

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4977711号
(P4977711)

(45) 発行日 平成24年7月18日 (2012. 7. 18)

(24) 登録日 平成24年4月20日 (2012. 4. 20)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 15/14 (2006. 01)

GO 1 N 15/14

C

GO 1 N 33/49 (2006. 01)

GO 1 N 33/49

H

請求項の数 21 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2008-536820 (P2008-536820)
 (86) (22) 出願日 平成18年10月17日 (2006. 10. 17)
 (65) 公表番号 特表2009-512859 (P2009-512859A)
 (43) 公表日 平成21年3月26日 (2009. 3. 26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/041011
 (87) 国際公開番号 W02007/047908
 (87) 国際公開日 平成19年4月26日 (2007. 4. 26)
 審査請求日 平成20年5月15日 (2008. 5. 15)
 (31) 優先権主張番号 60/728, 058
 (32) 優先日 平成17年10月19日 (2005. 10. 19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 11/257, 757
 (32) 優先日 平成17年10月25日 (2005. 10. 25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 500389210
 ウォードロウ パートナーズ エルピー
 アメリカ合衆国、コネチカット、ライム、
 ハイロック
 (73) 特許権者 500417362
 レビン、ロバート、エイ
 アメリカ合衆国コネチカット州、ギルフォ
 ード、ビルグリム レーン 31
 (73) 特許権者 500417328
 ウォードロウ、スチーブン、シー
 アメリカ合衆国、コネチカット、 ライム
 、ハイロック
 (74) 代理人 100066692
 弁理士 浅村 皓

前置審査

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体液試料内の計数を行うための装置および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗凝固処理全血液の試料内の 1 つ以上の特定要素を計数するための方法であって、
 略均一な高さによって互いから分離される、透明である第 1 の平面部材と第 2 の平面部
 材とを設けて、それらの間にチェンバを形成するステップであって、前記試料を前記チェ
 ンバ内に導入した際に前記特定要素の少なくとも 1 つが前記試料内で不均一に分布するよ
 うな高さのチェンバを形成するステップと、
 前記試料を前記チェンバに導入して、前記試料を前記チェンバの少なくとも一部におい
 て前記第 1 および第 2 部材間に延在させるステップと、
 前記チェンバ内の前記試料の実質的全体を検査し、前記不均一に分布する特定要素を含
 む前記特定要素の少なくとも 1 つの全体を計数するステップと、
 前記チェンバ内に含まれる試料の体積を決定するステップと、
 単位体積ごとの前記計数された特定要素の少なくとも 1 つの数を決定するステップと、
 を含む方法。

【請求項 2】

抗凝固処理全血液の試料内の 1 つ以上の特定要素を計数するための方法であって、
 略均一な高さによって互いから分離される、透明である第 1 の平面部材と第 2 の平面部
 材とを設けて、それらの間に所定の体積を有するチェンバを形成するステップであって、
 前記試料が前記チェンバ内に導入された際に前記特定要素の少なくとも 1 つが前記試料内
 で不均一に分布するような高さのチェンバを形成するステップと、

10

20

前記試料を前記チェンバに導入して、前記試料を実質的に前記チェンバの全範囲にわたって前記第1および第2部材間に延在させるステップと、

前記チェンバ内の前記試料の実質的全体を検査して、前記不均一に分布する特定要素を含む前記特定要素の少なくとも1つの全体を計数するステップと、

単位体積ごとの前記計数された特定要素の少なくとも1つの数を決定するステップと、を含む方法。

【請求項3】

検査する、体積を決定する、及び/又は数を決定する前記ステップは、デジタル画像分析を利用する、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

前記特定要素の前記計数された少なくとも1つは白血球を含む、1から3の何れか1項に記載の方法。

【請求項5】

前記計数される特定要素の少なくとも1つは、識別可能となり別々に計数されるように選択的に染色される表面エピトープを有する、白血球の小集団である、請求項1から4の何れか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記試料内に不均一に分布される特定要素の全てを計数する、請求項1から5の何れか1項に記載の方法。

【請求項7】

前記試料内に不均一に分布される特定要素が、複数種の特定要素を含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記計数される特定要素の第一の要素の厚さが、第二の要素の厚さより大きい、請求項1から7の何れか1項に記載の方法。

【請求項9】

前記チェンバの高さは、前記試料を前記チェンバ内に導入した際に、前記第二の要素が、第一の要素より遠くに離れて分散する高さである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記第一の要素は白血球であり、前記第二の要素は赤血球である、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項11】

前記チェンバの高さは、20 μm以下である、請求項4、5又は10に記載の方法。

【請求項12】

前記チェンバの高さは、前記試料を前記チェンバ内に導入した際に、前記第一の要素が前記チェンバの入り口付近に集まる高さである、請求項8から11の何れか1項に記載の方法。

【請求項13】

前記チェンバの高さは、前記計数される特定要素の少なくとも1つが前記第1および第2部材間で僅かに圧縮される高さである、請求項1から7の何れか1項に記載の方法。

【請求項14】

サンプリング装置と、画像分析装置とを備える、抗凝固処理全血液の試料内の1つ以上の特定要素を計数するための装置であって、

前記サンプリング装置は、透明である第1の平面部材と、第2の平面部材とを有し、

前記第1及び第2の部材は、略均一である高さによって互いから分離されて、それらの間にチェンバが形成されており、前記チェンバが、前記試料が前記チェンバ内に導入された際に前記計測される特定要素の少なくとも1つが前記試料内で不均一に分布するような高さを有し、

前記画像分析装置は、前記導入された試料中の前記不均一に分布している特定要素の少なくとも1つの実質的に総てを検出又は計数する、装置。

10

20

30

40

50

【請求項 1 5】

前記第 1 の平面部材と前記第 2 の平面部材との間に延在する 1 つ以上の側壁をさらに備える、請求項 1 4 に記載の装置。

【請求項 1 6】

前記 1 つ以上の側壁は結合材を含む、請求項 1 5 に記載の装置。

【請求項 1 7】

前記側壁は、実質的または完全にチェンバ領域を取り囲む形状に形成される、請求項 1 4 から 1 6 の何れか 1 項に記載の装置。

【請求項 1 8】

前記 1 つ以上の側壁は実質的に結合材から成る、請求項 1 6 又は 1 7 に記載の装置。

10

【請求項 1 9】

前記第 1 の平面部材に配置される吸気ポートをさらに備える、請求項 1 4 から 1 8 の何れか 1 項に記載の装置。

【請求項 2 0】

1 つ以上の通気開口をさらに備える、請求項 1 4 から 1 9 の何れか 1 項に記載の装置。

【請求項 2 1】

さらにデジタル画像分析装置を含む、請求項 1 4 から 2 0 の何れか 1 項に記載の装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

20

出願者は、その開示は参照することによって本書に組み込まれる、2005 年 10 月 19 日に出願された米国暫定特許出願第 60 / 728, 058 号および 2005 年 10 月 25 日に出願された米国特許出願第 11 / 257, 757 号の優先利益を、ここに請求する。

【0002】**発明の背景****1. 技術分野**

本発明は、概して生体液を分析するためのチェンバに関し、特に生体液内の粒子状物質の計数を可能にするチェンバに関する。

【背景技術】

30

【0003】**2. 背景情報**

完全血球算定 (CBC) は、全血に対する最も頻繁に行われる試験の一式であり、とりわけ白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、および血小板数などの多数の個別分析を含む。使用される方法は、一式の検体の完全性、機器の複雑性および費用、および試験ごとの費用によって異なる。米国特許第 4, 156, 570 号に説明される QBC (登録商標) 方法などの、最も複雑でない方法は資本費用が最も安く、実施しやすいが、典型的に試験ごとの費用がより高い。QBC (登録商標) 方法は、操作者の訓練が最小限であり、一日にわずかな試験しか行われない治療場面での状況に最も適している。反対に、病院または参照試験所で使用される大量血液分析器の資本費用は 20 倍高いが、大量方式で使用

40

【0004】

細胞を数える最も簡単かつ古い方法の 1 つは、血球計算板の使用を伴う。血球計算板では、血液の正確な希釈が行われる。近似量のその希釈は後に、チェンバに流れ込むと、希釈試料が希釈試料内で見られるのと同じ細胞の均一性を維持するのに十分な高さを持つ、計数チェンバ内に入れられる。つまり、チェンバに流れ込み、その中を流れる試料のため、チェンバは、細胞またはその他の要素のいずれも選択的に濃縮または希釈してはならない。これは、チェンバの既知領域内の細胞の表示端数のみが数えられるためである。細胞の分布が歪められると、そのような計数は試料全体の計数を不正確に反映することとなる

50

。

【0005】

Abbott Cell-Dyn（登録商標）またはBayer Advia（登録商標）などの、大型の現代的システムは、フローサイトメータ（FC）のある変形に基づいており、多数のステップで正確な量の血液が正確に希釈され、試薬と混合される。流体弁は、希釈試料を複数の試験領域内へと送る。血球計算板と同様に、希釈試料の代表部分の計数が元の試料内の計数を表すことができるように、希釈剤内の細胞の分布は比較的一様のままでなければならない。この方法は、これらの機器の信頼性が比較的低くなる時点まで、かなりの機器の複雑性を必要とする。実際に、このような大型システムでは、予防的メンテナンスまたは修理が毎週、またはより頻繁に行われる必要があることは珍しくなく、これは特別に訓練された試験室科学技術者または保守技術員の技能を必要とし、その全ては運用費を大幅に増大させる。もう1つの隠れた運用費は、システムを適切に機能させるために必要とされる、水洗、清掃、および校正手順である。

10

【0006】

QBC（登録商標）システムでは、近似値の血液が毛細管に入れられ、遠心分離され、検査される。この方法は、正確な試料を必要としないものの、細胞がほとんど存在しないと、真の細胞計数を出さず、細胞数の正確な推定値を出すことができない。

【0007】

中間システムは、米国特許第6,723,290号、第6,866,823号、第6,869,570号、および第6,929,953号に説明されており、血液は分析のために使い捨てディスクに入れられる。これらの特許は、上述のフローサイトメトリシステムと同じ分析的データの広さを提供することが可能である、信頼性がある低価格で使いやすい方法および機器を説明している。このシステムでは、近似値の未希釈試料が、その特徴が試料内の細胞の分布を略均一のままにすることができるディスクに入れられる。所与の画像化フィールド内の細胞が数えられ、そのフィールドの体積が決定され、そして体積ごとの細胞計数が計算される。このシステムでは、血球計算板と同様に、細胞の分布が略均一であるため、チェンバに加えられる試料の一部のみを数える必要がある。しかしこの方法は、少量試験にとっては有利であるが、大量試験を特に対象としない、使い捨てディスクを必要とする。

20

【0008】

細胞計数および細胞形態学が試料から取得できるように、全血の未希釈試料内の要素を十分な厚さのチェンバ内で数えることができるシステム、および不均一な分布の影響を軽減することができるシステムを有することは、有利となるであろう。そのような分析システムは、流体操作および試料の正確な測定または希釈を軽減または除去し、そのような分析のための、より簡単かつより費用のかからない方法を結果としてもたらすであろう。

30

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0009】

簡単で正確かつ比較的低価格である、液状媒体内の要素を数えるための方法および装置を提供する。該方法および装置は特に、抗凝固処理全血液の試料内の血球計数（つまり、WBC、RBCなど）を行うのに適している。本方法では、近似値の試料を、血液を数えるために、概して20ミクロン未満、好ましくは約4ミクロンの非常に小さい高さのチェンバ内に入れる。チェンバに入れると、試料内のある種類の要素の分布が著しく変化する。試料内のある要素に対する分布の変化は、チェンバの高さに対して試料内の要素のサイズに起因する。血液の試料がチェンバ内に導入されると、例えば、試料内の赤血球がチェンバの周辺に集中し、試料内の白血球がチェンバの試料入口の付近に集中する。RBCはより小さく、典型的に高度可動性膜を持ち、狭い空間に適合することができる一方で、WBCはより大きく、RBCと比べて比較的固いため、RBCは典型的に、WBCよりも入口からより遠くに試料内で分散する。チェンバの比較的薄い高さは要素の容易な視覚化が可能にするが、試料内の要素の分布は、典型的に、試料全体を代表する試料の部分領域が

40

50

なくなるようなものである。結果として、試料全体の正しい計数を出すように数えることができる試料全体を代表する部分領域がなくなる。本方法では、我々が承知のその他全ての計数方法と対照的に、チェンバに加えられる試料の全体が検査され、検査される特定種類の試料内の不均一に分布した細胞の全てが計数される。試料内の検査される不均一に分布した細胞種の総数が分かるとすぐに、試料の単位体積ごとの、その種類の不均一に分布した細胞の計数は、数えられた細胞の数を、チェンバ内に含まれる体積で割ることによって、計算することが可能である。小型チェンバ内の細胞分布の不均一性という現象は、細胞の計数の始まり以来よく知られており、正確な総計数を得るためにチェンバ内の全要素を手動で数えることはほぼ不可能であるため、極めて望ましくないとして常に回避されてきた。さらに、そのようなチェンバによって使用される微小な試料サイズは、試料の質の正確な初期測定、またはそのようなチェンバ内の不規則に広げられた試料の試料体積の後の計算を不可能にした。しかし、これらの計数を行うこと、およびチェンバ内試料の総面積を計算することを可能にする正確かつ高速のデジタル画像化システムの近年の出現により、今では薄膜チェンバを、血球またはその他の計数を取得するための簡単かつ正確な方法として有意に使用することが可能である。

10

【0010】

いくつかの実施例では、生体液試料内の1つ以上の特定要素を計数するための本方法は、a) 部材は略均一な高さによって互いから分離される、透明である第1の平面部材と第2の平面部材との間に形成されるチェンバを提供するステップと、b) チェンバ高さは、試料が少なくともチェンバの一部分に対して第1および第2部材間に延在するようなサイズであって、チェンバ高さは、チェンバ内に導入されると1つ以上の特定要素が試料内で不均一に分布するように、1つ以上の特定要素と相対的なサイズである、生体液試料をチェンバに導入するステップと、c) チェンバ内の試料の実質的全体を検査して、特殊要素の少なくとも1つの全体を計数するステップと、d) チェンバ内に含まれる試料の体積を決定するステップと、e) 少なくとも1つの特定要素の単位体積ごと数を決定するステップと、を含む。

20

【0011】

本発明は、我々が承知の全ての従来技術と対照的に、チェンバに加えられる試料の総体積を決定することが可能である、2つの比較的平面な基材によって画定されるチェンバ内に閉じ込められる薄膜内に存在する生体液試料（例えば、未希釈全血）の全体を検査する。試料の一部のみが検査されるその他全ての方法と対照的に、試料内の特定要素の少なくとも1つの全体が計数される。「特定要素の少なくとも1つの全体」という言い回しは、特定種類の特定要素の全てを意味することを目的としている。1つ以上の特定要素が例えば要素A、B、およびCを含む場合、「特定要素の少なくとも1つ」は要素Aを参照し、そして「特定要素の少なくとも1つの全体」を計数するステップは、試料内の要素Aの全てを計数するステップを意味する。

30

【0012】

少なくとも1つの透明壁で形成される任意のチェンバを使用してもよい。チェンバは、マイクロマシニング、エッチング、基板蒸着などの技術によって製造することが可能である。分離器要素の層を使用してチェンバの均一な厚さをもたらし、同時係属の米国特許出願第09/885,193号および第09/366,881号に説明される技術は、容認可能な技術の例である。

40

【0013】

本方法は、チェンバに導入される試料体積が実質的に正確に分かる、または決定可能であることを必要とする。「実質的に正確に」という用語は、手元の試験にとって適切である体積の精度として定義される。試料の体積決定は、1) コネチカット州ミドルフィールドのZygo Corporationなどの供給源より入手可能な光学技術を使用する干渉画像化によってまず蒸着されると、試料体積を計算するステップ、または2) 試料膜の面積を測定し、これを試料膜の平均高さで乗算する膜形成（膜はチェンバ内に展開する試料によって形成される）後に試料体積を計算するステップ、または3) それ以上血液を

50

収容することができなくなるまで、加えられる血液試料がチェンバに流れ込む、正確に知られた体積（つまり厚さおよび範囲）を有するチェンバを使用または加工するステップ（つまり、収容された血液の総体積が推測的に知られているため、計数された要素の総数をチェンバの既知の体積で割って、計数／体積を出す）を含むがそれに限定されない、多数の様々な技術を使用して実施することが可能である。

【0014】

本発明の目的で、読み取り、または細胞計数機器は、同時係属の米国特許出願第09/981,581号および第10/023,405号に示されるものと機能が同様であってよい。

【0015】

本発明のこのような、かつその他の目的、特徴、および利点は、下記に提供される発明の詳細な説明を踏まえて、および添付の図面に図示されるように、明白となるであろう。

図面の簡単な説明

【0016】

本発明の原則は、下記の図を参照することによって、さらに明確にされる。

【0017】

図1は、既知で比較的均一の空間によって分離される2つの透明な表面を有する、本発明の教示によるチェンバの図である。

【0018】

図2は、多量の血液がチェンバに導入された後の、図1のチェンバの図の断面である。

【0019】

図3は、満たされた、および満たされていないチェンバを示す、チェンバの線平面図である。

【0020】

図4は、チェンバの中央領域の拡大線図である。

【0021】

図5は、チェンバの周辺領域の拡大線図である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

発明の詳細な説明

図1 - 5を参照して、生体液を分析するための本装置は、以下、チェンバ高さ16と呼ばれる距離によって互いから分離される、第1の平面部材および第2の平面部材によって画定される1つ以上のチェンバ2を含む。第1の平面部材および第2の平面部材のうちの少なくとも1つは、チェンバ2内に配置される生体液試料を画像化することができるように、十分に透明である。本発明の説明を容易にするために、平面部材は、以下、「最上」平面部材4および「底」平面部材3と呼ばれる。以下、最上平面部材4はまた、透明であるとしても説明される。ほかの実施例では、底平面部材3は、最上平面部材4よりもむしろ、または最上平面部材4に加えて、透明であってもよい。

【0023】

平面部材3、4は、異なる、または同一の性質を有する様々な材料から形成することが可能である。本出願と共有され、その全体において参照することによって本書に組み込まれる、特許協力条約特許出願第PCT/2005/011602号は、容認可能な平面部材3、4の例を開示している。さらなる例として、最上平面部材4は、それぞれ約25μおよび1インチの厚さおよび幅を有するポリエチレンテレフタレート（PET）テープから形成してもよい。底平面部材3は、約128μの厚さを有する、同様の幅のPETテープから同様に形成することが可能である。平面部材3、4が柔軟性である本発明の実施例は、チェンバ2がリール上で巻かれることを可能にする。

【0024】

側壁はこの発明の実践に必要なではないが、いくつかの実施例では、チェンバ2は1つ以上の側壁7によってさらに画定される。好ましい実施例では、側壁7は、最上平面部材4

10

20

30

40

50

と底平面部材 3 との間に延在する結合材から成る。側壁 7 は、異なるチェンバ構造を作成するように位置づけてもよい。例えば、いくつかの実施例では、1 つ以上の側壁が、平面部材 3、4 の幅に実質的にわたって延在するように、結合材を適用してもよい。その他の実施例では、側壁 7 は、チェンバ 2 を実質的に、または完全に囲む形状に形成してもよい。例えば、図 3 に示される実施例は、結合材によって形成される楕円形状の側壁 7 の囲い込みを示す。側壁 7 は、結合材以外の材料で作られていてもよい。

【 0 0 2 5 】

結合材を使用する側壁 7 の実施例に対して、結合材は、チェンバ 2 内に試料を保持するのに適切な密封を十分に作り出すように、平面部材 3、4 に付着する、または平面部材 3、4 と相互作用する様々な異なる材料のいずれかから成ってもよい。好ましい実施例では、結合材は、平面部材 3、4 を互いに取り付ける接着力のある材料である。その多数の例は簡単に利用可能である、光硬化接着剤を含む結合材が特に有用である。

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施例では、本発明は、チェンバ内に配置される 1 つ以上の分離器要素 5 を含む。容認可能な分離器要素 5 の例は、両方ともその全体を参照することによって本書に組み込まれる、同時係属の米国特許出願第 0 9 / 8 8 5 , 1 9 3 号および第 0 9 / 3 6 6 , 8 8 1、および P C T 特許出願第 P C T / 2 0 0 5 / 0 1 1 6 0 2 号に開示されている。容認可能な分離器要素 5 の例は、既知で正確に制御された直径のポリスチレン製の球形ビーズである。平面部材 3、4 が略剛体材料から形成される実施例では、チェンバの実際の構造によっては、分離器 5 の必要がなくてもよい。

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施例では、最上平面部材 4 は、吸気ポート 8 および通気開口 1 0 のうち 1 つ以上を含む。吸気ポート 8 は、生体試料用のチェンバへのアクセスを提供する。通気開口 1 0 は、生体試料がチェンバ 2 に導入されると空気が通って出て行くことができる通路を提供する。チェンバ 2 の少なくとも一部が開いている実施例（例えば、チェンバ 2 の側壁が完全な囲い込みを形成しない）では、吸気ポート 8 および通気開口 1 0 は省略してもよい。

【 0 0 2 8 】

本発明の装置の実用性を解説するために、該装置を使用するための方法の下記の例を提供する。しかし、本発明の方法及び装置は、これらの特定の例に限定されない

【 0 0 2 9 】

図 2 を参照して、未希釈抗凝固処理全血液の試料 6 が補充穴 8 を通して加えられた後のチェンバ 2 が示されている。いくつかの応用では、試料 6 がチェンバ 2 の全体を満たすことは必要ではない。最上平面部材 4 および底平面部材 3 の一方または両方が比較的柔軟性である実施例では、チェンバ 2 は完全に満たされず、小さな未補充領域 9 を残すことが好ましい。未補充領域からの毛管力が平面部材 3、4 に対して強い下向きの力をかけ、その力はチェンバ 2 の高さ 1 6 を均一に保つのに役立つため、未補充領域 9 はそのようなチェンバ 2 の実施例では有利である。

【 0 0 3 0 】

第二の実施例では、図 3 は互いに隣接する一対のチェンバ 2 '、2 '' を図示している。左に配置されるチェンバ 2 ' は、側壁取り囲み 7 によって部分的に画定される、満たされていないチェンバを示す。チェンバ 2 ' の最上平面部材 4 は、吸気ポート 8 および一対の通気開口 1 0 を含む。生体試料 6（例えば血液）は、吸気ポート 8 を通して、右側に配置されるチェンバ 2 '' に導入されている。試料 6 は吸気ポート 8 から広がってチェンバの大部分を満たし、通気開口 1 0 に隣接して配置される小さい空隙 9 を残す。チェンバ高さ 1 6 の相対的規模、および試料内に存在する 1 つ以上の特定要素（例えば、W B C、R B C）の平均的「厚さ」（例えば直径）のため、試料内の要素の分布は典型的に、極めて不均一となる。極めて不均一な分布は、要素の不均一な分布に頼って精度を確保する従来技術の方法と、強く対比する。

【 0 0 3 1 】

チェンバ 2 内の要素の不均一な分布の例は、吸気ポート付近の顕微鏡視野の図表示を示すことによって、図示される。この表示では、血漿 1 1 は R B C 1 2 よりもよく見られる。そのサイズのため、W B C 1 3 もこの領域内に集中している。またこの図で見られるのは、分離粒子 5 および血小板 1 4 である。この例では、例えば、計数される特定要素は、W B C 1 3 または R B C 1 2 のうちの 1 つ以上となり得る。計数される要素は識別された要素の小集団、例えば、特定種類の W B C、または識別可能となり別々に計数されるように選択的に染色される表面エピトープを有する W B C ともなり得る。

【 0 0 3 2 】

対照的に、顕微鏡視野は、チェンバ側壁 7 の付近に配置されるチェンバ 2 の一部を描く図 5 に、図式的に図示されている。その視野内では、多数の R B C 1 2 のが側壁 7 に隣接して配置され、視野の大部分を占める。

10

【 0 0 3 3 】

これらの例より、試料のわずかな部分のみを検討する従来技術の方法を使用した正確な計数は、事実上不可能であることが明らかである。本発明の方法および装置は、対照的に、計数される要素が不均一に分布していない応用における正確な計数を提供することが可能である。同時に、特定要素のうちのあるものに関する具体的情報を得ることができる（例えば、W B C の細胞形態学）。本方法を使用して正確な計数を得るためには、試料の全体がデジタルカメラを使用して画像化され、画像は、チェンバ内に配置される特異的に標的化された不均一に分散した要素の全てを検出して計数する分析の対象となる。試料の領域によっては、この分析は、試料の全域が画像化される時に一度に画像枠で行うことが可能であるか、または一連の画像を一緒に「縫い合わせ」て、一度に分析されるより大きい画像を作成することが可能である。これに対する適切な機器およびソフトウェアは、米国特許第 6, 8 6 6, 8 2 3 号、第 6, 8 6 9, 5 7 0 号、および第 6, 9 2 9, 9 5 3 号に説明されている。そして同じ画像分析が、チェンバ内の試料の実際の体積を決定する。計数が完了して体積が決定されるとすぐに、単位体積ごとの計数が計算される。

20

【 0 0 3 4 】

本発明は、蛍光またはその他のマーカーを細胞特異的なリガンドに加え、チェンバを検査して、どの細胞がその表面に結合するリガンドマーカーを有するかを計数することによって、フローサイトメータのほとんどの機能を実施することも可能であることを、十分に理解することができる。

30

【 0 0 3 5 】

本発明は、その詳細な実施例に関して示されて説明されているが、本発明の精神および範囲を逸脱しない範囲で、その形および詳細の様々な変更を行ってもよいことを、当業者であれば理解するであろう。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 6 】

【図 1】既知で比較的均一の空間によって分離される 2 つの透明な表面を有する、本発明の教示によるチェンバの図である。

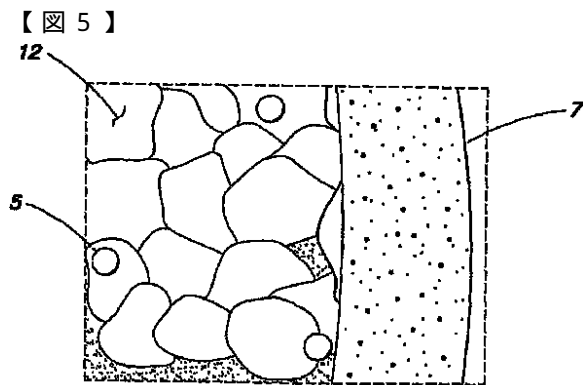
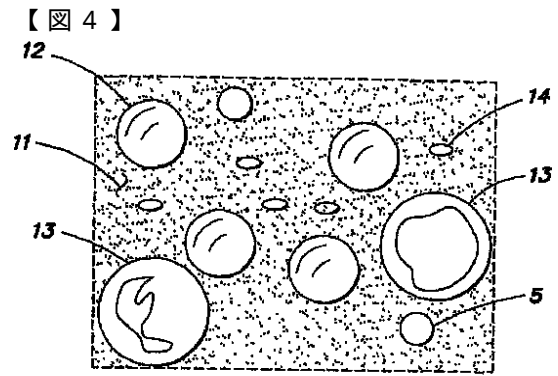
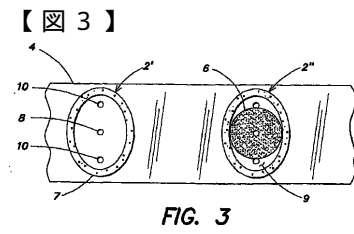
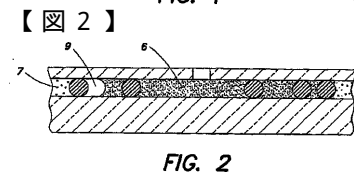
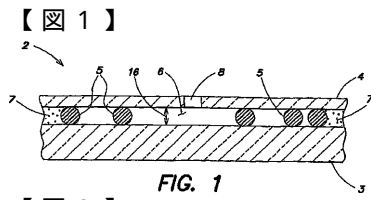
【図 2】多量の血液がチェンバに導入された後の、図 1 のチェンバの図の断面である。

【図 3】満たされた、および満たされていないチェンバを示す、チェンバの線平面図である。

40

【図 4】チェンバの中央領域の拡大線図である。

【図 5】チェンバの周辺領域の拡大線図である。



フロントページの続き

- (74)代理人 100072040
弁理士 浅村 肇
- (74)代理人 100114719
弁理士 金森 久司
- (74)代理人 100088926
弁理士 長沼 暉夫
- (72)発明者 ウォードロウ、スチーブン、シー
アメリカ合衆国、コネチカット、ライム、ハイロック

審査官 高 見 重雄

- (56)参考文献 特表2002-516982(JP, A)
国際公開第99/024831(WO, A1)
特開2001-174456(JP, A)
特開昭57-090159(JP, A)
米国特許第06197593(US, B1)
米国特許第04950455(US, A)
特開昭57-500995(JP, A)
特開平08-334702(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 15/00-15/14
G01N 33/49