(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2007 年12 月21 日 (21.12.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/145228 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 35/02 (2006.01) *G01N 37/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/061852

(22) 国際出願日: 2007 年6 月13 日 (13.06.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-163434 2006 年6 月13 日 (13.06.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目３番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 三宅正人 (MIYAKE, Masato) [JP/JP]; 〒6610974 兵庫県尼崎市若王寺三丁目１１番４６号 独立行政法人産業技術総合研究所関西センター尼崎事業所内 Hyogo (JP). 内田正明 (UCHIDA, Masaaki) [JP/JP]; 〒6610974 兵庫県尼崎市若王寺三丁目１１番４６号 独立行政法人産業技術総合研究所関西センター尼崎事業所内 Hyogo (JP). 三宅淳 (MIYAKE, Jun) [JP/JP]; 〒6610974 兵庫県尼崎市若王寺三丁目１１番４６号 独立行政法人産業技術総合研究所関西センター尼崎事業所内 Hyogo (JP).

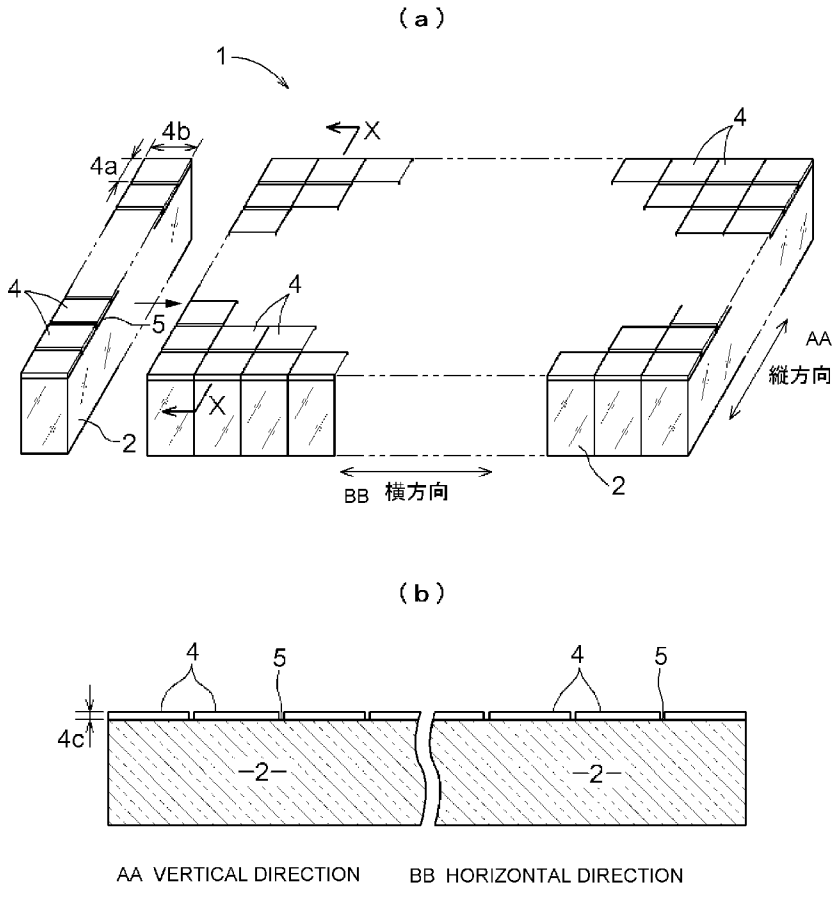
(74) 代理人: 北村修一郎 (KITAMURA, Shuichiro); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島二丁目３番１８号 Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,

[続葉有]

(54) **Title:** METHOD FOR MANUFACTURING MICROARRAY

(54) **発明の名称:** マイクロアレイの作製方法



(57) **Abstract:** Provided is a method for manufacturing a microarray wherein a plurality of spots containing probes can be supported. One or more spots (4) are arranged and supported on a strip-like substrate (2) in a long side direction. A plurality of the strip-like substrates (2) are arranged in parallel and integrated.

(57) **要約:** プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法であって、１つ以上のスポット４を、１つの短冊状基板２上において、その長辺方向に並べて担持させ、それら複数の短冊状基板２を並列に並べて一体にする。

WO 2007/145228 A1

KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

マイクロアレイの作製方法

技術分野

[0001] 本発明は、プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法に関する。

背景技術

[0002] マイクロアレイは、特定の物質・部位・状態などを特異的に検出し得るプローブ(例えば核酸分子やタンパク質分子等)を、基板(例えばガラス板等)上に高密度に配置したものであり、創薬研究、疾病の診断・予防法の研究、遺伝子の発現・変異・多型性などの同時解析に非常に有用な技術として多くの研究機関・医療機関・製薬企業等で利用されている。

[0003] 図12は、従来のマイクロアレイ1を模式的に示したものであり、プローブを含有するスポット4が、一枚の基板18上に、縦方向と横方向とに整列した状態で多数担持されている(例えば、特許文献1参照)。

[0004] 従来のマイクロアレイの作製方法としては、例えば、所定のプローブを含有する溶液(以下、プローブ溶液と記す)を基板上の所定位置に微量射出してスポットを形成(スポッティング)するインクジェット技術(例えば、特許文献2参照)、あるいは、微細なペン先を基板上の所定位置に接触させて微量のプローブ溶液をスポッティングするメカニカルスポット技術(例えば、特許文献3参照)等が挙げられる。

特許文献1:特開2005－77154号公報

特許文献2:特表平11－99000号公報

特許文献3:特表平10－503841号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] 上記従来のマイクロアレイの作製方法では、プローブを含有する多数のスポットを、一定形状かつ高密度に一基板上に配置するのに非常に時間を要していた。また、基板上におけるスポットの配置を変更したり、内容を追加するなどの編纂は事実上不可

能であり、各種のマイクロアレイは全て別個に設定して作製していた。

[0006] このため、一部のプローブが共通する複数のマイクロアレイを作製する場合、作製段階では全く別種のマイクロアレイを作製することとなる。そのため、マイクロアレイの作製を煩瑣なものとしていた。また、作製途中での編纂も不可能である。

[0007] さらに、そのマイクロアレイのスポットが高集積となるに従い、作製が困難となっていた。このとき、スポットを形成するための装置を、極めて安定かつ精密に制御することが必要とされていた。

[0008] 本発明は、上記実情に鑑みてなされたものであって、プローブスポット(プローブを含有するスポット)の配置の編纂が可能で、内容の追加が容易なマイクロアレイを、作製装置の負担を軽減しながらも短時間で作製することのできる方法を提供するものである。

課題を解決するための手段

[0009] 上記目的を達成するための本発明のマイクロアレイの作製方法の第一特徴構成は、プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法であって、1つ以上の前記スポットを、1つの短冊状基板上において、その長辺方向に並べて担持させ、それら複数の前記短冊状基板を並列に並べて一体にする点にある。

[0010] 本発明のマイクロアレイの作製方法は、短冊状基板を並列に並べて一体にするものであるため、スポットの配置を変更したり、内容を追加するなどの編纂が短冊状基板を単位に可能であり、各種のマイクロアレイの設定を非常に容易にするものである。

[0011] 例えば、一部のスポットが共通する複数のマイクロアレイを作製する場合、共通部分を構成する短冊状基板、および、非共通部分を構成する短冊状基板を別途に作製し、これらを適宜組み合わせることにより、それぞれのマイクロアレイを作製することができる。仮に、共通部分を構成する短冊状基板が存在する場合は、非共通部分を構成する短冊状基板のみを作製すればよいため、全く別種のマイクロアレイを作製する必要がない。

[0012] また、マイクロアレイの作製段階で何らかの事情で欠陥を生じた場合にも、短冊状基板の単位で修正が可能となる。

[0013] さらに、スポットの集積度が高い高集積度のマイクロアレイであっても、スポットの集積度は、短冊状基板の単位で設定することができる。このとき、スポットを形成するための装置の制御負荷は軽減される。

[0014] 本発明の第二特徴構成は、プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法であって、1つの前記スポットを、1つの単位基板上に担持し、複数の前記単位基板を縦方向と横方向とに並べて一体にする点にある。

[0015] 本発明のマイクロアレイの作製方法は、複数の単位基板を縦方向と横方向とに並べて一体にするものであるため、スポットの配置を変更したり、内容を追加するなどの編纂が単位基板を単位に可能であり、各種のマイクロアレイの設定を非常に容易にするものである。

[0016] 例えば、一部のスポットが共通する複数のマイクロアレイを作製する場合、共通部分を構成する短冊状基板、および、非共通部分を構成する短冊状基板を別途に作製し、これらを適宜組み合わせることにより、それぞれのマイクロアレイを作製することができる。仮に、共通部分を構成する短冊状基板が存在する場合は、非共通部分を構成する短冊状基板のみを作製すればよいため、全く別種のマイクロアレイを作製する必要がない。

[0017] また、マイクロアレイの作製段階で何らかの事情で欠陥を生じた場合にも、単位基板を単位に修正が可能である。

[0018] さらに、スポットの集積度が高い高集積度のマイクロアレイであっても、スポット形成は単位基板を単位として設定することができる。このとき、スポットを形成するための装置の制御負荷は軽減される。

[0019] 本発明の第三特徴構成は、第一特徴構成に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、前記各プローブを含有する複数のプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記複数の各プローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々前記四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して前記複数種類のプローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

(3)前記四角形基板を縦方向に沿い、且つ複数列に切断して、複数のスポットを担持する短冊状基板に切り分ける工程;

(4)別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ群について、それぞれ別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

(5)得られた複数の前記短冊状基板を任意に組み合わせて、並列に並べて一体にする工程;

を包含する点にある。

[0020] 本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、第一特徴構成に記載されるマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0021] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する場合、スポットをより高密度に多数配置しようとすれば、各スポットの面積を小さくするために、1つのスポットを形成するのに使用されるプローブ溶液量をより少なくする必要がある。しかし、1スポットあたりに使用されるプローブ溶液量が微量となるに従い、液量誤差が生じ易く、スポット毎の品質(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)に偏差を生じやすくなる。さらに、基板上のスポットが高密度になれば、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、基板上の特定の位置に正確にスポッティングすることもより困難となる。

[0022] しかしながら、本発明の方法によれば、様々な種類のスポットを、多数高密度、かつ、スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量等における品質偏差が少ない状態で担持しているマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0023] 詳細には、上記工程(2)において、複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、その複数のプローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して複数種類のプローブを四角形基板上に定着させる際に、線状塗布部の幅(スポットの縦幅)及び線状塗布部の厚さ(スポットの層の厚さ)が、それぞれ同じとなるように各プローブ溶液を塗布する。

[0024] さらに、上記工程(3)において、四角形基板を縦方向に沿い、且つ複数列に切断して、短冊状基板に切り分ける際に、その切断幅(スポットの横幅)が同じとなるように

切り分ければ、切り分けられた短冊状基板上には、常に一定の横幅・縦幅・厚さを有するスポット、即ち一定の形状・大きさ・プローブ含有量を有し得るスポットが担持される。

[0025] そして、上記工程(4)において、別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ群について、それぞれ別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返して、様々な種類のスポットを担持した短冊状基板を作製する。

最後に、上記工程(5)において、得られた複数の上記短冊状基板を任意に組み合わせて並列に並べて一体にすれば、品質偏差の小さい様々な種類のスポットを担持しているマイクロアレイを作製することができる。

[0026] 上記工程(2)及び(3)は、四角形基板上に横方向に沿ってプローブ溶液を塗布した後、その四角形基板を縦方向に沿って複数列に切断することによって個々のスポットを形成するようにしてある。そのため、塗布する際の線の幅(スポットの縦幅)や、切り分ける際の切断幅(スポットの横幅)を小さくすることによって、個々のスポットの面積を容易に小さくすることが可能であり、高密度に配置できる。

[0027] また、上記工程(2)おいて、短冊状基板上における各スポットの配置関係を変更したり、あるいは上記工程(5)において、短冊状基板の並べ方を調節することによって、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、マイクロアレイ上の特定の位置に、正確且つ容易に配置することができる。

[0028] 本発明の第四特徴構成は、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、前記各プローブを含有する複数のプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記複数の各プローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々前記四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して前記複数種類のプローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

(3)前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持する単位基板に切り分ける工程;

(4)別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ群について、それぞれ別の

四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

(5)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含する点にある。

[0029] 本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0030] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する場合、スポットをより高密度に多数配置しようとすれば、各スポットの面積を小さくするために、1つのスポットを形成するのに使用されるプローブ溶液量をより少なくする必要がある。しかし、1スポットあたりに使用されるプローブ溶液量が微量となるに従い、液量誤差が生じ易く、スポット毎の品質(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)に偏差を生じやすくなる。さらに、基板上のスポットが高密度になれば、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、基板上の特定の位置に正確にスポッティングすることもより困難となる。

[0031] しかしながら、本発明の方法によれば、様々な種類のスポットを、多数高密度、かつ、スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量等における品質偏差が少ない状態で担持しているマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0032] 詳細には、上記工程(2)において、複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、その複数のプローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して複数種類のプローブを四角形基板上に定着させる際に、線状塗布部の厚さ(スポットの層の厚さ)が同じとなるように各プローブ溶液を塗布する。

[0033] さらに上記工程(3)において、四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、単位基板に切り分ける際に、各スポットの横幅と縦幅が全て同じとなるように、縦方向の切断幅(スポットの横幅)、及び横方向の切断幅(スポットの縦幅)をそろえて切り分ければ、切り分けられた単位基板上には、常に一定の横幅、・幅・厚さを有するスポット、即ち一定の形状・大きさ・プローブ含有量を有し得るスポットが担持される。

[0034] そして、上記工程(4)において、別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ

群について、それぞれ別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返して、様々な種類のスポットを担持した単位基板を作製する。

最後に、上記工程(5)において、得られた複数の上記単位基板を任意に組み合わせて、その縦方向と横方向とに並べて一体にすれば、品質偏差の小さい様々な種類のスポットを担持しているマイクロアレイを作製することができる。

[0035] 上記工程(2)及び(3)は、四角形基板上に横方向に沿ってプローブ溶液を塗布した後、その四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断することによって個々のスポットを形成するようにしてある。そのため、切り分ける際の切断幅(スポットの横幅や縦幅)を小さくすることによって、個々のスポットの面積を容易に小さくすることが可能であり、高密度に配置できる。

[0036] さらに、上記工程(5)において、単位基板の並べ方を調節することによって、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、マイクロアレイ上の特定の位置に、正確且つ容易に配置することができる。

[0037] 本発明の第五特徴構成は、前記工程(2)において、前記四角形基板上に、その横方向に沿って、プローブ溶液に対する親和性の異なる領域を縦方向に交互に帯状に設けてあり、前記プローブ溶液を親和性の高い領域に塗布する点にある。

[0038] 本構成によれば、塗布されたプローブ溶液は、親和性の高い領域に留まり、四角形基板上に並列に塗布された各プローブ溶液が混合してしまうことを防止することができる。

[0039] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する際、その供給ヘッドを交換可能なチップで構成すると、チップの形状が全て同じであるとは限らないので、スポットの形状や大きさが異なり、スポット間の品質偏差が大きくなる虞がある。そのため、プローブ溶液を交換する場合には、充分に校正したチップを用いるか、一度使用したチップを充分に洗浄して使用しなければならず、多くの交換時間を必要としていた。

[0040] しかしながら、本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、塗布されたプローブ溶液は、親和性の高い領域を自律的に移動して均等な線状塗布部を形成し得る。そのため、たとえ供給ヘッドの形状が異なるものを使用した場合においても、プローブ溶液

の塗布量が一定であれば、常に一定の厚さを有する線状塗布部を四角形基板上に形成することが可能である。即ち、スポットの品質偏差(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)を小さくすることが可能である。

[0041] 従って、違う種類のプローブ溶液を使用する場合に、容易にチップを交換することが可能であり、洗浄時間も必要としないので、より短時間でマイクロアレイを作製することができる。

[0042] 本発明の第六特徴構成は、前記工程(2)において、前記四角形基板上にその横方向に沿った壁部が、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、前記プローブ溶液を隣接する前記壁部どうしの間に塗布する点にある。

[0043] 本構成によれば、四角形基板上に設けられた壁部が障壁となることによって、四角形基板上に並列に塗布された各プローブ溶液が混合してしまうことを、より確実に防止することができる。

[0044] また、従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する際、その供給ヘッドを交換可能なチップで構成すると、チップの形状が全て同じであるとは限らないので、スポットの形状や大きさが異なり、スポット間の品質偏差が大きくなる虞があった。そのため、プローブ溶液を交換する場合には、充分に校正したチップを用いるか、一度使用したチップを充分に洗浄して使用しなければならず、多くの交換時間を必要としていた。

[0045] しかしながら、本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、塗布されたプローブ溶液は、隣接する壁部どうしの間を自律的に移動して均等な線状塗布部を形成し得る。そのため、たとえ供給ヘッドの形状が異なるものを使用した場合においても、プローブ溶液の塗布量が一定であれば、常に一定の厚さを有する線状塗布部を四角形基板上に形成することが可能である。即ち、スポットの品質偏差(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)を小さくすることが可能である。

[0046] 従って、違う種類のプローブ溶液を使用する場合に、容易にチップを交換することが可能であり、洗浄時間も必要としないので、より短時間でマイクロアレイを作製することができる。

[0047] 本発明の第七特徴構成は、前記工程(2)において、前記四角形基板上にその横

方向に沿った凸部が、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、前記プローブ溶液を凸部上に塗布する点にある。

[0048] 本構成によれば、プローブ溶液を、四角形基板の縦方向に所定の間隔で設けられた凸部上に塗布することによって、各プローブ溶液が混合してしまうことを防止することができる。また、上述したように、塗布されたプローブ溶液は、夫々の凸部上を自律的に移動して均等な線状塗布部を形成し得るので、スポットの品質偏差を非常に小さくすることができる。また短時間でマイクロアレイを作製できる。

[0049] 本発明の第八特徴構成は、第一特徴構成に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)四角形基板と、前記四角形基板上に配置可能であり、且つ横方向に沿った溝部が縦方向に所定の間隔にて複数設けてある型用基板とを、前記溝部を設けた面が内側に位置するように互いに張り合わせて前記溝部によって複数の孔を形成し、前記各孔の中にプローブ合成液を流し、化学反応を生じさせることによって、前記孔毎にその内部でプローブを合成して、前記複数の各孔に対応する複数種類の各プローブを前記四角形基板上に、その縦方向に並列に定着させる工程;

(2)前記型用基板を取り外し、前記四角形基板を縦方向に沿って切断して、複数のスポットを担持する短冊状基板に切り分ける工程;

(3)別の複数種類のプローブを夫々別の四角形基板上に合成するようにして上記工程(1)～(2)を繰り返す工程;及び

(4)得られた複数の前記短冊状基板を任意に組み合わせて、並列に並べて一体にする工程;

を包含する点にある。

[0050] 本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、第一特徴構成に記載されるマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0051] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する場合、スポットをより高密度に多数配置しようとすれば、各スポットの面積を小さくするために、1つのスポットを形成するのに使用されるプローブ溶液量をより少なくする必要がある。しかし、1スポットあたりに使用されるプローブ溶液量が微量となるに従

い、液量誤差が生じ易く、スポット毎の品質(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)に偏差を生じやすくなる。さらに、基板上のスポットが高密度になれば、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、基板上の特定の位置に正確にスポッティングすることもより困難となる。

[0052] しかしながら、本発明の方法によれば、様々な種類のスポットを、多数高密度、かつ、スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量等における品質偏差が少ない状態で担持しているマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0053] 詳細には、上記工程(1)において、型用基板の縦方向に所定の間隔にて複数設けてある溝部の縦幅を同じ長さとすれば、四角形基板と張り合わせた際に形成される複数の孔は、それぞれ同じ縦幅(スポットの縦幅)を有するものとなる。各孔の中にプローブ合成液を流すと、孔内は均一な反応場に置かれることとなり、各孔の基板面にはそれぞれ均一に反応物が定着する。

さらに、上記工程(2)において、型用基板を取り外し、四角形基板を縦方向に沿って複数列に切断して、短冊状基板に切り分ける際に、その切断幅(スポットの横幅)が同じとなるように切り分ければ、切り分けられた短冊状基板上には常に一定の横幅、縦幅を有するスポット、即ち一定の形状、大きさ、プローブ含有量を有するスポットが担持される。

[0054] そして、上記工程(3)において、別の複数種類のプローブを、夫々別の四角形基板上に合成するように上記工程(1)～(2)を繰り返し、様々な種類のスポットを担持した短冊状基板を作製する。

最後に、上記工程(4)によって、得られた複数の短冊状基板を任意に組み合わせて並列に並べて一体にすれば、品質偏差の小さい様々な種類のスポットが担持されているマイクロアレイが作製される。

[0055] 上記工程(1)及び(2)は、四角形基板上に、その横方向に沿ってプローブを合成して定着させた後、その四角形基板を縦方向に沿って複数列に切断することによって、個々のスポットを形成するようにしてある。そのため、型用基板の溝部の縦幅(スポットの縦幅)や、切り分ける際の切断幅(スポットの横幅)を小さくすることによって、個々のスポットの面積を容易に小さくすることが可能であり、高密度に配置させられる

。

[0056] さらに、上記工程(1)おいて、短冊状基板上における各プローブ合成液を流し込む位置を変更したり、あるいは、上記工程(4)において、短冊状基板の並べ方を調節したりすることによって、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、マイクロアレイ上の特定の位置に、正確且つ容易に配置することができる。

[0057] 本発明の第九特徴構成は、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)四角形基板と、前記四角形基板上に配置可能であり、且つ横方向に沿った溝部を縦方向に所定の間隔にて複数設けてある型用基板とを、前記溝部を設けた面が内側に位置するように互いに張り合わせて前記溝部によって複数の孔を形成し、前記各孔の中にプローブ合成液を流し、化学反応を生じさせることによって、前記孔毎にその内部でプローブを合成して、前記複数の各孔に対応する複数種類の各プローブを前記四角形基板上に、その縦方向に並列に定着させる工程;

(2)前記型用基板を取り外し、前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持する単位基板に切り分ける工程;

(3)別の複数種類のプローブを夫々別の四角形基板上に合成するようにして上記工程(1)～(2)を繰り返す工程;及び

(4)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含する点にある。

[0058] 本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0059] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する場合、スポットをより高密度に多数配置しようとすれば、各スポットの面積を小さくするために、1つのスポットを形成するのに使用されるプローブ溶液量をより少なくする必要がある。しかし、1スポットあたりに使用されるプローブ溶液量が微量となるに従い、液量誤差が生じ易く、スポット毎の品質(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)に偏差を生じやすくなる。さらに、基板上のスポットが高密度になれば、特

定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、基板上の特定の位置に正確にスポッティングすることもより困難となる。

[0060] しかしながら、本発明の方法によれば、様々な種類のスポットを、多数高密度、かつ、スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量等における品質偏差が少ない状態で担持しているマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0061] 詳細には、上記工程(1)において、型用基板の縦方向に所定の間隔にて複数設けてある溝部の縦幅を同じ長さとすれば、四角形基板と張り合わせた際に形成される複数の孔は、それぞれ同じ縦幅(スポットの縦幅)を有するものとなる。そのため、各孔の中にプローブ合成液を流すと孔内は均一な反応場に置かれることとなり、各孔の基板面にはそれぞれ均一に反応物が定着する。

さらに上記工程(2)において、型用基板を取り外し、四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、単位基板に切り分ける際に、各スポットの横幅と縦幅が全て同じとなるように、縦方向の切断幅(スポットの横幅)、及び横方向の切断幅(スポットの縦幅)をそろえて切り分ければ、切り分けられた単位基板上には、常に一定の横幅・縦幅・厚さを有するスポット、即ち一定の形状・大きさ・プローブ含有量を有し得るスポットが担持される。

[0062] そして、上記工程(3)において、別の複数種類のプローブを夫々別の四角形基板上に合成するように上記工程(1)～(2)を繰り返し、様々な種類のスポットを担持した単位基板を作製する。

最後に、上記工程(4)において、得られた複数の単位基板を任意に組み合わせて、その縦方向と横方向とに並べて一体にすれば、品質偏差の小さい様々な種類のスポットが担持されているマイクロアレイが作製される。

[0063] 上記工程(1)及び(2)は、四角形基板上に、その横方向に沿ってプローブを合成して定着させた後、その四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断することによって個々のスポットを形成するようにしてある。そのため、切り分ける際の切断幅(スポットの横幅や縦幅)を小さくすることによって、個々のスポットの面積を容易に小さくすることが可能であり、高密度に配置できる。

[0064] さらに、上記工程(4)において、単位基板の並べ方を調節することによって、特定

のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、マイクロアレイ上の特定の位置に、正確且つ容易に配置することができる。

[0065] 本発明の第十特徴構成は、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)プローブを含有するプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記プローブ溶液を四角形基板上に塗布して、前記プローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

(3)前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持する単位基板に切り分ける工程;

(4)別の種類のプローブを含有するプローブ溶液について、別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

(5)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含する点にある。

[0066] 本発明のマイクロアレイ作製方法によれば、第二特徴構成に記載されるマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0067] 従来のインクジェット方式又はメカニカルスポット方式で基板上にスポットを形成する場合、スポットをより高密度に多数配置しようとすれば、各スポットの面積を小さくするために、1つのスポットを形成するのに使用されるプローブ溶液量をより少なくする必要がある。しかし、1スポットあたりに使用されるプローブ溶液量が微量となるに従い、液量誤差が生じ易く、スポット毎の品質(スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量)に偏差を生じやすくなる。さらに、基板上のスポットが高密度になれば、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、基板上の特定の位置に正確にスポッティングすることもより困難となる。

[0068] しかしながら、本発明の方法によれば、様々な種類のスポットを、多数高密度、かつ、スポットの形状・スポットの大きさ・プローブ含有量等における品質偏差が少ない状態で担持しているマイクロアレイを容易に作製することができる。

[0069] 詳細には、上記工程(2)において、プローブ溶液を四角形基板上に塗布する際に

、その厚さ(スポットの層の厚さ)が均一となるようにプローブ溶液を塗布し、さらに、上記工程(3)において、四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、単位基板に切り分ける際に、各スポットの横幅と縦幅が全て同じとなるように、縦方向の切断幅(スポットの横幅)、及び横方向の切断幅(スポットの縦幅)をそろえて切り分ければ、切り分けられた単位基板上には常に一定の横幅・縦幅・厚さを有するスポット、即ち一定の形状、大きさ、プローブ含有量を有するスポットが担持される。

[0070] そして、上記工程(4)において、別の種類のプローブを含有するプローブ溶液について、別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返し、様々な種類のスポットを担持した単位基板を作製する。

最後に、上記工程(5)において、得られた複数の上記単位基板を任意に組み合わせて、その縦方向と横方向とに並べて一体にすれば、品質偏差の小さい様々な種類のスポットを担持しているマイクロアレイが作製される。

[0071] 上記工程(2)及び(3)は、四角形基板上にプローブ溶液を塗布した後、その四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断することによって、個々のスポットを形成するようにしてある。そのため、切り分ける際の切断幅(スポットの横幅や縦幅)を小さくすることによって、個々のスポットの面積を容易に小さくすることが可能であり、高密度に配置できる。

[0072] さらに、上記工程(5)において、単位基板の並べ方を調節することによって、特定のスポット(特定のプローブを含有するスポット)を、マイクロアレイ上の特定の位置に、正確且つ容易に配置できる。

発明を実施するための最良の形態

[0073] 以下に本発明の実施の形態を図面に基づいて説明する。

〔第1実施形態〕

図1は、本発明のマイクロアレイの作製方法の第1実施形態を示している。図1(a)は、マイクロアレイ1を作製するときの様子を概略的に示した斜視図であり、図1(b)は、図1(a)の矢視線X－Xにおける短冊状基板2の断面図である。

[0074] マイクロアレイ1は、縦幅4a、横幅4b、厚さ4cを有する複数のスポット4を担持する。また、マイクロアレイ1は、短冊状基板2を並列に並べて一体にしたものであり、図1(b

)に示されるように、1つの短冊状基板2上には、1つ以上のスポット4をその長辺方向に並んで縞状に担持する構成となっている。以下に、その詳細について説明する。

[0075] (マイクロアレイの構成)

マイクロアレイ1は、複数の短冊状基板2を並列に並べて、その側面同士を適当な粘着剤等を用いて接着、あるいは圧着等して一体にして構成されている。

[0076] (短冊状基板)

短冊状基板2は、スポット4を担持する担持面5を有している。担持面5には、その長辺方向に並んで複数のスポット4が担持され得る。担持するスポット4の数は、任意に設定することが可能である。例えば、一つの担持面5には10個～200個のスポットを担持することが好ましい。

短冊状基板2を構成し得る材料としては、例えばガラス・プラスチック・金属素材等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、短冊状基板2の側面を非透光性の物質でコーティングしたり、あるいは短冊状基板2の側面に適当な絶縁体を配設したりするようにしても良い。

[0077] (スポット)

スポット4は、特定の物質、部位、状態などを特異的に検出し得る核酸分子やタンパク質分子等のプローブを含有しており、担持面5上に縞状に形成される。各スポット4は、それぞれ異なる種類のプローブを含有したものであっても良く、スポットの種類とは、含有するプローブの種類を意味するものとする。マイクロアレイ1に担持するスポット4の種類とその数については、必要に応じて任意に設定することができる。

[0078] (マイクロアレイ作製方法)

＜作製方法(1－1)＞

図2は、マイクロアレイ1の作製方法(1－1)を概略的に示したフローチャートである。作製方法(1－1)は、図2に示される工程を包含するが、これらの工程の他にも、必要に応じて、例えば、プローブを定着させるための基板修飾や、乾燥・架橋工程などの任意の工程を適宜追加することができる。

[0079] また、作製方法(1－1)においては、図3に示されるように、含有するプローブの種類(a1～3、b1～3、c1～3)がそれぞれ異なる9個のスポット4を担持するマイクロア

レイ1を3つ作製する方法を例示して説明する。この場合、マイクロアレイ1は、スポット4を3行3列で担持する。

[0080] 1つのマイクロアレイ1が担持するスポット4の種類と数、及び作製するマイクロアレイ1の数については、これに限定されるものではない。即ち、使用されるプローブの種類数、一体化される短冊状基板2の数、担持面5に担持されるスポット4の数、マイクロアレイ1の作製枚数については、下記に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができる。

つまり、スポット4を、N行M列で担持するマイクロアレイ1を作製することが可能である。即ち、1つの短冊状基板2の担持面5上にN個のスポット4を担持しており、その短冊状基板2をM枚使用して一体にすることを意味している。従って、スポット4の数がN×M個となり、担持するスポット4の種類を最大N×M種類とすることが可能(N及びMは2以上の任意の整数)となる。

スポットの種類と数について、任意のスポット構成をもつマイクロアレイを必要な数だけ作製することができる。

[0081] 1. プローブ溶液調製工程

1つのプローブ群は、複数種類のプローブから構成されている。第1実施形態のマイクロアレイ作製に使用されるプローブ群は3つ(a～c)であり、各プローブ群(a～c)が、それぞれ3種類のプローブ(a1～3、b1～3、c1～3)から構成されている。それぞれのプローブ(a1～3、b1～3、c1～3)を適当な溶媒(例えば、水等)に含有させて、9つのプローブ溶液(a1～3溶液、b1～3溶液、c1～3溶液)を調製する(図示せず)。

[0082] 2. 定着工程

図4に示されるように、1つのプローブ群に対応するプローブ溶液(a1～3)が一つの四角形基板6上に塗布される。例えば、1つのプローブ群が、3種類のプローブから構成されているものであれば、一つの四角形基板上には3種類のプローブ溶液が塗布される。

四角形基板6は、スポットを担持し得る担持面5を有しており、四角形基板6を構成し得る材料としては、例えば、ガラス・プラスチック・金属素材等が挙げられるが、これ

らに限定されるものではない。担持面5にはあらかじめプローブと結合する官能基を固定しておくこともできる。

[0083] 上記プローブ溶液調製工程にて調製したプローブ溶液(a1～3溶液)について、公知の技術(例えば、インクジェット技術)を使用し、供給ヘッド7からプローブ溶液(a1～3溶液)を吐出することによって、四角形基板6上に、その横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部19を縦方向に並設する。その際、線状塗布部の幅(スポットの縦幅4aに相当し、その大きさは任意に設定することができる)、及び、線状塗布部の厚さ(スポットの層の厚さ4cに相当)がそれぞれ同じとなるように、各プローブ溶液(a1～3溶液)を塗布し、プローブを四角形基板6上に定着させる。

[0084] 上述の操作を、別のプローブ群のプローブ溶液(b1～3溶液、c1～3溶液)について同様に実施する。尚、本明細書では、便宜的に、図4に示されるように、四角形基板6において複数のプローブ溶液(a1～3溶液)が並列に並ぶ方向を縦方向とし、その縦方向に直行する方向を横方向と規定する。

[0085] 3. 切断工程

図3に示されるように、各プローブ(a1～3、b1～3、c1～3)を定着させた3つの四角形基板6を、それぞれその縦方向に沿って同じ切断幅で複数列(本実施形態では3列)に切断して、短冊状基板2に切り分ける。このときの切断幅が、スポットの横幅4bに相当し、その大きさは任意に設定することができる。各短冊状基板2の担持面上には、3種類(3つ)のスポット4が縞状に担持されている。また、四角形基板6は、予め分離可能に接合された複数の同じ短冊状基板2から構成されたものでも良い。

[0086] 4. 一体化工程

次いで、図3に示されるように、それぞれの四角形基板6に由来する短冊状基板2を1つずつ合計3つ取り出して、それら3つの短冊状基板2を、同じ順序に並列に並べて一体にする作業を3回繰り返す。これにより、9種類(9つ)のスポット4を担持した同じマイクロアレイ1を3つ作製することができる。尚、得られた複数の短冊状基板2を一体化する工程は、これに限定されるものではなく、得られた複数の短冊状基板2を任意に組み合わせた任意な並べ方で一体化することができる。

一体化工程は、具体的には、短冊状基板2同士を粘着剤によって接着する、複数

の短冊状基板2を束ねてその周縁部を粘着テープで固定して短冊状基板2同士を圧着する、或いは、短冊状基板2同士をボルトによって固定して短冊状基板2同士を圧着する等の手法が例示される。

このとき、各短冊状基板2の接合面に溶液が浸透しないように、各短冊状基板2を密着させる。例えば、上述した圧着する手法によって短冊状基板2同士を一体化する場合、短冊状基板2の接合面にパテ等の隙間充填剤を介在させて、当該接合面に溶液が浸透しないよう構成することが可能である。

[0087] 上述の作製方法では、プローブ溶液調製工程において、一度に9つ全てのプローブ溶液を調製してから、その後の定着工程及び切断工程を実施しているが、この実施方法に限られるものではない。例えば、1つのプローブ群について、プローブ溶液調製工程～定着工程(又は切断工程)まで実施したのち、別のプローブ群について、プローブ溶液調製工程～定着工程(又は切断工程)を、それぞれ別の四角形基板を用いて繰り返すように実施しても良い。

[0088] ＜作製方法(1－2)＞

図5は、マイクロアレイ1の作製方法(1－2)を概略的に示したフローチャートである。作製方法(1－2)は、図5に示される工程を包含するが、これらの工程の他にも、必要に応じて、例えば、プローブを定着させるための基板修飾や、乾燥・架橋工程などの任意の工程を適宜追加することができる。

作製方法(1－2)においては、プローブ溶液を調製せず、各プローブ(a1～3、b1～3、c1～3)をそれぞれ合成して定着させること(プローブ合成定着工程)以外は全て上記作製方法(1－1)と同様とする。

[0089] 1．プローブ合成定着工程

プローブ合成定着工程においては、図6(a)に示される型用基板8を使用する。型用基板8には、横方向に沿った溝部9が、縦方向に所定の間隔にて複数(本実施形態においては3列)設けてある。溝部の縦幅9a及び深さ9bは任意に設定することができる。9aはスポットの縦幅4aに相当する。

[0090] 四角形基板6の担持面5に、合成プローブを担持面5に固定する開始基を修飾しておく。(図示せず)

[0091] 図6(b)に示されるように、型用基板8は、四角形基板6の担持面5上に配置可能であり、溝部9を設けた面を下にして四角形基板6の担持面5上に配置する(即ち、四角形基板6と型用基板8とを、型用基板の溝部9を設けた面が内側に位置するように互いに張り合わせる)ことによって、複数(本実施形態においては3つ)の孔10を形成し得るように構成されている。尚、このようにして四角形基板6と型用基板8とを張り合わせたものを合板11と称する。

[0092] 次いで、孔10の中にプローブ合成液を流し、化学反応を生じさせることによって、孔10毎にその内部でプローブ(a1～3)をそれぞれ合成して、図6(c)に示されるように、各プローブ(a1～3)を四角形基板6上に、その縦方向に並列に定着させる。尚、逐次反応を用いる場合には必要段数の反応を重ねる。

2. 切断工程

型用基板を取り外し、上述の作製方法(1－1)の切断工程と同様に実施する。

3. 一体化工程

上述の作製方法(1－1)の一体化工程と同様である。

[0093] 〔第2実施形態〕

図7は、本発明のマイクロアレイの作製方法の第2実施形態を示している。図7(a)は、マイクロアレイ1を作製するときの様子を概略的に示した斜視図であり、図7(b)は、図7(a)の矢視線X－Xにおける断面図である。

[0094] マイクロアレイ1は、それぞれ同じ縦幅4a、同じ横幅4b、同じ厚さ4cを有する複数のスポット4を担持し得る。また、マイクロアレイ1は、単位基板12を縦方向と横方向とに並べて一体にしたものであり、図7(b)に示されるように、1つの単位基板12上には、1つのスポット4が担持され得る構成となっている。以下に、その詳細について説明する。

[0095] (マイクロアレイの構成)

マイクロアレイ1は、複数の単位基板12を縦方向と横方向とに並べて、その側面同士を適当な粘着剤等を用いて接着、あるいは圧着等して一体にして構成されている。

[0096] (単位基板)

単位基板12は、1つのスポット4を担持し得る担持面5を有している。単位基板12を構成し得る材料としては、例えば、ガラス・プラスチック・金属素材等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、単位基板12の側面を非透光性の物質でコーティングしたり、あるいは単位基板12の側面に適当な絶縁体を配設しても良い。

[0097] (スポット)

スポット4は、特定の物質、部位、状態などを特異的に検出し得る核酸分子やタンパク質分子等のプローブを含有しており、担持面5上に形成される。各スポット4は、それぞれ異なる種類のプローブを含有したものであっても良く、スポットの種類とは、含有するプローブの種類を意味するものとする。マイクロアレイ1に担持するスポット4の種類とその数については、必要に応じて任意に設定することができる。

[0098] (マイクロアレイ作製方法)

＜作製方法(2－1)＞

マイクロアレイ1の作製方法(2－1)は、短冊状基板2の代わりに単位基板12を用いて実施すること以外は、上述の作製方法(1－1)とほぼ同様に実施されるため、図2に示される工程を包含する。これらの工程の他にも、必要に応じて、例えば、プローブを定着させるための基板修飾や、乾燥・架橋工程などの任意の工程を適宜追加することができる。

[0099] また、作製方法(2－1)においては、図8に示されるように、含有するプローブの種類(a1～3、b1～3、c1～3)がそれぞれ異なる9個のスポット4を担持するマイクロアレイ1を3つ作製する方法を例示して説明する。この場合、マイクロアレイ1は、スポット4を3行3列で担持する。

[0100] 1つのマイクロアレイ1が担持するスポット4の種類と数、及び作製するマイクロアレイ1の数については、これに限定されるものではない。即ち、使用されるプローブの種類数、一体化される単位基板12の数、マイクロアレイ1の作製枚数については、下記に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができる。

つまり、スポット4を、N行M列で担持するマイクロアレイ1を作製することが可能である。即ち、1つのスポット4を担持面5上に担持した単位基板12を、N×M枚使用して一体にすることを意味している。従って、スポット4の数がN×M個となり、担持するス

ポット4の種類を最大N×M種類とすることが可能(N及びMは1以上の任意の整数である)となる。

1種類のスポット4から構成されるマイクロアレイ1から、全て違う種類のスポット4から構成されるマイクロアレイ1まで、スポット4の種類と数について、任意のスポット4構成をもつマイクロアレイ1を必要な数だけ作製することができる。

[0101] 1. プローブ溶液調製工程

上述の作製方法(1－1)のプローブ溶液調製工程と同様である。

2. 定着工程

上述の作製方法(1－1)の定着工程と同様である。

3. 切断工程

図8に示されるように、各プローブ(a1～3、b1～3、c1～3)を定着させた3つの四角形基板6を、それぞれ、その縦方向及び横方向に沿って切断して、9つの単位基板12に切り分ける。このとき、各スポット4の縦幅4aと横幅4bが全て同じとなるように、縦方向の切断幅(スポット4の横幅4bに相当し、その大きさは任意に設定することができる)、及び、横方向の切断幅(スポット4の縦幅4aに相当し、その大きさは任意に設定することができる)をそろえて切り分ける。

各単位基板12の担持面上には、1種類のスポット4が担持されている。また、四角形基板6は、予め分離可能に接合された複数の同じ単位基板12から構成されたものでも良い。

4. 一体化工程

次いで、図8に示されるように、それぞれの四角形基板6に由来する単位基板12を3つずつ合計9つ取り出して、それら9つの単位基板12を、縦方向と横方向とに同じ順序に並べて一体にする作業を3回繰り返す。これにより、9種類のスポット4を担持した同じマイクロアレイ1を3つ作製することができる。尚、得られた複数の単位基板12を一体化する工程は、これに限定されるものではなく、得られた複数の単位基板12を任意に組み合わせた任意な並べ方で一体化することができる。

[0102] ＜作製方法(2－2)＞

マイクロアレイ1の作製方法(2－2)は、上述の作製方法(1－2)及び(2－1)を組

み合わせた作製方法である(図示せず)。

[0103] 即ち、作製方法(2－2)は、短冊状基板2の代わりに単位基板12を用いて実施すること以外は、上述の作製方法(1－2)とほぼ同様に実施されるため、図5に示される工程を包含する。尚、図5に示される工程の他にも、必要に応じて、例えば、担持面にプローブと結合する官能基を固定する工程や、乾燥・架橋工程などの任意の工程を適宜追加することができる。

[0104] また、作製方法(2－2)においては、プローブ溶液を調製せず、各プローブ(a1～3、b1～3、c1～3)をそれぞれ合成して定着させること(プローブ合成定着工程)以外は全て上記作製方法(2－1)と同様であり、プローブ合成定着工程についても上述の作製方法(1－2)のプローブ合成定着工程と同様である。

以上より、作製方法(2－2)は、以下の工程に従って実施される。

1. プローブ合成定着工程

上述の作製方法(1－2)のプローブ合成定着工程と同様である。

2. 切断工程

上述の作製方法(2－1)の切断工程と同様である。

3. 一体化工程

上述の作製方法(2－1)の一体化工程と同様である。

[0105] ＜作製方法(2－3)＞

図9は、マイクロアレイ1の作製方法(2－3)を示したものである。

作製方法(2－3)は、図2に示される工程を包含するが、これらの工程の他にも、必要に応じて、例えば、プローブを定着させるための基板修飾や、乾燥・架橋工程などの任意の工程を適宜追加することができる。

[0106] また、作製方法(2－3)においては、図9に示されるように、含有するプローブの種類(a1～3、b1～3、c1～3)がそれぞれ異なる9個のスポット4を担持するマイクロアレイ1を3つ作製する方法を例示して説明する。この場合、マイクロアレイ1は、スポット4を3行3列で担持する。

[0107] 1つのマイクロアレイ1が担持するスポット4の種類と数、及び作製するマイクロアレイ1の数については、これに限定されるものではない。即ち、使用されるプローブの種

類数、一体化される単位基板12の数、マイクロアレイ1の作製枚数については、下記に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができる。

つまり、スポット4を、N行M列で担持するマイクロアレイ1を作製することが可能である。即ち、1つのスポット4を担持面5上に担持した単位基板12を、N×M枚使用して一体にすることを意味している。従って、スポット4の数がN×M個となり、担持するスポット4の種類を最大N×M種類とすることが可能(N及びMは1以上の任意の整数である)となる。

1種類のスポット4から構成されるマイクロアレイ1から、全て違う種類のスポット4から構成されるマイクロアレイ1まで、スポット4の種類と数について、任意のスポット4構成をもつマイクロアレイ1を必要な数だけ作製することができる。

[0108] 1. プローブ溶液調製工程

使用されるプローブは9種類(a1～3、b1～3、c1～3)であり、各プローブを適当な溶媒(例えば、水等)に含有させて、9つのプローブ溶液(a1～3溶液、b1～3溶液、c1～3溶液)を調製する(図示せず)。

2. 定着工程

1種類のプローブ溶液を、一つの四角形基板6上に塗布する。

四角形基板6は、スポットを担持し得る担持面を有しており、四角形基板6を構成し得る材料としては、例えば、ガラス・プラスチック・金属素材等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

上記プローブ溶液調製工程にて調製した9種類のプローブ溶液(a1～3、b1～3、c1～3溶液)を、それぞれ公知の技術(例えば、インクジェット技術)を使用し、9つの四角形基板6の担持面全体に塗布する。尚、担持面に形成される層の厚さ(スポットの層の厚さ4cに相当)がそれぞれ同じとなるように、各プローブ溶液を各四角形基板6上に塗布して定着させる(図示せず)。

3. 切断工程

図9に示されるように、各プローブ(a1～3、b1～3、c1～3)を定着させた9つの四角形基板6を、その縦方向及び横方向に沿って切断して、それぞれ9つの単位基板12に切り分ける。このとき、各スポット4の横幅と縦幅が全て同じとなるように、縦方向

の切断幅（スポット4の横幅4bに相当し、その大きさは任意に設定することができる）、及び、横方向の切断幅（スポット4の縦幅4aに相当し、その大きさは任意に設定することができる）をそろえて切り分ける。

各単位基板12の担持面上には、1種類のスポット4が担持されている。また、四角形基板6は、予め分離可能に接合された複数の同じ単位基板12から構成されたものでも良い。

4．一体化工程

次いで、図9に示されるように、それぞれの四角形基板6に由来する単位基板12を1つずつ合計9つ取り出して、それら9つの単位基板12を、縦方向と横方向とに同じ順序に並べて一体にする作業を3回繰り返す。これにより、9種類のスポット4を担持した同じマイクロアレイ1を3つ作製することができる。尚、得られた複数の単位基板12を一体化する工程は、これに限定されるものではなく、得られた複数の単位基板12を任意に組み合わせた任意な並べ方で一体化することができる。

[0109] 〔その他の実施形態〕

1．図10は、上記マイクロアレイ1の作製方法（1－1）及び（2－1）を実施する際に使用される四角形基板6の別形態を示したもので、プローブ溶液には水溶液を用いるものとする。

[0110] 図10（a）は、四角形基板6の担持面にその横方向に沿って、より親水性の高い領域13と、より疎水性の高い領域14とを縦方向に交互に帯状に設けてあり、プローブ溶液をより親水性の高い領域13に塗布するように構成したものである。

両領域の表面は、たとえば素材面・フッソ樹脂処理面・アルキルシラン処理面・アミノシラン処理面・ポリリジン吸着面・ポリエチレンイミン吸着面などから2種類を選択して適宜修飾して構成される。

尚、領域13と領域14においては、上記構成に限定されず、領域13と領域14とを、それぞれプローブ溶液に対する親和性の異なる領域に形成し、交互に帯状に設ける構成であれば良い。

[0111] 図10（b）は、四角形基板6の担持面に、その横方向に沿った壁部15を、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、プローブ溶液を隣接する壁部15どうしの間に塗布

するように構成したものである。

[0112] 図10(c)は、四角形基板6の担持面に、その横方向に沿った凸部20を、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、プローブ溶液を凸部20上に塗布するように構成したものである。尚、隣接する凸部20間に形成される溝部分の表面のプローブ溶液親和性を、凸部20のプローブ溶液親和性より低くなるような処理をすることが望ましい。

[0113] 2. 図11は、上記マイクロアレイ1の作製方法(1－1)を実施する際に使用される四角形基板6の別形態と、その作製方法を示したものであり、この四角形基板6は、分離可能に接合された複数のガラス製の同じ短冊状基板2から構成されている。

[0114] 図11に示されるように、まず、短冊状基板2の表面を、撥水性シランを使用して疎水化処理する。次いでこの短冊状基板2を複数束ねて、四角形基板6を構成する。そして、四角形基板6の担持面5となる面を研磨して撥水性シランを除去して、担持面5となるガラス素材を露出させる。次いで、縦方向に所定の間隔にて、横方向に沿って帯状に表面を保護する処理を行い(マスキング部分17の形成)、帯状の残部を撥水性シラン処理する。最後にマスキング部分17を除去し、帯状ガラス面16にプローブ溶液を塗布する。

疎水化された部分と、帯状ガラス面16とでは親水性が異なるので、プローブ溶液は、帯状ガラス面16に留まり、四角形基板6上に並列に塗布された各プローブ溶液は互いに混合することはなく、プローブ溶液や各種測定試薬等が隣接する短冊状基板2間に浸透することもない。

尚、使用する短冊状基板の数や、担持面に設ける帯状ガラス面16の数などについては、図11に記載される構成に限定されるものではなく、必要に応じて任意の数を設定することが可能である。

また、帯状ガラス面16と疎水化された部分とを交互に設ける上述の構成に限定されるのではなく、プローブ溶液を塗布する領域と塗布されない領域とを、それぞれ親和性の異なる領域に形成し、交互に帯状に設ける構成であれば良い。

[0115] 3. 上記実施形態においては、複数の短冊状基板2や、単位基板12を並べて、その側面同士を適当な粘着剤等を用いて接着、あるいは圧着等して一体にする構成が記載されている。しかし、これに限定されるものではなく、複数の短冊状基板2や、単

位基板12を内部に嵌め込んで収容し得る枠体によって一体にするような構成であっても良い。

尚、複数の仕切りが設けてられている枠体において、隣接する仕切り間に短冊状基板2や、単位基板12を嵌め込んで収容して一体化するような構成である場合は、その仕切りは、非透光性の部材や、絶縁性のある部材等で構成するようにしても良い。

実施例

[0116] 以下に記載する実施例は、例示用に、小規模にマイクロアレイを製作する例を示すもので、この実施例における記載は、プローブの数、種類、マイクロアレイの構成材料、寸法諸元、表面処理方法、用途、プローブ印字機器などに関しても本発明の趣意を制約するものではない。

[0117] (実施例1)

プローブ溶液を親和性の高い領域に塗布してトランスフェクションマイクロアレイを製作した。

[0118] (基板素材(短冊状基板))

厚さ0．9mm、76mm×26mmのスライドグラス(松浪硝子工業株式会社製)32枚の0．9mm×76mm側の端面を研削して平面とし、アセトンおよびヘキサンで表面を洗浄したのち乾燥して以降の工程に供した。

[0119] (表面処理液(アルキルシラン処理液))

25℃で、精製水99g、エタノール68gおよび酢酸1．7gを混合した溶液を調製し、マグネチックスターラーで強く攪拌した。液中にデシルトリメトキシシラン(商品名KBM－3103C 信越化学工業株式会社製)1．7gを攪拌中の液が透明性を保つ速度で徐々に滴下した。さらに45分攪拌を続けてデシルトリメトキシシラン処理液を調製した。

[0120] (表面処理)

調製したデシルトリメトキシシラン処理液中に、上記スライドグラス32枚を30分間浸漬し、表面のアルキル化を行った。次いでスライドグラスを処理液から引き上げ、乾燥し、乾燥機中に100℃で12時間保って処理表面の熟成を進めた。

[0121] 次いで、32枚の前記スライドグラスの研削した端面を揃えるようにして束ねて固定し

、四角形基板を形成した。基板のプローブ担持面を研磨して担持面のデシルトリメトキシシラン処理部分を除き、ガラス素材面を得た。これを精製水とアセトンで洗浄して乾燥した。担持面の中央部分に縦方向に450μmの間隔で、横方向に沿って幅450μm66列の帯状の保護印刷面をシルクスクリーン印刷で形成した(マスキング部分を形成)。

印刷インキには、インキの乾燥後、上記シラン処理液には難溶解で、酢酸エチル溶媒に容易に溶解して除去できる孔版インキ(理想ハイメッシュインク、理想科学工業株式会社製)を用いた。乾燥した担持面をさらに上記シラン処理液に浸漬し、先と同様にして帯状の非マスキング表面をアルキル化した。

次いで帯状のマスキング部分を酢酸エチルで溶解して除去したのち、充分に水洗して乾燥した。

担持面に2種の親水性の異なる領域(450μm幅のアルキル化領域および450μm幅のガラス面領域)が66対設けられた短冊状基板32枚が得られた。この32枚の短冊状基板を2分して16枚の短冊状基板を束ねて構成される二組の四角形基板として、定着以降の工程に供した。

[0122] (プローブ溶液調製工程)

pEGFP－N1(GFP発現ベクター、濃度1mg／mL)1．5μL、リポフェクタミン2000(インビトロジェン株式会社)4．0μL、フィブロネクチン(4mg／mL)5．0μLを混合し、さらに全量が25μLになるようにDMDE培地で稀釈して、プローブ溶液1とした。同様にして、DsRed発現ベクターを用いたプローブ溶液2を作製した。

[0123] (定着工程)

上述の親水性の異なる2つの領域を、その担持面の縦方向に交互に設けてある一組の四角形基板を実験用XYテーブルに載せ、四角形基板の横方向(16枚の短冊状基板が束ねられている方向)をX方向にして固定する。

XYテーブルの上方にピペットチップを装着した生化学用ピペット(ピペットマンP2、ギルソン社)を配置し、チップからプローブ溶液を排出しながらテーブルをX方向(横方向)に移動することで四角形基板のガラス面領域に線描ができるように設定した。

ピペットにプローブ溶液1の0．7μLを吸引し、上記位置に固定した。四角形基板

上の左端のガラス面領域をピペットチップの下端に合わせ、テーブルをX方向に移動するのと同時にプローブ溶液を吐出して第一線を描いた。

四角形基板を900μm(1ピッチ分)Y方向(縦方向)に移動して同様にしてプローブ溶液2で第二線を描いた。

さらに同様にしてプローブ溶液1、2を交互に合計66本のプローブ溶液の線を描き、四角形基板上にプローブを定着させた。第二組の四角形基板についても、第一線をプローブ溶液2、第二線をプローブ溶液1とする他は第一組と同様にして66本のプローブ溶液の線を描きプローブを定着させた。

[0124] (一体化工程)

次いで、2組の上記四角形基板を解体し、第一組、第二組の四角形基板に由来する短冊状基板を1枚ずつ交互に16枚重ねて一体にすることで、二種類合計1056個(=66×16)のスポットを市松状に交互に担持した、同等のマイクロアレイ二個を作製した。マイクロアレイのスポット密度は、1056個/950(=16×0.9×66)mm^2であった。

[0125] 作製されたマイクロアレイは、トランスフェクションマイクロアレイに関する既知の方法(吉川智啓ほか、Transfection microarray of human mesenchymal stem cells and on−chip siRNA gene knockdown, Journal of Controlled Release 96(2004)227−232)に従ってトランスフェクション実験に供し、各スポットの蛍光発光を観察した。

[0126] (実施例2)

凸部を有する短冊状基板を用いて、トランスフェクションマイクロアレイを製作した。レポータープラスミドにはpEGFP−N1, pd2EGFP−N1, pHcRed, pDsRedを用いた。アレイ上の試薬パターンは、トランスフェクション後の観察で各々のレポーターが市松状に発現するように配列した。

[0127] (基板素材(短冊状基板))

厚さ0.9mmのスライドグラス(MATSUNAMI MicroSlide Glass S−7213)を実施例1と同じ方法で表面処理した後、50mm×5mmの短冊状に切断し、長辺の端面に500μmピッチで、深さ300μmの溝40本を回転歯切削で加工した。

[0128] 上記加工によって得られたガラス板を洗浄し、次いで溝切削を施した面をポリ－Ｌ－リジン化（PLL化）した。PLL化には0．01％PLL水溶液（SIGMA Poly－Ｌ－Lysine P4832）に常温で10分浸漬して処理する方法を用いた。

上記基板を16枚隣接して並べて端部を固定して、印字定着用基材とした。固定には以降に記載する細胞培養に影響がないことを前以て確認したアルミ箔材接着テープを用いた。印字定着用基材のアレイ面に構成される切削溝に挟まれた線状の凸部を試薬印字位置とした。

[0129] （プローブ溶液調製工程）

4種類のレポーター溶液を、実施例1の方法にならって調製して、プローブ溶液とした。

[0130] （定着工程）

印字定着用基板のプローブパターンは、製品アレイのパターンに対応して設定した。印字定着用基板を移動台の上に固定した。台の移動する方向をアレイ表面の印字線方向に一致させた。ピペットを基材に垂直に固定して試薬を2．5μＬ定量し、次いで基材の凸部を吐出チップの下方約0．5mmに移動し、試薬を吐出するのと同期して基材を印字線方向に移動することで、基材の凸部に試薬を線状に印字した。吐出された試薬は凸部線上に均等に広がり一様に乾燥する様子が観察された。チップは一本の試薬線を印字するたびに交換して、印字に係わる洗浄を省略した。

[0131] （一体化工程）

印字を終了して乾燥させた4種の印字定着用基板を分解して、各々の短冊状基板を順次揃えて16枚一組の市松模様を呈するアレイを組み立てた。スポットを有しないガラス側板（50mm×5mm×0．9mm）2枚を保護板として加えて、外形50mm×18mm×5mm、スポット数624を有する製品アレイを作製した。

作製されたマイクロアレイは、トランスフェクションマイクロアレイに関する既知の方法（吉川智啓ほか、Transfection microarray of human mesenchymal stem cells and on－chip siRNA gene knockdown, Journal of Controlled Release 96（2004）227－232）に従ってHeLa細胞へのトランスフェクション実験に供し、各スポットの蛍光発光を観察した。

産業上の利用可能性

[0132] 本発明は、プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法に利用できる。

図面の簡単な説明

[0133] [図1]本発明のマイクロアレイの作製方法の第1実施形態を模式的に示した斜視図

[図2]マイクロアレイの作製方法(1－1)、(2－1)、及び(2－3)を概略的に示したフローチャート

[図3]マイクロアレイの作製方法(1－1)及び(1－2)における切断工程及び一体化工程を模式的に示した図

[図4]マイクロアレイの作製方法(1－1)及び(2－1)における定着工程を模式的に示した図

[図5]マイクロアレイの作製方法(1－2)及び(2－2)を概略的に示したフローチャート

[図6]マイクロアレイの作製方法(1－2)及び(2－2)におけるプローブ合成定着工程を模式的に示した図

[図7]本発明のマイクロアレイの作製方法の第2実施形態を模式的に示した斜視図

[図8]マイクロアレイの作製方法(2－1)及び(2－2)における切断工程及び一体化工程を模式的に示した図

[図9]マイクロアレイの作製方法(2－3)における切断工程及び一体化工程を模式的に示した図

[図10]マイクロアレイの作製方法(1－1)及び(2－1)を実施する際に使用される四角形基板の別形態を模式的に示した斜視図

[図11]マイクロアレイ作製方法(1－1)を実施する際に使用される四角形基板の別形態と、その作製方法を模式的に示した図

[図12]従来のマイクロアレイを模式的に示した斜視図

符号の説明

[0134] 1 マイクロアレイ

2 短冊状基板

4 スポット

4a 縦幅

4b 横幅

4c 厚さ

5 担持面

6 四角形基板

7 供給ヘッド

8 型用基板

9 溝部

9a 溝部縦幅

9b 溝部深さ

10 孔

11 合板

12 単位基板

15 壁部

16 帯状ガラス面

17 マスキング部分

18 基板

19 線状塗布部

20 凸部

請求の範囲

[1] プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法であって、

1つ以上の前記スポットを、1つの短冊状基板上において、その長辺方向に並べて担持させ、それら複数の前記短冊状基板を並列に並べて一体にするマイクロアレイの作製方法。

[2] プローブを含有するスポットを複数担持し得るマイクロアレイの作製方法であって、

1つの前記スポットを、1つの単位基板上に担持し、複数の前記単位基板を縦方向と横方向とに並べて一体にするマイクロアレイの作製方法。

[3] 請求項1に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、前記各プローブを含有する複数のプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記複数の各プローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々前記四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して前記複数種類のプローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

(3)前記四角形基板を縦方向に沿い、且つ複数列に切断して、複数のスポットを担持する短冊状基板に切り分ける工程;

(4)別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ群について、それぞれ別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

(5)得られた複数の前記短冊状基板を任意に組み合わせて、並列に並べて一体にする工程;

を包含するマイクロアレイの作製方法。

[4] 請求項2に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)複数種類のプローブからなる一つのプローブ群について、前記各プローブを含有する複数のプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記複数の各プローブ溶液を、同じ四角形基板上に、夫々前記四角形基板の横方向に沿って線状に塗布すると共に、その線状塗布部を縦方向に並設して前記複数種類のプローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

(3)前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持

する単位基板に切り分ける工程;

(4)別の複数種類のプローブからなる複数のプローブ群について、それぞれ別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

(5)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含するマイクロアレイの作製方法。

[5] 前記工程(2)において、前記四角形基板上に、その横方向に沿って、プローブ溶液に対する親和性の異なる領域を縦方向に交互に帯状に設けてあり、前記プローブ溶液を親和性の高い領域に塗布する請求項3又は4に記載のマイクロアレイの作製方法。

[6] 前記工程(2)において、前記四角形基板上にその横方向に沿った壁部が、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、前記プローブ溶液を隣接する前記壁部どうしの間に塗布する請求項3又は4に記載のマイクロアレイの作製方法。

[7] 前記工程(2)において、前記四角形基板上にその横方向に沿った凸部が、縦方向に所定の間隔にて複数設けてあり、前記プローブ溶液を凸部上に塗布する請求項3又は4に記載のマイクロアレイの作製方法。

[8] 請求項1に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)四角形基板と、前記四角形基板上に配置可能であり、且つ横方向に沿った溝部が縦方向に所定の間隔にて複数設けてある型用基板とを、前記溝部を設けた面が内側に位置するように互いに張り合わせて前記溝部によって複数の孔を形成し、前記各孔の中にプローブ合成液を流し、化学反応を生じさせることによって、前記孔毎にその内部でプローブを合成して、前記複数の各孔に対応する複数種類の各プローブを前記四角形基板上に、その縦方向に並列に定着させる工程;

(2)前記型用基板を取り外し、前記四角形基板を縦方向に沿って切断して、複数のスポットを担持する短冊状基板に切り分ける工程;

(3)別の複数種類のプローブを夫々別の四角形基板上に合成するようにして上記工程(1)～(2)を繰り返す工程;及び

(4)得られた複数の前記短冊状基板を任意に組み合わせて、並列に並べて一体

にする工程;

を包含するマイクロアレイの作製方法。

[9] 請求項2に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)四角形基板と、前記四角形基板上に配置可能であり、且つ横方向に沿った溝部を縦方向に所定の間隔にて複数設けてある型用基板とを、前記溝部を設けた面が内側に位置するように互いに張り合わせて前記溝部によって複数の孔を形成し、前記各孔の中にプローブ合成液を流し、化学反応を生じさせることによって、前記孔毎にその内部でプローブを合成して、前記複数の各孔に対応する複数種類の各プローブを前記四角形基板上に、その縦方向に並列に定着させる工程;

(2)前記型用基板を取り外し、前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持する単位基板に切り分ける工程;

(3)別の複数種類のプローブを夫々別の四角形基板上に合成するようにして上記工程(1)～(2)を繰り返す工程;及び

(4)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含するマイクロアレイの作製方法。

[10] 請求項2に記載されるマイクロアレイの作製方法であって、

(1)プローブを含有するプローブ溶液を調製する工程;

(2)前記プローブ溶液を四角形基板上に塗布して、前記プローブを前記四角形基板上に定着させる工程;

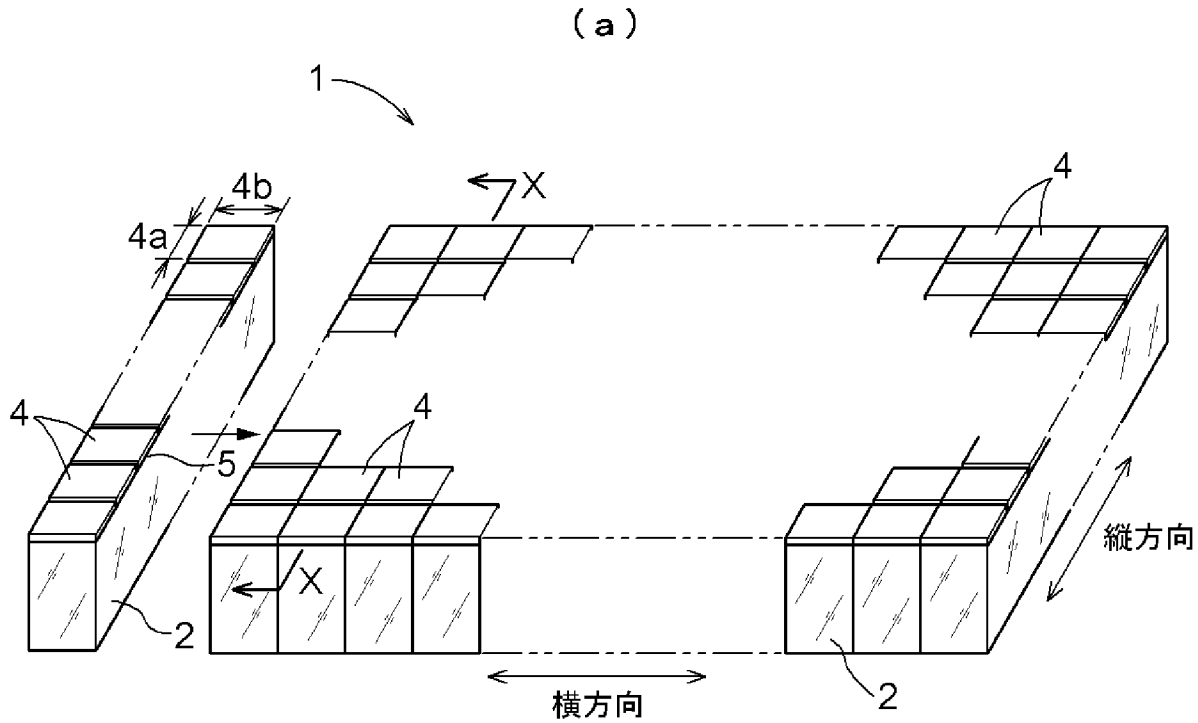
(3)前記四角形基板を縦方向及び横方向に沿って切断して、1つのスポットを担持する単位基板に切り分ける工程;

(4)別の種類のプローブを含有するプローブ溶液について、別の四角形基板を用いて上記工程(1)～(3)を繰り返す工程;及び

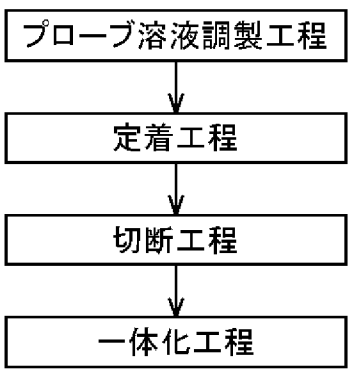
(5)得られた複数の前記単位基板を任意に組み合わせて、縦方向と横方向とに並べて一体にする工程;

を包含するマイクロアレイの作製方法。

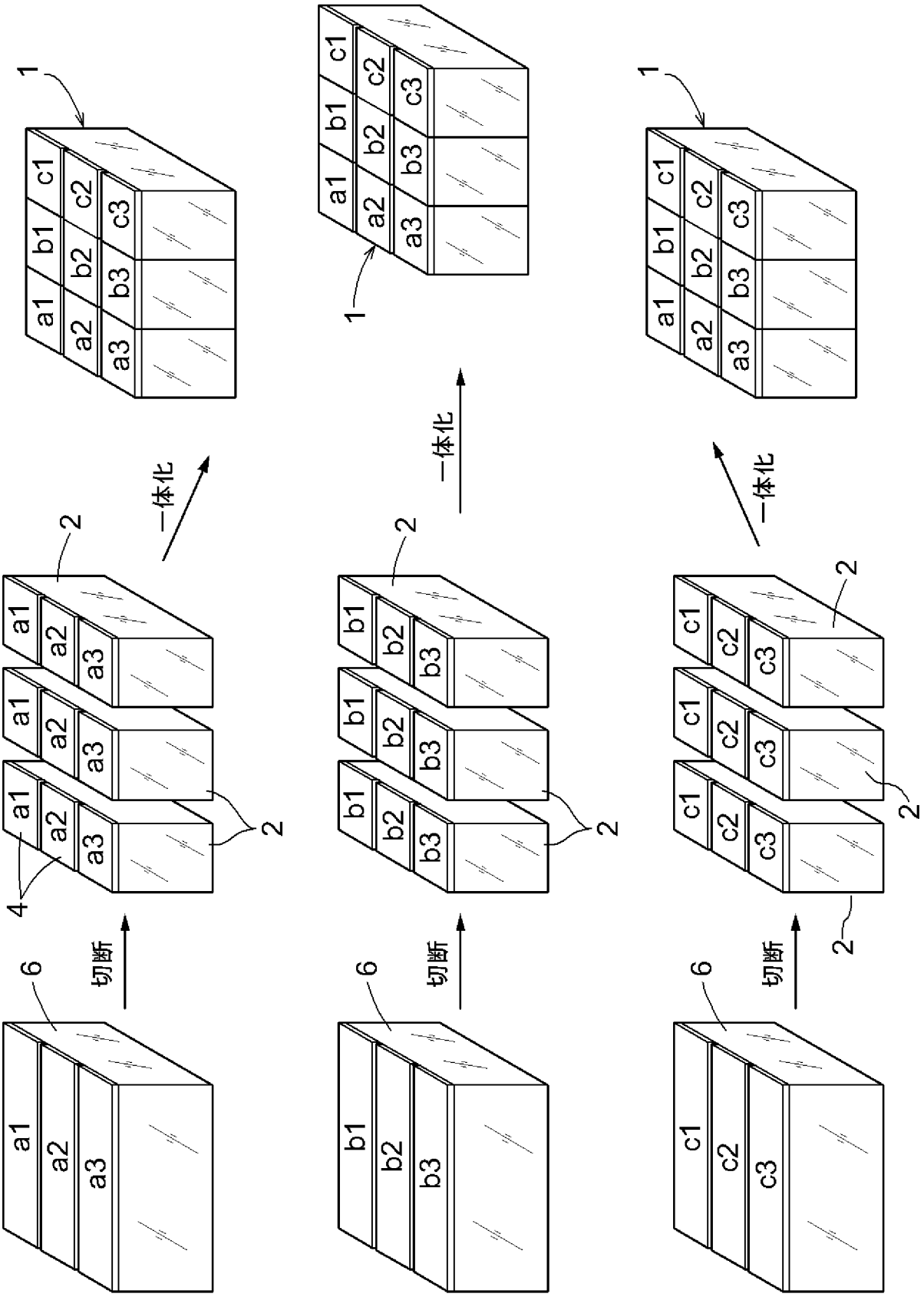
[図1]


（a）
1
4b
4a
X
4
4
5
4
X
2
横方向
2
縦方向
（b）
4
5
4
5
4c
2
2

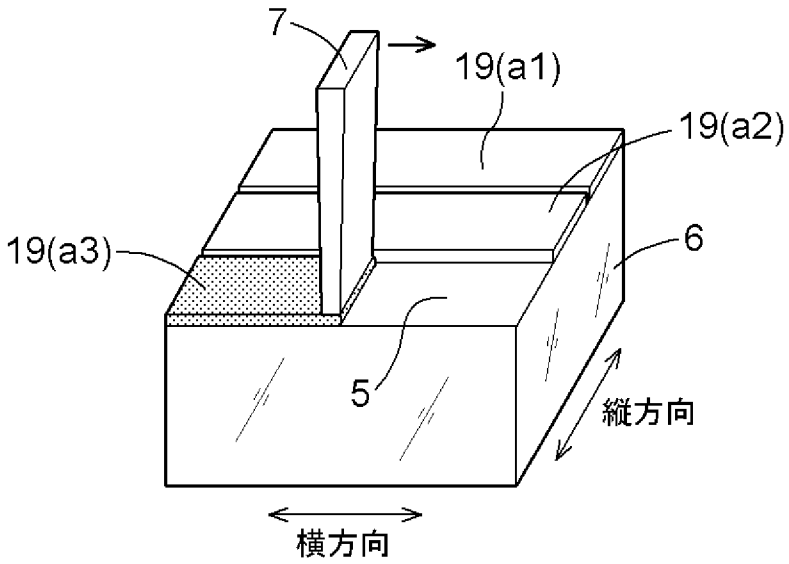
[図2]


プローブ溶液調製工程
定着工程
切断工程
一体化工程

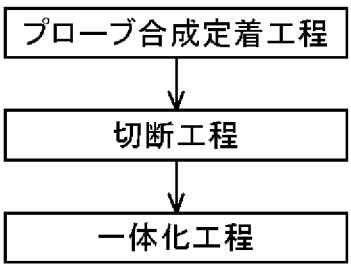
[図3]



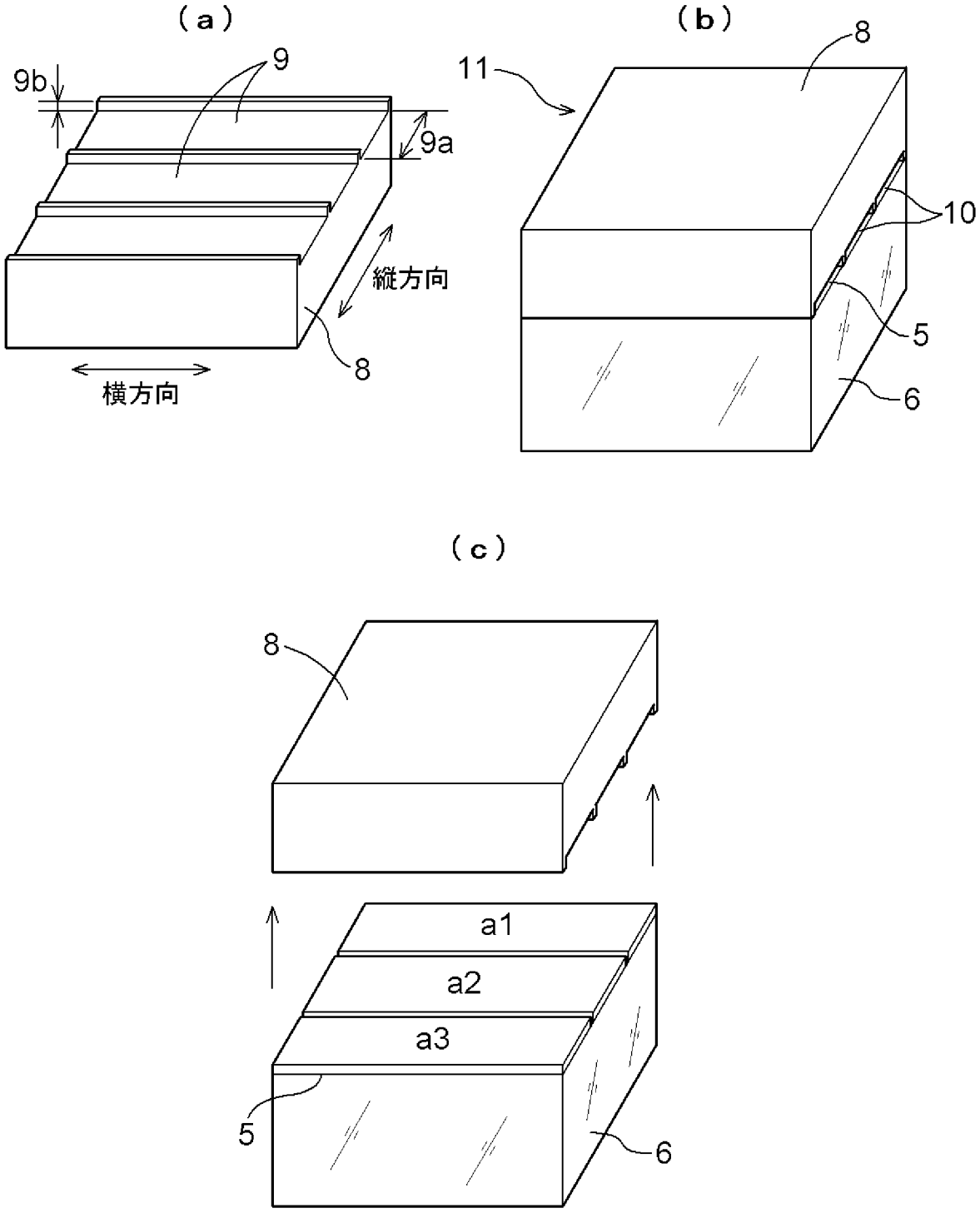
[図4]



[図5]

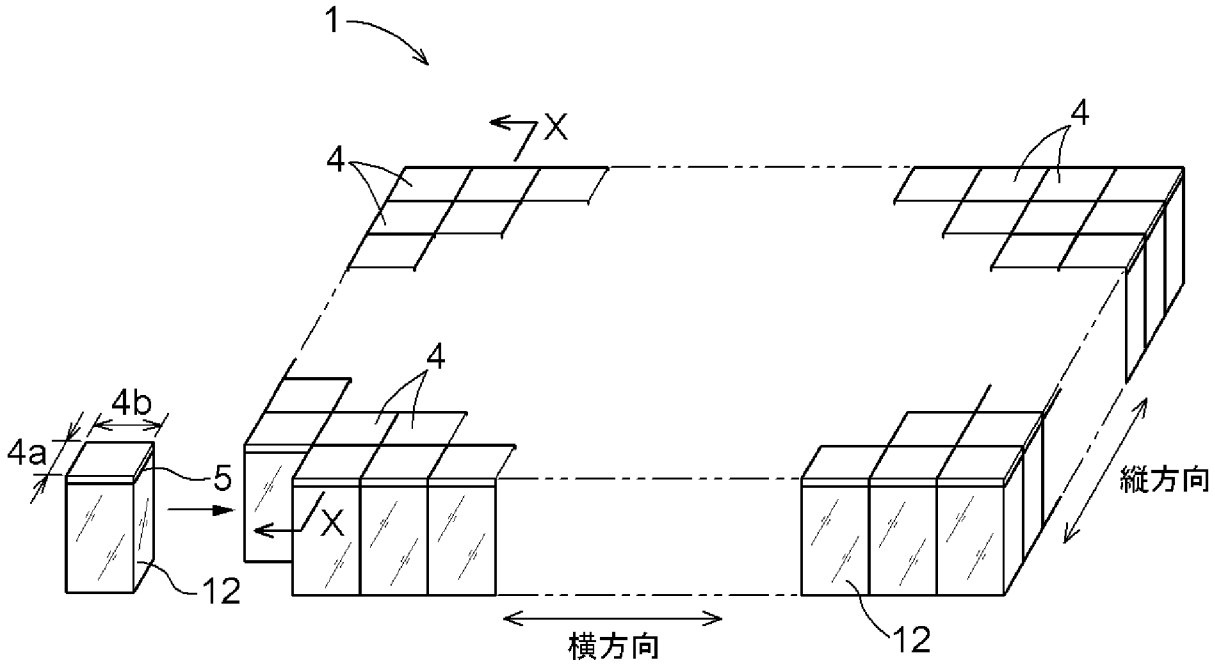


[図6]

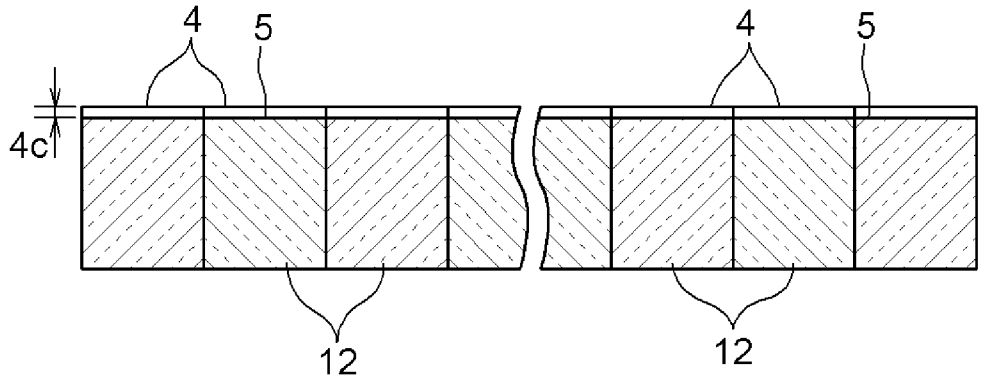


[図7]

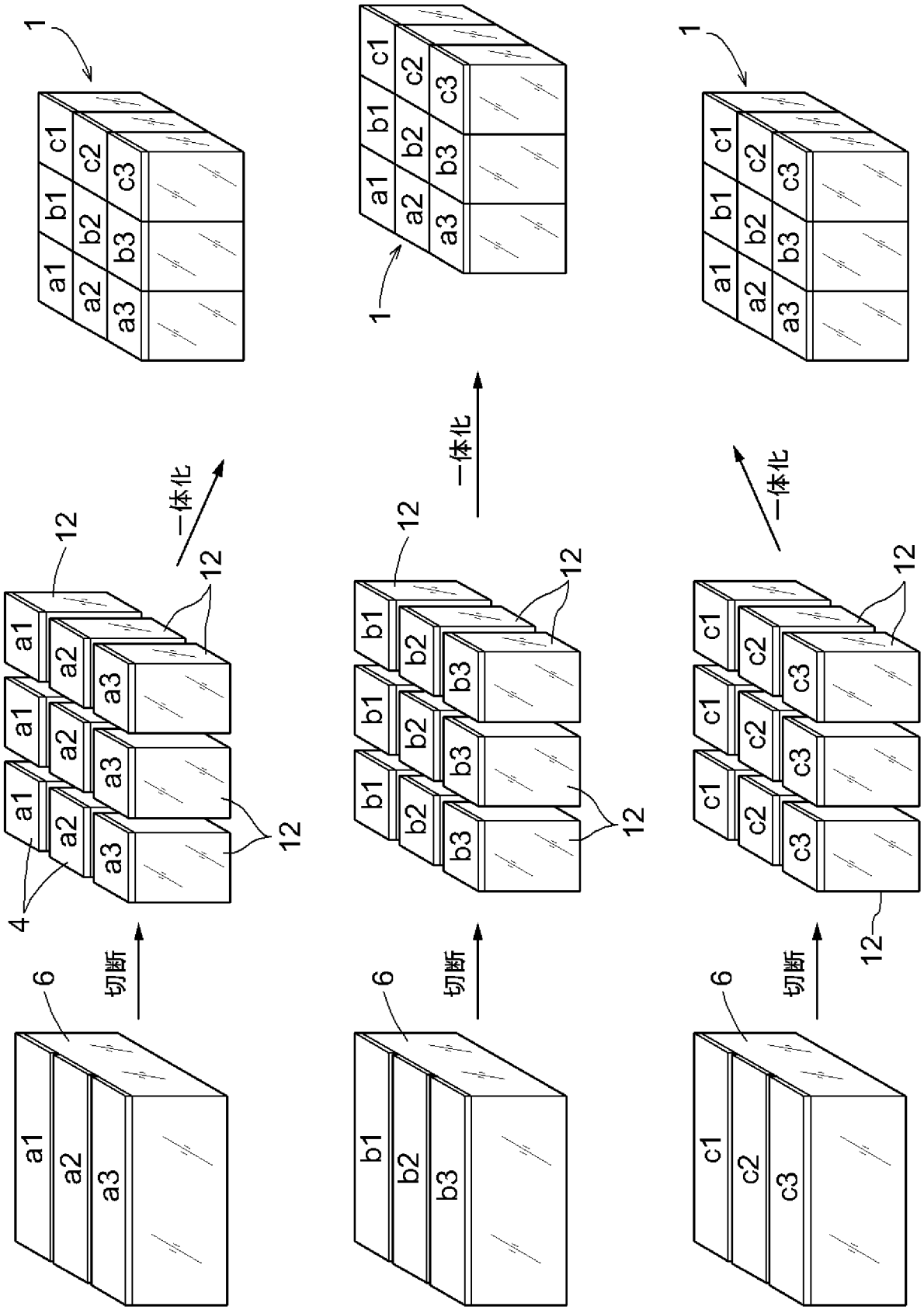
（ａ）



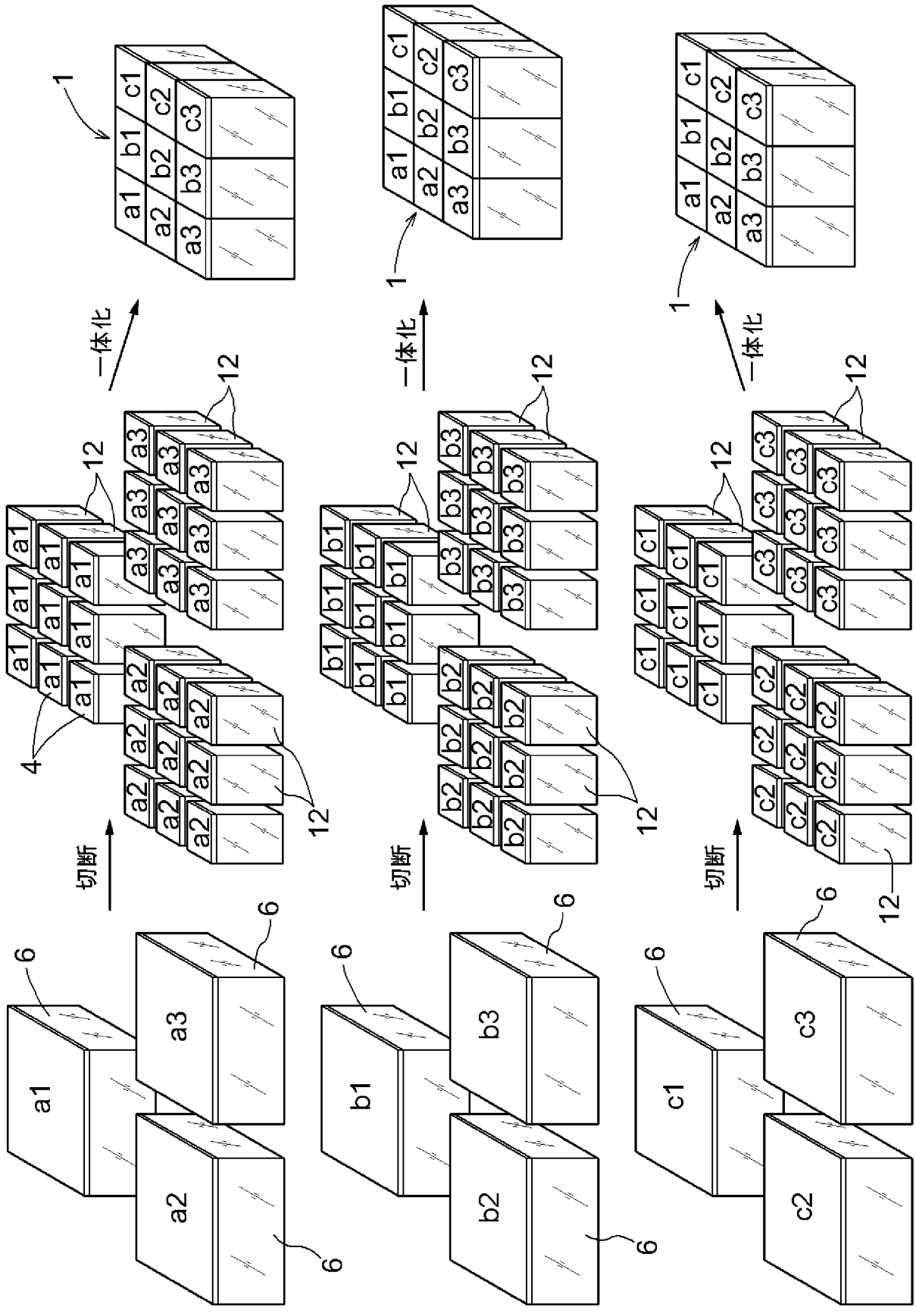
（ｂ）



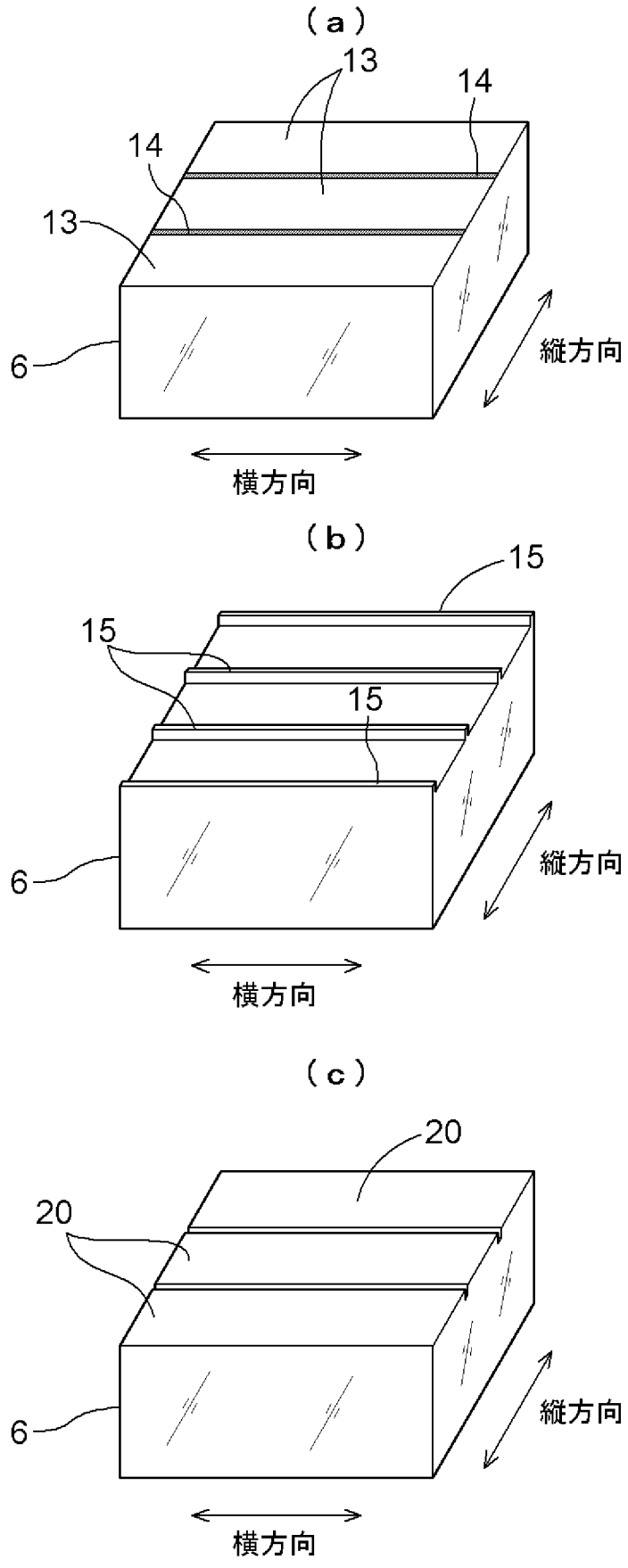
[図8]



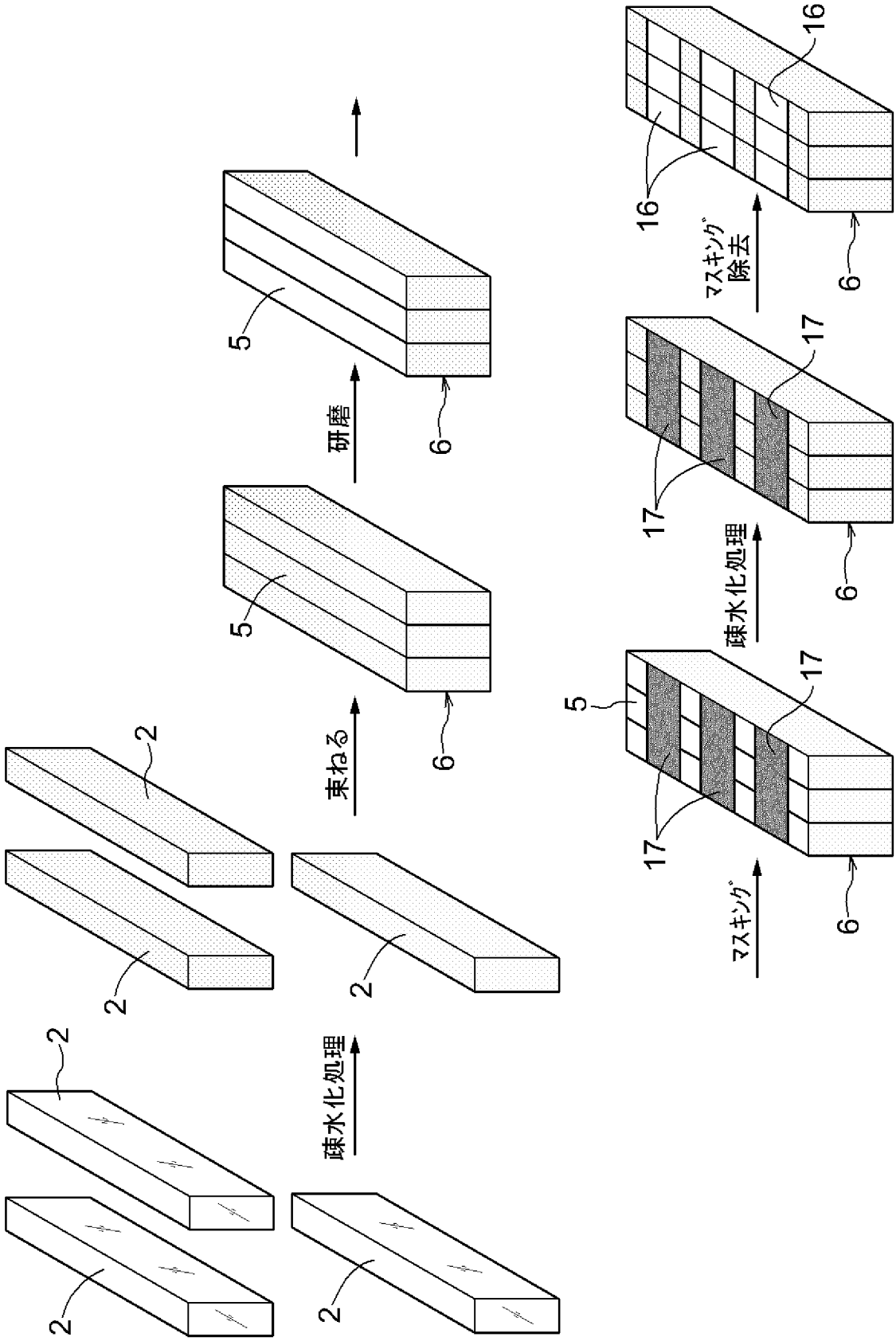
[図9]



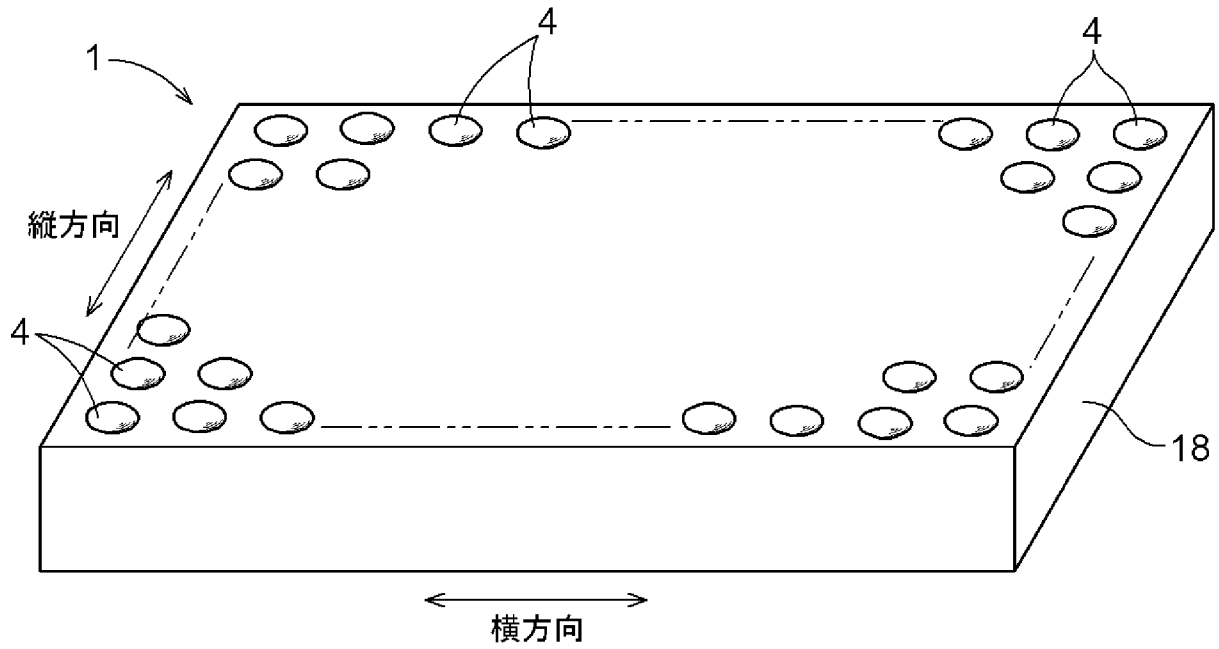
[図10]



[図11]


2
2
2
2
2
2
束ねる
5
6
研磨
5
6
疎水化処理
17
17
6
マスキング
16
16
6
マスキング除去
5
17
17
6
疎水化処理

[図12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/061852

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N35/02(2006.01)i, *G01N37/00*(2006.01)i

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)
G01N35/02, G01N37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JAPICDOC(JDream2), JCATALOG(JDream2), JCHEM(JDream2), JMEDPlus(JDream2), JST7580(JDream2), JSTPlus(JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 10-185923 A (Hewlett-Packard Co.), 14 July, 1998 (14.07.98), Full text; all drawings & US 6875620 B1 & GB 2319838 A & DE 19740263 A	1-2,10 3-7 8-9
X Y A	JP 2002-098697 A (Ebara Corp.), 05 April, 2002 (05.04.02), Full text; all drawings & US 2001/0039072 A1 & EP 1139100 A2	1-2,10 3-7 8-9
X Y A	JP 2002-131327 A (President of Japan Advanced Institute of Science and Technology, Hokuriku), 09 May, 2002 (09.05.02), Par. Nos. [0005], [0008] to [0009]; Fig. 1 (Family: none)	1-2,10 3-7 8-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent 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
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 September, 2007 (11.09.07)	25 September, 2007 (25.09.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/061852

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	WO 2003/102535 A2 (BIOMICROARRAYS INC.), 11 December, 2003 (11.12.03), Full text; all drawings & US 2003/0224506 A1	1-2,10 3-7 8-9
Y	JP 2002-082121 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 22 March, 2002 (22.03.02), Par. Nos. [0019], [0042]; Fig. 6 (Family: none)	3-7
Y	JP 2003-519784 A (GENOSPECTRA, INC.), 24 June, 2003 (24.06.03), Par. Nos. [0035], [0091]; Figs. 1, 4 & US 2001/0051714 A1 & EP 1248678 A & WO 2001/051207 A1	3-7
Y	JP 2003-329678 A (Kyocera Corp.), 19 November, 2003 (19.11.03), Par. Nos. [0017], [0026]; Figs. 1 to 2 (Family: none)	3-7
Y	WO 2004/088325 A2 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE), 14 October, 2004 (14.10.04), Description, page 11, lines 13 to 31 & EP 1606629 A & JP 2006-521567 A	5
Y	JP 2003-083974 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 19 March, 2003 (19.03.03), Figs. 8, 9 & US 2002/0197568 A1 & EP 1267169 A2 & EP 1445613 A2	6
Y	WO 2004/102194 A1 (Toray Industries, Inc.), 25 November, 2004 (25.11.04), Example 8 & EP 1626276 A1	7
A	JP 2005-113136 A (The Foundation for the Promotion of Industrial Science), 28 April, 2005 (28.04.05), Claims & JP 2005-114706 A	8-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/061852

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

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

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Documents of JP 10-185923 A and the like revealed that the invention in claims 1 and 2 is not novel. Therefore, the invention in claims 1 and 3 and claims 5-7 belonging to claim 3, the invention in claims 2 and 4 and claims 5-7 belonging to claim 4, the invention in claim 8, the invention in claim 9 and the invention in claim 10 do not satisfy the requirement of unity of invention.

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.:

Remark on Protest

the

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０６１８５２

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N35/02(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N35/02, G01N37/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２００７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００７年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JAPICDOC(JDream2), JCATALOG(JDream2), JCHEM(JDream2), JMEDPlus(JDream2), JST7580(JDream2), JSTPlus(JDream2)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
X	JP 10-185923 A(ヒューレット・パッカード・カンパニー) 1998.07.14,	1-2,10
Y	全文、全図 & US 6875620 B1 & GB 2319838 A & DE 19740263 A	3-7
A		8-9
X	JP 2002-098697 A（株式会社荏原製作所）2002.04.05, 全文、全図 &	1-2,10
Y	US 2001/0039072 A1 & EP 1139100 A2	3-7
A		8-9
X	JP 2002-131327 A（北陸先端科学技術大学院大学長）2002.05.09,	1-2,10

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー

「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 １１．０９．２００７	国際調査報告の発送日 ２５．０９．２００７
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	特許庁審査官（権限のある職員）　２Ｊ　３９０７ ▲高▼見　重雄 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５２

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
Y	【0005】、【0008】－【0009】、【図１】（ファミリーなし）	3-7
A		8-9
X	WO 2003/102535 A2 (BIOMICROARRAYS INC) 2003.12.11, 全文、全図	1-2,10
Y	& US 2003/0224506 A1	3-7
A		8-9
Y	JP 2002-082121 A (富士写真フイルム株式会社) 2002.03.22, 【0019】、【0042】、【図６】（ファミリーなし）	3-7
Y	JP 2003-519784 A（ゲノスペクトラ・インク）2003.06.24, 【0035】、【0091】【図１】、【図４】 & US 2001/0051714 A1 & EP 1248678 A & WO 2001/051207 A1	3-7
Y	JP 2003-329678 A（京セラ株式会社）2003.11.19, 【0017】、【0026】、【図１】－【図２】（ファミリーなし）	3-7
Y	WO 2004/088325 A2 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) 2004.10.14, 明細書第11頁第13-31行 & EP 1606629 A & JP 2006-521567 A	5
Y	JP 2003-083974 A (富士写真フイルム株式会社) 2003.03.19, 【図８】、【図９】 & US 2002/0197568 A1 & EP 1267169 A2 & EP 1445613 A2	6
Y	WO 2004/102194 A1（東レ株式会社）2004.11.25, 実施例８ & EP 1626276 A1	7
A	JP 2005-113136 A（財団法人生産技術研究奨励会）2005.04.28, 特許請求の範囲 & JP 2005-114706 A	8-9

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０６１８５２

第Ⅱ欄　請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの２の続き）

法第8条第3項（ＰＣＴ17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

１．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、

２．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

３．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、従属請求の範囲であってＰＣＴ規則6.4(a)の第２文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲１，２に係る発明は、JP 10-185923 A等により新規でないことが明らかになった。したがって、請求の範囲１，３，及び請求の範囲３に従属する請求の範囲５～７に係る発明と、請求の範囲２，４，及び請求の範囲４に従属する請求の範囲５～７に係る発明と、請求の範囲８に係る発明と、請求の範囲９に係る発明と、請求の範囲１０に係る発明とは、発明の単一性の要件を満たしていない。

１．☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

２．☑ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

３．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

４．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。