

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5345136号  
(P5345136)

(45) 発行日 平成25年11月20日(2013.11.20)

(24) 登録日 平成25年8月23日(2013.8.23)

(51) Int.Cl. F I  
**GO 1 N 30/60 (2006.01)**  
 GO 1 N 30/60 D  
 GO 1 N 30/60 B  
 GO 1 N 30/60 G

請求項の数 12 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2010-508864 (P2010-508864)	(73) 特許権者	596099561
(86) (22) 出願日	平成20年5月23日(2008.5.23)		ブレイエ・ユニバージテイト・ブリュッセル
(65) 公表番号	特表2010-528276 (P2010-528276A)		ル
(43) 公表日	平成22年8月19日(2010.8.19)		VRIJE UNIVERSITEIT
(86) 国際出願番号	PCT/EP2008/056369		BRUSSEL
(87) 国際公開番号	W02008/142160		ベルギー王国、1050 ブリュッセル、
(87) 国際公開日	平成20年11月27日(2008.11.27)		ブレインラン、2
審査請求日	平成23年4月26日(2011.4.26)	(74) 代理人	100088904
(31) 優先権主張番号	PCT/EP2007/055008		弁理士 庄司 隆
(32) 優先日	平成19年5月23日(2007.5.23)	(74) 代理人	100124453
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 資延 由利子
		(74) 代理人	100135208
			弁理士 大杉 卓也
		(74) 代理人	100152319
			弁理士 曾我 亜紀

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微細加工分離チャンネルに試料及びキャリア液を分配する装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

表面の一方に凹設され第2の基板体によって覆われる微細加工分離チャンネル(5)を保持している第1の基板体を備える、クロマトグラフ分離装置であって、

前記微細加工分離チャンネルは、微細加工ピラーの配列が充填される流量分配領域(20)によって先行され及び/又は後行され、前記微細加工ピラーは、前記流量分配領域の軸方向透過性に対する横方向透過性の比が少なくとも2であるように選択される形状、サイズ、及び位置決めパターンを有することを特徴とする、クロマトグラフ分離装置。

【請求項 2】

前記流量分配領域は、前記分離チャンネルの幅と等しい実質的に均一な横方向幅を有する、請求項1に記載のクロマトグラフ分離装置。 10

【請求項 3】

前記微細加工ピラーは、ダイヤモンド状又は楕円状の形状を有する、請求項1又は2に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 4】

前記微細加工ピラーは、横方向幅対軸方向幅の比が3/2よりも大きい、請求項1ないし3のいずれか1項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 5】

試料及びキャリア液の供給及び抜き出し用の入口接続孔及び出口接続孔をもつクロマトグラフ分離装置であって、前記微細加工ピラーは、異なるピラーサイズの異なる区域に配 20

置され、該異なる区域は、最小ピラーを含む区域から最大ピラーを含む区域まで実質的に単調な順序で配置され、最大ピラーを含む区域は、前記入口接続孔又は前記出口接続孔の最も近くに配置される、請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 6】

最大ピラーを有する前記微細加工ピラーの区域は、ピラーのない開放区域に隣接する、請求項 1 ないし 5 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 7】

前記開放区域は 1  $\mu\text{m}$  ~ 20  $\mu\text{m}$  の幅を有する、請求項 6 に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 8】

前記微細加工ピラーのサイズ及びピラー間距離は横方向で変わる、請求項 1 ないし 7 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 9】

前記流量分配領域の少なくとも一部は、前記分離チャンネルよりも浅い深さを有する、請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 10】

前記流量分配領域の少なくとも一部は、前記分離チャンネルを保持している表面とは異なる表面上に配置される、請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 11】

少なくとも 2 つの異なる前記流量分配領域が、異なる表面上に設けられ、前記異なる流量分配領域は、異なる液体槽に接続される、請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【請求項 12】

前記流量分配領域に、1 つ又は複数の不透過薄壁が設けられ、該不透過薄壁は、前記流量分配領域を 2 つ以上のセクションに少なくとも部分的に分割し、且つ平均流れ方向と平行に設けられ、前記セクションは、それぞれ異なる入口チャンネル又は出口チャンネルに接続される、請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載のクロマトグラフ分離装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、液体クロマトグラフィの分野に関する。本発明は、分離チャンネルに試料及びキャリア液を分配する装置及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

液体クロマトグラフィの技術分野では、ポリマー、シリコン、又はガラスウエハの表面上に配置されている微細加工分離チャンネルを利用する装置の開発がますます進んでいる。エッチング技法を用いることで、上記微細加工分離チャンネルは通常、扁平矩形断面を有する、すなわち深さよりも幅の方がはるかに大きい、又は幅よりも深さの方がはるかに大きい。

【0003】

液体クロマトグラフ分離を実施して検出するために、上記微細加工分離チャンネルは、試料注入器及び検出器装置に結合される。従来、この結合は、円筒形の接続キャピラリーを用いて確保される。ここで浮上する技術的課題は、限られた直径を有する円管から流入する液体を、過剰なバンドの広がり又は軸方向の分散をもたらすことなく上記微細加工分離チャンネルの断面にわたって均一に広げるべきであるということである。同様に、扁平矩形分離チャンネル内と試料をオフチップ検出器へ導くのに必要な円管との間で流れを移行させるために、分配領域が分離チャンネルの端に配置されることも重要である。液体クロマトグラフィを実施する場合、この移行部ではバンドの広がりが最小限に抑えられるべきである。

10

20

30

40

50

これらの流量分配構造の設計に必要であり得る工学的な一般規則の1つは、それらの全容積を小さくすべきであることだが、これは、装置のバンドの広がり又は軸方向の分散がその容積に概ね比例するからである。

【0004】

これを踏まえると、非特許文献1で提案されている、60度～90度の開放角度を有する三角形の分配領域を利用する、マイクロチャンネルに液体を分散させる解決手段には、入口チャンネル幅に対する分離チャンネル幅の比が大きい場合にその占有容積が大きくなりすぎるという明らかな欠点がある。例えば、分離チャンネルの幅が1cmであれば、開放角度が90度である場合の分配用三角形の長さも1cmにしなければならない。特許文献1で提案されている連続分岐チャンネル入口も、そのように広がったチャンネル入口又は出口を利用して

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】米国特許第6,156,273号明細書

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Santet al. (2006, Reduction of End Effect-Induced Zone Broadening in Field-Flow Fractionation Channels, Anal. Chem., online publication A-H)

【発明の概要】

20

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

当該技術分野において、上記欠点の少なくともいくつかを克服する、微細加工分離チャンネルに試料及びキャリア液を分配する装置を提供する必要がある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、微細加工分離チャンネルに試料及びキャリア液を分配する装置であって、上記分離チャンネルにおける試料及びキャリア液の分散又は透過率が改善される、装置を提供する。特に、本発明は、流量分配領域が設計される装置であって、横方向の分散又は透過率が軸方向の分散又は透過率よりも大きくなるように促進される、装置を提供する。流入する液体をチャンネル断面全体に横方向に広げる必要があることを考えれば、そのような設計がはるかに有利である。特許文献1及び非特許文献1で提案されている流量分配構造は、横方向の分散が軸方向の分散よりも小さいものであることに留意されたい。

30

【0009】

それに加えて、本発明による全実施形態において、微細加工ピラーの配列が好ましくは全深に充填される流量分配領域が形成される(developed)装置であって、微細加工ピラーの配列が、上記流量分配領域の軸方向透過性に対する横方向透過性の比が少なくとも2であるように選択される形状、サイズ、及び位置決めパターンを有する、装置が提供される。

【0010】

40

この透過率の比は、例えば、計算流体力学ソフトウェアを用いて、分配領域を軸方向に進む流れの圧力低下を計算し、それを同じ平均速度で分配領域を横方向に進む流れの圧力低下と比較することで計算することができる。このとき、両方の圧力低下の比は透過率の比の逆数である。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1a】本発明による流量分配領域の1つが配置されている分離チャンネルの上面図である。

【図1b】適当な横方向幅対軸方向幅比を有するマイクロピラー形状の例を示す。

【図2】横方向に変わるサイズ及び/又はピラー間距離を有するピラーから成る、本発明

50

による流量分配領域の1つの上面図である。

【図3】流量分配領域の少なくとも一部が上記分離チャンネルよりも浅い深さにエッチングされる、本発明による流量分配領域の1つの縦断面図である。

【図4】流量分配領域が分離チャンネルを保持している表面とは異なる表面上に配置される、本発明による装置の縦断面図である。

【図5】2つの異なる流量分配領域が異なる入口槽に接続される、本発明による装置の縦断面図である。

【図6a】平行に延びる分離壁を有し、且つ異なる入口チャンネルに接続されている、本発明による流量分配領域の1つの上面図を示す。

【図6b】平行に延びる分離壁を有し、且つ異なる出口チャンネルに接続されている、本発明による流量分配領域の1つの上面図を示す。(図7a)(図面なし)ガラスカバー板を通して見ることによって得られた、本発明による流量分配領域を用いた円筒形のマイクロピラーの配列に分配された蛍光クマリントレースのCCDカメラ画像の上面図である。

(図7b)(図面なし)ガラスカバー板を通して見ることによって得られた、連続分岐入口システム(従来技術)を用いた円筒形のマイクロピラーの配列に分配された蛍光クマリントレースのCCDカメラ画像の上面図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明は、分離媒体を収容している扁平矩形分離チャンネルの横方向幅にわたって均一に液体を広げるように設計される、流量分配領域に関する。上記分離媒体は、別のマイクロピラー配列、ビードパッキング、モノリシック支持体、又は任意の他の適当なクロマトグラフ媒体であり得る。

【0013】

「分配」及び「分散」という用語は、本明細書中ではいくつかの実施形態で同義語として用いられ、或る面積又は容積にわたって散乱する空間特性を指す。

【0014】

本明細書中で用いられる「透過率」という用語は、好ましくは本明細書中で定義するような微細加工分離チャンネルにおける材料を通る液体の流量を指す。

【0015】

第1の実施形態では、本発明は、表面の一方に凹設され第2の基板体によって覆われる微細加工分離チャンネルを保持している第1の基板体を備え、第1の基板体及び第2の基板体の両方に、試料及び移動相液の供給及び抜き出し用の必要な接続孔が穿孔される、クロマトグラフ分離装置であって、上記微細加工分離チャンネルは、微細加工ピラーの配列が下から上まで充填される流量分配領域によって前及び/又は後を挟まれ、微細加工ピラーは、流量分配領域の軸方向透過性に対する横方向透過性の比が少なくとも2であるように選択される形状、サイズ、及び位置決めパターンを有することを特徴とする、クロマトグラフ分離装置を提供する。好ましくは、本発明は、表面の一方に凹設され第2の基板体によって覆われる微細加工分離チャンネルを保持している第1の基板体を備え、第1の基板体及び第2の基板体の両方に、試料及びキャリア液の供給及び抜き出し用の入口接続孔及び出口接続孔が穿孔される、クロマトグラフ分離装置であって、上記微細加工分離チャンネルは、微細加工ピラーの配列が充填される流量分配領域によって前及び/又は後を挟まれ、微細加工ピラーは、流量分配領域の軸方向透過率に対する横方向透過率が少なくとも2であるように選択される形状、サイズ、及び位置決めパターンを有することを特徴とする、クロマトグラフ分離装置に関する。

【0016】

好ましい実施形態では、上記流量分配領域は、上記分離チャンネルの幅と等しい実質的に均一な横方向幅を有する。

【0017】

別の実施形態では、微細加工ピラーが、ダイヤモンド状又は楕円状の形状を有する、装置が提供される。好ましくは、微細加工ピラーは、横方向幅対軸方向幅の比が3/2より

10

20

30

40

50

も大きい。

【0018】

好ましい実施形態では、本発明は、微細加工ピラーが、異なるピラーサイズの異なる区域に配置され、該異なる区域は、最小ピラーを含む区域から最大ピラーを含む区域まで実質的に単調な順序で配置され、最大ピラーを含む区域は、上記第1の基板体及び第2の基板体の入口接続孔及び出口接続孔の最も近くに配置される、装置に関する。

【0019】

さらにより好ましくは、最大ピラーを有する上記微細加工ピラーの区域が、ピラーのない開放区域に隣接する、装置が提供される。開放区域は好ましくは $1\ \mu\text{m} \sim 20\ \mu\text{m}$ の幅を有する。

10

【0020】

図1aは、分離媒体を充填した分離チャンネル5の前方にある本発明による流量分配領域の一実施形態を示し、これは、横方向の流れに対する抵抗が最小である流域を構成する、好ましくは幅が $1\ \mu\text{m} \sim 10\ \mu\text{m}$ であり入口オリフィス1に直接接続される短い開放領域10と、それに続く、横方向幅31対軸方向幅32の比(図1b)が $3/2$ よりも大きく且つ軸方向透過率よりも少なくとも2倍高い横方向透過率をもたらすのに十分なほど密集している微細加工ピラー30を備える、本発明による流量分配領域20とを備える。好ましい実施形態では、上記マイクロ加工(micro-machined)ピラーは、最大のピラーが上記分離チャンネルを保持している基板体の入口オリフィス1の最も近くにあるようにして、サイズが大きい順に配置される。チャンネル出口では、流量分配領域を構成する異なる領域は、最小の流量分配ピラーから始まって開放領域で終わるようにして、逆の順序で配置されるものとする。

20

【0021】

図1bは、本発明による流量分配領域(複数可)で用いるのに効果的であり得るいくつかの可能な微細加工ピラー形状の上面図を示す。「微細加工」又は「マイクロ加工」という用語は、本明細書中では同義語として用いられる。所望のマイクロピラーを製造する方法は、マイクロ加工の当業者には既知であり、例えばボッシュエッチング又はLIGA複製である。マイクロピラーを製造するのに適した基板は、例えばガラスウェハ又はシリカウェハである。本明細書中で用いられる「マイクロピラー」又は「ピラー」という用語は、マイクロ加工技法を用いて加工された構造を指す。

30

【0022】

別の実施形態では、本発明は、上記マイクロピラーのサイズ及びピラー間距離が横方向で変わる装置を提供する。液体のさらに良好な横方向分配を促進するために、入口オリフィス及び/又は出口オリフィスから最も遠い横方向チャンネル部分の方が流れ抵抗が小さい流量分配領域を有するように、横方向で変わるサイズ及び/又はピラー間距離を有するピラーのパターンを提供することも、本発明の態様の1つである。そのような実施形態を、例えば図2に示す。

【0023】

さらに別の好ましい実施形態では、流量分配領域の少なくとも一部が、上記分離チャンネルよりも浅い深さを有する、すなわち、上記分離チャンネルよりも浅い深さにエッチングされる。図3は、そのような実施形態を示し、この実施形態では、開放領域10a及び流量分配領域の第1の部分20aが、分離媒体を収容している分離チャンネル5及び同じく開放領域10bの後方にあることが好ましい流量分配領域の第2の部分20bよりも大幅に浅い深さにエッチングされる。この実施形態の利点は、流量分配領域の容積がさらに小さくなることである。本発明によるいくつかの実施形態では、上記深くエッチングされた第2の部分20bを省いてもよい。しかしながら、場合によっては、上記流量分配領域の深くエッチングされた第2の部分20bの特定の利点を、該第2の部分の軸方向透過率を非常に低くするようにピラーサイズ及びピラー間寸法を選択することによって得ることができる。これは、本質的に下方に延びる開放領域10b内の対流を誘発することで分離チャンネルの深さ全体での混合を促進するのに役立つ。

40

50

## 【 0 0 2 4 】

別の実施形態では、本発明は、流量分配領域の少なくとも一部が上記分離チャンネルを保持している表面とは異なる表面上に配置される、装置を提供する。本発明は、上記分離チャンネルを保持している表面と同じ表面上に配置される流量分配領域に限定されない。図4に示すように、垂直にエッチングされた接続チャンネル25を用いることで、分離媒体を充填した分離チャンネル5を保持している基板体40の（分離チャンネルを保持している表面とは反対の）表面、又は分離チャンネルを閉鎖するのに用いられる基板体60の表面の一方に、流量分配領域の少なくとも第1の部分20aを配置することが可能になる。これらの実施形態の利点は、垂直に伸びる接続チャンネル25が、分離チャンネルへの垂直な流れを誘発することで、チャンネルの深さ全体での混合を促進することである。

10

## 【 0 0 2 5 】

本発明による別の実施形態では、少なくとも2つの異なる流量分配領域が異なる表面にあり異なる液体槽に接続される、装置が提供され得る。異なる流体槽から流入する複数の入口流が用いられ得る。例えば、図5に示すように、流量分配領域の第1の部分20aに供給される1つの入口流が提供され、流量分配領域の第2の部分20bに供給される第2の入口流が提供され、第2の入口流は、流量分配領域の第2の部分20bを閉鎖するのに用いられる第3の基板80に加工されている第2の入口オリフィス70を経て分離装置に入る（図5）。この実施形態の利点は、主な移動相流又はキャリア流体に用いられる流量分配領域よりも小さな、したがって生じるバンドの広がりも小さな、流量分配領域を通して、分離対象試料を送ることができることである。別個の入口流の両方が、交互に又は同時に導かれ得る。

20

## 【 0 0 2 6 】

本発明によるさらに別の実施形態では、上記流量分配領域に1つ又は複数の不透過薄壁が設けられ、該薄壁が上記流量分配領域を2つ以上のセクションに少なくとも部分的に分割し、且つ平均流れ方向と平行に設けられ、好ましくは上記セクションがそれぞれ異なる入口チャンネル又は出口チャンネルに接続される、装置が提供される。例えば、流量分配領域は、平均流れ方向と平行に伸びるn個の不透過薄壁800（ $n > 1$ ）を用いて少なくとも部分的に分割されることで、流量分配領域の異なる横方向部分間の連通を防止する。図6aは、この手法をどのようにして用いると、別個の供給チャンネル81、82、及び83を用いてチャンネルの中央部分のみに試料を供給できるかを示す。図6bは、この手法をどのようにして用いると、第2の出口チャンネル92及び第3の出口チャンネル93を用いてチャンネルの側壁の最も近くに流れる液体を廃棄物として排出しながら、第1の出口チャンネル91のみを用いてチャンネルの中央部分を通して進む液体を検出器装置に供給できるかを示す。流れを分割する上記不透過薄壁を流量分配領域内に配置することが特に有利な理由は、流量分配領域が、広い分離チャンネルと狭い入口チャンネル及び出口チャンネルとの間の移行部によって引き起こされるバンドの広がりも制限するようになるからであり、平行な入口チャンネル及び出口チャンネルの流れ抵抗を本発明による流量分配領域の流れ抵抗と比較して無視できるほどにすることによって、本発明による流量分配領域の大きな流れ抵抗が、上記平行な入口チャンネル間又は平行な出口チャンネル間の流れ抵抗の差の影響を軽減できるからでもある。

30

40

## 【 0 0 2 7 】

種の注入及び検出をチャンネルの中央領域に制限することは、流量分配装置自体が不適切に機能して歪んだ速度プロファイル100をもたらす場合に非常に有利であると予想され得る。この場合、速度プロファイルの歪みが側壁付近よりもはるかに小さくなるチャンネルの中央部分のみで注入及び/又は検出することが有利であろう。Broeckhoven and Desmet (Journal of Chromatography A, 1172 (2007), 25-39)に記載されている側壁分散問題を回避することも非常に有利である。

## 【 0 0 2 8 】

本発明はさらに、それぞれ試料及びキャリア液の供給及び抜き出し用の入口接続孔及び出口接続孔を有する微細加工分離チャンネルにおける上記試料及びキャリア液の分散及び/

50

又は透過率を制御する方法に関し、該方法は、軸方向透過率よりも高い横方向透過率をもたらすことを含む。好ましくは、該方法は、上記軸方向透過率よりも少なくとも2倍高い横方向透過率をもたらすことを含む。この方法は、上記微細加工分離チャンネルの前方又は後方に、微細加工ピラーの配列が充填される流量分配領域を設けることによって行われる。上記ピラーは、本明細書中で定義されるような、上記流量分配領域が提供する軸方向透過率に対する横方向透過率の比が少なくとも2であるように選択された形状、サイズ、及び位置決めパターンを有する。

【0029】

別の実施形態では、本発明は、微細加工分離チャンネルのうち上記接続孔から最も遠くにある横方向部分により小さな流れ抵抗をもたらすことを含む、上記分離チャンネルにおける試料及びキャリア液の流れ分散又は透過率を制御する方法を提供する。この実施形態は、上記微細加工分離チャンネルの横方向の上記マイクロピラーの形状、サイズ、位置決めパターン、及び/又はピラー間距離を変えることによって得ることができる。

10

【0030】

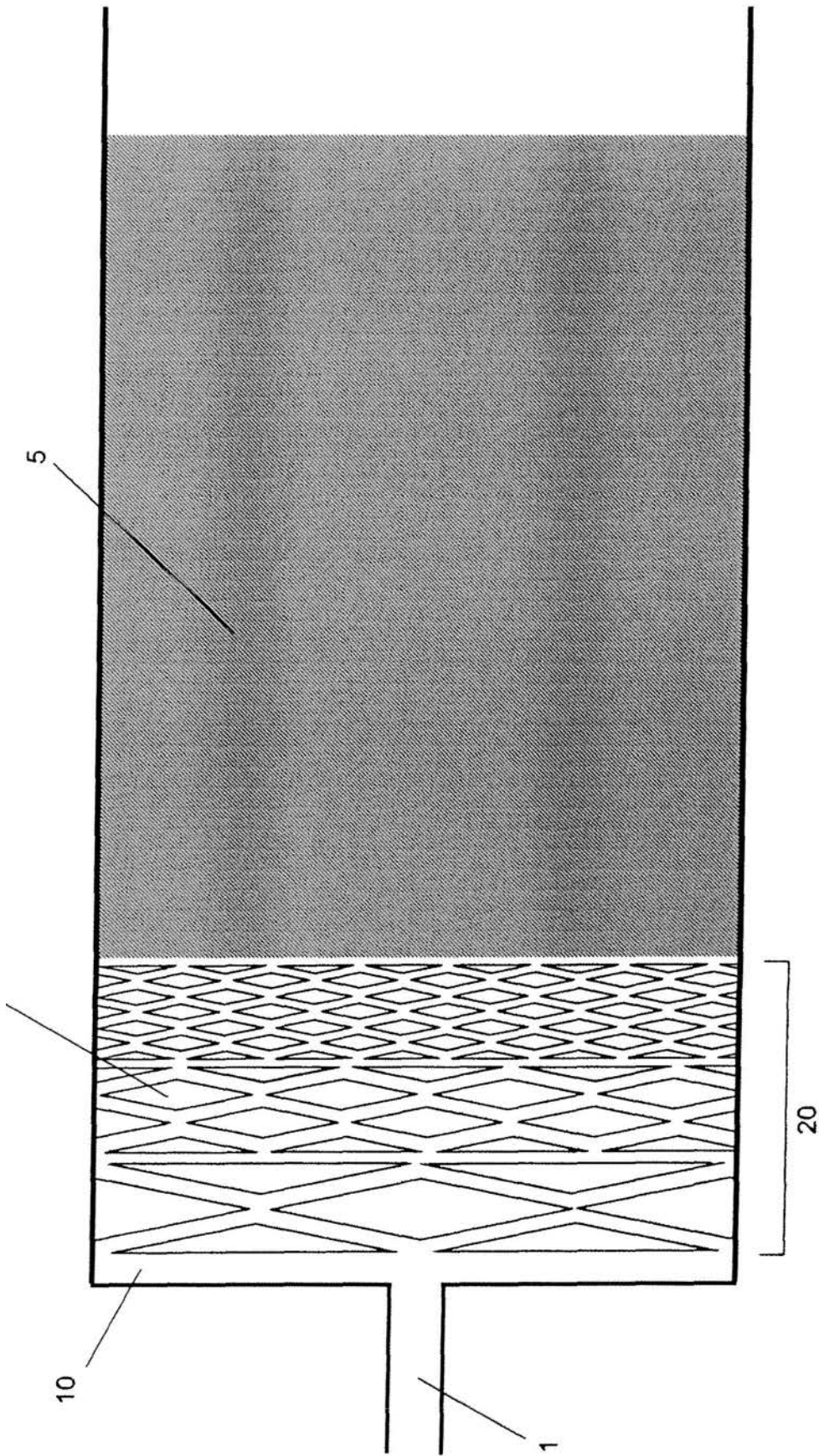
本発明はさらに、上記試料及び上記キャリア液の透過率(分散)を別個に制御することを含む方法を提供する。

【0031】

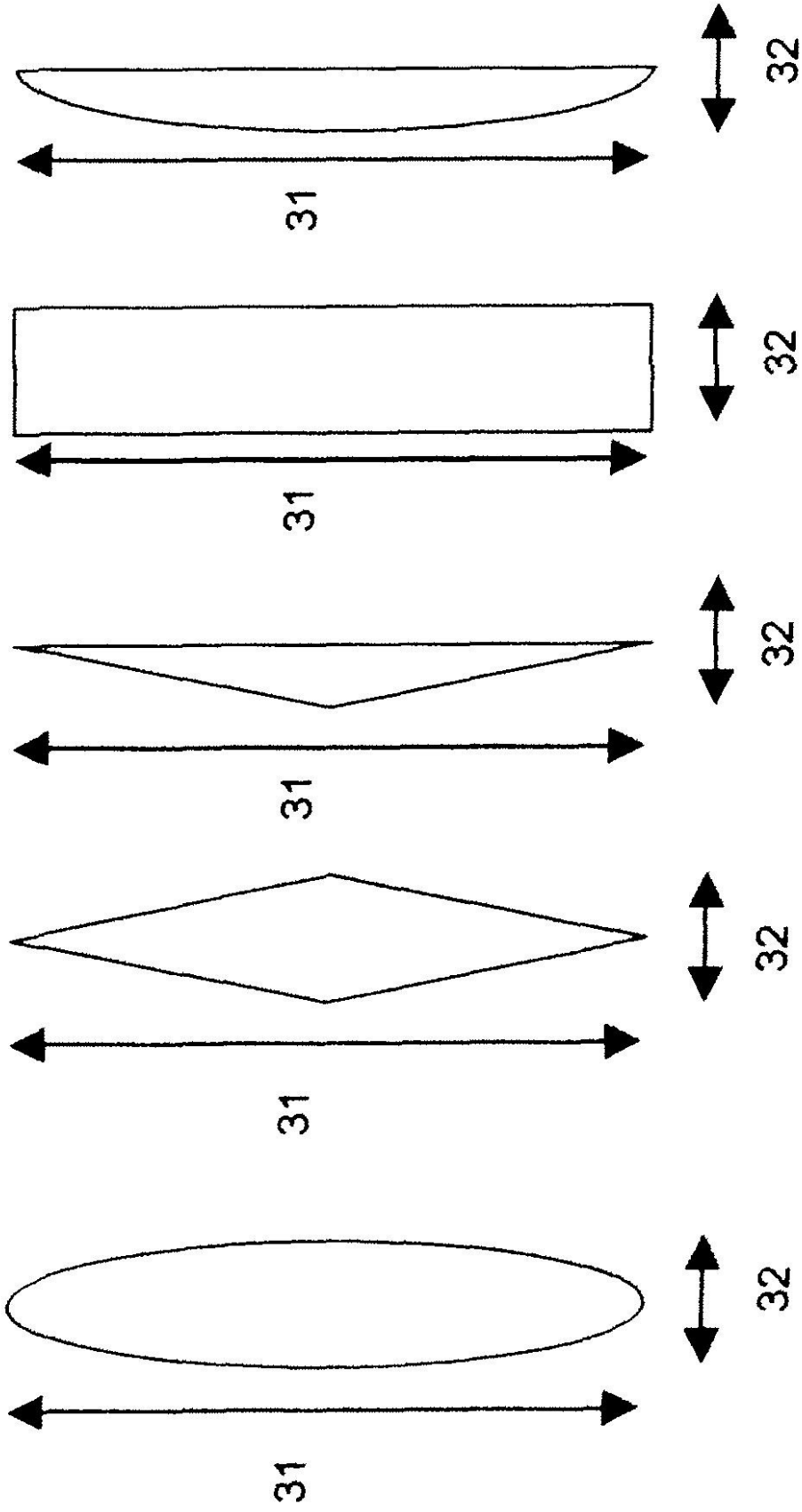
図面表示はないが、図7a及び図7bとして説明する別の実施例は、軸方向幅よりも10倍大きな横方向幅を有するダイヤモンドピラーから成り、したがって軸方向の分散に対する横方向の分散の比が2よりも大きい、本発明による流量分配領域で得られるバンドの広がり(図7a)を、例えば特許文献1に開示されているような連続分岐入口システムで得られるバンドの広がり(図7b、従来技術)と比較した、CCDカメラ画像の上面図である。図7aにおけるバンドは、図7bにおけるバンドよりも明らかに狭く歪みが小さい。図7bにおけるバンドの歪みの原因は、分岐入口の分岐同士が横方向に相互接続されていないため、分岐チャンネルシステムの分岐間で避けられないわずかなエッチング誤差によって生じる流れ抵抗の差に起因するバンド歪みを入口システムの残りの部分で補正できないことにある。他方、本発明による流量分配領域は、横方向混合を促進することで横方向混合によってわずかなバンド歪みを即時補正することを可能にするように設計される。

20

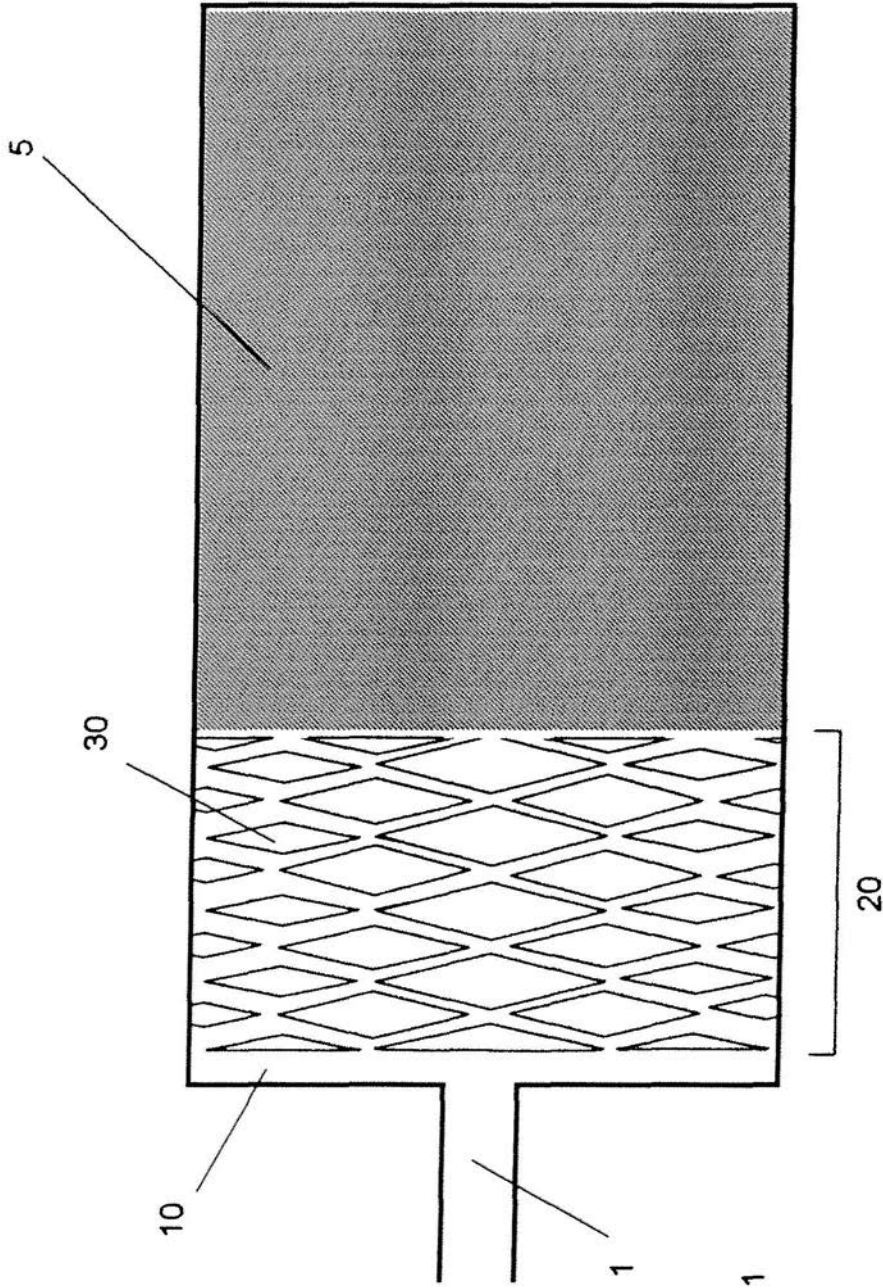
【図 1 a】



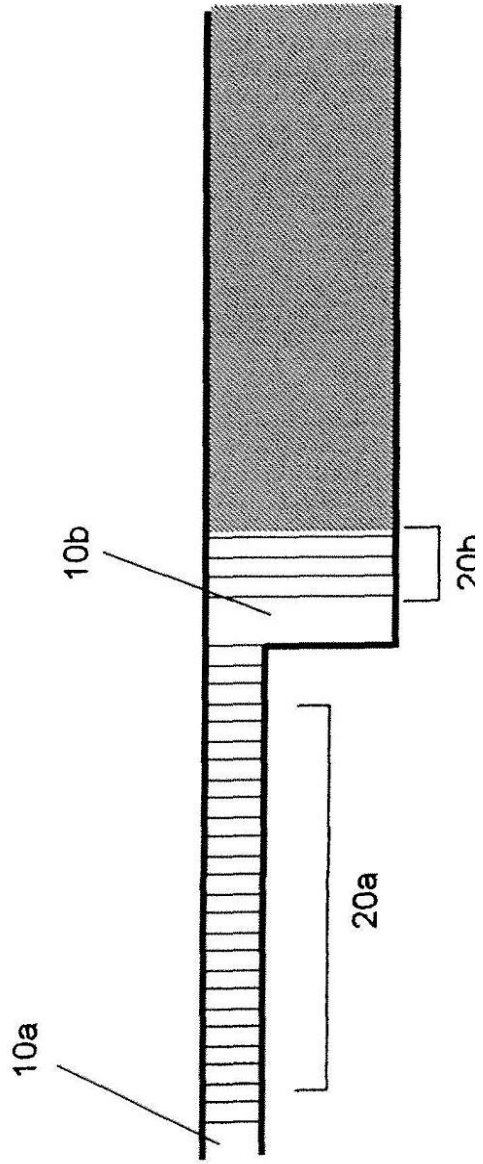
【図 1 b】



【図2】



【 図 3 】



【 4 】

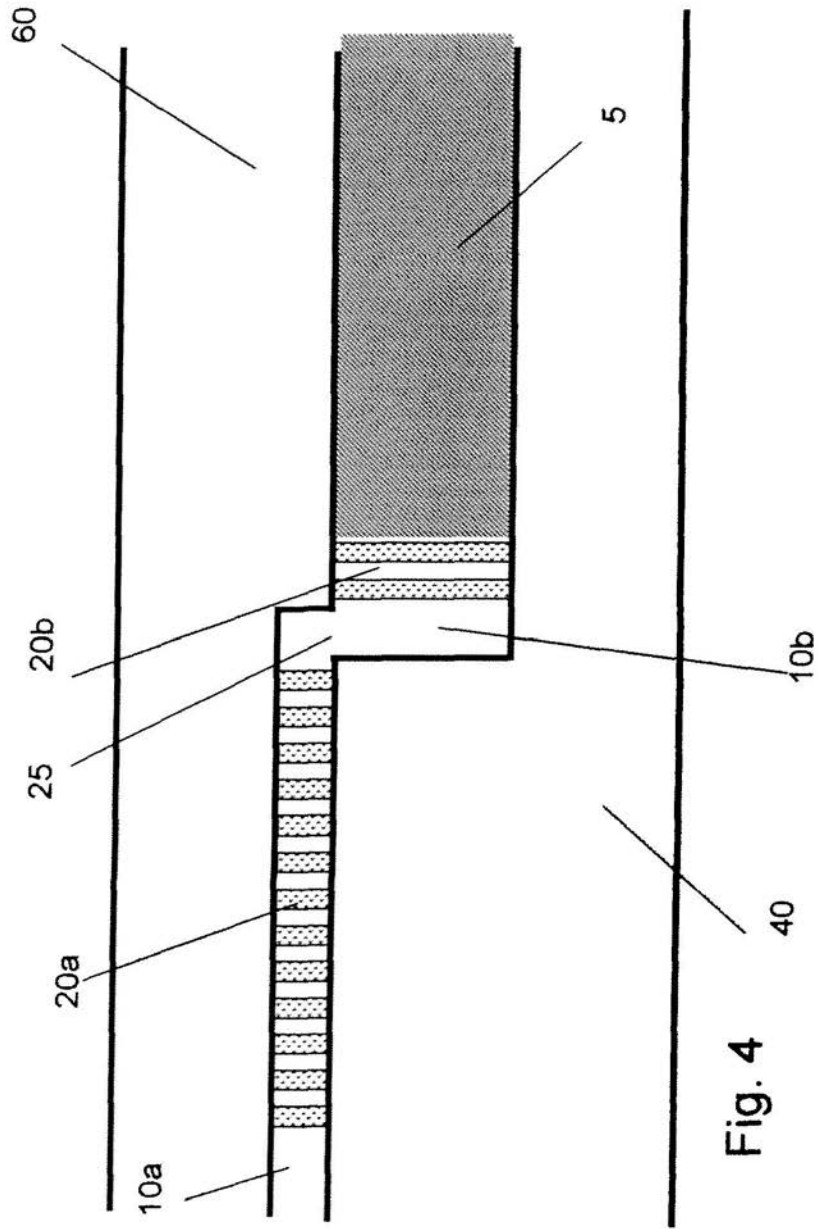


Fig. 4

【 図 5 】

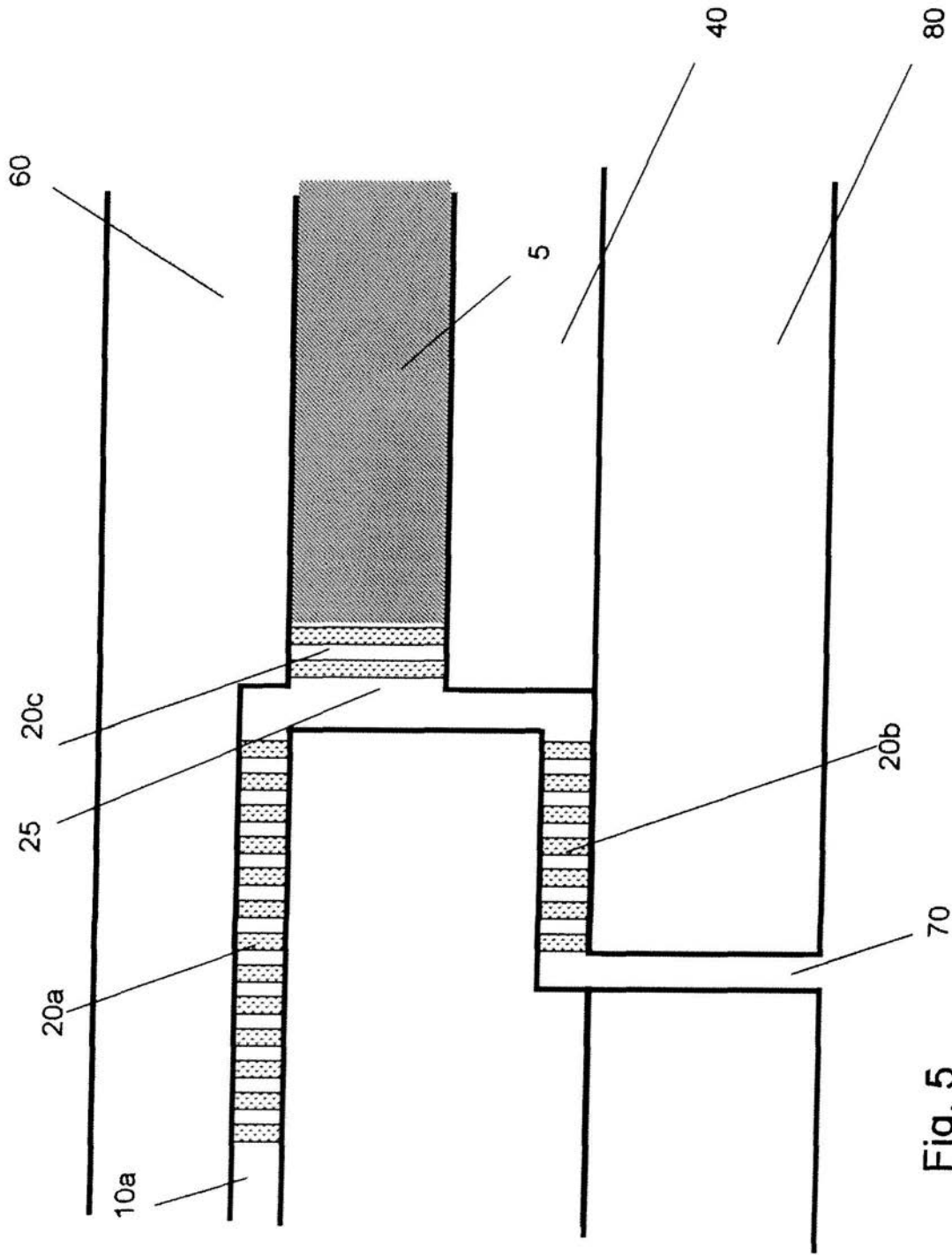


Fig. 5

【 6 a 】

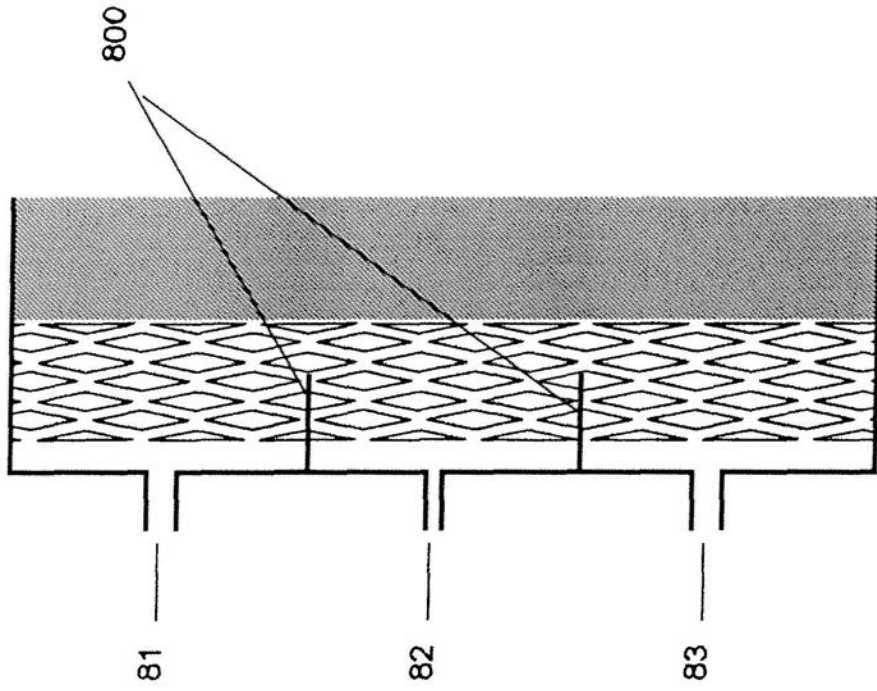


Fig. 6a

【 6 b 】

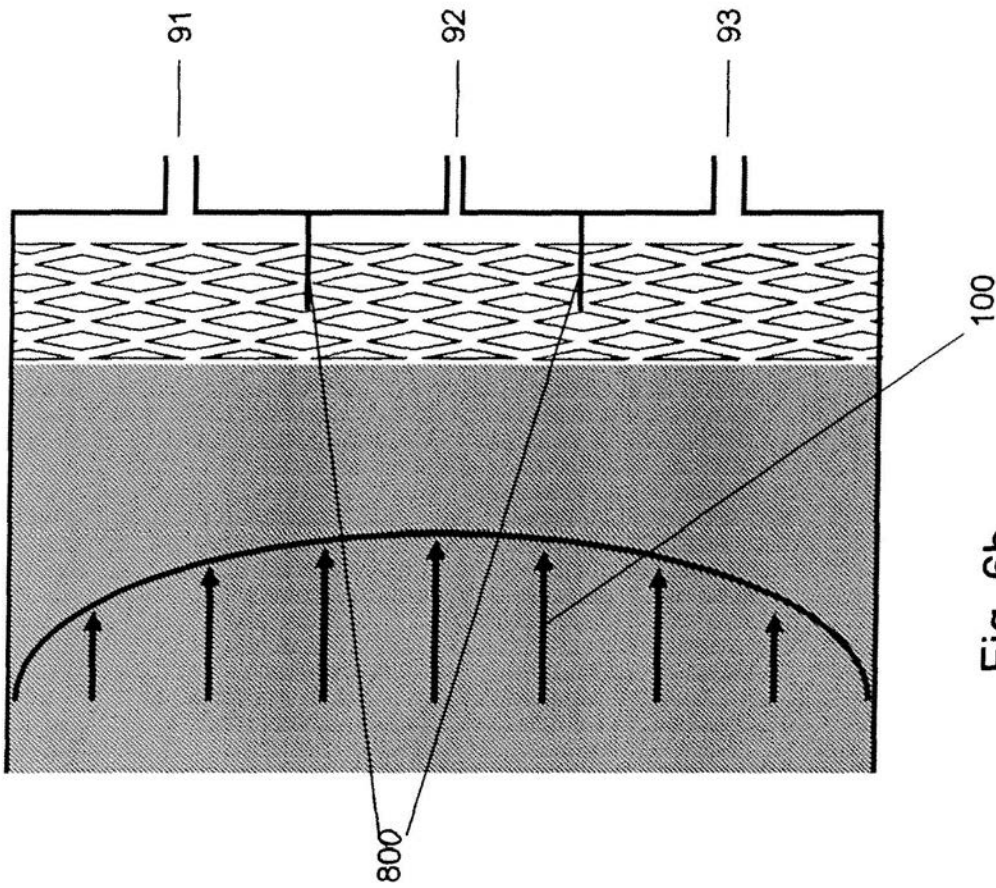


Fig. 6b

---

フロントページの続き

(74)代理人 100163544

弁理士 平田 緑

(72)発明者 デスメト, ゲルト

ベルギー, ベー 1 9 8 2 エレウエイト, テルフルセステーンヴェグ 7 2 0

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 特開2007-040969(JP, A)

米国特許出願公開第2005/0095602(US, A1)

欧州特許出願公開第00977030(EP, A1)

特表2002-537567(JP, A)

特表2001-523811(JP, A)

EGHBALI HAMED, LC-GC EUROPE [ONLINE], 2007年 4月 1日, URL, [www.lcgceurope.com](http://www.lcgceurope.com)

DE PRA M, ANALYTICAL CHEMISTRY, 2006年 9月15日, V78 N18, P6519-6525

DE SMET J, ANALYTICAL CHEMISTRY, 2004年 7月 1日, V76 N13, P3716-3726

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 30/00 - 30/96