

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-117363

(P2004-117363A)

(43) 公開日 平成16年4月15日(2004.4.15)

(51) Int.Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

GO 1 N 15/14

GO 1 N 15/14

Z

2 GO 4 3

GO 1 N 21/05

GO 1 N 15/14

C

2 GO 4 5

GO 1 N 21/64

GO 1 N 21/05

2 GO 5 4

GO 1 N 21/78

GO 1 N 21/64

Z

2 GO 5 7

GO 1 N 33/483

GO 1 N 21/78

C

審査請求 未請求 請求項の数 69 O L (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-336553 (P2003-336553)

(22) 出願日 平成15年9月26日 (2003.9.26)

(31) 優先権主張番号 10/259, 332

(32) 優先日 平成14年9月27日 (2002.9.27)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 595117091

ベクトン・ディキンソン・アンド・カンパ
ニーBECTON, DICKINSON A
ND COMPANYアメリカ合衆国 ニュー・ジャージー O
7417-1880 フランクリン・レイ
クス ベクトン・ドライブ 1
1 BECTON DRIVE, FRA
NKLIN LAKES, NEW JE
RSEY 07417-1880, UN
ITED STATES OF AMER
ICA

(74) 代理人 100077481

弁理士 谷 義一

最終頁に続く

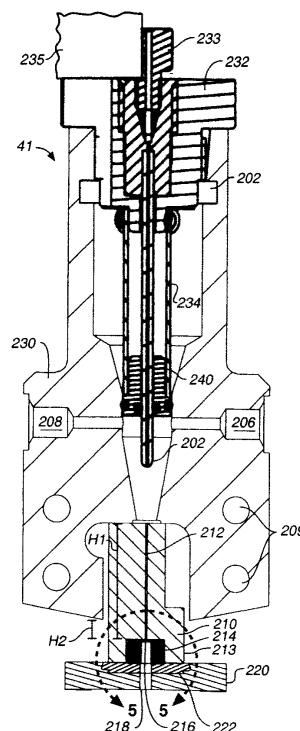
(54) 【発明の名称】 ユーザ取替可能ノズルを備える固定的に取付けられた仕分け用キューベット

(57) 【要約】

【課題】 アラインメント頻繁に必要とせず、機器の最初のセットアップ時にのみ必要とする流動細胞測光計を提供する。

【解決手段】 フローセル及び流動細胞測光計であって、フローチャネルの一端におけるノズル216が、フローセル41の位置合わせされた位置に保持される取り外し可能な基体273に配置されている。照射光学系、集光光学系、及びフローセルを含んでいる他の要素は、固定位置に配置されてもよく、その後の周期的な調整を必要としない。ノズル216を位置決めするための位置は、ノズルキー214の取外し及び取替えを可能にし、ノズル216はその後、理想的な位置に配置される。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

流動細胞測光計と共に用いるためのフローセルであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
前記フローセル本体を通した鞘流液体の流れの導入を可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流ポートと、
フローセル本体に結合されたキュベットと、
前記試料配送管及び前記少なくとも 1 つの鞘流ポートからの液体が流れる、キュベットを貫通して延びているチャンネルと、
前記チャンネルの末端における取り外し可能なノズルであって、定められた三次元位置で且つ位置合わせされた回転方向にある前記フローセルの位置合わせされた位置に保持されているノズルと、
を備えることを特徴とするフローセル。

10

【請求項 2】

ストリームがノズルを出るときに液滴の生成を可能にし、前記フローセルに関連された液滴生成器をさらに含んでいることを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

【請求項 3】

前記液滴生成器は、前記流体がチャンネルに入る前に流体の流れに液滴生成振動が与えられるように、前記フローセル本体内に配置されていることを特徴とする請求項 2 に記載のフローセル。

20

【請求項 4】

前記液滴生成器はピストンを含むことを特徴とする請求項 3 に記載のフローセル。

【請求項 5】

前記液滴生成器は振動素子であることを特徴とする請求項 2 に記載のフローセル。

【請求項 6】

前記振動素子は、ノズル、キュベット及びフローセル本体からなる群の 1 つを振動させることを特徴とする請求項 5 に記載のフローセル。

【請求項 7】

前記取り外し可能なノズルは、取り外し可能なノズルキーに位置されていることを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

30

【請求項 8】

前記ノズルキーは、前記キーの一方の側に付勢ばねを含むことを特徴とする請求項 7 に記載のフローセル。

【請求項 9】

前記ノズルキーは、ノズルを取り囲んでいる O リングを含むことを特徴とする請求項 7 に記載のフローセル。

【請求項 10】

前記キュベットは、前記チャンネルの前記末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

40

【請求項 11】

前記チャンネルは、矩形の断面を有することを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

【請求項 12】

前記チャンネルは、前記流体が前記チャンネルにおける照射位置に到達したときに、前記チャンネルを通して流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

【請求項 13】

前記ノズルが前記位置合わせされた位置に挿入されたとき、ノズルのノズル開口部はチャンネル内の中心位置から偏心されていることを特徴とする請求項 1 に記載のフローセル。

【請求項 14】

50

流動細胞測光計システムであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
前記フローセル本体を通した鞘流液体の流れの導入を可能にする、前記フローセル本体
における少なくとも１つの鞘流ポートと、
フローセル本体に結合されたキュベットと、
キュベットを貫通して延びており、前記試料配送管及び前記少なくとも１つの鞘流ポ
ートからの液体が流れるように前記フローセル本体に結合されたチャンネルと、
前記チャンネルの末端における取り外し可能なノズルであって、定められた三次元位置で
且つ位置合わせされた回転方向にある前記フローセルの位置合わせされた位置に保持され
ているノズルと、
前記フローセルの照射領域において照射光を前記フローセルに合焦させて向ける照射光
学系と、
フローセルのチャンネル内の標的から生成された光を集光し、該集光された光を検出光学
系に伝達する集光光学系と、
を備えることを特徴とするシステム。

【請求項１５】
ストリームがノズルを出るときに液滴の生成を可能にし、前記フローセルに関連された
液滴生成器をさらに含んでいることを特徴とする請求項１４に記載のシステム。

【請求項１６】
前記液滴生成器は、前記流体がチャンネルに入る前に流体の流れに液滴生成振動が与えら
れるように、前記フローセル本体内に配置されていることを特徴とする請求項１５に記載
のシステム。

【請求項１７】
前記液滴生成器はピストンを含むことを特徴とする請求項１６に記載のシステム。

【請求項１８】
前記液滴生成器は振動素子であることを特徴とする請求項１５に記載のシステム。

【請求項１９】
前記振動素子は、ノズル、キュベット及びフローセル本体からなる群の１つを振動させ
ることを特徴とする請求項１８に記載のシステム。

【請求項２０】
前記取り外し可能なノズルは、取り外し可能なノズルキーに位置されていることを特徴
とする請求項１４に記載のシステム。

【請求項２１】
前記ノズルキーは、前記キーの一方の側部に付勢ばねを含むことを特徴とする請求項２
０に記載のシステム。

【請求項２２】
前記ノズルキーは、ノズルを取り囲んでいるＯーリングを含むことを特徴とする請求項
２０に記載のシステム。

【請求項２３】
前記キュベットは、前記チャンネルの前記末端の位置から下向きに延びる側壁を備えるこ
とを特徴とする請求項１４に記載のシステム。

【請求項２４】
前記チャンネルは、矩形の断面を有することを特徴とする請求項１４に記載のシステム。

【請求項２５】
前記チャンネルは、前記流体が照射領域に到達したときに、前記チャンネルを通して流れる
液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項１４
に記載のシステム。

【請求項２６】
前記ノズルが前記位置合わせされた位置に挿入されたとき、ノズルのノズル開口部はチ

10

20

30

40

50

チャンネル内の中心位置から偏心されていることを特徴とする請求項 14 に記載のシステム。

【請求項 27】

前記集光光学系の要素である集光レンズにキュベットを結合する光透過性の連結部をさらに含んでいることを特徴とする請求項 14 に記載のシステム。

【請求項 28】

前記チャンネルは矩形であり、断面が短い側と断面が長い側とを有し、前記断面が短い側は、照射光学系によって光が方向付けられた第 1 方向に面し、前記断面が長い側は、発光された光が集光光学系によって集光される第 2 方向に面していることを特徴とする請求項 24 に記載のシステム。

【請求項 29】

フローセルと集光光学系を含んでいるソート用流動細胞測光計部品であって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
前記フローセル本体の中に鞘流液体を導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流ポートと、
キュベットと、
キュベットを貫通して延びているチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも 1 つの鞘流ポートから流れる液体が、流れストリームとして前記チャンネルの中に流れ、前記チャンネルは照射領域を有し、流動細胞測光計システムの照射源からの光がチャンネルを
通って流れている液体を照射し、前記照射光によって生成された発光が、前記チャンネルから
前記チャンネルを取り囲んでいるキュベットの光透過性材料を通過するチャンネルと、
前記チャンネルの末端におけるノズルと、
前記フローセル本体に関連され、前記ノズルを出るストリームからの液滴の生成を可能にする液滴生成器と、
集光レンズと、
前記集光レンズを前記光透過性材料に結合する連結部材料であって、発光が、空气中に移行することなく、前記光透過性材料から前記集光レンズに通過するのを可能にする連結部材料と、
を備えることを特徴とする部品。

【請求項 30】

前記ノズルは取り外し可能なノズルであり、三次元及び回転方向に位置合わせされた位置合わせ位置に保持されることを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 31】

前記キュベットは、前記チャンネルの前記末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 32】

前記チャンネルは、矩形の断面を有していることを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 33】

前記液滴生成器は、フローセル本体内に配置され、前記フローセル本体を通過して流れている鞘流体に振動圧力波をもたらすことを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 34】

前記連結部材料は、ゲル材料であることを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 35】

前記チャンネルは、前記流体が照射領域に到達したときに、前記チャンネルを通過して流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

【請求項 36】

前記ノズルが前記フローセルの前記位置合わせされた位置に挿入されたとき、前記ノズルのノズル開口部がチャンネル内の断面中心位置から偏心されていることを特徴とする請求項 29 に記載の部品。

10

20

30

40

50

【請求項 37】

ソート用流動細胞測光計システムであって、
フローセル本体と、
フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
前記フローセル本体を通して鞘流液体を導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも1つの鞘流ポートと、
前記フローセル本体に関連され、前記ノズルを出るストリームからの液滴の生成を可能にする液滴生成器と、
キュベットと、
キュベットを貫通して延びているチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも1つの鞘流ポートから流れる液体が、前記チャンネルの中に流れ、前記チャンネルは照射領域を有し、流動細胞測光計システムの照射源からの光がチャンネルを通して流れている液体を照射領域において照射し、前記照射光によって生成された発光が、前記チャンネルを取り囲んでいるキュベットの光透過性材料を通過するチャンネルと、
前記チャンネルの末端におけるノズルと、
照射領域において前記チャンネル内に照射光を合焦して向ける照射光学系と、
集光レンズと、
前記集光レンズを前記光透過性材料に結合する連結部材料であって、発光が、空気中に移行することなく、前記光透過性材料から前記集光レンズに通過するのを可能にする連結部材料と、
を備えることを特徴とするシステム。

10

20

【請求項 38】

前記ノズルは取り外し可能なノズルであり、三次元及び回転方向に位置合わせされた位置合わせ位置に保持されることを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

【請求項 39】

前記キュベットは、前記チャンネルの前記末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

【請求項 40】

前記チャンネルは矩形の断面を有していることを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

30

【請求項 41】

前記液滴生成器は、フローセル本体内に配置されて、前記フローセル本体を流れている鞘流体に振動圧力波をもたらすことを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

【請求項 42】

前記連結部材料は、ゲル材料であることを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

【請求項 43】

前記チャンネルは、前記流体が前記チャンネルにおける照射領域に到達したときに、前記チャンネルを通して流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

【請求項 44】

前記ノズルが前記フローセルの前記位置合わせされた位置に挿入されたとき、前記ノズルのノズル開口部がチャンネル内の断面中心位置から偏心されていることを特徴とする請求項 37 に記載のシステム。

40

【請求項 45】

ソート用流動細胞測光計と共に用いるためのフローセルであって、
フローセル本体と、
フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
前記フローセル本体を通して鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも1つの鞘流ポートと、
キュベットと、

50

キュベットを貫通して延びているチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも1つの鞘流ポートから流れる液体が流入するチャンネルと、

チャンネルの末端におけるノズルと、

前記フローセル本体に関連された液滴生成器であって、前記流れストリーム内に液滴の生成を可能にし、フローセル本体又はノズルの直接の振動なく、前記フローセル本体に流入している流体に振動力を与える液滴生成器とを備えることを特徴とするフローセル。

【請求項46】

前記キュベットは、前記チャンネルの末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項45に記載のフローセル。

10

【請求項47】

前記チャンネルは、矩形の断面を有していることを特徴とする請求項45に記載のフローセル。

【請求項48】

前記チャンネルは、前記流体がノズルに到達したときに、前記チャンネルを通して流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項45に記載のフローセル。

【請求項49】

流動細胞測光計システムであって、

フローセル本体と、

20

前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、

前記フローセル本体を通して鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも1つの鞘流ポートと、

キュベットと、

キュベットを貫通する長さに延びているチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも1つの鞘流ポートから流れている液体が流入するチャンネルと、

チャンネルの末端におけるノズルと、

前記フローセル本体に関連された液滴生成器であって、前記流れストリーム内に液滴の生成を可能にし、フローセル本体又はノズルの直接の振動なく、前記フローセル本体に流入している流体に振動力を与える液滴生成器と、

30

前記チャンネルの照射領域において前記フローセル中に照射光を合焦させて向ける照射光学系と、

前記チャンネルから発光された光を集光する集光光学系と、を備えることを特徴とする流動細胞測光計システム。

【請求項50】

前記集光光学系の要素である集光レンズにキュベットを結合させる光透過性の連結部をさらに含んでいることを特徴とする請求項49に記載のシステム。

【請求項51】

前記キュベットは、前記チャンネルの前記末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項49に記載のシステム。

40

【請求項52】

前記チャンネルは、矩形の断面を有していることを特徴とする請求項49に記載のシステム。

【請求項53】

前記矩形の断面は、断面が短い側と断面が長い側とを有し、前記断面が短い側は、照射光学系によって光が方向付けられた第1方向に面し、前記断面が長い側は、発光された光が集光光学系によって集光される第2方向に面していることを特徴とする請求項52に記載のシステム。

【請求項54】

前記チャンネルは、前記流体がノズルに到達したときに、前記チャンネルを通して流れる液

50

体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有していることを特徴とする請求項 4
9に記載のシステム。

【請求項 5 5】

ソート用流動細胞測光計と共に用いるためのフローセルであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流
ポートと、
前記フローセル本体に結合されたキュベットと、
前記キュベットを貫通する長さ延びている矩形のチャンネルであって、前記試料配送管及
び前記少なくとも 1 つの鞘流ポートから流れる液体が流入するチャンネルと、
前記フローセルに接続され、前記ノズルを出る液体ストリームから液滴の生成を可能に
する液滴生成器と、
前記チャンネルの末端におけるノズルであって、前記キュベットが前記チャンネルの末端の
下に延びている側壁を有し、前記側壁は、チャンネル内の液体から発光された光が前記側壁
を通して集光光学系に伝達され得るように光透過性にされているノズルと、
を備えることを特徴とするフローセル。

【請求項 5 6】

前記チャンネルは、前記流体がノズルに到達したときに、前記チャンネルを通して流れる液
体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有していることを特徴とする請求項 5
5に記載のフローセル。

【請求項 5 7】

前記ノズルは、位置合わせされた位置に保持され、前記位置合わせされた位置は、定め
られた三次元位置、及び位置合わせされた回転方向であることを特徴とする請求項 5 6に
記載のフローセル。

【請求項 5 8】

前記ノズルは取り外し可能なノズルであり、三次元及び回転方向に位置合わせされた位
置合わせ位置に保持されることを特徴とする請求項 5 5に記載のフローセル。

【請求項 5 9】

ソート用流動細胞測光計システムであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流
ポートと、
前記フローセルに接続され、流れストリーム内に液滴を生成可能にする液滴生成器と、
前記フローセル本体に結合されたキュベットであって、
前記キュベットを貫通して前記チャンネルの末端まで延びており、前記試料配送管及び
前記少なくとも 1 つの鞘流ポートから流れている液体が流入する矩形のチャンネルと、
前記チャンネルの末端におけるノズルと、を有し、前記チャンネルの末端の下に延びてい
る側壁を備え、前記側壁が、チャンネル内の液体から発光された光が前記側壁を通して集光
光学系に伝達され得るように光透過性にされているキュベットと、
前記チャンネルの照射領域において照射光を前記フローセルに合焦させて向ける照射入力
光学系と、
フローセルのチャンネル内の標的から生成された光を集光し、該集光された光を検出光学
系に伝達する集光光学系と、
を備えることを特徴とするシステム。

【請求項 6 0】

前記集光光学系の要素である集光レンズにキュベットを結合する光透過性の連結部をさ
らに含んでいることを特徴とする請求項 5 9に記載のシステム。

【請求項 6 1】

前記チャンネルは、前記流体がノズルに到達したときに、前記チャンネルを流れて流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有していることを特徴とする請求項 59 に記載のシステム。

【請求項 62】

前記ノズルは、位置合わせされた位置に保持され、前記位置合わせされた位置は、定められた三次元位置、及び位置合わせされた回転方向であることを特徴とする請求項 61 に記載のシステム。

【請求項 63】

前記ノズルは取り外し可能なノズルであり、三次元及び回転方向に位置合わせされた位置合わせ位置に保持されることを特徴とする請求項 59 に記載のシステム。

【請求項 64】

流動細胞測光計と共に用いるためのフローセルであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流ポートと、
キュベットと、

前記キュベットを貫通して延び、長さ方向の軸線を有するチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも 1 つの鞘流ポートからの液体が流入するように前記フローセル本体に結合されたチャンネルと、

前記チャンネルの末端におけるノズルであって、前記ノズルは、位置合わせされた位置において、前記ノズルのノズル開口部がチャンネルの長さ方向軸線から偏心されるように前記位置合わせされた位置に保持されるノズルと、
を備えることを特徴とするフローセル。

【請求項 65】

前記キュベットは、前記チャンネルの末端の位置から下向きに延びる側壁を備えることを特徴とする請求項 64 に記載のフローセル。

【請求項 66】

前記チャンネルは、矩形の断面を有していることを特徴とする請求項 64 に記載のフローセル。

【請求項 67】

前記チャンネルは、前記チャンネルを通る液体の流れがノズル位置において十分に展開するのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項 64 に記載のフローセル。

【請求項 68】

流動細胞測光計システムであって、
フローセル本体と、
前記フローセル本体の中に延びている試料配送管と、
鞘流液体の流れを導入可能にする、前記フローセル本体における少なくとも 1 つの鞘流ポートと、

前記フローセル本体に結合されたキュベットと、
前記キュベットを貫通して前記チャンネルの末端までの長さに延びている矩形のチャンネルであって、前記試料配送管及び前記少なくとも 1 つの鞘流ポートからの液体が流入するチャンネルと、

前記チャンネルの末端におけるノズルであって、キュベットが、チャンネルの末端の下に延びる側壁を備え、前記側壁は、チャンネル内の液体から発光された光が前記側壁を通過して集光光学系に伝達され得るように光透過性にされているノズルと、

前記チャンネルの照射領域において前記フローセル中に照射光を合焦させて向ける照射入力光学系と、

フローセルのチャンネル内の標的から生成された光を集光し、該集光された光を検出光学系に伝達する集光光学系と、

10

20

30

40

50

を備えることを特徴とするシステム。

【請求項 69】

前記チャネルは、前記流体がノズルに到達したときに、前記チャネルを通して流れる液体が流れを十分に展開させるのに十分に長い長さを有することを特徴とする請求項 68 に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、流動細胞測光法に関する。

【背景技術】

【0002】

流動分析は、個別の標的の分析のための重要な技術となっている。この技術の用途は、DNA 含量、特定の核酸配列、染色構造、RNA 含量、特定の抗原、表面受容体、細胞形態学、DNA 劣化その他のアッセイ標的を含んでいる種々の細胞特徴を調べるための細胞アッセイを含む。流動細胞測光計の標的は、多細胞生物（例えばミクロフィラリア）、細胞集合体、生存細胞、死亡細胞、細胞断片、小器官、大きい分子（例えば DNA）、ビーズのような粒子、ウィルス粒子又はこのサイズ範囲の他の個別の標的であり得る。全体を通して用いられる「細胞」という用語は、こうした個別の標的のことをいうのに用いられる。この技術は、診断、臨床及び研究用途を含んでいる多数の異なる用途をもつ。

【0003】

流動細胞測光法は、フローセル内の分析領域を通して流れている標的を測定するものである。フローセルにおいては、コアストリームが、一定の流量で流れている鞘流れストリームの中心に注入される。コアストリームは、サンプルチューブから注入され得る液体試料である。注入は通常、サンプルチューブへの吸引チューブの挿入と、試料液体がサンプルチューブから注入チューブの中に圧力で移動されるように、サンプルチューブ内の液体の上のヘッドの加圧を必要とする。

【0004】

流れストリームは、フローセル本体のテーパした部分の中に向けられて、分析領域に通される。1つのデザインにおいて、ストリームは、ノズルを通して向けられ、空気中で分析される。第2のデザインにおいては、ストリームは、分析のためにチャネルに通して向けられる。

【0005】

分析は、各粒子が検出領域を通過する際の粒子の光学的取調べによって行われる。ほとんどのシステムにおいては、ミラーと照射レンズを操作することによって、1つ又はそれ以上のレーザビームが分析領域に通して向けられる。1つより多いレーザが用いられる場合には、ビームを結合し、及び分析されるべきストリームに通して該ビームを向けるために、ダイクロイック・スタックを用いてもよい。

【0006】

分析領域を通過する光の幾らかは、粒子によって散乱されよう。検出器は、前方及び側方の散乱強度を測定する。さらに、照射ビームは、蛍光染料でもって標識付けられた流れストリーム内の標的粒子から蛍光を励起させる。発光された蛍光は、集光レンズによって集められ、検出光学系に伝達される。検出光学系は、集光された光を（例えばフィルタ及びダイクロイックミラーを用いて）特定の波長の光に分離する。特定の波長の光、又は特定の波長範囲内の光は、個々の光検出装置（例えば光電子増倍管）によって検出される。種々の検出器からの信号は、データ・プロセッサとメモリに送られて、検出事象が記録され及び特徴付けられる。

【0007】

粒子の分析に加えて、流動細胞測光計システムはまた、粒子をソートするように設計され得る。光学分析領域を去った後に、流れストリームは、液滴に分離され得る。1つの一般的な液滴生成方法は、流れストリームが出てくるノズルを振動させることである。これ

10

20

30

40

50

は、ノズルのみを振動させること、又はフローセル全体を振動させることによってなされ得る。結果として得られる分離された液滴は、ストリームの速度と振動波長との関数である間隔を取り入れている。関心のある標的を含んでいる液滴は、帯電カラーのような帯電装置によって帯電される。帯電された液滴は、帯電液滴を角度をもたせて偏向させる2つの帯電偏向板の間に向けられる。偏向された液滴は、偏向された粒子が落ちる経路内に配置された容器の中に集められる。

【0008】

上述の形式と類似している公知の流動細胞測光法は、例えば、特許文献1、特許文献2、特許文献3、特許文献4、特許文献5、特許文献6、特許文献7、及び特許文献8に説明されている。示した引用特許の全ては、引用により明白にここに組み入れられる。市販の流動細胞測光計製品は、全て本発明の譲受人であるBD Biosciences社によって製造されたFACS_{ort}（登録商標）、FACS_{Vantage}（登録商標）、FACS_{Count}（登録商標）、FACS_{Scan}（登録商標）、及びFACS_{Calibur}（登録商標）システムを含む。

10

【0009】

説明されたシステムは、迅速な分析及び仕分けを可能にする、粒子（例えば細胞）分析における多くの利点をもたらす。しかしながら、システムに対する多くの制限も存在する。

【0010】

アラインメント

20

システムは、適正に機能するために種々の要素の正確なアラインメントを必要とする。レーザは、光を標的に適正に向けるために正確に位置決めされなければならない。この位置決めを助けるために、レーザ又は他の照射源は、通常は、レーザの三次元の位置決めを可能にするx-y-zステージの上に取り付けられる。レーザビーム用の操作ミラーは、照射ビームを標的に適正に向けるために正確に位置決めされなければならない。これは通常、ミラーが角度調節可能となるように取り付けられることを必要とする。照射レンズシステムは、照射レンズが照射光を目標領域上に合焦させるように厳密に位置決めされなければならない。このレンズはまた、通常は、x-y-z軸線に沿って再位置決め可能となるように取り付けられる。

【0011】

30

フローセルは、照射ビームが流れストリームに当る角度と、流れストリームから照射レンズまでの距離とが変化しないように位置決めされなければならない。通常フローセルは、フローセルのx-y-z位置決めを可能にするステージの上に取り付けられる。さらに、フローセルを保持するステージは、フローセルの角度の再位置決め（例えば、 α 及び θ 位置決め）も可能にする。この角度調整は、ソートストリームの向きの正確な予測が必要とされる仕分けにとって重要である。さらに、散乱光及び蛍光を検出するのに用いられる光学系も、適正に位置合わせされなければならない。

【0012】

空気中のストリームが意図されている方向に向けられることを確実にするために、空気ジェット内のストリームも位置合わせされなければならない。このアラインメントは、フローセルの角回転によってもたらされる。このアラインメントは、ストリームの光学的取調が空気中のストリームにおいて行われる場合、さらに重要である。空気中のストリーム系についてのアラインメント手順は、最初に空気中のストリームを照射光学系と集光光学系との両方に対して配置し、次いでこれらの成分の各々を空気中のストリーム内の位置に合焦させることを必要とする。

40

【0013】

アラインメントは、ユーザの時間と、ユーザの相当の専門的技術とを必要とする。時には、どの要素が調整を要するのかを判断するのが困難である。機器のセットアップは、通常は、必要に応じ、再位置決めによって再調整された要素についてのアラインメントの診断を必要とする。これは、少なくとも1日に1度起こり、要素が取り替えられたり取り外

50

されたりする場合にはもっと頻繁に起こる。再アラインメントは、機器の休止時間と、ユーザの時間及び専門的技術との両方を必要とする。アラインメント手順を実行するのに要する時間は、システムの状態とオペレータのスキルとの両方に高く依存する。さらに、一定の再アラインメントが必要であることは、システム性能の繰り返し性を低下させる。

【0014】

フローシステムの幾つかの要素のアラインメントを繰り返す必要があるという問題に対処するために、幾つかの試みがなされてきた。シュパンゲンベルクへの特許文献9及び特許文献10は、分析機器に用いるための光学的照射組立体を開示している。この組立体は、照射源（例えばレーザ）、空間フィルタ、ビーム整形孔及び合焦レンズを含み得る。この要素は全て照射光学要素であり、フローセル又は集光要素ではない。各部品は、プレート、フレーム又は取り付けシリンダに取り付けられ、これらは次いで、プラットフォームに取り付けられる。プレート又はフレームの各々は、対向するばねプランジャを備えた調整器を用いるマイクロメータ調整によって、2つの軸線に沿って移動可能である。最初の調整の後に、プレート又はフレームは、該プレート又はフレームを定位置に固定するために、ねじ又は他の装置を用いて固定位置に取り付けられる。フレーム又はプレートが固定されると、調整器又はばねは取り外される。合焦レンズは、3つの軸線（x-y-z移動）に沿って動かされうるように取り付けられ、その後同様に定位置に固定される。これは、光生成及び照射光学系の固定を可能にする。しかしながら、キュベットは、依然として照射の焦点に位置決めされるように調整される。これは、定例的ベースで必要とされるであろう。

10

20

【0015】

特許文献11は、合焦レンズがフローセルに接触している照射構成を開示している。ばねが、ハウジングに対してレンズを付勢し、レンズをフローセルから選択された焦点距離に位置決めしている。これは、レンズとフローセルとの間の相対的な軸方向位置を維持する。

【0016】

これらの文献は、照射光学系のアラインメントに関係している幾つかの問題点に対処する方法をもたらしているが、フローセルと集光光学系も固定され得る方法をもたらすものではない。これらの要素の全てを固定すれば、機器のアラインメントが著しくさらに簡単化される。

30

【0017】

照射パワー

通常の流れ細胞測光計のセットアップにおける多くの異なる特徴によって、照射強度の損失又は集光された光の強度の損失がもたらされる。これらの損失を補償するために、通常は照射パワーの増加を必要とする。この照射パワーの増加の要求は、損失を克服するために十分なパワーをもたらし、それでもなお鋭敏な標的検出を可能にする、高価で嵩張る液体冷却式レーザを必要とする。これらの損失の要因には以下のものが含まれる。

【0018】

1. 空気中のストリームを用いる光学的取調べ。空気中の液体ストリーム全体の円筒形の幾何学的形状は、反射と屈折の両方のレンズとして働く。この高い屈折率は、より小さい直径のストリームにおいてもっと顕著にされる。この屈折は、照射をあまり効果的でないものにし、光の散乱を歪ませる。この散乱歪みの影響を軽減させるために、空気中のストリームと光散乱検出器との間に遮蔽バーが配置される。幾つかのシステムにおいては、この矩形の遮蔽バーは、より大きい面積にわたる更なる光の散乱量を遮断するために回転されて、狭い角度からの更なる光が散乱光検出器に到達するのを防ぎ得る。

40

【0019】

2. 照射ビームを結合するためのダイクロイックミラーの使用。ダイクロイックミラーの各々は、光ビームを完全に反射又は透過できるものではない。ビームが反射又は透過されるのに伴い、光の幾らかが損失される。この損失の範囲は、ビームパワーの10-20%（ビームが反射される場合は5-10%、ダイクロイックミラーを通して透過されると

50

きの損失は10－15%)であり、ダイクロイックが完全に位置合わせされていない場合にはもっと多い。操作ミラーによって反射され2つのダイクロイックミラーに通されて3つのビームが結合されたレーザビームは、レーザのパワーの40%又はそれ以上を損失し得る。

【0020】

3. 蛍光の集光における損失。集光された蛍光の量は、フローセルと集光レンズの光学的特性によって制限されうる。フローチャネル及びフローセルの幾何学的形状は、そこからシステムが光を集めることができる開口数を定める。フローセルから集光レンズへの移行は、発光された蛍光がフローセルを通して空気中に移動し集光レンズに移動する際に、該光を屈折させ、信号を損失させうる。材料移行中の高い屈折率によって、集光された光が損失される。幾つかのシステムにおいては、この損失は、フローセルを集光レンズに物理的に結合させることによって軽減される。しかしながら、フローセルが固定位置にあるなら、この結合はかなり簡単化されるであろう。

10

【0021】

液滴生成

液滴の生成には、フローセルの幾つかの部分、通常はノズルか又はフローセル全体のいずれかの振動を必要とする。フローセル全体の振動によって、アラインメントの困難さと、振動に起因するさらなる光散乱に帰する。さらに、空気中のストリームにおいて光学分析が行われる場合には、液滴駆動の摂動が、ストリームの自由表面にうねりを生じさせる。これは、液体のジェットが出入りする光路の一定の変化を生じさせ、照射ビームの散乱及び合焦の測定をさらに困難なものにする。

20

【0022】

特許文献12は、振動による液滴生成方法の1つの代替案をもたらすものである。この文献は、発振器がノズル体積内に含まれるか又は他の方法で鞘流体に非方向的に結合された装置を説明するものである。ノズルのテーパは発振を増幅させ、これは圧力波としてノズル体積を通してノズル出口に伝送される。この結果、液滴が生成される。ノズルは、フローセル全体か又はノズルの振動を防ぎ、流れストリームに圧力波を形成するのに揺動を制限するために方向的に隔離されている。

【0023】

光学系の位置決めの制限

理想的には、フローセルは、集光された光の損失を防ぐために集光光学系に物質的に結合されるであろう。集光された光の最も大きい損失の1つは、その各々が異なる光の屈折率を有する異なる材料の間の移行に起因して起こる。異なる材料(例えば空気とガラス)の間の光の屈折は、大きいものとなり得るものであり、結果として生じた光の屈折は、散乱された光又は蛍光の集光及び測定を困難なものにする。これは、フローセルを集光レンズに結合することによって軽減される。しかしながら、フローセルと集光レンズが物理的材料によって結合されるためには、2つの要素が固定位置に維持されることが必要とされる。

30

【0024】

さらに、フローセルを損傷(例えば光がそれを通過する表面のスクラッチ)から保護する必要性は、フローセルを固定位置に保持する別の動機付けを与える。

40

【0025】

フローセルの位置決めの制限

ソート用流動細胞測光計は、空気中に液滴のストリームを生成し、その後、標的粒子を含んでいる液滴をソートする。液滴のストリームは、フローチャネルの一端に配置されたフローノズルから生成される。液滴ストリームの性質上大きな度合いの不確定性は、ノズルをフローチャネルに配置する方法の通常の結果として生じるものである。ほとんどの流動設計は、フローセル出口(すなわちフローチャネルの出口)の円筒形構造の縁と嵌合するノズル入口の雌円錐構造の「自己位置合わせ」傾向に依存するものである。典型的には、Oリングが、ノズルの円錐形構造とフローチャネルの円筒形構造との間にシールを形

50

成する。

【0026】

しかしながら、この手法に本来備わっているいくつかの問題がある。第1に、オーリングは、円弧の周りに円錐形表面を配置することに関連する軸方向及び角度方向の公差の積み重なりを大きくさせるコンプライアンスを有する。第2に、フローセルの軸線の周りのノズルの角度的位置は任意である。第3に、フローセルの軸線の周りのオーリングの角度的位置は任意である。最初に示した問題は、ユーザがノズルを以前の取り付け構成を再現して取り付けることを困難なものにする。第2及び第3の示された問題は、それを不可能なものにする。ノズルとオーリングの角度的位置は、任意であることから、ノズルは、それを通してフローセルが延びるフローチャネル（すなわちキューベット）に対して形式的に拘束されないのである。 10

【0027】

ブキャナン他への特許文献13及び特許文献14は、平坦な試料を仕分けするためのノズルを開示している。このノズルは、フローセルの円筒形の凹部の中に着座している。特許文献12は、流動細胞測光計と共に用いるための取り外し可能なノズルを開示している。ノズルは、フロー本体の円筒形の凹部の中に着座し、リップに対して保持されている。環状のナットが、テーパしているフローセル本体にノズルを固定している。ナット、ノズル、及びテーパしているフローセルの間に配置されたオーリングが、ノズルの軸方向の向きを保証するための手段を与えている。 20

【0028】

セル仕分け

セル仕分けは、事象検出、液滴生成、及び液滴タグ付けの正確な協調を必要とする。これらの手順が、協調をほんの僅かでも外すようになった場合には、仕分けに不適当な液滴が帯電されるか、又はシステムが所望の粒子又は細胞を集め損なうことになりうる。空気中のストリームの分析及び仕分けにおいては、このプロセスは、全て空気中で液滴ストリームが光学的に分析され、液滴が生成され、液滴が帯電されるので、簡単化される。しかしながら、既に説明したように、空気中のストリームの仕分けは、ソートされた細胞又は粒子からの信号の減少をもたらす、液体の円形ストリームは、照射光と散乱光との両方の反射又は屈折を引き起こしうる。 30

【0029】

分析がチャネル内で行われるシステムを用いる仕分けも、試練を与える。液体が分析チャネルから移動し、その後ノズルを通るときには、液体の流れが狭いノズルにおいて加速されるのに伴い、粒子の速度が変化する。流れの協調はこの流速における変化を考慮しなければならない。 40

【0030】

ノートンへの特許文献15は、液滴の遅延を求める装置及び方法を開示している。液滴遅延は、分析領域における標的の検出から液滴に仕分け条件（例えば帯電ポテンシャル）が適用されるときまでの間に経過する時間である。液滴が形成されるのに伴い、それらは液滴遅延が正しいかどうかを判断するために分析される。液滴は、分析領域で検出された標的が、仕分け条件が適用される液滴内にあるかどうかを判断するために分析される。 40

【0031】

流体がチャネルに入るのに伴い、短い距離にわたる流れは、全ての液体が単一の前線として移動する「スラグ流」としてモデル化され得る。これは、フローセルのネックダウン領域の入口における場合である。液体がチャネルの長さに沿って移動するのに伴って、液体の粘度は、放物線速度プロファイルをもたらす。キューベットチャネル管を通して流れる液体の速度は、管の長さ方向軸線に沿って最も速くなる。管の壁においては、流体は速度をもたない。壁とチャネルの中心との間の如何なる介在点においても、流体の速度は放物線状に変化する。この層流は、粒子がストリームを通して移動するのに伴い、管の中心から異なる距離における粒子間の距離の広がりをもたらす。ストリームのど真ん中にある粒子は、ストリームの縁に近い粒子より早く移動するであろう。 50

【0032】

層流は、粒子がチャネルを通して移動するのに伴い、粒子の拡散をもたらす。これは、キュベットチャネル内での仕分け粒子の光学的分析をより困難なものにする。粒子がチャネルを通して移動し、チャネル内で光学的取調べが行われる際に、粒子の速度が変化する場合には、光学的取調べの位置における粒子の速度と、ノズルを通してチャネルを出る位置における粒子の速度は、著しく異なるものとなりうる。粒子の位置の予測は、粒子の既知の速度に依存するので、粒子の速度が変化する場合には、粒子の仕分けはもっと困難なものになる。

【0033】

【特許文献1】米国特許第3,960,449号明細書

10

【特許文献2】米国特許第4,347,935号明細書

【特許文献3】米国特許第4,667,830号明細書

【特許文献4】米国特許第5,464,581号明細書

【特許文献5】米国特許第5,483,469号明細書

【特許文献6】米国特許第5,602,039号明細書

【特許文献7】米国特許第5,643,796号明細書

【特許文献8】米国特許第5,700,692号明細書

【特許文献9】米国特許第5,973,842号明細書

【特許文献10】米国特許第6,042,249号明細書

【特許文献11】米国特許第4,660,971号明細書

20

【特許文献12】米国特許第6,133,044号明細書

【特許文献13】米国特許第6,263,745号明細書

【特許文献14】米国特許第6,357,307号明細書

【特許文献15】米国特許第6,372,506号明細書

【特許文献16】米国特許出願第09/934,741号明細書

【非特許文献1】Chaudhary, KC, 及び Redekopp, LG 著, 「The nonlinear Capillary Instability of a Liquid Jet. Parts 1-3」, 第96巻, J. Fluid Mech., (1980a-c)

【発明の開示】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0034】

本発明の目的は、アラインメントをあまり頻繁に必要とせず、最も好ましくは機器の最初のセットアップ時にのみ必要とする流動細胞測光計を提供することである。

【0035】

本発明の別の目的は、このシステムが光の効果的な照射及び集光を可能にすることである。

【0036】

本発明の別の目的は、照射光の損失を減少させて、より低パワーのレーザが照射のために使用できるようにすることである。

40

【0037】

本発明の別の目的は、使用がより簡単であり、頑健なシステム性能をもたらすシステムを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0038】

本発明の目的は、フローセル又は流動細胞測光計システムの要素が、光を効果的に集光し、液滴を効果的に生成し、及びユーザがシステムを操作する必要性を最小にするように設計されている、本発明の多くの実施形態を通して達成される。

【0039】

一実施形態においては、本発明は、フローチャネルの端におけるフローセルの位置合わ

50

せ位置に嵌合される取り外し可能なノズルキーを含んでいる。詰まりが問題である。顧客が取り外し可能なノズルは、その後のアラインメントを必要とせずに、これに対処するものである。ノズルキーは、ノズルが正確に位置決めされるように、フローセルの位置合わせされた位置に挿入され得る。ノズルキーは、取り外され、洗浄され、その正確な位置に再び嵌合され得る。

【0040】

ノズルの取り外しは、フローセルを、システムプラットフォームにおける固定位置に取り付けられるようにする。フローセルの位置が固定された場合には、フローセルに対して位置決めされるべき他の光学系も固定され得る。これは、照射光学系、蛍光集光光学系、及び散乱光検出光学系も固定位置に配置されるようにする。

10

【0041】

固定された照射光学系は、照射ビームをシステムの中に伝達する固定された光学系と、ビームを整形して方向付ける固定された光学系とを含み得る。照射光をシステムの中に運ぶ光学系は、固定位置の取付け台においてシステムに接続される光ファイバーを用いることができる。ビームを整形して方向付ける光学系は、屈折光学系とすることができ、ビームを向け直して整形するために従来のシステムに用いられていたミラーよりアラインメントが敏感でない。

【0042】

集光光学系も固定され得る。フローセルが固定され、集光光学系が固定される場合には、フローセルは、ゲル結合などによって集光レンズに物質的に結合される。これは、屈折による損失を低下させる。

20

【0043】

本発明システムの要素の設計は、効率のよい集光を助ける。一実施形態においては、フローチャネルを含んでいるキューベットは、フローチャネルの開口部を含んでいる平面の下にキューベットの3つの側において延びている側壁を有している。フローチャネルから発光された光は、側壁の中を通過し、その後集光光学系に入り得る。これは、従来のシステムにおいて見られるより大きな開口数からの集光を可能にする。この設計はまた、フローチャネルの底部のすぐそばで光学分析を行えるようにする。これは、液滴遅延の判断（この後の仕分けのために、生成された液滴を帯電させるのに必要とされる）を簡単にする。さらに、異なる速度の粒子の間に、あまり変動性がない。これらの説明した特徴の多くは、本発明の独立した実施形態である。

30

【0044】

本発明の別の実施形態においては、ソート用流動細胞測光計用のフローセルが設けられ、取り外し可能なノズルが位置合わせされた位置に挿入されて、フローセルの他の部分に対して固定位置に保持される。この固定位置は、ノズルが三次元的に移動するか又は回転移動するのを防ぐ。

【0045】

フローセルは、試料配送管、少なくとも1つの鞘流ポート、及び光学分析用のチャネルを含んでいる。このチャネルは、フローセル本体の一部とされてもよいが、フローセル本体に結合されたキューベットであることが好ましい。キューベットがフローセル本体に結合されるときには、鞘流及び試料ストリームはキューベットに流入する。

40

【0046】

ソート用流動細胞測光計用のフローセルは、液滴生成器も含んでいる。液滴生成器は、ノズル、キューベットのようなフローセルの要素、又はフローセル本体のいずれかを振動させるか、或いは振動圧力波をフローセル本体内に導入しうる。

【0047】

取り外し可能なノズルは、基体が硬い面に対して位置合わせされる位置合わせ位置に嵌合されるカード又は挿入可能なキーのような基体の上に保持され、基板が動かされて正確な位置に再配置されるようにする。

【0048】

50

別の実施形態においては、仕分けフローセルは、フローセルを通して流れている鞘流の流体に圧力波を伝達する振動液滴生成器を含んでいる。この実施形態においては、液滴は、フローセル、キュベット又はノズルを振動させる装置なしで生成されてもよい。位置合わせされたノズルを含んでいる多くの示された特徴は、この実施形態に含まれ得る。

【0049】

別の実施形態においては、ソート用流動細胞測光計のフローセルは、矩形の断面寸法のフローチャンネルを含んでいる。チャンネルの短い方の側は、照射光学系によって向けられた照射光の光路に面しうる。チャンネルの長い方の側は、集光光学系に面しうる。この構成は、発光された光を集光するための高い開口数を有している。チャンネルは、キュベットを通して延在し得る。キュベットは、発光された光を集光するのにより広い角度を可能にする、ノズル領域の下に延びる側壁を備えてもよい。この構成はまた、側壁なしのシステムに比べて、強化された集光開口数を可能にする。同様に、位置合わせされたノズルを含んでいる多くの示された特徴は、この実施形態に含まれ得る。

【0050】

別の実施形態においては、フローセル部品は、ソート用流動細胞測光計用のフローセルと集光レンズを含んでいる。フローセルは、光透過性材料によって集光レンズに結合される。この手法においては、光がフローセルから集光レンズへ移動するのに伴う空気中への移行は存在しない。これは、光がフローセルから空気に入り、次いで集光レンズに入るのに伴う屈折率の変化に起因した損失を減らす。従来の非仕分け流動システムにおいても、キュベットは、集光レンズに結合され得る。しかしながら、仕分けシステムにおいては、ノズルを清浄にし、フローセルを振動させる必要性が、集光レンズとフローセルの結合を推奨できなくしていた。本発明においては、これらの制限が克服され、フローセルを集光レンズに結合させる利点が達成されている。

【0051】

別の実施形態においては、ソート用流動細胞測光計用のフローセルは、チャンネルの長さ方向中心から偏心された硬い位置合わせされた位置に保持されるノズルを含んでおり、これは、ノズルが取り外され、正確な位置に位置合わせされることから可能となる。これは、液滴を生成し、付随液滴を親液滴に融合させるのに好ましい状態をもたらす。

【0052】

これらの実施形態の各々は、独立してもたらされ得る構成部品を表わしている。或いは、構成部品の各々（フローセル又は光学部品を備えたフローセル）は、流動細胞測光計システムの一部とされてもよい。こうしたシステムは、集光光学系と、照射光方向付け光学系とを含みうる。本システムはまた、照射光源をシステムに連結可能にしうる入力光学系を含むことができる。或いは、本システムは、システムの既に固定された部分として照射光学系に設けられてもよい。さらに、各々の実施形態の特徴は、必要であれば他の実施形態の特徴に組み込まれてもよい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0053】

本発明においては、フローセルに対して多くの光学要素が固定され得る構成から、重要な利点が導き出される。この利点は、ユーザが取り外したり取り替えてもよい自己位置合わせするノズルによってもたらされる方向的安定性の程度から生じる。ノズルは、該ノズルが定位置に位置合わせされる位置で、流動キュベット内に挿入可能である。この位置合わせは、ノズルを挿入及び位置決め可能にし、ノズルが平行移動及び回転の両方に関して制限されるようにする。ノズルのみが移動可能であるので、フローセルは固定されてもよく、角度的に又は方向的に再位置決めされ得るステージの上に配置される必要性はない。その結果として、フローセルを取り外す又は取り替える必要性はなく、ユーザは、フローセル組立体を調整するか又は再位置合わせして液滴ストリームを仕分けに要求される方向に位置合わせする必要があるであろう。

【0054】

フローセル及びフローチャンネルは動かされる必要が全くないので、フローセルに対して

合焦されるか又は位置決めされるべきその他の光学要素も同様に固定され得る。この固定は、1つの固定板におけるフローセルの位置と、1つ又はそれ以上の付加的な固定板における他の光学要素の位置であってもよく、この各々の板は、他の板に対して定められた位置関係にある。或いは、フローセルは、集光光学系へのフローセルの物理的結合などによって、他の光学要素に物質的に連結されてもよい。集光光学系へのフローセルの物質的結合は、材料移行部の間の屈折率を減少させ、より効率のよい集光を可能にする。

【0055】

本発明の構成は、公差の積み重なりを最小にする。ノズルと、それを受け入れるフローセル本体との2つの嵌合要素の製作公差のみが、積み重なりに寄与し得る。これらは、他方に対して動かされうるただ2つの要素である。ノズルとキューベットとの間に介在して配置される要素は、少なくとも、公差の積み重なりを倍増させ、ストリームの安定性に悪影響を及ぼしうる。

【0056】

図1、図2、及び図11を参照すると、要素の固定位置での取り付けを可能にするシステムが、斜視図で示されている。レーザ（図示せず）は、照射光をもたらし、該光は、光ファイバーを通して向けられ、取付け台によってシステムに伝えられる。第1、第2、及び第3の光ファイバー取付け台11、12、及び13は、それぞれ、1つのレーザからの照射光を運ぶ光ファイバーの各々を受け入れる。光ファイバー取付け台は、ブレース22によってプラットフォーム20に固定されたプレート19に取り付けられている。ブレース22は、プレート19が固定位置に維持されることを保証するものである。取付け台11、12及び13に連結された光ファイバーからの光は、照射屈折光学系に通して向けられる。

【0057】

照射ビームを結合させて特定の特性をもった照射光にするために、一連のプリズムが用いられる。照射時点においては、照射ビームは、照射エネルギーが流れストリームのコアの中心位置に集中される楕円形であることが好ましい。光がプリズム23、24、25及び26に通して向けられる際に、照射ビームがプリズムによって別様に反射されて、該照射ビームはフローセル内の照射位置に向け直され、及び位置合わせされる。プリズム23、24、25及び26は、ブレース27によってプラットフォーム20に固定されたプレート21に取り付けられている。レーザ連結部とプリズムとの両方の取付け台は、システムのセットアップ時に一度調節されてもよく、各要素が固定位置に位置決めされる。これは、各要素の取付け台を調整することか、又はそれに要素が取り付けられて多数の要素が共に動かされるプレートを再位置決めすることのいずれかによって実行され得る。プリズムは、角度のミスアラインメントに対してあまり敏感ではなく、より熱的に安定である。これらの特徴の両方は、この要素の位置を設定可能にする一助となる。

【0058】

照射ビームは、照射ビーム結合光学系を通過し、照射レンズ取付け台31に保持された照射レンズ30を通る。照射レンズ取付け台31は、レンズ位置決めステージ33の面61に固定されたアーム60に配置されている。マイクロメータ35は、アーム60まで延びて、レンズ取付け台31のz軸線に沿う移動を可能にする。プレート61は、マイクロメータ34によって動かされて、照射レンズ取付け台のy軸線に沿う移動を可能にする。マイクロメータ36は、レンズ位置決めブロック33を通して取り付けられて、レンズ取付け台31のx軸線に沿う移動を可能にする。位置決めマイクロメータ34、35、36の組み合わせは、レンズ取付け台31をx、y、及びz方向に再位置決め可能にする。レンズ取付け台31は、プラットフォーム20に取り付けられたブロック33に取り付けられている。プレート19及び21とブロック33の各々は、プラットフォーム20における別の位置にある。これらの要素の各々は、最初に設置時にアラインメントのために別々に調整されてもよい。

【0059】

合焦された照射ビームは、レンズ取付け台31に保持された照射レンズを通過されて、

フローセル 4 1 内のフローチャネルの光学分析領域に通される。粒子がフローチャネルを通過し、照射光ビームを横切るのに伴い、光が散乱され、蛍光が励起されうる。散乱された光は、前方の光散乱検出器 4 3 によって検出されうる。発光された蛍光と、大きい角度で散乱された光は、発光集光光学系によって集光される。フローセル 4 1 と前方の光散乱検出器 4 3 は、プレート 3 9 に取り付けられている。プレート 3 9 は、ブレース 2 9 によってプラットフォーム 2 0 に保持されている。プラットフォーム 2 0 は、足 4 6 に支持されている。隔離取付け台 4 5 が、プラットフォーム 2 0 の取り付けを可能にしている。

【0060】

図 1 のシステムにおいては、光を運ぶ光学系、ビームを所望の照射方向に向け直す光学系、散乱された及び発光された蛍光の集光用の光学系の全ては、固定位置に保持されている。さらに、フローセルも固定位置に保持されている。これらの要素の各々は、プレートに取り付けられ、機器が設置されたときに最初に位置合わせされることを必要とする。これらの要素の定例の再アラインメントは、必要とされないであろう。照射レンズは、定例的に再位置合わせされ得る。しかしながら、単一の要素のアラインメントは、アラインメントの回数及び困難さを大いに簡素化する。

【0061】

このシステムの多くの要素は、独立した有用性をもっていることを理解されたい。例えば、単純に、固定配置のフローセルと集光光学系をもっているものは、フローセルを集光レンズに結合してもっと効率良く照射光を集光できるようにする。ビーム向け直し光学系の取付け台の位置の固定も、ユーザの時間を節約し、ミラーを用いずに（及びミラーの光特性に付随する損失なしに）照射ビームを結合して単一照射ビームにする方法をもたらす。

【0062】

ここで用いられる「固定配置」という用語は、ユーザが調整する手段をもたない要素のことをいう。この固定配置における要素は、最初に（通常は機器のセットアップ時に）位置合わせされることとなり、さらなるアラインメントを必要としない。

【0063】

「照射入力光学系」とは、光をシステムに導入可能にする光学要素（例えば光ファイバー取付け台）のことをいう。

【0064】

「照射ビーム方向付け光学系」は、照射ビームを向け直し、及び再整形する光学要素（例えば直列のプリズム）である。照射ビーム方向付け光学系は、合焦レンズを含んでもよいし含まなくてもよい。

【0065】

「集光光学系」とは、フローチャネルから発光された又は散乱された光を集光するように配置された光学要素のことをいう。流動システムにおいては、こうした光学系は通常、蛍光および広角散乱集光レンズと前方散乱検出器とを含んでいる。

【0066】

固定位置の照射入力光学系、照射ビーム方向付け光学系、フローセル、及び集光光学系を備える能力は、2つの因子に依存している。1つは、定例的にアラインメントを行う必要のない要素に光を向ける能力である。2つ目は、フローセルの位置を固定する能力であり、フローチャネル、照射光学系、及び集光光学系の間の距離を一定のままにすることが可能である。これは、照射光学系及び集光光学系も固定位置に配置可能にする。これはさらに、集光された光の損失を最小にするような方法でフローセルが集光光学系に結合されるのを可能にする。

【0067】

図 3 及び図 4 を参照すると、フローセル 4 1 は、それぞれ正断面図と側断面図で示されている。鞘流の管は、これらの図には示されていない。通常は、試料配送管は、図 3 に示されるように、試料がネックダウン領域（フローチャネルの始点に隣接する領域）のすぐ前に導入されるように配置される。2つの鞘流配送管は、一様な脈動のない流れの鞘流を

もたらず。

【0068】

図3においては、フローセル41は、フローセル本体230、キュベット210、ノズルキー214、及びフローセルのベースプレート220からなるものとして示されている。フローセル本体230、キュベット210及びフローセルのベースプレート220は、互いに結合されて単一のユニットを形成し、該ユニットは、孔209を貫通して延びるボルトによって流動細胞測光計機器における固定配置に（例えばフローセルを固定位置のプレートにボルト締めすることによって）固定されてもよい。ノズルキー214は、固定されずに、ノズルがフローチャネルの端に位置されるような位置に挿入され得る。ノズルキーは、その後に取り外され、洗浄され（例えば超音波がかけられ）、再び挿入され得る。さらに、試料入力管を収容している取付け具233も、周期的に取り外され、及び再び取り付けられうる。これは、フローセルの残りの部分を流動細胞測光計内の固定位置に配置可能にする。

10

【0069】

フローセルの上側部分は、鞘流の管と試料配送管202との両方を受け入れるフローセル本体230である。鞘流の液体は、ポート206、208を介して流体入力本体に結合された管の中に配送される。流れは、液体がフローチャネル212を通過する際に、鞘流体が試料ストリームのコアを取り囲むように配送される。鞘流体は、フローセル本体230内の収束チャネルを通過してコアストリームを運び、キュベット210内のフローチャネル212に入る。

20

【0070】

フローセル本体230は、頂部の開放端を備えており、それを通して試料管と発振器が導入される。頂部の開放端から挿入されているのは、試料管入口取付け具233と変換器プランジャ232である。プランジャ232は、フローセル本体230におけるボス202に保持されている。取付け具233によって保持された管（図示せず）は、試料液体を取付け具233内の通路を通して導入する。この通路は、液体が通路を通過して流れ、試料配送管202に入り、フローセル本体内の通路に入るように試料配送管202に結合されている。試料配送管202は、キュベット210を貫通して延びているフローチャネル212に対して近い開放端において終端している。この位置において、試料配送管202を通過して流れる試料が、鞘流の流体によって取り囲まれて、ストリームがフローチャネル212を通過して移動する際に、該試料を流れストリームにおけるコアに形成する。

30

【0071】

流れストリームは、キュベット210内のフローチャネル212を通過して流れ、ノズル216において出る。フローチャネルの長さH1は、全ての作動条件下で光学分析領域H2において十分に展開された流れを保証すべく十分に長い。図示されたシステムにおいて、十分に展開された流れのためには8-15mmの長さで十分である。側壁213が、ノズルキー214の三方の周りに延びており、ノズルキー214を定位置に整合可能にしている。出口位置において、試料ストリームの流速は、試料がより狭いノズル開口部を出るのに伴い増加する。

40

【0072】

ノズル216は、キュベット210の端における整合位置に配置されたノズルキー214に取り付けられている。ノズルキー214の底部側は、フローセルのベースプレート220におけるフローセルベースプラットフォーム222の上に静止する。H1は、フローセル本体230とノズルキー214との間のキュベットの高さを示している。これは、照射ビームがフローチャネル212を通して向けられる位置である。ノズルと位置合わせ特徴との間の精密公差が、ノズルがユーザによって取り外され、及び取り替えられた後にストリームの向きが変化しないことを保証する。

【0073】

図5は、ノズルキー214とキュベット210の詳細を示している。ノズルキー214は、ノズルキー214の上面に装着されたノズルキーカード213を備えている。ノズル

50

216は、ノズルキー214におけるノズルキーカード213に配置され、それによりノズルキー214がキューベット210に挿入されたときに、ノズル216がフローチャネル212の断面における選択された位置に配置される。ノズルキーが位置合わせされた位置に挿入されると、ノズルキー214は、フローセルベースプラットフォーム222とキューベットの上面との間に保持される。ノズル216を通る流れによって生成されたストリームは、通路218内に流れる。

【0074】

ノズルの詳細は図7に示されている。キューベット210は、フローチャネル212を有して示されている。フローチャネル212の末端にノズル216が位置されている。ノズル216は、先端が切り取られた漏斗状の形状であり、より安定な流れストリームをもたらす。ノズルキーカード273においては、環状溝261がOリング260を保持している。Oリング260は、ノズルキー214がその位置合わせされた位置に挿入されたときに、ノズルキーカード273をキューベット210に対してシールする。

【0075】

図3を参照すると、ノズル216から流れる空気中のストリームは、次いで通路218を通過して流れる。試料がここで集められるか又はストリームが液滴に分けられて、その後の液滴の帯電及び仕分けが可能にされる。液滴を生成させるために、液滴駆動ピストン240が用いられてもよい。液滴駆動ピストン240のパワーと作動のための信号は、変換器の電気端子235を通して送られ得る。電気信号は、変換器プランジャ232に保持された液滴駆動圧電素子234に送られる。液滴駆動圧電素子234は、液滴駆動ピストン240を振動させて、発振圧力波を非圧縮性の鞘流流体に通して送る。

【0076】

以前のシステムは、液滴を生成させるために、ノズルキューベット又はフローセルの（圧電結晶からのような）振動を用いていた。生成された液滴は、振動の波長によって分離される。これは、仕分けのために流れを個々の液滴に区分できるようにする。しかしながら、振動がフローチャネルからの相対的距離と照射焦点又は集光焦点を変化させる場合には、ノズルか又はフローセル全体のどちらかの振動は、照射と集光の一貫性に対して負の影響をもちうる。この効果は、空気中のストリームの光学的取調べにおいては、もっと顕著になる。本発明においては、液滴の生成は、鞘流源付近の変位型の発振器から始まる。圧力波は、主として非圧縮性流体の流れを通して伝達されて、所望の液滴を効果的に生成させることが見出されている。

【0077】

図4を参照すると、この側断面は、定位置に固定されたときのノズルキー214の詳細を示している。該側面図においては、キー214は、ノズルキーグリップ270を備えていることが示されている。ノズルキー214は、表面254と表面256によって定められた通路218を備えている。ノズルキープランジャ281は、ノズルをキューベットの側壁に対して付勢し、ノズルを位置合わせされた位置に保持している。図6に示されたノズル断面の詳細は、キューベット210とフローセルベースプラットフォーム222との間へのノズルの挿入を示しており、セルベースプラットフォーム222によって、キューベット210を貫通して延びているチャネル212の末端に対してノズル216が整合されるような位置に、ノズルキー214が保持されている。ノズルキープランジャ281は、ノズルキー214を定位置に保持するために付勢圧をもたらす。ノズルキー214の肩部311は、ノズルキーが十分に挿入されると、キューベット210の表面に対して密着される。これは、ノズルを整合された位置に位置決めする。ノズルは、極端に挿入されるのが阻止され、後壁254に対する損傷を防止している。

【0078】

ノズルキーの詳細は、図9及び図10に示されている。図9においては、ノズルキー214は、ノズル216がノズルキーカード273に配置された状態で示されている。カードの底部に取り付けられたラベル271は、使用される特定のノズルカードを識別可能にする。ノズルキープランジャ281は、キューベット210の側壁に対してノズルキー21

4の付勢力をもたらし。ノズルキーグリップ270は、ユーザがノズルキー214を掴んでキュベット210から取り外せるようにする。この場合、ノズルが詰まってきたときには、ノズルは、簡単に取り外され、洗浄され（例えば超音波がかけられ）取り替えられ得る。

【0079】

図10においては、ノズルキーは分解図で示されている。ノズルキープランジャ281は、ノズルキー214を通して挿入される。ノズルキーばねプラグ283によってノズルキー214内に保持されたばね282が、プランジャ281に対して付勢力をもたらし。プラグ283は、プラグリテーナ284に保持される。

【0080】

ノズルキーカードは、ノズル214の頂部に装着される。ノズルキー214がキュベットの中に挿入されると、Oリング260が溝の中に嵌合されて、キュベットに対するキーカード273のシール力がもたらされる。

【0081】

ストリームの光学分析のためにキュベットを使用することは、要求される励起パワーをより低くし、集光光学系の効率をより高くすることを可能とする。空気中のストリームの分析に対立するものとして、キュベットは、照射光学系からの入射レーザ光線用の平坦な界面を備えた静止標的を与えるものである。したがって、反射及び屈折による光の損失が少ない。光の損失が少ないので、レーザパワーの要求量が少ない。これらの特徴はまた、集光をもっと効率のよいものにする。ストリームから集光光学系への光の屈折に起因する光の損失が少ない。さらに、ストリームから集光光学系への材料移行は、液体から空気への移行を防ぎ、それに付随する高い屈折率が排除される。

【0082】

図1及び図2に関して言及したように、整合された位置に挿入され得るノズルの使用は、フローセル、照射光学系、及び集光光学系の位置の固定を可能にする。この構成に対する1つの利点は、フローセルの磨耗及び断裂の排除である。フローセルが取り外されたときには、光がフローセルに通される表面が、掻き傷がついたり傷つけられたりして、光の集光又は照射チャネルとの間の透過が変化されよう。これは、フローセルを定位置に固定することによって軽減され、フローセルを移動するか又は操作することを必要としない。

【0083】

上述のように、光が透過する材料の各々は、特徴的な屈折率をもちうる。光は、第1の屈折率をもつ媒体から第2の屈折率をもつ媒体を通過するときに屈折される。空気中のストリームで光学的に分析する従来のシステムにおいて遭遇する主な問題は、液体ストリームと空気との間の屈折率が高いことである。これは、空気中のストリーム全体の円筒形性質に起因する照射光の損失とあいまって、キュベットシステムにおいて要求されるものより高い励起パワーを必要とする。

【0084】

キュベットシステムにおいては、発光された蛍光がキュベットから移動されて空気の中に入り、その後集光レンズの中に入る際に、キュベットから空気材料移行への移行のときにも屈折による損失が生じる。フローチャネルを通過して移動している液体内で励起された蛍光は、集光レンズによってフローチャネルの1つの側に集光される。フローセルが定位置に固定されている場合には、集光光学系は、キュベットに物理的に結合され得る。これは、キュベットから集光レンズへの材料移行における屈折を減らす。

【0085】

図12及び14を参照すると、キュベット210は、ハウジング50内の発光集光レンズに結合されている。ノズルキー214は、ノズルがフローチャネルの端に位置されるような位置に挿入されている。これは図13に示されている。この断面図においては、フローチャネル212は、キュベット210を貫通して延びていることが示されている。キュベット210は、ゲル290によって最初の光学要素52に連結されている。光は、ハウジングチャンバ51内のレンズによって集光される。こうした集光レンズの1つは、「F

10

20

30

40

50

low Cytometry Lens Systems」と題する特許文献16に開示されている。

【0086】

ノズルキー214は、キュベット210に対して挿入され、及び整合されている。1つの方向においては、この位置合わせは、ノズルプランジャ281によりキーを付勢し、ノズルカードを横方向の定位置に保持することによってもたらされている。

【0087】

キュベット210の側壁213は、キュベットの出口平面（すなわちフローチャネルの端の出口を包含している平面）の下に延びている。これは、発光された蛍光及び前方の散乱光の集光のために、より大きな開口数を可能にする。下側の側壁213は、レーザビームの下側の入射点を可能にすることに加えて、光学的取調べ領域をノズルに対して可能な最も近い位置にすることができる。一実施形態においては、光学的取調べは、ノズル開口部から700nmである。この構成は、遅延時間と、ストリームの最も低いレーザ照射（標的検出）と液滴帯電との間の最小時間遅延誤差の最小化を保証する。

10

【0088】

キュベットチャネル内で試料の光学分析が行われる従来の流動細胞測光計においては、キュベットは、ブロック形状とされ、側壁は、キュベットの底面において終端したであろう。この構成においては、発光された蛍光の効率のよい集光のために、照射が、キュベットの底部からかなりの距離をもって起こらねばならない。照射がキュベットの底部に対して近すぎる場合には、潜在的に集光可能な蛍光の多くは、キュベットの底部から損失され、光を集光レンズから離れて屈折させる。この問題を回避するために、集光は、キュベットの底部からかなりの距離、かくて、フローチャネルの端からかなりの距離で行われる。これは、非仕分けの用途においては許容可能とされるが、仕分けの用途においては、液滴遅延及び適正な帯電及び関心ある液滴の偏向において、標的検出とノズルとの分離距離は重要である。これはまた、仕分け性能を低下させる時間遅延誤差を防ぐのに重要である。

20

【0089】

下側の側壁に加えて、チャネルの幾何学的形状も、より効率のよい照射及び集光を可能にする。本発明の照射においては、矩形断面のチャネルが用いられている。チャネルの短い方の側面は照射光に面しており、チャネルの長い方の側面は集光レンズに面している。これは、チャネルの長い方の側面領域からの集光を可能にする。これは、集光のためにより高い開口数を与える。図8において、これは角度 α で表わされている。より高い開口数からの集光は、発光された光の効率のよい集光と、より高い感度とを可能にする。この高い感度は、より低いパワーのレーザを使用可能にする。さらに、この広く見える窓は、断面積を比較的小さく保てるようにする。これはシステムに要求される鞘流の容積測定での消費量を減少させる。

30

【0090】

図1及び図2に示されたシステムは、ハウジング（図示せず）内に包含されよう。このハウジングは、システムを取り囲む領域から光がシステムに入るのを防ぐ。

【0091】

液滴を仕分けすることは、関心ある標的の検出の正確な協調、すなわち、液滴生成中の液滴の中への標的の包み込み、液滴の帯電及び関心ある標的を含有している帯電液滴を2つの帯電偏向板の間に送ることによる液滴の仕分けを要求する。フローセルへの流体の流れは、波動のない状態に保たれ、それにより流体の摂動が最小にされる。これは、空気中の方向性ストリームの全体的な状態を安定させる。

40

【0092】

予測可能な方法で流れストリームを液滴に分解することが望ましい。ソート用の流動細胞測光計においては、液滴駆動は、空気中のストリームがノズルから流出した後に、図15aに示されるように、ジェットの直径と同じ程度の大きさの特徴的な直径を有する大きな液滴の列に分解するという先行順効果を生じさせる。流動細胞測光法の流体の動力学的特性の非線形性により、小さい液滴306aは典型的に、大きい「親」液滴304aの間

50

に形成される。小さい液滴は、「付随液滴」と呼ばれる。付随体が形成されないか、又は付随液滴が迅速に形成されて親液滴の中に融合されるストリーム状態をもつことが有利である。付随液滴はかなり小さく、従って親液滴より小さい質量を有する。

【0093】

粒子の仕分けの際、仕分けは液滴を選択的に帯電させることによって達成される。液滴は、帯電液滴の経路を偏向させる電界を通過し、帯電液滴は、液滴ストリームの他の部分から偏向される。偏向された液滴は、後で使用する又は分析するために別個の収集容器の中に偏向される。液滴の帯電と帯電板の電界ポテンシャルとの両方の要求される大きさは、親液滴の必要とされる偏向をもたらすように選択される。帯電偏向板によって偏向された小さい付随液滴は、非常に軽いものとなりうるので、粒子は流れストリームの外に及び帯電板に向けられる。結果としてもたらされる帯電板の湿潤は、システム性能に対して悪影響を及ぼし、偏向板を乾燥させ及び洗浄するためにシステムの使用の中断を要求する。さらに、付随液滴の偏向は、特に付随液滴が空気中に浮遊した状態で残るエアロゾル液滴を形成する場合には、バイオハザードの恐れをもたらさうる。

【0094】

従来のシステムにおいては、好適な付随体の状態は試行錯誤を通じて達成された。ユーザは、好適な付随液滴状態が達成される（すなわち付随体が親液滴と迅速に融合される）まで、液滴駆動振幅、液滴駆動周波数、及び鞘圧力のその場しのぎの調整をすることができた。これは、おおむね当て推量であり、知識のあるユーザとかなりの時間を要求する。液滴生成を監視する光学的システムは、付随液滴が親液滴と融合していることを判断するために必要とされる。

【0095】

理論上、その自然発生的な液滴周波数付近で励起された完全に対称なジェットは、その付随液滴が決して親液滴と融合しない液滴鎖に分解する。液滴駆動エネルギーの一部は、液滴生成基本周波数と同相で二次付随液滴生成調波になる。付随体生成を制御する1つの方法は、液滴駆動振動又は脈動に段階的な高調波成分を付加して、付随体の発達を変える又は取り消すことであることを幾つかの実験が示している。（非特許文献1参照。）

フローチャネルに対する正確な位置にノズルを配置することにより、反復可能で好適な付随液滴の融合状態の作成を可能にする。本発明の一実施形態は、より最適な付随液滴の融合を保証するノズル位置を使用するものである。図8を参照すると、キュベット210の断面の詳細は、円がノズル開口部294を表わしている状態のフローチャネル212を示している。ノズル開口部294の中心292は、フローチャネル212の断面中心から偏心されて位置されている。フローチャネル内のノズルのセンタリングの横方向小調整が、付随液滴の親液滴との融合のためのより好適な状態をもたらす。

【0096】

本発明の一実施形態においては、ノズルは、フローチャネルの中心に対して目的を持ってミスアラインメントされている。このミスアラインメントは、ノズルをキュベットチャネルの長い寸法（例えばノズルカードの側部）内に配置するノズル位置合わせ特徴から0.001インチ（0.254mm）+を機械加工することによって達成され得る。本発明のシステムは、挿入可能なノズルカードの正確な配置を可能にする。ノズルを正確に及び繰り返し配置する能力は、ノズルがフローチャネルの中心から外れるようなノズルカードの設計を可能にする。

【0097】

ノズル配置は、ノズルの向きがキュベットチャネルの出口に対して三次元において常に固定されるように、キュベット（又はフローセル）に対して直接に位置合わせするノズルの硬い特徴によって十分に拘束される。この方法におけるノズルの位置合わせは、公差の積み重なりを最小にする。この手法の制限因子は、ノズルとキュベットの製作に関連する製作公差である。最新技術の製造手順は、ノズル配置をチャネルの平面内に+/-0.0012インチ（+/-30.48μm）まで可能にする。所与のこれらの製作公差、ノズル対ノズルのストリーム性能は、一貫したものとなることを証明している。所与のノズル

は、同じ手法で所与のキュベットに対して常に整合し、一貫したストリーム方向と液滴生成パターンを保証する。

【0098】

上述のように、液滴生成の理論モデルは、自然発生的な液滴周波数の範囲内の基本周波数によって励起された軸対称流れストリームが分解して液滴鎖になり、該液滴鎖においては、付随液滴は親液滴に全く融合しないことを示している。これは、完全な軸対称性からの偏差が、より最適な付随液滴の融合状態を可能にし得ることを含意している。

【0099】

本発明の図示においては、ノズルは、長い寸法において横方向に調節されている。これは通常は、流れストリーム内の粒子の経路に最小の振動をもたらすので好適である。これは、チャンネル内での検出と、液滴がノズルを通過した後の液滴の帯電及び仕分けとの間の遅延を計時する難しさを最小にする。より短い寸法において変位をもつこと、又は長い寸法と短い寸法との両方におけるセンタリングを変位させること（すなわち、ストリームの横方向中心からの対角線上の変位）も可能である。

【0100】

図15aを参照すると、ストリームの画像は、ノズル開口部の中心がフローチャンネルの中心と密接に整列されているシステム内の液滴生成を示している。頂部において、ストリームは、個々の液滴に分解し始めている。高さAは、流れストリームから分解されて最初の液滴が生成されてから、付随液滴が親液滴の中に結合した領域までの距離を記している。この位置の前では液滴偏向は起こらないことが好ましいであろう。親液滴304a及び付随液滴306aは、高さAの頂部における液滴生成位置の近くで識別されている。融合している親液滴305aと付随液滴は、高さAの底部の付近で識別されている。親液滴と付随液滴とが融合する前に、8つ又はそれ以上の液滴波長が必要とされる。

【0101】

図15bを参照すると、ノズルの位置合わせがずらされているときの液滴生成パターンの画像が示されている。これは、図8に示されているミスアラインメントであり、矩形のフローチャンネルが用いられている。この実施形態におけるフローチャンネルの寸法は、 $250\mu\text{m} \times 160\mu\text{m}$ である。ノズルは、キュベットの長軸方向におけるキュベットの中心線から $25.4\mu\text{m}$ 故意にシフトされている。図15bにおいては、高さBは、液滴生成位置から液滴がどんな付随液滴をも示さない位置までの高さである。液滴分解点の直後に示されている付随液滴306bと、親液滴304bが示されている。付随液滴305bと融合している親液滴は、そのすぐ下である。3つの液滴波長において、親液滴は付随液滴と融合している。

【0102】

本発明への多くの修正が可能であることが、当業者にはすぐに分かるであろう。現在図示されているノズル開口部は、先端が切り取られたテーパされた円錐である。カードはノズルキーに装着され、カードがフローセル内に挿入されたときに、ノズルが正確に整合された位置になるようにされている。ノズルは、多くの形状及び幾何学的構成をとり得る。例えば、丸い開口部に対し、幾つかの用途においては、細長いノズル開口部が好ましいものとされ得る。ノズルは、流れストリーム方向から下流に延びている、延長されて先端が切り取られた円錐とされてもよい。この場合には、フローチャンネルの幅からノズルまでの移行は、あまり突然なものにはされず、ノズル開口部への連続的な段階的テーパとすることができる。さらに、ノズル開口部が形成される基体には、多くの異なる設計が用いられてもよい。

【0103】

本発明の多くの要素は、独立して、又は多くの異なる組合せにおいて用いることができる。ノズルキーを備えた固定されたフローセルは、照射光学系及び光検出系が位置合わせされ得る本システムに適合させてもよい。或いは、固定されたフローセルは、固定配置の集光光学系（例えば蛍光集光器及び散乱光集光器）か、又は固定配置の照射光学系のいずれかと共に用いられてもよい。こうしたシステム内の他の光学要素は、依然として定例的

な調整を必要とする。こうしたシステムは、取り外されたり調整されたりする必要のない固定位置のフローセルを備える利点を保ちうる。幾つかの実施形態においては、キュベットは、集光光学系に物理的に連結されなくてもよい。こうした実施形態は、全ての付随する光学系（照射光学系、集光光学系、及び散乱検出光学系）を固定位置に備えるか、又は調節取付け台に装着されたこれらの要素の幾つか又は全てを備えることができる。

【0104】

液滴駆動は、主として非圧縮性の流体に揺動パルスを伝達可能にするフローセル内の発振器によって発生されてもよい。或いは、液滴駆動は、ノズル又はキュベットを振動させること、もしくはフローセル組立体全体を振動させることといったもっと一般的な手段によって発生されてもよい。さらに、液滴駆動は、空気中のストリームの音響振動によって発生されてもよい。 10

【0105】

図示された実施形態においては、フローセル本体は、矩形のキュベットに結合され、ノズルはキュベットの末端において挿入される。種々の実施形態における「キュベット」という用語は、それを通してチャンネルが延びているフローセルの区分である。これは、フローセル本体に結合された別個の部品とされてもよい。或いは、キュベットは、単一の部品として製造され得るフローセル本体の一部とされてもよい。

【0106】

好ましい実施形態においては、ノズルは、固定位置に挿入され表面に対して整合されてノズルを三次元位置に保持し、それによりノズルが角度的に回転できないようにする基体の上にある。これは、キュベットと流れが固定位置になるようにする。チャンネルは固定位置にあるので、照射光学系と集光光学系も固定位置にあり得る。さらに、キュベットは、集光レンズに物理的に結合されてもよい。フローセルは、ノズルがキュベットの固定部分となり、キュベットとノズルが共に取り外され及び挿入されるように作られ得ることも予見される。精密なガイドを用いて、キュベットを照射光学系とのアラインメントに必要とされる要求された位置に正確に配置することができる。キュベットは、ノズル又はフローチャンネルのつまりを除去し、正確な位置に再び配置するために、取り外され、超音波がかけられるか又は他の手法で処理されてもよい。液滴生成器はフローセル本体内にあるので、キュベットとノズルは、取り外され、振動生成器に再び接続される必要なく再び挿入され得る。 20 30

【0107】

本発明は、光ファイバーを用いてシステムの中に多数のレーザが向けられるシステムにおいて表わされた。ビームは、屈折光学系を用いて向け直され、整形される。単一レーザ又は如何なる数のレーザが使用されてもよいことが想定されている。レーザは、プラットフォームに位置され、固定位置に保持することができる（例えばダイオードレーザを用いる）。アーク灯のような非レーザ光源を用いることも可能である。屈折光学系の代わりに、照射ビームを向け且つ整形するために、通常用いられる操作ミラー及びダイクロイックミラーを用いることができる。さらに、逆光を遮断し、望ましくない波長の透過を減らすために、空間フィルタ、ロングパス又はショートパス・フィルタ、絞り又は他の光学系を用いてもよい。通常の光学系を用いているシステムは、本明細書において引用した文献に開示されており、これらは引用により集合的に組み入れられている。 40

【0108】

本発明の図示におけるフローチャンネルは、矩形である。他の実施形態においては、丸いフローチャンネル又は他の幾何学的形状が想定される。図示された実施形態においては、ノズルは、取り外し可能なキーに存在する。しかしながら、ノズルはまた、フローチャンネルの端部に正確に位置合わせされ、及び（超音波溶接、接着剤取付などによって）取り付けられ得る。こうしたシステムは、つまりを除くために、ノズルをバックフラッシュする幾つかの手段を必要とする。

【0109】

図示されたシステムは、ソート用流動細胞測光計におけるフローセルの使用を開示して 50

いる。本発明は、ソート用細胞測光計に用いられたときに多数の利点をもたらすが、開示された技術は、非ソート分析細胞測光計に用いることもできると考えられる。

【0110】

フローセルの内部は、細胞、細胞の断片又は他の複合物の付着を防ぐためにコーティングされ得る。こうした処理は、流れる流体によって影響されないように選択される。フローセルは、取り外されないが、選択的にフラッシュされてもよい。鞘流システムは、システムのフラッシュを可能にするように設計されてもよい。流体が、第1鞘流ポートを通して導入され、第2ポートを通して除去される場合には、流れ状態は、流れをフローセルの内部を通る渦流に向けて、全ての要素を洗浄する。

【0111】

ノズルはフローチャネルより小さいので、ノズル内に詰まりが生じ易いが、これは除去され及び洗浄され得る。チャネルが詰まった場合には、ノズルを取り外してチャネルが背圧で清掃され得る。

【0112】

本発明は、ユーザが全ての定例的な光学的アラインメント手順をも実行する必要のないシステムの開発を可能にする。ユーザは、ストリームの向き又は光学系のさらなるアラインメントなしに、ノズルを取り外し及び取り替えることができる。分析は、キュベット内で行われ、付随する感度は、キュベット内の分析によって可能にされる。仕分けは、通常の方法での仕分けを可能にする空気中のストリームにおいて起こる。分析領域内のコアストリームの比較的低い速度は、標的の分析に有利である。ストリームは、その後、ノズルによって加速されて、高速仕分けを可能にする。これらの利点は、時間の節約とシステムを使用するのに要するスキルとの両方に起因するかなりの費用節約を与える。このシステムはまた、分析の深さ及び感度と仕分け性能を大いに改善する。

【図面の簡単な説明】

【0113】

【図1】 本発明の特徴を組み入れている流動細胞測光計システムの斜視図である。

【図2】 請求項1のシステムの側面図である。

【図3】 フローセル、ノズル、及びノズル支持プラットフォームの正断面図である。

【図4】 図3の装置の側断面図である。

【図5】 図3に示されたノズルとフローセルの詳細である。

【図6】 図4に示されたノズルの詳細である。

【図7】 図5からのノズルの詳細である。

【図8】 フローチャネル内のノズルの位置決めを図示している断面詳細図である。

【図9】 ノズルカードの上面図である。

【図10】 ノズルカードの分解図である。

【図11】 図2の集光光学系の正面詳細図である。

【図12】 ノズルカード、フローセル、及び蛍光集光レンズの上面図である。

【図13】 図12に示された装置の側断面図である。

【図14】 図12に示された装置の斜視図である。

【図15A】 液滴生成の図である。

【図15B】 本発明の技術を用いる液滴生成の図である。

【符号の説明】

【0114】

11、12、13	光ファイバー取付け台
19、21	プレート
20	プラットフォーム
23、24、25、26	プリズム
30	照射レンズ
31	レンズ取付け台
34、35、36	マイクロメータ

10

20

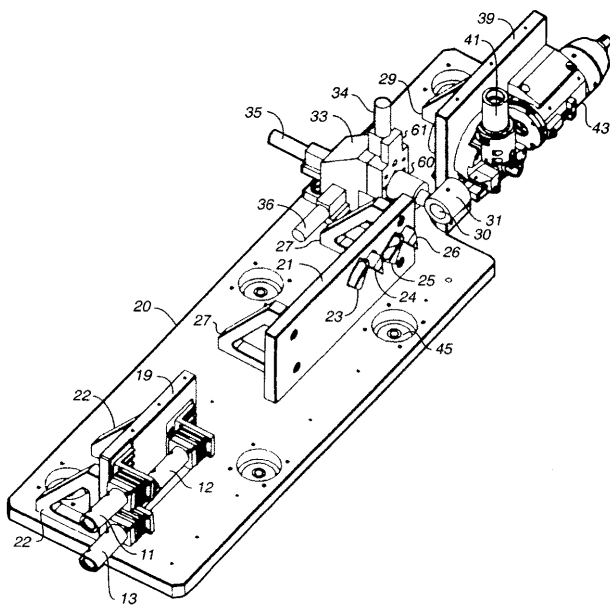
30

40

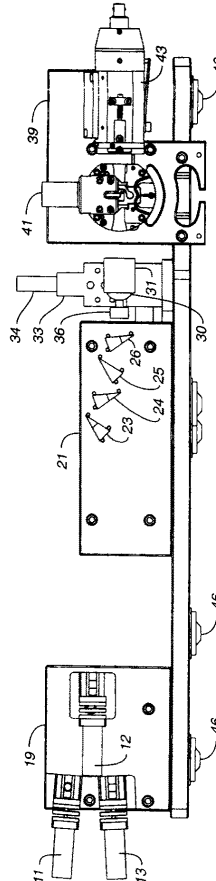
50

4 1	フローセル
2 1 0	キュベット
2 1 2	チャンネル
2 1 3	側壁
2 1 4	ノズルキー
2 1 6	ノズル
2 3 0	フローセル本体
2 3 4	圧電素子
2 4 0	ピストン
2 6 0	Ｏーリング
2 7 3	キーカード
2 9 0	ゲル

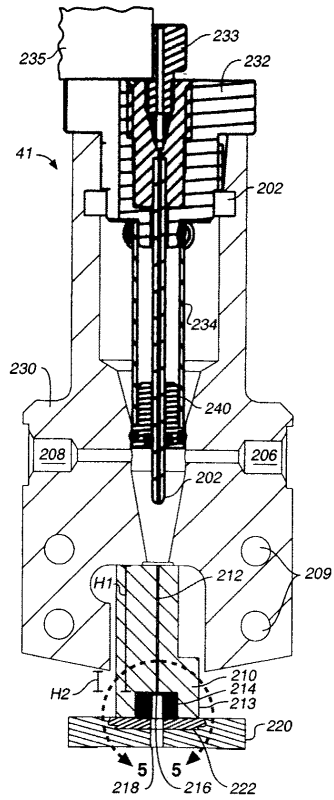
【図 1】



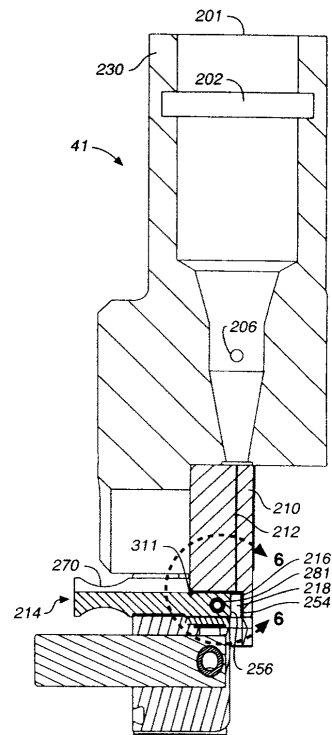
【図 2】



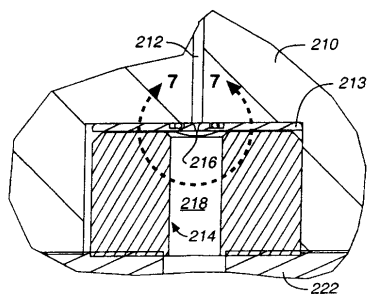
【図 3】



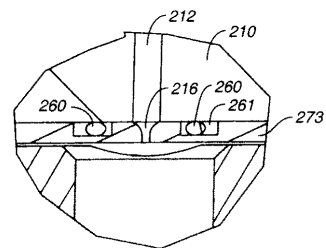
【図 4】



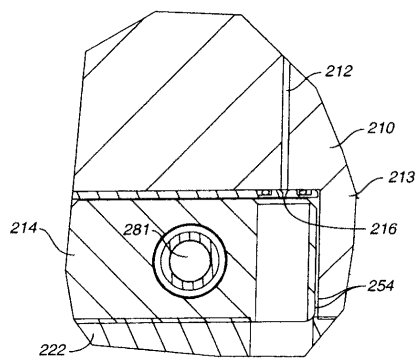
【図 5】



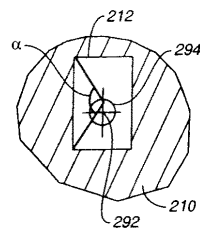
【図 7】



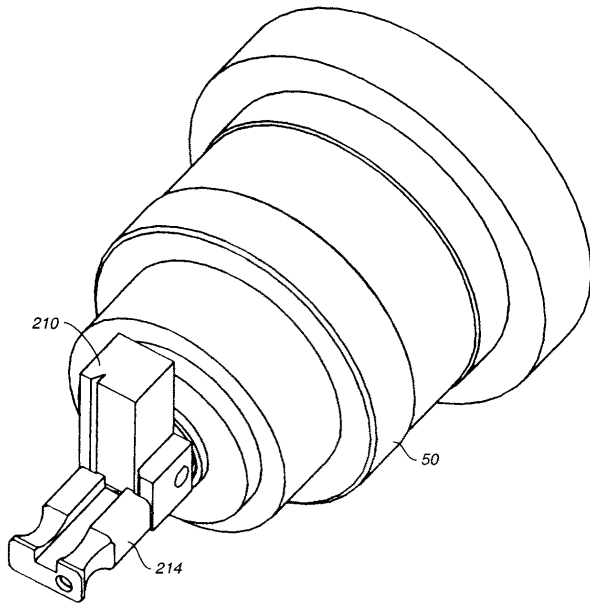
【図 6】



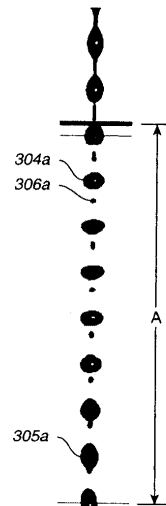
【図 8】



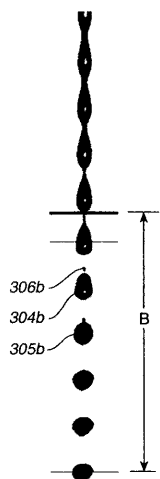
【図 1 4】



【図 1 5 A】



【図 1 5 B】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷ F I テーマコード (参考)
G O 1 N 33/483 C

(74)代理人 100088915

弁理士 阿部 和夫

(72)発明者 ピアース ノートン

アメリカ合衆国 9 5 0 3 7 カリフォルニア州 モーガン ヒル オーク リーフ ドライブ
1 7 1 0 0

(72)発明者 デビッド アール. ブラン

アメリカ合衆国 9 5 1 1 2 カリフォルニア州 サンノゼ ノース ファースト ストリート
4 6 0 ナンバー 3

(72)発明者 シェルビン ジャバディ

アメリカ合衆国 9 5 1 3 4 カリフォルニア州 サンノゼ バーディグリス サークル 4 2 4
9

F ターム (参考) 2G043 BA16 BA17 CA04 DA02 DA05 EA01 EA14 GA07 GB01 GB09

HA01 HA02 HA05 JA02 JA05 KA09 LA01 NA06

2G045 CB01 FA11 JA01 JA07

2G054 AA06 AA08 CA21 FB01 GA09

2G057 AA02 AA04 AB04 AC01 AD12 BA05 DB01 DB03