03C3/085(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N27/00(2006.01)i,
C12M1/34(2006.01)n, C12M1/42(2006.01)n, G01N21/64(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. C03C3/085, C12Q1/02, G01N27/00, C12M1/34, C12M1/42, G01N21/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2018
Registered utility model specifications of Japan	1996-2018
Published registered utility model applications of Japan	1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INTERGLAD

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-24757 A (TOSHIBA CORP.) 27 January 2005, entire text (Family: none)	1-9
A	JP 10-104234 A (HITACHI, LTD.) 24 April 1998, entire text (Family: none)	1-9
A	JP 2008-264685 A (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) 06 November 2008, entire text (Family: none)	1-9
A	JP 2012-186436 A (NIPPON ELECTRIC GLASS CO., LTD.) 27 September 2012, entire text & US 2013/0108811 A1 & WO 2012/014663 A1 & TW 201213737 A & CN 103025670 A & KR 10-2013-0112023 A	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 August 2018 (23.08.2018)

Date of mailing of the international search report

04 September 2018 (04.09.2018)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C03C3/085(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N27/00(2006.01)i, C12M1/34(2006.01)n,
C12M1/42(2006.01)n, G01N21/64(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C03C3/085, C12Q1/02, G01N27/00, C12M1/34, C12M1/42, G01N21/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2018年
日本国実用新案登録公報	1996-2018年
日本国登録実用新案公報	1994-2018年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

INTERGLAD

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2005-24757 A (株式会社東芝) 2005.01.27, 全文 (ファミリーなし)	1-9
A	JP 10-104234 A (株式会社日立製作所) 1998.04.24, 全文 (ファミリーなし)	1-9
A	JP 2008-264685 A (松下電器産業株式会社) 2008.11.06, 全文 (ファミリーなし)	1-9

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日

23.08.2018

国際調査報告の発送日

04.09.2018

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

岡田 隆介

4 T

3442

電話番号 03-3581-1101 内線 3465

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2012-186436 A (日本電気硝子株式会社) 2012.09.27, 全文 & US 2013/0108811 A1 & WO 2012/014663 A1 & TW 201213737 A & CN 103025670 A & KR 10-2013-0112023 A	1-9