

(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
2019年4月11日(11.04.2019)



(10) 国際公開番号

WO 2019/069900 A1

(51) 国際特許分類:
C12M 1/26 (2006.01) C12M 3/08 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2018/036826

(22) 国際出願日: 2018年10月2日(02.10.2018)

(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 2017-193145 2017年10月3日(03.10.2017) JP

(71) 出願人: N O K株式会社(NOK CORPORATION)
[JP/JP]; 〒1058585 東京都港区芝大門1丁目12番15号 Tokyo (JP). 国立大学法人 東京大学(THE UNIVERSITY OF TOKYO)
[JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 小 森 隆 幸 (KOMORI Takayuki);
〒2510042 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 N O K株式会社内 Kanagawa (JP). 金 秀

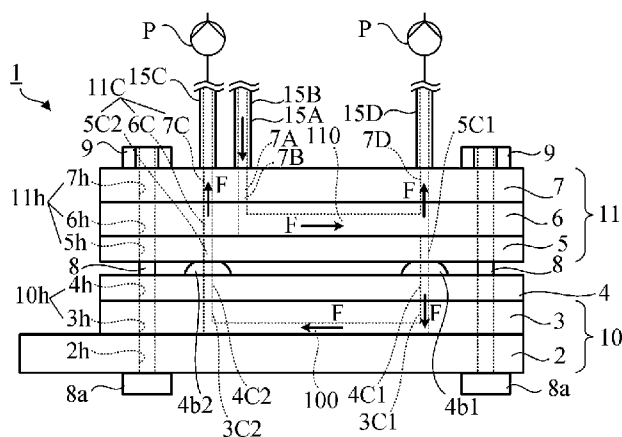
▲弦▼(KIM SooHyeon); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 藤井 輝夫(FUJII Teruo);
〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 小 西 恵, 外 (KONISHI Kay et al.);
〒1070052 東京都港区赤坂2-2-1 - 8 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: CELL CAPTURING DEVICE

(54) 発明の名称: 細胞捕捉装置



(57) Abstract: A cell capturing device is provided with a flat-plate-like cell separation unit and a flat-plate-like cell capture unit arranged below the cell separation unit. In a cell separation flow path in the cell separation unit, a sample solution and a carrier liquid flow. The sample solution contains multiple large cells, multiple small cells, and a sample liquid component. The cell separation flow path can separate a fraction containing the large cells and the carrier liquid from a fraction containing the small cells and the sample liquid component. The cell capture unit is provided with a large cell flow path through which the fraction containing the large cells and the carrier liquid flows and multiple electrode wires for drawing the large cells by a dielectrophoretic action. In the large cell flow path, multiple cell capture wells are formed, each of which has such a size that one of the large cells drawn by the electrode wires can be captured by each of the cell capture wells.

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:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 細胞捕捉装置は、平板状の細胞分離ユニットと、その下方に配置された平板状の細胞捕捉ユニットとを備える。細胞分離ユニットの細胞分離流路には、サンプル液と搬送液が流れる。サンプル液は、複数の大細胞と、複数の小細胞と、サンプル液体成分を含む。細胞分離流路は、大細胞と搬送液の組と、小細胞とサンプル液体成分の組とを分離する。細胞捕捉ユニットは、大細胞と搬送液の組が流れる大細胞流路と、大細胞を誘電泳動作用により引き付ける複数の電極線とを有する。大細胞流路には、電極線で引き付けられた大細胞の1つを各々が捕捉可能な大きさを有する複数の細胞捕捉ウェルが形成されている。

明 細 書

発明の名称：細胞捕捉装置

技術分野

[0001] 本発明は、サンプル液から特定の細胞を選択的に分離し、これらの細胞を解析のために捕捉する細胞捕捉装置に関する。

背景技術

[0002] がん患者の血液中には、がん原発組織から剥離した血中循環腫瘍細胞（CTC、Circulating Tumor Cell）が存在する。このCTCは、がんの転移と関連していると考えられており、血液中のCTCを解析することで、がんの早期発見や、転移予測が行えると期待できる。しかし、CTCはがん患者の10億個の細胞に数個程度と非常に希少であり、その解析は困難を極める。一方、個々のCTCは、異なる性質を有すると考えられており、単一のCTCをそれぞれ解析することが望ましい。

[0003] これまでに、液体中の目的とする複数の細胞を誘電泳動（DEP、Dielectrophoresis）作用によって引き付けて、多数のマイクロウェルまたはマイクロチャンバーのいずれか複数に、これらの細胞をそれぞれ捕捉することで、細胞を解析する装置が提案されている（特許文献1、2、非特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2017-93359号公報

特許文献2：特開2012-34641号公報

非特許文献

[0005] 非特許文献1：最上聡文、外5名、「誘電泳動を利用した血中希少がん細胞の検出・解析システムの開発（Development of a System Utilizing Dielectrophoresis for Detection and Analysis of Rare Tumor Cells in Peripheral Blood）」、TOSOH Research & Technology Review Vol.58、東ソー株式会社、2014年、p3-12

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] しかしながら、誘電泳動作用を利用して、個々のC T Cを捕捉するためには、例えば、遠心分離を用いた血液からのC T C分離、誘電泳動のための液体の交換といった前処理を行う必要がある。液体の交換を行う理由は、通常の血液の導電率がC T Cのそれとほぼ同じであるため、誘電泳動が困難だからである。これらの前処理には熟練の技術が必要である。また、C T Cを分離したとしても、C T Cの捕捉処理の前に、C T Cが汚染されるおそれがあり、そのために解析結果への悪影響が懸念される。
- [0007] C T Cの捕捉に関する課題を説明したが、他の細胞よりも大きいサイズを有する他の種類の大細胞の捕捉に関しても類似する課題がある。
- [0008] そこで、本発明は、サンプル液に含まれていた大細胞をサンプル液から容易に分離することができ、大細胞を容易に搬送液に移すことができ、大細胞と搬送液の組を細胞捕捉処理のために移動する際の汚染を低減することが可能な細胞捕捉装置を提供する。

課題を解決するための手段

- [0009] 本発明のある態様に係る細胞捕捉装置は、平板状の細胞分離ユニットと、前記細胞分離ユニットの下方に配置されて前記細胞分離ユニットに固定された平板状の細胞捕捉ユニットとを備え、前記細胞分離ユニットは、複数の大細胞と、前記大細胞よりも小さい複数の小細胞と、サンプル液体成分とを含むサンプル液が導入されるサンプル液入口と、前記大細胞の導電率と異なる導電率を有する搬送液が導入される搬送液入口と、水平に配置され、前記サンプル液入口からの前記サンプル液および前記搬送液入口からの前記搬送液が流れるとともに、前記大細胞と前記搬送液の組と、前記小細胞と前記サンプル液体成分の組とを分離する細胞分離流路と、前記細胞分離流路から前記大細胞と前記搬送液の組が流入する大細胞出口と、前記細胞分離流路から前記小細胞と前記サンプル液体成分の組が流入する小細胞出口とを有し、前記細胞捕捉ユニットは、水平に配置され、前記細胞分離ユニットの前記大細胞

出口に通じており、前記大細胞と前記搬送液の組が流れる大細胞流路と、前記大細胞流路を流れる前記大細胞を誘電泳動作用により引き付けるための複数の電極線とを有しており、前記大細胞流路には、前記電極線で引き付けられた前記大細胞の1つを各々が捕捉可能な大きさを有する複数の細胞捕捉ウェルが形成されている。

[0010] この態様においては、細胞分離ユニットの細胞分離流路が、導入されたサンプル液と搬送液から、大細胞と搬送液の組と、小細胞とサンプル液体成分の組とを分離する。したがって、大細胞と小細胞を容易に分離することができると同時に、元々、サンプル液に含まれていた大細胞を搬送液に容易に移すことができる。細胞分離ユニットに固定された細胞捕捉ユニットは、大細胞と搬送液の組を受ける。細胞捕捉ユニットの大細胞流路を大細胞と搬送液の組が流れる間に、誘電泳動作用によって、複数の大細胞が細胞捕捉ユニットの複数の細胞捕捉ウェルのいずれか複数にそれぞれ捕捉される。細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットが一体化されていることによって、細胞分離ユニットで分離された大細胞と搬送液の組を、細胞捕捉ユニットに移動する際の汚染を低減することが可能である。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]本発明の実施形態に係る細胞捕捉装置を示す正面図である。

[図2]図1の細胞捕捉装置を示す平面図である。

[図3]図1の細胞捕捉装置を分解して示す斜視図である。

[図4]細胞捕捉装置の細胞分離ユニットの細胞分離流路を示す平面図である。

[図5]図2のV-V線に沿って見た細胞捕捉装置の細胞分離ユニットの断面図である。

[図6]図4の部分V-Iの拡大図である。

[図7]細胞分離流路の柱の配置を示す平面図である。

[図8]図2のV-V線に沿って見た細胞捕捉装置の細胞捕捉ユニットの断面図である。

[図9]細胞捕捉ユニットの概略を示す平面図である。

[図10]圧縮された状態の細胞捕捉ユニットの断面図である。

[図11]細胞捕捉装置の接続平板を示す平面図である。

[図12]図11のX1-X2線に沿って見た接続平板の断面図である。

[図13]細胞分離ユニットで分離されたがん細胞および実験用粒子を示す写真の画像である。

[図14]細胞捕捉ユニットで捕捉されたがん細胞を示す写真の画像である。

[図15]細胞分離ユニットの細胞分離流路板を製造するモールドの製造工程を示す略図である。

[図16]図15の後の工程を示す略図である。

[図17]図16の後の工程を示す略図である。

[図18]図17の後の工程を示す略図である。

[図19]製造されたモールドを示す略図である。

[図20]モールドで細胞分離流路板を製造する工程を示す略図である。

[図21]細胞分離流路板を細胞分離下側平板に接着する工程を示す略図である。

[図22]細胞捕捉ユニットの細胞捕捉ウェルの形成工程を示す略図である。

[図23]図22の後の工程を示す略図である。

[図24]図23の後の工程を示す略図である。

[図25]図24の後の工程を示す略図である。

[図26]細胞捕捉下側平板に形成された細胞捕捉ウェルを示す略図である。

[図27]細胞捕捉下側平板に細胞捕捉流路板を接着する工程を示す略図である。

[図28]実施形態の変形例に係る細胞捕捉装置を示す正面図である。

[図29]図28の細胞捕捉装置を示す平面図である。

[図30]図28の細胞捕捉装置の上部を分解して示す斜視図である。

[図31]実施形態の変形例に係る細胞捕捉装置を示す正面図である。

[図32]実施形態の変形例に係る細胞捕捉装置の細胞捕捉ユニットの断面図である。

発明を実施するための形態

- [0012] 以下、添付の図面を参照しながら本発明に係る実施形態を説明する。図面においては、部分の特徴を強調して示すことがあるため、縮尺は必ずしも正確ではない。
- [0013] 図1および図3に示すように、この実施形態に係る細胞捕捉装置1は、重ね合わせられた複数の板、具体的には、細胞捕捉下側平板2、細胞捕捉流路板3、接続平板4、細胞分離下側平板5、細胞分離流路板6、および細胞分離上側平板7を備える積層体構造を有する。
- [0014] 細胞捕捉下側平板2の四隅には、固定用貫通孔2hが形成されている。細胞捕捉流路板3の四隅には、固定用貫通孔3hが形成されている。接続平板4の四隅には、固定用貫通孔4hが形成されている。細胞分離下側平板5の四隅には、固定用貫通孔5hが形成されている。細胞分離流路板6の四隅には、固定用貫通孔6hが形成されている。細胞分離上側平板7の四隅には、固定用貫通孔7hが形成されている。
- [0015] 図1に示すように、固定用貫通孔2h、3h、4h、5h、6h、7hには、頭部8aを有するピン8の胴部が挿入され、ピン8の上部のオネジ部には、固定具としてのナット9が取り付けられている。このようにして、細胞捕捉下側平板2、細胞捕捉流路板3、接続平板4、細胞分離下側平板5、細胞分離流路板6、および細胞分離上側平板7が一体化されている。但し、固定具はナット9に限定されず、他の固定具であってもよい。
- [0016] 細胞分離下側平板5、細胞分離流路板6、および細胞分離上側平板7は、平板状の細胞分離ユニット11を構成する。固定用貫通孔5h、6h、7hは、細胞分離ユニット11の固定用貫通孔11hを構成する。
- [0017] 細胞捕捉下側平板2および細胞捕捉流路板3は、細胞分離ユニット11の下方に配置されて細胞分離ユニット11に固定された平板状の細胞捕捉ユニット10を構成する。固定用貫通孔2h、3h、4hは、細胞捕捉ユニット10の固定用貫通孔10hを構成する。
- [0018] 細胞捕捉ユニット10は、DEP作用を利用して、特定の種類の細胞（例

例えばCTC)を解析のために特定の位置にそれぞれ捕捉するために使用される。また、捕捉された細胞を解析するために、細胞捕捉ユニット10を使用してもよい。

[0019] 細胞分離ユニット11は、捕捉処理の前処理のために使用される。具体的には、細胞分離ユニット11は、サンプル液(例えば血液)に含まれていた特定の種類の細胞を他の細胞から分離し、かつ特定の種類の細胞の周囲の液体をサンプル液体成分から細胞の導電率と異なる導電率を有する搬送液に交換するために使用される。以下、細胞捕捉ユニット10で捕捉される特定の種類の細胞を大細胞と呼び、解析に不要な他の細胞を小細胞と呼ぶ。

[0020] 図1から図3に示すように、細胞分離ユニット11は、サンプル液入口7B、搬送液入口7A、細胞分離流路110、大細胞出口5C1、および小細胞出口7Dを有する。サンプル液入口7Bには、サンプル液の注入装置15B(例えばピペット)から、サンプル液(例えば血液)が導入される。サンプル液は、複数の大細胞と、大細胞よりも小さい複数の小細胞と、サンプル液体成分とを含む。搬送液入口7Aには、搬送液の注入装置15A(例えばピペット)から、搬送液が導入される。搬送液は、大細胞およびサンプル液の導電率と異なる導電率を有する。搬送液は、細胞捕捉ユニット10で大細胞を解析するための試薬液であってもよい。図1および図2において、液体の流れを矢印Fで示す。

[0021] 細胞分離流路110は、水平に配置され、サンプル液入口7Bからのサンプル液および搬送液入口7Aからの搬送液が流れるとともに、大細胞と搬送液の組と、小細胞とサンプル液体成分の組とを分離する。大細胞出口5C1には、細胞分離流路110から大細胞と搬送液の組が流入する。大細胞出口5C1は、大細胞と搬送液の組を細胞捕捉ユニット10に案内する。小細胞出口7Dには、細胞分離流路110から小細胞とサンプル液体成分の組が流入する。小細胞とサンプル液体成分の組は、小細胞とサンプル液体成分の吸引装置15D(例えば、吸引ポンプPに接続されたチューブ)によって吸引されて、小細胞出口7Dから排出される。

- [0022] 他方、細胞捕捉ユニット 10 は、大細胞流路 100 を有する。大細胞流路 100 は、水平に配置され、細胞分離ユニット 11 の大細胞出口 5C1 に通じており、ここには大細胞と搬送液の組が流れる。大細胞流路 100 を搬送液が流れる間に、大細胞は捕捉され、残りの搬送液は、搬送液の吸引装置 15C（例えば、吸引ポンプ P に接続されたチューブ）によって吸引されて排出される。
- [0023] 図 3 に示すように、細胞分離流路板 6 には、細胞分離流路 110 となる分離流路凹部 110h が形成されている。細胞分離流路板 6 の下方に配置された細胞分離下側平板 5 は、細胞分離流路板 6 に重ねられて分離流路凹部 110h を閉塞する。このようにして、細胞分離下側平板 5 と細胞分離流路板 6 は、協働して細胞分離流路 110 を画定する。細胞分離流路板 6 には、サンプル液入口 6B、搬送液入口 6A および小細胞出口 6D が形成されている。これらは、分離流路凹部 110h の上方の壁を貫通する孔である。
- [0024] サンプル液入口 7B、搬送液入口 7A および小細胞出口 7D は、細胞分離上側平板 7 に形成された貫通孔であり、それぞれ細胞分離流路板 6 のサンプル液入口 6B、搬送液入口 6A および小細胞出口 6D に通ずる。サンプル液は、サンプル液入口 7B、6B を経て細胞分離流路 110 に流入する。搬送液は、搬送液入口 7A、6A を経て細胞分離流路 110 に流入する。小細胞とサンプル液体成分の組は、細胞分離流路 110 から小細胞出口 6D、7D に流出する。
- [0025] 大細胞出口 5C1 は、細胞分離下側平板 5 に形成された貫通孔であり、ここには細胞分離流路 110 から大細胞と搬送液の組が流入する。
- [0026] 接続平板 4 は、細胞捕捉ユニット 10 と細胞分離ユニット 11 とを接続するとともに、両者の間の液体の漏れを低減または防止するガスケットである。接続平板 4 には、大細胞流入貫通孔 4C1 および搬送液流入貫通孔 4C2 が形成されている。
- [0027] 細胞捕捉流路板 3 には、大細胞流路 100 となる大細胞流路凹部 100h が形成されている。細胞捕捉流路板 3 の下方に配置された細胞捕捉下側平板

2は、細胞捕捉下側平板2に重ねられて大細胞流路凹部100hを閉塞する。このようにして、細胞捕捉下側平板2と細胞捕捉流路板3は、協働して大細胞流路100を画定する。細胞捕捉流路板3には、大細胞流路100の入口孔3C1と出口孔3C2が形成されている。これらは、大細胞流路凹部100hの上方の壁を貫通する孔である。入口孔3C1は、細胞分離下側平板5の大細胞出口5C1と接続平板4の大細胞流入貫通孔4C1に通ずる。細胞分離流路110から大細胞と搬送液の組は、大細胞出口5C1、大細胞流入貫通孔4C1および入口孔3C1を経て大細胞流路100に流入する。

[0028] さらに、細胞分離下側平板5には搬送液排出貫通孔5C2が形成され、細胞分離流路板6には搬送液排出貫通孔6Cが形成され、細胞分離上側平板7には搬送液排出貫通孔7Cが形成されている。これらは、互に通じており、細胞分離ユニット11の搬送液排出貫通孔11Cを構成する。大細胞流路100の出口孔3C2は、接続平板4の搬送液流入貫通孔4C2と細胞分離ユニット11の搬送液排出貫通孔11Cに通ずる。大細胞流路100から搬送液は、出口孔3C2、搬送液流入貫通孔4C2、5C2、6C、7Cを経て排出される。

[0029] 細胞分離流路板6および細胞捕捉流路板3は、透明なエラストマー、例えばポリジメチルシロキサン（PDMS）を主成分とするシリコーンゴムから形成されている。細胞分離上側平板7および細胞分離下側平板5は、例えばアクリル樹脂またはガラスのような透明材料から形成されている。接続平板4は、例えばアクリル樹脂またはガラスのような透明材料から形成された板であり、この板にはエラストマー製の環状シール4b1、4b2が固定されている。環状シール4b1、4b2については後述する。細胞捕捉下側平板2は、例えばアクリル樹脂またはガラスのような透明材料から形成された基板、DEPのための電極および絶縁層を有する。DEPのための電極および絶縁層については後述する。

[0030] 次に、細胞分離ユニット11の細胞分離流路110について詳しく説明する。図4に示すように、細胞分離流路110は、直線状のメイン流路111

と、搬送液導入流路 110A、サンプル液導入流路 110B、大細胞排出流路 110C、および小細胞排出流路 110D を有する。搬送液導入流路 110A は搬送液入口 6A に通じており、サンプル液導入流路 110B はサンプル液入口 6B に通じており、大細胞排出流路 110C は大細胞出口 5C1 に通じており、小細胞排出流路 110D は小細胞出口 6D に通じている。

[0031] 搬送液導入流路 110A およびサンプル液導入流路 110B は、メイン流路 111 の一端（すなわち上流端）に接続され、大細胞排出流路 110C および小細胞排出流路 110D は、メイン流路 111 の他端（すなわち下流端）に接続されている。搬送液導入流路 110A および大細胞排出流路 110C は、直線状のメイン流路 111 の延長線上に延びており、大きい幅を有するのに対して、サンプル液導入流路 110B および小細胞排出流路 110D は、メイン流路 111 の付近部分だけがメイン流路 111 の延長線上に延びており、小さい幅を有する。

[0032] 図 5 および図 6 に示すように、細胞分離流路 110 のメイン流路 111 の内部には、それぞれ鉛直に延びる複数の柱 112 が設けられている。これらの柱 112 は、決定論的横置換（DL D、Deterministic Lateral Displacement）法によって、液体中を流れる大細胞と小細胞を分離する。DL D 法については、鳥取直友、外 3 名、「決定論的横置換法を用いた粒子分離デバイスの開発（Development of Deterministic Lateral Displacement Device for Separation of Particles）」、2015 年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集、公益社団法人精密工学会、2015 年、p743-744、および国際公開第 2016/136273 号に開示されている。DL D 法は、マイクロ流体デバイスに規則的に配置された多数の柱を利用して、粒子が分散された液体の流れの中から大きい粒子と小さい粒子を分離する技術である。

[0033] 図 7 に示すように、DL D 法で利用される多数の柱 112 を示す平面図である。多数の柱 112 は、複数の列を形成するが、各列は流れの方向 F に対して角度 θ で傾斜している。小粒子または小細胞 121 は、柱 112 によって流れの向きを変えながら、流れの方向 F に対してジグザグに進むが、おお

まかには層流に乗って直線的に進む。一方、大粒子または大細胞 120 は、柱 112 の列の傾きに沿って斜めに進む。このため、細胞分離流路 110 のメイン流路 111 を層流が流れる場合、これらの柱 112 は、水平面内で大細胞 120 の流れを細胞分離流路 110 の一方の側部 110E に偏らせ、水平面内で小細胞 121 の流れを細胞分離流路 110 の長手方向、すなわち流れの方向 F に向ける。

[0034] おおまかに流れの方向に沿って進む小粒子と斜めに進む大粒子の境界直径 D_c は、「決定論的横置換法を用いた粒子分離デバイスの開発」および国際公開第 2016/136273 号によれば、下記の式で求められる。

$$D_c = 1.4g \cdot N^{-0.48} \quad (\text{式 1})$$

ここで、 g は流れの方向 F に対して垂直な方向での柱 112 の間隔であり、 N は流線 (flow streams) の数であり、下記の式で表される。

$$N = 1 / \varepsilon \quad (\text{式 2})$$

ここで、 ε は row shift fraction、すなわち柱 112 のずれ率であり、 $\varepsilon = \tan \theta$ である。

[0035] 境界直径 D_c は、国際公開第 2016/136273 号によれば、式 1 と等価な下記の式で求められる。

$$D_c = 1.4g \cdot \varepsilon^{0.48} \quad (\text{式 3})$$

国際公開第 2016/136273 号によれば、 $0.06 < \varepsilon < 0.1$ 程度の場合に、大粒子と小粒子の分離が良好に行える。したがって、境界直径 D_c は下記の式の範囲にある。

$$0.3628g < D_c < 0.4636g \quad (\text{式 4})$$

境界直径 D_c 未満の直径を有する粒子はおおまかに流れの方向に沿って進み、境界直径 D_c より大きい直径を有する粒子は斜めに進む。CTC は他の血中細胞よりも大きいため、DL D 法を用いる細胞分離ユニット 11 によって、サンプル液 (例えば血液) から CTC を分離することができる。

[0036] 図面において、柱 112 の数および位置は、必ずしも正確ではない。柱 112 の水平面での断面形状は円形であるが、上記の分離作用を発揮する限り

、断面形状は他の形状であってもよい。

[0037] 図2、図4および図5に示すように、搬送液入口7A、6Aと大細胞出口5C1は、水平面内で細胞分離流路110の一方の側部110E（大細胞が集中する側部）の側に配置され、サンプル液入口7B、6Bと小細胞出口7D、6Dは、水平面内で細胞分離流路110の反対の側部110Fの側に配置されている。細胞分離流路110を流れる液体を層流にすることによって、搬送液入口7A、6Aを通じて導入される搬送液は、細胞分離流路110の一方の側部110Eの付近を流れ、サンプル液入口7Bを通じて導入されるサンプル液のサンプル液体成分は、細胞分離流路110の他方の側部110Fの付近を流れる。

[0038] 細胞分離流路110の複数の柱112の作用によって、大細胞は、細胞分離流路110の側部110Eの付近に集中し、小細胞は、細胞分離流路110の長手方向に沿って流れる。搬送液入口7Aと大細胞出口5C1が、水平面内で細胞分離流路110の一方の側部110Eの側に配置されることによって、液体の流れに伴って、自動的に大細胞出口5C1に大細胞と搬送液が流入し、サンプル液入口7Bと小細胞出口7Dが、水平面内で細胞分離流路110の他方の側部110Fの側に配置されていることによって、液体の流れに伴って、自動的に小細胞出口7D、6Dに小細胞とサンプル液体成分が流入する。したがって、大細胞と小細胞を容易に分離することができると同時に、元々、サンプル液に含まれていた大細胞を搬送液に容易に移すことができる。

[0039] 図6に示すように、メイン流路111内の液体の流れを層流にしやすいするため、メイン流路111の下流側には複数の整流板114が配置され、これらの整流板114は互いに平行かつメイン流路111の長手方向に平行に配列されている。同様の整流版は、メイン流路111の上流側にも配置されている。但し、整流板114は必ずしも必須ではない。図6において、符号113は、整流板114の下流側に配置された小細胞排出流路110Dと大細胞排出流路110Cの間の隔壁を示す。

- [0040] 次に、細胞捕捉ユニット 10 の大細胞流路 100 について詳しく説明する。細胞分離流路 110 から大細胞と搬送液の組は、大細胞出口 5C1、大細胞流入貫通孔 4C1 および入口孔 3C1 を経て大細胞流路 100 に流入する。図 8 に示すように、大細胞流路 100 は、細胞捕捉下側平板 2 と細胞捕捉流路板 3 により画定されている。細胞捕捉下側平板 2 は、例えばアクリル樹脂またはガラスのような透明材料から形成された基板 101 を有する。
- [0041] 図 8 および図 9 に示すように、DEP 作用によって大細胞 120 を引き付けるために、細胞捕捉下側平板 2 の基板 101 の上面には、複数の電極線 102A, 102B が互いに平行に配置されている。図 9 に示すように、電極線 102A, 102B は、交差指状電極 (IDE、Inter-Digitated Electrodes) を構成する。すなわち、複数の電極線 102A は電極線 102C によって接続され、複数の電極線 102B は電極線 102D によって接続されている。但し、図 9 は略図であって、電極線 102A, 102B の数、および後述する細胞捕捉ウェル 104 の数を正確には表していない。電極線 102C と電極線 102D には、電源装置 105 によって異なる電位が与えられている。この実施形態では、電極線 102A, 102B は、ITO (Indium Tin Oxide) から形成されているが、他の導電材料から形成されてもよい。
- [0042] 図 8 および図 9 に示すように、電極線 102A, 102B を有する電極層 102 の上には、絶縁層 103 が形成されており、絶縁層 103 には、大細胞 120 を捕捉するための複数の細胞捕捉ウェル 104 が形成されている。この実施形態では、細胞捕捉ウェル 104 は、絶縁層 103 を貫通する円形の貫通孔であるが、細胞捕捉ウェル 104 の形状は図示に限定されない。細胞捕捉ウェル 104 の中央部は、電極線 102A, 102B に重ならず、細胞捕捉ウェル 104 の各端部は、電極線 102A, 102B のいずれかに重なっている。
- [0043] 各細胞捕捉ウェル 104 は、大細胞 120 の 1 つを捕捉可能な直径を有する。すなわち、細胞捕捉ウェル 104 の直径は、目的とする大細胞 120 の直径よりも大きく、その大細胞 120 の直径の 2 倍よりも小さい。

[0044] 上記構成により、大細胞流路100を大細胞120と搬送液Lの組が流れる間に、DEP作用によって、複数の大細胞120が複数の細胞捕捉ウェル104のいずれか複数にそれぞれ捕捉される。大細胞流路100が形成された細胞捕捉流路板3は、軟らかいエラストマーから形成されているので、図10に示すように、細胞捕捉流路板3をその厚さ方向に圧縮して、細胞捕捉流路板3の上壁3Tと基板101との間隔、すなわち大細胞流路100の高さを狭めて、各大細胞120を細胞捕捉ウェル104に流出しないように収容することができる。

[0045] 上記したように、搬送液Lは、細胞捕捉ユニット10で大細胞120を解析するための試薬液であってもよい。したがって、図10に示す状態で、細胞捕捉ウェル104に収容された個々の大細胞120を解析してもよい。例えば、大細胞120の成分と反応して蛍光または燐光を発する物質を含有する試薬液を搬送液Lとして使用し、細胞捕捉ウェル104に収容された個々の大細胞120から発せられる蛍光または燐光の変化を観察してもよい。あるいは、ポリメラーゼ連鎖反応を観察するための試薬を搬送液Lとして使用してもよい。大細胞120の解析の前に、電極線102A、102Bによって、細胞捕捉で使用された電圧よりも大きい電圧を大細胞120に与えることによって、大細胞120を破碎してもよい。

[0046] 但し、搬送液Lを大細胞流路100から排出した後に、試薬液を大細胞流路100に導入し、その後に、細胞捕捉ウェル104に収容された個々の大細胞120を解析してもよい。この場合、試薬液は、搬送液Lと同様に、例えば、搬送液入口7Aから導入され、搬送液入口6A、細胞分離流路110、大細胞出口5C1、大細胞流入貫通孔4C1、入口孔3C1、および大細胞流路100を通過して、大細胞流路100に導かれる。また、試薬液は、搬送液Lと同様に、吸引装置15Cによって、大細胞流路100から、出口孔3C2、搬送液流入貫通孔4C2、および搬送液排出貫通孔11Cを通過して排出される。

[0047] 大細胞流路100の上方の細胞捕捉流路板3、接続平板4、細胞分離下側

平板 5、細胞分離流路板 6、および細胞分離上側平板 7 は透明材料から形成されている。また、図 2 に示すように、大細胞流路 100 は細胞分離流路 110 と平面視して異なる位置に配置されている。したがって、大細胞流路 100 に固定された大細胞 120 を上方から目視または光学機器で観察することが容易である。

[0048] 大細胞流路 100 に固定された大細胞 120 を解析する前に、細胞分離ユニット 11 および接続平板 4 を細胞捕捉ユニット 10 から取り外してもよい。ピン 8 から固定具、例えばナット 9 を着脱することにより、これは容易に実施可能である。大細胞流路 100 の上方の細胞捕捉流路板 3 は透明であるので、細胞分離ユニット 11 および接続平板 4 を取り外した後も、大細胞流路 100 に固定された大細胞 120 を上方から目視または光学機器で観察することが容易である。

[0049] 次に、細胞捕捉ユニット 10 と細胞分離ユニット 11 とを接続する接続平板 4 について詳しく説明する。図 11 および図 12 に示すように、接続平板 4 には、大細胞流入貫通孔 4C1 および搬送液流入貫通孔 4C2 が形成されている。上記の通り、大細胞流入貫通孔 4C1 は、細胞分離ユニット 11 の大細胞出口 5C1 と細胞捕捉ユニット 10 の大細胞流路 100 とを接続し、搬送液流入貫通孔 4C2 は、細胞分離ユニット 11 の搬送液排出貫通孔 11C と細胞捕捉ユニット 10 の大細胞流路 100 とを接続する。

[0050] 接続平板 4 の上面には、大細胞流入貫通孔 4C1 および搬送液流入貫通孔 4C2 をそれぞれ囲むエラストマーから形成された環状シール 4b1, 4b2 が固定されている。エラストマーは、例えばシリコンゴムであってよい。接続平板 4 の上面、すなわち細胞分離ユニット 11 の細胞分離下側平板 5 に接触する面に、環状シール 4b1, 4b2 が配置されており、環状シール 4b1, 4b2 が圧縮されて弾性変形することによって、細胞分離ユニット 11 と接続平板 4 の間の搬送液の漏れが防止または低減される。

[0051] この実施形態では、環状シール 4b1, 4b2 は接続平板 4 に固定されているが、環状シール 4b1, 4b2 は接続平板 4 と分離可能であってもよい。

。例えば、Ｏリング、Ｄリングなどの環状シールを環状シール４ｂ１，４ｂ２として、接続平板４と細胞分離ユニット１１との間に配置してもよい。

[0052] この実施形態では、細胞捕捉装置１は、重ね合わせられた複数の板を備える積層体構造を有する。この構造において、エラストマー製の部品が液体の経路からの漏れを低減または防止する。具体的には、細胞分離ユニット１１において、細胞分離流路板６はエラストマーから形成されている。このため、細胞分離流路板６と細胞分離下側平板５を重ねて圧縮すると、細胞分離下側平板５に細胞分離流路板６が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。また、細胞分離上側平板７と細胞分離流路板６を重ねて圧縮すると、細胞分離上側平板７に細胞分離流路板６が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0053] また、細胞捕捉ユニット１０において、細胞捕捉流路板３がエラストマーから形成されているので、細胞捕捉流路板３と細胞捕捉下側平板２を重ねて圧縮すると、細胞捕捉下側平板２に細胞捕捉流路板３が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。細胞捕捉ユニット１０の上面を持つ細胞捕捉流路板３がエラストマーで形成されているため、接続平板４と細胞捕捉ユニット１０を重ねて圧縮すると、接続平板４に細胞捕捉ユニット１０が密着するので、細胞捕捉ユニット１０と接続平板４の間の搬送液の漏れが防止または低減される。そして、接続平板４と細胞分離ユニット１１の間の搬送液の漏れは、両者の間の環状シール４ｂ１，４ｂ２によって、防止または低減される。

[0054] 上記の通り、積層体構造において、エラストマー製の部品が液体の経路からの漏れを低減または防止する。ピン８に取り付けられた固定具、例えばナット９は、これらのエラストマー製の部品を圧縮して弾性変形させ、それらの封止性能を高める。但し、必要に応じて、接着剤、化学的反応、または熱的反応を用いて、板と板とを接合してもよい。

[0055] 次に、この実施形態を用いた実験について説明する。

細胞分離ユニット１１における流れの方向Ｆに対して垂直な方向での柱１

12の間隔 $g=40\mu\text{m}$ 、流線の数 $N=36.6$ に設定し、DL D法に従った細胞分離ユニット11における境界直径 D_c を $9.93\mu\text{m}$ に設計した。

[0056] 搬送液として、純水（Milli-Q（商標））に、 0.01mM の CaCl_2 、 10mM のHEPES、 236mM のスクロース、 59mM のグルコース、2%のBSA（ウシ血清アルブミン）を溶かした溶液を使用した。サンプル液として、リン酸緩衝液 $1000\mu\text{l}$ に、 $1\mu\text{l}$ の直径 $1.7\mu\text{m}$ のポリスチレンの球状粒子と、PC3細胞（ヒト前立腺がん細胞）を加えた液体を使用した。ポリスチレンの球状粒子は、直径が約 $2\mu\text{m}$ である血小板の代わりに使用された。PC3細胞の直径は、 $12\sim 22\mu\text{m}$ 程度なので、境界直径 D_c が $9.93\mu\text{m}$ である細胞分離ユニット11により、ポリスチレンの球状粒子、ひいては血小板から分離することができると予想された。

[0057] 吸引装置15Cおよび吸引装置15Dによって陰圧を与え、搬送液とサンプル液の流速を $1.5\mu\text{l}/\text{min}$ に制御した。この結果、PC3細胞と搬送液の組と、ポリスチレンの球状粒子とサンプル液体成分の組とを分離することができた。すなわち、PC3細胞とポリスチレンの球状粒子を容易に分離することができると同時に、元々、サンプル液に含まれていたPC3細胞を搬送液に容易に移すことができた。

[0058] 図13は、この実験で得られた、細胞分離ユニット11で分離されたPC3細胞およびポリスチレンの球状粒子を示す写真の画像である。細胞分離流路110の大細胞排出流路110Cに大細胞であるPC3細胞が流入し、小細胞排出流路110Dにポリスチレンの球状粒子が流入する状態を理解することができる。

[0059] したがって、ポリスチレンの球状粒子とサンプル液体成分の組が小細胞出口7Dから排出され、PC3細胞と搬送液の組が大細胞出口5C1を通じて細胞捕捉ユニット10に送られた。

[0060] 細胞捕捉ユニット10においては、細胞捕捉ウェル104の直径は $24\mu\text{m}$ であった。PC3細胞を細胞捕捉ユニット10で捕捉するため、電源装置105によって、 20MHz 、 6V の交流電圧を電極に与えた。この結果、細胞捕捉ユ

ニット 10 の細胞捕捉ウェル 104 に PC3 細胞が捕捉された。図 14 は、この実験で得られた、細胞捕捉ユニット 10 で捕捉された PC3 細胞を示す写真の画像である。個々の PC3 細胞は、1 つの細胞捕捉ウェル 104 に捕捉された。

[0061] 比較実験として、搬送液を送らずに、上記と同様の実験を行った。すなわち、液体の交換を行わずに PC3 細胞を細胞捕捉ユニット 10 で捕捉することを試みた。比較実験では、PC3 細胞は捕捉されなかった。

[0062] 次に、上記実験で用いた細胞捕捉装置 1 の製造方法を説明する。以下の製造方法は例示であって、他の方法で細胞捕捉装置 1 を製造してもよい。

[0063] まず、細胞分離ユニット 11 の細胞分離流路板 6 を製造するためのモールドの製造方法を説明する。図 15 に示すように、直径 4 インチ (100mm) の P 型シリコンウェハ 20 (結晶方位 100) 上に、エポキシ樹脂溶液 21 を滴下して、スピコートによって均一化した。エポキシ樹脂溶液 21 としては、日本化薬株式会社製のネガ型フォトリソグレイス (商品名「SU8 3050」) を使用した。スピコートは、回転数 2000rpm で 30 秒間行った。

[0064] この後、エポキシ樹脂溶液 21 の溶媒を乾燥させるため、図 16 に示すように、ヒータ 24 を用いて、温度 95℃ で 25 分間、プリベイクを行い、乾燥したエポキシ樹脂層 22 を形成した。この後、図 17 に示すように、マスク 26 をエポキシ樹脂層 22 に載せて、水銀ランプを用いて紫外線を照射し、エポキシ樹脂層 22 の所望の部分を変化させた。マスク 26 は、細胞分離流路板 6 の柱 112 を有する細胞分離流路 110 に対応する部分をモールドに形成するために使用され、複数の柱 112 と同大かつ同形の複数の円柱を有する。

[0065] この後、エポキシ樹脂の重合反応を完了させるために、図 18 に示すように、ヒータ 24 を用いて、温度 95℃ で 5 分間、ベイクを行った。この後、マスク 26 に接触して変化した部分を現像液 (商品名「SU8 developer」) を用いて除去し、図 19 に示すように、細胞分離流路 110 に対応する残存樹脂突起 22a を形成した。そして、イソプロピルアルコールを用いて、シ

リコンウェハ 20 を洗浄し、シリコンウェハ 20 と残存樹脂突起 22 a を有するモールド 28 が完成した。

[0066] 次に、このモールド 28 を用いて、図 20 に示すように、細胞分離流路板 6 を成形した。その手順は、以下の通りである。まず、モールド 28 を、ユニマテック株式会社製の離型剤（商品名「NOX FREE F-350」）に 1 分間浸漬し、十分乾燥させた。次に、モールド 28 に、東レ・ダウコーニング株式会社製のシリコンゴム（商品名「SILPOT 184」）を注入し、温度 100℃ で 1 時間放置して、シリコンゴムを硬化させた。この後、モールド 28 から硬化させたシリコンゴムを剥がすことによって、モールド 28 の形状が転写されたシリコンゴム製の細胞分離流路板 6 を得た

[0067] 細胞分離流路板 6 の搬送液入口 6 A、サンプル液入口 6 B、小細胞出口 6 D、および固定用貫通孔 6 h は、この後、形成してもよい。モールド 28 にこれらの成形用の樹脂突起を形成し、樹脂突起によって形成してもよい。

[0068] さらに、図 21 に示すように、ガラス製の細胞分離下側平板 5 と細胞分離流路板 6 とを接合した。接合の手順は以下の通りである。まず、直径 1 mm の大細胞出口 5 C 1 および搬送液排出貫通孔 5 C 2 を細胞分離下側平板 5 に形成した。次に、サムコ株式会社の装置（商品名「RIE-10NR」）を用いて、酸素プラズマを細胞分離下側平板 5 と細胞分離流路板 6 に照射した。このときのガス流量は、50SCCM であり、圧力は 20Pa であり、RF 出力は 75W であり、放電時間は 5 秒であった。そして、細胞分離下側平板 5 と細胞分離流路板 6 のプラズマ照射面を接合した。

[0069] 但し、細胞分離下側平板 5 と細胞分離流路板 6 の接合は必ずしも必須ではない。これらを接合しない方が、ピン 8 から細胞分離ユニット 11 を取り外した場合、細胞分離流路 110 の清掃、洗浄または乾燥が容易なため好ましいかもしれない。

[0070] 次に、細胞捕捉ユニット 10 の製造方法を説明する。図 22 に示すように、ジオマテック株式会社製の ITO 電極線 102 A, 102 B が形成された基板 101 に、エポキシ樹脂溶液 31 を滴下して、スピンコートによって均

一化した。エポキシ樹脂溶液 3 1 としては、日本化薬株式会社製のネガ型フォトレジスト（商品名「SU8 3005」）を使用した。スピンコートは、回転数2000rpmで30秒間行った。

[0071] この後、エポキシ樹脂溶液 3 1 の溶媒を乾燥させるため、図 2 3 に示すように、ヒータ 2 4 を用いて、温度95℃で25分間、プリベイクを行い、乾燥したエポキシ樹脂層 3 2 を形成した。この後、図 2 4 に示すように、マスク 3 6 をエポキシ樹脂層 3 2 に載せて、水銀ランプを用いて紫外線を照射し、エポキシ樹脂層 3 2 の所望の部分を硬化させた。マスク 3 6 は、細胞捕捉下側平板 2 の絶縁層 1 0 3 の細胞捕捉ウェル 1 0 4 を形成するために使用され、細胞捕捉ウェル 1 0 4 と同大かつ同形の複数の貫通孔を有する。

[0072] この後、エポキシ樹脂の重合反応を完了させるために、図 2 5 に示すように、ヒータ 3 4 を用いて、温度95℃で5分間、ベイクを行った。この後、マスク 3 6 に接触して硬化しなかった部分を現像液（商品名「SU8 developer」）を用いて除去し、図 2 6 に示すように、細胞捕捉ウェル 1 0 4 を形成した。そして、イソプロピルアルコールを用いて、基板 1 0 1 を洗浄し、電極層 1 0 2 と絶縁層 1 0 3 を有する細胞捕捉下側平板 2 が完成した。

[0073] さらに、図 2 7 に示すように、東レ・ダウコーニング株式会社製のシリコーンゴム（商品名「SILPOT 184」）で形成された細胞捕捉流路板 3 を細胞捕捉下側平板 2 に接合した。但し、細胞捕捉流路板 3 と細胞捕捉下側平板 2 の接合は必ずしも必須ではない。これらを接合しない方が、ピン 8 から細胞捕捉ユニット 1 0 を取り外した場合、大細胞流路 1 0 0 の清掃、洗浄または乾燥が容易なため好ましいかもしれない。

[0074] 次に、接続平板 4 の製造方法を説明する。まず、ガラス製の板に大細胞流入貫通孔 4 C 1 と搬送液流入貫通孔 4 C 2 を形成した。次に、スクリーン印刷を用いて、信越化学工業株式会社製のシリコーンゴム（商品名「KE-1935-A/B」）を、接続平板 4 の上面の大細胞流入貫通孔 4 C 1 と搬送液流入貫通孔 4 C 2 の周囲に、厚さ200 μ mとなるよう塗布した。シリコーンゴムは、環状シール 4 b 1, 4 b 2 の材料である。環状シール 4 b 1, 4 b 2 の内径は1mm

に設定した。そして、温度150℃で1時間放置して、シリコーンゴムを硬化させた。

[0075] このようにして準備された細胞捕捉下側平板2、細胞捕捉流路板3、接続平板4、細胞分離下側平板5、細胞分離流路板6、および細胞分離上側平板7を積層した。次に、複数のピン8を固定用貫通孔11h, 10hに挿入して、これらの板の位置を揃えた。さらに、ナット9によって、これらの板を固定するとともに、細胞捕捉流路板3、細胞分離流路板6および環状シール4b1, 4b2を適度に圧縮して、流体の経路を封止した。

[0076] 固定用貫通孔11h, 10h、すなわち固定用貫通孔7h, 6h, 5h, 4h, 3hは、板の積層の前に形成してもよい。但し、板を積層してこれらの板の位置を揃えてから形成してもよい。

[0077] 以上のように、この実施形態によれば、細胞分離ユニット11の細胞分離流路110が、導入されたサンプル液と搬送液から、大細胞と搬送液の組と、小細胞とサンプル液体成分の組とを分離する。したがって、大細胞と小細胞を容易に分離することができると同時に、元々、サンプル液に含まれていた大細胞を搬送液に容易に移すことができる。細胞分離ユニット11に固定された細胞捕捉ユニット10は、大細胞と搬送液の組を受ける。細胞捕捉ユニット10の大細胞流路100を大細胞と搬送液の組が流れる間に、誘電泳動作用によって、複数の大細胞が細胞捕捉ユニット10の複数の細胞捕捉ウェル104のいずれか複数にそれぞれ捕捉される。細胞分離ユニット11と細胞捕捉ユニット10が一体化されていることによって、細胞分離ユニット11で分離された大細胞と搬送液の組を、細胞捕捉ユニット10に移動する際の汚染を低減することが可能である。

[0078] また、この実施形態によれば、複数のピン8を細胞分離ユニット11と細胞捕捉ユニット10の固定用貫通孔11h, 10hに挿入することによって、細胞分離ユニット11と細胞捕捉ユニット10を容易に位置決めすることができ、固定具9によって、細胞分離ユニット11と細胞捕捉ユニット10を容易に一体化することができる。また、細胞分離ユニット11または細胞

捕捉ユニット 10 を容易に交換することができる。さらには、必要に応じて、大細胞流路 100 に固定された大細胞 120 を解析する前に、細胞分離ユニット 11 および接続平板 4 を細胞捕捉ユニット 10 から取り外してもよい。

[0079] また、この実施形態によれば、細胞分離ユニット 11 は、細胞分離流路 110 となる分離流路凹部 110h が形成された細胞分離流路板 6 と、細胞分離流路板 6 の下方に配置され、細胞分離流路板 6 に重ねられて分離流路凹部 110h を閉塞する細胞分離下側平板 5 とを有する。したがって、分離流路凹部 110h が形成された細胞分離流路板 6 と、大細胞出口 5C1 が形成されているといえども単なる平板である細胞分離下側平板 5 とを組み合わせることによって、細胞分離流路 110 を容易に形成することができる。

[0080] また、この実施形態によれば、細胞分離ユニット 11 の細胞分離流路板 6 は、軟らかいエラストマーから形成されているので、分離流路凹部 110h を形成するのが容易である。また、細胞分離流路板 6 がエラストマーから形成されているので、細胞分離流路板 6 と細胞分離下側平板 5 を重ねて圧縮すると、細胞分離下側平板 5 に細胞分離流路板 6 が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0081] また、この実施形態によれば、細胞分離ユニット 11 は、細胞分離流路板 6 の上方に配置され細胞分離流路板 6 に重ねられる細胞分離上側平板 7 を有し、サンプル液入口 7B と、搬送液入口 7A と、小細胞出口 7D が細胞分離上側平板 7 を貫通する。したがって、軟らかいエラストマーで形成された細胞分離流路板 6 を細胞分離上側平板 7 によって保護することができる。サンプル液入口 7B と、搬送液入口 7A と、小細胞出口 7D の各々には、液体の注入装置 15B, 15A または液体の吸引装置 15D が接触するので、サンプル液入口 7B と、搬送液入口 7A と、小細胞出口 7D を細胞分離上側平板 7 に設けることによって、細胞分離流路板 6 が注入装置 15B, 15A または吸引装置 15D によって損傷するおそれが防止または低減される。

[0082] また、この実施形態によれば、細胞捕捉ユニット 10 は、大細胞流路 10

0となる大細胞流路凹部100hが形成された細胞捕捉流路板3と、細胞捕捉流路板3の下方に配置され、細胞捕捉流路板3に重ねられて大細胞流路凹部100hを閉塞するとともに、複数の電極線102A、102Bを有する電極層102および複数の細胞捕捉ウェル104が形成された絶縁層103が積層された細胞捕捉下側平板2とを有する。したがって、大細胞流路凹部100hが形成された細胞捕捉流路板3と、電極層102と絶縁層103が形成されているといえども単なる平板である細胞捕捉下側平板2とを組み合わせることによって、大細胞流路100を容易に形成することができる。

[0083] また、この実施形態によれば、細胞捕捉ユニット10の細胞捕捉流路板3が軟らかいエラストマーから形成されているので、大細胞流路凹部100hを形成するのが容易である。また、細胞捕捉流路板3をその厚さ方向に圧縮して、大細胞流路100の高さを狭めて、各大細胞を細胞捕捉ウェル104に流出しないように収容することができる。また、細胞捕捉流路板3がエラストマーから形成されているので、細胞捕捉流路板3と細胞捕捉下側平板2を重ねて圧縮すると、細胞捕捉下側平板2に細胞捕捉流路板3が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0084] また、この実施形態によれば、細胞分離ユニット11には、サンプル液入口7Bと、搬送液入口7Aと、小細胞出口7Dと、小細胞出口7Dが形成されている。これらのポートがすべて細胞分離ユニット11に形成されているので、細胞捕捉装置1の小さい面積を有効に利用することができる。また、サンプル液の注入装置15B、搬送液の注入装置15A、小細胞とサンプル液体成分の吸引装置15Dおよび搬送液の吸引装置15Cを迅速に配備することができる。

[0085] 以上、本発明の実施形態を説明したが、上記の説明は本発明を限定するものではなく、本発明の技術的範囲において、構成要素の削除、追加、置換を含む様々な変形例が考えられる。

[0086] 図28および図29は、実施形態の変形例に係る細胞捕捉装置1Aを示す。図30は、細胞捕捉装置1Aの上部を分解して示す。図の簡略化のため、

図 29 では大細胞流路 100 の図示を省略し、図 30 では細胞捕捉ユニット 10 の図示を省略する。

[0087] 細胞捕捉装置 1A は、上記の細胞捕捉装置 1 の構成に加えて、サンプル液希釈ユニット 40 を備える。サンプル液希釈ユニット 40 は、細胞分離ユニット 11 の上方に配置されている。サンプル液希釈ユニット 40 は、重ね合わせられた希釈ユニット下側平板（下側平板）41、希釈流路板（流路板）42、および希釈ユニット上側平板（上側平板）43 を有する。

[0088] サンプル液希釈ユニット 40 は、細胞分離ユニット 11 での細胞分離処理の前処理のために使用される。具体的には、サンプル液希釈ユニット 40 には、サンプル原液（例えば血液）と希釈液（例えば生理食塩水）が導入され、サンプル液希釈ユニット 40 は、希釈流路 400 によってサンプル原液と希釈液を混合して、濃度が低下させられたサンプル液を細胞分離ユニット 11 のサンプル液入口 7B に供給する。

[0089] 上側平板 43 には、それぞれ貫通孔であるサンプル原液入口 43B および希釈液入口 43E が形成されている。サンプル原液入口 43B には、サンプル液の注入装置 15B（例えばピペット）から、サンプル原液が導入される。希釈液入口 43E には、希釈液の注入装置 15E（例えばピペット）から、希釈液が導入される。

[0090] 流路板 42 には、希釈流路 400 となる希釈流路凹部（凹部）400h が形成されており、流路板 42 の下方に配置された下側平板 41 は、流路板 42 に重ねられて凹部 400h を閉塞する。このようにして、下側平板 41 と流路板 42 は、協同して希釈流路 400 を画定する。希釈流路 400 は水平に配置されている。

[0091] 流路板 42 には、サンプル原液入口 42B および希釈液入口 42E が形成されている。サンプル原液入口 42B および希釈液入口 42E は、凹部 400h の上方の壁を貫通する孔であり、それぞれ上側平板 43 のサンプル原液入口 43B および希釈液入口 43Eに通ずる。サンプル原液は、サンプル原液入口 43B、43B を経て希釈流路 400 に流入する。希釈液は、希釈液

入口 4 3 E, 4 4 E を経て希釈流路 4 0 0 に流入する。希釈流路 4 0 0 では、サンプル原液と希釈液が流れるとともに混合されて、濃度が均一な希釈されたサンプル液が生成される。

[0092] 下側平板 4 1 には、貫通孔であるサンプル液出口 4 1 B が形成されている。サンプル液出口 4 1 B には、希釈流路 4 0 0 から希釈されたサンプル液が流入する。サンプル液出口 4 1 B は、細胞分離ユニット 1 1 のサンプル液入口 7 B に通ずる。したがって、細胞分離ユニット 1 1 の細胞分離流路 1 1 0 には、サンプル液入口 7 B からサンプル液として希釈された混合液が流入する。

[0093] また、サンプル液希釈ユニット 4 0 は、下方に配置された細胞分離ユニット 1 1 に搬送液を転送する機能を有する。上側平板 4 3、流路板 4 2、および上側平板 4 3 には、互いに同心な貫通孔が形成されており、これらの貫通孔がサンプル液希釈ユニット 4 0 を鉛直に貫通する搬送液入口 4 0 A を構成する。搬送液入口 4 0 A には、搬送液の注入装置 1 5 A（例えばピペット）から、搬送液が導入される。搬送液入口 4 0 A は、細胞分離ユニット 1 1 の搬送液入口 7 A に通ずる。したがって、細胞分離ユニット 1 1 の細胞分離流路 1 1 0 には、搬送液入口 4 0 A から搬送液入口 7 A を経て搬送液が流入する。

[0094] また、サンプル液希釈ユニット 4 0 は、細胞分離ユニット 1 1 で分離された小細胞とサンプル液体成分の組を細胞分離ユニット 1 1 から上方に転送する機能を有する。上側平板 4 3、流路板 4 2、および上側平板 4 3 には、互いに同心な貫通孔が形成されており、これらの貫通孔がサンプル液希釈ユニット 4 0 を鉛直に貫通する小細胞出口 4 0 D を構成する。小細胞出口 4 0 D は、細胞分離ユニット 1 1 の小細胞出口 7 D に通ずる。小細胞とサンプル液体成分の組は、小細胞とサンプル液体成分の吸引装置 1 5 D（例えば、吸引ポンプ P に接続されたチューブ）によって吸引されて、小細胞出口 7 D から小細胞出口 4 0 D を経て排出される。

[0095] また、サンプル液希釈ユニット 4 0 は、細胞捕捉ユニット 1 0 で大細胞が

取り出された残りの搬送液を細胞分離ユニット 11 から上方に転送する機能を有する。上側平板 43、流路板 42、および上側平板 43 には、互いに同心な貫通孔が形成されており、これらの貫通孔がサンプル液希釈ユニット 40 を鉛直に貫通する搬送液排出貫通孔 40C を構成する。搬送液排出貫通孔 40C は、細胞分離ユニット 11 の搬送液排出貫通孔 7C、ひいては細胞捕捉ユニット 10 の大細胞流路 100 に通ずる。細胞捕捉ユニット 10 で大細胞が取り出された残りの搬送液は、搬送液の吸引装置 15C（例えば、吸引ポンプ P に接続されたチューブ）によって吸引されて、搬送液排出貫通孔 7C から搬送液排出貫通孔 40C を経て排出される。

[0096] このように、細胞捕捉ユニット 10 と細胞分離ユニット 11 の上方に配置されたサンプル液希釈ユニット 40 に、搬送液入口 40A と小細胞出口 40D と搬送液排出貫通孔 40C が形成されている。サンプル液希釈ユニット 40 には、サンプル原液入口 42B と希釈液入口 42E も形成されているので、細胞捕捉装置 1A の小さい面積を有効に利用することができる。また、例えば、サンプル液の注入装置 15B、希釈液の注入装置 15E、搬送液の注入装置 15A、小細胞とサンプル液体成分の吸引装置 15D および搬送液の吸引装置 15C を迅速に配備することができる。

[0097] また、上側平板 43、流路板 42、および上側平板 43 の四隅には、互いに同心な固定用貫通孔が形成されており、これらの固定用貫通孔がサンプル液希釈ユニット 40 を貫通する固定用貫通孔 40h を構成する。固定用貫通孔 40h には、固定用貫通孔 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 7h に挿入されたピン 8 の胴部が挿入される。ピン 8 の上部のオネジ部には、固定具としてのナット 9 が取り付けられて、細胞捕捉ユニット 10、細胞分離ユニット 11 およびサンプル液希釈ユニット 40 が一体化されている。

[0098] 流路板 42 は、透明なエラストマー、例えば PDMS を主成分とするシリコーンゴムから形成されている。上側平板 43 および下側平板 41 は、例えばアクリル樹脂またはガラスのような透明材料から形成されている。サンプル液希釈ユニット 40 において、流路板 42 がエラストマーから形成されて

いるので、下側平板 4 1、流路板 4 2 および上側平板 4 3 を重ねて圧縮すると、下側平板 4 1 に流路板 4 2 が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減され、流路板 4 2 に上側平板 4 3 が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0099] 細胞分離ユニット 1 1 の細胞分離上側平板 7 にはエラストマー製の環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D が固定されている。環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D は、環状シール 4 b 1、4 b 2 と同じ物でよい。環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D は、搬送液入口 7 A、サンプル液入口 7 B、搬送液排出貫通孔 7 C および小細胞出口 7 D をそれぞれ囲む。

[0100] 細胞分離上側平板 7 の上面、すなわちサンプル液希釈ユニット 4 0 の下側平板 4 1 に接触する面に、環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D が配置されており、環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D が圧縮されて弾性変形することによって、細胞分離ユニット 1 1 とサンプル液希釈ユニット 4 0 の間の搬送液の漏れが防止または低減される。

[0101] この例では、環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D は細胞分離上側平板 7 に固定されているが、環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D は細胞分離上側平板 7 と分離可能であってもよい。例えば、Oリング、Dリングなどの環状シールを環状シール 4 4 A、4 4 B、4 4 C、4 4 D として、細胞分離上側平板 7 とサンプル液希釈ユニット 4 0 との間に配置してもよい。

[0102] 好ましくは、サンプル液希釈ユニット 4 0 は透明であり、サンプル液希釈ユニット 4 0 および細胞分離ユニット 1 1 における液体の流れ、ならびに細胞捕捉ユニット 1 0 における液体の流れまたは粒子の状態を上方から目視または光学機器で認識することが容易である。

[0103] サンプル液希釈ユニット 4 0 において、希釈流路 4 0 0 は、サンプル原液入口 4 2 B に通ずる入口経路と、希釈液入口 4 2 E に通ずる入口経路と、これらの入口経路に通ずる主経路と、主経路とサンプル液出口 4 1 B を結ぶ出口経路を有する。主経路はジグザグに屈曲している。

- [0104] この例では、サンプル液希釈ユニット40によって希釈されたサンプル液を細胞分離ユニット11に供給することができる。したがって、細胞分離ユニット11および細胞捕捉ユニット10における流路での液体の詰まりを防止または低減することができる。希釈流路400のジグザグな主経路は、サンプル原液と希釈液を十分に混合して、サンプル液の濃度を均一化することに寄与する。
- [0105] PC3細胞を含むヒトの血液をサンプル液として使用し、生理食塩水を希釈液として使用して、比較例の細胞捕捉装置1Aを使用する実験を行った。混合割合は、血液が1重量部、希釈液が10重量部であった。細胞捕捉装置1を使用した上記の実験と同様に、細胞捕捉ユニット10の細胞捕捉ウェル104にPC3細胞が捕捉された。細胞分離ユニット11および細胞捕捉ユニット10における液体の詰まりはなかった。
- [0106] サンプル液希釈ユニット40を製造する方法は限定されないが、一例の方法では、図15～図19に示す手法と類似の手法で、流路板42を製造するためのモールドを生成する。モールドは、シリコンウェハ20と残存樹脂突起を有し、残存樹脂突起は希釈流路400、サンプル原液入口42Bおよび希釈液入口42Eに相当する。次に、図20に示す方法と類似の手法で、モールドを用いて、シリコンゴム製の流路板42を得る。この後、図21に示すように、ガラス製の下側平板41と流路板42を接合してよい。
- [0107] また、例えば、上記の実施形態の細胞捕捉装置1は、サンプル液中のがん細胞を小さい細胞から分離して捕捉するのに使用されるが、がん細胞以外の細胞分離に使用してもよい。例えば、赤血球をより小さい血小板から分離するために、あるいは白血球をより小さい血小板から分離するために、細胞捕捉装置1の細胞分離ユニット11を使用し、分離された赤血球または白血球を細胞捕捉ユニット10で捕捉してもよい。
- [0108] 上記の実施形態では、細胞分離ユニット11の細胞分離上側平板7は、軟らかいエラストマー製の細胞分離流路板6を保護するために設けられている。但し、細胞分離上側平板7は、必ずしも必須ではない。

[0109] 上記の実施形態の細胞分離ユニット 11 と細胞捕捉ユニット 10 の間のガasketである接続平板 4 は必ずしも必須ではない。細胞分離ユニット 11 の細胞捕捉流路板 3 はエラストマーで形成されており、これを細胞捕捉ユニット 10 の細胞分離下側平板 5 に重ねて圧縮することによって、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。さらに、両者の間の流路の封止を向上させるために、図 31 に示すように、環状シール 4b1, 4b2 を細胞捕捉流路板 3 と細胞分離下側平板 5 の間に配置してもよい。この場合、環状シール 4b1, 4b2 は、細胞捕捉流路板 3 と細胞分離下側平板 5 のいずれかに固定されていてもよいし、分離可能であってもよい。

[0110] 上記の図 1 の実施形態の細胞捕捉流路板 3、接続平板 4、細胞分離下側平板 5、細胞分離流路板 6、および細胞分離上側平板 7 は透明材料から形成されている。また、図 31 の変形例の細胞捕捉流路板 3、細胞分離下側平板 5、細胞分離流路板 6、および細胞分離上側平板 7 は透明材料から形成されている。このため、大細胞流路 100 と細胞分離流路 110 における液体の流れまたは粒子の状態を上方から目視または光学機器で認識することが容易である。但し、これらのすべてが透明でなくてもよく、少なくとも細胞分離流路板 6 より上方の部分、および少なくとも細胞捕捉ウェル 104 より上方の部分は透明であれば好ましい。

[0111] 図 8 から図 10 に示すように、上記の実施形態の細胞捕捉ユニット 10 の同一平面に配置された電極線 102A, 102B には、異なる電位が与えられ、搬送液 L には横方向に電界が働く。但し、図 31 に示すように、細胞捕捉流路板 3 の上壁 3T の下面に、電極線 102A, 102B と対向する電極 106 を設けてもよい。この場合には、電極線 102A, 102B には、同じ電位が与えられ、電極 106 には、異なる電位が与えられ、搬送液 L には縦方向に電界が働く。

[0112] 本発明の態様は、下記の番号付けされた条項にも記載される。

[0113] 1. 平板状の細胞分離ユニットと、

前記細胞分離ユニットの下方に配置されて前記細胞分離ユニットに固定さ

れた平板状の細胞捕捉ユニットとを備え、

前記細胞分離ユニットは、

複数の大細胞と、前記大細胞よりも小さい複数の小細胞と、サンプル液体成分とを含むサンプル液が導入されるサンプル液入口と、

前記大細胞の導電率と異なる導電率を有する搬送液が導入される搬送液入口と、

水平に配置され、前記サンプル液入口からの前記サンプル液および前記搬送液入口からの前記搬送液が流れるとともに、前記大細胞と前記搬送液の組と、前記小細胞と前記サンプル液体成分の組とを分離する細胞分離流路と、

前記細胞分離流路から前記大細胞と前記搬送液の組が流入する大細胞出口と、

前記細胞分離流路から前記小細胞と前記サンプル液体成分の組が流入する小細胞出口とを有し、

前記細胞捕捉ユニットは、

水平に配置され、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口に通じており、前記大細胞と前記搬送液の組が流れる大細胞流路と、

前記大細胞流路を流れる前記大細胞を誘電泳動作用により引き付けるための複数の電極線と

を有しており、

前記大細胞流路には、前記電極線で引き付けられた前記大細胞の1つを各々が捕捉可能な大きさを有する複数の細胞捕捉ウェルが形成されていることを特徴とする細胞捕捉装置。

[0114] 2. 前記細胞分離流路の内部には、それぞれ鉛直に延びており、水平面内で前記大細胞の流れを前記細胞分離流路の一方の側部に偏らせ、水平面内で前記小細胞の流れを前記細胞分離流路の長手方向に向ける、複数の柱が設けられ、

前記搬送液入口と前記大細胞出口は、水平面内で前記細胞分離流路の前記一方の側部の側に配置され、

前記サンプル液入口と前記小細胞出口は、水平面内で前記細胞分離流路の他方の側部の側に配置されている

ことを特徴とする条項 1 に記載の前記細胞捕捉装置。

[0115] この場合、細胞分離流路を流れる液体を層流にすることによって、搬送液入口を通じて導入される搬送液は、細胞分離流路の一方の側部の付近を流れ、サンプル液入口を通じて導入されるサンプル液のサンプル液体成分は、細胞分離流路の他方の側部の付近を流れる。細胞分離流路の複数の柱の作用によって、大細胞は、細胞分離流路の一方の側部の付近に集中し、小細胞は、細胞分離流路の長手方向に沿って流れる。搬送液入口と大細胞出口が、水平面内で細胞分離流路の一方の側部の側に配置されることによって、液体の流れに伴って、自動的に大細胞出口に大細胞と搬送液が流入し、サンプル液入口と小細胞出口が、水平面内で細胞分離流路の他方の側部の側に配置されていることによって、液体の流れに伴って、自動的に小細胞出口に小細胞とサンプル液体成分が流入する。したがって、大細胞と小細胞を容易に分離することができると同時に、元々、サンプル液に含まれていた大細胞を搬送液に容易に移すことができる。

[0116] 3. 前記細胞分離ユニットには複数の固定用貫通孔が形成され、

前記細胞捕捉ユニットには複数の固定用貫通孔が形成され、

前記細胞分離ユニットの前記固定用貫通孔と、前記細胞捕捉ユニットの前記固定用貫通孔に挿入される複数のピンと、

前記ピンに取り付けられて、前記細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットとを固定する複数の固定具とをさらに備える

ことを特徴とする条項 1 または 2 に記載の細胞捕捉装置。

[0117] この場合には、複数のピンを細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットの固定用貫通孔に挿入することによって、細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットを容易に位置決めすることができ、固定具によって、細胞分離ユニットと細胞

捕捉ユニットを容易に一体化することができる。また、細胞分離ユニットまたは細胞捕捉ユニットを容易に交換することができる。

[0118] 4. 前記細胞分離ユニットは、

前記細胞分離流路となる分離流路凹部が形成された細胞分離流路板と、
前記細胞分離流路板の下方に配置され、前記細胞分離流路板に重ねられて前記分離流路凹部を閉塞する細胞分離下側平板とを有し、

前記大細胞出口が前記細胞分離下側平板を貫通することを特徴とする条項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0119] この場合には、分離流路凹部が形成された細胞分離流路板と、大細胞出口が形成されているといえども単なる平板である細胞分離下側平板とを組み合わせることによって、細胞分離流路を容易に形成することができる。

[0120] 5. 前記細胞分離ユニットの前記細胞分離流路板は、エラストマーから形成されている

ことを特徴とする条項 4 に記載の細胞捕捉装置。

[0121] この場合には、細胞分離流路板が軟らかいエラストマーから形成されているので、分離流路凹部を形成するのが容易である。また、細胞分離流路板がエラストマーから形成されているので、細胞分離流路板と細胞分離下側平板を重ねて圧縮すると、細胞分離下側平板に細胞分離流路板が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0122] 6. 前記細胞分離ユニットは、さらに

前記細胞分離流路板の上方に配置され、前記細胞分離流路板に重ねられる細胞分離上側平板を有し、

前記サンプル液入口と、前記搬送液入口と、前記小細胞出口が前記細胞分離上側平板を貫通する

ことを特徴とする条項 5 に記載の細胞捕捉装置。

[0123] この場合には、軟らかいエラストマーで形成された細胞分離流路板を細胞分離上側平板によって保護することができる。サンプル液入口と、搬送液入口と、小細胞出口の各々には、液体の注入装置または液体の吸引装置が接触

するので、サンプル液入口と、搬送液入口と、小細胞出口を細胞分離上側平板に設けることによって、細胞分離流路板が注入装置または吸引装置によって損傷するおそれが防止または低減される。

[0124] 7. 前記細胞捕捉ユニットは、

前記大細胞流路となる大細胞流路凹部が形成された細胞捕捉流路板と、
前記細胞捕捉流路板の下方に配置され、前記細胞捕捉流路板に重ねられて前記大細胞流路凹部を閉塞するとともに、前記複数の電極線を有する電極層および前記複数の細胞捕捉ウェルが形成された絶縁層が積層された細胞捕捉下側平板と
を有することを特徴とする条項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0125] この場合には、大細胞流路凹部が形成された細胞捕捉流路板と、電極層と絶縁層が形成されているといえども単なる平板である細胞捕捉下側平板とを組み合わせることによって、大細胞流路を容易に形成することができる。

[0126] 8. 前記細胞捕捉ユニットの前記細胞捕捉流路板は、エラストマーから形成されている
ことを特徴とする条項 7 に記載の細胞捕捉装置。

[0127] この場合には、細胞捕捉流路板が軟らかいエラストマーから形成されているので、大細胞流路凹部を形成するのが容易である。また、細胞捕捉流路板をその厚さ方向に圧縮して、大細胞流路の高さを狭めて、各大細胞を細胞捕捉ウェルに流出しないように収容することができる。また、細胞捕捉流路板がエラストマーから形成されているので、細胞捕捉流路板と細胞捕捉下側平板を重ねて圧縮すると、細胞捕捉下側平板に細胞捕捉流路板が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0128] 9. 前記細胞分離ユニットと前記細胞捕捉ユニットとの間に配置されており、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する大細胞流入貫通孔が形成されている接続平板をさらに備え、

前記接続平板の上面には、前記大細胞流入貫通孔を囲み、前記細胞分離ユニットに接触するエラストマーから形成された環状シールが配置されていることを特徴とする条項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0129] この場合には、細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットとの間に配置された接続平板の上面に環状シールが配置されていることによって、細胞分離ユニットと接続平板の間の搬送液の漏れが防止または低減される。さらにこの場合に、細胞捕捉ユニットの上面がエラストマーで形成されている場合には、接続平板に細胞捕捉ユニットが密着するので、細胞捕捉ユニットと接続平板の間の搬送液の漏れが防止または低減される。

[0130] 10. 前記細胞分離ユニットには、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路に通じており、前記大細胞流路から前記搬送液が排出される搬送液排出貫通孔が形成されていることを特徴とする条項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0131] この場合には、細胞捕捉ユニットの上方に配置された細胞分離ユニットに搬送液排出貫通孔が形成されている。細胞分離ユニットには、サンプル液入口と、搬送液入口と、小細胞出口も形成されているので、小さい面積を有効に利用することができる。

[0132] 11. 前記細胞分離ユニットと前記細胞捕捉ユニットとの間に配置されており、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する大細胞流入貫通孔が形成されており、前記細胞分離ユニットの前記搬送液排出貫通孔と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する搬送液流入貫通孔が形成されている接続平板をさらに備え、

前記接続平板の上面には、前記大細胞流入貫通孔および前記搬送液流入貫通孔をそれぞれ囲み、前記細胞分離ユニットに接触するエラストマーから形成された環状シールが配置されていることを特徴とする条項 9 に記載の細胞捕捉装置。

[0133] この場合には、細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットとの間に配置された

接続平板の上面に環状シールが配置されていることによって、細胞分離ユニットと接続平板の間の搬送液の漏れが防止または低減される。さらにこの場合に、細胞捕捉ユニットの上面がエラストマーで形成されている場合には、接続平板に細胞捕捉ユニットが密着するので、細胞捕捉ユニットと接続平板の間の搬送液の漏れが防止または低減される。

[0134] 12. 少なくとも前記細胞分離流路より上方の部分、および少なくとも前記細胞捕捉ウェルより上方の部分は透明である

ことを特徴とする条項1から11のいずれか1項に記載の細胞捕捉装置。

[0135] この場合には、細胞分離ユニットにおける液体の流れおよび細胞捕捉ユニットにおける液体の流れまたは粒子の状態を上方から目視または光学機器で認識することが容易である。

[0136] 13. 前記大細胞流路は前記細胞分離流路と平面視して異なる位置に配置されている

ことを特徴とする条項12に記載の細胞捕捉装置。

[0137] この場合には、大細胞流路に固定された大細胞を上方から目視または光学機器で観察することがさらに容易である。

[0138] 14. 前記細胞分離ユニットの上方に配置されて前記細胞分離ユニットに固定された平板状のサンプル液希釈ユニットをさらに備え、

前記サンプル液希釈ユニットは、

サンプル原液が導入されるサンプル原液入口と、

希釈液が導入される希釈液入口と、

水平に配置され、前記サンプル原液入口からの前記サンプル原液および前記希釈液入口からの前記希釈液が流れるとともに、前記サンプル原液と前記希釈液を混合して前記サンプル液を生成する希釈流路と、

前記希釈流路から前記サンプル液が流入するサンプル液出口とを有し、

前記サンプル液出口は、前記細胞分離ユニットの前記サンプル液入口に通じている

ことを特徴とする条項 1 から 13 のいずれか 1 項に記載の前記細胞捕捉装置。

[0139] この場合には、サンプル液希釈ユニットによって希釈されたサンプル液を細胞分離ユニットに供給することができる。したがって、細胞分離ユニットおよび細胞捕捉ユニットにおける流路での液体の詰まりを防止または低減することができる。

[0140] 15. 前記希釈流路は、ジグザグに屈曲する主経路を有することを特徴とする条項 14 に記載の前記細胞捕捉装置。

[0141] この場合には、サンプル原液と希釈液を十分に混合して、サンプル液の濃度を均一化することができる。

[0142] 16. 前記サンプル液希釈ユニットは、
前記細胞分離ユニットの前記搬送液入口に通じており、前記搬送液が導入される貫通孔である搬送液入口と、
前記細胞分離ユニットの前記小細胞出口に通じており、前記小細胞と前記サンプル液体成分の組が排出される貫通孔である小細胞出口と、
前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路に通じており、前記大細胞流路から前記搬送液が排出される貫通孔である搬送液排出貫通孔と
を有する
ことを特徴とする条項 14 または 15 に記載の前記細胞捕捉装置。

[0143] この場合には、細胞捕捉ユニットと細胞分離ユニットの上方に配置されたサンプル液希釈ユニットに、搬送液入口と小細胞出口と搬送液排出貫通孔が形成されている。サンプル液希釈ユニットには、サンプル原液入口と希釈液入口も形成されているので、細胞捕捉装置の小さい面積を有効に利用することができる。

[0144] 17. 前記サンプル液希釈ユニットは、
前記希釈流路となる希釈流路凹部が形成された希釈流路板と、
前記希釈流路板の下方に配置され、前記希釈流路板に重ねられて前記希釈流路凹部を閉塞する希釈ユニット下側平板と、

前記希釈流路板の上方に配置され、前記サンプル原液入口と前記希釈液入口を有する希釈ユニット上側平板とを有し、

前記サンプル液出口が前記希釈ユニット下側平板を貫通し、

前記希釈流路板は、エラストマーから形成されている

ことを特徴とする条項 1 4 から 1 6 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0145] この場合には、希釈流路板が軟らかいエラストマーから形成されているので、分離流路凹部を形成するのが容易である。また、希釈流路板がエラストマーから形成されているので、希釈ユニット上側平板と希釈流路板と希釈ユニット下側平板を重ねて圧縮すると、希釈流路板に希釈ユニット上側平板と希釈ユニット下側平板が密着し、これらの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0146] 1 8. 前記細胞分離ユニットの上面には、前記サンプル液入口を囲み、前記サンプル液希釈ユニットに接触するエラストマーから形成された環状シールが配置されている

ことを特徴とする条項 1 4 から 1 7 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0147] この場合には、細胞分離ユニットとサンプル液希釈ユニットの間の液体の漏れが防止または低減される。

[0148] 1 9. サンプル液希釈ユニットは、透明である

ことを特徴とする条項 1 4 から 1 8 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[0149] この場合には、サンプル液希釈ユニットおよび細胞分離ユニットにおける液体の流れ、ならびに細胞捕捉ユニットにおける液体の流れまたは粒子の状態を上方から目視または光学機器で認識することが容易である。

符号の説明

[0150] 1, 1 A 細胞捕捉装置

2 細胞捕捉下側平板

2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 1 0 h, 1 1 h 固定用貫通孔

3 細胞捕捉流路板

3 C 1 入口孔

- 3 C 2 出口孔
- 3 T 上壁
- 4 接続平板
- 4 b 1, 4 b 2
- 4 C 1 大細胞流入貫通孔
- 4 C 2 搬送液流入貫通孔
- 5 細胞分離下側平板
- 5 C 1 大細胞出口
- 5 C 2, 6 C, 7 C, 1 1 C 搬送液排出貫通孔
- 6 細胞分離流路板
- 6 A, 7 A 搬送液入口
- 6 B, 7 B サンプル液入口
- 6 D, 7 D 小細胞出口
- 7 細胞分離上側平板
- 8 ピン
- 8 a 頭部
- 9 ナット（固定具）
- 1 0 細胞捕捉ユニット
- 1 1 細胞分離ユニット
- 1 5 A 搬送液の注入装置
- 1 5 B サンプル液の注入装置
- 1 5 C 搬送液の吸引装置
- 1 5 D 小細胞とサンプル液体成分の吸引装置
- 4 0 サンプル液希釈ユニット
- 1 0 0 大細胞流路
- 1 0 0 h 大細胞流路凹部
- 1 0 1 基板
- 1 0 2 電極層

1 0 2 A, 1 0 2 B 電極線
1 0 2 C 電極線
1 0 2 D 電極線
1 0 5 電源装置
1 0 6 電極
1 0 3 絶縁層
1 0 4 細胞捕捉ウェル
1 1 0 細胞分離流路
1 1 0 h 分離流路凹部
1 1 0 A 搬送液導入流路
1 1 0 B サンプル液導入流路
1 1 0 C 大細胞排出流路
1 1 0 D 小細胞排出流路
1 1 0 E 側部
1 1 0 F 側部
1 1 1 メイン流路
1 1 2 柱
1 1 3 隔壁
1 1 4 整流板
1 2 0 大細胞
1 2 1 小細胞
4 0 0 希釈流路
2 0 シリコンウェハ
2 1, 3 1 エポキシ樹脂溶液
2 2, 3 2 エポキシ樹脂層
2 2 a 残存樹脂突起
2 4, 3 4 ヒータ
2 6, 3 6 マスク

28 モールド

L 搬送液

P 吸引ポンプ

請求の範囲

[請求項1]

平板状の細胞分離ユニットと、
前記細胞分離ユニットの下方に配置されて前記細胞分離ユニットに
固定された平板状の細胞捕捉ユニットとを備え、
前記細胞分離ユニットは、
複数の大細胞と、前記大細胞よりも小さい複数の小細胞と、サン
プル液体成分とを含むサンプル液が導入されるサンプル液入口と、
前記大細胞の導電率と異なる導電率を有する搬送液が導入される
搬送液入口と、
水平に配置され、前記サンプル液入口からの前記サンプル液およ
び前記搬送液入口からの前記搬送液が流れるとともに、前記大細胞と
前記搬送液の組と、前記小細胞と前記サンプル液体成分の組とを分離
する細胞分離流路と、
前記細胞分離流路から前記大細胞と前記搬送液の組が流入する大
細胞出口と、
前記細胞分離流路から前記小細胞と前記サンプル液体成分の組が
流入する小細胞出口と
を有し、
前記細胞捕捉ユニットは、
水平に配置され、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口に通じ
ており、前記大細胞と前記搬送液の組が流れる大細胞流路と、
前記大細胞流路を流れる前記大細胞を誘電泳動作用により引き付
けるための複数の電極線と
を有しており、
前記大細胞流路には、前記電極線で引き付けられた前記大細胞の
1つを各々が捕捉可能な大きさを有する複数の細胞捕捉ウェルが形成
されている
ことを特徴とする細胞捕捉装置。

[請求項2] 前記細胞分離流路の内部には、それぞれ鉛直に延びており、水平面内で前記大細胞の流れを前記細胞分離流路の一方の側部に偏らせ、水平面内で前記小細胞の流れを前記細胞分離流路の長手方向に向ける、複数の柱が設けられ、

前記搬送液入口と前記大細胞出口は、水平面内で前記細胞分離流路の前記一方の側部の側に配置され、

前記サンプル液入口と前記小細胞出口は、水平面内で前記細胞分離流路の他方の側部の側に配置されている

ことを特徴とする請求項1に記載の前記細胞捕捉装置。

[請求項3] 前記細胞分離ユニットには複数の固定用貫通孔が形成され、
前記細胞捕捉ユニットには複数の固定用貫通孔が形成され、
前記細胞分離ユニットの前記固定用貫通孔と、前記細胞捕捉ユニットの前記固定用貫通孔に挿入される複数のピンと、

前記ピンに取り付けられて、前記細胞分離ユニットと細胞捕捉ユニットとを固定する複数の固定具とをさらに備える

ことを特徴とする請求項1または2に記載の細胞捕捉装置。

[請求項4] 前記細胞分離ユニットは、

前記細胞分離流路となる分離流路凹部が形成された細胞分離流路板と、

前記細胞分離流路板の下方に配置され、前記細胞分離流路板に重ねられて前記分離流路凹部を閉塞する細胞分離下側平板とを有し、

前記大細胞出口が前記細胞分離下側平板を貫通する

ことを特徴とする請求項1から3のいずれか1項に記載の細胞捕捉装置。

[請求項5] 前記細胞分離ユニットの前記細胞分離流路板は、エラストマーから形成されている

ことを特徴とする請求項4に記載の細胞捕捉装置。

[請求項6] 前記細胞分離ユニットは、さらに

前記細胞分離流路板の上方に配置され、前記細胞分離流路板に重ねられる細胞分離上側平板を有し、

前記サンプル液入口と、前記搬送液入口と、前記小細胞出口が前記細胞分離上側平板を貫通することを特徴とする請求項5に記載の細胞捕捉装置。

[請求項7] 前記細胞捕捉ユニットは、

前記大細胞流路となる大細胞流路凹部が形成された細胞捕捉流路板と、

前記細胞捕捉流路板の下方に配置され、前記細胞捕捉流路板に重ねられて前記大細胞流路凹部を閉塞するとともに、前記複数の電極線を有する電極層および前記複数の細胞捕捉ウェルが形成された絶縁層が積層された細胞捕捉下側平板とを有することを特徴とする請求項1から6のいずれか1項に記載の細胞捕捉装置。

[請求項8] 前記細胞捕捉ユニットの前記細胞捕捉流路板は、エラストマーから形成されていることを特徴とする請求項7に記載の細胞捕捉装置。

[請求項9] 前記細胞分離ユニットと前記細胞捕捉ユニットとの間に配置されており、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する大細胞流入貫通孔が形成されている接続平板をさらに備え、

前記接続平板の上面には、前記大細胞流入貫通孔を囲み、前記細胞分離ユニットに接触するエラストマーから形成された環状シールが配置されている

ことを特徴とする請求項1から8のいずれか1項に記載の細胞捕捉装置。

[請求項10] 前記細胞分離ユニットには、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路に通じており、前記大細胞流路から前記搬送液が排出される搬送液

排出貫通孔が形成されている

ことを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[請求項11] 前記細胞分離ユニットと前記細胞捕捉ユニットとの間に配置されており、前記細胞分離ユニットの前記大細胞出口と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する大細胞流入貫通孔が形成されており、前記細胞分離ユニットの前記搬送液排出貫通孔と、前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路とを接続する搬送液流入貫通孔が形成されている接続平板をさらに備え、

前記接続平板の上面には、前記大細胞流入貫通孔および前記搬送液流入貫通孔をそれぞれ囲み、前記細胞分離ユニットに接触するエラストマーから形成された環状シールが配置されている
ことを特徴とする請求項 9 に記載の細胞捕捉装置。

[請求項12] 少なくとも前記細胞分離流路より上方の部分、および少なくとも前記細胞捕捉ウェルより上方の部分は透明である
ことを特徴とする請求項 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の細胞捕捉装置。

[請求項13] 前記大細胞流路は前記細胞分離流路と平面視して異なる位置に配置されている
ことを特徴とする請求項 12 に記載の細胞捕捉装置。

[請求項14] 前記細胞分離ユニットの上方に配置されて前記細胞分離ユニットに固定された平板状のサンプル液希釈ユニットをさらに備え、
前記サンプル液希釈ユニットは、
サンプル原液が導入されるサンプル原液入口と、
希釈液が導入される希釈液入口と、
水平に配置され、前記サンプル原液入口からの前記サンプル原液および前記希釈液入口からの前記希釈液が流れるとともに、前記サンプル原液と前記希釈液を混合して前記サンプル液を生成する希釈流路

と、

前記希釈流路から前記サンプル液が流入するサンプル液出口とを有し、

前記サンプル液出口は、前記細胞分離ユニットの前記サンプル液入口に通じている

ことを特徴とする請求項 1 から 13 のいずれか 1 項に記載の前記細胞捕捉装置。

[請求項15] 前記希釈流路は、ジグザグに屈曲する主経路を有することを特徴とする請求項 14 に記載の前記細胞捕捉装置。

[請求項16] 前記サンプル液希釈ユニットは、

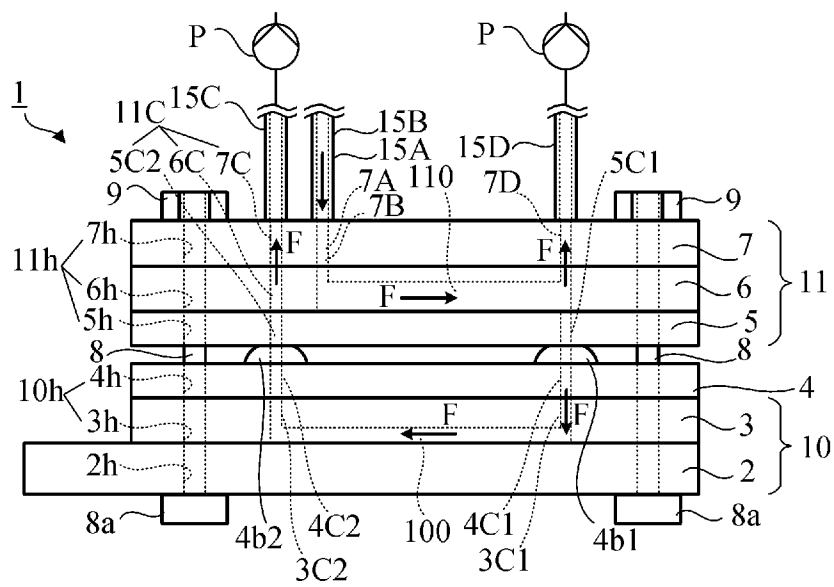
前記細胞分離ユニットの前記搬送液入口に通じており、前記搬送液が導入される貫通孔である搬送液入口と、

前記細胞分離ユニットの前記小細胞出口に通じており、前記小細胞と前記サンプル液体成分の組が排出される貫通孔である小細胞出口と、

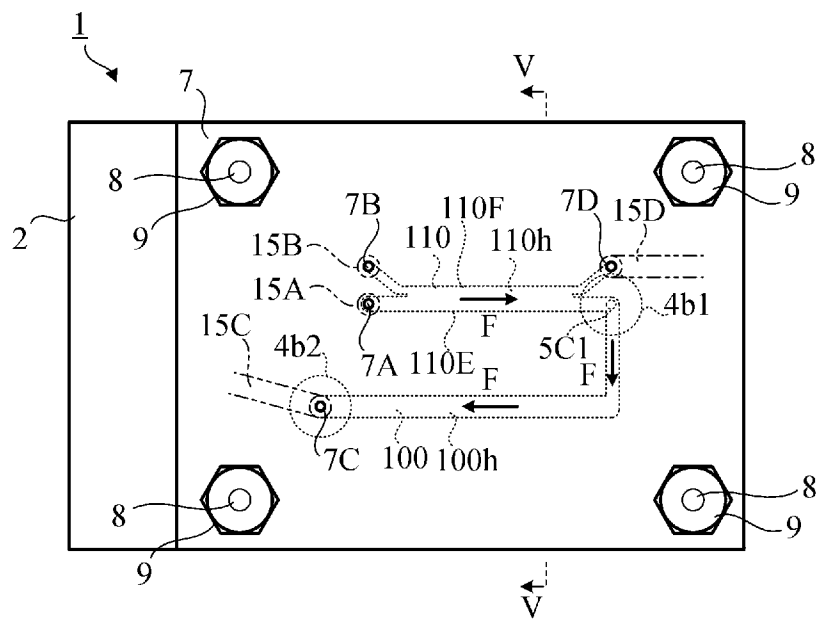
前記細胞捕捉ユニットの前記大細胞流路に通じており、前記大細胞流路から前記搬送液が排出される貫通孔である搬送液排出貫通孔とを有する

ことを特徴とする請求項 14 または 15 に記載の前記細胞捕捉装置。

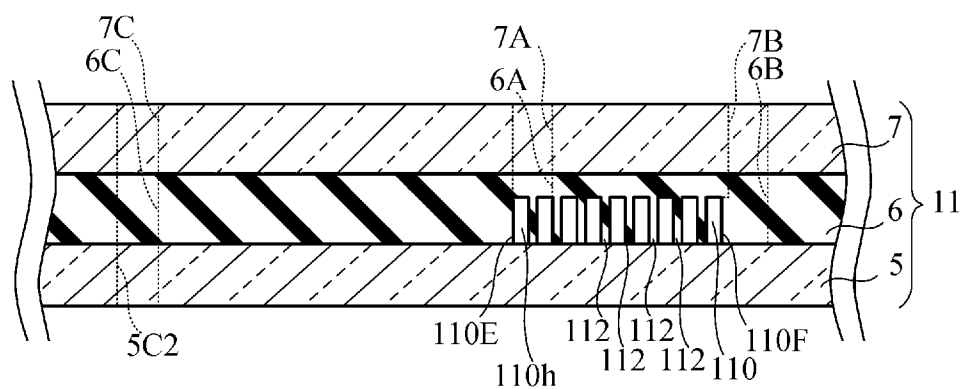
[図1]



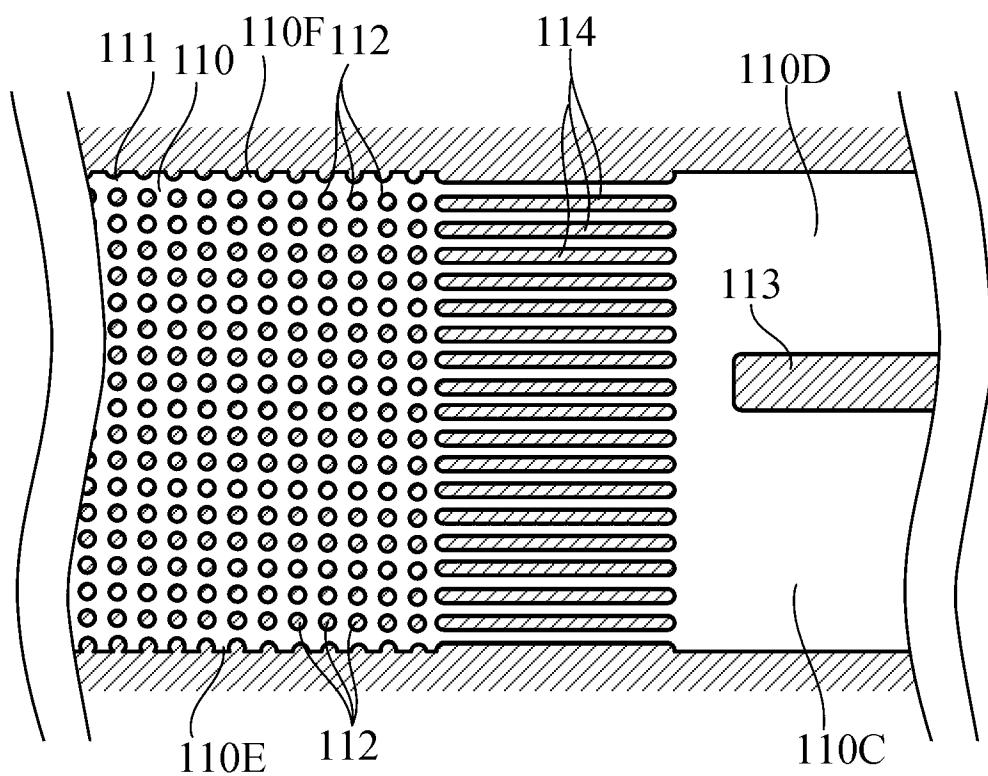
[図2]

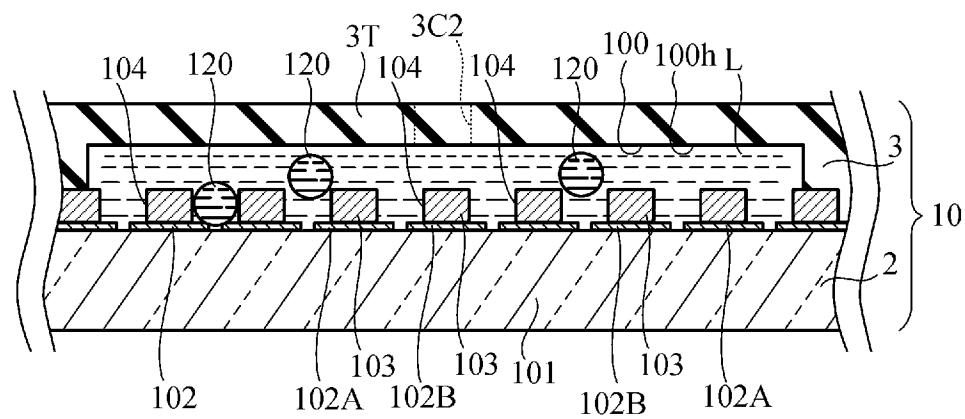


[図5]

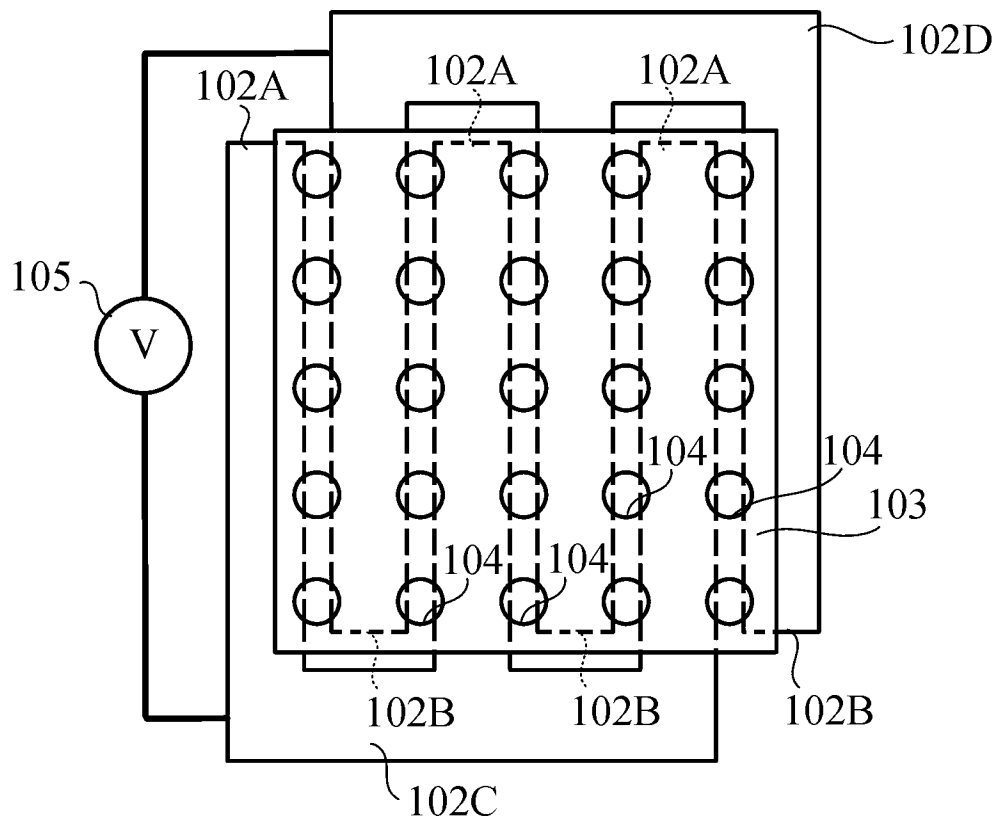


[図6]

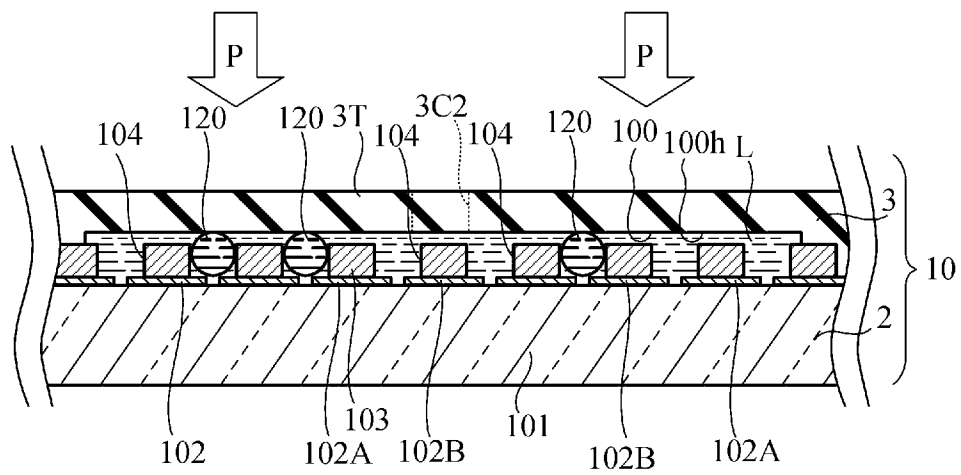




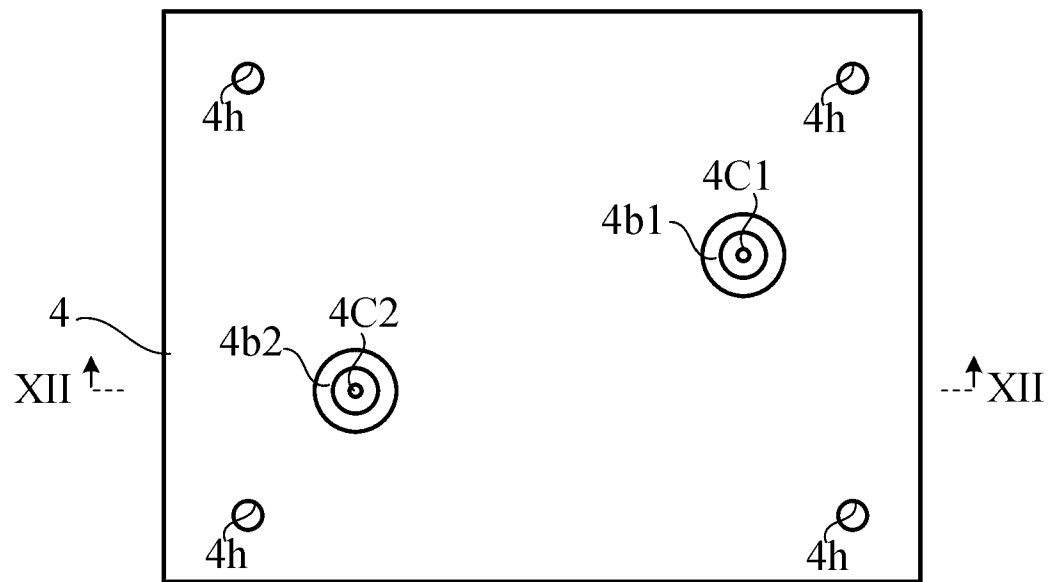
[図9]



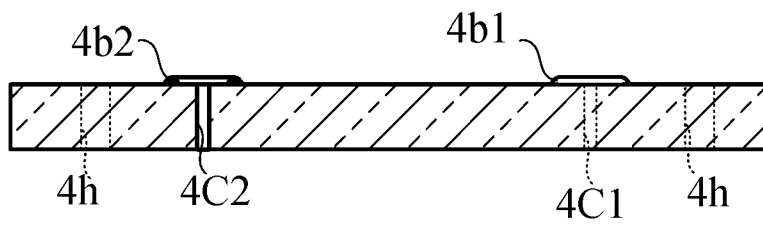
[図10]



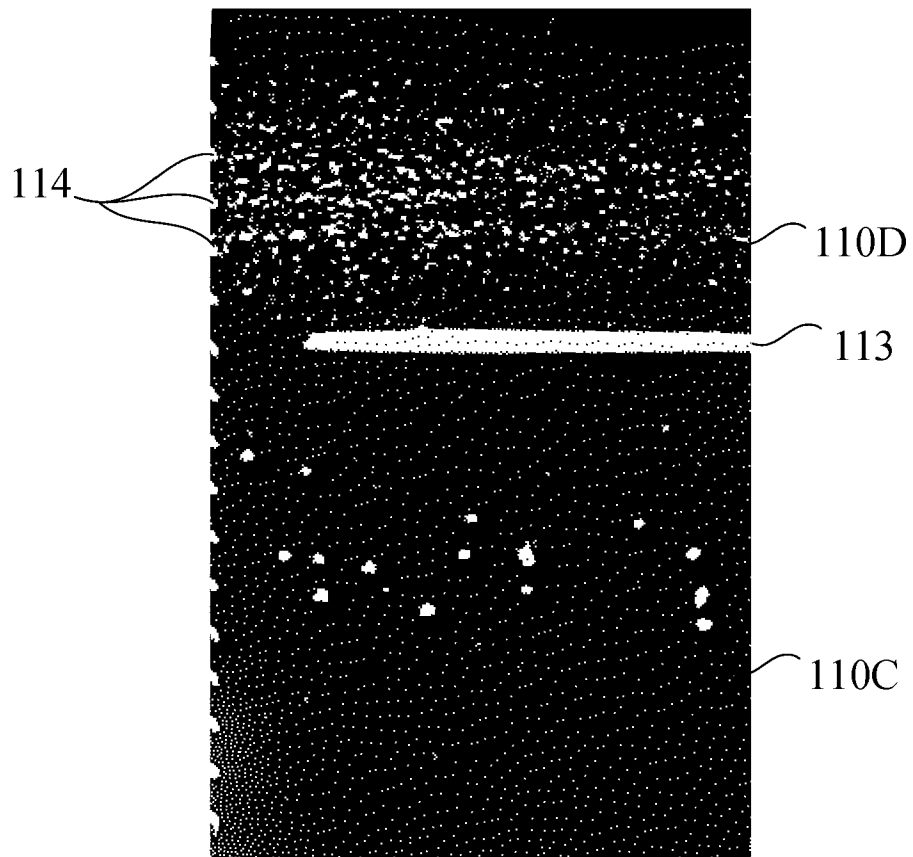
[図11]



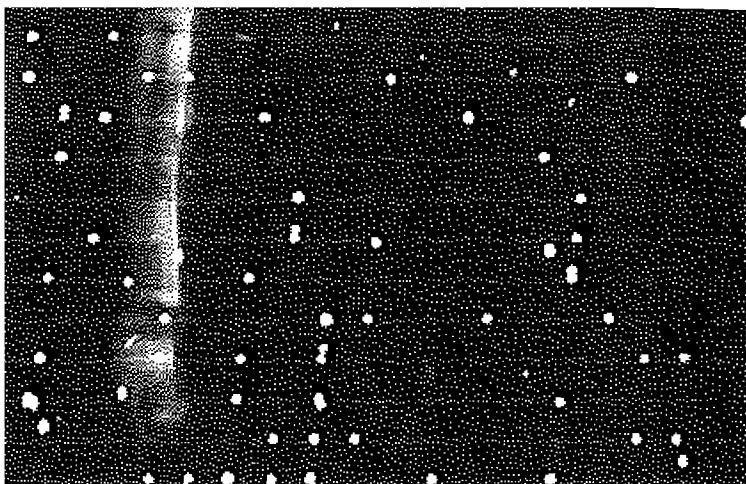
[図12]



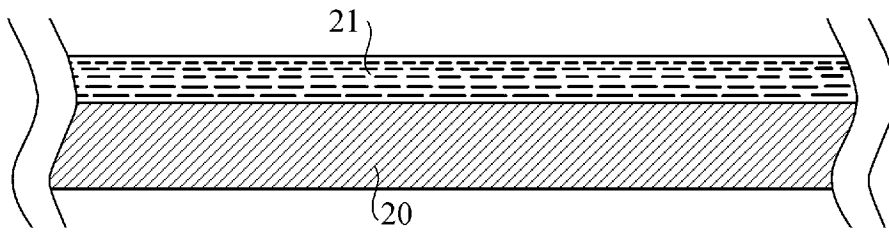
[図13]



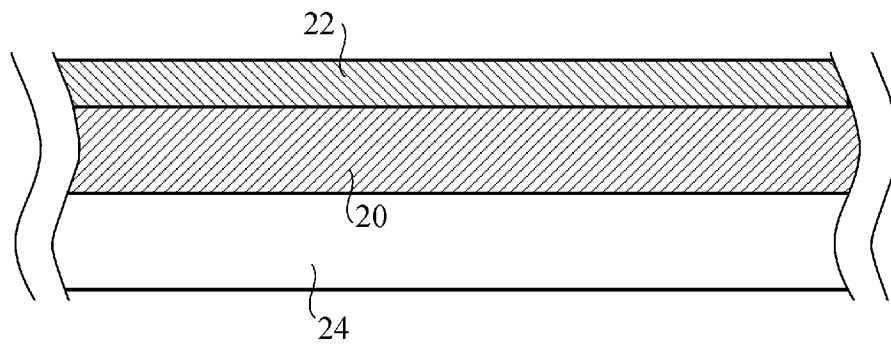
[図14]



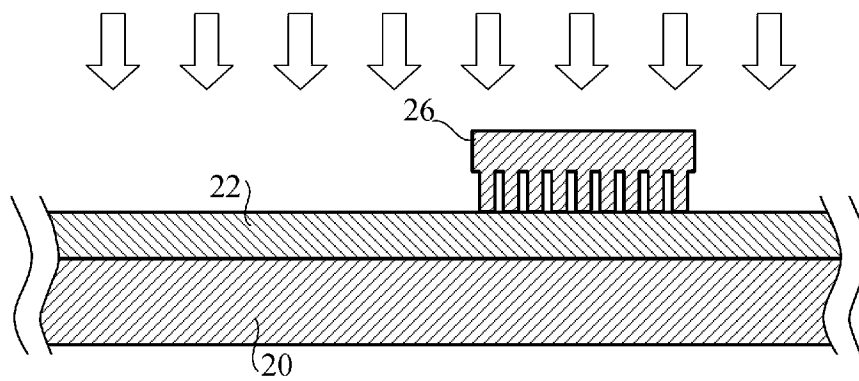
[図15]



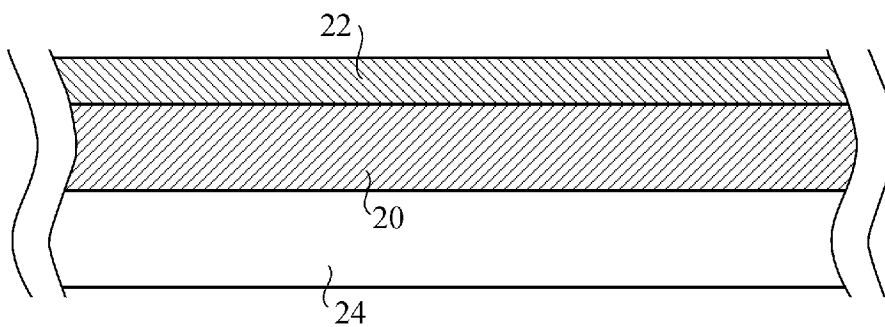
[図16]



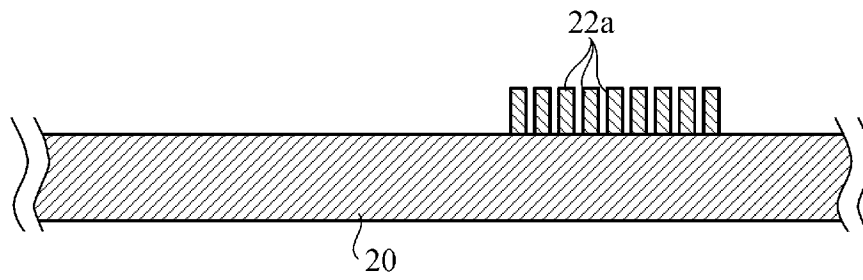
[図17]



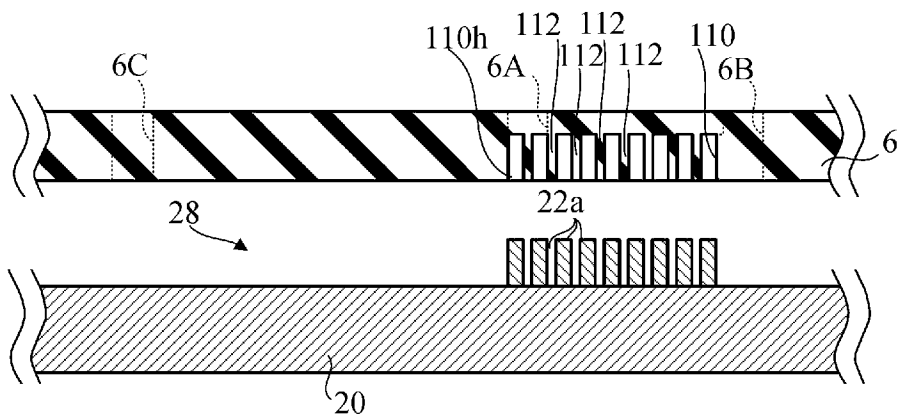
[図18]



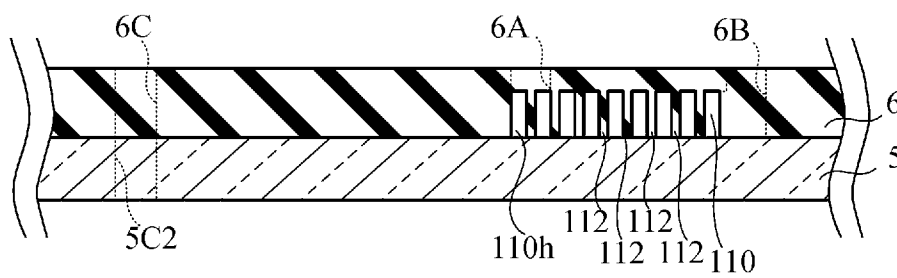
[図19]



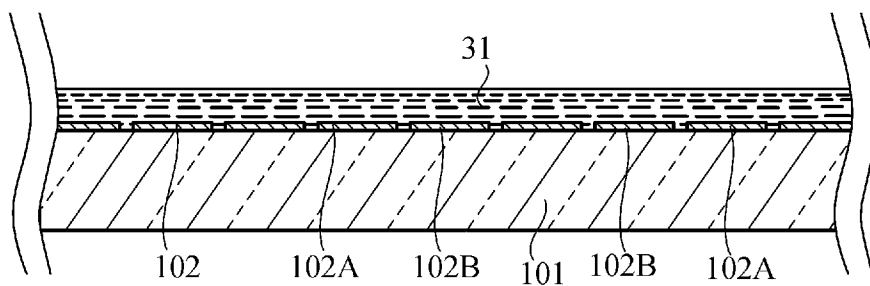
[図20]



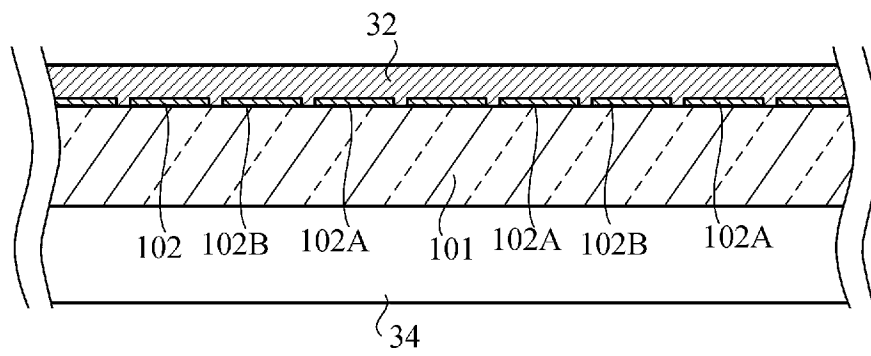
[図21]



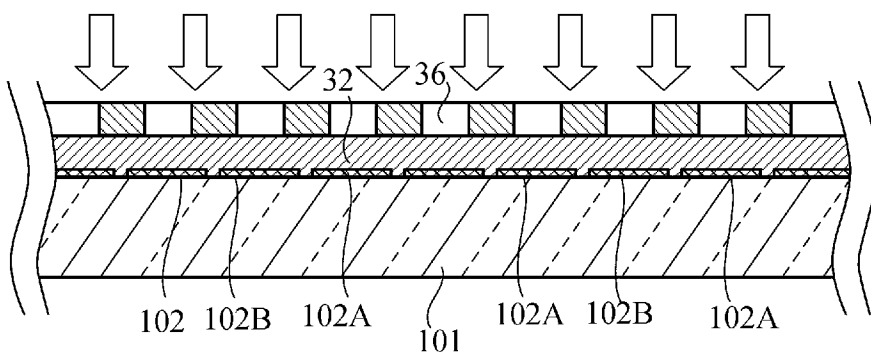
[図22]



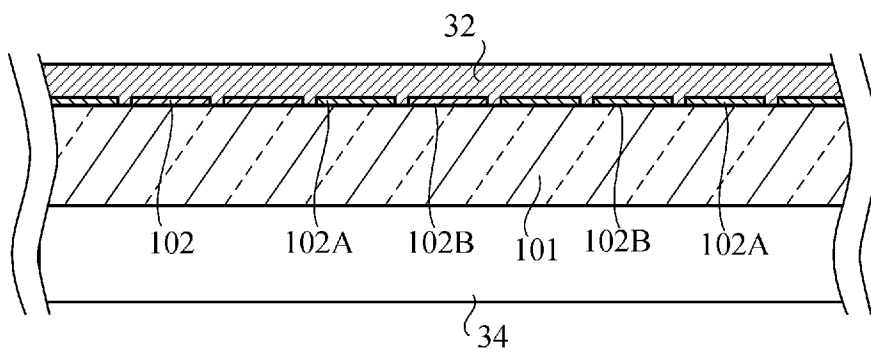
[図23]



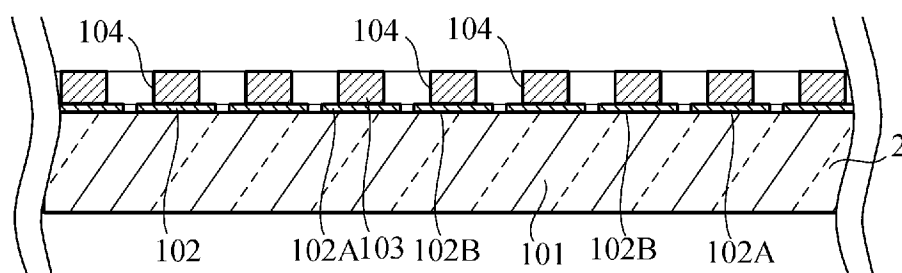
[図24]



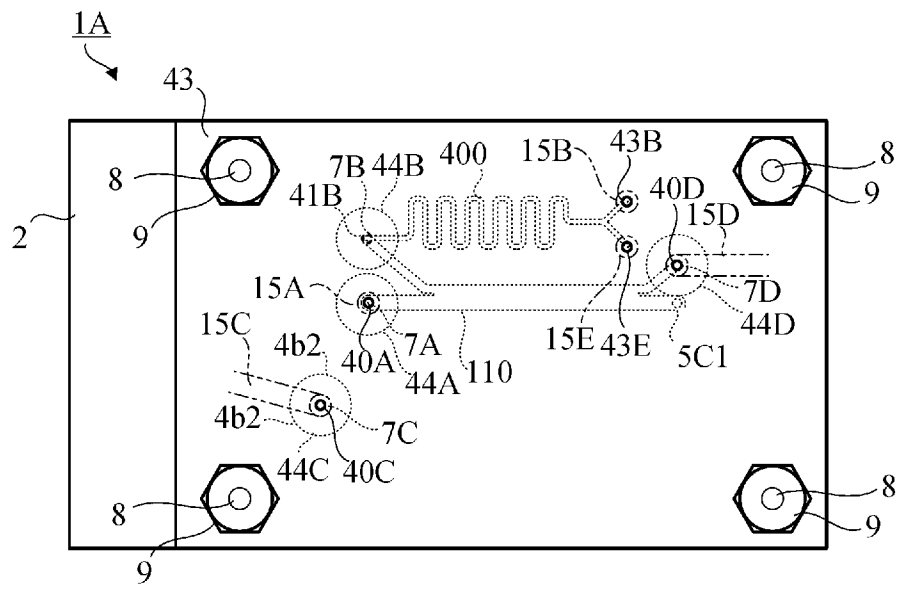
[図25]



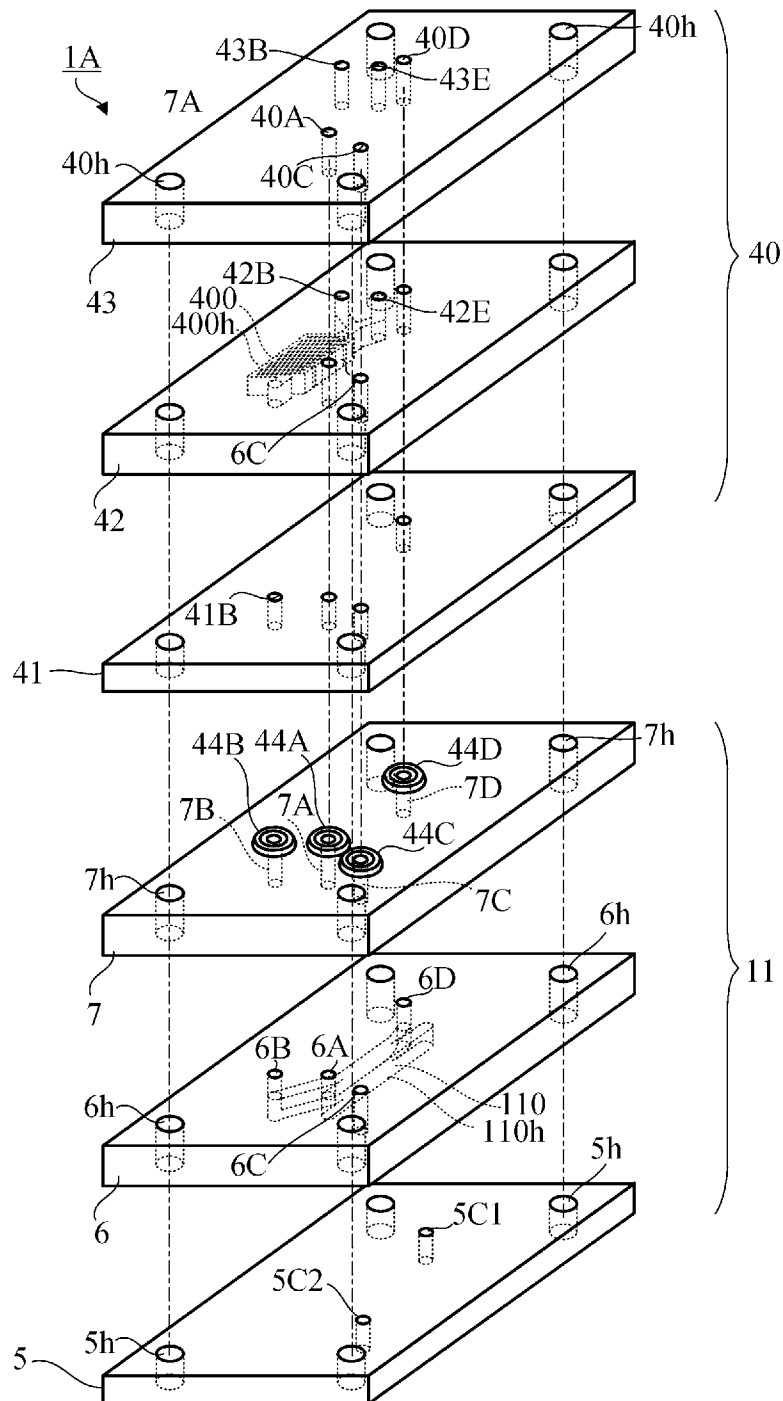
[図26]



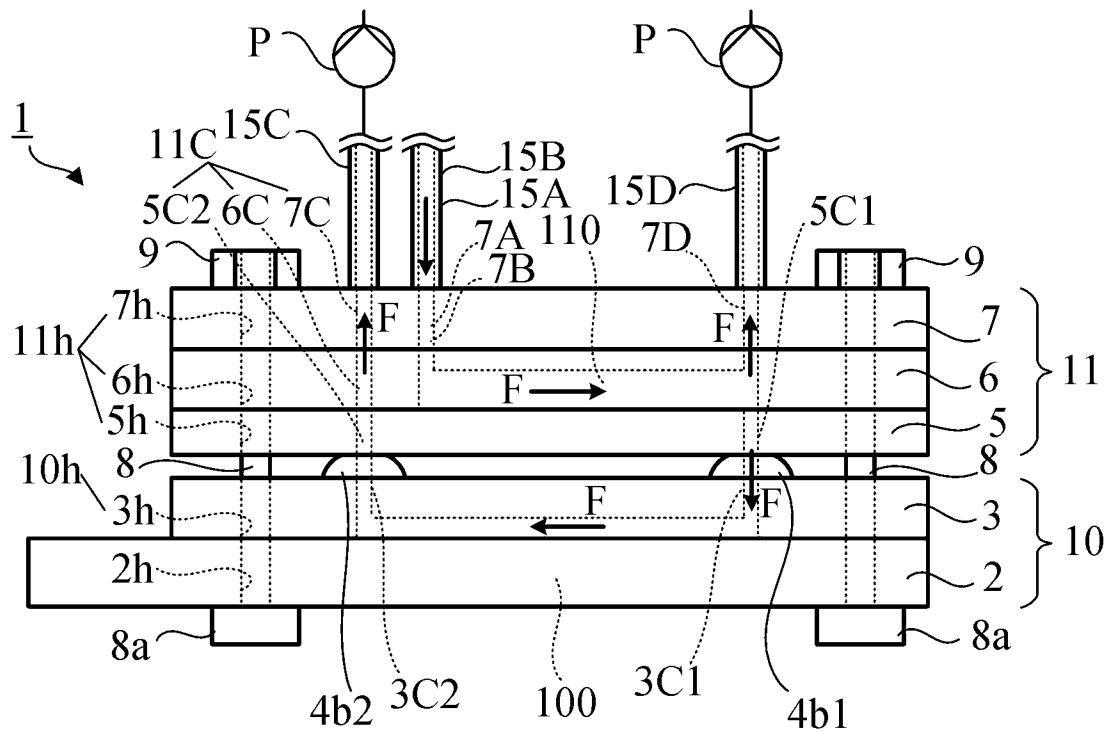
[図29]



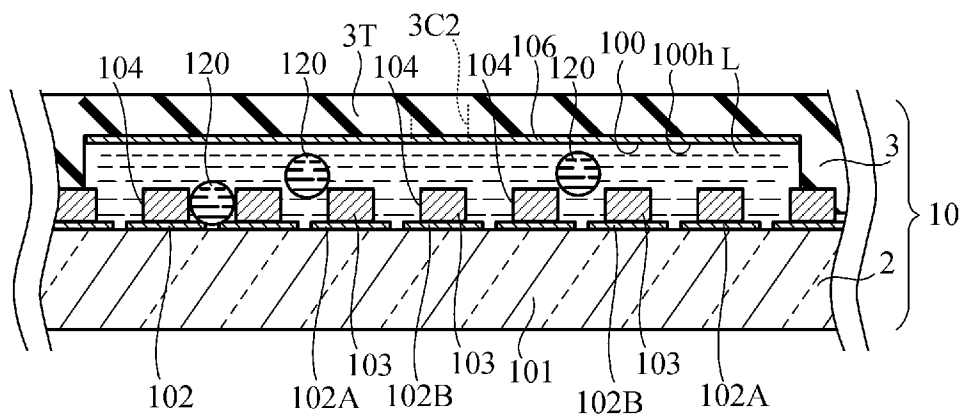
[図30]



[図31]



[図32]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/036826

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. C12M1/26 (2006.01) i, C12M3/08 (2006.01) i

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)

Int. Cl. C12M1/26, C12M3/08

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2018

Registered utility model specifications of Japan 1996-2018

Published registered utility model applications of Japan 1994-2018

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/WPIDS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	小森隆幸他, 希少細胞の解析に向けた細胞分離・捕捉デバイス, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第36回研究会 講演要旨集, 04 October 2017, p. 40, non-official translation (KOMORI, Takayuki et al. Cell Separating/Trapping Device for Analysis of Rare Cells. Proceedings of CHEMINAS 36.)	1-16
A	鳥取直友他, DLD マイクロ流路デバイスを用いたサテライト滴の連続分離, 2016 年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集, 2016, p.327-328 (TOTTORI, Naotomo et al. A Deterministic Lateral Displacement Microfluidic Device for Continuous Separation of Satellite Droplets. Proceedings of 2016 JSPE Spring Conference.) JP 2010-004870 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 14 January 2010, claims & US 2011/0097793 A1	1-16

☒ 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
27.11.2018

Date of mailing of the international search report
11.12.2018

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/JP2018/036826

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 2010-004870 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 14 January 2010, claims & US 2011/0097793 A1	1-16
A	WO 2012/020711 A1 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 16 February 2012, claims (Family: none)	1-16
A	JP 2011-000079 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 06 January 2011, claims (Family: none)	1-16
A	JP 2012-239449 A (NAGOYA UNIVERSITY) 10 December 2012, claims (Family: none)	1-16
A	WO 2016/136273 A1 (TOPPAN PRINTING CO., LTD.) 01 September 2016, claims & US 2018/0038876 A1 & EP 3263693 A1	1-16

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12M1/26(2006.01)i, C12M3/08(2006.01)i

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. C12M1/26, C12M3/08

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	1971-2018年
日本国実用新案登録公報	1996-2018年
日本国登録実用新案公報	1994-2018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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/WPIDS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

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
P, X	小森隆幸 他, 希少細胞の解析に向けた細胞分離・捕捉デバイス, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第36回研究会 講演要旨集, 2017.10.04, p.40	1-16
A	鳥取直友 他, DLD マイクロ流路デバイスを用いたサテライト滴の連続分離, 2016年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集, 2016, p.327-328	1-16

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

27.11.2018

国際調査報告の発送日

11.12.2018

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

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)

松田 芳子

4 B

3126

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
A	JP 2010-004870 A (国立大学法人 東京大学) 2010.01.14, 特許請求の範囲 & US 2011/0097793 A1	1-16
A	WO 2012/020711 A1 (国立大学法人東京大学) 2012.02.16, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-16
A	JP 2011-000079 A (国立大学法人 東京大学) 2011.01.06, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-16
A	JP 2012-239449 A (国立大学法人名古屋大学) 2012.12.10, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-16
A	WO 2016/136273 A1 (凸版印刷株式会社) 2016.09.01, 特許請求の範囲 & US 2018/0038876 A1 & EP 3263693 A1	1-16