



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

82772

C (15) Patenti on julkaistu
Patenttihallituksen 10.01.1991

(51) Kv.1k.5 - Int.c1.5

G 01N 15/02

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	851323
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	02.04.85
(24) Alkupäivä - Löpdag	02.04.85
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	04.11.85
(44) Nähtäväsipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.12.90
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
03.05.84 US 606802 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Becton, Dickinson and Company, Mack Centre Drive, Paramus, N.J., USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Sage, Burton H., 8404 Lakewood Drive, Raleigh, N.C., USA, (US)
2. Adrion, Robert F., 706 E. Cornwall Road, Cary, N.C., USA, (US)
3. Malpass, Michael W., 904 Northwoods Drive, Cary, N.C., USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

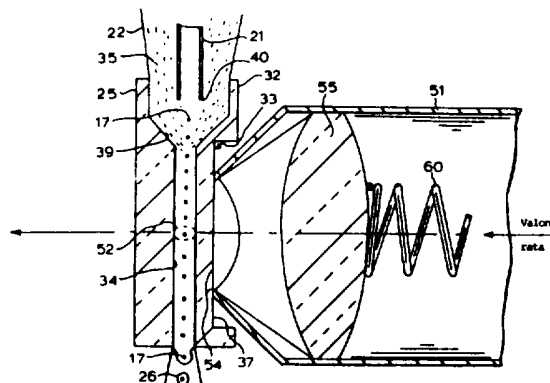
Virtaussytometrinen laite
Flödescytometrisk apparat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

DE B 2830975 (G 01N 15/00), EP A 68404 (G 01N 15/00), US A 3675768 (B 03h 1/00),
US A 4348107 (G 01N 21/05), US A 4408877 (G 01N 33/48)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee virtaussytometristä laitetta, joka sisältää läpinäkyvän nestevirtauskammion ja suuttimen tutkittavan hiukkasvirran aikaansaamiseksi virtauskammion kautta. Laitteessa on valon lähde sekä linssi, joka keskittää lähteestä tulevan valon virtauskammion sisällä olevalle alueelle, jonka läpi hiukkaset kulkevat, ja joka kokoaa niihin hiukkasiin liittyvän valon. Lisäksi käytetään fotovastaanottimia tms, jotka ilmaisevat hiukkasten yhden tai useammat ominaisuudet, jotka liittyvät hiukkasiin osuvaan valoon. Jousi tms kuormitusosa saa aikaan ja ylläpitää vakavuuden linssin ja virtauskammion välillä varsinkin virtauskammion ja linssin välisen suhteellisen aksiaalisen asennon vakavoittamiseksi.



82772

Uppfinningen avser en flödescytometrisk apparat som innehåller en genomskinlig vätskeflödeskammare och ett munstycke för att erhålla en ström av partiklar, som skall analyseras, genom flödeskammaren. En ljuskälla är belägen med en lins för att fokusera ljuset från källan inom ett område inuti flödeskammaren genom vilket partiklarna passerar och för att samla ljus som hör ihop med partiklarna. Fotomottagare används för detektering av en eller flera egenskaper hos partiklarna som hör samman med ljuset som träffar partiklarna. En fjäder används som belastande del för att i synnerhet stabilisera det relativa axiala läget mellan flödeskammaren och linsen.

Virtaussytometrinen laite

Tämä keksintö koskee virtaussytometristä laitetta, jolla määritetään sen läpi kulkevien hiukkasten yksi tai useampi ominaisuus, ja erityisesti virtaussytometristä
5 laitetta, jolla on parannetut optiset ominaisuudet.

On olemassa joitakin solujen tai hiukkasten tutkimuslaitteita, joissa käytetään virtaussytometristä tekniikkaa, jotka perustuvat kanavan läpi kulkevaan, hydrodynaamisesti tarkennettuun nestevirtaukseen virtaavien solujen tai hiukkasten määrättyjen ominaisuuksien määrittelyä varten. Hiukkasten virtaustutkimusta on käytetty yksittäisten hiukkasten useiden eri ominaisuuksien määrittelyssä. Tämä tutkimus on erittäin hyödyllinen, kun tutkitaan solujen ominaisuuksia tai määritellään nämä tietojen
10 keräämiseksi, jotka ovat hyödyksi tutkimuksen, veriopin, immuuniusopin yms eri aloilla. Tutkija haluaa ehkä esim. määritellä yksittäisten solujen määrättyt ominaisuudet voidakseen luokitella, tunnistaa, mahdollisesti lajitella solut ja määrittää niiden paljous myöhempiä tutkimuksia varten.
15
20

Becton, Dickinson and Company-yhtiö myy kolmea eri kojetta, jotka perustuvat hydrodynaamisesti tarkennettuihin nestevirtausjärjestelmiin. Eräs laite, jonka nimi on
25 "ULTRA-FLO 100™ Whole Blood Platelet Counter", laskee nopeasti ja luotettavasti kokonaiset verihiutaleet veren-tutkimuslaboratoriossa ULTRA-FLO 100™-järjestelmässä hiutaleet sisältävän, laimennetun näytteen rata kulkee suoraan laskukammion aukon keskipisteen läpi, koska paineenalaisen nesteen muodostama vaippa tarkentaa näytenesteen.
30 Eräs toinen Becton, Dickinson and Company-yhtiön myymä koje perustuu hydrodynaamisesti tarkennettuun nestevirtausjärjestelmään ja on nimeltään FACS™-analysaattori. FACS™-analysaattori tutkii solut nopeasti fluoriloiste- ja
35 elektronivolyyminominaisuuksien perusteella. Analyysi suo-

ritetaan syöttämällä soluja suspensiossa tarkennetun nestevirtauksen keskelle ja panemalla solut kulkemaan, olennaisesti yksi kerrallaan suuritehoisesta elohopeakaarilampusta tulevan, suodatetun ja tarkennetun valon läpi. Jokaisella solulla on ominainen elektroni-impedanssivolyymi ja siitä valaistuna lähtevän fluoriloisteen ominainen voimakkuus ja väri. Toinen koje, nimeltään FACS™-lajittelulaite, käyttää hyväksi nestevirtausperiaatteita, jotka ovat samanlaiset kuin FACS™-analysaattorilla, mutta lisäksi se lajittelee solut havaittujen ominaisuuksien perusteella. Kaikissa edellä mainituissa järjestelmissä käytetään nestevaippaa hiukkasten tai solujen tarkennukseen, kun ne kulkevat kanavan läpi, joka on yhteydessä analysointi- tai laskukykyyyn. Lisäksi FACS™-analysaattorissa käytetään optisesti kirkasta tai läpinäkyvää nestevirtauskammiota, jota sanotaan joskus virtauskennoksi ja jonka läpi soluvirta kulkee. Valo suunnataan suorakulmaisesti tämän virtauskennon läpi, niin että se osuu hiukkasiin sen tarkennusalueella. Hiukkasista lähtevä hajavallo tai fluoriloiste voidaan ilmaista tietojen saamiseksi jokaisesta läpi kulkevasta hiukkasesta. US-patenteissa 4 348 107; 4 240 029; 4 165 484 ja 4 110 604 esitellään hiukkasten analysointijärjestelmiä, joissa virtauksessa virtaavat hiukkaset on suljettu nestevaippaan, joka tarkentaa nestenäytteen (hiukkasineen) ja pitää sen virtauksen keskellä.

Virtaussytometrialaitteissa, joissa käytetään sisään tulevaa valonsädettä tietojen saamiseksi hiukkasista, on normaalisti yksi tai useampia linssejä, jotka tarkentavat valon hiukkasvirrassa virtaaviin hiukkasiin. Tällaisten linssien avulla kerätään myös hiukkasista lähtevä tai hajaantuva valo. Eräs tällainen linssiasennelma, jota käytetään hiukkasten analysointikojeessa ja jonka kanssa käytetään läpinäkyvää nestevirtauskammiota, on esitelty yhteisesti jätetyssä, yhteisomistuksessa olevassa patenttihakemuksessa, sarjanumero 276 738, joka on jätetty US-

patentti- ja tavaramerkkivirastoon 24.6.1981 otsikolla "Analysaattori, joka määrittelee yhtä aikaa hiukkasten volyyymi- ja valonsäteilyominaisuudet". Edellä mainitun patenttihakemuksen mukaisessa keksinnössä on linssiasennelma sijoitettu läpinäkyvän nestevirtauskammion ulkopinnan vie-
reen ja ohut glyserolikerros on linssiasennelman ja virtauskammion välisen jakopinnan kohdalla. Tämä glyseroli on indeksin sovittava väliaine, joka helpottaa valon läpikul-
kua ja vähentää valon menetystä. Vaikka tällaista järjes-
telyä käytetään linssiasennelman ja virtauskammion välil-
lä, on yleensä suoritettava melko monimutkainen yhteen-
suuntaus nestevirrassa virtaavien hiukkasten viemiseksi
virtauskammion läpi kokoomalinssin polttotasoon. Esim.
kolmiakselisen, säädettävän linssiasennuksen avulla määrä-
tään linssiasennelman ja virtauskammion suhteelliset aksii-
aaliset asennot. Tämän linssiasennuksen vakavuus on alue,
joka kaipaa parannusta. Lisäksi nykyisin tunnetuissa ja
käytetyissä virtaussytometrialaitteissa ei ole mitään me-
kanismia, jolla säädettäisiin virtaavan hiukkasvirran
asento lopullisen asetuksen aikaansaamiseksi suhteessa
kokoomalinssin läpi kulkevaan valoon. On tietenkin tun-
nettua käyttää hienosäätöä aukkojen kokojen ja mikroskoop-
pisten säätöjen kanssa virtaussytometrialaitteissa. Täl-
laisia hienosäätöjä kuvataan esim. US-patenteissa
3 675 768 ja 3 924 947.

Useimmissa tämän päivän kaupallisissa virtaussy-
tometrialaitteissa käytetään virtauskennoja tai kammioita,
joissa on lieriömäisiä aukkoja, ja pyöreän poikkileikkauk-
sen omaavia näytehiukkasvirtoja. Tästä geometriasta joh-
tuen esiintyy merkittäviä optisia poikkeamia, jotka ra-
joittavat sekä valon kokoamisen että virityksen tehokkuut-
ta (liittyy fluoroivasti merkittyihin hiukkasiin). Lisäk-
si nämä poikkeamat kasvavat geometrisesti, kun linssin
numeerista aukkoa suurennetaan. Mitä korkealukuisempi auk-
ko sitä suurempi on yleensä virtaussytometrialaitteen

herkkyys. Täten poikkeamat rajoittavat linssien korkealukuisten aukkojen käytännöllisyyttä. Kun näytehiukkasvirtauksen nopeutta lisätään, kasvaa lisäksi näytevirtauksen läpimitta, jolloin tarvitaan linssiä, jolla on syvempi polttopiste. Polttopisteen syvyys on kääntäen verrannollinen linssin numeeriseen aukkoon, joten polttopisteen suuri syvyys ja korkealukuinen aukko ovat toisensa pois-sulkevat. On todettu, että suuri suorakulmainen aukko läpinäkyvässä nestevirtauskammiossa olisi edullinen valonläpäisyn optimoimiseksi läpinäkyvään nestevirtauskammion tai siitä ulos. Tällaisia neliömäisiä aukkoja on kuvattu R.A. Thomaksen ja et al. artikkelissa "Solujen yhdistetty optinen ja elektroninen analyysi AMAC-muuttimilla", The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, nidos 15, numero 7, sivuilla 827-835, 1977, ja US-patentissa nro 4 348 107. Tässä patentissa todetaan kuitenkin, että neljän toisiinsa liittyvän pyramiidin yhdessä muodostaman kuution sisälle suljettua, neliömäistä tuntoaukkoa käyttävän hiukkasten analysaattorin optiset ja mekaaniset ominaisuudet ovat ala-arvoiset.

Täten on ilmeistä, että edelleen kaivataan virtaus-sytometrialaitteiden optisten osien ja ominaisuuksien parannuksia, jotka parantaisivat näihin virtaus-sytometrialaitteisiin liittyvien valonläpäisyominaisuuksien tehokkuutta, tarkkuutta ja luotettavuutta. Esillä oleva keksintö koskee tällaisia parannuksia.

Esillä olevan keksinnön mukainen virtaus-sytometrien laite käsittää läpinäkyvän nestevirtauskammion, jonka läpi ulottuu kanava, jonka poikkileikkaus on suorakulmainen, välineen tutkittavan hiukkasvirran aikaansaamiseksi kanavan läpi, herätevalon lähteen valon suuntaamiseksi olennaisen suorassa kulmassa suhteessa hiukkasvirtaan, linssin lähteestä tulevan valon tarkentamiseksi kanavan sisällä olevalle alueelle ja hiukkasiin liittyvän valon kokoamiseksi, ja välineen, joka määrittelee hiukkasten

yhden tai useammat ominaisuudet, jotka liittyvät valoon, joka osuu hiukkasiin, jolloin laitteelle on tunnusomaista, että laite lisäksi käsittää jousen, joka kuormittaa lins-
5 siä nestevirtauskammiota kohti yhtenäisenä, koottuna rakenteena niiden välisen suhteellisen liikkeen estämiseksi oleellisesti, ja siten nestevirtauskammion ja linssin suhteellisen aksiaalisen asennon vakavoittamiseksi, jolloin hiukkasvirran aikaansaava väline käsittää suuttimen, jolla on suorakulmainen poikkileikkaus, ja käsikäyttöisen hienosäätövälineen, joka on käyttökytkennässä suuttimen kanssa
10 hiukkasvirran asennon säätämiseksi kanavassa ja siten hiukkasvirrassa oleviin hiukkasiin kohdistuvan valon tarkennuksen optimoimiseksi.

Edellä kuvatun virtausstometrialaitteen eräässä parhaana pidetyssä toteutusmuodossa on läpinäkyvä nestevirtauskammio, jonka läpi ulottuu poikkileikkaukseltaan suorakulmainen kanava. Herätevalon lähde suuntaa valon olennaisen suorakulmaisesti hiukkasvirtaan. Linssi keskittää lähteestä tulevan valon kanavan sisällä olevaan
15 alueeseen. Tällä linssillä voidaan myös koota hiukkasista säteilevä tai hajaantuva valo. Jousi tms mekanismi esijännittää linssin kosketukseen virtauskammion kanssa yhtenäiseksi, kootuksi rakenteeksi suhteellisen liikkeen estämiseksi olennaisesti niiden välillä ja siten sen polttopistealueen vakavoittamiseksi, jonka läpi hiukkaset kulkevat. Laite sisältää suuttimen hiukkasvirran aikaansaamiseksi kanavan kautta. Parhaana pidetyssä toteutusmuodossa on tämän suuttimen poikkileikkaus suorakulmainen. Käsikäyttöinen hienosäätöväline on käyttökytkennässä suuttimen kanssa
20 hiukkasvirran asennon säätämiseksi kanavassa ja siten hiukkasiin virtauksessa kohdistuvan valon tarkennuksen optimoimiseksi.

Keksinnön periaatteiden mukaisesti on virtausstometrialaitteessa saatu aikaan useat edut ja parannukset.
35 Käyttämällä suhteellisen jäykkää kytkentää kokoomalinssin

ja virtauskammion välillä sekä hiukkasvirtauksen säätöä saadaan yhteensuuntaus paljon yksinkertaisemmaksi ja vähemmän kriittiseksi, kun näytevirtauksen hiukkaset on saatava kokoomalinssin polttotasoon. Tämän tuloksena nämä parannukset eivät vain optimoi virtauksessa virtaaviin hiukkasiin kohdistuvan valon tarkennusta, vaan lisäksi ne vakavoittavat tarkennusalueen, jonka läpi hiukkaset kulkevat. Koska korkealukuisilla aukoilla varustettujen objektiivien työskentelymatkatoleranssit ovat luokkaa ± 10 mikronia, on virtauskammion kanavassa normaalisti riittävä tila tämän säädön suorittamiseksi liikuttamalla hiukkasvirtaa fyysisesti kanavassa. Tällainen fyysinen liike saataisiin aikaan säätämällä suutinosaa, joka suuntaa hiukkaset virtauskammioon. Tämän liikkeen geometrian ansiosta se voidaan aikaansaada säädölle edullisella tavalla, so. suuttimen suuri liike saisi aikaan hiukkasvirran pienen liikkeen kanavassa. Tämä edistää säädön vakavuutta ja tarkkuutta. Lisäksi on parhaana pidetyssä toteutusmuodossa ratkaistu suorakulmaisen aukon tai kanavan ja tähän yhdistetyn, suorakulmaisen poikkileikkauksen omaavan hiukkasvirtauksen avulla kaksi edellä mainittua ongelmaa, jotka koskevat polttopisteen syvyyttä ja poikkeamia, jotka vaikuttavat linssien korkealukuisten aukkojen käyttöön. Kun hiukkasvirta on suorakulmainen, voidaan virtauksen paksuus säätää vastaamaan korkealukuisella aukolla toimivan linssin pienempää polttopisteen syvyyttä. Virtauksen paksuus voidaan määrittää ja sitten virtauksen nopeus näytteen tilavuusvirtausnopeuden saamiseksi. Kun aukko tai kanava on suuri ja suorakulmainen, on linssin ja hiukkasvirran välillä yhdessä tasossa oleva eikä lieriömäinen jakopinta. Tasopinnan aikaansaama, pallomainen poikkeama voidaan täten korjata linssissä. Koska keksinnön virtauskammio on suorassa kosketuksessa linssin kanssa, on sen asento suhteessa linssin pintaan tunnettu ja korjaus voidaan suorittaa käytännössä.

Oheisissa piirustuksissa

kuvio 1 esittää kaaviomaista kuvantoa keksinnön mukaisen, parannetun virtaussytometrialaitteen toimivista pääosista,

5 kuvio 2 esittää suurennettua poikkileikkauskuvantoa, joka näyttää kaaviomaisesti keksinnön mukaisen virtauskammion ja linssiasennelman parhaana pidetyn järjestelyn ja lisäksi hiukkasvirtauksen ja valon radan sen läpi,

 kuvio 3 esittää suurennettua, katkonaista perspektiivikuvantoa suuttimen ja virtauskammion läpi ulottuvan kanavan parhaana pidetyn muodon keksinnön mukaisesti, ja

 kuviot 4-6 esittävät poikkileikkauskuvantoja keksinnön parhaana pidetystä virtauskammioista näyttäen hiukkasten läpivirtauksen säädettävän sijainnin. Vaikka tämä
15 keksintö voidaan toteuttaa monella eri tavalla, on piirustuksissa näytetty ja seuraavassa esitellään lähemmin keksinnön parhaana pidetty toteutusmuoto, jolloin on selvää, että tämä esittely antaa esimerkin keksinnön periaatteista eikä sitä ole tarkoitettu rajoittamaan keksintöä
20 näytettyyn toteutusmuotoon. Keksinnön suojapiirin määrittelee oheinen patenttivaatimus.

 Piirustuksissa ja varsinkin kuviossa 1 näytetään kaaviomaisesti parhaana pidetty laite 10, jossa on toteutettu virtaussytometrian periaatteet ja jossa tarkemmin
25 määriteltynä käytetään nestevaippaa yhdessä hiukkasvirran kanssa hydrodynaamisesti tarkennetussa nestevirtausjärjestelmässä. On selvää, että esillä olevaa keksintöä voidaan käyttää erilaisissa olosuhteissa, joissa on määriteltävä liikkuvassa virrassa virtaavien hiukkasten tai solujen yksi tai useampia ominaisuuksia. Täten voidaan keksintöä käyttää esim. valon hajonnan, hiukkasvolyymin,
30 fluoriloisteen tai muiden optisten parametrien mittaamiseksi näyteväliaineessa olevien hiukkasten tunnistamiseksi, luokitteluksi tai niiden paljouden määrittämiseksi.
35 si.

Laite 10 sisältää varastosäiliön 12, joka sisältää nesteen 14, jossa on suspensiona hiukkasia 17, jotka on havaittava tai analysoitava keksinnön mukaisesti. Säiliössä 16 säilytetään hiukkasista vapaa nestevaippa 15. Molemmat mainitut säiliöt voidaan asettaa asianmukaisesti paineen alaisiksi kaasunpaineen lähteen tms avulla (ei-näytetty) johtojen 11 ja vast. 13 kautta. Nesteet 14 ja 15 syötetään suutinasennelmaan 18 johtojen 19 ja vast. 20 kautta. Suutinasennelma 18 sisältää kaksi suutinta 21 ja 22, joihin syötetään neste säiliöistä 12 ja vast. 16, niin että neste 14, joka sisältää hiukkaset suspensiona, voidaan suihkuttaa koaksiaalisena pylväänä tai virtana. Tätä varten suihkutetaan hiukkasia sisältävä neste 14 suuttimesta 21 suuttimen 22 sisällä vaippanesteen 16 virtauksen keskelle, niin että saadaan jatkuva, koaksiaalinen nestevirtaus.

Suuttimet 21 ja 22 suuntaavat hiukkasten koaksiaalisen kaksikomponenttivirtauksen 17 ja vaippanesteen läpinäkyvään, mieluiten optisesti kirkkaaseen nestevirtauskammioon 25. Virtauskammio 25 nähdään selvemmin kuviossa 2 kuvion 1 yhteydessä nähtynä. Kun hiukkasten koaksiaalinen virtaus ja vaippaneste virtaavat virtauskammion 25 läpi, on hiukkaset sisältävä virta jatkuva. Vaikka se ei ole esillä olevan keksinnön kannalta välttämätöntä, voi olla suotavaa muodostaa erillisiä pieniä pisaroita 26, jotka sisältävät ko. hiukkasia, kun virtaus on kulkenut virtauskammion 25 läpi. Tätä varten voidaan muodostaa pieniä pisaroita 26, joista eräät voivat sisältää hiukkasia 17, jatkuvasti virtaavasta nestevirrasta mieluiten suutinasennelman 18 tärytyksen avulla. Tätä varten voidaan käyttää muutinta 28 ja ohjaimen vahvistinta 29 suutinasennelman 18 tärisyttämiseksi aksiaalisuunnassa. Tämä tärytys moduloi virtaavan nestevirran ja häiritsee sen jatkuvan virtauksen erillisten pienten pisaroiden 26 muodostamiseksi. Nämä pienet pisarat voidaan sitten koot yhteen tai useampaan

säiliöön 30.

Kuvio 3 näyttää yhdessä kuvion 2 kanssa nestevirtauskammion 25 parhaana pidetyn rakenteen. Niistä nähdään, että virtauskammio 25 on prismarakenne ja kuvatussa toteutusmuodossa suorakulmainen. Muita nelisivuisia muotoja voidaan käyttää virtauskammiossa. Täten virtauskammio 25 sisältää ulkopinnat 32, jotka ovat olennaisen litteät tai tasaiset. Virtauskammion seinässä on kuitenkin kolo 33, niin että linssiasennelma voidaan sijoittaa mahdollisimman lähelle hiukkasia, jotka virtaavat virtauskammion läpi. Virtauskammion läpi ulottuu kanava 34, jolla voi olla useat eri geometriset muodot. Parhaana pidetään kuitenkin, että kanavan 14 poikkileikkaus on suorakulmainen tai ehkä jopa neliömäinen edellä mainittujen etujen ja tavoitteiden toteuttamiseksi. Täten kanava 34 toimii aukkona, jonka läpi hiukkasia 17 sisältävä koaksiaalinen kaksikomponenttivirtaus virtaa. Koska tätä aukkoa käytetään tässä keksinnössä, voidaan sikäli luottaa hyvin tunnetun Coulterin periaatteen hyväksikäyttöön. Kun tämän periaatteen mukaisesti ei-johtava hiukkanen kulkee aukon läpi, joka sisältää sähköä johtavan väliaineen, tapahtuu sähkövastuksen kasvu aukon kohdalla. Kytkeällä aukkoon sähköjännite on mahdollista mitata vastuksen kasvu sähköpulssina. Verrannollinen vastaavuussuhde on saatu aikaan aukon läpi kulkevan hiukkasen volyymin ja sen sähköpulssin amplitudin kesken, joka on mitattu tämän hiukkasen kulkiessa aukon läpi. Kuvattavassa toteutusmuodossa elektrodeja ei näytetä, mutta mekanismi Coulterin periaatteen toteuttamiseksi on hyvin tunnettu alan asiantuntijoille.

Kanavan 34 kanssa on yhteydessä suurennettu ontelo 35, johon suutin 21 mieluiten riippuu alas. Ontelossa 35 on sisäseinät 36, jotka ovat olennaisen yhdensuuntaiset kanavan 34 pitkittäisseinien 38 kanssa; kapeneva ylimenopinta 39 ulottuu ontelon sivuseinien 36 ja kanavan sivuseinien 38 välillä. Täten nämä seinät ja pinnat muodosta-

vat suppilon, joka helpottaa hiukkasten virtausta kanavan läpi olennaisesti yksi kerrallaan. Keksinnön parhaana pidetyssä toteutusmuodossa suutin 21, jonka läpi hiukkaset 17 virtaavat, sisältää lisäksi etäisen aukon 40, joka vastaa geometrisesti kanavan 34 poikkileikkausta. Näin ollen on myös etäisellä aukolla 40 mieluiten suorakulmainen poikkileikkaus, joka sekin edistää edellä mainittuja tavoitteita. Joskin virtauskammio 25 tehdään läpinäkyväksi, niin että valo kulkee sen läpi, pidetään parhaana, että virtauskammiolle valittu aine on myös optisesti kirkas. Joskin on useita eri aineita, joita voidaan käyttää, esim. erilaiset lasit, pidetään parhaana, että virtauskammio 1 tehdään sulatetusta kvartsista.

Optiset osat, jotka käsittävät valoradat ja valon ilmaisuuden, näytetään parhaiten kuvioissa 1 ja 2, joihin huomio nyt kohdistetaan. On selvää, että piirustukset näyttävät vain kaaviomaisesti keksinnön optiset puolet niiden parannuksia painottaen. Tyypillisessä virtausytomerialaitteessa käytettävien optisten järjestelmien lähemmän kuvauksen osalta viittaamme johonkin tai useampiin edellä luetelluista patenteista. Täten valon lähde 50 voi olla laser yhtenäisen valon saamiseksi yhdellä aallonpituudella tai se voi mahdollisesti olla epäyhtenäisen valon lähde, joka antaa valon laajemmalla aallonpituudella, kuten elohopea- tai ksenonkaarilamppu. Valo lähteestä 50 suunnataan kohti läpinäkyvää virtauskammiota 25 poikittain suhteessa hiukkasten virtaussuuntaan, niin että se osuu hiukkasiin, kun ne kulkevat kammion läpi. Valo lähteestä 50 suunnataan mieluiten olennaisen suorakulmaisesti tai kohtisuorasti suhteessa akseliin, joka edustaa hiukkasvirtaa 17. Linssiasennelman 51 avulla keskitetään valo polttoalueelle 52 läpinäkyvän virtauskammion kanavan 34 poikki kuvion 2 mukaisesti. Linssiasennelman 51 avulla voidaan koota hiukkasista 17 säteilevä tai hajaantuva valo. Parhaan tarkennusalueen saamiseksi sijoitetaan linssi-

asennelma 51 mieluiten siten, että etumainen linssipinta 54 sijaitsee suoraan virtauskammion kolon 33 ulkopintaa 37 vasten sen kanssa kosketuksessa. Hyvin ohut kerros indeksin sovittavaa väliainetta, kuten glyserolia, voidaan panna linssin 55 pinnan 54 ja virtauskammion pinnan 37 välisen jakopinnan kohdalle tehokkaan valonläpäisyn saamiseksi, samalla kun eliminoidaan haitalliset, itseisjohtavat läpäisyvaikutukset.

Suhteellisen jäykän kytkennän varmistamiseksi lins-
sin 55 ja virtauskammion 25 välillä, niin että muodostuu olennaisen yhtenäinen, koottu rakenne suhteellisen liikkeen estämiseksi osien kesken on linssillä 55 jousikuormitus virtauskammiota 25 vasten kierukkajousen 60 avulla. Linssin jousikuormitus virtauskammiota vasten helpottaa tätä suhteellisen jäykkää kytkentää näiden osien välillä ja edistää sen polttoalueen 52 vakavointia, jonka läpi hiukkaset kulkevat. Kyseinen vakavointi koskee virtauskammion ja linssiasennelman keskinäistä suhteellista aksiaalista asentoa. Kierukkajousi 60 on eräs keino tämän suotavan ominaisuuden saamiseksi, mutta on selvää, että muut mekanismit, jotka alan asiantuntijat voivat suunnitella, kuuluvat keksinnön alaan. Mekanismista riippumatta, kunhan estetään tai olennaisesti vähennetään suhteellinen liike linssin ja virtauskammion kesken, voidaan keksinnön mukaisesti paremmin saada aikaan tarkoin määrätty tarkennusalue.

Valon ilmaisim 62 ilmaisee sitten valon, joka hajaantuu tai säteilee virtauskammion valaistun tarkennusalueen läpi kulkevista hiukkasista tai joka muulla tavalla liittyy näihin. Tämä valon ilmaisim voi olla hyvin tunnettu fotomonistin, joka muuntaa valosignaalit sähköpulsseiksi, niin että ilmaistuun valoon liittyviä tietoja voidaan analysoida sähköisesti. Jos valon lähde 50 on kaarilamppu, niin käytännössä valon ilmaisim 62 sijaitsisi yleensä samalla puolella linssiasennelmaa kuin valonlähde.

Voitaisiin esim. käyttää epi-valaistusmuotoa. Jos valon lähde 50 sitä vastoin on laser, voidaan pienilukuisella aukolla toimiva linssi sijoittaa virtauskammion ja valon ilmaisimen väliin kuvion 1 näyttämässä toteutusmuodossa.

5 Vaikka kuvion 1 näyttämä valon ilmaisin 62 on samalla linjalla kuin lähteestä 50 tuleva valo, on tämä muoto tyypillinen virtaussytometrialaitteissa, kun ilmaistaan hajavalo. Fluoriloisteen ilmaisemiseksi suunnataan valon ilmaisin 62 yleensä suorassa kulmassa suhteessa tulovalon ra-

10

taan.
Ilmaistuun valoon liittyvä sähköpulsssi voidaan syöttää virtaussytometrialaitteen elektroniikkaan 64, minkä jälkeen sitä koskevat tiedot ovat nähtävissä näytössä 65, ne voidaan tallentaa tietokoneeseen (ei-näytetty) tai

15

syöttää takaisin laitteeseen jatkotutkimusta varten.
Ottaen huomioon linssin ja virtauskammion välisen kiinteän kytkennän voidaan valon tarkennus tarkennusalueella virtauskammiossa, jonka läpi hiukkaset kulkevat, saada aikaan säätämällä suuttimen 21 asento. Tällainen säätömahdollisuus on näytetty kuvioissa 4-6. Esim. kuviossa 4 suutin 21 näytetään suunnattuna olennaisesti pitkin kanavan 34 pituusakselia. Mikäli optinen voimakkuus tarkennusalueella 52 siirtyy hieman kanavan 34 pituusakselista, voidaan suutin 21 säätää kuvioiden 5 ja 6 mukaisesti.

20

25 Vaikka suuttimen asennusrakenteen kaikkia yksityiskohtia ei ole näytetty, näyttävät kuvat 5 ja 6 kaaviomaisesti, että pyöritettävä akseli 70 on kytketty suuttimeen 21. Käyttämällä ruuvikierteitä tms saadaan peukalopyörää tai nuppia 71 kääntämällä aikaan suuttimen 21 liike sivuttain jompaankumpaan suuntaan suhteessa kanavan 34 pituusakseliin. Näin siirretään etäinen aukko 40, jonka läpi hiukkaset 17 poistuvat, fyysisesti hiukkasvirran asennon siirtämiseksi kanavan pituusakselin luota, kun hiukkasvirta virtaa kanavan läpi. Ottaen huomioon, että hiukkasvirta

30

35

on vielä vaippanesteen peittämä virratessaan kanavan läpi,

aikaansaa suuttimen 21 suhteellisen suuri sivuttaisliike hiukkasvirran suhteellisen pienen liikkeen kanavassa. Täten akselin 70 ja peukalopyörän 71 avulla aikaansaatu, käsikäyttöinen hienosäätö ei vain salli hienoviritystä tarkennusta varten, vaan lisää säädön vakavuutta ja tarkkuutta. Esillä olevan keksinnön suojapiirin mukaisesti voidaan myös valmistaa yhtenäinen rakenne, jossa virtauskammio 25 ja linssiasennelman viimeinen linssi 55 on tehty samasta läpinäkyvästä aineesta, niin että varmistetaan halutun tarkennusalueen sijainti virtauskammion kanavassa.

Joskin tässä kuvatussa toteutusmuodossa saadaan aikaan virtaussuuttimen sivuttaissäätö suhteessa virtauskammion kiinteään asentoon, sisältyy keksinnön alaan myöskin tarkennusalueen voimakkuuden optimointi muilla mekanismeilla. Esim. eikä tähän rajoittuen voidaan suutin 21 asentaa virtaussytometrialaitteeseen kiinteään asentoon. Valon polttopiste kanavassa 34 optimoidaan hienosäädöllä, joka on samanlainen kuin kuvioiden 4-6 yhteydessä kuvattu, joka liittyy virtauskammion 25 sivuttaisliikkeeseen. Muut keinot tämän suotavan polttopisteen aikaansaamiseksi ovat ilmeiset alan asiantuntijoille.

Täten on keksinnössä kehitetty virtaussytometrialaitteen parannetut optiset ominaisuudet, jotka perustuvat valoenergiaan keinona, jolla saadaan tietoja liikkuvien hiukkasten, solujen tms tietyistä ominaisuuksista. Keksinnön ominaisuudet parantavat sen säädön vakavuutta ja tarkkuutta, jolla tarkennetaan valo hiukkasiin, ja samalla se estää tai vähentää optiset poikkeamat sen kanavan geometrian avulla, jonka läpi hiukkaset virtaavat, ja sen suuttimen tms laitteen geometrian avulla, josta hiukkasvirta syötetään virtauskammioon. Varsinkin edellä kuvattu virtauskammion ja linssin kosketus sekä linssinkennon poikittaissäätömekanismi määräävät ja vakavoittavat yhdessä virtauskammion ja linssin kolmiulotteisen, suhteellisen asennon.

Patenttivaatimus:

Virtaussytometrinen laite, joka käsittää läpinäky-
vän nestevirtauskammion (25), jonka läpi ulottuu kanava
5 (34), jonka poikkileikkaus on suorakulmainen, välineen
(11-22) tutkittavan hiukkasvirran aikaansaamiseksi kanavan
läpi, herätevalon lähteen (50) valon suuntaamiseksi olen-
naisen suorassa kulmassa suhteessa hiukkasvirtaan, linssin
(55) lähteestä tulevan valon tarkentamiseksi kanavan (34)
10 sisällä olevalle alueelle ja hiukkasiin (17) liittyvän
valon kokoamiseksi, ja välineen (62), joka määrittelee
hiukkasten (17) yhden tai useammat ominaisuudet, jotka
liittyvät valoon, joka osuu hiukkasiin, t u n n e t t u
siitä, että laite lisäksi käsittää jousen (60), joka kuor-
15 mittaa linssiä (55) nestevirtauskammiota (25) kohti yhte-
näisenä, koottuna rakenteena niiden välisen suhteellisen
liikkeen estämiseksi oleellisesti, ja siten nestevirtaus-
kammion (25) ja linssin (55) suhteellisen aksiaalisen ase-
nnon vakavoittamiseksi, jolloin hiukkasvirran aikaansaava
20 väline (11-22) käsittää suuttimen (21), jolla on suorakul-
mainen poikkileikkaus (40), ja käsikäyttöisen hienosäätö-
välineen (70,71), joka on käyttökytkennässä suuttimen (21)
kanssa hiukkasvirran asennon säätämiseksi kanavassa (34)
ja siten hiukkasvirrassa oleviin hiukkasiin (17) kohdis-
25 tuvan valon tarkennuksen optimoimiseksi.

Patentkrav:

Flödescytometrisk anordning omfattande en genomskin-
lig vätskeflödeskammare (25), genom vilken sträcker sig en
5 kanal (34), vars genomskärning är rätvinklig, medel (11-
22) för åstadkommande av en partikelström genom kanalen, en
källa (50) för exciteringsljus för riktnig av ljuset vä-
sentlig vinkelrätt i förhållande till partikelströmmen, en
lins (55) för fokusering av ljuset från källan till ett
10 område inom kanalen (34) och för uppsamling av ljuset som
ansluter sig till partiklarna (17), samt medel (62) som
definierar en eller flere egenskaper hos partiklarna (17)
som står i samband med ljuset som träffar partiklarna,
k ä n n e t e c k n a d därav, att anordningen ytterligare
15 omfattar en fjäder (60) som belastar linsen (55) mot väts-
keflödeskammaren (25) i en sammanförd struktur för att för-
hindra en relativ rörelse mellan desamma och därigenom
stabilisera vätskeflödeskammarens (25) och linsens (55)
relativa axiella position, varvid medlet (11-22) som åstad-
20 kommer partikelströmmen omfattar ett munstycke (21) med en
rätvinklig genomskärning (40), och ett manUEllt finjuste-
ringsdon (70,71) som är operativt kopplat till munstycket
(21) för inställning av partikelströmmens position i kanal-
en (34) och därigenom optimera fokuseringen av ljuset som
25 träffar partiklarna (17) i partikelströmmen.

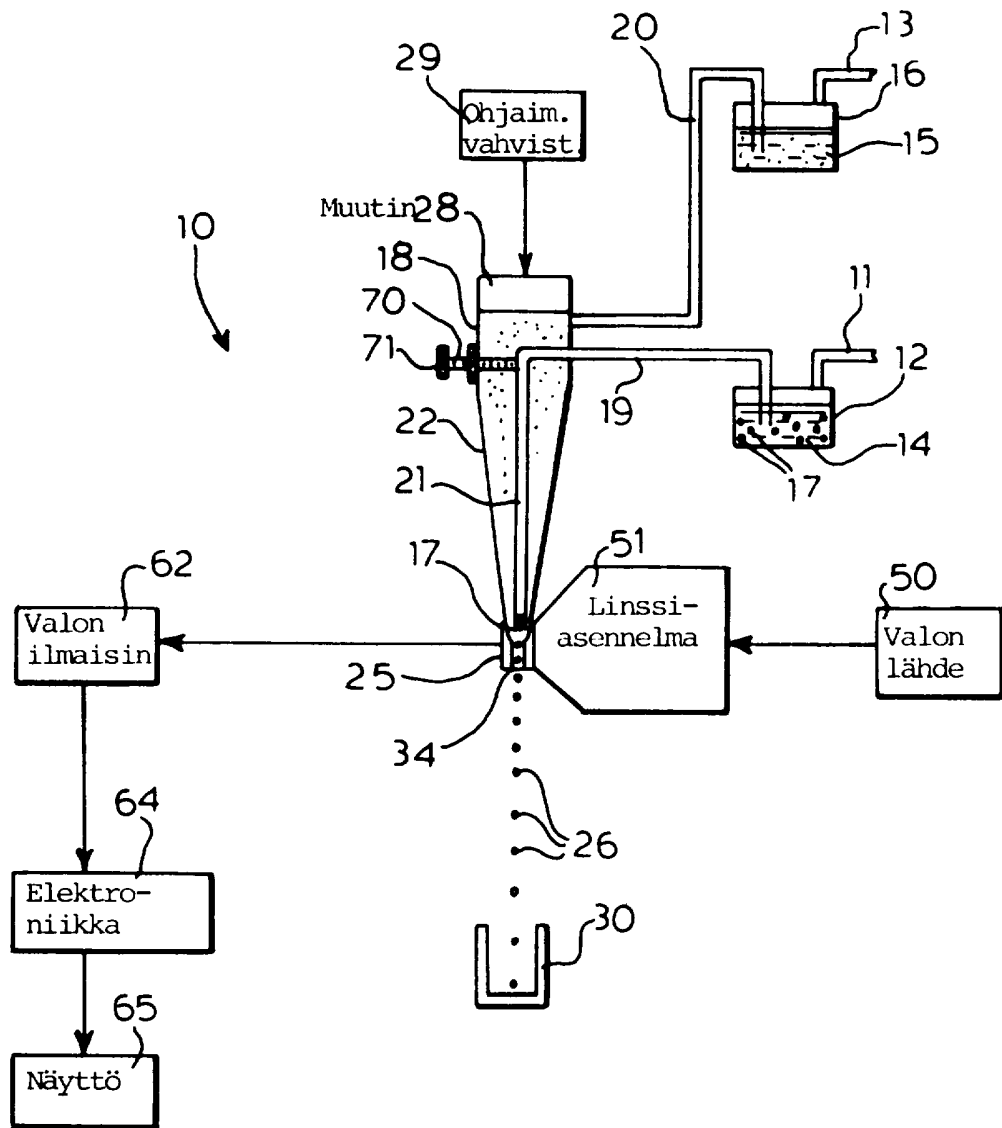
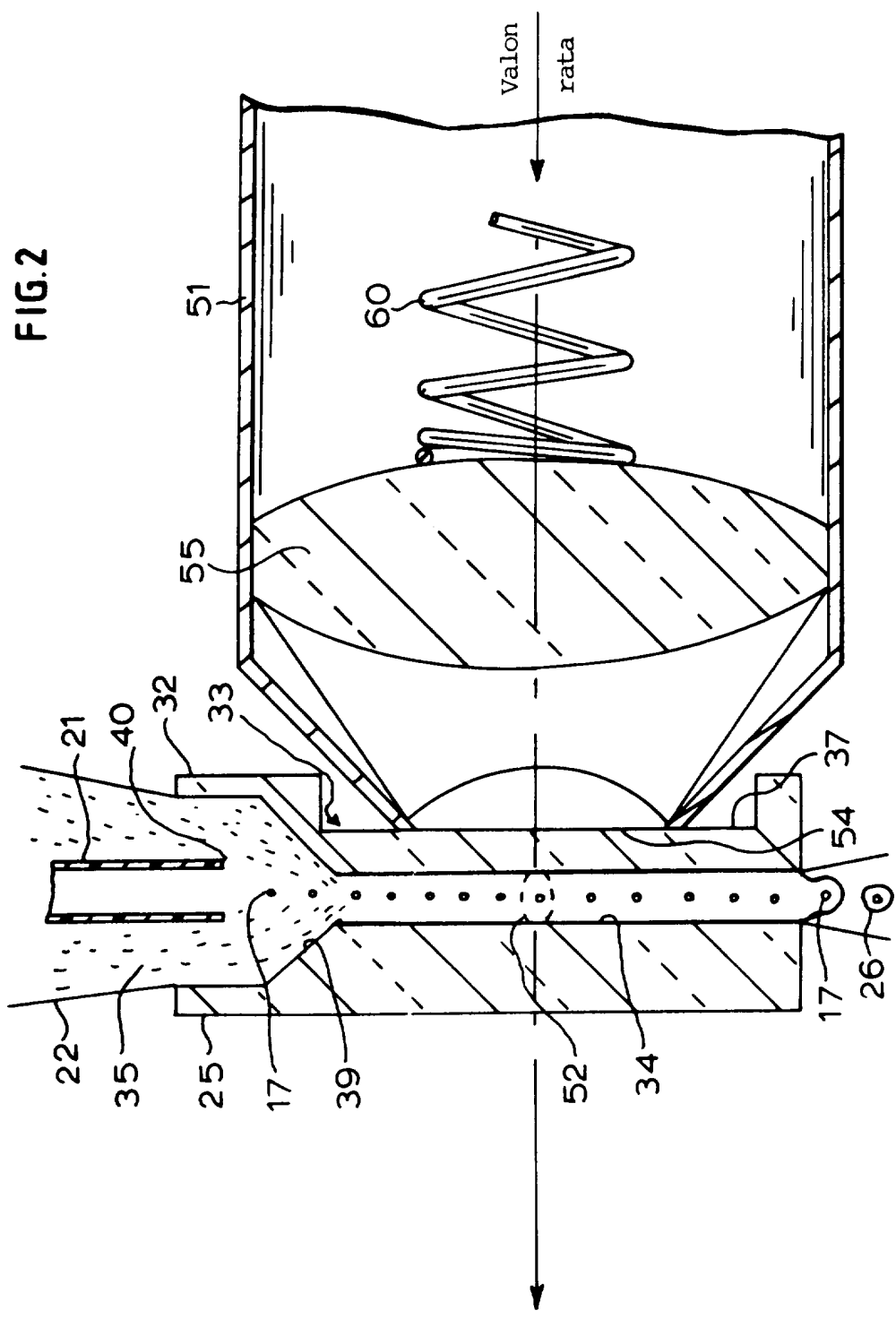


FIG.1



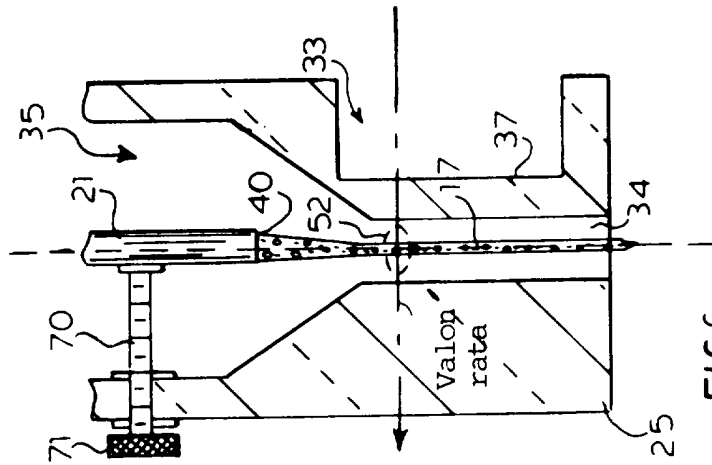


FIG. 6

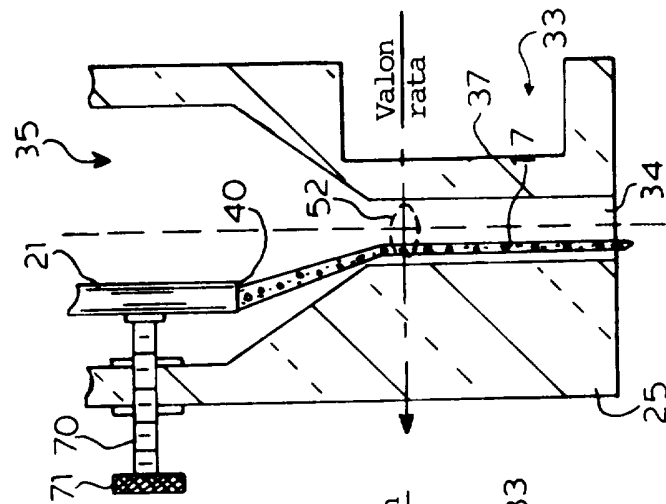


FIG. 5

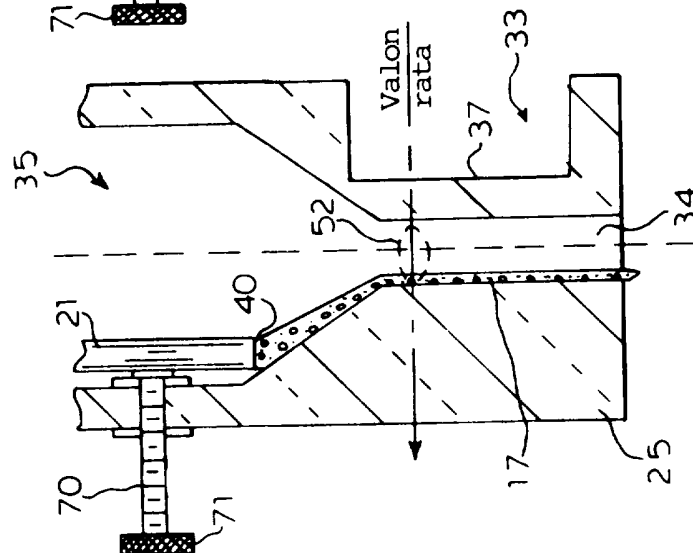


FIG 4