

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4599397号
(P4599397)

(45) 発行日 平成22年12月15日(2010.12.15)

(24) 登録日 平成22年10月1日(2010.10.1)

(51) Int.Cl.	F 1
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 Z
C 1 2 N 1/00 (2006.01)	C 1 2 N 1/00 Z

請求項の数 10 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2007-506956 (P2007-506956)	(73) 特許権者	000005223
(86) (22) 出願日	平成17年3月10日(2005.3.10)		富士通株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2005/004180		神奈川県川崎市中原区上小田中4丁目1番1号
(87) 国際公開番号	W02006/095424	(74) 代理人	100094330
(87) 国際公開日	平成18年9月14日(2006.9.14)		弁理士 山田 正紀
審査請求日	平成19年9月6日(2007.9.6)	(74) 代理人	100109689
			弁理士 三上 結
		(72) 発明者	西山 秀作
			神奈川県川崎市中原区上小田中4丁目1番1号 富士通株式会社内
		審査官	神谷 昌男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポンプユニット、シリンジユニット、粒子送出方法、および細胞送出方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

粒子が分散した液体中の該粒子を所定の場所に送り込むポンプユニットにおいて、
前記液体を貯留し、底部に前記所定の場所につながる開口が設けられた貯留槽、
前記液体を先端から吸引する吸引動作と吸引した液体を該先端から吐出する吐出動作とを行うポンプ、および

前記ポンプと前記貯留槽とを相対的に移動させることで、前記ポンプの先端と前記開口の縁との位置関係を、該ポンプの先端が前記貯留槽に貯留された液体中で前記開口の縁から上方に離間した離間関係と、該先端が該開口の縁に押し付けられた押付関係との間で変化させる移動機構を備え、

前記ポンプは、前記位置関係が、前記離間関係にある状態で前記吸引動作を行い前記粒子を内部に取り込み、前記押付関係にある状態で前記吐出動作を行い該粒子を送出するものであり、

前記移動機構が、前記位置関係を、前記離間関係と前記押付関係との間で変化させるにあたり、前記先端を前記貯留槽に貯留された液体中に漬け込んだまま変化させるものであることを特徴とするポンプユニット。

【請求項 2】

前記ポンプが、このポンプユニットから分離可能なものであることを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 3】

10

20

前記位置関係が前記離間関係にある状態で前記ポンプの先端と前記開口の縁との間に存在する粒子あるいは気泡を該間から除去する除去手段を備えたことを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 4】

前記ポンプは、前記位置関係が前記移動機構によって前記離間関係から前記押付関係へ変化している最中に前記吐出動作を開始し、前記先端と前記開口の縁との間に存在する粒子あるいは気泡を該間から除去するものであることを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 5】

前記移動機構は、前記位置関係が前記離間関係にある状態で、前記ポンプと前記貯留槽とを相対的に水平方向に移動させるものであり、

前記貯留槽は、底部に上向きに植毛され、前記ポンプとこの貯留槽とが相対的に水平方向に移動することで該ポンプの先端に摺擦し該先端に付着した付着物を除去するブラシ部材を有するものであることを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 6】

前記貯留槽は、前記開口の縁が、前記底部の、該縁を囲う部分よりも上方に突出したものであることを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 7】

前記ポンプは、前記位置関係が前記離間関係にある状態で、前記吸引動作と前記吐出動作を繰り返し行い、前記貯留槽内で偏在した粒子を分散させるものであることを特徴とする請求項 1 記載のポンプユニット。

【請求項 8】

細胞が分散した懸濁液中の該細胞をマイクロチャンネルに送り込むシリンジユニットにおいて、

前記懸濁液を貯留し、底部に前記マイクロチャンネルにつながる開口が設けられた貯留槽、前記懸濁液を先端から吸引する吸引動作と吸引した懸濁液を該先端から吐出する吐出動作とを行うシリンジ、および

前記シリンジと前記貯留槽とを相対的に移動させることで、前記シリンジの先端と前記開口の縁との位置関係を、該シリンジの先端が前記貯留槽に貯留された懸濁液中で前記開口の縁から上方に離間した離間関係と、該先端が該開口の縁に押し付けられた押付関係との間で変化させる移動機構を備え、

前記シリンジは、前記位置関係が、前記離間関係にある状態で前記吸引動作を行い前記細胞を内部に取込み、前記押付関係にある状態で前記吐出動作を行い該細胞を送出するものであり、

前記移動機構が、前記位置関係を、前記離間関係と前記押付関係との間で変化させるにあたり、前記先端を前記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させるものであることを特徴とするシリンジユニット。

【請求項 9】

底部に所定の場所につながる開口が設けられた貯留槽に、粒子が分散した液体を貯留させる第 1 ステップ、

前記液体を先端から内部に吸引する吸引動作と吸引した液体を該先端から外部に向けて吐出する吐出動作とを行うポンプの該先端と前記開口の縁との位置関係が、該ポンプの先端が前記貯留槽に貯留された液体中で前記開口の縁から上方に離間した離間関係にある状態で、該ポンプに該吸引動作を行わせ、前記粒子を該ポンプの内部に取込む第 2 ステップ、

前記位置関係を、前記離間関係から前記ポンプの先端が前記開口の縁に押し付けられた押付関係へ、該先端を前記貯留槽に貯留された液体中に漬け込んだまま変化させる第 3 ステップ、

前記位置関係が前記押付関係にある状態で前記ポンプに前記吐出動作を行わせ、前記第

10

20

30

40

50

2ステップを実施することで該ポンプの内部に取り込んだ粒子を送出する第4ステップ、および

前記位置関係を前記押付関係から前記離間関係へ、前記ポンプの先端を前記貯留槽に貯留された液体中に漬け込んだまま変化させる第5ステップとを有し、

前記第2ステップから前記第5ステップまでを繰り返し実施することを特徴とする粒子送出方法。

【請求項10】

底部にマイクロチャネルの場所につながる開口が設けられた貯留槽に、細胞が分散した懸濁液を貯留させる第1ステップ、

前記懸濁液を先端から内部に吸引する吸引動作と吸引した懸濁液を該先端から外部に向けて吐出する吐出動作とを行うシリンジの該先端と前記開口の縁との位置関係が、該シリンジの先端が前記貯留槽に貯留された懸濁液中で前記開口の縁から上方に離間した離間関係にある状態で、該シリンジに該吸引動作を行わせ、前記細胞を該シリンジの内部に取込む第2ステップ、

前記位置関係を、前記離間関係から前記シリンジの先端が前記開口の縁に押し付けられた押付関係へ、該先端を前記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させる第3ステップ、

前記位置関係が前記押付関係にある状態で前記シリンジに前記吐出動作を行わせ、前記第2ステップを実施することで該シリンジの内部に取り込んだ細胞を送出する第4ステップ、および

前記位置関係を前記押付関係から前記離間関係へ、前記シリンジの先端を前記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させる第5ステップとを有し、

前記第2ステップから前記第5ステップまでを繰り返し実施することを特徴とする細胞送出方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、粒子が分散した液体中の該粒子を所定の場所に送り込むポンプユニット、およびそのポンプユニットを用いて実施する粒子送出方法、並びに細胞が分散した懸濁液中の該細胞をマイクロチャネルに送り込むシリンジユニット、およびそのシリンジユニットを用いて実施する細胞送出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

液体中に混合・拡散させた粒子を移送するシステムとして様々な装置が提案されている（例えば、特許文献1及び2等参照）が、ここでは、医学分野における血球由来細胞や幹細胞への物質導入装置に用いられるシリンジユニット（例えば、特許文献3等参照）を例にあげて説明する。特許文献3には、大量に連続処理を行うための物質導入装置が示されており、この物質導入装置に配備されたシリンジユニットは、シリンジ（注射器）を用いて細胞を微小な溝（マイクロチャネル）に送り込むものである。

【0003】

一般に、血球由来細胞や幹細胞への物質導入にあたっては、まず、導入対象である血球由来細胞や幹細胞を生体から取り出し、トリプシンなどの分散化処理を行い、これらの細胞を培養液中に分散させる。次いで、培養液中に分散・浮遊化させた細胞をシリンジによってマイクロチャネルに送り込み、培養液を媒介とした流動により細胞を所定の処理位置まで移送する。処理位置に到達した細胞は、吸引機構により捕捉され、注入システムにより薬剤等が細胞の任意部位に導入される。

【0004】

特許文献3に記載されたシリンジユニットは、内部に培養液が充填されたシリンジの先端とマイクロチャネルとをチューブで結び、シリンジの吐出動作を行うことで、細胞がチューブを通してマイクロチャネルに送り込まれる。ここで、培養液で満たされたマイクロ

10

20

30

40

50

チャンネル内に気泡が混入していると、シリンジの吐出動作を行っても、混入した気泡が細胞の移送を妨げ、マイクロチャンネル内での送液が不安定になる。マイクロチャンネル内への気泡の混入は、様々な原因によって生じるが、特に、培養液を吐出し終わったシリンジを培養液が充填されたシリンジに交換するシリンジ交換の際に、チューブ内に入り込む空気が大きな原因になる。

【0005】

ところで、処理位置では細胞を吸引機構によって確実に捕捉するため、CCDカメラによる画像解析によって細胞の移動をモニタしており、細胞の移動をモニタするには、非常に微量の送液分解能が必要になる。すなわち、血球由来細胞は、浮遊化状態で直径が5～20 μm 程度の大きさであり、マイクロチャンネルの断面の大きさが細胞を内包する最小の寸法であればあるほど、細胞の移送や捕捉が容易になる。このため、マイクロチャンネルの断面形状を1辺が50 μm のほぼ正方形にすると、十分な送液分解能を得るためには細胞を500 $\mu\text{m}/\text{sec}$ で移送する必要があるが生じ、そのための流量は1.25 nL/sec になる。そこで、十分な送液分解能を得るために内径の細いシリンジを用いることが考えられる。

10

【特許文献1】実開平5-13198号公報

【特許文献2】特開2001-258545号公報

【特許文献3】特開2004-166653号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0006】

しかしながら、内径の細いシリンジを用いると、一回の吐出量が少なくなり、特許文献3に記載されたシリンジユニットでは、頻繁なシリンジ交換が必要になり、マイクロチャンネル内に気泡が大量に混入してしまう恐れがある。

【0007】

本発明は、上記事情に鑑み、気泡が混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ることができるポンプユニットおよびシリンジユニット、並びにそのポンプユニットを用いて実施する粒子送出方法およびそのシリンジユニットを用いて実施する細胞送出方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

30

【0008】

上記目的を解決する本発明のポンプユニットは、粒子が分散した液体中のその粒子を所定の場所に送り込むポンプユニットにおいて、

上記液体を貯留し、底部に上記所定の場所につながる開口が設けられた貯留槽、

上記液体を先端から吸引する吸引動作と吸引した液体をその先端から吐出する吐出動作とを行うポンプ、および

上記ポンプと上記貯留槽とを相対的に移動させることで、上記ポンプの先端と上記開口の縁との位置関係を、そのポンプの先端が上記貯留槽に貯留された液体中で上記開口の縁から上方に離間した離間関係と、その先端がその開口の縁に押し付けられた押付関係との間で変化させる移動機構を備え、

40

上記ポンプは、上記位置関係が、上記離間関係にある状態で上記吸引動作を行い上記粒子を内部に取り込み、上記押付関係にある状態で上記吐出動作を行い該粒子を送出するものであり、

上記移動機構が、上記位置関係を、上記離間関係と上記押付関係との間で変化させるにあたり、上記先端を上記貯留槽に貯留された液体中に漬け込んだまま変化させるものであることを特徴とする。

【0009】

本発明のポンプユニットによれば、上記位置関係が上記離間関係と上記押付関係との間で変化する間、上記ポンプ先端が上記液体の液面から引き上げられることがなく、シリンジ交換も必要がないことから空気の入り込みが防止される。このため、気泡が混入するこ

50

とが抑えられる。また、十分な送液分解能を得るために内径の細いシリンジを用いても、シリンジ交換が不要であり空気の入り込みが防止されているため、吐出動作と吸引動作を繰り返しても気泡が混入するといった問題が生じない。したがって、本発明のポンプユニットは、気泡が混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ることができる。

【0010】

また、本発明のポンプユニットにおいて、上記ポンプが、このポンプユニットから分離可能なものであることが好ましい。

【0011】

こうすることで、連続した送り込みを終えた後に新品のポンプに交換することができる。また、ポンプの清掃等のメンテナンスの際に、作業が行いやすい。

10

【0012】

ここで、上記移動機構は、上記ポンプの先端を上記開口の縁に向けて付勢する付勢手段と、その付勢手段の付勢力に抗して上記ポンプの先端を上記開口の縁から離間させるカム機構とを備えたものであってもよいし、あるいは、

上記移動機構が、ピエゾアクチュエータであってもよい。

【0013】

また、本発明のポンプユニットにおいて、上記位置関係が上記離間関係にある状態で上記ポンプの先端と上記開口の縁との間に存在する粒子あるいは気泡をその間から除去する除去手段を備えたことが好ましく、

上記除去手段が、上記ポンプの先端に流体を吹き付けるものであってもよい。

20

【0014】

上記除去手段を備えたことで、上記位置関係が上記離間関係から上記押付関係に変化する際に、上記ポンプの先端と上記開口の縁の間に上記粒子を挟み込んでしまうことを防止することができる。また、上記貯留槽に貯留された液体中に溶け込んでいた空気が気泡になって表れることがあり、こうして表れた気泡を除去することで、気泡が混入することをより確実に抑えることができる。

【0015】

また、本発明のポンプユニットにおいて、上記ポンプは、上記位置関係が上記移動機構によって上記離間関係から上記押付関係へ変化している最中に上記吐出動作を開始し、上記先端と上記開口の縁との間に存在する粒子あるいは気泡をその間から除去するものである態様や、あるいは、

30

上記移動機構は、上記位置関係が上記離間関係にある状態で、上記ポンプと上記貯留槽とを相対的に水平方向に移動させるものであり、

上記貯留槽は、底部に上向きに植毛され、上記ポンプとこの貯留槽とが相対的に水平方向に移動することでそのポンプの先端に摺擦しその先端に付着した付着物を除去するブラシ部材を有するものである態様も好ましい。

【0016】

これらの態様によっても、上記粒子の挟み込みや、気泡が混入することをより確実に抑えることができる。

【0017】

40

さらに、本発明のポンプユニットにおいて、上記貯留槽は、上記開口の縁が、上記底部の、その縁を囲う部分よりも上方に突出したものであることも好ましく、さらには、

上記開口の縁は、突出先端面が上に凸の曲面であることがより好ましい。

【0018】

上記縁を突出させることで、上記ポンプ先端が接する上記縁の面積が小さくなり、上記ポンプ先端の接触圧が高められる。また、上記ポンプ先端と上記開口の縁との間に上記粒子を挟み込む可能性が低くなり、突出量が上記粒子の直径よりも大きければ、その可能性がより低くなる。さらに、上に凸の曲面にすることで上記粒子が突出先端面から転がり落ち、その可能性がより一段と低くなる。

【0019】

50

またさらに、本発明のポンプユニットにおいて、上記ポンプは、上記位置関係が上記離間関係にある状態で、上記吸引動作と上記吐出動作を繰り返し行い、上記貯留槽内で偏在した粒子を分散させるものであることも好ましい。

【0020】

長時間の連続運転を行っていると、上記貯留槽内では、上記底部に上記粒子が沈殿してしまう等の上記粒子の偏在がどうしても起こりやすくなるが、こうすることで、上記ポンプ先端からの液体の出入りによって貯留槽内が攪拌され、偏在した粒子が分散する。

【0021】

また、本発明のポンプユニットにおいて、上記貯留槽に上記液体を供給する供給手段と、

10

上記貯留槽に貯留されている液体の液面の高さをモニタするモニタ手段と、
上記モニタ手段によるモニタ結果を受けて、上記液面の高さが所定の高さよりも低くなった場合に、上記供給手段に、上記液体を上記貯留槽へ供給させる制御部とを備えた態様も好ましい。

【0022】

この態様によれば、長時間の連続運転を行い、上記貯留槽の液面が低下してきても、上記ポンプ先端が液面よりも上になることを避けることができ、長時間の連続運転を行っても、気泡が混入することが抑えられる。

【0023】

上記目的を解決する本発明のシリンジユニットは、細胞が分散した懸濁液中のその細胞をマイクロチャンネルに送り込むシリンジユニットにおいて、

20

上記懸濁液を貯留し、底部に上記マイクロチャンネルにつながる開口が設けられた貯留槽と、
上記懸濁液を先端から吸引する吸引動作と吸引した懸濁液をその先端から吐出する吐出動作とを行うシリンジ、および

上記シリンジと上記貯留槽とを相対的に移動させることで、上記シリンジの先端と上記開口の縁との位置関係を、そのシリンジの先端が上記貯留槽に貯留された懸濁液中で上記開口の縁から上方に離間した離間関係と、その先端がその開口の縁に押し付けられた押付関係との間で変化させる移動機構を備え、

上記シリンジは、上記位置関係が、上記離間関係にある状態で上記吸引動作を行い上記細胞を内部に取込み、上記押付関係にある状態で上記吐出動作を行い該細胞を送出するものであり、

30

上記移動機構が、上記位置関係を、上記離間関係と上記押付関係との間で変化させるにあたり、上記先端を上記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させるものであることを特徴とする。

【0024】

上記目的を解決する本発明の粒子送出方法は、底部に所定の場所につながる開口が設けられた貯留槽に、粒子が分散した液体を貯留させる第1ステップ、

上記液体を先端から内部に吸引する吸引動作と吸引した液体をその先端から外部に向けて吐出する吐出動作とを行うポンプのその先端と上記開口の縁との位置関係が、そのポンプの先端が上記貯留槽に貯留された液体中で上記開口の縁から上方に離間した離間関係にある状態で、そのポンプにその吸引動作を行わせ、上記粒子をそのポンプの内部に取込む第2ステップ、

40

上記位置関係を、上記離間関係から上記ポンプの先端が上記開口の縁に押し付けられた押付関係へ、その先端を上記貯留槽に貯留された液体中に漬け込んだまま変化させる第3ステップ、

上記位置関係が上記押付関係にある状態で上記ポンプに上記吐出動作を行わせ、上記第2ステップを実施することでそのポンプの内部に取り込んだ粒子を送出する第4ステップ、および

上記位置関係を上記押付関係から上記離間関係へ、上記ポンプの先端を上記貯留槽に貯

50

留された液体中に漬け込んだまま変化させる第5ステップとを有し、

上記第2ステップから上記第5ステップまでを繰り返し実施することを特徴とする。

【0025】

本発明の粒子送出方法によれば、上記第2ステップから上記第5ステップまでを実施する間に上記ポンプ先端が上記液体の液面から引き上げられることがなく、シリンジ交換を行わないことから空気の入り込みが防止される。このため、気泡が混入することが抑えられる。また、十分な送液分解能を得るために内径の細いシリンジを用いても、シリンジ交換が不要であり空気の入り込みが防止されているため、上記第2ステップから上記第5ステップまでを繰り返しても気泡が混入するといった問題が生じない。したがって、本発明の粒子送出方法は、気泡が混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ることができる。

10

【0026】

上記目的を解決する本発明の細胞送出方法は、底部にマイクロチャネルの場所につながる開口が設けられた貯留槽に、細胞が分散した懸濁液を貯留させる第1ステップ、

上記懸濁液を先端から内部に吸引する吸引動作と吸引した懸濁液をその先端から外部に向けて吐出する吐出動作とを行うシリンジのその先端と上記開口の縁との位置関係が、そのシリンジの先端が上記貯留槽に貯留された懸濁液中で上記開口の縁から上方に離間した離間関係にある状態で、そのシリンジにその吸引動作を行わせ、上記細胞をそのシリンジの内部に取込む第2ステップ、

上記位置関係を、上記離間関係から上記シリンジの先端が上記開口の縁に押し付けられた押付関係へ、その先端を上記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させる第3ステップ、

20

上記位置関係が上記押付関係にある状態で上記シリンジに上記吐出動作を行わせ、上記第2ステップを実施することでそのシリンジの内部に取り込んだ細胞を送出する第4ステップ、および

上記位置関係を上記押付関係から上記離間関係へ、上記シリンジの先端を上記貯留槽に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま変化させる第5ステップとを有し、

上記第2ステップから上記第5ステップまでを繰り返し実施することを特徴とする。

【発明の効果】

【0027】

30

本発明によれば、気泡が混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ることができるポンプユニットおよびシリンジユニット、並びにそのポンプユニットを用いて実施する粒子送出方法およびそのシリンジユニットを用いて実施する細胞送出方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】第1実施形態のシリンジユニットが配備された物質導入装置を示す斜視図である。

【図2】図1に示すシリンジが吸引動作を行っている様子を示す図である。

【図3】図1に示すシリンジが吐出動作を行っている様子を示す図である。

40

【図4】図1に示すシリンジユニットの移動機構を図2及び図3それぞれに示すものとは異なる機構のものに代えた例を示す図である。

【図5】本実施形態のシリンジユニットが備える除去手段が細胞および気泡を除去している様子を示す図である。

【図6】図5に示す除去手段に代えてブラシ部材を設け気泡や細胞を除去している様子を示す図である。

【図7】図1に示す物質導入装置を用いて細胞へ物質を導入する手順を示すフローチャートである。

【図8】シリンジによって細胞や気泡を除去している様子を示す図である。

【図9】貯留ウェルの開口の縁を一段高くして細胞の挟み込みを防止している様子を示す

50

図である。

【図１０】貯留ウェルの開口の縁を囲う部分を一段低くして細胞の挟み込みを防止している様子を示す図である。

【図１１】図９に示す貯留ウェルの開口の縁を曲面にした例を示す図である。

【図１２】貯留ウェルの底部に沈殿した細胞をシリンジによって分散させている様子を示す図である。

【図１３】図７に示すステップＳ１２を自動化したシリンジユニットを示す図である。

【発明を実施するための最良の形態】

【００２９】

以下図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。

10

【００３０】

まず、本発明のポンプユニットの一実施形態であるシリンジユニットについて説明する。

【００３１】

図１は、第１実施形態のシリンジユニットが配備された物質導入装置を示す斜視図である。

【００３２】

図１に示す物質導入装置１は、医学分野において用いられるものであり、血球由来細胞や幹細胞へ薬剤等を導入する装置である。この物質導入装置１は、本発明のシリンジユニットの一実施形態にも相当するシリンジユニット１０と、ベース２０と、チャンネルプレート３０を有する。チャンネルプレート３０はベース２０の上に配備されたものであり、おもて面側に処理窓３１を有する。このチャンネルプレート３０の内部には、処理窓３１を通過するように延びるマイクロチャンネル３２が設けられている。マイクロチャンネル３２には、シリンジユニット１０によって細胞が送り込まれ、送り込まれた細胞はマイクロチャンネル３２内を移動する。チャンネルプレート３０の、処理窓３１が設けられた位置（処理位置）の裏面側には、不図示の吸引機構が配備されており、マイクロチャンネル３２内を移動してきた細胞は、この吸引機構によって捕捉される。処理位置では細胞を吸引機構によって確実に捕捉するため、ＣＣＤカメラによる画像解析によって細胞の移動をモニタにしている。図１には、捕捉された細胞（不図示）にキャピラリ９０によって薬剤等を導入している様子が示されている。また、チャンネルプレート３０の、処理位置の両脇には培養液（細胞が分散されていないもの）が貯留される培養液ウェル３３が設けられており、この培養液ウェル３３は、チャンネルプレート３０の内部でマイクロチャンネル３２に接続している。培養液ウェル３３内の培養液は、ベンチュリ効果によってマイクロチャンネル３２の内壁に沿った界面流を形成し、細胞の移送を補助する。さらに、マイクロチャンネル３２の下流側には、薬剤等の導入処理が完了した処理済みの細胞を溜める処理済ウェル３４が設けられている。

20

30

【００３３】

シリンジユニット１０は、マイクロチャンネル３２の上流側に配備されたものである。このシリンジユニット１０は、貯留ウェル１１とシリンジ１２と移動機構１３を備えている。また、シリンジ１２は、直線的に上下動する直動機構を備えており、この直動機構によって吸引動作と吐出動作を行うものである。

40

【００３４】

ここで、図１とともに図２及び図３も用いてシリンジユニット１０について詳述する。

【００３５】

図２は、図１に示すシリンジが吸引動作を行っている様子を示す図であり、図３は、図１に示すシリンジが吐出動作を行っている様子を示す図である。

【００３６】

貯留ウェル１１は、チャンネルプレート３０の、マイクロチャンネル３２の上流側に位置する部分に設けられたものであり、底部１１ａにはマイクロチャンネル３２につながる開口１１１が設けられている。この貯留ウェル１１には、細胞Ｃが分散した懸濁液Ｓが貯留され

50

る。

【0037】

シリンジ12は、直動機構121の他、シリンジバレル122とシリンジプランジャ123を有するものである。直動機構121は、図2に示すようにシリンジユニット10の上フレーム141に固定されたモータ1211、このモータ1211の回転を伝える上下に延びるボールねじ1212、およびボールねじ1212が貫通したガイド部材1213を有する。ガイド部材1213は、モータ1211が正逆回転することでボールねじ1212に沿って上下動するものである。シリンジプランジャ123の後端部分は、このガイド部材1213の先端に着脱自在に取り付けられており、シリンジバレル122は、シリンジユニット10の下フレーム142に着脱自在に取り付けられている。したがって、モータ1211が所定方向に回転することで図2に示すようにシリンジプランジャ123が引き上げられ、貯留ウェル11に貯留された懸濁液Sがシリンジバレル122の先端1221からシリンジバレル122の内部1222に吸引される（吸引動作）。図2には、吸引動作を行いシリンジバレル122の内部1222に細胞Cを取込む様子が示されている。反対に、モータ1211が逆方向に回転することで図3に示すようにシリンジプランジャ123が押し下げられ、吸引した懸濁液Sがその先端1221から吐出される（吐出動作）。図3には、シリンジバレル122の内部1222に取り込んだ細胞Cを、吐出動作を行うことで開口111を経由させてマイクロチャンネル32へ送出する様子が示されている。

10

【0038】

本実施形態のシリンジユニット10によれば、吸引動作と吐出動作を連続して繰り返すことができ、シリンジプランジャ123およびシリンジバレル122を連続処理の途中で新品のものに交換することは不要である。ただし、連続処理を終えた後、新品のものに交換する必要がある場合には、シリンジプランジャ123およびシリンジバレル122はいずれも着脱自在に取り付けられているため、新品のシリンジに容易に交換することができる。また、シリンジの滅菌処理等のメンテナンスの際に、シリンジを取り外すことができ作業性が良好である。

20

【0039】

さらに、シリンジバレル122には、内径の細い（例えば、0.5mm～1.0mm）ものを用いて、十分な送液分解能を得ている。

30

【0040】

移動機構13は、下フレーム142の両脇それぞれに設けられたものであるが、図1では、一方の移動機構13しか図示されていない。いずれの移動機構13も、カムモータ131、偏心カム部材132、およびバネ部材133を有する。また、図1に示すように、ベース20上の、チャンネルプレート30の両脇には一対の高さ規定ブロック43が配備されており、この図1には、シリンジユニット10の下フレーム142が、これら一対の高さ規定ブロック43の上に載置されている様子が示されている。バネ部材133は、シリンジユニット10の下フレーム142がこれら一対の高さ規定ブロック43の上に載置された状態になるまでシリンジユニット10を下方へ向けて付勢する。すなわち、バネ部材133は、シリンジバレル122の先端1221を貯留ウェル11の開口111の縁112（図2及び図3参照）に向けて付勢する付勢手段である。図3に示すシリンジユニット10は、下フレーム142が一対の高さ規定ブロック43の上に載置された状態のものであり、シリンジバレル122の先端1221が貯留ウェル11の開口111の縁112に押し付けられている。したがって、図3に示すシリンジバレル122の先端1221と貯留ウェル11の開口111の縁112との位置関係は、シリンジバレル122の先端1221が貯留ウェル11の開口111の縁112に押し付けられた押付関係にある。

40

【0041】

図1に示すように、カムモータ131はベース20上に固定されたものであり、回転軸にはピニオンギア1311が固着されている。偏心カム部材132は、ラック部材1321と、偏心カム1322とからなるものである。ラック部材1321は、カムモータ13

50

1が回転することでベース20上を摺動するものである。偏心カム1322は、一对の高さ規定ブロック43に回転自在に軸支されたものであり、ラック部材1321が摺動することで回転する。この偏心カム1322は、回転することでカム面が、一对の高さ規定ブロック43に載置されたシリンジユニット10の下フレーム142を押し上げる。すなわち偏心カム部材132は、シリンジバレル122の先端1221を、バネ部材133の付勢力に抗して、懸濁液S中で貯留ウェル11の開口111の縁112から離間させるものである。図2に示すシリンジバレル122の先端1221と貯留ウェル11の開口111の縁112との位置関係は、シリンジバレル122の先端1221が貯留ウェル11に貯留された懸濁液S中で開口111の縁112から上方に離間した離間関係にある。よって、移動機構13は、シリンジ12を上下動させることで、シリンジバレル122の先端1221と貯留ウェル11の開口111の縁112との位置関係を、図2に示す離間関係と図3に示す押付関係との間で変化させるものである。さらに、本実施形態における移動機構13は、上記位置関係を、離間関係と押付関係との間で変化させるにあたり、シリンジバレル122の先端1221を貯留ウェル11に貯留された懸濁液S中に漬け込んだまま変化させるものである。したがって、本実施形態のシリンジユニット10によれば、上記位置関係が離間関係と押付関係との間で変化する間、シリンジバレル122の先端1221が懸濁液Sの液面から引き上げられることがなく、連続処理の途中でシリンジ交換も不要であることから空気の入り込みが防止される。このため、マイクロチャネル32内に気泡が混入することが抑えられる。また、シリンジバレル122には、内径の細いものを用いているため、気泡が混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ている。

10

20

【0042】

ここで、図2及び図3に示す移動機構13の変形例について説明する。以下の説明では、今まで説明した構成要素の名称と同じ名称の構成要素にはこれまで用いた符号を付して説明する。

【0043】

図4は、図1に示すシリンジユニットの移動機構を図2及び図3それぞれに示すものとは異なる機構のものに代えた例を示す図である。

【0044】

図4に示す移動機構13も、付勢手段としてのバネ部材133を有するが、カムモータ131および偏心カム部材132の2つの構成要素に代えて piezoアクチュエータ134を有する。この piezoアクチュエータ134は、ベース20上で下フレーム142に固定されており、圧電効果あるいは逆圧電効果を利用して伸長することで、シリンジバレル122の先端1221を、バネ部材133の付勢力に抗して、懸濁液S中で貯留ウェル11の開口111の縁112から離間させるものである。図4には、伸長した piezoアクチュエータ134が示されており、この図4における上記位置関係は離間関係にある。

30

【0045】

なお、これまで説明した移動機構はいずれも、シリンジ12を上下動させることで上記位置関係を離間関係と押付関係との間で変化させるものであるが、貯留ウェル11を上下動させることで上記位置関係を離間関係と押付関係との間で変化させるものであってもよい。すなわち、移動機構は、シリンジ12と貯留ウェル11とを相対的に移動させることで、上記位置関係を離間関係と押付関係との間で変化させるものであればよい。

40

【0046】

さらに、本実施形態のシリンジユニット10は、上記位置関係が離間関係にある状態でシリンジバレル122の先端1221と貯留ウェル11の開口111の縁112との間に存在する細胞あるいは気泡をその間から除去する除去手段を有する。

【0047】

図5は、本実施形態のシリンジユニットが備える除去手段が細胞および気泡を除去している様子を示す図である。

【0048】

この図5には、シリンジバレル122の先端1221に気泡Bが付着している様子が示

50

されている。シリンジバレル 1 2 2 の先端を貯留ウェル 1 1 に貯留された懸濁液 S 中に最初に漬けたときには、シリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 1 に気泡 B が付着してしまうことがある。また、貯留ウェル 1 1 に貯留された懸濁液中に溶け込んでいた空気が気泡になって表れることがある。さらに、上記位置関係が離間関係から押付関係に変化する際に、シリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 1 と開口 1 1 1 の縁 1 1 2 との間に細胞 C が存在すると、その細胞 C を挟み込んでしまう恐れがある。図 5 に示す除去手段 1 5 1 は、シリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 1 と貯留ウェル 1 1 の開口 1 1 1 の縁 1 1 2 との間に培養液を吹き付けるものである。この除去手段 1 5 によって培養液を吹き付けることで、その間に存在する気泡 B や細胞 C がその間から除去される。したがって、本実施形態のシリンジユニット 1 0 によれば、細胞 C を先端 1 2 2 1 と縁 1 1 2 との間に挟み込んでしまうことを防止するとともに気泡 B がマイクロチャネル 3 2 内に混入することをより確実に抑えることができる。

10

【0049】

図 6 は、図 5 に示す除去手段に代えブラシ部材を設けて気泡や細胞を除去している様子を示す図である。

【0050】

ここでの移動機構 1 3 は、上記位置関係が離間関係にある状態で、シリンジ 1 2 を水平方向（図 6 中の矢印参照）にも移動させることができるものである。なお、移動機構 1 3 は、シリンジ 1 2 と貯留ウェル 1 1 とを相対的に水平方向に移動させるものであればよい。また、図 6 に示す貯留槽 1 1 は底部 1 1 a にブラシ部材 1 1 5 を有する。このブラシ部材 1 1 5 は、底部 1 1 a に上向きに植毛され、シリンジ 1 2 が水平方向に移動することでシリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 1 に摺擦し、その先端 1 2 2 1 に付着した気泡 B や細胞 C を除去するものである。こうすることでも、細胞 C を先端 1 2 2 1 と縁 1 1 2 との間に挟み込んでしまうことを防止するとともに気泡 B がマイクロチャネル 3 2 内に混入することをより確実に抑えることができる。

20

【0051】

続いて、図 1 に示す物質導入装置 1 を用いて細胞へ薬剤等の物質を導入する手順について説明する。この手順には、本発明の粒子送出方法の一実施形態である細胞送出方法の手順が含まれている。

【0052】

図 7 は、図 1 に示す物質導入装置を用いて細胞へ物質を導入する手順を示すフローチャートである。

30

【0053】

図 7 に示すフローチャートでは、マイクロチャネル 3 2 内の送液状態を安定させてから薬剤等の物質の導入処理を行う。まず、図 1 に示すベース 2 0 上にチャネルプレート 2 0 をセットし（ステップ S 1）、次いで、シリンジユニット 1 0 をセットする（ステップ S 2）。シリンジユニット 1 0 をセットした状態では、バネ部材 1 3 3 の付勢力により上記位置関係は図 3 に示す押付関係にある。続いて、送液安定用として貯留ウェル 1 1 に細胞が分散していない培養液を滴下するとともに（ステップ S 3）、培養液ウェル 3 3 にも培養液を滴下する（ステップ S 4）。次に、移動機構 1 3 のカムモータ 1 3 1 を回転させ偏心カム 1 3 2 2 のカム面によって下フレーム 1 4 2 を押し上げ、シリンジ 1 2 を数百 μm （例えば 200 μm ~ 300 μm ）上昇させ（ステップ S 5）、上記位置関係を押付関係から図 2 に示す離間関係にする。次いで、離間関係を維持したまま、図 5 に示す除去手段 1 5 1 によってシリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 1 と貯留ウェル 1 1 の開口 1 1 1 の縁 1 1 2 との間に培養液を吹き付け（ステップ S 6）、その間に存在する気泡 B をその間から除去する。続いて、離間関係にある状態でシリンジ 1 2 に吸引動作を行わせ、シリンジバレル 1 2 2 の内部 1 2 2 2 へ培養液を充填する（ステップ S 7）。次に、カムモータ 1 3 1 を回転させ偏心カム 1 3 2 2 のカム面による押し上げを解除し、バネ部材 1 3 3 の付勢力によって上記位置関係を図 3 に示す押付関係に戻す（ステップ S 8）。すなわち、シリンジ 1 2 を下降させ、シリンジバレル 1 2 2 の先端 1 2 2 2 を開口 1 1 1 に接続する。

40

50

続いて、押付関係にある状態でシリンジ12に吐出動作を行わせ、ステップS7を実施することで内部に充填した培養液を、開口111を経由してマイクロチャネル32へ送出する（ステップS9）。ここで、シリンジプランジャ123が最前進位置にあるか否かを判定する（ステップS10）。すなわち、シリンジプランジャ123が完全に押し下げられ吐出動作が終了したか否かを判定し、終了していなければ吐出動作を続行させ（ステップS9）、終了していればステップS11へ進む。ステップS11では、マイクロチャネル32内の送液状態が安定したか否かを判定し、不安定であればステップS5へ戻り、安定していればステップS12へ進み、物質導入処理を開始する。

【0054】

物質導入処理ではまず、ステップS12で、貯留ウェル11に細胞Cが分散している懸濁液を滴下する（本発明にいう第1ステップの一例に相当）。次に、ステップS5と同様にしてシリンジ12を数百 μm 上昇させ（ステップS13）、上記位置関係を、シリンジバレル122の先端1221を貯留ウェル11に貯留された培養液中に漬け込んだまま離間関係にする。次いで、離間関係を維持したまま、ステップS6と同様にして培養液を吹き付け（ステップS14）、ステップS15へ進む。このステップS14では、細胞や貯留ウェル11に貯留された懸濁液中に溶け込んでいた空気による気泡が、シリンジバレル122の先端1221と開口111の縁112との間から除去される。ステップS15では、離間関係にある状態でシリンジ12に吸引動作を行わせ、シリンジバレル122の内部1222へ細胞Cを取り込む（本発明にいう第2ステップの一例に相当）。ステップS15に続くステップS16においては、ステップS8と同様にして上記位置関係を、シリンジバレル122の先端1221を貯留ウェル11に貯留された懸濁液中に漬け込んだまま図3に示す押付関係へ戻し（本発明にいう第3ステップの一例に相当）、ステップS17へ進む。ステップS17では、押付関係にある状態でシリンジ12に吐出動作を行わせ、ステップS15を実施することで内部に充填した細胞Cを、開口111を経由してマイクロチャネル32へ送出し（本発明にいう第4ステップの一例に相当）、図1に示す処理窓31が設けられた処理位置において、細胞を捕捉し細胞へ薬剤等の物質を導入する（ステップS18）。次に、ステップS10と同様にシリンジプランジャ123が最前進位置にあるか否かを判定し（ステップS19）、最前進位置に到達していなければ吐出動作を続行させ（ステップS17）、到達していればステップS20へ進む。ステップS20では、必要な数の細胞に物質が導入されたか否か、すなわち物質導入処理が終了したか否かを判定し、終了していなければステップS13へ戻り、物質導入処理が終了するまでステップS13からステップS20までを繰り返し実施する。一方、物質導入処理が終了すればこのフローチャートも終了になる。

【0055】

以上説明した、細胞への物質導入の手順では、ステップS5からステップS20までを実施する間にシリンジバレル122の先端1221が懸濁液の液面から引き上げられることがなく、シリンジ交換を行わないことから空気の入り込みが防止されている。このため、気泡がマイクロチャネル32へ混入することが抑えられる。また、十分な送液分解能を得るために内径の細いシリンジを用いても、シリンジ交換が不要であり空気の入り込みが防止されているため、ステップS13からステップS20までを繰り返しても気泡が混入するといった問題が生じない。

【0056】

続いて、本実施形態のシリンジユニットの応用例について説明する。

【0057】

本実施形態のシリンジユニット10では、図7に示すステップS6やステップS14において図5に示す除去手段15によって培養液を吹き付けることで、細胞Cや気泡Bを除去しているが、ステップS16の実施中に細胞Cや気泡Bの除去を行う応用例についてまず説明する。

【0058】

図8は、シリンジによって細胞や気泡を除去している様子を示す図である。

【0059】

図8に示すシリンジ12は、上記位置関係が離間関係から押付関係へ変化している最中（図7に示すステップS16の実施中）に吐出動作を開始し、シリンジバレル122の先端1221と開口111の縁112との間に存在する細胞Cや気泡Bが、その先端1221から吐出される懸濁液Sの流れによって貯留ウェル11の周壁側へ除去される。

【0060】

こうすることで、細胞Cの挟み込みやマイクロチャネル32への気泡Bの混入をより確実に抑えることができる。

【0061】

また、貯留ウェルの開口の縁を、底部の、その縁を囲う部分よりも上方突出したものにすることで、細胞の挟み込みを防止することも可能である。

10

【0062】

図9は、貯留ウェルの開口の縁を一段高くして細胞の挟み込みを防止している様子を示す図であり、図10は、貯留ウェルの開口の縁を囲う部分を一段低くして細胞の挟み込みを防止している様子を示す図である。

【0063】

図9に示す貯留ウェル11の開口111の縁112は、底部11aの、その縁112を囲う部分113よりも細胞Cの直径（浮遊状態で5～20μm）以上突出したものである。また、図10に示す底部11aの、開口111の縁112を囲う部分113は、その縁112よりも細胞Cの直径以上窪んだ溝である。これらのようにすることで、シリンジバレル122の先端1221と開口111の縁112との間に細胞Cを挟み込む可能性がより低くなる。また、シリンジバレル122の先端1221が接する縁112の面積が小さくなり、先端1221の接触圧が高められる。

20

【0064】

図11は、図9に示す貯留ウェルの開口の縁を曲面にした例を示す図である。

【0065】

図11に示す貯留ウェル11の開口111の縁112は、上方に向かって突出しており、突出先端面1121が上に凸の曲面である。上に凸の曲面にすることで細胞Cが開口111の縁112に留まらずに転がり落ち、細胞Cの挟み込みの可能性がより一段と低くなる。

30

【0066】

次に、長時間の連続処理を行っていると、貯留ウェル11内では、底部11aに細胞Cが沈殿してしまう等の細胞Cの偏在がどうしても起こりやすくなる。このため、偏在した細胞Cを分散させる応用例について説明する。

【0067】

図12は、貯留ウェルの底部に沈殿した細胞をシリンジによって分散させている様子を示す図である。

【0068】

図12に示すシリンジ12は、上記位置関係が離間関係にある状態で、吸引動作と吐出動作を繰り返し行い、シリンジバレル122の先端1221から懸濁液Sを出入りさせる。この懸濁液Sの出入りによって貯留ウェル11内が攪拌され、底部11aに沈殿していた細胞Cが分散される。

40

【0069】

最後に、図7に示すステップS12を自動化し、長時間の連続処理をより行いやすくしたシリンジユニット10について説明する。

【0070】

図13は、図7に示すステップS12を自動化したシリンジユニットを示す図である。

【0071】

図13に示すシリンジユニット10が備える貯留ウェル11には、不純物が入り込みことを防止するため蓋体115が設けられている。このシリンジユニット10は、貯留ウェ

50

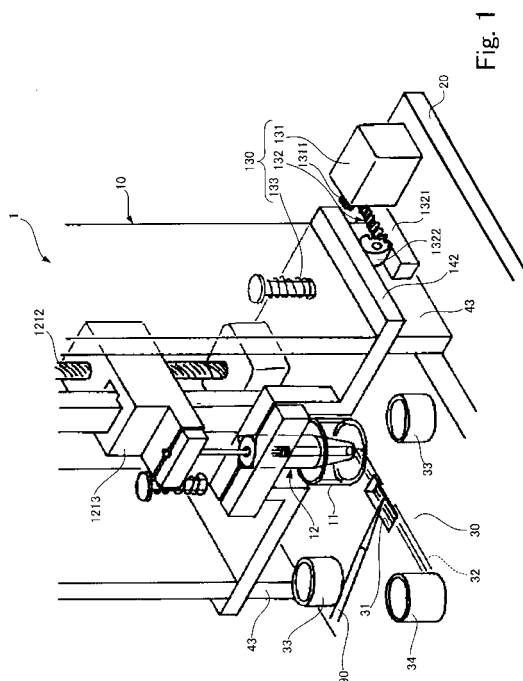
ル 11 やシリンジ 12 等の他、供給手段 16 やモニタ手段 17 や制御部 18 も有する。供給手段 16 は貯留ウェル 11 に、細胞 C が分散した懸濁液 S を供給するものである。図 13 に示す供給手段 16 は、バルブ 161 と供給パイプ 162 を有するものであり、このバルブ 161 が開かれることで、懸濁液 S が供給パイプ 162 を通って貯留ウェル 11 へ供給される。モニタ手段 17 は、貯留ウェル 11 に貯留されている懸濁液 S の液面 S' の高さをモニタする液面センサである。また、制御部 18 は、モニタ手段 17 によるモニタ結果を受けて、液面 S' の高さが所定の高さ h よりも低くなった場合に、供給手段 16 のバルブ 161 を開け、懸濁液 S を貯留ウェル 11 へ供給させるものである。図 13 には上記位置関係が離間関係にある状態が示されており、ここにいう所定の高さ h とは、この離間関係にある状態のシリンジバレル 122 の先端 1221 の高さよりもある程度高い高さをいう。図 13 に示すシリンジユニット 10 によれば、長時間の連続処理を行い、貯留ウェル 11 の液面 S' が低下してきても、シリンジバレル 122 の先端 1221 が液面 S' よりも上になることを避けることができ、長時間の連続運転を行っても、気泡がマイクロチャネル 32 内に混入することが抑えられる。

10

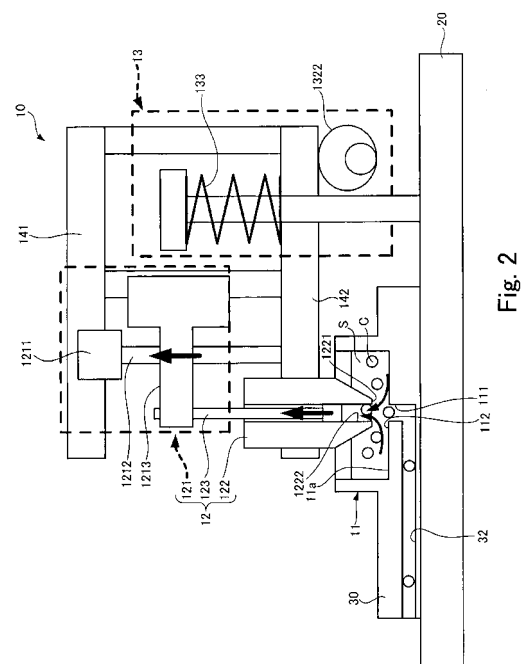
【0072】

以上説明したように、本実施形態のシリンジユニット 10 によれば、気泡がマイクロチャネル 32 に混入することを抑えつつ十分な送液分解能を得ることができる。なお、本発明は、医学分野における細胞の送出に限らず、広く様々な分野に適用することができる。

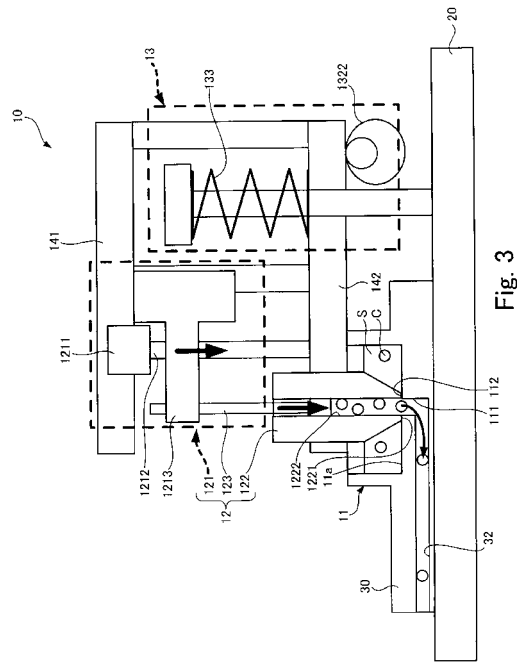
【図 1】



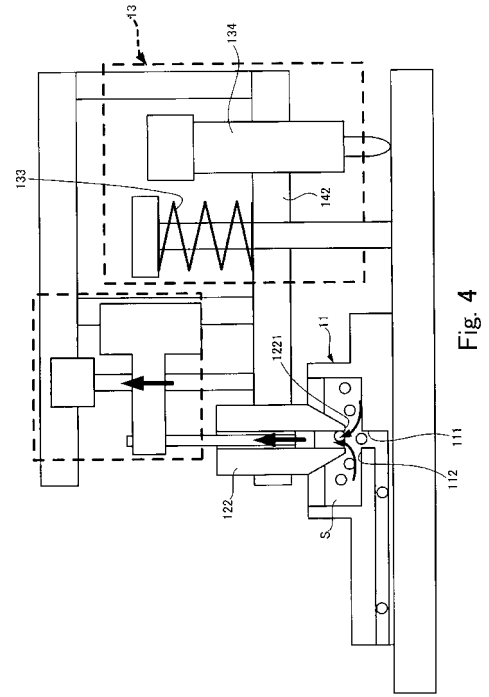
【図 2】



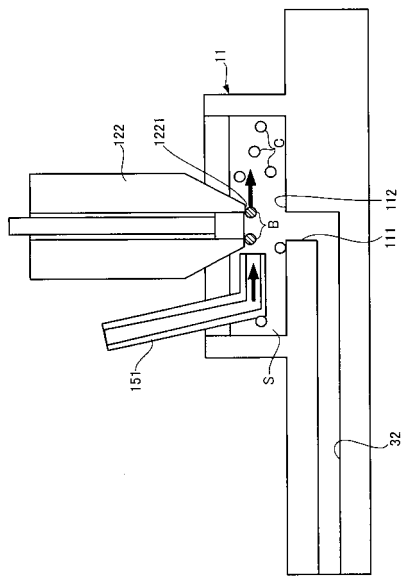
【図 3】



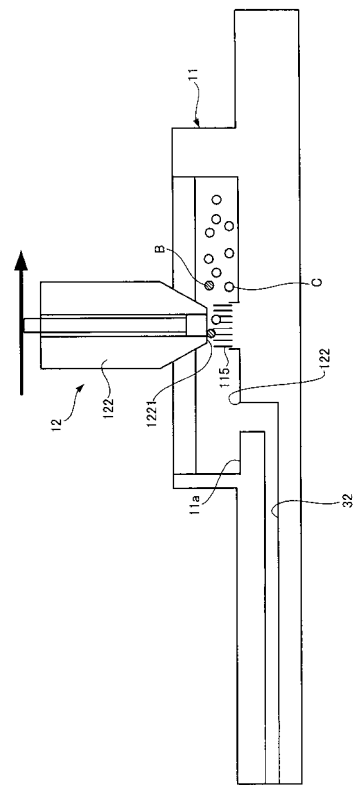
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【図 7】

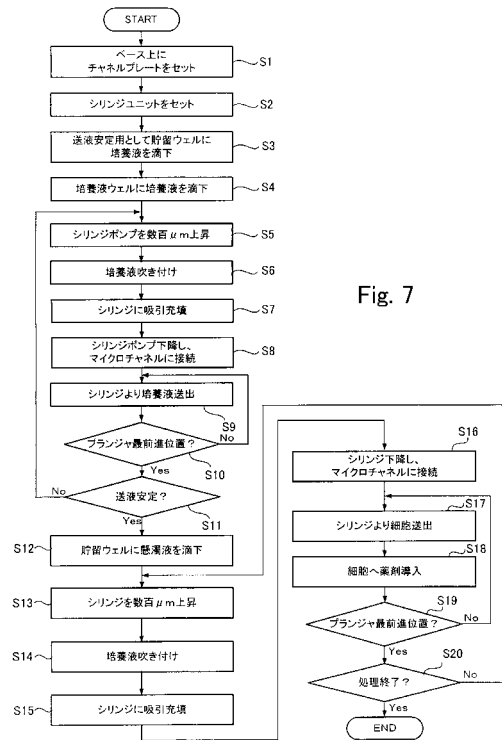


Fig. 7

【図 8】

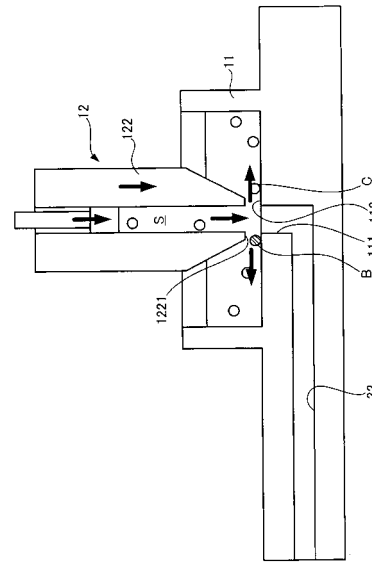


Fig. 8

【図 9】

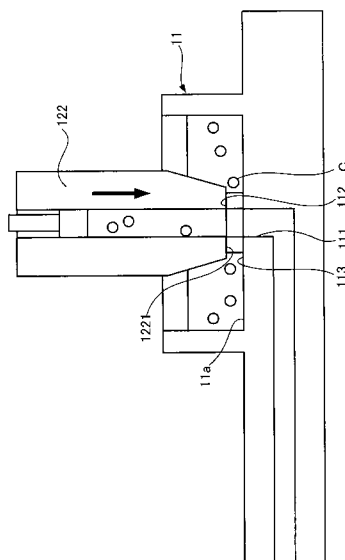


Fig. 9

【図 10】

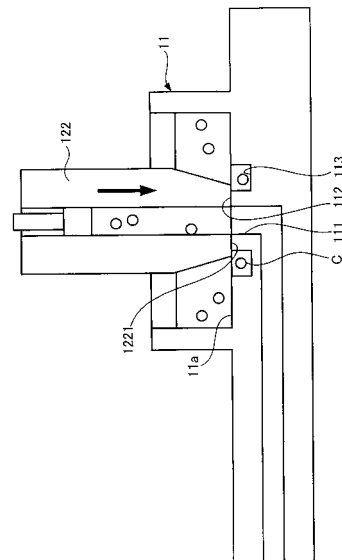


Fig. 10

【図 1 1】

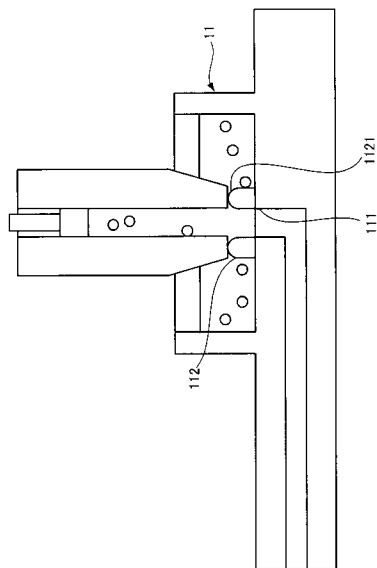


Fig. 11

【図 1 2】

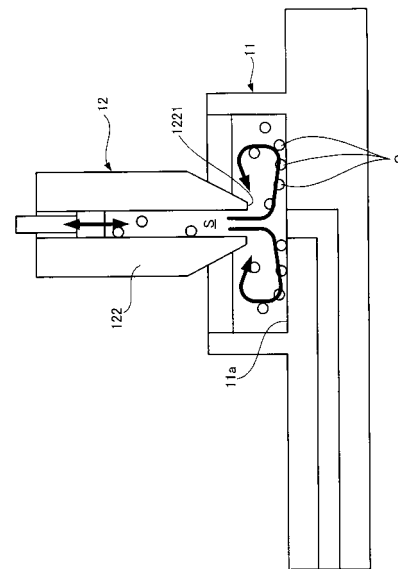


Fig. 12

【図 1 3】

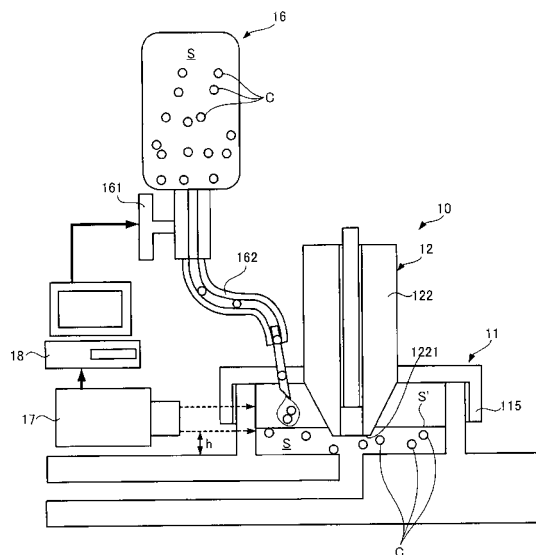


Fig. 13

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2006-158335 (JP, A)
国際公開第2004/090090 (WO, A1)
特開2003-19455 (JP, A)
特開2002-372151 (JP, A)
特開2004-37446 (JP, A)
実開平3-87692 (JP, U)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 1/00-3/10
B01L 1/00-11/02
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
WPI