

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5720233号  
(P5720233)

(45) 発行日 平成27年5月20日(2015.5.20)

(24) 登録日 平成27年4月3日(2015.4.3)

(51) Int.Cl.

G O 1 N 15/14 (2006.01)

F 1

G O 1 N 15/14

K

請求項の数 14 (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2010-282167 (P2010-282167)  
 (22) 出願日 平成22年12月17日 (2010.12.17)  
 (65) 公開番号 特開2012-127922 (P2012-127922A)  
 (43) 公開日 平成24年7月5日 (2012.7.5)  
 審査請求日 平成25年11月5日 (2013.11.5)

(73) 特許権者 000002185  
 ソニー株式会社  
 東京都港区港南1丁目7番1号  
 (74) 代理人 100112874  
 弁理士 渡邊 熙  
 (72) 発明者 伊藤 達巳  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内  
 (72) 発明者 角田 正也  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内  
 (72) 発明者 今西 慎悟  
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株  
 式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】マイクロチップ及び微小粒子分取装置

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

微小粒子を含むサンプル液が通流するサンプル液導入流路と、  
 該サンプル液導入流路にその両側から合流し、前記サンプル液の周囲にシース液を導入する少なくとも1対のシース液導入流路と、  
 前記サンプル液導入流路及びシース液導入流路に連通し、これらの流路を通流する液体が合流して通流する合流流路と、

該合流流路に連通し、回収対象の微小粒子を吸引して引き込む負圧吸引部と、  
 該負圧吸引部の両側に設けられ、前記合流流路に連通する少なくとも1対の廃棄用流路と、  
 を有するマイクロチップ。

## 【請求項 2】

前記負圧吸引部は、  
 前記合流流路と同軸状に設けられた吸引流路と、  
 該吸引流路の途中に設けられた圧力室と、  
 微小粒子回収時にのみ動作し、該圧力室の体積を一定量増加させるアクチュエータと、  
 を備える請求項1に記載のマイクロチップ。

## 【請求項 3】

前記アクチュエータがピエゾ素子である請求項2に記載のマイクロチップ。

**【請求項 4】**

前記負圧吸引部は、

前記合流流路と同軸状に設けられた吸引流路と、  
該吸引流路の途中に設けられた圧力室と、  
前記圧力室内に形成された電気浸透ポンプと、  
を備える請求項 1 に記載のマイクロチップ。

**【請求項 5】**

前記吸引流路の流路幅が、前記合流流路よりも狭く、サンプル流よりも広い請求項 2 乃至 4 のいずれか 1 項に記載のマイクロチップ。

**【請求項 6】**

前記吸引流路の通流方向における断面の幅は前記合流流路の断面の幅よりも小さく、前記吸引流路の通流方向における断面の深さは前記合流流路の断面の深さよりも小さく、及び、前記吸引流路の通流方向における断面は前記サンプル流の通流方向における断面よりも大きい請求項 5 に記載のマイクロチップ。

**【請求項 7】**

2 枚の基板を貼り合わせることにより形成されている請求項 2 乃至 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロチップ。

**【請求項 8】**

少なくとも、前記サンプル液導入流路、前記合流流路の一部、前記吸引流路及び前記圧力室は、一方の基板に形成されている請求項 7 に記載のマイクロチップ。

10

**【請求項 9】**

請求項 1 乃至 8 のいずれか 1 項に記載のマイクロチップが搭載された微小粒子分取装置。

**【請求項 10】**

前記合流流路内を通流する微小粒子に光を照射する光照射部と、  
前記微小粒子から発せられた散乱光及び / 又は蛍光を検出する検出部と、  
前記検出部で検出されたデータに基づいて、前記マイクロチップの負圧吸引部を制御する制御部と、  
を有する請求項 9 に記載の微小粒子分取装置。

20

**【請求項 11】**

負圧吸引部の駆動源がピエゾ素子であり、  
前記制御部は、ステップ状の信号により前記負圧吸引部の駆動を制御する請求項 10 に記載の微小粒子分取装置。

30

**【請求項 12】**

負圧吸引部の駆動源が電気浸透ポンプであり、  
前記制御部は、矩形パルス状の信号により負圧吸引部の駆動を制御する請求項 10 に記載の微小粒子分取装置。

**【請求項 13】**

前記微小粒子は、前記検出部で検出された順に分取され、その順番を保持した状態で負圧吸引部内に一列に貯留される請求項 10 乃至 12 のいずれか 1 項に記載の微小粒子分取装置。

40

**【請求項 14】**

検出部で検出されたデータに基づいて、負圧吸引部に微小粒子を引き込む工程と、  
前記負圧吸引部に引き込まれた微小粒子をマイクロチップから取り出す工程と、  
を前記制御部によってシーケンス制御する請求項 10 乃至 13 のいずれか 1 項に記載の微小粒子分取装置。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、細胞及びマイクロビーズなどの微小粒子を回収する際に使用されるマイクロ

50

チップ、及びこのマイクロチップを備えた微小粒子分取装置に関する。より詳しくは、複数の微小粒子が混在している溶液中から、目的とする微小粒子を分離して回収する技術に関する。

【背景技術】

【0002】

フローサイトメトリーは、流路内を1列になって通流する微小粒子に特定波長のレーザ光を照射し、各微小粒子から発せられた蛍光及び/又は散乱光を検出することで、個々の微小粒子の種類、大きさ及び構造などを判定する分析手法である。また、このフローサイトメトリーでは、その判定結果に基づいて、目的とする微小粒子を他の微小粒子から分離し、回収することにより、サンプル液中に複数種の微小粒子が含まれている場合でも、必要なものだけを迅速にかつ確実に分取することが可能となる（例えば、非特許文献1参照。）。

【0003】

その際の分取方式としては、一般に、微小粒子を含む液滴を帯電させて分離する液滴荷電方式、及びチューブにより微小粒子を水流ごと回収するセルキャプチャー方式が利用されている。しかし、これら的方式を適用した装置は、大型で高価となるため、汎用性が低いという問題点がある。また、液滴荷電方式などの液滴を形成する分取方式は、液滴形成メカニズムが表面張力や粘度などの液体物性に影響されやすいため、測定環境の変化により、液滴形成周波数や液滴のサイズが変動するという問題点もある。

【0004】

更に、液滴を形成する分取方式では、吐出ノズルに異物が堆積して、液滴の吐出方向が変化することがあるため、スキルをもった作業者が頻繁に再調整を行いながら使用する必要がある。更にまた、液滴形成系が安定して動作していたとしても、偶発的なサテライト（ミスト）発生は避けられないため、その場合は、目的細胞の回収ミスだけでなく、周辺に細胞が散乱してしまうこともある。

【0005】

そこで、近年、シリコン及びガラスなどの無機材料又はプラスチックなどの高分子材料からなる基板内に微細な流路を形成したマイクロチップを使用する方法が提案されている（例えば、特許文献1～6参照。）。例えば、特許文献1には、誘電泳動力をを利用して、マイクロ流体デバイスのメイン流路を通流する試料を、所定の流路に誘導する技術が開示されている。この特許文献1に記載の分析分取装置では、マイクロ流体デバイスのメイン流路の周囲に複数の電極を設け、これらの電極に交流電圧を印加することにより、誘電泳動力を発生させている。

【0006】

一方、特許文献2，3には、マイクロチップ内に設けられた電気浸透流ポンプにより、細胞を所定の分岐流路に誘導する技術が開示されている。特許文献2，3に記載の細胞分離装置では、チップ上に電気浸透流ポンプが設けられており、この電気浸透流ポンプを動作させることにより、目的の細胞を特定の流路に導入している。また、特許文献4，5には、レーザ光を使用した光ピンセットにより、細胞分取用流路に所望の細胞を移動させる技術が開示されている。

【0007】

更に、特許文献6には、アクチュエータを使用して、微小粒子を所定の分岐流路に導く技術が開示されている。図17(a)及び(b)は特許文献6に記載の微小流体システムの動作を、その工程順に示す模式図である。図17(a)及び(b)に示すように、特許文献6に記載の微小流体システムでは、流路101に隣接して1対の密封チャンバ102a, 102bが設けられている。この密封チャンバ102a, 102bは、分岐点101aの直前にいて、側路103a, 103bを介して流路101に連通している。また、側路103a, 103bには、流路101を通流する液の一部が流入し、メニスカスが形成されている。

【0008】

10

20

30

40

50

この微小流体システムにより微小粒子 104a を分取する場合、図 17(a) に示すように、微小粒子 104a が側路 103a, 103b の位置に到達するタイミングに合わせて、アクチュエータ 105 によって密封チャンバ 102a を押圧する。これにより、側路 103a 内の液が流路 101 に押し出され、微小粒子 104a の通流位置が側路 103b の方向に偏向すると共に、側路 103b のメニスカスが密封チャンバ 102b 方向に移動する。

#### 【0009】

そして、図 17(b) に示すように、微小粒子 104a が側路 103a, 103b の位置を通過した後、アクチュエータ 105 による押圧を解除し、各側路 103a, 103b におけるメニスカスの位置を元に戻す。これにより、回収対象外の微小粒子 104b は、流路 101 の中央部を通流して分岐流路 106 に流入するようになり、回収対象の微小粒子 104a のみ分岐流路 107 に流入させることができる。

#### 【先行技術文献】

##### 【特許文献】

##### 【0010】

【特許文献 1】国際公開第 2005 / 121767 号パンフレット

【特許文献 2】特開 2003 - 274924 号公報

【特許文献 3】特開 2004 - 113223 号公報

【特許文献 4】特開 2006 - 29824 号公報

【特許文献 5】特開 2007 - 330201 号公報

【特許文献 6】特表 2005 - 538727 号公報

##### 【非特許文献】

##### 【0011】

【非特許文献 1】中内啓光監修、「細胞工学別冊 実験プロトコルシリーズ フローサイトメトリー自由自在」, 第 2 版, 株式会社秀潤社, 2006 年 8 月 31 日発行

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0012】

しかしながら、前述した従来の技術には、以下に示す問題点がある。即ち、特許文献 1 に記載の分析分取装置では、微小粒子を液体の流れる方向とは異なる向きに移動させるため、微小粒子に対して大きな作用力を付与しなければならない。このため、回収対象の微小粒子がダメージを受けやすく、特に、微小粒子が細胞などの生体材料である場合は、回収対象の細胞などが死んでしまうという問題点がある。

#### 【0013】

この点に関して、特許文献 2, 3 に記載の技術は、細胞に電気的刺激を与えずに回収することが可能であるが、液体の駆動力にも電気浸透流ポンプを使用しており、更に、シース流も形成していないため、高速かつ高精度な検出を行うことができないという問題点がある。仮に、特許文献 2, 3 に記載されているマイクロチップで、シース流を形成したとしても、後述する特許文献 6 と同様に、細胞が流路の分岐部分に衝突してダメージを受けたり、回収液中の細胞濃度が低く濃縮作業が必要になったりするといった問題が生じる。

#### 【0014】

また、光ピンセットを使用する方法も微小粒子に対するダメージは少ないが、光ピンセットは高速で移動している微小粒子を補足することができないという問題点がある。このため、特許文献 4, 5 に記載の方法は、送液を停止しなければ、目的の微小粒子を分取することができず、作業性に劣る。更に、特許文献 4, 5 に記載されているような光ピンセットを使用する方法は、レーザ光の照射及び走査のための光学系が必要となるため、装置が複雑かつ大型になるという問題点もある。

#### 【0015】

一方、特許文献 6 に記載の方法は、制御流により微小粒子に流体力を作らせ、回収流路に流れ込む流線上に変位させることにより、回収対象の微小粒子を回収流路に導いてい

10

20

30

40

50

るため、回収液中の微小粒子濃度が低く、濃縮などの作業が必要となるという問題点がある。通常、シース流を形成する際は、サンプル液の流量に対して大量のシース液流量を流し、検出部におけるサンプル流断面積を小さく絞ることにより、粒子位置ばらつきが小さいシース流を形成して、精度の良い検出を行う。

#### 【0016】

そこで、サンプル液の流量とシース液の流量の比は、検出部で放物的な流速分布を持つ層流と仮定すれば見積もることができる。例えば、各辺 $200\text{ }\mu\text{m}$ の正方形流路断面の検出部において、直径 $10\text{ }\mu\text{m}$ 程度のサンプル流断面を得ようとした場合、(シース液流量) : (サンプル液流量)は、およそ $250 : 1$ となる。ここで、特許文献6に記載の発明の様な構成の流路チップを用いた粒子取得装置では、動作中は絶えずシース液及びサンプル液が流れしており、分岐後は各流路抵抗の逆比に分配され、各分岐流路を経てそれぞれの排出口から排出される。10

#### 【0017】

これを、前述した例( $200\text{ }\mu\text{m}$ の検出流路、 $10\text{ }\mu\text{m}$ のサンプル流断面)に適用し、 $1\text{ m l}$ のサンプル液中の粒子の検出及び取得をする場合、約 $250\text{ m l}$ のシース液を使うこととなる。更に、分岐後の回収用流路と廃棄用流路の流路抵抗が、例えば $3 : 2$ であるとすると、これらの流量比は $2 : 3$ となり、回収用流路側からは約 $100\text{ m l}$ のシース液が排出されることとなる。即ち、全てのサンプル液 $1\text{ m l}$ が回収用流路から取得されたとしても、回収液では約 $100$ 倍に希釈されていることとなる。

#### 【0018】

そして、回収対象の粒子が生細胞の場合、この生細胞を利用する際に濃縮などの操作が必要となるが、これは作業が面倒なだけでなく、細胞へのダメージも問題となる。これは、特に、回収した微小粒子が、全粒子数中ほんのわずかしか無いような場合に重大な問題となる。例えば、アダルトマウスの骨髄細胞から造血幹細胞を取得する場合、造血幹細胞は骨髄細胞 $10^4 \sim 10^5$ 個に1個程度の割合でしか含まれておらず、また、サンプル液は安定に送液するための制約などから、通常、 $1\text{ m l}$ 中に $10^5 \sim 10^7$ 個程度の細胞濃度で準備される。そうすると、回収液中の細胞濃度は $100\text{ m l}$ 中に $1 \sim 1000$ 個程度に希釈されることとなり、濃縮自体が困難となる。20

#### 【0019】

加えて、特許文献6に記載の方法は、流路の分岐点において、微小粒子が流路の壁面近傍を通過するため、回収対象の微小粒子が高速で壁面に衝突する可能性が高いという問題点がある。特に、微小粒子が生細胞である場合は、ダメージを受けやすく、壁面に衝突すると回収対象の細胞が死んでしまう虞もある。このように、細胞などの生体材料をダメージなく回収したい場合には、特許文献6に記載の方法は不向きである。30

#### 【0020】

そこで、本発明は、回収対象の微小粒子にダメージを与えることなく、高速でかつ安定して微小粒子を分取することができるマイクロチップ及び微小粒子分取装置を提供することを主目的とする。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0021】

本発明に係るマイクロチップは、微小粒子を含むサンプル液が通流するサンプル液導入流路と、該サンプル液導入流路にその両側から合流し、前記サンプル液の周囲にシース液を導入する少なくとも1対のシース液導入流路と、前記サンプル液導入流路及びシース液導入流路に連通し、これらの流路を通流する液体が合流して通流する合流流路と、該合流流路に連通し、回収対象の微小粒子を吸引して引き込む負圧吸引部と、該負圧吸引部の両側に設けられ、前記合流流路に連通する少なくとも1対の廃棄用流路と、を有するものである。

このマイクロチップは、前記負圧吸引部が、前記合流流路と同軸状に設けられた吸引流路と、該吸引流路の途中に設けられた圧力室と、微小粒子回収時にのみ動作し、該圧力室の体積を一定量増加させるアクチュエータとを備えていてもよい。40

10

20

30

40

50

その場合、前記アクチュエータとしては、例えばピエゾ素子を使用することができる。又は、前記負圧吸引部が、前記合流流路と同軸状に設けられた吸引流路と、該吸引流路の途中に設けられた圧力室と、前記圧力室内に形成された電気浸透ポンプとを備えていてもよい。

また、前記吸引流路の流路幅は、前記合流流路よりも狭く、サンプル流よりも広くてもよい。

その場合、前記吸引流路の通流方向における断面の幅を前記合流流路の断面の幅よりも小さく、前記吸引流路の通流方向における断面の深さを前記合流流路の断面の深さよりも小さく、及び、前記吸引流路の通流方向における断面を前記サンプル流の通流方向における断面よりも大きくすることもできる。

更に、2枚の基板を貼り合わせることにより形成することができ、その場合、少なくとも、前記サンプル液導入流路、前記合流流路の一部、前記吸引流路及び前記圧力室は、一方の基板に形成されていることが望ましい。

#### 【0022】

本発明に係る微小粒子分取装置は、前述したマイクロチップが搭載されたものである。

この分取装置は、例えば、前記合流流路内を通流する微小粒子に光を照射する光照射部と、前記微小粒子から発せられた散乱光及び／又は蛍光を検出する検出部と、前記検出部で検出されたデータに基づいて、前記マイクロチップの負圧吸引部を制御する制御部と、を備えていてもよい。

また、負圧吸引部の駆動源がピエゾ素子である場合は、前記制御部は、ステップ状の信号により前記負圧吸引部の駆動を制御すればよい。

又は、負圧吸引部の駆動源が電気浸透ポンプである場合は、前記制御部は、矩形パルス状の信号により負圧吸引部の駆動を制御すればよい。

更に、前記微小粒子を、前記検出部で検出された順に分取し、その順番を保持した状態で負圧吸引部内に一列に貯留することもできる。

更にまた、検出部で検出されたデータに基づいて、負圧吸引部に微小粒子を引き込む工程と、前記負圧吸引部に引き込まれた微小粒子をマイクロチップから取り出す工程と、を前記制御部によってシーケンス制御してもよい。

#### 【発明の効果】

#### 【0023】

本発明によれば、回収対象の微小粒子のみ吸引して回収しているため、微小粒子にダメージを与えることなく、シース液による希釈を最小限に抑え、高速かつ安定して微小粒子を分取することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0024】

【図1】本発明の第1の実施形態に係るマイクロチップの構成を模式的に示す図である。

【図2】図1に示すA-A線による断面図である。

【図3】(a)及び(b)は図1に示すマイクロチップ1における負圧吸引部14と廃棄用流路15a, 15bの分岐部分を示す斜視図であり、(c)はその断面図である。

【図4】他のマイクロチップ構成例を示す断面図であり、図1に示すA-A線による断面図に相当する。

【図5】(a)本発明の第1の実施形態の変形例に係るマイクロチップにおける負圧吸引部と廃棄用流路の分岐部分を示す斜視図であり、(b)は分岐部分における微小粒子の軌道を示す図である。

【図6】本発明の第2の実施形態に係るマイクロチップの構成を模式的に示す図である。

【図7】本発明の第3の実施形態に係る微小粒子分取装置の構成を模式的に示す図である。

【図8】本発明の第3の実施形態に係る微小粒子分取装置を使用した微小粒子分取方法を示すフローチャート図である。

10

20

30

40

50

【図9】(a)～(f)は、図8に示す微小粒子回収時の動作を、その工程順に示す図である。

【図10】(a)～(c)は図8に示す微小粒子取り出し時の動作を、その工程順に示す図である。

【図11】微小粒子分取時の状態を模式的に示す図である。

【図12】吸引流路14a中の微小粒子と検出データを、検出データに基づいて回収する方法の例を模式的に示す図である。

【図13】本発明の第4の実施形態に係るマイクロチップの構成を模式的に示す図である。

【図14】(a)及び(b)は図12に示すマイクロチップ40の負圧吸引部44に設けられた電気浸透ポンプの構成を示断面図であり、(a)は厚さ方向に垂直な断面を、(b)は厚さ方向に平行な断面をそれぞれ示す。

【図15】(a)は電気二重層形成部44fの構成例を示す斜視図であり、(b)は断面図である。

【図16】(a)～(c)は電極44c, 44dの構成例を示す断面図である。

【図17】(a)及び(b)は特許文献6に記載の微小流体システムの動作を、その工程順に示す模式図である。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0025】

以下、本発明を実施するための形態について、添付の図面を参照して詳細に説明する。  
なお、本発明は、以下に示す各実施形態に限定されるものではない。また、説明は、以下の順序で行う。

##### 1. 第1の実施の形態

(負圧吸引部を備えるマイクロチップの例)

##### 2. 第1の実施の形態の変形例

(検出流路と負圧吸引部の吸引流路の深さが同じであるマイクロチップの例)

##### 3. 第2の実施の形態

(負圧吸引部に分別用分岐流路が設けられているマイクロチップの例)

##### 4. 第3の実施の形態

(第1の実施の形態のマイクロチップを使用した微小粒子分取装置の例)

##### 5. 第4の実施の形態

(アクチュエータとして電気浸透流ポンプを使用したマイクロチップの例)

##### 【0026】

<1. 第1の実施の形態>

##### [マイクロチップの全体構成]

先ず、本発明の第1の実施形態に係るマイクロチップについて説明する。図1は本実施形態のマイクロチップの構成を模式的に示す図であり、図2はそのA-A線による断面図である。図1, 2に示すように、本実施形態のマイクロチップ1には、微小粒子を含むサンプル液2が導入されるサンプル液導入流路11と、シース液3が導入される1対のシース液導入流路12a, 12bが設けられている。

##### 【0027】

シース液導入流路12a, 12bは、サンプル液導入流路11に両側から合流し、その合流点よりも下流側には1本の合流流路13が設けられている。そして、合流流路13内においては、サンプル流2aの周囲をシース流3aで囲み、層流を形成した状態で液が通流するようになっている。これにより、サンプル液2中の微小粒子は、その通流方向に対して略1列に並んで通流することとなる。

##### 【0028】

一方、合流流路13の下流側端部には、回収対象の微小粒子を分取するための負圧吸引

10

20

30

40

50

部14と、回収対象外の微小粒子などを排出するための廃棄用流路15a, 15bが設けられており、これらはいずれも合流流路13に連通している。なお、廃棄用流路15a, 15bの下流側端部は、例えば、廃液タンクなどに連結される。このマイクロチップ1では、合流流路13において個々の微小粒子を検出し、その結果、回収対象であると判断された微小粒子のみが負圧吸引部14内に引き込まれ、それ以外の微小粒子は廃棄用流路15a, 15bから排出される。

#### 【0029】

##### [負圧吸引部14]

負圧吸引部14は、所定のタイミングで回収対象の微小粒子を吸引することができれば、その構成は特に限定されるものではないが、例えば、図1に示すように、合流流路13に連通する吸引流路14aと、この吸引流路14aの一部に形成された圧力室14bと、圧力室14b内の体積を任意のタイミングで拡張可能なアクチュエータ14cとで構成することができる。なお、吸引流路14aの下流側端部は、バルブ(図示せず)などにより開閉可能となっていることが望ましい。

#### 【0030】

図3(a)及び(b)は図1に示すマイクロチップ1における負圧吸引部14と廃棄用流路15a, 15bの分岐部分を示す斜視図であり、図3(c)はその断面図である。図3(a), (b)に示すように、吸引流路14aは、合流流路13と同軸状に形成されており、その通流方向における断面が、合流流路13の断面よりも幅及び深さ共に小さく、かつサンプル流2aの断面よりも大きくなっている。これにより、シース液3による回収液の希釈を抑制しつつ、回収対象の微小粒子をダメージなく回収することが可能となる。

#### 【0031】

また、圧力室14bは、振動板14dを介して、ピエゾ素子などのアクチュエータ14cと連結されている。そして、このアクチュエータ14cを動作させると、振動板14dがアクチュエータ14c側に引きよせられ、圧力室14b内の体積が増加するようになっている。ここで、振動板14dは、アクチュエータ14cが固定されている部分が厚く、アクチュエータ14cが接触していない部分の厚さの方が薄くなっていることが望ましい。これにより、厚さの薄い撓み振動板部分が弱い力で変形し、高速に駆動することが可能となる。

#### 【0032】

本実施形態のマイクロチップ1は、例えば、図2に示すように、前述した各流路及び負圧吸引部などが形成された2枚の基板を貼り合わせることにより製造することができる。図4は他のマイクロチップ構成例を示す断面図であり、図1に示すA-A線による断面図に相当する。このマイクロチップ1は、図4に示すように、各流路などが2枚の基板の両方に形成されている構成とすることもできるが、図2に示すように、少なくとも、サンプル液導入流路11、合流流路13の検出領域13a、吸引流路14a及び圧力室14bが、一方の基板にのみ形成されている構成とすることが望ましい。このように、流路径が細い部分を一方の基板にのみ形成する構成とすることで、貼り合わせ時の位置調整が容易になる。

#### 【0033】

また、マイクロチップ1を形成する材料としては、例えば、ポリカーボネート、シクロオレフィンポリマー、ポリプロピレン、P D M S (polydimethylsiloxane)、ガラス及びシリコン等が挙げられる。特に、加工性に優れ、成形装置を使用して安価に複製することができることから、ポリカーボネート、シクロオレフィンポリマー、ポリプロピレン等の高分子材料で形成することが好ましい。このように、プラスチック成形基板を貼り合わせる構成とすることにより、マイクロチップ1を安価に製造することができる。

#### 【0034】

本実施形態のマイクロチップ1では、液滴荷電方式などのように液滴生成を行わないため、物理的に安定した系で、目的の微小粒子を回収することが可能である。また、チップ内で検出及び分取を行うことが可能であるため、ミストが飛散する心配がなく、バイオハ

10

20

30

40

50

ザードの観点からも、安全に回収作業を行うことができる。更に、本実施形態のマイクロチップ1は、安価に製造することができるため、使い捨てチップとして使うことができ、細胞のコンタミネーションが問題となる再生医療等にも応用することが可能である。

#### 【0035】

そして、本実施形態のマイクロチップ1は、チップ交換した場合も、液滴荷電方式のような吐出ノズルの位置調整、液滴の着弾位置と回収カラムの位置調整など面倒な調整を行う必要がなく、簡便に使用することができる。また、本実施形態のマイクロチップ1では、回収対象の微小粒子を1個ずつ、吸引流路14aに負圧吸引するため、微小粒子と共に吸引流路14aに引き込まれる液の量を必要最低限にすることができる。これにより、シース液による希釈を、液滴荷電方式と同等に抑えることができる。

10

#### 【0036】

更に、本実施形態のマイクロチップ1では、吸引流路14aが、合流流路13と同軸状、即ちサンプル流2aが通流する位置に設けられているため、回収対象の微小粒子は、流路の壁面に触れることなく、吸引流路14a内に引き込まれる。これにより、微小粒子の受けるダメージを、最低限に抑えることができる。

#### 【0037】

更にまた、本実施形態のマイクロチップ1においては、吸引流路14aに引き込まれた微小粒子は、分取された順に、一列に貯留されるため、例えば、システムに保存された検出データと一対一に対応付けることも可能である。そして、吸引流路14aから微小粒子を回収する際に、その順序を崩さずに、チップ外に取り出すことも可能である。なお、液滴荷電方式で、検出データと一対一対応の粒子取得を行おうとすると、微小粒子毎に回収カラムなどを用意する必要となるため、現実的ではない。

20

#### 【0038】

##### <2. 第1の実施の形態の変形例>

前述した第1の実施形態においては、吸引流路14aの通流方向における断面を、合流流路13の断面よりも幅及び深さ共に小さくしているが、本発明はこれに限定されるものではなく、合流流路13と同じ深さにしてもよい。図5(a)は本発明の第1の実施形態の変形例に係るマイクロチップにおける負圧吸引部と廃棄用流路の分岐部分を示す斜視図であり、図5(b)は分岐部分における微小粒子の軌道を示す図である。

#### 【0039】

30

図5(a)に示すように、本変形例のマイクロチップ10でも、吸引流路14aは、合流流路13と同軸状に形成されているが、その通流方向における断面は、合流流路13の断面に比べて、幅のみが細くなっているが、深さは同じになっている。このように、吸引流路14aの深さを合流流路13と同じにした場合も、吸引流路14aはサンプル流2aが通流する位置に設けられているため、ダメージを与えることなく、回収対象の微小粒子を負圧吸引することができる。

#### 【0040】

また、本変形例のマイクロチップ10のような構成にすると、回収対象の微小粒子が想定よりも大きかった場合でも、詰まりを発生させることなく、回収流路14aに引き込むことが可能となる。ただし、図5(b)に示すように、僅かではあるが、微小粒子が吸引流路14a内に入り込み、深さ方向に回流した後、廃棄用流路15a, 15bに流れようになるため、分岐部分における微小粒子の滞留時間が長くなることがある。

40

#### 【0041】

##### <3. 第2の実施の形態>

次に、本発明の第2の実施形態に係るマイクロチップについて説明する。図6は本実施形態のマイクロチップの構成を模式的に示す図である。なお、図6においては、図1に示すマイクロチップ1の構成要素と同じものには、同じ符号を付し、その詳細な説明は省略する。図6に示すように、本実施形態のマイクロチップ20では、負圧吸引部24に、微小粒子回収用の分岐流路14eが設けられている以外は、前述した第1の実施形態と同様である。

50

## 【0042】

## [分岐流路14e]

分岐流路14eは、吸引流路14aに負圧吸引された微小粒子を、圧力室14bを経由せずに回収するためのものであり、その下流側端部は、バルブ(図示せず)を介してアクチュエータ(図示せず)に連結されている。そして、微小粒子を回収する際は、圧力室14bに連結されたバルブを開じた状態で、微小粒子回収用の分岐流路14eに連結されたバルブを開き、アクチュエータを動作させる。これにより、圧力室14bを経由せずに、チップから微小粒子を取り出すことができるため、微小粒子を分取した順に1列に並べた状態で、取り出すことが可能となる。

## 【0043】

10

&lt;4.第3の実施の形態&gt;

## [装置構成]

次に、本発明の第3の実施形態に係る微小粒子分取装置(以下、単に「分取装置」ともいう。)について説明する。図7は本実施形態の微小粒子分取装置の構成を模式的に示す図である。図7に示すように、本実施形態の分取装置は、例えば前述した第1の実施形態のマイクロチップ1を使用して、複数の微小粒子を含む液から、特定の微小粒子を回収する装置である。

## 【0044】

20

具体的には、本実施形態の分取装置30は、例えば、マイクロチップ1の合流流路13を通流する微小粒子に励起光を照射する光照射部31と、励起光が照射された微小粒子から発せられた光を検出する光検出部32と、光検出部32での検出結果に基づいてマイクロチップ1の負圧吸引部14を制御する制御部33を備えている。

## 【0045】

## [微小粒子の分取方法]

次に、本実施形態の微小粒子分取装置30を使用して、微小粒子を分取する方法について説明する。図8は本実施形態の微小粒子分取方法を示すフローチャート図である。本実施形態の分取装置30で、微小粒子を分取する場合は、先ず、マイクロチップ1を装置に装着する。その後、図8に示すように、シース液導入流路12a, 12bにシース液3を導入し、合流流路13、負圧吸引部14(吸引流路14a, 圧力室14b)及び廃棄用流路15a, 15bをシース液3で満たす(ステップS1)。

30

## 【0046】

次に、吸引流路14aの下流側端部をバルブで閉じ、シース液3と共にサンプル液2を導入して、層流を形成し、微小粒子の検出及び回収を行う(ステップS2)。図9(a)~(f)は、図8に示す微小粒子回収時の動作を、その工程順に示す図である。ステップS2においては、先ず、合流流路13を通流するサンプル流2a中の微小粒子に、例えば波長488nmのレーザ光などの励起光を照射する。そして、この微小粒子から発せられる散乱光(前方散乱光、後方散乱光)及び/又は蛍光を、光検出部32に設けられた検出器(フォトディテクターやフォトマルチプライヤなど)で信号検出する。

## 【0047】

40

次に、検出された信号を、必要に応じてプリアンプして、制御部33に送る。そして、制御部33において、検出信号に基づき、その微小粒子が回収対象か否かを判断する。もし、検出した微小粒子が回収対象である場合は、図9(a)~(f)に示すように、その微小粒子が励起光を照射された位置から分岐部まで移動する時間(遅れ時間)を経過した後に、ピエゾ駆動信号などのアクチュエータ14cを駆動するための信号を発生する。その際、必要であれば、アンプを介してアクチュエータ14cを駆動させようにもよい。

## 【0048】

例えば、アクチュエータ14cがピエゾ素子である場合は、ピエゾ印加電圧を制御するとピエゾ変形力が発生し、これにより圧力室14b内の体積が変化するため、負圧吸引部14の内圧を制御することができる。具体的には、ピエゾ収縮となる電圧を印加し、圧力

50

室 14 b 内の体積を増加させ、その内圧を負圧にすることで、吸引流路 14 a に微小粒子を引き込む。その際の吸引量は、印加電圧を変えることにより制御することができる。

#### 【0049】

一方、アクチュエータ 14 c としてピエゾ素子を使用する場合、ピエゾ素子の変位、即ち駆動電圧が、圧力室 14 b の体積に直結する。このため、駆動波形を反転矩形パルス波形とすると、矩形波の立ち下がり時に吸引流路 14 a に引き込んだ微小粒子を、矩形波の立ち上がり時に吐出してしまう可能性がある。よって、ピエゾ素子の場合は、吸引流路 14 a に連続して微小粒子を引き込み、溜めていくためには、入力信号の波形をステップ状にする必要がある。

#### 【0050】

このように、本実施形態の微小粒子分取方法によれば、回収対象の微小粒子のみを、安定して吸引することが可能となる。また、最低限の量を繰り返し吸引することで、吸引流路 14 a 内が希釈されることを防止することができると共に、検出した順に微小粒子を並べて貯めていくことができる。一方、回収対象外の微小粒子が検出されたときは、アクチュエータ 14 c を駆動させなければよい。これにより、回収対象外の微小粒子は、廃棄用流路 15 a, 15 b に流れ、外部に排出されることとなる。

#### 【0051】

そして、サンプル液 2 の全量を導入し終えた場合、又は、回収した微小粒子の数がマイクロチップ 1 の回収可能量に達した場合は、マイクロチップ 1 から微小粒子を取り出す（ステップ S3）。ここで、「マイクロチップ 1 の回収可能量に達した場合」とは、吸引流路が微小粒子で一杯になったとき、又は、ピエゾ素子などのアクチュエータ 14 c の可動範囲が限界に達したときなどである。

#### 【0052】

図 10 (a) ~ (c) は図 8 に示す微小粒子取り出し時の動作を、その工程順に示す図である。ステップ S3 では、先ず、図 10 (a) に示すように、シース液 3 を導入した状態で、サンプル液 2 の導入のみ中止し、合流流路 13 の下流側端部の分岐点よりも上流側には、サンプル液 2 (微小粒子) が存在しない状態にする。その後、図 10 (b) に示すように、吸引流路 14 a に接続されたバルブを開放する。これにより、シース液 3 の供給圧力により、吸引流路 14 a 内に貯留されていた液が微小粒子と共に流出するため、回収対象の微小粒子をマイクロチップ 1 外に取り出すことができる。

#### 【0053】

そして、図 10 (c) に示すように、回収した微小粒子を全て取りだした後、マイクロチップ 1 内のアクチュエータ 14 c を初期状態に戻す。なお、サンプル液 2 の全量について、検出・回収していない場合は、再度、吸引流路 14 a に接続されたバルブを閉め、サンプル液 2 を導入して、ステップ S2 の微小粒子の検出及び回収を行う。

#### 【0054】

一方、サンプル液 2 の全量の検出・回収が完了した場合は、ステップ S3 で微小粒子を取りだした後、サンプル液導入流路 11 及びシース液導入流路 12 a, 12 b の両方に、シース液 3 又は洗浄液を導入し、流路内を洗浄する（ステップ S4）。更に、必要に応じて、その後、純水などの保存液を導入し、流路内を保存液で置換してもよい。

#### 【0055】

本実施形態の微小粒子分取装置では、液滴を形成しないため、物理的に安定した系で、目的の微小粒子を回収することが可能である。また、マイクロチップ内で検出及び分取を行っているため、ミストが飛散する心配がなく、安全に回収作業を行うことができる。更に、本実施形態の微小粒子分取装置は、チップ交換した場合も、液滴荷電方式のような吐出ノズルの位置調整、液滴の着弾位置と回収カラムの位置調整など煩雑な作業を行う必要がないため、作業の効率化を図れる。

#### 【0056】

本実施形態の微小粒子分取装置では、回収液中の微小粒子濃度が高いため、濃縮作業を最低限に抑えることができる。これにより、微小粒子のダメージも抑制することが可能と

10

20

30

40

50

なる。図11は微小粒子分取時の状態を模式的に示す図である。また、図11に示すように、本実施形態の微小粒子分取装置では、微小粒子4は、検出部32で検出された順に分取され、その順番を保持した状態で負圧吸引部14の吸引流路14a内に一列に貯留される。これにより、例えば、システムに保存された検出データと一対一に対応付けることが可能となる。そして、吸引流路から微小粒子を取り出す際も、その順序を崩さずに、チップ外に取り出すことも可能である。

#### 【0057】

加えて、本実施形態の微小粒子分取装置においては、回収した微小粒子を、その特性などに応じて、分別して回収することも可能である。図12は、吸引流路14a中の微小粒子と検出データを、検出データに基づいて回収する方法の例を模式的に示す図である。図12に示すように、マイクロチップ1の吸引流路14a内では、微小粒子は、検出された順に一列に並んで貯留されているため、検出データを一対一で対応させることができる。10

#### 【0058】

そして、例えば、シリンドリポンプ34a～34eなどの粒子回収アクチュエータなどを使用することにより、特定の微小粒子を選択して取り出すことができる。これにより、液滴荷電方式のような煩雑な操作をしなくても、複数種の微小粒子を一度に回収し、その後、容易に分別しながら取り出すことが可能となる。

#### 【0059】

一方、前述したように、「マイクロチップ1の回収可能量」はチップ設計によって決まり、また、吸引流路14aに引きこまれた微小粒子の数は、システムによりカウントすることができる。そこで、本実施形態の微小粒子分取装置では、「マイクロチップ1の回収可能量」を予め設定しておくことにより、ステップS2とステップS3の繰り返し動作、更には、ステップS1～ステップS4の全ての動作について、制御部33によりシーケンス制御が可能となる。20

#### 【0060】

##### <5. 第4の実施の形態>

次に、本発明の第4の実施形態に係るマイクロチップについて説明する。図13は本実施形態のマイクロチップの構成を模式的に示す図である。なお、図13においては、図1に示すマイクロチップ1及び図6に示すマイクロチップ20の構成要素と同じものには、同じ符号を付し、その詳細な説明は省略する。図13に示すように、本実施形態のマイクロチップ40では、負圧吸引部44に、圧力室の体積を一定量増加させるアクチュエータとして、電気浸透流ポンプが設けられている以外は、前述した第2の実施形態と同様である。30

#### 【0061】

##### [負圧吸引部44]

図14(a)及び(b)は図13に示すマイクロチップ40の負圧吸引部44に設けられた電気浸透ポンプの構成を示す断面図であり、図14(a)は厚さ方向に垂直な断面を、図14(b)は厚さ方向に平行な断面をそれぞれ示す。本実施形態のマイクロチップ40の負圧吸引部44には、吸引流路44aの一部に形成された圧力室44b内に電気浸透流ポンプが形成されている。具体的には、圧力室44b内の液体により電気二重層を形成するための1対の電極44c, 44dが設けられている。即ち、電極44cと電極44dに挟まれる部分が電気二重層形成部44fとなる。40

#### 【0062】

図15(a)は電気二重層形成部44fの構成例を示す斜視図であり、図15(b)は断面図である。電気二重層形成部44fの構成は、特に限定されるものではなく、例えばシリカ多孔質体で形成したり、図15(a), (b)に示すようにピラーを高密度で配置し、流路をアレイ状にしたりすることもできる。また、固相を形成する材料も特に限定されるものではなく、チップと同様にガラス、シリコン又はアクリルなどで形成してもよく、更にSiO<sub>2</sub>スパッタなどにより表面処理することもできる。

#### 【0063】

10

20

30

40

50

電気二重層形成部 4 4 f を前述した多孔質体や微細流路構造とすることにより、高い駆動圧力を得ることができるが、その一方で、圧力室 4 4 b 内に微小粒子を通流させることができなくなる。そこで、電気二重層形成部 4 4 f をこのような構成にするときは、別途、微小粒子回収用の分岐流路 4 4 e を設ける必要がある。

#### 【0064】

図 16 (a) ~ (c) は電極 4 4 c , 4 4 d の構成例を示す断面図である。また、電極 4 4 c , 4 4 d の構成も、特に限定されるものではなく、例えば図 16 (a) に示すように、金、白金又はアルミニウムなどからなる導電積板からなる電極 4 4 c , 4 4 d を、圧力室 4 4 b 内に配置してからチップを貼り合わせ、接着剤 4 4 g で封止してもよい。

#### 【0065】

また、図 16 (b) に示すように、圧力室 4 4 b の表面に、金、白金又はアルミニウムなどの金属又はITO(酸化インジウムズズ)をスパッタリングした薄膜電極 4 4 c , 4 4 d を形成しておき、それにコンタクトピン 4 4 h を接続してもよい。更に、図 16 (c) に示すように、チップ成形時に電極 4 4 c , 4 4 d を封入し、一体成形することもできる。

10

#### 【0066】

そして、この電気二重層が形成されている状態で、流路方向に沿って電圧を印加することにより、圧力室内 4 4 b の液体が移動し、電気浸透ポンプとして機能する。その際の電圧印加方向は、例えばシリカ多孔質体などのように、固体表面が負に帯電している場合は、通流方向上流側の電極 4 4 c に正の電圧を印加して下流側の電極 4 4 d を接地するか、又は、電極 4 4 c を接地して電極 4 4 d に負の電圧を印加する。一方、固体表面が正に帯電している場合は、電極 4 4 c を接地して電極 4 4 d に正の電圧を印加するか、又は、電極 4 4 c に負の電圧を印加して電極 4 4 d を接地する。

20

#### 【0067】

この電気浸透ポンプは、駆動電圧を印加している場合にのみ作動し、負圧を発生するため、入力信号の波形は、矩形パルス状とする必要がある。これは、前述したピエゾ素子を使用した場合のように、入力信号の波形をステップ状にすると、吸引流路に引き込み続けることとなるからである。

#### 【0068】

また、電気浸透流ポンプ(圧力室 4 4 b )の下流側に設けられるバルブは、少なくとも電気浸透流ポンプがONのときは、開放しておく必要がある。なお、電気二重層形成部を多孔質体で形成した場合、多孔質体は流体抵抗が大きいため、電気浸透ポンプがOFFのときにも吸引流路 4 4 a に流入する流量は少ないが、逆バイアスの電圧を印加することにより、吸引流路 4 4 a への流入を更に抑制することができる。

30

#### 【0069】

本実施形態のマイクロチップでは、電気浸透流ポンプにより、微小粒子の吸引を行うため、ピエゾ素子を使用する場合のような最大変位量(最大印加電圧)による制限がなくなる。これにより、1回の操作で回収可能粒子数が多い分取用マイクロチップを実現することができる。また、電気浸透流ポンプは、無音及び無振動で動作するため、使用可能な場所の選択の幅が広がる。なお、本実施形態における上記以外の構成及び効果は、前述した第1の実施形態及び第2の実施形態と同様である。

40

#### 【符号の説明】

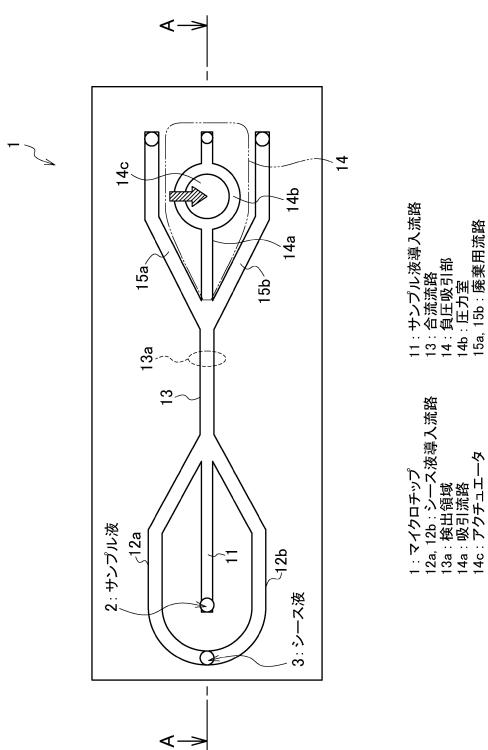
#### 【0070】

- 1、10、20、40 マイクロチップ
- 2 サンプル液
- 2 a サンプル流
- 3 シース液
- 3 a シース流
- 4、104 a、104 b 微小粒子
- 11 サンプル液導入流路

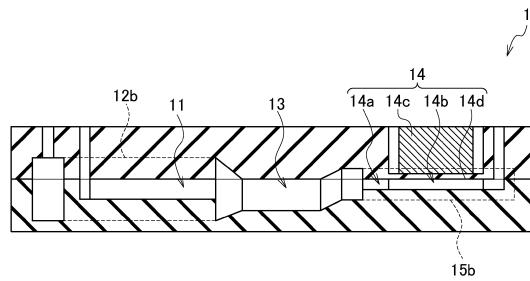
50

- 1 2 a、1 2 b シース液導入流路  
 1 3 合流流路  
 1 3 a 検出領域  
 1 4、2 4、4 4 負圧吸引部  
 1 4 a、4 4 a 吸引流路  
 1 4 b、4 4 b 圧力室  
 1 4 c、1 0 5 アクチュエータ  
 1 4 d 振動板  
 1 4 e、4 4 e 分岐流路  
 3 0 微小粒子分取装置 10  
 3 1 光照射部  
 3 2 検出部  
 3 3 制御部  
 3 4 a ~ 3 4 e シリンジポンプ  
 4 4 c、4 4 d 電極  
 4 4 f 電気二重層形成部  
 4 4 g 接着剤  
 4 4 h コンタクトピン  
 1 0 1 流路  
 1 0 1 a 分岐点 20  
 1 0 2 a、1 0 2 b 密封チャンバ  
 1 0 3 a、1 0 3 b 側路

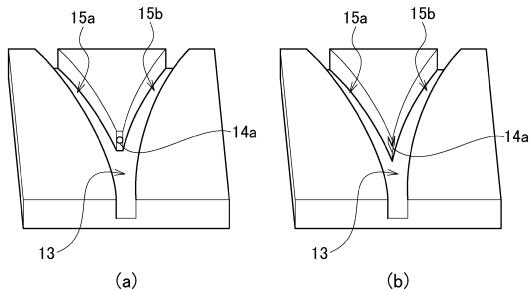
【図 1】



【図 2】



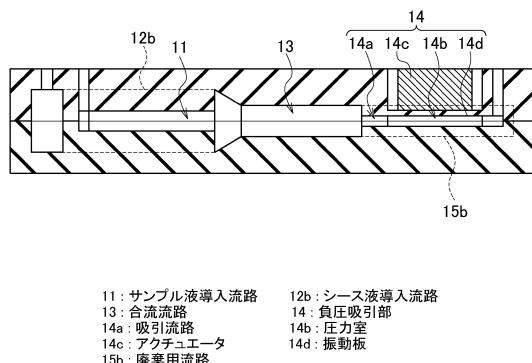
【図3】



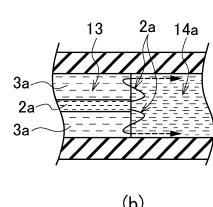
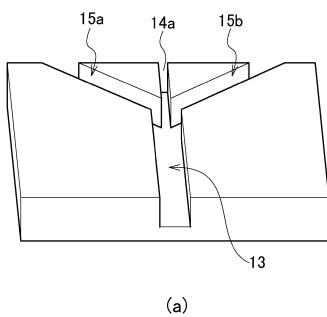
2a : サンプル流  
13 : 合流流路  
15a, 15b : 廃棄用流路

3a : シース流  
14a : 吸引流路

【図4】



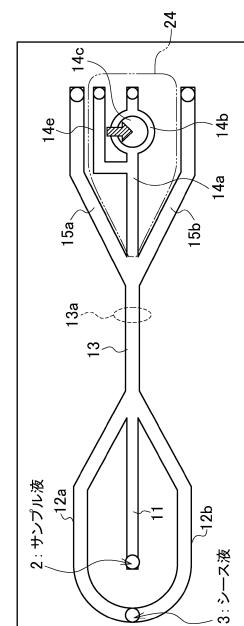
【図5】



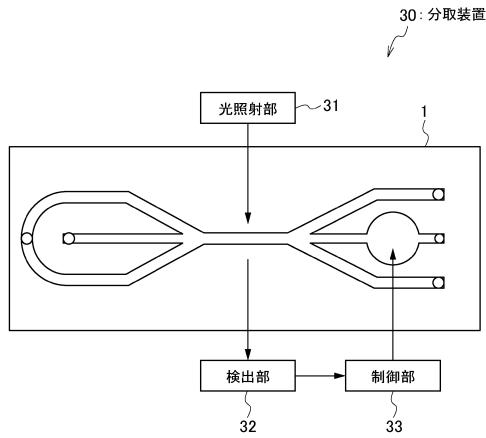
2a : サンプル流  
13 : 合流流路  
15a, 15b : 廃棄用流路

3a : シース流  
14a : 吸引流路

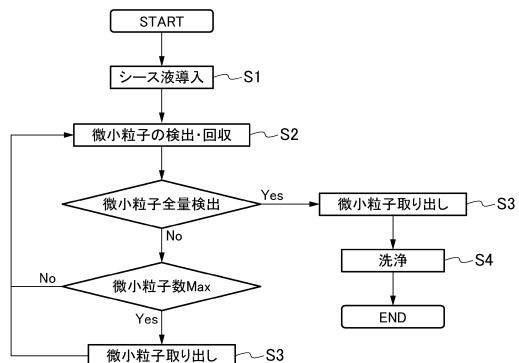
【図6】



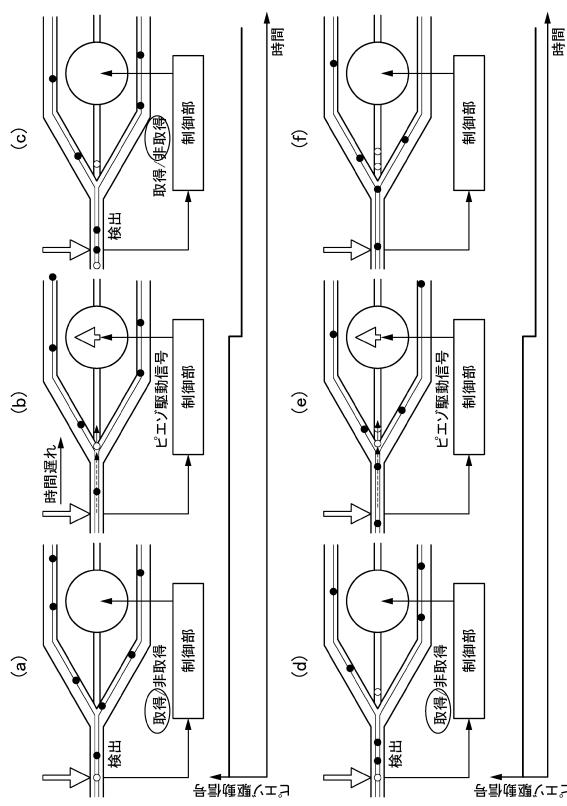
【図7】



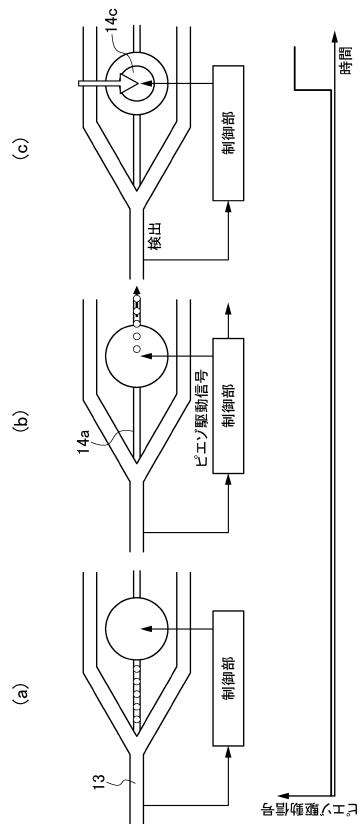
【図8】



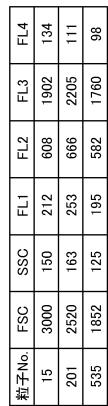
【図9】



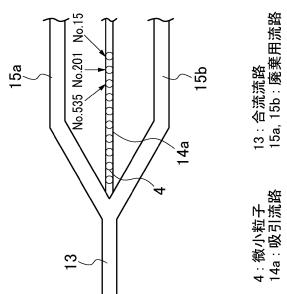
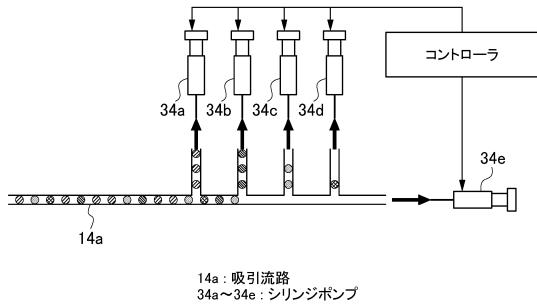
【図10】



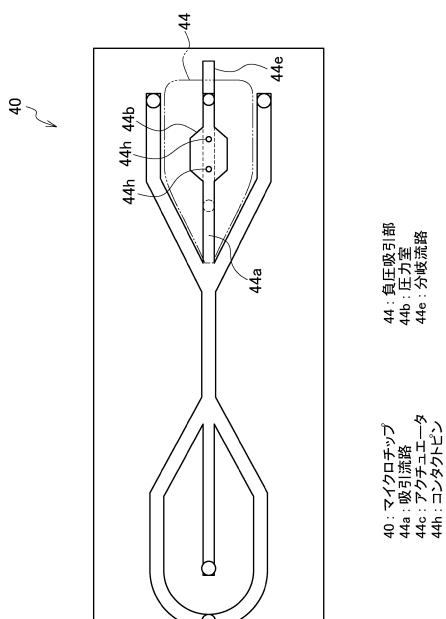
【図11】



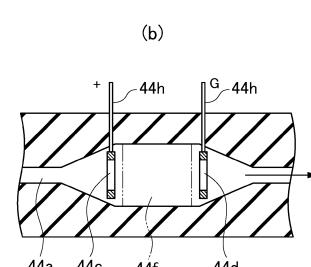
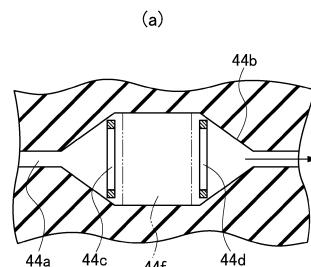
【図12】



【図13】

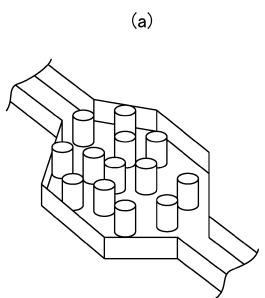


【図14】

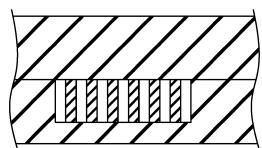


44a : 吸引路  
44b : 圧力室  
44c, 44d : 電極  
44f : 電気二重層形成部  
44h : コンタクトピン

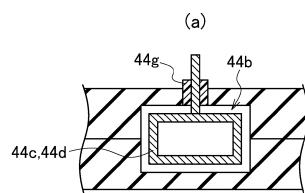
【図15】



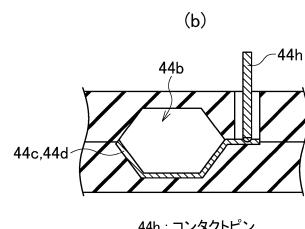
(b)



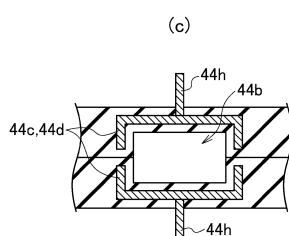
【図16】



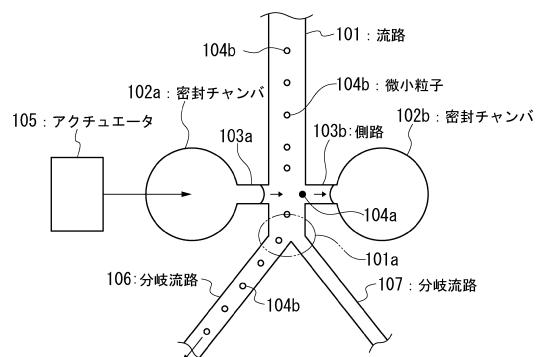
44b : 圧力室  
44c, 44d : 電極  
44g : 着接剤



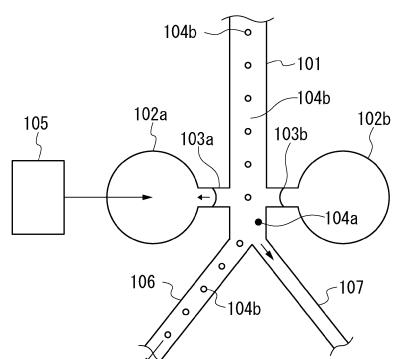
44h : コンタクトピン



【図17】



(a)



(b)

---

フロントページの続き

(72)発明者 新田 尚  
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内  
(72)発明者 二村 孝治  
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内  
(72)発明者 高清水 亨  
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内  
(72)発明者 芦崎 浩二  
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内  
(72)発明者 古木 基裕  
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内

審査官 清水 督史

(56)参考文献 特開2010-151777(JP,A)  
特開平01-170853(JP,A)  
特開2001-050887(JP,A)  
特表2005-524831(JP,A)  
特表2005-521425(JP,A)  
米国特許出願公開第2008/0213821(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 01 N 15 / 00 - 15 / 14  
G 01 N 35 / 00 - 37 / 00  
G 01 N 33 / 48 3