

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6933583号
(P6933583)

(45) 発行日 令和3年9月8日 (2021.9.8)

(24) 登録日 令和3年8月23日 (2021.8.23)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 B
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1
GO 1 N 1/00 (2006.01)	GO 1 N 1/00 1 O 1 G

請求項の数 42 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2017-560799 (P2017-560799)	(73) 特許権者	520159592
(86) (22) 出願日	平成28年5月20日 (2016.5.20)		ユニバーシティ オブ メリーランド, カレッジ パーク
(65) 公表番号	特表2018-522220 (P2018-522220A)		アメリカ合衆国 メリーランド州 207 42 カレッジ パーク リージェンツ
(43) 公表日	平成30年8月9日 (2018.8.9)		ドライブ 7999 2130 ミッチェル ビルディング オフィス オブ テク ノロジー コマーシャライゼーション
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/033568	(74) 代理人	100094112
(87) 国際公開番号	W02016/187561		弁理士 岡部 譲
(87) 国際公開日	平成28年11月24日 (2016.11.24)	(74) 代理人	100128668
審査請求日	令和1年5月17日 (2019.5.17)		弁理士 齋藤 正巳
(31) 優先権主張番号	62/164,381	(74) 代理人	100096943
(32) 優先日	平成27年5月20日 (2015.5.20)		弁理士 臼井 伸一
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 連続気相を伴うマイクロ流体チップにおける水滴の生成及び捕捉

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

入口マイクロチャネルを含むマイクロチャネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、気相内に水滴を生成する方法であって、前記マイクロチャネルの前記ネットワークは、一連のループの繰返しを含み、該ループのそれぞれは、上枝及び下枝からなり、該下枝のそれぞれは、水力学式トラップを含み、該方法は、

第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブ構造を設けることと、

キャピラリーを前記第1のバルブ入口内に前記バルブ出口へ向けて挿入することと、

外側導管に前記キャピラリーを通すことであって、前記キャピラリー及び前記外側導管は、前記入口マイクロチャネルと流体連通状態になることと、

前記第1のバルブ入口内において前記外側導管をシールすることと、

圧力を制御して、前記キャピラリーを通して前記入口マイクロチャネル内に水溶液を流すことによって、前記水溶液の液滴を形成することと、及び

前記第2のバルブ入口及び前記外側導管を通して前記入口マイクロチャネル内に前記気相を導入することであって、前記液滴は、前記キャピラリーの先端部に形成され、続いて、空気によって剪断されることと、

を含む、

方法。

【請求項 2】

10

20

前記気相は、前記外側導管を通して前記入口マイクロチャンネル内に連続的に導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記キャピラリーと前記第 1 のバルブ入口との間にシールを設けることを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記キャピラリーを前記第 1 のバルブ入口に挿通する前に、該キャピラリーの入口をピペットチップの出口に取り付けることを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記水溶液を、ソレノイドバルブによって前記圧力を制御することにより、前記ピペットチップから前記キャピラリーを通して前記マイクロ流体チップの前記入口チャンネル内に、空気により脈動させることを更に含む、請求項 4 に記載の方法。

10

【請求項 6】

前記キャピラリー及び前記外側導管は、前記入口マイクロチャンネル内に挿入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記キャピラリーと前記第 1 のバルブ入口との間の前記シールは、エポキシ樹脂によって作製される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記外側導管を、エポキシ樹脂を用いて前記バルブ出口に対してシールすることを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 9】

前記下枝のそれぞれは、様々なチャンネル幅及び幾何形状を有するチャンネルで構成され、前記上枝のそれぞれは、一定幅を有するチャンネルで構成される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記下枝に対する前記上枝の特定の水力抵抗比は、前記上枝の前記長さを変更するとともに、前記下枝の前記幅を特定の値の設定に維持することによって得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記液滴を、直接捕捉又は間接捕捉を用いることにより、前記水力学式トラップ内に捕捉することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 12】

捕捉された液滴を加熱することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記ピペットチップは、10 μ L 容のピペットである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 14】

前記バルブは、T 字路バルブであり、前記第 2 のバルブ入口は、前記第 1 のバルブ入口及び前記バルブ出口に対して垂直である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記キャピラリーは、75 μ m ~ 200 μ m の直径を有する、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 16】

前記外側導管は、300 μ m の直径を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

前記気相を前記第 2 のバルブ入口を通して前記外側導管に導く前に、連続した前記気相を加湿することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記水溶液を前記キャピラリーに連続的に導入するために、シリンジを前記キャピラリーの入口に取り付けることを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

前記マイクロ流体チップの前記マイクロチャンネルは、PDMS により作製される、請求

50

項 1 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記ネットワークにおける前記マイクロチャネルの側壁を、化学蒸着プロセスを通してパリレンでコーティングすることを更に含み、前記側壁は、パリレン蒸着の前に P D M S エッチング液によって粗面化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 1】

マイクロチャネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、連続した気相内に水溶液の液滴を生成するシステムであって、該システムは、

第 1 のバルブ入口と、第 2 のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブと、

前記第 1 のバルブ入口内に前記バルブ出口へ向けて挿入されるキャピラリーと、

前記キャピラリーが通され、前記第 1 のバルブ入口内においてシールされる外側導管であって、前記キャピラリー及び該外側導管は、前記マイクロ流体チップのマイクロ流体マイクロチャネルの前記ネットワークと流体連通状態になり、前記マイクロチャネルの前記ネットワークは、一連のループの繰返しを含み、該ループのそれぞれは、上枝及び下枝からなり、該下枝のそれぞれは、水力学式トラップを含む、外側導管と、及び

前記水溶液を前記キャピラリー内に前記マイクロ流体チップの前記チャネルネットワーク内へと引き込むことにより、前記水溶液の前記液滴を形成する圧力調節器であって、前記液滴は、前記第 2 のバルブ入口及び前記外側導管を通して前記マイクロ流体チップの前記マイクロチャネル内に導入される前記気相によって剪断される、圧力調節器と、を備える、システム。

【請求項 2 2】

前記キャピラリーと前記第 1 のバルブ入口との間にシールを更に備える、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 3】

前記気相は、前記外側導管を通して前記入口マイクロチャネル内に連続的に導入される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 4】

前記キャピラリーを前記第 1 のバルブ入口に挿通する前に、該キャピラリーの入口がピペットチップの出口に取り付けられる、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 5】

前記水溶液は、ソレノイドバルブによって圧力を制御することにより、前記ピペットチップから前記キャピラリーを通して前記マイクロ流体チップの前記入口チャネル内に脈動される、請求項 2 4 に記載のシステム。

【請求項 2 6】

前記キャピラリー及び前記外側導管は、前記入口マイクロチャネル内に挿入される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 7】

前記キャピラリーと前記第 1 のバルブ入口との間の前記シールは、エポキシ樹脂によって作製される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 8】

前記外側導管は、エポキシ樹脂を用いて前記バルブ出口に対してシールされる、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 9】

前記下枝のそれぞれは、様々なチャネル幅及び幾何形状を有するチャネルで構成され、前記上枝のそれぞれは、一定幅を有するチャネルで構成される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 0】

前記下枝に対する前記上枝の特定の水力抵抗比は、前記上枝の前記長さを変更するとともに、前記下枝の前記幅を特定の値の設定に維持することによって得られる、請求項 2 1

10

20

30

40

50

に記載のシステム。

【請求項 3 1】

前記液滴は、直接捕捉又は間接捕捉を用いることにより、前記水力学式トラップ内に捕捉される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 2】

捕捉された液滴を加熱する加熱素子を更に備える、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 3】

前記ピペットチップは、10 μ L 容のピペットである、請求項 2 4 に記載のシステム。

【請求項 3 4】

前記バルブは、T 字路バルブであり、前記第 2 のバルブ入口は、前記第 1 のバルブ入口及び前記バルブ出口に対して垂直である、請求項 2 1 に記載のシステム。

10

【請求項 3 5】

前記キャピラリーは、75 μ m ~ 200 μ m の直径を有する、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 6】

前記外側導管は、300 μ m の直径を有する、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 7】

前記気相を前記第 2 のバルブ入口を通して前記外側導管内に導く前に、連続した前記気相を加湿する加湿器を更に備える、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 8】

20

前記水溶液を前記キャピラリーに連続的に導入するために、シリンジが前記キャピラリーの入口に取り付けられる、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 3 9】

前記マイクロ流体チップの前記マイクロチャネルは、PDMS により作製される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 4 0】

前記ネットワークにおける前記マイクロチャネルの側壁は、化学蒸着プロセスを通してパリレンでコーティングされ、前記側壁は、パリレン蒸着の前に PDMS エッチング液によって粗面化される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 4 1】

30

入口マイクロチャネルを含むマイクロチャネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、気相内に水滴を生成する方法であって、前記マイクロチャネルの前記ネットワークは、一連のループの繰返しを含み、該ループのそれぞれは、上枝及び下枝からなり、該下枝のそれぞれは、水力学式トラップを含み、該方法は、

第 1 のバルブ入口と、第 2 のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブ構造を設けることと、

内側チューブを前記第 1 のバルブ入口内に前記バルブ出口へ向けて挿入することと、

外側チューブに前記内側チューブを通すことであって、前記内側チューブ及び前記外側チューブは、前記入口マイクロチャネルと流体連通状態になることと、

前記外側チューブを前記第 1 のバルブ入口内においてシールすることと、

40

圧力を制御して、前記内側チューブを通して前記入口マイクロチャネル内に水溶液を流すことによって、前記水溶液の液滴を形成することと、及び

前記第 2 のバルブ入口及び前記外側チューブを通して前記入口マイクロチャネル内に前記気相を導入することであって、前記液滴は、前記内側チューブの先端部に形成され、続いて、空気によって剪断されることと、

を含む、

方法。

【請求項 4 2】

マイクロチャネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、連続した気相内に水溶液の液滴を生成するシステムであって、該システムは、

50

第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブと、
前記第1のバルブ入口内に前記バルブ出口へ向けて挿入される内側チューブと、
前記内側チューブが通され、前記第1のバルブ入口内においてシールされる外側チューブであって、前記内側チューブ及び該外側チューブは、前記マイクロ流体チップのマイクロ流体マイクロチャネルの前記ネットワークと流体連通状態になり、前記マイクロチャネルの前記ネットワークは、一連のループの繰返しを含み、該ループのそれぞれは、上枝及び下枝からなり、該下枝のそれぞれは、水力学式トラップを含む、外側チューブと、及び前記水溶液を前記内側チューブ内に前記マイクロ流体チップの前記チャネルネットワーク内へと引き込むことにより、前記水溶液の前記液滴を形成する圧力調節器であって、前記液滴は、前記第2のバルブ入口及び前記外側チューブを通して前記マイクロ流体チップの前記マイクロチャネル内に導入される前記気相によって剪断される、圧力調節器と、を備える、システム。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

〔関連出願の相互参照〕

本願は、2015年5月20日に出願された米国仮特許出願第62/164381号に対する優先権の利益を主張するものであり、その米国仮特許出願の開示内容は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす。

20

【0002】

本発明は、マイクロ流体チップに組み込まれる液滴生成器に関する。具体的には、この液滴生成器は、連続気相を伴うマイクロ流体チップにおいて水溶液の液滴を生成する。

【背景技術】

【0003】

核酸の検出、及び生化学アッセイ等を行う能力は、医学、法科学、生産加工、作物及び動物の繁殖、並びに他の多くの分野において中核をなす。病態（例えば、癌）、感染性生物（例えば、HIV）、遺伝子系統、遺伝子マーカー等を検出する能力は、疾患診断及び予後診断、マーカー利用選抜、事件現場の特徴の正確な特定、産業生物を繁殖させる能力、並びに他の多くの技術に遍在する技術である。対象の核酸の完全性を判断することは、感染症又は癌の病理に関連し得る。サンプル中のタンパク質又は他のマーカーの検出を含む他の生化学アッセイは、疾患及び障害検出と環境安全性との双方に関連する。

30

【0004】

少量の核酸を検出する最も有力で基本的な技術のうちの1つは、核酸配列の一部又は全てを多数回複製し、その後、増幅産物を分析することである。ポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）が、数ある異なる増幅技法のうちで最もよく知られているものである。

【0005】

PCRは、DNAの短い断片を増幅させるのに有力な技法である。PCRを用いると、単一の鋳型のDNA分子から開始して、数百万のDNAのコピーを素早く生成することができる。PCRは、DNAを一本鎖に変性させ、その変性した鎖にプライマーをアニーリングし、そのプライマーを耐熱性DNAポリメラーゼ酵素によって伸長させるという3段階の温度サイクルを含む。このサイクルは、増幅されたDNAのコピーが検出及び分析に十分となるように繰り返される。PCRについての全般的な詳細は、非特許文献1、非特許文献2、及び非特許文献3を参照されたい。

40

【0006】

マイクロ流体チップは、*in vitro*診断試験を含む生化学アッセイを行う「ラボオンチップ（lab-on-chip）」デバイスのために開発されている。最大の成長分野は、分子生物学であり、この分野では、チップのシールチャネルにおいてDNA増幅が行われる。一般的には、光学検出デバイスが、経時的な増幅産物の増加を測定すること（リアルタイムPCR）及び/又は特定の遺伝子型の存在を特定するために熱融解を行うこと（高分

50

解能融解曲線分析 (High Resolution Thermal Melt)) に用いられる。

【 0 0 0 7 】

液滴 PCR は、当該技術分野においてよく知られており、従来は、油、フッ素化液体、又は他の任意の非水溶媒若しくは疎水性溶媒等の非混和性流体によって包囲された水滴の形態をとっていた。しかし、油相を用いる液滴 PCR には、いくつかの欠点がある。油中水型液滴の使用には、標準的な PCR に対比して追加の物質（すなわち、油、界面活性剤等）が必要であり、また、タンパク質が、油水界面において油との接触に起因して変性する可能性があり、マイクロ流体チャネルの表面への不可逆的なタンパク質吸着につながり得る。さらに、油の粘度により、他の物質によって達成し得るよりも遅い流速が余儀なくされる。

10

【 0 0 0 8 】

液滴 PCR は、特に、ラボオンチップ用途で、貫流マイクロ流体チャネル（生化学反応がサンプルにおいて、静止時に行われる場合も、チャネルを通して流れる間に行われる場合もある）、及び液滴をマイクロ流体システム内に収めることができるトラップを組み込んでいるマイクロ流体システムの双方において用いられている。例えば、水力学式トラップが、非特許文献 4 において記載されている。

【 0 0 0 9 】

非特許文献 4 は、マイクロ流体システムにおいて液滴を捕捉及び収容するパッシブ型及びアクティブ型の双方の方法の使用を記載している。いくつかの例において、パッシブ型捕捉は、アクティブ型捕捉の場合よりも、多重化を可能にする拡張性が高いため好ましい。非特許文献 4 は、パッシブ型捕捉の 2 つの方法、すなわち、図 1 に示されているように、ループの一連の繰返しを含むマイクロ流体システムの上枝及び下枝の水力学的抵抗に基づく直接捕捉及び間接捕捉を記載している。図 1 に示されているように、液滴を捕捉するこのシステムは、上述したように油中水システムとともに動作するように設計されている。このようなシステムにおいて液滴を捕捉する効力は、液滴のサイズ及び液滴の間隔に左右され、油中水滴形成の精密制御を必要とする。油の流速は、このようなシステムの性能における主要因であり、システムパラメータは、液滴の生成において用いられる特定の油又は他の界面活性剤に対して最適化する必要がある。

20

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

30

【 0 0 1 0 】

【 非特許文献 1 】 Sambrook and Russell, Molecular Cloning--A Laboratory Manual (3rd Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000)

【 非特許文献 2 】 Current Protocols in Molecular Biology, F. M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., (supplemented through 2005)

【 非特許文献 3 】 PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, M. A. Innis et al., eds., Academic Press Inc. San Diego, Calif. (1990)

【 非特許文献 4 】 Bithi and Vanapalli ("Behavior of a train of droplets in a fluidic network with hydrodynamic traps", Biomicrofluidics 4, 044110 (2010))

40

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 1 】

したがって、この技術分野において、これらの欠点を克服する、マイクロ流体チップにおいて用いる液滴を調製する代替的なシステム及び方法が必要とされている。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 2 】

本発明の 1 つの態様において、マイクロ流体チップにおいて気相内に水滴を生成する方法が提供される。本方法は、第 1 の入口、第 2 の入口、及び出口を有するバルブを用いる

50

ことによって実行される。具体的には、本方法は、キャピラリーを第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入することを含む。次のステップにおいて、外側導管にキャピラリーが通され、キャピラリー及び外側導管は、マイクロ流体チップの入口マイクロチャンネルと流体連通状態になる。次に、外側導管は、第1の入口内においてシールされる。水溶液の液滴は、圧力を印加して、キャピラリーを通して入口マイクロチャンネル内に水溶液を流すことによって形成される。本方法の次のステップは、第2の入口及び外側導管を通して入口マイクロチャンネル内に気相を連続的に導入することに関する。液滴は、連続的に内側キャピラリーの先端部に形成され、続いて、空気によって剪断される。

【0013】

本発明の更に別の態様において、マイクロ流体チップにおいて連続気相内に水溶液の液滴を生成するシステムが提供される。本システムは、第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブを備える。キャピラリーが、第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入される。キャピラリーが通され、第1の入口内においてシールされる外側導管が設けられる。キャピラリー及び外側導管は、マイクロ流体チップのマイクロ流体マイクロチャンネルのネットワークと流体連通状態になるように構成されている。さらに、水溶液をキャピラリー内にマイクロ流体チップのチャンネルネットワーク内へと引き込むことにより、水溶液の液滴を形成するために、圧力調節器が設けられる。液滴は、第2のバルブ入口及び外側導管を通してマイクロ流体チップのマイクロチャンネル内に連続的に導入される気相によって剪断される。

【0014】

本明細書の一部をなし、本明細書の一部を形成する添付図面は、本発明の種々の実施形態を示す。図面中、同様の参照符号は同一の要素又は機能が類似する要素を示す。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】関連技術に係るマイクロ流体捕捉装置の概略図である。

【図2A】トラップアレイの一連の構成のレイアウト図である。

【図2B】本発明の別の実施形態に係るトラップアレイの一連の構成のレイアウト図である。

【図3】トラップの寸法の概略図である。

【図4A】直接水力式捕捉の概略図である。

【図4B】間接水力式捕捉の概略図である。

【図5A】マイクロ流体チップを作製する方法を示すフローチャートである。

【図5B】液滴を分解するパリレンコーティングされたPDMSチャンネルにおける流体の流れを示す図である。

【図5C】液滴が粗面側壁に沿ってスムーズに移動することが可能な、エッチング及びパリレンコーティングされた超疎水性チャンネルにおける流体の流れを示す図である。

【図6】本発明の一実施形態に係る並流液滴生成器の構成の図である。

【図7A】マイクロ流体チップと流体連通状態にある本発明の一実施形態に係る並流液滴生成器の概略図である。

【図7B】液滴生成器内の圧力制御システムの概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明は、複数の実施形態を有し、また当業者に既知の詳細については特許、特許出願及び他の引用文献に依拠する。したがって、特許、特許出願又は他の引用文献を本明細書中で引用する又は繰り返す場合、あらゆる目的でまた記載される陳述のため、引用することによりその全体が本明細書の一部となることを理解されたい。

【0017】

本発明は、連続気相を伴うマイクロ流体チップにおいて水溶液の液滴を生成する方法及びシステムに関する。具体的には、本発明に係る液滴生成器は、マイクロ流体チップに統合され、水溶液の液滴を生成してマイクロ流体チップ内に導入する。液滴は、チャンネルの

寸法及び幾何形状によって規定されるチップチャネルの水力学的抵抗に基づいて、オンチップトラップにおいて捕捉される。マイクロ流体チップ上に捕捉された液滴に対して生物学的反応を行うことができる。

【0018】

図2Aは、トラップアレイの一連の構成を有するマイクロ流体チップ202のレイアウトを示している。マイクロ流体チップ202は、サンプル液滴を直接又は間接的に水力によって捕捉するように設計されている。ループ210は、サンプル液滴が各トラップ位置に連続して直面するアレイ状に配置されている。各ループ210は、サンプル液滴を捕捉するトラップ214を有する下枝と、捕捉された液滴を迂回する上枝（バイパス）とからなる。液滴の分解を回避するために、チャネルの幾何形状は、液滴を分解し得る凹角部及び急カーブを排除する設計となっている。具体的には、上枝は、弧状の形状であり、上側トラップ列と下側トラップ列とは、3つの直線マイクロチャネルではなく、Uターン部216によってつながっている。1つの実施形態において、下枝204は、様々なチャネル幅及び幾何形状で構成される。上枝206は、一定幅の矩形断面を有するループ形状のチャネルで構成される。ループ210は、マイクロ流体チャネル212によってつながっている。液滴生成器は、入口チャネル208を通してマイクロ流体チップ202に接続することができる。下枝及び上枝の水力学的抵抗 R_U 及び R_L は、チャネル及びトラップの幾何形状によって規定される。トラップは、トラップの出口部の方が入口部よりもはるかに狭くなるように設計されている。したがって、トラップを出るには、捕捉された液滴は、出口部を押し通るように大きい界面力に打ち勝たなければならない。液滴は、抵抗が最小の経路を通る。したがって、 $R_U / R_L < 1$ の場合、液滴はトラップを迂回する。その反対が当てはまる、 $R_U / R_L > 1$ の場合、液滴はトラップ内に保持される。

【0019】

非限定的な例として、チャネル212及び208の高さは、約100 μm ～約300 μm とすることができ、入口チャネル208の幅は、約300 μm ～約500 μm とすることができ、それにより、液滴生成器を入口チャネル208に容易に挿入することが可能である。上枝206は、約100 μm ～約300 μm 、好ましくは約200 μm の一定幅の矩形チャネルで構成することができる。上枝（ R_U ）対下枝（ R_L ）の異なる水力抵抗比は、上側チャネルの長さを変更するとともに、設定された下側チャネルの幅を維持することによって得ることができる。1つの非限定的な実施形態において、下側チャネルの幅は、85 μm に設定され、上枝の幅は、200 μm に設定される。

【0020】

図2Bは、本発明の別の実施形態に係るトラップ構成を示している。入口チャネル208は、チャネル212に向かってテーパ状に狭まり、図6に示されているような並流液滴生成器を、トラップ列と平行に入口チャネル208を通してマイクロ流体チップ202内に挿入することを可能にする。トラップは、連続的に列になって接続されているが、この列は、段状に接続されている。図2Bは、各列に3つのトラップを含む3つの列を有するトラップのレイアウトを示しているが、列の数及び各列におけるトラップの数は、図2Bに示されている実施形態によって限定されない。実際、列及びトラップの任意の選択した数を、マイクロ流体チップ202において液滴を捕捉するのに用いることができる。凹角部は液滴を分解しやすいため、トラップの出口部チャネル218は、凹角部が形成されないようにトラップの接続チャネル220へと延びている。列は、Uターン部216によってつながっている。1つの非限定的な実施形態において、入口チャネル208は、500 μm 幅であり、一方、チャネル212は、300 μm 幅である。

【0021】

個別のループ210は、図3においてより詳細に示されている。具体的には、図3は、水力式トラップの寸法及び幾何形状を示している。トラップを迂回する上枝206は、チャネル区画d1、d2、及びd3からなる。トラップを通り抜ける下枝204は、チャネル区画c1、a、b、及びc2からなる。

【0022】

10

20

30

40

50

表 1 は、1 列目に明記されているように、セクション d 1、d 3、a、b、c 1、c 2 の異なる長さ (L d 1、L d 3、L a、L b、L c 1、L c 2) 及び幅 (W d 1、W d 3、W a、W b、W c 1、W c 2) によって特徴付けられる、水力式トラップの異なる設計を示している。上側チャネル (枝) 対下側チャネル (枝) の水力抵抗比 R_L / R_U が、各設計について計算され、表 1 の最終列に提示されている。具体的には、表 1 の最終列は、水力学式ループにおける区画 d 1 及び d 3 の長さ L を変更することによって調節された、下枝対上枝の 5 つの異なる抵抗の比 R_L / R_U を示している。

【 0 0 2 3 】

【表 1】

表 1

設計	Ld1 μm	Ld3 μm	La μm	Lb μm	Lc1 μm	Lc2 μm	Wd1 μm	Wd3 μm	Wa μm	Wb μm	Wc1 μm	Wc2 μm	R_L / R_U
300 85 0	0	0	675	300	450	100	200	200	675	85	300	100	1.59
300 85 100	100	57.5	675	300	450	100	200	200	675	85	300	100	1.49
300 85 1000	1000	957.5	675	300	450	100	200	200	675	85	300	100	0.86
300 85 500	500	457.5	675	300	450	100	200	200	675	85	300	100	1.12
300 85 750	750	707.5	675	300	450	100	200	200	675	85	300	100	0.97

【 0 0 2 4 】

上側チャネル (枝) 及び下側チャネル (枝) の異なるセクションに対する水力抵抗 R_n は、分析式を用いることにより推定することができる。セクション d 1、d 2、d 3、c 1、a、b、及び c 2 の直線矩形チャネルにおける水力抵抗の概算には、式 (1) を用いた。

【 0 0 2 5 】

【数 1】

$$R_n = \frac{12\mu L}{h^3 w} \left[1 - \sum_{n, odd}^{\infty} \frac{1}{n^5} \times \frac{192}{\pi^5} \times \frac{h}{w} \tanh \left(\frac{n\pi w}{2h} \right) \right]^{-1} \quad (1)$$

【 0 0 2 6 】

ここで、 μ は、空気の動粘度であり、L は、チャネルセクションの長さであり、h 及び w は、チャネルの高さ及び幅である ($w > h$)。式 (1) の精度は、合計して十分な数 n の項を選択することによって達成される。例えば、非特許文献 4 を参照されたい。下側チャネルの方形部分 (区画 c 1 及び c 2) の水力抵抗を、式 $R = 28.47 \mu L / h^4$ に従って推定した。上側チャネルの総抵抗 R_U 及び下側チャネルの総抵抗 R_L は、それぞれ、チャネル区画の抵抗の合計として計算することができる。

【 0 0 2 7 】

図 4 A は、マイクロ流体アレイにおける直接水力式捕捉手法を示している。代替的に、図 4 B は、マイクロ流体アレイにおける間接水力式捕捉手法を示している。図 4 A 及び図 4 B は、2 つの異なる時点において示されるループ 2 1 0 (図 2) を示している。具体的には、図 4 A において、下側チャネル (枝) 2 0 4 の水力学的抵抗 R_L が上側チャネル (枝) 2 0 6 の水力学的抵抗 R_U よりも小さい場合、連続する液滴の中の第 1 の液滴は、下枝 2 0 4 に入って水力学式トラップ 2 1 4 内に捕捉される。液滴 1 が捕捉された場合、下枝 2 0 4 に捕捉された液滴 1 によって水力学的抵抗の増加が生じるため、後続の液滴 2 は上枝 2 0 6 を選ぶ。代替的に、図 4 B において、 R_L が R_U よりも大きい場合、第 1 の液滴は、上枝 2 0 6 に入り、移動する液滴 1 の水力学的抵抗に起因して流れを妨げるため、次の液滴 2 は、下枝 2 0 4 の水力学式トラップに入り、トラップ 2 1 4 内に捕捉され得る。続いて、次の液滴 3 は、上枝 2 0 6 に進む。

【 0 0 2 8 】

図 5 は、本発明の 1 つの実施形態に係るポリジメチルシロキサン (P D M S) のマイクロ流体チップ 2 0 2 を作製する方法を示すフローチャートである。ステップ 5 0 2 ~ 5 1 0 は、シリコンウェハー上に種型を作製することに関する。1 つの非限定的な実施形態において、ネガ型フォトリソスト SU - 8 2 0 7 5 を用いて、型を作製することができる

10

20

30

40

50

。ステップ502において、ウェハは、まず、ピラニア溶液浴で洗浄し、濯ぎ、次いで脱水する。1つの非限定的な実施形態において、脱水は、120 で10分間行われ得る。2段階のスピコートプロセス（ステップ504）を用いて、チップの特定の厚さを得ることができる。第1のコートを施すために、フォトレジストをウェハ上にスピコートし、ソフトベークする。次に、フォトレジストの第2の層をスピコートする。1つの非限定的な実施形態において、フォトレジストを225 μm の厚さにスピコートし、次いで100 でソフトベークした。ウェハを室温まで冷まし、その後、フォトレジストの第2の層を75 μm の厚さにスピコートした。第2の層を100 で20分間ソフトベークした。スピコートプロセスの後、ウェハは、周囲の温度及び湿度において1時間再水和する。次に、ステップ506において、ウェハをUV光に露光する。1つの非限定的な実施形態において、ウェハは、25 mW / cm^2 のUV光に30秒間露光した。露光後すぐに、ウェハを65 で6分間及び95 で16分間ベークした。ステップ508において、未硬化のネガ型フォトレジストを、デベロッパーを用いて軽く攪拌することで除去する。1つの非限定的な実施形態において、未硬化のフォトレジストSU-8を、SU-8デベロッパーを用いて18分間軽く攪拌することで除去した。ステップ510において、ウェハを濯ぎ、その後、ベークした。1つの非限定的な例において、ウェハをイソプロピルアルコール（IPA）及び脱イオン水で濯ぎ、その後、80 で一晩ベークした。

【0029】

ステップ512において、PDMSチップを、ステップ502～510において作製された型を用いて作製した。1つの非限定的な実施形態において、PDMSチップは、基剤と硬化剤とを10：1の比で混合することによって作製した。厚さ5mmの頂部部品を、SU-8種型において80 のオーブンで10分間硬化させた。厚さ1mmの底部部品を、ホットプレートを用いてクリーンなシリコンウェハ上に部分的に硬化させた。ホットプレートは、初めは室温であり、その後、ウェハを配置した後に90 に設定した。約20分後、PDMSが僅かに粘着質であり、完全に硬化していないうちに、頂部部品を底部部品に接合し、更に10分間硬化させた。

【0030】

ステップ514において、チャンネルの側壁を、超疎水性、耐蒸気性、又はその双方となるように改質する。1つの非限定的な実施形態において、超疎水性の壁は、ロータス効果によって、及び側壁をPDMSエッチング液（3：1のN-メチル-2-ピロリドン（NMP）：フッ化テトラブチルアンモニウム（TBAF））を用いて2分間粗面化することによって形成された。エッチング液は、脱イオン水をチップ内に流すことによって除去する。耐蒸気性チャンネルは、化学蒸着プロセスを通して側壁をパリレンでコーティングすることによって作製される。チャンネルは、まず側壁をエッチングし、次いでパリレンでコーティングすることによって、超疎水性及び耐蒸気性の双方になる。

【0031】

図5B及び図5Cは、パリレンでコーティングされたチャンネルを通る流体の流れ（図5B）と、エッチング及びパリレンコーティングされた超疎水性チャンネルを通る流体の流れ（図5C）との比較を示している。図5B及び図5Cによる各チャンネルは、2つのループ210を有し、2つのループ210のそれぞれは、トラップ214と、上枝206と、下枝204とを備える。具体的には、図5Bは、液滴を分解するパリレンコーティングされたPDMSチャンネルにおける流体の流れを示している。パリレンによるチャンネルの改質は、PDMS側壁の表面エネルギーに影響を与えた。PDMSは、接触角が115度の非常に疎水性の高い物質である。疎水性表面は、高い表面張力に起因して、水滴が分解するのを防ぐのに役立つ。図5Aを参照して上述したように、パリレンは、PCR中の蒸発を防ぐために、PDMSチャンネルにおいて非透湿バリアを形成するのに用いられる。しかし、接触角が92度であるパリレンは、PDMSよりも疎水性が低いことで、液滴の分解を引き起こし、その結果、チャンネルの至る所にサテライト液滴が観察される。図5Aに示されているステップ514を参照すると、超疎水性チャンネルは、チャンネル壁をエッチングし、

10

20

30

40

50

その後、パリレンコーティングすることによって作製される。図 5 C は、液滴が分解することなく粗面側壁に沿ってスムーズに移動することが可能な、エッチング及びパリレンコーティングされた超疎水性チャネルにおける流体の流れを示している。

【 0 0 3 2 】

マイクロ流体チップ 2 0 2 において連続気相内にサンプル水滴を生成するために、並流設計が、図 6 に示されているような本発明に係る液滴生成器において実施される。1つの非限定的な実施形態において、液滴生成器 6 0 2 は、T 字路バルブ 6 0 4 と、ピペットチップ 6 0 6 と、外側導管 6 1 0 に通されたキャピラリー 6 0 8 とを備える。T 字路バルブは、第 1 のバルブ入口 6 1 2 と、第 2 のバルブ入口 6 1 4 と、バルブ出口 6 1 6 とを有する。1つの非限定的な実施形態において、外側導管 6 1 0 は、5 分硬化型エポキシ樹脂 (5-minute epoxy) を用いてバルブ出口 6 1 6 に取り付けられる。キャピラリー 6 0 8 の入口は、ピペットチップ 6 0 6 の出口に取り付けられ、バルブ入口 6 1 2 から真っ直ぐバルブ出口 6 1 6 へと挿通される。第 1 のバルブ入口 6 1 2 は、キャピラリー 6 0 8 を通してマイクロ流体チップ 2 0 2 の入口チャネル 2 0 8 内に水溶液を導入するのに用いることができる。第 2 のバルブ入口 6 1 4 は、キャピラリー 6 0 8 が通された外側導管 6 1 0 を通してマイクロ流体チップ 2 0 2 の入口チャネル 2 0 8 内に空気を導入するのに用いることができる。ピペットチップ 6 0 6 に取り付けられたキャピラリー 6 0 8 が、バルブ入口 6 1 2 内に挿入されて、バルブ出口 6 1 6 を通って出た後、キャピラリー 6 0 8 の周囲及びバルブ出口 6 1 6 内にシールが設けられる。1つの非限定的な実施形態において、シールは、エポキシ樹脂によって作製することができる。次に、外側導管 6 1 0 にキャピラリー 6 0 8 が通される。非限定的な例として、エポキシシールが、外側導管 6 1 0 とバルブ出口 6 1 6 との間に設けられる。非限定的な例として、外側導管 6 1 0 の幅は、 $300\text{ }\mu\text{m}$ とすることができる。

【 0 0 3 3 】

水溶液は、負圧を用いることでキャピラリー 6 0 8 及びピペットチップ 6 0 6 内に引き込まれる。具体的には、ピペットチップは、低圧で脈動させることで、キャピラリー 6 0 8 を通して水溶液を空気により脈動させ、キャピラリーの先端部に液滴を形成する。低い空気圧は、ソレノイドバルブによって制御される。同時に、T 字路バルブ 6 0 4 は、キャピラリー 6 0 8 を被覆している外側導管 6 1 0 から流れ出る低圧の空気によって満たされる。1つの非限定的な実施形態において、 $10\text{ }\mu\text{L}$ 容のピペットを、 0.05 パール未満の低圧で 70 m 秒で脈動させる。この実施形態において脈動される水溶液は、個々の流体液滴を生成する方法を提供する。

【 0 0 3 4 】

更に別の実施形態において、シリンジを用いて水溶液をキャピラリー 6 0 8 内に導入する。1つの非限定的な実施形態において、液滴水溶液は、 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ のフィルターで濾過した脱イオン水からなるものとした。水溶液は、シリンジポンプによって $10\text{ }\mu\text{L}/\text{分}$ の速度でキャピラリー 6 0 8 内に注入した。 0.05 パール未満の連続気相を、バルブ入口 6 1 4 内に入り、外側導管 6 1 0 から出るように導いた。本実施形態における水溶液の連続的な流れは、流体液滴を連続的に生成する方法を提供する。

【 0 0 3 5 】

図 7 A は、本発明の 1 つの実施形態に係る、マイクロ流体チップ 2 0 2 (図 2) に接続された並流液滴生成器 6 0 2 (図 6) の構成である。具体的には、外側導管 6 1 0 に通されたキャピラリー 6 0 8 は、マイクロ流体チップ 2 0 2 の入口チャネル 2 0 8 内に挿入される。外側導管 6 1 0 には空気が満たされており、一方、キャピラリー 6 0 8 には水溶液が満たされている。シール 6 1 2 が、外側導管 6 1 0 と入口マイクロチャネル 2 0 8 との間に設けられる。

【 0 0 3 6 】

図 7 B は、液滴生成器 6 0 2 と連通状態にある圧力制御システムの概略図である。本発明の 1 つの実施形態によれば、水溶液は、ピペットによって負圧を印加することにより、キャピラリー 6 0 8 及びピペットチップ 6 1 8 内に引き込むことができる。連続気相は、

第2のバルブ入口614を通して外側導管610内に導く前に、貯水器708を用いることにより加湿される。低い空気圧が印加され、キャピラリーを通して水溶液を空気により脈動させる。非限定的な例において、印加される圧力は、0.05バールよりも低く、ソレノイドバルブ702及び圧力調節器704によって制御される。水溶液の液滴がキャピラリー608の先端部に生成されると、バルブ604は、それと同時に、圧力調節器706によって制御された低圧の空気で満たされる。この空気は、キャピラリー608を被覆している外側導管610から流れ出る。したがって、圧力調節器707は、水溶液をキャピラリー内にマイクロ流体チップの入口チャンネル208内へと引き込むことにより、水溶液の液滴を形成するように構成されている。液滴は、外側導管を通してマイクロ流体チップの入口チャンネル208内に連続的に導入される気相によって剪断される。

10

【0037】

オンチップで生成される液滴は、操作することも可能でなければならない。例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）において、液滴は、蛍光測定用の撮像を行うために静止状態に保持される場合がある。液滴生成器602と連通状態にあるマイクロ流体チップ202は、図4Bに示されているような、間接捕捉手法に対応する幾何学的寸法（ $R_L > R_U$ ）を有するように構成することができる。この構成では、水溶液の液滴は、連続的にキャピラリー608の先端部に形成され、続いて、外側導管610から出る空気によって剪断される。図4Bを参照すると、剪断された液滴は、キャピラリーの先端部に形成される後続の液滴によってもたらされる空気流の減少に起因して、チャンネルの有限距離にわたって移動する。上側チャンネル206内で動かない先頭の液滴1は、上側チャンネルの水力抵抗を下側チャンネル204に対して増加させる。したがって、液滴2は、出口が塞がれることにより下側チャンネルの水力抵抗が上側チャンネルに対して増加するまで、下側チャンネルのトラップ204を満たす。その場合、先頭の液滴1は、続けて上側チャンネル206を通る。後続の遅れてくる液滴3は、トラップ214が液滴2で満たされている下側チャンネルを迂回する。

20

【0038】

本発明によるチャンネルの改質は、PDMS側壁の表面エネルギーに影響を与える。PDMSは、接触角が115度の疎水性物質である。疎水性表面は、高い表面張力に起因して、水滴が分解することを防ぐのに役立つ。したがって、サテライト液滴の形成及び液滴の分解を回避することができる。パリレンが、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）中の蒸発を防ぐために、PDMSチャンネルにおいて非透湿バリアを形成するのに用いられる。しかし、パリレンは、PDMSよりも疎水性が低い（接触角＝92度）。パリレンコーティングされたPDMSチャンネルの表面エネルギーは、パリレン蒸着の前にPDMSエッチング液で側壁を粗面化することによって低下させることができる。粗面側壁はロータス効果に起因して超疎水性となるため、液滴は、分解することなく粗面側壁に沿ってスムーズに移動する。したがって、本発明に係るマイクロ流体チップと組み合わされた液滴生成器は、マイクロ流体チップ上で捕捉された液滴に対して生物学的反応を行うのに用いることができる。連続気相は、タンパク質が空気／水界面においてより遅く変性するため、油相の代わりになる。本発明に係るマイクロ流体機構において、水相は、連続気相内に「滴下」される。本発明の空気／水システムは、液滴生成器をマイクロ流体チップに統合することと、水滴をチップ上の規定のマイクロトラップ内に捕捉することとを可能にする。

30

40

【0039】

したがって、1つの実施形態において、入口マイクロチャンネルを含むマイクロチャンネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、気相内に水滴を生成する方法が提供される。別の実施形態において、第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブ構造が提供される。別の実施形態において、内側チューブが、第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入される。別の実施形態において、外側チューブに内側チューブが通され、内側チューブ及び外側チューブが入口マイクロチャンネルと流体連通状態になる。別の実施形態において、外側チューブは、第1の入口内においてシールされる。更なる一実施形態において、圧力を制御して、内側チューブを通して入口マイクロ

50

チャンネル内に水溶液を流すことによって、水溶液の液滴を形成する。更なる一実施形態において、気相は、第2の入口及び外側チューブを通して入口マイクロチャンネル内に導入され、液滴は、内側チューブの先端部に形成され、続いて、空気によって剪断される。

【0040】

別の実施形態において、マイクロチャンネルのネットワークを有するマイクロ流体チップにおいて、連続気相内に水溶液の液滴を生成するシステムが提供される。1つの実施形態において、本システムは、(i)第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブと、(ii)第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入される内側チューブと、(iii)内側チューブが通され、第1の入口内においてシールされる外側チューブであって、内側チューブ及び外側チューブは、マイクロ流体チップのマイクロ流体マイクロチャンネルのネットワークと流体連通状態になる、外側チューブと、(iv)水溶液を内側チューブ内にマイクロ流体チップのチャンネルネットワーク内へと引き込むことにより、水溶液の液滴を形成する圧力調節器であって、液滴は、第2のバルブ入口及び外側導管を通してマイクロ流体チップのマイクロチャンネル内に導入される気相によって剪断される、圧力調節器とを備える。

10

【0041】

本発明の更に別の実施形態において、マイクロ流体チップにおいて気相内に水滴を生成する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、第1の入口と、第2の入口と、出口とを有するバルブを用いることによって実行される。別の実施形態において、バルブは、T字路であり、第2のバルブ入口は、第1のバルブ入口及びバルブ出口に対して垂直である。

20

【0042】

1つの実施形態において、本方法は、キャピラリーを第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入することを含む。1つの実施形態において、キャピラリーは、約 $10\mu\text{m}$ ～約 $300\mu\text{m}$ 、好ましくは約 $75\mu\text{m}$ ～約 $200\mu\text{m}$ の直径を有する。別の実施形態において、外側導管にキャピラリーを通すことができ、キャピラリー及び外側導管は、マイクロ流体チップの入口マイクロチャンネルと流体連通状態になる。別の実施形態において、外側導管は、第1の入口内においてシールされる。1つの実施形態において、外側導管は、約 $20\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ 、好ましくは約 $300\mu\text{m}$ の直径を有する。水溶液の液滴は、圧力を印加して、キャピラリーを通して入口マイクロチャンネル内に水溶液を流すことによって形成することができる。更なる一実施形態において、気相は、第2の入口及び外側導管を通して入口マイクロチャンネル内に連続的に導入され、液滴は、連続的に内側キャピラリーの先端部に形成され、続いて、空気によって剪断される。別の実施形態において、連続気相は、第2のバルブ入口を通して外側導管内に気相を導く前に加湿される。

30

【0043】

本発明の更に別の態様において、マイクロ流体チップにおいて連続気相内に水溶液の液滴を生成するシステムが提供される。システムは、第1のバルブ入口と、第2のバルブ入口と、バルブ出口とを有するバルブを備える。別の実施形態において、バルブは、T字路であり、第2のバルブ入口は、第1のバルブ入口及びバルブ出口に対して垂直である。

【0044】

40

1つの実施形態において、本システムは、第1のバルブ入口内にバルブ出口へ向けて挿入されるキャピラリーを備える。1つの実施形態において、キャピラリーは、約 $10\mu\text{m}$ ～約 $300\mu\text{m}$ 、好ましくは約 $75\mu\text{m}$ ～約 $200\mu\text{m}$ の直径を有する。別の実施形態において、本システムは、キャピラリーが通された外側導管を提供する。別の実施形態において、外側導管は、第1の入口内においてシールされる。1つの実施形態において、外側導管は、約 $20\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ 、好ましくは約 $300\mu\text{m}$ の直径を有する。キャピラリー及び外側導管は、マイクロ流体チップのマイクロ流体マイクロチャンネルのネットワークと流体連通状態になるように構成されている。更なる一実施形態において、水溶液をキャピラリー内にマイクロ流体チップのチャンネルネットワーク内へと引き込むことにより、水溶液の液滴を形成するために、圧力調節器が設けられる。液滴は、第2のバルブ入口及び

50

外側導管を通してマイクロ流体チップのマイクロチャンネル内に連続的に導入される気相によって剪断される。別の実施形態において、連続気相は、第2のバルブ入口を通して外側導管内に気相を導く前に加湿される。

【0045】

いくつかの実施形態において、キャピラリーと第1のバルブ入口との間にシールが設けられる。更なる一実施形態において、内側キャピラリーと第1の入口との間のシールは、エポキシ樹脂によって作製される。更に別の実施形態において、キャピラリー及び外側導管は、入口マイクロチャンネル内に挿入される。更なる一実施形態において、外側導管は、エポキシ樹脂によってバルブ出口に対してシールされる。

【0046】

更なる一実施形態において、気相は、外側導管を通して入口マイクロチャンネル内に連続的に導入される。

【0047】

別の実施形態において、キャピラリーを第1の入口に挿通する前に、キャピラリーの入口がピペットチップの出口に取り付けられる。いくつかの実施形態において、ピペットは、10 μ L容のピペットである。更なる一実施形態において、水溶液は、ソレノイドバルブによって圧力を制御することにより、ピペットチップからキャピラリーを通してマイクロ流体チップの入口チャンネル内に、空気により脈動される。

【0048】

更に別の実施形態において、水溶液をキャピラリーに連続的に導入するために、シリンジがキャピラリーの入口に取り付けられる。

【0049】

更に別の実施形態において、マイクロチャンネルのネットワークは、一連のループの繰返しを含み、各ループは、上枝及び下枝からなり、各下枝は、水力学式トラップを備える。いくつかの実施形態において、各下枝は、様々なチャンネル幅及び幾何形状を有するチャンネルで構成され、各上枝は、一定幅を有するチャンネルで構成される。例えば、いくつかの実施形態において、下枝は、約50 μ m～約500 μ m、より好ましくは約85 μ m～約400 μ m、より好ましくは約100 μ m～約300 μ m、及び好ましくは約200 μ mのチャンネル幅を有することができる。他の実施形態において、上枝は、約50 μ m～約500 μ m、より好ましくは約85 μ m～約400 μ m、より好ましくは約100 μ m～約300 μ m、及び好ましくは約200 μ mのチャンネル幅を有することができる。本発明によって具現されるチャンネルの長さ及び幅の例は、表1に見ることができる。

【0050】

他の実施形態において、上枝対下枝の特定の水力抵抗比は、上枝の長さを変更するとともに、下枝の幅を特定の値の設定に維持することによって得られる。例えば、いくつかの実施形態において、水力比は、0.5～約2.0、好ましくは約0.9～約1.6とすることができる。

【0051】

別の実施形態において、液滴は、直接捕捉又は間接捕捉を用いることにより、水力学式トラップ内に捕捉される。更に別の実施形態において、捕捉された液滴は加熱される。

【0052】

また更なる一実施形態において、マイクロ流体チップのマイクロチャンネルは、PDMSにより作製される。別の実施形態において、ネットワークにおけるマイクロチャンネルの側壁は、化学蒸着プロセスを通してパリレンでコーティングされる。側壁は、パリレン蒸着の前にPDMSエッチング液で粗面化される。

【0053】

本発明を説明する文脈における(中でも、添付の特許請求の範囲の文脈における)「1つの("a" and "an")」及び「前記/該("the")」という用語並びに類似の指示語の使用は、本明細書中に他に指定のない限り又は文脈により明らかに矛盾しない限り、単数及び複数の両方を包含すると解釈される。「含む(comprising)」、「有する(having

10

20

30

40

50

）」、「含む (including) 」及び「含有する (containing) 」という用語は、特に断りのない限り、非限定 (open-ended : オープンエンド) 用語 (すなわち、「含むが、これらに限定されない」を意味する) として解釈されるものとする。本明細書中の値の範囲の記述は、本明細書中に他に指定のない限り、この範囲内にある各別個の値について個々に言及する省略方法として機能するよう意図されるものに過ぎず、各別個の値は、それが本明細書中に個々に記述されているかのように本明細書中に組み込まれる。本明細書中に記載の方法は全て、本明細書中に他に指定のない限り又は文脈により明らかに矛盾しない限り、任意の好適な順序で実施することができる。本明細書中に提示されるありとあらゆる例又は例示的な言葉 (例えば「等 (such as) 」) の使用は、他に主張のない限り、単に本発明をより良く明白にする (illuminate) ように意図されるものに過ぎず、本発明の範囲に限定をもたらすものではない。本明細書中の言葉は、特許請求がされていない任意の要素を本発明の実施に不可欠なものとして示すものとは解釈されるべきでない。

10

【 0 0 5 4 】

本開示の主題について、特徴の様々な組合せ及び部分的組合せを含む幾つかの例示的な実施形態を参照してかなり詳細に記載し示したが、当業者は、他の実施形態並びにその変形形態及び変更形態を、本開示の範囲内に包含されるものとして容易に理解するであろう。さらに、こうした実施形態、組合せ及び部分的組合せの記載は、請求項に係る主題が、請求項に明示的に列挙されているもの以外の特徴又は特徴の組合せを必要とするということの意味するようには意図されていない。したがって、本開示の範囲は、添付の特許請求の範囲の趣旨及び範囲内に包含される全ての変形形態及び変形形態を含むように意図されている。

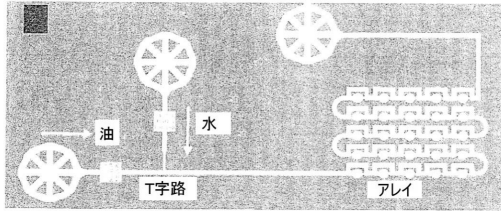
20

【 0 0 5 5 】

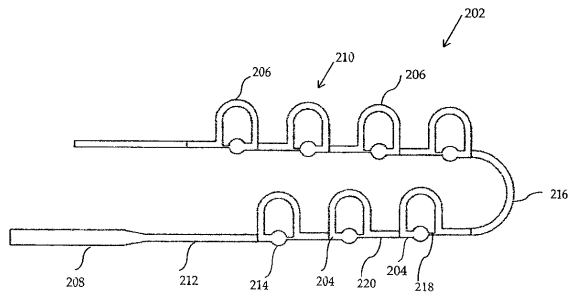
本願において引用される全ての文献 (「明細書引用文献」) 及び明細書引用文献において引用され又は参照される全ての文献は、引用することによりそれら全体が本明細書の一部をなすものとする。さらに、出願書類又は明細書引用文献の各々において引用され又は言及される任意の製品に対する任意の製造業者の指示又はカタログは、引用することによりそれら全体が本明細書の一部をなすものとする。この本文又はそこにある任意の教示に引用することによって一部をなす文献を本発明の実施に使用することができ、引用することにより本明細書の一部をなす各文献における技術を本発明の実施に使用することもできる。この本文への引用によって一部をなす文献は先行技術と認められるものではない。

30

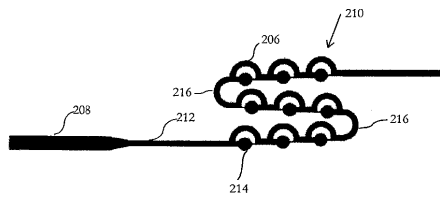
【図 1】



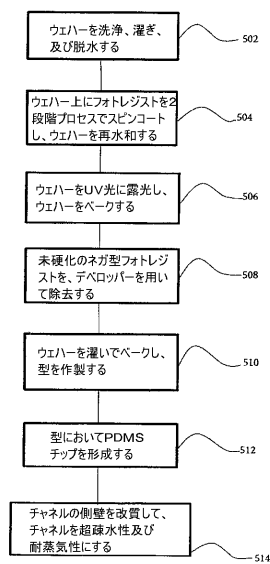
【図 2 A】



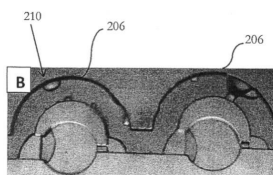
【図 2 B】



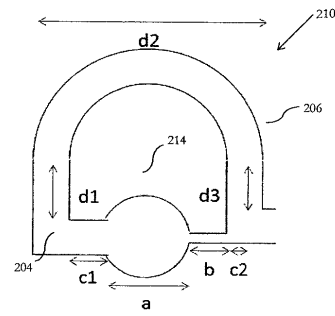
【図 5 A】



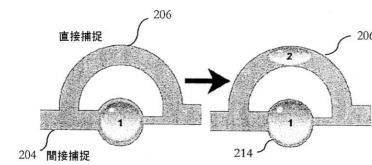
【図 5 B】



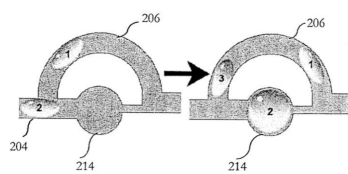
【図 3】



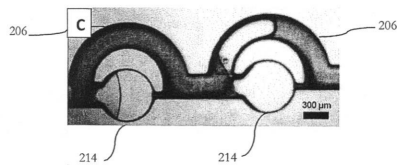
【図 4 A】



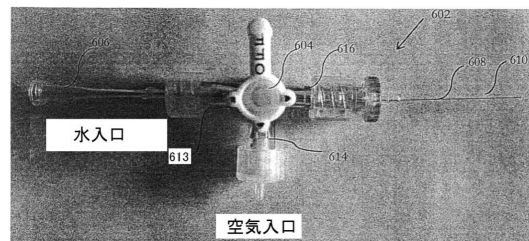
【図 4 B】



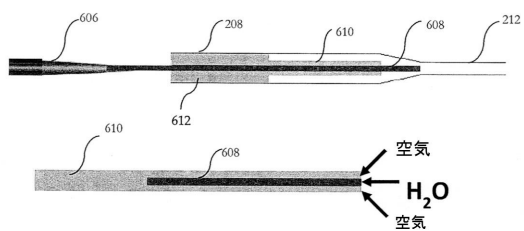
【図 5 C】



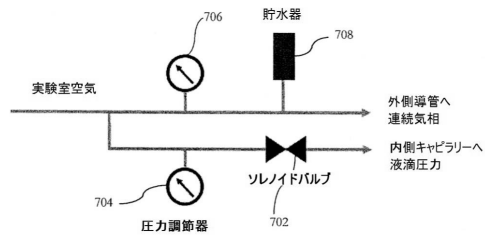
【図 6】



【図 7 A】



【図 7 B】



フロントページの続き

(74)代理人 100136799

弁理士 本田 亜希

(72)発明者 ホワイト, イアン エム.

アメリカ合衆国 21043 メリーランド, エリコット シティ, マナハン ドライヴ 867
4

(72)発明者 ラガヴァン, スリニヴァサ

アメリカ合衆国 21044 メリーランド, コロムビア, ベスト タイムズ パス 7033

(72)発明者 パンディット, クナル アール.

アメリカ合衆国 20723 メリーランド, ローレル, クレスト ロード 8201

審査官 伊藤 昭治

(56)参考文献 特表2000-516526(JP, A)

特開2000-074929(JP, A)

国際公開第2008/097559(WO, A2)

特開2008-107340(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/00 - 35/10

G01N 1/00 - 1/44

G01N 37/00