

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6863377号
(P6863377)

(45) 発行日 令和3年4月21日(2021.4.21)

(24) 登録日 令和3年4月5日(2021.4.5)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 15/14 (2006.01)
 GO 1 N 15/14 D
 GO 1 N 15/14 Z
 GO 1 N 15/14 P

請求項の数 10 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2018-522327 (P2018-522327)	(73) 特許権者	000002185
(86) (22) 出願日	平成29年3月7日(2017.3.7)		ソニーグループ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2017/008877		東京都港区港南1丁目7番1号
(87) 国際公開番号	W02017/212718	(74) 代理人	100112874
(87) 国際公開日	平成29年12月14日(2017.12.14)		弁理士 渡邊 薫
審査請求日	令和2年1月24日(2020.1.24)	(72) 発明者	酒井 啓嗣
(31) 優先権主張番号	特願2016-116693 (P2016-116693)		東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内
(32) 優先日	平成28年6月10日(2016.6.10)	(72) 発明者	阿部 正昭
(33) 優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)		東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内
		(72) 発明者	月原 浩一
			東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微小粒子測定装置及び微小粒子測定装置の洗浄方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部と、
 前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部と、
 前記光検出部と接続され、前記光検出部で検出した光の検出値を解析する解析部と、
 を少なくとも有し、
 前記光検出部は、前記検出位置より移動可能であり、
前記光検出部と接続し、所定の回転軸を定める回転軸部を更に有し、
前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転可能である、 微小粒子測定装置。

10

【請求項 2】

前記光検出部は、前方散乱光検出部である、請求項 1 に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 3】

前記検出位置は、前記微小粒子を挟んで前記光照射部と対向する位置であり、前記微小粒子から生じる光を検出可能なよう予め設定された位置である、請求項 1 又は 2 に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 4】

前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転しながら上昇可能である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 5】

20

前記光検出部は、前記検出位置に対して水平方向又は上下方向のうち少なくとも一方向へ移動可能である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 6】

前記光照射部と前記解析部が格納された筐体を更に有し、

前記光検出部は、前記筐体から完全分離可能である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 7】

前記解析部は、前記光検出部と電氣的に接続されている、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 8】

前記光検出部は、前記微小粒子から生じる光を受光する受光素子を有する、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 9】

前記光検出部は、前記光照射部と前記受光素子との間に配置され、前記微小粒子から生じる光を一部遮光する遮光部を有する、請求項 8 に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 10】

前記光照射部と前記解析部が格納された筐体と、

前記筐体に対して着脱可能なカバーと、を更に有し、

前記光検出部は、前記カバーにより覆われることが可能である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本技術は、微小粒子測定装置及び微小粒子測定装置の洗浄方法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、再生医療・細胞治療の研究が盛んに進められており、細胞を迅速に評価する手法としてフローサイトメーターのニーズが高まっている。フローサイトメーターは、解析の対象となる微小粒子を流体中に整列させた状態で流し込み、該微小粒子にレーザー光等を照射することにより、各微小粒子から発せられた蛍光や散乱光を検出することで微小粒子の解析、分取を行う分析手法であり、再生医療・細胞治療の研究において細胞を解析するツールとして使用されている。これらの研究では、細胞が汚染されるリスクを低減する必要があるため、無菌環境で処理可能なフローサイトメーターが求められている。

【0003】

例えば、特許文献 1 には、蛍光標識試薬などで染色された細胞をフローセル内で一列に配列するための流路系と、細胞にレーザー光を照射して散乱光や蛍光を検出するための光学系と、フローセル外の空間に吐出された液滴の移動方向を制御するための分取系と、からなるフローサイトメーター（微小粒子測定装置）が開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特開 2007 - 46947 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

上述したような装置においては、液滴形成の際に発生するエアロゾル等の汚染物質が発生し、このエアロゾルが次のサンプルを汚染するというリスクがある。このような、サンプル間でのクロスコンタミネーションやサンプルの汚染等の問題は、特に、フローサイトメーターの分野では大きな障害となっている。

10

20

30

40

50

【0006】

そこで、本技術では、コンタミネーションのリスクを低減可能な技術を提供することを主目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本技術では、まず、分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部と、前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部と、前記光検出部と接続され、前記光検出部で検出した光の検出値を解析する解析部と、を少なくとも有し、前記光検出部は、前記検出位置より移動可能である微小粒子測定装置を提供する。

本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光検出部は、前方散乱光検出部であっても良い。

10

また、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記検出位置は、前記微小粒子を挟んで前記光照射部と対向する位置であり、前記微小粒子から生じる光を検出可能なよう予め設定された位置であっても良い。

更に、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光検出部と接続し、所定の回転軸を定める回転軸部を更に有し、前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転可能であっても良い。この場合、前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転しながら上昇可能であっても良い。

加えて、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光検出部は、前記検出位置に対して水平方向又は上下方向のうち少なくとも一方向へ移動可能であっても良い。

20

また、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光照射部と前記解析部が格納された筐体を更に有し、前記光検出部は、前記筐体から完全分離可能であっても良い。

更に、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記解析部は、前記光検出部と電氣的に接続されていても良い。

加えて、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光検出部は、前記微小粒子から生じる光を受光する受光素子を有していても良い。この場合、前記光検出部は、前記光照射部と前記受光素子との間に配置され、前記微小粒子から生じる光を一部遮光する遮光部を有していても良い。

また、本技術に係る微小粒子測定装置において、前記光照射部と前記解析部が格納された筐体と、前記筐体に対して着脱可能なカバーと、を更に有し、前記光検出部は、前記カバーにより覆われることが可能であっても良い。

30

【0008】

また、本技術では、分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部と、前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部と、前記光検出部と接続され、前記光検出部で検出した光の検出値を解析する解析部と、を少なくとも有し、前記光検出部は、前記検出位置より移動可能である微小粒子測定装置において、前記光検出部を、前記検出位置より移動させて、前記微小粒子測定装置を洗浄する微小粒子測定装置の洗浄方法も提供する。

【0009】

本技術において、「微小粒子」には、細胞や微生物、リポソーム等の生体関連微小粒子、或いはラテックス粒子やゲル粒子、工業用粒子等の合成粒子などが広く含まれるものとする。

40

【0010】

生体関連微小粒子には、各種細胞を構成する染色体、リポソーム、ミトコンドリア、オルガネラ（細胞小器官）などが含まれる。細胞には、動物細胞（例えば、血球系細胞など）及び植物細胞が含まれる。微生物には、大腸菌等の細菌類、タバコモザイクウイルス等のウイルス類、イースト菌等の菌類などが含まれる。更に、生体関連微小粒子には、核酸やタンパク質、これらの複合体等の生体関連高分子も包含され得る。また、工業用粒子は、例えば、有機又は無機高分子材料、金属等であっても良い。有機高分子材料には、ポリスチレン、スチレン・ジビニルベンゼン、ポリメチルメタクリレート等が含まれる。無機

50

高分子材料には、ガラス、シリカ、磁性体材料等が含まれる。金属には、金コロイド、アルミ等が含まれる。これらの微小粒子の形状は、一般には球形であるのが普通であるが、本技術では、非球形であっても良く、また、その大きさ、質量等も特に限定されない。

【発明の効果】

【0011】

本技術によれば、コンタミネーションのリスクを低減可能である。なお、ここに記載された効果は、必ずしも限定されるものではなく、本開示中に記載されたいずれかの効果であっても良い。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】本技術に係る微小粒子測定装置100の第1実施形態を模式的に示す模式概念図である。

【図2】本技術に係る微小粒子測定装置100の第2実施形態を模式的に示す模式概念図である。

【図3】光検出部104を移動させる際の様子の一例を示す模式図である。

【図4】Aは、本技術に係る微小粒子測定装置100において、後述する微小粒子測定用チップMに光照射部103から光が照射された際の様子を示す模式図であり、Bは、遮光部Sの形態の一例を示す模式図である。

【図5】本技術に係る微小粒子測定装置100の第3実施形態を模式的に示す模式概念図である。

【図6】本技術に係る微小粒子測定装置100の第4実施形態を模式的に示す模式概念図である。

【図7】A及びBは、本技術に係る微小粒子測定装置100に使用可能な微小粒子測定用チップMの構成の一例を示す模式図である。

【図8】A～Cは、本技術に係る微小粒子測定装置100に使用可能な微小粒子測定用チップMのオリフィスM1の構成の一例を示す模式図である。

【図9】シース液送液部1の実施形態の一例を示す模式図である。

【図10】流体制御部102の実施形態の一例を示す模式図である。

【図11】接続部材Cの実施形態の一例を示す模式図である。

【図12】図11で示した実施形態の接続部材Cの模式端面図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、本技術を実施するための好適な形態について図面を参照しながら説明する。以下に説明する実施形態は、本技術の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これにより本技術の範囲が狭く解釈されることはない。なお、説明は以下の順序で行う。

1. 微小粒子測定装置100（第1実施形態及び第2実施形態）

(1) 光照射部103

(2) 光検出部104

(3) 解析部105

2. 微小粒子測定装置100（第3実施形態及び第4実施形態）

(1) 流路P

(1-1) 微小粒子測定用チップM

(1-2) フローセルP

(2) サンプル送液部101

(3) 流体制御部102

(4) 接続部材C

(5) 光照射部103

(6) 光検出部104

(7) 解析部105

(8) 分取部106（荷電部1061を含む）

10

20

30

40

50

- (9) 記憶部 1 0 7
- (1 0) 表示部 1 0 8
- (1 1) 入力部 1 0 9
- (1 2) 制御部 1 1 0
- (1 3) その他

3 . 微小粒子測定装置の洗浄方法

【 0 0 1 4 】

1 . 微小粒子測定装置 1 0 0

図 1 は、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 の第 1 実施形態を模式的に示す模式概念図である。

本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 は、光照射部 1 0 3 と、光検出部 1 0 4 と、解析部 1 0 5 と、を少なくとも有するものである。また、必要に応じて、光照射部 1 0 3 と解析部 1 0 5 とを格納する筐体 1 0 0 0 を更に備えていても良い。

【 0 0 1 5 】

以下、各部について詳細に説明する。

【 0 0 1 6 】

(1) 光照射部 1 0 3

光照射部 1 0 3 では、分析対象となる微小粒子に対して光を照射する。光照射部 1 0 3 から照射される光の種類は特に限定されないが、粒子から蛍光や散乱光を確実に発生させるためには、光方向、波長、光強度が一定の光が好ましい。具体的には、例えば、レーザー、LED等を挙げることができる。レーザーを用いる場合、その種類も特に限定されないが、アルゴンイオン(Ar)レーザー、ヘリウム-ネオン(He-Ne)レーザー、ダイ(dye)レーザー、クリプトン(Cr)レーザー、半導体レーザー、又は半導体レーザーと波長変換光学素子を組み合わせた固体レーザー等を1種又は2種以上自由に組み合わせることができる。第1実施形態に示す微小粒子測定装置100では筐体1000内部に格納され配置される。一方で、筐体1000に格納されない場合には、以下に説明する光検出部104と同様に所定の照射位置から移動可能に構成することもできる。

【 0 0 1 7 】

(2) 光検出部 1 0 4

光検出部 1 0 4 では、前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する。第 1 の実施形態に係る微小粒子測定装置 1 0 0 では、光検出部 1 0 4 は、前記検出位置より移動可能であることを特徴とする。微小粒子が流れる周囲はエアロゾル等によるコンタミネーションのリスクが高く、この周囲に配置されている光検出部 1 0 4 や筐体 1 0 0 0 等はサンプル毎に洗浄を行うことが望まれ、光検出部 1 0 4 を前記検出位置より移動させることで、この洗浄操作が可能となり、オペレータの負担が軽減する。

【 0 0 1 8 】

また、エアロゾル等の汚染物質の除去もスムーズに行うことができることから、エアロゾルによるコンタミネーションのリスクや、オペレータへの感染・暴露等のバイオハザードのリスクも低減できる。

【 0 0 1 9 】

本技術において、光検出部 1 0 4 は、流路内を通流する微小粒子に光を照射し、該照射により前記微小粒子から発生される蛍光(F L)、前方散乱光(F S C)及び後方散乱光(B S C)等の光成分を検出する。これらの蛍光及び必要な散乱光成分は、微小粒子の光学的情報(特性)を得る上で重要な光成分である。図 2 は、蛍光、前方散乱光、後方散乱光を受光する検出部を別体とした微小粒子測定装置 1 0 0 の第 2 の実施形態を模式的に示す概念図である。

【 0 0 2 0 】

前方散乱光検出部 1 0 4 1 は、光源より出射された光(励起光)を照射された微小粒子から発生する前方散乱光を検出する。前方散乱光は、光源からの光の光軸に対して、一般的に、 $6^{\circ} \sim 9^{\circ}$ 程度の角度で励起光を照射された微小粒子から散乱する光であり、主に

10

20

30

40

50

微小粒子の大きさに関する情報が得られる。第2の実施形態における前方散乱光検出部1041は、図2に示すように、微小粒子を挟んで光照射部103と対抗する位置に配置することが望ましい。

【0021】

また、第2の実施形態における蛍光検出部1042は蛍光が照射光の入射方向とは異なる方向にも放射されることから、本技術では、例えば、流路Pを基準に光照射部103と同じ側や90度側面の側に、蛍光検出部1042を配置することも可能である。

【0022】

更に、第2の実施形態における後方散乱光検出部1043は、後方散乱光が照射光の光軸に対して約180°方向に微小粒子から散乱する光であることから、光照射部103と同じ側に配置することが望ましい。後方散乱光は、微小粒子の内部構造に関する情報が得られる散乱光であり、同様の情報が得られる散乱光として側方散乱光がある。側方散乱光は照射光の光軸に対して約90°方向に微小粒子から散乱する光であることから、微小粒子に対して光照射部103から直角の位置に配置されることが望ましい。

10

【0023】

以上の通り、各光検出部は、微小粒子から生じる光を検出可能なよう予め設定された位置とすることができる。

【0024】

第2の実施形態で示す微小粒子測定装置100では、蛍光検出部1042、後方散乱光検出部1043は筐体1000に格納されていることから、前方散乱光検出部1041が移動可能であることが好ましい。一方でこの形態には限定されず、筐体1000がない場合には、全ての光検出部が移動可能であって良く、筐体1000の配置によっては前方散乱光検出部1041以外の光検出部のみが移動可能であっても良い。

20

【0025】

更に、本技術では、図3に示すように、光検出部104と接続し、所定の回転軸を定める回転軸部1011を更に有し、光検出部104は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転可能であるものとすることができる。これにより、オペレータが容易に光検出部104を移動させることができる。この場合の回転角度は特に限定されず、例えば、図3に示すように、90°程度とすることができる。

【0026】

この場合、光検出部104は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転しながら上昇可能であっても良い。これにより、移動される光検出部104が、光検出部104の真下の面と擦れることを防ぐことができ、オペレータは容易に光検出部104を移動させることができる。

30

【0027】

また、本技術では、光検出部104は、上述した回転移動により移動可能であるのみならず、前記検出位置に対して水平方向又は上下方向のうち少なくとも一方向へ移動可能であっても良い。

【0028】

また、本技術では、上述した少なくとも光照射部103と解析部105とを格納する筐体1000に対して、光検出部104を完全分離可能とすることができる。これにより、筐体1000の洗浄が容易となり、エアロゾル等によるコンタミネーションのリスクを低減できる。

40

【0029】

更に、本技術では、上述した筐体1000に対して着脱可能なカバーを有し、光検出部104は、前記カバーにより覆われることが可能であるものとすることができる。これにより、光検出部104に塵等のゴミなどが侵入することを防ぐことができる。

【0030】

本技術では、光検出部104は、微小粒子からの光の検出ができれば、その種類は特に限定されず、公知の光検出器を自由に選択して採用することができる。例えば、蛍光測定

50

器、散乱光測定器、透過光測定器、反射光測定器、回折光測定器、紫外分光測定器、赤外分光測定器、ラマン分光測定器、FRET測定器、FISH測定器、その他各種スペクトラム測定器、複数の光検出器をアレイ状に並べた、所謂、マルチチャンネル光検出器等を、1種又は2種以上自由に組み合わせて採用できる。

【0031】

また、本技術では、光検出部104は、前記微小粒子から生じる光を受光する受光素子を有することが好ましい。受光素子としては、CCDやCMOS素子等のエリア撮像素子、PMT、フォトダイオード等が挙げられる。

【0032】

更に、本技術では、光検出部104を異なる検出波長域を有する複数の受光素子から構成することもできる。光検出部104を異なる検出波長域を有する複数の受光素子から構成することで、連続した波長域における光の強度を蛍光スペクトルとして計測することができる。具体的には、例えば、受光素子を一次元に配列したPMTアレイ又はフォトダイオードアレイ、或いは、CCD又はCMOS等の2次元受光素子等の独立した検出チャンネルが複数並べられたものが挙げられる。

10

【0033】

一方で、上述の移動式の光検出部104を採用した場合に、固定式の光検出部に比べると取付け位置の再現性の誤差が生じやすいことが分かった。例えば、固定式が20 μ m程度の誤差で固定されるのに対して、移動式は取付時に100 μ m程度の誤差が生じる可能性がある。この誤差が、結果として、測定誤差等に繋がる。

20

【0034】

更に、一般的に使用される光ファイバーを持つ光検出部では、移動時のダメージを含めて信頼性の心配がある。更に、この光ファイバーは、例えば、250 μ mのものを使った場合は、許容される誤差が50 μ m程度となり、取付位置の再現性の低い移動式の光検出部では、この許容範囲を超えて問題となるケースが想定される。

【0035】

また、光ファイバーとして750 μ m程度の大口径のものを使えば、取付位置の再現性は確保できるが、その代わりに開口数(NA)の小さい光学系となり、焦点距離が長くなる関係から、装置自体が巨大化してしまう。

【0036】

別の方法として、コリメータレンズと集光レンズの倍率を調整して設計することも可能ではあるが、これには高NAで単焦点のレンズが必要となり、装置全体としてはコストアップとなる。

30

【0037】

そこで、本技術における光検出部104では、レンズ光学系を使用することなく、直接受光素子PDへ照射する構成とすることが好ましい。例えば、図4で示した光検出部104は、受光素子PDと更に遮光部Sを有し、遮光部Sは光照射部103と受光素子PDとの間に配される。図4のAでは、後述する微小粒子測定用チップMに光照射部103から光が照射された際の様子を示す模式図であり、図4のBは、遮光部Sの形態の一例を示す模式図である。

40

【0038】

図4に示すように遮光部Sを介した散乱光を直接受光素子PDへ照射する構成とすることで、PDのサイズが、例えば、10mmである場合は、そのずれ量自体は300 μ m程度のずれが存在したとしても、問題ないレベルとすることができる。

【0039】

これにより、取付位置の誤差に起因する測定誤差を低減でき、装置自体の巨大化も抑制することができる。また、高価な光学部品を大きく削減でき、装置自体のコストダウンを図ることができる。

【0040】

遮光部Sは、微小粒子から生じる光を遮ることができれば、その材質等は特に限定され

50

ない。また、遮光部 S の形態も特に限定されないが、例えば、図 4 の B で示したような形態とすることができる。

【 0 0 4 1 】

(3) 解析部 1 0 5

解析部 1 0 5 では、光検出部 1 0 4 と接続され、光検出部 1 0 4 で検出した微小粒子に対する光の検出値を解析する。その他にも解析部 1 0 5 では、各種の情報処理、並びに、光照射部 1 0 3、光検出部 1 0 4 等の制御が行われても良い。

【 0 0 4 2 】

本技術では、解析部 1 0 5 は、光検出部 1 0 4 と電氣的に接続されているものとしてすることができる。これにより、光検出部 1 0 4 はより自由度を持って移動させることが可能となる。

10

【 0 0 4 3 】

解析部 1 0 5 では、例えば、光検出部 1 0 4 より受け取った光の検出値を補正し、各微小粒子の特徴量を算出することができる。具体的には、受光した蛍光、前方散乱光及び後方散乱光の検出値より微小粒子の大きさ、形態、内部構造等を示す特徴量を算出する。また、算出した特徴量と事前に入力部 1 0 9 より受け取った分取条件等に基づき分取判断を行い、分取制御信号を生成することもできる。

【 0 0 4 4 】

解析部 1 0 5 は、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 では必須ではなく、光検出部 1 0 4 によって検出された光の検出値に基づいて、外部の解析装置等を用いて微小粒子の状態等を解析することも可能である。例えば、解析部 1 0 5 は、パーソナルコンピュータや、CPU にて実施しても良く、更に記録媒体（不揮発性メモリ（USBメモリ等）、HDD、CD等）等を備えるハードウェア資源にプログラムとして格納し、パーソナルコンピュータやCPUによって機能させることも可能である。更に、解析部 1 0 5 は各部とネットワークを介して接続されていても良い。

20

【 0 0 4 5 】

2 . 微小粒子測定装置 1 0 0

図 5 は、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 の第 3 実施形態を模式的に示す模式概念図であり、図 6 は、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 の第 4 実施形態を模式的に示す模式概念図である。本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 は、必要に応じて、流路 P、サンプル送液部 1 0 1、流体制御部 1 0 2、分取部 1 0 6、荷電部 1 0 6 1、記憶部 1 0 7、表示部 1 0 8、入力部 1 0 9、制御部 1 1 0 等を備えていても良い。

30

【 0 0 4 6 】

図 5 中、サンプル送液部 1 0 1 からの送液が可能な送液チューブ C 1 1、シース液送液部 1 からの送液が可能な送液チューブ C 2 1、排液部 3 への排液が可能な排液チューブ C 4 1 は、必要に応じて適宜取り外しが可能であり、これらの部材を使い捨て（ディスポザブル）としても良い。更に、後述する微小粒子測定用チップ M も、必要に応じて同様の取り扱いとすることができる。

【 0 0 4 7 】

以下、各部について詳細に説明する。

40

【 0 0 4 8 】

(1) 流路 P

流路 P は、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 に予め備えていても良いが、市販の流路 P や流路 P が設けられた使い捨てのチップなどを、微小粒子測定装置 1 0 0 に設置して解析又は分取を行うことも可能である。

【 0 0 4 9 】

本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 に用いることができる流路 P の形態は特に限定されず、自由に設計することができる。例えば、図 5 の微小粒子測定装置 1 0 0 に示すような 2 次元又は 3 次元のプラスチックやガラス等の基板内に形成した流路 P に限らず、図 6 の微小粒子測定装置 1 0 0 に示すように、従来のフローサイトメーターで用いられている

50

ようなフローセルからなる流路Pも、本技術に係る微小粒子測定装置100に用いることができる。

【0050】

また、流路Pの流路幅、流路深さ、流路断面形状も、層流を形成し得る形態であれば特に限定されず、自由に設計することができる。例えば、流路幅1mm以下のマイクロ流路も、本技術に係る微小粒子測定装置100に用いることが可能である。特に、流路幅10 μ m以上1mm以下程度のマイクロ流路は、本技術に係る微小粒子測定装置100により好適に用いることができる。

【0051】

(1-1) 微小粒子測定用チップM

図7は、図5の微小粒子測定装置100に使用可能な微小粒子測定用チップMの構成の一例を示す模式図であり、図8は、図5の微小粒子測定装置100に使用可能な微小粒子測定用チップMのオリフィスM1の構成の一例を示す模式図である。図7のAは上面模式図、図7のBはA中のP-P断面に対応する断面模式図を示す。また、図8のAは上面図、図8のBは断面図、図8のCは正面図を示す。なお、図8のBは、図7のA中のP-P断面に対応する。

10

【0052】

微小粒子測定用チップMは、サンプル流路M2が形成された基板層Ma、Mbが貼り合わされてなる。基板層Ma、Mbへのサンプル流路M2の形成は、金型を用いた熱可塑性樹脂の射出成形により行うことができる。熱可塑性樹脂には、ポリカーボネート、ポリメ
20
タクリル酸メチル樹脂(PMMA)、環状ポリオレフィン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリプロピレン及びポリジメチルシロキサン(PDMS)等の、微小粒子測定用チップの材料として従来公知のプラスチックを採用できる。

20

【0053】

また、微小粒子測定用チップMには、微小粒子を含むサンプルを導入するサンプル導入部M3と、シース液を導入するシース導入部M4、サンプル流が導入されシース液と合流するサンプル流路M2が形成される。シース導入部M4から導入されたシース液は、2方向に分かれて送液された後、サンプル導入部M3から導入されたサンプル液との合流部において、サンプル液を2方向から挟み込むようにしてサンプル液に合流する。これにより、合流部において、シース液層流の中央にサンプル液層流が位置された3次元層流が形成
30
される。

30

【0054】

図7のAで示したM5は、サンプル流路M2に詰まりや気泡が生じた際に、サンプル流路M2内に負圧を加えて流れを一時的に逆流させて詰まりや気泡を解消するための吸引流路を示す。吸引流路M5の一端には、真空ポンプ等の負圧源に接続される吸引開口部M5
1が形成されている。また、吸引流路M5の他端は、連通口M52においてサンプル流路M2に接続している。

【0055】

3次元層流は、送液方向に対する垂直断面の面積が送液方向上流から下流へ次第にある
40
いは段階的に小さくなるように形成された絞込部M61(図7参照)、M62(図8のA及びB参照)において層流幅を絞り込まれる。その後、3次元層流は、流路の一端に設けられたオリフィスM1から流体ストリームとなって排出される。

40

【0056】

オリフィスM1から射出される流体ストリームは、以下に記述する振動素子106aがオリフィスM1に振動を印可することにより液滴化される。オリフィスM1は基板層Ma、Mbの端面方向に開口しており、その開口位置と基板層端面との間には切欠部M11が設けられている。切欠部M11は、オリフィスM1の開口位置と基板端面との間の基板層Ma、Mbを、切欠部M11の径L1がオリフィスM1の開口径L2よりも大きくなるように切り欠くことによって形成されている(図8のC参照)。切欠部M11の径L1は、オリフィスM1から吐出される液滴の移動を阻害しないように、オリフィスM1の開口径
50

50

L 2 よりも 2 倍以上大きく形成されていることが好ましい。

【 0 0 5 7 】

(1 - 2) フローセル P

フローセル P は、サンプルを導入するサンプル導入部 P 3、シース液を導入するシース導入部 P 4、シース液とサンプルが合流しシース液層流の中央にサンプル液層流が位置された層流を構成する流路 P 2 及びオリフィス P 1 とからなる。オリフィス P 1 からは流体ストリームが放出され、微小粒子測定装置が 1 0 0 備える以下に記述する光照射部 1 0 3 及び光検出部 1 0 4 により微小粒子の特性検出が行われる。

【 0 0 5 8 】

(2) サンプル送液部 1 0 1

サンプル送液部 1 0 1 は、サンプルを以下で説明するサンプル送液チューブ及びサンプル導入連結部 C 1 を介して、サンプル導入部 M 3、P 3 へ送液する。例えば、サンプル送液部 1 0 1 は、サンプルを含む試験管又はウェルプレート等からノズルを介してサンプルを吸引・送液する、又は、サンプルを含む試験管等を格納可能な格納部に圧力をかけることでサンプルを送液することも可能である。

【 0 0 5 9 】

(3) 流体制御部 1 0 2

流体制御部 1 0 2 は、シース液導入部 M 4 へシース液を導入するシース液送液部 1 を有する。図 9 は、シース液送液部 1 の実施形態の一例を示す模式図であり、シース液格納部 1 0 を取り付け可能な支持部 1 1 と密閉部 1 2 とを含む。例えば、シース液格納部 1 0 内のシース液は密閉部 1 2 に対する圧力により、上述したシース液送液チューブ 2 及びシース液導入連結部 C 2 を介して、シース液導入部 M 4 へ送液する。

【 0 0 6 0 】

図 1 0 は、流体制御部 1 0 2 の実施形態の一例を示す模式図であり、流体制御部 1 0 2 は、更に排液部 3 を備える。例えば、ポンプ機能等により上述した排液チューブ及び排液連結部 C 4 を介して吸引開口部 M 5 1 からサンプル流路 M 2 内の詰りや気泡等を回収する。また、排液部 3 は以下にて説明する分取部 1 0 6 において分取されなかった液滴やエアロゾル等を吸引するため、分取部 1 0 6 と接続することも可能である。

【 0 0 6 1 】

また、流体制御部 1 0 2 は、図 1 0 に示すように、シース液送液部 1 と排液部 3 とを設置可能な設置台 4 を備えても良い。排液制御部は、設置台 4 に設けることも可能であるが、以下に記述する制御部 1 1 0 の 1 つとして設置台 4 以外の場所に設けることも可能である。

【 0 0 6 2 】

更に、流体制御部 1 0 2 は、微小粒子測定装置 1 0 0 と別体に形成されても良いし、微小粒子測定装置 1 0 0 の一部として形成されても良い。

【 0 0 6 3 】

(4) 接続部材 C

図 1 1 は、図 5 の微小粒子測定装置 1 0 0 において、微小粒子測定用チップ M とサンプル送液部 1 0 1 ・流体制御部 1 0 2 との間を接続する接続部材 C の実施形態の一例を示す模式図である。この実施形態の接続部材 C は、サンプル導入部 M 3 に連結するサンプル導入連結部 C 1 と、シース液導入部 M 4 に連結するシース液導入連結部 C 2 と、液滴の少なくとも一部に対して電荷を付与する荷電用電極部 C 3 と、吸引開口部 M 5 1 に連結する排液連結部 C 4 を有し、サンプル導入連結部 C 1、シース液導入連結部 C 2 及び排液連結部 C 4 は、前記基板における各対応位置に連結するように位置決めされている。

【 0 0 6 4 】

微小粒子測定用チップ M 及び微小粒子測定装置 1 0 0 に対して着脱自在な接続部材 C を用いることで、微小粒子測定用チップ M と接触する箇所が取り外し可能となり、コンタミネーションのリスクを低減できる。また、前述した微小粒子測定用チップ M や接続部材 C をサンプル毎に使い捨てにすることで、サンプルを変更する際に行われる洗浄操作の手間

10

20

30

40

50

が省け、オペレータの負担を低減できる。

【0065】

また、荷電用電極部C3は、シース液導入連結部C2と接触し、シース液を通じて前記液滴の少なくとも一部に対して電荷を付与するものとすることができる。荷電用電極部C3の構成は特に限定されないが、例えば、図12に示すように、荷電部1061と接続する接続部C31/C32と、シース液導入連結部C2と接触する接触部C33と、からなるものとすることができる。荷電部1061の詳細については、後述する(8)分取部106以下にて記載する。

【0066】

また、接続部C31/C32及び接触部C33は、金属からなるものとするのが好ましい。なお、これらの接続部C31/C32及び接触部C33に用いられる金属も、サンプル毎に使い捨てとすることで、サンプルを変更する際に行われる洗浄操作の手間が省け、オペレータの負担を低減できる。

10

【0067】

また、シース液導入連結部C2は、図11及び12に示すように、シース液送液部1からの送液が可能な送液チューブC21、サンプル送液部101からの送液が可能な送液チューブC11、排液部3に排液可能な排液チューブC41を有していても良い。これらチューブも同様に微小粒子測定用チップM及び微小粒子測定装置100に対して着脱可能に構成され、サンプル毎に使い捨てにすることが可能である。

【0068】

20

(5) 光照射部103

光照射部103は、前述したものに対応するので、ここでは説明を割愛する。

【0069】

(6) 光検出部104

光検出部104は、前述したものに対応するので、ここでは説明を割愛する。なお、図5及び図6では光検出部104を単体の光検出部として示したが、光検出部104は、複数の光検出部を含むことも可能である。

【0070】

(7) 解析部105

解析部105は、前述したものに対応するので、ここでは説明を割愛する。

30

【0071】

(8) 分取部106(荷電部1061を含む)

分取部106は、液滴を発生させる振動素子106a、荷電された液滴を所望の方向へ変更する偏向板106b、液滴を収集する収集容器を少なくとも有する。荷電部1061は図5及び6上、別途定義したが、分取部106の一部であり、解析部105により生成された分取制御信号に基づき荷電を行う。

【0072】

図5で示した微小粒子測定装置100では、振動素子106aは上述した通りオリフィスM1に振動を加えることにより液滴を生成する。荷電部1061は上述したシース液流導入連結部C2と連結する荷電用電極部C3と接続し、微小粒子測定用チップMのオリフィスM1から吐出された液滴を解析部105により生成された分取制御信号に基づきプラス又はマイナスに荷電する。

40

【0073】

一方で、図6で示した微小粒子測定装置100では、振動素子106aはオリフィスM1から吐出される流体ストリームに振動を加えることにより液滴を生成し、荷電部1061は解析部105により生成された分取制御信号に基づき液滴をプラス又はマイナスに荷電する。

【0074】

そして、荷電された液滴は、電圧が印加された偏向板(対向電極)106bによって、その進路が所望の方向へ変更され、分取される。

50

【 0 0 7 5 】

なお、用いる振動素子 1 0 6 a は特に限定されず、公知のものを自由に選択して用いることができる。一例としては、ピエゾ振動素子等を挙げることができる。また、流路 P への送液量、吐出口の径、振動素子 1 0 6 a の振動数等を調整することにより、液滴の大きさを調整し、微小粒子を一定量ずつ含む液滴を発生させることができる。

【 0 0 7 6 】

(9) 記憶部 1 0 7

記憶部 1 0 7 では、光検出部 1 0 4 で検出された値、解析部 1 0 5 にて算出された特徴量、分取制御信号、入力部 1 0 9 にて入力された分取条件等の測定に関わるあらゆる事項を記憶する。

10

【 0 0 7 7 】

微小粒子測定装置 1 0 0 において、記憶部 1 0 7 は必須ではなく、外部の記憶装置を接続しても良い。記憶部 1 0 7 としては、例えば、ハードディスク等を用いることができる。更に、記憶部 1 0 7 は各部とネットワークを介して接続されていても良い。

【 0 0 7 8 】

(1 0) 表示部 1 0 8

表示部 1 0 8 では、光検出部 1 0 4 で検出された値、解析部 1 0 5 にて算出された特徴量等の測定に関わるあらゆる事項を表示することができる。好ましくは、表示部 1 0 8 は、解析部 1 0 5 にて算出された各微小粒子に対する特徴量がスカッタグラムとして表示することができる。

20

【 0 0 7 9 】

微小粒子測定装置 1 0 0 において、表示部 1 0 8 は必須ではなく、外部の表示装置を接続しても良い。表示部 1 0 8 としては、例えば、ディスプレイ、プリンタ等を用いることができる。

【 0 0 8 0 】

(1 1) 入力部 1 0 9

入力部 1 0 9 は、オペレータ等のユーザーが操作するための部位である。ユーザーは、入力部 1 0 9 を通じて、制御部 1 1 0 にアクセスし、本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 の各部を制御することができる。好ましくは、入力部 1 0 9 は、表示部に表示されたスカッタグラムに対して注目領域を設定し、分取条件を決定することが可能である。

30

【 0 0 8 1 】

微小粒子測定装置 1 0 0 において、入力部 1 0 9 は必須ではなく、外部の操作装置を接続しても良い。入力部 1 0 9 としては、例えば、マウス、キーボード等を用いることができる。

【 0 0 8 2 】

(1 2) 制御部 1 1 0

制御部 1 1 0 は、サンプル送液部 1 0 1、流体制御部 1 0 2、光照射部 1 0 3、光検出部 1 0 4、解析部 1 0 5、分取部 1 0 6、荷電部 1 0 6 1、記憶部 1 0 7、表示部 1 0 8 及び入力部 1 0 9 のそれぞれを制御可能に構成されている。制御部 1 1 0 は各部に対して別々に配置されても良く、更に微小粒子測定装置 1 0 0 の外部に備えても良い。例えば、パーソナルコンピュータや、CPU にて実施しても良く、更に記録媒体（不揮発性メモリ（USBメモリ等）、HDD、CD等）等を備えるハードウェア資源にプログラムとして格納し、パーソナルコンピュータやCPUによって機能させることも可能である。更に、制御部 1 1 0 は各部とネットワークを介して接続されていても良い。

40

【 0 0 8 3 】

(1 3) その他

本技術に係る微小粒子測定装置 1 0 0 は、バイオセーフティキャビネット内に格納可能である。バイオセーフティキャビネット内に格納することにより、ユーザーを含む周囲への飛散やサンプルの汚染を防止することが可能である。流体制御部 1 0 2 は、バイオセーフティキャビネット内に格納する必要はなく、バイオセーフティキャビネット壁面の開口

50

部にて各チューブを介して微小粒子測定装置 100 と接続可能である。

【0084】

また、微小粒子測定装置 100 の各部は、サンプルの汚染を防止するため、洗浄可能に構成されている。特に、サンプルと接触する可能性のあるサンプル送液部 101、流路 P 及び分取部 106 を含む筐体 1000 は洗浄可能に構成されていることが望ましい。

【0085】

3. 微小粒子測定装置の洗浄方法

本技術に係る微小粒子測定装置の洗浄方法では、分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部 103 と、前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部 104 と、光検出部 104 と接続され、光検出部 104 で検出した光の検出値を解析する解析部 105 と、を少なくとも有し、光検出部 104 は、前記検出位置より移動可能である微小粒子測定装置 100 において、光検出部 104 を、前記検出位置より移動させて、微小粒子測定装置 100 を洗浄する。微小粒子測定装置 100 や、光照射部 103、光検出部 104 及び解析部 105 については、前述したものに対応するので、ここでは説明を割愛する。

10

【0086】

なお、本技術では、以下の構成を取ることできる。

(1)

分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部と、
前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部と、
前記光検出部と接続され、前記光検出部で検出した光の検出値を解析する解析部と、
を少なくとも有し、
前記光検出部は、前記検出位置より移動可能である微小粒子測定装置。

20

(2)

前記光検出部は、前方散乱光検出部である、(1)に記載の微小粒子測定装置。

(3)

前記検出位置は、前記微小粒子を挟んで前記光照射部と対向する位置であり、前記微小粒子から生じる光を検出可能なよう予め設定された位置である、(1)又は(2)に記載の微小粒子測定装置。

(4)

前記光検出部と接続し、所定の回転軸を定める回転軸部を更に有し、
前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転可能である、(1)から(3)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

30

(5)

前記光検出部は、前記検出位置に対して前記所定の軸を中心として回転しながら上昇可能である、(4)に記載の微小粒子測定装置。

(6)

前記光検出部は、前記検出位置に対して水平方向又は上下方向のうち少なくとも一方向へ移動可能である、(1)から(5)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(7)

前記光照射部と前記解析部が格納された筐体を更に有し、
前記光検出部は、前記筐体から完全分離可能である、(1)から(6)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

40

(8)

前記解析部は、前記光検出部と電氣的に接続されている、(1)から(7)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(9)

前記光検出部は、前記微小粒子から生じる光を受光する受光素子を有する、(1)から(8)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(10)

50

前記光検出部は、前記光照射部と前記受光素子との間に配置され、前記微小粒子から生じる光を一部遮光する遮光部を有する、(9)に記載の微小粒子測定装置。

(11)

前記光照射部と前記解析部が格納された筐体と、
前記筐体に対して着脱可能なカバーと、を更に有し、

前記光検出部は、前記カバーにより覆われることが可能である、(1)から(10)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(12)

分析対象となる微小粒子に対して光を照射する光照射部と、前記微小粒子から生じる光を所定の検出位置で検出する光検出部と、前記光検出部と接続され、前記光検出部で検出した光の検出値を解析する解析部と、を少なくとも有し、前記光検出部は、前記検出位置より移動可能である微小粒子測定装置において、

10

前記光検出部を、前記検出位置より移動させて、前記微小粒子測定装置を洗浄する微小粒子測定装置の洗浄方法。

【符号の説明】

【0087】

100：微小粒子測定装置

101：サンプル送液部

102：流体制御部

103：光照射部

20

104：光検出部

1041：前方散乱光検出部

1042：蛍光検出部

1043：後方散乱光検出部

105：解析部

106：分取部

106a：振動素子

106b：偏向板

1061：荷電部

107：記憶部

30

108：表示部

109：入力部

110：制御部

111：光学フィルタ

1000：筐体

1011：回転軸部

1：シース液送液部

10：シース液格納部

11：支持部

12：密閉部

40

2：シース液送液チューブ

3：排液部

4：設置台

P：流路

R1：レーザー光線

R2：散乱光

BSC：後方散乱光

FL：蛍光

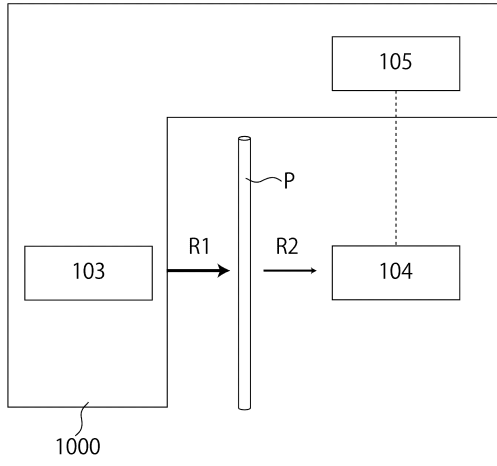
FSC：前方散乱光

S：遮光部

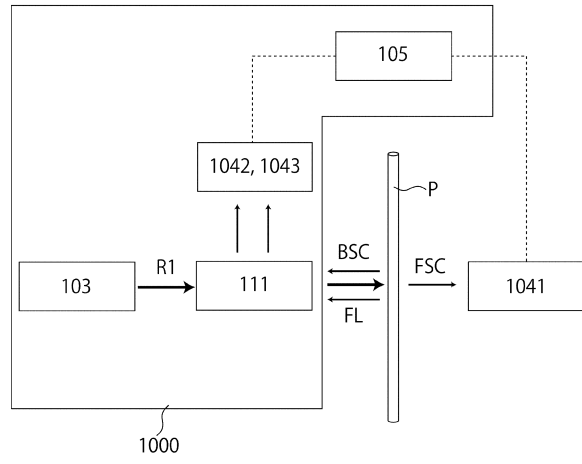
50

P D : 受光素子	
M : 微小粒子測定用チップ	
M a、M b : 基板層	
M 1 : オリフィス	
M 1 1 : 切欠部	
M 2 : サンプル流路	
M 3 : サンプル導入部	
M 4 : シース導入部	
M 5 : 吸引流路	
M 5 1 : 吸引開口部	10
M 5 2 : 連通口	
M 6 1、M 6 2 : 絞込部	
M 7 : ストレート部	
L 1 : 切欠部 M 1 1 の径	
L 2 : オリフィス M 1 の開口径	
C : 接続部材	
C 1 : サンプル導入連結部	
C 1 1 : サンプル送液部からの送液が可能な送液チューブ	
C 1 1 1 : チューブ固定部	
C 2 : シース液導入連結部	20
C 2 1 : シース液送液部からの送液が可能な送液チューブ	
C 3 : 荷電用電極部	
C 3 1、C 3 2 : 接続部	
C 3 3 : 接触部	
C 4 : 排液連結部	
C 4 1 : 排液部への排液が可能な排液チューブ	

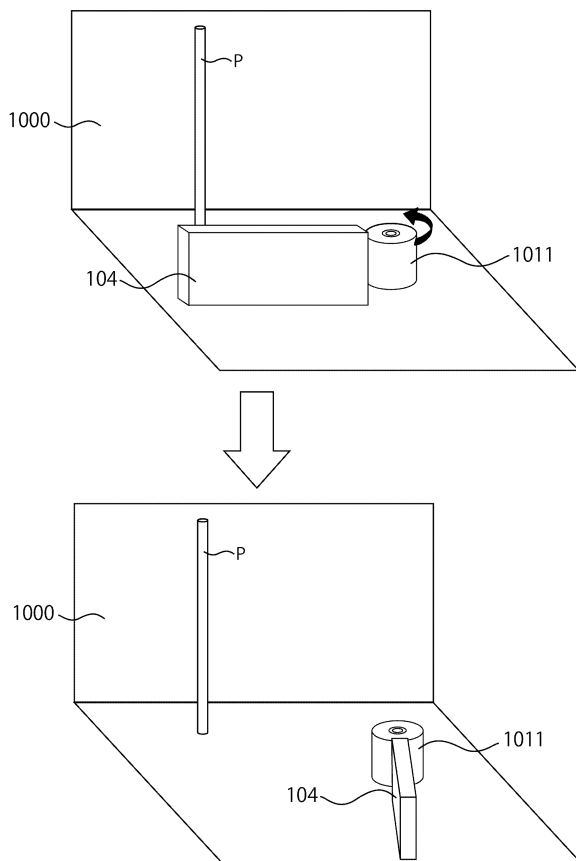
【図 1】



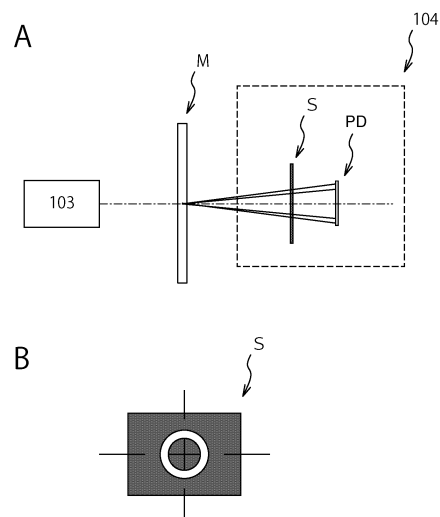
【図 2】



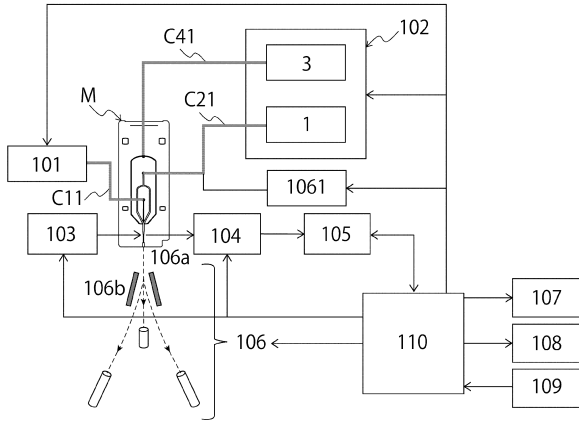
【図 3】



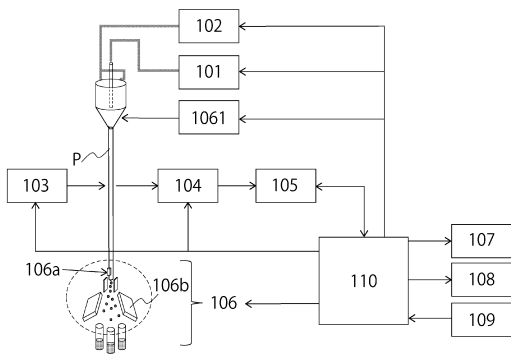
【図 4】



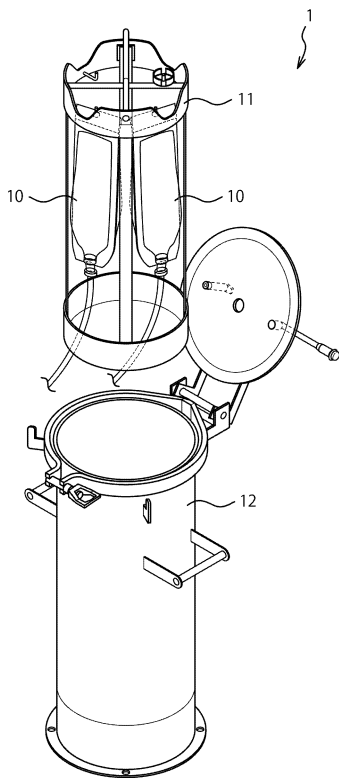
【図5】



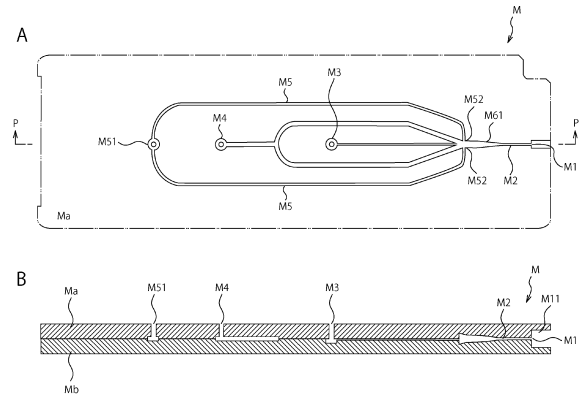
【図6】



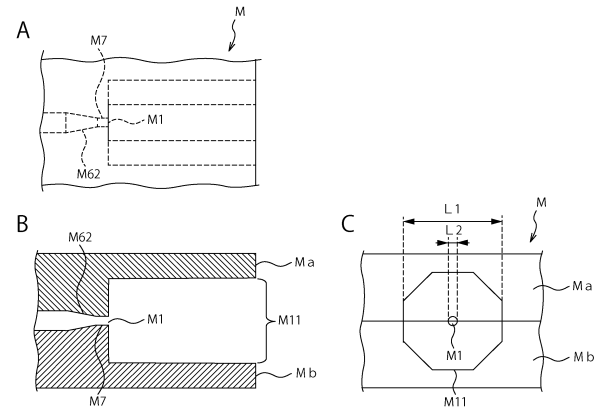
【図9】



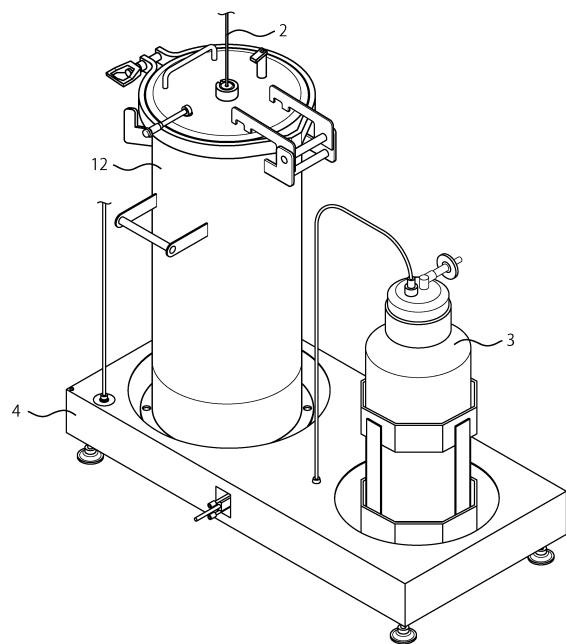
【図7】



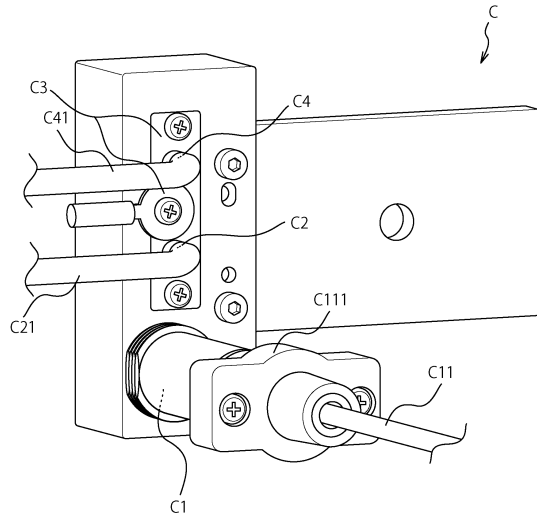
【図8】



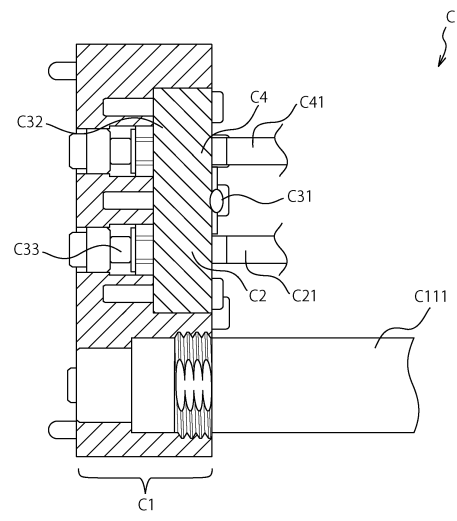
【図10】



【図 1 1】



【図 1 2】



フロントページの続き

- (72)発明者 秋山 昭次
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内
- (72)発明者 長谷川 真一
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内

審査官 野田 華代

- (56)参考文献 特開2001-059808(JP,A)
国際公開第2010/035775(WO,A1)
特開2013-250135(JP,A)
特開平11-173969(JP,A)
特開2011-033405(JP,A)
特開2013-158272(JP,A)
特開2013-210292(JP,A)
特開2008-096155(JP,A)

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