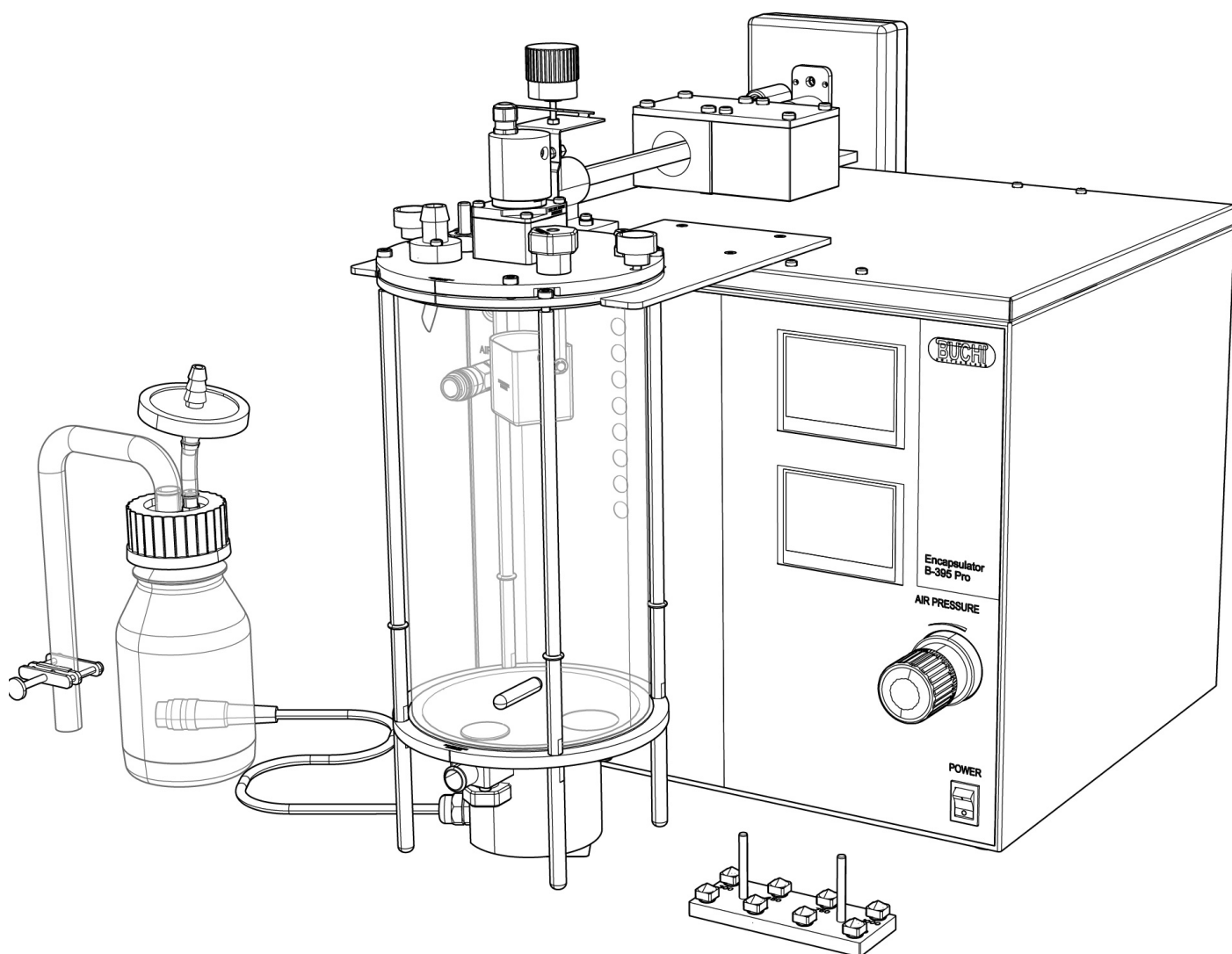




Encapsulator B-395 Pro

取扱説明書



11593489E ja

発行者

製品情報：

取扱説明書（オジナル）Encapsulator B-395 Pro
11593489E ja

発行日：05.2016

BÜCHI Labortechnik AG
Meierseggstrasse 40
Postfach
CH-9230 Flawil 1

Eメール：quality@buchi.com

BUCHI は将来の経験に基づき、必要に応じて本取扱説明書の内容を変更する権利を留保します。これは特に、構成、図、および技術的詳細に関して適用されます。

本取扱説明書は著作権法によって保護されています。本書に含まれる情報の複製、販売、もしくは第三者への提供を固く禁じます。同様に、事前の書面による許可なしに本取扱説明書を利用して構成部品を製造することも固く禁じます。

Table of contents

1	本取扱説明書について	5
2	安全について	6
2.1	装置使用者の要件	6
2.2	適正使用	6
2.3	不正使用	6
2.4	本取扱説明書で使用する安全警告および警告表示	7
2.5	製品の安全	9
2.5.1	一般的危険性	9
2.5.2	安全対策	10
2.5.3	内蔵安全装置および安全対策	10
2.6	安全に使用するために	11
2.7	免責事項	11
3	仕様	12
3.1	適用範囲と納入の範囲	12
3.1.1	標準装置	12
3.1.2	標準アクセサリ	13
3.1.3	オプションアクセサリ	14
3.1.4	推奨スペアパーツ	14
3.2	仕様	15
3.3	使用材質	15
4	機能の説明	16
4.1	原理	16
4.2	カプセル化装置 B-395 Pro の各接続部	18
5	設置	19
5.1	設置場所	19
5.2	カプセル化装置 B-395 Pro の設置	20
5.3	電源への接続	21
5.3.1	カバープレート	23
5.3.2	ベースプレート	27
5.3.3	カプセル球収集フラスコ	29
5.4	送液システム	30
5.4.1	電動プランジャー	30
5.4.2	圧力ビン	31
5.4.3	圧力ビンの設置	32
5.5	オプション：同心ノズルシステム	33

装置を設置してご使用になる前に、本マニュアルをよくお読み頂きますようお願い致します。また、特に第2章の安全に関する記載にご注意ください。本説明書はいつでも参照できるよう、装置の近くに常備してください。

当社の書面による事前の同意を得ない限り、装置を改造してはなりません。承諾なく改造すると、システムの安全性を損ない、EU 規制への適合性を失い、あるいは事故の原因となる恐れがあります。

本マニュアルは著作物です。本取扱説明書の内容を複製、配布し、あるいは競争上の目的で使用することはできません。また第三者の閲覧に供することもできません。当社の書面による事前の同意を得ない限り、本説明書に基づいて部品を製造することを禁じます。

本取扱説明書の原文は英文です。他言語版はすべて英文からの翻訳です。

5.5.1	同心ノズルの取り付け	35
5.6	カプセル化装置 B-395 Pro の全部品	36
5.7	設置最終確認	36
6	操作	37
6.1	装置の起動	37
6.2	メイン画面	37
6.3	カプセル化装置 B-395 Pro 本体のメニュー構造	38
6.4	上タッチスクリーンのメニュー機能	39
6.5	下タッチスクリーンのメニュー機能	41
6.5.1	電動プランジャーの校正メニュー	42
6.5.2	校正済みシリンジの選択	43
6.6	空気圧の手動制御	44
6.7	電動プランジャーの取り扱い	45
6.7.1	電動プランジャーの校正	45
6.7.2	校正済みシリンジの選択	45
6.8	水を使用した操作演習	46
6.8.1	電動プランジャーの使用	46
6.8.2	圧力ビンの使用	49
6.9	非滅菌アルギン酸塩溶液を使用した操作演習	52
6.9.1	1.5% アルギン酸ナトリウム溶液の調製	52
6.9.2	電動プランジャーによる作業	53
6.9.3	圧力ビンによる作業	56
6.10	反応槽一式を使用したカプセル化装置の操作演習	58
6.11	反応槽の加熱滅菌	60
6.12	圧力ビンの滅菌	60
6.13	アルギン酸カルシウムビーズへの微生物の固定化を目的としたカプセル化手順	61
6.14	アルギン酸塩 – ポリリジン – アルギン酸塩被膜によるカプセル化手順	63
6.15	理論的背景	66
6.15.1	カプセル球作成の生産性と細胞密度	68
7	メンテナンスと修理	71
7.1	カスタマーサービス	71
7.2	ハウジングの状態	71
7.3	シールの状態	71
7.4	洗浄	72
7.4.1	カプセル化作業後のノズル洗浄	72
7.4.2	ノズル詰まりの洗浄	73
7.4.3	反応槽とその他容器の洗浄	73
8	トラブルシューティング	74
8.1	装置の不具合とその対応策	74
9	シャットダウン、保管、輸送、廃棄	75
9.1	保管と輸送	75
10	適合宣言および要求条件	76
10.1	FCC 要求条件（米国およびカナダ用）	76
10.2	安全衛生点検表	77

1 本取扱説明書について

本取扱説明書はカプセル化装置 B-395 Pro について説明したものです。本取扱説明書には本機の安全運転および正しいメンテナンスのために必要なすべての情報が記載されています。特に実験室スタッフの方を対象としています。

本取扱説明書に記載されていない方法で本機を使用した場合、本機の保護性能が損なわれることがあります。

略語

EPDM	エチレンプロピレンジエンモノマー
FEP	フッ素エラストマー
PTFE	ポリテトラフルオロエチレン

2 安全について

この章では本機の安全仕様を説明するとともに、使用に関する一般的なルールおよび直接的・間接的な危険警告について解説します。

使用者の安全を図るため、各章に記載されたすべての安全指示や安全警告に従ってください。そのため、記載された作業を行うすべてのオペレーターがいつでも本書を参照できるようにしておくことを徹底してください。

2.1 装置使用者の要件

本機は実験技師など、本機の操作上起り得る危険を察知する訓練を受け、専門的経験を有する人のみが操作するようにしてください。

この訓練を受けていない人、あるいは、現在訓練中の人が操作する場合は、有資格者の慎重な監視下で操作してください。この取扱説明書は訓練のための基礎資料として利用することができます。

2.2 適正使用

カプセル化装置 B-395 Pro はラボ用機器として設計・製造されています。

カプセル化装置 B-395 Pro は、滅菌または非滅菌条件下において、化学物質、生体分子、薬品、香料、色素、エキス、細胞、微生物を半自動でポリマーカプセル化することができます。カプセル球の生成は、層流状態で送出した材料液に適切な振動を与え、均一な液滴に分断させることにより行われます。

カプセル化装置 B-395 Pro では、このような制御を行うことで 0.15 mm ～ 2 mm のカプセル球を生成します。この装置は 50 µm 未満の微粒子を封じ込めたカプセル球の製作に適した設計になっています。

毒性や危険を生じる恐れのある物質を扱う場合には、本機を閉状態のドラフトまたはグローブボックスの中に設置する必要があります。その場合、使用者や周囲環境に対して中毒などの危険が生じないよう、作業および装置の取り扱いはすべて換気されているボックスの内部で行ってください。

2.3 不正使用

2.2 項に明記されていない使用法は不正使用と見なされます。また仕様（本取扱説明書の 3 章を参照）に適合しない用途も不正と見なされます。

不正使用により発生する損傷や危険の責任は、使用者のみが負うものとします。

特に、次のような使い方は厳禁です。

- 防爆機器の使用が義務づけられている場所に本機を設置または使用すること

2.4 本取扱説明書で使用する安全警告および警告表示

警告表示の種類には、傷害や損害に対する危険度を示す、「危険」、「警告」、「注意」、「注意事項」があります。人身傷害に関係するすべての警告表示には、一般的な安全シンボルが付いています。

安全を確保する上で、各種警告表示とその定義が記載された以下の表を読み、十分に理解することが重要です。

シンボル	警告表示	定義	危険度
	危険	これを回避できなかった場合に、死亡事故や重傷につながる危険状況を示しています。	★★★★★
	警告	これを回避できなかった場合に、死亡事故や重傷につながる可能性のある危険状況を示しています。	★★★★☆
	注意	これを回避できなかった場合に、軽傷または中等傷につながる可能性のある危険状況を示しています。	★★☆☆☆
なし	注意事項	損害につながる可能性を示しています。ただし、人身傷害はありません。	★☆☆☆☆ (物的損害のみ)

警告表示と補足テキストの左側にある四角に、安全補足情報シンボルが表示されています（下記の例を参照）。

安全情報 シンボル用の スペース	 警告表示
	補足テキストは、危険／リスクの種類や程度を説明するものです。 ・ ここで説明された危険や危機的状況を回避するための措置が記載されています。 ・ ... ・ ...

安全情報シンボル一覧表

以下の参照表には、本取扱説明書において使用されるすべての安全情報シンボルとその意味が記載されています。

シンボル	意味
	一般警告
	感電注意

	爆発性ガス、爆発性環境
	有害
	装置損傷に注意
	加圧ガス／空気
	実験用作業着を着用
	保護眼鏡を着用
	保護手袋を着用

その他のユーザー情報

「注記」から始まる文章は、装置／ソフトウェア、付属品の操作に役立つ情報です。「注記」は、危険や損傷に関連する警告ではありません（以下の例を参照）。

注記

装置やソフトウェアを使用する上でのヒントを示しています。

2.5 製品の安全

本取扱説明書に記載の安全警告（2.4 項）は、使用者に注意を喚起し、適切な対策によって危険性を除去するのに有効です。しかし装置の損傷、不適切な使用法、不注意な操作により、使用者、財物、環境へのリスクが生じることがあります。

2.5.1 一般的危険性

以下の安全メッセージは本機の操作中に生ずる可能性のある一般的な危険性を示すものです。危険性を最低水準に保つため、示された対策をすべて遵守してください。

本取扱説明書に記載されている操作や状況が危険性に関連する場合には、これら以外の警告メッセージが表示されることがあります。

 	警告 爆発性環境下で使用すると、死亡または重傷につながります。 ・ 本機を爆発性環境下で使用しないでください。 ・ 本機では爆発性混合ガスを使用しないでください。 ・ 作業前に、すべてのガス接続が正しく行われていることを確認してください。 ・ 発生した蒸気やガスは直ちに十分な換気を行い除去してください。
 	警告 ノズルが詰まると注入システム内部の圧力が高くなります。 注入システムが破裂する恐れがあります。 使用時に有害な溶剤に接触したり、あるいはこれを吸引すると、死亡または重篤な中毒症状を起こします。 ・ 使用後は直ちにノズルの洗浄を行ってください。7.4 章を参照してください。
	警告 高電圧への接触による死亡または重傷の危険があります。 ・ 本機のハウジングを開ける際は、必ず電源を切り、コンセントを抜いてください。
	注意事項 液体によって本機がショートし、損傷する恐れがあります。 ・ 本機やその部品の上に、液体をこぼさないでください。 ・ 液体が付着した場合は、直ちにすべてを拭き取ってください。 ・ 試料容器の位置に注意してください。 ・ 装置内部に液体が入っている状態で本機を移動しないでください。 ・ 本機に外部振動が加わらないようにしてください。

	注意事項 電源が適切でないと装置が損傷する恐れがあります。 - 外部供給電圧は、銘板に記載されている電圧と一致しなければなりません。 - 十分に接地されているか確認してください。
	注意事項 作動中のシリンジポンプ装置により、実験用ガラス製品や器具が破損する恐れがあります。 カプセル化装置の上に実験用ガラス製品またはその他の器具を置かないでください。

2.5.2 安全対策

本機で作業を行う際には、保護眼鏡、保護衣、手袋などの保護具を必ず着用してください。

2.5.3 内蔵安全装置および安全対策

高電圧および静電気

- 電流を制限する安全機構を備えています。
- 内部接地線により静電放電を処理します。

空気／ガス

- 圧力安全弁（開放圧力 1.5 bar）を備えています。

2.6 安全に使用するために

オペレーター責任

実験室の責任者は、責任を持ってスタッフの訓練を行ってください。

オペレーターは、本機の使用中に安全に関する問題が生じたならば、すぐに弊社に連絡してください。装置の使用に関しては、地方自治体の定める法律を厳格に遵守してください。

メンテナンスと手入れの義務

使用時に装置を適切な状態に保つことはオペレーターの責任です。またメンテナンスは有資格者のみが十分注意して定期的の実施するようにしてください。

スペアパーツ

システムの良い動作と信頼性を確保するため、メンテナンスには必ず純正消耗品と純正スペアパーツを使用してください。弊社の書面による事前の承認がない限り、使用する交換部品を改造しないでください。

改造

本機の改造を行う場合は、弊社との事前協議および書面による同意が必要です。改造とアップグレードを行えるのは、ビュッヒ社の公式認定テクニカルエンジニアのみです。弊社は、無許可の改造に起因するクレームには応じません。

2.7 免責事項

本機を用いて製造した製品の使用および販売はすべて利用者の方の責任となります。

3 仕様

本章では装置とその仕様について説明しています。納入物、技術仕様、要求条件、性能データについて記載しています。

3.1 適用範囲と納入の範囲

カプセル化装置 B-395 Pro は、

- ・ 密閉型の反応槽で無菌作業が可能です。
- ・ 電動プランジャー 1 基を搭載しています。

納入範囲は納品書および注文番号リストと照合して確認してください。

注記

リストにある製品の詳細な情報は、www.nihon-buchi.jp、またはお近くの販売店にご照会ください。

3.1.1 標準装置



表 3-1 : 標準装置

製品	品番
カプセル化装置 B-395 Pro 50 ~ 60 Hz、100 ~ 240 V	11058220
カプセル化装置 B-395 Pro 50 ~ 60 Hz、100 ~ 240 V GMP 文書付き	11058230
無菌作業用カプセル化装置 B-395 Pro 一式、内蔵電動 プランジャー、マグネチックスターラー、および密閉型 反応槽付き	

3.1.2 標準アクセサリ

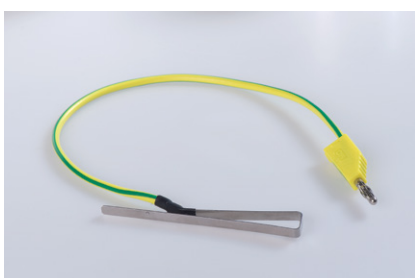


表 3-2: 標準アクセサリ

製品	品番
反応槽	11057890
反応槽 (GMP 文書付き)	11057879
無菌条件下でのマイクロカプセル作成 と収集が可能なガラスとステンレス鋼 製の反応槽、液量 2 L まで	
単一ノズル 8 本セット付属	11057918
高精度単一ノズルのセット、孔径は 8 種類 (0.08、0.12、0.15、0.20、 0.30、0.45、0.75、1.00 mm)、ス テンレス鋼 316L 製、ノズル保管ラッ ク付き	
圧力ビン 500 mL	11058190
圧力ビン 1000 mL	11058191
使用圧 < 1.5 bar、オートクレーブ可 能なガラス製、接続金具、チューブ、 エアフィルター付属	
接地セット	11058189
取扱説明書 (日本語)	11593484

3.1.3 オプションアクセサリ



表 3-3 : オプションアクセサリ

製品	品番
同心ノズルセット	11058051
高精度外周ノズルキャップセット、孔径は7種類 (0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.9 mm)、ステンレス鋼製、1000 mL の圧力ビン付属	

3.1.4 推奨スペアパーツ

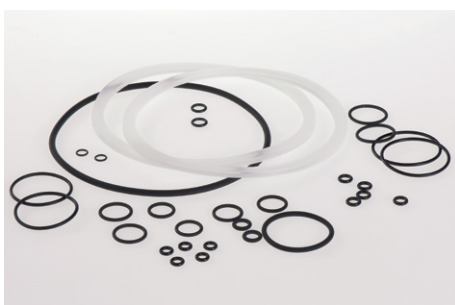
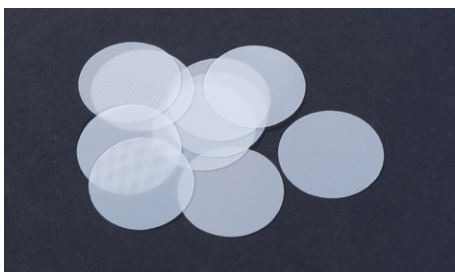


表 3-4 : 推奨スペアパーツ

製品	品番
O リングセット (単一ノズル用)	11057954
O リングセット (同心ノズル用)	11057955
O リングセット (反応槽用)	11057970



ノズル用フィルター、7 mm 径 (10 個) 11057957

反応槽用の排水フィルター、35 mm 径 (10 個) 11057958

3.2 仕様

表 3-5 : カプセル化装置 B-395 Pro 仕様

消費電力	最大 150 W	
電源	100 ~ 240 VAC	
供給電圧変動率	公称電圧の± 10% 以内	
周波数	50/60 Hz	
ヒューズ	3.15 A	
寸法 (W × H × D)	32 × 38 × 48 cm	
重量	11 kg	
単一ノズルのノズル径	0.08、0.12、0.15、0.20、0.30、0.45、0.75、1.00 mm	
同心ノズルのノズル径	0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70、0.90 mm	
液滴サイズの範囲	0.15 ~ 2.00 mm	
振動周波数	40 ~ 6000 Hz	
電極電圧	250 ~ 2500 V	
電動プランジャー速度	0.01 ~ 50 mL/分	
空気圧による送液速度	0.5 ~ 200 mL/分	
設定供給圧 (最大)	1.5 bar	
反応槽 (全容量)	4.5 L	
反応槽 (サンプル液量)	2 L	
サンプルとの接液部	オートクレーブ可能	
無菌作業条件	完全	
過電圧カテゴリー	II	
汚染度	2	
環境条件		
温度	5 ~ 40 °C	室内使用のみ
高度	最大 2000 m	
最大相対湿度 (曲線パラメータ)	最大相対湿度は 31 °C まで 80%、それ以降は直線的に減少して 40 °C で 50%	

表 3-6 : 材質および承認

サンプルとの接液部材質	ステンレス鋼、シリコン、ガラス、FEP、PTFE
承認	CE、CSA

3.3 使用材質

表 3-7 : 使用材質

部品	材質
反応槽	ステンレス鋼、ホウケイ酸ガラス 3.3、FEP、PTFE シール：シリコン、EPDM
ノズル	ステンレス鋼、シール：EPDM
圧力ビン	ステンレス鋼、ホウケイ酸ガラス 3.3、FEP、PTFE シール：シリコン、EPDM

4 機能の説明

本章ではカプセル化装置 B-395 Pro の基本的な動作原理を解説します。また装置の構造、アセンブリーの基本的な機能についても説明します。

4.1 原理

本機の主要機能を以下に示します。

密閉型の反応槽により無菌作業を実現

- － 反応槽はオートクレーブ可能。内部を無菌状態に保ちます。

サイズ再現性に優れた連続作成機能

- － 各種パラメータ設定（ノズル径、液体流量、振動周波数）によりカプセル球のサイズを決定します。

再現性に優れたカプセル球の形成

- － サイズ範囲は 0.15 mm ～ 2.0 mm となります。

均一な粒径

- － 静電分散ユニット（EDU）を内蔵。純粋アルギン酸塩使用時に相対標準偏差約 5% の精度を実現します。

リアルタイムのプロセス制御

- － ストロボランプの照射により、目視モニタリングを行うことができます。

優れた細胞生存性

- － セン断応力を抑え、生理学的条件下でのカプセル化にも対応したカプセル形成技術により、高い細胞生存率を実現しました。

ロットサイズ

- － シリンジ使用時のロットサイズは 2 mL ～ 60 mL、デッドボリュームは約 0.5 mL です。空気圧ポンプ使用時のロットサイズは 5 mL ～ 1000 mL、デッドボリュームは約 2 mL です。

単一ノズル 8 本セット付属

- － 8 種類のノズル径（0.08、0.12、0.15、0.20、0.30、0.45、0.75、1.0 mm）で、粒径 0.15 mm ～ 2.0 mm 前後のカプセル作成に対応しています。

ポリマー混合液の送出

- － 搭載の電動プランジャーまたは空気圧を使用し、流量 70 mL/h（0.08 mm ノズル使用時）～ 2500 mL/h（1.0 mm ノズル使用時）にて送出します。

高い生産性

- － カプセル化の条件および使用するポリマー混合液により異なりますが、1 秒間に最大 6000 個のカプセル球が作成可能です。

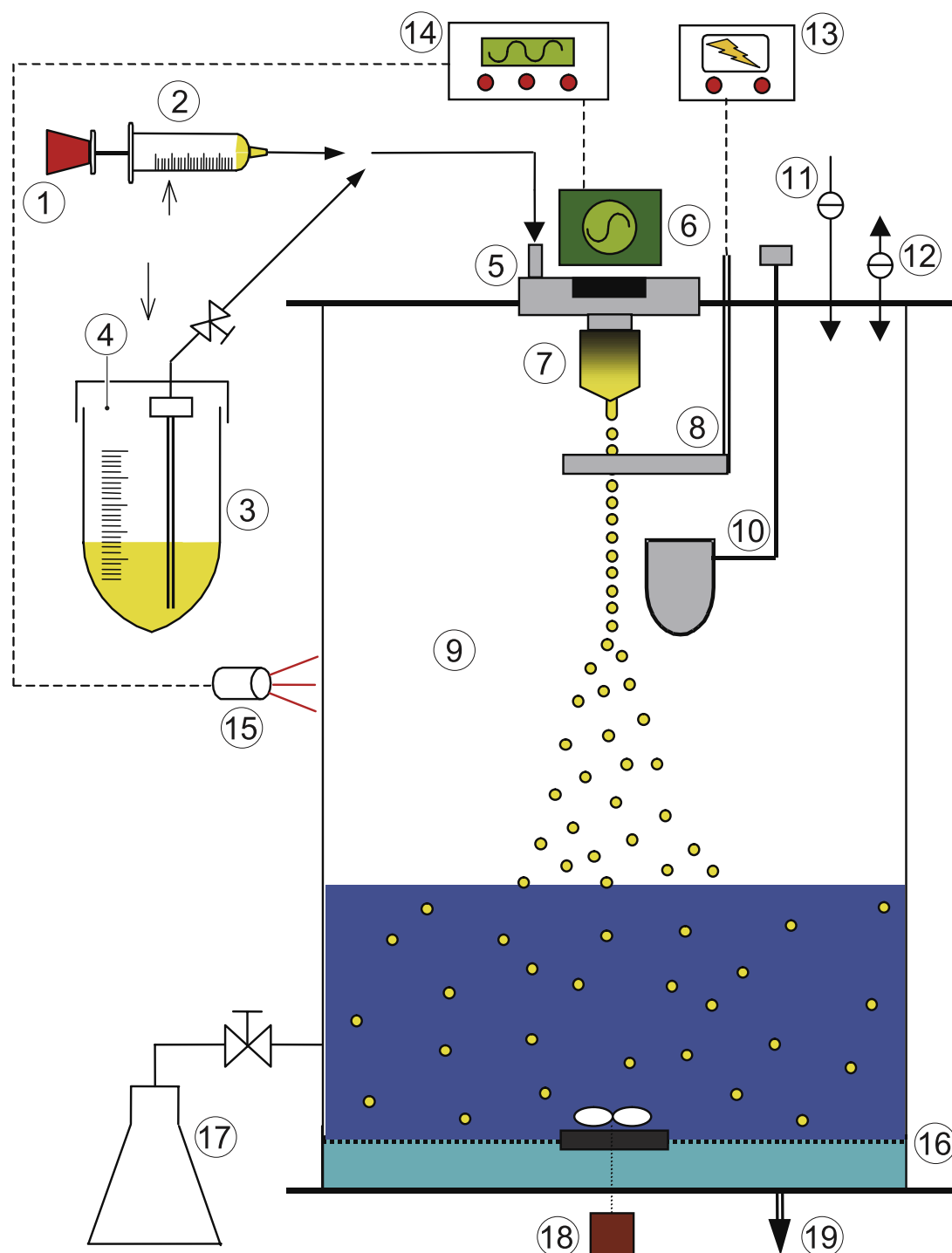


図 4-1 : カプセル化装置 B-395 Pro の概略図

- | | |
|------------|---------------|
| ① 電動プランジャー | ⑪ 液体フィルター |
| ② シリンジ | ⑫ エアフィルター |
| ③ 圧カビン | ⑬ 静電気発生装置 |
| ④ 空気圧制御 | ⑭ 振動発生装置 |
| ⑤ 振動チャンバー | ⑮ ストロボランプ |
| ⑥ 振動システム | ⑯ 濾過グリッド |
| ⑦ ノズル | ⑰ カプセル球収集フラスコ |
| ⑧ 電極 | ⑱ マグネチックスターラー |
| ⑨ 反応槽 | ⑲ 排液ポート |
| ⑩ バイパスカップ | |

カプセル化装置 B-395 Pro の主要部は、電動プランジャー付きカプセル化装置 B-395 Pro 本体、電気システム、空気圧システム、および反応槽により構成されています。装置部品のうち、カプセル球に直接触れるものはすべてオートクレーブによる滅菌処理が可能です。

カプセルに封じ込める物質（細胞、微生物、その他生物製剤および化学薬品）をアルギン酸塩などのカプセル化ポリマーと混合し、シリンジ ② または圧カビン ③（図 4-1 参照）に入れます。電動プランジャー ①、または空気圧 ④ のいずれかを利用して、カプセルに封じ込める物質とポリマーとの混合液を振動チャンバー ⑤ へ送出します。その混合液は精密なノズル孔 ⑦ から層流状態で送出され、落下中に分離して均一なサイズの液滴になります。液滴はノズル ⑦ と電極 ⑧ の間にある電界を通過する際に帯電により反発し合い、分散しながら硬化液へと落下します。

粒径

カプセル球の大きさは、振動周波数、振幅、ノズル径、流量、ポリマー混合液の物性などのパラメータにより調整します。アルギン酸カルシウムカプセル球の粒径は一般的にはノズル径の 2 倍になります。ただし、液体の流速と振動周波数を変えることで粒径の範囲を $\pm 15\%$ 程度調整できます。

各パラメータの最適化の操作は、振動周波数と同期して点滅するストロボランプ ⑤ で照らされた液滴を観察しながら行います。パラメータが最適の値になっていれば、ストロボで照らされて落下する液滴が、あたかも静止した状態で見えます。判明した最適パラメータは、次に同じカプセル化ポリマー混合液を用いたカプセル作成に適用することができます。バイパスカップ ⑩ を使用して、カプセル作成の開始時と終了時に発生する不良カプセル球を途中で収集します。

いくつかの要素に左右されますが、1 秒間に 50 ～ 5000 粒のカプセル球が生成され、反応槽 ⑨ の硬化液中に集められます。反応槽内部の溶液は、カプセル球の塊化を防ぐため、マグネチックスターラーの攪拌子 ⑩ により常時攪拌が行われています。さらに、この反応槽または反応液には、電氣的接地が施されている必要があります。カプセル作成の終了時にはこの重合反応槽の液を排液ポート ⑪ から排出します。このとき、濾過グリッド ⑫ がカプセル球の流出を防ぎます。滅菌フィルター ⑬ を通し、洗浄液または別の反応液を無菌状態で添加します。ここからさらにカプセル球を加工してマイクロカプセルを製造したり、あるいはカプセル球収集フラスコ ⑭ へ移送することができます。

4.2 カプセル化装置 B-395 Pro の各接続部

前面（図 5-2 参照）

- ・ 電源スイッチ
- ・ 空気取出口
- ・ 電圧
- ・ 接地

背面（図 5-1 参照）

- ・ 電源
- ・ 空気注入口
- ・ マグネチックスターラー
- ・ 振動ユニット
- ・ オプション用プラグ

5 設置

本章では装置の設置方法を説明します。また初回の起動方法にも触れます。

注記

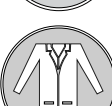
開梱時に、装置に損傷がないか点検してください。必要があれば直ちに状況報告を作成し、郵便、鉄道または輸送業者に連絡してください。後日の移動や輸送のために、梱包材は保管しておいてください。

5.1 設置場所

装置は安定した水平面上に置いてください。最大寸法および重量に注意してください。電源スイッチと電源プラグには常時手が届きやすいように装置のセットアップを行ってください。

3.2 項「仕様」に示された環境条件を確保してください。

 	警告 爆発性環境下で使用すると、死亡または重傷につながります。 本機を爆発性環境下で使用しないでください。
--	--

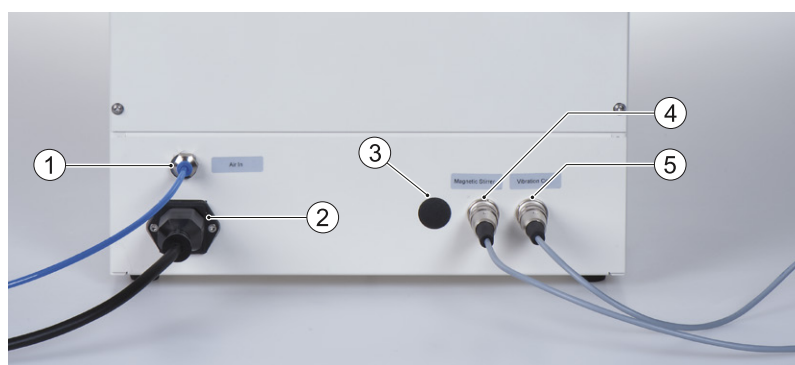
    	警告 有害物質に接触したり、あるいはこれを吸引すると、死亡または深刻な中毒症状を起こします。 - 保護眼鏡を着用してください。 - 保護手袋を着用してください。 - 実験用作業着を着用してください。 - 場合によっては有害となる可能性のある物質を除去するため、装置およびその付属品を十分に清掃してください。 - 汚れた部品の清掃には、圧縮空気を使用しないでください。 - 装置およびその付属品は乾燥した場所で保管してください。
---	---

5.2 カプセル化装置 B-395 Pro の設置

電源および圧縮空気源に接続しやすい実験台の上に装置を置いてください。また電源プラグをいつでも引き抜けるようにしてください。

マグネチックスターラー、振動ユニット、接地線の設置

マグネチックスターラー、振動ユニット、および接地線を図 5-1 と 5-2 のとおりに接続してください。



- ① 空気圧供給口
(青色チューブ、2.6 × 4.0 mm)
- ② ヒューズ内蔵電源プラグ
- ③ オプション用プラグ
- ④ マグネチックスターラー用ソケット
- ⑤ 振動ユニット用プラグ

図 5-1 : カプセル化装置 B-395 Pro 本体背面

カプセル化装置 B-395 Pro 本体には、カプセル作成に使用するすべての制御システムが格納されています。振動周波数、ポンプ速度、ストロボランプの光量、静電分散、およびマグネチックスターラー速度の制御を 2 つのタッチスクリーン上で行います。空気圧の調整は圧力調整弁にて行います。ノズルから送出されたポリマー混合液は、ストロボライトで照らされて、その様子を確認しながら液滴分断の最適化をリアルタイムで行うことができます。振動ユニットはカプセル化装置 B-395 Pro 本体の背面パネルに線で接続されています。反応槽は反応槽ホルダーに 2 本のねじで取り付けられます。



- ① 電動プランジャー
- ② 反応槽ホルダー
- ③ 振動ユニット
- ④ 上タッチスクリーン
(振動周波数および電極)
- ⑤ 下タッチスクリーン
(電動プランジャーおよびマグネチックスターラーの制御、圧力値表示)
- ⑥ 圧力調整弁
- ⑦ ストロボランプ
- ⑧ 電源スイッチ
- ⑨ マグネチックスターラー
- ⑩ 空気取出口
- ⑪ EDU (電圧取出口)
- ⑫ 接地線用プラグ
- ⑬ 液体流量調整弁

図 5-2 : カプセル化装置 B-395 Pro 本体前面

送気ラインの設置

装置には、外部の圧縮空気または窒素の供給源に接続するための 3 m の送気チューブ（2.6 × 4.0 mm）が 1 本同梱されています。

1. 送気チューブを装置背面の空気注入口に差し込みます。
2. 送気チューブのもう一方の端を外部ガス供給源に取り付けます。
3. カプセル化装置運転時の供給圧力は 1.5 ～ 2 bar（23 ～ 30 psi）としてください。

注記

圧力ビンにかかる圧力の通常範囲は 0 ～ 1 bar です。圧力調整弁には、1.5 bar で開放する安全弁が備わっています。空気圧システム（弁および接続金具）の最大許容圧力は 7 bar です。

5.3 電源への接続

供給する電源電圧が、装置の銘板に記載された仕様に合致していることを確認してください。カプセル化装置の電源プラグを電源に接続します。

 	⚠ 注意 電源が適切でないと装置が損傷する恐れがあります。 ・ 外部供給電圧は、銘板に記載されている電圧と一致しなければなりません。 ・ 十分に接地されているか確認してください。 ・ 各国の法律や規則に準拠するために、電流ブレーカーなどの追加の電気安全対策が必要になる場合があります。外部接続部と延長ケーブルには、接地線を有するもの（3 ピンコネクター、コード、プラグ）を使用してください。不完全な結線による危険を避けるため、電源コードには必ずモールドプラグ付きのものを使用してください。
---	---

反応槽の組み立て

反応槽は密閉型でオートクレーブ可能なユニットとなっており、槽内では無菌条件下でカプセル球が形成されます。また必要に応じてさらにカプセル球の加工を行うことができます。

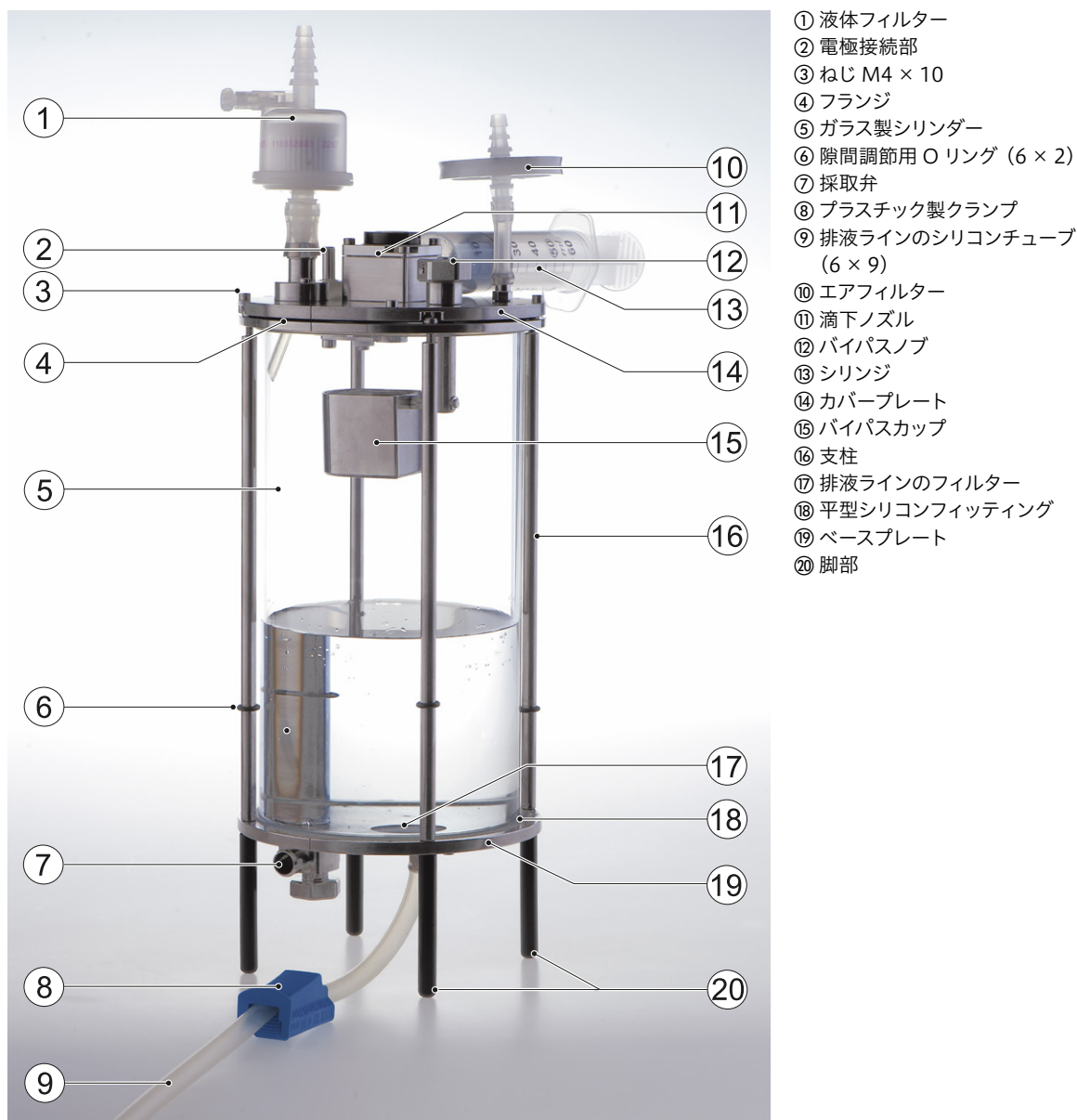


図 5-3：反応槽の全体図

反応槽の主要部品は以下のとおりです。

1. ステンレス鋼製カバープレート（電極、バイパス装置、液体注入口、および空気交換フィルター付き）
2. 滴下ノズル
3. ノズル
4. ガラス製シリンダー
5. ステンレス鋼製ベースプレート（カプセル球採取弁および排水弁付き）
6. カプセル球収集フラスコ

5.3.1 カバープレート

カバープレートは全部品が取り付けられた状態で納品されます。使用前にカバープレートを丁寧に洗浄してください。装置運転後には毎回滴下ノズルおよびノズルを取り外してください。使用したポリマー混合液の特性に応じ、水または適切な洗剤、溶剤で洗浄し、水ですすいだ後乾燥させてください。滴下ノズルを取り扱う際には、PTFE メンブレンを損傷しないよう注意してください。

その他の部品は必要な場合のみ取り外すようにします。洗剤で洗った後、水ですすぎ乾かします。

再組み立て時には平型取付具と O リングシールの具合を確認し、必要に応じて交換を行ってください。

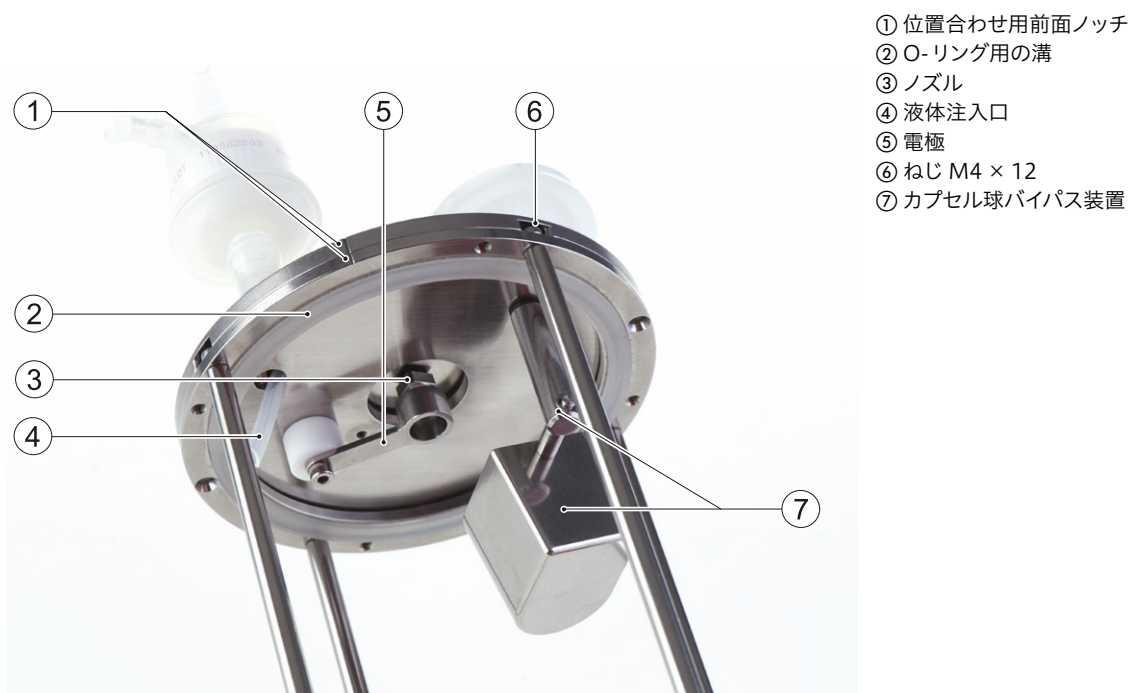


図 5-4: 取り付けられたカバープレートの底面図

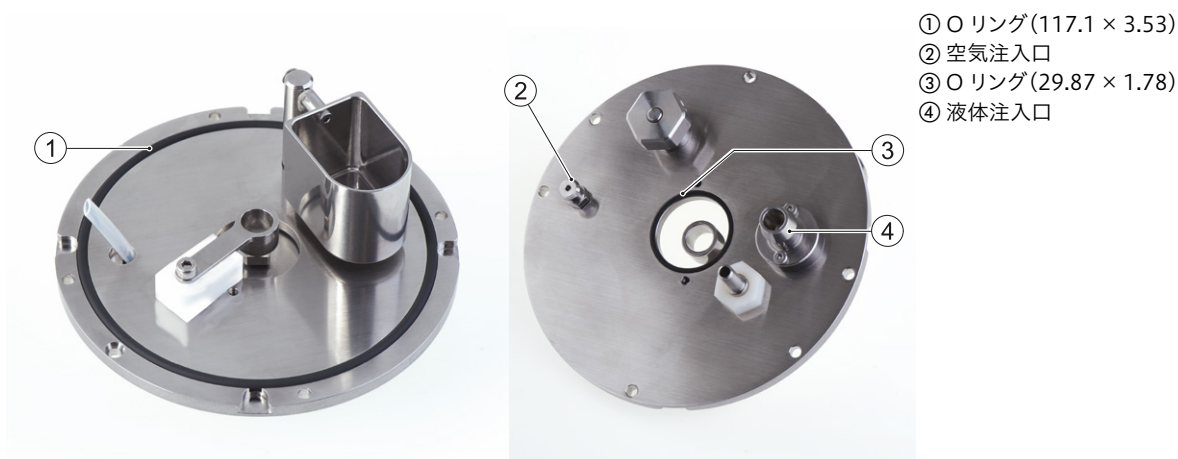
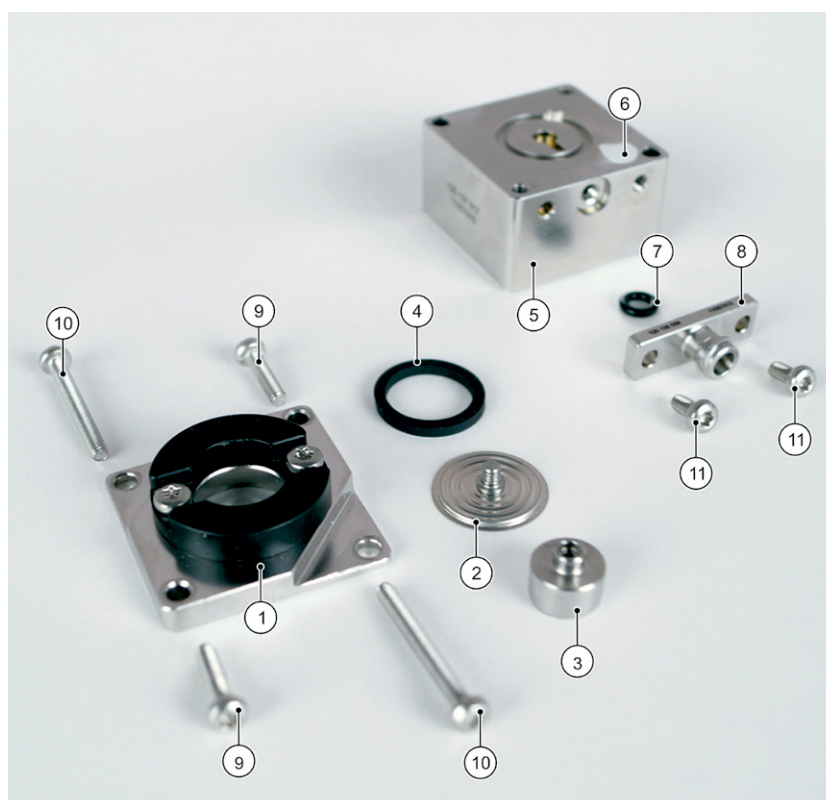


図 5-5: カバープレート底面図（左）および上面図（右）

5.4.1.1 滴下ノズル



- ① マグネットホルダー *
- ② 膜
- ③ マグネット
- ④ O リング (14 × 1.78)
- ⑤ 振動チャンパー
- ⑥ フィルター (50 μm メッシュ)
- ⑦ O リング (3.68 × 1.78)
- ⑧ ルアーロック
- ⑨ ねじ (M3 × 8)
- ⑩ ねじ (M3 × 25)
- ⑪ ねじ (M3 × 6)

* ねじ (M3 × 6) で装着されている固定リングは洗浄の際は外すことが可能です。

図 5-6：滴下ノズルの各部品

均質なカプセル球の作成には高品質のノズルが必要です。本装置のノズル孔は最新技術により精密に作られています。カプセル化装置 B-395 Pro には、ノズル8種のセットが納品時に同梱されています。ノズル開口部のサイズは、80、120、150、200、300、450、750 μm、および 1.0 mm です。すべてステンレス鋼製です。



図 5-7：ノズル8本セットおよび保管ラック

ノズル保管ラックには8本のノズルが収納できます (80、120、150、200、300、450、750 μm、1.0 mm)。O リングのサイズは 4.47 × 1.78 です。

5.4.1.2 電極



- ① ナット (M10、ポリアミド)
- ② O リング (10.82 × 1.78)
- ③ 絶縁体
- ④ 電極
- ⑤ コネクター
- ⑥ ねじ M4 × 12

図 5-8：電極および接続部品

電極 ④ の装着向きを変えることによりノズルと電極の間の距離を変えることができます。小さいカプセル球の作成時や粘度の低い溶液を使用している場合には、ノズルと電極の間の距離を短くすることをお勧めします。大粒のカプセル球 (800 μm 前後～) を作成する場合には、この距離を長くすることをお勧めします。使用する材料の物性に応じてノズルと電極の距離を調整することにより、落下していく液滴が電極リングの内側や電極とノズルの間の部分から適度に分散するようになります。

5.4.1.3 カプセル球バイパスシステム

カプセル球バイパスシステムは、カプセル化作業の開始時と終了時に、不安定な液流から生成された不要なカプセル球を取り除く目的で用いられます。

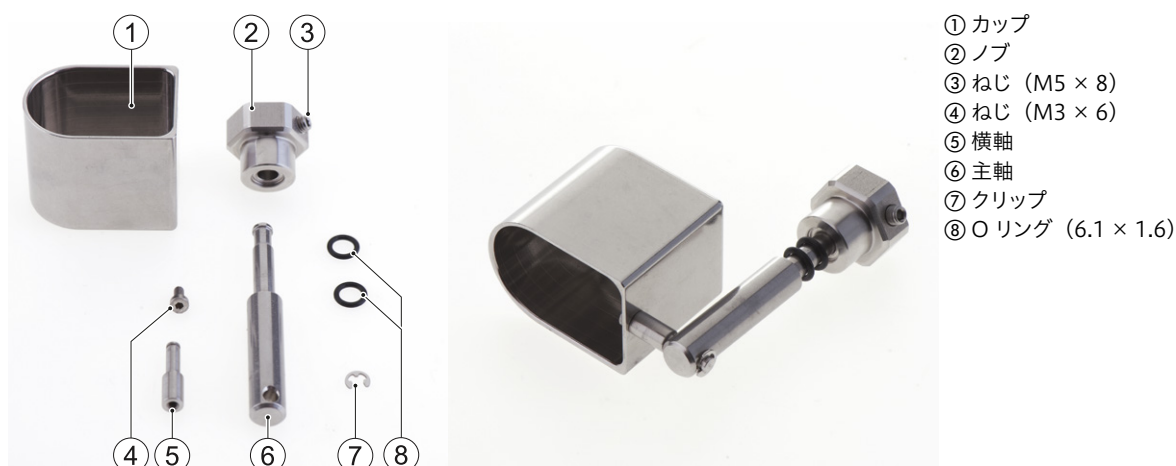
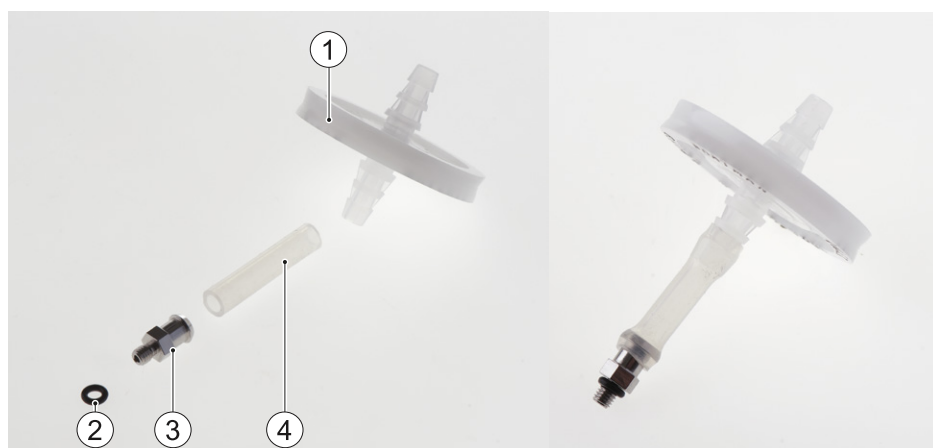


図 5-9：カプセル球バイパスシステム分解図 (左)、組立図 (右)

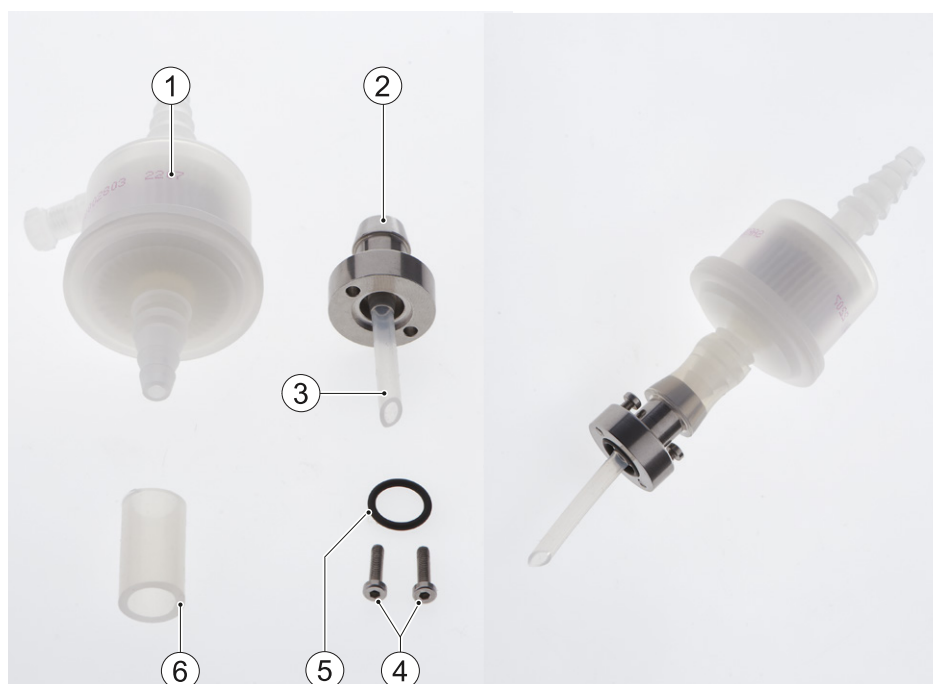
5.4.1.4 エアフィルター



- ① HEPA エア フィルター
- ② O リング
(3.68 × 1.78)
- ③ ニップル
- ④ シリコンチューブ
(5 × 8 mm)

図 5-10：エアフィルター分解図（左）、組立図（右）

5.4.1.5 液体フィルター



- ① 液体フィルター
(Sartobran 150 など)
- ② 液体注入口
- ③ シリコンチューブ
(3 × 5)、長さ
35 mm
- ④ ねじ M3 × 12
- ⑤ O リング
(10.82 × 1.78)
- ⑥ シリコンチューブ
(10 × 14)、
長さ 40 mm

図 5-11：液体フィルター分解図（左）、組立図（右）

5.3.2 ベースプレート

ベースプレートには目的別の2つの排出ポートが備わっています。排出ポートのうち1つには反応槽のカプセル化試薬の交換中にカプセル球を保持するためのフィルターが取り付けられ、もう1つのポートは無菌状態を損なわずにカプセル球を採取するための排出弁となっています。

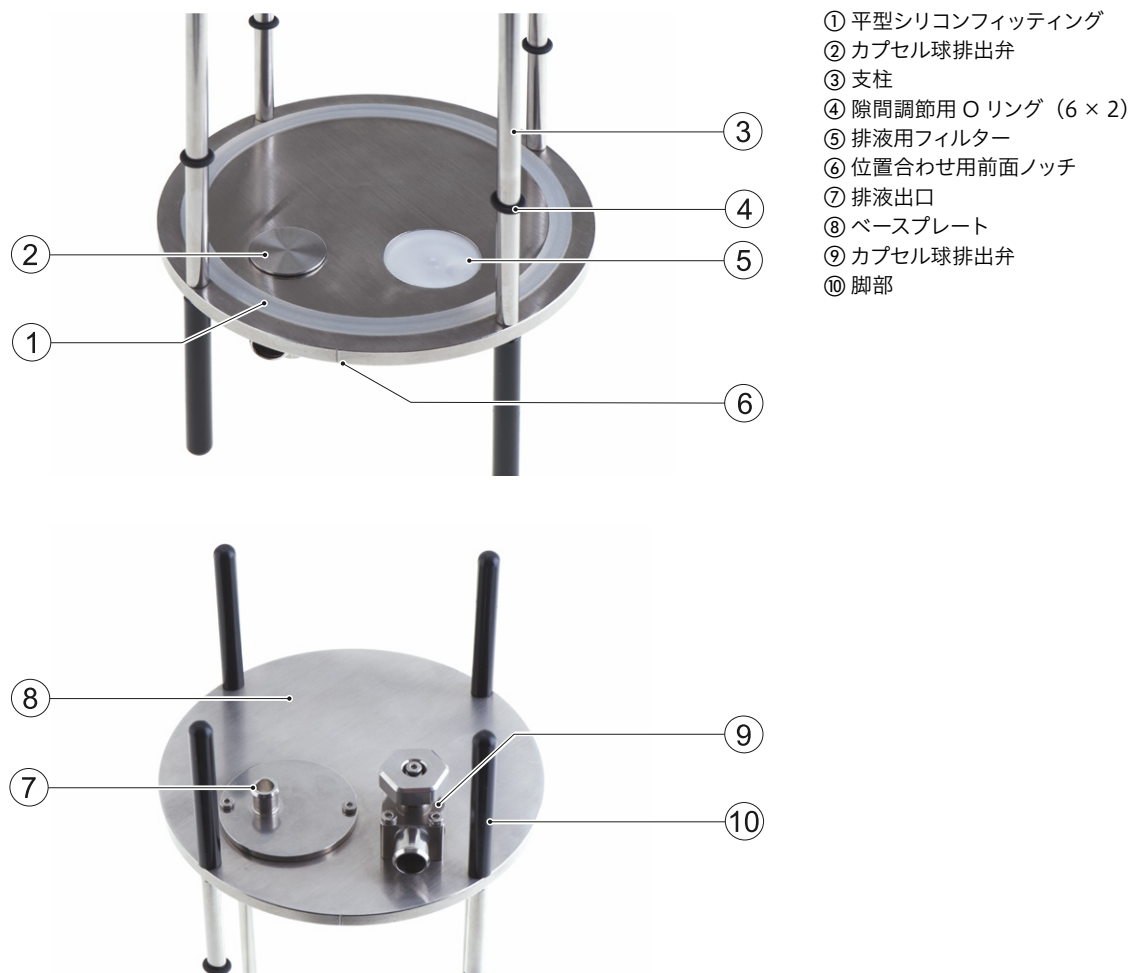
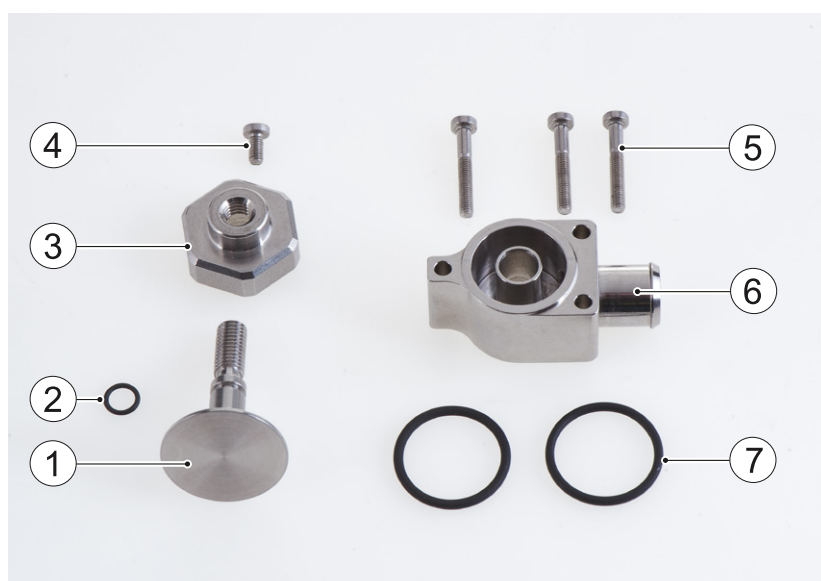


図 5-12: ベースプレート上面図（上）および底面図（下）

5.4.2.1 カプセル球排出弁



- ① プランジャー
- ② O リング (5 × 1)
- ③ 弁のノブ
- ④ ねじ (M3 × 6)
- ⑤ ねじ (M3 × 20)
- ⑥ 採取弁 (BT 14)
- ⑦ O リング (18.77 × 1.78)

図 5-13：カプセル球排出弁の各部品

5.4.2.2 排液システム



- ① 排液プレート
- ② O リング (34.65 × 1.78)
- ③ ねじ (M3 × 6)
- ④ フィルターグリッド
(直径 35 mm、100 μm
メッシュ)

図 5-14：排液システムの各部品

注記

フィルターグリッドは初回オートクレープ時に 1% ～ 2% 収縮します。その後は一定の寸法を保持します。

5.3.3 カプセル球収集フラスコ

作成および処理が完了したカプセル球は、カプセル球採取弁を通じてカプセル球収集フラスコへ直接移されます。その後カプセル球を無菌のまま各種容器に移送することができます。カプセル球収集フラスコの分解図および組立図を図 5-15 に示します。



図 5-15：作成したカプセル球を無菌状態のまま採取、移動するためのカプセル球収集フラスコ。
カプセル球収集フラスコは反応槽のカプセル球採取弁に接続します。

- | | |
|----------------------|------------------------|
| ① フラスコ (250 mL) | ⑤ 収集フラスコ用プレート |
| ② エアフィルター、図 5-10 を参照 | ⑥ O リング (31.42 × 2.62) |
| ③ チューブ用クランプ | ⑦ 穴あきキャップ |
| ④ シリコンチューブ 10 × 14 | |

5.4 送液システム

カプセル化装置 B-395 Pro には、ポリマー混合液の送出用に 2 種類のシステムを搭載しています。

- ・ 定量シリンジポンプ（電動プランジャー）
- ・ 圧力ビンからの空気圧

電動プランジャーの主な用途は次のとおりです。

1. 少量（60 mL 未満）の送液。
2. 作成作業のたびに液体流量の精密な制御が必要となる場合。
3. デッドボリュームを極力少なくする必要がある場合（0.5 mL 程度）。

以下の場合には空気圧ポンプをお勧めします。

1. 液量が多い場合（60 mL 超）。
2. 流量を大きくして大粒のカプセル球を作成する場合、たとえば 300 μm 超のノズルを使用する場合。

両システムを使って同心ノズルシステムを利用することもできます。コア液を電動プランジャーで、シェル液を空気圧でそれぞれ送出します。もちろん、2 本の圧力ビンを使用して、それぞれに T 字または Y 字コネクターで分岐させた送気ラインを接続する方法でも構いません。

5.4.1 電動プランジャー

電動プランジャーは定量送液システムとして使用します。非常に高い精度でポリマー混合液の送出が行えます。ほとんどすべてのメーカーのプラスチック製シリンジが使用可能です（ガラス製シリンジの使用は推奨しません）。内蔵のシリンジ校正システムを使用して、各種シリンジを個別に校正することができます（6 章「操作」参照）。予め滅菌されたシリンジを使用することができ、無菌作業に便利です。送液流量はシリンジの大きさに応じて 0.01 mL/分～ 50 mL/分の間で変更可能です。

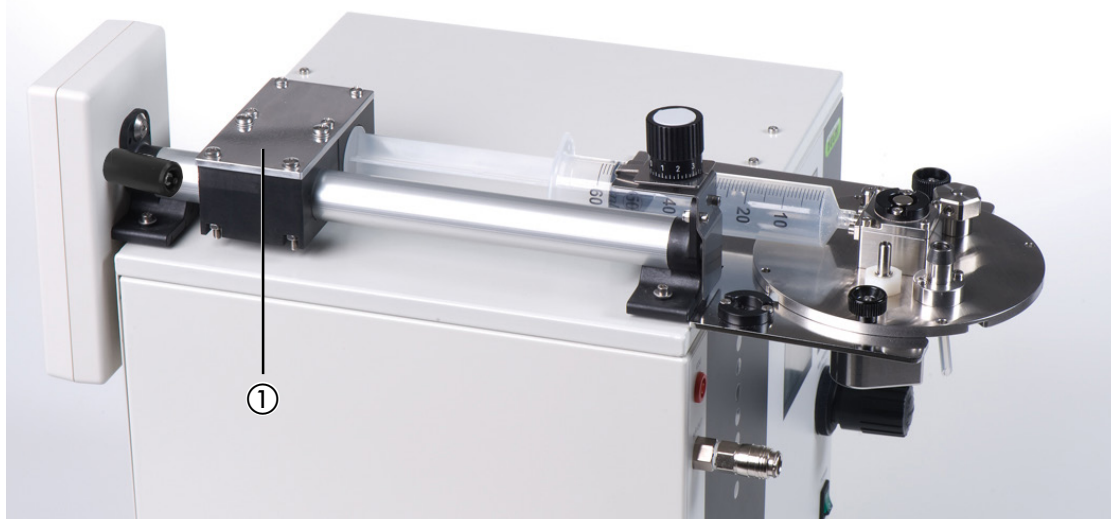


図 5-16: 電動プランジャー

シリンジはルアーロックを使用して滴下ノズルに取り付けます。シリンジのピストンが電動プランジャー ① の移動アームによって押し込まれます。

5.4.2 圧力ビン

圧力ビンはオートクレープ可能な容器です。ポリマー混合液を空気圧で送出するのに使用します。圧力ビンの各部品を図 5-17 に示します。

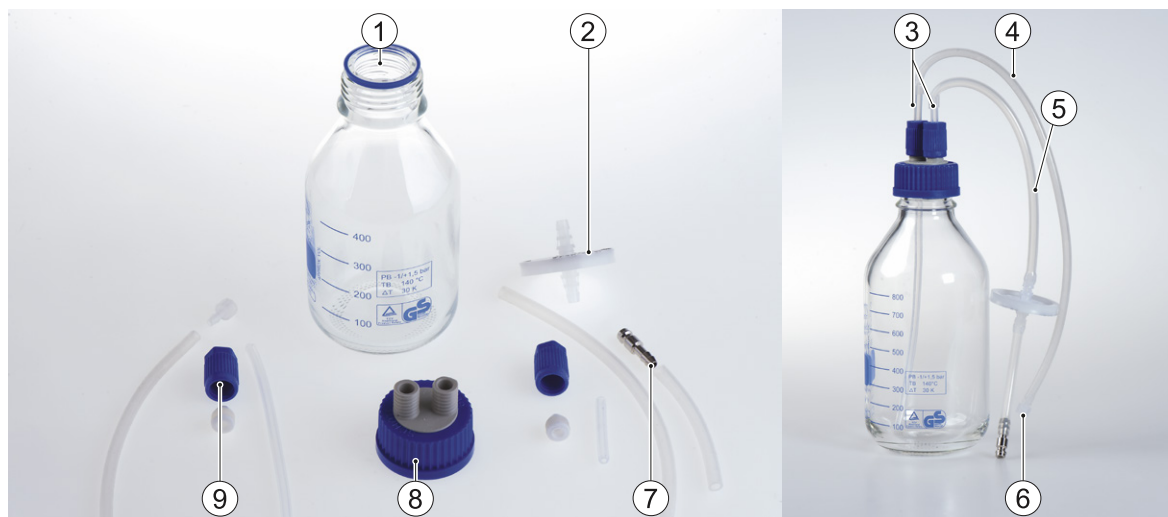


図 5-17：空気圧によるポリマー混合液の無菌送出を行うための HEPA フィルター付き圧力ビン

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| ① 圧力ビン（500 mL または 1000 mL） | ⑥ ルアーロック（オス）、内径 4.8 mm |
| ② HEPA エアフィルター | ⑦ クイックニップル |
| ③ PTFE チューブ（4 × 6） | ⑧ 2 口キャップ |
| ④ 液体用シリコンチューブ（4 × 7） | ⑨ PTFE 製取付具付きキャップ（6 mm チューブ用） |
| ⑤ 空気用シリコンチューブ（5 × 8） | |

供給された圧力が内径 5 mm (5 × 8 mm) のシリコンチューブを通して圧力ビン内部を加圧します。ポリマー混合液の汚染を防ぐ場合は、HEPA フィルターをチューブ途中に装着してください。フィルターの交換は、メーカーの指示のとおり、あるいは通気性の低下が目立つ場合に行うようにしてください。

液体がビンの中の PTFE チューブ（3 × 6 mm）から液体用シリコンチューブ ④ へ送り出されます。このシリコンチューブはオスのルアーロック ⑥ により滴下ノズルに接続します。

5.4.3 圧力ビンの設置



図 5-18：設置された圧力ビン

1. 圧力ビンを組み立て、必要であればオートクレーブを行ってください。
2. ビンにポリマー混合液を充填します。
3. 圧力ビンのシリコンチューブを滴下ノズルのルアーロック取付口に接続します。
4. シリコンチューブを液体流量調整弁に通します。液体が流れない状態になるまで調節弁を締めます。
5. 空気用チューブのニップル ⑦ をカプセル化装置 B-395 Pro 本体の空気取出口のクイック継手に挿入します。

5.5 オプション：同心ノズルシステム

同心ノズルシステム（CN システム）は、単一ノズルユニットに追加するオプションのノズルキットです。これはワンステップで単核カプセルの製造を行うためのものです。このシステムは同心滴下ノズル、シェル用ノズル7本セット（0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70、0.90 mm）、および圧力ビン（1000 mL）により構成されています。外周（シェル）用の液体は圧力ビンから空気圧により送り出されます。

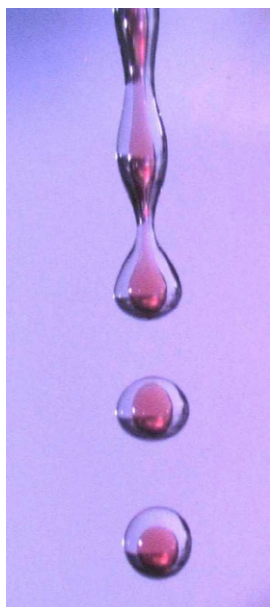


図 5-19：単核カプセルの形成

同心ノズルユニットの主要部品は以下の 2 つです（図 5-20 参照）。

- シェルノズル ① とコアノズル ② のペア。
- CN 滴下ノズル（CN 振動体 ③ およびマグネットホルダー ④ 付き）。

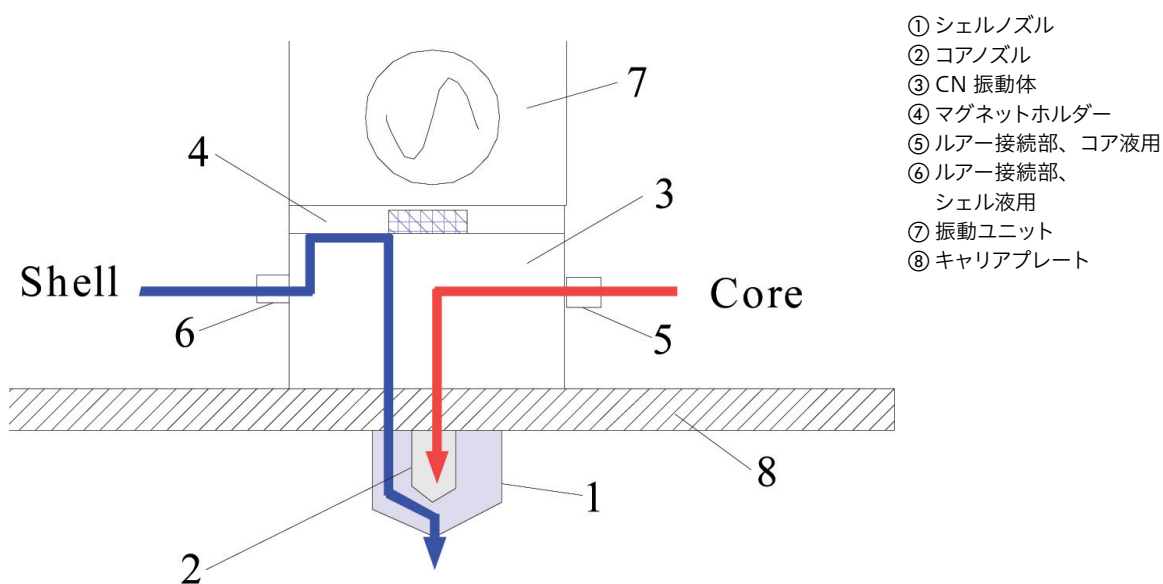


図 5-20：同心ノズルシステムの概略図

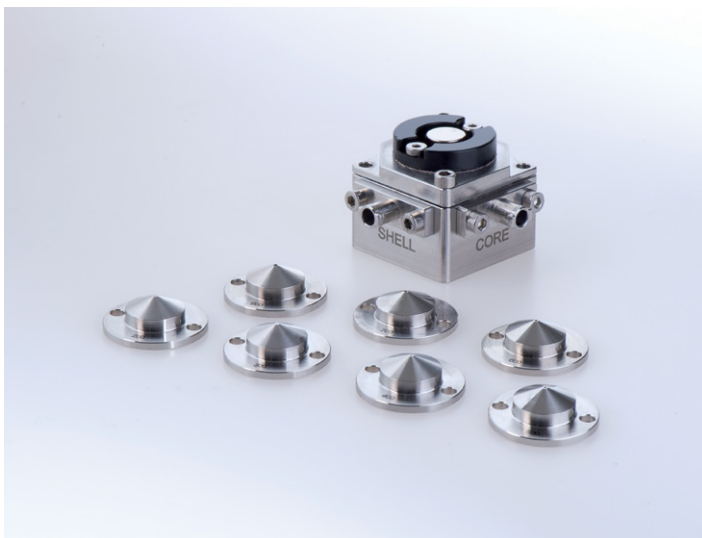


図 5-21 : シェルノズル 7 本セット付き CN 滴下ノズル。標準ノズル開口部サイズ : 0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70、0.90 mm

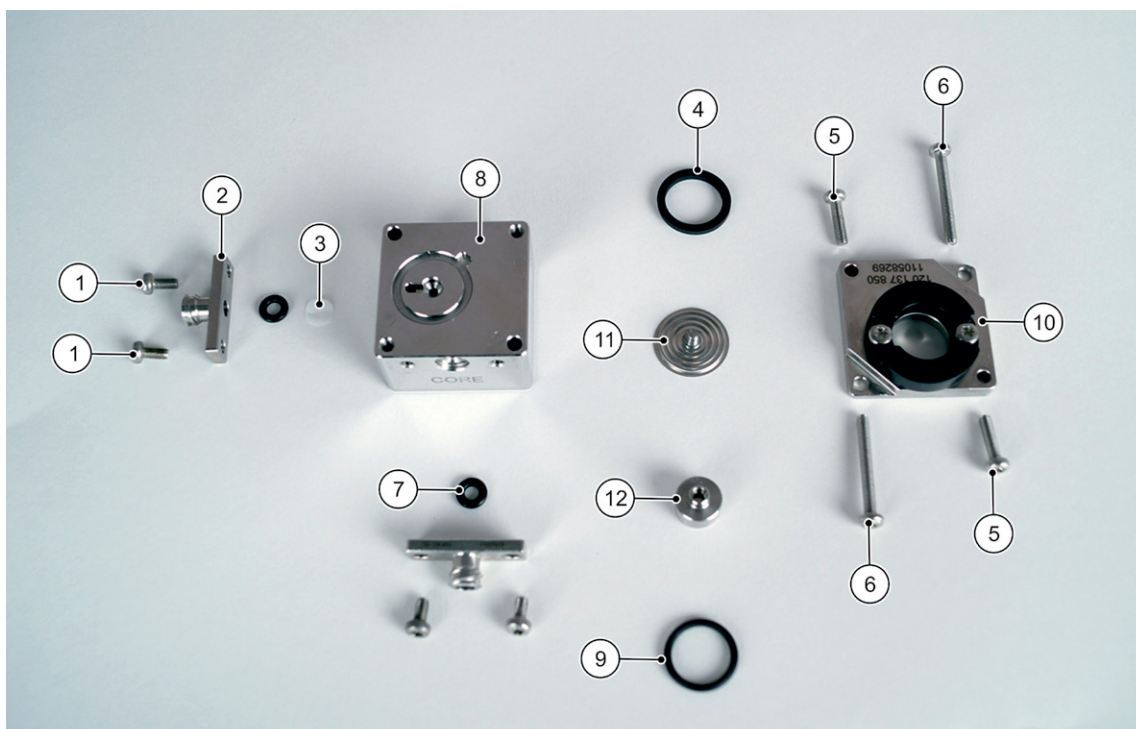
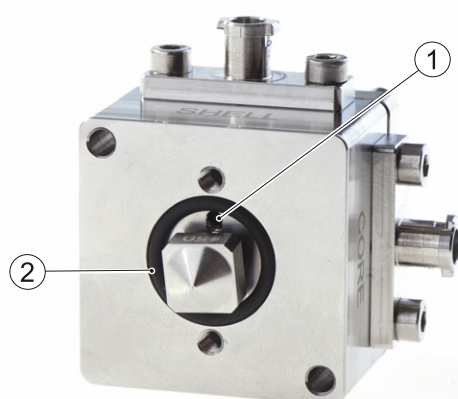


図 5-22 : CN 滴下ノズルの各部品

- | | |
|----------------------------------|------------------------|
| ① ねじ (M3 × 6) | ⑦ O リング (3.68 × 1.78) |
| ② ルアーロック (メス) | ⑧ CN 振動体 |
| ③ フィルターグリッド (50 μm メッシュ、直径 7 mm) | ⑨ O リング (12.42 × 1.78) |
| ④ O リング (14.0 × 1.78) | ⑩ CN メンブレンホルダー |
| ⑤ ねじ M3 × 8 | ⑪ 膜 |
| ⑥ ねじ M3 × 25 | ⑫ マグネット |

5.5.1 同心ノズルの取り付け



CN 滴下ノズルの溝に O リング (12.42 × 1.78) をはめ込みます。次に内側のノズル (O リング付き) を CN 滴下ノズルの穴に挿入します。ネジで固定する必要はありません。内側のノズルの中心位置は、シェルノズルの装着によって正規の位置に収まります。

- ① シェル用薬液の吐出口
- ② O リング (12.42×1.78)

図 5-23 : 内側ノズルの取り付け



内側ノズルの上からシェルノズルを慎重にかぶせます。ねじ (M3 × 6) 2 本でシェルノズルを取り付けます。シェルノズルにより内側ノズルが中心で固定されます。

図 5-24 : シェルノズルの取り付け

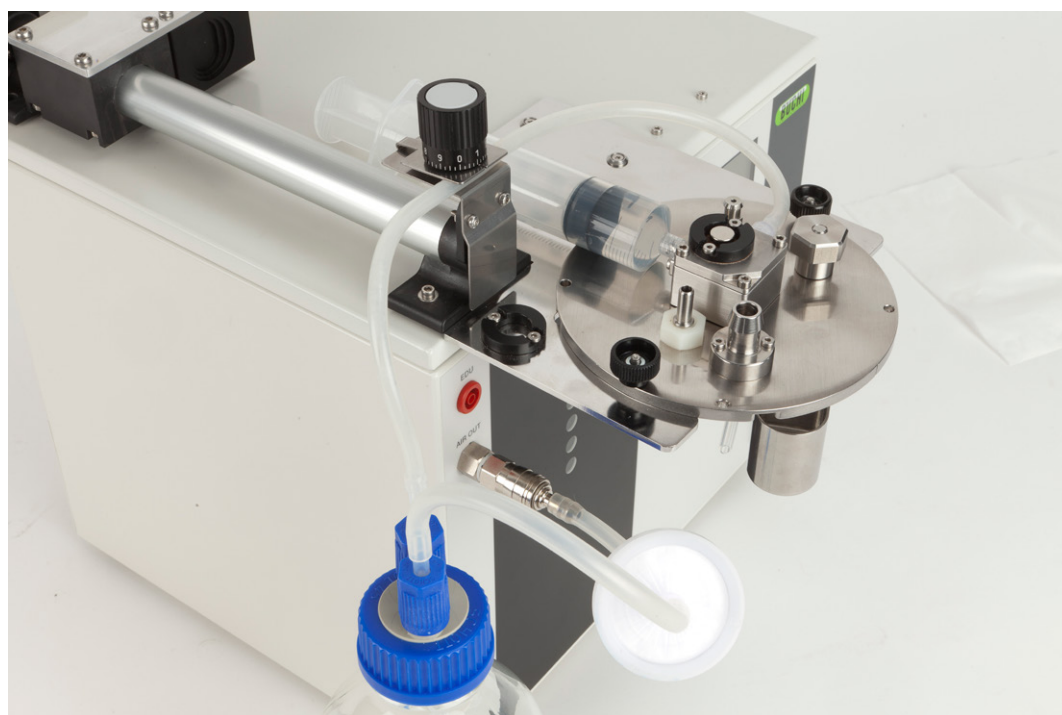


図 5-25 : 電動ブランジャー 1 基、圧力ピン 1 本を使用した CN システムの設置

5.6 カプセル化装置 B-395 Pro の全部品



図 5-26 : カプセル化装置 B-395 Pro の全部品写真

5.7 設置最終確認

設置作業後、および初めてカプセルを作成する前には、必ずここに記載された確認作業を行ってください。接続されているすべての供給媒体（電圧、圧力ガスなど）が、設置したシステムの仕様または設定に適合しなければなりません。

- ・ すべてのガラス部品に損傷がないか点検してください。
- ・ マグネチックスターラー、振動ユニット、電動プランジャー配線など、オプション品や外部部品に用いられているその他の電氣的接続が正しく行われていることを確認してください。

6 操作

本章では装置の標準的な使用例を示し、正しく安全な操作手順を説明します。一般的な警告事項については 2.5 項「製品の安全」も参照してください。

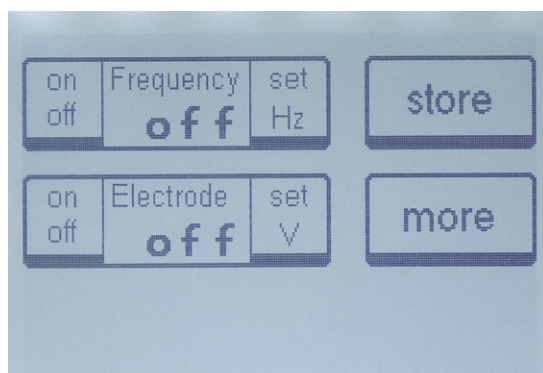
6.1 装置の起動

- ・ カプセル化装置 B-395 Pro が正しく電源に接続されていることを確認します。
- ・ カプセル球の作成前には毎回、設置最終確認（5.8 項を参照）を行ってください。
- ・ カプセル化装置 B-395 Pro の電源を入れます。システムが内部チェックを実行します。

6.2 メイン画面

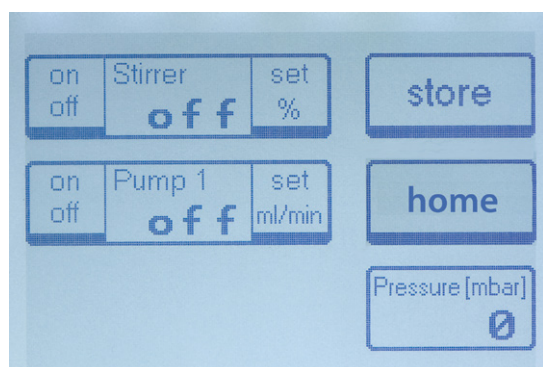
カプセル化装置 B-395 Pro 本体には、カプセル作成に必要な全ての制御システムが備わっています。振動周波数、ポンプ速度、ランプの光量、および静電分散の制御は 2 つのタッチスクリーン上で行います。空気圧の調整は圧力調整弁にて行います。装置前面に配置されているストロボランプで滴下する材料液を照らすことで、滴下の状態を目視しながら条件の調整を行うことができます。

システムの内部チェックが行われた後、これら 2 つのタッチスクリーンには次のようなメイン画面が表示されます。



上タッチスクリーンは振動周波数と電極起電力の制御に使用します。

画面 6-1 : 上タッチスクリーン



下タッチスクリーンは電動プランジャーとマグネチックスターラー速度の制御に使用します。

この画面には空気圧も表示されますが、制御は圧力調整弁にて手動で行います。

画面 6-2 : 下タッチスクリーン

注記

のように下辺が太線になっているアイコンにタッチすると、該当する設定項目の起動／停止または別画面への移動ができます。

6.3 カプセル化装置 B-395 Pro 本体のメニュー構造

下の図はカプセル化装置 B-395 Pro の全メニューの概略を示したものです。各メニューで使用できる機能を記載しています。

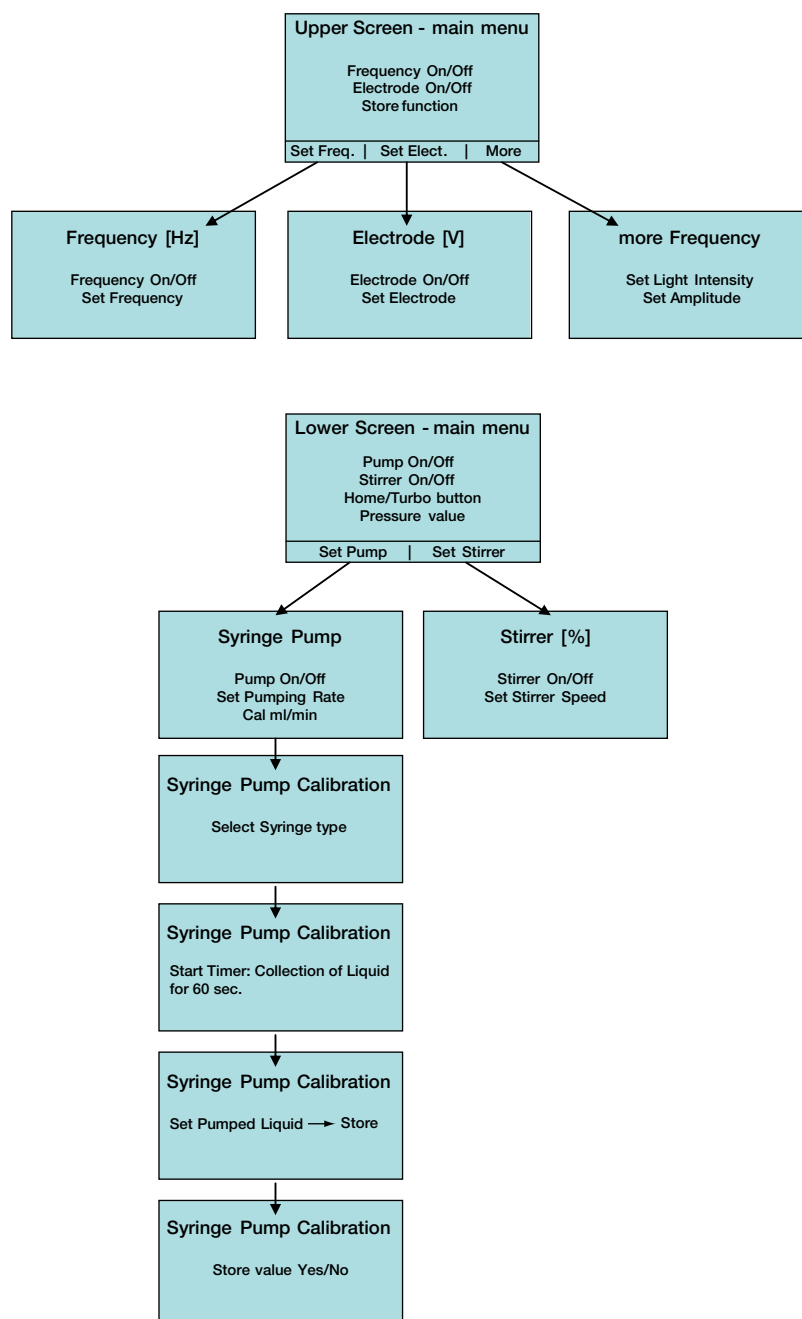
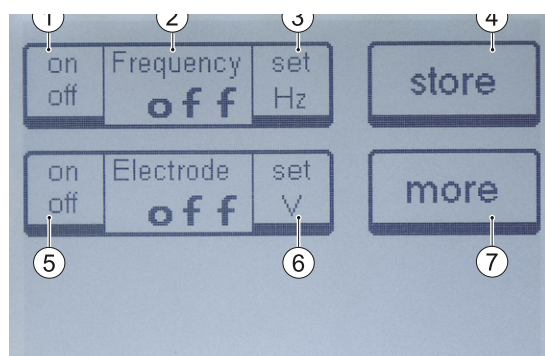


図 6-1 : カプセル化装置 B-395 Pro 本体のメニュー構造

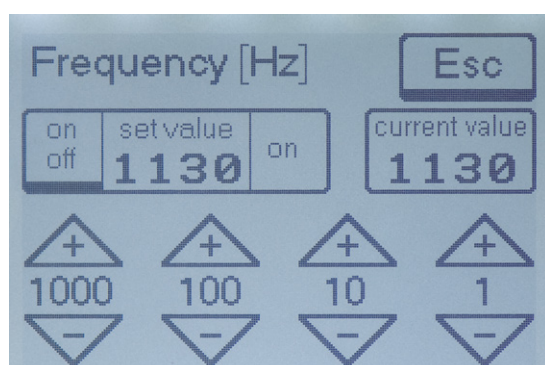
6.4 上タッチスクリーンのメニュー機能

振動（周波数および振幅）、静電分散（電圧）、およびストロボランプの光量の制御は上タッチスクリーン上で行います。装置の電源を入れると、数秒間の初期化プログラムの動作後に、スタートメニューが表示されます（画面 6-3）。振動周波数（Frequency）、電極（Electrode）、その他（more）の項目については、サブメニューがあります（画面 6-4 ～ 6-6 を参照）。



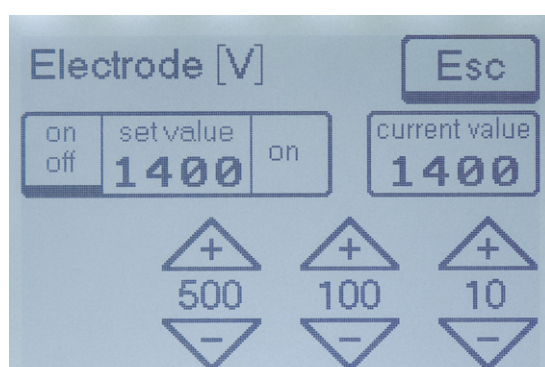
- ① 周波数制御・オン／オフスイッチ
- ② 設定値（停止中は off と表示）。
- ③ 周波数調整（画面 6-4）への移動ボタン
- ④ 設定値の保存ボタン。1 秒以内に 2 回押してください。数値が保存されると音により通知します。
- ⑤ 電極制御・オン／オフスイッチ
- ⑥ 静電分散ユニット調整（画面 6-5）への移動ボタン
- ⑦ 振動強さとストロボ光量調整（画面 6-6）への移動ボタン

画面 6-3: 上タッチスクリーンのスタートメニュー



スタートメニュー（画面 6-3）の「Set Hz」アイコンを押すと、振動ユニットの周波数調整画面になります。「+」および「-」ボタンを押して周波数を変更します。「on/off」ボタンを押すと振動を開始または停止します。「Esc」を押すと設定値が反映された状態でスタートメニューに戻ります。

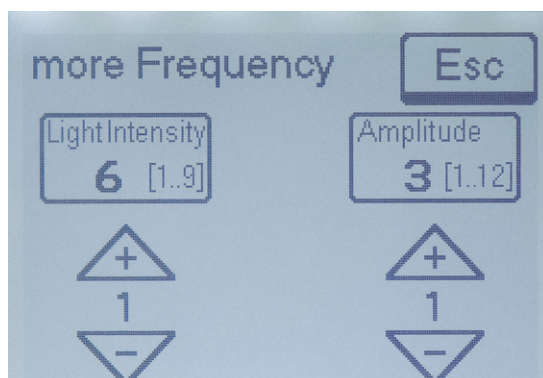
画面 6-4: 周波数調整



スタートメニュー（画面 6-3）の「Set V」アイコンを押すと、静電分散ユニットの電圧調整画面になります。静電分散ユニットは、連続的に落下する液滴の表面を帯電させることで液滴同士を反発させ、分散した状態で重合反応槽へ滴下して凝集を防ぐためのユニットです。大抵の場合、設定電圧は 500 ～ 2000 V の間となりますが、この数値は主にカプセル球のサイズと液体の流速に左右されます。この機能により、カプセル化装置 B-395 Pro はロット単位で繰り返し行われるカプセル球作成において、95% を上回る高い均一性を実現します。

(+) および (-) ボタンを押して電圧値を変更し、落下する液滴が適度に分散するようにさせます。実際の電圧 (current value) が設定した電圧になるまでに数秒かかる場合があります。「Esc」を押すと設定値が反映された状態でスタートメニューに戻ります。

画面 6-5: 静電分散ユニット

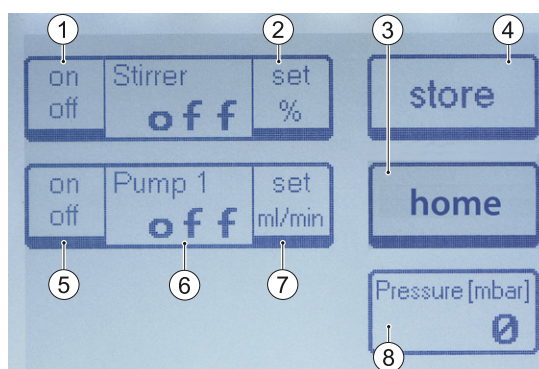


画面 6-6：振動強さとストロボ光量のオプション設定

スタートメニュー（画面 6-3）の「more」アイコンを押すと、ストロボランプの光量（Light Intensity）と振幅（Amplitude）の調整画面になります。設定周波数が 1500 Hz を上回る場合には、振幅の設定値は 1 ～ 12 となります。振幅を大きくすると振動が強くなります。3 から上の値は、主に溶液の粘度が 100 mPa s を超える場合に使います。（+）および（-）ボタンを押すと、これらのパラメータがすぐに変わります。「Esc」を押すと設定値が反映された状態でスタートメニューに戻ります。

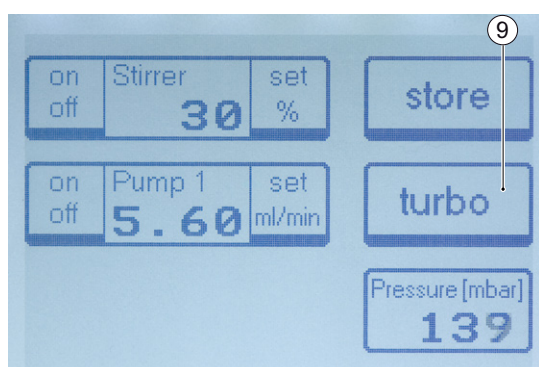
6.5 下タッチスクリーンのメニュー機能

電動プランジャー（ポンプ速度、シリンジ校正）およびマグネチックスターラーの制御は下タッチスクリーンで行います。装置の電源を入れたら、タッチスクリーン上では数秒間、初期化プログラムが動作します。その後、スクリーンには2つのサブメニュー（図 6-7 ～ 6-10 参照）を備えたスタートメニューが表示されます。



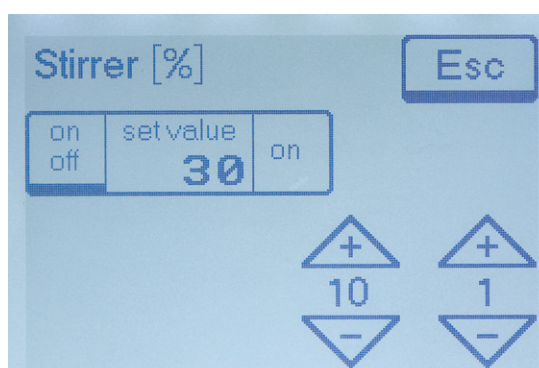
画面 6-7：下タッチスクリーンのスタートメニュー

- ① マグネチックスターラー制御・オン/オフスイッチ
- ② マグネチックスターラー速度設定（画面 6-9）への移動ボタン
- ③ 電動プランジャーアーム戻しボタン
このボタンは、移動アームがホームポジション（最も戻った位置）の時は表示されません。また、プランジャーが送出動作中は、表示が「turbo」に変わります（画面 6-8 参照）。
- ④ 設定値の保存ボタン。1 秒以内に 2 回押してください。数値が保存されると音により通知します。
- ⑤ 電動プランジャー制御・オン/オフスイッチ
- ⑥ 制御パラメータおよび制御状態の表示（数値またはオフ）
- ⑦ 電動プランジャー調整（画面 6-10）への移動ボタン
- ⑧ 空気取出口の圧力値表示（0 ～ 1000 mbar）



画面 6-8：下タッチスクリーン（turbo ボタン表示時）

- ⑨ 「turbo」 ボタンを押すとボタンの色が反転し、送液流量が一時的に設定値の 2 倍になります。再びボタンを押すと元に戻ります。

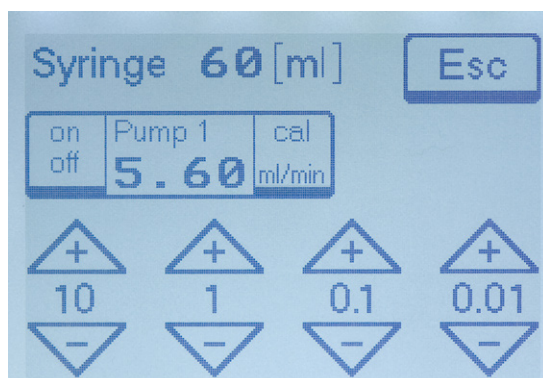


画面 6-9：マグネチックスターラーの速度調整

(+)および(-)ボタンを押して撹拌速度を変更します。「Esc」を押すと設定値が反映された状態でスタートメニューに戻ります。

注記

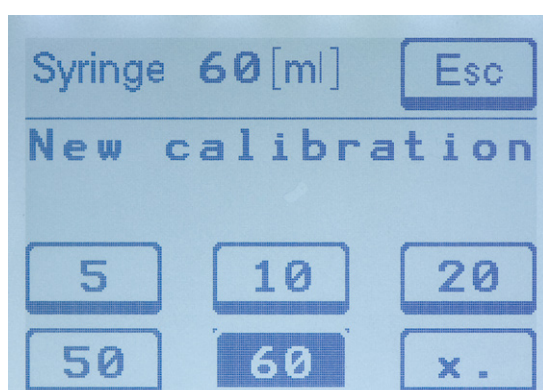
数値は任意に変更が可能です。rpm を表すものではありません。



画面 6-10: 電動プランジャーの速度調整

(+)および(-)ボタンを押すと送液流量が変化します。「Esc」を押すと設定値が反映された状態でスタートメニューに戻ります。プランジャーの動作中に「cal mL/min」ボタンを押すと画面 6-11 が開き、現在のシリンジの校正を行うことができます。プランジャーの停止中であれば、校正済みシリンジの選択を行うことができます。

6.5.1 電動プランジャーの校正メニュー



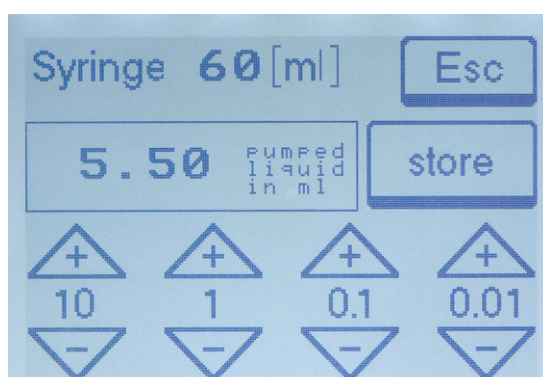
画面 6-11: 電動プランジャー校正 - シリンジ種別の選択

使用するシリンジの容量をボタンで選択してください。送液動作中であれば画面 6-12、送液が停止していればメイン画面に移動します。



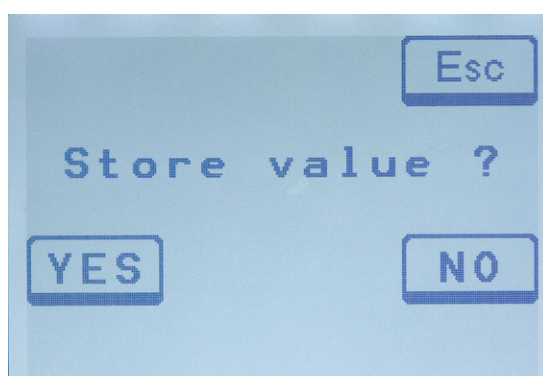
画面 6-12: 電動プランジャー校正 - タイマー

この画面で「on」ボタンを押すと、タイマーが起動して1分間の送液後に自動停止します。この1分間に実際に送液された液体を計量する事で、電動プランジャーの動作速度が使用するシリンジ容量に合うように校正されます。最後の3秒のカウント時は短い通知音が鳴ります。1秒後に電動プランジャーが停止し、画面 6-13 へ移動します。



画面 6-13: 電動プランジャーの校正 - 送出液量の入力

(+) および (-) ボタンを押して、1 分間に送出された液量を入力します。次に「store (保存)」ボタンを押します。画面 6-14 に進みます。

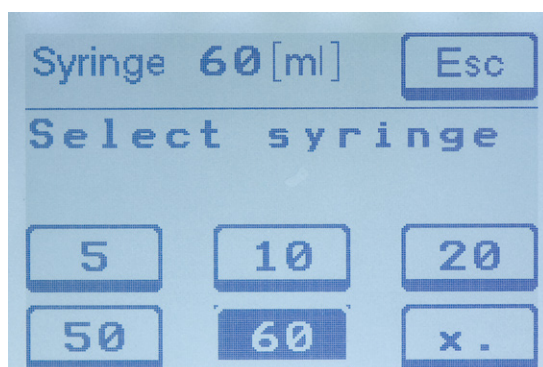


画面 6-14: 電動プランジャー校正 - 数値の保存

「Yes」を押して数値を保存してください。スタートメニューに移動します。プランジャー制御の「on」ボタンを押すと、電動プランジャーは先ほどの校正に基づいて動作を開始します。

6.5.2 校正済みシリンジの選択

電動プランジャーを停止します。画面 6-10 の「cal mL/min」ボタンを押します。画面 6-15 に進みます。



画面 6-15: シリンジサイズを選択

使用するシリンジの容量をボタンで選択してください。選択したシリンジが保存され、スタートメニューに移動します。

注記

電動プランジャー停止時には、この画面はスタートメニューからしか開けません。

6.6 空気圧の手動制御

カプセル化装置 B-395 Pro 本体の圧力制御は、前面パネルの圧力調整弁を用いて手動で行います（図 6-2 参照）。空気圧は、カプセル化を行う間必要な最大空気圧よりも 200 ～ 300 mbar 程度高めに設定します。ただし 1000 mbar を超えないようにしてください。圧力調整弁のノブを時計回りに回すと圧力が上昇し、反時計回りに回すと小さくなります。圧力調整弁のノブは 2 段階式になっています。ノブを押し込むとロックがかかり、引き出すとロックが解除されます。ノブを反時計回りに回すと、弁内部の自己通気システムにより圧力が低下します。この圧力値はタッチスクリーンに表示されます（画面 6-7 参照）。

注記

- ・ 装置背面パネルからカプセル化装置 B-395 Pro 本体に供給される空気または窒素ガスの圧力が 7 bar (100 psi) を超えないようにしてください。推奨される圧力範囲は 1.5 ～ 2 bar (20 ～ 30 psi) です。
- ・ 圧力調整システムは反応が比較的遅いことに留意してください。これは締付弁を経由する空気の出入りに遅れが生じるためです。
- ・ 装置を使わないときにガス供給ラインを開いたままにしないでください。弁の自己通気システムにより、ガス容器の中身が排出されてしまいます。
- ・ 空気取出口での最大圧力は 1.5 bar (20 psi) です。この値は内蔵の圧力安全弁により制御されており、1.5 bar で安全弁が開くようになっています。ただし使用範囲は 0 ～ 1 bar です。



図 6-2：圧力手動調整用の空気圧調整システム。
圧力調整弁を時計回りに回すと圧力が**上昇**します。

6.7 電動プランジャーの取り扱い

カプセル化装置 B-395 Pro 本体のスイッチを入れた後、最初に電動プランジャーを使用する際に、下タッチパネルの「home」ボタンを押してアームをホームポジション（最も戻った位置）に戻してください。アームが完全に帰り、エンドノブのマイクロスイッチ（図 6-3）に接触して自動で停止するまで待ちます。これにより、カプセル化装置 B-395 Pro 本体のコンピューターが電動プランジャーのアームの位置を正確に認識します。充填済みのシリンジ（ルアーロック機構付きのプラスチック製シリンジをお勧めします）を滴下ノズルに接続します。

電動プランジャーを起動して（画面 6-10 参照）、アームを前進させます。アームがシリンジのプランジャーに近づくまでは、一時的にアームの前進速度大きくしたり「turbo」ボタンを押して速度を2倍に上げたりすることで、待ち時間を短縮できます。アームがシリンジのプランジャーに近づいたら、速度を下げてください。アームがシリンジのプランジャーに触れたところで送出動作を停止します。液体流量を設定します（画面 6-10 参照）。オン/オフボタンを押して送液を開始します。滴下を開始する時点では、「turbo」ボタンを押して2倍の前進速度で送液してください。ノズルから持続的に液体が噴射されるようになったら再び「turbo」ボタンを押し、速度を既定値に戻します。必要に応じて送液速度の調整を行い、ストロボランプを照射したときに、分離したカプセル球がはっきりと見えるようにしてください。

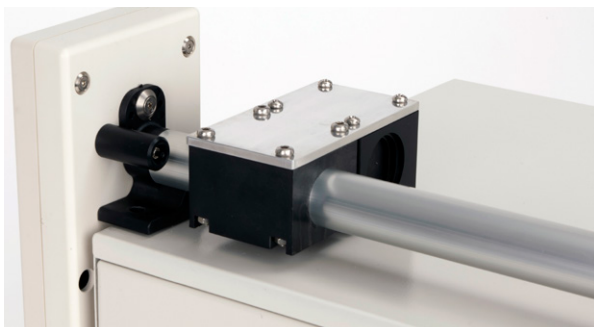


図 6-3：電動プランジャーのエンドノブ

6.7.1 電動プランジャーの校正

シリンジに水またはポリマー混合液を充填し、滴下ノズルに接続します。計量用の容器を用意し、1分間に送液する液を計量します。送液流量はカプセル球の形成が良好に行われる数値に設定してください。「cal mL/min」ボタンを押して校正操作の画面に入ります（画面 6-10 参照）。まずは適切なシリンジサイズを選択してください（画面 6-11 参照）。

次に「on/off」ボタンを押し（画面 6-12 参照）、ノズルから噴射される液体を、計量用に用意した容器に 60 秒間回収します。最後の 3 秒のカウント時は短い通知音が鳴ります。最後の通知音の 1 秒後にプランジャーが自動で停止します。送出された液体を計量します。数値の入力（画面 6-13）と保存を行います。これにより、選択したシリンジの校正が完了します。

6.7.2 校正済みシリンジの選択

校正済みの各シリンジ種別を必要に応じて呼び出すことができます。電動プランジャーを停止して「cal mL/min」ボタン（画面 6-10 参照）を押し、画面 6-15 へ移動します。適切なシリンジを選択してください。選択後、スタートメニューに戻ります。これで選択は完了です。

6.8 水を使用した操作演習

カプセル化ポリマーを用いた作業を行う前に、水を使って装置の操作に慣れ、各種制御により生じる効果を熟知しておいてください。反応槽のカバープレートに、200 μm または 300 μm の滴下ノズルを取り付けます。組み立ての終わったカバープレートをカプセル化装置 B-395 Pro 本体に載せます。2 本のつまみねじでカバープレートを取り付けます。振動ユニットを滴下ノズルの上に置きます。大型ビーカー（600 mL 程度）をノズルの下に置きます。電極と静電分散ユニット（EDU）を赤色の配線で接続します。

6.8.1 電動プランジャーの使用

1. 60 mL のシリンジに蒸留水を充填し、5.5 項に従って取り付けます。電動プランジャー速度を 4 mL/分に設定します。振動制御システムを起動し、振動周波数を 1500 Hz に設定します。電動プランジャーを起動してください。ノズルから送出される水が、大きな水滴状態として落ちてくる場合は、電動プランジャーの送液速度を上げて、水が持続的に噴射される状態にしてください。送液速度を変えながら、ストロボランプの照射を用いて液滴の連鎖の状態を観察します。適切な条件であれば、ノズル下 3 ~ 5 mm のところで数 cm にわたって、液滴の連鎖がはっきりとカプセル球に分かれます。電動プランジャーを停止する前に、振動、電圧、電動プランジャーの設定を書き留めておいてください。

注記

連鎖が視認しづらい場合には、装置周辺の光量を落とし、20 ~ 30 cm 離れたところから、ストロボランプの周りの黒く塗装された部分が液滴の背景になる位置で噴射液を見るようにします。

2. 電動プランジャーを再び起動し、「turbo」ボタンを押します。プランジャーが 2 倍の速度で動き、持続的に液体が噴射されるようになります。「turbo」ボタンを解除すると、噴射液の流量はすぐに規定の値に落ち着きます。「turbo」ボタンは、このように一時的に送液量を上げたり元に戻したりすることが簡単にできるので、例えば高粘度の溶液を流し始める際に一時的に送液量を上げて噴射状態を整えたり、または軽いノズルの目詰まりを除去する際などに利用すると便利です。
3. 液滴の連鎖が不安定になるまで振動周波数を大きくした後、送液速度を上げて連鎖を元の良好な状態に戻します。次にこの逆の操作として、送液速度を下げた後、振動周波数を小さくしていきます。この操作を繰り返す行うことで、2 つのパラメータの相関関係を熟知することができます。理想的な液滴の連鎖を形成する設定値として、得られた数値を表 6-1 に記入してください。

注記

理想的な液滴の分断状態が維持できる範囲において、液体流量と振動周波数は相互に影響を及ぼし合う関係になります。理想的な範囲は主にノズル径とポリマー液体の粘度により決まります。

原則：

- ・ 周波数を上げると粒径は小さくなります。
- ・ 液体流量を減らすと粒径は小さくなります。
- ・ 粒径が小さいほど、カプセル球の分離に必要な静電電圧は低くなります。
- ・ ノズルを小さくすると、生成されるカプセル球も小さくなります。完成したカプセル球の直径はノズル径のおよそ 2 倍になります。

表 6-1：作業範囲の決定（電動プランジャー使用）

ノズル径：

シリンジサイズ：

[illegible]

ノズル径：

シリンジサイズ：

[illegible]

4. 送液速度と振動周波数を、液滴の連鎖が正しく形成される数値に設定します。静電分散ユニットを 300 V で作動させ、電圧を 100 V ずつ大きくしていきます。電圧を高めるほど、液滴の落下の状態が「一直線状」から「円錐状」へと広がっていきます。こうすることで空中を落下して反応重合液に入るカプセル球同士の衝突を防ぐことができます。この機能により、カプセル球作成において 95% を上回る高い均一性を実現することができます。
5. 振動周波数と送液速度を変えて、カプセル球の分離に必要な静電電圧に及ぼす影響を観察します。静電分散ユニットを使用すると適正範囲は大きくなります。処理を続けるにつれて反応重合槽（ビーカーなど）に落下させた液滴が、反発して容器から外へ飛び出してしまうことがあります。これは静電電荷が電氣的に絶縁されたビーカーの中に蓄積してしまうことにより起こります。この現象が起きないようにするには、同梱の接地線（緑と黄色の 2 色）に付いているステンレス鋼製クリップをビーカー内部の液体に接触するようにビーカーのふちに掛け、接地線のもう一方の端をカプセル化装置 B-395 Pro 本体前面パネルの接地プラグに接続してください（図 6-4 参照）。密閉型反応槽一式を使用する場合には、静電電荷が自動的に除去されるため、接地線は必要ありません。



図 6-4：開放型重合反応槽の接地方法

6. 振幅（Amplitude）を変更します。液滴の連鎖に見られる変化はわずかです。低粘度の溶液に適した設定値は 1 ～ 3 です。粘度が高めのポリマー混合液（150 mPa s を超えるもの）については、3 よりも高い数値を設定した方が良い場合があります。
7. この実験を他のノズル径でも繰り返し行います。

6.8.2 圧力ビンの使用

1. 300 μm の単一ノズルを装着した滴下ノズルをキャリアプレート上にねじ (M3 $\times$ 25) で取り付けます。滴下ノズルの上に振動ユニットを置きます。電極と静電分散ユニット (EDU) を赤色の配線で接続します。
2. 圧力ビンに 200 ~ 300 mL の蒸留水を入れ、キャップを締めます。シリコンチューブ (4 $\times$ 7 mm) を流量調整弁に通し、チューブのルアーロック (オス) を滴下ノズルのルアーロック (メス) に接続します。流量調整弁のノブを時計回りに回してシリコンチューブが塞がった状態にします。
3. 外部圧縮空気源を開きます。空気注入口での圧力は 1.5 ~ 2 bar が最適です。ただしシステムの許容入口圧力は最大 7 bar となっています。
4. 圧力調整弁を用いて空気取出口の圧力を 200 mbar に設定し、周波数を 800 Hz に設定します。
5. 流量調整弁のノブを反時計回りに回して開き、圧力ビンの蒸留水がシリコンチューブを通じて滴下ノズルから一定の連続した水流状態で送出される状態にします。ストロボライトで照らされた水流を観察しながら、一定間隔の液滴が連続するような状態になるように、流量や周波数を調整します。ノズル下 3 ~ 5 mm の地点から連続水流が一定間隔の液滴に分断し、それが数 cm に渡って確認できる状態が理想的です。このときの設定を再現するために、流量調整弁の位置を記録しておいてください。
6. 液滴の連鎖が不安定になるまで振動周波数を大きくします。その後、少しずつ空気圧を大きくして液体流量を増やし、液滴の連鎖を元の状態に戻します。次にこの逆の操作として、流量を減らした後、連鎖が元の状態に戻るよう振動周波数を小さくしていきます。この操作を繰り返して、2 つの設定の相関関係を熟知しておくのが良いでしょう。数値を表 6-2 に記録します。

注記

- 理想的な液滴の分断状態が維持できる範囲において、液体流量と振動周波数は相互に影響を及ぼし合う関係になります。理想的な範囲は主にノズル径とポリマー液体の粘度により決まります。
- 空気圧設定値は 50 ~ 150 mbar の間であれば蒸留水を送出するのには十分です。使用圧力がこれより大きい場合には、ノズル詰まりなどの問題が起きている可能性があります。

原則：

- **周波数を上げると粒径は小さくなります。**
- **液体流量を減らすと粒径は小さくなります。**

表 6-2：作業範囲の決定（圧力ピン使用）

ノズル径：

空気圧	液滴が正常に連鎖 (静電分散不使用)		液滴が正常に連鎖 (静電分散使用)		
	周波数最低値	周波数最高値	静電電圧	周波数最低値	周波数最高値

ノズル径：

空気圧	液滴が正常に連鎖 (静電分散不使用)		液滴が正常に連鎖 (静電分散使用)		
	周波数最低値	周波数最高値	静電電圧	周波数最低値	周波数最高値

7. 液体流量と振動周波数を、液滴の連鎖が正しく形成される数値に設定します。静電分散ユニットを 300 V で作動させ、電圧を 100 V ずつ大きくしていきます。電圧を高めるほど、液滴の落下の状態が「一直線状」から「円錐状」へと広がっていきます。こうすることで空中を落下して反応重合液に入るカプセル球同士の衝突を防ぐことができます。この機能により、カプセル球作成において 95% を上回る高い均一性を実現することができます。状態に変化がみられない場合は、電極がカプセル化装置 B-395 Pro 本体に接続されているか確認してください。
8. 振動周波数と流量を変えて、噴射液の分離に必要な静電電圧に及ぼす影響を観察します。静電電圧を使用すると適正範囲は大きくなります。処理を続けるにつれて反応重合槽（ビーカーなど）に落下させた液滴が、反発して容器から外へ飛び出してしまうことがあります。これは静電電荷が電氣的に絶縁されたビーカーの中に蓄積してしまうことにより起こります。この現象が起きないようにするには、同梱の接地線（緑と黄色の 2 色）に付いているステンレス鋼製クリップをビーカー内部の液体に接触するようにビーカーのふちに掛け、接地線をカプセル化装置 B-395 Pro 本体前面パネルの接地プラグに接続してください。密閉型反応槽一式を使用する場合には、静電電荷が自動的に除去されるため、接地線は必要ありません。

原則：

粒径が大きいほど、噴射液の分離に必要な静電電圧は高くなります。

9. 振幅（Amplitude）を変更します。液滴の連鎖に見られる変化はわずかです。低粘度の溶液に適した設定値は 1 ～ 3 です。粘度が高めのポリマー混合液（150 mPa s を超えるもの）については、3 よりも高い数値を設定した方が良い場合があります。
10. この手順を他のノズル径でも繰り返し行います。

原則：

- ・ **ノズルを小さくすると、生成されるカプセル球も小さくなります。**
- ・ **完成したカプセル球の直径はノズル径のおよそ 2 倍になります。**

6.9 非滅菌アルギン酸塩溶液を使用した操作演習

カプセル球作成制御が十分に行えるようになったら、非滅菌アルギン酸塩溶液を使って試運転を行います。アルギン酸ナトリウムはもっとも広く使われているポリマーです。ただし、他にも様々な性質を持つポリマーが用いられています。弊社では低粘度アルギン酸塩の使用をお勧めしています。アルギン酸塩の濃度は粘度を大きく左右し、粘度はノズルの滴下圧力に影響を及ぼします。このため、アルギン酸塩溶液の濃度はノズル径によって決まります（下表参照）。

表 6-3：ノズル径別アルギン酸塩の推奨濃度（乾燥重量ベース）

ノズル径	低粘度アルギン酸塩濃度	
	使用範囲	推奨濃度
80 ～ 120 μm	0.75 ～ 1.4%	1.1 ～ 1.2%
120 ～ 200 μm	1.0 ～ 1.6%	1.3 ～ 1.4%
200 ～ 300 μm	1.2 ～ 1.8%	1.5 ～ 1.6%
300 ～ 500 μm	1.5 ～ 2.5%	1.8 ～ 2.0%

注記

通常の保管条件下では、アルギン酸塩粉末は 10 ～ 12% の水分を含んでいます。そのためここではアルギン酸塩濃度を乾燥重量ベースで示しています。

6.9.1 1.5% アルギン酸ナトリウム溶液の調製

1. 400 mL ビーカーを用意し、低粘度アルギン酸ナトリウム粉末 3.3 g を計量します。
2. 脱イオン水 200 mL を加え、実験室用ミキサーで 1 ～ 2 分間強く攪拌します。
3. アルギン酸塩はダマになりやすい物質です。スパチュラを使ってビーカーおよびミキサーの刃からアルギン酸塩のダマを取り除き、再び 1 ～ 2 分間攪拌します。液体にダマが残っている場合には攪拌を繰り返します。
4. しばらく放置して、液に含まれる細かい気泡を抜きます。
5. 必要に応じて低圧下で混合液の脱気処理を行ってください。
6. マグネチックスターラーを用いたアルギン酸塩の溶解にはかなりの時間が必要です。1 晩かかる場合もあります。

注記

アルギン酸塩溶液は微生物の増殖を促進しますが、冷蔵庫に入れておけば 2 週間ほど安定します。微生物混入の兆候としては混合液の粘度低下が挙げられます。アルギン酸塩溶液に滅菌処理または保存料の添加（例：0.05% NaN_3 ）を行うと、室温でもかなりの長期間にわたって保存することができます。

6.9.2 電動ブランジャーによる作業

1. 滴下ノズルに 200 μm または 300 μm のノズルを取り付けます。組み立ての終わったカバープレートをカプセル化装置 B-395 Pro 本体に載せます。2 本のつまみねじでカバープレートを取り付けます。振動ユニットを滴下ノズルの上に置きます。電極と静電分散ユニット (EDU) を赤色の配線で接続します。ノズルの下にはマグネチックスターラーに乗せた大きめのビーカーを置きます。このビーカーには重合反応液として 100 mM 塩化カルシウム溶液を注ぎ入れます。この重合反応液は少なくとも 2 cm の深さになる量まで入れてください。この重合反応液に攪拌子を入れ、水面にわずかな渦が視認できる程度に攪拌してください。攪拌が強すぎると、渦によるせん断力がカプセル球の変形を引き起こす可能性があります。使用する攪拌子は付属しているタイプを推奨します。回転リングが付いているタイプだと、攪拌子とビーカー底面の隙間でカプセル球が壊れてしまう恐れがあります。また、接地クリップをビーカーのふちに掛け、液に浸します。重合反応液への滴下の開始と終了は、理想的な滴下が行われている状態のまま行われる必要があります。したがって少量の液を受けられる蓋状のもの (例: シャーレ) をビーカーの上に置か、別の空のビーカー (および設置クリップ) を用意してノズルの下に一時的に置いて、重合反応液に滴下させたくない状態の間は、そこで液滴を一時的に受けられるような準備をしてください。
2. 60 mL のシリンジに上記の 1.5% アルギン酸塩溶液を充填し、装置に設置します。
3. 振動制御システムを起動して、200 μm ノズルの場合は振動周波数を 1200 Hz に、300 μm ノズルの場合は 900 Hz に設定します。電動ブランジャーを起動して、200 μm ノズルの場合は送液速度を 5 mL/分に、300 μm ノズルの場合は 8 mL/分に設定します。「turbo」ボタンを押して液体が持続的に噴射される状態にします。「turbo」ボタンを解除すると、噴射液の流量はすぐに規定の値に落ち着きます。送液速度や振動周波数を調整し、液滴の連鎖が電極の下で正しく形成されるようにします。
4. 静電分散ユニットを 500 V で作動させます。電圧を 100 V ずつ大きくしていき、電極を通過して 3 ~ 10 cm ほどでカプセル球の流れが円錐形に分散する状態にします。この分散が電極の下方およそ 5 cm で生じれば理想的です。状態に変化がみられない場合は、静電分散ユニットの電極がカプセル化装置 B-395 Pro 本体に接続されているか確認してください。

注記

円形分散が強力であるほどカプセル球の均一性が向上します。これには静電電圧の強さだけでなく、液体流量と振動周波数も関係してきます。個々の液滴が電極から発生した静電場において噴射液から分離する際に、これらの数値が影響を及ぼします。小さいカプセル球は大きいカプセル球に比べ、ノズルにより近い位置で噴射液から分離します。

5. 左右対称で安定した円形分散が得られたら、液滴の落下はその状態のままで重合反応液の入ったビーカーに液滴が入るように、ビーカーの蓋を取り除く代わりに受けていたビーカーと重合反応液のビーカーを入れ替えて、カプセル球を約 1 分間収集します。カプセル球が蓄積する間に、表 6-4 のプロセスパラメータを記録しておいてください。カプセル球を約 1 分間収集したら、重合反応液の入ったビーカーに蓋をするか、またはビーカーを取り替えた後、静電電圧と振動制御をオフにしてカプセル球の作成を終了します。

注記

毎回の使用後には直ちにノズルを蒸留水で完全に洗浄し、乾燥したポリマー混合液によるノズルの詰まりや部分閉塞を防ぐようにしてください。

表 6-4 : カプセル化装置試運転ワークシート (電動プランジャー使用)

シリンジサイズ [mL]					
ノズル径 [μm]					
アルギン酸塩濃度 [%]					
送液速度 [mL/分]					
振動周波数 [Hz]					
振幅					
およそのカプセル球径 [μm]					
均一性 [%]					
コメント					

6. カプセル球を顕微鏡で観察し、粒径、均一性、形状を表 6-4 に記録してください。
7. プロセスパラメータを変えるたびに、この手順を繰り返してください。

注記

粒径 500 μm 未満の小さなカプセル球を作成する際、球ではなく卵形に近いものができる場合があります。これは主に重合反応液の表面張力によって起こります。カプセル球が重合反応液に入る瞬間が非常に重要となります。重合反応液の表面張力が高いとカプセル球の一部分が液表面から押し返され、元の丸い形に回復する前に重合が始まってしまいます。この問題は少量の界面活性剤 (Tween 20 など) を重合反応液に添加することで解消します。

8. 振動周波数とポンプ流量は変えずに、静電機能オン/オフ 2 とおりの条件でカプセル球の作成収集を行い、静電分散ユニットの影響を比較してください。
9. 液体の噴射がかろうじて持続する程度の低流量から液滴の連鎖がはっきりと視認できなくなる流量に達するまで、あらゆる振動周波数のもとでポンプ送液速度を段階的に変えていき、作業範囲を決定します。対応する周波数最低値および最高値を表 6-5 に記入します。

表 6-5：作業範囲の決定

ノズル径：

アルギン酸塩濃度：

シリンジサイズ：

[illegible]

ノズル径：

アルギン酸塩濃度：

シリンジサイズ：

[illegible]

6.9.3 圧力ビンによる作業

1. 滴下ノズルに 200 μm または 300 μm のノズルを取り付けます。組み立ての終わったカバープレートをカプセル化装置 B-395 Pro 本体に載せます。2 本のつまみねじでカバープレートを取り付けます。振動ユニットを滴下ノズルの上に置きます。電極と静電分散ユニット (EDU) を赤色の配線で接続します。ノズルの下にはマグネチックスターラーに乗せた大きめのビーカーを置きます。このビーカーには重合反応液として 100 mM 塩化カルシウム溶液を注ぎ入れます。この重合反応液は少なくとも 2 cm の深さになる量まで入れてください。この重合反応液に攪拌子を入れ、水面にわずかな渦が視認できる程度に攪拌してください。また、接地クリップをビーカーのふちに掛け、液に浸します。重合反応液への滴下の開始と終了は、理想的な滴下が行われている状態のまま行われる必要があります。したがって少量の液を受けられる蓋状のもの (例: シャーレ) をビーカーの上に置くか、別の空のビーカー (および設置クリップ) を用意してノズルの下に一時的に置いて、重合反応液に滴下させたくない状態の間は、そこで液滴を一時的に受けられるような準備をしてください。
2. 圧力ビンに前記の 1.5% アルギン酸塩溶液を入れ、キャップを締めます。シリコンチューブ (4 $\times$ 7 mm) を流量調整弁に通し、チューブのルアーロック (オス) を滴下ノズルのルアーロック (メス) に接続します。流量調整弁のノブを時計回りに回してシリコンチューブが塞がった状態にします。
3. 外部圧縮空気源を開きます。空気注入口での圧力は 1.5 ~ 2 bar が最適です。ただしシステムの許容入口圧力は最大 7 bar となっています。
4. 圧力調整システムで空気圧を 400 mbar に設定し、空気圧が設定値と合致しているか、計測値により定期的に確認してください。200 μm ノズルの場合は振動周波数を 1100 Hz に、300 μm ノズルの場合は 800 Hz に設定します。
5. 流量調整弁のノブを反時計回りに回して開き、圧力ビンのアルギン酸塩溶液がシリコンチューブを通じて滴下ノズルから一定の連続した水流状態で送出される状態にします。ストロボライトで照らされた水流を観察しながら、一定間隔の液滴が連続するような状態になるように、流量や周波数を調整します。ノズル下 3 ~ 5 mm の地点から連続水流が一定間隔の液滴に分断し、それが数 cm に渡って確認できる状態が理想的です。このときの設定を再現するために、流量調整弁の位置を記録しておいてください。
6. 液滴の連鎖が不安定になるまで振動周波数を大きくします。その後、空気圧を少しずつ大きくするかまたは流量調整弁を少しずつ開いて液体流量を増やし、液滴の連鎖を元の状態に戻します。次にこの逆の操作として、流量を減らした後、連鎖が元の状態に戻るよう振動周波数を小さくしていきます。この操作を繰り返し行い、2 つの設定の相関関係を熟知しておくのが良いでしょう。数値は表 6-5 に記録できます。

注記

空気圧設定値は 100 ~ 800 mbar の間であれば通常、圧力ビンから液を送出するのには十分です。使用圧力が 1000 mbar を超える状況は避けてください。1000 mbar を超える場合には以下の問題が生じている可能性があります。

- ・ ノズルかフィルターが詰まっている
 - ・ ポリマー混合液の粘度が高すぎる
 - ・ 使用しているポリマー混合液に対してノズル径が小さすぎる
7. 静電分散ユニットを 500 V で作動させます。電圧を 100 V ずつ大きくしていき、電極を通過して 3 ~ 10 cm ほどでカプセル球の流れが円錐形に分散する状態にします。この分散が電極の下方 5 cm で生じれば理想的です。

注記

円形分散が強力であるほどカプセル球の均一性が向上します。これには静電電圧の強さだけでなく、液体流量と振動周波数も関係してきます。個々の液滴がノズルと電極終から発生した静電場において噴射液から分離するのが理想的です。

- 左右対称で安定した円形分散が得られたら、液滴の落下はその状態のままで重合反応液の入ったビーカーに液滴が入るように、ビーカーの蓋を取り除くか代わりに受けていたビーカーと重合反応液のビーカーを入れ替えて、カプセル球を約 1 分間収集します。カプセル球が蓄積する間に、表 6-5 のプロセスパラメータを記録しておいてください。カプセル球を約 1 分間収集したら、重合反応液の入ったビーカーに蓋をするか、またはビーカーを取り替えた後、静電電圧、空気圧制御、および振動制御をオフにしてカプセル球の作成を終了します。

注記

毎回の使用後には直ちにノズルを蒸留水で完全に洗浄し、乾燥したポリマー混合液によるノズルの詰まりや部分閉塞を防ぐようにしてください。

- カプセル球を顕微鏡で観察し、粒径、均一性、形状を表 6-6 に記録してください。
- プロセスパラメータを変えるたびに、この作業を繰り返してください。

表 6-6 : カプセル化装置試運転ワークシート (圧力ビン使用)

ノズル径 [μm]					
アルギン酸塩濃度 [%]					
流量調整弁位置					
振動周波数 [Hz]					
振幅					
およそのカプセル球径 [μm]					
均一性 [%]					
コメント					

注記

粒径 500 μm 未満の小さなカプセル球を作成する際、球ではなく卵形に近いものができる場合があります。これは主に重合反応液の表面張力によって起こります。カプセル球が重合反応液に入る瞬間が非常に重要となります。重合反応液の表面張力が高いとカプセル球の一部が液表面から押し返され、元の丸い形に回復する前に重合が始まってしまいます。この問題は少量の界面活性剤 (Tween 20 など) を重合反応液に添加することで解消します。

- 振動周波数とポンプ流量は変えずに、静電機能オン/オフ 2 とおりの条件でカプセル球の作成収集を行い、静電電圧の影響を比較してください。

6.10 反応槽一式を使用したカプセル化装置の操作演習

アルギン酸カルシウムによるカプセル球作成制御が十分に行えるようになったら、反応槽一式による無菌作業を想定した試運転を行います。ただし、ここでは非滅菌アルギン酸塩溶液を使用します。オートクレーブ済みの反応槽に部品の取り付け忘れや組み立て間違いなどの問題が発生した場合、無菌状態を損なわずにこれを修正することはほぼ不可能で、これが無菌作業の実現を余計に難しくしています。このため、滅菌処理を行う前に、反応槽の準備を適切に行うことが重要になってきます。反応槽の組み立てと滅菌処理については5章の記述に従ってください。何か変更を加えた場合には、手順書に別途記録してください。

1. 必要なカプセル化試薬をすべて用意します（例えば動物細胞のカプセル化については、6.14 項を参照してください）。

ここでは： 60 mL 1.5% アルギン酸塩溶液
500 mL 100 mM 塩化カルシウム（重合反応液）
600 mL 0.9% 塩化ナトリウム + 10 mM 塩化カルシウム（洗浄液）

圧力ビンを組み立てます。

2. オートクレーブ済みの反応槽を用意し、カプセル化装置 B-395 Pro 本体に取り付けます。
反応槽ベースプレートの排液ポートのシリコンチューブがクランプにより閉じられていることを確認してください。また、反応槽カプセル収集弁の方も閉じた状態になっていることと、攪拌子とマグネットスターラーが正しく設置されていることも確認してください。

- 静電分散ユニットと反応槽を赤色の配線で接続します。
- カプセル球バイパス装置の回収カップをノズルの下に移動します。

3. 塩化カルシウム溶液（重合反応液）を圧力ビンに注いでおきます。反応槽上部の液体メンブレンフィルターと圧力ビンをシリコンチューブで接続してください。

塩化カルシウム溶液を入れた圧力ビンとカプセル化装置 B-395 Pro 本体の空気取出口を接続してください。カプセル化装置 B-395 Pro 本体の電源を入れます。空気圧は 0.3 ~ 0.7 bar（4 ~ 10 psi）に設定します。必要な量の塩化カルシウム溶液が圧力ビンから反応槽に送液されたら、空気圧を開放して送液を終了させてください。

注記

重合反応液（塩化カルシウム溶液）の量はポリマー混合液の 8 ~ 10 倍としてください。重合反応液は最低でも反応槽の 2 cm の深さまで入れてください（少なくとも 200 mL）。

4. 振動周波数および静電電圧、また電動プランジャーを使用する場合には送液流量を、それぞれ事前に決めたとおりの適切な値に設定します。マグネチックスターラーの速度を、攪拌渦がかすかに視認できる程度に調整します。
5. 60 mL のシリンジにアルギン酸塩／サンプル溶液を充填し、装置に設置します。振動制御システムを起動して、振動周波数を 6-9 項で決めておいた値に設定します。電動プランジャーを起動して、送液速度を所定の値に設定してください。「turbo」ボタンを押して液体が持続的に噴射される状態にします。静電分散ユニットを起動します。必要に応じて送液速度や振動周波数を調整し、回収カップへ落下する液滴の連鎖が正しく形成されるようにします。

6. 液滴の連鎖が安定したら直ちに回収カップを噴射液の流路からどけて、重合反応液に滴下させます。カプセル球の流れが電極の 3 ~ 10 cm 下方で分散するようにしてください。この分散が電極の下方およそ 5 cm で生じれば理想的です。そのためには静電電圧の調整が必要です。振動周波数と送液速度の微調整も必要となる可能性があります。
7. プロセスパラメータを正確に記録してください。設定を確かめるために、ストロボランプの照射を利用して実際にカプセル球が生成される状況を確認してください。
8. シリンジ内の液が全量送出される少し前に、バイパス装置の回収カップをカプセル球の流路へ再び移動させます。こうすることで作成プロセスの終わりに形成される大粒の液滴の混入を防ぎ、収集されるカプセル球の均一性を保つことができます。電動プランジャーを停止します。静電分散ユニットと振動制御システムを停止します。または「home」ボタンを押して電動プランジャーのアームを原位置へ戻します。この操作を行うと、同時に静電分散ユニットと振動も停止します。
9. カプセル球が硬化するのを 5 分間待ちます。
10. 反応槽から硬化液を排出するために、排液クランプをゆっくりと開き、1 ~ 2 分かけて 500 mL を排出します。液が 4 分の 3 程度排出されたところでマグネチックスターラーを停止します。液が底に溜まったカプセル球の高さまで減ったら、直ちに排液クランプを閉じます。

注記

塊化を防ぐため、常にカプセル球が溶液に浸っている状態にしてください。

11. 圧力ビンに 400 mL の洗浄液を入れ、反応槽に圧送します。カプセル球が損傷しないよう、攪拌子が液中に没するのを待ってから、すぐにマグネチックスターラーを起動します。カプセル球を 5 分間洗浄した後、上記（10 項）と同じように排液を行います。
12. 残りの洗浄液 200 mL を反応槽へ注入します。マグネチックスターラーを起動してカプセル球を再び浮遊させます。
13. カプセル球収集弁を開き、カプセル球を収集フラスコに集めます。反応槽にカプセル球が残っている場合は、カプセル球収集フラスコを反応槽の液面より高い位置に持ち上げて、フラスコから反応槽へ液体を逆流させます。残っているカプセル球を反応槽に戻した液体で再び浮遊させてから、収集フラスコを反応槽より低い位置に下げて液体をフラスコに戻します。
14. 反応槽とカプセル球収集フラスコを繋ぐシリコンチューブをクランプで閉じます。カプセル球収集フラスコを反応槽から取り外し、顕微鏡でカプセル球の品質を確認します。
15. カプセル球作成プロセスの完了後、直ちにシリンジに蒸留水を充填して滴下ノズルに接続してください。ポリマーが乾燥して滴下システムを詰まらせ、メンテナンス上の問題を引き起こすことのないよう、ノズルのすすぎ洗いを行ってください。各種注入／排出ポートを含め、反応槽を完全に洗浄してください。

6.11 反応槽の加熱滅菌

1. 5.4 項の記載に従って反応槽を準備します。
2. 反応槽に 2 ～ 5 mL の水を加えます。
3. 以下の項目の接続または準備が正しく行われていることを確認してください。
 - ・ 適切なノズル径が選択されている
 - ・ 電極がノズルの下の所定の位置に設置されている
 - ・ ルアーロックの差し込み部が滴下ノズルに接続されている
 - ・ エアフィルター、液体フィルターが取り付けられている
 - ・ 反応槽にマグネチックスターラーの攪拌子が入っている
 - ・ カプセル球収集フラスコが取り付けられている
 - ・ 反応槽からカプセル球収集フラスコの間の経路が開いている（カプセル球排出弁が開いている）
 - ・ 排液チューブがクランプで閉じられている
 - ・ 滴下ノズルのルアーロックがストッパーで塞がれている
4. 組み立てた反応槽をオートクレーブ装置に入れ、121° C で 20 分、または所定の手順に従って蒸気滅菌を行います。
5. オートクレーブ処理後は、エアフィルターで水の凝結が起こるのを防ぐため、反応槽を熱いうちにできるだけ早くオートクレーブ装置から出します。これは、エアフィルターが完全に湿ってしまうと空気を通さなくなり、反応槽内部に負圧が生じて槽からの排液がうまく行われなくなるためです。エアフィルターの状態を調べるには、60 mL のシリンジをフィルターに接続します。シリンジのピストンを前後に動かしたときに、わずかな抵抗が感じられる程度であれば正常です。
6. 必ず反応槽が室温まで冷めるのを待ってから、カプセル球収集弁を閉じてください。

6.12 圧力ビンの滅菌

1. 圧力ビンを組み立て、ルアーロックをストッパーで塞ぎます。
2. 圧力ビンに 1 ～ 2 mL の水を加えます。組み立てた圧力ビンをオートクレーブ装置に入れ、121° C で 20 分、または所定の手順に従って蒸気滅菌を行います。

6.13 アルギン酸カルシウムビーズへの微生物の固定化を目的としたカプセル化手順

本項では、アルギン酸カルシウムのカプセル球の中に微生物を固定化するためのシンプルかつ定評のある方法について記載しています。これらのカプセル球の安定性は、使用するアルギン酸塩のタイプだけではなく、カプセル化後の培養条件によっても変わってきます。硬化液中のカルシウムイオンが液滴中のナトリウムイオンに置き換わることで、硬化したアルギン酸塩カプセル球ができます（これは可逆的反応です）。また、培養基にはカプセル球を徐々に分解する成分を含むものもあります。さらに耐性の高いカプセル球を作成する必要がある場合は、カルシウムイオンをバリウムイオンに置き換えることもできます。バリウムイオンはカルシウムイオンよりもアルギン酸塩との親和性が高く、さらに安定性の高いアルギン酸バリウムのカプセル球を得ることができます。

アルギン酸塩溶液の滅菌処理にはメンブレンフィルター（0.2 μm ）による濾過滅菌が最善です。加熱滅菌ではアルギン酸塩の部分的な分解が起きやすく、粘度や重合能力に予期せぬ変化をもたらします。

動物細胞のカプセル化を行う場合は、別の手順を使用することをお勧めします。これはアルギン酸カルシウムの3次元構造が、細胞分裂の際に新たな細胞膜の形成を妨げてしまうためです。細胞分裂させる場合に適したアルギン酸塩-PLLカプセルの作成手順を6-14項に記載しています。

1. 6-10項の記載に従って、必要な器材をすべて用意します。（反応槽、圧力ビン、60 mL シリンジ、メスシリンダーなど。）反応槽にはオートクレーブ処理を行います。
2. 必要なカプセル化試薬をすべて用意します。

ここでは： 50 mL 1.5% 低粘度アルギン酸溶液（濾過滅菌済み）
 500 mL 100 mM 塩化カルシウム（非滅菌、重合反応液）
 600 mL 0.9% 塩化ナトリウム + 10 mM 塩化カルシウム（非滅菌、洗浄液）

3. カプセル化装置 B-395 Pro 本体の電源を入れます。振動周波数、静電電圧および送液流量を、それぞれ事前に決めたとおりの適切な値に設定します。
4. 重合反応液 500 mL を圧力ビンに注ぎ、蓋を締めます。反応槽上部の液体メンブレンフィルターと圧力ビンをシリコンチューブで接続してください。重合反応液を反応槽へ送出します。
5. シリコンチューブをメンブレンフィルターから取り外し、反応槽を無菌のバイオクリーンベンチに入れます。
6. 高濃度微生物懸濁液を 10 mL 用意します。懸濁液は 2 価および 3 価のカチオン（カルシウム、マグネシウム、アルミニウム、鉄）を含まないか、または濃度が非常に低いものを使用し、アルギン酸塩との重合反応が先に起きてしまわないようにしてください。また微生物の濃度を選定する際は、最終的に生成されるポリマー混合物における細胞濃度が 10^{10} 個/mL 未満（動物細胞で 10^7 個/mL 未満）となるようにしてください。微生物懸濁液 10 mL と 1.5% 滅菌アルギン酸塩溶液 50 mL を、気泡を極力生じないように静かに混合してください。
7. 60 mL 滅菌シリンジに、カプセル化する物質（細胞）とポリマーとの混合液を無菌状態で充填します。シリンジを滴下ノズルに接続します。反応槽を（取り付けしたシリンジとともに）カプセル化装置 B-395 Pro 本体に接続します。電動プランジャー装置のアームがシリンジのプランジャーに接する状態まで作動させます。マグネチックスターラーを起動し、攪拌渦がかすかに視認できる程度に調整します。振動と電動プランジャーを起動してください。滴下が開始する際は、「turbo」ボタンを押して送液量を一時的に増加させ、液体が持続的に噴射される状態にしてから再び「turbo」ボタンを押して送液量を設定値とおりにします。静電分散ユニットを起動します。必要に応じて送液速度や振動周波数を変更し、回収カップへ落下する液滴の連鎖が正しく形成されるようにします。

8. 液滴の連鎖が安定したら直ちに回収カップを噴射液の流路からどけて、カプセル球作成プロセスの実行を開始します。カプセル球の流れが電極の下方 3 ~ 10 cm で分散していることを確認してください。この分散が電極の下方およそ 5 cm で生じれば理想的です。この状態になるように、静電電圧を調整してください。
9. カプセル球作成の監視中、プロセスパラメータを正確に記録してください。
10. シリンジ内の液が全量送出される少し前に、回収カップをカプセル球の流路へ再び移動させます。電動プランジャーを停止します。静電分散ユニットと振動制御システムを停止します。
11. カプセル球が硬化するのを 5 分間待ちます。
12. 反応槽から硬化液を排出するために、排液クランプをゆっくりと開き、1 ~ 2 分かけて 500 mL を排出します。液が 4 分の 3 程度排出されたところでマグネチックスターラーを停止します。液が底に溜まったカプセル球の高さまで減ったら、直ちに排液クランプを閉じます。

注記

塊化を防ぐため、常にカプセル球が溶液に浸っている状態にしてください。

13. 圧力ビンに洗浄液 400 mL を充填し、反応槽へ送り込みます。カプセル球が損傷しないよう、攪拌子が液中に没するのを待ってから、すぐにマグネチックスターラーを起動します。カプセル球を 5 分間洗浄した後、上記（12 項）と同じように排液を行います。
14. 残りの洗浄液 200 mL を反応槽へ送出します。マグネチックスターラーを起動してカプセル球を再び浮遊させます。
15. カプセル球収集弁を開き、カプセル球を収集フラスコに集めます。
16. 反応槽とカプセル球収集フラスコを繋ぐシリコンチューブをクランプで閉じます。カプセル球収集フラスコを反応槽から取り外し、顕微鏡でカプセル球の品質を確認します。
17. カプセル球作成プロセスの完了後、直ちにシリンジに蒸留水を充填して滴下ノズルに接続してください。ポリマーが乾燥して滴下システムを詰まらせ、メンテナンス上の問題を引き起こすことのないよう、ノズルのすすぎ洗いを行ってください。反応槽を洗浄します。

6.14 アルギン酸塩 – ポリリジン – アルギン酸塩被膜によるカプセル化手順

アルギン酸塩 – ポリリジン – アルギン酸塩被膜は、Lim、Sun 両氏による報告¹を初出とする、定評のある動物細胞のカプセル化システムです。以下に示す手順は十分に検証されています。

必要な薬液

1. 1.5% アルギン酸塩溶液 低粘度アルギン酸塩を 1.5% 含む MOPS 洗浄緩衝液
pH を 7.0 (25 ° C) に調整
0.2 µm フィルターにて滅菌濾過
2. 重合反応液： 10 mM MOPS (モルホリノプロパンスルホン酸)
100 mM 塩化カルシウム
pH = 7.2 (25 ° C にて)
3. PLL 溶液： 分子量 15000 ~ 30000 のポリ-L-リジンを 0.05% 含む
MOPS 洗浄緩衝液
4. MOPS 洗浄緩衝液： 10 mM MOPS (モルホリノプロパンスルホン酸)
0.85% 塩化ナトリウム
pH = 7.2 (25 ° C にて)
5. 0.03% アルギン酸塩溶液： 1.5% アルギン酸塩溶液 2 mL
+ MOPS 洗浄緩衝液 98 mL
6. 解重合反応液： 50 mM クエン酸ナトリウム
0.45% 塩化ナトリウム
10 mM MOPS
pH = 7.2 (25 ° C にて)

12 mL のポリマー・カプセル化物質混合液のカプセル化作業 1 回に必要な溶液分量

- ・ 12 mL 1.5% アルギン酸塩溶液 (濾過滅菌済み)
- ・ 100 mL 0.03% アルギン酸塩溶液 (非滅菌)
- ・ 225 mL 重合反応液 (非滅菌)
- ・ 75 mL PLL 溶液 (非滅菌)
- ・ 900 mL MOPS 洗浄緩衝液 (非滅菌)
- ・ 200 mL 解重合反応液 (非滅菌)

¹Lim F. and Sun A.M. 1980. Microencapsulated Islets as Bioartificial Pancreas. Science 210: p.908-910.

手順

1. 反応槽を用意し、6.10 項および 6.11 項の記載に従ってオートクレーブ処理を行ってください。
2. すべての薬液および器具を用意します。
3. オートクレーブ済み反応槽に重合反応液 225 mL を注入します。
4. 約 6×10^6 個分（または必要数）の細胞を有する培養細胞を遠心処理し、ペレットを滅菌 MOPS 洗浄緩衝液 2 mL で再浮遊させ、1.5% アルギン酸ナトリウム溶液と混合します。混合中に気泡が極力入らないよう、慎重に作業を行ってください。
5. 20 mL シリンジに細胞 - アルギン酸塩懸濁液を充填し、クリーンベンチ内の反応槽に取り付けます。
6. 反応槽をベンチ上に置かれたカプセル化装置 B-395 Pro 本体に固定します。
7. 予め決めておいたパラメータを使用して、カプセル球の作成を開始します。
8. カプセル球が硬化するのを 5 分間待ち、その後マグネチックスターラーを停止して重合反応液を排出します。

注記

塊化を防ぐため、作成・加工したカプセル球が必ず液体に浸っている状態にしてください。塊化してしまうとカプセル球を再浮遊させることが難しくなり、カプセル膜が傷つく恐れがあります。

9. 0.05%PLL 溶液 75 mL を注入し、PLL-アルギン酸塩被膜が形成されるまで 10 分間待ちます。
10. 0.05%PLL 溶液を排出します。
11. MOPS 洗浄緩衝液 150 mL を注入し、1 分間攪拌してから排液します。
12. MOPS 洗浄緩衝液 150 mL を新たに注入し、5 分間攪拌してから排液します。
13. 0.03% アルギン酸塩溶液 100 mL を注入して 5 分間攪拌し、アルギン酸塩の被膜がカプセル外側に形成されるのを待ってアルギン酸塩溶液を排出します。
14. MOPS 洗浄緩衝液 150 mL を注入し、1 分間攪拌してから緩衝液を排出します。
15. 解重合反応液 150 mL を注入し、約 10 分間攪拌してカプセル球の中核部のアルギン酸塩を溶解させます。アルギン酸塩の分子量と純度、および解重合反応液に対するカプセル化物質の感受性によって、適切な溶解時間は異なります。
16. 解重合反応液を排出します。
17. MOPS 洗浄緩衝液 150 mL を注入し、カプセルを浮遊させた後、カプセル球収集フラスコへ移動させます。
18. カプセルを培養基に移し、培養します。

注記

カプセル内部に溶解している残存のアルギン酸塩は徐々に拡散します。使用したアルギン酸塩およびカプセル膜厚によっては、十分な量がカプセル外へ拡散するまでに最長で 2 時間かかる可能性もあります。カプセル中核部の物質を最大限放散させるためには、以下のことを試してください。

- ・ 抽出時間を長くし、MOPS 液、または 2 価イオンを含まない培養基に入れておく。
- ・ カルシウムイオンの含有量が 50 mg/L 未満の培養基で細胞を培養する。
- ・ 1 価イオン (Na^+ 、 K^+) の 2 価イオン (Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) に対する割合が 20 : 1 ~ 50 : 1 の培養基で細胞を培養する。

細胞に関する特記推奨事項

分裂細胞の場合 - カプセル球の内部のアルギン酸塩はゲル化させずに溶解した状態にします。培養基の Na/Ca 比を 20 : 1 より大きな値で維持することで、コアの再固化を防げます。

静止細胞の場合 - コアのアルギン酸塩がゲル化した状態のままで構いません。カルシウムイオン (Ca^{2+}) より強力なゲル化をもたらすバリウムイオン (Ba^{2+}) を用いることも可能です。アルギン酸バリウムは非常に安定性が高く、50 mM クエン酸塩溶液による溶解にも数日間耐えることができます。

参 考 文 献 : Gröhn P. et al. 1994. Large-scale production of Ba^{2+} alginate-coated islets of Langerhans for immunoisolation. Exp. Clin. Endocrinol. 102: p.380-387.

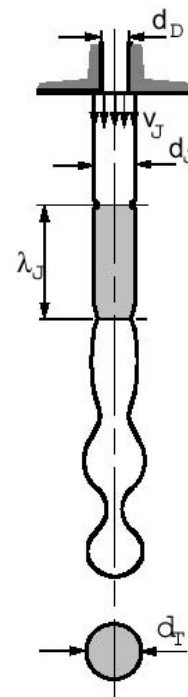
6.15 理論的背景

数式1:
$$f = \frac{v}{\lambda} [\text{Hz}]$$

層状の噴射流に周波数 f で脈動を与えて落下させると、均一なサイズの液滴が形成されます¹。液流からのカプセル球の分離に最適な波長 λ_{opt} は、ウェーバー²によると、以下の式から求めることができます。

数式2:
$$\lambda_{\text{opt}} = \pi \sqrt{2} D \cdot \sqrt{1 + \frac{3\eta}{\sqrt{\rho\sigma D}}} [m]$$

ここで D = ノズル径
 η = 動的粘度 [Pa s]
 ρ = 密度 [kg/m³]
 (アルギン酸塩溶液で約 1000 kg/m³)
 σ = 表面張力 [N/m]
 (アルギン酸塩溶液で約 55×10^{-3} N/m)



λ_{opt} は、与えられたノズル径およびカプセル化混合液粘度においてカプセル球の形成に最良となる最適波長を表します。 λ_{opt} を 30% 増減しても良好なカプセル球が得られます。

液滴の粒径 = d [m] は、流量 = V' [m³/s] と振動周波数 f を使って以下のように求めることができます。

数式3:
$$d = \sqrt[3]{\frac{6V'}{\pi f}} [m]$$

噴射速度 = v [m/s] およびノズル径 = D [m] は流量 (V') と次のような相関関係にあります。

数式4:
$$V' = \frac{\pi v D^2}{4} [m^3/s]$$

数式 4 により求めた、噴射速度とノズル径に対する流量の依存度を図 6-5 に示します。液体を層流とする必要があるため、噴射速度の有効範囲は通常 1.5 ~ 2.5 m/s となります。この数字は液の粘度とノズル径によって左右されます。

¹Lord Rayleigh 1878.Proc. London Math. Soc. 10:4.

²Weber C. 1936. Zeitschrift für angewandte Mathematik und Mechanik. 11:136.

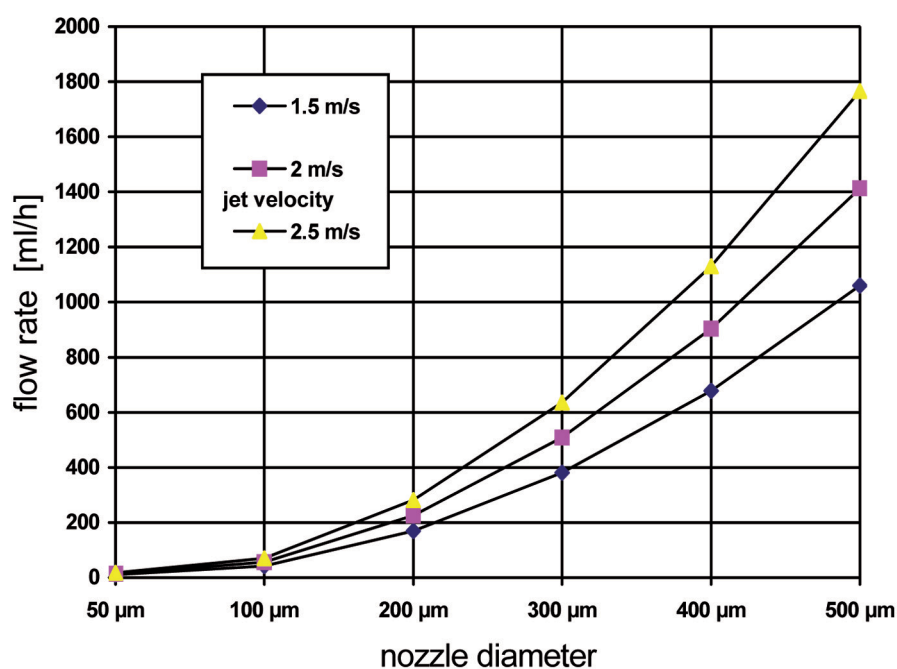


図 6-5：液体噴射速度とノズル径が流量に与える影響、数式 4 により算出

数式 4 により求めた、振動周波数とカプセル球粒径の相関関係を、5 とおりの流量別に図 6-6 に示します。流量が少ないと、つまりポンプ送出量が少ないと、粒径は小さくなります。振動周波数が大きくなると、やはり作成されるカプセル球は小さくなります。

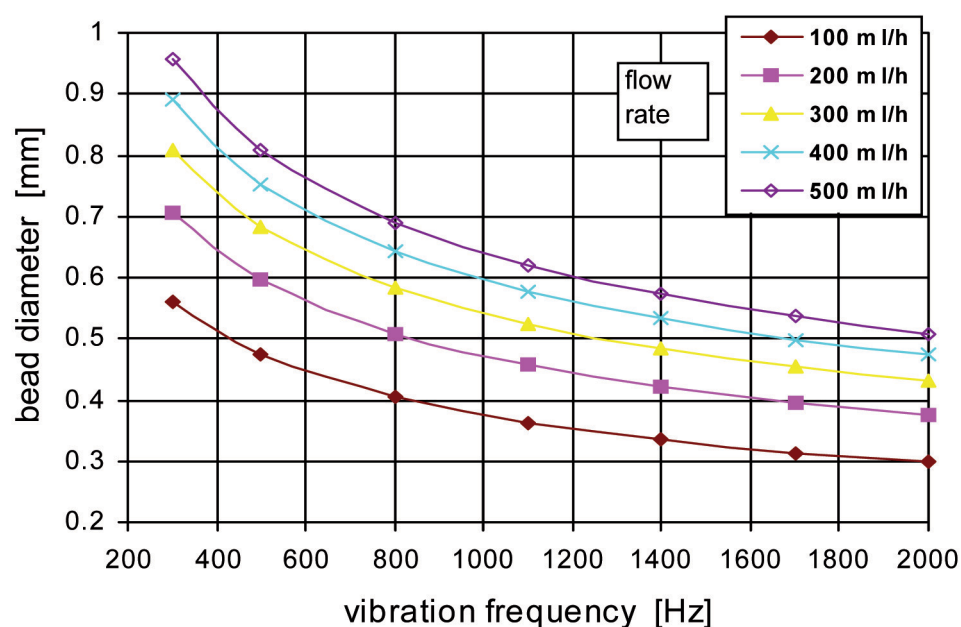


図 6-6：振動周波数と流量が粒径に与える影響、数式 4 により算出

表 6-7：アルギン酸塩溶液を用いて求めたカプセル化装置の最適作業条件

ノズル径 [μm]	流量* [mL/min]	振動周波数**	振幅	空気圧 [bar]
1.0 mm	30 ~ 40	40 ~ 220 Hz	2 ~ 6	0.3 ~ 0.6
750 μm	19 ~ 25	40 ~ 300 Hz	2 ~ 5	0.3 ~ 0.5
450 μm	9 ~ 14	150 ~ 450 Hz	2 ~ 5	0.3 ~ 0.5
300 μm	5.5 ~ 7	400 ~ 800 Hz	1 ~ 3	0.3 ~ 0.5
200 μm	3.5 ~ 4.5	600 ~ 1200 Hz	1 ~ 3	0.4 ~ 0.6
150 μm	2.3 ~ 2.8	800 ~ 1800 Hz	1 ~ 3	0.4 ~ 0.6
120 μm	1.5 ~ 1.8	1000 ~ 2500 Hz	1 ~ 4	0.5 ~ 0.7
80 μm	1.1 ~ 1.3	1300 ~ 3000 Hz	1 ~ 4	0.5 ~ 0.7

* 本テストでは、750 μm および 1.0 mm のノズルには 2% 低粘度アルギン酸塩溶液を、150 ~ 500 μm のノズルには 1.5%、80 および 120 μm のノズルには 1.2% の同溶液をそれぞれ使用しました。

** 電極からの設定電圧が低い場合は、上限値は低くなります。

注記

このテストと異なる粘度の溶液を使用する場合、次のことに留意してください。

- ・ 粘度が高くなると、最低噴射速度も高くなります。
- ・ 粘度が高くなると、作業流量が大きくなります。
- ・ 粘度が高くなると、最適振動周波数は小さくなります。
- ・ 粘度が高くなると、カプセル球の粒径は大きくなります。

6.15.1 カプセル球作成の生産性と細胞密度

図 6-7 および 6-8 は、1 mL のカプセル化液から作成できるカプセル球の数を示しています。粒径 0.4 mm のカプセル球であれば 30000 粒作成できますが、粒径 1 mm の場合はわずか 2000 粒となります。

図 6-9 と 6-10 は、所定の細胞密度と粒径において、1 粒のカプセル球に封入される細胞の数を示します。これらの数字を参照して、ポリマー混合液中の細胞密度を決定します。例えば、ポリマー混合液 1 mL に含まれる細胞の数が 1×10^6 個であれば、粒径 0.4 mm のカプセル球 1 粒に平均で約 33 個、1 mm のカプセル球には約 520 個の細胞が封入されることになります。

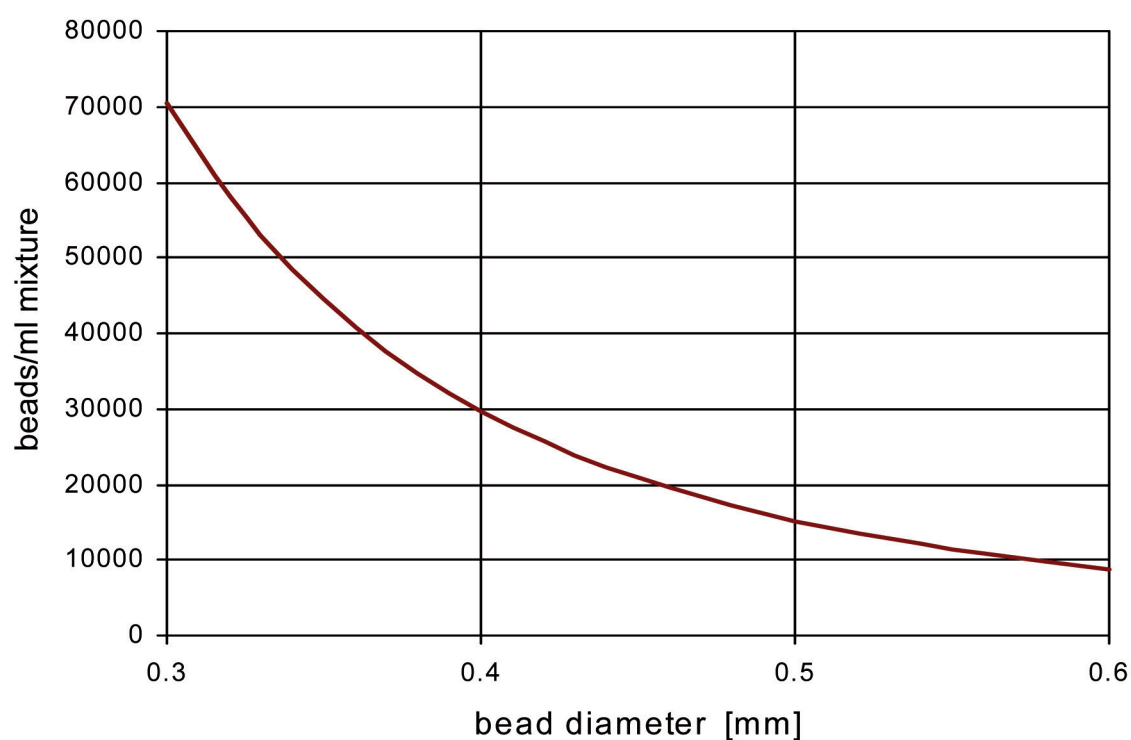


図 6-7：ポリマー混合液 1 mL から作成される粒径 0.3 ～ 0.6 mm のカプセル球の数量

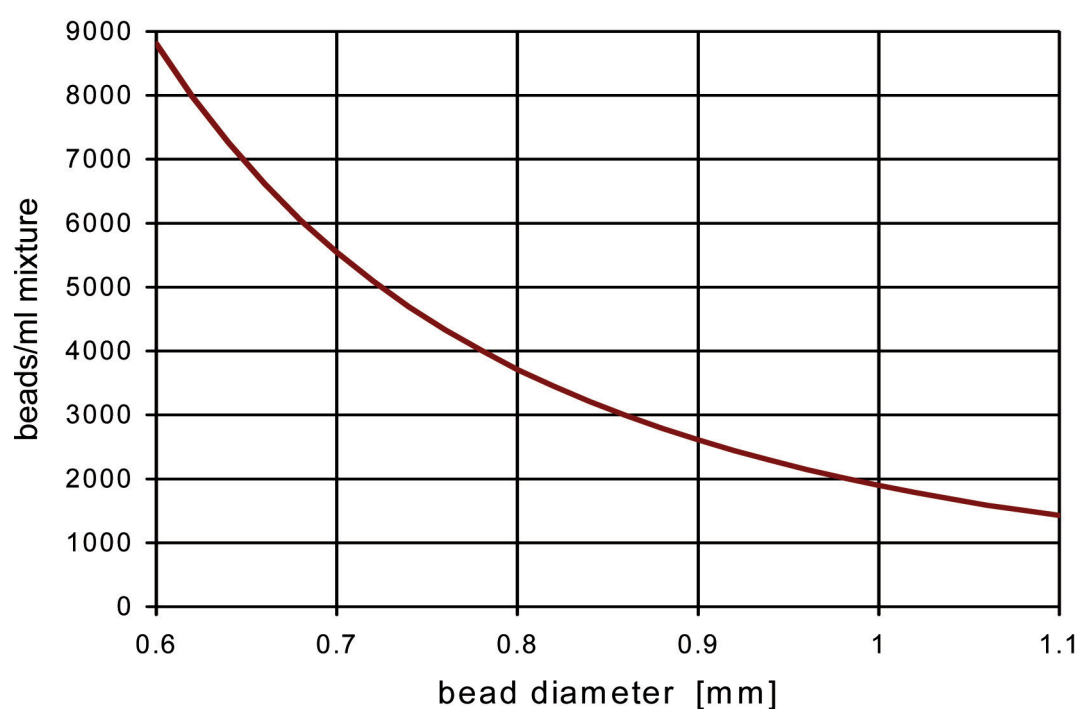


図 6-8：ポリマー混合液 1 mL から作成される粒径 0.6 ～ 1.1 mm のカプセル球の数

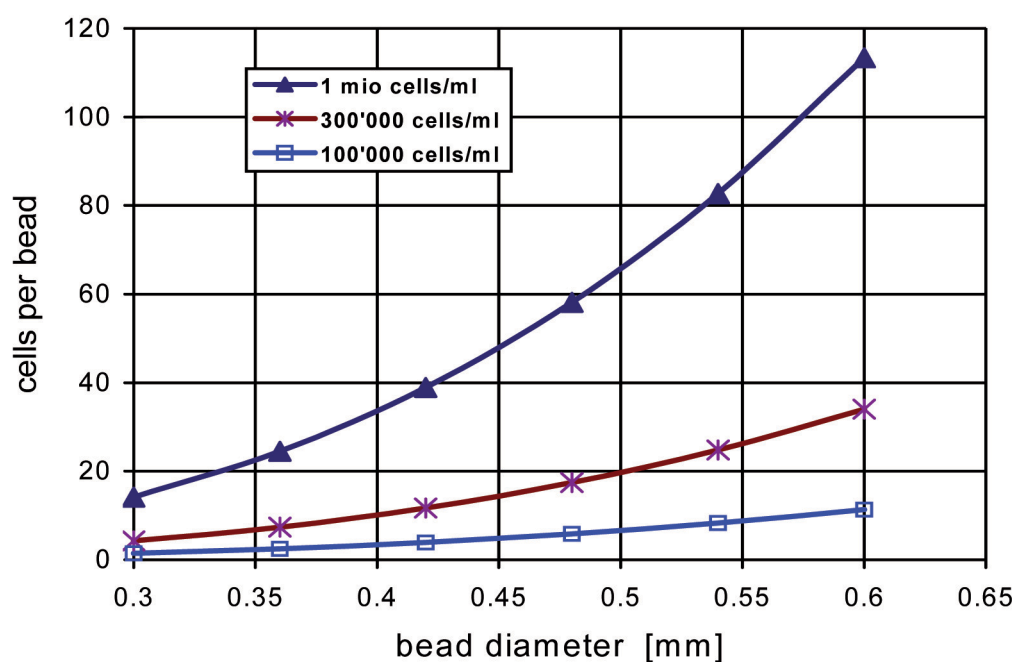


図 6-9: 粒径 0.3 ～ 0.6 mm のカプセル球 1 粒あたりに封入される細胞の数（液中細胞密度別）

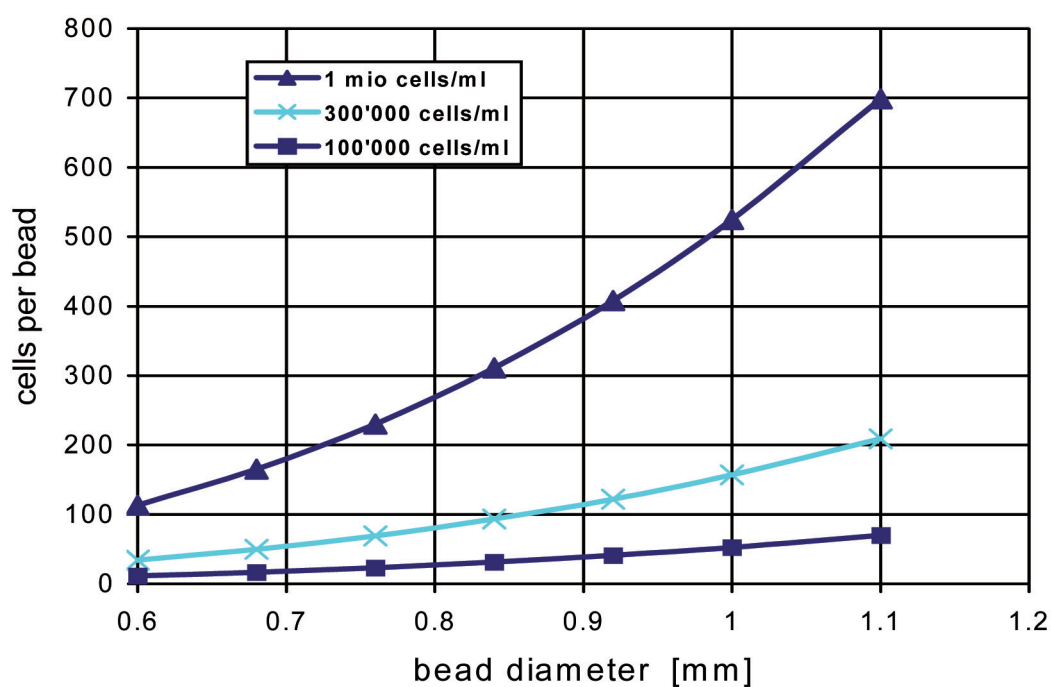


図 6-10: 粒径 0.6 ～ 1.1 mm のカプセル球 1 粒あたりに封入される細胞の数（液中細胞密度別）

7 メンテナンスと修理

本章では、本機を常に良好かつ安全な状態に保つためのメンテナンスについて説明します。装置のハウジングを開ける、または取り外す必要のあるメンテナンスや修理は、訓練を受けた担当者が専用工具を用いて行わなければなりません。

注記

本機の保証と継続的な装置性能を維持するため、メンテナンスや修理には、指定消耗品や純正スペアパーツを使用してください。弊社カスタマーサービスへ書面による事前の同意がない限り、カプセル化装置 B-395 Pro またはその部品を改造しないでください。

7.1 カスタマーサービス

権限を与えられたサービス要員のみが装置の修理作業を実施できます。この権限は、総合的な技術トレーニングを受け、作業中に発生し得る危険性について理解していることが条件となります。このようなトレーニングや知識を提供できるのはビュッヒ社のみです。

ご使用中の装置の調子が悪い、技術的な質問がある、使用に際して問題がある、といった場合には、日本ビュッヒまでお問い合わせください (nihon@buchi.com)。

カスタマーサービスは、以下に関するサポートを行います。

- スペアパーツの供給
- 修理
- 技術的アドバイス

7.2 ハウジングの状態

ハウジングに目に見える損傷（スイッチ、プラグ、ヒビ含め）がないか確認し、定期的に湿った布で拭きます。本機の取り扱い、各種電気機器と同様に行うようにしてください。前面パネルはポリアミドシート仕上げのため、薄めた中性洗剤かアルコールで汚れを拭き取ってもかまいません。

7.3 シールの状態

シールに異常がないか定期的に確認することをお勧めします。ガスケット、O リング、およびシリコンチューブは一定の期間ごとに交換するようにしてください（年 1 回程度）。全ての部品を使用前に確認し、必要に応じて交換してください。

7.4 洗浄

	警告 ノズルが詰まると注入システム内部の圧力が高くなります。 注入システムが破裂する恐れがあります。 使用時に有害な溶剤に接触したり、あるいはこれを吸引すると、死亡または重篤な中毒症状を起こします。 ・ 使用後は直ちにノズルの洗浄を行ってください（次項参照）。
	実験用作業着を着用
	保護眼鏡を着用
	保護手袋を着用

7.4.1 カプセル化作業後のノズル洗浄

使用後は必ず、直ちにノズルの洗浄を行ってください。これはカプセル化媒体（アルギン酸塩など）が乾燥してシステムの詰まりを引き起こすのを防ぐために必要です。

1. ノズルは滴下ノズルに取り付けたままにします。
2. 20 mL または 60 mL のシリンジを滴下ノズルに接続し、蒸留水またはカプセル化ポリマー液の作成に使用した溶剤 20 ～ 60 mL を注入します。
3. 必要に応じてノズルを滴下ノズルから取り外し、脱イオン水または適切な溶剤ですすいしてから（図 7-1 参照）圧縮空気を吹き付けて乾かします。

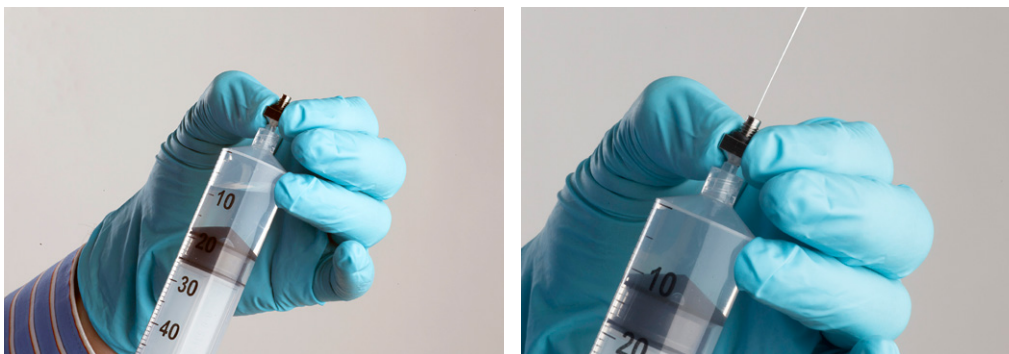


図 7-1：ノズルの洗浄手順

- 上方に空気、底に水が入った状態でシリンジを構えます。
- ノズルに空気を注入します（左図）。
- そのまま止めずに水を注入します（右図）。
- ノズル先端を実体顕微鏡で調べ、穴の中がきれいになっているか確認します。

注記

脂溶性のポリマー混合液を使用した場合、洗浄には適切な溶剤を用いてください。澱の生じるもととなりますので、アルギン酸塩に酸性溶液を使用しないでください。

7.4.2 ノズル詰まりの洗浄

ノズルを取り外します。図 7-1 のようにノズルに空気または水を通します。

ノズル先端に付着物がある場合、使用したカプセル化混合液に応じ、水、適切な溶剤、1N 水酸化ナトリウム溶液、または 1N 硫酸にノズルを入れ、定期的にかき混ぜながら室温下で 1 時間漬けておきます。このとき、塩酸は絶対に使用しないでください。ステンレス鋼のみで作られたノズルに対しては超音波処理も有効です。適切な保護具を着用してください。蒸留水ですすぎ、圧縮空気で乾かします。

ノズル先端を実体顕微鏡で調べ、穴の中がきれいになっているか確認します。

注記

脂溶性のポリマー混合液を使用した場合、洗浄には適切な溶剤を用いてください。澱の生じるもととなりますので、アルギン酸塩に酸性溶液を使用しないでください。

7.4.3 反応槽とその他容器の洗浄

反応槽を分解します。ただしマグネットホルダーは取り外さないようにしてください。

送液システムを分解します。

状況に応じ、薄めた中性洗剤、0.01N 水酸化ナトリウム溶液、または 0.01N 硫酸で、エアフィルターを除くすべての部品を洗浄してください。このとき、塩酸は絶対に使用しないでください。

蒸留水ですすぎ、圧縮空気で乾かします。

8 トラブルシューティング

8.1 装置の不具合とその対応策

操作中に生じるエラーとその原因の一覧を下表に示します。対応策としては、原因のパラメータを反対方向へ段階的に変更するか、または抜けている部分を直してください。

表 8-1：考えられる原因

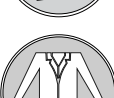
問題	考えられる原因
液体の流れが安定していない。	液体流量が小さすぎる。
	ノズルがきちんと洗浄されていない（よくある原因）。
	振動周波数が高すぎる。
	振幅が大きすぎる。
液滴の連鎖が安定しない。	振動周波数が高すぎる、または低すぎる。
	液体流量が大きすぎる、または小さすぎる。
	ノズルがきちんと洗浄されていない。
	振幅が大きすぎる、または小さすぎる。
カプセル球が均一な大きさにならない。	液体流量が大きすぎる。
	振動周波数が高すぎる。
	静電電圧が低すぎる。
	ポリマー混合液が非ニュートン液体であるため、押し出しや粒化が難しい。
カプセル球が分散しない。	電極がカプセル化装置 B-395 Pro 本体に接続されていない。
	電圧が低すぎる。
	電極が作動していない。
ストロボランプを照射してもカプセル球が視認できない。	振動ユニットが動作していない。
	振動ユニットが滴下ノズルの上に置かれていない。
	振動周波数が低すぎる、または高すぎる。
	ポリマー混合液の粘度が高すぎる。

9 シャットダウン、保管、輸送、廃棄

本章では本機のシャットダウンおよび保管の方法について解説します。また保管、輸送に関する仕様も列挙しています。

9.1 保管と輸送

装置の電源をオフにして、電源ケーブルを抜きます。カプセル化装置 B-395 Pro を分解するには、5 章の設置手順を逆順で実施してください。本機を梱包する前に、すべての液体、塵埃などの残存物を除去します。

     	 警告 有害物質に接触したり、あるいはこれを吸引すると、死亡または深刻な中毒症状を起こします。 ・ 保護眼鏡を着用してください。 ・ 保護手袋を着用してください。 ・ 実験用作業着を着用してください。 ・ 場合によっては有害となる可能性のある物質を除去するため、装置およびその付属品を十分に清掃してください。 ・ 汚れた部品の清掃には、圧縮空気を使用しないでください。 ・ 装置およびその付属品は元の箱に入れて、乾燥した場所で保管してください。
--	---

廃棄

環境に負荷をかけずに本装置を廃棄できるよう、3.3 項に使用材質リストを載せてあります。このリストは部品を正しく分別回収するのに役立ちます。

廃棄に関する現地の法規制を遵守してください。疑問のあるときは所管の公的機関にご相談ください。

注記

修理のために本機を弊社まで送られる場合、10.2 項に記載する安全衛生点検表をコピーして記入し、本機とともに送ってください。

10 適合宣言および要求条件

10.1 FCC 要求条件（米国およびカナダ用）

English:

This equipment has been tested and found to comply with the limits for a Class A digital device, pursuant to both Part 15 of the FCC Rules and the radio interference regulations of the Canadian Department of Communications. These limits are designed to provide reasonable protection against harmful interference when the equipment is operated in a commercial environment.

This equipment generates, uses and can radiate radio frequency energy and, if not installed and used in accordance with the instruction manual, may cause harmful interference to radio communications. Operation of this equipment in a residential area is likely to cause harmful interference in which case the user will be required to correct the interference at his own expense.

Français:

Cet appareil a été testé et s'est avéré conforme aux limites prévues pour les appareils numériques de classe A et à la partie 15 des réglementations FCC ainsi qu'à la réglementation des interférences radio du Canadian Department of Communications. Ces limites sont destinées à fournir une protection adéquate contre les interférences néfastes lorsque l'appareil est utilisé dans un environnement commercial.

Cet appareil génère, utilise et peut irradier une énergie à fréquence radioélectrique, il est en outre susceptible d'engendrer des interférences avec les communications radio, s'il n'est pas installé et utilisé conformément aux instructions du mode d'emploi. L'utilisation de cet appareil dans les zones résidentielles peut causer des interférences néfastes, auquel cas l'exploitant sera amené à prendre les dispositions utiles pour palier aux interférences à ses propres frais.

Health and Safety Clearance

Declaration concerning safety, potential hazards and safe disposal of waste.

For the safety and health of our staff, laws and regulations regarding the handling of dangerous goods, occupational health and safety regulations, safety at work laws and regulations regarding safe disposal of waste, e.g. chemical waste, chemical residue or solvent, require that this form must be duly completed and signed when equipment or defective parts were delivered to our premises.

Instruments or parts will not be accepted if this declaration is not present.

Equipment

Model:

Part/Instrument no.:

1.A Declaration for non dangerous goods

We assure that the returned equipment

- ☐ has not been used in the laboratory and is new
- ☐ was not in contact with toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or other dangerous matters.
- ☐ is free of contamination. The solvents or residues of pumped media have been drained.



1.B Declaration for dangerous goods

List of dangerous substances in contact with the equipment:

Chemical, substance	Danger classification

We assure for the returned equipment that

- ☐ all substances, toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or dangerous in any way which have pumped or been in contact with the equipment are listed above.
- ☐ the equipment has been cleaned, decontaminated, sterilized inside and outside and all inlet and outlet ports of the equipment have been sealed.

2. Final Declaration

We hereby declare that

- we know all about the substances which have been in contact with the equipment and all questions have been answered correctly
- we have taken all measures to prevent any potential risks with the delivered equipment.

Company name or stamp: _____

Place, date: _____

Name (print), job title (print): _____

Signature: _____

「販売代理店」

「

Quality in your hands

日本ビューヒ株式会社

本社
〒110-0008
東京都台東区池之端
2-7-17
IMONビル3F
Tel: 03-3821-4777
Fax: 03-3821-4555

アプリケーションラボ
〒113-0031
東京都文京区根津
1-1-19
根津宮本ビル6F
Tel: 03-5834-2227
Fax: 03-5834-2228

大阪営業所
〒532-0011
大阪府大阪市淀川区西中島
5-6-16
新大阪大日ビル4F
Tel: 06-6195-9241
Fax: 06-6195-9251

名古屋営業所
〒462-0810
愛知県名古屋市北区山田
1-7-23
ホワイトヴィラ1F 1A
Tel: 052-981-5001
Fax: 052-875-9171

nihon@buchi.com | www.buchi.com

We are represented by more than 100 distribution partners worldwide.
Find your local representative at: www.buchi.com