



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I811304 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：108106275

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 02 月 25 日

(51)Int. Cl. : G01N33/48 (2006.01)

G01N21/05 (2006.01)

G01N21/27 (2006.01)

(30)優先權：2018/02/26 日本

2018-031757

(71)申請人：日商富士軟片股份有限公司 (日本) FUJIFILM CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：大場孝浩 OBA, TAKAHIRO (JP)；小倉宏 OGURA, TAKAHIRO (JP)；伊藤晃
寿 ITO, KOJU (JP)

(74)代理人：葉璟宗；卓俊傑

(56)參考文獻：

CN 106513066A

JP 2011-528232A

JP 2012-194020A

JP 2015-138127A

JP 2018-11590A

審查人員：林永昌

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：11 共 35 頁

(54)名稱

流路裝置

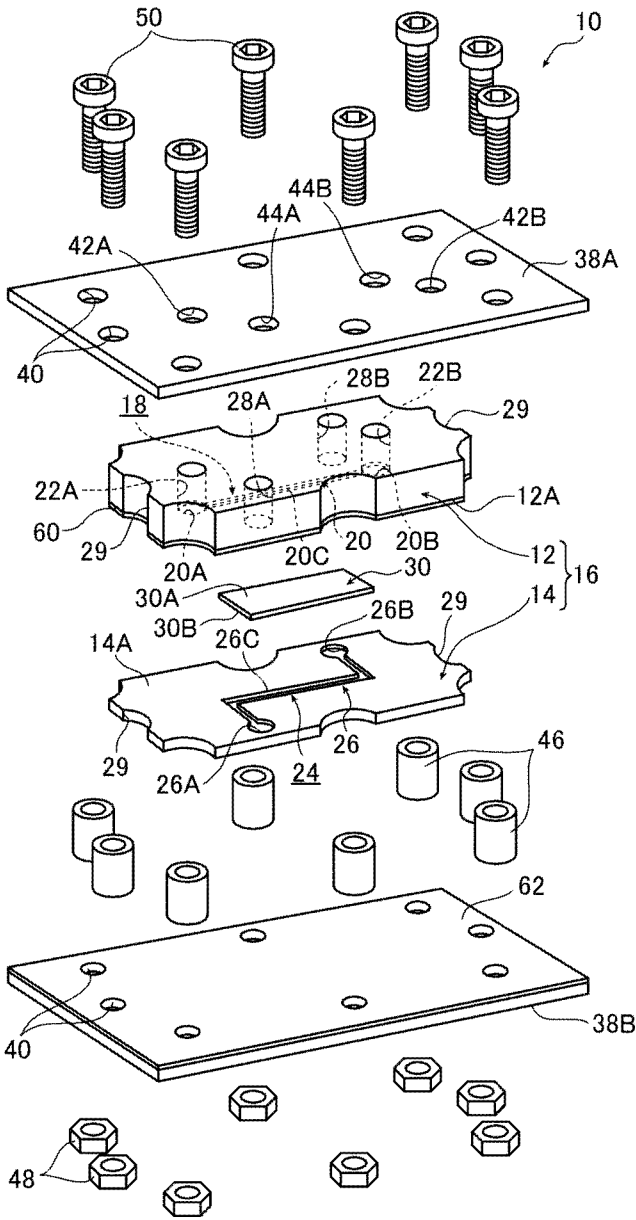
(57)摘要

本發明之課題為提供一種同時進行光學測量和電測量之流路裝置。藉由如下解決課題，亦即，該流路裝置具有：第 1 流路構件，具有第 1 流路；第 2 流路構件，具有第 2 流路；多孔膜，設置在第 1 流路構件與第 2 流路構件之間；及一對透明電極，夾著第 1 流路和第 2 流路而設置。

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 10 . . . 流路裝置
- 12 . . . 第 1 流路構件
- 12A、14A . . . 對向面
- 14 . . . 第 2 流路構件
- 16 . . . 流路單元
- 18 . . . 第 1 流路
- 20 . . . 凹部
- 20A、26A . . . 流入口
- 20B、26B . . . 流出口
- 20C、26C . . . 流路部
- 22A、22B、28A、28B . . . 貫通孔
- 24 . . . 第 2 流路
- 26 . . . 貫通孔
- 29 . . . 凹部
- 30 . . . 多孔膜
- 30A . . . 上表面
- 30B . . . 下表面
- 38A、38B . . . 保持板
- 40 . . . 螺栓孔
- 42A、42B、44A、44B . . . 貫通孔
- 46 . . . 間隔物
- 48 . . . 螺母
- 50 . . . 螺栓
- 60 . . . 第 1 透明電極
- 62 . . . 第 2 透明電極



【圖2】



I811304

【發明摘要】

【中文發明名稱】流路裝置

【英文發明名稱】FLOW CHANNEL DEVICE

【中文】本發明之課題為提供一種同時進行光學測量和電測量之流路裝置。藉由如下解決課題，亦即，該流路裝置具有：第1流路構件，具有第1流路；第2流路構件，具有第2流路；多孔膜，設置在第1流路構件與第2流路構件之間；及一對透明電極，夾著第1流路和第2流路而設置。

【指定代表圖】圖2。

【代表圖之符號簡單說明】

10：流路裝置

12：第 1 流路構件

12A、14A：對向面

14：第 2 流路構件

16：流路單元

18：第 1 流路

20：凹部

20A、26A：流入口

20B、26B：流出口

20C、26C：流路部

22A、22B、28A、28B：貫通孔

24：第 2 流路

26：貫通孔

29：凹部

30：多孔膜

30A：上表面

30B：下表面

38A、38B：保持板

40：螺栓孔

42A、42B、44A、44B：貫通孔

46：間隔物

48：螺母

50：螺栓

60：第1透明電極

62：第2透明電極

【特徵化學式】

無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】流路裝置

【英文發明名稱】FLOW CHANNEL DEVICE

【技術領域】

【0001】 本發明係有關一種在藥學研究中等中使用之流路裝置。

【先前技術】

【0002】 近年來，嘗試著將具有被稱為微流路之微米級寬度的流路之流路裝置用作血管、腸道、肝及肺等器官模型。

【0003】 例如，專利文獻 1 中記載有如下流路裝置（具有微通道之器官模仿裝置），其構成為包括在內部具有中央微流路（微通道）之主體及配置於中央微流路內之至少局部性的多孔膜，多孔膜將中央微流路分離而形成第 1 中央微流路與第 2 中央微流路，第 1 流體流入第 1 中央微流路，第 2 流體流入第 2 中央微流路，而且，多孔膜上固定有複數種細胞（活體細胞）。

【0004】 該流路裝置在將細胞固定於多孔膜之狀態下，使空氣、血液、水、細胞、化合物、粒子及培養液等在第 1 中央微流路及第 2 中央微流路流動，藉此能夠對再現器官之多孔膜進行各種分析。

【0005】 作為一例，使貼有螢光標誌之大分子（例如重量不同的葡聚糖）在流微流路流動來測量螢光，藉此能夠評價形成於多孔膜之細胞層的透射性。

又，使液體流入微流路，使用透射型電子顯微鏡、免疫組織細胞化學、共聚焦顯微鏡及其他適當的機構對多孔膜上的細胞進行拍攝（可視化），藉

此能夠對形成於多孔膜之細胞層等的結構進行評價。

而且，作為感測器，使用電極、紅外線或光檢測機構（相機及 LED（發光二極體：Light Emitting Diode））、磁檢測機構等，藉此還能夠對形成於多孔膜之細胞層等特性及狀態等進行監測。例如，使用電極來測量電位差、電阻及短路電路電流等電特性，藉此能夠確認通過於多孔膜上形成之細胞層等之流體及離子等的輸送功能及勢壘的形成等。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0006】 [專利文獻 1]日本特開 2011-528232 號公報

【0007】 然而，由於人體複雜，因此為了利用流路裝置準確地進行細胞等的評價，僅藉由 1 種測量是不夠的。亦即，為了利用流路裝置進行細胞等的準確的評價，例如，同時進行多孔膜上的細胞的拍攝和使用電極之電阻值的測量等，同時進行複數種測量，並依據複數個測量結果來進行評價為較佳。

【0008】 然而，在以往的流路裝置中難以同時進行複數種測量，尤其難以同時進行使用螢光標誌之測量及細胞的拍攝等光學測量和電測量。

【發明內容】

【0009】 本發明的目的為解決這種以往技術問題，提供一種被用作器官模型等之流路裝置，該流路裝置能夠同時進行光學測量和電測量。

【0010】 為了解決該課題，本發明具有以下結構。

[1]一種流路裝置，其特徵為，具有：

第 1 流路構件，具有第 1 流路；

第 2 流路構件，具有第 2 流路；

多孔膜，設置於第 1 流路構件與第 2 流路構件之間；及

一對透明電極，夾著第 1 流路和第 2 流路而設置。

[2]如[1]所述之流路裝置，其中一對透明電極由與第 1 流路接觸之透明電極及與第 2 流路接觸之透明電極構成。

[3]如[1]或[2]所述之流路裝置，其中至少一個透明電極為面狀電極。

[4]如[3]所述之流路裝置，其中從與第 1 流路構件的主表面正交之方向觀察時，至少一個透明電極為內包多孔膜之面狀電極。

[5]如[1]至[4]中任一項所述之流路裝置，其中在第 1 流路構件的第 1 流路的形成面的整個面形成有透明電極。

[6]如[1]至[5]中任一項所述之流路裝置，其中第 2 流路構件為具有成為第 2 流路之貫通孔之板材，該流路裝置還具有與第 2 流路構件抵接而閉塞成為第 2 流路之貫通孔之保持板，透明電極形成於保持板的第 2 流路構件的抵接面的整個面。

[7]如[1]至[6]中任一項所述之流路裝置，其中第 1 流路構件或第 1 流路構件及第 2 流路構件由高分子材料構成，透明電極包含碳納米管。

[8]如[6]所述之流路裝置，其中保持板由高分子材料構成，形成於保持板的第 2 流路構件的抵接面的整個面之透明電極包含碳納米管。

[9]如[1]至[8]中任一項所述之流路裝置，其中多孔膜具有排列成蜂窩狀之貫通孔。

[10]如[1]至[9]中任一項所述之流路裝置，其中多孔膜由高分子材料構成。

[11]如[1]至[10]中任一項所述之流路裝置，其中多孔膜上固定有細胞。

[12]如[11]所述之流路裝置，其中固定於多孔膜之細胞為在多孔膜的一個面與另一個面不同之細胞。

[發明效果]

【0011】 依本發明的流路裝置，能夠同時進行光學測量和電測量。

【圖式簡單說明】

【0012】

圖 1 係表示本發明的流路裝置的一例的整體結構之概略立體圖。

圖 2 係表示圖 1 所示之流路裝置的整體結構之概略分解立體圖。

圖 3 係表示圖 1 所示之流路裝置的多孔膜的一例之概略俯視圖。

圖 4 係圖 3 的 B-B 線概略剖面圖。

圖 5 係表示固定流路單元之前的流路裝置之圖 1 中的 A-A 線概略剖面圖。

圖 6 係表示固定流路單元之後的流路裝置之圖 1 中的 A-A 線概略剖面圖。

圖 7 係概念性地表示使用圖 1 所示之流路裝置之測量方法的一例之圖。

圖 8 係表示圖 1 所示之流路裝置的製作製程之概略剖面圖。

圖 9 係表示圖 1 所示之流路裝置的製作製程之概略剖面圖。

圖 10 係表示圖 1 所示之流路裝置的製作製程之概略剖面圖。

圖 11 係表示圖 1 所示之流路裝置的製作製程之概略剖面圖。

【實施方式】

【0013】 以下，依據附圖所示之較佳之實施形態對本發明的細胞培養單元

進行詳細說明。

另外，以下所示之實施形態為例示出本發明的一例之形態，並不對本發明的範圍進行限制。又，為了明確地進行各構成構件的說明，適當地變更圖中的各構成構件的尺寸。因此，圖中的比例尺與實際不同。

【0014】 <流路單元>

圖 1 中具有本發明的流路裝置的一例的概略立體圖，圖 2 中具有將圖 1 所示之流路裝置分解之概略立體圖。

另外，圖示例僅係本發明的一實施形態，本發明的流路裝置並不限制於該實施形態。

【0015】 如圖 1 及圖 2 所示，流路裝置 10 具有由在厚度方向上積層之第 1 流路構件 12 和第 2 流路構件 14 構成之流路單元 16。以下說明中，亦將圖 1 及圖 2 中的上側稱為“上”，將圖 1 及圖 2 中的下側稱為“下”。圖 1 及圖 2 中的上側為第 1 流路構件 12 側，圖 1 及圖 2 中的下側為第 2 流路構件 14 側。

【0016】 關於第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 的材料，作為一例，PDMS（聚二甲基二矽氧烷）等具有彈性之透明的材料為較佳。

另外，作為構成第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 之材料，除了 PDMS 以外，還可舉出環氧系樹脂、聚胺酯系樹脂、苯乙烯系熱塑性彈性體、烯烴系熱塑性彈性體、丙烯酸系熱塑性彈性體及聚乙烯醇等高分子材料（樹脂材料、聚合物）。

【0017】 在此，第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 為橡膠硬度係 20～80 度為較佳，50～70 度為更佳。

“橡膠硬度”能夠藉由利用 JIS K6253：2012 中規定之方法並使用類型 A 的硬度計測量第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 的硬度來進行評價。

【0018】 如圖 2 所示，在第 1 流路構件 12 的下表面、亦即與第 2 流路構件 14 的對向面 12A 上，形成有形成第 1 流路 18（第 1 微流路 18）之凹部 20。凹部 20 具有流入口 20A 及流出口 20B、以及將流入口 20A 和流出口 20B 連通之流路部 20C。又，在第 1 流路構件 12 中分別形成有在厚度方向上貫通第 1 流路構件 12 且下端與流入口 20A 及流出口 20B 連通之貫通孔 22A 及 22B。第 1 流路 18（凹部 20）的寬度及深度，依據流路裝置 10 的尺寸及用途等而適當設定即可。

又，雖然將在後面進行詳細敘述，但是在第 1 流路構件 12 的下表面的包含凹部 20（第 1 流路 18）之整個表面形成第 1 透明電極 60（除去貫通孔）。

【0019】 另一方面，在第 2 流路構件 14 中形成有在厚度方向上貫通第 2 流路構件 14 且形成第 2 流路 24（第 2 微流路 24）之貫通孔 26。第 2 流路 24 藉由與第 2 流路構件 14 的下表面（與第 1 流路構件 12 相反的面）抵接，並設置後述之保持板 38B，以閉塞貫通孔 26 的下表面側來形成。第 2 流路 24（貫通孔 26）的寬度及深度只要依據流路裝置 10 的尺寸及用途等而適當設定。

貫通孔 26 具有流入口 26A 及流出口 26B、以及將流入口 26A 和流出口 26B 連通之流路部 26C。

【0020】 在此，第 2 流路構件 14 的流入口 26A 及流出口 26B 設置於在俯視下不與第 1 流路構件 12 的流入口 20A 及流出口 20B 重疊之位置。另一

方面，第 2 流路構件 14 的流路部 26C 設置於在俯視下與第 1 流路構件 12 的流路部 20C 重疊之位置。

另外，所謂俯視，換言之，表示從與第 1 流路構件 12 的主表面正交之方向觀察本發明的流路裝置 10 之情形。又，所謂主表面，表示片狀物、板狀物及薄膜狀物等的最大表面。

【0021】 又，在第 1 流路構件 12 中形成有在厚度方向上貫通第 1 流路構件 12 且下端與第 2 流路構件 14 的流入口 26A 及流出口 26B 連通之貫通孔 28A 及 28B。

而且，在流路單元 16（第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14）的外周面（側面）的配置後述之間隔物 46 之位置設置有凹部 29。

【0022】 <多孔膜>

在第 1 流路構件 12 的對向面 12A 與第 2 流路構件 14 的對向面 14A 之間配置有多孔膜 30。作為一例，多孔膜 30 由高分子材料構成，尤其，由能夠溶解於疏水性有機溶劑之疏水性高分子材料構成為較佳。另外，疏水性有機溶劑為相對於 25℃ 的水之溶解度係 10（g/100g 水）以下的液體。

【0023】 作為高分子材料，可舉出聚苯乙烯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯醯胺、聚甲基丙烯醯胺、聚氯乙烯、聚偏二氯乙烯、聚偏二氟乙烯、聚六氟丙烯、聚乙烯醚、聚乙烯吡啶、聚醋酸乙烯、聚四氟乙烯、聚酯、聚內酯、聚醯胺（芳族聚醯胺）樹脂及聚醯亞胺、聚胺甲酸酯、聚脲、聚丁二烯、聚碳酸酯、多環芳香烴、聚砵、聚醚砵、聚矽氧烷衍生物及纖維素醯化物等。

作為聚酯，例如例示出聚對酞酸乙二酯、聚萘二甲酸乙二酯、聚丁二酸

乙二酯、聚丁二酸丁二酯、聚乳酸及聚-3-羥丁酸酯等。作為聚內酯，例如例示出聚己內酯等。作為聚醯胺及聚醯亞胺，例如例示出尼龍及聚醯胺酸等。作為纖維素醯化物，例如例示出三乙醯基纖維素、醋酸丙酸纖維素及醋酸丁酸纖維素等。

【0024】 就對溶劑的溶解性、光學物性、電物性、膜強度及彈性等的觀點而言，依需要，該等高分子材料可以係均聚物、共聚物、聚合物摻合物及聚合物合金等。又，該等高分子材料可以單獨使用 1 種或混合使用 2 種以上。另外，多孔膜 30 的材料並不限制於高分子材料，就細胞的黏附性的觀點等而言，能夠選擇各種材料。

【0025】 多孔膜 30 的上表面 30A 及下表面 30B 具有大致覆蓋第 1 流路 18、第 2 流路 24 的流路部 20C 及流路部 26C 之大小。

多孔膜 30 設置成覆蓋第 1 流路 18 及第 2 流路 24。藉此，多孔膜 30 隔開第 1 流路 18 和第 2 流路 24。

【0026】 具體而言，多孔膜 30 的上表面 30A、亦即面向第 1 流路構件 12 之主表面與第 1 流路構件 12 的凹部 20 一起形成有第 1 流路 18。

又，多孔膜 30 的下表面 30B、亦即面向第 2 流路構件 14 之主表面與第 2 流路構件 14 的貫通孔 26 一同形成有第 2 流路 24。

【0027】 如圖 3 及圖 4 所示，在多孔膜 30 中形成有在厚度方向上貫通多孔膜 30 之複數個貫通孔 32，在多孔膜 30 的上表面 30A 及下表面 30B 分別設置有貫通孔 32 的開口 32A。又，如圖 3 所示，開口 32A 在俯視下呈圓形。開口 32A 彼此相互分開而設置，平坦部 34 延伸至相鄰之開口 32A 之間。另外，開口 32A 並不限制於圓形，可以係多邊形、橢圓形及不定形等。

【0028】 複數個開口 32A 被規則地配置。本發明中，作為一例，開口 32A 配置成蜂窩狀。

所謂蜂窩狀的配置，係指將平行六邊形或與其類似的形狀設為單元，且該開口 32A 的中心位於該等圖形的頂點及對角線的交點處之配置。平行六邊形正六邊形為較佳。

在此，所謂“開口的中心”，係指開口 32A 的俯視下的中心。

【0029】 另外，開口 32A 的配置並不限制於蜂窩狀，可以設為格柵狀或面心格柵狀。所謂格柵狀的配置，係指將平行四邊形或與其類似的形狀設為單元，且開口的中心位於該等圖形的頂點處之配置。所謂面心格柵狀的配置，係指將平行四邊形或與其類似的形狀設為單元，且開口的中心位於該等圖形的頂點及對角線的交點處之配置。上述記載中，平行四邊形中包括正方形、長方形及菱形，正方形為較佳。

另外，就容易實現以下所示之開口率之觀點而言，開口 32A 的配置係蜂窩狀為較佳。

【0030】 多孔膜 30 中，開口 32A 的開口直徑的變異係數係 10%以下為較佳，越小則越較佳。開口直徑的變異係數越小，則紅細胞等越能夠均勻地通過多孔膜 30 的複數個貫通孔 32。

又，多孔膜 30 的開口率（孔隙率）係 50%以上為較佳。藉由將開口率設為 50%以上，能夠抑制多孔膜 30 阻礙紅細胞等的遷移。另外，若孔隙率過大，則多孔膜 30 的強度相對於所需強度不足，因此孔隙率係 95%以下為較佳。

在此，所謂“開口率”，將假設多孔膜 30 的主表面平滑之情形、亦即假

設沒有開口 32AA 之情形下的多孔膜 30 的單位體積設為 $V1$ ，且將按該每單位體積設置之貫通孔 32 及連通孔 36 的容積之和設為 $V2$ ，將 $V1$ 和 $V2$ 的單位設為相同時，以百分比表示 $V2$ 與 $V1$ 的比例。

【0031】 如圖 4 所示，多孔膜 30 的貫通孔 32 呈切除球體的上端及下端而得之球梯形。又，相互相鄰之貫通孔 32 彼此在多孔膜 30 的內部藉由連通孔 36 而連通。

【0032】 1 個貫通孔 32 與所有相鄰之貫通孔 32 連通為較佳。如本發明那樣，複數個貫通孔 32 的開口 32A 配置成蜂窩狀時，1 個貫通孔 32 藉由 6 個連通孔 36 分別與 6 個相鄰之貫通孔 32 連通為較佳。

另外，貫通孔 32 可以係筒形、圓柱形及多棱柱形等，且連通孔 36 亦可以係連結相鄰之貫通孔 32 彼此之筒狀的孔隙。

【0033】 作為製作形成有貫通孔 32 之多孔膜 30 之方法，例如，可舉出奈米壓印法、結露法、蝕刻法、噴砂法及壓製成形等方法。

所謂奈米壓印法，係指藉由將構成多孔膜 30 之材料澆灌於具有凹凸形狀之模具中、或將模具壓製於構成多孔膜 30 之材料來製作貫通孔 32 之方法。又，所謂結露法，係指使構成多孔膜 30 之材料的表面結露，並將水滴作為模具而形成貫通孔 32 之方法。

【0034】 關於結露法，與其他方法相比，能夠使多孔膜 30 的膜厚變薄，並且能夠增加孔隙率及開口 32A 的開口率，且能夠在多孔膜 30 內設置連通孔 36。因此，本發明中，藉由結露法製作多孔膜 30。

關於結露法的詳細內容，例如記載於日本專利第 4945281 號公報、日本專利第 5422230 號公報、日本特開 2011-074140 號公報及日本專利第

5405374 號公報等中。

【0035】 另外，本發明的流路裝置 10 中，多孔膜並不限定於具有該種貫通孔者，能夠利用各種不織布及三維形成有孔隙之膜等、公知的多孔膜（多孔材料）。

【0036】 另外，關於本發明的流路裝置 10，多孔膜 30 的至少主表面的接種細胞之區域被選自包含纖維黏連蛋白、膠原蛋白、層黏連蛋白、玻連蛋白、明膠、基底膜蛋白聚糖、巢蛋白、蛋白多糖、骨橋蛋白、腱生蛋白、腎連蛋白、基底膜基質及聚賴胺酸之組群中之至少 1 種被覆為較佳。作為膠原蛋白，例如例示出 I 型膠原蛋白、IV 型膠原蛋白及 V 型膠原蛋白等。

藉由用該等材料被覆多孔膜 30 而能夠提高細胞的黏附性。

【0037】 又，在將本發明的流路裝置 10 用作器官模擬裝置（器官模型）等之情形下，可以在多孔膜 30 的主表面具有構成模擬對象的器官之細胞層。

藉由在多孔膜 30 的主表面具有細胞層，能夠將第 1 流路 18 內部及第 2 流路 24 內部設為與模擬對象的器官內部類似的環境。

亦即，本發明的流路裝置可以係用於培養細胞之細胞培養裝置，或者可以係用於進行具有細胞層之細胞和/或藥液等的評價等之測量之測量用流路裝置。

【0038】 作為設置於多孔膜 30 的主表面之細胞，例如例示出實質細胞、間質細胞、筋細胞、成纖維細胞、神經細胞、內皮細胞、上皮細胞及分化成該任一個之細胞等。

作為實質細胞，例如例示出肝實質細胞及胰實質細胞等。作為間質細胞，例如例示出周細胞。作為筋細胞，例如例示出平滑肌細胞、心肌細胞及骨骼

肌細胞等。作為內皮細胞，例如例示出血管內皮細胞及淋巴管內皮細胞等。作為上皮細胞，例如例示出肺泡上皮細胞、口腔上皮細胞、膽管上皮細胞、腸道上皮細胞、胰管上皮細胞、腎上皮細胞、腎小管上皮細胞及胎盤上皮細胞等。作為分化成該任一個之細胞，例如例示出前驅細胞、間充質幹細胞及多能幹細胞等。

【0039】 作為多能幹細胞，例如可舉出胚胎幹細胞（embryonic stem cell；ES 細胞）、人工多能幹細胞（induced pluripotent stem cell；iPS 細胞）、胚胎生殖細胞（embryonic germ cell；EG 細胞）、胚胎癌細胞（embryonal carcinoma cell；EC 細胞）、多能成體前驅細胞（multipotent adult progenitor cell；MAP 細胞）、成體多能幹細胞（adult pluripotent stem cell；APS 細胞）及 Muse 細胞（multi-lineage differentiating stress enduring cell）等。

【0040】 作為細胞，可以以再現病狀之目的使用具有基因突變之細胞和/或取自患者的細胞。

【0041】 關於設置在多孔膜 30 的主表面之細胞層，可以在雙面設置相同的細胞層，或者可以在每一個面設置相互不同的細胞層。

作為一例，藉由在多孔膜 30 的一個面設置血管內皮細胞層，且在多孔膜 30 的另一個面設置平滑肌細胞層，可獲得成為血管壁模型之流路裝置 10。

【0042】 <保持板>

如圖 1 及圖 2 所示，流路裝置 10 具有上側（第 1 流路構件 12 側）的保持板 38A 和下側（第 2 流路構件 14 側）的保持板 38B，來作為將流路單元 16 在厚度方向上壓縮之狀態下保持之保持構件。

保持板 38A 及保持板 38B 在流路單元 16 的厚度方向上的兩端、亦即

第 1 流路構件 12 的上側及第 2 流路構件 14 的下側與流路單元 16 分開而設置，且具有覆蓋第 1 流路構件 12 的整個上表面及第 2 流路構件 14 的整個下表面之大小。

【0043】 保持板 38A 及保持板 38B 均由硬質且透明的高分子材料構成為較佳。

因此，作為保持板 38A 及保持板 38B 的構成材料，可舉出環烯烴聚合物、丙烯酸、聚碳酸酯、聚苯乙烯、及聚對酞酸乙二酯等。又，保持板 38A 及保持板 38B 比上述第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 更硬為較佳，而且，橡膠硬度為 80 度以上為較佳，90 度以上為更佳。

【0044】 如圖 2 所示，在保持板 38A 及保持板 38B 的相互對應之位置，分別形成有在厚度方向上貫通之複數個螺栓孔 40。螺栓孔 40 在圖式例中為 8 個。又，在第 1 流路構件 12 的上側設置之保持板 38A，形成有與第 1 流路構件 12 的貫通孔 22A、貫通孔 22B、貫通孔 28A 及貫通孔 28B 分別連通之貫通孔 42A、貫通孔 42B、貫通孔 44A 及貫通孔 44B。

【0045】 另外，在貫通孔 42A、貫通孔 42B、貫通孔 44A 及貫通孔 44B 中，分別連接有未圖示之軟管，使溶液及細胞懸浮液等通過軟管並流入第 1 流路 18 及第 2 流路 24，且溶液及細胞懸浮液等從第 1 流路 18 及第 2 流路 24 流出。

【0046】 在一對保持板 38 之間的流路單元 16 的凹部 29 的外側，分別設置有規定保持板 38 的間隔之複數個的間隔物 46。間隔物 46 在圖示例中為 8 個。間隔物 46 為將內徑設為與螺栓孔 40 的內徑大致相同的大小之圓筒形狀的構件，且分別配置於與螺栓孔 40 相對應之位置。

【0047】 如圖 5 及圖 6 所示，一對保持板 38 藉由螺栓孔 40 及插入貫通至間隔物 46 並利用螺母 48 固定之複數個螺栓 50 相互接合。此時，第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 在其之間夾著多孔膜 30 之狀態下藉由一對保持板 38 壓縮並保持。

【0048】 <透明電極>

本發明的流路裝置 10 中，在與第 2 流路 24 抵接之保持板 38B 上，覆蓋與第 2 流路構件 14 的抵接面的整個表面而配置第 2 透明電極 62。如上所述，第 2 流路 24 藉由保持板 38B 與第 2 流路構件 14 的下表面抵接並閉塞貫通孔 26 的下表面來形成。因此，第 2 流路 24 的下表面側成為第 2 透明電極 62，亦即，第 2 透明電極 62 與第 2 流路 24 接觸。

又，如上所述，在第 1 流路構件 12 的下表面具有形成第 1 流路 18 之凹部 20。在第 1 流路構件 12 的下表面，覆蓋包含凹部 20 之整個表面而具有第 1 透明電極 60。亦即，第 1 透明電極 60 與第 1 流路 18 接觸。

流路裝置 10 中，由與第 1 流路 18 接觸之第 1 透明電極 60 及與第 2 流路 24 接觸之第 2 透明電極 62 構成一對透明電極（電極對）。

【0049】 本發明的流路裝置 10 藉由具有該種第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 而能夠同時進行光學測量和電測量。

【0050】 如上所述，由於人體複雜，因此為了利用流路裝置準確地進行細胞等的評價，僅藉由 1 種測量係不充分的，進行同時進行複數種的測量之、所謂的多重驗證為較佳。

作為使用流路裝置之測量，作為一例，能夠例示：如圖 7 中概念性地所示，使附加了螢光標誌之大分子流入第 1 流路 18 或第 2 流路 24，從光源 70

照射激發光，並藉由光感測器 72 測量螢光之膜的透射性的評價。

又，還進行如下：使液體流入第 1 流路 18 和/或第 2 流路 24，並利用透射型電子顯微鏡及螢光顯微鏡等攝像機 74 等對在多孔膜 30 上形成之細胞層等進行拍攝（可視化），藉此對細胞層等的結構進行評價。

而且，還進行如下：將電感測器 76 連接於第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62，測量電位差、電阻及短路電路電流等電特性，藉此對通過膜之流體及離子等的輸送功能、及勢壘的形成等進行評價。

【0051】 然而，以往的流路裝置中，若為了測量在多孔膜上形成之細胞層等的電特性，與第 1 流路及第 2 流路相對應地形成電極，則通常由於電極由金屬製造，因此電極作為遮光構件而發揮作用，無法適當地進行螢光的測量及細胞層的拍攝等光學測量及評價。

因此，以往的流路裝置中，無法同時進行電測量和光學測量。

【0052】 相對於此，本發明的流路裝置 10 中，夾著第 1 流路 18 和第 2 流路 24 而設置一對第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62。

關於本發明的流路裝置 10，即使夾著第 1 流路 18 和第 2 流路 24 而設置一對電極，由於為透明電極，因此電極亦不會妨礙螢光及細胞層的拍攝等的光學測量方法。因此，依據本發明的流路裝置 10，能夠同時進行使用如圖 7 所示之光源 70 和光感測器 72 之螢光的測量、使用攝像機 74 等之細胞層等的拍攝、及使用電感測器 76 之電阻的測量等光學測量和電測量。

又，由於使用透明電極，因此即使將電極設為面狀電極，亦不會妨礙光學測量。因此，能夠藉由面積足夠的電極來進行穩定的電測量。而且，還能夠提取在多孔膜 30 上形成之細胞層的面的電性質來作為電訊號。

【0053】 本發明的流路裝置 10 中，第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 具有導電性，且為透明的電極。

本發明中，所謂具有導電性，係指薄片電阻值為 $0.1 \sim 10,000 \Omega/\square$ (Ω/sq (Ohms per Square：歐姆每平方))，還包含通常稱為電阻層者。在使用通用電源之情形下，薄片電阻值低者為較佳，具體而言， $300 \Omega/\square$ 以下為較佳， $200 \Omega/\square$ 以下為更佳， $100 \Omega/\square$ 以下為進一步較佳。另外，本發明中，薄片電阻值（表面電阻率）可以依照 JIS (Japanese Industrial Standards：日本工業標準) K 7194 來進行測量。

又，本發明中，所謂透明，係指透射率為 $60 \sim 99.99\%$ 。透明電極的透射率係 75% 以上為較佳， 80% 以上為更佳， 90% 以上為進一步較佳。另外，本發明中，關於透射率，可以依照 JIS K 7361-1 來測量總光線透射率[%]。

【0054】 本發明的流路裝置 10 中，對於第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 的材料並無限制，各種電子器件（電子裝置、電子元件）中，能夠利用各種用作透明電極之材料。

具體而言，作為第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 中所含之材料，可舉出金屬氧化物、碳納米管、石墨烯、高分子導電體、金屬奈米線及金屬網等。作為金屬氧化物，例示出 ITO（氧化銦錫：Indium Tin Oxide）等。作為碳納米管，例示出 CNT（奈米碳管：Carbon Nanotube）及 CNB（碳奈米芽：Carbon Nanobud）等。作為高分子導電體，例示出聚乙炔、聚吡咯、多酚、聚苯胺及 PEDOT/PSS（聚乙烯二氧基噻吩/聚苯乙烯磺酸）等。作為金屬奈米線，例示出銀奈米線及銅奈米線等。作為金屬網，例示出銀網及銅網等。

關於金屬網的透明電極，就熱收縮率的觀點而言，相較於僅由金屬形成者，銀及銅等的導電性微粒分散於基質而形成者為較佳。

【0055】 由該等材料形成之透明電極可以藉由與材料對應之公知的方法來形成。

例如，若為包含碳奈米管之透明電極，則可以藉由如下塗佈法來形成透明電極，該塗佈法中，製備分散碳奈米管而成之塗料，並將所製備之塗料塗佈於第 1 流路構件 12 的下表面等、形成透明電極之部分並使其乾燥，進而依據需要進行熱處理。

若為包含碳奈米墊之透明電極，則同樣地，可以藉由 SID（Society for Information Display：國際訊息顯示學會）2015 DIGEST 1012 頁中所記載之直接乾式印刷（DDP）法，在第 1 流路構件 12 的下表面等、形成透明電極之部分形成透明電極。

而且，若為包含銀奈米線之透明電極，則同樣地，可以藉由美國專利申請公開第 2013/0341074 號說明書的實施例 1 中所記載之方法，在第 1 流路構件 12 的下表面等、形成透明電極之部分形成透明電極。

【0056】 在此，本發明的流路裝置 10 中，形成有第 1 透明電極 60 之第 1 流路構件 12 及形成有第 2 透明電極 62 之保持板 38B 均由高分子材料構成為較佳。

若考慮該方面，則作為構成第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 之材料，能夠藉由塗佈法形成之材料為較佳，而不係藉由電漿 CVD（Chemical Vapor Deposition：化學氣相沉積）、濺射及真空蒸鍍等的氣相沉積法（Vapor deposition method），其中，較佳地例示碳奈米管。又，本發明的流路裝置 10

中，如上所述，還能夠利用螢光的觀察等，但是在金屬氧化物等金屬材料中，還具有吸收激發光和/或螢光並發光之材料。在該方面，亦較佳為不吸收激發光和/或螢光之碳奈米管，來作為透明電極的材料。

【0057】 另外，雖然將在後面進行敘述，但是本發明的流路裝置中，透明電極並不限制於如本發明那樣形成於第 1 流路構件 12 的整個下表面及保持板 38B 的整個表面之構成。

【0058】 又，透明電極能夠利用各種形狀及尺寸。因此，透明電極可以係線狀，亦可以係面狀，但是依據上述理由，至少 1 個透明電極、較佳為 2 個透明電極係面狀電極為較佳。藉此，能夠藉由面積足夠的電極來進行穩定的電測量。

另外，本發明中，所謂面狀電極，表示面積大於藉由第 1 流路 18 及第 2 流路 24 被多孔膜 30 隔開之區域的面積之電極。

更佳為，從與第 1 流路構件 12 的主表面正交之方向觀察時，至少 1 個透明電極、較佳為 2 個透明電極係內包多孔膜 30 之形狀及尺寸為較佳。所謂從與第 1 流路構件 12 的主表面正交之方向觀察時，換言之，與上述俯視相同。尤其，如第 1 透明電極 60 那樣，與多孔膜 30 抵接之透明電極具有該種構成，藉此能夠提取在多孔膜 30 上形成之細胞層等的面的電性質，因此為較佳。

【0059】 <流路裝置的製作方法>

製作本發明的流路裝置 10 時，首先，準備在主表面貼付有殺菌紙之多孔膜 30。然後，藉由鉗子剝離多孔膜 30 的下表面 30B 的殺菌紙，如圖 8 所示，將多孔膜 30 載置於形成有貫通孔 26 之第 2 流路構件 14 上，並將多孔

膜 30 和第 2 流路構件 14 進行接合。

【0060】 接著，藉由鉗子剝離多孔膜 30 的上表面 30A 的殺菌紙，一邊藉由顯微鏡進行確認，一邊對準形成有第 1 透明電極 60 之第 1 流路構件 12 和第 2 流路構件 14 的位置，如圖 9 所示，將形成有凹部 20 之第 1 流路構件 12 積層於多孔膜 30 上。藉此，藉由第 1 流路構件 12 的凹部 20 和多孔膜 30 形成第 1 流路 18。又，第 1 流路 18 與形成有第 1 流路構件 12 之第 1 透明電極 60 接觸。

【0061】 接著，如圖 10 所示，一邊對準彼此的貫通孔 22A 及貫通孔 22B 和貫通孔 42A 及貫通孔 42B 的位置，一邊將保持板 38A 載置於第 1 流路構件 12 的上表面上。

然後，翻轉流路單元 16，並將形成有第 2 透明電極 62 之保持板 38B 載置於第 2 流路構件 14 的下表面。藉此，藉由第 2 流路構件 14 的貫通孔 26、多孔膜 30 及保持板 38A 形成第 2 流路 24。又，第 2 流路 24 與形成於保持板 38B 上之第 2 透明電極 62 接觸。

【0062】 最後，如圖 11 所示，在流路單元 16 的周圍配置間隔物 46，藉由螺栓 50 和螺母 48 緊固保持板 38A 和保持板 38B，藉此製作流路裝置 10。

另外，上述製作製程為一例，順序可以前後顛倒。又，可以在上述製程追加其他製程。

【0063】 <其他實施形態>

以上，對本發明的流路裝置的一實施形態進行了說明，但是本發明並不限於該實施形態，除上述構成以外，在不脫離本發明的主旨之範圍內，還能夠實施各種變形。

【0064】 例如，與第 1 流路 18 相對應之透明電極可以僅配置於第 1 流路 18（凹部 20）的整個壁面，或者可以僅配置於第 1 流路 18 的上表面，或者可以僅配置於第 1 流路 18 的側面，而不係包含凹部 20 之第 1 流路構件 12 的整個下表面。

同樣地，與第 2 流路 24 相對應之透明電極可以僅配置於保持板 38B 的與第 2 流路 24 相對應之部分，或者可以僅配置於第 2 流路 24（貫通孔 26）的側面，而不係保持板 38B 的整個表面。

【0065】 又，本發明中，透明電極可以不與第 1 流路 18 及第 2 流路 24 接觸。

例如，可以將與第 1 流路 18 相對應之透明電極配置於第 1 流路構件 12 的上表面亦即與多孔膜 30 相反的一側的面，且將與第 2 流路 24 相對應之透明電極配置於保持板 38B 的下表面亦即與多孔膜 30 相反的一側的面等、將與第 1 流路 18 相對應之透明電極及與第 2 流路 24 相對應之透明電極的至少 1 個與流路分開而配置。

藉由將透明電極與第 1 流路 18 和/或第 2 流路 24 分開而設置，能夠進行阻抗及介電常數的測量。

【0066】 亦即，本發明的流路裝置中，若 1 對透明電極夾著第 1 流路 18 及第 2 流路 24（其至少一部分）而設置，則能夠以各種形狀配置於各種位置。

【0067】 而且，本發明的流路裝置 10 具有在第 1 流路構件 12 與第 2 流路構件 14 之間配置多孔膜 30，且藉由保持板 38A 和保持板 38B 夾持該積層體之構成，但是本發明並不限制於該構成。

例如，不使用保持板，且使用具備具有底部之凹部之第 2 流路構件，來代替形成第 2 流路 24 之貫通孔 26，如專利文獻 1 中所記載之流路裝置（具有微通道之器官模仿裝置）那樣，可以藉由第 1 流路構件、多孔膜及第 2 流路構件構成流路裝置。

又，可以係如下構成：作為第 1 流路構件，使用具有形成第 1 流路之貫通孔來代替形成第 1 流路之凹部之第 1 流路構件，並藉由保持板閉塞貫通孔。此時，與第 1 流路相對應之透明電極可以設置於第 1 流路構件的下表面（多孔膜側的面），或者可以設置於保持板的主表面。

【0068】 以上，對本發明的流路裝置詳細地進行了說明，但是本發明並不限定於上述例，當然，可以在不脫離本發明的技術思想之範圍內，進行各種改良或變更。

[實施例]

【0069】 以下舉出實施例對本發明的特徵進行更具體的說明。但是，本發明的範圍不應由以下所示之具體例來進行限制性的解釋。

【0070】 <流路裝置的製作>

藉由上述方法，製作了如圖 1 所示之流路裝置 10。

第 1 流路構件 12 及第 2 流路構件 14 由 PDMS 製作，保持板 38A 及保持板 38B 由環烯烴聚合物製作。第 1 流路 18（凹部 20）及第 2 流路 24（貫通孔 26）的寬度均設為 300 μ m，且深度均設為 300 μ m。

又，藉由塗佈法，在第 1 流路構件 12 的下表面（凹部 20 的形成面）、及保持板 38B 的上表面（成為第 1 流路構件 12 側的面），形成了包含碳奈米管之、厚度為 0.5 μ m 的第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62。製作相同的

透明電極，並藉由上述方法進行確認之結果，第 1 透明電極 60 及第 2 透明電極 62 的薄片電阻值均為 $300\Omega/\square$ 以下，且透射率均為 80% 以上。

【0071】 作為多孔膜 30，準備了以蜂窩狀排列貫通孔 32 而得的聚碳酸酯的薄膜。用膠原蛋白被覆了該多孔膜 30 的表面。然後，將多孔膜 30 夾入殺菌紙中。

【0072】 藉由鉗子剝離了多孔膜 30 的一個面的殺菌紙。接著，使剝離了殺菌紙之面朝下，而將多孔膜 30 設置於第 2 流路構件 14 上（參閱圖 8）。

而且，利用棉棒將乙醇浸漬於多孔膜 30 中，將多孔膜 30 和第 2 流路構件 14 進行了接合。

【0073】 藉由鉗子剝離了多孔膜 30 的另一個面的殺菌紙。接著，使第 1 流路構件 12 和第 2 流路構件 14 對位，並將第 1 流路構件 12 積層於多孔膜 30 上（參閱圖 9）。

【0074】 接著，使彼此的貫通孔 22A 及貫通孔 22B 和貫通孔 42A 及貫通孔 42B 對位，將保持板 38A 載置於第 1 流路構件 12 的上表面。而且，翻轉積層體，在第 2 流路構件 14 的下表面配置了保持板 38B（參閱圖 10）。

而且，在流路單元 16 的周圍配置間隔物 46，藉由螺栓 50 和螺母 48 緊固保持板 38A 和保持板 38B，藉此製作了流路裝置 10（參閱圖 11）。

【0075】 <流路裝置內的細胞培養>

製備了源自骨髓之間充質幹細胞（Lonza 公司製造）的懸浮液（ 3×10^6 cells/mL（升））。將所製備之懸浮液 200 μ L 注入到流路裝置 10 的第 2 流路 24 中。

【0076】 翻轉流路裝置 10，並在 CO₂ 培養箱內以 37°C 靜放 3 小時之後，

使培養基以每分鐘 0.7 μ L 的速度流動，培養了一夜。

【0077】 接著，製備了以 CellTracker Orange（橙色）（Thermo Fischer 公司製造）進行了染色之、源自 iPS 細胞之血管內皮細胞（CDI 公司製造，iCell EC）的懸浮液（ 1×10^6 cells/mL）。

將所製備之懸浮液 200 μ L 注入到流路裝置 1 的第 1 流路 18 中。

【0078】 <細胞的測量>

使用倒置螢光顯微鏡（Olympus 公司製造，IX83），觀察了注入到第 1 流路 18 中之源自 iPS 細胞的血管內皮細胞的分佈。

接著，將螢光標誌葡聚糖（Thermo Fischer 公司製造，D1830）注入到第 1 流路 18 中，使用倒置螢光顯微鏡，觀察注入到第 1 流路 18 中之螢光標誌葡聚糖的分佈，並對螢光標誌葡聚糖向第 2 流路 24 的洩漏進行了評價。

同時，使用光檢測器（Hamamatsu Photonics K.K.製造，光電倍增管 H11902-20），檢測透射第 2 流路 24 之光量，並測量了洩漏到第 2 流路 24 中之螢光標誌葡聚糖的量。

【0079】 接著，將 Phenol Red（酚紅）（Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.製造）注入到第 1 流路 18 中，使用光檢測器（Thorlabs Japan Inc.製造，差分放大光檢測器 PDB210A/M），檢測透射第 2 流路 24 之光量，並測量了洩漏到第 2 流路 24 中之 Phenol Red 的量。此時，由於螢光標誌葡聚糖和 Phenol Red 中的分子量不同，因此在細胞結構中存在缺陷之情形下，能夠藉由比較各自的洩漏量來對缺陷的大小進行定量評價。

【0080】 使用 OCT（Optical Coherence Tomography：光學同調斷層掃描，參閱日本專利第 6184905 號公報），測量了第 1 流路 18 及第 2 流路 24 內的

細胞的立體結構、細胞層的構成及細胞層的厚度。

同時，在第 1 流路 18 中形成之第 1 透明電極 60、及在保持板 38B 中形成之第 2 透明電極 62 上安裝配線，以測量第 1 流路 18 及第 2 流路 24 內部的電阻（HIOKI 公司製造，數字式萬用表 DT4282），藉此對內部結構的狀態進行了監視。對於該電阻值高，表示緻密地配置有細胞，對於該電阻值低，表示在細胞之間產生了間隙，能夠依據電阻值來對細胞結構的狀態進行定量評價。

【0081】 如上所述，藉由使用本發明的流路裝置，進行組合基於倒置螢光顯微鏡的光學觀察、複數個示蹤劑的光檢測、OCT 及電測量之多重驗證，能夠無損及無創地評價細胞的結構及缺陷尺寸。

相對於此，僅藉由該等測量內的任一個單獨的測量，難以做到區分缺陷結構的原始的“間隙”和“缺陷”，並對各自的大小進行定量。另外，所謂缺陷係指細胞無法適當地存在之異常部分。

亦即，本發明的流路裝置對於基於多重驗證之器官模型（活體晶片）的分析非常有效。

[產業上之可利用性]

【0082】 能夠較佳地用於生命科學的研究、新藥、藥物的開發及安全性試驗、以及化學及生物學上的檢驗等各種領域。

【符號說明】

【0083】

10：流路裝置

12：第 1 流路構件

12A、14A：對向面

14：第 2 流路構件

16：流路單元

18：第 1 流路

20：凹部

20A、26A：流入口

20B、26B：流出口

20C、26C：流路部

22A、22B、28A、28B：貫通孔

24：第 2 流路

26：貫通孔

29：凹部

30：多孔膜

30A：上表面

30B：下表面

32：貫通孔

32A：開口

34：平坦部

36：連通孔

38A、38B：保持板

40：螺栓孔

42A、42B、44A、44B：貫通孔

46：間隔物

48：螺母

50：螺栓

60：第 1 透明電極

62：第 2 透明電極

70：光源

72：光感測器

74：攝像機

76：電感測器

A：剖線

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種流路裝置，其特徵為，具有：

第 1 流路構件，具有第 1 流路；

第 2 流路構件，具有第 2 流路；

多孔膜，設置於該第 1 流路構件與該第 2 流路構件之間；

一對透明電極，夾著該第 1 流路和該第 2 流路而設置；及

保持板，與該第 2 流路構件抵接而閉塞成為該第 2 流路之貫通孔，該保持板由透明的高分子材料構成。

【第2項】如申請專利範圍第 1 項所述之流路裝置，其中

該一對透明電極由與該第 1 流路接觸之該透明電極及與該第 2 流路接觸之該透明電極構成。

【第3項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中

至少一個該透明電極為面狀電極。

【第4項】如申請專利範圍第 3 項所述之流路裝置，其中

從與該第 1 流路構件的主表面正交之方向觀察時，至少一個該透明電極為內包該多孔膜之面狀電極。

【第5項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中

在該第 1 流路構件的該第 1 流路的形成面的整個面形成有該透明電極。

【第6項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中

該第 2 流路構件為具有成為該第 2 流路之該貫通孔之板材，

該透明電極形成於該保持板的該第 2 流路構件的抵接面的整個面。

【第7項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中

該第 1 流路構件或該第 1 流路構件及該第 2 流路構件由高分子材料構成，

該透明電極包含碳納米管。

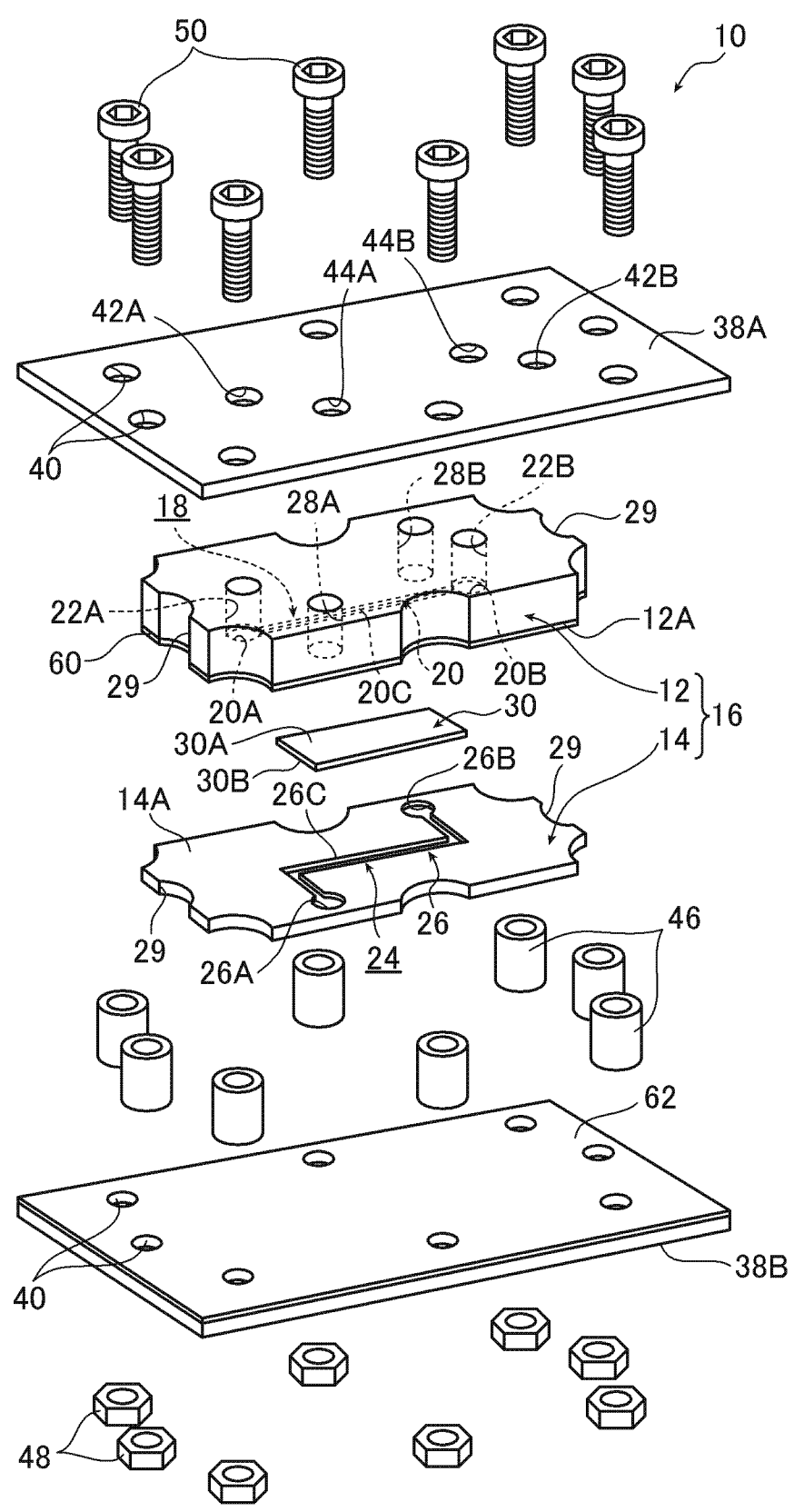
【第8項】如申請專利範圍第 1 項所述之流路裝置，其中
形成於該保持板的該第 2 流路構件的抵接面的整個面之該透明電極包含碳納米管。

【第9項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中
該多孔膜具有排列成蜂窩狀之貫通孔。

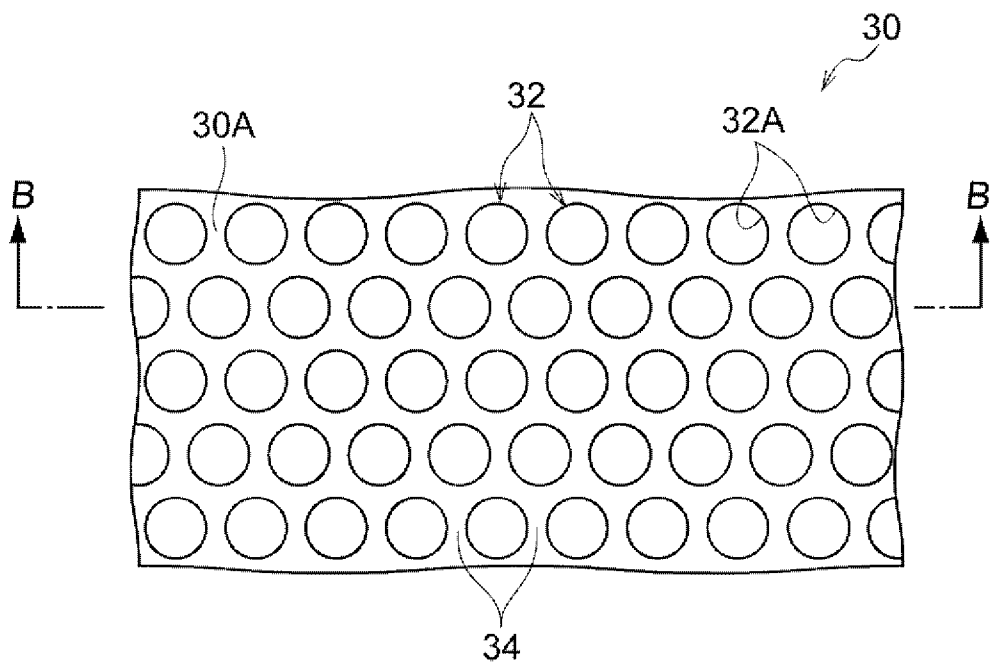
【第10項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中
該多孔膜由高分子材料構成。

【第11項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之流路裝置，其中
細胞固定於該多孔膜。

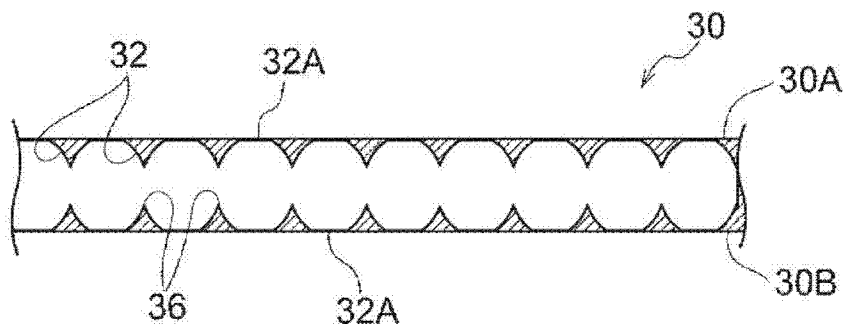
【第12項】如申請專利範圍第11項所述之流路裝置，其中
固定於該多孔膜之細胞為在該多孔膜的一個面與另一個面不同之細胞。



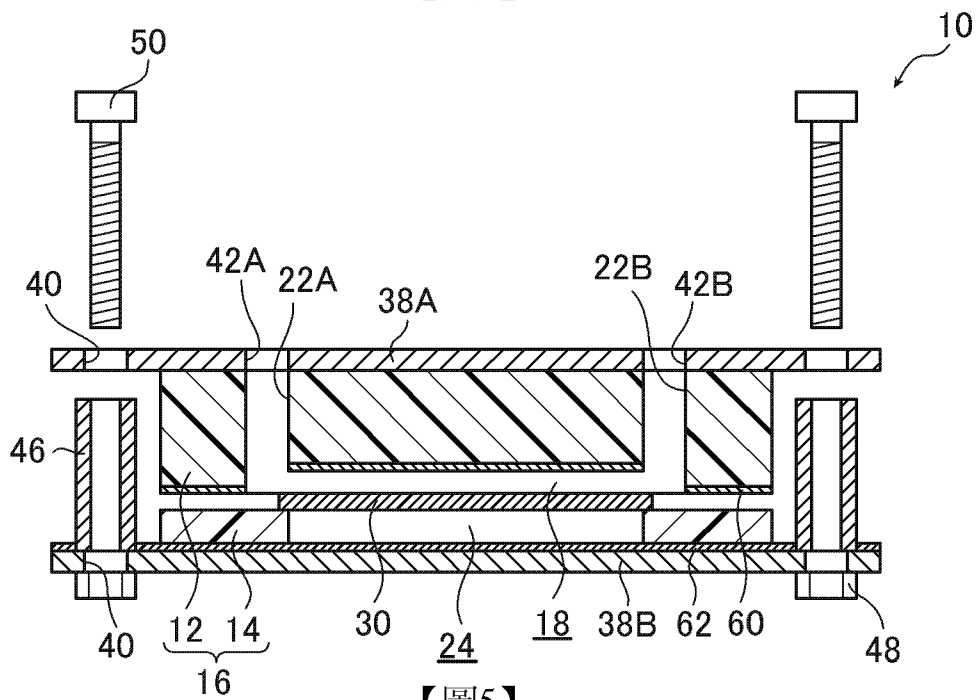
【圖2】



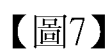
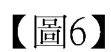
【圖3】

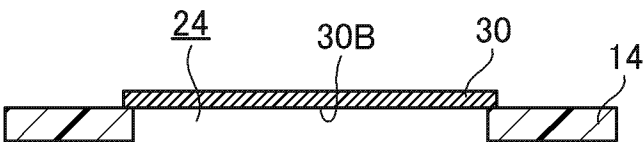


【圖4】

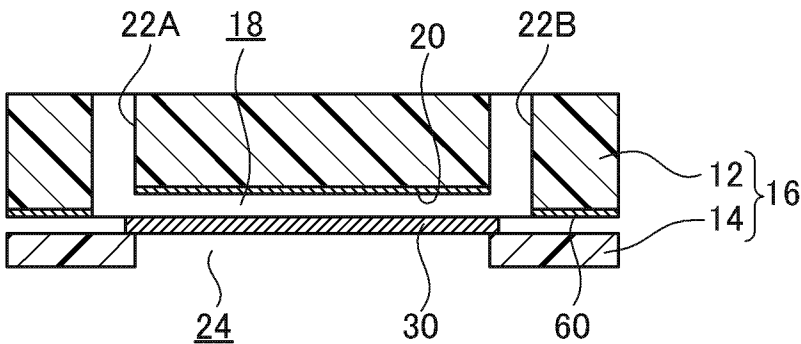


【圖5】

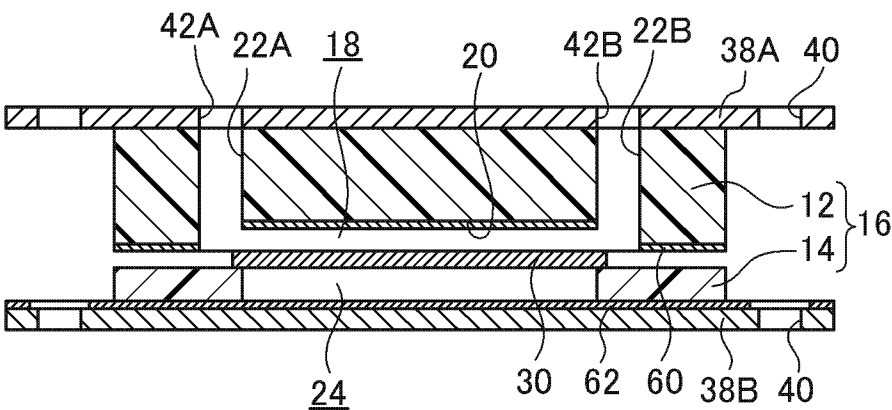




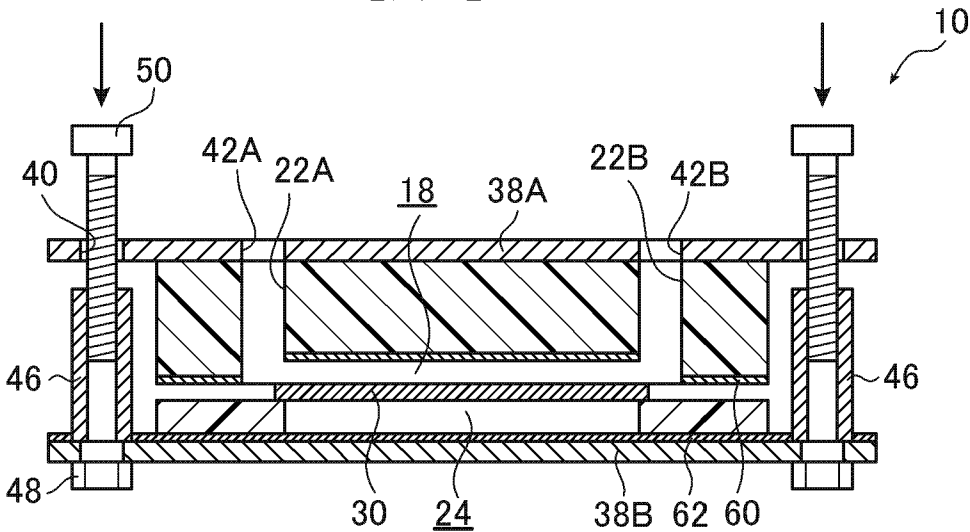
【圖8】



【圖9】



【圖10】



【圖11】