

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7418026号
(P7418026)

(45)発行日 令和6年1月19日(2024.1.19)

(24)登録日 令和6年1月11日(2024.1.11)

(51)国際特許分類

F I

B 0 3 B 5/28 (2006.01)

B 0 3 B 5/28 A

G 0 1 N 15/02 (2024.01)

G 0 1 N 15/02 Z

請求項の数 4 (全18頁)

(21)出願番号	特願2021-537100(P2021-537100)	(73)特許権者	521275529
(86)(22)出願日	令和1年5月3日(2019.5.3)		ミクロ ビヨシステムラー エレクトロニ
(65)公表番号	特表2022-526064(P2022-526064		ク サナイ ペ ティカレット エー . エス .
	A)		MIKRO BIYOSISTEMLER
(43)公表日	令和4年5月23日(2022.5.23)		ELEKTRONIK SANAYI V
(86)国際出願番号	PCT/TR2019/050295		E T I C A R E T A . S .
(87)国際公開番号	WO2020/139218		トルコ アンカラ 0 6 5 3 0 , オーディ
(87)国際公開日	令和2年7月2日(2020.7.2)		ーティーユー テクノケント メット イ
審査請求日	令和4年1月24日(2022.1.24)		エレスケシ ダムルピナー ブルバード
(31)優先権主張番号	PCT/TR2018/050932		ナンバー 2 8 0 / ビー オフィス 1 0
(32)優先日	平成30年12月28日(2018.12.28)	(74)代理人	110000659
(33)優先権主張国・地域又は機関	トルコ(TR)		弁理士法人広江アソシエイツ特許事務所
		(72)発明者	オズカヤー , ガーハン
			トルコ アンカラ カンカヤ , ユミット
			マー . , 2 4 3 6 . ソック . アイシギ
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 マイクロ流体粒子分離強化の方法およびその装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

主軸で一致する2つの異なるサイズの粒子の2つの分布について、次の式に従って分離の分解能(R)を増加させる方法であって、

【数1】

$$R=1.18\frac{d_{p,2}-d_{p,1}}{w_{0.5h,1}-w_{0.5h,2}}$$

10

ここで、式中、
d_{p,2}は、チャンネル幅に沿ったより小さい(または大きい)粒子のピークの位置、
d_{p,1}は、チャンネル幅に沿ったより大きい(または小さい)粒子のピークの位置、
w_{0.5h,1}は、その分布ピークの半分の高さにおけるより大きい(または小さい)粒子の分布の幅、
w_{0.5h,2}は、その分布ピークの半分の高さにおけるより小さい(または大きい)粒子の分布の幅であり、

20

但し、一方の分布ピークは弓形水中翼の主軸より上にあり、他方の分布ピークは前記弓形水中翼の主軸より下にある、方法において、

前記2つの粒子分布を有する流れを弓形水中翼に送り、当該弓形水中翼の一方の側において相対的に大きな速度を形成すると共に、当該弓形水中翼の他方の側において相対的に小さな速度を形成し、

前記主軸より上の流線上の粒子は前記弓形水中翼の上側を通る経路をたどり、且つ、前記主軸より下の流線上の粒子は前記弓形水中翼の下側を通る経路をたどり、それらの粒子は前記弓形水中翼上の分流点(7)の下流に形成される渦領域(8)内にドリフトせず、

前記主軸と一致する流線上の粒子は、当該流線上のより大きい粒子がより遅い平均速度で前記弓形水中翼のサイドを流れ、他方で、より小さい粒子がより速い平均速度で前記弓形水中翼のサイドを流れる傾向となるような経路をたどる、

ことを特徴とする、方法。

【請求項2】

異なるサイズの粒子の混合を防止する方法であって、これら粒子は、前記弓形水中翼により、請求項1の方法に従って、既に分解能が増加されている、方法において、

1つのストリームを2つの別個のストリームに分割する分離壁(13)であって、前記弓形水中翼の下流に位置すると共に、前記弓形水中翼上の分流点(7)の下流に形成される渦領域(8)の背後に位置する分離壁(13)を形成し、

ここで、前記分離壁(13)の先端部(T)は、前記渦領域(8)の下流端に位置しており、

より大きな粒子を含む流線及びより小さな粒子を含む流線を前記分離壁に送って、それらを2つの別個のストリームに分割する、

ことを特徴とする、方法。

【請求項3】

請求項2に記載の方法の実施に使用するために、分離された異なるサイズの粒子の混合を防止するための装置であって、

一方の流線が主軸の上になり、他方が主軸の下になるような、間の距離(a)を有して、異なるサイズの粒子を担持する流線を定める上流チャンネルと、

前記上流チャンネルに配置される弓形水中翼と、

前記弓形水中翼の背後に位置する二つの下流チャンネルと、

前記二つの下流チャンネルの間に位置する分離壁(13)と、
を備え、

前記分離壁(13)の先端部(T)は、渦領域(8)の下流端に位置する、

ことを特徴とする装置。

【請求項4】

粒子を含む流体を受け入れるための1つの入口(20)と、粒子を含む流体を送り出すための2つの出口(22)とを更に備えると共に、

前記上流チャンネルが螺旋(21)の形状である、ことを特徴とする請求項3に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、概してマイクロ流体力学に関し、具体的には、サイズに応じた流体中に懸濁している粒子の分離強化方法に関する。具体的な用途は、血液試料からの循環腫瘍細胞(CTC)の分離であろう。

【背景技術】

【0002】

微小粒子を操作することは、多くの生化学的および臨床的用途において特定の粒子の同定および分析のための大きな可能性を秘めている(Yoon, SciRep, 2016)。粒子検出および分析に関する重要なパラメータは、集束、分離、および分画などの、流体および微小

10

20

30

40

50

粒子の正確な操作である (Zhang, LabChip, 2016)。数十から数百マイクロメートルの寸法を有するチャンネル内で少量の流体 ($10^{-3} \sim 10^{-12}$ ミリリットル) を処理または操作することにより (Whitesides, Nature, 2006)、マイクロ流体技術は、低流体試料、低コスト、高感度、および高速試料処理で正確な分離および検出を実行すること (Shen, LabChip, 2017) により、強力なアプローチとして飛躍的に進歩する。

【0003】

標識なしの高速、高スループット、および効率的な粒子分離を可能にすることは、マイクロ流体プラットフォームにおいて不可欠である (Shen, LabChip, 2017)。外部場を適用することなく、流体力学的分離技術は、機器コストおよび実験セットアップの複雑さの点で、能動的技術 (電気泳動、誘電泳動、磁気、光学、および音響など) に対して大きな利点を有する (Sajeesh, Microfluid Nanofluid, 2014)。流体力学的分離は基本的に、粒子の寸法特性および/または弾性特性を利用する。これらの中で、サイズベースの分離が最も一般的な技術である。マイクロチャンネル内で2つの異なるサイズの粒子を分離するために異なる理論が開発されてきたが、SegreおよびSilberbergによって先駆的な研究が行われており、彼らは、チャンネル内の粒子の運動を観察することによって、流れの中の粒子の平衡位置の存在に初めて気が付いた (Segre and Silberberg, Nature, 1962)。

【0004】

流体力学的分離は、慣性マイクロ流体力学など、粒子と壁または流体との間の相互作用に大きく依存する。具体的には、慣性マイクロ流体力学は、いかなる外力の適用せずにシステムの流体力学から生じる力のみを使用して微小粒子を操作することによって、高速、高スループットで標識のない効率的な粒子分離を提供する (Schaap, Microfluid Nanofluid, 2016)。この技術の背後にある考えは、マイクロ流体チャンネル内の層流条件に影響を及ぼすことなく慣性力を生成することである。一般に、異なるマイクロチャンネル形状を用いて慣性力を印加することが可能である。異なるマイクロチャンネル形状の例は、直線マイクロチャンネル (Zhou, LabChip, 2013; Dudani, AnalChem, 2014)、湾曲マイクロチャンネル (Yoon, LabChip, 2009)、渦形成空洞を有する平滑なマイクロチャンネル (Sollier, LabChip, 2014)、蛇行マイクロチャンネル (Zhang, SciRep, 2014; Jiang, RSCAdv, 2016)、および螺旋マイクロチャンネル (Gregoratto, Proc of SPIE, 2007; Bhagat, LabChip, 2008; Nivedita, BioMicrofluid, 2013) として列挙されることが可能である。

【0005】

直線チャンネルでは、2つの力、すなわち剪断勾配揚力および壁揚力が粒子に作用し、これらに流体流線を横断させる。ポアズイユ流れプロファイル (放物流れプロファイル) を有するので、剪断勾配揚力は、チャンネル壁に向かって粒子を移動させ、その一方で壁揚力は、粒子の非対称後流のため、これらを壁から離れる方に押す。これら2つの力の間のこの競合は、正味揚力 (F_L) と名付けられた正味の力を生成し、チャンネルの断面における粒子の平衡位置を規定する。断面形状/タイプは、平衡位置量を決定する。円形のチャンネル断面は、チャンネルの中心から一定距離の平衡位置の環を形成し、4つの壁に沿った4つの平衡位置は、正方形の断面で生じ、長方形の断面は、チャンネルの中央の上壁および底壁付近に2つのみの平衡位置を生じる。正味揚力は、以下のように表される。

【0006】

【数1】

$$F_L = \frac{\rho 2 U_{avg}^2 a^4}{D_H^2} c_L \quad (E1)$$

10

20

30

40

ここで、 ρ は流体密度、 U_{avg} はチャネル内の平均流体速度、 a は粒径、 c_L は揚力係数、 D_H は水力直径である。水力直径は、以下のように表される。

【 0 0 0 7 】

【数 2】

$$D_H = \frac{2hw}{(h+w)} \quad (E 2)$$

10

ここで、 h はマイクロチャネル断面の高さ、 w は幅である。式 E 1 によれば、粒径は正味揚力上に実態があり、したがって、異なるサイズの粒子がチャネル断面内に様々な平衡位置を有する。

【 0 0 0 8 】

一方、粒子をそのサイズに応じて 1 つの平衡位置にのみ集束させる必要性は、湾曲したチャネルを介して生成され得る付勢力を生成することによって満たされる。したがって、複数の平衡位置が、単一の集束位置で重なり合う。湾曲したチャネルの中心および壁付近領域における流体の運動量の不一致のため、ディーン流れと名付けられた 2 つの逆回転の二次流れが発生する。ディーン流れは、無次元のディーン数によって特徴付けられる。

20

【 0 0 0 9 】

【数 3】

$$De = Re \sqrt{\frac{D_H}{2R}} = \frac{\rho U_{avg} D_H}{\mu} \sqrt{\frac{D_H}{2R}} \quad (E 3)$$

ここで、 R はチャネルの曲率半径、 Re はチャネルのレイノルズ数であり、 μ は流体粘度である。螺旋チャネルでは、ディーン流れは、以下で与えられる式によるディーン力を粒子にもたらす。

30

【 0 0 1 0 】

【数 4】

$$F_D = 3\pi\mu U_D a = 5.4 \times 10^{-4} De^{1.63} a \quad (E 4)$$

40

ここで、(Saffman, 1965, JFluidMech) は、ディーン流れによる接線速度である。式 E 4 によれば、粒子サイズ (a) は、ディーン力に関する決定論的なパラメータである。粒子の集束位置は、 F_L および F_D の両方に依存し、これは粒子サイズとともに著しく変化する (F_L / F_D は a^3 に比例)。これは、異なるサイズの粒子がチャネル断面に沿った異なる側方位置に位置することを意味する。粒子平衡位置に対する主な力は F_L であるが、 F_D は、これらの平衡位置を修正し、その数を減少させ、湾曲したマイクロチャネル内における単一ストリーム集束を容易にする (Gosset, AnalChem, 2009; Warkiani, NatProtoc, 2016)。

【 0 0 1 1 】

効率的なサイズベースの粒子分離のために、液体の平均流速 (U_{avg})、チャネルのア

50

スペクト比 (a)、およびチャネルの閉じ込め比 (λ) が平行して決定されなければならない。閉じ込め比は、粒径をチャネルの水力直径 (D_H) で除することによって計算される。

【数 5】

$$\lambda = \frac{a}{D_H} \quad (\text{E } 5)$$

10

【 0 0 1 2 】

Martel および Toner (Martel, SciRep, 2013) によれば、閉じ込め比が 0 . 0 7 よりもはるかに低い場合、粒子は、螺旋マイクロチャネルのいずれの流線にも集束されず、ディーン力の下で縦断面上に散乱される。約 0 . 0 7 以上の場合には、そのサイズに基づいて粒子を分離することが可能であり得る。

【 0 0 1 3 】

特許文献 1 は、そのサイズに応じて粒子を分離するための方法および装置を開示している。この目的のために、非対称な流れを提供する障害物が使用される。障害物アレイはマイクロ流体チャネル内に整列され、障害物のアレイは適用される流れ方向に対して非対称に位置決めされることが、開示されている。しかしながら、障害物は水中翼の形態ではなく、障害物のアレイは分離にとって不可欠である。

20

【 0 0 1 4 】

水中翼の形態としての障害物の使用は、特許文献 2 に開示されている。この特許文献では、生体物質を含む懸濁粒子の分離方法が記載されており、水中翼の形態であり得るブースタは、ブースタの後縁がチャネルの外壁よりも内壁に近く設けられ、その一方で前縁は、粒子の流路および通過時間を短縮するような迎角を形成するために外壁に近く設けられるように、位置決めされている。水中翼の機能は、粒子を推進するために分離帯を狭くすることであるが、粒子を分離することではない。

【 0 0 1 5 】

特許文献 3 では、粒子の分散のための障害物の使用が開示されている。この特許文献では、粒子および障害物の相互作用に基づいて粒子を分散させるために、やはり水中翼の形態であり得る障害物の場が利用される。粒子と障害物との非対称な相互作用により、粒子は障害物の片側にシフトされ得ると主張された。しかしながら、粒子の分離のための水中翼の特定の使用は解決されなかった。

30

【 0 0 1 6 】

サイズベースの分離は、水中翼を必要とせずに螺旋形のマイクロ流体チャネル上で実現可能である。粒子分離のための螺旋チャネルの使用は、特許文献 4 に開示されている。この文献では、粒子に対するディーン抵抗および揚力の恩恵を受けることによって異なるサイズの粒子を分離するために、複数のループを有する螺旋マイクロチャネルが利用される。特許文献 5 では、そのサイズに基づいて血液細胞を分離するために、螺旋チャネルが同様に利用される。しかしながら、水中翼のない螺旋チャネルの使用は、所望の流量で著しい粒子分離を得るために、螺旋チャネルの数回の巻きを必要とする。

40

【 0 0 1 7 】

このような方法および装置は、CTC (循環腫瘍細胞、circulating tumor cells) 分離のための液体生検用途に利用されることが可能である。CTC は、原発腫瘍または転移腫瘍から血中に播種し、転移性カスケードにおいて重要な役割を果たす細胞である。CTC は、癌患者の血中に存在する希な細胞である。CTC の予後値は、乳癌、前立腺癌、および結腸直腸癌について FDA によって証明および承認されており、CTC の数が多い方が (> 5 CTC / 7 . 5 ml 血液)、全生存率 (OSR) が低くなるという相関がある。CTC のその他の潜在的な臨床的有用性は、疾患監視、治療ガイドンス、精密医療および

50

個別化治療のための患者層別化、早期診断のためのスクリーニング、癌研究、および薬物開発を含む。

【 0 0 1 8 】

しかしながら、C T Cの検出は、血液試料中の量が少なく、血液細胞 1 0 億個中 1 個の C T Cしかないため、容易な作業ではない。現在の C T C分離技術には、臨床的および経済的観点から最も重要なユーザのニーズである、必要な感度、信頼性、堅牢性、使いやすさ、およびコスト効率を提供することができるものはない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 1 9 】

【文献】欧州特許第 1 5 8 5 5 8 3 号明細書 (B 1)

【文献】米国特許第 9 4 3 3 8 8 0 号明細書 (B 2)

【文献】米国特許第 9 4 2 7 6 8 8 号明細書 (B 2)

【文献】米国特許第 8 2 0 8 1 3 8 号明細書 (B 2)

【文献】米国特許第 9 4 5 8 4 8 9 号明細書 (B 2)

【非特許文献】

【 0 0 2 0 】

【文献】(本明細書末の参考文献一覧 (REFERENCES) 参照)

【発明の概要】

【 0 0 2 1 】

本発明の目的は、弓形水中翼の形状の非対称障害物を介した粒子の分離の強化、および螺旋形状の上流部分と直線形状とで構成されたマイクロ流体サイズベースの粒子分離システムを提供することである。粒子がマイクロチャンネルの上流部分の内部を流れると、慣性効果によって粒子が異なる集束経路を流れ、サイズベースの分離をもたらす。弓形水中翼は、粒子間の横方向距離を増加させ、分離効果の向上をもたらす。したがって、より短い螺旋チャンネル内でより良い分離が実現され、流体抵抗およびフットプリントを減少させることが可能である。必要とされる螺旋の巻き数を削減できることは、他のいくつかの利点を伴う。即ち、

・低圧動作：螺旋の巻き数が減少した場合、チャンネルの流体力学的抵抗は著しく低下する。これにより、入口ではるかに小さい圧力値を適用しながら、同じ流体流量での作業を可能にする。これは、規制側の装置に利点を与え、システムが動作する実験室の設備要件を減少させる。

・スループット：圧力要件が減少すると、装置はより高い流量で動作し、スループットを向上させることができる。これは、試験期間の増加とともに細胞の生存能力が劇的に低下するので、下流の分析に利点を与える。

・より小さいフットプリント：巻き数の減少により、装置のフットプリントが縮小し、生産コストを削減する可能性がある (M E M S およびポリマー製造技術の両方について) 。

【 0 0 2 2 】

水中翼を組み込むことにより、分離効率を向上させる。これは、より高い純度および回収率の値を有する分析につながり、最先端のシステムの性能を超える。

【 0 0 2 3 】

本発明の 1 つの用途は、インビトロ診断目的のためのバイオメディカルマイクロシステムに関し、別の用途は、分子分析、遺伝子分析、または突然変異分析などの任意の下流分析の前の試料調製に関するものである。本発明は、C T C と他の末梢血液細胞との間のサイズ差から恩恵を受ける癌患者の血液試料から循環腫瘍細胞 (C T C) を濃縮 / 分離するためのマイクロ流体プラットフォームで使用されることが可能である。C T C は、典型的に、他の血液細胞よりも大きい。サイズが大きいので、C T C は、他の血液細胞よりも螺旋マイクロチャンネルの内壁に近い経路に集束され、したがってこれらは、チャンネルを 2 つの出口 (試料出口および廃液出口) に分割することによって、試料の残部から分離されることが可能である。出口チャンネルの接合部の上流で弓形水中翼を採用することで、分離効

10

20

30

40

50

率を向上するのみならず、必要なチャンネル長、関連するフットプリント、および必要な試料流量に到達するための圧力要件も低減する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 4 】

【図 1】非ゼロ迎角を有する弓形水中翼の周りの粒子分離の代表的な図である。

【図 2】非ゼロ迎角を有する弓形水中翼の周りの粒子分離および水中翼の下流の渦領域の代表的な図である。

【図 3】より大きいサイズの粒子が水中翼の下を流れる、水中翼の周りの粒子分離のシミュレーション結果である。

【図 4】より大きいサイズの粒子が水中翼の上を流れる、水中翼の周りの粒子分離のシミュレーション結果である。

10

【図 5】より大きいサイズの粒子が水中翼の上を流れる、水中翼の周りの異なるサイズの粒子の分布のシミュレーション結果である。

【図 6】より大きいサイズの粒子が水中翼の下を流れる、水中翼の周りの異なるサイズの粒子の分布のシミュレーション結果である。

【図 7】水中翼の周りの粒子分離、および水中翼の下流に位置する分離壁の周りの粒子の流れの代表的な図である。

【図 8】水中翼の周りの分布の分離、および水中翼の下流に位置する分離壁の周りの粒子の分布の流れの代表的な図である。

【図 9】異なるサイズの粒子が水中翼によって分離され、2つの異なる下流チャンネルを流れる、一実施形態の代表的な図である。

20

【図 10】異なるサイズの粒子の分布が水中翼によって分離され、2つの異なる下流チャンネルを流れる、一実施形態の代表的な図である。

【図 11】螺旋上流チャンネル、下流の水中翼および分離壁、ならびに2つの下流チャンネルで構成されている、一実施形態の代表的な図である。

【図 12】螺旋チャンネルに沿った異なるサイズの粒子の集束を示す実験結果である。

【図 13】螺旋チャンネルに沿った断面における異なるサイズの粒子の分布を示す実験結果である。

【図 14】水中翼の周りの粒子の分布の分離、および分離壁の周りの流れを示すシミュレーション結果である。

30

【図 15】上流螺旋チャンネル、下流の水中翼および分離壁、ならびに2つの下流チャンネルを示す、一実施形態のSEM画像である。

【 0 0 2 5 】

[本発明の構成要素および部品の説明]

マイクロ流体粒子分離強化のより良い説明のために用意された図に示される構成要素は別々に番号付けされており、各番号の説明は以下の通りである。

(1) 水中翼 (hydrofoil)

(1 e) 前縁

(1 t e) 後縁

(2) 翼弦線 (chord line)

40

(3) 主軸

(4) 主軸と一致する流線

(5) より大きい粒子

(6) より小さい粒子

(7) 分流点

(8) 渦領域

(9) 水中翼の主軸より上の流線

(1 0) 水中翼の主軸より下の流線

(1 1) 1 4 μ m 径の粒子

(1 2) 1 0 μ m 径の粒子

50

- (1 3) 分離壁
- (T) 分離壁先端部
- (1 4) より大きい粒子の分布
- (1 5) より小さい粒子の分布
- (1 6) 上流チャネル
- (1 7) a、b 下流チャネル
- (1 8) a、b 異なるサイズの粒子
- (1 9) a、b 異なるサイズの粒子の分布
- (2 0) 入口
- (2 1) 螺旋チャネル
- (2 2) a、b 出口
- (2 3) 20 μ m 径蛍光粒子を担持する流線
- (2 4) 10 μ m 径蛍光粒子を担持する流線
- (α) 迎角
- (a) 水中翼の上流の流線間の距離
- (h) 水中翼の投影高さ
- (d) 渦領域の下流の非常に近接した流線間の距離

【発明を実施するための形態】

【0026】

本発明は、同じ密度を有する異なるサイズの粒子の分離を可能にして強化するために、水中翼を利用する。図1に示されるように迎角(α)が正になるように主軸から測定された翼弦線と主軸(3)との間の角度である非ゼロ迎角(α)でストリーム内に位置する、羽根の前縁(1e)と後縁(1e)とを接続する翼弦線(2)の周りで非対称な弓形水中翼(1)は、運動量の保存に従って、速度勾配を伴って羽根に沿った圧力勾配を生成する。したがって、羽根の片側の平均速度は、反対側の部位の平均速度と比較して高くなる。この場合、主軸と一致する流線(4)と2つの異なるサイズを有する担持粒子とが羽根の前縁に出会うと、ストリーム中のより大きい粒子(5)は、比較的高い慣性のため、より遅い平均速度で羽根の片側を流れる傾向がある。一方、より小さい粒子(6)は、より小さい慣性のためにより容易に加速され得るので、より速いストリームに沿って流れる。したがって、水中翼は、そのサイズに基づいて、ストリーム内で粒子を分離するために使用

【0027】

非ゼロ迎角を有する水中翼を利用する別の態様は、図2に示されるように、流れ分離および下流渦である。流速が十分に高いとき、粘性効果があまり効果的ではなくなり、流体の慣性が優勢になる。したがって、流れは水中翼表面をたどることができず、分離する。これが発生する点は、分流点(7)と呼ばれる。分流点の下流では、流体の角運動量の保存を満たすために、渦が形成される。粒子を担持する流れが水中翼の表面から分離した場合、ストリーム中の粒子は、渦領域(8)に向かってドリフトしない傾向がある。したがって、水中翼の前縁でそのサイズに応じて分離した粒子は、渦領域内の水中翼の下流で合流しない。その結果、粒子を担持する2つの平行な流線が水中翼に出会うと、一方の流線(9)が水中翼の主軸(3)の上になり、他方の流線(10)が水中翼の主軸(3)の下になり、水中翼の上流の流線間に、水中翼の投影高さ(h)よりも短い距離(a)があるように、そして水中翼を通過した粒子は渦領域(8)内にドリフトできないため、渦領域の下流の非常に近接した流線間の距離(d)は、図2に示されるように(a)よりも大きく、粒子の分離を強化する。流線は、上流で水中翼の前縁を通る主軸(3)と交差できないので、この結果は、流線(9)または流線(10)がより大きい粒子またはより小さい粒子のいずれを担持するかに関係ない。図3は、それぞれ主軸の下および上の流線によって担持される14 μ m径の粒子(11)および10 μ m径の粒子(12)の軌道を示すシミュレーションの結果を表す。図4は、14 μ m径の粒子(11)および10 μ m径の粒子(12)がそれぞれ主軸の上および下の流線によって担持された場合を表す。

【 0 0 2 8 】

異なるサイズの粒子が単一の流線上に集束されず、いくつかの流線にわたって分布しており、これら2つの粒子分布が主軸(3)で一致する場合、粒子分離または粒子分離の強化のいずれかが、水中翼の下流で発生する。ここで、粒子分離の効率は、クロマトグラフィ用途で一般に使用される分解能の定義を参照することによって特徴付けられることが可能である(T. Hanai, 1999)。

【数6】

$$R = 1.18 \frac{d_{p,2} - d_{p,1}}{w_{0.5h,1} - w_{0.5h,2}} \quad (\text{E } 6)$$

10

【 0 0 2 9 】

ここで、Rは分解能、 $d_{p,2}$ はチャネル幅に沿ったより小さい(または大きい)粒子のピークの位置、 $d_{p,1}$ はチャネル幅に沿ったより大きい(または小さい)粒子のピークの位置、 $w_{0.5h,1}$ は、その分布ピークの半分の高さにおけるより大きい(または小さい)粒子の分布の幅、 $w_{0.5h,2}$ は、その分布ピークの半分の高さにおけるより小さい(または大きい)粒子の分布の幅である。実際には、 $R > 1$ は、粒子の分布が重ならないことを示す。この定義を参照すると、迎角(α)が正の場合、より大きいサイズの粒子が水中翼の低圧側を通る流線(図2の流線(9)など)の周りに分布しているときに粒子分離の効率が向上される結果となり、そうでなければ、 $R > 1$ で完全に粒子分離する結果となる。

20

【 0 0 3 0 】

したがって、図5は、正の迎角(α)を有する水中翼がストリーム内に位置し、 $14\mu\text{m}$ 径の粒子(11)が主軸より上の水中翼の低圧側を通る流線の周りに分布している一方、 $10\mu\text{m}$ 径の粒子(12)が主軸より下の水中翼の高圧側を通る流線の周りに分布している、シミュレーションの結果を示す。 $14\mu\text{m}$ 径の粒子(11)の一部は、 $10\mu\text{m}$ 径の粒子(12)を担持する流線とともに流れることがわかる。しかしながら、分布した粒子のピーク点間の距離は水中翼の下流で増加し、これはR値すなわち分離効率の改善を示している。一方、図6は、図5と同じ水中翼が使用され、 $14\mu\text{m}$ 径の粒子(11)が主軸より下の水中翼の高圧側を通る流線の周りに分布しているが、 $10\mu\text{m}$ 径の粒子(12)が主軸より上の水中翼の低圧側を通る流線の周りに分布している、シミュレーションの結果を示す。結果は、 $14\mu\text{m}$ 径の粒子(11)のいずれも $10\mu\text{m}$ 径の粒子(12)を担持する流線とともに流れず、粒子の分布間の距離が水中翼の下流で増加していることを示している。

30

【 0 0 3 1 】

水中翼を利用する別の態様は、水中翼の下流の渦領域(8)に関する。水中翼を通過した粒子は渦領域(8)内にドリフトする傾向がないので、ストリームを2つの別個のストリーム(3)に分割する分離壁(13)、および渦領域の下流端にちょうど位置する先端部(T)は、分離壁(13)に沿って、水中翼によって既に分離された異なるサイズの粒子の混合を防止する。図7は、一方が主軸(3)の上、他方が下にある、平行なストリームによって担持されるより大きい粒子(5)およびより小さい粒子(4)が、水中翼および下流に位置する分離壁(13)によって分離される、この場合を表す。同様に、図8は、より大きい粒子(14)の分布およびより小さい粒子(15)の分布が、水中翼および下流に位置する分離壁(13)によって分離される場合を表す。

40

【 0 0 3 2 】

図2および図7に示される方法は、図9に示されるように、そのサイズに基づいて同様の密度の粒子を分離するために水中翼を利用する一実施形態で利用されることが可能である。実施形態は、1つの上流チャネル(16)、2つの下流チャネル(17a、17b)

50

および下流チャネルの交差部のほぼ上流に位置する水中翼(1)を含む。一方の流線が主軸(3)の上であり、他方が下にあるように、上流チャネル(16)内の間の距離(a)を有する粒子担持流線は、水中翼(1)で分離され、下流チャネル(17a、17b)に配向されることになる。したがって、異なるサイズの粒子(18a、18b)は、異なる下流チャネル(17a、17b)で捕集されることが可能である。

【0033】

図10に示される別の実施形態は、図5、図6、および図7に示される方法を利用する。この実施形態もまた、1つの上流チャネル(16)、2つの下流チャネル(17a、17b)、および下流チャネルの交差部のほぼ上流に位置する水中翼(1)を含む。ピーク位置が主軸(3)の両側に位置するように、上流チャネル内のそのピーク位置の間の距離を有する異なるサイズの粒子(19a、19b)の分布を担持するストリームは、水中翼(1)で分離され、異なる下流チャネルに配向される。より大きいサイズの粒子が、図2の流線(9)など、水中翼の低圧側を通る流線の周りに分布しているとき、粒子分離が強化され、下流チャネル(17a、17b)で分離された粒子が捕集される結果となる。そうでなければ、結果は、完全な粒子分離および下流チャネル(17a、17b)における分離された粒子の捕集となる。

【0034】

図9および図10の上流チャネル(16)は、螺旋の形状であり得る(図11)。この実施形態では、異なるサイズの粒子の混合物が入口(20)を通じて分注され、螺旋チャネル(21)にわたって形成されたディーン渦が、異なるサイズの粒子を2つの別個の流線に集束させるか、またはその周りに分布させる。これらの流線によって担持される粒子は、水中翼(1)によって分離されることが可能であり、分離された粒子は、分離壁(13)によって分割された下流チャネル(17a、17b)を通じて異なる出口(22a、22b)に配向されることが可能である。

【0035】

螺旋チャネルの場合、粒子は典型的に、螺旋の内側ループにおいて流線の周りに分布し、これらが螺旋内を流れる際に外側ループにおいて流線上に集束する傾向がある(Gregoratto, Proc of SPIE, 2007; Bhagat, Lab Chip, 2008; Nivedita, BioMicrofluid, 2013)。図12は、別個の流線(23、24)において10 μ mおよび18 μ mの公称直径を有する蛍光粒子の集束を示し、流線(23)は18 μ m径の粒子の蛍光によって可視化され、流線(24)は10 μ m径の粒子の蛍光によって形成されている図12に示されるように、より大きい粒子は早い方のループで集束されるが、小さい粒子と大きい粒子の両方の集束は、螺旋の6番目のループ(6th loop)よりも後でのみ観察される。水中翼を利用することにより、早い方のループで粒子を分離することが可能であり、これによって長い螺旋チャネルの必要性を排除し、こうして全体的な流体力学的抵抗を低減する。図13は、300 μ m幅の螺旋チャネルの3番目のループ(3rd loop)にわたるその蛍光強度に基づく、10 μ m(9.45 $\pm$ 0.87 μ m)および18 μ m(17.59 $\pm$ 3.89 μ m)の公称直径を有する粒子の分布を示す。名目上10 μ m径の粒子は、チャネルの幅の80 μ mから220 μ mの間に分布し、名目上18 μ m径の粒子は、95 μ mに位置する流線の周りに狭く分布している。この実験データに基づくシミュレーションは、30度の迎角を有する水中翼および渦領域の下流端にちょうど位置する分離壁を利用することにより、10 μ mおよび18 μ mの公称直径を有する粒子が分離可能であることを示している(図14)。したがって、図15に走査電子顕微鏡写真が示されている別の実施形態は、いくつかの流線にわたって分布している粒子を分離するために使用されることが可能である。実施形態は、上流螺旋チャネル(21)、水中翼(1)、分離壁(13)、および2つの下流チャネル(17a、17b)を備える。

【0036】

本発明の一実施形態では、弓形水中翼を介してそのサイズに応じて粒子を分離する方法が開示され、翼弦線との α の迎角を有する前縁(1e)を通る主軸と一致する流線(4)

10

20

30

40

50

上で、粒子を弓形水中翼に送る。この弓形水中翼は、ストリームと平行な軸であって水中翼の前縁を通る主軸との非ゼロ迎角を形成する水中翼の前縁（1e）および後縁（te）を接続する翼弦線の周りで非対称である。

【0037】

本発明の別の実施形態では、粒子を担持する2つの平行な流線の分離を強化する方法が開示され、一方の流線が水中翼の主軸の上になり、他方の流線が弓形水中翼の主軸の下になり、弓形水中翼の上流の流線間に距離（a）があり、これは弓形水中翼の投影高さ（h）よりも短く、弓形水中翼に出会うように粒子を担持する2つの平行な流線を送り、その後、弓形水中翼を通過した粒子は弓形水中翼上の分流点（7）の下流に形成された渦領域（8）内にドリフトできないため、渦領域の下流の非常に近接した流線間の距離（d）は（a）よりも大きいことを特徴とする。

10

【0038】

本発明の別の実施形態では、主軸で一致する2つの異なるサイズの粒子の2つの分布の以下の式に従って分離の分解能（R）を増加させる方法が開示され、

【数7】

$$R = 1.18 \frac{d_{p,2} - d_{p,1}}{w_{0.5h,1} - w_{0.5h,2}}$$

20

一方の分布ピークは水中翼より上にあり、他方の分布ピークは弓形水中翼の主軸より下にあり、前記2つの粒子分布を弓形水中翼に送り、その後、弓形水中翼を通過した分布中の粒子は弓形水中翼上の分流点（7）の下流に形成された渦領域（8）内にドリフトできないため、主軸より上の流線上の粒子は水中翼の上側を通る経路をたどり、主軸より下の流線上の粒子は水中翼の下側を通る経路をたどり、主軸と一致する流線上の粒子は、流線上のより大きい粒子がより遅い平均速度で水中翼の側を流れ、より小さい粒子がより速い平均速度で水中翼の側を流れる傾向があるような経路をたどることを特徴とする。

【0039】

別の実施形態では、異なるサイズの粒子の混合を防止する方法であって、これらは、ストリームを2つの別個のストリームに分割する分離壁（13）を介して水中翼によって、既に分離または強化されているか、もしくは分解能が増加されており、分離壁（13）先端部（T）は、弓形水中翼上の分流点（7）の下流に形成された渦領域（8）の下流端にちょうど位置している。

30

【0040】

上記で与えられた全ての方法を使用する装置もまた本発明によって提示され、この装置は1つの上流チャネル、2つの下流チャネル、これら2つの下流チャネル間の分離壁（13）を備え、分離壁先端部（T）は、弓形水中翼上の分流点の下流に形成された渦領域の下流端にちょうど位置しており、一方の流線が主軸の上になり、他方が下になるような、間の距離（a）を有して上流チャネルにおいて異なるサイズの粒子を担持する流線は、水中翼で分離され、異なるサイズの粒子が別々に捕集され得るように下流チャネルに配向される。装置は、粒子を含む流体を受けるように動作する1つの入口（20）と、粒子を含む流体を送達するように動作する2つの出口（22）とをさらに備え、上流チャネルは螺旋（21）の形状である。

40

【0041】

[参考文献一覧 (REFERENCES)]

Yoon, Y., Seonil Kim, Jusin Lee, Jaewoong Choi, Rae-Kwon Kim, Su-Jae Lee, Onejae Sul & Seung-Beck Lee "Clogging-free microfluidics for continuous size-based separation of microparticles", Sci. Rep. 6, 26531 (2013).

Zhang J., Yan S., Yuan D., Alici G., Nguyen N-T., Warkiani M. E. and Li W., "

50

Fundamentals and applications of inertial microfluidics: a review ", Lab Chip, 2016,16, 10-34

Whitesides G. M., " The origins and the future of microfluidics ", NATURE | Vol 442 | July 2006.

Shen S., Tian C., Li T., Xu J., Chen S-W., Tu Q., Yuan M-S., Liu W. and Wang J., " Spiral microchannel with ordered micro-obstacles for continuous and highly-efficient particle separation ", Lab Chip, 2017, 17, 3578.

Sajeesh P., Sen A. K., " Particle separation and sorting in microfluidic devices: a review ", Microfluid Nanofluid (2014) 17:1-52.

Segre G. and Silberberg A., " Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow. Part 2. Experimental results and interpretation, " J. Fluid Mech. 14, 136-157 (1962). 10

Schaap A., Dumon J., den Toonder J, " Sorting algal cells by morphology in spiral microchannels using inertial microfluidics ", Microfluid Nanofluid (2016) 20:125.

Zhou J. and Papautsky I., " Fundamentals of inertial focusing in microchannels ", Lab Chip, 2013, 13, 1121-1132.

Dudani J. S., Go D. E., Gossett D. R., Tan A. P. and Di Carlo D., " Mediating millisecond reaction time around particles and cells ", Anal. Chem. 2014, 86, 3, 1502-1510. 20

Yoon D. H., Ha J. B., Bahk Y. K., Arakawa T., Shoji S. and Go J. S., " Size-selective separation of micro beads by utilizing secondary flow in a curved rectangular microchannel " Lab Chip, 2009, 9, 87-90.

Sollier E., Go D. E., Che J., Gossett D. R., O'Byrne S., Weaver W. M., Kummer N., Rettig M., Goldman J., Nickols N., McCloskey S., Kulkarni R. P. and Di Carlo D., " Size-selective collection of circulating tumor cells using Vortex technology ", Lab Chip, 2014, 14, 63.

Zhang, J., Yan S., Sluyter R., Li W.1, Alici G. & Nguyen N-T., " Inertial particle separation by differential equilibrium positions in a symmetrical serpentine micro-channel. ", Sci. Rep. 4, 4527 (2014). 30

Jiang D., Tang W., Xiang N. and Ni Z., " Numerical simulation of particle focusing in a symmetrical serpentine microchannel ", RSC Adv., 2016, 6, 57647.

Gregoratto I., McNeil C. J., Reeks M. W., " Micro-devices for rapid continuous separation of suspensions for use in micro-total-analysis-systems (μ TAS) ", Proc. of SPIE Vol. 6465 646503-1, 2007.

Bhagat A. A. S., Kuntaegowdanahalli S.S. and Papautsky I., " Continuous particle separation in spiral microchannels using dean flows and differential migration ", Lab Chip, 2008, 8, 1906-1914.

Nivedita N. and Papautsky I., " Continuous separation of blood cells in spiral microfluidic devices ", Biomicrofluidics 7, 054101 (2013). 40

Saffman P. G., " The lift on a small sphere in a slow shear flow ", J. Fluid Mech. 22, 2, 1965, pp:385-400.

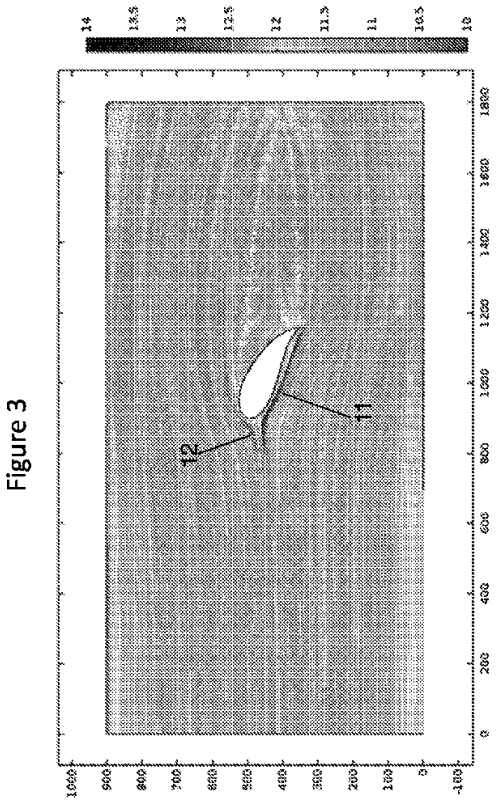
Gossett D. R. and Di Carlo D., " Particle Focusing Mechanisms in Curving Confined Flows ", Anal. Chem. 2009, 81, 8459-8465.

Warkiani M.E., Khoo B. L., Wu L., Tay A. K. P., Bhagat A. A. S., Han J. & Lim C. T., " Ultra-fast, label-free isolation of circulating tumor cells from blood using spiral microfluidics ", VOL.11 NO.1, 2016, Nature Protocols, 134-148.

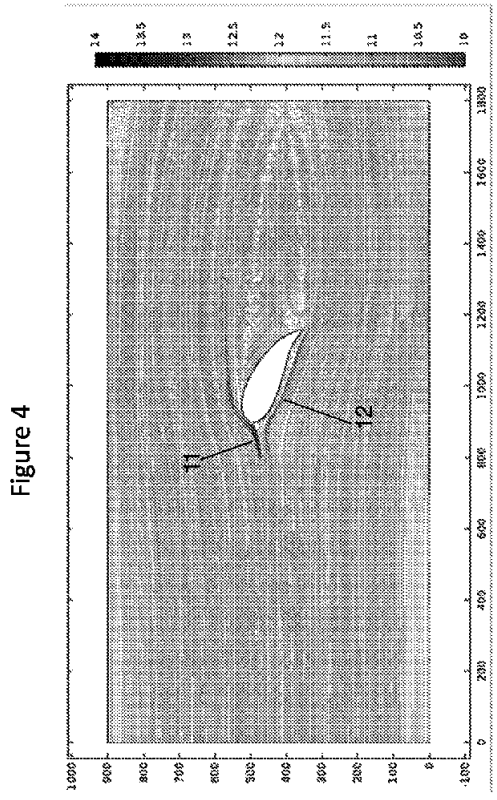
Martel, J.M. & Toner, M., " Particle Focusing in Curved Microfluidic Channels. " Sci. Rep. 3, 3340 (2013).

T. Hanai, " HPLC A Practical Guide ", The Royal Society of Chemistry, UK, 19 50

【図 3】

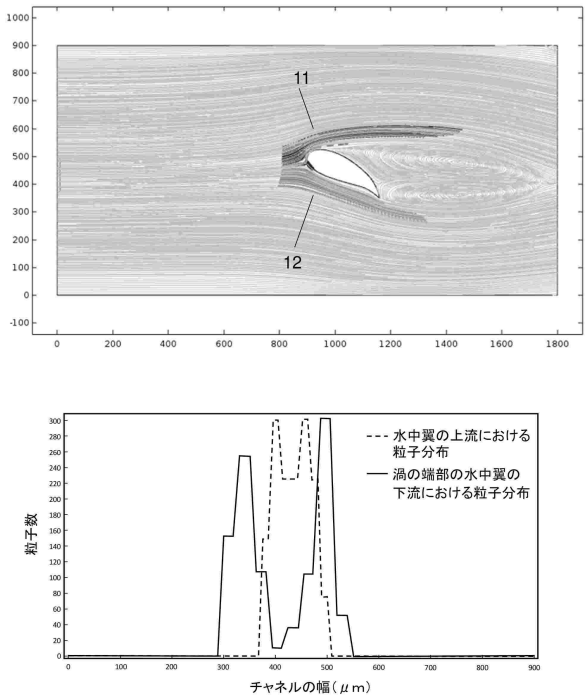


【図 4】



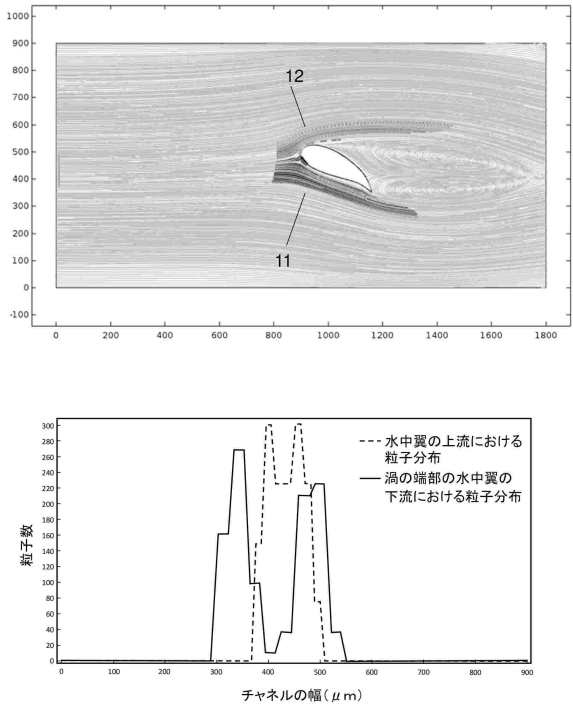
【図 5】

Figure 5



【図 6】

Figure 6



10

20

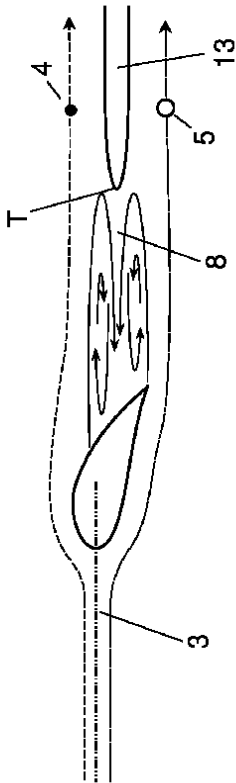
30

40

50

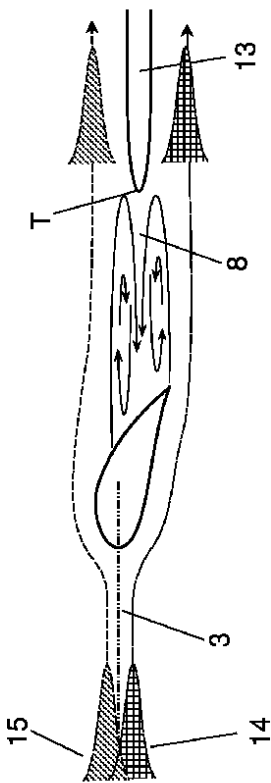
【 図 7 】

Figure 7



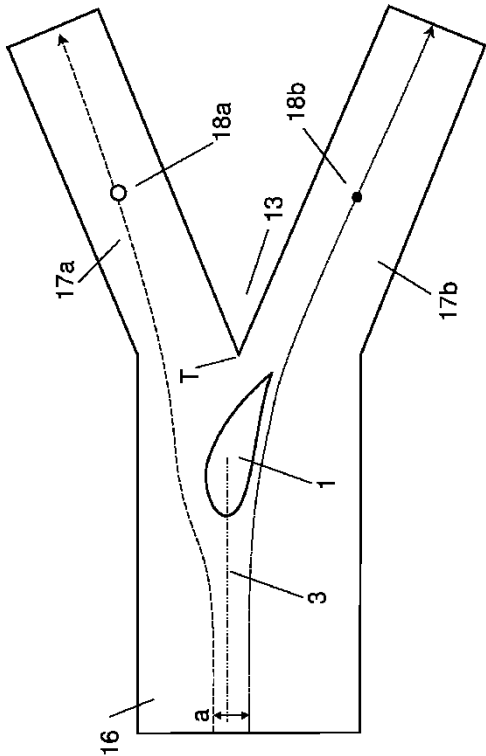
【 図 8 】

Figure 8



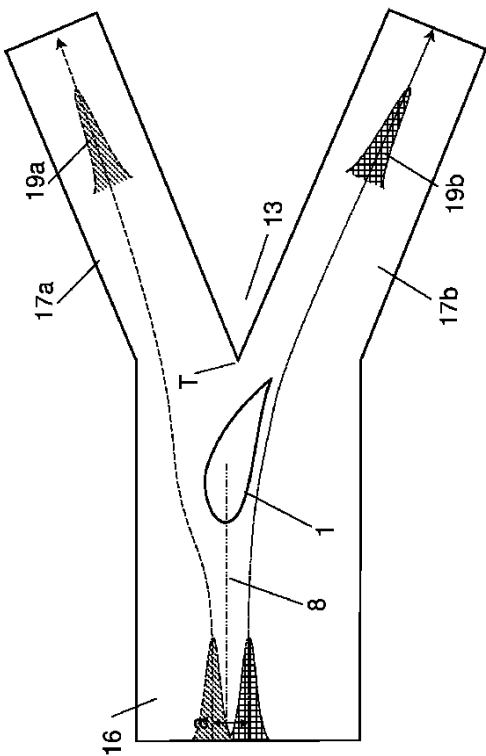
【 図 9 】

Figure 9



【 図 1 0 】

Figure 10



10

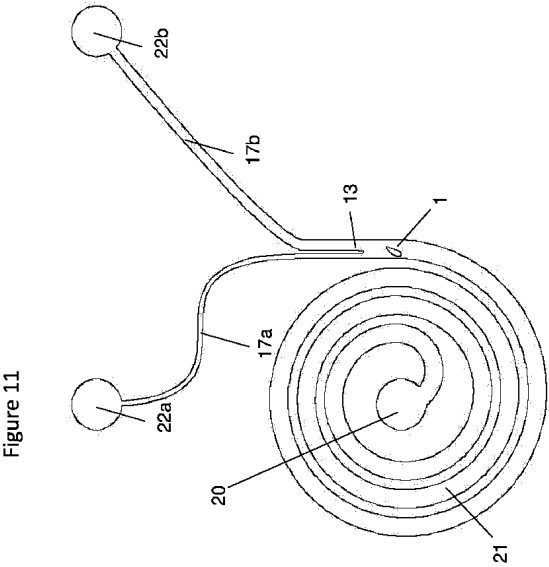
20

30

40

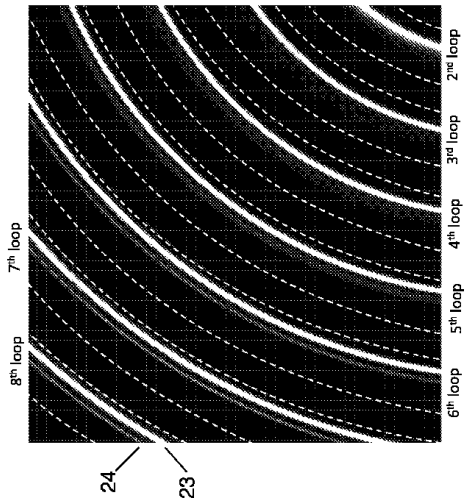
50

【図 1 1】



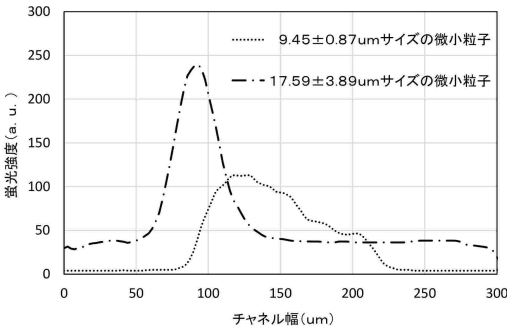
【図 1 2】

Figure 12



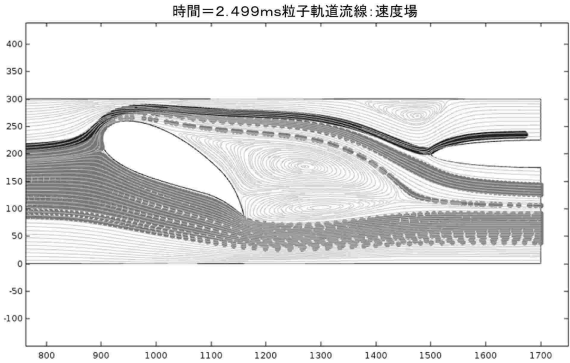
【図 1 3】

Figure 13



【図 1 4】

Figure 14



10

20

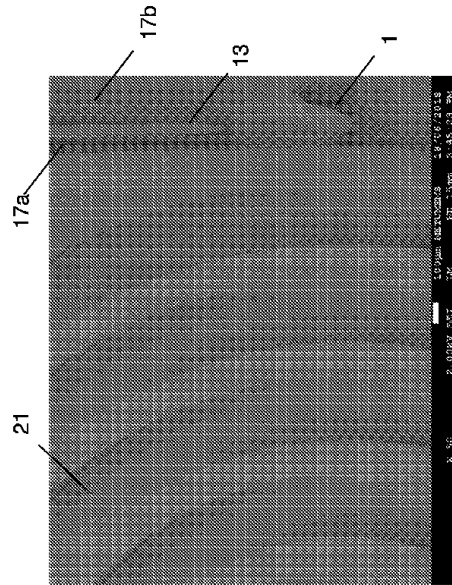
30

40

50

【 図 1 5 】

Figure 15



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- アパートメント ナンバー 18 / 3
- (72)発明者 イルディリム, エンダー
トルコ アンカラ エティメスガット, エリヤマン マー., サブカ デブリミ カド. 336. ソカ
ク ナンバー 3 / 17
- (72)発明者 ゾール, オッジ
トルコ アンカラ カンカヤ, アラカース マー., 3381. ソカク. パーヂ ス シテシ ナンバ
ー 17 エー 4 - 4
- 審査官 塩谷 領大
- (56)参考文献 特表 2016 - 537198 (JP, A)
特表 2009 - 530400 (JP, A)
特表 2001 - 527220 (JP, A)
国際公開第 2009 / 129586 (WO, A1)
特開 2008 - 137003 (JP, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
B03B 1 / 00 - 13 / 06
B81B 1 / 00 - 7 / 04
B81C 1 / 00 - 99 / 00
B01J 10 / 00 - 12 / 02
B01J 14 / 00 - 19 / 32
C12M 1 / 00 - 3 / 10
G01N 33 / 48 - 33 / 98
G01N 1 / 00 - 1 / 44
G01N 15 / 00 - 15 / 14