

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5437148号  
(P5437148)

(45) 発行日 平成26年3月12日(2014.3.12)

(24) 登録日 平成25年12月20日(2013.12.20)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 15/14 (2006.01)

GO 1 N 15/14

A

GO 1 N 15/14

C

請求項の数 13 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2010-99608 (P2010-99608)  
 (22) 出願日 平成22年4月23日(2010.4.23)  
 (65) 公開番号 特開2011-232033 (P2011-232033A)  
 (43) 公開日 平成23年11月17日(2011.11.17)  
 審査請求日 平成24年10月15日(2012.10.15)

(73) 特許権者 502437702  
 ベイバイオサイエンス株式会社  
 兵庫県神戸市中央区港島南町5丁目2番5号  
 (74) 代理人 100101454  
 弁理士 山田 卓二  
 (74) 代理人 100081422  
 弁理士 田中 光雄  
 (72) 発明者 神田 昌彦  
 兵庫県神戸市中央区港島南町5丁目2番5号  
 号 ベイバイオサイエンス株式会社内

審査官 渡邊 吉喜

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 フローサイトメータおよびセルソータ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

液体フローに含まれる細胞粒子を分析するシステムであって、  
 サンプル液導管を受容するフローチャンバ、およびフローチャンネルを含むフローセル  
 を構成する流体フロー形成ブロックと、  
 流体フロー形成ブロックから噴出されるジェットフローおよび複数の液滴の所定領域に  
 おける画像を撮像する撮像部を有するストロブブロックとを備え、  
 流体フロー形成ブロックおよびストロブブロックは、着脱自在に固定され、  
 ストロブブロックは、受容口とノズルとの間に延びるノズルチャンネルを含むノズル  
 プレート<sup>10</sup>を有し、

フローチャンネルは、受容口に対向する吐出口と、フロー方向に垂直な所定の断面が該  
 吐出口に向かって拡大するチャンネル拡大部とを有し、

フローチャンネルの吐出口およびノズルプレートの受容口の前記所定断面における開口  
 距離(L)が実質的に同じであり、

ノズルチャンネルは、フロー方向に垂直な所定の断面が受容口からノズルに向かって縮  
 小するチャンネル縮小部を有することを特徴とするシステム。

【請求項2】

ノズルプレートが流体フロー形成ブロックに着脱可能に固定されるとき、流体フロー形  
 成ブロックの吐出口がノズルプレートの受容口に対して所定の公差(d)内で位置合わせ  
 され、

開口距離（ $L$ ）は、前記公差（ $d$ ）の10倍以上であることを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項3】

開口距離（ $L$ ）は約0.3mm以上であることを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項4】

サンプル液導管は、フローチャンネル中心軸に沿って配置され、その内部に延びる着脱可能に固定されるサンプルチューブを有することを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項5】

流体フロー形成ブロックを着脱自在に保持し、ストローブブロックに着脱自在に固定されるブロックホルダを有し、

ブロックホルダはフローチャンネルの吐出口とストローブブロックの受容口との間に延びる連通路を有し、該連通路は所定断面における開口距離（ $L$ ）が吐出口および受容口と実質的に同じであることを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項6】

フローチャンネルに流れる液体フローに含まれる細胞粒子に励起光を照射する光源を有し、

流体フロー形成ブロックは、フローチャンネルに対向するように配置された半球面状または半非球面状の第1の集光レンズを有し、第1の集光レンズは細胞粒子からの蛍光を平行光に変換することを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項7】

流体フロー形成ブロックは、第1の集光レンズにより平行光に変換された蛍光を光ファイバに集光する第2の集光レンズを有し、

第2の集光レンズは、第1の集光レンズより大きい直径を有することを特徴とする請求項6に記載のシステム。

【請求項8】

流体フロー形成ブロックに着脱自在に固定され、流体フロー形成ブロックに所定の周波数の振動を与える振動器を有することを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項9】

振動器は、ドーナツ形状を有することを特徴とする請求項8に記載のシステム。

【請求項10】

直流電圧が印加される一対の偏向板を含むソートチャンバをさらに備え、

ソートチャンバは、流体フロー形成ブロックおよびストローブブロックに対して着脱自在に固定されることを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項11】

一対の偏向板は、ソートチャンバに対して着脱自在に固定されることを特徴とする請求項10に記載のシステム。

【請求項12】

ソートチャンバは、偏向板をソートチャンバから取り外した後にストローブブロックに対して取り外されることを特徴とする請求項10に記載のシステム。

【請求項13】

ストローブブロックは、ソートチャンバに取り付けられたときに、これらの間の隙間を埋めるために配置された袴状カバーを有することを特徴とする請求項10に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願発明は、フローサイトメータおよびセルソータに関し、とりわけ異なる細胞粒子を含む流体フローを順次分析または分別する際、先の流体フローに含まれる細胞粒子が残留

10

20

30

40

50

して、後の流体フローに含まれることを防止できるフローサイトメータおよびセルソータに関する。

【背景技術】

【0002】

バイオテクノロジーの革新的な発展に伴い、医学や生物学を含むさまざまな分野で多数の細胞などを自動的に分析するフローサイトメータおよびセルソータの需要がますます増大している。

フローサイトメータは、概略、生体（血液など）から採取された数多くの細胞粒子を蛍光標識試薬などで染色し、これらの細胞粒子を含むサンプル液をシース液で取り囲むシースフローを形成し、フローセル内で一列に配列した個々の細胞粒子にレーザ光を照射して、細胞粒子から生じる散乱光（前方散乱光および側方散乱光）と蛍光標識試薬に依存するさまざまな多色蛍光を測定することにより、細胞を分析するものである。

10

またフローサイトメータは、個々の細胞粒子から収集された散乱光および蛍光を細胞粒子に固有の識別情報として収集・分析し、サンプルから採取された大量の細胞粒子について統計的に評価することにより、生体の細胞レベルで認知される病変などを診断することを可能にするものである。

さらにセルソータは、個々の細胞粒子からの散乱光と蛍光（固有の識別情報）に基づいて、フローセルから噴出される個々の細胞粒子を含む液滴に選択的に電荷を与え、この液滴が落下する経路上に直流電場を形成することにより、特定の細胞粒子を分取・分別することを可能にするものである。

20

【0003】

とりわけ近年、免疫細胞療法や自らの幹細胞による療法の有効性が認められ、こうした分野において研究開発が盛んに行われている。そして、こうした研究開発において、細胞粒子単位の分別技術は必須であるところ、1つのセルソータを用いて、数多くの異なる細胞粒子を連続的に分別するとき、先に分別処理した流体フローに含まれる細胞粒子がセルソータ内の各構成部品に残留して、後に別の流体フローを分別処理する際に混入する可能性があった。すなわちサンプルとしての細胞粒子がセルソータ内にキャリーオーバーまたは残留して、別の流体フローを汚染するという問題が指摘されていた。あるいは分別すべき細胞粒子がHIVまたは肝炎ウイルスなどの感染症を引き起こす原因となる場合、係る細胞粒子がセルソータおよびソートチャンバ内に止まらず、空中にも浮遊し得るといったバイオハザードの問題も懸念されている。

30

【0004】

たとえば特許文献1に記載されたセルソータは、HIVまたは肝炎ウイルスを含む流体フローがソートブロックから液滴およびエアロゾルとして漏れたとき、エラーを検出し、フィンを有する収集バスケットを用いて、液滴およびエアロゾルを吸引回収する液体収集装置を備えるものである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開2004-69706号公報

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、特許文献1に記載されたセルソータによれば、ソートブロックからの液滴およびエアロゾルをある程度、吸引回収することができるものの、特に一旦ソートチャンバ等に付着したエアロゾルを吸引回収することは困難である。また特許文献1のセルソータによれば、ソートチャンバ等に付着したエアロゾルが再び蒸散してソートブロック内に浮遊する感染症ウイルスは、液体収集装置が液滴およびエアロゾルを吸引している間においては回収できるが、液体収集装置が停止した後においては空中に拡散し、感染症に対する作業員を含む周囲の従業者が負うリスクを完全に払拭することはできなかった。換言

50

すると、このセルソータによれば、液体収集装置が液滴およびエアロゾルを吸引している間においては、次の分別処理を行うことができなかった。

【 0 0 0 7 】

また特許文献 1 のセルソータは、サンプルとしての細胞粒子がソートチャンバより上流側にあるサンプル液導管を含むサンプル液供給機構、フローセル、およびストローブブロックにキャリーオーバーまたは残留して、別の流体フローを汚染するという問題については、解決する手段を何ら提案するものではなかった。

【 0 0 0 8 】

そこで本願発明は、上記問題点に鑑みてなされたものであり、先に分別処理した流体フローに含まれる細胞粒子がシステム内の各構成部品（サンプル液供給機構、流体フロー形成ブロック、ストローブブロック、およびソートチャンバ）に残留して、後に別の流体フローを分別処理する際に混入する可能性を排除または実質的に低減することができるフローサイトメータおよびセルソータを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 9 】

本願発明の 1 つの態様に係るシステムは液体フローに含まれる細胞粒子を分析するシステムに関し、サンプル液導管を受容するフローチャンバ、およびフローチャンネルを含むフローセルを構成する流体フロー形成ブロックと、流体フロー形成ブロックから噴出されるジェットフローおよび複数の液滴の所定領域における画像を撮像する撮像部を有するストローブブロックとを備え、流体フロー形成ブロックおよびストローブブロックは、着脱自在に固定される。

【 0 0 1 0 】

またストローブブロックは、受容口とノズルとの間に延びるノズルチャンネルを含むノズルプレート有し、フローチャンネルは、受容口に対向する吐出口と、フロー方向に垂直な所定の断面が該吐出口に向かって拡大するチャンネル拡大部とを有する。このとき、フローチャンネルの吐出口およびノズルプレートの受容口の前記所定断面における開口距離（ $L$ ）が実質的に同じである。

【 0 0 1 1 】

ノズルプレートが流体フロー形成ブロックに着脱可能に固定するとき、流体フロー形成ブロックの吐出口がノズルプレートの受容口に対して所定の公差（ $d$ ）内で位置合わせされ、開口距離（ $L$ ）は、前記公差（ $d$ ）の 10 倍以上であることが好ましい。

【 0 0 1 2 】

好適には、開口距離（ $L$ ）は約 0.3 mm 以上である。

【 0 0 1 3 】

さらに、サンプル液導管は、フローチャンネル中心軸に沿って配置され、その内部に延びる着脱可能に固定されるサンプルチューブを有することが好ましい。

【 0 0 1 4 】

このシステムは、流体フロー形成ブロックを着脱自在に保持し、ストローブブロックに着脱自在に固定されるブロックホルダを有してもよく、ブロックホルダはフローチャンネルの吐出口とストローブブロックの受容口との間に延びる連通路を有し、該連通路は所定断面における開口距離（ $L$ ）が吐出口および受容口と実質的に同じとなるように構成してもよい。

【 0 0 1 5 】

このシステムは、フローチャンネルに流れる液体フローに含まれる細胞粒子に励起光を照射する光源を有し、流体フロー形成ブロックは、フローチャンネルに対向するように配置された半球面状または半非球面状の第 1 の集光レンズを有し、第 1 の集光レンズは細胞粒子からの蛍光を平行光に変換するものであってもよい。好適には、流体フロー形成ブロックは、第 1 の集光レンズにより平行光に変換された蛍光を光ファイバに集光する第 2 の集光レンズを有し、第 2 の集光レンズは、第 1 の集光レンズより大きい直径を有するものである。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 6 】

好適には、このシステムは、流体フロー形成ブロックに着脱自在に固定され、流体フロー形成ブロックに所定の周波数の振動を与える振動器を有し、振動器は、ドーナツ形状を有する。

## 【 0 0 1 7 】

このシステムは、直流電圧が印加される一対の偏向板を含むソートチャンバをさらに備え、ソートチャンバは、流体フロー形成ブロックおよびストローブブロックに対して着脱自在に固定されることが好ましい。

## 【 0 0 1 8 】

同様に、一対の偏向板は、ソートチャンバに対して着脱自在に固定されることがより好ましい。

## 【 0 0 1 9 】

より好適には、ソートチャンバは、偏向板をソートチャンバから取り外した後にストローブブロックに対して取り外され、ストローブブロックは、ソートチャンバに取り付けられたときに、これらの間の隙間を埋めるために配置された袴状カバーを有する。

## 【 発明の効果 】

## 【 0 0 2 0 】

本願発明の1つの態様に係るシステムによれば、先に分別処理した流体フローに含まれる細胞粒子がシステム内の各構成部品（サンプル液供給機構、流体フロー形成ブロック、ストローブブロック、およびソートチャンバ）に残留して、後に別の流体フローを分別処理する際に混入する可能性を排除または実質的に低減することができる。また、このシステムによれば、感染症ウィルス等の細胞粒子（落下菌）により汚染された各構成部品の流水等による洗浄を支援し、システム内を無菌状態に維持することができる。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 1 】

【 図 1 】 本願発明に係るセルソータの全体的構成を示す概略図である。

【 図 2 】 本願発明に係るセルソータの主要な構成部品を示す分解図である。

【 図 3 】 本願発明に係るサンプル液導管およびサンプルチューブの下端部を示す一部拡大断面図である。

【 図 4 】 従来技術に係る流体フロー形成ブロックおよびノズルプレートの一部を拡大した部分拡大断面図である。

【 図 5 】 本願発明に係る流体フロー形成ブロックおよびノズルプレートの一部を拡大した部分拡大断面図である。

【 図 6 】 本願発明に係る流体フロー形成ブロック、ブロックホルダおよびノズルプレートの一部を拡大した部分拡大断面図である。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 2 2 】

以下、添付図面を参照して本願発明に係るセルソータなどの、液体フローに含まれる生物学的粒子を分析するシステムの実施形態を説明する。本願発明は、理解を容易にするために、セルソータについて例示的に説明するが、フローサイトメータにも同等に適用することができる。また方向を表す用語（例えば、「上方」および「下方」など）を適宜用いるが、これらの用語は説明のためのものであって、本願発明を限定するものでない。

## 【 0 0 2 3 】

図 1 は本願発明に係るセルソータ 1 の全体的構成を示す概略図であり、図 2 は主要な構成部品を示す分解図である。セルソータ 1 は、概略、流体フロー形成ブロック 10 と、ストローブブロック 20 と、ソートチャンバ 30 と、コレクションチューブ 40 を含むコレクションチューブホルダ 42 とを有する。また図示しないが、セルソータ 1 は、蛍光標識試薬などで染色された細胞粒子 P を含むサンプル液およびシース液を流体フロー形成ブロック 10 内に供給するフロー供給機構（サンプル液供給装置およびシース液供給装置）を有する。そして本願発明に係るセルソータ 1 の上記各構成部品は、詳細後述のように、着

脱可能に固定することができるものである。上記各構成部品について以下説明する。

【 0 0 2 4 】

[ 1 . 流体フロー形成ブロック ]

流体フロー形成ブロック 10 は、サンプル液インレット 11 およびシース液インレット 12 を有し、サンプル液インレット 11 に液密に固定されたステンレスなどの硬い金属材料からなるサンプル液導管 13 を収容する。流体フロー形成ブロック 10 は、サンプル液導管 13 を介してサンプル液をフローチャンバ 14 内に案内し、シース液インレット 12 からシース液をフローチャンバ 14 内に案内するものである。このときフローチャンバ 14 内に案内されたサンプル液は、シース液に包囲されるように流れ、流体フロー形成ブロック 10 のフローチャンネル 15 においては、その中心軸  $C_F$  (図 5) に沿って、サンプル液に含まれる蛍光標識された個々の細胞粒子 P が一列に配列される。

10

【 0 0 2 5 】

また流体フロー形成ブロック 10 は、所定の周波数 (たとえば  $f = 60 \text{ kHz}$ ) で振動する piezo 圧電素子等を用いた振動器 16 を有する。この振動器 16 は、後述するノズルプレート 22 のノズル 24 から噴出されるジェットフロー JF に振動を与えることにより、その下端部にあるブレイク・オフ・ポイントにおいてジェットフロー JF から液滴 D が分離するものである。このとき各液滴 D が上述の蛍光標識された細胞粒子 P を 1 つずつ含むように、振動器 16 の周波数が決定される。

【 0 0 2 6 】

セルソータ 1 は、フローチャンネル 12 において一列に配列された個々の細胞粒子 P に少なくとも 1 つの (好適には複数の) レーザビーム ( ) などのコヒーレント光を照射する光源 (図示せず) と、個々の細胞粒子 P からの散乱光および蛍光を検出して、各細胞粒子 P を特徴付ける固有の識別情報を検知する受光部とを有する光学的機構を備える。受光部は、流体フロー形成ブロック 10 のフローチャンネル 15 に対向するように固定され、細胞粒子からの蛍光を平行光に変換する半球面状または半非球面状の第 1 の集光レンズ 35 と、第 1 の集光レンズ 35 により平行光に変換された蛍光を光学的機構の光ファイバ (ファイバユニット) 37 に集光する第 2 の集光レンズ 36 とを有する。第 2 の集光レンズ 36 の径は、像収差が小さくなるように、第 1 の集光レンズ 35 の径より大きくなるように設計されている。

20

【 0 0 2 7 】

光学的機構に対する流体フロー形成ブロック 10 の交換または再配置時において、図 1 の紙面の左右方向に位置ずれが生じることにより、所定の位置に固定された光ファイバ (ファイバユニット) との距離が変動した場合であっても、第 1 の集光レンズ 35 により平行光に変換されるので、左右方向における位置ずれによる影響を排除することができる。すなわち、蛍光を平行光に変換することにより、左右方向における位置ずれに対する許容度を実質的に増大させることができる。

30

また、流体フロー形成ブロック 10 が光学的機構に対して図 1 の紙面の奥行き方向および上下方向の位置ずれが生じた場合、第 1 の集光レンズ 35 により補正されるので、同様に位置ずれに対する許容度を実質的に増大させることができる。

このように流体フロー形成ブロック 10 を光学的機構に対して着脱した際において、光軸調整の必要性を排除することができる。また、流体フロー形成ブロック 10 を光学的機構に対して着脱しない従来式のセルソータ 1 についても同様に適用することができる。

40

なお、光学的機構の詳細については、当業者に広く知られた任意のものを採用することができるので、ここではさらなる詳細な説明を省略する。

【 0 0 2 8 】

また本願発明によれば、サンプル液はサンプル液供給装置から可撓性のサンプルチューブ 17 を介して供給され、このサンプルチューブ 17 はサンプル液導管 13 に液密に挿通されるように構成されている (図 3)。すなわち本願発明によれば、サンプル液について、異なる細胞粒子を含むものと交換したい場合、サンプル液供給装置およびサンプルチューブ 17 のみを交換すれば足り、サンプル液導管 13 は汚染されることなく、交換または

50

洗浄する必要がない。またサンプル液導管 13 は、上述のように、サンプル液インレット 11 に固定され、かつ、フローチャンネル 15 の中心軸  $C_F$  (図 5) に沿って正確に位置合わせされているので、サンプル液の交換の際、サンプルチューブ 17 をサンプル液導管 13 に挿通することにより、蛍光標識された個々の細胞粒子 P がフローチャンネル 15 の中心軸  $C_F$  に沿って正確に一直列に配列されるようにシースフローを形成することができる。

#### 【0029】

その結果、サンプル液導管 13 自体を交換して、再び位置合わせを行っていた従来技術に比較して、サンプル液導管 13 の位置合わせに係る煩雑な作業が不要となり、極めて簡単にサンプル液を交換することができる。またサンプル液導管 13 に挿通されるサンプル

10

#### 【0030】

図 3 は、本願発明に係るサンプル液導管 13 およびサンプルチューブ 17 の下端部を示す一部拡大断面図である。図 3 (a) および (b) に示すように、このサンプル液導管 13 は、その下端部において狭窄部 13a を設けることにより、サンプル液導管 13 およびサンプルチューブ 17 の液密封止性を改善し、サンプルチューブ 17 をフローチャンネル 15 の中心軸  $C_F$  に位置合わせすることを支援するようにしてもよい。また図 3 (c) に示すように、下流側のサンプル液チューブ 17 の先端部の内径を大きくすることにより、サンプル液導管の先端部から放出される細胞粒子の速度を半径方向の位置によらず一定と

20

#### 【0031】

なおサンプルチューブ 17 は、たとえば約 250 ~ 400  $\mu\text{m}$  の内径を有し、PEEK 樹脂、テフロン樹脂 (登録商標)、シリコンゴムまたはタイゴン (登録商標) 等の構成材料からなる可撓性チューブであってもよく、サンプル液導管 13 は、サンプルチューブ 17 より実質的に硬いガラス等の構成材料からなるものであってもよい。

#### 【0032】

また振動器 16 は、ドーナツ形状を有し、流体フロー形成ブロック 10 に対してロックねじ等でロックできるように、すなわち流体フロー形成ブロック 10 に着脱自在に固定されるものであってもよい。従来、電子部品等の精密機器を含む振動器 16 が固定された流体

30

#### 【0033】

#### [2. ストロープブロック]

本願発明に係るストロープブロック 20 は、レール・ロック機構 (図示せず) を用いて、図 2 に示すように上下方向に移動させることにより、流体フロー形成ブロック 10 に着脱自在に固定することができる。

ストロープブロック 20 は、固定的な撮像領域におけるジェットフロー JF およびこれより分離される液滴 D の画像を CCD 等の撮像装置 21 を用いて撮像し、液滴間距離等を計測するものである。このとき撮像装置 21 は、振動器 16 の周波数に同期して断続的に (ストロボのように) 点滅する LED を光源としてジェットフロー JF および液滴 D を撮像するため、静止したように見える画像を得ることができる。このとき制御装置 (図示せず) は、撮像機構で得られた液滴間距離等を用いて、分別すべき所望の細胞粒子 P を含む液滴 D がジェットフロー JF から分離する直前のタイミングを算出し、そのタイミングで、光学的機構で検知されたその液滴 D に含まれる細胞粒子 P の識別情報に応じた極性を有する電圧をノズルプレート 22 に選択的に印加する。

40

#### 【0034】

図 4 は、従来技術に係る流体フロー形成ブロック 10' のフローチャンネル 15' およびノズルプレート 22' の一部を拡大した部分拡大断面図である。図 4 (a) は、所定の

50

垂直断面におけるフローチャンネル15'の幅(距離)を $l_1$ 、ジェットフローJの幅(距離)を $l_2$ とし、フローチャンネル中心軸(一点鎖線) $C_F$ およびジェットフロー中心軸(二点鎖線) $C_J$ として図示している。

【0035】

ノズルプレート22'(またはストロブブロック20')は、流体フロー形成ブロック10'に対して、リングまたは位置決めピンを介して、図4(a)に示すように、完全に正確に位置合わせした状態で、すなわちフローチャンネル中心軸 $C_F$ とジェットフロー中心軸 $C_J$ とを完全に位置合わせした状態で液密封止されることが好ましい。しかしながら、実際には図4(b)に示すように、フローチャンネル中心軸 $C_F$ とジェットフロー中心軸 $C_J$ を完全に位置合わせすることは困難であり、約 $\pm 30 \mu\text{m}$ の機械的な位置合わせ公差(d)が生じてしまう。

10

【0036】

すなわち、流体フロー形成ブロック10'のフローチャンネル15'に対して、リング等を用いて、ノズルプレート22'(またはストロブブロック20')を位置合わせするとき、約 $\pm 30 \mu\text{m}$ の位置合わせ公差(d)は不可避であった。そしてフローチャンネル中心軸 $C_F$ とジェットフロー中心軸 $C_J$ との間に公差(d)の位置ずれが生じると、個々の細胞粒子Pがフローチャンネル15'のジェットフロー中心軸 $C_J$ からずれて(偏心した位置を)流れることになる。一般に、層流の周辺部における流速は、中心部における流速より小さいことが知られており、ジェットフロー中心軸 $C_J$ から偏心した位置を流れる細胞粒子Pの流速は、ジェットフロー中心軸 $C_J$ に沿って流れる細胞粒子Pの流速より遅くなる。したがって、上記のように、細胞粒子Pが液滴Dに1つずつ含まれるように、振動器16の周波数を調整していたところ、細胞粒子Pが減速すると、その細胞粒子Pの識別情報に基づいて、液滴間距離等により算出されるタイミング(液滴DがジェットフローJFから分離する直前のタイミング)でジェットフローJFに所定の電荷を与えても、その液滴D内に細胞粒子Pが含まれない可能性が高くなる。これにより、フローサイトメータとしての細胞粒子Pの分析精度およびセルソータとしての分別精度が阻害されていた。

20

【0037】

たとえば、フローチャンネル15'のフロー方向に垂直な断面(水平断面、幅 $l_1$ に相当)は $150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ または $250 \mu\text{m} \times 160 \mu\text{m}$ の寸法を有し、ジェットフローJのフロー方向に垂直な断面(水平断面、幅 $l_2$ に相当)は $70 \mu\text{m}$ ,  $85 \mu\text{m}$ ,  $100 \mu\text{m}$ ,  $130 \mu\text{m}$ である。このとき公差(d)は、寸法( $l_1$ )に対して12%~20%となる。このように約 $\pm 30 \mu\text{m}$ のわずかな位置合わせ公差(d)が生じても、フローチャンネル15'の幅 $l_1$ に対する公差(d)の相対値が実質的に大きくなり、個々の細胞粒子Pの速度に大きなばらつきが生じていた。

30

【0038】

図5は、本願発明に係る流体フロー形成ブロック10のフローチャンネル15およびノズルプレート22の一部を拡大した部分拡大断面図である。ノズルプレート22は、ストロブブロック20に対し高精度に位置決めできる構造を有しているため、ノズル嵌合精度を向上することができる。ただし上述のように、ノズルプレート22(またはストロブブロック20)は、リング27aまたは位置決めピンを用いて位置合わせして液密封止されるが、約 $\pm 30 \mu\text{m}$ の機械的な位置合わせ公差(d)が生じてしまう。

40

【0039】

そこで本願発明に係る流体フロー形成ブロック10は、図5に示すように、フローチャンネル15と、これに連通する吐出口18とを有し、吐出口18に至るフローチャンネル15の一部が、フロー方向に垂直な断面(水平断面)が吐出口18に向かって拡大するように構成されている。すなわち本願発明に係る流体フロー形成ブロック10のフローチャンネル15は、チャンネル拡大部19を有する。

一方本願発明に係るノズルプレート22は、同様に図示したように、受容口23とノズル24との間に延びるノズルチャンネル25を有し、ノズルチャンネル25の少なくとも

50



一部が、フロー方向に垂直な断面（水平断面）がノズル 24 に向かって縮小するように構成されている。すなわち本願発明に係るノズルプレート 22 のノズルチャンネル 25 は、チャンネル縮小部 26 を有する。

そして本願発明に係る流体フロー形成ブロック 10 の吐出口 18 およびノズルプレート 22 の受容口 23 のフロー方向に垂直な断面（水平断面）における開口距離（ $L$ 、たとえば 1 mm）は実質的に同じとなるように構成されている。

【0040】

このように本願発明によれば、吐出口 18 および受容口 23 の開口距離（ $L$ ）が位置合わせ公差（ $d$ ）より比較的に大きくなるように構成されているので、フローチャンネル中心軸（一点鎖線） $C_F$  とジェットフロー中心軸（二点鎖線） $C_J$  の間に公差（ $d$ ）の位置ずれが生じた場合であっても、開口距離（ $L$ ）に対する公差（ $d$ ）の位置ずれが相対的に小さくなり、フローチャンネル中心軸  $C_F$  に沿って流れる流体フローは偏向することなく、ジェットフロー中心軸  $C_J$  に沿って流れる各細胞粒子  $P$  の速度を一定に維持することができる。したがって本願発明によれば、不可避免的な位置ずれに起因する各細胞粒子  $P$  の速度および液滴  $D$  の間隔の変動可能性（変動しやすさ）を相対的に減縮することができる。

【0041】

具体的には、吐出口 18 および受容口 23 の水平断面における開口距離（ $L$ ）が 1 mm で、位置合わせ公差（ $d$ ）が  $\pm 30 \mu m$  であるとき、寸法（ $L$ ）に対する公差（ $d$ ）による相対的な位置ずれは 3 % となり、先に説明した従来技術の場合（12 % 以上）に比して格段に改善され、細胞粒子  $P$  のジェットフロー中心軸  $C_J$  に沿って配置することができる。こうして本願発明によれば、流体フロー形成ブロック 10 またはストローブブロック 20（またはノズルプレート 22）を置換したい場合や、ストローブブロック 20 を流水等で洗浄するために一時的に取り外したい場合に、フローチャンネル中心軸  $C_F$  とジェットフロー中心軸  $C_J$  の間に公差（ $d$ ）の位置ずれが生じたとしても、各細胞粒子  $P$  をジェットフロー中心軸  $C_J$  に沿って精緻に配置するとともに、その速度を一定に維持して（悪影響を与えることなく）、分析精度および分別精度を良好に維持することができる。

【0042】

好適には、ノズルプレート 22（またはストローブブロック 20）を流体フロー形成ブロック 10 に着脱可能に固定する際の位置合わせ公差（ $d$ ）に対して、開口距離（ $L$ ）を公差（ $d$ ）の 10 倍以上に（相対的な位置ずれを 10 % 以下に）設定すれば、これまでのセルソータ 1 より高い精度で細胞粒子  $P$  を分析し、分別することができる。換言すると、位置合わせ公差（ $d$ ）が  $\pm 30 \mu m$  であるとき、より好適には、開口距離（ $L$ ）を公差（ $d$ ）の 20 倍以上となるように（相対的な位置ずれを 5 % 以下に）開口距離（ $L$ ）を 0.6 mm 以上とし、さらに好適には、開口距離（ $L$ ）を公差（ $d$ ）の 40 倍以上となるように（相対的な位置ずれを 2.5 % 以下に）開口距離（ $L$ ）を 1.2 mm 以上となるように設計してもよい。なお位置合わせ公差（ $d$ ）が大きい場合には、それに応じて開口距離（ $L$ ）をより大きく設計してもよい。

【0043】

また流体フロー形成ブロック 10 のチャンネル拡大部 19 およびノズルプレート 22 のチャンネル縮小部 26 は、図 5 においては、その水平断面における幅が直線的に増減するように示したが、これに限定されるものではなく、たとえばチャンネル拡大部 19 またはチャンネル縮小部 26 が上に凸となるような曲線を有するように形成してもよい。

【0044】

択一的には、本願発明に係る流体フロー形成ブロック 10 は、図 6 に示すように、その周囲にこれを保持するためのブロックホルダ 28 を有していてもよい。ブロックホルダ 28 は、流体フロー形成ブロック 10 の外径とほぼ同じ内径を有してなり、流体フロー形成ブロック 10 を嵌合するように保持するものである。またブロックホルダ 28 は、リング 27a を介して流体フロー形成ブロック 10 と液密にかつ着脱可能に固定され、別のリング 27b を介してノズルプレート 22 と液密にかつ着脱可能に固定されている。さらに、ブロックホルダ 28 は、フローチャンネル 15 の吐出口 18 とノズルプレート 22 の

受容口 23 との間に延びる連通路 29 を有し、連通路 29 の所定断面における開口距離 (L) が吐出口 18 および受容口 23 と同一であるように構成されている。このように構成した流体フロー形成ブロック 10 も同様に、フローチャンネル中心軸  $C_F$  とジェットフロー中心軸  $C_J$  の間に公差 (d) の位置ずれが生じたとしても、各細胞粒子 P をジェットフロー中心軸  $C_J$  に沿って精緻に配置するとともに、その速度を一定に維持して (悪影響を与えないこと) 、分析精度および分別精度を良好に維持することができる。

#### 【0045】

なお、とりわけ流体フロー形成ブロック 10 が石英ガラス等で形成されている場合、リング 27a を介して、ブロックホルダ 28 等を流体フロー形成ブロック 10 に着脱することにより、着脱時の衝撃により流体フロー形成ブロック 10 が破損する (クラックが入る) ことを防止することができる。

10

#### 【0046】

また図 2 に示すように、またはストローブブロック 20 は、ソートチャンバ 30 に対して上下方向に移動させることにより、ソートチャンバ 30 に着脱自在に固定されるが、ストローブブロック 20 は、下方に移動したとき、ソートチャンバ 30 との隙間を埋める袴状カバー (図示せず) を有している。ストローブブロック 20 が下方に移動した場合には袴状カバーは、ソートチャンバ 30 内に入り込む構造を有する。こうしてストローブブロック 20 とソートチャンバ 30 の密閉構造を実現でき、エアロゾルの発生を防ぐことができ、気流が変化することを防止し、ジェットフロー JF および液滴 D の流れを安定させることができる。

20

#### 【0047】

以上のように、異なる粒子径を有する細胞粒子 P を分析するために流体フロー形成ブロック 10 を交換し、あるいはストローブブロック 20 を流水等で洗浄するために一時的に取り外した後においても、流体フロー形成ブロック 10 とストローブブロック 20 との間に不可避な位置合わせ公差が生じて、個々の細胞粒子 P をジェットフロー中心軸  $C_J$  上に一列に精緻に配列し、その速度を一定に維持して、細胞粒子 P の分析精度および分別精度を良好に維持することができ、フローチャンネル中心軸  $C_F$  とジェットフロー中心軸  $C_J$  とを実質的に一致させ、ノズル径 (幅  $1_2$  に相当の  $70\mu\text{m}$ ,  $85\mu\text{m}$ ,  $100\mu\text{m}$ ,  $130\mu\text{m}$ ) に対してずれが生じないようにすることができる。すなわち異なる粒子径を有する細胞粒子 P を分析するために、異なるノズル径を有するノズルプレート 22 に交換しても、個々の細胞粒子 P をジェットフロー中心軸  $C_J$  上に一列に精緻に配列し (ずれをなくし) 、その速度を一定に維持して、細胞粒子 P の分析精度および分別精度を良好に維持することができる。

30

#### 【0048】

##### [3. ソートチャンバ]

ソートチャンバ 30 は、たとえば  $7000\text{V}$  の高電圧を印加した一对の偏向板 31 を有し、ノズルプレート 22 を介して各細胞粒子 P の識別情報に応じた極性を有する電圧が選択的に印加された、その細胞粒子 P を含む液滴 D が一对の偏向板 31 の間を自由落下するとき、偏向板 31 間の電場により偏向するように構成されている。

40

本願発明によれば、ソートチャンバ 30 の偏向板 31 は、ソートチャンバ 30 から自在に着脱することができる。またソートチャンバ 30 自体も流体フロー形成ブロック 10 およびストローブブロック 20 に対し、たとえばねじ機構および位置決めピン (ともに図示せず) を用いて精度よく着脱自在に固定することができる。好適には、ソートチャンバ 30 は、偏向板 31 を取り外した後に取り外される。

またソートチャンバ 30 は、前扉 (図示せず) を有する密閉式の筐体であってもよく、偏向板 31 とともに、EOG (エチレンオキシサイドガス) による滅菌処理を行うことができる。択一的には、偏向板 31 のみをソートチャンバ 30 から取り外して流水等で洗浄した後、再びソートチャンバ 30 に取り付けのようにしてもよい。

#### 【0049】

前掲特許文献 1 に記載されたセルソータにおいては、ソートチャンバ 30 や偏向板 31

50

に付着した液滴D（エアロゾルおよび細胞粒子P自体）を吸引により回収することは困難であり、こうした液滴Dが再び蒸散して感染症ウイルス等の細胞粒子P（落下菌）がソートブロック内に浮遊することを完全に排除できなかった。これに対し、本願発明に係るソートチャンバ30および偏向板31は、容易に着脱して洗浄できるように構成したので、確実に無菌状態に維持することができ、細胞粒子Pの空气中への拡散を抑制し、作業者を含む周囲の従業者の感染症のリスクを排除することができる。また本願発明によれば、汚染されたソートチャンバ30および偏向板31を別のものと直ちに交換して、次の分別処理を行うことができるので、洗浄が完了するまでの時間、待機することなく、分別処理を遅滞なく実施することができる。

【0050】

10

〔4．コレクションチューブおよびコレクションチューブホルダ〕

複数のコレクションチューブ40を保持するコレクションチューブホルダ42は、ソートチャンバ30内に着脱可能に固定することができる。コレクションチューブ40は、細胞粒子Pの識別情報に基づいて、ソートチャンバ30の偏向板31により偏向された液滴Dを受容し、回収するものである。なお、コレクションチューブホルダ42は、図示しない保温器との間で循環する保温水を収容し、回収された液滴Dを一定温度に維持するように構成される。必要であれば、回収された液滴Dを所定の温度に冷却するようにしてもよい。

【0051】

したがって、本願発明に係るコレクションチューブホルダ42は取り外しが容易であるので、サンプル液を交換する際、または定期的な清浄過程において、コレクションチューブ40またはコレクションチューブホルダ42に付着した感染症のリスクを伴う細胞粒子Pを確実に排除し、完全な無菌状態に維持することができる。

20

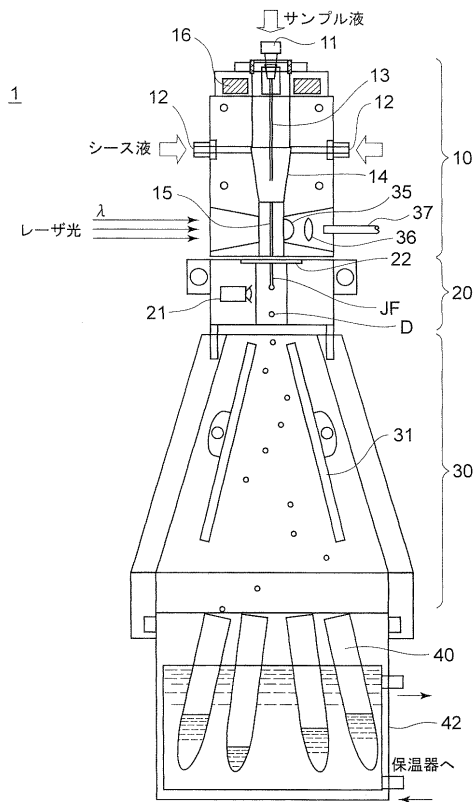
【符号の説明】

【0052】

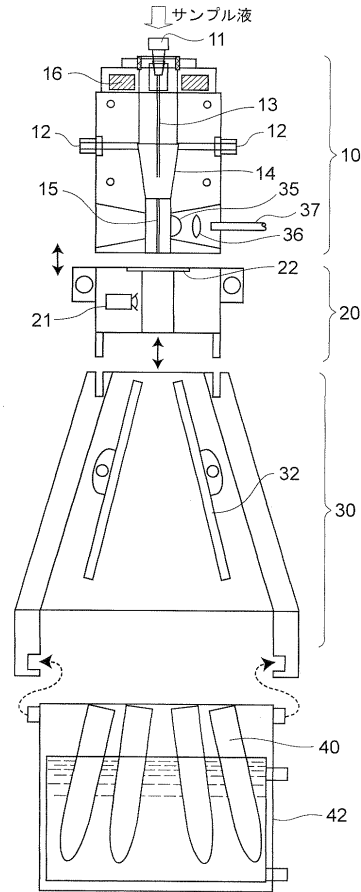
1：セルソータ、  
 10：流体フロー形成ブロック、11：サンプル液インレット、12：シース液インレット、13：サンプル液導管、14：フローチャンバ、15：フローチャンネル、16：振動器、17：サンプルチューブ、18：吐出口、19：チャンネル拡大部、  
 20：ストローブロック、21：撮像装置、22：ノズルプレート、23：受容口、24：ノズル、25：ノズルチャンネル、26：チャンネル縮小部、27：Oリング、28：ブロックホルダ、29：連通路、  
 30：ソートチャンバ、31：偏向板、35：第1の集光レンズ、36：第2の集光レンズ、37：光ファイバ（ファイバユニット）、  
 40：コレクションチューブ、42：コレクションチューブホルダ、  
 JF：ジェットフロー、D：液滴、C<sub>F</sub>：フローチャンネル中心軸、C<sub>J</sub>：ジェットフロー中心軸。

30

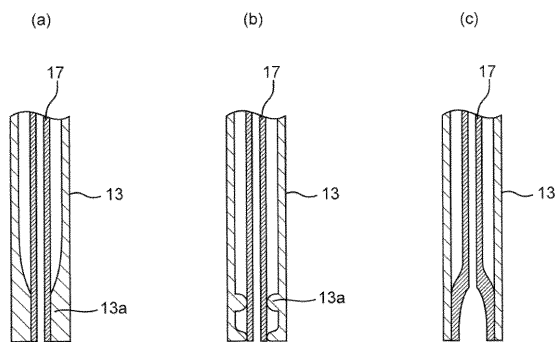
【図 1】



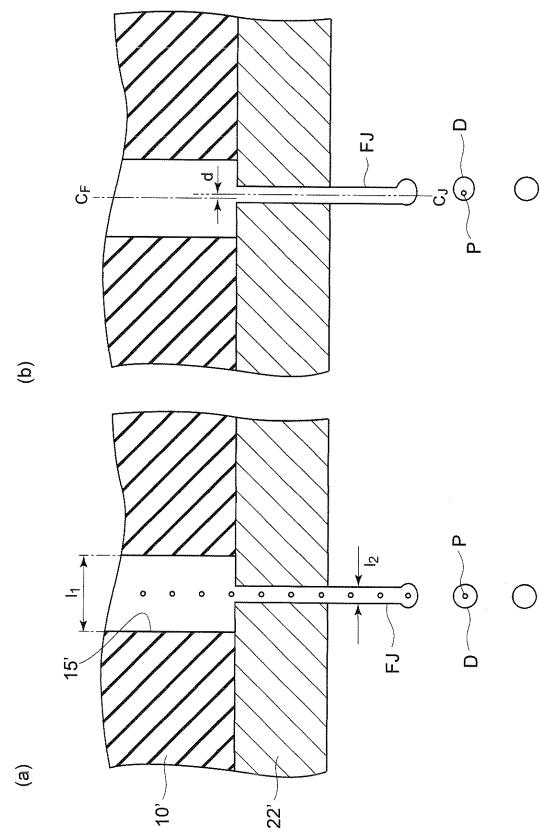
【図 2】



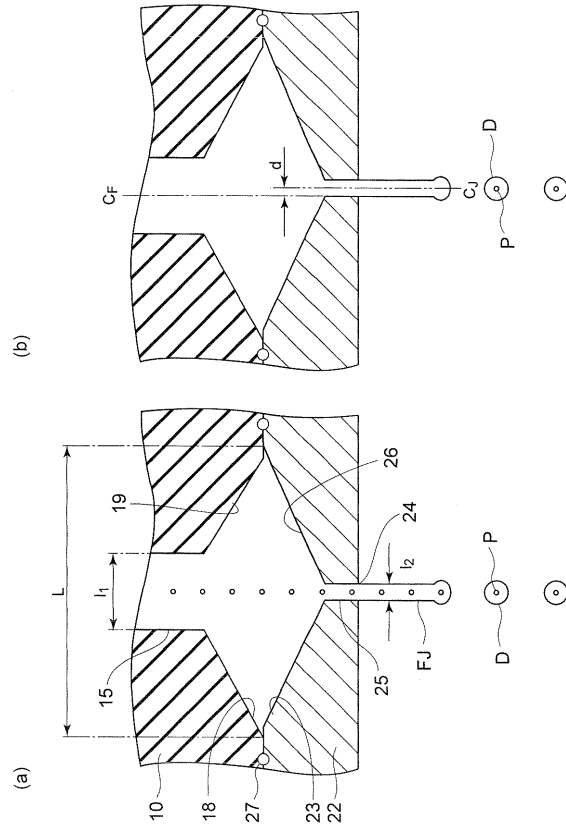
【図 3】



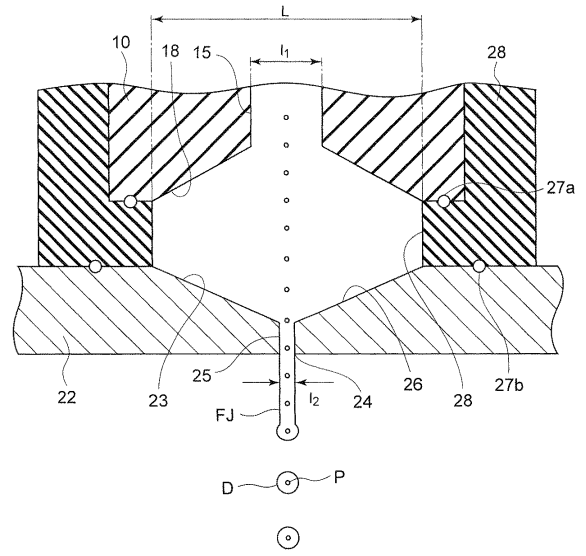
【図 4】



【図 5】



【図 6】



---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開2005-315799(JP,A)  
特開平08-015125(JP,A)  
特開2009-145213(JP,A)

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