

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-545095
(P2013-545095A)

(43) 公表日 平成25年12月19日(2013.12.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 A	2 G O 5 8
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 I O 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2013-535534 (P2013-535534)
 (86) (22) 出願日 平成23年8月3日 (2011.8.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年3月25日 (2013.3.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2011/053456
 (87) 国際公開番号 W02012/056334
 (87) 国際公開日 平成24年5月3日 (2012.5.3)
 (31) 優先権主張番号 10189178.6
 (32) 優先日 平成22年10月28日 (2010.10.28)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 390009531
 インターナショナル・ビジネス・マシー
 ズ・コーポレーション
 INTERNATIONAL BUSIN
 ESS MACHINES CORPOR
 ATION
 アメリカ合衆国10504 ニューヨーク
 州 アーモンク ニュー オーチャード
 ロード
 (74) 代理人 100108501
 弁理士 上野 剛史
 (74) 代理人 100112690
 弁理士 太佐 種一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 補助チャネルおよびバイパス・チャネルを含むマイクロ流体デバイス

(57) 【要約】

【課題】 試薬の溶解プロファイルを容易かつ正確に制御できるように改良されたマイクロ流体デバイスを提供する。

【解決手段】 本発明は、一般に流れ方向を規定する流れ入口および出口を有するマイクロ流体デバイスを対象とする。バイパス・チャネル(11)および補助チャネル(21)が設けられ、それぞれが、同じ出口(102)に向かう第1および第2の流路を規定する。補助チャネルは試薬領域(215)に接続する、すなわち、試薬(たとえば、化学的試薬または検出抗体などの生物学的試薬)を受け入れるように設計される。補助チャネルはさらに、第2の流路に対して試薬領域の下流の、たとえばT字接合部のような接合部(J₁)のレベルでバイパス・チャネルに連なる。

【選択図】 図2

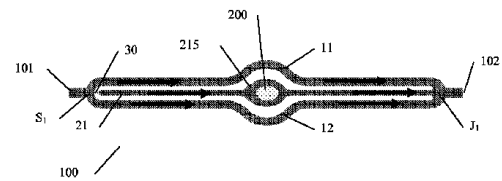


FIG. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

流れ入口および流れ出口；

前記流れ出口に向かう第 1 の流路を規定する 1 つまたは複数のバイパス・チャンネル；ならびに

前記流れ出口に向かう第 2 の流路を規定し、試薬を受け入れるように適合された試薬領域を含み、かつ前記第 2 の流路に対して前記試薬領域の下流の接合部で前記 1 つまたは複数のバイパス・チャンネルの少なくとも 1 つに連なる補助チャンネル

を含むマイクロ流体デバイス。

【請求項 2】

前記補助チャンネルは前記接合部でバイパス・チャンネルより少ない流量を供給するように設計された、請求項 1 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 3】

前記試薬領域の上流の前記補助チャンネルの流れを狭窄するようにさらに設計された、請求項 1 または 2 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4】

前記補助チャンネルは前記試薬領域の上流の分岐で前記バイパス・チャンネルの少なくとも 1 つから分岐し、前記試薬領域の上流、かつ前記分岐の位置または下流に流れ狭窄領域を含む、請求項 3 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 5】

前記 1 つまたは複数のバイパス・チャンネル、前記補助チャンネルおよび前記試薬領域は同じ深さを有する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 6】

前記チャンネルのそれぞれの幅は 10 マイクロメートル (μm) のオーダーである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 7】

前記チャンネルのそれぞれの幅は 10 ~ 100 マイクロメートルである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 8】

複数のバイパス・チャンネルを含み；

前記補助チャンネルは、前記第 2 の流路に対して前記試薬領域の下流に位置する主接合部で前記バイパス・チャンネルの少なくとも 1 つに連なり；

前記補助チャンネルは、前記第 2 の流路に対して前記主接合部の下流に位置する副接合部で前記バイパス・チャンネルの少なくとも 1 つに連なる、

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 9】

前記補助チャンネルはそれぞれの副接合部で前記バイパス・チャンネルに連なり、各前記副接合部は前記第 2 の流路に対して前記主接合部の下流に位置する、請求項 8 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 10】

前記主接合部および副接合部は接合部の階層を規定する、請求項 9 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 11】

少なくとも前記バイパス・チャンネルのサブセットは類似の横断方向の部分を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 12】

前記補助チャンネルおよび少なくとも前記バイパス・チャンネルのサブセットは類似の横断方向の部分を含む、請求項 11 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 13】

前記試薬領域は前記補助チャンネルの直線状部分に沿って前記補助チャンネルに挿入される

10

20

30

40

50

、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイスを用意するステップ；

好ましくはインクジェット塗布により前記マイクロ流体デバイスの前記試薬領域に試薬を塗布するステップ；および

流体を前記流れ入口から前記流れ出口に流して、前記試薬を前記第 2 の流路に対して前記試薬領域の下流に運ぶようにするステップ

を含む、マイクロ流体デバイス进行操作する方法。

【請求項 1 5】

前記接合部の下流の、特に前記運ばれた試薬により起こる化学反応をモニタリングするステップをさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は一般にマイクロ流体デバイスの分野に関し、特にリガンド - 受容体アッセイまたはイムノアッセイ装置に関する。

【背景技術】

【0002】

マイクロ流体デバイスは、たとえばイムノアッセイ装置など一般に知られている。使い勝手のよいイムノアッセイ装置は一般にポイント・オブ・ケア用途に望ましい。たとえば、周知の妊娠検査と同種の「ワン・ステップ」(イムノ)アッセイが開発され、サンプル中の目的のアナライト(analyte)または検体を検出するのに必要な試薬がすべて、製造中に装置に組み込まれている。専門家でない利用者は、装置のサンプル受け入れ構造体にサンプルを加えるだけよい。そこからサンプルが流れ、試薬を再溶解し、次いでアナライトと反応し、アナライトはたとえば、光学的または電気化学的方法によって検出可能になる。典型的には、試薬と反応したアナライトの検出は、試薬を含む領域の後に位置する装置の区域で行われる。

【0003】

ポイント・オブ・ケア診断薬は、マイクロ流体工学に基づく小型化の恩恵を受けると考えられる。マイクロ流体工学は、有用なサンプルおよび試薬と一緒に保存できる機能、検査の感度を高められる機能、さらに物質移動律速反応を促進できる機能を統合するためである。小型化により、いくつかのアナライトの同時検出も容易になる。最後に、小型化すると、大きさおよび重量の減少により診断薬が持ち運びやすくなる。しかしながら、課題は、試薬をマイクロ流体工学に組み込み、装置を使いやすくすることである。さらに別の課題は、ワン・ステップ・アッセイ装置を使い捨てにし、製造コストを安くすることである。こうした理由から、ワン・ステップ・アッセイ装置は、液体および試薬の流れと相互作用する駆動機構を有するのは稀である。

【0004】

L. Gervais および E. Delamar che は最近、マイクロ流体チップを用いたワン・ステップ・イムノアッセイの概念を明らかにした(非特許文献 1)。より詳細には、著者らは、検出抗体(dAb: detection antibody)、捕捉抗体(cAb: capture antibody)などの試薬を、ワン・ステップ・イムノアッセイを用いサンプル内のアナライト分子を検出するマイクロ流体機能要素に組み込んだ。この統合装置は、蛍光顕微鏡を用いて判断されるサンドイッチ・イムノアッセイを行うのに、サンプルを加えて毛管力により引き起こされる一連の現象を誘発するだけでよい。マイクロ流体要素として、サンプル・コレクタ、遅延弁、流れ抵抗装置、dAb の塗布ゾーン、ポリジメチルシロキサン(PDMS: polydimethylsiloxane)基板でシールされた反応チャンバ、ならびにキャピラリ・ポンプおよびベントが挙げられる。インクジェットを用いて dAb の溶液 3.6 nL をチップ上に塗布する際のパラメータを最適化する。このインクジェットによる塗布は、「スポットする」と呼ばれる

10

20

30

40

50

こともある。PDMS基板にアナライトの受容体でパターンを形成し、シグナル領域および陽性対照領域を設ける。パターン形成されたPDMSの様々な保存条件について最大6ヶ月間調査を行ったところ、乾燥剤を用いて保存すると、cAbの活性の少なくとも51%が保存されることが明らかになった。このワン・ステップ・チップにより、わずか5 μ Lのヒト血清を用い、湿った反応チャンバのPDMS基板30 \times 100 μ m²領域からの蛍光シグナルを測定して、C反応性タンパク質(CRP: C-reactive protein)、一般的な炎症および心臓マーカーが検出された。この例では、ワン・ステップ・チップにより、3分未満で10ngmL⁻¹の濃度、および14分以内に1ngmL⁻¹の濃度のCRPを検出することができる。

【0005】

上記の論文では、dAbをスポットし、溶解するため3種類の構造体が開示されており、本明細書ではこれらを図1A~Cに再現する。すなわち、

- 図1Aは、主要な直線状チャンネル21を含む構造を図示し；
- 図1Bは、主要なチャンネル21、側面連結部216およびスポット標的215を含む構造を示し；
- 図1Cは、主要なチャンネル21、複数の側面連結部216、217およびスポット標的215を含む構造を示す。

【0006】

前記構造体の幾何学的形状は、小型化のため(アッセイ性能の向上のため)に開発されたもので、スポットされるdAbを直接サンプル流路に置くか、またはその近くに置くため、dAbが、装置を流れているサンプルに溶解し得る。こうした装置に少量の液体(すなわち、数nLまたは数十nL)をスポットすることは難しいが、インクジェット技術により達成することができる。

【0007】

より詳細には、図1Aの場合、インクジェットを主要な直線状チャンネルの上に配置しにくく、そこに規定された流路にスポットした溶液の溢流または拡散を防止するため、スポットするdAb溶液の量を少量に保たなければならない。図1Bの構造および特に図1Cの構造は、側面連結部216の上方の円形の標的領域215がより大きいため、スポットに必要とされる精度を緩和するのに役立つ。さらに、枝分かれしたチャンネル217を加えると、スポットされる液体をより多く収容する可能性も与えることとなり、こうしたことは、所定の検査(たとえば高いアナライト濃度)に利用できるdAbの量を増加させるのに必要とされる場合がある。

【0008】

次に、図1Dは、スポットして乾燥させた後の、塗布ゾーン215(図1B)のdAb200を示す蛍光顕微鏡のグレースケールネガ画像である。dAbは明らかに微細構造内に位置しているものの、サンプルが塗布ゾーンに入ると直ちに気泡が形成される場合がある。さらに、この場合、スポットされたdAbの大部分が塗布ゾーンの外側に拡散/流動しない可能性がある。

【0009】

実際に、アッセイの感度は、dAbがアナライトおよび表面に固定した受容体に結合する時間と、dAbが溶解するサンプルの体積とに強い影響を受ける。流量による時間/体積の等価式： $t = V / Q$ がある。式中、 t は、流量 Q で所定の体積 V を置き換えるのに必要とされる時間である。

【0010】

ワン・ステップ・アッセイでは、理想的には、流量 Q の駆動は操作者または機器により行われなため、dAbの溶解性を最適化しにくいことが理解され得る。チップ上の Q の駆動は可能であるけれども、高価で複雑な装置および駆動の動力源が必要とされる。

【0011】

まとめると、図1Aのように主要な直線状チャンネル部分を含む構造は、 x 、 y 平面における精度が要求されるためスポットを難しくするうえ、スポットしてもよい体積が限定さ

10

20

30

40

50

れる。さらに典型的には、スポットした d A b の溶解が速くて（速すぎて）（典型的には 30 秒）、その結果 d A b を含むサンプルの体積が小さくなる。マイクロ流体デバイス（または小型系）では、液体路に加える試薬が液体にあまりに効率的に溶解し得ることが理解され得る。所定の検査において、試薬があまりに急速に溶解する場合、試薬は正確な液体の体積分率で存在しない可能性がある。たとえば、d A b が急速に溶解しすぎると、大部分がサンプルの充填界面に存在する。これらの d A b はサンプル中の多くのアナライトと反応できずに、受容体がアナライトおよび d A b に徐々に結合するのに十分な時間を得られずに受容体領域を超えて速く移動する。したがって、液体の移動および試薬の溶解におけるマイクロ流体デバイスの効率性は、（通常と異なり）逆効果になり得る。

【0012】

マイクロ流体デバイスの試薬の放出をいかに遅延させるかの例については、その限界と共に以下にいくつか記載する。図 1 B に記載したような構造（側面連結部およびスポット標的を含む主要なチャンネル）では、サンプルの流れ（左から右）が一部のみ側面連結部に入り、気泡が取り込まれ、d A b の溶解が抑制され、側面チャンネルから左側の主要なチャンネルへの d A b の拡散が不十分になる。複数の側面連結部を加えると（図 1 C）、より多くの d A b 溶液を収容できるが、本質的に図 1 B と同じ問題が依然として残る。さらに、この場合、d A b を含む領域による液体の直接対流が存在しないため、d A b の拡散が一定しない。d A b の拡散は、d A b が塗布され乾燥した後の構造体中の d A b のコーディネートに強く依存するからである。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献 1】Lab Chip, 2009, 9, 3330 - 3337

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

したがって、図 1 の従来技術による構造には多くの問題がある。最も重要な点として、こうした構造は d A b などの試薬の溶解プロファイルを容易かつ正確に制御できないことが理解され得る。以上より、改良されたマイクロ流体デバイスが求められている。

【課題を解決するための手段】

【0015】

第 1 の態様によれば、本発明は、流れ入口および流れ出口；流れ出口に向かう第 1 の流路を規定する 1 つまたは複数のバイパス・チャンネル；ならびに流れ出口に向かう第 2 の流路を規定する補助チャンネルであって、試薬を受け入れるように適合された試薬領域を含み、かつ第 2 の流路に対して試薬領域の下流の接合部で 1 つまたは複数のバイパス・チャンネルの少なくとも 1 つに連なる補助チャンネルを含むマイクロ流体デバイスとして実施される。

【0016】

他の実施形態では、前記装置は、

- マイクロ流体デバイスは、補助チャンネルが接合部でバイパス・チャンネルより少ない流量を供給するように設計される；
- マイクロ流体デバイスは、試薬領域の上流の補助チャンネルの流れを狭窄するようにさらに設計される；
- 補助チャンネルは試薬領域の上流の分岐でバイパス・チャンネルの少なくとも 1 つから分岐し、試薬領域の上流、かつ分岐の位置または下流に流れ狭窄領域を含む；
- 1 つまたは複数のバイパス・チャンネル、補助チャンネルおよび試薬領域は同じ深さを有する；
- チャンネルのそれぞれの幅は 10 マイクロメートルのオーダーである；
- チャンネルのそれぞれの幅は 10 ~ 100 マイクロメートルである；
- マイクロ流体デバイスは複数のバイパス・チャンネルを含む；

10

20

30

40

50

- 補助チャンネルは、第2の流路に対して試薬領域の下流に位置する主接合部でバイパス・チャンネルの少なくとも1つに連なる；
- 補助チャンネルは、第2の流路に対して主接合部の下流に位置する副接合部でバイパス・チャンネルの少なくとも1つに連なる；
- 補助チャンネルはそれぞれの副接合部でバイパス・チャンネルに連なり、各副接合部は第2の流路に対して主接合部の下流に位置する；
- 主接合部および副接合部は接合部の階層を規定する；
- 少なくともバイパス・チャンネルのサブセットは類似の横断方向の部分を有する；
- 補助チャンネルおよび少なくともバイパス・チャンネルのサブセットは類似の横断方向の部分を有する；
- 試薬領域は補助チャンネルの直線状部分に沿って補助チャンネルに挿入されるという特徴の1つまたは複数を含んでもよい。

10

【0017】

別の態様では、本発明はさらに、本発明によるマイクロ流体デバイスを用意するステップ；好ましくはインクジェット塗布によりマイクロ流体デバイスの試薬領域に試薬を塗布するステップ；および流体の流れを流れ入口から流れ出口に流して、試薬を第2の流路に対して試薬領域の下流に運ぶようにするステップを含むマイクロ流体デバイスを実行する方法として実施する。

【0018】

この方法は好ましくは、運ばれた試薬により特に起こる接合部の下流の化学反応をモニタする追加ステップを含む。

20

【0019】

次に本発明を実施する装置および方法について、非限定的な例により、添付図面を参照しながら説明する。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】A～C（従来技術）は、公知のマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。D（従来技術）は、スポットして乾燥させた後の中央チャンネル（図1Bと同様）の側面連結部上方の塗布ゾーン（円形領域）における検出抗体（dAb）を示す蛍光顕微鏡のグレースケールネガ画像である。

30

【図2】本発明の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【図3】A～Eは、それぞれ本発明の種々の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【図4】本発明の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【図5】A～Eは、それぞれ本発明の種々の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【図6】本発明の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【図7】本発明の実施形態によるマイクロ流体デバイスのチャンネル構造を模式的に示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

40

教示しやすく見やすいように、添付の図面に示した細部または特徴を意図的に誇張、簡略化、省略または略記する場合があります、必ずしも一定の縮尺ではない。

【0022】

以下の説明を始めるにあたり、最初に本発明の一般的な態様について説明する。本マイクロ流体デバイスは、一般に流れ方向を規定する流れ入口および出口を有する。1つのバイパス・チャンネル（または複数）および補助チャンネルが設けられ、それぞれが同じ出口に向かう第1および第2の流路を規定する。補助チャンネルは試薬領域に接続する、すなわち、試薬（たとえば、化学的試薬またはdAbなどの生物学的試薬）を受け入れるように設計される。補助チャンネルはさらに（第2の流路に対して）試薬領域の下流の、たとえばT字接合部のような接合部の位置でバイパス・チャンネルに連なる。こうした解決法は、試薬

50

の溶解速度を適合させる簡便なやり方となる。

【0023】

例示のため、下記の本発明の実施形態は大部分がイムノアッセイ装置に関する。しかしながら、上記のものに類似した特徴を持つ他のマイクロ流体デバイスを意図し得ることが当業者には明らかであろう。

【0024】

図2は、実施形態による装置の図を模式的に図示する。図2を参照すると、装置100は、流れ入口101および流れ出口102と、それぞれの矢印で示されるように出口102に向かう各流路を規定するバイパス・チャンネル11、12を含むチャンネル構造を示す。実際には、本発明の一般的な原理からすると、バイパス・チャンネルを1つのみ設けることも可能である。これについては、後で例示する。

10

【0025】

このチャンネル構造は、出口に向かう別の流路を規定する補助チャンネル21をさらに示す。バイパス・チャンネルにより規定される「第1の」流路に対して後者を「第2の」流路という場合がある。すべてのバイパス・チャンネルにより規定される流路を同じ1つの、すなわち、全体的な流路と見なしてもよい。前述のように、補助チャンネル21は、それ自体試薬200、たとえばdAbを受け入れるように設計される試薬領域215を含むチャンネルである。試薬領域は、図1Dの試薬領域と同様に設計してもよい。

【0026】

さらに、図2に見られるように、補助チャンネルは、(第2の流路に対して)試薬領域の下流に位置する接合部 J_1 の位置でバイパス・チャンネルに連なる。

20

【0027】

注目すべきは、バイパス・チャンネル(単数または複数)に枝分かれした試薬(補助)チャンネルを有するいくつかの種類チャンネルを設けると、試薬の溶解速度を適合させる簡便なやり方となる。言い換えれば、前に検討した方法と比較して、接合部の後で試薬を含むより大きな体積のサンプルが効率的に得られる。たとえば、バイパス・チャンネルの数は、横断方向のチャンネルの寸法により所望の溶解速度が得られるように適合させてもよく、可能性としては横断方向のチャンネルの寸法が異なる(図2のように)ことで、希釈率にも影響を与えると考えられる。

【0028】

一方、変形例として、すべてのチャンネルに同様のチャンネル部分(補助チャンネルを含む)を設けてもよい。こうした場合、1つの補助チャンネルに n のバイパス・チャンネルを加えた場合、合計は、試薬を含むサンプルの体積に $n+1$ を掛けた値になる。したがって、 n のバイパス・チャンネルを加えた場合、各チャンネル流量は、 $n+1$ で割った値になると考えられ、最終的に溶解速度が小さくなることが示唆される。

30

【0029】

図示した装置の操作は、非常に単純である。たとえば、インクジェット塗布により試薬200をマイクロ流体デバイスの領域215に塗布する。次いで、矢印で示したように試薬を試薬領域の下流に運ぶべく流体を入口から出口に流せばよい。接合部 J_1 の位置で、補助チャンネルおよびバイパス・チャンネルの流れが合流するため、接合部の下流で測定される実際の溶解速度が低下する。その後、たとえば、好適な検出手段(図示せず)を用いて、一定の化学反応を接合部の下流でモニタしてもよい。

40

【0030】

実施形態では、装置は、補助チャンネルが接合部でバイパス流体チャンネルより少ない流量を与えるように構成する。これは、前に指摘したように、たとえば、バイパス・チャンネルの数を増加させることにより達成してもよい。また、装置は、たとえば、試薬領域の上流で補助チャンネルの流れを狭窄するように設計してもよい。

【0031】

実際に図2に示したように、試薬領域215の上流に1つまたは複数の狭窄領域30を設けてもよい。狭窄領域は、たとえば、他の部分11、12、21より単に小さいチャネ

50

ル部分として設けてもよい。こうした領域 30 は、局所的に流れを狭窄し、所望の溶解速度の調整を可能にする。

【0032】

さらに、実施形態では、補助チャンネルは典型的には、試薬領域 215 の上流に位置する分岐 S_1 の位置でバイパス・チャンネルから分岐する。これに関連して、流れ狭窄領域 30 は、分岐 S_1 の位置、またはその下流（かつ試薬領域の上流）に位置すると都合がよい。

【0033】

ただし、狭窄領域を設けるのは必須ではない。前述のように、溶解速度は、バイパス・チャンネルの数または大きさのみを変えて適合させてもよい。さらに、実施形態では、バイパス・チャンネルおよび補助チャンネルの横断方向の相対寸法は異なってもよく、これも狭窄領域をまったく必要とせずに溶解速度に影響を与える。

10

【0034】

他の実施形態では、狭窄領域を設けるだけでなく、さらに、図 2 に示したようにチャンネルの横断方向の相対寸法を変えてもよい。チャンネルもしくは狭窄領域またはその両方の（相対）寸法は、試行錯誤法、および所望の溶解速度に従い調整してもよい。チャンネルは、マイクロ流体工学で知られる技術に従い、たとえば、シリコン、PDMS またはプラスチックの表面等に彫刻した開口溝として得てもよい。そのようにする場合、好ましくは塗布ゾーン 215 とバイパスするチャンネル 11、12 との安全な距離を保つように注意すべきである。例を以下に示す。

【0035】

図 2 で詳細に見たように、試薬領域は好ましくは、塗布ゾーンに結合した行き止まりチャンネルにならないように、補助チャンネルの直線状部分に沿っている（図 1 B の溶液と異なる）。

20

【0036】

図 2 をまとめると、図示した設計はスポットがしやすくなる。さらに、流路の 1 つで気泡が形成されても、全体の流れを遮断しないと考えられる。チャンネル 11、12、21 で見られる流れ抵抗の相対値（ R_{11} 、 R_{12} および R_{21} で示す）を変化させることにより、試薬の溶解性を正確に設定することができる。実際に前記抵抗は、異なる流路の液体の流量に影響を与える。構造に特徴的な流れ抵抗は、構造体内の液体（非圧縮性であると仮定）に印加される圧力と液体の流量との比率と定義することができる。チャンネルの流れ抵抗は主にその寸法および形状により決定されるが、他の要素がチャンネルの流れ抵抗に影響を与える場合もある。流れ抵抗、流量および圧力と、電気抵抗、電流および電位により記載される電気回路との間には類似性がある。同等の形状および長さを有するチャンネルは同等の流れ抵抗を有する一方、チャンネルが分岐して、連なり、並列流体回路もしくは直列流体回路またはその両方を形成する構造としてチャンネルを構築してもよい。したがって、流体回路に同一のチャンネルが含まれる場合でも、流体回路の全体的な流れ抵抗に影響を与えるようにチャンネルを構築することができる。たとえば、抵抗 R_{21} を有する中央チャンネルは、流体回路が抵抗 $R_{11} / R_{12} / \dots$ を有する並列バイパス・チャンネルを有する場合、流体回路を通過する液体の流れ全体への寄与が小さくなる。バイパス・チャンネルの数が増え、試薬が体積分率のより大きいサンプルに溶解し、サンプルおよび試薬が装置内の受容体を通り過ぎる時間が増加することにより、検査の感度が高くなる。逆に、 $R_{11} / R_{12} / \dots$ に対して R_{21} を低下させると、体積分率の小さいサンプル中でチャンネル 21 の試薬を速く溶解させ、装置内の受容体の方に流出させるのに都合がよい。この場合には、結果を得る時間が短縮される（シグナルをより早く読み取ることができる）。最後に、図 2 に示した設計はコンパクト設計であり、チャンネルが設けられる有用な表面を最適化してある。

30

40

【0037】

図 3 A ~ E は、試薬の溶解性を変えるため様々な狭窄部 30 a ~ e を含む構造の例を示す。しかしながら、好ましい幾何形状は一般に、10 マイクロメートル幅の狭窄部である（その場合、チャンネルは 10 マイクロメートルより幅広の部分の有する）。

50

合、以下の通り任意に定義される特徴的な希釈倍率 および希釈パラメータ を算出することが有用である：

$$= R_{\text{reagent}} / (R_{\text{reagent}} + R_{\text{bypass}}) = R_{\text{reagent}} / R_{\text{total}}$$

および

$$= (1 -)$$

【0038】

得られる希釈倍率は典型的には、0.04（すなわち4%）～0.85（すなわち85%）までの幅がある。希釈倍率が高くなると、試薬の希釈度が高くなる、すなわち試薬は、体積分率がより大きいサンプル中に存在する。

10

【0039】

現在、こうしたチャンネルの設計は一般に有効であることが明らかになっているが、（たとえば、プラスチック材料および射出成形/熱エンボス加工を使用して）チップの大量生産の際に狭窄部がなお問題となる場合がある。

【0040】

図4は、より多くの量の試薬溶液またはいくつかの種類の試薬を収容するいくつかの塗布ゾーン（試薬領域215a～d）を含む特定の実施形態に関する。この場合、バイパス・チャンネル11、1つのみが設けられる。さらに、チャンネルは図2または3と異なり、非一定部分11'、21'、21'を有し、それにより、流れを狭窄すること、もしくは効率的な溶解速度を適合させること、またはその両方も可能になり得る。この場合、狭窄領域を必要としない。もっと正確に言えば、徐々に変化するチャンネル部分が流れの狭窄を可能にする。

20

【0041】

図5A～Eは、1つまたは複数のバイパスするチャンネルが設けられた他の実施形態に関する。

【0042】

たとえば、図5Aでは、チャンネル11、21は図4と同様に非一定部分を有する。特に、流れを局所的に狭窄するように試薬領域215の両側のバイパス・チャンネル部分を狭めてもよい。

【0043】

図5Bおよび5Dでは、各チャンネルが一定部分を有する。図5Aと比較してバイパスするチャンネルの数が増加している。

30

【0044】

図5Cまたは5Eでは、一番下のチャンネル13、15の部分が一定ではない。他の多くのこうした変形を意図してもよい。上記のそれぞれの場合、補助チャンネル21が、試薬領域215（主接合部という）の下流にあり、かつ出口102の下流にある検出手段（図示せず）の上流にある接合部J₁でバイパス・チャンネル11～15のうち少なくとも1つのチャンネル11に連なることに変わりはない。チャンネルはさらに主接合部の下流の副接合部J₂で連なる。

【0045】

注意点として、補助チャンネルが主接合部もしくは副接合部（J₁またはJ₂）またはその両方でバイパス・チャンネルに連なるかどうかの問題になるかもしれない。しかしながら、これは、修辭的な質問に過ぎず、考慮対象の流路によって異なる。第1の流路（チャンネル11により規定される）を考慮すると、チャンネル11および21がJ₂よりむしろJ₁で再び連なると考えたい。第2の流路（補助チャンネル21により規定される）を考慮すると、その反対を考えるであろう。すべての場合で補助チャンネルが、第2の流路に対して試薬領域の下流の接合部でバイパス・チャンネルの少なくとも1つに連なることに変わりはない。さらに、副接合部は第2の流路（すなわち、補助チャンネルにより規定される）に対して主接合部の下流にある。

40

【0046】

50

れ容易に達成できた。こうした設計で得られた典型的な希釈倍率は、 $\beta = 0.93$ (すなわち93%)、希釈パラメータ $\beta = 0.07$ で、試薬領域の体積 V_{reagent} は、約4ナノリットル(nL)である。この場合、試薬は、少なくとも $4 / 0.07 = 57 \text{ nL}$ のサンプルに溶解される。

【0054】

加えて、さらに前に述べたように、運ばれた試薬により特に引き起こされる接合部の下流の化学反応200'をモニタ(300)したい場合がある。たとえば、運ばれる試薬は、サンプル中に存在するアナライトに特異的に結合する蛍光標識されたdAbでもよい。アナライト-dAb対は、接合部の下流のチャンネル表面に固定化した抗体により捕捉される。捕捉されたら、アナライトはdAbに結合しているため、たとえば、蛍光によって検出する。この例では、化学反応200'は、「サンドイッチ」蛍光表面イムノアッセイである。他の多くの種類の化学的または生化学的試験も同様に行うことができる。塗布領域215に塗布され、選択した希釈パラメータにより溶解された試薬を用いて、たとえば、DNAまたはRNA分子、タンパク質、抗原、ペプチド、病原体、汚染物質、化学物質、トキシンを検出することができる。さらに、蛍光以外の種類のシグナルを使用してもよい。たとえば、試薬200は蛍光標識されたオリゴヌクレオチドでも、または機能性ナノ粒子もしくは着色ラテックス粒子でもよい。試薬200はまた、たとえば酵素または金ナノ粒子で機能性を持たせたdAbであってもよい。塗布領域215には、2種類以上の試薬200を単独で塗布しても、またはいくつかの塩、界面活性剤もしくは化学物質と一緒に塗布してもよい。塗布される化学物質の役割は、化学物質が、たとえば蛍光標識されたdAbと、病原体を溶解するいくつかの酵素、および製造された装置の乾燥状態でのdAbの安定性を高めるのに使用される糖などの化学物質との混合物であるため、大きく異なってもよい。また必要に応じて、スポットしたdAbの上に化学物質をスポットして、その溶解をさらに遅延させ、希釈倍率を増大させてもよい。したがって、都合のよい検出手段は好ましくは、出口102の下流に含まれる。

【0055】

図7は、なお別の実施形態に関し、今回は高い希釈度に最も好適である。この場合、チャンネルの幅は10~100マイクロメートルまで様々である。特に、補助チャンネル21の部分はほぼ一定であり、約10マイクロメートル幅であるのに対し、バイパス・チャンネル11、12の幅は100マイクロメートルに及ぶ(この場合、この部分は一定ではなく、約50~100マイクロメートルである)。S₁およびJ₁に近いチャンネル11および12の幅が狭まると、毛管圧力の急低下により装置を満たすことを止める液体を有する可能性が低下する(毛管圧力は、特徴的な寸法、たとえばこの場合、チャンネルの幅が拡大すると低下する)。さらに、J₁に近いチャンネル11および12の寸法は過度に狭まっていないため、液体の充填挙動の不連続性が軽微に保たれる。液体がJ₁を通過するには、チャンネル21、11および12の液体メニスカスはすべて合流する必要がある。このことが、接合部における気泡の形成を防止する。前に指摘したように、ある接合部の後のチャンネルの幅が接合部の前のチャンネルのほぼ2倍大きいと、気泡が生成しないことが経験的に明らかになった。このため、接合部の下流横断方向のチャンネル部分は好ましくは、その接合部の上流のチャンネル部分の少なくとも2倍大きくてよい。

【0056】

本例のチャンネルは以下のパラメータを特徴とする。流れ抵抗は、

- バイパス・チャンネルでは、 $R_{11, 12} = 4 \times 10^{17} \text{ m}^{-3}$;

- 補助チャンネルでは、 $R_{21} = 1.3 \times 10^{15} \text{ m}^{-3}$ である。円形パイプを用いると概算値で、 $R = 8L / (r^4)$ 、式中、Lはパイプの長さ、rはパイプの半径であるため、この単位になることを銘記すべきである。

【0057】

試薬領域の体積 V_{reagent} が3.2nLの場合、得られる希釈倍率は $\beta = 99.84\%$ である。この場合、試薬(たとえば、dAb)は少なくとも $3.2 / 0.0016 = 2 \mu\text{L}$ のサンプルに溶解される。本発明について特定の実施形態を参照しながら記載し

10

20

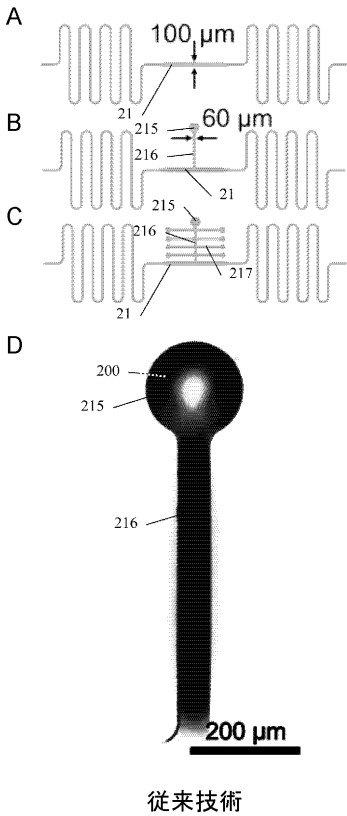
30

40

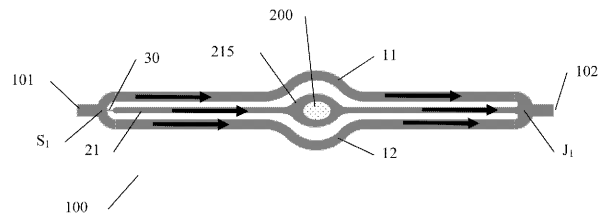
50

てきたが、当業者であれば、本発明の範囲から逸脱しない範囲で様々な変更を施してもよく、等価物を代わりに用いてもよいことが理解されよう。さらに、本発明の範囲を逸脱することなく、特定の状況または材料を本発明の本教示内容に適合させるべく、多くの修正を施してもよい。したがって、本発明は開示した特定の実施形態に限定されるものではなく、添付の特許請求の範囲の範囲内の実施形態をすべて含むことを意図している。たとえば、PDMS、シリコンまたはプラスチック以外の材料を含めてもよい。上記のようなマイクロ流体デバイスは、イムノアッセイ、DNA検査、およびリガンドまたは受容体が目的のアナライトである、一般にリガンド-受容体相互作用の原理に基づく試験に広く応用され得る。他の多くの変形を意図してもよい。たとえば、溶解速度をさらに調整するため、溶解を遅延させる種を試薬ゾーンに加えてもよい。

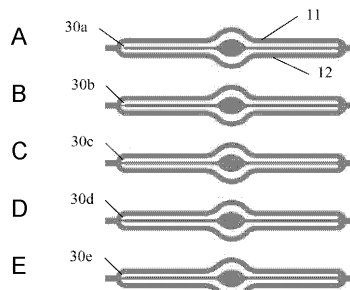
【図1】



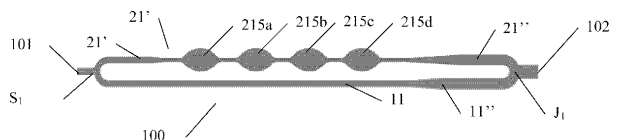
【図2】



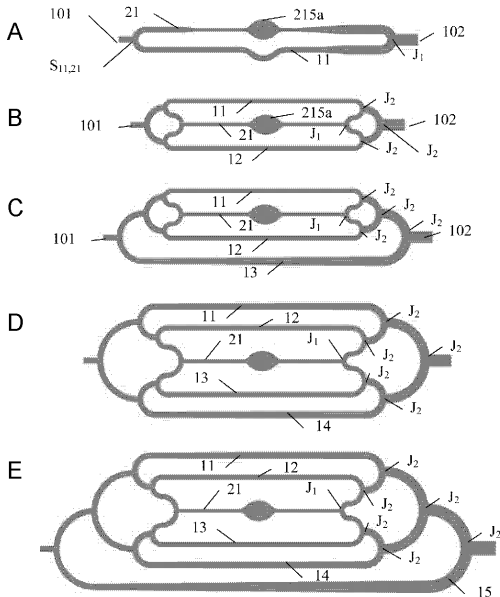
【図3】



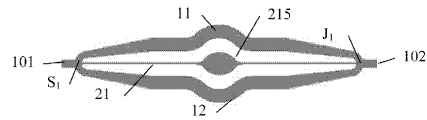
【図4】



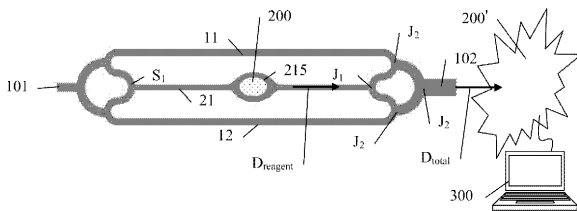
【 図 5 】



【 図 7 】



【 図 6 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】平成25年5月10日(2013.5.10)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】全文

【 補正方法 】変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

流れ入口および流れ出口；

前記流れ出口に向かう第1の流路を規定する1つまたは複数のバイパス・チャネル；ならびに

前記流れ出口に向かう第2の流路を規定し、試薬を受け入れるように適合された試薬領域を含み、かつ前記第2の流路に対して前記試薬領域の下流の接合部で前記1つまたは複数のバイパス・チャネルの少なくとも1つに連なる補助チャネル

を含むマイクロ流体デバイス。

【 請求項 2 】

前記補助チャネルは前記接合部でバイパス・チャネルより少ない流量を供給するように設計された、請求項1に記載のマイクロ流体デバイス。

【 請求項 3 】

前記試薬領域の上流の前記補助チャネルの流れを狭窄するようにさらに設計された、請求項1または2に記載のマイクロ流体デバイス。

【 請求項 4 】

前記補助チャネルは前記試薬領域の上流の分岐で前記バイパス・チャネルの少なくとも1つから分岐し、前記試薬領域の上流、かつ前記分岐の位置または下流に流れ狭窄領域を

含む、請求項 3 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 5】

前記 1 つまたは複数のバイパス・チャネル、前記補助チャネルおよび前記試薬領域は同じ深さを有する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 6】

前記チャネルのそれぞれの幅は 10 ~ 100 マイクロメートルである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 7】

複数のバイパス・チャネルを含み：

前記補助チャネルは、前記第 2 の流路に対して前記試薬領域の下流に位置する主接合部で前記バイパス・チャネルの少なくとも 1 つに連なり；

前記補助チャネルは、前記第 2 の流路に対して前記主接合部の下流に位置する副接合部で前記バイパス・チャネルの少なくとも 1 つに連なる、

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 8】

前記試薬領域は前記補助チャネルの直線状部分に沿って前記補助チャネルに挿入される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体デバイスを用意するステップ；

好ましくはインクジェット塗布により前記マイクロ流体デバイスの前記試薬領域に試薬を塗布するステップ；および

流体を前記流れ入口から前記流れ出口に流して、前記試薬を前記第 2 の流路に対して前記試薬領域の下流に運ぶようにするステップ

を含む、マイクロ流体デバイス进行操作する方法。

【請求項 10】

前記接合部の下流の、特に前記運ばれた試薬により起こる化学反応をモニタリングするステップをさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2011/053456

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. B01L3/00 B01F5/04 B01F13/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B01L B01F		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 525 916 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE]) 27 April 2005 (2005-04-27) paragraphs [0033] - [0050]; figures 9-16 -----	1-15
X	US 2004/109790 A1 (SHARTLE ROBERT JUSTICE [US] ET AL) 10 June 2004 (2004-06-10) paragraphs [0068] - [0074], [0078]; figures 6,7,11 -----	1-15
X	US 2005/133101 A1 (CHUNG KWANG H [KR] ET AL CHUNG KWANG HYO [KR] ET AL) 23 June 2005 (2005-06-23) paragraphs [0075] - [0086], [0088]; figures 9,10 paragraphs [0042] - [0045]; figure 1 ----- -/--	1-15
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
17 January 2012	26/01/2012	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Tiede, Ralph	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2011/053456

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 591 852 B1 (MCNEELY MICHAEL R [US] ET AL) 15 July 2003 (2003-07-15) figure 2; example 1 -----	1-15
X	US 2006/018790 A1 (NAKA MICHIO [JP] ET AL) 26 January 2006 (2006-01-26) figures 2-8,13 -----	1
A	FR 2 688 709 A1 (SCHLUMBERGER CIE DOWELL [FR]) 24 September 1993 (1993-09-24) the whole document -----	1-15
A	FR 2 545 685 A1 (RHONE POULENC AGROCHIMIE [FR]) 16 November 1984 (1984-11-16) the whole document -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2011/053456

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 1525916	A1	27-04-2005	CA 2485189 A1 EP 1525916 A1 JP 2005181295 A US 2005118070 A1	23-04-2005 27-04-2005 07-07-2005 02-06-2005
US 2004109790	A1	10-06-2004	NONE	
US 2005133101	A1	23-06-2005	KR 20050063358 A US 2005133101 A1	28-06-2005 23-06-2005
US 6591852	B1	15-07-2003	NONE	
US 2006018790	A1	26-01-2006	NONE	
FR 2688709	A1	24-09-1993	CN 1082455 A DE 69319736 D1 DE 69319736 T2 DK 652801 T3 EP 0652801 A1 FR 2688709 A1 NO 943527 A US 5466063 A WO 9318848 A1	23-02-1994 20-08-1998 12-11-1998 19-04-1999 17-05-1995 24-09-1993 22-09-1994 14-11-1995 30-09-1993
FR 2545685	A1	16-11-1984	ES 272224 U FR 2545685 A1 IL 71782 A	16-11-1983 16-11-1984 30-10-1987

 フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM

(72)発明者 ドラマルシュ、エマニュエル

スイス連邦 シーエイチ - 8 8 0 3 リュシュリコン ソイマーシュトラーセ 4

(72)発明者 ジェルヴェ、リュク

スイス連邦 シーエイチ - 8 0 5 7 チューリヒ シャフハウサーシュトラーセ 1 3 3

(72)発明者 ヒッツブレック、マルティーナ

スイス連邦 シーエイチ - 8 8 0 3 リュシュリコン ソイマーシュトラーセ 4

Fターム(参考) 2G058 AA09 DA07 DA09