

(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2011-237201

(P2011-237201A)

(43) 公開日 平成23年11月24日(2011.11.24)

(51) Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

GO 1 N 15/14 (2006.01)

GO 1 N 15/14 K

GO 1 N 37/00 (2006.01)

GO 1 N 37/00 1 O 1

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 23 頁)

(21) 出願番号 特願2010-106802 (P2010-106802)  
 (22) 出願日 平成22年5月6日 (2010.5.6)

(71) 出願人 000002185  
 ソニー株式会社  
 東京都港区港南1丁目7番1号  
 (74) 代理人 100112874  
 弁理士 渡邊 薫  
 (72) 発明者 篠田 昌孝  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内  
 (72) 発明者 松井 健  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内  
 (72) 発明者 辻 明子  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内

最終頁に続く

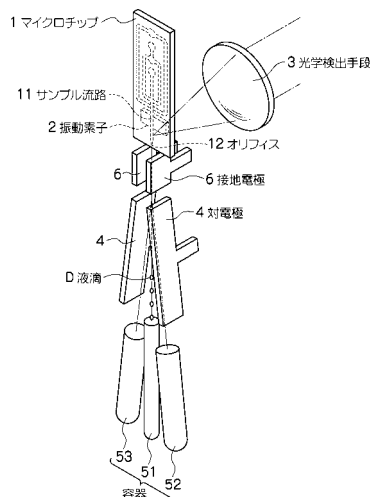
(54) 【発明の名称】 微小粒子分取装置、マイクロチップ及びマイクロチップモジュール

## (57) 【要約】

【課題】サンプル間のクロスコンタミネーションや高価なフローセルとオリフィス部品の利用を排除して、高速な解析、安全で高速で安価な分取を行うことができる微小粒子分取装置の提供。

【解決手段】微小粒子を含む液体が通流されるサンプル流路11と、該液体をチップ外の空間に排出するオリフィス12とが基板層の貼り合わせによって形成され、オリフィス部のサンプル流路11が基板層間に埋設された微細管の管腔によって構成されたマイクロチップ1と、液体を液滴化して吐出させるための振動素子2と、液滴に電荷を付与する荷電手段と、サンプル流路11を通流する微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する光を検出する光学検出手段3と、液滴の移動方向に沿って対向して配設された対電極4、4と、液滴を回収する二以上の容器51、52、53と、を備える微小粒子分取装置Aを提供する。

【選択図】図4



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

微小粒子を含む液体が通流されるサンプル流路と、該液体をサンプル流路内からチップ外の空間に排出するオリフィスとが基板層の貼り合わせによって形成され、オリフィス部のサンプル流路が基板層間に埋設された微細管の管腔によって構成されたマイクロチップと、  
オリフィスにおいて液体を液滴化して吐出させるための振動素子と、  
吐出される液滴に電荷を付与する荷電手段と、  
オリフィスよりも送液方向上流においてサンプル流路を通流する微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する光を検出する光学検出手段と、  
チップ外の空間に吐出された液滴の移動方向に沿って、移動する液滴を挟んで対向して配設された対電極と、  
対電極間を通過した液滴を回収する二以上の回収手段と、を備え、  
光学検出手段からの光が照射される光照射部とオリフィス部との間のサンプル流路に、流路の断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化する変換流路が構成された微小粒子分取装置。

10

**【請求項 2】**

前記微細管が金属製又はセラミック製であり、管腔表面に貴金属被膜が形成された請求項 1 記載の微小粒子分取装置。

20

**【請求項 3】**

前記変形流路の流路断面面積が送液方向に従って次第にあるいは段階的に小さくなるように形成された請求項 2 記載の微小粒子分取装置。

**【請求項 4】**

前記マイクロチップに、一端が前記サンプル流路に連通された流路が形成され、該流路の他端に接続されて流路内に負圧を付与する吸引手段を備える請求項 1～3 のいずれか一項に記載の微小粒子分取装置。

**【請求項 5】**

前記光照射部よりも送液方向上流において、サンプル流路を通流する液体の層流中に、微小粒子を含む他の液体の層流を導入する微小管を備え、  
前記吸引手段に接続される流路のサンプル液流路への連通口が、微小管の開口よりも送液方向下流であって、かつ前記変換流路よりも上流に設けられた請求項 4 記載の微小粒子分取装置。

30

**【請求項 6】**

微小粒子を含む液体が通流されるサンプル流路と、該液体をサンプル流路内からチップ外の空間に排出するオリフィスとが基板層の貼り合わせによって形成され、  
オリフィス部のサンプル流路が基板層間に埋設された微細管の管腔によって構成され、  
サンプル流路の所定部位が、通流する微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する光を検出するための光照射部として構成され、  
光照射部とオリフィス部との間のサンプル流路に、流路の断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化する変換流路が構成されたマイクロチップ。

40

**【請求項 7】**

前記微細管が金属製又はセラミック製であり、管腔表面に貴金属被膜が形成された請求項 6 記載のマイクロチップ。

**【請求項 8】**

前記変形流路の流路断面面積が送液方向に従って次第にあるいは段階的に小さくなるように形成された請求項 7 記載のマイクロチップ。

**【請求項 9】**

一端が前記サンプル流路に連通し、他端が負圧源に接続される吸引流路が形成された請求項 6～8 のいずれか一項に記載のマイクロチップ。

**【請求項 10】**

50

前記光照射部よりも送液方向上流において、サンプル流路を通流する液体の層流中に、微小粒子を含む他の液体の層流を導入する微小管を備え、  
前記吸引流路のサンプル液流路への連通口が、微小管の開口よりも送液方向下流であって、かつ前記変換流路よりも上流に設けられた請求項 9 記載のマイクロチップ。

【請求項 11】

請求項 10 記載のマイクロチップと、マイクロチップを保持するホルダーと、マイクロチップ上に配され、オリフィスにおいて液体を液滴化して吐出させるための振動素子と、を備え、

前記サンプル流路への液体の供給路が接続されるシースポートと、前記微小管への微小粒子を含む液体の供給路が接続されるサンプルポートと、前記吸引流路を負圧源に接続する吸引ポートと、がホルダーと一体に配設されたマイクロチップモジュール。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微小粒子分取装置、マイクロチップ及びマイクロチップモジュールに関する。より詳しくは、マイクロチップに形成された流路を通流する微小粒子の特性をチップ内において検出した後、微小粒子を含む液滴をチップ外に吐出し、微小粒子の特性に基づいて液滴の移動方向を制御して分取する微小粒子分取装置等に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、細胞や微生物、リボソームなどの生体関連微小粒子、あるいはラテックス粒子やゲル粒子、工業用粒子などの合成粒子などの微小粒子の特性を判別するため、微小粒子の分散液を流路内に導入し、流路内へ導入された微小粒子の特性を光学的に測定する装置が用いられている。

20

【0003】

特に生体関連微小粒子については、フローサイトメトリー（フローサイトメータ）と呼ばれる装置が広く用いられている（非特許文献 1 参照）。フローサイトメトリーには、微小粒子の特性測定のみを目的としたものや、さらに測定結果に基づいて所望の特性を備えた微小粒子のみを分取できるように構成されたものがある。後者のうち、特に細胞を分取対象とした装置を「セルソータ」と呼んでいる。現在、市販されているセルソータでは、毎秒数千～数万個という高速で細胞の特性を測定し、分取することが可能である。

30

【0004】

従来のフローサイトメトリーでは、以下のようにして、細胞やマイクロビーズ等の微小粒子の大きさや構造等の特性を測定している。まず、フローセルにおいて測定対象とする微小粒子を含むサンプル溶液をシース液の層流の中心に流し、フローセル内に微小粒子を一系列に配列させる。次に、光学検出部において、フローセル内に配列されて通流する微小粒子に測定光を照射し、微小粒子から生じる散乱光や蛍光を検出して微小粒子の特性を測定する。続いて、微小粒子の分取を行う場合には、サンプル液を、微小粒子を含む液滴としてフローセル外の空間に吐出し、液滴の移動方向を制御して、所望の特性を備えた微小粒子を分取する。

40

【0005】

特許文献 1（第 7 図）には、従来のセルソータとして、蛍光標識試薬などで染色された細胞をフローセル内で一系列に配列するための流体系と、細胞にレーザー光を照射して散乱光や蛍光を検出するための光学系と、フローセル外の空間に吐出された液滴の移動方向を制御するための分取系と、からなる装置が開示されている。

【0006】

これら従来のフローサイトメトリー（セルソータ）では、流路系を構成するフローセル部品が高価な石英製であることや、このフローセルとは別体のオリフィス部品から構成されており、使用者が簡単に使い捨て可能な構成とされていない。そのため、測定の都度フローセル部品やオリフィス部品を十分に洗浄しても、測定間でのサンプルのクロスコン

50

タミネーションが生じるおそれがあった。このようなサンプル間のクロスコンタミネーションや高価なフローセルとオリフィス部品の利用は、特に、セルソータによって分取した幹細胞等を再生医療に用いるような場合には大きな障害となっている。

【0007】

サンプル間のクロスコンタミネーションや高価なフローセルとオリフィス部品の利用を解決するための技術として、近年、シリコンやガラス製の基板上に化学的及び生物学的分析を行うための領域や流路を設けたマイクロチップが開発されてきている。このようなマイクロチップを用いた分析システムは、 $\mu$ -TAS (micro-total-analysis system) やラボ・オン・チップ、バイオチップ等と称されている。

【0008】

微小粒子分取技術への $\mu$ -TASの応用例として、マイクロチップ上に配設された流路や領域内で微小粒子の特性を光学的、電気的あるいは磁氣的に分析する微小粒子分析技術がある。例えば、特許文献2には、基板上に、微粒子含有溶液導入流路と、当該流路の少なくとも一方の側部に配置されたシース流形成流路と、導入された微粒子を計測するための微粒子計測部位と、該微粒子計測部位の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路と、を有する微粒子分別マイクロチップが開示されている。このマイクロチップは微粒子計測部位から微粒子分別流路への流路口付近に電極を有している。このマイクロチップを備える微小粒子分取装置によれば、電極電界との相互作用によって微粒子の移動方向を制御し、微小粒子の分取を行うことが可能である。

【0009】

$\mu$ -TASを応用したフローサイトメトリー(セルソータ)では、ディスポーザブルユース(使い捨て)が可能なマイクロチップにより流路系を構成することができるため、測定間でのサンプルのクロスコンタミネーションが生じない。また、分取系をチップ上に配設された気密流路内に構成することができるため、測定の際にエアロゾル等の汚染物質がサンプルに混入することがない。しかし、一方で、チップ上に配設された流路内に微小粒子を含む液体を高圧で送液する必要があり、微小粒子の移動方向の制御を微小粒子が液体中を通流している状態で行う必要がある。そのため、微小粒子の通流速度や分取速度を高めることが困難で、従来のフローサイトメトリー(セルソータ)のように毎秒数千~数万個という高速で細胞の特性を測定し、分取することが難しかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【特許文献1】特開2007-46947号公報

【特許文献2】特開2003-107099号公報

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】「細胞工学別冊 実験プロトコルシリーズ フローサイトメトリー自由自在」、中内啓光、秀潤社、第2版、2006年8月31日発行

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

上述の通り、従来のフローサイトメトリー(セルソータ)では、流路系を構成するフローセルが使い捨て可能な構成とされていないため、サンプル間のクロスコンタミネーションが生じるおそれがあった。また、 $\mu$ -TASを応用したフローサイトメトリー(セルソータ)においても、微小粒子の通流速度や分取速度を高めることが困難なため、解析のハイスループット化が難しいという問題があった。

【0013】

そこで、本発明は、サンプル間のクロスコンタミネーションや高価なフローセルとオリフィス部品の利用を排除して、高速な解析、安全で高速で安価な分取を行うことができる微小粒子分取装置を提供することを主な目的とする。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0014】

上記課題解決のため、本発明は、(1)微小粒子を含む液体が通流されるサンプル流路と、該液体をサンプル流路内からチップ外の空間に排出するオリフィスとが基板層の貼り合わせによって形成され、オリフィス部のサンプル流路が基板層間に埋設された微細管の管腔によって構成されたマイクロチップと、(2)オリフィスにおいて液体を液滴化して吐出させるための振動素子と、(3)吐出される液滴に電荷を付与する荷電手段と、(4)オリフィスよりも送液方向上流においてサンプル流路を通流する微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する光を検出する光学検出手段と、(5)チップ外の空間に吐出された液滴の移動方向に沿って、移動する液滴を挟んで対向して配設された対電極と、(6)対電極間を通過した液滴を回収する二以上の回収手段と、を備え、光学検出手段からの光が照射される光照射部とオリフィス部との間のサンプル流路に、流路の断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化する変換流路が構成された微小粒子分取装置を提供する。

10

また、本発明は、(1)微小粒子を含む液体が通流されるサンプル流路と、該液体をサンプル流路内からチップ外の空間に排出するオリフィスとが基板層の貼り合わせによって形成され、(2)オリフィス部のサンプル流路が基板層間に埋設された微細管の管腔によって構成され、(3)サンプル流路の所定部位が、通流する微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する光を検出するための光照射部として構成され、(3)光照射部とオリフィス部との間のサンプル流路に、流路の断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化する変換流路が構成されたマイクロチップを提供する。

20

## 【0015】

本発明に係る微小粒子分取装置及びマイクロチップにおいて、前記微細管は、金属製又はセラミック製であり、管腔表面に貴金属被膜が形成されていることが好適となる。

また、前記変形流路の流路断面面積は、送液方向に従って次第にあるいは段階的に小さくなるように形成してもよい。

マイクロチップには、一端が前記サンプル流路に連通された吸引流路を形成してもよい。この場合、微小粒子分取装置には、吸引流路の他端に接続されて流路内に負圧を付与する吸引手段を設けることが好適となる。

また、マイクロチップには、前記光照射部よりも送液方向上流において、サンプル流路を通流する液体の層流中に、微小粒子を含む他の液体の層流を導入する微小管を設けてもよい。この場合、前記吸引手段に接続される流路のサンプル液流路への連通口は、微小管の開口よりも送液方向下流であって、かつ前記変換流路よりも上流に設けることが好適となる。

30

マイクロチップは、マイクロチップを保持するホルダーと、マイクロチップ上に配され、オリフィスにおいて液体を液滴化して吐出させるための振動素子と、を備え、前記サンプル流路への液体の供給路が接続されるシースポートと、前記微小管への微小粒子を含む液体の供給路が接続されるサンプルポートと、前記吸引流路を負圧源に接続する吸引ポートと、がホルダーと一体に配設されたマイクロチップモジュールとして構成され得る。

40

## 【0016】

本発明において、「微小粒子」には、細胞や微生物、リボソームなどの生体関連微小粒子、あるいはラテックス粒子やゲル粒子、工業用粒子などの合成粒子などが広く含まれるものとする。

## 【0017】

生体関連微小粒子には、各種細胞を構成する染色体、リボソーム、ミトコンドリア、オルガネラ(細胞小器官)などが含まれる。細胞には、動物細胞(血球系細胞など)および植物細胞が含まれる。微生物には、大腸菌などの細菌類、タバコモザイクウイルスなどのウイルス類、イースト菌などの菌類などが含まれる。さらに、生体関連微小粒子には、核酸やタンパク質、これらの複合体などの生体関連高分子も包含され得るものとする。また、工業用粒子は、例えば有機もしくは無機高分子材料、金属などであってもよい。有機高分子

50

材料には、ポリスチレン、スチレン・ジビニルベンゼン、ポリメチルメタクリレートなどが含まれる。無機高分子材料には、ガラス、シリカ、磁性体材料などが含まれる。金属には、金コロイド、アルミなどが含まれる。これら微小粒子の形状は、一般には球形であるのが普通であるが、非球形であってもよく、また大きさや質量なども特に限定されない。

【発明の効果】

【0018】

本発明により、サンプル間のクロスコンタミネーションや高価なフローセルとオリフィス部品の利用を排除して、高速な解析、安全で高速で安価な分取を行うことができる微小粒子分取装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

10

【0019】

【図1】本発明に係る微小粒子分取装置Aの概略構成を説明する図である。

【図2】本発明に係る微小粒子分取装置Aの概略構成を説明する図である。

【図3】本発明に係る微小粒子分取装置Aの概略構成を説明する図である。

【図4】微小粒子分取装置Aの概略構成を模式的に示す図である。

【図5】本発明に係る微小粒子分取装置Aの変形例を説明する図である。

【図6】本発明に係るマイクロチップ1の概略構成を示す図である。

【図7】マイクロチップ1の微小管16及び絞込流路17の近傍のサンプル流路11の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面模式図である。

【図8】マイクロチップ1の変換流路13及びオリフィス12の近傍のサンプル流路11の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面図模式図である。

20

【図9】マイクロチップ1の変換流路13及びオリフィス12の近傍のサンプル流路11の構造と、オリフィス12から液滴化されて吐出されるサンプル液及びシース液を模式的に示す図である。

【図10】マイクロチップ101の変換流路13及びオリフィス12の近傍のサンプル流路11の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面図模式図である。

【図11】マイクロチップ101の変換流路13及びオリフィス12の近傍のサンプル流路11の構造と、オリフィス12から液滴化されて吐出されるサンプル液及びシース液を模式的に示す図である。

30

【図12】サンプル流路11の幅及び深さを説明する断面模式図である。(A)は微小管16の開口位置、(B)は光照射部33、(C)はオリフィス12におけるサンプル流路11の断面を示す。

【図13】本発明に係るマイクロチップモジュールの構成を説明する図である。

【図14】微小粒子分取装置Aによる微小粒子の分取を模式的に示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

以下、本発明を実施するための好適な形態について図面を参照しながら説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これにより本発明の範囲が狭く解釈されることはない。なお、説明は以下の順序で行う。

40

1. 微小粒子分取装置

2. マイクロチップ

(1) 第一実施形態

(1-1) サンプル流路

(1-2) 吸引流路

(1-3) 微小管と絞込流路

(1-4) 光照射部

(1-5) 変換流路と微細管

50

## ( 2 ) 第二実施形態

## ( 2 - 1 ) 変換流路と微細管

3 . マイクロチップの各部位における流路幅及び深さ

4 . マイクロチップモジュール

## ( 1 ) 振動素子

## ( 2 ) ホルダーとポート

5 . 微小流分取装置の動作

## 【 0 0 2 1 】

## 1 . 微小粒子分取装置

10

図 1 ~ 3 は、本発明に係る微小粒子分取装置の概略構成を説明する図である。図中、符号 A で示す微小粒子分取装置は、本体 A<sub>1</sub> のカバー A<sub>2</sub> によって保護される部位に、さらにソーティングカバー A<sub>3</sub> によって保護される微小粒子分取場が設けられている。この微小粒子分取場は、ソーティングカバー A<sub>3</sub> の上部開口に挿入されて取り付けられるマイクロチップ 1 を含んで構成される。図 2 中、ブロック矢印は、マイクロチップ 1 を構成要素とするマイクロチップモジュールのソーティングカバー A<sub>3</sub> への挿入方向を示す。なお、図 3 では、便宜上、ソーティングカバー A<sub>3</sub> の図示を省略し、さらにソーティングカバー A<sub>3</sub> に差し込まれたマイクロチップモジュールのうち、マイクロチップ 1 以外の部分を省略して図示した。

## 【 0 0 2 2 】

20

微小粒子分取場は、マイクロチップ 1 と、本体 A<sub>1</sub> に設けられた、マイクロチップ 1 の所定部位に光を照射する光学検出手段 3 と一対の対電極 4 , 4 , 3 つの回収手段 ( 容器 5 1 , 5 2 , 5 3 ) を含む。容器 5 1 ~ 5 3 は、本体 A<sub>1</sub> に着脱可能に取り付けられている。

## 【 0 0 2 3 】

微小粒子分取場の構成について、図 4 を参照しながら詳しく説明する。図 4 は、微小粒子分取装置 A の概略構成を模式的に示す図である。図には、マイクロチップ 1 と光学検出手段 3 、対電極 4 , 4 、容器 5 1 ~ 5 3 が示されている。図中、符号 2 は、マイクロチップ 1 上に配設された振動素子を示している。また、符号 6 , 6 は、グランド接地された接地電極を示す。

30

## 【 0 0 2 4 】

マイクロチップ 1 には、分取対象とする微小粒子を含む液体 ( サンプル液 ) が通流されるサンプル流路 1 1 が形成されている。光学検出手段 3 は、サンプル流路 1 1 の所定部位に光 ( 測定光 ) を照射し、サンプル流路 1 1 を通流する微小粒子から発生する光 ( 測定対象光 ) を検出する。以下、サンプル流路 1 1 において光検出手段 3 からの測定光が照射される部位を「光照射部」というものとする。

## 【 0 0 2 5 】

マイクロチップ 1 は、ガラスや各種プラスチック ( P P , P C , C O P 、 P D M S など ) により形成できる。マイクロチップの材質は、光学検出手段 3 から照射される測定光に対して透過性を有し、自家蛍光が少なく、波長分散が小さいために光学誤差が少ない材質とすることが望ましい。

40

## 【 0 0 2 6 】

マイクロチップ 1 へのサンプル流路 1 1 の成形は、ガラス製基板のウェットエッチングやドライエッチングによって、またプラスチック製基板のナノインプリントや射出成型、機械加工によって行うことができる。マイクロチップ 1 は、サンプル流路 1 1 等を成形した基板を、同じ材質又は異なる材質の基板で封止することで形成することができる。

## 【 0 0 2 7 】

光学検出手段 3 は、従来のフローサイトメトリーと同様に構成することができる。具体的には、レーザー光源と、微小粒子に対してレーザー光を集光・照射する集光レンズやダイクロイックミラー、バンドパスフィルター等からなる照射系と、レーザー光の照射によ

50

って微小粒子から発生する測定対象光を検出する検出系と、によって構成される。検出系は、例えば、PMT (photo multiplier tube) や、CCDやCMOS素子等のエリア撮像素子等によって構成される。なお、図では、光学検出手段3として集光レンズのみを示している。また、図では、照射系と検出系を同一の光学経路により構成した場合を示したが、照射系と検出系は別個の光学経路により構成してもよい。

#### 【0028】

光学検出手段3の検出系により検出される測定対象光は、測定光の照射によって微小粒子から発生する光であって、例えば、前方散乱光や側方散乱光、レイリー散乱やミー散乱等の散乱光や蛍光などとして行うことができる。これらの測定対象光は電気信号に変換され、微小粒子の光学特性はこの電気信号に基づいて検出される。

10

#### 【0029】

光照射部を通過したサンプル液は、サンプル流路11の一端に設けられたオリフィス12からチップ外の空間に排出される。この際、振動素子2によってマイクロチップ1を振動させることで、サンプル液を液滴化してチップ外の空間に吐出することができる。図中、符号Dは、チップ外の空間に吐出された液滴を示している。

#### 【0030】

液滴Dには、分取対象とする微小粒子が含まれ得る。対電極4, 4は、チップ外の空間に吐出された液滴の移動方向に沿って配設されており、移動する液滴を挟んで対向するように配置されている。吐出された液滴には不図示の荷電手段によって電荷が付与され、対電極4, 4は液滴に付与された電荷との電気的な反発力（又は吸引力）によって液滴の移動方向を制御し、液滴を容器51～53のいずれかに誘導する。なお、液滴を回収する容器51～53は、図示したような、通常利用されるプラスチック製の試験管容器などでもよいし、プラスチック基板上に96個のウェルなどが設けられている分注プレート容器などでもよい。

20

#### 【0031】

微小粒子分取装置Aは、このように、光学検出手段3による微小粒子の特性検出までをマイクロチップ1において行い、その後、微小粒子の移動方向の制御をチップ外の空間において行う。微小粒子分取装置Aでは、光学検出手段3により検出された微小粒子の光学特性に基づいて、その微小粒子が含まれる液滴の移動方向を対電極4, 4により制御することで、所望の特性を備えた微小粒子を容器51～53のいずれかに回収し、分取することができる。

30

#### 【0032】

なお、微小粒子分取装置Aにおいて、光学検出手段3は、例えば、電気的又は磁気的な検出手段に置換されてもよい。微小粒子の特性を電気的又は磁気的に検出する場合には、サンプル流路11に両側に微小電極を対向させて配設し、抵抗値、容量値（キャパシタンス値）、インダクタンス値、インピーダンス、電極間の電界の変化値、あるいは、磁化、磁界変化、磁場変化等を測定する。この場合、微小粒子の分取は、微小粒子の電気的又は磁気的な特性に基づいて行われる。

#### 【0033】

また、ここでは、対電極4と接地電極6を本体A<sub>1</sub>側に固定されたものとする場合を例に説明したが、これらの電極は、図5に示すように、ソーティングカバーA<sub>3</sub>側に設けてもよい。すなわち、対電極4は、ソーティングカバーA<sub>3</sub>を構成する基材のカバー内側面に、対電極4を外部と電気的に接続するための対電極端子43が外側面に露出するようにして配設することもできる。同様に、接地電極6も、ソーティングカバーA<sub>3</sub>を構成する基材のカバー内側面に、接地電極6を外部と電気的に接続するための接地電極端子63が外側面に露出するようにして配設されてよい。外側面に露出する対電極端子43と接地電極端子63は、ソーティングカバーA<sub>3</sub>の本体A<sub>1</sub>への取り付けの際に、本体A<sub>1</sub>側と電気的に接続される。

40

#### 【0034】

なお、図5中、符号511, 521, 531は、ソーティングカバーA<sub>3</sub>内において対

50



電極 4, 4 によって電氣的に移動方向を制御される液滴を容器 5 1 ~ 5 3 に排出する分取口を示す。対電極 4 と接地電極 6 が液滴と接触することを防止するため、ソーティングカバー A<sub>3</sub> を構成する基材には、図に示すように、液滴の移動空間と対電極 4 あるいは接地電極 6 とを区切る隔壁を設けることが好ましい。

【0035】

以下、微小粒子分取装置 A の各構成の詳細とその機能について順に説明する。

【0036】

2. マイクロチップ

(1) 第一実施形態

(1-1) サンプル流路

まず、図 6 ~ 図 9 を参照して、第一実施形態に係るマイクロチップ 1 について説明する。図 6 は、マイクロチップ 1 の概略構成を示す図である。マイクロチップ 1 には、サンプル液が導入されるサンプルインレット 1 5 と、シース液が導入されるシースインレット 1 4 と、シース液に浸漬される荷電電極（荷電手段）が差し込まれる荷電電極インレット 2 0 が形成されている。シースインレット 1 4 に導入されたシース液は、荷電電極インレット 2 0 に通流された後、Y 軸正方向及び負方向の 2 方向に分岐してサンプル流路 1 1 を送液され、略 90 度に 2 回折り曲げられた後に合流し、下流に送液される。

【0037】

(1-2) 吸引流路

マイクロチップ 1 には、一端がサンプル流路 1 1 に連通された吸引流路 1 8 が形成されている。符号 1 8 1 は、吸引流路 1 8 のサンプル流路 1 1 への連通口を示す。吸引流路 1 8 の連通口 1 8 1 と反対側の端には、不図示の吸引手段（負圧源）が接続される吸引アウトレット 1 9 が形成されている。真空ポンプ等によって構成される吸引手段は、吸引流路 1 8 内に負圧を付与する。サンプル流路 1 1（特に後述する変換流路 1 3 や微細管 1 2 1）内で微小粒子や気泡の詰まりが生じた場合には、吸引手段によって吸引流路 1 8 内に負圧を付与し、サンプル流路 1 1 内のサンプル液及びシース液を連通口 1 8 1 から吸引する。これにより、サンプル流路 1 1 内のサンプル液等の流れを一時的に逆流させて、微小粒子や気泡の詰りを解消することができる。吸引流路 1 8 は、図に示すように、2 つの流路を一对として配することが好ましい。吸引流路 1 8 を 2 つ配することで、一方の流路にサンプル流路 1 1 内から逆流した微小粒子や気泡が詰まった場合にも、他方の流路を機能させることができる。

【0038】

(1-3) 微小管と絞込流路

サンプル流路 1 1 のシース液が合流する部位には、サンプルインレット 1 5 から導入されたサンプル液をシース液層流中に導入するための微小管 1 6 が配設されている。サンプル液の層流は、微小管 1 6 内を通流して、シースインレット 1 4 から導入されてサンプル流路 1 1 を通流するシース液層流中に導入される。これにより、サンプル液層流を、周囲がシース液層流によって取り囲まれた状態で、サンプル流路 1 1 下流に送液することができる。

【0039】

吸引流路 1 8 のサンプル液流路 1 1 への連通口 1 8 1 は、微小管 1 6 の開口 1 6 1 よりも送液方向下流に設けることが好ましい。連通口 1 8 1 を開口 1 6 1 よりも上流に設けると、吸引手段によって吸引流路 1 8 内に負圧を付与し、サンプル流路 1 1 内のサンプル液等を吸引し逆流させた際に、逆流する微小粒子や気泡が開口 1 6 1 から微小管 1 6 内に侵入して詰まるおそれがあるためである。

【0040】

図 6 中、符号 1 7 は、サンプル流路 1 1 に構成された絞込流路を示す。絞込流路 1 7 は、送液方向に対する垂直断面の面積が、送液方向上流から下流へ次第にあるいは段階的に小さくなるように形成されている。

【0041】

図7は、微小管16の配設部位と絞込流路17の近傍のサンプル流路11の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面模式図である。(A)は水平断面図(XY断面図)、(B)は垂直断面図(ZX断面図)を示す。図中、符号Sはサンプル液層流、符号Tはシース液層流を示し、符号Pはサンプル液に含まれる微小粒子を示している。また、符号1a, 1bは基板層を示す。マイクロチップ1及びサンプル流路11等の流路やオリフィス12は、これらの基板層の貼り合わせによって形成されている。

#### 【0042】

サンプル液層流Sは、微小管16によってサンプル流路11を通流するシース液層流T中に導入され、図に示すように、シース液層流Tで取り囲まれた状態(3次元層流)とな

10

#### 【0043】

絞込流路17の流路側壁は送液方向に従って図中Y軸方向に狭窄するように形成されており、絞込流路17はその上面視において次第に細くなる錘形とされている。この形状によって、絞込流路17は、シース液とサンプル液の層流幅を図中Y軸方向に絞り込んで送液する。また、絞込流路17は、その流路底面が上流から下流に向かって深さ方向(Z軸正方向)に高くなる傾斜面となるように形成されており、同方向にも層流幅の絞り込みを行う。

#### 【0044】

このように、サンプル液層流Sがシース液層流Tによって取り囲まれた3次元層流を形成し、この3次元層流の層流幅を絞り込んで送液することにより、絞り込まれたサンプル液層流S中に微小粒子Pをひとつずつ配列させて送流することができる。そして、サンプル流路11内における微小粒子Pの送流位置を位置決めして、光学検出手段3からの測定光を精度良く微小粒子Pに照射することが可能となる。

20

#### 【0045】

特に、絞込流路17によれば、マイクロチップ1の水平方向(図7(A)Y軸方向)のみならず、垂直方向(同(B)Z軸方向)にもサンプル液層流Sの層流幅を絞り込むことができるため、サンプル流路11の深さ方向における測定光の焦点位置を微小粒子Pの送流位置と精緻に一致させることができる。このため、微小粒子Pに精度良く測定光を照射して高い測定感度を得ることが可能となる。

30

#### 【0046】

ここで、サンプル流路11を十分に細い流路として形成し、サンプル流路11を通流するシース液層流T中に、径の小さい微小管16を用いてサンプル液層流Sを導入すれば、予め層流幅が絞り込まれた3次元層流を形成することも可能と考えられる。しかしながら、この場合には、微小管16の径を小さくすることによって、微小管16に微小粒子Pが詰まる可能性がある。

#### 【0047】

マイクロチップ1では、絞込流路17を設けたことにより、サンプル液中に含まれる微小粒子Pの径に対して十分に大きい径の微小管16を用いて3次元層流の形成を行った後に、層流幅の絞り込みを行うことができる。従って、上記のような微小管16の詰まりの問題が生じない。

40

#### 【0048】

図7では、微小管16を、その中心がサンプル流路11の中心と同軸上に位置するように配設した場合を示した。この場合、サンプル液層流Sは、サンプル流路11を通流するシース液層流Tの中心に導入されることになる。シース液層流T中におけるサンプル液層流Sの位置は、サンプル流路11内における微小管16の開口位置を調節することによって任意に設定することができる。また、層流幅の絞り込みのためには、絞込流路17は、送液方向に対する垂直断面の面積が、流路上流から下流へ次第に小さくなるように形成されていればよく、図に示した形状に限られず、例えば流路底面及び上面の両方を傾斜面として形成し絞り込みを行うこともできる。

50

## 【 0 0 4 9 】

微小管 1 6 の内径は、分取対象とする微小粒子 P の径に応じて適宜設定することができる。例えば、サンプル液として血液を用い、血球細胞の分析を行う場合には、好適な微小管 1 6 の内径は  $10 \sim 500 \mu\text{m}$  程度である。また、微小管 1 6 の開口位置におけるサンプル流路 1 1 の幅及び深さは、微小粒子 P の径を反映した微小管 1 6 の外径に応じて適宜設定すればよい。例えば、微小管 1 6 の内径が  $10 \sim 500 \mu\text{m}$  程度である場合、微小管 1 6 の開口位置におけるサンプル流路 1 1 の幅及び深さはそれぞれ  $100 \sim 2000 \mu\text{m}$  程度が好適である。なお、微小管の断面形状は、円形以外にも、楕円形や四角形、三角形など任意の形状とすることができる。

## 【 0 0 5 0 】

絞込流路 1 7 における絞り込み前のサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅は、サンプル流路 1 1 の幅及び深さと微小管 1 6 の径に依存して変化し得るが、絞込流路 1 7 の送液方向に対する垂直断面の面積を適宜調整することによって任意の層流幅にまで絞り込むことができる。例えば、図 7 ( B ) において、絞込流路 1 7 の流路長を  $L$ 、流路底面の傾斜角度を  $\theta_3$  とした場合、絞込流路 1 7 における 3 次元層流の絞り込み幅は  $L \cdot \tan \theta_3$  となる。従って、流路長  $L$  及び傾斜角度  $\theta_3$  を適宜調整することによって任意の絞り込み幅を設定することが可能である。さらに、図 7 ( A ) 中、絞込流路 1 7 流路側壁の Y 軸方向における狭窄角度をそれぞれ  $\theta_1$ 、 $\theta_2$  とし、これらと上記  $\theta_3$  を「 $\theta_3 = 2 \times \theta_1$ 、 $\theta_1 = \theta_2$ 」となるように形成することで、サンプル液層流 S とシース液層流 T を等方的に縮小して、微小管 1 6 により形成された 3 次元層流を乱すことなく層流幅を絞り込むことができる。

## 【 0 0 5 1 】

ここで、本発明に係るマイクロチップにおいて、絞込流路 1 7 は必須の構成とはならないものとする。例えば、サンプル流路 1 1 を十分に細い流路として形成し、サンプル流路 1 1 を通流するシース液層流 T 中に、径の小さい微小管 1 6 を用いてサンプル液層流 S を導入して、予め層流幅が絞り込まれた 3 次元層流を形成できる場合には、絞込流路 1 7 を設けなくてもよい。すなわち、微小管 1 6 の配設部位と次に説明する光照射部の流路幅及び深さを同じにしてもよい。さらに、本発明に係るマイクロチップとして、光照射部の流路幅及び深さが、微小管 1 6 の配設部位の流路幅等よりも大きくされているようなものも除外されないものとする。

## 【 0 0 5 2 】

## ( 1 - 4 ) 光照射部

図 6 中、符号 3 3 は、光学検出手段 3 からの測定光が照射される光照射部を示す。光照射部 3 3 では、光学検出手段 3 からの測定光の照射によって微小粒子から発生する測定対象光の検出が行われる。

## 【 0 0 5 3 】

既に説明したように、光照射部 3 3 では、絞込流路 1 7 によってサンプル液層流及びシース液層流の層流幅が絞り込まれているため、サンプル流路 1 1 内におけるサンプル液層流 S の送流位置に測定光の焦点位置を精緻に一致させ、微小粒子に精度良く測定光を照射することが可能である。

## 【 0 0 5 4 】

光照射部 3 3 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅は、絞込流路 1 7 の送液方向に対する垂直断面の面積を適宜調整することによって任意の層流幅とすることができるが、サンプル流路 1 1 の幅及び深さでそれぞれ  $20 \sim 2000 \mu\text{m}$  程度が好適である。

## 【 0 0 5 5 】

## ( 1 - 5 ) 変換流路と微細管

図 6 中、符号 1 2 は、光照射部 3 3 を通過したシース液及びサンプル液をチップ外の空間に排出するオリフィスを示す。シース液及びサンプル液は、次に説明する振動素子 2 の作用によってオリフィス 1 2 で液滴化され、チップ外に吐出される。

## 【0056】

オリフィス12は、貼り合わされた基板層1a, 1bによって形成されるものであるが、基板層の貼り合わせのみによってオリフィス12を形成しようとする場合には、以下のような問題が生じる。すなわち、まず、基板層1a, 1bのそれぞれに半円形状でオリフィスを成形する際、金型の作成に高い精度が求められ、両半円形状の径や真円度を数~数十 $\mu\text{m}$ 誤差で合わせるのが難しい。また、基板層1a, 1bを貼り合わせる際、両半円形状の位置合わせに高い精度が求められ、高い真円度のオリフィスを作成するのが困難である。オリフィスの真円度が低い場合には、吐出される液滴の形状が不整となり、対電極4, 4による移動方向の制御精度が低下してしまう。さらに、オリフィスの径を変更する際に、金型を作成し直す必要があり高コストになるという問題もある。

10

## 【0057】

そこで、マイクロチップ1では、オリフィス部のサンプル流路11を、基板層1a, 1b間に埋設した微細管121の管腔によって構成している。微細管121は、サンプル流路11と同軸上に成形した溝に微細管121を埋め込み、接着剤で封止して、サンプル流路11を送液されてくるサンプル液等が管腔内に導入されるように配置される。微細管121の管腔内に導入されたサンプル液等は、微細管121の端部と一致されたオリフィス12から排出される。

## 【0058】

このようにオリフィス部を微細管121によって構成することで、真円度の高いオリフィスを作成でき、吐出される液滴の形状が安定し、対電極4, 4による移動方向の制御を再現性及び精度を高く行うことが可能となる。また、基板層1a, 1bには微細管121を埋め込むための溝のみを成形すればよいため、金型作成や貼り合わせ時の位置合わせにおける許容誤差範囲を大きくでき、チップの製造コストを下げる事が可能となる。さらに、微細管121の内径を適宜変更することで、容易にオリフィスの径を変更することができ、微細管121の外径をそのままにして内径のみを変更すれば金型を作成し直す必要もないため低コストである。

20

## 【0059】

ここでは、サンプル流路11や微細管121を埋め込むための溝などを基板層1bに形成し、基板層1aと貼り合せる場合を例に説明したが、サンプル流路11や溝などは基板層1a, 1bにそれぞれ一部が形成され、貼り合せられたものとしてもよい。

30

## 【0060】

微細管121は、金属製あるいはセラミック製、石英製、樹脂製とでき、好適には金属製あるいはセラミック製とされる。微細管121の管腔表面には、金やプラチナ等の貴金属被膜を形成することが好ましい。金属製あるいはセラミック製とすることで、オリフィス部の耐久性を高められる。また、管腔表面に貴金属被膜を形成することで、特に微小粒子を細胞等とする場合に、微小粒子が管腔表面に付着したり、管腔に詰まったりするのを防止できる。微細管121により構成するオリフィス部の流路の長さは、3000m以下、好ましくは100~500 $\mu\text{m}$ 以下、さらに好ましくは100~300 $\mu\text{m}$ 以下とすることで、送液圧の損失を抑制できる。

## 【0061】

符号13は、オリフィス12よりも送液方向上流であって、光照射部33よりも下流のサンプル流路11に構成された変換流路を示す。変換流路13は、サンプル流路11の断面形状を微細管121の断面形状へ移行させるための流路である。すなわち、変換流路13は、流路の断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化するように構成されている(図9も参照)。

40

## 【0062】

さらに、変換流路13は、送液方向に対する垂直断面の面積が、送液方向に従って次第にあるいは段階的に小さくなるように形成されている。すなわち、絞込流路17と同様に、流路側壁が送液方向に従って図中Y軸方向に狭窄するように形成されており、流路底面が上流から下流に向かって深さ方向(Z軸正方向)に高くなる傾斜面となるように形成さ

50

れている。

#### 【 0 0 6 3 】

図 8 は、変換流路 1 3 とオリフィス 1 2 の近傍のサンプル流路 1 1 の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面図模式図である。(A) は水平断面図(XY 断面図)、(B) は垂直断面図(ZX 断面図)を示す。図中、符号 S はサンプル液層流、符号 T はシース液層流を示し、符号 P はサンプル液に含まれる微小粒子を示している。また、図 9 は、変換流路 1 3 及びオリフィス 1 2 近傍のサンプル流路 1 1 の構造と、オリフィス 1 2 から液滴化されて吐出されるサンプル液及びシース液を模式的に示す図である。

#### 【 0 0 6 4 】

変換流路 1 3 は、送液方向に従って、流路の断面形状が四角形状から円形状に変化し、断面面積が小さくなるように形成されている。これにより、サンプル液層流 S 及びシース液層流 T は、微小管 1 6 によって形成された 3 次元層流を維持したまま、図中 Y 軸方向及び Z 軸方向に層流幅を絞り込まれて、微細管 1 2 1 の管腔に導入される。この層流幅の絞り込みによって、変換流路 1 3 は、サンプル流路 1 1 内におけるサンプル液及びシース液の送液圧を高め、これらをオリフィス 1 2 から高圧で排出させる。オリフィス 1 2 からのサンプル液等の排出圧を高めることで、オリフィス 1 2 において高い周波数で液滴を形成でき、微小粒子の高速分取が可能となる。図中、吐出された液滴の移動方向を符号 F で示す。

#### 【 0 0 6 5 】

変換流路 1 3 内及び微細管 1 2 1 管腔では、層流幅が大きく絞り込まれることとなるため、微小粒子や気泡の詰まりが生じるおそれがある。微小粒子の詰まりが生じた場合には、上述の吸引手段によって吸引流路 1 8 内に負圧を付与し、サンプル液等の流れを一時的に逆流させて、微小粒子の詰りを解消する。このため、吸引流路 1 8 のサンプル流路 1 1 への連通口 1 8 1 は、変換流路 1 3 よりも送液方向上流に設けられる。

#### 【 0 0 6 6 】

微細管 1 2 1 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅は、変換流路 1 3 の送液方向に対する垂直断面の面積を適宜調整することによって任意の層流幅にまで絞り込むことができる。例えば、図 8 (B) において、変換流路 1 3 の流路長を  $l$ 、流路底面の傾斜角度を  $\theta_3$  とした場合、変換流路 1 3 における 3 次元層流の絞り込み幅は  $l \cdot \tan \theta_3$  となる。従って、流路長  $l$  及び傾斜角度  $\theta_3$  を適宜調整することによって任意の絞り込み幅を設定することが可能である。微細管 1 2 1 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅(径)は、20 ~ 500  $\mu\text{m}$  程度が好適である。

#### 【 0 0 6 7 】

なお、サンプル液層流 S とシース液層流 T の層流幅の絞り込みは、変換流路 1 3 の流路底面及び上面の両方を傾斜面として行うこともでき、変換流路 1 3 の形状は図に示す形状に限定されない点は、絞込流路 1 7 に同じである。また、図 8 (A) 中、変換流路 1 3 流路側壁の Y 軸方向における狭窄角度  $\theta_1$ 、 $\theta_2$  及び Z 軸方向における狭窄角度  $\theta_3$  を、「 $\theta_3 = 2 \times \theta_1$ 、 $\theta_1 = \theta_2$ 」となるように形成することで、微小管 1 6 により形成された 3 次元層流を等方的に縮小し、乱すことなく層流幅を絞り込むことができる点も、絞込流路 1 7 で説明した通りである。

#### 【 0 0 6 8 】

ここで、本発明に係るマイクロチップにおいて、変換流路 1 3 の送液方向に対する垂直断面の面積は、送液方向に従って小さくなるように形成されなくてもよい場合がある。例えば、上述の絞込流路 1 7 による 3 次元層流の層流幅の絞り込みが十分である場合には、変換流路 1 3 断面は形状のみの変化としてもよい。また、例えば、微細管 1 2 1 の内径が光照射部の流路幅及び深さに対して十分大きい場合にも、変換流路 1 3 断面は形状のみの変化としてもよい。すなわち、これらの場合、光照射部の流路断面面積と微細管 1 2 1 の断面面積が同じであってもよい。さらに、用いる微細管 1 2 1 の内径によっては、本発明に係るマイクロチップとして、変換流路 1 3 の断面面積が、光照射部の流路断面面積よりも

10

20

30

40

50

大きくされているようなものも除外されないものとする。

【0069】

(2) 第二実施形態

(2-1) 変換流路と微細管

次に、図10・11を参照して、第二実施形態に係るマイクロチップ101について説明する。

【0070】

マイクロチップ101の構成は、変換流路と微細管を除いて、サンプル流路及び吸引流路、微小管、絞込流路、光照射部については、第一実施形態に係るマイクロチップ1と同様である。そのため、以下、マイクロチップ101の変換流路と微細管の構成についてのみ説明する。

10

【0071】

図10は、変換流路13とオリフィス12の近傍のサンプル流路11の構造と、通流するサンプル液層流及びシース液層流の様子を説明する断面図模式図である。(A)は水平断面図(XY断面図)、(B)は垂直断面図(ZX断面図)を示す。図中、符号Sはサンプル液層流、符号Tはシース液層流を示し、符号Pはサンプル液に含まれる微小粒子を示している。また、図11は、変換流路13及びオリフィス12近傍のサンプル流路11の構造と、オリフィス12から液滴化されて吐出されるサンプル液及びシース液を模式的に示す図である。

【0072】

20

マイクロチップ101では、サンプル流路11のうち、オリフィス部の流路に加えて変換流路13についても微細管121の管腔によって構成している点で、上述のマイクロチップ1と異なっている。

【0073】

微細管121は、基板層1a, 1b間に、サンプル流路11と同軸上に成形した穴に埋め込まれて、接着剤で封止され、サンプル流路11を送液されてくるサンプル液等が管腔内に導入されるように配置されている。微細管121の外周面には、基板層1a, 1bへの接着性を高めるための切れ込み部や凸部を周状に設けている。

【0074】

30

変換流路13は、サンプル流路の断面面積が、微細管121の端面において大きく拡張された後、送液方向に従って小さくなるように形成されている。このように、サンプル流路の微細管121の入口で流路断面面積を拡張させることで、サンプル液層流S及びシース液層流Tを、3次元層流を維持したまま、図中Y軸方向及びZ軸方向に層流幅を絞り込むことができる。変換流路13は、層流幅の絞り込みによって、サンプル流路11内におけるサンプル液及びシース液の送液圧を高め、オリフィス12から高圧で排出させる。オリフィス12からのサンプル液等の排出圧を高めることで、オリフィス12において高い周波数で液滴を形成でき、微小粒子の高速分取が可能となる。図中、吐出された液滴の移動方向を符号Fで示す。

【0075】

40

図では、変換流路13を、流路断面形状が送液方向に従って四角形状から円形状に変化するように示したが、本実施形態に係るマイクロチップでは、変換流路13の断面形状を、一貫して円形状としてもよいものとする。すなわち、サンプル流路の微細管121の入口における流路断面が、オリフィス部における流路断面に比して十分に大きく拡張されている場合、変換流路13は円錐形状とできる。

【0076】

3. マイクロチップの各部位における流路幅及び深さ

図12は、サンプル流路11の各部位における幅及び深さを説明する断面模式図である。図は、サンプル流路11のYZ断面を示し、(A)は微小管16の開口位置、(B)は光照射部33、(C)はオリフィス12におけるサンプル流路11の断面を示す。

【0077】

50

図 1 2 ( A ) に示すように、微小管 1 6 の開口位置では、サンプル液層流 S とシース液層流 T は、サンプル液層流 S の周囲をシース液層流 T が取り囲んだ 3 次元層流として送液されている。既に説明したように、微小管 1 6 の開口位置におけるサンプル流路 1 1 の幅及び深さは、微小粒子 P の径を反映した微小管 1 6 の外径に応じて適宜設定され、例えば、1 0 0 ~ 2 0 0 0  $\mu\text{m}$  程度とされる。

【 0 0 7 8 】

微小管 1 6 により形成された 3 次元層流は、絞込流路 1 7 によって層流幅を絞り込まれた状態で光照射部 3 3 に送液されてくる ( 図 7 参照 )。絞込流路 1 7 によって層流幅を絞り込むことにより、光照射部 3 3 には、サンプル液層流 S 中に微小粒子 P がひとつずつ配列されて送流されてくる。

10

【 0 0 7 9 】

光照射部 3 3 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅は、絞込流路 1 7 の送液方向に対する垂直断面の面積を適宜調整することによって任意に設定できる。光照射部 3 3 におけるサンプル流路 1 1 の幅 ( W ) 及び深さ ( H ) は、光検出手段 3 による光学的検出角度 ( 光学系の開口数 ) を十分大きくするため、それぞれ 2 0 ~ 2 0 0 0  $\mu\text{m}$  程度とすることが好ましい。

【 0 0 8 0 】

さらに、光照射部 3 3 におけるサンプル流路 1 1 の形状は、深さ ( H ) に対して幅 ( W ) を大きくし、光検出手段 3 による測定光の照射方向に対して長方形形状とすることが好ましい。光照射部 3 3 におけるサンプル流路 1 1 をこのような幅広な形状とすることで、光学系の開口数をより大きくとることが可能となる。

20

【 0 0 8 1 】

光照射部 3 3 を通過したサンプル液層流 S 及びシース液層流 T は、変換流路 1 3 によって、図 8 に示したように再度層流幅を絞り込まれてオリフィス 1 2 に送液される。変換流路 1 3 によって層流幅を絞り込むことにより、オリフィス 1 2 からのサンプル液及びシース液の排出圧を高めることができる。

【 0 0 8 2 】

オリフィス 1 2 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅は、変換流路 1 3 の送液方向に対する垂直断面の面積を適宜調整することによって任意に設定できる。オリフィス 1 2 において、高速で高周波の液滴を形成するためには、オリフィス 1 2 におけるサンプル液層流 S 及びシース液層流 T の層流幅を小さくして、サンプル液及びシース液の排出圧を十分に高めることが好ましい。このため、オリフィス部の流路を構成する微細管 1 2 1 の内径 d は、2 0 ~ 5 0 0  $\mu\text{m}$  程度とすることが好適となる。

30

【 0 0 8 3 】

#### 4 . マイクロチップモジュール

##### ( 1 ) 振動素子

図 1 3 は、上記マイクロチップ 1 を要素として含むマイクロチップモジュールの構成を示す図である。

【 0 0 8 4 】

図中、符号 2 は、マイクロチップ 1 上に配設された振動素子を示している。振動素子 2 は、マイクロチップ 1 を振動させることにより、オリフィス 1 2 においてサンプル液及びシース液を液滴化してチップ外の空間に吐出させる。さらに、振動素子 2 は、マイクロチップ 1 の振動を所定の周波数とすることにより、吐出される液滴 D に微小粒子 P がひとつずつ含まれるようにサンプル液等を液滴化する ( 図 6 も参照 )。

40

【 0 0 8 5 】

この際、振動素子 2 の振動周波数は、光照射部 3 3 ( 図 3 参照 ) において光学検出手段 3 により検出される微小粒子 P の送流速度 ( 流速 )、マイクロチップ 1 の共振周波数、オリフィス 1 2 における送液圧、オリフィス 1 2 の径などに応じて設定される。

【 0 0 8 6 】

このような振動素子を用いたサンプル液及びシース液の液滴化は、従来のフローセルを

50

用いたフローサイトメトリーと同様に行うことができる。振動素子 2 としては、例えば、インクジェットプリンタにも採用される piezo 振動素子等が用いられる。

【0087】

振動素子 2 は、マイクロチップ 1 の裏面、すなわちマイクロチップモジュールをソーティングカバー A<sub>3</sub> に差し込んで取り付けられた状態において本体 A<sub>1</sub> 側となる面、に配されることが好ましい（図 4 も参照）。振動素子 2 を裏面に配することで、マイクロチップモジュールの取り付け時において、振動素子 2 によってサンプル流路が被覆されなくなる。そのため、サンプル流路の視認性を確保して、流路内に微小粒子や気泡の詰まりが生じていないかを確認することができる。また、振動素子 2 は、振動をオリフィス 12 に効率的に伝達するため、オリフィス 12 に近い位置に配設することが好ましい。なお、振動素子 2 は、本体 A<sub>1</sub> 側に配設されていてもよく、この場合、マイクロチップモジュールの取り付け時（図 3 参照）において、マイクロチップ 1 の一部に当接するように本体 A<sub>1</sub> に配設してもよいものとする。

10

【0088】

（2）ホルダーとポート

図 13 中、符号 7 は、マイクロチップ 1 を保持して、マイクロチップ 1 を装置本体に取り付けのためのアダプターとして機能するホルダーを示す。ホルダー 7 は、マイクロチップ 1 と同様の光透過性を有する材質とし、マイクロチップ 1 に形成されたサンプル流路や吸引流路等の視認性を確保することが好ましい。これにより、流路内に微小粒子や気泡の詰まりが生じた場合に、詰まった箇所を容易に確認できる。

20

【0089】

ホルダー 7 には、吸引ポート 71、シースポート 72、サンプルポート 73、コネクタ 74 が直線上に配置されている。吸引ポート 71 は、吸引アウトレット 19 に連通し、負圧源が接続される。シースポート 72 とサンプルポート 73 は、それぞれサンプルインレット 15 とシースインレット 14 に連通し、サンプル液又はシース液の供給路が接続される。

【0090】

コネクタ 74 は、振動素子 2 用の 2 つの電極と 1 つの荷電電極とが一体化されてなり、これらの電極には、本体から配線が接続される。コネクタ 74 の振動素子 2 用の電極からは、マイクロチップ 1 の裏面に配設された振動素子 2 への配線が延設されている。また、コネクタ 74 の荷電電極は、マイクロチップ 1 の荷電電極インレット 20 に挿入され、シース液内に浸漬される。荷電電極は、サンプル流路 11 を通流するシース液及びサンプル液に対し、正又は負の電荷を付与する荷電手段として機能する。サンプル液及びシース液は、サンプル流路 11 の一端に設けられたオリフィス 12 において液滴化され、チップ外の空間に吐出される。このとき、荷電電極に電圧を印加することで、吐出される液滴に正又は負の電荷を付与できる。

30

【0091】

本発明に係るマイクロチップモジュールは、吸引アウトレット 19 及びサンプルインレット 15、シースインレット 14、荷電電極インレット 20 をマイクロチップの中央（図中、Y 軸方向中央）に一行に配し、これらに対応する吸引ポート 71 及びシースポート 72、サンプルポート 73、コネクタ 74 をホルダー 7 上に直線状に配列させている。これにより、マイクロチップ 1 に形成されたサンプル流路や吸引流路等の視認性を高めている。

40

【0092】

5. 微小粒子分取装置の動作

続いて、微小粒子分取装置 A の動作について図 14 を参照しながら説明する。

【0093】

サンプル流路 11 の光照射部を通過したサンプル液及びシース液は、オリフィス 12 からチップ外の空間に排出される。光照射部では、光学検出手段によって、微小粒子の光学特性の検出と同時に、微小粒子の送流速度（流速）及び微小粒子の間隔等の検出が行われ

50



ている。検出された微小粒子の光学特性、流速及び間隔等は、電気的信号に変換され装置の全体制御部（不図示）に出力される。全体制御部は、この信号に基づいて振動素子 2 の振動数を制御し、オリフィス 1 2 において形成される液滴 D 中に微小粒子 P がひとつずつ含まれるようにマイクロチップ 1 を振動させる。

【 0 0 9 4 】

さらに、全体制御部は、荷電電極インレット 2 0 に差し込まれる荷電電極に印加される電圧を、振動素子 2 の振動周波数に同調させて制御する。これにより、全体制御部は、サンプル流路 1 1 を通流するシース液及びサンプル液に付与される電荷の正負を切り換え、オリフィス 1 2 において形成される液滴 D に正又は負の電荷を付与する。光学検出手段によって検出された微小粒子の光学特性は、電気信号に変換されて全体制御部に出力される。全体制御部は、この信号に基づいて荷電電極に印加される電圧を制御し、各液滴に含まれる微小粒子の光学特性に応じて液滴に付与する電荷を決定する。具体的には、全体制御部は、例えば、所望の特性を有する分取対象微小粒子を含む液滴を正に、分取対象微小粒子を含まない液滴を負に帯電させる。

10

【 0 0 9 5 】

この際、液滴 D の荷電状態を安定化させるため、微小粒子分取装置 A では、オリフィス 1 2 近傍に、チップ外の空間に吐出された液滴の移動方向に沿って、接地電極 6 , 6 を配置している。接地電極 6 , 6 は、移動する液滴を挟んで対向するように配置されており、微小粒子の移動方向を制御するための対電極 4 1 , 4 2 とオリフィス 1 2 との間に配設される。

20

【 0 0 9 6 】

オリフィス 1 2 から荷電されて吐出される液滴 D は、対電極 4 1 , 4 2 との間に作用する電気的力によって移動方向を制御される。この際、移動方向の制御を正確に行うためには、安定した電荷が液滴に付与されていることが必要である。対電極 4 1 , 4 2 には、非常に高い電圧が印加されるため、対電極 4 1 , 4 2 の高電位が、オリフィス 1 2 において微小管 1 6 から液滴 D に付与される電荷に影響を与えると、液滴 D の荷電状態が不安定になるおそれがある。そこで、微小粒子分取装置 A では、オリフィス 1 2 と対電極 4 1 , 4 2 との間に接地された接地電極 6 , 6 を配することで、このような対電極 4 1 , 4 2 の高電位による影響を排除している。

30

【 0 0 9 7 】

オリフィス 1 2 から吐出される液滴 D の移動方向の制御は、例えば、以下のように行われる。すなわち、所望の特性を有する分取対象微小粒子が含まれる液滴を正に、分取対象微小粒子を含まない液滴を負に帯電させる先の例では、対電極 4 1 を正に、対電極 4 2 を負に帯電させることにより、分取対象微小粒子のみを容器 5 3 に分取することができる。具体的には、正電荷が付与された分取対象微小粒子を含む液滴は、対電極 4 1 との電気的反発力及び対電極 4 2 との電気的吸引力によって、移動方向を矢印  $f_3$  方向に制御され容器 5 3 に誘導される。一方、負電荷が付与された分取対象微小粒子を含まない液滴は、動方向を矢印  $f_2$  方向に制御され容器 5 2 に誘導される。

【 0 0 9 8 】

あるいは、例えば、所望の特性を有する分取対象微小粒子が含まれる液滴に電荷を付与せず、分取対象微小粒子を含まない液滴を正又は負に帯電させ、対電極 4 1 , 4 2 を正又は負に帯電させれば、分取対象微小粒子のみを容器 5 1 に分取することができる。その他、液滴 D に付与する電荷と、対電極 4 1 , 4 2 による液滴の移動方向の制御は、従来のフローサイトメトリと同様に様々な組合せにおいて行うことができる。なお、液滴 D を回収するための容器は 2 以上設けられ、3 つに限定されることはないものとする。さらに、これらの容器は、回収した液滴を貯留することなく排出する排出路として構成されていてもよく、回収された分取対象でない微小粒子が破棄されるようにしてもよい。

40

【 0 0 9 9 】

ここでは、液滴 D に、その液滴に含まれる微小粒子の特性に基づいて正又は負の電荷を切り換えて付与して分取を行う場合を例に説明した。液滴の分取は、液滴 D には全てに正

50

又は負のどちらかに帯電させ、対電極 4 1 , 4 2 に印加する電圧のほうを微小粒子の特性に基づいて切り換えることにより行うこともできる。また、光学検出手段を電氣的又は磁氣的な検出手段に置換した場合にも、微小粒子の電氣的又は磁氣的特性に基づき同様にして液滴の移動方向を制御することで、所望の特性を備えた微小粒子を容器 5 1 ~ 5 3 のいずれかに回収し、分取することが可能である。

#### 【 0 1 0 0 】

先に説明したように、従来のフローセルを用いたフローサイトメトリーでは、層流形成のための流路系を構成するフローセル部品と、液滴を形成するためのオリフィス部品が、高価で、それぞれの位置を層流が乱れないように微調整（アライメント）する必要がある、使い捨て可能な構成とされていないため、サンプル間のクロスコンタミネーションが生じるおそれがあった。これに対して、微小粒子分取装置 A では、層流形成及び微小粒子の特性検出を、フローセル部品とオリフィス部品を一体としたディスポーザブルユースが可能なマイクロチップ 1 において行うため、測定間でのサンプルのクロスコンタミネーションが生じない。さらに、従来のようなアライメントが不要になり、使用者がより簡便に分取を行うことが可能となる。

10

#### 【 0 1 0 1 】

また、微小粒子分取装置 A では、微小粒子の移動方向の制御をチップ外の空間で行うことで、従来の  $\mu$  - T A S を応用したフローサイトメトリーのように、微小粒子の移動方向の制御を通流する液体中で行う必要がなく、より高い分取速度を達成することができる。さらに、微小粒子分取装置 A では、サンプル流路 1 1 内においてサンプル液及びシース液の送液圧を十分に高め、オリフィス 1 2 から高速で高周波の液滴を吐出することが可能であり、高い分取速度が得られる。

20

#### 【 符号の説明 】

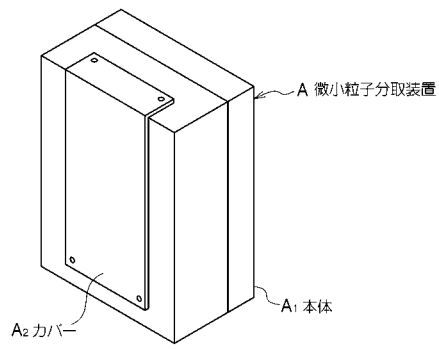
#### 【 0 1 0 2 】

A : 微小粒子分取装置、A<sub>1</sub> : 本体、A<sub>2</sub> : カバー、A<sub>3</sub> : ソーティングカバー、D : 液滴、P : 微小粒子、S : サンプル液層流、T : シース液層流、1 , 1 0 1 : マイクロチップ、1 a , 1 b : 基板層、1 1 : サンプル流路、1 2 : オリフィス、1 2 1 : 微細管、1 3 : 変換流路、1 4 : シースインレット、1 5 : サンプルインレット、1 6 : 微小管、1 6 1 : 開口、1 7 : 絞込流路、1 8 : 吸引流路、1 8 1 : 連通口、1 9 : 吸引アウトレット、2 : 振動素子、2 0 : 荷電電極インレット、3 : 光学検出手段、3 3 : 光照射部、4 , 4 1 , 4 2 : 対電極、4 3 : 対電極端子、5 1 , 5 2 , 5 3 : 容器、6 : 接地電極、6 3 : 接地電極端子、7 : ホルダー、7 1 : 吸引ポート、7 2 : シースポート、7 3 : サンプルポート、7 4 : コネクタ

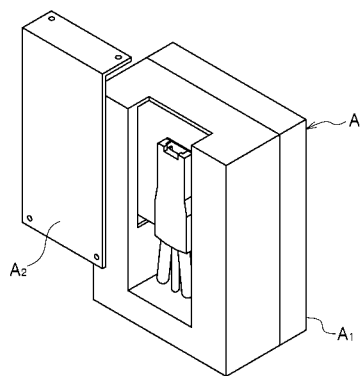
30

【図 1】

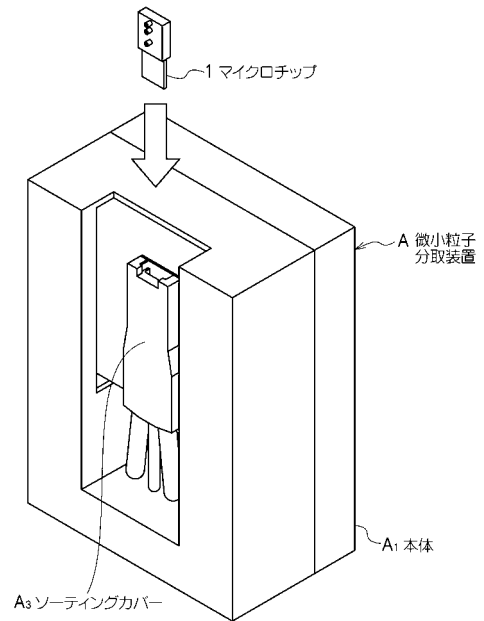
(A)



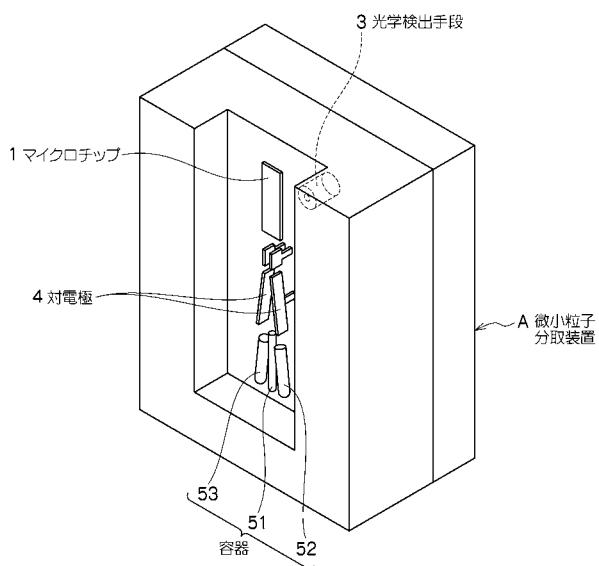
(B)



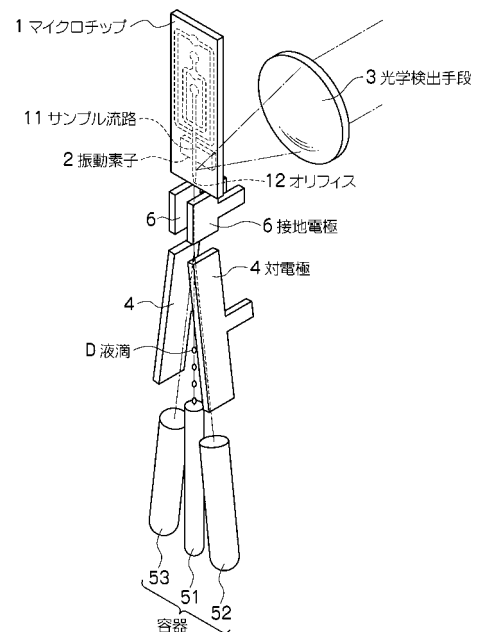
【図 2】



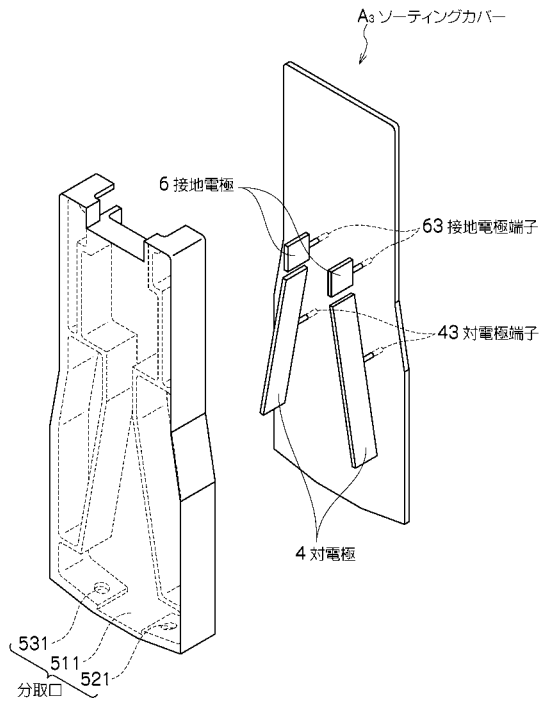
【図 3】



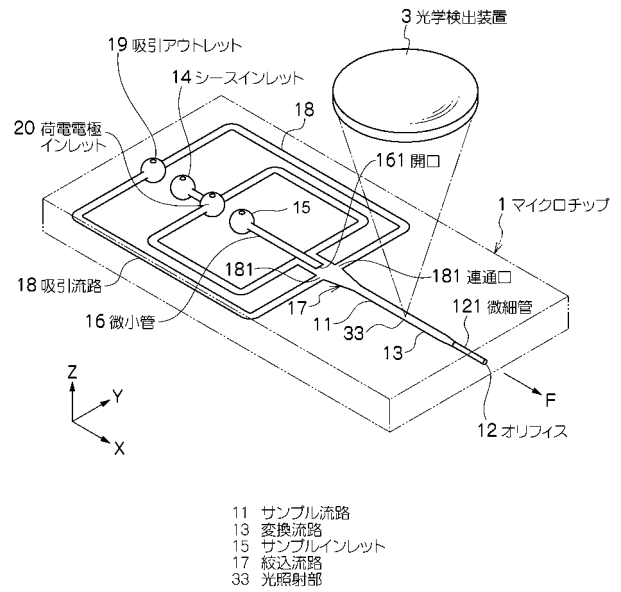
【図 4】



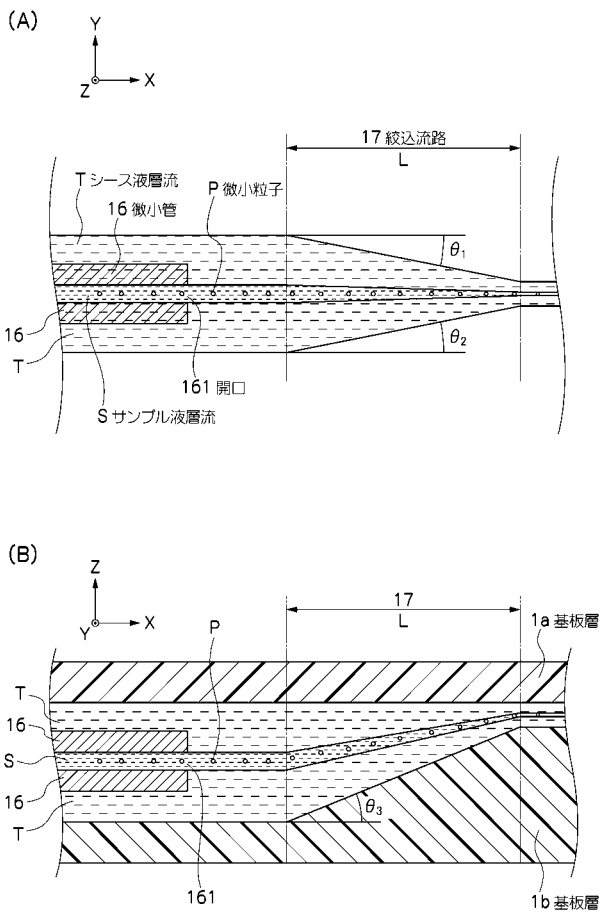
【図 5】



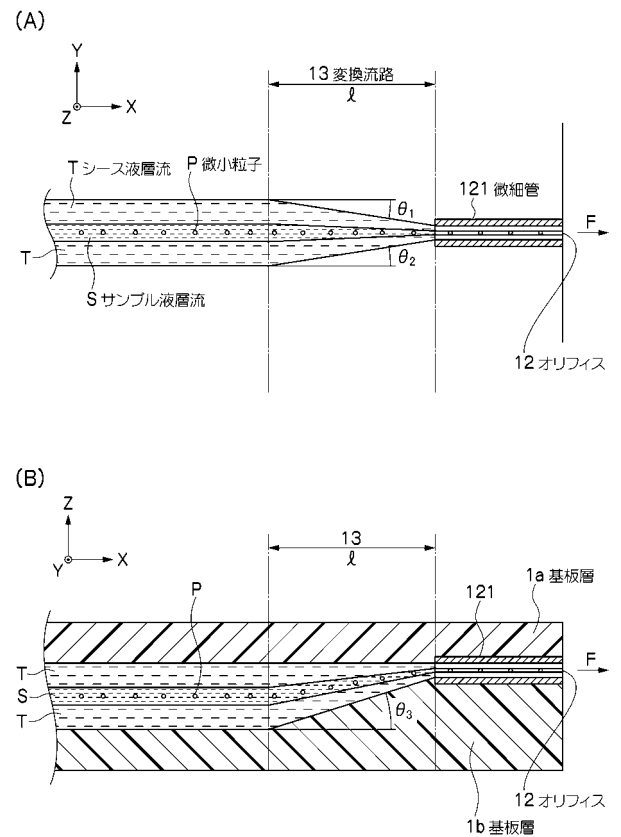
【図 6】



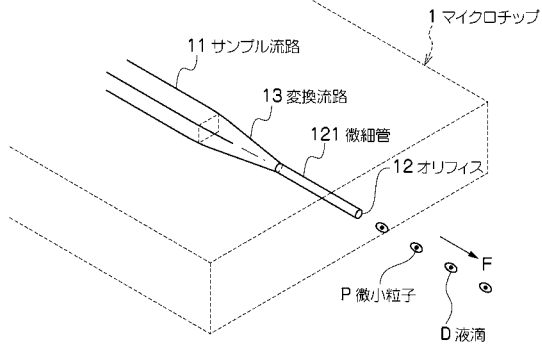
【図 7】



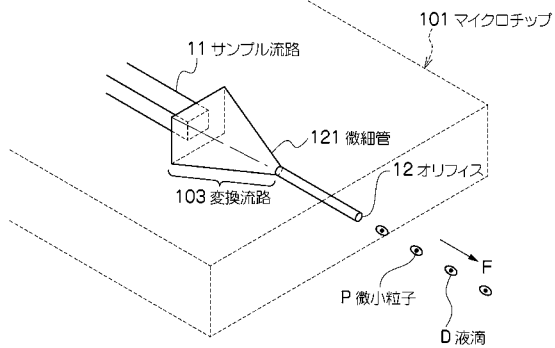
【図 8】



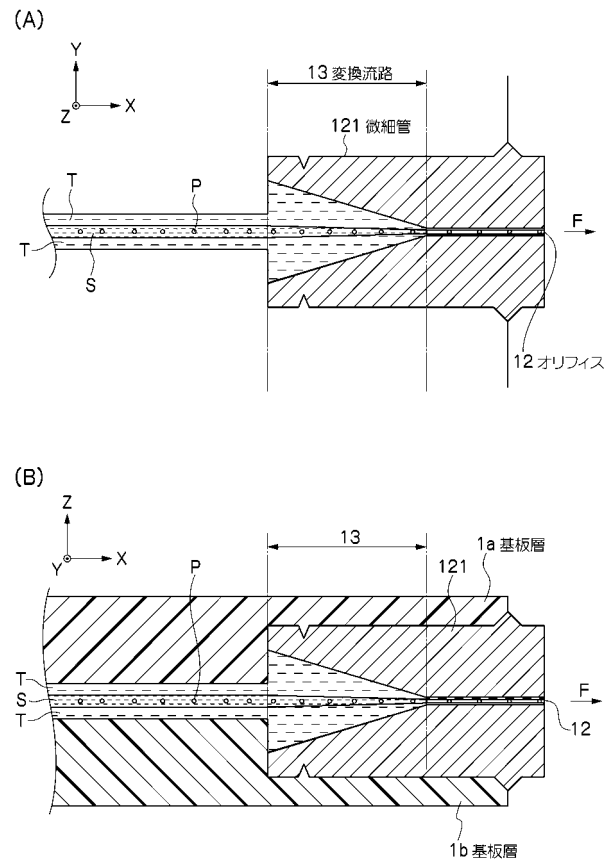
【図 9】



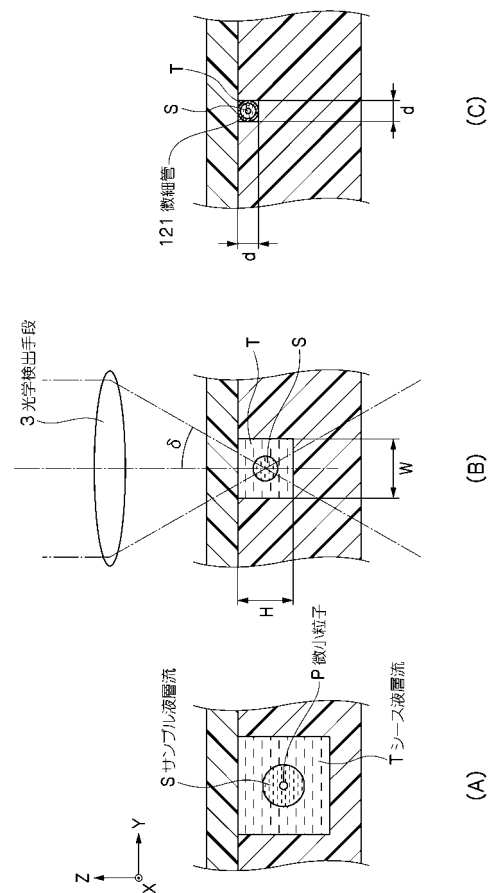
【図 11】



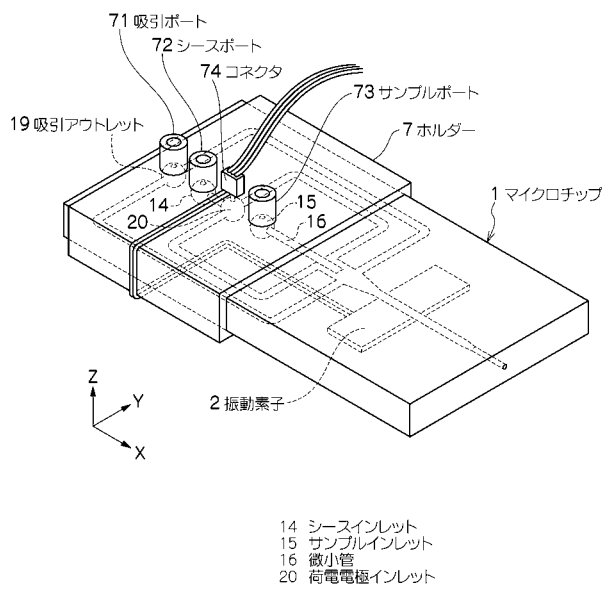
【図 10】



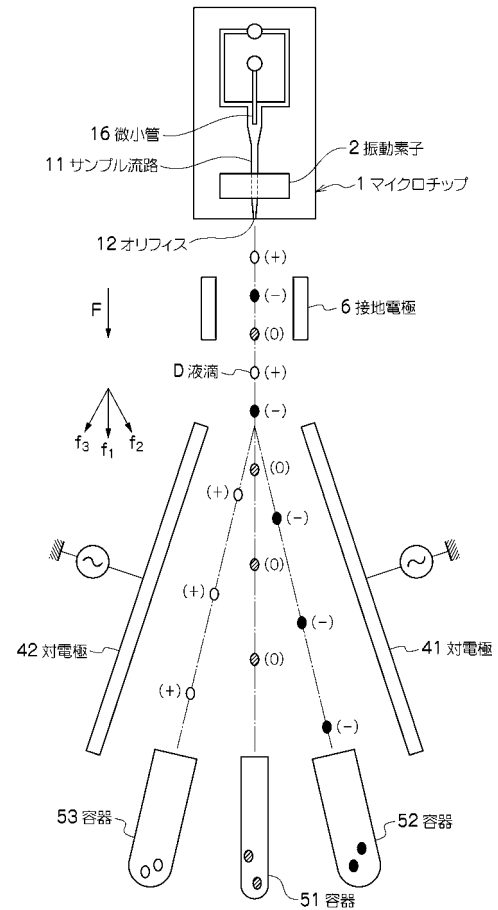
【図 12】



【図 13】



【図 14】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 山崎 剛  
東京都港区港南 1 丁目 7 番 1 号 ソニー株式会社内
- (72)発明者 秋山 昭次  
東京都港区港南 1 丁目 7 番 1 号 ソニー株式会社内