

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-522940
(P2006-522940A)

(43) 公表日 平成18年10月5日(2006.10.5)

(51) Int.C1.

GO1N 35/08

(2006.01)

F 1

GO1N 35/08

A

テーマコード(参考)

2 GO58

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 43 頁)

(21) 出願番号 特願2006-510081 (P2006-510081)
 (86) (22) 出願日 平成16年4月8日 (2004.4.8)
 (85) 翻訳文提出日 平成17年11月10日 (2005.11.10)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2004/011664
 (87) 國際公開番号 WO2004/091795
 (87) 國際公開日 平成16年10月28日 (2004.10.28)
 (31) 優先権主張番号 60/461,851
 (32) 優先日 平成15年4月10日 (2003.4.10)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

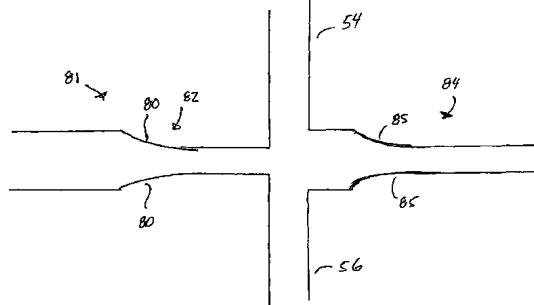
(71) 出願人 505277406
 ュー. エス. ジエノミクス, インコ-
 ポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 1
 801, ウオバーン, ギル ストリー-
 ト 12
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】マイクロチャネルにおけるポリマーの操作

(57) 【要約】

ポリマーの位置決め、整列または伸長が可能なようにポリマーを含有するキャリア流体の流れを変更させるマイクロ流体装置。装置は、層流のキャリア流体を障害物または他の流体に向けることによりキャリア流体の流線の経路を意図的に変更させることによって、これらの効果を実現する。流線は次にポリマーに対して流体抵抗力を加えてポリマーを所望の形状へと操作する。装置の他の面としては、ポリマーの一部が巻き付くのを防ぐクリンプを用いてポリマーを整列または伸長した状態に保持することがある。これらの構造は、エントロピーを増大させて整列または伸長したポリマーの小部分が高エントロピーすなわち巻き付いた状態に戻るのを許す一方で、ポリマーの大部分は後の分析または操作のために低エントロピーの整列または伸長した状態に保持するといういう自然の概念を利用している。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

マイクロチャネル内でポリマーを位置決めする装置であって、

第1および第2端部ならびにほぼ対向する側壁を有するマイクロチャネルであって、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流ストリーム中で該第1端部から該第2端部に向かって流れるように移送するように構成および配置された、マイクロチャネルと、

該マイクロチャネルの該第1端部と該第2端部の間に位置するマイクロチャネルの第1の部分であって、該第1の部分の該ほぼ対向する側壁は、これを通って流れる該流れストリームに第1の速度勾配を作るように構成および配置されている、第1の部分と、

該マイクロチャネルと流体連通する対置流量制御チャネルであって、該第1の部分と該マイクロチャネルの第2端部との間に位置する、流量チャネルと、

該対置流量制御チャネルを通って流れの流体の流れを制御して、該ポリマーを含有する該流れストリームを、該対置流量制御チャネルより下流側の箇所で該マイクロチャネルの該ほぼ対向する側壁から離れた層状態に維持する、流量コントローラと、

該対置流量制御チャネルと該マイクロチャネルの第2端部との間に位置するマイクロチャネルの第2の部分であって、該第2の部分の該ほぼ対向する側壁は、これを通って流れる該流れストリームに第2の速度勾配を作るように構成および配置されている、第2の部分と、

該マイクロチャネル内に位置する検出ゾーンと、
を備えた装置。

【請求項 2】

前記流量コントローラは前記ポリマーを前記検出ゾーン内へと移動させるようにされる、
請求項1に記載の装置。

【請求項 3】

前記流量コントローラは、少なくとも2つの流量コントローラを備え、該少なくとも2つの流量コントローラの各々は、前記対置流量制御チャネルの各々を通る流体の流量を個別に制御する、請求項1に記載の装置。

【請求項 4】

前記流量コントローラは圧力源を備えている、請求項1に記載の装置。

【請求項 5】

前記第1の部分の前記ほぼ対向する側壁はほぼ非平行である、請求項1に記載の装置。

【請求項 6】

前記第2の部分の前記ほぼ対向する側壁はほぼ非平行である、請求項5に記載の装置。

【請求項 7】

前記第2の速度勾配は、前記検出ゾーンより少なくとも前記ポリマーに等しい距離だけ上流側で終わる、請求項1に記載の装置。

【請求項 8】

前記ポリマーはDNAである、請求項6に記載の装置。

【請求項 9】

前記ポリマーはRNAである、請求項7に記載の装置。

【請求項 10】

前記キャリア流体と前記対置流量制御チャネルを通る流れとの間に流体境界を形成するようにされ、前記対置流量コントローラはさらに前記流体境界の形状を制御するようにされる、請求項7に記載の装置。

【請求項 11】

マイクロチャネル内でポリマーを位置決めする方法であって、該方法は、以下の工程：

ポリマー位置決め装置を提供する工程であって、該ポリマー位置決め装置は、

第1および第2端部ならびにほぼ対向する側壁を有するマイクロチャネルであって、
ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で該第

10

20

30

40

50

1 端部から該第 2 端部に向かって流れるように移送するように構成および配置された、マイクロチャネルと、

該マイクロチャネルの該第 1 端部と第 2 端部との間に位置するマイクロチャネルの第 1 の部分であって、該第 1 の部分の該ほぼ対向する側壁がこれを通って流れる該流れストリームに第 1 の速度勾配を作るように構成および配置された、第 1 の部分と、

該マイクロチャネルと流体連通する対置流量制御チャネルであって、該第 1 の部分と該マイクロチャネルの第 2 端部との間に位置する、流量チャネルと、

該対置流量制御チャネルを通って流れる流体の流れを制御して、該ポリマーを含有する該流れストリームを、該対置流量制御チャネルより下流側の箇所で該マイクロチャネルの該ほぼ対向する側壁から離れた層状態に維持する、流量コントローラと、

該対置流量制御チャネルと該マイクロチャネルの該第 2 端部との間に位置するマイクロチャネルの第 2 の部分であって、該第 2 の部分の該ほぼ対向する側壁はこれを通って流れる該流れストリームに第 2 の速度勾配を作るように構成および配置されている、第 2 の部分と、

を備える、工程、

該マイクロチャネルにポリマーを含有するポリマーキャリア流体を提供する工程、

該マイクロチャネル内で該ポリマーを選択的に位置決めするために該流量コントローラを操作する工程、

を包含する、方法。

【請求項 1 2】

前記ポリマーを位置決めする工程は、前記ポリマーを検出ゾーン内へと位置決めする工程を包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記ポリマーを分析する工程をさらに包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記流量コントローラを操作する工程は、前記ポリマーを追加の速度勾配内で収束させるために前記流量コントローラを操作する工程をさらに包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記ポリマーは DNA である、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記ポリマーは RNA である、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 7】

マイクロチャネル内でポリマーを収束させる方法であって、

ポリマーを含有するキャリア流体を、マイクロチャネルであって該キャリア流体を該マイクロチャネルの第 1 端部から該マイクロチャネルの第 2 端部へと送達するようにされたマイクロチャネルに提供する工程、

該マイクロチャネルの第 1 のほぼ対向する壁対によって形成される第 1 の速度勾配で該キャリア流体を収束させる工程、

次に該マイクロチャネルに入る側流体流によって形成される第 2 の速度勾配で該キャリア流体を収束させる工程、

次に該マイクロチャネルの第 2 のほぼ対向する壁対によって形成される第 3 の速度勾配で該キャリア流体を収束させる工程、

を包含する、方法。

【請求項 1 8】

前記ポリマーは DNA である、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記ポリマーは RNA である、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記ポリマーを検出する工程をさらに包含する、請求項 1 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 2 1】

前記第2の速度勾配の特性を調整する工程をさらに包含する、請求項17に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記速度勾配の特性を調整する工程は、前記第3の速度勾配の位置を調整する工程を包含する、請求項21に記載の方法。

【請求項 2 3】

ポリマーを伸長させる装置であって、

第1および第2端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルであって、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流ストリーム中で該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するように構成および配置された、マイクロチャネルと、

該対向側壁を通して該マイクロチャネルと流体連通する対置流量制御チャネルであって、該マイクロチャネルの該第1端部と該ポリマー伸長ゾーンとの間に位置する、流量制御チャネルと、

該対向側壁を通して該マイクロチャネルと流体連通する対置ポリマー制御チャネルであって、該ポリマー伸長ゾーンを画定し、該対置流量制御チャネルと該マイクロチャネルの該第2端部との間に位置する、ポリマー制御チャネルと、

流体を該マイクロチャネルを通って該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第1端部流体コントローラと、

該対置流量制御チャネルを通る流体の流れを制御して、該ポリマーを含有する該流れストリームを、該マイクロチャネルの該対向側壁から離れた層状態に維持する、対置流量コントローラと、

該対置ポリマー制御チャネルを通る該流体の流れを制御する対置ポリマーチャネルコントローラと、

流体を該マイクロチャネルを通って該第2端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第2端部流量コントローラと、

を備えた装置。

【請求項 2 4】

前記伸長ゾーンの前記第1端部とは反対の側に位置する前記マイクロチャネルの第2端部と、

流体を該マイクロチャネルを通って該第2端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第2端部流量コントローラと、

をさらに備えた、請求項23に記載の装置。

【請求項 2 5】

前記伸長ゾーンの近くに前記ポリマーを検出する検出ゾーンをさらに備えた、請求項23に記載の装置。

【請求項 2 6】

前記ポリマーはDNAである、請求項23に記載の装置。

【請求項 2 7】

前記ポリマーはRNAである、請求項23に記載の装置。

【請求項 2 8】

ポリマーを伸長させる方法であって、

ポリマー伸長装置を提供する工程であって、該ポリマー伸長装置は、

第1端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルであって、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流ストリーム中で該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するように構成および配置された、マイクロチャネルと、

該対向側壁を通して該マイクロチャネルと流体連通する対置流量制御チャネルであって、該マイクロチャネルの該第1端部と該ポリマー伸長ゾーンとの間に位置する、流量制御チャネルと、

10

20

30

40

50

該対向側壁を通して該マイクロチャネルと流体連通する対置ポリマー制御チャネルであって、該ポリマー伸長ゾーンを画定し、該対置流量制御チャネルと該マイクロチャネルの該第2端部との間に位置する、ポリマー制御チャネルと、

該対置流量制御チャネルを通る該流体の流れを制御して、該ポリマーを含有する該流れストリームを、該マイクロチャネルの該対向側壁から離れた層状態に維持する、対置流量コントローラと、

該対置ポリマー制御チャネルを通る該流体の流れを制御する対置ポリマーチャネルコントローラと、
を備える、工程、

該伸長させるべきポリマーを含有する流体キャリアを層流ストリーム中で該マイクロチャネルを通って該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる工程、

流量制御流体を、ポリマー含有流れストリームが該マイクロチャネルの側壁から離れるようなやり方で、該対置流量制御チャネルを通って該マイクロチャネルへと向かわせる工程、

を包含する、方法。

【請求項29】

前記流体キャリアの一部を、前記ポリマー伸長ゾーンで前記マイクロチャネルから前記対置ポリマー制御チャネルへと向かわせる一方で、同時に追加の流体キャリアを該マイクロチャネルの第2端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせ、これにより該ポリマー伸長ゾーンに少なくとも流体よどみ点が形成する工程、

をさらに包含する、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

ポリマーを伸長した形状で維持する装置であって、

キャリア流体内にポリマーを含有するように構成および配置されたマイクロチャネルであって、第1のマイクロチャネル幅と該第1の幅より小さい第2のマイクロチャネル幅と、該第1のマイクロチャネル幅とおよび第2のマイクロチャネル幅との間の移行部とを画定する対向側壁を有する、マイクロチャネルを備え、

ここで該移行部は、該第1のマイクロチャネル幅内に含まれる伸長したポリマーに接触しこれの緩和を阻止するようにされている、装置。

【請求項31】

ポリマーを伸長させてこれを整列または伸長した形状で維持する装置であって、

第1および第2端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルであって、キャリア流体中のポリマーを、該ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流ストリーム中で該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するよう構成および配置された、マイクロチャネルと、

該対向側壁を通して該マイクロチャネルと流体連通する対置ポリマー制御チャネルであって、該ポリマー伸長ゾーンを画定するために流体の流れを提供するようにされ、該マイクロチャネルの該第1端部と該第2端部との間に位置し、ここで該ポリマー制御チャネルの少なくとも一方は、より狭いマイクロチャネル幅への少なくとも1つの移行部を含み、該移行部は該より狭い幅内に含まれる伸長または整列したポリマーに接触しこれの緩和を阻止するものであり、さらに該ポリマー制御チャネルの少なくとも一方は少なくとも1つの蛇状の曲がりを含んで該ポリマー制御チャネルの少なくとも一部が該ポリマー制御チャネルの別の部分に隣接および平行して位置するようにされる、ポリマー制御チャネルと、

流体を該マイクロチャネルを通って該第1端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第1端部流体コントローラと、

該対置ポリマー制御チャネルを通る該流体の流れを制御する対置ポリマーチャネルコントローラと、

流体を該マイクロチャネルを通って該第2端部から該ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第2端部流体コントローラと、

を備えた装置。

10

20

30

40

50

【請求項 3 2】

前記マイクロチャネル内に位置する検出ゾーンをさらに備えた、請求項 3 1 に記載の装置。
。

【請求項 3 3】

前記対置ポリマー制御チャネル内に位置する検出ゾーンをさらに備えた、請求項 3 1 に記載の装置。

【請求項 3 4】

前記ポリマーは D N A である、請求項 3 1 に記載の装置。

【請求項 3 5】

前記ポリマーは R N A である、請求項 3 1 に記載の装置。

10

【請求項 3 6】

ポリマーを検出する装置であって、

第 1 および第 2 端部を有するマイクロチャネルと、

該マイクロチャネルの該第 1 端部と第 2 端部との間に配置される障害物フィールドであって、該マイクロチャネルはキャリア流体中のポリマーを、該ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流中で該第 1 端部から該障害物フィールドを通って該第 2 端部に向かって流れるように移送するように構成および配置された、障害物フィールドと、

該障害物フィールド内に位置し、該ポリマーを検出する検出ゾーンと、
を備えた装置。

【請求項 3 7】

前記ポリマーは D N A である、請求項 3 6 に記載の装置。

20

【請求項 3 8】

前記ポリマーは R N A である、請求項 3 6 に記載の装置。

【請求項 3 9】

マイクロチップをさらに備え、前記マイクロチャネルは該マイクロチップ上に位置する、
請求項 3 6 に記載の装置。

【請求項 4 0】

前記障害物フィールドは、前記マイクロチャネルの床から延びる複数の柱を備え、該柱は
方形の断面を有する、請求項 3 6 に記載の装置。

30

【請求項 4 1】

前記柱は約 1 平方ミクロンの断面積を持つ正方形の断面を有する、請求項 4 0 に記載の装置。

【請求項 4 2】

前記柱は、互いの中心から中心までの間隔が約 1 . 5 ミクロンである、請求項 4 1 に記載の装置。

【請求項 4 3】

ポリマーを検出する方法であって、

第 1 および第 2 端部を有するマイクロチャネルと、該第 1 端部と該第 2 端部の間に配置
される障害物フィールドとを備え、該マイクロチャネルはキャリア流体中のポリマーを、
該ポリマーが存在するときは該ポリマーが層流中で該第 1 端部から該障害物フィールドを通って該第 2 端部に向かって流れるように移送するように構成および配置されている、
装置を提供する工程、

40

検出されるべきポリマーを含有するポリマーキャリア流体を提供する工程、

該キャリア流体中の該ポリマーを、少なくとも 1 つのポリマーが該障害物フィールドを構成する少なくとも 1 つの障害物に一時的に束縛されるように、該障害物フィールドを通して流す工程、

該一時的に束縛されたポリマーを検出する工程、
を包含する、方法。

【請求項 4 4】

前記ポリマーは D N A である、請求項 4 3 に記載の方法。

50

【請求項 4 5】

前記ポリマーは R N A である、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記ポリマーの上には挿入ダイが置かれる、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記ポリマーを検出する工程は、前記ポリマーが一時的に束縛されている間に前記障害物の周りを移動するとき、これに合わせて該ポリマーを分析する工程を包含する、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記ポリマーを検出する工程は、前記ポリマーの長さを特定する工程を包含する、請求項 10 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記ポリマーを検出する工程は、前記ポリマーの少なくとも 1 つの成分を特定することを包含する、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 5 0】

ポリマーを検出する方法であって、

請求項 1 の装置にポリマーを投入する工程、および

該ポリマーを検出する工程、

を包含する、方法。

【請求項 5 1】

ポリマーをマイクロチップ上に保持する装置であって、

該マイクロチップ上に配置されたマイクロチャネルであって、第 1 および第 2 端部と対向側壁とを有し、キャリア流体中のポリマーを、該ポリマーが存在するときは該ポリマーが該第 1 端部から該第 2 端部に向かって流路に沿って流れるように移送するように構成および配置された、マイクロチャネルを備え、

該マイクロチャネルは、該マイクロチャネルの第 1 の部分が該マイクロチャネルの第 2 の部分に隣接しこれと整列する位置となるようにする第 1 のまがりを持って該マイクロチップ上に配置される、装置。

【請求項 5 2】

前記マイクロチャネルはさらに、該マイクロチャネルの第 3 の部分が該マイクロチャネルの前記第 1 の部分に隣接しこれと整列する位置となるようにする第 2 のまがりを備えている、請求項 5 1 に記載の装置。

【請求項 5 3】

前記マイクロチャネルの前記対向側壁は、第 1 のマイクロチャネル幅、該第 1 の幅より小さい第 2 のマイクロチャネル幅、および該第 1 のマイクロチャネル幅と第 2 のマイクロチャネル幅との間の移行部とを画定し、ここで該移行部は、前記ポリマーが前記流路にそって移動するのを防ぐために該ポリマーに接触するようにされる、請求項 5 2 に記載の装置。

【請求項 5 4】

前記流路は距離によって特徴付けられ、前記マイクロチップは長さ、幅および高さによって特徴付けられ、さらに該流路の長さは該長さ、幅および高さのうちの少なくとも 1 つより大きい、請求項 5 1 に記載の装置。

【請求項 5 5】

前記流路の長さは、前記長さ、幅および高さのうちの少なくとも 2 つより大きい、請求項 5 3 に記載の装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

(発明の分野)

本発明は、ポリマー操作装置、詳しくは、ポリマーの位置決め、ポリマーの整列、ポリ

10

20

30

40

50

マーの伸長、またはポリマーの伸長または整列した状態での保持を行う装置に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

分子および細胞生物学の研究は細胞の微細構造に焦点が当てられている。細胞は細胞の機能性を決定する複合微細構造を有することが知られている。細胞構造および機能に関連する多様性の多くは、様々な基礎単位を多種多様な化学化合物へと組み立てる細胞の能力によるものである。細胞は、モノマーと呼ばれる有限組の基礎単位からポリマーを組み立てることによって、この課題を実現する。ポリマーの多種多様な機能性への1つの鍵は、ポリマー内のモノマーの第1配列に基づく。この配列は、細胞はなぜ特定の方法で分化するのか、または細胞は特定の薬剤による処置にどのように反応するかなどの細胞機能の基礎を理解するのに不可欠である。

10

【0003】

ポリマーの構造をそのモノマーの配列を識別することによって識別する能力は、各活性成分およびその成分が細胞内で果たす役割を理解するのに不可欠である。ポリマーの配列を決定することによって、発現マップの生成、どのたんぱく質が発現されるかの決定、疾病状態において突然変異がどこで起こるかの理解、および特定のモノマーがないときまたは突然変異したとき多糖類は機能が向上するかまたは機能を失うかの決定を行うことができる。

20

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明のマイクロ流体装置は、様々な方法でポリマーまたはポリマー群に方向付けおよび/または操作を行うようにされる。これらは、1つ以上のポリマーを位置決めする、整列させる、伸長させる、もしくは1つ以上のポリマーを整列または伸長した状態で保持することを含み得る。ポリマーをこのようなやり方で操作してその構造を後の分析でより容易に識別できるようにするか、または操作が行われている間にその構造を分析できるようにすることは場合によっては有用である。従って、本発明の装置および方法はポリマーを分析するのに有用である。

30

【0005】

1つの実施形態では、マイクロチャネル内でポリマーを位置決めする装置が開示される。装置は、第1および第2端部ならびにほぼ対向する側壁を有するマイクロチャネルを含む。マイクロチャネルは、ポリマー・キャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で前記第1端部から前記第2端部に向かって流れるように移送するよう構成および配置される。装置は、前記マイクロチャネルの前記第1および第2端部の間に位置するマイクロチャネルの第1の部分を含む。第1の部分の前記ほぼ対向する側壁はこれを通って流れる前記流れストリームに第1の速度勾配を作るように構成および配置される。対置流量制御チャネルが前記マイクロチャネルと流体連通し、流量チャネルは前記第1の部分と前記マイクロチャネルの第2端部との間に位置する。流量コントローラが対置流量制御チャネルを通って流れる流体の流れを制御して、前記ポリマーを含有する前記流れストリームを、前記対置流量制御チャネルより下流側の箇所で前記マイクロチャネルの前記ほぼ対向する側壁から離れた層状態に維持する。装置はまた、前記対置流量制御チャネルと前記マイクロチャネルの前記第2端部との間に位置するマイクロチャネルの第2の部分を含む。第2の部分の前記ほぼ対向する側壁は、これを通って流れる前記流れストリームに第2の速度勾配を作るように構成および配置される。検出ゾーンもまたマイクロチャネル内に配置される。

40

【0006】

マイクロチャネル内でポリマーを位置決めする方法もまた開示される。この方法は、第1および第2端部ならびにほぼ対向する側壁を有するマイクロチャネルを含むポリマー位置決め装置を提供することを包含する。マイクロチャネルは、ポリマー・キャリア流体を、

50

ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で前記第1端部から前記第2端部に向かって流れるように移送するように構成および配置される。装置は、マイクロチャネルの前記第1および第2端部の間に位置するマイクロチャネルの第1の部分を有する。前記第1の部分の前記ほぼ対向する側壁がこれを通って流れる前記流れストリームに第1の速度勾配を作るように構成および配置される。対置流量制御チャネルが前記マイクロチャネルと流体連通し、流量チャネルは、前記第1の部分と前記マイクロチャネルの第2端部との間に配置される。流量コントローラが対置流量制御チャネルを通って流れる流体の流れを制御して、前記ポリマーを含有する前記流れストリームを、前記対置流量制御チャネルより下流側の箇所で前記マイクロチャネルの前記ほぼ対向する側壁から離れた層状態に維持する。装置はまた、前記対置流量制御チャネルと前記マイクロチャネルの前記第2端部との間に位置するマイクロチャネルの第2の部分を含む。第2の部分の前記ほぼ対向する側壁はこれを通って流れる前記流れストリームに第2の速度勾配を作るように構成および配置される。検出ゾーンもまたマイクロチャネル内に配置される。この方法はまた、マイクロチャネルにポリマーを含有するポリマー・キャリア流体を提供することと、マイクロチャネル内で前記ポリマーを選択的に位置決めするために前記流量コントローラを操作することとを包含する。

【0007】

別の実施形態では、ポリマーを伸長させる方法が開示される。この方法は、ポリマーを含有するキャリア流体を、マイクロチャネルの第1端部からマイクロチャネルの第2端部へと送達するようにされたマイクロチャネルに提供することと、マイクロチャネルの第1のほぼ対向する壁対によって形成される第1の速度勾配内で前記キャリア流体を収束させることと、マイクロチャネルに入る側流体流によって形成される第2の速度勾配内で前記キャリア流体を収束させることと、次に前記マイクロチャネルの第2のほぼ対向する壁対によって形成される第3の速度勾配内で前記キャリア流体を収束させることとを包含する。

【0008】

別の実施形態では、ポリマーを伸長させる装置が開示される。この装置は、第1および第2端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルを含む。マイクロチャネルは、ポリマー・キャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するように構成および配置される。対置流量制御チャネルが前記対向側壁を通して前記マイクロチャネルと流体連通する。流量制御チャネルが前記マイクロチャネルの前記第1端部と前記ポリマー伸長ゾーンとの間に配置される。対置ポリマー制御チャネルが前記対向側壁を通して前記マイクロチャネルと流体連通して、前記ポリマー伸長ゾーンを画定する。これらは、前記対置流量制御チャネルと前記マイクロチャネルの前記第2端部との間に位置する。装置は、流体を前記マイクロチャネルを通して前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第1端部流体コントローラと、前記対置流量制御チャネルを通る流体の流れを制御して、前記ポリマーを含有する前記流れストリームを、前記マイクロチャネルの前記対向側壁から離れた層状態に維持する、対置流量コントローラと、前記対置ポリマー制御チャネルを通る流体の流れを制御する対置ポリマーチャネルコントローラと、流体を前記マイクロチャネルを通して前記第2端部から前記ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第2端部流量コントローラとを有する。

【0009】

また、ポリマーを伸長させる方法について記載される。この方法は、第1端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルを有するポリマー伸長装置を提供することを包含する。マイクロチャネルは、ポリマー・キャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するように構成および配置される。装置はまた、前記対向側壁を通して前記マイクロチャネルと流体連通する対置流量制御チャネルを含む。流量制御チャネルが前記マイクロチャネルの前記第1端部と前記ポリマー伸長ゾーンとの間に配置され

10

20

30

40

50

る。対置ポリマー制御チャネルが前記対向側壁を通して前記マイクロチャネルと流体連通する。ポリマー制御チャネルは前記ポリマー伸長ゾーンを画定し、前記対置流量制御チャネルと前記マイクロチャネルの前記第2端部との間に配置される。装置はまた、前記対置流量制御チャネルを通る流体の流れを制御して、前記ポリマーを含有する前記流れストリームを、前記マイクロチャネルの前記対向側壁から離れた層状態に維持する対置流量コントローラを利用する。装置はまた、前記対置ポリマー制御チャネルを通る流体の流れを制御する対置ポリマーチャネルコントローラを用いる。この方法はまた、前記伸長させるべきポリマーを含有する流体キャリアを層流ストリーム中で前記マイクロチャネルを通って前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンへと向かわせることを包含する。流量制御流体は、ポリマー含有流れストリームが前記マイクロチャネルの側壁から離れるようなやり方で、前記対置流量制御チャネルを通って前記マイクロチャネルへと向かうようにされる。

10

【0010】

別の局面では、ポリマーを伸長した形状で維持する装置が開示される。装置は、ポリマーキャリア流体を含有するように構成および配置されたマイクロチャネルを含む。マイクロチャネルは、第1のマイクロチャネル幅と前記第1の幅より小さい第2のマイクロチャネル幅と、前記第1および第2のマイクロチャネル幅との間の移行部とを画定する対向側壁を有する。移行部は、前記第1のマイクロチャネル幅内に含まれる伸長したポリマーに接触しこれの緩和を阻止するようにされている。

20

【0011】

さらに別の実施形態は、ポリマーを伸長させてこれを伸長した形状で維持する装置である。装置は、第1および第2端部と、ポリマー伸長ゾーンと、対向側壁とを有するマイクロチャネルを含む。マイクロチャネルは、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流ストリーム中で前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンに向かって流れるように移送するように構成および配置される。対置ポリマー制御チャネルが前記対向側壁を通して前記マイクロチャネルと流体連通する。ポリマー制御チャネルは、前記ポリマー伸長ゾーンを画定するために流体の流れを提供するようにされる。ポリマー制御チャネルは、前記マイクロチャネルの前記第1端部と前記第2端部との間に位置し、前記ポリマー制御チャネルの少なくとも一方は、より狭いマイクロチャネル幅への少なくとも1つの移行部を含む。移行部は前記狭い幅内に含まれる伸長または整列したポリマーに接触しこれの緩和を阻止するものである。さらに前記ポリマー制御チャネルの少なくとも一方は少なくとも1つの蛇状の曲がりを含んで前記ポリマー制御チャネルの少なくとも一部が前記ポリマー制御チャネルの別の部分に隣接および平行して位置するようされる。装置はまた、流体を前記マイクロチャネルを通って前記第1端部から前記ポリマー伸長ゾーンへと向かわせる第1端部流体コントローラを含む。

30

【0012】

1つの実施形態では、ポリマーを検出する装置が開示される。装置は、第1および第2端部を有するマイクロチャネルを含む。装置はまた、前記マイクロチャネルの前記第1および第2端部の間に配置される障害物フィールドを含む。マイクロチャネルは、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流中で前記第1端部から前記障害物フィールドを通って前記第2端部に向かって流れるように移送するように構成および配置される。前記ポリマーを検出する検出ゾーンが前記障害物フィールド内に位置する。また、上記の装置にポリマーを提供し次にこのポリマーを検出することによる、ポリマーを検出する方法が開示される。

40

【0013】

別の開示される実施形態は、ポリマーを検出する方法に関する。この方法は、第1および第2端部を有するマイクロチャネルと、前記第1および第2端部の間に配置される障害物フィールドとを備えた装置を提供することを包含する。マイクロチャネルは、ポリマーキャリア流体を、ポリマーが存在するときはポリマーが層流中で前記第1端部から前記障害物フィールドを通って前記第2端部に向かって流れるように移送するように構成および配置されている。この方法は、検出されるべきポリマーを含有するポリマーキャリア

50

流体を提供することと、次に前記ポリマーキャリアを、少なくとも1つのポリマーが前記障害物フィールドを構成する少なくとも1つの障害物に一時的に束縛されるように、前記障害物フィールドを通して流すことと、次に一時的に束縛されたポリマーを検出することを包含する。

【0014】

1つの別の実施形態では、ポリマーをマイクロチップ上に保持する装置が開示される。この装置は、前記マイクロチップ上に配置されたマイクロチャネルを含み、マイクロチャネルは第1および第2端部と対向側壁とを有する。マイクロチャネルは、キャリア流体中のポリマーを、ポリマーが存在するときはポリマーが前記第1端部から前記第2端部に向かって流路に沿って流れるように移送するように構成および配置される。マイクロチャネルは、前記マイクロチャネルの第1の部分が前記ポリマー制御チャネルの第2の部分に隣接しこれと整列する位置となるようにする少なくとも1つの曲がりを持って前記マイクロチップ上に配置される。

【0015】

本発明の更なる特徴および利点ならびに様々な実施形態の構造を、添付の図面を参照して以下に詳細に述べる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

(詳細な説明)

本発明のマイクロ流体装置は、ポリマーを含有する流体を、ポリマーが存在する場合はポリマーの位置決め、整列、伸長、もしくは整列または伸長した状態からの緩和の阻止が可能なように、マイクロチャネルを通して送達するようにされる。このようなポリマーに対して行われる機能は、分析のためにポリマーを用意する場合に有用である。

【0017】

本明細書で用いる用語「ポリマーを分析する」とは、ポリマーのサイズ、その構成単位の順序、他のポリマーへの関連性、その構成単位の同一性、または試料内の有無などのポリマーの構造についてのいくつかの情報を得ることを意味する。生物ポリマーの構造と機能とは互いに依存しているので、構造はポリマーの機能についての重要な情報を明らかにすることができる。

【0018】

本明細書で用いる「ポリマー」は、結合によって結び付けられる個々の構成単位よりなる直鎖バックボーンを有する化合物である。場合によっては、ポリマーのバックボーンは枝分かれてもよい。好ましくは、バックボーンは枝分かれしない。「バックボーン」という用語は、高分子化学の分野におけるその通常の意味を持つ。ポリマーはバックボーン組成では不均一であり、よってペプチド-核酸(核酸に結合したアミノ酸を持ち安定性が高い)のような、結合するポリマー構成単位のあらゆる可能な組み合わせを含み得る。1つの実施形態では、ポリマーは例えばポリ核酸、ポリペプチド、多糖類、炭水化物、ポリウレタン、ポリカーボネート、ポリ尿素、ポリエチレンイミン、ポリアリレン硫化物、ポリシロキサン、ポリイミド、ポリアセテート、ポリアミド、ポリエステルまたはポリチオエステルである。最も好適な実施形態では、ポリマーは核酸またはポリペプチドである。本明細書で用いる「核酸」は、デオキシリボ核酸(DNA)またはリボ核酸(RNA)などの、ヌクレオチドよりなる生体高分子である。本明細書で用いるポリペプチドは、結合されたアミノ酸よりなる生体高分子である。

【0019】

ポリマーの結合構成単位に対して本明細書で用いる「結合された」または「結合」は、2つの実体が任意の物理化学的手段によって互いに結び付けられることを意味する。共有結合または非共有結合を問わず当業者には既知のいかなる結合も包含される。特定のポリマーの個々の構成単位を接続する自然界で通常見られる結合である天然の結合が最も一般的である。天然の結合としては、例えはアミド、エステルおよびチオエステル結合がある。しかし、本発明の方法によって分析されるポリマーの個々の構成単位は、人工的なまた

は修飾された結合によって結合されていてもよい。構成単位が共有結合によって結合されるポリマーが最も一般的であるが、水素結合の構成単位などを含んでもよい。

【0020】

ポリマーは複数の個々の構成単位よりなる。本明細書で用いる「個々の構成単位」は、他の基礎単位すなわちモノマーに直接または間接的に結合されてポリマーを形成することができる基礎単位すなわちモノマーである。ポリマーは好ましくは少なくとも2つの異なる結合された構成単位よりなるポリマーである。これら少なくとも2つの異なる結合された構成単位は、異なる信号を生成するかまたは生成するように標識される。

【0021】

「標識」とは、例えば発光、エネルギー受理、蛍光、放射能または消光であればよく、本発明はこの点に関しては制約されない。ポリマーの多くの天然に産出する構成単位は発光成分または消光体であり、よって内因的に標識される。これらのタイプの標識は本発明の方法によれば有用である。適切な標識を選択するための指針、およびポリマーに外因性標識を加える方法については、U.S. 6,355,420 B1 にさらに詳しく提供されている。

【0022】

信号検出方法としては、ナノチャネル分析 (U.S. Genomics, Woburn, MA)、近距離場走査顕微鏡検査法、原子間力顕微鏡方法、走査電子顕微鏡方法、導波路構造または他の既知の方法が含まれ、本発明はこの点に関しては制約されない。

【0023】

信号が生成されると、次に検出および分析され得る。特定のタイプの検出手段は生成される信号のタイプに依存し、これは当然ながら、構成単位特異的マーカーと作用因との間に起こる相互作用のタイプに依存する。本発明の方法に関わる多くの相互作用は電磁放射信号を生成する。2次元および3次元撮像システムを含む、電磁放射信号を検出する多くの方法が当該分野では既知である。

【0024】

光学的に検出可能信号が生成および検出されデータベースに保存される。信号を分析してポリマーについての構造的情報を求めることができる。信号の分析は、信号の強度を評価することによって、ポリマーについての構造的情報を求めることができる。コンピュータは、ポリマーについてのデータを収集するために用いるものと同じコンピュータであっても、データ分析専用の別のコンピュータであってもよい。本発明の実施形態を実現する適切なコンピュータシステムは、典型的には、情報をユーザに表示する出力装置と、出力装置に接続するメインユニットと、ユーザからの入力を受け取る入力装置とを含む。メインユニットは通常は相互接続メカニズムを介してメモリシステムに接続されるプロセッサを含む。入力装置および出力装置もまた、相互接続メカニズムを介してプロセッサとメモリシステムとに接続される。検出信号のデータ分析用のコンピュータプログラムはCCD (電荷結合素子) の製造業者から容易に入手可能である。

【0025】

本発明の方法に関わる他の相互作用は、核放射信号を生成する。ポリマー上の放射標識が画定された検出領域を通過するとき核放射が放出され、そのうちのいくらかは画定放射検出領域を通過する。核放射検出器を画定放射検出領域の近くに配置して放出された放射信号を取り込む。核放射を測定する多くの方法が当該分野では既知である。いくつかを挙げると、クラウドアンドバブルチャンバー装置、一定流イオンチャンバー、パルスカウンタ、ガスカウンタ (すなわち、ガイガー・ミュラーカウンタ)、固相検出器 (表面バリア検出器、リチウム浮遊検出器、内因性ゲルマニウム検出器)、シンチレーションカウンタ、チエレンコフ検出器がある。

【0026】

生成される他のタイプの信号は当該分野で周知であり、当業者には既知の多くの検出手段を有する。これらのうちのいくつかを挙げると、対向電極、磁気共鳴および圧電走査チップがある。対向ナノ電極は容量変化を測定することによって機能し得る。2つの対向す

10

20

30

40

50

る電極が、これら 2 つの電極間に効果的に位置するエネルギー保存領域を作る。電極間に異なる材料を配置すると、このような装置の容量が変化することが知られている。この誘電率は、特定の材料が保存し得るエネルギー量（すなわち、その容量）に関連する値である。誘電率の変化は、2 つの電極間の電圧の変化として測定することができる。本例では、ポリマーの異なるスクリオチド基または構成単位特異的マーカーが異なる誘電率を引き起こし得る。K は誘電率、C₀ はいかなる塩基もない場合での容量であるとき、式 $C = K C_0$ で示されるように、容量はポリマーの構成単位特異的マーカーの誘電率と共に変化する。次にナノ電極の電圧偏差を測定装置に出力し、信号の時間変化を記録する。

【0027】

マイクロ流体装置の 1 つの実施形態は、マイクロチャネルの対向側壁を通る流れを提供するフロー制御チャネルを有する。このような対向する流れはマイクロチャネル内のポリマーを含有する流体の流れを変えて、ポリマーの位置決め、ポリマーの整列またはポリマーの伸長を行うことができる。

【0028】

マイクロ流体装置の他の実施形態は、ポリマーを含有する流体の流れにおける流線を分離させるポリマー制御チャネルを有する。分離した流線内に各部が位置するポリマーは、それらの部分が互いから分離するに従って整列または伸長することができる。分離した流線はまた、それらに含まれるポリマーを分離流線のいずれかに関連する方向に導くために用いることができる。

【0029】

マイクロ流体装置のさらに他の実施形態は、内部に障害物フィールドを配置したマイクロチャネルを有する。障害物フィールドは、障害物フィールド内の障害物に突き当たるキャリア流体の流線を分離するように働き得る。次に分離した流線は、障害物に接触したポリマーを整列させるかまたは部分的に整列させるように働く。障害物フィールドにはまた検出ゾーンも配置して、ポリマーが障害物に接触しその周りを移動するときポリマーを検出するようにすることもできる。

【0030】

マイクロ流体装置のマイクロチャネルのいくつかの実施形態はまた、ポリマーを実質的に整列または伸長した状態で保持するための異なる寸法のいくつかの断面を持つことができる。これは、より小さな寸法のマイクロチャネル断面内にポリマー部分を置くようにして、これにより伸長または整列したポリマーの緩和を阻止することによって行うことができる。マイクロチャネルは、様々な長さのポリマーを収容できるように、異なる寸法の複数の断面を持つことができる。マイクロチャネルはまた、蛇状に配置させて長いポリマーを組織的に巻き付いた状態に保持するようにしてもよい。ポリマーは伸長または整列した状態で保持されているときに分析してもよいし、または分析ステップの前または分析ステップ間に行う予定の追加の準備ステップのために保持されてもよい。

【0031】

次に図面を参照する。特に図 1 ~ 図 3 では、ポリマー 30 は重要な 3 つの異なる状態で示されている。図 1 は、巻き付いたまたは「もつれた」高エントロピー状態のポリマーを示している。図 2 は、ヘアピン形状の低エントロピー状態のポリマーを示している。図 3 は、整列した低エントロピー状態のポリマーを示している。エントロピーとは極めて一般的にはシステム内の無秩序さの尺度である。この場合のシステムとはポリマーである。このように、エントロピーはポリマーがどれほど巻き付いているかまたはもつれているかを示す。ポリマーを図 3 に示すように低エントロピー状態に配置するには、力をポリマーに加えて分子をより秩序ある状態にすることが必要である。例えば、ポリマーに伸長性の流れまたは他の線形を引き起こす力が加えられているとき、ポリマーは、その力が巻き付かせようとするエントロピー弾力を上回る場合、変形して高度に秩序立った状態を形成し始める。このような高度な秩序は天然には生じ難い。何故なら、分子の三次構造に関わる分子間および分子内相互作用に影響を与えるためにはいくつかの特定の力を加えなければならないからである。

10

20

30

40

50

【0032】

システムのエントロピーは、低いエントロピー状態を維持または作り出すようにシステムに働きかけを行わない限り、通常は時間と共に増大する。ポリマーがこのような秩序立った状態を形成するようにされる場合は、システム内でエントロピーが増大する自然の傾向によって最終的にはポリマーは巻き付いた状態に戻ってしまう。

【0033】

ポリマーが図3に示した状態に類似する整列または伸長した状態にあると、ポリマーを検出および分析することが可能となる。本明細書において参考のため援用される米国特許第6,355,420号は、ポリマーの線形分析の方法を記載している。記載された方法は、ポリマーを構成する様々な成分を迅速に検出する方法を提供する。

10

【0034】

本明細書で述べる「輪郭長さ」は、ポリマーを特徴付けるために使用されるパラメータである。ポリマーの輪郭長さは、ポリマーが引き伸ばされていない状態のときポリマーを構成単位31毎にたどることによってポリマー30の第1端部32から第2端部33まで測った長さである。本明細書で用いるポリマーの「見掛け長さ」は、第1端部32と第2端部33との間の最短距離である。見掛け長さはポリマーの第1端部32と第2端部33との間の直線に沿って測定され、これはポリマーが巻き付き形状またはヘアピン形状のときは輪郭長さよりかなり短くなり得ることを意味する。ポリマーが整列してはいるがまだ伸長していないときは、その見掛け長さは輪郭長さとほぼ同じとなる。ほとんどのDNAおよびRNAは長さが約3.4の個々の構成単位または塩基対を有する。これらのポリマーに対しては、輪郭長さは塩基対の数に3.4を掛けることによって算出することができる。

20

【0035】

本明細書で用いる用語「整列した」は、その構成単位がほぼ線形となるように配置されたポリマーを説明するために用いられる。本明細書で用いられる用語「伸長した」は、輪郭長さのほぼ90%を上回る長さで存在するポリマーまたはポリマー部分を説明するために一般的に用いられる。伸長したポリマーまたはポリマー部分はまた必然的に整列している。用語「部分引き伸ばし」「引き伸ばし」および「過剰引き伸ばし」は、以下に説明するように整列または伸長の特定の程度をいう。

30

DNAなどの多くのポリマーはそれらの輪郭長さを超えて伸長させることができる。図4は、DNAの二重鎖をその天然の「もつれた」または巻き付いた状態から全輪郭長さの整列した状態へ、次にこれを超えてS-DNAの形状へと伸長させることに関連する力を示している。図4のX軸は、DNAの二重鎖の輪郭長さに対する見掛け長さの比率を表す。Y軸はDNAの二重鎖に加えられる伸長力の大きさを表す。Y軸には寸法は示されていないが、X軸から遠い箇所の方が力がより大きいことを表す。Y軸に近い曲線上の比較的平坦な(水平の)部分の箇所はDNAがその「もつれた」または巻き付いた天然の状態にあることを表す。DNAはこの状態で約3.4の塩基対の間隔を有する。Y軸から遠ざかっているがまだ曲線のほぼ水平部分上にあり、比率が約90%までの、曲線に沿った箇所は、部分的にもつれたDNAを表す。この状態では、DNA(またはRNA)はまだ約3.4の塩基対の長さを有し、技術的には「部分引き伸ばし」されているとして知られる。DNA(またはRNA)に追加の力を加えると、端から端までの全体の長さがその輪郭長さに近似する線形状へと形成される。この状態では、DNA(またはRNA)は「引き伸ばし」されているとされる。DNA(またはRNA)にさらに追加の力を加えると、「過剰引き伸ばし」となり、塩基対は各々約3.4より大きい長さに伸ばされる。グラフが示すように、過剰引き伸ばしするには、最初はDNAに加える追加の力はそれほど大きくはない。しかし、DNAがその輪郭長さの約1.7倍まで引き伸ばされると、これをさらに伸ばすのに必要な力は劇的に増大する。図4はRNAではなくDNAのための力対伸長曲線を示しているが、用語「部分引き伸ばし」、「引き伸ばし」および「過剰引き伸ばし」はDNAおよびRNAの両方に当てはまる。

40

50

【0037】

図4は、DNAを低い見掛け長さ対輪郭長さ比率(高エントロピー)からより高い見掛け長さ対輪郭長さ比率(低エントロピー)へと移動させるにはほんの僅かの力量しか必要としないことを示す。これは、DNAをその全長にわたって均等に伸長させること、およびポリマーのどの部分も部分引き伸ばしも過剰引き伸ばしもされないことを仮定している。しかし、DNAの見掛け長さがその輪郭長さに近づくと、ポリマーを伸長させるのに必要な力は急激に増大する。この曲線の急峻部分が本発明の実施形態によって有利に用いられ得る。このようにして、比率値1近くの曲線の急峻部分に沿った箇所に関連する力を、DNAなどのポリマーに加えることによって、過剰引き伸ばしすることなくポリマーを引き伸ばすことができる。

10

【0038】

ポリマーが引き伸ばされると、その見掛け長さはその輪郭長さとほぼ等価であり、過剰引き伸ばしを始めるにはほんの僅かな量の追加の力を必要とするのみである。これは1より大きいが1.7より小さい比率値に関連する曲線のほぼ平坦な部分によって表される。曲線のこの部分はDNA鎖が捩れていないと表す。DNAのこの捩れていないと表す。曲線のこの部分はDNA鎖が捩れていないと表す。DNAのこの捩れていないと表す。S-DNAと呼ばれる場合もある。

【0039】

曲線は再び、比率値1.7の急峻部分に到達し、ここでは二重鎖DNAの個々の構成単位が互いにに対してさらに離れて過剰引き伸ばしされる。ポリマーをこの箇所を超えて過剰に引き伸ばすのに必要な力は上昇を続け、ついにはポリマーを破るほどの大きさになる。溶液条件および過剰引き伸ばしS-DNAを生成するためのDNAの引き伸ばしの効果などについては、例えば文献Rouzina and Bloomfield, Biophysical Journal, 80:894(2001)に記載されている。該文文献は本明細書において参考として援用されている。

20

【0040】

本明細書で用いるポリマーの「持続長さ」とは、ポリマーがきつく巻き付いた状態になることができる程度を示すパラメータである。ポリマーの持続長さは、通常は、その長さにわたってはポリマーが天然に整列した状態であるポリマー長さである。持続長さが短いほど、ポリマーはよりきつい巻きで配置され得ることを意味する。これをエントロピーの概念と結び付けると、持続長さが短いポリマーは、天然ではよりきつい巻きのより小さな巻き付き状態で見られる傾向があることを意味する。一般に、持続長さは、問題のポリマーにおいては輪郭長さより数桁も短い。このことからも、ポリマーは天然ではかなり巻き付いた状態で存在することが推測される。

30

【0041】

次に様々な流体用語を、本発明のマイクロ流体装置に関連するやり方で説明する。本明細書で用いる「層流」とは、流体が、同じ箇所を通過する連続した粒子が類似の速度を有するように、変動も乱流もなく層をなして移動する流れをいう。図5に示すように、層流38は、流れ場全体での滑らかな流線35によって特徴付けられる。流線は、時間におけるある瞬間での流れ場内の速度ベクトルに対する接線に従うラインを視角化したものである。流れは流線に従い、流線を横断することはできない。図5は、流体内に沈められた物体/障害物34を通り過ぎる層流を示す。同図での流線は、所与の流線に対する流れの方向および流れの速度を示す矢印37を含む。流れの方向は矢印に従い、流れの速度の大きさは所定の長さにおける矢印の数に反比例する。すなわち、所定の長さにおける矢印の数が少ないほど流線の流れは速いことを意味する。流線の矢印が下流側の箇所において互いに間隔がより離れているときは、流線が下流に進むほど加速していることを示す。図5の流線に関連する同じ規則が、特に言及しない限り、本出願での図面全体に用いられる。

40

【0042】

流脈線は流体の流れを説明するために用いることができる別の視覚化である。流体内の流脈線は、所与の粒子が経時たどる経路を表す。安定した層流では、流脈線と流線とは一致する。しかし、層流は、その流線が経時変化する場合は、流線とは異なる流脈線を持ち

50

得る。このような流れは不安定な層流であると特徴付けられる。この点に関しては、図示した流れが安定していると思われる場合は、図に示す流線 37 はまた流脈線を表しもする。

【0043】

層流とは異なり、図 6 に示すような乱流は、予測不能な経路をたどることが多い流線および流脈線によって特徴付けられる。乱流 39 の流線は、時と共にそれら自身および互いの周りを渦巻く渦または渦巻 41 を形成するが多く、流体を確率論的なやり方で下流側の箇所へと送達する。図 6 は、流体内に沈んでいる物体 34 に突き当たって物体より下流側の箇所で乱流 39 となる流れを示す。物体より下流側の位置に示される不連続の輪を作っている流脈線は、乱流を典型的に特徴付ける渦および渦巻である。乱流は通常は下流に向かって進行していくが、任意の粒子の特定の経路は主としてランダムで予測不能である。

【0044】

レイノルズ数は流体の流れおよび流体が層流の状態であるか乱流の状態であるかを説明する無次元のパラメータである。レイノルズ数のための等式を以下に示す。

【0045】

$$Re = V D / \mu$$

ここで、 Re = レイノルズ数

= 流体密度

V = 流速

D = 固有寸法

μ = 流体粘度

層流は高粘度、低速度、低密度または小寸法のとき生じる。これらはレイノルズ数を決定するために用いられる因子である。層流は速度または密度が増大するか、または粘度が減少すると乱流となり得る。流れチャネル内の急峻な曲がりまたは小さな特徴物との相互作用など他の寸法上の要因もまた層流が乱流へと進む原因となり得る。層流体内に沈んでいるポリマーは予測可能なやり方で移動させることができるのでに対して、乱流体内に沈んでいるポリマーは、下流側に移動するとき予測不能な経路でランダムに動き回るようである。

【0046】

本明細書で用いる用語「均一速度の層流」は、同じ箇所を通過する連続した粒子は類似の速度を有する、および粒子は下流側の箇所で同じ速度を有するなどの変動のない流体の流れを説明する。均一速度の層流はまた、図 7 に示すように、隣接する流線は類似の速度を有することも意味する。同図では、ポリマーは、ポリマーの方位を変えることなく流体と共に移動し得るように均一速度の層流 43 内に沈んでいるものとして示されている。例えば、図 7 に示すポリマーは、均一速度の層流体がポリマー 30 を下流側に運ぶとき図示された位置のままである。しかし、均一速度の層流体内に位置していることは、ポリマーが流体内を移動することを妨げるものではない。例えば、エントロピーの増大に関連する力などの、静止流体内でポリマーを動かすのと同じ力が、ポリマーが均一速度の層流中で移動するときポリマーを動かすこともできる。

【0047】

流体がその中に含有するポリマーを操作し得るやり方について、一般論をそして次にいくつかの特定のシナリオを述べる。キャリア流体に含有されるポリマーは、ポリマーにとって内部の力、ポリマーと接触している流体からの力、ポリマーに接触する固体物体からの力、または重力または浮力などのポリマーに作用するあらゆる体積力によって作用され得る。これらの力の正味効果が、ポリマーまたはポリマーの一部がキャリア流体に対してどこでおよびどのようにして移動するかを決定する。別の物体との接触、不均衡な内部の力または体積力がない場合は、均一速度の層流体中に含有されるポリマーは通常は流体に対して移動しない。各構成単位は、上述のような別の力に作用されるまでは、流体の流線に従う。このようにして、このような均一速度の層流体中で運ばれるポリマーは、静止流

10

20

30

40

50

体の水たまりの中で移動するのと同様のやり方で流体に対して移動する。しかし、ポリマーの部分に接触している流線が互いまたはそれら自体に対して移動すると、これらはポリマーの一部に力を加え、ポリマーを別の位置または形状へと移動させる。本発明のマイクロ流体装置によって用いられるのは、流線を変えることによって次にポリマーの位置または状態を変えるというこの概念である。次にポリマーが様々な流線、体積力または接触力によって影響され得る方法のいくつかを述べる。

【0048】

図8は、沈んでいる物体34および層流の中でこの物体に対して移動している流体を示している。沈んでいる物体と流体との間には圧力による力および流体抵抗力の両方が存在する。圧力による力は、物体と流体との間の前面接触領域36において観測されるより高い圧力と、反対側の後面領域47で観測されるより低い圧力との間の差によるものである。この力の大きさは、通常は、この圧力の差を流れの方向に垂直な方向の物体の投影断面積49の全体にわたって積分することによって計算することができる。このような圧力による力は通常は物体を流体と共に動かそうとする。非常に高いアスペクト比（アスペクト比はポリマーの流れ方向の長さを投影断面積の直径で割ったものである）をもつポリマーなどの物体にとっては、圧力による力は流体抵抗力に比べると通常は無視し得るものである。しかし、圧力による力は、図9に示すように、固定されたポリマーを押して整列した状態にするには十分な大きさであり得る。

【0049】

流体抵抗力は、上述したように、物体と流体との間のすべり接触の結果である。流体抵抗力は、流体中の物体の動きに対抗する。すなわち、物体を流体と共に動かそうとする。この力はまた流体摩擦力とも呼ばれる。流体抵抗力の大きさはいくつかの要因によって決定される。これら要因の多くはまたレイノルズ数に関連した因子でもある。抵抗力の大きさに影響を与えるこのような要因の1つは、物体、この場合はポリマーに対する流体の速度である。すなわち、流体速度がポリマーの一部に対して増大する場合、流体中のポリマーのその部分にはより大きな流体抵抗力が加えられることが多い。流れのレイノルズ数、従って流体抵抗力、を決定する他の要因としては、流体の粘度および密度ならびに物体と流体との間の接触面積がある。

【0050】

流体抵抗力は、ポリマーと流体との間に動きがあるすべての箇所で分散されてポリマーに作用する。正味流体抵抗力は、流体力が作用している表面全体にわたって積分されたこれらの力の総計である。分散した流体抵抗力を、これらが関連する流体を通して、巻き付きポリマーを整列または伸長させるのに用いることができる。このようにしてポリマーを整列または伸長させることは有用である。しかしこれら力の分散性はまたいくつかの課題を生み出し得る。例えば、図9に示すように、層流中に沈められ一方の端50で固定されたポリマーを考える。流体抵抗力はポリマーを流体の流線に平行に整列させるように働く。これは流体抵抗力がポリマーの長さに沿って作用するとき実現される。図9に示したシナリオでは、ポリマーの任意の箇所に作用する正味流体抵抗力は、ポリマーのすべての下流側の箇所に作用する流体抵抗力の総計である。図9の図はまた、一方の端50が固定されている場合において、この正味流体抵抗力がポリマーの長さに沿って如何に増大し得るかを示している。このシナリオでは、ポリマーの自由端40には作用する正味抵抗力は比較的少なく、これは自由端の引き伸ばしまたは部分引き伸ばしであっても行うのに十分な力ではないかもしれない。正味流体抵抗力は固定端50に近づくとポリマーに沿って増大するため、この力はポリマーを整列させて部分引き伸ばしまたは引き伸ばしされた状態にするのに十分な大きさとなる。この正味の力は固定端50に向かうに従って大きくなり、固定端ではポリマーを過剰に引き伸ばして場合によってはポリマーを破りさえするほどに十分な大きさとなり得る。これは相当な長さのポリマーに対して課題を提供する。第1に、速度（または等価のパラメータ）が低下して流体抵抗力が減少する場合、ポリマーの自由端には、所望通りに整列させるのに十分な正味流体抵抗力が加えられないかもしれない。第2に、自由端から上流側のポリマー部分はこれらを整列させるのに十分に高い正味

10

20

30

40

50

流体提供力をもつと思われるが、さらに上流側のポリマー部分ほどには伸長しないかもしれない。この状況は、所々で一貫して伸長せず、同じ部分が巻き付き、特別引き伸ばし、引き伸ばしおよび／または過剰引き伸ばしの状態となるポリマーを作り得る。第3に、正味流体力は、正味の力が大き過ぎる自由端40から離れた箇所でポリマーを破るほどに十分大きくなるかもしれない。

【0051】

均一速度の層流体中を移動する巻き付きポリマーは、これに作用する整列させる力がなければ巻き付いた状態のままである。しかし、流体の流線が互いにに対して動くとき、ポリマーの少なくとも一部に流体抵抗力が加えられる。このようなシナリオの1つを図10に示す。同図では、より緩い流線42がより速い流線44に隣接して走っている。このような流線は互いにずれているといわれる。ここではポリマーを、より緩い流線に位置する第1の部分46とより速い流線に位置する第2の部分48を持つものとして示している。このポリマーは、これら流線の一方または両方および対応するポリマー部分が互いにに対して移動するとき、流線の各々から流体抵抗力を受ける。図示した例では、この力は、ポリマーの各部分を互いに離れる方向に引っ張るように働き、これは、この場合では、ポリマーを整列または伸長させる。図11は、得られる流体抵抗力がポリマーの各部分を互いに向かう方向に押すように働いて、場合によってはポリマーを巻き付けるように流線およびポリマーを配置することを除いては、図10に幾分似たシナリオを示している。

10

【0052】

図12に示すような速度勾配は、ポリマーを操作するために用いることができる層流線の別の配置である。速度勾配51は、流体が1つの箇所から別の箇所へと通過するとき加速（または減速）する流体を反映する流線または流脈線をいう。速度勾配は隣接する流線間のあるずれに関連して起こり得るが、その必要はない。ここでは、ずれのない場合を説明する。これは流線が互いに近づく方向に押されること、言い換えると収束されることに関連して起こることが多い。

20

【0053】

より高い圧力に晒されてもほぼ同じ容積を保つ流体である非圧縮性流体にとって、速度勾配は通常は、図12に示すように（流れの方向に垂直な方向の）流路の断面積を減らすことによって作り出される。面積の減少は、流れている流体を収容するチャネルの形状の変化、例えばチャネルを漏斗形状にすることによって実現することができる。また、より多くの流体を既存のチャネルに導入して、下流に移動するに従って所定の流体量にとって利用可能な断面積を減らすことによっても実現することができる。この面積を減らすことで、流体は加速し、これにより減少した断面積より上流側と下流側の箇所での体積流量を均衡させる。図12は、減少断面積で流線が互いの方向に押し付けられるときの速度勾配51における流線の加速を示す。これら流線を押し付けることによってこれらは加速する。これら流線が互いの方向に押し付けられるとき流線中に含有されるポリマーは、これらと共に動かされると思われる。言い換えれば、ポリマーは流れの方向に垂直な断面積がより小さい方へと収束される。この効果は、ポリマーが流路内の特定の位置へと目標を定める必要がある場合に有用であり得る。

30

【0054】

速度勾配51に入るポリマーはまた、流れの方向に平行な方向に伸長させることができる。ポリマーが速度勾配に入ると、ポリマーの最前部は加速する流体の抵抗力によって前方に引っ張られる。最前部は速度勾配内に位置している限り前方に引っ張られ続ける。速度勾配にまだ入っていないポリマー部分は、ポリマーの最前部に関連する正味流体力によって、およびこれらポリマー部分が速度勾配に入るとき作用する流体抵抗力によって前方に引っ張られ得る。

40

【0055】

収束流線および関連する速度勾配の両方の効果は、通常は、ポリマーが勾配に入るとき幾分かは整列した状態であっても、ヘアピン形状の状態であっても、巻き付いた状態であっても、またはその他のいかなる形状であってもほぼ同じである。通常は、ポリマーは、

50

流れに平行な方向に整列するかまたは伸長し、また流れに垂直な方向に収束しているが、依然として勾配に入ったのとほぼ同じ形状で、勾配を出て行く。このようにして、収束流線は巻き付きポリマーをより小さな断面積に収束するために用いることができ、また速度勾配はその元の形状を伸長させるために用いることができる。幾分かは整列した状態で勾配に入るポリマーを伸長させることができ、またポリマーがヘアピン形状で配置されていても、伸長の流れの中での持続時間を十分とることにより、伸長した非ヘアピン形状のポリマーとして勾配を出て行くようにしてもよい。

【0056】

よどみ点68は流体中を流れるポリマーを操作するために用いることができる流体上の現象である。流体、特に層流体がその流路内の障害物に突き当たると、その流線53は分離して障害物の各側部に沿って移動し得る。分離した流線は障害物の周りを移動し続けて、図13に示すように、障害物から直下流側55の箇所で再結合するか、または図6に示すように、流れるに従って障害物から離れ乱流ゾーン39を作る場合もある。流線はまた、障害物によって流線が再び接触し合うことが許されない場合は、永久に分離したままともなり得る。流線が障害物に接触して分離する箇所はよどみ点68として知られている。このように名づけられるのは、流体はこの箇所では低流速または無流(よどみ)の状態にあるからである。よどみ点はまた流路が壁のような障害物に突き当たるときにも生じる。この場合には、流線はよどみ点を通過した後は、恐らくは別のチャネルを下って、それぞれ異なる進路をたどる。別のシナリオでは、よどみ点は、図14に示すように、2つの流動流体を互いに向き合わせることによって作り出すことができる。ここでは、各流体の流線は対向する流体59の流線と出会い、各々よどみ点で分離し、次によどみ点から離れる方向に異なる経路をたどる。

10

20

30

40

【0057】

よどみ点はポリマーを巻き付いた状態から整列または伸長させるのに利用することができる。例えば、障害物または対向する流れに関連するよどみ点に近づくと分離する層流線内に位置する部分をもつ巻き付きポリマーを仮定する。分離する流線はそれらが含むポリマー部分を流体抵抗力により引っ張る。流線が分離するよどみ点近くの領域は伸長ゾーン70と呼ばれる。巻き付きポリマーが、図14に示すように、よどみ点の各側部にそのポリマーのほぼ等しい大きさの部分が位置する状態で伸長ゾーンに入ると、ポリマーの各部分を互いから離れる方向に引っ張ることによって、ポリマーは伸ばされて整列または伸長した低エントロピー状態となり得る。

【0058】

本発明のマイクロ流体装置と組み合わせて電気装置を用いて様々な効果を実現してもよい。例えば、電気装置を用いて、マイクロチャネルの任意の部分またはマイクロチャネル全体にわたって電界を生じさせてポリマーの操作を支援するようにしてもよい。DNAまたはRNAのようにポリマーによっては電界による操作を可能にする電荷を含むものがある。天然に電荷を持たない他のポリマーにはいずれかの既知の方法によって電荷を印加させることができる。1つの特定の実施形態では、このような電界は、ポリマーの各部分をマイクロチャネルの対向側壁の方向に引っ張る場合に有用であり得る。これは、ポリマーが障害物またはよどみ点の各側部にほぼ等しい大きさの部分を位置させて、障害物またはよどみ点68に接触する場合にポリマーを支援することができる。他の実施形態では、ポリマーを整列または伸長した状態に維持する手助けをするために電界を用い得る。

【0059】

次に上述の流体現象を創出するために用いられる様々なマイクロ流体装置のうちのいくつかについて述べる。これら流体装置はほとんどの場合、標準的なチップ製造技術で製造されるマイクロチャネルを含んでいる。これらマイクロチャネルのほとんどは、底壁61と対向側壁65とを持つ方形の断面を有する。尤も本発明はこの点に関しては制約されないので他の形状も可能である。これらマイクロチップの上壁63は通常は、マイクロチップの基部の上方に溶融付けされるかまたは他の手段によって定位置に保持され得るカバースリップによって提供される。マイクロチップはポリマーの操作または分析を行うための

50

好都合の介在物となる。分析が完了すると、マイクロチップは容易に廃棄して新しいものと取り替えることができる。しかし、マイクロチップによっては再利用可能なように設計してもよい。

【0060】

マイクロチップをユーザによる取り扱いがより容易な形態で保持するため、マイクロチップホルダーを用いてもよい。ホルダーはまた、ホルダーを受け入れてポリマーの分析を行う分析装置と整合するように設計されるとよい。このような分析装置は、マイクロ流体装置を通じて流れる流体とその中で運ばれるポリマーとを提供し得る。この分析装置は、マイクロチップを通じて流れる流体の流れを操作する制御装置と、ポリマーが所望の状態になるとポリマーを分析するために用いられる撮像装置とを備え得る。装置はまた、ポリマーを操作中に監視するためにも用いてもよい。この同じ装置はまた、ポリマーが分析され得るようにポリマーに前処理を行う装置を含んでもよい。例えば、この装置は、分析工程中に使用される蛍光ダイ、プローブなどを提供可能であってもよい。このような方法は当業者には既知である。例えば、線形にされたポリマーを分析する方法、撮像装置、標識方法および方策などは米国特許 6,355,420 B1 号に記載されている。この特許は本明細書において参考として援用されている。

【0061】

図 15 は、マイクロチップに形成されたマイクロチャネルの形態の 1 つの特定のマイクロ流体装置を示す。マイクロチャネルは第 1 端部 50 と第 2 端部 52 とを有し、ポリマーを含有するキャリア流体を第 1 端部から第 2 端部に向けて送達することができる。マイクロチャネルはキャリア流体を層状態で送達するようにされている。尤も、装置の性能に悪影響を与えない範囲でマイクロチャネル内の側壁、底壁、上壁または他の縁の間には乱流が存在し得る。2 つの対置流量制御チャネル 54、56 が対向側壁 65 の各々を通じてマイクロチャネルに接続している。これらの対置流量制御チャネルの各々が、キャリア流体が存在するマイクロチャネルに入る側流体流を提供する。側流 67 とキャリア流体 45 との間の上下の境界 58 および 60 を図 16 では点線で示している。側流はキャリア流体と混合するように意図されてはいない。尤も、装置の性能に悪影響を与えない範囲で小さな規模でこれら境界に沿っていくらかの混合および乱流は起こり得る。キャリア流体を送達するマイクロチャネルと同様に、対置流量チャネルは側流を層状態で送達するようにされている。キャリアおよび側流の両方よりなる流体は、DNA または RNA などのほとんどのポリマーにとって適切である生理的食塩濃度および pH の生理的緩衝剤であるとよい。側流およびキャリア流体の両方は通常ほぼ同じ流体であるが、例えば流体がマイクロチャネルに入ってこれを通じて一緒に流れるときこれら流体間により良好な境界を維持するためには、異なる流体を用いてもよい。

【0062】

対置流量制御チャネルによって、追加の流体をマイクロチャネルに加えることができる。追加の流体はマイクロチャネル内のキャリア流体を収束してマイクロチャネル内に速度勾配を作り出すことができる。マイクロチャネルは通常はその長さに沿って第 1 端部 50 から第 2 端部 52 まで一定の断面積を有するが、他の形状も可能である。流体が対置流量制御チャネル 54、56 からマイクロチャネルに入ると、流体はキャリア流体が利用可能な断面積を小さくする。キャリア流体および側流体の両方が通常は非圧縮性である。従って、追加の流体を補償するためには、第 2 端部 52 でのキャリア流体の正味速度は、第 1 端部 50 でのキャリア流体の正味速度より大きくされ、これによってマイクロチャネルを通じて流れるキャリア流体の流入および流出ボリューム間の均衡を維持し得る。対置流量制御チャネルからの流体の導入により、通過するキャリア流体が利用可能な断面積が効果的に減らされる。これにより、キャリア流体中のポリマーを操作するために用いることができる、上述のような収束効果および速度勾配が創出される。キャリア流体および対置流量制御チャネル 54、56 から入る流体の両方は、対置流量制御チャネルの下流側の縁を過ぎると通常は平行な流れとなる。図 15 に示すように、側流はキャリア流体との境界 58、60 で流体漏斗を形成する。この漏斗によってキャリア流体が利用可能な断面積が減

り、これが次にキャリア流体の流線を収束および加速させる。

【0063】

この速度勾配に入るキャリア流体中のポリマーは、既述のように整列または引き伸ばしされ、また収束される。速度勾配に入るポリマーは、流れに垂直の方向に収束され、また所望によりチャネルの断面積内の位置に正確に向かっていくことができるよう、流れに平行な方向に整列または伸長するようされる。このような位置は、図16に示すように、検出ゾーン62を含み得る。検出ゾーンはポリマーに実際に分析を行うために用いてもよいし、または単にマイクロチャネル内のある位置でのポリマーの存在を検出するために用いてもよい。検出ゾーンはマイクロチャネルの中央に位置するものとして示されている。しかし、これら検出ゾーンはマイクロチャネルの幅にわたる様々な箇所に位置させてもよいし、またはマイクロチャネルの幅全体を含んでもよい。他の検出ゾーンとしては、所望の位置に動かすことができるようしてもよいし、または所望のサイズに能動的に収束させることができるようにしてもよい。ほとんどの検出ゾーンのサイズと性能との間には一般に兼ね合いが存在する。すなわち、検出ゾーンを小さくすると、これを通過するポリマーの検出または分析にはより適しているが、ポリマーはより小さい検出ゾーンを通り難くなる。ポリマーを静止した水溜りの中にあるかのように検出または撮像するためには、検出ゾーンもまた通過している流体と同じ速度で動くようにするのがよい。これによりポリマーを静止しているかのように検出ゾーンに登場させることができる。

10

20

30

40

【0064】

側流とキャリア流体との間の境界58、60は通常は漏斗形状を画定する。この漏斗は側流が対置流量制御チャネルより上流側の縁でマイクロチャネルに導入される位置で始まる。これは、下流側の位置でキャリア流体が利用可能な断面積を、キャリア流体のための最小断面積に達するまで減らし続ける。この最小断面積は漏斗の喉部69と呼ばれ、通常は対置流量調整チャネルの下流側の縁と同一直線上の箇所で実現される。喉部を越えると、キャリア流体は通常は側流と共に均一速度の層流を形成し得る。この場合も、マイクロチャネルの縁近くにいくらかの乱流または混合が存在し得るが、これは通常は装置の性能に悪影響を与えるものではない。喉部と漏斗の開始部、この場合は対置流量チャネルの上流側の縁との間の距離を、漏斗の直径または最大断面寸法で割ったものが、漏斗アスペクト比として知られる。マイクロチャネルの断面積の喉部の断面積に対する比率は、漏斗減少比として知られる。漏斗減少比は、流速などの、キャリア流体または側流の各々に関連する要因を変更することによって調整可能な要因である。

【0065】

マイクロチャネル内の速度勾配に入るポリマーは、速度勾配を通過して下流側の均一速度層流ゾーンに入るまで勾配内の流体によって操作される。従って、検出ゾーンが、速度勾配によって完全に操作された後の分析用の整列または伸長したポリマー全体を撮像するためのものであるならば、検出ゾーンは少なくともポリマーの1全長に等しい距離だけ速度勾配より下流側に位置すべきである。これは、ポリマーは最後の部分が速度勾配を出て行くまで操作され続けるからであり、最前部は1ポリマー全長分だけ下流側であることを意味する。また、速度勾配内にいる間ポリマーに作用する流体抵抗力は、ポリマーをその輪郭長さを超えて弾性により引き伸ばしている（すなわち、ポリマーを過剰に引き伸ばしている）かもしれない。この弾性による引き伸ばしは、様々な要因、例を挙げると緩和率および流速によっては、ポリマーが速度勾配を出て行くと回復し得るものである。

【0066】

いくつかの実施形態では、側流の流速は、速度勾配の加速またはマイクロチャネルにおける速度勾配の位置を調整するためにユーザによって調節され得る。側流の流速がキャリア流体に対して増大する場合は、喉部を含めて下流側の位置でキャリア流体が利用可能な断面積は減少する。断面積が減少することにより、これらの箇所でのキャリア流体の流速が増大する。また漏斗減少比も減少する。側流の調節は、ポリマーがマイクロチャネルを通って送達されている間に行って、特定のポリマーを調整することができる。または、ポリマーがマイクロチャネルを通って送達される前に行ってもよい。同様の効果は、キャリ

50

ア流体のみの流速（または別のパラメータ）を調整することによっても、またそれを側流と一緒にに行う場合でも得られる。また一方の側流の他方の側流に対する流速を調節することも可能である。例えば、上側の側流の下側の側流に対する流速を増大させ他はすべて一定にすると、速度勾配の喉部がマイクロチャネルの下側の側壁に向かって移動する。このような喉部の移動は、内部に含有されるポリマーをマイクロチャネルの所望の横方向の箇所に位置決めするのに用いることができる。これはまた、ポリマーを検出ゾーンへと移動させるか、または後の分析用にポリマーを操作するために用いられる下流側に位置する別の装置と一直線上に並ぶようにポリマーを移動させるために用いるとよい。

【0067】

図15は、マイクロチャネルに接続する対置流量制御チャネルの1つの実施形態を示す。これは本発明の1つの例であって本発明を限定するものではない。異なるやり方で構成される他の実施形態であっても図15に示す実施形態と同じタスクを実現し得る。例えば、図16の実施形態は、マイクロチャネルに対して傾いた対置流量チャネルを有する。このような形状はマイクロチャネルと対置流量制御チャネルとの間の交差部での乱流の可能性を最小限にし得る。図15および図16のマイクロチャネルは長さ方向全体に一定の断面積を持つように示されているが、他の実施形態では異なる効果を実現するために、マイクロチャネルの断面積が次第に増大または減少するようにしてもよい。例えば、下流側の箇所でその断面積を減少させるマイクロチャネルは、それ自体で速度勾配を作り、これによって対置側流チャネルによって作られる勾配の加速を増幅するように働くことになる。下流側の箇所で増大する断面積を持つマイクロチャネルは、対置流量制御チャネルによって作られる速度勾配の強度を弱めるように働くことになる。

10

20

30

40

50

【0068】

対置流量チャネルは対置されているものとして示されているが、互いに直接対置させる必要はない。対置流量制御チャネルがマイクロチャネルの側壁の異なる位置にずれている実施形態もあってもよい。このような配置の場合、キャリア流体は、図15に示すような速度勾配を作る前に流入する各側流の周りを曲がることになる。このキャリア流体の曲がりを用いて、中に含まれるポリマーをキャリア流体の一方または他方の側部に向けて押しやってもよい。さらに別の実施形態では、1つだけの対置チャネルを用いてもよいし、異なる形状の対置チャネルを用いてもよい。このような実施形態では、速度勾配はマイクロチャネルの一方の側にゆがんで存在し得る。1つだけの対置チャネルの場合は、漏斗は、キャリア流体が下流側に進むに従ってキャリア流体と反対側の側壁との間の断面積が減少する1つの境界として出現する。この実施形態では、側流の流速を増大させることによって、速度勾配の加速を増大させることに加えて、キャリア流体を側壁により近づくように収束させるよう働く。

【0069】

異なるタイプのマイクロ流体装置を図17に示す。この装置もまた、典型的にはシリコンチップ内に埋め込まれカバースリップで覆われたマイクロチャネルを備えている。第1端部50および第2端部52ならびにこれらの間に位置する伸長ゾーン70を有する主マイクロチャネルが形成されている。2つの対置ポリマー制御チャネル64および66がマイクロチャネルの側壁65に交差する。前述の装置のように、1本のポリマーまたは複数のポリマーを含有し得るキャリア流体が層状態でマイクロチャネルの第1端部50から第2端部52に向かって送達される。第2の対向流体が、マイクロチャネルの第2端部52から第1端部50に向かって送達される。第2の流体もまた主に層状態にある。これら2つの流れは対置ポリマー制御チャネルの間で相互作用し、ここでキャリア流体および対向の流れの両方が2つの異なる流れへと分離して、各々が対置ポリマー制御チャネル64、66の一方をマイクロチャネルから離れる方向にたどる。この相互作用により、マイクロチャネルと対置ポリマー制御チャネルとの交差部のほぼ中央によどみ点68が形成され得る。既述のように、よどみ点68は低流速または無流速を特徴とする流体中の箇所である。よどみゾーンに近づいている流体は層状態を維持したまま、よどみ点より上流側の伸長ゾーン70内で分離して、その後2つの対置ポリマー制御チャネルのうちの一方へと流れ

ることができる。伸長ゾーンによって分離されたキャリア流体の流線内に含まれるポリマーは、分離した流線がそれぞれの対置ポリマー制御パネルを下って進んでいくときこれら分離流線に従い続ける。流線はさらに分離すると、分離した流線と平行する方向にポリマーを伸長させることができる。

【0070】

ポリマーがよどみ点に近づくときよどみ点の各側にほぼ等しい大きさのポリマー部分があるようにポリマーが整列している場合は、ポリマーはよどみ点から離れる方向に移動する流れの中で整列および／または伸長し得る。既述のような収束装置を用いてポリマーがよどみ点の各側にほぼ等しい大きさの部分を持つようにポリマーを位置決めしてもよい。このような収束装置を対置ポリマー制御チャネルと組み合わせたものを図18に示す。よどみ点に関連する伸長ゾーン70はポリマーを伸長させるのに役に立つツールである。何故なら、これはポリマーが入るときの最初の形状に影響されることが、他のマイクロ流体現象より少ないからである。例えば、伸長ゾーンは、ポリマーが巻き付いた状態、ヘアピン形状の状態または幾分かは整列した状態の何れの状態で伸長ゾーンに導入されようとポリマーを伸長および整列させることができる。

【0071】

ポリマーがその大部分をよどみ点の一方の側に位置させて（例えば、大部分をポリマー制御チャネル64に近い方側に位置させて）よどみ点に近づく場合は、この大部分は第1のポリマー制御チャネル64の流体によって引っ張られると思われ、一方、ポリマーの残りの部分は第2のポリマー制御チャネル66へと流れる流体によって引っ張られるであろう。ポリマーの各部分がこれらポリマー制御チャネルの各々を進んでいくとき、ポリマーの大部分に作用する正味流体抵抗力は、第2のポリマー制御チャネル66内の残りのポリマー部分に作用するこれよりはるかに小さい正味流体抵抗力に打ち勝つと思われる。第2のポリマー制御チャネル66へと流れる流体からの正味流体抵抗力は、ポリマー全体を引っ張って整列伸長した状態にするのに十分であるかも知れない。しかし、他の状況では、これを実現するには十分ではなく、第1のポリマー制御チャネル64内のポリマー部分は、第1のポリマー制御チャネル64内でポリマー全体がよどみ点68から離れる方向に移動するとき不整列の状態のまま残るかも知れない。

【0072】

伸長ゾーン70は、ポリマーのほぼ等しい大きさより少ない部分がよどみ点のいずれかの側に位置する状態で伸長ゾーン70に入るポリマーを収容するようにすることができる。これは通常はポリマー制御チャネル64、66内の流体の相対流速を調整することによって実現される。ポリマーがポリマー制御チャネル64、66内に位置するときは、第1のポリマー制御チャネルの流速を、第2のポリマー制御チャネルに対して低くすることができる。これは第1のポリマー制御チャネル64内のポリマー部分に作用する正味流体抵抗力を減少させ、これにより第2のポリマー制御チャネル66に関連する正味流体抵抗力によってポリマーを整列または伸長した状態にすることができる。第1のポリマー制御チャネルの流速を減少させる同じ作用はまた、よどみ点68を第1のポリマー制御チャネルに近づく方向に移動させることができる。このようにしてポリマー制御チャネルの流速を調整することにより、ほぼ等しいポリマー部分がよどみ点の各側に位置した状態でポリマーがよどみ点に近づくように、よどみ点をポリマー制御チャネルのいずれかに近づく方向に移動させることができる。これらの例は第1のポリマー制御チャネルの流れを減少させることとしたが、第2のポリマー制御チャネルに対して同様の結果を得るために、第2の制御チャネル内の流れを増大させることもできる。

【0073】

ポリマー制御チャネルの流速を互いに対し調整することはまた、伸長したポリマーを分析が可能ないように保持するためにも用いることができる。このシナリオでは、第1および第2の両ポリマー制御チャネルのポリマー部分に関連する正味流体抵抗力は、それぞれの流速を調整することによって互いにほぼ等しく設定される。これらの力を互いに等しく設定することによって、ポリマーがマイクロチャネルに対して移動するのを防ぐように働

10

20

30

40

50

く。しかし、流体は依然としてポリマーに対して動いているため、流体抵抗力は依然としてポリマーを整列または伸長させることができる。これらの方法は、分析のためにポリマーを整列または伸長した状態でよどみ点近くに保持するか、または単にポリマーが整列または伸長した状態で後の操作または分析のために下流側に送達され得るようポリマーを整列させるために用いることができる。速度勾配で生じるのとほぼ同じように、完全に伸長ゾーンから出て行って次に均一速度の層流場に入る伸長したポリマーは、整列／部分引き伸ばしの状態へ緩和するか、または伸長／引き伸ばしの状態のままでいるかも知れない。しかし通常は伸長／過剰引き伸ばしの状態のままでいることはない。

【0074】

本発明の他の実施形態としては、単にキャリア流体内に障害物を置くことによって同様の伸長効果を実現するものがある。例えば、図5は、マイクロチャネルの床部から突き出ている円柱形の障害物34となるものを示している。近づいてくる流体が流れに面している物体の中心点に伸長ゾーンおよびよどみ点を作る。次に流線が分離して円柱形障害物34の周りを移動し、流れが層流のままである場合は、反対側で互いに近づく方向に戻る。流れが乱流になる場合は、流線は戻って一緒にならないかも知れない。ポリマーがこのよどみ点で取り込まれて巻き付きを解くか引き伸ばすかがなされるかどうかは、ポリマーが物体34に近づくときの流れの中でのポリマーの位置に依存する。ポリマーのほぼ等しい部分が両側でよどみ点および障害物34に近づく場合は、ポリマーのこれら部分は物体34の各側で下流に向かって伸びると思われる。ポリマーは障害物に近づくと、よどみ点に入り、これを通り抜けて遂には障害物34自体と接触すると思われる。障害物の各側に位置するポリマー部分は流線に従って下流側へ流れ続けて、遂にはポリマーと障害物との接触によってこれが出来なくなる。この時点で、ポリマーが存在する流線はポリマーのこれら部分に対して流体抵抗力を加え、これによりこれら部分を整列または伸長させ、ポリマーをヘアピン形状態にする。

【0075】

物体34の各側にポリマーのほぼ等しい部分が位置する状態でポリマーが物体に接触するようにすることは可能である。これら部分は実質的にほぼ等しい正味流体抵抗力を受けることになり、従ってポリマーを伸長した状態で障害物に対して保持する。しかし、障害物の一方の側のポリマー部分に関連する正味流体抵抗力の1つが、障害物の他方の側のポリマーの反対部分に関連する正味流体抵抗力より少なくとも僅かに大きいことがもつとあり得ることである。この場合は、正味抵抗力の大きい方が、障害物の周りのポリマー全体を障害物から自由になるまで引っ張り、正味流体抵抗力が大きな方に関連する側で下流側への移動を続けることができる。この意味において、障害物はある期間にわたってポリマーを「一時的に束縛」する。

【0076】

一時的な束縛はいくつかの理由で有用である。第1に、巻き付きポリマーを整列または一部整列した状態に配置して、分析またはその後の操作用にこの状態で下流側に送達され得るようにすることができる。第2に、ポリマーを分析可能なように一時的に保持する。上述の障害物は円柱形であるが、この円柱形障害物は例示的なものであって制約するようには意図されてない。様々な形状のいずれであっても等価に同様の目的に使用することができる。また製造がより容易な他の形状であってもよい。いくつかの他の形状としては、正方形断面、図19に示すような方形断面、橢円形断面および米国特許第5,837,115号に記載されているようなV形状断面がある。この特許は本明細書において参考として援用されている。これらの障害物は、マイクロチャネル内の上述のような対置流量制御チャネルより上流側に配置され得る。このようにして、障害物はポリマーが少なくとも半整列の状態で速度勾配に入るようにポリマーを予め方向付けるように働くことができる。多数の障害物をチャネルにまたがってまたはマトリックス状に配置して、図19に示すように障害物フィールド71を形成してもよい。他の実施形態では、多数の障害物をマイクロチャネル内に不規則パターンで配置してもよく、本発明はこの点に関しては制約されない。このような障害物フィールドは、ポリマーが障害物の1つと相互作用する可能性を増

10

20

30

40

50

大させる。障害物フィールドは、互いにずれた列を含んでもよく、間隔を均一にしても異ならせててもよく、また異なるサイズまたは形状の障害物を含んでもよく、本発明はこの点に関しても制約されない。また、検出ゾーンは、障害物フィールド内のどの障害物に隣接して配置してもよく、または障害物フィールド全体を包含してもよい。

【0077】

ポリマーが整列または伸長した状態に置かれると、長い分析、多数の分析ステップおよび／またはその後のポリマー操作の間ポリマーをこの状態に保つのが望ましい。既述のようにこれは対置ポリマー制御チャネルによって実現され得るが、いくつかのシナリオでは、ポリマーを低流速または無流速の流体環境が存在可能な整列した状態に保つことが望ましい。この効果を実現する装置を図20に示す。この装置は、第1のマイクロチャネル寸法72を画定する対向側壁と、第2のもっと狭いマイクロチャネル寸法73を画定する対向側壁とを有するマイクロチャネルを含む。これら2つの寸法間の移行部75は直線の傾斜として示されているが、各部分に垂直な壁、滑らかにカーブした表面または他の形状を有してもよく、本発明はこの点に関しては制約されない。

【0078】

次にポリマーを整列および／または伸長した状態に保持する1つの方法について述べる。キャリア流体はポリマーをほぼ整列または伸長した状態でより狭い寸法73を画定する壁の間に送達する。ポリマーの第1端部32はマイクロチャネル内により狭い寸法73を通って第1のマイクロチャネル寸法72へと延びる。流れは次に緩くなるかまたは止まって、ポリマーはマイクロチャネルに対してほぼ静止状態となる。ポリマーが第1の寸法72によって画定されるマイクロチャネル部分まで延びると、第1端部32は自然により高いエントロピーである巻き付いた状態へと戻ることが許される。これは通常は、ポリマーは先ずその端部で巻き付いてバーベルに似た形状を形成することを含む。ある期間の後、第1端部32はポリマーの巻き付き端部77となり、これによりポリマーがマイクロチャネルのより狭い部分73を通って戻るのが防止される。これは、ポリマーをより狭い部分を通って戻すように引っ張る力がポリマーの巻き付きを解くほどに大きくなり限り生じる。ポリマーをチャネルのより狭い部分73を通って引き戻そうとすると、ポリマーの巻き付き端部73は狭幅部73とより大きな幅部72との間の移行部75に接触する。この接触により、より狭いチャネル寸法を通って引き戻されているポリマーに抵抗する力が生じる。この狭いチャネル幅とより大きなチャネル幅との組み合わせをここではクリンプと呼ぶ。このようなクリンプは、ポリマーの端部を保持するためにマイクロチャネル内のある箇所で単独に使用してもよいし、またはポリマーの両端部を整列および／または伸長した状態に保持するために2つのクリンプを使用してもよい。通常はDNAまたはRNAなどのポリマーは引き伸ばし状態で保持されるが、部分引き伸ばしまたは過剰引き伸ばし状態で保持することもできる。いくつかの実施形態では、いくつかのクリンプをマイクロチャネル全体にわたって複数の位置で使用して、チャネルがポリマーの異なる場所を、または様々な長さのポリマーを保持することができるようにもよい。

【0079】

図21は、内部に位置するポリマー30の両端部を保持する2つのクリンプを持つ配置の2つの破断図を示す。この装置は、整列および／または伸長した状態でマイクロチャネルを通って送達されるポリマーを、ポリマーの端部の各々がクリンプ内に位置しているときに保持するために、効果的に用いることができる。ポリマーがその端部の各々をクリンプ内に置いた状態で保持されると、ポリマーの両端部は自然に巻き付けを始める。これらの巻き付き端部はクリンプの移行壁部75に接触し、この接触によりポリマーがさらに巻き付くか、またはクリンプを通って戻っていくのが防止される。ポリマーは整列および／または伸長した状態で保持される一方で、分析されるか、または透析または追加プローブの取り付けなどの他の処理ステップをポリマーに対して行ってもよい。多くのクリンプをマイクロチャネルの長さ全体にわたって配置して、クリンプを有するマイクロチャネルが保持し得るポリマー長さの範囲を広くしてもよい。

【0080】

10

20

30

40

50

クリンプを持つマイクロチャネルの別の配置は、図22に示すように蛇状あってもよい。いくつかの実施形態では、マイクロチャネルの蛇状配置は、長いポリマーを单一のマイクロチップ上に保持するのに必要なスペース量を制限するように働き得る。場合によっては、コーナー79がポリマーの緩和をさらに禁止し得る。図20、図21および図22はクリンプを様々なチャネル側部の幅が異なるものとして示しているが、本発明はこの点に関しては制約されない。例えば、図23は、カバー63とマイクロチャネルの底壁61との間に存在するクリンプを示している。ポリマーをクリンプから取り出すためには、単に流体をポリマーに十分に大きな流体抵抗力を加えることができる流速に戻して、ポリマーを整列させ、ポリマーをクリンプを通して引っ張るかまたはポリマーを壊してクリンプから自由にするだけよい。

10

【0081】

本発明の様々なマイクロ流体装置はいかなるマイクロ流体装置においても独立して使用され得るため、これらを個別に説明した。しかし、これらを任意のやり方で組み合わせて单一のマイクロ流体装置としてもよい。例えば、図24は、チャネルの第1端部50の近くの複数の障害物と、障害物から下流側のマイクロチャネルの一部に配置され、流れを収束し速度勾配を作るための対置流量制御チャネル54、56と、マイクロチャネルの第1端部からの流れと突き当たってよどみ点68および関連する伸長ゾーン70を作るためのマイクロチャネルの第2端部52から生じる流れと、伸長ゾーン70またはポリマーを操作するための対置ポリマー制御チャネル64、66と、各対置ポリマー制御チャネルより下流側に存在し、ポリマーを保持するために内部にクリンプを有する蛇状部とを含む单一のマイクロ流体装置を示している。検出ゾーンはこのマイクロ流体装置全体のいかなる箇所に設けられてもよく、検出ゾーン内に位置するポリマーの検出、撮像または分析を行い得る。

20

【0082】

様々なマイクロ流体装置が、マイクロチャネルまたは多くの異なる寸法を有する他の装置において実現され得る。しかし、図24に示した様々な特徴は、以下に示すような寸法「A」から「E」を持つ1つの特定の実施形態で実現され得る。尤も、本発明はこの点に関しては制約されないので他の寸法を用いてもよい。

【0083】

寸法	サイズ(ミクロン)
A	90
B	100
C	1
D	10
E	128。

30

【0084】

図25は、本発明の様々なマイクロ流体装置が特定のやり方でどのように組み合わされ得るかの別の例を示す。図25は、漏斗形状82を形成するほぼ対向する側壁80を持つマイクロチャネルの第1の部分81を示す。マイクロチャネルのこの部分を通過するキャリア流体は収束され、これにより内部に含有されるポリマーが伸長および/または整列するようになる。第1の部分より下流側の位置で、2つの対置流量制御チャネル54、56がマイクロチャネルと交差する。これら対置流量制御チャネル54、56の各々は、キャリア流体をチャネル断面内の所望の位置へと動かすために用いることができる側流を注入する。例えば、側流はポリマーが下流側の検出ゾーンの中心を通過するようにポリマーを位置付けるために用いてもよい。また、側流は、第2の速度勾配を形成してこれを通るキャリア流体中のポリマーを収束させる(つまり、整列または伸長させる)ために用いてもよい。さらに対置流量制御チャネルより下流側の位置には、ほぼ漏斗形状の対向壁を有する別の部分84が存在する。これら対向壁85は、第1の部分の壁と同様に、キャリア流体とその中に含有されるポリマーがこの部分を通過するときこれらをさらに収束させるための別の速度勾配を作る。この第3の部分より下流側の位置またはマイクロチャネル内

40

50

の他の任意の位置に、ポリマーに対する上述の分析のいずれかを行うために検出ゾーンを配置してもよい。

【0085】

一般に、マイクロチャネルの各端部または主マイクロチャネルと交差するチャネルの各端部は、マイクロチップの外側へそしてマイクロチップマニホールドへと延びる開口部内で終結し得る。これらの開口部は、再利用可能なチップホルダーおよび隨意に再利用可能なチップを含むように設計された装置内の整合する開口部と流体連通するようにもよい。これらの開口部の各々を通って最終的にはそれぞれのマイクロチャネル内に至る流れは、当業者には既知のいずれの流量制御装置によって制御してもよい。このような装置としては、真空ポンプ、容積式ポンプ、圧力制御ポンプまたはスロットルバルブがあり、前述の装置のいずれかと組み合わせて使用され得る。これらの装置はユーザが直接制御しても、またはプログラム化コントローラによって制御してもよく、本発明はこの点に関しては制約されない。ホルダーは、マイクロチップが装置に配置されると撮像装置の下に位置付けられるように、マイクロチップの位置を制御してもよい。

【0086】

本発明の方法は、ポリマーを操作するためにマイクロ流体装置を用いてポリマーからのポリマー依存性インパルスを取り込むことによって、ポリマーについての構成単位特異的情報を生成するために使用することができる。本明細書で用いる用語「構成単位特異的情報」とは、ポリマーの構成単位の1つ、いくつかまたはすべてについてのいずれの構造的な情報についてもいう。ポリマーを分析することによって得られる構造的な情報としては、ポリマーの特徴的な特性の識別を含み、これにより(次に)例えば、試料中のポリマーの存在の識別またはポリマーの関連性の決定、ポリマーのサイズの識別、ポリマー内の2つ以上の個々の構成単位または構成単位特異的マーカー間の近接度または距離の識別、ポリマー内の2つ以上の個々の構成単位または構成単位特異的マーカーの順序の識別、および/またはポリマーの構成単位または構成単位特異的マーカーの一般組成の識別が可能となる。生物学的分子の構造および機能は相互に依存するため、構造情報によってポリマーの機能についての重要な情報が明らかにされ得る。

【0087】

本明細書で用いられる「ポリマー依存性インパルス」とは、ポリマーの構成単位特異的マーカーの構造的な特性についての情報を伝送または伝達する検出可能な物理的な量のことである。物理的な量は、検出が可能いかなる形態であってもよい。例えば、物理的な量は電磁放射、化学的伝導度、導電率などであってもよい。ポリマー依存性インパルスは、エネルギー転移、消光、伝導度の変化、放射能、機械的変化、抵抗変化または他のいずれかの物理的变化から生じ得る。

【0088】

ポリマー依存性インパルスを検出するために用いられる方法は、生成される物理的な量のタイプによって異なる。例えば、物理的な量が電磁放射である場合は、ポリマー依存性インパルスは光学的に検出される。本明細書で用いる「光学的に検出可能な」ポリマー依存性インパルスとは、光検出撮像システムによって検出され得る、電磁放射の形態の光をベースとした信号である。いくつかの実施形態では、この信号の強度を測定する。物理的な量が化学的な伝導度である場合は、ポリマー依存性インパルスは化学的に検出される。「化学的に検出される」ポリマー依存性インパルスとは、化学的濃度の変化または化学的な伝導度を測定する標準的な手段によって検出され得るイオン伝導度などの変化の形態の信号である。物理的な量が電気信号である場合は、ポリマー依存性インパルスは抵抗または容量の変化の形態である。これらの信号タイプおよび検出メカニズムはU.S. 6,355,420 B1に記載されている。

【0089】

ポリマー依存性インパルスは、ポリマーについてのいかなるタイプの構造的な情報を提供してもよい。例えば、これらの信号は、ポリマーの全配列の全体または一部、ポリマー依存性インパルスの順序、または構成単位または構成単位特異性マーカー間の距離の指標

10

20

30

40

50

としてのポリマー依存性インパルス間の分離時間を提供し得る。

【0090】

本発明のいくつかの実施形態を詳細に述べたが、当業者には様々な変更および改良が容易に想起されよう。例えば、本発明のマイクロ流体装置のいずれかを、本明細書で述べた電気装置などの他のいずれかの装置、またはいずれかの既知の装置または方法と組み合わせて用いてもよい。このような変更および改良は本発明の精神および範囲に属するものとされる。従って、上記の説明は単に例示のためであって限定するように意図されない。本発明は以下の請求の範囲およびこれの等価物によって定義されるものによってのみ限定される。

【図面の簡単な説明】

10

【0091】

本発明の様々な実施形態を添付の図面を参照して実施例によって示す。図面において、【図1】図1は巻き付き形状のポリマーの図である。

【図2】図2はヘアピン形状のポリマーの図である。

【図3】図3は伸長した形状のポリマーの図である。

【図4】図4は、典型的なポリマーに対する、加えられた伸長力対引き伸ばされていない輪郭長さのパーセンテージのグラフである。

【図5】図5は、内部に流線を示す層流体の流れの図である。

【図6】図6は、物体に接触した後乱流となる層流の図である。

【図7】図7は、内部に配置された、巻き付きポリマーを動かす、均一速度層流体の図、

20

【図8】図8は、内部に配置された物体の周りを流れる層流体の図である。

【図9】図9は、一方を固定したポリマーの周りを流れる層流体の図である。

【図10】図10は、湾曲進行中の流体および湾曲進行ゾーン内のポリマーを示す2本の流線の図である。

【図11】図11は、湾曲進行中の流体および湾曲進行ゾーン内のポリマーを示す2本の流線の別の図である。

【図12】図12は、流体の流線が速度勾配において収束されている図である。

【図13】図13は、物体に突き当たりよどみ点を作る層流体の図である。

【図14】図14は、互いに突き当たる2つの対向する層流の図である。

【図15】図15は、本発明の1つの実施形態による対置流量制御チャネルを有するマイクロチャネルの平面図、

30

【図16】図16は、本発明の別の実施形態による対置流量制御チャネルを有するマイクロチャネルの平面図である。

【図17】図17は、対置ポリマー制御チャネルを有するマイクロチャネルの平面図である。

【図18】図18は、対置流量制御チャネルと対置ポリマー制御チャネルとを有するマイクロチャネルの平面図である。

【図19】図19は、本発明の別の局面による、対置流量制御チャネルと対置ポリマー制御チャネルとを有するマイクロチャネルの平面図である。

【図20】図20は、伸長または整列したポリマーの緩和を阻止するために2つの異なる幅を有するマイクロチャネルの平面図である。

【図21】図21は、伸長または整列したポリマーの緩和を阻止するために異なる幅の複数の部分を有するマイクロチャネルの平面図である。

【図22】図22は、伸長したポリマーの緩和を阻止するために蛇状部および様々な寸法を有するマイクロチャネルの平面図である。

【図23】図23は、伸長したポリマーの緩和を阻止するために2つの異なる寸法を有するマイクロチャネルの側面図である。

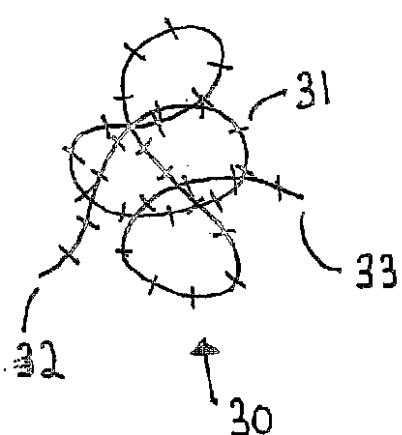
【図24】図24は、対置流量制御チャネル、対置ポリマー制御チャネル、および伸長したポリマーの緩和を阻止するための2つの異なる寸法を有するマイクロチャネルの平面図である。

40

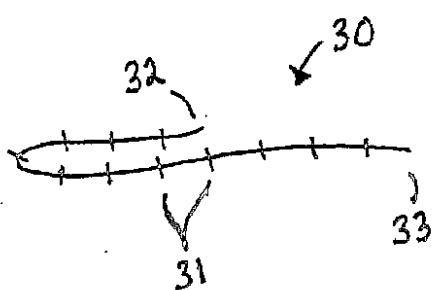
50

【図25】図25は、速度勾配を作るための第1の部分、対置流量制御チャネル、および第2の速度勾配を作るための第2の部分を有するマイクロチャネルの平面図である。

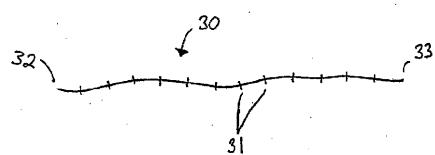
【図1】

Figure 1

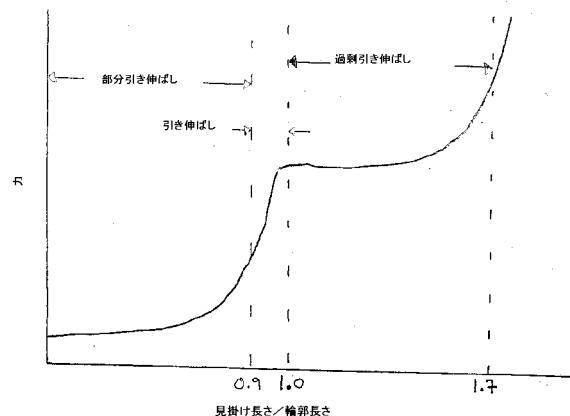
【図2】

Figure 2

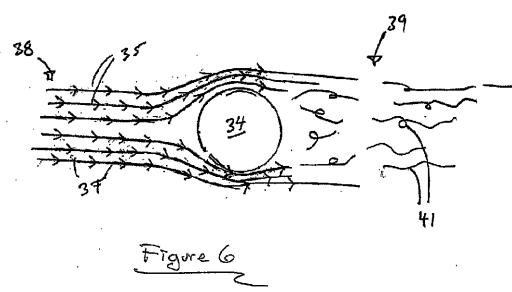
【図3】

Figure 3

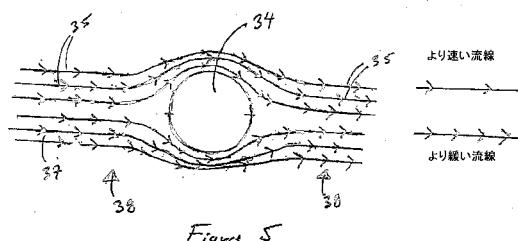
【図4】



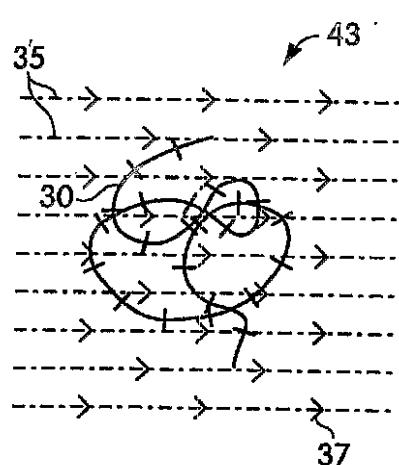
【図6】



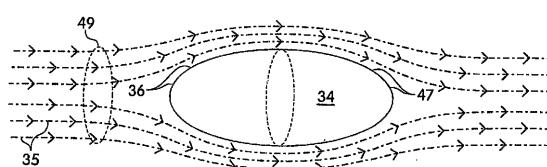
【図5】



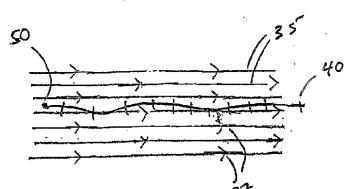
【図7】



【図8】



【図9】



【図 10】

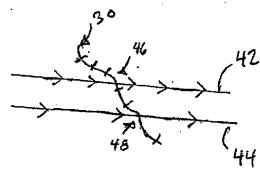


Figure 10

【図 11】

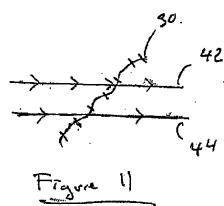


Figure 11

【図 12】

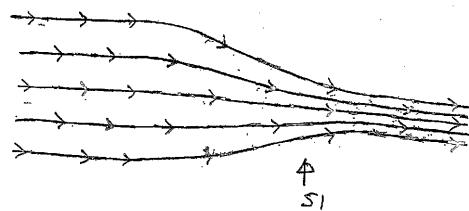


Figure 12

【図 13】

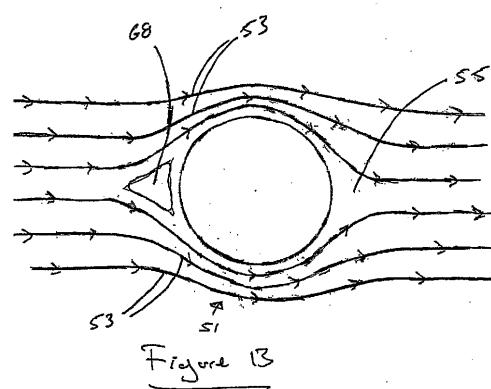


Figure 13

【図 14】

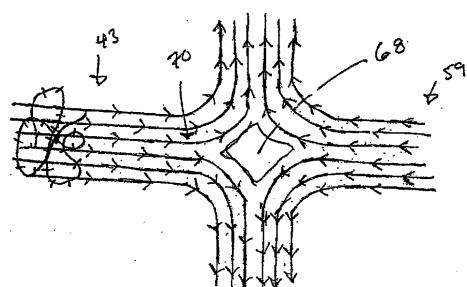


Figure 14

【図 16】

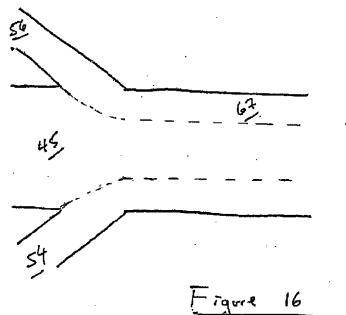


Figure 16

【図 15】

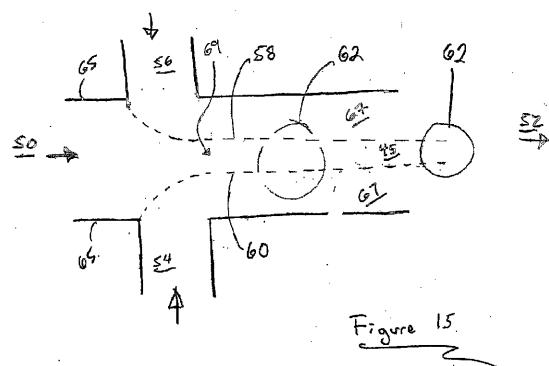


Figure 15

【図 17】

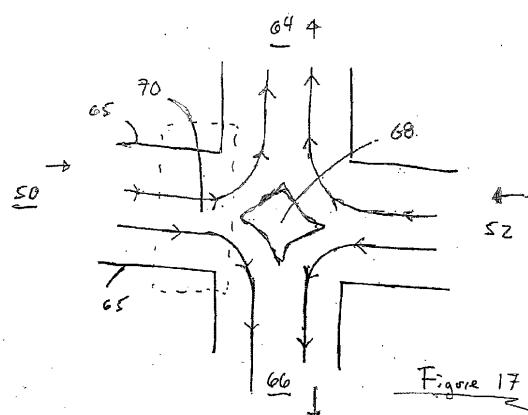
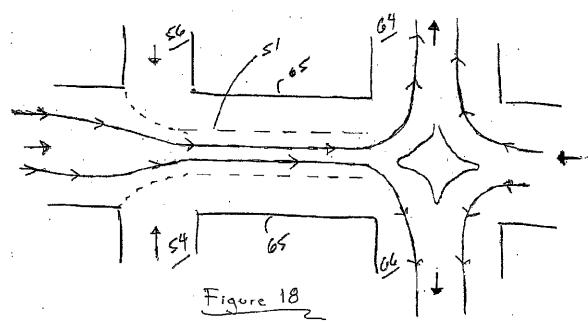
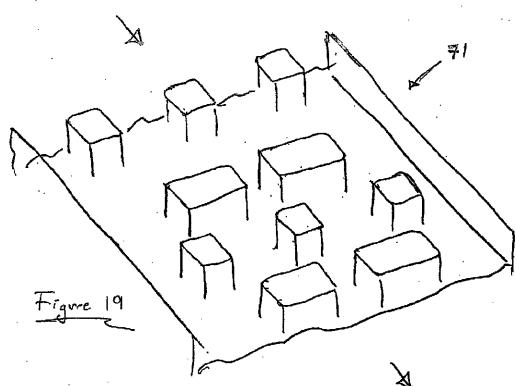


Figure 17

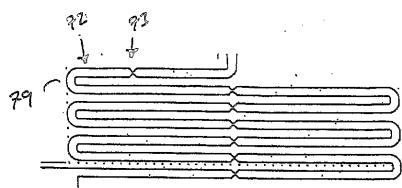
【 図 1 8 】



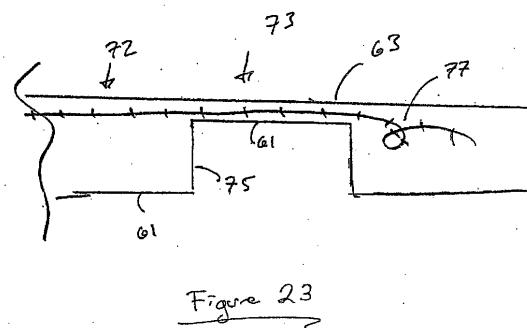
【 図 1 9 】



【 図 2 2 】



【 図 2 3 】



【 図 2 0 】

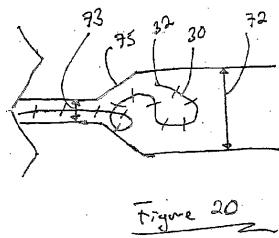


Figure 20

【 図 2 1 】

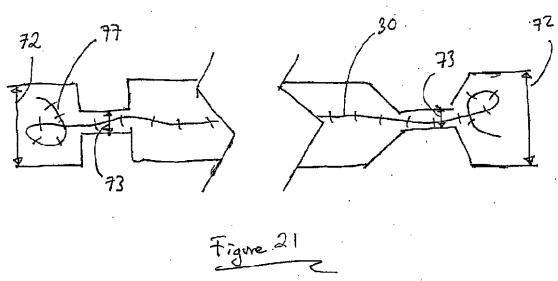
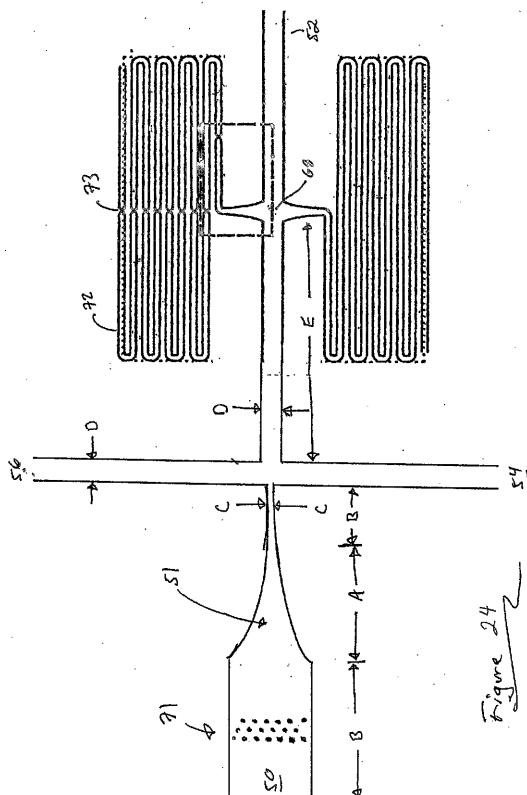
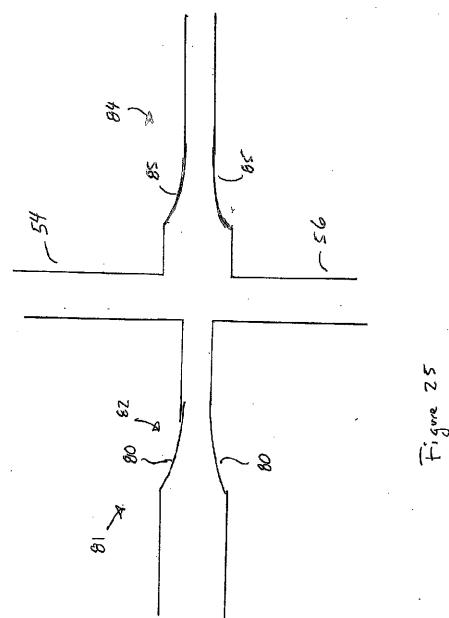


Figure 21

【 図 2 2 】



【図25】



【手続補正書】

【提出日】平成17年12月15日(2005.12.15)

【手続補正1】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図 1】

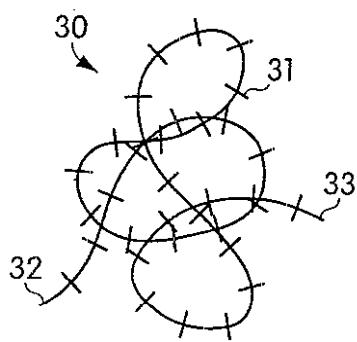


Fig. 1

【図 2】

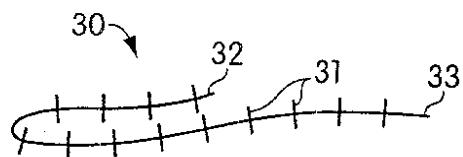


Fig. 2

【図 3】

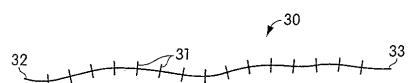


Fig. 3

【図 4】

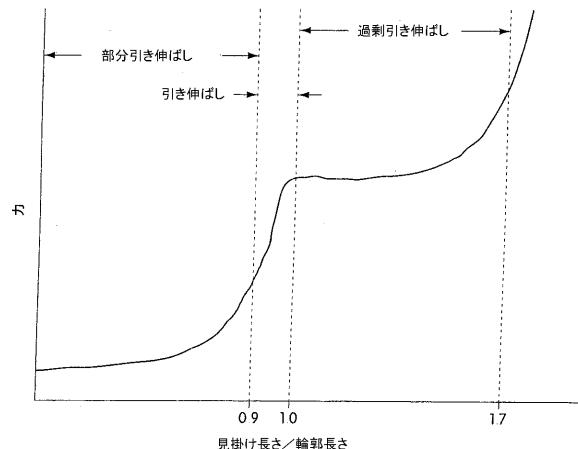


Fig. 4

【図 5】

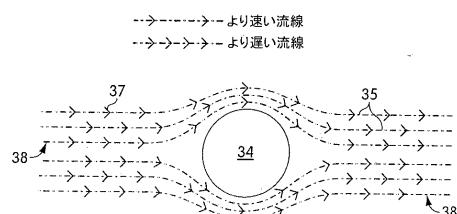


Fig. 5

【図 6】

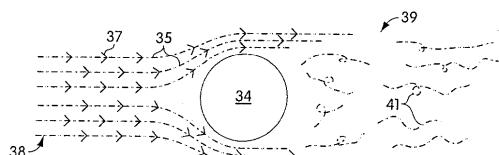


Fig. 6

【図 7】

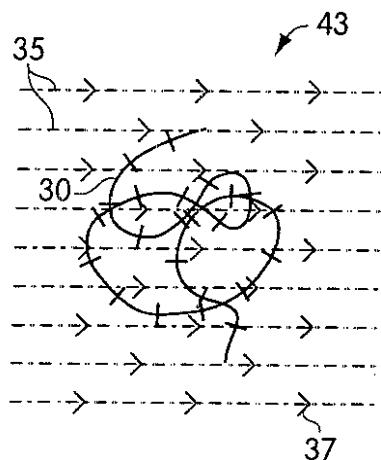


Fig. 7

【図 8】

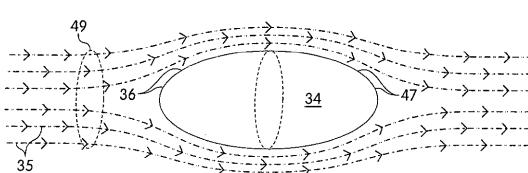


Fig. 8

【図 9】

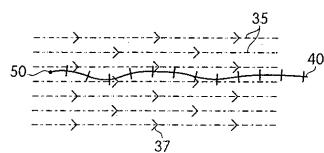


Fig. 9

【図 10】

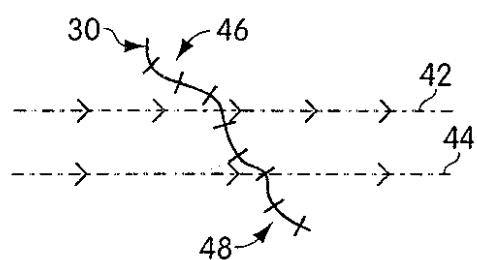


Fig. 10

【図 11】

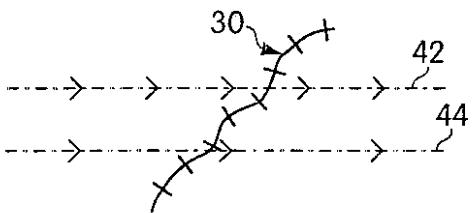


Fig. 11

【図 12】

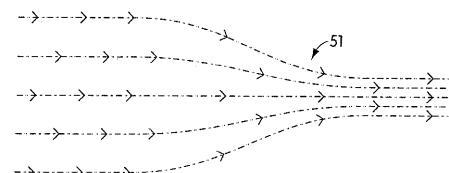


Fig. 12

【図 13】

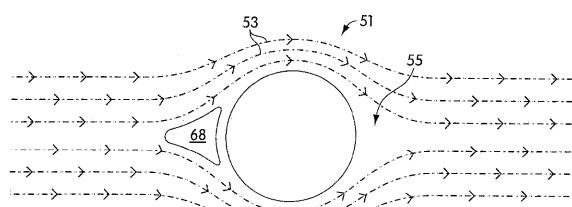


Fig. 13

【図 14】

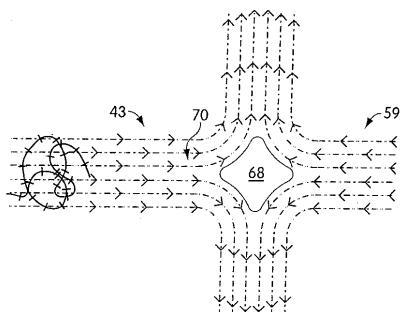


Fig. 14

【図 15】

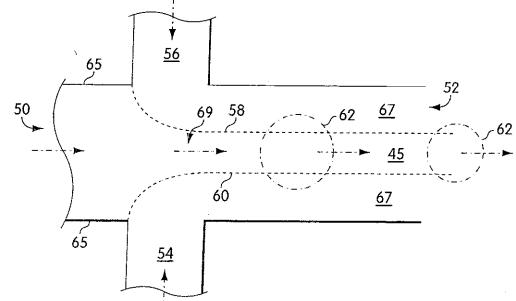


Fig. 15

【図 16】

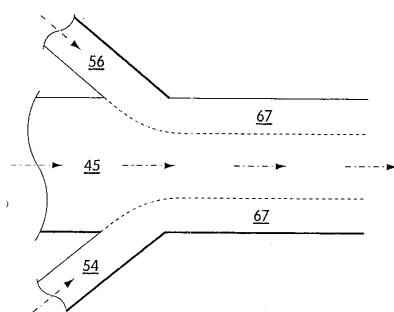


Fig. 16

【図 17】

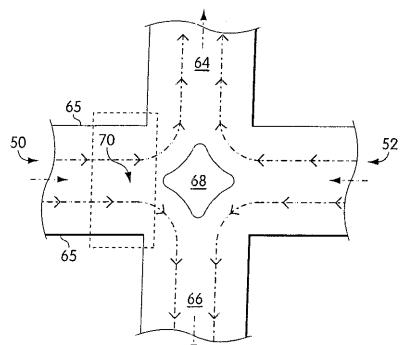


Fig. 17

【図 18】

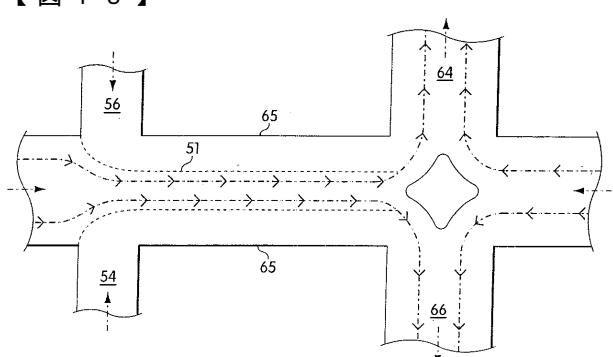


Fig. 18

【図 19】

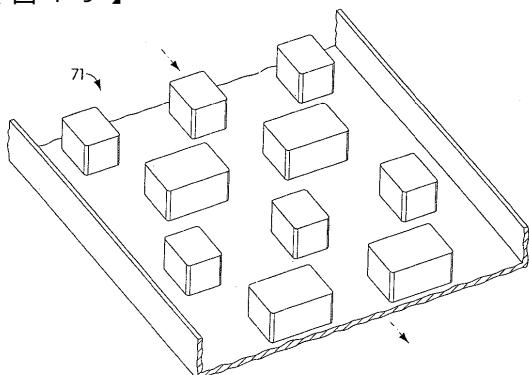


Fig. 19

【図 20】

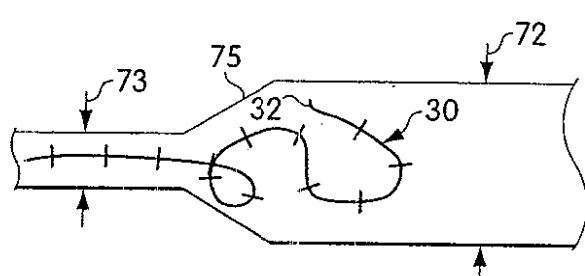


Fig. 20

【図 21】

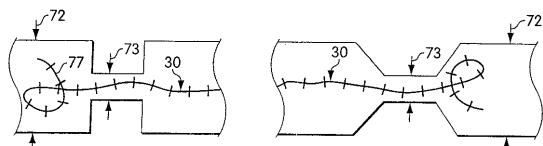


Fig. 21

【図 22】

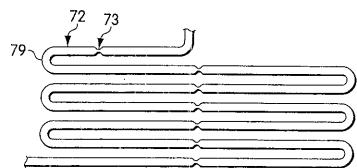


Fig. 22

【図 23】

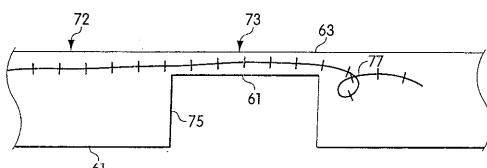


Fig. 23

【図 24】

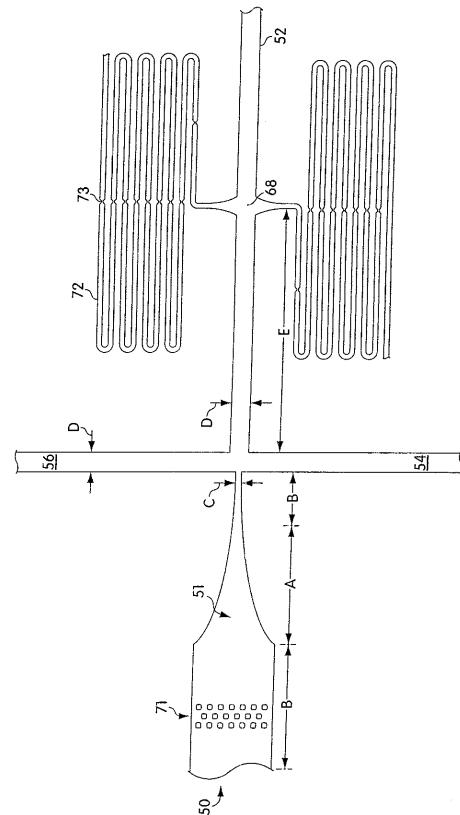


Fig. 24

【図25】

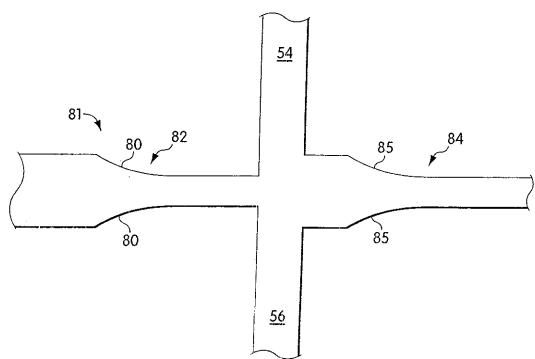


Fig. 25

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/011664

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01L3/00 G01N15/14 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L G01N C12Q

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 practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002/008028 A1 (JACOBSON STEPHEN C ET AL) 24 January 2002 (2002-01-24) paragraphs [0006], [0011], [0012], [0019], [0029], [0030], [0038] - [0041], [0045]; figures 1,3 -----	1-22
X	LEE G-B ET AL: "Micro flow cytometers with buried SU-8/SOG optical waveguides" SENSORS AND ACTUATORS A, ELSEVIER SEQUOIA S.A., LAUSANNE, CH, vol. 103, no. 1-2, 15 January 2003 (2003-01-15), pages 165-170, XP004400396 ISSN: 0924-4247 page 166 - page 167; figures 2,5 abstract ----- -/-	1-22

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"8" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 October 2004	09.02.2005

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P B 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Tiede, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/011664

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WATSON J V: "THE EARLY FLUIDIC AND OPTICAL PHYSICS OF CYTOMETRY" CYTOMETRY, ALAN R. LISS, INC, XX, vol. 38, 1999, pages 2-14, XP002930417 ISSN: 0196-4763 page 1 - page 4 -----	1-22
A	US 5 879 625 A (MARTIN JOHN C ET AL) 9 March 1999 (1999-03-09) column 3, line 45 - column 4, line 24; figure 1b column 5 - column 6 -----	11-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/011664

Box 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).

Box 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 fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

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

1-22,50

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2004/ 011664

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-22,50

apparatus for positioning or focussing a polymer

1.1. claims: 1-16,50

microfluidic device and method to position and detect a polymer in a microchannel

1.2. claims: 17-22

microfluidic device to focus a polymer in a microchannel

2. claims: 23-35

microfluidic device and method for elongating a polymer and maintain a polymer in an elongated configuration in a microchannel

3. claims: 36-49

microfluidic device and method for detecting a polymer in a microchannel comprising an obstacle field

4. claims: 51-55

microfluidic device for holding a polymer on a microchip comprising a bend in a microchannel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US2004/011664

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
US 2002008028	A1 24-01-2002	US 2004144648 A1			29-07-2004
		AU 3280501 A			24-07-2001
		WO 0151918 A1			19-07-2001
US 5879625	A 09-03-1999	US 5707808 A			13-01-1998

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,M,D,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 フックス , マーティン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01569 , ウックスブリッジ , ソフィア ドライブ
11

(72)発明者 ラルソン , ジョナサン

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 03071 , ニュー イブスウィッチ , テインパート
ップ ロード 253

F ターム(参考) 2G058 DA07 GA01 GA11