

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-545412

(P2023-545412A)

(43)公表日 令和5年10月30日(2023.10.30)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 M 3/06 (2006.01)	C 1 2 M 3/06	4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	
G 0 1 N 37/00 (2006.01)	G 0 1 N 37/00 1 0 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全52頁)

(21)出願番号	特願2023-521090(P2023-521090)	(71)出願人	596060697 マサチューセッツ インスティテュート オブ テクノロジー アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2 1 3 9 ケンブリッジ, マサチューセッツ ・アヴェニュー・7 7
(86)(22)出願日	令和3年10月6日(2021.10.6)	(74)代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85)翻訳文提出日	令和5年5月25日(2023.5.25)	(74)代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(86)国際出願番号	PCT/US2021/053801	(74)代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(87)国際公開番号	WO2022/076581	(74)代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(87)国際公開日	令和4年4月14日(2022.4.14)	(74)代理人	230113332
(31)優先権主張番号	63/088,900		
(32)優先日	令和2年10月7日(2020.10.7)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA( AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 マイクロ流体細胞培養デバイス

(57)【要約】

熱可塑性マイクロ流体チップの大量生産のための材料および作製方法が、開発されている。応力緩和特徴を伴うエラストマダイヤフラムが、マイクロ流体弁、ポンプダイヤフラム、およびダイヤフラムマイクロポンプにおいて使用されることができる。完全な流体変位のための最適化されたポンプチャンバ設計およびチャンバ幾何学形状が、提供される。マイクロ流体圧力調整器が、背圧調整器構成における空気圧作動弾性膜を使用する。マイクロ流体アキュムレータが、マイクロ流体チップ内に加压流体を貯蔵する。細胞培養のための可撤性キャップおよび迅速解放上部が、説明される。ヒドロゲルおよびECM足場を組み込むための方法が、開発されている。電空マニホールドが、複数のマイクロ流体デバイスを垂直に、または回転機構上で接続し、制御する。

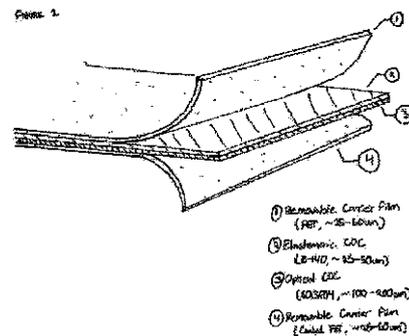


FIG. 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

環状オレフィンコポリマー膜を備える、マイクロ流体デバイス。

## 【請求項 2】

光学的に透明である環状オレフィンコポリマー膜を備える、請求項 1 に記載のデバイス。

## 【請求項 3】

前記環状オレフィンコポリマーは、エラストマである、請求項 1 または 2 のいずれかに記載のデバイス。

## 【請求項 4】

前記デバイスは、細胞またはその生成物の培養または試験のためのマイクロ流体チップである、請求項 1 - 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

## 【請求項 5】

前記デバイスは、ポンプ、弁、アキュムレータ、圧力調整器、酸素供給器、および圧力センサから成る群から選択される、請求項 1 - 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

## 【請求項 6】

マイクロ流体チップにおける使用のための環状オレフィンコポリマーから作製される膜を接合するための方法であって、

平坦な基板によって支持される、随意に、二軸配向ポリエチレンテレフタレート等のポリマーから形成される非相互作用キャリアフィルム上に環状オレフィンコポリマーフィルムを設置することと、

マイクロ流体チップのリジッド構成要素を前記キャリアフィルムおよび基板と整合させることと、

整合されたフィルムを伴う前記リジッド構成要素を熱ラミネータを通して通過させるか、または、熱プレスまたはホットプレートに暴露することとを含む、方法。

## 【請求項 7】

ロール押出プロセスを使用し、レーザ加工を使用して前記接合されたフィルムをあるサイズに切断することを含む、複数の膜を接合するための請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

水フィルムの毛細管作用を使用し、切断部分を定位置に固着させることを含む、エラストマポリマーフィルムをエッチングするための水支援レーザ機械加工方法。

## 【請求項 9】

熱シンクおよび/または熱または赤外線吸収層を提供し、レーザ機械加工プロセスにおける過剰な熱を制御することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

## 【請求項 10】

膜をネガ型特徴を伴う多孔性真空チャックに適用し、真空および熱を印加し、熱成形エラストマ膜を成型することを含む、熱可塑性エラストマ膜を成型または成形するための方法。

## 【請求項 11】

前記膜は、環状オレフィンコポリマーから形成される、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記膜は、請求項 1 - 5 のいずれか 1 項に記載の前記マイクロ流体デバイスの構成要素である、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 13】

最大 10 パーセントの歪みにおける限定された弾性変形を伴う 0.2 ~ 3 ミリメートルの高変位を有するマイクロ流体弁およびポンプダイヤフラムにおける使用のためのローリングエラストマダイヤフラム。

## 【請求項 14】

外部ローリングダイヤフラム、内部ローリングダイヤフラム、形状変化ダイヤフラム、

10

20

30

40

50

横ローリングダイヤフラム、ダイヤフラムマイクロポンプ、圧力センサ、および圧力アキュムレータから成る群から選択されるデバイス構成要素における使用のために成形される、請求項 13 に記載のダイヤフラム。

【請求項 15】

ローリングダイヤフラムを備えるポンプチャンバと、5パーセントを下回る誤差を伴って固定体積を変位させ得る決定性変位ストロークを伴うポンプチャンバとを備えるポンプにおける、請求項 14 に記載のダイヤフラム。

【請求項 16】

前記ダイヤフラムは、圧縮ガスおよび/または真空を使用して作動されることができ  
るデバイスにおける、請求項 13 に記載のダイヤフラム。

10

【請求項 17】

シール特徴としての空気圧作動弾性膜と、付勢要素としての圧縮ガスとを備える、マイクロ流体圧力調整器。

【請求項 18】

背圧調整器として機能するように構造化される、請求項 17 に記載の調整器。

【請求項 19】

前記調整器は、前記調整器の下流の流体圧力を制御し、前記膜は、これが前記膜における歪みエネルギーに敏感ではないように、20~80 Mpa の低剛性および 500 パーセントを上回る破壊伸び率を有し、前記流体は、いったん前記流体圧力が、シール圧力を超えると、流動し始め、随意に、前記流体圧力は、圧縮ガス源を調節することによって調整  
されることができ、前記流動は、流体回路において応従性を追加することによって安定化  
されることができ、請求項 18 に記載の調整器。

20

【請求項 20】

前記膜内の貯蔵された弾性エネルギーを使用して圧力を貯蔵するための可撓性膜を使用  
するアキュムレータ、ガス気泡を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まり  
マイクロ流体チャネルを使用するマイクロ流体アキュムレータ、および片側上の空気お  
よびリザーバ内に貯蔵される流体を伴って加圧されるローリングダイヤフラムを使用する  
マイクロ流体アキュムレータから成る群から選択される、マイクロ流体チップ内に加圧流  
体を貯蔵する、マイクロ流体アキュムレータ。

【請求項 21】

光学レベルまたは静電容量の変化と、変形可能な膜とを備え、弾性膜の変形は、圧力の  
増加に伴って生じ、随意に、チャネル圧力に比例するマイクロ流体チャネル内の捕獲され  
たガス気泡の長さを測定するための光学手段を備える、マイクロ流体圧力センサ。

30

【請求項 22】

形成の時点でヒドロゲルを位置付ける、および/または流体流動のために前記ヒドロゲ  
ル内にチャネルを作成するために使用される、移動可能、可撤性、または溶解可能支持構  
造を提供することを含み、随意に、これらの構造が、重合後に前記ヒドロゲルを損傷させ  
ることなく除去されることを可能にするポリテトラフルオロエチレン(「PTFE」)を  
備える、マイクロ流体デバイスにおいてヒドロゲルを作製する方法。

【請求項 23】

前記マイクロ流体デバイス内に前記ヒドロゲルを位置付けるかまたは固着させるための  
溶解可能または可撤性構造を備える、請求項 22 に記載の方法。

40

【請求項 24】

前記デバイスは、前記ヒドロゲルを成形するための移動可能フラップを備える、請求項  
22 に記載の方法。

【請求項 25】

前記デバイスは、構造であって、その中に前記構造が挿入されるマニホールド内に挿入  
するための、および/または位置付けるための構造を備える、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 26】

前記ヒドロゲルは、表面張力によって定位置に保持され、培地チャネルを分離する、お

50

よび/または膨潤の関数として流動構成を変化させるために使用される、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

請求項 2 2 - 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法によって生産される、マイクロ流体デバイス。

【請求項 2 8】

光学的に透明な窓、より良好な応従性のためのエラストマ特徴、および改良されたシールのためのフィルム上の接着剤パターンを備えるキャップの群から選択される、細胞培養のためのマイクロ流体デバイスにおける使用のための可撤性キャップ。

【請求項 2 9】

ばね荷重レバー、トグルクランプ、またはオーバーセンターラッチを使用して圧縮されるガasketを備える、マイクロ流体チップのための迅速解放上部。

【請求項 3 0】

空気圧ラインを備え、マニホールドが、垂直に、または回転機構上にマイクロ流体デバイスをスタックし、前記空気圧ラインへの前記マイクロ流体デバイスの迅速接続を可能にするためのラッチシステムを備える、電空マニホールド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

(関連出願の相互参照)

本願は、参照することによってその全体として本明細書に組み込まれる、2020年10月7日に提出された米国仮出願第63/088,900号の利益および優先権を主張する。

【0 0 0 2】

本発明は、概して、マイクロ流体細胞培養デバイスにおいて使用されるプロセスおよび構成要素を製造する分野にある。

【背景技術】

【0 0 0 3】

マイクロ流体工学は、幾何学的に小さいスケール(典型的には、ミリメートル未満)に制約される、流体の挙動、精密な制御、および操作を指す。これは、工学、物理学、化学、生化学、ナノテクノロジー、およびバイオテクノロジーを伴う、学際的な分野である。マイクロ流体工学は、低体積の流体を処理し、多重化、自動化、および高処理能力スクリーニングを達成するシステムの設計において実践的な用途を有する。

【0 0 0 4】

マイクロ流体細胞培養は、生物学、生化学、工学、および物理学からの知識を統合し、マイクロスケールでの細胞培養を伴う培養、維持、分析、および実験のためのデバイスおよび技法を開発する。これは、人工的に加工されたマイクロシステム内での少ない流体体積( $\mu\text{L}$ 、 $\text{nL}$ 、 $\text{pL}$ )の操作のために使用される技術のセットである、マイクロ流体工学と、制御された実験室環境内での細胞の成長および増殖を伴う、細胞培養とを融合させる。マイクロ流体工学は、マイクロ流体チャンネルの寸法が、細胞の物理的スケール(約数マイクロメートル)によく適しているため、細胞生物学研究のために使用されている。例えば、真核生物細胞は、マイクロ流体寸法の範囲内に該当する、 $10 \sim 100 \mu\text{m}$ の線形寸法を有する。マイクロ流体細胞培養の重要となる構成要素は、細胞構造、機能、挙動、および成長を調整する、可溶性因子を含む、細胞微小環境を模倣することが可能であることである。デバイスに関する別の重要な構成要素は、これらの勾配が、細胞に対する化学向性、走化性、および走触性効果を理解する上で重要な役割を果たすため、生体内に存在する安定した生体分子勾配を生成する能力である。従来の2次元(2D)細胞培養は、平坦な表面、例えば、ウェルプレートの底部上で行われる細胞培養であり、従来の方法として公知である。これらのプラットフォームは、後続実験において使用されるべき細胞を成長および増殖させるために有用であるが、それらは、細胞が自由に移動しない、または

10

20

30

40

50

細胞 - 細胞外マトリクス材料相互作用に依存する生体内で観察されるような機能を果たすことができないため、刺激に対する細胞応答を監視するための理想的な環境ではない。本問題に対処するために、多くの方法が、3次元(3D)天然細胞環境を作成するために開発されている。ソフトリソグラフィを通じたポリ(ジメチルシロキサン)(PDMS)マイクロ流体デバイス加工の出現以降、マイクロ流体デバイスは、進歩し、細胞培養のための自然な3D環境を模倣するために非常に有益であることが証明されている。

#### 【0005】

細胞生物学、微細加工、およびマイクロ流体工学の最近の進歩は、より高い予測力を伴う前臨床アッセイの基礎を提供し得る生体機能チップ(OOC)として公知である、ヒト器官の機能的ユニットの微細工学設計モデルの開発を可能にしている。初期の実施形態が、説明および商業化されている。例えば、Griffith, et al. の米国特許第6,197,575号は、複雑な階層的組織または器官構造の播種、付着、および培養のために好適なマイクロマトリクスおよび灌流アセンブリを説明している。Inman, et al. の米国特許第8,318,479号は、マルチウェルプレートフォーマットにおける培養およびアッセイのために好適な毛細管床の長さスケールでの灌流を促進するシステムを説明している。米国出願公開第US 2016/0377599号および第US 2017/0227525 A1号は、統合された圧送、レベリング、および感知を伴う器官マイクロ生理学システムを説明している。

#### 【0006】

マイクロ生理学システム(MPS)と呼ばれる、これらのプラットフォームは、3D多細胞相互作用および栄養素輸送および/または機械的刺激の動的調整を反復するために、組織工学設計原理と微細加工またはマイクロ加工技法を統合することによって、生理学的機能を模倣するように設計される(Huh D, et al., Lab Chip, 12(12):2156-2164 (2012); Sung JH, et al. Lab Chip 13(7):1201-1212 (2013); Wikswa JP, et al., Exp Biol Med (Maywood) 239(9):1061-1072 (2014); Livingston CA, et al., Computational and Structural Biotechnology Journal 14:207-210 (2016); Yu J, et al., Drug Discovery Today, 19(10):1587-1594 (2014); Zhu L, et al. Lab Chip, 16(20):3898-3908 (2016))。有意な進歩が、個々のMPS(例えば、心臓、肺、肝臓、脳)の開発において見られている(Roth A, et al., Adv Drug Deliver Rev, 69-70:179-189 (2014); Huebsch N, et al. Scientific Reports, 6:24726 (2016); Domansky K, et al. Lab Chip 10(1):51-58 (2010))が、MPSの相互接続に向けた取り組みは、まだ始まったばかりであり、殆どの研究は、主として、基本的な生存能力および毒性実証に焦点を当てている(Oleaga C, et al. Sci Rep 6:20030 (2016); Esch MB, et al., Lab Chip 14(16):3081-3092 (2014); Maschmeyer I, et al., Lab Chip 15(12):2688-2699 (2015); Materne EM, et al. J Biotechnol 205:36-46 (2015); Loskill P, et al., Plos One 10(10):e0139587 (2015))。しかしながら、毒性ではなく、臨床的有効性の欠如が、第II相および第III相臨床試験(最も費用の高い段階)における薬物減少の主な原因として識別された(Kubinyi H, Nat Rev Drug Discov 2(8):665-668 (2003); Cook D, et al. Nat Rev Drug Discov 13(6):419-431 (2014); Denayer T, et al., New Horizons in Transl 50

ational Medicine, 2(1):5-11 (2014))。主な要因は、疾患機構の不完全な理解、予測バイオマーカの欠如、および種間差を含む。標的同定/検証およびバイオマーカ発見のためのヒト化モデルシステムの必要性に起因して、薬物開発における差し迫った満たされていない必要性が、存在している。

#### 【0007】

毒物学および薬力学研究は、一般的な用途であるが、薬物動態研究は、マルチMPSプラットフォームにおいて限定されている。また、現在のマルチMPSシステムは、非常に少ない流体体積で動作するための従来のマイクロ流体チップと関連付けられる閉鎖フォーマットを採用し得る(Anna SL, Annu. Rev. Fluid Mech. 48, 285-309 (2016))。これらのシステムのための現在の加工プロセスは、キャストブルエラストマポリマーの使用を要求する(Halldorsson S, et al., Biosens. Bioelectron. 63, 218-231 (2015))。

#### 【0008】

国際特許出願第PCT/US2019/030216号「Pumps and Hardware For Organ-On-Chip Platforms」(Massachusetts Institute of Technology)は、ポンプ、弁、および、これらのシステムを制御し、作動させるためのデバイスを含む、流体取扱に対するいくつかの異なる改良を説明している。

これらのデバイスを作製するための材料および新しい加工方法

#### 【0009】

細胞培養に関連するマイクロ流体デバイスに関するいくつかの考慮事項は、加工材料(例えば、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン)、バルク材料性質(例えば、光学的透明度、表面性質)、加工方法(例えば、射出成型、ホットエンボス)、培養領域幾何学形状、培地を送達および除去する方法)、および受動的な方法(例えば、重力駆動流動、毛細管ポンプ、ラプラス圧力ベースの「受動的圧送」)または流率制御デバイス(すなわち、灌流システム)を使用した流動構成を含む。マイクロ流体デバイスの柔軟性は、空間パターンに対する改良された制御による多重培養研究の発展に大きく寄与する。PDMSが、従来的に、生体適合性マイクロデバイスの迅速な試作を可能にしているため、PDMSから作製される閉鎖チャンネルシステムが、最も一般的に使用されている。例えば、混合共培養が、共カプセル化システムによって、液滴ベースのマイクロ流体工学において容易に達成され、パラクリンおよびジャクスタクリンシグナリングを研究することができる。2つのタイプの細胞が、細胞含有アガロース溶液の2つの流れを組み合わせることによって、液滴中に共カプセル化される。ゲル化後、アガロースマイクロゲルは、細胞共培養のための3D微小環境としての役割を果たす。マイクロ流体チャンネル内の分離共培養が、パラクリンシグナリングを研究するために使用される。ヒト肺胞、上皮細胞、および微小血管内皮細胞が、肺胞-毛細血管障壁を模倣するために、薄い多孔性の延伸可能なPDMS膜によって分離される、コンパートメント化PDMSチャンネル内で共培養されることができる。

#### 【0010】

全てのポリマーが、生体適合性であるわけではなく、PDMS等のいくつかの材料は、小分子の望ましくない吸着または吸収を引き起こすため、加工材料は、細胞培養デバイスの設計において重要である。加えて、未硬化PDMSオリゴマーは、細胞培養培地の中に浸出し得、これは、微小環境に害を及ぼし得る。PDMSの代替として、置換材料として熱可塑性物質(例えば、ポリスチレン、ポリスルホン、PMMA、COC)の使用が進んでいる。これらの材料は、小生体分子との相互作用のトレードオフを伴わずに、良好な光学的透明度および小さい特徴の再現を提供する。これらの材料を使用したデバイスを開工する能力は、いくつかの一意の課題を提起し、これは、マイクロ流体工学コミュニティにおけるその普及を妨げている。

#### 【0011】

全てのポリマーが、生体適合性であるわけではなく、PDMS等のいくつかの材料は、小分子の望ましくない吸着または吸収を引き起こすため、加工材料は、細胞培養デバイスの設計において重要である。加えて、未硬化PDMSオリゴマーは、細胞培養培地の中に浸出し得、これは、微小環境に害を及ぼし得る。PDMSの代替として、置換材料として熱可塑性物質(例えば、ポリスチレン、ポリスルホン、PMMA、COC)の使用が進んでいる。これらの材料は、小生体分子との相互作用のトレードオフを伴わずに、良好な光学的透明度および小さい特徴の再現を提供する。これらの材料を使用したデバイスを開工する能力は、いくつかの一意の課題を提起し、これは、マイクロ流体工学コミュニティにおけるその普及を妨げている。

加工方法もまた、マイクロ流体デバイスを正常に作成する際に重要である。PDMS デバイスは、通常、成型され、ガラス顕微鏡スライドにプラズマ接合されるが、このプロセスは、熱可塑性ポリマーに関して実現不可能である。光学的に透明な熱可塑性マイクロ流体デバイスの積層は、多くの場合、高価な機器（例えば、超音波溶接、レーザ溶接）を要求し、デバイスと光学窓との間に低い強度および信頼性の低い接合を生じやすい。

【0012】

チップ上の流体圧力および流率の制御が、生体内流体条件を模倣するために重要である。これは、重力ベースの流動、オンチップポンプ、またはシリンジポンプ等の外部ポンプを使用して行われることができる。全ての既存の圧送プラットフォームは、流体圧力または流体流率のいずれかが制御されることを可能にする。流体圧力に対する制御を有することが、望ましい。

10

【0013】

マイクロスケールデバイス内の細胞の空間的編成は、細胞が生体内で機能を果たすための培養領域幾何学形状に大きく依存する。例えば、長く狭いチャンネルが、神経細胞を培養するために所望され得る。灌流システムもまた、選択される幾何学形状に影響を及ぼし得る。例えば、シリンジポンプを組み込むシステムでは、灌流入口、灌流出口、廃棄物、および細胞装填のためのチャンネルが、細胞培養維持のために追加される必要があるであろう。マイクロ流体細胞培養における灌流は、チップ上での長い培養期間を可能にし、細胞分化を可能にするために重要である。

【0014】

したがって、ポリジメチルシロキサン（PDMS）に対する製造が容易な代替として、改良された光学的透明度、生体適合性、および統合された可撓性膜を伴う熱可塑性マイクロ流体デバイスを製造するための新しい材料および方法を提供することが、本発明の目的である。

20

【0015】

薄いエラストマ膜を使用する、マイクロ流体デバイスにおける流体取扱に対する改良を提供することが、本発明の別の目的である。

【0016】

より低い応力を誘発し、より正確である、マイクロ流体デバイスのための空気圧作動ポンプにおける使用のための改良されたポンプチャンバおよびダイヤフラムを提供することが、本発明のさらなる目的である。

30

【0017】

流体シール圧力を強化する、最適化された低体積弁幾何学形状を提供することが、本発明の別の目的である。

【0018】

圧力下で流体体積を貯蔵するための液圧アキュムレータと、マイクロ流体チャンネル内のシステム圧力を制御するための背圧調整器とを提供することが、本発明のなおも別の目的である。

【0019】

可撤性構造を伴うヒドロゲル材料を形成および含有し、およびヒドロゲル足場のタイプを活用する方法を含む、マイクロ流体デバイスにおけるヒドロゲル含有マトリクスを作製および使用する改良された方法を提供することが、本発明のなおもさらなる目的である。

40

【0020】

高処理能力研究のために、複数のマイクロ流体デバイスを同時に制御し得る、細胞培養プラットフォームを提供することが、本発明の別の目的である。

【0021】

高度な制御特徴および相互接続を伴う使い捨てマイクロ流体チップを提供することが、本発明のさらなる目的である。

【先行技術文献】

【特許文献】

50

## 【 0 0 2 2 】

【特許文献1】米国特許出願公開第2016/0377599号明細書

【特許文献2】米国特許出願公開第2017/0227525号明細書

## 【発明の概要】

## 【課題を解決するための手段】

## 【 0 0 2 3 】

マイクロ流体デバイスのための材料および製造方法

統合されたエラストマ膜を伴う環状オレフィンコポリマーから作製されたマイクロ流体デバイスを接合するための方法が、開発されており、これは、ポリジメチルシロキサン（「PDMS」）等の材料の使用を伴わずに、ポンプ、弁、アキュムレータ、圧力調整器、酸素供給器、および圧力センサを含む、広い範囲のマイクロ流体構成要素を可能にする。これらのデバイスは、高度なプロセス制御を伴う高処理能力使用のために、電空制御ユニットと統合されることができる。プロセスは、細胞培養用途のために、光学的に透明な耐溶媒性の生体適合性ポリマーを接合する。これらのデバイスの接合強度および光学性質は、PDMA等の他の材料のものをはるかに超える。これらの材料および方法は、ポンプ、弁、圧力調整器、アキュムレータ、およびオンチップ感知要素を用いて、システム全体を通して制御された流率およびプロセスを伴うマイクロ流体システムの加工のために有用である。

10

## 【 0 0 2 4 】

マイクロ流体デバイスにおける使用のための薄フィルムを製造する方法が、開発されている。一実施形態では、切断部分を定位置に固着させるために水フィルムの毛細管作用を使用する、エラストマポリマーフィルムをエッチングするための水支援レーザー機械加工技法が、開発されている。本方法はまた、レーザー機械加工プロセスにおける過剰な熱を制御するために、熱シンクおよびIR吸収層を提供する。別の方法では、ネガ型特徴を伴う多孔性真空チャックが、熱成形エラストマ膜のための金型としての役割を果たす。

20

## 【 0 0 2 5 】

カスタム光学フィルムが、光学窓を伴う熱可塑性マイクロ流体チップを容易に加工するために開発されている。フィルムは、エラストマCOCの薄層に接合される高温等級のCOC上の可撤性ポリエチレンキャリアフィルムから成る。エラストマCOCは、二軸配向ポリエチレンテレフタレート（MYLAR（登録商標））等のポリマーから作製される、キャリアフィルムによって保護される。本フィルムは、ロール積層プロセスにおいて容易に積層されることができる、または熱プレスまたはホットプレートを使用して接合されることができる。フィルムは、ロール押出プロセスにおいて大量生産され、従来のレーザー加工技法を使用してあるサイズに切断されることができる。

30

## 【 0 0 2 6 】

カスタム接合プロセスが、薄いエラストマフィルムをマイクロ流体チップに積層するために開発されている。フィルムは、薄フィルム接着剤のために使用されるもののような非相互作用キャリアフィルム上に設置され、平坦な基板によって支持される。リジッド構成要素は、膜に整合され、熱ラミネータを通して通過される。キャリアフィルムおよび支持構造の使用は、膜の熱による反りを伴わずに、チップへの高強度接合を可能にする。

40

## 【 0 0 2 7 】

エラストマ膜プロセスを特徴とする新しいオンチップ構成要素は、熱プレスまたはホットプレートを使用して接合されることができる。フィルムは、ロール押出プロセスにおいて大量生産され、従来のレーザー加工技法を使用してあるサイズに切断されることができる。

## 【 0 0 2 8 】

カスタム接合プロセスが、薄いエラストマフィルムをマイクロ流体チップに積層するために開発されている。フィルムは、薄フィルム接着剤のために使用されるもののような非相互作用キャリアフィルム上に設置され、平坦な基板によって支持される。リジッド構成要素は、膜に整合され、熱ラミネータを通して通過される。キャリアフィルムおよび支持

50

構造の使用は、膜の熱による反りを伴わずに、チップへの高強度接合を可能にする。

エラストマ膜を特徴とするオンチップ構成要素

【0029】

応力緩和特徴を伴うエラストマダイヤフラムが、マイクロ流体弁およびポンプダイヤフラムにおいて使用されるために開発されている。本ローリングダイヤフラムは、転動し、限定された弾性変形を伴う高変位を被る。これらは、外部ローリングダイヤフラム、内部ローリングダイヤフラム、形状変化ダイヤフラム、および横ローリングダイヤフラムを含む。信頼性のある変位体積および改良された信頼性を確実にする、最適化されたポンプチャンバを伴うダイヤフラムマイクロポンプが、開発されている。1つのポンプチャンバは、ローリングダイヤフラムを特徴とし、1つは、予測可能な変位ストロークを伴うポンプチャンバを特徴とする。ローリングダイヤフラムポンプチャンバは、ローリングダイヤフラムを使用し、チャンバ内の流体体積を変位させる。ダイヤフラムは、圧縮ガスおよび真空を使用して作動されることができる。別のポンプチャンバ設計は、ポンプチャンバからの完全な流体変位を保証する、最適化された形状である。チャンバ幾何学形状は、膜が、ポンプストロークの間にポンプチャンバとの接触リングを留保するように、加圧荷重下の可撓性膜の弾性応答を中心に設計される。本特徴は、流体の小さいポケットがダイヤフラム内に捕獲される機会を排除し、信頼性のある変位体積を確実にする。

10

【0030】

好ましい実施形態では、応力緩和特徴を伴うエラストマダイヤフラムが、マイクロ流体弁およびポンプダイヤフラムにおいて使用されるために開発されている。本ローリングダイヤフラムは、転動し、限定された弾性変形を伴う高変位を被る。これらは、外部ローリングダイヤフラム、内部ローリングダイヤフラム、形状変化ダイヤフラム、および横ローリングダイヤフラムを含む。信頼性のある変位体積および改良された信頼性を確実にする、最適化されたポンプチャンバを伴うダイヤフラムマイクロポンプが、開発されている。1つのポンプチャンバは、ローリングダイヤフラムを特徴とし、1つは、予測可能な変位ストロークを伴うポンプチャンバを特徴とする。ローリングダイヤフラムポンプチャンバは、ローリングダイヤフラムを使用し、チャンバ内の流体体積を変位させる。ダイヤフラムは、圧縮ガスおよび真空を使用して作動されることができる。別のポンプチャンバ設計は、ポンプチャンバからの完全な流体変位を保証する、最適化された形状である。チャンバ幾何学形状は、膜が、ポンプストロークの間にポンプチャンバとの接触リングを留保するように、加圧荷重下の可撓性膜の弾性応答を中心に設計される。本特徴は、流体の小さいポケットがダイヤフラム内に捕獲される機会を排除し、それによって、信頼性のある変位体積を確実にする。

20

30

【0031】

シール特徴としての空気圧作動弾性膜と、付勢要素としての圧縮ガスとを使用する、マイクロ流体圧力調整器が、開発されている。好ましい実施形態では、流体は、これが他方の側上の圧縮ガスによって付与される圧力を克服するまで、弾性膜に対して圧力を蓄積し、背圧調整器としての役割を果たす。代替実施形態では、調整器は、調整要素の下流の流体圧力を制御する。ダイヤフラムは、これが膜における歪みエネルギーに敏感ではないように、低剛性を有するように設計される。流体は、いったん流体圧力が、シール圧力を超えると、流動し始める。流体圧力は、圧縮ガス源を調節することによって調整されることができ、流動は、流体回路において応従性を追加することによって安定化されることができる。

40

【0032】

いくつかの異なるタイプのマイクロ流体アキュムレータが、マイクロ流体チップ内に加圧流体を貯蔵するために使用されることができる。一実施形態では、アキュムレータは、膜内の貯蔵された弾性エネルギーを使用して圧力を貯蔵するための可撓性膜を使用する。別の実施形態では、マイクロ流体アキュムレータが、ガス気泡を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まりマイクロ流体チャンネルを使用する。第3の実施形態では、マイクロ流体アキュムレータは、片側上の空気およびリザーバ内に貯蔵される流体を伴

50

って加圧される、ローリングダイヤフラムを使用する。

【0033】

いくつかのオンチップ圧力センサが、開発されている。一実施形態では、センサは、光学レベルまたは静電容量の変化と、変形可能な膜とを使用し、弾性膜の変形は、圧力の増加に伴って生じる。別の実施形態では、カメラが、チャンネル圧力に比例する、マイクロ流体チャンネル内の捕獲されたガス気泡の長さを測定するために使用される。

ヒドロゲル配設および組織足場のための方法

【0034】

種々のヒドロゲル形成技法が、説明される。一実施形態では、可撤性または溶解可能支持構造が、形成の時点でヒドロゲルを位置付ける、および/または流体流動のためにヒドロゲル内にチャンネルを作成するために使用される。代替実施形態では、折畳可能フラップが、ヒドロゲルを成形するために使用され、次いで、邪魔にならないように折畳される。なおも別の実施形態では、チャンネルが、その中にそれらが挿入されるマニホールド上の特徴に合致する、容器内の楔またはチャンネルの作成を通して作成される。また別の実施形態では、表面張力によって定位置に保持される、スロット形懸滴ヒドロゲルが、培地チャンネルを分離し、膨潤の関数として流動構成を変化させるために使用される。ポリテトラフルオロエチレン(「PTFE」)を含む、非接着性ポリマーの使用は、これらの構造が、重合後にヒドロゲルを損傷させることなく除去されることを可能にする。

【0035】

種々の細胞外マトリクス(「ECM」)材料の足場が、マイクロ流体チップおよびトランスウェルインサートにおける使用のために、レーザ切断されることができる。レーザ切断孔は、サイズおよび形状において、数ミクロンのサイズから最大数ミリメートルに変動することができる。光学的に透明な薄フィルムの使用は、これらの足場が撮像可能であることを可能にし、疎水性性質は、ECMが液相に組み込まれることを可能にする。

高処理能力細胞培養研究のためのプラットフォーム

【0036】

可撤性キャップが、細胞培養用途のためのマイクロ流体デバイスにおける使用のために設計されている。これらは、光学的に透明な窓、より良好な応答性のためのエラストマ特徴、または改良されたシールのためのフィルム上の接着剤パターンを含んでもよい。マイクロ流体チップのためのリザーバもまた、2位置細胞培養キャップおよび他の既存のキャップ設計に適応するように設計されることができる。別の実施形態では、ばね荷重レバー、トグルクランプ、またはオーバーセンターラッチを使用して圧縮されるガスケットを使用する、マイクロ流体チップのための迅速解放上部が、開発された。

【0037】

垂直に、または回転機構上にデバイスを組み込む、マイクロ流体デバイスをスタックするための電空マニホールドが、開発されている。これらのマニホールドは、高処理能力実験のために、空気圧信号を複数のチップに分配する。個々のマニホールドはまた、空気圧ラインへのマイクロ流体デバイスの迅速な接続を可能にするためのラッチシステムを特徴とする。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】図1は、約25~60ミクロン厚さのポリエチレンテレフタレート(「PET」)等のポリマーから形成される、可撤性キャリアフィルム1、4とともに、E-140等のCOCポリマーから形成される、約25~60ミクロンのエラストマフィルム2、COC、好ましくは、6013F04等の光学的に透明なポリマーから形成される、約100~200ミクロンの厚さの光学フィルム3を示す。

【0039】

【図2】図2は、約130の温度まで加熱された、加熱ロールラミネータを通して、平坦な基板上に、好ましくは、シリコン剥離コーティングを伴うポリエチレンフィルム等の材料から形成される保護カバーフィルムと組み合わせて、フィルム7を送ることによ

10

20

30

40

50

て、シリコンウエハ等の平坦な基板にエラストマCOCフィルムを整合させ、マイクロ流体チップ上に整合されたフィルムを生産するプロセスの図である。最終製品は、典型的には、全てシリコンウエハの上にある、容易に除去され得る保護フィルム、エラストマCOCおよび/またはポリメタクリレート(PMMA)層、マイクロ流体チップを上部に有するであろう。

【0040】

【図3】図3は、水フィルムの毛細管作用を使用して、エラストマポリマーフィルムをエッチングするための水支援レーザー機械加工技法の略図である。支持材料は、用途に応じて、IR吸収性または透光性であり得る。

【0041】

【図4】図4A - 4Dは、熱成形エラストマ膜のための金型としての役割を果たし(図4A)、真空がエラストマ膜を金型の中に変形させ(図4B)、独立型の熱成形膜をもたらす(図4C)、または熱い間にマニホールドに接合され得る(図4D)ことを示す、ネガ型特徴を伴う多孔性真空チャックの断面図である。

【0042】

【図5】図5Aおよび5Bは、フープ歪みを示す、ローリングダイヤフラムの斜視図である。

【0043】

【図6】図6A - 6Dは、異なるタイプのローリングダイヤフラムを示す、概略図である。図6Aは、外部ローリングダイヤフラムであり、図6Bは、内部ローリングダイヤフラムであり、図6Cは、形状変化ダイヤフラムであり、図6Dは、横ローリングダイヤフラムである。

【0044】

【図7】図7A - 7Eは、ローリングエラストマダイヤフラムを使用する、圧送の機構の概略図である。空気圧圧力源(+P)が、ダイヤフラムを変位させるために使用される。真空(-P)が、ダイヤフラムを引き込み、リザーバを充填するために使用される。圧力が、次いで、変位ストロークのために印加される。図7Aは、流体吸引の前であり、図7Bでは、真空が、リザーバを充填するために使用され、図7Cは、液体で満たされたチャンバであり、図7Dでは、圧力が、チャンバに印加され、図7Eは、変位ストロークの終了である。

【0045】

【図8】図8A - 8Fは、理想的なポンプチャンバ44と最適化されていないチャンバ46を比較する、ポンプチャンバ40の概略図である。予測不能な変位体積を引き起こす、ダイヤフラム膜20の内側に流体48を捕獲する危険がある、図8D、8E、および8Fの最適化されていないチャンバ46と比較して、図8A、8B、8Cは、ダイヤフラム20が、作動の間にポンプチャンバ44との一定の接触を維持する、理想的なポンプチャンバ44を示す。図8Gは、ダイヤフラムとポンプチャンバ壁との間の接触の拡大図である。

【0046】

【図9】図9A - 9Cは、シール特徴としての空気圧作動弾性膜および付勢としての圧縮ガスを使用する、マイクロ流体圧力調整器50の概略図である。流体は、これが他方の側上の圧縮ガスによって付与される圧力を克服するまで、弾性膜に対して圧力を蓄積する。図9A、9Bでは、流体は、いったん流体圧力が、シール圧力を超えると、流動し始める。図9Cでは、流体圧力は、圧縮ガス源を調節することによって調整されることができ、流動は、流体回路において応従性を追加することによって安定化されることができ、

【0047】

【図10】図10は、接合された弾性膜および画定されたシール接点を伴う弁の概略図である。流体流動は、双方向性であり得る。シール辺縁は、示されるように、小さい平坦面または丸形形状であり得る。

【0048】

10

20

30

40

50

【図 1 1】図 1 1 は、弁の入口におけるシール圧力を増幅する、丸形シール特徴を有する、弁であり、膜がシール界面においてより高い歪みおよび接触圧力を被る状態で、弁を断面において示す。

【0049】

【図 1 2 - 1】図 1 2 A - 1 2 C は、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁である。図 1 2 A は、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁および弁の全体的体積を低減させるティアドロップ形状の斜視図である。ティアドロップ形状は、同一のサイズの入口の円形プロファイル弁と比較されるとき、弁の死容積を低減させる。ここでは、CAD におけるティアドロップ弁のスクリーンショットである。シール形状は、赤色の破線において示される。図 1 2 B は、ポンプ内に統合された弁を示す。図 1 2 C は、ポンプ内に統合された弁の断面図である。図 1 2 D は、種々の弁（ドアマット、リング、ティアドロップ、図 8 の弁）の性能を比較し、ティアドロップ弁が、以前に設計されたドアマット弁に対して改良された性能を呈することを実証する、グラフである。

10

【図 1 2 - 2】図 1 2 A - 1 2 C は、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁である。図 1 2 A は、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁および弁の全体的体積を低減させるティアドロップ形状の斜視図である。ティアドロップ形状は、同一のサイズの入口の円形プロファイル弁と比較されるとき、弁の死容積を低減させる。ここでは、CAD におけるティアドロップ弁のスクリーンショットである。シール形状は、赤色の破線において示される。図 1 2 B は、ポンプ内に統合された弁を示す。図 1 2 C は、ポンプ内に統合された弁の断面図である。図 1 2 D は、種々の弁（ドアマット、リング、ティアドロップ、図 8 の弁）の性能を比較し、ティアドロップ弁が、以前に設計されたドアマット弁に対して改良された性能を呈することを実証する、グラフである。

20

【0050】

【図 1 3 - 1】図 1 3 A - 1 3 C は、いくつかの異なるタイプのマイクロ流体アキュムレータの概略図である。図 1 3 A は、膜内の貯蔵された弾性エネルギーを使用して圧力を貯蔵するための可撓性膜を使用する、アキュムレータの概略図である。図 1 3 B は、ガス気泡を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まりマイクロ流体チャンネルを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。図 1 3 C は、片側上の空気およびリザーバ内に貯蔵される流体を伴って加圧されるピストンを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。

30

【図 1 3 - 2】図 1 3 A - 1 3 C は、いくつかの異なるタイプのマイクロ流体アキュムレータの概略図である。図 1 3 A は、膜内の貯蔵された弾性エネルギーを使用して圧力を貯蔵するための可撓性膜を使用する、アキュムレータの概略図である。図 1 3 B は、ガス気泡を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まりマイクロ流体チャンネルを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。図 1 3 C は、片側上の空気およびリザーバ内に貯蔵される流体を伴って加圧されるピストンを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。

【0051】

【図 1 4】図 1 4 A - 1 4 C は、ダイヤフラムが片側上の空気を用いて加圧され、流体がリザーバ内に貯蔵される、体積なし（図 1 4 A）、蓄積する体積（図 1 4 B）、および最大容量（図 1 4 C）におけるマイクロ流体アキュムレータである。

40

【0052】

【図 1 5 - 1】図 1 5 A - 1 5 B は、圧力の増加による弾性膜の変形前（図 1 5 A）または後（図 1 5 B）の光学レベルおよび変形可能な膜を伴う圧力センサの概略図である。図 1 5 A - 1 5 C は、カメラによって検出されるようなマイクロ流体チャンネル内に捕獲されたガス気泡長の測定の概略図（図 1 5 A）、および、低い、およびより高い圧力レベルの画像（図 1 5 B）であり、ガスを捕獲するためのより長いチャンネルは、より敏感である（図 1 5 C）。より高い圧力レベルは、より短い気泡長をもたらす。

【図 1 5 - 2】図 1 5 A - 1 5 B は、圧力の増加による弾性膜の変形前（図 1 5 A）または後（図 1 5 B）の光学レベルおよび変形可能な膜を伴う圧力センサの概略図である。図

50

15A - 15Cは、カメラによって検出されるようなマイクロ流体チャンネル内に捕獲されたガス気泡長の測定の概略図(図15A)、および、低い、およびより高い圧力レベルの画像(図15B)であり、ガスを捕獲するためのより長いチャンネルは、より敏感である(図15C)。より高い圧力レベルは、より短い気泡長をもたらす。

【0053】

【図16】図16A - 16Eは、マイクロ流体リザーバに関する液体感知方法論の概略図であり、変形可能な膜が、静電容量、接触材料の間の抵抗、または光学性質の変化のために、静水圧下で培地リザーバの中に組み込まれる(図16A)。図16Bは、圧力下で偏向する膜を示す。図16Cは、透明な窓または側を有する、流体リザーバを示し、流体レベルの変化が、カメラによって測定および記録される。図16Dは、カメラがリザーバの上方に位置付けられる、類似する流体リザーバを示す。図16Eは、光学測定を提供するために、染料を含有する流体の画像を撮影する、カメラの概略図である。

10

【0054】

【図17】図17A - 17Dは、細胞培養用途のための可撤性キャップの概略図である。光学的に透明なスナップオンキャップが、図17Aに示される。図17Bに示されるように、キャップの上または下のエラストマ特徴が、応従性を追加する。シールのためのパターン化接着剤を伴う光学フィルムから形成されたキャップが、図17Cに示される。キャップの下側上の圧入シールまたは圧縮エラストマ特徴が、図17Dに示される。

【0055】

【図18】図18A - 18Dは、可撤性または溶解可能である支持構造を使用してヒドロゲルを形成するためのマイクロ流体コンパートメントの概略図である。可撤性支持構造が、図18A、18Bに示され、除去後にヒドロゲル内に流体チャンネルを形成する、結果として生じる空洞が、図18Cに断面において示され、18Dにおいて、マイクロ流体容器内のヒドロゲル内のチャンネルを通した流動を示す。

20

【0056】

【図19-1】図19A - 19Dは、流体運搬チャンネルが、ヒドロゲル細胞培養容器の側に沿って作成され(図19A)、培地で充填され(図19B)、次いで、マイクロ流体デバイスの中に挿入され得る(図19C)方法を示し、本デバイスの両端の上壁内の楔が、チャンネルを作成するためにマイクロ流体デバイスの中に嵌合され得る(図19D)方法を示す。

30

【図19-2】図19A - 19Dは、流体運搬チャンネルが、ヒドロゲル細胞培養容器の側に沿って作成され(図19A)、培地で充填され(図19B)、次いで、マイクロ流体デバイスの中に挿入され得る(図19C)方法を示し、本デバイスの両端の上壁内の楔が、チャンネルを作成するためにマイクロ流体デバイスの中に嵌合され得る(図19D)方法を示す。

【0057】

【図20-1】図20A - 20Bは、応従性のある膜を変形させるように上向きに膨潤する(図20B)、ゲルを拘束する隆起した支持構造の隣に位置付けられる、ゲルの断面概略図である。図20Cは、ヒドロゲルを保定する溶解可能支柱または支持構造を伴うデバイスを示し、これは、ヒドロゲルが、支持構造によって指定される形状に共形化するように、支柱の上方のポートを通して本デバイスの中に挿入される。図20Dは、無傷の支柱または支持構造を伴い、それらが溶解した後のゲルの断面図を示す。図20Eは、ゲルが膨潤し、それらが溶解する、または除去されるまで、支柱または支持構造によって拘束される際の同一の構造を示す。図20Fは、ゲルが過剰拘束される、支柱を伴うゲルを示し、図20Gは、ゲルが自由に膨張する、支柱を伴わないゲルを示す。

40

【図20-2】図20A - 20Bは、応従性のある膜を変形させるように上向きに膨潤する(図20B)、ゲルを拘束する隆起した支持構造の隣に位置付けられる、ゲルの断面概略図である。図20Cは、ヒドロゲルを保定する溶解可能支柱または支持構造を伴うデバイスを示し、これは、ヒドロゲルが、支持構造によって指定される形状に共形化するように、支柱の上方のポートを通して本デバイスの中に挿入される。図20Dは、無傷の支柱

50

または支持構造を伴い、それらが溶解した後のゲルの断面図を示す。図 20 E は、ゲルが膨潤し、それらが溶解する、または除去されるまで、支柱または支持構造によって拘束される際の同一の構造を示す。図 20 F は、ゲルが過剰拘束される、支柱を伴うゲルを示し、図 20 G は、ゲルが自由に膨張する、支柱を伴わないゲルを示す。

【図 20 - 3】図 20 A - 20 B は、応従性のある膜を変形させるように上向きに膨潤する（図 20 B）、ゲルを拘束する隆起した支持構造の隣に位置付けられる、ゲルの断面概略図である。図 20 C は、ヒドロゲルを保定する溶解可能支柱または支持構造を伴うデバイスを示し、これは、ヒドロゲルが、支持構造によって指定される形状に共形化するように、支柱の上方のポートを通して本デバイスの中に挿入される。図 20 D は、無傷の支柱または支持構造を伴い、それらが溶解した後のゲルの断面図を示す。図 20 E は、ゲルが膨潤し、それらが溶解する、または除去されるまで、支柱または支持構造によって拘束される際の同一の構造を示す。図 20 F は、ゲルが過剰拘束される、支柱を伴うゲルを示し、図 20 G は、ゲルが自由に膨張する、支柱を伴わないゲルを示す。

10

【0058】

【図 21】図 21 A - 21 C は、これが固化するまでヒドロゲルを含有するための支持支柱（図 21 A）の代わりに、回転フラップを使用し（図 21 B）、次いで、ヒドロゲルが膨張することを可能にするために回転されて開放する（図 21 C）、統合された撮像窓を伴う充填可能コンパートメントの断面概略図である。

【0059】

【図 22】図 22 A - 22 D は、プラグが、マイクロ流体デバイス内で細胞を培養するためのコンパートメント内のヒドロゲルの形成に続いて除去され（図 22 A）、コンパートメントが、次いで、ヒドロゲルを通して栄養素およびガスを導流するために上部および底部に接続される（図 22 B）方法を示し、ヒドロゲルに隣接して、それを通して流動する培地（図 22 C、22 D）を示す、断面概略図である。

20

【0060】

【図 23 - 1】図 23 A - 23 E は、表面張力によって定位置に保持される、スロット形懸滴ヒドロゲル（図 23 A、23 B）、ゲルが培地チャネルを 2 つのチャネルに分離するために膨潤される（図 23 E）、上面図および側面図（図 23 C、23 D）、および液滴の上および下を横断する（図 23 F）、液滴の長さに沿った（図 23 G）、および側に沿った、マイクロ流体デバイス内（図 23 H）の結果として生じる流動構成の断面概略図である。

30

【図 23 - 2】図 23 A - 23 E は、表面張力によって定位置に保持される、スロット形懸滴ヒドロゲル（図 23 A、23 B）、ゲルが培地チャネルを 2 つのチャネルに分離するために膨潤される（図 23 E）、上面図および側面図（図 23 C、23 D）、および液滴の上および下を横断する（図 23 F）、液滴の長さに沿った（図 23 G）、および側に沿った、マイクロ流体デバイス内（図 23 H）の結果として生じる流動構成の断面概略図である。

【0061】

【図 24】図 24 A - 24 D は、マイクロ流体デバイス（図 24 A）を、垂直に（図 24 B）、または回転機構上に（図 24 C、24 D）スタックするための電空マニホールドの概略図である。

40

【0062】

【図 25 - 1】図 25 A - 25 F は、マニホールドの中に挿入され（図 25 A）、定位置に固着させるためにラッチされ（図 25 B）、クランプまたはレバーがチップを固着させるために押し下げられ、リングを圧縮し、チップへの空気圧接続を確実にする（図 25 C - 25 F）、マイクロチップの斜視図である。図 25 C - 25 F は、ばね荷重レバー、トグルクランプ、またはオーバーセンターラッチを使用して圧縮される、圧縮ガセットを使用する、マイクロ流体チップのための迅速解放ラッチの斜視図である。図 25 D - 25 E は、迅速解放トグルクランプ（図 25 D）またはオーバーセンターラッチ（図 25 E）の断面図である。

50

【図 25 - 2】図 25 A - 25 F は、マニホールドの中に挿入され（図 25 A）、定位置に固着させるためにラッチされ（図 25 B）、クランプまたはレバーがチップを固着させるために押し下げられ、リングを圧縮し、チップへの空気圧接続を確実にする（図 25 C - 25 F）、マイクロチップの斜視図である。図 25 C - 25 F は、ばね荷重レバー、トグルクランプ、またはオーバーセンターラッチを使用して圧縮される、圧縮ガスケットを使用する、マイクロ流体チップのための迅速解放ラッチの斜視図である。図 25 D - 25 E は、迅速解放トグルクランプ（図 25 D）またはオーバーセンターラッチ（図 25 E）の断面図である。

【図 25 - 3】図 25 A - 25 F は、マニホールドの中に挿入され（図 25 A）、定位置に固着させるためにラッチされ（図 25 B）、クランプまたはレバーがチップを固着させるために押し下げられ、リングを圧縮し、チップへの空気圧接続を確実にする（図 25 C - 25 F）、マイクロチップの斜視図である。図 25 C - 25 F は、ばね荷重レバー、トグルクランプ、またはオーバーセンターラッチを使用して圧縮される、圧縮ガスケットを使用する、マイクロ流体チップのための迅速解放ラッチの斜視図である。図 25 D - 25 E は、迅速解放トグルクランプ（図 25 D）またはオーバーセンターラッチ（図 25 E）の断面図である。

10

#### 【0063】

【図 26 - 1】図 26 A - 26 D は、標準的チップフォーマット（図 26 A）の斜視図である。図 26 A は、その中に接合される膜、面取りされた角、および顕微鏡スライドと比較して低減された縦横比を伴い、接合を強化する、マイクロ流体チップを描写する。図 26 B は、膜がチップに接合されるとき、ガスが逃散することを可能にする、通気孔を示す。図 26 C は、5層マイクロチップ内の通気孔を示す、側面図である。図 26 D および 26 E は、チップが、上部および底部上の光学フィルムを保護する、隆起した縁を有することを示す。

20

【図 26 - 2】図 26 A - 26 D は、標準的チップフォーマット（図 26 A）の斜視図である。図 26 A は、その中に接合される膜、面取りされた角、および顕微鏡スライドと比較して低減された縦横比を伴い、接合を強化する、マイクロ流体チップを描写する。図 26 B は、膜がチップに接合されるとき、ガスが逃散することを可能にする、通気孔を示す。図 26 C は、5層マイクロチップ内の通気孔を示す、側面図である。図 26 D および 26 E は、チップが、上部および底部上の光学フィルムを保護する、隆起した縁を有することを示す。

30

【図 26 - 3】図 26 A - 26 D は、標準的チップフォーマット（図 26 A）の斜視図である。図 26 A は、その中に接合される膜、面取りされた角、および顕微鏡スライドと比較して低減された縦横比を伴い、接合を強化する、マイクロ流体チップを描写する。図 26 B は、膜がチップに接合されるとき、ガスが逃散することを可能にする、通気孔を示す。図 26 C は、5層マイクロチップ内の通気孔を示す、側面図である。図 26 D および 26 E は、チップが、上部および底部上の光学フィルムを保護する、隆起した縁を有することを示す。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0064】

40

本発明の詳細な説明

##### I. 定義

用語「マイクロ流体」は、数マイクロメートル～最大数ミリメートルの寸法および数ナノリットル～数ミリリットルのスケールの合計システム容積を伴う、チャンネル内のわずかな流体体積の制御および操作を伴う、システムを指す。本明細書に使用されるように、用語「チャンネル」は、流体通過が生じる、閉鎖容積を指す。チャンネルは、断面積および長さにおいて変動し得る。チャンネルは、正方形、円形、または他の断面形状を有し得る。

##### 【0065】

用語「チップ」は、マイクロ流体流体操作が生じる、構成要素を指す。チップは、多種多様な材料から作製され得、異なるサイズであり得る。「デバイス」は、機能または一連

50

の機能を実施する、チップまたはマイクロ流体システムを指す。デバイスは、1つまたはそれを上回るチップから成り得る。

【0066】

本明細書に使用されるように、用語「ヒドロゲル」は、有機ポリマー（天然または合成）が共有、イオン、または水素結合を介して架橋され、水分子を捕捉し、ゲルを形成する、3次元開放格子構造を作成するときに形成される、物質を指す。生体適合性ヒドロゲルは、ポリマーが、生細胞に毒性がなく、生存能力を維持するためにカプセル化細胞への酸素および栄養素の十分な拡散を可能にする、ゲルを形成することを指す。

【0067】

本明細書に使用されるように、用語「細胞外マトリクス」、「ECM」は、周辺細胞の構造および生化学支持を提供する、タンパク質、酵素、および糖タンパク質等の細胞外巨大分子の成分および/またはネットワークを指す。細胞外マトリクスは、間質マトリクスおよび基底膜を含み、ECMの成分は、プロテオグリカンであるヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、ケラタン硫酸、非プロテオグリカンである多糖類ヒアルロン酸、およびタンパク質であるコラーゲン、エラスチン、フィブロネクチン、およびラミニンを含む。

10

【0068】

本明細書に使用されるように、用語「細胞外マトリクス結合ペプチド」は、ECM成分に対する親和性を伴う、合成ペプチドを指す。

【0069】

本明細書に使用されるように、用語「ヒドロゲルマトリクス」は、典型的には、ヒドロゲルを形成する、架橋ポリマーのネットワークを指す。ヒドロゲルマトリクスは、バインダを含む場合とそうではない場合がある。

20

【0070】

関連する節における用語「足場」は、組織構成物およびECM成分のための支持を提供する、インサートまたは構成要素である。

【0071】

用語「培地」は、細胞培養のために使用され、栄養素、成長因子、または細胞を成長および増殖させるために含まれる他の生体分子を含有する、流体を指す。

【0072】

本明細書に使用されるように、ポリマーの文脈における用語「生分解性」は、生理学的条件下での酵素作用および/または加水分解によって、代謝および/または排除されることが可能であるより小さい単位または化学種に分解または侵食されるであろう、ポリマーを指す。

30

【0073】

本明細書に使用されるように、用語「流体」は、流動することが可能であり、固体ではない、物質を指す。例えば、空気および水は、両方とも流体と見なされるであろう。

【0074】

本明細書に使用されるように、用語「透過性」は、具体的化学種が物質を通して輸送される能力を指す。例えば、物質は、酸素透過性または水透過性であり得る。

【0075】

用語「空気圧」は、動作のために空気または真空圧を使用する、システムを指す。本明細書に使用されるように、用語「電空」は、圧力および真空信号を制御するために電気作動弁および圧力調整器に依拠する、空気圧システムを指す。

40

【0076】

アクチュエータは、例えば、弁を開放することによって、機構またはシステムを移動させ、制御することに関与する、デバイスの構成要素である。単純な用語では、これは、「移動器」である。アクチュエータは、機械的作用を実施するために、制御信号およびエネルギーの源を要求する。

【0077】

用語「相互接続」は、電気信号または流体が1つのデバイスから別のものに伝達され得

50

る、2つのデバイスの間の接続の点を指す。相互接続は、ある種の機構を使用して、結合および結合解除されることができる。

【0078】

用語「ガスケット」は、2つの他の構成要素の間で圧縮されるとき、信頼性のある液密シールを作製する、圧縮可能材料を指す。

【0079】

用語「応従性のある」または「応従性」は、力または荷重条件に応答する材料またはシステムの能力を指す。応従性のあるシステムは、可撓性であり、システムにおける力の変換を可能にする。応従性は、機械的システムにおける剛性の逆のものである。

【0080】

用語「オーバーセンター」は、機構の安定した物理的状態および位置を指す。機構をオーバーセンター状態に保つために要求されるものよりも多くの力が、この位置を逆転させるために要求される。

【0081】

本明細書に使用されるように、用語「フィルム」は、通常、ロール上で生産される、薄いポリマー材料を指す。「フィルム」は、概して、厚さが25~500ミクロンであり、材料性質において変動し得る。「共押出フィルム」は、異なる材料から作製される、複数の材料から成る、フィルムである。「キャリアフィルム」は、別のフィルムのための支持または保護材料としての役割を果たす、フィルムである。

【0082】

用語「マニホールド」は、空気圧または流体接続のための相互接続デバイスを指す。マニホールドは、圧力または真空を別のデバイスに分配する、内部チャンネルから成る。マニホールドは、統合された弁およびアクチュエータを含む場合とそうではない場合がある。マニホールドは、典型的には、空気および真空を指向および分配する構成要素を指すが、他の流体も、使用され得る。マニホールドは、ポリマーおよび金属を含む、種々の材料から作製され得る。マニホールドは、締結具を伴う組立、接合、および3D印刷を含む、様々な加工方法を使用して作製され得る。

【0083】

用語「高処理能力」は、一度に1つを上回るデバイスまたは構成要素を制御するシステムの能力を指す。細胞培養に関して、高処理能力システムは、好ましくは、数十から数百のデバイスが同時に制御されることを可能にするであろう。

【0084】

本明細書に使用されるように、用語「調整器」または「圧力調整器」は、圧力を設定値まで安定させ、制御する、構成要素を指す。用語「調整する」は、調整器の機能的出力を説明する。「背圧調整器」は、調整要素に先立つ圧力を制御する。「順圧調整器」は、調整要素の後の圧力を制御する。「差圧調整器」は、調整要素を横断する圧力差を制御する。

【0085】

本明細書に使用されるように、用語「アキュムレータ」は、圧力下で流体の体積を貯蔵する、構成要素を指す。アキュムレータは、流体体積がシステム内に一時的に貯蔵されることを可能にし、圧力および流率の動的変化に関する安定化要素としての役割を果たす。アキュムレータは、均一な圧力下で流体体積を貯蔵し得る、または圧力は、アキュムレータ内の体積の量に基づいて、変化し得る。アキュムレータは、受動的または能動的に制御される構成要素であり得る。

【0086】

「弁」は、流体および固体界面の間にシールを作成する、構成要素である。弁は、流体の流動を防止する、または限定する。「ドアマット弁」は、平坦な表面の中心にある1つまたはそれを上回る流体入口または出口にわたってシールするために、平坦な表面にわたる薄いフラップを使用する、弁である。

【0087】

10

20

30

40

50

本明細書に使用されるように、用語「センサ」は、システムの物理的性質を測定するために使用される、構成要素を指す。センサは、性質を直接測定する、またはある他の観察された現象から測定値を推測し得る。

【0088】

本明細書に使用されるように、用語「死容積」は、不必要である、または有用ではないと見なされる、チップまたはデバイス内の任意の容積を指す。

【0089】

「リザーバ」は、流体体積を貯蔵する、構成要素である。

【0090】

「キャップ」は、構成要素を被覆およびシールするために使用される、構成要素である。キャップは、リザーバを被覆するために使用され得るが、他の構成要素も同様に被覆するために使用され得る。

10

【0091】

本明細書に使用されるように、用語「組織コンパートメント」は、細胞が培養される、デバイスの領域を指す。組織コンパートメントは、ヒドロゲルまたは他のECM材料から成り得、サイズおよび形状において変動し得る。異なる組織が、使用されてもよい。

【0092】

本明細書に使用されるように、用語「偏向する」は、物体の一部が、物体の表面積を包含する平面から離れるように移動する、すなわち、偏向する、エラストマ膜等の平面物体による移動を指す。

20

【0093】

本明細書に使用されるように、用語「膜」は、用途に応じて、透過性、半透過性、または不透過性であり得る、材料の薄フィルムを指す。膜は、例えば、COC、ポリカーボネート、およびPTFEを含む、種々の材料から作製され得る。膜は、用途に応じて、剛性または可撓性であり得る。

【0094】

用語「接合する」または「接合される」は、共有分子結合、ポリマーの架橋、またはある他の分子接着力に起因して継合される、2つの材料の状態を指す。接合は、溶媒、プラズマを使用する表面活性化、熱、圧力、および時間を用いて発生され得る。

【0095】

用語「機械加工」は、それによって材料が基板から除去される、任意のサブトラクティブ加工プロセスを指す。

30

【0096】

用語「固定具」は、ある他の動作のために別の構成要素またはデバイスを定位置に保持する、構成要素を指す。

【0097】

用語「チャック」は、平坦な表面上に保持される、固定具を指す。

【0098】

用語「光学的に透明な」および「光学的透明度」は、広い範囲の波長にわたる材料の透明性を指す。光学的に透明な材料は、紫外線から近赤外スペクトルへの約95%透過率を有し、ガラスに類似する屈折率を有するであろう。

40

【0099】

本明細書に使用されるように、用語「変位体積」または「変位ストローク」は、ポンプの1回の作用（ストローク）あたりに変位される流体の体積を説明する、作動パラメータを指す。これは、弁-ポンプチャンバ-弁構成ポンプにおける弁またはポンプチャンバの各1つの作用毎に、またはポンプ全体の作用によって変位される体積を説明するために、断片化されてもよい。変位体積はまた、1回の弁作用（ストローク）あたりの弁の流体側、空気圧側、または両側によって変位される体積を説明するために、断片化されてもよい。

【0100】

50

本明細書に使用されるように、用語「シール圧力」は、少なくとも、接触時の圧力と接触を行うために要求される圧力との間の差（シール圧力 = (接触時の圧力) - (接触を行うために要求される圧力)）である、圧力を指す。

#### 【0101】

本明細書に使用されるように、アクチュエータの文脈における用語「本体」は、水平軸、垂直軸、両方を中心とする、またはある角度における対称性等の対称軸を伴う3次元形状の物体を指す。本体は、典型的には、相互に対向し、垂直対称軸に沿って相互に対称である、2つの突出部分の少なくとも1つのセットを含む。本体は、2つのセット、3つのセット、4つのセット等の2つの部分の1つを上回るセットを含み得る。2つの突出部分は、文字I、L、P等の形状における3次元物体であり得る。例えば、本体は、I形であり得、これは、2つの突出部分の1つのセットを含み、I形本体の各端部は、垂直対称軸に平行な平面に接触する。別の実施例では、本体は、U形であり得、これは、文字Lの形状における2つの突出部分の1つのセットを含み、突出部はそれぞれ、他方の反対に位置付けられる。典型的には、本実施例における突出部の端部は、垂直対称軸に垂直な同一の平面に接触する。本体は、ピラミッド形、楕円形、正方形、長方形、円形の形状、または任意の他の形状における断面積を有し得る。

10

#### 【0102】

熱可塑性物質は、具体的温度で融解し、融解状態において流動することが可能である、ポリマー材料である。ある温度において、熱可塑性物質は、「ガラス遷移」に到達し、そこで、分子結合は、移動性であり、材料は、分子スケールで運動する。熱可塑性物質は、これらの遷移を複数回繰り返すことができる。

20

#### 【0103】

エラストマは、非常に弾性であり、軽く架橋され、非結晶性または半結晶性のいずれかであり、室温を明確に下回るガラス遷移温度を伴う、ポリマーである。それらは、巨視的サイズの1つの非常に大きい分子として想像されることができる。架橋は、不可逆的な流動を完全に抑制するが、鎖は、ガラス遷移を上回る温度において非常に可撓性であり、小さい力が、大きい変形につながる（他のポリマーと比較されるとき、低いヤング率および非常に高い破壊伸び率）。エラストマは、3つの幅広い群、すなわち、ジエン、非ジエン、および熱可塑性エラストマに分類されることができる。ジエンエラストマは、2つの順次的二重結合を含有する、モノマーから重合される。典型的な実施例は、ポリイソプレン、ポリブタジエン、およびポリクロロプレンである。非ジエンエラストマは、ブチルゴム（ポリイソブチレン）、ポリシロキサン（シリコーンゴム）、ポリウレタン（スパンデックス）、およびフッ素エラストマを含む。非ジエンエラストマは、構造内にいかなる二重結合も有しておらず、したがって、架橋は、三官能性モノマーの添加（縮合ポリマー）、またはジビニルモノマーの添加（フリーラジカル重合）、またはブタジエンのような少量のジエンモノマーとの共重合等、加硫以外の方法を要求する。SISおよびSBSブロックコポリマーおよびあるウレタン等の熱可塑性エラストマは、熱可塑性であり、リジッド（硬質）および軟質（ゴム質）反復単位を含有する。融解状態から、ガラス遷移温度を下回る温度まで冷却されると、硬質ブロックは、相分離し、エラストマブロックのための物理的架橋として作用する、リジッドドメインを形成する。エラストマ部品の製造は、4つの方法、すなわち、押出、射出成型、転写成型、または圧縮成型のうち1つにおいて達成される。

30

40

#### 【0104】

ヒドロゲルは、膨潤し、その構造内に有意な割合の水を留保するが、水に溶解しないであろう、架橋ポリマーネットワークである。殆どのヒドロゲルは、細胞外マトリクス抽出物M A T R I G E L（登録商標）等の天然材料またはMassachusetts Institute of Technologyによる第PCT/US2020/044067号「Synthetic Hydrogels for Organogenesis」に説明されるもの等の合成ヒドロゲルである。水を吸収するヒドロゲルの能力は、ポリマー骨格に付着した親水性官能基から生じる一方、溶解に対するそれらの抵抗は、ネッ

50

トワーク鎖の間の架橋から生じる。

【0105】

PHASE GUIDES (登録商標) は、商業的に入手可能なメニスカス固定障壁である。それらは、3Dにおける培養マトリクスおよび細胞の精密な無障壁画定を可能にし、細胞間相互作用および先例のない撮像および定量化を支援する。

【0106】

用語「約」の使用は、約±10%の範囲内で記載される値を上回るか、または下回るかのいずれかの値を説明することを意図しており、他の実施形態では、値は、約±5%の範囲内で記載される値を上回るか、または下回るかのいずれかの値に及び得る。

II. 熱可塑性マイクロ流体デバイスを製造する新しい材料および方法

10

A. 環状オレフィンコポリマー(「COC」)エラストマ接合

プロセス

【0107】

殆どのマイクロ流体システムにおいて使用される材料である、ジメチルポリシロキサンまたはジメチコンとしても公知である、PDMS、すなわち、ポリジメチルシロキサンは、一般的にシリコンと称される、ポリマー有機シリコン化合物の群に属する。PDMSは、多数の用途につながるその多用途性および性質に起因して、最も広く使用されるシリコン系有機ポリマーである。これは、光学周波数(240nm~1,100nm)において透明であり、これは、視覚的に、または顕微鏡を通して、マイクロチャンネル内の内容物の観察を促進する。これは、低い自己蛍光を有し、これは、生体適合性(ある程度の制限を伴う)と見なされる。

20

【0108】

PDMSは、単純なプラズマ処理を用いてガラスまたは別のPDMS層に堅く接合する。これは、多層PDMSデバイスの生産が、金属蒸着、酸化物蒸着、または表面官能基化の使用等のガラス基板によってもたらされる技術的可能性を利用することを可能にする。PDMSは、変形可能であり、これは、PDMSマイクロチャンネルの変形を使用したマイクロ流体弁の統合、漏出防止流体接続の容易な接続、および細胞からの生物力学相互作用のような非常に少ない力を検出するためのその使用を可能にする。PDMSは、以前に使用されていた材料(例えば、シリコン)と比較して、安価である。PDMSはまた、架橋剤と混合されるときであっても、長時間にわたって室温において液体のままであるため、成型が容易である。PDMSは、ガス透過性である。これは、PDMSまたは行き止まりチャンネルを通して充填されるガスの量を制御することによって、細胞培養を可能にする(液体圧力下の残留する気泡は、PDMSを通して逃散し、大気圧と平衡し得る)。

30

【0109】

しかしながら、マイクロ流体用途に関するPDMS問題は、疎水性分子の吸収と、PDMS上で金属および誘電体蒸着を実施することの困難とを含む。これは、電極および抵抗器の統合を著しく限定する。また、PDMSは、経年劣化し、したがって、数年後、本材料の機械的性質は、変化し得る。薬物スクリーニングに関して、PDMSは、疎水性分子を吸着させ、不良な架橋からの一部の分子を液体の中に放出し得るため、PDMSからの問題が、生じる。PDMSはまた、水蒸気に対して透過性であり、これは、PDMSデバイスにおける蒸発を制御困難にする。PDMSは、一部の化学物質への暴露に敏感である。これらの問題は、薬物スクリーニングおよび開発に関してPDMSを不適切にする。

40

【0110】

TOPAS (登録商標) Advanced Polymers GmbH (Raunheim Germany) から入手可能なもの等のエラストマ材料が、PDMS膜と同一の問題を有していないエラストマ膜を作製するために使用されることができ。これらの材料は、第WO2011129869号「Melt blends of amorphous cycloolefin polymers and partially crystalline cycloolefin elastomers with improved toughness」に説明されている。TOPAS (登録商標) CO

50

C樹脂は、ポリエチレンおよび他のポリオレフィンプラスチックと化学的親和性があり、超高純度、非常に透明、かつUV透過性のガラス様材料であり、幅広い国際的規制対応を伴う。それらは、非結晶性であり、包装フィルムにおける耐熱性、滅菌性、熱成形性、および収縮性の利益を伴う。それらは、水分、アルコール、および酸に対する障壁性質を有する。

#### 【0111】

障壁、光学窓、圧送、およびセンサ用途における多数の利点および使用が、本明細書に説明される。

#### 【0112】

エラストマ材料の薄フィルムおよび明確に制御される熱プロセスを使用して、COC材

10

料（主として、TOPAS（登録商標） 8007s04またはTOPAS（登録商標）

6013f04とTOPAS（登録商標） E-140と）をともに接合する方法は、単純な自己レベリングクランプを使用して、平坦な基板をともに挟持し、次いで、オープンの内側で接合することを伴う。接合プロセスは、エラストマ層の融点であり、好ましくは、リジッド基板のガラス遷移温度を上回る、84において生じる。ガラス遷移温度における本重複は、強い接合を保証する。加熱プロセスは、オープン内で部品を最大84まで緩慢に加熱し、次いで、4においてそれらを急速に冷却することを伴う。加熱プロセスは、エラストマの融点に到達するが、いかなる材料も、接合領域から流出せず、支持されていないエラストマ特徴は、依然として留保される。さらに、チャンネル変形は、殆どまたは全く観察されない。接合はまた、COCエラストマからガラスに、およびCOCエ

20

#### 【0113】

これらの材料はまた、TOPAS 6013f-04およびE-140等級のCOCのハイブリッドから作製される、接合が容易な光学フィルムとして生産されることができ

30

#### 【0114】

加熱ラミネータを使用した薄いエラストマフィルムおよび共押出6013/E-140フィルムの熱接合もまた、可能性として考えられる。プロセスは、E-140が接合平面と接触するように、チップに薄フィルムを整合させ、ラミネータを通してチップを通過させることを伴う。E-140は、シリコン剥離ライナを伴うPETキャリアフィルム上に保持され、平坦な薄い基板、典型的には、シリコンウエハ上に支持される。ウエハは、膜または薄フィルムが接合プロセスの間に反らないように、支持を提供する。

40

#### 【0115】

一実施形態では、積層フィルムは、接合マイクロ流体工学における用途のために設計される、4つのポリマーフィルムから成る。これらは、以下の通りである。

1. 接合に先立ってE-140を保護するための高温マイラー（PET）の2ミル厚さの層。接合に先立って、粉塵、引っ掻き、および汚染を防止する。手で除去可能である。

2. 6013F-04層に接合される、TOPAS E-140の2ミルの層。融解および接合が容易な層として使用される。

3. 光学材料として使用される、TOPAS 6013F-04の8ミルの層。層の厚さは、より多くの剛性または低減された厚さが所望される場合、改変されることができ

る。8ミルは、撮像能力とフィルム強度との間の平衡が良好である。

50

4. 2ミルのPEフィルム。PEフィルムは、容易に除去され、引掻から光学材料を保護する役割を果たす。

【0116】

1ミル = 0.001インチであり、薄い光学フィルムに関する厚さ測定標準であることに留意されたい。

【0117】

本材料は、COCマイクロ流体チップを接合する能力に対する有意な改良を提供し、商業的積層プロセスが大規模にデバイスを接合することを可能にする。COCに対する本フィルムの接合強度は、約28psiのチャンネル圧力である。フィルムはまた、ガラスおよびPMA様ポリマーに接合する。

【0118】

接合プロセスは、高い接合度を提供しながら、COC材料の光学的透明度(280~800nm)を留保する。本プロセスはまた、研究室において部品を接合することに対するより安全かつあまり機器集約的ではない解決策である。COCを接合する他の方法は、通常、加熱プレス、または高可燃性であり、毒性有機溶媒であるシクロヘキサンを伴う。

【0119】

図1は、約25~60ミクロン厚さのポリエチレンテレフタレート(「PET」)等のポリマーから形成される、可撤性キャリアフィルム1、4とともに、E-140等のCOCポリマーから形成される、約25~60ミクロンのエラストマフィルム2、COC、好ましくは、6013F04等の光学的に透明なポリマーから形成される、約100~200ミクロンの厚さの光学フィルム3を示す。

【0120】

図2は、約130の温度まで加熱された、加熱ロールラミネータ13(1)を通して、平坦な基板11(5)上に、好ましくは、シリコン剥離コーティングを伴うポリエチレンフィルム等の材料から形成される保護カバーフィルム8(2)と組み合わせて、フィルム7を送ることによって、シリコンウエハ11(5)等の平坦な基板にエラストマCOCフィルム7(3)を整合させ、マイクロ流体チップ9(4)上に整合されたフィルムを生産するプロセスの図である。最終製品は、典型的には、全てシリコンウエハの上にある、容易に除去され得る保護フィルム、エラストマCOCおよび/またはポリメタクリレート(PMA)層、マイクロ流体チップを上部に有するであろう。

B. 薄いエラストマの水支援CO<sub>2</sub>レーザ機械加工フィルム

【0121】

熱損傷を殆ど伴わない、薄いエラストマフィルムおよび他のポリマーフィルムをレーザ機械加工するためのプロセスが、開発されている。レーザ方法は、毛細管作用を使用して、水の薄フィルム上にポリマーの層を積層することを伴う。水の層は、漂遊熱およびIRを吸収する役割を果たし、これがレーザ処理プロセスの間に移動または剥離しないように、材料のための工作物保持特徴として作用する。材料はまた、毛細管支援方法を使用して、ゲルマニウム、IRポリマー、またはサファイア等のIR透光性材料上に積層されることができる。

【0122】

薄いエラストマフィルムは、特に、CO<sub>2</sub>レーザを用いて機械加工されるとき、有意な反りおよび融解に悩まされる。本プロセスは、入手可能な機器を使用して、薄フィルムの精密なレーザ機械加工を可能にする。

【0123】

図3は、水支援レーザ機械加工技法120の略図である。薄いエラストマポリマーフィルム260は、水フィルム262の毛細管作用を使用して、ガラス、ゲルマニウム、サファイア、氷、またはIRポリマー等の基板の上に押下される。水262は、切断されたフィルム266を押下し、レーザ機械加工プロセスからの一部の漂遊エネルギーを吸収する。

C. 溶媒系COC糊

10

20

30

40

50

## 【 0 1 2 4 】

溶媒接着剤は、2つの部品をともに恒久的に接合する際に重要な役割を果たす。事前混合された糊は、使用がより安全かつより容易である。

## 【 0 1 2 5 】

接着剤層を迅速かつ均一に適用する能力は、平坦な表面を接合するための新しい方法をもたらす。本技法は、単純であり、研究室または製造ラインにおいて容易に遂行されることができる。本プロセスは、UV硬化性のものだけでなく、多くの種類の接着剤のために使用され得る。

## 【 0 1 2 6 】

溶解した環状オレフィンコポリマー（COC、TOPAS（登録商標） 8007s0 4）から作製される溶媒系糊は、シクロヘキサンと、アセトンとから成る。COCペレットが、1：4体積比においてシクロヘキサン中に溶解され、本プロセスは、数日かかる。アセトン等の溶媒が、混合物が光学性質において変化し始め、シクロヘキサン/アセトン混合物におけるCOCの最大可溶性を示すまで、添加される。アセトンは、糊粘度を低下させ、その攻撃性を下げる。糊は、高粘度であり、室温において急速に硬化する。トルエンが、糊の粘度および蒸発特性を変化させるために添加されてもよい。糊の硬化は、接合された基板の間のある程度の気泡形成を引き起こし得、したがって、小さい接合面積が、好ましい。糊は、2つのCOC部品の間の強力かつ不可逆的な接合を確実にする。糊は、COCをガラスに接合し、ガラスをガラスに接合するために使用されることができる。低い耐溶媒性を伴うプラスチック上での使用は、推奨されない。低温環境における糊の適用は、作業時間を延長し、硬化の間の溶媒排出を改良する。 10 20

D. 薄いポリマー/エラストマフィルムの選択的形成および接合のための技法

## 【 0 1 2 7 】

熱接合プロセスにおいて平坦な基板の領域を選択的に接合するためのプロセスが、開発されている。接合されないままであるように設計される領域は、非相互作用材料を用いてコーティングされる。油性マーカおよびウシ血清アルブミン（「BSA」）が、COC基板を選択的に接合するための単純かつ生物学的に適合性の物質として実証されている。本プロセスは、エラストマ材料接合プロセスに適用されているが、他の熱接合材料のためにも同様に有用であるはずである。

## 【 0 1 2 8 】

別の接合手順は、図4A - 4Dに示されるように、多孔性セラミック等の半多孔性材料の中に材料を真空吸着させることによって、接合プロセスの間に膜を熱成形することを伴う。半多孔性材料の形状は、膜が変形するためのネガ型の金型を画定する。材料が、接合プロセスの間にその融点において保持される場合、これは、接合プロセス後にその形状を留保するであろう。用途は、ポンプダイヤフラム加工および弁開発を含む。 30

## 【 0 1 2 9 】

任意の加圧された表面が、熱プロセスの間に接合するであろう。ドアマット弁等のいくつかの構成要素は、接合されないままであるが、表面間接触を留保する必要がある。接合する表面と接合しない表面とを制御する能力を伴わないと、デバイス設計の表面性質を制御することは、困難であり、また、本デバイス内の妨げられない流体経路を確実にすることは、困難である。 40

## 【 0 1 3 0 】

真空形成膜を使用する選択的接合技法は、熱接合デバイスの片側に組み込まれ、膜の意図されるネガ型形状に形成される、半多孔性材料を利用する。層が、組み立てられ、膜は、2つの基板の間に挟持される。真空が、半多孔性材料に印加され、膜を半多孔性特徴の形状に変形させる。熱および圧力が、本デバイスの2つの半体に膜を接合するために、熱接合ステップにおいて使用される。膜は、半多孔性材料に接合しない。半多孔性材料の形状は、接合後に膜によって留保される。

## 【 0 1 3 1 】

図4A - 4Dは、熱成形エラストマ膜のための金型としての役割を果たし（図4A）、 50

真空がエラストマ膜を金型の中に变形させ（図4B）、独立型の熱成形膜をもたらす（図4C）、または熱い間にマニホールドに接合され得る（図4D）ことを示す、ネガ型特徴を伴う多孔性真空チャックの断面図である。図4A - 4Dは、熱成形エラストマ膜274のためのテンプレートとしての役割を果たす、機械加工された金型特徴272を伴う多孔性セラミック真空チャック270の使用を示す。膜材料274が、多孔性炭素材料276上に置かれ、真空278が、印加される。負圧が、金型のネガ型特徴の中に膜を引き込む。熱280が、膜の融点に到達する、またはそれを越えるように印加される。膜274は、次いで、冷却され、多孔性炭素チャック276から剥離されることができ、または熱い間に別のポリマーデバイスに対して押圧され、恒久的な接合された膜278を作成することができる。

10

E. レーザ切断エラストマフィルムを使用する3D流体配策

【0132】

薄いエラストマフィルム上でのレーザ処理および接合プロセスは、ホットエンボス、機械加工、または他のプロセスの必要性を伴わずに、マイクロ流体チャネルの3D配策を可能にする。

【0133】

3D流体配策は、レーザ切断接着剤材料を使用して遂行されることができ、エラストマが、マイクロ流体チャネルを発生させるためのより堅牢かつ耐溶媒性の選択肢である。本プロセスは、チャネル厚が明確に制御されることを確実にし、低体積流体配策のためのより良好な方法である。

20

III. マイクロ流体デバイスのためのオンチップ制御および感知要素

A. 環状オレフィンコポリマー（「COC」）エラストマ構造

【0134】

TOPAS（登録商標）Advanced Polymers GmbH（Raunheim Germany）から入手可能なもの等のエラストマ材料が、PDMS膜と同一の問題を有していないエラストマ膜を作製するために使用されることができ、これらの材料は、第WO2011129869号「Melt blends of amorphous cycloolefin polymers and partially crystalline cycloolefin elastomers with improved toughness」に説明されている。TOPAS（登録商標）COC樹脂は、ポリエチレンおよび他のポリオレフィンプラスチックと化学的親和性があり、超高純度、非常に透明、かつUV透過性のガラス様材料であり、幅広い国際的規制対応を伴う。それらは、非結晶性であり、包装フィルムにおける耐熱性、滅菌性、熱成形性、および収縮性の利益を伴う。それらは、水分、アルコール、および酸に対する障壁性質を有する。

30

B. 転動されるエラストマダイヤフラム

【0135】

応力緩和特徴を伴うエラストマダイヤフラムが、マイクロ流体弁およびポンプダイヤフラムにおいて使用されるために開発されている。膜は、弾性変形を被るのではなく、作動の間に転動する、熱成形された半円形区分を特徴とする。ダイヤフラムはまた、類似する幾何学形状のマニホールド上に着座するように設計される。膜の作動は、圧縮ガスおよび真空を使用して行われる。ポンプチャンバは、具体的変位体積に対して設計されることができ、弁は、設定圧力においてシールするように設計されることができ、

40

【0136】

ローリングダイヤフラムはまた、熱可塑性フィルム、ゴムシート、およびシリコーンを含む、熱可塑性エラストマ以外の材料から作製されることができ、ローリングダイヤフラムの種々の形状が、異なる用途（すなわち、弁、アキュムレータ、およびポンプチャンバ）に適合するように探求されることができ、最適化が、FEAソフトウェアにおける反復シミュレーションを使用して行われることができる。

【0137】

50

これらの転動されるダイヤフラムの製造は、多孔性炭素チャックを使用する熱成形および接合によって促進される。

【0138】

エラストママイクロポンプおよび弁は、信頼性および明確に制御された流体変位に関する問題に悩まされる。本弁設計は、種々の材料の弾性膜を作動させ、それらをより堅牢かつ効果的にするための低応力方法をもたらす。本設計は、弁に関するシール圧力およびポンプチャンバに関する変位体積を決定することをより容易にする。本タイプのダイヤフラムは、限定された量の弾性歪みを被り、ダイヤフラムの塑性変形および疲労破壊の機会を低減させる。用途は、ポンプチャンバ、弁、体積貯蔵装置、および流体アキュムレータを含む。

10

【0139】

図5Aおよび5Bは、フープ歪みを示す、ローリングダイヤフラム10の斜視図である。ローリングダイヤフラム10は、フープ16を伴う、辺縁14を伴う、ローリング辺縁12を有する。

【0140】

図6A - 6Dは、異なるタイプのローリングダイヤフラムを示す、概略図である。図6Aは、外部ローリングダイヤフラム20であり、図6Bは、内部ローリングダイヤフラム22であり、図6Cは、形状変化ダイヤフラム24であり、図6Dは、横ローリングダイヤフラム26である。

【0141】

各タイプのダイヤフラムは、種々のポリマーおよび熱可塑性エラストマから熱成形されることができる。各タイプは、体積変位および応力管理に関する一意の利益を提供する。

C. 最適化されたダイヤフラムポンプチャンバ

【0142】

信頼性のある変位体積および改良された信頼性を確実にする、最適化されたポンプチャンバを伴うダイヤフラムマイクロポンプが、開発されている。1つのポンプチャンバは、ローリングダイヤフラムを特徴とし、1つは、予測可能な変位ストロークを伴うポンプチャンバを特徴とする。

20

【0143】

図7A - 7Eは、ローリングエラストマダイヤフラムを使用する、圧送の機構の概略図である。空気圧圧力源(+P)が、ダイヤフラムを変位させるために使用される。真空(-P)が、ダイヤフラムを引き込み、リザーバを充填するために使用される。圧力が、次いで、変位ストロークのために印加される。図7Aは、流体吸引の前であり、図7Bでは、真空が、リザーバを充填するために使用され、図7Cは、液体で満たされたチャンバであり、図7Dでは、圧力が、チャンバに印加され、図7Eは、変位ストロークの終了である。図7A - 7Eは、ローリングエラストマダイヤフラム20を使用する、圧送の機構を示す、略図である。空気圧圧力源(+P)30が、ダイヤフラム20を変位させるために使用される。真空(-P)32が、ダイヤフラム20を引き込み、リザーバ34を充填するために使用される。圧力30が、次いで、変位ストロークのために印加される。

30

【0144】

ローリングダイヤフラムポンプチャンバ30は、ローリングダイヤフラム32を使用し、チャンバ内の流体体積を変位させる。チャンバは、流体入口と、弁とを含む。ダイヤフラムは、圧縮ガスおよび真空を使用して作動されることができる。任意のタイプのローリングダイヤフラムが、使用され得るが、内部ローリング機構を伴うものが、好ましい。

40

【0145】

第2のポンプチャンバ設計は、ポンプチャンバからの完全な流体変位を保証する、最適化された形状である。図8A - 8Fに示されるように、チャンバ幾何学形状は、膜が、ポンプストロークの間にポンプチャンバとの接触リングを留保するように、加圧荷重下の可撓性膜の弾性応答を中心に設計される。本特徴は、流体の小さいポケットがダイヤフラム内に捕獲される機会を排除し、信頼性のある変位体積を確実にする。ポンプチャンバはま

50



## E. 最適化されたマイクロ流体ダイヤフラム弁

## 【0153】

流体通過のオンチップ制御のための能動的マイクロ流体弁が、図10に示されるように、弾性膜に関する接触ラインを画定する、半円形辺縁を特徴とする。図10は、接合された弾性膜92および画定されたシール接点94を伴う弁90の単純な概略図である。流体流動は、双方向性であり得る。シール辺縁94は、示されるように、小さい平坦面または丸形形状であり得る。

## 【0154】

シール面96は、弁の1つの入口98上にのみ位置し、他の流体入口100は、弾性膜との接触がない。弾性膜92は、圧縮ガスを使用して作動され、流体マニホールドの別個の半体102、104に接合される。本弁設計は、双方向性流体流動を可能にする。

## 【0155】

本設計は、信頼性のあるシールを発生させることが困難な多くのエラストマダイヤフラム弁に関する問題を回避する。ドアマットおよび一方フラップ弁は、シール面の周囲の薄フィルム流体流動および流体クリープに悩まされる。

## 【0156】

図11は、弁の入口におけるシール圧力を増幅する、丸形シール特徴を有する、弁であり、膜がシール界面においてより高い歪みおよび接触圧力を被る状態で、弁を断面において示す。

## 【0157】

図12A - 12Cは、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁である。図12Aは、丸形シール表面を伴うティアドロップ形弁および弁の全体的体積を低減させるティアドロップ形状の斜視図である。ティアドロップ形状は、同一のサイズの入口の円形プロファイル弁と比較されるとき、弁の死容積を低減させる。ここでは、CADにおけるティアドロップ弁のスクリーンショットである。シール形状は、赤色の破線において示される。図12Bは、ポンプ内に統合された弁を示す。図12Cは、ポンプ内に統合された弁の断面図である。図12Dは、種々の弁（ドアマット、リング、ティアドロップ、図8の弁）の性能を比較し、ティアドロップ弁が、以前に設計されたドアマット弁に対して改良された性能を呈することを実証する、グラフである。

## 【0158】

さらなる改良が、弁の合計体積を低減させることによって、弁に対して行われることができる。本弁の好ましい構成は、弁の出口に関する流体経路を作成するが、シール面から半径方向に余分な体積を追加しない、ティアドロップ形状である。弁の形状は、体積を低減させるが、また、平滑かつ連続した表面を提供するために、ロフト付きである。

## F. マイクロ流体アキュムレータ

## 【0159】

流体アキュムレータは、大規模な液圧回路において重要な役割を果たすが、マイクロ流体システムに関して商業的に開発されていない。アキュムレータは、圧力下で流体体積を一時的に貯蔵することによって、流体流動を緩和する必要性を満たす。これらの構成要素は、電気回路におけるコンデンサに類似する。

## 【0160】

図13A - 13Cは、いくつかの異なるタイプのマイクロ流体アキュムレータの概略図である。図13Aは、膜内の貯蔵された弾性エネルギーを使用して圧力を貯蔵するための可撓性膜を使用する、アキュムレータの概略図である。図13Bは、ガス気泡を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まりマイクロ流体チャンネルを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。図13Cは、片側上の空気およびリザーバ内に貯蔵される流体を伴って加圧されるピストンを使用する、マイクロ流体アキュムレータの概略図である。

## 【0161】

いくつかの異なるタイプのマイクロ流体アキュムレータが、マイクロ流体チップ内に加

10

20

30

40

50

圧流体を貯蔵するために使用されることができる。圧力は、圧縮ガス、表面張力現象、または弾性歪みエネルギーを使用して貯蔵される。マイクロ流体アキュムレータ 110 は、図 13A - 13C に示されるように、ローリングダイヤフラム 112 を使用することができる。ダイヤフラム 112 は、片側上で空気 114 を用いて加圧され、流体 116 が、下方のリザーバ 118 内に貯蔵される。流体体積が、空気圧を超えると、ダイヤフラム 112 は、過剰な体積を貯蔵するために移動することが可能である。

#### 【0162】

アキュムレータ 110 は、圧力を貯蔵するために、可撓性膜 112 を使用する。弾性変形は、構成要素の体積の変化をもたらす。本種類のアキュムレータは、膜の後部に対する圧力を変化させ、膜のサイズ（すなわち、厚さおよび直径）を変化させることによって、調整されることができる。

10

#### 【0163】

図 13B に示されるマイクロ流体アキュムレータ 120 は、ガス気泡 124 を捕獲し、圧力下で体積を貯蔵するための小さい行き止まりマイクロ流体チャンネル 122 を使用することができる。ガス気泡 124 は、より多くの体積が、チャンネル 112 に進入するとき捕獲され、圧縮される。本タイプのアキュムレータは、独立型マイクロ流体チップ上で正常に試験された。

#### 【0164】

図 13C に示されるマイクロ流体アキュムレータ 130 は、流体体積を貯蔵するために、低摩擦ピストン 132 を使用することができる。空気圧 134 が、ピストン 132 の後側に印加され、他の側上の流体 136 を加圧する。流体 136 は、ピストンのボア 138 内に貯蔵される。

20

#### 【0165】

図 14A - 14C は、ダイヤフラムが片側上の空気を用いて加圧され、流体がリザーバ内に貯蔵される、体積なし（図 14）、蓄積する体積（図 14B）、および最大容量（図 14C）におけるマイクロ流体アキュムレータである。マイクロ流体アキュムレータ 140 は、図 14A - 14C に示されるように、ローリングダイヤフラム 142 を使用することができる。ダイヤフラム 142 は、片側上で空気 144 を用いて加圧され、流体 146 が、下方のリザーバ 148 内に貯蔵される。流体体積が、空気圧を超えると、ダイヤフラム 142 は、過剰な体積を貯蔵するために移動することが可能である。

30

G. 弾性膜偏向および捕獲ガスアキュムレータを使用する圧力感知

#### 【0166】

圧力感知方法は、圧力下で偏向する弾性膜と、光学レバーとを活用する。膜は、入射光を反射するために、反射材料を用いてコーティングされることができる。レーザが、膜に照準され、膜表面から反射されることができる。レーザは、位置または光強度のいずれかを感知する、光検出器に指向されることができる。光強度が、選択される場合、回折格子が、格子上の位置に基づいて、光を分割するために使用されてもよい。

#### 【0167】

光学レバーは、圧力のわずかな変化に対しても極めて敏感である、圧力感知方法を提供し得る。市販の殆どの圧力センサは、psi の桁の圧力を感知する一方、いくつかのマイクロ流体用途は、psi の数分の 1 の圧力感知を要求する。

40

#### 【0168】

捕獲ガス圧力センサは、感知特徴（カメラ）が、マイクロ流体デバイスの一部ではなく、したがって、チップの費用を追加しないため、有用である。本センサはまた、線形であり、これは、より容易な較正および測定に役立つ。

#### 【0169】

図 15A - 15B に示されるように、光学レバー 212 および変形可能な膜 214 を特徴とする、圧力センサ 210 が、利用されることができる。膜 214 は、反射材料である、または屈折率性質を有することができる。レーザ 216 が、膜 214 に照準され、表面から反射される。出力角度 218 は、圧力下の膜偏向 220 の関数として変化する。レー

50

ザ出力 2 2 2 は、光検出器 2 2 4 に入射する。回折格子および強度測定またはピストン感知方法もまた、実装され得る。

【 0 1 7 0 】

捕獲ガスマイクロ流体アキュムレータの性質を使用する圧力感知もまた、図 1 5 A - 1 5 C に示されるように、使用されることができる。ガス気泡 2 3 2 の長さは、マイクロ流体チップ内の液体 2 3 6 の圧力 2 3 4 に正比例する。圧力 2 3 4 が、捕獲されたガスを蓄積する際、気泡 2 3 2 は、圧縮され、カメラ 2 3 8 または他の光学検出器が、気泡の長さまたは液相の変化を感知するために使用されることができる。

H . 液体レベル感知

【 0 1 7 1 】

液体レベルセンサが、多くの大規模な流体システムに関して見出されることができるが、マイクロ流体チップ内の流体体積を追跡するための技術は、殆ど存在しない。非侵襲性かつ正確な様式における流体体積の感知が、オンボード流体工学を監視し、流体がチップの他の部分に交換または輸送される必要があるときを決定するために有用である。これはまた、チップ上の静水圧を制御するために役立つことができる。

【 0 1 7 2 】

小規模なマイクロ流体リザーバに関する液体レベル感知方法が、静水圧下で偏向する、変形可能な膜を利用することができる。カメラを用いてリザーバ内の流体高を視覚的に追跡することによるレベル感知が、直接測定、光透過および色飽和性質、またはテーパ状リザーバを使用して行われることができる。

【 0 1 7 3 】

マイクロ流体リザーバに関する液体感知方法論が、図 1 6 A - 1 6 E に示される。図 1 6 A - 1 6 E は、マイクロ流体リザーバに関する液体感知方法論の概略図であり、変形可能な膜が、静電容量、接触材料の間の抵抗、または光学性質の変化のために、静水圧下で培地リザーバの中に組み込まれる ( 図 1 6 A ) 。図 1 6 B は、圧力下で偏向する膜を示す。図 1 6 C は、透明な窓または側を有する、流体リザーバを示し、流体レベルの変化が、カメラによって測定および記録される。図 1 6 D は、カメラがリザーバの上方に位置付けられる、類似する流体リザーバを示す。図 1 6 E は、光学測定を提供するために、染料を含有する流体の画像を撮影する、カメラの概略図である。

【 0 1 7 4 】

培地リザーバ 2 4 2 の中に組み込まれる、変形可能な膜 2 4 0 が、静水圧 2 4 4 下で偏向されることができる。膜は、静電容量、接触材料の間の抵抗の変化のために別の表面に接触する ( 2 4 0 ) 、または光学システム 2 4 6 を使用して観察されることができる ( 図 1 6 A ) 。付加的な光学感知方法は、直接測定のためのマイクロ流体デバイスの側からの、または相関測定を使用する上方からの、液体レベルの観察を含む ( 図 1 6 B 、 1 6 C ) 。テーパを伴うリザーバ 2 5 0 が、流体の自由表面積が、流体高の関数として変化するように、設計されることができる。光学透過および色飽和性質も、同様に利用されることができる ( 図 1 6 D 、 1 6 E ) 、色飽和および光学透過は、リザーバ内の流体高の関数であろう。

I . 細胞観察および操作のためのマイクロ流体キャップ

【 0 1 7 5 】

マイクロ流体デバイスにおける滅菌性および容易なアクセスが、多くのチップ上のラボおよび実験用途にとって重要となる。例えば、培養培地を交換し、細胞培養を操作することが可能であることは、針またはピペットのためのデバイスアクセスを要求する。チップと相互作用する単純かつ滅菌性の方法をもたらす、新しいタイプのキャップが、マイクロ流体チップに関するこれらの手順を可能にするであろう。理想的には、これらのキャップは、撮像または背景照明を可能にするために、光学的に透明である。さらに、単回使用および使い捨てキャップが、滅菌性の理由から有用である。

【 0 1 7 6 】

図 1 7 A - 1 7 D は、細胞培養用途のための可撤性キャップの概略図である。光学的に

10

20

30

40

50

透明なスナップオンキャップが、図 17 A に示される。図 17 B に示されるように、キャップの上または下のエラストマ特徴が、応従性を追加する。シールのためのパターン化接着剤を伴う光学フィルムから形成されたキャップが、図 17 C に示される。キャップの下側上の圧入シールまたは圧縮エラストマ特徴が、図 17 D に示される。

【0177】

可撤性キャップは、図 17 A に示される一実施形態では、細胞培養用途のために含まれることができる。キャップ 150 の上部 152 は、光学的に透明であり、シールされることが可能である (154)。シールは、圧入、クランプ式ガスケット、またはゴム/エラストマシールを用いて遂行されることができる。キャップ 150 は、培養サンプリングおよび操作のために除去されることができる。圧入が、エッペンドルフ管および PCR キャップにおいて使用されるもののよう画定されることができる。これは、細胞培養分野における多くのキャップ設計に類似する。

10

【0178】

シール特徴はまた、図 17 B に示されるように、接合されるエラストマ特徴 156 の一部をキャップに暴露することによって作成されることができる。これは、明確に画定されたシール面を可能にするために、応従性を追加する。

【0179】

圧入キャップまたはガスケット付き界面の代替は、図 17 C に示されるような接着剤で接合された窓である。「キャップ」は、デバイス上に光学フィルムをシールするために使用される、パターン化接着剤を伴う光学フィルムから成り得る。本タイプのシール特徴は、マイクロ流体チップのシールのための滅菌性、単回使用、かつ安価な方法を提供し得る。

20

【0180】

図 17 D に示されるように、キャップは、圧入シールを有する、またはある種の圧縮されたエラストマ特徴 160 を使用することができる。暴露されたエラストマ材料は、歪みエネルギーまたはクランプ/ラッチを使用して圧縮され得る、キャップのシールのためのガスケットとしての役割を果たすことができる。接着剤ステッカが、マイクロ流体デバイスの平坦面をシールするために使用されることができる。

J. マイクロ流体チップへの空気圧接続

【0181】

殆どの商業的に入手可能な空気圧コネクタは、一度に 1 本の管であるか、またはねじ山付き締結具を特徴とするかのいずれかである。これらの動作は、いくつかの実験に関する結果にとって重要であり得る、時間を浪費する。迅速接続機構が、マイクロ流体実験におけるいくつかの動作が、時間依存性であるため、有用である。例えば、チップは、長い期間にわたって圧送から接続解除されることができない。しかしながら、接続解除が、流体体積にアクセスする、細胞培養を操作する、または顕微鏡上で画像を撮影するために要求され得る。

30

【0182】

マイクロ流体チップへの空気圧ラインのための迅速接続が、図 11 - 12 に示されるようなばね荷重またはクランプ式ガスケットを用いて達成されることができる。マイクロ流体チップを空気圧ラインに迅速に接続および接続解除する能力は、全ての空気圧接続のための信頼性のあるシールを伴うマイクロ流体チップの迅速な交換を促進する。

40

【0183】

マイクロ流体チップ 170 のための迅速解放特徴は、図 11、12 A、および 12 B に示される、ばね 178 荷重レバー 174、トグルクランプ 176、またはオーバーセンターラッチ 180 を使用して圧縮される、圧縮ガスケットまたは Oリング 172 のアレイを組み込むことができる。これらの挟持機構は、ツールまたはねじの使用を伴わずに、マイクロ流体チップへの空気圧および流体ラインの容易な接続を促進する。

K. ポンプダイヤフラムの作動のための動的に制御される圧力調整

【0184】

50

ポンプ膜の急速な作動は、瞬間的な流速のピークを引き起こし、これは、流動安定性に対して悪影響を及ぼし得る。生物学的用途では、マイクロポンプの動的作動は、有意な剪断応力を含意し、これは、生体成分に影響を及ぼし、潜在的に、害を及ぼし得る。

【0185】

一実施形態では、本システムは、ポンプチャンバの動的圧力制御のために、プログラム可能な圧力源を構成する。弾性膜を作動させるための圧力は、膜が緩慢に撓曲するように、真空から正圧まで緩慢に制御される。ポンプチャンバの漸進的作動は、圧送システムの脈動性を低下させ、ポンプ流動を安定させる。

L. 薄いエラストマフィルムを用いて作製されるマイクロ流体酸素供給器

【0186】

酸素供給は、細胞培養およびチップ上のラボ用途において重要な役割を果たす。生体適合性かつ低吸収ガス透過性膜を伴うマイクロ流体酸素供給器が、開発されている。長い縦横比のマイクロ流体チャンネルは、ガス移送のための大きい拡散面を作成し、薄い膜は、最適なガス移送を助長する。ガス透過性材料は、好ましくは、シクロオレフィンコポリマー(COC)等のエラストマである。これらは、メタロセン触媒を使用したノルボルネンおよびエチレンの共重合によって生産される、透明な非結晶性の熱可塑性物質である。これらのコポリマーは、高い透明度、高い光透過率、低い複屈折、および高い屈折率を含む、多くの魅力的な光学性質を有する。他の性能利益は、優れた生体適合性、非常に低い吸湿性、良好な耐薬品性、優れた溶融加工性および流動性、および約 - 50 からそれらのガラス遷移温度付近までの広い温度範囲にわたって留保される、高いリジディティ、弾性率、および強度を含む。

【0187】

代替エラストマ材料は、(スチレン-エチレン-ブチレン-スチレン(SEBS))またはポリエーテルエーテルケトン(PEEK)、ポリアリールエーテルケトン(PAEK)族における無色有機熱可塑性ポリマー、高温まで留保される優れた機械的および化学的抵抗性質を伴う半結晶性熱可塑性物質等の薄いリジッド材料を含む。パーフルオロアルコキシアルカン(PFA、PTFE)は、溶媒、酸、および塩基に対する高い抵抗によって特徴付けられる、テトラフルオロエチレンおよびパーフルオロエーテルのコポリマーである、またはPTFEである。他の材料も、ガス輸送性質に基づいて、考慮され得る。酸素輸送の性能は、ASTM D3985によって決定される、材料の酸素透過率によって決定されることができる。酸素供給器の改良された性能は、より高い濃度の酸素を使用し、ガスの部分的圧力を増加させ、潜在的に、移送面にわたってガスを流動させることによって達成されることができる。ガス交換が、酸素センサからのフィードバックを使用して監視されることができる。

【0188】

COCエラストマは、酸素供給器設計における使用のための長細い縦横比において接合されることができる。他の材料は、異なる積層プロセスを要求し得る。

IV. ヒドロゲル足場

A. マクロ多孔性エラストマフィルムを使用する細胞支持足場

【0189】

光学的に透明な低剛性の細胞支持足場が、細胞生物学において広い範囲の用途を有する。殆どの商業的に入手可能な細胞支持足場は、撮像が難しく、リジッド材料、通常、ポリスチレンから作製される。

【0190】

マイクロ流体チップおよびトランスウェルインサートにおいて使用されるべき細胞支持足場は、低い自己蛍光を伴う、光学的に透明である疎水性エラストマから作製される。細孔サイズは、具体的用途に調整されることができるが、材料の疎水性性質のため、さらに大きい細孔(約1mm直径)も、可能性として考えられる。本構造は、液体または細胞含有ヒドロゲル中に細胞を懸濁させるために使用されることができる。本タイプの足場は、低弾性であり、これは、細胞接着および応力応答に対する利益をもたらす。

10

20

30

40

50

## B．細胞足場としてのヒドロゲル構造の鋳造

### 【0191】

ヒドロゲル含有は、類似するデバイスにおいて一般的に使用される、メニスカス固定技法の代替をもたらす。本設計は、これが、ゲルが膨潤することを可能にし、細胞培養への直接アクセスを可能にし、ゲル配設に対するより柔軟かつ信頼性のある解決策をもたらすため、実験に対する利益をもたらす。

### 【0192】

細胞含有ヒドロゲルが、マイクロ流体デバイスの中に配設された。ヒドロゲルは、別個のコンパートメントの中に注入され、次いで、重合される。必要な場合、ヒドロゲルは、液体吸収を用いて、膨潤することを可能にされる。カプセルは、次いで、流体接続およびガスケット付き界面を伴うマイクロ流体チップの中に挿入されることができ、本コンパートメントの一実施形態は、マイクロ流体チャンネルのためのテンプレートとしての役割を果たす、可撤性構造を含む。カプセルの基部は、生物学的微細構造および細胞挙動が、原位置で観察され得るように、撮像が容易な材料である。これらのヒドロゲルコンパートメントは、2つの培地チャンネルの間の灌流可能な血管網を助長するように具体的に設計される。

10

## C．ゲルを安定させるためのヒドロゲルの中へのピンの挿入

### 【0193】

可撤性支持構造292を特徴とする、ヒドロゲルコンパートメント290が、図19A - 19Dに示される。容器294は、培地298とともに上置される、ヒドロゲル296を保持する。ピン292が、形成されるようなゲルを安定させるために、ヒドロゲルチャンバ296の中に挿入される。

20

### 【0194】

いったんピン292が、除去されると、ピン空洞300（図15B、15C）は、流体チャンネルとして使用されることができ、可撤性ピン292は、ヒドロゲルが、可撤性ピン292に付着しないように、疎水性材料から作製されるべきである。殆どのフッ素化ポリマー（PFA、PTFE等）が、本用途のために機能するであろう。

### 【0195】

図20A - 20Dは、組織コンパートメントの側314に幅広い平坦なチャンネル312を伴う、ヒドロゲルコンパートメント310を示す。コンパートメント312の側314は、組織コンパートメントの側を横断する培地流動を可能にする。

30

### 【0196】

ゲルが、PHASE GUIDES（登録商標）等の可撤性支持構造322を含有する容器の中にポート325を通して挿入される。これらの支持構造は、媒体チャンネル全体を横断して延在する、鋭的隆起または壁324であり得る。ゲル重合後、チャンネル326は、培地で充填される。PHASE GUIDES（登録商標）322が、培地の中に溶解する。いったんPHASE GUIDES（登録商標）322が、溶解すると、ゲル328は、培地チャンネルの中に膨潤することを可能にされる。

### 【0197】

超弾性材料裏材330を伴うPHASE GUIDE（登録商標）タイプヒドロゲル挿入方法が、ゲル膨張および膨潤を可能にする。

40

## D．フラップまたは懸滴を使用するヒドロゲル配設

### 【0198】

ヒドロゲルは、図21A - 21Cに示される、回転フラップ機構等のシール可能流体チャンネルを作成するための方法を使用して、コンパートメントの中に配設されることができ、フラップ340は、垂れ下がり、ゲル配設の時点でシールを作成する。いったんゲル342が、重合すると、フラップ340は、軸342を中心として回転され、ゲルチャンネルの側を暴露する。フラップは、ゲル配設の間にシールを作成するために、疎水性材料および/またはエラストマから作製されることができ、細胞培養のための好ましい材料は、PTFEおよびPFAを含む、フルオロポリマーである。

50

## 【0199】

溶解可能コンパートメントを使用するゲル配設が、図22A - 22Dに示される。溶解可能材料は、ゲル配設のための充填可能容器350のように作用する(図22A)。ゲルは、コンパートメント352の中に進み、重合する(図22B)。複数のコンパートメントは、複数のゲルタイプを可能にする。コンパートメントは、培地の中に溶解する(図22C)。いったんコンパートメントが、溶解されると、ゲルは、膨潤し、ゲルの内外への流体流動のために容器350を充填する(図22C、22D)。

## 【0200】

ヒドロゲル配設方法は、シールされた形状に膨潤する、懸下するヒドロゲル液滴を使用することができる。依然として、メニスカス固定技法において、PHASEGUIDES (登録商標)またはある他のタイプの支持構造の使用を要求し得る。本実施形態では、ヒドロゲルは、スロット形懸滴プロファイルを使用して配設される。本方法は、描写されるような複数の流動パターンを可能にする。懸滴は、液滴が、本デバイス内の別の特徴に対して押圧し、シールを作成するまで、膨張し得る。

10

## 【0201】

スロット形懸滴プロファイルを使用するヒドロゲル配設が、図23A - 23Eに示される。本方法は、描写されるような複数の流動パターンを可能にする。懸滴は、液滴が、本デバイス内の別の特徴に対して押圧し、シールを作成するまで、膨張することができる。

## 【0202】

図23A - 23Eは、表面張力によって定位置に保持される、スロット形懸滴ヒドロゲル(図23A)、ゲルが培地チャネルを2つのチャネルに分離するために膨潤される(図23C)、上面図および側面図(図23B)、および液滴の上(図23D)および下(図23E)を横断する、液滴の長さに沿った(図23F)、および側に沿った(図23G、23H)、結果として生じる流動構成の断面概略図である。

20

## 【0203】

図23Aに示されるように、ゲル360は、ポート362を通して挿入され、そこで、ヒドロゲル液滴364は、表面張力に起因して、定位置に懸下する。これは、図23Bに示されるように、長い懸滴366を形成するようある幅を横断して延びる、または単一の液滴の形態であり得る。図23Cは、懸滴366の上面図を示し、図23Dは、懸滴366の側面図を示す。

30

## 【0204】

図23Eは、ヒドロゲル液滴368が、培地チャネル370a、370bの2つの領域の間の接続を封鎖するように膨張し得る方法を示す。図23Fは、懸滴368の上部を横断する連続流動372と、懸滴368の底部の下の閉塞した流動374とを有し得ることを示す。図23Gは、側からの上部を横断する流動チャネル372および底部に沿った流動チャネル374を示す。図23Hは、デバイス376内のヒドロゲル366および流動チャネル372および374を示す。

V. 高処理能力マイクロ流体実験のためのシステム

A. 複数のマイクロ流体チップへの接続を伴う電空制御マニホールド

## 【0205】

殆どのマイクロ流体プラットフォームは、一度に1つのチップで動作されるように設計される。これは、一度に複数のチップを制御するために、実質的なインフラストラクチャおよび管類を要求する。複数のチップへの容易なアクセスを促進するシステムは、より堅牢な実験設計を可能にし、複製および制御を実行する能力を広げる。

40

## 【0206】

マニホールドは、タワーまたはカルーセルを使用することによって、チップに関する通常の重力整合を保つ。チップが、異なる方式で配向された場合、チップが、適切に機能しないであろう、または漏出を被り得ることが可能性として考えられる。

## 【0207】

多くのマイクロ流体チップの接続および制御のための統合された電空マニホールドが、

50

利用されることができる。一度に1つのチップに空気圧ラインを接続するのではなく、複数のものが、同一の空気圧マニホールドに接続されることができる。これは、コントローラ、圧力源、および複製および制御条件を伴う実験を実行するために要求される他の構成要素の量を限定する。

【0208】

図24A - 24Dに示されるように、マイクロ流体チップ(図24A)が、マイクロ流体デバイス192を垂直に(192)(図24B)、または回転機構200上に(図24C、図24D)にスタックするために、電空マニホールド190、200の中に挿入される。垂直マニホールド190、200は、マイクロ流体デバイス192毎に理想的な重力配向を留保し、空気圧装置への迅速な接続を特徴とする。垂直タワー200(図24C)は、回転機構を特徴とし、マイクロ流体デバイス192が依然として空気圧装置に接続される間、デバイスアクセスを可能にすることができる。カルーセル202(図24D)もまた、実装され得、マイクロ流体デバイス192は、制御ユニット198の周囲に半径方向に接続される。制御ユニットの周囲の場所は、デバイス操作および/または撮像を可能にする。

10

【0209】

迅速コネクタが、チップが容易に追加または除去され得るように、設計に組み込まれることができる。回転プラットフォームもまた、チップが自律的に撮像および分析され得るように、撮像システムと統合されてもよい。

【0210】

図25A - 25Fは、マニホールド内にマイクロ流体デバイスを固着させるための例示的迅速接続デバイスを示す。

20

B. 組立を強化するための特徴を伴うマイクロチップデバイス

【0211】

マイクロチップデバイスは、流体流動のためのチャンネル、透過性膜、流体取込および流出のためのチャンネルへのコネクタ、および細胞の培養のための構成を要求する。

【0212】

膜が、これが漏出せず、処理の間に取外された状態にならないように、チップ内に接合され、膜が、確実に接合し、接合プロセスの間にガスが逃散することを可能にすることが重要である。

30

【0213】

好ましい実施形態では、標準的な顕微鏡スライド(ガラス、25.5 x 75.5 mm)上にパターン化される従来技術のデバイスと異なり、これらのチップは、25 mm幅 x 40 mm長さ(挿入範囲、比率、および測定の側面)であり、角が丸形である(面取りされる)(図26A)。その形状は、マニホールド内での整合を促進し、接合された膜が偶発的に外れることをさらに防ぐ。本デバイスは、2 ~ 3 mmの厚さであり、これは、5つの層を含有する。本チップのサイズおよび形状は、長さおよび幅の低減された縦横比が、チップを接合面の平坦度および振れに対して鈍感にするため、重要である。チップの2つの接合される半体の間の平行度の問題は、低減された縦横比によって少なくなる。

【0214】

図26Aは、中間に統合されたE-140膜を伴う、25 x 40 x 2 mmチップの実施例を示す。

40

【0215】

図26Bは、接合の間のガス逃散を可能にするための図26Aのチップ内の通気システムを描写する。チップフォーマットはまた、接合プロセスの信頼性を改良し、接合プロセスにおける捕獲された気泡および粒子の存在を排除するために、小さい平坦面を含む。接合されたチップは、依然として、強く、印加応力の加熱条件下で剥離する可能性がより低い。

【0216】

加えて、小さい接合面積は、チップの中心に開放されたガスポケットを作成する。これ

50

らのポケット内のガスは、小さい通気特徴を使用して、チップの縁を通して逃散することができる。これらの通気孔を伴わないと、内側のガスは、圧力を蓄積し、チップを剥離させ得る。

【 0 2 1 7 】

図 2 6 C は、C A D モデルにおいて、5 層チップ上の通気孔を示す。図 2 6 D - 2 7 E は、チップ上の保護縁を示す、斜視図である。チップは、上部および底部上の光学フィルムを保護する、隆起した縁を有する。これらの縁を伴わないと、フィルムは、これが物体に衝突し、光学フィルムを剥離させるとき、持ち上がり得る。保護されない縁を伴う本チップの角を参照されたい。

【 図 面 】

【 図 1 】

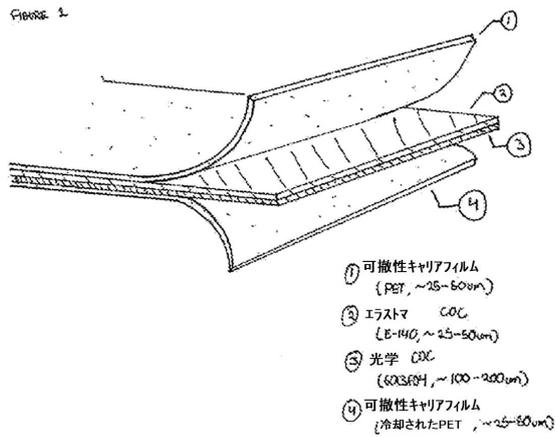


FIG. 1

【 図 2 】

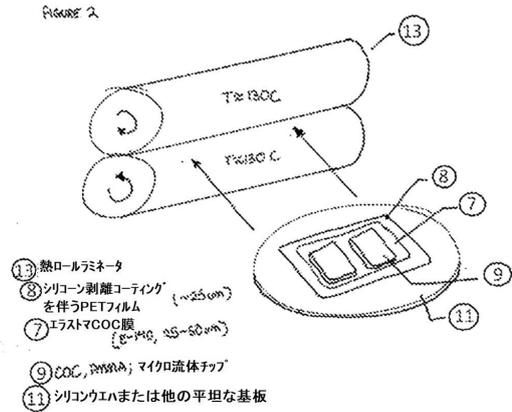


FIG. 2

10

20

30

40

50

【 図 3 】

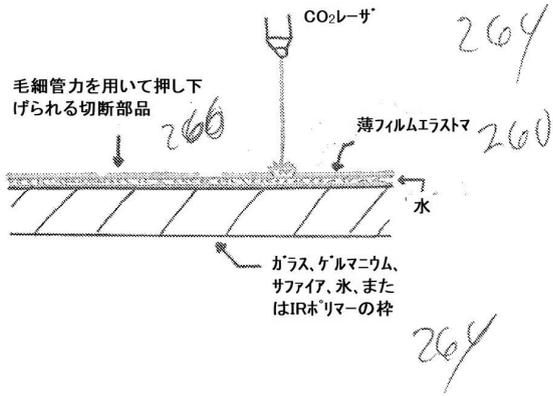
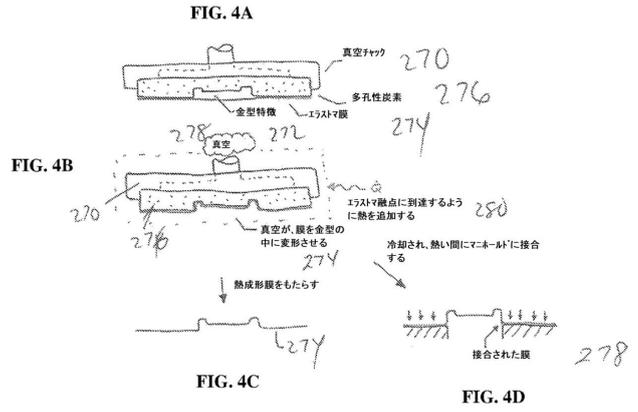


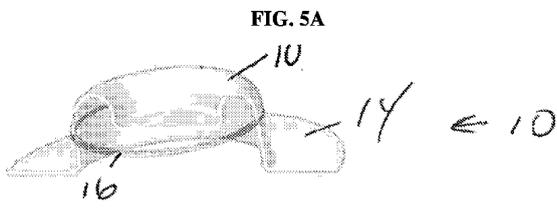
FIG. 3

【 図 4 】

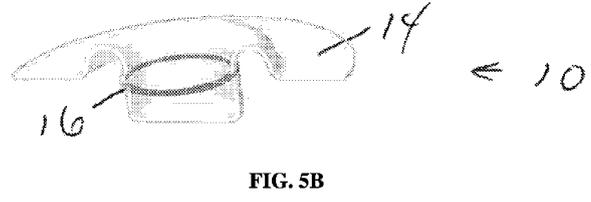


10

【 図 5 A 】



【 図 5 B 】



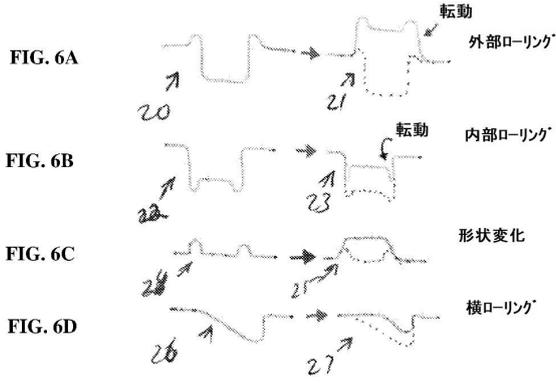
20

30

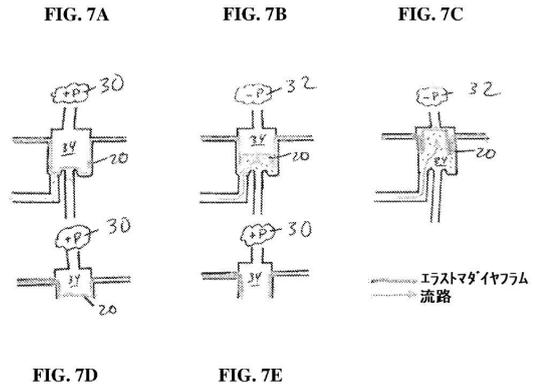
40

50

【 図 6 】

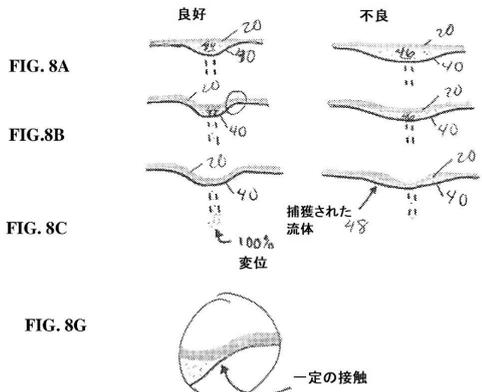


【 図 7 】

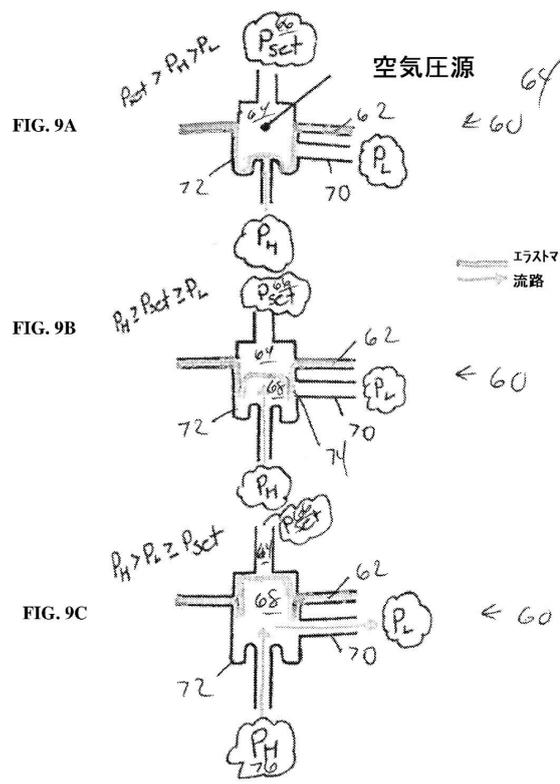


10

【 図 8 】



【 図 9 】



20

30

40

50

【 図 1 0 】

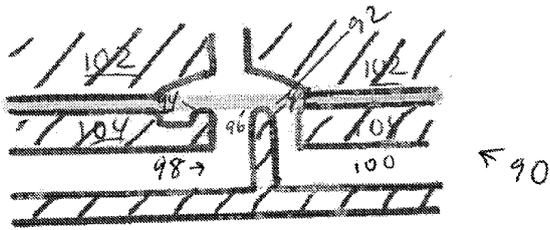


FIG. 10

【 図 1 1 】

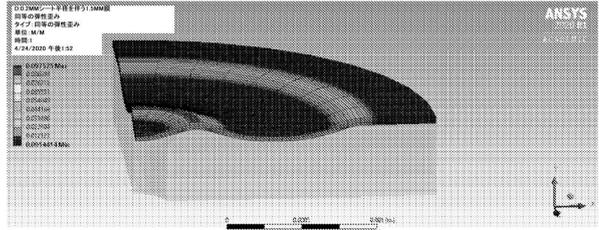


FIG. 11

10

【 図 1 2 - 1 】

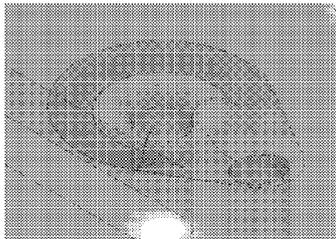


FIG. 12A

【 図 1 2 - 2 】

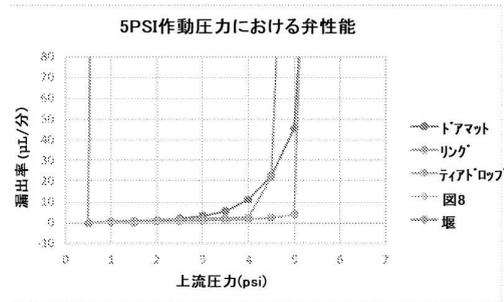
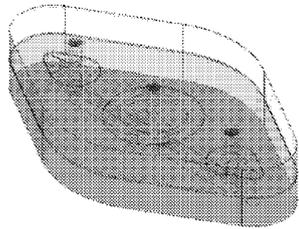


FIG. 12D

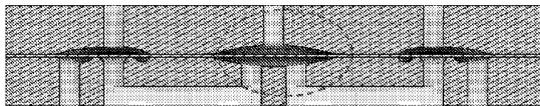
20

FIG. 12B



30

FIG. 12C



40

50

【 図 1 3 - 1 】

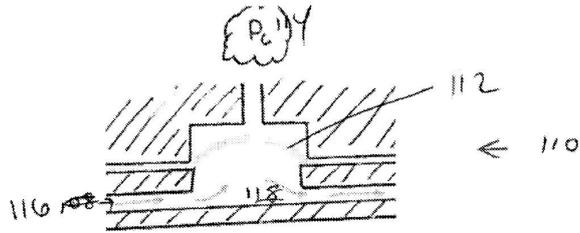


FIG. 13A

【 図 1 3 - 2 】

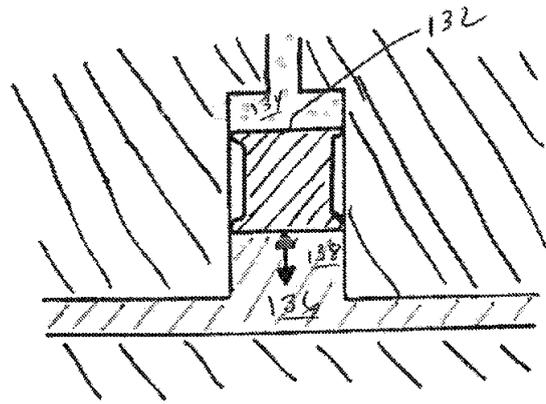


FIG. 13C

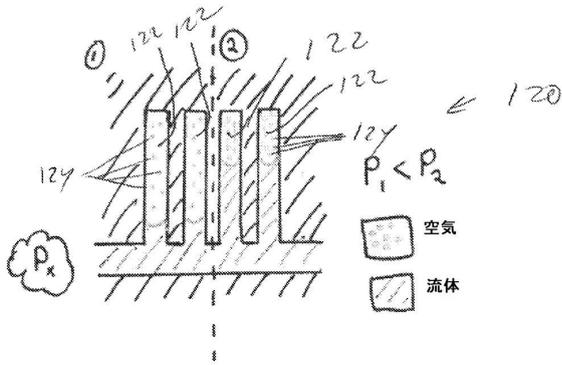
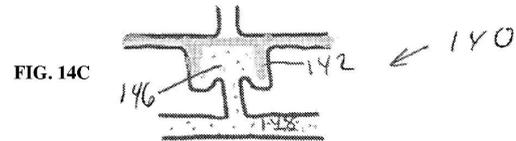
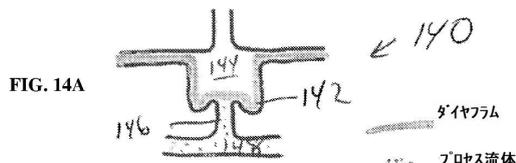


FIG. 13B

10

20

【 図 1 4 】



【 図 1 5 - 1 】

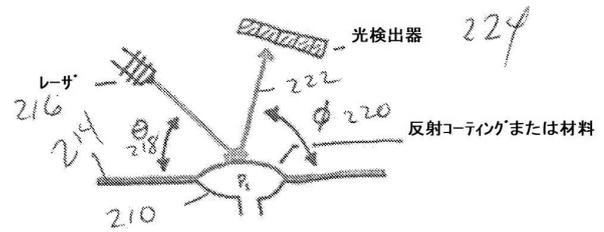


FIG. 15A

30

40

50

【 図 15 - 2 】

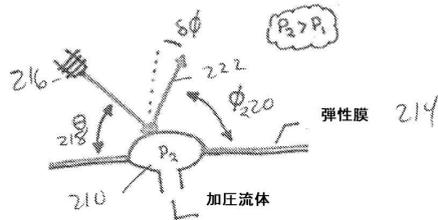


FIG. 15B

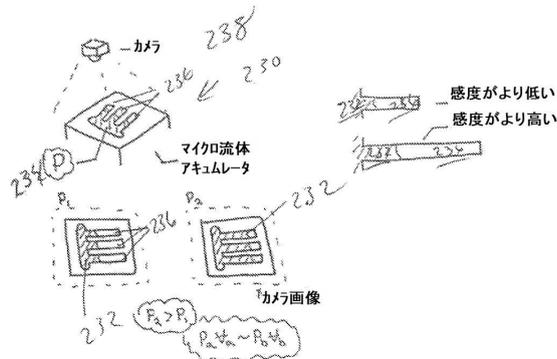


FIG. 15C

【 図 17 】

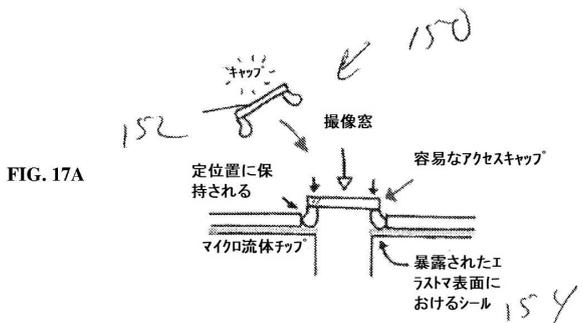


FIG. 17A

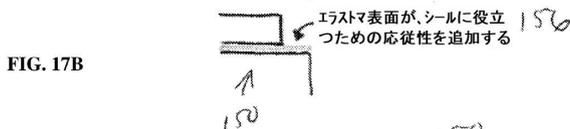


FIG. 17B

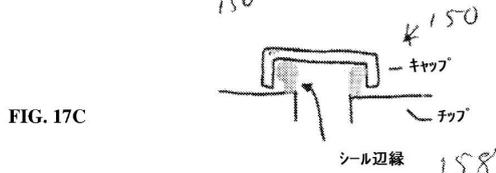


FIG. 17C



FIG. 17D

【 図 16 】

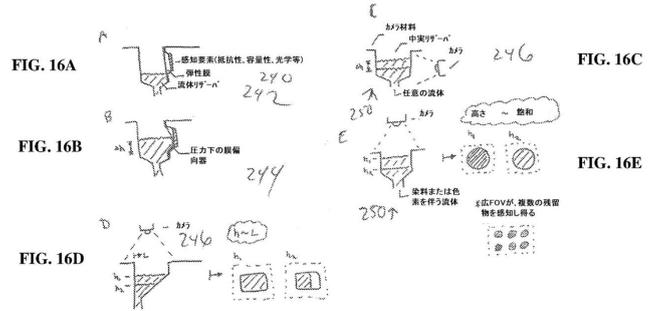


FIG. 16A

FIG. 16B

FIG. 16D

FIG. 16C

FIG. 16E

10

20

【 図 18 】

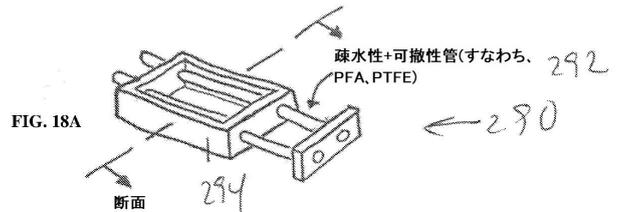


FIG. 18A

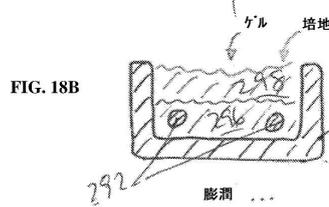


FIG. 18B

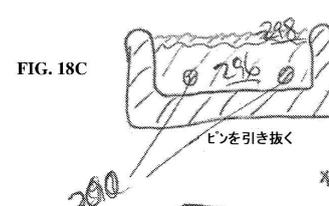


FIG. 18C

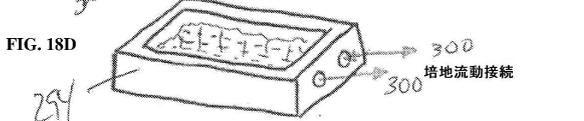


FIG. 18D

30

40

50

【図19-1】

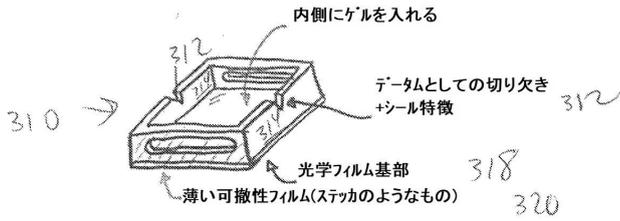


FIG. 19A

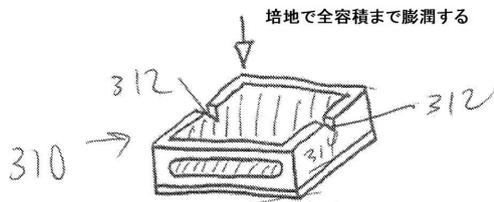


FIG. 19B

【図19-2】

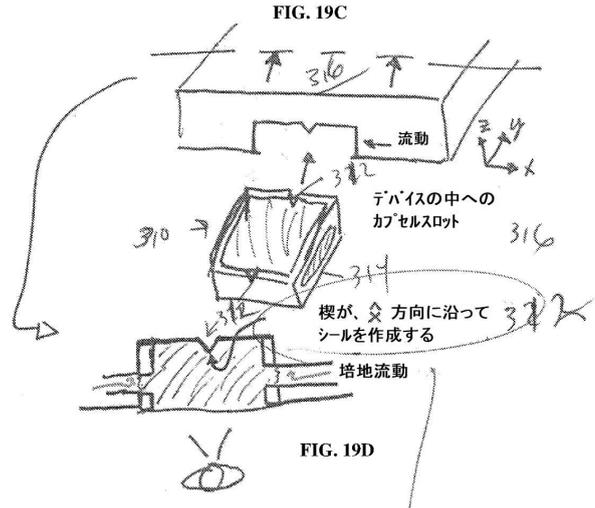


FIG. 19D

10

【図20-1】

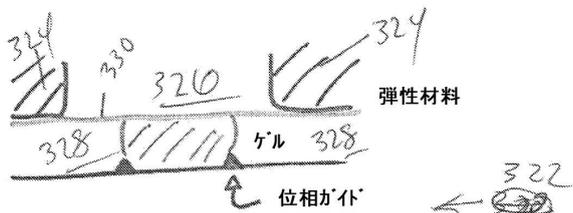


FIG. 20A

【図20-2】

以下へ膨潤する:

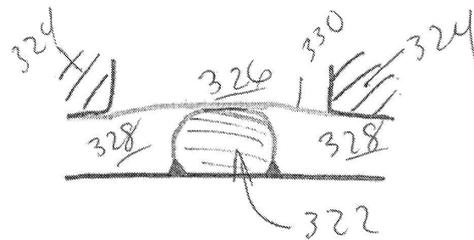
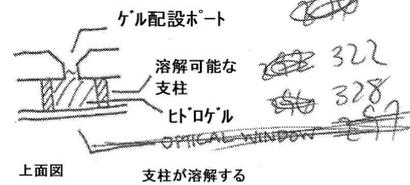


FIG. 20B

20

30

FIG. 20C



上面図

支柱が溶解する



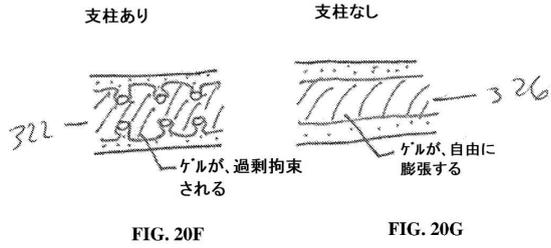
FIG. 20D

FIG. 20E

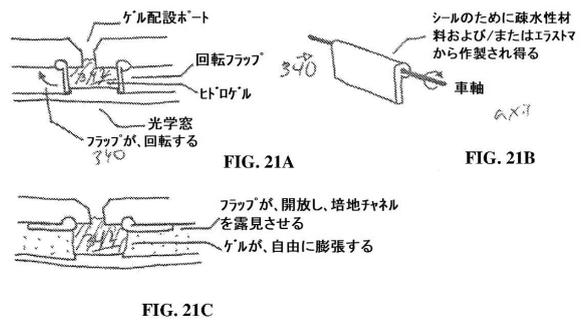
40

50

【 図 2 0 - 3 】

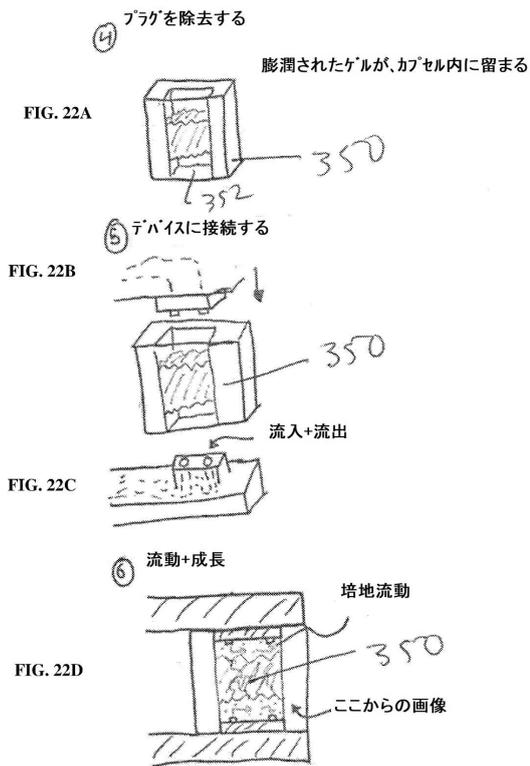


【 図 2 1 】

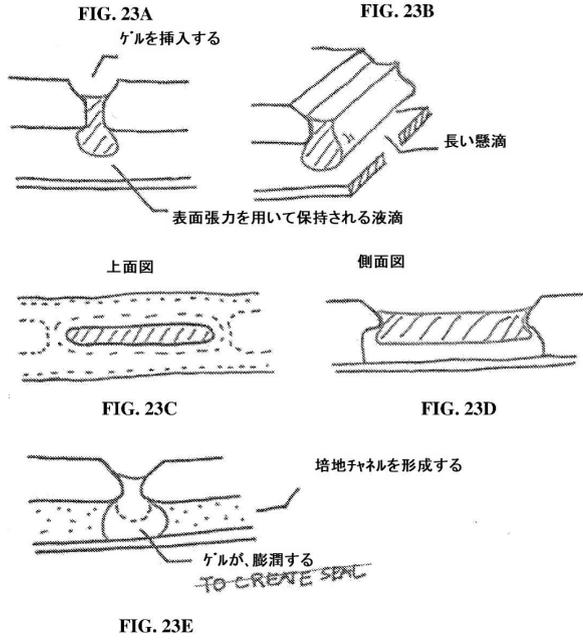


10

【 図 2 2 】



【 図 2 3 - 1 】



20

30

40

50



【 図 2 5 - 3 】

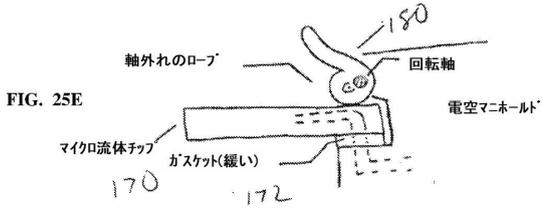


FIG. 25E

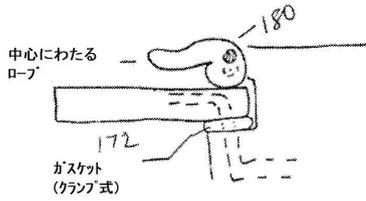


FIG. 25F

【 図 2 6 A 】

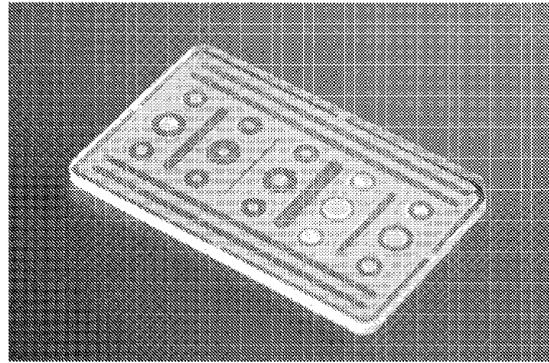


FIG. 26A

10

【 図 2 6 B 】

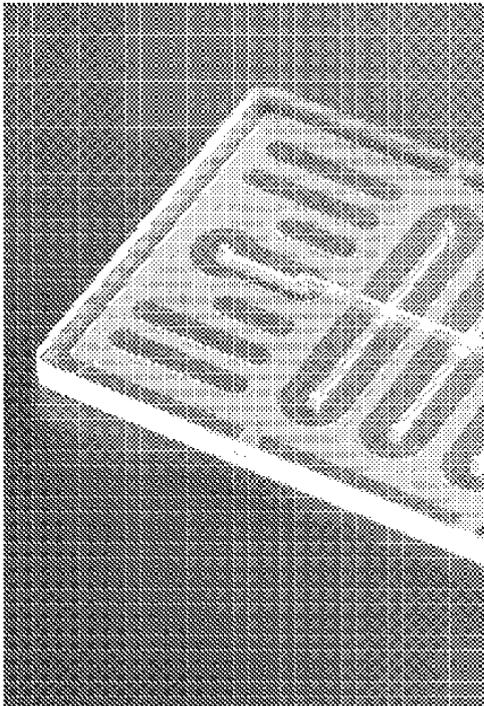


FIG. 26B

【 図 2 6 C 】

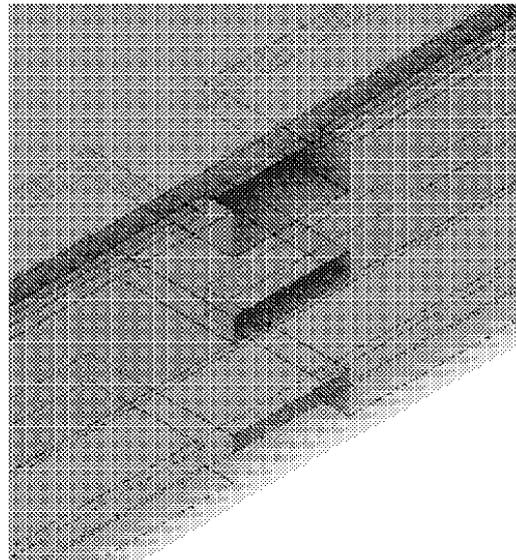


FIG. 26C

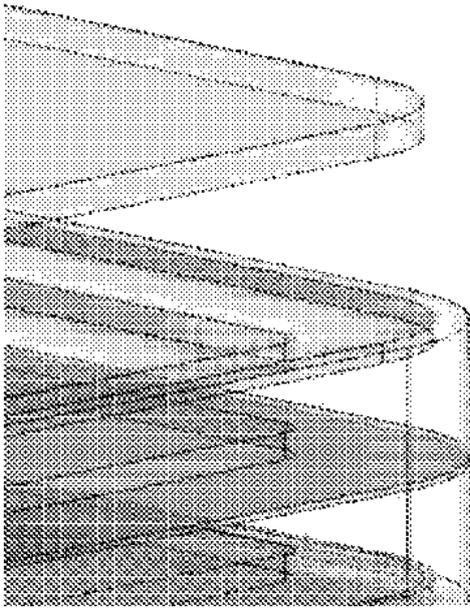
20

30

40

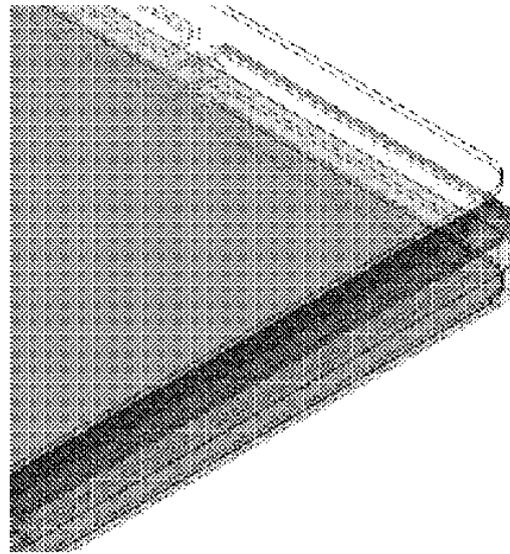
50

【 26 D 】



**FIG. 26D**

【 26 E 】



**FIG. 26E**

10

20

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No <b>PCT/US2021/053801</b>
--

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV. <b>C12M3/06</b>	<b>C12M1/34</b>	<b>C12M1/00</b>
<b>B01L3/00</b>		
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <b>C12M B01L</b>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) <b>EPO-Internal, WPI Data</b>		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<b>WO 2019/167031 A1 (NAT RES COUNCIL CANADA [CA]) 6 September 2019 (2019-09-06) paragraph [0053]; claim 1; figure 4</b> -----	<b>1-7</b>
X	<b>WO 2014/190258 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]) 27 November 2014 (2014-11-27) claims 1,6,7</b> -----	<b>1</b>
X	<b>WO 2009/105711 A1 (DECISION BIOMARKERS INC [US]; MONTAGU JEAN I [US] ET AL.) 27 August 2009 (2009-08-27) claims 34,42; figure 7e</b> -----	<b>13-16</b>
X	<b>WO 2016/161524 A1 (AXELA INC [CA]) 13 October 2016 (2016-10-13) page 8, line 28 - page 9, line 7; claim 1</b> -----	<b>17-19</b>
<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	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search <b>20 May 2022</b>	Date of mailing of the international search report <b>09/06/2022</b>	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer <b>Jones, Laura</b>	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
**PCT/US2021/053801**

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

10

20

**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:

**see additional sheet**

- 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 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.:  
**13-19**
- 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.:

30

40

**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.

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

**PCT/US2021/053801**

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019167031	A1	06-09-2019	CA 3091580 A1	06-09-2019
			EP 3759045 A1	06-01-2021
			JP 2021515207 A	17-06-2021
			KR 20200128534 A	13-11-2020
			US 2020408332 A1	31-12-2020
			WO 2019167031 A1	06-09-2019
-----				
WO 2014190258	A1	27-11-2014	US 2016144362 A1	26-05-2016
			WO 2014190258 A1	27-11-2014
-----				
WO 2009105711	A1	27-08-2009	AU 2009217355 A1	27-08-2009
			CA 2715985 A1	27-08-2009
			CN 102149812 A	10-08-2011
			EP 2254985 A1	01-12-2010
			JP 2011513712 A	28-04-2011
			US 2011207621 A1	25-08-2011
			WO 2009105711 A1	27-08-2009
			-----	
WO 2016161524	A1	13-10-2016	CA 2981990 A1	13-10-2016
			CN 107615064 A	19-01-2018
			CN 110665557 A	10-01-2020
			EP 3281009 A1	14-02-2018
			EP 3683578 A1	22-07-2020
			HK 1250784 A1	11-01-2019
			JP 6787924 B2	18-11-2020
			JP 2018517891 A	05-07-2018
			JP 2019164140 A	26-09-2019
			US 2018117582 A1	03-05-2018
			US 2019054460 A1	21-02-2019
			US 2021237050 A1	05-08-2021
			WO 2016161524 A1	13-10-2016
-----				

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2021/053801

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

## 1. claims: 1-7

1 A microfluidic device comprising cyclic olefin copolymer membranes.

2 A method for bonding membranes made of cyclic olefin copolymers for use in microfluidic chips comprising placing a cyclic olefin copolymer film onto a non-interactive carrier film, optionally formed of a polymer such as a biaxially oriented polyethylene terephthalate, supported by a flat substrate, aligning a rigid component of a microfluidic chip with the carrier film and substrate, and passing the rigid component with aligned film through a thermal laminator, or exposing to a thermal press or hot plate.

3 And subject matter relating thereto.

---

## 2. claims: 8, 9

1 A water assisted laser machining method for etching elastomeric polymer film comprising using capillary action of a water film to secure the cut pieces in place. And further comprising providing a thermal sink and/or heat or infrared absorbing layer to control excess heat in the laser machining process.

---

## 3. claims: 10-12

A method for molding or shaping a thermoplastic elastomeric membrane comprising applying the membrane to a porous vacuum chuck with negative features, applying vacuum and heat, to mold the thermoformed elastomer membrane. And subject matter relating thereto.

---

## 4. claims: 13-16

A rolling elastomeric diaphragm for use in microfluidic valves and pump diaphragms, having high displacement from 0.2 to 3 millimeters with limited elastic deformation at a maximum of 10 percent strain. And subject matter relating thereto.

---

## 5. claims: 17-19

1 A microfluidic pressure regulator comprising a pneumatically actuated elastic membrane as a sealing feature and compressed gas as a biasing element. And subject matter relating thereto.

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2021/053801

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 6. claim: 20

Microfluidic accumulators which store pressurized fluid in a microfluidic chip selected from the group consisting of accumulators using a flexible membrane to store pressure using stored elastic energy in the membrane, microfluidic accumulators using small dead-end microfluidic channels for trapping gas bubbles and storing volume under pressure, and microfluidic accumulators using a rolling diaphragm pressurized with air on one side and fluid stored in a reservoir.

## 7. claim: 21

Microfluidic pressure sensor comprising an optical level or change in capacitance and deformable membrane, where deformation of the elastic membrane occurs with an increase in pressure, optionally comprising optical means to measure the length of trapped gas bubbles in microfluidic channels which is proportional to the channel pressure.

## 8. claims: 22-27

A method of making hydrogels in a microfluidic device comprising providing movable, removable or dissolvable support structures are used to position the hydrogel at the time of formation, and/or to create channels in the hydrogel for fluid flow, optionally comprising polytetrafluoroethylene ("PTFE") allows for these structures to be removed without damaging the hydrogel after polymerization. And microfluidic device produced by the method of any one of claims 22-26. And subject matter relating thereto.

## 9. claim: 28

Removable caps for use in microfluidic devices for cell culture are selected from the group of caps comprising optically clear windows, elastomeric features for better compliance, and an adhesive pattern on a film for improved sealing.

## 10. claim: 29

A quick release top for a microfluidic chip comprising a gasket compressed using a spring-loaded lever, a toggle clamp or an overcenter latch.

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2021/053801

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

11. claim: 30

Electro pneumatic manifolds comprising pneumatic lines, the manifolds stacking microfluidics devices vertically or on a rotary mechanism, comprising a latching system to enable quick connection of the microfluidic devices to the pneumatic lines.

---

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,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,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 オボイル, ダンカン エー.

アメリカ合衆国 オレゴン 97504, メドフォード, ユーカリプタス ドライブ 3421

(72)発明者 グリフィス, リンダ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139, ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー 77, ルーム 16-429, ビーピーイーシー, マサチューセッツ インスティテュート オブ テクノロジー

(72)発明者 トランパー, デイビッド

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139, ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー 77, ルーム 3-173, マサチューセッツ インスティテュート オブ テクノロジー

Fターム(参考) 4B029 AA02 AA07 BB11 CC01 FA12 GB09