

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6636455号
(P6636455)

(45) 発行日 令和2年1月29日 (2020.1.29)

(24) 登録日 令和1年12月27日 (2019.12.27)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 27/00 (2006.01)
C 1 2 M 1/00 (2006.01)GO 1 N 27/00 Z
C 1 2 M 1/00 A

請求項の数 29 (全 33 頁)

(21) 出願番号 特願2016-565939 (P2016-565939)
 (86) (22) 出願日 平成27年1月23日 (2015.1.23)
 (65) 公表番号 特表2017-509899 (P2017-509899A)
 (43) 公表日 平成29年4月6日 (2017.4.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2015/052601
 (87) 国際公開番号 W02015/111760
 (87) 国際公開日 平成27年7月30日 (2015.7.30)
 審査請求日 平成30年1月22日 (2018.1.22)
 (31) 優先権主張番号 特願2014-11430 (P2014-11430)
 (32) 優先日 平成26年1月24日 (2014.1.24)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 日本国 (JP)

(73) 特許権者 504176911
 国立大学法人大阪大学
 大阪府吹田市山田丘1番1号
 (74) 代理人 100079108
 弁理士 稲葉 良幸
 (74) 代理人 100109346
 弁理士 大貫 敏史
 (74) 代理人 100117189
 弁理士 江口 昭彦
 (74) 代理人 100134120
 弁理士 内藤 和彦
 (74) 代理人 100126480
 弁理士 佐藤 睦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体分子配列決定装置、システムおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

生体分子を含む試料がナノチャネルを通して移動することを可能にするナノチャネルと、
 前記ナノチャネルのナノギャップ電極の複数の組であって、前記ナノギャップ電極の複数
 の組のそれぞれが、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナ
 ノギャップ電極の複数の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするよ
 うに構成され、前記ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも2つの組が、前記ナノチャ
 ネルの幅に沿って異なる電極間距離を有するナノギャップ電極の複数の組と、
 前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノチャネルの前記ナノギャップ電極の複
 数の組に近接して動くように電界を提供する電気泳動電極の組と、
 前記ナノチャネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の複数の組
 の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタと、

を備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャネルと流体連通している第1の流路と第2の流路
 を生成するように構成され、

前記フローディレクタによって、前記試料の一部が前記第1の流路から前記ナノチャネル
 へ流され、前記試料の残りの部分が前記第1の流路から前記第2の流路へ流される、生体
 分子配列決定装置。

【請求項2】

前記ナノギャップ電極の複数の組のそれぞれと連通し、前記生体分子が前記ナノギャップ

電極の複数の組の近傍を通過するときに生成される前記電流を検出するように構成された測定部と、

前記測定部と連通し、前記生体分子またはその一部を識別するように構成された識別部と、

をさらに備える、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 3】

前記生体分子は、複数の単量体を含み、前記識別部は、少なくとも 1 つの既知のタイプの単量体の基準物理量と、前記測定部により測定された前記電流から得られた物理量に基づいて、前記複数の単量体を識別するように構成された請求項 2 に記載の生体分子配列決定装置。

10

【請求項 4】

前記生体分子の直線化を可能にする、前記第 1 の流路および / または前記第 2 の流路に 1 または 2 以上の柱をさらに備える、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 5】

前記 1 または 2 以上の柱は、複数の柱を含む、請求項 4 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 6】

前記第 1 の流路、前記第 2 の流路および前記ナノチャネルは、実質的に同じ面にある、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 7】

前記電流は、トンネル電流を含む、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

20

【請求項 8】

前記ナノギャップ電極の複数の組の所定の組は、少なくとも 2 つの電極を有する、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 9】

前記電気泳動電極の組は、少なくとも 2 つの電極を有する、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 10】

前記ナノギャップ電極の複数の組と前記電気泳動電極の組とは、単一ユニットとして一体化されている、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 11】

前記ナノギャップ電極の複数の組の所定の組の電極は、少なくとも 1 つの固体絶縁体により前記電気泳動電極から分離されている、請求項 10 に記載の生体分子配列決定装置。

30

【請求項 12】

前記生体分子の直線化を可能にする、前記ナノチャネルに 1 または 2 以上の柱をさらに備える請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 13】

前記 1 または 2 以上の柱は、複数の柱を含む、請求項 12 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 14】

前記ナノチャネルは、前記ナノギャップ電極の複数の組に向かってテーパ状である、請求項 1 乃至 13 のいずれかに記載の生体分子配列決定装置。

40

【請求項 15】

前記ナノギャップ電極の複数の組の所定の組は、前記生体分子の分子直径より小さいまたは等しい電極間距離を有する、請求項 1 に記載の生体分子配列決定装置。

【請求項 16】

生体分子を含む試料がナノチャネルを通過して移動することを可能にするナノチャネルと、前記ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも 1 つの組であって、前記ナノギャップ電極の組が、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通過して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成され、前記ナノチャネルは、前記ナノギャップ電極の組の方へテーパ状となり、前記ナノギャ

50

ップ電極の組は、前記生体分子の分子直径より小さいまたは等しい電極間距離を有するナノギャップ電極の少なくとも1つの組と、

前記ナノチャネルを通して、前記ナノチャネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、

前記ナノチャネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタと、

を備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャネルと流体連通している第1の流路と第2の流路を生成するように構成され、

前記フローディレクタによって、前記試料の一部が前記第1の流路から前記ナノチャネルへ流され、前記試料の残りの部分が前記第1の流路から前記第2の流路へ流される、生体分子配列決定装置。

10

【請求項17】

生体分子を含む試料がナノチャネルを通して移動することを可能にするナノチャネルと、前記ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも1つの組であって、前記ナノギャップ電極の組が、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成されたナノギャップ電極の少なくとも1つの組と、

前記ナノチャネルを通して、前記ナノチャネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、

20

前記ナノチャネルのまたは近傍の1つまたは複数の柱であって、前記ナノギャップ電極の組による電流検出を使用し前記生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にするために前記生体分子を直線化する1つまたは複数の柱と、

前記ナノチャネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタと、

を備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャネルと流体連通している第1の流路と第2の流路を生成するように構成され、

前記フローディレクタによって、前記試料の一部が前記第1の流路から前記ナノチャネルへ流され、前記試料の残りの部分が前記第1の流路から前記第2の流路へ流される、生体分子配列決定装置。

30

【請求項18】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャネルへまたはナノチャネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャネルのナノギャップ電極の複数の組であって、前記ナノギャップ電極の複数の組のそれぞれが、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の複数の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成され、前記ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも2つの組が、前記ナノチャネルの幅に沿って異なる電極間距離を有するナノギャップ電極の複数の組と、(ii) 前記ナノチャネルを通して、前記ナノチャネルの前記ナノギャップ電極の複数の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、を含み、生体分子を方向づけることと、

40

(b) 前記ナノギャップ電極の複数の組で、前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の複数の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、

(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

を含み、

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の複数の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、

50

前記フローディレクタは、前記ナノチャネルと流体連通している第 1 の流路と第 2 の流路を生成するように構成され、

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第 1 の流路から前記ナノチャネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第 1 の流路から前記第 2 の流路へ流すことを含む、生体分子配列決定方法。

【請求項 1 9】

前記生体分子は、複数の単量体を含み、前記配列決定は、少なくとも 1 つの既知のタイプの単量体の基準物理量と、(b) で検出された前記電流から得られた物理量に基づいて、前記複数の単量体を識別することを含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記生体分子の直線化を可能にする、前記第 1 の流路および / または前記第 2 の流路に 1 または 2 以上の柱をさらに備える、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記電流は、トンネル電流を含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記ナノチャネルに前記生体分子を直線化する 1 または 2 以上の柱をさらに備える、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記ナノチャネルは、前記ナノギャップ電極の複数の組に向かってテーパ状である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記生体分子は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドである、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 5】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャネルへまたはナノチャネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも 1 つの組であって、前記ナノギャップ電極の組が、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成され、前記ナノチャネルは、前記ナノギャップ電極の組に向かってテーパ状であり、前記生体分子の分子直径より小さいまたは等しい電極間距離を有するナノギャップ電極の組と、(i i) 前記ナノチャネルを通して、前記ナノチャネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、を含み、生体分子を方向づけることと、

(b) 前記ナノギャップ電極の組で、前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、

(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

を備え、

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャネルと流体連通している第 1 の流路と第 2 の流路を生成するように構成され、

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第 1 の流路から前記ナノチャネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第 1 の流路から前記第 2 の流路へ流すことを含む、生体分子配列決定方法。

【請求項 2 6】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャネルへまたはナノチャネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも 1 つの組であって、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検

10

20

30

40

50

出することを可能にするように構成されたナノギャップ電極の組と、(i i) 前記ナノチャンネルへまたは前記ナノチャンネルを通して、前記ナノチャンネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、(i i i) 前記ナノチャンネルのまたは近傍の 1 または 2 以上の柱であって、前記ナノギャップ電極の組による電流検出を使用し前記生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にするために前記生体分子を直線化する 1 または 2 以上の柱と、を含み、生体分子を方向づけることと、

(b) 前記ナノギャップ電極の組で、前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、

(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

10

を備え、

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャンネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、
前記フローディレクタは、前記ナノチャンネルと流体連通している第 1 の流路と第 2 の流路を生成するように構成され、

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第 1 の流路から前記ナノチャンネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第 1 の流路から前記第 2 の流路へ流すことを含む、生体分子配列決定方法。

【請求項 27】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャンネルへまたはナノチャンネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャンネルのナノギャップ電極の複数の組であって、前記ナノギャップ電極の複数の組のそれぞれが、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の複数の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成され、前記ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも 2 つの組が、前記ナノチャンネルの幅に沿って異なる電極間距離を有するナノギャップ電極の複数の組と、(i i) 前記ナノチャンネルへまたは前記ナノチャンネルを通して、前記ナノチャンネルの前記ナノギャップ電極の複数の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、を含む、生体分子を方向づけることと、

20

(b) 前記ナノギャップ電極の複数の組で、前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の複数の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、

30

(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

を含む生体分子配列決定方法を実行する 1 つ以上のコンピュータプロセッサによって実行可能なコードを備え、

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャンネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の複数の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャンネルと流体連通している第 1 の流路と第 2 の流路を生成するように構成され、

40

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第 1 の流路から前記ナノチャンネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第 1 の流路から前記第 2 の流路へ流すことを含む、コンピュータ可読媒体。

【請求項 28】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャンネルへまたはナノチャンネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャンネルのナノギャップ電極の少なくとも 1 つの組であって、前記ナノギャップ電極の組が、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成され、前記ナノチャネ

50

ルは、前記ナノギャップ電極の組に向かってテーパ状であり、前記生体分子の分子直径により小さいまたは等しい電極間距離を有するナノギャップ電極の組と、(i i) 前記ナノチャンネルを通して、前記ナノチャンネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、を含む、生体分子を方向づけることと、(b) 前記ナノギャップ電極の組で、前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

を含む生体分子配列決定方法を実行する1つ以上のコンピュータプロセッサによって実行可能なコードを備え、

10

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャンネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャンネルと流体連通している第1の流路と第2の流路を生成するように構成され、

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第1の流路から前記ナノチャンネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第1の流路から前記第2の流路へ流すことを含む、コンピュータ可読媒体。

【請求項29】

(a) 生体分子配列決定装置のナノチャンネルへまたはナノチャンネルを通して流れる生体分子を方向づけることであって、前記生体分子配列決定装置は、(i) 前記ナノチャンネルのナノギャップ電極の少なくとも1つの組であって、前記試料に含まれる前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに、電流を検出することを可能にするように構成されたナノギャップ電極の組と、(i i) 前記ナノチャンネルへまたは前記ナノチャンネルを通して、前記ナノチャンネルの前記ナノギャップ電極の組に近接して前記生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組と、(i i i) 前記ナノチャンネルのまたは近傍の1または2以上の柱であって、前記ナノギャップ電極の組による電流検出を使用し前記生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にするために前記生体分子を直線化する1または2以上の柱とを含む、生体分子を方向づけることと、

20

(b) 前記ナノギャップ電極の組で、前記生体分子が前記ナノチャンネルを通して前記ナノギャップ電極の組の近傍を通過するときに生成される電流を検出することと、

30

(c) (b) で検出した前記電流で、前記生体分子またはその一部を配列決定することと、

を含む生体分子配列決定方法を実行する1つ以上のコンピュータプロセッサによって実行可能なコードを備え、

前記生体分子配列決定装置は、前記ナノチャンネルを通して前記試料の移動方向に沿って前記ナノギャップ電極の組の方へ延在する絶縁体であるフローディレクタをさらに備え、

前記フローディレクタは、前記ナノチャンネルと流体連通している第1の流路と第2の流路を生成するように構成され、

(a) は、前記フローディレクタによって、前記試料の一部を前記第1の流路から前記ナノチャンネルへ流し、前記試料の残りの部分を前記第1の流路から前記第2の流路へ流すことを含む、コンピュータ可読媒体。

40

【発明の詳細な説明】

【技術の分野】

【0001】

本発明は、生体分子を配列決定するための装置、システムおよび方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、配列決定(シーケンシング)は、生物学的分子、特に、バイオポリマー、例えば、タンパク質を構成するアミノ酸配列、核酸を構成するヌクレオチド配列、糖鎖を構成

50

する単糖の配列等を構成する単量体（モノマー）の順序を決定するために使用されてきた。例えば、タンパク質配列は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、質量分析、X線結晶構造解析を、エドマン分解法などを用いて測定され、これは、酵素的分解に基づいていてもよい。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

トンネル電流を用いて単一分子を識別する単一分子電氣的測定方法は、試料分子の局所的な状態密度を直接測定することによって単一分子を識別可能とするための方法である。しかし、本明細書においては、電氣的測定方法に関連する種々の制限が認識される。試料分子の自然拡散に基づく方法では、従来の単一分子電氣的測定法に、試料分子を導入する方法と同様に、試料分子の多くは、試料分子に関連する信号の測定中に感知電極を通過することなくコースや方向を変更して拡散できる。これは誤った結果および効率的な決定につながる可能性がある。1つの問題は、糖鎖、ペプチド鎖、核酸塩基を有するバイオポリマーの配列決定のために必要になりうる長いリード（read）は実行するのが困難で、配列決定が短いリードに限定されるということである。感知（センシング）電極間の分子の通過頻度が低く、分子検出の精度が低いという問題もある。

【0004】

溶媒に溶解した試料分子を導入するために、ポンプ、圧力、又は電気浸透流を用いて導入する方法があるが、これらの方法のどれもが分子スケールで制御することができる、安定した流れを誘導できない。電気泳動制御システムでは、分子はチャネル容量全体にわたって均一に拡散することがあるので、単に検出電極との間の通過頻度を増大させるには不十分である。トンネル電流を使用するいくつかの従来の単一分子電気測定方法を利用することの欠点は、このような方法は、高濃度の純粋試料溶液が利用可能である場合に再配列決定にのみ使用可能である点である。

【0005】

本開示は、生体分子配列決定のための装置（デバイス）、方法およびシステムが、現在利用可能な方法及びシステムで、種々の問題を解決することを提供する。本明細書に提供する方法およびシステムは、現在利用可能な実質的に高精度で生体分子および他の方法およびシステムと比較して、高スループットの配列決定を可能にする。本発明の方法およびシステムは、比較的長いリード長の配列決定を可能とし、他の方法及びシステムでの配列決定の実質的な増強を提供することを可能にする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

一態様では、生体分子配列決定装置は以下を含む：少なくとも1つのナノギャップ電極対；少なくとも1つの電気泳動電極対；第1の流路；と第2流路。少なくとも一つナノギャップ電極対では、試料中に含まれる1つ以上の生体分子が、ナノギャップ電極対の電極間を通過するときにトンネル電流が流れるように電極が配置されている。生体分子は、少なくとも1種類の単一単量体が接続されて形成されている。少なくとも1つの電気泳動電極対は、電場を形成するために配置され、ナノギャップ電極対の電極間の生体分子を移動できるようにする。第1の流路は、少なくとも1つ以上のナノチャネルのナノギャップ電極対間に向かった方向に試料の一部を流す。第2の流路は、1つまたは複数のナノギャップ電極対を含む1つまたは複数のナノチャネルへの入口を通過する方向に試料の少なくとも一部を流す。生体分子配列決定装置はさらに、1つまたは複数の測定部と、識別部を含むことができる。1又は複数の測定部は、生体分子が電気泳動電極対間への電圧の印加によって前記生体分子を移動方向に移動するように形成された電界を利用して、第1の流路を通してナノギャップ電極対の電極間を通過するときに発生するトンネル電流を測定するように構成されている。識別部は、種類が知られている少なくとも1種の単量体の基準物理量と、測定部によって測定されたトンネル電流から得られた検出物理量に基づいて生体分子を含む少なくとも1種の単量体を識別するように構成される。

【0007】

本発明によれば、生体分子配列決定装置は、1つ以上の電気泳動電極対と、ナノチャンネルにおいて1つ以上のナノギャップ電極対との間に試料の少なくとも一部を流す第1の流路と、ナノチャンネルへの入口通過方向に試料の少なくとも一部を流す1つ以上のナノギャップ電極対を含む第2の流路とを含んでもよい。従って、ナノギャップ電極対間を単一分子が移動する効率は、試料分子に印加される電界の増加の結果として向上させることができ、これは、高精度且つ高スループットで単量体の識別を可能にする。

【0008】

生体分子配列決定装置は、試料の流れを方向付けるように構成されたフローディレクタを含んでもよく、それは、流体試料が第1の流路と第2の流路を形成することができるように、第1の流路と第2の流路との間が流体連通できるようになっている。

10

【0009】

フローディレクタは、1つ以上のナノギャップ電極対を有し、ナノチャンネルに含まれる任意の流体や他の分子を電氣的に連通するナノチャンネルへの入口に向かって延在する絶縁体であってもよい。

【0010】

ナノギャップ電極対および電気泳動電極対は、生体分子移動の方向に交差または垂直な方向に延在する。たとえば、チャンネルの各側のナノギャップ電極と電気泳動電極は、互いに平行である。

【0011】

20

ナノギャップ電極対はナノチャンネル中の生体分子の移動の方向と交差する方向に沿って配置されてもよく、電気泳動電極対は絶縁体上に配置されてもよい。

【0012】

長い生体分子は、自身で絡まりナノチャンネルまたはナノギャップ電極での詰まりを引き起こす可能性がある。いくつかの実施形態では、多数の柱（ピラー）が第1の流路および第2の流路に生体分子が通過することができる間隔で配置されてもよく、生体ポリマーを直線化するために利用されてもよい。いくつかの実施形態では、柱（ピラー）は、1つ以上のナノチャンネル内に設けられていてもよく、ナノチャンネル内に生体ポリマーを直線化するまたは直線化を維持する。例えば、一本鎖DNA断片は、25ミリモル（mM）のNaClで3ナノメートル（nm）の長さを有し、幅、高さ、または直径の1つ以上で、100 nmの最小寸法を有するナノチャンネル内での有意な構造変化を可能にし、このような二次構造は、最小特徴サイズ20 nm以下のナノチャンネルで変化し、従ってナノチャンネル内の直線性を維持する必要性を再現することができる。

30

【0013】

ナノギャップ電極対は、複数あり電極間距離が異なってもよい。

【0014】

本発明は、また生体分子配列決定装置によって実行されてもよい生体分子配列決定法を提供する。生体分子配列決定装置は、1つまたは複数のナノギャップ電極対と、1つまたは複数の電気泳動電極対と、第1流路および第2の流路とを含む。1つまたは複数のナノギャップ電極対は、試料に含まれる少なくとも1種の接続単量体から形成された生体分子が電極間を通り、トンネル電流が増加するように配置された電極を有する。電気泳動電極対は、ナノギャップ電極対の電極間を移動する生体分子の移動方向に電界を形成する。第1の流路は、ナノチャンネルのナノギャップ電極対の間の方向に試料の少なくとも一部を流す。第2の流路は、少なくとも1つのナノギャップ電極対を含むナノチャンネルへの入口を過ぎ去るように試料の少なくとも一部を流す。本方法は、トンネル電流を測定すること、および少なくとも1種の単量体の種類を識別することを含む。トンネル電流は、生体分子が電気泳動電極対間への電圧の印加によって生体分子を移動させるように形成された電界により、第1の流路を通してナノギャップ電極対の電極間を通過するときに生成される。少なくとも1種の単量体の種類は、種が知られている少なくとも1種の単量体の基準物理量と測定部によって測定されたトンネル電流から得られた検出物理量に基づいた生体分子

40

50

を含む。

【0015】

本発明はまた、コンピュータが生体分子配列決定装置の測定部と識別部として機能させるため生体分子決定のためのプログラムを提供する。

【0016】

本発明の生体分子の配列決定のための装置、方法、およびプログラムによれば、生体分子を構成する単量体を高精度に識別することができる。

【0017】

別の態様において、本開示は、ナノチャンネルと、ナノチャンネルのナノギャップ電極の組と、電気泳動電極の組とを含む生体分子配列決定装置を提供する。ナノチャンネルは、生体分子を含む試料がナノチャンネルを通過して移動できるようにする。複数のナノギャップ電極の各々の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャンネルを通過してナノギャップ電極の複数の組に近接して通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも2組は、ナノチャンネルの幅に沿って異なる電極間隔を有する。電気泳動電極の組は、生体分子がナノチャンネルを通過してナノチャンネルのナノギャップ電極の複数の組に近接して動くように電界を提供する。

10

【0018】

本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子配列決定装置はさらに測定部と識別部とを含む。測定部は、生体分子がナノギャップ電極の複数の組に近接して通過するとき生成される電流を測定するように構成される。識別部は、測定部と連通している。測定部は、ナノギャップ電極の複数の組の各々と通信する。識別部は、生体分子またはその部分を識別するように構成される。

20

【0019】

本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子は複数の単量体を含む。識別部は、少なくとも1つの既知のタイプの単量体の基準物理量と測定部によって測定された電流から得られる物理量とに基づいて複数の単量体を識別するように構成されている。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子配列決定装置はさらに、第1の流路を生成するように構成されたフローディレクタおよびナノチャンネルと流体連通する第2の流路を含む。フローディレクタは、第1の流路からナノチャンネルへ試料の一部を方向付け、第1の流路から第2の流路へ試料の残りの部分を方向付ける。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、フローディレクタは、ナノチャンネルを介して試料の移動方向に沿ってナノギャップ電極の複数の組に向かって延在する絶縁体である。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子配列決定装置はさらに、生体分子の直線化を可能にするために、第1の流路及び/又は第2の流路内に1つ以上の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、1つまたは2以上の柱は、複数の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、第1の流路、第2の流路およびナノチャンネルは実質的に同じ面にある。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、電流は、トンネル電流を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、ナノギャップ電極の複数の組のうちの所与の1組は、少なくとも2個の電極を有する。本明細書において提供される態様の一部の実施形態では、電気泳動電極の組は、少なくとも2個の電極を有する。本明細書において提供される態様の一部の実施形態において、ナノギャップ電極の複数の組と電気泳動電極の組が、単一ユニットとして一体化されている。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、ナノギャップ電極の複数の組のうちの所与の1組の電極は、少なくとも1つの固体絶縁体によって電気泳動電極から分離されている。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子配列決定装置はさらに、ナノチャンネルに生体分子の直線化を可能にする1つまたは複数の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、1つまたは2以上の柱は、複数の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、ナノチャンネルはナノギャップ電極の複数の組に向かってテーパ状である。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、ナノギ

30

40

50

ャップ電極の複数の組のうちの所与の1組が生体分子の分子直径に等しいまたはそれ以下の電極間距離を有している。

【0020】

本開示の別の態様は、ナノチャネルと、ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも1つの組と、電気泳動電極の組を含む生体分子配列決定装置を提供する。ナノチャネルは、生体分子を含む試料がナノチャネルを通して移動できるようにする。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノチャネルは、ナノギャップ電極の組に向かってテーパ状になっている。ナノチャネルは、ナノギャップ電極の組に向かってテーパ状である。ナノギャップ電極の組は、生体分子の分子直径と等しいまたはそれよりも小さい電極間距離を有する。電気泳動電極の組は、生体分子がナノチャネルを通してナノチャネルのナノギャップ電極の組に近接して動くように電界を提供する。

10

【0021】

本開示の別の態様は、生体分子配列決定装置を提供し、この生体分子配列決定装置は、ナノチャネルと、ナノチャネルのナノギャップ電極の少なくとも1組と、電気泳動電極の組と、ナノチャネルにまたはその近傍に1つまたは複数の柱を含む。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成される。電気泳動電極の組は、生体分子がナノチャネルを通してナノチャネルのナノギャップ電極の組に近接して動くように電界を提供する。1つ以上の柱は、ナノギャップ電極の組によって電流検出を用いて生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にするため生体分子を直線化する。

20

【0022】

本開示の別の態様は、生体分子を配列決定するための方法を提供し、この生体分子を配列決定するための方法は、(a)生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャネルへまたはナノチャネルを通して流すように方向付けること、(b)ナノギャップ電極の複数の組で、ナノチャネルを通してナノギャップ電極の複数の組に近接して生体分子が流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c)(b)で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定することを含む。生体分子配列決定装置は、(i)ナノチャネルのナノギャップ電極の複数の組と、(ii)電気泳動電極の組を含んでいる。複数ナノギャップ電極のそれぞれの組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の複数の組に近接して通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも2組は、ナノチャネルの幅に沿って異なる電極間隔を有する。電気泳動電極の組は、ナノチャネルへ又はそれを介した及びナノチャネルのナノギャップ電極の複数の組に近接して生体分子を動かすように電界を提供する。

30

【0023】

本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子は複数の単量体を含み、配列決定は、少なくとも1つの既知のタイプの単量体の基準物理量と、(b)で検出された電流から得られた物理量に基づいて複数の単量体を識別することを含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子配列決定装置はさらに、ナノチャネルと流体連通する第1の流路を生成するように構成されたフローディレクタを含む。(a)は、試料の一部を第1の流路からナノチャネルへ、残りを第1の流路から第2の流路へ流すことを含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、方法はさらに、生体分子の直線化を可能にするために、第1の流路/第2の流路内に1つ以上の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、電流はトンネル電流含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態では、本方法はさらに、生体分子を直線化するナノチャネルに1つまたは複数の柱を含む。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、ナノチャネルはナノギャップ電極の複数の組に向かってテーパ状である。本明細書で提供される態様のいくつかの実施形態において、生体分子はポリヌクレオチドまたはポリペプチドである。

40

50

【 0 0 2 4 】

本開示の別の態様は、生体分子を配列決定するための方法を提供し、この方法は、以下を含む。(a) 生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャネルを経由して流すように方向付けること；(b) ナノギャップ電極の組で、生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組に近接して流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c) (b) で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定すること。生体分子配列決定装置は、(i) ナノチャネルに少なくとも1組のナノギャップ電極および(ii) ナノチャネルへの又はそれを介した及びナノギャップ電極の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組を含んでいる。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノチャネルは、ナノギャップ電極の組に向かってテーパ状になっている。ナノギャップ電極の組は、生体分子の分子直径と等しいまたはそれよりも小さい電極間距離を有している。

10

【 0 0 2 5 】

本開示の別の態様は、生体分子を配列決定するための方法を提供し、この方法は、以下を含む：(a) 生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャネルを経由して流すように方向付けること；(b) ナノギャップ電極の組で、生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組に近接して流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c) (b) で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定すること。生体分子配列決定装置は、(i) ナノチャネルに少なくとも1組のナノギャップ電極、(ii) 電気泳動電極の組、および(iii) ナノチャネルにまたはその近傍に1つまたは複数の柱を含む。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成される。電気泳動電極の組は、ナノチャネルへの又はそれを介した及びナノチャネルにナノギャップ電極の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する。1つまたは複数の柱は、生体分子を直線化し、ナノギャップ電極の組による電流検出を用いて生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にする。

20

【 0 0 2 6 】

本開示の別の態様は、1つ以上のコンピュータプロセッサによって実行される際、生体分子を配列決定するための方法を実行する機械によって実行可能なコードを備えるコンピュータ可読媒体を提供する。生体分子を配列決定するための方法は、以下を含む：(a) 生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャネルを経由して流すように方向付けること；(b) ナノギャップ電極の複数のセットで、生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の複数のセットに近接して流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c) (b) で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定すること。生体分子配列決定装置は、(i) ナノチャネルのナノギャップ電極の複数の組、および(ii) ナノチャネルへの又はそれを介した及びナノチャネルにナノギャップ電極の複数の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組を含む。ナノギャップ電極の複数の組の各々は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の複数の組に近接して通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノギャップ電極の複数の組の少なくとも2組は、ナノチャネルの幅に沿って様々な電極間距離を有する。

30

40

【 0 0 2 7 】

本開示の別の態様は、1つ以上のコンピュータプロセッサによって実行される際、生体分子を配列決定するための方法を実行する機械によって実行可能なコードを備えるコンピュータ可読媒体を提供する。生体分子を配列決定するための方法は、以下を含む：(a) 生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャネルを経由して流すように方向付けること；(b) ナノギャップ電極の組で、生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組に近接して流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c) (b) で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定すること。生体分子配列決定装置は、(i) ナノチャネルのナノギャップ電極の組、および(ii) ナノチャネルへの又はそれを介した及びナノチャネルにナノギャップ電極の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組を含む。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成されている。ナノギャップ電極の組は、生体分子の分子直径と等しいまたはそれよりも小さい電極間距離を有している。

50

チャンネルに少なくとも1組のナノギャップ電極および(i i)ナノチャンネルへの又はそれを介した及びナノチャンネルにナノギャップ電極の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する電気泳動電極の組を含む。ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノギャップ電極の組に向かってテーパ状であるナノチャンネルを通してナノギャップ電極組の近傍を通過するときに流れる電流の検出を可能にするように構成されている。ナノギャップ電極の組は、生体分子の分子直径に等しいまたはそれより小さい電極間距離を有している。

【0028】

本開示の別の態様は、1つ以上のコンピュータプロセッサによって実行される際、生体分子を配列決定するための方法を実行する機械によって実行可能なコードを備えるコンピュータ可読媒体を提供する。生体分子を配列決定するための方法は、以下を含む：(a) 生体分子を生体分子配列決定装置のナノチャンネルを経由して流すように方向付けること；(b) ナノギャップ電極の組で、生体分子がナノチャンネルを通してナノギャップ電極の組に近接して流れる間に発生した電流を検出すること、及び(c) (b)で検出された電流で生体分子またはその一部を配列決定すること。生体分子配列決定装置は、(i) ナノチャンネルの少なくとも1組のナノギャップ電極と、(i i) 電気泳動電極の組と、(i i i) ナノチャンネルにまたはその近傍に1つまたは複数の柱とを含む、ナノギャップ電極の組は、試料中に含まれる生体分子がナノチャンネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき、電流の検出を可能にするように構成される。電気泳動電極の組は、ナノチャンネルへの又はそれを介した及びナノチャンネルのナノギャップ電極の組に近接して生体分子を動かす電界を提供する。1つまたは複数の柱は、生体分子を直線化し、ナノギャップ電極の組によって電流検出を用いて生体分子の個々のサブユニットの識別を可能にする。

【0029】

本開示の追加の態様及び利点は、以下本発明の例示的实施の形態のみが示され説明される詳細な説明から当業者には容易に明らかになるであろう。本開示は、本開示から逸脱することなく他のおよび異なる実施形態が可能であり、そのいくつかの詳細は種々の明らかな点での変更が可能である。図面および説明は本質的に例示的なものであり、制限的ではないとみなされるべきである。

【0030】

本発明の新規な特徴は、特許請求の範囲に記述される。次のように本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が利用されている例示的な実施形態を記載し添付の図面を設定することにより、以下の詳細な説明を参照することによって得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】生体分子配列決定装置を示す模式図である。

【図2】図1のナノギャップ電極対の上面図の拡大図である。

【図3】図2の一部を拡大して示す図である。

【図4】制御部の機能構成を示すブロック図である。

【図5】生体分子決定処理を示すフローチャートである。

【図6】電気泳動電極対が設けられていない場合に検出される信号の波形を示すデータである。

【図7】電気泳動電極対が設けられている場合の検出信号の波形を示すデータである。

【図8】信号頻度を示すグラフである。

【図9】電気泳動電極対が利用され、かつ電気泳動電極対を設けない場合の、リードの数を示すグラフである。

【図10】電気泳動電極対が利用され、かつ電気泳動電極対を設けない場合の、単位時間当たりのリードの数のグラフ表示である。

【図11】電気泳動電極対の配置の変形例を示す図である。

【図12】可変間隔のナノギャップ生体分子配列決定装置の構造を示す模式図である。

【図13】可変的に離間されたナノギャップを用いて使用可能な制御部の機能的構成の例を示すブロック図である。

10

20

30

40

50

【図14】可変的に離間されたナノギャップと共に使用可能な生体分子決定処理を示すフローチャートである。

【図15】本開示の装置、システム及び方法を実施するようにプログラムされまたは構成されたコンピュータ制御システムを示す模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明の様々な実施形態を本明細書に図示し説明してきたが、そのような実施形態は例としてのみ提供されることは当業者には自明である。本発明から逸脱することなく、当業者の知識に基づいて数多くの変形、変更、および置換は、本明細書に記載した本発明の実施形態の種々の代替を使用してもよいことを理解すべきである。

10

【0032】

「間隙（ギャップ）」という用語は、本明細書で使用される場合、一般的には、物体内のまたは物体間の切れ目または穴を意味している。物体は基板または電極のような固体物体である。ギャップは、検出回路または検出回路に結合された電極に隣接する又は近くに配置されている。いくつかの実施例において、ギャップは、0.1ナノメートル（nm）～約1000nmの程度の特徴的な幅または直径を有する。ナノメートルのオーダーの幅を有するギャップは、「ナノギャップ」と呼ばれる。いくつかの状況において、ナノギャップは、約0.1ナノメートル（nm）～50nm、0.5nm～30nm、0.5nm、10nm、0.5nm～5nm、または0.5nm～2nm以下、又は2nm以下、1nm以下、0.9nm以下、0.8nm以下、0.7nm以下、0.6nm以下、又は0.5nm以下である幅を有している。ナノギャップは、少なくとも約0.5nm、0.6nm、0.7nm、0.8nm、0.9nm、1nm、2nm、3nm、4nm、または5nmである幅を有している。ナノギャップの幅は、生体分子または生体分子のサブユニット（例えば、単量体）の分子直径（例えば、平均直径）に等しくまたはそれより小さくすることができる。

20

【0033】

「チャネル」という用語は、本明細書で使用されるように、形成されるか、または他の材料で提供される孔、通路または導管を一般的に指す。材料は基板のような固体材料である。いくつかの実施例では、チャネルは、0.1ナノメートル（nm）～約1000nmのオーダーの特徴的な幅または直径を有する。ナノメートルのオーダーの幅を有するチャネルは、「ナノチャネル」と呼ばれる。いくつかの状況において、ナノチャネルは約0.1ナノメートル（nm）～50nm、0.5nm～30nm、0.5nm、10nm、0.5nm～5nm、または0.5nm～2nm、又は2nm以下、1nm以下、0.9nm以下、0.8nm以下、0.7nm以下、0.6nm以下、又は0.5nm以下である幅を有している。ナノチャネルは、少なくとも約0.5nm、0.6nm、0.7nm、0.8nm、0.9nm、1nm、2nm、3nm、4nm、または5nmである幅を有している。ナノチャネルまたはナノチャネル（例えばナノチャネルのテーパ部）の部分の幅は、生体分子または生体分子のサブユニット（例えば、単量体）の分子直径（例えば、平均直径）に等しくまたはそれより小さくすることができる。

30

【0034】

「電流」という用語は、本明細書で使用されるように、一般的に電流を意味する。マイクロまたはナノ・アンペアのオーダーの電流は、「ナノ電流」と称することがある。いくつかの実施例において、電流はトンネル電流でありまたはトンネル電流を含む。

40

【0035】

「電極」という用語は、本明細書で使用される場合、一般的に電流を測定するために使用することができる材料を意味している。電極は、他の電極へまたは他の電極からの電流を測定するために使用することができる。いくつかの状況においては、電極は、チャネル（例えば、ナノギャップ）に配置されて、チャネルを通る電流を測定するために使用することができる。電流は、トンネル電流でもよい。そのような電流は、ナノギャップを通過して生体分子（例えば、タンパク質）を流れることによりを検出可能である。いくつかの

50

場合には、電極に接続された検出回路は、電流を発生させるために電極間に印加される電圧を提供する。その代わりに、またはそれに加えて、電極は、生体分子（例えば、タンパク質のアミノ酸サブユニットまたは単量体）に関連した電気的コンダクタンスを測定および/または識別するために使用することができる。この場合、トンネル電流は電気的コンダクタンスに関連させることができる。

【 0 0 3 6 】

「生体分子」という用語は、本明細書で使用されるように、一般に、ナノギャップ電極間の電流及び/又は電位を調査することのできる任意の生物学的材料を意味する。生体分子は、核酸分子、タンパク質、または炭水化物であることができる。生体分子は、1つまたはそれ以上のサブユニット、例えば、ヌクレオチドまたはアミノ酸を含むことができる。生体分子は、デオキシリボ核酸（DNA）またはリボ核酸（RNA）、またはその誘導体であることができる。生体分子は、DNA試料のDNA断片などの断片であり得る。

10

【 0 0 3 7 】

「核酸」という用語は、本明細書で使用される場合、一般に、1つまたは複数の核酸のサブユニットを含む分子を意味している。核酸は、アデノシン（A）、シトシン（C）、グアニン（G）、チミン（T）およびウラシル（U）、またはそれらの変異体から選択される1つ以上のサブユニットを含むことができる。ヌクレオチドは、A、C、G、TまたはU、またはそれらの変異体を含むことができる。ヌクレオチドは、伸長する核酸鎖に取り込まれることができる任意のサブユニットを含むことができる。このようなサブユニットは、1つまたはそれ以上の相補的なA、C、G、TまたはUに固有であるか、又はプリン（すなわち、AまたはG、またはそれらの変異体）またはピリミジン（C、T、もしくはU、またはその変異体）に相補的なA、C、G、T、またはU、または任意の他のサブユニットであることができる。サブユニットは、塩基（例えば、AA、TA、AT、GC、CG、CT、GT、TG、AC、CA、またはこれらのウラシルカウンターパート）の個々の核酸塩基または塩基のグループを可能にすることができる。いくつかの実施例において、核酸は、DNAもしくはRNA、またはそれらの誘導体である。核酸は、一本鎖または二本鎖であってもよい。

20

【 0 0 3 8 】

「タンパク質」という用語は、本明細書で使用される場合、一般的に1つまたはそれ以上のアミノ酸単量体、サブユニットまたは残基を有する生物学的分子又は巨大分子を意味する。たとえば、50個以下のアミノ酸を含有するたんぱく質は「ペプチド」と呼ばれる。アミノ酸単量体は、任意の天然および/または合成アミノ酸単量体から選択でき、例えば、20、21、または22種類の天然に存在するアミノ酸を使用することができる。いくつかの場合には、20種類のアミノ酸は遺伝子コードでコードされている。一部のタンパク質は、約500種類の天然および非天然アミノ酸から選択されるアミノ酸を含んでもよい。いくつかの状況において、タンパク質は、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファンおよびバリン、アルギニン、ヒスチジン、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、プロリン、セリン及びチロシンから選択される1つ以上のアミノ酸を含むことができる。

30

40

【 0 0 3 9 】

「組」という用語は、本明細書で使用される場合、一般に、要素のグループまたは集合を意味する。組は、複数の要素を含むことができる。組は「ペア」であるか、または2つを含むことができる。例えば、電極の組は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の電極を含むことができる。

【 0 0 4 0 】

「配列決定」という用語は、本明細書で使用されるように、一般に生体分子の配列、例えば1つまたは複数のポリヌクレオチドのヌクレオチド塩基の配列、またはポリペプチドにおけるアミノ酸の配列を決定するための方法および技術を指す。

【 0 0 4 1 】

50

「リード」または「read」という用語は、本明細書で使用されるように、一般に配列決定装置またはシステムによって生成された生体分子または生体分子の部分の配列を意味する。このような配列は、十分な長さ（例えば、少なくとも約30塩基対（bp））であってもよく、これを使用して、例えば、染色体またはゲノム領域または遺伝子上の位置に位置合わせすることができるより大きな配列または配列領域を識別することができる。

配列決定装置およびシステム

【0042】

本開示は、生体分子配列決定装置を提供する。配列決定装置は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、100、1000、または10000チャンネルを含むことができる。チャンネルは、チャンネルのナノギャップ電極の中に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10組を含むことが可能である。チャンネルは、ナノチャンネルであってもよい。ナノギャップ電極の組の電極は、チャンネルの反対側に位置することができる。

10

【0043】

生体分子（例えば、一本鎖DNAまたはRNA、二本鎖DNAもしくはRNA、またはタンパク質）は、チャンネル内またはチャンネルを通った流れに供することができるが、電流、いくつかの場合においてトンネル電流は、ナノギャップ電極の所与の組のチャンネルを用いて電極間で測定することができる。電流は、トンネル電流でありまたはトンネル電流を含むことができる。生体分子は、電気泳動電極のうちの少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10の組によって生成される電界を使用して、チャンネル内をまた

20

【0044】

チャンネルは、ナノ細孔の一部であることが可能であるナノ細孔は、固体膜などの膜で形成することができる。

【0045】

ナノギャップ電極の組は、生体分子がチャンネルを通してナノギャップ電極の組の近傍を通過するとき電流を検出するように構成することができる。ナノギャップ電極の組は、異なる電極間隔を有することができる。

【0046】

電気泳動電極の組は、ナノチャンネルを通してナノチャンネルのナノギャップ電極の複数の組に近接して生体分子を動かす電界を提供することが可能である。電界は、電気泳動電極を電圧または電圧パルスの印加の際に発生することができる。いくつかの実施例において、電界は、約0.1N（ニュートン）/クーロン（C）～5000（N/C）、1N/Cから250N/C、10N/Cから50N/Cの強度を有している。

30

【0047】

電気泳動電極の組は、チャンネルの外部に配置することができる。代わりに、電気泳動電極の組及びナノギャップ電極の組は、単一ユニットとして一体化することができる。例えば、ナノギャップ電極の電極は、少なくとも1つの固体絶縁体によって電気泳動電極の組の中で、電気泳動電極から分離することができる。

40

【0048】

生体分子は、コンピュータ制御装置を使用して、識別または配列決定することができる。コンピュータ制御部は、配列決定装置の一部または配列決定装置を含む配列決定システムであることが可能である。コンピュータ制御部は、ナノギャップ電極の組と通信する測定部を含むことが可能である。識別部は、生体分子またはその部分を識別するように構成される。測定部は、生体分子がナノギャップ電極の複数の組に近接して通過するときに生成される電流を測定するように構成される。コンピュータ制御部は、さらに、測定部と通信する識別部を含むことが可能である

【0049】

いくつかの場合において、生体分子は複数の単量体（又はサブユニット）を含んでいる。識別部は、少なくとも1つの既知のタイプの単量体の基準物理量と測定部によって測定

50

された電流から得られる物理量とに基づいて複数の単量体を識別するように構成することができる。

【0050】

配列決定装置は、チャンネルと流体連通する少なくとも第1の流路と第2の流路を生成するように構成されたフローディレクタを含むことができる。フローディレクタは、第1の流路からチャンネルへ試料の一部を方向付け、第1の流路から第2の流路へ試料の残りの部分を方向付ける。フローディレクタは、ナノチャンネルを介して試料の移動方向に沿ってナノギャップ電極の組に向かって延在する絶縁体とすることができる。

【0051】

配列決定装置は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10または100個の柱を含むことができる。柱は、第1の流路及び/または第2の流路のようなチャンネルの中にまたはチャンネルの外部にあることができる。柱は、効果的にその生体分子またはその一部（例えば、サブユニット）の配列決定または識別を助けることを可能にするように生体分子を直線化することができる。

【0052】

第1の流路、第2の流路およびナノチャンネルは実質的に同じ平面（すなわち、同一平面）であることが可能である。代わりに、第1の流路、第2の流路とナノチャンネルは同一平面にはなくてもよい。

【0053】

チャンネルは、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のテーパ部を含むことができる。このようなテーパ部は、ナノギャップ電極の組に隣接するチャンネルの部分に存在することができる。

【0054】

ナノギャップ電極の組は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9または10個の電極を含むことが可能である。電極は、0.1ナノメートル（nm）～50nm、0.5nm～30nm、0.5nm～10nm、0.5nm～5nm、または0.5nm～2nm、または2nm以下、1nm以下、0.9nm以下、0.8nm以下、0.7nm以下、0.6nm以下、または0.5nm以下の電極間の間隔（または距離）を有することが可能である。幾つかのケースでは、間隔は、少なくとも約0.5nm、0.6nm、0.7nm、0.8nm、0.9nm、1nm、2nm、3nm、4nm、または5nmである。いくつかの実施例において、間隔は、生体分子の分子直径と等しいまたはそれより小さい。

【0055】

図1は、いくつかの実施形態の生体分子配列決定装置10を示す。生体分子配列決定装置10は、ナノギャップ電極対12（12A、12B）、測定電源装置18、電気泳動のための電極対（以下、「電気泳動電極対」と称する）20（20A、20B）、電気泳動用電源装置22、電流計24、及びシステム制御部26を有している。構成要素の各々について以下に説明する。

【0056】

ナノギャップ電極対12は、一対の対向するナノギャップ電極12Aと12Bを具備している。ナノギャップ電極12A及び12Bは、試料50に含まれる生体分子の単量体52が電極間を通過するときにそれらがトンネル電流量になるような距離で配置することができる。生体分子には、タンパク質、ペプチド、核酸、糖鎖などが挙げられる。生体分子を含む単量体は、限定されないが、タンパク質を構成するアミノ酸またはペプチド、核酸を構成するヌクレオチド、多糖または糖鎖を含む糖などを含んでもよい。

【0057】

一対のナノギャップ電極12A、12Bは、図示し説明しているが、装置10は、2個以上の電極を含むことができる。例えば、装置10は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10の電極を含む組でナノギャップ電極の組を含む。

【0058】

10

20

30

40

50

電極間距離が単一分子 5 2 の分子直径よりも長い場合、トンネル電流はナノギャップ電極対 1 2 の電極間を容易に流れることができない、または 2 以上の単一分子 5 2 が同時にナノギャップ電極対 1 2 の間に進入する。これに対して、電極間距離が単一分子 5 2 の分子径よりも非常に短い場合、単一分子 5 2 はナノギャップ電極対 1 2 の間に入ることができない。

【 0 0 5 9 】

電極間距離が単一分子 5 2 の分子径よりも非常に長い又は非常に短い場合、単一分子 5 2 を通過するトンネル電流を検出することが困難である。したがって、電極間距離は、単一分子 5 2 の分子径よりもわずかに短いまたは同一にまたはわずかに長く形成されることが好ましい。電極間距離は、単一分子 5 2 の直径の 0.5 倍 ~ 2 倍、オプションとして分子直径の 0.5 ~ 1 倍の長さ、または分子直径の長さの 0.7 ~ 0.9 倍に設定することができる。

10

【 0 0 6 0 】

ナノギャップ電極 1 2 を製造する具体的な方法は特に限定されないが、このような製造方法の一例について説明する。

【 0 0 6 1 】

上記ナノギャップ電極 1 2 の対は、公知のナノ機械的制御破断接合方法 (M C B J 法) を用いて製造することができる。ナノ機械的制御破断接合方法は、ピコメートルレベルまたはより細かい解像度で優れた機械的安定性と電極間距離を制御することが可能な優れた方法である。ナノ機械的制御破断接合方法を用いた電極の製造方法は、例えば、T. M. van Ruitenbeek, A. Alvarez, Pineyro, Grahman, Joyez, M. H. Devoret, Esteve, C - は、Rev. Sci. Instrum, 108 (1996)、および M. Tsutsui, K. Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano Lett., 345 (2008) に記載がある。電極材料は、金、白金、銀、パラジウム、タングステン、および適切な合金もしくは複合材料のような任意の適切な金属を含む。

20

【 0 0 6 2 】

例えば、ナノギャップ電極対 1 2 は、以下の手順を用いて製造することができる。

【 0 0 6 3 】

第一に、電子ビームリソグラフィ及びリフトオフ技術を用いて、ナノスケールの金接合は、電子ビーム描画装置 (例えば、日本電子製、カタログ番号: J S M 6 5 0 0 F) を用いてポリイミドで被覆された可撓性金属基板上にパターン化されてもよい。接合部の下のポリイミドは、例えば、反応性イオンエッチングプロセス、エッチングプロセス、例えば、反応性イオンエッチング装置 (例えば、Samco Inc., カタログ番号: 10 N R) を用いてエッチングにより除去してもよい。

30

【 0 0 6 4 】

この後、3点曲げ構造を有するナノスケール金ブリッジ構造は、基板を折り曲げることによって形成することができる。このとき電極対の電極間の距離は、圧電アクチュエータ (C E D R A T、カタログ番号: A P A (150 m)) を使用して、基板の正確な曲げ加工を制御することにより、ピコメートルレベルまたは細かい分解能で制御することができる。

40

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態では、このような製造方法およびプロセスを用いて、実質的に平面状であるデバイスを実現することができる。1ナノチャネルは、ナノチャネルが基板上に作製することができるように製造されてもよい。中央領域 4 4 M は、中央領域 4 4 M の底部が同じまたは複数のナノチャネルの底部と基板上において実質的に同じ垂直距離となるように 1 つ以上のナノチャネルの両端に配置されてもよい。1 つ以上のナノチャネルの端部は、前記中央領域に隣接するように配置されてもよい。

【 0 0 6 6 】

さらなる実施形態において、中央領域 4 4 M は、中央領域 4 4 M の頂部が同じまたは複

50

数のナノチャネルの頂部と基板上において実質的に同じ垂直距離となるように1つ以上のナノチャネルの両端に配置されてもよい。1つ以上のナノチャネルの端部は、前記中央領域に隣接するように配置されてもよい。

【0067】

いくつかの実施形態では、正確に同じであることを可能にすることができる製造公差の範囲内であれば、垂直方向の寸法が同じまたは実質的に同じ、または同一平面であってもよい。

【0068】

他の実施形態では、ナノチャネルの開放端は、1つまたはそれ以上のナノチャネルの両端で中央領域と交差する場合、1つ以上のナノチャネルは、同一または実質的に同一の、又は同一平面上である垂直方向の寸法を有していてもよい。この場合、ナノチャネルの全体の縦寸法は、中央領域の垂直方向の寸法内に収容されている。

【0069】

さらなる実施形態において、ナノチャネルの開放端は、1つまたはそれ以上のナノチャネルの両端でナノチャネルの垂直方向寸法の少なくとも半分が中央領域の垂直方向の寸法内に収容される中央領域と交差する場合、1つ以上のナノチャネルは、同一または実質的に同一の、または同一平面である垂直方向の寸法を有することができる。

【0070】

その結果、そのように提供されたブリッジは、引っ張られてもよく、ブリッジは部分的に破壊されるようにする。ブリッジをさらに引っ張ることができ、切れ目によって生じるナノギャップ（電極間距離）の大きさが標的単一分子52の検出に応じて所望の長さに設定できる。例えば、単一分子52が、生体分子のタンパク質を切断し、一定の長さにされたペプチドを構成するアミノ酸分子である場合、単一分子52の単量体の側鎖の長さは、約0.3 nm～約1 nmであってもよい。この場合には、電極対の電極間距離は、自己破壊技術（例えばM. Tsutsui, K., Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano Lett., 345 (2008)、およびM. Tsutsui, M. Taniguchi, T. Kawai, Appl. Phys. Lett. 93, 163115 (2008)を参照）を使用してブリッジの引張りを調整することによって正確に制御することができる。

【0071】

具体的には、0.1 Vまたは0.050 Vから0.4 Vの直流のバイアス電圧（Vb）は、10 k Ω の直列抵抗及びプログラムされた接合延伸速度で延伸された金ナノ接合を使用してブリッジに印加することができる。それによって、例えば、抵抗フィードバック方法（Tsutsui, K., Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano Lett., 345 (2008)、およびM. Tsutsui, M. Taniguchi, T. Kawai, Appl. Phys. Lett. 93, 1631～15 (2008)を参照）を利用することにより、データ収集ボード（National Instruments社、カタログ番号：NI PCIE6321）を用いて、ブリッジを破壊する。ブリッジはさらに引っ張られてもよく、また、切れ目によって生じるナノギャップ（電極間距離）の大きさは、意図する長さに設定することができ、ナノギャップ電極対12が形成できる。

【0072】

電圧は、測定電源装置18によりナノギャップ電極対12間に印加される。測定電源装置18によってナノギャップ電極対12に印加される電圧は、特に限定されず、例えば、0.25 Vから0.75 V、0.1 Vから0.4 V、または0.050 Vから0.02 Vとすることができる。測定電源装置18の具体的な構成は特に限定されるものではないが、適切な周知の電源装置を使用することができる。

【0073】

電気泳動電極対20は、一対の泳動電極20Aおよび20Bを含むことがある。電気泳動電極20A、20Bは、電界が、試料50に含有される単一分子52が（図1の矢印A

10

20

30

40

50

方向に)移動することができるように形成することができるように配置されてもよい。いくつかの実施形態では、一例として、電気泳動電極20A、20Bは、試料分子が、絶縁体14を挟んでナノギャップ電極対12に対して移動できるように配置されてもよい。絶縁体14の幅は、十分な幅(例えば、約300nm)に設定されてもよく、電気泳動電極対20に流れる電流およびナノギャップ電極対12を流れる電流との間に干渉が発生しないようになっている。

【0074】

図1の例では、電気泳動電極20Aは2分割された電極であってもよいが、分離する必要はなく、単一の電極であってもよい。これは、この電気泳動電極20Bにも適用される。

10

【0075】

電気泳動電極20Aと電気泳動電極20Bとの間に電界が形成される場合、単一分子52を電気泳動あるいは電気浸透による電界によって移動させることができる。換言すれば、単一分子52は、ナノギャップ電極対12の電極間を通過するように移動することができる。

【0076】

電圧は、電気泳動電源装置22により電気泳動電極対20間に印加される。電気泳動電源装置22によって電気泳動電極対20に印加される電圧は、特に限定されないが、単一分子52がナノギャップ電極対12の電極間を通過する速度を制御することが可能な電圧の値を適宜の設定することができる。電気泳動電極対20の電極との間に形成される電界の方向を切り替えることができるように、電気泳動電源22は電気泳動電極対20に電圧を印加することができる。したがって、電気泳動電極対20の電極間を移動する単一分子52の移動方向を切り替えることができる。電気泳動電源装置22の具体的な構成は特に限定されるものではなく、適宜公知の電源装置を使用することができる。

20

【0077】

電流計24は、単量体52が測定電源装置18により電圧が印加されるナノギャップ電極対12の電極との間を通過するときが発生するトンネル電流の増加を測定する。電流計24の具体的な構成は特に限定されるものではなく、トランスインピーダンス増幅器のような適宜公知の電流測定装置を使用することができる。

【0078】

次に、ナノギャップ電極対12及び生体分子配列決定装置10の電気泳動電極対20に関連する具体的な構成について説明する。

30

【0079】

図2はナノギャップ電極対12および電気泳動電極対20の周辺の拡大図である。図2に示すように、多数のナノ柱40は、単一分子52がナノ柱の周りを通りナノギャップ電極対12及び電気泳動電極対20に到達することができるように、間隔をおいて設けられていてもよい。本明細書で使用されるとき、「ナノ柱」は、直径又は幅がナノメートル以下の規模の柱であってもよい。

【0080】

ナノ柱40は、図2の左上に示すように、矢印Bによって示された領域に設けられ、試料50は、左領域44Lから誘導されることができる。試料50は、電気泳動、電気浸透、圧力、表面張力、及びそれらの組み合わせのうちの1つによって移動させることができる。試料50中に含まれるDNA等のような複雑な交絡生体分子は、溝に竹の茎等が配置されているような多数のナノ柱40により他のDNA分子から分離して、もつれをほどきまたは直線化することができる。

40

【0081】

いくつかの実施形態では、流体試料であってもよい試料は、毛細管作用を試料に生じさせる方法で装置に導入されてもよい。例えば、左領域44Lから、中央領域44Mへまたはこれを通して、右側領域44Rへ吸引されることができる。勿論、試料は、右側領域44Rから導入され、中間領域44Mに毛管作用により吸引され、左の領域44Lに供給さ

50

れてもよい。

【0082】

いくつかの実施形態では、第2の流体は、同様に試料が導入されてもよい反対の1つ以上ナノチャネルの端で標識されていない領域に同様に配置された領域の一方の側に導入されてもよく、毛管作用によって対応する中央領域に吸引されてもよいし、毛管作用により吸引され、前記第2の流体が導入され得る領域に対向する側の領域にも至ってもよい

【0083】

いくつかの実施形態において、試料は、第2の流体を導入する前に、導入することができるが、その試料は、1つ又はそれ以上のナノチャネルの第1の端部から、前記1つ以上のナノチャネルの第2の端部を通して中に吸引することができるようにする。第2の流体は、そこから1つまたは複数のナノチャネルの第2の端部と交差する中間領域に隣接する領域に適用することが可能である。このようにして、流体がナノチャネルの両端に同時に印加され、これにより1つ以上のナノチャネルを通しての流体アクセスを可能にされる場合に生じ得る空気ギャップ又は気泡は、1つ以上のナノチャネル内の試料と第2流体の間で形成されるのを回避できる。同様に、第2流体は、最初に提供され、試料流体の導入に先立ち毛細管現象によりナノチャネルを通して吸引されてもよい。

【0084】

このような空気のギャップまたは泡の形成は、ナノチャネルの端部間の距離が幅、高さ、または直径、またはナノチャネルの断面に関連する他の測定に比べて長い場合に形成される可能性がより高い。いくつかの実施形態において、ナノチャネルの長さがナノチャネルの高さ、幅または直径であってもよい断面の最小寸法の10倍であることができる。別の実施形態では、ナノチャネルの長さがナノチャネルの高さ、幅または直径であってもよい。断面の最小寸法の100倍であることができる。

【0085】

さらなる実施形態において、ナノチャネルの長さは、試料DNAオリゴが前記ナノチャネル内に完全に適合することのできるように、試料DNAオリゴよりも長くてもよい。当該試料DNAオリゴは、長さ100から200塩基、又は150塩基～500塩基の長さであってもよく、300～1000塩基長、800～4000塩基長、または3000～10,000塩基長であることができる、または8,000～100,000塩基の長さであってもよいし、長さ100,000よりも大きい塩基であることができる。

【0086】

さらに、1つまたは複数のフローディレクタ42のそれぞれは、ナノチャネルの入口に向かって延びている。したがって、チャネルの幅は、ナノチャネル52に直ぐに隣接するチャンネルのエリアの領域において低減することができる。これは、ナノチャネル52の端部にフローディレクタをナノギャップ電極対12が配置されるように提供する。したがって、このフローディレクタ42は、対向配置されている、またはナノチャネルの一方の端部が流量制御器の絶縁の一部に関連を有するように配置され、他の端部がこのような特徴を有しないように配置されてもよい。フローディレクタ42は、試料分子を、ナノチャネルの一端部に接近するように流れを導くように機能して、させることができ、試料分子をより高い割合でナノチャネルに導入することを可能にするようにしてもよく、試料分子は、より迅速に導入することができる。そのようなものとして、試料50のための2つの流路が形成され、すなわち左領域44Lからナノギャップ電極対12の電極間の領域に延在する流路46Aと、図2で見て左領域44Lからナノ柱40を含む右上領域に延在する流路46Bとが形成されている。換言すれば、フローディレクタ42は、ナノギャップ電極対12に向かって試料50を流すための流路46Aとナノギャップ電極対12から離れる方向において試料50を流すための流路46Bとを含み、様々な流路を形成することにより試料50の移動を方向付ける機能を果たし得る。

【0087】

いくつかの実施形態において、ナノチャネル、第1および第2のチャネル、柱、およびナノ電極対は、実質的に同一平面上にリソグラフィで作ることができる。

【 0 0 8 8 】

このようなフローディレクタ 4 2 が存在しない場合には、従来のように、試料 5 0 の流路は、矢印 B 方向、すなわち、ナノギャップ電極対 1 2 に向かう方向にのみ向けられているので、試料 5 0 がナノギャップ電極対 1 2 に近接した領域に連結する流路は、幅が狭くなっている。これに対して、いくつかの実施形態において、2 流路 4 6 A, 4 6 B はフローディレクタ 4 2 を配置することによって形成されているので、過剰の試料 5 0 は流路 4 6 B を介して領域 4 4 R に流れることができ、ナノギャップ電極対 1 2 の近傍で試料 5 0 の詰まりを軽減することができるので、単一分子 5 2 の高精度な識別が可能となる。

【 0 0 8 9 】

図 3 は、図 2 の破線で囲まれた領域 5 4 の拡大図である。図 3 に示すように、ナノチャネル 5 6 は 1 つ以上の絶縁体 1 4 の近くに、及び中央領域 4 4 M に直接隣接して形成されてもよく、ナノチャネル 5 2 の反対側の端部になるように構成することが可能である。ナノチャネル 5 6 は、ナノ柱 4 0 が設けられた中央領域 4 4 M からナノギャップ電極対 1 2 の電極へ向かってテーパ状を有していてもよい。このようなテーパは、ナノチャネル 5 6 を通過する流れによって生体分子を直線化することができる。また、中央領域 4 4 M に近い位置にあるナノチャネル 5 6 の幅 D 1 は、約 1 2 0 n m であり、例としてであるが、任意の適切な幅、2 0 n m ~ 1 0 0 n m、5 0 n m ~ 2 5 0 n m、または 2 0 0 n m ~ 1 0 0 0 n m であってもよい。以上説明したように、これは、テーパ状の点でのナノチャネル 5 6 の幅、すなわち、ナノギャップ電極対 1 2 の電極間距離 D 2 は、単一分子 5 2 の分子直径よりもわずかに短い、等しいか、またはわずかに長いことが望ましい。例えば単一分子は、数 1 0 0 ピコメートル (p m) ~ 1 . 0 n m またはそれ以上の直径を有していてもよい。

【 0 0 9 0 】

図 2 に示すように、電気泳動電極対 2 0 は、ナノチャネル 5 6 と流体連通して配置されてもよい。これは、各単一分子の一貫した電気泳動移動度を可能にし、高精度且つ高スループットで単一分子の識別を可能にする。

【 0 0 9 1 】

システム制御部 2 6 は、生体分子配列決定装置 1 0 の各構成要素を制御し、測定されたトンネル信号の変化に応じた信号に基づいて標的単一分子 5 2 の種類 (またはタイプ) を識別することができる。

【 0 0 9 2 】

システム制御部 2 6 は、中央処理装置 (C P U)、ランダムアクセスメモリ (R A M)、生体分子配列決定プログラム (後述) が格納されてもよい。読み取り専用メモリ (R O M) などを有するコンピュータであってもよい。システム制御装置 2 6 は、本明細書の他の箇所に記載されるように、図 1 5 および対応するテキストのようなコンピュータを含んでもよく、電気泳動制御部 3 0 と、測定制御部 3 2 と、識別部 3 4 と、を含むものとして機能的に表されることもある。以下に、各成分について詳細に説明する。

【 0 0 9 3 】

制御部 3 0 は、単一分子 5 2 がナノギャップ電極対 1 2 の電極間を通過することができるように、1 つ以上の電気泳動用電源装置 2 2 による電圧の印加を制御することができる。

【 0 0 9 4 】

測定制御部 3 2 は、電流計 2 4 を制御して、電流計 2 4 は、ナノギャップ電極対 1 2 の電極間トンネル電流の流れを測定することができる。トンネル電流を測定するための時間には特に制限はなく、その可能な値は、1 0 分、2 0 分、3 0 分、4 0 分、5 0 分、1、2、3、4 時間又はそれ以上の時間である。測定時間は、単一分子 5 2 の長さ、配列決定される単一分子の数、配列決定の誤り率、単一分子が配列決定されるカバレッジ、配列決定のために利用されるナノチャネルおよびセンサの数、他の因子から適切に設定される。

【 0 0 9 5 】

また、測定制御部 3 2 は、電流計 2 4 によって測定されたトンネル電流の現在値を取得

10

20

30

40

50

し、取得した電流値を用いてコンダクタンスを計算し、コンダクタンスの時間プロファイルを作成することができる。トンネル電流が測定されるときにコンダクタンスは、ナノギャップ電極対 1 2 に印加された電圧 V によってトンネル電流の電流値を割ることで計算することができる。コンダクタンスを用いて、ナノギャップ電極対 1 2 との間に印加される電圧が異なる測定のために異なる場合であっても、統一された基準プロファイルの取得を可能にする。ナノギャップ電極対 1 2 に印加される電圧値は、各測定に対して一定であるとき、トンネル電流及びコンダクタンスの値は、同様の方法で処理することができる。

【 0 0 9 6 】

測定制御部 3 2 は、電流増幅器を使用し、電流計 2 4 によって測定されたトンネル電流を増幅し増幅トンネル電流を得ることができる。電流増幅器を用いると弱いトンネル電流値の増幅を可能にする。したがって、高い感度でトンネル電流を測定可能である。電流増幅器は、例えば、市販されている可変利得高速電流増幅器（カタログ番号：DHPCA100、FEMTO Messtechnik GmbH 社製）を用いてもよい。

【 0 0 9 7 】

識別部 3 4 は、種類（またはタイプ）が既知であり、相対コンダクタンステーブル 3 6 に格納されている単一分子 5 2 の単量体に対して、相対コンダクタンスを利用して、測定制御部 3 2 が作成したコンダクタンス時間プロファイルから得られた検出物理量を比較することができる。それにより、単一分子 5 2 の標的単量体の種類を識別する。いくつかの実施形態において、検出された物理量は、測定制御部 3 2 により調製されたコンダクタンスの時間プロファイルの各測定点についてのコンダクタンスである。本明細書で使用されるように、相対コンダクタンスは、種類が知られている単一分子 5 2 の単量体を測定して得られた単一分子の各単量体のコンダクタンスである。相対コンダクタンスは、単一分子 5 2 の単量体に関連する測定されたコンダクタンスを単一分子 5 2 の全ての単量体のために測定された最大の測定されたコンダクタンス値で割ることで算定することも可能である。いくつかの実施形態において、測定されたコンダクタンスは最大のまたはモーダル（最頻値）コンダクタンスであってもよい。

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態において、識別されるべき少なくとも 1 つの単一分子 5 2 は、溶媒に溶解することができる。溶媒は、特に限定されない。超純水が使用されている超純水は、例えば、EMDミリポア社（Milli-Q（登録商標）Integral33/5/1015（カタログ番号））によって製造されたMilli-Q（登録商標）Integral3（装置名）を用いて製造することができる。溶液中の単一分子 5 2 の濃度は、特に限定されないが、例えば、 $0.01 \sim 1.0 \mu\text{M}$ 、または $0.5 \sim 5.0 \mu\text{M}$ 、または $2 \sim 20 \mu\text{M}$ 、または $10 \sim 100 \mu\text{M}$ であってもよい。

【 0 0 9 9 】

そして、ナノギャップ電極対 1 2 は、試料に浸漬され、測定電源装置 1 8 は、ナノギャップ電極対 1 2 に電圧を加えるために使用されてもよいし、電気泳動電極対 2 0 に電圧を加えるために使用することができる。制御部を構成するコンピュータのCPUは、電気泳動電源装置 2 2 を読み出し、ROMまたは他の不揮発性記憶装置に記憶された生体分子配列決定プログラムを実行することができる。生体分子配列決定装置 1 0 は図 5 に示されるような生体分子配列決定処理を実行させてもよい。

【 0 1 0 0 】

ステップ S 1 0 において、電流計 2 4 は、単一分子 5 2 がナノギャップ電極対 1 2 の電極間を通過するとき生成されるトンネル電流を測定するように、測定制御部 3 2 は、電流計 2 4 を制御してもよい。

【 0 1 0 1 】

ステップ S 1 2 において、測定制御部 3 2 は、測定トンネル電流の電流値を求め、各測定点について、コンダクタンスを計算し、コンダクタンスの時間プロファイルを作成する。

【 0 1 0 2 】

10

20

30

40

50

ステップ S 1 4 において、識別部 3 4 は、相対コンダクタンステーブル 3 6 から標的単一分子 5 2 の異なる単量体の相対コンダクタンスを得る。

【 0 1 0 3 】

ステップ S 1 6 において、識別部 3 4 は、上記ステップ S 1 4 で得られた相対コンダクタンスと、上記ステップ S 1 2 で作成されたコンダクタンスの時間プロファイルと、を比較し、各信号が示す単量体の種類を識別する。ステップ S 1 8 において、識別部 3 4 は、識別結果を出力することができる。単一分子の単量体識別処理は終了してもよい。

【 0 1 0 4 】

以上説明したように、本明細書に記載されるように、生体分子配列決定装置のいくつかの実施形態において、電気泳動電極対 2 0 は、ナノチャネル 5 6 と、ナノチャネル 5 6 を通してナノギャップ電極対 1 2 の方向に試料 5 0 を移動させるための流路 4 6 A と、ナノギャップ電極対 1 2 の一つまたは複数を含んでもよいナノチャネル 5 6 への入口を通る方向に試料 5 0 を流すための流路 4 6 B との近傍に配置されてもよい。これにより、ナノギャップ電極対 1 2 の電極間を通過するトンネル電流の測定に基づいた高い信号頻度が可能となる。図 6 は、電気泳動電極対 2 0 は、従来の方法では提供されないデバイスが検出した信号波形を示しており、従って、ブラウン運動を利用しただけであり、図 7 は、本発明のいくつかの実施形態において生体分子配列決定装置 1 0 の電気泳動電極対 2 0 装置で検出された信号波形を示す図である。図 6 及び図 7 は、コンダクタンスと時間との両方において同じスケールで示されている。図からわかるように、図 7 には、より長い時間（パルス）でのコンダクタンスの増加が示されている。増加したコンダクタンスは、ナノ電極対間ギャップ中の DNA の存在と関連している。図 6 および図 7 に示すように、いくつかの実施形態では生体分子配列決定装置 1 0 は、従来の方法と比較して、高い信号頻度を示すことが理解される。

【 0 1 0 5 】

図 8 は電気泳動電極対 2 0 に印加される電圧と 1 秒当たりの検出信号の数（信号頻度）の関係を測定した結果を示すグラフである。図 8 から分かるように、この例示的な構成において、電気泳動電極対 2 0 に印加される電圧が約 0 . 7 V に増加するまで、信号頻度は、電気泳動電圧の増加に伴って増加することが理解される。

【 0 1 0 6 】

図 9 は、複数の異なる種類の単一分子に対する、そこに印加された電圧電気泳動電極対 2 0 が設けられている場合と電気泳動電極対 2 0 は設けられていない場合における、複数の異なるフラグメント読み取り長さ（リード長）のフラグメントの数の測定結果を示す。図 9 から分かるように、そこに印加された電圧電気泳動電極対 2 0 が設けられている場合のリードの数は、電気泳動電極対 2 0 を設けない場合と比し多い。

【 0 1 0 7 】

図 1 0 は、電気泳動電極対 2 0 が設けられていない場合（NE）と電気泳動電極対 2 0 が電圧が印加された状態で設けられている場合（N）における、異なるリード長のリードの数を測定した結果を示す。図 1 0 から見てとれるように、電気泳動電極対 2 0 はそこに印加された電圧が提供されるときにリードの数は、電気泳動電極対は 1 . 0 m s / b a s e 以下の範囲で供給されないシステム（NE）に対して相対的に大きいことが分かる。

【 0 1 0 8 】

以下の表 1 は、単一分子に対するリードの平均数および最大数、信号頻度、および試料の必要量を測定した結果を示している。試料 5 0 の濃度は 1 0 ⁻⁷ M（モル）である場合に、信号の頻度が測定される。

【 0 1 0 9 】

【表 1】

	従来技術	本発明	本発明/従来技術
リードの平均数 (リードの最大数)	1.4 (12)	2.2 (18)	約 1.5 倍
信号頻度	0 から 30/秒	500/秒	約 16 倍以上
試料の必要量	10 から 20 μ l	1 から 2 μ l	約 1/10

【0110】

表 1 に示すように、本発明は、従来技術と比較して、単一分子に対するリードの平均および最大数、信号頻度、および必要試料の少量性すべてにおいて優れている。

10

【0111】

以上説明したように、いくつかの実施形態では、生体分子配列決定装置は、電気泳動電極対 20 が、ナノチャネル 56 内へその中に含まれるナノギャップ電極対 12 に向けて試料 50 を流す流路 46 A と、ナノギャップ電極対 12 の方向へナノチャネル 56 から離れる方向に試料 50 を流す流路 46 B との両方の近傍に配置されるように構成されてもよい。そうすると、単一分子 52 に印加される電界の増加を向上させることができる。これにより、ブラウン運動の場合に比して、1 つまたは複数のナノ電極対に対する単一分子の通過速度をより安定化させることができる。これにより、単一分子の長いリードと識別を、高精度かつ高スループットで行うことが可能になる。

20

【0112】

いくつかの実施形態において、ナノギャップ電極対 12 と並列に配置されている電気泳動電極対 20 の構成について説明する。図 11 に示すように、電気泳動電極対 20 は電極がフローディレクタ 42 の上にまたは直ぐ隣接して配置されてもよい。電気泳動電極対 20 は、試料 50 の導入の方向に沿って、電極対 12 を含んでいてもよいナノチャネル 56 の近くまで延在していてもよい。電気泳動電極対 20 の電極は、それぞれナノチャネル 56 のすぐ上およびすぐ下に配置されてもよい。これにより、単一分子 52 に印加される電界のさらなる増加と、高精度かつ高スループットでの単一分子の単量体の識別が向上する。

【0113】

次に、本発明の追加の実施形態は、複数の異なるナノギャップ間隔を利用することができる方法を説明する。図 1 の生体分子配列決定装置 10 のそれらに対応するまたは同様の構成要素または部品には、同一の参照符号を付して、説明を省略する。

30

【0114】

図 12 に示すように、いくつかの実施形態によれば生体分子配列決定装置 210 は、ナノギャップ電極対 12 A、12 B および 12 C、測定のための 1 つまたは複数の測定電源装置 18、1 つ以上の電気泳動電極対 20、電気泳動のための 1 つ以上の電気泳動電源装置 22、電流計 24、及び 1 つ以上のシステム制御部 226 を備えている。

【0115】

ナノギャップ電極対 12 A、12 B、12 C の構成は、図 1 に関して説明したようにナノギャップ電極対 12 と同様とすることができる。各ナノギャップ電極対 12 A、12 B、12 C の電極は、電極対の間の中心線が同一の軸上に位置合わせされるように位置合わせされてもよい。ナノギャップ電極対 12 A、12 B、12 C との電極間空間によって単一分子 52 が通過する単一パスが部分的に画定されてもよい。ナノギャップ電極対 12 A の電極間距離は、 d_1 であってもよく、ナノギャップ電極対 12 B 間距離は d_2 であり、ナノギャップ電極 12 C との電極間距離は、 d_3 と互いに異なっていてもよい。図 12 に示す例では、その関係は $d_1 > d_2 > d_3$ である。これらの距離は、 $d_1 = 1.0 \text{ nm}$ 、 $d_2 = 0.7 \text{ nm}$ 、 $d_3 = 0.5 \text{ nm}$ とすることができるが、応用に応じて必要な任意の距離であってもよい。例えば、アミノ酸を測定することが望まれる場合には、1 つの電極間距離は、 0.25 nm であってもよい。一方、別の電極間距離は、 1.0 nm より大き

40

50

くてもよく、それぞれが異なるアミノ酸の側鎖の分子径よりも20%未満であってもよい。いくつかの実施形態において、電極間の距離のいくつかは、同じ又は実質的に同じであってもよい。

【0116】

図13に示すように、システム制御部226は、制御部30と、測定制御部232と、識別部234とを含むシステムとして表すことができる。

【0117】

測定制御部232は、電流計24に、ナノギャップ電極対12A、12B、12Cとの間に生じるトンネル電流を測定させるように制御している。測定制御部232は、電流計24により測定された各電極間距離トンネル電流の現在値を取得し、コンダクタンスを計算し、それぞれの電極間距離のコンダクタンスの時間プロファイルを作成することができる。

10

【0118】

識別部234は、種類が既知の単一分子52の単量体に関して、相対コンダクタンステーブル236に記憶された相対コンダクタンスと、測定制御部32によって決定されたそれぞれの電極間距離のコンダクタンスの時間プロファイルから得られた検出物理量を比較する。これにより、標的単一分子52の単量体の種類を識別することができる。

【0119】

いくつかの実施形態では、上記のように識別された少なくとも1つの単一分子52は、溶媒に溶解していてもよい。ナノギャップ電極対12A、12B、12Cは、試料中に浸漬されてもよい。測定装置18は、ナノギャップ電極対12A、12B、12Cのそれぞれの両端に電圧を印加するために使用されている。電気泳動電源装置22は、電気泳動電極対20A、20Bに電圧を加えるために使用することができる。システム制御装置226を構成するコンピュータのCPUが、ROMまたは他の不揮発性メモリに格納されていてもよい生体分子配列決定プログラムを実行する。これは、この生体分子配列決定装置210に、図14に示すように生体分子シーケンス処理を実行させてもよい。

20

【0120】

ナノギャップ電極対12A、12Bおよび12Cは、異なるギャップサイズを有することができる。ギャップサイズは生体分子の単量体（又はサブユニット）の異なるタイプの識別を可能にするように選択することができる。例えば、ナノギャップ電極対12Aは、1つの型のヌクレオチド（例えば、アデノシン）の識別を可能にするように選択される幅を有することができ、ナノギャップ電極対12Bは別の型のヌクレオチド（例えば、チミン）の識別を可能にするように選択される幅を有することができる。

30

【0121】

ナノギャップ電極対12A、12B、12Cは、ナノチャネル内に配置することができる。ナノチャネルは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10ナノギャップ電極対を含むことができる。少なくとも幾つか又はすべてのナノギャップ電極対は、異なる幅を有することができる。

【0122】

ステップS20において、測定制御部232は、単一分子52がナノギャップ電極対12A、12B、12Cの電極との間に形成されたナノチャネル56を通過する際に発生するトンネル電流を測定する電流計24を制御する。

40

【0123】

ステップS22において、測定制御部232は、測定されたトンネル電流の電流値を取得することで、測定点毎にコンダクタンスを計算し、それぞれの電極間距離のコンダクタンスの時間プロファイルを作成することができる。

【0124】

ステップS24では、識別部234は、変数「i」を1にセットする。

【0125】

ステップS26において、識別部234は、電極間距離dに対応する単一分子52の単

50

量体の相対コンダクタンスを、すなわち、電極間距離 d_j で識別することができる標的単一分子 52 単量体の相対コンダクタンスを得る。

【0126】

ステップ S28 では、識別部 234 は、ステップ S26 で得られた相対値と、上記ステップ S22 で調製した電極間距離のコンダクタンスの時間プロファイルとを比較し、各信号が示す単一分子の単量体の種類を識別する。

【0127】

ステップ S30 において、識別部 234 が以上の処理を全ての電極間距離 d_j について完了したか否かを判定する。未処理電極間距離 d_j である場合、処理は、ステップ S32 に進み、「i」を 1 だけインクリメントして、ステップ S26 に戻る。すべての電極間距離 d_i について完了した場合、処理は、ステップ S34 に進み、識別部 234 は、識別結果を出力することができ、生体分子配列決定処理を終了する。

【0128】

上述したように、いくつかの実施形態においては、コンダクタンスは電極間距離が異なるナノギャップ電極対の間に発生する電流（例えば、トンネル電流）を利用して得られるものを使用することができる、単一ナノギャップ電極対または複数ナノギャップ電極対の使用によって、同じまたは実質的に類似のナノギャップ間隔という効果に加えて、より正確な識別が可能である電極間の距離が異なるナノギャップ電極対の複数だけでなく、単一ナノギャップ電極対の電極間の距離を変化させることができる構造が可能である。

【0129】

本明細書に記載のいくつかの実施形態では、電極間距離が異なる複数のナノギャップ電極対について説明されてきた。しかし、単一のナノギャップ電極対の電極間の距離を変化させることが可能である。電極間の距離は、力点、支点と、作用点の幾何学的配置をてこの原理を用いて調整することで、変化させることができる。具体的には、電極間の距離は、圧電素子を用いたナノギャップ電極対の一部を押し上げることにより、作用点として機能する電極の端部を移動させることによって変更することができる。電極間の距離は、圧電素子によって押し上げた距離と電極間距離との対応関係に基づいて所望に応じてセットすることができる。

【0130】

生体分子配列決定装置は、電気泳動電極対 20 が、ナノチャネル 56 内へナノギャップ電極対 12 に向けて試料 50 を流す流路 46A と、ナノギャップ電極対 12 の方向へナノチャネル 56 から離れる方向に試料 50 を流す流路 46B との両方の近傍に配置されるように構成されてもよく、単一分子 52 がみる電界の増加を向上させることが可能である。これは、高精度かつ高スループットでの単一分子識別を可能にする。いくつかの実施形態では、生体分子配列決定装置は、プロテオミクスシーケンサとして使用することも可能であり、例えば、高速、高感度、および低コストでのアレルゲン試験、疾患の診断等にも適用可能であり、公衆衛生、安全性、セキュリティ、および環境の分野で 사용할ことができる。

【0131】

本開示は、ナノギャップ電極の「対」に関してなされているが、本開示の装置およびシステムは、任意の数のナノギャップ電極を含むことができることが理解されよう。例えば、装置は、少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の電極を含む組で、ナノギャップ電極の組を含むことができる。

コンピュータ制御システム

【0132】

本開示は、本開示の方法を実施するようにプログラムされたコンピュータ制御システムを提供する。図 15 は、タンパク質のような生体分子を配列決定するように、プログラムされまたはさもなければ順序付けるように構成されている、コンピュータシステム 1501 を示している。コンピュータシステム 1501 は、中央処理装置（CPU はまた、本明細書において「プロセッサ」、および「コンピュータプロセッサ」）1505 であり、シ

10

20

30

40

50

ングルコアまたはマルチコアのプロセッサ、または、並列処理のための複数のプロセッサを含む。コンピュータシステム 1501 は、メモリあるいはメモリの場所 1510（例えば、ランダムアクセスメモリ、読み出し専用メモリ、フラッシュメモリ）と、電子記憶部 1515（例えばハードディスク）と、1つまたは複数の他のシステムと通信するための通信インターフェース 1520（例えば、ネットワークアダプタ）と、キャッシュ、メモリ、データ記憶装置及び/又は電子表示アダプタなどを含む周辺装置 1525 と、を含む。コンピュータシステム 1501 は、本明細書の他の箇所で説明された制御部 26、226 とすることができる。メモリ 1510、記憶部 1515、インターフェース 1520 及び周辺装置 1525 は、マザーボードなどの通信バス（線）を介して中央処理装置 1505 に接続されている。記憶部 1515 は、データを保存するデータ保存部（データリポジトリ）であってもよい。コンピュータシステム 1501 は、通信インターフェース 1520 を用いてコンピュータネットワーク（「ネットワーク」）1530 に動作可能に結合することができる。ネットワーク 1530 は、インターネット、インターネット、エクストラネット、又はインターネットと通信するイントラネット及び/又はエクストラネットがある。ネットワーク 1530 は、電気通信網および/またはデータネットワークである。ネットワーク 1530 は、1つまたは複数のコンピュータサーバ、分散コンピューティングを可能にすることができ、クラウドコンピューティングなどを含むことができる。ネットワーク 1530 と、コンピュータシステム 1501 を用いて、いくつかの場合では、コンピュータシステム 1501 に結合されたデバイスがクライアントまたはサーバとして動作することを可能にするピア・ツー・ピア・ネットワークを実現することができる。

10

20

【0133】

中央処理装置 1505 は、プログラムまたはソフトウェアで具体化した機械可読命令のシーケンスを実行することができる。命令は、メモリ 1510 のようなメモリ位置に記憶される。命令が CPU 1505 に向けられると、続いて、本開示の方法を実施する CPU 1505 を構成するプログラムで、または、CPU 1505 によって実行される。動作の例は、フェッチ、デコード、実行、およびライトバックを含むことができる。

【0134】

CPU 1505 は、集積回路のような回路の一部である。システム 1501 の他の 1つ以上の構成要素は、回路に含まれることが可能である。幾つかのケースでは、回路は、特定用途向け集積回路（ASIC）である。

30

【0135】

記憶部 1515 は、ドライバ、ライブラリ、およびプログラムなどのファイルを記憶する。記憶部 1515 は、ユーザデータ、例えば、ユーザプリファランスおよびユーザプログラムが格納されている。コンピュータシステム 1501 は、インターネットやイントラネットを介してコンピュータシステム 1501 と通信する遠隔サーバに配置されている、コンピュータシステム 1501 の外部にある 1つまたは複数の追加のデータ記憶装置を含むことができる。

【0136】

コンピュータシステム 1501 は、ネットワーク 1530 を介して 1つまたは複数の遠隔コンピュータシステムと通信することができる。例えばコンピュータシステム 1501 は、ユーザのリモートコンピュータシステムと通信することができる。ユーザは、ネットワーク 1530 を介してコンピュータシステム 1501 にアクセスすることができる。

40

【0137】

本明細書に記載の方法は、コンピュータシステム 1501 の記憶場所に記憶され、機械（例えば、コンピュータのプロセッサ）実行可能なコードにより実現され、例えば、メモリ 1510 や記憶部 1515 に記憶することができる。使用中、コードは、プロセッサ 1505 によって実行することが可能である。いくつかの場合には、コードは、記憶部 1515 から検索し、プロセッサ 1505 による素早いアクセスのために、メモリ 1510 に記憶することができるマシン実行可能または機械可読コードはソフトウェアの形態で提供することができる。いくつかの状況では、電子記憶部 1515 が排除されることができ、

50

機械実行可能な命令は、メモリ 1 5 1 0 に格納されている。

【 0 1 3 8 】

コードは、コードを実行するように適合されたプロセッサを有する機械に使用するため、予めコンパイルされて構成する、またはランタイム時にコンパイルすることができる。コードは、予めコンパイルされたまたはコンパイルされた形態で実行することを可能にするように選択することができるプログラミング言語で供給することができる。

【 0 1 3 9 】

本明細書で提供されるシステム及び方法の態様では、コンピュータシステム 1 5 0 1 は、プログラミングにおいて具体化することができる技術の種々の態様、典型的に機械（プロセッサ）実行可能なコード及び／又は機械可読媒体の種類において実施される関連データの形態の「製品」または「製造品」と考えることができる。マシン実行可能コードは、電子的記憶部、例えばメモリ（例えば、リードオンリーメモリ、ランダムアクセスメモリ、フラッシュメモリ）またはハードディスクに記憶することができる。「記憶装置」型媒体は、コンピュータのメモリのすべてが、プロセッサ等、又はそれらに関連するモジュール、各種半導体メモリ、テープドライブ、ディスクドライブなどのような、ソフトウェアプログラミングのために任意の時点で非一時的な記憶を提供することができる。ソフトウェアのすべて又は一部は、インターネット又は他の各種通信ネットワークを介し通信されてもよい。このような通信は、例えば、管理サーバまたはホスト・コンピュータ、アプリケーションサーバのコンピュータプラットフォームから別のコンピュータまたはプロセッサへのソフトウェアのローディングを可能にすることができる。ソフトウェア要素を担う別のタイプの媒体は、有線および光地上線ネットワークを介しておよび種々のエアリンクを介してローカルデバイス間で物理インターフェースにわたって使用されるような、光、電気及び電磁波を含む。有線または無線リンク、光リンクなどの、このような波を搬送する物理要素はまた、ソフトウェアを有する媒体とみなされ得る。本明細書で使用されるとき、非一時的、有形「記憶」メディアに限定されない限り、コンピュータまたは機械「可読媒体」などの用語は、実行のためにプロセッサに命令を与えることに関与する任意の媒体を指す。

【 0 1 4 0 】

従って、コンピュータ実行可能コード（即ち、コンピュータプログラム）のような機械（またはコンピュータ）可読媒体は、有形の記憶媒体、搬送波媒体または物理伝送媒体を含むがこれらに限定されない多くの形態をとることができる。非揮発性記憶媒体は、任意のコンピュータなどにおける記憶デバイスのいずれか（１つまたは複数の）であり、図に示すようなデータベースを実現するために使用することができる例えば、光ディスクまたは磁気ディスクを含む。不揮発性記憶媒体は、コンピュータプラットフォームのメインメモリなどの動的メモリが挙げられる。有形伝送媒体は、同軸ケーブル、銅線および光ファイバを含み、コンピュータシステム内のバスを構成するワイヤを含んでいる。搬送波伝送媒体は電気信号又は電磁信号、或いは無線周波数（ＲＦ）および赤外線（ＩＲ）データ通信などの音響波または光波の形態をとることができる。コンピュータ可読媒体の一般的形式は、例えばフロッピー（登録商標）ディスク、フレキシブルディスク、ハードディスク、磁気テープ、他の磁気媒体、ＣＤ－ＲＯＭ、ＤＶＤ－ＲＯＭ、ＤＶＤ－ＲＯＭ、他の光学媒体、パンチカード、紙テープ、穴のパターンを有する任意の物理的媒体、ＲＡＭ、ＲＯＭ、ＰＲＯＭ、ＥＰＲＯＭ、ＦＬＡＳＨ－ＥＰＲＯＭ、他のメモリチップもしくはカートリッジ、搬送波、データ又は命令は、そのような波を搬送するケーブルまたはリンク、またはコンピュータプログラミングコードおよび／またはデータを読み取ることができる任意の他の媒体を含んでいる。コンピュータ可読媒体のこれらの形態の多くは、実行のためにプロセッサに１つ以上の命令の１つ以上のシーケンスを搬送することに関与してもよい。

【 0 1 4 1 】

上述したように、いくつかの実施形態では、本発明の生体分子配列決定システムは、予めインストールされたプログラムを含むとして説明されているが、外部のメモリや外部の

10

20

30

40

50

【図 3】

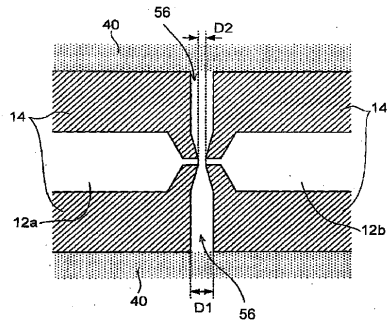


Fig. 3

【図 4】

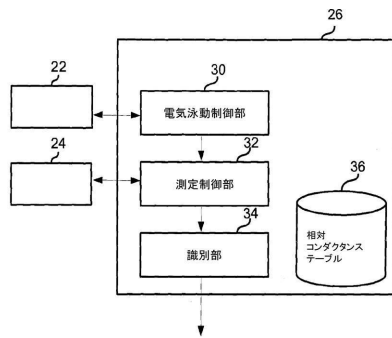


Fig. 4

【図 5】

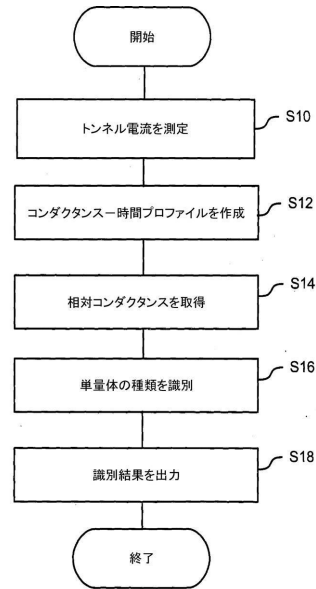


Fig. 5

【図 6】

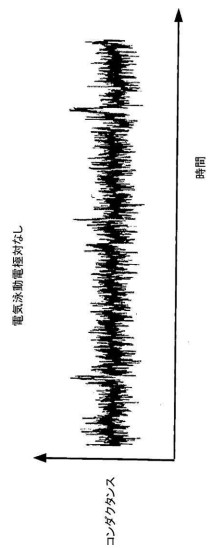


Fig. 6

【図 7】

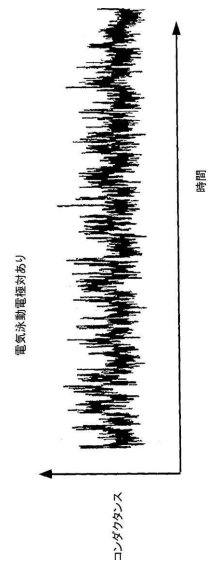


Fig. 7

【図 8】

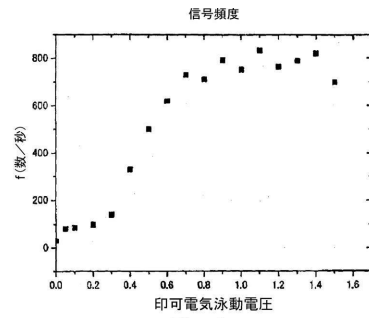


Fig. 8

【図 9】

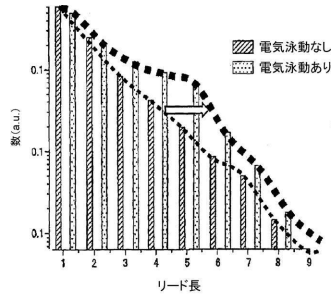


Fig. 9

【図 10】

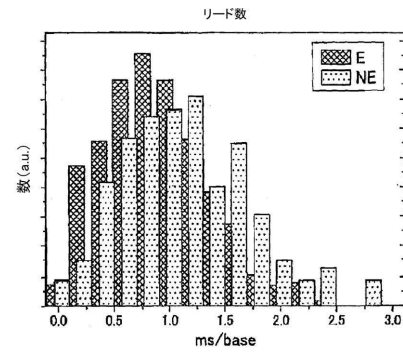


Fig. 10

【図 11】

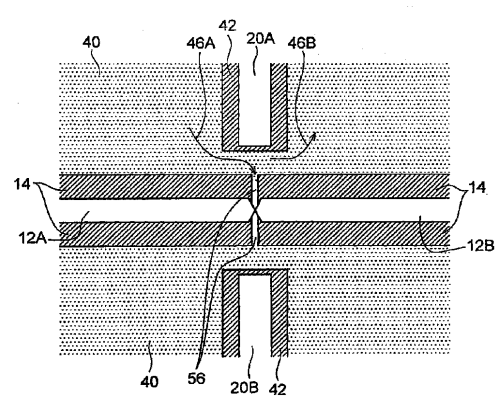


Fig. 11

【図 12】

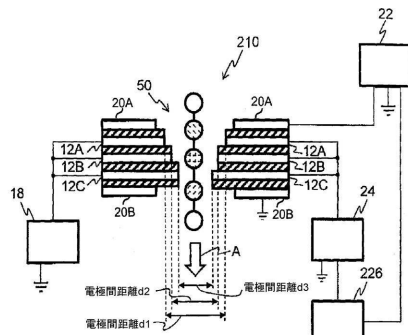


Fig. 12

【図 13】

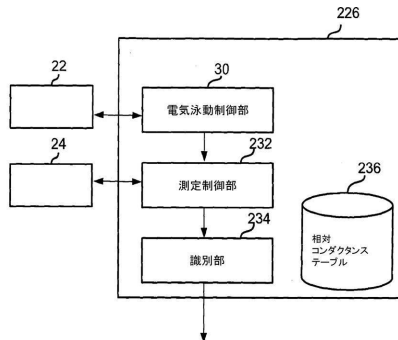


Fig. 13

【図 14】

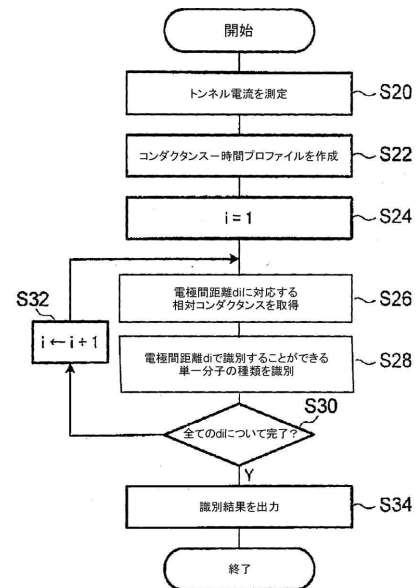


Fig. 14

【図 15】

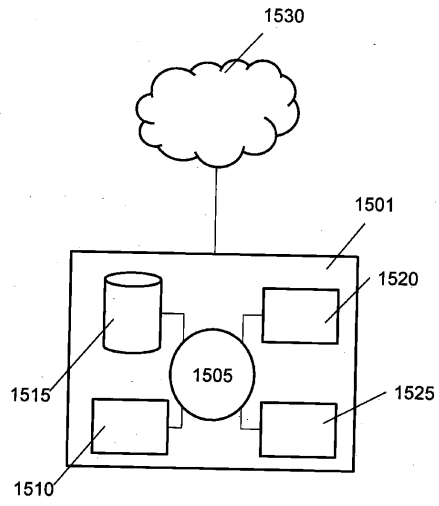


Fig. 15

フロントページの続き

- (72)発明者 川合 知二
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内
- (72)発明者 谷口 正輝
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内
- (72)発明者 大城 敬人
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内
- (72)発明者 マーク フロイド オールダム
アメリカ合衆国 94062 カリフォルニア州 エメラルドヒルズ グレンミア ウエイ 738
- (72)発明者 エリック スコット ノードマン
アメリカ合衆国 94301-4022 カリフォルニア州 パロ アルト ミドルフィールド
ロード 2150

審査官 吉田 将志

- (56)参考文献 特表2003-507026(JP, A)
米国特許出願公開第2012/0193237(US, A1)
Leonardo Lesser-Rojas, et al., Tandem array of nanoelectronic readers embedded coplanar to a fluidic nanochannel for correlated single biopolymer analysis, BIOMICROFLUIDICS, 2014年 1月10日, Vol.8/Iss.1, PP.016501-1 - 016501-10

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 27/00 - 10
14 - 24
C12M 1/00