

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-309642
(P2008-309642A)

(43) 公開日 平成20年12月25日(2008.12.25)

(51) Int.Cl.

G01N 35/10 (2006.01)
G01N 37/00 (2006.01)

F 1

G01N 35/06
G01N 37/00A
101

テーマコード(参考)

2G058

審査請求 有 請求項の数 11 O L (全 16 頁)

(21) 出願番号
(22) 出願日特願2007-157848 (P2007-157848)
平成19年6月14日 (2007.6.14)(71) 出願人 000004237
日本電気株式会社
東京都港区芝五丁目7番1号
(74) 代理人 100110928
弁理士 速水 進治
(72) 発明者 川浦 久雄
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株
式会社内
F ターム(参考) 2G058 EA03

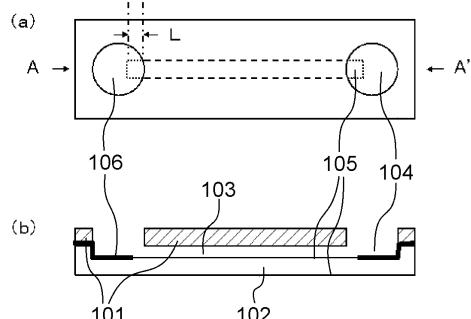
(54) 【発明の名称】マイクロチップおよびこれを用いた分析方法

(57) 【要約】

【課題】再現性よく短時間で試料を分離する測定精度の高いマイクロチップを提供する。

【解決手段】マイクロチップは、基板102と、該基板102の表面に形成された試料溶液の通る流路とを備える。流路は、試料溶液を分離する解析部103と、解析部103に隣接し、試料溶液を導入させる試料導入部104とを備える。試料導入部104の表面は、疎水面106と、親水性領域とを含み、親水性領域は、解析部103の表面と接して親水面105を形成している。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基板と、該基板の表面に形成された液体試料の通る流路とを備えるマイクロチップであって、

前記流路は、前記液体試料を分離する試料分離部と、前記試料分離部に隣接し、液体試料を導入させる試料導入部とを備え、

前記試料導入部の表面は、疎水性領域と、親水性領域とを含み、

前記親水性領域は、前記試料分離部の表面と連結していることを特徴とするマイクロチップ。

【請求項 2】

前記試料導入部の前記疎水性領域と、前記試料導入部の前記親水性領域とが、隣接することを特徴とする請求項 1 記載のマイクロチップ。

【請求項 3】

前記基板との間に前記流路の空間を形成する蓋部材をさらに備えることを特徴とする請求項 1 または 2 記載のマイクロチップ。

【請求項 4】

前記蓋部材は、前記試料導入部に通じる貫通孔を有することを特徴とする請求項 3 記載のマイクロチップ。

【請求項 5】

前記試料導入部の親水性領域及び前記試料分離部に対向する前記蓋部材の表面が、疎水性領域を有することを特徴とする請求項 4 記載のマイクロチップ。

【請求項 6】

前記試料導入部の親水性領域となる面が、凹凸面であることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロチップ。

【請求項 7】

前記試料導入部の疎水性領域となる面が、凹凸面であることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロチップ。

【請求項 8】

前記試料導入部の前記疎水性領域と、前記試料導入部の前記親水性領域と、前記試料分離部の表面とが、凹凸面であることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロチップ。

【請求項 9】

前記親水性領域の凹凸面と前記疎水性領域の凹凸面の表面積の比 $\cos \theta$ と、前記基板の表面に対する液体の接触角 θ の積 $\cos \theta \cdot \cos \theta$ が 1 を満たすように形成されていることを特徴とする請求項 8 に記載のマイクロチップ。

【請求項 10】

前記疎水性領域は、フッ素樹脂を含む層が設けられることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロチップ。

【請求項 11】

請求項 1 記載のマイクロチップを用いた分析方法であって、

前記試料導入部を介して前記試料分離部に前記液体試料を導入するステップと、

前記試料導入部の前記疎水性領域上に残留した前記液体試料を回収するステップと、

前記液体試料を分析するステップと、

を含む分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マイクロチップ及びこれを用いた分析方法に関し、特に解析時間が短く、測定精度及び再現性の高いマイクロチップ及び試料の分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

近年、マイクロエレクトロメカニカルシステム（MEMS）技術の発展により、バイオチップやケミカルチップ、マイクロ流体チップの研究開発が盛んに行われている。このようなデバイスを用いて、液体試料をシリコン、ガラス又はプラスチック上に形成された流路内に導入し、様々な解析を行うことが可能である。解析の中には、流路中への一定量の試料導入が前提となっているものがある。この例として、等電点電気泳動があげられる。

【0003】

特許文献1は、等電点電気泳動を可能にする従来のマイクロチップチップの一例である。図12は、このマイクロチップの構造を模式的に示す図である。マイクロチップは2枚の板状部品、即ちカバー901及び基板902から構成されている。カバー901上の貫通孔及び基板902上の溝構造により、解析部903及び試料導入部904が形成されている。カバー901及び基板902が石英や硼酸ガラスの場合、リニアアクリルアミドやポリビニルアルコールにより表面処理がなされ、表面は親水面905となっている。

10

【特許文献1】特開平11-287786

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、上記文献記載の従来技術は、以下の点で改善の余地を有していた。この問題を等電点電気泳動する場合を例に取り、図13を用いて説明する。

図13は、等電点電気泳動解析のための第1の試料導入方法を示したものである。まず試料導入部904を介しピペット909により解析部903に試料溶液910を導入し（図13（a））、解析部903全域を試料溶液910で満たす（図13（b））。この際、解析部903全域を試料溶液910で満たすためには、解析部903の容積よりも大きな容量を持つ試料溶液910を導入する必要があり、その結果、試料導入部904には本来解析には不要な余剰の試料溶液910が蓄積されることとなる。引き続き、試料導入部904に電極液911（例えば、陽極側にはリン酸水溶液、陰極側には水酸化ナトリウム溶液）を導入する（図13（c））。この後、電極へ電圧印加することで等電点電気泳動を行う（図示せず）。試料中に含まれるキャリアアンフォライトの作用により、解析部903内にpHの傾斜が形成され、試料溶液910中に含まれていた分析物は、自身の等電点に収束する。しかし、試料導入部904底面に残された余剰の試料溶液910は等電点への収束が遅く、短時間の等電点電気泳動を困難にしたり、試料溶液910の残り量バラツキに起因する分析精度や再現性の低下という問題を引き起こしたりする。

20

【0005】

この理由としては以下の2つがあげられる。

第1に、試料導入部904の中で解析部903から遠い位置にある分析物に関する。この位置においては電界が弱いため等電点への移動には長時間を要する。

第2に、電極液911中へ混ざり込んだ分析物に関する。電極液911中では電界強度が弱いため、この場合も等電点への移動には長時間を要する。

したがって、試料中の分析物の等電点への移動にばらつきが生じ、分析精度が低下する。

【0006】

このような問題を回避するためには、解析部903内へ試料溶液910を導入した後、試料導入部904中の残存する試料溶液910を吸引により回収し、解析部903内にのみ試料溶液910を残すようにすることが有効である。しかし、従来のマイクロチップでは、解析部903内へのみ試料溶液910を残すことが困難であった。その理由について、図14を用いて説明する。図14は、等電点電気泳動解析のための第2の試料導入方法を示したものである。図13の説明と同様に、まず試料導入部904を介しピペット909により解析部903に試料溶液910を導入し（図14（a））、解析部903全域を試料溶液910で満たす（図14（b））。この際、試料導入部904底面が親水性であり、試料溶液910との親和性が高いことから、どうしても試料溶液910の一部が試料導入部904表面に残ってしまう（図14（c））。最後に、電極液911を試料導入部

30

40

50

904に導入する。その際、試料導入部904底面に残存する試料溶液910の一部が電極液911中に混入する。その際、試料導入部904底面に残存する試料溶液910の一部が電極液911中に混入する。

【0007】

以上のように、従来技術には、等電点電気泳動に長時間を要したり、試料溶液の残り量のバラツキに起因する分析精度及び再現性が低下したりするという問題があった。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明によれば、基板と、該基板の表面に形成された液体試料の通る流路とを備えるマイクロチップであって、

流路は、液体試料を分離する試料分離部と、試料分離部に隣接し、液体試料を導入させる試料導入部とを備え、

試料導入部の表面は、疎水性領域と、親水性領域とを含み、

親水性領域は、試料分離部の表面と連結していることを特徴とするマイクロチップが提供される。

【0009】

この発明によれば、試料導入部へ導入した液体試料が、疎水性領域を避けて、親水性領域に導かれ、親水性領域が接する試料分離部に導かれる。これにより、試料導入部に導入した液体試料は疎水性領域を避けて試料分離部に導入することができる。また、親水性領域と比較して疎水性領域に残留する液体試料は少ないので、疎水性領域と親水性領域の面積比を調整することにより、試料導入部に残る試料量をコントロールし、かつ、試料導入部に残る試料量のばらつきを抑える。したがって、電気泳動の際、試料導入部から試料分離部へ液体試料が流入するのを低減し、再現性よく短時間で試料を分離し、測定精度の高い試料分析を実現することができる。

【0010】

また、本発明によれば、上記のマイクロチップを用いた分析方法であって、試料導入部を介して試料分離部に液体試料を導入するステップと、試料導入部の疎水性領域上に残留した液体試料を回収するステップと、液体試料を分析するステップと、

を含む分析方法

が提供される。

【0011】

この発明によれば、試料導入部に導入した試料は疎水性領域を避けるため、疎水性領域上に残留する液体試料を効率よく回収することができる。したがって、電気泳動の際、試料導入部から試料分離部へ液体試料が流入するのを低減し、再現性よく短時間で試料を分離し、測定精度の高い試料分析を実現することができる。

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、試料導入部に残る試料量の最小限にし、かつ、試料導入部に残る試料量のばらつきを抑えることにより、電気泳動の際、試料導入部から試料分離部へ試料が流入するのを低減し、再現性よく短時間で試料を分離することができ、測定精度の高い試料分析が可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

(第1の実施形態)

図1は、本発明の第1の実施形態のマイクロチップを示す図である。

図1(a)は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図1(b)は、図1(a)で示す切断線A-A'の断面図である。

また、図2は、本実施形態のマイクロチップを用いた試料導入方法を説明する図である。

10

20

30

40

50

第1の実施形態は、基板102と、該基板102の表面に形成された試料溶液110の通る流路とを備えるマイクロチップである。流路は、試料溶液110を分離する解析部103と、解析部103に隣接し、試料溶液110を導入させる試料導入部104とを備える。試料導入部104の表面は、疎水面106と、親水性領域とを含み、親水性領域は、解析部103の表面と連結して親水面105を形成している。

【0014】

本実施形態のマイクロチップは、疎水面106と、親水面105とが、隣接する。

また、基板102との間に流路の空間を形成するカバー101を備える。

カバー101は、試料導入部104に通じる貫通孔を有する。

【0015】

本実施形態の疎水面106は、基板102の一部を疎水処理する、疎水性表面を有する基板の一部を親水処理するといった方法で作製できるほか、基板表面に疎水処理と親水処理の両方の処理を行うことにより作製することもできる。

10

【0016】

本実施形態では、親水性表面を有する基板の一部を疎水処理する例について説明する。

親水性表面を有する基板としては、石英基板やガラス基板等を用いることができる。

疎水処理は、たとえば、フッ素樹脂等を基板102表面に固定することにより行う。

【0017】

疎水処理は、疎水性樹脂をそれぞれ基板102に塗布することによって行う。塗布方法として、スピンドルコート法、スプレー法、ディップ法又は気相法等が用いられる。疎水性樹脂や親水性樹脂は、好ましくは0.1μm以上1μm以下の層厚で塗布することができる。塗布した後は、乾燥を行う。乾燥温度は特に制限はないが、通常室温(25)以上170以下の範囲で行う。乾燥時間は、温度にもよるが、通常は0.5時間以上24時間以下とする。乾燥は空気中で行ってもよいが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。

20

【0018】

試料導入部104の疎水面106の面積は、好ましくは親水性領域の面積の1倍以上とする。こうすることにより、効率よく試料溶液110を解析部103に導入させることができる。さらに、好ましくは2倍以上300倍以下とする。試料溶液110の導入時に気泡が混入すると、試料溶液110が解析部103に導入することを妨害されるため、試料溶液110の導入時は、気泡の混入を防ぐよう慎重に行う必要がある。しかしながら、疎水面106を上記の範囲にすることにより、気泡による妨害効果を小さくすることができ、容易に試料の導入を行うことができる。

30

【0019】

本実施形態のマイクロチップにおいて、試料溶液110は、分析対象となる試料を水または親水性溶媒に溶解したものをいう。親水性溶媒としては、メタノールやエタノールなどのアルコール、DMFまたはDMSO等を用いることができる。具体的には、通常、純水、純水と親水性溶媒の混合液、緩衝液等のキャリア溶媒に溶解乃至分散した形で用いられる。キャリア溶媒としては、水及びイソプロピルアルコールの混合液、トリエチルアンモニウム、ホウ酸及びエチレンジアミン四酢酸(EDTA)を含む水溶液又はリン酸ナトリウム水溶液等が好適に用いられる。

40

【0020】

本実施形態のマイクロチップの各部の寸法は、たとえば、以下のようにする。

試料導入部104の内径：1mm以上3mm以下

試料導入部104の親水面の長さ(図1(a)中のL)：0.01mm以上1mm以下

解析部103の長さ：2cm以上10cm以下

解析部103の幅：0.1mm以上5mm以下

溝の深さ：10μm以上100μm以下

【0021】

以上説明したマイクロチップおよび使用する試料溶液の一例を以下に示す。

50

- ・ 基板：ガラス
- ・ 基板の表面処理：フッ素樹脂の固定化
- ・ 蓋の材質：P D M S
- ・ 試料溶液：タンパク質水溶液

【0022】

つづいて、本実施形態のマイクロチップを用いた分析方法について図2を用いて説明する。

この分析方法は、試料導入部104を介して解析部103に試料溶液110を導入するステップと、試料導入部104の疎水面106上に残留した試料溶液110を回収するステップと、液体試料110を分析するステップとからなる。

10

【0023】

具体的には、まず、ピペット109を用いて、数マイクロリットル程度の試料溶液110を試料導入部104へ滴下する(図2(a))。試料溶液110としては、例えば、タンパク質等の両性電解質に等電点傾斜を形成するための両性担体を混合したものが用いられる。

【0024】

試料導入部104の親水領域が試料溶液110で濡れることにより、試料溶液110は速やかに解析部103へ導入される。解析部103表面は親水性であるため試料溶液110との親和性が高く、容易に解析部103を試料溶液110で満たすことができる(図2(b))。解析部103への導入に時間のかかる場合、他方の試料導入部104から真空ポンプ等で解析部103を陰圧にすることで導入を早めることも可能である。

20

【0025】

次に、ピペット109により試料溶液110を吸引することで、試料導入部104内の試料溶液110の回収を行う(図2(c))。

【0026】

最後に、ピペット109を用いて試料導入部104の一方に、電極液111を加える。具体的には、リン酸水溶液、他方に水酸化ナトリウム水溶液を、それぞれ数マイクロリットル程度導入する。

【0027】

次に、図3を参照しながら本実施形態に係るマイクロチップの製造方法を説明する。

30

始めに、厚さ0.5mm程度のガラス115にフォトレジスト113を全面塗布し、半導体素子やMEMS素子作製等で一般的に用いられているフォトリソグラフィー技術により、フォトレジスト113のパターンニングを行う。この後、フォトレジスト113をマスクとして、CF₄ガス等による反応性イオンエッティングによりガラス115表面に10~100μmの深さの溝を形成する(図3(a))。アッシング処理によりフォトレジスト113を剥離した後、ガラス115表面の酸素プラズマ処理を行い、塗布可能なフッ素樹脂114(例えば旭硝子社製CYTOP)を塗布し150℃で2時間程度ベークすることで、フッ素樹脂114をガラス115表面に固定する。しかる後にフォトレジスト113を全面塗布し、フォトリソグラフィーにてフォトレジスト113のパターンニングを行う。その際、試料導入部104の親水領域の長さを設定する。次にCF₄ガスを用いた反応性イオンエッティングにより、フッ素樹脂114の加工を行う(図3(b))。最後に、アッシング処理によりフォトレジスト113を除去してから、試料導入部104に貫通孔が設けられ、酸素プラズマ処理で表面が親水性化されたP D M S 112を重ねることでマイクロチップを得る(図3(c))。

40

【0028】

続いて本実施形態の効果について説明する。

試料導入部104の疎水面106は、試料溶液110との親和性が低く、図2(c)において試料溶液110を回収する際、液残りがほとんど生じない。一方、試料導入部104表面の親水領域は、試料溶液110との親和性が高く試料溶液110の残りが発生する。しかし、従来例に比べ親水領域の面積が少ない分、試料導入部104表面への残存試料

50

量が少ない。その結果、電気泳動中における、試料導入部 104 から解析部 103 へ分析物の流入量を低減できる。

また、試料導入部 104 の疎水面 106 の面積と、親水性領域の面積をコントロールすることにより、試料導入部 104 に残留する試料のばらつきを低減し、試料導入部 104 に残留する試料溶液 110 の量のコントロールすることもできる。

したがって、試料を時間差なく分離することができ、短時間で定量性にすぐれた測定精度の高い試料分析を実現することができる。

また、解析部 103 への試料の流れ込みを低減することで、再現性の高い試料解析を実現することができる。

【0029】

(第2の実施形態)

図4は、本発明の第2の実施形態のマイクロチップを示す図である。図4(a)は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図4(b)は、図4(a)の切断線A-A'の断面図である。また、図5は、図4で示すマイクロチップへの試料導入方法を説明する図である。

第1の実施形態のマイクロチップとの違いは、カバー201表面が親水面ではなく、疎水面206であることである。

【0030】

本実施形態のマイクロチップを用いた分析方法は、第1の実施形態で説明した方法と同じであるが、試料導入部204側面が疎水面206であるため、ピペット209により吸引することで、試料導入部204内の試料溶液210の回収を行う(図5(c))。

このとき、カバー201側面への試料溶液210の付着が低減されるため、電気泳動中の試料導入部204から解析部203へ分析物の流入を低減することができる。

【0031】

本実施形態のマイクロチップの製造方法は、第1の実施形態の製造方法と同様な方法において、カバー201を構成するPDMsの酸素プラズマ処理を行わず、そのまま基板202に重ねる。

【0032】

(第3の実施形態)

図6は、本発明の第3の実施形態のマイクロチップを示す図である。

図6(a)は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図6(b)は、図6(a)で示す切断線A-A'の断面図である。

【0033】

第1の実施形態のマイクロチップとの違いは、第1の実施形態では存在した試料導入部304底面の親水面305の面積が0であることである。これにより、ピペットを用いて試料導入部304中の試料溶液を回収する際、試料導入部304の表面に試料溶液が残りにくくなり、その結果、電気泳動中の試料導入部304から解析部303へ分析物の流入を低減できる。

【0034】

本実施形態のマイクロチップの製造方法は、第1の実施形態の製造方法において(図3参照)、疎水面306を規定するフォトレジスト(図3(b)におけるフォトレジスト113)のパターンを変更するだけよい。

【0035】

(第4の実施形態)

図7は、第4の実施形態のマイクロチップを示す図である。図7(a)は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図7(b)は、切断線A-A'の断面図である。

第1の実施形態のマイクロチップとの違いは、試料導入部404底面の親水面405の中に、親水性凹凸構造407が存在することである。

凸構造及び凹構造は、好ましくはいずれも0.1μm以上10μm以下の大きさとする。また、凸構造の高さは、好ましくは0.1μm以上10μm以下とする。このような親

水性凹凸構造 407 を導入することにより、表面積が増えるため、凹凸構造を有する領域の親水性が高まり、より確実に試料溶液を解析部 403 へ導入することが可能になる。

【0036】

図 8 は、本実施形態のマイクロチップの製造方法を示す図である。第 1 の実施の形態の製造方法（図 3 参照）との違いは、図 3 (a) 及び図 9 (a) における溝形成の際のフォトレジスト 413 の形状の違いである。親水性凹凸構造 407 に対応するパターンをフォトレジスト 413 に転写することで、解析部 403 と試料導入部 404 の形成と同時に親水性凹凸構造 407 を形成できる。

【0037】

（第 5 の実施形態）

図 9 は、本発明の第 5 の実施形態のマイクロチップを示す図である。図 9 (a) は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図 9 (b) は、図 9 (a) で示す切断線 A - A' の断面図である。

【0038】

第 1 の実施形態のマイクロチップとの違いは、試料導入部 504 底面の疎水面 506 の中に疎水性凹凸構造 508 が存在することである。凸構造及び凹構造は、好ましくは 0.1 μm 以上 10 μm の大きさとする。また、凸構造の高さは、好ましくは 0.1 μm 以上 10 μm 以下とする。このような疎水性凹凸構造 508 の導入により表面積が増えるため、本領域の疎水性が高まり、試料回収時の試料溶液残りを低減し、その結果、電気泳動中の試料導入部 504 から解析部 503 へ分析物の流入を低減できる。

【0039】

本実施形態のマイクロチップは、第 4 の実施形態と同様の方法で製造可能である。

【0040】

（第 6 の実施形態）

図 10 は、本発明の第 6 の実施の形態のマイクロチップを示す図である。図 10 (a) は、本実施形態のマイクロチップの上面図であり、図 10 (b) は、図 10 (a) で示す切断線 A - A' の断面図である。

【0041】

第 1 の実施形態のマイクロチップとの違いは、試料導入部 604 底面の疎水面 606 に親水性凹凸構造 607 が、親水面 605 に疎水性凹凸構造 608 がそれぞれ存在することである。凸構造及び凹構造は、好ましくは 0.1 μm 以上 10 μm 以下の大きさとする。また、凸構造の高さは、好ましくは 0.1 μm 以上 10 μm 以下とする。

【0042】

本実施形態のマイクロチップは、親水性凹凸構造と疎水性凹凸構造の表面積の比 $\cos \theta / \cos \theta_0$ が $1/1$ を満たすように形成される。このような親水性凹凸構造 607 を導入することにより表面積が増えるため、本領域の親水性が高まり、より確実に試料溶液を解析部 603 へ導入することができる。また、疎水性凹凸構造 608 の導入により表面積が増えるため本領域の疎水性が高まり、試料回収時の試料溶液残りが低減される。その結果、電気泳動中の試料導入部 604 から解析部 603 へ分析物の流入を低減することができる。

本実施形態のマイクロチップは、第 4 の実施の形態と同様の方法で製造可能である。

【実施例】

【0043】

（実施例）

本発明の第 1 の実施形態のマイクロチップを用いて、以下のように等電点電気泳動を行った。

解析部 103 の寸法は、幅、長さ及び深さをそれぞれ 0.4 mm、37 mm 及び 0.01 mm とした。

【0044】

試料溶液としては、CIEF Gel (ベックマン社) 46 μl 、UV 蛍光等電点マ

カーフルカ社) $3 \mu\text{l}$ 、CIEF3-10ampolyte(ベックマン社) $1 \mu\text{l}$ を混合し、合計 $50 \mu\text{l}$ としたものを用いた。UV蛍光等電点マーカーは、両性電解質にUV照射時に蛍光を発する化学物質を付加したものである。

試料溶液は、試料導入部104を介して解析部103へ導入した後、ピペットにより試料溶液110の回収を行った。

【0045】

次に、試料導入部104に電極液を導入した。電極液としては、陽極側にCIEF Gel : H_3PO_4 ($\text{pH} = 2$) = 10 : 1の混合液、陰極側に $\text{H}_2\text{O} : \text{NaOH}$ ($\text{pH} = 12$) = 50 : 1を用いた。

【0046】

等電点電気泳動は、電圧2.4kV、温度10°の条件で行った。図11は、本発明の第1の実施の形態のマイクロチップを用いて、等電点電気泳動を行った結果を示す。横軸は、流路内位置 (mm) を示し、縦軸は蛍光強度を示す。電圧印加前(電気泳動時間0秒)では、UV蛍光等電点マーカーは流路に一様に分布するため、流路に紫外線を照射すると流路全体が均一に蛍光を発する。電圧印加を行うとUV蛍光等電点マーカーが自身の持つ等電点に移動を始めため、電気泳動時間60秒のピークで示されるように蛍光分布に偏りができるはじめる。電圧印加を継続すると、蛍光分布はある一定の分布に収束して行き(電気泳動時間120秒のピーク)、電気泳動180秒後には安定した分布が形成され、この例に於いて、3つの明瞭な信号ピークが観測された。それぞれ左より $\text{pI} = 4.0$ 、 5.5 、 9.0 の両性電解質に対応する。

10

20

【0047】

この実験は、12回繰り返したが、同様な結果が得られた。また、第2～6の実施形態のマイクロチップにおいても、第1の実施形態の場合と同様に、精度よく、短時間で等電点電気泳動を実現することができた。

【0048】

(比較例)

図12で示す従来構造のマイクロチップを用いて、以下のように、等電点電気泳動を行った。このマイクロチップの流路の幅、長さ、深さは、それぞれ0.4mm、37mm、0.01mmである。

30

【0049】

試料溶液としては、CIEF Gel(ベックマン社) $46 \mu\text{l}$ 、UV蛍光等電点マーカー(フルカ社) $3 \mu\text{l}$ 及びCIEF3-10ampolyte(ベックマン社) $1 \mu\text{l}$ を混合し、合計 $50 \mu\text{l}$ としたものを用いた。UV蛍光等電点マーカーは、両性電解質にUV照射時に蛍光を発する化学物質を付加したものである。

30

【0050】

電極液としては、陽極側にCIEF Gel : H_3PO_4 ($\text{pH} = 2$) = 10 : 1の混合液、陰極側に $\text{H}_2\text{O} : \text{NaOH}$ ($\text{pH} = 12$) = 50 : 1を用いた。

【0051】

電圧2.4kV、温度10°の状況で等電点電気泳動を行った。図15は、従来構造のマイクロチップを用いて等電点電気泳動を行った結果を示す。横軸は、流路内位置 (mm) を示し、縦軸は蛍光強度を示す。

40

電圧印加前(電気泳動時間0秒)では、UV蛍光等電点マーカーは流路に一様に分布するため、流路に紫外線を照射すると流路全体が均一に蛍光を発する。電圧印加すると、UV蛍光等電点マーカーが自身の持つ等電点に移動を始め、電気泳動時間60秒では、蛍光分布に偏りができるはじめる。しかし、電圧印加を継続しても、蛍光分布はある一定の分布に収束する事はない(電気泳動時間120秒、180秒)。これは、試料導入部904に回収されなかった大量の試料溶液が存在し、時間をかけて電圧印加時に解析部903に混入してくるためである。

【0052】

以上のように、本発明のマイクロチップによれば、短時間で測定精度よく、再現性の高

50

い試料解析を実現できることが示された。

【0053】

以上、図面を参照して本発明の実施形態について述べたが、これらは本発明の例示であり、上記以外の様々な構成を採用することもできる。

たとえば、本実施形態では、親水性表面を有する基板の一部を疎水処理する例について説明したが、疎水性表面を有する基板の一部を親水処理する構成も採用することができる。このとき、疎水性表面を有する基板としては、シリコーン樹脂、ポリエチレン樹脂等の樹脂基板を用いることができる。また、親水処理は、たとえば、リピジュア（登録商標）、リニアアクリルアミドまたはポリビニルアルコール等を基板表面に固定することにより行う。

10

【0054】

実施形態では、本発明のマイクロチップを用いて試料中に含まれるタンパク質の解析する例をあげて説明したが、本発明のマイクロチップを用いて、未知のタンパク質の探索や、特定のタンパク質の有無を調べることにより、バイオマーカー探索やバイオマーカー診断等に適用することも可能である。

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図1】第1の実施形態に係るマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）である。

【図2】第1の実施形態に係るマイクロチップへの試料溶液導入方法を説明する図である。

20

【図3】第1の実施形態に係るマイクロチップの製造方法の工程を示す図である。

【図4】第2の実施形態に係るマイクロチップの上面図（a）及び断面図（b）を示す図である。

【図5】第2の実施形態に係るマイクロチップへの試料溶液導入方法を説明する図である。

【図6】第3の実施形態に係るマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）である。

【図7】第4の実施形態に係るマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）である。

【図8】第4の実施形態に係るマイクロチップの製造方法を示す工程図である。

30

【図9】第5の実施形態に係るマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）である。

【図10】第6の実施の形態に係るマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）である。

【図11】本発明のマイクロチップの等電点電気泳動結果の一例を示す図である。

【図12】従来のマイクロチップを示す上面図（a）及び断面図（b）を示す図である。

【図13】従来のマイクロチップへの第1の試料溶液導入方法を示す図である。

【図14】従来のマイクロチップへの第2の試料溶液導入方法を示す図である。

【図15】従来のマイクロチップの等電点電気泳動結果を示す図である。

【符号の説明】

【0056】

101 カバー

102 基板

103 解析部

104 試料導入部

105 親水面

106 疎水面

109 ピペット

110 試料溶液

111 電極液

40

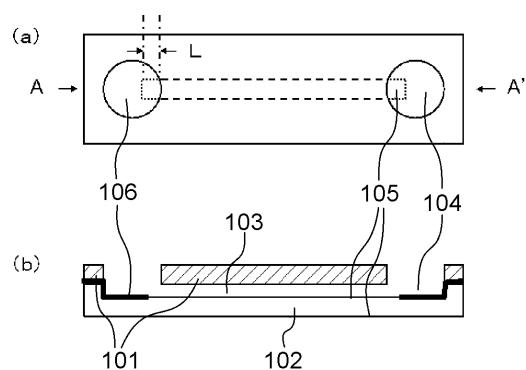
50

1 1 2	P D M S	
1 1 3	フォトレジスト	
1 1 4	フッ素樹脂	
1 1 5	ガラス	
2 0 1	カバー	
2 0 2	基板	
2 0 3	解析部	
2 0 4	試料導入部	
2 0 5	親水面	
2 0 6	疎水面	10
2 0 9	ピペット	
2 1 0	試料溶液	
2 1 1	電極液	
3 0 1	カバー	
3 0 2	基板	
3 0 3	解析部	
3 0 4	試料導入部	
3 0 5	親水面	
3 0 6	疎水面	
4 0 1	カバー	20
4 0 2	基板	
4 0 3	解析部	
4 0 4	試料導入部	
4 0 5	親水面	
4 0 6	疎水面	
4 0 7	親水性凹凸構造	
4 1 3	フォトレジスト	
4 1 4	フッ素樹脂	
4 1 5	ガラス	
5 0 1	カバー	30
5 0 2	基板	
5 0 3	解析部	
5 0 4	試料導入部	
5 0 5	親水面	
5 0 6	疎水面	
5 0 8	疎水性凹凸構造	
6 0 1	カバー	
6 0 2	基板	
6 0 3	解析部	
6 0 4	試料導入部	40
6 0 5	親水面	
6 0 6	疎水面	
6 0 7	親水性凹凸構造	
6 0 8	疎水性凹凸構造	
9 0 1	カバー	
9 0 2	基板	
9 0 3	解析部	
9 0 4	試料導入部	
9 0 5	親水面	
9 0 9	ピペット	50

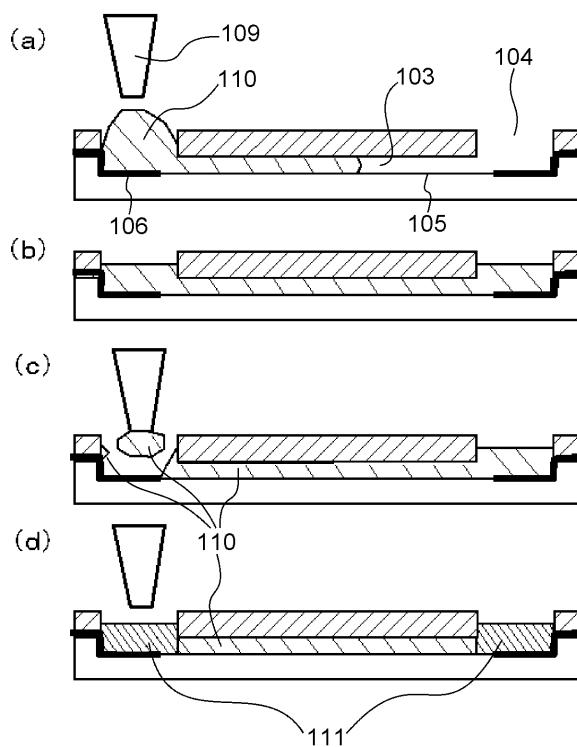
9 1 0 試料溶液

9 1 1 電極液

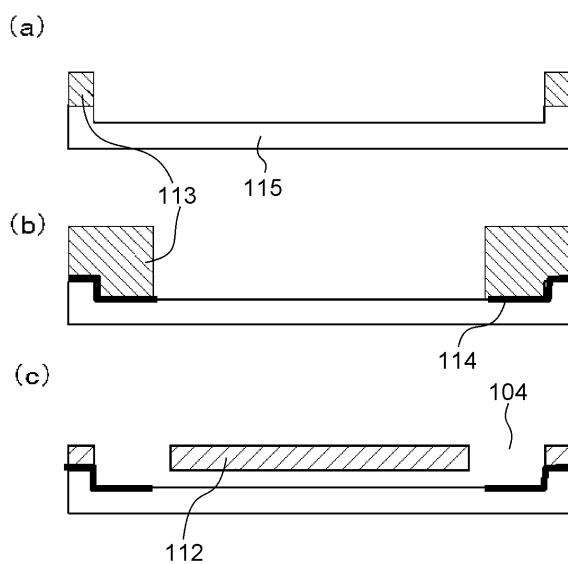
【図 1】



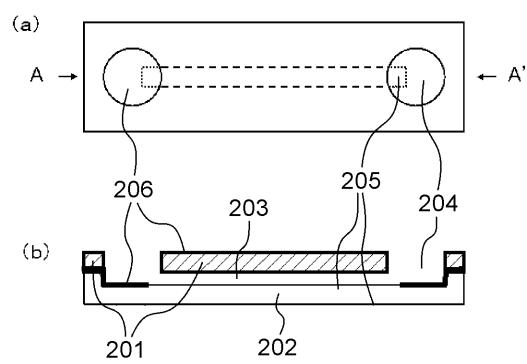
【図 2】



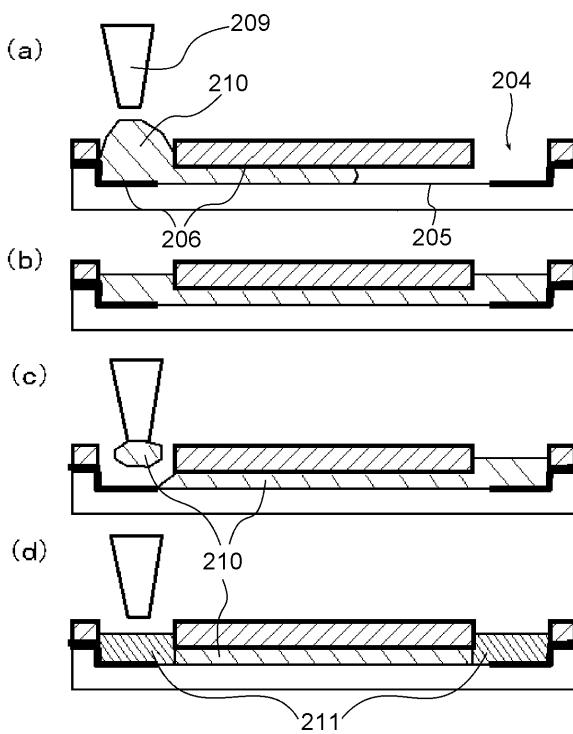
【図3】



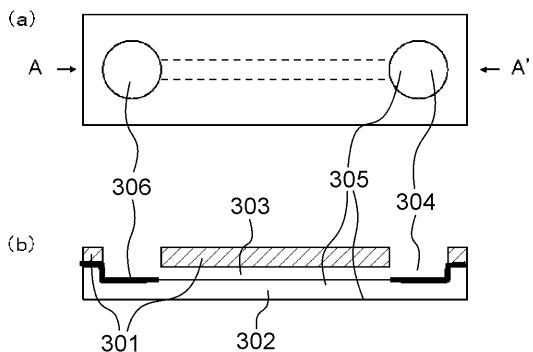
【図4】



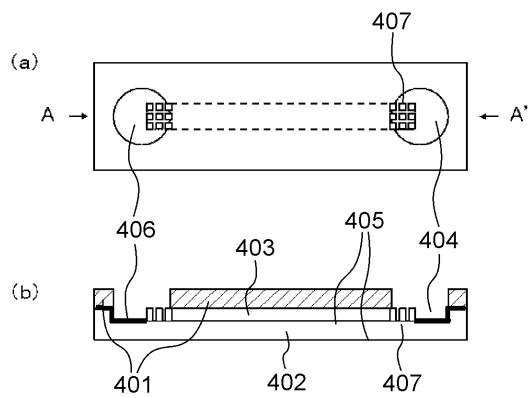
【図5】



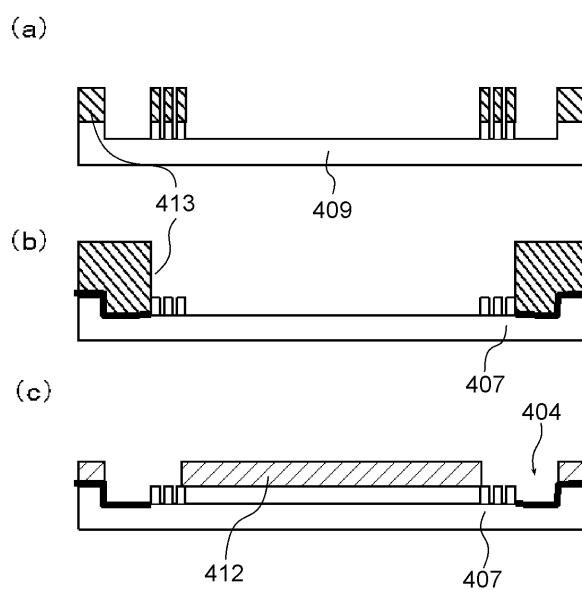
【図6】



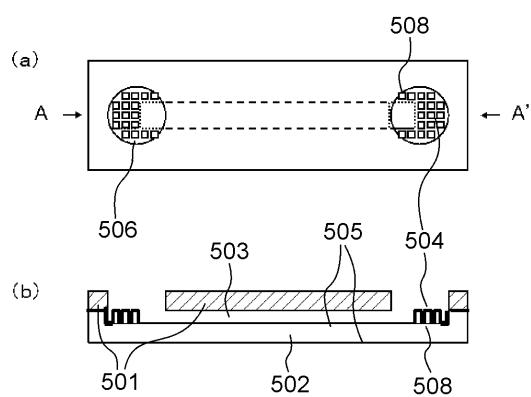
【図7】



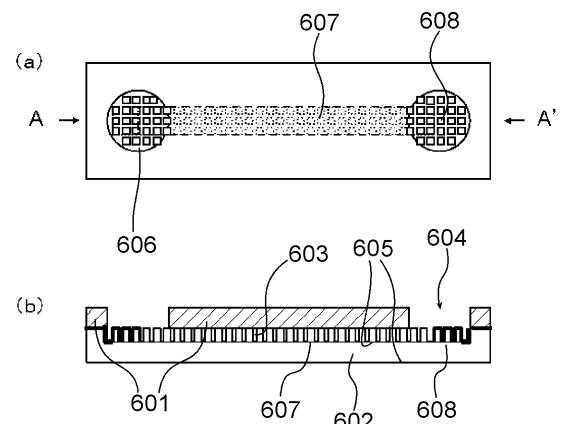
【図8】



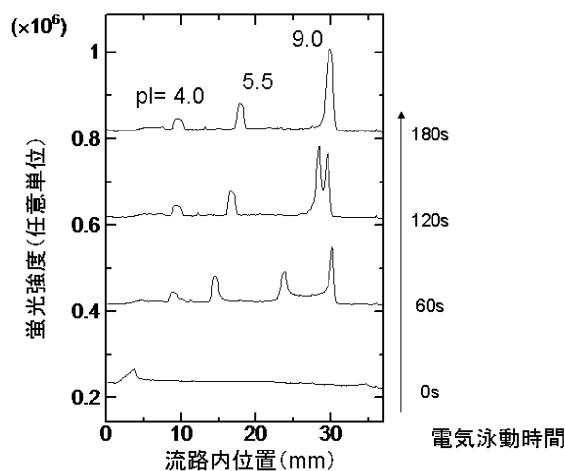
【図9】



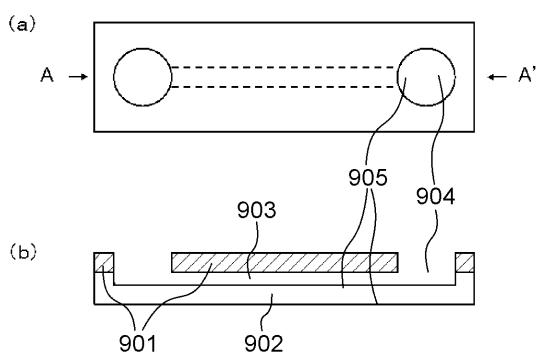
【図10】



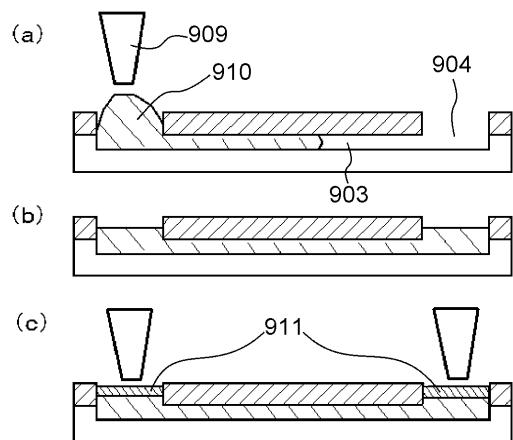
【図 1 1】



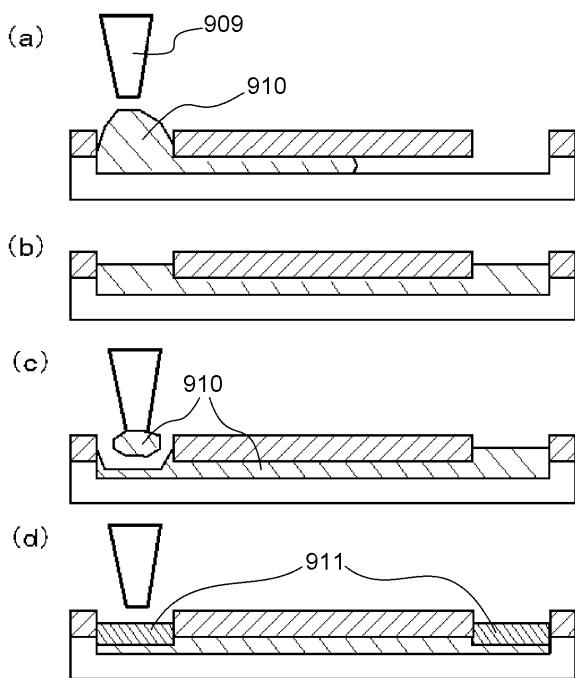
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



【図 15】

