

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4074915号
(P4074915)

(45) 発行日 平成20年4月16日(2008.4.16)

(24) 登録日 平成20年2月8日(2008.2.8)

(51) Int.Cl.	F 1	
GO 1 N 1/28 (2006.01)	GO 1 N 1/28	N
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	GO 1 N 1/28	F
GO 1 N 33/48 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	F
	GO 1 N 33/48	M

請求項の数 14 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-43035 (P2004-43035)
 (22) 出願日 平成16年2月19日(2004.2.19)
 (65) 公開番号 特開2004-264300 (P2004-264300A)
 (43) 公開日 平成16年9月24日(2004.9.24)
 審査請求日 平成18年11月30日(2006.11.30)
 (31) 優先権主張番号 10309211.0
 (32) 優先日 平成15年2月28日(2003.2.28)
 (33) 優先権主張国 ドイツ(DE)

(73) 特許権者 501129941
 ライカ ミクロジュステーメ ゲーエムベ
 ーハー
 オーストリア AT-1170 ウィーン
 ヘルナルザー ハウプトシュトラッセ
 219
 (74) 代理人 100071054
 弁理士 木村 高久
 (72) 発明者
 ハインツ ブランク
 オーストリア、アー-2351 ヴィーエ
 ル、ノイドルフ、ライゼンパウアリング
 7/1/25

審査官 郡山 順

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薄組織断面の免疫標識化装置および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

薄組織断面が所定のパターンで固定されたキャリアプレートと、処理液が液滴の形態で適用された少なくとも1つのスライドと、1つのスライドを保持する搬送容器と、前記搬送容器がスタックされる第1および第2のステーションとを有する薄組織断面の免疫標識化装置であって、

前記スライドの液滴の配置が前記キャリアプレートの前記薄組織断面の配置に対応しており、前記搬送容器は基部に取り付けられた周囲区切り壁を有しており、1つの搬送容器の前記基部がその下に配置された搬送容器カバーを構成する、薄組織断面の免疫標識化装置。

【請求項2】

それぞれスライドが装着された前記搬送容器が前記第1のステーションにスタックされ、複数の新しい未使用の液滴が前記スライドに配置されている請求項1記載の装置。

【請求項3】

それぞれスライドが装着された前記搬送容器が前記第2のステーションにスタックされ、処理工程において既に使用された複数の液滴が前記スライドに配置されている請求項2記載の装置。

【請求項4】

前記第1のステーションおよび第2のステーションにおいて、それぞれの場合について最上部の搬送容器にはスライドが装着されておらず、その搬送容器の前記基部のみが前記

第 1 および第 2 のステーションにおいて次の搬送容器のカバーを構成している請求項 1 記載の装置。

【請求項 5】

前記装置は入力部、供給部および処理部で構成されており、前記供給部から前記処理装置まで、または前記処理装置から前記供給部まで少なくとも 1 つの搬送容器を搬送するために、搬送機構が前記供給部と処理部間を前後に移動する請求項 1 記載の装置。

【請求項 6】

前記第 1 および第 2 のステーションは、互いに平行な第 1、第 2 および第 3 のバーにより構成されており、前記第 1 および第 2 のバーは二等辺三角形の基部の端点であり、前記第 3 のバーは二等辺三角形の頂点であり、前記第 1、第 2 および第 3 のバーは前記搬送容器のガイドとして作用し、前記バーは共通板の上端に固定されている請求項 1 記載の装置。

10

【請求項 7】

a) 処理部に挿入されたキャリアプレートに配置された薄組織断面に個々の処理プロセスを実施する工程と、

b) 液滴受容のための複数の凹部をそれぞれ有する複数のスライド上に液滴を適用する工程と、

c) 前記スライド用に提供された搬送容器と共に前記スライドを第 1 のステーションに配置する工程と、

d) 前記スライドと共に前記搬送容器を搬送機構により前記第 1 のステーションから処理部へ移動する工程と、

20

e) 前記スライドの前記液滴が前記キャリアプレートの前記薄組織断面を濡らすように、前記スライドと共に前記搬送容器を持ち上げる工程と、

f) 前記個々の処理プロセスにより予め決められた時に前記スライドと共に前記搬送容器を、使用済みスライドを保持する第 2 のステーションへ移動する工程と、

g) 個々の処理プロセスのために前記第 1 のステーションに提供された前記スライド全てが取り外されるまで工程 d) ~ f) を実施する工程とを含む薄組織断面を免疫標識化する方法。

【請求項 8】

前記工程 d) ~ f) を完全に自動的に実施する請求項 7 記載の方法。

30

【請求項 9】

個々の処理プロセスの作成が、複数の入力ボタンにより、入力部に提供されたユーザーインターフェースを介して実施される請求項 7 記載の方法。

【請求項 10】

前記処理プロセスに従って必要とされる、それぞれスライドが装着された前記搬送容器が前記第 1 のステーションにスタックされ、前記スライドは最初、前記第 1 のステーションの最下部に配置されている必要がある請求項 7 記載の方法。

【請求項 11】

前記キャリアプレートが前記処理部のアームのホルダーにより前記処理部に挿入され、前記ホルダーが前記処理部の前記アームへ挿入または前記アームを取り外すための 2 つのグリップ凹部を前記ホルダーが有している請求項 7 記載の方法。

40

【請求項 12】

前記搬送容器を持ち上げる際に、前記キャリアプレートと前記スライド間に必要な距離が少なくとも 1 つのセンサにより測定される請求項 7 記載の方法。

【請求項 13】

前記液滴が複数のピペットを用いて前記スライドに適用される請求項 7 記載の方法。

【請求項 14】

前記第 1 のステーションおよび第 2 のステーションにおいて、それぞれの場合について最上部の搬送容器にはスライドが装着されておらず、その搬送容器の前記基部のみが前記第 1 または第 2 のステーションにおいて次の搬送容器のカバーを構成している請求項 7 記

50

載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は薄組織断面の免疫標識化装置に関する。特に、本発明は、薄組織断面が所定のパターンで固定されたキャリアプレートと、処理液が液滴の形態で適用される少なくとも1つのスライドとを有する薄組織断面の免疫標識化装置に関し、ここでは、液滴の配置がキャリアプレートの薄組織断面の構成に対応している。

【背景技術】

【0002】

組織や細胞のような生物試料の構造を電子顕微鏡や高解像度光学顕微鏡法を用いて調べるためには、超薄断面（僅か数nmの厚さの）を作成し、金属、好ましくはニッケル製の試料キャリアグリッド（以降、金属グリッドと称す）に適用する。顕微鏡検査については、断面には明暗をつけるか、または特別の細胞化学法を用いて試料の個々の構成要素を標識化する。これらの細胞化学法は、配位子対形成の原則に基づいていることが多い。すなわち、第1の配位子が生物試料に含まれており、第2の配位子が試料と接触すると、第1の配位子に対する結合対として結合する。生物系配位子対としては、抗原/抗体結合対、酵素/基質結合対、レクチン/糖、ホルモン/受容体系およびDNA/DNAおよびDNA/RNA対が例示される。

【0003】

抗原/抗体対に関する数多くの方法が従来技術においては知られている。免疫組織化学および免疫細胞化学（以降、免疫標識化技術と称す）と呼ばれているものである。例えば、特許文献1には、造粒ゲル物質に液体試料からの抗原を吸収する方法が開示されている。ゲルペレットは、拡散バリアに囲まれており、スタンプアウトゲルマトリックスヘブロックとして統合されて、後に組織試料と全く同様に免疫標識化技術が施される。特許文献2には、免疫金染色法を用いて配位子を標識化するためにコロイド金粒子を用いることが記載されている。試料中の抗原の定量および定性評価を可能とする大きく改善された方法が特許文献3にサンドイッチ検定法の形態で開示されている。ここで、抗原を結合する第1の抗体は、第1の抗体を結合する金標識化された第2の抗体で標識化されている。電子顕微鏡評価法を用いて、金粒子の量に基づいて抗原試料を定性および定量評価することができる。

【0004】

薄組織断面の免疫標識化用の多くの免疫組織化学および免疫細胞化学プロトコルに共通の特徴は、10~20の個々のプロセス工程を通常は含んでいるということである。これらプロセス工程の大半に、検査中の試料をバッファ溶液または標識化溶液で洗浄する操作が含まれている。

【0005】

現在、これらの洗浄操作は煩雑なプロセスで手動で行われており、水性バッファ溶液または標識化溶液の個々の液滴がピペットにより疎水性基質（例えば、パラフィルム（Parafilm）（登録商標）、パルロジオン（Parlodion）（登録商標）、コロイジオン（Collodion）またはフォルムファン（Formfan）（登録商標））に適用される。処理液と反応させるために、薄組織断面の金属グリッドを別個に載せる。金属グリッドが軽量であることと液滴の表面張力のために、金属グリッドは液的表面に浮く。この工程の特定の滞留時間（5~10分であることが多い）の後、金属グリッドを次の液滴のためにピンセットで移動させる。標準プロトコルの最後の位置までこの操作を続ける。各免疫標識化反応について数時間という長い時間、技術者は拘束される。

【0006】

この手動のプロセスには操作者による注意が常に必要であり、長い時間が必要とされるため人件費が高くかかることは明らかである。同時に処理される試料の数はかなり限定さ

10

20

30

40

50

れており、非常に小さな容積の液滴を正確にピペットに取って配置する際に操作者によるエラーを排除することはできない。この手動の方法だと、免疫標識化中の長い処理時間後に、試料が混ざり合うのを排除することはできない。これは、特許文献4に示されているように、チップまたはバーコードの形態の識別子を有する試料キャリアを用いることにより防ぐことができる。

【0007】

さらに、長期間にわたる標準プロトコルの最中の液滴の蒸発が重要な問題である。

【0008】

特許文献5には、免疫細胞化学処理後に担体上で顕微鏡プレパラートを洗浄する装置が開示されているが、これは、大量の洗浄溶液がプレパラートおよびキャリアに、特定の流量で流れる洗浄ボックスのことを指している。この装置は、用いられる抗体含有標識化溶液が非常に高価であるため、可能な最小容積でしか用いないため、免疫標識化技術を実施するのには好適ではない。

10

【0009】

薄組織試料のための免疫標識化技術を実行する操作の完全自動化装置および方法は、現在知られていない。

【特許文献1】米国特許第5,143,714号明細書

【特許文献2】独国DE38 78 167 T2号明細書

【特許文献3】米国特許第5,079,172号明細書

【特許文献4】独国実用新案DE299 06 382U1

20

【特許文献5】独国実用新案DE298 17 912U1

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

従って、本発明の目的は、再生可能な品質で、完全自動化で、そして個々に定義可能なプロトコルに従って、操作者が介入せずに、多数の薄組織断面を同時に効率的に処理可能な薄組織断面の免疫標識化装置を利用可能とすることである。

【0011】

この目的は、請求項1の特徴を備えた装置により達成される。

【0012】

30

本発明の更なる目的は、再生可能な品質で、完全自動化で、そして個々に定義可能なプロトコルに従って、操作者が介入せずに、多数の薄組織断面を同時に効率的に処理可能な薄組織断面の免疫標識化方法を利用可能とすることである。

【課題を解決するための手段】

【0013】

この目的は、請求項に記載された工程を含む方法により達成される。すなわち、本発明による装置は、薄組織断面が所定のパターンで固定された、キャリアプレートを備えているため、特に有利である。同様に提供されているのは、処理液が液滴の形態で適用された少なくとも1つのスライドであり、液滴の配置はキャリアプレートの薄組織断面の配置に対応している。液滴を備えた各スライドを搬送容器に移動する。搬送容器は、基部により閉じられる周囲区切り壁を含むトラフの形態で実現される。

40

【0014】

複数の液滴を備え、キャリアプレートの薄組織断面とまだ接触していないスライドを装着した搬送容器を第1のステーションにスタックする。キャリアプレートの薄組織断面と既に接触したスライドを装着した搬送容器を第2のステーションにスタックする。これらのスライドを用い、全処理プロセスが完了するまで、第2のステーションの搬送容器に併せてスタックする。

【発明の効果】

【0015】

多数の金属グリットがキャリアプレートに取り付けられて、同時に処理される試料また

50

は薄組織断面の数が大幅に増える。薄組織断面の処理について、個々の処理プロセスに必要な手順に従って、搬送容器に提供されたスライドがキャリアプレートと連続して定義された通りに接触して、薄組織断面が処理液で濡れる。ここでの目的は、必要なスライドをキャリアプレートの処理位置へ動かすことである。

【0016】

本発明の実施形態の更なる利点は、従属請求項より明らかである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0017】

本発明は、図面に概略を示した実施例を参照すると明らかになるう。

【0018】

図1に、上側1aおよび下側1bを画定するキャリアプレート1を示す。下側1bには、キャリアプレート1に印を付けた位置があり、そこには薄組織断面2a(図3参照)を有する金属グリッド2が配置されている。キャリアプレート1の金属グリッド2の位置を上げる(キャリアプレート1から金属グリッド2の位置が上げられている。)これによって、液滴と接触した際の、個々の金属グリッド2間の液体架橋の形成を防ぐ。金属グリッド2の位置とは逆のキャリアプレート1の上側1aに配置されているのは、磁石3、例えば、永久磁石を含むオリフィス3a(図3参照)である。これによって、磁力により、金属グリッド2がキャリアプレート1の下側1bの適所に配置される。金属グリッド2と磁石3の間の距離を出来る限り小さく($< 2\text{ mm}$)保たなければならない。キャリアプレート1は、寸法安定性のある非金属材料、好ましくは、アルミニウム、真鍮または繊維強化プラスチックでできているのが好ましく、金属グリッド2を有する下側1bに疎水性コート(例えば、テフロン(登録商標)圧力コーティング)がなされているのが有利である。キャリアプレート1の形状およびキャリアプレート1上の金属グリッド2の配置に関しては数多くの実施形態が可能であることは当業者には明白である。ここに図示した実施形態において、約 $76 \times 26\text{ mm}$ (3×1 インチ、顕微鏡スライドサイズ)の寸法を有する矩形プレートは、例えば、直径 3 mm の 10×3 の金属グリッド2を収容する。キャリアプレート1の下側1bの金属グリッド2は、キャリアプレート1の上側1aの磁石3のオリフィスとは逆に配置し、好ましくはまた、スライド4の上側4aの少なくとも1つの液滴6の位置とは逆に配置されているということが重要である(図2参照)。

【0019】

更なる例証の実施形態において、金属グリッド2は電磁石(図示せず)によりキャリアプレート1の下側1bに保持されている。

【0020】

図2は、上側4aと下側4bとを画定する、本発明によるスライド4の斜視図である。スライド4は、図示した実施形態において、列で構成され、それぞれ液滴6が充填された多数の凹部5(「ウェル」と呼ぶ)を上側4aに有している。液滴6は、従来技術に開示されているように、洗浄溶液または処理溶液を含んでいる。個々の凹部5に異なる液体を存在させることもできる(例えば、一列の凹部5には洗浄溶液を充填し、次の列の凹部5には様々な抗体を有する標識化溶液を充填)。スライド4は透明であるのが有利であり、寸法安定性材料でできている。スライド4は、ガラスまたはプラスチックでできているのが好ましく、凹部5を有する上側4aおよび凹部5自身に疎水性コート(例えば、テフロン(登録商標)圧力コーティング5aにより)する。凹部5は、テフロン(登録商標)コーティング5aの深さ対厚さD(図3参照)と同一である(凹部5は、テフロン(登録商標)コーティング5aの厚さDに対し、同一の深さとなるようにされている)。凹部5は約 $50\text{ }\mu\text{ m}$ のサイズであるのが有利である。凹部5は $50\text{ }\mu\text{ l} \sim 5\text{ }\mu\text{ l}$ の容積を有する液滴6を支持する。洗浄溶液のための液滴6の容積は、抗体および/または金を含む液滴の容積より大きい。抗体または金溶液の容積を減じる理由は、かかる溶液のコストが高いことによる。テフロン(登録商標)圧力コーティングは様々な液滴サイズについて同じである。液滴6は、疎水性リムコーティングのために、大きい、または小さい範囲まで、上方へ膨張する。これらの液滴とグリッドを接触させるために、手順に関して、液滴サイズ

10

20

30

40

50

を知ることが絶対に必要である。というのは、液滴サイズによって、金属グリッド 2 の下部の動きが異なる位置となるからである。

【 0 0 2 1 】

スライド 4 とキャリアプレート 1 間の空間的相関図を部分断面図で図 3 に示す。空間断面図は、例えば、点線 3 8 (図 1) で図 2 に示してある。そこに図示した例証の実施形態において、厚さ D の疎水性コーティング 5 a がスライド 4 に適用される。磁石 3 のオリフィス 3 a はキャリアプレート 1 に提供されている。試料または薄組織断面 2 a は、キャリアプレート 1 の下側 1 b の印を付けた位置に提供される。各薄組織断面 2 a に近接しているのは金属グリッド 2 である。金属グリッド 2、同じく薄組織断面 2 a は関連の磁石 3 により適所に保持されている。図 1 および 3 の点線 2 9 は、各薄組織断面 2 a が金属グリッド 2 と共にスライド 4 の凹部 5 の逆になるように、キャリアプレート 1 およびスライド 4 が構成されている、ということを示すものである。

10

【 0 0 2 2 】

図 4 (a) に、本発明に用いられるスライドの実施形態を示す。識別のために、スライド 4 は、例えば、特許文献 4 に図示されたような識別子を有していると有利である。識別子 4 c は、スライド 4 の表面 4 a に取り付けられており、バーコード、トランスポンダまたはチップの形態で実現することができる。スライド 4 のサイズおよび形状、ならびにスライド 4 の上側 4 a にある凹部 5 の構成に関しては数多くの可能な実施形態があることは当業者には明白である。スライド 4 の更なる実施形態を図 4 (b) に示す。スライドのテフロン (登録商標) コーティングにおいて、寸法 7 6 mm x 2 6 mm のスライド 4 の矩形表面には、直径 2 ~ 3 mm の 8 x 3 個の凹部 5 が含まれている。記録の目的で、数字 8 1 を各凹部 5 に付けてある。図 4 (b) には、スライド 4 に液滴 6 の定義された塗布ができるマルチチャンネルピペット 8 0 も示されている。さらに、必要な液体容積は、マルチチャンネルピペット 8 0 により極めて正確に設定することができ、液滴 6 のスライドへの適用は特に有効である。スライド 4 は、8 つの凹部 5 をそれぞれ有する列が 3 列あるため、マルチチャンネルピペット 8 0 も、スライド 4 の凹部 5 に従って間隔の空いた 8 つの個々のチャンネル 8 2 を同じく有している。

20

【 0 0 2 3 】

図 5 は、薄組織断面の免疫標識化のための装置全体 1 0 の斜視図である。装置 1 0 は、装置の内部で発生する全てのプロセスおよび搬送操作が環境とは遮断されるように構成されている。装置は、実際には、入力部 1 2、ステーション部 1 4 および処理部 1 6 できている。装置はさらに、制御および規制に必要なエレクトロニクスおよびソフトウェアを含んでいる。入力部 1 2 は、多数の入力ボタン 1 3 を有するユーザーインターフェース 2 2 とディスプレイ 1 1 を有している (より詳細な説明については図 1 1、1 2 の説明を参照のこと)。入力ボタン 1 3 を用いて、ユーザーは薄組織断面を処理するための個別のプロトコルを作成することができる。ディスプレイ 1 1 を介して、ユーザーは入力 of 応答を受けたり、装置 1 0 の内部のプロセス状況について知ることができる。ステーション部 1 4 は第 1 および第 2 のドア 1 5 a および 1 5 b を有しており、これによって、多数の液滴 6 を支持するスライド 4 を装置 1 0 に充填したり、プロセスで使用済みのスライド 4 を取り外すことができる。第 1 のドア 1 5 a を通して、搬送のために搬送容器 (図 1 0 参照) にそれぞれ別個に配置されたスライド 4 をステーション部 1 4 へ導入することができる。第 2 のドア 1 5 b を通して、搬送容器にそれぞれ別個に配置された使用済みスライド 4 をステーション部 1 4 から取り外すことができる。各ドア 1 5 a および 1 5 b はハンドル 1 7 により開閉可能である。装置 1 0 を設置面から離すために装置 1 0 には数本の脚 1 8 がある。

30

40

【 0 0 2 4 】

図 6 は、装置 1 0 の内部の外観を示すために、ステーション部 1 4 の第 1 のドア 1 5 a と処理部 1 6 のカバー 1 9 が開いた、薄組織断面の免疫標識化のための装置 1 0 全体の斜視図である。ステーション部 1 4 の第 1 のドア 1 5 a の裏には、多数の搬送容器 4 0 を備えた第 1 のステーション 2 0 がある。各搬送容器 4 0 には、それぞれ多数の液滴を含むス

50

ライド4があり、処理部16において、組織断面の処理のために運ばれる。処理部16には染色装置25がある。染色装置25において、組織断面を有するキャリアプレート1を続いて異なるライド4と接触させる。ライド4は、別個の Protocol に従って染色装置25に搬送され、組織断面との接触時間も、別個の Protocol に従って同様に決まる。

【0025】

図7は、薄組織断面の免疫標識化のための装置10全体の斜視図であり、処理部16の枢転可能なカバー19およびステーション部14の筐体は省いてある。ステーション部14は第1のステーション20と第2のステーション21とを備えている。既に述べた通り、第1のステーション20は、組織断面と接触する前のライド4を備えた搬送容器40を収容している。ライド4を備えた搬送容器40は、組織断面と接触した後、第2のステーション21に運ばれる。第1のステーション20および第2のステーション21は、互いに平行な第1、第2および第3のバー24a、24bおよび24cで構成されている。第1および第2のバー24aおよび24bは、二等辺三角形の横の端点である。第3のバー24cは二等辺三角形の頂点である。第1、第2および第3のバー24a、24bおよび24cは、搬送容器40のガイドとして作用する。バー24a、24b、24cは共通プレート26において上端に固定されている。このプレート26は、このように搬送容器40のスタック高さを限定している。バー24a、24b、24cの下端で、搬送容器40の各スタックがクランプ28により保持される。各クランプ28と係合しているのはクランプ28を開閉するモータ29である。

【0026】

装置10は、分配装置30を有している。ステーション部14および処理部16は分配装置30に配置されている。分配装置30において、搬送容器40は第1のステーション20から処理部16へ、そして処理部16から第2のステーション21へ搬送される。分配装置30には、少なくとも1つのモータ31と1つの搬送手段32とがあり、これは、搬送容器40を様々な装置へ搬送する。搬送手段32は、例えば、歯付きベルトの形態で実現できる。

【0027】

キャリアプレート1には処理部16がある。キャリアプレート1はホルダー35へ挿入可能であり、同時にキャリアプレート1は処理部16のアーム36へスライド可能である。分配装置30は、アーム36に保持されたキャリアプレート1の下、そして第1および第2のステーション20および21の下に延在する分配管33を有している。分配管33において、搬送ホルダー34は第1および第2のステーション20および21と処理部16間で前後に動かすことができる(動くことができる)。

【0028】

図8は、第1または第2のステーション20および21中に搬送容器40のスタックを備えた搬送ホルダー34の相互作用を示す詳細な斜視図である。図6で既に述べた通り、搬送容器40のスタックはクランプ28により保持されている。クランプ28は、搬送容器40のスタックの分配管33への落下を防ぐものである。図7に示すように、搬送ホルダー34はスタックの直下に配置されている。搬送ホルダー34は、ブラケット43により搬送機構42(ここでは詳細は図示せず)に取り付けられている。ライド4は、搬送ホルダー34に載った搬送容器40に配置されている。多数の液滴6がライド4に配置されている。ここに示す好ましい例証の実施形態においては、3×8個の液滴6がライド4に配置されている。最下部の搬送容器40はクランプ28により保持されて、クランプ28が搬送容器40の各側で少なくとも1つの突出部41に係合して搬送容器40の各側が保持されている。クランプ28は、搬送容器40で対応の突出部41に係合する少なくとも1つのラグ28aへと成形されている。

【0029】

図9は、処理部16に配置されたキャリアプレート1を備えた搬送ホルダー34の相互作用の詳細な斜視図である。搬送機構42と、搬送容器40の搬送ホルダー34を保持するブラケット43とは、点線で示してある。ライド4は搬送ホルダー34に載っている

。搬送容器 40 に配置されたスライド 4 の液滴 6 の位置は、キャリアプレート 1 の金属グリッド 2 の位置に対応している（図 1 参照）。キャリアプレート 1 は、処理部 16 のアーム 36 に取り付けられたホルダー 35 により処理部 16 に保持されている。ホルダー 35 は、処理部 16 のアーム 36 へホルダーを入れ、かつ/またはそこから取り外すのに用いる 2 つのグリップ凹部 37 を有している。処理部は、キャリアプレートを上から横に水平に中心に置く手段（図示せず）を有しており、金属グリッド 2 および液滴 6 の位置が一致する。スライド 4 は搬送機構 42 によりキャリアプレート 1 に近づく。スライド 4 とキャリアプレート 1 間の特別に短い距離で、液滴 6 が、組織断面と共にキャリアプレート 1 の金属グリッド 2 を濡らす。この位置は、ユーザーにより構成された処理プロセスに基づいた特定の時間にわたって一定に保持される。キャリアプレート 1 とスライド 4 間の距離は、液滴 6 の容積によって異なる。液滴の容積は変える方がよい。というのは、良好なクリーニング効果を達成するためには液滴を出来る限り大きくしなければならない一方で、抗体の標識化溶液は非常に高価であるため容積は出来る限り小さくしなければならないからである。搬送機構 42 は、ステッピングモータ 45 および位置センサを用いた駆動システムを有する線状ガイドシステムを有することができる。キャリアプレート 1 とスライド 4 間の距離を正確にするために、キャリアプレート 1 からスライド 4 までの距離を測定するセンサ 44 がある。液滴 6 をピペットで計量して、その容積を正確に求める。

【0030】

搬送容器 40 の一実施形態の上面斜視図を図 10 (a) に示す。搬送容器 40 は、基部 50 により閉じられる周囲区切り壁 49 を含むトラフの形態で実現される。搬送容器 40 は寸法安定性のある材料から作成される。搬送容器 40 は、一般に、射出成形法を用いて作成される。その他の作成方法、例えば、ミリングもまた考えられるが、射出成形が最もコスト有効性がある。搬送容器 40 を作成する材料は好適なポリマー材料（例えば、シェブロンフィリップスケミカルカンパニー（Chevron Phillips Chemical Company）のリトン（RYTON）BR 111 BL）である。区切り壁 49 は、前壁 51 と後壁 52 を有しており、これらは左右側壁 53 および 54 により互いに結合されている。前壁 51 および後壁 52 はそれぞれ左右側壁 53 および 54 と直角を成している。区切り壁 49 は、内側に向かって、周囲の第 1 の段 55、周囲の第 2 の段 56 および周囲の第 3 の段 57 を有している。次の搬送容器 40（図 7 参照）は、第 1 の段 55 の基部 50 に載っている。搬送容器 40 の基部 50 は、このように、同時に、その下に配置された次の搬送容器 40 のカバーを構成している。スライド 4 は第 3 の段 57 に載っており、第 2 の段 56 の端部により同時に定位置に固定されている。搬送容器 40 の基部 50 は、それぞれ平面領域 60 を有する第 1 および第 2 の隆起部 58 および 59 を有している。平面領域 60 は、第 3 の段 57 の高さに配置され、隆起部はスライド 4 を支持する。第 1 の隆起部 58 は丸い。第 2 の隆起部 59 は楕円形である。さらに、水分排除媒体（図 10 (a) には図示せず）を搬送容器 40 の基部 50 に配置することができる。左右側壁 53 および 54 はそれぞれ突出部 61 を有している。突出部の領域において、スライド 4 は左右側壁 53 および 54 とは完全には接触しておらず、例えば、搬送容器 40 の基部 50 にある水分排除媒体からの水分は液滴 6 を有するスライド 4 の表面に達する（図 11 参照）。突出部 61 も同様に、スライド 4 の搬送容器 40 からの取り外しを促す。搬送容器 40 の左右側壁 53 および 54 は、その前壁 51 の領域において、搬送容器 40 をユーザーにとって取扱い易くさせる 2 つのグリップ凹部 62 を有している。搬送容器 40 の後壁 52 はその上で成形された 2 つの平行なラグ 63 を有している。ラグ 63 は、第 1 および第 2 のステーション 20 および 21 の第 3 のバー 24 c（図 7 参照）のいずれかに載せるようにしてあり、搬送容器 40 のスタックのガイドを表している。

【0031】

図 10 (b) は、図 10 (a) に示した搬送容器 40 の一実施形態の下面斜視図である。第 1 および第 2 の隆起部 58 および 59 は中空で構成されている。第 1 の隆起部 58 は、円 58 a の形状の断面を有する凹部を備えている。第 2 の隆起部 59 は、長形孔 59 a の形状の断面を有する凹部を備えている。両凹部とも平面領域 60 の領域で終わっている

10

20

30

40

50

。凹部は、搬送ホルダー 34 に搬送容器 40 を配置する役割を果たす。凹部に係合することにより搬送ホルダー 34 に搬送容器 40 を配置する 2 本のピン（図示せず）をその目的で搬送ホルダー 34 上に成形する。

【0032】

図 11 は、図 10 (a) に示した点線 A - A に沿った搬送容器 40 の断面図である。第 3 の段 57 は、第 1 および第 2 の隆起部 58 および 59 の平面領域 60 として同じレベルにあるのは明らかである。図 10 (a) の説明で既に述べた通り、水分排除媒体が搬送容器 40 の基部 50 にあり、水分が液滴（図 9 参照）を乾燥させるのを防ぐ。

【0033】

図 12 は、入力実施および別個の処理プロセス構成のためのユーザーインターフェース 22 の概略図である。入力ボタン 13 によって、ユーザーが別個に後述する処理プロセスを構成することができるようになる。

【0034】

第 1 のステーション 20 に配置されたスタックにおける搬送容器 40 の順番は、別個のプロセス工程の順序に正確に対応している。スタックの様々な搬送容器 40 にあるスライド 4 は、スライド 4 にある液滴 6 の性質およびサイズに関してそれぞれの場合によって異なることに留意しなければならない。1 つのスライド 4 は常に同じサイズおよび同じタイプの液滴 6 を含む。コストの理由から、免疫染色用の試薬を含有する液滴 6 は可能な最小容積で用いられなければならない。第 1 のプロセス工程を実施するために、搬送機構 42 は、第 1 のステーション 20 に存在する搬送容器 40 のスタックの下方を移動する。搬送機構 42 がスタックを持ち上げる。搬送容器 40 のスタックを保持するクランプ 28 を開き、スタックを下げる。クランプ 28 を次の搬送容器 40 で再び閉じる。単一の開放搬送容器 40 はこのようにして搬送機構 42 に載る。

【0035】

この搬送容器 40 を処理部 16 へ動かす。スライド 4 の液滴 6 がキャリアプレート 1 の金属グリッド 2 と接触するまで搬送容器 40 を持ち上げる。キャリアプレート 1 とスライド 4 間のこの距離は、一方で、全ての液滴 6 を確実に金属グリッド 2 と接触させ、他方で、液滴 6 の液体が金属グリッド 2 の下側のみに確実に接触させるために、非常に正確に対応していなければならない。キャリアプレート 1 とスライド 4 間の距離を測定するセンサ 44 があると有利である。液滴 6 をスライド 4 の適所へ載せるためにピペットで計量する。入力部 12 にある入力ボタン 13 により液滴 6 の容積を入力すると、必要なパラメータが電子制御システムへ入れられ、金属グリッド 2 とスライド 4 間の最良の距離が計算され設定される。

【0036】

搬送機構 42 は、ホルダー 35 に取り付けられたキャリアプレート 1 の下の位置へスライド 4 を導く（図 9 参照）。搬送機構 42 がスライド 4 と共に搬送容器 40 を持ち上げると、電子制御システムにより計算されたやり方で、液滴 6 が金属グリッドと接触できるようになる。各プロセス工程の滞留時間（これも入力部 12 により設定）完了後、搬送容器 40 を下げ、第 2 のステーション 21 に動かす。第 2 のステーション 21 において、使用済みスライド 4 を含む搬送容器 40 のスタックが構築される。これについて、第 2 のステーションのスタックは、クランプ 28 が再び閉じられて、この目的で提供された突出部 41 でスタックに最下部の搬送容器が握られるまで持ち上げられる。搬送機構 42 が再び下げられて、第 1 のステーションの下方へ移動する。次のプロセス工程の始めに、既に説明した通り、次の搬送容器 40 を第 1 のステーション 20 から取り外す。図 7 において、第 1 のステーション 20 は搬送容器 40 でほぼ完全に充填されている。

【0037】

第 1 のステーション 20 の最後の搬送容器 40 に達するまでプロセスを続ける。手順は、入力部 12 を介してユーザーによりプログラム可能である。各プロセス工程について、液滴 6 の滞留時間およびサイズも入力部 12 を介して設定可能である。

【0038】

10

20

30

40

50

マルチチャンネルピペット80(図4(b)参照)を用いて、スライド4への液滴6の充填を促す。例えば、8チャンネルピペットだと、同じ容積の8種類の液滴をスライド4の適所に同時に配置させることができる。この場合、スライド4のテフロン(登録商標)コーティング5aの凹部5の間隔がピペット先端の間隔と合っている必要がある。液滴6を適用するこの操作もまた実際に容易に行われる。スライド4のテフロン(登録商標)コーティング5aおよびキャリアプレートの数によって、グリッドと液滴6間に独特の相関関係が得られる。様々な免疫標識が多くの手順で利用されるため、これは必要である。1つのスライド4に異なる試薬を入れることも可能である。

【0039】

本発明による装置を採用することによって、薄組織断面の免疫標識化のための既存の標準プロトコルである、非特異結合の飽和、抗原インキュベーションおよび異なる洗浄溶液による様々な洗浄工程といった工程が自動的に実施される。

10

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】図1は、金属グリッドを備えたキャリアプレートの斜視図である。

【図2】図2は、少なくとも1種類の処理液を充填可能な凹部を有するスライドの斜視図である。

【図3】図3は、スライドが装着されたキャリアプレートの空間的相関図を示す概略断面図である。

【図4】図4(a)は、スライドの一実施形態の平面図である。また図4(b)は、図示されたと同様のスライド、液滴の適用のためのピペットの更なる実施形態の平面図である。

20

【図5】図5は、薄組織断面の免疫標識化のための装置全体の斜視図である。

【図6】図6は、装置の内部の外観を示すためにいくつかの筐体部分を開いた、薄組織断面の免疫標識化のための装置全体の斜視図である。

【図7】図7は、装置の内部の外観をよく示すためにいくつかの筐体部分を取り除いた、薄組織断面の免疫標識化のための装置全体の斜視図である。

【図8】図8は、第1または第2のステーション中に搬送容器のスタックを備えた搬送ホルダーの相互作用を示す詳細な斜視図である。

【図9】図9は、処理部に配置されたキャリアプレートを載せた搬送ホルダーの相互作用を示す詳細な斜視図である。

30

【図10】図10(a)は、搬送容器の一実施形態の上面斜視図である。また、図10(b)は、搬送容器の一実施形態の下面斜視図である。

【図11】図11は、図10(a)に示した点線A-Aに沿った搬送容器の断面図である。

【図12】図12は、入力実施および処理プロセス構成のためのユーザーインターフェースの概略図である。

【符号の説明】

【0041】

- 1 キャリアプレート
- 1 a 上側
- 1 b 下側
- 2 金属グリッド
- 2 a 薄組織断面
- 3 磁石
- 3 a オリフィス
- 4 スライド
- 4 a 上側
- 4 b 下側
- 4 c 識別子

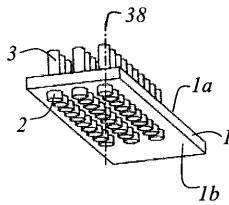
40

50

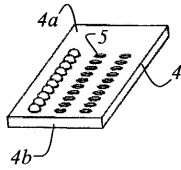
5	凹部	
5 a	コーティング	
6	液滴	
1 0	装置	
1 1	ディスプレイ	
1 2	入力部	
1 3	入力ボタン	
1 4	ステーション部	
1 5 a	第 1 のドア	
1 5 b	第 2 のドア	10
1 6	処理部	
1 8	脚	
1 9	カバー	
2 0	第 1 のステーション	
2 1	第 2 のステーション	
2 2	ユーザーインターフェース	
2 4 a	第 1 のバー	
2 4 b	第 2 のバー	
2 4 c	第 3 のバー	
2 5	染色装置	20
2 8	クランプ	
2 8 a	ラグ	
2 9	モータ	
3 0	分配装置	
3 1	モータ	
3 2	搬送手段	
3 3	分配管	
3 4	搬送ホルダー	
3 5	ホルダー	
3 6	アーム	30
3 7	グリップ凹部	
3 8	点線	
4 0	搬送容器	
4 1	突出部	
4 2	搬送機構	
4 3	ブラケット	
4 4	センサ	
4 5	ステッピングモータ	
4 9	周囲区切り壁	
5 0	基部	40
5 1	前壁	
5 2	後壁	
5 3	左側壁	
5 4	右側壁	
5 5	周囲の第 1 の段	
5 6	周囲の第 2 の段	
5 7	周囲の第 3 の段	
5 8	第 1 の隆起部	
5 8 a	円	
5 9	第 2 の隆起部	50

- 59 a 長形孔
- 60 平面領域
- 61 突出部
- 62 グリップ凹部
- 63 ラグ
- 80 マルチチャンネルピペット
- 81 数字
- 82 チャンネル

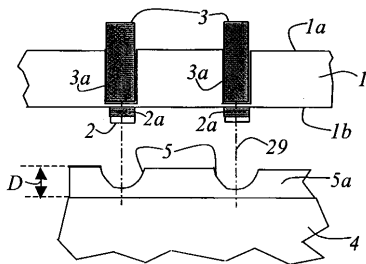
【図1】



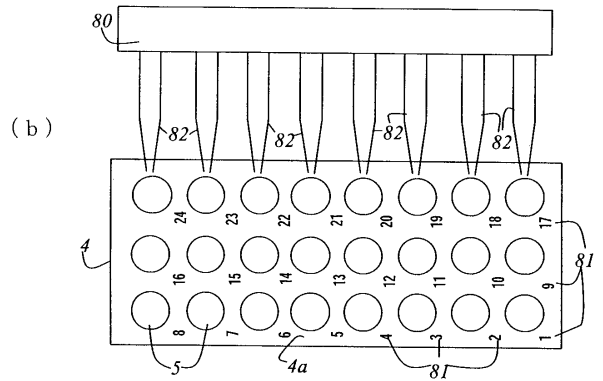
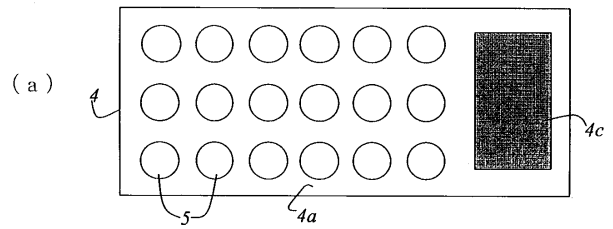
【図2】



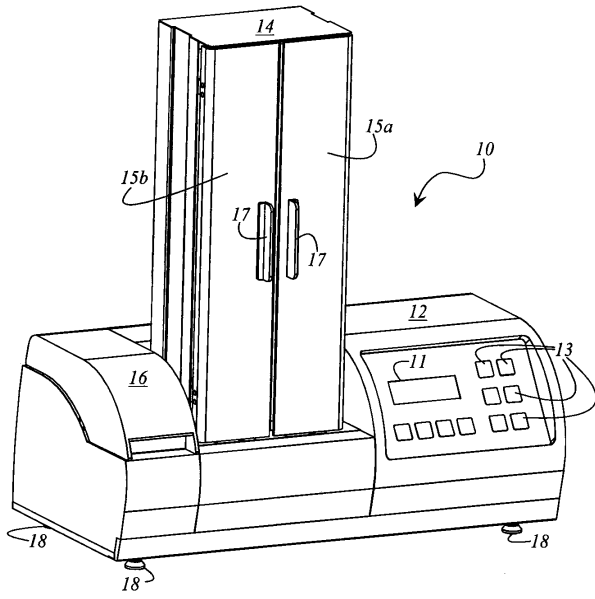
【図3】



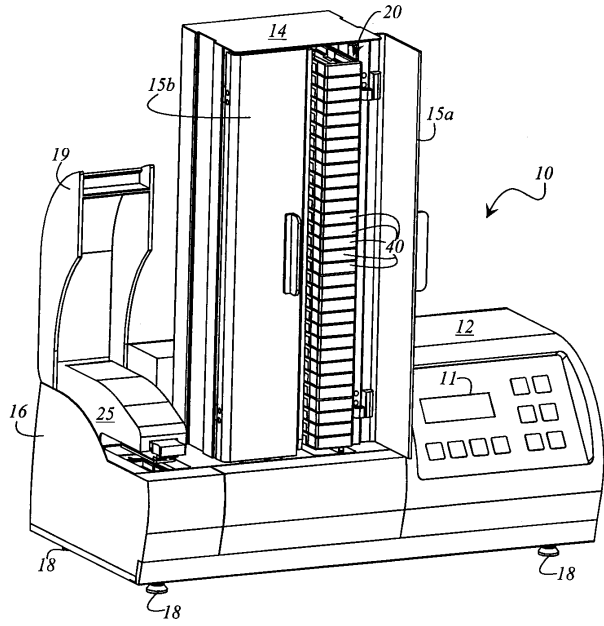
【図4】



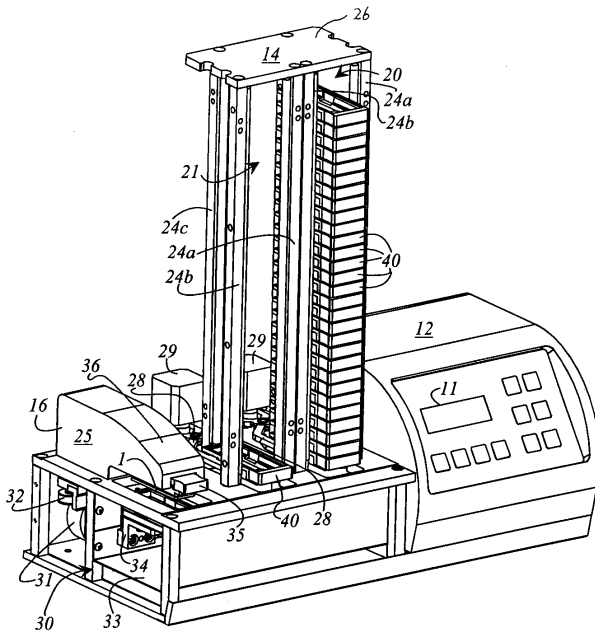
【図5】



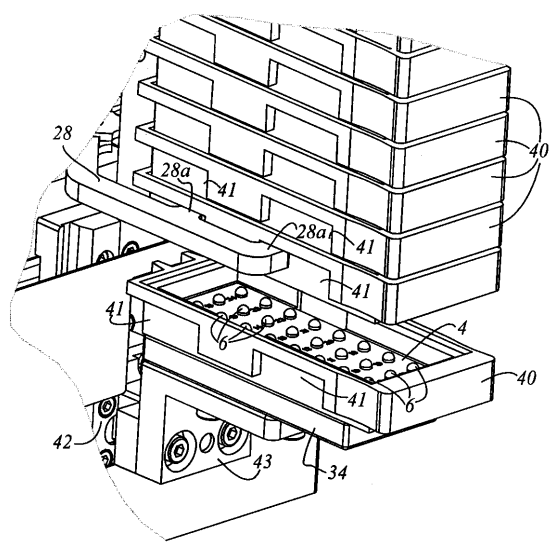
【図6】



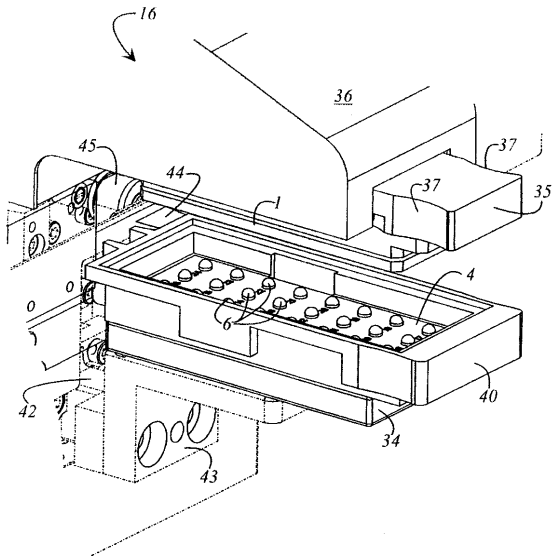
【図7】



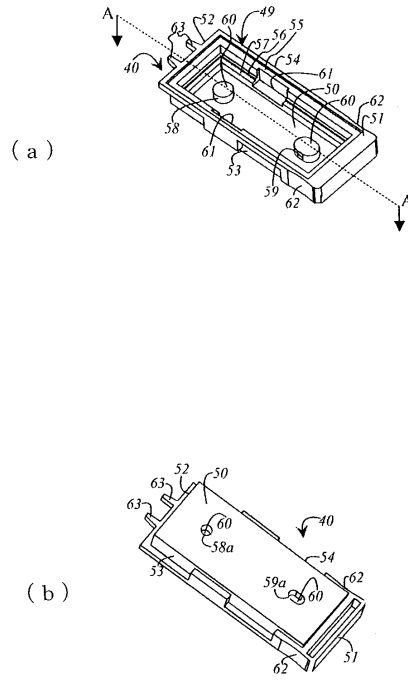
【図8】



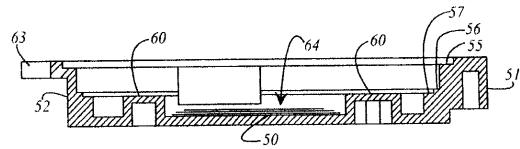
【図 9】



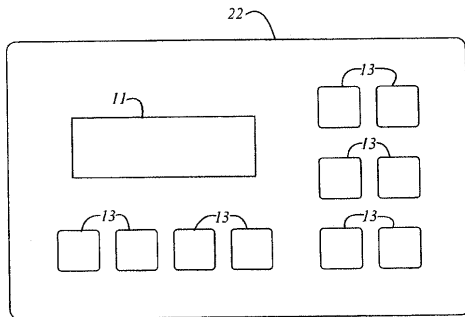
【図 10】



【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/53 Y

(56)参考文献 特開平02 - 032260 (JP, A)
特開平01 - 201160 (JP, A)
特表2002 - 502955 (JP, A)
特表2002 - 525603 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 1 / 2 8
C 1 2 M 1 / 3 4
G 0 1 N 3 3 / 4 8
G 0 1 N 3 3 / 5 3

专利名称(译)	用于薄组织切片的免疫标记装置和方法		
公开(公告)号	JP4074915B2	公开(公告)日	2008-04-16
申请号	JP2004043035	申请日	2004-02-19
[标]申请(专利权)人(译)	徕卡显微系统(瑞士)股份公司		
申请(专利权)人(译)	徕卡微JEU留菜单有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	徕卡微JEU留菜单有限公司		
[标]发明人	ハインツプラנק		
发明人	ハインツ プラנק		
IPC分类号	G01N1/28 C12M1/34 G01N33/48 G01N33/53 B01L9/00 G01N1/30 G01N1/31 G01N33/543 G01N35/04		
CPC分类号	G01N35/04 B01L9/52 G01N1/30 G01N1/312 G01N33/543 G01N33/54366 Y10T436/13		
FI分类号	G01N1/28.N G01N1/28.F C12M1/34.A C12M1/34.F G01N33/48.M G01N33/53.Y		
F-TERM分类号	2G045/BB14 2G045/BB25 2G045/CB01 2G045/FB03 2G045/JA07 2G052/AA33 2G052/AB17 2G052/AB20 2G052/AB21 2G052/AD26 2G052/AD46 2G052/CA18 2G052/CA28 2G052/CA30 2G052/DA07 2G052/FC02 2G052/FC15 2G052/GA32 2G052/GA33 2G052/HC02 2G052/HC07 2G052/HC32 4B029/AA07 4B029/AA21 4B029/AA27 4B029/BB01 4B029/CC03 4B029/CC08 4B029/FA15		
代理人(译)	高久木村		
优先权	10309211 2003-02-28 DE		
其他公开文献	JP2004264300A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供用于免疫标记薄组织横截面的装置，以及使用它的方法。ZSOLUTION：公开了用于免疫标记薄组织的横截面(6)的装置及其使用方法。处理液适合于液滴(6)形式的载玻片(4)中的至少一个。液滴(6)的布置对应于承载板(1)上的薄纸巾的横截面的布置。各个滑块40保持在传送容器(40)中。传送容器(40)以槽形式实现，包括由基部(50)封闭的周边分隔壁(49)。Z

