

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047850**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.09.19

(51) Int. Cl. **C12M 3/00 (2006.01)**
C12N 5/076 (2010.01)

(21) Номер заявки
202393393

(22) Дата подачи заявки
2023.12.07

(54) **УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОТБОРА СПЕРМАТОЗОИДОВ И УСТРОЙСТВО ДЛЯ
НАПРАВЛЕНИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ**

(43) **2024.09.17**

(96) **2023000202 (RU) 2023.12.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БУКАТИН АНТОН СЕРГЕЕВИЧ;
ИСАКОВ ЛЕВ СЕРГЕЕВИЧ;
КОРНЕЕВ ИГОРЬ АЛЕКСЕЕВИЧ;
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
"МЕЖДУНАРОДНЫЙ
ЦЕНТР РЕПРОДУКТИВНОЙ
МЕДИЦИНЫ" (АО "МЦРМ") (RU)**

(56) WO-A1-2022078144
Human spermatozoa migration in
microchannels reveals boundary-following
navigation. PETR DENISSENKO et
al. [онлайн], 2012-05-07 [найдено
2024-03-19]. Найдено в <[https://www.pnas.org/doi/](https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1202934109)
full/10.1073/pnas.1202934109> весь документ
US-A1-20220192809
US-A1-20190308192

(72) Изобретатель:
**Букатин Антон Сергеевич, Исаков
Лев Сергеевич, Корнеев Игорь
Алексеевич (RU)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к микрофлюидным устройствам, в частности к устройству для отбора сперматозоидов и устройству для направления сперматозоидов. Предложены устройство для отбора сперматозоидов, содержащее входную камеру, выходную камеру, расположенную в радиальном направлении внутрь от входной камеры; каналы, соединяющие входную и выходную камеры, причем каналы содержат глухие ответвления с радиусом закругления от 50 до 75 мкм; и устройство для направления сперматозоидов, содержащее входное и выходное отверстия и глухие ответвления с радиусом закругления от 50 до 75 мкм. Технический результат предлагаемого изобретения заключается в уменьшении обратного тока сперматозоидов.

B1

047850

047850

B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к микрофлюидным устройствам, в частности к устройству для отбора сперматозоидов и устройству для направления сперматозоидов.

Уровень техники

В настоящее время с общей тенденцией к повышению компактности всевозможных устройств наряду со стремлением к созданию эффективных и точных устройств все большую актуальность набирают микрофлюидные устройства. Микрофлюидные устройства находят широкое практическое применение при анализе и исследовании жидких проб в биологии, фармакологии, биомедицине и медицине. В ряде биологических и медицинских приложений, таких как оплодотворение *in vitro*, искусственное оплодотворение и исследования в области репродуктивной медицины, отбор сперматозоидов высокого качества, обладающих высокой подвижностью, нормальной морфологией и низкой степенью фрагментации ДНК, является одной из важных задач. Для решения этих задач используют микрофлюидные устройства, позволяющие осуществлять сортировку, отбор сперматозоидов по таким характеристикам, как подвижность, степень фрагментации ДНК, морфология. Обычно микрофлюидные устройства содержат микрофлюидный чип, содержащий микроканалы, резервуары, мембраны и прочие структуры для обеспечения течения жидкости, а также ее контроля. Также указанные устройства могут содержать микронасосы для обеспечения перемещения жидкости, вентили для контроля потоков жидкости и детекторы, обеспечивающие мониторинг и возможность анализа содержания жидкости.

Необходимо отметить, что в микрофлюидных устройствах важную роль играют микроканалы. Микроканалы используют для миксинга, разделения, дозирования жидкостей. Размеры микроканалов обычно лежат в микрометровом диапазоне, что позволяет эффективно управлять потоками жидкости на микроскопическом уровне. При осуществлении микроканалов важной задачей является выбор таких характеристик и параметров, как геометрическая форма, глубина, длина, ширина. Указанные характеристики и параметры влияют на эффективность и скорость работы устройства. Микроканалы могут иметь различную геометрическую форму, например прямоугольную, круглую, зигзагообразную, спиральную и т.д. Геометрия микроканалов выбирается исходя из конкретных целей и требований.

Известно микрофлюидное устройство для отделения подвижных сперматозоидов, раскрытое в патенте СА 2834007 А1 (19.05.2015). Известное устройство содержит впускной резервуар для приема образца биологической жидкости, содержащей сперматозоиды, выпускной резервуар для сбора сперматозоидов, набор микроканалов, расположенных в радиальном направлении между впускным и выпускным резервуарами для обеспечения сообщения по потоку и для направления подвижных сперматозоидов от впускного резервуара к выпускному резервуару. Согласно известному решению, микроканалы имеют прямоугольную форму. Сперматозоиды, попавшие в микроканалы с прямоугольной формой, могут беспрепятственно двигаться как в прямом направлении, т.е. от входного резервуара к выходному резервуару, так и в обратном направлении, т.е. от выходного резервуара к входному резервуару. Такое беспрепятственное двунаправленное движение сперматозоидов приводит к уменьшению концентрации подвижных сперматозоидов в выходном резервуаре, что негативно сказывается на эффективности и скорости отбора сперматозоидов требуемого качества. Для устранения вышеупомянутого недостатка в известном решении выпускной резервуар может содержать множество элементов, препятствующих возврату подвижных сперматозоидов обратно в микроканалы после их выхода из этих микроканалов. Однако наличие таких элементов в выпускном резервуаре не позволяет устранить обратное движение развернувшихся в микроканале сперматозоидов или сперматозоидов, попавших обратно в микроканал, по направлению к входному резервуару.

Наиболее близким аналогом настоящего изобретения является решение, раскрытое в статье Р. Denissenko et.al. "Human spermatozoa migration in microchannels reveals boundary-following navigation" ("Процесс миграции сперматозоидов человека в микроканалах свидетельствует о перемещении сперматозоидов вдоль границ") PNAS (2012). В статье раскрыт принцип отбора сперматозоидов с использованием канала храповой формы, а также принцип движения сперматозоидов в таких каналах. В частности, согласно статье, сперматозоиды перемещаются вдоль пересечения стенок канала (углов канала). Если канал имеет изгибы, сперматозоиды покидают угол и продолжают двигаться вперед до тех пор, пока не столкнутся с противоположной стенкой канала. Тот факт, что сперматозоиды при своем движении покидают углы, позволяет использовать каналы со стенками храповой формы для обеспечения однонаправленного движения сперматозоидов. Вместе с тем необходимо отметить, что, несмотря на известность влияния храповой формы микроканала на траекторию движения сперматозоидов, в указанной статье не исследовалось влияние параметров микроканала храповой формы на эффективность отбора сперматозоидов, что не позволяет создать устройство для отбора сперматозоидов оптимальной конфигурации для быстрого отбора сперматозоидов требуемого качества.

Таким образом, ввиду недостатков известных решений существует техническая проблема, состоящая в отсутствии средств и решений, которые обеспечивали бы высокую эффективность отбора сперматозоидов и позволяли бы минимизировать время отбора сперматозоидов.

Сущность изобретения

Указанная техническая проблема решена предлагаемым устройством для направления сперматозоидов и соответствующим устройством для отбора сперматозоидов.

Согласно первому аспекту изобретения, предлагаемое устройство для направления сперматозоидов содержит канал для направления сперматозоидов и входное и выходное отверстия, а канал содержит глухие ответвления, скошенные в направлении входного отверстия и оканчивающиеся закруглениями со стороны входного отверстия с радиусом закругления. В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления изобретения радиус закругления принимает значения от 50 мкм до 75 мкм.

Технический результат заключается в уменьшении обратного тока сперматозоидов, что позволяет организовать преимущественно однонаправленное движение сперматозоидов по направлению к выходной камере, а также приводит к увеличению концентрации подвижных сперматозоидов в выходной камере. Таким образом, вследствие того, что обеспечена высокая концентрация подвижных сперматозоидов в выходной камере обеспечивается высокая эффективность отбора сперматозоидов и минимизация времени отбора сперматозоидов. В контексте настоящего изобретения под высокой эффективностью отбора сперматозоидов и/или работы устройства или микроканала следует понимать обеспечение высокой концентрации подвижных сперматозоидов в выходной камере.

Указанный технический результат достигается, в частности, благодаря тому, что канал содержит глухие ответвления, скошенные в направлении входного отверстия и оканчивающиеся закруглениями со стороны входного отверстия с радиусом закругления. В частности, благодаря тому, что обеспечен радиус закругления в диапазоне от 50 до 75 мкм обеспечена возможность перенаправления развернувшихся или случайно попавших обратно в канал сперматозоидов к выходной камере. Также ввиду того, что в выходную камеру попадают наиболее подвижные сперматозоиды, а их концентрация велика, то техническим результатом является и улучшение качества отобранного материала как такового. Сперматозоиды, отобранные по подвижности, обладают высокой подвижностью, хорошей морфологией и низкой фрагментированностью ДНК.

В соответствии с одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 30 мкм до 100 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 30 мкм до 40 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления равен 30 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления равен 100 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения радиус закругления принимает значения от 50 мкм до 55 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 55 мкм до 60 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 60 мкм до 65 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 65 мкм до 70 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 70 мкм до 75 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 75 мкм до 100 мкм.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения, глухие ответвления расположены асимметрично относительно оси соответствующего канала.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения, глубина канала составляет от 25 мкм до 45 мкм.

Согласно одному варианту осуществления изобретения, глубина канала составляет от 25 мкм до 30 мкм.

Согласно другому варианту осуществления изобретения, глубина канала составляет от 30 мкм до 45 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, ширина канала варьируется от максимального значения к минимальному значению в направлении от входного отверстия к выходному отверстию.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения, минимальная ширина канала составляет от 20 мкм до 80 мкм.

Согласно другому варианту осуществления изобретения, минимальная ширина канала составляет от 20 мкм до 50 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, минимальная ширина канала составляет от 50 мкм до 80 мкм.

Согласно второму аспекту изобретения, предлагаемое устройство для отбора сперматозоидов содержит входную камеру, которая имеет незамкнутую окружную форму и на противоположных концах которой выполнены входное отверстие для введения образца семенной жидкости во входную камеру и выходное отверстие для выведения образца семенной жидкости из входной камеры; выходную камеру, расположенную в радиальном направлении внутрь от входной камеры; каналы, соединяющие входную и выходную камеры и проходящие между ними в радиальном направлении. Каналы содержат глухие ответвления, скошенные в направлении входной камеры и оканчивающиеся закруглениями со стороны входной камеры с радиусом закругления.

В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления изобретения радиус закругления принимает значения от 50 мкм до 75 мкм.

В соответствии с одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 30 мкм до 100 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 30 мкм до 40 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления равен 30 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления равен 100 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения радиус закругления принимает значения от 50 мкм до 55 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 55 мкм до 60 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 60 мкм до 65 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 65 мкм до 70 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 70 мкм до 75 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления изобретения, радиус закругления принимает значения от 75 мкм до 100 мкм.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения, глухие ответвления расположены асимметрично относительно оси соответствующего канала.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, глубина каналов составляет от 25 мкм до 45 мкм.

Согласно одному варианту осуществления изобретения, глубина каналов составляет от 25 мкм до 30 мкм.

Согласно другому варианту осуществления изобретения, глубина каналов составляет от 30 мкм до 45 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, ширина каналов варьируется от максимального значения к минимальному значению в направлении от входной камеры к выходной камере.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления изобретения, минимальная ширина каналов составляет от 20 мкм до 80 мкм.

Согласно другому варианту осуществления изобретения, минимальная ширина каналов составляет от 20 мкм до 50 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, минимальная ширина каналов составляет от 50 мкм до 80 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, минимальное расстояние между каналами составляет от 10 мкм до 60 мкм.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, нижняя часть устройства для отбора сперматозоидов выполнена из стекла или биосовместимого пластика.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения, верхняя часть устройства для отбора сперматозоидов выполнена из биосовместимого пластика.

Список обозначений на чертежах

- 1 - устройство для отбора сперматозоидов;
- 2 - входная камера;
- 3 - выходная камера;
- 4 - микроканал;
- 5 - глухие ответвления;
- 6 - верхняя часть;
- 7 - нижняя часть;
- 8 - траектория движения развернувшихся сперматозоидов вдоль глухих ответвлений;
- 9 - траектория движения сперматозоидов в прямом направлении;

H - минимальная ширина;
R - радиус закругления;
l - длина канала.

Краткое описание чертежей

Сущность изобретения более подробно поясняется со ссылкой на прилагаемые чертежи:

фиг. 1 изображает общий вид устройства для отбора сперматозоидов согласно одному из вариантов осуществления;

фиг. 2 представляет собой сечение устройства для отбора сперматозоидов, изображённого на фиг. 1;

фиг. 3 изображает вид сверху микроканала в соответствии с одним из вариантов осуществления;

фиг. 4 изображает вид сверху микроканала в соответствии ещё с одним вариантом осуществления;

фиг. 5 иллюстрирует взаимное расположение микроканалов по фиг. 3-4;

фиг. 6 иллюстрирует ещё один вариант взаимного расположения микроканалов по фиг. 3-4;

фиг. 7 иллюстрирует ещё один вариант расположения микроканалов по фиг. 3-4;

фиг. 8 демонстрирует двоящее устройство для отбора сперматозоидов;

фиг. 9 демонстрирует траекторию движения сперматозоидов в микроканале;

фиг. 10 изображает вид сверху устройства для отбора сперматозоидов согласно вариантам осуществления настоящего изобретения и его сечения;

фиг. 11 изображает общий вид устройства для отбора сперматозоидов согласно одному из вариантов осуществления и траекторию движения сперматозоидов в микроканале.

Осуществление изобретения

Варианты осуществления настоящего изобретения и их различные признаки объяснены более подробно со ссылкой на неограничивающие примеры, которые описаны и/или изображены на чертежах и подробно представлены в нижеследующем описании. В рамках настоящего изобретения под углом канала следует понимать место соединения боковой стенки и верхней или нижней стенки. Необходимо отметить, что, согласно предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения, канал имеет вертикальные стенки, а поперечное сечение канала в любом месте прямоугольное. Вместе с тем в рамках настоящего изобретения под стенками понимаются все поверхности канала. Следует отметить, что при необходимости канал может иметь и другие подходящие формы, в частности форму поперечного сечения, отличную от прямоугольной.

В соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения, микроканал 4 предназначен для направления сперматозоидов от входной камеры 2 устройства 1 для отбора сперматозоидов к выходной камере 3 устройства 1 для отбора сперматозоидов. Согласно настоящему изобретению, для исполнения микроканала может быть использован любой подходящий биосовместимый материал. В предпочтительном варианте осуществления микроканал 4 выполнен из биосовместимого пластика. Например, такой биосовместимый пластик может представлять собой одно из следующего: полиметакрилат (ПММА), полиуретан (ПУ), высокоплотный и низкоплотный полиэтилен (ПЭ), полиимид (ПИ), силиконовый каучук. Следует отметить, что указанный перечень биосовместимых пластиков не является ограничивающим, и биосовместимый пластик может представлять собой любой подходящий биосовместимый пластик. В других вариантах осуществления микроканал 4 может быть выполнен из полидиметилсилоксана (ПДМС). В соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения, стенки микроканала 4 с внутренней стороны могут иметь гидрофильное покрытие для обеспечения быстрого заполнения микроканала 4 клеточной средой перед началом использования. Примерами таких покрытий могут служить полиэтиленгликоль, силаны, а также гидрофильные покрытия на основе полимеров. При необходимости микроканал 4 может быть выполнен из оптически прозрачного материала для обеспечения возможности наблюдения за процессом отбора посредством микроскопа. В соответствии с одним из неограничивающих вариантов осуществления настоящего изобретения, в качестве оптически прозрачного материала может быть использован кварц или стекло.

В соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, микроканал 4, представленный на фиг. 3-4, содержит входное отверстие (не показано), выходное отверстие (не показано) и глухие ответвления 5, расположенные асимметрично или симметрично относительно оси OX микроканала 4. Глухие ответвления 5 скошены в направлении входного отверстия и имеют закругления со стороны входного отверстия с радиусом R закругления. Согласно настоящему изобретению, наличие глухих ответвлений 5 с закруглениями позволяет уменьшить обратный ток сперматозоидов. Это обусловлено тем, что при развороте сперматозоидов в сторону, противоположную направлению движения к выходной камере 3, при движении развернувшихся сперматозоидов вдоль ответвления 5 за счет закругления они будут переходить на противоположную стенку микроканала 4 и далее двигаться в сторону к выходной камере 3. Если какие-либо сперматозоиды случайным образом попадут из выходной камеры 3 в микроканал 4, то они будут перенаправлены аналогичным образом в сторону к выходной камере 3. Уменьшение обратного тока сперматозоидов позволяет увеличить концентрацию подвижных сперматозоидов в выходной камере 3. В качестве примера на фиг. 9 пунктирными линиями изображена траектория 8 движения развернувшихся сперматозоидов вдоль глухих ответвлений 5, а сплошной линией - траектория 9 движения сперматозоидов по направлению к выходной камере 3, что соответствует прямому направле-

нию движения.

Необходимо отметить, что важным параметром, характеризующим закругление и обеспечивающим возможность перехода сперматозоидов на противоположную стенку микроканала 4, является радиус R закругления.

Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 30 мкм до 100 мкм.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления равен 30 мкм.

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления равен 100 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 30 мкм до 40 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 75 мкм до 100 мкм.

Согласно предпочтительным вариантам осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 55 мкм, либо от 55 мкм до 60 мкм, либо от 60 мкм до 65 мкм, либо от 65 мкм до 70 мкм, либо от 70 мкм до 75 мкм.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 75 мкм.

Согласно настоящему изобретению, минимальное значение радиуса R закругления, при котором сперматозоиды могут попадать в глухие ответвления 5, равно 30 мкм. Если радиус R закругления принимает значения меньше, чем 30 мкм, то сперматозоиды не могут попасть в ответвления микроканала 4 из-за их ограниченной маневренности. В частности, если значение R закругления меньше 30 мкм, сперматозоиды не помещаются в глухом ответвлении 5, вследствие чего отсутствует возможность разворота сперматозоидов как таковая.

При значениях R закругления больше, чем 100 мкм наблюдается большое время разворота, так как увеличивается длина пути, который необходимо пройти сперматозоидам для разворота в правильном направлении. Также при таких значениях R закругления микроканалы 4 занимают много места, что приводит к тому, что в устройстве 1 для отбора сперматозоидов можно разместить меньшее количество каналов, чем, например, при значениях R меньше, чем 100 мкм. В результате эффективность отбора сперматозоидов будет снижена.

При значениях R закругления от 30 мкм до 40 мкм сперматозоиды имеют возможность поместиться в глухом ответвлении 5, но эффективность разворота сперматозоидов низкая.

При значениях R закругления от 75 мкм до 100 мкм обеспечивается эффективный разворот сперматозоидов, однако микроканал 4 занимает больше места в устройстве 1 для отбора сперматозоидов по сравнению с вышеуказанными меньшими значениями R закругления, что приводит к снижению концентрации сперматозоидов в выходной камере 3 по истечении 30 минут работы устройства 1 для отбора сперматозоидов.

При значениях R закругления от 50 мкм до 75 мкм обеспечивается наиболее эффективное перенаправление сперматозоидов, попавших в ответвление 5. При этом микроканалы 4 остаются компактными, что позволяет разместить их достаточное количество в устройстве 1 для отбора проб.

При значениях R закругления от 50 мкм до 55 мкм, либо от 55 мкм до 60 мкм, либо от 60 мкм до 65 мкм, либо от 65 мкм до 70 мкм, либо от 70 мкм до 75 мкм также обеспечивается наиболее эффективное перенаправление сперматозоидов, попавших в ответвление 5, с сохранением компактности микроканалов 4.

Согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения (фиг. 3), глухие ответвления 5 расположены ассиметрично относительно оси OX микроканала 4.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения (фиг. 4), глухие ответвления 5 расположены симметрично относительно оси OX микроканала 4.

Еще одним важным параметром микроканала 4 является глубина. Глубина микроканалов играет важную роль в контексте управления током жидкости и его контроля в микрофлюидных устройствах. Ток жидкости в микрофлюидных устройствах может быть обусловлен разностью уровней жидкости в микроканалах из-за больших значений глубины микроканала. Большой ток жидкости приводит к тому, что в микроканалы вместе с подвижными сперматозоидами попадают и неподвижные или малоподвижные сперматозоиды, что в итоге приводит к уменьшению концентрации подвижных сперматозоидов в выходной камере микрофлюидного устройства и, как следствие, к снижению качества отобранных сперматозоидов и эффективности отбора сперматозоидов. В связи с этим в рамках настоящего изобретения были исследованы микроканалы 4 с разными глубинами, и на основании проведенных исследований получены оптимальные значения глубины микроканала 4 в контексте тока жидкости. В частности, предметом исследования послужили микроканалы 4 со значениями глубин: 18 мкм, 25 мкм, 30 мкм, 45 мкм, 100 мкм. При этом все параметры микроканалов 4 за исключением глубин были одинаковы. Результаты исследования показали следующее. В случае, когда значение глубины микроканала 4 было равно 18 мкм

наблюдалось значительное уменьшение концентрации сперматозоидов в выходной камере 3. При значении глубины микроканала 4, равном 100 мкм, наблюдался значительный поток жидкости, который привел к попаданию малоподвижных сперматозоидов в выходную камеру 3, что привело к ухудшению качества отбираемого материала. Наиболее оптимальные глубины микроканала 4 с точки зрения тока жидкости наблюдались при значениях глубин, равных 25 мкм, 30 мкм, 45 мкм. На основании вышеуказанных проведенных исследований были выбраны наиболее предпочтительные значения глубины микроканала 4, которые лежат в диапазоне от 25 до 45 мкм. Вместе с тем на границах указанного диапазона было отмечено следующее. При значениях глубины меньше, чем 25 мкм наблюдалось уменьшение концентрации сперматозоидов в выходной камере 3, а при значениях глубины больше, чем 45 мкм возникал ток жидкости из входной камеры 2 в выходную 3 камеру, обуславливающий попадание в выходную камеру 3 малоподвижных сперматозоидов.

Согласно предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения, значение глубины микроканала 4 лежит в диапазоне от 25 мкм до 30 мкм либо в диапазоне от 30 мкм до 45 мкм.

В соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения, для эффективной работы микроканала 4 необходимо, чтобы ширина микроканала 4 уменьшалась в направлении от входного отверстия к выходному отверстию, в частности была максимальной у входного отверстия и минимальной у выходного отверстия. Такая конфигурация микроканала 4 создает условия для отбора сперматозоидов на основе их подвижности. Подвижные сперматозоиды, благодаря своей активности, легче преодолевают сужение микроканала 4 и достигают выходного отверстия, в то время как неподвижные или малоподвижные сперматозоиды остаются ближе к входному отверстию.

В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, минимальная ширина H микроканала 4 лежит в диапазоне от 20 мкм до 80 мкм.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, минимальная ширина H микроканала 4 лежит в диапазоне от 20 мкм до 50 мкм, либо в диапазоне от 50 мкм до 80 мкм.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения, минимальная ширина H микроканала 4 принимает значение, равное 20 мкм.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения, минимальная ширина H микроканала 4 принимает значение, равное 80 мкм.

Значение минимальной ширины H микроканала 4 оказывает влияние на обратный ток сперматозоидов. В частности, благодаря уменьшению значения минимальной ширины микроканала 4 развернувшиеся сперматозоиды переходят на противоположную стенку микроканала 4 под острым углом, что позволяет уменьшить обратный ток сперматозоидов.

Значения минимальной ширины H , превышающие 80 мкм, приводят к увеличению размера микроканала 4, что влияет на количество микроканалов 4, которые можно разместить в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, и, следовательно, влечет за собой снижение эффективности работы устройства 1 для отбора сперматозоидов.

Уменьшение минимальной ширины H до значений меньше, чем 20 мкм приведет к значительному уменьшению количества клеток, которые могут одновременно двигаться в прямом направлении. Это обусловлено тем, что диаметр головки сперматозоида составляет 5 мкм. Следовательно, через узкие участки микроканала 4 смогут проходить только четыре сперматозоида. Соответственно, эффективность работы устройства 1 для отбора сперматозоидов будет мала.

Согласно предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения, длина 1 микроканала принимает значения от 5 мм до 10 мм.

В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления, длина 1 микроканала равна 7,5 мм. Указанные значения 1 длины микроканала 4 выбраны на основании нижеследующего.

Из уровня техники (см. патент СА 2834007 А1, 19.05.2015) известно, что концентрация сперматозоидов, их жизнеспособность и морфология линейно зависят от длины микроканалов. Согласно указанному документу, индекс фрагментированности ДНК минимален при длине микроканалов, равной 7,5 мм, при длине микроканалов меньше, чем 5 мм наблюдается большой процент клеток с аномальной морфологией по Крюгеру и высокий индекс фрагментированности ДНК (больше 4%), при длине микроканалов больше, чем 10 мм наблюдается низкая концентрация сперматозоидов в выходной камере через 30 мин после начала отбора, недостаточная для проведения ЭКО. Также при длине микроканалов со значениями больше, чем 10 мм возрастают габариты устройства, приводящие к увеличению стоимости устройства.

Таким образом можно сделать вывод о том, что чем меньше длина микроканала, тем выше концентрация сперматозоидов в выходной камере и меньше требуемое время отбора, но тем хуже их качество, так как уменьшение длины микроканала приводит к попаданию в выходную камеру сперматозоидов с более низкой подвижностью, увеличению аномальных форм и увеличению индекса фрагментированности ДНК отобранных сперматозоидов.

Наиболее предпочтительное значение 1 длины микроканала 4, равное 7,5 мм, выбрано исходя из того, что при такой длине 1 индекс фрагментированности ДНК минимален, а также такая длина 1 микроканала 4 позволяет реализовать устройство 1 для отбора сперматозоидов с требуемыми габаритами, со-

ставляющими 40×40 мм, согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления устройства 1 для отбора сперматозоидов.

В соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения, предложено устройство 1 для отбора сперматозоидов, в состав которого включены описанные выше микроканалы 4. В связи с этим описание конфигурации, принципов работы микроканалов 4, входящих в состав устройства 1 для отбора сперматозоидов, приведенное выше и далее, также относится к устройству 1 для отбора сперматозоидов, имеющему в своём составе микроканалы 4. Также, согласно настоящему изобретению, при необходимости может быть обеспечен параллельный отбор сперматозоидов посредством сдвоенного устройства 1 для отбора сперматозоидов, которое содержит два независимых устройства 1 для отбора сперматозоидов (фиг. 8).

Согласно варианту осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит от 40 до 100 микроканалов 4.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит от 75 до 100 микроканалов 4.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит от 40 до 50 микроканалов 4.

Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит от 50 до 65 микроканалов 4. Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит входную камеру 2, выходную камеру 3, микроканалы 4, соединяющие входную и выходную камеры 2, 3.

Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, входная камера 2 имеет незамкнутую окружную форму, на противоположных концах которой выполнены входное отверстие для введения образца семенной жидкости во входную камеру 2 и выходное отверстие для выведения образца семенной жидкости из входной камеры 2. При этом упомянутые отверстие для введения образца семенной жидкости и отверстие для выведения образца семенной жидкости взаимозаменяемы, то есть прохождение образца семенной жидкости между отверстиями может быть осуществлено в любом направлении.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, при необходимости вышеуказанные входное отверстие для введения образца семенной жидкости и выходное отверстие для выведения образца семенной жидкости могут быть заклеены прозрачной пленкой для предотвращения тока жидкости между входной и выходной камерами 2, 3.

Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, выходная камера 3 расположена в радиальном направлении внутрь от входной камеры 2.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, микроканалы 4 проходят в радиальном направлении между входной камерой 2 и выходной камерой 3, причем микроканалы 4 содержат глухие ответвления 5, скошенные в направлении входной камеры 2 и оканчивающиеся закруглениями со стороны входной камеры 2 с радиусом R закругления.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов содержит верхнюю часть 6, содержащую входную камеру 2, выходную камеру 3, микроканалы 4, соединяющие входную и выходную камеры 2, 3, и нижнюю часть 7. Верхняя часть 6 может быть выполнена из биосовместимого пластика. Примерами такого пластика могут служить полиметилметакрилат (ПММА), полиуретан (ПУ), высокоплотный и низкоплотный полиэтилен (ПЭ), полиимид (ПИ), силиконовый каучук. Нижняя часть 7 представляет собой плоскую пластину, выполненную из стекла или биосовместимого пластика. В частности, нижняя часть может быть выполнена из биосовместимого пластика, выбранного из: полиметилметакрилата (ПММА), полиуретана (ПУ), высокоплотного и низкоплотного полиэтилена (ПЭ), полиимида (ПИ), силиконового каучука. Приведенный перечень биосовместимых пластиков приведен только в качестве примера, и при необходимости верхняя часть 6 и нижняя часть 7 могут быть выполнены из любого подходящего биосовместимого пластика.

В соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения, верхняя и нижняя части 6, 7 герметично соединены друг с другом любым подходящим способом. В частности, такие способы известны в уровне техники и могут включать, например, клеевое соединение.

В соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения объем входной камеры 2 равен 1 мл. Выбор такого объема входной камеры 2 обусловлен стандартным объемом семенной жидкости пациентов, который составляет 3 мл. При этом необходимо отметить, что попытки уменьшить объем входной камеры 2 приведут к уменьшению концентрации подвижных сперматозоидов в выходной камере 3 по истечении 30 минут после начала отбора сперматозоидов и, как следствие, к понижению эффективности работы устройства 1 для отбора сперматозоидов. Также необходимо отметить, что увеличение объема входной камеры 2 влечет за собой увеличение габаритов устройства 1 для отбора сперматозоидов, что приведет к увеличению стоимости устройства 1 для отбора сперматозоидов.

В соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения объем выходной камеры 3 лежит в диапазоне от 0,1 до 0,3 мл. Такой объем выходной камеры 3 выбран на основании стандартного протокола ЭКО, определяющего необходимое количество и концентрацию сперматозоидов для последующих исследований.

Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, устройство 1 для отбора сперматозоидов может использоваться совместно с автоматическим дозатором для введения или выведения исследуемого материала или клеточной среды во входную камеру 2. Согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения, автоматический дозатор может представлять собой любой известный подходящий дозатор.

Необходимо отметить, что одним из способов повышения эффективности и скорости работы устройства 1 для отбора сперматозоидов наряду с вышеописанными является увеличение количества микроканалов 4, которое может быть размещено в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. В связи с этим при изготовлении микроканалов 4 целесообразно выбрать параметры микроканала 4 и технологию изготовления таким образом, чтобы при сохранении требуемых характеристик микроканалов 4 разместить максимально возможное количество микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов.

В частности, одним из параметров, влияющих на количество микроканалов 4, которые можно разместить в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, является радиус R закругления. Уменьшение радиуса R закругления микроканалов 4 позволяет разместить большее количество микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, что позволяет повысить эффективность работы устройства 1 для отбора сперматозоидов за счет увеличения концентрации сперматозоидов, оказавшихся в выходной камере 3 устройства 1 для отбора сперматозоидов, а также увеличить скорость работы за счет уменьшения времени отбора. Вместе с тем при выборе R закругления, обеспечивающего наиболее эффективную работу устройства 1 для отбора сперматозоидов, необходимо руководствоваться не только количеством микроканалов 4, которые можно разместить в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, но и учитывать эффективность разворота сперматозоидов, в частности, зависящую от R закругления. Все примеры, приведенные ниже, справедливы для устройства 1 для отбора сперматозоидов с габаритами 40×40 мм.

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения радиус R закругления лежит в диапазоне от 30 мкм до 100 мкм, что позволяет разместить от 40 до 100 микроканалов.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 30 мкм до 40 мкм, что позволяет разместить от 75 до 100 каналов 4.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 75 мкм до 100 мкм, что позволяет разместить от 40 до 50 микроканалов 4.

Согласно предпочтительным вариантам осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 55 мкм, либо от 55 мкм до 60 мкм, либо от 60 мкм до 65 мкм, либо от 65 мкм до 70 мкм, либо от 70 мкм до 75 мкм, что позволяет разместить от 50 до 65 микроканалов 4.

В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, радиус R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 75 мкм, что позволяет также разместить от 50 до 65 микроканалов 4.

В случае, когда R закругления больше, чем 100 мкм, в устройстве 1 для отбора сперматозоидов можно разместить меньше 40 микроканалов 4, а при значении R закругления меньше, чем 30, в указанном устройстве 1 можно разместить более 100 микроканалов. Необходимо отметить, что несмотря на то, что при значении R закругления меньше, чем 30 мкм, обеспечивается возможность размещения наибольшего количества микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, такой вариант осуществления не оптимален с точки зрения обеспечения эффективного разворота сперматозоидов, так как при R закругления меньше, чем 30 мкм, отсутствует возможность разворота сперматозоидов как таковая.

В связи с этим наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, обеспечивающим возможность размещения максимального количества микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов с обеспечением наиболее эффективного разворота сперматозоидов, является вариант осуществления, при котором R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 75 мкм. При этом количество микроканалов 4, которое можно разместить в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, будет лежать в диапазоне от 50 до 65.

Наряду с наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, оптимальными с точки зрения обеспечения возможности размещения максимального количества микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов с обеспечением наиболее эффективного разворота сперматозоидов будут варианты осуществления, согласно которым радиус R закругления лежит в диапазоне от 50 мкм до 55 мкм, либо от 55 мкм до 60 мкм, либо от 60 мкм до 65 мкм, либо от 65 мкм до 70 мкм, либо от 70 мкм до 75 мкм.

Другим параметром, влияющим на количество микроканалов 4, которые можно разместить в устройстве 1 для отбора сперматозоидов, является минимальное расстояние между микроканалами 4. На фиг. 5-7 в качестве примера представлены возможные варианты взаимного расположения двух микроканалов 4 по фиг. 3-4. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения, расстояние между каналами составляет от 10 до 60 мкм, что позволяет разместить по меньшей мере 30 микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. Согласно данному варианту, устройство 1 для отбора сперматозоидов изготовлено из ПДМС по методу мягкой литографии. Согласно данному методу изготовления, мастер-формы для изготовления устройства 1 изготавливаются методом фотолитографии в резисте SU-8 на кремниевой подложке.

На фиг. 5 представлен предпочтительный вариант взаимного расположения микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. Такое взаимное расположение является наиболее оптимальным вариантом расположения микроканалов 4 с точки зрения трудоемкости изготовления, а также обеспечения минимального расстояния между микроканалами, обусловленного формой микроканалов 4. Вместе с тем, ввиду того, что обеспечено минимальное расстояние между микроканалами, как следствие, может быть размещено большее количество микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. Как представлено на фиг. 5, начала двух соседних микроканалов 4: верхнего микроканала 4 и нижнего микроканала 4 - совпадают, что упрощает процесс изготовления микроканалов 4, так как не нужно учитывать смещение микроканалов 4 относительно друг друга.

На фиг. 6 представлен еще один вариант взаимного расположения микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. Взаимное расположение микроканалов 4, представленное на фиг. 6, позволяет разместить такое же количество микроканалов 4, как и в случае, представленном на фиг. 5. Однако, как видно из фиг. 6, начала соседних микроканалов 4 смещены относительно друг друга, что приводит к усложнению процесса изготовления микроканалов 4, так как, во-первых, при формировании каждого последующего микроканала 4 необходимо учитывать смещение относительно предыдущего микроканала 4, а во-вторых, количество глухих ответвлений у соседних микроканалов может отличаться.

На фиг. 7 представлен еще один вариант взаимного расположения микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов. Такое взаимное расположение микроканалов 4 позволяет разместить меньше микроканалов 4 в устройстве 1 для отбора сперматозоидов по сравнению с вышеописанными вариантами взаимного размещения.

Устройство 1 для отбора сперматозоидов работает следующим образом. Перед началом отбора входное отверстие для введения образца семенной жидкости во входную камеру 2 и выходное отверстие для вывода образца семенной жидкости из входной камеры 2 заклеивают прозрачной пленкой для предотвращения тока жидкости между входной и выходной камерами 2, 3. Далее, через входное отверстие для введения образца семенной жидкости во входную камеру 2 вводят клеточную среду. Затем клеточную среду откачивают из входной камеры 2 через выходное отверстие для вывода образца семенной жидкости посредством автоматического дозатора, а вместо клеточной среды во входную камеру 2 загружают образец семенной жидкости. Процесс отбора сперматозоидов начинается после загрузки образца семенной жидкости во входную камеру 2 и осуществляется в течении 30 минут в условиях инкубации устройства 1 для отбора сперматозоидов при температуре 37°C. После загрузки образца семенной жидкости во входную камеру 2 подвижные сперматозоиды начинают случайным образом двигаться во входной камере 2. Далее, подвижные сперматозоиды попадают в микроканалы 4, соединяющие входную и выходную камеры 2, 3 и проходящие между ними в радиальном направлении. В микроканалах 4 сперматозоиды начинают двигаться преимущественно в углах каналов 4 в направлении от входной камеры 2 к выходной камере 3. Если по каким-то причинам сперматозоид развернулся и начал двигаться в противоположном направлении, то за счет наличия ответвлений 5 сперматозоид будет перенаправлен в выходную камеру 3. Аналогичным образом будет осуществляться перенаправление сперматозоидов, случайно попавших из выходной камеры 3 в микроканал 4. Настоящее изобретение не ограничено конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в описании в иллюстративных целях, и охватывает все возможные модификации и альтернативы, входящие в объем настоящего изобретения, определенный формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для отбора сперматозоидов, содержащее:
 - входную камеру, которая имеет незамкнутую окружную форму и на противоположных концах которой выполнены входное отверстие для введения образца семенной жидкости во входную камеру и выходное отверстие для вывода образца семенной жидкости из входной камеры;
 - выходную камеру, расположенную в радиальном направлении внутрь от входной камеры;
 - каналы, соединяющие входную и выходную камеры и проходящие между ними в радиальном направлении,
 - причем каналы содержат глухие ответвления, скошенные в направлении входной камеры и оканчивающиеся закруглениями со стороны входной камеры с радиусом закругления от 50 до 75 мкм.
2. Устройство по п.1, в котором любое поперечное сечение каждого канала, включая глухие ответвления, является прямоугольным.
3. Устройство по п.1 или 2, в котором глухие ответвления расположены ассиметрично относительно оси соответствующего канала.
4. Устройство по любому из пп.1-3, в котором глубина каналов составляет от 25 до 45 мкм.
5. Устройство по любому из пп.1-4, в котором ширина каналов уменьшается от максимального значения у входной камеры к минимальному значению у выходной камеры.
6. Устройство по п.5, в котором минимальная ширина каналов составляет от 20 до 80 мкм.
7. Устройство по любому из пп.1-6, в котором минимальное расстояние между каналами составляет

от 10 до 60 мкм.

8. Устройство по любому из пп.1-7, нижняя часть которого выполнена из стекла или биосовместимого пластика.

9. Устройство по любому из пп.1-8, верхняя часть которого выполнена из биосовместимого пластика.

10. Устройство для направления сперматозоидов, содержащее стенки, задающие канал для направления сперматозоидов, и входное и выходное отверстия, причем канал содержит глухие ответвления, скошенные в направлении входного отверстия и оканчивающиеся закруглениями со стороны входного отверстия с радиусом закругления от 50 до 75 мкм.

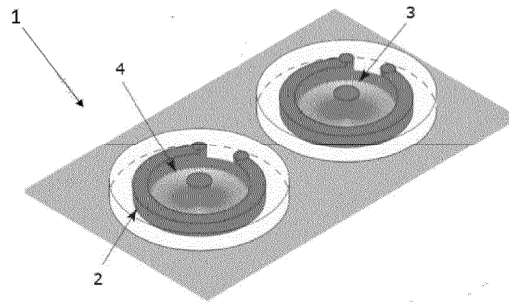
11. Устройство по п.10, в котором любое поперечное сечение канала, включая поперечное сечение глухих ответвлений, является прямоугольным.

12. Устройство по п.10 или 11, в котором глухие ответвления расположены ассиметрично относительно оси канала.

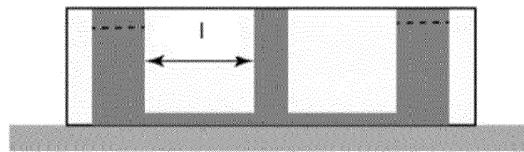
13. Устройство по любому из пп.10-12, в котором глубина канала составляет от 25 до 45 мкм.

14. Устройство по любому из пп.10-13, в котором ширина канала уменьшается от максимального значения у входного отверстия к минимальному значению у выходного отверстия.

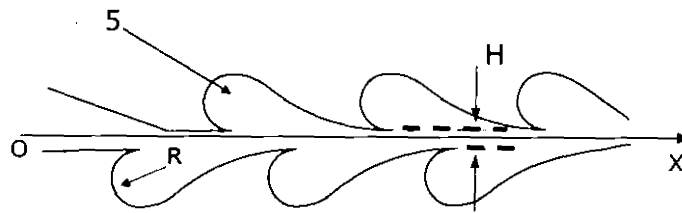
15. Устройство по п.14, в котором минимальная ширина канала составляет от 20 до 80 мкм.



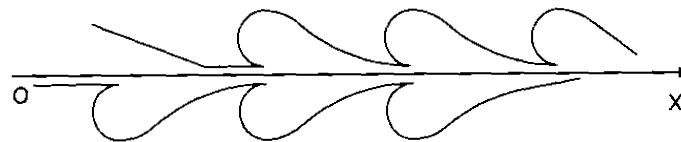
Фиг. 1



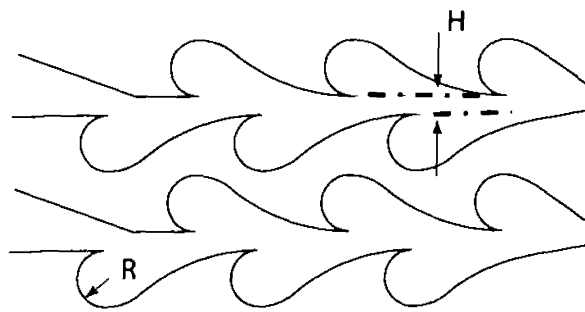
Фиг. 2



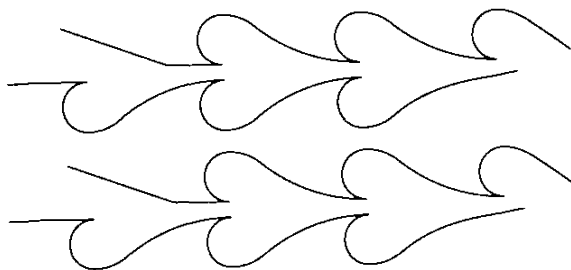
Фиг. 3



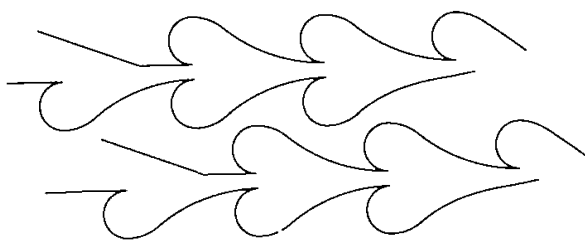
Фиг. 4



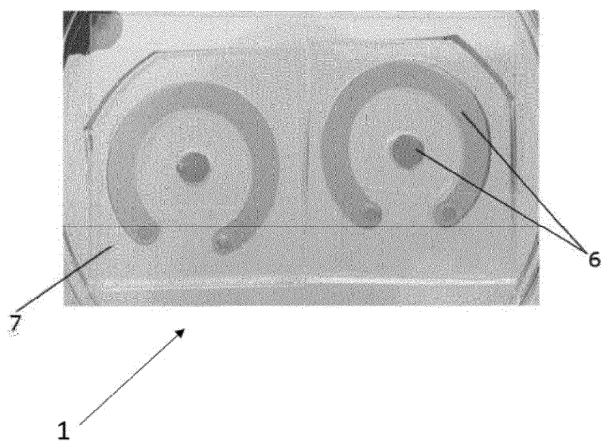
Фиг. 5



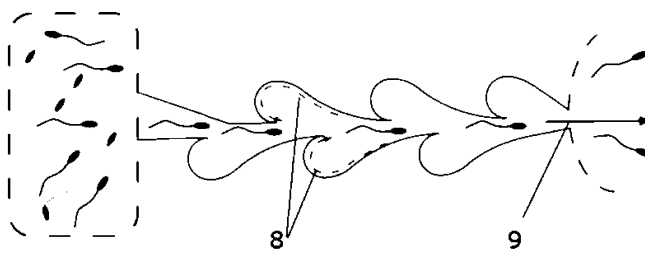
Фиг. 6



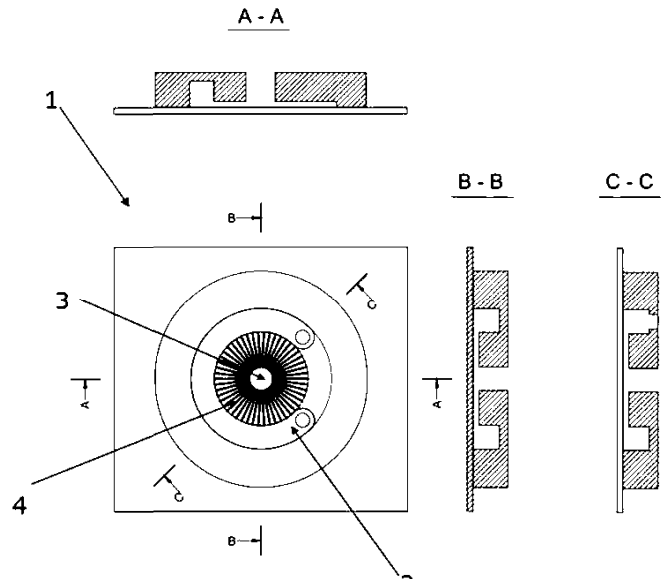
Фиг. 7



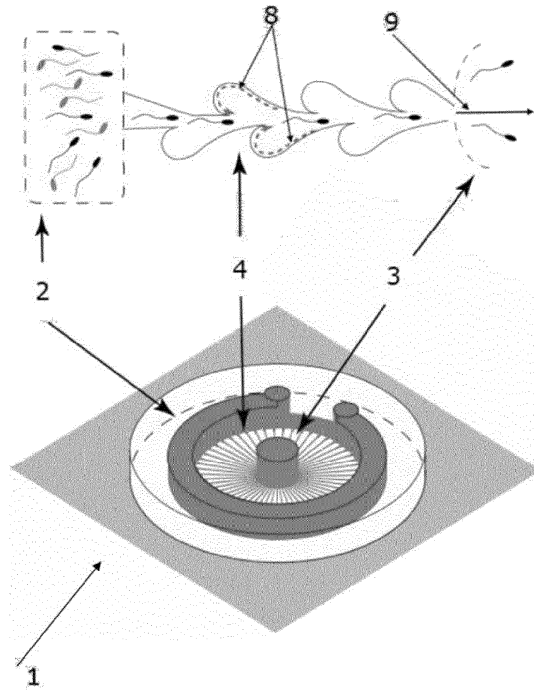
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11