

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-291786

(P2009-291786A)

(43) 公開日 平成21年12月17日(2009.12.17)

(51) Int.Cl.			F I	テーマコード (参考)		
B 0 1 J	19/00	(2006.01)	B 0 1 J	19/00	Z	4 D 0 7 1
B 0 3 B	13/00	(2006.01)	B 0 3 B	13/00		4 G 0 7 5
B 0 3 B	5/62	(2006.01)	B 0 3 B	5/62		

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2009-137185 (P2009-137185)
 (22) 出願日 平成21年6月8日(2009.6.8)
 (31) 優先権主張番号 12/157,367
 (32) 優先日 平成20年6月9日(2008.6.9)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 594035932
 ワイアット テクノロジー コーポレイション
 Wyatt Technology Corporation
 アメリカ合衆国、93117 カリフォルニア州、ゴレタ、ホリスター・アベニュー、6300
 (74) 代理人 100064746
 弁理士 深見 久郎
 (74) 代理人 100085132
 弁理士 森田 俊雄
 (74) 代理人 100083703
 弁理士 仲村 義平

最終頁に続く

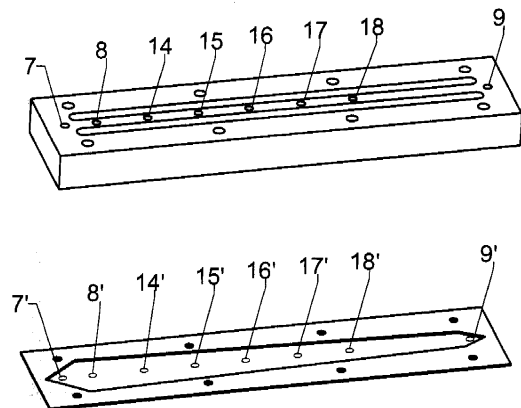
(54) 【発明の名称】 非対称流フィールドフローフラクシオネーションユニットによって分離された粒子のキャラクターリゼーションを改良する方法、および流体手段中に懸濁している粒子の試料を分画するための改

(57) 【要約】

【課題】新しいタイプの非対称流フィールドフロー分画装置、すなわちA4Fについて説明しており、この装置は、同じA4Fユニット内でさまざまな利用可能なチャンネル長を与えることによって、改良された試料分画手段を可能にする。

【解決手段】このような装置では、チャンネル長の関数としてこのような分画を行なうことによって試料を最適に分離できる。同じA4Fユニット内でチャンネル長を変更する能力はこれまで利用できなかった。

【選択図】 図4



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

非対称流フィールドフローフラクショネーションユニット、すなわち A 4 F によって分離された粒子のキャラクタリゼーションを改良する方法であって、A 4 F の構造は、

- i . ポートを含む上部プレートアセンブリと、
- ii . 底部プレートアセンブリから前記上部プレートアセンブリを切離す、1 つ以上のキャビティを含むスペーサと、
- iii . 粒子が入ることを防ぐ膜と、
- iv . 支持フリット構造と、
- v . 前記上部プレートアセンブリを強固に取付けることができ、それによって、前記膜と前記上部プレートとの間の前記キャビティを封止する底部プレートアセンブリとを備え、

前記方法は、

A . スペーサが複数のキャビティ構成の中に含むことができる状態でチャンネルを組立てるステップと、

B . キャラクタライズすべき前記粒子の懸濁液を作るステップと、

C . A 4 F チャンネル手段の第 1 のキャビティ構成に前記粒子のアリコート注入するステップと、

D . 前記第 1 のキャビティ構成によって、前記注入されたアリコートを分画するステップと、

E . 検出器手段によって、前記分画されたアリコートを測定するステップと、

F . 前記同じチャンネル構造内の対応する複数のさらなるキャビティ構成に前記粒子の複数のアリコートを連続的に注入するステップと、

G . 選択された対応する次のキャビティ構成によって、前記注入されたアリコートを各々連続的に分画するステップと、

H . 前記検出器手段によって、前記粒子の前記分画されたアリコートを連続的に測定するステップと、

I . 前記粒子のキャラクタリゼーションの改良をもたらすために、そのように測定されたすべてのアリコートから収集されたすべてのこのような測定値を組合せるステップとを備える、方法。

【請求項 2】

各々の前記さらなるキャビティ構成は、

A . ポート注入手段の組から前記上部プレートアセンブリにおける異なる注入ポートアパーチャを選択することによって作られ、前記ポート注入手段の組は、

a . 移動相を注入するための前記第 1 のキャビティ構成ポートアパーチャと、

b . 分画後の試料を検出器手段に運ぶための前記第 1 のキャビティ構成ポートアパーチャと、の間で列をなして利用可能であり、各々の前記さらなるキャビティ構成はさらに、

B . そこから選択されなかった、利用可能な前記組から、他のすべての注入ポート手段を封止することによって作られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

各々の前記さらなるキャビティ構成は、長さが異なるキャビティを含むスペーサと前記スペーサを置換えることによって作られ、前記置換えられたスペーサの前記キャビティは、同じ移動相ポートおよび試料注入ポートを共有するが、異なる分画済試料除去ポートに関連する異なる長さを有し、すべてのポートは、前記 A 4 F チャンネルの前記上部プレートアセンブリに位置し、その中の未使用のすべてのポートにはアクセスできない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

各々の前記さらなるキャビティ構成は、2 つ以上のキャビティを含むスペーサと前記スペーサを置換えることによって作られ、各々は、移動相ポート、試料注入ポートおよび試料除去ポートの個々の組を備え、このようなポートはすべて、前記 A 4 F チャンネルの前

10

20

30

40

50

記上部プレートアセンブリに位置し、その中の未使用のすべてのポートにはアクセスできない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記さらなるキャビティ構成のうちの一つ以上は、前記第 1 のキャビティ構成を有する同じスペース内の代替りのスペースキャビティに前記粒子の前記複数のアリコート注入することによって作られ、前記同じスペースは 2 つ以上のキャビティを含み、各々は、移動相ポート、試料注入ポートおよび試料除去ポートの個々の組を備え、このようなポートはすべて、前記 A 4 F チャンネルの前記上部プレートアセンブリに位置し、その中の未使用のすべてのポートにはアクセスできない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記上部プレートアセンブリは、このような上部プレートの組から選択され、上部プレートの各々は、前記スペース内の選択されたキャビティチャンネル構造に対応するように、移動相流入ポート、試料注入ポートおよび分画済試料流出ポートの異なる組を提供する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

流体手段中に懸濁している粒子の試料を分画するための改良された A 4 F ユニットであって、

- A . 多孔性フリットを組入れる底部プレート、
- B . 中に懸濁している前記粒子を運ぶ前記流体手段に対してのみ透過性がある膜、
- C . 一つ以上のキャビティが切込まれたスペース、および
- D . 関連するポート手段の組を含む上部プレートからなっており、前記上部プレートは

- 1 . 移動相流体を注入するためのポート手段と、
- 2 . 分画すべき前記粒子の試料を注入するための複数のポート手段とを各々の前記キャビティに提供し、前記注入ポート手段の各々は、前記移動相注入ポートから異なる距離のところに試料注入位置を提供し、前記上部プレートはさらに、
- 3 . 分画後の前記試料を検出器手段に運ぶための出口ポート手段を各々の前記キャビティに提供する、改良された A 4 F ユニット。

【請求項 8】

流体手段中に懸濁している粒子の試料を分画するための改良された A 4 F ユニットであって、

- A . 多孔性フリットを組入れる底部プレート、
- B . 中に懸濁している前記粒子を運ぶ前記流体手段に対してのみ透過性がある膜、
- C . 一つ以上のキャビティが切込まれたスペース、および
- D . 上部プレートの組からなっており、前記上部プレートの組は各々、

- 1 . 移動相流体を注入するためのポート手段と、
- 2 . 分画すべき前記粒子の試料を注入するためのポート手段と、
- 3 . 分画後の前記試料を検出器手段に運ぶための出口ポート手段とを含み、

それによって、前記ユニット構造は、分画手段のために選択された前記スペースに切込まれた前記キャビティに対応する前記上部プレートの組の部材を選択することによって完成する、改良された A 4 F ユニット。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

背景

高分子、ウイルス様粒子、バクテリア、またはコロイドなどの小さな粒子を分離する必要性が、粒子の質量またはサイズの点でのキャラクタリゼーションおよびそれらの分布の判断の準備として、重要な課題になっている。最近では、このような粒子を分離できる最も成功した手段のうちの一つは、非対称流フィールドフローフラクシオネーション、略して A s F F F F または A 4 F によるものである。この装置は、J . カルビン・ギディング

10

20

30

40

50

ズ (J. Calvin Giddings) によってサイエンス (Science) 第 260 巻、第 1456 ~ 1465 頁の彼の 1993 年の論文に記載された以前のクロスフロー型 FFF 装置を变形させたものである。A4F 変形例は、その発明者であるカール・グスタフ・ウォーランド (Carl-Gustav Wahlund) によって、アナリティカル・ケミストリ (Analytical Chemistry) 第 59 巻、第 1332 ~ 39 頁の彼の 1987 年の論文「透過性の壁を 1 つ有する非対称流フィールドフローフラクションチャンネルの特性 (Properties of an asymmetrical flow field-flow fractionation channel having one permeable wall)」に、J. カルビン・ギディングズとともに記載されている。

【0002】

A4F ユニットは、要素を結び付けるための手段とともに、以下の要素からなっている。以下の要素とは、1) 通常は焼結ステンレス鋼粒子でできた、液体透過性フリットを保持する底部アセンブリ構造、2) フリットの上に横たわる透過性膜、3) キャビティを含む、厚みが約 75 ~ 800 μm のスペーサ、4) レキサン (登録商標) またはガラスなどの材料からなる透明なプレートを一般的には保持する上部アセンブリ構造である。結果として生じるサンドイッチ構造は、ボルトまたは他の手段で結び付けられる。スペーサにおける棺形状のキャビティは、分離が生じるチャンネルの働きをする。上部アセンブリ構造は、概して透明なプレートを貫通する、ポートと呼ばれる 3 つの孔を含み、これらの孔はチャンネルの上部で中心に位置決めされ、これらの孔によってそこに取付具を取付けることができる。これらのポートは、1) チャンネルの始まり付近に位置し、キャリア液体、いわゆる移動相を送り出す移動相入口ポート、2) 分離すべき試料のアリコートがチャンネルに導入する、入口ポートに近接しかつ入口ポートの下流にある試料ポート、および 3) 分画されたアリコートがチャンネルを出る出口ポートである。

【0003】

A4F チャンネルは、サイズ範囲が数ナノメートルから数十マイクロメートルに亘る、上記のさまざまな種類の粒子を分離するために用いられる。このような粒子からなる試料アリコートの分離は、ひいては、棺形状のキャビティの長さ、幅および厚みに依存する。加えて、試料アリコートの分離は、チャンネルフロー量、チャンネルフローに対するクロスフローの割合、温度、液体粘度、pH、イオン性、粒子自体の物理的組成、およびフリットの上に横たわる透過性膜のタイプに依存する。チャンネルフローとクロスフローとの割合の時間変化を好適にプログラムすることによって、異なる粒子種類の分離を大幅に改良することができる。多くの場合、注入された試料アリコートに存在する広範囲の粒子サイズを同じ操作の中で分離することができる。実際、分離すべき粒子の各種類について、アクセス可能なそれらの変数を実験的に変更することによって、最適な分離を進展させることができる。従来のチャンネルについて変更できない唯一の変数は、チャンネル長である。

【0004】

歴史的に見て、A4F のチャンネル長は約 25 ~ 30 cm であり、最大幅は約 1 ~ 3 cm であり、その長さに沿って先細りになっており、出口ポートの幅に匹敵する幅で終了するようなものであった。最近の研究は、長さがより短いチャンネルが特定のメリットを提供するであろうと示唆しており、これに基づいて、全く新しい構造が開発され、より短い A4F ユニットに組み入れられた。しかしながら、単一のチャンネルを選択するにあたって、影響を及ぼす上記の変数をすべてテストし得ない限り、特定の種類の粒子をよりよく分離する可能性を完璧に研究することはできない。したがって、固定チャンネルを用いて各種種類の粒子の分離に対する流量の影響を容易にテストするが、現在のチャンネル構成の伝統は、長さを変更することを考慮に入れていない。現在のチャンネル構成の伝統では、3 つのポートの位置を同じにした状態でチャンネル幅および膜厚を変更できる。利用できるチャンネル長が 1 つだけである場合、いくつかの疑問が生じる。利用可能な固定長装置のいずれかがもたらす分離よりも優れた分離をもたらす長さは存在するのか？ 等価の分離をもたらすがより小さな試料アリコートサイズを必要とする最適な長さは存在するのか？ 調査される試料のより優れたキャラクタリゼーションをもたらすために、同じ試料につい

10

20

30

40

50

ていくつかの異なる長さから得られた結果を組合せてもよいのか？各試料タイプの最適な分離は、関連する最良のチャンネル長を有するのか？

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】サイエンス (Science) 第260巻、第1456～1465頁

【非特許文献2】アナリティカル・ケミストリ (Analytical Chemistry) 第59巻、第1332～39頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

この発明の基本的な目的は、これらの疑問に答えることができる装置および方法を提供することである。分離は多くのパラメータに依存し、そのパラメータのうちのいくつかはソフトウェアおよびシステムオペレータによって制御される。しかしながら、この発明までは、1つのパラメータ、すなわちチャンネル長を変更できなかった。したがって、この発明のさらなる目的は、同じチャンネル構造内で異なるチャンネル長を利用しやすくすることによってより広範囲に亘って試料をキャラクタライズできる、より大きな分離の柔軟性を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0007】

発明の簡単な説明

A4Fユニットの概して透明な上部プレート要素の新しい形態について説明し、この新しい形態によって、さまざまなチャンネル長および形状を与えるスペーサを用いることができる。この発明の上部プレートの形態は、入口ポート、試料注入ポートおよび出口ポートに対して1組の3つの位置を提供するのではなく、複数の試料注入ポートおよび出口ポートの位置を提供することを含む。所与の分離は、試料注入ポートから、分画された試料アリコートがチャンネルを出る出口ポートまでの距離、すなわち、チャンネルフローおよびクロスフローの複合作用によってアリコートが分画されているチャンネルの領域に大きく依存する。したがって、チャンネルが1つである場合、出口ポートに近づいた、試料を注入するための試料注入ポートを選択することによって、チャンネルの有効長が短くなる。他の構造要素はすべて同じままである。代替的に、スペーサ自体を、より短いチャンネルを有するスペーサと置換えてもよい。この修正例では、当初の試料注入ポートは同じままであるが、当初の試料注入ポートに近づいた、分画済試料出口ポートは、新しい有効なチャンネルのための適切な位置に基づいて用いられるであろう。したがって、より短いスペーサチャンネルを用いて、試料注入ポートに近づいた出口ポートを選択することによって、チャンネル分離長は短くなるであろう。必要になるまで、複数の未使用のポートアパーチャは、封止されたまままたは塞がったままである。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】先行技術のA4F構造要素を示す図である。

【図2】2つの異なるチャンネル長を用いた分画の差を示す図である。

【図3】チャンネルフローが一定に保たれた分離に対するクロスフロー変更の影響を示す図である。

【図4】この発明の上部プレートの実施例を示す図である。

【図5】この発明とともに用いられる、各々が異なるチャンネルを有するスペーサの組を示す図である。

【図6】2つのチャンネルとともに用いられる上部プレートおよび対応するスペーサを示す図である。

【図7】ユーザによって選択可能なチャンネル構造のさらなる柔軟性を可能にする、複数のポートが中に配置されたこの発明の上部プレートの別の実施例を示す図である。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0009】

発明の詳細な説明

図1は、非対称流フィールドフローフラクシオネーションユニットおよびその構成要素の伝統的な構造を示す。典型的なユニットは、上部プレート1を保持する上部プレートアセンブリ10と、多孔性フリット構造3を含む底部プレート2と、流体のうちのいくらかが流れ得る膜4と、先細りチャンネル6が切り抜かれたスペーサ5と、移動相の挿入のための入口ポート7と、分画すべき試料アリコートを導入する試料注入ポート8と、分画された試料および移動相が1つ以上の検出装置に入る前にこの構造を出る出口ポート9と、装置に対して十分なフローおよび制御を供給するための種々のポンプおよびコントローラと、からなっている。上部プレートアセンブリ10は、一般的に、ボルト11によって底部プレート2に固定される。上部プレート1は概して透明であるため、必要であれば試料分画中にチャンネル6が観察される。上部プレート1はまた、一般的にポート7、8および9を含む。出口ポート9を通るフローは、膜4を出るフローを制限することによって生じる。したがって、移動相入口フローがたとえば毎分2mlであり、膜を通るフローが0.5ml/分に制限されると、出口フローは1.5ml/分になるであろう。

10

【0010】

粒子は、一旦A4Fユニットによって分離されると、一般的にはそれに応答してさまざまな種類の検出機器によって調査される。これらは、光散乱光度計、UV吸収計、示差屈折率検出器、および示差粘度計を含み得る。このような装置は、モル質量、固有の粘度測定法、サイズなどの点で、分離された粒子/分子をキャラクタライズするために用いられる。

20

【0011】

このようなチャンネルのいわゆる分画力F、すなわち、さまざまなサイズの粒子をチャンネルが分離する能力は、以下の関係によって表わしてもよい。

【0012】

【数1】

$$F = S \left(\frac{w}{384bLD} \right) \left(\frac{V_{cross}^{3/2}}{V_{channel}^{1/2}} \right), \quad (1)$$

30

【0013】

ここで、Sはいわゆる選択定数であり、 V_{cross} はチャンネルクロスフロー量であり、 $V_{channel}$ はチャンネル縦方向フロー量であり、bはチャンネル幅であり、Lはチャンネル長であり、wはチャンネルの厚みであり、Dはアインシュタイン-ストークス方程式によって粒子の流体力学半径 R_h に関係付けられる粒子拡散係数である。粒子の流体力学半径 R_h は、すなわち以下のとおりである。

【0014】

【数2】

$$R_h = \frac{k_b T}{6\pi\eta D}, \quad (2)$$

40

【0015】

ここで、 η は絶対温度Tでの溶液粘度であり、 k_b はボルツマン定数である。

上の式(1)から、チャンネル長が減少すると試料の分離が改良する可能性があるようにあることに気づく。しかしながら、チャンネルが粒子を保有する能力は、チャンネルによって規定される膜のエリア、すなわち、スペーサのキャピティによって規定される膜領域、の単位面積当りのクロスフローに依存する。単位面積当りのクロスフローがおおよそ V_{cross}/bL であるので、式(1)は以下のとおりになる。

【0016】

50

【数 3】

$$F = S \frac{w \xi}{384D} \sqrt{\frac{V_{cross}}{V_{channel}}} \quad (3)$$

【0017】

【数 4】

図2は、チャンネル長が25cmの標準的なチャンネルによる分離12とチャンネル長が18cmのより短いチャンネルによる分離13との比較を示す。これらのキャピティが切込まれたスペーサは同じ厚みを有しており、490 μ mであった。加えて、クロスフローは、対応する縦方向フロー量とは僅かに異なっていた。標準的なキャピティおよび短いキャピティに関して、対応するチャンネルフローおよびクロスフローは、それぞれ、(1, 3.0) ml/分および(0.5, 2.0) ml/分であった。したがって、関連する ξ の値は、それぞれ、3/(bL₁)および2/(bL₂)であった。標準

10

的なチャンネルおよびより小さなチャンネルについての項 $\sqrt{\frac{V_{cross}}{V_{channel}}}$ の対応する割合

は、それぞれ、1.73および2.00であった。式(3)から、標準的なチャンネルに対する短いチャンネルの分画力の割合は1.07に過ぎない。この係数は、無視できるほどの7%の強化された分画に対応する。それにも拘らず、同量の注入された試料について、より短いチャンネルは、対応して希釈度がより小さいことで、より急なピークを発生させた。なぜなら、示される例では、短いチャンネルのチャンネルフローはより長いチャンネルのチャンネルフローの半分に過ぎなかったためである。2つの流量を調整する柔軟性のために、選択された流量を用いて2つのチャンネルを比較することによって、より短い長さについて、定量的に改良された分画力が生じることはない。実際、選択された2つの長さについて、より長いチャンネルのためにクロスフローを僅かに修正しても、関連する分画力の差は発生しなかったであろう。しかしながら、以下の表に示される、2つの異なる長さを有するチャンネルによって生み出された結果を比較する以下の研究を考慮されたい。

20

【0018】

【表 1】

30

特 徴	標準的なチャンネル (25cm)	より短いチャンネル (18cm)
所要時間	56分	31分
溶離剤の容量/操作	159mL	70mL
注入された試料のサイズ	20 μ g	2.5-10 μ g

表 1:標準的な 25cm のチャンネルとより短い 18cm のチャンネルとの比較

【0019】

40

この結果の供給源であった分子のタイプは、図2のデータをもたらすものとはかなり異なっていた。しかしながら、より短いチャンネルが同じ品質の分離を達成したようであるが、その分離はより高速であり、必要な試料がより少なかったことに注目することが重要である。

【0020】

図2から、二量体およびより高いオリゴマー分画から生じるピークはより早く溶離していることがわかり、これは表1の観察結果の別の確証である。したがって、チャンネル長の関数として分画を調査することによって特定の試料を分析する能力は、任意のA4Fシステムの非常に重要な特徴であろう。現在のところ、チャンネルが1つだけの構造の実験が可能であり、実際的な見地から、最適な分離をもたらすチャンネル長の判断は、チャン

50

ネルを含む別個のユニットを用いることによるのみ達成でき、チャンネルを含む別個のユニットは各々、固定長に基づく。この発明の時点で、対応して異なるチャンネル長を有する、異なるチャンネルが2つだけの構造が利用可能であり、それらのチャンネル構造からのデータは、上の表1のデータと類似していた。図2のより短いチャンネルのデータ13はより長いチャンネルのデータ12を超える可能な改良を示唆しているが、13をより綿密に調査すると、オリゴマー状態では、ピークは基線分解されるようには見えない。ピーク間の最小値は、溶離が増大するにつれて、基線からの逸脱を増大させる。分離および分解能への、チャンネル長の関数依存性の推定値はいずれも、提示されたデータには明らかに存在しない。2つだけのチャンネル長の値および比較的粗のA4F理論では、流量などの他のパラメータの変更を伴ってまたは変更を伴わずにチャンネル長を変化させることの重要性は、答の見つからない疑問のままである。

【0021】

【数5】

図3は、たとえば、チャンネル縦方向フロー量が60ml/時に一定に保たれるときの、公称直径が50nmのポリスチレンラテックス球の試料に対するクロスフロー変更の影響を示す。測定された二乗平均平方根半径は $\langle r_g^2 \rangle^{1/2} = r_g$ であり、これは関係 $r_g = \sqrt{3/5}a$ によって粒子の流体力学半径aに比例する。40ml/時、60ml/時および80ml/時の3つのクロスフロー量について、溶離は同じサイズ範囲に亘って事実上等しい。40ml/時のクロスフローで生じる最も急速な溶離から導き出されるサイズ分布は、単に粒子サイズの計算のために間隔が選択されるという理由から、初期の溶離において切り捨てられるようである。何らかの理由で、実際の計算のために選択された範囲は、この最も低いクロスセクションではより小さかった。40ml/時の最低クロスフローに対応してよりゆっくりと溶離する試料は、より大きなサイズの粒子を含む小さなピーク部分が存在することの現れである。これは恐らく、膜上に保有されかつクロスフロー量が0に設定されて初めて放出される粒子に対応していたであろう。クロスフローのよりよい選択肢を示唆するものはないが、試料が2つ以上のサイズを含んでいたときに類似の結果が見られること、すなわち、より長い期間に亘る分画の重要性は、興味深いことであっただろう。長さが異なるチャンネルを用いた類似の比較は完全に欠落している。

【0022】

チャンネル長の変更の影響を詳細に調査できる手段がなかったので、2つの市販の構造の結果だけを用いて、このような結果を調査した。ここで、図4に示される構造を考慮されたい。ここでは、複数のさらなる試料注入ポートが含まれる以外は、図1の構造と同一のチャンネル構造であることが分かる。可能な1組のこのようなさらなるポートは、それぞれ、印14、15、16、17および18をふるることによって示されている。このようなポートの実際の数およびチャンネルの長さに沿ったそれらの位置は変化し得る。出口ポート9からの各々のこれらの試料注入ポートの距離は、チャンネルの有効分画長、すなわち、チャンネルを出る前に試料を分画し得る距離に対応する。したがって、各々のこのような注入ポートに対応して、対応する試料注入および試料フォーカシングは、その後の伝統的な分離を開始させる。同一の試料アリコートを経率的に注入するためある範囲の注入ポートを選択することによってある範囲のチャンネル長に亘って同じ試料を分離することで、そのように研究された各試料について最適なチャンネル長を判断できる。特定の注入中に使用されない試料注入ポートは、一時的に塞がれる場合もあれば、外付けの弁および管によって制御される場合もある。したがって、複数ポート試料注入弁は、各注入ポートが対応する位置を有し、すべてのポートが直ちに接続され、一度に1つのポートだけが作動するように構成されてもよい。長さ、チャンネルフロー量およびクロスフロー量の関数としてのチャンネル挙動の測定は、一旦自動化されると、容易に行なうことができる。

【0023】

10

20

30

40

50

上述の可能な実験のタイプは、現在の市販のA4Fユニット構造がすべて、与えられるチャンネル長についてしっかりした根拠を持っていないことを強く示唆している。利用できる選択肢はなく、なぜベンダーが指定するチャンネルでのみ用いられるようにA4Fユニットが作られてきたかを示唆するデータは不足している。特定のチャンネル長に関連する分離のメリットについてなされてきた研究はあまりにも少ない。当然ながら、流量、スペーサの厚みおよびスペーサの形状の変更の影響を実証する、図3に示されるような多くの研究がある。しかしながら、この発明までは、チャンネル長の影響は研究対象ではなかった。最適な長さを各々の別個の試料タイプに関連付けることが可能であり得る。このような研究は大幅に遅れている。

【0024】

図4によって示される実施例はチャンネル長の影響のさらなる探求および研究を可能にするであろうが、一定のチャンネルの形状を維持しながらのチャンネル長の影響の調査が重要であることが判明し得る。図4の実施例は、選択された注入ポートから出口ポートまで同じチャンネルの形状を利用する。伝統的には、移動相入口ポートと試料注入ポートとの間の領域は、先細り形状を備えている。図4に示されるようなこの発明の異なる試料注入ポートを用いることによって、この遷移キャビティの形状は不要となる。このような注入前形状についてのコメントまたは研究はこの文献では殆ど見ることができないが、その後の分離に影響を及ぼすことは予想されない。このような研究に役立つこの発明の別の実施例が、図5に示される。この実施例の場合、選択された長さごとに、A4Fユニットを開けて、スペーサを交換しなければならないが、類似したチャンネルの形状が、さまざまな選択された長さにも用いられ得る。

【0025】

図5に示される上部プレートは、移動相注入ポート7と試料注入ポート8とを有する上部プレート構造を示す。加えて、1組の流出ポート19、20、21、22、23および24がある。同じ入口ポート7および試料注入ポート8を共有するチャンネルを有するスペーサが、各々のこのような出口ポートに対応しているであろう。したがって、25と表記されるスペーサは、出口ポート24に対応して切り抜かれたキャビティを有し、26と表記されるスペーサは、出口ポート21に対応して切り抜かれたキャビティを有する、などであろう。関連するチャンネル長が存在するであろうこのような出口ポートの数は図5では6個であるように示されているが、この数およびポート間の距離の増分はより多い場合もあれば、より少ない場合もある。

【0026】

上部プレートの柔軟性およびそこに位置するさまざまなポートの位置の可能性が、図4および図5の例によって示されてきた。このような多くのポートの位置を収容するために上部プレートの使用を拡大させる能力について、本明細書において明らかに説明してきた。別の単純な修正例が図6に示され、図6では、単一のスペーサが2つ以上の別個のキャビティを提供できるように上部プレートにはポートが取り付けられている。この単純な例の場合、上部プレートには、2組の移動相入口ポート7と、対応する2組の試料注入ポート8とが付いている。スペーサは2つの対応する出口ポート9を有するが、2つのキャビティ27および28の長さおよび形状は異なってもよい。キャビティは同じコントローラユニットに接続されてもよく、適切な複数弁構造によって、このようなチャンネルは順次的に切換えられ、用いられてもよいことに注目されたい。同じスペーサ内にさらなる能動的キャビティを可能にするのに必要なさまざまなポートを含むようにA4Fチャンネルの上部プレートを修正することにはさらなるメリットがある。さらなるメリットとは、このような分離に必要な最も高価な使い捨て品である膜の有用性が大きく高められ得ることである。チャンネル構造の現在の構成では、結果的に、膜表面積のうち僅かな部分しか用いられない。同じスペーサ内に2つ以上のチャンネルを配置できるように伝統的なチャンネルの位置を変化させることによって、膜はより有効に用いられ、動作コストは劇的に低減される。

【0027】

10

20

30

40

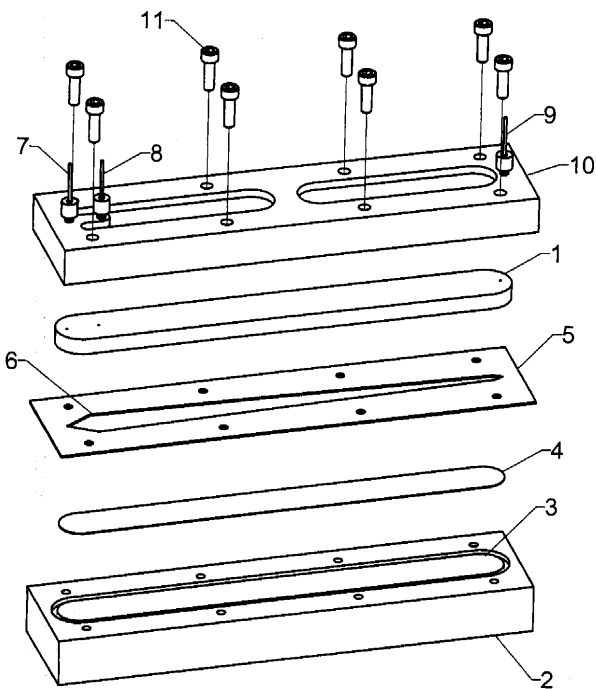
50

図4または図5に記載される発明態様に類似した実現例を可能にするために各チャンネルについて十分なさらなるポートを追加することによって、さらに大きな多用性がこの複数チャンネルの実現例に与えられ得る。整然と並んだポートが上部プレートのアクセス可能な表面全体に亘って延びているこの実施例の一例が、図7に示される。「アクセス可能な」というのは、このようなアパーチャの直下の領域が、キャビティが切込まれ得るスペーサまたはその一部を含んでいなければならない、透過性フリット構造によって支持された膜をその下で露出させていることを意味している。これらの発明要素の重要性はいくら強調しても過ぎることではない。これらの発明要素によって、A4F技術に対してより大きな柔軟性がもたらされるだけでなく、高価な膜要素をより活用することができる。最も重要なことであるが、これらの発明要素は、分子および/または粒子の各種類についての最適な分離条件を導き出す能力を大幅に拡大させる。

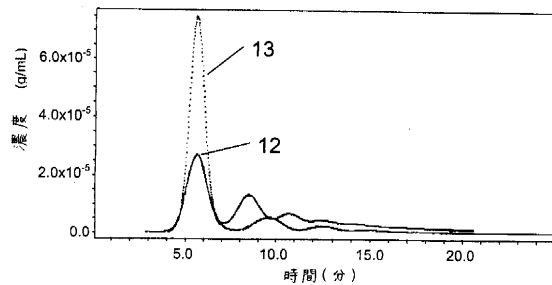
【0028】

粒子分離およびフィールドフローフラクショネーションの当業者に明らかであるように、実行のために列挙した基本的要素から逸脱しない、我々が発明しかつ記載した多用途のチャンネルの実現例および適用例の多くの明らかな変形例が存在するが、すべてのこのような変形例は、前に記載した我々の発明の明らかな実現例であり、後に続く特許請求の範囲を参照することによって包含される。

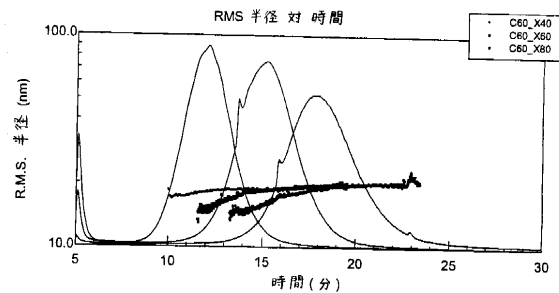
【図1】



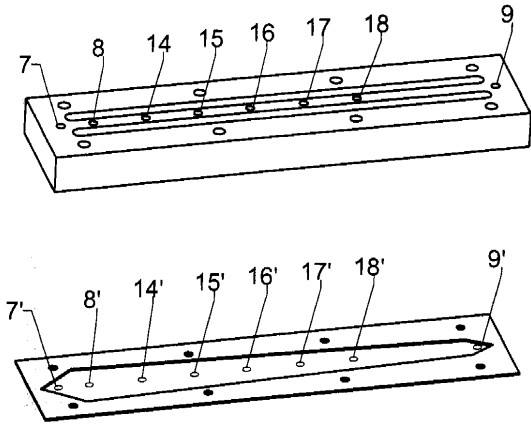
【図2】



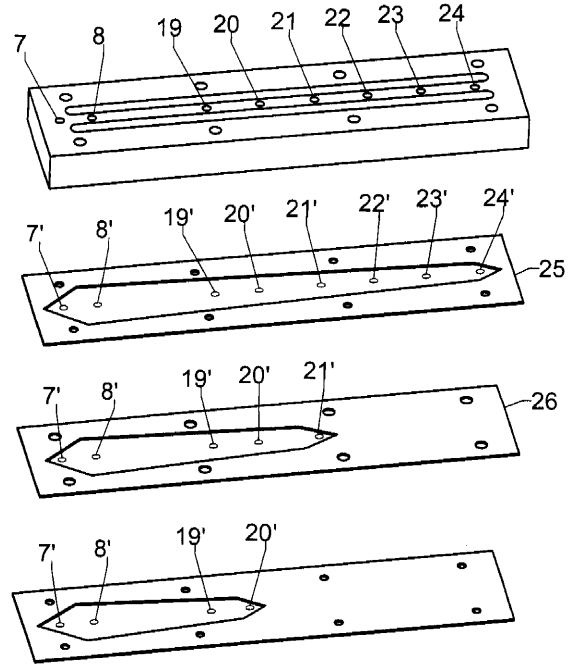
【図3】



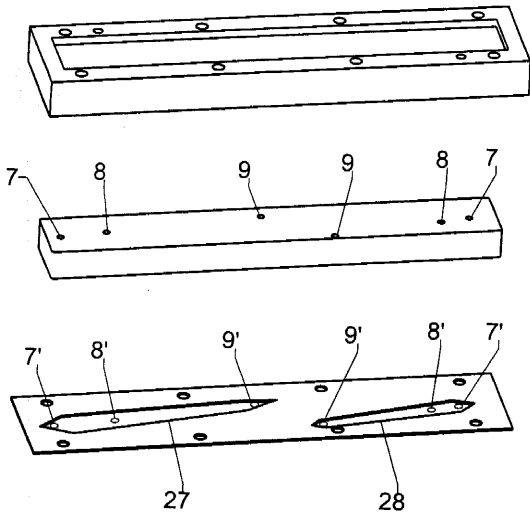
【 図 4 】



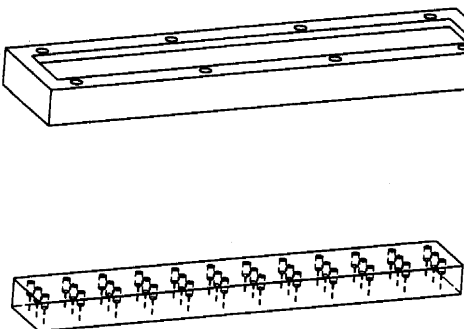
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



フロントページの続き

(74)代理人 100096781

弁理士 堀井 豊

(74)代理人 100109162

弁理士 酒井 将行

(74)代理人 100111246

弁理士 荒川 伸夫

(74)代理人 100124523

弁理士 佐々木 真人

(72)発明者 フィリップ・ジェイ・ワイアット

アメリカ合衆国、9 3 1 0 5 カリフォルニア州、サンタ・バーバラ、ラス・カノアス、1 6 7 5

(72)発明者 ミシェル・エイチ・チェン

アメリカ合衆国、9 3 1 1 7 カリフォルニア州、ゴレタ、シエロ・アベニュー、5 6 3 5

(72)発明者 デイビッド・エヌ・ビリアルバンド

アメリカ合衆国、9 3 4 3 6 カリフォルニア州、ロンポック、グレン・エレン・レーン、1 4 2
4

Fターム(参考) 4D071 AA62 AA90 AB04 BB13 CA05 DA20

4G075 AA27 BB05 BB10 BD05 DA02 EB21 EC25 FA01

(54)【発明の名称】非対称流フィールドフローフラクシオネーションユニットによって分離された粒子のキャラクターリゼーションを改良する方法、および流体手段中に懸濁している粒子の試料を分画するための改良されたA 4 Fユニット