

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6126536号
(P6126536)

(45) 発行日 平成29年5月10日 (2017.5.10)

(24) 登録日 平成29年4月14日 (2017.4.14)

(51) Int. Cl.	F I	
GO 2 B 21/34 (2006.01)	GO 2 B 21/34	
GO 2 B 21/14 (2006.01)	GO 2 B 21/14	
GO 1 N 1/28 (2006.01)	GO 1 N 1/28	F
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 1/28	J
	GO 1 N 1/28	U

請求項の数 7 (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-553210 (P2013-553210)	(73) 特許権者	000113470
(86) (22) 出願日	平成24年12月4日 (2012.12.4)		ポーラ化成工業株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2012/081328		静岡県袋井市愛野1234番地
(87) 国際公開番号	W02013/105363	(74) 代理人	100100549
(87) 国際公開日	平成25年7月18日 (2013.7.18)		弁理士 川口 嘉之
審査請求日	平成27年11月30日 (2015.11.30)	(74) 代理人	100126505
(31) 優先権主張番号	特願2012-5335 (P2012-5335)		弁理士 佐貫 伸一
(32) 優先日	平成24年1月13日 (2012.1.13)	(74) 代理人	100131392
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		弁理士 丹羽 武司
		(74) 代理人	100151596
			弁理士 下田 俊明
		(72) 発明者	平山 賢哉
			日本国神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地
			ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞の封入方法及び細胞の観察方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

位相差顕微鏡での観察に用いるための角層細胞の封入方法であって、
透明粘着テープの粘着層と透明粘着テープの粘着層との間に角層細胞を配置し、該2つの粘着テープの粘着層で角層細胞を挟持貼着することを特徴とする、角層細胞の封入方法。

【請求項2】

前記透明粘着テープは、光の直線透過率が80%以上である、請求項1に記載の角層細胞の封入方法。

【請求項3】

前記透明粘着テープの光屈折率と前記角層細胞の光屈折率との差が0.03以上である、請求項1または2に記載の角層細胞の封入方法。

【請求項4】

前記2つの透明粘着テープの間に気泡を有しないことを特徴とする、請求項1~3のいずれか1項に記載の角層細胞の封入方法。

【請求項5】

位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法であって、
角層細胞が粘着層に貼着した透明粘着テープを準備する工程、
前記角層細胞が貼着した透明粘着テープの粘着層と、別の透明粘着テープの粘着層とを貼着し、角層細胞が封入された透明貼着テープ積層体を準備する工程、および

前記工程で準備した積層体を位相差顕微鏡で観察する工程、を含む、位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法。

【請求項 6】

フィルム層と粘着層からなる透明粘着テープを、互いの粘着層が対向するように貼着した透明粘着テープ積層体であって、粘着層と粘着層との間に角層細胞が封入された透明粘着テープ積層体。

【請求項 7】

位相差顕微鏡の観察に用いられる、請求項 6 に記載の透明粘着テープ積層体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、位相差顕微鏡での観察に用いるための細胞の封入方法、および位相差顕微鏡を用いた、新たな細胞の観察方法に関する。

【背景技術】

【0002】

肌の状態に適した化粧料を選択する際に、その適用される肌の特性を知ることは非常に重要なことである。このような肌の特性を知るための方法として、角層細胞を用いる方法が検討されている。角層細胞は採取が容易であり、肌情報を多く有していることから、採取した角層細胞を観察し、得られた情報を化粧料の選択に利用しようとする試みが提案されている（例えば、特許文献 1 参照）。

20

【0003】

特許文献 1 では、皮膚より採取した角層細胞を色素で染色し、光学顕微鏡によって角層細胞を観察することで、この結果を皮膚バリア機能が良好か否かを鑑別し、化粧料の選択に適用することが記載されている。

【0004】

光学顕微鏡を用いる場合、細胞のような無色透明な試料を観察するために、染色液を用いる必要があり、特許文献 1 においてもズダンブラック B が用いられている。しかしながら、生きたまま試料を観察したい場合には、染色することで試料を殺してしまう場合があり、このような場合には位相差顕微鏡を用いることで、無色透明に近い試料を染色することなく観察が可能となる（非特許文献 1 参照）。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献 1】特開 2007 - 151899 号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献 1】“位相差顕微鏡”、科学のつまみ食い [平成 23 年 8 月 26 日検索]、インターネット < URL : <http://www.rikagaku.info/microscope9908/microscope07.htm> >

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

肌状態のカウンセリングやアドバイスを行って化粧品を選択が行われるのは、主にデパートのブースや店舗または化粧品ユーザーの客先であることから、簡便に角層細胞の観察ができることが好ましい。上記位相差顕微鏡を用いると、無色透明な試料を観察することが可能となり、染色液を使用する必要がなくなることから、簡便な角層細胞の観察には好ましい方法である。

【0008】

一方、位相差顕微鏡を用いて角層などの各種細胞を観察する場合、細胞を封入することなくそのまま観察すると、観察像上の物体の周辺に「ハロー」と呼ばれる光輪が現れる。

50

そのため、位相差顕微鏡を用いて細胞を観察する場合には、液体の封入剤及びカバーガラスにより細胞を封入する必要がある。このような封入作業は、実際に肌の角層細胞を観察し、その結果に基づいて化粧料を選択するデパートのブースや店舗または化粧品ユーザーの客先では手間がかかり、また、カバーガラスが薄く割れやすいなど作業の難易度も高い。本発明はこのような状況下で行われたものであり、デパートのブースや店舗または化粧品ユーザーの客先において販売員でも簡単に取扱うことができる細胞の封入方法、および位相差顕微鏡を用いた細胞の観察方法を提供するものである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、上記課題を解決すべく簡単な封入法を求め鋭意研究を行ったところ、粘着層を有する粘着テープを用い、該粘着テープにより両側から細胞を挟持貼着するという簡便な方法を採用することで問題を解決できることを見出し、本発明を完成させた。

【0010】

即ち本発明は以下のとおりである。

(1) 位相差顕微鏡での観察に用いるための角層細胞の封入方法であって、

透明粘着テープの粘着層と透明粘着テープの粘着層との間に角層細胞を配置し、該2つの粘着テープの粘着層で角層細胞を挟持貼着することを特徴とする、角層細胞の封入方法

(2) 前記透明粘着テープは、光の直線透過率が80%以上である、(1)に記載の角層細胞の封入方法。

(3) 前記透明粘着テープの光屈折率と前記角層細胞の光屈折率との差が0.03以上である、(1)または(2)に記載の角層細胞の封入方法。

(4) 前記2つの透明粘着テープの間に気泡を有しない、(1)~(3)のいずれかに記載の角層細胞の封入方法。

(5) 位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法であって、

角層細胞が粘着層に貼着した透明粘着テープを準備する工程、

前記角層細胞が貼着した透明粘着テープの粘着層と、別の透明粘着テープの粘着層とを貼着し、角層細胞が封入された透明粘着テープ積層体を準備する工程、および

前記工程で準備した積層体を位相差顕微鏡で観察する工程、を含む、位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法。

(6) フィilm層と粘着層からなる透明粘着テープを、互いの粘着層が対向するように貼着した透明粘着テープ積層体であって、粘着層と粘着層との間に角層細胞が封入された透明粘着テープ積層体。

(7) 位相差顕微鏡の観察に用いられる、(6)に記載の透明粘着テープ積層体。

【発明の効果】

【0011】

本発明の細胞の封入方法により、細胞が封入された粘着テープ積層体を簡便に作成することが可能となり、専門的なスキルを有しなくても、デパートのブースや店舗または化粧品ユーザーの客先で販売員が簡単に角層細胞などを観察することができる。また、本発明の細胞を封入した粘着テープ積層体は、位相差顕微鏡を用いて観察した際にハローが発生せず、角層細胞を観察する場合には十分に角層細胞内のメラニン、核、配列規則性などの観察ができるため、簡便かつ即時に角層細胞からの情報を得ることが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】本発明の細胞が封入された透明粘着テープ積層体の断面模式図である。

【図2】本発明の細胞の製造に用いる部材の例を示す。

【図3】本発明の位相差顕微鏡を用いた細胞の観察方法の工程の一例を示す概念図である。

【図4】本発明の実施例1において、位相差顕微鏡で角層細胞を観察した結果の写真である(図面代用写真)。

10

20

30

40

50

【図5】本発明の参考例において、位相差顕微鏡で角層細胞を観察した結果の写真である（図面代用写真）。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明の第一の態様は、位相差顕微鏡での観察に用いるための細胞の封入方法である。本発明の封入方法は、位相差顕微鏡で細胞を観察することを可能とするため、透明粘着テープの粘着層と透明粘着テープの粘着層との間に細胞を配置し、該2つの粘着テープの粘着層で挟持貼着するものである。本発明で観察する細胞は特に限定されるものではないが、特に角層細胞、角化細胞（ケラチノサイト）、線維芽細胞などの皮膚の状態を評価するために使用する細胞が好ましく例示される。以下、角層細胞を例に挙げて説明をする。

10

【0014】

角層細胞は、角層を構成する厚さ1 μm程度の扁平な細胞であり、肌情報を多く有していることから、角層細胞を評価することで化粧料の選択の際に考慮すべき肌の特性を知ることが可能となる。角層細胞内には主要な成分であるケラチンが繊維を形成して充満し、きわめて強固な細胞構造を構築しており、外界のさまざまな刺激から皮膚内部を守っている。しかしながら角層最外層においては、角層細胞同士の接着力が減弱するため容易に採取が可能となる。本発明では、既に入から取得した角層細胞を使用するため、人から角層細胞を採取する工程は本発明の範囲には含まれない。

【0015】

本発明は位相差顕微鏡での観察に用いるための細胞の封入方法である。位相差顕微鏡は、光線の位相差をコントラストに変換して観察できる光学顕微鏡であり、標本を無染色・非侵襲的に観察することができるものである。

20

【0016】

本発明は、細胞を封入するために透明粘着テープを用いることを特徴とするものである。本発明で透明とは、光を透過することが可能であり、先のものが見えるものを意味し、位相差顕微鏡にて対象が観察されるかぎりその程度や着色については何ら限定されるものではない。光の直線透過率が80%以上であるものが好ましく、90%以上であるものがより好ましい。また、透明粘着テープは光学特性の濁度HAZEが1.5%未満であるものが好ましく、1.0%未満であるものがより好ましい。また、無色であることが好ましい。なお、濁度HAZE（曇度）とは、物体の曇りの度合いを示す値（%）で、数値が小さいほど透明粘着テープに曇りが無く透明性が高いことを示す。（濁度HAZE（%））= $Td / Tt \times 100$ （Td：拡散透過率 Tt：全光線透過率）また、「光の直線透過率（平行透過率）」及び「濁度HAZE（曇度）」は、日本工業規格JISK7136（国際標準化機構規格ISO14782）、JISK7361（国際標準化機構規格ISO13468）に基づいて測定される値を表し、例えば日本電色工業株式会社製HASE METER NDH500を用いて測定することができる。但し、「光の直線透過率」及び「濁度HAZE」は、透明粘着テープの断面方向について測定した値を表すものとする。

30

【0017】

本発明に用いる粘着テープは、透明なフィルム層および粘着層からなる、一般的な粘着テープを用いることができ、市販されているものを用いることができる。具体的にはScotch（登録商標）透明美色（3M社製）、Scotch（登録商標）313（3M社製）、Scotch（登録商標）3450（3M社製）、Scotch（登録商標）PRO（3M社製）、ダイアハロー（登録商標）（三菱樹脂社製）、セロテープ（登録商標）（ニチバン社製）、ダンプロン（登録商標）（日東電工社製）、セキスイオリエン・セキスイカットロン・セキスイタフライト・セキスイエバーセル・セキスイシュープリム（登録商標）（積水化学社製）、などが挙げられる。

40

これらのうち、位相差顕微鏡の特性を考慮すると、細胞の屈折率と異なる屈折率を有する粘着テープを用いることが好ましく、より好ましくは、粘着テープの屈折率と細胞の屈折率との差が0.03以上である粘着テープを用いることが好ましい。屈折率の上限は特段限定されないが、通常0.60以下である。なお、角層細胞の屈折率は、1.55であ

50

る。

【0018】

粘着テープのフィルム層の材質は、上記透明である要件を満たせば特段限定されず、また、粘着層の材質についても特段限定はされない。フィルム層の材質は、一般的にはポリエチレン、ポリプロピレン、セロハン（化学名：セルロース）、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリオレフィン、などが用いられ、粘着層の材質は、一般的にはアクリル系コポリマー、オレフィン系コポリマー、ウレタン系コポリマー、エポキシ系コポリマー、合成ゴム、天然ゴムなどが用いられる。また、粘着テープの厚さについても特段限定されず、位相差顕微鏡で観察可能であればよい。

【0019】

本発明の封入方法では、2つの粘着テープの粘着層の間に細胞を配置し、そして2つの粘着テープの粘着層で細胞を挟持貼着することを特徴とする。このように、粘着テープの間に細胞を挟持し貼着することで、液体の封入剤及びカバーガラスを用いなくとも、ハローが発生することなく、位相差顕微鏡による細胞の観察が可能となる。

【0020】

本発明の封入方法では、2つの粘着テープの粘着層の間に、気泡を有しないことが好ましい。粘着層の間に気泡が入る場合には、その気泡の位置によっては、気泡（空気）による屈折率の変化によりハローが生じる場合がある。

【0021】

本発明の封入方法により細胞が封入された透明粘着テープ積層体は、本発明の第二の態様である。すなわち、本発明の第二の態様は、フィルム層と粘着層からなる透明粘着テープを、互いの粘着層が対向するように貼着した透明粘着テープ積層体であって、粘着層と粘着層との間に細胞が封入された透明粘着テープ積層体である。

【0022】

また、本発明の第三の態様は、位相差顕微鏡を用いた細胞の観察方法であって、細胞が粘着層に貼着した透明粘着テープを準備する工程、前記細胞が貼着した透明粘着テープの粘着層と、別の透明粘着テープの粘着層とを貼着し、細胞が封入された透明粘着テープ積層体を準備する工程、および、前記工程で準備した積層体を位相差顕微鏡で観察する工程、を含む、位相差顕微鏡を用いた細胞の観察方法。

以下、図を用いてこれら本発明の第一の態様乃至は第三の態様を説明する。

【0023】

図1は、本発明の第二の態様を示す、細胞を封入した透明粘着テープ積層体の断面模式図である。なお、封入した細胞は角層細胞である。

本発明の透明粘着テープ積層体1は、粘着テープ2と粘着テープ3の互いの粘着層6が対向するように貼着されている。そして、粘着層6と粘着層6との間に、角層細胞4が封入されたものである。本発明の透明粘着テープ積層体1の製造方法、および本発明の透明粘着テープ積層体1による、位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法を、図3を用いて説明する。

【0024】

図3は、位相差顕微鏡を用いた角層細胞の観察方法の工程の一例を示す概念図である。まず、本発明では、角層細胞が粘着層に貼着した透明粘着テープを準備する。角層細胞が貼着した透明粘着テープはどのような方法によって準備してもよいが、図2に示すテープストリップキット7を用いると簡便である。図2のテープストリップキットはプラスチック材質の板からなり、中央部に採取孔を有する。採取孔は図面奥側から粘着テープが貼られており、採取孔部分は粘着テープ2の粘着層が露出している。そのため、テープストリップキット7の採取孔を人の皮膚に押し当てることで、簡単に角層細胞が採取可能である。

【0025】

図3の(a)に示すように、人のホホなどにテープストリップキット7を押し当てることにより、角層細胞が粘着層に貼着した透明粘着テープを準備する。なお、テープストリ

10

20

30

40

50

ップキット7を人のホホに押し当てる工程は、本発明には含まれない。

【0026】

次に、角層細胞が貼着した透明粘着テープの粘着層と、別の透明粘着テープの粘着層とを貼着し、角層細胞が封入された透明貼着テープ積層体を準備する。角層細胞4を粘着層に貼着した透明粘着テープは、図3の(b)に示すように、その粘着層と別の粘着テープ3の粘着層を対向させ、粘着層同士を貼着することで、存在する角層細胞4を封入する。この際、気泡が入らないように封入することが好ましい。このようにして、本発明の第二の態様である、透明粘着テープ積層体1を製造することができる。

【0027】

次に、図3の(c)に示すように、準備した積層体を位相差顕微鏡で観察する。本発明の透明粘着テープ積層体1を位相差顕微鏡9で観察すると、封入液やカバーガラスを使用しなくても、簡便な方法で角層細胞が観察可能となる。

【実施例】

【0028】

以下、実施例と比較例を挙げて、本発明を更に詳細に説明するが、以下の実施例に示す具体的な形態にのみ限定的に解釈されることはない。

【0029】

<実施例1>

図2に示すテープストリッピングキット(プラスチックの板状部材)を用いて、被験者の頬部より角層細胞を採取した。図2に示すテープストリッピングキットに用いた粘着テープは、ダイアハローテープ(三菱樹脂社製)であり、屈折率が1.48~1.50であり、光の直線透過率は92.374%、濁度HAZEは0.55%であった。なお、光の直線透過率(平行透過率)及び濁度HAZEは、日本電色工業株式会社製HASE METER NDH500を使用し、ダイアハローテープの断面方向を5回測定して得られた平均値である。

採取した角層細胞は、同じ粘着テープを用いて、粘着層と粘着層を対向させて貼着して角層細胞を封入し、粘着テープ積層体1を作製した。この際、目視により確認したところ、空気の気泡の混入はなかった。

【0030】

粘着テープ積層体1を位相差顕微鏡に設置し、角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。角層細胞の観察写真を図4に示す。

【0031】

<実施例2>

粘着テープを3M社製のScotch透明美色に変更した以外は実施例1と同様にして、位相差顕微鏡で角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。なお、3M社製Scotch透明美色の光の直線透過率は91.882%、濁度HAZEは0.82%であった。

【0032】

<実施例3>

粘着テープをニチバン社製のセロテープに変更した以外は実施例1と同様にして、位相差顕微鏡で角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。なお、ニチバン社製のセロテープの光の直線透過率は89.608%、濁度HAZEは2.31%であった。

【0033】

<実施例4>

粘着テープを3M社製のScotch313に変更した以外は実施例1と同様にして、位相差顕微鏡で角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。なお、3M社製Scotch313の光の直線透過率は92.30%、濁度HAZEは0.88%であった。

【0034】

<実施例5>

10

20

30

40

50

粘着テープを3M社製のScotch 3450に変更した以外は実施例1と同様にして、位相差顕微鏡で角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。なお、3M社製Scotch 3450の光の直線透過率は91.76%、濁度HAZEは1.29%であった。

【0035】

<実施例6>

粘着テープを積水化学社製の透明包装用テープP83Tに変更した以外は実施例1と同様にして、位相差顕微鏡で角層細胞を観察したところ、ハローの発生もなく、はっきりと角層細胞が観察できた。なお、積水化学社製透明包装用テープP83Tの光の直線透過率は92.45%、濁度HAZEは0.48%であった。

10

【0036】

<参考例>

位相差顕微鏡観察で通常行われている方法である方法で角層細胞の観察を行った。図2に示すテープストリッピングキットを用いて角層細胞を採取した後、液体の封入剤を採取孔に一滴落とし、カバーガラスを用いて封入した。角層細胞の観察写真を図5に示す。

本発明の粘着テープを用いた簡易的な方法でも、従来位相差顕微鏡観察で行われていた方法と同様に、はっきりと角層細胞が観察できた。

【産業上利用可能性】

【0037】

本発明の封入方法、観察方法、粘着テープ積層体は、デパートのブースや店舗または化粧品ユーザーの客先において化粧料を選択する際に、販売員でも容易に角層細胞を観察することが可能となり、この観察結果に基づいて適切な化粧料を選択し、販売することができる。

20

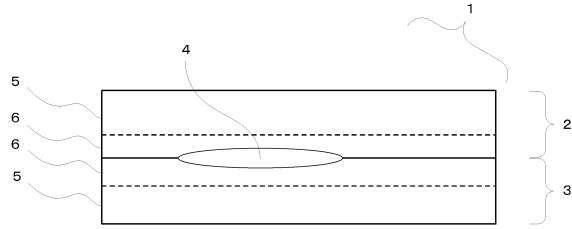
【符号の説明】

【0038】

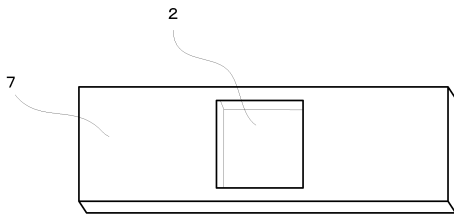
- 1 透明粘着テープ積層体
- 2、3 粘着テープ
- 4 角層細胞
- 5 フィルム層
- 6 粘着層
- 7 テープストリッピングキット
- 8 顔
- 9 位相差顕微鏡

30

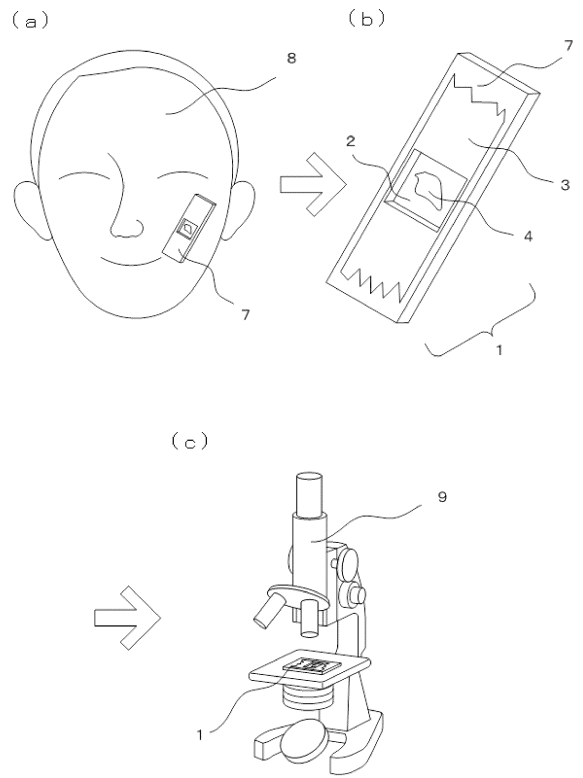
【図1】



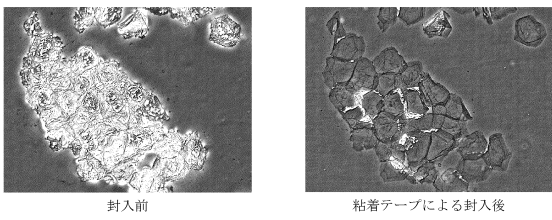
【図2】



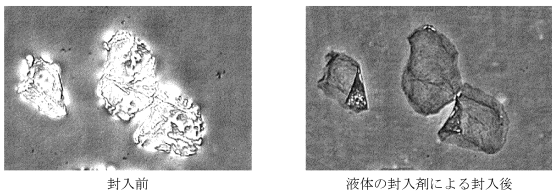
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/50 Q

(72)発明者 藪崎 次郎
日本国神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地 ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内

(72)発明者 山崎 和広
日本国神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地 ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内

審査官 森内 正明

(56)参考文献 特開昭59-43358(JP,A)
特開2009-115813(JP,A)
特開2005-249410(JP,A)
実開平5-27670(JP,U)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N	1 / 0 0	-	1 / 3 4
G 0 1 N	3 3 / 4 8	-	3 3 / 9 8
G 0 2 B	2 1 / 0 0	-	2 1 / 3 6