

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4148778号

(P4148778)

(45) 発行日 平成20年9月10日(2008.9.10)

(24) 登録日 平成20年7月4日(2008.7.4)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00
B 8 1 B 1/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1
F 1 6 J 15/10 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 2
GO 1 N 33/53 (2006.01)	B 8 1 B 1/00
GO 1 N 33/566 (2006.01)	F 1 6 J 15/10 H
請求項の数 23 (全 37 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2002-571216 (P2002-571216)	(73) 特許権者	503178392
(86) (22) 出願日	平成14年3月8日(2002.3.8)		バイオミクロ システムズ インコーポレ イティッド
(65) 公表番号	特表2004-533605 (P2004-533605A)		B i o M i c r o S y s t e m s , I n c .
(43) 公表日	平成16年11月4日(2004.11.4)		アメリカ合衆国ユタ州ソルトレーク市12 90西2320南スイートD
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/007113	(74) 代理人	100101823
(87) 国際公開番号	W02002/072264		弁理士 大前 要
(87) 国際公開日	平成14年9月19日(2002.9.19)	(74) 代理人	100110984
審査請求日	平成17年3月4日(2005.3.4)		弁理士 加藤 敬子
(31) 優先権主張番号	60/274,389	(72) 発明者	マイケル マクニリー
(32) 優先日	平成13年3月9日(2001.3.9)		アメリカ合衆国 ユタ州 サンディ パウ ダーケグドライブ 2159南
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/284,427		
(32) 優先日	平成13年4月17日(2001.4.17)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 アレイとのマイクロ流体的インターフェース機器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

a. 基板の第1の表面に適合するために変更されたインターフェース表面を有する主インターフェース層と、

b. 前記インターフェース表面に位置し、少なくとも1個の開口部が形成されているため、前記開口部がインターフェース流路の境界を定めるガスケットと、

c. 前記主インターフェース層に形成され、前記少なくとも1個の開口部に通じている入口流路と、

d. 前記主インターフェース層に形成され、前記少なくとも1個の開口部に通じている出口流路と、

e. 前記インターフェース表面に近接する前記主インターフェース層に形成された少なくとも一つの浮袋と、前記少なくとも一つの浮袋が、浮袋を膨張させると外側にゆがみ、浮袋を収縮すると内側にゆがむ柔軟性の下側表面を有し、前記浮袋は、前記主インターフェース層を通る少なくとも一つの空気流路に通じており、圧力源に接続されるように適合される

を含む第1の表面に固定化された生物学的サンプルを有する基板の表面にインターフェース接続されるための、インターフェース機器。

【請求項2】

前記ガスケットが、約20 μm と約30 μm との間の高さを有するインターフェース流路の境界を定める、請求項1のインターフェース機器。

【請求項 3】

前記ガasketが、約 23 μm と約 27 μm との間の高さを有するインターフェース流路の境界を定める、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 個の浮袋の前記柔軟性の下側表面が、前記主インターフェース層の下側表面に付着した柔軟性のダイアフラム層で構成される、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 個の浮袋の前記柔軟性の下側表面が、前記主インターフェース層の大部分を形成する固い材料の薄層で構成される、請求項 1 のインターフェース機器。

10

【請求項 6】

さらに、廃棄物リザーバが、前記少なくとも一つの出口流路と、流体が伝達している前記主インターフェース層内に構成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 7】

さらに、少なくとも 1 の混合回路と、分岐構造と、リザーバと、バルブと、あるいはストップジャンクションとを含むマイクロ流体回路が構成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 8】

前記マイクロ流体回路は、前記入口流路と少なくとも一つのインターフェース流路との間で、流体が伝達している、請求項 7 のインターフェース機器。

20

【請求項 9】

前記マイクロ流体回路は、前記少なくとも一つのインターフェース流路と出口流路との間で、流体が伝達している、請求項 7 のインターフェース機器。

【請求項 10】

前記マイクロ流体回路は、少なくとも 1 つのパッシブバルブで構成されている、請求項 7 のインターフェース機器。

【請求項 11】

前記少なくとも 1 つのインターフェース流路は、前記主インターフェース層の前記インターフェース表面内に形成されたインターフェースウェルまたは溝によって、少なくとも一部の境界が定められる、請求項 1 のインターフェース機器。

30

【請求項 12】

前記ガasketは、弾力性のシート材料から形成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 13】

前記ガasketは、前記弾力性材料を、前記インターフェース表面に直接適用することによって、形成される、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 14】

前記ガasketは、弾性材料で形成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 15】

前記ガasketは、成形的に変形可能な材料で形成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

40

【請求項 16】

前記ガasketは、粘着剤の材料で、形成されている、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 17】

前記粘着剤は、前記基板の前記第 1 の表面に可逆的に粘着するように適応される、請求項 16 のインターフェース機器。

【請求項 18】

前記インターフェース機器は、多重層で構築され、前記インターフェース機器は、さらに、前記多重層のうち少なくとも 2 つで形成されるマイクロ流体回路を構成する、請求項 1

50

のインターフェース機器。

【請求項 19】

前記基板が、マイクロアレイ用スライドである、請求項 1 のインターフェース機器。

【請求項 20】

a. 基板の第 1 の表面に適するために適応されたインターフェース表面を有する主インターフェース層と、

b. 前記インターフェース表面に位置し、多数の開口部が形成されているため、前記開口部がインターフェース流路の境界を定めるガasketと、

c. 前記主インターフェース層に形成され、前記各々の開口部に通じている少なくとも 1 つの入口流路と、

d. 前記主インターフェース層に形成され、前記各々の開口部に通じている少なくとも 1 つの出口流路と、

を含む、第 1 の表面に固定化された生物学的サンプルを有する基板の表面にインターフェース接続されるための、インターフェース機器であって、

前記インターフェース表面に近接する前記主インターフェース層に形成された少なくとも一つの浮袋と、前記少なくとも一つの浮袋が、浮袋を膨張させると外側にゆがみ、浮袋を収縮すると内側にゆがむ柔軟性の下側表面を有し、前記浮袋は、前記主インターフェース層を通る少なくとも一つの空気流路に通じており、圧力源に接続されるように適応すること、を特徴とするインターフェース機器。

【請求項 21】

a. 第 1 の表面に固定化された生物学的サンプルを有する基板と、

b. 生物学的サンプルを含む少なくとも一つのインターフェース流路を形成するために前記基板の前記第 1 の表面を封止するために適応されるインターフェース機器と、

を含み、

前記インターフェース機器は、

1) 堅い材料で形成され、前記基板の第 1 の表面に一致するよう適応されるインターフェース表面を有する主インターフェース層と、

2) 前記インターフェース表面に位置し、少なくとも 1 つの開口部が形成され、それにより、前記開口部がインターフェース流路またはチャンバーの境界を定めるガasketと、

3) 前記主インターフェース層を通り、少なくとも 1 つの開口部に通じている入口流路と、

4) 前記主インターフェース層を通り、少なくとも 1 つの開口部に通じている出口流路と、

を有する、固定化された生物学的サンプルを有する基板表面への流体の供給を制御されるために提供された反応機器であって、

さらに、前記インターフェース表面に近接する前記主インターフェース層中に形成された少なくとも一つの浮袋を含み、前記少なくとも一つの浮袋は、浮袋を膨張させると外側にゆがみ、浮袋を収縮すると内側にゆがむ柔軟性の下側表面を有し、前記浮袋は、前記主インターフェース層を通る少なくとも一つの空気流路に通じており、圧力源に接続されるように適応される、

ことを特徴とする反応機器。

【請求項 22】

前記少なくとも 1 個の浮袋の前記柔軟性の下側表面が、前記主インターフェース層の下側表面に付着した柔軟性のダイアフラム層で構成される、請求項 21 の反応機器。

【請求項 23】

前記少なくとも 1 個の浮袋の前記柔軟性の下側表面が、前記主インターフェース層の大部分を形成する固い材料の薄層で構成される、請求項 21 の反応機器。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

本発明は、一般に、生体分子を含む検出反応を行うための装置に関する。本発明は、特に、このような検出反応に用いられるマイクロアレイ用スライドを処理するための装置に関する。さらに具体的には、本発明は、本発明によるインターフェース機器とそれぞれを組み合わせて用いられる、多数のマイクロアレイ用スライドを同時に処理する機器だけでなく、スライド表面の選択された領域に、流体を制御して供給するためにマイクロアレイ用スライドとインターフェースで連結するための新しい装置に関する。

【背景技術】

【0002】

サンプル中の所定の化合物を検出するために、種々の生物化学分析が、開発されている。生物医学分野においては、例えば、様々な病状を診断し、患者が病気にかかりやすい素因を決定し、DNA指紋法を行うために、特異的なヌクレオチド配列、蛋白質、あるいはペプチドの存在を検出する方法が、利用されている。

10

【0003】

一般に、生物化学分析は、未知のサンプルを、1またはそれ以上の既知の反応物質にさらし、反応の進行を観察する、あるいは反応の結果を測定することに基づく。信頼性を改善するためには、単一のサンプルを多数の反応物質にさらすこと、単一のサンプルの多数の希釈物を1またはそれ以上の反応物質と反応させること、多数のサンプルを単一の反応物質にさらすこと、あるいは特定のサンプルに対する特別な分析を何度も繰り返して行うことが望ましい。現在、このタイプの生物化学複合分析を、同時に、早く、手軽に行うための高速処理方法の開発に高い関心がある。

20

【0004】

最近開発された複合化学反応を同時に行う一つの方法は、ガラス製の顕微鏡用スライドのような平面基板上に、通常は2次元グリッドパターンで多数のスポットのマイクロアレイを形成し、多数のスポットに同時に接触するように、液体試薬と反応物質とをアプライする。結合した反応物質分子の液体試薬または反応物質とへの暴露、洗浄、インキュベーションステップを含む様々な反応ステップが、マイクロアレイ中で結合した分子と行われるだろう。スライド上に固定された物質あるいは液体サンプル中の物質のいずれかを特徴付けるために、反応の進行と結果（あるいは、実際には反応ではない結合分子と試薬との会合）が、マイクロアレイ中の各々のスポットで、観察される。既知の反応物質を固定し、未知の液体サンプル（例えば、“プローブ”溶液）を固定された反応物質にさらし、サンプルを特徴付けるために、サンプルと、様々な反応物質との間の反応を観察するのが典型的ではあるが、一つあるいはそれ以上の未知のサンプルを基板上に固定し、それらを1またはそれ以上の既知の反応物質にさらすことも可能である。

30

【0005】

マイクロアレイは、しばしばDNAサンプルの分析に用いられるが、他の種類の患者サンプルの診断学的検査に用いることもできる。マイクロアレイのスポットは、DNA、RNA、蛋白質などの種々の巨大生体分子や、薬剤、補因子、信号分子、ペプチド、オリゴヌクレオチドなどのより小さい分子などで、形成される。培養細胞もまた、マイクロアレイ上で成長できる。一例として、もしも、患者サンプル中に、特別なDNA配列の存在を検出することを望むなら、そのサンプルは、当該の配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドで形成されたスポットのマイクロアレイにさらされる。もし、その当該の配列のDNAが、患者サンプル中に存在すれば、それは結合したオリゴヌクレオチドとハイブリダイズされる。特有なスポットにおけるハイブリダイゼーションの発生は、サンプル中にそのスポットと結合する配列が存在することを示す。ハイブリダイゼーションは、種々の方法で検出され、それらの方法の多くは、サンプル中の当該の配列の存在だけでなく、その量をも示す。一般に用いられている方法の一つは、ハイブリダイゼーションが起こったスポットで、蛍光が検出されるように、サンプルを蛍光色素でラベルすることを伴う。種々の型のスライド読取機が、マイクロアレイ用スライドを読み取るために、商業的に利用されている。

40

50

【0006】

マイクロアレイは、多重の検出反応を同時に実行することによって、サンプルの複雑な分析を遂行するための強力な可能性を与える。しかし、現在のマイクロアレイの限界は、高い質の結果を確実に得るために、スライドを処理するための時間と注意が必要とされることにある。単一のマイクロアレイ用スライドは高価で、反応に用いられるサンプルのわずかな量だけしか、利用されないの、高品質な処理を行うことは、一定してよい結果を得るためにきわめて重要であることが、特に強調される。

【0007】

マイクロアレイを処理する手動方法と自動方法のいずれもが、開発されている。しかし、現在までに、完全に満足できる方法はない。手動で、マイクロアレイを処理するためには、特定の反応ステップで、適当な試薬あるいは反応物質溶液が、マイクロアレイ用スライドにアプライされ、溶液を薄層に広がるように、アプライされたカバースリップで、マイクロアレイ全体を覆い、蒸発を防止する。洗浄ステップは、典型的には、洗浄液の入った広口ビンにスライドを入れることによって、行う。各々の処理ステップは、手で行われ、多くの人間の努力が必要とされる。さらに、その処理の成功は、大部分技能者の技能に依存する。一人の技能者は、一般に一日にせいぜい10～15枚のスライドだけを処理することしかできない。手動処理技術の付加的な障害は、サンプルあるいは試薬の蒸発、流失、または漏出の高い可能性のある開放系が、本質的に用いられることにある。もし、マイクロアレイ用スライドが乾ききることを放置すると、データの質は、危うくなるであろう。一部のサンプルまたは試薬は有害であり、さらに遺伝物質の流失や漏出は、たとえ少量であっても、実験室内で処理されている他のサンプルを汚染し、誤った結果に導くので、流失や漏出は、重大な問題になりうる。

【0008】

手動スライド処理の限界を克服するために、種々の方法が開発されている。これらの方法は、マイクロアレイ用スライドへの溶液の適用を簡略化し、溶液の蒸発や流失を減少するように設計された単純スライド処理チャンバーから、多数のスライドを同時に処理できる巨大で高価な機械まで、及ぶ。

【0009】

Loefflerらは、マイクロアレイ用スライドを処理するために設計されたスライド処理チャンバーについて述べている（PCT公開公報 WO00/63670、日付10/26/00）。Freeman（US特許5,958,760、9/28/99発行）、Stapletonら（US特許5,922,604、7/13/99発行）、Stevensら（US特許5,605,813、2/25/97発行）およびRichardson（US特許6,052,224、4/18/00発行）は、いずれもマイクロアレイ処理に用いることを明確に開示しているわけではないが、個々のスライド処理に関する技術の一般的な状態を説明するために役立つスライド処理チャンバーが開示されている。

【0010】

自動方法で、同時に複数のスライドを処理できる機器が、Custance（US特許6,238,910、5/29/01発行）およびJuncosaら（US特許6,225,109、2001年5月1日発行）によって記述されている。

【0011】

上記した全ての特許および出願は、ここに参考文献として組み込まれる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

マイクロアレイ用スライドの自動処理機器は、多くの利益を与えるが、多数のスライドの処理を必要としない実験室にとっては、ひどく高価である。さらに、自動化によって、再現性の改善がもたらされたとしても、この型の商業上入手可能な装置から、得られる結果は、しばしば、特に、マイクロアレイ用スライドのコストと、サンプルの利用可能性が頻繁に制限されることにより、高い質で、一貫した基準が望ましいという要求に沿わない

。

【0013】

マイクロアレイの分野における関心の増加と、開発努力により、スライド上にマイクロアレイを製造する装置が開発され、この装置は、より高いスポット密度で、より小さい個々のスポットサイズを有するアレイを形成することができる。同時に、マイクロアレイと共に用いられる検出装置は、高密度で、より小さいスポットの検出が可能となっている。しかし、試験の中には、スライド上に形成しうる総数よりも少ないスポット数で、もっとも良く行えるものもある。本質的に、一つの大きな高密度アレイを多数のより小さなアレイに分割して、一つのスライド上で、いくつかのこのような試験を行うことによって、高いスポット密度と高い検出密度能力のものを開発することが、望ましい。それゆえ、一つのマイクロアレイの一部に選択的な接近を許すマイクロアレイへのインターフェース接続方法を行うことは、有効である。

10

【0014】

流失や漏出を排除し、あるいは減らし、信頼性があり、再現性のある結果を提供し、わずかのサンプルと試薬とを必要とするだけでなく、少数のスライドの手動処理に便利に用いることができ、多数のスライドを扱うための自動スライド処理にも適用できるマイクロアレイ用スライドへのインターフェース接続方法の要求が依然存在する。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明は、マイクロアレイ用インターフェース機器と、多数のマイクロアレイ用スライドを保持でき、それらに連結しているインターフェース機器によって、マイクロアレイ用スライドにインターフェース接続し、マイクロアレイ用スライドを処理する間に種々の反応条件を制御する機器とから、構成される。その新規なマイクロアレイ用インターフェース機器は、DNA、RNA、オリゴヌクレオチド、蛋白質、あるいは他の生体分子からなるスポットのマイクロアレイを保持する基板に接続させることができる。特に、そのアレイ用インターフェース機器は、ガラス製の顕微鏡用スライドや類似の平面基板にインターフェース接続するように、適応する。インターフェース機器は、サンプル、試薬、リンス剤などを、制御された方法で、アレイの選択された部位への供給を行う。本発明の別の態様では、インターフェース機器によってもたらされるアレイ基板への選択的な接近が、基板上でのスポットのマイクロアレイの形成に用いられる。その機器は、特にマイクロアレイを搭載するスライドとのインターフェース接続を行うために設計されているが、その機器は、種々の他の型のサンプルを搭載する流体インターフェースを提供し、機器の適用は、マイクロアレイ用スライドへの使用に制限されない。

20

30

【0016】

そのインターフェース機器は、マイクロアレイ用基板の表面に対して封止する。インターフェース機器と基板との間に位置する封止層あるいはガスケットは、インターフェース機器と基板との間を、一様に、漏出しない封止部を提供する。クランプ機構が、インターフェース機器と基板とをそれぞれ固定するために用いられてもよい。インターフェース機器の表面の窪みや溝は、マイクロアレイ中のスポットにと一列にそろえられるので、インターフェース機器が、マイクロアレイ用基板に封入されたときに、その窪みや溝は、1またはそれ以上の反応チャンバー、マイクロアレイ中のスポットを含むチャンバーあるいは流路を形成する。あるいはまた、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルは、封止層あるいはガスケット層の中の開口部により、簡単に規定される。インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルは、個々のスポット、例えばアレイ中のスポットの列または塊などのスポットの組分け、あるいはアレイ中のすべてのスポットに接近する。インターフェース流路あるいはウェルの大きさや形は、最小量の泡を発生する一定の充填を提供するように選択される。インターフェース流路の容量は、用いられるべきサンプルや試薬の量を減少するように、低く保たれている。

40

【0017】

インターフェース機器は、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルに通じ

50

、流体が、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルに含まれるスポットと接触するために、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルに流出入する1またはそれ以上の入口と、1またはそれ以上の出口とを含む。本発明は、例えばピペットまたはシリンジによる流体の手動の注入や除去、あるいはポンプ機器などの機器に繋がれた管による流体の自動的な注入や除去に適した入口と出口とを提供する。

【0018】

本インターフェース機器は、インターフェース機器の入口と、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルとの間のアレイ前流体回路と、インターフェース機器の出口と、インターフェース流路、チャンバー、あるいはウェルとの間のアレイ後流体回路とを含んでもよい。マイクロ流体回路は、いくつかのインターフェース流路、チャンバー、あるいはウェル間を直列に連結することによって、提供されてもよい。流体回路には、液体試薬あるいは反応物質の取り扱いステップ、または処理ステップで、種々の流体制御を行うために用いられるバルブ、リザーバ、流体の流れの混合あるいは分割機構、ストップジャンクション、空気吸い込み口、および空気孔などの種々のマイクロ流体回路要素を含む。あるいは、またはさらに、アレイ前またはアレイ後処理は、インターフェース機器に接続された1またはそれ以上の分離モジュールによっても達成される。反応物質は、インターフェース機器のマイクロ流体回路内、あるいは前処理または後処理モジュールに存在するので、反応または処理ステップは、マイクロアレイ用スライド自体の上だけでなく、これらの構造の中でも行われる。例えば、アレイインターフェースおよび前処理または後処理モジュールは、マイクロアレイ用スライドの処理に用いられるラベリング、プレハイブリダイゼーション、およびハイブリダイゼーションステップを行うことを設定されていてもよい。

10

20

【0019】

インターフェース機器は、機器の中を流体が通過した後に、余分の流体を収集し、貯蔵することができる。この機器の好ましい態様では、余分の流体は、インターフェース機器の使い捨て部分に収容される。

【0020】

インターフェース機器は、システム内の流体の動きと、その中で起こる反応の進行をモニターするための電極あるいは他のセンサーを含んでもよい。電極は、機器内の溶液中の分子に動電学的な動きを生じさせるために、機器内にも含められていてもよい。加熱エレメントまたは混合機構は、インターフェース機器のいくつかの実施形態に含められる。

30

【0021】

インターフェース機器は、少量の流体を処理するためのマイクロメータ単位の構造を加工することが有効な集積回路と、マイクロ電気機械システム(MEMS)と、マイクロ流体システム産業で、用いられる技術に類似するマイクロ加工あるいは他の技術によって、構築される。

【0022】

本発明の好ましい態様では、インターフェース機器と、スライドとは、スライドとインターフェース機器とを支え、安定化し、スライド処理の種々のパラメータを制御し、多数の補助機能を行う基部に置かれている。本発明の最も好ましい態様では、その基部は、複数のスライドを同時に処理する装置の一部である。スライドとインターフェース機器とをクランプする機構は、その基部に組み込まれていてもよい。基部は、スライドとインターフェース機器との間の封止の外部を取り囲む湿潤性チャンバーを含む。加熱又は冷却素子は、反応が種々の温度で行えるように、基部又は機器内に備えられている。基部又は機器は、化学反応を進めるために、インターフェース流路、あるいは可能であればインターフェース機器の他の部位内に、流体の混合又は攪拌機構を含んでもよい。本発明の一部の態様では、その機器は、自動スライド処理システムにおいて、同時に処理するために、多数のスライドを支持し、固定することができる。その機器は、本発明の機器によって実行される制御、加熱、冷却、その他の機能のために、マイクロプロセッサ、メモリ、およ

40

50

び他の電子機器を含んでいてもよい。本発明の一部の態様では、基部は、基部によって行われる加熱又は混合機能を制御する外部制御モジュールから、離れて形成されている。

【0023】

本発明の目的は、マイクロアレイ用スライドの1又はそれ以上の選択された領域に、制御された流体の供給を提供することにある。これは、適切なインターフェース流路またはウェルの大きさと形とを、選択することによって、達成される。マイクロアレイのいくつかの異なる領域に流体を選択的に供給することにより、多数の異なるサンプルの平行した処理、あるいは同一サンプルの多数の繰り返し処理が同時に実行される複合反応を行うことができる。

【0024】

本発明の目的は、全ての処理ステップで、極めて少量のサンプルと試薬とを用いて、マイクロアレイ用スライドを処理するための方法とシステムとを提供することにある。これは、インターフェース機器内にマイクロ流体的な前処理および後処理回路と、全ての処理ステップが、マイクロ量の流体で行われる附属モジュールとを含むことによって、達成される。試薬とサンプルとの極少量の使用は、コスト効率がよく、サンプルの使用量が制限されている場合に有用なシステムを与える。

【0025】

本発明の更なる目的は、同時に少量のサンプルと試薬だけが必要とされている間に、マイクロアレイ表面の流体の混合を行うマイクロアレイ処理方法とシステムとを提供する。これは、新規な気体混合システムにより動く柔軟性の壁部を有する反応チャンバーを用いることによって、達成される。

【0026】

本発明の目的は、泡の発生無しに、マイクロアレイ用スライド上に、インターフェースチャンバーを平坦に充填するための機器を提供する。これは、チャンバーの大きさと形とを適切に選択することによって達成される。たとえば、泡なし充填が、マイクロアレイへの反応物質と試薬の供給がより制限される結果となっても、結果的に、処理済のマイクロアレイからより良い結果が得られる。

【0027】

本発明の目的は、サンプルの洩れや喪失なしに、マイクロアレイ用スライドを可逆的に封止するインターフェース機器を提供することにある。可逆的で、漏れのない封止は、インターフェース機器とスライドとの間に適切に選択されたガスケットまたはOリング器具を用いることによって達成される。良い封止体は、マイクロアレイの処理をよりうまく行い、試薬や反応物質の洩れによる実験空間の汚染に伴う問題を小さくする。

【0028】

本発明の目的は、前処理および後処理ステップを行うことができる、マイクロアレイ用スライドにインターフェース接続するマイクロアレイインターフェース機器を提供することにある。これは、インターフェース機器内に、マイクロ流体回路が設けられ、処理ステップに要求されるインターフェース機器と流体が通じる付加的な処理前あるいは後処理モジュールが取り付けられていることによって、達成される。全ての処理段階で、本発明のインターフェース機器を用いて行うことにより、スライド処理の簡便性と効率が大きく高められる。

【0029】

本発明の目的は、マイクロアレイ処理の結果生じた廃棄流体の捕獲と封じ込めを提供することにある。これは、インターフェース流路あるいはウェルの出口に連結されたインターフェース機器内に廃棄物リザーバを設けることによって、達成される。インターフェース機器内に廃棄物を蓄えることにより、廃棄物の収集と廃棄が極めて簡便化され、マイクロアレイ処理の安全性と利便性が改善される。

【0030】

本発明の目的は、信頼性のある再生可能な方法で、個々のマイクロアレイ用スライドを手動で処理を行うシステムを提供することにある。これは、手動で供給された試薬と反応

10

20

30

40

50

性物質とを受け取り、それらを制御された方法で、マイクロアレイ用スライドの表面に提供するインターフェース機器を用いることによって、達成される。

【0031】

本発明の目的は、自動化された方法で、多数のマイクロアレイ用スライドを同時に処理するシステムを提供することにある。この目的は、望ましい数のスライドを収容するためにマイクロアレイ用スライドの処理システムを多重化することによって、達成される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0032】

図1は、本発明の目下好ましい実施形態の一例を示す。本発明は、そのそれぞれにマイクロアレイ用インターフェース機器と組み合わされたマイクロアレイ用スライドからなる反応機器604を支持するために適合する多数の張間602を含む装置600を含む。張間602は、装置600のウェル608にはめ込まれている加熱ブロック606上の基部603に位置する。基部603は、加熱ブロック606の一部として形成される、あるいは別個に形成され、加熱ブロック606上に搭載される。いずれの場合でも、基部603と張間602とは、加熱ブロック606と熱伝達されている。反応機器604は、マイクロアレイ処理の間、加熱ブロック606によって、加熱されている。各々の反応機器604は、空の張間602に見えるエアコネクタ609と610とに結ばれている。エアコネクタ609と610とは、装置600の動力源に接続されており、反応機器604中で流体の混合に用いられる。図1に示される本発明の実施形態では、サンプル、試薬、および洗浄液は、入口孔612を通して、各々の反応機器へ導入され、空気あるいは液体は、出口孔614を通して、反応機器を出る。入口孔612と出口孔614とは、インターフェース機器616中に形成され、マイクロアレイスライド用ガラスの表面上の反応チャンバーと流体的に接続する。コントロールパネル618は、ユーザが、例えば加熱ブロック温度や混合パラメータなどの装置600によって行われる種々の機能を制御することを可能にする。この特別な例では、装置600は、試験管やエッペンドルフ用チューブなどを加熱するために用いられる型の市販の実験用ヒータ620と、ポンプユニット620から構成されているので、機器の一部であるポンプユニット621と加熱ブロック606とは、実験用ヒータ620とは別個に製造されることができ。ポンプユニット620は、多岐管622によって、各々の反応機器のエアラインコネクタ609と610に、空気を交互に出し入れする。ポンプと加熱ユニットとが同一の装置容器中に作られている装置によっても、同様の機能が得られる。光は、マイクロアレイ処理の間に一般に用いられる色素を退色させるので、装置600には、マイクロアレイ用スライドが光にさらされることを防止するために、不透明な蓋624を含んでいてもよい。蓋624は、熱の絶縁体をも提供する。

【0033】

図2は、反応機器604の分解立体図である。図1との関連で述べたように、反応機器604は、マイクロアレイ用スライド150に封止されているインターフェース機器616を含む。この例では、インターフェース機器616は、主インターフェース層617とガスケット404とから構成されている。反応チャンバーは、スライド150の上側表面と、主インターフェース層617の下側表面との間に形成され、反応チャンバーの境界は、ガスケット404中の開口部406で定義される。流体は、入口612を通過して、反応チャンバーへ注入される。流体が注入されると、反応チャンバー内に既に存在している空気あるいは流体は、出口614を通過して、流出する。反応チャンバーは、マイクロアレイ154中のスライドにスポットされた物質と流体の相互作用を許す。浮袋628と629とは、主インターフェース層617の内部に形成され、それぞれが、空気流路634と635を介してコネクタ631と632とに接続されている。コネクタ631と632とは、反応機器604が、装置600の空気路コネクタ609と610と接続することを可能にする。浮袋628と629の下表面は、薄くて、柔軟性があるので、浮袋628と629の圧力が、増加するまたは減少するにしたがって、浮袋628と629は、下向きあるいは上向きにゆがむ。主インターフェース層617の下側の表面は、主インターフェース

10

20

30

40

50

層 6 1 7 の大部分を形成するより堅い材料に付着している、薄くて、柔軟性がある材料の膜で形成され、あるいは主インターフェース層 6 1 7 の下側の表面は、薄さによって与えられた柔軟性を持つ主インターフェース層 6 1 7 の残りの材料と同一の材料で形成されてもよい。この場合に、主インターフェース層 6 1 7 の内部に隙間のある構造を形成するために、主インターフェース層 6 1 7 は、種々の標準的な製造方法により、お互いがくっついた 1 またはそれ以上の層で形成されることができる。インターフェース機器 6 1 6 と、スライド 1 5 0 とは、スライド 1 5 0 を基部 4 0 2 中の凹部 4 0 0 に置き、（底面に取り付けられたガスケット 4 0 4 を含む）インターフェース機器 6 0 6 をスライド 1 5 0 上に置き、例えば、ピン 4 2 2 と、4 2 3 上を内側に枢軸回転する C ー溝クランプ 4 1 8 と、4 2 0 のようなクランプ機構によって、全てをお互いに固定することによって、固定される。

10

【0 0 3 4】

図 3 は、反応機器 6 0 4 の断面図を示す。ガスケット 4 0 4 は、反応チャンバー 6 4 0 を形成するために、主インターフェース層 6 1 7 をマイクロアレイ用スライド 1 5 0 に封止する。流体は、入口 6 1 2 を通って、反応チャンバー 6 4 0 に入り、流体が入るに従って、空気が、出口 6 1 4 を通って、流出する。浮袋 6 2 8 と 6 2 9 とは、反応チャンバー 6 4 0 の両端上に位置してはいるが、反応チャンバー 6 4 0 とは通じていない。反応チャンバー 6 4 0 中で、流体を攪拌するためには、一つの浮袋（例えば、浮袋 6 2 8）は、下側表面 6 4 3 を反応チャンバー 6 4 0 の方へ下方にゆがめるために加圧させ、他方の浮袋（例えば、浮袋 6 2 9）は、下側表面 6 4 2 を上方にゆがめるために減圧させる。相反なやり方で、ふたつの浮袋を交互に膨張し、収縮することによって、混合を起こすために十分な流体の動きが、反応チャンバー 6 4 0 内で、発生する。陽圧と陰圧とは、空気流路 6 3 4 を介して浮袋 6 2 8 に、空気流路 6 3 5 を介して浮袋 6 2 9 に与えられる（図示せず）。反応チャンバー 6 4 0 の高さは、ガスケット 4 0 4 の厚さによって、規定される。本発明の好ましい形態では、ガスケット 4 0 4 は、少なくとも約 $15\ \mu\text{m}$ 、多くても約 $300\ \mu\text{m}$ の厚さであり、より好ましくは少なくとも約 $20\ \mu\text{m}$ 、多くても約 $30\ \mu\text{m}$ 、さらに好ましくは少なくとも約 $23\ \mu\text{m}$ 、多くても約 $27\ \mu\text{m}$ 、最も好ましくは約 $25\ \mu\text{m}$ である。ガスケットの厚さが減少するにつれて、スライド表面とインターフェース機器の下方表面の荒れ、およびガスケットの不均一性が問題となる。そのうえ、ガスケットの厚さがさらに減少すると、チャンバーは、満たすことが困難となる。それゆえ、反応チャンバーを小さい容積にすることが好ましいが、もし、高さが一定の高さ以下になると、チャンバーの高さを減少することによる容積の減少が問題を起こすことは明らかである。チャンバーの容積は、ガスケット 4 0 4 の開口部 4 0 6 の大きさを変えることによって減少できる。もし、ガスケット 4 0 4 の開口部 4 0 6 が、市販のスポンティング装置により典型的に形成される最大のマイクロアレイの周囲に適合するのであれば、多くとも $36\ \mu\text{l}$ から $54\ \mu\text{l}$ の、より好ましくは $41\ \mu\text{l}$ から $49\ \mu\text{l}$ の、最も好ましくは $45\ \mu\text{l}$ の容積の反応チャンバーが得られる。もし、反応チャンバー 6 0 4 が、より小さなマイクロアレイ（あるいは部分的なマイクロアレイ）を収容することを許容するのであれば、開口部 4 0 6 は、チャンバー容積の減少を伴って、かなり小さくすることができる。

20

30

【0 0 3 5】

図 2 と 3 とは、マイクロアレイ用スライドの表面に単一の反応チャンバーを形成するインターフェース機器を示す。しかし、本発明によれば、種々の形体を有する反応チャンバー、流路、およびウェルが、マイクロアレイ用スライド上に形成されることができる。以下の例は、インターフェース機器によって形成される反応チャンバー、流路、およびウェルの重要な特徴をより明確に説明する。

40

【0 0 3 6】

図 4 は、お互いが封止される前のマイクロアレイ用スライド 1 とインターフェース機器 3 とを示す。マイクロアレイ用スライド 1 は、平面基板 9 の表面 7 のスポットアレイ 6 に配列された多数のスポット 5 を含む。スポット 5 は、表面 7 に固定された生体分子、または他の反応材料で形成される。平面基板は、通常ガラス製の顕微鏡用スライドが用いられ

50

るが、他の材料で作られた基板や他の大きさのものをを用いてもよい。本発明は、特別な基板に限定するものではないが、インターフェース機器が、用いられるどのような基板の表面に対して封止されることが、必要とされる。スポットアレイ6は、ピンスポット法、インクジェット技術、あるいは基板上での分子の選択成長によるなどを含む種々の方法によって、形成される。

【0037】

図4に示すようにスポットアレイ6中のスポットは、縦列11と横列12とに規則的に間を開けて、配列されている。この例では、簡単のため、各々が10個のスポットを含む4個の縦列が用いられている。実際には、マイクロアレイは、通常もっとスポットの数が多いが、本発明は、スポットの特定の数に限定されるものではなく、スポットの特定の配列に限定されるものではない。特定のスポットを参照するためには、横列と縦列との配列が容易で、簡便なため、アレイのパターンが用いられているが、本発明では、基板の大きさと、検出またはモニターステップの間に個々のスポットを視覚化するために必要とされる最小限のスペースという限定があるのみで、アレイ、あるいは1個から、非常に多数のスポットまでを、どこにでも含む他のパターンのスポットとインターフェース接続するために使用されることができる。さらに、インターフェース機器3は、生体分子あるいは反応物質が、スポットに局在しているのではなく、他の組分けに配列するまたは基板9の表面7にかなり一様に分配された基板9に用いられることができる。

【0038】

一定の使用では、インターフェース機器を、マイクロアレイ用スライド上に1またはそれ以上の、全部のスポットのマイクロアレイに接近するために用いることが好ましい。図25および27に示すように、マイクロアレイ用スライド上のスポットのアレイ154は、マイクロアレイ用スライド150のインターフェースと主インターフェース層144とで、形成された1または数個の完全アレイ反応チャンバー230によって、接近されている。反応チャンバー230の形と高さは、ガスケット146によって規定される、あるいは反応チャンバーは、主インターフェース層の最下部表面にまでも、拡張することができる。流体が、反応チャンバーに導入されるに従って発生する、泡を最小にするために、図26に示すように、反応チャンバーが段階的断面を有することが好ましい。泡の形成なしに、滑らかで、均一で、充填された反応チャンバーは、流体の入口で、比較的狭く、反応チャンバー230の全幅に向かって、徐々に外側に広がることにより、得られる。同様に、反応チャンバー239は、出口で徐々に狭くなる。もし、疎水性の材料が、マイクロアレイ用スライド150と、主インターフェース層144に用いられ、流体が、反応チャンバー230のより大きな端の入口から導入されれば、流体は、ライン231と232との間の反応チャンバー239のわずかに浅い領域に入る前に、入口とライン230の間の全体領域に充填されるように広がる傾向がある。同様に、ライン231と232との間の領域は、ライン232と233との間のさらに狭い領域に入る前に、充填される傾向がある。このことは、泡の形成につながる不規則な充填パターンを減少させる。もし、親水性の材料を用い、同様の段差のある反応チャンバー構造が用いられるが、親水性の材料であるため、流体が反応チャンバーの狭い端で導入されれば、より強い毛管力により、より狭い領域が、最初に充填されるだろう。段差があるよりもむしろ徐々に傾斜する側面の反応チャンバーは、実質上同じ態様で、機能する。

【0039】

マイクロアレイ用スライドの大部分に接近するためのインターフェース機器の他の例が、図30に示される。本発明のこの形態では、マイクロアレイ用スライド150は、基部402の凹部400にはめ込まれ、ガスケット404は、開口部406がマイクロアレイ154を含む反応チャンバーを形成するように、マイクロアレイ用スライド150上に好ましく置かれており、インターフェース機器408は、ガスケット404上に位置するので、入口流路410と出口流路412とは、インターフェース機器408とマイクロアレイ用スライド150との間に形成され、ガスケット404中の開口部によって仕切られた反応チャンバー413と通じている。ピン422と423とによって、基部402上に枢

軸回転可能に搭載されている枢軸回転C-溝クランプ部材418と420とは、基部402と、マイクロアレイ用スライド150と、ガスケット404と、インターフェース機器408によって形成される“サンドイッチ”の端の上に滑り込むために内側に開閉する。クランプ部材418と420とは、C-溝の断面に線状であり、金属、プラスチック、その他の堅い材料で、形成されることができる。もし、適正に選択されたガスケット材料が用いられれば、マイクロアレイ用スライド150と、ガスケット404と、インターフェース機器408の良好な封止が、大きな圧力をかけることなしに、得られる。我々は、効果的な封止が、ガスケットを、ブタジエン、低分子量ポリエチレンとパラフィン蠟、およびアメリカンキャンカンパニーによって販売されているパラフィルムM^TMから構成される柔軟性のある熱可塑性フィルムで形成することで得られることを見出した。他の適した代替できるガスケット材料は、MJリサーチインク、ウォルザム、MAにより販売されているワックスシート材料のMJフィルムTMである。これらの材料は、圧縮される場合に、すなわち弾性というよりむしろ本質的に可塑性の変形を被る。ひとたび、ガスケットが、クランプ部材418と420によって、圧力が掛けられることによる変形（圧縮）されると、マイクロアレイ用スライド150と、ガスケット404と、インターフェース機器408とのシステムは、かなりの圧力下ではないが、封止され、一つにまとまる。ガスケット404は、シリコンゴムのような、弾性材料で形成されていてもよいし、分離した構成部材で、形成されていてもよいし、あるいはスクリーン印刷、プリント印刷などによって、インターフェース機器408の底面に直接適用されていてもよい。

10

【0040】

20

図25～27に示される本発明の実施形態に関連して、先に述べたように、反応チャンバーは、入口端425と出口端426で狭く、スムーズに、泡の形成なしに充填し、空にするために、外側に向かってなだらかに曲がっている。ガスケット404の圧縮量は、基部の表面あるいはガスケット404に近接したインターフェース機器408の表面に形成された既知の厚さを持つ絞りまたは詰め木（図示せず）によって、または機械加工により、あるいはスクリーン印刷または他の方法で材料の薄膜を適用することにより、制御される。絞りまたは詰め木を特定の厚さで形成することにより、反応チャンバー413の高さ（と、それゆえ、容積）を制御することができる。

【0041】

図30に示す例では、基部402の凹部400は、マイクロアレイ用スライド150の配置や除去を容易にするために、その隅に、指状拡大部428を含む。廃棄物リザーバ430は、インターフェース機器408の上側表面に備えられている。蛇行封止部432は、空気は逃すが、流体は逃さない。廃棄物リザーバ430と蛇行封止部432とは、種々の方法（エポキシ樹脂、ヒートシールなど）によって、インターフェース機器408に封止されていてもよい、キャップ434によって覆われている。キャップ434中の空気孔436は、空気を逃すために、蛇行封止部432の端431につながっている。例えば、疎水性膜やキャピラリーチューブのような、種々の代替構造が空気を許容するために使用される。マイクロアレイ用スライド表面に流体を容易に供給するための少量反応チャンバーを提供するために、図30の機器は、独立した機器として使用でき、図1に示すように、装置と接続して使用する必要はない。図30の機器は、空気を混合するための、浮袋を含まない。

30

40

【0042】

本発明の別の実施形態としては、基部402とインターフェース機器408との間に耐水性の封止部を形成するために、ガスケット、オーリング、あるいは他の封止手段を含めることにより、凹部400は、湿潤性チャンバーとして、構成されてもよい。基部402とインターフェース機器408とを（凹部400中に位置するマイクロアレイ用スライド150とともに）封止する前に、適切な流体を凹部400に加えることで、反応チャンバー413から流体の蒸発を妨げるための、湿潤環境が、マイクロアレイ用スライド150とインターフェース機器408との間の封止部の周囲に作り出される。

【0043】

50

基部４０２は、マイクロアレイ処理の間に加熱および混合機能を提供する構造を含んでいてもよい。

【００４４】

場合によっては、新規なインターフェース機器を、マイクロアレイ用スライドの特定の場所を選択的に接近するために、使用することが望ましい。図４は、マイクロアレイの個々の縦列に、流体が供給されることを許す発明の実施形態を示す。図４では、インターフェース機器３は、マイクロアレイ用スライド１の表面７、上表面１５、側面１７と１９、端面２１と２３とに対向して適合するように適応されたインターフェース表面１３を有する。インターフェース表面１３は、分割壁２７によって分離され、外壁２９によって境をなされているスポットアレイ６の縦列１１に相当する平行な溝２５を含んでいる。溝２５は、入口流路３３によって、インターフェース入口３１に、出口流路３７によってインターフェース出口３５に接続されている。

10

【００４５】

図５に示すように、インターフェース表面１３が、マイクロアレイ用スライド１の表面に対向して押し付けられた場合には、閉鎖されたインターフェース流路３９を形成するために、溝２５は、表面７によって、閉じられるか、覆われる。本発明のこの実施形態では、各々のインターフェース流路３９は、スポット５の縦列を含む。インターフェース機器３のインターフェース入口３１とインターフェース出口３５は、インターフェース流路３９に通路を提供する。

20

【００４６】

図６は、マイクロアレイ用スライド１上のスポット５と、インターフェース流路３９と、入口流路３３と、出口流路３７と、インターフェース入口３１と、インターフェース出口３５とを含むインターフェース機器３の平面図を示す。この例では、流体サンプルは、インターフェース入口３１に入り、インターフェース流路３９を通り抜け、スポット５上を進み、インターフェース出口３５を通り、インターフェース機器を出る。

【００４７】

図４～６に示される発明の実施形態では、スポット５の縦列１１が、個々に接近されることを許容する。サンプル、試薬、あるいは他の反応物質の連続的な流れが、各々のスポットの縦列に供給されることができる。これらの図に示すように、入口流路３３と出口流路３７とは、インターフェース機器３の内部に形成された閉鎖流路である。入口流路３３と出口流路３７とは、インターフェース機器３が、マイクロアレイ用スライド１に封止されたときに、同時に閉鎖流路を形成する、溝２５とつながった、インターフェース機器３のインターフェース表面中の開放された溝として形成することもできる。入口流路３３と出口流路３７とを形成する２つの代替方法が、図７と８に示されている。図７に示す実施形態では、入口流路３３と出口流路３７とは、インターフェース流路３９に垂直に形成され、インターフェース入口３１とインターフェース出口３５とは、インターフェース機器の上方表面１５にある。図８に示す実施形態では、マイクロアレイ用スライドを収容するための大きさの凹部４１がインターフェース機器３内に形成されている。入口流路３３と出口流路３７とは、インターフェース流路３９に平行に、連続して形成され、インターフェース入口３１とインターフェース出口３５とは、インターフェース機器３の端部にある。インターフェース入口３１とインターフェース出口３５とは、図７と８に示されるような外部の配管へ接続するためのねじ山４２、または当該分野の当業者によく知られている他の型のコネクタを含む。本発明の他の実施形態においても、同様に、インターフェース入口３１とインターフェース出口３５とは、ねじ山が付けられているか、他の型のコネクタを含む。

30

40

【００４８】

図９は、アレイ前マイクロ流体回路が、インターフェース入口３１とインターフェース流路３９との間に含まれ、アレイ後マイクロ流体回路が、インターフェース流路３９とインターフェース出口３５との間に含まれている本発明の代替可能な２次元的な実施形態を示す。この例では、アレイ前マイクロ流体回路は、単一のインターフェース入口３１を通して、

50

個々のインターフェース流路 39 に、流体を供給される 4 個のアレイ前流路 49、50、51 と 52 に入れるために、流体を分割する分岐点 47 を含む。アレイ後マイクロ流体回路は、4 個のアレイ後流路 53、54、55 と 56 を介して複数のインターフェース流路 39 の出力を受け取り、それらを、単一のインターフェース出口 35 を介してインターフェース機器 3 を流出する単一の出力の流れを形成する結合点 57 で結合して一体にする。

【0049】

図 9 に示す例では、アレイ前マイクロ流体回路は、単一の流体の流れを複数の流体の流れに分割するという単純な仕事を行い、一方、アレイ後マイクロ流体回路は、単一の流体の流れを形成するために、複数の流体の流れを加算する。しかし、アレイ前およびアレイ後マイクロ流体回路は、当該分野でよく知られている、あるいは、後に開発されるマイクロ流体的方法や構造を用いて、さらに複雑な処理を行ってもよい。アレイ前およびアレイ後マイクロ流体回路は、特別な適用の要求により、どのような数の入口と出口とを有してもよい。

【0050】

1 つのマイクロアレイ中の、個々のスポットまたはスポット群に、選択的に接近するために用いられる、本発明の三次元的な実施形態が、図 10 に示されている。複数の個々のスポット、あるいは（縦列の配列または他の配列の限定された数のスポットとは異なる）複数の別個のスポット群は、図 1 ～ 9 に示すような実質的に平面、あるいは“二次元的な”インターフェース機器では、入口および出口流路と、マイクロ流体回路が重複するため、容易に接近できない。入口および出口流路をインターフェース機器構造の異なる面または段に移動することにより、異なるスポットへのより選択的な接近が可能となる。3D インターフェース機器 60 は、基板 9 上の単一のスポット 70、72、74、76 への接近を提供する反応チャンバー 62、64、66、68、およびマイクロアレイ用スライド 1 上のスポット群 80、81、82、83 への接近を提供する反応チャンバー 78 とを含む。インターフェース入口 85、86、87、88 は、流体が流路 90、91、92、93 を介して、反応チャンバー 62、64、66、68 にそれぞれ注入されることを可能にする。インターフェース入口 94 は、流体が流路 95 を介して、反応チャンバー 78 に提供されることを可能にする。流路 96、97、98、99 は、流体を、反応チャンバー 62、64、66、68 から、インターフェース出口 100、101、102、103 に、それぞれ運ぶ。それゆえ、個々のスポット 70、72、74、76 は、直接流水式で、単一の流体の流れにより、個々に接近されうる。逆に、反応チャンバー 78 からの流路 105 は、流体の流れを、流路 105 から、リザーバ 110、111、112 に導く 3 個の分岐 107、108、109 に、進路を変える分岐点 106 と、インターフェース出口 100、101、102、103 を介して、リザーバ 110、111、112 から空気あるいは他のガスを逃すことを考慮する空気排気流路 113、114、115 とから構成されるアレイ後マイクロ流体回路に導く。分岐点 106 のバルブ 117 は、分岐 107、108、109 への流体の流れを制御し、リザーバ 110、111、112 の出口のストップジャンクション 119 は、リザーバからの流体の流れを妨げるが、空気の流れを妨げない。このアレイ後マイクロ流体回路は、DNA 処理に用いられる回路の型を表す。

【0051】

図 10 に示される 3D インターフェース機器は、本発明の多くの重要な特徴を説明する。3D インターフェース機器は、複数の個々のドット、あるいは縦列でないドットの集団とインターフェース接続できることを示す。インターフェース入口、ウェル、インターフェース出口に接続する多数の双方の流路は、2D あるいは平面構造より、3D 構造に含まれ、（アレイ前、後のいずれか、または両方の）マイクロ流動回路は、インターフェース機器内に含まれ、望ましくはアレイ上に位置する。3D 構造に十分な数の層を含むことにより、マイクロアレイ中の全てのスポットに個々に接近することが可能であり、好ましくはインターフェース機器内に多様なマイクロ流体回路を含むことが可能である。

【0052】

本発明のインターフェース機器は、マイクロアレイ中の個々のスポットあるいはスポット群を 1 またはそれ以上のマイクロ流体回路に組み込むことができる。これは、スポットの

処理に種々のマイクロ流体的な方法の使用を許す。図1～10で示される例は、マイクロ流体回路のいくつかの例を含む。しかし、本発明のインターフェース機器は、マイクロアレイ上のスポットを処理するために望まれる他の型のマイクロ流体回路を含んでいてもよく、本発明は、ここで示したマイクロ流体回路に限定されるものではない。インターフェース機器内で形成されるこの型のマイクロ流体回路の構成要素は、分岐、接点、バルブ、ストップジャンクション、リザーバを含むが、これらに限定されるものではない。マイクロ流体回路は、流体の流れを混合または分割するための構造、および特別な流路、ウェル、あるいはリザーバへの流体の流れの出し入れを開始及び終了するための構造を含んでいてもよい。

【0053】

流体は、動電学的、電気流体力学的、および加圧を含む多数の方法により、マイクロ流体回路の中に入り、マイクロ流体回路を通過する。もっとも好ましい選択は、溶液がイオン性かどうかに関わらず、関与する流速と、マイクロアレイ用基板とインターフェース機器に用いられる材料の種類による。マイクロ流体回路内の流体の受動制御は、流体の特定の物質に対する引力または斥力によって起こる毛管現象を活用することによっても、可能になる。一般に、所有する2001年10月2日発行のUS特許6,296,020号では、本発明に用いるに適した疎水性のパッシブバルブの調整に基づく多くのマイクロ流体回路構造が開示されている。しかし、他の型のマイクロ流体回路の構成要素もまた、用いることができ、本発明は、特別な型のマイクロ流体回路に限定されるものではない。

【0054】

機械的バルブ、疎水性流体経路の狭小化やキャピラリーバルブのようなパッシブバルブを含む種々の型のバルブがアレイ前、アレイ後マイクロ流体回路に含められることができる。回路の特定の領域における空気の排気を制御する、それゆえ流体の動きに対抗する背圧を調節するための外部バルブを用いて、流体の流れを制御する遠隔バルブ調整もまた、用いられてもよい。遠隔バルブ調整の方法とシステムとは、ここで参考文献によって加えられる、一般に所有するPCT公開公報WO 02/12734に開示されている。

【0055】

空気排出流路と停止手段とが、流体回路内に含まれていてもよい。圧力がかかった流れを最も活用する場合では、マイクロ流体回路は、移動する流体によって置き換えられた空気が、回路から出ることを許容するために、移動する流体の下流の1またはそれ以上の点で、大気開放されている。これは、望ましい流体の流れに対抗し得る無用の圧力の蓄積を阻止する。空気は流出するが流体は保たれるキャピラリーバルブ、多孔性の疎水性膜、あるいは同様の方法を用いることによって、流体が、空気強制排気流路を通過して、回路から流出することが妨げられる。上記したように、空気の流出を調節することは、回路内の流体の動きを制御することに用いられる。

【0056】

本発明によるインターフェース機器は、ガラス、シリコン、またはPTFE、FEP、PFA、PET、PMAA、あるいはPCなどのある種のプラスチックで、形成されることが好ましい。インターフェース機器の2次元および3次元マイクロ流体回路は、微小リソグラフィ、化学エッチング、薄膜真空蒸着、熱エンボス加工、微量注入成形、あるいはIRおよびUVレーザの両方を用いるレーザ加工を含む種々の方法により、形成される。

【0057】

マイクロ流体回路の流路、ウェル、リザーバ、バルブ、および他の構成要素は、一般に、インターフェース機器を構築するために用いられる1つの材料の表面に容易に形成されるが、1つの固体材料の内部に形成するのは、容易ではない。それゆえ、インターフェース機器内に位置する回路の構成要素を形成するため、および多重層(3D)構造を形成するためには、インターフェース機器は、多重の層で形成されていてもよい。例えば、開放された流路(溝)あるいはウェルが、第1層に形成され、第2層は、流路あるいはウェルを閉じる上面を形成するために、第1層に封止される、あるいは固定される。個々の層は、三次元的な、多層構造を形成するために整列され、封止される。封止方法は、接続される材料に依存するが、共晶接合またはアノード接合、接着剤やエポキシ樹脂系接着剤の使用

10

20

30

40

50

、あるいは超音波溶接を含めてもよい。まっすぐな流路が、外部表面（例えば、図4、7、8の流路31、35）からインターフェース機器の内部を貫通する場合には、流路は、インターフェース機器の外部から、機械加工またはエッチングをすることによって、形成されることができる。

【0058】

流体制御技術の中には、流体回路の一部に電氣的な接近を要求するものもある。例えば、動電学的流体制御および電気流体力学的流体制御は、いずれも流体回路内の流路およびバルブに取り付けられた電極を利用する。インターフェース機器構造内に加熱エレメントを含めることが好ましい場合もある。機械的なバルブ、ポンプ、あるいは加熱エレメントのいずれもが、電氣的なインターフェース方式を必要とする。もし、これらの制御エレメントが、多重層システム内に埋め込まれている場合には、回路をコントロールするために接続されるための電氣的な痕跡が、インターフェース機器の外部にもたらされなければならない。このような付加的な構成要素の全ては、本発明の範囲内にあると考えられる。

【0059】

インターフェース機器は、疎水性材料または親水性材料のいずれでも形成されることができるが、多くの場合では、機器の一部または全部に疎水性材料を用いることが好都合である。親水性材料は、その外観の大きさに反比例する毛管力を発生する。それゆえ、それゆえ、親水性多重層構造の小さな割れ目は、親水性キャピラリーシステムを一般的に不安定にする巨大な毛管力を発生することがある。液体は、疎水性流路に引き込まれず、加圧下で、駆動されるので、疎水性材料で形成された構造や、疎水性キャピラリーバルブを使用する構造は、良好に流体の流れを制御することができる。さらに、インターフェース機器のインターフェース表面は、マイクロアレイ用基板の表面に密接に適合し、マイクロアレイ用基板の表面を封止する。もし、インターフェース機器が、疎水性材料で形成される、あるいは疎水性の表面被覆物を有すれば、インターフェース機器と基板間との水性溶液の漏出は、最小限になるだろう。適切な疎水性の材料は、PTFE、FEP、PFAを含む。インターフェース機器は、シリコン、ガラス、PET、PMMA、またはPCのような非疎水性の材料で、構築してもよく、必要に応じて、疎水性材料の真空蒸着技術、回転塗布、あるいは蒸着により、疎水性の被覆物が、親水性材料の上に形成されることもできる。

【0060】

インターフェース機器と、マイクロアレイ用スライドとの間に封止体を提供するために用いられるガスケットは、シリコン、独立気泡フォーム、またはゴムのような弾力性の材料、または、例えばシリコンで被覆されたPTFEまたは他のプラスチックのような弾力性の材料で、被覆されたより弾力性の少ない材料で、形成されてもよい。我々は、他の適したガスケット材料が、ブタジエンと、低分子量ポリエチレンとパラフィン蠟と、およびアメリカンキャンカンパニーによって販売されているパラフィルムM^TMから構成される柔軟性のある熱可塑性フィルムで形成することで得られることを見出した。他の適した代替できるガスケット材料は、MJリサーチインク、ウォルザム、MAにより販売されているワックスシート材料のMJフィルムTMである。これらの材料は、本質的には、弾力性というよりむしろ、可塑性である。用いられる他の封止構造は、弾力性または可塑性の材料のオーリング、またはインターフェース機器またはスライド上に封止剤材料を、塗布される、あるいは直接形成される層を含む。インターフェース機器のマイクロアレイ用スライドへの封止は、粘着性の“ガスケット”層を使用することにより、達成され、この場合では、封止部を得るために、スライドとインターフェース機器を共に固定する必要はない。しかし、接着剤によって与えられる結合強度を増加するために、固定機能を伴って、クランピングと粘着層とを共に与えるほうが効果的な場合もある。

【0061】

インターフェース機器は、その一部または全部が使い捨てであるような方法で製造されてもよい。多層機器の場合には、特定の層を使い捨てにして、他の層を使い捨て不要にすれば望ましい。特に、サンプルや反応材料に接触する層を使い捨てにし、一方、（電極、加

熱エレメントなどの) 能動素子、あるいは他の製造が高価な部材を含む層を好ましくは再利用すると、好都合である。当然、使用後に機器が使い捨て部分と、再利用部分とに分離されるような方法で、機器を製造することもできるに違いない。

【0062】

インターフェース機器を基板に恒久的に付けておくことも可能ではあるが、一部あるいは全ての処理ステップはインターフェース機器を用いて行われ、一旦処理されたスライドは、インターフェース機器から分離され、種々に存在するスライド読解技術を用いて、読解されるためには、現在のところ、インターフェース機器をマイクロアレイ用基板に一時的に封止することが好ましいと考えられている。機器と一緒にクランプする種々の方法が考案されており、本発明の範囲に入ると考えられる。例えば、図2と30で用いられるようなc-溝クランプが用いられる。他の例は、図11と12に示されるものを含む。図11では、インターフェース機器3は、マイクロアレイ用スライド1を考慮して、位置が定められ、クリップ121で固定されている。他の形のクリップまたはクランプ機器も、同様に用いられることができる。インターフェース機器3のインターフェース表面の流路あるいはウェルに相当する開口部を有するガスケット3は、良好な封止体を形成するために、インターフェース機器3とマイクロアレイ用スライド1との間に位置していてもよい。あるいはまた、図12に示すように、代替可能なインターフェース機器125は、インターフェース機器125が、対向側壁129と131とに、マイクロアレイ用スライド1を滑り込ませて、そこで固定されるために、マイクロアレイ用スライド1の端部を支える大きさのスロット127を含んでいてもよい。図11に示すように、インターフェース機器125をマイクロアレイ用スライド1との正しい配列を達成するために、レンズ133を通して、マイクロアレイ用スライド1上のアライメントマークを視覚化することにより、光学的な配列を可能にする1つまたはそれ以上のレンズ133がインターフェース機器3に含まれていてもよい。マイクロアレイ用スライドとインターフェース機器とで構成される反応機器が、装置に接続されている装置ベースのシステムでは、インターフェース機器とマイクロアレイ用スライドを装置に至るまで、固定し、同時にインターフェース機器を、マイクロアレイ用スライドと封止関係をもって支えるクランプが提供されてもよい。

【0063】

図13～22は、さらに別のクランプ機構を利用し、本発明に含まれる多数の他の可能な特徴を示す、本発明の別の実施形態を示す。図13の実施形態では、インターフェース機器140は、入出力層142と、マイクロ流体回路層144と、ガスケット146とで、形成される。本発明のこの実施形態では、ガスケット146は、平行スロット148を含む。平行スロット148は、ガスケット146の厚さにより決定されたインターフェース流路の高さと、インターフェース機器140の底面と、マイクロアレイ用スライド150とによって定義されたインターフェース流路の上下表面とを有するマイクロアレイ用スライド上のインターフェース流路を定義する。インターフェース機器140の様々な構成要素がお互いに、およびマイクロアレイ用スライド150と組み立てられ、クランプ部材152で固定される。インターフェース機器140とマイクロアレイ用スライド150とは、以下のように組み立てられる：ガスケット146は、マイクロアレイ用スライド150のマイクロアレイ154に対して、位置合わせされ、取り外し可能に固定される。マイクロ流体回路層144は、ガスケット146に対して、位置合わせされ、インターフェース機器140の入出力層142は、それからマイクロ流体回路層144に対して、それゆえガスケット146とマイクロアレイ154に対して、位置合わせされる。このようにして組み立てられた層構造は、クランプ部材152、または別のクランプ構造を用いて、お互いに固定される。弾力性部材153は、マイクロアレイ用スライド150が、安全に、しっかりと保たれるように、クランプ部材152とマイクロアレイ用スライド150との間に置かれる。本発明は、特定のクランプ構造あるいは機構に限定されるものではない。

【0064】

本発明の前の実施形態に関連して述べると、マイクロアレイ用スライド150は、その上に生体分子あるいは反応物質が固定化された平板スライドである。

【0065】

図13に示す例では、入口160と出口162とは、入出力層142に形成されている。入口160は、例えば、サンプルや試薬をインターフェース機器140に供給するための管に接合するための接続金具や、アダプタを支持して装着されるための、大きな開口である。出口162は、入口160の外形と同じ外形を有する：さらに、それは、流体の流出を妨げている間に、空気の流出を許すための、疎水性膜164を含んでいてもよい。本発明の機器は、親水性キャピラリー入口、ピペットチップの接近を提供する大きさの入口、または出口を含む種々の型の入口や出口を含んでいてもよい。入口は、入出力層142に直接形成してもよく、また別個に形成して、入出力層142に接着、圧入、あるいは他の方法で固定されてもよい。さらにまた、入口160と出口162との一方、または両方は、マイクロ流体回路層144に、形成される、または固定されることもできる。

10

【0066】

図14～15に示すように、本発明のこの実施例のアレイ前マイクロ流体回路166とアレイ後マイクロ流体回路とは、マイクロ流体回路層144の上表面170に形成される。流体は、上表面176から下表面178へ入出力層142を通過する入口160を介して、アレイ前マイクロ流体回路166の入口流路174に導入される。入出力層142の構造は、図17と18に示されている。

【0067】

図19は、図13～18の発明の実施形態におけるマイクロ流体回路の回路図である。このマイクロ流体回路は、流体の流れを分割し、多数のインターフェース流路に供給するように設計されている。インターフェース流路の下流に位置する2組のウェルが、3つの流体をインターフェース流路に制御して供給されることを可能にするために、インターフェース流路の出口と、ウェルの出口とで、パッシブバルブと協力して機能する。この流体は、例えば、2つの洗浄液によって、後に続く1つのサンプル溶液、または、1つの試薬と、1つの洗浄液によって後に続く1つのサンプル溶液、あるいは実行される反応に要求されるその他の流体の組み合わせである。第1の流体は、入口160に入り、入口流路174を流れ、4段階の二元2機構パターンを有するマイクロ流体回路によって、14個の流体の流れに分割される。16個ではなく、14個の流れは、三分の一段階の分岐が除かれているこのことによって、達成される。各々の2機能点では、流路の大きさが減少する。流路の大きさの段階的な減少は、パッシブバルブとして機能する流体の流れに対する増加した抵抗を生じる。流れへの抵抗の段階的变化が十分に大きければ、流体は、流れの抵抗に逆らって、次の段階の分岐に入る前に、各々の段階で、分岐全てを満たすだろう。

20

30

【0068】

入口186で、インターフェース流路188に位置するパッシブバルブは、流体が、全てのインターフェース流路の入口186に進むまで、流体がインターフェース流路188を満たすことを妨げる。それゆえ、インターフェース流路188は、実質上同時に第1の流体で満たされる。インターフェース流路188に比較して、出口流路192の大きさが、より小さい（そして、それゆえ流体の流れに対する抵抗性がより高い）ため、流体は、インターフェース流路188のそれぞれに満ち、インターフェース流路の出口190で止まる。

40

【0069】

第2の流体が、入口160に注入されると、第1の流体は、第1のリザーバ194を満たし、リザーバ194の出口196で止まるために、各々のインターフェース流路188から、出口流路192を経て、第1のリザーバ194に移動する。リザーバ194は、インターフェース流路188からの第1の流体の全てを受け入れる大きさなので、インターフェース流路188は、第2の流体で、満たされる。この場合もやはり、システム中の流体が、多数のリザーバ194のいずれかの出口196を超えて移動する前に、全てのインターフェース流路188は、第2の流体で満たされる。

【0070】

同様に、第3の流体が、入口160に注入され、インターフェース流路188に注入さ

50

れる場合には、第2の流体は、第1のリザーバ194に移動し、第1の流体は、第2のリザーバ200に移動する。流体がシステム内を移動するにつれて、各々の第2のリザーバ200から導く空気が、空気排気流路202を介して流出する。各々の空気排気流路は、出口経路206と、実質上出口162に接続する主空気排気流路204に接続する。

【0071】

図13～15に示すように、マイクロ流体回路層144の上側表面のアレイ前マイクロ流体回路166とアレイ後マイクロ流体回路168とは、パイアホール208と210をそれぞれ介して、マイクロ流体層144の下側表面172に接続されている。図22の断面図に示すように、パイアホール208と210は、一列に並び、ガスケット146中のスロット148によって、形成されたインターフェース流路188の入口端186と出口端190に流体を供給する。パイアホール208と210、およびスロット148を簡単に配列するために、スロット148の端部は、パイアホール208と210とが位置する領域を増加するために、（各々のスロット148をダンベル形状にして）より大きく作られる。もしも、拡大された端に付加的な余地を提供することが、必要なら、スロット148の端部は、ずらされることができる。

【0072】

インターフェース機器の特定の適用では、処理の後に、多量の緩衝液あるいは他の洗浄材料で、マイクロアレイ用スライドを洗浄することが望ましい。洗浄液量は、インターフェース機器140のリザーバに収容される量より多くてもよく、この場合には、インターフェース機器140は、洗浄液および他の流体が、インターフェース機器140を通過した後に放出され、収集されることを許容する流体出口を含まなければならない。

【0073】

マイクロアレイ154に対応させてガスケット146を位置合わせするためには、比較的透明で、裸眼では見えないマイクロアレイ154中のスポットは、偏光縞または干渉縞を用いて視覚化されてもよい。ガスケット146は、顕微操作機器を用いて、手動で、あるいは機械的に位置合わせされる。ガスケット146は、マイクロアレイ用スライド150に対応させて位置合わせを行うために移動されるが、ひとたび適した位置にあるときは、粘着性材料を有する領域に圧力をかけることによって、マイクロアレイ用スライド150に移動可能に固定されうるように、ガスケットは、その下側表面の一部または全部をベトベトのあるいはネバネバの材料、または接着剤で提供されてもよい。適した粘着性材料は、例えば、シリコンまたは感圧性接着剤である。

【0074】

ガスケット146に対応してマイクロ流体回路層を位置合わせするのは、種々の方法によって、行われる。マイクロ流体回路層144とガスケット146とは、位置合わせが、機器の2個またはそれ以上の端部を一直線に合わせることによって成し遂げられるような大きさであればよい。あるいは、図16と22に示すように、マイクロ流体回路層144は、適切に位置合わせされた場合に、ガスケット146がその中に適合する凹部145により、提供されることもできる。図16にみられるように、凹部145は、縁147によって取り囲まれており、この例では、縁は凹部の周囲に連続的な壁を形成するが、連続的であるよりも、隙間を有することもできる。マイクロアレイ用スライド150とマイクロ流体回路層144とを良好に適合させるために、ガスケット146をわずかに押し込むことを許すためには、凹部145の深さが、ガスケット146の厚さより、わずかに小さいことが望ましい。それゆえ、本発明のこの実施形態では、封止機能がガスケット146によって与えられるので、マイクロ流体回路層144の縁が、マイクロアレイ用スライドを封止する必要はなく、望ましくない。

【0075】

マイクロ流体回路層144に対応させた入出力層142の位置合わせもまた、いくつかの可能な方法によって、行われる。入出力層142とマイクロ流体回路層144とは、位置合わせが、機器の2個またはそれ以上の端部を一直線に合わせるによって成し遂げられるような大きさであればよい。あるいは、入出力層142とマイクロ流体回路層144のい

ずれか一つが、他の入出力層 1 4 2 とマイクロ流体回路層 1 4 4 の一つにある対応する穴または凹部と結合する 1 またはそれ以上の杭または突起を使って、与えられる。さらに他の実施形態では、両方の層が、位置合わせ柱が通った一直線に整列された穴を含んでいてもよい。さらに他の実施形態では、入出力層 1 4 2 の下側表面は、マイクロ流体回路 1 4 4 の下側の凹部 1 4 5 と対比しうる、マイクロ流体回路層 1 4 4 を支持するための大きさの凹部を含んでいてもよい。

【0076】

図 1 3 に戻ると、クランプ部材 1 5 2 は、ベースプレート 2 1 2 と、下方への圧力が角のある面 2 1 8 と 2 2 0 とのそれぞれにかかる、弾性的に外側に広がる上方に拡張された分岐 2 1 4 と 2 1 6 とを含む。入出力層 1 4 2 は、分岐 2 1 4 上の突起 2 2 2 と分岐 2 1 6 上の突起 2 2 4 とが入出力層 1 4 2 の両側の凹部 2 2 6 と 2 2 8 に適合するに足りるように、押下げられる。ベースプレート 2 1 2 とマイクロアレイ用スライドの間の弾力部材は、マイクロアレイ用スライド 1 5 0 に上向きのバイアスの力を与え、この力は、入出力層を分岐 2 1 4 と 2 1 6 の突起 2 2 2 と 2 2 4 とをそれぞれに下側に押し付けて、インターフェース機器 1 4 0 をマイクロアレイ用スライド 1 5 0 に固定するために、ガスケット 1 4 6 とマイクロ流体回路層 1 4 4 に伝達される。

【0077】

マイクロアレイ用スライドが通常のスライド読解機で読解されるために、インターフェース機器は、スライドの処置に続いて、マイクロアレイ用スライド 1 5 0 から取り去られるように適応される。この場合には、マイクロアレイ用スライドは、インターフェース機器 1 4 0 の除去に先立って、反応物質、処理用化学物質などを除去するために、洗浄されるのが好ましい。それゆえ、インターフェース機器 1 4 0 中で、実行される最後の処理ステップは、緩衝液のみがマイクロアレイ用スライド 1 5 0 上に残るように、高容量洗浄である。さらに、空気あるいは気体（例えば窒素）が、洗浄後にマイクロアレイ用スライドを乾かすためにインターフェース機器 1 5 0 に流されてもよい。

【0078】

代替可能なクランプ機構が、図 2 3 と 2 4 に示されている。この代替可能な実施形態では、入出力層 1 4 2 が省略されている。図 1 3 ～ 2 2 の実施形態では、入出力層 1 4 2 は、2 つの機能を果たす：一つ目は、蓋として働き、クランプ部材と連携して、インターフェース機器の種々の層をお互いに保持することである。二つ目は、流体の導入と、機器から空気を開放とを提供することにある。図 2 3 と 2 4 の実施形態では、これらの二つの機能は、分離した素子によって行われる。マイクロ流体回路層 1 4 4 の表面を固定し、封止する可動蓋 2 6 0 が、提供される。蓋は、蝶番 2 6 4 によって、クランプ機構の基部 2 6 1 に接続されている。流体の導入機能は、マイクロ流体回路層 1 4 4 に至り、入口流路 1 7 4 に接続するキャピラリーチューブ 2 6 5 によって、行われる。マイクロアレイ用スライドとガスケットとは、図 1 3 ～ 2 2 に関連して述べられたようにして、形成される。クランプ部材の基部 2 6 1 は、スライドの位置合わせのための溝 2 6 6 を含み、この例では、クランプ部材の基部とマイクロアレイ用スライドの間に弾力性材料の 2 個の条片 2 6 8 を含む。同様に、蓋の底面は、優れた封止体を提供し、マイクロ流体回路層 1 4 4 のマイクロ流体回路のための上層を形成するために、シリコンのような弾性材料の層 2 7 0 を含む。マイクロ流体回路層の上側の表面上に、マイクロ流体流路の上層を形成し、マイクロ流体流路内に含まれる材料による蓋の下面の汚染を防止するための材料の薄層を含むことは、望ましく、より好ましい場合もある。図 2 3 と 2 4 とは、独立した機器を示しているが、多くのこの型のクランプ機構は、それぞれがインターフェース機器と連結した複数のマイクロアレイ用スライドを装置に固定するために、図 1 に示す型の装置に組み込まれると、正しく評価される。

【0079】

図 3 1 と 3 2 とは、ガスケット 4 0 4 の開口部 4 0 6 が、非対称で、クランプ部材 4 4 0 と 4 4 2 とが、基部 4 0 2 に搭載されていないことを除けば、図 3 0 に示す機器と同様な、本発明の機器の別の実施形態を示す。図 3 1 は、機器の分解立体斜視図を示し、図 3

2は、組み立てられた機器の平面図を示す。この実施形態では、基部が提供されておらず、クランプ部材は、封止を行い、マイクロアレイ154を含むインターフェース流路を形成するための、インターフェース機器408とマイクロアレイ用スライド150との間に位置するガスケット404とともに、インターフェース機器408とマイクロアレイ用スライド150とを単純に、固定する。インターフェース機器408は、インターフェース流路413への接近を提供する入口410と出口412を含む。インターフェース機器408は、インターフェース流路の視覚化を許すために、透明な材料で形成されると好ましい。クランプ部材440と442とは、各々が、インターフェース機器408とマイクロアレイ用スライド150の隣接する長端と短端とに沿ってクランプするように、L型を形成するために、切込みを入れて、折り曲げられたc-溝材料の単一の片から形成されると、好ましい。

10

【0080】

特定の用途では、処理の間にインターフェース機器内で、流体を混合する、あるいは再循環することが望ましい。例えば、もしも、マイクロアレイを液体サンプル中に低濃度で存在する材料を検出するために用いられれば、液体サンプル中の分子がマイクロアレイ中のスポットに拡散するために必要とされる時間の総量が、便利であるというより、より大きくなり、低濃度材料の結合（それに続く検出）が、混合をすることにより、向上するだろう。

【0081】

もし、図25または27に示される型の全アレイ反応チャンバーが用いられると、流体の混合は、サンプル溶液中の低濃度材料をアレイ中の短い拡散距離に至らせるために、流体を、アレイを横切って前後に移動することによって行われる。混合を行うための1つの機構が、図28の断面図で示される。これは、インターフェース機器の設計が少し異なる図1～3で示されたスライド処理機器によって用いられたのと同じ混合機構である。両方のバージョンでは、2つの浮袋が、交互に膨張し、収縮する；図28に示す発明のバージョンでは、浮袋の下表面が、柔軟なダイアフラム層で形成されており、一方、図1～3の実施形態では、（図示される）下表面は、（ここではマイクロ流体回路層に類似する）主インターフェース層と同じ材料で形成される。図28に言及すれば、柔軟なダイアフラム250は、ガスケット146とマイクロ流体回路層144との間に位置している。ダイアフラム250は、反応チャンバー230の上のマイクロ流体回路層144に形成される凹部251と、凹部252を除けば、ガスケット146とマイクロ流体回路層144に一方、または両方に固定される。凹部251と、凹部252とは、反応チャンバーの一つの面の対辺に置かれる。凹部251と、凹部252とは、ダイアフラム250が分離した空気リザーバ（例えば浮袋）257と258をと形成するように、接続される仕切り253によって、分離されている。空気リザーバ257と258とは、それぞれ空気流路254と255とに通じているが、お互いは通じていない。圧力源256は、一方の空気リザーバに陽圧を発生させ、他方の空気リザーバに陰圧を発生させる。図28の例では、空気リザーバ258内の陽圧は、ダイアフラム250を外側に動かし、空気リザーバ257内の陰圧は、ダイアフラム250を内側に引くので、反応チャンバー230では、白い矢印で示される方向に、流体の動きが発生する。圧力源256は、図28に示されるようなピストン、蠕動ポンプ、または比較機器であればよい。空気流路255と256の圧力変化は、好ましくは、等しい振幅で、反対の符号であればよいが、種々の手段により、単一の圧力源により、あるいは別個の圧力源により発生させてもよい。空気経路255と256とを交互に膨張したり、収縮したりすることにより、流体は反応チャンバー230を行ったり戻ったりする。図1に関連して、示し、述べると、多岐管は、多重反応機器間で、単一の源から圧力信号を分配するために用いられる。

20

30

40

【0082】

混合あるいは攪拌を与える他の方法は、圧電駆動機を用いることである。圧電駆動機は、インターフェース機器（例えば、図30の408）の中または上のいずれか、マイクロアレイ用スライド150上、あるいは基部402の中に搭載されることができる。圧電駆

50

動機を渡って加えられた、交互の電位は、交互位の周波数で、振動することをもたらす。交互位は、正弦波形、方状波形、三角波形、あるいは他の波形であってもよい。圧電駆動機は、例えばUV硬化エポキシ樹脂、あるいは機械的に固定するなどの関連分野の当業者に知られた種々の方法により、インターフェース機器408あるいは基部402に取り付けられる。基部402あるいはインターフェース機器408の圧電駆動機を制御するために用いられる電子回路は、外部制御モジュールによって、電線を経由して、圧電駆動機に接続されると好ましい。一つの典型的な構成は、基部402が、お互いが180°の位相差で、作動し、インターフェース流路内で振動と混合とを発生するためにお互いが距離をもって配置されている2個の圧電駆動機を含むものである。他の手段は、お互いが120°の位相差で、作動する3個の圧電駆動機を用いることである。しかし、本発明は、圧電駆動機の特別な数や、駆動機を作動するために用いられる信号間の特別な位相に制限されるものではない。

10

【0083】

液体を混合するための別な方法は、アレイの全ての横列に通ずる単一の曲がりくねった流路を形成して、多重インターフェース流路を直列に接続することによって、マイクロアレイに渡って、流体を再循環することである。流体は、曲がりくねった流路を通して、再循環されることができる。マイクロ流体再循環器の一つの実施形態と、その使用方法とが図29A-19Bに図示されている。図29Aは、入口301と、出口302と、順方向流体経路303と、戻り流体経路304とを含む流体回路300が示されている。この流体回路は、空気ダクト305~308を含む。ダクト305と307とは、常に開いている単純なダクトであり、一方、ダクト306と308とは、空気を流体回路に注入するために設計されたポンプ309と310とが接続されている。下流側バルブ311は、出口302に接続されたバルブであり、流体流路から流体や空気を置換することを制御するために用いられる。下流のバルブ311は、302の下流のどこかに接続されている。パッシブバルブ312と313とは、停止手段として働く、2個の疎水性の絞りである。親水性の絞りのような、他の形のパッシブバルブも、使用してもよい。314は、ある形のポンプ手段を用いて流体回路に押し出されたサンプルまたは流体である。順方向流体経路303は、曲がりくねった流路であるが、どのような流路形状であってもよい。戻り流体経路304は、より真直であるが、曲がりくねっていてもよく、他の形の径路であってもよい。順方向流体経路303と、戻り流体経路304とは、流体が循環されるために、必要な閉回路流路を規定する。入口301と出口302との間の順方向流体経路303と、戻り流体経路304との容積は、ほぼ等しいであろう。ほとんどの再循環プロセスのために、下流バルブは、中に十字を有する円で示されるように、閉じられている。図20Gに示される最後のステップでは、流体は、再循環径路から排出され、下流バルブ311は、中が開渠である円によって示されるように、開かれた構成を示される。

20

30

【0084】

図29Aでは、流体314は、回路に初めて入る。図29Bでは、流体314は、回路に、さらに送り込まれている。流体は、パッシブバルブが流れの障害を作るので、パッシブバルブ手段312を超えて流れない。流体は第2のパッシブバルブ313にまで送り込まれる。流体は、313に到達しないが、この段階では、流体は必ず、313を押し通されない。供給される流体の量は、流体回路の容積を知り、それを正確な量に置き換えることにより、パッシブバルブ312と313との両方が、対抗された場合を指示する圧力フィードバック機構により、流体が313に到達した時に検出するセンサーにより、あるいは他の手段により、制御されてもよい。

40

【0085】

図29Bでは、ひとたび流体が、313あるいはその近傍に到達すると、液体の送り込みは止まる。図29Cと29Dでは、空気が、流体を、パッシブバルブ312より障害が弱いように設計されたパッシブバルブ312を押し進める。ひとたび、空気ポンプ309が、液体を、パッシブバルブ312を超えて押し進めると、ポンプは止まる。戻り径路304で置き換えられた空気は、空気ダクト305を通して、システムから流出する

50

。空気ダクト305と307とは、パッシブバルブに隣接しているので、空気は、バルブをリセットできるが、図29Dの312のように、バルブは、障害を除くために、湿らせるのが好ましいので、バルブは、流体を、バルブからさらに遠くに押し進めることはできない。

【0086】

図29Eに示すように、ひとたびパッシブバルブがリセットされると、空気ポンプ130は、流体を戻り径路304に押し進めるために、空気を、空気ダクト308を介して回路に注入する。ポンプは、流体がパッシブバルブ312を超えて押し進められるまで、流体を押し進め、それゆえ、図29Fに示されるように、バルブをリセットする。この時点で、流体は、再び再循環されることができ、あるいは、図29Gに示すように、出口バルブが開けられて、送り込まれた流体が、順方向流体経路303中の流体の全てを回路の外へ押し出すことを再開する。流体は、順方向流体経路303の代わりに、分岐303と305の両方から、排出されることも可能である。図29Cの315および図29Eの316の栓が、空気が誤った径路に流れ落ちることの、物理的な障害として働く。

【0087】

マイクロアレイを処理するために要求されるサンプル量を最小限にするために、インターフェース流路の容積を最小限にすることは、しばしば好ましい。しかし、好ましい低いサンプル量を与えるためには、マイクロアレイ用スライドの比較的大きな部分を網羅するインターフェース流路、あるいはウェルは、かなり浅くしなければならない。鋳型および機械加工によって形成される構成要素の滑らかさの制限は、均一な低い深さのチャンバーを得ることを困難にする。本発明の一つの特徴では、充填材料が、一時的または恒久的に、部分的に満たされ、それゆえ流路の容積を減らすために、好ましいよりも大きい容積を持つインターフェース流路に流し込まれる。充填物は、他の方法で得られるよりも、より滑らかで、より均一な内部表面を形成することができる。充填物材料は、図33に示すように、流路を通過するサンプル450と非混和な液体充填物であってもよいし、あるいは図34に示すように、インターフェース流路内を液状で流れるが、インターフェース流路の内表面の一部である凝固充填物になるために凝固する材料であってもよい。非混和液体の一例は、水性サンプルと一緒に用いられるミネラルオイル、または植物オイルである。最初は、液状で、インターフェース流路の内部表面の一部になるために、凝固する充填物材料の一例は、流路内に流されることに先立って、溶かすために暖められ、それから冷やして凝固させることができるパラフィンである。もしも、固体を保つためには、充填物材料は、マイクロアレイ処理にさらされている間の最高温度より高い融点を持つことが必要である。しかし、充填物材料が、充填物材料に接触する反応物質および試薬溶液に非混和である限り、充填物材料が固体のままである必要はない。しかし、充填物材料は、マイクロアレイ用スライドに粘着せず、サンプルあるいは反応溶液を、マイクロアレイ上のドットの近傍から、排除しないものである必要がある。充填物材料のマイクロアレイ用スライドへの親和力は、考慮されなければならない。同様に、特別な充填物材料が、マイクロアレイ用スライド150の表面を妨害せずに用いられるかどうかは、試薬／反応物質溶液に相対的な充填物材料の密度や、インターフェースチャンバーに対するマイクロアレイ用スライドの方向性が、考慮されなければならない。

【0088】

本発明のインターフェース機器は、インターフェース機器内で起こる反応をリアルタイムに検出するため、および種々の反応状態をフィードバック制御するために、流体センサー、温度センサー、圧力センサー、電極、および光学センサーに限定されない種々の型のセンサーを含む。インターフェース機器は、加熱エレメント、あるいは反応状態を調整するための他の機構を含んでもよい。例えば、加熱エレメントは、PCRの間、熱循環を行う。前記したように、基部は、加熱エレメントを含んでもよい。恒久的な構成部材が、本発明の機器の一部に含まれており、機器（例えば、インターフェース機器）の他の部分は、使い捨てであると好ましい。加熱エレメントおよび種々のセンサーからの制御信号およびデータ信号は、電線を介して外部制御モジュールに送られ、および外部制御モ

10

20

30

40

50

ジュールから送られることが、好ましい。

【0089】

本発明のシステムにおける優位点の一つは、本発明のシステムは、単一のスライドの処理に用いるために構成されることも、あるいは複数のスライドの処理を扱うために多重化することもできることにある。図1の実施形態の装置を、多重化システムで用いるための機能性を、非常に詳しく述べる。図35は、本発明の好ましい回路図を示す。ユーザインターフェース618は、ユーザが、加熱あるいは冷却期間に加えて望ましい温度などの加熱パラメータ、ポンプ圧力、混合回転数、負荷サイクル、および（図1～3、30実施形態で用いられる圧空混合のための）混合期間などの混合パラメータを含む、本発明によって与えられた反応条件の仕様を定めることを許す。ユーザインターフェース618で入力されたデータは、マイクロプロセッサや記憶機器などの構成要素を含み、ユーザインターフェース6で進められるパラメータを調整する温度制御装置650およびポンプ制御装置652に送信される。制御信号は、温度制御装置650から加熱ブロック606に送られる。温度フィードバック信号は、好ましく維持でき、調整できる望ましい温度を与えるために、温度制御装置650に送り返される。ユーザインターフェース618によって管理され、ポンプ制御装置652によって調整されたポンプ654（あるいは、他の圧力源）は、圧力多岐管622に入り、管606および661を通して、各々の反応機器604に分配される陽圧と陰圧との圧力差を生ずる。圧力差は、ここで述べるように気体（好ましくは、空気）、あるいは液体（好ましくは、水）の2個の媒体を通して、伝えられることができる。図35に示したように、温度制御装置650とポンプ制御装置652とは、別個に実装されている。しかし、前記したように、ポンプ654、多岐管644、および加熱ブロック606と同様に、2個の制御装置を同じ装置の箱体に実装することもできる。

【0090】

もし、電極、アクティブバルブ、圧電素子などのような他の能動素子が、インターフェース機器内、あるいは装置内に含まれるのであれば、装置は、ユーザインターフェース618からの入力を受信する1またはそれ以上の付加的な構成要素を含み、望ましい方式で能動素子を作動させるために、電気的接続を介して、能動素子に制御信号を送る。能動素子が、検出電極、あるいは光学または温度センサーなどのようなセンサーである場合には、付加的な構成要素は、電気的接続を介して、能動素子からの電気信号を受信し、能動素子から受信した信号に関する情報を、ユーザインターフェース上に表示する。コンピュータをユーザインターフェースとして機能し、加熱ブロック、ポンプ、あるいは機器に用いられる他の能動素子を作動させるための制御信号を発生させるために、プログラムすることも可能である。

【0091】

図36～39は、反応機器と、装置または基部との接続に関するいくつかの他の方法を示す。本発明の他の実施形態の一つでは、図36に示されるように、単一の外部制御モジュールが、基部に提供される、加熱、混合、その他の機能を制御するための多数の、各々が、単一のスライドをインターフェース機器に接続されている基部からの信号を制御し、受信する。図36の実施形態では、サンプルと試薬流体とは、前記した他の実施形態と同様の方法で、各反応機器の上表面の開口部に、手動で供給される。本発明の別の実施形態では、図39に示すように、多数のスライドとインターフェース機器を収容する多重スライド装置が用いられる。単一の外部制御モジュールは、その各々が1または多数のスライドとインターフェース機器を支持する、1または多くの基部を制御してもよい。あるいはまた、1または多数のスライドとインターフェース機器を支持する基部と、加熱、混合、および他の基部の機能を制御する電子機器とは、共に、装置自体の中に組み込まれていてもよい。図37と38の実施形態では、複数の流体のアリコートが、装置に装着され、それらから、個々の反応機器に配給される。図39の実施形態では、多岐管を介して複数のアリコートに分割され、装置内にある多数の反応機器に供給される、単一の流体アリコートが装着されている。

【0092】

サンプルおよび試薬を少数のスライドに供給するためには、単にサンプルや試薬を、個々のスライドで封止されている個々のインターフェース機器の入口に、ピペットで入れるのが、実験技術者にとって、便利である。しかし、もし、多数のスライドが処理されるには、サンプルと試薬とは、もっと自動的な方法で、スライドに供給されることが好ましい。

【0093】

マルチピペッター機器が、開発され、多数のDNAサンプルを処理する実験室で、一般に用いられている。このようなマルチピペッターは、多数のサンプルを同時に、マイクロタイプレートにピペットで入れることが可能である。マルチピペッターは、標準的な距離で（典型的に）9mmの均一な間隔がつけられている多重ピペットチップを有している。このようなマルチピペット機器は、マルチピペッターのピペットチップを支持するスペースが開けられた入口と、インターフェース機器の入口と噛み合うことのできる出口を有するアダプタを用いて、本発明によるインターフェース機器を介して多数のスライドにサンプルを供給するために用いられる。図37に示すように、アダプタ500は、マルチピペッターのピペットチップ502a~502dと同じ間隔で、その上表面に多数の入口501a~501dを有している。アダプタ径路504a~504dは、アダプタ500の内部を通して、インターフェース機器508a~508dの入口と噛み合うアダプタ500の底面上のニップル506a~506dに通ずる。図37に示されるアダプタ径路504a~504dは、多くの場合、同じ容積の空所を有することが望ましいため。全て同じ長さである。しかし、もし、特別な適用のために、より便利であるか、より望ましいのであれば、アダプタ径路の長さを変えて製造することができる。

【0094】

図38は、その各々がインターフェース機器を有する、多数のスライドを受け入れることができる装置550を示す。この例では、スライドは、アダプタの入口565とインターフェース機器の出口570との距離を最小にするために、アダプタの入口565の片側に置かれている。

【0095】

図39は、流体を、単一の入口564から、多数のスライドに分配するための多岐管の図案を示す。この例では、多数のスライドと、それらに結合したインターフェース機器560とは、流体の多岐管562をも含む単一の基部600に固定されている。図39は、基部600に含まれる加熱および混合機能を制御するための、基部600に接続された外部制御モジュールもまた、示している。多岐管を、基部から分離した構造で、図37に示すアダプタ500に類似するように形成することもできる。多岐管562は、サンプルをインターフェース機器に均一に分配でき、サンプルを、各々のスライドに、実質上同時に供給するためのパッシブバルブ部を含んでいてもよい。多岐管562と接続されたインターフェース機器560によって形成されたマイクロ流体回路を示す回路図が、図40に示されている。各々のインターフェース機器は、（参照番号566、567、568で示される）いくつかの下側パッシブバルブと共に、単一のインターフェース流路を含む。もし、各々のインターフェース機器が、個別に処理されれば、パッシブバルブ部は、機能的に有意義ではないであろうが、もし、多数のインターフェース機器が、平行に処理されれば、個々のインターフェース機器内のパッシブバルブ部は、全てのインターフェース機器間で、流体の分配を調整できるであろう。

【0096】

本発明の他の実施形態では、マイクロアレイ用スライドと、スライドによって占められるスペース量を最小にするために、マイクロ流体回路を組み込まれたインターフェース機器とを積み上げることによって、多数のスライドが、同時に処理される。もし、望ましいのであれば、マイクロアレイ用スライドの底面は、堆積体の次のスライドの処理に用いられるマイクロ流体回路の最表面として機能することができる。マイクロ流体回路への入口と出口とは、機器の最表面を介するよりもむしろ、各々のインターフェース機器の1またはそれ以上の端部を介して作られる。

【0097】

本発明のマイクロアレイインターフェース機器は、マイクロアレイのオンスライド処理を実現するために、サンプルと試薬とをマイクロアレイ用スライドに供給することを容易にする。前記したように、マイクロアレイ用スライドは、DNA、RNA、オリゴヌクレオチド、あるいは蛋白質であってもよい当該の分子のスポットを含む。これらの異なる分子を処理するための種々の方法が知られており、特に、蛋白質を処理する方法は、核酸を処理する方法とは異なるが、それにもかかわらず、特定の基本的な処理ステップは、すべてのマイクロアレイ用スライドで行われ、本発明のマイクロアレイインターフェース機器によって対応されることが好ましい。

【0098】

本発明のインターフェース機器を用いる一般的な方法は、次の通りである。

【0099】

マイクロアレイ用スライドは、市販のものを取得する、それらが処理される実験室で製造される、あるいは他の方法によって取得する。ガラス製のスライドや、プラスチックスライドと同様に、それらを種々の型に表面処理をしたものを含む種々の型のスライドが、本発明の実施で、用いられる。インターフェース機器へ封止されるに先立って、二重らせんのDNAを有するスライドは、一般に二重らせんを分離するために加熱ステップを受け、次に、未結合のらせんを除去するために、洗浄が行われる。さらに、ガスケットとスライドの間に良好な封止体を得るために、ガスケットに接触するスライドの部分を滑らかで、きれいにしておくことが好ましい。

【0100】

インターフェース機器は、スライド、ガスケット（あるいは他の封止手段）、およびインターフェース機器をお互いに適切な位置にあわせ、良好な封止体を得るためにそれらを固定することによって、スライドに封止される。インターフェース機器がスライドに封止された後、マイクロアレイ用スライドを処理するために、以下の基本的なステップが実行される。

【0101】

1) 事前結合

非特異的結合部位を塞ぐ物質を含む溶液が、インターフェース機器を介してインターフェース流路に導入される。この阻止溶液は、スライドの洗浄を助けるための界面活性剤を含んでいてもよい。この阻止溶液は、起こる反応を完全に行うために、スライド上でインキュベートされていてもよい。もし、マイクロアレイ上で行われる処理が、核酸のハイブリダイゼーションであれば、阻止溶液は、当該分野で知られている前ハイブリダイゼーション緩衝液であり、マイクロアレイ用スライドは、前ハイブリダイゼーション緩衝液と共に、一般に42℃で45分から2時間インキュベートされる。

【0102】

2) 洗浄

非特異的結合を起こす異質の材料をマイクロアレイから除去するために、洗浄溶液がインターフェース流路に通される。

【0103】

3) 結合

マイクロアレイ上の当該分子に選択的に結合し、直接または間接に、検出信号を発生する分子（あるいは複数種の分子）を含む結合溶液が、インターフェース流路に注入される。それから、スライドは、結合溶液と共にインキュベートされる。もし、核酸のハイブリダイゼーションが行われるのであれば、結合溶液は、ハイブリダイゼーション溶液であり、インキュベーションは、一般に、42℃で、一晩行われる。溶液の混合や攪拌は、完全な最大限の結合を得るために要求される時間を減少する。蛋白質-蛋白質、“薬剤”-蛋白質、ペプチド-蛋白質、RNA-DNA結合反応を含むが、これらに限定されない種々の型の結合反応が行われ、続いてマイクロアレイ用スライド上で、検出される。

【0104】

4) 洗浄

結合の検出時にノイズや干渉を引き起こす異質材料（例えばSDS、一般に前ハイブリダイゼーション緩衝液に用いられ、当該分子の結合により生じる蛍光と競合する蛍光を発生する）のみならず、結合溶液から、非結合分子を除去するために、第2の洗浄ステップが、行われる。

【0105】

5) 検出

結合溶液からの分子の、マイクロアレイ用スライド上の分子との結合は、一般的に、結合が起こった位置で起こる蛍光、放射能、変色などを検出することで、決定される。結合溶液中の結合分子は、しばしば、例えば蛍光色素で、標識されているので、結合が起きた位置で発光し、蛍光量が、所定の位置での結合分子の数の働きである。もし、インターフェース機器が、スライドへの視覚的な接近を許す表示窓を含む場合には、検出は、インターフェース機器がスライドに貼り付けられている間に行われ、あるいはスライド単独上で行うために、スライドは、インターフェース機器から取り外されてもよい。

【0106】

本発明は、一般的には、機器の基本的な設計をほとんど変更せずに、溶液中の物質と結合したスライド上に固定された化学物質の、種々の型の結合反応を行うことに用いられる。特別なスライド処理手順によって、強制される主な設計上の制限は、機器が、あらゆる加熱ステップの間に良好な封止体を維持し、インキュベーションステップの間に必要な混合または攪拌を提供し、十分な廃棄物貯蔵量を提供する、あるいは廃棄物を外部貯蔵機器に排水させることが、必要であることである。上で、概説したステップは、すべて、本発明のインターフェース機器の使用で行われる必要はない。例えば、スライドがインターフェース機器に封止される前に、遮断ステップが行われてもよい。同様に、検出ステップは、スライドが、インターフェース機器から取り外された後で、行われてもよい。さらに、インターフェース機器は、上記以外の方法により、スライドを処理するために用いられてもよく、本発明は、上記で特別に開示された以外の処理ステップにインターフェース機器を用いることを含めることが考慮されている。

【0107】

結合物質がマイクロアレイにアプライされる前に、結合化合物の生化学的処理において、種々のステップを行うために、種々の前処理モジュールが本発明のインターフェース機器に接続されていてもよい。典型的な前処理モジュールは、分離モジュール、標識モジュール、および精製モジュールを含む。モジュールは、連続してインターフェース機器に接続されることが好ましく、それにより、粗組織サンプルは、粗組織サンプルから（DNA、RNA、あるいは蛋白質のような）結合化合物に精製されるための分離モジュールに最初に導入される。次に、精製された結合化合物は、標識、および／または増幅のために、標識モジュールに入る。最後に、標識された結合化合物は、アレイに添加されるのに先立って、最終的な浄化のために、精製モジュールに入る。あるいはまた、個々の前処理ステップは、連続してどれかのモジュールに押し込む、あるいはマイクロアレイへの導入のために、適切に調整されたサンプルを直接インターフェース機器に添加するように、手動で行われることもできる。各々の前処理モジュールに存在する廃棄試薬や洗浄溶液は、他の前処理モジュールあるいはマイクロアレイインターフェース機器に送られるより、むしろ、その前処理モジュールから直接に廃棄物貯蔵容器に送られるのが好ましい。

【0108】

分離モジュールは、標識およびハイブリダイゼーションに先立って、結合溶液から得られた化合物を、粗組織あるいは細胞から分離する。細胞からの粗液体抽出物あるいは脂質、多糖類、蛋白質、核酸、塩などを含む組織は、直接、このモジュールにアプライされ、差動アフィニティマトリクス、粒径排除または透析方式、電気泳動的挙動を基にされ、（RNA、DNA、または蛋白質の）結合分子が、無用の汚染物質から分離される。

【0109】

標識／増幅モジュールは、インターフェース機器を用いるアレイでハイブリダイズされ

10

20

30

40

50

る結合分子に蛍光物質または他の標識を組み込む。標識試薬は、予めロードされていてもよく（好ましくは、乾燥した形状で）、サンプルと共に注入されることもできる。標識化反応は、一般に、蛍光性あるいは放射性ヌクレオチド、酵素分子、高原性ペプチド、あるいは容易に検出可能なタグに親和性のあるビオチンのような他の分子のような、容易に検出可能なタグに、サンプルを連結することを含む。増幅ステップは、ポリメラーゼ連鎖反応、ローリングサークル増幅、リガーゼ連鎖反応、E b e r w i n e 増幅、あるいは種々の型のDNAまたはRNAポリメラーゼを用いる他の増幅方法のような核酸を増幅する方法を含むが、これらに限定されない。これらの標識化および増幅方法についての種々の技術は、今後ずっと、単に標識化および増幅ステップとして言及される。

【0110】

10

アレイへの適用に先立って、サンプルを即座に精製するサンプル精製モジュールは、DNA、RNAまたは蛋白質である結合分子と、以前の生化学ステップから残っている種々の汚染物質とを含む液体サンプルを受け取る。汚染物質は、取り込まれなかった蛍光性標識ヌクレオチド、塩、多糖類、脂質、および蛋白質を含むが、これらに限定されない。精製は、差動アフィニティマトリクス（標的の固定と汚染物質の洗浄）、粒径排除、透析方式、あるいは電気泳動的挙動を基にされる。

【0111】

ここで示された本発明の実施の形態は、平面のマイクロアレイ用スライドでの使用が示されたが、本発明のアレイインターフェース機器は、平板でない基板での使用のために適応されることが想定される。特に、インターフェース流路またはインターフェース機器のウェルは、ウェルを有するマイクロタイタープレートのような実質的に平たい基板とインターフェースで連結することを許す大きさと、間隔とを有する。さらに、本発明によるインターフェース機器は、光ファイバーの束状構造のような実質的に平らでない基板に適合し、封止するように構築されている。

20

【0112】

本発明は、多数の例と共に、記述され、開示された。しかし、本発明の範囲は、個々で提供された特別な例に限定されるものではなく、当該分野の当業者によって、考案されるに従って含められる種々の変更が意図されており、ここに付け加えられるクレームにより定義される。

【図面の簡単な説明】

30

【0113】

【図1】図1は、本発明により製造されたスライド処理機器の典型的な実施態様の斜視図である。

【図2】図2は、マイクロアレイ用スライド／インターフェース機器の組み合わせの斜視図である。

【図3】図3は、図2のマイクロアレイ用スライド／インターフェース機器の組み合わせの断面図である。

【図4】図4は、平面基板上にスポットが形成されたマイクロアレイと、本発明に従って組み立てられたインターフェース機器の実施例との斜視図である。

【図5】図5は、図4のインターフェース機器とマイクロアレイ用基板がお互いに封止されている斜視図である。

40

【図6】図6は、図5に示すマイクロアレイ用基板とインターフェース機器との平面図である。

【図7】図7は、インターフェース機器に入口と出口とを形成する他の方法を表す。

【図8】図8は、インターフェース機器に入口と出口とを形成するさらに他の方法を表す。

【図9】図9は、アレイ前およびアレイ後マイクロ流体を含むマイクロアレイを説明するためのインターフェース機器の実施形態の平面図である。

【図10】図10は、マイクロアレイ用基板に封止された3次元インターフェース機器の斜視図である。

50

【図 1 1】図 1 1 は、インターフェース機器をマイクロアレイ用基板に固定する方法を図示する。

【図 1 2】図 1 2 は、インターフェース機器をマイクロアレイ用基板に固定する他の方法を図示する。

【図 1 3】図 1 3 は、インターフェース機器の更なる典型的な実施形態の分解立体図である。

【図 1 4】図 1 4 は、図 1 3 の本発明の実施形態におけるマイクロ流体回路層の平面図である。

【図 1 5】図 1 5 は、図 1 4 の線 1 5 - 1 5 で区切ったマイクロ流体回路層の断面図である。

10

【図 1 6】図 1 6 は、図 1 3 の本発明の実施形態におけるマイクロ流体回路層の底面図である。

【図 1 7】図 1 7 は、図 1 3 の本発明の実施形態における入出力層の平面図である。

【図 1 8】図 1 8 は、図 1 4 の線 1 8 - 1 8 で区切った入出力層の断面図である。

【図 1 9】図 1 9 は、図 1 3 に描かれた本発明の実施形態におけるマイクロ流体回路の回路図である。

【図 2 0】図 2 0 は、組み立てられた入出力層と、マイクロ流体回路と、マイクロアレイ用スライドとの平面図である。

【図 2 1】図 2 1 は、図 2 0 の線 2 1 - 2 1 で区切った断面図である。

【図 2 2】図 2 2 は、図 2 0 の線 2 2 - 2 2 で区切った断面図である。

20

【図 2 3】図 2 3 は、他のクランプと流体入口の設計を示すインターフェース機器の他の実施形態の分解立体図である。

【図 2 4】図 2 4 は、図 2 0 の機器の組立図である。

【図 2 5】図 2 5 は、マイクロアレイ用スライド上の全てのマイクロアレイにアクセスするためのインターフェース流路の配置を示す。

【図 2 6】図 2 6 は、流体導入の間に泡の形成を減少されるために設計されたインターフェース流路の断面図である。

【図 2 7】図 2 7 は、マイクロアレイ用スライド上の多数のマイクロアレイにアクセスするためのインターフェース流路の配置を示す。

【図 2 8】図 2 8 は、アレイインターフェース内のマイクロアレイ上の流体を混合するためのシステムを示す。

30

【図 2 9】図 2 9 A は、マイクロ流体循環処理の第 1 ステップを示す。図 2 9 B は、マイクロ流体循環処理の第 2 ステップを示す。図 2 9 C は、マイクロ流体循環処理の第 3 ステップを示す。図 2 9 D は、マイクロ流体循環処理の第 4 ステップを示す。図 2 9 E は、マイクロ流体循環処理の第 5 ステップを示す。図 2 9 F は、マイクロ流体循環処理の第 6 ステップを示す。図 2 9 G は、マイクロ流体循環処理の第 7 ステップを示す。

【図 3 0】図 3 0 は、本発明の他の実施形態における分解斜視図である。

【図 3 1】図 3 1 は、本発明の他の実施形態における分解斜視図である。

【図 3 2】図 3 2 は、組み立てられた図 3 1 の機器の平面図である。

【図 3 3】図 3 3 は、液体充填剤を含むインターフェース流路の断面図である。

40

【図 3 4】図 3 4 は、固体充填剤を含むインターフェース流路の断面図である。

【図 3 5】図 3 5 は、マイクロアレイ用スライドの処理を制御するための機器のブロック図である。

【図 3 6】図 3 6 は、複数の基部に接続された外部コントロールモジュールの斜視図である。

【図 3 7】図 3 7 は、マルチピペッターから多数のインターフェース機器へサンプルを供給するためのアダプタの斜視図である。

【図 3 8】図 3 8 は、マルチピペッターから多数のインターフェース機器へサンプルを供給するためのアダプタを含む機器の斜視図である。

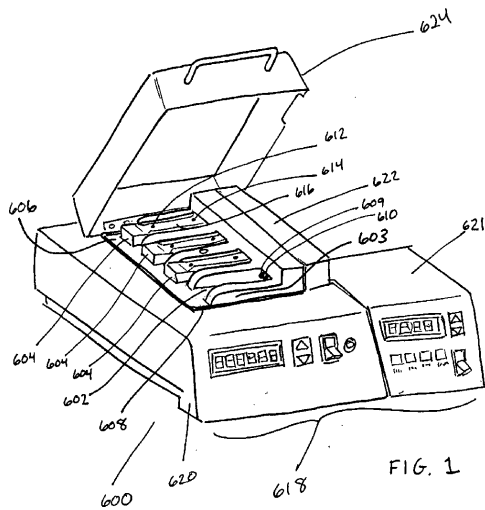
【図 3 9】図 3 9 は、単一のサンプルを多数のインターフェース機器に供給するための多

50

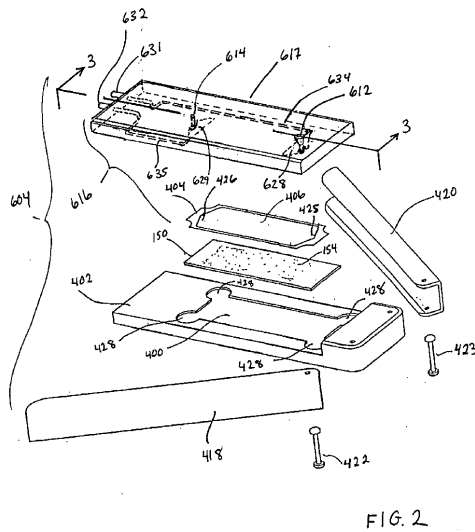
岐管を含む機器の斜視図である。

【図４０】図４０は、図３９のミクロ流体回路の回路図である。

【図１】



【図２】



【図 3】

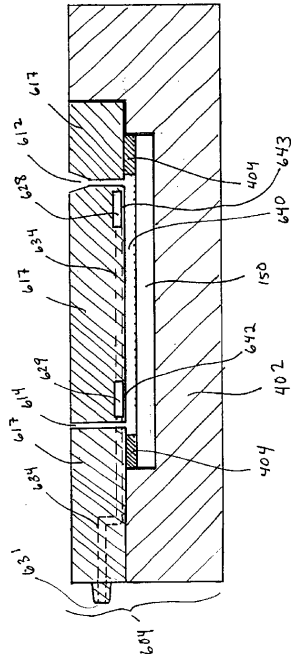


FIG. 3

(NOT TO SCALE)

【図 4】

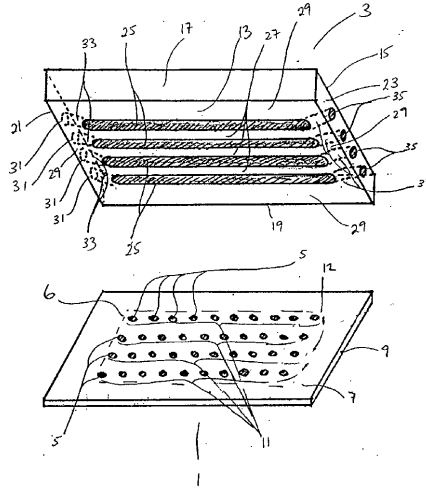


FIG. 4

【図 5】

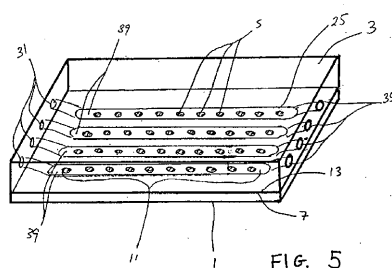


FIG. 5

【図 6】

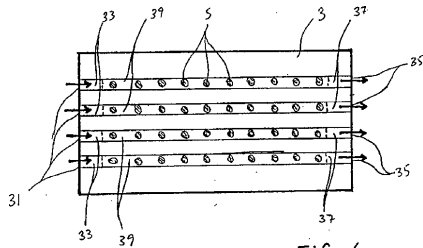


FIG. 6

【図 9】

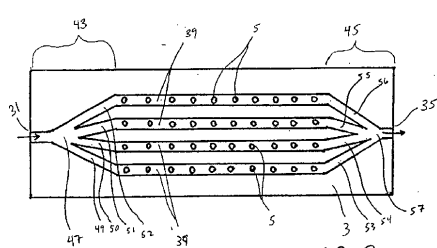


FIG. 9

【図 10】

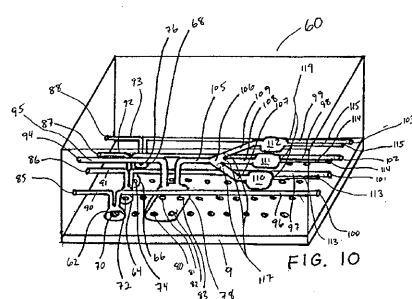


FIG. 10

【圖 7】

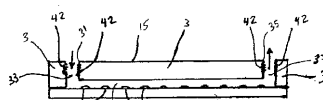


FIG. 7

【图 8】

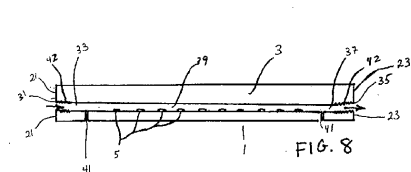
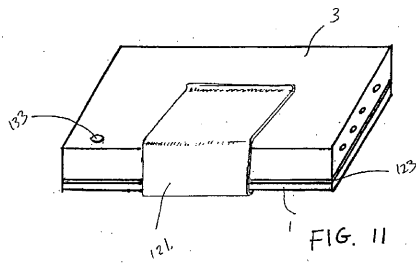
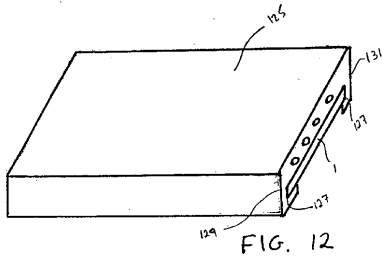


FIG. 8

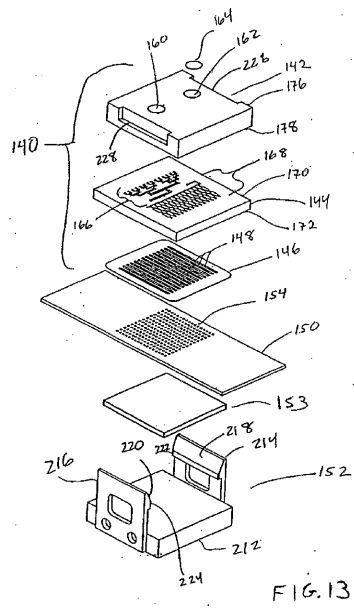
【図 11】



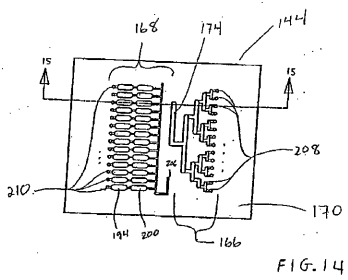
【図 12】



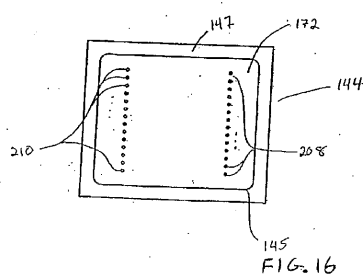
【図 13】



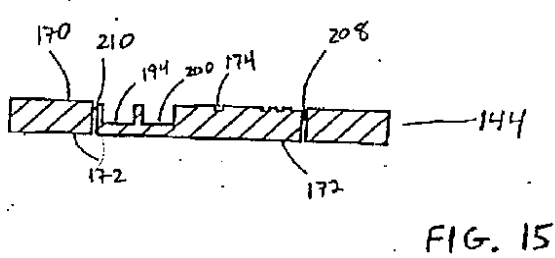
【図 14】



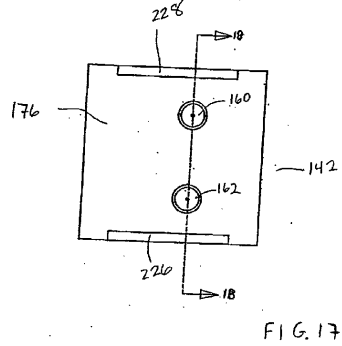
【図 16】



【図 15】



【図 17】



【図 18】

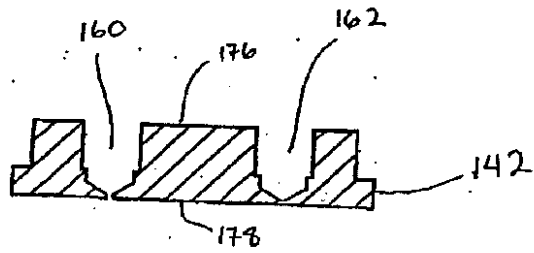


FIG. 18

【図 20】

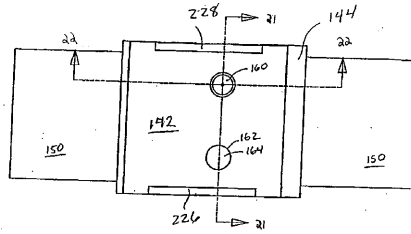


FIG. 20

【図 19】

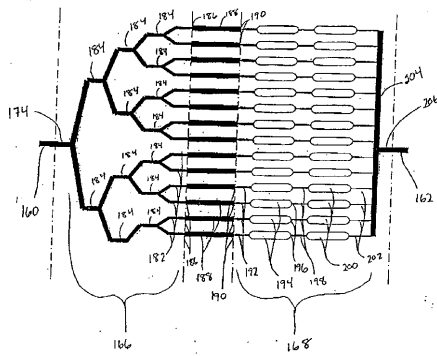


FIG. 19

【図 21】

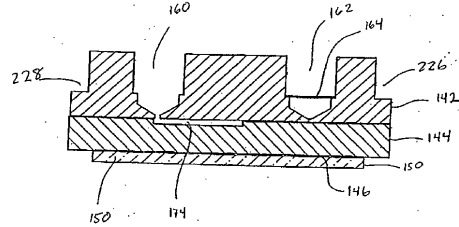


FIG. 21

【図 22】

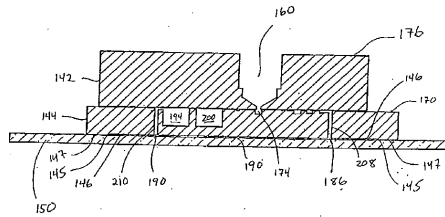


FIG. 22

【図 23】

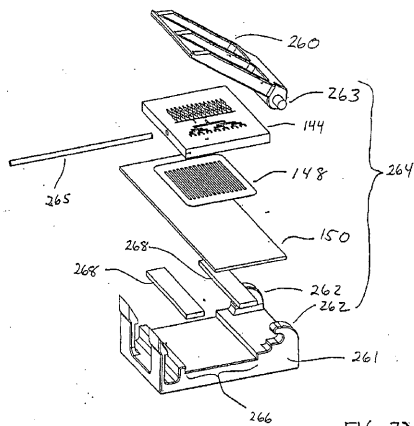


FIG. 23

【図 24】

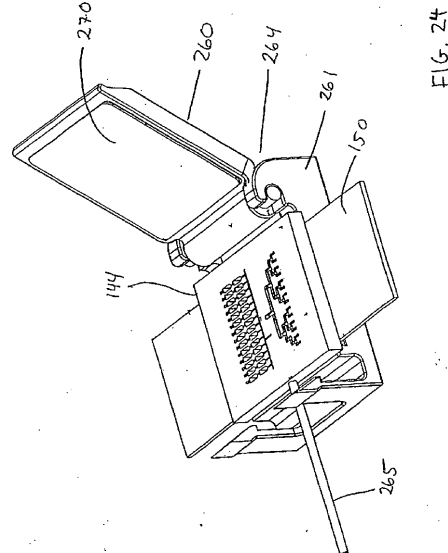


FIG. 24

【図 25】

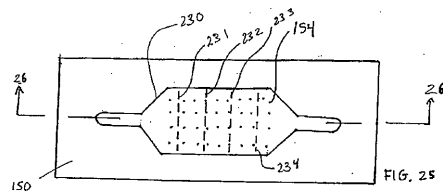
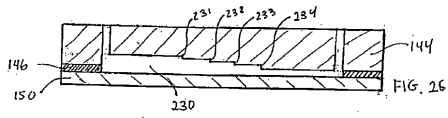
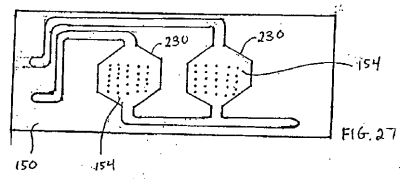


FIG. 25

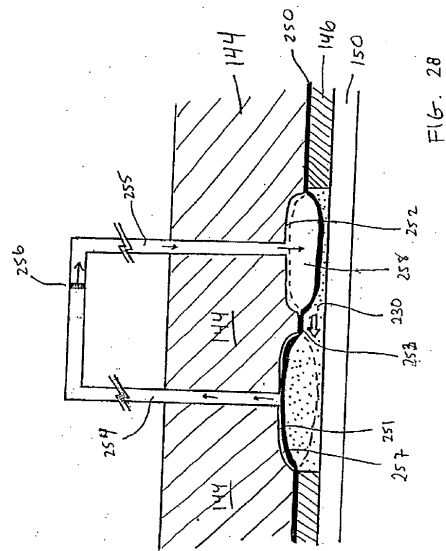
【図 26】



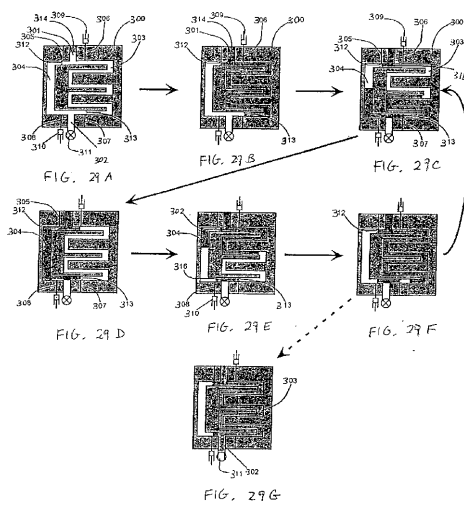
【図 27】



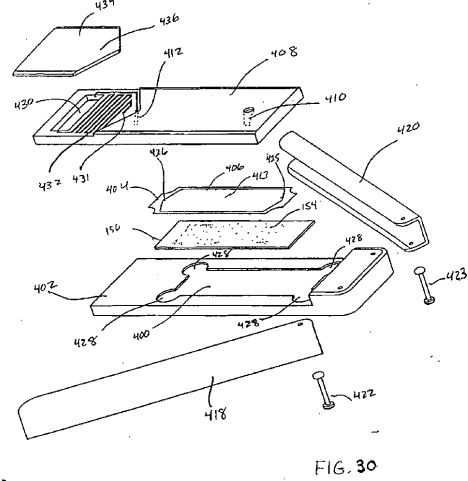
【図 28】



【図 29】



【図 30】



【図 40】

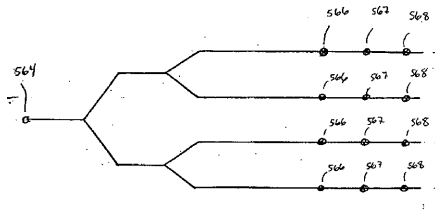


FIG. 40

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/53 M
G 0 1 N 33/566

(31)優先権主張番号 60/313,703
(32)優先日 平成13年8月20日(2001.8.20)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/339,851
(32)優先日 平成13年12月12日(2001.12.12)
(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 ニルズ アデイ
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 エマーソンアベニュー 2218
(72)発明者 マーク スプート
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 メジャーストリート 1540南
(72)発明者 エドワード アイリフ
アメリカ合衆国 ユタ州 パーク市 ステーションループロード 1014
(72)発明者 マイケル ハワード
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 1934南 600東
(72)発明者 ダーリン ボイテル
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 私書箱58598
(72)発明者 ジョン ジェンセン
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 レイクウッドドライブ 1944
(72)発明者 ステファン コフィン
アメリカ合衆国 ユタ州 レイトン 1257北 3100東
(72)発明者 トーマス モイヤー
アメリカ合衆国 ユタ州 ソルトレーク市 アポロドライブ 3646東

審査官 森 竜介

(56)参考文献 国際公開第00/060356 (WO, A1)
特表2002-541458 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 37/00
B81B 1/00
F16J 15/10
G01N 33/53
G01N 33/566