

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4005022号

(P4005022)

(45) 発行日 平成19年11月7日(2007. 11. 7)

(24) 登録日 平成19年8月31日(2007. 8. 31)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/48 (2006. 01)

GO 1 N 33/48 D

BO 1 D 43/00 (2006. 01)

BO 1 D 43/00 Z

BO 1 J 19/00 (2006. 01)

BO 1 J 19/00 3 2 1

B 8 1 B 1/00 (2006. 01)

B 8 1 B 1/00

GO 1 N 1/00 (2006. 01)

GO 1 N 1/00 1 O 1 H

請求項の数 8 (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-535890 (P2003-535890)
 (86) (22) 出願日 平成14年9月14日(2002. 9. 14)
 (65) 公表番号 特表2005-505770 (P2005-505770A)
 (43) 公表日 平成17年2月24日(2005. 2. 24)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2002/010336
 (87) 国際公開番号 W02003/033096
 (87) 国際公開日 平成15年4月24日(2003. 4. 24)
 審査請求日 平成16年6月29日(2004. 6. 29)
 (31) 優先権主張番号 101 50 549.3
 (32) 優先日 平成13年10月12日(2001. 10. 12)
 (33) 優先権主張国 ドイツ(DE)

(73) 特許権者 501205108
 エフ ホフマンーラ ロッシュ アクチェ
 ン ゲゼルシャフト
 スイス連邦、ツューハー 4 0 7 0 パー
 ゼル、グレンツアッハーシュトラーセ 1
 2 4
 (74) 代理人 100065226
 弁理士 朝日奈 宗太
 (74) 代理人 100117112
 弁理士 秋山 文男
 (72) 発明者 エッフェンハウザー、カルロ
 ドイツ連邦共和国、6 9 4 6 9 ヴァイン
 ハイム、アム チーゲルホフ 4

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分散体からの粒子、とくに血液からの血球の分離方法および分離モジュール

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- 分岐 (1 0) へ分散体を供給する流入チャネル (9) と、
 - 低減した粒子濃度を有する流体を分岐 (1 0) から離して導出する第 1 排出チャネル (1 1) と、
 - 増大した粒子濃度を有する流体を分岐 (1 0) から離して導出する第 2 排出チャネル (1 2) とを含む、流動チャネル (3) を有する基板 (5) を備える分離モジュールによつて、分散流体からの粒子の分離、とくに生物サンプルとりわけ血液からの微粒子成分の分離方法において、
 前記流体が第 2 排出チャネルの中で、分散粒子が分岐 (1 0) で様々な流速に基づき流動するように、有利には分散粒子が第 2 排出チャネル (1 2) の中で第 1 排出チャネル (1 1) の中よりもはるかに速く流れる方法。

10

【請求項 2】

第 1 排出チャネル (1 1) が別の分岐 (2 0) へ通じ、それによって前記分離モジュールが別の分岐 (2 0) 用の流入チャネルを形成し、別の分岐から低減した粒子濃度を有する流体を導出する別の第 1 排出チャネル (2 1) と増大した粒子濃度を有する流体を導出する第 2 排出チャネル (2 2) とが分岐する分離モジュールによる請求項 1 記載の粒子分離方法において、
 前記流体が別の第 2 排出チャネル (2 2) の中で、分散粒子が別の分岐 (2 0) で様々な流速に基づき有利には別の第 2 排出チャネル (2 2) の中でさらに流動するように別の第

20

1 排出チャンネル (2 1) の中よりもはるかに速く流れる方法。

【請求項 3】

第 2 排出チャンネルが別の分岐 (2 5) へ通じ、それによって前記分離モジュールが別の分岐 (2 5) 用の流入チャンネルを形成し、別の分岐から低減した粒子濃度を有する流体を導出する別の第 1 排出チャンネル (2 7) と増大した粒子濃度を有する流体を導出する別の第 2 排出チャンネル (2 6) とが分岐する分離モジュールによる請求項 1 記載の粒子分離方法において、

前記流体が別の第 2 排出チャンネル (2 6) の中で、分散粒子が別の分岐 (2 5) で様々な流速に基づき有利には別の第 2 排出チャンネル (2 6) の中でさらに流動するように別の第 1 排出チャンネル (2 7) の中よりもはるかに速く流れる方法。

10

【請求項 4】

流入チャンネルの深さ (t) が少なくとも分岐 (1 0) に直接先行するチャンネル部分でその幅 (b) よりも大きい、請求項 1、2 または 3 記載の方法を実施するための分離モジュール。

【請求項 5】

第 1 排出チャンネル (1 1) の深さ (t) が少なくとも分岐 (1 0) に直接続くチャンネル部分でその幅 (b) よりも大きい、請求項 1、2、3 または 4 記載の方法を実施するための分離モジュール。

【請求項 6】

第 1 排出チャンネル (1 1) の最小断面寸法が少なくとも $5 \mu\text{m}$ および最大 $150 \mu\text{m}$ になる、請求項 1、2 または 3 記載の方法を実施するための分離モジュール。

20

【請求項 7】

第 1 排出チャンネル (1 1) の流れ抵抗が第 2 排出チャンネル (1 2) の流れ抵抗よりも高い、請求項 1、2 または 3 記載の方法を実施するための分離モジュール。

【請求項 8】

第 1 排出チャンネル (1 1) のより高い流れ抵抗が、前記第 1 排出チャンネルが第 2 排出チャンネル (1 2) よりも長いことから生じる、請求項 7 記載の分離モジュール。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

30

本発明は、分散体からの粒子の分離方法およびこのような方法を実施するための部材に関する。このような部材はモジュール式に様々なシステムの構成要素として使用できるので、ここでは分離モジュールという。本発明はとくに生物サンプルとりわけ血液からの微粒子成分の分離に使用することができる。

【背景技術】

【0002】

種々の適用分野において担体媒体中に分散粒子を含む分散体から粒子を一部または全部を除去する問題点が出されている。とくに重要な分野は血液中の成分の濃度を同定するための分析的方法である。このような血液試験は多くの場合微粒子成分 (血球) を含む全血を用いて実施することができない。むしろ、あらかじめ全血から可能な限り細胞成分を含まない血漿を得る必要がある。

40

【0003】

しかしながら、この発明は、担体媒体が液体だけでなく、気体状でもあり得る他の分散体の処理には適していない。非生物液体が処理される診断分析法の枠内での発明の適用例は、いわゆるビーズの大きい更新可能の表面によって最近たとえばコンビナトリアルケミカルおよび分子生物学において強化されて使用されるビーズの操作、濃縮または単離である。さらにこの発明は化学プロセス技術および食品工業の他の分野で粒子をプロセス流から選別するために使用することもできる。その他の利用可能性はバイオテクノロジー法 (対応する分散体からの細胞培養の除去および単離) ならびに排水浄化の分野にある。一般性の制限なしに、以下、液体中の分散体の処理、主に全血からの血漿の分離に係る

50

。

【0004】

慣習的に血液試験では細胞成分の分離によって血漿を得るために遠心分離法が使用されてきた。しかしながらこの方法は最近の小型化した試験には適していない。これはとくに可能な限り小さくかつコンパクトな分析エレメント（たとえば試験細片の形態）が全ての試験の実施に必要な試薬およびその他の手段を含む、いわゆる患者に近い診断に当てはまり、そのため短時間後に物理的に分析エレメントで検出可能な変化（とくに変色または電気測定量の変化）によって所望の分析結果を視覚的にまたは評価装置を利用して同定するために、まず試液を分析エレメントと接触させなければならない。

【0005】

この種の試験に対して比較的少量の血液から血漿を得るために、何年も前から濾過法が検討され、様々な濾材、とくに微細孔膜とガラス繊維フリースが使用され、部分的に成功裡に使用されている。この濾過技術の以前の例が記載されている（たとえば米国特許第3791933号明細書および米国特許第4477575号明細書参照）。膜およびガラス繊維フィルタからなるコストのかかる組合せによる新規の例は特許の目的である（たとえば米国特許第6045699号明細書参照）。

【0006】

微小部材が記載されており、これは精密濾過により約 $1\mu\text{l}$ までの領域で極少量の血漿を得ることに利用されるものである（たとえば米国特許第5922210号明細書参照）。この場合、シリコン基板中にエッチングによってマイクロチャネルが作られる。血球の分離は、その深さが $0.1\mu\text{m}$ 未満になる、いわゆる障壁チャネル（バリア - チャネル）の中で行われ、それによって血球が障壁チャネルを通して流出することができない。必要な流入チャネルおよび障壁チャネルは2つの連続する製造ステップで作られる。必要な、 $0.1\mu\text{m}$ 未満の非常に小さい障壁チャネルの深さは、エッチング槽内のエッチング過程の持続時間によって決定される。必要な高い再現性の点でこの製造プロセスは非常に困難であり、かつ費用がかかる。

【0007】

公知の血漿獲得法は多大な欠点を有する。なかでも微細孔は機械的閉塞または細胞素材の付着によって孔壁に目詰まりを生じる高い危険性がある。それによって濾過容量が制限される。

【0008】

濾過容量の拡大は濾材のより大きい所要空間を制限する。さらに取り込むサンプル体積と得る血漿体積とのあいだの関係が不利になる。最後に濾材での蛋白質の付着または狭い濾孔を通る赤血球の流出時に発生する高い剪断力とそこから生じる溶血現象によって測定誤りを惹起し得る。

【発明の開示】

【0009】

上記を前提として本発明は、簡単かつコスト的に有利に製造できる分離モジュールを用いて上記欠点を可能な限り広範囲に回避しながら分散体から粒子の分離を可能にする課題を基礎においている。分離モジュールは、好ましくは使い捨て使用のために設ける、いわゆる「ディスポーザブル」（“Disposable”）とし、とくに小型化試験用の少量の血漿（ $10\mu\text{l}$ 未満、とくに $5\mu\text{l}$ 未満）の生成に適しているべきである。

【0010】

この課題は、分岐へ分散体を供給する流入チャネルと、分岐から離して低減した粒子濃度を有する流体を導出する第1排出チャネルと、分岐から離して増大した粒子濃度を有する流体を導出する第2排出チャネルとを含むものにおいて、前記流体が第2排出チャネルの中で、分散粒子が分岐で様々な流速に基づき有利には第2排出チャネルの中でさらに流動するように第1排出チャネルの中よりもはるかに速く流れる、流動チャネルを備える基板を備える分離モジュールによって、分散流体からの粒子の分離、とくに生物サンプル、なかでも血液から微粒子成分を分離する方法によって解決される。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 1 】

従来、本発明の目的のために使用する濾過法は、濾材の孔が粒子の直径より小さいために、立体選別つまり被分離粒子が残留することに基づく。この方法により赤血球を確実に分離するために、濾材の孔径は（とくに赤血球の容易な壊変性のために）せいぜい約 1 μ mにすることができる。

【 0 0 1 2 】

本発明において、この選別は全く別の原理に基づく。すなわち分離モジュール中の液流の様々な流路内の異なる局所的な粒子流速は、粒子が分岐で有利にはより高い流速を有する第 2 排出チャンネルの中でさらに流動することを生ぜしめる剪断応力を惹起する。より遅い流速を有する第 1 排出チャンネルは、低減した粒子濃度をを含む。

10

【 0 0 1 3 】

本発明によって多数の重要な長所が達成される。

【 0 0 1 4 】

- 粒子の分離は立体選別に基づかないので、排出チャンネルの最小寸法は粒径よりも大きくすることができる。たとえば全血からの血漿獲得のために好適な分離モジュールの流動チャンネルは、好ましくは少なくとも 5 μ m および最大 1 5 0 μ m の最小断面積寸法を有し、1 0 0 μ m 未満、とくに 5 0 μ m 未満の値がとくに有利である。それによって公知の濾過法と異なり実質的に濾材の目詰まりの危険性が無い。この長所は、さらに付加的な目詰まりの危険性を秘める繊維状材料を全く使用する必要のないことによっても強化される。

【 0 0 1 5 】

- 本発明により血液（または他の分散体）は連続的に長期間にわたり処理することができる。それゆえに分離モジュールは（実質的に）粒子を含有しない濾過物の連続的な獲得または分散体からの連続的な粒子濃縮にも使用することができる。

20

【 0 0 1 6 】

- 製造は比較的簡単かつ好適なコストで可能である。公知の濾過法に比べ分離モジュール内への濾材の製造および集積を含む。米国特許第 5 9 2 2 2 1 0 号明細書に記載されるマイクロフィルタに比べ、チップの中に集積される流動チャンネルが比較的大きい寸法を有するため、製造が本質的により簡単である。この種のチャンネル構造はコスト的に有利に量産により製造することができる。とくに、初めにフォトリソグラフィ法でパターンを製造する方法が好適である。このパターンによって再びプロダクトチップがプレスまたは射出成形によって製造される型を得ることができる（例：CD の製造）。より少ない部品点数はレーザーアブレーションによって生産することができる。

30

【 0 0 1 7 】

- 製造のために本発明が様々な深い構造を必要としないことが好ましい。好ましくは、少なくとも両方の排出チャンネル、とくに有利には全ての流動チャンネルが等しい深さである。これは簡単な方法でただ 1 つの作業工程で製造することができる。

【 0 0 1 8 】

- 分離モジュールの流動チャンネルの中にある死容積は非常に少ない。それゆえに本発明は非常に少量のサンプルから充分大きい血漿量を得ることを可能にする。

【 0 0 1 9 】

- 本発明による分離モジュールは、濾材と導出チャンネルとを含むシステムとして広範囲に小型化することができ、それによって分離またはスループットの効率は低減しない。これもコストを低減する。

40

【 0 0 2 0 】

- 分離モジュールは簡単にシステムの中に、とくに分析システムの中に内蔵することができる。分析マイクロシステムの枠内で、たとえば「平面集積」の可能性があり、分析に必要な試薬および液体処理エレメントを、分離モジュールの流動チャンネルがある同じチップの中に集積することができる。しかしながら少ない死容積を有するチューブ管を介して分析システムに慣例的に結合することも可能である。

【 0 0 2 1 】

50

本発明の基礎におく物理的効果は、部分的に身体の毛管系内の血液の流れ挙動の実験的調査とそれに基づく理論的考察を基礎にして説明することができる。この認識は、展望論文に要約されている（たとえばA.R. Priesら“Biophysical aspects of blood flow in the microvasculature”、Cardiovascular Research 32、1996、654-667参照）。そこでとくに体内の血液を輸送する毛細血管の分岐にヘマトクリット（赤血球の内容物）がより少ない血流を有する支血管内で一般的により高い血流を有する支血管内よりも低くなることが報告されている。この相分離は多数の影響量と多くの観点で前記影響量への血流の非線形依存性によって理論的に不十分にのみ記述しうることが述べられている。個別的には、「血漿スキミング効果」（“plasma skimming effect”）、「ネットワーク・ファールウス効果」（“network Fahraeus effect”）および「経路効果」（“pathway effect”）が毛細血管内の相分離を決定する物理的原理として論じられている。これらの効果の一つ、すなわちネットワーク・ファールウス効果は、分岐で有利により高いフローレート（と共により高い流速に関連）を有する流路に従う赤血球の傾向を説明する。

10

【0022】

発明者の認識水準によれば、この原理は本発明による分離モジュールの機能を本質的に説明することが前提にされる。ただし、實際上ほぼ完全な血漿調製が簡単に実現しうる手段で実質的に利用可能の規模で達成しうることが期待できなかった。これは基本的認識がすでに非常に長いあいだ知られていることによっても証明される。たとえば引用した展望論文で実験した1964年のインピトロ調査および1970年のインピボ研究が引用される。

20

【0023】

それゆえに血漿調製に対するこの原理の適正は、自然の毛管作用において広範囲に観察されず、さらに完全な分離が観察されないために期待されなかった。反対にヒトの身体の機能は、酸素供給が保証されているような高い赤血球濃度が微小毛細血管内にもまだ存在することに依存している。この関係は生体内で弾力性の壁を有する血管網が脈拍のリズムで大きく変動する流速で貫流し、他方、分離モジュール内の液体が剛性の壁のあいだで定速で流れる限りにおいて基本的に異なっている。

【0024】

毛細血管内の流れ挙動に関する出版物からは、もちろん実用にも役立つ分離モジュールを製造しうること、およびどのような方法で製造しうるかに関する指摘は全く読み取れない。本発明の実質的な成功にとりとくに重要であるのは、有利な実施形態に基づき、少なくとも流入チャンネル、また有利には第1排出チャンネルおよびとくに有利には全ての流動チャンネルの深さが少なくともその直接分岐に境接するチャンネル部分でチャンネル幅より大きい実施形態である。この有利な実施形態は、粒子の分離に関する機能が本質的に分岐の直接隣接部内のチャンネルの幅によって決定される事実に関連する。深さが幅に比べて大きいことによって、分離効率（単位時間あたりに分離される液体体積）は機能を損なわずに高めることができる。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

本発明は、以下、図に示した実施例によってより詳しく説明する。図示して説明する特殊性は、本発明の有利な態様を創るために単独でまたは組合せて使用することができる。

40

【0026】

図1ないし4に示した分離モジュール1は本質的に流動チャンネルと覆い部4とを有するチャンネル部2から構成される。チャンネル部2の製造時に円板状の基板5の中に、たとえば上述の方法により、流動チャンネル3が基板5の表面6に顕微的に小さい溝状の凹所の形態で作られる。

【0027】

このチャンネルは図中、とくに図2および4で大幅に誇張した大きさを表している。典型的に該チャンネルの幅bは150μm以下であり、とくに血漿獲得のための特別なチャンネル幅は100μm未満、有利には50μm未満が実証されている。他方、有利な寸法は、電

50

子チップの製造から知られているように、基板 5 の表面 6 の必要な構造を問題なくフォトリソグラフィ法によって製造できるように、大幅に可視光の波長領域を超えている。有利には、チャンネルの幅 b は少なくとも約 $5\ \mu\text{m}$ である。

【0028】

入口 8 を通して全血（またはそこから粒子を分離すべきである別の分散体）が分離モジュール 1 の中に給送され、流入チャンネル 9 を通して、液流が第 1 排出チャンネル 11 と第 2 排出チャンネル 12 とに分岐する分岐 10 に送られる。排出チャンネル 11 および 12 の中に流れ込む液体は、出口 14 もしくは 15 を通して分離モジュール 1 から取り出される。入口もしくは出口は図示した場合において覆い部 4 の中にある穿孔 16 によって形成され、たとえばプラスチックチューブのような好適な管に接続することができる。

10

【0029】

本発明の場合は本質的に、液体が第 2 排出チャンネル 12 の中で、分岐 10 に分散粒子が様々な流速によって有利に第 2 排出チャンネルの中でさらに流れる第 1 排出チャンネル 11 の中ではるかに速く流れる。

【0030】

血液を処理する場合、第 1 排出チャンネル 11 は（方法条件に依存して）より多いまたはより少ない赤血球の残留濃度を有する血漿を含む。それゆえにこの第 1 排出チャンネルは以下血漿チャンネルという。第 2 チャンネル 12（より高い流速を有する）は始動血液に比べて増大した赤血球濃度を含む。この液体は分析目的には用いられないので、以下廃棄物チャンネルという。しかしこれらの略称は本発明の適用分野を制限するものと解してはならない。

20

【0031】

- 一方で「血漿チャンネル」は純血漿を含む必要がない。本発明の実証試験では分析目的にとり充分純粋な「分析血漿」を得るために、ただ 1 つの分岐で充分にできることが確認された。しかしながら第 1 排出チャンネルの中に流れる液体は一般に低残留濃度の赤血球を含む。

【0032】

- 第 2 に本発明の適用分野において、粒子を分離する目的は（血漿獲得の場合のように）分散体の担体液体の洗浄ではなく、目的が分散粒子の濃縮物である。この場合はより高い流速を有する第 1 排出チャンネル（これは血漿獲得の場合に廃棄物チャンネルを形成する）は廃棄物（ウェスト）ではなく、所望の生成物を含む。

30

【0033】

排出チャンネル 11 および 12 の中の流速、その相互関係およびそれに関連する分離効果は多数の影響因子によって決定され、これらは以下のグループに分類することができる。

【0034】

a) 流れ抵抗

他の全ての影響因子が両方の排出チャンネル 11、12 で等しいとき、平均流動速度はチャンネルの流れ抵抗と逆比例する。

【0035】

b) 入口と出口の圧力比

40

入口 8 の圧力は、その相互関係を変化させずに、排出チャンネル 11、12 の中の流速（出口 14、15 の圧力比が等しい場合）本質的に比例して影響する。逆に出口の様々な圧力比は流速の関数に大きい影響を及ぼしうる。

【0036】

ある特定の適用事例において、出口 14、15 の少なくとも 1 つにポンプを正確な送出速度で接続することが技術的に可能であり、かつ経済的に支持しうる場合、排出チャンネル 11、12 の中の流速はこの送出速度を介して調節することができる。小型化した分析エレメントの場合、ポンプの接続部は一般に不可能であるか、または少なくとも費用がかかりすぎる。しかしながらこの場合、出口 14、15 の圧力比は、液体が毛管力によって吸引される素材が当該箇所であり、それによって流れが先行の排出チャンネルの中で加速され

50

、または付加的な流れ抵抗を形成し、それによって流速を減少することによって影響を及ぼすことができる。

【 0 0 3 7 】

c) 液体の粘度

流動チャネルの中の粘度が様々であるとき、流速がその影響を受ける。たとえば血漿獲得の場合、血漿チャネル 11 の中の液体の粘度は廃棄物チャネル 12 の中よりも低い。これは（それ以外同じ条件の場合）血漿チャネル 11 の中の流速の相対的な増大を引き起こす。

【 0 0 3 8 】

d) チャネル断面の速度プロファイル

10

分離効果にとり流動チャネルの中の液体の平均流速（断面積および単位時間あたりの体積流）が決定的ではなく、分岐領域での局所的な速度プロファイルが決定的である。これは複雑な方法で種々の影響因子、それらの中でも正確なチャネル形状、チャネル壁の材料および液体の粘度に左右される。

【 0 0 3 9 】

これらの多数の影響量のために、全ての適用事例に対して流動チャネル 3 の寸法について一般的拘束力のある規則を提示することは不可能である。これは個別的に実験で決定されなければならない。それにもかかわらず本発明の実験的実証試験に基づき有利な寸法規則について以下のように提示することができる。

【 0 0 4 0 】

20

上述のようにチャネル 9、11、12 の深さ t は少なくとも分岐 10 に直接境接するチャネル部分で幅 b よりも大きい。好ましくはアスペクト比 A （チャネル幅 b 対チャネル深さ t 比： $A = t / b$ ）は少なくとも $A = 3$ 、好ましくは少なくとも $A = 5$ 、とくに有利には少なくとも $A = 7$ になる。少なくとも流入チャネル 9 および血漿チャネル 11 の深さは各々直接分岐 10 に境接するチャネル部分で等しい大きさである実施形態がとくに有利である。これは全ての分岐に接続されるチャネル 9、11、12 の場合もとくに有利である。

【 0 0 4 1 】

同様にすでに述べたように、血漿チャネルの最小断面寸法は少なくとも $5 \mu m$ 、最大で $150 \mu m$ になり、値は $100 \mu m$ 以下、特別に $50 \mu m$ 以下がとくに有利である。

30

【 0 0 4 2 】

血漿チャネル 11 の流れ抵抗は一般に廃棄物チャネル 12 の流れ抵抗よりも高くすべきである。これは、有利には少なくとも部分的に、血漿チャネルが廃棄物チャネルよりも長いことによって生じる。これは排出チャネル 11、12 の流れ抵抗が断面の対応する寸法によるより簡単かつより正確にその長さの適当な調整によって調節することができるため有利である。

【 0 0 4 3 】

簡単な製造および正確な機能に関しては、さらに排出チャネル 11、12 の深さ t が少なくともその長さの部分で、有利にはその全長で等しい場合に有利である。好ましくは流入チャネル 9 の深さも排出チャネル 11、12 の（等しい）深さと一致する。

40

【 0 0 4 4 】

流動チャネル 3 は、好ましくはほぼその全長にわたって等しい幅であるが、少なくとも流入チャネル 9 および廃棄物チャネル 12 が入口 8 もしくは出口 15 の領域で、赤血球が損傷されうる鋭い角部が回避されるように形成される場合に有利であることが証明されている。図 1 に、この領域に前記チャネル 9 および 12 の壁の斜めの伸長部を暗示している。

【 0 0 4 5 】

簡単な製造に関して、少なくとも両方の排出チャネル 11、12、好ましくは流入チャネルも等しい幅である場合に目的に適している。

【 0 0 4 6 】

50

本発明の実験的実証試験の枠内で赤血球の流れ挙動は分岐に配向した顕微鏡および粘度記録によって観察した。典型像の模式的略図は図5に示す。図1ないし4記載の分離モジュールと異なり、この場合は血漿チャンネル11が流入チャンネル9の直線状の延長部で延び、他方廃棄物チャンネル12はこの線から直角に分岐する配列を選択した。この図示は、本発明の基礎におく効果が本質的にどの方向に排出チャンネル11、12が流入チャンネル9から分岐するかには左右されないことを示す。赤血球18は、該赤血球がそこでその流れ方向を変える必要があるにもかかわらず、その大部分より大きい流速をもつ流路に従う。

【0047】

図6は、排出チャンネルの中の流速の関係への分離効果の依存性を明示する実験データのグラフィック表示を示す。これは図1に相当する分離モジュールを用いて得られ、流入チャンネル9および廃棄物チャンネル12がそれぞれ幅 $32\mu\text{m}$ および深さ $32\mu\text{m}$ であった。血漿チャンネル11は幅 $16\mu\text{m}$ および深さ $32\mu\text{m}$ であった。流入チャンネル9の中の単位時間あたりの流れは $0.01 \sim 0.5\mu\text{l}/\text{min}$ のあいだの範囲にあった。横座標に流入チャンネルの中の流速 v_F （Fは「送りチャンネル」(feed channel)）に対する血漿チャンネル11の中の流速 v_P の関係をプロットした。縦座標は N_F に対する粒子数 N_P の対応関係を示す。この実験は、赤血球を良好に識別可能にするために比1:5で希釈した血液で実施した。速度 v_P および v_F は中央流路の中を流れる赤血球のビデオ観察から導き出した。また粒子数はビデオデータから同定した。

【0048】

分離効果は速度比 v_P / v_F の減少に伴い急激に良好になることが分る。速度比が0.75の場合、まだ血漿チャンネル中の原初の赤血球数の約25%が流れ込む。血漿チャンネル中の流速が流入チャンネル中の流速の約4分の1未満になるとき、血漿チャンネル中で卓越した血漿純度が達成される。

【0049】

図7ないし9は、2段の分離プロセスによって全分離効果が改善されるように、入口8から血漿出口14に通じる流動チャンネルの中に2つの分岐10および20が前後に配置される分離モジュールの実施形態を示す。これは（図示したように）第1分岐10から出る血漿チャンネルが別の分岐20に通じ、それによって該血漿チャンネルが別の分岐20のために流入チャンネルを形成し、この別の分岐20から別の血漿チャンネル21と別の廃棄物チャンネル22とが分岐し、血漿チャンネル21が血漿出口14に、および廃棄物チャンネル22が第2廃棄物出口23に通じることによって達成することができる。またこの場合も排出チャンネルの寸法と運転条件は、液体が別の廃棄物チャンネル22の中で、第2分岐20でより高い粒子濃度を有する液流（廃棄物チャンネル22）と、より遅い粒子濃度を有する液流（血漿チャンネル21）への分離が生じる別の血漿チャンネル21の中よりもはるかに速く流れるように選ばれる。

【0050】

また2段の分離プロセスによって達成可能な血漿純度が充分ではないような場合、分離方法を適当に変形した分離モジュールによって3段または多段で実施することもできる。そのために好適な（図示しない）分離モジュールは、その各々の流入チャンネルが先行する分岐の血漿チャンネルによって形成される分岐の順序を有し、この分岐の各々で上記流速比が維持される。

【0051】

図10は、それぞれ先行する分岐の廃棄物チャンネルが後続の分岐の流入チャンネルを形成するように、分岐25の順序を前後に配置したことによって増大した分離効率が達成される分離モジュール1の実施形態を示す。分岐25から分岐する血漿チャンネル27は共通の集合管28の中に入り、そこから血漿出口14に通じる。図示した場合において、この種の配列は対称に二重に設けており、血液は第1流入チャンネル9aもしくは9bの中の入口8aおよび8bを通して給送される。そこからこの血液がチャンネル26aもしくは26bに沿って流れ、その分岐25のあいだにある部分区間が各々先行する分岐の廃棄物チャンネルと、後続の分岐の流入チャンネルとを形成する。本発明による分離効果は、前記チャンネル

10

20

30

40

50

26 a および 26 b の中で赤血球濃度が絶えず増加することを惹起する。それにもかかわらず一様な血漿品質を達成するために、血漿チャネル（図示した場合ではその長さに関係する）は、その中で輸送される液体の流速が、各分岐に供給される赤血球濃度を増加する方向に減少するように寸法決定されている。

【0052】

図11は、可能な構想に基づき、分離モジュール1が分析に必要なモジュール式エレメントと共に平面的に分析チップ31の中に集積した構想を示す。この場合、分離モジュール1の入口が血液リザーバ32に接続される。分離モジュール1の複数の出口に試験モジュール33～38が接続され、この試験モジュールは様々な分析の同定または、たとえば同じ分析の様々な濃度領域の正確な分析にも用いることができる。最後に分析チップ31の中に廃棄物容器40が内蔵されており、その中に分離モジュール1の1つまたは複数の廃棄物出口からの液体が導出される。

10

【0053】

上述のように、上記説明において単に例として、および本発明の一般的適用性の制限なしに血漿を獲得するための血液からの血球の分離に関連させた。この説明は字義に即して別の適用事例にも当てはまり、この場合は概念「血漿チャネル」は「第1チャネル」に、概念「廃棄物チャネル」は「第2チャネル」に、概念「廃棄物」は「増加した粒子濃度を有する液体」に、および概念「血漿」は「減少した粒子濃度を有する液体」に置き換えられなければならない。

【図面の簡単な説明】

20

【0054】

【図1】本発明による分離モジュールの第1実施例の模式的透視図である。

【図2】図1の切線A～Cに沿った実物大ではない断面図である。

【図3】図1の切線A～Cに沿った実物大ではない断面図である。

【図4】図1の切線A～Cに沿った実物大ではない断面図である。

【図5】ビデオ表示により分岐で視覚的に観察可能の分離効果の模式的略図表示である。

【図6】排出チャネル内の局所的流速の関係への分離効果の依存性のグラフィック表示である。

【図7】本発明による分離モジュールの第2実施形態の模式的透視図である。

【図8】図7の切線AおよびBに沿った実物大ではない断面図である。

30

【図9】図7の切線AおよびBに沿った実物大ではない断面図である。

【図10】本発明による分離モジュールの第3実施形態の実物大ではない透視図である。

【図11】本発明による分離モジュールの平面集積による分析エレメントの模式的平面図である。

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I
G 0 1 N 1/28 (2006.01) G 0 1 N 1/28 J

(72)発明者 オクヴィルク、グレゴール
ドイツ連邦共和国、6 8 1 6 3 マンハイム、メーアフェルドシュトラッセ 6 2
(72)発明者 フィードラー、ヴォルフガング
ドイツ連邦共和国、6 9 5 1 4 ラウデンバッハ、ハイドンシュトラッセ 1

審査官 白形 由美子

(56)参考文献 国際公開第 0 1 / 0 4 2 7 4 5 (WO, A 1)
Pries, A.R., et al., Biophysical aspects of blood flow in the microvasculature, Cardiovascular Research, 1 9 9 6 年, Vol. 32, p.654-667

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98
G01N 1/00
B01D 43/00
B01J 19/00
B81B 1/00
PubMed