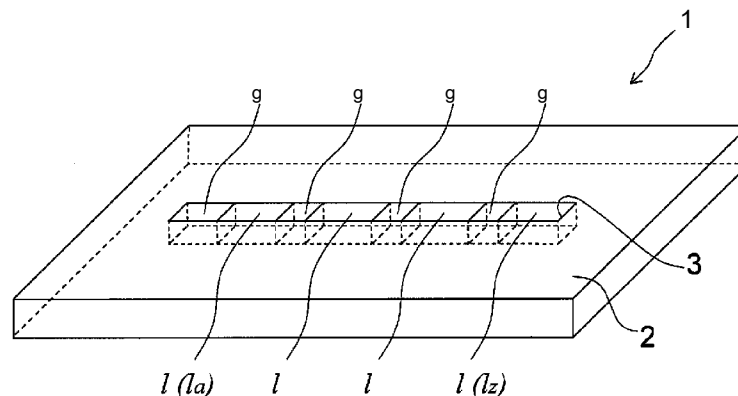




- (51) 国際特許分類 :  
G01N 35/08 (2006.01) C12M 1/34 (2006.01)  
C12M 1/00 (2006.01) G01N 37/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : PCT/JP2012/078587
- (22) 国際出願日 : 2012 年 11 月 5 日 (05.11.2012)
- (25) 国際出願の言語 : 日本語
- (26) 国際公開の言語 : 日本語
- (30) 優先権データ :  
特願 2011-282185 2011 年 12 月 22 日 (22.12.2011) JP
- (71) 出願人 : 株式会社 島津製作所 (SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 〒60485 11 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者 : 片所 功 (KATASHO, Isao); 〒60485 11 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP); 大橋 鉄雄 (OHASHI, Tetsuo); 〒60485 11 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人 : 喜多 俊文, 外 (KITA, Toshifumi et al.); 〒604851 1 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, ML, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, ML, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, 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 (条約第 21 条(3))

(54) Title: CHIP DEVICE FOR MANIPULATING OBJECT COMPONENT, AND METHOD USING SAME

(54) 発明の名称 : 対象成分を操作するためのチップデバイス及びそれを用いた方法



(57) Abstract: [Problem] To provide a device in which a plurality of liquid substances such as reagents required for a series of manipulations on a sample are stably secured in separated states throughout the manipulations within the device. [Solution] A chip device for manipulating an object component comprises: a manipulation chip (1) comprising a substrate (2), a groove (3) formed in the surface of the substrate, and a manipulation medium accommodated in the groove such that gel phases (g) and aqueous liquid phases (1) are alternately disposed in the longitudinal direction of the groove (3) and are in contact with each other; magnetic particles to capture and carry the object component; and a magnetic field application means capable of moving the magnetic particles in the longitudinal direction of the groove in the substrate by the application of a magnetic field to the substrate.

(57) 要約 :

[続葉有]

---

【課題】デバイス内において、試料の一連の操作に必要な試薬等の複数の液体物質がそれぞれ、操作の前後を通じて仕切られた状態で安定的に固定されているデバイスを提供する。 【解決手段】対象成分を操作するためのチップデバイスであって、基板２と、前記基板表面に形成された溝３と、前記溝内にゲル相ｇと水系液体相ｌとが前記溝３の長手方向に交互に配置され且つ同士が互いに接するように収容されている操作用媒体とを含む操作チップ１と；対象成分を捕捉し運搬すべき磁性体粒子と；前記基板に磁場を印加することによって前記磁性体粒子を前記基板上の前記溝の長手方向に移動させることができる磁場印加手段とを含むチップデバイス。

## 明 細 書

発明の名称：

対象成分を操作するためのチップデバイス及びそれを用いた方法

技術分野

[0001]

本発明は、 $\mu$ TAS (Micro-Total Analysis Systems) デバイスに関する。

背景技術

[0002]

特表 2009—534653 号公報 (特許文献 1) において、基板表面で EWOD (electrowetting on dielectrics) 技術を用いて液滴を操作し、試料の分割、混合、検出、分画及び保管等を行うデバイスが記載されている。また、核酸と結合可能な磁気応答性ビーズの使用も記載されている。

[0003]

米国特許第 6406604 号明細書 (特許文献 2) には、基板上に形成された分離用流路の一部に抗体を固定化することにより、アフィニティ濃縮とキャピラリー電気泳動分離による精製とが可能なマルチ分析用チップが記載されている。

[0004]

特許第 4353900 号明細書 (特許文献 3) には、上部基板の流路と下部基板の流路とが交差しており、交差箇所において、両流路が、多孔質シリコン膜等の多孔質部材を介して接触しているデバイスが記載されている。

[0005]

特開 2008—233002 号公報 (特許文献 4) には、基板上にウエル状反応容器と流路とが形成され、ウエル状反応容器内に反応試薬固定化磁性体

粒子を配置している反応チップが記載されている。

[0006]

特開 2 0 0 6 \_ 6 1 0 3 1 号公報 (特許文献 5) には、複数のウエル間が流路で接続された分析処理チップであって、磁場をかけ、第一の精製ウエルから流路を通して第二の精製ウエルへ、核酸が付着した磁性体を移動させることによって核酸を精製することができる分析処理チップが記載されている。

[0007]

特表 2 0 0 8 — 5 1 7 2 5 9 号公報 (特許文献 6) には、試薬を受け入れるための幾何学形状を有する微小通路を有するカード内において、磁性体粒子を用いて測定試料の DNA 又はタンパク質を総合的且つ自動的に分析する装置が記載されている。

[0008]

特開 2 0 0 7 \_ 3 1 5 9 3 6 号公報 (特許文献 7) には、基板上に流路が設けられ、流路を遮断するように切込みを有する壁が設けられた流体制御部に対して加圧することによって流体の流れを制御することができるマイクロチップが記載されている。

[0009]

特表 2 0 0 6 - 5 1 8 2 2 1 号公報 (特許文献 8) には、破壊可能なシールによって流体的に隔離された、試薬を含有する少なくとも 3 つのセグメントを有する小管であって、細胞からの核酸抽出及び遺伝子増幅反応による分析まで連続して 1 つの小管で行うことができるサンプル処理小管が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[001 0] 特許文献 1 : 特表 2 0 0 9 - 5 3 4 6 5 3 号 公 報

特許文献 2 : 米 国 特 許 第 6 4 0 6 6 0 4 号 明 細 書

特許文献 3 : 特 許 第 4 3 5 3 9 0 0 号 明 細 書

特許文献 4 : 特 開 2 0 0 8 \_ 2 3 3 0 0 2 号 公 報

特許文献 5 : 特 開 2 0 0 6 \_ 6 1 0 3 1 号 公 報

特許文献 6 : 特表 2 0 0 8 - 5 1 7 2 5 9 号 公 報

特許文献 7 : 特 開 2 0 0 7 - 3 1 5 9 3 6 号 公 報

特許文献 8 : 特表 2 0 0 6 — 5 1 8 2 2 1 号 公 報

## 発 明 の 開 示

### 発 明 が 解 決 し ょ う と す る 課 題

[00 11]

チップ上に流路を形成し、分離や検出などの機能を集積し、分析を行う  $\mu$ TAS

(Micro-To tal

Ana l y s i s Sys t e m s) デバイスについては、試料の微少化や、マルチ分析によ

る分析のスループット向上などの利点のため、多くの研究がなされている。

検出器を共通化した多検体測定、精製後の分析、同時に使用できない複数試

薬の混合など複雑な分析を行うためには、複数の流路を交差させる必要がある

が、これまでの方法では、複数のポンプやバルブが必要となるためデバイ

スの構造が複雑化し、 $\mu$ TAS の利点を十分に活かすことができていない。

[00 12]

特許文献 1 のデバイスでは、基板表面で、分画及び反応など液滴に対し多く

の操作が可能であるが、液滴の操作が EWOD に基づくため、複雑な電氣的制御

を必要とする上に帯電や表面状態の影響を大きく受けることで液滴の操作の

安定性が低い。また、試薬液をデバイス上に安定的に固定することはできな

し。試薬液は、都度、デバイス外から供給される必要があるため、コンタミ

ネーションの可能性がある。

[001 3]

特許文献 2 のデバイスでは、固定化抗体等によるアフィニティ濃縮と電気泳動分離による精製とが主として行われ、流路内で反応が行われることは考慮されていない。流路内は 1 種類の溶液又は 1 種類のゲルで満たされているのみであるため、可能な操作が非常に制限されているためである。

[0014]

特許文献 3 のデバイスでは、試薬は、乾燥された状態で流路内に保管されるが、流路に溶液を流すシステムであるため、溶液状態の試薬を固定しておくことはできない。交差した流路の接続部に多孔質膜が設けられているが、この膜は微粒子等をろ過することを目的としているため、試薬液を固定化することはできない。また、デバイスの操作にはポンプ及びバルブが必要である。

[001 5]

特許文献 4、5、6 及び 7 のデバイスでは、本質的に流路内を液体が移動するため、デバイス内における試薬の溶液状態での保管は不可能である。

[001 6]

特許文献 8 のデバイスでは、試薬溶液同士はシールによつて仕切られることによつて固定化されているが、試薬溶液間を試料が移動する際には、試薬溶液同士を仕切っているシールを破る必要があるため、管内で液の移動を伴う。

[001 7]

そこで本発明の目的は、デバイス内において、試料の一連の操作に必要な試薬等の複数の液体物質がそれぞれ、操作の前後を通じて仕切られた状態で安定的に固定されているデバイスを提供することにある。また、本発明の目的

は、一連の操作に必要な複数の液体物質を備えたデバイス内で、一連の工程の全てを密封状態で且つ操作性良く行うことができる試料の操作方法を提供することにある。

#### 課題を解決するための手段

[001 8]

本発明者らは、基板上に形成された複数の溝に、複数の水系液体をゲル物質で仕切って収容し、且つ溝内に収容された水系液体中に存在させることができる磁性体粒子と、基板外部から操作可能な磁場印加手段とによって、本発明の目的が達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[001 9]

本発明は、以下の発明を含む。

( 1 ) 対象成分を操作するためのチップデバイスであって、

基板と、前記基板表面に形成された溝と、前記溝内にゲル相と水系液体相とが前記溝の長手方向に交互に配置され且つ相同士が互いに接するように収容されている操作用媒体とを含む操作チップと、

対象成分を捕捉し運搬すべき磁性体粒子と、

前記基板に磁場を印加することによって前記磁性体粒子を前記基板上の前記溝の長手方向に移動させることができる磁場印加手段とを含むチップデバイス。

上記 ( 1 ) における操作チップの基本構造例は、図 1 に示される。操作チップを含むチップデバイスの使用態様例は、図 1 1 に示される。

[0020] ( 2 ) 前記水系液体相のうち、前記溝の一方又は他方の端に最も近い位置に

収容されている水系液体相が、前記対象成分を含む試料が最初に供給されるべき水系液体相である、(1)に記載のチップデバイス。

上記(2)における試料が最初に供給されるべき水系液体相は、図1等において1aとして例示される。

[0021] (3) 前記溝が、主溝と、前記主溝から分岐する分岐溝とから構成されている、(1)又は(2)に記載のチップデバイス。

上記(3)における分岐態様は、図3及び4に例示される。

(4) 前記溝の主溝側の端に最も近い位置に収容されている水系液体相が、前記対象成分が最初に供給されるべき水系液体相である、(3)に記載のチップデバイス。

(5) 前記溝の分岐溝側の端に最も近い位置に収容されている水系液体相が、前記対象成分が最初に供給されるべき水系液体相である、(3)に記載のチップデバイス。

(6) 前記溝が、格子状に交差した複数の溝から構成されている、(1)又は(2)に記載のチップデバイス。

上記(6)における交差態様は、図5に例示される。

[0022] (7) 前記溝の表面の前記ゲル相が接している部分に疎水性処理がなされている、(1)～(6)のいずれかに記載のチップデバイス。

(8) 前記溝の表面の前記水系液体相が接している部分に親水性処理がなされている、(1)～(7)のいずれかに記載のチップデバイス。

[0023] (9) 前記溝が、0.005mm～10mm幅、及び0.005～5mm深さである、(1)～(8)のいずれかに記載のチップデバイス。



(10) 前記基板の前記溝を有する側の表面に蓋板を有する、(1) ~ (9) のいずれかに記載のチップデバイス。

(11) 前記蓋板が、前記溝の少なくとも一方の末端に位置するゲル相に通じる孔が穿設されたものである、(10) に記載のチップデバイス。

上記 (11) のチップデバイスにおける操作チップは、図6等に例示される。

[0024] (12) 前記磁場印加手段が、前記基板面に略並行に一次元アレイ状又は二次元アレイ状で配置されている複数の磁石であり、前記複数の磁石が互いに引き合った状態で、前記基板面に略並行且つ前記主溝の長手方向に移動可能なものであり、前記磁石の進路上且つ前記主溝から前記分岐溝への分岐点において、前記複数の磁石を分離するための分離補助具が設けられている、(4) 及び (7) ~ (11) のいずれかに記載のチップデバイス。

上記 (12) のチップデバイスにおける磁石及び分離補助具の態様は、図16に例示される。

[0025] (13) 前記水系液体相が、核酸抽出液相、核酸洗浄液相、及び核酸増幅反応液相からなる群から選ばれる相を含む、(1) ~ (12) のいずれかに記載のチップデバイス。

[0026] (14) (1) ~ (13) のいずれかに記載のチップデバイスに含まれる操作チップの作製方法であって、以下の工程を含む方法：

(i) 基板上に形成された溝の長手方向に、複数のゲル塊が互いに隔離されて配置されたゲル相部を調製する工程；及び

(ii) 前記ゲル相部に隣接する溝内空間に水系液体を入れることによって、水系液体相部を調製する工程。

上記 (14) の方法は、図 10 に模式的に示される。

(15) (iii) 基板の前記溝を有する側の表面に蓋板を設ける工程をさらに含む、(14) に記載の方法。

[0027] (16) (1) ~ (13) のいずれかに記載のチップデバイスを用いて対象成分を操作するための方法であって、以下の工程を含む方法：

(i) 前記操作チップの一方の端に位置する水系液体相において、対象成分を含む試料と磁性体粒子と水系液体とを含む水系液体混合物を得る工程；

(ii) 磁場印加手段によって磁場を生じさせ、前記磁性体粒子を前記対象成分と共に、前記最も端に位置する水系液体混合物の相から前記ゲル相を介して、隣接する水系液体相中へ運搬する工程；

(iii) 前記水系液体相中で所望の処理を行う工程；

(iv) 磁場印加手段によって磁場を生じさせ、前記磁性体粒子を前記対象成分と共に、前記水系液体相から他の水系液体相へ運搬する工程；

(v) 前記他の水系液体相中で所望の処理を行う工程；

(vi) 前記の工程 (iv) 及び (v) を必要に応じて繰り返す工程；及び

(vii) 前記磁性体粒子を対象成分と共に前記操作チップの他方の端に位置する水系液体相へ運搬する工程。

上記（１６）の方法は、図１１に模式的に示される。

[0028] （１７）前記操作チップが複数存在し、前記複数の操作チップについて、前記磁性体粒子による運搬を同時に行う、（１６）に記載の方法。

上記（１７）における複数の操作チップが集積されたデバイスは、図１３に例示される。

[0029] （１８）前記対象成分が核酸であり、

前記工程（i）において、前記一方の端に位置する相における水系液混合物に含まれる水系液体が前記核酸を遊離させ、前記磁性体粒子へ結合又は吸着させる液体であり、前記水系液体中で核酸抽出が行われ、

前記工程（ii）～（vi）において、前記水系液体相の少なくとも１つが前記磁性体粒子の洗浄液からなり、前記洗浄液中で遊離核酸に伴う夾雑物の除去による核酸精製が行われる、（１６）又は（１７）に記載の方法。

[0030] （１９）前記工程（vi）において、前記他方の端に位置する水系液体相が核酸増幅反応液からなり、前記核酸増幅反応液中で精製核酸中の標的核酸の増幅が行われる、（１８）に記載の方法。

（２０）前記核酸増幅反応による生成物をリアルタイムで検出する、（１９）に記載の方法。

## 発明の効果

[0031]

本発明により、小型且つ低ランニングコストのデバイスであって、デバイス内において、試料の一連の操作に必要な試薬等の複数の液体物質がそれぞれ

、操作の前後を通じて仕切られた状態で安定的に固定されているデバイスを提供することができる。また、本発明によると、一連の操作に必要な複数の液体物質を備えたデバイス内で、一連の工程の全てを密封状態で且つ操作性良く行うことができる試料の操作方法が可能となる。

### 図面の簡単な説明

[0032] [図1] 本発明のチップデバイスにおける操作チップの基本構造を示す斜視図である。

[図2] 操作チップの基板に形成された溝に收容されるゲル相及び水系液体相の配置/ターンを例示した平面図である。

[図3] 操作チップの基板に形成された溝の分岐例を、溝に收容されるゲル相及び水系液体相の配置パターンの例と共に示した平面図である。

[図4] 操作チップの基板に形成された溝の分岐例を、溝に收容されるゲル相及び水系液体相の配置パターンの例と共に示した平面図である。

[図5] 操作チップの基板に形成された溝の交差例を、溝に收容されるゲル相及び水系液体相の配置パターンの例と共に示した平面図である。

[図6] 基板表面に蓋板が設けられた操作チップの一例の斜視図である。

[図7] 基板表面に蓋板が設けられた操作チップの他の一例の斜視図である。

[図8] 図6の操作チップの一例の構成部材及び関連部材を互いに離隔して示した斜視図である。

[図9] 図8における構成部材及び関連部材が全て組み合わされた状態における、図8のIX-IX線に沿う垂直断面図である。

[図10] 操作チップの作成方法の一例を斜視図により模式的に示したものである。

[図11] チップデバイスを用いた基本操作の一例を垂直断面図により模式的に示したものである。

[図12] 図7の操作チップを用いた操作によって得られた磁性体粒子を回収する方法の二例を、垂直断面図（一部）により模式的に示したものである。それぞれの例において、工程（g'）及び（g' '）は、図11における工程

(g) に対応する。

[図13] 操作チップを複数含む集積型チップデバイスの一例の斜視図である。

[図14] 操作チップを複数含む集積型チップデバイスの他の一例の斜視図である。

[図15] 分岐溝を有する操作チップの使用において、溝の分岐点で磁性体粒子群を分割する方法の一例を模式的に示した平面図である。

[図16] 分岐溝を有する操作チップの使用において、溝の分岐点で磁性体粒子群を分割する方法の一例を模式的に示した平面図である。

[図17] 図16の例において、溝の分岐点において互いに引き合った複数の磁石を分離補助具によつて分離する機構を模式的に示したものである。工程 (b) 及び (c) は、それぞれ図16における工程 (b) 及び (c) に相当する。

[図18] 図17における磁石の平面形状の変形例を示したものである。

[図19] 溝の分岐点において互いに引き合った複数の磁石を分離補助具によつて分離する機構の変形例を示したものである。

[図20] 図16及び図17の例において、複数の磁石を移動させるための磁石用治具が装着された磁石を模式的に示したものである。

## 発明を実施するための最良の形態

[0033] [1. 対象成分の操作]

[1-1. 対象成分]

本発明のチップデバイスにおいて操作される対象成分は、通常水系液体中や、エマルジョン中で操作されうる成分であれば特に限定されず、生体内成分及び非生体内成分を問わない。生体内成分には、核酸 (D-6及び $\frac{1}{4}$ N 8を含む)、タンパク質、脂質、糖などの生体分子が含まれる。非生体内成分には、前記の生体分子の人為的 (化学的及び生化学的を問わない) 修飾体、ラベル化体、変異体などの非生体分子、天然物由来の非生体分子、その他水系液体中で操作されうるいかなる成分も含まれる。

[0034]

対象成分は、通常、その対象成分を含む試料の態様で提供されうる。そのような試料としては、例えば、動植物組織、体液、排泄物等の生体由来試料、細胞、原虫、真菌、細菌、ウイルス等の生体分子含有体を挙げることができる。体液には血液、喀痰、髄液、唾液、乳が含まれ、排泄物には糞便、尿、汗が含まれ、これらの組合せでもよい。細胞には血液中の白血球、血小板や、口腔細胞その他の粘膜細胞の剥離細胞が含まれ、これらの組合せでもよい。これらの試料は、臨床スワブとして得てよい。また、上記の試料は、例えば細胞懸濁液、ホモジネート、細胞溶解液との混合液などの態様で調製されてもよい。

また、対象成分を含む試料は、上記の試料に対して、修飾、ラベル化、断片化、変異等の処置が行われて得られたものであってもよい。

[0035]

対象成分を含む試料は、さらに、予め上記の試料に適宜前処理を行って調製されたものであってもよい。前処理としては、例えば対象成分を含む試料から対象成分又は対象成分含有体の抽出、分離、精製を行う処理などが挙げられる。しかしながら、このような前処理は、本発明のチップデバイスの中で行うことができるため、チップデバイス内に供給される前に予め行われることは必ずしも要求されない。本発明のチップデバイスの中で前処理を行うことにより、通常試料の前処理で懸念されるコンタミネーションの問題を回避することができる。

[0036] [ 1 - 2 . 操作]

[ 1 - 2 - 1 . 操作の態様]

本発明のチップデバイスにおいては、上記対象成分を含む試料が図 1 に例示される操作チップに供給され、操作チップの中で対象成分が操作される。本発明における対象成分の操作は、上記の対象成分を種々の処理に供すること、及び、種々の処理を行う複数の環境の間で上記対象成分を運搬することを含む。

後に図 1 を例示して詳述するが、操作チップ 1 には、基板 2 に形成された溝 3 中に、ゲルからなる相 g と水系液体からなる相 l とが交互に配置された複相が操作用媒体として収容されている。主として水系液体は、対象成分の処理を行う環境を構築するものである。

従ってより具体的には、本発明における対象成分の操作は、対象成分を主に水系液体内で処理に供すること、及び、ゲル相を介して、処理を行う複数の環境の間で対象成分を運搬することを含む。

[0037] [ 1 - 2 - 2 . 対象成分の処理]

対象成分が供される処理には、対象成分の物質変化を伴うもの、及び物理変化を伴うものが含まれる。

[0038]

対象成分の物質変化を伴う処理としては、基質間の結合の生成又は切断により異なる物質を新たに生じる処理であれば、いかなる処理も含まれる。より具体的には、化学反応及び生化学反応が含まれる。

化学反応としては、化合、分解、酸化及び還元を伴ういかなる反応も含まれる。本発明においては、通常、水系液体中で行われるものが含まれる。生化学反応としても、生体物質の物質変化を伴ういかなる反応も含まれ、通常、i

n vitro反応をいう。例えば、核酸、タンパク質、脂質、糖などの生体物質の合成系、代謝系及び免疫系に基づく反応が挙げられる。

[0039]

対象成分の物理変化を伴う処理としては、上記の物質変化を伴わないいかなる処理も含まれる。より具体的には、対象成分の変性（例えば、対象成分が核酸やタンパク質を含む生体高分子その他の高分子の場合）、溶解、混合、エマルジョン化、及び希釈等が含まれる。

[0040]

従って、本発明における処理によって、対象成分の抽出、精製、合成、溶出、分離、回収及び分析等の工程を行うことが可能となる。これらの工程によって、最終的に対象成分の単離、検出及び同定等が可能となる。

[0041]

なお、本発明における処理には、目的とする処理（対象成分の単離、検出及び同定等の効果が直接得られる工程における処理）のみならず、それに付随する前処理、及び/又は後処理が適宜含まれる。対象成分が核酸である場合の例を挙げると、核酸増幅反応、又は核酸増幅反応と増幅産物の分析等の工程が行われうるが、それらの前処理として、核酸含有試料からの核酸の抽出（細胞溶解）、及び/又は精製（洗浄）等が必須であるし、後処理として、増幅産物の回収等が行われることもある。

[0042] [ 1 - 2 - 3 . 対象成分の運搬]

対象成分の運搬は、磁性体粒子及び磁場印加手段によって行われる。磁性体粒子は、操作の際には操作チップの中に存在するものであり、対象成分をその表面に結合又は吸着させることによって捕捉した状態で操作チップ内を移



動することにより、対象成分を運搬することができるものである。磁性体粒子は、操作チップ内の水系液体相中において分散することができ、通常操作チップ外部から磁場印加手段で磁場を生じさせることによつて水系液体相中で凝集する。凝集した磁性体粒子は、操作チップ外部から磁場印加手段によつて生じさせられた磁場の変動に伴つて移動することができる。凝集した磁性体粒子は、ゲル相中に移動することができる。3 \_ 2 \_ 3 で後述するゲルのチキソトロピックな性質（揺変性）を利用することにより、凝集した磁性体粒子はゲル相を破壊することなく通過することができる。ゲル中において、凝集した磁性体粒子は対象成分を結合又は吸着により伴っている。凝集した磁性体粒子群は、厳密には極僅かな水系液体にコートされている。すなわち、対象成分以外の成分を伴いうる。しかしコートされている水系液体の量は極僅かである。このため、対象成分の運搬を非常に効率よく行うことができる。

## [0043] [2. 操作チップ]

### [2 - 1. 操作チップの構造]

本発明のデバイスは、図1に例示する基本構造を有する操作チップを含む。操作チップ1は基板2を有し、基板2には溝3が形成され、溝3には、長手方向にゲル相gと水系液体相lとが交互に且つ相同士が互いに接するように配置された操作用媒体が収容されている。図1においては、溝の一方の末端にゲル相gが、他方の末端に水系液体相lが位置した相配置パターンを示しているが、溝の末端にはいずれの相が位置していてもよい。例えば図2（a）～図2（c）に、ゲル相gと水系液体相lとの配置パターンを例示している（基板その他の要素は図示省略、以下図3～5においても同じ）が、これらに限定されるものではない。一方、溝に収容されている水系液体相のうち、溝のいずれか一方の末端に最も近いものが、通常、対象成分が最初に供給されるべき水系液体相、すなわち対象成分が最初に供されるべき操作環境を

構築する水系液体相となりうる。以下、対象成分が最初に供給されるべき水系液体相を、 $1a$ の符号を付して説明する場合がある。さらに、溝内の水系液体相 $1a$ が位置する側と反対側の端に最も近い水系液体相を、 $1z$ の符号を付して説明する場合がある。

[0044] [2 - 2. 溝の形状]

また、溝の形状としては、図2 (a) ~ (c) に示すように溝全体が略均一幅であるものであってもよいし、図2 (d) に示すように溝の末端部分において溝幅が広くなっているものであってもよい。溝深さについても同様である。図2 (d) のような形状の溝の場合、対象試料の操作チップ内への導入が容易になることや、導入可能な対象試料の量を多くすることができるといった利点がある。溝幅が広くなっている溝内には、対象試料導入前から水系液体が収容されていてもよいし、収容されていなくてもよい。

[0045]

さらに、図1においては、溝3の長手方向の末端が基板2の端面より内側に位置するように形成されているが、後述図7のように、溝3の長手方向の末端が基板2の端面71、72に達するように形成されていてもよい。

[0046]

溝の形成パターンは特に限定されず、溝の形状は直線状及び曲線状を問わず、溝の分岐及び非分岐も問わない。溝が分岐する場合、例えば図3 (a) ~ 図3 (c)、図4 (a) 及び図4 (b) に示されるように、溝は、主溝31と、そこから分岐する複数の分岐溝32とから構成されうる。図3 (c) においては、主溝31からさらに分岐溝34も分岐している。分岐溝32は、図示したものその他、何段階に分岐したものであってもよい。分岐態様としては、図3 (a) 及び図3 (b) に示されるように、2本の分岐溝32が分岐

点において平角をなしていてもよいし、図3（c）に示されるように、主溝31及び分岐溝34が分岐点において直角をなしていてもよいし、図4（a）及び図4（b）に示されるように、2本の分岐溝32が分岐点において鋭角をなしていてもよい。

また例えば、図5に示すように、格子状に交差した複数の溝から構成されていてもよい。より具体的には、縦方向に伸びる複数の溝36と、横方向に伸びる複数の溝37とが交差状に設けられていてよい。

[0047]

なお、溝のサイズは、0.005mm～10mm幅、0.005～5mm深さである。上記範囲を下回ると、操作性に悪影響を及ぼす傾向にあり、上記範囲を上回ると、操作用媒体を構成するゲル相と水系液体相との複相が外部からの衝撃や重力の影響等で乱れやすくなる傾向にある。

[0048] [2-3. 基板のサイズ及び材質]

基板のサイズは特に限定されず、これまで $\mu$ TAS（Micro-Total Analysis Systems）分野で用いられてきたデバイスにおける基板サイズを踏襲することができる。例えば、縦10mm～500mm、横10mm～500mm、厚みに2mm～10mmである。

[0049]

基板の材質としては特に限定されず、諸々の物性や加工性等を考慮して当業者が適宜決定することができる。例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、フッ素樹脂（テフロン（登録商標））、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ポリカーボネート、アクリロニトリルブタジエンスチレンコポリマー（ABS樹脂）、アクリロニトリルスチレンコポリマー（AS樹脂）、アクリル樹脂

、ポリ酢酸ビニル、ポリエチレンテレフタレート、ポリエーテルエーテルケトン（PEEK樹脂）、エポキシ樹脂ベースネガティブフォトリソグレイ（SU8）、ポリジメチルシロキサン（PDMS樹脂）、環状ポリオレフィンなどの樹脂素材が挙げられる。樹脂素材であることは、チップデバイスを落としたり曲げたりしても基板内の相が乱れにくく堅牢性が高い点で好ましい。

また、上記樹脂素材の他、セラミック、ガラス（例えば石英ガラス）、石英、金属なども用いられることができる。

なお、操作チップの作製の工程における溝内への気泡の混入を防止する観点から、気体を吸蔵可能な物質（具体的には多孔性配位高分子）を用いることもできる。

[0050] [ 2 - 4 . 基板の物性及び表面処理 ]

基板の材質は、操作時における視認性や、基板外部から光学的検出（具体的には、吸光度、蛍光、化学発光、生物発光、屈折率の変化等の測定）を行う場合を考慮すると、光透過性を有するものであることが好ましい。この観点からは、特に石英ガラスであることが好ましい。

[0051]

基板に形成された溝の内壁を構成する搬送面は、操作性の観点から平滑面であることが好ましく、特に、表面粗さが、 $R_a = 0.1 \mu m$ 以下であることが好ましい。例えば、永久磁石を基板の外部から基板に近づけ、磁場の変動により対象成分を引き連れた磁性体粒子が移動する際、磁性体粒子が搬送面に押し付けられながら移動するが、搬送面が $R_a = 0.1 \mu m$ 以下の表面粗さを有することで、変動する磁場に対する磁性体粒子の追従性を十分備えることができる。

[0052]

さらに、溝 3 内壁表面には、適宜表面処理が施されていてよい。例えば、ゲル相における操作性及び相固定の安定性の観点から、ゲル相が接している部分の溝内壁表面に疎水性処理が施されているか、水系液体相が接している部分の溝内壁表面に親水性処理が施されているか、それらの処理の両方が施されることができる。また例えば、操作チップがタンパク質や核酸等を操作するために用いられる場合は、そのような物質の吸着防止の観点から、溝内壁表面に吸着防止成分（例えばヘパリン等）がコーティングされていてもよい。

[0053]

また、基板の溝が形成されている面の側（表側）とは反対側（裏側）の面において、発熱体が設けられることができる。このような態様の基板が用いられる場合としては、操作チップ内で行われる操作の中で加熱を必要とするものがある場合が該当する。発熱体は、基板の一部に設けられることができる。具体的には、加熱を必要とする操作が行われる操作媒体を局部的に加熱することができるように、加熱すべき操作媒体が収容されている溝部分に対応する基板裏側面の部分に、発熱体を設けることができる。より具体的には、チップ内の操作の最後で PCR が行われる場合、溝内の PCR 溶液相に対応する基板裏側面の端部に、発熱体を設けることができる。

発熱体の一例としては、金属ヒーターが挙げられる。より具体的には、白金等が挙げられる。金属ヒーターを基板表面に設けるためには、金属薄膜を基板表面に形成する方法を用いることができる。好ましくは、スパッタリング法によって金属薄膜を基板表面にコーティングすることができる。

[0054] [ 2 - 5 . その他の構成部材 ]

図6 に示すように、基板2 には、通常、溝3 が形成されている側の表面に蓋板4 が設けられている。以下、基板2 の溝3 内に操作用媒体が收容され且つ蓋板4 が設けられた態様のものを操作チップ1 として説明する。蓋板4 は、基板における溝3 全体を覆い、溝3 内の收容物である操作用媒体を外気から遮蔽することで密閉空間を生じさせることができる。蓋板の材質としては、基板の材質として採用されうるものが挙げられる。蓋板の材質の選択は、基板の材質における場合と同様の観点で行うことができる。蓋板及び基板の材質は、その異同を問わず、当業者によって適宜組み合わせられる。蓋板4 のサイズは、基板2 や溝3 のサイズに応じて当業者が適宜決定することができる。たとえば、縦10mm~5mm、横10mm~500mm、厚み0.2mm~10mmである。

[0055]

蓋板4 には、孔5 が穿設されうる。孔5 は、対象成分を操作チップ1 内に供給するための試料供給部として設けられる。試料供給部となる孔5 は、図6 に示すように、溝3 の一方の末端に收容されたゲル相gaに通じうる。ゲル相ga には、対象成分が最初に供給されるべき水系液体相laが隣接している。

孔5 の大きさは、溝の幅や、本発明における試料の操作性等を考慮して、当業者が適宜決定することができる。例えば、0.01~5mmφとすることができる。

[0056]

蓋板4 には、さらに別の孔6 が穿設されていてもよい。孔6 は、試料供給部としての孔5 に対し、試料取出部として設けられる。試料取出部となる孔6 は、図6 に示すように、溝3 の他方の末端に收容された水系液体相lzに通

じうる。

孔 6 の大きさも、溝の幅や、本発明における試料の操作性等を考慮して、当業者が適宜決定することができる。例えば、 $0.1 \sim 5 \text{ mm } \phi$  とすることができる。

[0057]

試料供給部となる孔 5 及び試料取出部となる孔 6 は、溝の形成/《ターン》に応じて設けられる。例えば、図 2 に例示の場合、試料供給部となる孔 5 及び試料取出部となる孔 6 はそれぞれ 1 個形成されることができる。図 3 (a) や図 4 (a) に例示の場合、孔 5 は主溝 3 1 に対し 1 個形成され、孔 6 は分岐溝 3 2 の最大分岐数に応じて複数個 (当該例示の場合であれば 4 個) 形成されることができる。同様に、図 3 (b)、図 3 (c) 及び図 4 (b) に例示の場合は、孔 5 は複数個形成され、孔 6 は 1 個形成されることができる。図 5 に例示の場合は、孔 5 及び孔 6 はそれぞれ複数個形成されることができる。

[0058]

図 7 に、図 6 の変形例を示す。図 7 の例においては、基板 2 に図 2 (d) の形状の溝 3 が形成され、且つ蓋板 4 が設けられている。図 7 の操作チップはしばしば、溝幅が広い方を上にして立てた状態で使用される。溝 3 は基板 2 の両端面 7 1 及び 7 2 まで伸びており、その末端は、基板 2 の両端面 7 1 及び 7 2 に開口している。基板 2 の上端面 7 1 に開口する孔 (上端孔) 5 は試料供給部となり、下端面 7 2 に開口する孔 (下端孔) 6 は試料取出部となりうる。図 7 の例においては、下端孔 6 はゲル相 g z で封止されている。

[0059]

以下、操作チップのより具体的な態様について説明する。図 8 に、図 6 例示

の操作チップを構成する各部材及びそれに関連する部材を互いに隔離して示した斜視図を表し、図8で例示した部材が全て組み合わされた状態における、図8のIX-IX線に沿う垂直断面図を図9に表す。

[0060]

孔5及び6には、それぞれ、ジョイント8-1及び8-2が設けられうる。ジョイント8-1及び8-2は、孔5及び6の内径が特に小さい場合等に、操作性を向上させる目的等で設けられることができ、さらに、チップ内へ供給すべき試料液や、チップ内で操作の結果生じた処理済試料液を蓄えることも可能である。ジョイント8-1及び8-2の形状は互いに同じであってよく、略円柱状部材に、当該部材の下面に形成され且つ孔5又は6に対応する下方開口部8-3から、当該部材の上面に形成された上方開口部8-4に向かって好ましくは漸次径大となるように形成された貫通穴を有するものでありうる。下方開口部8-3は、孔5又は6に連通可能であり、その内径は、孔5又は6と同じか、より小さいものであることが好ましい。ジョイント8-1及び8-2は、それぞれ、溶接、接着又は締付け用部材の使用（例えばねじ止めによる；ねじは図示せず）によって蓋板4に固定されることができ、締付け用部材の使用によって固定される場合は、ジョイント8-1及び8-2の下方開口部8-3と蓋板4の孔5及び6との間に、それぞれ、液漏れ防止のためのシール材（例えばOリングやパッキン等；図示せず）が設けられる。

[0061]

孔5及び6は、溝3内におけるコンタミネーションの観点から、閉鎖可能であることが好ましい。例えば、孔の全部又は一部が開放可能に閉鎖されることができ、また、孔5及び6にジョイント8-1及び8-2が設けられている場合においては、ジョイントの上方開口部8-4の全部又は一部が開放可能に閉鎖されてもよい。閉鎖可能とする機構は、当業者によって適宜決定されるものである。例えば、一部が開放可能に閉鎖される例として、逆止弁機能を



備えるセプタム（図示せず）で閉鎖する例、及びPDMSなどの弾性体やゲルで閉鎖する例が挙げられる。この場合、注射針による穿刺での試料液の供給や取出が可能である。セプタムで閉鎖する場合、圧力調整のための圧力調整口（図示せず）を別途設ける。圧力調整口はフィルタを有しており、コンタミネーションを防止しつつ、注入された液体の体積相当の気体を操作チップ外へ逃がすことができる。

[0062]

基板2は、下部固定用支持体85及び上部固定用支持体86によって固定されることができる。下部固定用支持体85及び上部固定用支持体86の素材は特に限定されず、適宜、樹脂や金属等が使用される。通常、基板2や蓋板4よりも強度の強い素材が用いられる。

下部固定用支持体85は、基板2の下面側に設けられることによって、操作チップ1の基板2を含む側を固定することができる。下部固定用支持体85の上面には、基板2が嵌合可能になるように固定用溝87が形成されている。好ましくは、固定用溝87内に、下部固定用支持体85を貫通してくり抜かれた下方窓孔88が形成されうる。さらに、下部固定用支持体85には、ねじ孔92が複数形成されていてもよい。

[0063]

上部固定用支持体86は、操作チップ1の蓋板4を含む側を固定することができる。上部固定用支持体86の下面には、蓋板4が嵌合可能になるように固定用溝89が形成されている。さらに、ジョイント81及び82が嵌通可能となるように、孔91が形成されている。好ましくは、固定用溝89内に、上部固定用支持体86を貫通してくり抜かれた上方窓孔90が形成されうる。さらに、上部固定用支持体86には、下部固定用支持体85におけるねじ孔92に対応する位置に、ねじ孔93が形成されることができる。

[0064]

下部固定用支持体 8 5 及び上部固定用支持体 8 6 は、締付け用部材（図示省略）を用いて互いに締付けられる。締付け用部材の使用例として、ねじ孔 9 2 及びそれに対応するねじ孔 9 3 にねじ杆を嵌挿し、嵌挿したねじ杆にナットを螺合させて固定させることができる。ねじ杆及びナット以外にも、当業者によって適宜締付け用部材が選択されうる。

[0065] [ 3 . 操作用媒体 ]

基板 4 の溝 3 内に收容される操作用媒体を構成するゲル相及び水系液体相の数及び種類は特に限定されず、対象成分を供する操作の工程の数及び種類に基づいて当業者が適宜決定する事ができる。

一本の溝又は一本の分岐溝内に收容される操作用媒体においては、複数の水系液体相がそれぞれ異なる種類の水系液体から構成されていることが好ましい。それぞれの相を構成する水系液体は、対象成分が最初に供給されるべき水系液体相 1 a 側から順に、対象成分を供する処理工程や反応工程のそれぞれに必要な環境を構築する液体を用いることができる。

一本の溝又は一本の分岐溝内に收容される操作用媒体においては、複数のゲル相がそれぞれ同じゲルから構成されていてもよいし、一部のゲル相が異なるゲルから構成されていてもよい。例えば、複数の水系液体相のうちの一部の水系液体相において加熱による処理又は反応が行われる場合に、その水系液体相に隣接するゲル相にのみ、上記加熱に必要な温度においてもゲル状態又はゲル—ゾル中間状態を保持することができる高いゾル—ゲル転移点を有するゲルを用い、その他のゲル相には、比較的低いゾル—ゲル転移点を有するゲルを用いることができる。その他にも、隣接する水系液体相を構成する

水系液体の特性や体積などに応じて、適切な特性を有するゲルを当業者が適宜選択することができる。

[0066]

溝が分岐している場合、例えば図3 (a)、図3 (b) 及び図3 (c) や、図4 (a) 及び図4 (b) の分岐例を挙げると、分岐点に位置する相33は、図示されているように水系液体相であってもよいし、反対にゲル相であってもよい。対象成分が最初に供給されるべき水系液体相1aは、主溝側の端に最も近い位置に收容されている水系液体相であってもよい (図3 (a) 及び図3 (b)) し、分岐溝側の端に最も近い位置に收容されている水系液体相であってもよい (図3 (b)、図3 (c) 及び図4 (b))。複数の分岐溝には、互いに、同じ種類の水系液体相—ゲル相パターンを有する操作用媒体が收容されていてもよい (例えば複数の分岐溝32同士の関係が該当) し、異なるパターンを有する操作用媒体が收容されていてもよい (例えば分岐溝32と分岐溝34との関係が該当)。

溝が格子状に交差した複数の溝から構成されている場合、例えば図5の交差態様の例を挙げると、交差点に位置する相51が、図示されているようにゲル相であり、その他の相は水系液体相であってもよい。また、交差点に位置する相51が水系液体相で、その他の相がゲル相であってもよい。交差態様においては、水系液体相を好ましく固定するために、ゲル相は、図示されているよりも広い体積を占めるように設けられうる。

[0067]

ゲル相は、溝内において、水系液体の相を溝の長手方向の両側で仕切り且つ水系液体の相を溝内の所定の場所に安定的に固定化する機能を有する。その厚さは、溝の幅、深さ及び長さ、磁場印加手段によって搬送される磁性体粒子の量などを考慮して、所望の機能を発揮することができる厚さを、当業者

が適宜決定する事ができる。例えば 1 ~ 20 mm、好ましくは 3 ~ 10 mm でありうる。上記範囲を下回ると、水系液体相の固定強度に欠ける傾向にある。上記範囲を上回ると、基板を過度に長くする必要性が生じて、操作性、デバイスの耐久性、収容性が悪くなる傾向にある。

[0068]

水系液体相は、対象成分を含む試料が供される処理や反応などの環境を提供するものである。その厚さは、溝の幅、深さ及び長さ、対象成分の量、対象成分が供される処理や反応の種類などを考慮して、対象成分に対する所望の処理又は反応が達成されるような水系液体量を与える厚さを、当業者が適宜決定する事ができる。例えば、0.5 ~ 30 mm、好ましくは 3 ~ 10 mm でありうる。上記範囲を下回ると、対象成分についての処理や反応が十分に達成できなくなる場合がある。上記範囲を上回ると、水系液体相がゲル相に比べて相対的に厚くなりすぎることが多く、基板を過度に長くする必要性が生じて、操作性、デバイスの耐久性、収容性が悪くなる傾向にある。

[0069]

一方、ゲル相がヒドロゲルからなる場合、ヒドロゲル相は、水系液体の仕切りの役目だけではなく、水系液体相と同様に、対象成分を含む試料が供される処理や反応などの環境を提供することができる。この場合においては、ヒドロゲル相の厚さが、水系液体相より大きくなる場合もありうる。

[0070] [3 - 2. ゲルの種類]

ゲル相は、水系液体相と接した場合に、水系液体相を構成する液体に不溶性又は難溶性である化学的に不活性な物質からなる。液体に不溶性又は難溶性であるとは、25℃における液体に対する溶解度が概ね 100 ppm 以下であることを意味する。化学的に不活性な物質とは、対象成分の操作（すなわ

ち、水系液体中又はヒドロゲル中における対象成分の処理、及び、ゲル仕切りを介した対象成分の運搬)において、対象成分及び水系液体又はヒドロゲルに化学的な影響を及ぼさない物質を指す。本発明におけるゲルには、オルガノゲルとヒドロゲルとの両方が含まれる。

[0071] [3 - 2 - 1. オルガノゲル]

オルガノゲルは、通常、非水溶性又は水難溶性である液体物質にゲル化剤を添加してゲル化され得るものである。

[3 - 2 - 1 - 1. 非水溶性又は水難溶性である液体物質]

非水溶性又は水難溶性である液体物質としては、25℃における水に対する溶解度が概ね100ppm以下であり、常温(20℃±15℃)において液体状であるオイルが用いられうる。例えば、液体油脂、エステル油、炭化水素油、及びシリコン油からなる群から1種又は2種以上が組み合わされて用いられうる。

[0072]

液体油脂としては、アマニ油、ツバキ油、マカデミアナッツ油、トウモロコシ油、ミンク油、オリーブ油、アボカド油、サザンカ油、ヒマシ油、サフラワー油、キヨウニン油、シナモン油、ホホバ油、プドウ油、ヒマワリ油、アルモンド油、ナタネ油、ゴマ油、小麦胚芽油、米胚芽油、米ヌカ油、綿実油、大豆油、落花生油、茶実油、月見草油、卵黄油、肝油、ヤシ油、パーム油、パーム核油等が挙げられる。

[0073]

エステル油としては、オクタン酸セチル等のオクタン酸エステル、ラウリン酸ヘキシル等のラウリン酸エステル、ミリスチン酸イソプロピル、ミリスチ

ン酸オクチル ドデシル等のミリスチン酸エステル、パルミチン酸オクチル等のパルミチン酸エステル、ステアリン酸イソセチル等のステアリン酸エステル、イソステアリン酸イソプロピル等のイソステアリン酸エステル、イソパルミチン酸オクチル等のイソパルミチン酸エステル、オレイン酸イソデシル等のオレイン酸エステル、アジピン酸イソプロピル等のアジピン酸エステル、セバシン酸エチル等のセバシン酸エステル、リンゴ酸イソステアリル等のリンゴ酸エステル、トリオクタン酸グリセリン、トリイソパルミチン酸ダリセリン等が挙げられる。

[0074]

炭化水素油としては、ペンタデカン、ヘキサデカン、オクタデカン、ミネラルオイル、流動パラフィン等が挙げられる。

シリコーン油としては、ジメチルポリシロキサン、メチルフェニルポリシロキサンその他のフェニル基含有シリコーン油、メチルヒドロジエンポリシロキサン等が挙げられる。

[0075] [3 - 2 - 1 - 2. ゲル化剤]

ゲル化剤としては、ヒドロキシ脂肪酸、デキストリン脂肪酸エステル、及びダリセリン脂肪酸エステルからなる群から選ばれる油ゲル化剤が1種又は2種以上組み合わされて用いられうる。

[0076]

ヒドロキシ脂肪酸としては、ヒドロキシル基を有する脂肪酸であれば、特に制限はない。具体的には、例えば、ヒドロキシミリスチン酸、ヒドロキシパルミチン酸、ジヒドロキシパルミチン酸、ヒドロキシステアリン酸、ジヒドロキシステアリン酸、ヒドロキシマルガリン酸、リシノレイン酸、リシネラ

イジン酸、リノレン酸等が挙げられる。これらの中でも特に、ヒドロキシステアリン酸、ジヒドロキシステアリン酸、リシノレイン酸が好ましい。これらのヒドロキシ脂肪酸は単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよい。また、これらの混合物である動植物油脂肪酸（例えば、ヒマシ油脂肪酸、水添ヒマシ油脂肪酸等）も前記ヒドロキシ脂肪酸として使用することができる。

[0077]

デキストリン脂肪酸エステルとしては、例えば、ミリスチン酸デキストリン 商品名「レオパールMKL」、千葉製粉株式会社製）、パルミチン酸デキストリン 商品名「レオパールKL」、「レオパールTL」、いずれも千葉製粉株式会社製）、（パルミチン酸/2-エチルヘキサン酸）デキストリン（商品名「レオパールTT」、千葉製粉株式会社製）等が挙げられる。

[0078]

グリセリン脂肪酸エステルとしては、ベヘン酸グリセリル、オクタステアリン酸ダリセリル、エイコ酸ダリセリル等が挙げられ、これらを1種以上組み合わせて使用してもよい。具体的には、20%ベヘン酸グリセリル、20%オクタステアリン酸グリセリル及び60%硬化パーム油を含む商品名「TALSSET 26」（太陽化学株式会社製）、50%ベヘン酸グリセリル及び50%オクタステアリン酸グリセリルを含む商品名「TALSSET 50」（太陽化学株式会社製）等を挙げることができる。

[0079]

非水溶性又は難水溶性である液体物質中に添加されるゲル化剤の含有量は、当該液体物質の全重量の例えば0.1~0.5重量%、0.5~2重量%、或いは1~5重量%に相当する量のゲル化剤を用いることができる。しかし

ながらこれに限定されることなく、所望のゲル及びゾル状態を達成することができる程度の量を、当業者が適宜決定することができる。

[0080]

ゲル化の方法は当業者が適宜決定する事ができる。具体的には、非水溶性又は難水溶性である液体物質を加熱し、加熱された当該液体物質にゲル化剤を添加し、ゲル化剤を完全に溶解させた後、冷却することで当該液体物質をゲル化させることができる。加熱温度としては、用いる液体物質及びゲル化剤の物性を考慮して適宜決定すればよい。例えば、60～70℃程度とすることが好ましい場合がある。ゲル化剤の溶解は、加温状態の当該液体物質に対して行い、この際、穏やかに混和しながら行うと良い。冷却はゆっくり行うことが好ましい。例えば、1～2時間程度の時間をかけて冷却することができる。例えば常温（20℃±15℃）以下、好ましくは4℃以下まで温度が下がれば冷却を完了することができる。上記ゲル化の方法の好ましい態様が適用される一態様として、例えば上述のT A I S E T

26（太陽化学株式会社製）を用いる態様が挙げられる。

[0081] [3 - 2 - 2. ヒドロゲル]

ヒドロゲルとしては、例えば、ゼラチン、コラーゲン、デンプン、ペクチン、ヒアルロン酸、キチン、キトサンまたはアルギン酸及びこれらの誘導体をヒドロゲル材料として、ヒドロゲル材料を水又は水系液体に平衡膨潤させることによって調製されたものが用いられうる。上述のヒドロゲルの中でも、ゼラチンから調製されるヒドロゲルを用いることが好ましい。また、ヒドロゲルは、上記のヒドロゲル材料を化学架橋し、又は、ゲル化剤（例えばリチウム、カリウム、マグネシウムなどのアルカリ金属・アルカリ土類金属の塩、或いはチタン、金、銀、白金等の遷移金属の塩、さらには、シリカ、カーボン、アルミナ化合物等）で処理して得てもよい。これら化学架橋やゲル化



剤は、当業者であれば容易に選択することができる。

[0082]

特に、ヒドロゲルが、水系液体と同様に対象成分を含む試料が供される処理や反応などの環境を提供するものである場合は、そのような処理や反応に適した組成を有するよう、当業者によって適宜調製される。

例えば、タンパク質を合成することができるポリジメチルシロキサンを基剤としたDNAヒドロゲル（P—ゲル）が挙げられる。このヒドロゲルは、ゲルスキャフォールドの一部としてのDNAから構成される。このようなヒドロゲルは、対象成分がタンパク質合成用基質である場合に、その対象成分からタンパク質を得る反応に供することができる（より具体的な態様は、Nature Materials 8, 432-437 (2009)、及びNature Protocols 4: 1759-1770 (2009)を参照して当業者が適宜決定することができる）。生成したタンパク質は、例えばそのタンパク質に特異的な抗体を有する磁性体粒子を用いることによって回収することができる。

[0083] [3 - 2 - 3. ゲルの特性]

ゲル相による仕切りは、溝内の水系液体を溝の長手方向の両側から挟み込むことによって、溝内の所定位置に固定することを可能にする。このため、予め操作チップ内に液状試薬を装填した状態を、製造時から利用者の手に渡るまで保つことができ、液体試薬の安定供給が可能となる。

一方、磁性体粒子は、ゲルの中でも外部からの磁場操作によって移動可能であり、ゲルを通過することができる。これはゲルのチキソトロピックな性質（揺変性）による。すなわち、外からの磁石移動により溝内の磁性体粒子が搬送面に沿ってゲルに剪断力を与え、磁性体粒子の進行方向前方のゲルがゾ

ル化し流動化するため、磁性体粒子はそのまま進むことができる。しかも、磁性体粒子が通過した後、剪断力から解放されたゾルは、すみやかにゲル状態に戻るため、ゲルには磁性体粒子通過による貫通孔を形成させることがなし。この現象を利用すれば、対象物は磁性粒子を運搬体として容易に移動することができるため、対象物が供される種々の化学的環境を極短時間で切り替えることができる。例えば、本発明を、複数の試薬による複数の化学反応からなるシステムに利用すれば、対象物の処理時間を大幅に短縮することができる。

さらに、工程ごとの試薬分取及び分注操作が不要で、手間や時間が低減でき、さらにコンタミネーションによる分析精度の劣化を防ぐことができる。

[0084]

ゲルの物性は、動的粘弾性のうち貯蔵粘弾性  $E'$  が好ましくは常温 ( $20^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$ ) 下で  $10 \sim 100 \text{ kPa}$ 、より好ましくは  $20 \sim 50 \text{ kPa}$  でありうる。上記範囲を下回ると、ゲル仕切りとしての強度に欠ける傾向にある。上記範囲を上回ると、粒径数  $\mu\text{m}$  程度の磁性体粒子であっても移動が妨げられやすくなる傾向にある。

[0085] [3 - 3. 水系液体の種類]

本発明における水系液体は、ゲルに不溶性又は難溶性である水系液体であれば良く、水、水溶液又はエマルジョンと呼ばれる乳濁液、若しくは、微粒子が分散した懸濁液の態様で提供されうる。水系液体の構成成分としては、本発明における対象成分が供される反応や処理の環境を提供するいかなるものも含まれる。

[0086]

より具体的な例としては、本発明の操作対象となる成分を水系液体相中に遊離させ磁性体粒子表面に結合又は吸着させるための液（具体的には、対象成分を夾雑物から引き離し、磁気ビーズ表面への結合又は吸着を促す作用を有する液）、対象成分と共存する夾雑物を除去するための洗浄液、磁性体粒子に吸着した対象成分を磁性体粒子から分離させるための溶出液、及び対象成分が供される反応系を構築するための反応液などが挙げられる。例えば、対象成分が核酸である場合は、細胞を破壊し核酸を遊離させ、シリカコーティングされた磁性粒子表面に吸着させるための試薬液（細胞溶解液）、核酸以外の成分を除去するため磁性粒子を洗浄するための洗浄液、核酸を磁性粒子から分離させるための溶出液（核酸溶出液）、核酸増幅反応を行うための核酸増幅反応液などが挙げられる。以下に、対象成分が核酸である場合を例示して、上記の核酸についての処理液及び反応液と、それらが供される処理及び反応とについてさらに説明する。

[0087] [ 3 - 3 - 1 . 細胞溶解液 ]

細胞溶解液としては、カオトロピック物質を含有する緩衝液が挙げられる。この緩衝液は、EDTAその他の任意のキレート剤やTriton X-100その他の任意の界面活性剤をさらに含むことができる。緩衝液は、例えばトリス塩酸、その他の任意の緩衝剤に基づく。カオトロピック物質としては、グアニジン塩酸塩、グアニジンイソチアン酸塩、ヨウ化カリウム、尿素などが挙げられる。

[0088]

カオトロピック物質は、強力なタンパク質変性剤であり、核酸にまとり付いたヒストンなどのタンパク質を核酸から引き離し、磁性体粒子のシリカコーティング表面への吸着を促す作用がある。緩衝剤は、核酸が磁性体粒子表面に吸着しやすいPH環境を整える補助剤として用いられることができる。

カオトロピック物質は、細胞溶解（すなわち細胞膜を破壊する）作用も併せ持つ。しかしながら、細胞溶解（すなわち細胞膜を破壊する）作用には、カオトロピック物質よりも、界面活性剤の寄与が大きい。

キレート剤は、細胞溶解を促進させる補助剤として用いられることができる。

[0089]

核酸を含む試料からの核酸抽出の具体的プロトコールは、当業者が適宜決定することができる。本発明においては液滴封入媒体内における核酸の運搬に磁性体粒子を用いるため、核酸抽出方法も磁性体粒子を用いた方法を採用することが好ましい。例えば、特開平 2 - 2 8 9 5 9 6 号公報を参考に、核酸を含む試料からの磁性体粒子を用いた核酸の抽出、精製方法を実施することができる。

[0090] [ 3 - 3 - 2 . 洗浄液 ]

洗浄液としては、核酸が磁性体粒子表面に吸着したまま、核酸含有試料に含まれる核酸以外の成分（例えば蛋白質、糖質など）や、核酸抽出など予め行われた他の処理に用いられた試薬その他の成分を溶解できる溶液であることが好ましい。具体的には、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸アンモニウム等の高塩濃度水溶液、エタノール、イソプロパノール等のアルコール水溶液などが挙げられる。

核酸の洗浄は、すなわち、核酸が吸着した磁性体粒子の洗浄である。この洗浄の具体的プロトコールも、当業者が適宜決定することができる。また、核酸が吸着した磁性体粒子の洗浄の回数は、核酸増幅反応の際に不所望の阻害

が生じない程度に当業者が適宜選択することができる。また、同様の観点で阻害成分の影響が無視できる場合、洗浄工程を省略することも可能である。

洗浄液からなる水系液体相は、少なくとも洗浄する回数と同じ数だけ調製される。

[0091] [ 3 - 3 - 3 . 核酸溶出液 ]

核酸溶出液としては、水又は塩などを含む緩衝液を用いることができる。具体的には、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、蒸留水などを用いることができる。

核酸が吸着した磁性体粒子から核酸を分離し溶出液中へ溶出させる具体的方法も、当業者が適宜決定することができる。

[0092] [ 3 - 3 - 4 . 核酸増幅反応液 ]

本発明における核酸増幅反応液には、通常核酸増幅反応に用いられる種々の要素に、少なくとも増幅すべき塩基配列を含む核酸及びそれを表面に吸着した磁性体粒子が含まれる。

[0093]

後述するように核酸増幅反応は特に限定されるものではないため、核酸増幅反応に用いられる種々の要素は、後述で例示する公知の核酸増幅法などに基づいて、当業者が適宜決定することができる。通常、 $MgCl_2$ 、 $KCl$ 等の塩類、プライマー、デオキシリボヌクレオチド類、核酸合成酵素及びpH緩衝液が含まれる。また、上記の塩類は適宜他の塩類に変更して使用されうる。また、ジメチルスルホキシド、ベタイン、グリセロール等の非特異的なブ

ライミングを減少させるための物質がさらに添加される場合がある。

[0094]

本発明における核酸増幅反応液には、上記成分の他に、ブロッキング剤を含ませることができる。ブロッキング剤は、核酸重合酵素の、反応容器の内壁や磁性体粒子表面などへの吸着による失活を防止する目的で用いられる。

ブロッキング剤の具体例としては、牛血清アルブミン（すなわちBSA）その他のアルブミン、ゼラチン（すなわち変性コラーゲン）、カゼイン及びポリリジンなどのタンパク質や、ペプチド（いずれも天然及び合成を問わない）、フィコール、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール等が挙げられる。

[0095]

本発明にかかる核酸増幅反応としては特に限定されず、例えば、PCR法（米国特許第4683195号明細書、同4683202号公報、同4800159号公報、同4965188号公報）、LCR法（米国特許第5494810号公報）、Q $\beta$ 法（米国特許第4786600号公報）、NASBA法（米国特許第5409818号公報）LAMP法（米国特許第3313358号公報）、SDA法（米国特許第5455166号公報）、RCA法（米国特許第5354688号公報）、ICAN法（特許第3433929号公報）、TAS法（特許第2843586号公報）等を用いることができる。

また、上記反応に先立ってRT反応を行うこともできる。

これらの核酸増幅反応に必要な反応液の組成、並びに反応温度は、当業者が適宜選択することができる。

[0096]

リアルタイム核酸増幅方法においては、二本鎖DNAに結合することができる蛍光色素、あるいは蛍光色素で標識したプローブによって、増幅産物を蛍光検出することができる。

リアルタイム核酸増幅法における検出法としては、下記の方法が挙げられる。

[0097]

例えば、特異性の高いプライマーにより目的のターゲットのみを増幅可能である場合には、SYBR（登録商標）GREEN Iなどを用いるインターカラー法が用いられる。

二本鎖DNAに結合することで蛍光を発するインターカラーは、核酸増幅反応によって合成された二本鎖DNAに結合し、励起光の照射により特定波長の蛍光を発する。この蛍光を検出することにより、増幅産物の生成量をモニターすることができる。この方法は、ターゲットに特異的な蛍光標識プローブを設計・合成する必要がなく、簡便にさまざまなターゲットの測定に利用できる。

[0098]

また、よく似た配列を区別して検出する必要がある場合や、SNPsのタイピングを行う場合は、蛍光標識プローブ法を用いる。一例として、5'末端を蛍光物質で修飾し、3'末端をクエンチャー物質で修飾したオリゴヌクレオチドをプローブとして用いるTaqMan（登録商標）プローブ法がある。

TaqManプロープは、アニーリングステップで鋳型DNAに特異的にハイブリダイズするが、プロープ上にクエンチャーが存在するため、励起光を照射しても蛍光発光は抑制される。伸長反応ステップでは、Taq DNAポリメラーゼのもつ5'→3'エキソヌクレアーゼ活性により、鋳型にハイブリダイズしたTaqManプロープが分解されると、蛍光色素がプロープから遊離し、クエンチャーによる抑制が解除されて蛍光が発光される。この蛍光強度を測定することで、増幅産物の生成量をモニターすることができる。

[0099]

このような方法によって、DNAをリアルタイムPCRで定量する原理を以下に述べる。まず、段階希釈した濃度既知の標準サンプルを鋳型として使用してPCRを行う。そして、一定の増幅産物量に達するサイクル数（threshold cycle；Ct値）を求める。このCt値を横軸に、初発のDNA量を縦軸にプロットして、検量線を作成する。

未知濃度のサンプルについても、同じ条件下でPCR反応を行ってCt値を求める。この値と前述した検量線とから、サンプル中の目的のDNA量が測定できることになる。

[0100] さらに、インターカレーター法では蛍光色素を含んだPCR反応後の液を40℃から95℃程度まで徐々に温度を上げ、連続的に蛍光強度をモニターすると、増幅産物の融解曲線を得ることができる。

核酸増幅反応で生じた二本鎖DNAは、DNAの長さ及びその塩基配列により固有のTm値を持つ。つまり、蛍光色素が結合したDNAを含む液滴の温度を徐々に上昇させると、急激に蛍光強度が減少する温度が観測される。蛍光強度の変化量を調べると、その温度ピークは塩基配列と長さによって規定



される $T_m$ 値とほぼ一致している。このことによって、目的遺伝子ではなく例えばプライマーダイマーが生じて観測されたデータなど（すなわち偽陽性データ）を陽性とみなしたデータから除外することができる。遺伝子検査では、試料中の夾雑物により非特異反応が起こることも多いため、このような偽陽性を排除することは重要である。これにより、生成した増幅産物が、標的遺伝子固有のものであるかどうかの判定を行うこともできる。

[01 01] [ 3 - 3 - 5 . その他の水系液体 ]

上記以外のいかなる反応及び処理についても、それぞれの水系液体の組成は、当業者が容易に決定することができる。また、対象成分が上記の核酸以外の場合であっても、それぞれの水系液体の組成は当業者が容易に決定することができる。

[01 02] [ 4 . 操作チップの作製方法 ]

操作チップの作製方法を、図 10 の例示を参照して説明する。

まず、基板 2 の表面に溝 3 を形成する（図 10（a））。溝 3 の形成は当業者によって適宜行われる。例えば、溝 3 の形成には MEMS（Micro Electro Mechanical System；微小電子機械システム）の分野で用いられる技術を用いることができる。例えば、基板の素材がガラスの場合は、エッチング技術やサンドブラスト技術等を用いて溝を形成することができる。また、基板の素材が樹脂の場合は、ガラスの場合に用いられる上記例示の技術のほか、切削加工や金型等を用いることなどにより溝を形成することができる。

[01 03]

溝 3 形成後、ゲル相が調製されるべき溝 3 の表面（すなわち、操作用媒体が

収容された場合にゲル相に接する溝表面)に、疎水性処理を行ってよい。また、水系液体相が調製されるべき溝3の表面(すなわち、操作用媒体が収容された場合に水系液体相に接する溝表面)に、親水性処理を行ってよい。さらに、上記の疎水性処理及び親水性処理の両方を行ってもよい。疎水性処理や親水性処理は、当業者によって公知の表面処理法から適宜選択される。疎水性処理の例としては、基板素材がガラスや石英である場合に、シリル化剤等を用いた処理が挙げられる。親水性処理の例としては、プラズマ処理が挙げられる。

また、溝3の表面に、核酸やタンパク質などの生体物質の吸着を防止する物質(例えばヘパリン)をコーティングしてもよい。

[01 04]

基板2上に形成された溝3内には、まず、操作用媒体のゲル相部を形成し、次に水系液体相部を形成することができる。ゲル相部の形成においては、溝3の長手方向に、複数のゲル塊が、互いに隔離された状態で配置される。

具体的なゲル相部形成法の一例においては、既にゲル状態にあるゲル塊を溝3内の複数箇所に詰め込むことにより配置することができる。

具体的なゲル相部形成法他の一例(図10(b))においては、ゲル物質をゲル—ゾル転移点以上に加熱しゾル状態に調製したゾル物質101を、適当な滴下手段102により溝3内の複数箇所にそれぞれ滴下して配置することができる。溝内へ滴下物101'が入りにくい場合は、基板を減圧チャンセルに入れ、減圧下で作業を行うことができる。

[01 05]

ゾル物質101は、通常加熱状態にある。ゾル滴101'は、滴下手段10

2 から出ている最中、又は滴下手段 102 から放たれた後において、不完全なゲル化による粘弾性の高まったゲル—ゾル中間状態となる程度に、熱源から離れていることが通常である。

ゲル—ゾル中間物質は、その粘弾性のため、溝 3 内を液体のように広がることなく、所定の位置に塊としてとどまることができる。この際に、例えば、ゲル相が調製されるべき溝 3 の表面に疎水性処理がされている場合、及び/又は、水系液体相が調製されるべき溝 3 の表面に親水性処理がされている場合、ゲル—ゾル中間物質が所望の位置でより安定的に塊としてとどまることができる。

さらに、ゲル—ゾル中間物質がさらに冷却されて完全にゲル化することにより、ゲル塊 g (すなわちゲル相部) が完成する。

[01 06]

その後、ゲル相部 g に隣接する溝内空間に水系液体 103 を入れて充填し、水系液体相部 l が完成する (図 10 (c))。なお、溝内へ水系液体 103 が入りにくい場合は、基板を減圧チャンバに入れ、減圧下で作業を行うことができる。

[01 07]

ゲル相部 9 及び水系液体相部 l が完成した後、基板 2 の溝 3 を有する側の表面に蓋板 4 を設けることができる。蓋板 4 には、予め、溝 3 の末端部に対応する位置に (より具体的には、基板 2 と張り合わされた際に、溝 3 の末端に収容された相に通じるように) 孔 5 及び 6 を穿設しておくことができる。また、基板 2 と張り合わされた際に、溝 3 内に収容されたゲル相に接する表面に疎水性処理を、水系液体相に接する表面に親水性処理を、又はその両方の処理を行っておくことができる。操作チップがタンパク質や核酸等の試料を

操作するために用いられる場合は、それらの試料の吸着防止の観点から、表面に吸着防止成分（例えばヘパリン等）をコーティングしておくこともできる。

[0108]

基板 2 と蓋板 4 とは溝 3 を内側にし互いに張り合わせられる。

基板 2 と蓋板 4 とを張り合わせる方法としては、例えば、熱融着法、超音波融着法、及び圧接法（ラミネートシール法）等の、エネルギーを加えて張り合わせる方法や、接着剤や溶加剤を用いて張り合わせる方法が挙げられる。基板 2 には水系液体が収容されているため、温和な条件下で張り合わせることが好ましい。接着剤を用いる場合、使用可能なものとしては、エポキシ系接着剤、イソシアヌル系接着剤、酢酸ビニル系接着剤、ニトロセルロース系接着剤、シアノアクリレート系接着剤、シリコン系接着剤等、多岐に亘る。

接着剤は、耐水性の高いもの、基板内で行われうる反応への影響が少ないものが当業者によって適宜選択される。また、上述のゾル物質 101 と同様のゾル物質を接着剤として用い、ゲル化することにより接着させることもできる。特に、基板 2 及び／又は蓋板 4 の素材として気体を吸蔵可能な物質を用いる場合には、基板 2 の上に蓋板 4 を載せた状態で減圧下環境に供し、溝 3 内に残存しうる気体を当該物質内に吸蔵させることによって除去しておくことができる。

さらに、基板 2 と蓋板 4 とを張り合わせる他の方法として、基板 2 の上に蓋板 4 を載せ、治具で圧着固定する方法が挙げられる。この方法は、両部材間の圧着性の観点から、基板 2 及び／又は蓋板 4 に弾性のある素材（例えばポリジメチルシロキサン等）を用いた場合に採用されることが好ましい。

[0109]

基板 2 と蓋板 4 とが張り合わされて作成された操作チップ 1 は、特にガラスのような割れやすい素材からなる部材を含む場合は、弾性物質（例えばシリコンゴム等）からなるパッキングが上表面（蓋板 4 側表面）及び/又は下表面（基板 2 側表面）に設けられ、既に図 8 及び 9 で示した関連部材が取り付けられうる。具体的には、操作チップ 1 は、下部固定用支持体 8 5 及び上部固定用支持体 8 6 で挟み込まれ、締付け用部材の使用で両支持体が互いに締付けられることによって挟持されうる。

ジョイント 8 1 及び 8 2 それぞれは、接着又は溶接によって、操作チップ 1 の上表面（蓋板 4 側表面）に固定されるか、若しくは、シール材を孔 5 及び 6 との間に設けるとともに締付け用部材で操作チップ 1 の上表面（蓋板 4 側表面）に締付けられることができる。このことにより、ジョイント 8 1 及び 8 2 下方開口部 8 3 が孔 5 及び 6 それぞれに連通する。上方開口部 8 4 は、セプタム等で適宜閉鎖されうる。

[0110] [5. 磁性体粒子]

磁性体粒子は、操作チップ外からの磁場の変動によって、操作チップ内における対象成分を引き連れることにより移動させるために使用される。そのような移動によって対象成分の分離、回収、精製を可能にする目的とした磁性体粒子は、通常その表面に化学官能基を有する。磁性体粒子は予め操作チップ内に收容されていなくともよいし、收容されていてもよい。予め操作チップ内に收容されている場合は、対象成分が最初に供給されるべき水系液体相 1 a の中に含ませることができる。磁性体粒子が予め操作チップ内に收容されていない場合は、対象成分を有する試料を操作チップ内に供給する際に、試料に磁性体粒子を混合した状態でチップ内に供給されることができる。

[01 11]

磁性体粒子は、磁気に応答する粒子であれば特に限定されず、例えば、マグネタイト、ア—酸化鉄、マンガン亜鉛フェライト等の磁性体を有する粒子が挙げられる。また、磁性体粒子は、上記の処理又は反応に供される対象成分と特異的に結合する化学構造、例えばアミノ基、カルボキシル基、エポキシ基、アビジン、ビオチン、ジゴキシゲニン、プロテインA、プロテインG、錯体化した金属イオン、或いは抗体を備えた表面を有してよく、静電気力、ファンデルワールスカにより対象成分と特異的に結合する表面を有してもよい。これによつて、反応又は処理に供される対象成分を選択的に磁性体粒子へ吸着させることができる。

磁性体粒子が表面に有する親水性基としては、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、リン酸基、スルホン酸基等が挙げられる。

[01 12]

磁性体粒子は、上記の他に当業者によつて適宜選択される種々の要素をさらに含んで構成されることができる。例えば、表面に親水性基を有する磁性体粒子の具体的な態様として、磁性体とシリカ及び/又は陰イオン交換樹脂との混合物からなる粒子、シリカ及び/又は陰イオン交換樹脂で表面が覆われた磁性体粒子、メルカプト基を介して親水性基を有する金で表面が覆われた磁性体粒子、磁性体を含有し表面にメルカプト基を介して親水性基を持つ金粒子などが好ましく挙げられる。

[01 13]

表面に親水性基を有する磁性体粒子の大きさとしては、平均粒径が $0.1\mu\text{m} \sim 500\mu\text{m}$ 程度でありうる。平均粒径が小さいと、磁性体粒子は、水系液体相中で磁場から開放された場合に分散した状態で存在しやすくなる。

磁性体粒子として市販されているものの例としては、東洋紡から販売されているPLasmid DNA Purification Kit MagExt ractor —PLasmid- の構成試薬である核酸抽出用にシリカコーティングされたMagnetic Beads が挙げられる。このようにキットの構成試薬として販売されている場合、磁性体粒子を含む製品原液は保存液等を含んでいるため、純水（例えば10倍量程度）で懸濁させることによって洗浄することが好ましい。この洗浄においては、純粋で懸濁した後、遠心操作、又は磁石による凝集によって上清を除去することによって行うことができ、また懸濁及び上清除去を繰り返し行うことができる。

[0114] [ 6 . 磁場印加手段 ]

[ 6 - 1 . 磁場印加手段 ]

操作チップ内の磁性体粒子を対象成分と共に移動させるための磁場の変動をもたらす、磁場印加手段及びそれが有する磁場移動機構については特に限定されない。磁場印加手段としては、永久磁石（例えばフェライト磁石やネオジム磁石）や電磁石などの磁力源を用いることができる。

後述の項目8で述べる本発明のチップデバイスの使用態様の一例を示した図11（a）～図11（g）を参照すると、磁場印加手段は、例えば図11（d）中で112として例示されるように、操作チップ1の外側から操作チップ1に近接させて配置する。近接の程度は、溝3内の水系液体相1a'中の磁性体粒子114を搬送面113側に凝集させることができる程度である。このように操作チップ1に近接させま、磁場印加手段112を操作チップ1の表面に略並行且つ溝3の長手方向に移動させると、例えば図11（c）に示すように、操作チップ1内のゲル相ga中においても、磁性体粒子114を搬送面113側に凝集させた状態で運搬することができる。これによつて、磁場印加手段が溝3内の搬送面113を介して磁性体粒子114に対して効果的に磁場を生じさせ、磁性体粒

子塊とともに対象成分を捕捉及び運搬することができる。

[01 15] [ 6 - 2 . 磁場移動機構 ]

[ 6 - 2 - 1 . 操作チップにおける溝の長手方向への移動 ]

磁場印加手段が有する磁場移動機構としては、磁性体粒子の凝集形態を保つことができる状態で、磁場を操作チップにおける溝の長手方向に移動させることができるものでありうる。以下において磁場移動機構と記載する場合、その機構は、停止位置の決定及び移動速度の制御を行うことができるものであってよく、その制御は、手動によってなされるものであってもよいし、コンピュータなどによって自動的になされるものであってもよい。移動速度は、例えば毎秒 0 . 5 mm ~ 10 mm であってよい。

磁場移動機構は、磁場印加手段自体を物理的に操作チップにおける溝の長手方向に移動させることができるものであることが好ましい。

[01 16] [ 6 - 2 - 2 . 磁場の強度の制御 ]

磁場印加手段が有する磁場移動機構は、磁性体粒子に印加する磁場の強度を可変制御することができるものであってよい。具体的には、磁場が遮断又は減弱されうる。磁場の遮断又は減弱の程度は、磁場の印加により凝集した磁性体粒子群を水系液体相中で分散させることができる程度であることが好ましい。

例えば、電磁石の場合であれば通電制御手段を用いて磁場を遮断することができる。

また例えば、永久磁石の場合であれば、図 11 (e) で例示されるように、操作チップ外側に配置した磁石を、操作チップから遠ざけることができる機



構を用いることができる。この機構は、手動で制御されてもよいし、自動制御されてもよい。磁性体粒子への磁場が減弱されること、好ましくは磁性体粒子が磁場から開放されることによって、水系液体相中において磁性体粒子群を自然分散させることができる。これによつて、磁性体粒子に吸着した対象成分や付随しうる不要成分を、水系液体相を構成する液体中に十分に晒すことが可能になる。

[01 17] [ 6 - 2 - 3 . 複数の操作チップが密集したデバイスの場合 ]

図 1 3 に、操作チップを複数密集させた集積型デバイスの一例を示す。図 1 3 における操作チップ 1 は、図 6 の操作チップの変形例であり、一枚の操作チップ内に溝が複数形成されているものである。図 1 4 は、集積型デバイスの他の一例である。図 1 4 における操作チップ 1 は、図 7 の操作チップの変形例であり、一枚の操作チップ内に溝が複数形成されているものである。図 1 3 及び図 1 4 のデバイスにおいては、複数の操作チップに対応する複数の磁力源が、操作チップにおける溝の長手方向に移動可能な一の部材にユニット化されることにより保持されることができ。このようなユニット化された部材は、図に例示するように、操作チップ 1 における溝の長手方向に移動可能な磁場印加手段である可動磁石板 1 3 0 として体现されうる。可動磁石板 1 3 0 には、複数の操作チップ 1 それぞれに対応する穴 1 3 1 が形成されており、それぞれの穴 1 3 1 内に操作チップ 1 を挿入することによって、複数の操作チップ 1 に対して同時に磁場印加及び磁場移動を行うことができる。

[01 18] [ 6 - 2 - 4 . 磁場の揺動 ]

磁場移動機構は、磁場の振幅移動や回転等の揺動運動を可能にする機構を備えてよい。例えば磁力源を操作チップにおける溝の長手方向の振幅運動又

は回転運動させることができる機能を備えることによって、スターラーの代用とすることができる。これによつて、水系液体中における混合や攪拌が容易になる。

例えば磁場の遮断又は減弱の機能を有さない場合において、磁場印加手段を操作チップに近接させたまま（すなわち磁性体粒子を凝集させたまま）水系液体相の厚みの幅内で数回、振幅運動又は回転運動させることによって、水系液体中で磁性体粒子に吸着した対象成分などを、水系液体相を構成する液体中に十分に晒すことができる。

[0119] [ 7 . 光学的検出手段 ]

操作チップにおいて検出工程を光学的分析により行う場合、用いられる光学的手段は特に限定されるものではなく、当業者であれば、対象成分が供された分析方法に応じて容易に選択可能である。例えば、光発生部、検出用手段、光送信手段及びパーソナルコンピュータなどを適宜含んで構成された手段を用いることができる。

一例を挙げると、光発生部から、検出用手段（例えば検出用レンズに取り付けた光ファイバーケーブル等の光送信手段）への入射を行い、検出用レンズを通して操作チップ内に収容された水系液体相を構築する反応液への光照射を行うことができる。検出用レンズによって検出された光学的シグナルを光ファイバーケーブルによって受光素子に送り、電氣的シグナルに変換後、パーソナルコンピュータにリアルタイムで送信し、反応液の蛍光強度の変化をモニターすることができる。これは、本発明がリアルタイム核酸増幅反応などの変化する蛍光強度の検出が行われる反応又は処理が行われる場合に好適である。

[01 20]

なお、光発生部としてはLED、レーザー、ランプ等を用いることができる。また検出においては安価なフォトダイオードから、より高感度を目指した光電子倍增管などまで、種々の受光素子を特に限定することなく利用することができる。

[01 21]

リアルタイム核酸増幅反応などの核酸関連反応や核酸関連処理が行われる場合を例に挙げると、例えばSYBR（登録商標）GREEN Iを用いた場合、この色素は二本鎖DNAに特異的に結合し525nm付近に蛍光を生じるため、検出用手段は目的波長以外の光を光学フィルタでカットして目的波長の光を検出することができる。

[01 22] [ 8 . チップデバイスを用いて対象成分を操作する方法]

チップデバイスを用いた対象成分の基本操作を、図11(a)～図11(g)の例示に基づいて説明する。

[ 8 - 1 . 基本操作]

チップデバイスの使用の一例においては、セプタム等の封止手段（図示せず）で閉鎖されたジョイント81の上方開口部84から、注射針110を用いて対象成分を含む試料液111を供給する（図11(a)）。試料液111には、磁性体粒子が分散状態で含まれている。図示の場合、試料液111は、最初のゲル相gaで塞ぎ止められることにより、ジョイント81内部の一部と、孔5内空間とを満たした状態で留まる。

[01 23]

磁石112を操作チップ1に近づけ、搬送面113側からジョイント81内

に溜められた試料液 111 の方向へ磁場を発生させる (図 11 (b))。このことによって、試料液 111 中に分散していた磁性体粒子 114 を凝集させて搬送面 113 方向へ分離することができる。下部固定用支持体 85 には、下方窓孔 88 が形成されているため、磁石 112 が操作チップ 1 へ容易にアプローチすることができ、十分な磁力を生じさせることができる。

[01 24]

磁力によって凝集した磁性体粒子 114 群は、ゲル相 1a 内において試料液 111 に薄くコートされており、対象成分を不要成分と共に吸着した態様をなす (図 11 (c))。

ゲル相 1a 内において、磁石 112 を溝 3 の長手方向に移動させると、磁性体粒子 114 群は磁石 112 とともに搬送面 113 上を移動する。この際、ゲルのチキソトロピックな性質 (揺変性) により、磁性体粒子 114 群はゲルに貫通孔を形成させることなく、上記の態様を保持したまま移動することができる。

[01 25]

さらに磁石 112 を移動させることにより、磁性体粒子 114 群を水系液体相 1a 内へ移動させる (図 11 (d))。これにより、水系液体相 1a 内に、対象成分を含む試料と磁性体粒子とを含む水系液体混合物 1a' が生じる。

なお、水系液体混合物の調製には、上記例示の方法のほか、予め水系液体相 1a に磁性体粒子を含ませておき、試料液のみを操作チップ内へ供給する方法もある。この場合、水系液体相 1a は孔 5 に通じるように位置する。

[01 26]

水系液体相中においては、処理効率を向上させる観点で、対象成分を引き連れる磁性体粒子が水系液体と十分に接触できるように磁石を操作することが好ましい。具体的には、磁石 112 を操作チップ 1 から遠ざけて磁力を減弱することによって、凝集状態の磁性体粒子 114 を水系液体相 1a 内へ分散させることができる (図 11 (e))。

水系液体相 1a を構成する液体が、試料液 111 中に含まれていた核酸を遊離させ、磁性体粒子へ結合又は吸着させることができる液体である場合、上記の操作によつて核酸抽出の処理を行うことができる。

[01 27]

再び磁石 112 を操作チップ 1 に近づけて磁場を生じさせ、水系液体混合物 1a' の相に分散していた磁性体粒子 114 を凝集させる。さらに磁石 112 を溝 3 の長手方向に移動させることによって、磁性体粒子 114 をゲル相 gb 内へ移動させる (図 11 (f))。ゲル相 gb 内において、凝集した磁性体粒子 114 は、水系液体混合物 1a' に含まれていた液体成分に薄くコーティングされている。このため、対象成分である核酸だけでなく、不要成分として夾雑物等を引き連れている。

[01 28]

さらに磁石 112 を移動させることによって、ゲル相 gb を介して隣接する水系液体相 1b 内へ、核酸と共に磁性体粒子を運搬することができる。水系液体相 1b 内においても、磁性体粒子が水系液体と十分に接触できるように磁石を操作することができる。水系液体相 1b を構成する液体が洗浄液である場合、上記の操作で核酸に伴う夾雑物が除去されることによって、核酸精製の処理を行うことができる。

[01 29]

同様に、ゲル相  $g_c$  を介して隣接する水系液体相  $l_c$  内へ、核酸と共に磁性体粒子を運搬し、水系液体相  $l_c$  内において同様の操作を行うことができる。水系液体相  $l_c$  を構成する液体が洗浄液である場合、上記の工程で精製された核酸に残存しうる夾雑物がさらに除去されることによって、核酸の精製度を上げることができる。

[0130]

さらに磁石 112 によって、上記の操作が必要に応じて繰り返されてよい。

上記の操作が繰り返される例として、図 11 で示したもののほか、水系液体相  $l_c$  と  $l_z$  との間にさらに別の水系液体相及びゲル相が存在する場合が挙げられる。この場合には、相の数に応じた回数だけ、運搬操作及び処理操作を繰り返すことができる。原則的に、水系液体相  $l_a$  から  $l_z$  の一方向のみに磁性体粒子を移動させることができる。

上記の操作が繰り返される別の例として、図 11 で示した操作チップにおいて、水系液体相間を往復することによって、上記の工程を繰り返すことも許容する。

[0131]

精製された核酸を吸着した磁性体粒子 114 は、最終的にゲル相  $g_z$  を介して水系液体相  $l_z$  へ運搬される (図 11 (g))。ゲル相  $g_z$  においては、核酸と共に磁性体粒子によって運搬される夾雑成分の量は限りなくゼロに近くなる。磁性体粒子は極僅かな洗浄液を伴うものの、粒子表面の核酸は、後の水系液体相  $l_z$  における処理に支障を来さないレベルにまで精製されている。

水系液体相  $l_z$  を構成する液体が核酸増幅反応液である場合、精製核酸中の

標的核酸の増幅を行うことができる。核酸増幅物は、蛍光色素によるリアルタイム検出法又はエンドポイント検出法による蛍光検出法によって分析することができる。なお、図 11 においては、温度制御手段や光学検出手段は図示省略している。

水系液体相 1z での処理終了後は、必要に応じ、セプタム等の封止手段（図示せず）で閉鎖されたジョイント 82 の上方開口部 84 から、注射針等を用いて処理液を取り出すことができる。

[ 0132]

図 11 の例では最終相が水系液体相 1z である一方、他の例においては、最終相がゲル相 gz であってもよい。最終相がゲル相 gz である例においては、ゲル相 gz 中の磁性体粒子を回収する。このような回収を行う目的としては、磁性体粒子を、それに吸着した操作済試料とともに保管する目的、及び磁性体粒子に吸着した操作済試料を別装置で分析する目的が挙げられる。以下に回収方法を三例挙げる。

[ 0133]

最終ゲル相 gz からの磁性体粒子回収方法の一例においては、操作チップの構成部材に、所望の位置で破断誘導溝を形成しておき、破断誘導溝で操作チップを切り離すことによって、磁性体粒子を含むゲル相 gz ごと回収することができる。

破断誘導溝は、溝の長手方向と略垂直方向に伸びるように形成される。操作チップ 1 における操作完了後、外力を与えて破断誘導溝で破断を生じさせることによって、操作チップの一部をチップ片として切り離す。切り離されたチップ片には、回収物として、磁性体粒子を含むゲル相 gz 部分が含まれる。

[0134]

最終ゲル相  $g_z$  からの磁性体粒子回収方法の他の一例においては、以下のよう  
に、回収容器を操作チップに接続して、磁場印加手段により回収容器内に  
磁性体粒子を回収することができる。

図 7 の操作チップのように、溝 3 が基板 2 の両端の面まで延びていることによ  
って当該面が開口している（上端孔 5、下端孔 6）場合は、図 12（操作  
チップの下端付近を図示）に例示する方法によって、当該面の下端孔 6 から  
磁性体粒子を取り出すことができる。

図 12 においては二例を挙げ、それぞれの例において、図 11 の工程（ $g$ ）  
に対応する工程（ $g'$ ）及び工程（ $g''$ ）、並びにそれぞれに引き続くエ  
程（ $h'$ ）及び工程（ $h''$ ）を垂直断面図によって図示している。

[0135]

図 12 の例においては、回収容器 120 が用いられる。回収容器 120 は、  
図のように、ブロックがくり抜かれ、ブロック上面に開口した回収部 123  
が形成されている。さらに、工程（ $g'$ ）に示すように、操作チップの操作  
に用いた磁石 112 とは別の回収容器側磁石 121 が、外部から回収部 123  
内に磁場を生じさせることができるよう、磁石通用穴 124 が形成されて  
いてよい。

操作チップ 1 の下端には、回収容器 120 が、操作チップ 1 側の下端孔 6 と  
回収容器 120 側の回収部 123 の上面開口端とが対応するように接続され  
る。操作チップ 1 での操作を終え、操作済試料が付着している磁性体粒子 1  
14 はゲル相  $g_z$  に到達する（ $g'$ ）。その後、回収容器 120 側の磁石 1  
21 が上昇し、磁性体粒子 114 が磁石 112 から回収容器側磁石 121 に  
受け渡される（ $h'$ ）。これによつて、磁性体粒子 114 は操作チップ 1 内



から回収容器 120 内へ回収される。

[0136]

工程 (9'') 及び工程 (h'') に示す態様は、回収容器 120 の形状が異なる場合の変形例である。この態様における回収容器 120 は、回収部 123 が非対称形に形成されており、回収容器 120 における磁石アクセス面 125 と操作チップ 1 における磁石アクセス面である蓋板 4 表面とが略同一面となっている。このため、回収容器 120 への磁性体粒子 114 の回収は、操作チップ 1 の操作で用いた磁石 112 を用いて行うことができる (h'')。

[0137]

なお、回収容器の形状は、図 12 に例示のようにブロックをくり抜いた形状のものであってもよいし、チューブ等の容器であってもよい。また、図 14 に例示のデバイスのように、操作チップ一枚に複数の溝が形成されていることや、操作チップが複数枚密集していることにより、複数の下端孔から磁性体粒子を回収する必要がある場合は、回収容器は、多穴ウエルのように、ブロックに複数の穴がくり抜かれた態様のものを用いることができる。或いは、回収容器は、チューブ等の容器が下端孔の数に対応する数だけ複数連なった態様のものを用いることもできる。

[0138]

最終ゲル相  $g_z$  からの磁性体粒子回収方法のさらなる他の一例においては、回収容器を操作チップに接続して、気体圧を利用してゲル相  $g_z$  を動かし、ゲル相  $g_z$  ごと磁性体粒子を回収容器内に回収することができる。回収容器は、前述の例に準じ、回収部を有するものを用いることができるが、圧力調整のため、回収部に通じる気体通用穴をさらに有する。

例えば、前述の例と同様に操作チップに回収容器を接続した後、試料供給部に適宜アダプターを接続して溝内へ加圧を行い、操作媒体全体を試料取出部方向へスライドさせる。ゲル相  $g_z$  が試料取出部から飛び出して回収容器の回収部内に入ることで回収が行われる。加圧を止めることで回収操作を終了することができる。或いは、試料供給部側で溝内へ加圧することに換えて、回収容器の気体通用穴から減圧を行うことによっても同様の回収操作を行うことができる。

[0139] [ 8 - 2 . 操作が一本の主溝から複数の分岐溝の方向へなされる場合]

溝が分岐又は交差している場合は、より効率性の高い操作を行うことができる。

例えば、図3 (a) や図4 (a) に示すように、操作が一本の主溝 3 1 から複数の分岐溝 3 2 の方向へなされる操作チップの場合、一検体について多項目の操作を行うことができる。例えば、核酸抽出及び核酸精製を主溝 3 1 内で行い、溝の分岐点において磁性体粒子群を複数群に分離し、それぞれの分岐溝 3 2 において、異なるプライマーを用いたPCR分析を行うことができる。

[0140] [ 8 - 2 - 1 . 1 個の磁石を用いる場合]

分岐点において磁性体粒子群を分離する方法の一例においては、図15に示すように、進行方向Aに対して略直角方向の最大分岐幅  $d$  (すなわち分岐溝 3 2 全体の最大幅) 以上の長さ  $D$  を有する磁石 1 1 2 を用いる。このような磁石 1 1 2 を、進行方向Aに対して略直角方向に長さ  $D$  となる向きで位置させ、進行方向Aに移動させる (図15 (a))。磁石 1 1 2 が分岐点を通る

と、分岐溝に従って磁性体粒子群が分離される (図 15 (b))。完全に磁性体粒子群が分離された後、さらに磁石 112 を移動させると (図 15 (c))、次の分岐点でさらに磁性体粒子群が分離される。磁性体粒子群は最終的に、分岐溝の最大分岐数と同じ数の群に分離される (図 15 (d))。これによって、磁性体粒子に吸着した対象物質を複数のアリコートに分けることができる。

この態様においては、1個の磁石 112 を用いるため、全ての磁性体粒子群が同時に且つ同じ速度で移動する。

[0141]

分岐点において磁性体粒子群をほぼ等しい複数の群に分離するために、溝の長手方向の中心線に対して線対称に分岐溝を設けることが好ましい。例えば、主溝 31 の長手方向の中心線に対して線対称に分岐溝 32 を設ける。分岐溝からさらに分岐溝を設ける場合も同様である。

磁性体粒子の分かれやすさという観点からは、分岐溝 32 が鋭角を成すように分岐しているものであることが好ましい。磁性体粒子を分かれやすくするために、分岐点に位置する相 33 (この場合は水系液体相) 中に、仕切り板 (図示せず) を設けておいてもよい。仕切り板を設ける態様は、分岐角が鋭角より大きい場合に特に好ましい。

[0142] [8 - 2 - 2. 複数の磁石を用いる場合]

分岐点において磁性体粒子群を分離する方法の他の一例においては、図 16 に示すように、少なくとも最大分岐溝数と同じ数の複数の磁石 112 を用いることができる。複数の磁石 112 は、図示するように一次元アレイ状 (具体的には、進行方向 A に対して略直角方向に並ぶよう) に配置されてもよい

し、二次元アレイ状に配置されていてもよい。また、磁石の進路上且つ主溝から分岐溝への分岐点において、複数の引き合った磁石を分離可能な分離補助具 160 を備えることができる。

[ 0 143]

複数の互いに引き合った4つの磁石 112 を進行方向Aに移動させ (図 16 (a))、分岐点に差し掛かると (図 16 (b))、分岐点に備えられた分離補助具 160 によって、磁石 112 塊が2つの磁石塊に分離される (図 16 (c))。磁石 112 塊の分離と同時に、磁性体粒子群 114 も分離される。この態様においては、分岐溝ごとに独立した操作を行うことができる。すなわち、分離後の磁石 112 塊のうち一方を、分岐溝の一方に静置させておき、分離後の磁石 112 塊のうち他方を、分岐溝の他方に沿って移動させることができる (図 16 (d))。このため、磁石 112 に伴って、磁性体粒子群 114 が分岐溝ごとに独立して移動することができる。

[ 0 144]

磁石を分離する機構について図 17～図 19 を参照して説明する。図 17～図 19 においては、磁石 112 及び分離補助具 160 を示し、操作チップや磁性体粒子等の他の要素は図示省略している。磁石 112 及び分離補助具 160 において網がけしている面は、それらの面が、操作チップの基板面 (以下、例として基板の下面とする) と略並行の面上、例えば略同一面上にあることを表す。また、磁石 112 に付された矢印は磁石 112 の動く方向を示し、分離補助具 160 に付された矢印は分離補助具 160 の動く方向を示している。さらに、Aで示された矢印は、操作の際の磁石の進行方向 (基板チップの下面と略並行である) を示す。

[ 0 145]

磁石 112 の形状としては、複数の引き合った状態の磁石のそれぞれを分離

しやすいように、平面形状が円（図 17）又は略五角形以上の多角形（図 18 及び図 19）であることが好ましい。

分離補助具 160 の形状としては、互いに引き合っている磁石同士を分離するために、互いに引き合っている磁石の間に分け入ることができ、且つ、磁石同士を十分に引き離すことが可能な形状であることが好ましい。例えば、分離補助具における一部（すなわち磁石間に分け入るべき部分）が好ましくは断面鋭角状に形成されることができる。具体的には、楔形の形状に形成されることができる。

[0146]

図 17（b）は図 16（b）における磁石 112 及び分離補助具 160 の関係を示し、図 17（c）は図 16（c）における磁石 112 及び分離補助具 160 の関係を示す。磁石 112 と分離補助具 160 とは、網掛け面が操作チップの基板下面と略並行の面上、例えば略同一面上に位置するように配置され、且つ、分離補助具 160 は、進行方向 A 上にあって且つ図示しない溝の分岐点に固定されている。その際、分離補助具 160 は、引き合っている磁石の間に分け入ることができるように形成された部分（例えば断面鋭角状に形成された部分）が、磁石 112 の進行方向と逆方向を向くように配置される。

4 つの磁石 112 が互いに引き合った状態の磁石塊を進行方向 A に移動させる（図 17（b））と、分離補助具 160 に到達し、磁石 112 の間に、分離補助具 160 の断面鋭角状に形成された部分が分け入る。さらに進行方向 A に磁石塊を移動させると、分離補助具 160 の形状に従って磁石 112 の間が徐々に広げられ（図 17（c））、4 つの磁石 112 が 2 つずつの磁石 112 に二分割される。

[0147]

図 18 は、図 17 における磁石の平面形状の変形例である。図 18 (b) 及び図 18 (c) は、それぞれ、図 17 (b) 及び図 17 (c) に相当する。

[0148]

図 19 は、図 17 及び図 18 の機構とは異なり、溝の分岐点において磁石を分離する機構の別の変形例である。図 19 において例示されている磁石は、図 18 におけるものと同一形状であるが、異なる向きを向いている。図 19 の場合、磁石 112 は、網がけ面が操作チップの基板下面と略並行の面上、例えば略同一面上に位置するように配置され、且つ、分離補助具 160 は、基板の下方に設けられ、且つ上昇により当該面に近接可能に設けられている。

4 つの磁石 112 が互いに引き合った状態の磁石塊が、図示されない溝の分岐点の略直下に差し掛かると (図 19 (b1))、分離補助具 160 を操作チップの基板下方から上昇させ、基板下面に向かって移動させる。これにより、溝の分岐点の略直下において、分離補助具 160 が磁石 112 の間に分け入り、さらに分離補助具 160 を操作チップの基板下面に向かって上昇させると、分離補助具 160 の形状に従って磁石 112 の間が徐々に広げられ (図 19 (b2))、4 つの磁石 112 が 2 つずつの磁石 112 に二分割される)。

[0149]

なお、磁石の移動は、図 20 に例示する磁石用治具 200 で磁石 112 をはさんだ状態で行うと容易に行うことができる。

[0150] [8 - 3. 操作が複数の分岐溝から一本の主溝の方向へなされる場合]

例えば、図 3 (b)、図 3 (c) 及び図 4 (b) に示すように、操作が複数の分岐溝 3 2 から一本の主溝 3 1 の方向へなされる操作チップの場合、分岐溝 3 2 では処理を個別化することができる一方、主溝 3 1 で処理を共通化することができる。共通化された処理においては、例えば、図 3 (c) に模式的に示す検出手段 3 5 による検出などが行われることができる。

[01 51]

一例として、分岐溝 3 2 のそれぞれで処理されて得られた試料を主溝 3 1 で混合することで、反応等の処理に供することができる。この場合、8 \_ 2 \_ 1 で記載したような 1 個の磁石を用い、分岐溝 3 2 側から主溝側 3 1 へ移動させることで、複数の分岐溝 3 2 それぞれにおける試料を一度に移動し、統合することができる。

[01 52]

他の一例として、分岐溝 3 2 のそれぞれにおいて異なる試料を処理し、得られたそれぞれの異なる試料を混合することなく別々に、主溝 3 1 で同一の反応、検出、分析等の処理に供することができる。この場合、分岐溝 3 2 ごとに磁石を用意し、分岐溝 3 2 側から主溝側 3 1 へそれぞれの磁石を独立して移動させることで、複数の分岐溝 3 2 それぞれにおける試料を個別に操作することができる。

なお、図 3 (c) に示す分岐溝 3 4 から分岐する分岐溝には、試薬や洗浄液等を収容することができる。例えば、操作チップの用途に応じ、分岐溝 3 2 には収容されていない異種の試薬等を収容することができる。試薬等は、磁性体粒子によって主溝へ運搬することができる。

[01 53] [ 8 - 4 . 複数の溝が交差している場合 ]

図5に示すように複数の溝が交差している場合、試料は交差した溝内を縦横無尽に移動することができる。このため、例えば、複数の試料を操作しつつ、一部の試料を分割することができる。また、複数の試料を操作しつつ、一部の試料について処理を共通化することができる。このように試料の分割や共通化を自在に行うことができる。

また、複数の溝が交差することで、小面積の基板上で多くの相が収容される。このため、多くの反応、検出、分析等の処理を集約することができる。

### 符号の説明

- [0154] 1 :操作チップ
- 2 :基板
- 3 :溝
- 4 :蓋板
- 5 :孔 (試料供給部)
- 6 :孔 (試料取出部)
- 9 :ゲル相
- 1 :水系液体相
- 3 1 :主溝
- 3 2 :分岐溝
- 3 4 :分岐溝
- 3 5 :検出手段
- 8 1 :ジョイント (孔5側)
- 8 2 :ジョイント (孔6側)
- 8 5 :下部固定用支持体
- 8 6 :上部固定用支持体
- 1 1 1 :試料
- 1 1 2 :磁石
- 1 1 4 :磁性体粒子



1 2 0 : 回 収 容 器

1 3 0 : 可 動 磁 石 板

1 6 0 : 分 離 補 助 具

## 請求の範囲

### [請求項 1]

対象成分を操作するためのチップデバイスであって、

基板と、前記基板表面に形成された溝と、前記溝内にゲル相と水系液体相とが前記溝の長手方向に交互に配置され且つ相同士が互いに接するように収容されている操作用媒体とを含む操作チップと、

対象成分を捕捉し運搬すべき磁性体粒子と、

前記基板に磁場を印加することによって前記磁性体粒子を前記基板上の前記溝の長手方向に移動させることができる磁場印加手段とを含むチップデバイス。

### [請求項 2]

前記水系液体相のうち、前記溝の一方又は他方の端に最も近い位置に収容されている水系液体相が、前記対象成分を含む試料が最初に供給されるべき水系液体相である、請求項 1 に記載のチップデバイス。

### [請求項 3]

前記溝が、主溝と、前記主溝から分岐する分岐溝とから構成されている、請求項 1 又は 2 に記載のチップデバイス。

### [請求項 4]

前記溝の主溝側の端に最も近い位置に収容されている水系液体相が、前記対象成分が最初に供給されるべき水系液体相である、請求項 3 に記載のチップデバイス。

### [請求項 5]

前記溝の分岐溝側の端に最も近い位置に収容されている水系液体相が、前記対象成分が最初に供給されるべき水系液体相である、請求項 3 に記載のチップデバイス。

## [請求項 6]

前記溝が、格子状に交差した複数の溝から構成されている、請求項 1 又は 2 に記載のチップデバイス。

## [請求項 7]

前記溝の表面の前記ゲル相が接している部分に疎水性処理がなされている、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

## [請求項 8]

前記溝の表面の前記水系液体相が接している部分に親水性処理がなされている、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

## [請求項 9]

前記溝が、0.005 mm ~ 10 mm 幅、及び 0.005 ~ 5 mm 深さである、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

## [請求項 10]

前記基板の前記溝を有する側の表面に蓋板を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

## [請求項 11]

前記蓋板が、前記溝の少なくとも一方の末端に位置するゲル相に通じる孔が穿設されたものである、請求項 10 に記載のチップデバイス。

## [請求項 12]

前記磁場印加手段が、前記基板面に略並行に一次元アレイ状又は二次元アレイ状で配置されている複数の磁石であり、前記複数の磁石が互いに引き合った状態で、前記基板面に略並行且つ前記主溝の長手方向に移動可能なものであり、前記磁石の進路上且つ前記主溝から前記分岐溝への分岐点において、前記複数の磁石を分離するための分離補助具が設けられている、請求項 4 及び 7 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

## [請求項 13]

前記水系液体相が、核酸抽出液相、核酸洗浄液相、及び核酸増幅反応液相からなる群から選ばれる相を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のチップデバイス。

[請求項 14]

請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のチップデバイスに含まれる操作チップの作製方法であって、以下の工程を含む方法：

(i) 基板上に形成された溝の長手方向に、複数のゲル塊が互いに隔離されて配置されたゲル相部を調製する工程；及び

(ii) 前記ゲル相部に隣接する溝内空間に水系液体を入れることによって、水系液体相部を調製する工程。

[請求項 15]

(iii) 基板の前記溝を有する側の表面に蓋板を設ける工程をさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

[請求項 16]

請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のチップデバイスを用いて対象成分を操作するための方法であって、以下の工程を含む方法：

(i) 前記操作チップの一方の端に位置する水系液体相において、対象成分を含む試料と磁性体粒子と水系液体とを含む水系液体混合物を得る工程；

(ii) 磁場印加手段によって磁場を生じさせ、前記磁性体粒子を前記対象成分と共に、前記最も端に位置する水系液体混合物の相から前記ゲル相を介して、隣接する水系液体相中へ運搬する工程；

(iii) 前記水系液体相中で所望の処理を行う工程；

(iv) 磁場印加手段によって磁場を生じさせ、前記磁性体粒子を前記対象成分と共に、前記水系液体相から他の水系液体相へ運搬する工程；

(v) 前記他の水系液体相中で所望の処理を行う工程；

(vi) 前記の工程 (iv) 及び (v) を必要に応じて繰り返す工程；及び

(vii) 前記磁性体粒子を対象成分と共に前記操作チップの他方の端に位置する水系液体相へ運搬する工程。

[請求項 17]

前記操作チップが複数存在し、前記複数の操作チップについて、前記磁性体粒子による運搬を同時に行う、請求項 16 に記載の方法。

[請求項 18]

前記対象成分が核酸であり、

前記工程 (i) において、前記一方の端に位置する相における水系液混合物に含まれる水系液体が前記核酸を遊離させ、前記磁性体粒子へ結合又は吸着させる液体であり、前記水系液体中で核酸抽出が行われ、

前記工程 (ii) ~ (vi) において、前記水系液体相の少なくとも一つが前記磁性体粒子の洗浄液からなり、前記洗浄液中で遊離核酸に伴う夾雑物の除去による核酸精製が行われる、請求項 16 又は 17 に記載の方法。

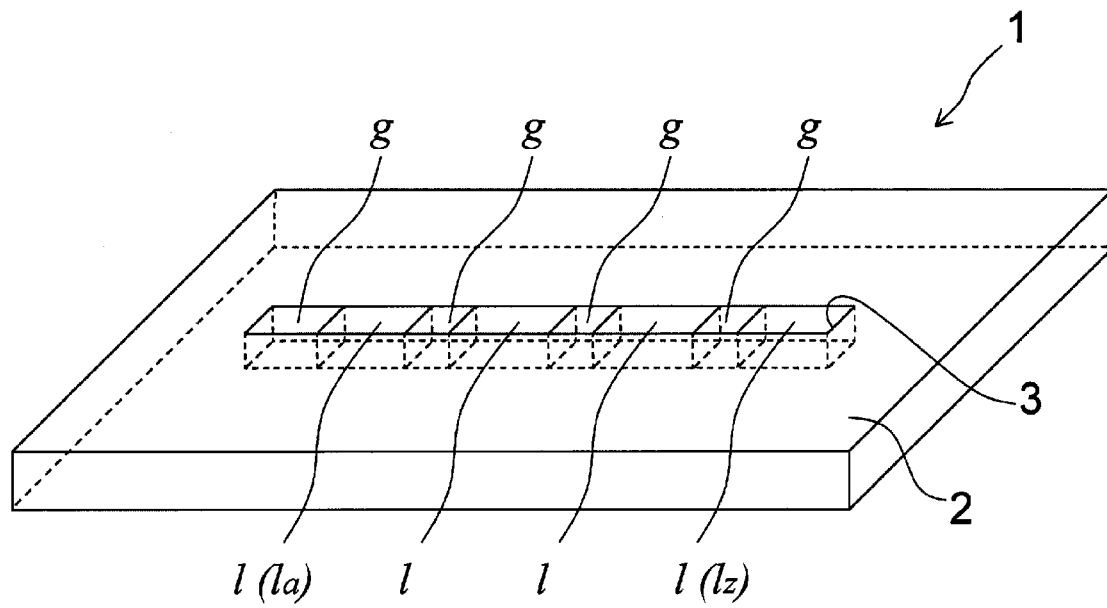
[請求項 19]

前記工程 (vi) において、前記他方の端に位置する水系液体相が核酸増幅反応液からなり、前記核酸増幅反応液中で精製核酸中の標的核酸の増幅が行われる、請求項 18 に記載の方法。

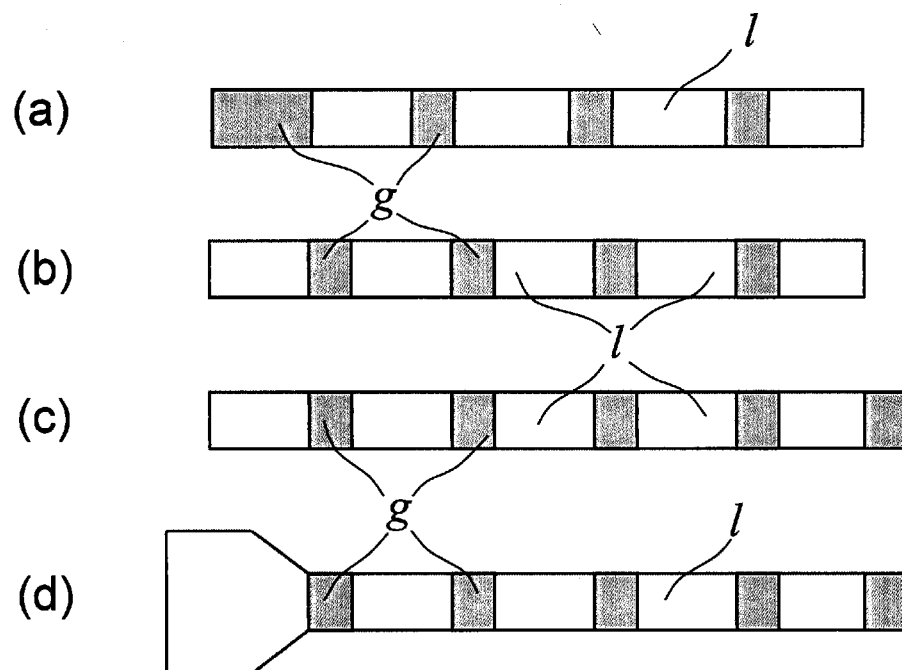
[請求項 20]

前記核酸増幅反応による生成物をリアルタイムで検出する、請求項 19 に記載の方法。

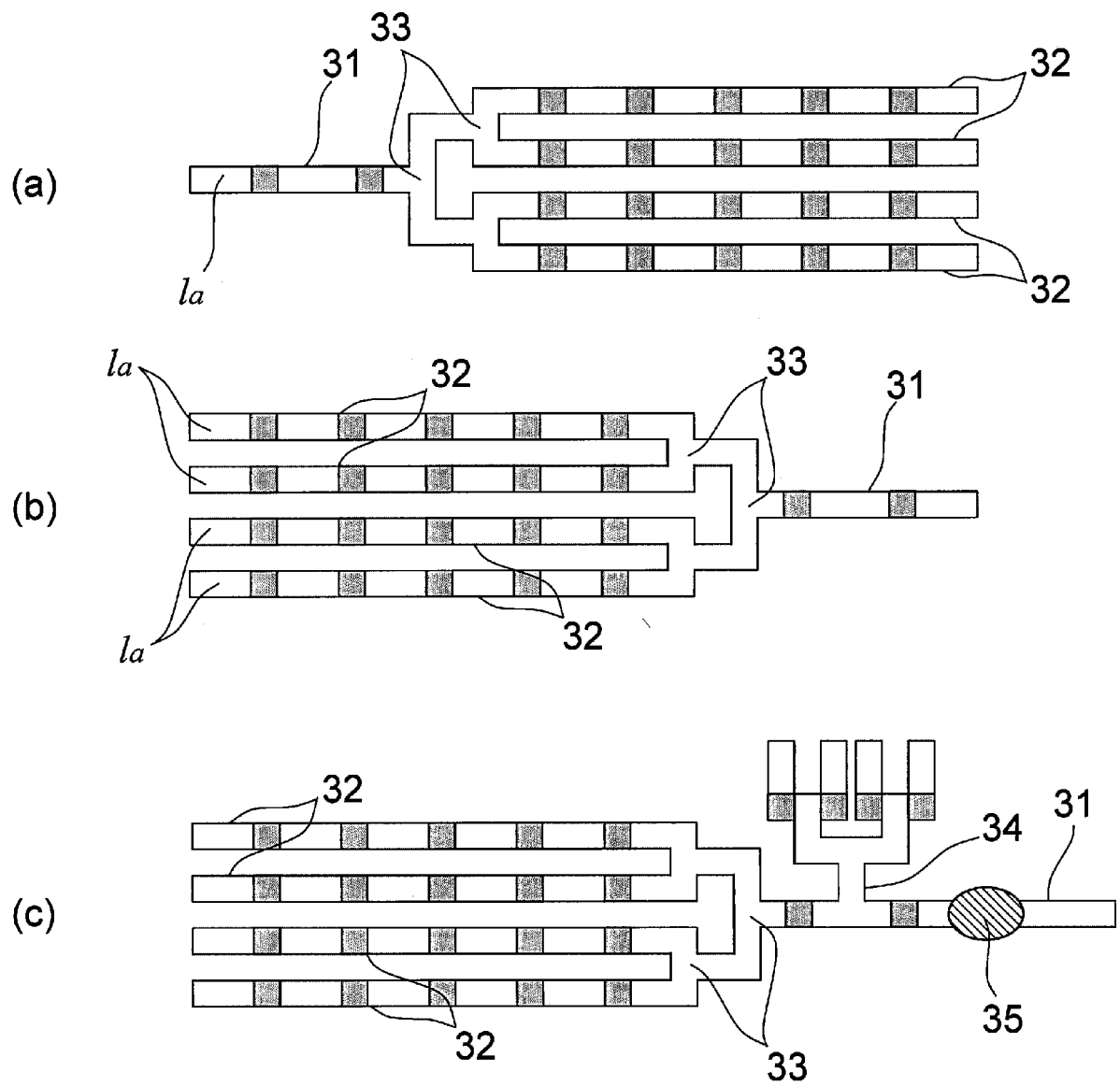
[図1]



[図2]

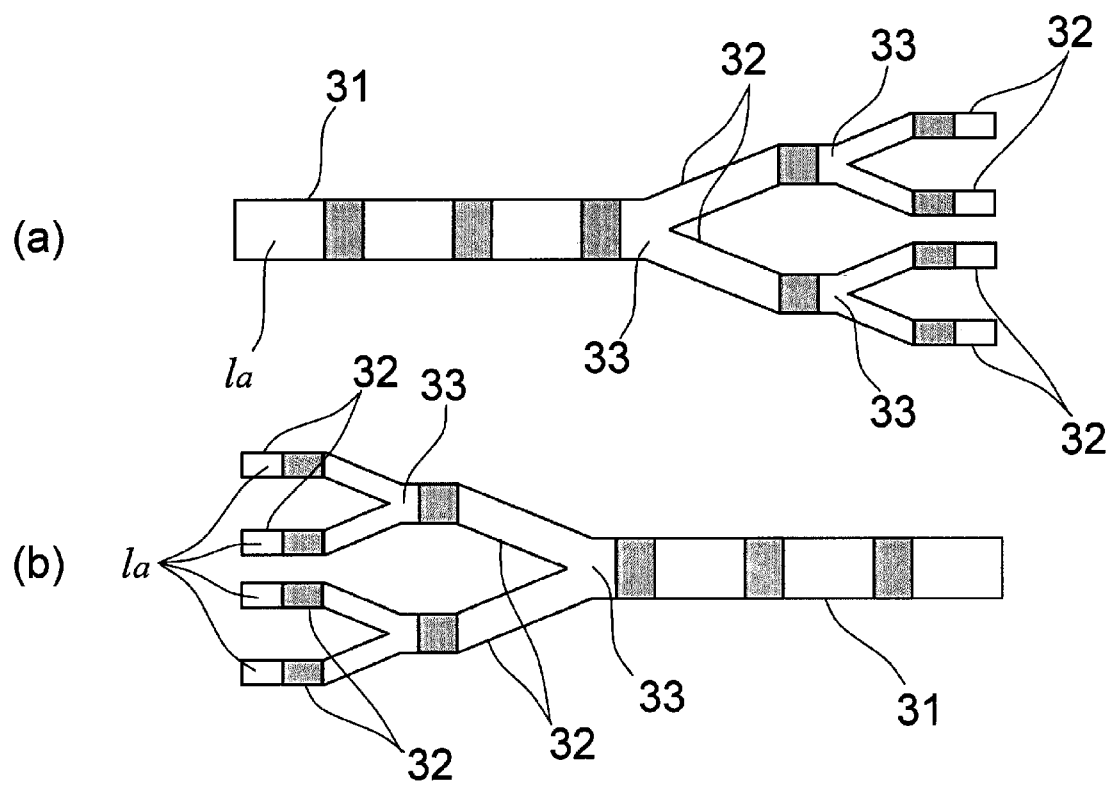


[図3]

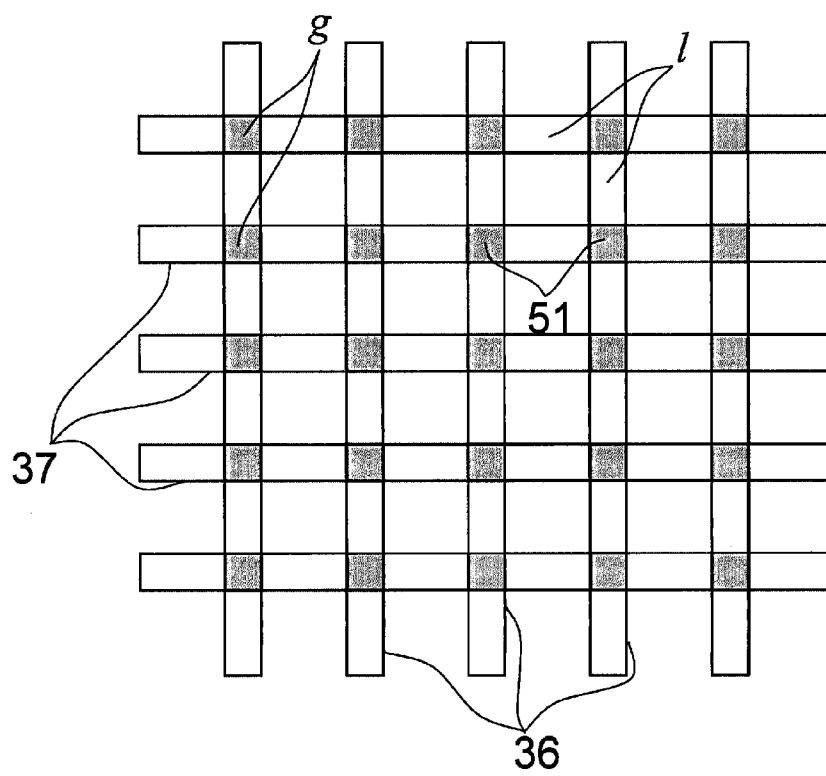




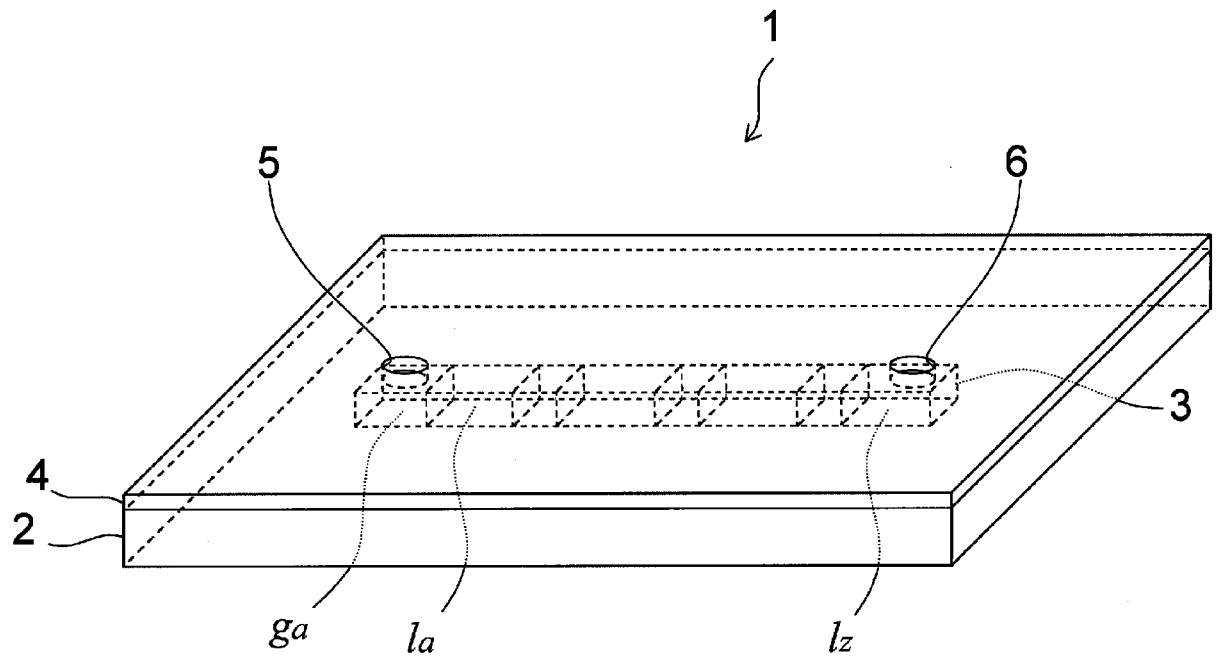
[図4]



[図5]

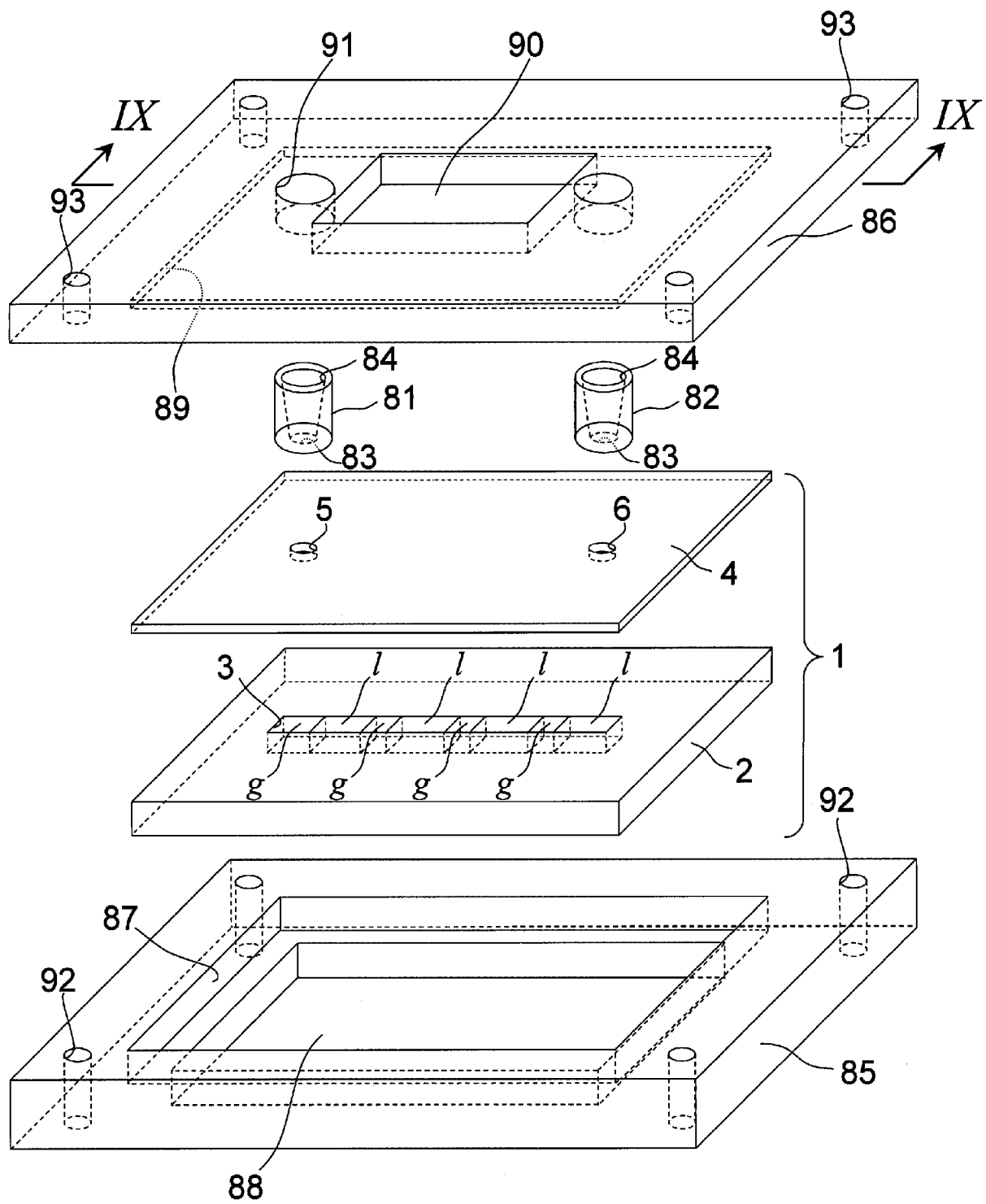


[図6]



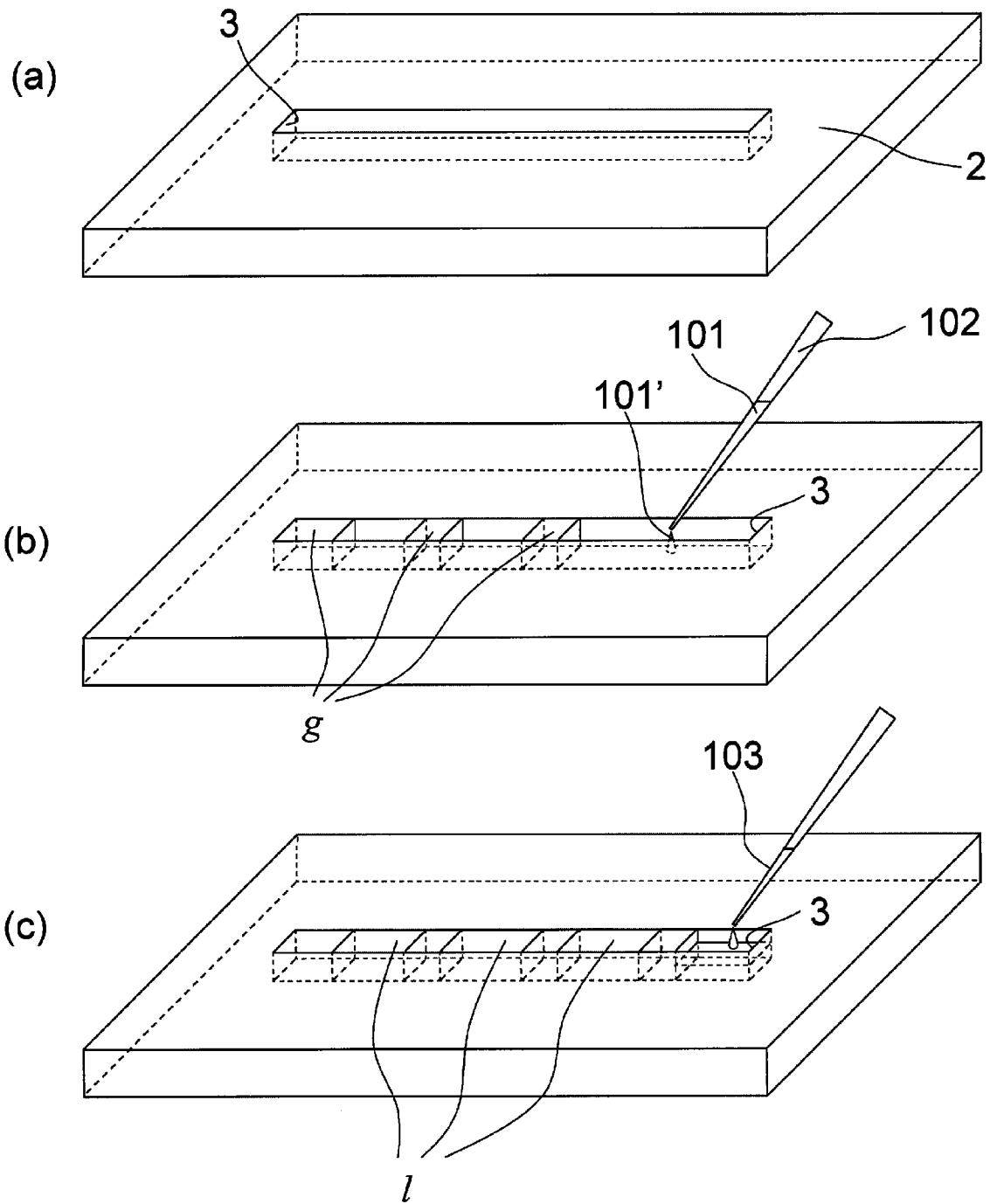


[図8]



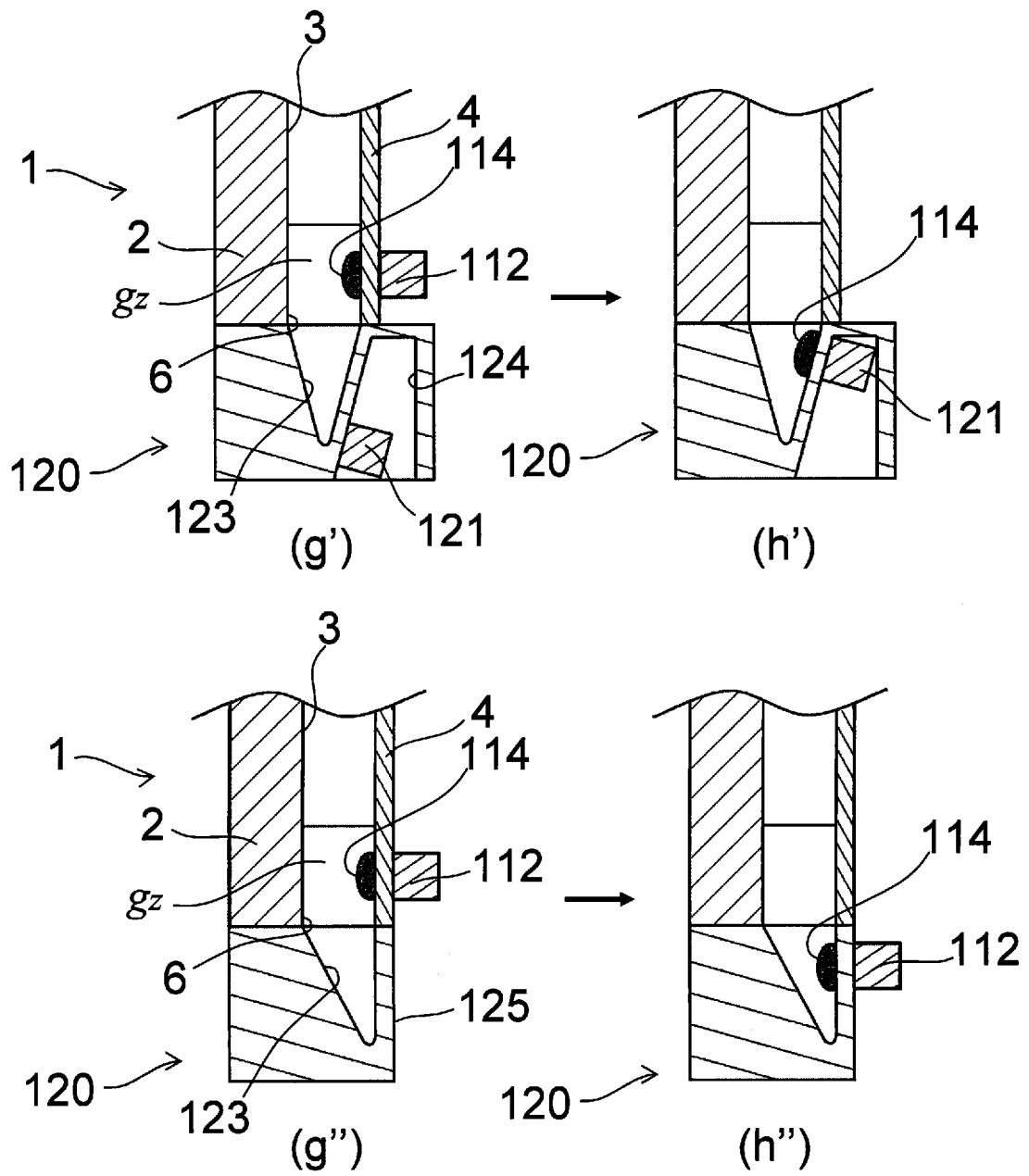


[図10]



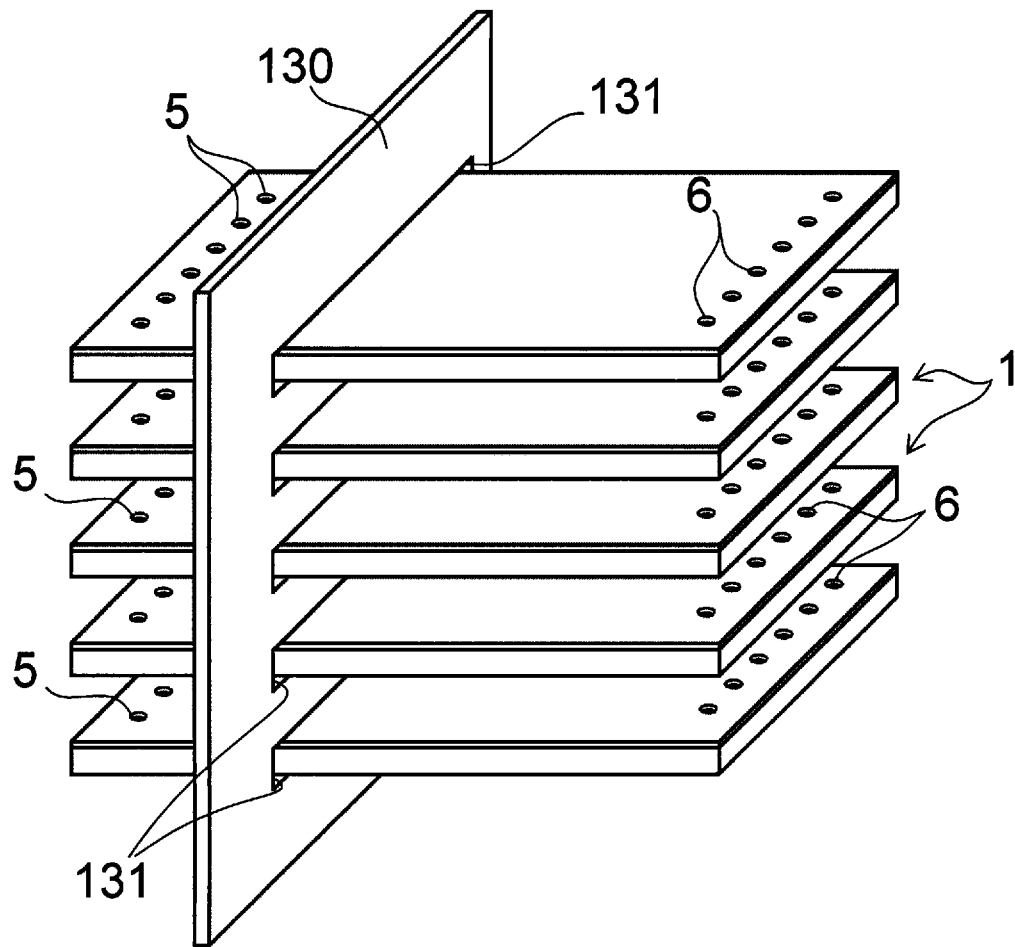


[図12]

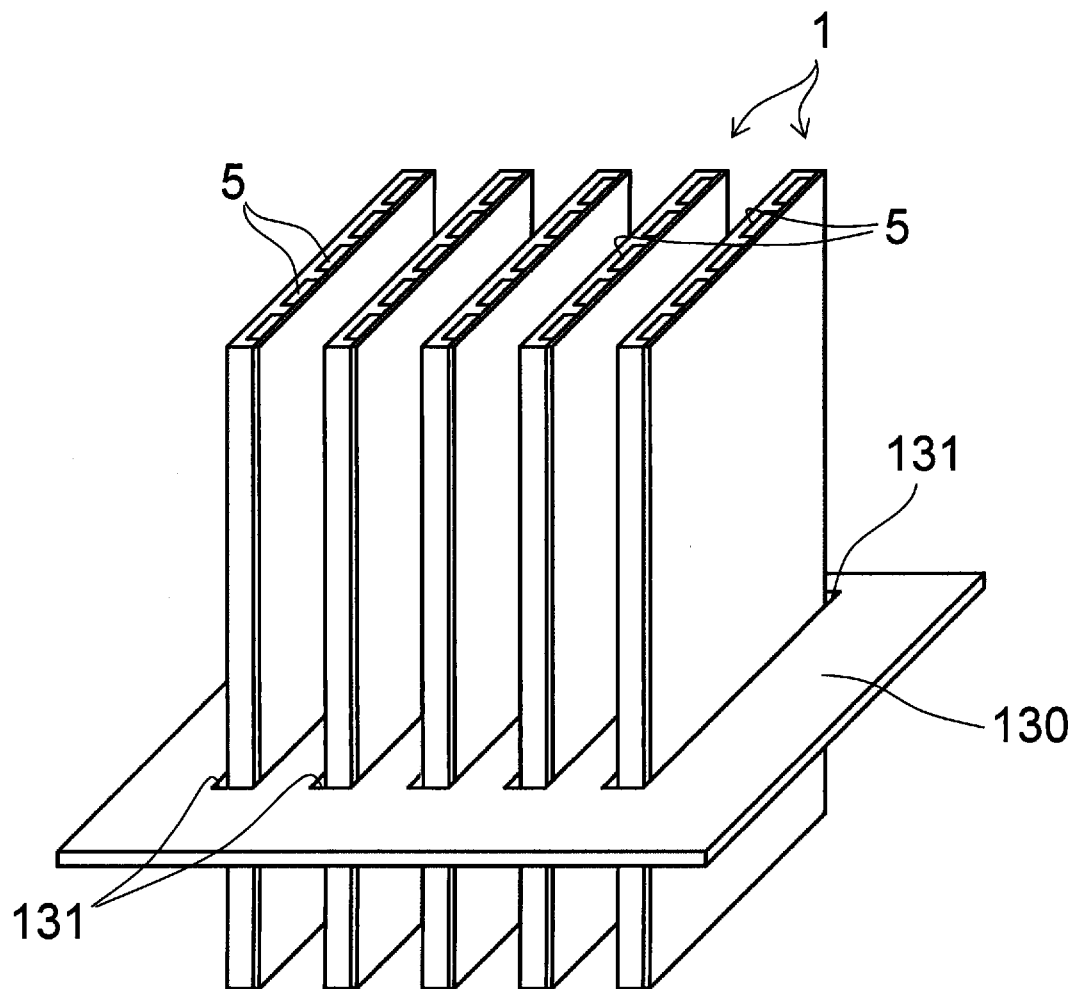




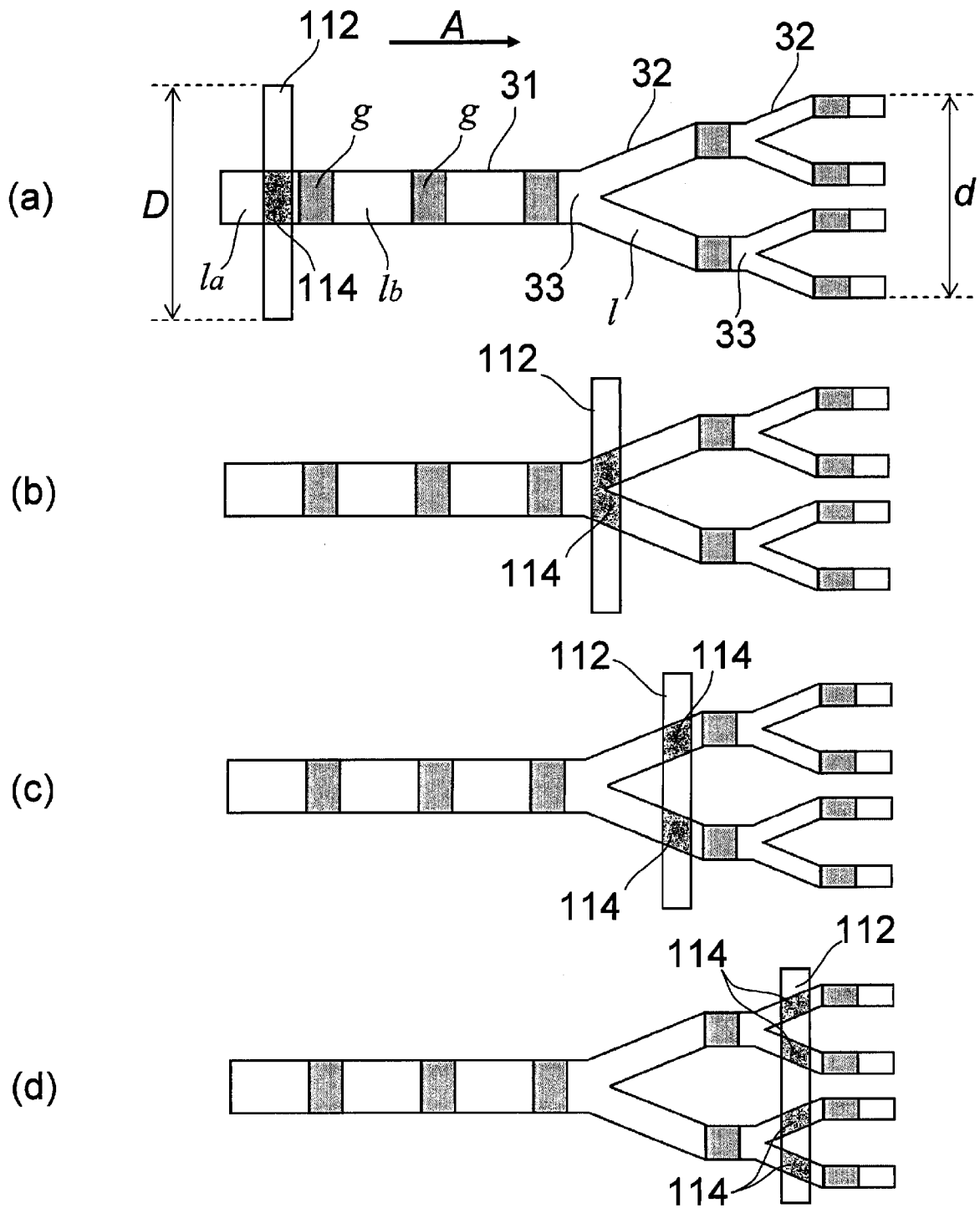
[図13]



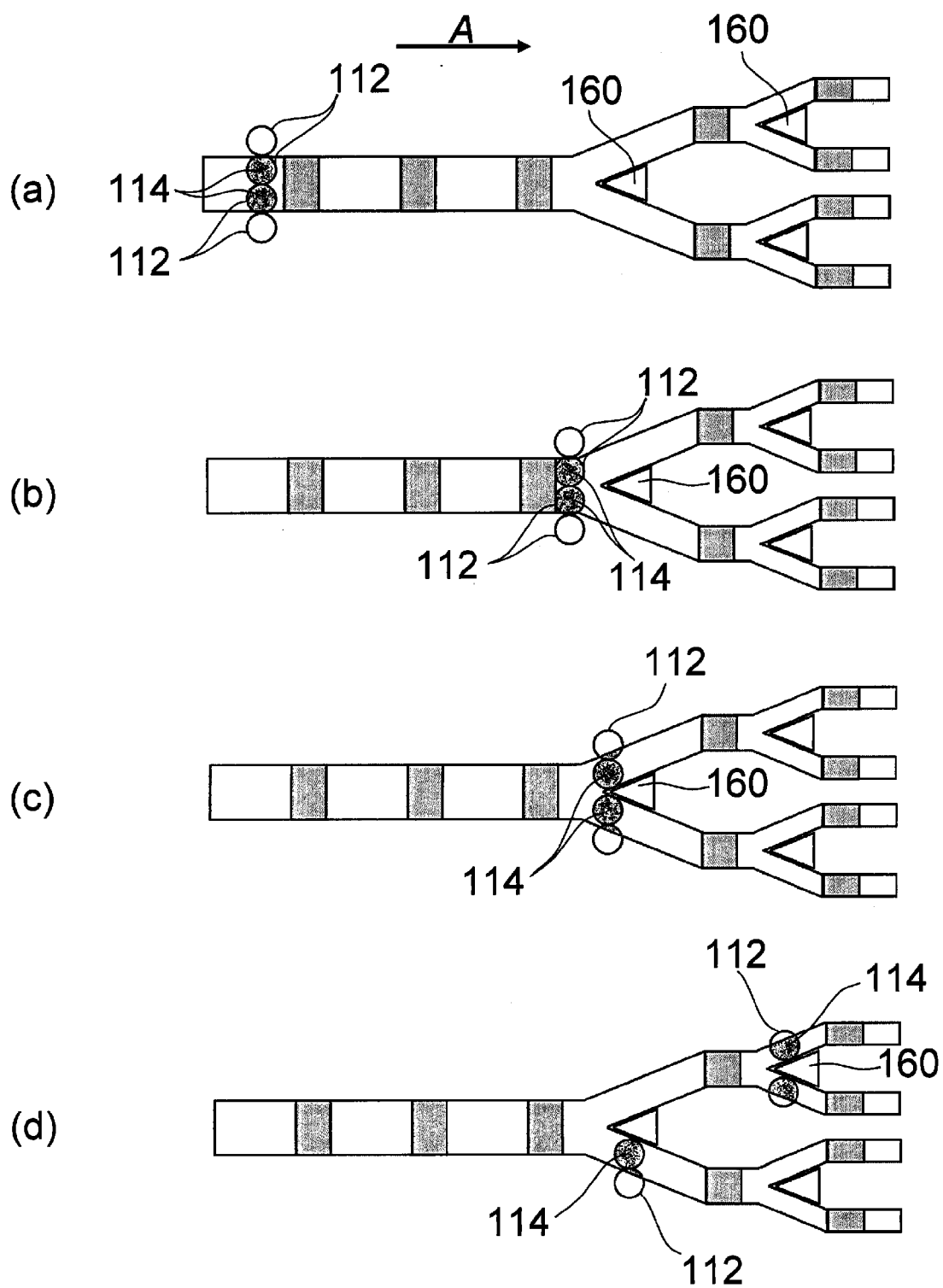
[図14]



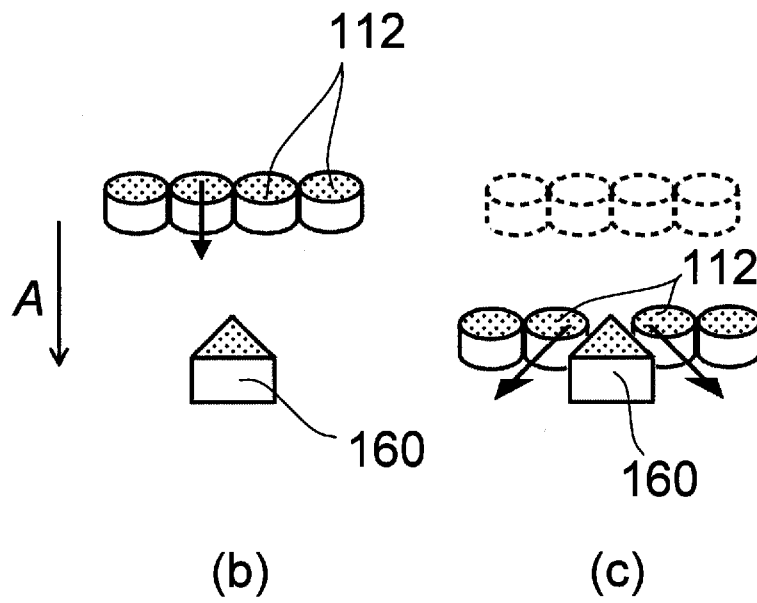
[図15]



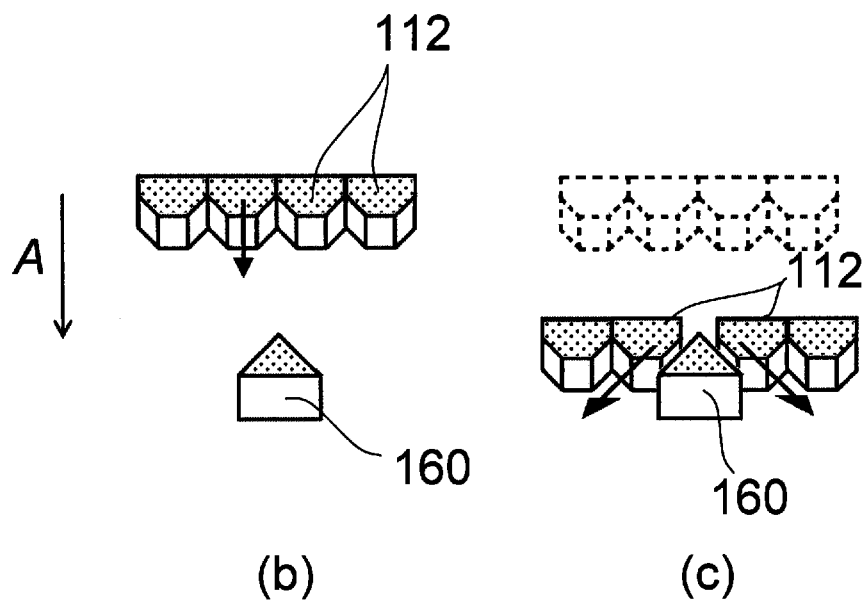
[図16]



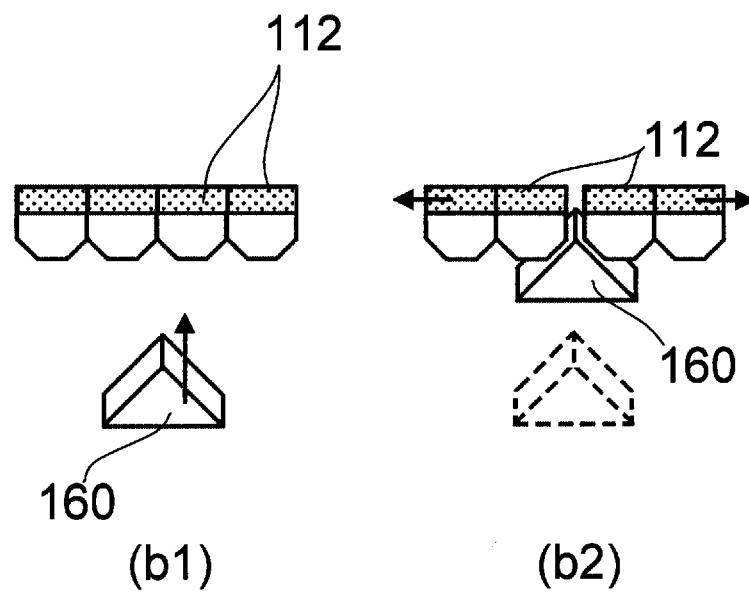
[図17]



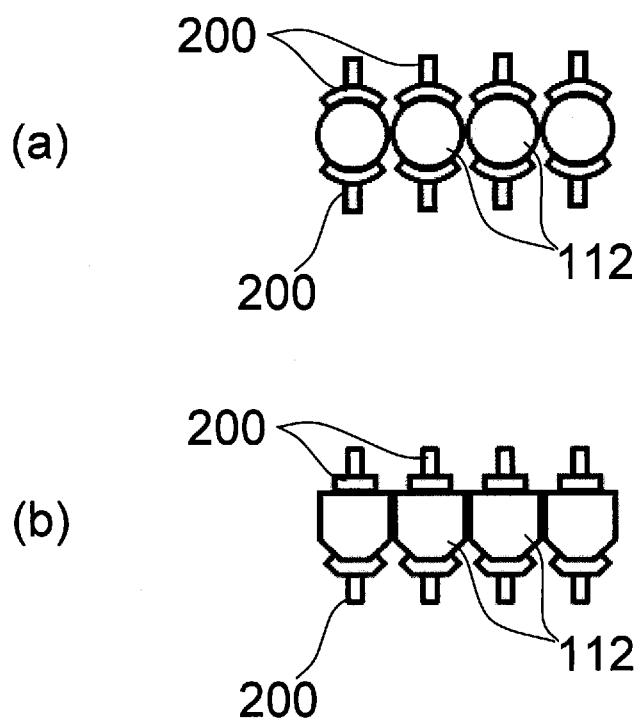
[図18]



[図19]



[図20]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 012 / 078587

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N35/08 (2006.01)i, C12M1/00 (2006.01)i, C12M1/34 (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)

G01N35/00-35/10, G01N37/00, C12M1/00-3/10, C12N15/00-15/90, B01J10/00-19/32

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	1996-2013
Kokai	Jitsuyo	Shinan	1971-2013	Toroku	Jitsuyo	Shinan	Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y/A	J P 2011-232260 A (Shimadzu Corp.), 17 November 2011 (17.11.2011), claim 1; paragraphs [0030], [0035], [0078], [0086], [0090], [0113], [0121], [0130] to [0133] & WO 2011/135881 A & WO 2011/135881 A1	1-11, 13-20/ 12
Y/A	J P 2008-39541 A (Independent Administrative Institution National Institute for Material Science), 21 February 2008 (21.02.2008), paragraphs [0023], [0024] (Family: none)	1-11, 13-20/ 12



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

"I" 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

07 March, 2013 (07.03.13)

Date of mailing of the international search report

19 March, 2013 (19.03.13)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 012 / 078587

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y / A	JP 2004-45410 A (Hi tachi , Ltd . ) , 12 February 2004 (12.02.2004) , fig . 3 , 4 ( Family : none )	6 / 12



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C) )

Int.Cl. G01N35/08 (2006. 01) i , C12M1/00 (2006. 01) i , C12M1/34 (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 (I P C) )

Int.Cl. G01N35/00- 35/10 , G01N37/00, C12M1/00- 3/10 , C12N15/00- 15/90 , B01J10/00- 19/32

## 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	1 9 2 2 - 1 9
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0

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)  
8 年

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー水	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 請求項の番号
Y/A	JP 2011-232260 A (株式会社島津製作所) 2011. 11. 17 , 【請求項 1】、 【0 0 3 0】、【0 0 3 5】、【0 0 7 8】、【0 0 8 6】、【0 0 9 0】、 【0 1 1 3】、【0 1 2 1】、【0 1 3 0】－【0 1 3 3】 & w0 2011/135881 A & w0 2011/135881 A1	1-11, 13-20/ 12
Y/A	JP 2008-39541 A (独立行政法人物質・材料研究機構) 2008. 02. 21 , 【0 0 2 3】、【0 0 2 4】 (ファミリーなし)	1-11, 13-20/ 12

☒ 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

IA 「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」  
IE 「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」  
I 「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)」  
IΘ 「口頭による開示、使用、展示等に言及する文献」  
IP 「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」  
IX 「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」  
IY 「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」  
I& 「同一パテントファミリー文献」

国際調査を完了した日

0 7 . 0 3 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

1 9 . 0 3 . 2 0 1 3

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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)

谷垣 圭二

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

2 J

4 6 3 5

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 請求項の番号
Y/A	JP 2004-454 10 A (株式会社 日立製作所) 2004- 02- 12 , 図 3 】、 図 4 】 (ファミリーなし)	6/ 12