

請求の範囲

- [請求項1] (A) 被験体からの細胞試料液から候補となるサイズ領域の細胞を精製し、濃縮し、染色し、及び／又は洗浄する処理を行う第1の装置と、
- (B) 前記第1の装置で処理された細胞をカプセル中に封入したカプセル粒子を作製する第2の装置と、
- (C) 前記第1の装置で処理された細胞または前記第2の装置でカプセル粒子中に封入された細胞の画像を取得して判別し、この細胞の流速を連続で流速データとして取得して、該流速データに基づいて正確な細胞形状を取得し、この細胞形状に基づく細胞の画像の情報を連続で解析し、被験試料全量の細胞情報の分布を出力し、かつ、標的となる細胞を判別して回収する第3の装置と
- (D) 前記第1～第3の各装置の動作を制御し、前記細胞試料液についての判定を行う制御・判断部と
- を備える細胞分析装置システム。
- [請求項2] (a) 前記第1の装置が、被験体からの細胞試料液から得られる細胞を濃縮し、染色し、洗浄するメンブレンフィルターを備えたチャンバーと、前記細胞を含む溶液、染色液および洗浄液をそれぞれ収容する容器と、各前記容器中の各液を前記チャンバー中に順次導入する細胞濃縮・染色・洗浄機構とを備え、または、
- (a') 前記第1の装置が、前記細胞試料液中の細胞を選択的に連続してサイズ分画できる、サイズ分画したい細胞サイズに合わせて間隔を調整され流路の流れに対して傾斜して微小流路中に配置されたピラーアレイと、該微小流路に直交する両側壁面に対向して配置された正弦交流電場を微小流路中に印加できる一対の電極とを含む交流電場印加機構を備え、
- (b) 前記第2の装置が、微小管の出口よりゾル状態のアルギン酸と前記細胞を含む溶液を二価イオンを含む溶液中に吐出することで細胞

を含むアルギン酸のカプセル粒子を構築するカプセル粒子構築機構を備え、かつ、前記微小管の内部と外部に微小電流を流して抵抗値の変化から吐出速度を計測して制御することでアルギン酸のカプセル粒子の粒径を揃えるカプセル粒子粒径選別機構と、細胞を含むカプセル粒子と細胞を含まないカプセル粒子とを判別して選択的に細胞を含むカプセル粒子を回収する細胞・カプセル粒子回収機構とを備え、

(c) 前記第3の装置が、対象細胞を含む細胞または対象細胞を含有するカプセル粒子の試料液を流す流路を備え、前記流路が、細胞またはカプセル粒子を1列に配置して下流に流すための両脇からのシース液と合流する合流領域と、該1列に並んだ細胞またはカプセル粒子の検出および前記対象細胞の選別が行われる検出・選別領域と、イオン電流を印加して細胞または細胞を含むカプセル粒子を移動させて前記合流領域に続く分岐した流路に選択的に移動させることで標的となる細胞を回収する流路の組み合わせと、イオン電流を印加するイオン電流印加ツールとを含む、画像検出型1細胞分離・精製部（セルソーティング部）を有するモジュールであって、前記合流領域にて、細胞の流速を判定する光学的ツールと、光学的に得られた細胞の流速に基づいて補正された細胞の像から特徴を取得して解析する解析ツールとを備える、

ことを特徴とする、請求項1に記載の細胞分析装置システム。

[請求項3]

前記第3の装置が、対象細胞またはカプセル粒子を含む試料液を流す流路を備え、該流路が、前記細胞またはカプセル粒子を1列に配置して下流に流すための両脇からのシース液と合流する合流領域と、前記1列に並んだ細胞またはカプセル粒子の検出が行われる観察領域とを有する画像検出型1細胞分離・精製部を有するモジュールであって、

2つ以上の異なる波長の光を照射する照射領域における照射時間を撮影カメラの撮影時間インターバルより短い時間でそれぞれ異なる時

間長さで発光するように時間制御できる光源と、該光源からの光を該照射領域に照射するコンデンサー光学系と、得られた2つ以上の異なる波長の画像を波長の違いによって分割し、それぞれの波長の画像として取得する画像取得カメラ機構と、得られた2つ以上の波長の画像の細胞の流れ方向での長さで光源の照射時間の差の比較から細胞の流速を取得する細胞流速取得機構と、この取得した細胞の流速から、得られた細胞の形状情報を補正する細胞形状補正機構と、光学的に得られた細胞の流速に基づいて補正された細胞の形状から細胞の特徴を取得して解析する細胞解析ツールと、得られた流速から「光源のフラッシュ時間＝画像を取得するカメラの画素サイズ／得られた細胞の流速」の関係で光源のフラッシュ時間を制御することで画像ブレを抑える画像ブレ抑制機構とを備えることを特徴とする、請求項1または2に記載の細胞分析装置システム。

[請求項4] 前記第3の装置が、前記観察領域の下流に、イオン電流を印加して細胞またはカプセル粒子を移動させて前記合流領域に続く分岐した流路に選択的に移動させることで標的となる細胞または標的となる細胞を含有するカプセル粒子を回収する流路の組み合わせとイオン電流を印加するイオン電流印加ツールとを含む画像検出型1細胞分離・精製部を有するモジュールであって、

前記合流領域において、前記細胞流速取得機構によって取得した流速に基づいて、回収する細胞またはカプセル粒子にイオン電流を印加するタイミングを制御する印加タイミング制御ツールとを備えることを特徴とする、請求項3に記載の細胞分析装置システム。

[請求項5] 前記第3の装置が、前記光源および観察像に蛍光を用いることを特徴とする、請求項3または4に記載の細胞分析装置システム。

[請求項6] 前記第3の装置が、対象細胞またはカプセル粒子を含む試料液を流す流路を備え、前記流路が、前記細胞を1列に配置して下流に流すための両脇からのシース液と合流する合流領域と、前記1列に並んだ細

胞またはカプセル粒子の検出が行われる観察領域とを有する画像検出型 1 細胞分離・精製部を有するモジュールであって、

細胞またはカプセル粒子を観察するための光を連続照射して照射領域に照射するコンデンサー光学系と、得られた画像を結像する画像取得面上に、細胞またはカプセル粒子の流れに沿って配置された流速測定用 1 次元フォトセンサーアレイと、その最下端に細胞の流れに直交する向きに流路幅をカバーして細胞像をすべて取得できる長さの細胞画像取得用 1 次元フォトセンサーアレイを有し、測定された流速測定用 1 次元フォトセンサーアレイの細胞像の移動速度情報から流速を算定し、この速度情報とデータ取得時間を組み合わせて細胞画像取得用 1 次元フォトセンサーアレイの情報から 2 次元の画像情報を再構成する画像再構成機構を備えることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の細胞分析装置システム。

[請求項7]

前記第 3 の装置が、前記観察領域の下流に、イオン電流を印加して細胞またはカプセル粒子を移動させて前記合流領域に続く分岐した流路に選択的に移動させることで標的となる細胞または標的となる細胞を含有するカプセル粒子を回収する流路の組み合わせとイオン電流を印加するイオン電流印加ツールとを含む画像検出型 1 細胞分離・精製部を有するモジュールであって、

前記合流領域において、前記流速の算定によって取得した流速に基づいて、回収する細胞またはカプセル粒子にイオン電流を印加するタイミングを制御する印加タイミング制御ツールを備えることを特徴とする、請求項 6 に記載の細胞分析装置システム。

[請求項8]

前記第 3 の装置が、前記光源および観察像に蛍光を用いることを特徴とする、請求項 6 または 7 に記載の細胞分析装置システム。

[請求項9]

前記第 3 の装置が、前記画像取得面上に、前記細胞画像取得用 1 次元フォトセンサーアレイに加えて、1 つ以上の別の異なる高さにて平行に配置し配列することで異なる結像高さの画像を同時に取得できる

画像ボケ抑制機構を有することを特徴とする、請求項6～8のいずれか1項に記載の細胞分析装置システム。

[請求項10] 前記第3の装置が、前記光源の波長を複数にし、かつ、前記細胞画像取得用1次元フォトセンサーアレイに加えて前記画像取得面上に複数の細胞画像取得用1次元フォトセンサーアレイを配置して、それぞれの1次元フォトセンサーアレイの上に特定の波長の光のみを透過するバンドパスフィルターを配置して、複数の異なる波長域の画像を同時に取得できる画像分割機構1を有することを特徴とする、請求項6～9のいずれか1項に記載の細胞分析装置システム。

[請求項11] 前記第3の装置が、前記光源の波長を複数にし、また、得られた流れに直交する帯状の領域の線状の光を波長スペクトルとして分離する波長スペクトル分離機構と、これを前記画像取得面上で、各波長スペクトルの位置に細胞画像取得用1次元フォトセンサーアレイをそれぞれ配置することで複数の異なる波長域の画像を同時に取得できる画像分割機構2を有することを特徴とする請求項6～10のいずれか1項に記載の細胞分析装置システム。

[請求項12] 前記請求項1から11に記載した細胞分析装置システムを用いて、溶液中の細胞または微粒子の形状の全量でのサイズ、周囲長、及び／又は内部の微細構造の粒子量割合の分布を測定し、該分布の変化から異常の有無を判定する細胞分析方法。

[請求項13] 被験者由来の細胞を分析する方法であって、前記方法は以下の工程：
a) 前記細胞の画像を取得するステップと、
b) 取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成するステップと、
c) 前記流速データに基づいて正確な細胞形状データを生成するステップと、
d) 前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析するステ

ップと、

e) 前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力するステップと、

f) 前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別するステップと

を包含する、方法。

[請求項14]

被験者由来の細胞を分析する方法の処理をコンピュータに実行させるコンピュータプログラムであって、前記方法は以下の工程：

a) 前記コンピュータに、細胞の画像を取得させるステップと、

b) 前記コンピュータに、取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成させるステップと、

c) 前記コンピュータに、前記流速データに基づいて正確な細胞形状のデータを生成させるステップと、

d) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析させるステップと、

e) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力させるステップと、

f) 前記コンピュータに、前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別させるステップとを包含する、プログラム。

[請求項15]

被験者由来の細胞を分析する方法の処理をコンピュータに実行させるコンピュータプログラムを格納する記録媒体であって、前記方法は以下の工程：

a) 前記コンピュータに、細胞の画像を取得させるステップと、

b) 前記コンピュータに、取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成させるステップと、

c) 前記コンピュータに、前記流速データに基づいて正確な細胞形状のデータを生成させるステップと、

d) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づいて細胞の情報

を連続で解析させるステップと、

- e) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力させるステップと、
- f) 前記コンピュータに、前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別させるステップとを包含する、記録媒体。

[請求項16]

被験者由来の細胞を分析するシステムであって、

- a) 前記細胞の画像を取得する手段と、
 - b) 取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成する手段と、
 - c) 前記流速データに基づいて正確な細胞形状のデータを生成する手段と、
 - d) 前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析する手段と、
 - e) 前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力する手段と、
 - f) 前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別する手段と
- を包含する、システム。

[請求項17]

細胞の大きさ、細胞の形状、細胞が凝集体（クラスター）となっているかどうかという集団化の有無、集団サイズ（構成する細胞数と種類）、細胞内の核のサイズ、および多核細胞の有無からなる群より選択される、少なくとも1つの指標の、細胞分析のための使用。

[請求項18]

ある細胞の明視野の細胞形状の画像と、該細胞中の蛍光画像とを、少なくとも1つの波長の画像として同時取得することを含む、該細胞が有核細胞および／または多核細胞であるかを判定する方法。

[請求項19]

細胞が流れていないときの背景画像データを取得することと、細胞が流れているときの明視野像データを取得することと、該明視野像データから該背景画像データを差し引くことにより細胞

塊のみの像を抽出することと、

該抽出された像の境界線（細胞あるいは細胞塊の周囲線）の長さとして該境界線で囲まれた領域の面積を取得することとを組み合わせ、細胞塊のデータを抽出することを含む、細胞塊の判別を行う方法。

[請求項20]

（１）健常な血液中では存在しない細胞クラスター（塊）を血中がん細胞が存在すると同定する工程と、

（２）健常な血液中では存在しない多核細胞を血中がん細胞が存在すると同定する工程と、

（３）健常な血液中では存在しない巨大細胞を血中がん細胞が存在すると同定する工程と、

（４）血中の白血球（血液から赤血球成分を除去したあとに残った細胞の全体）のサイズ分布図から健常者の特徴と異なる転移がん患者に特徴的なサイズ分布を持ったサイズ分布を持っている場合にがん細胞が存在すると同定する工程と、

からなる群より選択される少なくとも１つの工程と、必要に応じて

（５）蛍光強度計測で計測したがん細胞のバイオマーカー（たとえばEpCam抗体やK-ras抗体、サイトケラチン抗体など）のひとつあるいは複数に対する蛍光抗体の蛍光強度の存在と組み合わせた解析でがん細胞と同定する工程と

を含む、血中がん細胞を同定する方法。

[請求項21]

被験体由来の細胞を分析する方法であって、

（Ａ）被験体由来の細胞試料液に含まれる細胞を処理する工程と、

（Ｂ）処理された前記細胞をカプセル中に封入してカプセル粒子を作製する工程と、

（Ｃ）処理された前記細胞またはカプセル粒子中に封入された前記細胞の画像を取得する工程と

（Ｄ）前記画像に対して請求項１３に記載の方法を実施する、判別工程と、

を含む、方法。

- [請求項22] 前記処理する工程は、候補となるサイズ領域の細胞を精製し、濃縮し、染色し、及び／又は洗浄することを含む、請求項21に記載の方法。
- [請求項23] 前記処理する工程は、前記細胞試料液中の細胞を選択的に連続してサイズ分画する、請求項21または22に記載の方法。
- [請求項24] 前記カプセル粒子を作製する工程は、ゾル状態のアルギン酸と前記細胞とを含む溶液を、二価イオンを含む溶液中で混合させることで、細胞を含むアルギン酸のカプセル粒子を構築する、請求項21～23のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項25] 前記カプセル粒子を作製する工程は、前記アルギン酸のカプセル粒子の粒径を揃え、細胞を含むカプセル粒子と細胞を含まないカプセル粒子とを判別して選択的に細胞を含むカプセル粒子を回収する、請求項21～24のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項26] 前記回収が、細胞または細胞を含むカプセル粒子にイオン電流を印加することによって標的となる細胞または細胞を含むカプセル粒子を回収する、請求項25に記載の方法。
- [請求項27] 前記判別工程は、細胞の流速を光学的に判定し、光学的に得られた細胞の流速に基づいて補正された細胞の像から特徴を取得して解析する、請求項21～26のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項28] 前記細胞試料液中の細胞の形状の全量でのサイズ、周囲長、及び／又は内部の微細構造の粒子量割合の分布を測定し、当該分布の変化から異常の有無を判定するための、請求項21～27のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項29] 被験体由来の細胞試料中の異常細胞を分離・同定するための、請求項21～28のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項30] 被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定する方法であって、

(A) 被験者由来の細胞試料液に含まれる細胞を処理する工程と、
(B) 処理された前記細胞をカプセル中に封入してカプセル粒子を作製する工程と、
(C) 前記被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定する工程であって、前記判別は、
a) 処理された前記細胞またはカプセル粒子中に封入された前記細胞の画像を取得するステップと、
b) 取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成するステップと、
c) 前記流速データに基づいて正確な細胞形状データを生成するステップと、
d) 前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析するステップと、
e) 前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力するステップと、
f) 前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別するステップと
を含む、工程と、
を含む、方法。

[請求項31] 前記処理する工程は、候補となるサイズ領域の細胞を精製し、濃縮し、染色し、及び／又は洗浄することを含む、請求項30に記載の方法。

[請求項32] 前記処理する工程は、前記細胞試料液中の細胞を選択的に連続してサイズ分画する、請求項30または31に記載の方法。

[請求項33] 前記カプセル粒子を作製する工程は、ゾル状態のアルギン酸と前記細胞とを含む溶液を、二価イオンを含む溶液中で混合させることで、細胞を含むアルギン酸のカプセル粒子を構築する、請求項30～32のいずれか一項に記載の方法。

- [請求項34] 前記カプセル粒子を作製する工程は、前記アルギン酸のカプセル粒子の粒径を揃え、細胞を含むカプセル粒子と細胞を含まないカプセル粒子とを判別して選択的に細胞を含むカプセル粒子を回収する、請求項30～33のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項35] 前記回収が、細胞または細胞を含むカプセル粒子にイオン電流を印加することによって標的となる細胞または細胞を含むカプセル粒子を回収する、請求項34に記載の方法。
- [請求項36] 前記判別する工程は、細胞の流速を光学的に判定し、光学的に得られた細胞の流速に基づいて補正された細胞の像から特徴を取得して解析する、請求項30～35のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項37] 被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定する方法の処理をコンピュータに実行させるコンピュータプログラムであって、前記方法は以下の工程：
- (A) 前記コンピュータに、被験者由来の細胞試料液に含まれる細胞を処理させる工程と、
 - (B) 前記コンピュータに、処理された前記細胞をカプセル中に封入してカプセル粒子を作製させる工程と、
 - (C) 前記コンピュータに、前記被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定させる工程であって、前記判別は、
 - a) 前記コンピュータに、処理された前記細胞またはカプセル粒子中に封入された前記細胞の画像を取得させるステップと、
 - b) 前記コンピュータに、取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成させるステップと、
 - c) 前記コンピュータに、前記流速データに基づいて正確な細胞形状データを生成させるステップと、
 - d) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析させるステップと、
 - e) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づく細胞の情報か

ら、被験試料全体の細胞情報の分布を出力させるステップと、
f) 前記コンピュータに、前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別させるステップと
を含む、工程と、
を含む、プログラム。

[請求項38] 被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定する方法の処理をコンピュータに実行させるコンピュータプログラムを格納する記録媒体であって、前記方法は以下の工程：

(A) 前記コンピュータに、被験者由来の細胞試料液に含まれる細胞を処理させる工程と、

(B) 前記コンピュータに、処理された前記細胞をカプセル中に封入してカプセル粒子を作製させる工程と、

(C) 前記コンピュータに、前記被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定させる工程であって、前記判別は、

a) 前記コンピュータに、処理された前記細胞またはカプセル粒子中に封入された前記細胞の画像を取得させるステップと、

b) 前記コンピュータに、取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成させるステップと、

c) 前記コンピュータに、前記流速データに基づいて正確な細胞形状データを生成させるステップと、

d) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析させるステップと、

e) 前記コンピュータに、前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力させるステップと、

f) 前記コンピュータに、前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別させるステップと

を含む、工程と、

を含む、記録媒体。

- [請求項39] 被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定するシステムであって、
- (A) 被験者由来の細胞試料液に含まれる細胞を処理する手段と、
 - (B) 処理された前記細胞をカプセル中に封入してカプセル粒子を作製する手段と、
 - (C) 前記被験者由来の細胞試料中の異常細胞の有無を判定する手段であって、前記判別は、
 - a) 処理された前記細胞またはカプセル粒子中に封入された前記細胞の画像を取得する手段と、
 - b) 取得した前記画像から、前記細胞の流速データを生成する手段と、
 - c) 前記流速データに基づいて正確な細胞形状データを生成する手段と、
 - d) 前記細胞形状データに基づいて細胞の情報を連続で解析する手段と、
 - e) 前記細胞形状データに基づく細胞の情報から、被験試料全体の細胞情報の分布を出力する手段と、
 - f) 前記細胞情報の分布から、前記被験者の細胞における異常を判別する手段と
- を含む、手段と、
- を含む、システム。