

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第6部門第1区分  
 【発行日】平成19年2月1日(2007.2.1)

【公表番号】特表2003-511668(P2003-511668A)

【公表日】平成15年3月25日(2003.3.25)

【出願番号】特願2001-528683(P2001-528683)

【国際特許分類】

<b>G 01 N</b>	<b>27/416</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/04</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/22</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/447</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>G 01 N</b>	<b>33/483</b>	<b>(2006.01)</b>

【F I】

<b>G 01 N</b>	<b>27/46</b>	<b>3 3 6 M</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/04</b>	<b>Z</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/22</b>	<b>C</b>
<b>G 01 N</b>	<b>27/26</b>	<b>3 0 1 A</b>
<b>G 01 N</b>	<b>33/483</b>	<b>E</b>

【誤訳訂正書】

【提出日】平成18年12月6日(2006.12.6)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】特許請求の範囲

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 第一の表面部と反対側にある第二の表面部とを有する平坦な基体であって、前記第一の表面部は、イオンチャネル含有構造体を保持するようにそれぞれ適合された複数の部位を有し、各々の部位は、それに付随する測定電極を有しそして上記基体は、一つまたはそれ以上の基準電極を有し、

- 上記測定電極及び一つまたはそれ以上の基準電極は、互いに電解質を介して接続され及びこれらの間に電位差が加えられた際に、一方の電極によるイオンの引き渡し及び他の電極によるイオンの受領によってそれらの間に電流を発生することができる電極であり、

- 上記部位は、それぞれ、その部位に保持されたイオンチャネル含有構造体とこの部位の表面部との間に、高電気抵抗シールを供するように適合されており、

- 上記シールは、供された際に、

- 上記イオンチャネル含有構造体の一つの面上に画定されそして上記測定電極と電解質を介して接続されているドメインを、

- 上記イオンチャネル含有構造体の他の面上に画定されそして各々の基準電極と電解質を介して接続されているドメインから隔離し、

- それにより、電極の間で、上記イオンチャネル含有構造体のイオンチャネルを通って流れる電流を測定及び/または監視することができ、

- 上記電極が基体と統合されており、

上記基体は、更に、上記第一の表面部と上記第二の表面部とを繋ぐ通路を画定し、この通路は、吸引によってイオンチャネル含有構造体をシールできるように、

高電気抵抗シールを供すべき部位表面部内に位置する、

上記基体。

【請求項 2】 吸引をするための管が更に画定されており、この管は測定電極のための配線(electrical wiring)を含む、請求項1の基体。

【請求項 3】 選択された部位の通路の内部容積を吸引し、これによってこの通路を通るキャリア液の流れを発生させてイオンチャネル含有構造体をこの通路に向けて誘導することができるよう、各々の通路が吸引提供手段に接続されている、請求項1または2の基体。

【請求項 4】 電極がウェハ加工技術によって形成されたものである、請求項1～3のいずれか一つの基体。

【請求項 5】 基体がケイ素製の基体であり、高電気抵抗シールを供すべき部位表面部がシリカ製の表面部であり、そして電極が、沈着／フォトリソグラフィ／エッティングプロセスを含む方法によって形成されたものである、請求項1～4のいずれか一つの基体。

【請求項 6】 複数の部位が基体の第一の表面部上に列を成して配置されている、請求項1～5のいずれか一つの基体。

【請求項 7】 部位の列が少なくとも9個の部位を含む、請求項6の基体。

【請求項 8】 測定電極及び基準電極が、銀／ハロゲン化銀電極である、請求項1～7のいずれか一つの基体。

【請求項 9】 測定電極及び基準電極が、銀／塩化銀電極である、請求項8の基体。

【請求項 10】 疎水性材料の第一の層を基体表面にまたはその上に含み、この第一の層は基体表面の一部しか覆わない、請求項1～9のいずれか一つの基体。

【請求項 11】 一つまたはそれ以上の部位が、上記第一の層によって覆われていない基体表面のうちの一部の内側に設けられている、請求項10の基体。

【請求項 12】 基体中にまで延びかつ上記第一の表面部に画定されたウェル開口部を有する一つまたはそれ以上のウェルを含み、これらのウェルはそれぞれ底面部と側面部を有し、そして上記第一の表面部の部位のうちの少なくとも一部は上記ウェルの底面部内に設けられてる、請求項1～11のいずれか一つの基体。

【請求項 13】 ウェルが、フォトリソグラフィ／エッティングプロセスを含む方法によって形成されたものである、請求項12の基体。

【請求項 14】 基体がケイ素製の基体であり、そしてウェルが切頭角錐として成形されており、その底面がウェル開口部によって構成されそしてその側面部が54.7°の傾斜を有する、請求項13の基体。

【請求項 15】 基準電極が各々のウェルの側面部に配置されている、請求項12～14のいずれか一つの基体。

【請求項 16】 各々の部位に付随する測定電極が各々各自の部位に配置されている、請求項1～15のいずれか一つの基体。

【請求項 17】 部位における測定電極が、高電気抵抗シールを供すべき部位表面部内に配置されている、請求項16の基体。

【請求項 18】 部位における測定電極が、基体中に埋め込まれてあり、そして高電気抵抗シールを供すべき部位第一表面部と実質的に同一平面上にある表面部を有する、請求項17の基体。

【請求項 19】 部位における測定電極が、基体中に埋め込まれてあり、そして高電気抵抗シールを供すべき部位第一表面部から下に引っ込んでいる表面部を有する、請求項17の基体。

【請求項 20】 測定電極の引っ込んだ上記表面部と、高電気抵抗シールを供すべき部位第一表面部とが制限された容積をもたらし、この容積は、少なくともその一部分が造孔性物質によって満たされている、請求項19の基体。

【請求項 21】 通路の横断寸法が1～5 μmである、請求項1の基体。

【請求項 22】 各々の部位に付隨する測定電極が、基体の上記反対側にある第二表面部に配置されている、請求項1または21の基体。

【請求項 23】 各々の部位に付隨する測定電極が、各々の部位に確定される通路の開口部に隣接して配置されている、請求項22の基体。

【請求項 24】 各々の部位において、そのそれぞれの測定電極と及び基準電極もしくは複数の基準電極のうちの一つと接続している電子回路を、上記電極間でイオンチャネルを通って流れる電流の特有の関数である増幅されたシグナルを生成するために更に含む、請求項 1 ~ 23のいずれか一つの基体。

【請求項 25】 一つまたはそれ以上のイオンチャネル含有構造体の一つまたはそれ以上のイオンチャネルの電気生理学的特性を測定及び／または監視するための全細胞測定コンフィグレーションを確立する方法であつて、

- ・ 請求項 1 に定義するような基体を用意し、
- ・ 一つまたはそれ以上のイオンチャネル含有構造体を含むキャリア液を一つまたはそれ以上の部位に供給し、
- ・ 上記イオンチャネル含有構造体の少なくとも一つを対応する数の部位に位置させ、
- ・ 部位に付随する測定電極と基準電極との間に第一の電位差を連続的に加え、上記測定電極と上記基準電極との間に流れる第一の電流を監視し、そして上記の第一の電流を所定の閾電流と比較し、そしてこの第一の電流がせいぜい大きくとも上記所定の閾電流と等しくなる程度なら、この部位を、イオンチャネル含有構造体と上記部位の表面部との間に許容可能なシールを有するものとして承認することによって、部位に保持されたイオンチャネル含有構造体と、高電気抵抗シールを供すべき部位表面部との間の高電気抵抗シールを調べ、そして

承認された部位において全細胞コンフィグレーションを確立する段階を含み、

それによって、測定電極と基準電極との間でイオンチャネル含有構造体のイオンチャネルを通って流れる第三の電流を測定及び／または監視することができる、上記方法。

【請求項 26】 承認された部位で全細胞コンフィグレーションを確立する段階が、各々の承認された部位に付随する測定電極と基準電極との間に、一連の第二電位差パルスを加え、上記測定電極と上記基準電極との間に流れる第二の電流を監視し、そして上記第二の電流が所定の閾値を超える度に上記の一連の第二電位差パルスを中断し、それによってイオンチャネル含有構造体の測定電極に最も近い部分を破ることを含む、請求項 25 の方法。

【請求項 27】 承認された部位において全細胞コンフィグレーションを確立する段階が、イオンチャネル含有構造体の測定電極に最も近い部分を、造孔性物質との相互作用に付すことを含む、請求項 25 の方法。

【請求項 28】 各々の部位に付随する測定電極がそれぞれ各自の部位に配置され、そして一つまたはそれ以上の部位にイオンチャネル含有構造体の少なくとも一つを位置させる段階が、イオンチャネル含有構造体または複数のイオンチャネル含有構造体を少なくとも一つの測定電極に向けて移動させそしてイオンチャネル含有構造体を部位に位置させるための電場を発生させるために、一つまたはそれ以上の測定電極と一つまたはそれ以上の基準電極との間に第三の電位差を加えることを含む、請求項 25 ~ 27 のいずれか一つの方法。

【請求項 29】 基体が、各々の部位において、第一表面部及び第二表面部を繋ぐ通路を画定し、この通路は、高電気抵抗シールを供すべき部位表面部の中央部に実質的に位置し、そして一つまたはそれ以上の部位に一つまたはそれ以上のイオンチャネル含有構造体を位置させる段階が、選択された部位の通路の内部容積を吸引して、この通路の方にイオンチャネル含有構造体を誘導するためにこの通路中を流れるキャリア液の流れを発生させる段階を含む、請求項 25 ~ 27 のいずれか一つの方法。

#### 【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0020

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0020】

本発明は、その一面において、第一の表面部と反対側にある第二の表面部を有する平坦な基体であって、上記第一の表面部は、それぞれイオンチャネル含有構造体を保持するよう適合されておりかつ付隨の測定電極を有する部位を複数有し、上記基体は一つまたはそれ以上の基準電極を有し、上記測定電極及び各々の基準電極または複数の基準電極は、互いに電解質を介して接触し及びそれらの間に電位差が加えられた際に、一つの電極からのイオンの引き渡し及び他の電極によるイオンの受領によってそれらの間に電流を発生させることができる電極であり、上記の部位は、それぞれ、この部位に保持されたイオンチャネル含有構造体とこの部位の表面部との間に高電気抵抗性シールを供するよう適合されており、そしてこのシールは、供された際に、イオンチャネル含有構造体の一つ面に画定されかつ測定電極と電解質を介して接触しているドメインを、このイオンチャネル含有構造体の他の面上に定義されかつ各々の基準電極と電解質を介して接触しているドメインから隔離し、それによって、各電極間でイオンチャネル含有構造体のイオンチャネルを流れる電流を測定及び／または監視することができ、そして上記電極は基体と統合されており、そしてウェハ加工技術により作られたものである、上記基体に関する。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0035

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0035】

導電性材料のライン18は、先ず第一に、基体上に導電性材料の層を沈着させることによって基体表面上に形成される。基体上及びこの説明を通して他の表面上への材料の沈着は、幾つかの沈着技術のうちの一つ、例えば物理蒸着法[これは、1) 蒸気相から材料を蒸着させる方法、2)スパッタリング法及び3) レーザーアブレーション法を含む]； 化学蒸着法[これは、1)常圧化学蒸着法(APCVD)、2) 低圧化学蒸着法(LPCVD)、3)プラズマ・エンハンスト化学蒸着法(PECVD) 及び4)フォト・エンハンスト化学蒸着法を含む]；並びに回転塗布及び成長技術(spin coating and growth techniques)を用いて為すことができる。第二に、各々のワイヤーをフォトリソグラフィー段階において画定し、そして第三に、このワイヤーの一部とならない導電性材料をエッチングによって除去する。これらのワイヤーは、好ましくは、これらの一部が接触パッド20のラインを形成し、一方で他の部分が、測定電極部16の列及び一つまたはそれ以上の基準電極8を形成するよう画定される。電極部の列は、必ずしも整然としたパターンである必要はない。上記接触パッド及び電極部は、好ましくは、ワイヤーの両末端部であるが、しかし、例えば伝導性ストリップのパターンの如何なる部分であってもよい。好ましくは、上記導電性材料は、金属またはドーピングしたケイ素からなる。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0036

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0036】

電極及び接点を作るためには、各々のワイヤーの電極のまたは接点部の一部を形成しない導電性材料を、絶縁性(親水性)のフィルム22、例えば二酸化ケイ素、または窒化ケイ素及び二酸化ケイ素の多重層で覆う。これは、ケイ素の熱酸化法、物理もしくは化学蒸着法または回転塗布法のいずれかを用いて絶縁性フィルムの層で表面全体を覆うことによって行われる。フォトリソグラフィー及びエッチング段階を用いて、絶縁性フィルムの一部を除去しワイヤーをむき出しにし、それによって電極16及び8及び接点20を形成する。より良好な電気的接点のためには、電極(及び接点)は銀24で覆うことができる。また別の方法として、材料の幾つかの層を幾つかの薄い層の形に沈着すべきような場合には、リフトオフ技術も使用できるであろう。この場合は、フォトレジストを基体上に沈着させ、そ

してマスクを通して照射することによって、形成するべきパターンをレジストに画定し、その後、エッティングする。材料、典型的には金属の層をその構造体上に蒸着させ、そしてフォトレジストを溶解し、それによって画定されたパターンで金属が残る。この段階で、その基体は図7に示すようになり、その際、電極と接点を結ぶ細いライン18は絶縁性のフィルムで覆われている。

#### 【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0044

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0044】

切頭角錐の形に成形したウェルを有する基体を図4Aに示す。この切頭角錐の狭い方の端部から基体の底面部まで延びるアーチチャまたは通路30も基体に画定される。それによってこのウェル及び通路は漏斗様構造を形成する。図4Aに示されるように、測定電極16は、上記のアーチチャまたは通路の近くに基体の底面に供され、そして基準電極8は、ウェルの側面に供される。好ましくは、基体の底側で上記通路に対し吸引作用を与えるための管路32が設けられる。好ましい態様の一つでは、この管路は基体の上側に通じ、また測定電極に配線されていてもよい。

#### 【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0047

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0047】

一つのウェルまたは複数のウェルを含む構造体は、幾つかの全く異なる方法で作ることができます。以下には、基本構造体を作るための二つの異なる製造方法、すなわちオキサイド・ファースト・プロセス及びオキサイド・ラスト・プロセスの概略をそれぞれ述べる。

#### オキサイド・ファースト・プロセス

- ・基体全体を覆う3μm厚の湿熱SiO<sub>2</sub>を成長させる。
- ・フォトマスキング及び反応性イオンエッティングによって上記酸化物を貫通しケイ素製基体にまで届く孔を作ることによって、この基体の底側に孔を画定する。
- ・この基体の両側にエッティングマスクとしてLPCVD窒化ケイ素を蒸着させる。
- ・フォトマスキング及び反応性イオンエッティング及び湿式酸化物エッティング(緩衝したフッ化水素酸)によって、基体の上側に角錐形基本面を形成するために窒化物窓を画定する。
- ・ケイ素の異方性エッティングによって上記の窓を通して角錐形の窪みをエッティングする。これにより、54.7°の傾斜を有する角錐側面を作る。
- ・高温のH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>を用いて窒化物エッチストップを剥がす。
- ・角錐側面を覆うために1μmの湿熱SiO<sub>2</sub>を成長させ、このバルクシリコンウェハを絶縁する。他のSiO<sub>2</sub>領域はそれほど成長しない。

#### オキサイド・ラスト・プロセス

- ・インプランテーションによるドーピングまたはエピタキシャル成長を用いて、基体の底側のケイ素にエッチストップ層(ホウ素ドーピング)を形成する。このエッチストップ層は典型的には約1μm厚である。
- ・基体の両側にエッティングマスクとしてLPCVD窒化ケイ素を蒸着させる。
- ・フォトマスキング及び反応性イオンエッティング及び湿式酸化物エッティング(緩衝されたフッ化水素酸)によって、基体の上側に角錐形基本面を形成するために窒化物窓を画定する。

- ・ケイ素の異方性エッティングによって上記の窓を通して角錐形の窪みをエッティングする。これにより、 $54.7^{\circ}$ の傾斜を有する角錐側面を作る。エッティングは、ホウ素ドーピングしたエッチストップの所で停止し、約 $1\text{ }\mu\text{m}$ 厚のケイ素膜を形成する。
- ・高温の $\text{H}_3\text{PO}_4$ を用いて窒化物エッチストップを剥がす。
- ・フォトマスキング及びケイ素の反応性イオンエッティングによって、底部側に孔を画定する。
- ・湿熱 $\text{SiO}_2$ を成長させ、基体上の全ての場所でケイ素膜を酸化物に転化する。このプロセスは、孔の内部にも $\text{SiO}_2$ を形成させるため孔を縮小させる。すなわち、フォトリソグラフィーを用いて可能なものより小さくなり得る。

両方の製造方法において、加工中の主な懸念は、最後の高温酸化段階における、孔を有する $\text{SiO}_2$ 膜の機械的安定性である。表面材料（ここでは $\text{SiO}_2$ ）は、場合によっては、導電性への寄与を防ぐために、窒化ケイ素でコーティングしてもよい。

#### 【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0052

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

#### 【0052】

図2Aでは、上記の通り、基体上に疎水性領域26及び親水性部位14を確定するための表面材料を用いて試験コンファインメントが画定される。表面が塩溶液等の水溶液で湿潤（水浸しではない）されている場合は、その液体は親水性領域に閉じ込められ、それによって試験コンファインメントが画定される。各々の親水性領域は、電極16を有する幾つかの部位14を含み、そしてまた、より小さな規模の疎水性領域を含んでいてもよい。

#### 【誤訳訂正8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0053

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

#### 【0053】

図2Bに示す基体上では、試験コンファインメントは、基体表面上に形成された区画13によって互いに隔離される。これらの区画は、基体表面をレジストで覆いそしてフォトリソグラフィを用いてウェル開口部を画定することによって基体素材上に形成することができる。エッティング段階を経て、残留したレジストを除去することによって、部位及び電極の形成に用意が整った基体が得られる。

#### 【誤訳訂正9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0054

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

#### 【0054】

図2Cは、実質的な区画を持たない、電極で覆われた基体を示す。この場合、試験コンファインメントは、窪んだ区画／部屋を持つ構造部17が基体の上面に載せられることにより画定される。基体と機械的に密に接触させることによって、上記の構造部は、電極を有する一つまたはそれ以上の部位をそれぞれ保持する密閉屋を作る。都合が良いなら、図2A及びBに示される基体のいずれかの上面にも類似の構造部を載せててもよい。

#### 【誤訳訂正10】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0057

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

## 【 0 0 5 7 】

試験コンファインメントが密閉室である場合には、これらは、チャネルシステム、即ち微量液体操作システム(microliquid handling system)でしか利用できないであろう。第二構造部17(図2C)を、試験コンファインメントを持つかまたは持たない基体のいずれかの上に載せるような場合に該当する。この場合は、支持液及び細胞は、入口チャネル、通常は第二構造部17に画定された入口チャネルを介して供しなければならない。このような第二構造部は、例えばケイ素から作ることができ、この場合、フローチャネルは標準的なフォトリソグラフィ及びエッチング技術を用いて形成することができる。このような第二構造部は、本発明の態様のうちのいずれの物の上面にでも載せることができる。