

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5640980号
(P5640980)

(45) 発行日 平成26年12月17日 (2014.12.17)

(24) 登録日 平成26年11月7日 (2014.11.7)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 A
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 I O I
GO 1 N 21/27 (2006.01)	GO 1 N 21/27 B

請求項の数 10 (全 27 頁)

(21) 出願番号	特願2011-529951 (P2011-529951)	(73) 特許権者	000001270
(86) (22) 出願日	平成22年9月3日 (2010.9.3)		コニカミノルタ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2010/065110		東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
(87) 国際公開番号	W02011/027851	(74) 代理人	100105050
(87) 国際公開日	平成23年3月10日 (2011.3.10)		弁理士 鷲田 公一
審査請求日	平成25年6月24日 (2013.6.24)	(74) 代理人	100155620
(31) 優先権主張番号	特願2009-205576 (P2009-205576)		弁理士 木曾 孝
(32) 優先日	平成21年9月7日 (2009.9.7)	(72) 発明者	青木 洋一
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		日本国東京都日野市さくら町1番地コニカ
(31) 優先権主張番号	特願2009-220421 (P2009-220421)		ミノルタテクノロジーセンター株式会社内
(32) 優先日	平成21年9月25日 (2009.9.25)	(72) 発明者	東野 楠
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		日本国東京都日野市さくら町1番地コニカ
			ミノルタテクノロジーセンター株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ送液システム、検体検出装置、及びマイクロチップ送液システムの送液方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検体液の抗原と特異的に反応する抗体を固定した反応場を備えた流路と、
前記流路の一端側に接続するピペットと、
前記流路の他端側に接続する一次貯留部と、
前記ピペットの検体液に気体を介して駆動力を与えることにより検体液を前記反応場に対して往復送液するポンプと、

前記ポンプの駆動を制御する制御部と、を有し、

前記制御部は、

前記ピペットの検体液を前記反応場を経由して前記一次貯留部の方向に送液する第1送液工程と、前記第1送液工程後に検体液を前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液する第2送液工程と、前記第2送液工程後に検体液を前記反応場から前記一次貯留部の方向と、前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液することを繰り返す第3送液工程とを行うとともに、

前記第1送液工程における検体液の後方側気液界面、及び、前記第2及び第3送液工程における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場を通過せず、且つ、前記第1、第2及び第3送液工程は、検体液が前記ピペットに残留する状態で行われるように前記ポンプを制御することを特徴とするマイクロチップ送液システム。

【請求項 2】

前記制御部は、第3送液工程の後に、検体液を前記反応場から送出するように送液する

10

20

第 4 送液工程を行うとともに、前記第 4 送液工程における検体液の前方側気液界面が、前記反応場を通過しないように前記ポンプを制御することを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 3】

前記制御部の制御により、前記第 1 送液工程における検体液の後方側気液界面、及び前記第 2 及び第 3 送液工程における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場における前記流路の上壁内面の高さよりも上方に位置することを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 4】

前記反応場と前記一次貯留部との間の所定位置、若しくは、一次貯留部内の所定位置に設けられ、検体液が有るか否かを検知する第 1 液位置確認用センサと、

10

前記ピペット内の所定位置に設けられ、検体液が有るか否かを検知する第 2 液位置確認用センサと、を有し、

前記制御部は、前記第 1 液位置確認用センサ及び前記第 2 液位置確認用センサによる検知により、前記第 3 送液工程における送液方向の切り換えの制御を行うことを特徴とする請求項 1 から 3 の何れか一項に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 5】

前記反応場と前記第 1 液位置確認用センサの設置位置との間、若しくは、前記反応場と前記第 2 液位置確認用センサの設置位置との間のいずれか少なくとも一方の途中に、検体液を貯留する容積を可変可能な可変容積部を備えることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロチップ送液システム。

20

【請求項 6】

前記可変容積部が、

前記ポンプの駆動による検体液の移動量に合わせて、前記可変容積部の試料溶液を貯留する容積を変化させる貯留容積可変機構を有することを特徴とする請求項 5 に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 7】

前記ピペットからの送液量を検知する液量検知センサを備えることを特徴とする請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 8】

30

前記一次貯留部の前記流路とは反対側に接続して設けられているポンプをさらに有することを特徴とする請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載のマイクロチップ送液システム。

【請求項 9】

請求項 1 ～ 8 のいずれかに記載のマイクロチップ送液システムを、備えてなる表面プラズモン共鳴装置（SPR 装置）または表面プラズモン増強蛍光測定装置（SPFS 装置）であることを特徴とする検体検出装置。

【請求項 10】

検体液の抗原と特異的に反応する抗体を固定した反応場を備えた流路と、

前記流路の一端側に接続するピペットと、

前記流路の他端側に接続する一次貯留部と、

40

前記ピペットの検体液に気体を介して駆動力を与えることにより検体液を前記反応場に対して往復送液するポンプと、を有するマイクロチップ送液システムにおける送液方法であって、

前記ピペットの検体液を前記反応場を経由して前記一次貯留部の方向に送液する第 1 送液工程と、

前記第 1 送液工程後に検体液を前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液する第 2 送液工程と、

前記第 2 送液工程後に検体液を前記反応場から前記一次貯留部の方向と、前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液することを繰り返す第 3 送液工程と、を有し、

前記第 1 送液工程における検体液の後方側気液界面、及び、前記第 2 及び第 3 送液工程

50

における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場を通過させず、且つ、前記第1、第2及び第3送液工程は、検体液が前記ピペットに残留する状態で行うことを特徴とするマイクロチップ送液システムの送液方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マイクロチップ送液システム、検体検出装置及びマイクロチップの送液方法に関し、特に遺伝子増幅反応、抗原抗体反応などによる生体物質の検査・分析、その他の化学物質の検査・分析、有機合成等による目的化合物の化学合成などに用いられるマイクロチップ送液システム、検体検出装置、及びマイクロチップの送液方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

従来より、表面プラズモン励起増強蛍光分光法（SPFS）の原理に基づき、例えば生体内の極微少なアナライトの検出が行われている。表面プラズモン励起増強蛍光分光法（SPFS）は、光源より照射したレーザ光（励起光）が金属薄膜表面で全反射減衰（ATR；attenuated total reflectance）する条件において、金属薄膜表面に粗密波（表面プラズモン）を発生させることによって、光源より照射したレーザ光（励起光）が有するフォトン量を数十倍～数百倍に増やし（表面プラズモンの電場増強効果）、これにより金属薄膜近傍の蛍光物質を効率良く励起させることによって、極微量および／または極低濃度のアナライトを検出する方法である。

20

【0003】

近年、このような表面プラズモン励起増強蛍光分光法（SPFS）の原理に基づいた表面プラズモン増強蛍光測定装置の開発が進められており、例えば特許文献1にその技術開示がなされている。

【0004】

更に特許文献1においては、少ない試料で測定を行うために、アナライト溶液を往復送液することによって、アナライト溶液のアナライトに特異的に結合する抗体が固定されたセンサ面上を往復させている。

【先行技術文献】

【特許文献】

30

【0005】

【特許文献1】特開2006-90985号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

アナライトが含まれるアナライト溶液（以下、検体液という）を微細な流路に送液する場合には、流れる液体が微細流路内で層流状態となりやすく、その場合には微細流路の壁面（反応場のセンサ面）に固定された抗体には、層流となっている検体液の一部しか接触しないことになる。

【0007】

40

少ない量の検体液であっても精度良く検出するためには、検体液が満遍なくセンサ面に接触するようにする必要があり、そのためには、検体液の往復回数を増やすことが考えられる。

【0008】

しかし、検体液を往復させると微細流路の壁面に検体液に含まれるタンパク質が吸着することにより当該壁面が親水化される。このため、特許文献1のように、微細流路内に検体液と気体との境界である気液界面が移動する状態で検体液を往復させた場合には、気液界面において検体液が空気を追い抜いてしまう現象により気泡が発生する場合がある。

【0009】

気泡が発生した場合には、気泡自身がダンパーとなり送液の応答性を悪化させたり、ピ

50

ペットとの流路を接続する注入口付近においては気泡の影響で液の通りが悪くなったりする。また反応場を気泡が覆ってしまうと、その部分は検体液と接触しないために反応が生じないことになる。このような現象により検体液の反応場における反応量が低下してしまい、結果、精度良く検出できなくなる。

【 0 0 1 0 】

本願発明の第 1 の課題は、上記問題に鑑み、少ない試料であっても、反応場の反応量を低下させることを防ぎ、ひいては精度よくアナライトを検出可能なマイクロチップ送液システム及びその方法を提供することである。

【 0 0 1 1 】

また一方で、上記の往復送液型（以下、単に「往復型」ともいう）のマイクロチップ送液システムは、往復送液ポンプが所定の時間単位で送液方向を切り替えるようになっているため、例えば往復送液ポンプの切り替え精度が良くても、特に往復送液ポンプに近い出口側流路内に多くの空気が入っている場合、この空気がダンパーとなって検体液を止めて送液方向を替えるのに時間がかかり、送液方向を切り替えて再び送液を開始するタイミングにずれが生じる。特に往復回数が増えるにつれ、徐々に検体液の往復位置のずれが蓄積してしまい、反応場からずれてしまう場合が生じていた。

【 0 0 1 2 】

このように往復位置が反応場からずれてしまうと、反応場において所望のアナライトを捕捉することができなくなってしまう。

【 0 0 1 3 】

本願発明の第 2 の課題は、検体液を確実に反応場に往復送液することができ、これにより反応場に所望のアナライトを保持して高精度にアナライト検出を行うことのできるマイクロチップ送液システムおよびこのマイクロチップ送液システムを用いた検体検出装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 4 】

上記の目的は、下記に記載する発明により達成される。

【 0 0 1 5 】

1. 検体液の抗原と特異的に反応する抗体を固定した反応場を備えた流路と、
前記流路の一端側に接続するピペットと、
前記流路の他端側に接続する一次貯留部と、
前記ピペットの検体液に気体を介して駆動力を与えることにより検体液を前記反応場に対して往復送液するポンプと、
前記ポンプの駆動を制御する制御部と、を有し、
前記制御部は、

前記ピペットの検体液を前記反応場を経由して前記一次貯留部の方向に送液する第 1 送液工程と、前記第 1 送液工程後に検体液を前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液する第 2 送液工程と、前記第 2 送液工程後に検体液を前記反応場から前記一次貯留部の方向と、前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液することを繰り返す第 3 送液工程とを行うとともに、

前記第 1 送液工程における検体液の後方側気液界面、及び、前記第 2 及び第 3 送液工程における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場を通過せず、且つ、前記第 1、第 2 及び第 3 送液工程は、検体液が前記ピペットに残留する状態で行われるように前記ポンプを制御することを特徴とするマイクロチップ送液システム。

【 0 0 1 6 】

2. 検体液の抗原と特異的に反応する抗体を固定した反応場を備えた流路と、
前記流路の一端側に接続するピペットと、
前記流路の他端側に接続する一次貯留部と、
前記ピペットの検体液に気体を介して駆動力を与えることにより検体液を前記反応場に対して往復送液するポンプと、を有するマイクロチップ送液システムにおける送液方法で

10

20

30

40

50

あって、

前記ピペットの検体液を前記反応場を経由して前記一次貯留部の方向に送液する第1送液工程と、

前記第1送液工程後に検体液を前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液する第2送液工程と、

前記第2送液工程後に検体液を前記反応場から前記一次貯留部の方向と、前記一次貯留部から前記反応場の方向に送液することを繰り返す第3送液工程と、を有し、

前記第1送液工程における検体液の後方側気液界面、及び、前記第2及び第3送液工程における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場を通過させず、且つ、前記第1、第2及び第3送液工程は、検体液が前記ピペットに残留する状態で行うことを特徴とするマイクロチップ送液システムの送液方法。

10

【発明の効果】

【0017】

第1送液工程における検体液の後方側気液界面、及び、第2及び第3送液工程における検体液の前方側及び後方側気液界面が、前記反応場を通過しないようにすることにより気泡の発生を防止し、当該気泡による影響を防ぐことが可能となり、ひいては、少ない試料であっても、精度よく検出可能なマイクロチップ送液システム及びその方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0018】

20

【図1】第1の実施形態に係るマイクロチップ送液システムを用いた表面プラズモン増強蛍光測定装置の概略図である。

【図2】図2(a)は、マイクロチップ12周辺の断面図であり、図2(b)はその一部の上面図である。

【図3】制御部13により実行される制御フローを示す図である。

【図4】図3のステップS1(又はステップS2、S3、S4)に関するサブルーチンのフロー図である。

【図5】実施例における送液の流れを説明する模式図である。

【図6】比較例における送液の流れを説明する模式図である。

【図7】シミュレーションによる反応量の計算の結果を示したものである。図7(a)は往復回数に対する反応量を示したものであり、図7(b)は送液時間に対する反応量を示したものである。

30

【図8】第2の実施形態に係る往復型のマイクロチップ送液システムを説明するための模式図である。

【図9】第2の実施形態に係る往復型のマイクロチップ送液システムの作動状況を説明するための模式図であって、図9(a)は、検体液を往復送液ポンプで送液する前の状況図、図9(b)は、検体液を往復送液ポンプで送液している途中の状況図、図9(c)は、検体液を往復送液ポンプで送液し、第1液位置確認用センサが検体液を検知した状況図、図9(d)は、往復送液ポンプの送液方向を逆方向に切り替え、第2液位置確認用センサが検体液を検知した状況図である。

40

【図10】第2の実施形態の変形例に係る往復型のマイクロチップ送液システムにおける可変容積部について説明するための模式図である。

【図11】可変容積部の作動状況を説明するための模式図であって、図11(a)は、可変容積部を作動させる前の状況図、図11(b)は、可変容積部を作動させる直前の状況図、図11(c)は、可変容積部を作動させるとともに、第1液位置確認用センサが検体液を検知した状況図、図11(d)は、往復送液ポンプの送液方向を逆方向に切り替え、第2液位置確認用センサが検体液を検知した状況図である。

【図12】第2の実施形態の更なる変形例に係る往復型のマイクロチップ送液システムを説明するための模式図である。

【発明を実施するための形態】

50

【 0 0 1 9 】

本発明を実施の形態に基づいて説明するが、本発明は該実施の形態に限られない。

【 0 0 2 0 】

図 1、図 2 は、第 1 の実施形態に係るマイクロチップ送液システム 1 0 A を用いた表面プラズモン増強蛍光測定装置 A の概略図である。

【 0 0 2 1 】

表面プラズモン増強蛍光測定装置は、励起光を金属薄膜に照射して粗密波（表面プラズモン）を生じさせて励起された蛍光物質が生ずる蛍光を正確に検出し、検出感度を上げて、超高精度に蛍光検出を行うことを可能とするものである。

【 0 0 2 2 】

〔表面プラズモン増強蛍光測定装置 A、及び検体検出方法〕

本発明の表面プラズモン増強蛍光測定装置 A は、図 1 に示したように、まず金属薄膜 1 0 2 と、金属薄膜 1 0 2 の一方側面に形成された反応場 1 4 A と、他方側面に形成された誘電体部材 8 6 と、を有するチップ構造体 8 A を備えている。

【 0 0 2 3 】

そして、チップ構造体 8 A の誘電体部材 8 6 側には、誘電体部材 8 6 内に入射され、金属薄膜 1 0 2 に向かって励起光 b 1 を照射する光源 1 1 2 を備え、さらに光源 1 1 2 から照射され金属薄膜 1 0 2 で反射した金属薄膜反射光 b 2 を受光する受光手段 1 1 6 を備えている。

【 0 0 2 4 】

ここで光源 1 1 2 から照射される励起光 b 1 としてはレーザー光が好ましく、波長 2 0 0 ~ 1 0 0 0 n m のガスレーザーまたは固体レーザー、波長 3 8 5 ~ 8 0 0 n m の半導体レーザーが好適である。

【 0 0 2 5 】

一方、チップ構造体 8 A の反応場 1 4 A 側には、反応場 1 4 A で生じた蛍光 b 3 を受光する光検出手段 1 2 0 が設けられている。

【 0 0 2 6 】

光検出手段 1 2 0 としては、超高感度の光電子増倍管、または多点計測が可能な C C D イメージセンサを用いることが好ましい。

【 0 0 2 7 】

なお、チップ構造体 8 A の反応場 1 4 A と光検出手段 1 2 0 との間には、光を効率よく集光するための集光部材 1 2 2 と、光の中で蛍光 b 3 とは異なる波長の光の透過を低減して蛍光 b 3 を選択的に透過するように形成されたフィルタ 1 2 4 が設けられている。

【 0 0 2 8 】

集光部材 1 2 2 としては、光検出手段 1 2 0 に蛍光シグナルを効率よく集光することを目的とするものであれば、任意の集光系で良い。簡易な集光系としては、顕微鏡などで使用されている市販の対物レンズを転用してもよい。対物レンズの倍率としては、1 0 ~ 1 0 0 倍が好ましい。

【 0 0 2 9 】

一方、フィルタ 1 2 4 としては、光学フィルタ、カットフィルタなどを用いることができる。光学フィルタとしては、減光（N D）フィルタ、ダイアフラムレンズなどが挙げられる。さらにカットフィルタとしては、外光（装置外の照明光）、励起光（励起光の透過成分）、迷光（各所での励起光の散乱成分）、プラズモンの散乱光（励起光を起源とし、プラズモン励起センサ表面上の構造体または付着物などの影響で発生する散乱光）、酵素蛍光基質の自家蛍光などの各種ノイズ光を除去するフィルタであって、例えば干渉フィルタ、色フィルタなどが挙げられる。

【 0 0 3 0 】

そして、このような表面プラズモン増強蛍光測定装置 A を用いたアナライト検出方法では、反応場 1 4 A に接する側の金属薄膜 1 0 2 表面上には 1 次抗体を結合させた S A M 膜（Self-Assembled Monolayer：「自己組織化単分子膜」ともいう）あるいは高分子材料膜

10

20

30

40

50

が設けられている。１次抗体はＳＡＭ膜あるいは高分子材料膜の一方の面に結合されており、ＳＡＭ膜あるいは高分子材料膜の他方の面は、直接若しくは間接に金属薄膜１０２表面に固定されている。ＳＡＭ膜としては例えば $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{SH}$ などの置換脂肪族チオールで形成された膜、高分子材料としては例えばポリエチレングリコール（polyethylene glycol）やＭＰＣポリマー等が挙げられる。これは使用時に調製しても、予めこれらを結合させた基板を用いてもよい。また、１次抗体に対する反応性基（または反応性基に変換可能な官能基）を備えたポリマーを直接基板上に固定化し、その上に１次抗体を固定化してもよい。各種反応性基を利用して抗体やポリマーを結合させる際には、スクシンイミジル化を経たアミド化縮合反応や、マレイミド化を経た付加反応等が一般的である。

10

【００３１】

後述の第１送液工程から第４送液工程では、このようにして構成した反応場１４Ａに標的物質としてのアナライトの抗原を含む溶液（以下、検体液ともいう）と、二次抗体を含む試薬液の送液を行う。固定化した一次抗体によって抗原を捕捉することが可能である。これに対しさらに蛍光物質で標識した二次抗体を含む試薬液を作用させることで捕捉された抗原を標識している。なお予め抗原と二次抗体とを反応させておいてから一次抗体を作用させてもよい。

【００３２】

蛍光物質で標識されたアナライトの検出を行う「検出工程」においては、アナライトが捕捉された反応場１４Ａに光源１１２より誘電体部材８６に励起光ｂ１を照射し、この励起光ｂ１が金属薄膜１０２に対して特定の入射角度（共鳴角 θ_1 ）で金属薄膜１０２に入射することで、金属薄膜１０２上に粗密波（表面プラズモン）を生ずるようになる。

20

【００３３】

なお、金属薄膜１０２上に粗密波（表面プラズモン）が生ずる際には、励起光ｂ１と金属薄膜１０２中の電子振動とがカップリングし、金属薄膜反射光ｂ２のシグナルが変化（光量が減少）することとなるため、受光手段１１６で受光される金属薄膜反射光ｂ２のシグナルが変化（光量が減少）する地点を見つければ良い。

【００３４】

そして、この粗密波（表面プラズモン）により、金属薄膜１０２上の反応場１４Ａで生じた蛍光物質が効率良く励起され、これにより蛍光物質が発する蛍光ｂ３の光量が増大し、この蛍光ｂ３を集光部材１２２およびフィルタ１２４を介して光検出手段１２０で受光することで、極微量および／または極低濃度のアナライトを検出することができる。

30

【００３５】

なお、チップ構造体８Ａの金属薄膜１０２の材質としては、好ましくは金、銀、アルミニウム、銅、および白金からなる群から選ばれる少なくとも１種の金属からなり、より好ましくは金からなり、さらにこれら金属の合金から成ることである。

【００３６】

このような金属は、酸化に対して安定であり、かつ粗密波（表面プラズモン）による電場増強が大きくなることから金属薄膜１０２に好適である。

【００３７】

また、金属薄膜１０２の形成方法としては、例えばスパッタリング法、蒸着法（抵抗加熱蒸着法、電子線蒸着法など）、電解メッキ、無電解メッキ法などが挙げられる。中でもスパッタリング法、蒸着法は、薄膜形成条件の調整が容易であるため好ましい。

40

【００３８】

さらに金属薄膜１０２の厚さとしては、金：５～５００ｎｍ、銀：５～５００ｎｍ、アルミニウム：５～５００ｎｍ、銅：５～５００ｎｍ、白金：５～５００ｎｍ、およびそれらの合金：５～５００ｎｍの範囲内であることが好ましい。

【００３９】

電場増強効果の観点からは、金：２０～７０ｎｍ、銀：２０～７０ｎｍ、アルミニウム：１０～５０ｎｍ、銅：２０～７０ｎｍ、白金：２０～７０ｎｍ、およびそれらの合金：

50

10 ~ 70 nm の範囲内であることがより好ましい。

【0040】

金属薄膜102の厚さが上記範囲内であれば、粗密波（表面プラズモン）が発生し易く好適である。また、このような厚さを有する金属薄膜102であれば、大きさ（縦×横）は特に限定されないものである。

【0041】

また、誘電体部材86としては、高屈折率の60度プリズムを用いることができる。材料としては光学的に透明な各種の無機物、天然ポリマー、合成ポリマーを用いることができ、化学的安定性、製造安定性および光学的透明性の観点から、二酸化ケイ素（ SiO_2 ）または二酸化チタン（ TiO_2 ）を含むことが好ましい。

10

【0042】

さらに、このような表面プラズモン増強蛍光測定装置Aは、光源112から金属薄膜102に照射される励起光b1による表面プラズモン共鳴の最適角（共鳴角 θ_1 ）を調整するため、角度可変部（図示せず）を有している。

【0043】

ここで、角度可変部（図示せず）は制御部13により制御され、共鳴角スキャン工程においては角度可変部のサーボモータで全反射減衰（ATR）条件を求めるために受光手段116と光源112とを同期して、照射領域を中心として回転し、45 ~ 85°の範囲で角度変更を可能としている。また分解能は0.01°以上であることが好ましい。

【0044】

20

図2（a）は、マイクロチップ12周辺の断面図であり、図2（b）はその一部の上面図である。図2（a）では図1に示したチップ構造体8Aにカバープレートとなる基板142を取り付けている。基板の少なくとも反応場14Aの周辺部分は蛍光b3を透過する材料を用いる必要があり、本実施形態としては基板として石英を用いている。そして石英基板である基板142には微細流路143が設けられており、図2（a）に示す状態では微細流路143の底面はその表面に金属薄膜102が形成された誘電体部材86で構成されている。周囲を固定具161により支持された基板142は、誘電体部材86と隙間なく固定されている。

【0045】

微細流路143の経路中には、前述の反応場14Aが設けられている。微細流路143の一方の端部には入口孔106aが、他方の端部には出口孔108aがそれぞれ設けられている。また入口孔106a側には接続部145が設けられている。

30

【0046】

接続部145は、「検体液貯留部」として機能するピペット150が接続可能である。接続部145は弾性体材料で構成されており、ピペット150を装填する際にはシール部材として機能する。他方の端部側の出口孔108aの先には、「一次貯留部」として機能する混合部148が設けられている。なお混合部148の上部には不図示の微細な空気孔が設けられている。

【0047】

微細流路143の幅（Y方向長さ）は1mm ~ 3mm、高さ（Z方向）は50 μm ~ 500 μm 、反応場14Aの幅は微細流路143の幅と同等であり、長さは1mm ~ 3mmとするが、必ずしも限定されるものではない。また微細流路143の両端の入口孔106a、出口孔108aの大きさは微細流路143の幅と同等の ϕ 1mm ~ ϕ 3mmである。ピペット150の先端は入口孔106aとほぼ同等の形状であり、根元部分はこれよりも太い軸径の円柱形状である。混合部148は流路方向で出口孔108aよりも大きな断面形状であり、例えば2 ~ 4mm角の形状としている。なお図2（b）においては略正方形の断面形状としているが、円形の断面形状としてもよい。

40

【0048】

図2（a）においては、ピペット150を装填した状態を示している。また同図から明らかなように装填した状態においては、ピペット150及び混合部148はともに微細流

50

路 1 4 3 を通る水平面よりも上方であって、反応場 1 4 A における微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さよりも高い位置に設けられている。なお、混合部 1 4 8 はマイクロチップ 1 2 に固定した例を示しているが、ピペット 1 5 0 と同様に取り外し可能な構成としてもよい。なおピペット 1 5 0 は往復送液ポンプ 1 3 0 の駆動による内圧の変化に対して変形せずに容積の変化がほとんど生じない程度の剛性を備えていればよい。本実施形態では、材料としてはポリプロピレンを用いている。また接続部 1 4 5 を介して容易に脱着が可能であり、供給した検体液とともにピペット 1 5 0 の廃棄を容易に行うことができる。

【 0 0 4 9 】

制御部 1 3 は、CPU やメモリを備えており、メモリに記憶されているプログラムを実行することにより、往復送液ポンプ 1 3 0 等を制御する。往復送液ポンプ 1 3 0 は例えば

10

【 0 0 5 0 】

なお本明細書においては、ピペット 1 5 0 の内部の液体を順方向である反応場 1 4 A から混合部 1 4 8 の方向（図 2（a）の微細流路 1 4 3 において入口孔 1 0 6 a から出口孔 1 0 8 a への方向）に搬送することを「吐出」といい、その反対の逆方向である混合部 1 4 8 から反応場の方向に搬送することを「吸引」という。また吐出と吸引を区別せずに液体を搬送することを「送液」という。なお、実施形態においては一つのポンプにより吐出及び吸引の送液を行っているが微細流路 1 4 3 の両端側にそれぞれ吐出用のポンプを設け両方向への送液を行うようにしてもよい。

20

【 0 0 5 1 】

制御部 1 3 が往復送液ポンプ 1 3 0 を制御することにより、ピペット 1 5 0 の内部に貯留した検体液等の液体をマイクロチップ 1 2 の内部に吐出したり、吸引したりすることが可能である。このようにして微細流路 1 4 3 には蛍光物質が標識された二次抗体等が含まれる試薬液や、アナライトが含まれる検体液が往復送液ポンプ 1 3 0 により送液される。

【 0 0 5 2 】

検体としては、血液、血清、血漿、尿、鼻孔液、唾液、便、体腔液（髄液、腹水、胸水等）などが挙げられる。検体中に含有されるアナライトは、例えば、核酸（一本鎖であっても二本鎖であってもよい DNA、RNA、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、PNA（ペプチド核酸）等、またはヌクレオシド、ヌクレオチドおよびそれらの修飾分子）、タンパク質（ポリペプチド、オリゴペプチド等）、アミノ酸（修飾アミノ酸も含む。）、糖質（オリゴ糖、多糖類、糖鎖等）、脂質、またはこれらの修飾分子、複合体などが挙げられ、具体的には、AFP（ α フェトプロテイン）等のがん胎児性抗原や腫瘍マーカー、シグナル伝達物質、ホルモンなどであってもよく、特に限定されない。

30

【 0 0 5 3 】

さらに蛍光物質としては、所定の励起光 b 1 を照射するか、または電界効果を利用することで励起し、蛍光 b 3 を発する物質であれば特に限定されないものである。なお本明細書でいう蛍光 b 3 とは、燐光など各種の発光も含まれるものである。

【 0 0 5 4 】

[アナライトの捕捉及び検出の制御フロー]

40

図 3 は、制御部 1 3 により実行される制御フローを示す図である。ステップ S 1 では検体を溶媒に溶かした検体液を送液する。送液に関しての詳細について図 4、図 5 に基づいて説明する。

【 0 0 5 5 】

図 4 は、図 3 のステップ S 1 に関するサブルーチンのフロー図である。図 4 のステップ S 1 0 では所定量の検体液が注入されているピペット 1 5 0 をマイクロチップ 1 2 の接続部 1 4 5 に装填する。図 5（a）～図 5（d）は、送液の流れを説明する模式図である。これらの送液においては制御部 1 3 が往復送液ポンプ 1 3 0 を制御することにより、気体を介して駆動力を検体液 L q に与えている。

【 0 0 5 6 】

50

図5(a)は、ステップS10に対応する図であり、同図においては検体液Lqが注入されているピペット150を装填した初期状態を示している。なお、図5に示す実施形態においては、検体液Lqの注入量m1は200 μ lであり、微細流路143の容積m2は10 μ lとしている。

【0057】

図4の第1送液工程(ステップS11)では、送液量m3の検体液Lqを吐出する。吐出により、検体液は微細流路143の内部に設けられた反応場14Aの上面を通過するので、検体液Lqに含まれる抗原が、反応場14Aに固定している一次抗体に特異的に反応して捕捉される。

【0058】

図5(b)は、送液量m3の検体液Lqを吐出した第1送液工程直後の状態を示す模式図である。図5(a)の状態から図5(b)の状態への第1送液工程における送液量m3は、195 μ lにしている。当該送液量m3とすることにより(1)第1送液工程において検体液Lqの送り方向後方側の気液界面g1は反応場14Aを通過しない。(2)また入口孔106aを反応場14Aにおける微細流路143の上壁内面高さよりも上方に位置する構成としていることから、後方側の気液界面g1は反応場14Aにおける微細流路143の上壁内面の高さよりも上方に位置し続ける。また(3)十分な液量の検体液を反応場14Aの上面を通過させることができ、更に(4)混合部148の内部には185 μ lと十分な量の検体液Lqが一時的に貯留されることになる。

【0059】

[混合部148を設けた効果]

ここで混合部148を設けた効果について説明する。比較例として混合部148を設けずにその代替として微細流路143の長さを十分長くして(例えば数百mmとする)微細流路143の容積に、検体液Lqが収納できる場合を考える。このような形態において検体液Lqを図5に示す例と同じ液量を往復させることにより反応場14Aの上面には、同じ量の検体液Lqを通過させることが可能である。しかし、微細流路143の内部では、内部を流れる液体は層流状態で送液されるので、微細流路143の内部に検体液Lqを往復させただけでは、検体液Lqの層流状態が維持されて入れ替わりが行われずに常に検体液Lqの同じ部分が反応場14Aに接触することになり、結果、濃度勾配が発生し、検体液Lqの一部しか反応場14Aでの反応に寄与しないことになる。

【0060】

それに対し、混合部148を設けた図1、図5等に示す本願実施形態においては、混合部148に一次的に貯留された検体液Lqは、その内部で混合されるので、濃度勾配が解消され、反応場14Aに接触して反応に寄与する検体液Lqは常に更新されることになる。つまり繰り返し行う送液の工程においては、ほとんどの検体液Lqが、反応場14Aでの反応に寄与することになる(詳細については後述する)。検体液貯留部として機能するピペット150でも同様に混合に対する効果が期待できる。

【0061】

図5(c)は、吸引を行った第2送液工程直後の状態を示す模式図である。当該第2送液工程(ステップS12)での送液量m4は注入量m1から容積m2を減じた液量よりも少ない185 μ lとしている。このことから、混合部148の残量は5 μ l(ゼロでない)となり、前方側及び後方側の気液界面g1は微細流路143よりも上方に位置し続けることができる。

【0062】

第3送液工程(ステップS13)では、図5(b)に示す吐出と図5(c)に示す吸引とを交互に行う。これを所定回数となるまで繰り返す(ステップS14:Yes)。このようにすることにより十分な量の検体液Lqを反応場14Aの上面を通過させて反応させることができる。なお送液時の流量としては例えば1000 μ l/minであり、所定回数としては数十から数百回を行うので所要時間としては数分から60分程度である。

【0063】

所定回数終了した場合には、続いて検体液 L q を反応場 1 4 A から送出する第 4 送液工程（ステップ S 1 5）を実施する。第 4 送液工程（図 5（b）から図 5（d））においては、送液量 m 5 は 2 0 5 μ l としている。このようにすることによりマイクロチップ 1 2 内部の全ての検体液 L q をピペット 1 5 0 に回収することができる。また第 3 送液工程後から第 4 送液工程においては検体液 L q の送液方向において前方側の気液界面 g 1 は反応場を通過しない。図 5（d）は、その状態を示す図である。回収後にピペット 1 5 0 を接続部 1 4 5 から引き抜く（ステップ S 1 6）ことにより終了する（戻る）。

【 0 0 6 4 】

なお、吐出と吸引を繰り返す第 3 送液工程においては、送液量 m 4 は注入量 m 1 から容積 m 2 を減じた液量よりも少ない 1 8 5 μ l としている。送液量 m 4 が注入量 m 1 から容積 m 2 を減じた液量よりも少ない量とすることにより前方側及び後方側の気液界面 g 1 は、第 3 送液工程において反応場 1 4 A における微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さよりも上方に位置し続けることができる。効果については後述する。

【 0 0 6 5 】

また、図 5 に示す実施形態においては、最終工程である第 4 送液工程において最後に吸引することによりピペット 1 5 0 に検体液 L q を回収しているが、最後に吐出することにより混合部 1 4 8 に検体液 L q を回収するようにしてもよい。その場合には、最後の吐出における送液量 m 5 は 2 0 5 μ l とする。

【 0 0 6 6 】

ステップ S 2 では、洗浄液を送液する。送液の工程は、図 4 に示したサブルーチンを同様に行う。洗浄液を送液することにより、反応場 1 4 A に残留していた検体液を除去する。

【 0 0 6 7 】

図 3 のステップ S 3 では、ステップ S 1 により反応場 1 4 A には検体液 L q に含まれる抗原は反応場 1 4 A に固定している一次抗体に特異的に反応して捕捉されているので、当該抗原に特異的に反応する（蛍光標識が付された）2 次抗体を送液する。送液の工程は、図 4 に示したサブルーチンを同様に行う。なお、図 3 に示す例では、検体液と 2 次抗体を別々に送液する例を示したが、これに限られず予め抗原と二次抗体とを反応させた液体をピペット 1 5 0 により供給するようにしてもよい。この場合には当該ステップ S 3 の工程を省略することができる。

【 0 0 6 8 】

ステップ S 4 では、洗浄液を送液する。送液の工程は、図 4 に示したサブルーチンを同様に行う。洗浄液を送液することにより、反応場 1 4 A に残留していた反応に関与していない蛍光標識を除去する。

【 0 0 6 9 】

ステップ S 5 では、バッファ液を充填させた状態で、前述のとおり励起光 b 1 を共鳴角 θ 1 で金属薄膜 1 0 2 に対して入射させることで、金属薄膜 1 0 2 上に粗密波（表面プラズモン）を生じさせる。そして当該粗密波により反応場 1 4 A で捕捉されている蛍光標識が励起され、これにより蛍光 b 3 光検出手段 1 2 0 で受光することで、極微量および／または極低濃度のアナライト（対象とする抗原）を検出する。

【 0 0 7 0 】

以上が、アナライト検出の制御フローである。ここで繰り返し時における送液の工程において気液界面 g 1 が、反応場 1 4 A における微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さよりも上方に位置し続ける効果について説明する。本実施形態においては、微細流路 1 4 3 は水平面に広がっているため、「反応場 1 4 A における微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さ」と、「反応場 1 4 A 以外の微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さ」とは同一であるため、以降においては「微細流路 1 4 3 の上壁内面の高さ」のことを単に「微細流路 1 4 3 を通る水平面」とも称す。

【 0 0 7 1 】

[気液界面 g 1 を、微細流路 1 4 3 を通る水平面よりも上方に位置させる効果]

10

20

30

40

50

図6(a)～図6(d)は、比較例における送液の流れを説明する模式図である。同図では本願の第3送液工程に相当する吐出と吸引を繰り返す送液工程時において気液界面g1は、微細流路143を通る水平面よりも上方に位置しておらず微細流路143の内部(特に、反応場14Aにおける微細流路143)を通過させるものである。図6(a)はピペット150をマイクロチップ12に装填した初期状態を示している。図6(b)は繰り返し時における吐出あるいは吸引での、送液の流れを示す模式図であり。図6(c)は吐出直後、図6(d)は第4送液工程に相当する吸引直後の状態を示す模式図である。同図に示す比較例においては微細流路143の反応場14Aを気液界面g1が通過するように送液を行っている。

【0072】

10

微細流路143の壁面は、検体液Lqに含まれるタンパク質により親水化されるために、送液の各工程において検体液Lqが空気を追い抜いて気泡bを形成することになる。送液の回数が少ない場合にはその影響は少ないが、複数回繰り返す場合には、気泡bが多数発生することになりその影響は無視できない。気泡bが発生した場合には、気泡b自身がダンパーとなり送液の応答性を悪化させたり、ピペット150との流路を接続する接続部145付近においては気泡bの影響で液の通りが悪くなったりする。また反応場14Aを気泡bが覆ってしまうと、その部分は検体液Lqと接触しないために反応が生じなくなりアナライトが捕捉されないことになる。このような現象により検体液Lqの反応場14Aにおける反応量が低下してしまい、結果、精度良くアナライトの検出ができなくなる。

【0073】

20

比較例においては、このように微細流路143の反応場14Aを気液界面g1が通過するように送液を行っているために、気泡bが発生する。特に吐出及び吸引を繰り返し行い、複数回往復させるような場合には気液界面g1が反応場14Aを通過する回数が増え、それにともない発生する気泡bの量も増え、その気泡bの影響により精度良くアナライトの検出ができないこととなる。一方、図5等にした実施形態においては繰り返し時における送液の各工程では気液界面g1は微細流路143を通る水平面よりも上方の位置を維持して反応場14Aを通過しないので当該送液の工程では気泡bは発生しない。

【0074】

なお、ピペット150から最初に微細流路143に検体液Lqを搬送する最初の吐出(第1送液工程)においては微細流路143に気液界面を通過させることになるが、1回のみであり気泡bの発生量はそれほど多くないことと仮に気泡bが発生したとしても混合部148に排出されることになる。そして混合部148は微細流路143よりも上方に存在しているので、最初の吐出工程で発生し混合部148に排出された気泡bは、繰り返しの送液の工程時においては混合部148の上部(気液界面g1)に留まるので、反応場14Aでの反応には影響しない。

【0075】

30

このように本実施形態においては送液の各工程における検体液の両端の気液界面が、前記微細流路を通る水平面よりも上方に位置させることにより、気泡による影響を防ぐことが可能となり、ひいては、少ない試料であっても、精度よく検出可能となる。

【0076】

40

[比較例との反応に寄与する検体液量に関する比較]

ここで、反応に寄与する検体液量に関して比較例と比較検討する。図6に示す比較例においては、往復の送液工程においては全て(全量)の検体液Lqが反応場14Aを通過することになる。一方で、図5等にした実施形態においては第1送液工程から第4送液工程の各送液工程においては一部(一部の量)の検体液Lqは反応場14Aを通過しないことになる。図5(b)に示す状態においては反応場14Aよりも下流側(左方側)の検体液Lqが、図5(c)に示す状態においては反応場14Aよりも送液方向で下流側(後方側)の検体液Lqが、反応場14Aを通過しないことになる。確かに、個々の各送液工程においては一部の検体液Lqは反応場14Aを通過せずに反応に寄与しないが、ピペット150あるいは混合部148で混合されるのでその影響は少なくなる。

50

【 0 0 7 7 】

以下、その影響度の見積もりを行った。表 1 は反応場 1 4 A を通過しない残留溶液の有効利用率を混合度と往復回数から算出した表である。図 7 のグラフはサンプル量のわずかな減少（反応に寄与しないサンプル量の増加）が反応量へ及ぼす影響の算出結果の例である。

【 0 0 7 8 】

【表 1】

往復回数	N-1 往復目に貯留部に残っている液が、N 往復目以降に混合されて有効利用される割合(必要往復回数)																単位：%		
N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	...	...	...
1	30.0																		
2	72.0	30.0																	
3	88.8	72.0	30.0																
4	95.5	88.8	72.0	30.0															
5	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0														
6	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0													
7	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0												
8	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0											
9	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0										
10	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0									
11	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0								
12	100.0	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0							
13	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0						
14	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0					
15	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0				
16	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.9	99.7	99.3	98.2	95.5	88.8	72.0	30.0			
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
70	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	...	...	30.0

【 0 0 7 9 】

表 1 において例えば、混合部 1 4 8 とピペット 1 5 0 での混合レベルがそれぞれ 6 0 % とした場合、1 回目の往復では、貯留部（混合部 1 4 8 若しくはピペット 1 5 0）を経由するのは片側の 1 回だけであるので、混合部 1 4 8 では残留溶液の 4 0 % は反応に使われない状態となる。また、そのときピペット 1 5 0 ではまだ、混合されていないので、反応場 1 4 A に対して、残留溶液の 1 0 0 % が反応に使われていない状態となる。この両端の

10

20

30

40

50

混合レベルを平均化すると両端の残留溶液の70%は反応に使われていないことになる。つまり、この状態での有効利用率は30%となる。

【0080】

しかし、この1回目の往復では有効利用率が30%の残留溶液も、再び両端で混合されるため、混合部148では16% (40%の2乗)、ピペット150では40% (40%の1乗)、この両端の混合レベルを平均化すると両端の残留溶液の28%が反応に使われていないことになる。つまり、この状態での有効利用率は72%となる。

【0081】

このように1回目に発生していた残留溶液も2回、3回と往復されることで、徐々に反応に使われる有効利用率は上がっていき、9回以上往復すると、1回目の往復時に発生していた残留溶液の分はサンプル量の減少には繋がらない。

10

【0082】

同様にそれぞれの往復回数ごとに残留溶液は発生するが、このように9回ほど往復することで、全ての残留溶液が反応に関わることができるため、実際に反応量の減少に繋がるのは最後の9回分だけであり、その分のサンプル量は減少する。(70回往復とすると、70回目に発生した残留溶液はその中の30%しか反応に使われない)。

【0083】

例えば、サンプル量200 μ lで、残留溶液が両端に5 μ lずつ残る送液を70往復行った場合、残留溶液全体の平均混合率は96.74% (表の全数値の平均値) となるため、混合レベルが100%という仮定で (層流による反応場14A近辺の濃度勾配の影響は無視と仮定)、全サンプルを反応場14Aを通過させて往復させる比較例と比べて、極微量の0.326 μ lだけサンプル量が減少する。このように反応量低下への影響度は非常に低い。

20

【0084】

図7のグラフはシミュレーションによる反応量の計算の結果を示したものである。送液時間に対する反応量を示している。図7(a)は往復回数に対する反応量 (反応場に捕捉される抗原の量) を示したものであり、図7(b)は、図7(a)と同じデータに対して横軸を送液時間に変更したものである。

【0085】

(条件)

30

送液速度: 1000 μ l/min

送液時間: 1500 sec

サンプル量: 200 μ l

1回の往復時 (片方向) の送液量: 実施例185 μ l、比較例200 μ l

実施例: 図5に示したように往復送液時に気液界面g1を微細流路143の内部を通過させていない。

比較例: 図6に示したように気液界面g1を微細流路143の内部を通過させたものである。但し、当該通過に伴う気泡bの発生が起こらず問題なく送液できると仮定している。

【0086】

図7(a)、図7(b)はともに、同じ送液時間 (送液量は同じ) だけ搬送させたものであり、図7(a)のグラフでは、往復回数あたりの反応量は、1回の往復での送液量の違いにより実施例にくらべて比較例の方が反応量が多くなっているが、図7(b)に示すように同じ送液時間 (同じ送液量) の比較では比較例に比べて実施例における反応量の低下度合いはほとんどない。比較例に対する実施例の低下率は計算結果では0.015%以下であり、問題ないレベルといえる。

40

【0087】

[第2の実施形態]

第2の実施形態に係るマイクロチップ送液システムおよびこのマイクロチップ送液システムを用いた検体検出装置は、検体液が少なくても、この検体液を確実に検出領域内に留めることができ、これにより検出領域内に所望のアナライトを保持して高精度にアナライ

50

ト検出を行うことのできるものである。

【 0 0 8 8 】

以下、図面に基づいてより詳細に説明する。図 8 は、第 2 の実施形態に係る往復型のマイクロチップ送液システムを説明するための模式図、図 9 は、第 2 の実施形態に係る往復型のマイクロチップ送液システムの作動状況を説明するための模式図であって、図 9 (a) は、検体液 2 6 を往復送液ポンプで送液する前の状況図、図 9 (b) は、検体液 2 6 を往復送液ポンプで送液している途中の状況図、図 9 (c) は、検体液 2 6 を往復送液ポンプで送液し、第 1 液位置確認用センサ 3 0 が検体液 2 6 を検知した状況図、図 9 (d) は、往復送液ポンプの送液方向を逆方向に切り替え、第 2 液位置確認用センサ 3 2 が検体液 2 6 を検知した状況図、図 1 0 は、第 2 の実施形態の変形例に係る往復型のマイクロチップ送液システムにおける可変容積部 3 4 について説明するための模式図、図 1 1 は、可変容積部 3 4 の作動状況を説明するための模式図であって、図 1 1 (a) は、可変容積部 3 4 を作動させる前の状況図、図 1 1 (b) は、可変容積部 3 4 を作動させる直前の状況図、図 1 1 (c) は、可変容積部 3 4 を作動させるとともに、第 1 液位置確認用センサが検体液を検知した状況図、図 1 1 (d) は、往復送液ポンプの送液方向を逆方向に切り替え、第 2 液位置確認用センサが検体液を検知した状況図である。

10

【 0 0 8 9 】

図 8 に示したように、第 2 の実施形態に係る往復型のマイクロチップ送液システム 1 0 では、まずマイクロチップ 1 2 の反応場 1 4 に、検体液 2 6 を流通させる入口である入口孔 1 6 と、この入口孔 1 6 より流通された検体液 2 6 の出口である出口孔 1 8 とが設けら

20

れている。

【 0 0 9 0 】

そして、この入口孔 1 6 と出口孔 1 8 のそれぞれには、入口側流通路 2 0 および出口側流通路 2 2 の一方側端部が接続されている。さらに、入口側流通路 2 0 の他方側端部には、検体液 2 6 を収容する検体液収容器 2 8 が設けられ、出口側流通路 2 2 の他方側端部 (「一次貯留部の流路とは反対側」 に相当) には、往復送液ポンプ 2 4 が接続して設けられている。

【 0 0 9 1 】

第 2 の実施形態においては、検体液収容器 2 8 若しくは、検体液収容器 2 8 及び入口側流通路 2 0 が「検体液貯留部」として機能し、出口側流通路 2 2 が「一次貯留部」として機能する。

30

【 0 0 9 2 】

また、出口側流通路 2 2 の途中には第 1 液位置確認用センサ 3 0 が設けられ、さらに入口側流通路 2 0 の途中には第 2 液位置確認用センサ 3 2 が設けられている。このようにして構成されるマイクロチップ送液システム 1 0 は、まず図 9 (a) に示したように、マイクロチップ送液システム 1 0 を作動させる前に、まず所定の検体液 2 6 を予め検体液収容器 2 8 内に貯留させておく。

【 0 0 9 3 】

そして、この状態で往復送液ポンプ 2 4 を駆動させることで、図 9 (b) に示したように検体液収容器 2 8 内の所定量の検体液 2 6 を、反応場 1 4 の入口孔 1 6 から出口孔 1 8 の方向に送液する (第 1 送液工程) 。

40

【 0 0 9 4 】

さらに送液を続けて行くと図 9 (c) に示したように、検体液 2 6 は出口側流通路 2 2 を通って往復送液ポンプ 2 4 の方向に向かうが、この際、出口側流通路 2 2 の途中に設けられた第 1 液位置確認用センサ 3 0 が検体液 2 6 を感知すると、往復送液ポンプ 2 4 の送液方向が逆方向 (吸引から吐出) に切り替わるようになっており、図 9 (d) に示したように、今度は出口孔 1 8 から入口孔 1 6 の方向に送液がなされるようになる (第 2 送液工程) 。このときに、検体液 2 6 の気液界面の後方は入口側流通路 2 0 内にあり反応場 1 4 の手前側にある。つまり検体液 2 6 の後方側気液界面は反応場 1 4 を通過しない。

【 0 0 9 5 】

50

そして、出口孔 18 から入口孔 16 の方向に送液された検体液 26 が、今度は入口側流通路 20 内に流入すると、入口側流通路 20 の途中に設けられた第 2 液位置確認用センサ 32 が検体液 26 を検知し、この検知情報が往復送液ポンプ 24 に伝えられて往復送液ポンプ 24 の送液方向を再び逆方向に切り替える。

【0096】

この送液方向の切り替えを繰り返す（第 3 送液工程）ことで、検体液 26 を確実に反応場 14 内で往復動させることができる。この際、検体液 26 の送液量（検体液収容器 28 から送液された所定量）は、反応場 14 を満たし、且つ反応場 14 から第 1 液位置確認用センサ 30 までの出口側流通路 22 の容積と、第 2 液位置確認用センサ 32 までの入口側流通路 20 の容積とのうち、大きい方の容積の流通路部分を満たす量と同じであるかそれよりも多い量であって、第 1 液位置確認用センサ 30 から第 2 液位置確認用センサ 32 までの反応場 14 を含む流通路全てに検体液 26 が満たされる量よりも少ない量であれば、検体液 26 の往復動を行うことができる。このような検体量とすることにより第 3 送液工程においては、検体液 26 の前方側及び後方側の気液界面が反応場 14 を通過することがないので、気泡の発生を生じさせることはなく、発生した気泡により送液の応答性が悪くなったり、アナライトの反応場 14 での反応量を減少させたりといった不具合を生じさせることがない。

【0097】

そのため、第 1 液位置確認用センサ 30 を出口孔 18 に近接させるとともに、第 2 液位置確認用センサ 32 を入口孔 16 に近接させることにより、往復送液に必要な検体液 26 の送液量を少なくすることができる。

【0098】

なお、第 1 液位置確認用センサ 30 および第 2 液位置確認用センサ 32 は、検体液 26 が所定の位置に有るか否かを検知できれば、如何なるセンサであっても良く、特に限定されないものである。

【0099】

以上の説明では、第 1 液位置確認用センサ 30 で検体液 26 が検知された際及び第 2 液位置確認用センサ 32 で検体液 26 が検知された際に、送液方向を切り替えるよう構成したが、送液中に第 2 液位置確認用センサ 32 で検知されていた検体液 26 が検知されなくなった際及び送液中に第 2 液位置確認用センサ 32 で検知されていた検体液 26 が検知されなくなった際に、送液方向を逆方向に切り替えるように制御するよう構成することでもできる。

【0100】

また、本発明のマイクロチップ送液システム 10 では、往復送液ポンプ 24 による検体液 26 の送液を行うのに、どのような方法を用いてもよく、例えば空気や油などの駆動流体を用いることができるが、中でも空気を用いることが、コンタミネーションを防止したり、非特異吸着を確実に防止できる点で好ましい。

【0101】

なお、空気を用いる場合には、往復送液ポンプ 24 と出口側流通路 22 内の検体液 26 との間をなるべく小さい容積とすること、つまり、空気量をなるべく少なくすることで、往復送液ポンプ 24 による検体液 26 の送液方向の切り替えをスムーズに行えるようになる。

【0102】

また、往復送液ポンプ 24 は、例えばペリスタポンプ、シリンジポンプなど、如何なるポンプを用いたものであっても良いが、中でもペリスタポンプは、ポンプ内に空気を取り入れないで済むため好ましい。

【0103】

さらに、入口側流通路 20 および出口側流通路 22 は、如何なる材質からなる流通路であっても良く、特に限定されるものではないが、好ましくは空気圧による変形をし難い硬い材質からなる樹脂製透明チューブを用いることが、往復精度を出す点、検体液 26 のセ

10

20

30

40

50

ンサによる検出が容易である点、また内容物を目視できる点からも好ましい。

【 0 1 0 4 】

また、図 9 に示したマイクロチップ送液システム 1 0 では、検体液 2 6 のセンサによる検出によって反応場 1 4 に往復送液するのに必要な量の検体液 2 6 だけが入っているようになっているが、収容量の大きな検体液収容器 2 8 であれば、複数回分の検体液 2 6 を入れることができる。

【 0 1 0 5 】

この場合には、マイクロチップ送液システム 1 0 上に液量検知センサ（図示せず）を設け、往復送液ポンプ 2 4 が予め決められた量の検体液 2 6 を送液したことを液量検知センサ（図示せず）が検知した時点で、検体液収容器 2 8 を入口側流通路 2 0 から外すようにすれば、所定量の検体液 2 6 だけを確実に使用することができるようになる。

10

【 0 1 0 6 】

なお、検体液収容器 2 8 を入口側流通路 2 0 から外す際には、手動で行っても自動で行っても良く、例えば自動で行う場合には、液量検知センサ（図示せず）が作動したら、検体液収容器 2 8 が下降して入口側流通路 2 0 の端部から検体液 2 6 が離れるようにすれば良い。

【 0 1 0 7 】

第 2 の実施形態のように、第 1 液位置確認用センサと第 2 液位置確認用センサを備えれば、検体液の位置を常に検知することができるため、検出領域内に検体液を留めた状態で往復動ができ、これにより検出領域内にアナライトを保持して精度良くアナライトの検出を行うことができる。

20

【 0 1 0 8 】

また、往復送液ポンプ 2 4 が接続されていない側の流通路中、その流通路中に配置された液位置確認用センサよりも反応場 1 4 から離れた位置に、大気開放用の切り替えバルブ等を配置し、液量検知センサ（図示せず）が作動したら、検体液収容器 2 8 との接続を大気開放に切り替えるようにしても良い。

【 0 1 0 9 】

液量検知センサを備えていれば、多量の検体液を複数回に分けて使用することもでき、アナライト検出に要する時間を削減できる。従ってアナライト検出を複数回行って、アナライトの検出精度をより高めることができる。

30

【 0 1 1 0 】

また、往復送液ポンプ 2 4 が出口側流通路 2 2 の他方側端部（「一次貯留部の流路とは反対側」に相当）に接続して設けられている。この場合、第 1 液位置確認用センサと往復送液ポンプとの間が短くなるよう出口側流通路の長さを設定すれば、この間の空気量が少なくなるため、往復送液ポンプの応答性が良好となる。

【 0 1 1 1 】

〔 第 2 の実施形態の変形例 〕

さらに、アナライトの種類によっては、どうしても検体液 2 6 の量が通常の場合よりも多く必要な場合があるが、この場合には、図 1 0 に示したように入側流通路 2 0 または出口側流通路 2 2 のいずれか一方の途中（図 1 0 では出口側流通路 2 2 の途中）に、流通路の径よりも大径であり、検体液 2 6 を多量に貯留することのできる可変容積部 3 4 を配設することが好ましい。

40

【 0 1 1 2 】

このような可変容積部 3 4 は、図 1 1（a）に示したように、マイクロチップ送液システム 1 0 の作動前においては、可変容積部 3 4 の容積が最小となるようにしておく。そして、マイクロチップ送液システム 1 0 を作動させ、図 1 1（b）に示したように、検体液 2 6 が最小容積とされた可変容積部 3 4 に充填されるまで、可変容積部 3 4 の容積を最小のままとする。

【 0 1 1 3 】

この後、図 1 1（c）に示したように検体液 2 6 の送液の速度に合わせて、徐々に可変

50

容積部 34 の容積を増やして行くことで、検体液 26 の量が多くなっても、流通路の長さが必要以上に長くなってしまふことを防止できるようになっている。

【0114】

そして、検体液 26 を出口側流通路 22 の途中に設けられた第 1 液位置確認用センサ 30 が感知すると、往復送液ポンプ 24 による送液方向が切り替わり、今度は図 11 (d) に示したように検体液 26 が出口孔 18 から入口孔 16 の方向に送液されるようになり、検体液 26 が入口側流通路 20 の第 2 液位置確認用センサ 32 で検知されると、再び往復送液ポンプ 24 による送液方向が切り替わるようになっている。

【0115】

なお、可変容積部 34 の容積を増大させるタイミングを、検体液 26 が可変容積部 34 に充填された後とするのは、可変容積部 34 が配置された側の流通路中の空気量を、可変容積部 34 の容積を増大させる前と後とで変わらないようにするためである。

【0116】

ここで、可変容積部 34 の容積変化を、往復送液ポンプ 24 の駆動による検体液 26 の移動量に合わせて行う場合には、手動で行っても自動で行っても良く特に限定されない。また、可変容積部 34 の最小容積は図 11 (b) に示すようにゼロとすることが好ましい。

【0117】

好ましくは、可変容積部 34 に貯留容積可変機構 (図示せず) を備え、検体液 26 の送液速度に合わせて可変容積部 34 の容積を自動的に変化させるようにすることである。

【0118】

第 2 の実施形態の変形例のように、可変容積部を設けていれば、例えば検体によって検体液の液量が多く必要であったとしても、入口側流通路または出口側流通路の通路長さを必要以上に長くする必要がない。

【0119】

検体液 26 の送液速度に合わせて可変容積部 34 の容積を自動的に変化させるような貯留容積可変機構により、例えば検体液が可変容積部に充填された後に、可変容積部の容積を増大させるよう設定すれば、可変容積部が配置された側の流通路中の空気量を、可変容積部の容積を増大させる前と後とで変わらないようにすることができる。

【0120】

このように第 2 の実施形態に係るマイクロチップ送液システム 10 は、第 1 液位置確認用センサ 30 と第 2 液位置確認用センサ 32 を備えることで、検体液 26 が少なくともこの検体液 26 を確実に反応場 14 内に留めながら往復送液を行うことができるとともに、可変容積部を設けることにより、第 1 液位置確認用センサや第 2 液位置確認用センサの配置を変える必要もなく、流通路内の空気を一定量に調整することも容易にでき、感度良く送液方向を切り替え可能とすることができる。

【0121】

このため、このマイクロチップ送液システム 10 を、検体検出装置、特に図 1 に示したような表面プラズモン共鳴装置 (SPR 装置) または表面プラズモン増強蛍光測定装置 (SPFS 装置) に用いれば、極微細なアナライトであっても、高精度に検出することができる。

【0122】

[第 2 の実施形態の更なる変形例]

図 12 は、第 2 の実施形態の更なる変形例に係る往復型のマイクロチップ送液システムを説明するための模式図である。図 1、図 5 等に示した第 1 の実施形態に係るマイクロチップ送液システムに対して第 1 液位置確認用センサ 30 と第 2 液位置確認用センサ 32 を設けたものである。

【0123】

同図においては、第 1 液位置確認用センサ 30 を混合部 148 の内部に、第 2 液位置確認用センサ 32 をピペット 150 の内部に設けている。各センサの設定は、検体液量が混

10

20

30

40

50

合部 148、ピペット 150 のそれぞれで内部の残量が 5 μ l となった時点の液面が検知できるようにしている。

【0124】

第3送液工程において検体液を吐出方向に送液中に第2液位置確認用センサ32で検知されていた検体液Lqが検知されなくなった際及び吸引方向に送液中に第2液位置確認用センサ32で検知されていた検体液Lqが検知されなくなった際に、送液方向を逆方向に切り替えるように制御するよう構成している。このことにより検体液の位置を常に検知することができるため、検出領域内に検体液を留めた状態で往復動ができ、これにより検出領域内にアナライトを保持して精度良くアナライトの検出を行うことができる。

【0125】

10

以上、本願発明に係るマイクロチップ送液システムおよびこれを用いた検体検出装置の好ましい形態について説明したが、本発明は上記の形態に限定されるものではなく、本発明の目的を逸脱しない範囲で種々の変更が可能なものである。

【符号の説明】

【0126】

A 表面プラズモン増強蛍光測定装置

10、10A 送液システム

13 制御部

b1 励起光

b2 金属薄膜反射光

20

b3 蛍光

12 マイクロチップ

102 金属薄膜

14A、14 反応場

86 誘電体部材

8A チップ構造体

112 光源

116 受光手段

120 光検出手段

122 集光部材

30

124 フィルタ

130、24 往復送液ポンプ

12 マイクロチップ

161 固定具

142 基板

143 微細流路

106a、16 入口孔

108a、18 出口孔

145 接続部

148 混合部

40

150 ピペット

g1 気液界面

Lq、26 検体液

b 気泡

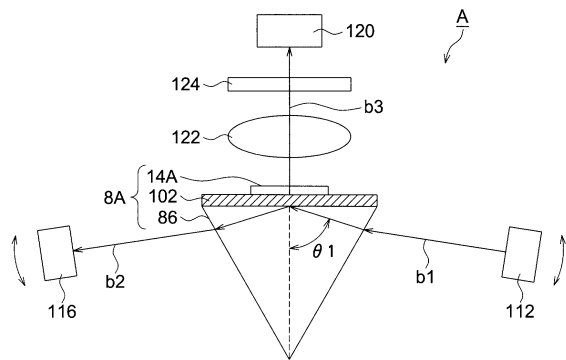
28 検体液収容器

30 第1液位置確認用センサ

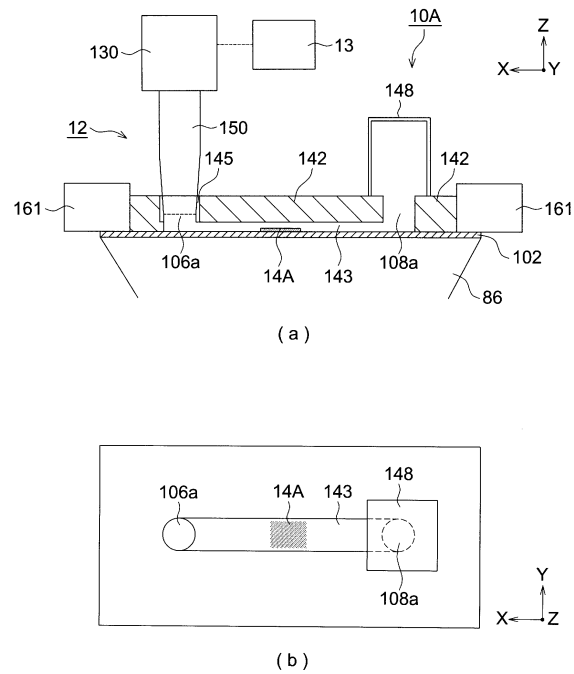
32 第2液位置確認用センサ

34 可変容積部

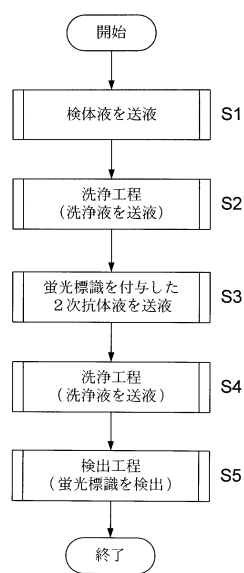
【図 1】



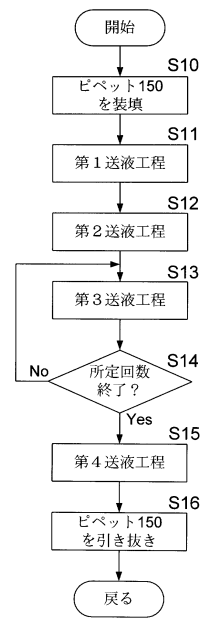
【図 2】



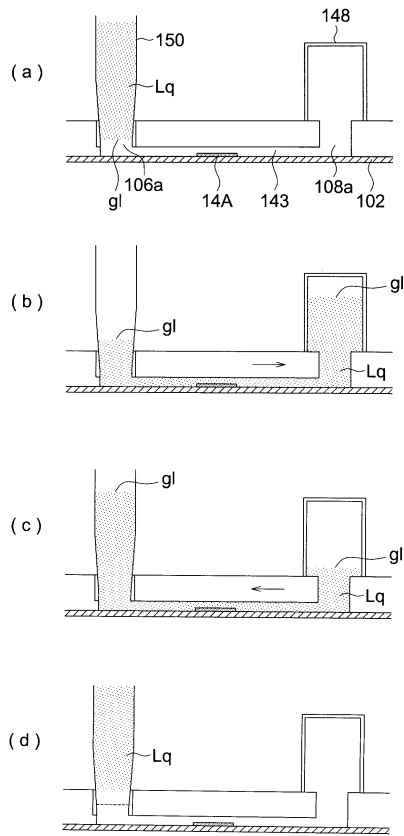
【図 3】



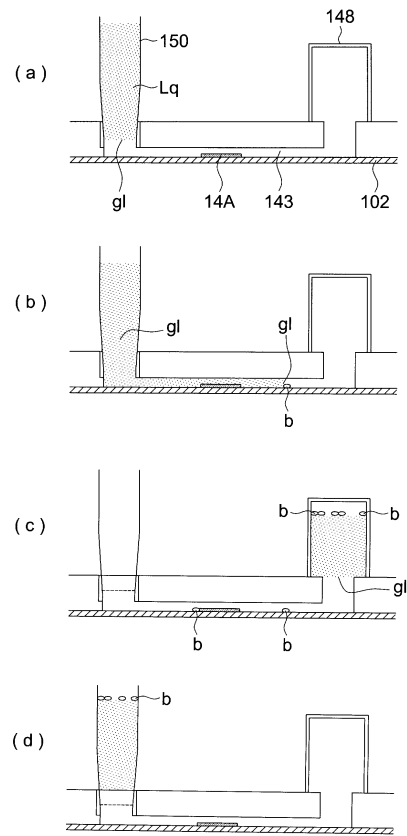
【図 4】



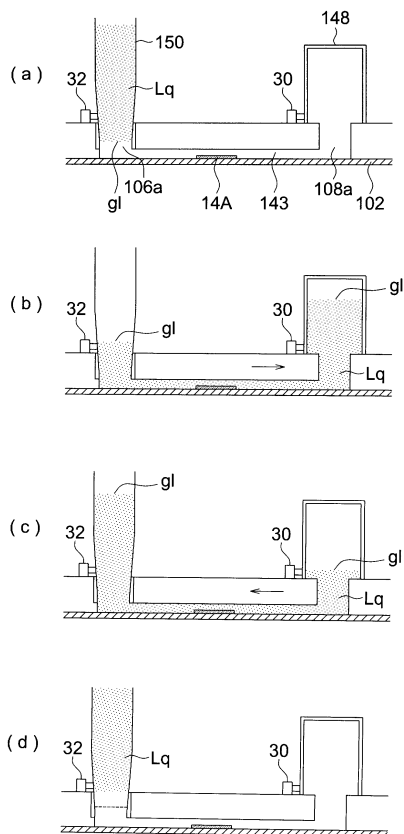
【図 5】



【図 6】

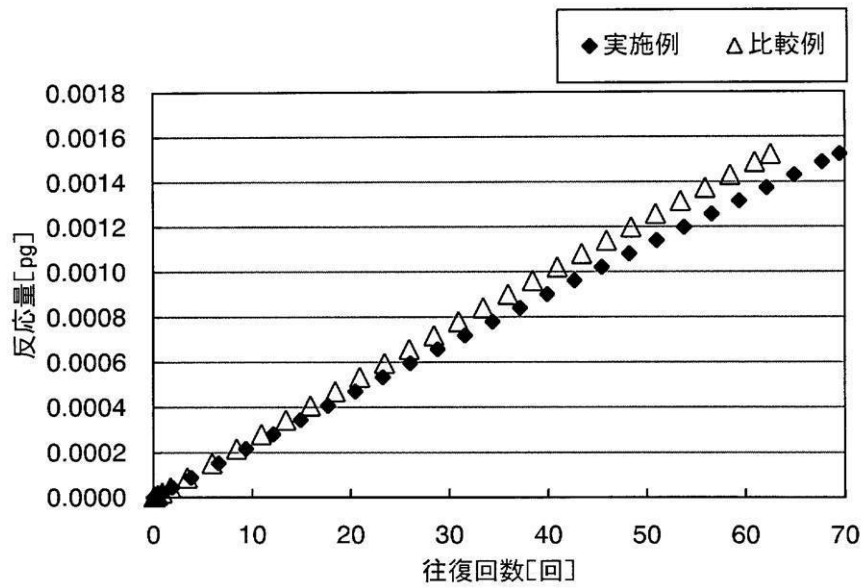


【図 12】

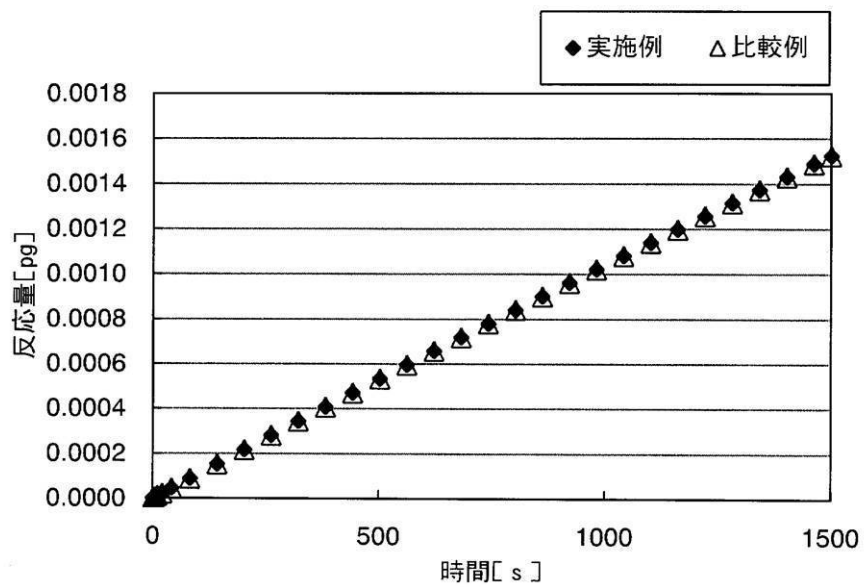


【図 7】

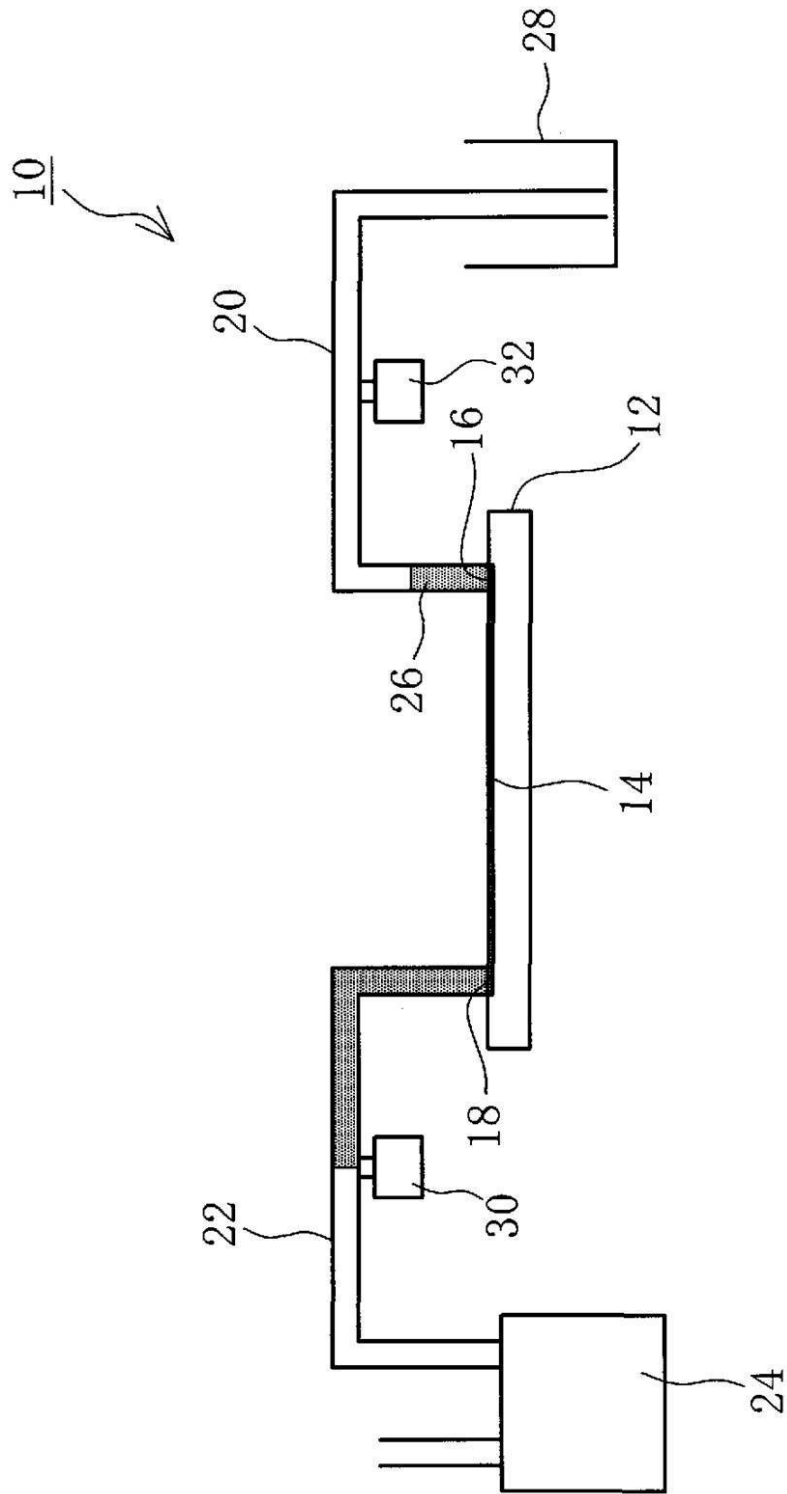
(a)



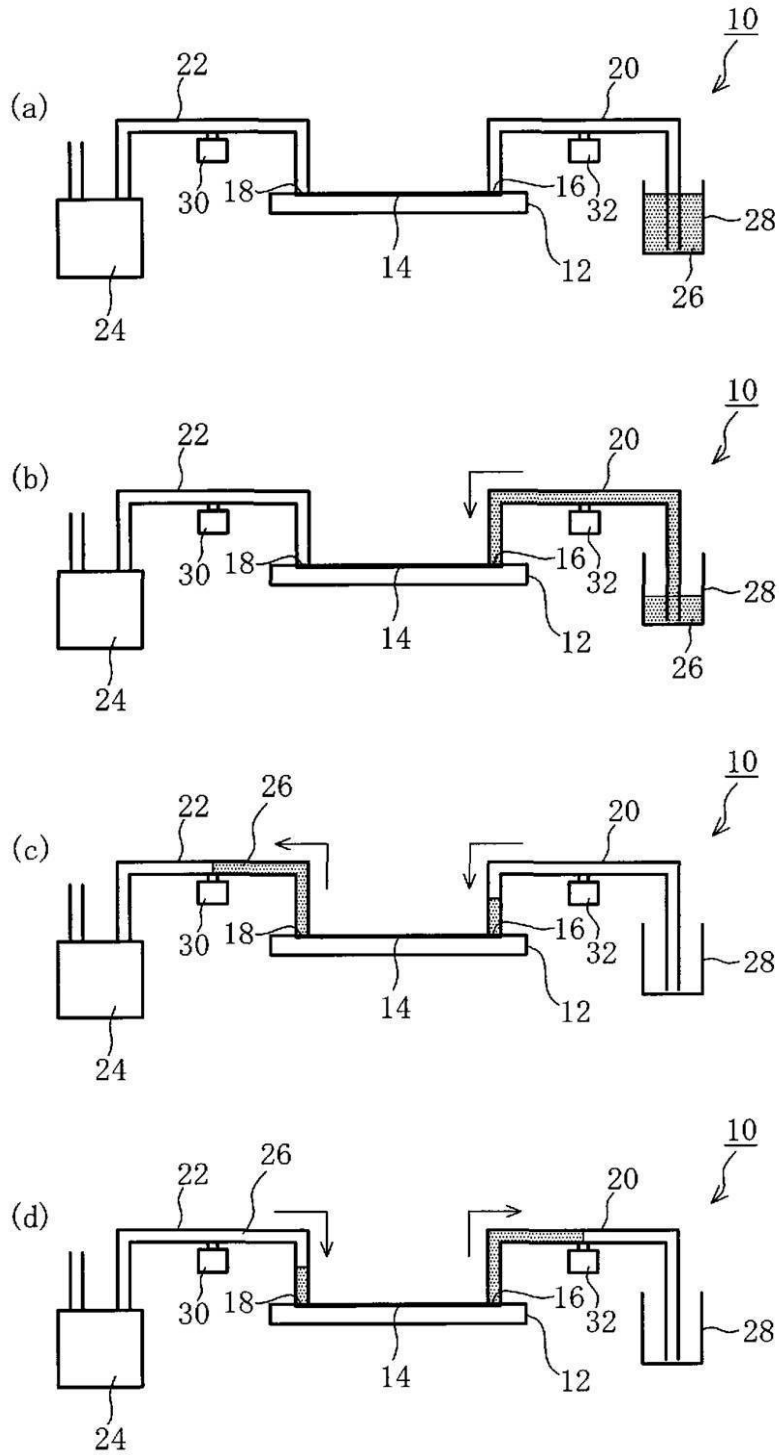
(b)



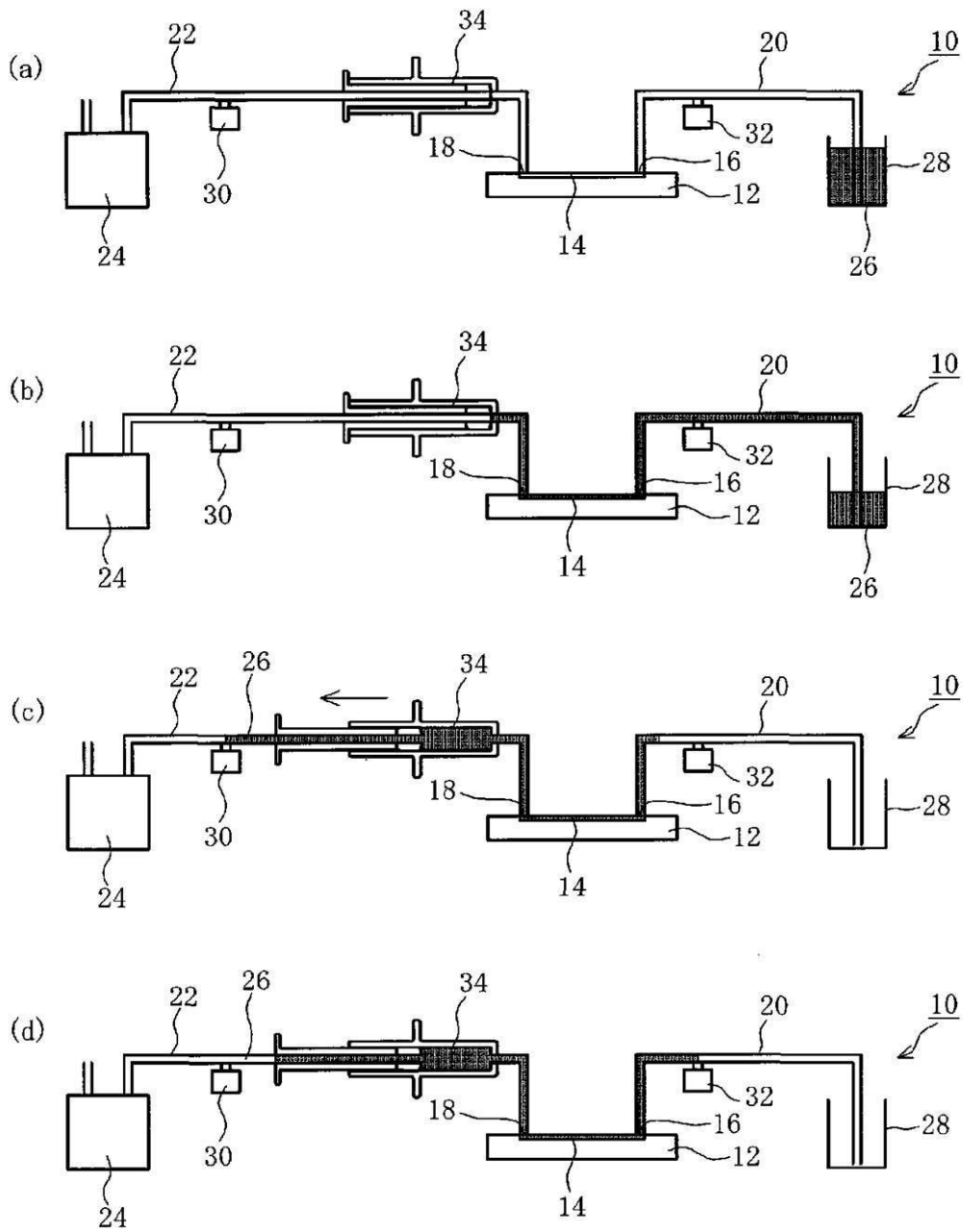
【図 8】



【図 9】



【図 11】



フロントページの続き

(72)発明者 日影 直樹

日本国東京都日野市さくら町1番地コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社内

審査官 福田 裕司

(56)参考文献 特開2009-122022(JP,A)

特開2007-038058(JP,A)

特開2006-322896(JP,A)

特開2009-119386(JP,A)

特開2006-090985(JP,A)

特開2007-051881(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/00~37/00

G01N 21/27