

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 6 月 4 日(04.06.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/079477 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/26 (2006.01) *G01N 1/00* (2006.01)
B01L 3/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/007020
- (22) 国際出願日: 2013 年 11 月 29 日(29.11.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: ヤマハ発動機株式会社 (YAMAHA HAT-SUDOKI KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒4388501 静岡県磐田市新貝 2 5 0 0 番地 Shizuoka (JP).
- (72) 発明者: 伊藤 三郎(ITO, Saburo); 〒4388501 静岡県磐田市新貝 2 5 0 0 番地ヤマハ発動機株式会社内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人: 小谷 悦司, 外(KOTANI, Etsuji et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島 2 丁目 2 番 2 号大阪中之島ビル 2 階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: ASPIRATION METHOD

(54) 発明の名称: 吸引方法

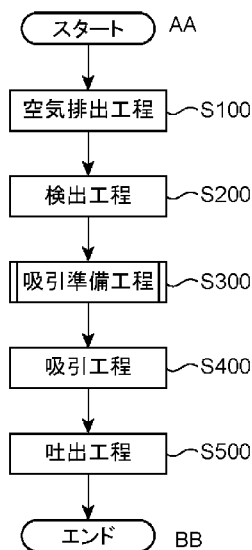


Fig. 1:
S100 Air ejection step
S200 Detection step
S300 Aspiration preparation step
S400 Aspiration step
S500 Discharge step
AA Start
BB End

(57) Abstract: In this aspiration method for aspirating a subject using an aspiration tip provided with an aspiration opening and an aspiration space, the subject is a liquid or matter held within a liquid, and the aspiration method is provided with: an air ejection step for ejecting, from the aspiration opening, the air within the aspiration space; an aspiration preparation step including an immersion step for immersing the aspiration opening in a liquid; and an aspiration step for aspirating the subject from the aspiration opening into the aspiration space.

(57) 要約: 吸引口および吸引空間を備える吸引チップを用いて対象物を吸引する吸引方法であって、前記対象物が、液体または液体中に保持された物体であり、前記吸引空間内の空気を前記吸引口から排出する空気排出工程と、前記吸引口を前記液体に浸漬する浸漬工程を含む吸引準備工程と、前記吸引口から前記吸引空間内に前記対象物を吸引する吸引工程と、を備える、吸引方法。



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：吸引方法

技術分野

[0001] 本発明は、たとえば液体等の対象物の量を正確に吸引することのできる吸引方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、種々の分野において、液体等の対象物を一定容積吸引する方法が開発されている。特に、生化学実験等では、吸引チップを先端に接続して使用する吸引装置を使用した吸引方法が知られている（特許文献1）。吸引チップは、対象物を吸引する際の吸引経路となる管状通路を内部に備える略円筒状の本体部を備えた冶具であり、該管状通路の終端の開口部が液体等を吸引する際の吸引口として機能する。吸引チップの吸引口と反対側の端部は、吸引力を発生させる吸引装置の吸引ノズルが装着される。

[0003] 対象物としては、液体だけでなく、液体中に含まれる粉体、粒子、生体由来の細胞等が含まれる。対象物が細胞である場合、吸引チップを接続した吸引装置を操作し、形状に基づいて細胞を選別すれば、その細胞を用いた各種試験において、試験条件の偏差を小さくすることができる。選別回収後の細胞は、ハイスループット・スクリーニング（high-throughput screening（HTS））等に応用することができる。

[0004] ところで、従来の吸引方法は、吸引装置に吸引チップを装着し、吸引チップ内に存在していた空気の一部を予備排出し、次いで、吸引口を対象物に接近または接触させた状態で管状通路内に吸引力を発生させ、管状通路内に残った空気とともに対象物を吸引する。このように、従来の吸引方法では、吸引時に吸引チップの管状通路内において空気の移動を伴った圧力変動を起こして対象物を吸引している。

[0005] 近年は、極微量の対象物を正確に吸引する技術が求められている。しかしながら、従来の吸引方法では、吸引時に空気の体積変動が起こるため、極微

量の対象物を効率よく正確に吸引できないという問題がある。具体的には、たとえば粘性の高い液体等を吸引する際に、管状通路内の空気が一時的に膨張されるため、吸引速度（吸引動作に対するレスポンス）が低下し、作業効率が悪い。また、たとえば吸引チップ内に対象物を保持したまま、顕微鏡等の観察手段で対象物を観察する場合には、管状通路内の空気が観察精度を低下させる場合がある。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開平2002-98706号公報

発明の概要

[0007] 本発明は、このような従来の問題に鑑みてなされたものであり、吸引時における空気の影響を排除することができ、効率よく正確に対象物を吸引することのできる吸引方法を提供することを目的とする。

[0008] 本発明の一局面による吸引方法は、吸引口および吸引空間を備える吸引チップを用いて対象物を吸引する吸引方法であって、前記対象物が、液体または液体中に保持された物体であり、前記吸引空間内の空気を前記吸引口から排出する空気排出工程と、前記吸引口を前記液体に浸漬する浸漬工程を含む吸引準備工程と、前記吸引口から前記吸引空間内に前記対象物を吸引する吸引工程と、を備えることを特徴とする。

[0009] 本発明の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な説明と添付図面とによって、より明白となる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]本発明の第1の実施形態の吸引方法のフローチャートである。

[図2]本発明の第1の実施形態の吸引チップの構成を説明するための断面図である。

[図3]本発明の第1の実施形態の吸引チップを装着した吸引ピペットの概略図である。

[図4]本発明の第1の実施形態のシリンジ部の構成を説明する模式図であり、図4（a）はシリンジ部の側面図であり、図4（b）はシリンジ部の断面図である。

[図5]本発明の第1の実施形態のプランジャの構成を説明する模式図であり、図5（a）はプランジャの側面図であり、図5（b）はプランジャの断面図である。

[図6]本発明の第1の実施形態の吸引方法を行う吸引チップの動作を説明する模式図であり、図6（a）は空気排出工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図6（b）は空気排出工程における吸引チップの動作および検出工程を説明する模式図であり、図6（c）は吸引準備工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図6（d）は吸引工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図6（e）は吐出工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図7]本発明の第1の実施形態の吸引準備工程を説明するフローチャートである。

[図8]本発明の第1の実施形態の受入領域形成工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図9]本発明の第1の実施形態の接近工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図10]本発明の第2の実施形態の吸引準備工程を説明するフローチャートである。

[図11]本発明の第2の実施形態の移動工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図12]本発明の第2の実施形態の接近工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図13]本発明の第2の実施形態の吸引工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図14]本発明の第3の実施形態の吸引方法のフローチャートである。

[図15]本発明の第3の実施形態の吸引方法を行う吸引チップの動作を説明する模式図であり、図15(a)は空気排出工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図15(b)は空気排出工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図15(c)は吸引準備工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図15(d)は吸引工程における吸引チップの動作を説明する模式図であり、図15(e)は吐出工程における吸引チップの動作を説明する模式図である。

[図16]本発明の第4の実施形態の吸引装置の構成を説明する模式図である。

発明を実施するための形態

[0011] (第1の実施形態)

以下に、本発明の第1の実施形態の吸引方法について、図面を参照しながら詳細に説明する。図1は、本実施形態の吸引方法のフローチャートである。本実施形態の吸引方法は、吸引チップを用いて細胞凝集塊(対象物)を吸引する方法であり、空気排出工程S100と、検出工程S200と、吸引準備工程S300と、吸引工程S400と、吐出工程S500と、を含む。まず、これらの工程の説明の前に、本実施形態の吸引方法で使用することのできる吸引チップの一例について説明する。

[0012] <吸引チップ>

図2は、本実施形態の吸引チップ100の構成を説明するための断面図である。図3は、本実施形態の吸引チップ100を装着した吸引ピペット200の概略図である。吸引チップ100は、細胞培養液中に保持された細胞凝集塊(スフェロイド *spheroid*、液体中に保持された物体)を吸引する際に使用される治具であり、吸引ピペット200のノズル部210に装着して使用される。吸引ピペット200は、吸引力を発生することのできる管状部材であり、吸引チップ100の管状通路内に吸引力を発生させることにより、吸引チップ100の管状通路(吸引空間)の、開口終端(シリンジ先端部113の他端113t、図4参照)である吸引口140から細胞凝集塊を吸引することができる。吸引チップ100は、細胞凝集塊を吸引するた

めの吸引経路となる管状通路を内部に備え、吸引口１４０を有するシリンジ部１１０と、管状通路を画定する内周壁と当接しつつ管状通路内を進退移動するプランジャ１５０と、を備える。

[0013] (シリンジ部)

図４は、本実施形態のシリンジ部１１０の構成を説明する模式図であり、図４（ａ）はシリンジ部１１０の側面図であり、図４（ｂ）はシリンジ部１１０の断面図である。シリンジ部１１０は、シリンジ基端部１１１と、シリンジ本体部１１２と、シリンジ先端部１１３とを含む。

[0014] シリンジ基端部１１１は、吸引ピペット２００のノズル部２１０と装着するために形成された部位であり、シリンジ大径部１１４とシリンジ接続部１１５とを含む。

[0015] シリンジ大径部１１４は、略円筒状であり、ノズル部２１０の先端が挿入される接続口１２０が形成された一端１１４ｓと、シリンジ接続部１１５の一端１１５ｓが接続される他端１１４ｔとを有する。シリンジ大径部１１４の内周壁には、周状の谷部１３０が２箇所形成されている。これらの谷部１３０には、ノズル部２１０の外周壁に周状に形成された２箇所の山部２１１がそれぞれ嵌め合わされる。これにより、ノズル部２１０の先端に吸引チップ１００のシリンジ部１１０が装着される。なお、山部２１１や谷部１３０を設ける代わりに、汎用の吸引チップを吸引ピペットに嵌め合う場合のように、一方の部材（たとえばシリンジ大径部１１４）の内周壁にテーパ加工を施し、他の部材（たとえばノズル部２１０）を嵌め合せて接続してもよい。

[0016] シリンジ接続部１１５は、シリンジ大径部１１４の他端１１４ｔと接続される一端１１５ｓと、シリンジ本体部１１２の一端１１２ｓと接続される他端１１５ｔとを有する。シリンジ接続部１１５は、シリンジ大径部１１４と、該シリンジ大径部１１４よりも外径が小さいシリンジ本体部１１２とを接続するよう、他端１１５ｔ側から一端１１５ｓ側へ外径が拡径された略円錐台状である。

[0017] シリンジ本体部１１２は、シリンジ接続部１１５の他端１１５ｔに接続さ

れる一端 1 1 2 s と、シリンジ先端部 1 1 3 の一端 1 1 3 s に接続される他端 1 1 2 t とを有する。シリンジ本体部 1 1 2 は、シリンジ接続部 1 1 5 よりも外径が小さく、一端 1 1 2 s 側から他端 1 1 2 t 側にかけて緩やかに縮径された直線状の部位であり、略円錐台状である。なお、シリンジ本体部 1 1 2 は、必ずしも縮径されている必要はなく、直線状であってもよい。

[0018] シリンジ本体部 1 1 2 における管状通路 1 1 2 p は、略同径の円筒状管路である。そのため、後述するプランジャ 1 5 0（図 5（a）参照）が、管状通路 1 1 2 p 内を進退移動する際に、第 1 本体部 1 5 7 は、シリンジ本体部 1 1 2 の内周壁と密に当接しやすい。その結果、管状通路 1 1 2 p 内には、吸引時や吐出時に空気がより介在しにくい。したがって、吸引チップ 1 0 0 は、効率よく正確に細胞凝集塊を吸引、吐出することができる。

[0019] シリンジ先端部 1 1 3 は、シリンジ本体部 1 1 2 に接続される一端 1 1 3 s と、吸引口 1 4 0 が形成された他端 1 1 3 t とを有する直線状の部位である。シリンジ先端部 1 1 3 における管状通路 1 1 3 p は、他端 1 1 3 t 側から一端 1 1 3 s 側にかけて順に、径の異なる円筒状微細管路、テーパ管路および円筒状管路から構成されている。円筒状管路は、円筒状微細管路よりも径の大きな管路である。テーパ管路は、円筒状微細管路と円筒状管路とを接続する管路であり、他端 1 1 3 t 側から一端 1 1 3 s 側にかけて径が徐々に拡張されている。円筒状微細管路の長さは特に限定されず、シリンジ部 1 1 0 の製造条件や、吸引する細胞凝集塊の大きさ等に基づいて、たとえば 0.3 ～ 3 mm 程度に設定される。円筒状微細管路が十分な長さを有する場合、細胞凝集塊がテーパ部に挟み込まれにくい。また、テーパ管路は必須ではなく、円筒状微細管路と円筒状管路とが接続されてもよい。さらに、たとえば細胞培養液や抗がん剤等の試薬を分注する用途においては、円筒状管路の長さを変えて、管状通路の内容積を調整してもよい。この場合、たとえば 10 μ L 以下の微量な液体を分注することができる。

[0020] 吸引口 1 4 0 の直径としては特に限定されず、吸引すべき細胞凝集塊の大きさに基づいて適宜設定される。たとえば細胞凝集塊の大きさが 40 ～ 18

0 μm である場合には、吸引口140の直径は0.16~0.20mm程度とすることができる。本実施形態の吸引口140の直径は、0.18mm程度に設定されている。なお、細胞凝集塊が比較的柔軟な性状である場合には、細胞凝集塊の大きさよりも吸引口140の直径が小さくても、吸引時に細胞凝集塊が適宜変形されて吸引されることがある。そのため、吸引口140の直径は、必ずしも細胞凝集塊の大きさより大きく形成される必要はない。

[0021] シリンジ部110全体の説明に戻り、シリンジ部110を構成する材料としては特に限定されず、従来の吸引チップに使用される材料（樹脂材料や金属材料）を採用することができる。たとえば、材料として、ポリプロピレンまたはポリスチレン等の樹脂やガラス等を採用することができる。これらの材料の中でも、シリンジ部110の材料として樹脂を採用することにより、シリンジ部110は、吸引ピペット200と接続する際に接続口120が適度に拡張され、ノズル部210と強固に密着されつつ接続される。本実施形態では、ポリプロピレン製のシリンジ部110が例示されている。

[0022] シリンジ部110の管壁の厚みとしては特に限定されない。本実施形態のシリンジ部の管壁の厚みは、強度や、シリンジ部内を進退移動するプランジャの寸法等に基づいて、たとえば50~600 μm 程度に設定される。

[0023] （プランジャ）

図5は、本実施形態のプランジャ150の構成を説明する模式図であり、図5（a）はプランジャ150の側面図であり、図5（b）はプランジャ150の断面図である。プランジャ150は、プランジャ基端部151と、プランジャ本体部152と、プランジャ先端部153とを含む。

[0024] プランジャ基端部151は、吸引ピペット200の移動部材300と装着するために形成された部位であり、シリンジ基端部111に収容される。プランジャ基端部151は、プランジャ大径部154と、プランジャ接続部155とを含む。

[0025] プランジャ大径部154は、シリンジ大径部114に収容される略円筒状の部材であり、ノズル部210（図2参照）の先端において進退移動する移

動部材 300 の先端が挿入される接続口 160 が形成された一端 154 s と、プランジャ接続部 155 の一端 155 s に接続される他端 154 t を有する。プランジャ大径部 154 の内周壁には、周状の谷部 170 が 2 箇所形成されている。これらの谷部 170 には、移動部材 300 の外周壁に周状に形成された 2 箇所の山部 301 がそれぞれ嵌め合わされる。これにより、移動部材 300 にプランジャ 150 が装着される。なお、山部 301 や谷部 170 を設ける代わりに、汎用の吸引チップを吸引ピペットに嵌め合う場合のように、一方の部材（たとえばプランジャ大径部 154）の内周壁にテーパ加工を施し、他の部材（たとえば移動部材 300）を嵌め合せて接続してもよい。

[0026] 移動部材 300 は、プッシュボタン 220（図 3 参照）と連動して吸引ピペット 200 のノズル部 210 の先端において進退移動する部材である。具体的には、プッシュボタン 220 がユーザにより押し下げられることにより、移動部材 300 は吸引ピペット 200 の先端より押し下げ方向（矢印 A1 方向）に移動する。一方、プッシュボタン 220 がユーザにより引き上げられることにより、移動部材 300 は吸引ピペット 200 の引き上げ方向（矢印 A2 方向）に移動する。これら移動部材 300 の進退移動と連動して、移動部材 300 に装着されたプランジャ 150 はシリンジ本体部 112（図 4（b）参照）の内周壁と当接しつつ進退移動する。

[0027] プランジャ接続部 155 は、プランジャ大径部 154 とプランジャ本体部 152 とを接続する部位である。プランジャ接続部 155 は、プランジャ大径部 154 の他端 154 t と接続される一端 155 s と、第 1 本体部 157 の一端 157 s と接続される他端 155 t とを有する。プランジャ接続部 155 は、プランジャ大径部 154 と、プランジャ大径部 154 よりも外径が小さいプランジャ本体部 152 とを接続するよう、他端 155 t 側から一端 155 s 側へ外径が拡径された略半球状である。

[0028] プランジャ本体部 152 は、プランジャ基端部 151 よりも外径が小さい直線状の部材である。プランジャ本体部 152 は、略円柱状の第 1 本体部 1

５７と、第１本体部１５７に接続された第２本体部１５８とを含む。プランジャ本体部１５２は、シリンジ部１１０内において、主に第１本体部１５７の外周壁をシリンジ本体部１１２の内周壁と当接させながら進退移動する。

[0029] 第１本体部１５７は、プランジャ接続部１５５に接続される一端１５７ｓと、第２本体部１５８の一端１５８ｓに接続される他端１５７ｔとを有する。第１本体部１５７は、外径が一定の円柱状の部材である。そのため、第１本体部１５７は、プランジャ１５０が管状通路内を進退移動する際に、円柱状の外周壁を、上記したシリンジ本体部１１２の内周壁（管状通路１１２ｐの内周壁、図４（ｂ）参照）と密に当接しやすい。その結果、管状通路１１２ｐ内には、吸引時や吐出時に空気がより介在しにくい。したがって、吸引チップ１００（図２参照）は、効率よく正確に対象物を吸引、吐出することができる。

[0030] 第２本体部１５８は、第１本体部１５７の他端１５７ｔに接続される一端１５８ｓと、プランジャ先端部１５３の一端１５３ｓと接続される他端１５８ｔとを有する。後述するように、プランジャ先端部１５３の外径は、吸引口１４０の直径と略同じになるように設定される。また、本実施形態における吸引口１４０の直径は、上記のとおり、０．１８ｍｍ程度である。そのため、第２本体部１５８は、このように径の異なる２つの部位（プランジャ先端部１５３および第１本体部１５７）を接続する部位として設けられている。

[0031] プランジャ先端部１５３は、第２本体部１５８の他端１５８ｔに接続された一端１５３ｓを有する略円筒状の部材である。プランジャ先端部１５３は、細胞凝集塊の吸引前および細胞凝集塊の吐出時に吸引口１４０から突出され、細胞凝集塊の吸引時にシリンジ部１１０内に没入される。

[0032] プランジャ先端部１５３の長さとしては特に限定されず、細胞凝集塊の吸引前や吐出時において、空気や細胞凝集塊をシリンジ部１１０内から吐出するために十分な長さであればよい。プランジャ先端部１５３の長さは、たとえば０．６～１．２ｍｍに設定されている。プランジャ先端部１５３の長さ

をこのような範囲とすることにより、空気や細胞凝集塊をシリンジ部 110 内から吐出することができるとともに、プランジャ先端部 153 は、吸引口 140 から突出されすぎないため損傷が防がれる。本実施形態では、吸引口 140 から 0.6 mm 突出するプランジャ先端部 153 が例示されている。

[0033] プランジャ先端部 153 の外径としては特に限定されず、吸引口 140 (図 4 (a) および図 4 参照) の直径に基づいて、吸引口 140 の直径と同程度となるよう適宜設定される。上記のとおり、吸引口 140 の直径は、0.16~0.20 mm 程度とすることができ、本実施形態における吸引口 140 の直径は 0.18 mm 程度に設定されている。したがって、プランジャ先端部 153 の外径は、たとえば 0.15~0.19 mm 程度に設定される。本実施形態のプランジャ先端部 153 の外径は、1.7 mm である。このように、本実施形態のプランジャ先端部 153 の外径は、吸引口 140 の直径と同程度となるよう設定されているため、細胞凝集塊の吸引前や吐出時においてプランジャ先端部 153 を吸引口 140 から突出させた場合に、空気や細胞凝集塊は、シリンジ部 110 内に残存しにくく、略全量が吐出される。また、これら空気や細胞凝集塊は、吸引口 140 の周囲に付着しにくい。その結果、たとえば、引き続いて吸引チップ 100 が使用される場合であっても、連続して採取される試料間で試料汚染を起こしにくい。

[0034] プランジャ 150 全体の説明に戻り、プランジャ 150 を構成する材料としては特に限定されず、たとえば、ポリアセタール、ポリエチレン、ポリスチレン等の樹脂を採用することができる。本実施形態では、ポリアセタール製のプランジャ 150 が例示されている。

[0035] <吸引方法>

次に、図 1 に加え、図 6 を参照しながら上記吸引チップ 100 を用いた本実施形態の吸引方法について説明する。図 6 は、本実施形態の吸引方法を行う吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 6 (a) は空気排出工程 S100 における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 6 (b) は空気排出工程 S100 における吸引チップ 100 の動作および検

出工程 S 2 0 0 を説明する模式図であり、図 6 (c) は吸引準備工程 S 3 0 0 における吸引チップ 1 0 0 の動作を説明する模式図であり、図 6 (d) は吸引工程 S 4 0 0 における吸引チップ 1 0 0 の動作を説明する模式図であり、図 6 (e) は吐出工程 S 5 0 0 における吸引チップ 1 0 0 の動作を説明する模式図である。本実施形態では、一例として、シャーレ等の上部が開口された容器 C 1 に細胞培養液 L m 1 が貯留されており、細胞培養液 L m 1 中の細胞凝集塊 C を吸引し、その後吐出する動作について説明する。容器 C 1 は、ステージ S の水平な載置面に載置されている。細胞凝集塊 C は、略球形である。

[0036] (空気排出工程 S 1 0 0)

空気排出工程 S 1 0 0 は、プランジャ先端部 1 5 3 を吸引口 1 4 0 から突出させて管状通路内 (吸引空間内) の空気を吸引口 1 4 0 から排出する工程である。まず、図 6 (a) に示されるように、吸引前の吸引チップ 1 0 0 は、プランジャ先端部 1 5 3 がシリンジ部 1 1 0 内に没入されている。本実施形態の吸引方法は、まず、プランジャ 1 5 0 を吐出方向 (矢印 A 3 方向) へ移動させ、プランジャ先端部 1 5 3 を吸引口 1 4 0 から吐出させて図 6 (b) の状態に変位させる。これにより、シリンジ本体部 1 1 2 の内部領域に存在していた空気が排出される。プランジャ 1 5 0 の吐出方向への移動は、たとえばユーザが吸引ピペット 2 0 0 のプッシュボタン 2 2 0 (図 3 参照) を押し下げ方向 (矢印 A 1 方向) に押し下げることにより移動部材 3 0 0 (図 5 参照) を吐出方向側へ移動させることにより行われる。なお、図 6 (a) の状態から図 6 (b) の状態への変位は、空気中で行われることが好ましいが、吸引口 1 4 0 を細胞培養液 L m 1 に浸漬した状態で行われてもよい。図 6 (a) の状態から図 6 (b) の状態への変位を空気中で行うことにより、細胞培養液 L m 1 に浸漬した状態で行う場合よりも、排出された空気が吸引口 1 4 0 の近傍に付着することを防ぐことができる。

[0037] (検出工程 S 2 0 0)

検出工程 S 2 0 0 は、吸引口 1 4 0 から突出されたプランジャ先端部 1 5

3の先端面153aの位置を検出する工程である。図6(b)に示されるように、容器C1の下方には、撮像装置IS(検出手段)が配置されている。撮像装置ISは、容器C1内に保持された細胞凝集塊Cと、先端面153aの位置を下方より観察するために設けられている。撮像装置ISは、図示しない対物レンズ、対物レンズの射出絞り(レンズ光学系)、接眼レンズの視野絞り、接眼レンズ、撮像素子であるCCD(電荷結合素子 Charge Coupled Device)イメージセンサ、画像処理部および表示装置D等を備える。CCDイメージセンサは、受光面に形成された光像を電気的な画像データ信号に変換する。画像処理部は、必要に応じて画像データにガンマ補正やシェーディング補正などの画像処理を施す。表示装置Dは、画像処理後の画像データを表示する。ユーザは、表示装置Dに表示された画像を見ながら、先端面153aの位置が細胞凝集塊Cの真上なるよう吸引チップ100が装着された吸引ピペット(図示せず)の位置を適宜移動させる。本実施形態の検出工程S200では、上記した空気排出工程S100においてシリンジ部110内から空気が排出されている。そのため、空気によって正確な測定が妨げられないため、観察精度が向上する。なお、ユーザが行う動作は、外部に付設した制御装置(図示せず)により行ってもよい。この場合、制御装置は、たとえば、先端面153aの位置と、細胞凝集塊Cの位置とを比較し、先端面153aの位置が細胞凝集塊Cの真上にない場合には吸引チップ100の先端面153aが細胞凝集塊Cの真上に配置されるよう吸引ピペットを移動させるプログラムを実行する。

[0038] (吸引準備工程S300)

図7は、吸引準備工程S300を説明するフローチャートである。吸引準備工程S300は、浸漬工程S310と、移動工程S320(受入領域形成工程S321)と、接近工程S330とを含む。

[0039] 浸漬工程S310は、空気が排出されたシリンジ部110の吸引口140を細胞培養液Lm1に浸漬する工程である。図6(c)に示されるように、吸引チップ100は、吸引口140が形成されたプランジャ先端部153を

下方向へ移動させ、吸引口140を細胞培養液Lm1に浸漬させる。この際、続く移動工程S320において細胞凝集塊Cの周囲に液流がなるべく発生しないように、吸引口140は、細胞凝集塊Cから比較的離れた位置にまで接近させられることが好ましい。具体的には、吸引口140は、わずかに細胞培養液Lm1の液面に浸される程度の位置に浸漬されることが好ましい。吸引チップ100の下方向への移動は、たとえばユーザが、吸引チップ100を装着した吸引ピペット200（図3参照）を下方向へ移動させることにより行われる。他にも、第4の実施形態として後述するように、吸引チップ100aを装着した吸引ピペット200aを移動装置550に接続し、移動装置550をモータにより駆動させて、吸引チップ100aを下方向へ移動させて、吸引口140を細胞培養液に浸漬させてもよい。

[0040] 移動工程S320は、プランジャ先端部153を、シリンジ部110の内部方向へ所定の距離だけ移動させる工程である。所定の距離としては特に限定されないが、本実施形態ではプランジャ先端部153がシリンジ部110内に没入される場合（受入領域形成工程S321）について図8を参照しながら説明する。

[0041] 図8は、受入領域形成工程S321における吸引チップ100の動作を説明する模式図である。受入領域形成工程S321は、プランジャ先端部153をシリンジ部110内に没入させて、シリンジ部110内に、先端面153aとシリンジ部110の内周壁とにより規定される受入領域Arを形成するとともに、受入領域Ar内に細胞培養液Lm1を保持する工程である。

[0042] プランジャ先端部153は、吸引方向（矢印A4方向）に移動されることにより、シリンジ部110内に没入される。このとき、吸引口140は細胞培養液Lm1に浸漬されているため、シリンジ部110内には細胞培養液Lm1が吸引されるとともに、先端面153aとシリンジ部110の内周壁とにより規定される受入領域Arが形成される。受入領域Ar内は、細胞培養液Lm1で満たされており、空気が介在しない。プランジャ先端部153の吸引方向（矢印A4方向）への移動は、たとえばユーザが吸引ピペット200

0のプッシュボタン220（図3参照）を引き上げ方向（矢印A2方向）に引き上げるにより移動部材300（図5参照）を吸引方向側へ移動させることにより行われる。

[0043] 接近工程S330は、吸引口140を細胞凝集塊Cに接近させる工程である。具体的には、接近工程S330は、上記した検出工程S200において検出された先端面153aの位置に基づいて、吸引チップ100を鉛直下方へ移動させ、吸引口140を細胞凝集塊Cに接近させるとともに、上記した受入領域形成工程S321において形成された受入領域Ar内に細胞凝集塊Cの少なくとも一部が取り込まれるよう吸引口140を細胞凝集塊Cに接近させる工程である。

[0044] 図9は、接近工程S330における吸引チップ100の動作を説明する模式図である。吸引チップ100は、鉛直下方（矢印A5方向）に移動される。これにより、細胞凝集塊Cは、一部が受入領域Arに取り込まれる。このとき、先端面141は、容器C1の内底面C1aからわずかに離間されていることが好ましい。これにより、細胞凝集塊Cの周囲に夾雑物Cxが存在している場合であっても、このような夾雑物Cxは吸引口140から吸引されにくく、かつ、細胞培養液Lm1が吸引口140から吸引される際の流路（矢印A6）が確保される。吸引チップ100の鉛直下方（矢印A5方向）への移動は、たとえばユーザが、吸引チップ100を装着した吸引ピペット200（図3参照）を鉛直下方へ移動させることにより行われる。他にも、第4の実施形態として後述するように、吸引チップ100aを装着した吸引ピペット200aを移動装置550に接続し、移動装置550をモータにより駆動させて、吸引チップ100aを鉛直下方へ移動させて、受入領域Ar内に細胞凝集塊Cの少なくとも一部が取り込まれるよう吸引口140を細胞凝集塊Cに接近させてもよい。

[0045] 吸引工程S400は、プランジャ先端部153をシリンジ部110の内部方向へ移動させることにより管状通路内（吸引空間内）に吸引力を発生させて、吸引口140から細胞凝集塊Cを吸引する工程である。図6（d）に戻

り、プランジャ150を吸引方向（矢印A4方向）へさらに移動させ、シリンジ本体部112内に吸引力を発生させて細胞凝集塊をシリンジ本体部112の管状通路112p内に吸引する。細胞凝集塊Caは、管状通路112pに吸引された細胞凝集塊を示している。この際、吸引口140は細胞培養液Lm1に浸漬されたままであるため、シリンジ本体部112内に空気が流入することがない。また、吸引時に空気が介在しないため、プランジャ150が吸引方向へ移動することによりシリンジ本体部112内に形成される受入領域Arは、細胞凝集塊Caや細胞培養液Lm1によって満たされる。そのため、本実施形態の吸引方法によれば、たとえば従来のような吸引時に空気が介在する場合と比較して、空気の膨張に伴う吸引の遅延（吸引時のレスポンスの低下）を起こさず、正確な量を吸引することができる。プランジャ先端部153のシリンジ部110内部方向への移動は、たとえばユーザが吸引ピペット200のプッシュボタン220（図3参照）を引き上げ方向（矢印A2方向）に引き上げるることにより移動部材300（図5参照）を吸引方向側へ移動させることにより行われる。

[0046] 吐出工程S500は、プランジャ先端部153を吸引口140から突出させて管状通路内の細胞凝集塊を吐出する工程である。図6（e）に示されるように、プランジャ150を吐出方向（矢印A3方向）へ移動させ、プランジャ先端部153を吸引口140から突出させて、管状通路に保持されていた細胞凝集塊を、別途準備された細胞保持液Lm2が貯留された容器C2に吐出する。細胞凝集塊Cbは、吐出された細胞凝集塊を示している。この際、プランジャ本体部152は、外周壁をシリンジ本体部112の内周壁と当接させながら移動するため、シリンジ本体部112内に保持されていた細胞凝集塊Cや、該細胞凝集塊Cと同時に吸い上げられてシリンジ本体部112内に保持されていた細胞培養液Lm1がシリンジ本体部112内に残存することなく吐出される。また、吸引時と同様に、吐出時に空気が介在しないため、シリンジ本体部112内に保持されていた細胞凝集塊Cや細胞培養液Lm1は、プランジャ150が吐出方向へ移動することによりプランジャ先端

部 1 5 3 に押し出されるように吐出される。そのため、本実施形態の吸引方法によれば、たとえば従来のような吐出時に空気が介在する場合と比較して、空気の圧縮に伴う吐出の遅延（吐出時のレスポンスの低下）を起こさず、正確な量を吐出することができる。プランジャ先端部 1 5 3 の吐出方向への移動は、たとえばユーザが吸引ピペット 2 0 0 のプッシュボタン 2 2 0（図 3 参照）を押し下げ方向（矢印 A 1 方向）に押し下げることにより移動部材 3 0 0（図 5 参照）を吐出方向側へ移動させることにより行われる。なお、細胞凝集塊は、細胞保持液 L m 2 に吐出する場合のほか、細胞培養液とともに乾いた面（たとえばガラスプレート上）に吐出してもよい。

[0047] このように、本実施形態の吸引方法によれば、空気が介在しないため、吸引速度や吐出速度の低下が起こりにくく、作業効率がよい。また、吸引時、吐出時ともに空気が介在せず、吸引される対象物（細胞凝集塊 C および細胞培養液 L m 1）の量は、プランジャ 1 5 0 が没入されることにより形成されるシリンジ部 1 1 0 の受入領域 A r の容積と一致する。そして、この領域に吸引された細胞凝集塊 C および細胞培養液 L m 1 は、全量が吐出される。そのため、本実施形態の吸引方法によれば、正確な量が吸引、吐出されやすい。さらに、吐出時には、プランジャ本体部 1 5 2 は外周壁をシリンジ本体部 1 1 2 の内周壁と当接させつつ移動し、プランジャ先端部 1 5 3 を吸引口 1 4 0 から突出させる。そのため、細胞凝集塊 C や同時に吸引された細胞培養液 L m 1 が内周壁や吸引口 1 4 0 の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。また、全量が吐出されるため、引き続いて吸引チップ 1 0 0 が使用される場合であっても、連続して採取される試料間で試料汚染を起こしにくい。さらに、たとえば吸引チップ 1 0 0 内に対象物を保持したまま、顕微鏡等の観察手段で細胞凝集塊を観察する場合には、管状通路内に空気が存在しないため、観察精度が向上する。

[0048]（第 2 の実施形態）

以下に、本発明の第 2 の実施形態の吸引方法について、図面を参照しながら詳細に説明する。図 1 0 は、本実施形態の吸引方法の吸引準備工程 S 3 0

0 a のフローチャートである。本実施形態の吸引方法は、吸引準備工程 S 3 0 0 a における移動工程 S 3 2 0 a が異なる以外は第 1 の実施形態の吸引方法と同様である。そのため、第 1 の実施形態と同様に図 1、図 6 (a) ~ 図 6 (e) を適宜参照するとともに、重複する工程の説明は適宜省略する。また、第 1 の実施形態において説明した構成と同様の構成については同一の参照符号を付して説明を適宜省略する。なお、本実施形態で吸引される細胞凝集塊 C a (図 1 1 参照) は比較的扁平な形状である。このような形状の細胞は、たとえば二次元培養を行うことにより作製することができる。

[0049] (空気排出工程 S 1 0 0)

空気排出工程 S 1 0 0 は、第 1 の実施形態において上記したとおりである。図 6 (a) および図 6 (b) に示されるように、空気排出工程 S 1 0 0 によれば、プランジャ先端部 1 5 3 が吸引口 1 4 0 から突出されることにより、管状通路内の空気が排出される。

[0050] (検出工程 S 2 0 0)

検出工程 S 2 0 0 は、第 1 の実施形態において上記したとおりである。図 6 (b) に示されるように、検出工程 S 2 0 0 によれば、吸引口 1 4 0 から突出されたプランジャ先端部 1 5 3 の先端面 1 5 3 a の位置が検出される。

[0051] (吸引準備工程 S 3 0 0)

吸引準備工程 S 3 0 0 は、浸漬工程 S 3 1 0 と、移動工程 S 3 2 0 a と、接近工程 S 3 3 0 とを含む。

[0052] 浸漬工程 S 3 1 0 は、第 1 の実施形態において上記したとおりである。図 6 (c) に示されるように、浸漬工程 S 3 1 0 によれば、吸引口 1 4 0 が細胞培養液 L m 1 に浸漬される。

[0053] 移動工程 S 3 2 0 a は、先端面 1 5 3 a と、吸引口 1 4 0 が形成されたシリンジ部 1 1 0 の先端面 1 4 1 とが揃うように、プランジャ先端部 1 5 3 をシリンジ部 1 1 0 の内部方向へ移動させる工程である。図 1 1 は、移動工程 S 3 2 0 a における吸引チップ 1 0 0 の動作を説明する模式図である。プランジャ先端部 1 5 3 は、吸引方向 (矢印 A 4 方向) に移動されることにより

、先端面１５３aと、シリンジ部１１０の先端面１４１とが揃えられる。

[0054] 接近工程Ｓ３３０は、第１の実施形態において上記したとおりである。図１２は、接近工程Ｓ３３０における吸引チップ１００の動作を説明する模式図である。接近工程Ｓ３３０によれば、吸引口１４０が細胞凝集塊Ｃaに接近される。ここで、本実施形態の吸引方法は、移動工程Ｓ３２０aにおいてプランジャ先端部１５３の先端面１５３aとシリンジ部１１０の先端面１４１とが揃えられている。そのため、接近工程Ｓ３３０では、プランジャ先端部１５３が吸引口１４０から突出された状態（図６（c）参照）と比較して、吸引口１４０を細胞凝集塊Ｃaに接近させやすい。

[0055] 吸引工程Ｓ４００は、第１の実施形態において上記したとおりである。吸引工程Ｓ４００によれば、プランジャ先端部１５３がシリンジ部１１０の内部方向へ移動され、管状通路内に吸引力が発生され、吸引口１４０から細胞凝集塊が吸引される。図１３は、吸引工程Ｓ４００における吸引チップ１００の動作を説明する模式図である。上記のとおり、本実施形態の吸引方法は、移動工程Ｓ３２０aにおいてプランジャ先端部１５３の先端面１５３aとシリンジ部１１０の先端面１４１とが揃えられ、接近工程Ｓ３３０において吸引口１４０が細胞凝集塊Ｃaに十分に接近されている。そのため、細胞凝集塊Ｃaの形状が本実施形態のような扁平形状であり、容器Ｃ１の内底面Ｃ１aに付着するように保持されている場合であっても、細胞凝集塊Ｃaは管状通路内に発生された吸引力により内底面Ｃ１aから引き剥がされるように吸引される。細胞凝集塊Ｃa１は、容器Ｃ１の内底面Ｃ１aから引き剥がされるように吸引されている細胞凝集塊を示している。

[0056] 吐出工程Ｓ５００は、第１の実施形態において上記したとおりである。吐出工程Ｓ５００によれば、プランジャ先端部１５３が吸引口１４０から突出され、管状通路内の細胞凝集塊が吐出される。

[0057] このように、本実施形態の吸引方法によれば、細胞凝集塊Ｃaが扁平な形状であり、容器Ｃ１の内底面Ｃ１aに付着するように保持されている場合であっても、吸引口１４０を十分に接近させて、吸引することができる。また

、本実施形態の吸引方法は、細胞凝集塊の大きさが大きく受入領域 A_r （図 8 参照）内に細胞凝集塊の一部を取り込むことができない場合や、吸引対象となる細胞凝集塊の周囲に他の細胞凝集塊が存在しない場合にも行うことができる。なお、本実施形態の吸引方法において、扁平な形状の細胞凝集塊 C_a を吸引する際に、プランジャ先端部 153 の先端面 153a と、シリンジ部 110 の先端面 141 とを完全に揃える必要はなく、第 1 の実施形態において図 8 を参照して説明した場合と同様に、たとえば細胞凝集塊 C_a の厚み分だけ受入領域 A_r を形成してから吸引してもよい。

[0058]（第 3 の実施形態）

以下に、本発明の第 3 の実施形態の吸引方法について、図面を参照しながら詳細に説明する。図 14 は、本実施形態の吸引方法のフローチャートである。図 15 は、本実施形態の吸引方法を行う吸引チップの動作を説明する模式図であり、図 15（a）は空気排出工程 S100 における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 15（b）は空気排出工程 S100 における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 15（c）は吸引準備工程 S300b における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 15（d）は吸引工程 S400 における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図であり、図 15（e）は吐出工程 S500 における吸引チップ 100 の動作を説明する模式図である。本実施形態の吸引方法は、検出工程 S200 と、吸引準備工程 S300b における接近工程 S330 が省略される以外は、第 1 の実施形態の吸引方法と同様である。そのため、重複する工程の説明は適宜省略する。また、第 1 の実施形態において説明した構成と同様の構成については同一の参照符号を付して説明を適宜省略する。なお、本実施形態の吸引方法において吸引される対象物は、高粘度の細胞保持液（液体）である。

[0059]（空気排出工程 S100）

空気排出工程 S100 は、第 1 の実施形態において上記したとおりである。図 15（a）および図 15（b）に示されるように、空気排出工程 S100

0によれば、プランジャ先端部153が吸引口140から突出されることにより、管状通路内の空気が排出される。

[0060] (吸引準備工程S300b)

吸引準備工程S300bは、浸漬工程S310と、移動工程S320とを含む。

[0061] 浸漬工程S310は、第1の実施形態において上記したとおりである。図15(c)に示されるように、浸漬工程S310によれば、空気が排出されたシリンジ部110の吸引口140が細胞保持液Lm3に浸漬される。

[0062] 移動工程S320は、プランジャ先端部153を、シリンジ部110の内部方向へ所定の距離だけ移動させる工程である。本実施形態ではプランジャ先端部153がシリンジ部110内に没入される場合を、受入領域形成工程S321として図15(d)を参照しながら説明する。図15(d)に示されるように、受入領域形成工程S321は、プランジャ先端部153をシリンジ部110内に没入させて、シリンジ部110内に、プランジャ先端部153の先端面153aとシリンジ部110の内周壁とにより規定される受入領域Arを形成するとともに、受入領域Ar内に細胞保持液Lm3を保持する工程である。具体的には、プランジャ先端部153は、吸引方向(矢印A4方向)に移動されることにより、シリンジ部110内に没入される。このとき、吸引口140は細胞保持液Lm3に浸漬されているため、シリンジ部110内には細胞保持液Lm3が吸引されるとともに、先端面153aとシリンジ部110の内周壁とにより規定される受入領域Arが形成される。受入領域Ar内は、細胞保持液Lm3で満たされており、空気が介在しない。

[0063] 吸引工程S400は、プランジャ先端部153をシリンジ部110の内部方向へ移動させることにより管状通路内に吸引力を発生させて、吸引口140から細胞保持液Lm3を吸引する工程である。プランジャ150を吸引方向(矢印A4方向)へ移動させ、シリンジ本体部112内に吸引力を発生させて細胞培養液をシリンジ本体部112の管状通路112p内に吸引する。この際、吸引口140は細胞保持液Lm3に浸漬されているため、シリンジ

本体部 1 1 2 内に空気が流入することがない。また、吸引時に空気が介在しないため、プランジャ 1 5 0 が吸引方向へ移動することによりシリンジ本体部 1 1 2 内に形成される受入領域 A r は、細胞保持液 L m 3 によって満たされる。そのため、たとえば従来のような吸引時に空気が介在する場合と比較して、空気の膨張に伴う吸引の遅延（吸引時のレスポンスの低下）が起これず、正確な量が吸引される。また、シリンジ本体部 1 1 2 内に空気が存在していないため、たとえば吸引後に吸引チップを吐出場所へ移動させる際に、空気が膨張することによって引き起こされる吸引口 1 4 からの液だれが起これにくい。

[0064] 吐出工程 S 5 0 0 は、第 1 の実施形態において上記したとおりである。図 1 5 (e) に示されるように、吐出工程 S 5 0 0 によれば、プランジャ先端部 1 5 3 が吸引口 1 4 0 から突出され、管状通路内の細胞保持液は、別途用意されたシャーレ等の容器 C 2 に吐出される。細胞保持液 L m 4 は、吐出された細胞保持液を示している。

[0065] このように、本実施形態の吸引方法によれば、高粘度の細胞保持液 L m 3 を吸引する場合であっても、吸引速度の低下が起これにくく、正確な量が受入領域 A r 内に保持される。続く吸引工程 S 4 0 0 でさらにプランジャ先端部 1 5 3 がシリンジ部 1 1 0 の内部方向へ移動する際にも、細胞保持液 L m 3 は、吸引速度の低下が起これにくく正確な量が吸引される。その結果、本発明の吸引方法は、細胞保持液 L m 3 の性状によらず正確な量を吸引することができ、分注方法として好適に採用される。なお、本実施形態において分注される液体は、細胞保持液に限定されず、種々の液体であってもよい。

[0066] (第 4 の実施形態)

以下に、本発明の吸引方法を実施するための吸引装置の一例について図 1 6 を参照しながら詳細に説明する。

[0067] <吸引装置>

図 1 6 は、吸引チップ 1 0 0 a を用いた吸引装置 5 0 0 の構成を説明する模式図である。吸引装置 5 0 0 は、吸引される細胞凝集塊を保持する保持孔

５１１を備える培養ウェル５１０が載置されるステージ５２０と、ステージ５２０に載置される培養ウェル５１０から上方に離間して配置され、保持孔５１１に保持される細胞凝集塊に対して上方より照射光を照射するコンデンサ５３０（照射手段）と、ステージ５２０に載置される培養ウェル５１０の下方に配置され、保持孔５１１に保持される細胞凝集塊を下方より観察する撮像装置５４０（観察手段）と、撮像装置５４０に付設された表示装置５４１と、保持孔５１１に保持される細胞凝集塊を吸引するための吸引チップ１００ａと、吸引のための吸引力を発生させる吸引ピペット２００ａと、吸引ピペット２００ａを上下に移動させる移動装置５５０（駆動手段）とを備える。なお、コンデンサ５３０および撮像装置５４０は、それぞれ倒立位相差顕微鏡の照明系および撮像系を構成する装置である。また、吸引チップ１００ａのシリンジ部１１０ａは、略Ｌ字状に屈曲されたホルダ部４００に接続されており、プランジャ（図示せず）は、ホルダ部４００内において進退移動するピストン部材（図示せず）に接続されている。ピストン部材は、吸引ピペット２００ａのノズル部（図示せず）において進退移動する移動部材（図示せず）に接続されている。移動装置５５０は、モータ制御されたシリンジポンプ（図示せず）を備えており、該シリンジポンプにより、吸引ピペット２００ａの移動部材を進退移動させ、これと連動してピストン部材およびプランジャを進退移動させる。

[0068] 吸引装置５００は、移動装置５５０のシリンジポンプを駆動させることにより、吸引ピペット２００ａの移動部材と吸引チップ１００ａのピストン部材を吐出方向（矢印Ａ３方向）へ移動させ、プランジャ先端部を吸引口１４０から突出させて管状通路内の空気を排出する（空気排出工程Ｓ１００）。次いで、撮像装置５４０は、吸引口１４０から突出されたプランジャ先端部１５３の先端面の位置と、保持孔５１１に保持された細胞凝集塊の位置とを検出する（検出工程Ｓ２００）。その際、細胞凝集塊の真上にプランジャ先端部１５３の先端面が配置されるよう、ステージを前後方向や左右方向へ適宜移動させて吸引チップ１００ａが接続された吸引ピペット２００ａを移動

させる。さらに、モータを駆動させることにより移動装置 550 を下方方向（矢印 A7 方向）へ移動させ、空気が排出されたシリンジ部 110a の吸引口 140 を保持孔 511 内に貯留された細胞培養液に浸漬する（吸引準備工程 S300）。さらに、吸引装置 500 は、移動装置 550 のシリンジポンプを駆動させることにより、吸引ピペット 200a の移動部材と吸引チップ 100a のピストン部材を吸引方向（矢印 A4 方向）へ移動させ、プランジャ先端部 153 をシリンジ部 110a の内部方向へ移動させることにより管状通路内に吸引力を発生させて、吸引口 140 から細胞凝集塊を吸引する（吸引工程 S400）。最後に、吸引口 140 を細胞培養液が保持された保持孔 511 から引き上げるとともに、ステージを前後方向や左右方向へ適宜移動させ、吸引口 140 を、ステージの上に載置された回収用プレート（図示せず）の真上に移動させる。その後、プランジャ先端部 153 を吸引口 140 から吐出させることにより、細胞凝集塊を吐出する（吐出工程 S500）。

[0069] このように、本実施形態の吸引装置 500 によれば、第 1 の実施形態において上記した吸引方法が適切に実施される。そのため、吸引装置 500 によれば、吸引時における空気の影響が排除され、効率よく正確に細胞凝集塊が吸引される。

[0070] 以上、本発明の実施形態を説明したが、本発明はこれに限定されるものではなく、たとえば次のような変形実施形態を採用することができる。

[0071] （1）上記実施形態では、吸引される物体（対象物）として細胞凝集塊を例示した。本発明は、これに代えて、たとえば iPS 細胞や ES 細胞のコロニー、スフェロイド、オルガノイド、単一の細胞を吸引される対象物としてもよい。いずれを対象物とする場合であっても、上記のとおり、本発明の吸引方法によれば、吸引または吐出時における空気の影響を排除することができるため、吸引速度や吐出速度の低下が起こりにくく、作業効率がよい。また、吸引時、吐出時ともに空気が介在せず、吸引される対象物の量は、プランジャが没入されることにより形成されるシリンジ部の内部領域の容積と一致する。そして、この内部領域に吸引された対象物は、全量が吐出される。

そのため、本発明の吸引方法によれば、正確な量が吸引、吐出されやすい。さらに、吐出時には、プランジャは、外周壁をシリンジ部の内周壁と当接させつつ移動し、プランジャ先端部を吸引口から突出させる。そのため、対象物が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。

[0072] なお、本発明では、上記物体は生体由来の細胞であることが好ましく、生体由来の細胞凝集塊であることがより好ましい。すなわち、従来の吸引方法によれば、細胞を吸引または吐出する際に空気が介在するため、管状通路の内周壁や吸引口の周囲等に細胞が付着して残りやすい。しかしながら、本発明の吸引方法では、吸引前に、プランジャにより、シリンジ部の管状通路から空気が排出される。また、吸引時にプランジャ先端部がシリンジ部内に没入されるとともに、空気の排出された管状通路内に細胞および細胞を保持していた液体（たとえば細胞培養液）が吸引されるため、吸引時、吐出時ともに空気が介在しない。そのため、吸引時には細胞が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。その結果、細胞が正確に計量され、各種実験等において信頼性の高い結果が得られる。

[0073] また、生体由来の細胞凝集塊は、1個の細胞を用いて得た試験結果よりも、細胞凝集塊の内部に各細胞間の相互作用を考慮した生体類似環境が再構築されており、個々の細胞の機能を考慮した結果が得られ、かつ、実験条件を、より生体内における環境に即した条件に揃えることができるため、再生医療分野や抗がん剤等の医薬品の開発分野において重要とされている。細胞凝集塊の具体例としては、たとえば、B x P C - 3（ヒト膵臓腺癌細胞）、胚性幹細胞（E S細胞）、人工多能性幹細胞（i P S細胞）等が挙げられる。一般にこのような細胞凝集塊は、個々の細胞が数個～数十万個凝集して形成されている。本発明の吸引方法では、吸引前に、プランジャにより、シリンジ部の管状通路から空気が排出される。また、吸引時にプランジャ先端部がシリンジ部内に没入されるとともに、空気の排出された管状通路内に細胞凝集塊および細胞凝集塊を保持していた液体（たとえば細胞培養液）が吸引さ

れるため、吸引時、吐出時ともに空気が介在しない。そのため、吸引時には細胞凝集塊が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。その結果、細胞凝集塊が正確に計量されるため、バイオ関連技術や医薬の分野（再生医療分野や抗がん剤等の医薬品の開発分野を含む）において信頼性の高い結果が得られる。さらに、たとえばフローサイトメーターや流路チップにより対象物（たとえば細胞凝集塊）を移動させる方法では、水圧、水流、電界等のストレスが細胞凝集塊に加えられる。しかしながら、本発明の吸引方法では細胞凝集塊へのダメージが極めて小さいため、細胞凝集塊にストレスを加えることなく吸引前の状態を維持することができる。ほかにも、流路チップのような流路を使ったものでは、細胞凝集塊の種類を変更するたびに流路部材を交換等のメンテナンスが必要であり手間とコストがかかるが、本発明では使い捨ての吸引チップのみが必要であり、手間やコストが少ない。

[0074] （２）上記実施形態では、細胞凝集塊が細胞培養液に保持される場合を例示した。これに代えて、本発明の吸引方法では、細胞凝集塊を保持する液体として、細胞凝集塊の性状を劣化させないものを適宜使用することができる。代表的な液体としては、たとえば基本培地、合成培地、イーグル培地、RPMI培地、フィッシャー培地、ハム培地、MCDB培地、血清などの培地のほか、冷凍保存前に添加するグリセロール、セルバンカー（十慈フィールド（株）製）等の細胞凍結液、ホルマリン、蛍光染色のための試薬、抗体、精製水、生理食塩水などを挙げることができる。また、細胞凝集塊に合わせた培養保存液を用いることができる。たとえば、細胞凝集塊がB x PC-3（ヒト膵臓腺癌細胞）である場合には、RPMI-1640培地に牛胎児血清FBS（Fetal Bovine Serum）を10%混ぜたものに、必要に応じて抗生物質、ピルビン酸ナトリウムなどのサプリメントを添加したものをを用いることができる。

[0075] （３）上記実施形態（第1の実施形態）では、検出工程が空気排出工程の後であって吸引準備工程の前に行われる場合を例示した。これに代えて、本

発明の吸引方法は、吸引工程よりも前に検出工程を採用すればよい。そのため、検出工程は、たとえば吸引口が細胞培養液等の液体に浸漬された後（浸漬工程の後）に行われてもよい。また、第2の実施形態において上記したように、対象物が液体である場合には、吸引口から突出された先端部の先端面の位置を厳密に把握する必要がないため、検出工程は適宜省略されてもよい。

[0076] （4）上記実施形態（第3の実施形態）では、細胞培養液をシリンジ部内に吸引する工程として、受入領域形成工程と吸引工程とを分けて説明した。これに代えて、本発明の吸引方法は、これら2つの工程を実質的に1つの工程として連続的に行ってもよい。

[0077] 上述した具体的実施形態には以下の構成を有する発明が主に含まれている。

[0078] 本発明の一局面による吸引方法は、吸引口および吸引空間を備える吸引チップを用いて対象物を吸引する吸引方法であって、前記対象物が、液体または液体中に保持された物体であり、前記吸引空間内の空気を前記吸引口から排出する空気排出工程と、前記吸引口を前記液体に浸漬する浸漬工程を含む吸引準備工程と、前記吸引口から前記吸引空間内に前記対象物を吸引する吸引工程と、を備えることを特徴とする。

[0079] このように、本発明の吸引方法は、空気排出工程において吸引空間内の空気が排出し、吸引準備工程の浸漬工程において吸引口が浸漬される。吸引方法は、吸引工程において、吸引口から吸引空間内に対象物を吸引する。そのため、吸引時に吸引空間内に空気が介在することを防ぐことができる。その結果、吸引速度の低下が起こりにくく、作業効率がよい。また、吸引時に空気が介在しないため、吸引される対象物の量は、吸引時に形成される吸引空間の容積と一致する。そのため、本発明の吸引方法によれば、正確な量が吸引されやすい。さらに、たとえば吸引チップ内に対象物を保持したまま、顕微鏡等の観察手段で対象物を観察する場合において、吸引空間内には空気が存在しないため、観察精度が向上する。

[0080] 上記構成において、前記吸引空間は、前記吸引口を開口終端とする管状通路であり、前記吸引チップは、前記管状通路を内部に備えるシリンジ部と、前記管状通路を画定する内周壁と当接しつつ前記管状通路内を進退移動するプランジャと、を備え、前記空気排出工程は、前記プランジャの先端部を前記吸引口から突出させて前記空気を前記吸引口から排出する工程であり、前記吸引工程は、前記先端部を前記シリンジ部の内部方向へ移動させることにより前記吸引口から前記管状通路内に前記対象物を吸引する工程であることが好ましい。

[0081] このような構成によれば、空気排出工程においてプランジャの先端部を吸引口から突出させて管状通路内の空気を排出し、吸引工程において先端部をシリンジ部の内部方向へ移動させることにより管状通路内に吸引力を発生させて、吸引口から対象物を吸引する。そのため、吸引時に管状通路内に空気が介在することを防ぐことができる。その結果、吸引速度の低下が起きにくく、作業効率がよい。また、吸引時に空気が介在しないため、吸引される対象物の量は、プランジャがシリンジ部の内部方向へ移動することにより形成されるシリンジ部の内部領域の容積と一致する。そのため、本発明の吸引方法によれば、正確な量が吸引されやすい。さらに、たとえば吸引チップ内に対象物を保持したまま、顕微鏡等の観察手段で対象物を観察する場合において、管状通路内には空気が存在しないため、観察精度が向上する。

[0082] 上記構成において、前記対象物が、前記液体中に保持された物体であり、前記吸引準備工程は、前記先端部を、前記シリンジ部の内部方向へ所定の距離だけ移動させる移動工程と、前記吸引口を前記物体に接近させる接近工程と、をさらに含むことが好ましい。

[0083] このような構成によれば、移動工程において先端部は、シリンジ部の内部方向へ所定の距離だけ移動されるため、吸引口は、接近工程において物体に接近されやすい。その結果、物体は、少ない吸引量で正確に吸引されやすい。

[0084] 上記構成において、前記移動工程は、前記先端部の先端面と、前記吸引口

が形成された前記シリンジ部の先端面とが揃うように、前記先端部を前記シリンジ部の内部方向へ移動させる工程であることが好ましい。

[0085] このような構成によれば、移動工程において先端部は、その先端面と、吸引口が形成されたシリンジ部の先端面とが揃うように、シリンジ部の内部方向へ移動される。そのため、たとえば二次元培養された細胞等のような扁平な物体に対しても、吸引口は、接近されやすい。その結果、物体は、少ない吸引量で正確に吸引されやすい。

[0086] 上記構成において、前記移動工程は、前記先端部を前記シリンジ部内に没入させて、前記シリンジ部内に、前記先端部の先端面と前記シリンジ部の内周壁とにより規定される受入領域を形成するとともに、該受入領域内に前記液体を保持する受入領域形成工程を含み、前記接近工程は、前記受入領域内に前記物体の少なくとも一部が取り込まれるよう前記吸引口を前記物体に接近させる工程であることが好ましい。

[0087] このような構成によれば、受入領域形成工程において、先端部をシリンジ部内に没入させて、シリンジ部内に、先端部の先端面とシリンジ部の内周壁とにより規定される受入領域が形成されるとともに、受入領域内に液体が保持される。また、接近工程は、受入領域内に物体の少なくとも一部が取り込まれるよう吸引口を物体に接近させる工程である。そのため、吸引口は、物体に、より接近されやすい。また、物体は、一部が受入領域内に取り込まれることにより周囲と隔される。そのため、たとえば物体以外に夾雑物等が存在する場合であっても、物体が吸引される際に、これら夾雑物は同時に吸引されにくい。その結果、物体は、少ない吸引量で正確に吸引されやすい。

[0088] 上記構成において、前記吸引工程よりも前に、前記吸引口から突出された前記先端部の位置を検出する検出工程をさらに含み、前記接近工程は、検出された前記先端部の位置に基づいて、前記吸引口を前記物体に接近させる工程であることが好ましい。

[0089] このような構成によれば、吸引工程よりも前に、検出工程により吸引口から突出された先端部の先端面の位置が検出される。また、接近工程において

、検出された先端面の位置に基づいて、吸引口は、物体に接近させられる。そのため、吸引口は、より正確に物体に接近される。その結果、物体は、少ない吸引量で正確に吸引されやすい。

[0090] 上記構成において、前記対象物が液体であり、前記吸引準備工程は、前記先端部を前記シリンジ部内に没入させて、前記シリンジ部内に、前記先端部の先端面と前記シリンジ部の内周壁とにより規定される受入領域を形成するとともに、該受入領域内に前記液体を保持する受入領域形成工程を含むことが好ましい。

[0091] このような構成によれば、受入領域形成工程において、先端部がシリンジ部内に没入されると同時に形成される受入領域に、空気が介在することなく液体が保持される。そのため、たとえば液体の粘度が高い場合等であっても、吸引速度の低下が起こりにくく、正確な量が受入領域内に保持される。続く吸引工程でさらに先端部がシリンジ部の内部方向へ移動する際にも、液体は、吸引速度の低下が起こりにくく正確な量が吸引される。その結果、本発明の吸引方法は、液体の性状によらず正確な量を吸引することができる。

[0092] 上記構成において、前記吸引工程よりも後に、前記プランジャの先端部を前記吸引口から突出させて前記吸引空間内の前記対象物を吐出する吐出工程をさらに含むことが好ましい。

[0093] このような構成によれば、吐出工程によりプランジャの先端部が吸引口から突出され、管状通路内の対象物が吐出される。プランジャはシリンジ部の内周壁と当接しつつ移動する。そのため、対象物が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。また、全量が吐出されるため、引き続いて吸引チップが使用される場合であっても、連続して採取される試料間で試料汚染（コンタミネーション contamination）を起こしにくい。

[0094] 上記構成において、前記物体が、生体由来の細胞であることが好ましい。

[0095] 従来の吸引方法によれば、細胞を吸引する際に空気が介在するため、吐出後に管状通路の内周壁や吸引口の周囲等に細胞が付着して残りやすい。しか

しながら、本発明の吸引方法では、吸引工程よりも前の空気排出工程においてプランジャにより、シリンジ部内の空気が排出される。また、空気が排出された状態のまま吸引準備工程において吸引口は液体に浸漬され、吸引工程において細胞が吸引される。その結果、吸引時に空気が介在しない。したがって、吐出後に細胞が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。これにより、細胞が正確に計量され、各種実験等において信頼性の高い結果が得られる。

[0096] 上記構成において、前記物体が、生体由来の細胞凝集塊であることが好ましい。

[0097] 生体由来の細胞凝集塊は、1個の細胞を用いて得た試験結果よりも、細胞凝集塊の内部に各細胞間の相互作用を考慮した生体類似環境が再構築されており、個々の細胞の機能を考慮した結果が得られ、かつ、実験条件を、より生体内における環境に即した条件に揃えることができるため、再生医療分野や抗がん剤等の医薬品の開発分野において重要とされている。本発明の吸引方法では、吸引工程よりも前の空気排出工程においてプランジャにより、シリンジ部内の空気が排出される。また、空気が排出された状態のまま吸引準備工程において吸引口は液体に浸漬され、吸引工程において細胞が吸引される。その結果、吸引時に空気が介在しない。そのため、吸引時には細胞凝集塊が内周壁や吸引口の周囲に付着して残ることがなく、全量が吐出されやすい。これにより、細胞凝集塊が正確に計量されるため、バイオ関連技術や医薬の分野（再生医療分野や抗がん剤等の医薬品の開発分野を含む）において信頼性の高い結果が得られる。

請求の範囲

- [請求項1] 吸引口および吸引空間を備える吸引チップを用いて対象物を吸引する吸引方法であって、
- 前記対象物が、液体または液体中に保持された物体であり、
- 前記吸引空間内の空気を前記吸引口から排出する空気排出工程と、
- 前記吸引口を前記液体に浸漬する浸漬工程を含む吸引準備工程と、
- 前記吸引口から前記吸引空間内に前記対象物を吸引する吸引工程と、
- を備える、吸引方法。
- [請求項2] 前記吸引空間は、前記吸引口を開口終端とする管状通路であり、
- 前記吸引チップは、前記管状通路を内部に備えるシリンジ部と、前記管状通路を画定する内周壁と当接しつつ前記管状通路内を進退移動するプランジャと、を備え、
- 前記空気排出工程は、前記プランジャの先端部を前記吸引口から突出させて前記空気を前記吸引口から排出する工程であり、
- 前記吸引工程は、前記先端部を前記シリンジ部の内部方向へ移動させることにより前記吸引口から前記管状通路内に前記対象物を吸引する工程である、請求項1記載の吸引方法。
- [請求項3] 前記対象物が、前記液体中に保持された物体であり、
- 前記吸引準備工程は、
- 前記先端部を、前記シリンジ部の内部方向へ所定の距離だけ移動させる移動工程と、
- 前記吸引口を前記物体に接近させる接近工程と、をさらに含む、請求項2記載の吸引方法。
- [請求項4] 前記移動工程は、前記先端部の先端面と、前記吸引口が形成された前記シリンジ部の先端面とが揃うように、前記先端部を前記シリンジ部の内部方向へ移動させる工程である、請求項3記載の吸引方法。
- [請求項5] 前記移動工程は、前記先端部を前記シリンジ部内に没入させて、前記シリンジ部内に、前記先端部の先端面と前記シリンジ部の内周壁と

により規定される受入領域を形成するとともに、該受入領域内に前記液体を保持する受入領域形成工程を含み、

前記接近工程は、前記受入領域内に前記物体の少なくとも一部が取り込まれるよう前記吸引口を前記物体に接近させる工程である、請求項 3 記載の吸引方法。

[請求項6] 前記吸引工程よりも前に、前記吸引口から突出された前記先端部の先端面の位置を検出する検出工程をさらに含み、

前記接近工程は、検出された前記先端面の位置に基づいて、前記吸引口を前記物体に接近させる工程である、請求項 3 記載の吸引方法。

[請求項7] 前記対象物が液体であり、

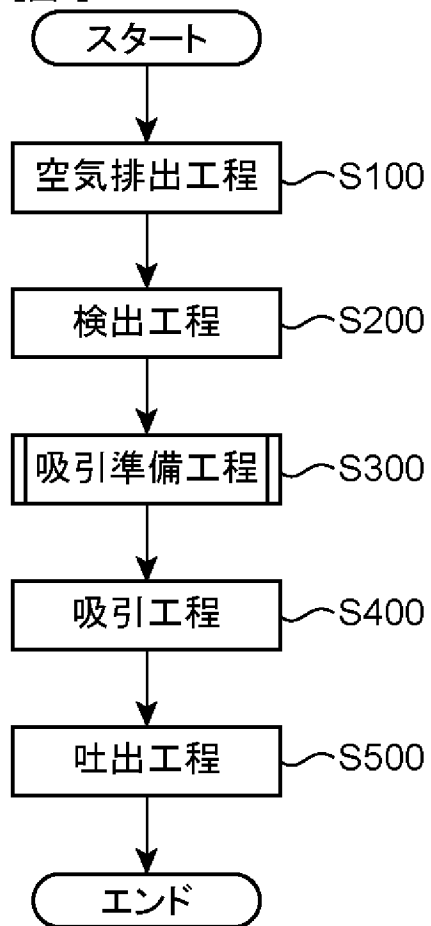
前記吸引準備工程は、前記先端部を前記シリンジ部内に没入させて、前記シリンジ部内に、前記先端部の先端面と前記シリンジ部の内周壁とにより規定される受入領域を形成するとともに、該受入領域内に前記液体を保持する受入領域形成工程を含む、請求項 2 記載の吸引方法。

[請求項8] 前記吸引工程よりも後に、前記吸引口から前記吸引空間内の前記対象物を吐出する吐出工程をさらに含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の吸引方法。

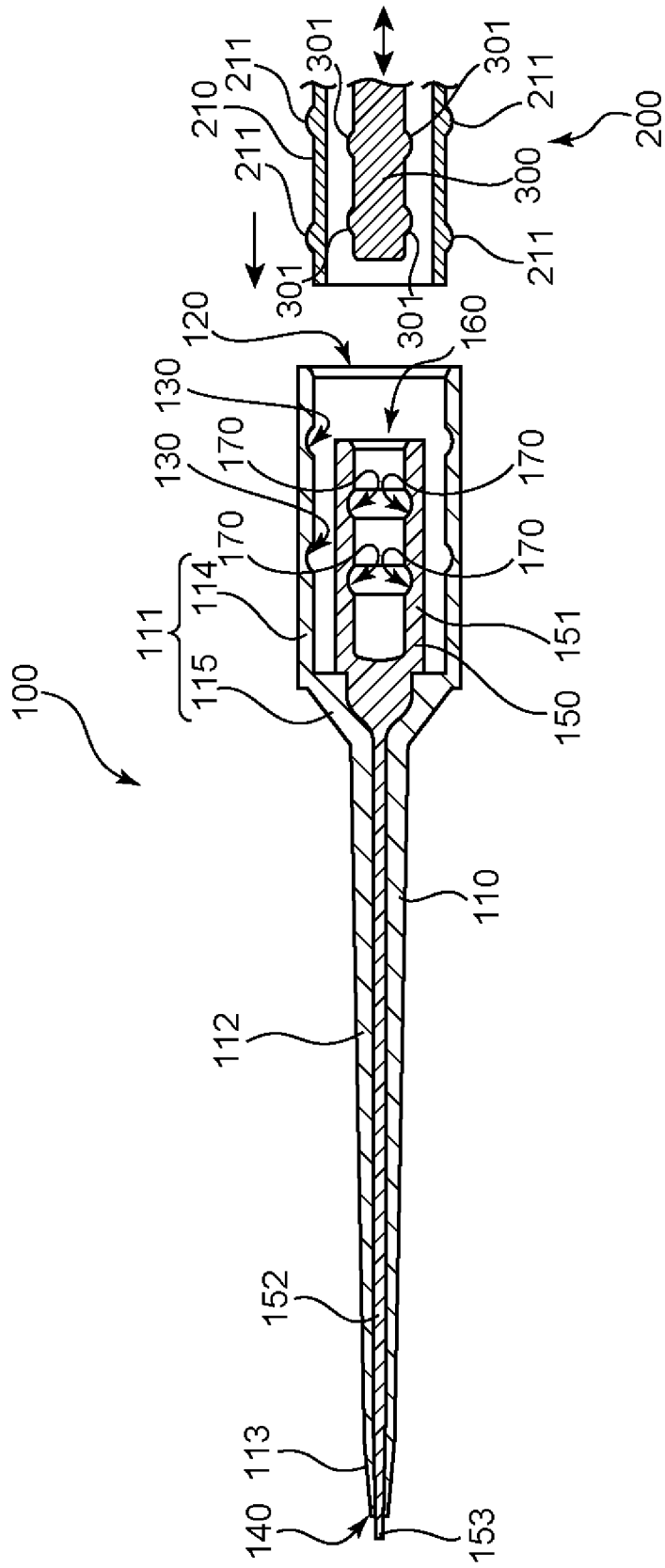
[請求項9] 前記物体が、生体由来の細胞である、請求項 3 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の吸引方法。

[請求項10] 前記物体が、生体由来の細胞凝集塊である、請求項 9 記載の吸引方法。

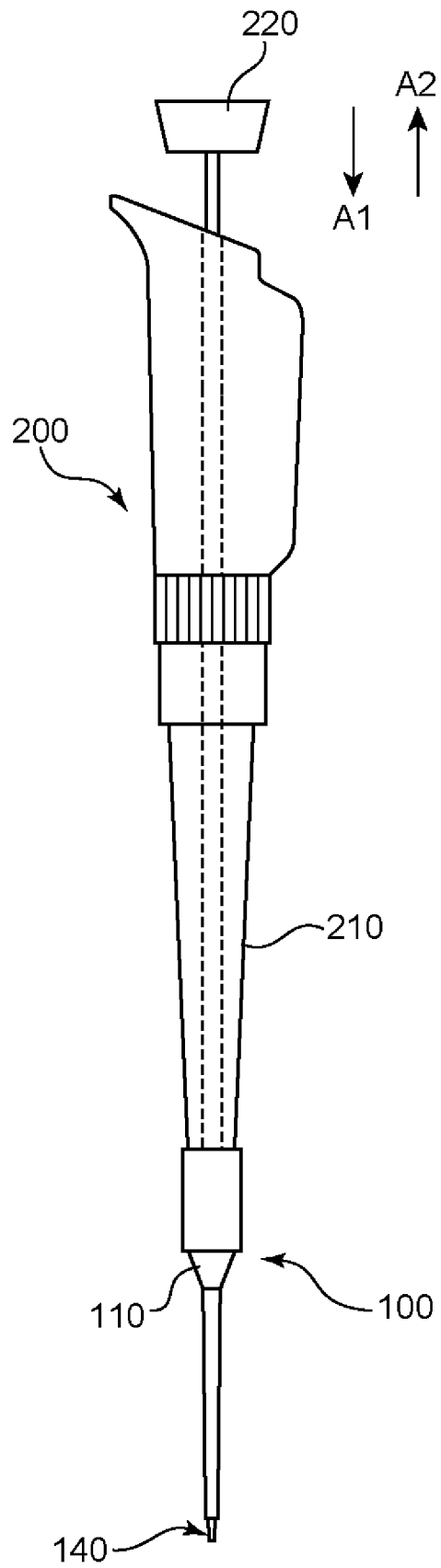
[図1]



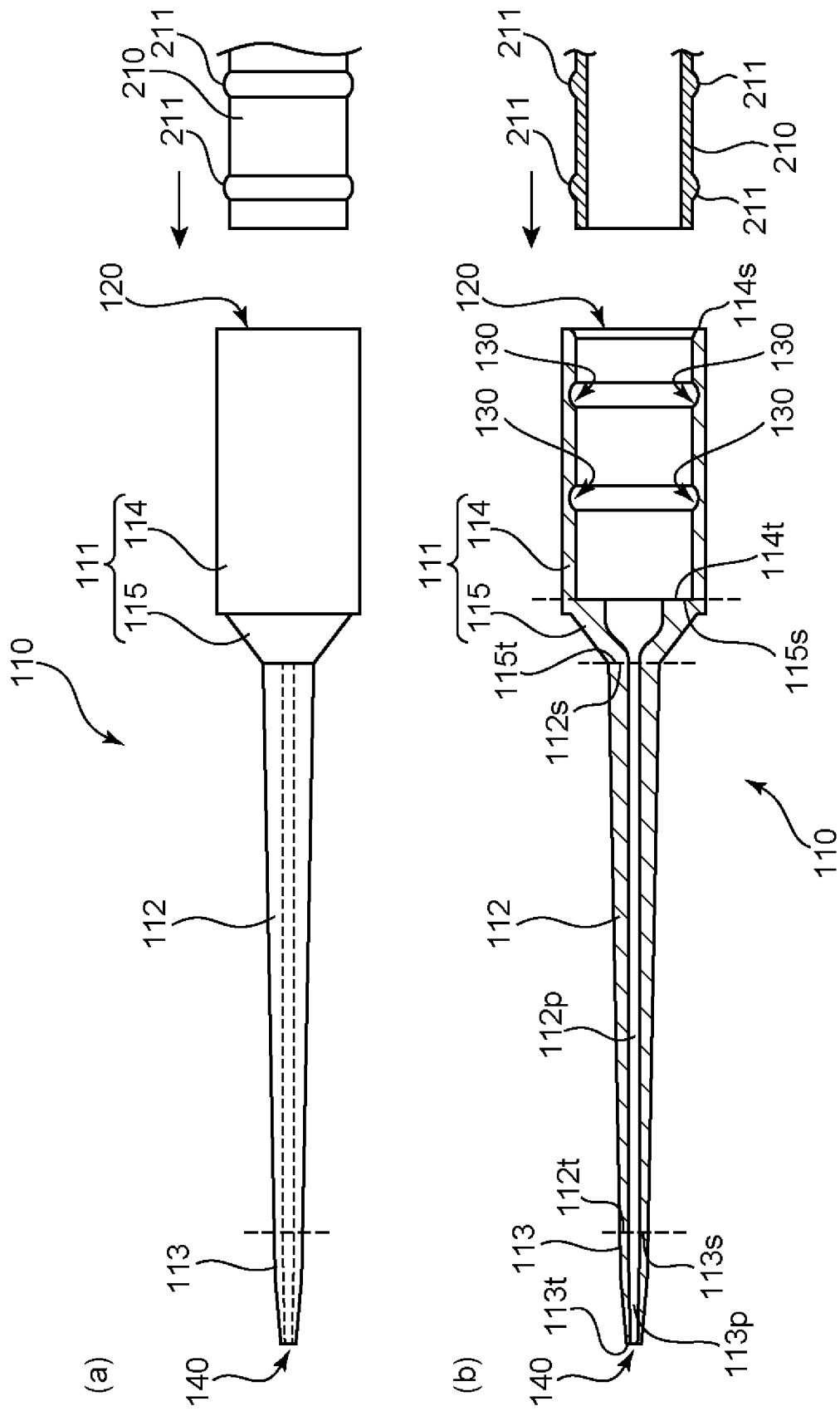
[図2]



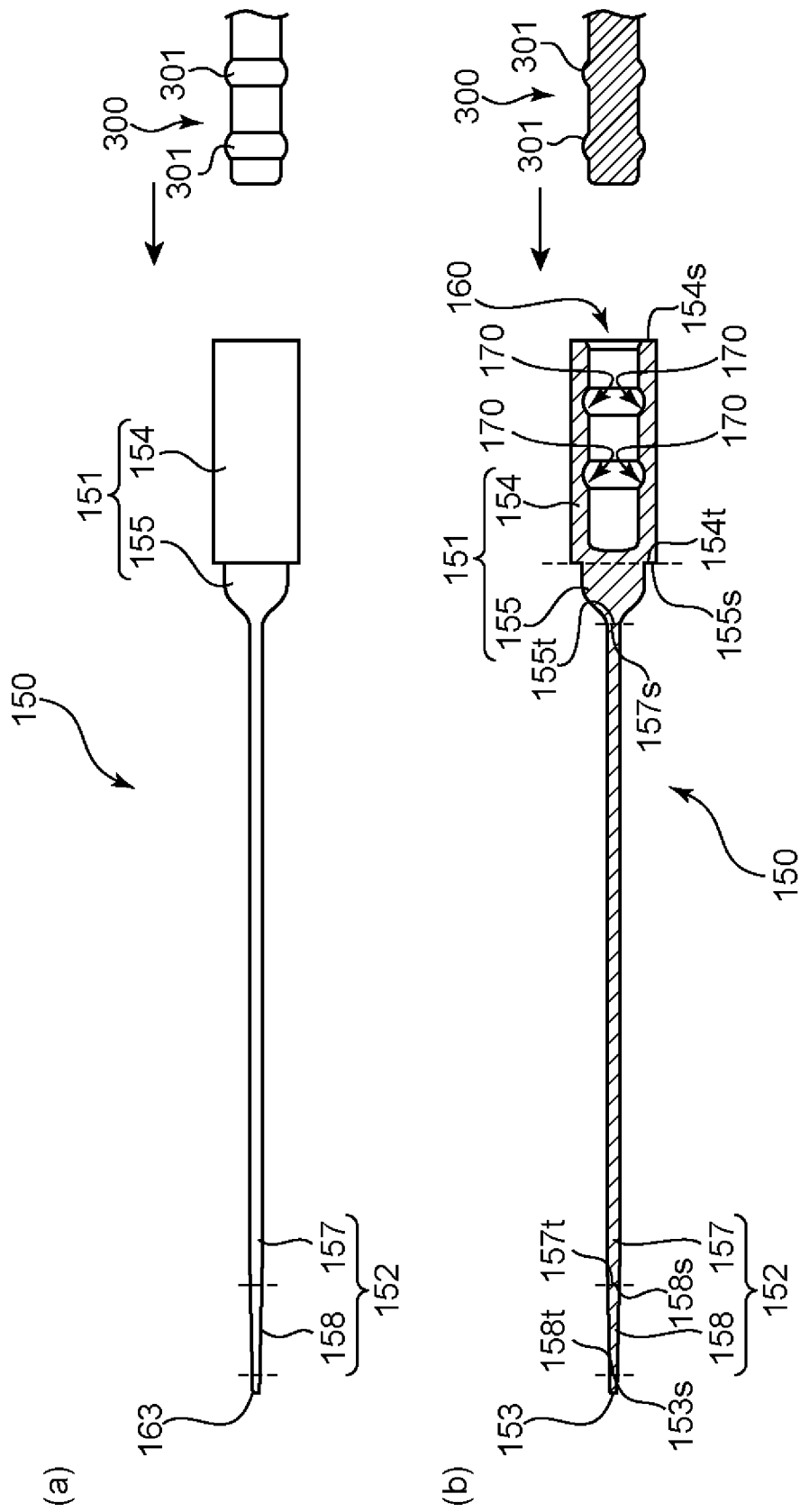
[図3]



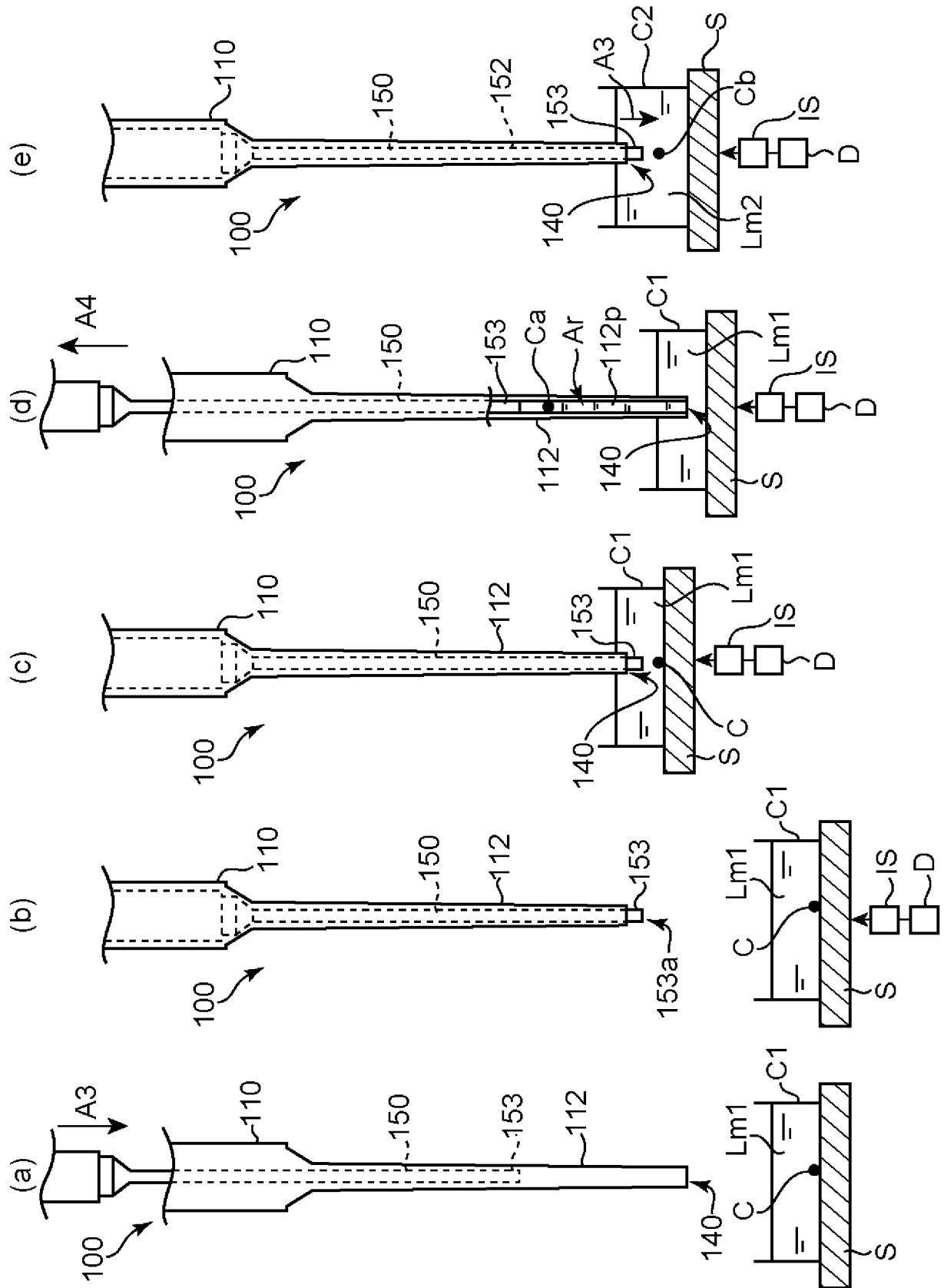
[図4]



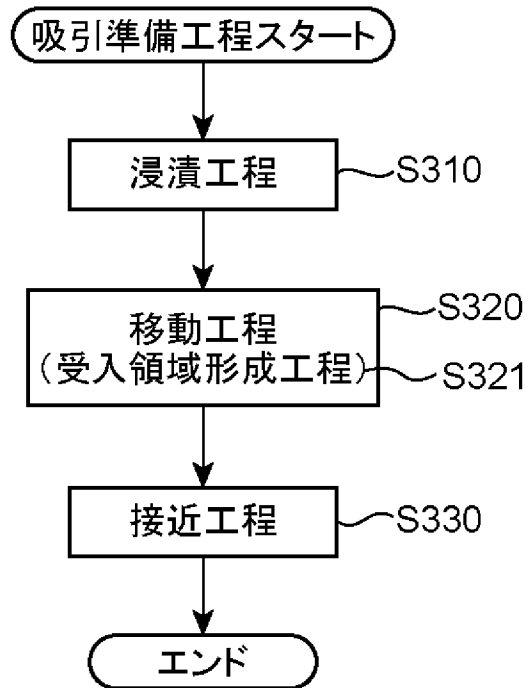
[図5]



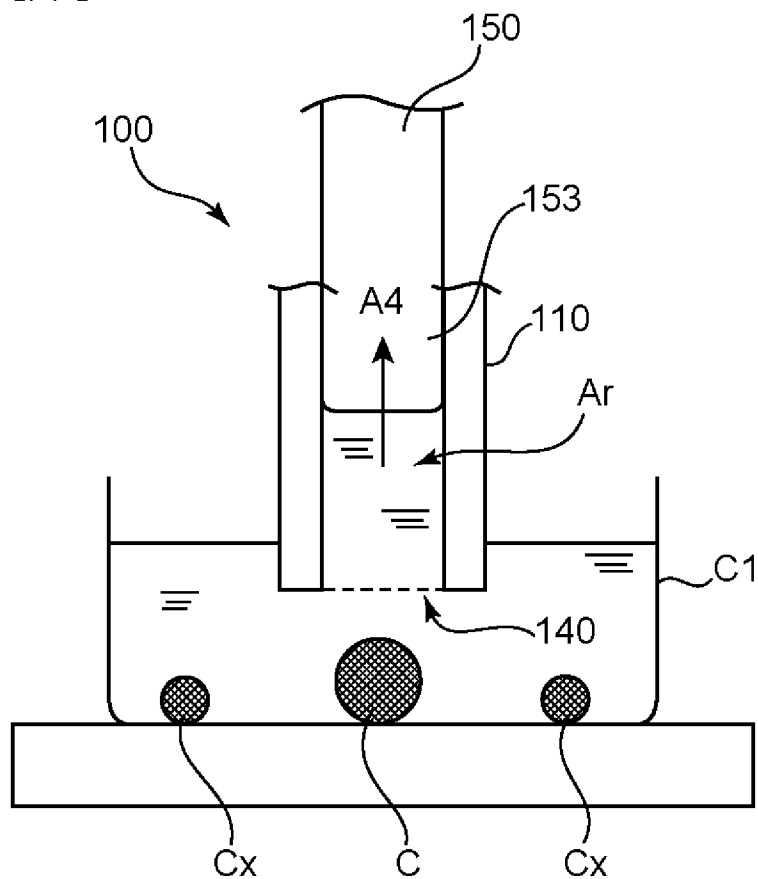
[図6]



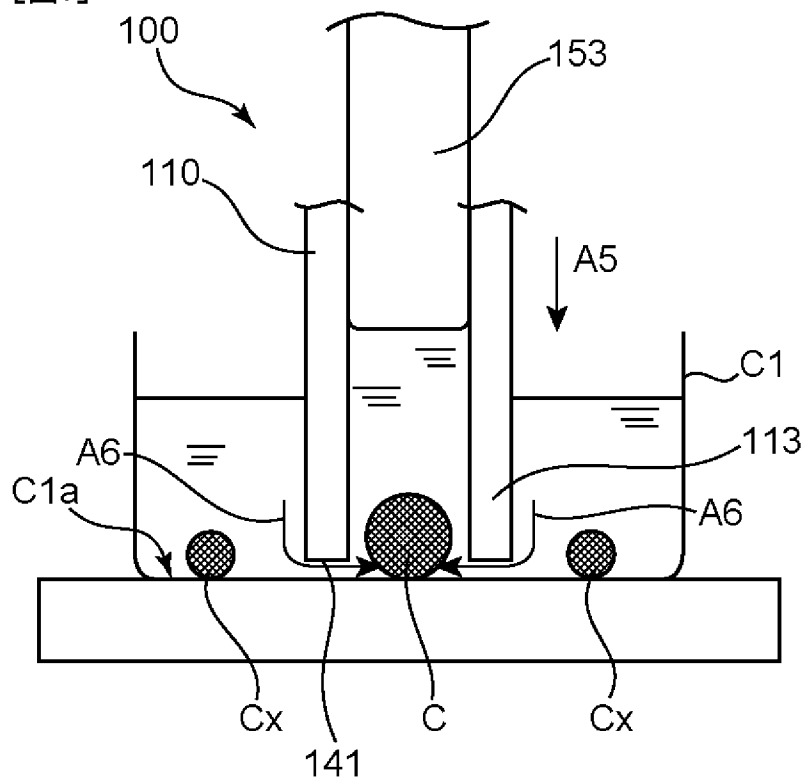
[図7]



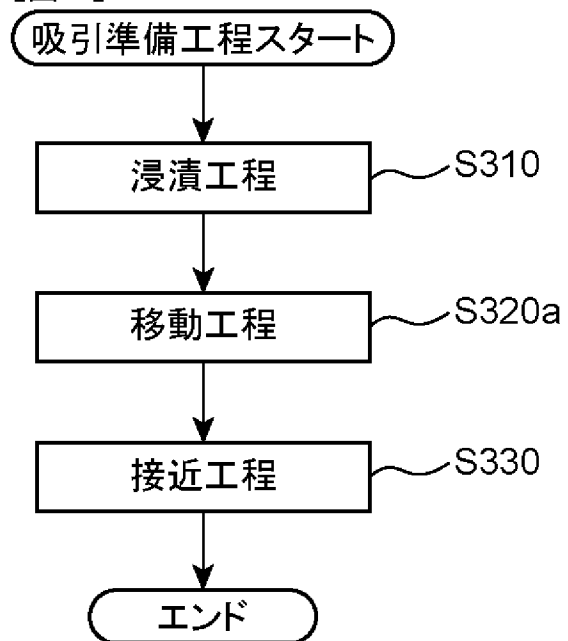
[図8]



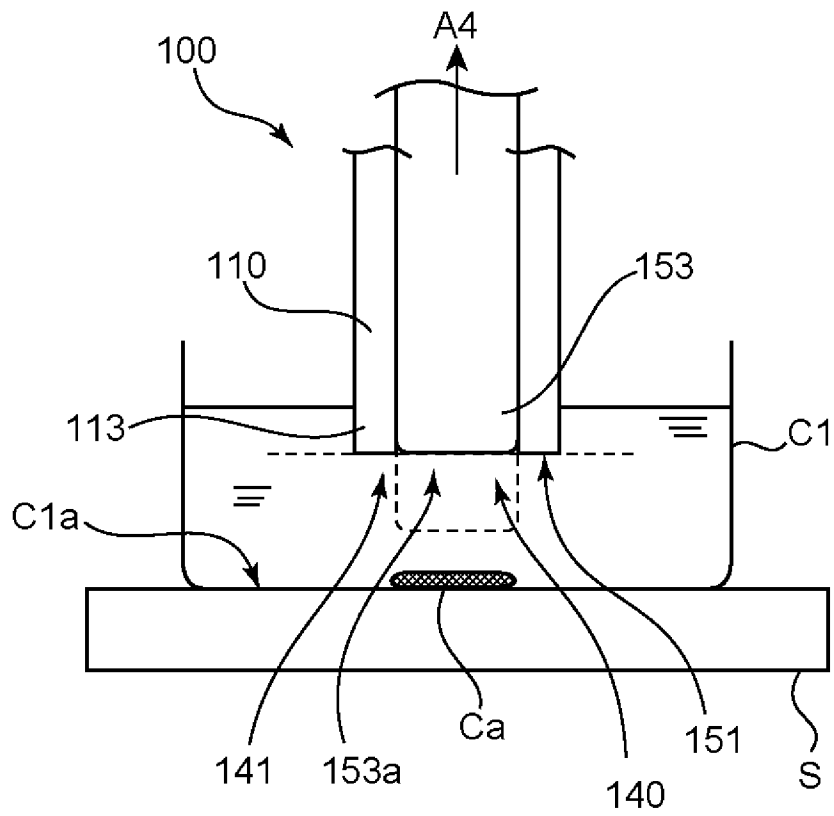
[図9]



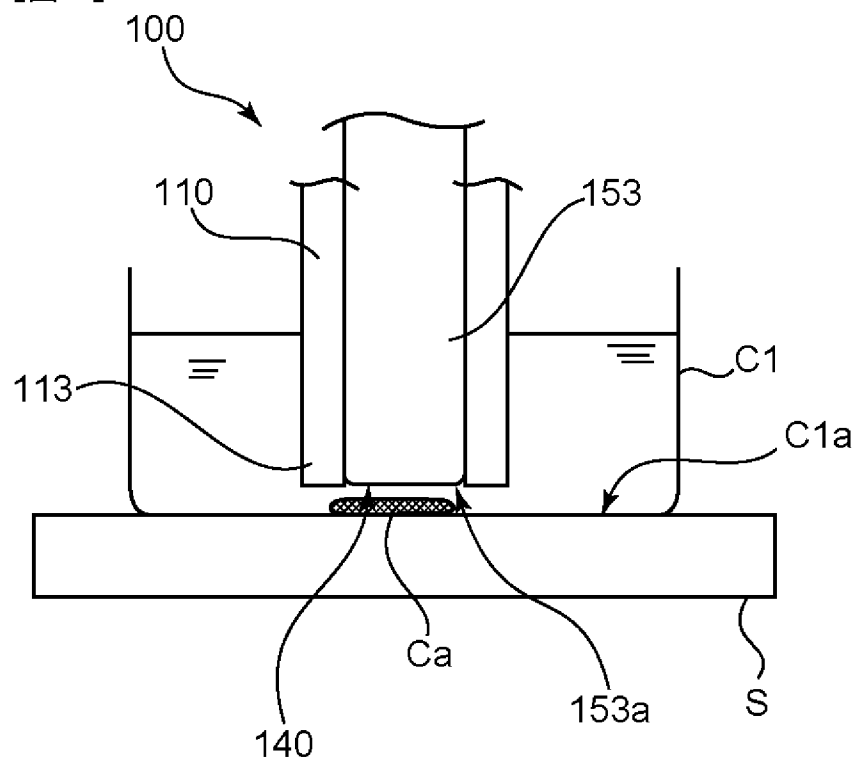
[図10]



[図11]



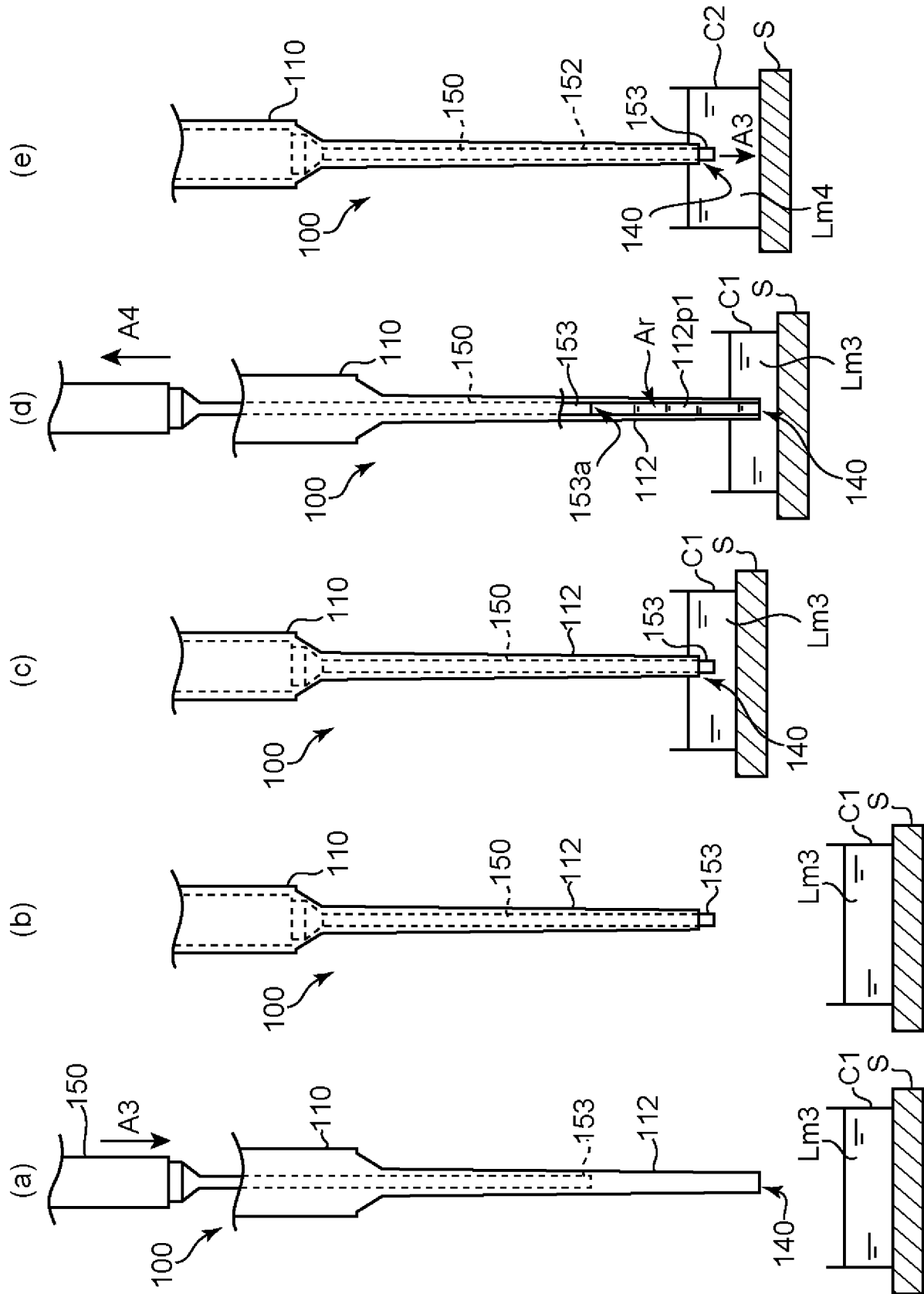
[図12]



```
graph TD; Start([スタート]) --> S100[空気排出工程 S100]; S100 --> S310[浸漬工程 S310]; S310 --> S320[S320 移動工程  
(受入領域形成工程)]; S320 --> S400[吸引工程 S400]; S400 --> S500[吐出工程 S500]; S500 --> End([エンド]);
```

The flowchart illustrates the operation sequence for the first embodiment. It begins with a 'スタート' (Start) terminal, followed by a series of processing steps: '空気排出工程' (Air discharge process, S100), '浸漬工程' (Immersion process, S310), '移動工程 (受入領域形成工程)' (Moving process (Inlet area formation process), S320), '吸引工程' (Suction process, S400), and '吐出工程' (Discharge process, S500). A bracket labeled 'S300b' groups the '浸漬工程' (S310) and '移動工程' (S320) steps. The sequence concludes at an 'エンド' (End) terminal.

[図15]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/007020

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/26(2006.01)i, B01L3/02(2006.01)i, G01N1/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M1/00-3/10, B01L1/00-99/00, G01N1/00-1/38, G01N35/00-37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 137657/1973(Laid-open No. 84085/1975) (Hitachi Metals, Ltd.), 18 July 1975 (18.07.1975), page 1, 6th line from the bottom to page 3, 3rd line from the bottom; fig. 1 to 2 (Family: none)	1, 8 2-7, 9, 10
Y A	JP 58-84049 A (Eric Marteau d'Autry), 20 May 1983 (20.05.1983), Detailed Explanation of the Invention; drawings & US 4474071 A & EP 78724 A1	2-7, 9, 10 1, 8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 February, 2014 (14.02.14)

Date of mailing of the international search report
25 February, 2014 (25.02.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/007020

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2008-520978 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 19 June 2008 (19.06.2008), claims; paragraphs [0002] to [0004]; drawings & US 2007/0292314 A1 & US 2012/0230885 A1 & US 2013/0183212 A1 & EP 1658897 A1 & EP 1814665 A & WO 2006/053461 A2 & KR 10-2007-0086604 A & CN 101060932 A	3-7, 9, 10 1, 2, 8
Y A	WO 2013/108296 A1 (Yamaha Motor Co., Ltd.), 25 July 2013 (25.07.2013), claims; paragraphs [0002], [0019] to [0022], [0145] (Family: none)	3-7, 9, 10 1, 2, 8
Y A	WO 2013/114430 A1 (Yamaha Motor Co., Ltd.), 08 August 2013 (08.08.2013), paragraphs [0002] to [0003], [0011] to [0070], [0124], [0129] to [0134]; fig. 1 to 3 (Family: none)	3-7, 9, 10 1, 2, 8
A	WO 2009/157212 A1 (The University of Tokyo), 30 December 2009 (30.12.2009), paragraphs [0004] to [0005], [0046] to [0053]; fig. 12 (Family: none)	1-10
A	WO 2013/093961 A1 (Yamaha Motor Co., Ltd.), 27 June 2013 (27.06.2013), claims; paragraphs [0001] to [0003], [0013] to [0050]; drawings (Family: none)	1-10
A	WO 2013/108292 A1 (Yamaha Motor Co., Ltd.), 25 July 2013 (25.07.2013), claims; paragraphs [0001] to [0003]; drawings (Family: none)	1-10

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/26(2006.01)i, B01L3/02(2006.01)i, G01N1/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/00-3/10, B01L1/00-99/00, G01N1/00-1/38, G01N35/00-37/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	日本国実用新案登録出願48-137657号(日本国実用新案登録出願公開50-84085号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム(日立金属株式会社)1975.07.18, 第1頁下から第6行-第3頁下から第3行、第1-2図(ファミリーなし)	1, 8 2 - 7, 9, 10
Y A	JP 58-84049 A (エリツク・マルトー・ドトリー) 1983.05.20, 発明の詳細な説明、図面 & US 4474071 A & EP 78724 A1	2 - 7, 9, 10 1, 8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 4 . 0 2 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

2 5 . 0 2 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

山本 晋也

4 N

3 3 4 1

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	JP 2008-520978 A (エフ ホフマンーラ ロッシュ アクチェン ゲ ゼルシャフト) 2008. 06. 19, 特許請求の範囲、【0 0 0 2】－【0 0 0 4】、図面 & US 2007/0292314 A1 & US 2012/0230885 A1 & US 2013/0183212 A1 & EP 1658897 A1 & EP 1814665 A & WO 2006/053461 A2 & KR 10-2007-0086604 A & CN 101060932 A	3 - 7, 9, 10 1, 2, 8
Y A	WO 2013/108296 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2013. 07. 25, 請求の範 囲、【0 0 0 2】、【0 0 1 9】－【0 0 2 2】、【0 1 4 5】 (ファミ リーなし)	3 - 7, 9, 10 1, 2, 8
Y A	WO 2013/114430 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2013. 08. 08, 【0 0 0 2】－【0 0 0 3】、【0 0 1 1】－【0 0 7 0】、【0 1 2 4】、【0 1 2 9】－【0 1 3 4】、図1－3 (ファミリーなし)	3 - 7, 9, 10 1, 2, 8
A	WO 2009/157212 A1 (国立大学法人東京大学) 2009. 12. 30, 【0 0 0 4】－【0 0 0 5】、【0 0 4 6】－【0 0 5 3】、図1 2 (ファミリ ーなし)	1 - 10
A	WO 2013/093961 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2013. 06. 27, 請求の範 囲、【0 0 0 1】－【0 0 0 3】、【0 0 1 3】－【0 0 5 0】、図面 (フ ァミリーなし)	1 - 10
A	WO 2013/108292 A1 (ヤマハ発動機株式会社) 2013. 07. 25, 請求の範 囲、【0 0 0 1】－【0 0 0 3】、図面 (ファミリーなし)	1 - 10