

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4520620号
(P4520620)

(45) 発行日 平成22年8月11日(2010.8.11)

(24) 登録日 平成22年5月28日(2010.5.28)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 H
BO 1 D 43/00 (2006.01)	BO 1 D 43/00 Z
GO 1 N 27/28 (2006.01)	GO 1 N 27/28 H
GO 1 N 33/49 (2006.01)	GO 1 N 33/49 Z
GO 1 N 27/327 (2006.01)	GO 1 N 27/30 3 5 3 Z

請求項の数 15 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2000-328528 (P2000-328528)	(73) 特許権者	308022379
(22) 出願日	平成12年10月27日(2000.10.27)		ロシュ ダイアグノスティックス オペレ ーションズ インコーポレーテッド
(65) 公開番号	特開2001-183363 (P2001-183363A)		アメリカ合衆国 46250 インディア ナ州, インディアナポリス, ハーグ ロー ド 9115
(43) 公開日	平成13年7月6日(2001.7.6)		
審査請求日	平成19年8月21日(2007.8.21)	(74) 代理人	100091096
(31) 優先権主張番号	09/428691		弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成11年10月28日(1999.10.28)	(74) 代理人	100096183
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100122389
			弁理士 新井 栄一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】毛管状血球成分分離構造物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

部分容量の血漿および部分容量の血球成分を含有する、選択された全容量の全血サンプルから血球成分を分離する装置であって、

全血サンプルを受け入れるための入り口開口部、該入り口開口部と隔たった反応領域、および該入り口開口部と連結された入り口末端および該反応領域と連結された出口末端を有する少なくとも1つの毛管経路を有する本体を含んでなり、各毛管経路は、毛管圧力による血漿の入り口末端から出口末端への輸送を確実にし、その結果反応容量の血漿を反応領域へ送達するに十分小さい寸法に作られており、さらに各毛管経路は複数の障害物を有し、該障害物は該毛管経路の出口末端方向を向いた凹部分を有することを特徴とする上記装置。

【請求項 2】

全障害物の凹部分の全容積が、前記反応容量と、前記ヘマクリット部分容量の前記サンプル全容量に対する比と、の積に少なくとも等しい、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記障害物の断面が三日月の形をしている、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 4】

前記障害物の断面が弾丸の形をしている、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記反応領域が、血漿中のアナライトを検出するために選択された乾燥試薬を含有する

、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記反応領域が、血漿中のアナライトの光学的検出を可能とする光学的ウインドウを含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記反応領域が、血漿中のアナライトを検出するための電気化学的装置を含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 8】

流体の入り口である開口部、排出口を備えた反応領域、および該入り口開口部と該反応領域を結ぶ少なくとも 1 つの毛管経路を含んでなり、該少なくとも 1 つの毛管経路を通して全血を動かす駆動力が毛管圧力から生じる臨床診断装置であって、その改良点が、該少なくとも 1 つの毛管経路内に固定された複数の障害物を含み、各障害物は排出口を備えた反応領域の方向を向いた凹部分を有することからなる、上記臨床診断装置。

10

【請求項 9】

前記障害物の断面が三日月の形である、請求項 8 に記載の臨床診断装置。

【請求項 10】

前記障害物の断面が弾丸の形である、請求項 8 に記載の臨床診断装置。

【請求項 11】

前記反応領域が、血漿中のアナライトを検出するために選択された乾燥試薬を含む、請求項 8 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の臨床診断装置。

20

【請求項 12】

前記反応領域が、血漿中のアナライトの光学的検出を可能とする光学的ウインドウを含む、請求項 8 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の臨床診断装置。

【請求項 13】

前記反応領域が、血漿中のアナライトを検出するための電気化学的装置を含む、請求項 8 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 14】

血漿中のアナライトの検出方法であって、下記のステップ：

臨床診断装置の反応領域に試薬を用意すること；

部分容量の血漿を含有する全血サンプルを、反応領域に導く毛管経路の入り口末端に導入すること、ここで該毛管経路は該経路内に固定された複数の障害物を含み、各障害物は該経路の入り口末端と反対方向を向いた凹部分を有するものである；

30

検体量の血漿が該毛管経路の全長を通過して該反応領域まで流れるのに十分な時間を与えることによって全血サンプルから検体量の血漿を分離すること；および該血漿と該装置の反応領域内の試薬との反応を観察すること；

を含んでなる上記方法。

【請求項 15】

前記導入ステップに先立って、毛管経路および反応領域を親水性にするステップをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

40

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、少量の全血サンプルから血球成分を分離して血漿のみを残す、または血球成分の部分容量が相当減少した血漿を残すための物理的構造物および方法に関するものである。本発明は特に、血漿の分離後に血球成分含有量の減少した血漿を乾燥試薬と接触させ、アナライト（被分析物）の正確な検出を可能とするような、可動部分(moving parts)を持たない構造物に向けられている。

【0002】

【従来の技術】

臨床分野においては、血液サンプルを用いて多くの診断試験が実施されている。可能であ

50

れば、多くの場合わずか1～2滴ほどの非常に少量のサンプルを用いることが望まれる。このように少量の血液または他の体液を取り扱う際には、しばしば毛管構造物が用いられる。血液サンプル中の血球成分の存在はしばしば正確な試験を妨げるので、サンプル中の血球成分を除去するか、またはその濃度を低下させて血球成分含有量の減少した血漿を試験のために残すことが望まれるか、または必要とされている。血球成分の除去はしばしばフィルターを用いて行われる。毛管構造物を用いたこのようなフィルター装置の例がHillmanらの米国特許第4,753,766号および第5,135,719号に記述されている。全血サンプルを処理するために毛管構造物を用いた他の装置の例は、McDonaldらの米国特許第5,039,617号、Hillmanらの米国特許第4,963,498号およびColumbusの米国特許第4,271,119号に開示されている。

10

【0003】**【発明が解決しようとする課題】**

このようなフィルター装置は一般に満足に機能するが、多くのフィルター素材は血液サンプルからかなりの部分の血漿を吸収する傾向があり、その結果、分析試験用に少量の、減少した血漿しか残らない場合がある。サンプルの全容量が少なくなるほどフィルターによって吸収される血漿画分の割合は大きくなる傾向があり、試験用に残る容量がどんどん少なくなる。したがって、ごく少量のサンプルに対しても用いることのできる、全血から血球成分を除去する別の手段を構築することが望まれる。

【0004】**【課題を解決するための手段】**

本発明の毛管状血球成分分離構造物は、流体の入り口である開口部、排出口を備えた反応領域、および上記入り口開口部と反応領域とを結ぶ毛管経路を有するハウジング内に収められている。毛管経路は、該経路を通して液体を動かす駆動力が毛管圧力から生じるような寸法に作られている。毛管経路には複数の障害物が固定されており、各障害物は排出口を備えた反応領域の方向を向いた凹部分を有する。上記凹部分の位置は、流体入り口開口部から反応領域への液体の流れを基準として、障害物の下流側に位置する。

20

【0005】**【発明の実施の形態】**

障害物は、弾丸の形および欠けた月の形を含む種々の形をとることができる。月の1/4欠けた形が好ましい。障害物は、互いへの単なる接近がフィルター効果を生じないように相互に十分離して配置しなければならない。また同時に、障害物は毛管経路に保持される液体の量を最小限にするために相互に十分近づけて配置しなければならない。好ましくは、障害物は最も近いもの同士で相互に約 10^{-5} メートル離して、六角形の密に詰まった配置に整えられる。

30

【0006】

用いるべき障害物の数は、該障害物の凹部分の容積によって決められる。本発明による複数の障害物を有する毛管経路を通して全血が流れるにつれて、血球成分は障害物の凹部分に集まることが観察された。初めはVon Karmen渦巻によって血球成分が集まると考えられたが、そのような渦巻は乱流状況においてのみ発生することが判明し、そして毛管チャンネルを通る血液の通過は恐らく層状である。この効果をもたらす作用機構は確認されていないが、この効果は全血サンプル中の血球成分の部分容量を相当減少させることを可能にするに十分顕著である。

40

【0007】

予想されるサンプルサイズ中の血球成分の容量を超える全容積を有する凹部分を提供するに十分な障害物を用いることが望ましい。好ましい実施形態においては、各凹部分の容積は約 10^{-13} から 10^{-14} m³、すなわち 10^{-4} から 10^{-5} μlである。1滴の血液からなるサンプルは、典型的には容量が20から50 μlであり、典型的にはその35%から45%が血球成分である。より少量の全血ですら糖尿病患者などによって頻繁に試験に用いられており、そのような少量は小切開(small cut)または穿刺から血液サンプルを絞り出すことによって達成される。この場合、サンプルの量は2から10 μlにしかないこともある。1滴のサン

50

ルから血球成分を分離することができる本発明の毛管状血球成分分離構造物は、約 10^4 から 10^5 個の障害物を含む。そのような構造物中の毛管経路は、高さが約 $100\ \mu\text{m}$ 以下、幅が約 $2\sim 5\ \text{mm}$ 、長さが $70\ \text{mm}$ までの方形の通路であることができる。

【0008】

流体入り口開口部から反応領域までの間の毛管経路の数は特に決まっていなくて、そして障害物または本装置の他の特徴を構築するのが容易にするため、1または所望であれば2以上の毛管経路を用いることができることが理解されなければならない。血球成分は凹部分に優先的に蓄積することが観察される一方、構造物の他の領域、特に毛管経路を形成する壁の近隣にも程度は少ないが蓄積することが観察されている。

【0009】

本発明の毛管状血球成分分離構造物は、公知のマイクロインジェクション成形法を用いて、ナイロン、スチレン-アクリルコポリマー、ポリスチレン、またはポリカーボネートなどの熱可塑性樹脂からなる2つの部分として成形することができる。毛管経路内の障害物を作るための型(mold)は、録音前のコンパクトディスクおよび磁気ビデオディスク用の型の製造に典型的に使われている深反応性イオンエッチング法(deep reactive ion etching process)によって構築することができる。毛管経路を通る液体の速い毛管流に対して抵抗がないことを確実にするために排出口を一般に備えた反応領域もまた、毛管経路の出口に、一般に上記と同じ方法によって形成される。次に、好ましくは、成形された構造物内の毛管経路および反応領域を、プラズマエッチングまたはDONS溶液などによる親水化工程にかける。所望であれば、適切な乾燥試薬を反応領域に配置することができる。次に、毛管経路および反応領域が構造物内に封じ込められ、かつ血液サンプルを受け入れるために設定された入り口開口部から接近可能となるように、構造物の各部分を組み立てる。

【0010】

できあがった構造物は、部分容量の血漿および部分容量の血球成分を含有する、選択された全容量を有する全血サンプルから血球成分を分離する装置とみなしうる。この装置の基本的な特徴は、全血サンプルを受け入れるための入り口開口部、該入り口開口部と隔たった、排出口を備えた反応領域、および該入り口開口部と連結された入り口末端および該排出口を備えた反応領域と連結された出口末端を有する少なくとも1つの毛管経路を有する本体からなり、各毛管経路は毛管圧力による血漿の入り口末端から出口末端への輸送を確実にしてその結果反応容量の血漿を反応領域へ送達するに十分小さい寸法に作られており、各毛管経路は複数の障害物を有し、該障害物は該毛管経路の出口末端方向を向いた凹部分を有し、凹部分の合計は上記血球成分部分容量のうち少なくともかなりの部分を含有するに十分な容積を有する。

【0011】

添付の図面を参照した以下の好ましい実施形態の説明により、本発明の他の有利な特徴が明らかになるであろう。

【0012】

【実施例】

全血サンプルから血球成分を分離するための本発明の装置10を図1および2に示す。この装置は、本体12およびカバー14を含む。第1の端部16は、全血サンプルを受け入れるための入り口開口部18を含む。一般に排出口21を含む反応領域20は、入り口開口部18と隔たっており、第2の端部22に近接して配置することができる。少なくとも1つの毛管経路24は、入り口開口部18と連結された入り口末端26および反応領域20と連結された出口末端28を有する。毛管経路24は、毛管圧力による血漿の入り口末端26から出口末端28への輸送を確実にしてその結果反応容量の血漿を反応領域20へ送達するに十分小さい寸法に作られている。毛管経路24は複数の障害物30を有し、該障害物30は毛管経路24の出口末端28の方向を向いた凹部分32を有する。

【0013】

障害物30の3つの考えうる形を、毛管経路24を通る液体の流れと関連させて図3~5に示す。図3~5は障害物30の考えうる形を全て網羅したものではなく、単に本発明において

10

20

30

40

50

有用な形を例示したものにすぎない。これらの3つの形の全てにおいて、障害物30は、液体の流れの方法を基準として下流方向を向いた凹部分32（仮想の線で示す）を含むように描かれている。凹部分の大きさは、恐らく、障害物の大きさに基づくよりも、むしろ障害物30の間の全液体含有容積に基づいて評価されるべきである。障害物30の大きさは装置10の性能において何らかの役割を果たすと思われるが、全液体含有容積に対する凹部分容積の割合によってより大きな役割が果たされていると思われる。この割合は、毛管経路24内の障害物の間隔および配置、ならびに凹部分32の大きさに関連している。凹部分32の形は、図3～5に示すような滑らかな曲線を含む必要はなく、三角形または方形などの角張った形であることができる。

【0014】

そのような構造物12内の毛管経路24は、高さが約100 μ m以下、幅が約2～5mm、長さが70mmまでの方形の通路であることができる。この高さおよび幅は全長を通じて一定である必要はなく、図2に概要を示すようにある高さまたは幅から別の高さまたは幅へ推移する段23および/または傾斜25を含むことができる。各障害物30は、好ましくは経路24の高さ全体にわたって広がっている。原則として、そのような障害物は経路24内に図示するような垂直方向にではなく水平方向に配置されても機能することが理解されるであろうが、そのような水平方向に整列させた障害物は製造が難しいであろう。好ましい実施形態においては、障害物30は垂直方向に配置されており、通路の幅方向に対して約50 μ mの直径を有する。障害物30はその最も近いもの同士で約10 μ m隔たっている。

【0015】

本発明の血球成分分離構造物は、録音前のCDおよびDVDの製造に用いられる技術に類似したマイクロインジェクション技術を用いて、プラスチックで成形することができる。このプロセスの概略を図6Aから6Eに示す。最初に、深反応性イオンエッチング法を用いてマスターツール(master tool)40をシリコンで作製する。毛管経路24を規定する通路の床42および側壁44を含むマスターツール40を図6Aに示す。マスターツール40の床42は、本発明の障害物30を反映するマスター構造物46を含む。次にマスターツール40を用いて、図6Bにおいて1個以上の作業用ネガティブツール(working negative tool)48（一般にニッケルで構築される）を作製する。これらは後の製造工程で用いることができる。次に、図6Cに示すように、作業用ネガティブツール48を型ツール支持固定物(mold tool support fixture)50に取り付ける。ネガティブツール48および支持固定物50は、対をなす型の一側の型部分52を形成し、他方の型部分54は標準的EDMまたは他の機械加工法を用いて構築される。次に、マイクロインジェクション成形機を用いて2つの型部分52および54を操作して、ポリカーボネートなどのプラスチック樹脂を受け入れるためのキャビティ56を形成し、本発明の装置10を形成することができる。一般に、本体12およびカバー14は、装置10の組み立てを容易にするために、一般に同時に同一プロセス中に隣接する型セクションを用いて形成される。

【0016】

組み立ての前に、少なくとも毛管経路24および反応領域20を含む本体12およびカバー14は通常適切な親水化工程にかけられる。特定の方法の選択は、装置10を作製する際に用いた樹脂によって（もし決まらなければ）示唆される。その方法はプラズマエッチングのように物理的であっても、またDONS溶液の適用のように化学的であってもよい。親水化工程の後、所望の試薬を反応領域20に添加することができる。次に、適切な手段（機械的結合、または溶剤もしくは超音波結合、等）によってカバー14を本体12の適所に固定する。

【0017】

用途としては、装置10は血漿中の血糖値等のアナライトを検出するための臨床診断装置として用いることができる。通常、適切な、一般には乾燥した試薬が、毛管経路24を通過してきた任意の血漿と相互作用させるため、反応領域20に供給される。全血サンプルを入り口開口部18に適用すると、該サンプルは毛管圧力によって引っ張られて毛管経路24の全長を通過させられる。該サンプルが毛管経路24内を進むにつれ、複数の障害物30に遭遇する。各障害物は後ろ側、すなわち下流側に凹部分32を有する。該サンプルが毛管経路24内を

10

20

30

40

50

進むにつれ、血球成分が該サンプル中の平均濃度を上回る量で凹部分32に集まるのが観察される。その結果、サンプル中の血球成分濃度はサンプルが反応領域20に向かって毛管経路内を通過するにつれて低下する。低下した濃度の血球成分を含む血漿が反応領域に到達すると、血漿は上記試薬を濡らし、これと反応する。この反応は、該サンプル中にまだ残存している血球成分に由来する干渉が少なくとも減少した状態で、本体12またはカバー14を介して観察することができる。この観察は光学的手段、電気的手段、または反応結果を定量的に評価するのに適した他の手段によって行うことができる。

【0018】

例示した好ましい実施形態により本発明を説明してきたが、当業者には、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲内で、ある種の変更および改変が行われうることが理解されるであろう。

10

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の毛管状血球成分分離構造物の斜視図である。

【図2】本発明の毛管状血球成分分離構造物の平面図である。

【図3】図1に示す毛管状血球成分分離構造物の毛管経路部分の詳細図で、障害物の第1の好ましい実施形態を示す。

【図4】毛管状血球成分分離構造物の毛管経路部分の別の詳細図で、障害物の別の実施形態を示す。

【図5】毛管状血球成分分離構造物の毛管経路部分のさらに別の詳細図で、障害物のさらに別の実施形態を示す。

20

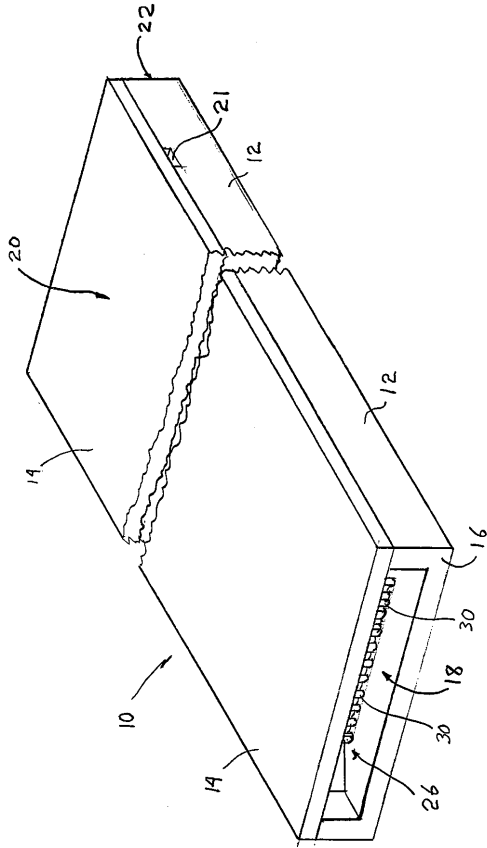
【図6】 A-E: 本発明の毛管状血球成分分離構造物を作製するための好ましい方法を図式的に示す。

【符号の説明】

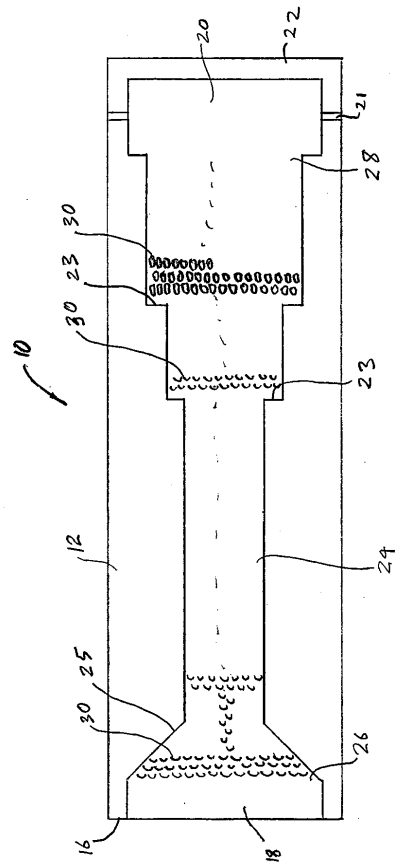
- 12 本体
- 18 開口部
- 20 反応領域
- 21 排出口
- 24 毛管経路
- 26 入り口末端
- 28 出口末端
- 30 障害物
- 32 凹部分

30

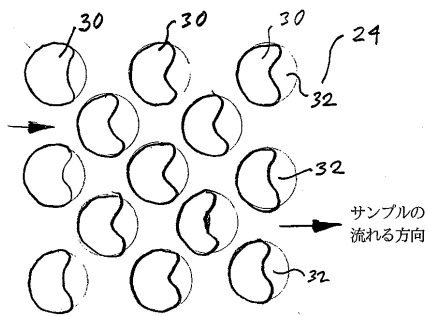
【図1】



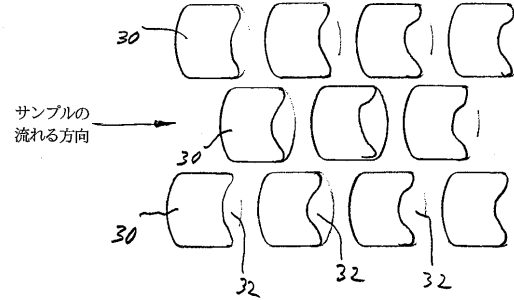
【図2】



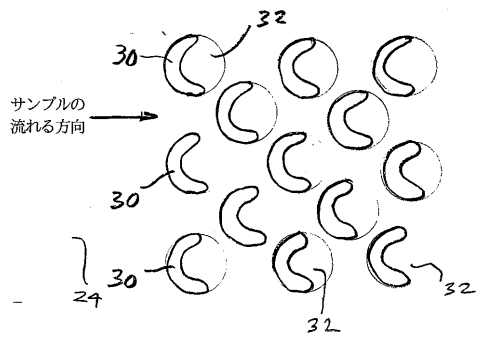
【図3】



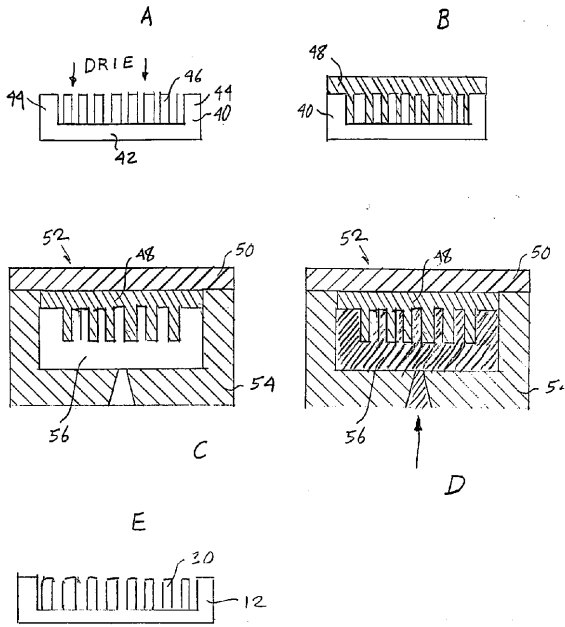
【図5】



【図4】



【図6】



フロントページの続き

- (72)発明者 ラフビール エス・ブーラー
アメリカ合衆国 4 6 2 3 6 インディアナ州, インディアナポリス, チャップスワース ウェイ
6 1 3 0
- (72)発明者 クリストファー ディー・ウйлゼイ
アメリカ合衆国 4 6 0 3 2 インディアナ州, カーメル, オーク ドライブ 5 1 6
- (72)発明者 ジェフリー エヌ・シェルトン
アメリカ合衆国 4 6 0 3 8 インディアナ州, フィッシャーズ, ヒッコリー ウッズ ドライブ
1 1 3 0 5

審査官 長谷 潮

- (56)参考文献 特開平 1 - 3 2 1 3 5 9 (J P , A)
特表平 7 - 5 0 6 2 5 7 (J P , A)
特開昭 6 2 - 1 2 9 7 5 9 (J P , A)
特開昭 5 3 - 8 4 7 6 0 (J P , A)
特表平 6 - 5 0 9 4 2 4 (J P , A)
特開昭 6 3 - 1 7 7 0 5 9 (J P , A)
特公昭 5 1 - 1 3 4 2 8 (J P , B 1)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

G01N 35/00-37/00
G01N 1/00- 1/44
G01N 33/48
G01N 33/49
G01N 27/28
G01N 27/327
B01D 43/00