

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-515214

(P2016-515214A)

(43) 公表日 平成28年5月26日(2016.5.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 A	2 G O 5 8
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 1	3 C O 8 1
B 8 1 B 3/00 (2006.01)	B 8 1 B 3/00	4 B O 2 9
BO 1 J 19/00 (2006.01)	BO 1 J 19/00 3 2 1	4 B O 6 3
BO 1 J 19/12 (2006.01)	BO 1 J 19/12 A	4 G O 7 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-502075 (P2016-502075)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月13日 (2014. 3. 13)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年11月12日 (2015. 11. 12)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/026185
 (87) 国際公開番号 W02014/151658
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日 (2014. 9. 25)
 (31) 優先権主張番号 61/798, 516
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013. 3. 15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 506115514
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
 ティ オブ カリフォルニア
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 607 オークランド フランクリン ス
 トリート 1111 トゥエルフス フロ
 ア
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高速オンデマンド型マイクロ流体液滴生成及び操作

(57) 【要約】

マイクロ流体システム内の液滴を形成及び/または合
 一する方法及び装置が提供される。特定の実施形態では
 、マイクロ流体の液滴合一部品は、キャリア流体に含ま
 れる第1流体の液滴を含む流体流れからキャリア流体を
 排出する複数の側部流路を設けるために離間配置された
 複数の素子を含む中央チャネル；及びこの中央チャネル
 の幅を制御するために配置された変形可能な横膜バルブ
 を含むように提供される。

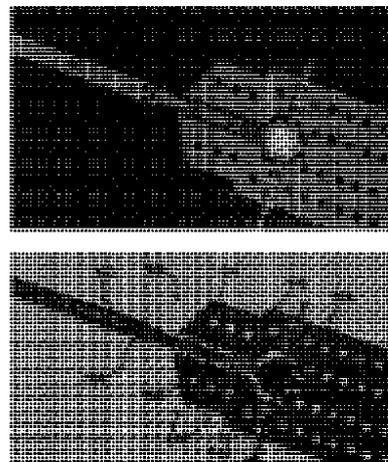


Fig. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイクロ流体の液滴合一部品であって、

キャリア流体に含まれる第 1 流体の液滴を含む流体流れから前記キャリア流体を排出する複数の側部流路を設けるために離間配置された複数の素子を含む中央チャンネルと、

前記中央チャンネルの幅を制御するために配置された変形可能な横膜バルブと、を含む液滴合一部品。

【請求項 2】

前記横膜バルブが空気圧作動の横膜バルブである、請求項 1 の液滴合一部品。

【請求項 3】

前記中央チャンネルの幅が前記複数の側部流路を経て下流に行くに従って減少する、請求項 1 または請求項 2 に記載の液滴合一部品。

【請求項 4】

前記側部流路の幅は、同一位置の前記中央チャンネルの幅よりも狭く、かつ前記中央チャンネル内の液滴の平均直径よりも小さい、請求項 1 から請求項 3 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 5】

前記複数の素子がマイクロピラーアレイを備える、請求項 1 から請求項 4 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 6】

前記横膜バルブが、前記複数の素子の最後の箇所、またはその下流に配置されている、請求項 1 から請求項 5 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 7】

前記マイクロピラーアレイは、下流方向に傾斜された側部流路を形成するピラーの組を含む、請求項 5 に記載の液滴合一部品。

【請求項 8】

前記横膜バルブは、ピラーの最後の（下流の）組の箇所、またはその下流に配置されている、請求項 7 の液滴合一部品。

【請求項 9】

前記ピラーは、約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $100 \mu\text{m}$ の範囲のピラー間間隔を提供するように構成されている、請求項 1 から請求項 8 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 10】

前記ピラーは、約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $10 \mu\text{m}$ の範囲のピラー間間隔を提供するように構成されている、請求項 1 から請求項 8 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 11】

前記変形可能な横膜バルブは、前記複数の素子の下流端で、制御可能な可変サイズの構造物を形成するように構成されている、請求項 1 から請求項 10 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 12】

前記変形可能な横膜バルブは、横方向に変形するように構成されている、請求項 1 から請求項 11 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 13】

前記変形可能な横膜バルブは、縦方向に変形するように構成されている、請求項 1 から請求項 11 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 14】

前記マイクロピラーアレイは、ガラス、金属、セラミック、鉱物、プラスチック及びポリマーからなる群から選択された材料から形成されている、請求項 1 から請求項 13 のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 15】

前記マイクロピラーアレイは、弾性材料から形成されている、請求項 1 から請求項 13

10

20

30

40

50

のいずれか一項に記載の液滴合一部品。

【請求項 16】

前記弾性材料は、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリオレフィンプラスチック（POP）、ペルフルオロポリエチレン（a-PFPE）、ポリウレタン、ポリイミド、及び架橋NOVOLAC（登録商標）（フェノールホルムアルデヒドポリマー）樹脂からなる群から選択された、請求項 15 に記載の液滴合一部品。

【請求項 17】

マイクロ流体の液滴生成器であって、

第 2 流体を含む第 2 マイクロ流体チャンネルに隣接する、第 1 流体を含む第 1 マイクロ流体チャンネルであって、前記第 1 流体が第 2 流体に実質的に不混和性である第 1 マイクロ流体チャンネルと、

キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室であって、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室の内容物が変形可能なチャンネル壁または室壁によって前記第 1 マイクロ流体チャンネルの内容物から隔離されており、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡が形成されると前記変形可能なチャンネル壁または室壁を変形させられるように構成され、前記第 1 マイクロ流体チャンネルの上または下に配置されているキャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室と、を含む液滴生成器。

【請求項 18】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルは、ポートまたはチャンネルを介して前記第 2 マイクロ流体チャンネルと流体連通している、請求項 17 の液滴生成器。

【請求項 19】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルの第 1 部分は、前記第 2 マイクロ流体チャンネルから離れて第 1 距離で配置され、前記第 1 マイクロ流体チャンネルの第 2 部分は、前記第 2 マイクロ流体チャンネルから離れて第 2 距離で配置されており、前記第 2 距離は前記第 1 距離よりも小さい、請求項 17 または請求項 18 に記載の液滴生成器。

【請求項 20】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルが第 3 部分を含み、前記第 3 部分は、前記第 2 部分が前記第 1 部分と前記第 3 部分の間に配置され、前記第 1 マイクロ流体チャンネルの前記第 3 部分が前記第 2 マイクロ流体チャンネルから離れて第 3 距離で配置され、前記第 3 距離が前記第 2 距離よりも大きくなるように配置されている、請求項 19 に記載の液滴生成器。

【請求項 21】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方の最大幅が約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $500 \mu\text{m}$ の範囲である、請求項 17 から請求項 20 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 22】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方の最大幅が約 $50 \mu\text{m}$ から約 $100 \mu\text{m}$ の範囲である、請求項 17 から請求項 20 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 23】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方の幅が約 $100 \mu\text{m}$ である、請求項 17 から請求項 20 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 24】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方の最大深さが約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $500 \mu\text{m}$ の範囲である、請求項 17 から請求項 23 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 25】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方の最大深さが約 $40 \mu\text{m}$ から約 $80 \mu\text{m}$ の範囲である、請求項 17 から請求項 23 のい

10

20

30

40

50

れか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 26】

前記第1マイクロ流体チャネルまたは前記第2マイクロ流体チャネルあるいはその両方の典型的な深さが約50μmである、請求項17から請求項23のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 27】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室の典型的な深さが約100μmから約150μmの範囲である、請求項17から請求項26のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 28】

前記液滴生成器は、約1aLから約1μLの範囲の体積の液滴を生成するように構成されている、請求項17から請求項27のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 29】

前記液滴生成器は、約1pLから約150pLの範囲の体積の液滴を生成するように構成されている、請求項28に記載の液滴生成器。

【請求項 30】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室がキャビテーションチャネルである、請求項17から請求項28のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 31】

前記キャビテーションチャネルは、前記キャビテーションチャネルの内容物を流れさせ、それによって内部に形成されている気泡の消失を促進する、請求項30に記載の液滴生成器。

【請求項 32】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室が前記第1マイクロ流体チャネルの上に配置されている、請求項17から請求項31のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 33】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室が前記第1マイクロ流体チャネルの下に配置されている、請求項17から請求項31のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 34】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室が染料を含む、請求項17から請求項33のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 35】

前記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室が光吸収ナノ粒子または光吸収マイクロ粒子あるいはその両方を含む、請求項17から請求項33のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 36】

前記第1マイクロ流体チャネルは、実質的な静圧下で前記第1流体を供給することにより、前記第1流体と前記第2流体の間に安定な界面を生成するように構成されている、請求項17から請求項35のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 37】

前記第1流体が水性流体を含む、請求項17から請求項36のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 38】

前記第2流体が油または有機溶媒を含む、請求項17から請求項37のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 39】

前記第2流体は、四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジメチルホルムアミド、酢酸エチル、ヘプタン

10

20

30

40

50

、ヘキサン、メチル - t e r t - ブチルエーテル、ペンタン、トルエン及び 2 , 2 , 4 - トリメチルペンタンからなる群から選択された溶媒を含む、請求項 3 8 の液滴生成器。

【請求項 4 0】

前記第 2 流体が油を含む、請求項 3 8 に記載の液滴生成器。

【請求項 4 1】

前記ポートまたはチャンネルがノズルを含む、請求項 1 7 から請求項 4 0 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 4 2】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方は、ガラス、金属、セラミック、鉱物、プラスチック及びポリマーからなる群から選択された材料から形成されている、請求項 1 7 から請求項 4 1 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

10

【請求項 4 3】

前記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは前記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方が弾性材料から形成されている、請求項 1 7 から請求項 4 2 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 4 4】

前記弾性材料は、ポリジメチルシロキサン (P D M S)、ポリオレフィンプラスチック (P O P)、ペルフルオロポリエチレン (a - P F P E)、ポリウレタン、ポリイミド、及び架橋 N O V O L A C (登録商標) (フェノールホルムアルデヒドポリマー) 樹脂からなる群から選択された、請求項 4 3 に記載の液滴生成器。

20

【請求項 4 5】

前記液滴生成器は、約 1 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 2 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 4 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 6 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、またはより好ましくは約 8 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、請求項 1 7 から請求項 4 4 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 4 6】

前記装置は、0 液滴 / 秒、1 液滴 / 秒、2 液滴 / 秒、約 5 液滴 / 秒、約 1 0 液滴 / 秒、約 2 0 液滴 / 秒、約 5 0 液滴 / 秒、約 1 0 0 液滴 / 秒、約 5 0 0 液滴 / 秒または約 1 0 0 0 液滴 / 秒から、約 1 , 5 0 0 液滴 / 秒、約 2 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 4 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 6 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 8 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 1 0 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 2 0 , 0 0 0 液滴 / 秒、約 5 0 , 0 0 0 液滴 / 秒または約 1 0 0 , 0 0 0 液滴 / 秒までの範囲の速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、請求項 1 7 から請求項 4 4 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

30

【請求項 4 7】

前記装置は、約 1 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 1 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 2 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 4 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 5 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、より好ましくは約 8 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度で、またはより好ましくは約 1 0 0 , 0 0 0 液滴 / 秒より速い速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、請求項 1 7 から請求項 4 4 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

40

【請求項 4 8】

前記液滴生成器は、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡を形成するように構成されたエネルギー源を含むシステム内に存在する、請求項 1 7 から請求項 4 7 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 4 9】

前記エネルギー源が光エネルギー源またはマイクロ波放出器を含む、請求項 4 8 に記載の液滴生成器。

【請求項 5 0】

50

前記エネルギー源がレーザーを含む、請求項 48 に記載の液滴生成器。

【請求項 51】

前記エネルギー源がパルスレーザーを含む、請求項 50 に記載の液滴生成器。

【請求項 52】

前記液滴生成器は、ポリマー、プラスチック、ガラス、水晶、誘電材料、半導体、ケイ素、ゲルマニウム、セラミック、及び金属または合金からなる群から選択された材料を含む基板上に配置されている、請求項 17 から請求項 51 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 53】

前記液滴生成器が他のマイクロ流体部品と一体化されている、請求項 17 から請求項 52 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

10

【請求項 54】

前記他のマイクロ流体部品は、PDMS チャンネル、ウェル、バルブからなる群から選択された、請求項 53 に記載の液滴生成器。

【請求項 55】

前記液滴生成器がラボオンチップの部品である、請求項 53 に記載の液滴生成器。

【請求項 56】

前記第 1 流体は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 用の 1 種以上の試薬を含む、請求項 17 から請求項 55 のいずれか一項に記載の液滴生成器。

【請求項 57】

20

前記第 1 流体は、PCR プライマー、PCR テンプレート、ポリメラーゼ及び PCR 反応緩衝液からなる群から選択される 1 種以上の試薬を含む、請求項 56 に記載の液滴生成器。

【請求項 58】

マイクロ流体の液滴を操作する装置であって、

請求項 1 から請求項 16 のいずれか一項に記載の 1 つ以上の液滴合一部品、及び

請求項 17 から請求項 57 のいずれか一項に記載の任意に 1 つ以上の液滴生成器、を載置し、または含む基板を備える装置。

【請求項 59】

前記装置は、前記横膜バルブを絞る量とタイミングを制御する制御部をさらに備える、請求項 58 の装置。

30

【請求項 60】

前記装置は、請求項 17 から請求項 57 のいずれか一項に記載の 1 つ以上の液滴生成器を備える、請求項 58 または請求項 59 に記載の装置。

【請求項 61】

前記装置が少なくとも 2 つの液滴生成器を備える、請求項 58 から請求項 60 のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 62】

前記装置が少なくとも 4 つの液滴生成器を備える、請求項 61 に記載の装置。

【請求項 63】

40

複数の液滴生成器は、第 2 マイクロ流体チャンネルを共有し、前記共有された第 2 マイクロ流体チャンネルに液滴を注入するように構成されている、請求項 61 または請求項 62 に記載の装置。

【請求項 64】

液滴合一部品は、前記共有された第 2 マイクロ流体チャンネルから液滴を受けて合一するように配置されている、請求項 63 に記載の装置。

【請求項 65】

液滴を生成し、または粒子もしくは細胞を封入し、あるいはその両方を行うシステムであって、請求項 17 から請求項 57 のいずれか一項に記載の液滴生成器と、流体内にガス気泡を形成するための励起源と、を含むシステム。

50

- 【請求項 66】
前記励起源が光エネルギー源を含む、請求項 65 に記載のシステム。
- 【請求項 67】
前記励起源が非コヒーレントな光エネルギー源を含む、請求項 66 に記載のシステム。
- 【請求項 68】
前記励起源がレーザーを含む、請求項 66 に記載のシステム。
- 【請求項 69】
前記システムは、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室に光エネルギーを集束させるように構成された対物レンズを含む、請求項 66 から請求項 68 のいずれか一項に記載のシステム。 10
- 【請求項 70】
前記システムが 1 / 2 波長板を含む、請求項 69 に記載のシステム。
- 【請求項 71】
前記システムが偏光子を含む、請求項 69 または請求項 70 に記載のシステム。
- 【請求項 72】
前記偏光子が偏光ビームスプリッターキューブを含む、請求項 71 に記載のシステム。
- 【請求項 73】
前記システムは、前記光エネルギー源によって放出される光パルスの発生タイミング、前記光エネルギー源によって放出されるパルスの発生周波数、前記光エネルギー源によって放出されるパルスの波長、前記光エネルギー源によって放出されるパルスのエネルギー、及び前記光エネルギー源によって放出されるパルスの標的または位置のうち少なくとも 1 つを調整する制御部を含む、請求項 66 から請求項 72 のいずれか一項に記載のシステム。 20
- 【請求項 74】
前記システムは、前記システム内の粒子、液滴または細胞を検出するための部品をさらに含む、請求項 65 から請求項 73 のいずれか一項に記載のシステム。
- 【請求項 75】
前記部品は、光検出システム、電気検出システム、磁気検出システムまたは音波検出システムを備える、請求項 74 に記載のシステム。
- 【請求項 76】
前記部品は、散乱、蛍光発光またはラマン分光信号を検出する光検出システムを備える、請求項 74 に記載のシステム。 30
- 【請求項 77】
マイクロ流体システム内の液滴の一体化方法であって、マイクロ流体チャンネルを通り、請求項 1 から請求項 16 のいずれか一項に記載の複数の液滴を合一させる 1 つ以上の液滴合一部分の 1 つ以上の前記中央チャンネルに流れ込む複数の液滴を供給すること、を含む一体化方法。
- 【請求項 78】
液滴合一のタイミングまたは合一される液滴の数あるいはその両方を制御するために、前記横膜バルブによって与えられる絞りを変化させることをさらに含む、請求項 77 に記載の一体化方法。 40
- 【請求項 79】
前記絞りを前記変化させることは、1 つ以上の前記横膜バルブを空気圧で作動させる制御部を操作することを含む、請求項 78 に記載の一体化方法。
- 【請求項 80】
液滴の生成方法であって、
請求項 17 から請求項 57 のいずれか一項に記載の液滴生成器に対し、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡を形成することにより前記変形可能なチャンネル壁または室壁を変形させて前記第 2 マイクロ流体チャンネル内の前記第 2 流体に前記第 1 流体の液滴を注入するように構成されたエネルギー源を適用すること、を含む生成 50

方法。

【請求項 8 1】

エネルギー源を前記利用することは、レーザーを利用して前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内にキャビテーション気泡を発生させることを含む、請求項 8 0 に記載の生成方法。

【請求項 8 2】

前記生成方法は、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生タイミング、前記パルスレーザーによって放出されるパルスの発生周波数、前記パルスレーザーによって放出されるパルスの波長、前記パルスレーザーによって放出されるパルスのエネルギー、及び前記パルスレーザーによって放出されるパルスの標的または位置のうちの少なくとも一つを調整する制御部を用いることを含む、請求項 8 1 に記載の生成方法。

10

【請求項 8 3】

複数のキャビテーション気泡を少なくとも 1000 Hz の周波数で個別かつ追加的に生成することをさらに含む、請求項 8 0 から請求項 8 2 のいずれか一項に記載の生成方法。

【請求項 8 4】

前記生成方法が 1 kHz 以上の周波数で繰り返される、請求項 8 3 に記載の生成方法。

【請求項 8 5】

前記第 1 流体は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 用の 1 種以上の試薬を含む、請求項 8 0 から請求項 8 4 のいずれか一項に記載の生成方法。

【請求項 8 6】

前記第 1 流体は、PCR プライマー、PCR テンプレート、ポリメラーゼ及び PCR 反応緩衝液からなる群から選択された 1 種以上の試薬を含む、請求項 8 5 に記載の液滴生成器。

20

【請求項 8 7】

液滴の生成及び一体化方法であって、

請求項 1 7 から請求項 5 7 のいずれか一項に記載の 1 つ以上の液滴生成器、及び請求項 1 から請求項 1 6 のいずれか一項に記載の 1 つ以上の液滴合一部品であって、前記 1 つ以上の液滴生成器の少なくとも 1 つによって生成される液滴を受けるように前記 1 つ以上の液滴合一部品の少なくとも 1 つが配置されている 1 つ以上の液滴合一部品を備える装置を提供すること、

30

前記 1 つ以上の液滴生成器の 1 つ以上におけるキャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室に対し、前記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡を形成することにより前記変形可能なチャンネル壁または室壁を変形させて前記第 2 マイクロ流体チャンネル内の前記第 2 流体に前記第 1 流体の液滴を注入するように構成されたエネルギー源を適用すること、及び

前記 1 つ以上の液滴生成器によって生成された複数の液滴を、一体化した液滴流体を形成するように構成された前記 1 つ以上の液滴合一部品の少なくとも 1 つにおいて受けること、を含む生成及び一体化方法。

【請求項 8 8】

前記装置が複数の液滴生成器を備える、請求項 8 7 に記載の生成及び一体化方法。

40

【請求項 8 9】

前記装置が少なくとも 3 つの液滴生成器を備える、請求項 8 7 に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 9 0】

前記装置が複数の液滴合一部品を備える、請求項 8 7 から請求項 8 9 のいずれか一項に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 9 1】

前記装置が少なくとも 3 つの液滴合一部品を備える、請求項 9 0 に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 9 2】

50

エネルギー源を前記利用することは、レーザーを利用して前記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室内にキャピテーション気泡を発生させることを含む、請求項 87 から請求項 91 のいずれか一項に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 93】

前記生成及び一体化方法は、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生タイミング、前記パルスレーザーによって放出されるパルスの発生周波数、前記パルスレーザーによって放出されるパルスの波長、前記パルスレーザーによって放出されるパルスのエネルギー、及び前記パルスレーザーによって放出されるパルスの標的または位置のうちの少なくとも 1 つを調整する制御部を用いることを含む、請求項 92 に記載の生成及び一体化方法。

10

【請求項 94】

複数のキャピテーション気泡を少なくとも 1000 Hz の周波数で個別かつ追加的に生成することをさらに含む、請求項 87 から請求項 93 のいずれか一項に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 95】

前記生成及び一体化方法が 1.2 kHz 以上の周波数で繰り返される、請求項 94 に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 96】

前記第 1 流体は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 用の 1 種以上の試薬を含む、請求項 87 から請求項 95 のいずれか一項に記載の生成及び一体化方法。

20

【請求項 97】

前記第 1 流体は、PCR プライマー、PCR テンプレート、ポリメラーゼ及び PCR 反応緩衝液からなる群から選択された 1 種以上の試薬を含む、請求項 96 に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 98】

前記装置は、他のマイクロ流体部品を備え、または前記他のマイクロ流体部品と一体化されている、請求項 87 から請求項 97 のいずれか一項に記載の生成及び一体化方法。

【請求項 99】

前記他のマイクロ流体部品は、PDMS チャンネル、ウェル、バルブからなる群から選択される、請求項 98 に記載の生成及び一体化方法。

30

【請求項 100】

前記装置は、ラボオンチップを備え、または前記ラボオンチップと一体化されている、請求項 98 に記載の生成及び一体化方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2013年3月15日に出願された米国特許出願第 61/798,516 号に対する利点及び優先権を主張するものであり、ここに本明細書の一部を構成するものとして、あらゆる目的のために本出願の全てを援用する。

40

米国政府支援の記載

【0002】

本発明は、米国国立科学財団によって付与された助成金第 ECCS 0901154 号の下、政府の支援を受けてなされた。米国政府は本発明に対して特定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

過去 10 年間、マイクロ流体システムは、高スループット化学及び高スループット生物学を実現するための有用な機器プラットフォーム (deMello (2006) Nature, 442:394-402) へと発展してきた。細分化された流れシステム内で液滴を制御可能に合一できることは、複合的で化学的または生物学的解析 (Shestopa

50

lov等(2004) Lab Chip, 4:316-321)を行う際に非常に重要となる。残念なことに、逐次的に多数の液滴を合することは、容易に制御することができない。マイクロ流体システムで生成されたエマルジョンは熱力学的に不安定であるが、界面張力、マイクロ流路の表面トポグラフィ、並びに流体特性(液滴サイズ、粘度及び速度など)が微妙に変化するため(例えば、Fuerstman等(2007) Science, 315:828-832を参照)、その合プロセスは、予測できるようには判明されていない。

【0004】

液滴を合することは、逐次反応(Kim等(2006) Anal. Chem., 78(23):8011-8019)、細胞のマルチステップ操作(He等(2005) Anal. Chem., 77(6):1539-1544)、高スループット生物検定(Srisa-Art等(2007) Anal. Chem., 79:6682-6689)などを含む多くの用途において重要または不可欠である。さらに、高スループットの方法で液滴または気泡を合及び分割できることは、化学的及び電子的な情報をやりとりするバブル論理システム(bubble logic system)(Prakash and Gershenfeld(2007) Science, 315(5813):832-835)の利用に影響を与えることができる。

10

【0005】

典型的な液滴合プロセスでは、比較的長い時間がかかり、かつ空間規模が比較的大きくなる。例えば、時間スケールは、一部の化学反応のサブマイクロ秒期間から、細胞系アッセイ法の数時間、さらには数日までの範囲にわたる場合がある。同様に、例えば、合すべき液滴間や、合プロセスを推進するように相互作用する液滴と要素界面の間でも、大きな空間規模が存在する。

20

【0006】

液滴を合するため、いくつかの技法が開発されてきた。これらの技法には、電界などの要素を伴う能動的なもの(Priest等(2006) Appl. Phys. Lett., 89:134101:1-134101:3; Ahn等(2006) Appl. Phys. Lett., 88:264105)、あるいは流体導管の表面特性(Fidalgo等(2007) Lab Chip, 7(8):984-986)または構造(Tan等(2004) Lab Chip, 4(4):292-298)を利用する受動的なものがある。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】deMello著、Nature、2006年、442巻、394-402頁

【非特許文献2】Shestopalov著、Lab Chip、2004年、4巻、316-321頁

【非特許文献3】Fuerstman著、Science、2007年、315巻、828-832頁

40

【非特許文献4】Kim著、Anal. Chem.、2006年、78巻、23号、8011-8019頁

【非特許文献5】He著、Anal. Chem.、2005年、77巻、6号、1539-1544頁

【非特許文献6】Srisa-Art著、Anal. Chem.、2007年、79巻、6682-6689頁

【非特許文献7】Prakash、Gershenfeld著、Science、2007年、315巻、5813号、832-835頁

【非特許文献8】Priest著、Appl. Phys. Lett.、2006年、89巻、134101:1-134101:3頁

50

【非特許文献 9】Ahn 著、Appl. Phys. Lett.、2006 年、88 巻、264105 頁

【非特許文献 10】Fidalgo 著、Lab Chip、2007 年、7 巻、8 号、984 - 986 頁

【非特許文献 11】Tan 著、Lab Chip、2004 年、4 巻、4 号、292 - 298 頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

様々な実施形態における様々な実施形態では、（例えば、ラボオンチップシステムなどのマイクロ流体システム及び同種のものへと一体化される）マイクロ流体の液滴合一部品が提供される。例示的な、ただし限定的ではない液滴合一構造物は、キャリア流体に含まれる第 1 流体の液滴を含む流体流れから上記キャリア流体を排出する複数の側部流路を設けるために離間配置された複数の素子（例えば、マイクロピラーアレイ）を含む中央チャンネル；及びこの中央チャンネルの幅を制御するために配置された変形可能な横膜バルブを含む。種々の数の液滴を捕獲及び合一することは、側部流路及び/またはかかる流路を形成する素子（例えば、マイクロピラーアレイ構造物）の間隔及び配置構成、変形可能な横膜バルブのタイミング、並びにこの横膜バルブの絞りサイズによって制御可能である。変形可能な膜（膜バルブ）は、（例えば、捕獲構造物の下流に）制御可能な可変サイズの構造物を形成する。絞るサイズとタイミングを制御することにより、その装置から出る前に、種々の数の液滴を捕獲及び合一することができる。また、マイクロ流体液滴生成器、並びに 1 つ以上のマイクロ流体液滴生成器及び/または 1 つ以上の液滴合一構造物を含む装置も提供される。

10

20

【0009】

様々な態様では、本明細書に企図される本発明（単数または複数）は、以下の実施形態のいずれか 1 つまたは複数を含み得るが、これらに限定される必要はない。

【0010】

様々な態様では、本明細書に企図される本発明（単数または複数）は、以下の実施形態のいずれか 1 つまたは複数を含み得るが、これらに限定される必要はない。

【0011】

実施形態 1：マイクロ流体の液滴合一部品であって、キャリア流体に含まれる第 1 流体の液滴を含む流体流れから上記キャリア流体を排出する複数の側部流路を設けるために離間配置された複数の素子を含む中央チャンネル；及びこの中央チャンネルの幅を制御するために配置された変形可能な横膜バルブを含む、液滴合一部品。

30

【0012】

実施形態 2：上記横膜バルブが空気圧作動の横膜バルブである、実施形態 1 の液滴合一部品。

【0013】

実施形態 3：上記中央チャンネルの幅は、上記複数の側部流路を経て下流に行くに従って減少する、実施形態 1 または実施形態 2 に記載の液滴合一部品。

40

【0014】

実施形態 4：上記側部流路の幅は、同一位置の上記中央チャンネルの幅よりも狭く、かつ中央チャンネル内の液滴の平均直径よりも小さい、実施形態 1 から実施形態 3 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【0015】

実施形態 5：上記複数の素子がマイクロピラーアレイで構成されている、実施形態 1 から実施形態 4 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【0016】

実施形態 6：上記横膜バルブが、上記複数の素子の最後の箇所、またはその下流に配置されている、実施形態 1 から実施形態 5 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

50

【 0 0 1 7 】

実施形態 7：上記マイクロピラーアレイは、下流方向に傾斜された側部流路を形成するピラーの組を含む、実施形態 5 の液滴合一部品。

【 0 0 1 8 】

実施形態 8：上記横膜バルブは、ピラーの最後の（下流の）組の箇所、またはその下流に配置されている、実施形態 7 の液滴合一部品。

【 0 0 1 9 】

実施形態 9：上記ピラーは、約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $100 \mu\text{m}$ の範囲のピラー間隔を提供するように構成されている、実施形態 1 から実施形態 8 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

10

【 0 0 2 0 】

実施形態 10：上記ピラーは、約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $10 \mu\text{m}$ の範囲のピラー間隔を提供するように構成されている、実施形態 1 から実施形態 8 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【 0 0 2 1 】

実施形態 11：上記変型可能な横膜バルブは、上記複数の素子の下流端で、制御可能な可変サイズの構造物を形成するように構成されている、実施形態 1 から実施形態 10 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【 0 0 2 2 】

実施形態 12：上記変型可能な横膜バルブは、横方向に変形するように構成されている、実施形態 1 から実施形態 11 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

20

【 0 0 2 3 】

実施形態 13：上記変型可能な横膜バルブは、縦方向に変形するように構成されている、実施形態 1 から実施形態 11 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【 0 0 2 4 】

実施形態 14：上記マイクロピラーアレイは、ガラス、金属、セラミック、鉱物、プラスチック及びポリマーからなる群から選択される材料から形成されている、実施形態 1 から実施形態 13 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

【 0 0 2 5 】

実施形態 15：上記マイクロピラーアレイは、弾性材料から形成されている、実施形態 1 から実施形態 13 のいずれか 1 つに記載の液滴合一部品。

30

【 0 0 2 6 】

実施形態 16：上記弾性材料は、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリオレフィンプラスチック（POP）、ペルフルオロポリエチレン（a-PFPE）、ポリウレタン、ポリイミド、及び架橋NOVOLAC（登録商標）（フェノールホルムアルデヒドポリマー）樹脂からなる群から選択される、実施形態 15 の液滴合一部品。

【 0 0 2 7 】

実施形態 17：マイクロ流体の液滴生成器であって、第 2 流体を含む第 2 マイクロ流体チャンネルに隣接する、第 1 流体を含む第 1 マイクロ流体チャンネルであって、上記第 1 流体が第 2 流体に実質的に不混和性である第 1 マイクロ流体チャンネル；及びキャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室であって、このキャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室の内容物が変型可能なチャンネル壁または室壁によって上記第 1 マイクロ流体チャンネルの内容物から隔離されており、上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室内に気泡が形成されると上記変型可能なチャンネル壁または室壁を変形させるように構成され、上記第 1 マイクロ流体チャンネルの上または下に配置されているキャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室、を含むマイクロ流体液滴生成器。

40

【 0 0 2 8 】

実施形態 18：上記第 1 マイクロ流体チャンネルは、ポートまたはチャンネルを介して上記第 2 マイクロ流体チャンネルと流体連通している、実施形態 17 の液滴生成器。

【 0 0 2 9 】

50

実施形態 19：上記第 1 マイクロ流体チャネルの第 1 部分は、上記第 2 マイクロ流体チャネルから離れて第 1 距離で配置され、上記第 1 マイクロ流体チャネルの第 2 部分は、上記第 2 マイクロ流体チャネルから離れて第 2 距離で配置されており、上記第 2 距離は上記第 1 距離よりも小さい、実施形態 17 または実施形態 18 に記載の液滴生成器。

【0030】

実施形態 20：上記第 1 マイクロ流体チャネルが第 3 部分を含み、この第 3 部分は、上記第 2 部分が上記第 1 部分と上記第 3 部分の間に配置され、上記第 1 マイクロ流体チャネルの上記第 3 部分が上記第 2 マイクロ流体チャネルから離れて第 3 距離で配置され、上記第 3 距離が上記第 2 距離よりも大きくなるように配置されている、実施形態 19 の液滴生成器。

10

【0031】

実施形態 21：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の最大幅が約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $500 \mu\text{m}$ の範囲である、実施形態 17 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0032】

実施形態 22：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の最大幅が約 $50 \mu\text{m}$ から約 $100 \mu\text{m}$ の範囲である、実施形態 17 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0033】

実施形態 23：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の幅が約 $100 \mu\text{m}$ である、実施形態 17 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

20

【0034】

実施形態 24：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の最大深さが約 $0.1 \mu\text{m}$ から約 $500 \mu\text{m}$ の範囲である、実施形態 17 から実施形態 23 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0035】

実施形態 25：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の最大深さが約 $40 \mu\text{m}$ から約 $80 \mu\text{m}$ の範囲である、実施形態 17 から実施形態 23 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

30

【0036】

実施形態 26：上記第 1 マイクロ流体チャネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャネルあるいはその両方の典型的な深さが約 $50 \mu\text{m}$ である、実施形態 17 から実施形態 23 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0037】

実施形態 27：上記キャピテーションチャネルまたはキャピテーション室の典型的な深さが約 $100 \mu\text{m}$ から約 $150 \mu\text{m}$ の範囲である、実施形態 17 から実施形態 26 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0038】

実施形態 28：上記液滴生成器は、約 1 aL から約 $1 \mu\text{L}$ の範囲の体積の液滴を生成するように構成されている、実施形態 17 から実施形態 27 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

40

【0039】

実施形態 29：上記液滴生成器は、約 1 pL から約 150 pL の範囲の体積の液滴を生成するように構成されている、実施形態 28 の液滴生成器。

【0040】

実施形態 30：上記キャピテーションチャネルまたはキャピテーション室がキャピテーションチャネルである、実施形態 17 から実施形態 28 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【0041】

50

実施形態 3 1 : 上記キャピテーションチャンネルは、上記キャピテーションチャンネルの内容物を流れさせ、それによって内部に形成されている気泡の消失を促進する、実施形態 3 0 の液滴生成器。

【 0 0 4 2 】

実施形態 3 2 : 上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室が上記第 1 マイクロ流体チャンネルの上に配置されている、実施形態 1 7 から実施形態 3 1 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 4 3 】

実施形態 3 3 : 上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室が上記第 1 マイクロ流体チャンネルの下に配置されている、実施形態 1 7 から実施形態 3 1 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

10

【 0 0 4 4 】

実施形態 3 4 : 上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室が染料を含む、実施形態 1 7 から実施形態 3 3 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 4 5 】

実施形態 3 5 : 上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室が光吸収ナノ粒子または光吸収マイクロ粒子あるいはその両方を含む、実施形態 1 7 から実施形態 3 3 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 4 6 】

実施形態 3 6 : 上記第 1 マイクロ流体チャンネルは、実質的な静圧下で上記第 1 流体を供給することにより、上記第 1 流体と上記第 2 流体の間に安定な界面を生成するように構成されている、実施形態 1 7 から実施形態 3 5 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

20

【 0 0 4 7 】

実施形態 3 7 : 上記第 1 流体が水性流体を含む、実施形態 1 7 から実施形態 3 6 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 4 8 】

実施形態 3 8 : 上記第 2 流体が油または有機溶媒を含む、実施形態 1 7 から実施形態 3 7 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 4 9 】

実施形態 3 9 : 上記第 2 流体は、四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、1, 2 - ジクロロエタン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジメチルホルムアミド、酢酸エチル、ヘプタン、ヘキサン、メチル - t e r t - ブチルエーテル、ペンタン、トルエン及び 2, 2, 4 - トリメチルペンタンからなる群から選択される溶媒を含む、実施形態 3 8 の液滴生成器。

30

【 0 0 5 0 】

実施形態 4 0 : 上記第 2 流体が油を含む、実施形態 3 8 の液滴生成器。

【 0 0 5 1 】

実施形態 4 1 : 上記ポートまたはチャンネルがノズルを含む、実施形態 1 7 から実施形態 4 0 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 5 2 】

実施形態 4 2 : 上記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方は、ガラス、金属、セラミック、鉱物、プラスチック及びポリマーからなる群から選択される材料から形成されている、実施形態 1 7 から実施形態 4 1 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

40

【 0 0 5 3 】

実施形態 4 3 : 上記第 1 マイクロ流体チャンネルまたは上記第 2 マイクロ流体チャンネルあるいはその両方が弾性材料から形成されている、実施形態 1 7 から実施形態 4 2 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器。

【 0 0 5 4 】

実施形態 4 4 : 上記弾性材料は、ポリジメチルシロキサン (P D M S)、ポリオレフィ

50

ンプラスチック（POP）、ペルフルオロポリエチレン（a-PFPE）、ポリウレタン、ポリイミド、及び架橋NOVOLAC（登録商標）（フェノールホルムアルデヒドポリマー）樹脂からなる群から選択される、実施形態43の液滴生成器。

【0055】

実施形態45：上記液滴生成器は、約1,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約2,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約4,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約6,000液滴/秒より速い速度で、またはより好ましくは約8,000液滴/秒より速い速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、実施形態17から実施形態44のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0056】

実施形態46：上記装置は、0液滴/秒、1液滴/秒、2液滴/秒、約5液滴/秒、約10液滴/秒、約20液滴/秒、約50液滴/秒、約100液滴/秒、約500液滴/秒または約1000液滴/秒から、約1,500液滴/秒、約2,000液滴/秒、約4,000液滴/秒、約6,000液滴/秒、約8,000液滴/秒、約10,000液滴/秒、約20,000液滴/秒、約50,000液滴/秒または約100,000液滴/秒までの範囲の速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、実施形態17から実施形態44のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0057】

実施形態47：上記装置は、約1,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約10,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約20,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約40,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約50,000液滴/秒より速い速度で、より好ましくは約80,000液滴/秒より速い速度で、またはより好ましくは約100,000液滴/秒より速い速度でオンデマンドに液滴を生成することができる、実施形態17から実施形態44のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0058】

実施形態48：上記液滴生成器は、上記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡を形成するように構成されたエネルギー源を含むシステム内に存在する、実施形態17から実施形態47のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0059】

実施形態49：上記エネルギー源が光エネルギー源またはマイクロ波放出器を含む、実施形態48の液滴生成器。

【0060】

実施形態50：上記エネルギー源がレーザーを含む、実施形態48の液滴生成器。

【0061】

実施形態51：上記エネルギー源がパルスレーザーを含む、実施形態50の液滴生成器。

【0062】

実施形態52：上記液滴生成器は、ポリマー、プラスチック、ガラス、水晶、誘電材料、半導体、ケイ素、ゲルマニウム、セラミック、及び金属または合金からなる群から選択される材料を含む基板上に配置されている、実施形態17から実施形態51のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0063】

実施形態53：上記液滴生成器が他のマイクロ流体部品と一体化されている、実施形態17から実施形態52のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0064】

実施形態54：上記他のマイクロ流体部品は、PDMSチャンネル、ウェル、バルブからなる群から選択される、実施形態53の液滴生成器。

【0065】

実施形態55：上記液滴生成器がラボオンチップの部品である、実施形態53の液滴生

10

20

30

40

50

成器。

【0066】

実施形態56：上記第1流体は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）用の1種以上の試薬を含む、実施形態17から実施形態55のいずれか1つに記載の液滴生成器。

【0067】

実施形態57：上記第1流体は、PCRプライマー、PCRテンプレート、ポリメラーゼ及びPCR反応緩衝液からなる群から選択される1種以上の試薬を含む、実施形態56の液滴生成器。

【0068】

実施形態58：マイクロ流体の液滴を操作する装置であって、実施形態1から実施形態16のいずれか1つに記載の1つ以上の液滴合一部分品；及び実施形態17から実施形態57のいずれか1つに記載の任意に1つ以上の液滴生成器を載置し、または含む基板を備える装置。

10

【0069】

実施形態59：上記装置は、上記横膜バルブを絞る量とタイミングを制御する制御部をさらに備える、実施形態58の装置。

【0070】

実施形態60：上記装置は、実施形態17から実施形態57のいずれか1つに記載の1つ以上の液滴生成器を備える、実施形態58または実施形態59に記載の装置。

【0071】

実施形態61：上記装置が少なくとも2つの液滴生成器を備える、実施形態58から実施形態60のいずれか1つに記載の装置。

20

【0072】

実施形態62：上記装置が少なくとも4つの液滴生成器を備える、実施形態61の装置。

【0073】

実施形態63：複数の液滴生成器は、第2マイクロ流体チャネルを共有し、この共有された第2マイクロ流体チャネルに液滴を注入するように構成されている、実施形態61または実施形態62に記載の装置。

【0074】

実施形態64：液滴合一部分品は、上記共有された第2マイクロ流体チャネルから液滴を受けて合一部分品のように配置されている、実施形態63の装置。

30

【0075】

実施形態65：液滴を生成し、または粒子もしくは細胞を封入し、あるいはその両方を行うシステムであって、実施形態17から実施形態57のいずれか1つに記載の液滴生成器と、流体内にガス気泡を形成するための励起源と、を含むシステム。

【0076】

実施形態66：上記励起源が光エネルギー源を含む、実施形態65のシステム。

【0077】

実施形態67：上記励起源が非コヒーレントな光エネルギー源を含む、実施形態66のシステム。

40

【0078】

実施形態68：上記励起源がレーザーを含む、実施形態66のシステム。

【0079】

実施形態69：上記システムは、上記キャビテーションチャネルまたはキャビテーション室に光エネルギーを集束させるように構成された対物レンズを含む、実施形態66から実施形態68のいずれか1つに記載のシステム。

【0080】

実施形態70：上記システムが1/2波長板を含む、実施形態69のシステム。

【0081】

50

実施形態 7 1 : 上記システムが偏光子を含む、実施形態 6 9 または実施形態 7 0 に記載のシステム。

【 0 0 8 2 】

実施形態 7 2 : 上記偏光子が偏光ビームスプリッターキューブを含む、実施形態 7 1 のシステム。

【 0 0 8 3 】

実施形態 7 3 : 上記システムは、光エネルギー源によって放出される光パルスの発生タイミング、光エネルギー源によって放出されるパルスの発生周波数、光エネルギー源によって放出されるパルスの波長、光エネルギー源によって放出されるパルスのエネルギー、及び光エネルギー源によって放出されるパルスの標的または位置のうちの少なくとも 1 つを調整する制御部を含む、実施形態 6 6 から実施形態 7 2 のいずれか 1 つに記載のシステム。

10

【 0 0 8 4 】

実施形態 7 4 : 上記システムは、上記システム内の粒子、液滴または細胞を検出するための部品をさらに含む、実施形態 6 5 から実施形態 7 3 のいずれか 1 つに記載のシステム。

【 0 0 8 5 】

実施形態 7 5 : 上記部品は、光検出システム、電気検出システム、磁気検出システムまたは音波検出システムで構成されている、実施形態 7 4 のシステム。

【 0 0 8 6 】

実施形態 7 6 : 上記部品は、散乱、蛍光発光またはラマン分光信号を検出する光検出システムで構成されている、実施形態 7 4 のシステム。

20

【 0 0 8 7 】

実施形態 7 7 : マイクロ流体システム内の液滴の一体化方法であって、マイクロ流体チャンネルを通り、実施形態 1 から実施形態 1 6 のいずれか 1 つに記載の複数の液滴を合一させる 1 つ以上の液滴合一部品の 1 つ以上の中央チャンネルに流れ込む複数の液滴を供給すること、を含む一体化方法。

【 0 0 8 8 】

実施形態 7 8 : 液滴合一のタイミングまたは合一される液滴の数あるいはその両方を制御するために、上記横膜バルブによって与えられる絞りを変化させることをさらに含む、実施形態 7 7 の一体化方法。

30

【 0 0 8 9 】

実施形態 7 9 : 絞りを上記変化させることは、1 つ以上の上記横膜バルブを空気圧で作動させる制御部を操作することを含む、実施形態 7 8 の一体化方法。

【 0 0 9 0 】

実施形態 8 0 : 液滴の生成方法であって、実施形態 1 7 から実施形態 5 7 のいずれか 1 つに記載の液滴生成器に対し、上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室内に気泡を形成することにより上記変型可能なチャンネル壁または室壁を変形させて上記第 2 マイクロ流体チャンネル内の上記第 2 流体に上記第 1 流体の液滴を注入するように構成されたエネルギー源を供給すること、を含む生成方法。

40

【 0 0 9 1 】

実施形態 8 1 : エネルギー源を上記利用することは、レーザーを利用して上記キャピテーションチャンネルまたはキャピテーション室内にキャピテーション気泡を発生させることを含む、実施形態 8 0 の生成方法。

【 0 0 9 2 】

実施形態 8 2 : 上記一体化方法は、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生タイミング、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生周波数、パルスレーザーによって放出されるパルスの波長、パルスレーザーによって放出されるパルスのエネルギー、及びパルスレーザーによって放出されるパルスの標的または位置のうちの少なくとも 1 つを調整する制御部を用いることを含む、実施形態 8 1 の生成方法。

50

【0093】

実施形態83：複数のキャビテーション気泡を少なくとも1000Hzの周波数で個別かつ追加的に生成することをさらに含む、実施形態80から実施形態82のいずれか1つに記載の生成方法。

【0094】

実施形態84：上記一体化方法が1kHz以上の周波数で繰り返される、実施形態83の生成方法。

【0095】

実施形態85：上記第1流体は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)用の1種以上の試薬を含む、実施形態80から実施形態84のいずれか1つに記載の生成方法。

10

【0096】

実施形態86：上記第1流体は、PCRプライマー、PCRテンプレート、ポリメラーゼ及びPCR反応緩衝液からなる群から選択される1種以上の試薬を含む、実施形態85の液滴生成器。

【0097】

実施形態87：液滴の生成・一体化方法であって、実施形態17から実施形態57のいずれか1つに記載の1つ以上の液滴生成器、及び実施形態1から実施形態16のいずれか1つに記載の1つ以上の液滴合一部品であって、この1つ以上の液滴生成器の少なくとも1つによって生成される液滴を受けるように上記1つ以上の液滴合一部品の少なくとも1つが配置されている1つ以上の液滴合一部品を備える装置を提供すること；上記1つ以上の液滴生成器の1つ以上におけるキャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室に対し、このキャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内に気泡を形成することにより上記変型可能なチャンネル壁または室壁を変形させて上記第2マイクロ流体チャンネル内の上記第2流体に上記第1流体の液滴を注入するように構成されたエネルギー源を供給すること；及び上記1つ以上の液滴生成器によって生成される複数の液滴を、一体化した液滴流体を形成するように構成された上記1つ以上の液滴合一部品の少なくとも1つにおいて受けること、を含む生成・一体化方法。

20

【0098】

実施形態88：上記装置が複数の液滴生成器を備える、実施形態87の生成・一体化方法。

30

【0099】

実施形態89：上記装置が少なくとも3つの液滴生成器を備える、実施形態87の生成・一体化方法。

【0100】

実施形態90：上記装置が複数の液滴合一部品を備える、実施形態87から実施形態89のいずれか1つに記載の生成・一体化方法。

【0101】

実施形態91：上記装置が少なくとも3つの液滴合一部品を備える、実施形態90の生成・一体化方法。

【0102】

実施形態92：エネルギー源を上記利用することは、レーザーを利用して上記キャビテーションチャンネルまたはキャビテーション室内にキャビテーション気泡を発生させることを含む、実施形態87から実施形態91のいずれか1つに記載の生成・一体化方法。

40

【0103】

実施形態93：上記生成・一体化方法は、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生タイミング、パルスレーザーによって放出されるパルスの発生周波数、パルスレーザーによって放出されるパルスの波長、パルスレーザーによって放出されるパルスのエネルギー、及びパルスレーザーによって放出されるパルスの標的または位置のうち少なくとも1つを調整する制御部を用いることを含む、実施形態92の生成・一体化方法。

【0104】

50

実施形態 9 4 : 複数のキャピテーション気泡を少なくとも 1 0 0 0 H z の周波数で個別かつ追加的に生成することをさらに含む、実施形態 8 7 から実施形態 9 3 のいずれか 1 つに記載の生成・一体化方法。

【 0 1 0 5 】

実施形態 9 5 : 上記生成・一体化方法が 1 . 2 k H z 以上の周波数で繰り返される、実施形態 9 4 の生成・一体化方法。

【 0 1 0 6 】

実施形態 9 6 : 上記第 1 流体は、ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) 用の 1 種以上の試薬を含む、実施形態 8 7 から実施形態 9 5 のいずれか 1 つに記載の生成・一体化方法。

【 0 1 0 7 】

実施形態 9 7 : 上記第 1 流体は、P C R プライマー、P C R テンプレート、ポリメラーゼ及び P C R 反応緩衝液からなる群から選択される 1 種以上の試薬を含む、実施形態 9 6 の生成・一体化方法。

【 0 1 0 8 】

実施形態 9 8 : 上記装置は、他のマイクロ流体部品を備え、または他のマイクロ流体部品と一体化されている、実施形態 8 7 から実施形態 9 7 のいずれか 1 つに記載の生成・一体化方法。

【 0 1 0 9 】

実施形態 9 9 : 上記他のマイクロ流体部品は、P D M S チャネル、ウェル、バルブからなる群から選択される、実施形態 9 8 の生成・一体化方法。

【 0 1 1 0 】

実施形態 1 0 0 : 上記装置は、ラボオンチップを備え、またはラボオンチップと一体化されている、実施形態 9 8 の生成・一体化方法。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 1 1 】

【 図 1 】変形可能な横膜バルブ 1 0 6 を備えた液滴合一モジュール 1 0 0 を模式的に説明する図である。液滴 1 0 8 を含む流体は、流れ方向 1 1 2 に沿って中央チャネル 1 0 2 を通るように流れる。複数の素子 1 0 4 は、捕獲された液滴 1 0 8 の間から流体を排出する側部流路 1 1 4 を形成する。捕獲されたこれらの液滴は、次いで合一されて合一後の液滴 1 1 6 となり、排出された流体は、例えば、液滴 1 1 0 として後に残る。複数の素子 (例えば、ピラー構造物) の終端に位置する空気圧作動の横膜バルブ 1 0 6 の組を用いて中央チャネルの幅を変えることにより、捕獲される液滴の数を制御する。閾数の液滴が到達すると、合一後の液滴にかかる水圧が表面張力よりも大きくなって、合一後の液滴が放出される。膜を動かす必要はなく、このことが高速な合一を可能にするために重要となる。

【 図 2 】パルスレーザー誘起のオンデマンド型膜バルブを用いて液滴を生成する様子を概略的に示す図である。P D M S 薄膜を用いることにより、パルスレーザーによって生じる汚染が完全に隔離される。気泡が誘起されると、膜が水性チャネルの方に変形して安定な水 - 油界面を破り、ピコリットルの液滴を油チャネルへと絞り出す。

【 図 3 】オンデマンド型の液滴生成・融合プラットフォームを模式的に説明する図である。このプラットフォームは、パルスレーザー誘起のオンデマンド型膜バルブを用いた液滴生成器、及び横膜バルブによって制御される液滴合一モジュールを一体化したものである。

【 図 4 】液滴生成プロセスの速写画像を示す。

【 図 5 】例示的な液滴合一プロセスの時間分解画像を示す。この受動的であるが調整可能な合一モジュールにおいては、6 個までの液滴が実験的に捕獲及び合一されている。例示した本実施形態では、液滴の数が 6 個よりも多くなると、合一後の液滴が自動的に放出される。

【 図 6 】並列型液滴生成器及び下流の液滴合一器を備え、薬物 / 化学物質を複合的に組み合わせ液滴を生成できるようにしたプラットフォームの一実施形態を模式的に示す図である。

10

20

30

40

50

【図 7】u F A C S 及び多数の液滴生成器を一体化して、単一細胞封入及び単一細胞解析を高速に行うことができるようにしたプラットフォームの一実施形態を模式的に示す図である。

【図 8】縦方向に変形される膜バルブを用いて多数の液滴を捕獲及び合一する様子を示す図である。

【図 9 A】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 B】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 C】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 D】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 E】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 F】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 G】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 H】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 I】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 J】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 K】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 L】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 M】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 N】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 O】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 P】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 Q】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 R】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 S】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 T】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 U】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 V】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 W】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

10

20

30

40

50

の段階を示す図である。

【図 9 X】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 Y】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 Z】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 Z A】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【図 9 Z B】簡略化した各断面図を通じて、多層 P D M S 構造物を作製する製造技術の種々の段階を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0112】

閉チャンネルにおいてピコリットル (picoliter: pL) 体積の液滴を操作可能な二相 (または多相) 流れシステムは、広範なラボオンチップ用途を有する。液滴が小さいため、試薬の消費を少なくし、高感度で検出を行い、大規模な解析を行うことが可能となる。単純な二相の流れチャンネル内で何千もの液滴を容易に生成することができ、さらに、数十または数百のチャンネルを並列に構成してスループットを向上させることができる。また、液滴を自動的に動かすことにより、高速スクリーニング向けに合一、分割及び混合を高速に行うこともできる。市販のシステムでは、1時間毎に1千万の液滴の反応またはスクリーニングを達成できる場合がある。用途としては、様々なPCR技術 (デジタルPCR、RT-PCR、PCRなど)、単一細胞解析、コンビナトリアル化学合成などが挙げられる。

【0113】

I. 液滴を受動的に捕獲及び合一するためのオンデマンド型横膜バルブ

様々な実施形態では、調整可能な液滴捕獲・合一モジュールが提供される。かかる部品 / モジュール 100 の一実施形態を図 1 に示す。本図に例示されるように、液滴合一部品は、キャリア流体に含まれる第 1 流体の液滴 108 を含む流体流れからキャリア流体を排出する複数の側部流路 114 を設けるために離間配置された複数の素子 104 (例えば、一連のピラー構造物) を含む中央チャンネル 102 ; 及び中央チャンネルの幅を制御するために配置された変形可能な横膜バルブ 106 を備える。

【0114】

例えば、マイクロ流路 118 内の液滴は下流方向 112 に移動する。下流に流れる液滴は、液滴合一モジュール内に捕獲される。複数の素子 104 は、液滴間の流体油を排出して液滴を合一するのに用いられる側部流路 114 を提供する。この複数の素子の下流端に位置する空気圧作動の横膜バルブ 106 の組を使用して、流れ流路の幅を変えることができる。様々な実施形態では、中央チャンネルの幅は、複数の側部流路を経て下流側距離に行くに従って減少する。特定の実施形態では、この幅は、上記部品の上流端では 10 μ m から約 1 mm の範囲であり、下流の幅が上流の幅より狭いところでは約 1 μ m から約 900 μ m の範囲の幅になる。特定の実施形態では、側部流路の幅は、同一位置の中央チャンネルの幅よりも狭く、かつ中央チャンネル内の液滴の平均直径よりも小さい。

【0115】

特定の実施形態では、複数の素子はマイクロピラーアレイで構成されている。特定の実施形態では、このマイクロピラーアレイは、中央チャンネルを画定するピラーの各組を含む。特定の実施形態では、これら複数の素子の最後の箇所、またはその下流 (例えば、各ピラーの最後の (下流の) 組の下流) にバルブが配置されている。特定の実施形態では、これらのピラーは、約 0.1 μ m から約 100 μ m の範囲のピラー間間隔を提供するように構成されている。特定の実施形態では、これらのピラーは、約 0.1 μ m から約 10 μ m の範囲のピラー間間隔を提供するように構成されている。特定の実施形態では、変形可能な横膜バルブは、上記複数の素子の下流端で、制御可能な可変サイズの構造物を形成する

10

20

30

40

50

ように構成されている。特定の実施形態では、変形可能な横膜バルブは、縦方向に変形するように構成されている。

【0116】

様々な実施形態では、変形室下の管を通じて空気圧を変化させることにより、横膜の変形を調整することができる。なお、特定の実施形態では、機械式アクチュエータによって横膜の変形を調節可能である。例えば、特定の実施形態では、圧電リニアアクチュエータ、静電アクチュエータなどを用いて横膜の変形を制御することができる。

【0117】

合一モジュール内に捕獲される液滴の数は、横膜バルブの変形の度合いによって調整することができる。捕獲される液滴の数が捕獲閾値に達すると、膜バルブを機械的に変形させずとも、融合液滴が自動的に放出される。こうした受動型の液滴合一は、機械式膜を変形させる必要がないため高速に行うことができる。図5に示すように、6個の液滴を受動的に捕獲し、合一し、放出することができる。より多くの液滴を合一する必要がある一定の場合には（例えば、大規模なコンビナトリアルライブラリを作成する場合）、この例示では縦方向に変形される膜バルブを完全に閉じて、より多くの液滴を保持することができる。図8に示すように、このモードを利用して15個までの液滴を捕獲し、合一した。しかしながら、この方法及び装置は6個または15個の液滴を捕獲することに限定されるものではないことに気が付くであろう。従って、特定の実施形態では、少なくとも2個、または3個、または4個、または5個、または6個、または7個、または8個、または9個、または10個、または11個、または12個、または13個、または14個、または15個、または16個、または17個、または18個、または19個、または20個、または21個、または22個、または23個、または24個、または25個、または26個、または27個、または28個、または29個、または30個以上の液滴を捕獲し、合一する。

【0118】

特定の実施形態では、膜を閉じるプロセスが遅い場合、合一化のスループットは約10液滴/秒よりも小さくなり得る。

【0119】

複合液滴を高速に作製するための一体型液滴生成・合一モジュールの概略を図3に示す。この概略は一例であるが、これに限定されることはない。

【0120】

特定の実施形態では、本明細書で説明された装置を薄層ソフトリソグラフィプロセスに利用して、一定の構造物（例えば、バルブ膜）を作製する。薄層（例えば、PDMS）の製造は、2012年3月27日に出願された同時係属仮出願第61/616,385号、及び2013年3月15日に出願された“CONTINUOUS WHOLE-CHIP 3-DIMENSIONAL DEP CELL SORTER AND RELATED FABRICATION METHOD”と題する同時係属仮出願に記載された新規のPt-PDMS薄膜プロセスによって行うことが可能であり、これらに記載されたPt-PDMS薄膜製造プロセスのために、本明細書の一部を構成するものとしてこれらの出願を共に援用する。

【0121】

特に、このPt-PDMS製造プロセスの一実施態様は、図9Aから9ZBの簡略化した各断面図によって記述される。図9Aから9ZBにおいて構築されている構造物は、3次元DEPセルソーターの一部であり、例えば、かかるセルソーターのDEP分離領域内の形状体である。しかしながら、本明細書で説明された装置（例えば、オンデマンド型横膜バルブ）の製造に対し、同じ製造方法が容易に適用される。なお、図9Aから9ZBは、縮尺に合わせて描かれたものではない。図9Aから9Pにおいてこれらの図は、2つの異なる製造の流れを示している。これらの流れにおける各ステップは大部分が同じとなり得るが、使用される型は種々の形状サイズを有し得る。例えば、各図の左側の断面は、例えば、セルソーター、液滴噴射器などの第1流路または第2流路を提供するのに使用可能な

10

20

30

40

50

P D M S 層の形成を示しており、各図の右側の断面は、セルソーターのソーティング流路、液滴形成器の噴射流路などを提供するのに使用可能な P D M S 層の形成を示し得る。図 9 Q から 9 Z B は、(例えば、2012年3月27日に出願された同時係属仮出願第61/616,385号に記載されているように)各層を組み合わせセルソーターを組み立てる様子を示している。

【0122】

図9Aに示すように、硬質基板に対し、その基板に光パターン化可能材料または光抵抗性材料を堆積あるいは塗設することにより、エッチングを行うための加工を施すことができる。このような材料は、例えば、ネガ型フォトリソグロフィー SU8またはポジ型フォトリソグロフィー AZ4620であってよく、上記基板は、例えば、シリコンまたはガラスであってよい。ただし、他の基板材料と共に、他のフォトリソグロフィー材料または光パターン化可能材料も同様に用いてよい。図9Bに示すように、エッチング操作により硬質基板から材料を除去して、種型を形成することができる。あるいは、エッチングの代わりに、堆積によって種型の突起した形状を形成することができる。特定の実施形態では、エッチング及び堆積の双方を用いて、種型の形状を形成することができる。図9Cに示すように、この種型をシラン表面処理剤で共形的にコーティングして、硬化 P D M S を後に型から容易に除去できるようにする。図9Dでは、未硬化 P D M S (または他のソフトリソグロフィー材料)を種型上に流し込み、その後硬化させて、相補的な P D M S 型を形成することができる。図9Eでは、次いで、この P D M S 型を種型から分離することができる。図9Fでは、この P D M S 型をシラン表面処理剤で共形的にコーティングすることができる。

10

20

【0123】

図9Gに示すように、P D M S 型を一時的に取り置くことができ、その後、別の硬質基板(例えば、ケイ素またはガラス)の上に未硬化 P D M S を流し込むことにより、その基板を加工することができる。図9Hでは P D M S 型を再び戻すことができ、図9Iでは、その P D M S 型を上記基板の上に未硬化 P D M S に押し込み、次いで、この未硬化 P D M S を硬化することができる。図9Jでは、基板の上に硬化 P D M S から P D M S 型を除去することができる。こうして基板上に得られた P D M S 構造物は、種型を正確またはほぼ正確に複製したものになり得るが、本明細書ではこれを P D M S 種型と呼ぶことがある。なお、堅い種型も「柔らかな」(例えば P D M S)種型も使用可能であることが認められるであろう。堅い種型を用いると、成形プロセス中の薄膜の歪みが低減する。標準的なソフトリソグロフィーでは、SU-8型(堅い種型)を用いて P D M S 構造物を作製することが多い。

30

【0124】

図9Kでは、鑄造した P D M S 部分を後に除去しやすくするために、CYTOP(商標)表面処理剤で P D M S 種型をコーティングすることができる。

【0125】

P D M S 種型には未硬化 P D M S を塗布することができる(図9Lを参照)。図9Aから9Lに関して上述したこれらのステップは、既存の P D M S 層製造プロセスと大部分において同様である。

【0126】

しかしながら、図9Mは、既存の製造技術から逸脱するステップを示している。既存の製造技術では、P D M S スタンプ(例えば、大きい平坦な凹凸無しの下地)を用いて、未硬化 P D M S を P D M S 種型に入れて圧縮することができる。しかしながら、本製造技術の一実施形態では、P D M S スタンプを改良して、P D M S よりもずっと高い係数を有する(例えば、P D M S よりも剛性の高い)材料の板を P D M S 内に含めるようにした。この板は、当該板と未硬化 P D M S 及び P D M S 種型との間に P D M S の非常に薄い層が存在するように配置されている。この薄層の厚さは、例えば、500ミクロン以下のオーダーとなり得る。実際には、10から30ミクロンの厚さが効果を発揮することが見出された。この板は、P D M S の係数よりも実質的に高い係数を有するプラスチック、ガラスまたは他の材料であってよい。実際には、プラスチック板は、ガラス板よりも堅固であるこ

40

50

とが分かっている。特定の理論に束縛されずとも、この板は、P D M S スタンプ内に介在する負荷分散器として機能して、P D M S 種型と未硬化 P D M S にかかる圧縮荷重を分散することができる。P D M S の上記薄層は、非常に小さく局所的に撓むことができる。従って、従来のスタンプを用いる際には大きな隆起が端部に見られることがあるが、そのような隆起の発生を回避しつつ、P D M S 型とスタンプとを完全に接触しやすくすることができる。

【 0 1 2 7 】

一例では、図示したように板を埋め込んだスタンプは、この板を P D M S でスピンコーティングすることによって提供され得るが、これに限定されることはない。しかしながら、あまりに薄く層を塗布すると、P D M S は相反する硬化挙動を呈することが明らかになった。実際には、多数の薄膜状態において P D M S が全く硬化せず、液体状態のままであることが認められた。従って、上述したもののような厚さでは P D M S が確実に固化せず、製造技術の信頼性が低下することが明らかになった。意外なことに、スタンプ上に薄層を形成する P D M S に触媒（例えば、白金触媒）が添加されている場合、上記に反して、厚さに関わらず P D M S が確実に固化することが明らかになった。触媒は硬化速度を加速させるために用いられてきたが、未硬化状態または不均一な硬化状態を変えるため、あるいは P D M S の高温処理に備えるためにこうした触媒がこれまで用いられてきたことはなかったと考えられる。従って、特定の実施形態では、本明細書に企図される製造技術は、ほぼ硬質な板を白金添加 P D M S の薄層でコーティングすることによりスタンプを加工すること（このステップは図示していない）を含み得る。白金イオンを未硬化 P D M S に与えることにより、安定して比較的均一な硬化が保証されることが明らかになった。意外なことに、十分な白金イオンを付加することにより、室温でも短時間のうちに P D M S が硬化することも明らかになった。特定の実施形態では、この触媒は、白金 - ジビニルテトラメチルジシロキサン（ $C_8H_{18}OPtSi_2$ ）である。

【 0 1 2 8 】

また、このスタンプにおいて板の反対側に P D M S の層を厚めに設けることにより、既存の設備を用いて容易に取り扱い、または一体化することができるようにもよいが、このような厚めの層は必ず必要となるわけではない。P D M S の薄層（または P D M S スタンプ全体）は、シラン表面処理剤、例えば、トリクロロ（1 H , 1 H , 2 H , 2 H - ペルフルオロオクチル）シラン（「P F O C T S」とも呼ぶ）で処理され得る。

【 0 1 2 9 】

図 9 N では、このスタンプを未硬化 P D M S と P D M S 種型に押し付け、次いで硬化させた。図 9 O では、P D M S 種型からスタンプを引き離すことにより、P D M S 種型から硬化 P D M S 層を除去する。シラン処理後の表面は C Y T O P 処理後の表面と比べて結合強度が高いため、この P D M S 層はスタンプに結合したままとなって、他の構造物に容易に転写させることができる。

【 0 1 3 0 】

図 9 P は、取り除かれた P D M S 層がスタンプに結合している状態を示している。なお、この P D M S 層を酸素プラズマで処理して、後にガラス構造物または P D M S 構造物に容易に結合できるようにしてもよい。図 9 Q では、加工されたガラス基板の上部に P D M S 層の一方を位置付ける。なお、例えば、I T O などの導電性コーティングでコーティングすることによってこのガラス基板を加工し、D E P セルソーターの電極層として当該基板を機能させるようにしてもよい。図 9 R では、P D M S 層に酸素プラズマ処理を施すことにより、ガラス基板に直接 P D M S 層を結合することができる。図 9 S では、シラン処理後の表面結合と比べて酸素プラズマ処理による直接結合の結合強度の方が強いため、スタンプを除去することができる。この P D M S 層は、スタンプから分離され、ガラス基板にきれいに付着した状態を保つことができる。この場合、基板上に配置された P D M S 層は、第 1 流路または第 2 流路を内部に有する D E P セルソーター内の電気絶縁層の下層に該当する。

【 0 1 3 1 】

図9 Tでは、別のPDMS層（一実施形態では、ソーティング流路を内部に有するDEPセルソーター内の電気絶縁層の下層に該当する場合）を、このPDMS層が付着されているスタンプを用いて、先に配置したPDMS層の上部に位置付けることができる。この第2のPDMS層も酸素プラズマで処理して、先に配置したPDMS層に直接結合しやすくしてもよい。図9 Uでは、上記スタンプを用いて第2のPDMS層を第1のPDMS層に押し付けることにより、第2のPDMS層を第1のPDMS層に直接結合することができる。図9 Vでは、図9 Sの場合とほぼ同じようにしてスタンプを除去することができる。

【0132】

図9 Wでは、第3のPDMS層（この場合には、第1のPDMS層と同様のもの）を第1のPDMS層及び第2のPDMS層の上部に位置付けることができる。この第3のPDMS層は、他のPDMS層と同様に酸素プラズマで処理され得る。図9 Xでは、第3のPDMS層を第2のPDMS層に直接結合することによってPDMS層の3層積層体を形成することができるが、この積層体は、事実上連続する1つの構造物として融合されている。図9 Yでは、スタンプを除去して、3層のPDMS構造物を後に残すことができる。図9 Zでは、このPDMS構造物の露出した上部を加工して、別の硬質基板（例えば、ガラス）に結合することができる。図9 Z Aでは、組み立てられたPDMS積層の上部にこの硬質基板を位置付けることができ、図9 Z Bでは、当該硬質基板を上記積層体に結合することができる。

【0133】

様々な実施形態では、得られた構造物は、形状を通じて層間が非常にきれいなものとなり、具体的には、マイクロ流体装置によく適したものとなる。なお、上記の技術を修正し、必要に応じて特定のステップを省略し、他のステップを加えてもよく、さもなければ、特定の設計要件に合うように上記技術を特化してもよい。例えば、型内に階段状断面を有する形状を形成することができ得るが、それによって共に作製・結合する必要のある個別層の数が少なくなる。図示した技術はPDMS層の3層積層体用に示したものであるが、上記のようにしてPDMS層を多かれ少なかれ製造して、PDMS層の積層体として組み立てることができる。

【0134】

II. パルスレーザー誘起のオンデマンド型膜バルブを用いた液滴生成

図2は、パルスレーザー駆動の膜バルブを用いた液滴生成器の実施形態を概略的に図示したものである。薄膜（例えば、PDMS膜）を用いてレーザー励起用の染料チャンネルを試料チャンネルから隔離することにより、パルスレーザーによって生じる反応化学種による潜在的な汚染を防止する。

【0135】

各レーザーパルスにより、キャビテーション気泡を発生させて膜を変形させることにより、ノズルを通じて油相中に液滴を絞り出すことができる。大量の試薬を消費する連続相の流れを用いる代わりに、静圧源を用いて、（例えば、水-油）界面を安定に維持することができる。この手法により、高価かつ貴重な試薬の消費が非常に効果的に減少する。1個の液滴が油相中に排出された後、膜が部分的かつ局所的にしか変形しないため、界面は、非常に短い時間で自動的に元の位置に戻ることができる。液滴生成速度は、数百Hzにまで達することができる。このプラットフォームの特定の実施形態において生成される液滴の体積は、図4に示すように80 pL前後である。

【0136】

本明細書で説明された装置の様々な実施形態は、マイクロチャンネル（マイクロ流体チャンネル）を搭載する。「マイクロ流体チャンネル」または「マイクロチャンネル」という用語は同義的に用いられ、1,000 μm未満、より好ましくは約900 μm未満、または約800 μm未満、または約700 μm未満、または約600 μm未満、または約500 μm未満、または約400 μm未満、または約300 μm未満、または約250 μm未満、または約200 μm未満、または約150 μm未満、または約100 μm未満、または約7

10

20

30

40

50

5 μm 未満、または約50 μm 未満、または約40 μm 未満、または約30 μm 未満、または約20 μm 未満である少なくとも1つの特性寸法（例えば、幅または径）を有するチャンネルを指す。

【0137】

特定の実施形態では、本明細書で説明された方法及び装置は、不混和性流体を利用してもよい。この文脈において「不混和性」という用語は、2種類の流体に対して用いる場合、これらの流体を特定の比率で混合したときにそれらが溶液を形成しないことを示す。代表的な2種類の不混和性材料は、水と油である。本明細書で用いられる不混和性流体は、特定の比率で混ぜ合わせたときに実質的に溶液を形成しない流体も含む。通常、これらの材料は、比率を等しくして混ぜ合わせた場合にこれらが溶液を形成しないときには、実質的に不混和性である。特定の実施形態では、不混和性流体は、互いにほとんど溶解しない流体、濃度または粘度などの物理的特性のために一定期間が経過しても混合しない流体、及び層流のために一定期間が経過しても混合しない流体を含む。

10

【0138】

加えて、このような流体は、液体に制限されることはなく、液体及びガスを含み得る。従って、例えば、液滴を形成する場合、水性溶媒（水など）、任意の数の有機化合物（四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジメチルホルムアミド、酢酸エチル、ヘプタン、ヘキサン、メチル-tert-ブチルエーテルペンタン、トルエン、2,2,4-トリメチルペンタンなど）などを含むことが企図される。当業者にとっては、相互に不溶な各種溶媒系がよく知られている（例えば、表1を参照）。別の例では、生理学的に正常な量の溶質を含む水性緩衝液の液滴を、高濃度スクロースを含む高濃度の水性緩衝液中に生成してもよい。さらに別の例では、生理学的に正常な量の溶質を含む水性緩衝液の液滴を、生理学的に正常な量の溶質を含む第2の水性緩衝液中に生成してもよい。この場合、2種類の緩衝液は層流によって分離されている。なお別の例では、窒素または空気などのガス中に流体の液滴を生成してもよい。

20

【0139】

表1に、互いに混和性または不混和性のいずれかである各種溶媒を示す。別段の記載がない限り、左側の列の溶媒は、右側の列の溶媒とは混合しない。

【0140】

30

【表 1】

溶媒	不混和性	
アセトン	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
アセトニトリル	シクロヘキサン、ヘプタン、ヘキサン、ペンタン、2, 2, 4-トリメチルペンタン	
四塩化炭素	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
クロロホルム	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	10
シクロヘキサン	アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、水	
1, 2-ジクロロエタン	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
ジクロロメタン	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
ジエチルエーテル	ジメチルスルホキシド、水	
ジメチルホルムアミド	シクロヘキサン、ヘプタン、ヘキサン、ペンタン、2, 2, 4-トリメチルペンタン、水	
ジメチルスルホキシド	シクロヘキサン、ヘプタン、ヘキサン、ペンタン、2, 2, 4-トリメチルペンタン、ジエチルエーテル	20
1, 4-ジオキサン	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
エタノール	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
酢酸エチル	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
ヘプタン	アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、水	
ヘキサン	アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、酢酸、水	
メタノール	シクロヘキサン、ヘプタン、ヘキサン、ペンタン、2, 2, 4-トリメチルペンタン	30
メチル-tert-ブチルエーテル	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
ペンタン	アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、水、酢酸	
1-プロパノール	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
2-プロパノール	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
テトラヒドロフラン	左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
トルエン	水を除いて左側の列に挙げた任意の溶媒と混合可能	
2, 2, 4-トリメチルペンタン	アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、水	40
水	四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジメチルホルムアミド、酢酸エチル、ヘプタン、ヘキサン、メチル-tert-ブチルエーテル、ペンタン、トルエン、2, 2, 4-トリメチルペンタン	

【0141】

特定の実施形態では、第1流体及び第2流体は、互いに不混和性である必要はない。こ

のような実施形態では、単にマイクロチャネル内の流速及び個別の気泡を形成するための気泡形成速度を調整するのみで、注入した液滴は互いに分離した状態を保つことができる。

【0142】

様々な実施形態では、本明細書で説明された装置及び方法によって生成された液滴は、多様な材料を含有または封入することができる。ある実施形態では、液滴は検査試料、細胞、細胞小器官、タンパク質、核酸、酵素、PCRもしくは他の検査用試薬、生化学物質、染料、または微粒子（例えば、ポリマー微粒子、金属微粒子もしくは顔料）を含有してもよい。なお他の実施形態では、液滴は、先に生成された1つ以上の液滴を封入してもよい。加えて、本発明は水性の液滴システムに限定される必要はない。例えば、このように液滴を生成する方法及び装置をナノ粒子コーティングに使用してもよく、その場合、有機溶媒中の材料を用いて、ナノ粒子の上に各層を堆積し、あるいはナノ粒子を封入することができる。

10

【0143】

上記のように、ある実施形態では、流体チャネル内の開口をノズルとして構成することができる。かかるノズルの深さ、内径及び外径を最適化することにより、液滴サイズ、液滴の均一性、流体界面での混合、またはこれらの組み合わせを制御することができる。

【0144】

特定の実施形態では、流体チャネルを含む材料とは異なる基板の上に、本明細書で説明された液滴生成部品及び/または液滴合一部品を設けてもよい。例えば、流体チャネルは、硬質表面上に配置されている弾性材料を用いて製造され得る。好適な流体チャネル材料としては、PDMS、プラスチック及び類似の材料などの可撓性ポリマーが挙げられるが、これらに限定されることはない。また、流体チャネルは、硬質プラスチック、ガラス、ケイ素、水晶、金属及び類似の材料などの非可撓性材料で構成されてもよい。好適な基板としては、ポリマー、プラスチック、ガラス、水晶または他の絶縁材料などの透明基板が挙げられるが、これらに限定されることはない。他の好適な基板材料としては、不透明プラスチックまたは半透明プラスチック、ケイ素、金属、セラミック及び類似の材料などの非透過材料が挙げられるが、これらに限定されることはない。

20

【0145】

上述のパラメータ及び実施例のパラメータ（例えば、1つ以上の流速、レーザー強度、レーザー周波数/波長、チャネル寸法、ポート/ノズル寸法、チャネル壁の剛性、キャピテーション気泡の形成位置など）を変えることにより、特定の望ましい用途に合わせて、液滴の形成、及び/または液滴/粒子/細胞の封入を最適化することができる。

30

【0146】

本明細書で説明された液滴生成装置の構造物において、及びこれらの装置を組み込み可能なマイクロ流体装置において利用可能ないくつかの方式、材料及びサイズスケールが存在する。ある実施形態では、液滴生成装置及び接続流体チャネルは、PDMS（または他のポリマー）で構成されており、ソフトリソグラフィを用いて製造される。PDMSは、様々な理由（低コスト、光透過性、成形のしやすさ及び弾性特性を含むが、これらに限定されることはない）により、魅力的な材料である。PDMSは、従来のシロキサン化学反応及び細胞培養の諸要件（例えば、低毒性、通気性）の双方に適合するといった望ましい化学的特性も有する。例示的なソフトリソグラフィ法では、種型を用意して流体チャネルシステムを形成する。この種型は、マイクロマシニングプロセス、フォトリソグラフィプロセスによって、または当業者に知られた任意の数の方法によって製造され得る。このような方法としては、ウェットエッチング、電子ビーム真空堆積、フォトリソグラフィ、プラズマ促進化学気相成長、分子線エピタキシー、反応性イオンエッチング、及び/または化学的に促進されたイオンビームミリング（Choudhury著、「The Handbook of Microlithography, Micromachining, and Microfabrication」, Soc. Photo-Optical Instru. Engineer. 1997年; Bard & Faulkner著、「Fu

40

50

ndamentals of Microfabrication」)が挙げられるが、これらに限定されることはない。

【0147】

一旦加工したらプロポリマーに種型を曝すと、次いで、これが硬化されて、パターン付きの複製がPDMSによって形成される。この複製を種型から除去し、トリミングしてから、必要な箇所に流体入口を設ける。このポリマー複製は、必要に応じてプラズマ(例えば、 O_2 プラズマ)で処理され、好適な基板(ガラスなど)に結合され得る。 O_2 プラズマでPDMSを処理することにより、好適な基板と共形的に接触させるときに緊密かつ不可逆的に密封される表面が生成され、水溶液と合わせて使用するとき負に帯電される流体チャネル壁が利点的に生成される。このように固定電荷が生じることにより、装置を通じて流体を移送させるのに利用可能な界面動電ポンピングが促進される。上記ではPDMSを用いて液滴生成装置を製造しているが、多くの他の材料をこのポリマーの代わりに使用でき、あるいはこのポリマーと共に使用できることを認めるべきである。例としては、ポリオレフィンプラスチック、ペルフルオロポリエチレン、ポリウレタン、ポリイミド及び架橋フェノール/ホルムアルデヒドポリマー樹脂が挙げられるが、これらに限定されることはない。

10

【0148】

ある実施形態では、単一層の装置が企図される。他の実施形態では、複数層の装置が企図される。例えば、市販のCADプログラムを用いて流体チャネルの複数層ネットワークを設計してもよい。この図案は、種型を作製するためのフォトリソグラフィマスクとして次に用いられる一連の透明フィルムに変換され得る。この種型に突き合わせてPDMSを鋳造することにより、流体チャネルの複数層ネットワークを含むポリマー複製が得られる。上述したように、このPDMS鋳造物をプラズマで処理して、基板に付着させることができる。

20

【0149】

上述したように、本明細書で説明された方法及び装置は、具体的にはマイクロ流体装置での使用に適したものである。ある実施形態では、それ故、流体チャネルはマイクロチャネルである。このマイクロチャネルは、約100nmないし約1 μ mから約500 μ mまでの範囲の特性寸法を有する。様々な実施形態では、この特性寸法は、約1、5、10、15、20、25、35、50または100 μ mから約150、200、250、300または400 μ mまでの範囲である。ある実施形態では、この特性寸法は、約20、40または約50 μ mから約100、125、150、175または200 μ mまでの範囲である。様々な実施形態では、隣接する流体チャネル間の壁の厚さは、約0.1 μ mから約50 μ m、または約1 μ mから約50 μ m、より典型的には約5 μ mから約40 μ mの範囲である。特定の実施形態では、隣接する流体チャネル間の壁の厚さは、約5 μ mから約10、15、20または25 μ mの範囲である。

30

【0150】

様々な実施形態では、流体チャネルの深さは、5、10、15、20 μ mから約1mm、800 μ m、600 μ m、500 μ m、400 μ m、300 μ m、200 μ m、150 μ m、100 μ m、80 μ m、70 μ m、60 μ m、50 μ m、40 μ mまたは約30 μ mの範囲である。特定の実施形態では、流体チャネルの深さは、約10 μ mから約60 μ m、より好ましくは約20 μ mから約40または50 μ mの範囲である。ある実施形態では流体チャネルを開放することができるが、他の実施形態では流体チャネルを覆ってもよい。

40

【0151】

上述したように、ある実施形態にはノズルが存在する。特定の実施形態では、ノズルが存在する場合、そのノズルの直径は、約0.1 μ mまたは約1 μ mから約300 μ m、200 μ mまたは約100 μ mまでの範囲とすることができる。特定の実施形態では、ノズルの直径は、約5、10、15または20 μ mから約25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75または約80 μ mまでの範囲とすることができる。あ

50

る実施形態では、ノズルの直径は、約 1、5、10、15 または 20 μm から約 25、35 または 40 μm の範囲である。

【0152】

ある実施形態では、本明細書で説明された方法及び装置は、0 液滴/秒、約 2 液滴/秒、約 5 液滴/秒、約 10 液滴/秒、約 20 液滴/秒、約 50 液滴/秒、約 100 液滴/秒、約 500 液滴/秒または約 1000 液滴/秒から、約 1,500 液滴/秒、約 2,000 液滴/秒、約 4,000 液滴/秒、約 6,000 液滴/秒、約 8,000 液滴/秒、約 10,000 液滴/秒、約 20,000 液滴/秒、約 50,000 液滴/秒及び約 100,000 液滴/秒までの範囲の速度で液滴を生成することができる。

【0153】

様々な実施形態では、本明細書で説明された装置及び方法は、実質的な連続体積の液滴を生成することができる。液滴の体積は、約 0.1 fL、約 1 fL、約 10 fL 及び約 100 fL から、約 1 μL 、約 500 nL、約 100 nL、約 1 nL、約 500 pL または約 200 pL の範囲の体積を提供するように制御することができる。特定の実施形態では、液滴の体積制御は、約 1 pL から約 150 pL、約 200 pL、約 250 pL または約 300 pL の範囲である。

【0154】

上記に示したように、本明細書で説明されたマイクロチャンネルに液滴を形成/合一する注入装置は、マイクロ流体「チップ」上に、または微粒子のコーティング、微粒子薬物担体の形成などを行う製造システムの流れの中に、他の処理モジュールと一体化したシステムを提供することができる。しかしながら、これらの利用は単なる例示であり、限定的なものではない。

【0155】

マイクロ流体装置は、数ナノリットルほどの小さな体積を操作することができる。マイクロ流体の反応体積が単一の哺乳動物細胞のサイズに近いため、これらの装置を用いた単一細胞 mRNA 解析において材料の損失が最小化される。細胞の死と共に mRNA が急激に劣化するため、マイクロ流体装置内部で生細胞を処理できることは、単一細胞トランスクリプトームの研究にとって大いに有利となる。単一のヒト胚性幹細胞 (human embryonic stem cell: hESC) における遺伝子発現の研究用に 10 nL の反応器を 26 個並列にした高集積マイクロ流体装置が報告されている (Zhong 等著、Lab on a Chip、2008 年、8 巻、68 - 74 頁; Zhong 等著、Curr. Med. Chem.、2008 年、15 巻、2897 - 2900 頁)。各種マイクロ流体装置では、細胞捕獲、mRNA 捕獲/精製、cDNA 合成/精製を含む、単一細胞 cDNA を得るための全てのシステムが本装置内で実現される。本装置及び本方法は、例えば、さらに処理を施すことができるように各細胞を封入し、かつ/または分離する効果的な手段を提供する。

【0156】

任意の数の手法を用いることにより、本明細書で説明された装置のチャンネルに沿って流体、または液滴、粒子、細胞などの混合物を輸送することができる。こうした手法としては、重力流、シリンジポンプ、蠕動ポンプ、界面動電ポンプ、気泡駆動ポンプ及び気圧駆動ポンプが挙げられるが、これらに限定されることはない。

【0157】

特定の例示的な、ただし限定的ではない実施形態では、本明細書で説明されたプラットフォームの 2 つの主用途が企図される。このような用途としては、以下のものが挙げられる。

【0158】

1. 大規模なコンビナトリアル混合薬物ライブラリの迅速な生成: 高反復率のパルスレーザーに結合された 2D 走査ミラーを用いて、同一のマイクロ流体チップ上に設けられた並列型液滴生成器 (例えば、図 6 を参照) を支援することができる。本明細書で説明された 3D マイクロ流体製造技術により、2D マイクロ流体に見られる相互接続の交差問題を

10

20

30

40

50

解決することができ、さらに、3Dマイクロチャネルの経路を選択して、同一チップ上において数百の試料チャンネルまで対応できることにより、大規模に複合化したコンビナトリアルライブラリを生成することができる。100万の異なった化学的組み合わせを有する大規模ライブラリの生成に要するのは、3時間未満となり得る(100組み合わせ/秒)。

【0159】

2. 本明細書で説明された液滴生成・合一プラットフォームは、米国特許公開第2012/0236299号に記載された筆者らのPLACSシステムと容易に一体化することができ、それにより、単一細胞の封入を高速に行い、それと共に、細胞が捕獲された液滴であって、細胞溶解緩衝液、プライマー及び他のPCR緩衝液といった単一細胞PCR解析用の他の生化学試薬を含む液滴を下流で合一することができる(図7)。このように一体化されたシステムにより、単一細胞の光学的サインのみならず、mRNA発現レベルなどの分子レベルの解析データをも同時に提供することができる初めての高スループットPLACSシステムが可能となる。

10

【0160】

本明細書において様々な実施態様を説明してきたが、それらは単なる例示として提示されたものであり、限定的なものではないことを理解すべきである。従って、本開示の範囲は、本明細書で説明された任意の実施態様によって限定されるべきではなく、以下において後に提示される特許請求の範囲及びその均等物に従ってのみ定められるべきである。本明細書で説明された実施例及び実施形態は単に例示のためのものであり、その範囲内での種々の改良または変更は、当業者に対して示唆され、本出願の趣旨及び範囲内、かつ添付された特許請求の範囲の適用範囲内に含まれるべきものであることが理解される。本明細書で言及される全ての公報、特許及び特許出願は、あらゆる目的のために、参照によってその内容全体が本明細書に援用される。しかしながら、参照により本明細書に援用された参照における用語の定義または使用が、本明細書で提供されるその用語の定義に矛盾または反する場合、本明細書で提供されるその用語の定義を適用するものとし、参照におけるその用語の定義は適用しないものとする。用語「含む(comprises)」及び「含むこと(comprising)」は、非排他的に要素、部品、またはステップに言及するものとして解釈すべきであり、言及される要素、部品またはステップが存在しても、利用されても、明示的に参照されない別の要素、部品またはステップと組み合わせられてもよいことを示している。

20

30

【 図 1 】

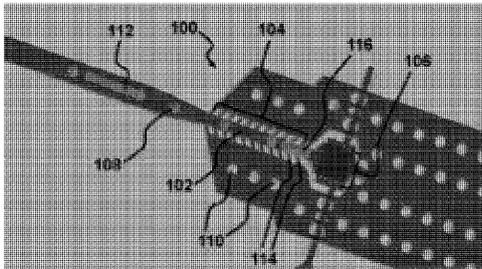
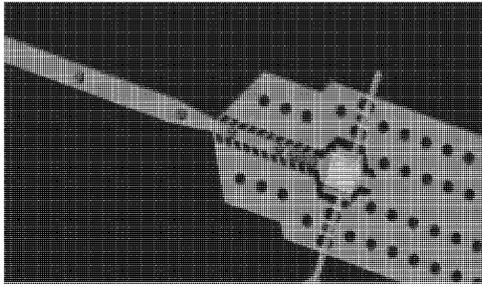


Fig. 1

【 図 3 】

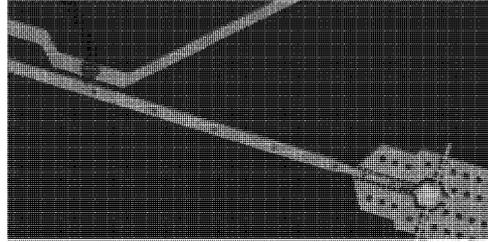


Fig. 3

【 図 4 】

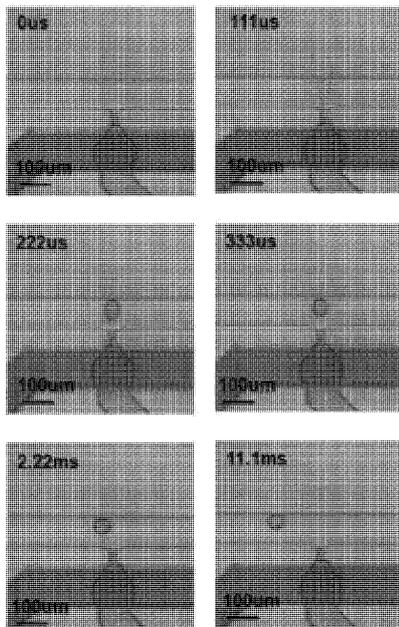


Fig. 4

【 図 6 】

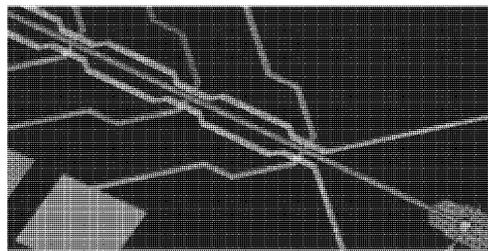


Fig. 6

【 図 7 】

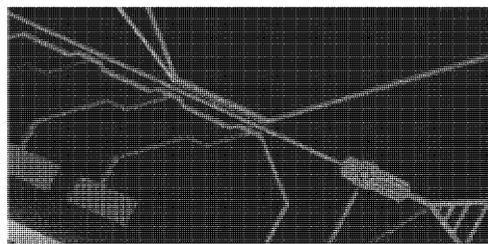


Fig. 7

【 図 9 A 】

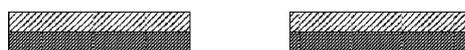


Fig. 9A

【 図 9 B 】



Fig. 9B

【 図 9 C 】



Fig. 9C

【 図 9 D 】



Fig. 9D

【 図 9 E 】

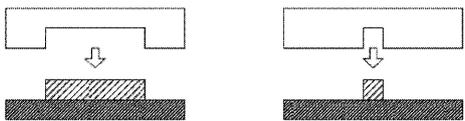


Fig. 9E

【 図 9 F 】



Fig. 9F

【 図 9 L 】



Fig. 9L

【 図 9 M 】

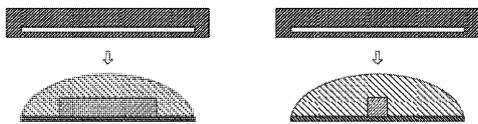


Fig. 9M

【 図 9 N 】



Fig. 9N

【 図 9 O 】



Fig. 9O

【 図 9 P 】



Fig. 9P

【 図 9 G 】



Fig. 9G

【 図 9 H 】



Fig. 9H

【 図 9 I 】

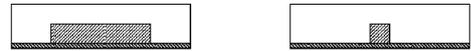


Fig. 9I

【 図 9 J 】

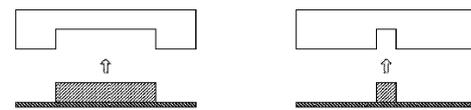


Fig. 9J

【 図 9 K 】

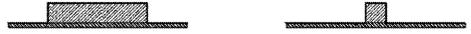


Fig. 9K

【 図 9 Q 】

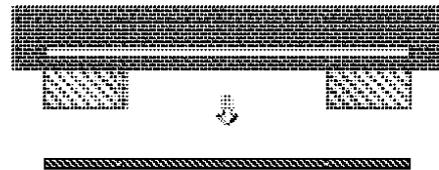


Fig. 9Q

【 図 9 R 】

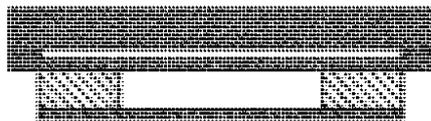


Fig. 9R

【 図 9 S 】

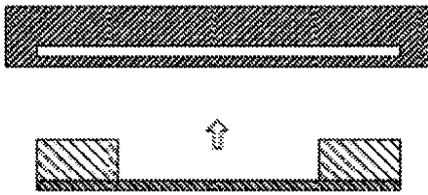


Fig. 9S

【 図 9 U 】

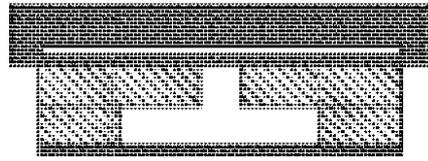


Fig. 9U

【 図 9 T 】

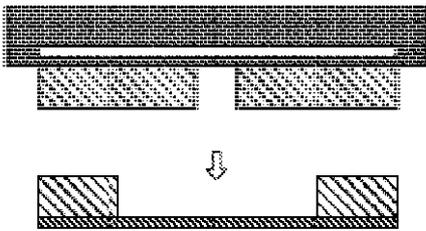


Figure 5T

Fig. 9T

【 図 9 V 】

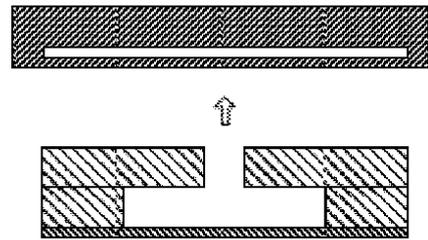


Fig. 9V

【 図 9 W 】

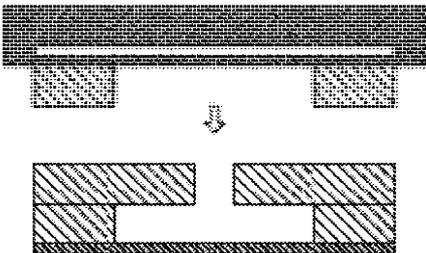


Fig. 9W

【 図 9 Y 】

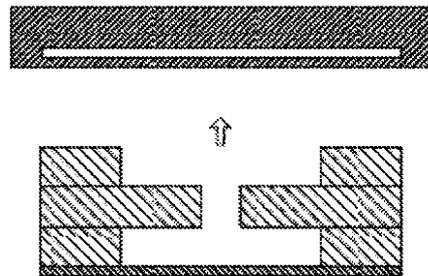


Fig. 9Y

【 図 9 X 】

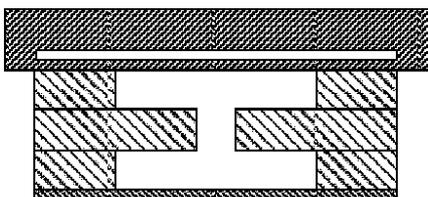


Fig. 9X

【 図 9 Z 】

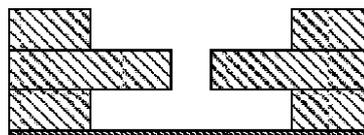


Fig. 9Z

【 図 9 Z A 】

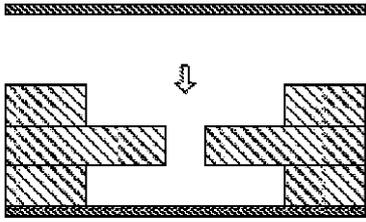


Fig. 9ZA

【 図 9 Z B 】

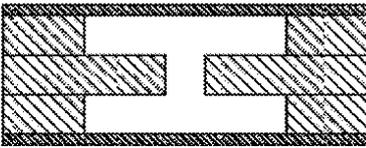
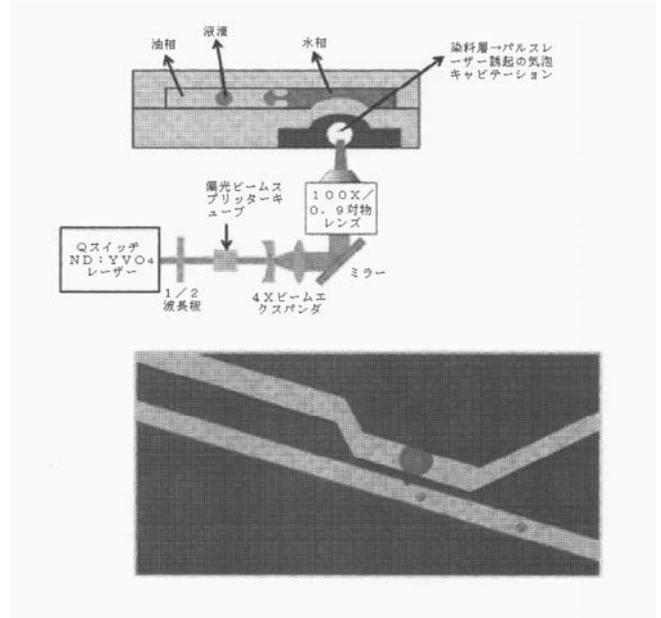
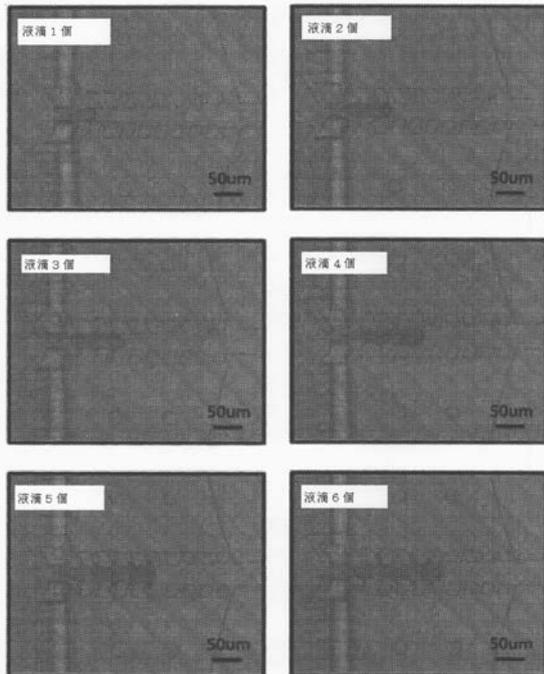


Fig. 9ZB

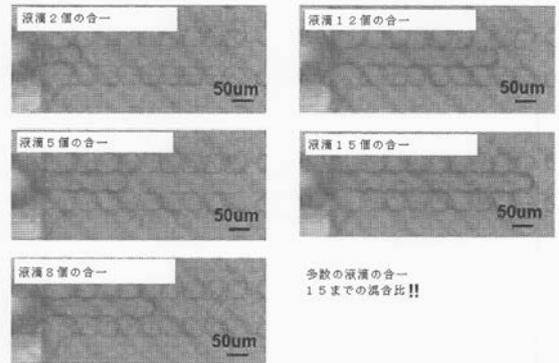
【 図 2 】



【 図 5 】



【 図 8 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2014/026185
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N 35/08(2006.01)i, G01N 33/48(2006.01)i, C12M 1/42(2006.01)i		
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) G01N 35/08; F04B 43/00; F16K 43/00; G05D 11/00; G01J 3/44; G01N 35/00; G01N 33/48; C12M 1/42		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: droplet merging, microfluidic, deformable chamber, cavitation		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2012-0236299 A1 (CHIOU, P. Y. et al.) 20 September 2012 See abstract, claim 78, paragraph [0051], fig. 6.	17-20
A		1-3
A	PARK, S. Y. et al., "High-speed droplet generation on demand driven by pulse laser-induced cavitation", Lab on a Chip, 21 March 2011, Vol. 11, Pages 1010-1012 See abstract, fig. 1.	1-3,17-20
A	KR 10-2009-0119029 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY FOUNDATION) 19 November 2009 See abstract, claims 1-3, figs. 1-6.	1-3,17-20
A	US 2006-0073035 A1 (SUNDARARAJAN, N.) 6 April 2006 See abstract, claims 1-34.	1-3,17-20
A	US 2002-0166582 A1 (O'CONNOR, S. D. et al.) 14 November 2002 See abstract, claim 33, paragraphs [0014]-[0017], [0059].	1-3,17-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 08 July 2014 (08.07.2014)		Date of mailing of the international search report 09 July 2014 (09.07.2014)
Name and mailing address of the ISA/KR International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer OH, Eung Gie Telephone No. +82-42-481-8744

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2014/026185

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: see below
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 7-8, 16, 29, 31, 39-40, 44, 49-51, 54-55, 57, 59, 62, 64, 66-68, 70, 72, 75-76, 78-79, 81-82, 84, 86, 88-89, 91, 93, 95, 97, 99-100 are unclear since they refer to multiple dependent claims which are not searchable due to not being drafted in accordance with the third sentence of Rule 6.4(a).

3. Claims Nos.: see the extra sheet
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2014/026185

Box II

Claims 4-6, 9-15, 21-28, 30, 32-38, 41-43, 45-48, 52-53, 56, 58, 60-61, 63, 65, 69, 71, 73-74, 77, 80, 83, 85, 87, 90, 92, 94, 96, 98 do not comply with PCT Rule 6.4(a) because multiple dependent claims should not serve as a basis for any other multiple dependent claim.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2014/026185

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012-0236299 A1	20/09/2012	WO 2013-120016 A2 WO 2013-120016 A3	15/08/2013 20/02/2014
KR 10-2009-0119029 A	19/11/2009	KR 10-0955845 B1	04/05/2010
US 2006-0073035 A1	06/04/2006	None	
US 2002-0166582 A1	14/11/2002	AU 2001-57047 A1 AU 2002-213115 A8 EP 1276565 A2 JP 2003-531018 A US 6481453 B1 US 6561208 B1 US 6755211 B1 WO 01-78893 A2 WO 01-78893 A3 WO 02-083310 A2 WO 02-083310 A3	30/10/2001 28/10/2002 22/01/2003 21/10/2003 19/11/2002 13/05/2003 29/06/2004 25/10/2001 30/05/2002 24/10/2002 23/01/2003

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I			テーマコード(参考)
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	B 0 1 J	19/12	B	
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 M	1/00	A	
	C 1 2 Q	1/68	A	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), EP(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, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ユ - チュン・クン
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 0 0 3 4・ロサンゼルス・ローズ・アヴェニュー・1 1 1 4
0・# 3 0 4

(72) 発明者 ベイ - ユ・イー・チョウ
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 0 0 2 5・ロサンゼルス・マルコム・アヴェニュー・1 9 2
1・# 1 0 1

(72) 発明者 ティン - シアン・エス・ウー
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 0 2 3 0・カルヴァー・シティ・セパルヴェータ・ブルヴァ
ード・5 2 1 5・ユニット・4 ビー

(72) 発明者 ユエ・チェン
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 0 0 6 6・ロサンゼルス・ヴェニス・ブルヴァード・1 1
8 1 1・アパートメント・2 4 2

(72) 発明者 マイケル・エー・テイテル
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 1 3 5 6・ターザーナ・ベックフォード・アヴェニュー・5
9 4 5

F ターム(参考) 2G058 DA02 DA07 EA14
3C081 AA13 BA25 BA45 BA48 BA53 BA55 BA59 CA13 CA26 CA27
DA03 DA06 DA07 DA08 DA10 DA11 DA31 EA26 EA32
4B029 AA07 BB16 BB20 CC01 FA12 FA15 GB02 GB09 GB10
4B063 QA13 QQ28 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR62 QS02 QS25
QS34 QS39 QX02
4G075 AA13 AA39 AA61 AA65 BA10 BB05 CA26 CA36 CA51 DA02
DA18 EB34 EB50 EC01 EC30 FB01 FB02 FB04 FB06 FB12
FC17