

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成25年9月19日(2013.9.19)

【公表番号】特表2013-502560(P2013-502560A)

【公表日】平成25年1月24日(2013.1.24)

【年通号数】公開・登録公報2013-004

【出願番号】特願2012-525075(P2012-525075)

【国際特許分類】

G 0 1 N 1/28 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 1/28 J

【手続補正書】

【提出日】平成25年7月26日(2013.7.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

組織浸潤装置であって、

組織試料(21)及び組織試料(21)に浸潤する誘電体液(19)を受け入れるように適合された反応チャンバ(4)と、保持要素と、マイクロ波システム(7)とを有し、

前記反応チャンバ(4)は、底部(3)及びマイクロ波照射に対して透過性の少なくとも1つの窓部分(5)を有する円周状の壁(2)を含み、

前記保持要素は、所定の時間にわたって、前記窓部分(5)から前記誘電体液(19)の3PDの距離に、前記組織試料(21)を保持するための保持要素であり、

ここで、PDは、前記誘電体液(19)への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波の電磁界強度が1/eまで減少している深度として定義され、

前記マイクロ波システム(7)は、マイクロ波を、前記窓部分(5)を介して前記反応チャンバ(4)に照射するマイクロ波システム(7)である、

ことを特徴とする組織浸潤装置。

【請求項2】

前記保持要素及び前記反応チャンバ(4)が、前記組織試料(21)が、3PDよりも短い距離で、一回転毎に、前記窓部分(5)を通過するように、互いにに対して回転可能であることを特徴とする請求項1に記載の組織浸潤装置。

【請求項3】

前記底部(3)が円形であり、前記壁(2)が対称中心軸を有する通常のシリンダであることを特徴とする請求項2に記載の組織浸潤装置。

【請求項4】

前記窓部分(5)が長辺及び短辺を有する長方形であり、前記長辺が、対称軸に並行で実質的に垂直であるように延在し、前記短辺が、実質的に周方向に延在することを特徴とする請求項2又は3に記載の組織浸潤装置。

【請求項5】

前記窓部分(5)が、前記円周状の壁(2)を完全に取り巻くように延在することを特徴とする請求項2又は3に記載の組織浸潤装置。

【請求項6】

前記反応チャンバ(4)の全体が、マイクロ波透過性材料で作られることを特徴とする請

求項 5 に記載の組織浸潤装置。

【請求項 7】

前記保持要素は、回転の中心心棒（11）を有し、及び、

前記回転の中心心棒（11）が前記反応チャンバ（4）の対称軸の周りを実質的に回転するように、前記反応チャンバ（4）に挿入されるように適合されること、及び、

前記組織試料（21）を浸潤する時に、前記回転の中心心棒（11）が、前記反応チャンバ（4）内で保持装置を回転させる駆動機構に接続されること、

を特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の組織浸潤装置。

【請求項 8】

前記誘電体を所定の温度まで加熱又は冷却するための対流性の加熱器（29）及び／又は対流性の冷却器を備えることを特徴とする請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の組織浸潤装置。

【請求項 9】

前記組織試料（21）を受け入れる搬送バスケット（18）を備え、前記搬送バスケット（18）が、マイクロ波透過性材料としてポリテトラフルオロエチレンを含むことを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の組織浸潤装置。

【請求項 10】

第一の誘電体液（19）を組織試料（21）に浸潤させる方法であって、

底部（3）及びマイクロ波照射に対して透過性の窓部分（5）を有する円周状の壁（2）を含む第一の反応チャンバ（4）を備えること、

第一の誘電体液（19）で前記第一の反応チャンバ（4）を充填すること、

組織試料（21）を前記第一の反応チャンバ（4）に挿入して前記第一の誘電体液（19）に挿入すること、

前記窓部分（5）から前記第一の誘電体液（19）の 3PD の距離の範囲内に前記第一の誘電体液（19）に沈められた前記組織を保持すること、

ここで、PD は、前記第一の誘電体液（19）への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波の電磁界強度が 1/e まで減少している深度として定義され、及び、

マイクロ波を、前記窓部分（5）を介して前記第一の反応チャンバ（4）に照射すること、

の各方法ステップを含む方法。

【請求項 11】

前記組織試料（21）が、3PD の距離で又はそれより短い距離で、一回転毎に、前記窓部分（5）を通過するように、前記第一の反応チャンバ（4）内でかつ前記第一の反応チャンバ（4）に対して前記保持要素が回転することを特徴とする請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記第一の誘電体で充填された前記第一の反応チャンバ（4）の中から、前記保持要素を第二の誘電体液（19）で充填された第二の反応チャンバ（4）に搬送することを特徴とする請求項 10 又は 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記誘電体を、前記対流性の加熱器（29）で所定の温度まで加熱することを特徴とする請求項 10 から 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

対流性の冷却システムを備えること及び、前記誘電体を所定の温度まで冷却することを特徴とする請求項 10 から 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

組織浸潤システムであって、

同じ組織試料（21）を連続して受け入れるように適合された少なくとも第一及び第二の反応チャンバ（4）と、保持要素と、マイクロ波システム（7）と、搬送機構とを有し、

前記第一の反応チャンバ(4)は、前記組織試料(21)に浸潤する第一の誘電体液(19)を受け入れるように適合され、かつ

前記第二の反応チャンバ(4)は、組織試料(21)に浸潤する第二の誘電体液(19)を受け入れるように適合され、

前記第一及び第二の反応チャンバ(4)は、底部(3)及びマイクロ波照射に対して透過性である窓部分(5)を有する円周状の壁(2)を含むものであり、

前記保持要素は、所定の時間にわたって、前記窓部分(5)から前記第一及び第二の誘電体液(19)の3PDの距離に、前記組織試料(21)を連続的に保持するための保持要素であり、

ここで、PDは、前記誘電体液(19)への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波の電磁界強度が1/eまで減少している深度として定義され、

前記マイクロ波システム(7)は、マイクロ波を、前記窓部分(5)を介して前記第一及び第二の反応チャンバに連続して照射するものであり、

前記搬送機構は、前記組織試料を保持する前記保持装置が、前記第一の反応チャンバ内から前記第二の反応チャンバ内に移動するように、前記保持装置と前記第一の反応チャンバとの間並びに前記保持装置と前記第二の反応チャンバとの間に相対運動を生じるように適合された搬送機構であり、

前記システムは閉鎖されたシステムであり、及び、前記第一及び第二の誘電体が、前記第一及び第二の反応チャンバにそれぞれ予め充填されること、

を特徴とする組織浸潤システム。

#### 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】マイクロ波励起によって加速される組織浸潤のための装置及び方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、例えば組織学的診断の分野において、ミクロトーム又は組織試料を分析する他の装置に特に適用されるような、マイクロ波励起によって加速される組織浸潤(ないし浸透)のための装置および方法に関する。この目的のために、組織試料は、顕微鏡及び/又は保存のための組織試料の調製のために単一又は複数のステップを介して処理される。この処理は、組織試料を、顕微鏡下で観察するのに適切な薄い薄片に切断するのに先立つて行われる。典型的なステップは、固定、脱水、染色(例えば、蛍光顕微鏡用の蛍光染料を使用した染色)、パラフィン化(paraffinating)などである。これらのステップは、組織試料に浸潤(浸透)する各薬剤液を必要とする。

【背景技術】

【0002】

浸潤の間、薬剤液の温度を制御することが先行技術から知られており、薬剤の交換は、組織との界面(interface)で行われ、かくて、組織浸潤の速度は、(他の要因と共に)熱放射、加熱要素、及び/又はマイクロ波で薬剤を加熱することによって加速される。浸潤の増進は、RRT(反応速度温度)ルールと称される。経験則は、10°K(ケルビン度)の温度上昇によって、この場合、組織内に浸透する分子の倍化(doubling)が生じることを示す。例えば、ドイツ特許出願公開DE 102007008713及びDE 102007044116は、加速される薬剤加熱用の効率的な熱源としてのマイクロ波の使用を、一般的に言及する。しかしながら、従来技術において、マイクロ波励起は、単に熱源として使用された。

【先行技術文献】

【特許文献】

## 【0003】

【特許文献1】独国特許出願公開DE 102007008713

【特許文献2】独国特許出願公開DE 102007044116

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

典型的には、大部分の組織試料は、組織カセットに設置される。カセットは、カセットホルダーに一体化される。処理の間、カセットホルダーは対応する薬剤(=誘電体)と共に反応チャンバに設置される。薬剤はマイクロ波励起によって加熱されるが、カセットは電磁界の有意な吸収の領域外に配置される。言い換えると、組織が特定の浸透深度よりもチャンバ内に深く設置されるので、誘電体へのマイクロ波放射の特定の浸透深度PDは、組織浸潤を加速するために利用されない。いくつかの組織が、いくらかの小さな(minor)強度の洩れ照射(stray irradiation)に曝される場合でさえ、これは、僅かで、望ましくない副次効果であり、それぞれのバッチにあるごく少数の組織試料にのみに(前記洩れ照射が)加えられる場合にも、(僅かで、望ましくない副次効果である)。かくて、前記効果を、全てのバッチの処理時間に要素として取り入れることができなかった。

## 【0005】

様々な薬剤液を使用して、組織試料の浸潤(浸透)を加速することが本発明の目的である。更に、いくつかの異なる組織試料を含むバッチに均一な浸潤(浸透)を達成することが本発明の目的である。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

これは、請求項1による組織浸潤装置、請求項10による、組織試料に第一の誘電体液を浸透させるための方法、及び請求項15による組織浸透システムによって実現される。

## 【0007】

特にこれは、以下の組織浸透装置によって達成される。即ち、

組織試料及び組織試料に浸潤する誘電体液を受け入れるように適合された反応チャンバと、保持要素と、マイクロ波システムとを有し、

前記反応チャンバは、底部及びマイクロ波照射に対して透過性の少なくとも1つの窓部分を有する円周状の壁を含み、

前記保持要素は、所定の時間にわたって、前記窓部分から前記誘電体液の3PDの距離に、前記組織試料を保持するための保持要素であり、

ここで、PDは、前記誘電体液への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波の電磁界強度が1/eまで減少している深度として定義され、

前記マイクロ波システムは、マイクロ波を、前記窓部分を介して前記反応チャンバに照射するマイクロ波システムである、

ことを特徴とする。

## 【0008】

これは更に、以下の組織浸潤システムによって達成される。即ち、該システムは、

同じ組織試料を連続して受け入れるように適合された少なくとも第一及び第二の反応チャンバと、保持要素と、マイクロ波システムと、搬送機構とを有し、

前記第一の反応チャンバは、前記組織試料に浸潤する第一の誘電体液を受け入れるように適合され、かつ

前記第二の反応チャンバは、組織試料に浸潤する第二の誘電体液を受け入れるように適合され、

前記第一及び第二の反応チャンバは、底部及びマイクロ波照射に対して透過性である窓部分を有する円周状の壁を含むものであり、

前記保持要素は、所定の時間にわたって、前記窓部分から前記第一及び第二の誘電体液の3PDの距離に、前記組織試料を連続的に保持するための保持要素であり、

ここで、PDは、前記誘電体液への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波

の電磁界強度が  $1/e$  まで減少している深度として定義され、

前記マイクロ波システムは、マイクロ波を、前記窓部分を介して前記第一及び第二の反応チャンバに連続して照射するものであり、

前記搬送機構は、前記組織試料を保持する前記保持装置が、前記第一の反応チャンバ内から前記第二の反応チャンバ内に移動するように、前記保持装置と前記第一の反応チャンバとの間並びに前記保持装置と前記第二の反応チャンバとの間に相対運動を生じるように適合された搬送機構であり、

前記システムは閉鎖されたシステムであり、及び、前記第一及び第二の誘電体が、前記第一及び第二の反応チャンバにそれぞれ予め充填されることを特徴とする。これに関連して、記号  $e$  は、オイラー数、すなわち  $2.718281828459$  であり、かくて、逆数である  $1/2.718281828459$  は、 $37\%$  に近い。

#### 【0009】

これは更に、第一の誘電体液を組織試料に浸透させる方法によって達成される。該浸透方法は、

底部及びマイクロ波照射に対して透過性の窓部分を有する円周状の壁を含む第一の反応チャンバを備えること、

第一の誘電体液で前記第一の反応チャンバを充填すること、

組織試料を前記第一の反応チャンバに挿入して前記第一の誘電体液に挿入すること、

前記窓部分から前記第一の誘電体液の  $3PD$  の距離の範囲内に前記第一の誘電体液に沈められた前記組織を保持すること、

ここで、 $PD$  は、前記第一の誘電体液への前記マイクロ波の浸透深度であり、最初のマイクロ波の電磁界強度が  $1/e$  まで減少している深度として定義され、及び、

マイクロ波を、前記窓部分を介して前記第一の反応チャンバに照射すること、  
の各方法ステップを含む。

#### 【発明の効果】

#### 【0010】

様々な薬剤液を使用して、組織試料の浸潤（浸透）を加速することが本発明により達成される。更に、いくつかの異なる組織試料を含むバッチに均一な浸潤（浸透）を成すことが本発明により達成される。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0011】

好ましくは、保持要素及び反応チャンバは、組織試料が  $3PD$  よりも短い距離で、一回転毎に、窓部分を通過するように、互いに対し回転可能である。代わりとして、また、保持要素が固定され、及びマイクロ波システムを有する反応容器が、保持要素の周りを回転することは可能であろうし、又は反応容器及び保持要素の両方が回転することも可能であろう。しかしながら、回転する要素の数を制限するために、保持要素が回転し、反応チャンバが固定されることが好まれる。

#### 【0012】

好ましくは、底部は円形で、壁は、対称中心軸を有する通常のシリンダである。任意の形状（例えば、頂点から見た場合、正方形又は長方形）が反応容器として機能するとしても、円形及び通常のシリンダ（形状）は良く機能し、製造が容易である。

#### 【0013】

好ましくは、窓部分が長辺及び短辺を有する長方形であり、長辺が、対称軸に平行で実質的に垂直であるように延在し、短辺が、実質的に、周方向に延在する。繰り返すが、如何なる窓部分の形状も機能する。一つの特定の有利な代替手段は、通常のシリンダセグメントとして、窓部分をデザインすることであろう。しかしながら、より容易な製造のために、長方形の形状を有することは好ましく、円形のシリンダ壁にこの形状を埋め込むことが好ましい。窓部分のこの長方形形状が、円形シリンダ形状の側壁に、完全に一致しないとしても、窓部を介した反応容器の内部へ、そして反応チャンバへのマイクロ波の浸透に関して、窓部分の形状は、些細な影響である。

## 【0014】

好ましくは、保持装置が、回転の中心心棒を有し、回転の中心心棒が反応チャンバの対称軸の周りを実質的に回転するように反応チャンバ内に挿入されるように適合され、組織試料を浸潤する時に、回転の中心心棒が、反応チャンバ内で保持装置を回転させる駆動機構に、接続される。代わりとして、保持装置を段階的 (incrementally) に、及び断続的に、オペレータにより手動であっても、回転させることは可能であろう。しかしながら、より均一な照射のために、一定の回転が有益である。駆動及び回転する機構を必要とせずに、幾分均一な照射を実現するための他の代替法は、反応容器の周囲にいくつかの窓部分を備えることであろうし、例えば同時に又は連続的に、これらの窓部分の全てを介してマイクロ波を照射することである。例えば、6つ以上の窓部分を備えることにより、幾分均一な照射を既に実現しているだろう。他の実行可能な代替案は、マイクロ波に対して比較的透過性の材料 (理想的には石英) の全ての反応容器を製造することであろうが、コストの理由から、一定の強度範囲にあるガラスも適用可能な代替物であろう。他の非常に有用な材料はテフロン (登録商標)、即ち、ポリテトラフルオロエチレン (PTEF) であり、又は、マイクロ波透過性材料として電気的陰性 (electronegativity) を示す他の材料である。テフロンは耐熱性である利点を有し、同時に、破壊に対して耐性である利点を有する。反応容器の周囲の様々な位置からマイクロ波を照射する複雑さ (complexity) は、保持装置及び / 又は反応容器を回転させる機構の複雑さを踏まえて検討されなければならない。径方向の様々な位置から同時に照射することの1つの主な利点は、これが全ての機械式運動を排除し、それ故、如何なる機械的な摩擦、摩耗及び故障のリスクも排除することであろう。下側においては、液体運動はより少ないのであるから、それ故、実際に浸潤 (浸透) を補助する組織試料の周りの流れの量と同じではないだろう。この液体運動は、しかしながら、搬送バスケットの回転が無い静止システムにおいて、ポンプ又は攪拌要素のような独立した液体運動手段により作られ得る。

## 【0015】

好ましくは、マイクロ波照射は、2.45 GHz の周波数を有する。他の周波数も可能であり、それぞれの誘電体に応じて、さらに効率的になるとしても、2.45 GHz は、大部分の国において標準的なマイクロ波周波数として、利用可能であり、許容可能である標準的なありふれた周波数である。それ故、この周波数はまた、市販のマイクロ波システムの最大の選択肢をもたらす。

## 【0016】

組織試料を直接のマイクロ波照射に暴露する間に、電磁場は、組織において、毎秒 2.4.5 億回 (2.45 GHz)、その方向を逆にする。これは、組織分子の微小振動を作り出す。驚いたことに、これは、組織に浸潤する誘電体に応じて、浸潤速度を著しく向上させる。ホルムアルデヒドの場合には、これは 20 倍の加速ですらもたらす。

## 【0017】

誘電体に応じて、前記微小振動によって加速されるので、浸潤する誘電体次第で、誘電体の加熱は、実際には望ましくない副作用であり得る。この場合、冷却は、例えば電気冷却要素又は、反応容器の壁に冷媒を導く溝又は、誘電体の不慮の加熱を補正する (compensate) ために反応容器に接触する電気冷却要素によってもたらされるべきである。

## 【0018】

代わりとして、マイクロ波によって簡単には加熱されない誘電体 (例えば、パラフィン) の場合には、追加の加熱要素が好ましくは備えられ得、例えば、対流性の加熱器が、誘電体を所定の温度まで加熱するために備えられる。

## 【0019】

最大可能速度まで処理速度を最適化するために、処理パラメータ (主に、組織の直接のマイクロ波照射の強度及び浸潤処理の間の誘電体の温度) が、この特定の誘電体に正確に適合するように、誘電体を非常に厳密に選択することも重要である。このような理由から、システムは、特定の誘電体で予め充填されている閉鎖されたシステムとしてデザインされ得、又はそれぞれの誘電体を有するいくつかの反応容器を含み得る。一実施形態によれ

ば、ただ 1 つの反応容器が備えられ得、及び様々な誘電体を保持する、1つ以上の貯蔵タンクが備えられ得る。反応容器は、続いて、浸潤のある処理ステップが完了された後に、導管を介して空にすることができ、続いて、次の浸潤の処理ステップのために、異なる誘電体を有する貯蔵タンクの 1 つから再充填することができる。代わりとして、様々な誘電体で予め充填された、いくつかの反応容器を備えることができ、浸潤される試料を、順に、次の処理ステップのために、1 つの反応容器から次(の反応容器に)移動させることができる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【0020】

次に、本発明は、図表を参照してより詳細に記載される。

【図 1】図 1 は、本発明による組織浸潤装置の分解 (explosive) 斜視図を表す。

【図 2】図 2 は、本発明による組み立てられた組織浸潤装置の斜視図を表す。

【図 3】図 3 は、本発明による組織浸潤システムの概略図を表す。

【図 4】図 4 は、複数のカセット及びセグメント内にいくつかの試料を保持する搬送バスケットを表す。

#### 【実施例】

##### 【0021】

図 1 及び図 2 に表されるような、本発明による組織浸潤(浸透)装置は、任意の形状の一般的にあり得る反応容器 1 を含むが、好ましくは、この特別な実施例の場合、側壁 2 及び底部 3 を有する通常のシリンダとしてデザインされる。任意の追加のマイクロ波又は、赤外線照射のような他の熱発生照射が、反応容器 1 の軸方向に底部の浸透を目的とするかによって、底部 3 は、マイクロ波に対して透過性である材料で作られ得、又は、マイクロ波に対しては、石英で作られ得る。

##### 【0022】

側壁 2 には、矢印により模式的に描かれているマイクロ波 6 に透過性の、透過性窓部分 5 が備えられる。これらのマイクロ波は、発生し、マイクロ波システム 7 によって照射され、反応チャンバ 4 に透過性窓部分 5 を介して浸透することができる。透過性窓部分 5 は、長方形であり、石英がマイクロ波に対して透過性であるので、典型的には、石英から作られる。

##### 【0023】

反応容器 1 は、反応容器 1 の側壁 2 と熱伝導するように接するシリンダ状の加熱及び冷却ユニット 8 により、完全にまたは部分的にカプセル化 (encapsule) される。反応容器 1 の側壁 2 はまた、熱伝導性材料で作られる。このように、反応容器 1 の中にあり、反応チャンバ 4 に入っている誘電体 19 は、誘電体 19 の所定の温度が達成され、維持されることが可能なように、加熱又は冷却される。誘電体 19 の上方レベルは、石英窓部分 5 を介して視認可能である液面レベル線 9 で示される。組織試料が、誘電体 19 に沈められたとき、回転心棒 11 を介して駆動機構 30 によって回転可能な 1 つ以上の搬送バスケット 18 に保持される。搬送バスケットは、マイクロ波透過性材料で作られる。任意のマイクロ波透過性材料が使用され得る。マイクロ波透過性材料として電気的陰性 (electronegativity) を示すテフロン(登録商標)(ポリテトラフルオロエチレン(PTFE))が、破壊及び熱に対する抵抗性(を有する材料)として特に適切であろう。

##### 【0024】

図 3 は、いくつかの反応容器 1 を含む閉鎖された組織浸潤システムの全体の概略図を表す。搬送バスケット 18 に保持される組織試料 21 は、図 4 において詳細に表される。この実施形態において、60 個までの試料が、1 つの搬送バスケット 18 に保持されることが可能である。搬送バスケット 18 内で、試料 21 は、図 4 においてより詳細に表されるカセット 10 に保持される。1 つ以上の搬送バスケット 18 が、回転軸の心棒 11 に保持される。カセット(複数) 10 が、いくつかのセグメント 12 に保持され、いくつかの層(ないしは、レイヤー) 13 が、回転心棒 11 に保持されることが可能である。より詳細については、引用により本願にその全体が組み込まれるドイツ特許出願公開 DE 102

0 0 7 0 4 4 1 1 6 から得ることが可能である。搬送バスケットは、ドイツ特許出願公開  
D E 1 0 2 0 0 7 0 4 4 1 1 6 の図 5 - 7 に特に表される。

#### 【0 0 2 5】

図 3 は、全ての搬送バスケット 1 8 が、様々な誘電体 1 9 に沈められる、即ち、様々な誘電体表面レベル 9 の下方に完全に沈められることを模式的に表す。模式的に表されるケーシング 1 4 によって象徴されるように、図 3 に表される実施形態のシステム全体が閉鎖される。搬送機構 1 5 、特に、様々な搬送バスケット 1 8 を把持することが可能な搬送アーム 1 6 が備えられる。これらの搬送バスケット 1 8 のいくつかは、カルーセル（回転盤）1 7 に保持され、様々な誘電体を含む反応容器 1 に一つずつ搬送される。誘電体液 1 9 は、カスタム（custom）デザインされ得、様々な反応容器 1 に予め充填され得る。これは、より一貫した試験結果を得ることを可能にし、及びこれは、各誘電体で要求される処理時間についてのより良い制御のための別の尺度である。

#### 【0 0 2 6】

搬送機構及び異なる誘電体を保持する複数の反応容器 1 を有する閉鎖されたシステムの代わりとして、例えば図 1 に表されるように、独立型の溶液を有することも可能である。この場合、搬送バスケット 1 8 は、搬送機構 1 5 によって、手動又は自動で反応チャンバー 4 に挿入される。この場合には、誘電体 1 9 を加えるに先立って、搬送バスケット 1 8 を挿入することも可能である。導管 2 2 を介して誘電体 1 9 を取り除くことも可能であり、同じ反応容器 1 に異なった誘電体 1 9 を供給することによって誘電体 1 9 を置き換えることも可能である。また、単一の反応容器溶液の場合には、閉鎖されたシステムが可能であり、様々な誘電体が異なる貯蔵容器 2 0 に保持され、これらは、前記貯蔵容器 2 0 から反応容器 1 にポンプ注入され、及び、可能であれば洗浄過程の後に、誘電体液 1 9 を処分するか又は、ポンプ注入によって誘電体液 1 9 を貯蔵容器 2 0 に戻すために、前記導管 2 2 を介して逆に反応容器 1 から排出される。

#### 【0 0 2 7】

3 つの相違するシステムの全てにおいて（すなわち、図 3 に表されるような、いくつかの反応容器 1 及び搬送バスケット 1 8 を様々な反応容器 1 に搬送する搬送機構 1 5 を有する完全に閉鎖されたシステム又は、図 1 に表されるような複数の異なった誘電体を保存するための様々な貯蔵容器 2 0 を有する閉鎖されたシステム又は、図 1 に表されるものと同じシステムであるが、開放されたシステムとしてデザインされたシステム）、本発明による浸潤方法は、以下の手順の通りである。

#### 【0 0 2 8】

1 . 試料は調製され、搬送バスケット 1 8 のセグメント 1 2 によって保持され、搬送軸（中心心棒）1 1 に取り付けられる、様々なカセット 1 0 に配置される。この態様において、搬送バスケット 1 8 は、試料で完全に充填される（例えば、6 0 個の異なった試料が、6 0 個のカセット 1 0 にそれぞれ保持される）。

#### 【0 0 2 9】

2 . 搬送バスケット 1 8 が装着（load）された後、これらは、予め誘電体で充填されるか、又は搬送バスケット 1 8 が反応容器 1 の反応チャンバー 4 に挿入された後に誘電体で充填される反応容器 1 内に移動される。

#### 【0 0 3 0】

3 . 搬送バスケットを回転させ、それ故、誘電体 1 9 の中にある試料を回転させる駆動機構によって、搬送バスケット 1 8 は、回転し始める。この時点で、搬送バスケット 1 8 及び、それ故、全ての試料は、誘電体に完全に沈められる（即ち、誘電体表面レベル 9 の下方に浸漬される）。

#### 【0 0 3 1】

4 . マイクロ波照射 6 は、石英窓部 5 を介してマイクロ波システム 7 によって反応チャンバー 4 内に照射される。試料は、3 × P D よりも短い距離の範囲内で、一回転毎に、石英窓部分 5 を通過し、ここで、P D は、誘電体へのマイクロ波の浸透深度であり、マイクロ波照射強度が、始めの強度から1/e の値（即ち約37%）まで減少している位置までの

距離として定義される。様々な誘電体のリスト及びそれらに相関する浸透深度 P D のリストが以下に検討される。試料は、浸潤を加速する際に直接の影響を有する直接のマイクロ波照射に暴露される。

【 0 0 3 2 】

5. 任意に、即ち必要に応じて、誘電体は、シリンダ状の加熱及び冷却ユニット 8 によって加熱又は冷却される。加熱は、誘電体の容積が大きい (high) ため、マイクロ波が誘電体を加熱するのに長時間かかる場合、又は、誘電体がマイクロ波によって加熱されることが困難である場合（例えばパラフィン）に、適用される。代わりとして、反対に、容積が少なく（low）、誘電体がとても迅速に加熱される場合及び／又は、誘電体が、概して、マイクロ波によって迅速に加熱される特徴を有している場合（例えば、水のような強力な双極子液体）に、冷却過程が行われる。マイクロ波が直接に試料を照射し、それ故、直接の浸潤作用を使用するとしても、誘電体のある最適処理温度が、試料のいかなるダメージ（例えば、過剰な加熱によるもの、又は、反対に、低すぎる誘電体温度を有することによって処理速度を妥協する（compromise）こと）を避けるために、維持されることもまた可能である。

【 0 0 3 3 】

6. 特定の誘電体での浸潤のための適切な処理時間が経過した後（試料は、制御された強度を有するマイクロ波で直接照射されており、一方、同時に、誘電体の温度は、加熱及び冷却要素 8 と合わせて、同一のマイクロ波照射により制御されている）、試料を有する搬送バスケット 18 は、反応容器 1 の外に動かされ、又は、代わりに、誘電体が、反応容器 1 から取り除かれる。

【 0 0 3 4 】

7. ステップ 1 - 6 は、様々な誘電体の必要に応じて、及び、誘電体温度、マイクロ波照射 6 の強度及び、試料を直接にマイクロ波照射 6 に曝す石英窓部分 5 を繰り返し、通りすぎるように、試料を案内する距離のような、様々な処理パラメータの必要に応じて、その度ごとに反復され得る。

【 0 0 3 5 】

本発明の方法は、1つの単一の誘電体でサンプルを処理する（即ち、1つの単一の誘電体のみを組織試料に浸潤させる）ために用いることができる。しかしながら、典型的に、いくつかの異なる誘電体が、様々なその後の浸潤ステップを行う順序において使用される。「誘電体」とは、電荷キャリアが自由に移動できず、電気伝導度が少ない若しくは無い任意の非金属物質を意味する。これらの材料は、それらに加えられる電界ないし電磁場を有する。誘電体への浸透の際に、マイクロ波放射は、誘電体の加熱をもたらす。これはエネルギーの吸収が原因で生じる。それと同時に、毎秒 2.4.5 億回 (2.45 GHz)、方向を逆にする電磁場が生じる。

【 0 0 3 6 】

メタノール、エタノール及びイソプロパノールのようなアルコールの種類と同じく水性ホルマリン溶液が、マイクロ波励起を用いる組織処理に通常利用される誘電体である。浸透深度 P D は、最初の電解強度が  $1/e$  (約 37%) まで減少している位置の深度と定義される。これは、マイクロ波加熱が、浸透深度を超えてなお行われることを意味するが、その場所を加熱するためのエネルギーの量は、とても小さい。

【 0 0 3 7 】

$$PD = \frac{\lambda_0}{2\pi} \cdot \frac{\sqrt{\epsilon'}}{\epsilon''}$$

P D = マイクロ波浸透深度

0 = 真空における波長 (= 1.2.25 cm)

' = 複素誘電係数 (complex dielectricity coefficient) の実数部分

'' = 複素誘電係数の虚数部分

### 【0038】

浸透深度 P D は、特定の誘電体及びその温度に依存する。多くの材料（例えば石英ガラス）は、とても大きな浸透深度を有し、これらはマイクロ波放射に「透過性」である。1つの経験則は、誘電体を熱くするほど、その P D は大きくなることを示す。例えば、25、50 及び 75 の水の P D を考慮する。

材料／誘電体 ( $\lambda_0 = 12.25\text{ cm}$ ; 2.45 GHz)	$\epsilon'$	$\epsilon''$	温度 (°C)	P D (cm)
石英ガラス	3.78	0.0002	25	18937
水 H <sub>2</sub> O	77.4	9.2	25	1.87
水 H <sub>2</sub> O	69.4	4.9	50	3.3
水 H <sub>2</sub> O	62.3	2.6	75	5.9
エタノール	8	7.5	25	0.8
メタノール	24	13.5	25	0.7
プロパノール	5	3.5	25	1
メチルアルコール	24	15	25	0.6

### 【0039】

誘電体が浸潤した後の典型的な順序は以下の通りである。

### 【0040】

#### 1. 固定

組織試料は、典型的に固定薬剤によって固定される。固定薬剤としては、典型的には液体であり、細胞膜に迅速に浸透する能力を有するものが使用される。マイクロ波は、組織に微小振動を起こさせるので、浸潤過程は、組織試料を直接にマイクロ波で照射することによって、著しく加速され、例えば、直接のマイクロ波照射無しの場合の浸潤と比較して、20倍に加速される。ホルムアルデヒド又はホルマリン浸潤過程は、典型的に、摂氏20度から25度の温度で行われる。典型的に、摂氏25度を越えると、組織タンパク質の架橋結合が起こる。そのような架橋結合は望ましいものかもしれない。しかしながら、架橋結合に先立って、適切な浸潤が、摂氏20度から25度（華氏68度から77度）の間の好まれる温度で完了されなければならない。マイクロ波自体が、誘電体ホルムアルデヒド又はホルマリンを迅速に加熱する傾向を有するので、加熱及び冷却ユニット8が、本発明による、組織試料の直接のマイクロ波照射を含む固定過程の間、温度を摂氏25度（華氏77度）より下に制御可能である。

### 【0041】

#### 2. 脱水

多くの応用のために、組織試料は、完全に脱水されなければならない。典型的に、様々なアルコール（例えば、イソプロパノール又はエタノール）のような誘導体が使用される。イソプロパノールは、摂氏60度（華氏140度）の温度でもっとも良く組織試料に浸潤するが、一方、エタノールは、（イソプロパノールの場合よりも）幾分低い温度、特に摂氏40度（華氏104度）でもっとも良く組織試料に浸潤する。繰り返すが、組織試料を直接照射することによって、浸潤速度は加速され、例えば、直接にマイクロ波で組織試料を照射しない浸潤と比較して4倍になる（加速される）。浸潤を加速するこの効果は、マイクロ波照射に直接に暴露される組織の微小振動により説明可能である。マイクロ波照射は、とても迅速にイソプロパノール又はエタノールを加熱する傾向があるので、加熱及び冷却ユニット8による逆冷却（counter-cooling）が有益であり得る。また、最も有益な浸潤温度に達するために、加熱及び冷却ユニット8は、脱水誘電体を、最も有利な処理温度に加熱するのを助けることが可能である。

## 【0042】

## 3. 仲介物浸潤 (Intermedium infiltration)

適切な脱水の後、仲介物での浸潤が、後のパラフィン化ステップが所望される場合に必要である。いくつかの誘電体（例えばイソプロパノール）は、脱水の機能及び、パラフィン浸潤のための適切な仲介物を供給する機能の両方の機能を果たす。また、仲介物を含む誘電体の混合物を供給することも可能である。しかしながら、エタノールのような他の脱水誘導体は、適切な仲介物ではない。繰り返すが、組織試料に仲介物を浸潤させるために、浸潤は、組織試料をマイクロ波で直接に照射することによって加速される。

## 【0043】

## 4. パラフィン化 (Paraffinizing)

パラフィンは、強力な双極子分子ではないので、マイクロ波により簡単に加熱されないが、直接のマイクロ波照射による組織試料の微小振動は、特に、パラフィンの組織試料への浸潤促進を助ける。繰り返すが、最適な処理温度は、加熱及び冷却ユニット8によって維持されることができ、マイクロ波によってやや加熱されにくいパラフィンは、パラフィン化過程の開始に先立って及びパラフィン化過程の間に、加熱及び冷却ユニットの手段によって、対流によって、加熱される。

## 【0044】

これは、以下に、図3により詳細に参照される。すでに上で検討したように、図3は、複数の反応容器1を含む閉鎖されたシステムに類似する。特に、反応容器1Aは、固定ステップを実行するために、ホルムアルデヒドを誘導体として含み、反応容器1Bは、脱水のステップ及び仲介物での浸潤のステップの両方を実行するために、イソプロパノールを含み、及び反応容器1Cは、パラフィン化のステップを実行するために、パラフィンを誘電体として含む。

## 【0045】

入力ステーションは、従って、カルーセル17の形態で構成され、同時に、保存ユニットとして機能し、複数の搬送バスケット18の順序を予設定可能に変更するための手段として機能する。カルーセル17は、搬送バスケット18をそれぞれ配置することが可能な、6つの個々の受け入れ位置を含む。オペレータは、1つ以上の搬送バスケット18をカルーセル17の中に移動させる。同様に、搬送アーム16は、カルーセル17から搬送バスケット18を取り除くことができる。カルーセル17に移動される搬送バスケット18は、カルーセル17が、異なった受け入れ位置を入力または出力の位置に回転させることによって、その中に格納される。

## 【0046】

搬送バスケット18が配置される場合、搬送バスケット18は、カルーセル17の各位置に搬送される。表示されている3つの搬送バスケット18は、反応容器1A、1B、1Cに設置される。搬送バスケット18の次のステーション変更において、反応容器1Aにある搬送バスケット18が、カルーセル17の出力位置に搬送アーム16によって送られる。カルーセル17が、続いて、右側（時計回り）に1位置分だけ回転し、かくて、次に処理を必要とする搬送バスケット18が、出力位置に送られる。搬送アーム16は、続いて、搬送バスケット18を反応容器1Aに搬送する。次のステーション変更で、反応容器1A、1B及び1Cにある搬送バスケットは、続いて、固定、脱水／仲介物及びパラフィン化をする実行位置にそれぞれ移動し、そしてカルーセル17に残っている搬送バスケット18は、反応容器1Aに戻されるか又は、反応容器1Bが空き次第、そこに入れられるように送られる。この態様において、緊急処理を必要とする搬送バスケット18が、実行順序において、他の搬送バスケット18よりも1位置だけ先行することも可能であり、かくて、搬送バスケット18の順序は、変更される。

## 【0047】

好まれる実施形態によれば、カセット10及び／又は搬送バスケット18は、それぞれ識別手段を含む。識別手段は、カセット及び／又は搬送バスケットの識別を可能にする。識別手段は、バーコード又は機械読み取り可能な印刷（ないしは、刻印）又はトランスポ

ンダ又はラジオ周波数識別（RFID）タグであり得る。組織浸潤装置内にあるカセット又は搬送バスケットの現在の配置又は位置が、識別手段に基づいて、認識可能なようにすることができる。カセット又は搬送バスケットの残りの処理時間は、また、識別手段に基づいて、認識可能であり得る。この特徴は、標本又はカセットに予想より早い時間にアクセスする必要がある場合に有益であり、この場合、標本を手動で処理することが可能である。

#### 【0048】

搬送バスケットの順序は、カセット及び／又は搬送バスケットの識別の機能によって、認識し、任意に変更可能であり得る。カセット又は搬送バスケットの識別に関する情報加えて、組織浸潤装置の標本の処理形式に関する情報もまた提供され得、もしそれぞれのカセット又は搬送バスケットの識別が行われた場合、これら両方の情報は、適した方式で識別手段に保存されるか、又は、例えば、ネットワークを介して組織浸潤装置に伝達される。カセットや搬送バスケットの識別手段をそれぞれ読み取ることができる読み取り装置が、この目的のために、組織浸潤装置に備えられる必要があるだろう。この情報は、組織浸潤装置の制御ユニット23に伝達され得る。制御ユニット23は、カセット10又は特定の搬送バスケット18について確認された情報の機能に応じて、組織浸潤装置の反応容器1A、1B及び、1Cを介する個別の搬送バスケット（そしてつまりカセット）の実行順序が、様々な方式又は、予設定可能な処理目標のために最適化された手段で管理されるように構成され得る。その様な処理の目標の1つは、組織浸潤装置におけるカセットのための、最短の可能な処理時間であり得る。更なる処理の目標は、特定の標本の種類のための特別な実行順序であり得る。

#### 【0049】

トランスポンダ24の形態で構成される識別手段が、各搬送バスケット18に備えられていることが単に模式的に示されている。カセット10及び、それ故、この中に入れられた標本（図示せず）と同様に、搬送バスケット18の識別についての情報は、識別手段に保存することができる。試料がこれから処理される、又は処理された処理過程についての情報は、トランスポンダ24に追加的に保存することができる。搬送バスケット18にある個々の標本の処理の優先順位に関する情報又は、搬送バスケット18に関する情報も、また、トランスポンダ24に保存できる。トランスポンダ24に保存される情報は、読み取りユニット25で、非接触方式によって読み出され、制御ユニット23に伝達可能である。制御ユニット23は、続いて、搬送バスケット18のトランスポンダ24から読み出される情報の機能に応じて、搬送バスケット18のための処理ステップを計画することができ、それに応じて実行することができる。出力ステーション31の近傍には、搬送バスケット18が組織浸潤装置32内を通過した個々の処理ステップに関する情報をトランスポンダ24に書き込むことができる書き込みユニット26が設置される。

#### 【0050】

少なくとも一つの反応容器1A、1B、1Cが、異なった誘電体液で自動的に充填可能なようにすることもまた考えられる。これは、特に、予設定可能な又は調整可能な時間で行われ得る。例えば、脱水のための反応容器は、特に、異なったアルコール濃度を有する、アルコール含有誘電体液で、それぞれ充填され得る。加えて又は代わりに、異なった誘電体液で反応容器を充填することが、オペレータにより開始される方式で、手動で、可能であり得る。

#### 【0051】

脱水に用いる反応容器1Bの誘電体液19は、交換可能であり、その目的のために、交換装置27が備えられることが単に概略的に示されている。後者は、ポンプ及びバルブ（図示せず）を含み、反応容器1Bへ、2つの導管接続によって接続される。好ましくは、エネルギーは、特に予設定可能な期間、少なくとも一つの反応容器の内容物に付加可能である。エネルギーは、特に、熱エネルギー又は電磁波（例えばマイクロ波及び／又は超音波）である。熱又はエネルギーが加えられる反応容器の内容物は、誘電体液、その中にあら搬送バスケット、及び／又は、その中にあらカセットを含み得る。この操作がかくて、加速されるので、エネルギーを、ワックス／パラフィン処理に供される反応容器に加える

ことは特に有益である。赤外線照射又はマイクロ波照射する照射装置の形態で構成され、反応容器 1 C にある誘導体液が加熱される、加熱ユニット 2 9 が反応容器 1 C に備えられる。しかしながら、重要でない洩れ強度 (stray intensity) 以外の実質的な直接の照射は、試料に照射されない。全ての試料の、制御されかつ均一な照射が、過程を通して維持可能なように、直接の照射は反応容器の側壁にある窓部分 5 から入ってくる。追加の照射を備え、パラフィンを加熱することは、パラフィンの温度を、より早く最適な浸潤温度にまで上昇させ、かくて、上述のような試料の直接の照射の組み合わせは、浸潤を加速する。

#### 【 0 0 5 2 】

特に非常に好ましくは、搬送バスケットの順序が確認可能であることを基にして、優先順位が入力可能であり及び／又は確認可能である。優先順位は、（例えば、オペレータによって）入力され得る。優先順位がネットワーク又はデータベースシステムを介して組織浸潤装置に伝達されることが更に考えられる。これは、組織浸潤装置が実験室制御システムに組み込まれる場合に特に有益であり得る。実験室制御システムの制御下で、遠隔制御方式で、2つの搬送バスケットの順番が予設定可能に変更可能なことは、一般的によく考えられる。制御は、この種の実験室制御システムを有する更なる調製装置にも適用され得、かくて、理想的には、ほぼ完全に自動化された標本調製が可能である。組織浸潤装置又はその制御装置のこの種の統合は、ネットワークを介して実験室制御システム用の制御コンピュータに連携することで達成され、又はデータベースシステムに連携することで達成される。

#### 【 0 0 5 3 】

図 3 による組織浸潤装置は、制御コンピュータを含み、他の情報と共に、患者データが保存されるデータベースシステムに連携される実験室制御システム（図に表されていない）に、ネットワーク接続（手段）2 8 を介して、統合可能である。

#### 【 0 0 5 4 】

上記の例示する実施形態ないし実施例は単にクレームした教示の内容を記載したものに過ぎず、本発明はこれらの典型的な実施形態ないし実施例に限定されるものではないことに注意すべきである。

#### 【 符号の説明 】

##### 【 0 0 5 5 】

- 1 反応容器
- 2 側壁
- 3 底部
- 4 反応チャンバ
- 5 透過性窓部分
- 6 マイクロ波
- 7 マイクロ波システム
- 8 加熱及び冷却ユニット
- 9 誘電体表面レベル
- 10 カセット
- 11 回転心棒
- 12 セグメント
- 13 いくつかの層（ないしは、レイヤー）
- 14 ケーシング
- 15 搬送機構
- 16 搬送アーム
- 17 カルーセル（回転盤）
- 18 搬送バスケット
- 19 誘電体
- 20 貯蔵容器

2 1 組織試料  
2 2 導管  
2 3 制御ユニット  
2 4 トランスポンダ  
2 5 読み取りユニット  
2 6 書き込みユニット  
2 7 交換装置  
2 8 ネットワーク接続  
2 9 加熱ユニット  
3 0 駆動機構  
3 1 出力ステーション  
3 2 組織浸潤装置

【手続補正3】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図3】

