

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2004-501342  
(P2004-501342A)

(43) 公表日 平成16年1月15日(2004.1.15)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>  
GO 1 N 37/00  
GO 1 N 33/53

F I  
GO 1 N 37/00  
GO 1 N 37/00 1 O 1  
GO 1 N 33/53 K

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 36 頁)

|                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                              |                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) 出願番号<br>(86) (22) 出願日<br>(85) 翻訳文提出日<br>(86) 国際出願番号<br>(87) 国際公開番号<br>(87) 国際公開日<br>(31) 優先権主張番号<br>(32) 優先日<br>(33) 優先権主張国<br>(81) 指定国 | 特願2001-566790 (P2001-566790)<br>平成13年3月13日 (2001.3.13)<br>平成14年9月12日 (2002.9.12)<br>PCT/US2001/007968<br>W02001/068238<br>平成13年9月20日 (2001.9.20)<br>60/189,163<br>平成12年3月14日 (2000.3.14)<br>米国 (US)<br>EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR) , AU, CA, JP | (71) 出願人<br>(74) 代理人<br>(74) 代理人<br>(74) 代理人 | 303031505<br>マイクロニックス、インコーポレーテッド<br>アメリカ合衆国、98052 ワシントン<br>州、レッドモンド、エヌイー、154ス<br>アベニュー 8463、ビルディング エ<br>フ<br>100078282<br>弁理士 山本 秀策<br>100062409<br>弁理士 安村 高明<br>100113413<br>弁理士 森下 夏樹 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

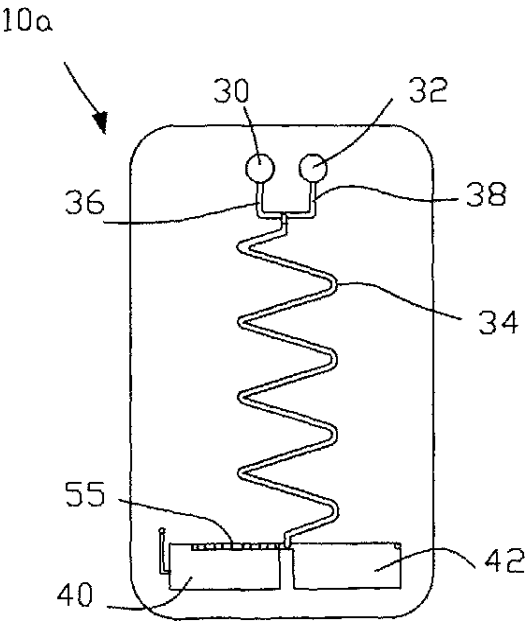
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロ流動体分析用デバイス

(57) 【要約】

凝固または凝集の反応に基づき全血のようなサンプル溶液を分析するデバイスであって、分析するのに外的力や動力源を必要としないもの。本技術を使えば1本の使い捨てカートリッジで血液型を判定することができる。

【選択図】 図2



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

本体と、  
少なくとも 1 個のサンプル流動体と少なくとも 1 個の試薬流動体とを取り入れるための上記本体中に設けられた入口と、  
該入口に接続された少なくとも 1 個のチャンネルであって、上記サンプル流動体と試薬流動体とが反応できるように該チャンネル中で上記サンプル流動体と試薬流動体とが流れ接触できるようにしたものと、  
上記チャンネル中で生じた反応を検出する検出手段と、  
上記入口から上記 2 個の流動体を動かす駆動手段であって、電氣的、機械的駆動力を必要としないもの、  
以上を有することを特徴とするマイクロ流動体分析用デバイス。 10

## 【請求項 2】

上記少なくとも 1 個のサンプル流動体と少なくとも 1 個の試薬流動体とが各々平行に連続的に流れる流動体層をなすように上記チャンネル中に導入することを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 3】

上記平行に流れる少なくとも 1 個のサンプル流動体と少なくとも 1 個の試薬流動体との層が、一方の層は他方の層の上側を流れ、それによって上層から下層へ片が落ち着くことができるようにしたことを特徴とする請求項 2 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。 20

## 【請求項 4】

上記上層から下層へ落ち着いた片が下層中の片と結合して、該チャンネル中で検出可能な反応を示せるようにしたことを特徴とする請求項 3 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 5】

上記検出可能な反応が上記チャンネル中における上記流動体の粘度変化であることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 6】

上記検出可能な反応が視覚的なクラスターへの片の凝集であることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。 30

## 【請求項 7】

上記検出可能な反応が上記チャンネル中における片の凝固であることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 8】

上記チャンネルが凝集しない片の通過を制限するに十分な細かい寸法にされた部分を有することを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 9】

片がさまざまな大きさに凝集したとき、それら異なる大きさの凝集片の固まりを分離するために異なる大きさの複数本の枝分かれしたブランチチャンネルに上記チャンネルを接続してあることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。 40

## 【請求項 10】

上記流動体の駆動手段が、流体静力学的力、毛管作用、流動体吸収、重力、及び真空、以上のうちのいずれかから選択されるものであることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 11】

上記検出手段が、透明な流れチャンネルであることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 12】

上記透明な流れチャンネルがマイクロ流動体の寸法にされていることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 13】

上記検出可能な反応が、上記チャネル中の流れを止めることであることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 14】

上記の本体構造が透明なプラスチック材でできていることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 15】

上記本体構造が 1 種類の材料からなることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

## 【請求項 16】

上記サンプルが全血で、上記試薬が抗血清であることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ流動体分析用デバイス。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

この特許出願は、2000年3月14日出願の米国仮特許出願第60/189,163号に基づき優先権を主張して行うものである。

## 【発明の分野】

## 【0002】

本発明は、マイクロ流動体カートリッジ中においたサンプルを分析するデバイス及び分析方法に関する。より具体的には、外力や外的動力源を必要とせずに凝固とか凝集といった反応を起こす全血などのサンプル溶液を分析するためのデバイスに関する。

20

## 【従来技術】

## 【0003】

マイクロ流動体用のデバイスは最近、分析テストのためによく使われるようになっている。半導体産業が開発した微小電子機器用の道具を使うことによって、複雑な流動体分析用デバイスを安価に大量生産することが可能になっている。こうして医療分野に必要な情報を得るための分析技術が開発されている。

## 【0004】

マイクロ流動体の通るチャネルでは、流動体は通常、薄層的挙動をする。米国特許第5716852号は、こうしたデバイスの1例を開示する。ここに言及して本明細書に同特許の記載を取り込むものとする。この特許は、インジェクタ流れとサンプル流れとを通す少なくとも2つのインプットチャネルを備えた薄層流れチャネルを使って、サンプル流れの中に被分析体である片が有るか無いかを検出するマイクロ流動体システムについて記載している。そこでは薄層流れチャネルは流れを薄層にするのに十分な薄さの深さを持ち、また、インジェクタ流れの中に被分析体である片が分散して検出域を形成するのに十分な長さを持ち、そして出口では1本の混合流れにしている。Tセンサーと呼ばれるこのデバイスは、種類の異なる流動体層が隣接し合って1本のチャネル中を分散されないで混合することなく流れることができるようにされている。全血のようなサンプル流れとか、インジェクタ溶液のようなリセプター流れ、あるいは既知の被分析基準体である対照流れなどがTセンサー内の1本の共通のマイクロ流動体チャネルに取り込まれて、チャネルから出てくるまで各流れは互いに隣接したまま流れる。イオンとか微小タンパクのような比較的小さい片は流動体の境界を急速に横切って分散するが、比較的大きい分子はよりゆっくりと分散してゆく。血液細胞のような大きい片は、これら2つの流れが接触していても有意な分散を示すことはない。

30

40

## 【0005】

互いに隣接する2つのインターフェース面が流動体層間に、マイクロ流動体チャネル中で形成される。これら2面の、例えば蛍光度のような検出可能特性の比率は、被分析体の濃度の関数であって、濃度以外のサンプル成分とかデバイスのパラメータとかとの交互感受性ではほとんど関係ない。

## 【0006】

50

普通、マイクロ流動体システムは、ピエゾ電気ポンプとかマイクロシリンジポンプ、あるいは電気浸透ポンプのような、流動体を動かすための外部からの駆動力を必要としている。米国特許出願第09/415404号は、本願出願人が譲り受けたものだが、重力、毛管作用、多孔金属の吸収機能、化学的に引き起こされる圧力作用や真空作用、あるいはカートリッジ内に封入した力源に対する単純な手作業から引き起こされる真空もしくは圧力などといった、本質的に利用可能な内在力に依存してはじめて完全に駆動されるマイクロ流動体システムについて記載している。このようなデバイスは非常にシンプルで製造コストが低く、また、電気その他の動かすための外的力源を必要としない。こうしたデバイスは、射出成型とか押出積層などの標準的工程を経てプラスチックのような簡単な材料だけで製造することができるものである。さらにこの種のマイクロ流動体用デバイスは、使用

10

#### 【0007】

この種のマイクロ流動体のデバイスは、全血のような個々の成分からなるサンプルから成分ごとに分離するとか、少量の化学剤を製造するとかいう場合に、質的ないしは半量的に被分析体の濃度を決定するのに使うことができる。

#### 【0008】

こうしたマイクロ流動体デバイスの実際的な用途は、全血中のいくつかのパラメータを判定することから直接決められ得る。Tセンサーの検出チャンネルにおける分散域に見られる変色は、被分析体の有無に関する質的情報を提供し得る。こうした方法はまた、分散域の色合いを比較する比較測定用の色合チャートを細くすることで、ちょうど試験紙を使うときと同様だが、よりコントロール可能かつより反復性に富んだ、半量的な測定をすることにもなる。

20

#### 【0009】

サンプル中の被分析体である片と試薬の片との間の接触関数と考えることができる凝固や凝集反応に基づきマイクロ流動体のチャンネル中でのサンプル分析デバイスを作るとは好ましいことである。このような分析の例として、使い捨て可能なマイクロ流動体のカートリッジに乗せた1ないし2以上の抗血清に1滴の血液を接触させることでヒトの血液型を判定したり、これら2つの溶液がマイクロ流動体チャンネルの中をそれぞれ流れていくとき、それぞれが隣接しつつ流れるか、あるいは沈殿しながら混合していくかといった、2つの溶液の流れ挙動を視覚的に観察するというのがある。このとき反応するのであれば、流れは遅くなるか、止まるか、なんらかの凝固や凝集につながる変化が観察されることになる。

30

#### 【0010】

検出チャンネル中のサンプルの被分析体ないしサンプル片の有無に起因して生ずる光学的に観察可能な変化を観察することができるように吸光度、蛍光度、化学発光、光散乱度、あるいは濁度の測定器を備えた読み取りシステムを追加すればデバイスの正確さを向上させることができる。あるいは検出チャンネル中にサンプルの被分析体ないしサンプル片の有無に起因して生ずる電気化学的に観察可能な色合変化を観察するため、デバイスに電極を追加してもよい。

#### 【発明の目的】

40

#### 【0011】

本発明の目的は、外部から力を加えることなしに診断的分析ができるマイクロ流動体用のデバイスを提供することである。

#### 【0012】

また、製造するのに安価で使用法も簡単な、液体サンプル分析用の使い捨てカートリッジを提供することも目的とする。

#### 【0013】

さらに、サンプルの反応を視覚的に分析できるマイクロ流動体の分析用カートリッジを提供することも目的とする。

#### 【0014】

50

上記、及び上記以外の本発明の目的は、カートリッジに外的な力を加えることなく、凝固とか凝集に基づいてさまざまな分析技術を駆使する、マイクロ流動体用のチャンネルを設けた簡単な構造の本発明のカートリッジデバイスで達成される。血液型分析用の簡単な使い捨てカートリッジは、本発明技術により構成することができる。

【実施例】

【0015】

マイクロ流動体チャンネル中を一定の流れ速度で血液サンプルを流すのに必要な圧力は、次式で決定される：

【数式1】

$$H_c = RQ/pg$$

10

ただし、 $H_c$  は水頭 [ head pressure ]、 $R$  はチャンネル中の流れ抵抗、 $Q$  は量当りの流れ速度、 $p$  は液体濃度、 $g$  は重力加速度である。

【0016】

流動体の抵抗  $R$  は次式から計算できる：

【数式2】

$$R = 128\mu L/4AF_{AR}D_H$$

20

ただし、 $\mu$  は流動体の動的粘度、 $L$  はチャンネル長さ、 $F_{AR}$  はチャンネルのアスペクトレシオ（縦横比）、 $D_H$  はチャンネルの液面径、 $A$  はチャンネルの流れの断面積である。チャンネルの流れの断面積  $A$  の特性的直径が液面径  $D_H$  である。円筒のパイプの場合、 $D_H$  はそのパイプの直径であり、長方形のチャンネルなら、 $D_H$  は濡れる周囲長で割った面積の4倍である。すなわち：

【数式3】

30

$$D_H = 2/(1/w + 1/h)$$

ただし、 $h$  及び  $w$  はチャンネルの断面寸法である。本発明の場合、マイクロ流動体チャンネルは少なくとも1個の  $500\mu m$  以下の内口断面、代表的には  $0.1\mu m \sim 250\mu m$  の内口断面の流動体通路または室となっている。

【0017】

40

アスペクトレシオ  $F_{AR}$  は断面流れ面積のアスペクトレシオに因り長方形のチャンネル中での流れ抵抗の変化を表す。例えば同一の流れ域をもつ2つのチャンネルは、もし一方が矩形断面で、他方が非常に薄い幅広な断面であるなら、両者は互いに著しく異なる流れ抵抗を示す。円筒パイプの抵抗の簡単な数式、

【数式4】

$$F_{AR} = 1$$

を使えば、矩形チャネルの数式は次のようになった。

【数式 5】

$$F_{AR} = 2/3 + 11h(2-h/w) / 24w$$

10

ただし、 $h < w$

【0018】

例えば、これらの数式を使って血液を駆動するのに必要とされる水頭 [ pressure head ]  $H_c$  を決定するため、次のパラメータを使うと、

【数式 6】

$$Q = 0.2 \mu\text{l}/\text{sec}$$

20

$$h = 250 \mu\text{m}$$

$$w = 1000 \mu\text{m}$$

30

$$L = 200 \text{ mm}$$

$$g = 9.81 \text{ m}/\text{s}^2$$

$$\rho = 1000 \text{ kg}/\text{m}^3$$

40

$$\mu = 3.6 \times 10^{-3} \text{ Pa s}$$

【数式 7】

$$F_{AR} = 0.867,$$

【数式 8】

$$D_H = 400\mu\text{m},$$

【数式 9】

$$R = 6.642 \times 10^{11} \text{ Pa s/m}^3,$$

10

となり、このマイクロ流動体チャンネルに血液を通して駆動するのに要求される水頭  $H_c$  は、13.5 mm と計算される。

【0019】

図1を参照して説明すると、本発明の構成要素を含むカートリッジの全体が10で示されている。このカートリッジ10は、例えば射出成型または積層成型のような方法で透明なプラスチックのような1種類の材料で、典型的なクレジットカード程の大きさ及び厚さに構成されることが好ましい。このカートリッジ10の内部には一連のマイクロ流動体のチャンネル12、14、16が形成され、チャンネル12、14、16各々は、その一端を円形の入口18、20、22に各々接続されて、カートリッジ10の外気に連通している。チャンネル12、14、16の他方の端部は、好ましくは呼吸バブルポンプをなすようにカートリッジ10内に柔軟な膜26を張った円形室24中に接続されている。円形室24はカートリッジ10の内側と外側とをつなげるベント28を有する。

20

【0020】

次にカートリッジ10の使用方法について述べる。例えばサンプルとしての全血を3つに分割し、それぞれに異なる試薬を添加する。本実施例では血液は生理食塩水、対A抗血清、および対B抗血清と混合され、それぞれ1滴を別々に入口18、20、22に各々入れる。あるいは、サンプルから血液の1滴を入口18、20、22に入れ、次に分析するために異なる試薬の1滴を入れ、そしてピペットのような従来手段により入口中で攪拌する。

30

【0021】

チャンネル12、14、16は毛管作用をする細さに構成してあるので、毛管現象で混合物を円形室24方向に入口18、20、22からチャンネル12、14、16に引き込む。流動体が円形室24に向かって流れ出すと、凝固とか凝集、あるいは粘度変化といったサンプルと試薬の反応がチャンネル12、14、16中で観察される。

【0022】

円形室24は分析が終わったら流動体廃棄容器として利用してもよいし、呼吸ポンプ26は、系中に流動体を動かす補助として作用させてもよい。

40

【0023】

図2は本発明の別の実施例を示す。図1のカートリッジ10と同様に構成したマイクロ流動体用カートリッジ10aは、入口チャンネル36、38を経て反応チャンネル34に連通する一対の入口30、32を有する。入口チャンネル36、38は、図3に示すような薄層の流れが反応チャンネル34中に生ずるように、一方が他方の上側にくるよう反応チャンネル34に接続される。反応チャンネル34の終端には一対の貯蔵室40、42を配置して、廃棄物容器とする。

【0024】

分析するのに必要なカートリッジ10a内の駆動力は重力とする。遠心分離機内でカート

50

リッジを回転させれば、重力を促進させることができる。例えばサンプルの血液型を決定する分析は次のように行うことができる。すなわち型を決定すべき全血の小滴50を入口32に寄せ、適当な試薬溶液の小滴52を入口30に乗せる。次にカートリッジ10aを立てて流動体50、52がチャンネル34中を流れるようにする。血液の小滴50が入口38からチャンネル34に流れると、チャンネル34の上側に流れて、試薬の小滴52が入口チャンネル36から流れてチャンネル34に入ると、チャンネル34の下側に来て、2つの流動体は図3に示したように薄層をなして流れることになる。

#### 【0025】

図11は、分析中にカートリッジを一定の角度に維持する盆53を示す。カートリッジが維持される角度は、垂直から水平にかけての90度幅変更可能にしてある。反応の速度は、この角度に従い変ってくる。 10

#### 【0026】

赤血球は1 $\mu$ m/秒という速度で通常の重力下に落ち着くのであるから、ある時間が経過すれば、血液の小滴50から流れの境界を越えて試薬の小滴52中に落ち着き、試薬溶液中の抗血清と反応し始めることになる。

#### 【0027】

試薬溶液中の抗血清がサンプル中の全血と反応する例では、凝集が起こり、そのサンプルの血液型を示す反応を視覚的に観察することができる。少しずつ幅の異なる一連のチャンネル55は、凝集した片をその大きさに従いそれらチャンネル55のいずれかに通すことになる。 20

#### 【0028】

図4～図6は、図2に示したカートリッジによる一連の血液型分析について示す。カートリッジ10b、10c、10dは、供給者から供給されたAプラスとされる血液サンプルを分析する血液型決定実験を示す。カートリッジ10bは全血を入口30に乗せ、生理食塩溶液を入口32に乗せている。一方カートリッジ10cは同じ供給者からの血液を入口30に対A抗血清を入口32に乗せている。カートリッジ10dは同じ供給者からのサンプル血液を入口30に対B抗血清を入口32に乗せている。

#### 【0029】

これら各々のサンプルがチャンネル34を流体静力学的力に押されて動いていくと、カートリッジ10b、10d中の流動体は何ら積極的反応は示さなかったが、カートリッジ10cのチャンネル34中の流動体は、チャンネル34中に視覚的に検出できた凝集反応の兆候を見せ、Aプラス血液としての積極的反応を示した。カートリッジ10b、10c中で見られた観察は図7及び図8においてより明確に見ることができる。 30

#### 【0030】

1本のカートリッジの中に一体構成する血液型判定デバイスのもう一つ別の実施例を図9に示す。図9において、カートリッジ10eはポート62に連通する第1室60を有し、該第1室60は一連のマイクロ流動体チャンネル64、66、68、69にも連通している。チャンネル64は室70で、チャンネル66は室72で、そしてチャンネル68は室74でそれぞれ終端している。室70、72、74各々はもう一つ別の室76に、経路78、80、82経由でそれぞれ連通している。経路78、80、82各々は目の細かい格子78a、80a、82aをそれぞれ有している。室76は又、ポート84経由でカートリッジ10eの外気にも連通している。 40

#### 【0031】

このデバイスで血液型の判定をするときは、希釈剤94を室60中にあらかじめ入れておき、室70、72、74に血液型A、BまたはOを検出する試薬96、98、100をそれぞれあらかじめ入れておく。こうした準備を済ませたらポート62、84、92を、好ましくはテープで覆って密封シールする。

#### 【0032】

ポート62から上記密封シールを取り除くことで分析を始める。次にポート62に型が未知の血液を注射器またはピペットで一定量入れると、このサンプル血液は希釈剤94が入 50

っている室 60 中に入る。次にポート 62 を再び密封シールし、カートリッジ 10 e をよく振って血液細胞を希釈剤 94 とよく混ぜる。次にカートリッジ 10 e を図 9 に示した向きに位置させて血液細胞を沈殿するにまかせる。沈殿したら、ポート 62 と 92 のシールを外す。すると余分な希釈剤 94 がチャンネル 69 経由で室 90 中に入る。次にポート 84 のシールを外し、希釈した血液サンプルが室 70、72、74 中にチャンネル 64、66、68 経由で流れ込んで、試薬 96、98、100 と混合するようにする。次にカートリッジ 10 e をちょっと振って温度制御した環境下に 10 分間、図 9 に示した向きに位置させる。

#### 【0033】

所定時間を経過したらカートリッジを温度制御環境下から取り出して、カートリッジを図 9 に示す矢印 A 方向に 90 度回転して、室 76 が一番下に来るように向きを変える。すると室 70、72、74 中の混合溶液がそれぞれ経路 78、80、82 経由で室 76 の方へ流れ出す。

#### 【0034】

溶液が目細かい格子 78a、80a、82a に達すると、型が未知の血液の試薬を含む室内の血液細胞は凝集し始め、その凝集するチャンネル内に塊となって止まってしまって特定の血液型を視覚的に示す。その血液型の室は詰まってしまうため空にならないからである。カートリッジ 10 e は、ポート 62、84、92 をテープなどで再び密封シールしてカートリッジ内にすべての流動体を保持させることができるから、安全に処分することができる。

#### 【0035】

これ以外にも血液型を判定するデバイスとして（図 9 に示したものと類似する）図 10 に示すものがある。図 10 において、カートリッジ 10 f はポート 112 でカートリッジの外気に連通する第 1 室 110 を有する。第 1 室 110 は室 114 にマイクロ流動体チャンネル 116 経由で連通している。室 114 は、カートリッジ 10 f の外気に室 114 を連通させるポート 118 を有する。ポート 118 は最初は栓 120 で塞がれている。

#### 【0036】

室 110 は又、チャンネル 124 経由で室 122 に連通している。室 122 は室 126 にチャンネル 128 経由で連通している。そして室 126 は一連の平行するチャンネル 132 経由で室 130 に連通している。さらに室 130 は最初栓 136 で塞がれているポート 134 を介してカートリッジ 10 f の外気に連通するようにされている。

#### 【0037】

カートリッジ 10 f で血液型を分析するときは、栓 136 をポート 134 から抜き、特定の血液型に対する抗血清をポート 112 経由でカートリッジ 10 f に加える。すると、好ましくは 100  $\mu$ l 量の、この流動体が室 110 からチャンネル 124 経由で室 122 に入る。次にポート 134 に栓 136 を入れる。

#### 【0038】

次に血液洗浄剤をポート 112 経由で室 110 内に入れてから、型が未知のサンプル血液を入れる。これらの流動体は振られることで室 110 内で混合された後、放置される。

#### 【0039】

室 110 内での混合が終了したら、室 114 の栓 120 をポート 118 から引き、カートリッジ 10 f を慎重に傾けて、室 110 中にある流動体の表面物質をポート 118 経由でカートリッジ 10 f から取り除く。それが済んだら、栓 136 をポート 134 から引き抜いて、室 110 中の洗浄された血液細胞をチャンネル 124 経由で抗血清溶液が既に入れている室 122 へ流れ込ませる。よく振ってこれらの流動体を室 122 内で混合し、カートリッジ 10 f を一定時間インキュベーションする。

#### 【0040】

インキュベーション後、カートリッジ 10 f を図 10 の矢印 B 方向に 90 度回転させて、室 122 の内容物がチャンネル 128 経由で室 126 に流れ込むようにする。未知の血液サンプルがカートリッジ 10 f に入れた抗血清と反応するときは、凝集がチャンネル 132 を

10

20

30

40

50

詰まらせチャネル 130 は空のままで維持されることになる。もし抗血清が血液サンプルと反応しないならば、室 130 は室 122 から流動体を受け入れることになる。

【0041】

上述したように本発明をいくつかの好ましい実施例を明らかにして説明したが、本発明はこうして具体的に述べた実施例の範囲に止まるものでなく、本発明の精神から離れない限り、ここに記載の請求の範囲に示したように多くの変形例や改善例をも含むものであることを理解されたい。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明に従い血液型を判定するマイクロ流動体カートリッジの平面図である。

10

【図 2】

本発明に従い血液型を判定するマイクロ流動体カートリッジの別の実施例の平面図である。

【図 3】

図 2 のカートリッジの側面図である。

【図 4】

図 2 のマイクロ流動体カートリッジの血液型判定テストを行っているところを示す。

【図 5】

図 2 のマイクロ流動体カートリッジの血液型判定テストを行っているところを示す。

【図 6】

図 2 のマイクロ流動体カートリッジの血液型判定テストを行っているところを示す。

20

【図 7】

図 6 の判定テストの結果を示す平面図である。

【図 8】

図 5 の判定テストの結果を示す平面図である。

【図 9】

図 2 のマイクロ流動体カートリッジの別の実施例の平面図である。

【図 10】

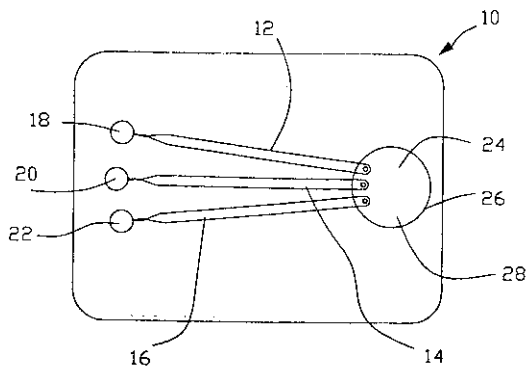
図 2 のマイクロ流動体カートリッジのもう一つ別の実施例の平面図である。

【図 11】

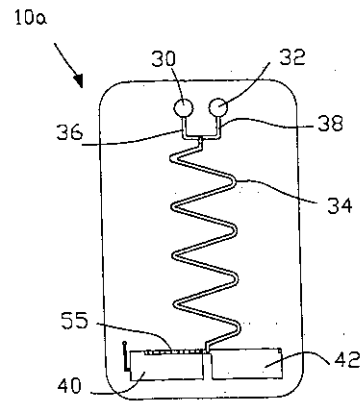
本発明に従い構成される、一定の傾斜角のマイクロ流動体カートリッジ保持盆の斜視図である。

30

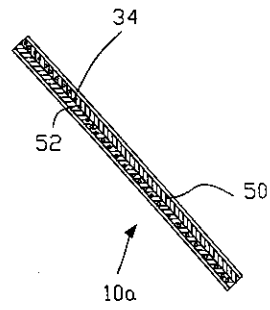
【図 1】



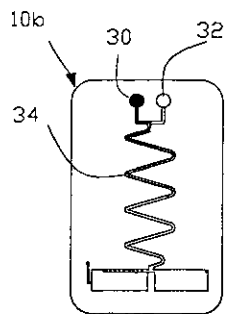
【図 2】



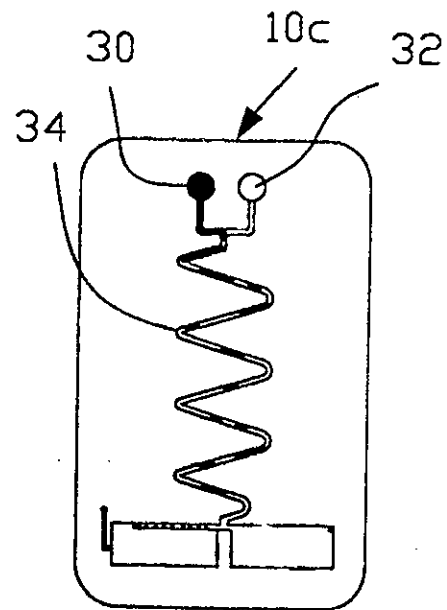
【図 3】



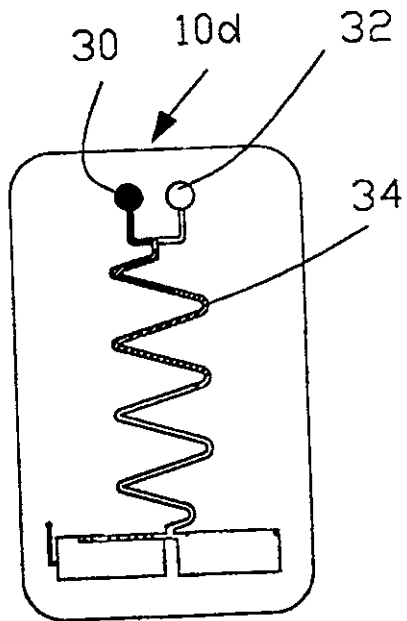
【図 4】



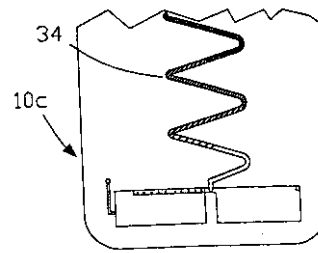
【図 5】



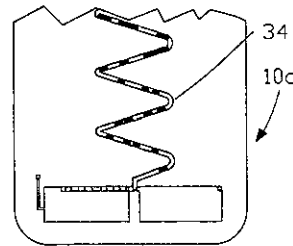
【図 6】



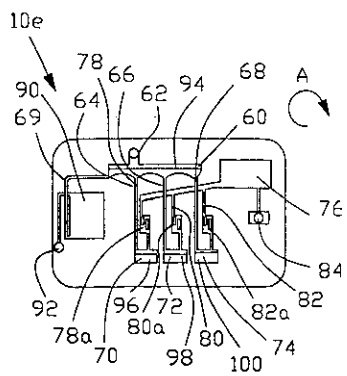
【図 7】



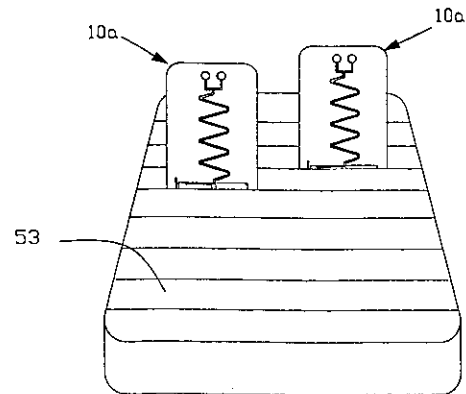
【図 8】



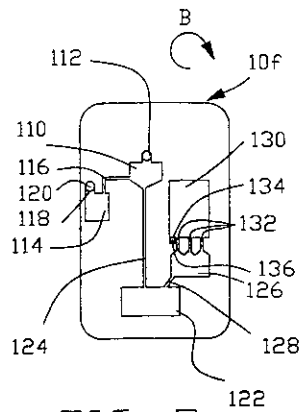
【図 9】



【図 11】



【図 10】



## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
20 September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 01/68238 A2**(51) International Patent Classification<sup>7</sup>: **B01J 19/00**(US) BARDELL, Ronald, L.; 8500 148th Avenue, NE,  
Redmond, WA 98052 (US); WILLIAMS, Clinton, L.;  
1912 30th Avenue S., Seattle, WA 98144 (US).

(21) International Application Number: PCT/US01/07968

(22) International Filing Date: 13 March 2001 (13.03.2001)

(74) Agent: LITZINGER, Jerrold, J.; Sentron Medical, Inc.,  
Suite 600, 4445 Lake Forest Drive, Cincinnati, OH 45242  
(US).

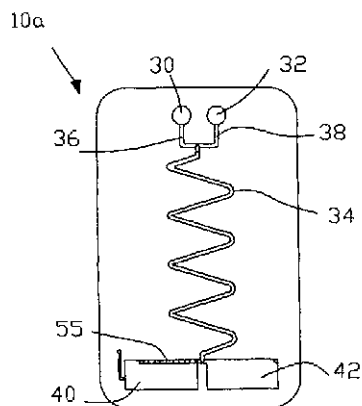
(25) Filing Language: English

(81) Designated States (national): AU, CA, JP.

(26) Publication Language: English

(84) Designated States (regional): European patent (AT, BE,  
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).(30) Priority Data:  
GB/189,163 14 March 2000 (14.03.2000) US(71) Applicant: MICRONICS, INC. (US/US); 8717 148th  
Avenue, NE, Redmond, WA 98052 (US).**Published:**  
— without international search report and to be republished  
upon receipt of that report(72) Inventors: KLEIN, Gerald, L.; 5731 152nd Place, SW,  
Edmonds, WA 98026 (US); WEIGL, Bernhard, H.; 5530  
Canfield Place N., Seattle, WA 98103 (US); SCHULTE,  
Thomas, H.; 7830 235th Place, Redmond, WA 98053For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-  
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: MICROFLUIDIC ANALYSIS CARTRIDGE

(57) Abstract: A device for analyzing sample  
solutions such as whole blood based on coagu-  
lation and agglutination which requires no exter-  
nal power source or moving parts to perform the  
analysis. Single disposable cartridges for per-  
forming blood typing assays can be constructed  
using this technology.

WO 01/68238 A2

WO 01/68238

PCT/US01/07968

**MICROFLUIDIC ANALYSIS CARTRIDGE****CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATION**

5 This patent application takes priority from U.S. Provisional Application Serial No. 60/189,163, filed March 14, 2000, which application is incorporated herein in its entirety by reference.

**BACKGROUND OF THE INVENTION**

10 1. Field of the Invention

The present invention relates generally to devices and methods for analyzing samples in microfluidic cartridges, and, in particular, to a device for analyzing sample solutions such as whole blood based on coagulation and agglutination which requires no external power source or moving parts.

15 2. Description of the Related Art

Microfluidic devices have recently become popular for performing analytical testing. Using tools developed by the semiconductor industry to miniaturize electronics, it has become possible to fabricate intricate fluid systems which can be inexpensively mass produced. Systems have been developed to perform a variety of analytical techniques for the acquisition of information for the medical field.

In microfluidic channels, fluids usually exhibit laminar behavior. U.S. Patent No. 5,716,852, which patent is herein incorporated by reference in its entirety, is an example of such a device. This patent teaches a microfluidic system for detecting the presence of analyte particles in a sample stream using a laminar flow channel having at least two input channels which provide an indicator stream and a sample stream, where the laminar flow channel has a

WO 01/68238

PCT/US01/07968

depth sufficiently small to allow laminar flow of the streams and length sufficient to allow diffusion of particles of the analyte into the indicator stream to form a detection area, and having an outlet out of the channel to form a single mixed stream. This device, which is known as a T-Sensor, allows the movement of  
5 different fluidic layers next to each other within a channel without mixing other than by diffusion. A sample stream, such as whole blood, and a receptor stream, such as an indicator solution, and a reference stream, which is a known analyte standard, are introduced into a common microfluidic channel within the T-Sensor, and the streams flow next to each other until they exit the channel. Smaller  
10 particles, such as ions or small proteins, diffuse rapidly across the fluid boundaries, whereas larger molecules diffuse more slowly. Large particles, such as blood cells, show no significant diffusion within the time the two flow streams are in contact.

Two interface zones are formed within the microfluidic channel between  
15 the fluid layers. The ratio of a detectable property, such as fluorescence intensity, of the two interface zones is a function of the concentration of the analyte, and is largely free from cross-sensitivities to other sample components and instrument parameters.

Usually, microfluidic systems require some type of external fluidic driver to  
20 function, such as piezoelectric pumps, micro-syringe pumps, electroosmotic pumps, and the like. In U.S. Patent Application No. 09/415,404, which application is assigned to the assignee of the present invention and is hereby incorporated by reference, microfluidic systems are described which are totally driven by inherently available internal forces such as gravity, capillary action,

WO 01/68238

PCT/US01/07968

absorption by porous material, chemically induced pressures or vacuums, or by vacuum or pressure generated by simple manual action upon a power source located within the cartridge. Such devices are extremely simple and inexpensive to manufacture and do not require electricity or any other external power source for operation. Such devices can be manufactured entirely out of a simple material such as plastic, using standard processes like injection molding or laminations. In addition, microfluidic devices of this type are very simple to operate.

Microfluidic devices of this type described can be used to qualitatively or semi-quantitatively determine analyte concentrations, to separate components from particulate-laden samples such as whole blood, or to manufacture small quantities of chemicals.

A practical use of these microfluidic devices could be in the determination of several parameters directly in whole blood. A color change in the diffusion zone of a T-Sensor detection channel can provide qualitative information about the presence of the analyte. This method can be made semi-quantitative by providing comparator color chart with which to compare the color of the diffusion zone, similar to using a paper test strip, but with greater control and reproducibility.

It would be desirable, in many situations, to produce a device for analyzing samples in microfluidic channels based on coagulation or agglutination as a function of contact between sample analyte particles and reagent particles. An example of such an assay would be the determination of a person's blood group by bringing a drop of blood into contact with one or more antisera on a disposable

WO 01/68238

PCT/US01/07968

microfluidic cartridge, and visually observing the flow behavior of these two solutions as they flow adjacent to each other, or mixed through sedimentation as they flow with each other through microfluidic channels. If a reaction occurs, the flow will either slow down, stop, or show another observable change that can be attributed to coagulation or agglutination.

The accuracy of the device can be enhanced by the addition of a readout system which may consist of an absorbance, fluorescence, chemiluminescence, light scatter, or turbidity detector placed such that the detector can observe an optically observable change caused by the presence or absence of a sample analyte or particle in the detection channel. Alternatively, electrodes can be placed within the device to observe electrochemically observable changes caused by the presence or absence of a sample analyte or particle within the detection channel.

#### SUMMARY OF THE INVENTION

Accordingly, it is an object of the present invention to provide a microfluidic device which is capable of performing diagnostic assays without the use of an external power source.

It is a further object of the present invention to provide a disposable cartridge for analyzing fluid samples which is inexpensive to produce and simple to operate.

It is another object of the present invention to provide a microfluidic analysis cartridge in which a visual analysis can be made of the sample reaction.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

These and other objects are accomplished in the present invention by a simple cartridge device containing microfluidic channels which perform a variety of analytical techniques based on coagulation or agglutination without the use of external driving forces applied to the cartridge. Single disposable cartridges for performing blood typing assays can be constructed using this technology.

#### BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 is a plan view of a microfluidic cartridge used for performing blood typing according to the present invention;

FIG. 2 is a plan view depicting an alternative embodiment of a microfluidic cartridge for performing blood typing according to the present invention;

FIG. 3 is a side view of the cartridge of FIG. 2;

FIGS. 4A-C show a series of microfluidic cartridges according to FIG. 2 within which a diagnostic test for blood typing has been performed;

FIGS. 5A and B are additional views of FIGS. 4C and 4B, respectively, at the conclusion of the diagnostic test;

FIG. 6 is a plan view of another alternative embodiment of the microfluidic cartridge of FIG. 2;

FIG. 7 is a plan view of another embodiment of the microfluidic cartridge of FIG. 2; and

FIG. 8 is a view of a device holding microfluidic cartridges constructed according to the present invention at a constant angle.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

**DETAILED DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENTS**

The pressure required to drive a blood sample through a microfluidic channel at a specified volume flow rate is determined by the equation:

$$H_c = RQ/\rho g$$

- 5 where  $H_c$  is the head pressure,  $R$  is the fluid resistance within the channel,  $Q$  is the volume flow rate,  $\rho$  is the density of the liquid, and  $g$  is the acceleration of gravity.

The fluid resistance  $R$  can be calculated using the equation:

$$R = 128\mu L/4AF_{AR}D_H$$

- 10 where  $\mu$  is the dynamic viscosity of the fluid,  $L$  is the length of the channel,  $F_{AR}$  is the aspect ratio (ratio of length vs. width) of the channel,  $D_H$  is the hydraulic diameter of the channel, and  $A$  is the cross-sectional flow area of the channel.

The characteristic dimension of a cross-sectional flow area  $A$  of a channel is the hydraulic diameter  $D_H$ . For a circular pipe,  $D_H$  is the pipe diameter; for a

- 15 rectangular channel,  $D_H$  is four times the area divided by the wetted perimeter, or:

$$D_H = 2/(1/w + 1/h)$$

where  $h$  and  $w$  are the channel cross-sectional dimensions. In the present invention, microfluidic channels are fluid passages or chambers which have at least one internal cross-sectional dimension that is less than 500 $\mu$ m, and typically

- 20 between about 0.1 $\mu$ m and 250 $\mu$ m.

The aspect ratio  $F_{AR}$  represents the modification of resistance to flow in the rectangular channel due to the aspect ratio of the cross-sectional flow area. For example, two channels with the same flow area have markedly different resistance to flow if one has a square cross section and the other is very thin but

WO 01/68238

PCT/US01/07968

wide. To allow the use of a single formula for resistance,  $F_{AR} = 1$  for a circular pipe. A formula for approximating the aspect ratio within 2% for a rectangular channel has been developed:

$$F_{AR} = 2/3 + 11h(2-h/w) / 24w$$

5 where h is less than w.

As an example, using these formulas to determine the pressure head  $H_c$  required to drive blood (which has a viscosity of 3.6 times the viscosity of water), and using the following parameters:

$$Q = 0.2 \mu\text{l/sec}$$

10  $h = 250 \mu\text{m}$

$$w = 1000 \mu\text{m}$$

$$L = 200 \text{ mm}$$

$$g = 9.81 \text{ m/s}^2$$

$$\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$$

15  $\mu = 3.6 \times 10^{-3} \text{ Pa s}$

then  $F_{AR} = 0.867$ ,  $D_H = 400 \mu\text{m}$ ,  $R = 6.642 \times 10^{11} \text{ Pa s/m}^3$ , and the pressure head  $H_c$  required to drive blood through this microfluidic channel is calculated to be 13.5mm.

Referring now to FIG. 1, there is shown a cartridge generally indicated at  
 20 10 containing the elements of the present invention. Cartridge 10 is preferably constructed from a single material, such as a transparent plastic, using a method such as injection molding or laminations, and is approximately the size and thickness of a typical credit card. Located within cartridge 10 are a series of microfluidic channels 12, 14, 16. Each of channels 12, 14, 16 are individually

WO 01/68238

PCT/US01/07968

connected at one end to a circular inlet port 18, 20, 22 respectively, each of which couples channels 12, 14, 16 to atmosphere outside cartridge 10. The opposite ends of channels 12, 14, 16 all terminate in a circular chamber 24 under a flexible membrane 28 within cartridge 10, which preferably comprises an aspiration bubble pump. Chamber 24 may also contain a vent 28 which couples  
5 its interior to the outside of cartridge 10.

The operation of cartridge 10 can now be described. A sample, such as whole blood, is divided into three parts, to which different reagents are mixed. In the present embodiment, the blood is combined with a physiologic saline, Anti-A  
10 antisera, and Anti-B antisera and a drop of each is placed on inlet ports 18, 20, 22 separately. Alternatively, a drop of blood from the sample is placed on ports 18, 20, 22, followed by a drop of different reagent for performing the assay, then mixed in the port by conventional means, such as a pipette.

The mixture is drawn into channels 12, 14, 16 via ports 18, 20, 22  
15 respectively by capillary action, as the channels are sized to create capillary force action and draw the mixtures toward chamber 24. A reaction of the sample and reagent, such as coagulation, agglutination, or a change in viscosity, is observed within channels 12, 14, 16 as the fluids travel toward chamber 24.

Chamber 24 can be used for waste storage of the fluids after the assay is  
20 complete, and aspiration pump 26 can also assist in driving the fluids through the system.

FIG. 2 is directed to an alternative embodiment of the present invention. A microfluidic cartridge 10a, manufactured in a similar manner to cartridge 10 of FIG. 1, contains a pair of inlet ports 30, 32, which connect to a reaction channel

WO 01/68238

PCT/US01/07968

34 via inlet channels 36, 38 respectively. Inlets 36, 38 are arranged such that they connect to channel 34 with the one above the other, such that laminar flow in channel 34 is created as shown in FIG. 3. A pair of storage chambers 40, 42 are positioned at the end of channel 34 which act as waste storage receptacles.

5 The driving force necessary to perform assays within cartridge 10a is provided by gravity. This force can be enhanced by spinning the cartridge in a centrifuge. As an example, an assay to determine blood type of a specimen sample can be performed as follows: a droplet 50 of whole blood to be typed is placed on inlet port 32, while a suitable reagent solution droplet 52 is placed upon  
10 inlet port 30. Cartridge 10a is then positioned at an angle to the vertical plane, allowing fluids 50, 52 to flow into channel 34. As blood drop 50 flows through inlet 38 into channel 34, it flows in the upper section of channel 34, while reagent droplet 52 flows through inlet 36 and enters channel 34 flowing in the lower section of channel 34, with the two fluids exhibiting laminar flow, as can be clearly  
15 seen in FIG. 3.

FIG. 8 shows a device 53 which holds the cartridges at a constant angle during the assay. The angle at which the cartridge is held may be varied from vertical to horizontal. The speed of the reaction varies according to the angle.

As red blood cells settle under normal gravity at the rate of  $1\mu\text{m}/\text{sec.}$ , they  
20 will, after some time, settle from fluid 50 across the flow boundary into fluid 52, and begin to react with the antiserum in the reagent solution.

In the instances where the antisera in the reagent solution react with the whole blood in the specimen sample, agglutination will occur, causing a visually observable reaction which indicates the blood type of the sample. A series of

WO 01/68238

PCT/US01/07968

channels 55 with graduated width dimensions allow agglutinated particles to travel along according to size.

FIGS. 4A-C show a blood typing assay performed on a series of cartridges of the design taught in FIG. 2. Referring now to these figures, cartridges 10b, 10c, 10d show a blood typing experiment in which a blood sample listed as A-positive from the supplier is assayed. Cartridge 10b has whole blood placed in inlet 30 and a physiologic saline solution in inlet 32, cartridge 10c has blood from the same source placed in inlet 30 and Anti-A antisera placed in inlet 32, while cartridge 10d had a blood sample from the same source placed in inlet 30 and Anti-B antisera placed in inlet 32.

As each of the samples traveled through channel 34, driven by hydrostatic pressure, the fluids in cartridges 10b and 10d did not indicate a positive reaction, while the fluid within channel 34 of cartridge 10c is showing signs of agglutination, which can be visually detected within channel 34, indicating a positive reaction for A-positive blood. Views of the completed tests performed within cartridges 10b and 10c can be more clearly seen in Fig. 5A-B.

An alternative embodiment having a blood typing device integrated into a single cartridge is shown in FIG. 6. Referring now to FIG. 6, a cartridge 10e contains a first chamber 60 which is coupled to a port 62, and is also connected to a series of microfluidic channels 64, 66, 68, 69. Channel 64 terminates in a chamber 70, channel 66 terminates in a chamber 72, while channel 68 terminates in a chamber 74. Each of chambers 70, 72, 74 are connected to another chamber 76 via passageways 78, 80, 82 respectively. Passageways 78, 80, 82 each have a section containing a fine grating 78a, 80a, 82a respectively.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

Chamber 76 is also coupled to atmosphere outside of cartridge 10e via a port 84. Channel 69 couples chamber 60 to another chamber 90, which is coupled to the exterior of cartridge 10e by a port 92.

To perform a blood typing assay with this device, a diluent 94 is pre-  
5 inserted into chamber 60, while chambers 70, 72, 74 are pre-filled with reagents 96, 98, 100 for detection blood types A, B and O respectively. After these preliminary steps have been taken, ports 62, 84, and 92 are sealed, preferably by covering with tape.

The analysis begins by removing the seal from port 62, and inserting a  
10 quantity of blood of an unknown type into port 62 with a syringe or pipette dropper, which sample enters chamber 60 containing diluent 94. Port 62 is then resealed, and cartridge 10e is shaken, allowing the blood cells to mix with diluent 94. The cells are then allowed to sediment, positioning cartridge 10e in the orientation shown in FIG. 6. After sedimentation, ports 62 and 92 are unsealed,  
15 which allows excess diluent 94 to travel via channel 69 into chamber 90. Next, port 84 is unsealed, allowing the diluted blood sample to flow into chambers 70, 72, 74 via channels 64, 66, 68 respectively, where it can mix with reagents 96, 98, 100. Cartridge 10e is then shaken briefly, and placed in a temperature-controlled environment in the orientation shown in FIG. 6 for ten minutes.

20 After the specified time period has elapsed, cartridge is taken from the controlled environment, and rotated 90° in the direction shown by arrow A, placing chamber 76 at the lowermost position in cartridge 10e. This allows the mixed solutions in chambers 70, 72, 74 to flow toward chamber 76 via passageways 78, 80, 82 respectively.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

As the solutions reach fine gratings 78a, 80a, 82a, the cells in the chamber which contained the reagent of the unknown blood type will begin to agglutinate, causing a blockage within that particular channel, causing a visual representation of the particular blood type, as the chamber relative to that blood type has not  
5 emptied, due to clogging. Cartridge 10e can now be safely discarded, with ports 62, 84, 92 resealed with tape or the like to retain all fluids within the cartridge. This cartridge design is desirable, as it allows the washing of the blood cells to be analyzed prior to their contact with the antisera.

An alternative embodiment of a blood typing device (similar to that shown  
10 in FIG. 6) can be seen in FIG. 7. Referring now to FIG. 7, a cartridge 10f contains a first chamber 110 which is coupled to the exterior of the cartridge by a port 112. Chamber 110 is connected to a chamber 114 via a microfluidic channel 116. Chamber 114 contains a port 118 which couples chamber 114 to the exterior of cartridge 10f. Port 118 is initially blocked by a plug 120.

15 Chamber 110 is also connected to a chamber 122 by a channel 124. Chamber 110 is connected to a chamber 126 by a channel 128, while chamber 128 is connected to a chamber 130 via a series of parallel channels 132. Finally, chamber 130 is coupled to the exterior of cartridge 10f through a port 134, which is initially blocked by a plug 136.

20 To perform an assay using cartridge 10f, plug 136 is removed from port 134, and an antisera for a particular blood type is added to cartridge 10f through port 112. This fluid, preferably in the amount of 100 $\mu$ l, flows through chamber 110 and channel 124 into chamber 122. Plug 136 is then replaced into port 134.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

Next, a blood wash reagent is placed into chamber 110 via port 112, followed by a sample of blood of unknown type. These fluids are mixed within chamber 110 by shaking, then allowed to settle.

After the mixture in chamber 110 has settled, plug 120 is removed from  
5 port 118 in chamber 114, and cartridge 10f is carefully tilted such that the supernatant contained within chamber 110 can be removed from cartridge 10f through port 118. When the process is completed, plug 136 is removed from port 134, which allows the washed cells contained within chamber 110 to flow through channel 124 into chamber 122, which already contains antisera solution. The  
10 fluids are now mixed with chamber 122 by shaking, and cartridge 10f is then incubated for a period of time.

After incubation, cartridge 10f is rotated 90° in the direction shown by arrow B, causing the contents of chamber 122 to flow through channel 128 into chamber 126. If the unknown blood sample reacts with the antisera inserted into  
15 cartridge 10f, agglutination will clog channel 132, and chamber 130 will remain empty. If the antisera do not react with the blood sample, chamber will contain fluid from chamber 122.

While the present invention has been shown and described in terms of several preferred embodiments thereof, it will be understood that this invention is  
20 not limited to an particular embodiment and that many changes and modifications may be made without departing from the true spirit and scope of the invention as defined in the appended claims.

WO 01/68238

PCT/C\$01/07968

What is claimed is:

1. A microfluidic device for analyzing fluids, comprising:  
a body structure;  
means located in said body structure for introduction of at least one  
5 sample fluid and at least one reagent fluid;  
at least one channel connected to said introduction means for allowing  
flowing contact between said sample fluid and said reagent fluid along said at  
least one channel such that a reaction between said fluids can occur;  
means for detecting a reaction between said fluids within said channel;  
10 and means for moving said fluids from said introduction means through  
said device, wherein said fluid moving means requires no electrical or mechanical  
fluid driver.
2. The device of claim 1 wherein said at least one sample fluid and at  
least one reagent fluid are introduced into said channel such that each forms a  
15 fluid layer contiguously flowing in parallel.
3. The device of claim 2, wherein said flowing layers are oriented such  
that one layer flows above the other layer, whereby allowing particles to settle  
from said upper layer to said lower layer.
4. The device of claim 3, wherein said particles settling from said  
20 upper fluid layer combine with particles in said lower layer to cause a detectable  
reaction within said channel.
5. The device of claim 4, wherein said detectable reaction comprises a  
change in viscosity of said fluids within said channel.

WO 01/68238

PCT/US01/07968

6. The device of claim 4, wherein said detectable reaction comprised agglutination of particles into visually detectable clusters.
7. The device of claim 4, wherein said detectable reaction comprises coagulation of particles within said channel.
- 5 8. The device of claim 1, wherein said channel contains a section having a reduced dimension to restrict passage of non-agglutination particles.
9. The device of claim 4, further comprising a plurality of branching channels coupled to said channel having varying dimensions to separate agglutinated particle clumps of different sizes.
- 10 10. The device of claim 1, wherein said fluid moving means is selected from the group consisting of: hydrostatic pressure, capillary action, fluid absorption, gravity, and vacuum.
11. The device of claim 1, wherein said detecting means comprises a transparent flow channel.
- 15 12. The device of claim 11, wherein said transparent flow channel has microfluidic dimensions.
13. The device of claim 1, wherein said detectable reaction comprises a blockage of flow within said channel.
14. The device of claim 1, wherein said body structure is constructed of
- 20 a transparent plastic material.
15. The device of claim 1, wherein said body structure is constructed from a single material.
16. The device of claim 1, wherein said sample comprises whole blood and said reagent comprises antisera.

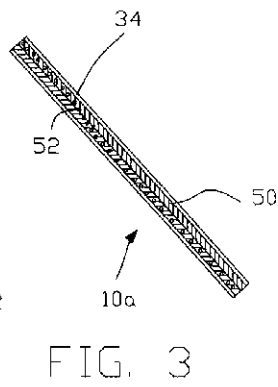
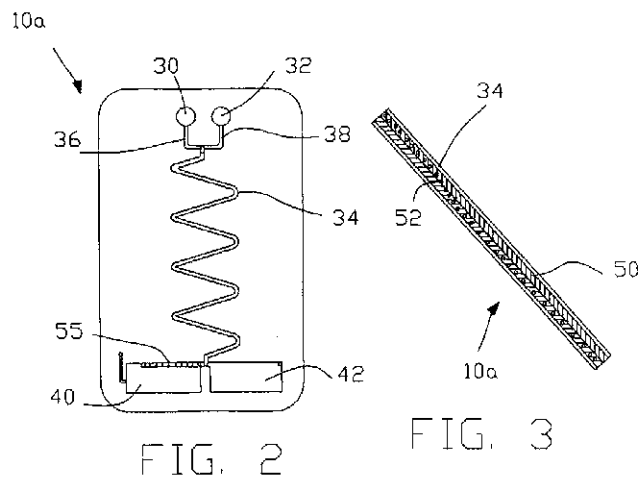
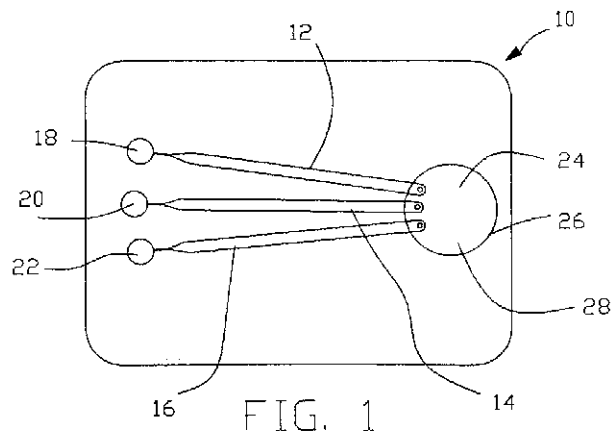
25

15

WO 01/68238

PCT/US01/07968

1 / 3



WO 01/68238

PCT/US01/07968

2 / 3

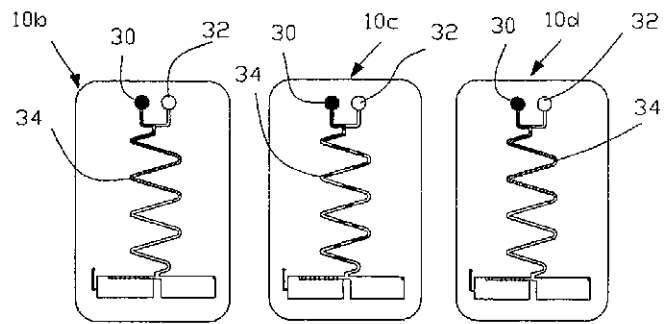


FIG. 4a FIG. 4b FIG. 4c

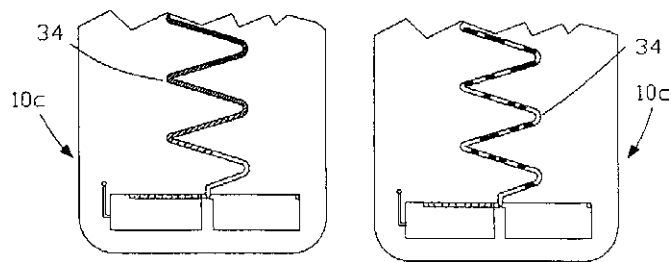


FIG. 5a FIG. 5b



## 【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

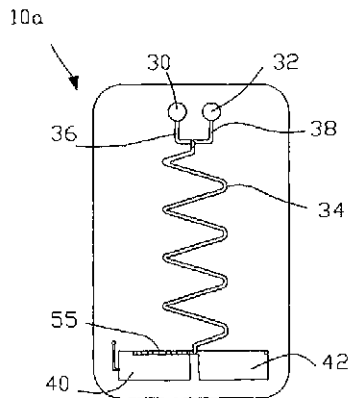
(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
20 September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 01/68238 A3**

- (51) International Patent Classification: **B01L 3/00**, Redmond, WA 98052 (US), WILLIAMS, Clinton, L.,  
601 N 35th St, 3340, 1912 30th Avenue S., Seattle, WA 98144 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US01/07968 (74) Agent: LITZINGER, Jerrold, J.; Sentron Medical, Inc.,  
Suite 600, 4445 Lake Forest Drive, Cincinnati, OH 45242  
(US).
- (22) International Filing Date: 13 March 2001 (13.03.2001)
- (25) Filing Language: English (81) Designated States (national): AU, CA, JP.
- (26) Publication Language: English (84) Designated States (regional): European patent (AT, BE,  
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).
- (30) Priority Data: 60/189,163 14 March 2000 (14.03.2000) US  
Published:  
— with international search report
- (71) Applicant: MICRONICS, INC. [US/US]; 8717 148th  
Avenue, NE, Redmond, WA 98052 (US).
- (88) Date of publication of the international search report:  
14 March 2001
- (72) Inventors: KLEIN, Gerald, L.; 5731 153rd Place, SW,  
Edmonds, WA 98026 (US); WEIGL, Bernhard, H.; 5530  
Canfield Place N., Seattle, WA 98103 (US); SCHULTE,  
Thomas, H.; 7830 235th Place, Redmond, WA 98053  
(US); BARDELL, Ronald, L.; 8500 148th Avenue, NE.
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guide  
to the New Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette

(54) Title: MICROFLUIDIC ANALYSIS CARTRIDGE



(57) Abstract: A device for analyzing sample solutions such as whole blood based on coagulation and agglutination which requires no external power source or moving parts to perform the analysis. Single disposable cartridges for performing blood typing assays can be constructed using this technology.

WO 01/68238 A3

## 【国際調査報告】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | International Application No.<br>PCT/US 01/07968 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC 7 B01L3/00 G01N33/53 G01N33/49                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Accorded to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>IPC 7 B01L G01N                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>EPO-Internal, WPI Data                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Category                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Disclosure of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No.                            |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | US 5 716 852 A (BRODY JAMES P ET AL)<br>10 February 1998 (1998-02-10)<br>cited in the application<br>abstract; figures 1-3<br>column 1, line 10 -column 1, line 17<br>column 3, line 18 -column 4, line 19<br>column 4, line 32 -column 4, line 40<br>column 6, line 10 -column 6, line 20<br>column 7, line 18 -column 9, line 34<br>column 10, line 5 -column 10, line 19<br><br>---<br>-/- | 1,2,<br>10-12,<br>14,15<br><br><br>3-9,13,<br>16 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of part C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| <b>* Special categories of cited documents</b><br>*X* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>*E* earlier document but published on or after the international filing date<br>*L* document which may throw doubts on priority claims or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified)<br>*Y* document referred to in oral disclosure, use, exhibition or other means<br>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Date of the actual completion of the international search: 30 October 2001                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Date of mailing of the international search report: 07/11/2001                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Name and mailing address of the ISA: European Patent Office, 11, Bd. Sadnik Palatinen 2, NI - 5280 RV, Rostock, NI 1331-709 340, 2040, Tr. 31 651 ero ni, Fax: 49 31 270-210-2090                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |
| Authorized officer: Runser, C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |

Form PCT/ISA210 (second of two) (July 1997)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter- national Application No  
PCT/US 01/07968

## C/(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of documents with indication whether or not pertinent, or the relevant passages                                                                                                                         | Relevant to Claim No. |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X        | US 5 225 163 A (ANDREWS ROBERT R)<br>6 July 1993 (1993-07-06)<br>abstract; figures 1,7,8<br>column 2, line 14 -column 3, line 19<br>column 4, line 56 -column 5, line 55<br>column 8, line 32 -column 8, line 50 | 1,10-12,<br>14,15     |
| A        | ---                                                                                                                                                                                                              | 5-8,16                |
| A        | WO 90 09596 A (VALE DAVID ROGER)<br>23 August 1990 (1990-08-23)<br>abstract; figure 1<br>page 1, line 21 -page 2, line 11<br>page 3, line 7 -page 4, line 9<br>page 5, line 18 -page 8                           | 1,5-8,<br>10-16       |
| A        | US 5 702 953 A (MAZUREK CAROL ET AL)<br>30 December 1997 (1997-12-30)<br>the whole document                                                                                                                      | 1-16                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter-Office Application No.

PCT/US 01/07968

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date |    | Patent family<br>members |  | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---|---------------------|----|--------------------------|--|---------------------|
| US 5716852                                | A | 10-02-1998          | AU | 3877797 A                |  | 07-11-1997          |
|                                           |   |                     | EP | 0890094 A1               |  | 13-01-1999          |
|                                           |   |                     | JP | 2001504936 T             |  | 10-04-2001          |
|                                           |   |                     | WO | 9739338 A1               |  | 23-10-1997          |
|                                           |   |                     | US | 6171865 B1               |  | 09-01-2001          |
|                                           |   |                     | US | 5972710 A                |  | 26-10-1999          |
| US 5225163                                | A | 06-07-1993          | WO | 9102589 A1               |  | 07-03-1991          |
| WO 9009596                                | A | 23-08-1990          | AT | 121844 T                 |  | 15-05-1995          |
|                                           |   |                     | AU | 5034190 A                |  | 05-09-1990          |
|                                           |   |                     | DE | 69018970 D1              |  | 01-06-1995          |
|                                           |   |                     | DE | 69018970 T2              |  | 21-12-1995          |
|                                           |   |                     | EP | 0456699 A1               |  | 21-11-1991          |
|                                           |   |                     | WO | 9009596 A1               |  | 23-08-1990          |
| US 5702953                                | A | 30-12-1997          | JP | 4233464 A                |  | 21-08-1992          |

---

フロントページの続き

- (72)発明者 クレイン、ジェラルド、エル。  
アメリカ合衆国、9 8 0 2 6 ワシントン州、エドモンズ、サウスウエスト、ワンハンドレッド  
フィフティサード プレイス 5 7 3 1
- (72)発明者 ウエーグル、バーンハード、エッチ。  
アメリカ合衆国、9 8 1 0 3 ワシントン州、シアトル、キャンフィールド プレイス ノース  
5 5 3 0
- (72)発明者 シュルテ、トーマス、エッチ。  
アメリカ合衆国、9 8 0 5 3 ワシントン州、レッドモンド、ツーハンドレッド サーティフィフ  
ス プレイス 7 8 3 0
- (72)発明者 バーデル、ロナルド、エル。  
アメリカ合衆国、9 8 0 5 2 ワシントン州、レッドモンド、ノースイースト、ワンハンドレッ  
ド フォーティエイツ アベニュー 8 5 0 0
- (72)発明者 ウィリアムズ、クリントン、エル。  
アメリカ合衆国、9 8 1 4 4 ワシントン州、シアトル、サーティース アベニュー サウス 1  
9 1 2

|                |                                                                                                                                                                                                        |         |            |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | <无法获取翻译>                                                                                                                                                                                               |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2004501342A5</a>                                                                                                                                                                         | 公开(公告)日 | 2011-04-07 |
| 申请号            | JP2001566790                                                                                                                                                                                           | 申请日     | 2001-03-13 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 微尼克斯公司                                                                                                                                                                                                 |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 微尼克斯公司                                                                                                                                                                                                 |         |            |
| [标]发明人         | クレインジェラルドエル<br>ウエーグルバーンハードエッチ<br>シュルテトーマスエッチ<br>バーデルロナルドエル<br>ウイリアムズクリントンエル                                                                                                                            |         |            |
| 发明人            | クレイン、ジェラルド、エル.<br>ウエーグル、バーンハード、エッチ.<br>シュルテ、トーマス、エッチ.<br>バーデル、ロナルド、エル.<br>ウイリアムズ、クリントン、エル.                                                                                                             |         |            |
| IPC分类号         | G01N37/00 G01N33/53                                                                                                                                                                                    |         |            |
| CPC分类号         | B01L3/502776 B01L3/50273 B01L3/502761 B01L2200/10 B01L2300/069 B01L2300/0816 B01L2300/0867 B01L2300/0883 B01L2400/0406 B01L2400/0409 B01L2400/0457 B01L2400/0481 B01L2400/0487 B01L2400/049 Y10T436/15 |         |            |
| FI分类号          | G01N37/00 G01N37/00.101 G01N33/53.K                                                                                                                                                                    |         |            |
| 代理人(译)         | 夏木森下                                                                                                                                                                                                   |         |            |
| 优先权            | 60/189163 2000-03-14 US                                                                                                                                                                                |         |            |
| 其他公开文献         | JP4733331B2<br>JP2004501342A                                                                                                                                                                           |         |            |

#### 摘要(译)

一种基于凝结或凝集反应分析样品溶液（例如全血）的设备，不需要外力或动力源即可执行分析。利用这种技术，可以用一个一次性墨盒确定血液类型。[选择图]图2