

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7464285号  
(P7464285)

(45)発行日 令和6年4月9日(2024.4.9)

(24)登録日 令和6年4月1日(2024.4.1)

| (51)国際特許分類 |                 | F I     |             |
|------------|-----------------|---------|-------------|
| C 1 2 M    | 1/34 (2006.01)  | C 1 2 M | 1/34 B      |
| G 0 1 N    | 33/48 (2006.01) | G 0 1 N | 33/48 N     |
| G 0 1 N    | 37/00 (2006.01) | G 0 1 N | 37/00 1 0 1 |
| B 8 1 B    | 1/00 (2006.01)  | B 8 1 B | 1/00        |

請求項の数 5 (全15頁)

|   |                             |          |  |
|---|-----------------------------|----------|--|
| (21)出願番号  | 特願2021-113431(P2021-113431) | (73)特許権者 | 599002043<br>学校法人 名城大学<br>愛知県名古屋市天白区塩釜口1-501 |
| (22)出願日   | 令和3年7月8日(2021.7.8)          | (74)代理人  | 110000497<br>弁理士法人グランダム特許事務所                 |
| (65)公開番号  | 特開2023-9826(P2023-9826A)    | (72)発明者  | 福田 敏男<br>愛知県名古屋市天白区塩釜口1-501<br>学校法人名城大学内     |
| (43)公開日   | 令和5年1月20日(2023.1.20)        | (72)発明者  | 志賀 大雅<br>愛知県名古屋市天白区塩釜口1-501<br>学校法人名城大学内     |
| 審査請求日   | 令和5年2月20日(2023.2.20)        | 審査官      | 牧野 晃久  |
| 特許法第30条第2項適用 令和3年6月6日、ロボティクス・メカトロニクス講演会2021 in Osaka (https://robomech2021.org)の予稿集、令和3年6月7日、ロボティクス・メカトロニクス講演会2021 in Osaka (https://robomech2021.org)において、福田敏男、志賀大雅が発明したマイクロ流体チップに関する研究について公開した。 |                             |          |  |

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 マイクロ流体デバイス

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

線形動物を配置する第1ポートと、  
被検査物質を配置する第2ポートと、  
前記第1ポートと前記第2ポートとを連通するチャンネルと、  
を備えており、  
前記チャンネルは、前記第1ポートから前記第2ポートに向けての前記線形動物の自走を許容し、前記第2ポートから前記第1ポートに向けての前記線形動物の自走を抑制する逆走抑制領域を有し、

前記チャンネルは、平面状の側面が対向して広がる一对の側壁部を有しており、

前記逆走抑制領域は、両端を各前記側面に連結して中心軸線が各前記側面に対して直交しており、前記中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状において、前記第2ポート側の側面が凹んだ略円形状である複数の第1連結部を具備しているマイクロ流体デバイス。

【請求項2】

前記チャンネルは、前記第1ポートから前記第2ポートに向けて線形動物の自走を援助する自走援助領域を有している請求項1に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項3】

前記逆走抑制領域は、前記自走援助領域よりも前記第2ポート側に配置されている請求項2に記載のマイクロ流体デバイス。

## 【請求項 4】

複数の前記第 1 連結部は、前記第 1 ポートから前記第 2 ポートに向けてまっすぐに延びる第 1 仮想直線に直交した複数の第 2 仮想直線上に等間隔に並んで配置され、隣り合う前記第 2 仮想直線上に配置された各前記第 1 連結部は、前記第 1 仮想直線に沿って見た際に、前記中心軸線がずれた状態で重なっている請求項 1 から請求項 3 までのいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

## 【請求項 5】

前記チャネルは、平面状の側面が対向して広がる一对の側壁部を有しており、

前記自走援助領域は、両端を各前記側面に連結して中心軸線が前記側面に対して直交しており、前記中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状が円形状である複数の第 2 連結部を具備しており、

10

複数の前記第 2 連結部は、前記第 1 ポートから前記第 2 ポートに向けてまっすぐに延びる第 1 仮想直線に直交した複数の第 2 仮想直線上に等間隔に並んでおり、隣り合う前記第 2 仮想直線上に配置された各前記第 2 連結部は、前記第 1 仮想直線に沿って見た際に、前記中心軸線がずれた状態で重なっている請求項 2 及び請求項 3 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明はマイクロ流体デバイスに関するものである。

20

## 【背景技術】

## 【0002】

特許文献 1 は、線形動物、いわゆる線虫の走化性を利用した癌検出法が記載されている。線虫は、健常者の尿に対しては忌避行動を示し、癌患者の尿に対しては誘引行動を示すという走化性を有している。この癌検出法で利用されている線虫の走化性検出手法は以下の通りである。まず、シャーレの周縁に近い所定の場所にサンプルの尿を置く。次に、シャーレの中心に線虫を 100 匹おいて、1 時間程度、線虫を自走させる。その後、シャーレの中心を境にしてサンプルの尿を置いた側、及びその反対側の線虫の個体数を数える。サンプルの尿を置いた側の線虫の個体数を  $N(+)$ 、反対側の線虫の個体数を  $N(-)$  として、以下の計算式に当てはめる。

30

計算式： $N(+)-N(-)/\text{全個体数}$

計算式によって得られる値は、 $+1 \sim -1$  の値を取る。計算式の値が正の値の場合、サンプルの尿に線虫が誘引されたと評価し、被験者は癌の可能性があると判定することができる。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0003】

【文献】特開 2020-31649 号公報

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

40

## 【0004】

しかし、特許文献 1 に示される線虫の走化性検出手法は、走化性の検出に長い時間を要する。また、この走化性検出手法は、時間の経過とともにサンプルの尿が拡散する等によって、線虫の誘引行動が弱まり、正確性及び精度が劣るおそれがある。

## 【0005】

本発明は、上記従来の実情に鑑みてなされたものであって、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出し、かつ正確性及び精度の良い検出結果を得ることができるマイクロ流体デバイスを提供することを解決すべき課題としている。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

50

本発明のマイクロ流体デバイスは、  
線形動物を配置する第1ポートと、  
被検査物質を配置する第2ポートと、  
前記第1ポートと前記第2ポートとを連通するチャンネルと、  
を備えており、

前記チャンネルは、前記第1ポートから前記第2ポートに向けての前記線形動物の自走を許容し、前記第2ポートから前記第1ポートに向けての前記線形動物の自走を抑制する逆走抑制領域を有している。

【0007】

このマイクロ流体デバイスは、被検査物質に誘引され、第1ポートからチャンネルを介して第2ポートに自走した線形動物が、チャンネルの逆走抑制領域によって、第2ポートから第1ポートへ向けた逆走を抑制するため、被検査物質に誘引されて第2ポート内に移動した線形動物の個体数を正確に把握することができる。

10

【0008】

したがって、本発明のマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出し、かつ正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】実施例1のマイクロ流体デバイスを示す平面図である。

【図2】実施例1のマイクロ流体デバイスのチャンネルを自走する線虫を示す平面図である。

20

【図3】実施例1のマイクロ流体デバイスのチャンネルを自走する線虫の軌跡例を示す平面図である。

【図4】比較例のマイクロ流体デバイスのチャンネルを自走する線虫の軌跡例を示す平面図である。

【図5】実施例1の評価方法に利用する第1ライン及び第2ラインを示す平面図である。

【図6】(A)は第1連結部があるチャンネルの第2ポート内の線虫の個体数の時間推移を示すグラフであり、(B)は第1連結部がないチャンネルの第2ポート内の線虫の個体数の時間推移を示すグラフである。

【図7】癌患者の尿及び健常者の尿を含む被検査物質に対する線虫の走化性を確認する実験において、第2ポート内の線虫の個体数の時間推移を示すグラフであり、(A)は2回目の実験結果を示し、(B)は1回目の実験結果を示す。

30

【図8】癌患者の尿及び健常者の尿を含む被検査物質に対する線虫の走化性を確認する実験において、第2ポート内の線虫の最大個体数を示すグラフである。

【図9】癌患者の尿及び健常者の尿を含む被検査物質に対する線虫の走化性を確認する実験において、第2ポート内の線虫の最大個体数と、各時間における第2ポート内の線虫の個体数との割合を示すグラフである。

【図10】3つのポートを備えたマイクロ流体デバイスを示す平面図である。

【図11】形状が異なる第1連結部を具備したマイクロ流体デバイスを示す平面図である。

【発明を実施するための形態】

【0010】

本発明における好ましい実施の形態を説明する。

40

【0011】

本発明のマイクロ流体デバイスのチャンネルは、前記第1ポートから前記第2ポートに向けて線形動物の自走を援助する自走援助領域を有し得る。この場合、このマイクロ流体デバイスは、チャンネル内を被検査物質に誘引された線形動物が第1ポートから第2ポートに向けて速やかに自走することができる。このため、このマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。

【0012】

本発明のマイクロ流体デバイスにおいて、前記逆走抑制領域は、前記自走援助領域よりも前記第2ポート側に配置され得る。この場合、このマイクロ流体デバイスは、チャンネル

50

内を被検査物質に誘引された線形動物が第1ポートから第2ポートに向けて速やかに自走することができるとともに、被検査物質に誘引された第2ポート内の線形動物の第1ポートに向けた逆走を抑制して第2ポート内の線虫の個体数を正確に把握することができる。このため、このマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出し、かつ正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

#### 【0013】

本発明のマイクロ流体デバイスの前記チャンネルは、平面状の側面が対向して広がる一対の側壁部を有しており、前記逆走抑制領域は、両端を各前記側面に連結して中心軸線が各前記側面に対して直交しており、前記中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状において、前記第2ポート側の側面が凹んだ略円形状である複数の第1連結部を具備し得る。この場合、第1連結部の側面の凹んだ部分に、線形動物の頭部が入り込むと、この凹んだ部分から線形動物の頭部が抜け出しにくく、線形動物の第1ポートへ向けた逆走を抑制することができる。このため、このマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用した誘引物質の検出において、正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

10

#### 【0014】

本発明のマイクロ流体デバイスの複数の前記第1連結部は、前記第1ポートから前記第2ポートに向けてまっすぐに延びる第1仮想直線に直交した複数の第2仮想直線上に等間隔に並んでおり、隣り合う前記第2仮想直線上に配置された各前記第1連結部は、前記第1仮想直線に沿って見た際に、前記中心軸線がずれた状態で重なり得る。この場合、複数の第1連結部の配置によって、被検査物質に誘引された線形動物が第1ポートから第2ポートに向けて自走する際に線形動物の自走を援助することができる。このため、このマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。

20

#### 【0015】

本発明のマイクロ流体デバイスの前記チャンネルは、平面状の側面が対向して広がる一対の側壁部を有しており、前記自走援助領域は、両端を各前記側面に連結して中心軸線が前記側面に対して直交しており、前記中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状が円形状である複数の第2連結部を具備しており、複数の前記第2連結部は、前記第1ポートから前記第2ポートに向けてまっすぐに延びる第1仮想直線に直交した複数の第2仮想直線上に等間隔に並んでおり、隣り合う前記第2仮想直線上に配置された各前記第2連結部は、前記第1仮想直線に沿って見た際に、前記中心軸線がずれた状態で重なり得る。この場合、複数の第2連結部の配置によって、被検査物質に誘引された線形動物が第1ポートから第2ポートに向けて自走する際に線形動物の自走を援助することができる。このため、このマイクロ流体デバイスは、線形動物の走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。ここでいう円形状は、真円でなくてもよく、まるい形であればよく、楕円形を含む形状である。

30

#### 【0016】

次に、本発明のマイクロ流体デバイスを具体化した実施例1について、図面を参照しつつ説明する。

#### 【0017】

##### <実施例1>

実施例1のマイクロ流体デバイス1は、図1に示すように、第1ポート10、第2ポート20、及びチャンネル30を備えている。マイクロ流体デバイス1は、PDMS（ジメチルポリシロキサン）とガラスプレートとを接合して形成されており、透明である。第1ポート10、第2ポート20、及びチャンネル30は、平面状の側面が対向して広がる一対の側壁部の間に形成されている。対向して広がる側面の夫々は、第1ポート10、第2ポート20、及びチャンネル30の上面及び下面を構成し、その間隔は70 $\mu$ mである。

40

#### 【0018】

第1ポート10は、線形動物、いわゆる線虫X（図2参照）の走化性を利用した試験を行う際、線虫Xを配置する。第2ポート20は、線虫Xの走化性を利用した試験を行う際

50

、被検査物質を配置する。チャンネル30は第1ポート10と第2ポート20とを連通している。チャンネル30は、長さ $L_1$ が $3200\mu\text{m}$ であり、幅 $L_2$ が $1880\mu\text{m}$ である。

【0019】

チャンネル30は、複数の第1連結部310、及び複数の第2連結部320を具備している。各第1連結部310及び各第2連結部320は、チャンネル30の上面及び下面に上下両端の夫々を連結している。各第1連結部310及び各第2連結部320の中心軸線はチャンネル30の上面及び下面に対して直交している。

【0020】

各第1連結部310は、図1及び図5に示すように、第1ポート10から第2ポート20に向けてまっすぐに延びる第1仮想直線FLに直交して並んだ3本の第2仮想直線S1~S3上に等間隔に並んでいる。同じ第2仮想直線S1~S3上に並んだ第1連結部310の中心軸線の間隔 $W_2$ は $260\mu\text{m}$ である。各第2仮想直線S1~S3上に並んだ複数の第1連結部310は、チャンネル30の幅方向の全体に亘って配置されている。

10

【0021】

各第2連結部320は、第1仮想直線FLに直交して並んだ10本の第2仮想直線S4~S13上に等間隔に並んでいる。同じ第2仮想直線S4~S13上に並んだ第2連結部320の中心軸線の間隔 $W_2$ は $260\mu\text{m}$ である。各第2仮想直線S4~S13上に並んだ複数の第2連結部320は、チャンネル30の幅方向の全体に亘って配置されている。

【0022】

複数の第1連結部310が並んだ3本の第2仮想直線S1~S3は、複数の第2連結部320が並んだ10本の第2仮想直線S4~S13よりも第2ポート20側に配置されている。複数の第1連結部310が並んだ3本の第2仮想直線S1~S3、及び複数の第2連結部320が並んだ10本の第2仮想直線S4~S13の合計13本の第2仮想直線S1~S13は、チャンネル30の長さ方向の全体に渡って等間隔に並んでいる。1本置き第2仮想直線S1~S13の間隔 $W_1$ は $500\mu\text{m}$ である。

20

【0023】

第1連結部310の中心軸線に直交する仮想平面によって第1連結部310を切断した断面形状(以下、「第1連結部310の断面形状」という。)は、第2ポート20側の側面が凹んだ略円形状である。第1連結部310の断面形状は、直径が $200\mu\text{m}$ の円形状に対して第2ポート20側の側面が長方形に切欠かれている。つまり、各第1連結部310は、一对の側壁部の各側面に両端を連結しており、中心軸線が各側面に対して直交した略円柱形状であり、第2ポート20側の側面に中心軸線に沿って延びた溝311が形成されている。第1連結部310の断面形状において、切欠かれた部分の第2仮想直線S1~S3に平行に直線状に延びる底面部311Aの長さ $L_3$ は $120\mu\text{m}$ であり、底面部311Aの両端から第1連結部310の周面に向けて直線状に延びる側面部311Bの長さ $L_4$ は $50\mu\text{m}$ である。第1連結部310の断面形状において、底面部311Aと、底面部311Aの両端から延びる側面部311Bとによって形成される角部311Cの角度は、直角である。

30

【0024】

第2ポート20側から1本目の第2仮想直線S1、及び3本目の第2仮想直線S3上には6個の第1連結部310が並んでいる。第2ポート20側から2本目の第2仮想直線S2上には7個の第1連結部310が並んでいる。第2ポート20側から1本目の第2仮想直線S1、及び3本目の第2仮想直線S3上に並んだ各第1連結部310は、第1仮想直線FLに沿って見た際に、各第1連結部310の中心軸線が一致し、完全に重なっている。

40

【0025】

隣り合う第2仮想直線S1~S3上に配置された各第1連結部310は、第1仮想直線FLに沿って見た際に、一方の第2仮想直線S1~S3上に配置された2個の第1連結部310の中心軸線の間中央に、他方の第2仮想直線S1~S3上に配置された1個の第1連結部310の中心軸線が位置した状態で重なっている。チャンネル30において、第2ポート20側から1本目の第2仮想直線S1~3本目の第2仮想直線S3上に並んだ複数

50

の第1連結部310が配置されている領域が逆走抑制領域R1である。逆走抑制領域R1は、チャンネル30の第2ポート20側の一端部に形成されている。

【0026】

第2連結部320の中心軸線に直交する仮想平面によって第2連結部320を切断した断面形状は、直径が200 $\mu$ mの円形状である。つまり、各第2連結部320は、一對の側壁部の各側面に両端を連結しており、中心軸線が各側面に対して直交した円柱形状である。

【0027】

第2ポート20側から4本目から13本目の第2仮想直線S4~S13において、偶数本目の第2仮想直線S4, S6, S8, S10, S12上には7個の第2連結部320が並んでいる。第2ポート20側から4本目から13本目の第2仮想直線S4~S13において、奇数本目の第2仮想直線S5, S7, S9, S11, S13上には6個の第2連結部320が並んでいる。第2ポート20側から4本目から13本目における偶数本目の第2仮想直線S4, S6, S8, S10, S12上に並んだ各第2連結部320は、第1仮想線に沿って見た際に、各第2連結部320の中心軸線が一致し、完全に重なっている。第2ポート20側から4本目から13本目における奇数本目の第2仮想直線S5, S7, S9, S11, S13上に並んだ各第2連結部320は、第1仮想線に沿って見た際に、各第2連結部320の中心軸線が一致し、完全に重なっている。

10

【0028】

隣り合う第2仮想直線S4~S13上に配置された各第2連結部320は、第1仮想直線FLに沿って見た際に、一方の第2仮想直線S4~S13上に配置された2個の第2連結部320の中心軸線の間の中央に他方の第2仮想直線S4~S13上に配置された1個の第2連結部320の中心軸線が位置した状態で重なっている。チャンネル30において、第2ポート20側から4本目の第2仮想直線S4~13本目の第2仮想直線S13上に並んだ複数の第2連結部320が配置されている領域が自走援助領域R2である。

20

【0029】

各第1連結部310及び各第2連結部320の配置は、全長が500 $\mu$ m~600 $\mu$ mの線虫Xが平面上を移動する波状の軌跡に基づいて決定したものである。この軌跡の波長平均は、462 $\pm$ 132 $\mu$ mであり、振幅平均は、158 $\pm$ 54 $\mu$ mである。各第1連結部310及び各第2連結部320は、図2に示すように、被検査物質に誘引された線虫Xが第1ポート10から第2ポート20に向けて自走する際、線虫Xの引っ掛かりとなり、線虫Xがスムーズに自走することができる。

30

【0030】

チャンネル30の幅方向の両端縁は、図5に示すように、第2ポート20側から偶数本目の第2仮想直線S2, S4, S6, S8, S10, S12が横切る部分は、第1連結部310及び第2連結部320の外周縁に沿って外方向に湾曲して突出している。チャンネル30の幅方向の両端縁は、第2ポート20側から奇数本目の第2仮想直線S1, S3, S5, S7, S9, S11, S13が横切る部分は、内方向に湾曲して凹んでいる。つまり、チャンネル30の幅方向の両端縁は、湾曲した凹凸が交互に連続して延びている。

【0031】

<走化性試験>

上述した実施例1のマイクロ流体デバイス1を利用して、線虫Xの走化性試験を以下に示すように行った。

まず、マイクロ流体デバイス1の第1ポート10、第2ポート20、及びチャンネル30を純水で満たす。次に、第1ポート10に線虫X入りのM9バッファを2 $\mu$ l滴下し、略同時に第2ポート20に被検査物質の試液2 $\mu$ l滴下する。線虫Xは、*C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*)である。試液は、線虫Xを誘引するブタノンである。試験映像を記録し、映像をもとに計測した。

40

【0032】

<線虫Xの軌跡例>

50

実施例 1 のマイクロ流体デバイス 1 を利用した場合の線虫 X の軌跡例を図 3 に示す。この場合、線虫 X は、初期位置 P 1 から第 2 ポート 2 0 に向けて自走援助領域 R 2 をスムーズに自走して第 2 ポート 2 0 に到達する。その後、線虫 X は、第 1 連結部 3 1 0 の側面の溝 3 1 1 に入り込むと、この溝 3 1 1 から線虫 X の頭部が抜け出しにくく、第 1 ポート 1 0 へ向けた逆走が抑制されて、約 1 5 秒後の位置 P 2 に示すように、第 2 ポート 2 0 内に留まっていた。

#### 【 0 0 3 3 】

比較例として、第 1 連結部 3 1 0 がなく、チャンネル 3 0 の全体に第 2 連結部 3 2 0 を配置したマイクロ流体デバイス 2 を用意し、それを利用した場合の線虫 X の軌跡例を図 4 に示す。マイクロ流体デバイス 2 は、チャンネル 3 0 の全体に第 2 連結部 3 2 0 が配置されており、チャンネル 3 0 の全体が自走援助領域 R 2 である。この場合、線虫 X は、初期位置 P 1 から第 2 ポート 2 0 に向けて自走援助領域 R 2 をスムーズに自走して第 2 ポート 2 0 に到達する。その後、線虫 X は、第 1 ポート 1 0 へ向けて自走援助領域 R 2 をスムーズに逆走し、約 1 5 秒後の位置 P 2 に示すように、短時間で第 1 ポート 1 0 と第 2 ポート 2 0 とを行き来した。

10

#### 【 0 0 3 4 】

< 評価方法 >

図 5 に示すように、第 1 ライン L 1 よりも右側の第 2 ポート 2 0 内の線虫 X の個体数を  $N_r$ 、第 1 ライン L 1 を第 2 ポート 2 0 から第 1 ポート 1 0 に向けて逆走する線虫 X の個体数を  $N_g$ 、第 2 ライン L 2 を第 2 ポート 2 0 から第 1 ポート 1 0 に向けて逆走する線虫 X の個体数を  $N_p$  とする。

20

#### 【 0 0 3 5 】

第 1 の評価指標は、式 1 に示すように、第 2 ポート 2 0 内の線虫 X の個体数  $E$  を表し、1 0 秒ごとの第 2 ポート 2 0 内の個体数  $E$  から走化性評価を行う。

$$E = N_r \quad \dots \text{式 1}$$

#### 【 0 0 3 6 】

第 2 の評価指標は、式 2 に示すように、第 1 ライン L 1 及び第 2 ライン L 2 を逆走して通過した個体数  $E$  から逆走阻止率  $G$  を算出する。逆走阻止率  $G$  は、第 1 ライン L 1 の通過数に対する第 2 ライン L 2 の非通過数の割合を表している。逆走阻止率  $G$  の値が大きいほど、逆走阻止効果が強いといえる。

30

$$G = (N_g - N_p) / N_g \quad \dots \text{式 2}$$

第 1 連結部 3 1 0 がなく、チャンネル 3 0 の全体に第 2 連結部 3 2 0 を配置した比較例のマイクロ流体デバイス 2 についても同様の評価を行った。

#### 【 0 0 3 7 】

図 6 ( A ) に示すように、実施例 1 のマイクロ流体デバイス 1 は、第 1 ポート 1 0 に線虫 X 入りの M 9 バッファを  $2 \mu\text{l}$  滴下し、略同時に第 2 ポート 2 0 に被検査物質であるブタノン  $2 \mu\text{l}$  滴下した後の 2 0 秒 ~ 3 0 秒までの間に線虫 X の強い誘引反応が示されている。滴下後約 5 0 秒以降、第 2 ポート 2 0 内の線虫 X の個体数  $E$  はある程度維持し、滴下後 1 8 0 秒経過後でも第 2 ポート 2 0 内の線虫 X の個体数  $E$  を維持できている。

#### 【 0 0 3 8 】

40

図 6 ( B ) に示すように、比較例のマイクロ流体デバイス 2 は、第 1 ポート 1 0 に線虫 X 入りの M 9 バッファを  $2 \mu\text{l}$  滴下し、略同時に第 2 ポート 2 0 に被検査物質であるブタノン  $2 \mu\text{l}$  滴下した後の 2 0 秒 ~ 3 0 秒までの間に線虫 X の強い誘引反応が示されている。滴下後 1 8 0 秒経過すると、滴下したブタノンの濃度がマイクロ流体デバイス 2 内で均一になり、線虫 X の逆走が激しくなるため、第 2 ポート 2 0 内の線虫 X の個体数  $E$  が減少している。

#### 【 0 0 3 9 】

実施例 1 の第 1 連結部 3 1 0 があるマイクロ流体デバイス 1、及び比較例の第 1 連結部 3 1 0 がないマイクロ流体デバイス 2 の逆走阻止率  $G$  を表 1 に示す。比較例のマイクロ流体デバイス 2 の逆走阻止率が約 1 9 % であったのに対して、実施例 1 のマイクロ流体デバ

50

イス 1 は、約 58% まで逆走阻止率を高めることができた。

【0040】

【表1】

|              | 第1連結部あり | 第1連結部なし |
|--------------|---------|---------|
| 第1ライン通過個体数Ng | 55      | 43      |
| 第2ライン通過個体数Np | 23      | 35      |
| 逆走阻止率[%]     | 58.2%   | 18.6%   |

10

【0041】

第1及び第2の評価指標から、第1連結部310の形状、及び複数の第1連結部310を配置した逆走抑制領域R1は、線虫Xの逆走抑制に効果的であることが分かった。

【0042】

<尿に対する走化性>

次に、癌検査の実験として、癌患者の尿、及び健常者の尿を含む被検査物質に対して、線虫Xの走化性を確認した。嗅覚器官のみある線虫Xの変異体(odr-3)を利用した。純水36μlと、癌患者の尿、健常者の尿の夫々4μlとをシャーレ上に滴下し、純水と夫々の尿とを十分に混ぜ合わせて被検査物質とし、被検査物質2μlを第1ポート10に滴下した。夫々の尿を含む被検査物質に対して、10秒毎の第2ポート20内の線虫Xの個体数Eを2回計測した。

20

【0043】

図7(A)(B)に示すように、2回行った実験の結果、健常者の尿を含む被検査物質に対して、定常状態となる時間が異なっている。第1ポート10に線虫X入りのM9バッファーを2μl滴下し、略同時に第2ポート20に被検査物質を滴下した後、30秒で癌患者の尿を含む被検査物質と健常者の尿を含む被検査物質との十分な有意差が確認できる。癌患者の尿を含む被検査物質に対しては、滴下から50秒の間に強い誘引反応が見られる。

30

【0044】

第1回目の実験において、図8に示すように、癌患者の尿を含む被検査物質に対しては、滴下後180秒間で最大51匹の線虫Xが第2ポート20に移動した。第1回目の実験において、健常者の尿を含む被検査物質に対しては、滴下後180秒間で最大35匹の線虫Xが第2ポート20に移動した。

【0045】

第1回目の実験において、第2ポート20内の線虫Xの最大個体数と、各時間における第2ポート20内の線虫Xの個体数Eとの割合を図9及び表2に示す。滴下後30秒~40秒において、線虫Xの移動数には明らかな差がある。癌患者の尿を含む被検査物質に対する誘因行動が、滴下後60秒経過でほとんど終わっている。

40

【0046】

50

【表 2】

| Time(s) | 最大個体数との割合<br>(癌患者) | 最大個体数との割合<br>(健常者) | 割合の比<br>(癌患者:健常者) |
|---------|--------------------|--------------------|-------------------|
| 30s     | 37.3%              | 17.1%              | 11:5              |
| 60s     | 74.5%              | 48.6%              | 3:2               |
| 120s    | 96.1%              | 94.3%              | 1:1               |
| 180s    | 100.0%             | 97.1%              | 1:1               |

10

## 【0047】

以上説明したように、実施例1のマイクロ流体デバイス1は、第1ポート10、第2ポート20、及びチャンネル30を備えている。第1ポート10は線虫X入りのM9バッファを滴下する。第2ポート20は被検査物質を滴下する。チャンネル30は第1ポート10と第2ポート20とを連通する。チャンネル30は、第1ポート10から第2ポート20に向けての線虫Xの自走を許容し、第2ポート20から第1ポート10に向けての線虫Xの逆走を抑制する逆走抑制領域R1を有している。

20

## 【0048】

このマイクロ流体デバイス1は、被検査物質に誘引され、第1ポート10からチャンネル30を介して第2ポート20に自走した線虫Xが、チャンネル30の逆走抑制領域R1によって、第2ポート20から第1ポート10へ向けた逆走を抑制するため、被検査物質に誘引されて第2ポート20内に移動した線虫Xの個体数を正確に把握することができる。

## 【0049】

したがって、実施例1のマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用して誘引物質を早期に検出し、かつ正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

## 【0050】

実施例1のチャンネル30は、第1ポート10から第2ポート20に向けて線虫Xの自走を援助する自走援助領域R2を有している。このため、このマイクロ流体デバイス1は、チャンネル30内を被検査物質に誘引された線虫Xが第1ポート10から第2ポート20に向けて速やかに自走することができる。よって、このマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。

30

## 【0051】

実施例1のマイクロ流体デバイス1において、逆走抑制領域R1は、自走援助領域R2よりも第2ポート20側に配置されている。このため、このマイクロ流体デバイス1は、チャンネル30内を被検査物質に誘引された線虫Xが第1ポート10から第2ポート20に向けて速やかに自走できるとともに、被検査物質に誘引された第2ポート20内の線虫Xの第1ポート10に向けた逆走を抑制して第2ポート20内の線虫Xの個体数を正確に把握することができる。よって、このマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用して誘引物質を早期に検出し、かつ正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

40

## 【0052】

実施例1のチャンネル30は、平面状の側面が対向して広がる一对の側壁部を有している。逆走抑制領域R1は、複数の第1連結部310を具備している。各第1連結部310は、両端を各側面に連結して中心軸線が各側面に対して直交している。各第1連結部310は、中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状において、第2ポート20側の側面が凹んだ略円形状である。このように逆走抑制領域R1は複数の第1連結部310

50

を具備しているため、第1連結部310の側面の凹んだ部分に、線虫Xの頭部が入り込むと、この凹んだ部分から線虫Xの頭部が抜け出しにくく、線虫Xの第1ポート10へ向けた逆走を抑制することができる。よって、このマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用した誘引物質の検出において、正確性及び精度の良い検出結果を得ることができる。

#### 【0053】

実施例1の複数の第1連結部310は、第1ポート10から第2ポート20に向けてまっすぐに延びる第1仮想直線FLに直交した複数の第2仮想直線S1～S3上に等間隔に並んでいる。隣り合う第2仮想直線S1～S3上に配置された各第1連結部310は、第1仮想直線FLに沿って見た際に、中心軸線がずれた状態で重なっている。このような複数の第1連結部310の配置によって、被検査物質に誘引された線虫Xが第1ポート10から第2ポート20に向けて自走する際に線虫Xの自走を援助することができる。よって、このマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。

10

#### 【0054】

実施例1のチャンネル30は、平面状の側面が対向して広がる一对の側壁部を有している。自走援助領域R2は、両端を各側面に連結して中心軸線が前記側面に対して直交しており、中心軸線に直交する仮想平面によって切断した断面形状が円形状である複数の第2連結部320を具備している。複数の第2連結部320は、第1ポート10から第2ポート20に向けてまっすぐに延びる第1仮想直線FLに直交した複数の第2仮想直線S4～S13上に等間隔に並んでいる。隣り合う第2仮想直線S4～S13上に配置された各第2連結部320は、第1仮想直線FLに沿って見た際に、中心軸線がずれた状態で重なっている。このような複数の第2連結部320の配置によって、被検査物質に誘引された線虫Xが第1ポート10から第2ポート20に向けて自走する際に線虫Xの自走を援助することができる。よって、このマイクロ流体デバイス1は、線虫Xの走化性を利用して誘引物質を早期に検出することができる。

20

#### 【0055】

本発明は上記記述及び図面によって説明した実施例1に限定されるものではなく、例えば次のような実施例も本発明の技術的範囲に含まれる。

(1) 実施例1のマイクロ流体デバイスは2個のポートを備えていたが、3個以上のポートを備えていてもよい。3個のポートを備える場合、図10に示すように、マイクロ流体デバイス3は、線虫を配置する第1ポート40と、被検査物質を配置する第2ポート50及び第3ポート60を備えるようにしてもよい。この場合、第2ポート50と第3ポート60とを連通する第1チャンネル80の中央部に第1ポート40から延びる第2チャンネル70を連通させる。第2ポート50及び第3ポート60の夫々に連続する第1チャンネル80の両端部は複数の第1連結部310を配置し、第1チャンネル80のその他の領域及び第2チャンネル70は複数の第2連結部320を配置する。第1チャンネル80の両端部は複数の第1連結部310によって、逆走抑制領域R1が形成されているため、第1ポート40に滴下した線虫が第2ポート50及び第3ポート60に到達すると、第2ポート50及び第3ポート60から線虫が逆走することを抑制することができる。

30

40

#### 【0056】

(2) 実施例1のマイクロ流体デバイスの第1連結部は、断面形状において、長方形に切欠かれていたが、第1連結部の切り欠き形状は、図11に示すように、円弧状等、その他の形状であってもよい。

(3) 図11に示すように、断面形状の異なる第1連結部350を配置した逆走抑制領域R1を有するマイクロ流体デバイス4でもよい。

(4) 実施例1の逆走抑制領域は、チャンネルの第2ポート側の一端部に形成されているが、チャンネルの一端部に限らず、中間部や、第1ポート側の他端部に形成してもよい。

(5) 実施例1のチャンネルは自走援助領域を有していたが、第2連結部を具備せずに自走援助領域を有さなくてもよい。

50

(6) 実施例1のチャンネルは、逆走抑制領域と自走援助領域を有していたが、チャンネル全体が逆走抑制領域であってもよい。

(7) 実施例1において、マイクロ流体デバイスを癌検査に利用することを説明したが、このマイクロ流体デバイスは、癌検査に限らず線虫の走化性を利用した検査に利用することができる。

【符号の説明】

【0057】

1 ... マイクロ流体デバイス

10 ... 第1ポート

20 ... 第2ポート

30 ... チャンネル

310 ... 第1連結部

320 ... 第2連結部

FL ... 第1仮想直線

R1 ... 逆走抑制領域

R2 ... 自走援助領域

S1 ~ S13 ... 第2仮想直線

X ... 線虫(線形動物)

10

20

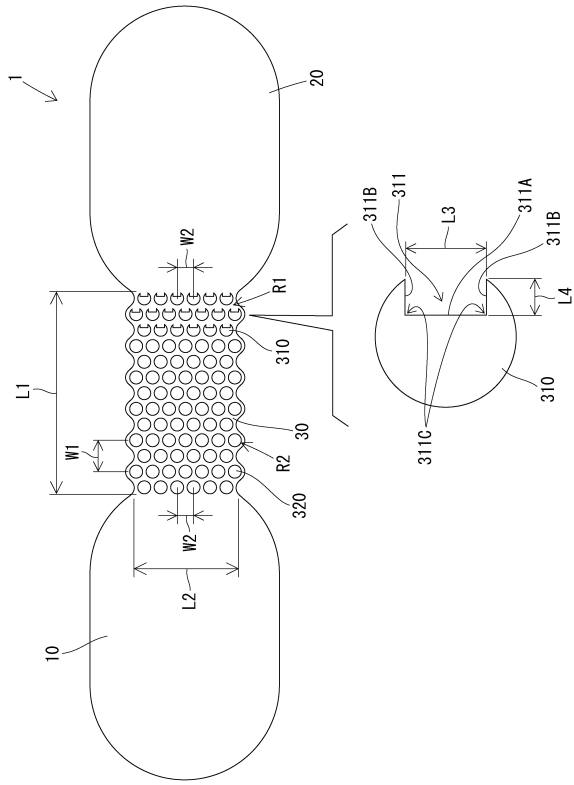
30

40

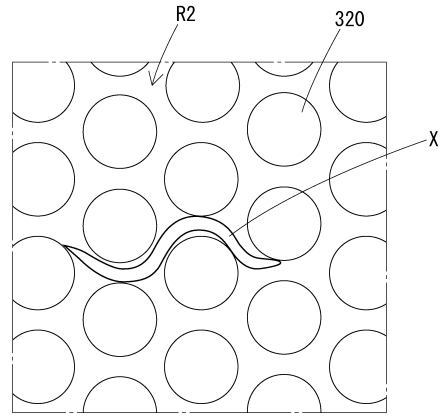
50

【図面】

【図 1】



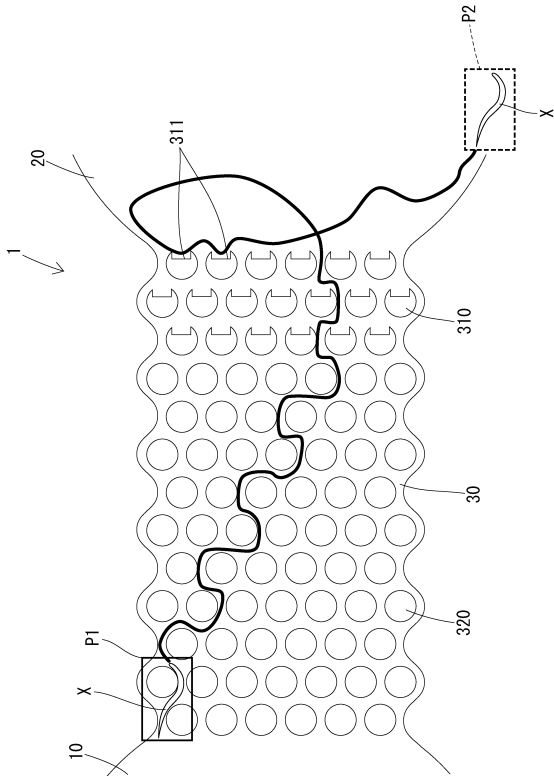
【図 2】



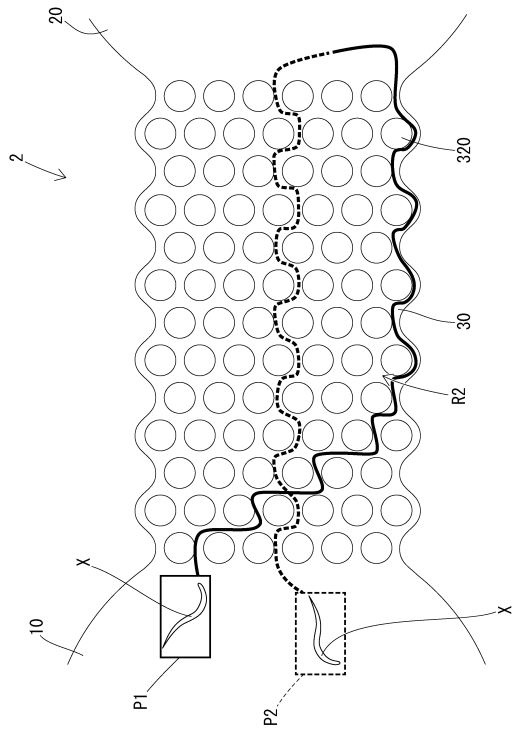
10

20

【図 3】



【図 4】

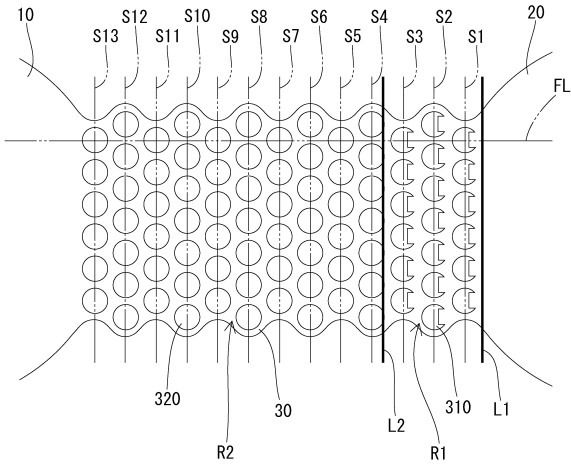


30

40

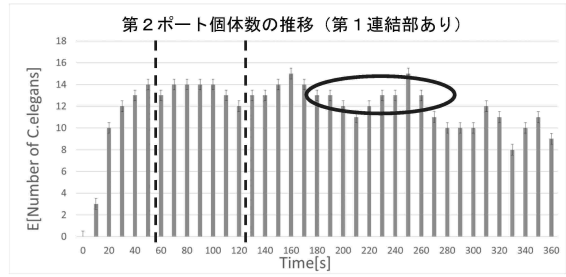
50

【図5】



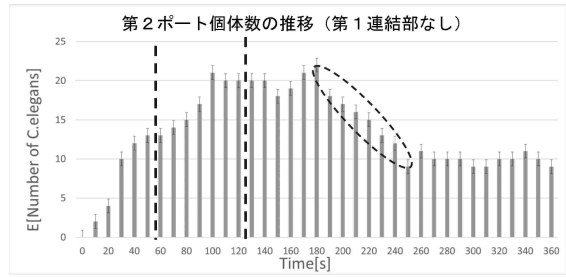
【図6】

(A)



10

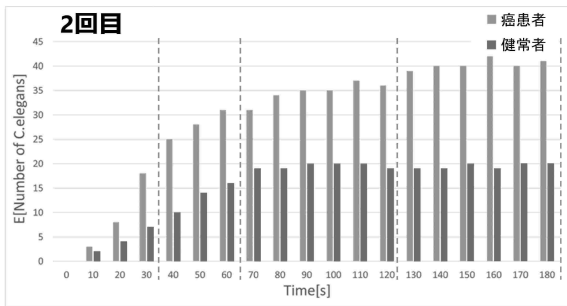
(B)



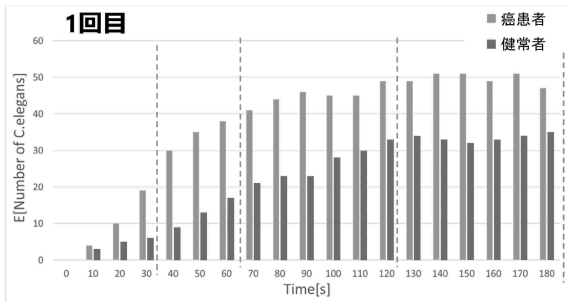
20

【図7】

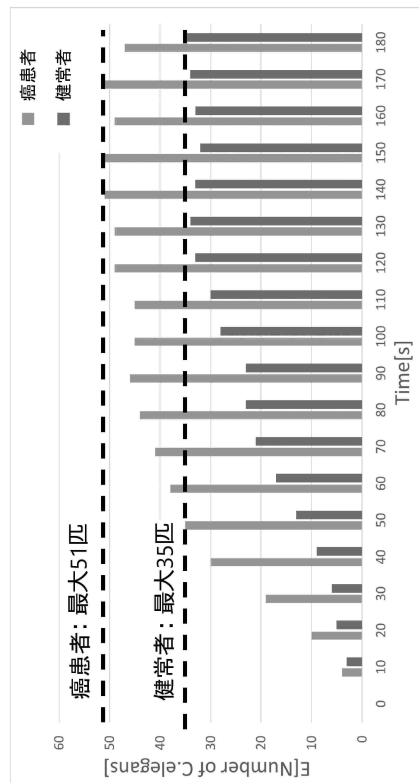
(A)



(B)



【図8】

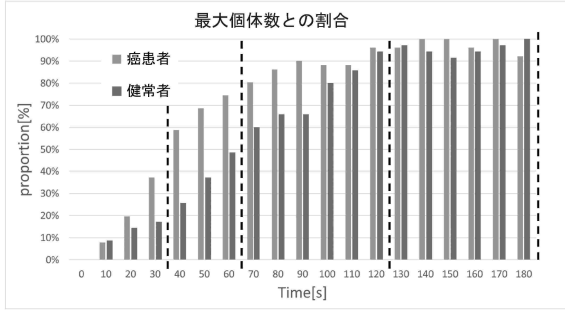


30

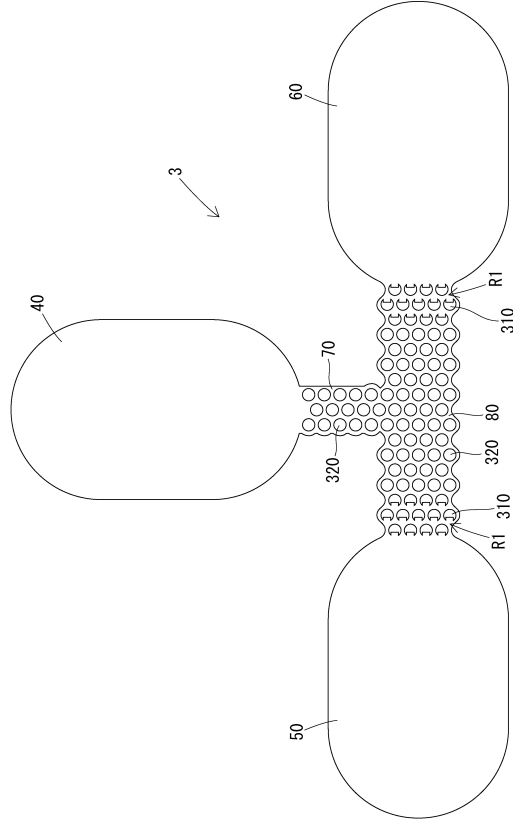
40

50

【図 9】



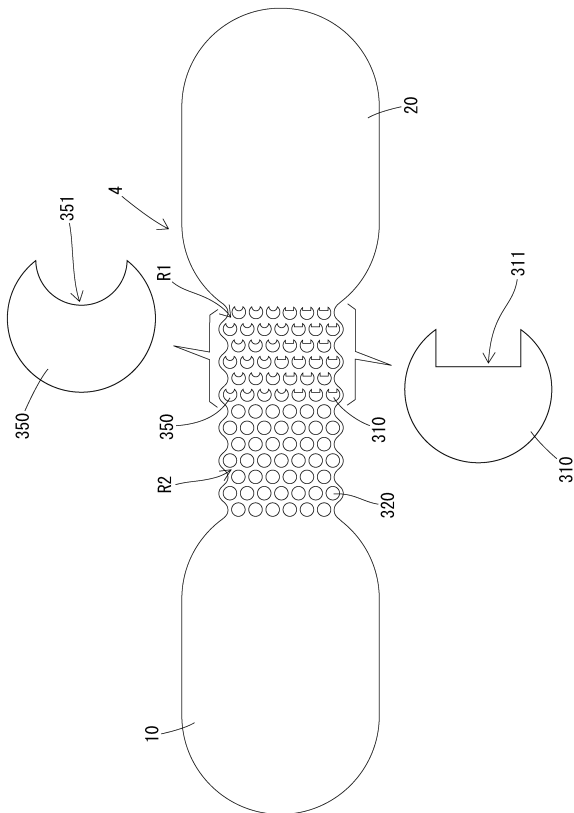
【図 10】



10

20

【図 11】



30

40

50

## フロントページの続き

- (56)参考文献 特開 2 0 2 0 - 0 3 1 6 4 9 ( J P , A )  
国際公開第 2 0 1 9 / 0 8 1 5 5 1 ( W O , A 1 )  
福田 敏男, 線虫の化学走性による尿中のガン物質有無の検出デバイスの開発, 科学研究費  
助成事業 研究成果報告書, 2019年06月12日, 1 ~ 4 頁  
TOMITA S. et al. , Micro Channel Design for Cancer Screening using C.elegans , IEEE Xplor  
e , 2019年10月31日 , p.1-3  
HIROTSU Takaaki et al. , A Highly Accurate Inclusive Cancer Screening Test Using Caenorh  
abditis elegans Scent Detection , PLOS ONE , 2015年03月11日 , p.1-15
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)  
C 1 2 M 1 / 0 0 - 3 / 1 0  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )