



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118922704 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 08

(21) 申请号 202380029496.2

(22) 申请日 2023.02.27

(30) 优先权数据

2022-051142 2022.03.28 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/007099 2023.02.27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/189095 JA 2023.10.05

(71) 申请人 国立大学法人茨城大学

地址 日本茨城县水户市文京二丁目1番1号

申请人 株式会社缔瑙 NOK株式会社

(72) 发明人 中村麻子 高桥健太 千原悠雅

小森隆幸 藤泽直广

(74) 专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

专利代理师 马运刚 陈鑫

(51) Int.Cl.

G01N 1/04 (2006.01)

B03B 5/00 (2006.01)

G01N 37/00 (2006.01)

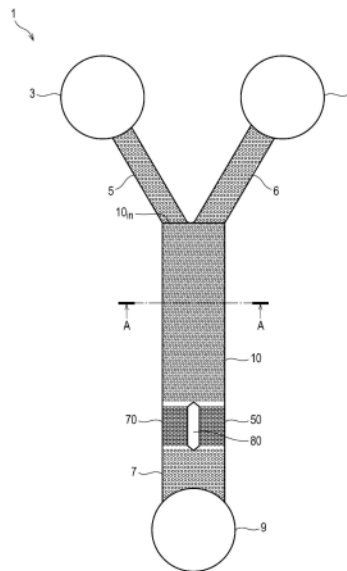
权利要求书2页 说明书10页 附图7页

(54) 发明名称

白血球捕捉设备

(57) 摘要

本发明的课题在于,提供高效地捕捉白血球且不易捕捉除此之外的白血球捕捉设备。通过白血球捕捉设备来解决,白血球捕捉设备捕捉含血液体所含的白血球,具有样品入口、缓冲液入口、白血球分离单元、主部、辅助部和出口,所述主部构成为,具有在平面部和设于该平面部之上的多个凸部,从入口进入了的缓冲液通过主部的上方,并从出口被排出,凸部在平面部的表面上设为层状,各层包含多个所述凸部,并构成为通过了入口侧的层的缓冲液通过与该入口侧的层相邻的出口侧的层,与特定的层中的全部或一部分的所述旁通部的出口侧相对地、配置有作为与其相邻的另一层的一部分的所述捕捉部。



1. 一种白血球捕捉设备,使含血液体通过,捕捉所述含血液体所含的白血球,其中,具有:

样品入口,供所述含血液体X1导入;

缓冲液入口,供缓冲液Y1导入;

白血球分离单元,构成为具有平面部和沿所述平面部的垂线方向延伸的多个柱,所述含血液体X1和所述缓冲液Y1以它们相互相邻的方式在所述平面部的表面上且所述柱和与其相邻的另一所述柱之间向特定的相同方向流动,

在从与所述平面部的所述表面的垂线平行的方向观察所述平面部的所述表面的情况下,所述柱形成多个列,各个列排列为相对于所述含血液体X1和所述缓冲液Y1流动的方向Z形成角度 θ ,

在从与所述平面部的所述表面的垂线平行的方向观察所述平面部的所述表面的情况下的、相对于所述相同方向Z垂直的方向上,在使用将所述柱和与其相邻的另一所述柱的间隔设为g的确定性侧向位移法(DLD法)的结构的情况下,由 $D_c = 1.4g \times (1/\tan\theta)^{-0.48}$ 定义的边界直径 D_c 比所述白血球的直径小,

在所述含血液体X1和所述缓冲液Y1向特定的相同方向Z流动的过程中,从所述含血液体X1分离所述白血球,使该白血球含有在所述缓冲液Y1中,由此生成含有所述白血球的缓冲液Y2和作为分离了所述白血球的剩余部分的含血液体X2,并将它们排出;

主部,使从所述白血球分离单元排出的所述缓冲液Y2通过,捕捉所述缓冲液Y2中所含的所述白细胞;

辅助部,使从所述白血球分离单元排出的所述含血液体X2通过,且流路阻力与所述主部相同;和

出口,供通过了所述主部和所述辅助部之后的液体流出,

所述主部构成为,

具有平面部和设于该平面部之上的多个凸部,从入口进入了的所述缓冲液Y2在所述主部中的所述平面部的表面上且所述凸部和与该凸部相邻的另一所述凸部之间通过,并从出口被排出,

所述凸部在所述平面部的表面上设为层状,各层包含多个所述凸部,且所述凸部构成为,通过了入口侧的层的所述缓冲液Y2通过与该入口侧的层相邻的出口侧的层,

在各层处形成有所述凸部和与该凸部相邻的另一所述凸部之间的宽度设定为 $2 \sim 7.5 \mu\text{m}$ 的捕捉部和设定为 $8 \sim 20 \mu\text{m}$ 的旁通部,

构成所述捕捉部的两个所述凸部中的入口侧的进入侧部分的宽度被倒角为朝向所述捕捉部的深处逐渐变窄,

与特定的层中的与全部或一部分的所述旁通部的出口侧相对地、配置有作为与其相邻的另一层的一部分的所述捕捉部。

2. 根据权利要求1所述的白血球捕捉设备,其中,

所述辅助部为与所述主部相同的结构。

3. 根据权利要求1或2所述的白血球捕捉设备,其中,

在所述主部中,特定的层和与该特定的层相邻的另一层的宽度为 $8 \sim 30 \mu\text{m}$ 。

4. 根据权利要求1~3中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,

在所述主部中,所述旁通部的宽度相对于所述捕捉部的宽度之比为大于1且3以下。

5.根据权利要求1~4中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,

在所述主部中,所述凸部的入口侧的端面处的所述捕捉部以外的部分沿层方向平行地延伸,且所述凸部中的构成所述旁通部的端面沿相对于层方向垂直的方向延伸。

6.根据权利要求1~5中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,

所述边界直径 D_c 为 $5\mu\text{m}$ 以上且小于 $10\mu\text{m}$ 。

白血球捕捉设备

技术领域

[0001] 本发明涉及一种白血球捕捉设备。

背景技术

[0002] DNA因暴露于放射线、生活环境的影响而受到损伤。受到了损伤的DNA与癌等疾病有密切的关系。以往,为了分析该DNA的损伤,采取了离心分离血液,取出白血球,并在染色后,用载玻片进行观察的方法。

[0003] 另外,以往提出有用于捕捉白血球等微颗粒的微流控件(参照专利文献1)。在专利文献1中,公开了一种具有过滤功能的微流控设备,该微流控设备使用包括凹型的捕捉部的微流控件,从固液混合物仅捕捉、分离规定以上的大小的固体。在专利文献1中,其目的在于,一个捕捉部收容一个或者多个规定大小以上的固体,完全捕捉光规定大小以上的固体直至到配置有多个捕捉部的分离部的终端,而没有考虑到为了便于观察所捕捉到的白血球等固体,在一个捕捉部仅捕捉1个固体。另外,为了避免一旦被捕捉部捕捉到的固体再次浮游而从捕捉部流出,需要始终使固液混合物从微流控件的入口朝向出口流动。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:日本特开2009-109232号公报

发明内容

[0007] 发明要解决的技术问题

[0008] 但是,在现有的方法中,在作为捕捉白血球的对象的液体内包含红血球、蛋白质等,存在这些凝固物与白血球一起被捕捉,从而这些成为观察白血球时的干扰的情况。

[0009] 本发明的目的在于,解决上述那样的技术问题。即,本发明的目的在于提供一种高效地捕捉白血球且难以捕捉除此之外的白血球捕捉设备。

[0010] 用于解决课题的方案

[0011] 本发明为以下的(1)~(6)。

[0012] (1)一种白血球捕捉设备,使含血液体通过,捕捉所述含血液体所含的白血球,其中,具有:

[0013] 样品入口,供所述含血液体X1导入;

[0014] 缓冲液入口,供缓冲液Y1导入;

[0015] 白血球分离单元,构成为具有平面部和沿所述平面部的垂线方向延伸的多个柱,所述含血液体X1和所述缓冲液Y1以它们相互相邻的方式在所述平面部的表面上且所述柱和与其相邻的另一所述柱之间向特定的相同方向流动,

[0016] 在从与所述平面部的所述表面的垂线平行的方向观察所述平面部的所述表面的情况下,所述柱形成多个列,各个列排列为相对于所述含血液体X1和所述缓冲液Y1流动的方向Z形成角度 θ ,

[0017] 在从与所述平面部的所述表面的垂线平行的方向观察所述平面部的所述表面的情况下的、相对于所述相同方向Z垂直的方向上,在使用将所述柱和与其相邻的另一所述柱的间隔设为g的确定性侧向位移法(DLD法)的结构的情况下,由 $D_c = 1.4g \times (1/\tan\theta)^{-0.48}$ 定义的边界直径 D_c 比所述白血球的直径小,

[0018] 在所述含血液体X1和所述缓冲液Y1向特定的相同方向Z流动的过程中,从所述含血液体X1分离所述白血球,使所述白血球含有在所述缓冲液Y1中,由此生成含有所述白血球的缓冲液Y2和作为分离了所述白血球的剩余部分的含血液体X2,并将它们排出;

[0019] 主部,使从所述白血球分离单元排出的所述缓冲液Y2通过,捕捉所述缓冲液Y2中所含的所述白细胞;

[0020] 辅助部,使从所述白血球分离单元排出的所述含血液体X2通过,且流路阻力与所述主部相同;和

[0021] 出口,供通过了所述主部和所述辅助部之后的液体流出,

[0022] 所述主部构成为,

[0023] 具有平面部和设于该平面部之上的多个凸部,从入口进入了的所述缓冲液Y2在所述主部中的所述平面部的表面上且所述凸部和与该凸部相邻的另一所述凸部之间通过,并从出口被排出,

[0024] 所述凸部在所述平面部的表面上设为层状,各层包含多个所述凸部,且所述凸部构成为,通过了入口侧的层的所述缓冲液Y2通过与该入口侧的层相邻的出口侧的层,

[0025] 在各层处形成有所述凸部和与该凸部相邻的另一所述凸部之间的宽度设定为 $2 \sim 7.5\mu\text{m}$ 的捕捉部和设定为 $8 \sim 20\mu\text{m}$ 的旁通部,

[0026] 构成所述捕捉部的两个所述凸部中的入口侧的进入侧部分的宽度被倒角为朝向所述捕捉部的深处逐渐变窄,

[0027] 与特定的层中的全部或一部分的所述旁通部的出口侧相对地、配置有作为与其相邻的另一层的一部分的所述捕捉部。

[0028] (2) 根据(1)所述的白血球捕捉设备,其中,所述辅助部为与所述主部相同的结构。

[0029] (3) 根据(1)或(2)所述的白血球捕捉设备,其中,在所述主部中,特定的层和与该特定的层相邻的另一层的宽度为 $8 \sim 30\mu\text{m}$ 。

[0030] (4) 根据(1)~(3)中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,在所述主部中,所述旁通部的宽度相对于所述捕捉部的宽度之比为大于1且3以下。

[0031] (5) 根据(1)~(4)中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,在所述主部中,所述凸部的入口侧的端面处的所述捕捉部以外的部分沿层方向平行地延伸,且所述凸部中的构成所述旁通部的端面沿相对于层方向垂直的方向延伸。

[0032] (6) 根据(1)~(5)中任一项所述的白血球捕捉设备,其中,所述边界直径 D_c 为 $5\mu\text{m}$ 以上且小于 $10\mu\text{m}$ 。

[0033] 发明效果

[0034] 根据本发明,能够提供一种高效地捕捉白血球且难以捕捉除此之外的白血球捕捉设备。

附图说明

- [0035] 图1是示出本发明的白血球捕捉设备的概略俯视图。
- [0036] 图2是图1中的A-A线剖面图(概略剖面图)。
- [0037] 图3是流路5和流路6与白血球分离单元10的入口10in的结合部的放大图。
- [0038] 图4是图1的表面的放大图(概略图)。
- [0039] 图5是从与主部50的表面的垂线平行的方向观察主部50的表面的情况下的概略图。
- [0040] 图6是图5中的B的放大图(概略图)。
- [0041] 图7是图5中的C-C线剖面图。
- [0042] 图8是实施例的本发明的白血球捕捉设备的显微镜确认照片(目镜10倍×物镜10倍)。

具体实施方式

- [0043] 对本发明的白血球捕捉设备进行说明。
- [0044] 在本发明的白血球捕捉设备中,通过泵(注射泵等)、静水压、电渗流等,从入口进入了的含血液体朝向出口流动。并且,在该过程中,使白血球从含血液体内向缓冲液内移动,之后,通过作为主部中的凸部和与其相邻的另一凸部之间的捕捉部来捕捉白血球。
- [0045] 本发明的白血球捕捉设备例如可以通过将橡胶注入形成有流路图案的模具得到流路片材之后,将其贴合在玻璃基板来制作。
- [0046] 使用附图对本发明的白血球捕捉设备进行说明。
- [0047] 图1是示出本发明的白血球捕捉设备1的概略俯视图。
- [0048] 图1所示的本发明的白血球捕捉设备1是将流路片材贴合在玻璃基板而得到的,该流路片材通过将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到。
- [0049] 其中,关于本发明的白血球捕捉设备1的覆盖上表面的盖(后述)未示出于图1。
- [0050] 以下使用附图说明的本发明的白血球捕捉设备是优选形态,是示例。本发明的白血球捕捉设备不限于图示的形态。
- [0051] 本发明的白血球捕捉设备1具有样品入口3、缓冲液入口4、白血球分离单元10、主部50、辅助部70和出口9。
- [0052] <样品入口>
- [0053] 在样品入口3导入含血液体X1。
- [0054] 样品入口3也可以是能够供被导入的含血液体X1暂时滞留的孔。
- [0055] 例如,若为图1所示的形态,则在将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到的流路片材形成贯通孔,并将其贴合于玻璃基板,由此形成能够供含血液体X1暂时滞留的孔,并能够将其作为样品入口3。
- [0056] 样品入口3和白血球分离单元10的入口10in通过流路5相连,并构成为导入到样品入口3的含血液体X1通过流路5,从入口10in向白血球分离单元10内导入。
- [0057] 流路5例如由支柱构成。支柱在将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到的流路片材形成贯通孔并将其贴合于玻璃基板时,防止流路5闭塞。
- [0058] 此处,含血液体X1只要是包含含人类在内的动物的血液的液体就没有特别限定,

例如可以是将人类的血液添加到磷酸缓冲液 (PBS)、抗凝剂、染色液等的混合液。另外,含血液体也可以是含人类在内的动物的血液本身。

[0059] <缓冲液入口>

[0060] 缓冲液入口4供缓冲液Y1导入。

[0061] 缓冲液入口4可以是能够供被导入的缓冲液Y1暂时滞留的孔。

[0062] 例如,若为图1所示的形态,则在将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到的流路片材形成贯通孔,并将其贴合于玻璃基板,由此形成能够供缓冲液Y1暂时滞留的孔,并能够将其作为缓冲液入口4。

[0063] 缓冲液入口4和白血球分离单元10的入口10in通过流路6相连,并构成为导入到缓冲液入口4的缓冲液Y1通过流路6,从入口10in向白血球分离单元10内导入。

[0064] 流路6与流路5同样,例如由支柱构成。

[0065] 此处,缓冲液Y1只要是DNA损伤的分析所使用的试剂即可,例如可以是磷酸缓冲液 (PBS)、多聚甲醛 (PFA)、DAPI等。

[0066] <白血球分离单元>

[0067] 关于白血球分离单元10,除了图1之外还使用图2、图3和图4进行说明。

[0068] 图2是图1中的A-A线剖面图(概略剖面图),图3是流路5和流路6与白血球分离单元10的入口10in的结合部的放大图,图4是图1中的白血球分离单元10的表面的放大图(概略图)。

[0069] 如图2所示,白血球分离单元10具有平面部11和沿平面部11的垂线方向延伸的多个柱13。

[0070] 如上所述,在本例中,将流路片材贴合于玻璃基板而形成,其中该流路片材为将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到,玻璃基板构成平面部11。

[0071] 另外,图2所示的白血球分离单元10具有板状的盖15以覆盖柱13的上部(在图1、图4中省略了盖15的记载)。在图2中用虚线示出柱13与盖15的边界,但是柱13与盖15可以成为一体也可以构成为能够分离。通过将用于注入橡胶而得到流路片材的模具的形状设为柱13与盖15一体的流路图案,从而能够得到一体形成柱13和盖15的流路片材。

[0072] 含血液体X1和缓冲液Y1在平面部11的表面 11_s 上、且柱13和与其相邻的另一柱13之间流动。

[0073] 另外,如图3所示,从流路5到达白血球分离单元10的入口10in并从入口10in向白血球分离单元10的内部流入的含血液体X1和从流路6到达白血球分离单元10的入口10in并从入口10in向白血球分离单元10的内部流入的缓冲液Y1在白血球分离单元10的内部一起向特定的方向(相同方向Z)流动。也就是说,在白血球捕捉设备10中含血液体X1流动的方向 F_x 与缓冲液Y1流动的方向 F_y 大致平行,将该方向设为相同方向Z。

[0074] 进一步,含血液体X1与缓冲液Y1分别大致成为层流。并且,在图3中,以存在于示出方向 F_x 的箭头与示出方向 F_y 的箭头之间的、与示出相同方向Z的箭头平行的虚线为界,相互相邻地流动。

[0075] 这主要是因为含血液体X1和缓冲液Y1的雷诺数变得非常低。

[0076] 图4是平面部11的表面 11_s 的放大图,且相当于从与表面 11_s 的垂线平行的方向观察到平面部11的情况的图。如图4所示,柱13排列为形成多个列,通过确定性侧向位移(DLD、

Deterministic Lateral Displacement)法,将含血液体X1所含的白血球与其他红血球、血小板等分离。血液中的白血球的直径为 $10 \sim 20\mu\text{m}$ 左右,红血球的直径为 $7 \sim 8\mu\text{m}$ 左右,血小板的直径为 $2 \sim 3\mu\text{m}$,由于白血球最大,因此能够通过该DLD法进行分离。

[0077] 关于DLD法,鸟取直友等其他3人、《使用确定性侧向位移法的颗粒分离设备的开发(Development of Deterministic Lateral Displacement Device for Separation of Particles)》、2015年度精密工学会春季大会学术演讲会演讲论文集、公益社团法人精密工学会、2015年、p743-744、和国际公开第2016/136273号中有记载。DLD法是利用规则配置于微流控设备的多个柱,从颗粒分散的液体流中分离大颗粒和小颗粒的技术。

[0078] 如图4所示,柱13以成为多列,且各个列相对于含血液体X1和缓冲液Y1流动的共同方向Z成为角度 θ 的方式排列。

[0079] 并且,白血球20沿着柱13的列的倾斜度倾斜地前进。对此,直径比白血球20小的小颗粒22一边因柱13而改变流动的方向,一边相对于流动的方向(F_x 和相同方向Z)曲折前进,但大致随着层流呈直线前进。因此,当含血液体X1和缓冲液Y1以它们相互相邻的方式在白血球捕捉设备10中的平面部11上向特定的相同方向Z流动时,含血液体X1内的白血球20向缓冲液Y1侧移动,白血球20从含血液体X1的层流与缓冲液Y1的层流的界面向缓冲液Y1内移动。

[0080] 沿着含血液体X1的流动方向(F_x 和相同方向Z)前进的小颗粒与倾斜地前进的大颗粒的边界直径 D_c 根据《使用确定性侧向位移法的颗粒分离设备的开发》和国际公开第2016/136273号,由下述的式1求出。

[0081] 式1 $\cdot \cdot \cdot D_c = 1.4g \cdot N^{-0.48}$

[0082] 此处, g 是在从与图4所示那样的平面部11的表面 11_s 的垂线平行的方向观察到平面部11的情况的图中,相对于流动方向(F_x 和相同方向Z)垂直的方向上的柱13的间隔, N 是流线(flow streams)的数量,由下述的式来表示。

[0083] $N = 1/\varepsilon$

[0084] 此处, ε 是列移位分数(row shift fraction),即柱13的偏移率, $\varepsilon = \tan\theta$ 。

[0085] 边界直径 D_c 根据国际公开第2016/136273号,由与式1等效的下述式求出。

[0086] $D_c = 1.4g \cdot \varepsilon^{0.48}$

[0087] 具有小于边界直径 D_c 的直径的颗粒大概沿着流动方向前进,具有大于边界直径 D_c 的直径的颗粒倾斜地前进。如前所述,白血球20比其他的直径大,因此通过将由 $D_c = 1.4g \times (1/\tan\theta)^{-0.48}$ 定义的边界直径 D_c 设定为比白血球的直径小,且比成为分离对象的其他颗粒(血小板等)大,从而如上述那样能够使白血球20沿着柱13的列的倾斜度倾斜地前进,从而向缓冲液Y1内移动。

[0088] 例如,若将边界直径 D_c 设为 $5\mu\text{m}$ 以上且小于 $10\mu\text{m}$,则边界直径 D_c 比白血球的直径($10 \sim 20\mu\text{m}$ 左右)小,且比成为分离对象的其他颗粒(血小板等)大,能够高效地分离白血球。

[0089] 需要说明的是,在图4中,柱13的数量和位置未必是准确的。在图4中,柱13的剖面形状是圆形,但是只要发挥上述的分离作用,剖面形状也可以是其他的形状。

[0090] 以下,将如上述那样含有从含血液体X1分离的白血球的缓冲液Y1设为缓冲液Y2。

[0091] 另外,以下,将从含血液体X1分离出白血球的剩余部分设为含血液体X2。

[0092] 并且,它们分别从白血球分离单元10被排出。

- [0093] 从白血球分离单元10排出的缓冲液Y2朝向后述的主部。
- [0094] 另外,从白血球分离单元10排出的含血液体X2朝向后述的辅助部。
- [0095] <主部>
- [0096] 主部50是使缓冲液Y2通过,并捕捉缓冲液Y2所含的白血球的片材。
- [0097] 使用图5~图7设定主部50。图5是从与主部50的垂线平行的方向观察到主部50的表面的情况的概略图,图6是图5中的B的放大图(概略图),图7是图5中的C-C线剖面图。
- [0098] 其中,关于覆盖主部50的上表面的盖(后述),未示出于图5、图6。
- [0099] 图5所例示的主部50包括用于供缓冲液Y2向主部50的内部进入的入口50in和供通过了主部50的缓冲液Y2排出的出口50out。
- [0100] 需要说明的是,主部50的结构不限于图5~图7所例示的结构。
- [0101] 如图5~7所示,主部50含有平面部52和设于该平面部52之上的多个凸部54。
- [0102] 如上所述,在本例中,将流路片材贴合于玻璃基板而形成,其中该流路片材为将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到,玻璃基板构成平面部52。
- [0103] 另外,图5~图7所示的主部50具有板状的盖56以覆盖凸部54的上部(在图5、图6中省略了盖56的记载)。在图7中用虚线示出凸部54与盖56的边界,但是凸部54与盖56可以成为一体也可以构成为能够分离。通过将用于注入橡胶而得到流路片材的模具的形状设为凸部54与盖56一体的流路图案,从而能够得到一体形成凸部54和盖56的流路片材。
- [0104] 另外,如图5所示,凸部54在平面部52上设为层状。
- [0105] 在图5中,将最靠近入口50in的层示为第一层,将与第一层相邻的出口侧(下游侧)的层示为第二层。另外,将某一层示为第P层,将与第P层相邻的出口侧(下游侧)的层示为第P+1层,将进一步相邻的出口侧(下游侧)的层示为第P+2层。
- [0106] 另外,各层包含多个凸部54。在图5中,虽然示出各层含有7个凸部54的例子,但是各层所含的凸部54的个数没有特别限定。进一步,层的数量也没有特别限定。
- [0107] 从入口50in向主部50进入了的缓冲液Y2在平面部52的表面上流动,首先通过第一层中的凸部54间的流路,接下来通过第二层中的凸部54间的流路。之后也同样构成为通过第P层中的凸部54间的流路,接下来通过第P+1层中的凸部54间的流路。
- [0108] 另外,如图6所示,在各层处形成有凸部54和与其相邻的凸部54之间的宽度(流路的宽度) L_1 设定为 $2\sim 7.5\mu\text{m}$ 的捕捉部61和该宽度 L_2 设定为 $8\sim 20\mu\text{m}$ 的旁通部63。
- [0109] 在图6的例子中,在第P层、第P+1层、第P+2层的各层处,在多个凸部54之间作为流路交替地形成有捕捉部61和旁通部63。但是,在主部50中,形成于各层的捕捉部和旁通部也可以不如图6那样交替地形成。例如,在层内可以连续地存在多个捕捉部。
- [0110] 进一步,在特定的层中的旁通部63的出口侧作为与其相邻的另一层的一部分而配置有捕捉部61。即,在图6的例子中,在第P层中的旁通部63的出口侧(下游侧)配置有第P+1层中的捕捉部61。
- [0111] 如图6所例示的那样,优选第P层中的旁通部63与第P+1层中的捕捉部61在相对于层方向的垂直方向上排列配置。更具体地说,优选以在引出相对于层方向的垂直方向的直线时,该直线通过第P层中的旁通部63和第P+1层中的捕捉部61(即,该直线不与凸部54相接)的方式,配置第P层中的旁通部63和第P+1层中的捕捉部61。
- [0112] 在图5、图6所示的例子中,从入口侧(上游侧)流过来而到达第P层的缓冲液Y2所含

的白血球原则上无法通过捕捉部61,因此白血球的至少一部分被第P层的捕捉部61捕捉。若白血球被捕捉,则该捕捉部61闭塞。另一方面,即使在缓冲液Y2含有白血球以外的成分(红血球、血小板等),这些成分也不会被第P层的捕捉部61捕捉,通过捕捉部61或旁通部63而到达第P+1层。另外,到达了第P层的缓冲液Y2所含的全部的成分能够通过旁通部63。由此,没有被第P层的捕捉部61捕捉的白血球通过第P层的旁通部63而到达第P+1层,且该没有被第P层的捕捉部61捕捉的白血球的至少一部分被第P+1层中的捕捉部61捕捉。此处,在第P层中的旁通部63的出口侧(下游侧)配置有第P+1层中的捕捉部61,因此通过了第P层的旁通部63的白血球容易被第P+1层的捕捉部61捕捉。

[0113] 在图5、图6所示的俯视图中,凸部54是以矩形基础且该矩形的四个角部的角的一部分(例如通过直线或曲线)被切下而进行倒角的形状。此处(例如通过直线或曲线)被切下而成的倒角部分的面积优选比所捕捉的白血球的面积(投影面积)小。

[0114] 另外,如图6例示那样,构成捕捉部61的两个凸部54中的进入侧部分被倒角为朝向捕捉部61的深处连续地逐渐变窄。这是因为在该情况下,白血球容易被捕捉部61捕捉。还因为一旦被捕捉部61捕捉到的白血球产生变形而嵌入倒角部分,则难以从捕捉部流出。

[0115] 在通过直线切下而进行倒角的情况下,优选倒角而成的直线所成的角度相对于与层方向垂直的方向(从入口朝向出口的方向)为30~60度。此处,在倒角不为直线而例如为勺形倒角、圆形倒角的情况下,优选其切线所成的角度的平均值为30~60度。若该角度比30度小,则存在白血球向旁通部63流动的速度变快而捕捉效率变低的倾向。另外,若该角度比60度大,则存在多个白血球被一个捕捉部61捕捉到的概率变高的倾向。

[0116] 倒角只要朝向捕捉部61的深处逐渐变窄,则构成捕捉部61的两个凸部的两侧的进入侧部分都被倒角或单侧的进入侧部分被倒角都可以。另外,在两侧的进入侧部分被倒角的情况下,倒角的角度相同或不同都可以。

[0117] 在凸部54是以矩形为基础且该矩形的四个角部的角的一部分(例如通过直线或曲线)被切下而进行倒角的形状的情况下,已经到达了捕捉到白血球的捕捉部61的其他白血球沿着凸部54的端面向层方向移动,从旁通部63向下游侧的相邻层移动,容易被下游侧的层中的捕捉部61捕捉。其结果,本发明的发明人发现白血球的捕捉效率提高。

[0118] 如图6所示,在主部50中,优选凸部54的入口侧的端面处的除捕捉部61以外的部分沿层方向平行地延伸,且凸部54中的构成旁通部63的端面在相对于层方向垂直的方向上延伸。

[0119] 特别是,如图6所示的情况那样,若构成捕捉部61的两个凸部54中的进入侧部分被倒角为朝向捕捉部61的深处连续地逐渐变窄(优选直线性地),并且凸部54的入口侧的端面除捕捉部61以外与层方向平行地延伸,且旁通部63在与层方向垂直的方向上延伸,则其效果显著,白血球的捕捉效率更高,因此优选。

[0120] 在凸部54不以矩形为基础的情况(例如圆形、椭圆形等的情况)下,由于在其外形中包含R,所以存在白血球沿着该R移动,而不向下游侧的相邻层中的捕捉部61移动的可能性。

[0121] 捕捉部61的宽度 L_1 为2~7.5 μm ,优选为3~6 μm ,更优选为4~5 μm 。

[0122] 另外,旁通部63的宽度 L_2 为8~20 μm ,优选为8.5~15 μm ,更优选为9~10 μm 。

[0123] 需要说明的是,宽度 L_1 和宽度 L_2 是指在各层中凸部54和与其相邻的凸部54之间的

最短距离。

[0124] 另外,旁通部63的宽度 L_2 相对于捕捉部61的宽度 L_1 之比(L_2/L_1)优选为大于1且3以下,更优选为1.5~2.5。这是因为,在该情况下,向旁通部63的流动被适度抑制,从而白血球容易被捕捉部捕捉。

[0125] 另外,第P层与第P+1层的宽度 L_3 优选为8~30 μm ,更优选为9~10 μm 。

[0126] 需要说明的是,宽度 L_3 是指第P层与第P+1层的最短距离。

[0127] 另外,捕捉部61的进入侧的倒角部分的最大宽度 L_4 优选为10~35 μm ,更优选为15~25 μm 。

[0128] 图7所示的凸部54的高度h优选为8~30 μm ,更优选为9~15 μm 。

[0129] <辅助部>

[0130] 辅助部70使从白血球分离单元10排出的含血液体X2通过。另外,对于辅助部70的结构而言,与上述的主部50的流路阻力相同。

[0131] 此处,流路阻力相同是指从主部的入口到出口的压力损失与从辅助部的入口到出口的压力损失之差相对于高的一者的压力损失在20%以内(优选10%以内)。

[0132] 辅助部70优选与上述的主部50相同结构。这是因为,辅助部70与上述的主部50为相同的结构,由此对缓冲液Y2和含血液体X2的流路阻力相同,其结果,能够将在白血球分离单元10内流动的含血液体X1和上述缓冲液Y1的流速控制为相同,并且能够提高白血球分离单元10中的白血球的分离效率。

[0133] 本发明的白血球捕捉设备1优选在主部50与辅助部70之间具有将它们分段的分隔壁80。

[0134] 分隔壁80只要具备将主部50与辅助部70分段的功能,形状等就没有特别限定。

[0135] <出口>

[0136] 通过了主部50和辅助部70之后的液体通过流路7从出口9流出。

[0137] 出口9可以是能够供通过了主部50和辅助部70之后的液体流出的孔。

[0138] 例如,若为图1所示的形态,则在将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到的流路片材形成贯通孔,并将其贴合于玻璃基板,由此形成能够供通过了主部50和辅助部70之后的液体流出的孔,并能够将其作为出口9。

[0139] 主部50的出口50out和辅助部70的出口与出口9通过流路7相连,从主部50和辅助部70排出的液体构成为通过流路7而到达至出口9。

[0140] 流路7只要是具有与上述的流路5、流路6相同功能的结构构成即可。流路7例如由支柱构成。

[0141] 如上述那样,本发明的白血球捕捉设备1可以是将流路片材贴合于玻璃基板而得到的,该流路片材将橡胶注入形成有流路图案的模具而得到。流路片材的大小、材质没有特别限定。例如,可以由硅橡胶、丙烯酸树脂、聚碳酸酯、环状烯烃聚合物、环状烯烃共聚物、聚苯乙烯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯等树脂形成。另外,贴附有橡胶的基板优选为玻璃,但是也可以是除玻璃以外的。

[0142] 这样的本发明的白血球捕捉设备从含血液体仅将白血球分离到缓冲液,然后捕捉白血球。也就是说,在捕捉白血球时,在含有白血球的缓冲液内不含红血球、蛋白质等。因此,能够避免这些凝固物等与白血球一起被捕捉。因此,无需进行去除不需要的血液、流路

内的清洗。

[0143] 【实施例】

[0144] <主部的制作>

[0145] 首先,使硅橡胶(SILPOT184、Dow Corning)注入形成了流路图案的模具。

[0146] 接下来,在120°C30分钟的条件硫化硅橡胶。

[0147] 接下来,通过从硅晶片剥离硅橡胶从而流路形成片材。

[0148] 接下来,使用冲头,形成成为样品入口3、缓冲液入口4和出口9的孔。

[0149] <接合>

[0150] 对如上述那样开孔的流路形成片材和玻璃基板这两者照射真空紫外光(L12530-01、浜松光学)15秒。然后,通过贴合照射面,从而得到图1所示的本发明的白血球捕捉设备1。

[0151] <实验>

[0152] 用PBS将从成人男性得到的外周血PBS稀释至10倍,得到含血液体X1。另外,使用PBS作为缓冲液Y1。

[0153] 接下来,向样品入口3滴下含血液体X1,并向缓冲液入口4滴下缓冲液Y1。

[0154] 接下来,通过注射泵的负压从出口9输送液体。

[0155] 并且,通过显微镜确认输送液体的形态。显微镜照片(目镜10倍×物镜10倍)示出于图8。如图8所示,确认到含血液体X1与缓冲液Y1成为层流地流动。另外,确认到含血液体X2没有向主部50流入。另外,确认到白血球从含血液体X1分离,且向缓冲液Y1转移的形态。

[0156] 进一步,未确认到持续输送液体30分钟分后,主部50中的流路堵塞。

[0157] 另外,确认到在主部50捕捉到白血球。

[0158] 该申请主张以在2022年3月28日申请的日本申请专利申请2022-51142为基础的优先权,并将其公开的所有内容纳入本申请中。

[0159] 附图标记说明

[0160] 1本发明的白血球捕捉设备

[0161] 3 样品入口

[0162] 4 缓冲液出口

[0163] 5、6、7流路

[0164] 9 出口

[0165] 10白血球分离单元

[0166] 10in白血球分离单元的入口

[0167] 11 平面部

[0168] 11_s 平面部的表面

[0169] 13 柱

[0170] 15 盖

[0171] 20 白血球

[0172] 22 小颗粒

[0173] 50 主部

[0174] 50in主部的入口

- [0175] 50out主部的出口
- [0176] 52 平面部
- [0177] 54 凸部
- [0178] 56 盖
- [0179] 61 捕捉部
- [0180] 63 旁通部
- [0181] 70 辅助部
- [0182] 80 分隔壁

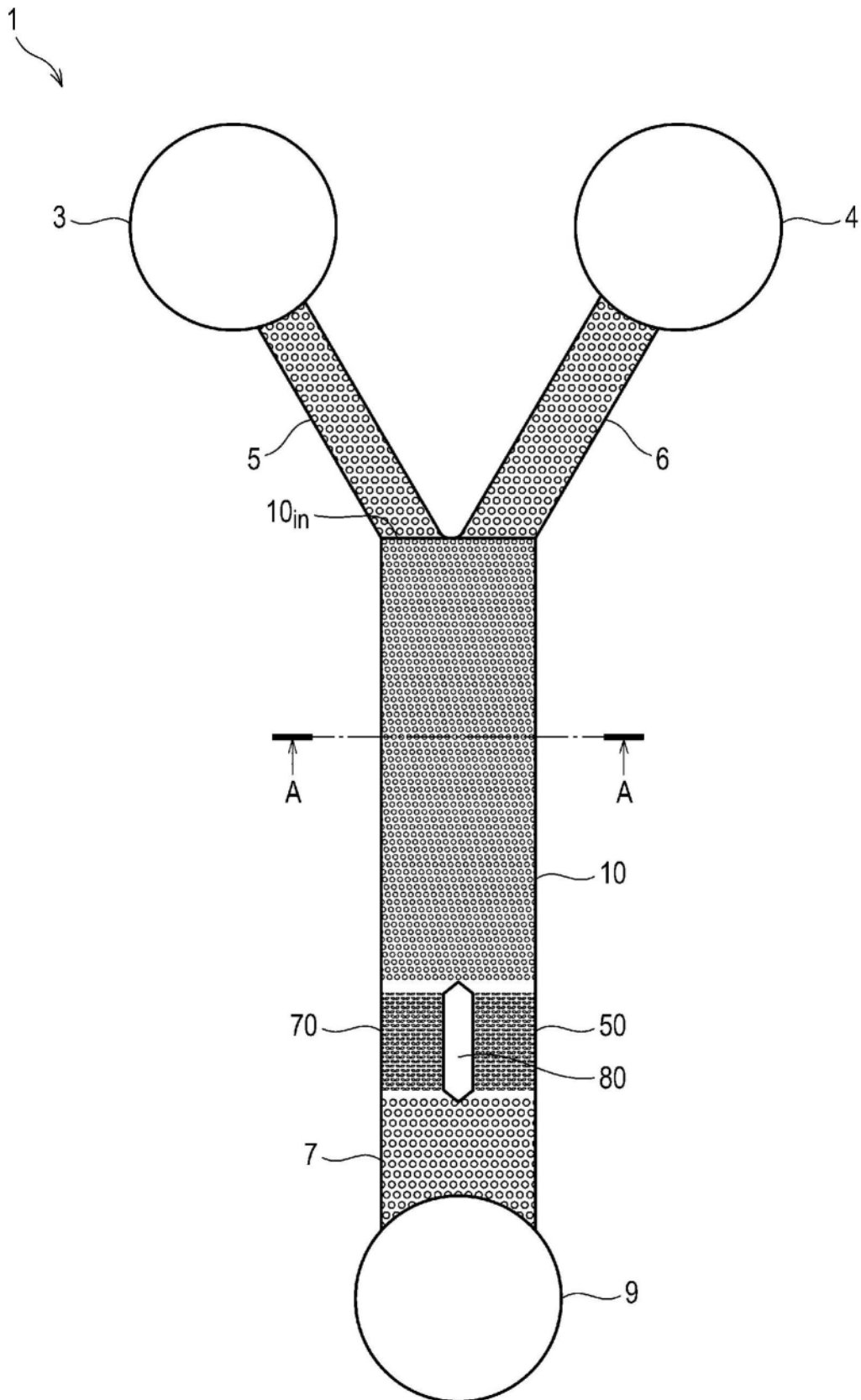


图1

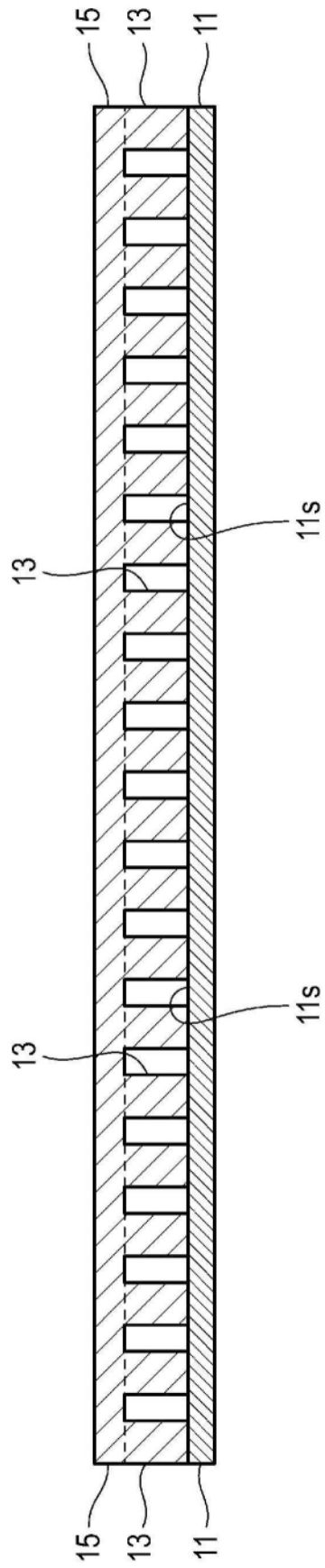


图2

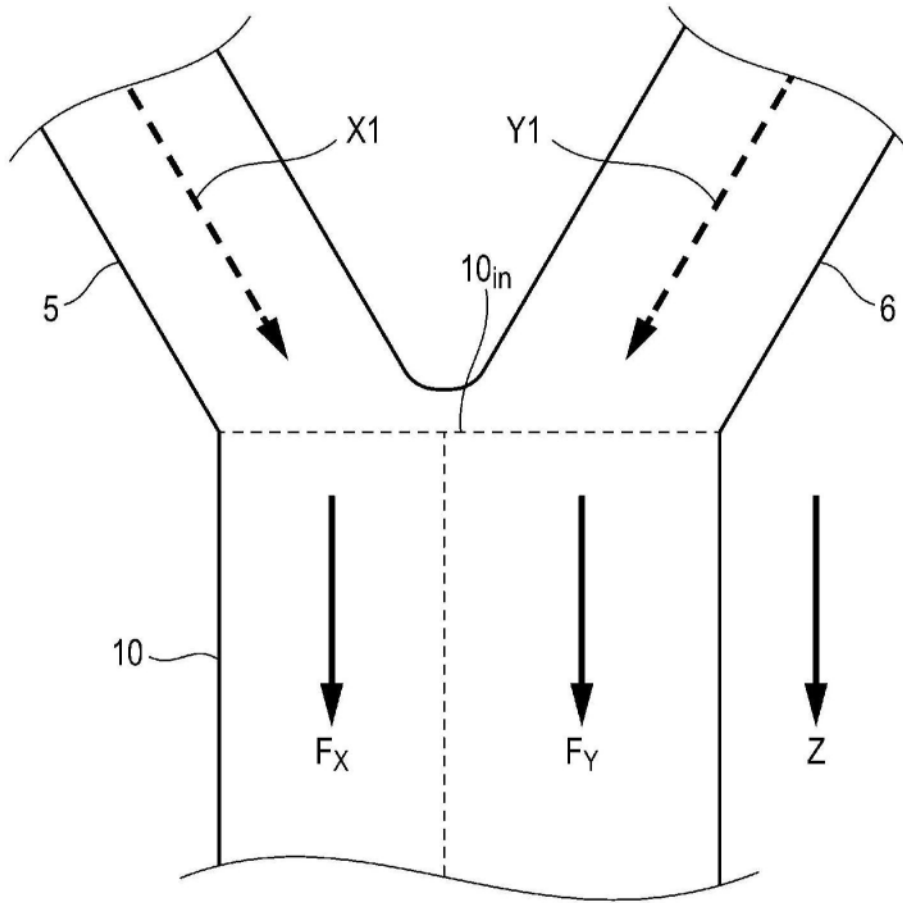


图3

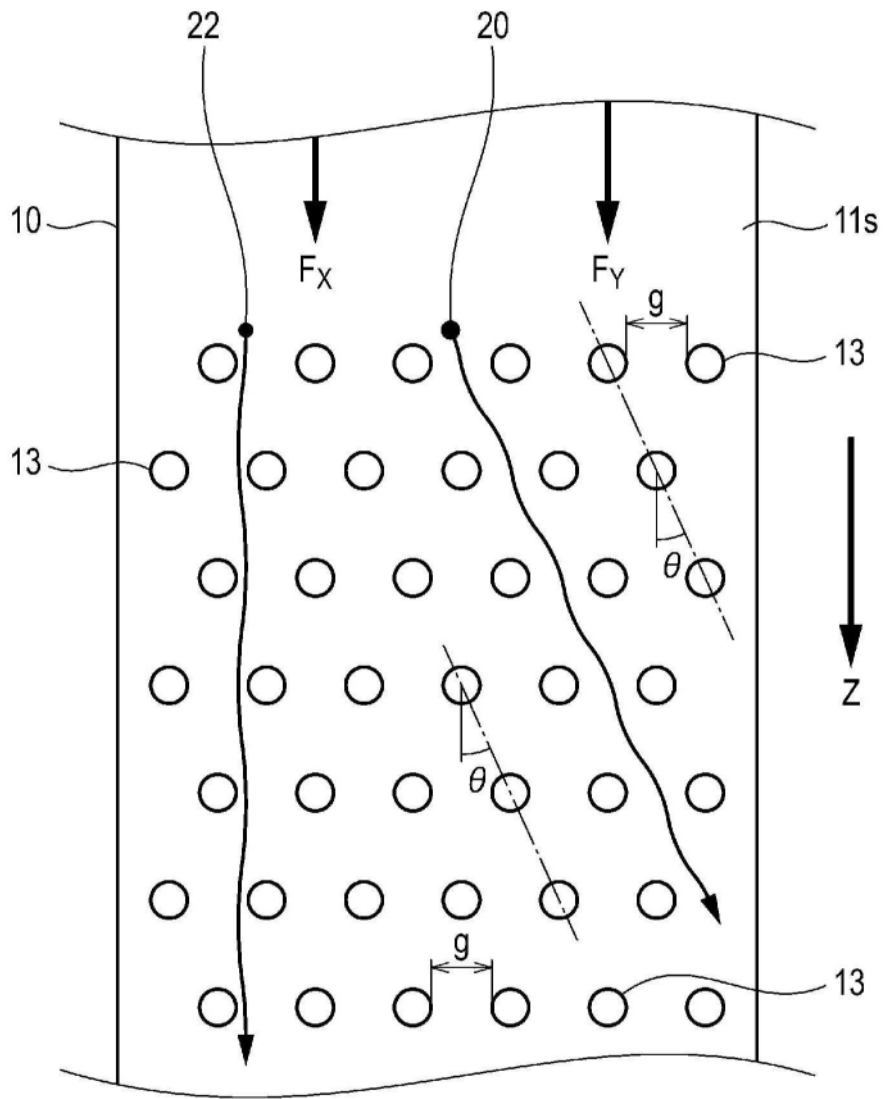


图4

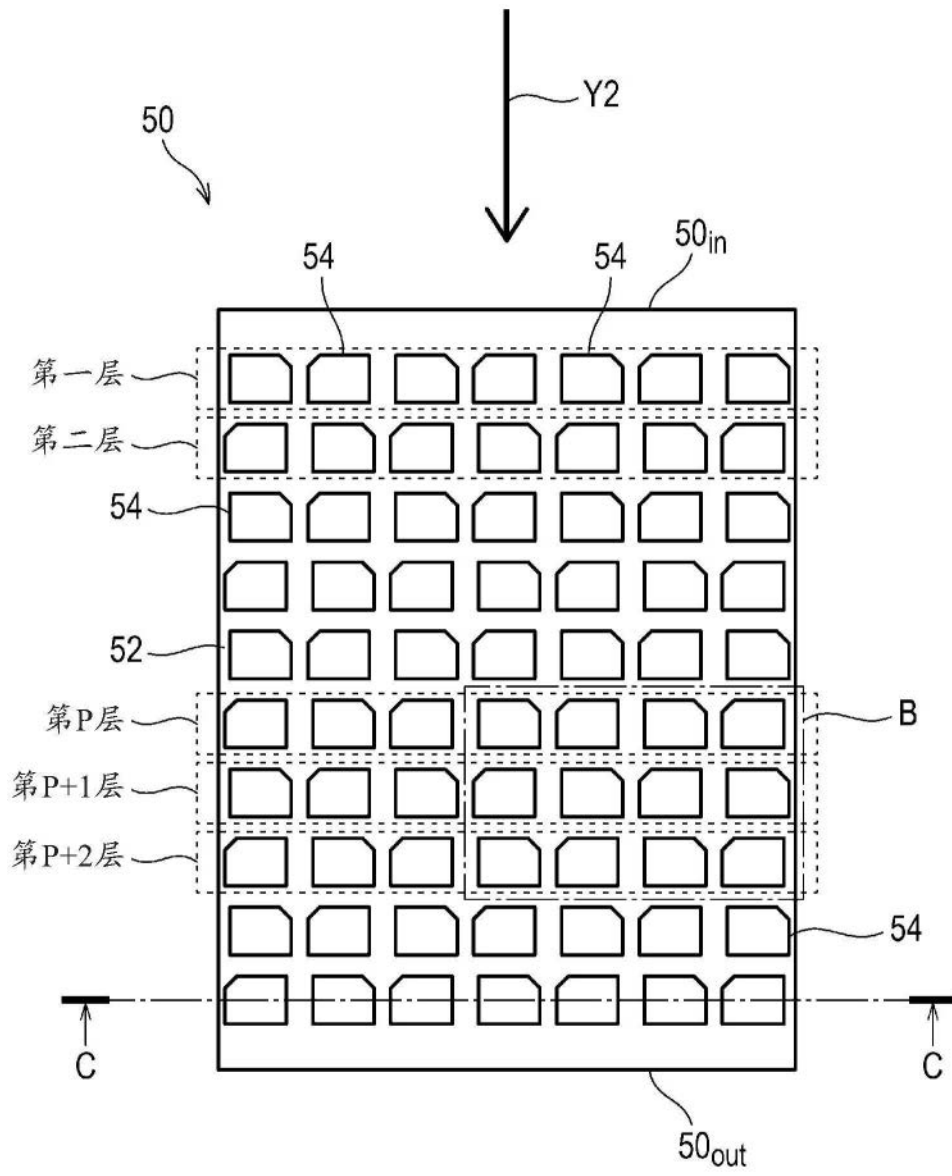


图5

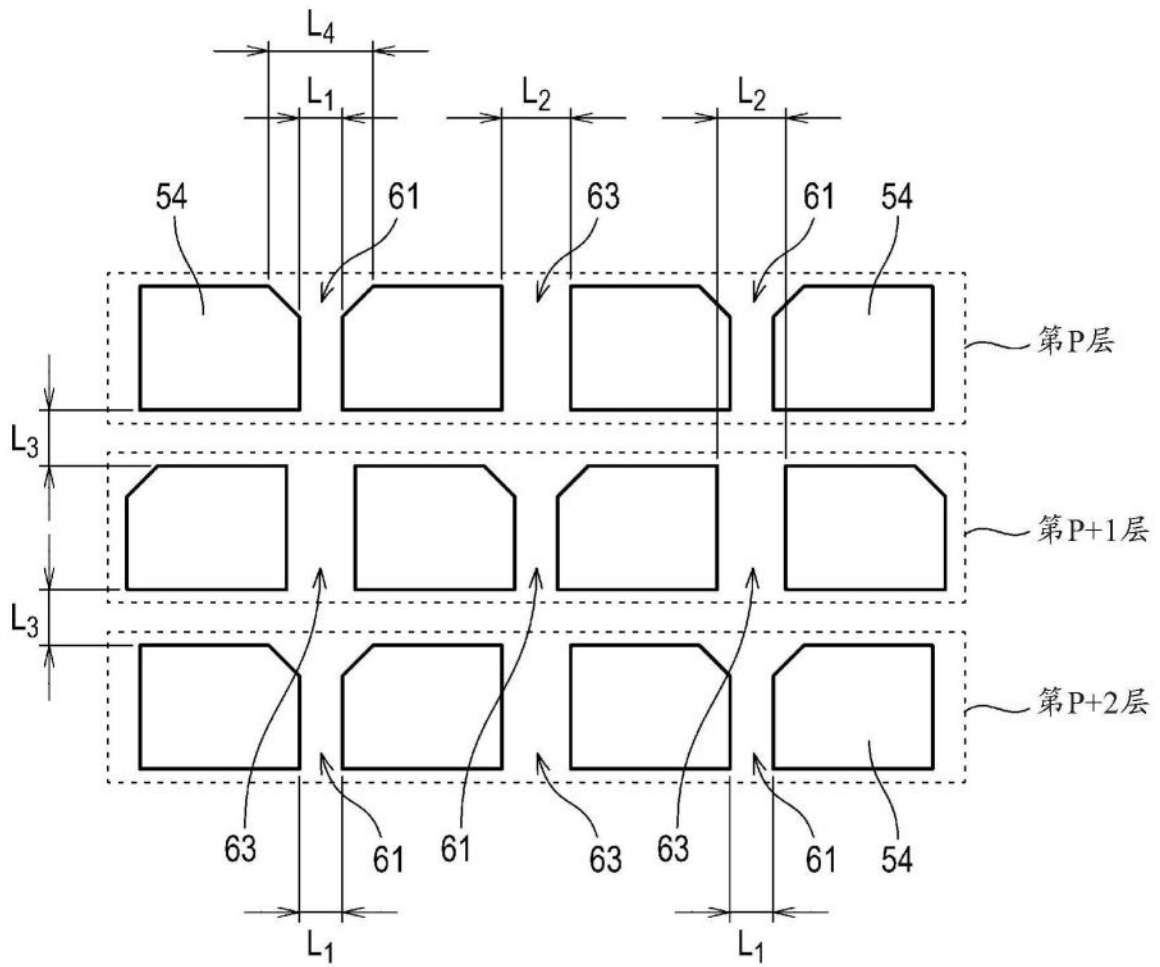


图6

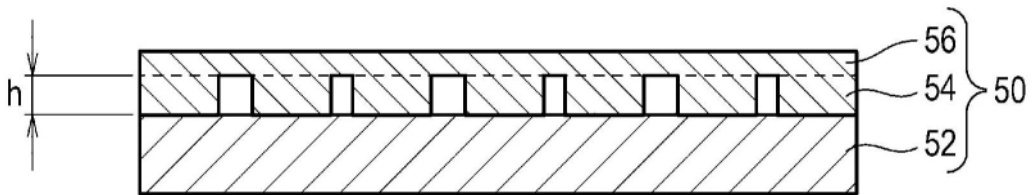


图7

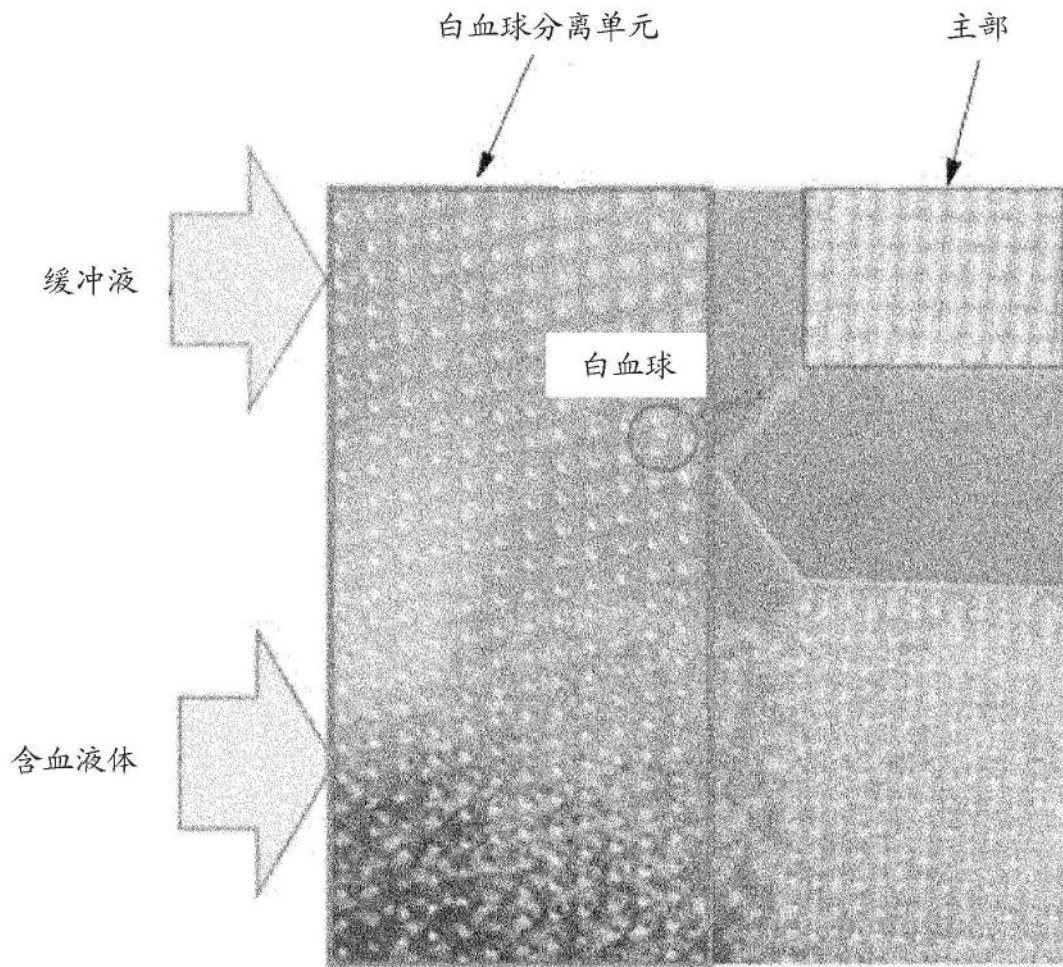


图8