

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-257354

(P2005-257354A)

(43) 公開日 平成17年9月22日(2005.9.22)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/52	GO 1 N 33/52 Z	2 GO 4 2
GO 1 N 37/00	GO 1 N 37/00 1 O 1	2 GO 4 5
// GO 1 N 31/20	GO 1 N 31/20	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2004-66800 (P2004-66800)	(71) 出願人	000005201 富士写真フイルム株式会社 神奈川県南足柄市中沼2 1 0番地
(22) 出願日	平成16年3月10日 (2004. 3. 10)	(74) 代理人	100105647 弁理士 小栗 昌平
(特許庁注：以下のものは登録商標)		(74) 代理人	100105474 弁理士 本多 弘徳
1. テフロン		(74) 代理人	100108589 弁理士 市川 利光
		(74) 代理人	100115107 弁理士 高松 猛
		(74) 代理人	100090343 弁理士 濱田 百合子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 一体型マイクロケミカルデバイス

## (57) 【要約】

【課題】 マイクロケミカルデバイスにおいて、特に血液・体液などの液体中の微量成分を分析する際に、検体と試薬の混合が迅速に進むマイクロケミカルデバイスを提供する。少量の検体から1つ以上の成分を迅速かつ簡便に分析できるマイクロケミカルデバイスを提供する。

を提供する。

【解決手段】 検体中の1つ以上の成分を分析するための一体型マイクロケミカルデバイスであって、少なくとも(イ)検体が通過する1つ以上の流路、(ロ)該流路の少なくとも1つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素、の2つの要素を有することを特徴とするマイクロケミカルデバイス。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

検体中の 1 つ以上の成分を分析するための一体型マイクロケミカルデバイスであって、少なくとも

(イ) 検体が通過する 1 つ以上の流路、

(ロ) 該流路の少なくとも 1 つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素、

の 2 つの要素を有することを特徴とするマイクロケミカルデバイス。

## 【請求項 2】

上記の流路の幅が 1 ~ 3 0 0 0  $\mu\text{m}$ であることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロケミカルデバイス。 10

## 【請求項 3】

検体の前処理要素を有する請求項 1 又は 2 記載のマイクロケミカルデバイス。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、血液・体液・尿などの液体中の成分を分析するためのマイクロケミカルデバイスに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

本発明は、マイクロケミカルデバイスいわゆるマイクロリアクターを用いる微量検体中の微量成分の分析方法に関するものである。微小な流路、すなわちマイクロスケールの流路を有する反応装置は、一般に「マイクロリアクター」と総称され、近年大きな発展を遂げている（非特許文献 1）。 20

マイクロケミカルデバイスは、例えば部材中に微小な流路（主に等価直径 1 mm 以下）、或いは流路に接続された反応槽、電気泳動カラム、膜分離機構などの構造が適宜形成されたマイクロ流体デバイスとして使用される。このマイクロ流体デバイスは、内部に毛細管状の流路を有し、化学、生化学などの微小反応デバイス（マイクロリアクター）として、例えば、集積型 DNA 分析デバイス、微小電気泳動デバイス、微小クロマトグラフィーデバイスなどの微小分析デバイス、質量スペクトルや液体クロマトグラフィーなどの分析試料調製用微小デバイス、抽出、膜分離、透析などの物理化学的処理デバイス、マイクロアレイ製造用スポットなどとして使用できると考えられている。 30

## 【0003】

等価直径 1 mm 以下の流路（チャンネル）をもつ微小ケミカルデバイスであるマイクロリアクターは、検体量を少なくできるという点、またデバイスを小型化できるという点から、迅速性、簡便性をも満足する新しい微量分析技術として脚光を浴びており、特に、血液や、尿、組織等に存在している微量成分の分析への応用が期待されている。マイクロリアクターを用いる小型一体化したヘルスケアデバイスが提案されている（例えば、特許文献 1）。 40

しかし、マイクロリアクター内では、通常、液体を検体として用いるマクロ反応装置とは異なる挙動が示され、それがしばしば欠点となることが明らかになってきた。

例えば、血液中の酵素の活性を測定しようとした場合、血液をマイクロリアクター内に注入し、マイクロリアクター内で該酵素の基質と酵素反応を行い、その結果を測定するためには、該酵素を含有する検体（血液）と該基質を速やかに混合する必要がある。しかし、マイクロリアクターなどの微小流路内ではレイノルズ数が低下するため、液体が層流を形成してしまい、混合が迅速には進行しないという問題が生じることがあった。また、この問題は、特に複数の反応、複数の試薬の混合を必要とする反応の場合に特に顕著に起こった。

【特許文献 1】特開 2 0 0 1 - 2 5 8 8 6 8 号公報

【非特許文献 1】アールフェルド（W. Ehrfeld）、ヘッセル（V. Hessel） 50

)、ローエ(H. Lowe)著、「マイクロリアクター(Microreactor)」  
、第一版、ウiley(WILEY-VCH)、2000年

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

このように、微小なケミカルデバイスいわゆるマイクロリアクターを微量分析に応用する場合、検体と試薬の混合が迅速に進まないという問題が明らかとなった。

本発明の目的は、マイクロケミカルデバイスにおいて、特に血液・体液などの液体中の微量成分を分析する際に、検体と試薬の混合が迅速に進むマイクロケミカルデバイスを提供することにある。

10

本発明の他の目的は、少量の検体から1つ以上の成分を迅速かつ簡便に分析できるマイクロケミカルデバイスを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意努力した結果、反応の検出に多層乾式分析要素を用いることにより、マイクロケミカルデバイスにおける検体、試薬の混合が迅速に進むことを見出し、本発明に到った。

すなわち、本発明は、以下の構成により上記目的を達成したものである。

<1> 検体中の1つ以上の成分を分析するための一体型マイクロケミカルデバイスであって、少なくとも

20

(イ) 検体が通過する1つ以上の流路、

(ロ) 該流路の少なくとも1つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素、

の2つの要素を有することを特徴とするマイクロケミカルデバイス。

<2> 上記の流路の幅が1~3000 $\mu$ mであることを特徴とする前記<1>記載のマイクロケミカルデバイス。

<3> 検体の前処理要素を有する前記<1>又は<2>記載のマイクロケミカルデバイス。

【0006】

すなわち、本発明では、検体中の成分を検出するための試薬を、多層乾式分析要素として、マイクロケミカルデバイスの検出系に使用する。

30

乾式分析要素は、いわゆるドライケミストリーを使用した分析要素のことである。本発明では、マイクロケミカルデバイスの検出系に、多層乾式分析要素を使用することにより、少量の検体から1つ以上の成分の分析を、迅速かつ簡便に行うことができる。これにより、マイクロケミカルデバイスにおいて検体と試薬の混合を迅速に進ませることが可能となる。これは、試薬と検体の水分を混ぜ合わせる必要が無い場合、マイクロ空間における液/液混合時の問題が無くなるためと考えられる。特にマイクロケミカルデバイスにおける微小空間に、複数の試薬を組み込む場合、とりわけ複数の試薬を1層以上の層に組み込む多層分析に用いる場合に有効であり、試薬が乾燥状態で安定であること、検体の水分だけで反応が進行することによって、迅速に検出が可能となる。

40

【発明の効果】

【0007】

本発明のマイクロケミカルデバイスは、少量の検体から1つ以上の成分を迅速かつ簡便に分析できる。特に血液・体液などの液体中の微量成分を分析する際に、検体と試薬の混合が迅速に進むマイクロケミカルデバイスを提供できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本明細書において「~」はその前後に記載される数値をそれぞれ最小値および最大値として含む範囲を示す。

本発明における、検体中の1つ以上の成分を分析するためのマイクロケミカルデバイス

50

は、少なくとも以下の2つの要素を有する、一体型の、マイクロケミカルデバイスである。

(イ) 検体が通過する1つ以上の流路、

(ロ) 該流路の少なくとも1つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素。

まず、(ロ) 該流路の少なくとも1つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素について、説明する。

【0009】

<(ロ) 該流路の少なくとも1つに接触し、かつ検体中の成分を分析することのできる多層乾式分析要素>

本発明でいう多層乾式分析要素とは、血液中の非測定成分の定性・定量分析に必要な全てのまたはその一部分の試薬を1層以上の層に組み込んだ乾式分析要素のことをいう。いわゆるドライケミストリーを使用した分析要素である。具体的には、このような分析要素の例は、富士フィルム研究報告、第40号(富士写真フィルム株式会社、1995年発行) p. 83や、臨床病理、臨時増刊、特集第106号、ドライケミストリー・簡易検査の新たなる展開(臨床病理刊行会、1997年発行)等に記載されているものをあげることができる。

このような多層乾式分析要素はすでに多数開発・商品化されており、富士ドライケム(富士写真フィルム(株)製)などはその1例である。本発明においては、このような多層乾式分析要素そのものを使用する。またはその一部分を使用することもできる。

上記多層乾式分析要素は、上記流路の少なくとも1つに接触していれば、該多層乾式分析要素と流路とがつながっている形態でも、該多層乾式分析要素が流路内に組み込まれている形態でもよく、また多層乾式分析要素を複数用いる場合には、流路でつながれた1箇所にもまとめて、各分析要素を別々に配列してもよい。

多層乾式分析要素は、その最上層に血液またはその成分を水平方向に展開するいわゆる展開層を有することが多い。しかし、本発明においては、このような展開層は必ずしも必要ではない。

【0010】

次に、マイクロケミカルデバイスおよび該マイクロケミカルデバイスが有するもう1つの要素である(イ) 検体が通過する1つ以上の流路について説明する。

<マイクロケミカルデバイスおよび該マイクロケミカルデバイスが有する(イ) 検体が通過する1つ以上の流路>

本発明におけるマイクロケミカルデバイスとは、等価直径1mm以下の流路(チャンネルとも称する。)を有する装置のことを意味する。

本発明でいう等価直径(equivalent diameter)は、相当(直)径とも呼ばれ、機械工学の分野で一般的に用いられている用語である。任意断面形状の配管(本発明では流路に当たる。)に対し等価な円管を想定するとき、その等価円管の直径を等価直径といい、 $d_{eq}$  : 等価直径は、 $A$  : 配管の断面積、 $p$  : 配管のぬれぶち長さ(周長)を用いて、 $d_{eq} = 4A / p$ と定義される。円管に適用した場合、この等価直径は円管直径に一致する。等価直径は等価円管のデータを基に、その配管の流動あるいは熱伝達特性を推定するのに用いられ、現象の空間的スケール(代表的長さ)を表す。等価直径は、一辺 $a$ の正四角形管では $d_{eq} = 4a^2 / 4a = a$ 、路高さ $h$ の平行平板間の流れでは $d_{eq} = 2h$ となる。これらの詳細は「機械工学事典」((社)日本機械学会編1997年、丸善(株))に記載されている。

【0011】

本発明に用いられる流路の等価直径は1mm以下であるが、好ましくは10~500 $\mu$ mであり、特に好ましくは20~300 $\mu$ mである。

また流路の長さには特に制限はないが、好ましくは1mm~10000mmであり、特に好ましくは5mm~100mmである。

本発明に用いられる流路の幅は、1~3000 $\mu$ mであることが好ましく、より好まし

10

20

30

40

50

くは10～2000 $\mu\text{m}$ であり、さらに好ましくは50～1000 $\mu\text{m}$ である。流路の幅が上記範囲であると、血液などの検体が、流路の壁から抵抗を受けて流動性が低下することが少なく、かつ、検体の量を少量にとどめることができるため、好ましい。

流路はマイクロケミカルデバイスに配置する要素の数に合わせて、1つのみでも、2つ以上に分岐していてもいずれでもよい。また、直線状、曲線状など、いずれの形態をとることも可能であるが、直線状であることが好ましい。

#### 【0012】

本発明のマイクロケミカルデバイス（以下、マイクロリアクターとも称する。）および流路は、固体基板上に微細加工技術により作成することができる。

#### 【0013】

固体基板として使用される材料の例としては、金属、シリコン、テフロン、ガラス、セラミックスおよびプラスチックなどが挙げられる。中でも、金属、シリコン、テフロン、ガラスおよびセラミックスが、耐熱、耐圧、耐溶剤性および光透過性の観点から好ましく、特に好ましくはガラスである。

#### 【0014】

流路を作成するための微細加工技術は、例えばマイクロリアクター - 新時代の合成技術 - (2003年 シーエムシー刊 監修：吉田潤一 京都大学大学院 工学研究科教授)、微細加工技術 応用編 - フォトニクス・エレクトロニクス・メカトロニクスへの応用 - (2003年 エヌ・ティー・エス刊 高分子学会行事委員会編)等に記載されている方法を挙げることができる。

代表的な方法を挙げれば、X線リソグラフィを用いるLIGA技術、EPON SU-8を用いた高アスペクト比フォトリソグラフィ法、マイクロ放電加工法( $\mu$ -EDM)、Deep RIEによるシリコンの高アスペクト比加工法、Hot Emboss加工法、光造形法、レーザー加工法、イオンビーム加工法、およびダイヤモンドのような硬い材料で作られたマイクロ工具を用いる機械的マイクロ切削加工法などがある。これらの技術を単独で用いても良いし、組み合わせて用いても良い。好ましい微細加工技術は、X線リソグラフィを用いるLIGA技術、EPON SU-8を用いた高アスペクト比フォトリソグラフィ法、マイクロ放電加工法( $\mu$ -EDM)、および機械的マイクロ切削加工法である。

#### 【0015】

本発明に用いられる流路は、シリコンウエファー上にフォトレジストを用いて形成したパターンを鋳型とし、これに樹脂を流し込み固化させる(モールドイング法)ことによっても作成することができる。モールドイング法には、ポリジメチルシロキサン(PDMS)またはその誘導体に代表されるシリコン樹脂を使用することができる。

#### 【0016】

本発明のマイクロケミカルデバイスを組み立てる際、接合技術を用いることができる。通常、接合技術は大きく固相接合と液相接合に分けられ、一般的に用いられている接合方法は、固相接合として圧接や拡散接合、液相接合として溶接、共晶接合、はんだ付け、接着等が代表的な接合方法である。

更に、組立に際しては高温加熱による材料の変質や大変形による流路等の微小構造体の破壊を伴わない寸法精度を保った高度に精密な接合方法が望ましく、その技術としてはシリコン直接接合、陽極接合、表面活性化接合、水素結合を用いた直接接合、HF水溶液を用いた接合、Au-Si共晶接合、ポイドフリー接着などが挙げられる。

#### 【0017】

検体は流路から多層乾式分析要素まで移動する。流路内の検体、すなわち流体を扱う方式として、連続流動方式、液滴(液体プラグ)方式、駆動方式等、あるいは毛細管現象の利用を用いることが好ましい。

#### 【0018】

連続流動方式の流体制御では、マイクロリアクターの流路内は全て流体で満たされることが必要であり、外部に用意したシリンジポンプなどの圧力源によって、流体全体を駆動

10

20

30

40

50

するのが一般的である。連続流動方式は、比較的簡単なセットアップで制御システムを実現できる。

#### 【0019】

液滴（液体プラグ）方式は、リアクター内部やリアクターに至る流路内で、空気で仕切られた液滴を動かすものであり、個々の液滴は空気圧によって駆動される。液滴方式では、液滴と流路壁あるいは液滴同士の間を必要に応じて外部に逃がすようなベント構造、及び分岐した流路内の圧力を他の部分と独立に保つためのバルブ構造などを、リアクターシステム内部に用意する必要がある。また、圧力差を制御して液滴の操作を行うために、外部に圧力源や切り替えバルブからなる圧力制御システムを構築する必要がある。液滴方式では、複数の液滴を個別に操作して、いくつかの反応を順次行うなどの多段階の操作が可能で、システム構成の自由度が大きくなり、好ましい。

10

#### 【0020】

駆動方式として、流路（チャンネル）両端に高電圧をかけて電気浸透流を発生させ、これによって流体移動させる電氣的駆動方式と、外部に圧力源を用意して流体に圧力をかけて移動させる圧力駆動方式、また毛細管現象を利用した駆動方式が一般に広く用いられている。

電氣的駆動方式は、流体の挙動が流路断面内で、流速プロファイルがフラットな分布となることが知られている。圧力駆動方式では、流体の挙動が流路断面内で、流速プロファイルが双曲線状に、つまり流路中心部が速く、壁面部が遅い分布となることが知られている。このことからサンプルプラグなどの形状を保ったまま移動させるといった目的には、電氣的駆動方式の方が、好ましい。

20

電氣的駆動方式は、流路内が流体で満たされている必要があり、すなわち連続流動方式の形態をとる。電氣的な制御によって流体の操作を行うことができるため、例えば連続的に2種類の溶液の混合比率を変化させることによって、時間的な濃度勾配をつくるといった比較的複雑な処理を行うことができる。

圧力駆動方式は、流体固有の電氣的性質に影響されることなく、制御が可能である。発熱や電気分解などの副次的な効果を考慮しなくてよく、基質に対する影響がほとんどないことから、適用範囲が広い。圧力駆動方式では、外部に圧力源を用意する必要がある。

#### 【0021】

本発明においては、検体の種類や検査項目などに合わせて、適宜、検体を移動する方式を選ぶことができる。中でも、液滴（液体プラグ）方式、あるいは毛細管現象を利用した駆動方式が好ましい。より好ましくは、液滴（液体プラグ）方式における空気圧を陰圧とすることであり、特に好ましくは、空気の吸引による陰圧とすることである。

30

#### 【0022】

前述のとおり、本発明において、検体の通過する1つ以上の流路は、多層乾式分析要素と接触している。最も単純な実施態様を図1に示す。

検体注入ポート1は、検体を注入することが可能であれば、いずれの形態でもよい。注入された検体は、流路2を通り、反応ポート3に導かれる。反応ポート3は、多層乾式分析要素と接触しており、試薬と反応する。

本発明が図1の範囲内におさまるものではないのはいうまでもない。

40

#### 【0023】

< 検体 >

本発明のマイクロケミカルデバイスを使用して、分析することのできる検体としては、血液や、尿などの、ヒトから得られる液体成分が挙げられる。これらの液体成分から、体液中の微量成分を迅速に測定することができるため、本発明のマイクロケミカルデバイスを適用することが好ましい。血液や、尿などからは、蛋白質、酵素、DNA、ホルモン、レセプター、リガンド、その他体液中に存在する微量成分を測定することができ、検体が全血である場合には、検体となる全血を前処理要素によって、予め処理しておくことが、より迅速な測定につながり好ましい。前処理要素としては、例えば血球分離工程に用いる要素であり、このような工程としては、濾過や遠心分離などの通常当該分野で使用される

50

分離工程のいずれもが使用できる。特に濾過が好ましく、濾過材を前処理要素として使用することが好ましい。濾過材としては、通常当該分野で濾過に使用される濾過材のいずれもが使用できる。前処理要素は、本発明のマイクロケミカルデバイスに一体化されて組込まれているのが望ましい。

また、本発明のマイクロケミカルデバイスを使用して、分析することのできる検体としては、体液だけではなく食品分析、環境分析、細胞分析など、広い範囲の検体に適用可能であることはいうまでもない。

#### 【実施例】

##### 【0024】

< PDMS凹型作成 >

シリコンウエファー上に厚膜フォトレジストのSU-8をスピンコートして膜厚100 $\mu$ mとした。90 $^{\circ}$ で1時間予備加熱した後、図1に相応する流路パターン(1)を描いてあるマスクを通してUV光を照射し、90 $^{\circ}$ 1時間で光照射部分を硬化させた。未硬化部分をプロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート(PGMEA)により溶解除去、水洗したのち乾燥し、シリコンウエファー/SU8凸型として使用した。

この、シリコンウエファー凸型上に、PDMS(デュポンSylgard/硬化液=10/1混合液)を流し込み、80 $^{\circ}$ で2時間硬化させた後シリコンウエファー凸型より静かに剥がしとり、図1に示すPDMS凹型を作成した。

次に、図2に相応する流路パターン(2)を描いてあるマスクについても、流路パターン(1)と同様に、シリコンウエファー/SU8凸型を作製後、図2に示すPDMS凹型

検体注入ポート(1, 2)、試薬注入ポート(5)は直径1mm、反応ポート(3, 7)は直径2mm、流路(2, 6)は幅200 $\mu$ m、深さはいずれも80 $\mu$ mとなるように調整した。

##### 【0025】

実施例；多層乾式分析要素チップでの測定

富士ドライケム(富士写真フイルム(株)製グルコーススライドの展開層を剥ぎ取り、この上に、図1のPDMS凹型をのせ、多層乾式分析要素チップ(1)とした。

検体注入ポート1より、100mg/dlのグルコースを注入し、37 $^{\circ}$ のドライバス上で5分間保温後、反応ポート3の発色をデジタル実体顕微鏡(キーエンス社デジタルマイクロスコープ)により測定した。

##### 【0026】

比較例；比較例チップでの測定

図2のPDMS凹型を180 $\mu$ m厚のポリエチレンテレフタレートシート(PETSheet)にのせ、比較例チップ(2)とした。

この検体注入ポート4より、100mg/dlのグルコース溶液、試薬注入ポート5よりグルコース発色試薬(グルコースCII-テストワコー 和光純薬)を注入し、37 $^{\circ}$ のドライバス上で5分間保温後、反応ポート7の発色をデジタル実体顕微鏡(キーエンス社デジタルマイクロスコープ)により測定した。

##### 【0027】

結果；

実施例1の多層乾式分析要素チップでは、反応ポート3全面で均一の発色が観測されたが、比較例2では、反応ポート7には発色ムラがみられた。また、得られたデータより、反射濃度を算出した。結果を表1に示す。

##### 【0028】

10

20

30

40

【表 1】

スライド	反射濃度 (A. U.)
本実施例 (反応ポート 3)	1.8
比較例 (反応ポート 7)	0.7

## 【0029】

以上のように、本発明のマイクロ流路および多層乾式分析要素を有するチップによる検出が有効であることが明らかであり、また、これに基づき、マイクロケミカルデバイスにおいて、多層乾式分析要素による検出が有効であることが明らかである。 10

## 【図面の簡単な説明】

## 【0030】

【図 1】本発明のマイクロケミカルデバイスにおける流路の一実施形態の模式図である。

【図 2】比較例とするマイクロケミカルデバイスにおける流路の形態の模式図である。

【図 3】本発明のマイクロケミカルデバイスにおける一実施形態を示す断面図である。

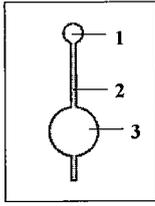
【図 4】比較例とするマイクロケミカルデバイスにおける形態を示す断面図である。

## 【符号の説明】

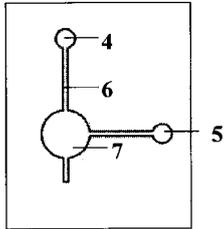
## 【0031】

- 1 検体注入ポート
- 2 流路
- 3 反応ポート
- 4 検体注入ポート
- 5 試薬注入ポート
- 6 流路
- 7 反応ポート

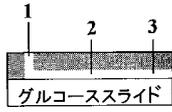
【 図 1 】



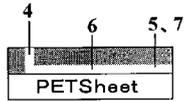
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 須藤 幸夫  
神奈川県南足柄市中沼 2 1 0 番地 富士写真フイルム株式会社内
- (72)発明者 境野 佳樹  
埼玉県朝霞市泉水 3 丁目 1 1 番 4 6 号 富士写真フイルム株式会社内
- (72)発明者 阿部 義彦  
埼玉県朝霞市泉水 3 丁目 1 1 番 4 6 号 富士写真フイルム株式会社内
- Fターム(参考) 2G042 HA03 HA10  
2G045 AA01 BA11 BB03 CA25 CA26 DA31 HA09 JA08 JA09