

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006年10月19日 (19.10.2006)

PCT

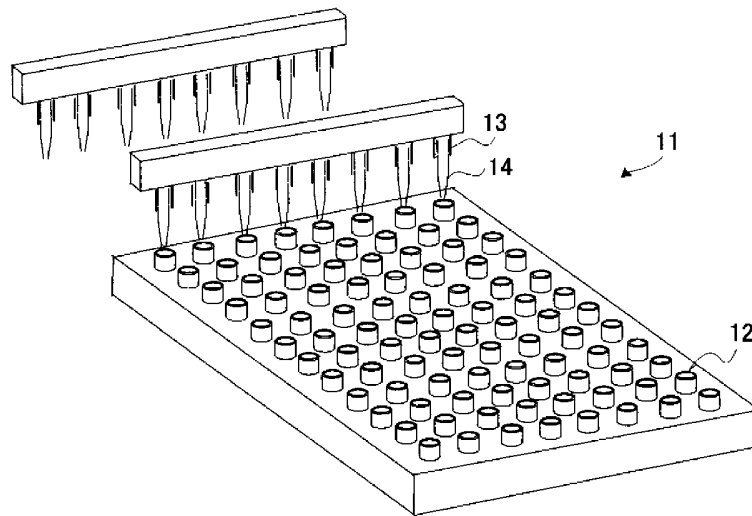
(10) 国際公開番号
WO 2006/109529 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/543 (2006.01) *B03C 1/02* (2006.01)
B01D 43/00 (2006.01) *G01N 35/02* (2006.01)
B03C 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2006/305989
- (22) 国際出願日: 2006年3月24日 (24.03.2006)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2005-106564 2005年4月1日 (01.04.2005) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人東京工業大学 (TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-1-2 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 阿部 正紀 (ABE, Masanori) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-1-2-1 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP). 多田 大 (TADA, Masaru) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-1-2-1 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP). 嶋津 隆一 (SHIMAZU, Ryuichi) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-1-2-1 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 須山 佐一 (SUYAMA, Saichi); 〒1010046 東京都千代田区神田多町 2丁目 1番地 神田東山ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

[続葉有]

(54) Title: MAGNETIC BEAD SEPARATOR

(54) 発明の名称: 磁気ビーズセパレータ



(57) Abstract: A microarray-based magnetic bead separator by which a target substance labeled by a multiplicity of micromagnetic beads of nanometer size in test liquid can be separated magnetically at high speed together with the magnetic beads, and a large number of kinds of magnetic beads can be separated simultaneously from a small quantity of test liquid. By means of a plurality of dispensers and pipette chips, each test liquid containing a specific living body substance labeled by magnetic beads is dispensed to a plurality of microvessels, a ferromagnetic wire is arranged on the inner side of each of the plurality of microvessels and magnetized by applying the magnetic field of a magnet to form the gradient of magnetic field, the ferromagnetic wire is made to attract the magnetic beads in the test liquid, and the residual test liquid in each microvessel after the magnetic beads are attracted to the ferromagnetic wire is sucked and collected by means of the pipette chip.

(57) 要約: 多数の試験液中のナノメートルサイズの微小な磁気ビーズで標識された目的物質を、磁気ビーズとともに高速で磁気分離することができ、少量の試験液からの磁気ビーズの分離を同時に多数種について行うことのできるマイクロアレイ化され

[続葉有]



WO 2006/109529 A1



DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

た磁気ビーズセパレータを提供する。複数の分注器およびピペットチップにより、複数のマイクロベッセルに磁気ビーズで標識された特定の生体物質を含有する各試験液を分注し、複数のマイクロベッセルの各々の内側には強磁性ワイヤを配置し、これに磁石による磁界を印加して磁化し磁場勾配を形成し、この強磁性ワイヤに試験液中の磁気ビーズを吸引させ、他方で磁気ビーズをそれぞれに強磁性ワイヤに吸引させた後の各マイクロベッセル中の残留試験液はピペットチップにてそれぞれに吸引し回収する。

明 細 書

磁気ビーズセパレータ

技術分野

- [0001] 本発明は、試験液に含まれる磁気ビーズおよび磁気ビーズに吸着した物質の分離操作を、多数の試験液について同時進行にて高速で行うことのできる磁気ビーズセパレータに関し、特に試験液に含まれるナノメートルサイズの微小な磁気ビーズおよびこの微小な磁気ビーズに吸着した物質の分離を多数の試験液について同時進行にて高速で行うことのできる磁気ビーズセパレータに関する。

背景技術

- [0002] マイクロウェルアレイに多数のマイクロベッセルを配置し、これら多数のマイクロベッセル内の各試験液中から、それぞれに磁気ビーズで標識された物質を同時にかつ高速度で検出するために開発された磁気分離システムが従来から知られている。これは試験液を分注したマイクロベッセルの底部の外縁に磁石を配置したものである。特許文献1(特開平11-242033)には、分注器の外縁に磁石を配置し、そこに試験液をマイクロベッセルから吸引して磁気ビーズをマイクロベッセルもしくは分注器内壁に固定する手法が開示されている。
- [0003] このような磁気分離システムで用いる磁気ビーズは、粒子径をできるだけ小さくし、比表面積を増大させることによって、磁気ビーズに吸着する物質の量を飛躍的に増大させることができる。ところがこれら従来の方式では、磁気ビーズのブラウン運動による擾乱力が、外部に配置された磁石が作る磁場勾配による力を乱すため、磁気ビーズの寸法をおよそ100nm以下まで微細化すると、磁気分離が極めて困難になるか、または磁気分離が不可能になってしまうという問題点があった。
- [0004] 特許文献2(特開平11-319628)には、ナノメートルオーダーの粒子サイズの磁気ビーズを磁気分離する技術として、漏斗状の容器の先端部に多孔質の強磁性体からなるフィルタを配置し、外部から磁界を印加することにより多孔質の強磁性体フィルタ内に発生する高い磁界勾配を利用し、このフィルタ内に磁気ビーズを固定する方法が開示されている。

[0005] しかしながら、この磁気ビーズの磁気分離方法は、フィルタ自体を細長い構造にし、試験液を漏斗の上端から注入し重力によって自由落下させ、細長い構造で高い流動抵抗を持つフィルタ中を溶液が通過するように設計されたものであるため、フィルタ中を溶液が通過するのに長い時間を要し、この技術は分注器を用いて多数の試験液の吸引と吐出を行う高速の磁気分離には適さないものであった。

特許文献1:特開平11-242033号公報

特許文献2:特開平11-319628号公報

発明の開示

[0006] 本発明の目的は、上記の各問題点を解決し、多数の試験液中のナノ粒子サイズがナノメートルオーダーの微小な磁気ビーズ、およびこのような微小な磁気ビーズで標識された目的物質を高速で磁気分離することができ、少量の試験液からの磁気ビーズの分離を、多数種について同時進行で行うことのできるマイクロアレイ化された磁気ビーズセパレータを提供することにある。

[0007] 本発明の磁気ビーズセパレータは、磁気ビーズで標識された検体を含有する各試験液を収容する複数のマイクロベッセルと、複数のマイクロベッセルの各々に磁場を発生させる磁石と、複数のマイクロベッセルの各々の内側に配置され、磁石の発生する磁界によって磁化され磁場勾配を誘起して磁気ビーズを吸引する強磁性ワイヤと、各試験液を前記複数のマイクロベッセルの各々に分注し、複数のマイクロベッセルの各々に分注した各試験液の含有する磁気ビーズがそれぞれ強磁性ワイヤに吸引された後に複数のマイクロベッセル中に残留した各試験液をそれぞれ吸引し回収する複数の分注器およびピペットチップとを備えたことを特徴とする。

[0008] また本発明の検体の磁気分離方法は、検体を含有する試験液に、検体を特異的に吸着する生体活性物質が表面に固定された磁気ビーズを浸漬し、試験液中の検体が特異的に吸着した磁気ビーズを含有する試験液を得る工程と、検体が特異的に吸着した磁気ビーズを含有する試験液を磁化された強磁性ワイヤを有するマイクロベッセルに分注し、検体が特異的に吸着した磁気ビーズを強磁性ワイヤに吸引させ分離する工程と、前記検体の特異的に吸着した磁気ビーズが分離されて除かれた試験液を吸引分離する工程と、強磁性ワイヤに吸引されて分離された検体の特異的に吸着した磁気

ビーズから、前記検体を解離して回収する工程とを備えたことを特徴とする。

- [0009] なお上記の記載において、検体は検査の対象とする目的の物質であり、また磁気ビーズで標識された検体は、例えば磁気ビーズには検体を特異的吸着する生体活性物質が表面に固定されており、検体がこの磁気ビーズにこの生体活性物質を通じて特異的吸着されている状態にある検体である。なお、本発明の検体の磁気分離方法は、複数の工程を同時に進行させる場合も含む。
- [0010] 本発明の磁気ビーズセパレータは、このような構成により、ナノメートルオーダーの粒子サイズを有する微小な磁気ビーズの磁気分離を、多数種について平行して同時進行で行うことができるので、本発明の実施形態の磁気ビーズセパレータにより、効率的かつ高速な磁気分離が実現できる。
- [0011] 本発明の磁気ビーズセパレータの実施形態によれば、以下に述べるように、さまざまな生体物質を含む溶液から目的とする成分の生体物質の分離抽出を、非常に効率的に行うことができる。
- [0012] すなわち、分離目的の特定の生体物質を特異的に吸着する生体活性物質を表面に固定した磁気ビーズを、さまざまな生体物質を含む溶液に加えて攪拌することにより、この特定の生体物質が磁気ビーズに吸着される。この結果、試験液は、磁気ビーズで標識された特定の生体物質が特異的に吸着した磁気ビーズを含む試験液となる。この試験液を分注器とこれに接続されたピペットチップを用いてこの磁気ビーズセパレータのマイクロベッセルに注入すると、マイクロベッセルの内壁周辺部に配置された強磁性金属ワイヤがマイクロベッセルの外側に配置された磁石により磁化され、強磁性ワイヤの表面に高い磁場勾配が生じているので、溶液中の磁気ビーズは強磁性金属ワイヤの表面に固定される。
- [0013] 他方、こうして磁気ビーズが除かれた上澄み液は、ピペットチップで吸引され分離されて外部に移送される。他方、強磁性ワイヤ表面に固定された磁気ビーズには、特異的吸着した特定の生体物質がさまざまな生体物質を含む溶液から分離されて吸着しているので、この生体物質を解離剤を用いて磁気ビーズから解離させ、回収する。本発明の磁気ビーズセパレータにおいては、この際に用いる磁気ビーズとして、ナノメートルオーダーの粒子サイズを有する微小な磁気ビーズを用いることができ、こう

することにより、分離の効率を飛躍的に高めることができる。

[0014] 本発明により、従来は実施が困難であったナノメートルサイズの磁気ビーズの高速磁気分離を行うことができるようになった。ナノメートルサイズの磁気ビーズは、従来のマイクロサイズの磁気ビーズに比べ比表面積が非常に大きいので、目的物質を特異的吸着により捕獲し抽出する効率を格段に向上させることができるようになった。

[0015] なお、本発明の磁気ビーズセパレータは、既存の同時複数検体操作システムに用いられているマイクロウェルアレイに収納することができ、また従来のマイクロカラムシステムで用いるマイクロベッセルの内壁周辺部に強磁性金属ワイヤを配置して構成されるので、従来のマイクロカラムシステムが有している分注、吸入、吐出、洗浄などの機能はそのまま本発明の磁気ビーズセパレータの構成に用いることができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]図1は、本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態を模式的に示した斜視図である。

[図2]図2は、本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態におけるピペットチップが挿入された状態のマイクロベッセルの詳細を示した図である。

[図3]図3は、本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態における方眼状の規則的な配列をした複数のマイクロベッセルの各々の間を仕切る仕切り板の一部に、強磁性ワイヤを磁化する永久磁石を配置した状況を示した図である。

[図4]図4は、本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態における縦横に仕切る仕切り板の縦および横の一方に、仕切り板の厚み方向に着磁された永久磁石を用い、他方に非磁性体を用いる形に磁石を配置した構成を示した図である。

[図5]図5は、本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態における磁気分離の経過時間と残留Fe濃度との関係を示した図である。

発明を実施するための最良の形態

[0017] 次に図面を参照し本発明の実施の形態を述べることにより、本発明についてより詳細に説明する。

[0018] 1. 装置の構成

図1は本発明の磁気ビーズセパレータの一実施形態を模式的に示した斜視図であ

る。図1の磁気ビーズセパレータ11には、8×12個のマイクロベッセル12が方眼状に規則配列されている。これら複数のマイクロベッセルは5～10mm間隔で二次元配列していることが好ましい。一列に配列された複数の分注器13およびこれらに接続されたピペットチップ14から、複数のマイクロベッセル12の各々に同時に各試験液が分注されると、これらマイクロベッセル12の各々に分注された各試験液17は、マイクロベッセル12内で磁化された強磁性金属ワイヤ（例えば直径が50nm～1mm、ここには図示されていない）の表面に誘起されている高い磁気勾配によって磁気ビーズが捉えられ分離される。また残った上澄み液が一列に配列されたピペットチップ14およびこれに接続された分注器13によって回収される。

[0019] 図2はマイクロベッセル12に、ピペットチップ14が挿入された状態について、その詳細を示した図である。図2において、マイクロベッセル12の内壁周辺部には、強磁性ワイヤ15が多孔保持体18に保持されて配置され、マイクロベッセル12の外縁には磁石16が配置されている。このマイクロベッセル12に、着脱可能方式で分注器14に接続されたピペットチップ14が挿入され、磁気ビーズで標識された検体を含む溶液が分注される。試験液17中の磁気ビーズで標識された特定の生体物質（検体）は、磁気ビーズとともに強磁性ワイヤ15の表面に誘起されている高い磁場勾配によって強磁性ワイヤ15の表面に固定される。このあと、非磁性成分をピペットチップに吸引することによって、磁気ビーズで標識された検体を磁気ビーズとともに試験液から分離抽出することができる。

[0020] 2. 特定の生体物質の分離抽出

この磁気ビーズセパレータ11を用い、以下のプロセスを用いることにより、さまざまな生体物質を含む溶液から、目的とする特定の生体物質を分離抽出することができる。

[0021] まず、さまざまな生体物質を含む溶液に対し、その溶液の中から分離抽出しようとする目的の一成分物質と特異的に吸着する生体活性物質を表面に固定した磁気ビーズを用意し、さまざまな生体物質を含む溶液にこの磁気ビーズを加えて攪拌し、この磁気ビーズへの特異的結合を促す。こうして目的とする一成分物質を特異的に吸着させた磁気ビーズを含有し、さまざまな生体物質を含んだ溶液を分注器13とマイク

ロピペット14で搬送し、磁気ビーズセパレータ11のマイクロベッセル12の強磁性ワイヤ15としてのNiワイヤ配置部位に完全に吐出する。

[0022] こうしてマイクロベッセル12に分注された溶液を数分間の短い間静置することにより、磁気ビーズと、この磁気ビーズと特異的に吸着した生体物質がこのNiワイヤ表面に磁気力で吸着される。磁気ビーズとこれに特異的に吸着した生体物質磁気分離された後の上澄み液をマイクロピペット14で回収する。ここで高い分離精度を得るために、新しいマイクロピペット14で純水を磁気ビーズセパレータ11に搬送し、マイクロベッセル12や強磁性ワイヤ15の表面に付着した水分に溶存する非目的物質を洗い取る。

[0023] 次にNiワイヤの表面に磁気力で吸着した磁気ビーズに特異的に吸着している目的物質を、解離剤(特異的結合の種類によって異なる)をマイクロピペット14で搬送し、マイクロベッセル12内に注入して攪拌し、磁気ビーズから目的物質を解離させ、回収する。この際、分離精度を高めるため、新しいマイクロピペット14で純水を磁気ビーズセパレータ11に搬送し、マイクロベッセル12や強磁性ワイヤ15の表面に付着した水分に溶存する目的物質を洗い取る。

[0024] 最後に強磁性ワイヤ15に磁界を印加している磁石を取り外すか、あるいはマイクロベッセル12を磁石16から遠ざけることによって磁界のない状態にし、磁気ビーズセパレータ11のマイクロベッセル12内部にマイクロピペット14で純水を搬送し、磁気ビーズを回収する。

[0025] 3. 強磁性ワイヤ

磁気ビーズセパレータのマイクロベッセル12内部に設ける強磁性ワイヤ16は、磁界より磁化され、その表面に高い磁界勾配を発生し、溶液中の磁気ビーズを吸引する。ここで用いる強磁性ワイヤには、各種の強磁性金属を用いることができるので特に制限されないが、例えば耐食性に優れたNiワイヤや、軟磁性特性の優れたパーマロイを用いることができる。また強磁性非晶質金属のワイヤを用いることもできる。

[0026] この磁気ビーズセパレータ11を生体物質の分離に用いる際に、強磁性ワイヤ15には非特異的吸着を防ぐための薄い被覆を設けたものを用いることができる。この目的には、例えば非特異的吸着がなく、親水性のエポキシ基を表面に有するポリマーの

被覆が好ましく、またポリプロピレンなどの樹脂の被覆を用いることもできる。

[0027] 磁気ビーズの吸引に用いる強磁性ワイヤ15の直径は、ある径までは細い方が高い磁界勾配が得られることから望ましいものの、細くなるにつれ、ワイヤの剛性が低下するとともに磁性が低下するようになる。このため、強磁性ワイヤの直径は50 μ m以上1 mm以下であることが好ましく、100 μ m以上300 μ m以下であることがより好ましい。

[0028] このような強磁性ワイヤ15は、マイクロベッセル12の内側の管壁に沿って強磁性ワイヤ15の一端を固定して保持する形に配置することができる。また強磁性ワイヤ15の両端を固定した形で配置することもできる。さらにこの強磁性ワイヤの保持には、多孔保持体を用いることにより、液体の流れをよくすることができ、またマイクロベッセル内側の周辺部に保持することができる。また強磁性ワイヤはワイヤの長手方向を前記試験液の流れる方向に向けて配置することにより、溶液の流れをよくすることができる。

[0029] 4. 磁界勾配発生用磁石

強磁性ワイヤ15を磁化し、その表面に高い磁界勾配を発生させる磁石16は、マイクロベッセル12の外側に配置され、マイクロベッセル12内の強磁性ワイヤ15に磁界を印加しこの強磁性ワイヤ15を磁化する。

[0030] この磁石は、図3に示したように、方眼状の規則的な配列をした複数のマイクロベッセル12の各々の間を仕切る仕切り板19を設け、この仕切り板19の一部に永久磁石16を配置することができる。

[0031] また、図4に示したように、複数のマイクロベッセルを仕切る仕切り板19を縦横に設け、この縦の仕切り板と横の仕切り板のうち、一方の仕切り板には厚み方向に着磁された永久磁石16を用い、他方の仕切り板には非磁性体を用いる形に磁石を配置する構成にすることができる。

[0032] これらの永久磁石として、エネルギー積が他の磁石に比べて大きいネオジム磁石を用いれば、より高い磁界を強磁性ワイヤに印加し磁化することができ、より強い磁気吸引力が得られるので好ましい。

実施例

[0033] 1. 磁気ビーズセパレータ:

本実施例では、図2に示した磁気分離セパレータ11のマイクロベッセル12として、内径が10mmであり、マイクロピペット14には、外径が6.5mmのものを用いた。マイクロベッセル内周部に直径200 μ m、長さ30mmのNi製強磁性ワイヤ15を200本用意し、これを内径6.5mmの中空部を有する外径10mmのドーナツ状ポリウレタン製多孔保持体で固定し、マイクロベッセル内部に装着した。

[0034] 2. 試験液

平均粒径20nmのオレイン酸被覆したマグネタイトを磁気ビーズとし、このオレイン酸被覆マグネタイトの分散液が5mg/mlとなるように調整し、これを試験液とした。

[0035] 3. 磁気分離

この試験液300 μ lを、磁気ビーズセパレータのマイクロベッセル12中に分注し、電磁石を用いて外部磁場3kGを印加し、Niワイヤ表面にオレイン酸被覆マグネタイト粒子を集めた後、分注ピペットチップにより非回収成分を溶液と共に回収した。

[0036] 磁気分離時間は1、3、5、10分とし、それぞれ回収された上澄み液に含まれるマグネタイトを塩酸で溶解し高周波プラズマ発光分析装置(ICPS)により上澄み液中の残留Fe濃度を測定し、原液のFe濃度と比較することでNiワイヤに回収されたマグネタイト量を算出した。

[0037] この結果を図5に経過時間と残留Fe濃度との関係として示した。図5から、磁気分離時間3分で全体の98%にあたるマグネタイトが回収され、以降は実験誤差内の値を示したため、オレイン酸被覆マグネタイト粒子の回収に必要な時間は3分以内であることがわかった。

[0038] また、Niワイヤを配置しないマイクロベッセルにて、上記と同様に、試験液に外部磁場3kGを印加し磁気回収を試みたところ、有限時間内ではオレイン酸被覆マグネタイト粒子の回収が確認されなかったことから、この磁気ビーズセパレータが、平均粒径20nmと粒子サイズが極めて小さいオレイン酸被覆マグネタイトに対して、磁気ビーズセパレータとしての磁気分離機能およびその効果が実証された。なお、ここではデータ取得の目的から、磁界の発生に電磁石を用いた場合を示したが、磁界の発生にネオジム磁石などの永久磁石を用いた場合にも、同様の結果が得られた。

[0039] 本発明は、本発明の技術思想およびその特徴から逸脱しない範囲で、このほかに

もさまざまな形で実施することが可能であって、それらはいずれも本発明の範囲内のものである。

産業上の利用可能性

[0040] 本発明により、従来は不可能とされていたナノメートルサイズの磁気ビーズの高速磁気分離が可能になった。本発明のナノメートルサイズの磁気ビーズは、従来のマイクロサイズの磁気ビーズに比べ、比表面積が非常に大きいので、目的物質を特異的吸着により捕獲し抽出する効率を格段に向上させることが可能となった。しかもこの磁気ビーズセパレータは、既存のマイクロカラムシステムが有している分注、吸入、吐出、洗浄などの機能を活用して用いることができるので、簡便に磁気ビーズセパレータを構成することができるので、その産業上の利用可能性は大であると考えられる。

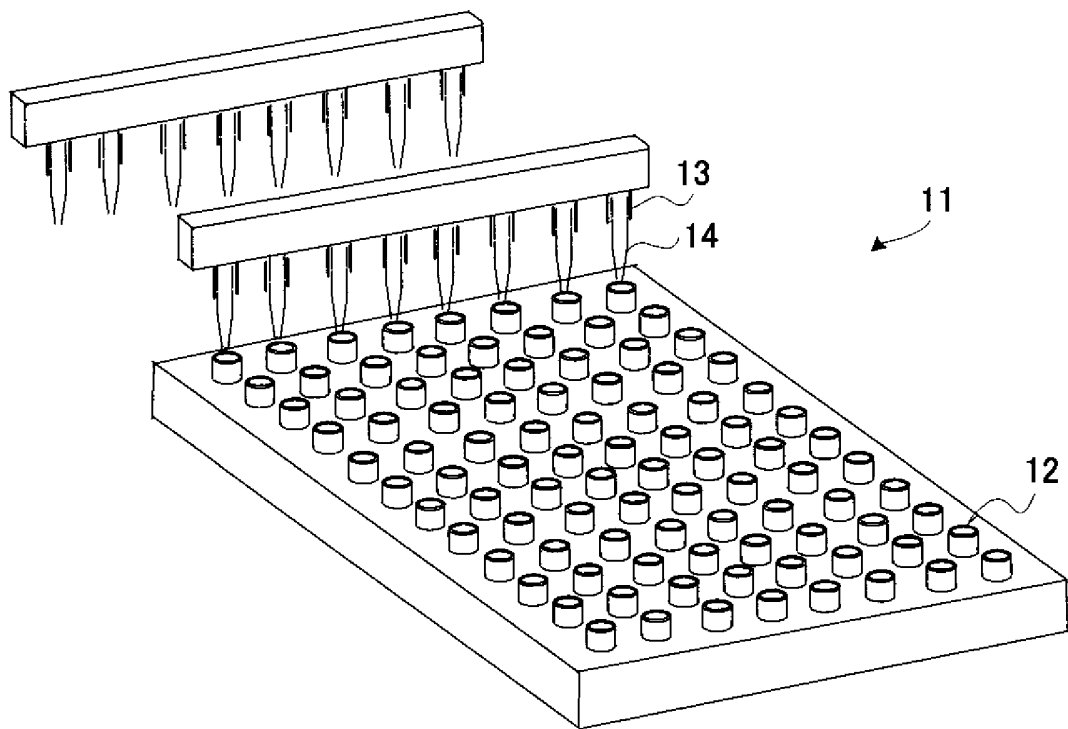
請求の範囲

- [1] 磁気ビーズで標識された検体を含有する各試験液を収容する複数のマイクロベッセルと、
前記複数のマイクロベッセルの各々に磁場を発生させる磁石と、
前記複数のマイクロベッセルの各々の内側に配置され、前記磁石の発生する磁界によって磁化され磁場勾配を誘起して前記磁気ビーズを吸引する強磁性ワイヤと、
前記各試験液を前記複数のマイクロベッセルの各々に分注し、前記複数のマイクロベッセルの各々に分注した前記各試験液の含有する前記磁気ビーズがそれぞれ前記強磁性ワイヤに吸引された後に前記複数のマイクロベッセル中に残留した各試験液をそれぞれ吸引し回収する複数の分注器およびピペットチップと
を備えたことを特徴とする磁気ビーズセパレータ。
- [2] 前記強磁性ワイヤが、多孔保持体により前記複数のマイクロベッセルの周辺部に保持されていることを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [3] 前記強磁性ワイヤが、ニッケルおよびパーマロイからなる群から選ばれる少なくとも一種であることを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [4] 前記強磁性ワイヤが、非特異的吸着を生じない物質で被覆されていることを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [5] 前記強磁性ワイヤの長手方向を前記試験液の流れる方向に向けたことを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [6] 前記複数のマイクロベッセルが5～10mmの間隔で二次元配列していることを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [7] 前記複数のマイクロベッセルの各々の間に仕切り板を設け、この仕切り板の一部に永久磁石を用いたことを特徴とする請求項1記載の磁気ビーズセパレータ。
- [8] 前記仕切り板は前記複数のマイクロベッセルを縦横に仕切る仕切り板であり、この縦横に仕切る仕切り板の縦および横のうち、一方が仕切り板の厚み方向に着磁された永久磁石であり、他方が非磁性体であることを特徴とする請求項7記載の磁気ビーズセパレータ。
- [9] 前記永久磁石がネオジム磁石であることを特徴とする請求項7記載の磁気ビーズセ

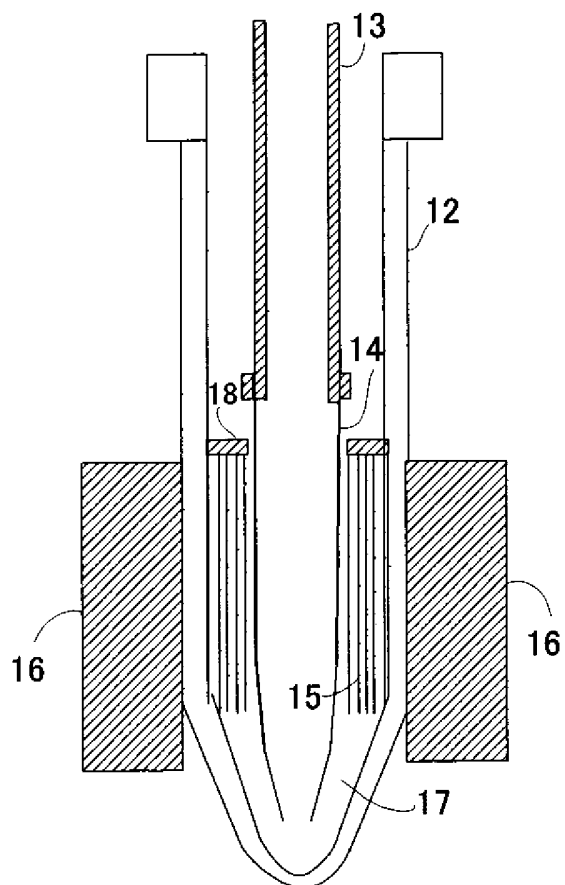
パレータ。

- [10] 検体を含有する試験液に、前記検体を特異的吸着する生体活性物質が表面に固定された磁気ビーズを浸漬し、試験液中の前記検体が特異的吸着した磁気ビーズを含有する試験液を得る工程と、
- 前記検体が特異的吸着した磁気ビーズを含有する試験液を磁化された強磁性ワイヤを有するマイクロベッセルに分注し、前記検体が特異的吸着した磁気ビーズを前記強磁性ワイヤに吸引させ分離する工程と、
- 前記検体の特異的吸着した磁気ビーズが分離されて除かれた前記試験液を吸引分離する工程と、
- 前記強磁性ワイヤに吸引されて分離された前記検体の特異的吸着した磁気ビーズから、前記検体を解離して回収する工程と
- を備えたことを特徴とする検体の磁気分離方法。

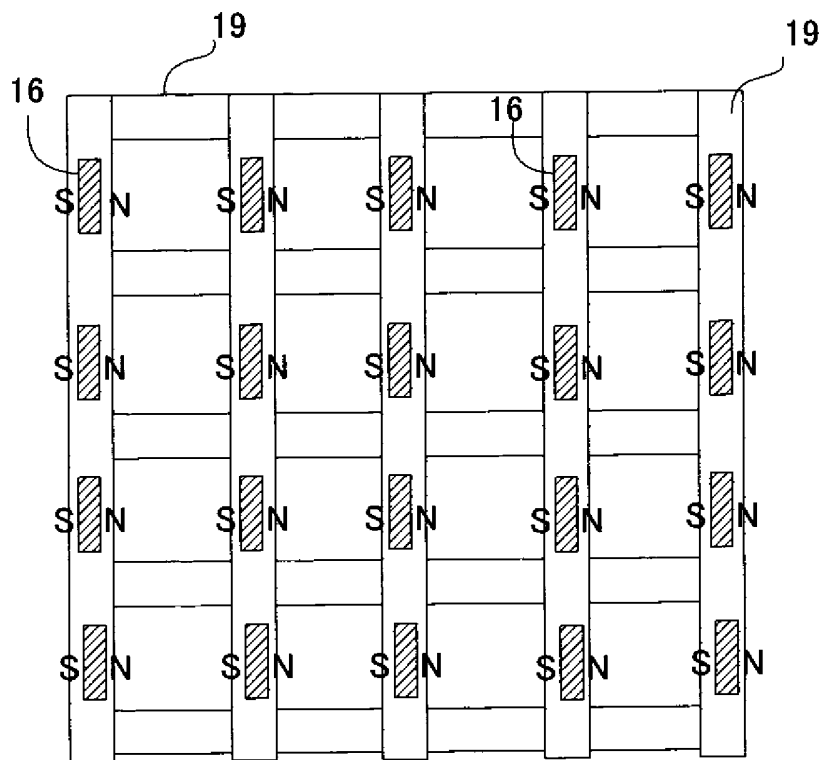
[図1]



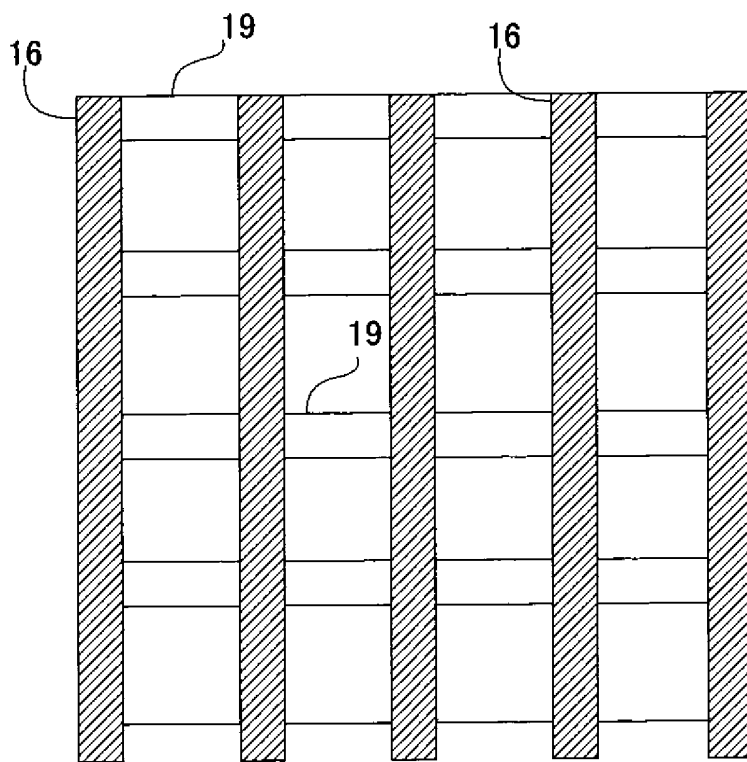
[図2]



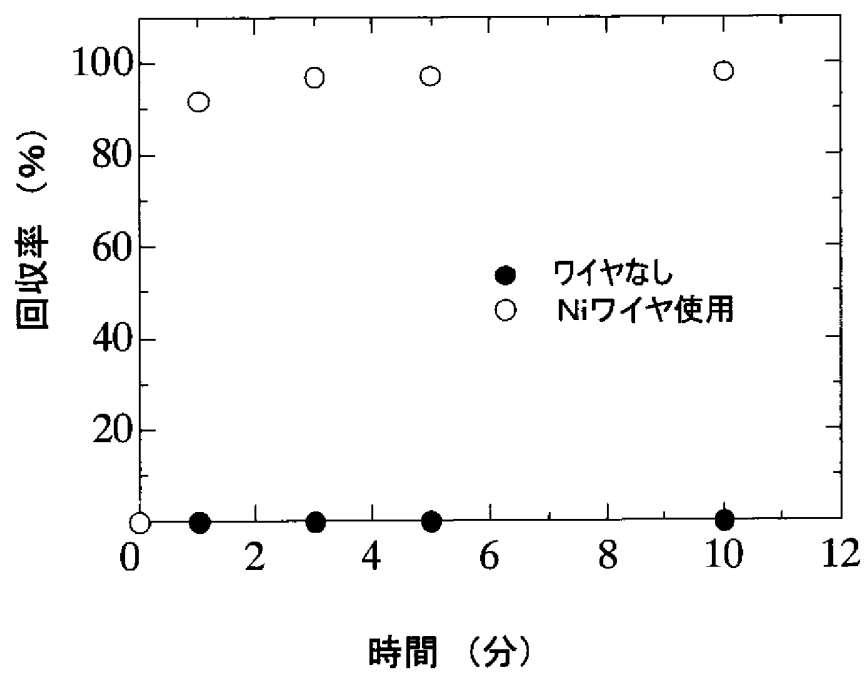
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/305989

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/543 (2006.01), **B01D43/00** (2006.01), **B03C1/00** (2006.01), **B03C1/02** (2006.01), **G01N35/02** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01D43/00, B03C1/00, B03C1/02, G01N33/543, G01N35/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2006	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 06-503748 A (Immunicon Corp.), 28 April, 1994 (28.04.94), Claims; Figs. 8, 8A & US 5200084 A1 & EP 0593480 A & WO 1992/004961 A1	1-10
Y	JP 06-507498 A (Abbott Laboratories), 25 August, 1994 (25.08.94), Claims; page 13, upper right column, lines 5 to 17 & US 5149801 A1 & EP 0558663 B & WO 1992/009610 A1	1, 2, 4-6, 10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
26 May, 2006 (26.05.06)

Date of mailing of the international search report
06 June, 2006 (06.06.06)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/305989

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/057304 A1 (RADIOMETER MEDICAL A/S), 08 July, 2004 (08.07.04), Page 6, line 26 to page 7, line 2 & JP 2006-510883 A & US 2003/126914 A1 & EP 1583952 A1	3, 9
Y	JP 11-326338 A (Tosoh Corp.), 26 November, 1999 (26.11.99), Claims; Figs. 5, 7 (Family: none)	7, 8
A	JP 11-242033 A (Precision System Science Co., Ltd.), 07 September, 1999 (07.09.99), & US 6231814 B1 & EP 0687501 A3	1-10
A	JP 11-156231 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 15 June, 1999 (15.06.99), & US 6579453 B1 & EP 0905520 A1	1-10
A	JP 09-325148 A (Hitachi, Ltd.), 16 December, 1997 (16.12.97), (Family: none)]	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/543 (2006. 01), B01D43/00 (2006. 01), B03C1/00 (2006. 01), B03C1/02 (2006. 01), G01N35/02 (2006. 01)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. B01D 43/00, B03C 1/00, B03C 1/02, G01N 33/543, G01N 35/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 6 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 6 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 6 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 06-503748 A (イミュニコン・コーポレーション) 1994. 04. 28, 【特許請求の範囲】、【Fig. 8】、【Fig. 8A】 & US 5200084 A1 & EP 0593480 A & WO 1992/004961 A1	1 - 1 0
Y	JP 06-507498 A (アボット・ラボラトリーズ) 1994. 08. 25, 【特許請求の範囲】、第 1 3 頁右上欄第 5 行 ~ 1 7 行 & US 5149801 A1 & EP 0558663 B & WO 1992/009610 A1	1、2、4 - 6、1 0

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
2 6 . 0 5 . 2 0 0 6国際調査報告の発送日
0 6 . 0 6 . 2 0 0 6

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)
白形 由美子
電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2004/057304 A1 (RADIOMETER MEDICAL A/S) 2004.07.08, 第6頁 第26行～第7頁第2行 & JP 2006-510883 A & US 2003/126914 A1 & EP 1583952 A1	3、9
Y	JP 11-326338 A (東ソー株式会社) 1999.11.26 【特許請求の範囲】、 【図5】、【図7】 (ファミリーなし)	7、8
A	JP 11-242033 A (プレシジョン・システム・サイエンス株式会社) 1999.09.07 & US 6231814 B1 & EP 0687501 A3	1-10
A	JP 11-156231 A (エフ・ホフマンーラ ロシユ アーゲー) 1999.06.15 & US 6579453 B1 & EP 0905520 A1	1-10
A	JP 09-325148 A (株式会社日立製作所) 1997.12.16 (ファミリーなし)	1-10