

(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2010-101819

(P2010-101819A)

(43) 公開日 平成22年5月6日(2010.5.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/28 (2006.01)	GO 1 N 27/28 3 O 1 Z	2 G O 6 O
GO 1 N 27/416 (2006.01)	GO 1 N 27/46 3 4 1 M	
GO 1 N 27/00 (2006.01)	GO 1 N 27/00 Z	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2008-275113 (P2008-275113)
 (22) 出願日 平成20年10月27日 (2008.10.27)

(71) 出願人 000005821
 パナソニック株式会社
 大阪府門真市大字門真1006番地
 (74) 代理人 100097445
 弁理士 岩橋 文雄
 (74) 代理人 100109667
 弁理士 内藤 浩樹
 (74) 代理人 100109151
 弁理士 永野 大介
 (72) 発明者 牛尾 浩司
 大阪府門真市大字門真1006番地 パナ
 ソニックエレクトロニクス株式会社
 社内

最終頁に続く

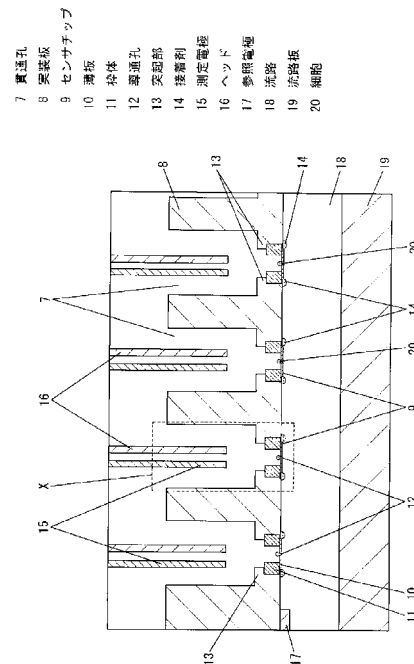
(54) 【発明の名称】 細胞電気生理センサ

(57) 【要約】

【課題】 センサチップの薄板表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させること。

【解決手段】 この目的を達成するため本発明は、貫通孔7を有する実装板8と、貫通孔7の内部に挿入されたセンサチップ9とを備え、このセンサチップ9は、導通孔12が設けられた薄板10を有し、貫通孔7の内壁には、センサチップ9の端部に接する複数の突起部13が形成され、これらの突起部13は、それぞれの先端と、隣接する突起部13の先端との間に隙間が空くように配置されたものとした。これにより本発明は、隙間の分だけ貫通孔7の断面積を大きくすることができる。そしてその結果、薄板10の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることができる。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

貫通孔を有する実装板と、
前記貫通孔の内部に挿入されたセンサチップとを備え、
このセンサチップは、導通孔が設けられた薄板を有し、
前記貫通孔の内壁には、
前記センサチップの端部に接する複数の突起部が形成され、
これらの突起部は、それぞれの先端と、隣接する突起部の先端との間に隙間が空くように
配置された細胞電気生理センサ。

【請求項 2】

前記突起部は、先端が細くなる形状である請求項 1 に記載の細胞電気生理センサ。

【請求項 3】

前記突起部は、それぞれの側面と、隣接する突起部の側面との成す角が鋭角である請求項
1 に記載の細胞電気生理センサ。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、創薬スクリーニング等に利用できる細胞電気生理センサに関する。

【背景技術】**【0002】**

電気生理学におけるパッチクランプ法は、細胞膜に存在するイオンチャンネルを測定する
方法として知られており、この自動化システムとして、細胞電気生理センサがある。

【0003】

図 8 に示す従来 of 細胞電気生理センサは、貫通孔 1 を有する実装部 2 と、貫通孔 1 に挿
入されたセンサチップ 3 を備え、このセンサチップ 3 は、導通孔 4 が設けられた薄板 5 を
有している。また貫通孔 1 の内壁には、センサチップ 3 の上端に接する突起部 6 が形成さ
れ、この突起部 6 によりセンサチップ 3 の位置決めが高精度になる。

【0004】

ここでこのセンサチップ 3 の上方および下方を電解液で満たし、さらに細胞を上方から
注入し、吸引等すると、導通孔 4 の開口部に細胞を密着保持することができる。そしてこ
の状態で、細胞の上から薬剤を投与し、その後細胞の上下の電位差を電極で測定すれば、
細胞の薬理反応を分析することができる。

【0005】

なお、上記従来技術に関連する技術は、下記特許文献に開示されている。

【特許文献 1】特開 2005 - 156234 号公報**【発明の開示】****【発明が解決しようとする課題】****【0006】**

従来 of 細胞電気生理センサでは、薄板 5 の表面を気泡が覆ってしまい、測定が出来なく
なることがあった。

【0007】

その理由は、突起部 6 が、貫通孔 1 の内周一帯に沿って形成された環状構造だからであ
る。したがって、この突起部 6 が形成された領域では、貫通孔 1 の断面積が小さくなり、
気泡が抜け難くなる。そしてその結果、薄板 5 の表面を気泡が覆ってしまうのである。

【0008】

そこで本発明は、薄板 5 の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることを
目的とする。

【課題を解決するための手段】**【0009】**

そしてこの目的を達成するため本発明は、貫通孔の内壁には、センサチップの端部に接

10

20

30

40

50

する複数の突起部が形成され、これらの突起部は、それぞれの先端と、隣接する突起部の先端との間に隙間が空くように配置されたものとした。

【発明の効果】

【0010】

これにより本発明は、薄板の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることができる。

【0011】

その理由は、上述のように、突起部を複数個に分割して配置し、それぞれの先端間に隙間を設けたからである。したがって、隙間の分だけ貫通孔の断面積を大きくすることができる。

10

【0012】

そしてその結果、薄板の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

(実施の形態1)

はじめに、本実施の形態における細胞電気生理センサの構造を説明する。

【0014】

図1に示すように、本実施の形態における細胞電気生理センサは、アレイ状に形成された貫通孔7を有する実装板8と、貫通孔7の内部にそれぞれ挿入され、固定されたセンサチップ9とを備えている。このセンサチップ9は、図1、図2に示すように、貫通孔7の上方と下方とを仕切る円板状の薄板10と、この薄板10の外周を支持する円筒状の枠体11とを有し、薄板10には、その上下面を貫通する導通孔12が形成されている。

20

【0015】

なお本実施の形態では、薄板10は、厚み10 μm ~100 μm 、直径1000 μm 、枠体11は、高さ400 μm 程度、外径は1000 μm 、導通孔12は開口径1 μm ~3 μm （深さは薄板10の厚みと同じ）とした。この導通孔12の開口径は5 μm 以下が細胞を保持するために適している。

【0016】

また図1に示すように、貫通孔7の内壁には、センサチップ9の上端部、すなわち枠体11の上面に接する二つの突起部13が形成されている。これらの突起部13は、図3、図4に示すように、貫通孔7の水平断面の直径上に、対向して配置され、隣接する突起部13間で隙間が空くように配置されている。特に本実施の形態では、突起部13の先端が細くなっているため、それぞれの突起部13の先端間は、隙間がより大きくなっている。また突起部13は、射出成形が容易になるように、先端が丸みを帯びた形状に形成されている。なお本実施の形態では、図1に示すように、センサチップ9の下端部外縁に接着剤14を塗布し、実装板8に固定している。

30

【0017】

ここでこの貫通孔7の内部空間には、電解液や薬剤等が注入される。本実施の形態では、図3に示すように、貫通孔7の貫通方向に対して垂直な断面は、突起部13よりも上側が四角形であり、容積をより大きくすることができ、気泡の発生を抑制するとともに、電解液等を多く充填することができる。また実装板8の上面における貫通孔7の開口部を四角形とすることにより、アレイ状に配置した場合にも、貫通孔7を連続して多数個配置できる。またプローブ形の電極等を挿入しやすくなる。

40

【0018】

さらに本実施の形態では、貫通孔7の、突起部13よりも下側は、断面が円形となっている。これにより薄板10に平行な断面が円形のセンサチップ9を密着して保持できるとともに、センサチップ9への応力負荷を均等に分散することができ、微細で劈開しやすいセンサチップ9の損傷を抑制できる。なお本実施の形態では、貫通孔7の上方の容積を大きくするため、突起部13の上側の断面積は、下側の断面積よりも大きくしている。

50

【0019】

また本実施の形態では、図1に示すように、貫通孔7内に、上方からプローブ形の測定電極15と細い管状のヘッド16とが挿入されている。

【0020】

測定電極15は、センサチップ9上方に注入される電解液の電位、あるいは電流値や抵抗値を測定するものである。またヘッド16は、センサチップ9上方に測定液（電解液）や細胞、薬剤等を注入するためのものである。

【0021】

また本実施の形態では、実装板8の下面に参照電極17を設けている。

【0022】

さらに実装板8の下方には、流路18が形成された流路板19が接合され、この流路18内には電解液が充填できる。前述の参照電極17は、この電解液の電位（あるいは電流値や抵抗値）を測定できればよく、位置や形状は適宜変更可能である。例えばプローブ形の形状とし、センサチップ9の下方の空間に挿入されていてもよい。

【0023】

次に本実施の形態における部材の説明をする。

【0024】

センサチップ9はシリコン単結晶基板、あるいはSOI（Silicon on Insulator）基板、ガラス基板、水晶基板等をエッチングすることにより形成できる。本実施の形態では、センサチップ9として二酸化シリコン層をシリコン層で挟みこんだSOI基板を用い、ドライエッチングにより微細な導通孔12を形成した。なお、SOI基板は、中間の二酸化シリコン層をエッチングストップ層として用いることができる。したがって、導通孔12の深さや薄板10の厚み、枠体11の高さなど、設計通りに高精度に加工することができる。

【0025】

また実装板8、流路板19の材料は、例えば熱可塑性樹脂が挙げられ、ポリカーボネート（PC）、ポリエチレン（PE）、オレフィンポリマー、ポリメタクリル酸メチルアセテート（PMMA）のいずれか、またはこれらの組み合わせが好ましい。

【0026】

これらの材料からなる実装板8は、紫外線硬化型の接着剤14を用いることによって、容易にセンサチップ9と接合できる。さらに好ましくは、これらの熱可塑性樹脂として、環状オレフィンポリマー、線状オレフィンポリマー、またはこれらが重合した環状オレフィンコポリマー、またはポリエチレン（PE）とすることが作業性、製造コストおよび材料の入手性の観点から好ましい。

【0027】

特に、環状オレフィンコポリマーは透明性、アルカリ・酸などの無機系薬剤に対する耐性が強く、本発明の製造方法もしくは使用環境に適している。またこれらの材料は紫外線を透過させることができることから、紫外線硬化型の接着剤14を用いる時に効果を発揮する。

【0028】

また本実施の形態では、突起部13は実装板8と一体成形されているため、突起部13の材料は実装板8と同じである。突起部13を、センサチップ9よりも弾性が小さい（軟らかい）材料で構成することによって、センサチップ9の損傷を抑制できる。

【0029】

なお、本実施の形態のように、センサチップ9を実装板8に実装する方法は、実装板8自体に導通孔12を直接形成した場合と比較して、コストも下がり、歩留まりも向上し、さらにリペア性を有する。

【0030】

次に本実施の形態における細胞電気生理センサを用いた測定方法について説明する。

【0031】

10

20

30

40

50

図 1 に示すように貫通孔 7 の上方からヘッド 1 6 を挿入し、センサチップ 9 の上方に細胞外液（電解液）を注入する。

【 0 0 3 2 】

また流路 1 8 の内部には、細胞内液（電解液）を注入する。

【 0 0 3 3 】

ここで細胞外液とは例えば哺乳類筋細胞の場合、代表的には K^+ イオンが 4 m M 程度、 Na^+ イオンが 1 4 5 m M 程度、 Cl^- イオンが 1 2 3 m M 程度添加された電解液であって、細胞内液とは、 K^+ イオンが 1 5 5 m M、 Na^+ イオンが 1 2 m M 程度、 Cl^- イオンが 4 . 2 m M 程度添加された電解液である。

【 0 0 3 4 】

そして次に、貫通孔 7 の上方から測定電極 1 5 を挿入する。このように細胞外液と電氣的に接続された測定電極 1 5 と、細胞内液と電氣的に接続された参照電極 1 7 との間では、1 0 0 k \sim 1 0 M 程度の導通抵抗値を観測することができる。これは導通孔 1 2 を介して細胞内液あるいは細胞外液が浸透し、測定電極 1 5 と参照電極 1 7 間で電気回路が形成されるからである。

【 0 0 3 5 】

次に、センサチップ 9 上方からヘッド 1 6 を介して細胞 2 0 を投入する。

【 0 0 3 6 】

そして、その後流路 1 8 内を減圧すると、図 1、図 2 に示すように細胞 2 0 は導通孔 1 2 の開口部に引き付けられる。このように細胞 2 0 が導通孔 1 2 の開口部を塞ぐことによって、細胞外液と細胞内液との間の電気抵抗が 1 G 以上の十分に高い状態となる（ギガシールと呼ぶ）。このギガシール状態では、細胞 2 0 の電気生理活動によって細胞内外の電位が変化すれば、わずかな電位差あるいは電流であっても高精度に測定できる。

【 0 0 3 7 】

次に図 1 の流路 1 8 内の空間にナスタチンなどの薬剤を注入するか、あるいは針によって導通孔 1 2 を塞いでいる細胞膜に穴を開ける（ホールセルと呼ぶ）。

【 0 0 3 8 】

その後センサチップ 9 上方からヘッド 1 6 を介して薬液を注入し、細胞 2 0 を刺激する。この時、細胞を刺激する方法としては、本実施の形態のように薬液などの化学的刺激でもよく、その他電気信号などの物理的刺激でも良い。そしてこれらの化学的あるいは物理的刺激によって、細胞のイオンチャネルが反応した場合は、その反応を測定電極 1 5 と参照電極 1 7 間における電位差（あるいは電流値変化や抵抗値変化）によって検出することができる。

【 0 0 3 9 】

以下本実施の形態における効果を説明する。

【 0 0 4 0 】

本実施の形態では、前述のように、突起部 1 3 を複数個に分割して配置し、それぞれの先端間に隙間を設けたことにより、薄板 1 0 の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることができる。

【 0 0 4 1 】

すなわち、従来は、図 8 に示すように、突起部 6 が、貫通孔 1 の内周一帯に沿って形成された環状構造であった。したがって、この突起部 6 が形成された領域では、貫通孔 1 の断面積が小さくなり、気泡が発生しやすくなっていた。そしてその結果、薄板 5 の表面を気泡が覆ってしまうのであった。そして例えば薄板 5 の細胞保持面側を気泡が覆うと、細胞を導通孔 4 の開口部に密着保持させることができなくなる。また細胞保持面の反対側の面を気泡が覆うと、吸引がしにくくなり、細胞を導通孔 4 へと引き付けることが出来なくなる。そしていずれの場合も、測定が非常に困難となるのであった。

【 0 0 4 2 】

これに対し本実施の形態では、図 3、図 4 に示すように、突起部 1 3 間に隙間を設けたため、この隙間の分だけ貫通孔 7 の断面積を大きくすることができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 3 】

そしてその結果、薄板 1 0 の表面を気泡が覆うのを抑制し、測定精度を向上させることができる。

【 0 0 4 4 】

なお本実施の形態では、図 1 の導通孔 1 2 に細胞 2 0 を引き付ける際、流路 1 8 側を減圧している。したがって、気泡が拡張され、薄板 1 0 の表面を覆いやすい。したがって、本実施の形態のように、突起部 1 3 の形状によって気泡の発生を抑制することは、測定の高精度化に有用である。

【 0 0 4 5 】

また本実施の形態では、図 3、図 4 に示すように、突起部 1 3 が貫通孔 7 の断面の直径上に配置されているため、センサチップ 9 が片寄るのを防止し、安定して保持することができ、位置決めが高精度になる。なお本実施の形態では、突起部 1 3 を二つだけ形成したが、図 5 に示すように、それ以上設けても良く、放射状に配置すれば、安定してセンサチップ 9 を保持することが出来る。

10

【 0 0 4 6 】

さらに本実施の形態では、突起部 1 3 は、先端が細くなる形状であるため、貫通孔 7 の内部の空間面積をより大きくすることができ、気泡の発生を効率よく抑制することができる。

【 0 0 4 7 】

(実施の形態 2)

本実施の形態と実施の形態 1 との違いは、図 6 に示すように、複数の突起部 1 3 が連なるように形成され、それぞれの突起部 1 3 の側面と、隣接する突起部 1 3 の側面との成す角が鋭角となるように形成されている点である。これにより本実施の形態では、貫通孔 7 の内部における気泡の発生を低減し、薄板 1 0 表面に気泡が覆うのを抑制し、より高精度に測定することができる。

20

【 0 0 4 8 】

その理由を以下に説明する。すなわち従来は、図 8 に示すように、突起部 6 の側面上において、貫通孔 1 の内部に充填される溶液に表面張力が働き、液滴が突起部 6 の内壁に行き渡りにくくなり、気泡が発生することがあった。

【 0 0 4 9 】

これに対し本実施の形態では、隣接する突起部 1 3 の側面同士の成す角は鋭角であるため、それぞれの側面に対して液滴に表面張力が働いても、隣接する突起部 1 3 の側面における液滴同士は分子間力により合体しやすくなり、それぞれの突起部 1 3 の側面の間の濡れ性が向上する。そして液滴は、気泡を逃がしながら突起部 1 3 の表面全体に行き渡り、薄板 1 0 の表面を濡らしながら貫通孔 7 内部に充填されるため、結果として貫通孔 7 の内部における気泡の発生を低減できるのである。

30

【 0 0 5 0 】

なお、センサチップ 9 は、実施の形態 1 と同様に、図 1 のように薄板 1 0 が枠体 1 1 よりも下方にくるように実装してもよく、図 7 に示すように、薄板 1 0 の方を枠体 1 1 よりも上方になるように、逆向きに配置してもよい。また本実施の形態ではセンサチップ 9 を貫通孔 7 の下端部に配置したが、上端部に配置してもよい。この場合は、突起部 1 3 を、センサチップ 9 の下端に当接することによって、センサチップ 9 の位置決めを行うことができる。そしてチップの下方を気泡が覆うのを抑制することができ、高精度な測定に寄与する。

40

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 5 1 】

本発明は、例えば高精度かつ高速の薬品スクリーニングシステムにかかる細胞電気生理センサに有用である。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 5 2 】

50

- 【図 1】本発明の実施の形態 1 における細胞電気生理センサの断面図
- 【図 2】本発明の実施の形態 1 におけるセンサチップの断面図
- 【図 3】本発明の実施の形態 1 における貫通孔の斜視図（図 1 の X 部）
- 【図 4】本発明の実施の形態 1 における貫通孔の断面図
- 【図 5】本発明の実施の形態 1 における別の例の貫通孔の断面図
- 【図 6】本発明の実施の形態 2 における貫通孔の断面図
- 【図 7】本発明の実施の形態 2 における別の例の細胞電気生理センサの断面図
- 【図 8】従来の細胞電気生理センサの分解斜視図
- 【符号の説明】

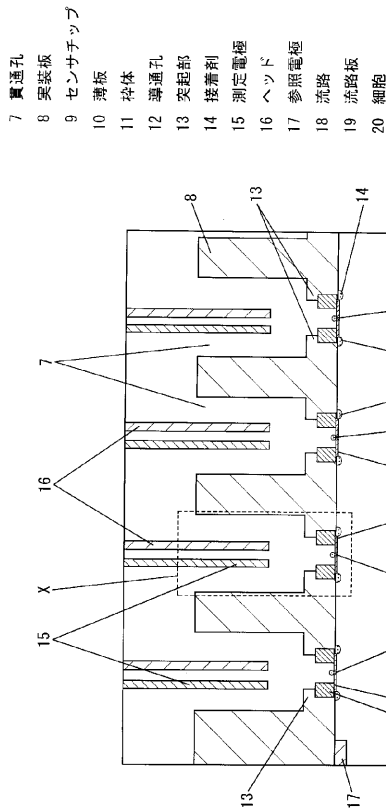
【0053】

- 7 貫通孔
- 8 実装板
- 9 センサチップ
- 10 薄板
- 11 枠体
- 12 導通孔
- 13 突起部
- 14 接着剤
- 15 測定電極
- 16 ヘッド
- 17 参照電極
- 18 流路
- 19 流路板
- 20 細胞

10

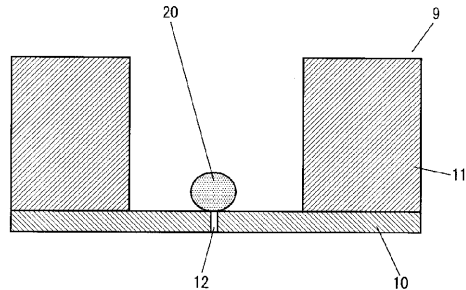
20

【図 1】

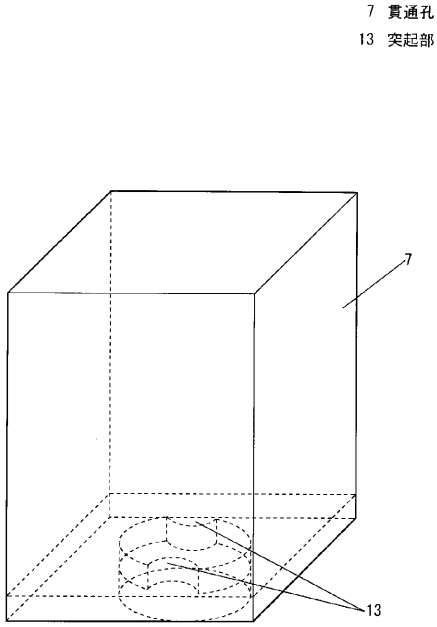


【図 2】

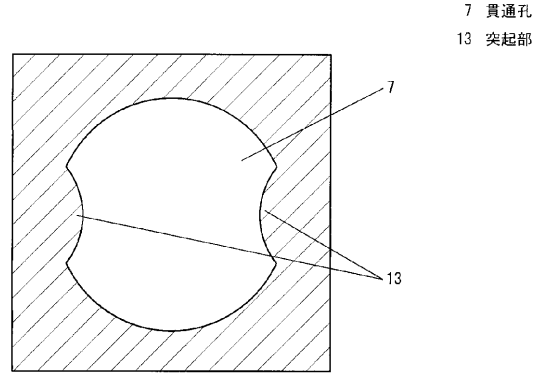
- 9 センサチップ
- 10 薄板
- 11 枠体
- 12 導通孔
- 20 細胞



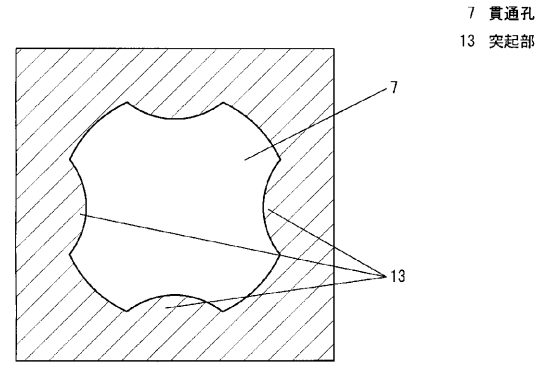
【 図 3 】



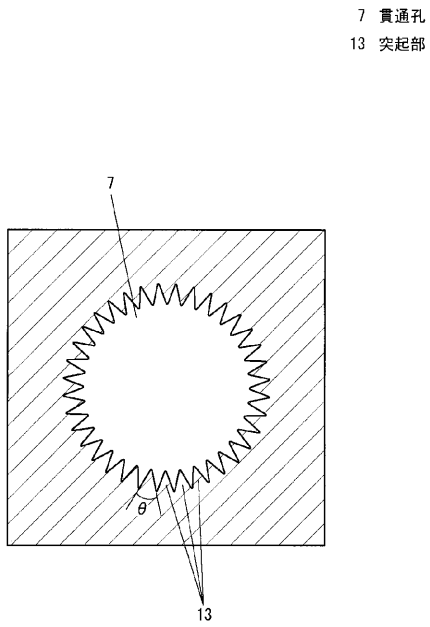
【 図 4 】



【 図 5 】

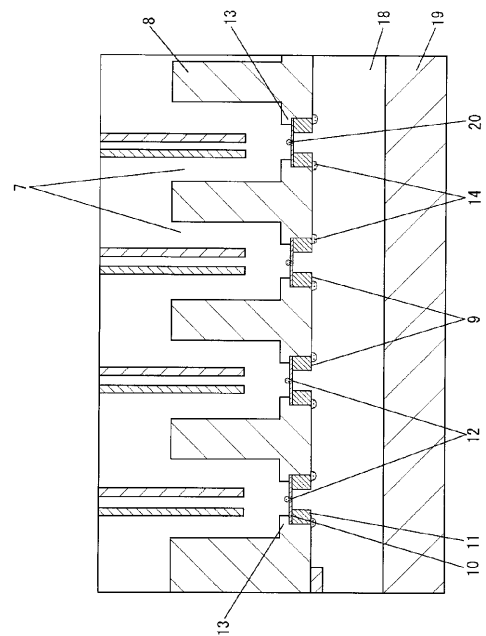


【 図 6 】

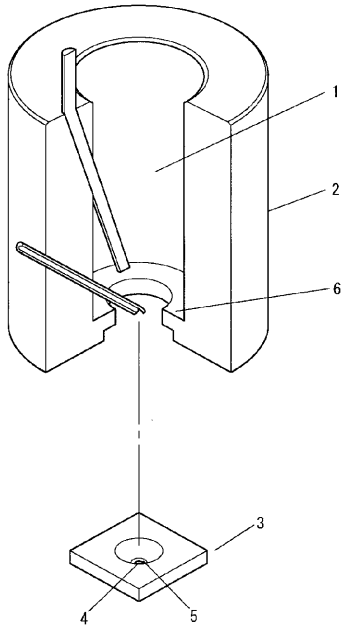


【 図 7 】

- 7 貫通孔
- 8 実装板
- 9 センサチップ
- 10 薄板
- 11 柱体
- 12 導通孔
- 13 突起部
- 14 接着剤
- 18 流路
- 19 蒸散板
- 20 細胞



【 図 8 】



フロントページの続き

- (72)発明者 中谷 将也
大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 パナソニックエレクトロニックデバイス株式会社内
- (72)発明者 高橋 誠
大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 パナソニックエレクトロニックデバイス株式会社内
- (72)発明者 山本 健樹
大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 パナソニックエレクトロニックデバイス株式会社内
- (72)発明者 上田 智
大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 パナソニックエレクトロニックデバイス株式会社内
- Fターム(参考) 2G060 AA06 AA15 AF01 AF07 AF15 AG11