

(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2020-73260

(P2020-73260A)

(43) 公開日 令和2年5月14日(2020.5.14)

(51) Int.Cl.		F I				テーマコード(参考)
B05C	5/00	(2006.01)	B05C	5/00	101	4F041
B01J	4/02	(2006.01)	B01J	4/02	C	4G068

審査請求 有 請求項の数 14 O L (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2019-215095 (P2019-215095)	(71) 出願人	517284371 シテーナ・ゲーエムベーハー
(22) 出願日	令和1年11月28日(2019.11.28)		ドイツ連邦共和国 79108 フライブルク ノイアー メスシュプラッツ 3
(62) 分割の表示	特願2017-560877 (P2017-560877) の分割	(74) 代理人	100079577 弁理士 岡田 全啓
原出願日	平成28年2月10日(2016.2.10)	(72) 発明者	シェンデュベ ジョナス ドイツ連邦共和国 79098 フライブルク ニーメンスシュトラーセ 11
(31) 優先権主張番号	102015202574.8	(72) 発明者	ライバッハー イボ スイス連邦 8044 チューリッヒ アッカーマンシュトラーセ 4
(32) 優先日	平成27年2月12日(2015.2.12)	Fターム(参考)	4F041 AA03 AB01 BA01 BA10 BA34 BA59
(33) 優先権主張国・地域又は機関	ドイツ(DE)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 音響場を用いて整列された自由飛行液滴中の粒子を分配するための装置および方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】自由流動性の液滴中に粒子を確実に分配することを可能にする装置及び方法を提供する。

【解決手段】自由に飛行する液滴中の粒子を分配するための装置は、ノズルに流体的に結合された流体チャンバと、前記流体チャンバ内の液体中の粒子をある配列に整列することができる音響場を前記流体チャンバ内に生成するように構成された音源と、選択された時点で、1つまたは複数の粒子を含む個々の液滴をノズルから選択的に分配するように構成されたドロップオンデマンド機構とを含む。

【選択図】 図3

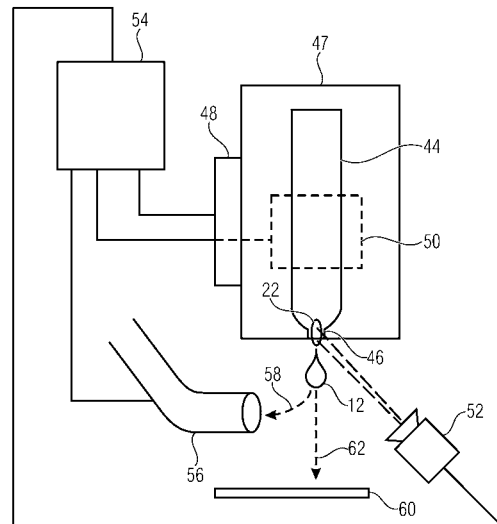


Fig. 3

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

自由飛行する液滴中の粒子(10)を分注するための装置であって、
前記装置は、

ノズル(16、26、46)に流体的に結合された流体チャンバ(14、24、44)と、

それによって前記流体チャンバ(14、24、44)内の前記液滴中の粒子(10)をある配列に整列させることができる音響場を前記流体チャンバ(14、24、44)内に生成させるように構成された音源(18、48)と、

選択されたある時点で、1つまたは複数の粒子(10)を含む個々の液滴(12)を前記ノズル(16、26、46)から選択的に分注するように構成されたドロップオンデマンド機構(20、50)を含み、

前記音源(18、48)は第1のモードにおいて、少なくとも1つの液滴が段階的にノズルに向けて移動される音響場を生成し、且つ、第2のモードにおいて、少なくとも1つの粒子が前記流体チャンバ(14、24、44)に保持されるように構成される、装置。

【請求項 2】

前記音源(18、48)は、調整可能な周波数を含む、請求項1に記載の装置。

【請求項 3】

前記第1のモードと前記第2のモードの間で切り替わるように前記音源(18、48)を制御するように構成されるコントローラ(54)を備える、請求項1または2に記載の装置であって、

前記コントローラは、

前記第1のモードにおいて、前記粒子が移動方向に平行な少なくとも1本の線(32)に沿って整列される第1の周波数で前記音響場を生成するように前記音源(18、48)を制御し、且つ、

前記第2のモードにおいて、前記粒子が前記流体チャンバ(14、24、44)内で、少なくとも1つの圧力の最小値、あるいは圧力場のノードに保持される音響場を生成するように前記音源(18、48)を制御するように構成されている、請求項1または請求項2に記載の装置。

【請求項 4】

前記流体チャンバ(14、24、44)の前記移動方向に対して横方向に対向するチャンバ壁は、前記第1の周波数の波長の半分の整数倍に相当する相対距離を含む、請求項3に記載の装置。

【請求項 5】

前記線(32)は、前記ノズル(16、26、46)に向かって前記流体チャンバ(14、24、44)の中心に位置合わせされる、請求項3または4に記載の装置。

【請求項 6】

前記音源(18、48)は、前記第2のモードにおいて、前記粒子(10)が前記移動方向に垂直な少なくとも1つの線(34)に沿って整列される第2の周波数で前記音響場を生成するように構成される、請求項3～請求項5のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 7】

前記流体チャンバ(14、24、44)は、前記ノズル(16、26、46)および入口開口部(28)が形成されるチャンバ壁を移動方向に対向して備え、前記移動方向に対向するチャンバ壁は、前記第2の周波数の波長の半分の整数倍に相当する相対距離を含む、請求項6に記載の装置。

【請求項 8】

前記粒子(10)が次の液滴(12)の内の1つと共に、前記ノズル(16、26、46)から分注される関心容積(22)内に配置されているか否かに関する情報を感知するように構成されたセンサ(52)をさらに含み、前記音源は、それによって前記粒子(10)の1つが前記関心容積(22)に配置される前記音響場を生成するように構成される

10

20

30

40

50

、請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 9】

前記感知された情報に応じて、分注された液滴 (1 2) を第 1 の位置または第 2 の位置に分注するように構成される、請求項 8 に記載の装置。

【請求項 10】

自由飛行する液滴 (1 2) 中の粒子 (1 0) を分注する方法であって、

前記方法は、

流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) 内の液体の中の前記粒子 (1 0) をある配列で整列させるために、ノズル (1 6 、 2 6 、 4 6) に流体的に結合された前記流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) 内に音響場を生成するステップと、

1 つまたは複数の粒子 (1 0) を含む自由飛行する液滴 (1 2) を前記ノズル (1 6 、 2 6 、 4 6) から噴出させるために、選択されたある時点で、前記ノズル (1 6 、 2 6 、 4 6) から個々の液滴 (1 2) を選択的に分注するように構成された、ドロップオンデマンド機構 (2 0 、 5 0) を適用するステップと、

前記流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) 内で、それによって前記流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) 内の液体中の前記粒子 (1 0) をある配列に整列させることができる音響場を生成するように構成された音源 (1 8 、 4 8) を含み、

第 1 のモードにおいて、少なくとも 1 つの液滴が段階的にノズルに向けて移動される音響場が生成され、且つ、第 2 のモードにおいて、少なくとも 1 つの粒子が前記流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) に保持される音響場が生成される、方法。

【請求項 11】

前記第 1 のモードと前記第 2 のモードの間で切り替わるステップを含む、請求項 10 に記載の方法であって、

前記音響場は、前記第 1 のモードにおいては前記粒子 (1 0) が前記移動方向に平行な少なくとも 1 つの線 (3 2) に沿って整列される第 1 の周波数で生成され、

前記第 2 のモードにおいて、前記粒子が前記流体チャンバ (1 4 、 2 4 、 4 4) 内で、少なくとも 1 つの圧力の最小値、あるいは圧力場のノードに保持される音響場が生成される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記音響場は、前記第 2 のモードにおいて、前記粒子 (1 0) が前記移動方向に垂直な少なくとも 1 つの線 (3 4) に沿って整列される第 2 の周波数で生成される、請求項 10 または請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記粒子 (1 0) は、前記移動方向に対して垂直な前記線 (3 4) に沿って整列保持される一方、前記ドロップオンデマンド機構を適用することによって、前記粒子 (1 0) を含まない液滴 (1 2) が前記ノズル (1 6 、 2 6 、 4 6) から噴出される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記次の液滴 (1 2) の内の 1 つと共に前記ノズル (1 6 、 2 6 、 4 6) から分注される関心容積内に粒子 (1 0) が配置されているかどうかに関する情報を感知するステップをさらに含み、前記粒子 (1 0) の 1 つは、前記音響場によって前記関心容積内 (2 2) に配置され、前記感知された情報に応じて第 1 の位置または第 2 の位置に液滴 (1 2) を分注するステップを含む、請求項 10 ~ 請求項 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、自由飛翔する液滴中の粒子を分配するための装置および方法に関し、特にドロップオンデマンド機構を用いて自由飛翔する液滴中に粒子を分配する装置および方法に関する。

【背景技術】

10

20

30

40

50

【0002】

細胞および他の微小粒子は、自由噴流印刷法または閉鎖流体力学によって取り扱いは分析することができる。この場合、用語「粒子」は、固体の有機または無機の微粒子および生物学的細胞の両方を含む一般的な用語として理解されるべきである。

【0003】

フリージェット印刷法では、粒子/細胞を認識するためのセンサと、センサなしで作動するそのような分配システムとを含むセンサ技術を用いて、分配システムを区別することができる。センサなしで動作するシステムは、分配された粒子の量の制御も、これらの粒子の分析もできない。センサ技術を用いたディスペンサシステムまたはパーティクルディスペンサでは、いわゆるドロップオンデマンドディスペンサと連続ジェットディスペンサとの区別が可能である。ドロップオンデマンドディスペンサは、一般に、より高いレベルの制御を可能にする一方、連続ジェットディスペンサは、通常、より高いスループットを含む。

10

【0004】

ディスペンサまたは液滴発生器は、一般に、自由に飛ぶ液滴の形態である量の液体を分配するための装置であると理解される。ドロップオンデマンド技術またはドロップオンデマンド機構は、一般に、選択された時点で個々の液滴がノズルから選択的に生成される技術またはメカニズムであると理解される。換言すれば、個々の液滴は、別個の駆動信号を使用してオンデマンド（命令上）で生成される。ドロップオンデマンド印刷技術とは対照的に、連続ジェット印刷技術では、薄い液体ジェットが圧力駆動方式でノズルから吐出され、液体ジェットは個々の滴でノズルを出た後に崩壊し、例えば、静電偏向されてもよい。

20

したがって、連続ジェット印刷技術では、個々の液滴ごとに別個の駆動信号が提供されず、選択された時点で液滴が選択的に生成されなくてもよい。

【0005】

用語「音響放射力」は、音場の衝突時に物体が経験する力の時間加重平均であると理解される。音響聴覚または音響泳動は、音波の定義された衝突によって生成された定義された動きまたは配置のために、音波またはその選択的な取り扱いまたは操作によって生成される懸濁液中の粒子の動きであると理解される。さらに、この場合、観測量は、測定または観測を実行することができる所定の2次元グリッドまたはボリューム領域であると理解される。この場合、粒子を取り扱うことは、例えば、マイクロチャンバまたはマイクロチャンネルなどのチャンバまたはチャンネルの内部に粒子を偏向または配置することであると理解され、異なるタイプがこの点で知られている。例えば、取り扱うための技術的方法は、音響泳動、電気泳動および流体力学である。

30

【0006】

従来の技術では、例えば生体細胞の印刷が可能な生体適合性の印刷ヘッドが知られており、濃度に応じて、個々の細胞を印刷することができる（例えば、非特許文献1参照）。しかしながら、粒子/細胞を検出するセンサ技術は存在しない（例えば、非特許文献2参照）。Yusof et al., "Inkjet-like printing of single-cell", Lab on a Chip (2011), 11(14), pages 2447-2454 には、光学セル認識を含むプリントヘッドが記載されている（例えば、非特許文献2参照）。しかし、この場合、細胞は投与チャンバ内で任意に配置される。同様の配置であっても、Yamaguchi et al., "Cell patterning through inkjet printing one cell per droplet", Biofabrication (2012), 4(4). に記載されているように、粒子はノズル内に均一に分布している（例えば、非特許文献3参照）。

40

【0007】

さらに、August Kundは、19世紀に、流体中の粒子の均一な配列が音波によって引き起こされる可能性があることをすでに述べている（例えば、非特許文献4参照）。Mandrals et al., "Fractionation of suspension using synchronized ultrasonic and flow fields", AIChE Journal (1993), 39(2), pages 197-206 は、微小粒子に対するこの効果の適用を記載している（例えば、非特許文献5参照）。さらに、T. Laurell et al., "Chi

50

p integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles", Chemical Society Reviews (2007), 36(3), pages 492-506 には、その取扱いが記載される(例えば、非特許文献6参照)。すなわち、マイクロ流体構造内の細胞を音響泳動によって操作し、そして連続流の条件下で異なる可能な配置を示す。

【0008】

l. Leibacher et al., "Impedance matched channel walls in acoustofluidic systems", Lab on a chip (2014), 14(3), pages 463-470には、定常音波を用いてマイクロ流体システム内で粒子を操作する方法に関する基礎を説明している(例えば、非特許文献7参照)。

【0009】

フローサイトメトリー、例えばFACS(Fluorescence-Activated Cell Sorting)は、個々に電圧または光線を過ぎて高速で飛行する細胞の分析を可能にする測定方法であると理解される。例えば、フローサイトメトリーの方法は、米国特許第3,380,584号から公知である(例えば、特許文献1参照)。典型的には、連続ジェット印刷法がフローサイトメトリーで使用される。これは、滴が連続的に生成される一方、制御された方法で滴流を中断することができないという欠点を有する。従って、この技術を用いて細胞を含む粒子を選択的に選別するには、内容物に応じて異なる位置に滴を付着させる必要がある。これは、飛行中の静電偏向によって引き起こされる。位置の数および必要とされる付着精度(例えば、96または384ウェルを有するマイクロタイタープレートにおいて)が高いほど、プロセスはより困難かつより技術的に精巧になる。

【0010】

EP0421406A2は、粒子を分配するためのサーマルインクジェット印刷ヘッドを記載している(例えば、特許文献2参照)。粒子は、粒子はリザーバ内に任意に配置され、放出されるまで飛行中の検出器によって分析されない。

【0011】

国際公開第2013/003498号パンフレットは、細胞を含む音響的に集束された粒子が測定領域を通過するフローサイトメトリーの方法を記載しており(例えば、特許文献3参照)、この粒子の定性的パラメータおよび定量的パラメータの光学的読出しがそれを特徴付けるために生じる。

【0012】

US2012/0298564A1は、より良好なセンサ結果のために、粒子をより正確にチャンネル内に位置決めするために、1つまたはいくつかの粒子を音響的に取り扱う方法を記載している(例えば、特許文献4参照)。

【0013】

国際公開第2011/154042号パンフレットには、自由飛翔液滴に含まれる粒子/細胞を分配するための装置および方法が記載されている(例えば、特許文献5参照)。ドロップオンデマンドジェネレータを有するディスペンサが提供され、粒子を含む液滴を開口部から排出することができる。この明細書によれば、粒子は、ドロップオンデマンドディスペンサにおいて流体力学的または誘電的に集束される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】Nakamura et al., "Biocompatible inkjet printing technique for designed seeding of individual living cells", Tissue Engineering (2005), 11(11-12), pages 1658-1666.

【非特許文献2】Yusof et al., "Inkjet-like printing of single-cell", Lab on a Chip (2011), 11(14), pages 2447-2454.

【非特許文献3】Yamaguchi et al., "Cell patterning through inkjet printing one cell per droplet", Biofabrication (2012), 4(4).

【非特許文献4】"Annalen der Physik und Chemie, Band CXXVII, Nr. 4, 1866.

10

20

30

40

50

【非特許文献 5】Mandrallis et al., "Fractionation of suspension using synchronized ultrasonic and flow fields", *AIChE Journal* (1993), 39(2), pages 197-206.

【非特許文献 6】T. Laurell et al., "Chip integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles", *Chemical Society Reviews* (2007), 36(3), pages 492-506.

【非特許文献 7】I. Leibacher et al., "Impedance matched channel walls in acoustofluidic systems", *Lab on a chip* (2014), 14(3), pages 463-470.

【特許文献】

【0015】

【特許文献 1】米国特許第 3,380,584 号明細書

10

【特許文献 2】欧州特許出願公開第 0421406 号明細書

【特許文献 3】国際公開第 2013/003498 号

【特許文献 4】米国特許出願公開第 2012/0298564 号明細書

【特許文献 5】国際公開第 2011/154042 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

本発明の目的は、自由流動性の液滴中に粒子を確実に分配することを可能にする装置及び方法を提供することである。

【0017】

20

この目的は、請求項 1 に記載の装置および請求項 11 に記載の方法によって解決される。

【課題を解決するための手段】

【0018】

本発明の実施形態は、自由飛行する液滴中の粒子を分配するための装置を提供し、ノズルに流体結合された流体チャンバと、前記流体チャンバ内の液体中の粒子をある配列に整列させることができる音響場を発生させるように構成された音源と、そして、選択されたある時点で、1つまたは複数の粒子を含む個々の液滴をノズルから選択的に分配するように構成されたドロップオンデマンド機構を含む。

【0019】

30

本発明の実施形態は、自由飛行する液滴中の粒子を分配する方法であって、流体チャンバ内の液体を粒子に整列させるために、ノズルに流体的に結合された流体チャンバ内に音響場を生成するステップと、そして、選択されたある時点で、1つまたは複数の粒子を含む自由飛行する液滴をノズルから噴射するために、ノズルから個別に液滴を選択的に分配するように構成されたドロップオンデマンド機構を適用する。

【0020】

本発明の実施形態は、添付の図面を参照してより詳細に後述される。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図 1】自由飛行液滴中の粒子を分配するための装置の実施形態を概略的に示す。

40

【図 2 a】流体チャンバ内の異なる粒子整列を説明するための概略図である。

【図 2 b】流体チャンバ内の異なる粒子整列を説明するための概略図である。

【図 2 c】流体チャンバ内の異なる粒子整列を説明するための概略図である。

【図 3】センサ技術を含む自由飛行液滴中に粒子を分配するための装置の実施形態を概略的に示す。

【発明を実施するための形態】

【0022】

本発明の実施形態は、液体中の粒子が固体粒子を含むだけでなく、特に生きた細胞、ゲル粒子、油滴または粒子も含む解決不能な物体であると理解される粒子運搬液体の分配に基づく液体で満たされている。例えば、液体は、生細胞を含有する緩衝液懸濁液であって

50

もよい。粒子は、ドロップオンデマンド機構を用いて自由飛行する液滴中に分配され、ここで粒子は音響場を用いて整列または集束される。特に、本発明の実施形態は、音響泳動法を用いて、液体内の粒子を選別し、ディスペンサのノズルに整然とした様式で供給することが可能であるという知見に基づいている。したがって、本発明の実施形態は、流体チャンパ内の対応する音響場を生じさせるために音波の発生を可能にするマイクロアクチュエータシステムの技術を使用することを可能にする。実施形態では、粒子は、速度分布がより均一であり、したがって粒子がより予測可能な仕方で進行する、チャンネルの形状を含み得る流体チャンパの中心にもたらされ得る。さらに、整列された粒子は、液体担持構造体、すなわち流体チャンパのエッジ領域において、スイッチオフのような干渉効果から分離されるので、より良好に感知され得る。

10

【0023】

実施形態では、特定の粒子または特定の数の粒子を選択的に分配するために、装置にセンサを装備することができる。音源は、粒子が関心ボリューム内に配置される音響場を発生させるように構成されてもよい。この場合、センサは、より小さい関心領域（ROI、関心ボリューム）、すなわちチャンネルのより小さな部分を監視するだけでよく、したがって、より迅速かつ効率的に動作することができる。実施形態では、音源、すなわち音響アクチュエータは、外部から液体供給構造体、すなわち、ディスペンサの流体チャンパに連結されてもよく、ディスペンサの流体チャンパに一体化する必要はない。これは、分配装置自体を変更する必要がないという利点を有する。従って、製造コスト及びディスペンサの複雑さは変わらない。

20

【0024】

したがって、流体力学的手段（例えば、国際公開第2011/154042号パンフレットに記載されているような）によって分配されるべき粒子を集束させることは必要ではない。流体力学によるこのような集束は、音響聴取集束を使用することによって回避され得るドロップオンデマンド機構を使用する段階的分配でいくつかの欠点を含む。対応する流体構造物を充填する際に生じる問題、特に気泡の形成を回避することができるように、いくつかの液体リザーバまたはインレットを有する必要はない。さらに、音響泳動は、より正確な集束を可能にし、生産公差に依存することが少なく、したがってより堅牢である。さらに、誘電集束は、ディスペンサの変更を伴う電極を投与チャンパに挿入しなければならないという欠点を有することが判明している。しかし、本発明の実施形態では、ディ

30

【0025】

本発明の実施形態は、ドロップオンデマンド型ディスペンサ、すなわち、連続フローではなく個別フローを生成するディスペンサにおける音響集束を実施することができるという初めての知見に基づいている。本発明の実施形態では、流体チャンパは、ノズルに向かって先細りのチャンネルの形状を備える。このような形状は音響泳動に適しており、予想外の利点をもたらすことが分かっている。流体チャンパの中心における粒子の集束に加えて、粒子を流れ方向に対して横方向に維持する可能性を提供する異なる定在音画像が生成されることが見出された。本発明者らは、ディスペンサプロセス間のドロップオンデマ

40

【0026】

懸濁液中の粒子が任意に分布しているドロップオンデマンド分配粒子の技術と比較して、本発明の実施形態は、粒子を検出する努力を大幅に低減する。これにより、検出の速度及び精度が向上する。したがって、粒子に粒子が含まれているかどうかの予測可能性と、粒子が含まれている場合には、粒子数が増加する可能性があります。したがって、本発明の実施形態は、粒子の数をより正確に決定し、したがってより高いスループットを可能にする。

50

【 0 0 2 7 】

したがって、本発明の実施形態は、ドロップオンデマンド機構を使用するディスペンサ内の粒子の音響泳動的整列または集束が、個々の粒子をノズルに選択的に供給するために有利な方法で使用され得るといふ知見に基づくか、または粒子を選択的に保持する。これに対して、WO 2 0 1 3 / 0 0 3 4 9 8 A 2 および US 2 0 0 2 / 0 2 9 8 5 6 4 A 1 に記載された技術は、連続流中の粒子をよりよく分析するために音響力を使用するが、そこに記載されている構成は単一の粒子を形成することができない。

【 0 0 2 8 】

図 1 は、自由に飛行（飛翔）する液滴 1 2 中の粒子 1 0 を分配するための装置の一実施形態の概略図を示す。この装置は、図示の実施形態ではチャンネルの形状を含む流体チャンバ 1 4 を備える。流体チャンバ 1 4 の上端は入口を表し、流体チャンバ 1 4 の下端は流体チャンバ 1 4 に流体結合されたノズル 1 6 を表す。この装置は、流体チャンバ 1 4 内に、流体チャンバ 1 4 内の液体中の粒子 1 0 が配置され得る音響場を提供する。さらに、装置は、選択された時点で、粒子 1 6 を含む個々の液滴 1 2 をノズル 1 6 から選択的に分配するように構成されたドロップオンデマンド機構 2 0 を含む。ドロップオンデマンド機構は、例えば、流体室に当接する機械的な膜を含む、圧電的に操作される機構であってもよく、流体室の容積を減少させてノズル 1 6 から自由飛行液滴 1 2 を噴出させるために機械的膜を作動させるように構成された空気圧作動要素を含む。ドロップオンデマンド機構の例に関しては、参照により本明細書に組み込まれる WO 2 0 1 1 / 1 5 4 0 4 2 A 1 の教示を参照することができる。

【 0 0 2 9 】

例えば、音源 1 8 は、適切な周波数で音響場を発生させるように構成された圧電変換器によって形成されてもよい。音源は流体室に機械的に接触し、これによっても液体に接触する。音源 1 8 の励起周波数は、流体チャンバ 1 4 の共振周波数であってもよく、すなわち、波長に対して $\lambda = 2 \cdot b / n$ が適用され、 b は流体チャンバ 1 4 の幅であり、 n は振動のモードである。これにより、モード $n = 1$ では、流体室 1 4 内に定在波が発生し、図 1 に示すように、粒子 1 0 が流体室の中心に線に沿って整列される。粒子は連続的には流れないが、オンデマンド分配によってノズル 1 6 に向かってさらに段階的に移送される。関心領域（ROI）または関心ボリューム 2 2 は、適切な位置、例えばノズル 1 6 の近くに配置される。粒子が対応するボリューム 2 2 に配置されているか否かに関する情報を感知するために、図 1 には示されていないセンサまたは検出器が設けられてもよい。関心ボリュームは、次の滴の 1 つでノズルから吐出されるボリュームであってもよい。実施形態では、関心ボリュームは、次の分配操作で放出されるボリュームであってもよい。

【 0 0 3 0 】

したがって、実施形態では、ドロップオンデマンド機構は、粒子を段階的にノズルに向かって移動させるように構成することができ、前記音源は、前記粒子が前記移動方向に平行な少なくとも 1 本の線に沿って整列される第 1 の周波数で前記音場を生成するように構成されている。さらに、ラインは、ノズルに向かって流体チャンバ内の中心に位置合わせされてもよい。移動方向に対して横方向に対向する流体チャンバのチャンバ壁は、例えば、図 1 の左右のチャンバ壁は、音響場の周波数の波長の半分の整数倍に相当するように相対距離に配置されてもよい。本発明の実施形態では、流体チャンバは、ストリーミング方向に、円形または長方形、例えば正方形の流れ断面を含むことができる。

【 0 0 3 1 】

図 2 a は、ノズル 2 6 および入口 2 8 を含む流体チャンバ 2 4 の概略図を示す。入口 2 8 は、入口領域 3 0 に流体的に結合されてもよい。本発明の実施形態では、図 2 a に示される流体構造を表す流体構造は、マイクロチップ内に形成されてもよく、例えば、シリコンとガラスからなる。例えば、流体チャンバ 2 4、ノズル 2 6 および入口 2 8 を含む流体構造は、シリコン基板内に形成され、ガラスプレートで覆われてもよい。図 2 a ~ 図 2 c には示されていない音源が設けられており、それによって共鳴音場が流体チャンバ 2 4 内に生成される。図 2 a に示すように、流体チャンバ 2 4 は、ノズル 2 6 に向かって先細り

になり、ノズルで終わる。さらに、投与チャンバは、入口に向かって先細りになっており、入口28の前に流体抵抗で終わっている。この場合、音波は、流体と流体室が形成される材料、例えばシリコンとの間の界面で反射する。例えば、液体は、水であってもよく、または細胞であってもよい粒子が懸濁された緩衝液であってもよい。図2aの例では、音場は存在せず、粒子10は流体チャンバ24内に任意に配置されている。

【0032】

本発明の実施形態では、音源は、流体チャンバ24内に音響場を発生させるように構成され、これにより、ノズル26に向かう各液滴の噴射とともに段階的に移動する粒子が、流体の動きと平行に配置される。この場合、音源の周波数は、粒子の移動方向と交差するシリコン壁の距離が $\lambda/2$ の倍数（整数倍）となるように選択され、 λ は液体中の音波の波長である。この場合、流体チャンバの壁は、流体チャンバが形成される材料とインピーダンス不連続が生じる液体との間の界面である。これにより、1つまたは複数の圧力ノットラインが、流体の動きと平行して生成され得る。この場合、流体の運動と並行して音響集束が行われてもよい。ノズルおよび流体チャンバは、主振動モード、したがって主圧力ノットラインが流体チャンバの中心に位置し、ノズルの方に整列されるように配置されてもよい。これにより、定義されたやり方で、ノズル26に向かって、各滴吐出、すなわち各オンデマンド動作で粒子を移動させることが可能である。図2bにおいて、圧力場の対応するノット線は点線のフレーム32によって示されている。

10

【0033】

図2bを参照して上述したように、励起ケースは、粒子をノズル26に選択的に供給するために特に有利である。さらに、このような励起の場合は、光学粒子認識を行う場合に有利である。粒子は、関心領域内に選択的に配置され、または焦点が合わされ得る。

20

【0034】

この場合、粒子が遮蔽されるのを避けることができ、これは、典型的には、粒子が流体チャンバまたはチャンネルの縁部に位置するとき、流体チャンバ内の、またはチャンネル内の非集束粒子によって生じる。さらに、関心領域に対応する光学的感覚領域をより小さく設計することができ、さらに高いスループットを可能にする可能性がある。

【0035】

次に、図2cを参照して、第2の励起ケースについて説明する。図2cに示す場合、音源の周波数は、上述の音場に比べて90度回転された共鳴音場を生成するように適合される。ここで、定在波は流体移動方向に平行であり、言い換えれば、結び目ラインは流体移動方向に対して横方向（すなわち垂直）である。これは、ノズルに向かって、また入口に向かってテーパ状に構成された流体チャンバの幾何学的形状のために可能である。換言すれば、流体室は、流れ方向の反対側の2つの端部で先細りになるように構成されており、それによって定在する音波が、それによって形成される壁での反射によって生成され得る。入口28およびノズル26の開口の寸法がチャンバの幅bに比べて小さいため、開口が音場に干渉する影響をほとんど含まないことが可能である。したがって、流体移動方向を横切る1つまたは複数の節線を含む共鳴音響場を発生させることができる。例えば、図2cは、3つのこのようなノット線34を示す。パーティクルは、これらのノットラインに保持されることがあります。この場合、周波数は、流体室の対向壁の流体移動方向、すなわち図2cに示す長さlに、音の波長の半分の整数倍に相当するように周波数が選択される液体中で波動する。実施形態では、ノズル26および入口28の開口部の寸法は、流体移動方向を横切る流体チャンバの幅の多くとも50%、有利には25%未満であり得る。実施形態では、開口部の幅は、10 μm と125 μm との間であってもよく、全チャンバ幅は、750 μm と1250 μm との間であってもよい。実施形態では、開口部の幅は、チャンバ幅の1%~15%、例えば10%であってもよい。

30

40

【0036】

図3cを参照して説明したように、対応する励起によって、流体の移動にもかかわらず粒子を保持することが可能である。これにより、ノズル26から粒子を分配することなく、パーティクルがノットラインに保持されるので、例えば緩衝液などの液体が吐出され、

50

すなわち圧力の最小値が得られる。したがって、ノズルの乾燥は、時折、例えば、周期的に、粒子を分配することなく液体を分配することによって回避することができる。したがって、実施形態は、ノズルの目詰まりを招く可能性のある沈降物に対して粒子を保持することを可能にする。さらに、音源を適切に制御することによって、粒子を失うことなく、必要に応じて粒子の有無にかかわらず分配を切り替えることが可能である。したがって、分配された体積および分配された粒子の数を互いに独立して選択することが可能である。

【0037】

したがって、本発明の実施形態は、ドロップオンデマンド機構が粒子を段階的にノズルに向かって移動させるように構成された装置および方法を提供し、前記音源は、前記粒子が前記移動方向に垂直な少なくとも1本の線に沿って整列される第1の周波数で前記音場を生成するように構成される。このような実施形態では、流体チャンバは、ノズルおよび入口開口部が形成される移動方向の反対側のチャンバ壁を備えてもよく、移動方向の反対側のチャンバ壁は、第2の周波数の波長の半分の整数倍に相当する相対距離を含む。図2 a ~ 図2 c に示すように、流体チャンバがこの方向に傾斜したチャンバ壁を含む場合、例えば、チャンバ壁の傾斜した経路に起因して計算された平均値から生じる仮想壁位置を用いて、相当する距離を決定することができる。

10

【0038】

図3は、音響泳動集束およびドロップオンデマンド機構を使用して自由に飛翔する液滴中に粒子を分配するための装置の実施形態を示す。この装置は、例えば、図1および2 a ~ 2 c に記載された流体チャンバ24によって形成され得る流体チャンバ44を備える。流体チャンバ44は、ノズル46に流体的に結合され、分配チップ47内に形成することができる。音源48は、分配チップ47に直接取り付けられてもよい。あるいは、音源48は、分配チップが取り付けられたホルダ(図示せず)に取り付けられてもよい。例えば、ホルダはプラスチックで形成されてもよい。図1を参照して説明したオンデマンド機構20に対応することができるドロップオンデマンド機構50が、選択された時点で、粒子を含む個々の液滴をノズル46から選択的に分配する。音源48は、例えば、図2 a ~ 図2 c を参照して上述したように、流体チャンバ46内の液体中の粒子の配列を引き起こすように構成されてもよい。関心領域22に粒子が配置されているか否かに関する情報、例えば、ノズルの次の滴の1つで吐出された体積を感知するように構成されたセンサ52が設けられている。関心領域または関心ボリュームは、ノズルの領域内に配置されてもよい。例えば、関心のあるボリュームは、次のオンデマンドディスペンス操作で次のドロップでノズルから内容物が放出されるノズルのエンドボリュームであってもよい。

20

30

【0039】

センサ52によって感知される情報は、例えば、液滴発生器の観察体積内の粒子/細胞の数、大きさ、位置、種類、色および他の任意の特性に関する情報であってもよい。例えば、センサ52は、観察ボリューム内に位置する粒子/細胞の特性が、既知の画像処理技術を用いて、例えば既知のパターンなどと比較することによって導き出すことができるように、粒子/細胞が内部に収容された観察ボリュームの画像を送達するカメラとすることができる。例えば、これは、センサ52、音源48、およびドロップオンデマンド機構50の動作を制御するために、センサ52、音源48およびドロップオンデマンド機構50に結合されたコントローラ54によって実行することができる。さらに、コントローラ54は、感知された情報に応じて制御するために、吸引手段56に結合されてもよい。

40

例えば、所望のタイプの粒子が観察ボリューム22に配置されていないことが感知された場合、吸引手段56は、図3の矢印58によって示されるように、対応する液滴を吸引するためにコントローラ54によって操作されてもよい。しかしながら、所望のタイプの粒子又は粒子が観察容積22内に位置する場合、吸引手段56は作動せず、対応する液滴は、図3の矢印62によって示されるようにキャリア60上に放出される。例えば、キャリア60は、マイクロタイプレートまたは粒子を含む分配された液滴のさらなる処理を可能にする他の手段であってもよい。したがって、実施形態は、検知された情報に応じて、第1の位置(キャリア60)または第2の位置(吸引手段56)に分注された液滴を

50

分配するように構成される。例えば、国際公開第2011/154042号パンフレットに記載されているように、滴を異なる位置に分配するために別の可能性が提供され得るといふ事実に関して、さらなる説明は必要ではない。

【0040】

これにより、例えば、正確に1つの粒子または1つのセルのみを含む滴をトレイ60上に噴射することが可能であり、他のすべての滴は、吸引手段56によって吸引される。例えば、吸引手段56は、廃棄物容器に接続されてもよい。

【0041】

さらに、コントローラ54は、例えば、圧力場のノード線を生成するために、図2bおよび図2cを参照して上述したように、異なる周波数を有する音響場を流体チャンバ44内に発生させるために音源48を制御するように構成されてもよい。

10

【0042】

したがって、本発明の実施形態は、粒子、例えば生物学的細胞を液体中に分配、計数および特徴づけるために使用され得るシステムを提供する。この場合、液体の細胞濃度は、細胞が個別に流体チャンバ（投薬チャンバ）に流入するように、例えば入口チャンバおよび入口を介して設定されてもよい。集束がなければ、個々に供給された粒子はチャンバ内で任意に分配される。音響泳動集束によって、粒子は、噴射ノズルに向けられた線に沿って整列され得る。次いで、1つの粒子は、それぞれ、例えば、ドロップオンデマンドの直接容量インペラーであり得るドロップジェネレーターを使用して分配されてもよく、そこに収容されたセルを含む特定の液体体積が各分散でノズルから分配される。

20

これにより、さらなる粒子がリザーバから前進してもよい。音場は、音源によってディスペンサの流体チャンバ、すなわち投与チャンバに結合されてもよい。周波数は、所望の粒子パターンが共鳴から生じるように選択することができる。例えば、全ての粒子は、流体チャンバの中央に集束されてもよく、一方、ノズルは、流体チャンバをストリームに対して前端で制限する壁の中心に形成されてもよい。撮像光学系を使用して、カメラの視野内の粒子の位置および数、関心領域などを認識することができる。そのため、例えばコントローラ54において実行される画像処理アルゴリズムは、次のドロップで粒子数を予測することができる。

【0043】

したがって、本発明の実施形態は、個々の細胞または特定の数の細胞を印刷するのに適している。他の例は、個々の細菌または他の生物またはその群を印刷することを指してもよい。他の例であっても、懸濁液中の個々の油滴または特定の数の油滴の群を印刷することを指してもよい。さらに、本発明の実施形態は、個々の人工粒子または人工粒子の群を懸濁液、例えばビーズ、量子ドットなどに印刷することを指すこともできる。さらなる実施形態は、特定の粒子のみを分配するために、音響的なコントラストを有する粒子の事前選択を指してもよい。

30

【0044】

音響泳動の基礎をなす技術に関しては、例えば、I. Leibacherの上述の明細書を参照することができる。上述のように、配列中の液体中の粒子を整列させるために、定在音波が液体中に生成され、粒子が圧力場のノードに集まる。進行波と反射波との干渉により定在波が発生する。反射は、2つの材料の遷移におけるインピーダンス不連続によって達成される。材料の音響インピーダンス Z は、その材料密度を ρ とし、その音速を c とすると、 $Z = \rho \cdot c$ となる。

40

【0045】

例えば、材料として使用することができる水およびシリコンは、以下の特性を含む。

材 料	音 速 (c)	密 度 (ρ)	固有音響インピーダンス (Z)
水	1497 (m/s)	998 (kg/m ³)	1,5 e6 (Ns/m ³)
シリコン[110]	9133 (m/s)	2331 (kg/m ³)	21,3 e6 (Ns/m ³)

【 0 0 4 6 】

反射係数 R および透過係数 T は、インピーダンス不連続部で反射または透過される波強度の割合を与える。

$$R_I = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2, T_I = \frac{4Z_1 Z_2}{(Z_1 + Z_2)^2}$$

ここで、 $R_I + T_I = 100\%$

【 0 0 4 7 】

界面水 / シリコンには、以下が適用される。

水 / シリコン $R_I = 75\%$ 、 $T_I = 25\%$

【 0 0 4 8 】

したがって、波の強度の 75% が、ウォーターチャネルを制限するシリコンウォールで反射され、共鳴が生成され得る。

【 0 0 4 9 】

明らかに、上述の材料は例示に過ぎず、対応する音響場の生成が可能である限り、異なる音響インピーダンスを有する他の材料を使用して本発明の実施形態を実施することができる。

【 0 0 5 0 】

したがって、本発明の実施形態は、個々の液滴を分配するためのドロップオンデマンド機構と、分配ユニットに音響場を生成する音源とを含む、粒子および細胞を分配（印刷、投与）するための装置および方法を提供する。そのため、粒子または細胞が規則的に感知領域に供給され、分注前に個々またはいくつかの粒子または細胞を認識するための認識機構が含まれる。

【 0 0 5 1 】

実施形態では、ディスペンサのチャネル形状に応じて、必要に応じて、流体移動にかかわらず異なる粒子配置間で切り替えることができる。十分なエネルギーが結合されると、音源を自由に選択可能な位置に取り付けることができる。制御ユニットは、使用事例に回答して励起周波数を選択することができる。例えば、励振周波数は、流れ方向と交差する場の共鳴周波数に対応してもよく、または流れ方向に平行な場の共鳴周波数に対応してもよい。あるいは、励起周波数は、そのような周波数の任意の組み合わせであってもよい。

【 0 0 5 2 】

したがって、本発明の実施形態は、ディスペンサ内の液体、特にドロップオンデマンドディスペンサにおいて、粒子または細胞を液体に整列させる可能性を提供する。本発明の実施形態では、これは音響聴取集束によって達成される。これにより、液体中の粒子に力が加えられ、対応する配置を達成するために、粒子が液体に対して移動され得る。したがって、実施形態では、液滴が粒子なしで放出される間に、流体チャンバ内に粒子を保持することが可能である。

【 0 0 5 3 】

流体構造、例えば、流体チャンバおよびノズルの典型的な寸法は、 $1 \mu\text{m} \sim 1000 \mu\text{m}$ の範囲であり得る。吐出される液滴のような典型的な液体容積は、1 ピコリットルから 1 マイクロリットルの範囲であり得る。説明されているように、撮像センサを粒子センサとして使用することができる。あるいは、蛍光測定センサまたは他の光学センサ（例えば、ラマン分光法）、電気センサまたは機械的センサを使用してもよい。一般に、関心領域

10

20

30

40

50

に存在する粒子に関する情報を感知することを可能にする任意のセンサを使用することができる。

【0054】

粒子の音響配置のために、本発明の実施形態は、粒子検出からのセンサ信号がより均一になる可能性があるため、粒子検出中の精度を高めることを可能にする。画像検出では、小さな画像フィールドまたはより大きな倍率を選択することができる。さらに、粒子の位置が常に同じであれば、バックグラウンドの変動性が減少する可能性があります。パーティクルが液体チャネルまたは流体チャネルのエッジに位置しないように粒子の配置が選択された場合、エッジ効果、例えばシェーディングによる検出エラーは依然として防止される。

10

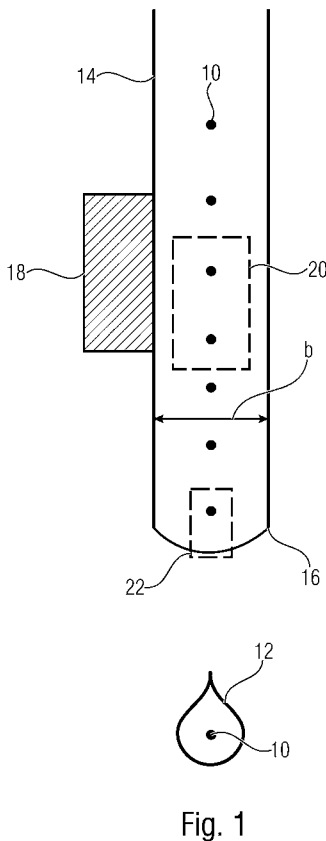
これは、粒子損失、すなわち検出されない粒子の数を著しく減少させる可能性がある。さらに、多くのセンサシステムで検出またはサンプリングレートが増加する可能性がある。このことは、測定フィールドまたは測定体積（関心領域）を著しく減少させることに起因する。さらに、流体中の粒子の動きは、それらの位置が一様である場合、より予測可能である。特に、これは、次の液滴中の粒子の数がより高い信頼性で予測され得るという利点を有する。ROIがより小さいため、一定の粒度で信号対雑音比を改善することが可能である。

【0055】

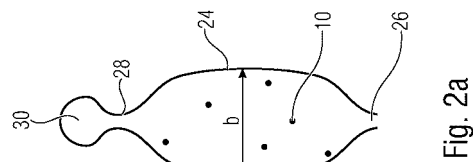
装置に関して本明細書で説明される機能的特徴は、当業者には明らかであるように、対応する機能を提供するように構成された対応する方法の特徴を表し、本明細書において方法に関して説明された特徴は、対応する特徴を実行するように構成された対応する装置の特徴も表す。

20

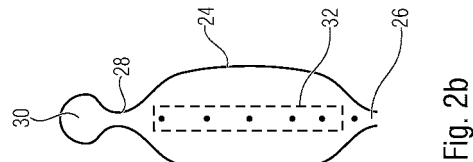
【図1】



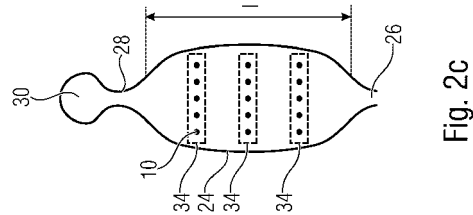
【図2a】



【図2b】



【図2c】



【 図 3 】

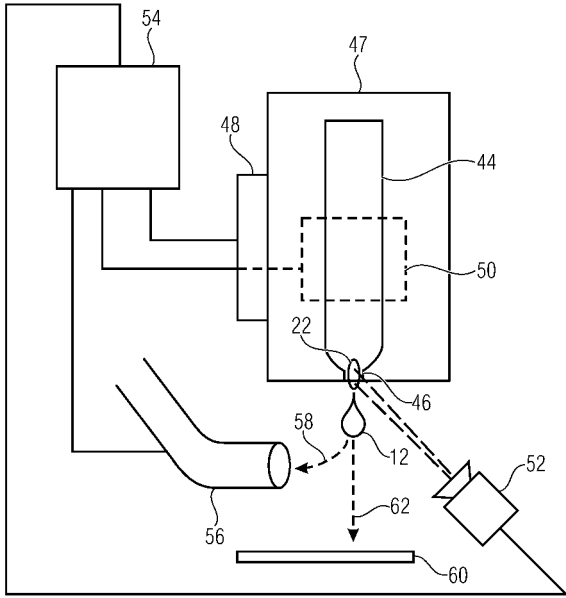


Fig. 3

フロントページの続き

Fターム(参考) 4G068 AA02 AA04 AB11 AB17 AC17 AD16 AD23 AD47 AD50 AF31
AF40