

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年3月10日(10.03.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/050247 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 37/00 (2006.01) G01N 35/08 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01) B01J 19/00 (2006.01)
G01N 35/02 (2006.01) G01N 21/03 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/031830

(22) 国際出願日: 2021年8月31日(31.08.2021)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2020-147507 2020年9月2日(02.09.2020) JP

(71) 出願人: 凸版印刷株式会社 (TOPPAN INC.)
[JP/JP]; 〒1100016 東京都台東区台東 1 丁目 5 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 後藤 圭佑 (GOTO Keisuke); 〒1100016
東京都台東区台東 1 丁目 5 番 1 号 凸版印刷株式会社内 Tokyo (JP). 牧野 洋一 (MAKINO Yoichi); 〒1100016 東京都台東区台東 1 丁目 5 番 1 号 凸版印刷株式会社内 Tokyo (JP). 和

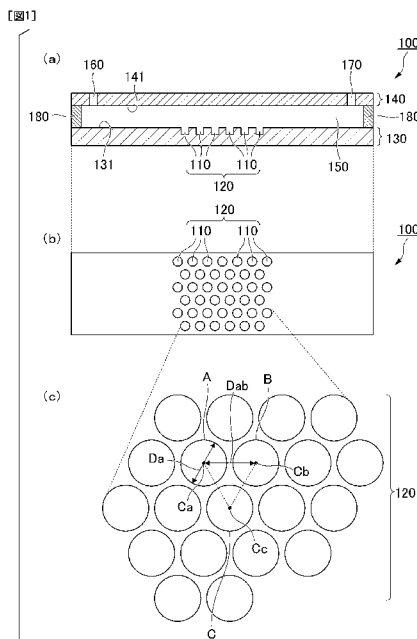
田 晋一 (WADA Shinichi); 〒1100016 東京都台東区台東 1 丁目 5 番 1 号 凸版印刷株式会社内 Tokyo (JP). 篠原 雄一郎 (SHINOHARA Yuichiro); 〒1100016 東京都台東区台東 1 丁目 5 番 1 号 凸版印刷株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 松沼 泰史, 外 (MATSUNUMA Yasushi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内 1 丁目 9 番 2 号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: FLUID DEVICE AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 流体デバイス及びその使用



(57) Abstract: A fluid device comprising: a base at least partially provided with a well array in which a plurality of wells that open to one face and have the same shape are regularly arranged; and a lid member arranged facing the well array, wherein a space between the well array and the lid member forms a flow passage through which a fluid flows, and a distance Dab between a center of gravity Ca of an opening portion of any well A of the well array and the center of gravity Cb of an opening portion of a well B closest to the well A and the diameter Da of a circle having the same area as the area of the opening portion of the well A satisfy the following formula (1): (1): $0.8 \leq Da/Dab < 1$.

(57) 要約: 一方面に開口する複数の同一形状のウェルが規則的に配置されたウェルアレイを少なくとも一部に有する基板と、前記ウェルアレイと対向して配置された蓋部材と、を備え、前記ウェルアレイと前記蓋部材との間の空間は流体が流れる流路を形成しており、前記ウェルアレイの任意のウェルAの開口部の重心Caと、前記ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心Cbとの間の距離Dabと、前記ウェルAの開口部の面積と同面積の円の直径Daとが、下記式(1)を満たす、流体デバイス。 $0.8 \leq Da/Dab < 1 \dots (1)$

ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：流体デバイス及びその使用

技術分野

[0001] 本発明は、流体デバイス及びその使用に関する。より詳細には、本発明は、流体デバイス、水性媒体の隔離方法、検出対象を検出する方法に関する。

本願は、2020年9月2日に日本に出願された特願2020-147507号について優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 生体分子を流体デバイス内で検出する技術が知られている。例えば、DNAマイクロアレイ技術では、微小孔に生体分子を導入し、加熱を伴う反応を行うことにより、生体分子を検出する場合がある。また、生体分子を単分子検出できる技術が知られている。このような技術としては、例えば、デジタルELISA (Digital Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)、デジタルPCR (Digital Polymerase Reaction)、及びデジタルInvasive Cleaved Assay (Digital ICA) 等のデジタル計測技術が挙げられる。

[0003] これらの技術では、生体分子を含む水性媒体を微小な反応空間に隔離する必要がある。発明者らは、以前に、流路及び複数のウェルを有する反応容器の流路に水性媒体を送液して複数のウェルに水性媒体を充填し、次いで、流路に油性封止液を送液して複数のウェル内の水性媒体を油性封止液で封止することにより、各ウェルが複数の独立した反応空間となる、水性媒体の隔離方法を開発している（例えば、特許文献1を参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2015/115635号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、発明者らは、基板上に形成したウェルアレイのウェルの容積が小さくなると、各ウェルに試薬等を導入する場合に、ウェルの内部に存在していた空気が試薬等によって置き換えられずに残存することがあり、生体分子の検出の妨げとなり得ることを見出した。

[0006] そこで、本発明は、ウェルアレイを有する流体デバイスの各ウェルに水性媒体を導入する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制する技術を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明は以下の態様を含む。

[1] 一方面に開口する複数の同一形状のウェルが規則的に配置されたウェルアレイを少なくとも一部に有する基板と、前記ウェルアレイと対向して配置された蓋部材と、を備え、前記ウェルアレイと前記蓋部材との間の空間は流体が流れる流路を形成しており、前記ウェルアレイの任意のウェルAの開口部の重心C_aと、前記ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心C_bとの間の距離D_{a b}と、前記ウェルAの開口部の面積と同面積の円の直径D_aとが、下記式(1)を満たす、流体デバイス。

$$0.8 \leq D_a / D_{ab} < 1 \quad \cdots (1)$$

[2] 前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径が、1 μm以上50 μm以下である、[1]に記載の流体デバイス。

[3] 前記一方面におけるウェルアレイの面積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの開口部の面積の合計の割合が、30%以上90%以下である、[1]又は[2]に記載の流体デバイス。

[4] 前記ウェル1つあたりの容積が10 fL以上100 pL以下である、[1]～[3]のいずれかに記載の流体デバイス。

[5] 前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計が0.2 μL以上2.0 μL以下である、[1]～[4]のいずれかに記載の流体デバイス。

[6] 前記流路の容積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計

の割合が５％以上４０％以下である、〔１〕～〔５〕のいずれかに記載の流体デバイス。

〔７〕前記ウェルの深さに対する、前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径の割合が３％以上２００％以下である、〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の流体デバイス。

〔８〕前記一方向の水との接触角が７０度以上１８０度以下である、〔１〕～〔７〕のいずれかに記載の流体デバイス。

〔９〕前記蓋部材の前記ウェルアレイに対向する面の水との接触角が７０度以上１８０度以下である、〔１〕～〔８〕のいずれかに記載の流体デバイス。

〔１０〕〔１〕～〔９〕のいずれかに記載の流体デバイスの前記流路に水性媒体を導入する工程と、前記水性媒体を導入した後に、前記流路に封止液を導入して前記水性媒体を前記ウェルアレイの各ウェルに隔離する工程と、を含む、前記水性媒体の隔離方法。

〔１１〕〔１０〕に記載の方法により検出対象及び検出試薬を含む水性媒体を隔離した後に、前記流体デバイスを加熱して前記ウェルの内部で反応を生じさせ、前記検出対象を検出するためのシグナルを生じさせる工程と、前記シグナルを検出する工程と、を含む、前記検出対象を検出する方法。

〔１２〕前記検出対象が生体分子である、〔１１〕に記載の方法。

〔１３〕前記反応が定温反応である、〔１１〕又は〔１２〕に記載の方法。

〔１４〕前記シグナルが蛍光である、〔１１〕～〔１３〕のいずれかに記載の方法。

発明の効果

[0008] 本発明によれば、ウェルアレイを有する流体デバイスの各ウェルに水性媒体を導入する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制する技術を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0009] [図１]（ａ）は流体デバイスの構造を説明する模式断面図であり、（ｂ）は流

体デバイスの上面図であり、（c）は流体デバイスのウェルアレイをウェルの開口面側から見た一部拡大図（平面図）である。

[図2]（a）及び（b）は、実験例1において、実施例1の流体デバイスにバッファを送液して明視野観察したウェルアレイの写真である。

[図3]（a）～（c）は、実験例1において、比較例1の流体デバイスにバッファを送液して明視野観察したウェルアレイの写真である。

[図4]（a）～（e）は、実験例1において、比較例2の流体デバイスにバッファを送液して明視野観察したウェルアレイの写真である。

[図5]（a）～（e）は、実験例2におけるシミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。

[図6]（a）～（c）は、実験例3におけるシミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。

[図7]（a）～（c）は、実験例4におけるシミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。

[図8]（a）～（c）は、実験例5におけるシミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、場合により図面を参照しつつ、本発明の実施形態について詳細に説明する。なお、図面中、同一又は相当部分には同一又は対応する符号を付し、重複する説明は省略する。なお、各図における寸法比は、説明のため誇張している部分があり、必ずしも実際の寸法比とは一致しない。

[0011] [流体デバイス]

一実施形態において、本発明は、一方面に開口する複数の同一形状のウェルが規則的に配置されたウェルアレイを少なくとも一部に有する基板と、前記ウェルアレイと対向して配置された蓋部材と、を備え、前記ウェルアレイと前記蓋部材との間の空間は流体が流れる流路を形成しており、前記ウェルアレイの任意のウェルAの開口部の重心 C_a と、前記ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心 C_b との間の距離 D_{ab} と、前記ウェルAの開口

部の面積と同面積の円の直径 D_a とが、下記式 (1) を満たす、流体デバイスを提供する。

$$0.8 \leq D_a / D_{ab} < 1 \quad \dots (1)$$

[0012] 実施例において後述するように、本実施形態の流体デバイスによれば、ウェルアレイの各ウェルに水性媒体を導入する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制することができる。

[0013] 図1の(a)は、本実施形態の流体デバイスの構造を説明する模式断面図であり、図1の(b)は、本実施形態の流体デバイスの上面図であり、図1の(c)は、本実施形態の流体デバイスのウェルアレイをウェルの開口面側から見た一部拡大図(平面図)である。

[0014] 図1の(a)に示すように、本実施形態の流体デバイス100は、一方面に開口する複数の同一形状のウェル110が規則的に配置されたウェルアレイ120を少なくとも一部に有する基板130と、ウェルアレイ120と対向して配置された蓋部材140と、を備え、ウェルアレイ120と蓋部材140との間の空間150は流体が流れる流路を形成している。流路150は、基板130の表面131と、蓋部材140の表面141との間の連続的な空間である。

[0015] 図1の(b)及び(c)に示すように、ウェルアレイ120の任意のウェルAの開口部の重心(つまり、開口部の周縁により規定される形状の重心) C_a と、ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心 C_b との間の距離 D_{ab} と、ウェルAの開口部の面積と同面積の円を想定した場合の直径 D_a とは、下記式(1)を満たす。

$$0.8 \leq D_a / D_{ab} < 1 \quad \dots (1)$$

[0016] 本実施形態の流体デバイスにおいて、 D_a / D_{ab} の値の下限は、0.8であり、0.83以上であってもよい。また、 D_a / D_{ab} の値の上限は、1未満であり、0.92以下であってもよく、約0.9であってもよい。これらの下限値及び上限値は任意に組み合わせることができる。

[0017] 図1の(a)に示すように、本実施形態の流体デバイスは、流体を流路1

５０に導入する導入口１６０、流体を流路１５０から排出する排出口１７０を備えていてもよい。また、図１の（ａ）の例では、導入口１６０及び排出口１７０は蓋部材１４０に形成されているが、導入口１６０及び排出口１７０は、後述する周縁部材１８０に形成されていてもよいし、基板１３０に形成されていてもよい。導入口１６０及び排出口１７０は、ウェルアレイ１２０を挟む位置に配置される。

[0018] 導入口１６０及び排出口１７０の形状は特に限定されず、流体を送液可能な形状であれば、想定しうるいずれの形状でもよい。例えば、円であってもよいし、楕円であってもよいし、三角形、四角形、五角形、六角形、七角形、及び八角形等の多角形であってもよい。

[0019] 図１の（ａ）に示すように、本実施形態の流体デバイスは、周縁部材１８０を備えることが好ましい。周縁部材１８０は、基板１３０と蓋部材１４０との間を離間させて流路１５０を形成するためのスペーサーとして機能する。周縁部材１８０はまた、ウェルアレイ１２０の周囲を囲んで基板１３０と蓋部材１４０との間に配置されており、流路１５０の壁面の一部を形成している。すなわち、流路１５０は、基板１３０の表面１３１と、蓋部材１４０の表面１４１との間に位置する周縁部材１８０によって囲まれていることが好ましい。周縁部材１８０は、蓋部材１４０と連続的につながる一体の部材として設けられていてもよい。

[0020] また、流路１５０の流れ方向に垂直な面における断面形状は特に限定されず、流体を送液可能な形状であれば、想定しうるいずれの形状でもよい。例えば、正方形、長方形、三角形、円、及び楕円等の形状が挙げられる。また、流路１５０の導入口１６０から排出口１７０にわたって流路１５０の断面形状は一定であってもよいし、変化してもよいが、一定であることが好ましい。

[0021] 本実施形態の流体デバイスは、生体分子を扱う場合に通常用いられる微小な流路、すなわち、マイクロ流路であってもよい。より具体的には、本実施形態の流体デバイスは、流路の断面積の最大値が $0.01 \sim 1 \text{ mm}^2$ であって

もよい。

[0022] ウェルアレイ 120 は、基板 130 の一方向 131 に複数のウェル 110 を形成することにより形成されていてもよいし、基板 130 が、複数の貫通孔を有する第 1 の層と、平板である第 2 の層とが積層されたものであり、上記貫通孔がウェル 110 を形成し、上記複数の貫通孔がウェルアレイ 120 を形成していてもよい。

[0023] 基板 130 の材質は特に限定されず、例えば、ステンレス、チタン、コバルトクロム合金、及びマグネシウム合金等の金属；ガラス；汎用プラスチック、医療用プラスチック、及び化粧品用プラスチック等の樹脂材料等が挙げられる。また、これらの材質からなる複数の材料が積層されていてもよい。樹脂材料としては、例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリアミド、ポリカーボネート、環状ポリオレフィン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトン、アクリル、ウレタン樹脂、シリコーン樹脂、フッ素樹脂、芳香族ポリエーテルケトン、エポキシ樹脂、及び、これらの樹脂の共重合材料等が挙げられる。より具体的な樹脂材料としては、例えば、Z E O N E X（登録商標）、及び C Y T O P（登録商標）等を用いることができる。また、蓋部材 140 の材質についても特に限定されず、例えば、上述した基板 130 の材質と同様のものが挙げられる。

[0024] ウェル 110 の開口部の形状（つまり、ウェル 110 の開口面側から見た流体デバイス 100 の平面図におけるウェル 110 の形状）は、特に限定されず、円であってもよいし、楕円であってもよいし、三角形、四角形、五角形、六角形、七角形、及び八角形等の多角形であってもよい。ウェル 110 の開口部の形状が円である場合、ウェル 110 の開口部の重心は、円の中心となる。

[0025] ウェルアレイ 120 を構成する複数のウェル 110 のそれぞれは、同一形状であり、規則的に配置されている。但し、撮像やデバイス製造におけるアライメントマークとして使用するため、複数のウェルのうち、少数（例えば、1～4 個）は異なる形状であってもよい。この場合、実質的に全てのウェ

ル（つまり、上記の少数のウェルを除くウェル）は同一形状であり、規則的に配置される。

[0026] ここで、ウェルが規則的に配置されているとは、ウェルアレイを構成するウェルの開口部の重心同士が一定のパターンで配置されていることを意味する。例えば、ウェルの開口部の重心同士が四角格子状に配置されていてもよい。この場合、互いに隣り合う4つのウェルの開口部の重心同士を結ぶ線は、矩形、好ましくは正方形を形成する。

[0027] あるいは、ウェルの開口部の重心同士が三角格子状（六角格子状ともいう）に配置されていてもよい。この場合、互いに隣り合う3つのウェルの開口部の重心同士を結ぶ線は正三角形を形成する。ウェルが三角格子状に配置されている場合、任意のウェルの開口部の重心と、当該ウェルに最も近接するウェルの開口部の重心との間の距離が、あらゆるウェルについて一定になる。

[0028] 図1の(c)に示すウェルは、三角格子状に配置されている。図1の(c)に示すように、ウェルアレイ120を構成するウェル110のうち、任意のウェルAと、ウェルAに最も近接するウェルBと、ウェルA及びウェルBの双方に最も近接しているウェルCのそれぞれの開口部の重心C_a、C_b、及びC_cは、それぞれを頂点とする正三角形を形成している。図1(c)において、ウェルA、ウェルB及びウェルCのそれぞれの開口部の重心C_a、C_b、及びC_cを結ぶ線は、正三角形である。

[0029] 本実施形態の流体デバイスにおいて、ウェルの開口部の面積と同面積の円を想定した場合の直径は、1 μ m以上50 μ m以下であることが好ましい。すなわち、ウェルの開口部の面積と同面積の円を想定した場合の直径の下限は1 μ mであることが好ましい。また、ウェルの開口部の面積と同面積の円を想定した場合の直径の上限は、20 μ m未満であってもよく、19 μ m以下であってもよく、18 μ m以下であってもよく、17 μ m以下であってもよく、16 μ m以下であってもよく、15 μ m以下であってもよく、14 μ m以下であってもよく、13 μ m以下であってもよく、12 μ m以下であつ

てもよく、 $11\mu\text{m}$ 以下であってもよく、 $10\mu\text{m}$ 以下であってもよい。これらの下限と上限は、任意に組み合わせることができる。

[0030] 本実施形態の流体デバイスにおいて、ウェルアレイ120の面積とは、面131において、ウェルアレイ120の周縁部に存在するウェル110を内接する領域の面積をいう。一方面131におけるウェルアレイ120の面積に対する、ウェルアレイ120の各ウェル110の開口部の面積の合計の割合（以下、「開口面積比率」という場合がある。）は、30%以上90%以下であることが好ましい。

[0031] 開口面積比率の下限は60%であってもよく、45%であってもよく、30%であってもよい。また、開口面積比率の上限は90%であってもよく、80%であってもよく、70%であってもよい。これらの下限と上限は任意に組み合わせることができる。例えば、開口面積比率は、30%以上90%以下であってもよく、45%以上80%以下であってもよく、60%以上70%以下であってもよい。

[0032] 本実施形態の流体デバイスにおいて、ウェル110の1つあたりの容積は、 10fL 以上 100pL 以下であることが好ましく、 100fL 以上 30pL 以下であることがより好ましい。また、ウェルアレイ120を構成する各ウェル110の容積の合計は、 $0.2\mu\text{L}$ 以上 $2.0\mu\text{L}$ 以下であることが好ましく、 $0.4\mu\text{L}$ 以上 $1.5\mu\text{L}$ 以下であることがより好ましい。また、ウェル110の深さに対する、ウェル110の開口部の面積と同面積の円を想定した場合の直径の割合は、3%以上200%以下であることが好ましく、30%以上120%以下であることがより好ましく、60%以上90%以下であることがさらに好ましい。ウェル110の大きさが上記の範囲であると、生体分子の単分子検出を好適に行うことができる。

[0033] 本実施形態の流体デバイスにおいて、流路150の容積に対する、ウェルアレイ120を構成する各ウェル110の容積の合計の割合は、5%以上40%以下であることが好ましい。

[0034] 本実施形態の流体デバイスにおいて、一方面131の水との接触角は、7

0度以上180度以下であることが好ましい。また、蓋部材140のウェルアレイ120に対向する面141の水との接触角は、70度以上180度以下であることが好ましい。面131及び141の接触角が上記の範囲であると、流路150に封止液を導入した場合に、水性媒体を前記ウェルアレイの各ウェルに隔離しやすい傾向にある。

[0035] 本実施形態の流体デバイスは、例えば以下の手順で製造することができる。まず、基板を準備し、基板の一方面上に樹脂層を形成する。この樹脂層に貫通孔を形成することにより、基板上にウェルが形成される。基板と樹脂層の間には第2の樹脂層を設けてもよい。あるいは、基板と樹脂層との密着性を高めるアンカー層等を設けてもよい。

[0036] 樹脂層は、樹脂材料に有色成分を混合した材料により形成されてもよい。樹脂材料がレジストである場合、有色成分の含有率は、例えば0.5質量%（mass%ともいう）以上60mass%以下とすることができる。含有率に関して、好ましくは5mass%以上55mass%以下であり、20mass%以上50mass%以下が更に好ましい。

[0037] 有色成分の含有率は、レジストに含まれる感光成分等の割合を考慮して、所望するパターンを構築可能となるように適宜設定することができる。また、有色成分は顔料であってもよく、顔料と共に分散剤が適宜添加されてもよい。形成された樹脂層が樹脂材料に有色成分を混合した材料から形成されている場合、樹脂層は有色成分に基づいた色彩を有する。

[0038] 次に、樹脂層に貫通孔を形成する。フォトリソグラフィを用いると、貫通孔を簡便かつ精度よく形成することができる。樹脂層を射出成型等により形成する場合は、樹脂層の形成と貫通孔の形成とを同一のプロセスで行うことができる。この他、パターンマスクを用いたエッチング等によっても貫通孔の形成が可能である。樹脂層に貫通孔が形成されると、ウェルアレイ120を有する基板130が得られる。

[0039] また、ウェルアレイ120が、基板130の一方面131に複数のウェル110を形成することにより形成されていてもよい。この場合、ウェルアレ

イ 120 の形状に対応する金型を用いて、上述の樹脂材料を射出成型することにより、ウェルアレイ 120 を有する基板 130 を作製することができる。

[0040] 続いて、ウェルアレイ 120 の周囲に周縁部材 180 を配置する。続いて、周縁部材 180 上に蓋部材 140 を配置する。続いて、基板 130、周縁部材 180 及び蓋部材 140 を一体に接合すると、流体デバイス 100 が得られる。流路 150 は、周縁部材 180 により、蓋部材 140 と基板 130 との間に形成される。

[0041] 基板 130、周縁部材 180 及び蓋部材 140 の接合方法は、特に限定されず、公知の方法を用いることができ、例えば、レーザー溶着、両面テープによる接着、及び接着剤による接着等が挙げられる。

[0042] また、基板 130、周縁部材 180 及び蓋部材 140 の密着性を向上させるために、貼り合わせ前に、基板 130 と蓋部材 140 の表面に接着効果を増すための表面処理を行ってもよい。例えば、表面処理として、(1) 化学的な表面改質、及び(2) 表面形状の加工等が挙げられる。

[0043] また、周縁部材 180 と蓋部材 140 とが一体成形されていてもよい。この場合、ウェルアレイ 120 を少なくとも一部に有する基板 130 と、周縁部材 180 が一体成形された蓋部材 140 とを接合することにより、流体デバイス 100 を製造することができる。流路 150 は、蓋部材 140 に一体成形された周縁部材 180 により、蓋部材 140 と基板 130 との間に形成される。

[0044] 以上の方法により、流体デバイスを製造することができる。なお、流体デバイスの製造方法は上述したものに限定されず、各工程において類推することのできる他の公知の方法を適用することができる。

[0045] [水性媒体の隔離方法]

一実施形態において、本発明は、上述した流体デバイスの流路に水性媒体を導入する工程と、水性媒体を導入した後に、流路に封止液を導入して水性媒体をウェルアレイの各ウェルに隔離する工程と、を含む、水性媒体の隔離

方法を提供する。

- [0046] 本実施形態の方法によれば、水性媒体をウェルアレイの各ウェルに充填して隔離する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制することができる。
- [0047] 水性媒体と封止液は、互いに混和しないか、混和しにくいものであることが好ましい。具体的な封止液としては、FC-40、FC-43、FC-770、FC-72、FC-3283（いずれも3M社製）等のフッ素系液体が挙げられる。
- [0048] 水性媒体は、検出対象及び検出試薬を含んでいてもよい。検出対象としては、例えば、核酸、タンパク質、脂質等の生体分子が挙げられる。検出試薬は、検出方法に応じて適宜選択される。
- [0049] 本実施形態の方法において、水性媒体が界面活性剤を含んでいてもよい。これにより、ウェル内部の気泡の残留を抑制する効果、及び基板130の面131上の、ウェルとウェルとの間の領域への非特異吸着を抑制する効果等が得られる。
- [0050] 本実施形態の方法において、水性媒体を導入する前に、充填液を導入する工程を含み、充填液と水性媒体は、互いに混和するか、混和しやすいものであってもよい。これにより、ウェル内部の気泡の残留を更に抑制しやすくなる。具体的な充填液としては、界面活性剤を含む水性媒体、界面活性剤を含まない水性媒体、及び水性媒体と容易に混合する有機溶媒等が挙げられる。
- [0051] 充填剤が界面活性剤を含むことによっても、ウェル内部の気泡の残留を抑制する効果、及び基板130の面131上の、ウェルとウェルとの間の領域への非特異吸着を抑制する効果等が得られる。界面活性剤は、水性媒体及び充填剤の双方に含まれていてもよいし、いずれか一方のみに含まれていてもよい。
- [0052] 本実施形態の方法において、水性媒体及び封止液は、流体デバイスの導入口から圧力を加えながら導入してもよい。圧力を加えながら水性媒体及び封止液を導入することは、シリンジやピペット等を用いて水性媒体及び封止液を注入することであってよい。本実施形態の方法によれば、圧力を加えなが

ら導入した場合でも、ウェル内部の気泡の残留を抑制する効果が得られやすい。

[0053] [検出対象を検出する方法]

1 実施形態において、本発明は、上述した水性媒体の隔離方法により、流体デバイスのウェルアレイのウェル内に、検出対象及び検出試薬を含む水性媒体を隔離した後に、流体デバイスを加熱してウェルの内部で反応を生じさせ、検出対象を検出するためのシグナルを生じさせる工程と、シグナルを検出する工程と、を含む、検出対象の検出方法を提供する。

[0054] 本実施形態の方法によれば、ウェル内部の気泡の残留が抑制されているため、検出対象を高精度に検出することが容易である。

[0055] 水性媒体は、検出対象及び検出試薬を含む。検出対象としては、例えば、核酸、タンパク質、脂質等の生体分子が挙げられる。検出試薬は、検出原理に応じて適宜選択される。

[0056] シグナルを生じさせる反応は定温反応であってもよい。また、シグナルが蛍光であってもよい。このような反応としては、例えば、*Invasive Cleaved Assay (ICA)* が挙げられる。ICAの場合、検出対象は核酸であり、検出試薬としては、フラッププローブ、フラップエンドヌクレアーゼ (FEN)、蛍光基質等が挙げられる。フラッププローブは、検出対象の核酸とハイブリダイズしてフラップ構造を有する二本鎖核酸を形成するように設計された核酸断片である。ICAの場合、シグナルを生じさせる反応は、反応温度が55℃以上75℃以下であることが好ましい。

[0057] 本実施形態の方法において、シグナルを検出する工程では、流体デバイスの画像を撮影し、撮影した画像を解析することによりシグナルを検出してもよい。

[0058] 別の側面として、本発明は、以下の態様を包含する。

[1] 一方面に開口する複数の同一形状のウェルが規則的に配置されたウェルアレイを少なくとも一部に有する基板と、前記ウェルアレイと対向して配

置された蓋部材と、を備え、前記ウェルアレイと前記蓋部材との間の空間は流体が流れる流路を形成しており、前記ウェルアレイの任意のウェルAの開口部の重心C_aと、前記ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心C_bとの間の距離D_{a b}と、前記ウェルAの開口部の面積と同面積の円の直径D_aとが、下記式(1)を満たす、流体デバイス。

$$0.8 \leq D_a / D_{a b} < 0.92 \quad \dots (1)$$

[2] 前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径が、1 μm以上15 μm以下である、[1]に記載の流体デバイス。

[3] 前記一方面におけるウェルアレイの面積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの開口部の面積の合計の割合が、60%以上80%以下である、[1]又は[2]に記載の流体デバイス。

[4] 前記ウェル1つあたりの容積が100 fL以上30 pL以下である、[1]～[3]のいずれかに記載の流体デバイス。

[5] 前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計が0.4 μL以上1.5 μL以下である、[1]～[4]のいずれかに記載の流体デバイス。

[6] 前記流路の容積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計の割合が5%以上100%以下である、[1]～[5]のいずれかに記載の流体デバイス。

[7] 前記ウェルの深さに対する、前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径の割合が60%以上90%以下である、[1]～[6]のいずれかに記載の流体デバイス。

[8] 前記一方面の水との接触角が70度以上120度以下である、[1]～[7]のいずれかに記載の流体デバイス。

[9] 前記蓋部材の前記ウェルアレイに対向する面の水との接触角が70度以上120度以下である、[1]～[8]のいずれかに記載の流体デバイス。

[10] [1]～[9]のいずれかに記載の流体デバイスの前記流路に水性媒体を導入する工程と、前記水性媒体を導入した後に、前記流路に封止液を

導入して前記水性媒体を前記ウェルアレイの各ウェルに隔離する工程と、を含む、前記水性媒体の隔離方法。

〔11〕〔10〕に記載の方法により検出対象及び検出試薬を含む水性媒体を隔離した後に、前記流体デバイスを加熱して前記ウェルの内部で反応を生じさせ、前記検出対象を検出するためのシグナルを生じさせる工程と、前記シグナルを検出する工程と、を含む、前記検出対象を検出する方法。

〔12〕前記検出対象が生体分子である、〔11〕に記載の方法。

〔13〕前記反応が定温反応である、〔11〕又は〔12〕に記載の方法。

〔14〕前記シグナルが蛍光である、〔11〕～〔13〕のいずれかに記載の方法。

実施例

[0059] 〔製造例1〕

（実施例1の流体デバイスの作製）

環状ポリオレフィン（品番「ZEONOR1020R」、日本ゼオン社製）製の基板と、環状ポリオレフィン（品番「ZEONOR1020R」、日本ゼオン社製）製の蓋部材を、それぞれ射出成形で作製した。

[0060] 基板の厚さは、0.6mmであった。基板の一方面にはウェルアレイを形成した。ウェルの開口形状は、円とした。ウェルのサイズは、直径10 μ m、深さ15 μ mであった。ウェル1つあたりの容積は、824fLであり、各ウェルの容積の合計は、0.76 μ Lであり、ウェルの深さに対する、ウェルの開口部の直径の割合は、66.7%であった。基板上の6.0mm×30.0mmの領域に、ウェルの中心と、当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離が12 μ mとなるように、三角格子状に複数のウェルを配置し、ウェルアレイを形成した。基板の一方面の水との接触角は、89度であった。

[0061] 蓋部材は、段差部（周縁部材）と一体に形成した。段差部の高さを30 μ mに調整することにより、流路の高さを30 μ mとした。実際の流路の高さは、接触式測定器（品番「TALYSURF PG11240」、Taylor

or Hobson社製)を使用して測定した。流路の容積は、約 $6\mu\text{L}$ であり、流路の容積に対する各ウェルの容積の合計の割合は、約 12.7% であった。蓋部材のウェルアレイに対向する面の水との接触角は、 89° であった。

[0062] 続いて、基板と蓋部材の段差部とを、レーザー溶着により接合して、実施例1のマイクロ流体デバイスを作製した。

[0063] [製造例2]

(比較例1、比較例2の流体デバイスの作製)

ウェルの中心と、当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離を $16\mu\text{m}$ にした点以外は、実施例1と同様にして、比較例1のマイクロ流体デバイスを作製した。ウェルアレイを形成した面積は、実施例1と同じとし、各ウェルの容積の合計は、 $0.63\mu\text{L}$ であった。

[0064] また、ウェルの中心と、当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離を $20\mu\text{m}$ にした点以外は、実施例1と同様にして、比較例2のマイクロ流体デバイスを作製した。ウェルアレイを形成した面積は、実施例1と同じとし、各ウェルの容積の合計は、 $0.4\mu\text{L}$ であった。

[0065] [実験例1]

実施例1、比較例1及び比較例2の各流体デバイスに水性媒体を導入し、ウェル内の気泡の残留しにくさを評価した。

[0066] まず、各流体デバイスの基板と蓋部材の間に形成された流路に、下記表1に示す組成の水性媒体(つまり、バッファー)を注入した。

[0067] [表1]

バッファー組成

成分	終濃度
MgCl_2	20mM
Tris pH8.5	50mM
Tween20	0.05%
蒸留水	残余

[0068] バッファーの注入は、各流体デバイスを、基板側から顕微鏡(品番「BZ-710」、キーエンス社製)を用いて明視野観察しながら行った。 10 倍

の対物レンズを使用し、露光時間は、20ミリ秒とした。そして、ウェル内の気泡が完全に除去されるまでに要したバッファの送液量を測定した。

[0069] 図2の(a)及び(b)に、実施例1の流体デバイスにバッファを送液した場合のウェルアレイの明視野観察結果を示す写真である。図2の(a)は、バッファを20 μ L送液した結果を示す写真であり、図2の(b)は、バッファを50 μ L送液した結果を示す写真である。図2の(a)及び(b)の観察画像のサイズは、3,600 μ m $\times$ 2,700 μ mであった。その結果、実施例1の流体デバイスは、バッファ50 μ Lの送液量で、ウェル内に残存していた気泡を十分に除去することができた。

[0070] また、図3の(a)～(c)に、比較例1の流体デバイスにバッファを送液した場合のウェルアレイの明視野観察結果を示す写真である。図3の(a)はバッファを100 μ L送液した結果を示す写真であり、図3の(b)はバッファを200 μ L送液した結果を示す写真であり、図3の(c)はバッファを300 μ L送液した結果を示す写真である。図3の(a)～(c)の観察画像のサイズは、3,600 μ m $\times$ 2,700 μ mであった。その結果、比較例1の流体デバイスは、ウェル内に残存していた気泡を十分に除去するのにバッファ300 μ Lの送液が必要であった。

[0071] また、図4の(a)～(e)に、比較例2の流体デバイスにバッファを送液した場合のウェルアレイの明視野観察結果を示す写真である。図4の(a)はバッファを100 μ L送液した結果を示す写真であり、図4の(b)はバッファを200 μ L送液した結果を示す写真であり、図4の(c)はバッファを300 μ L送液した結果を示す写真であり、図4の(d)はバッファを400 μ L送液した結果を示す写真であり、図4の(e)はバッファを500 μ L送液した結果を示す写真である。図4の(a)～(e)の観察画像のサイズは、3,600 μ m $\times$ 2,700 μ mであった。その結果、比較例2の流体デバイスは、ウェル内に残存していた気泡を十分に除去するのにバッファ500 μ Lの送液が必要であった。

[0072] 下記表2に、各流体デバイスのウェルの直径、ウェルの深さ、ウェルの中

心と当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離（中心間距離）、中心間距離に対するウェルの直径の割合（直径／中心間距離）、流路高さ、開口面積比率、ウェル内の気泡が完全に除去されるまでに要したバッファーの送液量、及びウェル内の気泡の残留しにくさの評価結果を示す。

[0073] 開口面積比率は、ウェルアレイが形成されている6.0mm×30.0mmの領域の面積に対する、ウェルの開口部の面積の合計の割合とした。また、ウェル内の気泡の残留しにくさの評価結果は、以下の評価基準で評価した。

（評価基準）

良好：ウェル内の気泡が完全に除去されるまでに要したバッファーの送液量が50μL以下

不良：ウェル内の気泡が完全に除去されるまでに要したバッファーの送液量が50μL超

[0074] [表2]

	実施例1	比較例1	比較例2
直径(μm)	10	10	10
ウェル深さ(μm)	15	15	15
中心間距離(μm)	12	16	20
直径／中心間距離	0.833	0.625	0.5
流路高さ(μm)	30	30	30
開口面積比率	63	35	23
送液量(μL)	50	300	500
評価結果	良好	不良	不良

[0075] 以上の結果から、ウェルの中心と当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離（中心間距離）に対するウェルの直径の割合（直径／中心間距離）が、0.8以上であるとウェル内に気泡が残留しにくい傾向が明らかとなった。

[0076] [実験例2]

（シミュレーション1）

シミュレーションにより、流体デバイスのウェル内の気泡の残留しにくさを検討した。シミュレーションにはソフトウェア（製品名「Ansys F

luent」、ANSYS社製）を使用した。

[0077] 下記表3に示す形状のウェルアレイを有する流体デバイスの流路に下記表4に示す物性の液体を送液した場合についてシミュレーションした。下記表3に、流体デバイスのウェルの直径、ウェルの深さ、ウェルの中心と当該ウェルに最も近接するウェルの中心との間の距離（中心間距離）、中心間距離に対するウェルの直径の割合（直径／中心間距離）、流路高さ、テーパー、及びバリ・丸みの有無を示す。下記表4中、濡れ性は、流体デバイスの物性を反映した値を示す。なお、テーパーとは、ウェルの開口部とウェルの底部の面積が異なり、開口部から底部に向かって先細りになっている形状を意味する。テーパー角とは、ウェルの開口部を含む基板の一面とウェルの側面の角度を示し、テーパー角が0°であるとき、ウェルの開口部を含む基板の一面とウェルの側面の角度は、90°である。

[0078] 本実験例でシミュレーションを行った流体デバイスは、実施例1の流体デバイスに相当するものであった。

[0079] [表3]

	シミュレーション1
直径(μm)	10
ウェル深さ(μm)	15
中心間距離(μm)	12
直径／中心間距離	0.833
流路高さ(μm)	30
テーパー(°)	0
バリ・丸み	なし

[0080] [表4]

液体の物性

粘度(Pa s)	0.0012
密度(Kg/m ³)	789.24
表面張力(N/m)	12
直径／中心間距離	0.022
濡れ性(°)	10

[0081] シミュレーションは、送液開始から0.027秒後まで流速33mm/秒で液体を送液し、0.027秒後から0.047秒後まで流速330mm/秒で液体を送液した場合について行った。

[0082] 図5の(a)～(e)は、シミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。図5の(a)は、送液開始前のシミュレーション結果であり、図5の(b)は、送液開始0.02秒後のシミュレーション結果であり、図5の(c)は、送液開始0.03秒後のシミュレーション結果であり、図5の(d)は、送液開始0.04秒後のシミュレーション結果であり、図5の(e)は、送液開始0.047秒後のシミュレーション結果である。図5の(a)～(e)中、スケールは、気泡及び液体の輪郭を示す。

[0083] その結果、送液開始後、ウェル内の気泡が集まって合体し、合体した気泡が他の気泡を巻き込みながら流れていくことが明らかとなった。

[0084] [実験例3]

(シミュレーション2)

シミュレーションにより、流体デバイスのウェル内の気泡の残留しにくさを検討した。シミュレーションにはソフトウェア（製品名「Ansys Fluent」、ANSYS社製）を使用した。

[0085] 下記表5に示す形状のウェルアレイを有する流体デバイスの流路に上記表4に示す物性の液体を送液した場合についてシミュレーションした。

[0086] 本実験例でシミュレーションを行った流体デバイスは、比較例1の流体デバイスに相当するものであった。

[0087] [表5]

	シミュレーション2
直径(μm)	10
ウェル深さ(μm)	15
中心間距離(μm)	16
直径／中心間距離	0.625
流路高さ(μm)	30
テーパー(°)	0
バリ・丸み	なし

[0088] シミュレーションは、送液開始から0.02秒後まで流速33mm/秒で液体を送液し、0.02秒後から流速330mm/秒で液体を送液した場合について行った。

[0089] 図6の(a)～(c)は、シミュレーションの結果を示す流体デバイスの

断面図である。図6の(a)は、送液開始前のシミュレーション結果であり、図6の(b)は、送液開始0.02秒後のシミュレーション結果であり、図6の(c)は送液開始0.03秒後のシミュレーション結果である。図6の(a)～(c)中、スケールは、気泡及び液体の輪郭を示す。

[0090] その結果、送液を行っても、ウェル内の気泡が集まって合体することはない、気泡が残留することが明らかとなった。

[0091] [実験例4]

(シミュレーション3)

シミュレーションにより、流体デバイスのウェル内の気泡の残留しにくさを検討した。シミュレーションにはソフトウェア（製品名「Ansys Fluent」、ANSYS社製）を使用した。

[0092] 下記表6に示す形状のウェルアレイを有する流体デバイスの流路に上記表4に示す物性の液体を送液した場合についてシミュレーションした。

[0093] [表6]

	シミュレーション3
直径(μm)	20
ウェル深さ(μm)	15
中心間距離(μm)	22
直径／中心間距離	0.909
流路高さ(μm)	30
テーパー($^{\circ}$)	0
バリ・丸み	なし

[0094] シミュレーションは、送液開始から0.02秒後まで流速33mm/秒で液体を送液した場合について行った。

[0095] 図7の(a)～(c)は、シミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。図7の(a)は、送液開始前のシミュレーション結果であり、図7の(b)は、送液開始0.01秒後のシミュレーション結果であり、図7の(c)は、送液開始0.02秒後のシミュレーション結果である。図7の(a)～(c)中、スケールは気泡及び液体の輪郭を示す。

[0096] その結果、ウェルの直径が大きいと、ウェル内に気泡が残留しにくいことが明らかとなった。

[0097] [実験例 5]

(シミュレーション 4)

シミュレーションにより、流体デバイスのウェル内の気泡の残留しにくさを検討した。シミュレーションにはソフトウェア（製品名「Ansys Fluent」、ANSYS社製）を使用した。

[0098] 下記表 7 に示す形状のウェルアレイを有する流体デバイスの流路に上記表 4 に示す物性の液体を送液した場合についてシミュレーションした。

[0099] [表 7]

	シミュレーション 4
直径 (μm)	30
ウェル深さ (μm)	15
中心間距離 (μm)	32
直径／中心間距離	0.938
流路高さ (μm)	30
テーパー ($^{\circ}$)	0
バリ・丸み	なし

[0100] シミュレーションは、送液開始から 0.02 秒後まで流速 33 mm/秒で液体を送液した場合について行った。

[0101] 図 8 の (a) ~ (c) は、シミュレーションの結果を示す流体デバイスの断面図である。図 8 の (a) は、送液開始前のシミュレーション結果であり、図 8 の (b) は、送液開始 0.01 秒後のシミュレーション結果であり、図 8 (c) は、送液開始 0.02 秒後のシミュレーション結果である。図 8 の (a) ~ (c) 中、スケールは気泡及び液体の輪郭を示す。

[0102] その結果、ウェルの直径が大きいと、ウェル内に気泡が残留しにくいことが明らかとなった。

産業上の利用可能性

[0103] 本発明によれば、ウェルアレイを有する流体デバイスの各ウェルに水性媒体を導入する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制する技術を提供することができる。また、本発明の検出対象を検出する方法によれば、ウェルアレイを有する流体デバイスの各ウェルに水性媒体を導入して隔離し、シグナルを生じさせて検出する場合に、ウェル内部の気泡の残留を抑制し、検出対象

の検出効率を向上させることができる。

符号の説明

[0104] 100…流体デバイス、110…ウェル、120ウェルアレイ、130…基板、140…蓋部材、131, 141…面、150…流路、160…導入口、170…排出口、180…周縁部材、A, B, C…ウェル、Da…直径、Dab…距離、Ca, Cb, Cc…重心。

請求の範囲

- [請求項1] 一方面に開口する複数の同一形状のウェルが規則的に配置されたウェルアレイを少なくとも一部に有する基板と、
前記ウェルアレイと対向して配置された蓋部材と、を備え、
前記ウェルアレイと前記蓋部材との間の空間は流体が流れる流路を形成しており、
前記ウェルアレイの任意のウェルAの開口部の重心C_aと、前記ウェルAに最も近接するウェルBの開口部の重心C_bとの間の距離D_a_bと、前記ウェルAの開口部の面積と同面積の円の直径D_aとが、下記式(1)を満たす、流体デバイス。
$$0.8 \leq D_{a/b} / D_a < 1 \quad \dots (1)$$
- [請求項2] 前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径が、1 μm以上50 μm以下である、請求項1に記載の流体デバイス。
- [請求項3] 前記一方面におけるウェルアレイの面積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの開口部の面積の合計の割合が、30%以上90%以下である、請求項1又は2に記載の流体デバイス。
- [請求項4] 前記ウェル1つあたりの容積が10 fL以上100 pL以下である、請求項1～3のいずれか一項に記載の流体デバイス。
- [請求項5] 前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計が0.2 μL以上2.0 μL以下である、請求項1～4のいずれか一項に記載の流体デバイス。
- [請求項6] 前記流路の容積に対する、前記ウェルアレイの各ウェルの容積の合計の割合が5%以上40%以下である、請求項1～5のいずれか一項に記載の流体デバイス。
- [請求項7] 前記ウェルの深さに対する、前記ウェルの開口部の面積と同面積の円の直径の割合が3%以上200%以下である、請求項1～6のいずれか一項に記載の流体デバイス。
- [請求項8] 前記一方面の水との接触角が70度以上180度以下である、請求

項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の流体デバイス。

[請求項9] 前記蓋部材の前記ウェルアレイに対向する面の水との接触角が 70 度以上 180 度以下である、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の流体デバイス。

[請求項10] 請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の流体デバイスの前記流路に水性媒体を導入する工程と、

前記水性媒体を導入した後に、前記流路に封止液を導入して前記水性媒体を前記ウェルアレイの各ウェルに隔離する工程と、を含む、前記水性媒体の隔離方法。

[請求項11] 請求項 10 に記載の方法により検出対象及び検出試薬を含む水性媒体を隔離した後に、前記流体デバイスを加熱して前記ウェルの内部で反応を生じさせ、前記検出対象を検出するためのシグナルを生じさせる工程と、

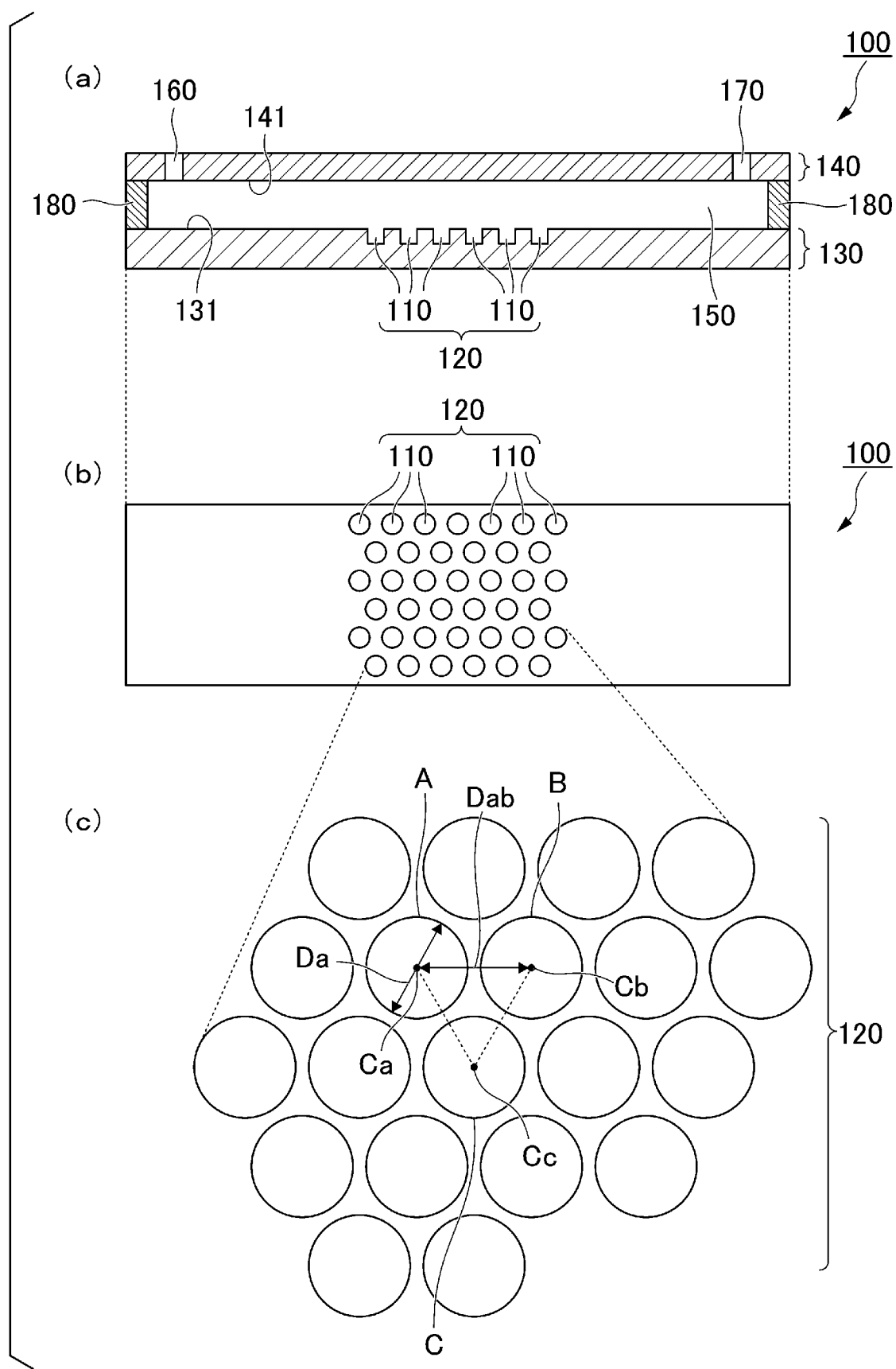
前記シグナルを検出する工程と、を含む、前記検出対象を検出する方法。

[請求項12] 前記検出対象が生体分子である、請求項 11 に記載の方法。

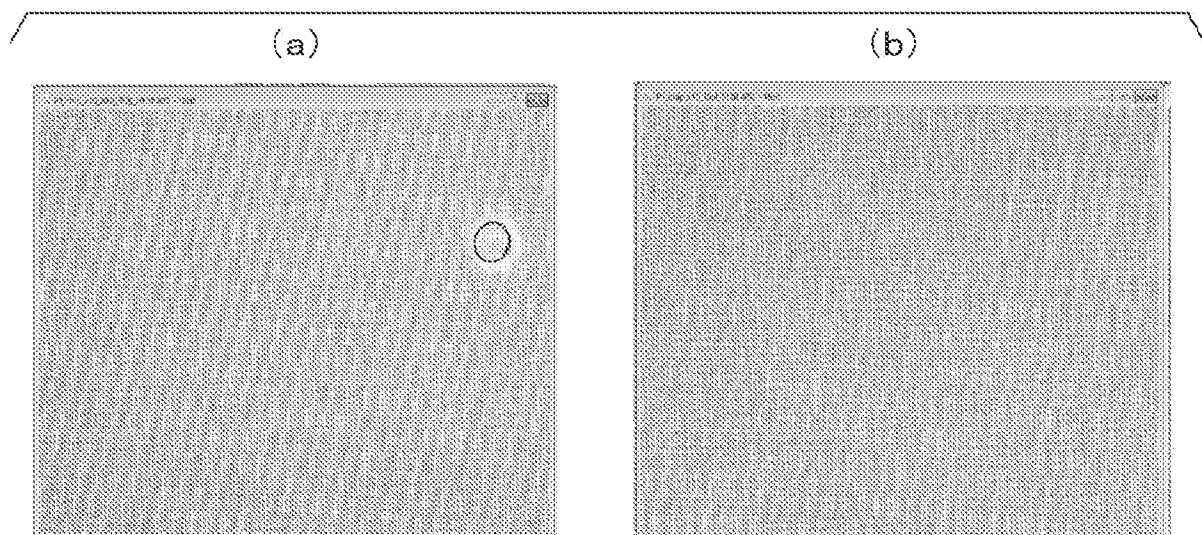
[請求項13] 前記反応が定温反応である、請求項 11 又は 12 に記載の方法。

[請求項14] 前記シグナルが蛍光である、請求項 11 ～ 13 のいずれか一項に記載の方法。

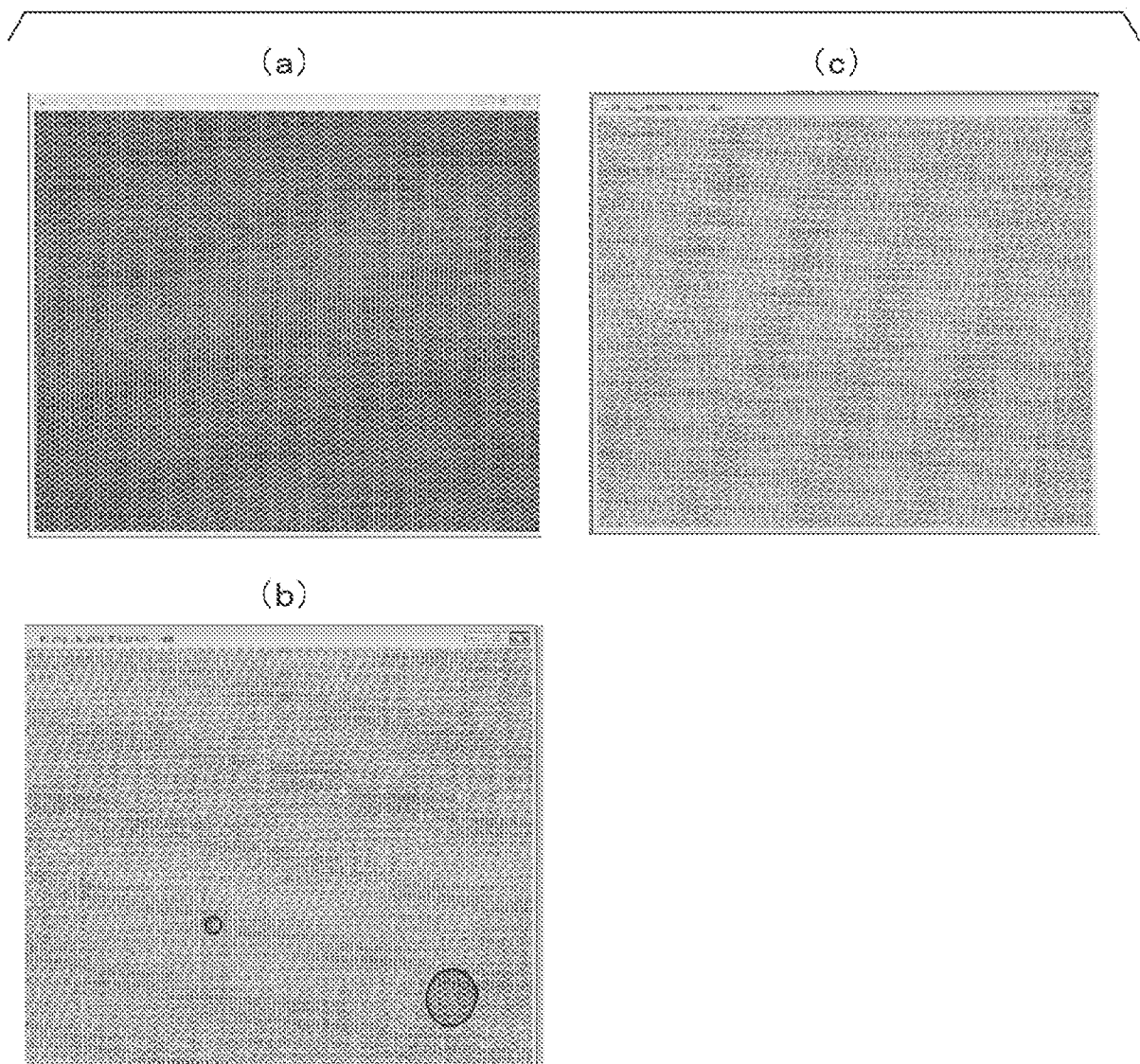
[図1]



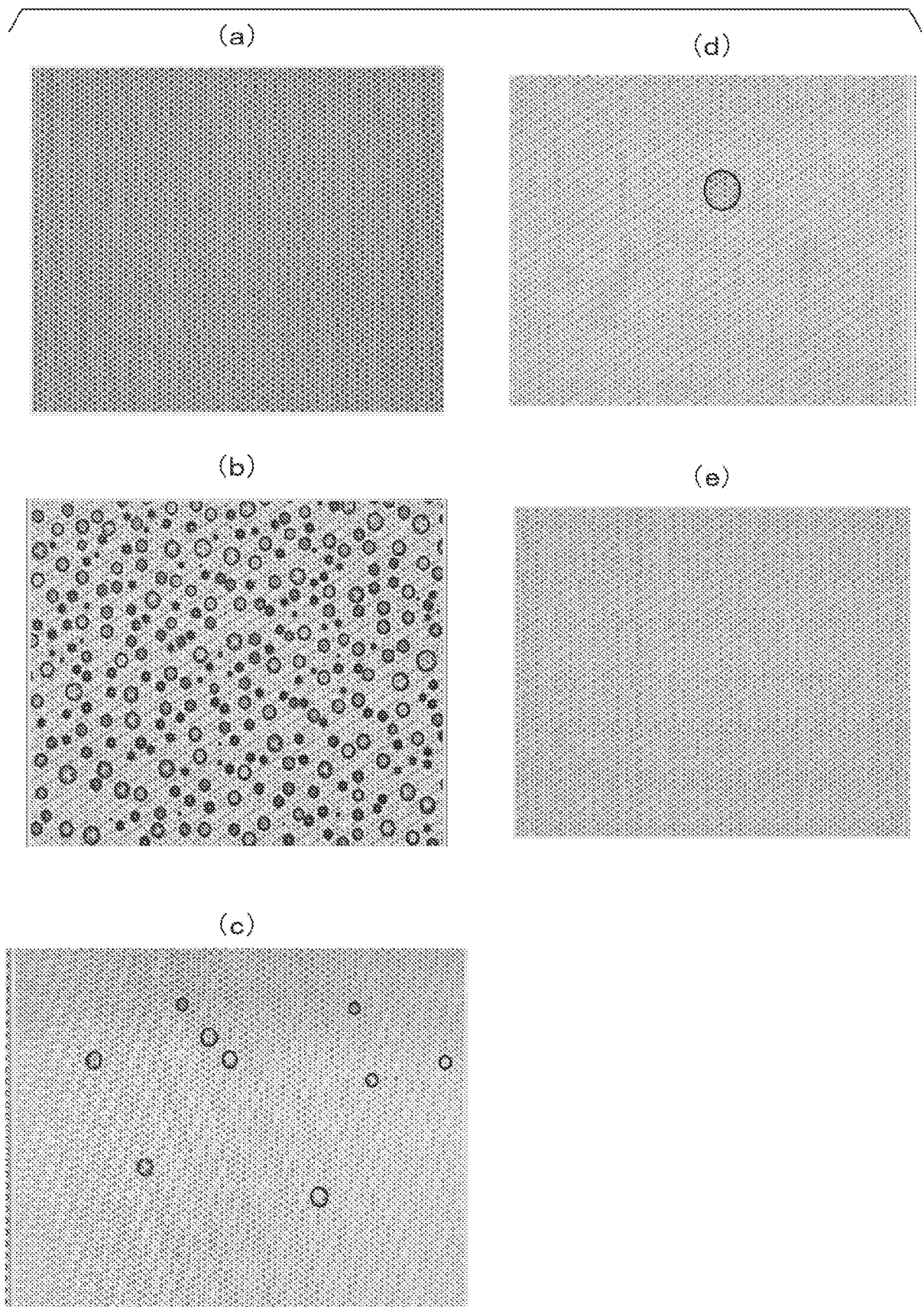
[図2]



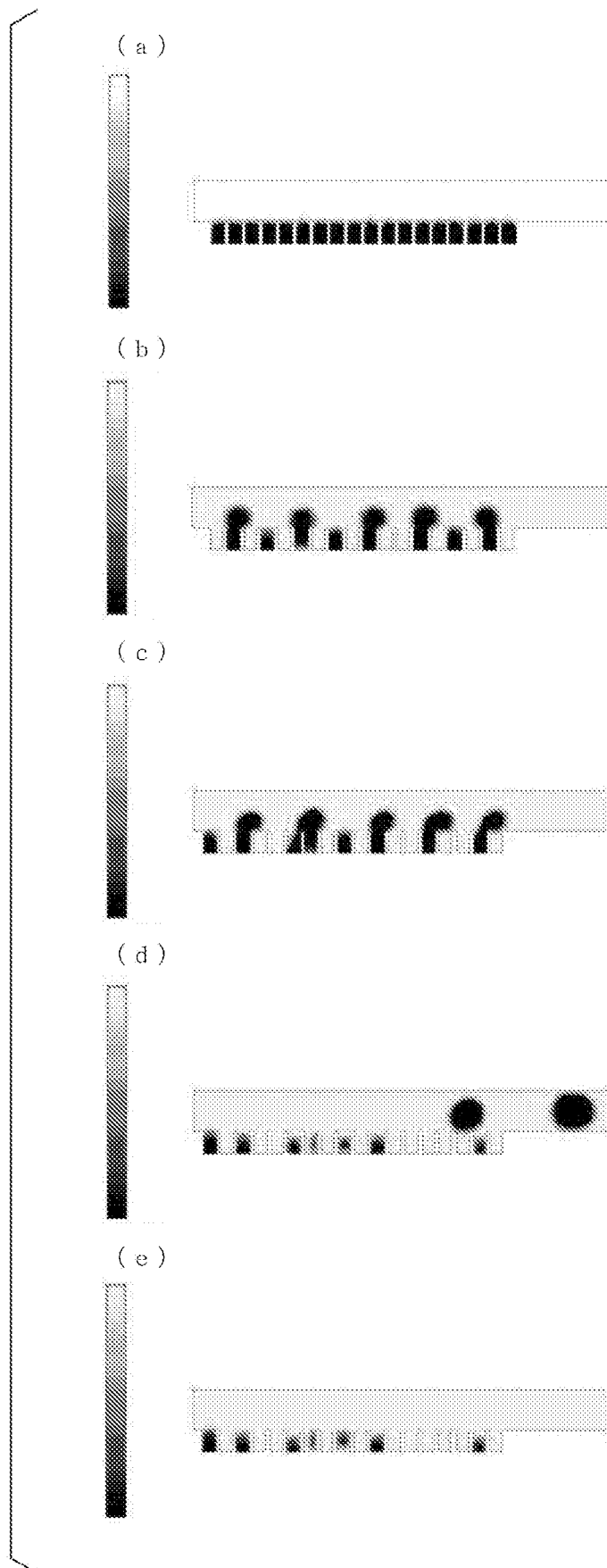
[図3]



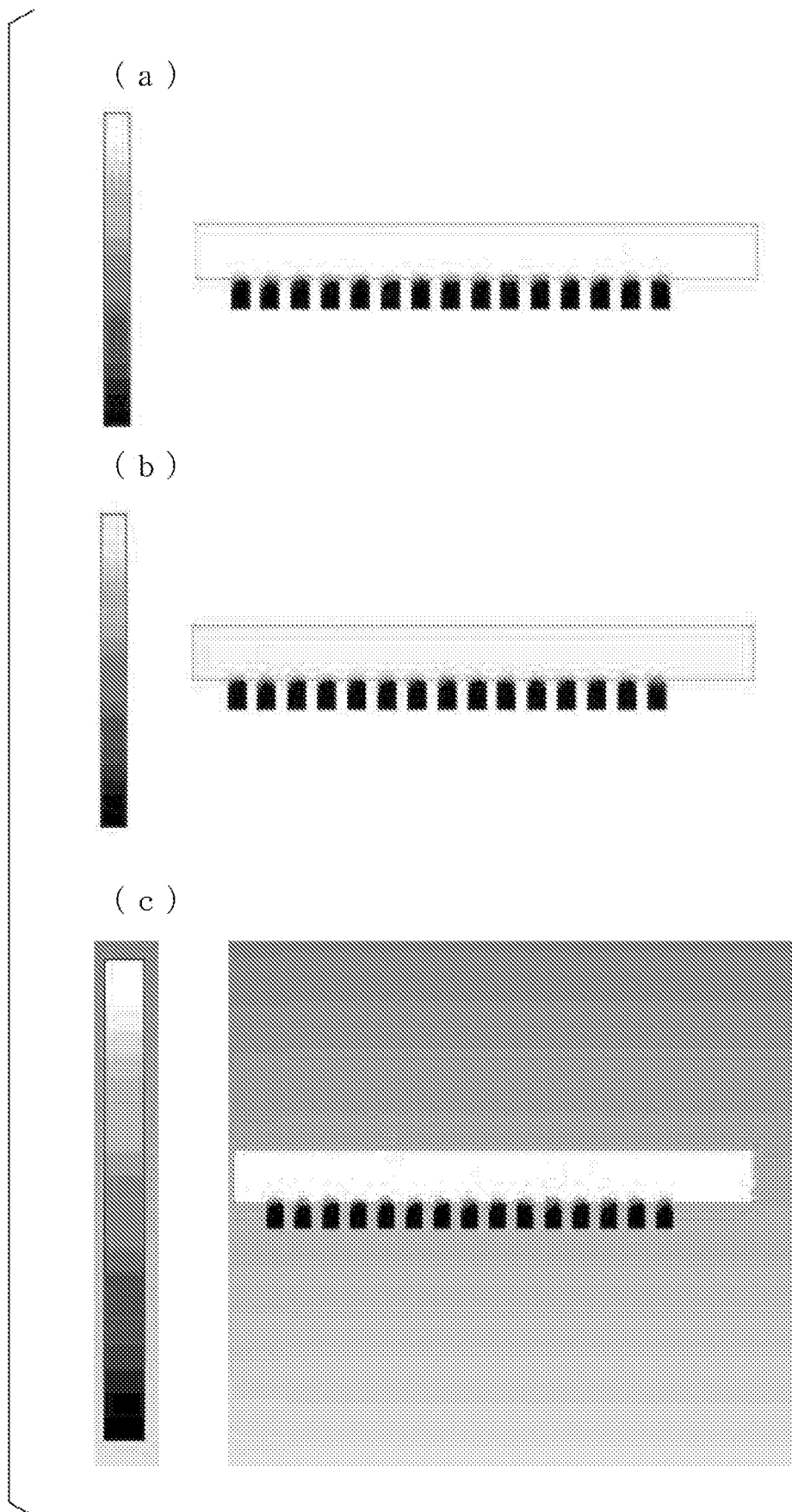
[図4]



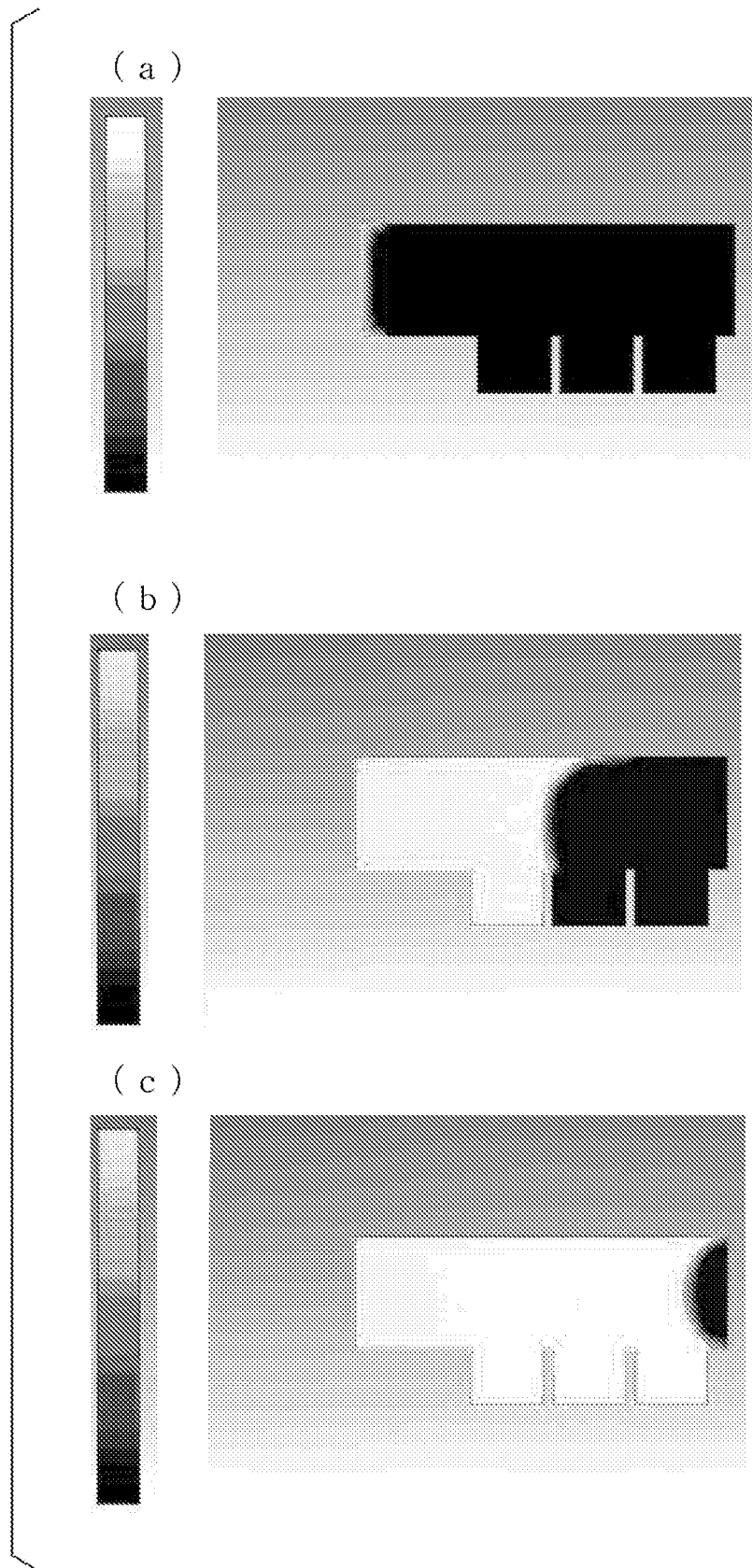
[図5]



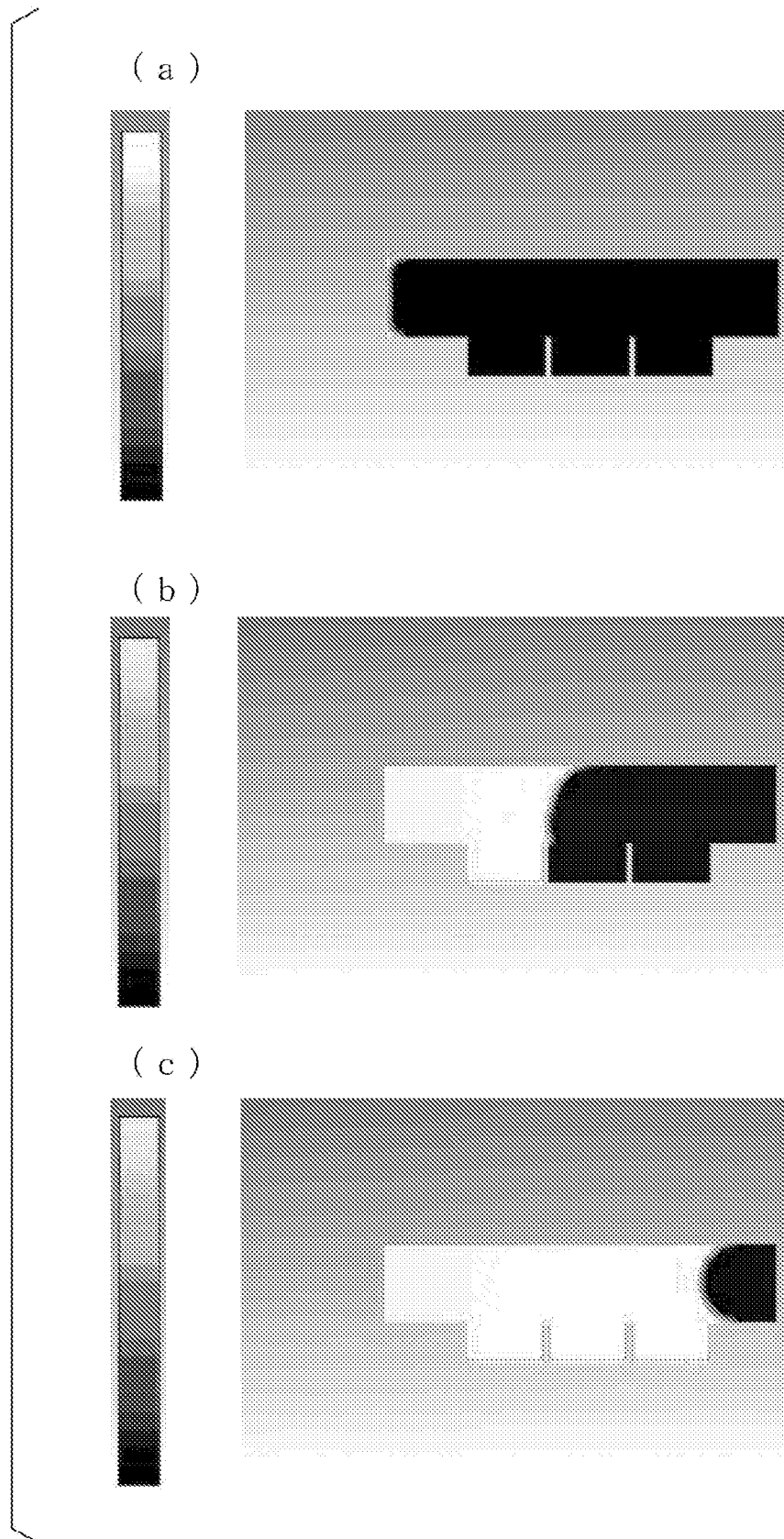
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/031830

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 37/00(2006.01)i; **C12M 1/00**(2006.01)i; **G01N 35/02**(2006.01)i; **G01N 35/08**(2006.01)i; **B01J 19/00**(2006.01)i;
G01N 21/03(2006.01)i

FI: G01N35/02 A; G01N35/08 A; G01N37/00 101; B01J19/00 321; C12M1/00 A; G01N21/03 Z

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N37/00; C12M1/00; G01N35/02; G01N35/08; B01J19/00; G01N21/03

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/046307 A1 (CELSEE DIAGNOSTICS, INC.) 07 March 2019 (2019-03-07) paragraphs [0044]-[0070], fig. 1-9	1-9
Y		10-14
Y	WO 2017/115863 A1 (TOPPAN PRINTING CO., LTD.) 06 July 2017 (2017-07-06) paragraphs [0042], [0060]	10-14
A	JP 2007-525647 A (AURORA DISCOVERY INC.) 06 September 2007 (2007-09-06) paragraph [0049]	1-14
A	WO 2016/072416 A1 (TOPPAN PRINTING CO., LTD.) 12 May 2016 (2016-05-12) entire text, all drawings	1-14
A	WO 2015/115635 A1 (TOPPAN PRINTING CO., LTD.) 06 August 2015 (2015-08-06) entire text, all drawings	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 October 2021

Date of mailing of the international search report

02 November 2021

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
 Japan**

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/031830

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2019/046307	A1	07 March 2019	US	2019/0060902	A1	
				CN	111295245	A	
				JP	2020-532984	A	
WO	2017/115863	A1	06 July 2017	US	2018/0299380	A1	
				paragraphs [0066]-[0068], [0094]-[0097]			
JP	2007-525647	A	06 September 2007	US	2004/098764	A1	
				paragraphs [0087]			
WO	2016/072416	A1	12 May 2016	WO	2004/098764	A2	
				US	2017/0233790	A1	
				entire text, all drawings			
WO	2015/115635	A1	06 August 2015	EP	3216852	A1	
				CN	107109320	A	
WO	2015/115635	A1	06 August 2015	US	2016/0333400	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	3101115	A1	
WO	2015/115635	A1	06 August 2015	CN	105940096	A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01N 37/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; G01N 35/02(2006.01)i; G01N 35/08(2006.01)i; B01J 19/00(2006.01)i; G01N 21/03(2006.01)i FI: G01N35/02 A; G01N35/08 A; G01N37/00 101; B01J19/00 321; C12M1/00 A; G01N21/03 Z		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） G01N37/00; C12M1/00; G01N35/02; G01N35/08; B01J19/00; G01N21/03		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2019/046307 A1 (CELSEE DIAGNOSTICS, INC.) 07.03.2019 (2019-03-07) 段落 [0044] - [0070] 及び図1-9	1-9
Y		10-14
Y	WO 2017/115863 A1 (凸版印刷株式会社) 06.07.2017 (2017-07-06) 段落 [0042] [0060]	10-14
A	JP 2007-525647 A (オーロラ ディスカバリー インコーポレイティッド) 06.09.2007 (2007-09-06) 段落 [0049]	1-14
A	WO 2016/072416 A1 (凸版印刷株式会社) 12.05.2016 (2016-05-12) 全文, 全図	1-14
A	WO 2015/115635 A1 (凸版印刷株式会社) 06.08.2015 (2015-08-06) 全文, 全図	1-14
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 19.10.2021		国際調査報告の発送日 02.11.2021
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 北条 弥作子 2J 1168 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/031830

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2019/046307	A1	07.03.2019	US	2019/0060902	A1	
				CN	111295245	A	
				JP	2020-532984	A	
WO	2017/115863	A1	06.07.2017	US	2018/0299380	A1	
				[0 0 6 6] - [0 0 6 8] [0 0 9 4] - [0 0 9 7]			
JP	2007-525647	A	06.09.2007	US	2004/098764	A1	
				段落 [0 0 8 7]			
				WO	2004/098764	A2	
WO	2016/072416	A1	12.05.2016	US	2017/0233790	A1	
				全文, 全図			
				EP	3216852	A1	
				CN	107109320	A	
WO	2015/115635	A1	06.08.2015	US	2016/0333400	A1	
				全文, 全図			
				EP	3101115	A1	
				CN	105940096	A	