

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3865107号
(P3865107)

(45) 発行日 平成19年1月10日(2007. 1. 10)

(24) 登録日 平成18年10月13日(2006. 10. 13)

(51) Int. Cl.	F I	
GO 1 N 33/53 (2006. 01)	GO 1 N 33/53	M
GO 1 N 35/00 (2006. 01)	GO 1 N 35/00	B
GO 1 N 35/02 (2006. 01)	GO 1 N 35/02	F
GO 1 N 37/00 (2006. 01)	GO 1 N 37/00	1 O 2
GO 1 N 35/10 (2006. 01)	GO 1 N 35/06	
請求項の数 7 (全 6 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2000-156231 (P2000-156231)	(73) 特許権者	000006507
(22) 出願日	平成12年5月26日(2000. 5. 26)		横河電機株式会社
(65) 公開番号	特開2001-337088 (P2001-337088A)		東京都武蔵野市中町2丁目9番32号
(43) 公開日	平成13年12月7日(2001. 12. 7)	(72) 発明者	田名網 健雄
審査請求日	平成16年8月10日(2004. 8. 10)		東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内
前置審査		審査官	加々美 一恵
		(56) 参考文献	特開平11-187900 (JP, A) 特開平07-075544 (JP, A)
		(58) 調査した分野(Int. Cl., DB名)	G01N 33/48-33/98 G01N 37/00

(54) 【発明の名称】 バイオチップ作製方法およびそれを用いたバイオチップ作製装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

DNA、RNA、蛋白、糖鎖等の生体分子の溶液を基板上にアレイ状に配置するバイオチップ作製方法において、

前記溶液が注入され、この溶液を表面張力により保持するとともに、前記基板上の各サイトと同一ピッチで配列された複数個のキャピラリーからなるキャピラリーアレイを有し、

前記複数個のキャピラリーの端面と前記基板との距離を近づけ、

前記キャピラリー内の溶液に前記表面張力を越える外力を加えてキャピラリーの端面から盛り上げ、

この端面からの溶液の盛り上がりにより、前記基板に前記溶液の所定量を付着させるようにしたことを特徴とするバイオチップ作製方法。 10

【請求項2】

前記溶液の付着は、キャピラリーアレイと基板間に電圧を印加して行なうようにしたことを特徴とする請求項1記載のバイオチップ作製方法。

【請求項3】

前記溶液の付着は、キャピラリーアレイの各キャピラリーへの加圧により行なうようにしたことを特徴とする請求項1記載のバイオチップ作製方法。

【請求項4】

DNA、RNA、蛋白、糖鎖等の生体分子の溶液を基板上にアレイ状に配置するバイオチップ作製装置であって、

前記溶液が注入され、この溶液を表面張力により保持する複数個のキャピラリと、
バイオチップ上の各サイトと同一ピッチで配列された前記複数個のキャピラリを保持したキャピラリ保持部材と、

このキャピラリ保持部材または前記基板のいずれか一方または両方を移動させ、キャピラリ保持部材と基板との間隔を調節する手段と、

前記キャピラリ内の溶液に前記表面張力を越える外力を加えて前記キャピラリの端面から盛り上げて前記基板に前記溶液の所定量を付着させる手段とを具備し、

前記キャピラリ保持部材と基板との間隔を調節する手段は、その間隔を前記キャピラリの端面からの溶液の盛り上がりにより、前記基板に前記溶液が付着する距離に近づけることを特徴とするバイオチップ作製装置。

10

【請求項 5】

前記基板に前記溶液の所定量を付着させる手段は、前記キャピラリ保持部材と前記基板の間に電圧を印加する電圧源を含み、電圧を印加することにより前記キャピラリ内の溶液を基板に付着させる構成としたことを特徴とする請求項 4 記載のバイオチップ作製装置。

【請求項 6】

前記基板に前記溶液の所定量を付着させる手段は、前記キャピラリを加圧することにより前記キャピラリ内の溶液を前記基板に付着させる構成としたことを特徴とする請求項 4 記載のバイオチップ作製装置。

【請求項 7】

前記基板は垂直方向において前記キャピラリの下側または上側に配置されたことを特徴とする請求項 4 または請求項 5 または請求項 6 記載のバイオチップ作製装置。

20

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、DNA、RNA、蛋白、糖鎖等の生体分子を基板上にアレイ状に配置するいわゆるバイオチップ作製方法および装置の改良に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

DNAチップは一般的に $1 \sim 10 \text{ cm}^2$ の大きさで、この領域に数千～数十万種のDNAを整列したものである。DNAチップの作製方式としては、ポリメラーゼの連鎖反応 (PCR) などにより調製したcDNA断片をアレイヤーのピンを利用してスライドガラスやシリコン等の基板に打刻して付着させる方法がよく知られている。

30

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、このような作製方法では、時間がかかり、打刻された各サイト (セルまたはスポットともいう) の品質が均一でなくムラがあり、また少量を付着させることが困難であるという課題があった。

【0004】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、短時間に品質が均一な生体分子のチップを容易に量産でき、しかも少量の生体分子の付着も容易なバイオチップ作製方法および装置を実現することにある。

40

【0005】

【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、請求項 1 あるいは請求項 4 の本発明では、DNA、RNA、蛋白、糖鎖等の生体分子を基板上にアレイ状に配置するバイオチップ作製において、前記基板上の各サイトと同一ピッチで配列された複数個のキャピラリからなるキャピラリアレイにより生体分子を基板に付着させるようにしたことを特徴とする。このような方法によれば、短時間に品質が均一な生体分子のチップを容易に量産できる。

【0006】

生体分子の付着は、請求項 2 あるいは請求項 5 のようにキャピラリアレイと基板間に電

50

圧を印加して電界作用により生体分子を付着させるようにすることができる。あるいは、請求項 3 あるいは請求項 6 のようにキャピラリアレイの各キャピラリへの加圧により行なうようにすることもできる。

【 0 0 0 9 】

さらに、請求項 7 のように基板はキャピラリの下側または上側のいずれの側にも配置することができ、配置に自由度がある。

【 0 0 1 0 】

【 発明の実施の形態 】

以下実施例につき本発明を詳しく説明する。端面が開口された複数のキャピラリをその端面が同一平面となるようにしてアレイ状に配置し、各キャピラリには必要に応じてそれぞれ異なる DNA を封入する。このキャピラリと平面状の基板を対峙させ両者の間に電圧を印加する。この電圧印加によりキャピラリ内部の溶液は電界の作用で盛り上がり、ピコリットルのオーダーで基板に DNA が付着する。

【 0 0 1 1 】

このような方法により、短時間で、品質が均一な DNA チップを容易に作製することができる。

図 1 はこのような方法を用いて DNA チップを作製する装置の一実施例を示す構成図である。

【 0 0 1 2 】

図 1 において、1 はキャピラリ、2 はキャピラリ保持部材、3 は基板、4 は電圧源である。

キャピラリ保持部材 2 には複数個のキャピラリ 1 が同一ピッチ P でアレイ状に取り付けられる。各キャピラリ 1 には DNA 溶液 5 が注入されるが、自然状態ではキャピラリ端面から溶液がこぼれ出ないような内径 (d) のキャピラリが用いられる。

【 0 0 1 3 】

このような各キャピラリ 1 は、垂直状態でキャピラリ保持部材 2 に取り付けられ、かつ各キャピラリの下端面が水平方向の同一平面上に揃うように保持部材 2 に取り付けられている。

【 0 0 1 4 】

基板 3 は DNA チップが形成される基板であり、上面が平面状に形成され、この面とキャピラリ 1 の端面とが平行になるように配置される。

【 0 0 1 5 】

キャピラリ保持部材 2 と基板 3 は、そのいずれか一方あるいは両方が垂直方向に移動できるように形成されていて、キャピラリ 1 の端面と基板 1 との間隔を適宜に変え得ようになっている。

【 0 0 1 6 】

電圧源 4 は、キャピラリ保持部材 2 と基板 3 の間に電圧を印加するもので、例えば基板 3 側に正極、キャピラリ保持部材 2 側に負極の電圧を印加する。電圧を印加すると、キャピラリ 1 の内部の溶液に電界がかかりキャピラリ端面から基板 3 に向けて溶液が盛り上がる (図 1 の場合は垂れ下がる) 。

【 0 0 1 7 】

このような構成における動作を次に説明する。複数個のキャピラリ 1 の内部に所望の DNA (溶液) を注入しておく。キャピラリ 1 は十分に細い管 (内径が d) のため、表面張力が打ち勝って下端面から溶液が溢れ出るようなことはない。

【 0 0 1 8 】

キャピラリ保持部材 2 と基板 3 を適度の間隔になるまで近づけておき、キャピラリ保持部材 2 と基板 3 の間に適度の電圧を印加する。すると、キャピラリ内部の溶液は電界の作用により盛り上がり (図 1 では垂れ下がり) 、ピコリットルのオーダーで基板 3 に付着する。付着後は、電圧印加を中止し、キャピラリ保持部材 2 を基板 3 から遠ざける。

【 0 0 1 9 】

10

20

30

40

50

この場合、キャピラリアレイのピッチ P を、目標とするDNAチップの各サイト(セル)のピッチ(P' とする)に一致させておくと、一度に全体の付着が可能となる。そのようにすれば、高速で、付着量にムラのない付着ができる。また、少量のピペッティングも簡単に可能となる。

なお、キャピラリ1の内径 d は、ピッチ P より小さい条件を満たしていれば十分である。

【0020】

以上の説明は、本発明の説明および例示を目的として特定の好適な実施例を示したに過ぎない。したがって本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

【0021】

例えば、電圧印加の代わりに、基板3と反対側から空気等により各キャピラリを加圧するようにしても構わない。

また、基板3とキャピラリは垂直方向において上下逆方向に配置してもよい。基板3の方を上にすると、埃が付着しにくくなるという利点がある。

【0022】

また、各キャピラリ内でPCRを行なうようにしてもよい。PCRを行なえば、各キャピラリへは増幅用の共通の溶液を補充するだけでよく、DNA供給の手間が省ける利点がある。

PCRにおける加熱処理は、外気温の変化またはレーザー照射による加熱を利用すれば、高速にPCRサイクルを回すことができる。なお、レーザーを照射する手段としては周知の手段を利用できる。

【0023】

また、本発明によれば、DNAに限らず、RNA、蛋白、糖鎖のチップ作製も可能である。

【0024】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば、生体分子の入ったアレイ状のキャピラリに電界あるいは空気圧を作用させて基板上の複数のセルに一斉に生体分子を付着させることができるため、チップ作製が高速であると同時に付着量にムラがなく、また少量のピペッティングも可能であるという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係るバイオチップ作製装置の一実施例を示す構成図である。

【符号の説明】

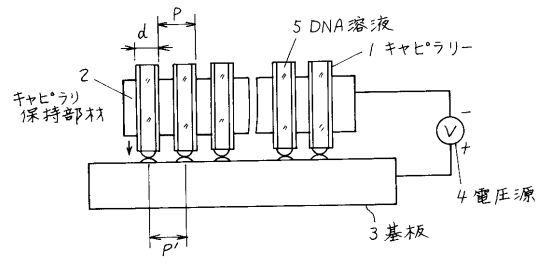
- 1 キャピラリ
- 2 キャピラリ保持部材
- 3 基板
- 4 電圧源
- 5 DNA溶液

10

20

30

【図 1】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/00

A

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00

A