

明 細 書

発明の名称：微生物選別システム及び微生物選別方法

技術分野

[0001] 本開示は、液体に含まれる微生物を分離して有用な微生物株を効率的に選別するための微生物選別システム及び微生物選別方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、医薬品業界を初めとする幅広い分野において、微生物が産生する有用な物質を利用することが注目されている。有用物質の市場供給を実現するために、微生物の培養における条件の好適化及び効率化、産生される有用物質の単離精製手法などにおいて様々な工夫や改良が行われている。

[0003] 産業において用いられている微生物として、例えば、大腸菌等の細菌類、酵母等の菌類などがあり、多様な微生物の中から有用な微生物を選び出すスクリーニングの研究も進められている。微生物を利用する際に、増殖能、生産性などが特に高い株を選別することが有用である。微生物の株の選別は、従来、目視によるピッキングで選別することが一般的であり、ピッキングした株を各々培養して、株毎の性能検査の結果に基づいて利用する株が選定される（下記非特許文献1～3参照）。このような選別作業は、熟練者による技術が必要であり、また、人手及び時間が必要である。

[0004] 流体に含まれる粒子の分離に関する文献として、下記特許文献1があり、湾曲チャネルを有する流体力学的分離デバイスが記載される。このデバイスでは、粒子を含む流体を湾曲チャネルに供給して、湾曲チャネルを流れる流体に作用する力を利用して粒子を分離することができる。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特表2016-526479号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：宮下英明，荒谷彰吾，井村綾子，沈元，石井健一郎，上川龍馬

，「次世代微細藻類バイオマス生産法とそれに適した微細藻類の収集・選抜」，日本エネルギー学会機関誌えねるみくす，vol. 96，40－49（2017）

非特許文献2：海老名沙也佳，山崎晴丈，志田洋介，小笠原渉，高久洋暁，「産業油脂酵母*Lipomyces starkeyi*の油脂高蓄積変異株の取得」，バイオマス科学会議発表論文集，第11回バイオマス科学会議0－20（2016）

非特許文献3：長沼孝文，柳場まな，「スクリーニングした*Lipomyces*酵母と再生可能資源の利用によるBDF用油脂実用生産の目論見」，生物工学会誌，Vol. 94，324－328（2016）

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 前述のように、産業において微生物を利用するには、微生物の選別を効率的に行うことが重要である。この点に関し、特許文献1に記載される分離技術は、固体粒子の分離に関するものであるので、微生物への影響は不明である。

[0008] 微生物を選別して活性な株を取得する場合、選別した株を用いて、その増殖能や生産性を確認するので、微生物へのダメージを避けることが要件となる。従って、分離技術を微生物に適用するには、その影響について十分に検討を重ねる必要がある。

[0009] 本開示は、効率的に微生物を選別すると共に、選別した微生物が増殖能を好適に維持して性能を確認可能である微生物選別システム及び微生物選別方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0010] 上記課題を解決するために、液体中に粒子状に分散する微生物を分離する際に微生物に及ぶ影響について検討し、流体力分離技術を利用して、効率的に微生物粒子を粒子の大きさによって分離して微生物株を選別し、性能を検査することが可能であることを見出した。

[0011] 本開示の一態様によれば、微生物選別システムは、微生物粒子と液体媒体

とを含有する液体を収容する容器と、微生物分離装置とを有する微生物選別システムであって、前記微生物分離装置は、矩形断面を有する湾曲流路を有し、前記湾曲流路を前記液体が流れることによって生じる渦流れを利用して、前記液体を、相対的に大きい微生物粒子を含む第1画分と相対的に小さい微生物粒子を含む第2画分とに分離可能な流体力分離装置と、前記液体を前記容器から前記流体力分離装置へ供給する送液部とを有する。

[0012] 前記流体力分離装置は、前記液体を取り入れる単一の導入口と、前記第1画分及び前記第2画分を個別に排出する2つの導出口とを有するように構成可能であり、前記第1画分に相対的に大きい微生物粒子が濃縮して含まれる。前記送液部は、前記容器と前記流体力分離装置とを接続する配管と、前記流体力分離装置へ前記液体を供給するための流動圧を前記液体に付勢するポンプとを有するとよい。

[0013] 前記微生物選別システムは、更に、液体に含まれる微生物粒子の大きさを測定可能な検査装置を有してよく、前記第1画分及び前記第2画分の少なくとも一方についての前記検査装置による測定結果に基づいて、前記送液部が前記流体力分離装置に供給する前記液体の流量を変更可能に構成することができる。前記送液部は、前記流体力分離装置に供給する前記液体の流量を制御する流量制御機構を有してもよい。前記検査装置は、更に、微生物粒子の粒子個数、粒径分布及び生存率のうちの少なくとも一種を測定する手段を有すると好適である。

[0014] 前記微生物選別システムは、更に、湾曲流路の曲率又は矩形断面の形状が前記流体力分離装置とは異なる少なくとも1つの追加の流体力分離装置を有しもよく、前記送液部は、前記流体力分離装置及び前記追加の流体力分離装置のうちの一つに前記液体を供給すると共に供給先を変更可能な供給切り替え機構を有するとよい。また、前記微生物選別システムは、更に、液体に含まれる微生物粒子の大きさを測定可能な検査装置を有してよく、前記流体力分離装置及び前記追加の流体力分離装置の一つに供給される液体から分離される第1画分及び第2画分の少なくとも一方についての前記検査装置による

測定結果に基づいて、前記液体の供給先を前記供給切り替え機構によって変更可能に構成することができる。

[0015] 又、本開示の一態様によれば、微生物選別方法は、微生物粒子と液体媒体とを含有する液体を用いて、前記微生物を粒子の大きさに基づいて選別する微生物選別方法であって、矩形断面を有する湾曲流路に前記液体を供給して、前記湾曲流路を前記液体が流れることによって生じる渦流れを利用して、前記液体を、相対的に大きい微生物粒子を含む第1画分と相対的に小さい微生物粒子を含む第2画分とに分離する流体力分離工程と、前記第1画分及び前記第2画分の少なくとも一方を分取する分取工程とを有する。

[0016] 上記微生物粒子は、ウイルス、真正細菌、古細菌、菌類、粘菌類、藻類、原生生物の何れかを含むことができる。また、前記微生物粒子は、単一種であり、流体力分離装置による分離によって、目的とする微生物株が選別される。

発明の効果

[0017] 本開示によれば、液体中に粒子状に分散する微生物を効率的に分離すると共に、分離後の微生物を用いて微生物株の検査を効率的に行うことができる。また、連続的且つ無菌的に微生物を分離可能であり、微生物の選別における汚染が防止される。故に、効率的に微生物株の選別を実施可能な微生物選別システム及び微生物選別方法が提供され、優良株の微生物を選択的に利用して有用物質を効率的に得ることが可能である。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]微生物選別システムの第1の実施形態を示す概略構成図。
[図2]微生物選別システムの第2の実施形態を示す概略構成図。
[図3]微生物選別システムの第3の実施形態を示す概略構成図。
[図4]微生物選別システムの第4の実施形態を示す概略構成図。
[図5]微生物選別システムの第5の実施形態を示す概略構成図。
[図6]微生物選別システムの第6の実施形態を示す概略構成図。
[図7]流体力分離装置による細胞分離におけるDe数と分離効率との関係を示

すグラフ。

[図8]細胞分離において使用するポンプと細胞の生存率の関係を示すグラフ。

発明を実施するための形態

[0019] 本開示の実施形態について、図面を参照して、以下に詳細に説明する。尚、実施形態において示す寸法、材料、その他の具体的な数値等は、内容の理解を容易とするための記載であって、特に断る場合を除き、本開示を限定するものではない。又、本願明細書及び図面において、実質的に同一の機能及び構成を有する要素については、同一の符号を付することにより重複説明を省略し、本開示に直接関係のない要素は、図示を省略する。更に、図において、破線で示す接続は、有線又は無線により制御信号等を送信可能な電氣的又は電子的接続を示す。

[0020] 微生物の選別においては、増殖能、代謝能、生産性等に優れた微生物株が選択される。このような選別における指標として、大きさ（細胞径）によって選択する手法がある。増殖能が高い活性な微生物は、相対的に大きくなり易い。前記非特許文献3には、油脂生産性を有する酵母において、脂肪球体積が大きい酵母の油脂生産量が高いことが記載される。従って、大きさによる微生物粒子の分離は、微生物の株を選別する上で有用な手法である。

[0021] 液体中に含まれる粒子を分離する分離技術の一つに、流体に発生するディーン渦の作用を利用するものがある（前記特許文献1参照。以下、この技術を流体力分離と称する）。これは、流れ方向に垂直な断面が矩形であって一側に湾曲した湾曲流路を流れる液体にディーン渦が発生することによって、液体中の粒子の分布に偏りが生じることを利用した分離技術である。湾曲流路を流れる粒子は、その大きさによって流路における分布が異なる変化をする（前記特許文献1参照）。具体的には、流路の断面において輪を描くような粒子分布が形成されて、粒子は螺旋状に流路を流れ、この際、相対的に大きい粒子が輪の外側に、相対的に小さい粒子が内側に位置する。更に、所定の分離条件に設定することにより、粒子の分布形態は更に変化し、一定の大きさを超える粒子が流路の外周側へ収束する。

[0022] 本開示においては、液体に含まれる微生物粒子、つまり、粒子状の微生物の分離に上述の流体力分離を適用し、所定の大きさ以上の微生物粒子が湾曲流路の外周側へ収束する分離形態を利用する。本開示の微生物選別システムにおいては、比較的高い流速で液体を湾曲流路に供給する。供給される液体が湾曲流路を流れる間に、相対的に小さい微生物粒子は、前述したように、流路の断面において輪を描くように分布するが、相対的に大きい微生物粒子は、湾曲流路の外側（外周側）に遍在するように収束する。従って、大きい微生物粒子が集中する第1画分と残部の第2画分とに分離することによって、相対的に大きい微生物粒子が濃縮した液体を分取することができる。大きい微生物粒子が濃縮した第1画分は、相対的に小さい微生物粒子を少量含むが、分離前に比べて小さい微生物粒子の濃度は大幅に減少する。残部の第2画分には、小さい微生物粒子の残部（大部分）が含まれる。液体が微生物の培養液の場合、更に、微生物の培養によって生じる代謝物、老廃物の微小凝縮物、死細胞片（デブリ）等の多くも含まれる。このようにして、液体を流通させる条件によって分離状態を調整して、相対的に大きな粒子と小さい粒子とを分別することが可能である。供給する液体の流速（流量）、及び、湾曲流路における断面の大きさの設定によって、濃縮する微生物粒子の大きさを調整することができる。

[0023] 微生物は、活性が高い状態においては大きく生育するが、活性が低下すると、比較的小さい状態で死滅し分解する。相対的に小さい粒子の多くは、微生物の死骸又は死骸片であり、DNA合成途中の活性な微生物が含まれる割合は少ない。故に、相対的に大きい微生物粒子が濃縮した第1画分を液体から分取することによって、代謝物などの不要物が除去されてその量が低下する。流体力分離によって分離される粒子の大きさは、分離条件（液体の供給流量）を変更することによって調整することができる。また、相対的に大きい微生物粒子の画分を用いて、分離条件を変更しながら流体力分離を繰り返す多段階の流体力分離を行うと、異なる大きさの微生物粒子を各段階で分取することができる。また、同じ分離条件で流体力分離を繰り返すことによ

て分離精度を高めることができる。目的の微生物粒子より大きい不要な粒子が含まれる液体の場合、一旦、不要な粒子が第1画分に濃縮されて目的の微生物粒子が第2画分に含まれる分離条件で分離すると、不要な粒子を第1画分として除去できる。目的の微生物粒子を第2画分として取得し、分離条件を変更して流体力分離を繰り返すことによって、微生物を大きさによって分離することができる。

[0024] 流体力分離において、流路内の流れは層流であり、液体に含まれる粒子の破壊は比較的生じ難い。従って、微生物の分離において非常に有効であるが、効率的な微生物の選別及び性能検査を継続するために、分離中の微生物へのダメージの有無は検討すべき点である。この点について検討したところ、酵母や菌等の微生物は、比較的高圧下でも耐性を有し、例えば、1 MPa程度の加圧供給においても生存率は維持される。更に、微生物は、圧力変動に対してもかなり耐久性が高い。培養した動物細胞の場合は、分離中に細胞に加わる圧力の変動（圧力低下）による影響を受け易く、細胞の生存率が減少するが、微生物は、流体力分離においてかなりの圧力変動を受けても生存率を維持することができる。従って、微生物粒子の流体力分離において、圧力環境の制御は特に行わなくてよい。このため、流体力分離装置への液体供給に使用するポンプ等の駆動力を変更して流動圧を変動させることも許容されるので、流動圧に基づいて液体の流量を任意に調整できる。つまり、ポンプの駆動制御によって分離条件の設定変更を容易に行うことができるので、システム構成の簡素化が容易である。また、流体力分離は、液体の無菌保持を行い易く、操作者の熟練度に関係なく、再現性の高い分離が可能であるという利点もある。

[0025] 変異株や特殊な微生物の取り扱いにおいて圧力環境による影響が懸念される場合は、流体力分離において微生物に加わる圧力の変動を制限するとよい。その場合、分離条件として、分離中に細胞に加わる圧力の変動（圧力低下）が一定レベルを超えないように、湾曲流路へ液体培地を供給する圧力環境が制御される。つまり、分離中に微生物に加わる圧力の変動（入口圧力と出

口圧力との差)が所定値以下となるように液体の供給が制御される。具体的には、圧力変動(圧力差)が0.60MPa未満になるように制御すると適切であり、好ましくは0.45MPa以下、より好ましくは0.40MPa以下となるように設定するとよい。上記のように圧力変動が抑制された分離条件においては、微生物のダメージは少なく、微生物の生存率は98%程度以上に維持することができる。従って、濃縮分離された大きい微生物粒子を分別し、増殖能等を維持した状態で、粒径分布の測定や、微生物の培養及び検査等に供給することができる。

- [0026] 以下に、微生物選別システムの構成について、図面に示す実施形態を参照して説明する。図1の微生物選別システム1は、微生物粒子と液体媒体とを含有する液体を収容する容器2と、微生物分離装置3とを有する。微生物分離装置3は、流体力分離装置4と送液部5とを有し、容器2の液体Lは、送液部5を通じて流体力分離装置4へ供給される。流体力分離装置4は、流れ方向に垂直な一定の矩形断面を有する湾曲流路を内部に有し、湾曲流路の一端において液体Lを取り入れる単一の導入口41と、湾曲流路の他端において液体培地を分離して個別に排出する少なくとも2つの導出口42, 43とを有する。流体力分離装置4は、湾曲流路を流れることによって一方向に旋回する液体に生じる渦流れを利用して、液体Lに含まれる微生物粒子から相対的に大きい粒子を流路の外側(外周側)に遍在させる。従って、湾曲流路から排出される液体を、外側の第1画分と内側の第2画分とに分離可能である。外側の画分と内側の画分とに分割することによって、外側の画分として、相対的に大きい微生物粒子が濃縮された液体培地を分離することができる。
- 1つの導出口42から相対的に大きい微生物粒子が濃縮して含まれる液体培地(第1画分)が排出され、もう1つの導出口43から相対的に小さい微生物粒子が含まれる残部の液体培地(第2画分)が排出される。

- [0027] 湾曲流路の湾曲形状は、略円周状、略円弧(部分円周)状、螺旋状等が挙げられ、これらの形状の何れであってもよい。流体力分離装置4は、1つの湾曲流路を有する流路ユニットを構成単位として設計することができる。具

体的には、流路ユニットとして、内部に1つの湾曲流路が形成された平層状の成形体をプラスチック等で形成し、その際に、湾曲流路の両末端が成形体の端面に開口して1つの導入口と少なくとも2つの導出口を有するように構成する。このような成形体を流路ユニットとして用いて、1つの流路ユニット、又は、複数の流路ユニットの組み合わせによって流体力分離装置を構成することができる。複数の流路ユニットを積層して並列状の流路を構成することによって、液体Lの処理流量を高めることができる。

[0028] 送液部5は、容器2と流体力分離装置4とを接続する配管で構成される供給路6を有し、容器2の微生物粒子を含む液体Lは、供給路6を通じて流体力分離装置4へ送られる。

[0029] 流体力分離装置4によって分離される相対的に大きい微生物粒子を含む第1画分（液体La）は、導出口42から流路7を通じて回収容器9aに収容される。相対的に小さい微生物粒子を含む残部の液体Lb（内周側の第2画分）は、流体力分離装置4の導出口43から流路8を通じて排出され、回収容器9bに収容される。

[0030] 流体力分離装置4における微生物粒子の分離効率、湾曲流路に供給される液体におけるディーン数（De数）及び圧力によって変化し、好適な分離が可能なDe数及び圧力の適正な範囲が存在する。De数は、式： $De = Re (D / 2 R_c)^{1/2}$ 、によって表される（Re：レイノルズ数(-)、D：代表長さ(m)、Rc：流路の旋回半径(m)）。De数は、液体の流速に比例するので、流体力分離装置に供給される液体の流速を適正に制御することによって、好適な微生物の分離が実施される。概して、De数が30以上且つ100以下であることが好ましく、50～80程度であると更に好ましい。従って、このような範囲のDe数になるように液体の流速（流量）が設定される。

[0031] 微生物選別システム1の送液部5は、流体力分離装置4へ液体Lを供給するための流動圧を液体Lに付勢する付勢装置、具体的には、ポンプ10を有する。ポンプ10が付与する流動圧によって、液体Lが流体力分離装置4へ供給される流量及び流圧は変化する。分離された微生物粒子を用いて微生物

株の選別を行う上で、微生物の生存率は重要な要素である。この点に関して、流体力分離装置4による分離に対して多くの微生物は耐久性を有し、生存率を維持することができる。但し、圧力変動による影響を排除することが望まれる場合には、例えば、図2のように微生物選別システム1Aを構成すると、圧力環境を制御することができる。

[0032] 図2において、送液部5は、圧力制御機構を有し、これによって、流体力分離装置4へ導入される液体と、流体力分離装置4から導出される液体とにおける圧力差が所定値以下になるように圧力環境を制御する。圧力制御機構は、流体力分離装置4へ供給される液体の圧力を監視する圧力監視部と、圧力監視部によって監視される圧力に基づいて、流体力分離装置4へ供給される液体の圧力を調整する圧力調整部材とによって構成することができる。具体的には、微生物選別システム1Aにおいては、圧力監視部として圧力計11が、圧力調整部材として圧力調整弁12が供給路6上に設けられる。この微生物選別システム1Aにおいて、流体力分離装置4の導出口42、43における導出側圧力は、大気圧に開放されるので、導入される液体と導出される液体との圧力差は、圧力計11によって測定される圧力（ゲージ圧）に等しい。従って、圧力の測定値に基づいて、圧力調整弁12を用いた圧力制御を行える。圧力差が0.60MPa未満になるように圧力環境を制御すると、分離中の微生物における生存率の低下やダメージの可能性は減少し、好ましくは0.45MPa以下、より好ましくは0.40MPa以下になるように制御される。

[0033] 前述したように、流体力分離装置4における分離効率は、湾曲流路を流通する液体の流速に依存する。従って、送液部5は、更に、流体力分離装置4へ供給される液体の流量を制御する流量制御機構を有し、流体力分離装置4の湾曲流路を流通する液体が適正な流速になるように、供給路6を流通する液体の流量が制御される。流量制御機構は、流量計13と、流量調整弁14とによって構成される。流量計13は、流体力分離装置4へ供給される液体Lの流量を監視し、流量調整弁14は、流量計13によって監視される流量

に基づいて、流体力分離装置4へ供給される液体の流量を調整する流量調整部材として機能する。分離する微生物粒子の大きさに対応して、流体力分離装置4へ供給される液体の流量が調整される。この調整は、ポンプ10の駆動を一定に維持した状態で行うことができる。

[0034] 図1の微生物選別システム1においては、流量調整弁を用いずにポンプ10の駆動制御によって、流体力分離装置4へ供給する液体の流量を適正に調整する。また、微生物の圧力環境に対する耐久性に基づいて、圧力制御機構を省略している。液体の供給流量及び圧力は、流体力分離装置4における処理能力（流路断面の大きさ及び流路数）に基づいて供給路6及び流路7、8の寸法を適正に設計することによって、ある程度規制できる。故に、図1の微生物選別システム1のような簡略な構成でも、微生物粒子を好適に分離して微生物株の選別を効率的かつ継続的に実施することができる。

[0035] 微生物は、ある程度高い静圧にも耐性を有する。図1のように、ポンプ10の駆動制御によって流体力分離装置4へ供給する液体の流量を調整する場合、流量を増加すると、液体の入り口圧力も増加する。分離中の圧力変動を増加させずに入り口圧力を高く設定する必要がある場合には、流体力分離装置4の導出口側、つまり、流路7、8にも圧力調整弁を設けて出口圧力を調整するとよい。流体力分離装置4の導出口42、43から排出される液体の出口圧力を増加させて、入り口圧力との圧力差を減少させることができる。この場合、流路7及び流路8に圧力計を設置して、適切な圧力差になるように排出圧力を監視すると好適である。この際、圧力調整弁の下流側の流路7及び流路8を流れる液体についても急激な圧力変動が生じないように圧力環境を確認するとよい。

[0036] 容器2及び回収容器9a、9bは、微生物汚染を防止可能な容器であり、各々、必要に応じて、ヒーター又は冷却器、及び、温度調節機能が装備されたものを使用してよい。内部の液体は、微生物の培養又は保管に適した温度に維持される。容器2は、液体を均一化するための攪拌装置を備えてもよく、微生物を損傷しない適切な速度で攪拌することができる。又、必要に応じ

て、微生物に適した環境を維持するために、酸素／二酸化炭素／空気の量、pH、導電率、光量等の調整機能を備えたものを利用してもよい。

[0037] 微生物選別システムにおいて、微生物への影響を可能な限り取り除く場合、微生物に剪断力を加えない方式のポンプを使用するとよい。具体的には、往復動又は回転動による容積変化を利用して一定容積の液を押し出す容積式ポンプを使用すると好適である。容積式ポンプとしては、例えば、ピストンポンプ、プランジャポンプ、ダイヤフラムポンプ、ウィングポンプ等の往復ポンプ、歯車ポンプ、ベーンポンプ、ねじポンプ等の回転ポンプが挙げられる。一実施形態として、コンプレッサを付設した加圧タンクを利用するものが挙げられ、加圧タンクに収容した液体にコンプレッサで加圧することによって、加圧タンクから流体力分離装置へ液体を圧送することができる。

[0038] 容器2に収容される液体は、微生物粒子と液体媒体とを含有する液体である。微生物粒子は、粒子状の微生物であり、つまり、微生物の単一細胞、及び、複数の細胞が凝集した粒子の何れでもよい。流体力分離において、微生物は、粒子としての大きさによって分離される。液体媒体は、微生物にダメージを与えない液体であればよく、微生物に無害な成分を含んでいてもよい。概して、水、淡水、海水等の水性液が好適であり、微生物の培養に利用される液体培地を用いることができる。従って、液体培地中で培養した微生物をそのまま微生物選別システムに投入してよい。

[0039] 前述したように、大きさによる微生物粒子の分離は、微生物の株を選別する上で有用な手法である。これに基づいて、流体力分離によって相対的に大きい微生物粒子が濃縮した第1画分を分取すると、この画分に、増殖能、代謝能、生産性等に優れた微生物株が含まれ得る。得られた第1画分について、更に流体力分離を繰り返すと、粒子の分離精度を上げることができる。また、液体中に目的の微生物より大きい不要物粒子が含まれる場合には、第1画分として不要物粒子を取り除き、第2画分について再度流体力分離を繰り返すことによって、目的の微生物粒子を分取することができる。

[0040] 上述のような微生物選別システム1において実施可能な微生物選別方法に

ついて、以下に記載する。微生物選別方法は、微生物粒子と液体媒体とを含む液体を用いて、微生物を粒子の大きさに基づいて選別する微生物選別方法である。つまり、微生物選別方法は、液体を、相対的に大きい微生物粒子を含む第1画分と相対的に小さい微生物粒子を含む第2画分とに分離する流体力分離工程と、第1画分及び第2画分の少なくとも一方を分取する分取工程とを有する。流体力分離工程は、流体力分離装置4において実施され、分取工程は、流路7, 8及び回収容器9 a, 9 bによって行われる。流体力分離工程では、矩形断面を有する湾曲流路に液体を供給して、湾曲流路を液体が流れることによって生じる渦流れを利用することにより、微生物粒子は粒子の大きさによって分離する。

[0041] 流体力分離工程において、微生物粒子を含む液体は、矩形断面を有する湾曲流路へ単一の導入口から導入され、均一な状態で湾曲流路に供給される。流体力分離装置の湾曲流路は、流れ方向に垂直な断面（径方向断面）が矩形の流路である。均一な液体が湾曲流路を流れる間に、相対的に小さい粒子は、ディーン渦に載って、矩形断面において輪を描くように分布が変化する一方、相対的に大きい粒子は、流路の外周側に滞留する揚力が比較的強く作用するため、分布が外周側に集中する。湾曲流路の末端出口は、外周側に位置する導出口4 2と内周側の導出口4 3に二分割される。外周側の導出口4 2から、相対的に大きい微生物粒子が濃縮して含まれる液体が排出され、内周側の導出口4 3から、相対的に小さい微生物粒子が含まれる残部の液体培地が排出される。

[0042] 分取工程において、第1画分を分取することによって、相対的に大きい微生物粒子、つまり、増殖能、代謝能、生産性等に優れた微生物株を得ることができる。選別を行う液体中に目的とする微生物粒子より大きい粒子が存在する場合は、不要の粒子を第1画分として除去し、第2画分として目的の微生物粒子を得ることができる。

[0043] 前述の式で示したように、De数は、湾曲流路の旋回半径 R_c 及び流路の断面寸法によって変化する（前述の式における代表長さ D は、湾曲流路の幅と

見なすことができる)。従って、湾曲流路の設計に基づいて De 数が好適な値になるように調整することができ、それによって、流体力分離装置は、細胞の濃縮分離を良好な分離効率で実施することができる。又、流体の流量は、湾曲流路の断面の幅(径方向)及び高さの何れかの設定によって調節可能であるので、湾曲流路の設計に基づいて、所望の流量で微生物粒子の分離を実施可能なように流体力分離装置を構成することができる。従って、湾曲流路の設計は、分離対象の条件(微生物の寸法分布、液体培地の粘度等)に応じて、好適な分離が可能ないように適宜変更可能である。微生物粒子の分離効率の観点から、湾曲流路は、アスペクト比(幅/高さ)が10以上の長方形の断面を有する流路であると好適である。このような湾曲流路に、液体を100~500mL/分程度の流量で供給することによって、分離が良好に進行し、50億~250億細胞/分程度の効率で微生物粒子の分離処理を行うことができる。相対的に大きい微生物粒子として、粒径が10 μ m程度以上の微生物粒子を、外周側の画分として濃縮分取することができる。輪状に分布する5 μ m程度以下の相対的に小さい微生物粒子の大部分は、内周側の画分として分取できる。湾曲流路の末端出口の設計(導出口の分割位置)によって、外周側の画分に含まれる微生物粒子の大きさ及び分離精度を調整することができ、外周側の画分に含まれる微生物粒子の大きさの下限を10 μ mより小さくすることも可能である。大きい微生物細胞は、小さい細胞に比べて生存率及び活性が高く、外周側の画分を分取することによって、活性の低い細胞、死細胞及び細胞片を減量することができる。従って、流体力分離工程によって分離される相対的に大きい微生物粒子を含む液体を分取することで、所望の微生物株を選別することができる。必要に応じて流体力分離工程を繰り返すことで、粒子の分離精度を高めることができる。

[0044] 流体力分離装置における微生物粒子の分離状態(分取する微生物粒子の大きさ、分取比率)は、出口における導出口の分割位置によって異なる。概して、外周側画分/内周側画分の分割比率(容積比)が、10/90~70/30程度になるように流路出口における断面積比を設計すると、上述のよう

な微生物粒子の濃縮分離に好適である。図1及び図2の微生物選別システムにおいて、流体力分離装置は、湾曲流路の出口として、2つの導出口を有するが、3つ以上の導出口に分割してもよい。末端出口を3つ以上の導出口に分割した場合、分取する画分の量を状況に応じて変更可能なように構成してもよい。

[0045] 図3の微生物選別システム1Bは、2つの流体力分離装置4、4aを用いて2段階の分離処理を実施するように構成される。具体的には、液体Lの分離によって流体力分離装置4から排出される第1画分の液体La、つまり、相対的に大きい微生物粒子を含む外周側の画分を更に分離するための2段目の流体力分離装置4aを有する。1段目の流体力分離装置4の導出口42は、供給路6aによって2段目の流体力分離装置4aの導入口41aと接続される。供給路6aには、ポンプ10aが設置される。導出口42から排出される液体La（第1画分）が、ポンプ10aによって流体力分離装置4aの導入口41aに供給され、液体Laは、更に2つの画分に分割される。液体Laに含まれる微生物粒子のうち相対的に大きいものを含む画分（外周側）は、導出口42aから流路7aを通じて回収容器9cに収容される。相対的に小さいものを含む残部の液体Ld（内周側の画分）は、導出口43aから流路8aを通じて回収容器9dに供給される。

[0046] 図3の微生物選別システム1Bでは、2段階の分離を行うことによって、液体に含まれる成分が3つに分割される。2段目の流体力分離装置4aにおける分離条件は、供給路6aを通じて供給される液体Laの供給流量の制御によって調整可能である。2つの流体力分離装置4、4aにおける分離条件を適切に設定することによって、微生物粒子の分離精度の改善及び濃縮度の向上が可能である。尚、1段目の流体力分離装置における2つの画分の分割比率に応じて、2段目の流体力分離装置の処理能力を適切に設定するとよい。

[0047] 尚、図3の微生物選別システムにおいて、1段目の流体力分離装置4の導出口43を2段目の流体力分離装置4aに接続するように変更すると、第2

画分について、更に流体力分離を行うことができる。従って、この場合のシステムは、目的の微生物粒子より大きい粒子が存在する液体に適用するとよい。

[0048] 図4の微生物選別システム1Cは、更に、液体に含まれる微生物粒子の大きさを測定可能な検査装置15を有する実施形態である。検査装置15は、流体力分離装置4によって分離された第1画分及び前記第2画分の少なくとも一方について、粒径、粒径分布などを検査する。検査装置15による検査結果に基づいて、送液部5が流体力分離装置4に供給する液体Lの流量を調整することができる。つまり、流体力分離装置4における分離条件の変更及び最適化を行うことができる。

[0049] 具体的には、微生物選別システム1Cでは、導出口42及び導出口43に接続される流路7及び流路8は、各々、末端が分岐し、分岐した2つの末端は、各々、検査装置15及び回収容器9eに接続される。流路7及び流路8の分岐点には、切り替え弁16及び切り替え弁17が各々設置されるので、切り替え弁16、17によって、第1画分及び第2画分の何れも、検査装置15及び回収容器9eの何れにも供給可能である。つまり、切り替えによって、検査装置15において検査する画分の選択及び変更が可能である。検査装置15に供給されない画分は、回収容器9eに液体Leとして収容される。従って、両方の画分について検査する場合は、切り替え弁の切り替えによって、2つの画分を検査装置に順次供給する。検査装置による粒径の測定は、手動で行うことも可能であるが、図4のように検査装置を配管で接続することによって、検査前の微生物汚染を防止することができる。

[0050] 図4の微生物選別システム1Cにおいて、検査する画分が一方に決定している場合は、流路7、8は分岐させる必要がない。従って、例えば、図5の微生物選別システム1Dのように、流路7を、検査装置15及び回収容器9eの一方に、流路8を他方に接続すればよい。図5においては、第1画分が検査装置15で検査されるように、導出口42と検査装置15とを流路7が接続し、第2画分を排出する流路8は、回収容器9eに接続されるが、これ

と逆であってもよい。

[0051] 図5の微生物選別システム1Dにおいて、送液部5は、流体力分離装置4に供給する液体の流量を制御する流量制御機構を有する。具体的には、微生物選別システム1Dの検査装置15は、ポンプ10と電氣的に接続され、ポンプ10の駆動を制御する信号がポンプ10へ送信可能である。つまり、検査装置15によって測定される粒径の情報に基づいて、ポンプの駆動を電氣的に制御することができ、これにより、流体力分離装置4に供給される液体の流量が調整される。従って、測定結果のフィードバックによって液体Lの流量を変更して、所望の粒径の微生物粒子を含む第1画分が得られるように分離条件を適正化することができる。

[0052] 図5の微生物選別システムは、流体力分離装置に供給される液体の流量調整によって分離条件の適正化を行う。これに対し、湾曲流路の設計が異なる複数の流体力分離装置を用いると、液体の流量を変動させずに分離条件を変更するように構成することも可能である。図6の微生物選別システム1Eは、図5のシステム構成に基づき、更に、少なくとも1つ（図6においては2つ）の追加の流体力分離装置を有するように変形した実施形態である。つまり、微生物選別システム1Eは、複数（図6においては3つ）の流体力分離装置4b, 4c, 4dを有する。送液部5eは、これらの流体力分離装置のうちの一つに液体Lを供給ように構成されると共に、液体Lの供給先を変更可能な供給切り替え機構を有する。

[0053] 具体的には、微生物選別システム1Eにおいて、容器2と流体力分離装置4b, 4c, 4dとを接続する供給路6は、末端が3つの流路6b, 6c, 6dに分岐して、流体力分離装置4b, 4c, 4dの導入口41b, 41c, 41dに各々接続される。つまり、流体力分離装置4b, 4c, 4dは、容器2に対して並列に配置される。供給路6の分岐点には切り替え弁18が設置され、流体力分離装置4b, 4c, 4dのうちの一つに液体Lが供給され、供給先は切り替え弁18によって変更可能である。流体力分離装置4b, 4c, 4dは、湾曲流路の曲率又は矩形断面の形状が互いに異なる。つま

り、流体力分離における分離条件が異なるので、同一流量で液体を供給した時、粒子は異なる粒径で分離される。

[0054] 流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d の導出口 4 2 b, 4 2 c, 4 2 d には、流路 7 b, 7 c, 7 d が各々接続され、これらの流路の末端は、切り替え弁 1 9 を介して 1 つの流路 7 に統合されて検査装置 1 5 に接続される。流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d の一つに供給された液体 L から分離された第 1 画分が検査装置 1 5 に供給されように、切り替え弁 1 8, 1 9 の接続を整合させ、供給先を変更する時は、これらの切り替えを連動させる。検査装置 1 5 において第 1 画分における粒径の測定が行われる。流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d の導出口 4 3 b, 4 3 c, 4 3 d は、各々、流路 8 b, 8 c, 8 d によって回収容器 9 f, 9 g, 9 h に接続され、流体力分離装置で第 2 画分として分離された液体 L f, L g, L h は、回収容器 9 f, 9 g, 9 h に各々収容される。

[0055] 微生物選別システム 1 E の検査装置 1 5 は、切り替え弁 1 8, 1 9 と電気的に接続され、切り替え弁 1 8, 1 9 の接続切り替えを制御する信号が、検査装置 1 5 における測定結果に基づいて送信される。従って、所望の粒径の微生物粒子が得られるように、使用する流体力分離装置の選択及び変更を電気制御によって自動的に行うことができる。つまり、この実施形態における分離条件は、ポンプ 1 0 の駆動制御の代わりに、使用する流体力分離を変更することによって適正化される。

[0056] 図 6 の微生物選別システム 1 E は、流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d から第 1 画分を検査装置 1 5 に供給するように構成されているが、逆に、第 2 画分を検査装置 1 5 に供給するように構成してもよい。また、流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d の各々について、導出口に接続される流路の構成を、図 4 の微生物選別システム 1 C のように変形してもよい。これにより、流体力分離装置 4 b, 4 c, 4 d の一つに供給される液体から分離される第 1 画分及び第 2 画分の何れも検査装置に供給可能になり、切り替えによって両方の画分について順次検査装置による測定結果を得ることができる。つまり、供給

先の切り替えによって、第1画分及び第2画分の少なくとも一方について、検査装置における測定を実施できる。

[0057] 図6の微生物選別システム1Eは、液体Lを、微生物粒子の粒径に応じて4つの画分として分取するように利用することができる。例えば、最初に、容器2の液体Lを、流体力分離装置4b、4c、4dのうち、第1画分として分離される粒径が最も小さい流体力分離装置へ供給し、その後、検査装置において回収される第1画分を容器2へ戻す。次に、分離される粒径が中間の流体力分離装置へ容器2の液体を供給し、同様に、第1画分を検査装置15から回収して容器2へ戻す。最後に、分離される粒径が最大の流体力分離装置へ供給する同操作を繰り返す。このようにして操作を繰り返すことにより、回収容器9f、9g、9h及び検査装置15の各々において順次回収される液体に含まれる微生物粒子の粒径は、段階的に大きくなる。この場合、検査装置15から容器2へ液体を還流させる還流路及びポンプを設けると、このような繰り返し操作を自動的に且つ連続的に行うことができる。これは、汚染防止の観点からも有利である。

[0058] 上述の操作において、検査装置15によって、分取される液体に含まれる粒子の大きさを確認することができるので、測定結果に応じて、流体力分離装置4b、4c、4dのうちの一つ又は2つにおける分離を省略してもよい。また、流体力分離装置における分離条件の変更又は調整が不要である場合、粒径測定はなくてもよいので、微生物選別システム1Eから検査装置15を省略することも可能である。上述では、第1画分について繰り返し操作を行っているが、このような繰り返し操作を第2画分について行うことも可能である。その場合は、第2画分を検査装置15に供給するように微生物選別システム1Eの流路構成を変更するとよく、液体Lの供給は、第2画分として分離される粒径が最も大きい流体力分離装置から開始する。

[0059] 図6の微生物選別システム1Eは、更に、図5の微生物選別システム1Dのようにポンプの駆動制御を行うように変形することも可能である。この場合、上述の繰り返し操作を一単位として、操作単位毎に液体の供給流量を変

更しながら、液体の供給及び流体力分離を行うことができる。これにより、可能な分離段数は、微生物選別システムを構成する流体力制御装置の数の倍数になる。微生物選別システムの設計においては、流体力分離装置における適正な処理流量（定格流量）が基本となる。液体の供給流量は、流体力分離装置の処理流量が適正な範囲において制御するとよい。

[0060] 検査装置15において、目的の選別（スクリーニング）が行われているかを評価するための計測項目として、上述した微生物の大きさの測定以外には、例えば、微生物の形状、生死判定、細胞周期状態、活性、遺伝子検査、微生物による産生物の分析などが挙げられる。活性には、増殖能、代謝活性、酵素活性、抗菌活性などがある。従って、検査装置15は、必要に応じて、このような項目の一つ又は二つ以上について計測可能な機能を有するとよい。上記のような計測は、具体的には、培養、顕微鏡による観察、試薬による染色や発光、蛍光の検出、電気泳動、赤外等の電磁波を用いた吸収スペクトルの計測などの操作によって行うことができる。また、特定の成分や構造、遺伝子等に選択的に反応するマーカーによる標識の利用や、フローサイトメトリー等の光学的分析などの操作によっても行うことができる。このような操作を実施可能な装置として、例えば、Thermo Fisher Scientific社製のフローサイトメーター（製品名：Attune NxT）、Beckmann Coulter社製の細胞アナライザー（製品名：Vi-Cell）、Perkin Elmer社製のプレートリーダー（製品名：ViewLux）などが挙げられる。

[0061] 尚、流体力分離によって分取される第2画分は、相対的に小さい微生物細胞やデブリ等を含んでいる。この液体から、フィルターを用いてデブリや凝集物を除去して、含まれる成分を分析することができ、精製処理を行うことによって特定の成分を回収してもよい。フィルターは、除去対象に応じて、適切な孔径のものを選択すればよく、例えば、精密濾過膜、限外濾過膜等が挙げられる。

[0062] 上述のような微生物選別システムを用いて、様々な微生物について選別方法を実施することができる。微生物粒子の大きさに基づいた分離によって微

生物の優れた株を選別して、微生物による発酵や光合成などを効率的に産業利用するための助力となる。微生物には、原核生物（真正細菌及び古細菌）、真核生物（藻類、原生生物、菌類、粘菌類）及びウイルスがある。具体的には、原核生物としては、大腸菌、枯草菌、黄色ブドウ球菌等の細菌や、放線菌、ラン藻、メタン生成菌等の枯草菌が挙げられる。真核生物としては、アオミドロ、ワカメ等の藻類、ゾウリムシ等の原生生物、カビ、酵母、キノコ等の真菌類などが挙げられる。また、原生生物としては、アメーバなどもあり、ワムシなどの輪形動物や、ボツリオコッカス・ブラウニーなどの微細藻類も微生物に含まれる。

[0063] 酵母や微細藻類については、油脂類の合成能を有するものが報告されている。また、光合成細菌、酵母及び乳酸菌には、ビタミンや生理活性物質を合成するものがあり、様々な抗生物質を生成する放線菌も知られている。微生物が産生する油脂、タンパク質、ビタミン類や酵素等の各種有用物質を回収して、医薬品、飲食品、燃料等の様々な製品の製造に利用できる。従来、飲食品等の製造加工において、様々な発酵微生物が用いられており、このような微生物に適用して、特定の性質や新規の機能に優れた微生物株を選別することが可能である。増殖能、代謝能、生産性等に優れた微生物株は、有用成分の生産性の向上に寄与する。通常は細胞内に貯め込まれるタンパク質等の有用成分が外部に放出されるように変異した微生物株が選別されれば、産業利用に有望な微生物となる。また、多細胞体を構成する植物であっても、単一細胞または複数細胞の粒子状凝集体は、本開示の技術を適用して所望の細胞粒子を選別可能である。

[0064] 流体力分離を行う液体は、微生物粒子と液体媒体とを含有する液体であり、前述したように、培養した微生物を培養した液体培地をそのまま用いてもよい。液体培地は、合成培地、半合成培地、天然培地の何れの液体培地であってよく、栄養素、検査を目的とする鑑別剤（pH指示薬、酵素基質、糖類等）、目的外微生物の発育を抑制する選択剤などを含んでいてもよい。流体力分離を効率的に進行させるために、粘性があまり高くない液体培地を使用

すると好ましい。ウイルス等の粒径が小さい微生物粒子について、流体力分離を行い易い大きさの粒子を形成するために、凝集剤を添加した液体培地であってもよい。凝集剤として、例えば、高分子凝集剤、及び、ポリ塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム、ポリシリカ鉄等の無機凝集剤が挙げられる。

[0065] 液体に含まれる微生物粒子が複数種の微生物の混合状態であっても、粒径による微生物株の選別は可能であるが、目的とする微生物株の選別を効率的に進めるには、単一種の微生物が含まれる液体であるとよい。単一種の微生物粒子を流体力分離装置によって分離することで、相対的に大きい微生物粒子の分取による目的の微生物株の選別が進め易い。

[0066] 微生物選別システムの検査装置 15 が、微生物粒子の粒径に加えて、粒子個数、粒径分布及び微生物の生存率のうちの少なくとも一種を測定する手段を有すると、実用的である。流体力分離によって得られる液体は、検査装置 15 で検査する前に、培養によって微生物を増殖させてもよい。微生物の培養は、その微生物について判明している培養条件に基づいて、常法に従って培養を行ってよい。微生物の培養に使用する液体培地は、合成培地、半合成培地、天然培地の何れの液体培地であってもよく、培養する微生物に適したものを適宜選択して使用してよい。概して、特定の菌種を増殖させるように処方された選択増菌培地や選択分離培地が好適に使用される。市販の液体培地から適宜選択して使用しても、或いは、既知の処方に従って栄養素及び精製水等を用いて調製してもよく、検査を目的とする鑑別剤（pH 指示薬、酵素基質、糖類等）や、目的外微生物の発育を抑制する選択剤などを必要に応じて添加してよい。流体力分離を行う液体 L を構成する液体媒体が、微生物の培養に使用する液体培地であると、簡便に微生物を培養できる。

[0067] 微生物が産生する有用物質が液体に含まれる場合、流体力分離装置から回収される内周側の画分の精製によって、有用物質を回収することができる。産生する有用物質が微生物の細胞内にある場合、流体力分離装置から回収される内周側の画分には、死細胞から放出された有用物質が含まれ得るので、同様に、回収画分から有用物質を回収可能である。

[0068] 図7は、流体力分離装置における分離効率とDe数との関係を調べた結果を示すグラフである。詳細には、流路の寸法が異なる5種類の流体力分離装置（装置A1～A5）の何れかと、ポリマー粒子（スチレンージビニルベンゼン共重合体）又はCHO細胞（チャイニーズハムスターの卵巣細胞）の何れかの分離対象を用いて、流体力分離装置による分離を行った。何れの分離対象も平均粒子径が1.4～1.8 μmの範囲にある。分離効率は、 $[1 - (x/X)] \times 100 (\%)$ として計算した値であり、計算式中のXは、分離前の液体に含まれる分離対象の濃度、xは、分離後の内周側の画分に含まれる分離対象の濃度を示す。何れの分離対象も粒径分布が狭いので、粒子又は細胞の全量が外周側の画分に濃縮される状態の分離効率を100%と見なした評価である。グラフから理解されるように、ポリマー粒子及び動物細胞の何れにおいても、De数が70前後において最も分離効率が高くなり、概して、De数が50～80の範囲になる条件において高い分離効率を達成することができる。従って、粒子の組成に係らず、流体力分離によって粒子の大きさに基づいた分離が可能であることが理解される。

[0069] 図8は、流体力分離装置へ液体培地を送るポンプの種類による動物細胞の生存率への影響を調べた結果を示す。細胞を培養した液体培地を、ポンプを用いて0.3 MPaの吐出圧で流体力分離装置へ供給し、分離装置から排出される液体培地の2つの画分を纏めて収集し、少量をサンプリングした。細胞計測装置（ベックマンコールター社製、製品名：Vi-Cell）によりサンプルの細胞の生存率（%、全細胞中の生細胞の割合）を計測した結果である。グラフ中の「ガス圧送」は、コンプレッサが接続された加圧タンクから液体培地を圧縮空気で圧送する形態であり、容積式ポンプとして分類することができる。図8から、遠心ポンプにおいては細胞における損傷が大きく、容積式ポンプに分類される他のポンプでは、生存率の低下が防止されることが判る。微生物粒子は、動物細胞より耐久性を有するので、ポンプの種類によって図8のような著しい影響は見られていないが、選別を行う微生物の耐久性が不確実であるような場合には、適宜、ポンプを選択して用いるとよい。

[0070] このように、流体力分離技術を利用して、液体に含まれる微生物粒子から相対的に大きい微生物粒子を選択的に濃縮分離することができるので、増殖力等が高い微生物株を分取することができる。流体力分離は、遠心分離より極めて効率的に相対的に大きい細胞の濃縮分離を進めることができ、フィルター分離等に比べて、微生物を損傷せずに高い生存率で濃縮分離することができる。分離除去された相対的に小さい微生物粒子を含む画分から、所望の微生物株を回収してもよい。また、フィルター等を用いて細胞片等の不要物を除去して精製することによって、成分を回収することができる。流体力分離において、液体を比較的高い速度で湾曲流路へ供給するので、本開示の微生物選別システムは、細胞の濃縮分離を行う処理能力が高い。微生物を粒径に基づいて選別する効率が向上し、所望の微生物株の選別を実用的に行うことができ、産業利用に十分適用可能である。

実施例

[0071] 前記特許文献 1 に記載される粒子分離器を参照して、円弧状の湾曲流路（巡回直径：約 115 mm、流路の径方向断面：長方形、流路幅：約 3 mm）が内部に形成された平板状の樹脂製成形体を作製した。この成形体を流路ユニットとして用いて流体力分離装置を構成した。液体を供給するためのポンプ 10 としてシリンジポンプ（プランジャを繰り返し押し引きして流体を圧送する）を使用し、上述の流体力分離装置を用いて、図 1 の微生物選別システム 1 を構成した。

[0072] 酵母を水に加えて分散させ、酵母粒子を含んだ酵母水性液を調整し、微生物選別システム 1 の容器 2 に収容した。シリンジポンプを用いて、容器 2 の酵母水性液を流体力分離装置の湾曲流路に 110 mL/min の一定流量で圧送した。流体力分離装置の導出口 42, 43 から排出される外周側の第 1 画分（相対的に大きい酵母粒子を含む）及び内周側の第 2 画分（相対的に小さい酵母粒子を含む）を、各々、回収容器 9a, 9b に回収した。これらの画分の各々について、液に含まれる酵母の数及び生存率（全酵母中の生酵母の割合）を、画像式粒子計測装置（ベックマンコールター株式会社製、製品

名：Vi-Cell）を用いて計測した。この操作及び計測を2回行った。各回における結果を表1に示す。

[0073] [表1]

	平均細胞径 [μm]			酵母生存率 [%]		
	酵母水性液	第1画分	第2画分	酵母水性液	第1画分	第2画分
1回目	6.12	6.14	5.97	84.6	86.9	80.3
2回目	6.12	6.24	6.01	84.6	88.0	81.3

[0074] 表1から分かるように、平均細胞径の比較から、第2画分には相対的に小さい細胞（細胞径：6.0 μm 前後）が含まれ、第1画分に相対的に大きい細胞（細胞径：6.2 μm 前後）が濃縮されることが明らかである。つまり、1回目及び2回目の何れにおいても、酵母が細胞径によって分離されている。流体力分離の前後で酵母の生存率の明らかな低下は見られないことから、分離操作による酵母へのダメージは殆どないと言える。また、第1画分については、分離前の酵母水性液と比較して、酵母の生存率が有意に増加している。これは、第1画分に含まれる相対的に小さい粒子の割合が減少することによって、死菌体、デブリ及び不純物の割合が減少したために、生存率が増加したと見なすことができる。従って、流体力分離によって、粒径が相対的に大きい酵母を第1画分として回収可能であり、生存率が高い酵母が得られることが明らかである。

産業上の利用可能性

[0075] 微生物粒子のうちの相対的に大きい粒子を選択的に濃縮して分取することにより、微生物株の選別を行うことができる。粒径に基づいて、増殖能、代謝能、生産性等に優れた微生物株を効率的に選別できる。選別した微生物株を、バイオ技術を利用した各種製品の製造に利用することにより、バイオ関連製品の提供において、経済性、品質の向上に寄与し、また、現状において稀少又は高価な製品の普及、汎用化を進めることが可能になる。

請求の範囲

- [請求項1] 微生物粒子と液体媒体とを含有する液体を収容する容器と、微生物分離装置とを有する微生物選別システムであって、前記微生物分離装置は、
- 矩形断面を有する湾曲流路を有し、前記湾曲流路を前記液体が流れることによって生じる渦流れを利用して、前記液体を、相対的に大きい微生物粒子を含む第1画分と相対的に小さい微生物粒子を含む第2画分とに分離可能な流体力分離装置と、
- 前記液体を前記容器から前記流体力分離装置へ供給する送液部とを有する微生物選別システム。
- [請求項2] 前記流体力分離装置は、前記液体を取り入れる単一の導入口と、前記第1画分及び前記第2画分を個別に排出する2つの導出口とを有し、前記第1画分に相対的に大きい微生物粒子が濃縮して含まれる請求項1に記載の微生物選別システム。
- [請求項3] 前記送液部は、前記容器と前記流体力分離装置とを接続する配管と、前記流体力分離装置へ前記液体を供給するための流動圧を前記液体に付勢するポンプとを有する請求項1又は2に記載の微生物選別システム。
- [請求項4] 更に、液体に含まれる微生物粒子の大きさを測定可能な検査装置を有し、前記第1画分及び前記第2画分の少なくとも一方についての前記検査装置による測定結果に基づいて、前記送液部が前記流体力分離装置に供給する前記液体の流量を変更可能である請求項1～3の何れか一項に記載の微生物選別システム。
- [請求項5] 前記送液部は、前記流体力分離装置に供給する前記液体の流量を制御する流量制御機構を有する請求項4に記載の微生物選別システム。
- [請求項6] 更に、湾曲流路の曲率又は矩形断面の形状が前記流体力分離装置とは異なる少なくとも1つの追加の流体力分離装置を有し、前記送液部は、前記流体力分離装置及び前記追加の流体力分離装置のうちの一つ

に前記液体を供給すると共に供給先を変更可能な供給切り替え機構を有する請求項 1 ～ 3 の何れか一項に記載の微生物選別システム。

[請求項7] 更に、液体に含まれる微生物粒子の大きさを測定可能な検査装置を有し、前記流体力分離装置及び前記追加の流体力分離装置の一つに供給される液体から分離される第 1 画分及び第 2 画分の少なくとも一方についての前記検査装置による測定結果に基づいて、前記液体の供給先を前記供給切り替え機構によって変更可能である請求項 6 に記載の微生物選別システム。

[請求項8] 前記微生物粒子は、ウイルス、真正細菌、古細菌、菌類、粘菌類、藻類、原生生物の何れかを含む請求項 1 ～ 7 の何れか一項に記載の微生物選別システム。

[請求項9] 前記微生物粒子は、単一種であり、流体力分離装置による分離によって、目的とする微生物株が選別される請求項 1 ～ 8 の何れか一項に記載の微生物選別システム。

[請求項10] 前記検査装置は、更に、微生物粒子の粒子個数、粒径分布及び生存率のうちの少なくとも一種を測定する手段を有する請求項 4, 5 及び 7 の何れか一項に記載の微生物選別システム。

[請求項11] 微生物粒子と液体媒体とを含有する液体を用いて、前記微生物粒子を粒子の大きさに基づいて選別する微生物選別方法であって、

矩形断面を有する湾曲流路に前記液体を供給して、前記湾曲流路を前記液体が流れることによって生じる渦流れを利用して、前記液体を、相対的に大きい微生物粒子を含む第 1 画分と相対的に小さい微生物粒子を含む第 2 画分とに分離する流体力分離工程と、

前記第 1 画分及び前記第 2 画分の少なくとも一方を分取する分取工程と

を有する微生物選別方法。