(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 10 月 1 日(01.10.2015)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2015/147086 A1

(51) 国際特許分類:
*C12M 1/00* (2006.01) *C12N 1/00* (2006.01)
*B01D 29/01* (2006.01) *C12N 5/09* (2010.01)
*B01D 35/02* (2006.01) *C12Q 1/06* (2006.01)
*B01D 35/30* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2015/059208

(22) 国際出願日: 2015 年 3 月 25 日(25.03.2015)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2014-066515 2014 年 3 月 27 日(27.03.2014) JP

(71) 出願人: 日立化成株式会社(HITACHI CHEMICAL COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒1006606 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 菊原　得仁(KIKUHARA Yoshihito); 〒1006606 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 日立化成株式会社内 Tokyo (JP). 小田切　大平(ODAGIRI Taihei); 〒1006606 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号　日立化成株式会社内 Tokyo (JP). 古田土　明夫(KOTATO Akio); 〒1006606 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号　日立化成株式会社内 Tokyo (JP). 金友　正文(KANETOMO Masafumi); 〒1680082 東京都杉並区久我山５－１１－３０ Tokyo (JP).

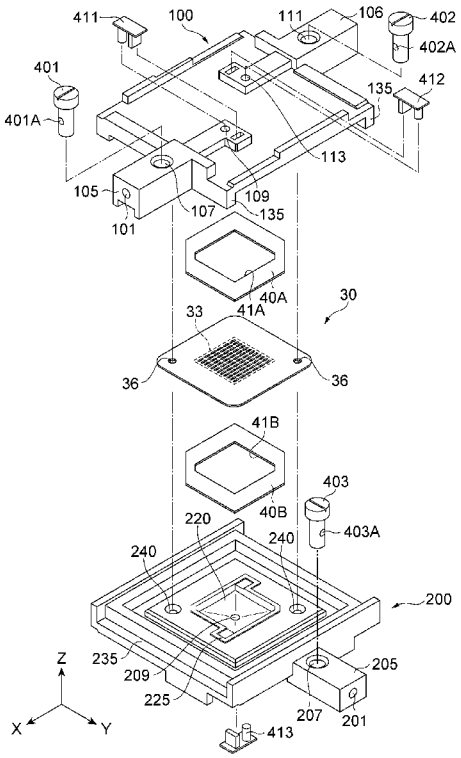
(74) 代理人: 長谷川　芳樹，外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目１番１号丸の内　ＭＹ　ＰＬＡＺＡ（明治安田生命ビル）　９階　創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH,

[続葉有]

(54) **Title**: CELL CAPTURE DEVICE, CELL CAPTURE FILTER, CELL CAPTURE APPARATUS, AND METHOD FOR MANUFACTURING CELL CAPTURE DEVICE

(54) 発明の名称 : 細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、細胞捕捉装置、及び細胞捕捉デバイスの製造方法




(57) **Abstract**: Through the present invention, cells in a test liquid can be captured and observed easily and with good precision. A cell capture filter (30) is fixed by a second protruding part (225) of a storage member (200) and a first protruding part (125) of a lid member (100) of a cell capture device (1), and a first fitting part (130) and a second fitting part (23) are fitted together. The cell capture filter (30) is thereby fixed between the lid member (100) and the storage member (200) in a state in which a filter region (33) of the cell capture filter (30) is surrounded by the annular first protruding part (125) and second protruding part (225).

(57) 要約:　被検液中の細胞の捕捉及び観察を簡便に且つ精度よく行う。　細胞捕捉デバイス１の蓋部材１００の第１の突出部１２５と収納部材２００の第２の突出部２２５とにより細胞捕捉フィルタ３０を固定し、第１の嵌合部１３０と第２の嵌合部２３０とを嵌合させる。これにより、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ領域３３が環状の第１の突出部１２５と第２の突出部２２５とによって囲まれた状態で細胞捕捉フィルタ３０が蓋部材１００と収納部材２００との間に固定される。

WO 2015/147086 A1

PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

**(84)** 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

# 明　細　書

## 発明の名称 ：

# 細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、細胞捕捉装置、及び細胞捕捉デバイスの製造方法

## 技術分野

[0001]　本発明は、細胞分散液中に含まれる細胞を捕捉する細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、この細胞捕捉デバイスを用いた細胞捕捉装置、及び、細胞捕捉デバイスの製造方法に関する。

## 背景技術

[0002]　癌は世界各国で死因の上位を占め、わが国においては年間３０万人以上が癌によって死亡しており、その早期発見及び治療が望まれている。癌による人の死亡は、癌の転移再発によるものがほとんどである。癌の転移再発は、癌細胞が原発巣から血管又はリンパ管を経由して、別臓器組織の血管壁に定着、浸潤して微小転移巣を形成することで起こる。このような血管又はリンパ管を通じての人の体内を循環する癌細胞は、血中循環癌細胞（Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ　Ｔｕｍｏｒ　Ｃｅｌｌ、以下、場合により「ＣＴＣ」という。）と呼ばれている。

[0003]　血液には赤血球、白血球及び血小板等の血球成分が多く含まれ、その個数は血液１ｍＬ中に３．５～９×１０$^{9}$個ともいわれている。これに対してＣＴＣは僅か数個程度しか存在しないため、血球成分の中からＣＴＣを効率的に検出するために血液をろ過する必要があり、この方法について種々検討されている。例えば、特許文献１には、血液をろ過するためのフィルタを挟み付け固定するためのリング部を設け、蓋部材の凸部はフランジの圧接面から収納部材の凹部側へ突出させる構成が示されている。また、特許文献２には、ニッケル基板に微細貫通孔を有するニッケル基板の上下に試料供給口を備えるポリジメチルシロキサン（ＰＤＭＳ）製上部部材と試料排出口を備える下部部材を備えるマイクロ流体デバイスが開示されている。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0004] 特許文献1：特許４５３１３１０号公報

特許文献2：特開２０１１－１６３８３０号公報

## 発明の概要

## 発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、特許文献１に記載のフィルタを組み込んだデバイスの場合、組み立て作業が煩雑になる可能性がある。また、ＣＴＣを捕捉したフィルタを観察するためには、デバイスを分解する必要がある。このため、デバイスを分解しフィルタを取り出す工程においてフィルタに対して外部環境由来の物質が付着する可能性があり、観察結果の精度が低下する可能性がある。さらに、各種病原菌又はウイルスがデバイス内部に付着している可能性を考慮すると、血液が付着したデバイスの分解作業は、作業者にとって安全面での負担を強いられることが考えられる。一方、特許文献２に開示された構造では、フィルタ表面の高さのばらつきが大きいため、ＣＴＣの顕微鏡観察の作業性の低下が懸念される。

[0006] 本発明は上記を鑑みてなされたものであり、細胞の捕捉及び観察を簡便に且つ精度よく行え、さらにフィルタ表面の高さのばらつきを抑制できる細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、細胞捕捉装置、及び細胞捕捉デバイスの製造方法の提供を目的とする。

## 課題を解決するための手段

[0007] 上記目的を達成するため、本発明の一実施形態に係る細胞捕捉デバイスは、被検液を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材と、を有する筐体と、導入流路と排出流路との間の筐体の内部の流路上に設けられて、被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタと、を含んで構成される細胞捕捉デバイスであって、蓋部材は、

組み立てた際にフィルタ領域よりも外側であって細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、収納部材は、組み立てた際に第１の突出部と対応する位置に設けられて、第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、組み立てた際には、第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置に配置することで筐体の内部の流路を形成することを特徴とする。

[0008] また、本発明の一実施形態に係る細胞捕捉フィルタは、被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタであって、被検液を内部へ導入するための導入流路を有し、細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備える蓋部材と、被検液を外部へ排出するための排出流路を有し、細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第２の突出部を備える収納部材と、によって折り曲げられることなく固定されることを特徴とする。

[0009] また、本発明の一実施形態に係る細胞捕捉フィルタは、被検液を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材とによって固定される細胞捕捉フィルタであって、蓋部材は、固定した際に被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成された細胞捕捉フィルタのフィルタ領域よりも外側であって細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、収納部材は、固定した際に第１の突出部と対応する位置に設けられて、第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、固定した際には、第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置に配置され、細胞捕捉フィルタの外縁が、第１の突出部及び第２の突出部の何れか大きい方の外周よりも外側に位置することを特徴とする。

[0010] また、本発明の一実施形態に係る細胞捕捉デバイスの製造方法は、被検液

を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材と、を有する筐体と、導入流路と排出流路との間の筐体の内部の流路上に設けられて、被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタと、を含んで構成される細胞捕捉デバイスの製造方法であって、蓋部材は、組み立てた際にフィルタ領域よりも外側であって細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、収納部材は、組み立てた際に第１の突出部と対応する位置に設けられて、第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで蓋部材、収納部材及び細胞捕捉フィルタを固定することを特徴とする。

[0011] 上記の細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、及び細胞捕捉デバイスの製造方法では、細胞捕捉デバイスの蓋部材に設けられた第１の突出部と、収納部材に設けられた第２の突出部とによって、フィルタ領域よりも外側の位置で細胞捕捉フィルタを固定する。このように、細胞捕捉フィルタのフィルタ領域が、環状の第１の突出部と第２の突出部とによって囲われた状態で、細胞捕捉フィルタが折り曲げられることなく蓋部材と収納部材の間に固定される。細胞捕捉フィルタにしわ等が発生せず、内部のフィルタ領域を通過する被検液に含まれる細胞を好適に捕捉することができる。

[0012] ここで、上記の細胞捕捉デバイスにおいて、蓋部材は、第１の突出部よりも外側で離間した位置であって組み立てた際に細胞捕捉フィルタと重ならない位置に設けられて、収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、収納部材は、組み立てた際に蓋部材の第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部をさらに備え、第１の嵌合部及び第２の嵌合部のうちの何れか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなす態様とすることができる。

[0013] また、上記の細胞捕捉フィルタにおいて、蓋部材は、第１の突出部よりも外側で離間した位置であって固定した際に細胞捕捉フィルタと重ならない位

置に設けられて、収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、収納部材は、固定した際に蓋部材の第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部とをさらに備え、第１の嵌合部及び第２の嵌合部のうちの何れか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなし、細胞捕捉フィルタの外縁が第１の嵌合部及び第２の嵌合部の何れか小さい方の内周よりも内側であって、第１の突出部及び第２の突出部の何れか大きい方の外周よりも外側に位置する態様とすることができる。

[0014] また、上記の細胞捕捉デバイスの製造方法において、蓋部材は、第１の突出部よりも外側で離間した位置であって組み立てた際に細胞捕捉フィルタと重ならない位置に設けられて、収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、収納部材は、組み立てた際に蓋部材の第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部をさらに備え、第１の嵌合部及び第２の嵌合部のうちのいずれか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなし、第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置にあり、且つ、第１の嵌合部と第２の嵌合部とが細胞捕捉フィルタの外縁より外側で互いに嵌合して固定するように、蓋部材、収納部材及び細胞捕捉フィルタを嵌合させる態様とすることができる。

[0015] このように、蓋部材の第１の嵌合部と収納部材の第２の嵌合部とが細胞捕捉フィルタよりも外側で嵌合されることによって、蓋部材と収納部材とが細胞捕捉フィルタの外縁よりも外側で嵌合するため、細胞捕捉デバイスとしての機械的強度も高められフィルタ表面の高さのバラつきを抑制することができる。

[0016] ここで、内側に開口部を備えると共に、第１の突出部及び第２の突出部の少なくとも一方と細胞捕捉フィルタとの間に挟まれ、弾性を有するシール部材を更に備え、シール部材は、第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで対応する全ての領域に配置され、開口部の大きさは、第１の突出部及び第２の突出部の内周側の形状に対応して形成される態様としてもよい。

[0017] 第１の突出部及び第２の突出部が細胞捕捉フィルタを挟んで対応する全ての領域に対して弾性を有するシール部材が設けられることで、導入流路と排出流路との間における細胞捕捉フィルタのフィルタ領域が設けられる流路の密封性を高めることができることから、細胞捕捉フィルタのフィルタ表面の高さのばらつきを減らすことができ、細胞の捕捉及び観察の精度をより高めることができる。

[0018] また、上記の細胞捕捉デバイスにおける細胞捕捉フィルタは、フィルタ領域よりも外側であって細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に複数の位置合わせ孔を有し、蓋部材及び収納部材の少なくとも一方は、複数の位置合わせ孔に対応する位置に設けられた穴部を有する態様としてもよい。また、上記の細胞捕捉フィルタは、フィルタ領域よりも外側であって細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に複数の位置合わせ孔を有する態様としてもよい。

[0019] このように、細胞捕捉フィルタに位置合わせ孔を設けた場合、細胞捕捉デバイスを構成する蓋部材及び収納部材の少なくとも一方に、上記の細胞捕捉フィルタにおける位置合わせ孔に対応する位置に穴部を設けることで、蓋部材及び収納部材の少なくとも一方と細胞捕捉フィルタとの位置合わせを良好に行うことができ、フィルタの支持バランスの再現性を一層向上させることができる。

[0020] また、本発明に係る細胞捕捉装置は、上記の細胞捕捉デバイスと、細胞捕捉デバイスの導入流路に対して被検液を供給する被検液供給手段と、細胞捕捉デバイスの導入流路に対して細胞捕捉フィルタを通過することで細胞捕捉フィルタに捕捉された細胞を処理するための処理液を供給する処理液供給手段と、細胞捕捉デバイスに対して供給する液体を被検液及び処理液から選択する選択手段と、を備えることを特徴とする。

[0021] 上記の細胞捕捉装置によれば、選択手段により、細胞捕捉デバイスに対して供給する液体を選択し、その結果に基づいて、被検液又は処理液を細胞捕捉デバイスに供給する構成を有することで、従来と比較して被検液中の細胞

の捕捉作業を効率よく進めることが可能となる。

## 発明の効果

[0022] 本発明によれば、細胞の捕捉及び観察を簡便に且つ精度よく行え、さらにフィルタ表面の高さのばらつきを抑制できる細胞捕捉デバイス、細胞捕捉フィルタ、細胞捕捉装置、及び細胞捕捉デバイスの製造方法が提供される。

## 図面の簡単な説明

[0023] [図1]細胞捕捉デバイスの構成を説明する概略斜視図である。

[図2]蓋部材についての上方からの概略斜視図である。

[図3]蓋部材についての下方からの概略斜視図である。

[図4]蓋部材の内部構造を説明する図であり、図２のIV－IV断面の矢視図である。

[図5]収納部材についての上方からの概略斜視図である。

[図6]収納部材についての下方からの概略斜視図である。

[図7]収納部材の内部構造を説明する図であり、図５のVII－VII断面の矢視図である。

[図8]固定部材の斜視図及び平面図である。

[図9]フィルタの構造を説明する図である。

[図10]細胞捕捉デバイスの構成を説明する分解斜視図である。

[図11]シール部材を取り付けるための治具の構成及び使用方法について説明する図である。

[図12]細胞捕捉フィルタを収納部材に対して取り付ける際の治具の構成及び使用方法について説明する図である。

[図13]細胞捕捉フィルタを収納部材に対して取り付ける際の治具の構成及び使用方法について説明する図である。

[図14]細胞捕捉フィルタ、シール部材及び蓋部材の位置関係について説明する図である。

[図15]蓋部材、細胞捕捉フィルタ、シール部材及び収納部材を組み立てた後の断面を模式的に示す図１のXV－XV断面の矢視図の左側を拡大した図である

。

[図16]蓋部材、細胞捕捉フィルタ、シール部材及び収納部材を組み立てた後の断面を模式的に示す図１のXVI－XVI断面の矢視図の左側を拡大した図である。

[図17]固定部材の装着方法を示す図である。

[図18]細胞捕捉装置の構成を説明するブロック図である。

[図19]変形例に係る蓋部材についての下方からの概略斜視図である。

[図20]変形例に係る蓋部材の内部構造を説明する図であり、図２のIV－IV断面の矢視図に対応する図である。

[図21]変形例に係る収納部材についての上方からの概略斜視図である。

[図22]変形例に係る収納部材の内部構造を説明する図であり、図５のVII－VII断面の矢視図に対応する図である。

[図23]変形例に係る蓋部材、細胞捕捉フィルタ、シール部材及び収納部材を組み立てた後の断面を模式的に示す図１５に対応する図である。

## 発明を実施するための形態

[0024] 以下、添付図面を参照して、本発明を実施するための最良の形態を詳細に説明する。なお、図面の説明においては同一要素には同一符号を付し、重複する説明を省略する。

[0025] （細胞捕捉デバイス）

図１は、本発明の実施形態に係る細胞捕捉デバイスの構成を説明する概略斜視図である。図１に示す細胞捕捉デバイス１は、内部に設けられたフィルタにより、細胞分散液中の特定の細胞を捕捉する機能を有する。特に好適な例として、ＣＴＣと呼ばれる循環癌細胞を含む血液中から、赤血球、血小板及び白血球（以下、これらを総称して「血球成分」とする）を通過させる一方で、ＣＴＣを捕捉する機能を有する。細胞捕捉フィルタにより捕捉された細胞は、内部に洗浄液、染色液等を導入することにより染色処理が施された後、顕微鏡等による観察が行われる。

[0026] 図１に示す細胞捕捉デバイス１は、筐体１０と、筐体１０の内部に設けら

れて被検液を通過させるフィルタとを備える。ここで、被検液とは、細胞が分散した液であり、具体的には血液等である。また、筐体１０は、蓋部材１００と収納部材２００とを含んで構成される。このうち、細胞捕捉フィルタの貫通孔が設けられる領域の面積は２５ｍｍ$^2$～９００ｍｍ$^2$とされる。なお、貫通孔が設けられる領域の面積は、２５ｍｍ$^2$～４００ｍｍ$^2$がより好ましく、２５ｍｍ$^2$～１００ｍｍ$^2$が更に好ましい。

[0027] また、後述する蓋部材側ガイド部又は収納部材側ガイド部によって囲まれる部分の寸法及び形状としては、作業性及び観察性の観点から、平面視における一辺の長さが１０～１００ｍｍの略正方形であることが好ましい。また、その一辺の長さは、１５～７０ｍｍであることがより好ましく、２０～３０ｍｍであることが更に好ましい。

[0028] 蓋部材１００と収納部材２００は、これらが重ね合わされた方向（細胞捕捉フィルタと交差する方向）の両側から四つの固定部材６０（６０Ａ～６０Ｄ）により挟まれて、互いに固定されている。四つの固定部材６０は、細胞捕捉フィルタを囲うように、筐体１０の周縁部に配置されている。

[0029] 蓋部材１００及び収納部材２００の材料としては、剛性の比較的高いものを選定することが好ましい。これにより、細胞捕捉デバイス１を組み立てて固定する際の加圧による変形を抑制することができる。ただし、剛性が高すぎると細胞捕捉デバイス１の組立て時にフィルタを破損する可能性がある。ここで、材料の剛性は、例えばヤング率で表すことができる。したがって蓋部材１００及び収納部材２００の材料としては、室温におけるヤング率で０．１ＧＰａ～１００ＧＰａのものが好ましく、１ＧＰａ～１０ＧＰａのものがより好ましい。ヤング率は、一般的に知られるユーイング法によって測定できる。

[0030] さらに、蓋部材１００は、観察対象の細胞を検出する時に使用する波長の光、特に可視光領域の光に対して透光性を有する材料からなることが好ましい。蓋部材１００の材料としては、ガラス、石英ガラス、プラスチック（特にアクリル樹脂）及びポリジメチルシロキサン等の高分子が挙げられるがこ

れらに限定されない。蓋部材１００と収納部材２００とは必ずしも同一材料である必要はないが、蓋部材１００及び収納部材２００がそれぞれ嵌合部を有する場合には、組み立て時に嵌合部にかかる応力が蓋部材側と収納部材側に均等にかかる観点から同一材料であることが好ましい。蓋部材１００及び収納部材２００の材料としては、デバイスの量産が可能であることから、低自家蛍光性のアクリル樹脂が好ましく、ポリメチルメタクリレートが特に好ましい。一般的に、癌細胞等を観察する場合には、対象となる細胞に蛍光試薬による染色処理を行った後、波長が３００ｎｍ～８００ｎｍの紫外又は可視光領域の光を照射して、蛍光観察を行う。そのため、蓋部材１００としては、紫外又は可視光領域の光の照射時に材料自体が蛍光を発しないように、自家蛍光が低い材料を選定することが好ましい（これを「低自家蛍光性」と呼ぶ。）。一般的に、芳香環を有する有機高分子、例えばポリスチレン、ポリカーボネート等の樹脂は、自家蛍光性が強く、上記の目的に適さない場合が多い。

[0031] 蓋部材１００は、観察対象の細胞が含まれる被検液及び細胞捕捉フィルタ上に捕捉された細胞の染色処理を行うための処理液を内部に導入するための導入流路１０１、１０２を有する。また、収納部材２００は、被検液を内部から外部へ排出するための排出流路２０１を有する。なお、以下の説明においては導入流路１０１、１０２が取り付けられる方向をＸ軸方向とし、Ｘ軸に対して直交する水平方向をＹ軸方向とし、Ｘ軸及びＹ軸に直交する垂直方向をＺ軸方向とする。

[0032] 次に、細胞捕捉デバイス１の構成について詳細に説明する。まず蓋部材１００、収納部材２００、固定部材６０及び細胞捕捉フィルタの構成についてそれぞれ説明した後に、これらを組み立てた細胞捕捉デバイスについて説明する。

[0033] （蓋部材）

まず蓋部材１００について説明する。図２～４は、蓋部材１００の構成を説明する図であり、図２は、蓋部材１００についての上方からの概略斜視図

であり、図３は、蓋部材１００についての下方からの概略斜視図であり、図４は、図２のIV－IV断面の矢視図である。

[0034] 図２～４に示すように、蓋部材１００は、略正方形状の板部材からなる本体部１１０に対して、本体部１１０の側縁からＸ軸方向に沿って外部に突出するように二つの流路部１０５、１０６が取り付けられる。流路部１０５、１０６は、Ｘ軸方向から蓋部材１００を見たときに互いに異なる位置となるように、Ｙ軸方向に沿って中心からずれた位置に取り付けられている。ここでは、図４に示す流路部１０６について説明するが、流路部１０５においても同様の構成とされている。

[0035] 蓋部材１００には、細胞捕捉フィルタを被検液が通過するための凹型の空隙からなる導入領域１２０が設けられる。導入領域１２０は、細胞捕捉デバイス１を上方から見たときに、蓋部材１００と収納部材２００の間に取り付けられた細胞捕捉フィルタのうち貫通孔が設けられる領域（フィルタ領域）を含むように、細胞捕捉フィルタのフィルタ領域の上方に設けられる。導入領域１２０の角部には、接続用の穿孔１０９、１１３を介して導入流路１０１、１０２が接続される。導入領域１２０は、導入流路１０１、１０２から導入された被検液又は処理液を細胞捕捉フィルタの貫通孔に対して誘導するための空間となる。

[0036] ここで、図４を用いて、導入流路１０２について更に説明する。流路部１０６には、その内部において、Ｘ軸に沿って延びる導入流路１０２が設けられる。導入流路１０２は、導入口１０２Ａと、導入口１０２Ａから内部に伸びる流路１０２Ｂと、流路１０２Ｂに接続して流路１０２Ｂよりも口径が小さい流路１０２Ｃとを含んで構成される。更に、流路１０２Ｂと流路１０２Ｃとの間には、流路部１０６を垂直方向（Ｚ軸方向）に貫通する穿孔１１１が設けられる（他方、流路部１０５については穿孔１０７が設けられる）。この穿孔１１１には、流路開閉弁（流路開閉機構）として機能する穿孔が設けられたバルブが挿通される。これにより、流路１０２Ｂの開閉がこのバルブにより行われる。更に、導入領域１２０と導入流路１０２とを接続する穿

孔１１３が導入流路１０２の本体部１１０側の端部に導入流路１０２と連通するように設けられる。これにより、導入口１０２Ａから導入される液体（被検液又は処理液）は、流路１０２Ｂ、流路１０２Ｃ及び穿孔１１３を経て、導入領域１２０へ送られる。

[0037] 導入領域１２０の周縁には、導入領域１２０に導入された液体が外側に漏出することを防ぐための第１の突出部１２５が本体部１１０から下方に伸びるように設けられる。第１の突出部１２５は、蓋部材１００を下方から見たときに、図３に示すように、ＸＹ平面において、導入領域１２０及び導入流路１０１、１０２に通じる穿孔１０９、１１３に接続する領域を含むように突出した環状の形状をなしている。この突出した形状は途切れることなく環状に連なっていることが重要である。また、突出した形状の高さは、どの部分でも同じ高さを有することが好ましい。高さにばらつきがあると、細胞捕捉フィルタを挟んだときに第１の突出部１２５と細胞捕捉フィルタとの間に隙間を生じ、液漏れの原因となる。

[0038] また、蓋部材１００には、第１の突出部１２５と離間して設けられ第１の突出部１２５の周縁を囲むように四角形形状の凸部からなる凸形状の第１の嵌合部１３０が形成されている。第１の嵌合部１３０のＸ軸方向又はＹ軸方向の一辺の長さとしては、蓋部材１００の強度及び細胞捕捉フィルタ３０の嵌合性の観点から、８ｍｍ～４５ｍｍが好ましく、１０ｍｍ～２５ｍｍがより好ましく、１５ｍｍ～３０ｍｍが更に好ましい。また、第１の嵌合部１３０の各辺を構成する凸部の幅は、１ｍｍ～５ｍｍが好ましく、１ｍｍ～３ｍｍがより好ましく、１．５ｍｍ～２ｍｍが更に好ましい。なお、図４に示すように、第１の嵌合部１３０の高さは第１の突出部１２５よりも高い。

[0039] 更に、本体部１１０の外縁のうちＹ軸方向に沿って延びる側に対してのみ、下方（図３において上方）に突出する位置合わせ壁１３５が設けられている。これは、細胞捕捉デバイス１を組み立てる際に蓋部材１００と収納部材２００との位置合わせ及び方向合わせを行うために用いられる。

[0040] 蓋部材１００の導入領域１２０及び第１の突出部１２５の形状について詳

述すると、第１の突出部１２５で区切られた導入領域１２０のうち、導入流路１０１、１０２に通じる穿孔１０９、１１３に接続する領域が設けられた二つの角とは異なる二つの角１２７においては、略四角形状の第１の突出部１２５のうち導入領域１２０の内壁面を構成する側面について所謂面取りがなされた形状とされている。この構造は、導入領域１２０を含む筐体１０内部の空洞部に気泡が滞留することを防止するための構造である。

[0041] 図２に戻り、略正方形状をなす本体部１１０において、組み立てた際に上面となる面の四辺の周縁部には、それぞれ端部（角部）付近を始点としそれぞれの周縁部に沿って、平面視反時計回りとなる向きに延びる蓋部材側ガイド部１５１（１５１Ａ～１５１Ｄ）が設けられている。蓋部材側ガイド部１５１は、蓋部材１００の上方に向って突出する突起であり、これに後述する固定部材６０の爪が係合することにより固定部材６０がスライドする方向を規定するものである。四つの周縁部のうち、側縁に流路部１０５、１０６が取り付けられている周縁部においては、流路部１０５、１０６により分断されている周縁部のうち、距離が長い側に蓋部材側ガイド部１５１Ａ、１５１Ｂがそれぞれ設けられている。すなわち、蓋部材側ガイド部１５１Ａ及び蓋部材側ガイド部１５１Ｂは、平面視において本体部１１０の中心に関して対角となる位置に設けられている。一方、流路部１０５、１０６が取り付けられていない残りの周縁部においては、本体部１１０をＹ軸方向から見たときに、流路部１０５、１０６のうち手前側に位置する流路部が取り付けられている側に蓋部材側ガイド部１５１Ｃ、１５１Ｄがそれぞれ設けられている。すなわち、蓋部材側ガイド部１５１Ｃ及び蓋部材側ガイド部１５１Ｄは、平面視において本体部１１０の中心に関して対角となる位置に設けられている。なお、図２に示すように、蓋部材側ガイド部１５１の始点と本体部１１０の上面との段差部分は、斜めに面取りされている。

[0042] 蓋部材側ガイド部１５１（１５１Ａ～１５１Ｄ）は、本体部１１０の各周縁部において本体部１１０の端部付近を始点として略中央部まで延びており、略中央部からは、蓋部材側ストッパ１５２（１５２Ａ～１５２Ｄ）が連設

され、引き続き周縁部に沿って延びている。蓋部材側ストッパ１５２Ａ～１５２Ｄは、蓋部材側ガイド部１５１Ａ～１５１Ｄよりも高い高さを有する突起であり、後述する固定部材６０が蓋部材側ガイド部１５１Ａ～１５１Ｄに沿ってスライドする限界位置を規定するものである。蓋部材側ストッパ１５２Ａ～１５２Ｄは、各周縁部における蓋部材側ガイド部１５１Ａ～１５１Ｄの始点とは反対側の端部付近にまで延びている。流路部１０５、１０６が取り付けられている周縁部における蓋部材側ストッパ１５２Ａ、１５２Ｂは、一部が流路部１０５、１０６の付け根部分と一体化している。

[0043] なお、蓋部材側ガイド部１５１Ａ、１５１Ｂ及び蓋部材側ストッパ１５２Ａ、１５２ＢのＸ軸方向の幅は、蓋部材側ガイド部１５１Ｃ、１５１Ｄ及び蓋部材側ストッパ１５２Ｃ、１５２ＤのＹ軸方向の幅よりも大きくされている。

[0044] （収納部材）

次に、収納部材２００について説明する。図５～７は、収納部材２００の構成を説明する図であり、図５は、収納部材２００についての上方からの概略斜視図であり、図６は、収納部材２００についての下方からの概略斜視図であり、図７は、図５のVII－VII断面の矢視図である。

[0045] 図５～７に示すように、収納部材２００は、略正方形状の板部材からなる本体部２１０に対して、本体部２１０の側縁からＹ軸方向に沿って外部に突出する流路部２０５が取り付けられる。流路部２０５は、本体部２１０の側縁の中央に取り付けられる。

[0046] 収納部材２００には、細胞捕捉フィルタを通過した被検液が通過する凹型の空隙からなる排出領域２２０が設けられる。排出領域２２０は、細胞捕捉デバイス１を上方から見たときに、収納部材２００に取り付けられた細胞捕捉フィルタのうち貫通孔が設けられる領域（フィルタ領域）を含むように、細胞捕捉フィルタが取り付けられる領域の下方に設けられる。排出領域２２０は、接続用の穿孔２０９を介して排出流路２０１に接続され、排出流路２０１を経て被検液を外部に排出する空間となる。

[0047] ここで、図７を用いて、排出流路２０１について更に説明する。流路部２０５には、その内部において、Ｙ軸に沿って延びる排出流路２０１が設けられる。排出流路２０１には、排出口２０１Ａと、排出口２０１Ａから内部に伸びる流路２０１Ｂと、流路２０１Ｂに接続して流路２０１Ｂよりも口径が小さい流路２０１Ｃとを含んで構成される。更に、流路２０１Ｃ上には、排出流路２０１を垂直方向（Ｚ軸方向）に貫通する穿孔２０７が設けられる。この穿孔２０７には、流路開閉弁として機能する穿孔が設けられたバルブが挿通される。これにより、流路２０１Ｃの開閉がこのバルブにより行われる。更に、排出領域２２０と排出流路２０１とを接続する穿孔２０９が排出流路２０１の本体部２１０側の端部に排出流路２０１と連通するように設けられる。これにより、細胞捕捉フィルタを経て排出領域２２０に到達した液体（被検液又は処理液）は、穿孔２０９、流路２０１Ｃ及び流路２０１Ｂを経て、排出口２０１Ａへ送られる。

[0048] 排出領域２２０の周縁には、細胞捕捉フィルタのＸＹ平面における高さばらつきを抑制し、平坦化するための第２の突出部２２５が本体部２１０から上方に伸びるように設けられる。第２の突出部２２５は、収納部材２００を上方から見たときに、図５に示すように、ＸＹ平面において、蓋部材１００の第１の突出部１２５と対応する形状とされている。

[0049] また、第２の突出部２２５と離間して設けられ第２の突出部２２５の周縁を囲むように四角形形状の凹部からなる凹形状の第２の嵌合部２３０が形成されている。この第２の嵌合部２３０は、蓋部材１００の第１の嵌合部１３０と対応するように設けられている。

[0050] 第２の突出部２２５と第２の嵌合部２３０との間の領域であって、排出領域２２０の外方に突出している領域２２５Ａが設けられていない領域には、二つの有底孔（穴部）２４０が互いに対角となる位置に設けられている。有底孔２４０は、後述するように、収納部材２００と細胞捕捉フィルタ３０との位置合わせに用いられるものである。なお、有底孔２４０は、収納部材を貫通する貫通孔であってもよい。また、本実施形態では、有底孔２４０が収

納部材２００側に設けられた例を説明しているが、蓋部材１００側に設けられていてもよい。

[0051] 収納部材２００の第２の嵌合部２３０と、蓋部材１００の第１の嵌合部１３０との寸法の差は、細胞捕捉フィルタ３０の厚さを考慮して定めることが好ましい。第２の嵌合部２３０の内側と第１の嵌合部１３０の内側との差（部材中心からみて嵌合部の内側の差）は０．００５ｍｍ～０．３ｍｍが好ましく、０．００５ｍｍ～０．２ｍｍがより好ましく、０．００５ｍｍ～０．１ｍｍが更に好ましい。第２の嵌合部２３０の内側と第１の嵌合部１３０の内側との差が細胞捕捉フィルタの厚さよりも小さい場合は、細胞捕捉フィルタの厚さよりも隙間がなくなるが、蓋部材と収納部材がプラスチック製であると、比較的弾性があり、細胞捕捉フィルタを嵌合したときの固定力が増すので好ましい。

[0052] また、収納部材２００には、第２の嵌合部２３０とは別に本体部２１０の外縁のうち流路部２０５が設けられる外縁の延びる方向（Ｘ軸方向）と直交する方向、すなわち、Ｙ軸方向に沿って延びる側に対してのみ、位置合わせ溝２３５が設けられている。これは、細胞捕捉デバイス１を組み立てる際に蓋部材１００と収納部材２００との位置合わせ及び方向合わせを行うために用いられる。また、本体部２１０の外縁のうち流路部２０５が設けられる外縁が延びる方向と同じ方向（Ｘ軸方向）には、上方に向けて延びて蓋部材１００の側部を覆う覆い部２５０が設けられている。

[0053] 第２の突出部２２５で区切られた排出領域２２０のうち、蓋部材１００と組み合わせたときに、蓋部材１００側において導入流路１０１、１０２に通じる穿孔１０９、１１３に接続する領域が形成された二つの角とは異なる二つの角２２７においては、略四角形状の第１の突出部１２５のうち導入領域１２０の内壁面を構成する側面について所謂面取りがなされた形状とされている。

[0054] 図６に示すように、略正方形状をなす本体部２１０において、組み立てた際に下面（表に露出する面）となる面の四辺の周縁部には、それぞれ端部（

角部）付近を始点としそれぞれの周縁部に沿って延びる収納部材側ガイド部２５１（２５１Ａ～２５１Ｄ）が設けられている。収納部材側ガイド部２５１Ａ～２５１Ｄは、収納部材２００の下方（図６において上方）に向って突出する突起であり、これに後述する固定部材６０の爪が係合することにより固定部材６０がスライドする方向を規定するものである。各収納部材側ガイド部２５１Ａ～２５１Ｄは、収納部材２００と蓋部材１００とを組み立てた際に蓋部材側ガイド部１５１Ａ～１５１Ｄのそれぞれと筐体１０の厚さ方向において対応する位置に設けられている。例えば、流路部２０５が取り付けられている周縁部においては、図６における本体部２１０を流路部２０５を手前としてＹ軸方向から見たときに、図示右側となる側に収納部材側ガイド部２５１Ｃが設けられている。なお、図６に示すように、収納部材側ガイド部２５１Ａ～２５１Ｄの始点と本体部２１０の上面との段差部分は、斜めに面取りされている。

[0055] 収納部材側ガイド部２５１（２５１Ａ～２５１Ｄ）は、本体部２１０の各周縁部において本体部２１０の端部付近を始点として略中央部まで延びており、略中央部からは、収納部材側ストッパ２５２（２５２Ａ～２５２Ｄ）が連設され、引き続き周縁部に沿って延びている。収納部材側ストッパ２５２Ａ～２５２Ｄは、収納部材側ガイド部２５１Ａ～２５１Ｄよりも高い高さを有する突起であり、後述する固定部材６０が収納部材側ガイド部２５１Ａ～２５１Ｄに沿ってスライドする限界位置を規定すると共に、細胞捕捉デバイス１の使用時及び観察時には細胞捕捉デバイス１の脚として機能するものである（図７参照）。収納部材側ストッパ２５２Ａ～２５２Ｄは、各周縁部における収納部材側ストッパ２５２Ａ～２５２Ｄの始点とは反対側の端部付近にまで延びている。流路部２０５が取り付けられている周縁部における収納部材側ストッパ２５２Ｃは、一部が流路部２０５の付け根部分と一体化している。

[0056] なお、上記の蓋部材１００及び収納部材２００がアクリル樹脂等のプラスチック製である場合には射出成形によって製造することができる。ただし、

蓋部材１００及び収納部材２００の製造方法は上記に限定されない。

[0057] （固定部材）

次に、固定部材６０について説明する。図８（Ａ）は固定部材の斜視図であり、図８（Ｂ）は固定部材６０の正面図である。固定部材６０は、横断面が略四角形の筒状体の側部の一面が開放された形状（すなわち、横断面Ｕ字形）をなす一体成形された部材であり、蓋部材１００及び収納部材２００を、これらが重ね合わされた方向（細胞捕捉フィルタと交差する方向）の両側から押圧するように挟んで固定するものである。

[0058] 固定部材６０は、Ｕ字形の内面部分且つＵ字形の先端部分において、蓋部材１００及び収納部材２００を挟むべき方向に互いに対向して突出する爪６１、６１を有しており、この爪６１、６１は、上記「略四角形の筒状体」の高さに相当する方向に延びている。すなわち、爪６１、６１は、固定部材６０が筐体１０の周縁部に配置されるにあたって蓋部材１００及び収納部材２００の周縁部に沿う方向に延びており、蓋部材側ガイド部１５１及び収納部材側ガイド部２５１に係合することにより蓋部材側ガイド部１５１及び収納部材側ガイド部２５１に沿ってスライド可能となる。ここで、固定部材６０のスライド方向の長さは、より均一に押圧させる観点から、３ｍｍ～２０ｍｍが好ましく、４ｍｍ～１５ｍｍがより好ましく、５ｍｍ～１０ｍｍが更に好ましい。当該長さは、当該固定部材６０を装着する筐体１０の周縁部の一辺の長さに対する割合としては、０．２～０．４が好ましい。

[0059] 筐体１０の周縁部を均一な荷重で押圧して固定する観点からは、用いる複数の固定部材６０としては同質のものを用いることが好ましい。例えば、同形状且つ同サイズのもの、又は押圧力のばらつきの小さいものを用いることが好ましい。

[0060] 固定部材６０の材料としては、適度な弾性（ヤング率として２～５ＧＰａ）を有し、引張り強度にも優れ（４９ＭＰａ以上）、且つ伸び率が１０％～１００％の範囲の材質が好ましく、ポリカーボネート又はポリアセタール樹脂が好ましい。

[0061] （細胞捕捉フィルタ）

次に蓋部材１００と収納部材２００との間に設けられる細胞捕捉フィルタ３０について図９を用いて説明する。

[0062] 図９に示すように、細胞捕捉フィルタ３０は、金属を主成分とするシート３１に厚み方向に複数の貫通孔３２が形成されていて被検液を通過させるフィルタ領域３３を含んで構成される。シート３１は略正方形であり、四隅の角が丸められている。また、シート３１の表面における貫通孔３２の形状は、略長方形をなし短辺がそれぞれ円弧状とされたものである（以下、「略長方形状」という）。この貫通孔３２は、長辺側がＸ軸方向に沿って形成されている。また、フィルタ領域３３よりも外側には、細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせ孔３６が設けられている。この位置合わせ孔３６は、収納部材２００と細胞捕捉フィルタ３０との位置合わせに用いられるものであり、収納部材２００の有底孔２４０に対応する位置に設けられる。

[0063] シート３１の材質は金属を主成分とすることが好ましい。ここで、主成分とはシート３１を形成する材料のうち最も割合の多い成分をいう。細胞捕捉フィルタ３０のシートの材質の主成分として金属を用いることによって、貫通孔のサイズのばらつきが少なく高い分離精度で細胞を分離、濃縮できる。また、金属はプラスチック等の他の材料と比べて剛直であるため、外部から力が加わってもそのサイズ又は形状が維持されやすい。このため、貫通孔の孔径よりも若干大きな成分を変形させて通過させ、高精度の分離、濃縮が可能になると考えられる。ここで、「濃縮」とは、被検液を細胞捕捉デバイスに通液する前後において、分離、濃縮の対象となる細胞の数の存在割合が高まることを意味する。

[0064] 例えば、被検液が血液の場合であり、ＣＴＣを捕捉する場合には、白血球等に対するＣＴＣの存在割合が分離・濃縮の対象として挙げられる。白血球の中には、貫通孔と同程度のサイズを有する細胞が存在し、全ての白血球が貫通孔を通過できるわけではない。ただしこのような場合、白血球は比較的圧力による変形能が大きいため吸引又は加圧等による外部の力により、自分

（白血球）より開口の小さな孔を通過することができる。その結果、通液後における白血球に対するＣＴＣの存在割合が通液前のそれに比べて高くなる。このことを「濃縮」と呼ぶ。

[0065] シート３１に用いられる金属の材質は、金、銀、銅、アルミニウム、タングステン、ニッケル、クロム及びこれらの金属の合金が例示できるが、これらに限定するものではない。また、金属は単体で用いてもよく、機能性を付与するために他の金属との合金又は金属の酸化物として用いてもよい。価格又は入手の容易さの観点から、ニッケル、銅、金及びこれらを主成分とする金属を用いることが好ましく、特にニッケルを主成分とする金属が用いられることが好ましい。また、シート３１がニッケルを主成分とする材料から形成される場合、ニッケルの表面に金めっきがされていることが好ましい。金めっきによって、フィルタ表面の酸化を防止できるため、細胞及び血球成分の細胞捕捉フィルタに対する付着性が一様となり、データの再現性を高めることができる。

[0066] 細胞捕捉フィルタ３０の厚みは、３μｍ～１００μｍであることが好ましく、より好ましくは１０μｍ～３０μｍである。膜厚を３μｍ～１００μｍとした場合、フィルタの取り扱いが容易であり、精密加工にも適している。また、フィルタのフィルタ領域の平面の高低差は、顕微鏡でフィルタ表面の端部と中央部の合計５箇所を観察したときの焦点距離の最大と最小の差にして１６μｍ以下であることが好ましい。

[0067] また細胞捕捉フィルタ３０の大きさは、細胞捕捉デバイス１の大きさに依存する。具体的には、細胞捕捉フィルタ３０の外縁が第１及び第２の突出部よりも外側にあって、細胞捕捉フィルタ３０の外縁が細胞捕捉デバイス１の位置合わせ壁１３５及び覆い部２５０よりも内側となる大きさである。また、細胞捕捉フィルタ３０の大きさは、細胞捕捉デバイス１が第１及び第２の嵌合部を有する場合には、細胞捕捉デバイス１の蓋部材１００における第１の嵌合部１３０、及び、収納部材２００における第２の嵌合部２３０の内周側よりも小さくされる。これにより、細胞捕捉フィルタ３０を蓋部材１００

及び収納部材２００により挟みこんだ際の、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ表面における高さのばらつきを抑制すると共に安定性を向上することができる。

[0068] 細胞捕捉フィルタ３０の大きさは、具体的には一辺の長さが１０ｍｍ～５０ｍｍの略正方形で角部が丸められていることが好ましい。１２ｍｍ～３０ｍｍがより好ましく、１３ｍｍ～２０ｍｍがさらに好ましい。

[0069] なお、細胞捕捉フィルタ３０のうち貫通孔３２が設けられて、被検液を通過させるフィルタ領域３３の大きさは、２５ｍｍ$^2$～９００ｍｍ$^2$が好ましく、２５ｍｍ$^2$～４００ｍｍ$^2$がより好ましく、２５ｍｍ$^2$～１００ｍｍ$^2$が更に好ましい。フィルタ領域３３のサイズが９００ｍｍ$^2$以下である場合、デッドスペースを小さくすることができる。また、２５ｍｍ$^2$以上とすることで、被検液に係る処理時間を短縮することができる。

[0070] また、フィルタ領域３３の大きさは、図３に示す蓋部材１００の導入領域１２０のうちの中央部分１２０Ａ及び図５に示す収納部材２００の排出領域２２０のうちの中央部分２２０Ａに対応する。すなわち、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ領域３３は、上記の中央部分１２０Ａ、２２０Ａに対応する位置に取り付けられる。

[0071] 細胞捕捉フィルタ３０に設けられる貫通孔３２の形状は適宜変更することができるが、図９に示すような略長方形状の貫通孔３２の場合、短辺側の長さの範囲はおおよそ５．０μｍ～１５．０μｍとすることができる。一方、長辺側の長さは、フィルタの大きさに応じて適宜変更することができ、その範囲はおおよそ１０μｍ～３００μｍである。なお、細胞捕捉フィルタ３０に設けられる貫通孔３２の孔径は、捕獲対象とする細胞のサイズに応じて変更される。ここで、貫通孔の孔径は、それぞれの貫通孔３２を通過できる最も大きい球の直径をいう。例えば、図９における貫通孔３２の孔径は、貫通孔３２の短辺の長さとすることができる。

[0072] 貫通孔３２の形状は、適宜変更することができ、例えば、すなわち二つの長方形状又は角丸長方形状（端部の角が丸められている長方形）の穿孔の端

部同士が所定の角度をなして連結して形成される波形状が挙げられる。貫通孔の他の形状として代表的なものは、円形、長方形、角丸長方形、円形波形状（複数個の半円が交互に向き合って端部で連結されている紐状の孔）等が挙げられる。

[0073] 上記の細胞捕捉フィルタ３０上の孔径の小さな貫通孔３２を精密に形成することができるフィルタの製造方法として、例えば、フォトレジストを使用した金属めっきを用いる方法がある。この製造方法には、具体的には、金属箔上にフォトレジストをラミネートする工程と、フォトレジストの上に貫通孔の形状と同様の透光部を有するフォトマスクを重ねて露光する工程と、現像してフォトレジストの未硬化部を除去してフォトレジストパターンを形成する工程と、フォトレジストパターン間を金属めっきしてフォトレジストパターンの高さより低い金属めっきパターンを形成する工程と、金属箔を化学的溶解によって除去して、金属めっきパターンとフォトレジストパターンからなる構造物を得る工程と、構造物からフォトレジストパターンを除去して、透光部に対応する貫通孔３２を有する金属めっきパターン（フィルタ）を得る工程と、が含まれる。ただし、細胞捕捉フィルタ３０の製造方法は上記の方法に限定されない。

[0074] （細胞捕捉デバイスの組み立て方法）

次に、図１０～図１７を用いて、細胞捕捉デバイス１の組み立て方法について説明する。図１０は細胞捕捉デバイス１の構成を説明する分解斜視図であり、図１１は、シール部材４０（ガスケット）を取り付けるための治具の構成及び使用方法を説明する図である。また、図１２は、細胞捕捉フィルタ３０を、収納部材２００に対して取り付ける際の治具の構成及び使用方法について説明する図であり、図１３は、細胞捕捉フィルタ３０を、収納部材２００に対して取り付ける際の治具の構成及び使用方法について説明する図である。また、図１４は、細胞捕捉フィルタ３０、シール部材４０（ガスケット）及び蓋部材１００（収納部材）の位置関係について説明する図であり、図１５は蓋部材１００、細胞捕捉フィルタ３０、シール部材４０（ガスケッ

ト）及び収納部材２００を組み立てた後の断面を模式的に示す図１のXV－XV断面の矢視図の左側を拡大した図であり、図１６は蓋部材１００、細胞捕捉フィルタ３０、シール部材４０及び収納部材２００を組み立てた後の断面を模式的に示す図１のXVI－XVI断面の矢視図の左側を拡大した図であり、図１７は固定部材の装着方法を示す図である。

[0075] 細胞捕捉デバイス１の組み立て方法の概略としては、図１０に示すように、収納部材２００、収納部材側シール部材４０Ｂ、細胞捕捉フィルタ３０、蓋部材側シール部材４０Ａ及び蓋部材１００をこの順に重ね合わせた後、図１５及び図１６に示すように、収納部材２００と蓋部材１００とを嵌合させる。そして、蓋部材１００と収納部材２００とが嵌合してなる筐体１０に対して、図１７に示すように固定部材６０を装着することにより、蓋部材１００と収納部材２００とが互いに固定されると共に、細胞捕捉デバイス１の組み立てが完了する。

[0076] まず、図１０に示すように、Ｚ軸に沿って上方から下方に向かって蓋部材１００、蓋部材側シール部材４０Ａ、細胞捕捉フィルタ３０、収納部材側シール部材４０Ｂ、収納部材２００の順に重ねることで、細胞捕捉デバイス１が組み立てられる。このとき、蓋部材１００と収納部材２００とが一対の位置合わせ壁１３５と位置合わせ溝２３５とが対向するような向きとすることで、蓋部材１００の流路部１０５、１０６はＸ軸方向に延びる向きとされ、収納部材２００の流路部２０５はＹ軸方向に延びる向きとされる。これにより、流路部１０５、１０６、２０５が互いに異なる方向に突出する構成となる。

[0077] ここで、シール部材４０（４０Ａ、４０Ｂ）は、蓋部材１００の第１の突出部１２５と細胞捕捉フィルタ３０との間、及び、収納部材２００の第２の突出部２２５と細胞捕捉フィルタ３０との間に挟まれる部材である。シール部材４０は、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５が存在する全ての領域に配置され、且つ、フィルタ領域３３を覆わないように、中央がフィルタ領域３３の形状に打ち抜かれた環形状とされている。シール部材４０の材

質としては、弾性を有し筐体１０の液密性を保つことができるものであれば特に制限されず、例えばシリコーンゴムが用いられる。また、シール部材４０の厚さは、０．０５μｍ～０．３μｍが好ましい。

[0078] シール部材４０Ａ、４０Ｂ及び細胞捕捉フィルタ３０を蓋部材１００と収納部材２００との間に取り付ける方法は以下のように行われる。まず、図１１に示すシール部材取付け用治具９０を用いて、シール部材４０Ａを蓋部材１００に取り付けると共に、シール部材４０Ｂを収納部材２００に取り付ける。シール部材取付け用治具９０は、図１１に示すように、柱状に延びる本体部９１と、本体部９１の一方の端部に形成された突起部９２とを含んで構成される。突起部９２は本体部９１の延在方向に対して垂直な断面の形状がシール部材４０Ａの開口４１Ａに対応していると共に、蓋部材１００の導入領域１２０に嵌合可能とされている。そこで、シール部材４０Ａの開口４１Ａ内にシール部材取付け用治具９０の突起部９２を挿通することで、シール部材４０Ａが突起部９２を囲むように配置させた後に、シール部材取付け用治具９０を蓋部材１００の第１の突出部１２５の上方に相対する位置に配置して突起部９２を導入領域１２０に嵌合させた状態でシール部材取付け用治具９０を保持し、シール部材４０Ａをシール部材取付け用治具９０側から蓋部材１００側に移行させることでシール部材４０Ａを第１の突出部１２５の上部に容易に取り付けることができる。なお、蓋部材１００上に移行したシール部材４０Ａは、粘着力又は静電気力によって蓋部材１００に貼り付くため、移行させた位置からシール部材４０Ａが位置ズレを起こすことは抑制される。

[0079] シール部材４０Ａを蓋部材１００に取り付ける上記の方法と同様の方法で、シール部材４０Ｂを収納部材２００に取り付けることができる。これにより、２つのシール部材４０Ａ、４０Ｂはそれぞれ蓋部材１００、収納部材２００に取り付けられる。

[0080] 次に、細胞捕捉フィルタ３０を収納部材２００の排出領域２２０、第２の突出部２２５の上方となる位置に配置する。図１２は、細胞捕捉フィルタ３

０を配置するときに用いられるフィルタ取付け用治具８０を示す。フィルタ取付け用治具８０は、端面が細胞捕捉フィルタ３０に対応した四角形状である柱状の部材からなり、細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせ孔３６、３６に対応する位置に、端面から突出するピン８１、８１が設けられている。また、フィルタ取付け用治具８０において端面８０Ａは、ピン８１が形成される上面８２Ａに対して、上面８２Ａに囲まれた凹部状の中央部８２Ｂを含んで構成される。そして、上面８２Ａと中央部８２Ｂとのいずれか一方は磁力を有し、金属製の細胞捕捉フィルタ３０を磁力にて保持可能な構成とされている。なお、中央部８２Ｂが凹んでいる理由は、フィルタ取付け用治具８０の磁力によって細胞捕捉フィルタ３０が上面８２Ａと接触した場合に、フィルタ領域３３が上面８２Ａと接触することを防ぐためである。したがって、中央部８２Ｂは、フィルタ領域３３よりも大きくされている。

[0081] 図１３は、細胞捕捉フィルタ３０を収納部材２００に取り付ける際に用いられるフィルタ固定用治具９５を示す。フィルタ固定用治具９５は、細胞捕捉フィルタ３０を収納部材２００に取り付ける前に、収納部材２００の下面側から収納部材２００に対して取り付けられる部材である。フィルタ固定用治具９５は、本体部９６と本体部９６上に設けられて収納部材２００の下面側の形状に対応させて形成された突起部９７とを備える。突起部９７は、収納部材２００の下面側のうち、排出領域２２０及びその周辺に対応する位置に形成された凹凸（図６参照）に対応した形状とされている。また、突起部９７のうち収納部材２００の下面の凹部に対応する凸部の表面には磁力が発生するように、突起部９７の少なくとも一部が磁石を含んで形成されている。フィルタ固定用治具９５において生じる磁力は、フィルタ取付け用治具８０において生じる磁力よりも強くされる。

[0082] 細胞捕捉フィルタ３０を収納部材２００に取り付ける場合には、まず、細胞捕捉フィルタ３０をフィルタ取付け用治具８０に取り付け、２つの位置合わせ孔３６に対してそれぞれピン８１を通す。このとき、フィルタ取付け用治具８０の上面８２Ａの磁力によって、細胞捕捉フィルタ３０がフィルタ取

付け用治具８０に仮固定される。次に、細胞捕捉フィルタ３０が取り付けられたフィルタ取付け用治具８０の端面８０Ａを収納部材２００に対向させて、収納部材２００の２つの有底孔２４０にピン８１を挿入すると、収納部材２００の下面に設置されたフィルタ固定用治具９５に設けられた強い磁力によって、細胞捕捉フィルタ３０が収納部材２００側に転写され、容易に細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせをすることができる。その後、細胞捕捉フィルタ３０及びシール部材４０Ｂが位置合わせされた収納部材２００と、シール部材４０Ａが位置合わせされた蓋部材１００と、を向き合わせることで、容易に細胞捕捉デバイス１を組み立てることができる。

[0083] なお、フィルタ取付け用治具８０を用いた細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせを行うことができるように、収納部材側シール部材４０Ｂのうち有底孔２４０及び位置合わせ孔３６に対応する位置は、切り欠かれている（図１４参照）。このように位置合わせを行うことによって、細胞捕捉フィルタ３０を精度よく配置するだけでなく、細胞捕捉デバイス１を組み立てる際に、細胞捕捉フィルタ３０の貫通孔の向きを所定の向きに常に同じ向きに配置することを容易に行うことができ、細胞捕捉の再現性をより向上させることができる。

[0084] 図１４は、シール部材４０Ａ、４０Ｂ及び細胞捕捉フィルタ３０を収納部材２００に対して取り付けた際の第２の嵌合部２３０よりも内側の平面図である。図１４に示すように、シール部材４０Ａ、４０Ｂの開口４１Ａ、４１Ｂは、フィルタ領域３３よりも大きく第２の突出部２２５の形状に対応して形成されている（ただし、外方に突出している領域２２５Ａはその上面がシール部材４０Ａ、４０Ｂに覆われている。また、細胞捕捉フィルタ３０の外周及びシール部材４０Ａ、４０Ｂの外周は、第２の嵌合部２３０よりも小さくされている。また、細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせ孔３６、３６及び収納部材２００の有底孔２４０、２４０は重なるが、その領域にはシール部材４０Ａ、４０Ｂは重ならない形状とされている。

[0085] このように、シール部材４０Ａ、４０Ｂ及び細胞捕捉フィルタ３０を取り

付けた収納部材２００に対して、蓋部材１００を、第１の突出部１２５と第２の突出部２２５とが対応する位置に配置し、第１の嵌合部１３０と第２の嵌合部２３０とが対応する位置に配置し、これを上下方向に近接させる。

[0086] ここで、図１５及び図１６に示すように、第１の突出部１２５と第２の突出部２２５がそれぞれ蓋部材側シール部材４０Ａ及び収納部材側シール部材４０Ｂを介して細胞捕捉フィルタ３０を挟む位置まで蓋部材１００と収納部材２００とを近接させることができる。この時点で、第１の嵌合部１３０と第２の嵌合部２３０とはその一部が嵌合した状態で止まる。このとき、図１５に示すように、シール部材４０Ａ、４０Ｂは、その開口４１Ａ、４１Ｂが第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５の内周形状である四角形形状（ただし、外方に突出している領域１２５Ａ、２２５Ａは除く）に沿った形状とされているので、蓋部材１００側の導入領域１２０の内壁、シール部材４０Ａの開口４１Ａ、シール部材４０Ｂの開口４１Ｂ、収納部材２００側の排出領域２２０の内壁が、この順序で面一となるように形成されている。なお、図１５及び図１６では、参考のために有底孔２４０を破線で図示している。

[0087] また、図１６に示すように、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５のうち外方に突出している領域１２５Ａ、２２５Ａについては、シール部材４０Ａ、４０Ｂの開口４１Ａ、４１Ｂは、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５の内周形状に沿った形状とされていないので、導入流路を形成する穿孔１０９の下方側においてシール部材４０Ａ及びシール部材４０Ｂが内部流路に対して露出する。そして、穿孔１０９から導入された被検液又は処理液は、上側のシール部材４０Ａと接触しながら、導入領域１２０へ導入される。

[0088] なお、図１５及び図１６に示すように、シール部材４０Ａ、４０Ｂが内部空間に露出するか否かに関わらず、第１の突出部１２５と第２の突出部２２５がそれぞれ蓋部材側シール部材４０Ａ及び収納部材側シール部材４０Ｂを介して細胞捕捉フィルタ３０を挟みこむことで、内部の導入領域１２０及び

排出領域２２０の密封性が高められるので、被検液又は処理液が細胞捕捉フィルタ３０の上下から外方に漏れ出すことはない。

[0089] また、細胞捕捉フィルタ３０及び細胞捕捉フィルタ３０の上下に配置されるシール部材４０Ａ、４０Ｂは、蓋部材１００の第１の嵌合部１３０と収納部材２００の第２の嵌合部２３０とが嵌合する領域には重ならいような大きさとされているので、蓋部材１００と収納部材２００とを嵌合する際の力の影響を受けて細胞捕捉フィルタ３０にしわ又はたるみが生じることを防ぐことができる。

[0090] また、フィルタ取付け用治具８０及びフィルタ固定用治具９５を用いて収納部材２００と細胞捕捉フィルタ３０との位置合わせをした後においては、細胞捕捉フィルタ３０は、収納部材２００に対して位置合わせはされたが、位置は固定されていない状態にある。このため、細胞捕捉フィルタ３０は筐体１０内部に最終的に固定されるまでは引っ張り力等に対して物理的な障害がなく位置変化に対応できるため、細胞捕捉フィルタ３０が蓋部材１００と収納部材２００との間に固定される際に、しわ等が一層発生しにくい。

[0091] なお、図１１～図１３に示した治具は、シール部材４０Ａ、４０Ｂを蓋部材１００及び収納部材２００へ取り付けると共に、細胞捕捉フィルタ３０の位置合わせ孔３６、３６と、収納部材２００の有底孔２４０、２４０とを利用した位置合わせを行うための治具の一例である。したがって、位置合わせ等に用いられる治具は図１１～図１３に示す構成に限定されず、種々の変更を行うことができる。

[0092] 上記のように、細胞捕捉フィルタ３０を挟んで蓋部材１００及び収納部材２００を組み立てた後に、流路開閉弁として機能するバルブ４０１、４０２、４０３がそれぞれ穿孔１０７、１１１、２０７へ挿入される。これらのバルブ４０１、４０２、４０３には、それぞれ水平方向に伸びる穿孔である流路孔４０１Ａ、４０２Ａ、４０３Ａが設けられ、穿孔１０７、１１１、２０７にバルブを挿入した際に、バルブの流路孔がそれぞれ導入流路１０１、１０２及び排出流路２０１に対応する。そして、バルブを回転させることで流

路孔と導入流路（又は排出流路）の開閉を切り替えることができる。また、使用時には、ストッパ４１１、４１２、４１３がそれぞれ穿孔１０９、１１３、２０９へ挿入されることで、液体の漏出を防ぎ、液体の導入及び排出を適切な方向に導く。

[0093] 次に、固定部材６０の装着方法について説明する。図１７に示すように、蓋部材側ガイド部１５１Ｃ及びこれに対応する収納部材側ガイド部２５１Ｃの始点に対して、固定部材６０Ｃを、Ｕ字形の開放部を筐体１０側に向けた状態でＸ軸方向から接近させて、爪６１、６１を蓋部材側ガイド部１５１Ｃ及び収納部材側ガイド部２５１Ｃにそれぞれ係合させる。そして、Ｘ軸方向に固定部材６０Ｃをスライドさせることで、固定部材６０Ｃの装着が完了する。このとき、固定部材６０Ｃの側部が蓋部材側ストッパ１５２Ｃの側部及び収納部材側ストッパ２５２Ｃの側部に当たるまで固定部材６０Ｃをスライドさせてもよいし、当てさせないで途中でスライドを止めてもよい。

[0094] 同様に、固定部材６０Ｂを筐体１０に装着するには、蓋部材側ガイド部１５１Ｂ及びこれに対応する収納部材側ガイド部２５１Ｂの始点である端部に対して、固定部材６０Ｂを、Ｕ字形の開放部を筐体１０側に向けた状態でＹ軸方向から接近させて、爪６１、６１を蓋部材側ガイド部１５１Ｂ及び収納部材側ガイド部２５１Ｂに係合させる。そして、Ｙ軸方向に固定部材６０Ｂをスライドさせることで、固定部材６０Ｂの装着が完了する。

[0095] 筐体１０の外縁から蓋部材側ガイド部１５１Ｃ、１５１Ｂまでの距離に着目すると、収納部材２００の覆い部２５０の厚さの分だけ、筐体１０の外縁から蓋部材側ガイド部１５１Ｃまでの距離が、筐体１０の外縁から蓋部材側ガイド部１５１Ｂまでの距離よりも大きくなっている。上述のように蓋部材側ガイド部１５１Ｂ及び蓋部材側ストッパ１５２ＢのＸ軸方向の幅が、蓋部材側ガイド部１５１Ｃ及び蓋部材側ストッパ１５２ＣのＹ軸方向の幅よりも大きくされていることで、筐体１０の外縁と蓋部材側ガイド部１５１Ｃ、１５１Ｂの固定部材６０の爪６１が係合する部分との距離が等しくなっている。すなわち、同形状及び同サイズの固定部材６０を筐体１０の各周縁部に装

着することが可能となっている。このように同形状及び同サイズの固定部材６０を用いることができることは、押圧力の揃った同質の固定部材６０を用いることができることを意味し、筐体１０の周縁部を均一な荷重で押圧して固定する観点から好ましい。

[0096] また、図１７では図示を省略しているが、固定部材６０Ａ、６０Ｄについても上記と同様にして筐体１０に装着することができる。このようにして四つの固定部材６０Ａ～６０Ｄを装着することにより、細胞捕捉フィルタ３０を囲うように筐体１０の周縁部に固定部材６０を配置することができる。

[0097] なお、上記実施形態に係る細胞捕捉デバイス１について、固定部材６０によって蓋部材１００と収納部材２００を固定する構成を例に挙げて説明したが、この構成に限定されず、蓋部材と収納部材を溶着によって接合する構成としてもよい。

[0098] （細胞捕捉装置）

次に、上記の細胞捕捉デバイス１を用いた細胞捕捉装置について説明をする。図１８は細胞捕捉装置の構成を説明するブロック図である。図１８に示すように、細胞捕捉装置１Ａは、細胞捕捉デバイス１と、細胞捕捉デバイス１に含まれる二つの導入流路をそれぞれ介して供給される被検液と処理液とを貯留する被検液供給容器５１（被検液供給手段）及び処理液供給容器５２（処理液供給手段）と、被検液供給容器５１と細胞捕捉デバイス１とを接続する被検液供給流路５３（被検液供給手段）と、処理液供給容器５２と細胞捕捉デバイス１とを接続する処理液供給流路５４（処理液供給手段）と、細胞捕捉デバイス１に含まれる排出流路に対して接続されて排出流路から外部に排出された排液を流すための排液流路５５と排液流路５５に接続されて排液を回収する排液回収容器５６と、細胞捕捉デバイス１に対して供給する液体を被検液及び処理液から選択し、流路切り替え等の制御を行う制御部５７（選択手段）と、を含んで構成される。

[0099] なお流路の切り替え等の制御は制御部５７により行われるが、流路の切り替えの具体的な方法としては、例えば、細胞捕捉デバイス１の流路開閉弁の

開閉を行う等の方法がある。また、細胞捕捉装置１Ａにおける送液としては、例えば蠕動ポンプ等を流路に取り付けることで、行うこともできる。また処理液が１種類である例を示したが、複数の処理液供給容器５２を設けて、どの処理液を細胞捕捉デバイス１に対して供給するかについても制御部５７により制御する構成とすることもできる。

[0100] 上記の細胞捕捉装置１Ａでは、細胞捕捉工程の終了後、捕捉した細胞を染色するための処理工程を経た後、流路開閉弁を閉じることによって、細胞捕捉デバイス内部の液流を止めた状態で、細胞捕捉デバイス１を細胞捕捉装置１Ａから取り外すことで、細胞捕捉デバイス１の上部から細胞捕捉フィルタ上に捕捉された細胞を直接顕微鏡観察することができる。

[0101] このように、細胞捕捉装置１Ａでは、制御部５７により、細胞捕捉デバイス１に対して供給する液体を選択し、その結果に基づいて、被検液又は処理液を細胞捕捉デバイス１に供給する構成を有することで、従来と比較して被検液中の細胞の捕捉作業を効率よく進めることが可能となる。また、上記細胞捕捉デバイスを用いた細胞捕捉装置１Ａでは、細胞の捕捉作業後、細胞捕捉デバイスを分解することなくそのまま顕微鏡のステージに載せて細胞の有無を作業性よく観察することが可能となる。

[0102] 以上のように、上記実施形態に係る細胞捕捉デバイス及び細胞捕捉デバイスの製造方法では、細胞捕捉デバイス１の蓋部材１００に設けられた第１の突出部１２５と、収納部材２００に設けられた第２の突出部２２５とによって、フィルタ領域３３よりも外側の位置で細胞捕捉フィルタ３０が固定される。さらに、蓋部材１００の第１の嵌合部１３０と収納部材２００の第２の嵌合部２３０とが細胞捕捉フィルタ３０の外縁よりも外側で嵌合される。このように、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ領域３３が、環状の第１の突出部１２５と第２の突出部２２５とによって囲われた状態で、細胞捕捉フィルタ３０が折り曲げられることなく蓋部材１００と収納部材２００の間に固定される。したがって、細胞捕捉フィルタ３０にしわ等が発生せず、内部のフィルタ領域３３を通過する被検液に含まれる細胞を好適に捕捉することがで

きる。また、蓋部材１００と収納部材２００とが細胞捕捉フィルタ３０の外縁よりも外側で嵌合するため、細胞捕捉デバイス１としての安定性も高められフィルタ表面の高さのバラつきを抑制することができる。

[0103] また、内側に開口部４１（４１Ａ、４１Ｂ）を備えると共に、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５と細胞捕捉フィルタ３０との間に挟まれ、弾性を有するシール部材４０（４０Ａ、４０Ｂ）を更に備えると共に、シール部材４０は、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５が細胞捕捉フィルタ３０を挟んで対応する全ての領域に配置され、開口部４１（４１Ａ、４１Ｂ）の大きさは、第１の突出部１２５及び第２の突出部２２５の内周側の形状に対応して形成される態様とした場合、導入流路と排出流路との間における細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ領域３３が設けられる流路の密封性（遮蔽性）を高めることができる。したがって、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ表面の高さのばらつきを減らすことができ、細胞の捕捉及び観察の精度をより高めることができる。なお、細胞捕捉フィルタ３０のフィルタ領域３３が設けられる流路の密封性（遮蔽性）を高めるためには、シール部材４０Ａ、４０Ｂの双方を有していることが好ましいが、少なくとも一方のシール部材を備えていれば、流路の密封性を向上することができる。

[0104] また、上記の細胞捕捉デバイス１における細胞捕捉フィルタ３０は、フィルタ領域３３よりも外側であって細胞捕捉フィルタ３０の外縁より内側となる位置に複数の位置合わせ孔３６、３６を有し、蓋部材１００及び収納部材２００の少なくとも一方は、複数の位置合わせ孔３６、３６に対応する位置に設けられた穴部（有底孔）２４０、２４０を有する態様としてもよい。このように、細胞捕捉フィルタ３０に位置合わせ孔３６、３６を設けた場合、細胞捕捉デバイス１を構成する蓋部材１００及び収納部材２００の少なくとも一方に、上記の細胞捕捉フィルタ３０における位置合わせ孔３６、３６に対応する位置に穴部を設けることで、蓋部材１００及び収納部材２００の少なくとも一方と細胞捕捉フィルタとの位置合わせを良好に行うことができ、フィルタの支持バランスの再現性を一層向上させることができる。

[0105] 以上、本発明の実施形態について説明したが、本発明は上記実施形態に限定されず、種々の変更を行うことができる。例えば、上記実施形態では細胞捕捉デバイスの蓋部材及び収納部材の形状を略正方形状としたが、五角形、六角形、その他の多角形でもよく、円形、楕円形であってもよい。

[0106] また、蓋部材及び収納部材の内部の形状についても、適宜変更することもできる。例えば、上記実施形態で説明した細胞捕捉デバイスでは、蓋部材１００の第１の嵌合部１３０と、収納部材２００の第２の嵌合部２３０とを嵌合させる構成について説明したが、第１の嵌合部１３０及び第２の嵌合部２３０を備えない構成とすることもできる。このように嵌合部を備えない細胞捕捉デバイスを構成する蓋部材１００Ａ及び収納部材２００Ａについて、図１９～図２３を参照しながら説明する。図１９は、変形例に係る蓋部材についての下方からの概略斜視図であり、図２０は、変形例に係る蓋部材の内部構造を説明する図であり、図２のIV－IV断面の矢視図に対応する図である。さらに、図２１は、変形例に係る収納部材についての上方からの概略斜視図であり、図２２は、変形例に係る収納部材の内部構造を説明する図であり、図５のVII－VII断面の矢視図に対応する図である。また、図２３は、変形例に係る蓋部材、細胞捕捉フィルタ、シール部材及び収納部材を組み立てた後の断面を模式的に示す図１５に対応する図である。

[0107] 図１９及び図２０に示すように、変形例に係る蓋部材１００Ａでは、第１の嵌合部１３０を備えない構成とされる。そして、図２１及び図２２に示すように変形例に係る収納部材２００Ａでは、第２の嵌合部２３０を備えない構成とされる。そして、このような蓋部材１００Ａと収納部材２００Ａとを用いて細胞捕捉デバイスを組み立てた場合、図２３に示すように細胞捕捉フィルタ３０の外周側には嵌合部が設けられない。このような細胞捕捉デバイスの場合には、例えば、固定部材の形状を変更する等によって、細胞捕捉デバイスの外周側をより安定に支持可能な構成とすることが好ましい。このように細胞捕捉デバイスが嵌合部を有さない構成とすることによって、細胞捕捉後、細胞捕捉フィルタ３０上に捕捉された細胞を取り出す際に、細胞捕捉

デバイスに与える衝撃を抑えて細胞捕捉デバイスを分解することが可能となる。この結果、捕捉した細胞を効率よく回収することが可能となる。なお、蓋部材及び収納部材の形状は、外観形状及び内部形状のいずれも適宜変更することができる。

[0108] また、上記実施形態では固定部材とガイド部との対応を１：１としたが、一つのガイド部に対して複数の固定部材を装着してもよい。また、固定部材の形状は上記実施形態に限定されず適宜変更することができる。

[0109] さらに、固定部材を含めて、細胞捕捉デバイスにおける蓋部材、収納部材、及びフィルタを固定する方法は、上記実施形態に限定されず、他の態様を採用することもできる。他の態様としては、例えば、フィルタ部材を挟みこんだ上で蓋部材と収納部材とを接着剤又は溶接等により固着する方法が挙げられる。

## 符号の説明

[0110] １…細胞捕捉デバイス、１Ａ…細胞捕捉装置、１０…筐体、３０…細胞捕捉フィルタ、３６…位置合わせ孔、４０…シール部材（ガスケット）、６０…固定部材、１００、１００Ａ…蓋部材、１０１、１０２…導入流路、１２０…導入領域、１２５…第１の突出部、１３０…第１の嵌合部、２００、２００Ａ…収納部材、２０１…排出流路、２２０…排出領域、２２５…第２の突出部、２３０…第２の嵌合部、２４０…有底孔（穴部）。

# 請求の範囲

[請求項1] 被検液を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、前記被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材と、を有する筐体と、

前記導入流路と前記排出流路との間の前記筐体の内部の流路上に設けられて、前記被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタと、

を含んで構成される細胞捕捉デバイスであって、

前記蓋部材は、

組み立てた際に前記フィルタ領域よりも外側であって前記細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、前記細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、

前記収納部材は、

組み立てた際に前記第１の突出部と対応する位置に設けられて、前記第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、

組み立てた際には、前記第１の突出部及び前記第２の突出部が前記細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置に配置することで前記筐体の内部の前記流路を形成する細胞捕捉デバイス。

[請求項2] 前記蓋部材は、前記第１の突出部よりも外側で離間した位置であって組み立てた際に前記細胞捕捉フィルタと重ならない位置に設けられて、前記収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、

前記収納部材は、組み立てた際に前記蓋部材の前記第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部をさらに備え、

前記第１の嵌合部及び前記第２の嵌合部のうちの何れか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなす請求項１記載の細胞捕捉デバイス。

[請求項3] 内側に開口部を備えると共に、前記第１の突出部及び前記第２の突出部の少なくとも一方と前記細胞捕捉フィルタとの間に挟まれ、弾性を有するシール部材を更に備え、

前記シール部材は、前記第１の突出部及び前記第２の突出部が前記細胞捕捉フィルタを挟んで対応する全ての領域に配置され、

前記開口部の大きさは、前記第１の突出部及び前記第２の突出部の内周側の形状に対応して形成された請求項１又は２記載の細胞捕捉デバイス。

[請求項4] 前記細胞捕捉フィルタは、前記フィルタ領域よりも外側であって前記細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に複数の位置合わせ孔を有し、

前記蓋部材及び前記収納部材の少なくとも一方は、前記複数の位置合わせ孔に対応する位置に設けられた穴部を有する請求項１～３の何れか一項に記載の細胞捕捉デバイス。

[請求項5] 被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタであって、

前記被検液を内部へ導入するための導入流路を有し、前記細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備える蓋部材と、前記被検液を外部へ排出するための排出流路を有し、前記細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第２の突出部を備える収納部材と、によって折り曲げられることなく固定される細胞捕捉フィルタ。

[請求項6] 被検液を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、前記被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材とによって固定される細胞捕捉フィルタであって、

前記蓋部材は、

固定した際に、前記被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成された前記細胞捕捉フィルタのフィルタ領域よりも外側であって前

記細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、前記細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、

前記収納部材は、

固定した際に前記第１の突出部と対応する位置に設けられて、前記第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、

固定した際には、前記第１の突出部及び前記第２の突出部が前記細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置に配置され、

前記細胞捕捉フィルタの外縁が、前記第１の突出部及び前記第２の突出部の何れか大きい方の外周よりも外側に位置する細胞捕捉フィルタ。

[請求項7] 前記蓋部材は、

前記第１の突出部よりも外側で離間した位置であって固定した際に前記細胞捕捉フィルタと重ならない位置に設けられて、前記収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、

前記収納部材は、

固定した際に前記蓋部材の前記第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部とをさらに備え、

前記第１の嵌合部及び前記第２の嵌合部のうちの何れか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなし、

前記細胞捕捉フィルタの外縁が前記第１の嵌合部及び前記第２の嵌合部の何れか小さい方の内周よりも内側であって、前記第１の突出部及び前記第２の突出部の何れか大きい方の外周よりも外側に位置する請求項５又は６記載の細胞捕捉フィルタ。

[請求項8] 前記フィルタ領域よりも外側であって前記細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に複数の位置合わせ孔を有する請求項５～７の何れか一項に記載の細胞捕捉フィルタ。

[請求項9] 請求項１～４の何れか一項に記載の細胞捕捉デバイスと、

前記細胞捕捉デバイスの導入流路に対して被検液を供給する被検液供給手段と、

前記細胞捕捉デバイスの導入流路に対して前記細胞捕捉フィルタを通過することで前記細胞捕捉フィルタに捕捉された前記細胞を処理するための処理液を供給する処理液供給手段と、

前記細胞捕捉デバイスに対して供給する液体を前記被検液及び前記処理液から選択する選択手段と、を備える細胞捕捉装置。

[請求項10] 被検液を内部へ導入するための導入流路を有する蓋部材と、前記被検液を外部へ排出するための排出流路を有する収納部材と、を有する筐体と、

前記導入流路と前記排出流路との間の前記筐体の内部の流路上に設けられて、前記被検液が通過するための貫通孔が厚さ方向に形成されたフィルタ領域をその内側に有する細胞捕捉フィルタと、を含んで構成される細胞捕捉デバイスの製造方法であって、

前記蓋部材は、組み立てた際に前記フィルタ領域よりも外側であって前記細胞捕捉フィルタの外縁より内側となる位置に設けられて、前記細胞捕捉フィルタが取り付けられる側の面において外方に突出する環状の第１の突出部を備え、

前記収納部材は、組み立てた際に前記第１の突出部と対応する位置に設けられて、前記第１の突出部と対応する位置に配置して突出する環状の第２の突出部を備え、

前記第１の突出部及び前記第２の突出部が前記細胞捕捉フィルタを挟んで前記蓋部材、前記収納部材及び前記細胞捕捉フィルタを固定する細胞捕捉デバイスの製造方法。

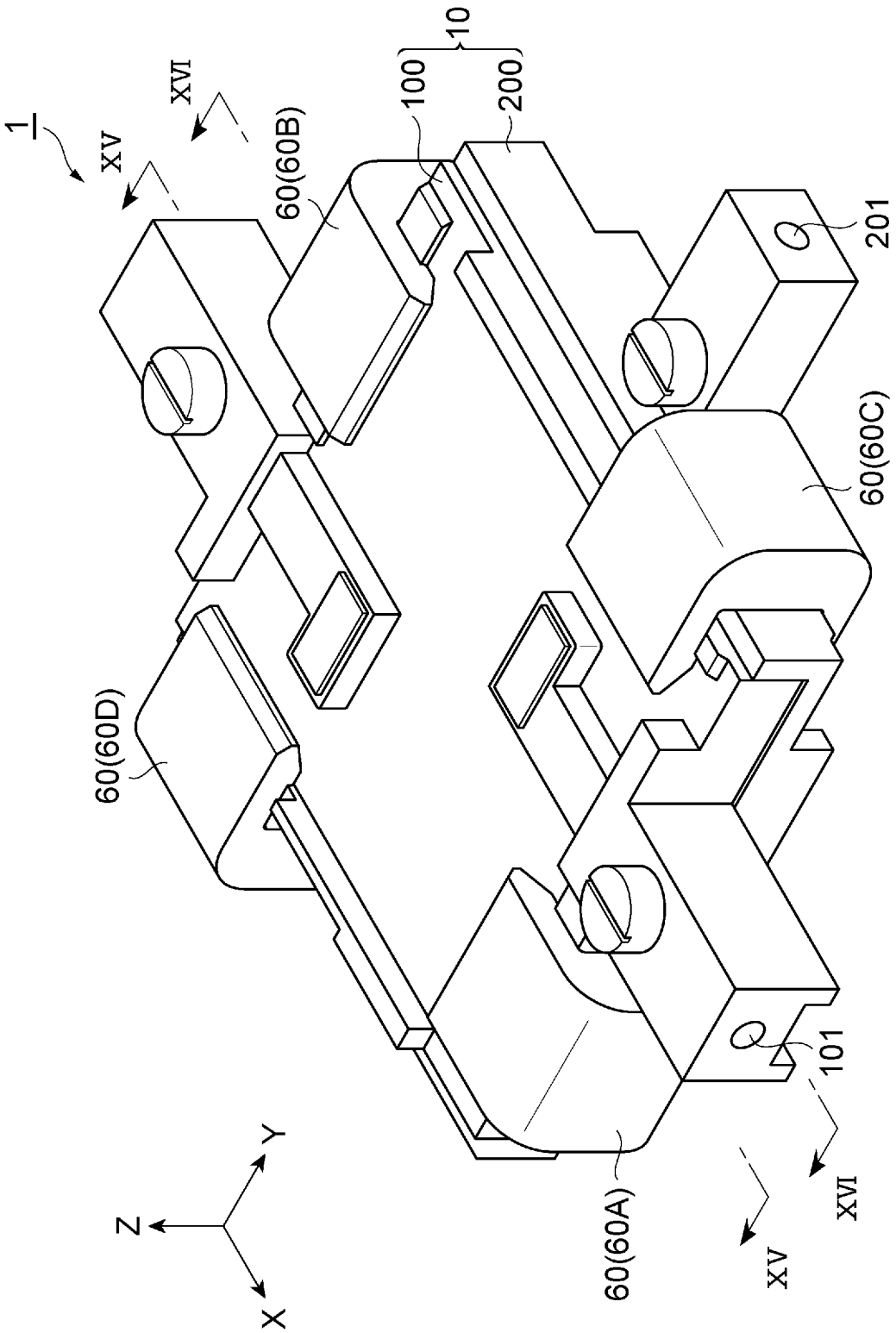
[請求項11] 前記蓋部材は、前記第１の突出部よりも外側で離間した位置であって組み立てた際に前記細胞捕捉フィルタと重ならない位置に設けられて、前記収納部材と嵌合する第１の嵌合部をさらに備え、

前記収納部材は、組み立てた際に前記蓋部材の前記第１の嵌合部と嵌合する第２の嵌合部をさらに備え、

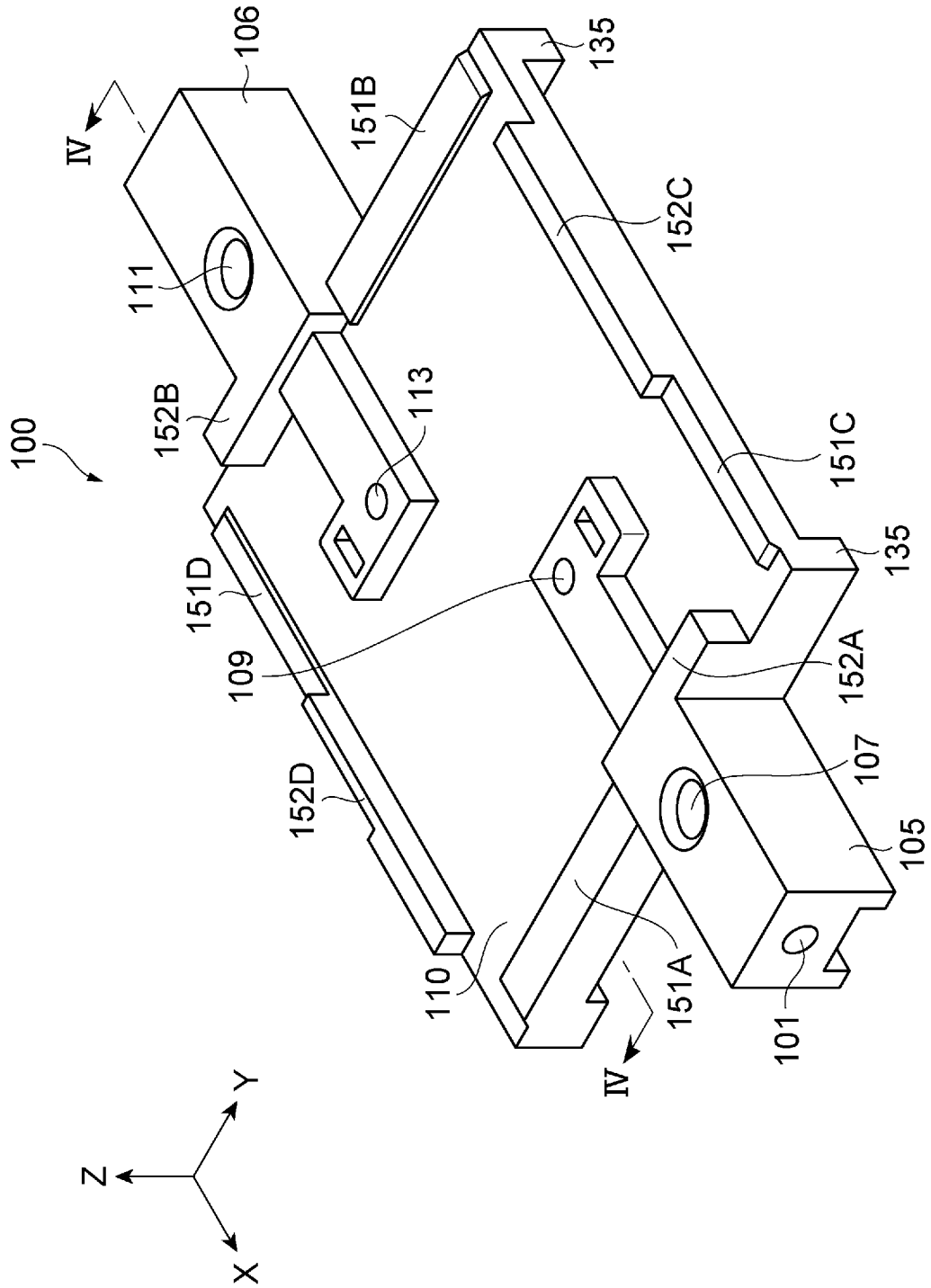
前記第１の嵌合部及び前記第２の嵌合部のうちのいずれか一方は凸形状をなすと共に他方は凹形状をなし、

前記第１の突出部及び前記第２の突出部が前記細胞捕捉フィルタを挟んで対応する位置にあり、且つ、前記第１の嵌合部と前記第２の嵌合部とが前記細胞捕捉フィルタの外縁より外側で互いに嵌合して固定するように、前記蓋部材、前記収納部材及び前記細胞捕捉フィルタを嵌合させる請求項１０記載の細胞捕捉デバイスの製造方法。

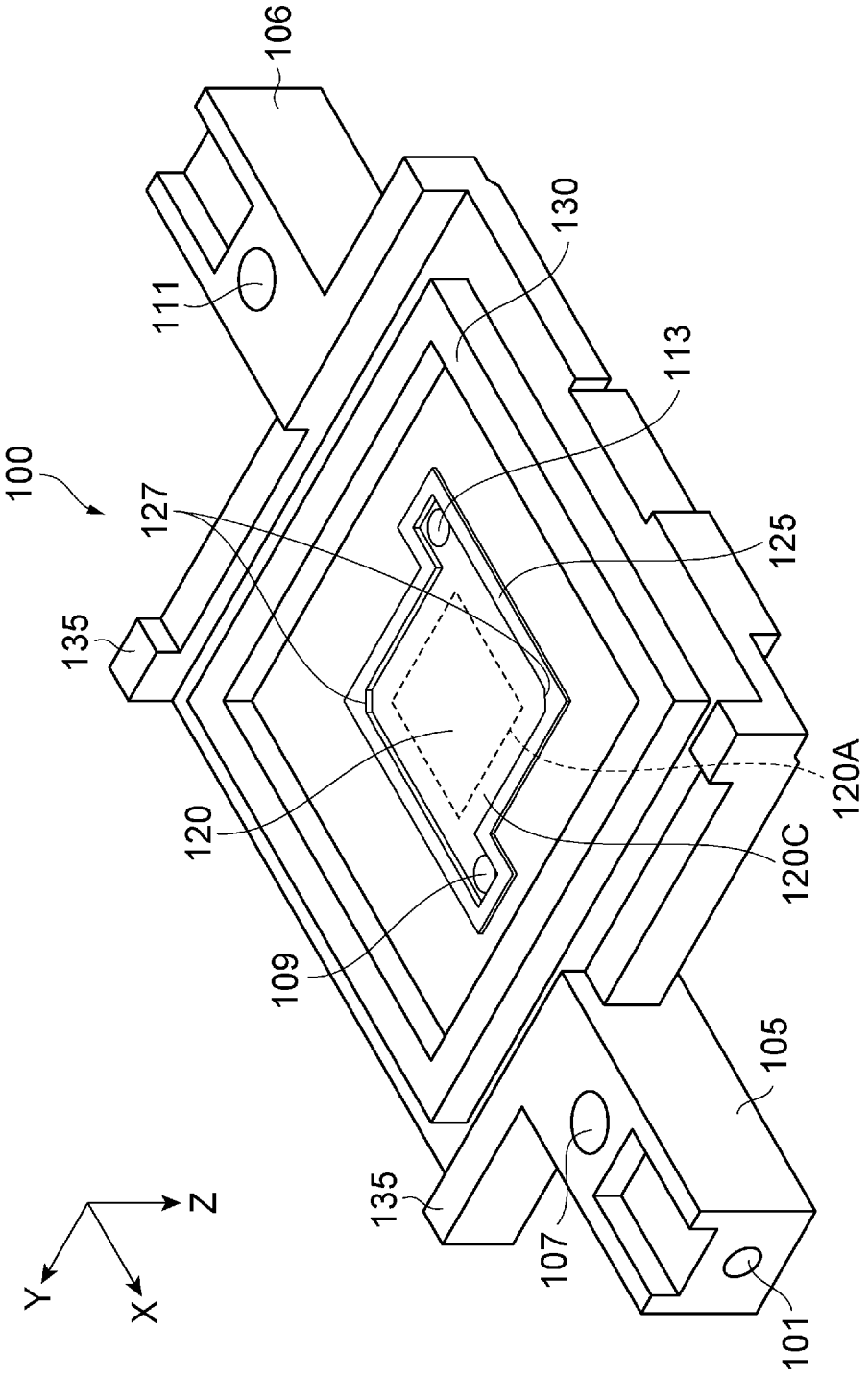
[図1]



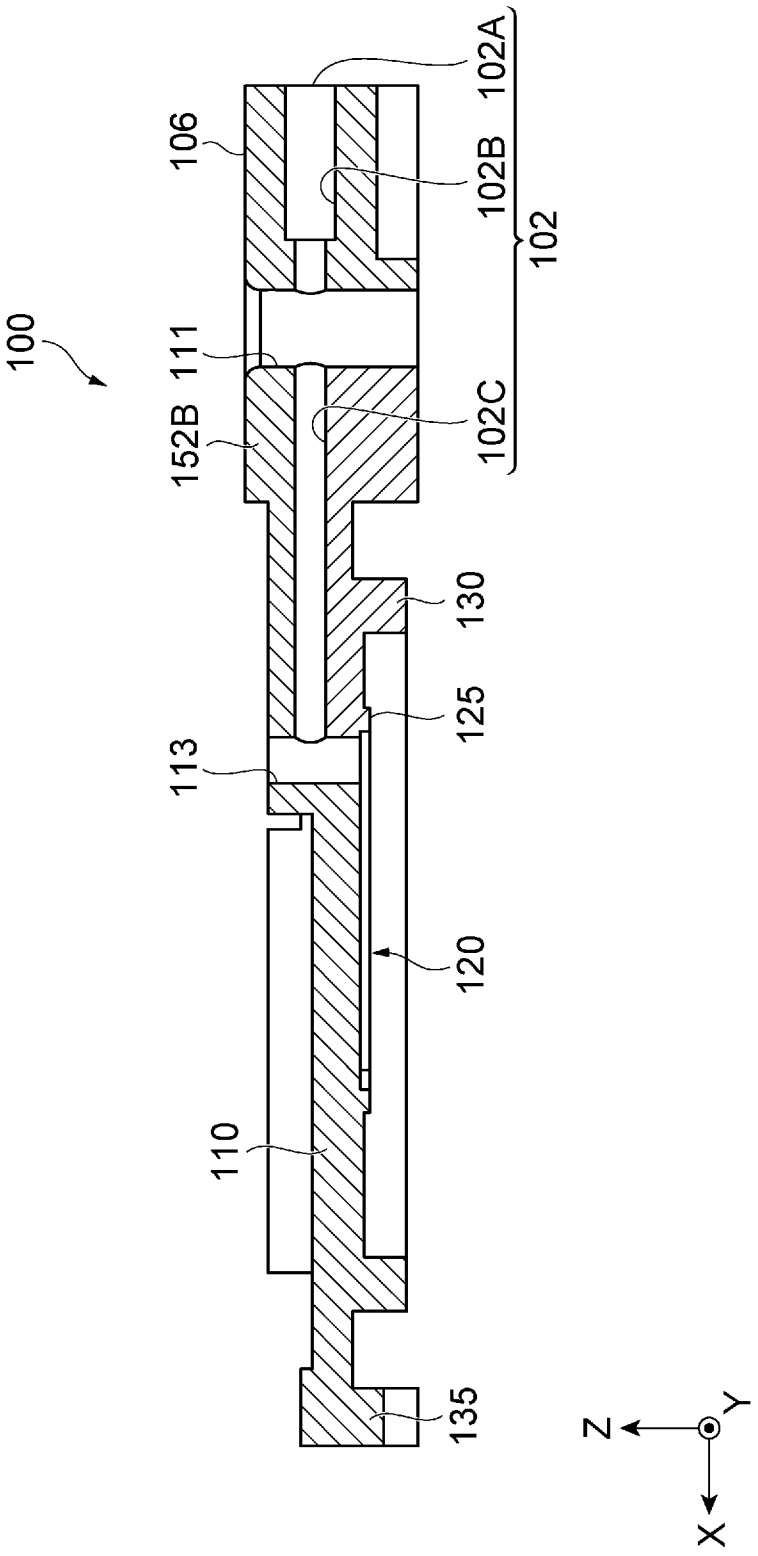
[図2]


100
106
IV
151B
135
152C
111
152B
113
151C
135
151D
109
152A
107
152D
105
110
151A
101
IV
Y
Z
X

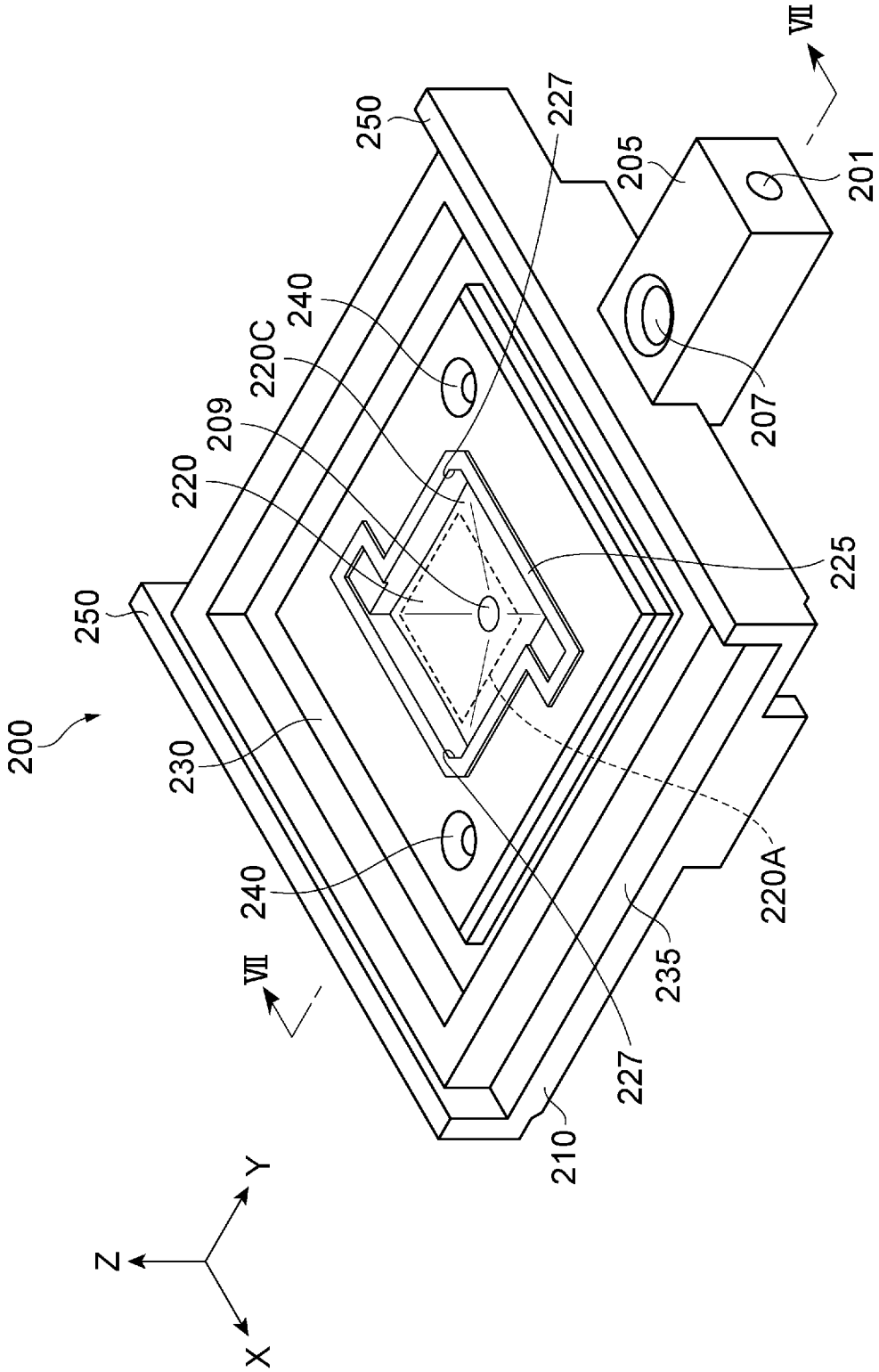
[図3]


100
106
111
130
113
127
125
135
120
120A
120C
109
105
135
107
101
Z
Y
X

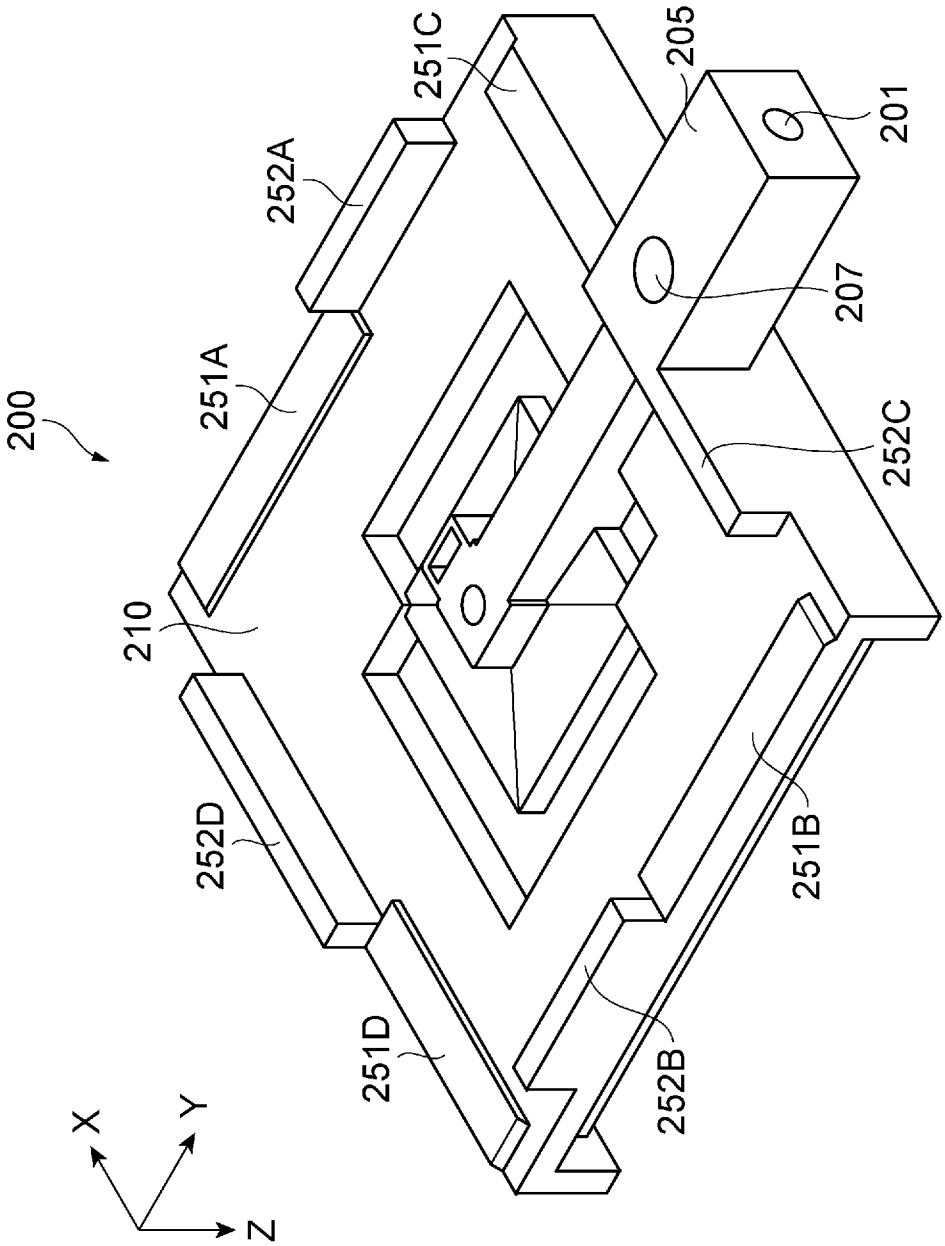
[図4]



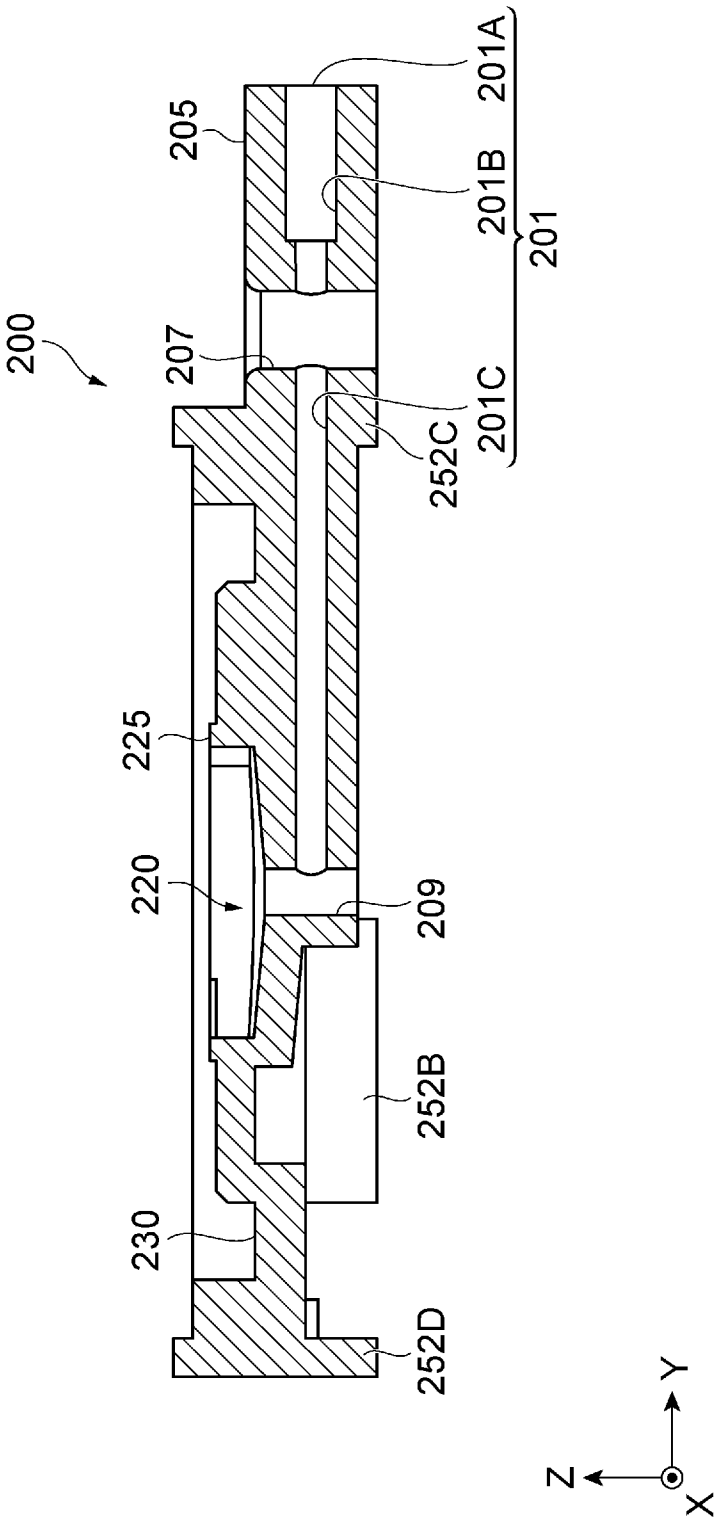
[図5]


200
250
230
240
220
209
220C
240
250
227
205
201
207
225
220A
235
227
210
VII
VII
Z
Y
X

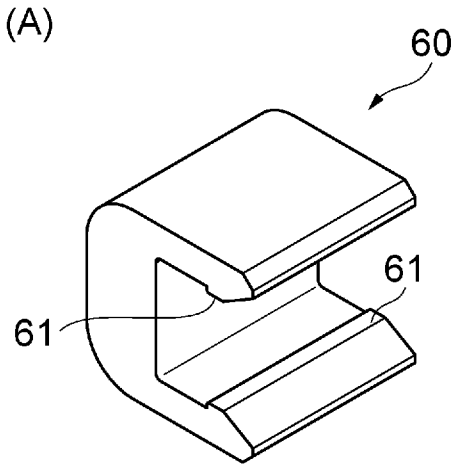
[図6]

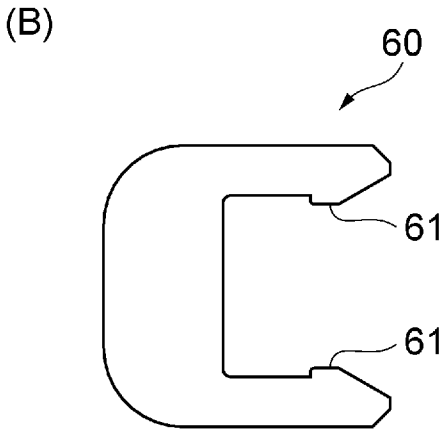

200
251C
205
201
252A
207
251A
252C
210
252D
251B
251D
252B
X
Y
Z

[図7]

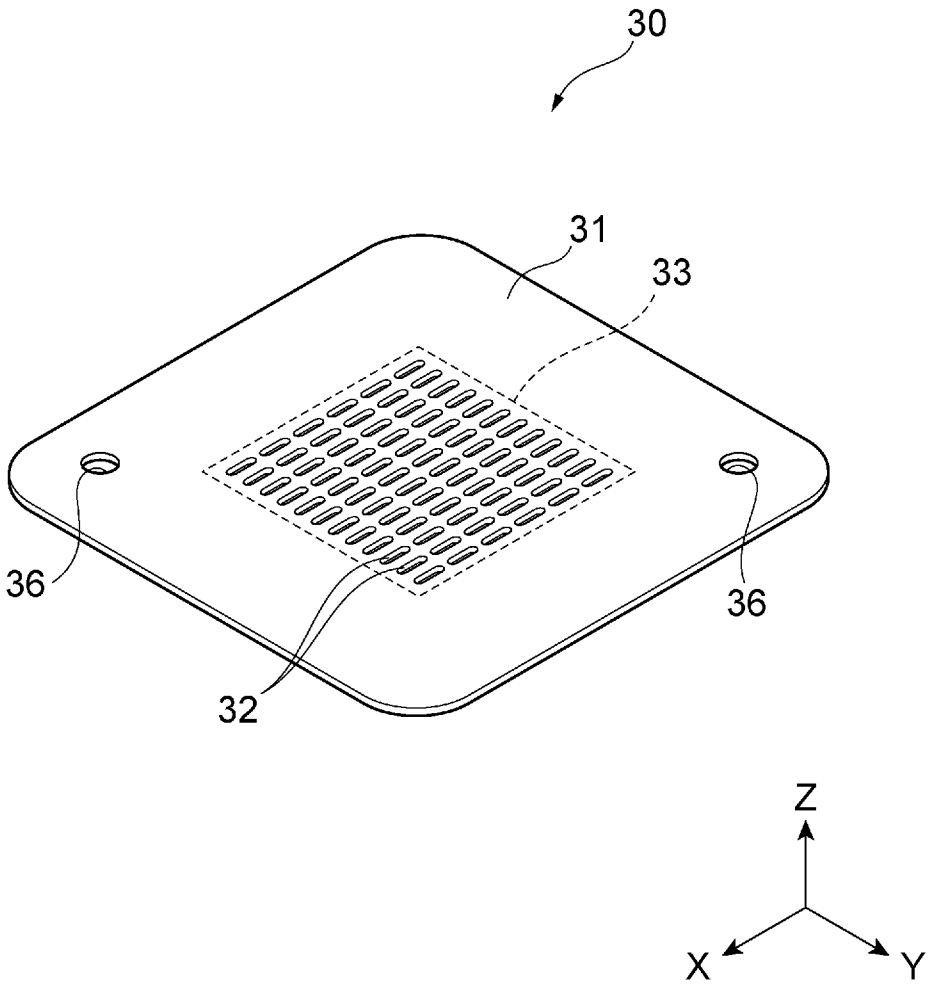

200
205
207
225
220
230
201A
201B
201
201C
252C
209
252B
252D
Z
Y
X

[図8]

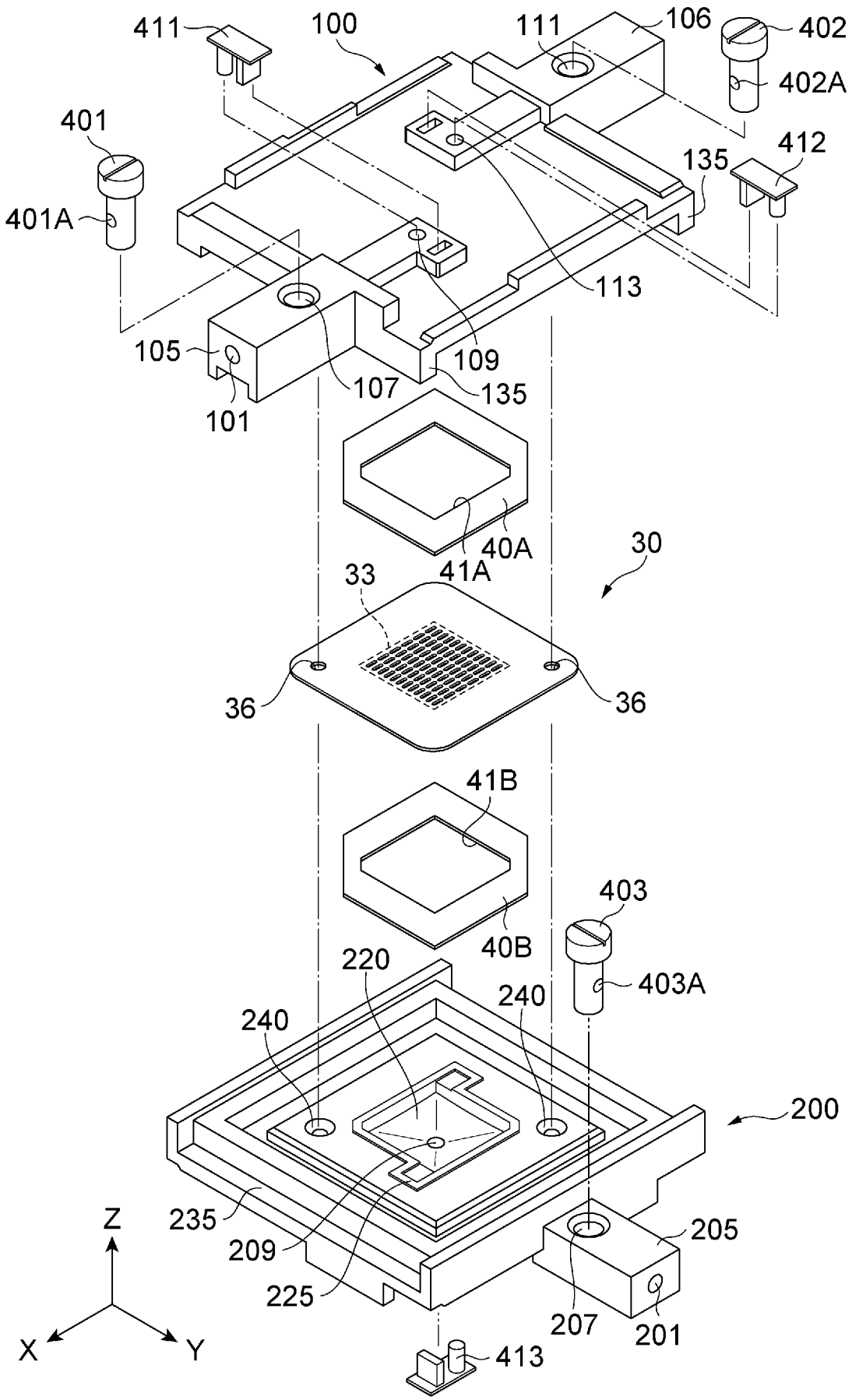


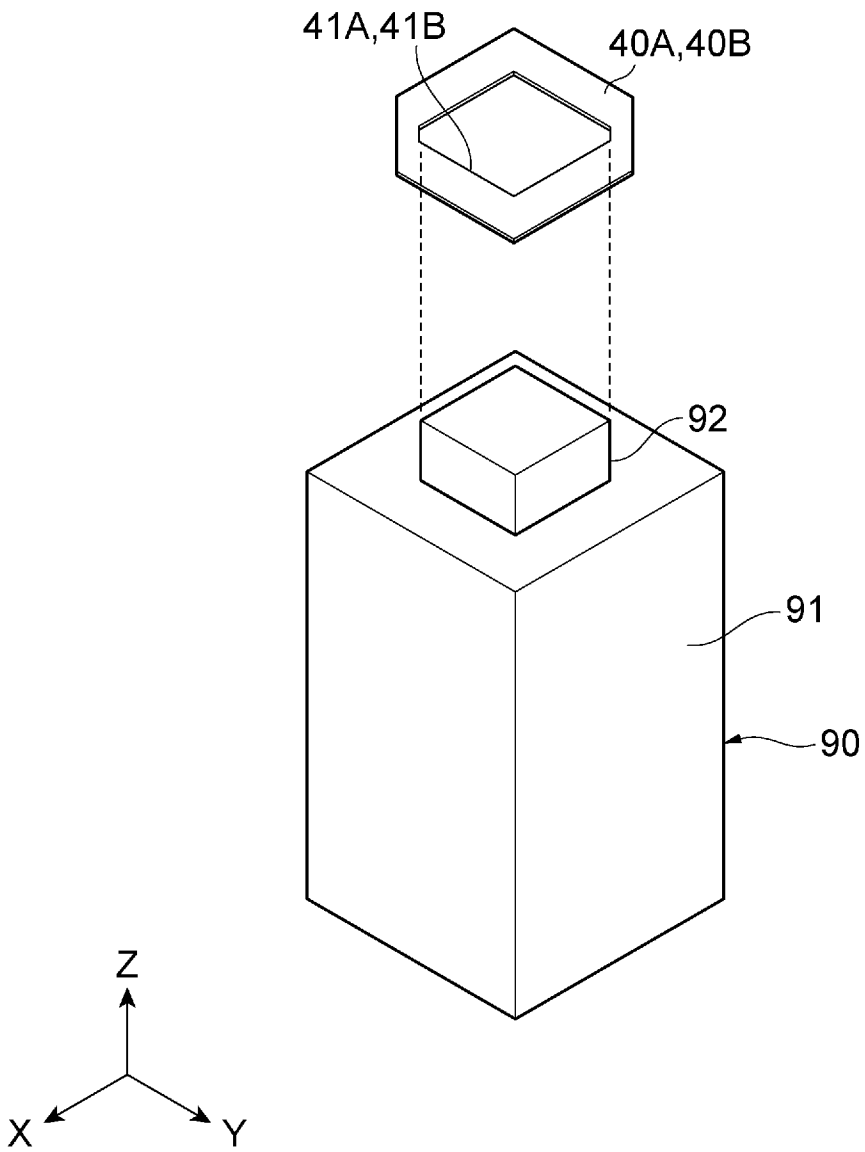
[図9]



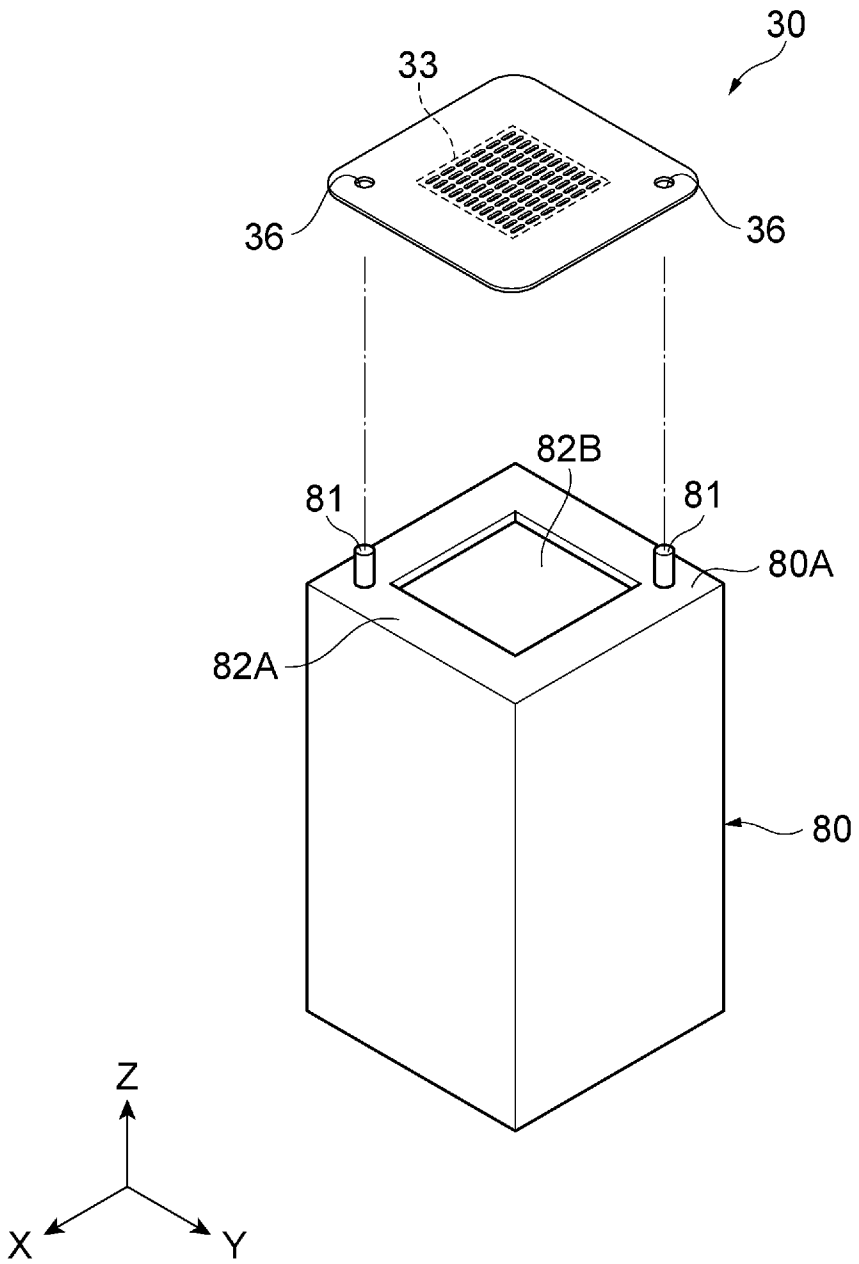
[図10]


411
100
111
106
402
402A
401
401A
412
135
113
105
109
107
135
101
40A
41A
30
33
36
36
41B
403
40B
403A
220
240
240
200
235
209
205
225
207
201
413
Z
X
Y

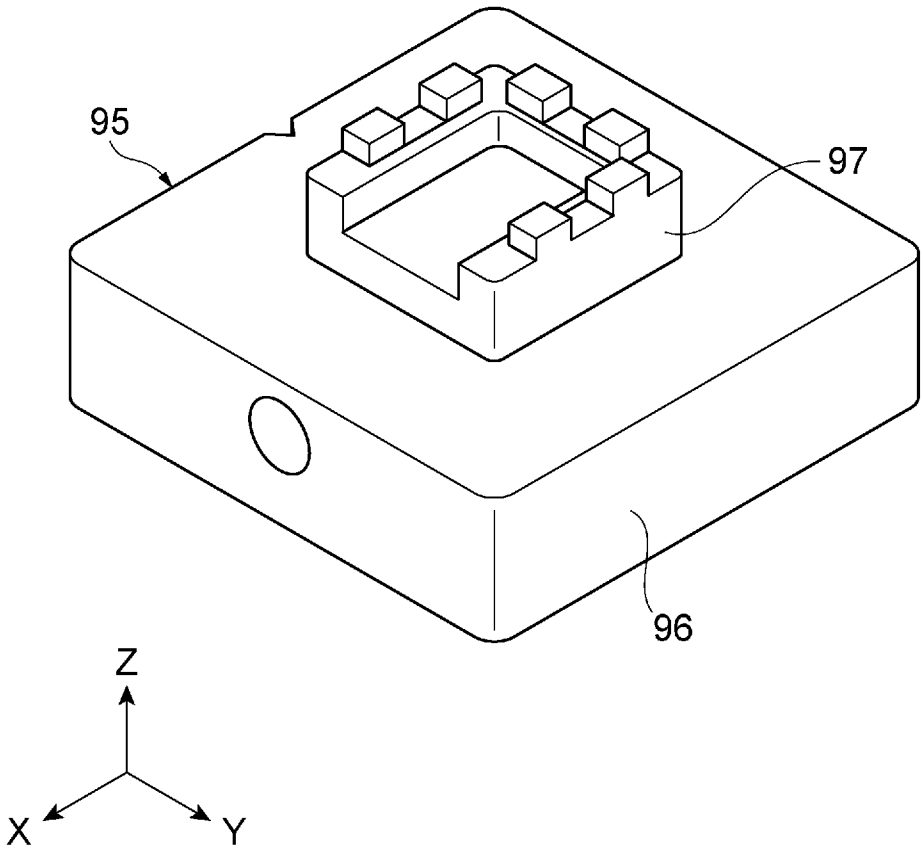
[図11]



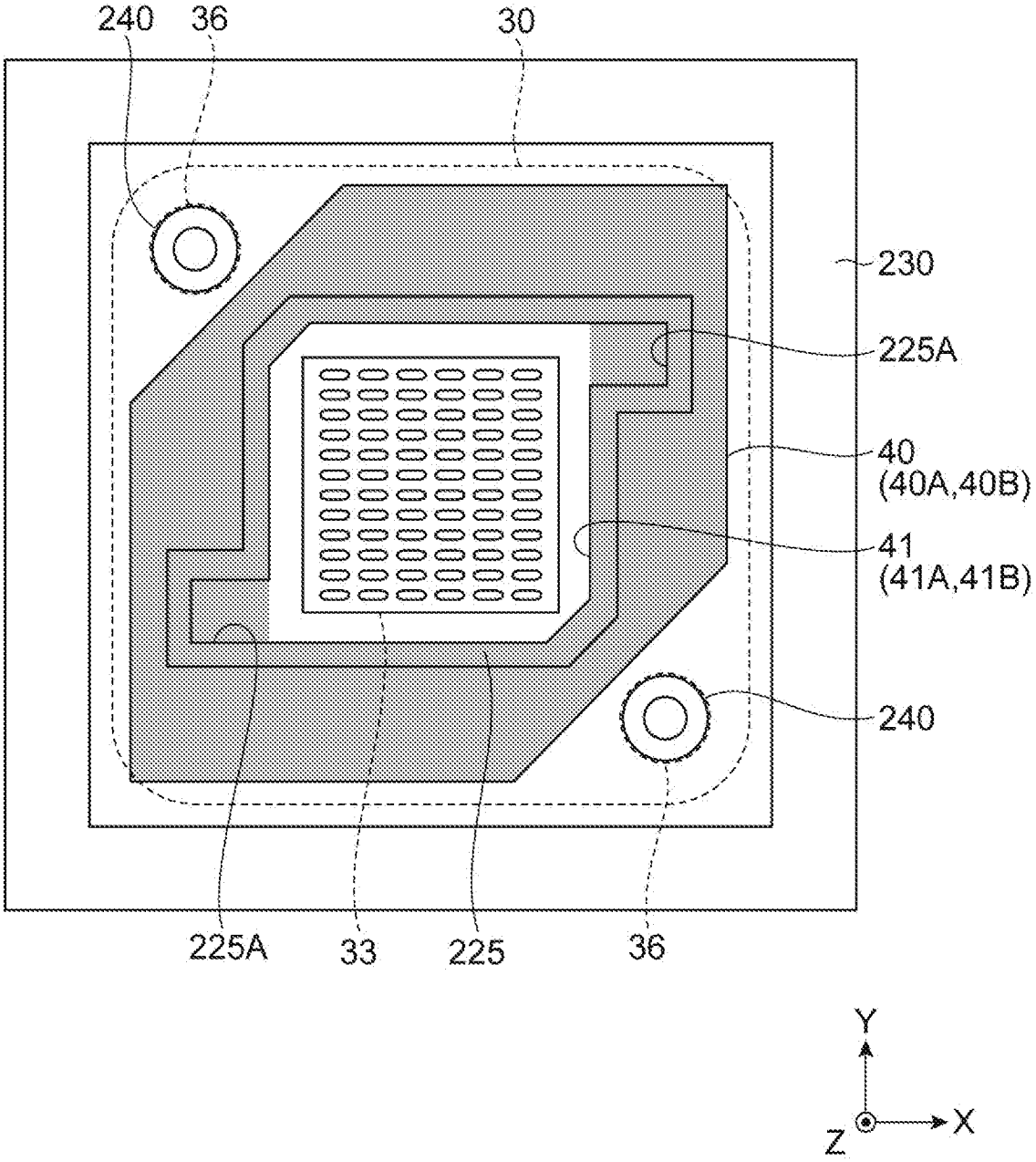
[図12]



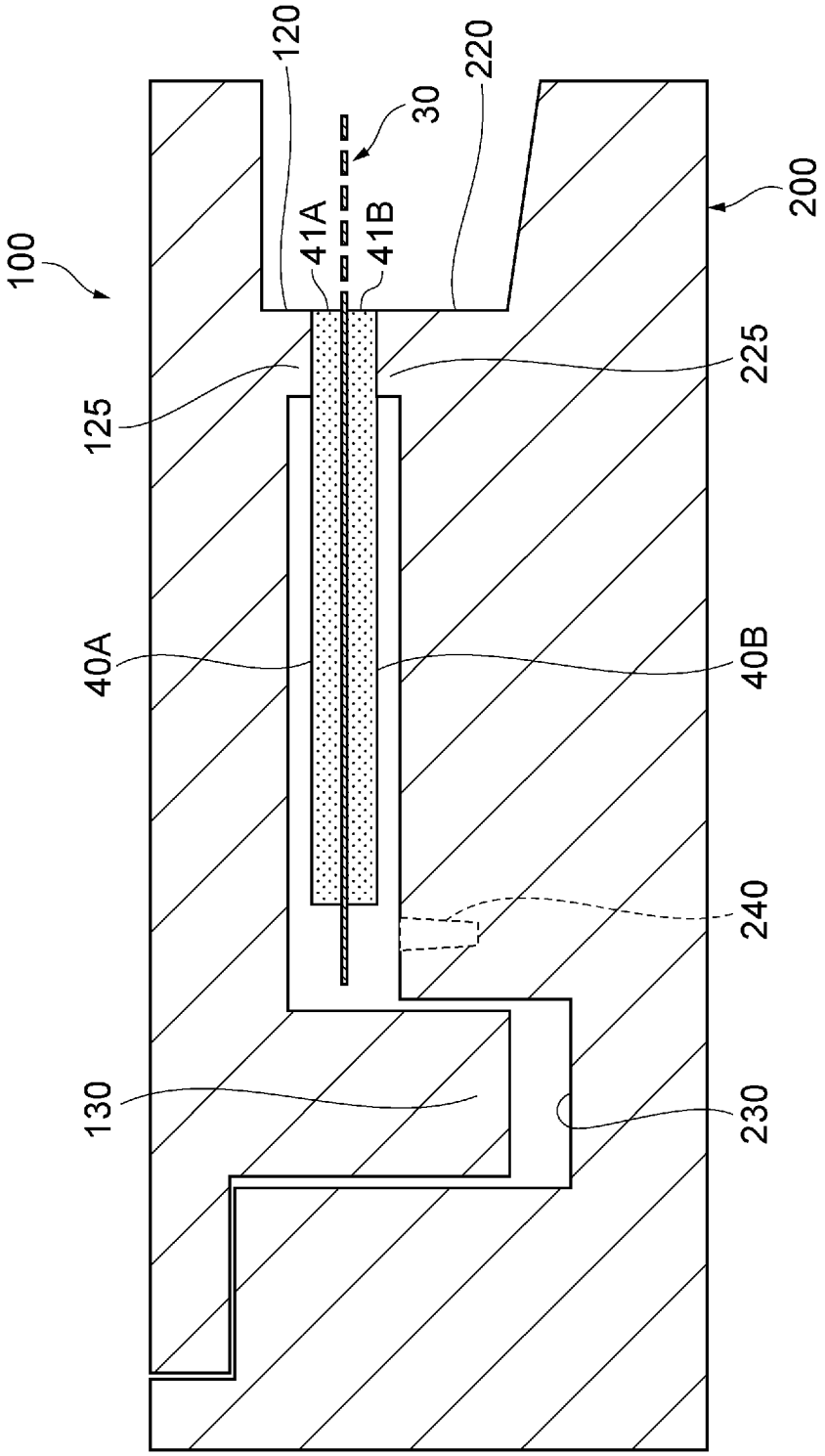
[図13]



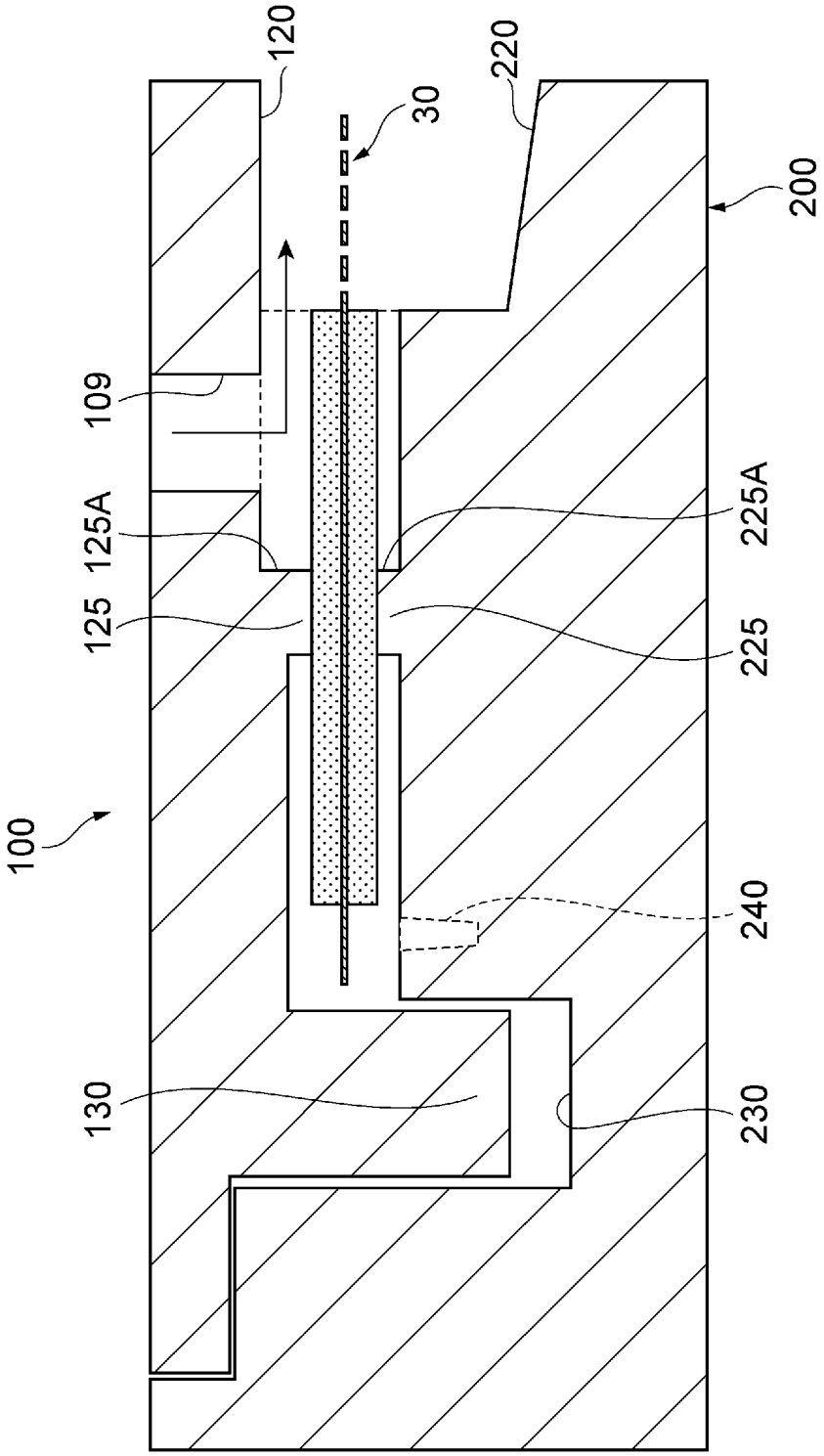
[図14]



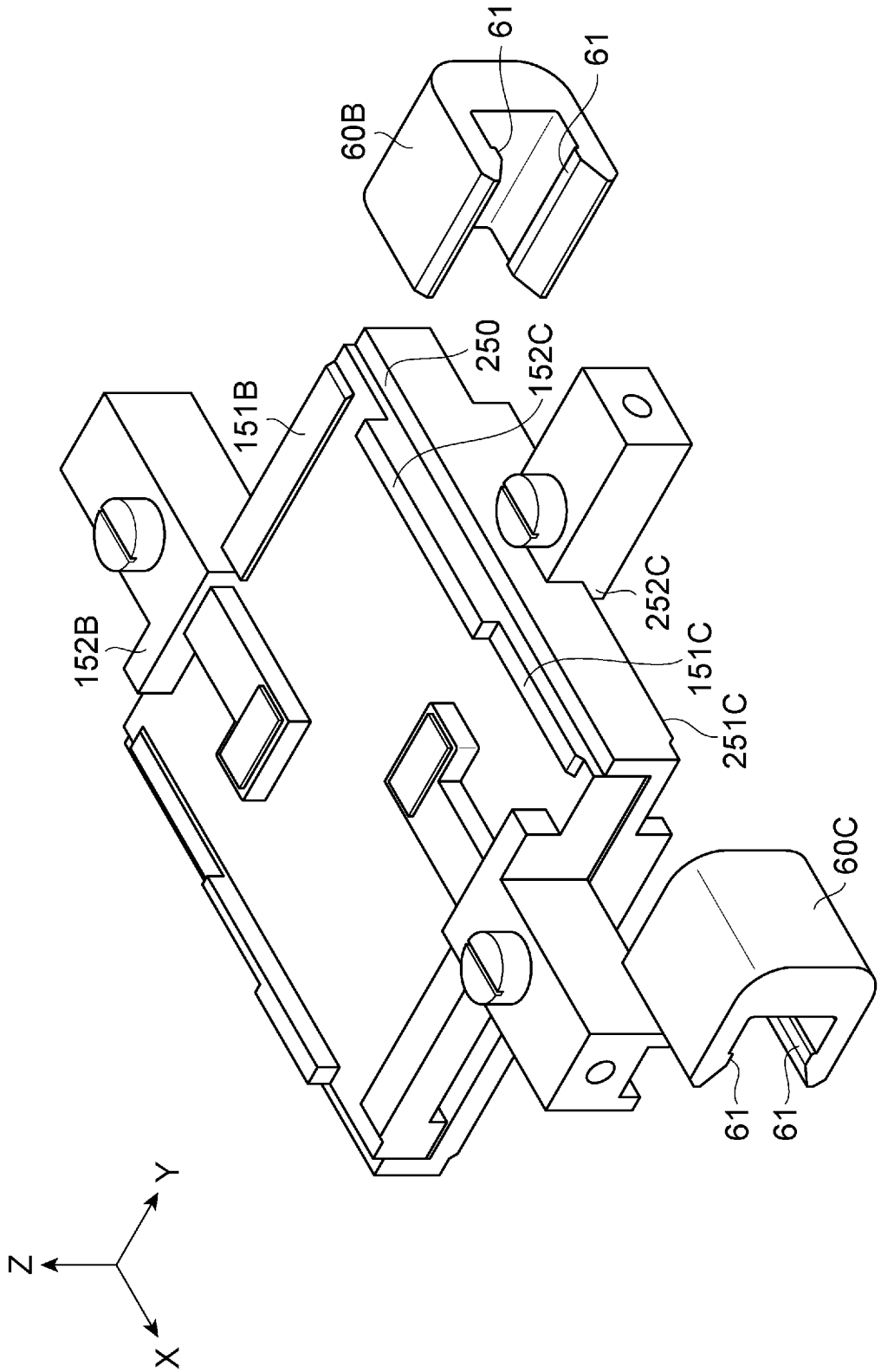
[図15]



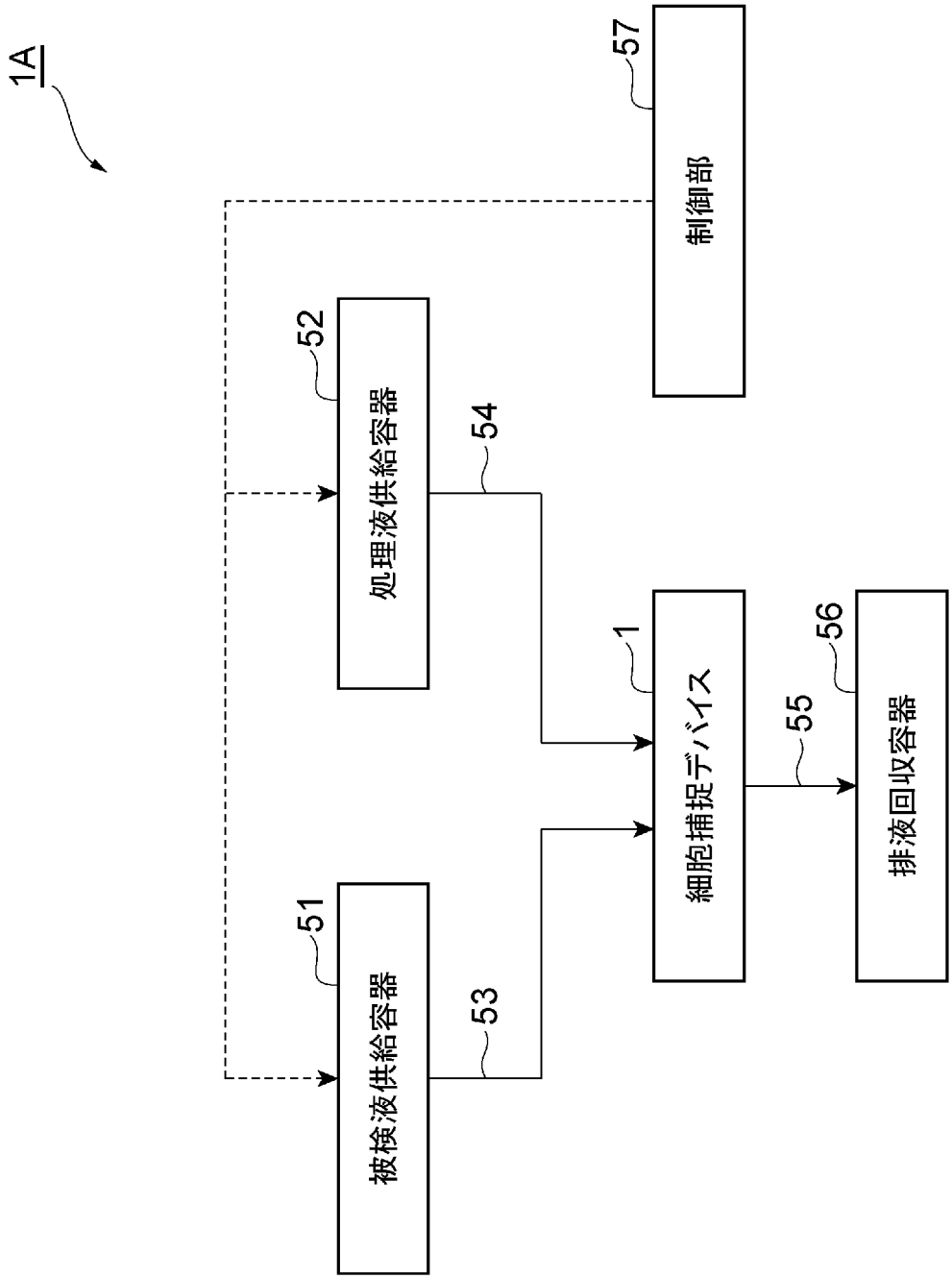
[図16]



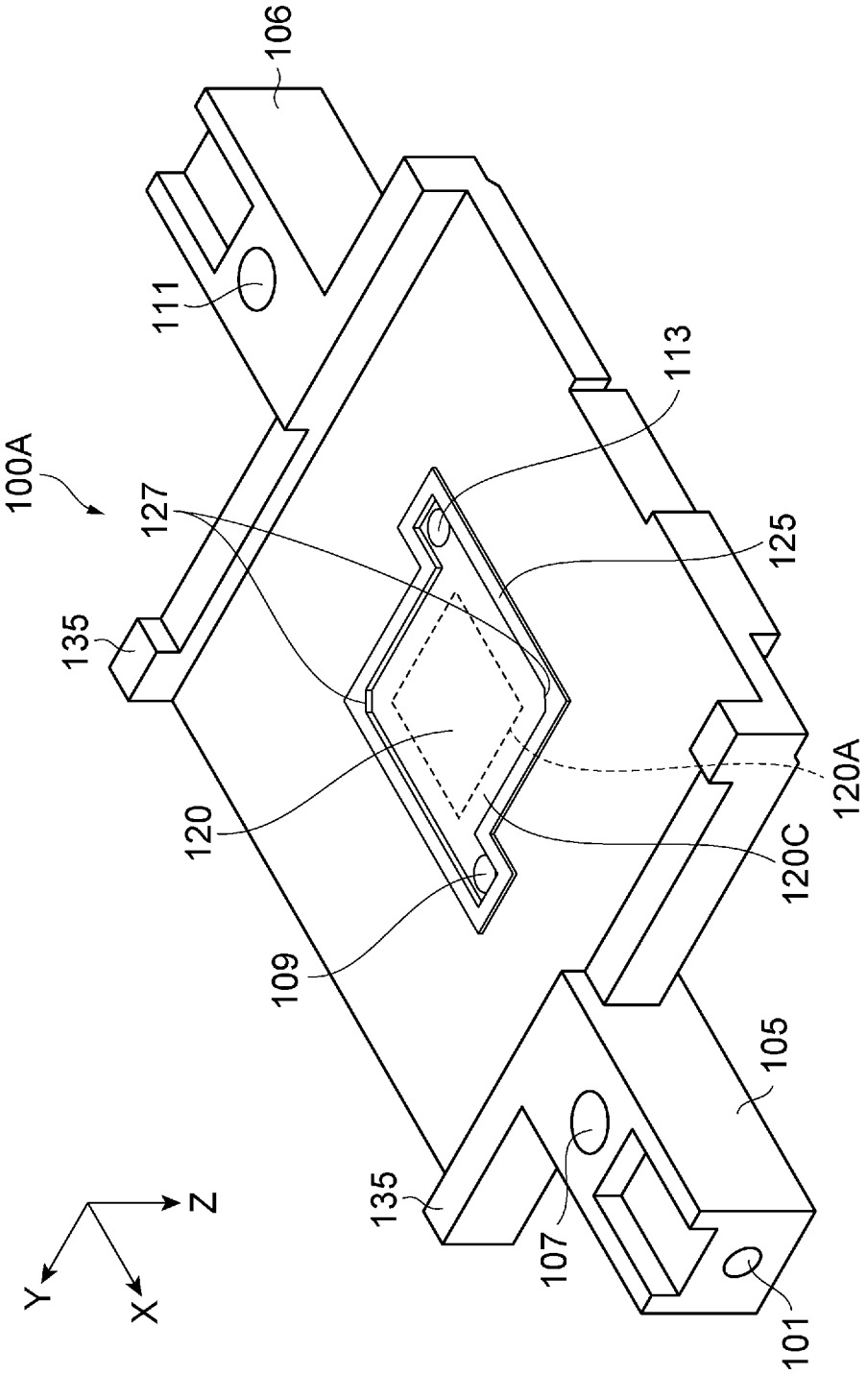
[図17]



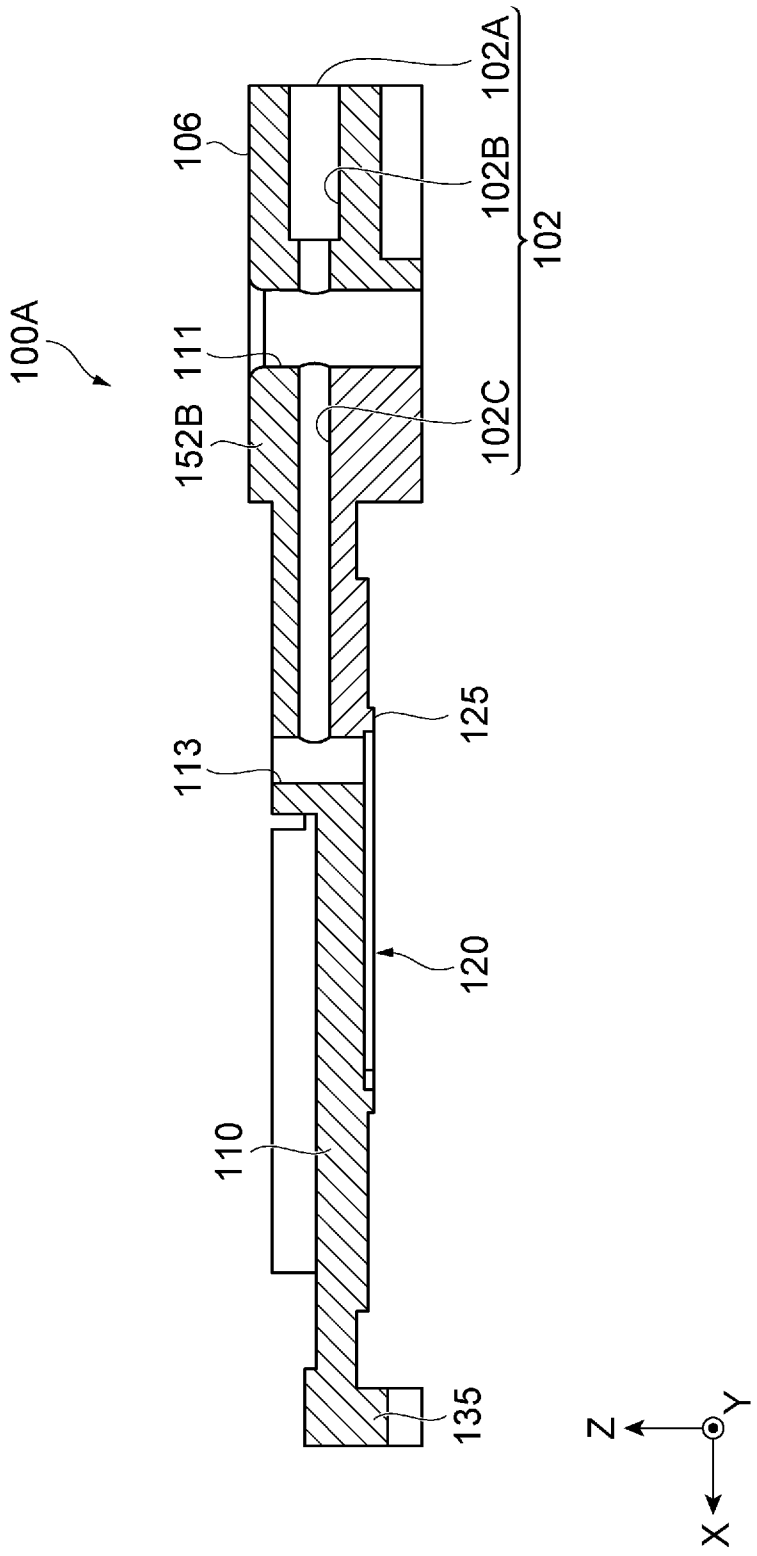
[図18]



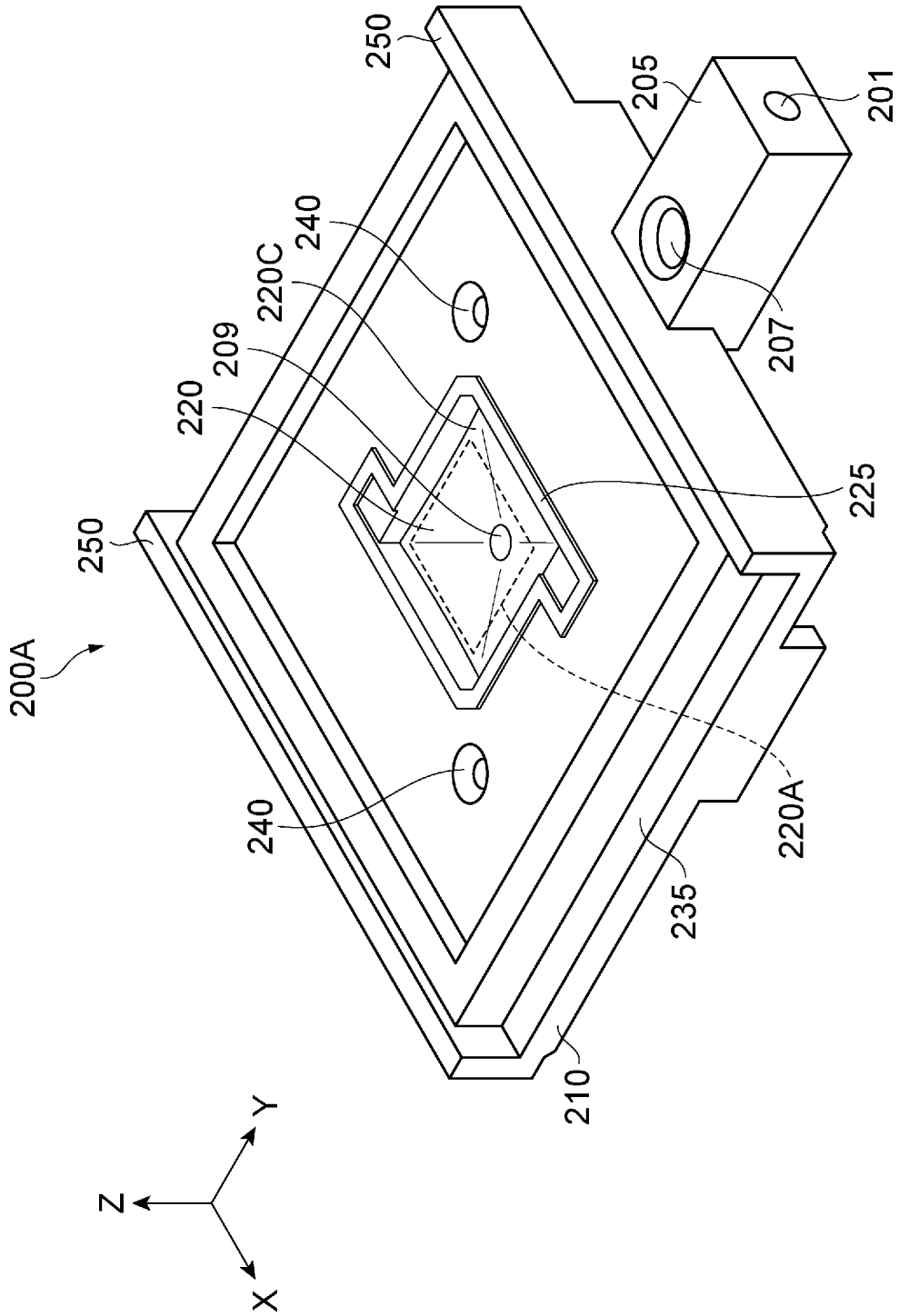
[図19]


106
111
113
100A
127
125
135
120
120A
120C
109
105
135
107
101
Z
Y
X

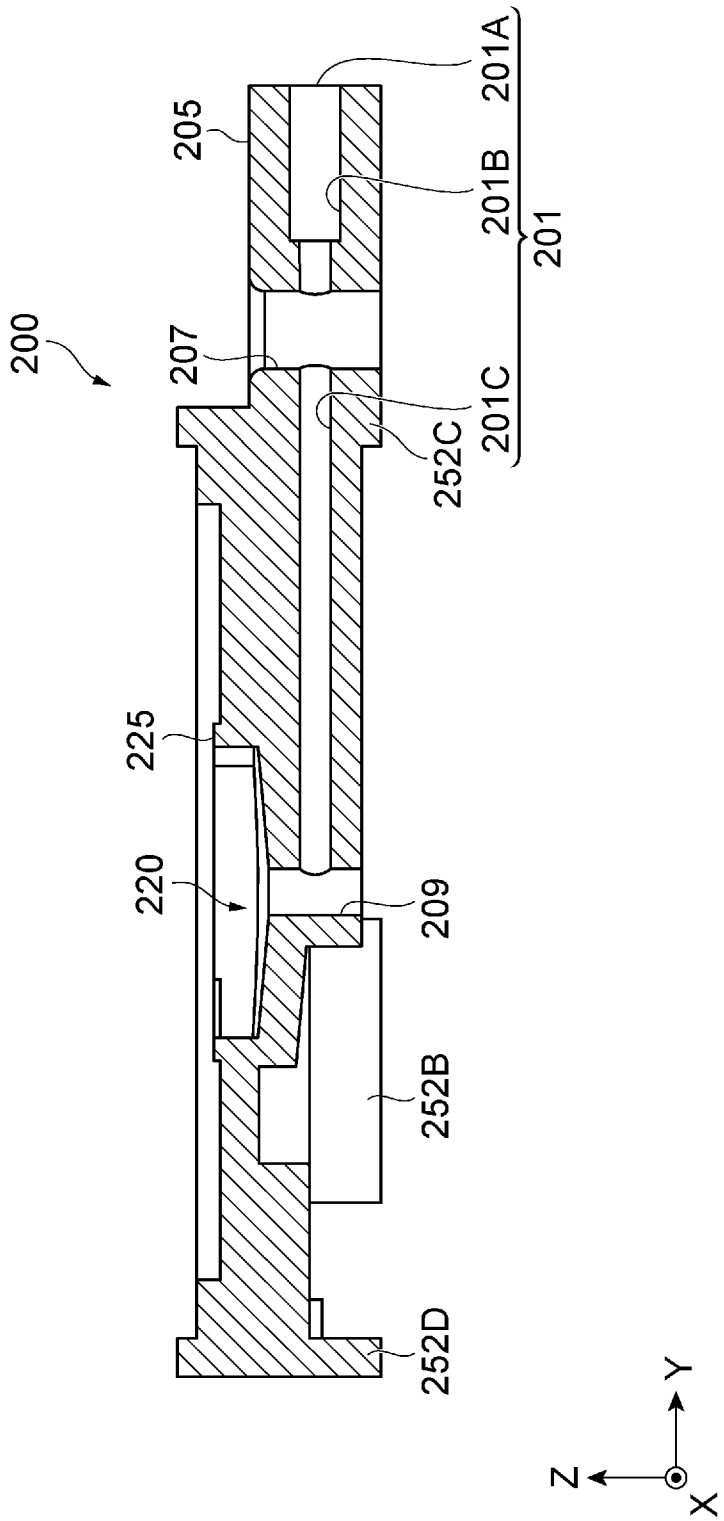
[図20]



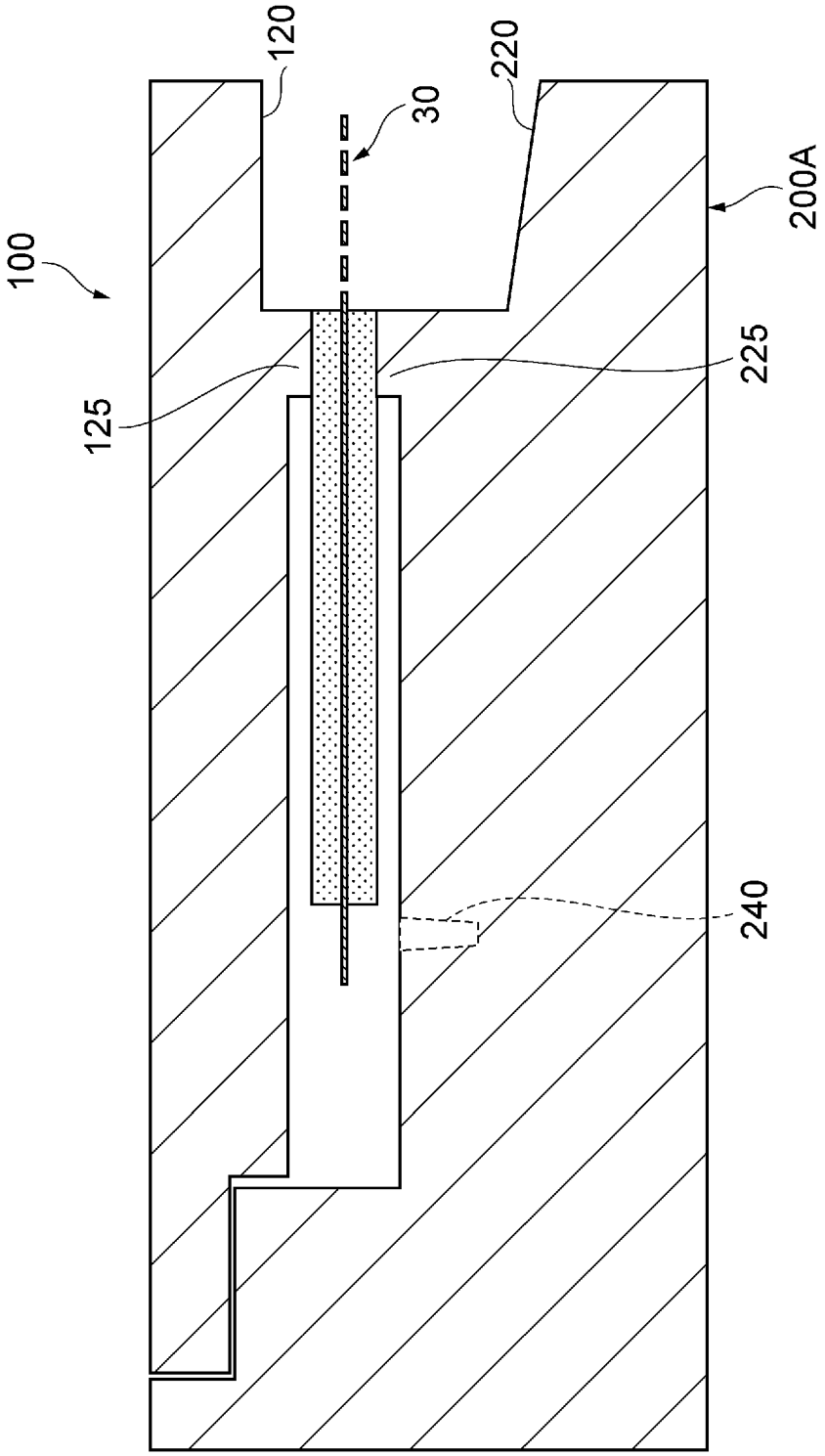
[図21]


200A
250
250
240
240
220
209
220C
205
201
207
225
220A
235
210
Z
Y
X

[図22]



[図23]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/059208

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
*C12M1/00*(2006.01)i, *B01D29/01*(2006.01)i, *B01D35/02*(2006.01)i, *B01D35/30*(2006.01)i, *C12N1/00*(2006.01)n, *C12N5/09*(2010.01)n, *C12Q1/06*(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12M1/00, B01D29/01, B01D35/02, B01D35/30, C12N1/00, C12N5/09, C12Q1/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---|---|---|---|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2015 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2015 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2015 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| Y | JP 2013-255487 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.), 26 December 2013 (26.12.2013), claims; paragraphs [0066], [0076]; fig. 6 to 8, 10, 17 & WO 2013/172265 A1 & CN 104302755 A & KR 10-2015-0020290 A | 1-11 |
| Y | JP 2013-138658 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.), 18 July 2013 (18.07.2013), claims; paragraphs [0035] to [0042], [0055] to [0059]; fig. 1 to 6 & US 2015/0004687 A1 & WO 2013/103144 A1 & EP 2818542 A1 & CN 104039948 A | 1-11 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 June 2015 (15.06.15)

Date of mailing of the international search report
30 June 2015 (30.06.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915,Japan

Authorized officer

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/JP2015/059208

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| Y | JP 6-7432 A (Terumo Corp.),<br>18 January 1994 (18.01.1994),<br>claims; paragraphs [0014] to [0022]; fig. 1 to 4<br>(Family: none) | 1-11 |
| Y | JP 11-33015 A (Minato Medical Science Co., Ltd.),<br>09 February 1999 (09.02.1999),<br>claims; paragraphs [0016] to [0018]; fig. 1 to 3<br>(Family: none) | 1-11 |
| P,X | JP 2015-47073 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.),<br>16 March 2015 (16.03.2015),<br>claims; paragraphs [0031] to [0049], [0081] to [0083]; fig. 1 to 14<br>(Family: none) | 1-11 |
| P,X | WO 2015/019889 A1 (Hitachi Chemical Co., Ltd.),<br>12 February 2015 (12.02.2015),<br>claims; paragraphs [0034] to [0050]; fig. 1 to 22<br>(Family: none) | 1-11 |
| P,A | JP 2014-132897 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.),<br>21 July 2014 (21.07.2014),<br>entire text<br>& WO 2014/092127 A1 | 1-11 |
| A | JP 2012-168035 A (Azbil Corp.),<br>06 September 2012 (06.09.2012),<br>entire text<br>(Family: none) | 1-11 |
| A | JP 2011-163830 A (Tokyo University of Agriculture and Technology),<br>25 August 2011 (25.08.2011),<br>entire text<br>(Family: none) | 1-11 |
| A | JP 2010-71711 A (Arkray, Inc.),<br>02 April 2010 (02.04.2010),<br>entire text<br>& US 2011/0174081 A1 & WO 2010/032807 A1<br>& KR 10-2011-0045090 A & CN 102132161 A | 1-11 |
| A | JP 2005-533502 A (Board of Regents, the University of Texas System),<br>10 November 2005 (10.11.2005),<br>entire text<br>& US 2006/0073585 A1 & WO 2004/009840 A1<br>& EP 2107120 A1 | 1-11 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/JP2015/059208

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | JP 2001-526773 A (Abbott Laboratories), 18 December 2001 (18.12.2001), entire text & US 5976824 A & WO 1995/014533 A1 & EP 937256 A2 | 1-11 |

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１５／０５９２０８

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12M1/00(2006.01)i, B01D29/01(2006.01)i, B01D35/02(2006.01)i, B01D35/30(2006.01)i, C12N1/00(2006.01)n, C12N5/09(2010.01)n, C12Q1/06(2006.01)n

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12M1/00, B01D29/01, B01D35/02, B01D35/30, C12N1/00, C12N5/09, C12Q1/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|---|---|
| 日本国実用新案公報 | １９２２－１９９６年 |
| 日本国公開実用新案公報 | １９７１－２０１５年 |
| 日本国実用新案登録公報 | １９９６－２０１５年 |
| 日本国登録実用新案公報 | １９９４－２０１５年 |

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー＊ | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| Y | JP 2013-255487 A（日立化成株式会社）2013.12.26, 特許請求の範囲、【００６６】、【００７６】、図６－８，１０，１７ & WO 2013/172265 A1 & CN 104302755 A & KR 10-2015-0020290 A | 1-11 |
| Y | JP 2013-138658 A（日立化成株式会社）2013.07.18, 特許請求の範囲、【００３５】－【００４２】、【００５５】－【００５９】、図１－６ & US 2015/0004687 A1 & WO 2013/103144 A1 & EP 2818542 A1 & CN 104039948 A | 1-11 |

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー

「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

| | |
|---|---|
| 国際調査を完了した日<br>１５．０６．２０１５ | 国際調査報告の発送日<br>３０．０６．２０１５ |
| 国際調査機関の名称及びあて先<br>日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）<br>郵便番号１００－８９１５<br>東京都千代田区霞が関三丁目４番３号 | 特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｂ　３４４６<br>大久保　智之<br>電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８ |

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー＊ | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| Y | JP 6-7432 A（テルモ株式会社）1994.01.18，特許請求の範囲、【００１４】－【００２２】、図１－４（ファミリーなし） | 1-11 |
| Y | JP 11-33015 A（ミナト医科学株式会社）1999.02.09，特許請求の範囲、【００１６】－【００１８】、図１－３（ファミリーなし） | 1-11 |
| P，X | JP 2015-47073 A（日立化成株式会社）2015.03.16，特許請求の範囲、【００３１】－【００４９】、【００８１】－【００８３】、図１－１４（ファミリーなし） | 1-11 |
| P，X | WO 2015/019889 A1（日立化成株式会社）2015.02.12，請求の範囲、【００３４】－【００５０】、図１－２２（ファミリーなし） | 1-11 |
| P，A | JP 2014-132897 A（日立化成株式会社）2014.07.21，全文 & WO 2014/092127 A1 | 1-11 |
| A | JP 2012-168035 A（アズビル株式会社）2012.09.06，全文（ファミリーなし） | 1-11 |
| A | JP 2011-163830 A（国立大学法人東京農工大学）2011.08.25，全文（ファミリーなし） | 1-11 |
| A | JP 2010-71711 A（アークレイ株式会社）2010.04.02，全文 & US 2011/0174081 A1 & WO 2010/032807 A1 & KR 10-2011-0045090 A & CN 102132161 A | 1-11 |
| A | JP 2005-533502 A（ボード　オブ　レジェンツ，ザ　ユニバーシティー　オブ　テキサス　システム）2005.11.10，全文 & US 2006/0073585 A1 & WO 2004/009840 A1 & EP 2107120 A1 | 1-11 |
| A | JP 2001-526773 A（アボツト・ラボラトリーズ）2001.12.18，全文 & US 5976824 A & WO 1995/014533 A1 & EP 937256 A2 | 1-11 |