

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第1部門第1区分
 【発行日】平成21年5月21日(2009.5.21)

【公表番号】特表2008-538283(P2008-538283A)
 【公表日】平成20年10月23日(2008.10.23)
 【年通号数】公開・登録公報2008-042
 【出願番号】特願2008-505514(P2008-505514)
 【国際特許分類】

C 1 2 M 1/00 (2006.01)
 C 1 2 M 1/26 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/04 (2006.01)
 C 1 2 N 5/06 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/68 (2006.01)
 G 0 1 N 37/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 M 1/00 A
 C 1 2 M 1/26
 C 1 2 Q 1/04
 C 1 2 N 5/00 E
 C 1 2 Q 1/68
 G 0 1 N 37/00 1 0 1

【手続補正書】
 【提出日】平成21年4月6日(2009.4.6)
 【手続補正1】
 【補正対象書類名】特許請求の範囲
 【補正対象項目名】全文
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】
 【請求項1】

第1および第2の外部領域が流路内において平行に配列され、セクションにおいて臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の方向に、および該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する粒子を第2の方向に確定的に誘導する構造をそれぞれが含む、第1および第2の外部領域を含む第1のセクションを含む流路を含む複式デバイス。

【請求項2】

(i)各セクションが、第1および第2の縁を有する構造を含み、該セクションにおいて、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の方向に、および該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する粒子を第2の方向に該構造が確定的に誘導する、直列に配置された第1および第2のセクション；ならびに
 (ii)流体排出が第2のセクションを通過しない、第1のセクションの第1または第2の縁から流体排出を受けるように配置された第1のバイパス流路を含む、マルチステージ型デバイス。

【請求項3】

各流路が、流入口、流出口、および該流路内において、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の方向に、および該臨界サイズに満たないサイズを有する粒子を第2の方向に確定的に誘導する構造を含む複数の流路を含む、多重型デバイス。

【請求項4】

ネットワーク内において、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する細胞が該ネッ

トワーク内において側方に動かされ、および該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する細胞が側方に動かされないように、ギャップを通過する血液中の流体がメジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられる、10~30 μ mの実質的に一定の幅のギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイス。

【請求項5】

体液に由来する臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する細胞がネットワーク内において側方に動かされ、および体液に由来する該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する細胞が該ネットワーク内において側方に動かされないように、ギャップを通過する流体がメジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられる、実質的に一定の幅のギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイス。

【請求項6】

構造が、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の縁の方向へ確定的に偏向させ、第1の縁または第2の縁が、流れ-抽出境界または流れ-供給境界を含む、第1およびセクションの縁を有する構造を含む流路を含むデバイス。

【請求項7】

第1の血液成分を第1の方向に、および第2の血液成分を第2の方向に確定的に偏向させるように配置された分離領域を含む流路を含むデバイス。

【請求項8】

各セクションが、第1および第2の縁を有する構造を含む流路を含み、該構造が、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の縁の方向へ確定的に偏向させ、第1のセクションと第2のセクションとの間の境界が、流体の流れの方向に対して垂直ではない、直列に配置された第1および第2のセクションを含む流路を含むデバイス。

【請求項9】

第1の行内においてギャップを通過する流体が、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子がネットワーク内において側方に動かされ、および該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する粒子が該ネットワーク内において側方に動かされないように、メジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられるように、第2の行が第1の行に対して側方に動かされ、分岐比が最大で1/2である、第1および第2の行を含む障害物のアレイを含む流路を含むデバイス。

【請求項10】

臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子がネットワーク内において側方に動かされ、ならびに該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する粒子が該ネットワーク内において側方に動かされないように、ギャップを通過する流体がメジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられ、第1および第2の流入口がアレイより大きい流体抵抗を有する、第1および第2の流入口、ならびにギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイス。

【請求項11】

ギャップを通過する流体が、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子がネットワーク内において側方に動かされ、ならびに該臨界サイズに満たない流体力学的サイズを有する粒子が、該ネットワーク内において側方に動かされないように、メジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられ、第1および第2の流出口がアレイより大きな流体抵抗を有する、ギャップのネットワークを形成する障害物のアレイの下流に、第1および第2の流出口を含む流路を含むデバイス。

【請求項12】

構造が、臨界サイズを上回る流体力学的サイズを有する粒子を第1の縁の方向へ確定的に偏向させ、第1の縁または第2の縁が、第1または第2の流路の壁から少なくとも臨界サイズを隔てて配置される、第1の流路壁に隣接する第1の縁、および第2の流路壁に隣接するセクションの縁を有する構造を含む流路を含むデバイス。

【請求項13】

以下の段階を含む、第1の生物学的粒子が濃縮された試料を生成する方法：

(a) 生物学的試料を、請求項1記載のデバイスの第1または第2の外部領域に導入する段階；および

(b) 該生物学的試料中に存在する任意の該第1の生物学的粒子が第1または第2の方向に誘導されることで、該第1の生物学的粒子が濃縮された該試料が生成される、該生物学的試料を該デバイスに流すことを可能とする段階。

【請求項14】

以下の段階を含む、第1の生物学的粒子が濃縮された試料を生成する方法：

(a) 生物学的試料を、請求項2記載のデバイスの第1のセクション内に導入する段階；および

(b) 該生物学的試料中に存在する任意の該第1の生物学的粒子が、該第1のセクションの第1または第2の方向に誘導されることで、該第1の生物学的粒子が濃縮された該試料が生成される、該生物学的試料を該デバイスに流すことを可能とする段階。

【請求項15】

以下の段階を含む、第1の生物学的粒子が濃縮された試料を生成する方法：

(a) 生物学的試料を、請求項3記載のデバイスの各流路の流入口内に導入する段階；および

(b) 該生物学的試料中に存在する任意の該第1の生物学的粒子が、第1または第2の方向に誘導されることで、該生物学的粒子が濃縮された該試料が生成する、該生物学的試料が該デバイスに流れることを可能とする段階。

【請求項16】

以下の段階を含む、第1の生物学的粒子が濃縮された試料を生成する方法：

(a) 生物学的試料を、請求項4記載のデバイス内に導入する段階；および

(b) 該生物学的試料中に存在する任意の該第1の生物学的粒子が第1または第2の方向に誘導されることで、該第1の生物学的粒子が濃縮された該試料が生成される、該生物学的試料が、ギャップのネットワークを流れることを可能とする段階。

【請求項17】

以下の段階を含む、第1の生物学的粒子を改変する方法：

(a) アレイが、流体の流れの方向に平行な第1および第2の縁を有し、ならびにギャップを通過する流体が、メジャーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向へ向かい、およびマイナーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向へ向かわないように、メジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられる、第1の流入口、第2の流入口、第1の流出口、第2の流出口、およびギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイスを提供する段階；

(b) 生物学的試料を該第1の流入口に導入し、および改変途上の液体を該第2の流入口に導入する段階；ならびに

(c) 細胞試料中に存在する任意の該第1の生物学的粒子が、該メジャーフラックス中に、および該改変途上の液体中に誘導されることで、該第1の生物学的粒子が改変される、該生物学的試料を該ギャップのネットワークに流すことを可能とする段階。

【請求項18】

以下の段階を含む、第1の細胞またはこの成分の、濃縮された活性化されていない試料を生成する方法：

(a) アレイが、流体の流れの方向に平行な第1および第2の縁を有し、ならびにギャップを通過する流体が、メジャーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向に向かい、およびマイナーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向に向かわないように、メジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられる、ギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイスを提供する段階；

(b) 細胞試料を該アレイ内に導入する段階；ならびに

(c) 該細胞試料中に存在する任意の該第1の細胞またはこの成分が該メジャーフラックス中に誘導され、ならびに該第1の細胞またはこの成分の10%未満が、該第1の細胞またはこの成分と該障害物の1つとの衝突の結果として細胞内活性化を受けることで、該第1の細胞またはこの成分の、該濃縮された活性化されていない試料が生成される、該細胞試料を該ギ

チップのネットワークに流すことを可能とする段階。

【請求項 19】

以下の段階を含む、第1の粒子が濃縮された試料を生成する方法：

- (a) アレイが、流体の流れの方向に平行な第1および第2の縁を有し、およびギャップを通過する流体が、メジャーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向へ向かい、およびマイナーフラックスの平均的な方向が第1の縁の方向へ向かわないように、メジャーフラックスとマイナーフラックスに不均等に分けられる、ギャップのネットワークを形成する障害物のアレイを含む流路を含むデバイスを提供する段階；
- (b) 容積比で少なくとも0.1%の粒子を含む試料を該アレイ内に導入する段階；ならびに
- (c) 該試料中に存在する任意の該第1の粒子が、該メジャーフラックス中に誘導されることで、該第1の粒子が濃縮された該試料が生成される、該試料を該ギャップのネットワークに流すことを可能とする段階。

【請求項 20】

以下の段階を含む、第1の血液成分が濃縮された試料を生成する方法：

- (a) 請求項7記載のデバイスを提供する段階；
- (b) 血液を含む試料をアレイ内に導入する段階；および
- (c) 該第1の血液成分が第2の血液成分から確定的に分離されることで、該第1の血液成分が濃縮された該試料が生成されるように、該試料を該デバイスに流すことを可能とする段階。

【請求項 21】

以下の段階を含む、対象細胞から細胞成分を回収する方法：

- (a) 対象細胞を含む試料を処理して、対象細胞が濃縮された試料を生成する段階；
- (b) 細胞成分またはこの対応物を含む他の細胞より、濃縮試料中の対象細胞を優先的に溶解させる段階；および
- (c) 溶解した対象細胞から細胞成分を回収する段階。

【請求項 22】

以下の段階を含む、血液試料中の循環性細胞から遺伝情報を得る方法：

- (a) 該血液試料を処理して除核赤血球および血小板を実質的に除去して、濃縮された有核細胞試料を生成する段階；
- (b) 他の有核細胞より、対象有核細胞を優先的に溶解させる段階；
- (c) 溶解した対象細胞の細胞成分を含む核酸を回収する段階；ならびに
- (d) 回収された細胞成分中の核酸を解析することで、対象細胞から遺伝情報を得る段階。

【請求項 23】

- (a) 第1のリザーバー、該第1のリザーバーと流体連絡する第1の流入口、および該第1のリザーバーと流体連絡する第1の疎水性ペント；ならびに
- (b) 該第1のリザーバーおよび流出口が、マイクロ流体デバイスが係合されている時には流体連絡状態であり、および該マイクロ流体デバイスが係合されていない時には流体連絡状態ではなく、マニホールドが、試料の第2の成分に対して、試料中の第1の粒子の濃縮を可能とするマイクロ流体デバイスと係合するように、サイズ、形状、変形性、または親和性を基に形成され、およびサイズが決定される流出口を含むマニホールド。

【請求項 24】

以下の段階を含む、試料中において第2の成分に対して第1の粒子を濃縮する方法：

- (a) 該試料を、第1の流入口を介して、請求項23記載のマイクロ流体デバイスと係合されたマニホールド中に導入する段階であって、ここで該試料が第1のリザーバーを少なくとも部分的に満たす段階；および
- (b) 該試料を、該マイクロ流体デバイスを通過させて、該第1の粒子を該第2の成分に対して、サイズ、形状、変形性、または親和性を基に濃縮することを可能とする段階。

【請求項 25】

以下の段階を含む、液体をマニホールド中に導入する方法：

- (a) マイクロ流体デバイスをさらに含む、請求項23記載のマニホールドを提供する段階であって、該マニホールドおよびデバイスが液体で満たされていない段階；
- (b) 液体を第1の流入口を介してマニホールド中に導入する段階であって、該液体が第1のリザーバーを少なくとも部分的に満たし、および第1のリザーバー内に存在する気体を、第1の疎水性ペントを介して置き換え、該導入段階が、液体を該第1のペントを介して強制的に動かすのに不十分な圧力下で行われる段階；ならびに
- (c) 液体をマイクロ流体デバイス内に進め、流出口を通過させることを可能とする段階。

【請求項26】

以下の段階を含む、母体細胞に対して胎児細胞について試料を濃縮する方法：

- (a) 母体血液試料を、胎児有核細胞を母体細胞に対して、サイズ、形状、変形性、または親和性を基に濃縮可能なマイクロ流体デバイス内に導入することで、濃縮された試料を生成する段階；
- (b) 該濃縮試料中の該胎児有核細胞を溶解させることで、胎児核を放出させる段階；および
- (c) 該胎児核を検出する段階。

【請求項27】

以下の段階を含む、胎児細胞中の母体血液試料を濃縮する方法：

- (a) 該母体血液試料を提供する段階；
- (b) 該試料に、アンモニウムイオンおよび重炭酸イオンを含む緩衝液、ならびに炭酸脱水酵素阻害剤を接触させ、胎児赤血球に対して母体赤血球の選択的な溶解を誘導する段階；ならびに
- (c) band 3アニオン輸送体の阻害剤を導入して溶解を停止させる段階。

【請求項28】

以下の段階を含む、胎児細胞中の母体血液試料を濃縮する方法：

- (a) 該母体血液試料を提供する段階；ならびに
- (b) 該試料に、胎児赤血球に対して母体の赤血球および白血球の選択的な溶解を誘導可能な1種類または複数の緩衝液を接触させる段階。

【請求項29】

以下の段階を含む、試料中の胎児細胞を解析する方法：

- (a) 母体血液試料を提供する段階；
- (b) 該試料に、以下の溶解手順の1つを実施する段階：
 - (i) 胎児核を完全な状態に維持しながら、母体細胞に対して胎児細胞を選択的に溶解させる段階；
 - (ii) 母体核を完全な状態に維持しながら、胎児細胞に対して母体細胞を選択的に溶解させる段階；
 - (iii) 核を完全な状態に維持しながら、全ての細胞を溶解させる段階；
 - (iv) 胎児核を完全な状態に維持しながら、全ての細胞および母体核を溶解させる段階；
 - (v) 胎児細胞に対して母体細胞およびその核を選択的に溶解させる段階；
 - (vi) 全ての細胞およびその核を溶解させる段階；ならびに
 - (vii) 母体細胞に対して胎児細胞およびその核を選択的に溶解させる段階；ならびに
- (c) 段階(b)で放出された、胎児核、胎児核酸、胎児タンパク質、または胎児代謝物を解析する段階。