

(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2010-14416

(P2010-14416A)

(43) 公開日 平成22年1月21日(2010.1.21)

(51) Int.Cl.
G 0 1 N 15/14 (2006.01)F I
G O 1 N 15/14

テーマコード (参考)

P

審査請求 有 請求項の数 4 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2008-172161 (P2008-172161)
 (22) 出願日 平成20年7月1日(2008.7.1)
 (11) 特許番号 特許第4358888号 (P4358888)
 (45) 特許公報発行日 平成21年11月4日(2009.11.4)

特許法第30条第1項適用申請有り 「実験医学」 V o
 1. 2 6 N o. 1 1 2 0 0 8 年 7 月 号

(71) 出願人 505281023
 株式会社オンチップ・バイオテクノロジー
 東京都千代田区神田駿河台1-7 YK駿
 河台ビル8階
 (74) 代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74) 代理人 100095360
 弁理士 片山 英二
 (74) 代理人 100126354
 弁理士 藤田 尚
 (74) 代理人 100104282
 弁理士 鈴木 康仁
 (72) 発明者 武田 一男
 東京都文京区弥生2-7-14-101

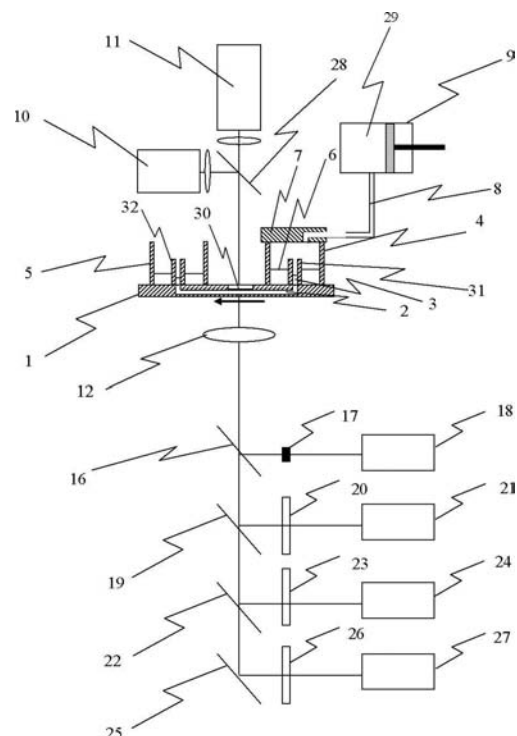
(54) 【発明の名称】 フローサイトメーターおよびそのフローセル

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】フローサイトメーターにおいて、1)測定毎に送液系の洗浄が不要、2)測定後の試料液がコンタミネーションフリーのまま希釈されずに回収可能、3)フローセルが安価、以上を同時に満足する装置とフローセルを実現する。

【解決手段】微粒子を含む試料液が導入される流路と、その両側に配置されて合流する1対のシース液が導入される流路と、これらの流路が合流し試料液とその両側にシース液が流れる流路とを有するフローセルを用い、レーザー光を当該フローセルの流路を流れる微粒子に照射し、微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出し微粒子を解析する機能を有する装置。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第 1 の流路と、第 1 の流路の両側に配置されてシース液が導入される第 2 および第 3 の流路と、第 1 ～ 第 3 の流路が合流する第 4 の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を前記第 4 の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

前記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備える液体中微粒子計測装置であって、

前記フローセルはさらに、

第 4 の流路の下流側に上流側の第 1 ～ 第 3 の流路と対称的に第 5 ～ 7 流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第 1 貯水槽と第 2 貯水槽とを備え、

シース液を導入する第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽に接続されており、

試料液を導入する第 1 の流路は第 1 貯水槽の内側に設けられた第 3 貯水槽に接続しており、

前記第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽内で共通の液面を有し、第 3 貯水槽は第 1 貯水槽とは独立しており第 1 貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第 5 の流路は第 2 貯水槽の内側に設けられた第 4 貯水槽に接続し、両側の第 6 および第 7 の分離流路が第 2 貯水槽に接続し、

大気圧より高い一定の圧力の気体を第 1 貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御し、下流側の第 4 貯水槽内に試料液が回収され、第 2 貯水槽にシース液が回収される構造となっている、液体中微粒子計測装置。

【請求項 2】

基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第 1 の流路と、第 1 の流路の両側に配置されてシース液が導入される第 2 および第 3 の流路と、第 1 ～ 第 3 の流路が合流する第 4 の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を前記第 4 の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

前記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備える液体中微粒子計測装置であって、

前記フローセルはさらに、

第 4 の流路の下流側に上流側の第 1 ～ 第 3 の流路と対称的に第 5 ～ 7 流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第 1 貯水槽と第 2 貯水槽とを備え、

シース液を導入する第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽に接続されており、

試料液を導入する第 1 の流路は第 1 貯水槽の内側に設けられた第 3 貯水槽に接続しており、

前記第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽内で共通の液面を有し、第 3 貯水槽は第 1 貯水槽とは独立しており第 1 貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第 5 の流路は第 2 貯水槽の内側に設けられた第 4 貯水槽に接続し、両側の第 6 および第 7 の分離流路が第 2 貯水槽に接続し、

大気圧より低い一定の圧力の気体を第 2 貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御し、下流側の第 4 貯水槽内に試料液が回収され、第 2 貯水槽にシース液が回収される構造となっている、液体中微粒子計測装置。

【請求項 3】

基板上に形成された、試料液が導入される第 1 の流路と、

該第 1 の流路の両側に配置されてシース液が導入される第 2 および第 3 の流路と、

第 1 ～ 第 3 の流路が合流し試料液の流れの両側にシース液の流れを形成する第 4 の流路と、を備えるフローセルであって、

流路パターンが上流側と下流側で対称構造であって、
上流側と下流側にそれぞれ第 1 貯水槽と第 2 貯水槽が形成されており、
上流側のシース液を導入する第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽に接続されており、
試料を導入する第 1 の流路は第 1 貯水槽の内側に設けられた第 3 貯水槽に接続しており、

第 2 および第 3 の流路に接続するシース液は第 1 貯水槽内で共通の液面を有し、第 3 貯水槽は貯水槽 1 とは独立しており第 1 貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

シース液と試料液が合流した第 4 の流路は下流側で上流と対称パターンで分岐し、下流の中央の流路は第 2 貯水槽内の第 4 貯水槽に接続して、両側の分離流路が第 2 貯水槽に接続していることを特徴とするフローセル。

10

【請求項 4】

前記フローセルの流路パターンが、前記基板上に複数並列に形成されている、請求項 3 に記載のフローセル。

【請求項 5】

試料液を流して試料液の蛍光または散乱光を計測するための樹脂製のフローセルにおいて、

流路が形成された領域の一部が、照射領域として基板厚さがそのほかの領域より薄くなっていることを特徴とする液体中微粒子計測用フローセル。

20

【請求項 6】

請求項 3 または 4 に記載のフローセルにおいて、

フローセルが樹脂製であって、流路が形成された領域の一部が、照射領域として基板厚さがそのほかの領域より薄くなっていることを特徴とする液体中微粒子計測用フローセル。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞や細菌などの生体微粒子を対象とするフローサイトメーターまたはセルソーターに関する。特に、本発明は、使い捨てフローセルを可能とするための装置およびフローセル構造に関する。

30

【背景技術】

【0002】

フローサイトメーターは、蛍光標識された細胞や細菌などの粒子を含む懸濁液をフローセル中に流し、その流路に照射光を照射し、その照射領域を上記粒子が通過した時に発生する散乱光や蛍光を測定することで、粒子の大きさを定量化したり粒子種を判定したりする装置である。さらにフローサイトメーターは、細胞などを種類によって分離するためのセルソーター装置の細胞解析部として機能する。

【0003】

フローサイトメーターではレーザーを絞ってフローセル中の流路に照射するが、照射ビーム径を小さくするほど照射エネルギー密度を高めることができ、信号強度が大きくなり検出感度を高めることができる。しかし、照射ビームの中心部分を通過する微粒子とビームの裾部分を通過する微粒子では信号強度に大きな差が生じる。これを防止するために 1) 流路幅以上にレーザー光を広くする、2) サンプル流の周囲にシース流を高速で流し微粒子が通過する位置を細く限定する、以上のいずれかを実施する必要がある。前者の場合はビームを広げるために照射エネルギー密度が低くなるために検出感度が低下するという欠点が存在する。そこで後者が一般的に採用されている。しかしながらこの場合は、シース流はサンプル流より多量の液が必要であり、数リットル以上の外部タンクに接続しているのが現状である。このために、送液系全体の交換が現状では不可能である。このように、送液系に大量の容量のタンクを含んだフローサイトメーターでは、手軽に送液系全体を交換することが不可能である。

40

50

【 0 0 0 4 】

そこで、使い捨てフローセルを可能とする方法が提案されている。特開平 2 0 0 4 - 8 5 3 2 3 (特許文献 1) において、流体の流速を、導入した液面の高さの差によって、重力によって生じる流れを利用する手段をフローセルチップ上に形成することによって、チップ交換によって送液全体を交換可能としている。しかし、チップ上でのせいぜい 1cm 程度の高さの差による重力差であるために、流速を早くすることができず 10 マイクロリットル程度の微小サンプルの計測に 1 時間以上を要する。特開平 2 0 0 3 - 3 0 2 3 3 0 (特許文献 2) には、上流側の 2 つシース液ポートと試料液ポートに同じ圧力を加えて安定した送液を達成する方法が記載されている。しかし、2 つのシース液面の高さが異なる場合にはシース流のバランスが変化するという問題が存在する。

10

【 0 0 0 5 】

使用されるフローセルが石英製のフローセルである場合、高価であるために使い捨て用途には適さない。これに対して樹脂製のマイクロ流体チップの製法が公開されている。特開平 2 0 0 6 - 8 1 4 0 6 (特許文献 3) に基板樹脂フィルムと、表面に凹部を有する射出成型樹脂部材とを貼り合わせた、または、前記基板樹脂フィルムと、スペーサー樹脂フィルムと、もう一方の基板樹脂フィルムとをこの順による貼りあわせた、ポリメラーゼ連鎖反応用流路を有するマイクロ流体デバイスとして開示されている。

【 0 0 0 6 】

しかし、高い照射エネルギー密度のレーザー照射光が利用されるフローサイトメーター用のフローセルでは、フローセルの材質を安価な透明樹脂にした場合に、400nm 以上の波長の可視光照射でもフローセルの自家蛍光が発生し、蛍光検出の背景ノイズ光となるという問題がある。この自家蛍光の存在は、フローサイトメーターの蛍光検出の感度を劣化する要因となる。ガラス製の場合は、400nm より短波長の光照射で自家蛍光が発生する。

20

【 0 0 0 7 】

さらに、一般のフローサイトメーターでは試料液は多量のシース流とともに高速で流されるので、一度計測された試料液はシース液で希釈され、しかも他の試料液とのコンタミネーションが生じるので廃棄されるのが一般的である。しかしながら、わずかな貴重なサンプルを計測する場合は、この点が大きな欠点となる。

【 特許文献 1 】 特開平 2 0 0 4 - 8 5 3 2 3

【 特許文献 2 】 特開平 2 0 0 3 - 3 0 2 3 3 0

30

【 特許文献 3 】 特開平 2 0 0 6 - 8 1 4 0 6

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 8 】

そこで、試料液タンクおよびシース液タンク、送液パイプやフローセルを含めた送液系が、簡単に取り替えられ、試料交換ごとに洗浄する必要がない使い捨て型のフローセルが求められている。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 9 】

本発明では、上記状況を鑑み、使い捨てフローセルを使用しフローセルのみを交換するだけで送液系全体を交換することができ、さらにコンタミネーションフリーの状態を試料を回収できるフローサイトメーターの装置とフローセルとを提供する。すなわち、本発明は、以下の液体中微粒子計測装置およびフローセルを提供する。

40

【 0 0 1 0 】

(1) 基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第 1 の流路と、第 1 の流路の両側に配置されてシース液が導入される第 2 および第 3 の流路と、第 1 ~ 第 3 の流路が合流する第 4 の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を上記第 4 の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

上記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備える液体中微粒子計測装置であって、

50

上記フローセルはさらに、

第4の流路の下流側に上流側の第1～第3の流路と対称的に第5～7流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第1貯水槽と第2貯水槽とを備え、シース液を導入する第2および第3の流路は第1貯水槽に接続されており、試料液を導入する第1の流路は第1貯水槽の内側に設けられた第3貯水槽に接続しており、

上記第2および第3の流路は第1貯水槽内で共通の液面を有し、第3貯水槽は第1貯水槽とは独立しており第1貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第5の流路は第2貯水槽の内側に設けられた第4貯水槽に接続し、両側の第6および第7の分離流路が第2貯水槽に接続し、

大気圧より高い一定の圧力の気体を第1貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御し、下流側の第4貯水槽内に試料液が回収され、第2貯水槽にシース液が回収される構造となっている、液体中微粒子計測装置。

(2) 基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第1の流路と、第1の流路の両側に配置されてシース液が導入される第2および第3の流路と、第1～第3の流路が合流する第4の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を上記第4の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

上記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備える液体中微粒子計測装置であって、

上記フローセルはさらに、

第4の流路の下流側に上流側の第1～第3の流路と対称的に第5～7流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第1貯水槽と第2貯水槽とを備え、シース液を導入する第2および第3の流路は第1貯水槽に接続されており、試料液を導入する第1の流路は第1貯水槽の内側に設けられた第3貯水槽に接続しており、

上記第2および第3の流路は第1貯水槽内で共通の液面を有し、第3貯水槽は第1貯水槽とは独立しており第1貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第5の流路は第2貯水槽の内側に設けられた第4貯水槽に接続し、両側の第6および第7の分離流路が第2貯水槽に接続し、

大気圧より低い一定の圧力の気体を第2貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御し、下流側の第4貯水槽内に試料液が回収され、第2貯水槽にシース液が回収される構造となっている、液体中微粒子計測装置。

(3) 基板上に形成された、試料液が導入される第1の流路と、

該第1の流路の両側に配置されてシース液が導入される第2および第3の流路と、

第1～第3の流路が合流し試料液の流れの両側にシース液の流れを形成する第4の流路と、を備えるフローセルであって、

流路パターンが上流側と下流側で対称構造であって、

上流側と下流側にそれぞれ第1貯水槽と第2貯水槽が形成されており、

上流側のシース液を導入する第2および第3の流路は第1貯水槽に接続されており、

試料を導入する第1の流路は第1貯水槽の内側に設けられた第3貯水槽に接続しており、

第2および第3の流路に接続するシース液は第1貯水槽内で共通の液面を有し、第3貯水槽は第1貯水槽とは独立しており第1貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

シース液と試料液が合流した第4の流路は下流側で上流と対称パターンで分岐し、下流の中央の流路は第2貯水槽内の第4貯水槽に接続して、両側の分離流路が第2貯水槽に

10

20

30

40

50

接続していることを特徴とするフローセル。

(4) 上記フローセルの流路パターンが、上記基板上に複数並列に形成されている、上記(3)に記載フローセル。

(5) 試料液を流して試料液の蛍光または散乱光を計測するための樹脂製のフローセルにおいて、

流路が形成された領域の一部が、照射領域として基板厚さがそのほかの領域より薄くなっていることを特徴とする液体中微粒子計測用フローセル。

(6) 上記(3)または(4)に記載のフローセルにおいて、

フローセルが樹脂製であって、流路が形成された領域の一部が、照射領域として基板厚さがそのほかの領域より薄くなっていることを特徴とする液体中微粒子計測用フローセル。

10

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、安価な樹脂製フローセルであって、フローセルの交換によって送液系全体を交換される高感度なフローサイトメーターが実現する。つまり、使い捨てフローセルによる高感度なフローサイトメーターが実現する。

【0012】

本発明によれば、1)測定毎に送液系の洗浄が不要であり、2)測定後の試料液がコンタミネーションフリーのまま希釈されずに回収可能であり、3)フローセルが安価であるという利点を同時に満足する装置およびフローセルを実現することができる。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

以下、本発明の実施形態について具体的に説明するが、本発明はこれらの具体例に限定されるものではなく、本発明の精神を逸脱しない範囲で種々の変更あるいは改良を行うことは言うまでもない。

【0014】

図1は本発明の微粒子計測装置を説明する概略図である。1はフローセル本体基板であって、材質はアクリル製透明樹脂であって、基板裏面側に射出成形によって凹の流路パターンを形成し、その上に厚さ約100 μ mのシートを貼り付けて流路を形成している。流路断面は、典型的には、幅80マイクロメートル深さ25マイクロメートルである。2は試料液が流れる流路である。31は試料液用貯水槽であって、その周囲の4はシース液6の貯水槽である。試料液はシース液とは隔壁によって分離される。シース液は、試料液3の流路の両側から合流する一対の流路に接続する(図3を参照)。図1に示すように貯水槽4の内部で一対の流路に接続するシース液6は、共通の液面を有する。貯水槽4にはキャップ7によってパイプ8を通してポンプ9によって加圧された空気29が接続する。空気の圧力値は、典型的には、2から20キロパスカルである。貯水槽4の内部は、共通の空気圧がシース液と試料液に加わり、シース液は共通の液面を有するので一対の流路には常に等しい圧力が加わるので、試料液は両側のシース液流によって流路の中央に収束して流れる(図4を参照)。流路の下流側は上流側の流路パターンと対称であるために、レーザー照射領域34(図4を参照)を通過したのちに、下流の分岐流路によって再度試料液とシース液に分離される。その分離した試料液が回収される中央の分岐流路は貯水槽32に接続し、両側のシース液が回収される1対の分岐流路は貯水槽5に接続する(図3も参照)。図1の10と11は、それぞれ波長473nmと波長640nmのレーザー光源である。これらの光源から射出したレーザー光はダイクロイックミラー28を利用してほぼ同軸にあわせ、フローセル基板1の流路に照射する。流路中を流れる粒子が照射光を通過したときに発生する散乱光と蛍光をレンズ12により集光し、ダイクロイックミラー16によって、473nm光を反射して、ビームストッパーで直接透過光を除去し、散乱光をフォトダイオード18で検出する。ダイクロイックミラーにより波長領域が550nmより短波長の光を反射させて、バンドパスフィルター20によって510nmから550nmの光を透過させて光電子増倍管21によって蛍光を検出する。ダイクロイックミラー22により波長が750nmより短波長の

30

40

50

光を反射させて、バンドパスフィルター 23 によって 680 nm から 720 nm の光を透過させて、光電子増倍管 24 によって蛍光を検出する。ミラー 25 によって反射させて、バンドパスフィルター 26 によって、波長領域 750 nm より長波長の蛍光を透過させて、光電子増倍管 27 によって蛍光を検出する。このようにして、粒子からの散乱光と蛍光を検出し、信号強度の大きさを検出した粒子ごとに記録する。

【0015】

図 2 は、本発明の別の実施形態に係る微粒子計測装置を説明する概略図である。図 2 に示す装置では、下流側の貯水槽 5 にキャップをつけて、大気より低い一定の圧力の空気 33 を接続している点が図 1 に示す実施形態と異なる。フローセルの上流側の貯水槽 4 には、試料液 3 が定量ポンプによる送液を利用して滴下によって非接触的に貯水槽 31 に補給されるようにしている。このように、下流側の貯水槽に陰圧をかけることによって試料液を送液することにより、より多量の試料液を長時間送液して測定することができる。

10

【0016】

本発明のフローセルでは、フローセルの自家蛍光を低減するために、レーザー光が透過する部分のフローセル素材（基板）の厚みを周囲より薄くしている。図 1 および図 2 の領域 30 はフローセルの厚さが他の領域よりも薄くしている領域であって、例えば、他が 1.5mm 厚であるのに対してその領域は 0.5mm 以下になっている。

【0017】

図 3 は、本発明によるフローセルの概略図である。図 3 の下側のパネルはフローセルの平面図を表す。開口部 40 および 41 からはシース液 6 が流路に導入され、試料用貯水槽 31 からの試料液 3 と下流にて合流する。合流した液は、領域 30 を含む流路を通して、さらに下流にて再びそれぞれの流路に分かれ、試料液 3 は中央の流路を通して貯水槽 32 に貯まり、シース液は、その両側の流路を流れて開口部 42 および 43 から貯水槽 5 に排出される。領域 30 内の流路がレーザー照射領域と設定されている。フローセル基板で流路パターンを形成している側と反対側に窪みを形成し、その領域の基板厚さ + 流路深さ + シート厚さの合計の厚さを、他の領域の厚み（例えば、1.5mm）よりも薄い、例えば、0.5mm 以下とする。これによって、473nm レーザー照射に由来するフローセルの自家蛍光を、他の領域と同じ厚み（例：1.5mm 厚）にした場合と比べて約 1/3 に低減することができた。

20

【0018】

図 4 は、本発明によるフローセル内部の流路内の試料液の流れを説明する概略図である。図 4 中の 34 は流路内のレーザー照射領域である。試料用貯水槽 31 からの試料液 3 が流れる流路 50 は、貯水槽 4 からのシース液 6 が流れる流路 51 および 52 と合わさって、流路 53 となる。流路 53 は下流にて再び、試料液 3 が流れる流路 54 と、シース液 6 が流れる流路 55 および 56 に分岐する。

30

【0019】

図 5 は、基板上に図 3 に示す流路パターンが複数形成されている本発明のフローセルのさらなる実施形態を示す概略図である。このように 1 つの基板上に複数のフローセルパターンを形成することにより、微粒子分離の効率を高めることができる。

【産業上の利用可能性】

【0020】

本発明は、使い捨てフローセルによる高感度なフローサイトメーターとして有用である。

40

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図 1】本発明の微粒子画像計測装置を説明する概略図である。

【図 2】本発明による別の微粒子画像計測装置を説明する概略図である。

【図 3】本発明によるフローセルの概略図である。

【図 4】本発明によるフローセル内部の流路内の試料液の流れを説明する概略図である。

【図 5】本発明による別のフローセルを説明する概略図である。

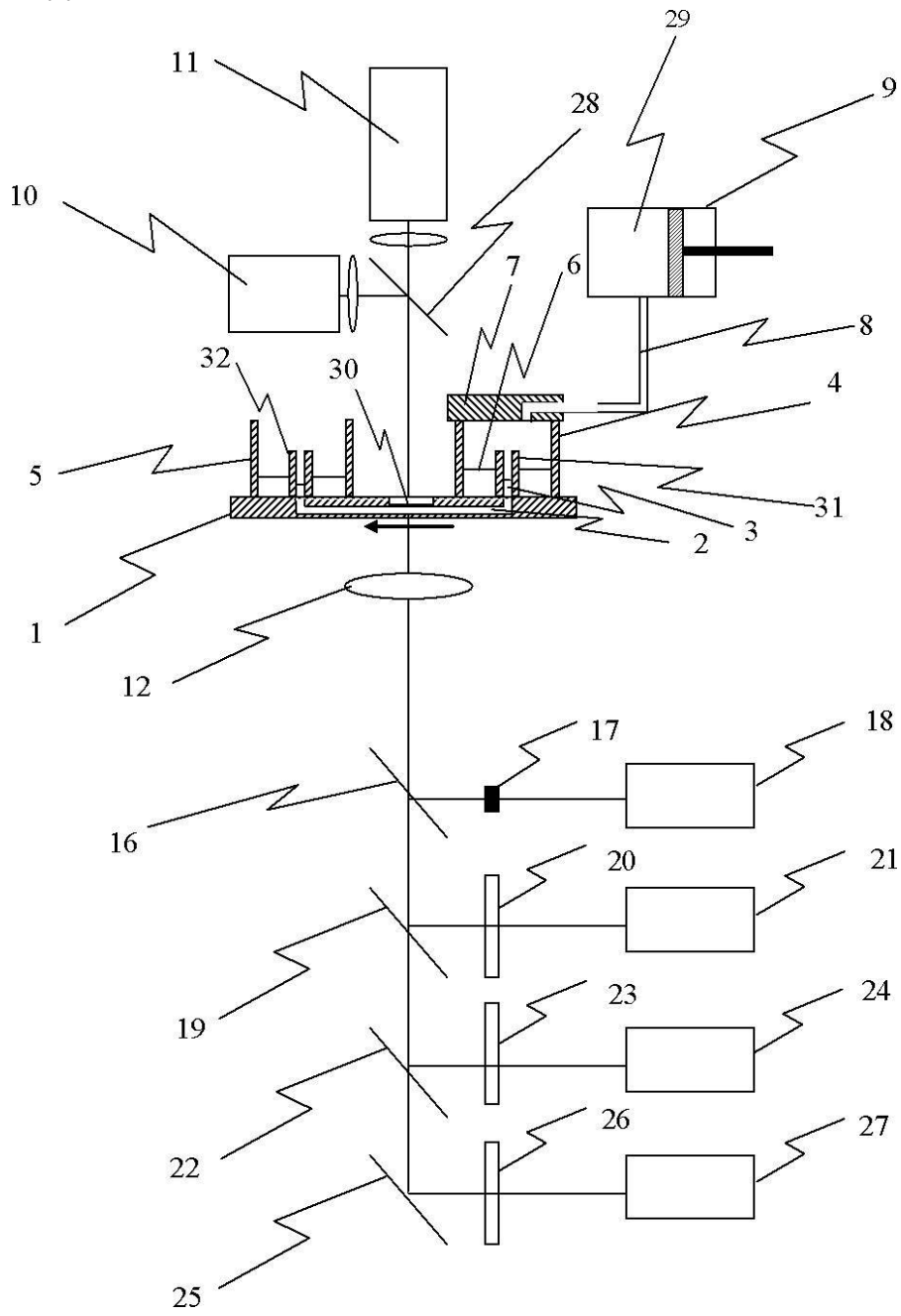
【符号の説明】

50

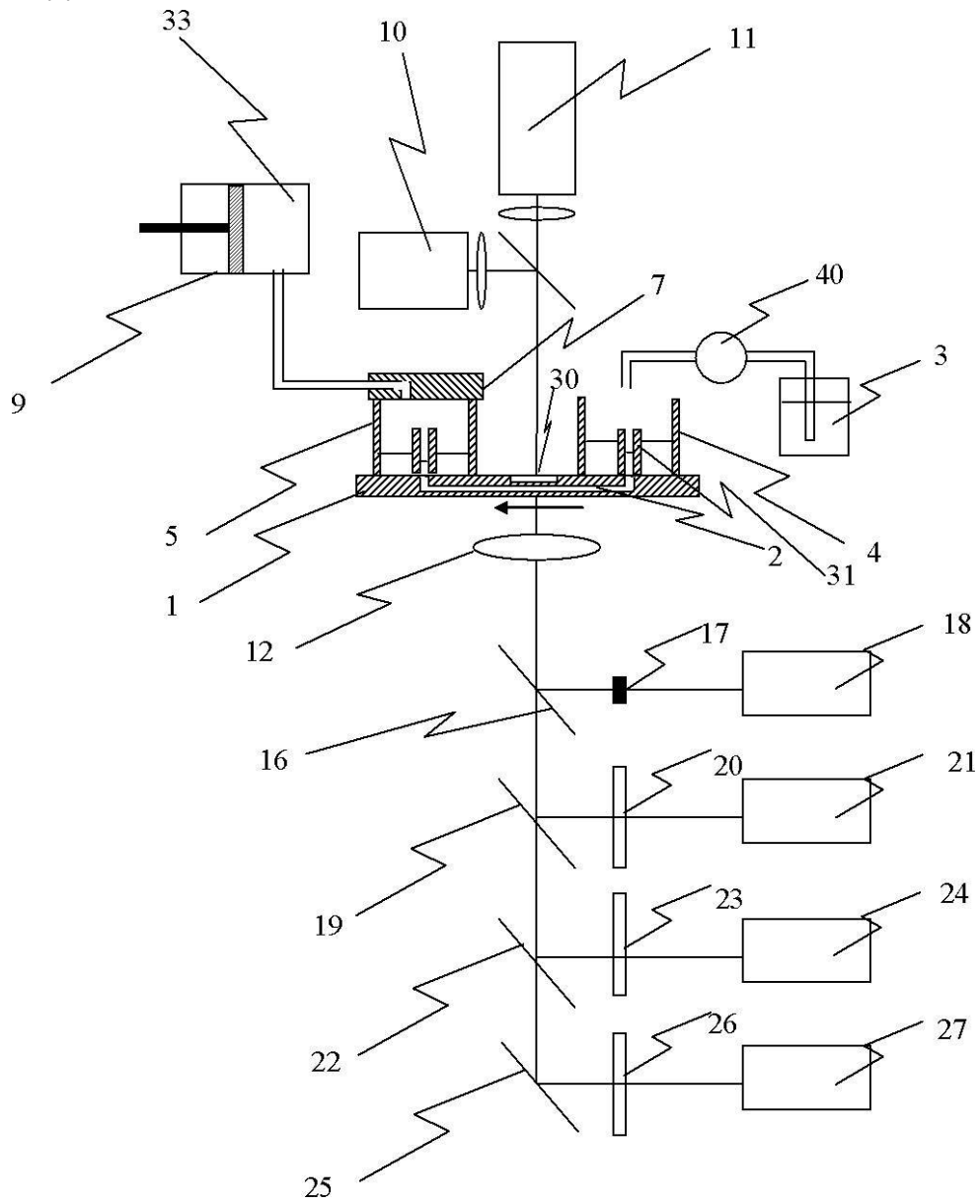
【 0 0 2 2 】

1 ... フローセル基板、 2 ... フローセル内流路、 3 ... 試料液、 4、 5 ... 貯水槽、 6 ... シース液、 7 ... キャップ、 8 ... 圧力気体をみちびくパイプ、 9 ... ポンプ、 10、 11 ... レーザ光源、 12 ... 集光レンズ、 16、 19、 22 ... ダイクロイックミラー、 17 ... ビームストッパー、 18 ... フォトダイオード、 21、 24、 27 ... 光電子増倍管、 20、 23、 26 ... バンドパスフィルター、 25 ... ミラー。

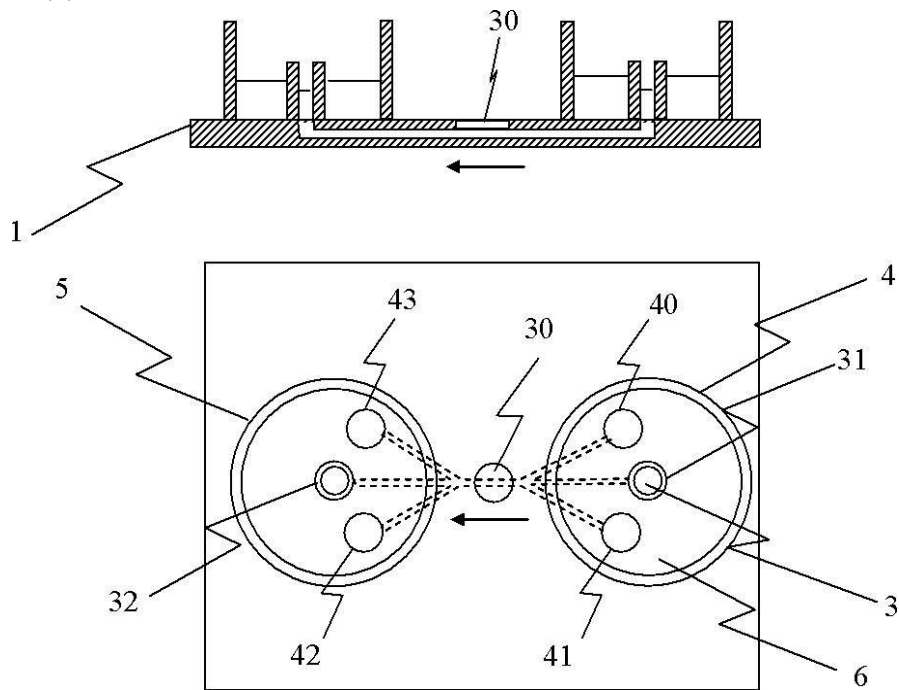
【図 1】



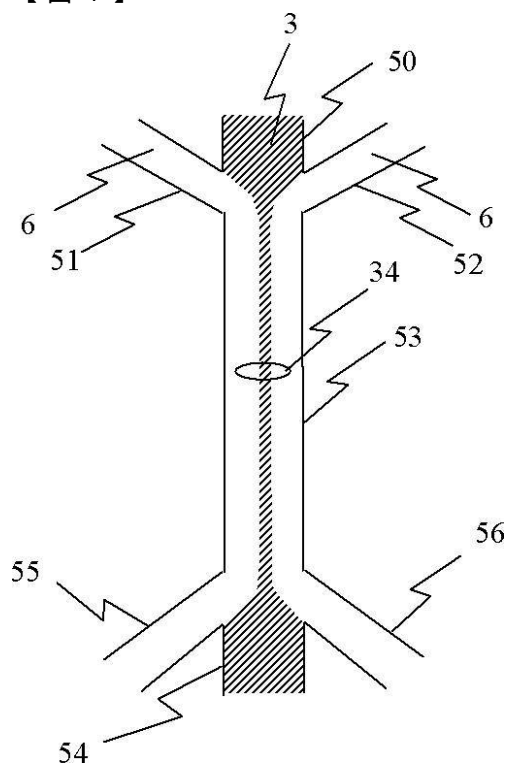
【図 2】



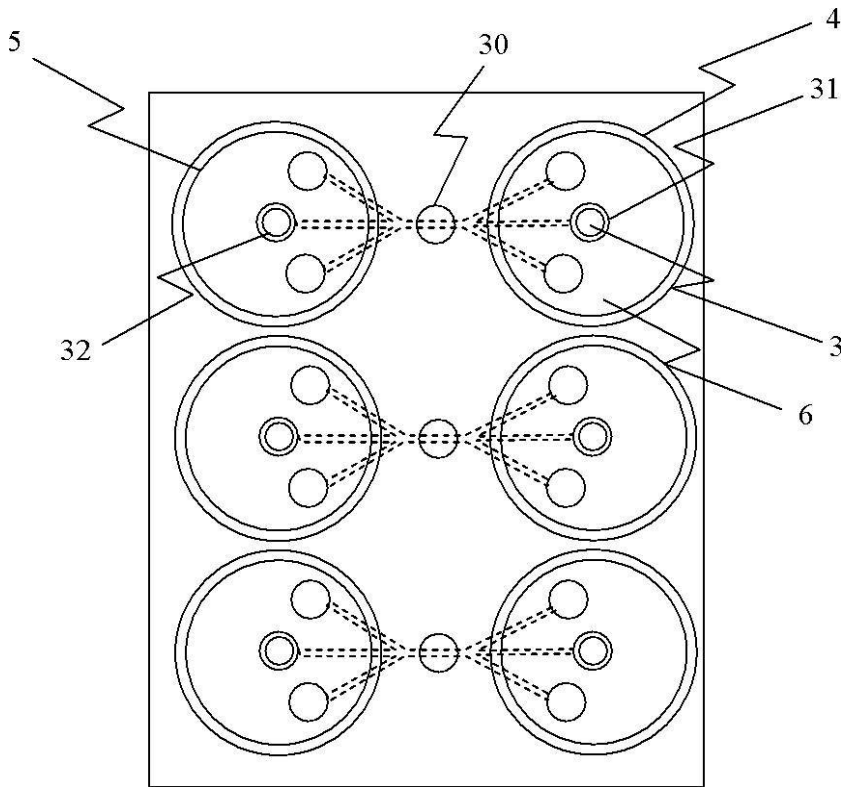
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【手続補正書】

【提出日】平成21年4月6日(2009.4.6)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第 1 の流路と、第 1 の流路の両側に配置されてシース液が導入される第 2 および第 3 の流路と、第 1 ～ 第 3 の流路が合流する第 4 の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を前記第 4 の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

前記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備え、

前記フローセルは、

第 4 の流路の上流側に第 1 ～ 第 3 の流路を有し下流側に第 5 ～ 7 流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第 1 貯水槽と第 2 貯水槽とを備え、

シース液を導入する第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽に接続されており、

試料液を導入する第 1 の流路は第 1 貯水槽の内側に設けられた第 3 貯水槽に接続しており、

前記第 2 および第 3 の流路は第 1 貯水槽内で共通の液面を有し、第 3 貯水槽は第 1 貯水槽とは独立しており第 1 貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第 5 の流路は第 2 貯水槽の内側に設けられた第 4 貯水槽に接続し、両側の第 6 および第 7 の分離流路が第 2 貯水槽に接続し、

大気圧より高い一定の圧力の気体を第 1 貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御する液体中微粒子計測装置において、

第４の流路の上流側の第１～第３の流路と下流側の第５～第７流路が対称パターンであって、下流側の第４貯水槽内に試料液が回収され、第２貯水槽にシース液が回収される構造となっていることを特徴とする液体中微粒子計測装置。

【請求項２】

基板上に形成された、微粒子を含む試料液が導入される第１の流路と、第１の流路の両側に配置されてシース液が導入される第２および第３の流路と、第１～第３の流路が合流する第４の流路とを備えるフローセルを載置するステージと、

レーザー光を前記第４の流路を流れる微粒子に照射するレーザー照射手段と、

前記微粒子から発生する散乱光または蛍光を検出・解析する手段と、を備え、

前記フローセルはさらに、

第４の流路の下流側に上流側の第１～第３の流路と対称的に第５～第７流路を有し、さらにその上流側と下流側にそれぞれ形成された第１貯水槽と第２貯水槽とを備え、

シース液を導入する第２および第３の流路は第１貯水槽に接続されており、

試料液を導入する第１の流路は第１貯水槽の内側に設けられた第３貯水槽に接続しており、

前記第２および第３の流路は第１貯水槽内で共通の液面を有し、第３貯水槽は第１貯水槽とは独立しており第１貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっており、

下流の中央の第５の流路は第２貯水槽の内側に設けられた第４貯水槽に接続し、両側の第６および第７の分離流路が第２貯水槽に接続し、

大気圧より低い一定の圧力の気体を第２貯水槽内に取り外し可能なキャップ構造を利用して導入し、当該気体圧力の制御によって試料液の流速を一定に制御する液体中微粒子計測装置において、

第４の流路の上流側の第１～第３の流路と下流側の第５～第７流路が対称パターンであって、下流側の第４貯水槽内に試料液が回収され、第２貯水槽にシース液が回収される構造となっていることを特徴とする液体中微粒子計測装置。

【請求項３】

基板上に形成された、試料液が導入される第１の流路と、

該第１の流路の両側に配置されてシース液が導入される第２および第３の流路と、

第１～第３の流路が合流し試料液の流れの両側にシース液の流れを形成する第４の流路と、を備えるフローセルであって、

流路の上流側と下流側にそれぞれ第１貯水槽と第２貯水槽が形成されており、

上流側のシース液を導入する第２および第３の流路は第１貯水槽に接続されており、

試料を導入する第１の流路は第１貯水槽の内側に設けられた第３貯水槽に接続しており、

第２および第３の流路に接続するシース液は第１貯水槽内で共通の液面を有し、第３貯水槽は貯水槽１とは独立しており第１貯水槽内でシース液と試料液が混合しない構造となっているフローセルにおいて、

シース液と試料液が合流した第４の流路は下流側で上流と対称パターンで分岐しており、下流の中央の流路は第２貯水槽内の第４貯水槽に接続して、両側の分離流路が第２貯水槽に接続していることを特徴とするフローセル。

【請求項４】

前記フローセルの流路パターンが、前記基板上に複数並列に形成されている、請求項３に記載のフローセル。