

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 796 093**

51 Int. Cl.:

C12M 1/12 (2006.01)

C12M 1/10 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12N 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2015 PCT/KR2015/004422**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2016 WO16080609**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2015 E 15801307 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3048163**

54 Título: **Dispositivo de filtrado de partículas y procedimiento de filtrado de partículas**

30 Prioridad:

20.11.2014 KR 20140162937

28.04.2015 KR 20150059830

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.11.2020

73 Titular/es:

**UNIST (ULSAN NATIONAL INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY) (100.0%)**

**50, UNIST-gil
Ulsan 44919, KR**

72 Inventor/es:

**CHO, YOON-KYOUNG y
KIM, TAE-HYEONG**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 796 093 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de filtrado de partículas y procedimiento de filtrado de partículas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un dispositivo de filtrado de partículas y a un procedimiento.

5 Descripción de la técnica relacionada

En general, la separación de una partícula como la tecnología que se aplica en varias industrias es separar un cierto tamaño de sólido contenido en la muestra, como es el líquido. En particular, una filtración es la tecnología que hace pasar un fluido que se filtra aplicando una diferencia de presión a ambos lados del medio que se filtra y deposita una partícula más grande que los poros del medio que se filtra en la superficie del medio. La filtración se puede aplicar fácilmente, además, necesita menos consumo de energía y menos espacio, por lo tanto, la filtración se utiliza en campos generales como el médico, químico, ambiental, industrias alimentarias o similares.

Por ejemplo, se han reportado casos de estudio que separan una muestra biológica utilizando la tecnología de filtración y realizan una variedad de pruebas bioquímicas utilizando la muestra biológica.

En un fluido biológico de pacientes con la enfermedad, hay partículas biológicas que pueden ser un indicador de diversas enfermedades, así como las células sanguíneas básicas. Al separar y detectar opcionalmente tales biomoléculas, se puede diagnosticar la condición del paciente y los resultados se pueden usar en un tratamiento personalizado.

Entre ellos, es un ejemplo típico un diagnóstico de cáncer mediante el uso de la separación selectiva de las células tumorales circulantes (en lo sucesivo, CTC). La CTC como una célula cancerosa que se distribuye en la sangre de pacientes con cáncer metastásico es una célula que desempeña un papel clave en causar la metástasis del cáncer porque la CTC se mueve a lo largo del flujo sanguíneo después de alejarse del tejido canceroso original y penetra en otros tejidos. Se conoce que el número de CTC que existen en la sangre del paciente está estrechamente relacionado con el progreso del cáncer. Por lo tanto, contar el número capturando la CTC puede ser un biomarcador importante que puede controlar el progreso del cáncer.

Sin embargo, el número de CTC es muy bajo a una tasa de una célula sanguínea por mil millones de células sanguíneas en comparación con otras células sanguíneas que existen en la sangre. Por lo tanto, se requiere una técnica de separación celular muy precisa y exacta para que la CTC se utilice como el biomarcador importante.

La mayoría de los procedimientos de separación de CTC que se conocen hasta la fecha son procedimientos que utilizan un anticuerpo específicamente unido a biomoléculas que se expresan en la superficie del CTC. De acuerdo con el procedimiento, las CTC se acoplan a una superficie de perla magnética o una superficie de medición recubriendo el anticuerpo contra la superficie de perla magnética de la superficie de medición y esto hace fluir la sangre hacia allí. Sin embargo, el caso informa que hay una limitación porque las estructuras convencionales mencionadas anteriormente tienen varios tipos de biomoléculas que se expresan en la superficie de la CTC y esas cantidades no son uniformes.

Para superar las limitaciones señaladas anteriormente, se presenta el ejemplo que combina un procedimiento de separación de acuerdo con las características físicas de la célula en el microchip. Por ejemplo, un documento típico de la técnica anterior que se relaciona con la tecnología para capturar y detectar células en base a la diferencia de tamaño entre las células cancerosas y las células sanguíneas es la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. No. 10-2012-0117834. Específicamente, se divulga la tecnología que se relaciona con un sistema de filtración de iones que comprende un módulo de filtración para la separación de células o partículas biológicas blanco y un procedimiento de filtración celular que usa el mismo. También se conoce del documento DE 10054632 a un dispositivo para aislar células cancerosas dispersas en fluidos corporales, en el que el aislamiento tiene lugar en una cámara de filtro que contiene un filtro micro poroso plano. El documento WO2011041671 divulga procedimientos para facilitar el flujo de fluidos a través de membranas nanoporosas. El documento US2008056949 divulga un dispositivo de micro fluido basado en fuerza centrífuga para la detección de proteínas.

Contenido de la invención.

Problema a resolver

Se proporciona un dispositivo y procedimiento de filtrado de partículas, que acorta el tiempo de separación de las partículas y aumenta la eficiencia de separación.

50 Métodos para resolver el problema

Un dispositivo de filtración de partículas de la presente invención de acuerdo con las reivindicaciones 1-14, que comprende: una membrana de filtración que separa una partícula mediante el filtrado de una muestra; un primer cuerpo que se conecta a un lado de entrada de la membrana de filtración, que suministra la muestra al lado de entrada de la

membrana de filtración de iones; y un segundo cuerpo que se conecta a un lado de la salida de la membrana de filtración, que acomoda un filtrado cuya partícula se separa a través de la membrana de filtración, en el que el dispositivo de filtrado de partículas puede tener una estructura en la que el filtrado se acomoda entre el segundo cuerpo y el lado de salida de la membrana de filtración.

5 El filtrado que se acomoda entre el segundo cuerpo y el lado de salida de la membrana de filtración se acomoda en contacto con el lado de salida de la membrana de filtración.

El filtrado puede ser una solución con los mismos ingredientes que el filtrado que pasa a través de la membrana de filtración.

10 El primer cuerpo puede incluir: un espacio de entrada que se forma en una posición que corresponde al lado de entrada de la membrana de filtración, en el que se introduce la muestra; un puerto de inyección para la inyección de la muestra, que está conectado con el espacio de entrada; y un miembro de guía que transporta la muestra conectando el puerto de inyección y el espacio de entrada.

15 El dispositivo de filtrado de partículas puede comprender un espacio de muestra que acomoda la muestra que se inyecta desde el puerto de inyección al formarse entre el primer cuerpo y el segundo cuerpo, al conectarse con el miembro de guía y al comunicarse con el puerto de inyección.

El segundo cuerpo incluye un espacio de salida que se forma en una posición que corresponde al lado de salida de la membrana de filtración, que acomoda el filtrado.

20 El dispositivo de filtrado de partículas puede comprender además un miembro de almacenamiento de filtrado que almacena un filtrado que pasa a través de la membrana de filtración al formarse entre el primer cuerpo y el segundo cuerpo y al conectarse al espacio de salida.

El segundo cuerpo puede tener un canal de flujo que conecta el espacio de salida y el miembro de almacenamiento de filtrado.

El primer cuerpo puede tener además un respiradero que se conecta con el miembro de guía.

25 El primer cuerpo y el segundo cuerpo están formados como una estructura en forma de disco que puede girar alrededor del centro, y la membrana de filtración se puede ubicar separada del centro del segundo cuerpo en la dirección radial.

El puerto de inyección se puede ubicar entre el centro del primer cuerpo y la membrana de filtración.

El miembro de guía se puede formar de modo que el ancho del miembro de guía se reduzca gradualmente en la dirección radial desde el espacio de muestra al espacio de entrada a lo largo de la dirección de movimiento de la muestra.

30 La membrana de filtración puede ser una estructura que tiene poros cuyo diámetro es de 10 nm a 30 cm.

La membrana de filtración puede ser una estructura que filtra una célula viva, una partícula de material inorgánico o una partícula de material orgánico.

35 Un procedimiento de filtrado de partículas de la presente realización, que puede comprender: inyectar el filtrado al espacio de salida del dispositivo de filtrado de partículas; inyectar la muestra al dispositivo de filtrado de partículas; guiar la muestra a la membrana de filtración del dispositivo de filtrado de partículas generando la fuerza centrífuga; y separar la partícula mediante filtrado de la muestra a través de la membrana de filtración.

Efectos de la invención

40 De acuerdo con una realización de la presente invención como se describe anteriormente, la superficie frontal del lado de salida de la membrana de filtración se conecta por adelantado mediante el filtrado antes de filtrar la muestra, por lo que la muestra puede pasar más rápida y fácilmente a través de los poros de la membrana de filtración a pesar de que la presión capilar es mayor debido a los pequeños poros de la membrana de filtración de iones. Por lo tanto, el tiempo que se requiere para la separación de partículas se puede reducir.

Además, el filtrado de la muestra se puede realizar incluso a una presión más baja.

45 Además, a medida que la muestra pasa uniformemente a través de la membrana de filtración sobre toda la superficie de la membrana de filtración, el área disponible de la membrana de filtración se expande al máximo. Por lo tanto, es posible aumentar la eficiencia de filtrado.

Además, la partícula que se separa se puede preparar en forma de una solución de detección tiñendo directamente la partícula separada en el cuerpo o disolviéndola, por lo tanto, la presente invención puede detectar la partícula sin desmantelar el cuerpo.

50

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una vista que muestra un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 2 es una vista en perspectiva de un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 3 es una vista en sección transversal de la sección A-A' de la Figura 1.

5 La Figura 4 es una vista esquemática para explicar el funcionamiento de un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 5 es una vista que muestra los resultados de la simulación del flujo de la solución que está encerrada en una membrana de filtración de un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

10 La Figura 6 es un diagrama de flujo que muestra un procedimiento de separación de partícula de acuerdo con esta realización.

La Figura 7 es una foto que muestra el resultado experimental de una separación de partículas de un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 8 es una vista que muestra el resultado experimental de una separación de partículas fluorescentes de acuerdo con esta realización.

15 La Figura 9 y la Figura 10 son gráficos que muestran el resultado experimental de una separación de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 11 es un gráfico que muestra el resultado de separación de CTC de la muestra del paciente con cáncer real, que usa un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

Descripción detallada

20 La terminología que se utiliza a continuación se refiere simplemente a una realización particular y no pretende limitar la presente invención. Como se usa en la presente memoria las formas singulares también incluyen las formas plurales a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera. Además, en esta memoria descriptiva, el término dice que "cierta parte comprende un cierto componente" significa la no exclusión de otros componentes sino la inclusión de otros componentes a menos que se describa específicamente lo contrario. Además, el tamaño y el grosor de cada configuración que se muestra en los dibujos se muestran arbitrariamente por su comodidad para su explicación, por lo que la presente invención no se limita necesariamente por la ilustración.

25 En lo sucesivo, con referencia a los dibujos adjuntos, se describirán realizaciones de la presente invención para que una persona experta en la técnica, la pueda realizar fácilmente. Como puede apreciar fácilmente la persona experta en la técnica, las realizaciones que se describen a continuación se pueden modificar de varias formas en la medida en que no se aparten del espíritu y ámbito de la invención. Por lo tanto, la presente invención se puede implementar en muchas formas diferentes y no se debe limitar a las realizaciones establecidas en la presente memoria.

30 De aquí en adelante, en la presente invención, "encendido" significa que se ubica en o debajo del miembro objetivo, y no significa necesariamente que se ubique en el miembro objetivo en base a la dirección de la gravedad.

35 En lo sucesivo, la presente realización describe un caso de separación por filtración de la célula tumoral circulante (CTC) como una célula tumoral rara contenida en una muestra biológica usando la sangre completa que contiene la partícula de la célula tumoral rara como la muestra biológica que separa la partícula. La presente invención no está limitada a la siguiente realización, y se puede aplicar a cualquier tecnología que separe partículas de las diversas muestras mediante el procedimiento de filtración.

40 La Figura 1 y la Figura 2 muestran la apariencia del dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización, y la Figura 3 muestra la sección transversal de la línea A-A' de la Figura. 1.

45 Un dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con esta realización comprende: una membrana de filtración (100) que filtra una muestra biológica; un primer cuerpo (200) que se ubica en la membrana de filtración (100); y un segundo cuerpo (300) que se conecta con la membrana de filtración (100) y se acopla a la porción inferior del primer cuerpo (200).

El primer cuerpo (200) suministra la muestra biológica al lado de entrada de la membrana de filtración conectándose al lado de entrada de la membrana de filtración (100). Además, el segundo cuerpo (300) que se conecta al lado de salida de la membrana de filtración (100) acomoda un filtrado cuya partícula se separa a través de la membrana de filtración.

50 El dispositivo de filtrado de partículas en esta realización tiene una estructura en la que el filtrado se acomoda de antemano entre el segundo cuerpo y el lado de salida de la membrana de filtración (denominado 315 en la Figura 3). Como resultado, la muestra que se introdujo en el lado de entrada de la membrana de filtración puede pasar fácilmente

a través de poros finos de la membrana de filtración incluso bajo una presión menor. Por lo tanto, es posible separar más rápidamente la partícula mediante el filtrado de la muestra. Esto se describirá en detalle más adelante.

5 Aquí, el lado de entrada de la membrana de filtración significa un lado con el que se pone en contacto la muestra biológica, en el que la entrada de los poros que se formaron en la membrana de filtración se coloca entre los dos lados de la membrana de filtración. El lado de salida de la membrana de filtración significa un lado como el lado opuesto del lado de entrada, en el que se ubica la salida de poros que se formaron en la membrana de filtración. En la presente realización, como se describe en la Figura 3, la superficie superior de la membrana de filtración forma el lado de entrada a lo largo de la dirección del eje z, por lo que el primer cuerpo se ubica en la membrana de filtración. La superficie inferior forma el lado de salida, por lo tanto, el segundo cuerpo se ubica debajo de la membrana de filtración. 10 Además, la muestra biológica o la muestra significa el estado que contiene las partículas, y el filtrado significa la solución en la que las partículas se separan a medida que la muestra biológica o la muestra pasa a través de la membrana de filtración.

15 La membrana de filtración (100) tiene varios poros para separar las partículas, en particular, los diversos tamaños de los poros de 3 nm a 30 cm se pueden formar para separar partículas con varios tamaños. En la presente realización, la membrana de filtración (100) puede tener los poros cuyo diámetro de 5 a 10 μm capturan la célula tumoral circulante que existe en la muestra de sangre completa. Sin embargo, dado que contiene un error que puede ocurrir al unir la membrana de filtración (100) al segundo cuerpo (300), el diámetro de los poros finos no se limita necesariamente al mismo. Por lo tanto, el diámetro se puede formar de varias maneras en función del tamaño de las partículas a separar.

20 La membrana de filtración (100) se puede formar por una variedad de materiales para filtrar la célula viva, la partícula de material inorgánico, una partícula de material orgánico o similares. Por ejemplo, la membrana de filtración (100) se puede formar por el material biológicamente inerte que se aplicará a la muestra biológica. La membrana de filtración se puede formar por el material que tiene la transmitancia óptica al mismo tiempo. Por lo tanto, se puede detectar una célula rara usando un detector óptico sin separar la membrana de filtración (100) del segundo cuerpo (300).

25 La membrana de filtración (100) se puede formar por el mismo material del segundo cuerpo (300) para facilitar la adhesión con el segundo cuerpo (300). Por ejemplo, cuando tanto el segundo cuerpo (300) como la membrana de filtración (100) están formados por un material de policarbonato, la membrana de filtración (100) se puede unir al segundo cuerpo (300) disolviendo químicamente el área de unión mediante la administración de una pequeña cantidad de acetona en el área del borde en la que se acoplan el segundo cuerpo (300) y la membrana de filtración (100). En consecuencia, es posible evitar las arrugas causadas por la instalación de la membrana de filtración (100) en el segundo cuerpo (300) y la fuga de la célula rara causada por la instalación incompleta de la membrana de filtración (100) en el segundo cuerpo (300). 30

35 Sin embargo, un procedimiento de unión entre la membrana de filtración y el segundo cuerpo no está limitado necesariamente al procedimiento de unión química, y la membrana de filtración (100) puede estar unida irreversiblemente al segundo cuerpo (300) a través de una variedad de procedimientos de unión tales como una unión térmica, una unión de resina UV, una unión ultrasónica o similar.

El primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) se pueden formar como una estructura en forma de disco para poder girar alrededor del centro. El dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con la presente realización puede ser una estructura de disco en la que el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) se apilan secuencialmente.

40 La membrana de filtración (100) se puede ubicar al estar separada del centro del segundo cuerpo (200). El primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) se pueden formar para tener el mismo diámetro.

Además, el dispositivo de filtrado de partículas (10) en la presente realización puede tener un hueco que pasa a través del centro del primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) para instalar el eje de rotación en el centro del dispositivo de filtrado de partículas (10).

45 La superficie del primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) puede ser un material biológicamente inerte que también tenga la transmitancia óptica, por ejemplo, polistireno (PS), polidimetilsiloxano (PDMS), polimetilmetacrilato (PMMA), poliacrilato, policarbonato, olefinas policíclicas, poliimida, poliuretanos o similares.

50 Por lo tanto, la estabilidad biológica se puede asegurar porque la muestra biológica no reacciona con el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) cuando la muestra biológica se inyecta en el primer cuerpo (200), además, la célula rara que se separa se puede detectar al pasar a través del primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (200) usando un detector óptico sin descargar la célula rara que se separa hacia el exterior del dispositivo de filtrado de partículas (10).

El primer cuerpo (200) incluye: un espacio de entrada (311) formado en una posición que corresponde al lado de entrada de la membrana de filtración (100), en el que se introduce la muestra biológica; un puerto de inyección (211) para la inyección de muestra, que se conecta con el espacio de entrada (311); y un miembro de guía (230) que transporta la muestra conectando el puerto de inyección y el espacio de entrada.

55 El puerto de inyección (211) se puede formar pasando a través del primer cuerpo (200). Por lo tanto, la muestra biológica para separar la célula rara se puede inyectar en el primer cuerpo (200) a través del puerto de inyección (211).

Además, múltiples puertos de inyección (211), como se muestra en la Figura 2, se pueden formar a intervalos a lo largo de la dirección de la circunferencia en base al centro del primer cuerpo (200). Como resultado, la muestra biológica se puede inyectar desde varias direcciones del primer cuerpo (200).

5 El puerto de inyección (211) se puede ubicar entre el centro del primer cuerpo (200) y la membrana de filtración (100). Así, la muestra biológica que se inyecta por el puerto de inyección (211) se puede mover fácilmente a la membrana de filtración (100) a través de la fuerza centrífuga durante la rotación del primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300).

10 En el primer cuerpo (200), se puede formar un orificio, así como el puerto de inyección (211). El orificio (212) se puede formar pasando a través del primer cuerpo (200). En este momento, como se muestra en la Figura 1, el orificio (212) se puede formar en el primer cuerpo (200) para estar adyacente al puerto de inyección (211). Por lo tanto, durante la inyección de la muestra biológica en el puerto de inyección (211), el aire que existe en el cuerpo (200) se puede descargar suavemente hacia el exterior.

15 En el primer cuerpo (200), se puede formar un miembro de guía (230) que se conecta con el puerto de inyección (211). El miembro de guía (230) se conecta entre el puerto de inyección (211) y el espacio de entrada (311) que existe en la membrana de filtración. El miembro de guía (230) guía la muestra biológica que se inyecta en el primer cuerpo (200) a través del puerto de inyección (211) al lado de entrada de la membrana de filtración (100) moviendo la muestra biológica al espacio de entrada.

20 Se pueden formar múltiples miembros de guía (230) a intervalos a lo largo de la dirección de la circunferencia del primer cuerpo (200). Además, el miembro de guía (230) se puede formar en la dirección opuesta del centro del primer cuerpo (200) en base al puerto de inyección (211) como se describe en la Figura 2. Por lo tanto, la muestra biológica se puede guiar más rápidamente en la dirección radial del primer cuerpo (200) a través de la fuerza centrífuga durante la rotación del dispositivo de filtrado de partículas (10).

El interior del primer cuerpo (200) tiene un espacio de muestra que acomoda la muestra biológica que se inyecta en el primer cuerpo a través del puerto de inyección (211)

25 En la presente realización, el espacio de muestra es una muestra biológica que contiene un espacio que conecta con el miembro de guía.

30 Para este propósito, el miembro de guía (230) incluye una primera parte (231) que funciona con el espacio de muestra y una segunda parte (232) que funciona con el canal de flujo de la muestra biológica. Por lo tanto, la muestra biológica que se inyecta por el puerto de inyección (211) se acomoda en la primera parte (231) que forma el espacio de muestra, y la muestra biológica se mueve a través de la segunda parte (232) que se conecta con la primera parte (231).

35 Como se muestra en la Figura 1 y la Figura 2, la primera parte (231) se puede formar de modo que el ancho de la primera parte (231) se ensanche gradualmente en la dirección radial del primer cuerpo (200) en base al centro del primer cuerpo (200). Por lo tanto, se puede minimizar la resistencia al fluido de la muestra biológica que se introduce en la primera parte (231) a través del puerto de inyección (211). La sección transversal de la primera parte (231) está formada en forma de arco alrededor del centro del primer cuerpo (200), pero no está necesariamente limitada a esta forma.

40 La primera parte (231) se forma pasando a través de una primera placa intermedia (220), en la que el ancho de la primera parte (231) se puede estrechar gradualmente desde el extremo de la primera parte (231) hasta el exterior del primer cuerpo (200) en una dirección radial alrededor del centro del primer cuerpo (200). Por lo tanto, la muestra biológica que se introduce en la segunda parte (232) a través de la primera parte (231) se recoge fácilmente en el exterior de la segunda parte (232) alrededor del centro del primer cuerpo (200).

La muestra biológica que se mueve hacia el exterior de la segunda parte (232) se mueve hacia el espacio de entrada (311) que se conecta con el exterior de la segunda parte. El espacio de entrada (311) se puede entender como un espacio que se conecta con la segunda parte y se forma en el lado de entrada de la membrana de filtración (100).

45 La muestra biológica que se mueve a través de la segunda parte (232) se acomoda en el espacio de entrada (311) y la muestra biológica entra en contacto con el frente del lado de entrada de la membrana de filtración. La muestra biológica que se introduce en el espacio de entrada (311) se filtra a través de la membrana de filtración a lo largo de la dirección de la flecha en la Figura 3.

50 El filtrado que pasó a través de la membrana de filtración (100) se mueve al espacio de salida (312) que se ubica en el lado de salida de la membrana de filtración (100).

Como se muestra en la Figura 4, el segundo cuerpo (300) tiene el espacio de salida (312) en el que se acomoda el filtrado que pasa a través de la membrana de filtración, y el espacio de salida se ubica en una posición que corresponde al lado de salida de la membrana de filtración. El espacio de salida (312) se puede entender como un espacio formado debajo del lado de salida de la membrana de filtración en el segundo cuerpo (300).

El dispositivo de filtrado de partículas (10) de la presente realización es una estructura en la que el filtrado se acomoda de antemano en el espacio de salida (312) antes de filtrar la muestra biológica.

5 El filtrado (315) puede ser la misma solución con las condiciones en que la partícula se separa de la muestra biológica. Significa que el filtrado puede ser la misma solución con la que el filtrado se filtró a través de la membrana de filtración. Además, cualquier solución se puede aplicar como filtrado si la solución no tiene una partícula objetivo de separación, y no afecta la muestra biológica o el filtrado, y puede reducir la presión capilar de los poros de la membrana de filtración en el lado de salida de la membrana de filtración.

10 Por ejemplo, al ensamblar el primer cuerpo y el segundo cuerpo, el filtrado (315) se puede acomodar en el espacio de salida del segundo cuerpo de antemano para preparar el dispositivo de filtrado de partículas. Además, el filtrado se inyecta en el espacio de salida a través del puerto de inyección después de preparar el dispositivo de filtrado de partículas conectándose con el espacio de salida en el segundo cuerpo y formando un puerto de inyección adicional capaz de abrirse y cerrarse.

15 El filtrado (315) que se acomoda de antemano en el espacio de salida (312) se puede acomodar en contacto con el lado de salida de la membrana de filtración (100). Por lo tanto, todo el lado de salida de la membrana de filtración de iones se enfrenta con el filtrado porque el filtrado se llena en el espacio de salida. Además de la estructura descrita anteriormente, el filtrado no se orienta hacia el lado de salida de la membrana de filtración porque solo parte del filtrado se aloja en el espacio de salida. En el caso de esta estructura, es posible obtener los mismos efectos al poner en contacto el filtrado que se acomoda en el espacio de salida con todo el lado de salida de la membrana de filtración agitando el dispositivo de filtrado de partículas según sea necesario o usar.

20 La Figura 4 es una vista esquemática para explicar los efectos operativos del filtrado de acuerdo con esta realización.

Como se muestra en la Figura 4, si el filtrado (315) que no tiene partículas se llena en el espacio de salida (312) frente al lado de salida de la membrana de filtración (100), el filtrado actúa como agua de cebado contra los poros (P) de la membrana de filtración.

25 La separación de partículas que usa la membrana de filtración realiza una filtración básicamente que usa la diferencia de presión entre ambos lados de la membrana de filtración. Durante la filtración, la solución que existe en la muestra pasa a través de los poros de la membrana de filtración, y las partículas más grandes que los poros se depositan en la superficie del lado de entrada de la membrana de filtración ya que las partículas no pueden pasar a través de los poros de la membrana de filtración.

30 Para que la solución que existe en la muestra pase a través de los poros de la membrana de filtración, la presión capilar que se relaciona con la tensión superficial se supera en la salida de los poros. Tal presión capilar es proporcional a la tensión superficial, y la presión capilar es inversamente proporcional al tamaño de los poros. Por lo tanto, si el procedimiento de filtración utiliza la membrana de filtración que tiene los poros muy pequeños, se requiere una presión muy grande para pasar la solución que existe en la muestra a través de los poros.

35 El ejemplo comparativo de la Figura 4 no utiliza el principio del agua de cebado, y el ejemplo comparativo describe el estado en el que la muestra se filtra sin el filtrado en el espacio de salida que se ubica en el lado de salida de la membrana de filtración.

40 En el estado sin filtrado como ejemplo comparativo, la solución en la muestra que se introduce en el lado de entrada de la membrana de filtración (100) no pasa a través de los poros debido a la presión capilar que se toma en los poros (P) de la membrana de filtración. Además, si la solución fluye entre los poros de la parte determinada (R) al superar la fuerza del capilar, la solución se filtra solo a la parte determinada (R). Por lo tanto, la resistencia al flujo de fluido se reduce significativamente en la parte particular en la que fluye la solución. Como resultado, la muestra continúa fluyendo solo en la parte particular en la que fluye la solución. Como resultado, se realiza una separación de partículas solo en la parte particular en la que fluye la solución. Como resultado, en el caso del ejemplo comparativo, la filtración no se realiza en el frente de la membrana de filtración. Además, solo el área de la parte determinada (R) se puede utilizar para separar las partículas.

Dado que el área entera de la membrana de filtración no está acostumbrada a la filtración, la filtración tarda mucho tiempo y la eficiencia de la filtración se degrada.

50 Como se mencionó anteriormente, el ejemplo de la Figura 4, que utiliza el principio del agua de cebado y describe el estado en el que se filtra la muestra llenando previamente el filtrado al espacio de salida (312) del lado de salida de la membrana de filtración.

55 Como ejemplo, cuando el filtrado (315) se llena en el espacio de salida (312) de la membrana de filtración (100), el lado de salida de la membrana de filtración se pone en contacto con el filtrado. En este estado, la solución que existe en la muestra, que se introduce en el lado de entrada de la membrana de filtración, fluye suavemente al pasar directamente a través de los poros sin superar la fuerza del capilar por la fuerza cohesiva del filtrado (315) que está en contacto con la salida de los poros (P) de la membrana de filtración. El filtrado entra en contacto con el frente del

lado de salida de la membrana de filtración, por lo que la solución que existe en la muestra fluye y pasa a través de los poros en el frente del lado de entrada de la membrana de filtración.

5 Como resultado, la filtración se realiza porque la solución que existe en la muestra pasa a través de los poros con una menor resistencia al flujo en el frente de la membrana de filtración (100). Dado que la filtración se realiza en la parte frontal de la membrana de filtración, toda la membrana de filtración se puede usar para la filtración. Por lo tanto, el tiempo de filtración y la eficiencia de filtración se pueden mejorar mucho. Además, aunque los poros de la membrana de filtración son pequeños, la filtración se puede realizar con una presión menor.

10 Un dispositivo de filtrado de partículas de la presente realización, que se forma entre el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300), puede comprender el miembro de almacenamiento de filtrado (400) que almacena un filtrado que pasa a través de la membrana de filtración (100). El miembro de almacenamiento de filtrado (400) puede ser un espacio que se ubica en el dispositivo de filtrado de partículas (10) que se forma entre el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) mediante la combinación del primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300), pero no necesariamente está limitado a esta configuración.

15 El miembro de almacenamiento de filtrado (400) se forma en la dirección opuesta al centro del primer cuerpo (200) en base a la membrana de filtración (100). Como se muestra en la Figura 1, el miembro de almacenamiento de filtrado (400) se puede formar en forma de arco con múltiples piezas en el dispositivo de filtrado de partículas (10).

20 En este momento, el filtrado que pasa a través de la membrana de filtración (100) se puede suministrar al miembro de almacenamiento del filtrado (400) porque el canal de flujo se forma entre el espacio de salida (311) y el miembro de almacenamiento del filtrado (400). Cada ancho y altura del canal de fluido (330) se forma en 1 mm o menos para pasar el filtrado al interior y evitar que el filtrado invierta el flujo en la dirección de la membrana de filtración (100), pero no se limita necesariamente a dicho valor.

La Figura 5 indica los resultados de la simulación del flujo de la solución que se encierra en la membrana de filtración de acuerdo con la presencia o ausencia de la utilización del principio del agua de cebado de acuerdo con esta realización.

25 La realización de la Figura 5 son los resultados de la simulación del flujo de la solución después de llenar el filtrado hasta el lado de salida de la membrana de filtración aplicando el principio del agua de cebo. El ejemplo comparativo son los resultados de la simulación del flujo de la solución en el estado sin el filtrado en el lado de salida de la membrana de filtración porque el principio del agua de cebado no se aplica a la misma.

30 En el caso del ejemplo comparativo, cuando se aplica una presión constante a través del puerto de inyección, la solución llena el espacio de entrada y se somete a la fuerza del capilar en el poro de salida de la membrana de filtración. Cuando la presión que se aplica desde el puerto de inyección es menor que la fuerza del capilar, la solución queda atrapada y no fluye porque los poros de la membrana de filtración no se superan. Cuando se aplica una presión mayor que la fuerza del capilar al puerto de inyección para superar los poros, la solución fluye a través de la parte de los poros en la membrana de filtración. Por lo tanto, se puede demostrar que la solución fluye solo a través del paso de flujo.

35 Sin embargo, si el agua de cebado está presente en el espacio de salida como en la realización, la solución que existe en el espacio de salida es posible que fluya en contacto con el agua de cebado sin superar la fuerza del capilar en la salida de poro. Por lo tanto, la solución puede fluir bajo una presión mucho más baja.

40 Además, como en el gráfico de la Figura 5, los resultados del cálculo de la diferencia de presión entre antes y después de pasar a través de la membrana de filtración cuando la solución fluye indica que hay una mayor diferencia de presión debido al área de bajo flujo cuando la solución fluye a través de la parte de la membrana de filtración sin el agua de cebado como el ejemplo comparativo. Esto puede interferir con la estabilidad al momento de filtrar el material biológico. En contraste, cuando se aplica el agua de cebado como se muestra en la realización, la solución puede fluir a una diferencia de presión mucho más baja a través de la escala completa de la membrana de filtración y realizar la filtración estable del material.

45 Lo anterior describe la configuración del dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con la primera realización de la presente invención. A continuación, se explicará el procedimiento de filtrado de partículas que utiliza el dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con la primera realización de la presente invención.

50 La Figura 6 es un diagrama de flujo que muestra un procedimiento de filtrado de partículas que utiliza el dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con la realización.

55 Con referencia a la Figura 6, el procedimiento de filtrado de partículas que utiliza el dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con la realización puede comprender: preinyectar el filtrado al espacio de salida del dispositivo de filtrado de partículas (S100); inyectar la muestra biológica en el interior del dispositivo de filtrado de partículas (S110); guiar la muestra biológica a la membrana de filtración (100) generando la fuerza centrífuga (S120); y separar la partícula mediante el filtrado de la muestra biológica a través de la membrana de filtración (100) (S130).

5 Al inyectar el filtrado (S100), el filtrado se inyecta en el espacio de salida frente al lado de salida de la membrana de filtración antes de filtrar la muestra. En esta realización, la muestra de sangre completa en la que se incluye la célula tumoral circulante se usa como muestra biológica, de modo que la partícula de la célula tumoral circulante se separa a través de la membrana de filtración. Por lo tanto, el filtrado puede ser una solución con el estado en el que se extrae la célula tumoral circulante de la muestra de sangre completa. El filtrado se enfrenta con el lado de salida de la membrana de filtración.

Al inyectar la muestra biológica (S110), la muestra biológica se inyecta en el dispositivo de filtrado de partículas (10) a través del puerto de inyección (211). La muestra biológica que se inyecta está presente con el estado en el que la célula tumoral circulante se incluye en el miembro de guía (230).

10 En la guía (S120), la muestra biológica que existe en el miembro de guía (230) se guía a la membrana de filtración (100). En este momento, en esta realización, la fuerza centrífuga se puede generar girando el dispositivo de filtrado de partículas (10) para una guía rápida de la muestra biológica. Mediante el procedimiento descrito anteriormente, la muestra biológica se ubica en el espacio de entrada de la membrana de filtración superior.

15 En el filtrado (S130), se filtra la muestra biológica que se introduce en la membrana de filtración (100). La filtración se realiza mediante la muestra biológica que pasa a través de la membrana de filtración por la diferencia de presión entre el lado de entrada y el lado de salida de la membrana de filtración. En este momento, la célula tumoral circulante (2) cuyo tamaño molecular es grande permanece en el lado de entrada de la membrana de filtración de iones, ya que la célula no pasa a través de los poros de la membrana de filtración (100). El resto puede pasar a través de los poros de la membrana de filtración de iones y se mueve al espacio de salida que se ubica en el lado de salida de la membrana de filtración.

20 En este procedimiento, el filtrado precargado en el espacio de salida aplica la fuerza cohesiva a la muestra en el poro de la salida de la membrana de filtración, por lo que la muestra puede pasar fácilmente a través de los poros de la membrana de filtración sin superar la fuerza capilar. El filtrado que pasa a través de la membrana de filtración en el filtrado se mueve al miembro de almacenamiento del filtrado (400) a través del canal de flujo (330).

25 **Ejemplo Experimental 1**

La Figura 7 es una foto que muestra comparativamente el resultado experimental de la separación de partículas del dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

En este experimento, la filtración se realiza inyectando el filtrado que incluye partículas de $10\mu\text{m}$ como la muestra al dispositivo de filtrado de partículas que tiene la membrana de filtración cuyo tamaño de poro es de $8\mu\text{m}$.

30 En la Figura 7, tanto el ejemplo comparativo como la realización tienen la misma estructura del dispositivo de filtrado de partículas, pero simplemente en la realización, el filtrado se preinyecta en el espacio de salida del lado de salida de la membrana de filtración, por el contrario, el ejemplo comparativo no tiene el filtrado.

35 Como se indica en la foto del ejemplo comparativo de la Figura 7, la filtración se realiza sin aplicar el principio del agua de cebado por el filtrado, como resultado, solo ciertas partes de la membrana de filtración se pueden usar para la filtración. Por lo tanto, como se ve al expandir la membrana de filtración, se puede ver que las partículas se depositan en solo una parte en la que la solución fluye como una corriente.

40 La realización de la Figura 7 muestra la foto que se obtiene al realizar la filtración aplicando el principio del agua de cebado por el filtrado. En el caso de la realización, a diferencia del ejemplo comparativo, el flujo tal como la corriente no se forma en la parte específica. La escala completa de la membrana de filtración se puede usar sin problemas para la filtración. Como resultado, se puede ver que las partículas se depositan uniformemente en la escala completa de la membrana de filtración mediante la observación ampliada de la membrana de filtración.

A través de estos experimentos, se puede saber que la filtración se realiza uniformemente a través del frente de la membrana de filtración si el filtrado se preinyecta en el lado de salida de la membrana de filtración bajo la misma estructura del dispositivo de filtrado de partículas.

45 La Figura 8 muestra el resultado experimental de separar la partícula fluorescente real usando el principio del agua de cebado de acuerdo con esta realización.

En la Figura 8, tanto el ejemplo comparativo como la realización tienen la misma estructura del dispositivo de filtrado de partículas, pero simplemente en la realización, el filtrado se preinyecta en el espacio de salida del lado de salida de la membrana de filtración, por el contrario, el ejemplo comparativo no tiene el filtrado.

50 Como resultado experimental de la separación de la partícula fluorescente real, se puede saber que las partículas filtradas se distribuyen uniformemente a gran escala porque la solución se filtra uniformemente a través de la escala completa debajo de la membrana de filtración que utiliza el principio del agua de cebado como en la realización. Por otro lado, en caso de filtración sin el agua de cebado como en el ejemplo comparativo, se puede ver que solo algunas partes de la porción inferior se usan para la filtración debido al flujo de fluido a través del área parcial de la membrana

de filtración. En los resultados después de la filtración de partículas, es posible ver los resultados con diferencias significativas tanto en el área que se utiliza para la filtración como en el área que no se utiliza para la filtración.

Además, como en el gráfico de la Figura 8, como resultado de medir la intensidad de fluorescencia en cada posición manteniendo la parte superior de la membrana de filtración en cero, en el caso de la realización en la que se aplica el principio del agua de cebado, la intensidad fluorescente se distribuye uniformemente en toda la escala. Por otro lado, en el caso del ejemplo comparativo en el que no se aplica el principio del agua de cebado, las partículas fluorescentes se separan intensamente solo en la parte inferior de la membrana de filtración.

Ejemplo Experimental 2

La Figura 9 y la Figura 10 son gráficos que indican el resultado experimental de separar la CTC por el dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

La Figura 9 muestra la correlación entre el número de CTC que se inyecta artificialmente y el número de CTC que se separa a través del dispositivo de filtrado de partículas reales. La Figura 10 indica la eficiencia de separación.

En la Figura 9 y la Figura 10, tanto el ejemplo comparativo como la realización tenían la misma estructura del dispositivo de filtrado de partículas, pero simplemente en la realización, el filtrado se preinyectó en el espacio de salida del lado de salida de la membrana de filtración, por el contrario, el ejemplo comparativo realizó el experimento de separación de CTC sin el filtrado.

Tanto el ejemplo comparativo como la realización realizaron la filtración poniendo el número de CTC que se calculó artificialmente en la muestra y se inyectó la muestra en el dispositivo de filtrado de partículas. Después de la filtración, el número de CTC que se capturó en la membrana de filtración se agregaron y compararon.

Como se muestra en la Figura 9, la realización tiene un número mucho mayor de CTC capturado que el del ejemplo comparativo. Además, como se muestra en la Figura 10, la realización tiene una eficiencia de separación de CTC mucho mejor del 95% cuando se aplica al principio del agua de cebado en comparación con el ejemplo comparativo del 54%.

La Figura 11 es un gráfico que muestra los resultados de separación de CTC de la muestra del paciente con cáncer real, que utiliza un dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con esta realización.

En la Figura 11, como se describió anteriormente, la realización indica el resultado de la separación del dispositivo de filtrado de partículas en el que se aplica el principio del agua de cebado. El ejemplo comparativo muestra el resultado del kit de separación de CTC en el que no se aplica el principio del agua de cebado actualmente disponible.

Como se muestra en la Figura 11, de acuerdo con los resultados experimentales de la separación, se detectaron más CTC en el dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con la realización que en el dispositivo de filtrado de partículas de acuerdo con el ejemplo comparativo bajo la muestra de la mayoría de los pacientes, aunque se utilizó la misma muestra de paciente en el mismo. Por lo tanto, la realización que utiliza el principio del agua de cebado puede separar de manera estable la CTC en el área más amplia en comparación con el ejemplo comparativo.

Además, un glóbulo blanco que puede actuar como un inhibidor se debe eliminar tanto como sea posible para el posterior procedimiento de diagnóstico genético después de la separación de la CTC. En el caso de la realización, queda un número mucho menor de glóbulos blancos en el filtro en comparación con el ejemplo comparativo, por lo tanto, la realización tiene un alto efecto para eliminar los glóbulos blancos.

A través de estos experimentos, se puede saber que la eficiencia de separación de partículas puede aumentar más si el filtrado se preinyecta en el lado de salida de la membrana de filtración bajo la misma estructura del dispositivo de filtrado de partículas.

[DESCRIPCIÓN DE NÚMEROS DE REFERENCIA]

10: dispositivo de filtrado de partículas	100: membrana de filtración
200: primer cuerpo	211: puerto de inyección
212: respiradero	230: miembro de guía
231: primera parte	232: segunda parte
300: segundo cuerpo	311: espacio de entrada
312: espacio de salida	315: filtrado
330: canal de flujo	400: miembro de almacenamiento de filtrado

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de filtrado de partículas (10) que comprende:
 - una membrana de filtración (100) que separa una partícula mediante el filtrado de una muestra;
 - un primer cuerpo (200) conectado a un lado de entrada de la membrana de filtración (100), que suministra la muestra al lado de entrada de la membrana de filtración (100); y
 - un segundo cuerpo (300) conectado a un lado de salida de la membrana de filtración (100), que acomoda un filtrado (315) cuya partícula se separa a través de la membrana de filtración (100),
 - en el que el dispositivo de filtrado de partículas (10) tiene una estructura en la que el filtrado (315) se acomoda entre el segundo cuerpo (300) y el lado de salida de la membrana de filtración (100)
 - en el que el segundo cuerpo (300) incluye un espacio de salida (312) que se forma debajo del lado de salida de la membrana de filtración (100), y el filtrado (315) se acomoda en el espacio de salida (312).
2. El dispositivo (10) de la reivindicación 1, en el que el primer cuerpo (200) incluye: un espacio de entrada (311) formado en una posición que corresponde al lado de entrada de la membrana de filtración (100), en el que se introduce la muestra; un puerto de inyección (211) para la inyección de muestra, conectado con el espacio de entrada (311); y un miembro de guía (230) que transporta la muestra al conectar el puerto de inyección (211) y el espacio de entrada (311).
3. El dispositivo (10) de la reivindicación 2, en el que el dispositivo de filtrado de partículas (10) comprende un espacio de muestra que acomoda la muestra que se inyecta desde el puerto de inyección (211) al formarse entre el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300), al estar conectado con el miembro de guía (230), y al estar comunicado con el puerto de inyección (211).
4. El dispositivo (10) de la reivindicación 3, en el que el dispositivo de filtrado de partículas (10) comprende además un miembro de almacenamiento de filtrado (400) que almacena un filtrado que pasa a través de la membrana de filtración (100) al formarse entre el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) y al estar conectado al espacio de salida (312).
5. El dispositivo (10) de la reivindicación 4, en el que el segundo cuerpo (300) tiene un canal de flujo (330) que conecta el espacio de salida (312) y el miembro de almacenamiento de filtrado (400).
6. El dispositivo (10) de la reivindicación 5, en el que el primer cuerpo (200) además tiene un respiradero (212) conectado con el miembro de guía (230).
7. El dispositivo (10) de la reivindicación 6, en el que el primer cuerpo (200) y el segundo cuerpo (300) se forman como una estructura en forma de disco que puede rotar alrededor del centro, y la membrana de filtración (100) se ubica separada del centro del segundo cuerpo (300) en dirección radial.
8. El dispositivo (10) de la reivindicación 7, en el que el puerto de inyección (211) se ubica entre el centro del primer cuerpo (200) y la membrana de filtración (100).
9. El dispositivo (10) de la reivindicación 8, en el que el miembro de guía (230) se forma de manera que el ancho del miembro de guía (230) se estrecha gradualmente en la dirección radial desde el espacio de muestra al espacio de entrada (311) a lo largo de la dirección de movimiento de la muestra.
10. El dispositivo (10) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el filtrado (315) se acomoda en contacto con el lado de salida de la membrana de filtración (100).
11. El dispositivo (10) de la reivindicación 10, en el que el filtrado (315) es una solución con los mismos ingredientes que el filtrado que pasó a través de la membrana de filtración (100).
12. El dispositivo (10) de la reivindicación 10, en el que la membrana de filtración (100) tiene una estructura que tiene un poro cuyo diámetro es de 10 nm a 30 cm.
13. El dispositivo (10) de la reivindicación 12, en el que la membrana de filtración (100) tiene una estructura que filtra una célula viva, una partícula de material inorgánico o una partícula de material orgánico.
14. Un procedimiento de filtrado de partículas que comprende:
 - inyectar el filtrado (315) en el espacio de salida (312) del dispositivo de filtrado de partículas (10) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13;
 - inyectar la muestra al dispositivo de filtrado de partículas (10);

guiar la muestra a la membrana de filtración (100) del dispositivo de filtrado de partículas (10) generando la fuerza centrífuga; y

separar la partícula mediante el filtrado de la muestra a través de la membrana de filtración (100).

Figura 1

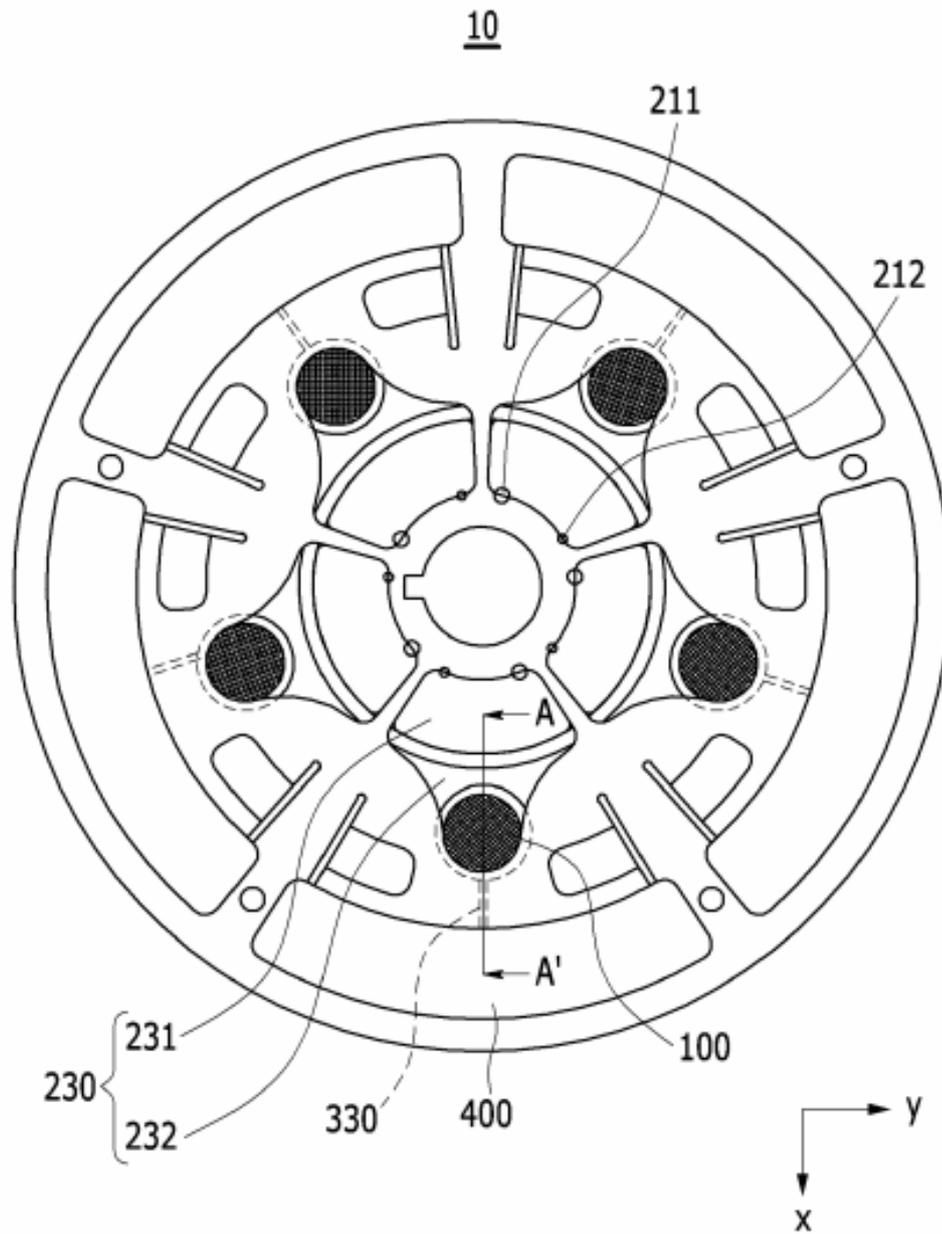


Figura 2

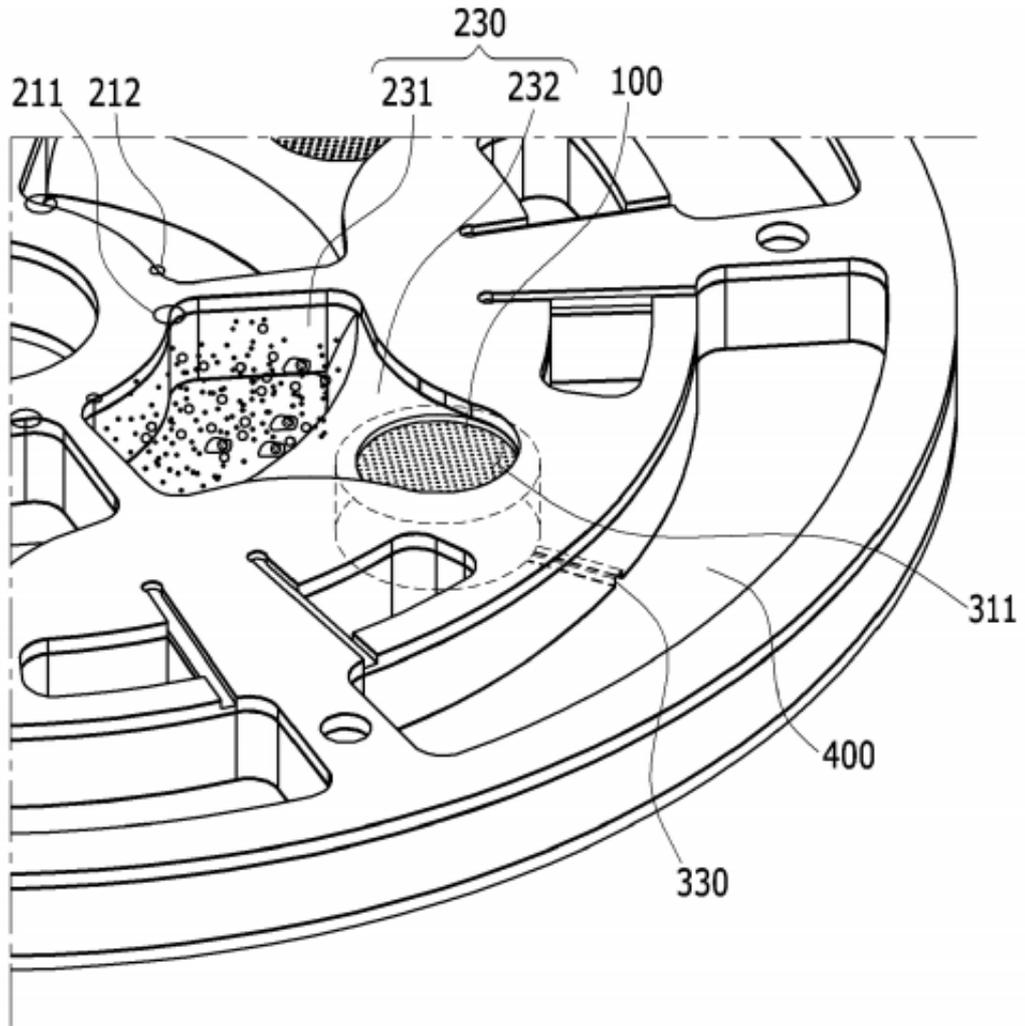


Figura 3

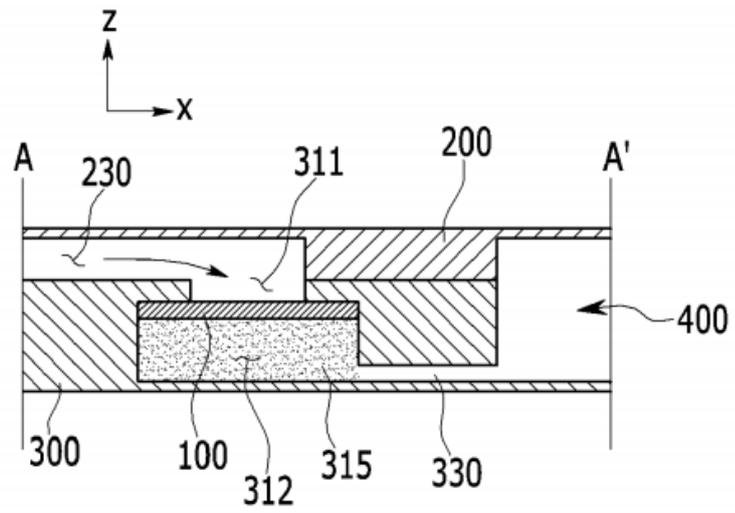


Figura 4

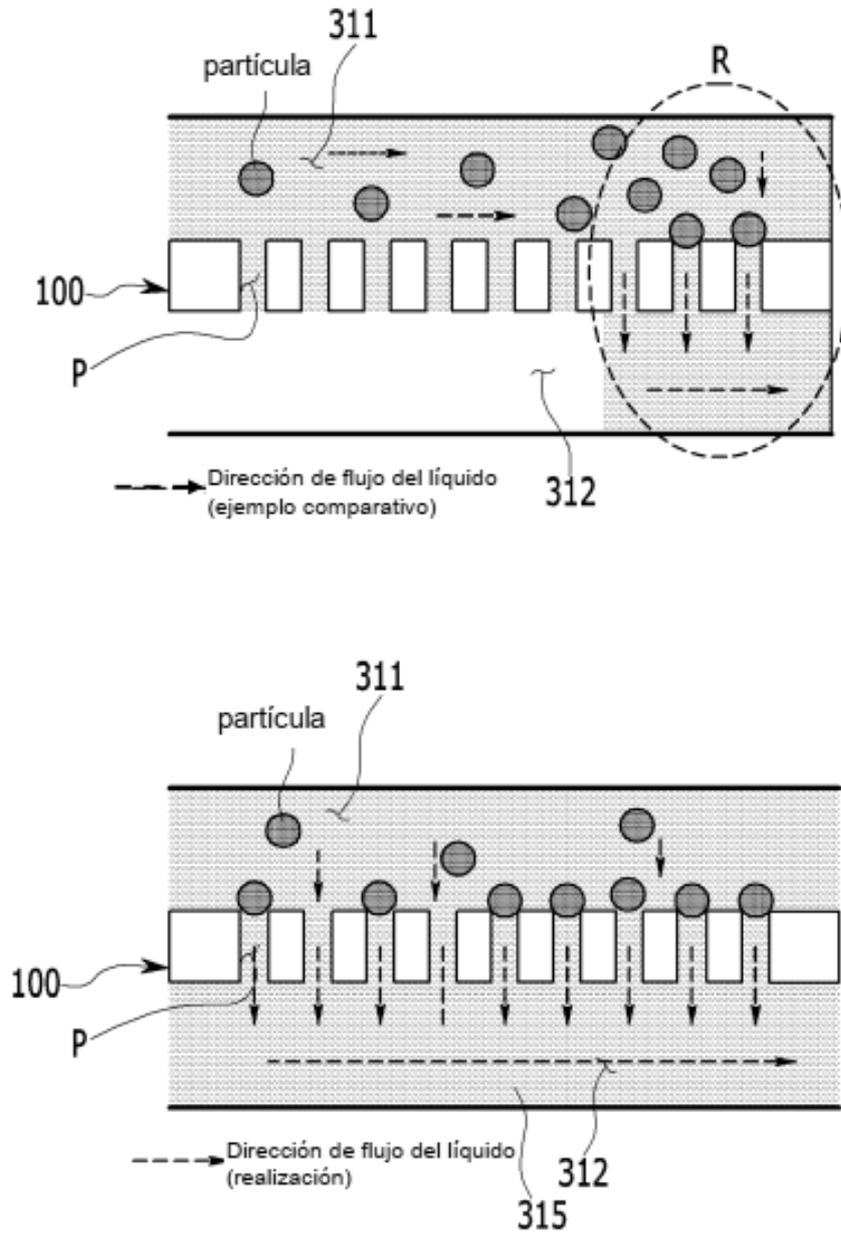


Figura 5

Fracción de agua en un aire de sistema aire/agua

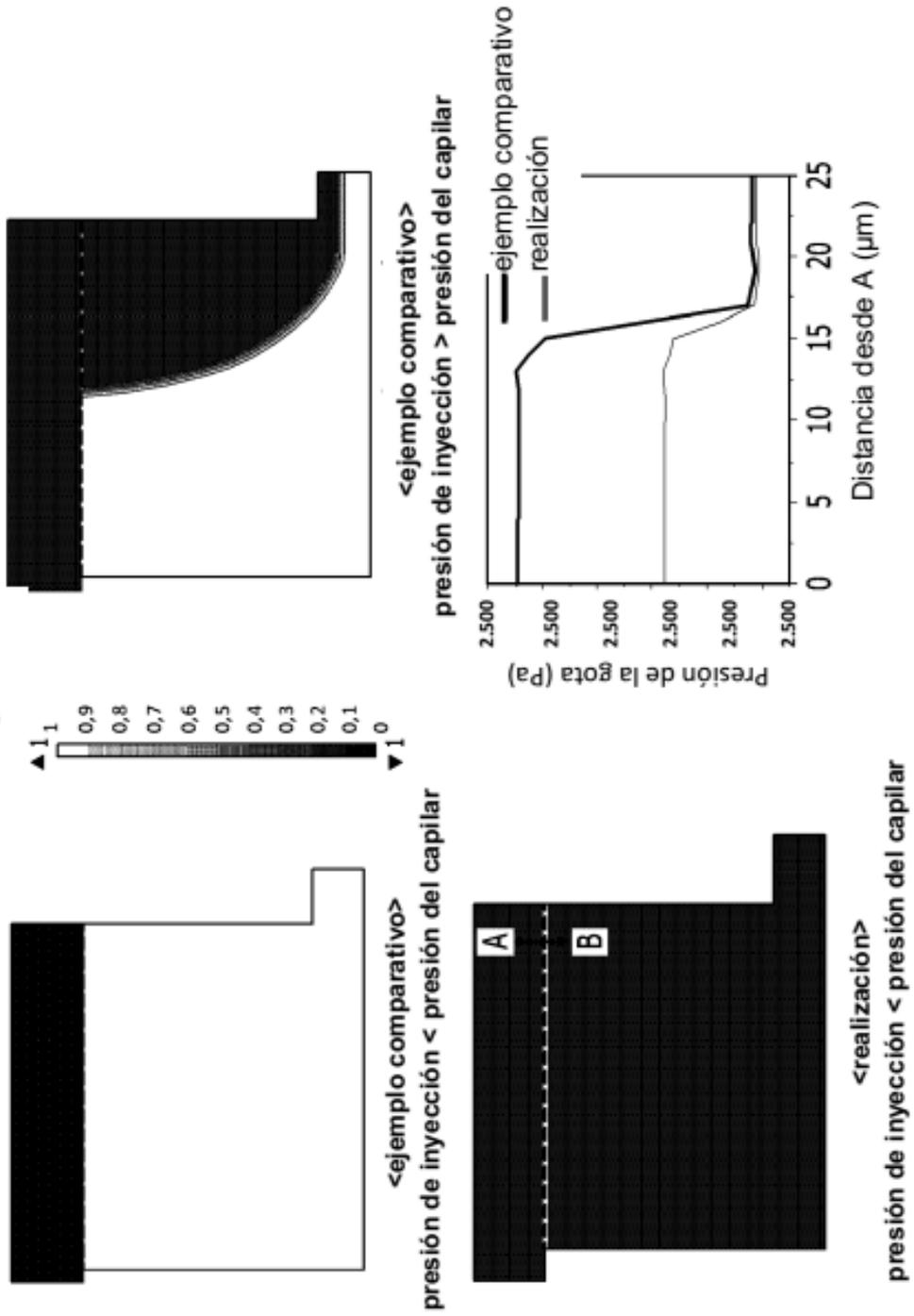


Figura 6

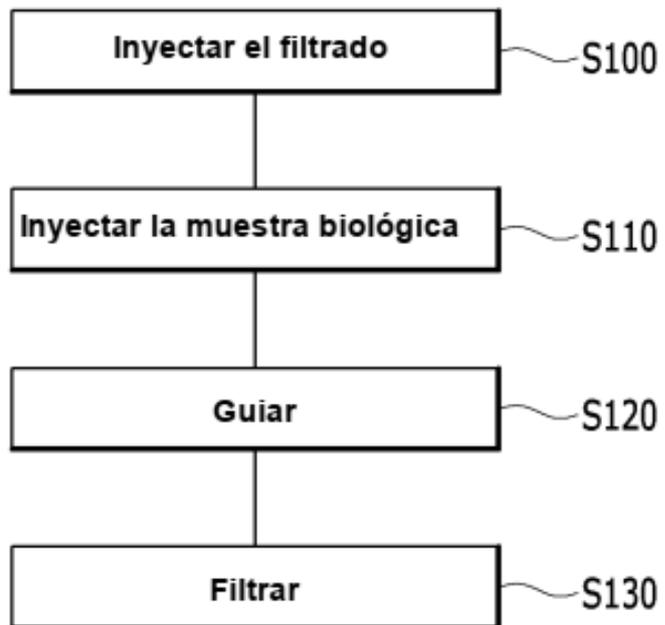
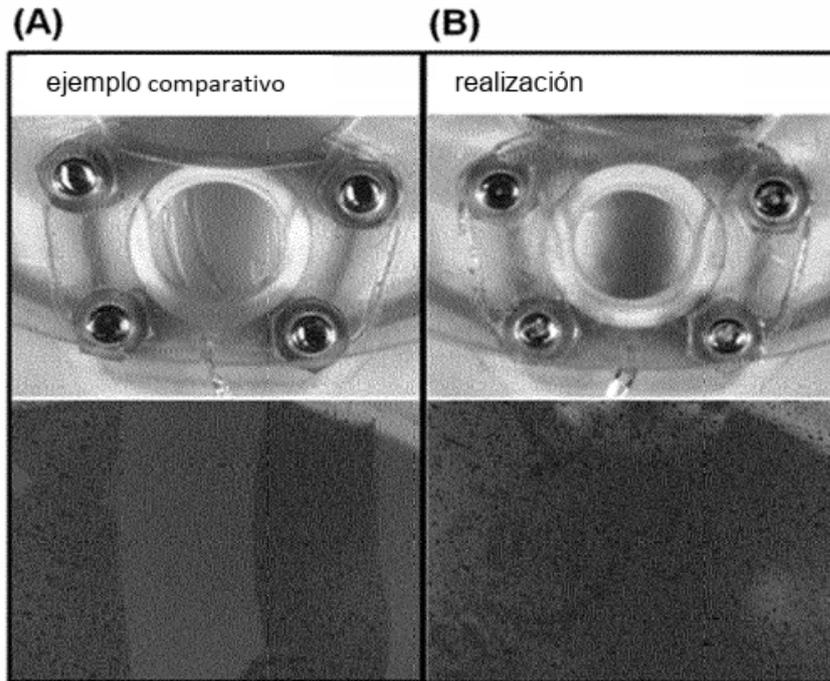


Figura 7



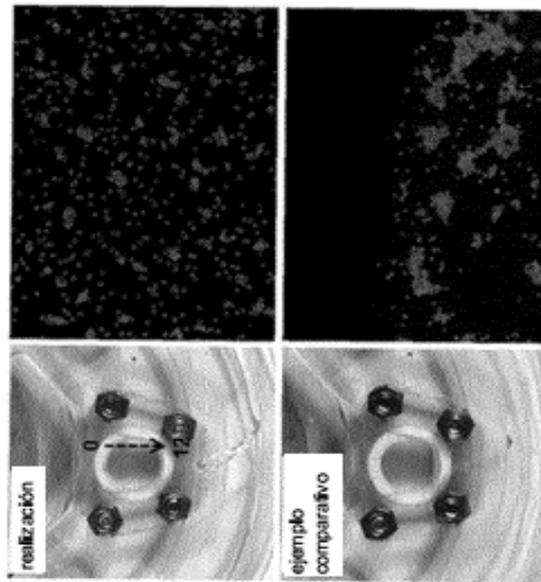


Figura 8

Figura 9

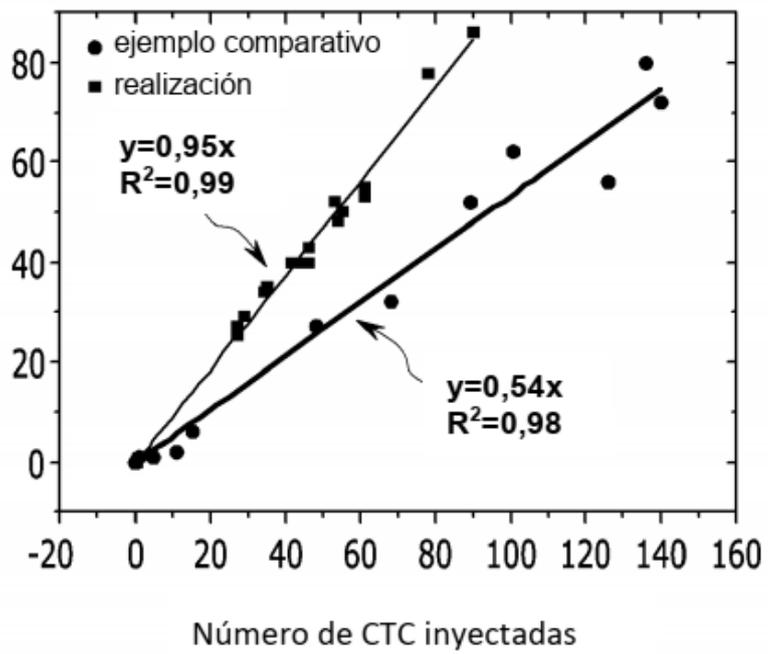


Figura 10

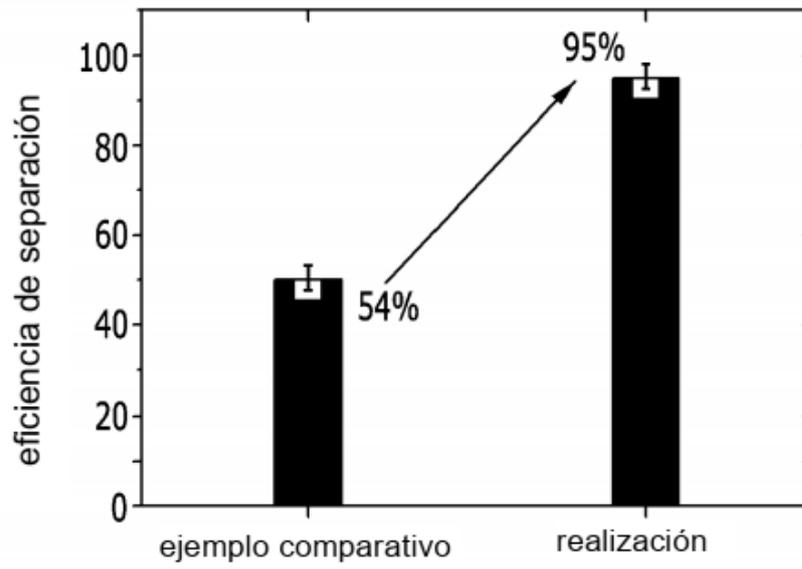


Figura 11

