

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5175148号
(P5175148)

(45) 発行日 平成25年4月3日(2013.4.3)

(24) 登録日 平成25年1月11日(2013.1.11)

(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	1 O 1	
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	1 O 2	
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 M 1/00	A	
	C 1 2 Q 1/68	A	

請求項の数 6 外国語出願 (全 26 頁)

(21) 出願番号	特願2008-225406 (P2008-225406)	(73) 特許権者	599032589
(22) 出願日	平成20年9月3日(2008.9.3)		ザ トラスティーズ オブ プリンストン
(62) 分割の表示	特願2003-515640 (P2003-515640)		ユニバーシテイ
原出願日	平成14年7月25日(2002.7.25)		アメリカ合衆国 ニュージャージー州、プ
(65) 公開番号	特開2009-36773 (P2009-36773A)		リンストン、ニュー サウス ビルディン
(43) 公開日	平成21年2月19日(2009.2.19)		グ、フィフス フロアー、ピー. オー. ボ
審査請求日	平成20年9月8日(2008.9.8)	(74) 代理人	100104411
(31) 優先権主張番号	60/307,668		弁理士 矢口 太郎
(32) 優先日	平成13年7月25日(2001.7.25)	(72) 発明者	チョウ、ステイーヴン・ワイ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国ニュージャージー州085
前置審査			40、プリンストン、ファウレット・ドラ
			イブ 7

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高スループットのマクロ分子分析用のナノチャンネル・アレイ並びにその準備および使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ナノチャンネル・アレイであって、
表面であって、該表面の材料に複数のチャンネルを有し、該チャンネルが、約100ナノメートル未満のトレンチ幅と、100ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、
前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、
を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも1mmであり、前記シーリング材料は前記チャンネルに堆積されるものである、ナノチャンネル・アレイ。

10

【請求項 2】

ナノチャンネル・アレイを準備する方法であって、
表面を有する基板を提供する工程と、
前記表面の材料に複数のチャンネルを形成する工程と、
シーリング材料を前記複数のチャンネル上に堆積させて前記複数のチャンネル上に載るようにして、そのようなチャンネルを少なくとも実質上包囲されたものとする工程であって、該実質上包囲されたチャンネルが、約100ナノメートル未満のトレンチ幅と、100ナノメートル未満のトレンチ深さとを有する、前記の工程と、
を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも1mmである、ナノチャンネル・アレイ準

20

備方法。

【請求項 3】

ナノ流体チップであって、

a) ナノチャンネル・アレイであって、
表面を有する基板と、

前記表面の材料内の複数の平行なチャンネルであって、該チャンネルが、約 100 ナノメートル未満のトレンチ幅と、100 ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記のチャンネルと、

前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、

10

前記チャンネルの少なくともいくつかであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、

を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも 1 mm であり、前記シーリング材料は前記チャンネルに堆積されるものである、前記のナノチャンネル・アレイと、

b) 前記チャンネルの少なくとも 1 つのものと流体連通状態にある少なくとも 1 つの試料容器であって、流体を放出することができる、前記の少なくとも 1 つの試料容器と、

c) 前記チャンネルの少なくとも 1 つのものと流体連通状態にある少なくとも 1 つの廃棄物容器であって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも 1 つの廃棄物容器と、
を備えたナノ流体チップ。

20

【請求項 4】

システムであって、

A) ナノ流体チップであって、

a) ナノチャンネル・アレイであって、
表面を有する基板と、

前記表面の材料内の複数の平行なチャンネルであって、該チャンネルが、約 100 ナノメートル未満のトレンチ幅と、100 ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記のチャンネルと、

前記チャンネルの少なくとも 1 つであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくとも 1 つのチャンネルと、

30

前記チャンネルの少なくとも 1 つであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも 1 つのチャンネルと、

を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも 1 mm であり、前記シーリング材料は前記チャンネルに堆積されるものである、前記のナノチャンネル・アレイと、

b) 前記チャンネルの少なくとも 1 つのものと流体連通状態にある少なくとも 1 つの試料容器であって、流体を放出することができる、前記の少なくとも 1 つの試料容器と、

を備えた、前記のナノ流体チップと、

B) 前記ナノチャンネル・アレイ内の前記少なくとも 1 つの流体から送られる少なくとも 1 つの信号を検出する装置と、

40

を備えたシステム。

【請求項 5】

少なくとも 1 つのマクロ分子を分析する分析方法であって、

ナノ流体チップを提供する工程であって、該ナノ流体チップが、

a) ナノチャンネル・アレイであって、

表面であって、該表面の材料内に複数の平行なチャンネルを有し、該チャンネルが、約 100 ナノメートル未満のトレンチ幅と、100 ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、

前記チャンネルの少なくとも 1 つであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくとも 1 つのチャンネルと

50

前記チャンネルの少なくとも1つであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも1つのチャンネルと、

を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも1mmであり、前記シーリング材料は前記チャンネルに堆積されるものである、前記のナノチャンネル・アレイと、

b) 前記チャンネルの少なくとも1つのものと流体連通状態にある少なくとも1つの試料容器であって、少なくとも1つのマクロ分子を含有する流体を放出することができる、前記の少なくとも1つの試料容器と、

を備えた、前記の工程と、

前記少なくとも1つの試料容器に少なくとも1つの流体を提供する工程であって、前記流体が少なくとも1つのマクロ分子を含有する、前記の工程と、

前記少なくとも1つのマクロ分子を前記少なくとも1つのチャンネルに移送して、前記少なくとも1つのマクロ分子を長くする工程と、

前記少なくとも1つの長くしたマクロ分子から送られる少なくとも1つの信号を検出する工程と、

前記検出した信号を、前記少なくとも1つのマクロ分子の少なくとも1つの特性に相関させる工程と、

を備えた分析方法。

【請求項6】

少なくとも1つのナノ流体チップを含むカートリッジであって、該カートリッジが、マクロ分子分析を実施するためのシステムに挿入したそれから除去することができ、前記少なくとも1つのナノ流体チップが、少なくとも1つのナノチャンネル・アレイを含み、前記ナノチャンネル・アレイが、

表面であって、該表面の材料内に複数のチャンネルを有し、該チャンネルが、約100ナノメートル未満のトレンチ幅と、100ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、

前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、

を備え、前記チャンネルの長さは少なくとも1mmであり、前記シーリング材料は前記チャンネルに堆積されるものである、カートリッジ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本願は、2001年7月25日出願の米国仮特許出願第60/307,666号の優先権を主張する。DARPA付与番号MDA972-00-1-0031により、本文に開示する発明の1部分に至る研究が支援された。したがって、米国政府は、これら発明において一定の権利を有することがある。

【0002】

背景

本発明は、ナノチャンネル・アレイに関するものである。また、本発明は、ナノチャンネル・アレイを準備する方法に関する。さらにまた、本発明は、ナノチャンネル・アレイを含むナノ流体チップに関する。また、本発明は、マクロ分子の高スループットの分析に適したシステムに関する。さらに、本発明は、ナノチャンネル・アレイを使用することによって少なくとも1つのマクロ分子を分析する方法に関するものである。

【0003】

バイオ・ナノテクノロジーの新たに出現した分野においては、チャンネルのような極めて小さなナノ流体構造を製作することが必要であり、またDNAおよびタンパク質のようなバイオ分子の単一分子分解能での操作および分析のためのアレイとして使用することが必

10

20

30

40

50

要である。原則として、チャンネルの横断面面積のサイズは、長くされたバイオ分子の横断面面積のオーダー、すなわち、1～100平方ナノメートルのオーダーとして、長くされた（例えば、線形または非折り畳み状）バイオ分子を提供して、これを個々に分離するがしかし数百、数千、数百万も同時に分析できるようにすべきである。同様に、チャンネルの長さも、十分長くすることによって、10センチメートルのオーダーの長さとなり得る1つの染色体全体のような最も長いマクロ分子（例えば、ヒトのゲノムの染色体1は、2億5千万の塩基対を有する）にも対応できるようにすることが望ましい。本願発明者およびその他の者は、最近、そのような問題並びにその可能な解決法に参与していた。これについては、O. Bakaffin, et al., Anal. Chem. 73 (24), 6053 (2001), J. O. Tegenfeldt, et al., Phys. Rev. Lett. 86(7), 1378(2001), J. Han et al., Science 288, 1026 (2000), 及びS. R. Quake et al., Science 290 (5496), 1536 (2000)に報告されている通りである。

10

【0004】

重要なことは、数千から数百万もの個々のマクロ分子の同時の分離並びにその分析のためには、1つのアレイに、数千あるいはさらに数百万のチャンネルを効率的にしかも信頼性良く構築することである。そのような大きなアレイの分離されたマクロ分子は、原則として、電荷結合デバイス(CCD)のような現在利用可能な2次元エリア検出器で分析することができる。自動化されたデータ処理収集およびイメージ分析ソフトウェアを伴って、数千ないし数百万までのマクロ分子の同時特徴化は、マクロ分子サイズ、化学成分およびDNA配列決定の母集団分布分析のようなマクロ分子分析のための極めて強力なツールとなる。

20

【0005】

個々のマクロ分子は、原則として、単一のチャンネルで分離し分析することができるため、多数のマクロ分子を含有する試料の異種性を容易に判別することができる。これは、特に、単一の染色体上の一塩基多型(SNP)を識別するのに有用となる。これと対照的に、従来の母集団に基づくアッセイは、核酸マクロ分子の多数の複製を準備してSNP分析を実行するため、時間のかかるDNA増倍法を必要としている。ナノチャンネル・アレイを組み込んだ染色体分析システムは、もしこれが利用可能な場合、現在利用可能ななどの方法よりもはるかに迅速にSNP分析を行うことができるものとなる。

【0006】

多数の長くされたマクロ分子の同時の分離および分析を実行するため適当な寸法をもつナノチャンネル・アレイは、これまで利用可能となっていない。したがって、以下の少なくとも3つのキーとなる寸法特性をもつナノチャンネル・アレイを提供することに対する緊急なニーズが存在する。ここで、3つのキーとなる寸法特性とは、(1)マクロ分子を長くしそして分離するために、チャンネルが十分に小さな寸法を有すべきであること、(2)長くされたマクロ分子全体の即座の観察を可能にするため、チャンネルは、十分に長い寸法を有すべきであること、(3)多くの数のマクロ分子の同時観察を可能にするため、多くの数のチャンネルを提供すべきであること。これに加えて、望ましいことは、マクロ分子をチャンネル内へ移送させるのに使用した場（例えば、電場）がターンオフされた後においても、長くされしかも分離されたマクロ分子が、そのような状態に周囲環境条件で無限に留まるようにすることである。この特徴は、場の影響の下におけるマクロ分子の滞留時間よりも長い時間を必要とする技法での分析を可能にする。また、この特徴はマクロ分子を場に曝す必要なく、マクロ分子の分析を可能にする。

30

40

【0007】

マクロ分子（例えばポリマー）を分析するための方法はこれまで開示されてきているが、そのどれも、上述の3つのキーとなる寸法特性をもつナノチャンネル・アレイを使用していない。米国特許第5,867,266号は、マイクロ光学系を開示しており、これが有する複数のコプレーナのみクロン・ミリメートル・スケールの試料チャンネルは、フォトリソグラフィと、各々のみクロン・ミリメートル幅の試料チャンネルにおいて多数のピラー構造を備える人工のゲル材料とを使用することによって準備されている。その大きなチャネ

50

ル幅は、この光学系をナノチャンネル・アレイとして不適当なものとしている。

【 0 0 0 8 】

同じく、米国特許第5,867,266号に開示されたものよりもより狭いチャンネルでマクロ分子（例えば、ポリマー）を分離する方法は、どれも、上述の3つのキーとなる寸法特性をもつナノチャンネル・アレイを使用していない。WO00/09757においては、本願の発明者の幾人かが、チャンネルを通して真っ直ぐの形態で移送される単一ポリマーを光学的に特徴化するためのシステムが開示されている。米国特許第6,355,420号においては、ポリマーを分析するためのシステムが開示されており、そのポリマーは、複数（少なくとも50）のチャンネルを通して真っ直ぐの形態で移送される。これら開示の双方とも、1つまたはそれより多いチャンネルで整列させた単一のマクロ分子の分析に向けられているが、これら文書のいずれも、多数のチャンネルにおいての多数のマクロ分子の同時観察を開示していない。

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 9 】

したがって、各種のマクロ分子分析において有用な適当なナノチャンネル・アレイを提供するという課題が依然として存在している。マクロ分子（例えばポリマー）を狭いチャンネルで分離することによりそれらを分析する方法は、これまで開示されているが、そのどれも、上述の3つのキーとなる寸法特性をもつナノチャンネル・アレイを使用していないが、その理由は、主として、今日まで、そのようなナノチャンネル・アレイを構築するための製作技術が利用可能ではなかったからである。

20

【 0 0 1 0 】

超小形のナノ流体構造を例えば単一バイオ分子分析のために作成する際には、少なくとも2つの問題を解決する必要がある。すなわち、シールした流体チャンネルのサイズの減少とその作成である。本願発明者の1人が報告しているように、NILは、パラレル高スループット技術であり、これは、大きな基板表面の領域にわたってナノメートル・スケールの特徴部を低コストで作成することを可能とする。(S. Y. Chou et al., *Appl. Phys. Lett.* 67 (21), 3114 (1995) および S. Y. Chou et al., *Science* 272, 85 (1996))。ウエハ・ボンディング(M. Stjernstrom et al., *J. Micromech. and Microeng.* 8 (1), 33 (1998))、およびソフト・エラストマ・シーリング(H. P. Chou et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 96 (1), 11 (1999))のような現在のシーリング技術は、比較的大きなプレーナ表面に適しており、そして有効なシールを提供する。ウエハ・ボンディングは、完全に無欠陥で平坦な表面を必要とし、そしてエラストマ・シーリングは、ソフトな材料がチャンネル内へ侵入することから詰まりの問題を抱えている。極めて小さな閉じ込め構造内では、生物学的試料はまた、流体構造を構築する材料の疎水性および同種性のような問題に対しかなり敏感である。

30

【 0 0 1 1 】

ポリシリコン (S. W. Turner et al., *J. Vac. Sci. and Technol. B* 16(6), 3835 (1998))、ポリノルボルネン (D. Bhusari et al., *J. Microelectromech. Syst.* 10 (3), 400 (2001))のような“プレース・ホールディング (place-holding)” 犠牲的材料を使用する最近開発された技術は、シールされた小さな中空の流体構造を作成するのに一般的となっている。しかし、その犠牲的材料を除去する際に必要なステップ、例えば、基板を200~400 °Cへの加熱またはウエット・エッチングは、ある主の材料の使用並びにその下流の製作プロセスの使用を制限してしまう。

40

【 0 0 1 2 】

本文に開示するように、本発明は、高スループットのマクロ分子分析を実行するために適したナノチャンネル・アレイを提供するという目的を達成する。干渉リソグラフィ (IL: interferometric lithography)、ナノインプリント・リソグラフィ (NIL: nanoimprint lithography)、異方性堆積技術を使用することにより、シリコン・ウエハ基板の表面にわたる上記の所望のキー寸法を有する、数十万から百万超までの包囲チャンネルを

50

もつナノチャンネル・アレイを準備する。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の1形態では、ナノチャンネル・アレイを提供し、このナノチャンネル・アレイは、表面であって、該表面の材料内に複数のチャンネルを有し、該チャンネルが、約150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、を備える。

【0014】

本発明の別の形態においては、ナノチャンネル・アレイを準備する方法を開示し、この方法は、表面を有する基板を提供するステップと、前記表面の材料内に複数のチャンネルを形成するステップと、シーリング材料を前記複数のチャンネル上に堆積させて前記複数のチャンネル上に載るようにして、そのようなチャンネルを少なくとも実質上包囲されたものとするステップであって、該実質上包囲されたチャンネルが、約150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記のステップと、を備える。

【0015】

本発明の別の形態においては、ナノ流体チップを提供し、このナノ流体チップは、a) ナノチャンネル・アレイであって、表面を有する基板と、前記表面の材料内の複数の平行なチャンネルであって、該チャンネルが、約150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記のチャンネルと、前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、前記チャンネルの少なくともいくつかであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、を備えた、前記のナノチャンネル・アレイと、b) 前記チャンネルの少なくとも1つのものと流体連通状態にある少なくとも1つの試料容器であって、流体を放出することができる、前記の少なくとも1つの試料容器と、c) 前記チャンネルの少なくとも1つのものと流体連通状態にある少なくとも1つの廃棄物容器であって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも1つの廃棄物容器と、を備える。

【0016】

本発明のさらに別の実施形態においては、分析を実施するシステムを提供する。例示的実施形態においては、これらは、A) ナノ流体チップであって、a) ナノチャンネル・アレイであって、表面を有する基板と、前記表面の材料内の複数の平行なチャンネルであって、該チャンネルが、約150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記のチャンネルと、前記チャンネルの少なくとも1つであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくとも1つのチャンネルと、前記チャンネルの少なくとも1つであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも1つのチャンネルと、を備えた、前記のナノチャンネル・アレイと、b) 前記チャンネルの少なくとも1つのものと流体連通状態にある少なくとも1つの試料容器であって、流体を放出することができる、前記の少なくとも1つの試料容器と、B) データ・プロセッサと、を備える。

【0017】

別の実施形態においては、少なくとも1つのマクロ分子を分析する分析方法を記述し、この方法は、例えば、ナノ流体チップを提供するステップであって、該ナノ流体チップが、a) ナノチャンネル・アレイであって、表面であって、該表面の材料内に複数の平行なチャンネルを有し、該チャンネルが、約150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、前記チャンネルの少なくとも1つであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲するようにした、前記の少なくとも1つのチャンネルと、前記チャンネルの少なくとも

10

20

30

40

50

1つであって、流体を受け入れることができる、前記の少なくとも1つのチャンネルと、を備えた、前記のナノチャンネル・アレイと、b)前記チャンネルの少なくとも1つのものと流体連通状態にある少なくとも1つの試料容器であって、少なくとも1つのマクロ分子を含有する流体を放出することができる、前記の少なくとも1つの試料容器と、から成る、前記のステップと、前記少なくとも1つの試料容器に少なくとも1つの流体を提供するステップであって、前記流体が少なくとも1つのマクロ分子を含有する、前記のステップと、前記少なくとも1つのマクロ分子を前記少なくとも1つのチャンネルに移送して、前記少なくとも1つのマクロ分子を長くするステップと、前記少なくとも1つの長くしたマクロ分子から送られる少なくとも1つの信号を検出するステップと、前記検出した信号を、前記少なくとも1つのマクロ分子の少なくとも1つの特性に相関させるステップと、を備える。

10

【0018】

また、本発明による、ナノ流体チップを含むカートリッジも開示する。このようなカートリッジは、本文に開示するものようなシステムに挿入しまたそれから除去することができる。また、本発明のシステム以外の分析システムに有用なカートリッジも、本発明により考慮している。

【0019】

発明の詳細な説明

本発明の1つ形態は、実質上包囲された複数のチャンネルをもつナノチャンネル・アレイを包含している。図1に示すように、ナノチャンネル・アレイ100は、表面102を有し、そしてこの表面は、表面106の材料内に複数のチャンネル104を含んでいる。チャンネル104は、壁110と、チャンネル中心112を有している。1つのチャンネル104の内側の、チャンネル中心112に対し垂直に対向する壁表面110間の距離は、トレンチ幅として規定する。チャンネル104には、シーリング材料108が載っており、そしてこのシーリング材料108は、チャンネル104を少なくとも実質上包囲されたものとする。

20

【0020】

1実施形態においては、チャンネル104は、完全には包囲されたものとはせず、そして通常は、チャンネル中心112の直上にシーリング材料108を有しないことになり、これにより、シーリング材料内にチャンネルへの開口部を与える。この開口部は、種々の形状のものとすることができる。この開口部のサイズは、チャンネル中心112の上の開口部を埋める最小距離として規定する。このような実施形態では、この開口部のサイズは、トレンチ幅より小さく、そして代表的には、トレンチ幅の1/2未満であり、そしてより代表的なものではトレンチ幅の1/3未満であり、そしてもっとも代表的なものではトレンチ幅の1/4未満である。他の実施形態では、チャンネルは、完全に包囲して、チャンネルの上部を完全に覆うシーリング材料を有し、そしてこのシーリング材料内に開口部のないものとすることができる。本発明のある種の実施形態では、シーリング材料108は、図2に示すように、チャンネル104の壁110および底部上に延在したものとして規定することができる。このような実施形態では、トレンチ幅は、壁114に隣接するシーリング材料が形成する表面からの距離として規定する。

30

40

【0021】

本発明においては、トレンチ幅は、代表的には、150ナノメートル未満であり、そしてより代表的なものでは100ナノメートル未満、そしてさらに代表的なものでは75ナノメートル、50ナノメートル、25ナノメートル、および15ナノメートルの各幅未満である。ある種の実施形態においては、このトレンチ幅は、約10ナノメートルである。本発明においては、トレンチ幅は、少なくとも2nmであり、そして代表的には少なくとも5nmである。

【0022】

本発明においては、チャンネルは、少なくとも実質的に包囲している。“少なくとも実質的に包囲”とは、チャンネルが完全に包囲されているか、あるいは1/2トレンチ幅よ

50

り小さなシーリング材料内の開口部を有するか、あるいは完全に包囲されたチャンネルと開口部の両方を有すること、を意味する。

【0023】

完全に包囲したチャンネルが有するトレンチ深さは、チャンネル中心112の下方のチャンネル底部にある中実の材料の表面と、チャンネル中心112の上方のシーリング材料との間の距離として規定される。チャンネルが開口部を有する実施形態では、これが有するトレンチ深さは、チャンネル中心の下のチャンネル底部にある中実の材料の表面から、開口部サイズを測定するその開口部の位置とまでの距離として規定される。もしこの開口部が、最小の距離を測定できる1つより多い位置をもつ場合、開口部の上記の位置は、チャンネル104の底部に最も近いものである。

10

【0024】

本発明においては、トレンチ深さは、200nm未満である。ある種の実施形態では、トレンチ深さは、代表的には175nm未満であり、そしてより代表的なものでは150nm, 125nm, 100nm, 75nm, 50nm, または25nmの各深さ未満である。ある種の実施形態では、トレンチ深さは、約15nmである。また、ある種の実施形態では、トレンチ深さは、少なくとも2nmであり、そして代表的には少なくとも5nm、そしてより代表的なものでは少なくとも10nmである。

【0025】

本発明においては、ナノチャンネル・アレイは、シリコン・ウエハ基板のような基板内において、後述の種々の製法を使用して形成することができる。1実施形態では、ナノチャンネル・アレイは、図3の走査電子顕微鏡写真で示すように、基板の表面にわたって、複数の互いに平行で直線状のチャンネルを有している。

20

【0026】

ある種の実施形態では、ナノチャンネル・アレイは、それらチャンネルのうちの少なくとも1つのチャンネルの少なくとも1つの端部を、少なくとも1つの容器と流体連通状態とすることができる。これら実施形態では、少なくとも1つのチャンネルは、少なくとも1つの容器と直接接続する。代替的には、少なくとも1つのチャンネルは、少なくとも1つの容器に対し、直線のまたは曲線状の相互接続するマイクロチャンネル(約1ミクロンより大きい幅、高さ、またはそれらの双方を有するチャンネル)を介して接続することができ、あるいはまた、チャンネルは、相互接続するナノピラーまたはマイクロピラーのアレイを介して少なくとも1つの容器と接続する。

30

【0027】

ある種の実施形態では、それらチャンネルのうちのいくつかのものの少なくとも2つの端部は、それらチャンネルに共通の少なくとも1つの容器と流体連通状態とする。これら実施形態では、それらチャンネルのうちのいくつかのものの少なくとも2つの端部は、互いに隣接したものとしたり、あるいは隣接しないものとしたりできる。これらチャンネルは、少なくとも1つの容器と直接接続することができる。

【0028】

ある種の実施形態では、少なくとも2つのチャンネルは、少なくとも1つの容器に対し、1つの共通の直線のまたは曲線状の相互接続するマイクロチャンネルを介して接続することができる。代替的には、少なくとも2つのチャンネルは、少なくとも1つの容器に対し、1つの共通の相互接続するナノピラーまたはマイクロピラーのアレイを介して接続することができる。

40

【0029】

本発明のある種の実施形態では、ナノチャンネル・アレイは、その複数のチャンネルが、これらチャンネルのうちの少なくともいくつかのものに共通の少なくとも1つの試料容器と流体連通状態となる。“複数のチャンネル”では、2つより多いチャンネルを意味し、代表的には5より多く、そしてさらに代表的なものでは10, 100, 1000, 10000, または100000のチャンネルより多い。ある種の実施形態では、ナノチャンネル・アレイ内のチャンネルのすべてに対し1つの試料容器を設けることができ、したが

50

ってそれら複数のチャンネルは、基板上にあるチャンネル数と同じほど多いものとする
ことができる。ある種の実施形態では、100mm径の基板では、約500000個の平行
で直線状のチャンネルを有することができ、そしてそれらチャンネルは、200nmの周
期である。尚、この周期は、互いに隣接する2つのチャンネルの中心間の距離として規定
される。

【0030】

ある種の実施形態では、それら複数のチャンネルは、少なくとも1つの容器と直接接続
することができる。それら接続は、1つの共通の直線または曲線状の相互接続するマイク
ロチャンネルとすることができる。他の実施形態では、複数のチャンネルは、少なくとも
1つの容器に対し、1つの共通の相互接続するナノピラーまたはマイクロピラーのアレイ
を介して接続することができる。

10

【0031】

本発明のある種の実施形態では、ナノチャンネル・アレイが含む複数のチャンネルは、
少なくとも1つの廃棄物容器と流体連通状態にする。それら複数のチャンネルは、代表的
には、少なくとも1つの廃棄物容器と直接接続するが、1つより多い廃棄物容器を設ける
こともできる。尚、理解されるべきであるが、廃棄物容器は、1つの試料収集容器として
使用することができる。したがって、多数の試料収集容器を、ナノチャンネル・アレイ上
に設けることもできる。これら実施形態では、複数のチャンネルは、前述の1つの共通の
直線または曲線状の相互接続するマイクロチャンネルを介して、少なくとも1つの廃棄物
容器と接続することができる。同様に、複数のチャンネルは、1つの共通の相互接続する
ナノピラーまたはマイクロピラーのアレイを介して、少なくとも1つの廃棄物容器と接続
することができる。

20

【0032】

本発明のある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイが有する複数のチャン
ネルは、実質上平行であり、そしてそれら複数のチャンネルが、基板の表面の平面内に実
質上ある。

【0033】

本発明のある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、直線状のチャン
ネルを含むことができる。直線状チャンネルは、実質上互いに相互接続されていない、互い
に隣接したチャンネルである。

30

【0034】

ある種の実施形態においては、それらチャンネルの端部は、流体のマクロ分子を受け入
れる能力がある。マクロ分子を受け入れる能力がある、ということにより、チャンネルが
、マクロ分子の通過を許すのに十分な程大きい少なくとも1つの開口部を有していること
を意味する。種々の開口部が考えられるが、代表的には、そのような開口部は、チャン
ネルの端部に配置したり、あるいは、シーリング材料内の開口部を通してシーリング材料の
表面上に配置したりできる。シーリング材料内の開口部は、以下で示すナノチャンネル・
アレイの次の変形により提供することができる。

【0035】

本発明のある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイが含むチャンネルは、
マクロ分子をそれらの長さに沿って移送する能力を有している。このナノチャンネル・ア
レイは、種々のコンポーネントを取り付けることによって、マクロ分子の移送に影響を
与えるようにでき、そしてそれらコンポーネントの例には、チャンネルに渡る圧力または真
空の勾配降下、電気浸透、電気運動が含まれる。

40

【0036】

マクロ分子は、特定の原理に拘束される訳ではないが、代表的には、空間において非線
形で3次元の構造を有している（例えば、線形のポリマーは、それらの自然の状態におい
てはランダムなコイル構造を有している）と信じられている。したがって、マクロ分子が
、エントロピーを減少させるのに必要な大きな自由エネルギーにより、自然に長くなりそし
て周囲からチャンネルに直接入ることは、熱力学的には好都合ではない。例えば、169

50

キロベースのT4ファージ二本ストランド・ゲノムDNA鎖は、自由溶液において旋回 $Rg = (Lp/6)^{1/2} = 700 \text{ nm}$ の径のガウス・コイルを形成し、ここで、Lは、その計算された輪郭長であり、pは約50 nmの持続長さである。

【0037】

ある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、少なくとも1つのマクロ分子をチャンネルの長さにならって移送する能力をもつチャンネルを含むことができ、そしてそのチャンネルにおいては、マクロ分子は長くされた形態にある。このようなチャンネルは、マクロ分子の端部が入ることを可能にするのに十分大きい開口部を有することができる。ある種の実施形態では、好ましいのは、そのようなチャンネルもまた、そのトレンチ幅とトレンチ深さが十分に狭くて、マクロ分子の移動を基板の表面に沿って、主として1つの方向に制限することである。好ましくは、そのようなチャンネルは、相互接続されない。

10

【0038】

本発明のある種の好ましい実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、少なくとも1つのバイオポリマーをそのチャンネルの長さにならって移送する能力を有している。これら実施形態においては、チャンネルの幾何学形状は、バイオポリマーがそれらチャンネルに入りそしてそのチャンネルに沿って少なくとも1つの方向に移動することができるようにする。好ましくは、チャンネル表面は、チャンネルの内側に対するバイオポリマーのようなマクロ分子の粘着を防止するため、後述するように非固着剤で処理する。

【0039】

20

他の実施形態においては、好ましいのは、ナノチャンネル・アレイが、少なくとも1つの折り畳まれていないバイオポリマーをそれらチャンネルの長さにならって移送する能力をもつチャンネルを含むことである。ある特定の原理に拘束される訳ではないが、チャンネルの寸法が、マクロ分子の空間的構造よりも明らかに大きいとき、マクロ分子の長さの少なくとも1部分の伸長部がそのチャンネル内にある。また、チャンネルの寸法がマクロ分子の持続長さと同じオーダーまたはそれ未満であるとき（例えば、DNAに関しては50 nm）、マクロ分子は、チャンネル内に非折り畳み形式で十分に長くすることができる。また、チャンネルの寸法が上述の2つのシナリオの間にくる場合、マクロ分子は、それらチャンネル内において部分的に長くすることができる。この場合、マクロ分子は、折り畳んだり、絡み合わせたり、あるいは折り畳みと絡み合わせの両方を行わせることができる。どのマクロ分子も、本発明のナノチャンネル・アレイのチャンネル内において非折り畳み状態形態で移送できると考察されるが、各種の適当な非折り畳み状態のマクロ分子には、RNA、DNA、変性非折り畳み状態ペプチド鎖、自己組織化した化学ポリマー、コポリマー鎖、他のバイオポリマー、およびこれらの組み合わせが含まれる。

30

【0040】

1つの好ましい実施形態においては、ナノチャンネル・アレイのチャンネル構造は、基板表面にわたる直線状に隣接するチャンネル壁から形成することができる。他の実施形態においては、チャンネルは、ピラー構造、自己組織化ポリマー構造、スタック状メンブレン層、ナノビーズ（チャンネル内の粒子）から形成することができる。

【0041】

40

ナノチャンネル・アレイの表面材料は、導体材料、半導体材料あるいは不導体材料のような、ほとんど任意の基板材料から形成することができる。導体材料の例には、アルミニウム、金、銀、クロムのような金属が含まれる。半導体材料の例には、ドーピングした二酸化シリコンおよびガリウム砒素が含まれる。不導体材料には、溶解シリカ、二酸化シリコン、窒化シリコン、ガラス、セラミックス、合成ポリマーが含まれる。以上は、単なる例示である。

【0042】

本発明においては、ナノチャンネル・アレイの表面は、代表的には、シリコン・ウエハの表面のような、基板の表面である。代替的には、その表面は、第2の基板により隣接して支持されたもののようなフィルムとすることができる。第2の基板上への材料のコーテ

50

ィングは、フィルムを形成することができる。適当なコーティング・プロセスには、ウエハ上への材料の蒸気堆積が含まれる。

【0043】

本発明のある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、シーリング材料に隣接した、少なくとも1つの光学的に不透明の材料の層を含む。この光学的不透明層は、表面材料とシーリング層との間に置いたり、チャンネルの内側に置いたり、シーリング材料の上に置いたり、あるいはそれらの組み合わせとすることができる。層として堆積させることができるほとんどの不透明材料がこの実施形態では可能であるが、アルミニウムが好ましい。ある種の実施形態に対しては、この不透明層の厚さが約50nm厚未満であることが望ましい。チャンネルの内容物の近接場イメージングを実行するのに有用なナノスリットを含む実施形態に対しては、50nmより小さなスリットを準備することが望ましく、そしてそれは、隣接する(表面下)チャンネルの保全性を維持するため、透明なシーリング材料を通してではなく堆積させた不透明層を通してエッチングする。ある特定の理論に拘束される訳ではないが、光学的不透明層は、高解像度の近接場励起に対してブロッキング・マスクとして機能する。ある特定の理論に拘束される訳ではないが、アルミニウムは、不透明層としては特に好ましいが、それは、アルミニウムが、励起光源の所与の波長において任意の材料の中で最も高い既知の浸透厚を有するからであり、これが、最小厚のブロッキング層、したがってスリットとチャンネル内の可能なターゲット分子との間の最短距離をもたらす。

10

【0044】

本発明のある種の実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、少なくとも1つのチャンネルの上に、少なくとも1つの近接場スリットの特徴部を有している。このようなスリットは、隣接するシーリングされたチャンネルの保全性を危うくすることなく、可能な限りチャンネルの近く(約30nm未満)に製作すべきである。スリットの開口部とチャンネルとの間のシーリング材料の薄い壁は、FIBミリングまたは制御された材料堆積によって作成することもできる。

20

【0045】

さらに別の好ましい実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、チャンネル底部に隣接するシーリング材料を含む。シーリング材料は、チャンネル底部内に設けることができ、これは、適当なシーリング材料を、チャンネルを包囲する前あるいはその包囲するのと同時にそのチャンネル内へ堆積させることにより行う。

30

【0046】

また、ナノチャンネル・アレイは、優先的に、チャンネル壁材料に隣接してシーリング材料を有する。この実施形態では、シーリング材料は、トレンチ幅を減少させることができる。これは、各種の基板表面から、トレンチ幅が150nmよりも広くしかもトレンチ深さが200nmよりも深いチャンネルを含むナノチャンネル・アレイを準備するのに、特に有利である。この実施形態では、そして後述するように、シーリング材料は、種々の方法でチャンネル内へ堆積させることができる。その1つの適当な方法は、Eビーム蒸着であり、これは、材料のポイント・ソースを作成する。Eビーム蒸着では、基板は、代表的には、試料のサイズと比べそのソースから遠く離れており、そして堆積する材料の分布は、非常に狭い。不均一な堆積を実現するため、基板は、ある特定の角度に傾斜させる。チャンネル壁は、シーリング材料の堆積を(影のように)部分的にブロックし、そしてその材料のほとんどは、チャンネル壁の上側部分近くのチャンネル壁上に堆積する。ある臨界の深度を超えると、基板が傾斜している限り、堆積は全く起きない。

40

【0047】

チャンネル内にシーリング材料を提供するある代替でしかも好ましい方法は、スパッタ堆積である。スパッタ堆積では、シーリング材料は、あらゆる角度で堆積させ、このため、表面上の任意の点における瞬時的成長速度は、図4に概要を示したように、全ターゲット面積のその見通し線内の割合に依存する。ある特定の理論に拘束される訳ではないが、基板表面に近接した大きなターゲット・ソース130からのシーリング材料は、種々の軌

50

道(122, 124, 126, 127)に沿って進み、そしてチャンネル内の種々の異なった位置に堆積する。代表的には、スパッタリングを使用するが、それは材料ビームの発散性のためであり、そしてこれにより、ターゲット材料のより高速の堆積を、チャンネルの底部においてではなくチャンネルの上部部分においてもたらす(すなわち、チャンネルの上に載る)。そのうちには、チャンネルの上部近くのシーリング材料は、実際、チャンネルを完全に包囲し、これが、チャンネル内へのシーリング材料の更なる堆積を阻止する。1実施形態においては、チャンネル内のその結果のシーリング材料は、プロファイル128をもたらす。適当なスパッタリング・システムは、当該分野において知られている。特に好ましいスパッタリング・システムは、200mmのSiO₂ターゲット・ソースを有し、これは、100mm基板にわたって高い表面カバレッジおよび均一性を提供する。

10

【0048】

ナノチャンネル・アレイのチャンネルの長さは、広い範囲をもつことができる。チャンネルのこの長さもまた、ナノチャンネル・アレイにおいて同じとしたりあるいは異なったものとしたりできる。以下で示すナノチャンネル・アレイを使用したマクロ分子分析を実行するため、望ましいのは、それらチャンネルが、少なくとも1ミリメートル(mm)の長さであることである。より代表的には、チャンネルの長さは、1センチメートル(cm)より大きく、そしてさらに、5cm、15cm、25cmの各々よりも大きい。

【0049】

本発明の別の形態においては、ナノチャンネル・アレイを準備する方法を提供し、この方法は、複数のチャンネルを、基板の表面の材料内に形成するステップと、シーリング材料を堆積させてそれら複数のチャンネル上に載るようにして少なくとも実質上包囲されたチャンネルを提供するステップと、を備えている。複数のチャンネルを含む基板は、好ましくは、200ナノメートルあるいはこれ以下の周期性をもち、そしてこれは、干渉リソグラフィおよびナノインプリント・リソグラフィの技術によって提供することができ、そしてこれらは、米国特許第5,772,905号に開示されており、この開示全体を本文に援用する。先に記載した通り、種々のタイプの材料を使用して、複数のチャンネルを有する表面を準備することができる。適当な基板には、半導体、誘電体、ポリマー、自己組織化バイオフィルム、メンブレン、金属、合金およびセラミックスが含まれる。

20

【0050】

好ましくは、シーリング材料を堆積させて複数のチャンネル上に載るようにして、そのようなチャンネルを少なくとも実質上包囲されたものとし、この実質上包囲されたチャンネルは、150ナノメートル未満のトレンチ幅と、200ナノメートル未満のトレンチ深さとを有する。“載る”とは、シーリング材料を、チャンネルの底部と比べてそのチャンネルの上部に向かって優先的に堆積され、これにより、実質上包囲されたチャンネルをもたらす、これは、上述した図4に示している。

30

【0051】

本発明のある種の実施形態においては、シーリング材料は、種々の方法のうちの任意のものを使用して堆積させることができ、そしてそれら方法には、化学蒸気堆積、スピン・コーティング、フィルム積層、熱蒸着が含まれる。好ましくは、シーリング材料は、電子ビーム式の蒸着またはスパッタリングを使って堆積させる。

40

【0052】

本発明のある種の実施形態においては、基板表面上へのシーリング材料の堆積は、スパッタリング・プロセスにより、ガス圧が代表的には約20mTorr未満で、より代表的には10mTorr未満で、そしてさらに代表的には5mTorr未満で行う。スパッタリングは、強力なイオン衝撃を使ってソース・ターゲット表面(例えばSiO₂)から分子を駆動して出すプロセスである。原子は、ソース・ターゲットからたたき出され、そしてパターニングされたシリコン・ウエハのような種々の基板表面上に堆積させることができる。特定の理論に拘束される訳ではないが、ガス圧が減少するにつれ、プラズマ・スパッタリング・チャンバの環境において粒子がより少なくなり、これにより、堆積する原子が、基板表面に達するまでに、より少ない衝突で進み、より異方性で高速の堆積をもたら

50

す。30 Torrのようにガス圧が高くなるにつれ、堆積する原子は、基板表面までのそれらの経路上において、より高い頻度で衝突をし、これによりより発散した進行角度で、より等方性でより低速の堆積となる。より異方性で高速の堆積でガス圧が低いと、より多くの堆積する原子が、トレンチの底部は側壁の下側部分に到達することができ、これは、トレンチの上部と比べ、その底部および側壁にシーリング材料の比較的高速の堆積を生じさせ、このことは、さらに、より小さなチャンネル(トレンチ)寸法に結びつく。

【0053】

また、シーリングするトレンチのアスペクト比も、最終のシーリングされた空隙空間の幾何学形状に影響を与える。深さ対幅の非が高くなるにつれ、トレンチの底部付近に堆積されるシーリング材料は少なくなる。深さ対幅の非が小さくなるにつれ、チャンネル寸法が小さくなりかつ狭くなる。

10

【0054】

本発明の方法を実行する1実施形態においては、少なくとも1つの容器を、チャンネルのうちの少なくとも1つの少なくとも1つの端部と流体連通状態となるように設ける。チャンネルは、ナノインプリントおよびピラー・アレイの相互接続構造を使用することにより、基板上に製作することができる。容器を定めることは、フォトリソグラフィ、そしてこれに続き、基板へのパターンの転写を、反応性イオン・エッチング(RIE)、化学エッチング、またはチャンネルと流体連通状態で容器を作成するための直接のFIBミリングを使って行う実現する。また、容器をチャンネルに接続するためのマイクロチャンネルのような補助構造も、これらの方法を使って設けることができる。蒸気の容器および補助構造の代表的な深さは、通常、少なくとも数百ナノメートルであり、好ましくは数マイクロメートルの深さである。

20

【0055】

ある種の実施形態においては、追加のシーリング・ステップを設けることが望ましい。適当な追加のシーリング・ステップは、シーリング材料上へのプレーナ表面の基板の適用を含む。代替的には、容器は、シーリング・プレーナ基板上に形成することができる。また、約1ミクロンよりも大きな補助流体連通構造も、より大きな試料容器と接続するために形成することができる。容器をチャンネルに接続するため、各種の手法が考えられる。すなわち、少なくとも2つの容器を、少なくとも2つの別々のチャンネルと流体連通状態で設けたり、あるいは、少なくとも10個の容器を、少なくとも10個の別々のチャンネルと流体連通状態で設けたり、あるいは、少なくとも96個の容器を少なくとも96個の別々のチャンネルと流体連通状態で設けたり、あるいは、少なくとも500個の容器を、少なくとも500個の別々のチャンネルと流体連通状態で設けたり、または少なくとも5000個の容器を少なくとも100個の別々のチャンネルと流体連通状態で設けたり、またはそれらの組み合わせとしたりすることができる。

30

【0056】

本発明の好ましい実施形態においては、ナノチャンネル・アレイを準備する方法は、ナノインプリント・リソグラフィにより形成される200nm未満の周期性をもつ直線状のチャンネル・アレイを使用して実行する。この実施形態では、直線状チャンネルは、トレンチ幅が100ナノメートル未満で、トレンチ深さが100ナノメートル未満である。この実施形態では、シーリング材料の少なくとも1部分を、スパッタ堆積を使用して堆積させることにより、チャンネル壁材料に隣接してシーリング材料を提供して、トレンチ幅を狭くする。

40

【0057】

また、このシーリング材料の堆積パラメータを変化させることも、チャンネルのトレンチ幅を狭くするのに使用する。この堆積パラメータは、代表的には100ナノメートル未満のトレンチ幅を提供するように変化させることができる。より多くの材料を堆積させるにつれ、トレンチ幅を、75ナノメートル未満、さらには50ナノメートル、25ナノメートル、15ナノメートル未満に狭くすることができる。また、約10nmのトレンチ幅も、本発明の方法によって提供することができる。代表的には、堆積後のその結果として

50

生じるトレンチ幅は、2 nmより大きく、そしてより代表的には5 ナノメートルより大きくなる。175 nm, 150 nm, 125 nm, 100 nm, 75 nm, 50 nm, および25 nmの各々未満のトレンチ深さも、本発明の方法によって提供することができる。約15 nmのトレンチ深さも、提供することができる。代表的には、トレンチ深さは、少なくとも5 nm、そしてより代表的には少なくとも10 nmとなる。

【0058】

本発明の別の実施形態においては、本方法は、少なくとも1つのチャンネルの上に少なくとも1つの近接場スリットの特徴部を提供するステップを含むことができる。このステップでは、シーリング材料は、二酸化シリコンのように、代表的には透明であって、チャンネル内部の、DNAのような、蛍光的にラベル付けしたマクロ分子の分光検出を可能にする。これは、チャンネル内のマクロ分子を分析するため、近接場光学イメージングのような光学的方法の使用を可能にする。近接場光学分析に適当なナノチャンネル・アレイは、ナノスリットを有するように変更することができる。上述のように、チャンネルより上のこのナノスリットは、薄くて、蛍光的にラベル付けしたマクロ分子の十分なエバネッセント励起を可能にする。

10

【0059】

本発明の1実施形態においては、ナノチャンネル・アレイは、シーリング材料下のチャンネル内の流体の近接場光学分析に対し適した、十分に薄いシール厚をもつように、準備することができる。1実施形態においては、100 nmより厚い不透明のシーリング材料を有するチャンネルは、適当な製作方法を使用することによって変更することにより、不透明シーリング材料内にナノスリットを提供するようにできる。

20

【0060】

小さな領域から材料を除去するための適当な製作方法には、Eビーム・リソグラフィおよび集束イオン・ビーム(FIB)ミリングが含まれる。Eビーム・リソグラフィには、Eビーム・レジストのリソグラフィと、これに続き、現像と反応性イオン・エッチングが関係している。集束イオン・ビーム(FIB)ミリングは、好ましくは使用するが、これは、Eビーム・リソグラフィよりもステップが少ないからである。FIBは、ガリウム・イオンのような強力なイオン(energetic ions)のビームを使用して材料をたたき出し、そして20 nmまでの分解能の能力をもち、また原則として数ミクロンまでのエッチングをすることができる。FIBが好ましいのは、これが、ナノスリット構造のFIBミリング直後に、そのミリングされた領域をイメージ化できるようにするからである。

30

【0061】

本発明の1実施形態においては、シーリング材料の1部分は、チャンネル内部に堆積させることによって、以下のうちの少なくとも1つを形成することができる。すなわち、絶縁層、導電層、親水性層、疎水性層、またはこれらの組み合わせである。この実施形態では、この層の厚さは、代表的には、トレンチ幅の半分未満である。

【0062】

1実施形態においては、壁114に隣接したシーリング材料の幾何学形状、組成、またはそれらの組み合わせは、チャンネル内において分析する対応する試料のために、変更しまた操作することができる。ある特定の実施形態では、壁114に隣接するシーリング材料の表面特性を改質することが望ましい。これは、表面改質剤でチャンネルの少なくともいくつかを処理することにより実行して、それらチャンネル内側の表面を変える。

40

【0063】

1実施形態においては、表面改質剤は、チャンネル内に堆積させることによって、チャンネル内へのまたこれを通るマクロ分子の移送を改善する。表面改質剤は、内部寸法(トレンチ深さ、トレンチ高、あるいはこの両方)が約50 nm未満の場合に特に有用である。また、表面改質剤は、それらチャンネル内部の表面の疎水性を減少させたり増加させることもできる。本発明により作ったナノチャンネル・アレイは、表面改質剤を含む溶液に対し接触させることができる(例えば、このアレイをそのような溶液中に浸すことによる)。適当な表面改質剤には、ポリエチレングリコール(PEG)、界面活性剤、ウシ血清

50

アルブミン（BSA）タンパク質溶液、表面非特異的結合飽和、抗タンパク質固着剤が含まれる。真空のような圧力差の適用は、チャンネルの処理を補助するのに使用することができる。真空の適用はまた、チャンネルの内側のどのような流体も脱ガス化するために有用である。

【0064】

本発明のある種の実施形態においては、表面改質剤は、チャンネル内部の電気浸透効果に対抗する。ある特定の原理に拘束される訳ではないが、この電気浸透効果は、通常、マトリックスに固定（例えば、壁に付着）されたイオン化酸性基に起因し、このイオン化酸性基が、正に荷電した対イオンを緩衝剤内に誘起して、これが負電極に向かって移動し、そしてこれにより、液体の容積流を生じさせ、これが負に荷電したDNAのものと逆の方向に移動する。したがって、電気浸透効果を減少させると、荷電したマクロ分子をチャンネル内へそしてこれに沿って移送するのを助ける。

10

【0065】

本発明の1実施形態においては、チャンネルは、基板の表面上において少なくとも実質上包囲されたものとし、また基板のエッジに対し実質上開放したものとすることができる。本文に記述するように、チャンネルは、シーリング材料の堆積を制御することによって、少なくとも実質上包囲される。1実施形態では、チャンネルは、エッジにおいて実質上開放しており、そしてそれらエッジは、基板を割ったりあるいはカットしてチャンネルの内側部分を露出させることにより、容易に提供する。

【0066】

1実施形態においては、シーリング材料の堆積で、複数のチャンネルを完全に包囲する。この実施形態では、シーリング層は、シーリング材料の原子と少なくとも同じ厚さである。代表的には、複数のチャンネルに載るシーリング材料は、500ナノメートル厚未満である。ある種の実施形態では、複数のチャンネルに載るシーリング材料は、100nm、50nm、25nm、10nm、5nmの各々未満の厚さとすることができる。代表的には、複数のチャンネルに載るシーリング材料は、少なくとも1ナノメートル厚であり、そしてより代表的には少なくとも2nm厚である。本発明のある種の実施形態では、シーリング材料の1部分を除去するステップを使用して、少なくとも1つのチャンネルの上のシーリング材料の厚さを減少させる。シーリング材料の除去は、本文にさらに説明する各種のエッチングおよびEビーム堆積法によって行うことができる。

20

30

【0067】

本発明の別の形態においては、本発明のナノチャンネル・アレイを備えるナノ流体チップを提供する。図5を参照すると、ナノ流体チップ200は、ナノチャンネル・アレイ100と、基板146と、試料および廃棄物（または試料収集）用の容器144とを有している。図5においてさらに設けているのは、流体試料を取り扱うための補助試料ポート140および補助廃棄物ポートである。容器は、少なくとも1つのチャンネルと流体連通しており、これにより、試料容器は、流体をチャンネルに放すことができ、そして廃棄物容器は、チャンネルからの流体を受けることができる。代表的には、それら流体は、分析のためのマクロ分子を含有している。

【0068】

本発明のある種の実施形態においては、ナノ流体チップが含む少なくとも1つの試料容器は、基板の表面内に形成する。ナノチャンネル・アレイ基板内に容器を形成するステップは、上述した。この実施形態では、少なくとも1つの廃棄物容器は、チャンネルのうちの少なくとも1つと流体連通する。代表的には、ナノ流体チップは、少なくとも1つの試料容器を備える。種々の他の実施形態は、少なくとも96個の容器を備え、そしてさらにはナノ流体チップ内に少なくとも1000個の容器を備える。

40

【0069】

マクロ分子分析において使用するため、好ましいのは、ナノ流体チップが、ナノチャンネル・アレイのうちの少なくとも1部分であって、2次元検出器でイメージングできるそのようなものを提供することである。アレイのイメージングの提供は、ナノチャンネル・

50

アレイのシーリング材料面を、放出される信号の収集のため適当な装置（例えば、ナノチャンネル・アレイからの光の収集のための光学的要素）に提示することにより提供する。この実施形態では、ナノ流体チップは、試料容器から複数の長くしたマクロ分子をチャンネルにわたって移送することができる。

【0070】

本発明のある種の実施形態においては、ナノ流体チップは、マクロ分子を、試料容器からチャンネルを通し、そして廃棄物容器へと移送するための装置を含んでいる。その適当な装置には、電場を、チャンネルのうちの少なくとも幾つかにわたって、少なくとも1つの方向において印加することができる少なくとも1対の電極を備える。電極金属は、標準の集積回路製作技術を使って集積化して、少なくとも1つの試料および少なくとも1つの収集/廃棄物容器と接触するようにして、方向性の電場を確立する。交流（AC）、直流（DC）あるいは両方のタイプの場を印加することができる。電極は、ほとんどの金属からも作ることができ、そして代表的には、規定されたライン経路上に堆積させた薄いAl/Au金属層である。代表的には、1つの電極の少なくとも一端は、容器内の緩衝剤溶液と接触している。

10

【0071】

本発明のある種の実施形態においては、ナノ流体チップは、少なくとも2対の電極を備え、各々は、互いに異なった方向において電場を提供する。この実施形態では、チャンネルの隣接するクラスタは、個々の分離した容器と接続する。少なくとも2組の独立の電極では、フィールド・コンタクトを使用して、電場の方向及び振幅を独立に変調することにより、所望の速度または方向でマクロ分子を移動させる。

20

【0072】

本発明の別の形態においては、マクロ分子分析を実行するのに適したシステム（図10の300）を提供する。本発明では、このシステムは、本文に記述したナノ流体チップと、ナノ流体チップのナノチャンネル・アレイにおいて1つ以上の流体から送られる少なくとも1つの信号を検出する装置と、を備えている。

【0073】

本発明の種々の実施形態においては、このシステムはさらに、以下のうちの少なくとも1つを備える。すなわち、流体を少なくとも1つのチャンネルを通して移送する移送装置と、少なくとも1つの流体をナノ流体チップ内の試料容器に装入(load)するための試料装入装置と、データ・プロセッサとである。本システム300の種々のコンポーネントは、互いに接続し、そしてこの全体の動作原理は、図10に示している。

30

【0074】

本システムにおいて使用するナノ流体チップ200は、代表的には、使い捨てで、個々にパッケージングされ、そして1-50000の個々の流体試料の試料装入容量を有している。ナノ流体チップは、代表的には、流体試料をチャンネルに提供する少なくとも1つの相互接続する試料配送マイクロチャンネル、並びに、試料装入開口部および容器、あるいは試料装入開口部およびシーリング機構（例えばOリング）に接続したプレートを有している。また、電極202と電位発生器216を接続するための金属コンタクトを、ナノ流体チップに設ける。適当な金属コンタクトは、外部の走査/イメージング/電場チューナに接続できる外部コンタクト・パッチとすることができる。

40

【0075】

ナノ流体チップは、好ましくは、適当なハウジング（例えば、プラスチック）内に入れ、便利で商業上用意されたカートリッジまたはカセットを提供する。代表的には、ナノ流体カートリッジは、試料装入デバイスを容器内に挿入し、案内しそして位置合わせするためのハウジング上にあるいはこのハウジング内に、適当な特徴部を有することになる。挿入スロット、トラックあるいはこれらの双方は、プラスチック・ケース内に設けることができる。

【0076】

本システムで分析できるマクロ分子流体試料には、哺乳動物からの流体（例えば、DN

50

A、細胞、血液、生検組織片)、ポリマーのような人工のマクロ分子、自然界に見い出される材料(例えば、植物、動物および他の生物からの材料)が含まれる。本発明の自動のまたは手動の試料装入装置を使って、そのような流体試料を取り扱い、装入し、注入することができる。

【0077】

本発明の1実施形態においては、本システムは、チャンネル内側のマクロ分子を励起しそしてその結果生じる信号を検出し収集する装置を備える。それに適した装置は、図10に示す。レーザ・ビーム204は、合焦レンズ206を使って、ナノチャンネル・アレイ100上のスポットに合焦させる。チャンネル(不図示)内側のマクロ分子からの発生された光信号は、集光レンズ208が集め、そしてダイクロイック・ミラー218で反射されて光学経路220へ向かい、そしてこれは、CCD(電荷結合デバイス)カメラに供給される。また、種々の光学的なコンポーネントおよびデバイスも、本システムにおいて使用することにより、デジタル・カメラ、PMT(光電子増倍管)、APD(アバランシェ・フォトダイオード)のような光学的信号を検出する。

10

【0078】

本発明の別の実施形態においては、本システムは、データ・プロセッサを備えている。このデータ・プロセッサを使用することにより、CCDからの信号を処理して、ナノチャンネル・アレイのデジタル・イメージをディスプレイ212に投影する。また、データ・プロセッサは、そのデジタル・イメージを分析して、特徴化情報(例えば、マクロ分子のサイズ統計、ヒストグラム、核型、マッピング、診断情報)を提供し、そしてその情報を、データ読み取り214のための適当な形態で表示する。

20

【0079】

本発明の別の形態においては、少なくとも1つのマクロ分子を分析する方法を提供する。この発明においては、分析は、本発明によるナノ流体チップを提供するステップと、少なくとも1つの試料容器に少なくとも1つの流体を提供するステップであって、前記流体が、少なくとも1つのマクロ分子を含む、前記のステップと、前記少なくとも1つのマクロ分子を前記少なくとも1つのチャンネルに移送して、前記少なくとも1つのマクロ分子を長くするステップと、前記少なくとも1つの長くしたマクロ分子から送られた少なくとも1つの信号を検出するステップと、前記検出した信号を、前記少なくとも1つのマクロ分子の少なくとも1つの特性と関連させるステップと、を備えている。

30

【0080】

本発明の1実施形態においては、マクロ分子を分析する方法は、緩衝剤溶液またはマクロ分子を含む緩衝剤溶液で、チャンネルを毛管現象を使って湿らせることを含む。ポリマーおよびDNAのようなマクロ分子は、電場によってナノチャンネル・アレイ中に導入することができる。

【0081】

種々のマクロ分子は、本発明を使用することによって分析することができる。DNAを分析するため、代表的なプロセス条件は、DNAの希釈溶液を提供することを含み、この溶液は、適当な色素により、4:1~10:1塩基対/色素の割合で染色したものである。適当な色素染色には、TOTO-1, BOBO-1, BOBO-3(分子プローブ, Eugene, Oregon)である。染色したDNAの溶液は、さらに希釈しそして酸化防止剤、抗固着剤で処理する。

40

【0082】

本発明の1実施形態においては、マクロ分子を分析する方法は、1つのDNAをサイズ分けすることを含む。1つのDNAマクロ分子は、炭疽菌のような単一の細胞または孢子から抽出し、そして損傷を避けるために適切に(例えば、重合ゲルにおいて)移送する。

【0083】

マクロ分子流体試料は、容器を通してナノ流体チップ内へ装入し、そして相互接続するマイクロチャンネルを介して移送することができる。マクロ分子は、これらマクロ分子の一端がチャンネルに入る前に部分的に長くされ、そして完全にチャンネル内になったとき

50

に実質上十分に長くなる。蛍光信号は、適当な励起ソースによって励起でき、そして放出信号を、イメージング・カメラまたは検出器で、直線状走査モードまたはCCDイメージ統合で収集する。収集した信号は、データ処理ソフトウェアにより分析することができ、そしてユーザ規定の主要パラメータ（強度／光子、メジャー軸、マイナー軸、背景信号）を記録し測定することができる。

【0084】

単一のDNAについてその長さを検出／記録することができ、そして強度プロファイルをプロットすることができる。本発明の種々の実施形態では、マクロ分子を分析する方法は、検出した信号を、以下の特性の少なくとも1つと関連させることを含む。その特性とは、長さ、構造、化学組成である。このようにして分析できる種々のマクロ分子は、タンパク質のようなバイオポリマー、ポリペプチド、およびRNAまたはDNAのような核酸を含む。DNA核酸に対しては、検出した信号は、そのDNAの塩基対配列と関連させることができる。

10

【0085】

流体内のマクロ分子の代表的な濃度は、1マクロ分子、すなわち約少なくともアットグラム／ミリリットル、そしてより代表的には少なくとも1フェムトグラム／ミリリットル、さらに代表的には少なくとも1ピコグラム／ミリリットル、そしてさらにより代表的には1ナノグラム／ミリリットルである。代表的には、濃度は、5マイクログラム／ミリリットル未満となり、そしてより代表的には、0.5マイクログラム／ミリリットル未満である。

20

【0086】

本発明の1実施形態においては、マクロ分子分析方法は、150ナノメートルより大きい、そして代表的には、500ナノメートル、1ミクロン、10ミクロン、100ミクロン、1mm、1cm、および10cm長よりの各々より大きい細長い長さをもつマクロ分子の長さを測定する。

【0087】

10より多い塩基対をもつDNAもまた、本発明を使用して分析することができる。代表的には、測定する塩基対の数は、100塩基対より多く、1000塩基対より多く、10000塩基対より多く、20000塩基対より多く、40000塩基対より多く、そして80000塩基対より多くすることができる。100万、1000万、さらには1億より多い塩基対をもつDNAは、本発明にしたがって分析することができる。

30

【0088】

本発明の1実施形態においては、上記の方法を使用して、以下のうちの1つ以上を測定することができる。すなわち、制限断片長多型、染色体、一塩基多型である。

本文では、以下の略語を使用する。すなわち、“nm”はナノメートル、“mTorr”はミリTorrである。

【0089】

一般手順

NILおよびエッチング後に、シーリング材料の不均一な堆積を提供し、これは、種々の角度にて傾斜させたサンプル・ウエハでのEビーム蒸着により、または大きなソース・ターゲットを使用したスパッタリング堆積によって行った。このステップを使用して、トレンチ幅を減少させるとともにチャンネルをシーリングした。

40

【0090】

一般に、100 - 340nmのSiO₂を、パターニングした基板の上に堆積させた。効果的なシーリングは、テストする種々の堆積条件で実現した。30mTorrのガス圧、~900WのRF出力、および1400VのDCバイアスでは、~9nm/minの堆積レートが達成された。5mTorrのより低い圧力では、堆積レートは、概算で17nm/minにまで増加した。シーリング材料は、パターニングした基板の上に、5mTorrにてスパッタリングすることにより堆積させた。

【0091】

50

実施例

以下の実施例では、ナノチャンネル・アレイは、スパッタリングによってSiO₂シーリング材料をパターニングした基板の上に堆積させるプロセスを使って、準備した。チャンネル開口部は、基板を割ることによって準備し、そして走査電子顕微鏡(SEM)によってイメージ化した。その結果は、以下の通りであり、そしてこれは、トレンチ幅が、スパッタリングを使用したシーリング材料の堆積によって狭くなる、ということを示している。

【0092】

実施例1：100mmのシリコン基板を提供し、これは、複数の互いに平行な直線状のチャンネルをもち、そしてこれらチャンネルは、85nmのトレンチ幅と200nmのト
10
レンチ高を有していた(図7a)。この基板は、上述の一般手順にしたがって、5mTorrのガス圧でスパッタリングした。スパッタリング後、これらチャンネルは、52nmのトレンチ幅と、186nmのトレンチ高と、200nmのシール厚を有していた(図7b)。明らかに、トレンチ高は、チャンネル上にコーン形状のシールを形成するシーリング・プロセスの結果として、わずかに増加した。

【0093】

実施例2：スパッタリング前に、65nmのトレンチ幅と約100nmのトレンチ高と
20
をもつパターニングした基板は、17nmのトレンチ幅と、68nmのトレンチ高と、約350nmのチャンネル・シール厚とを有するナノチャンネル・アレイを形成した。スパッタリング・ガス圧は、5mTorrであった。

【0094】

実施例3：スパッタリング前に、50nmのトレンチ幅と約80nmのトレンチ深さと
をもつパターニングした基板は、10nmのトレンチ幅と、51nmのトレンチ高と、3
50nmのチャンネル・シール厚とを有するナノチャンネル・アレイを形成した。スパ
ッタリング・ガス圧は、5mTorrであった。

【0095】

実施例4：2次元のピラー・アレイを含む基板を、2ステップNILプロセスを使って
、インプリンティング・ステップ間でチャンネル・モールドを90度回転させて作った
(図6a)。このピラー・アレイ構造は、続いて、29分の堆積時間を使って、二酸化シリ
30
コンで完全にシーリングした。このシール厚は、約500nmであった。チャンネルのプ
ロファイル図は、図6bに示しており、そして完全にシーリングしたナノチャンネル・ア
レイの上面図は、図6dに示している。

【0096】

実施例5：実施例4を繰り返すが、但し、スパッタリング堆積時間は、17分にして、
完全にはシーリングされていないナノチャンネル・アレイを提供した。このナノチャンネル
・アレイの上面図の走査電子顕微鏡写真は、図6dに示している。このシール厚は、3
00nmである。

【0097】

実施例6：ナノスリットをチャンネル内に設け、これは、近接場分析を実行するため二
40
酸化シリコンのシーリング材料で準備し、これは、約100nmより大きなシール厚をF
IBを使って変更することにより、100nm未満の厚さをもつナノスリットを作成した
。図8が示しているのは、ナノチャンネル・アレイ上の堆積シーリング材料を、最初に、
シーリングしたチャンネルの上に配置したシーリング材料から、FIBを使って、ミリン
グで取り去る方法の概略を示している。引き続き、アルミニウムを堆積させて不透明層
を作成することにより、そのスリットの場合に光学的なコントラストを提供する。

【0098】

実施例7：この例は、150nm幅で150nmの深さの複数のチャンネルをもち基板
から、ナノチャンネル・アレイを準備することができる方法を示している。基板は、フォ
トリソグラフィ技術によって準備して、1.5ミクロンより大きな幅をもつ複数のチャン
50
ネルを、従来の光学的リソグラフィ技術(低ミクロン・レベルでパターン・分解能を提供

するKarl Suss MA - 6のようなコンタクト・アライナ (contact aligner)、工業用プロジェクト・ステッパ) を使って提供する。シーリング材料の入射堆積ビームの角度を変化させることにより、トレンチの幅と高さを、それぞれ150nmおよび150nm未満に減少させ、そして浅い接線方向の堆積角度を与えることにより実質上シーリングした。

【0099】

実施例8：この例は、Eビーム技術を使ってナノチャンネル・アレイを提供する。基板は、実施例1におけるのと同じように提供する。基板には、Eビーム(熱)蒸着機(Temescal BJD - 1800)により二酸化シリコンを堆積させる。この基板は、二酸化シリコンのソース・ターゲットからの堆積ビームの入射に対し種々の角度で配置する。その堆積レートは、約3nm/minにセットし、また150nmのシーリング材料を約50分で堆積させた。

10

【0100】

実施例9：この例においては、ナノチャンネル・アレイを、表面改質剤と接触させる。実施例1によるナノチャンネル・アレイは、真空チャンバの内側で、ポリエチレン・グリコールを含む表面改質剤に、一晚浸して、チャンネルの湿潤および処理を促進し、そしてチャンネル内にトラップされることのある空気バブルを脱ガス化する。

【0101】

実施例10：この例は、金属シーリング材料をもつナノチャンネル・アレイの準備を示している。Eビーム(熱)蒸着機(Temescal BJD - 1800)を使用して、ナノチャンネル・アレイ・チップ(トレンチ幅が80nm、トレンチ深さが80nm、SiO₂/Si基板)上にクロム(Cr)を堆積させた。この基板は、ソース・ターゲットからの入射堆積ビームに対し種々の角度で配置し、そしてその堆積レートは、2.0 - 3.6nm/minにセットした。その結果のトレンチ幅は20nmで、トレンチ深さは80nm未満、そしてチャンネルは実質上包囲された。

20

【0102】

実施例11：この実施例は、ナノチャンネル・アレイに対し光学的に不透明な層を追加するプロセスを示している。実施例3にしたがって作ったナノチャンネル・アレイは、入射堆積ビームに対し垂直に配置して、50nm厚未満の不透明層を提供する。アルミニウムのソース・ターゲットを、シーリングしたチャンネルの上のSiO₂シーリング材料上に対する堆積のため、選択する。この堆積レートは、2.0 - 3.6nm/minにセットした。

30

【0103】

実施例12：この実施例は、ナノチャンネル・アレイ内に近接場スリットを提供するのに必要なステップを記述する。FIBを使用することにより、実施例11のナノチャンネル・アレイの長軸に垂直な方向において、幅が50nm未満の狭いスリットをミリングした。このFIBミリングの深さを制御して、ナノチャンネル・アレイの上の、下にある薄いSiO₂シーリング材料を露出させた。

【0104】

実施例13：この実施例は、試料容器にナノチャンネル・アレイを与えてナノ流体チップを提供する方法を記述する。100nm幅で100nmの深さのチャンネルをもつナノチャンネル・アレイを、実施例1の一般手順にしたがって作った。このナノチャンネル・アレイに対し、ホトレジストをスピン・コーティングをし、ホットマスクでイメージングして、ナノチャンネル・アレイの対向する端部に領域を提供した。この露出させた区域を、反応性イオン・エッチングを使ってエッチングしてチャンネル端部を露出させ、そして基板のエッジにおいて、チャンネルの対向する端部にミクロンの深さの容器をおよそミリメートルの幅で与えた。

40

【0105】

実施例14：この実施例は、DNAを分析するため、ナノ流体チップにDNAマクロ分子を含有する流体を充填する方法を記述する。2mmの径のシリンダ形状でプラスチック

50

の試料配送チューブを、実施例 13 のナノチャンネル・アレイの容器の 1 つと流体連通状態に配置した。この配送チューブは、外部の試料配送 / 収集デバイスに接続し、そしてこのデバイスは、圧力 / 真空発生装置に接続する。チャンネルは、毛管現象で緩衝剤溶液により湿らせた。染色したラムダファージ・マクロ分子 (ラムダ DNA) を含有する緩衝剤溶液を、電場 (1 - 50 V / cm) によってナノチャンネル・アレイ中に導入した。この溶液の濃度は、5 microgram/mL であり、そしてラムダ DNA は、色素 TOTO - 1 (分子プローブ、Eugene, Oregon) により、10 : 1 の割合の塩基対 / 色素で染色した。この染色 DNA 溶液は、0.1 M の抗酸化剤と抗固着剤として使用する 0.1 % 線状ポリアクリルアミドとを含有する 0.5 x TBE (pH 7.0 のトリス - ボロアセテートの緩衝剤) 中へ希釈して、0.1 - 0.5 microgram/mL とした。

10

【0106】

実施例 14 : 実施例 12 により作った、100 nm x 100 nm のチャンネル寸法のナノ流体チップを、毛管現象を使って、染色ゲノム DNA を含有する緩衝剤溶液で充填して、DNA マクロ分子をチャンネル内へ電場で引き出した。バクテリアファージ DNA 分子のラムダ (48.5 kb) および T4 (168.9 kb) は、それぞれ、色素 TOTO - 1 と BOBO - 3 で染色した。染色 DNA のこの溶液は、抗酸化剤としての 0.1 M ジチオスレイトールと抗固着剤として使用する 0.1 % 線状アクリルアミドとを含有する 0.5 x TBE 中へ希釈して、0.5 µg / mL とした。60 X (N.A.1.4) の油浸対物レンズをもつニコンのエクリプス TE-300 倒立顕微鏡を、488 nm および 570 nm の励起ソースとしての Ar : K レーザ (コヒーレント・レーザ) と共に使用した。512 x 512 ピクセル・アレイで 16 ビット・デジタル出力をもつ、Roper Scientific Pentamax の強化冷却式 CCD カメラ (Roper Scientific Pentamax intensified cooled CCD camera) を使用して、分子をイメージング化した。デジタル・イメージは、NIH イメージ・ソフトウェアにより、データ・プロセッサを使用して分析した。図 9 b は、チャンネル内で並んだ引き伸ばしたラムダおよび T4 ファージのゲノムの統合したイメージを示している。図 9 b の挿入図は、デジタル・イメージから得た直接測定した長さ (Length of stretched DNA) をゲノム・サイズ (Genome size) に対しプロットしたもののほぼ完全にリニアな対応性を示している (R² は 0.99996)。図 9 c は、10 kb から 194 kb までの範囲のサイズをもつ、チャンネル内で整列させ引き伸ばした、蛍光的にラベル付けしたゲノム DNA 分子のアレイを示す。これは、数百万のセンター・メートル長の平行なチャンネルをウエハ全体にわたって製作できることを示している。したがって、ゲノム DNA 分子の長さ全体を引き伸ばしそして分析することができる。

20

30

【0107】

実施例 15 : 実施例 14 を繰り返すが、ただし、96 個の多数容器のシステムを備えている。実施例 12 にしたがって作ったナノ流体チップを、ホットマスクで修正することにより、96 個の試料容器を提供し、そして各容器は、100 mm 基板の 1 つのエッジに沿って 1000 個のチャンネルに接続する。96 個の異なった DNA 試料を、それら試料容器に接続した毛細管ファイバを使って配送し注入する。96 個の収集容器をチャンネルの対応する端部に接続して、DNA 試料を収集する。

【0108】

実施例 16 : この実施例は、マクロ分子の分析を実施するのに使用するシステムを記述する。本システムは、自動化した 96 毛細管の自動注入式試料装入機を備えていて、96 のマクロ分子流体試料を、ナノ流体カートリッジの配送ポートに配送する。ナノ流体カートリッジは、ナノ流体チップをプラスチックのポリカーボネート・ハウジングによりケース入れしたものであって、毛細管チューブに接続するための配送ポートおよび収集ポートと、ナノ流体チップ上の電極に接続するための埋め込み金属コンタクトとを有している。このカートリッジは、カートリッジ・ホルダに挿入することができ、そしてこのホルダは、レーザ励起ソースおよび適当な光学的コンポーネントと一体化させることによって、このナノ流体チップのナノチャンネル・アレイ内の試料流体の励起並びにそれから放出される光学的信号の収集を提供する。信号検出 / 収集装置は、冷却式 CCD デジタル・カメラ

40

50

である。このデジタル・カメラからの信号は、N I Hイメージ分析ソフトウェアを使ってデータ・プロセッサにより分析し、そしてモニタに表示する。

【 0 1 0 9 】

実施例 17：この実施例は、実施例 16 のシステムを使用して 1 つの DNA マクロ分子をサイズ分けする方法を記述する。単一の炭疽菌胞子は、そのゲノム内容物 (DNA) 全体を抽出するため 10 マイクロリットルの緩衝剤溶液で溶解し、そして蛍光色素により染色した。試料装入機は、カートリッジの配送ポート中に挿入し、そして DNA 含有流体を注入する。電極を活性化し、そして DNA マクロ分子をナノチャンネル・アレイ中に移送し、そしてここで、それらマクロ分子が長くなる。DNA に対する蛍光ステインを励起ソースにより励起し、そしてそれらの放出信号を CCD カメラを使って収集する。この収集した信号は、データ・プロセッサにより、強度および位置に関して分析し記録する。単一の DNA の長さを検出し、強度プロファイルをプロットする。

10

【 0 1 1 0 】

本発明の別の形態においては、144 を設ける。カートリッジは、少なくとも 1 つのナノ流体チップを備え、このカートリッジは、マクロ分子分析を実施するためのシステムに対し挿入したそれから除去することができ、またその少なくとも 1 つのナノ流体チップは、少なくとも 1 つのナノナノチャンネル・アレイを備え、このナノナノチャンネル・アレイは、

表面であって、この表面の材料内に複数のチャンネルを有し、これらチャンネルが、約 150 ナノメートル未満のトレンチ幅と、200 ナノメートル未満のトレンチ深さを有する、前記の表面と、

20

前記チャンネルの少なくともいくつかであって、シーリング材料が上に載って、それらチャンネルを少なくとも実質上包囲されるようにした、前記の少なくともいくつかのチャンネルと、
を備える。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 1 1 】

【 図 1 】 図 1 は、実質上包囲されたチャンネルをもつナノチャンネル・アレイの横断面を示す。

【 図 2 】 図 2 は、完全に包囲されたチャンネルをもち、しかもそれらチャンネル内にシーリング材料を堆積させたナノチャンネル・アレイの横断面を示す。

30

【 図 3 】 図 3 は、互いに平行のチャンネルをもち、また開放されたチャンネル端部をもつナノチャンネル・アレイの走査電子顕微鏡写真である。

【 図 4 】 図 4 は、チャンネル内へシーリング材料を堆積させるためのプロセスの概略を示す。

【 図 5 】 図 5 は、ナノ流体チップを示す。

【 図 6 】 図 6 a は、実施例 4 において使用した基板について、二酸化シリコンでシーリングする前の走査電子顕微鏡写真である。図 6 b は、実施例 4 のナノチャンネル・アレイについて、その基板を二酸化シリコンでシーリングした後に得られたものの走査電子顕微鏡写真である。図 6 c は、実施例 5 のナノチャンネル・アレイの走査電子顕微鏡写真 (上面図) である。図 6 d は、実施例 4 のナノチャンネル・アレイの走査電子顕微鏡写真 (上面図) である。

40

【 図 7 】 図 7 a は、実施例 1 において使用した基板について、二酸化シリコンでシーリングする前の走査電子顕微鏡写真である。図 7 b は、実施例 1 のナノチャンネル・アレイについて、図 7 a のナノチャンネル・アレイを二酸化シリコンでシーリングした後に得られたものの走査電子顕微鏡写真である。図 7 c は、実施例 2 において使用した基板について、二酸化シリコンでシーリングする前の走査電子顕微鏡写真である。図 7 d は、実施例 2 のナノチャンネル・アレイについて、図 7 c のナノチャンネル・アレイを二酸化シリコンでシーリングした後に得られたものの走査電子顕微鏡写真である。図 7 e は、実施例 3 において使用した基板について、二酸化シリコンでスパッタリングする前の走査電子顕微鏡

50

写真である。図7fは、実施例3のナノチャンネル・アレイについて、図7eのナノチャンネル・アレイを二酸化シリコンでスパッタリングした後に得られたものの走査電子顕微鏡写真である。

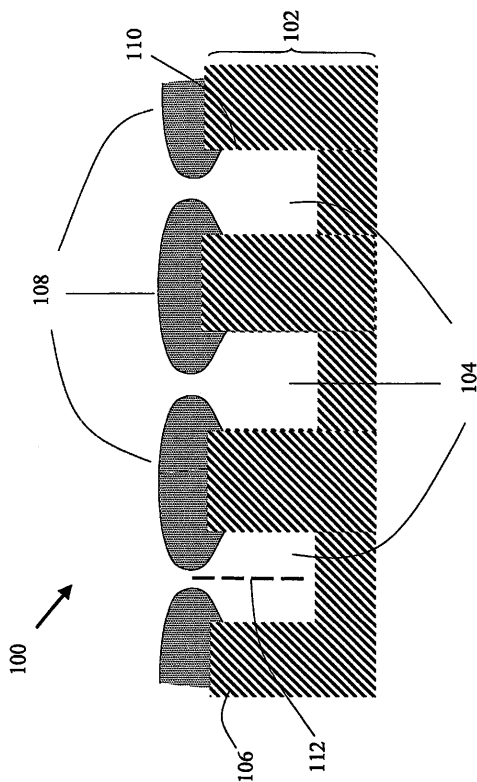
【図8】図8aは、チャンネルの底部にわたる不透明層にナノスリットをもつ、シーリングされたチャンネルを示す。図8bは、シーリング層にわたる不透明層にナノスリットをもつ、シーリングされたチャンネルであって、そのシーリング層が、ナノチャンネル・アレイの長軸に垂直に配向されたものを示す。

【図9】図9aは、実施例14において使用したシーリングされたナノチャンネル・アレイ(右)の基板(左と下)との走査電子顕微鏡写真を示す。図9bは、実施例14の48.5kbラムダファージ・ゲノム(より短い)と168kbのT4ファージ・ゲノム(より長い)について、CCDから得たイメージであり、挿入図は、ゲノム・サイズ対マクロ分子輪郭長のプロットである。図9cは、10kbから196kbまでのサイズ範囲の複数のDNAマクロ分子を同時に長くし、分離しそして表示するナノチャンネル・アレイを示す。

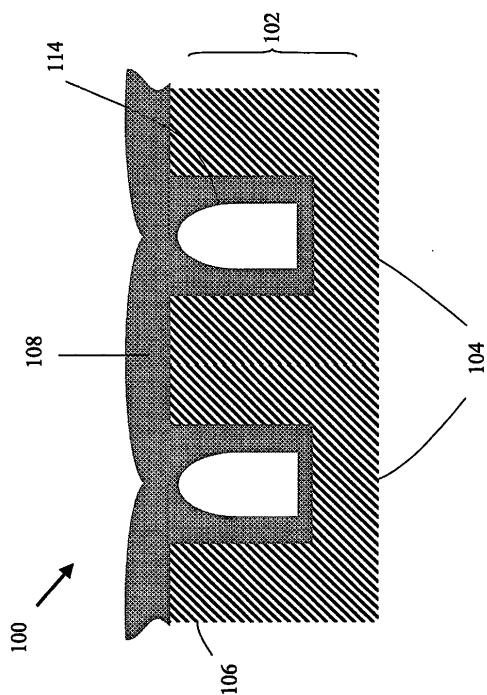
10

【図10】図10は、ナノ流体チップを使用してマクロ分子を分析するためのシステムを示す。

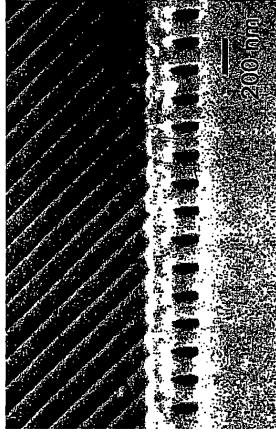
【図1】



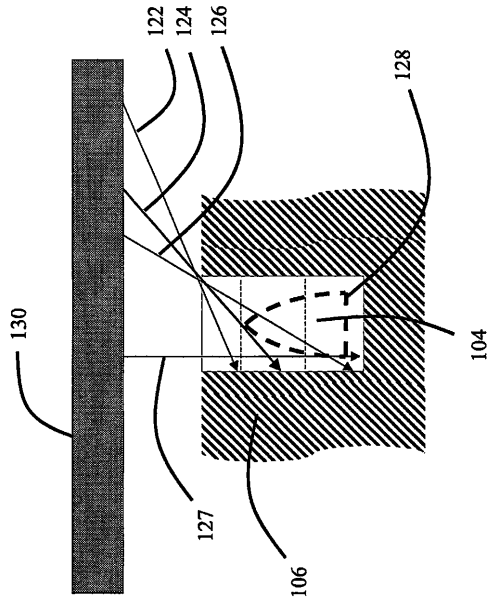
【図2】



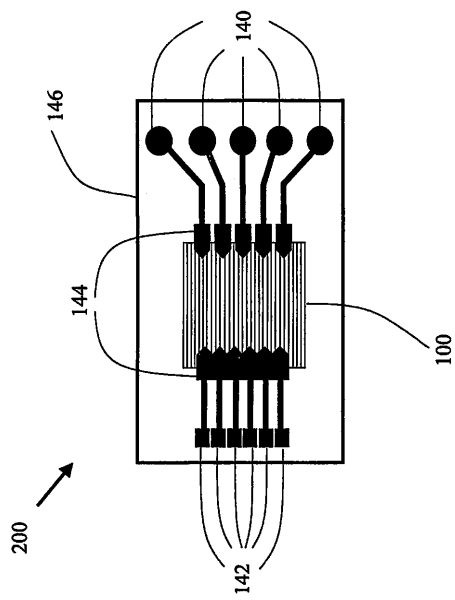
【 図 3 】



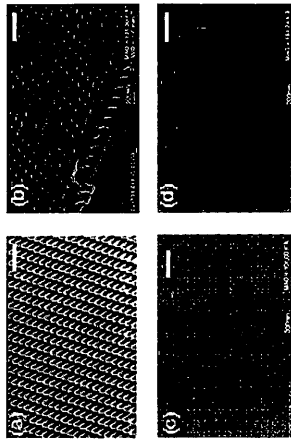
【 図 4 】



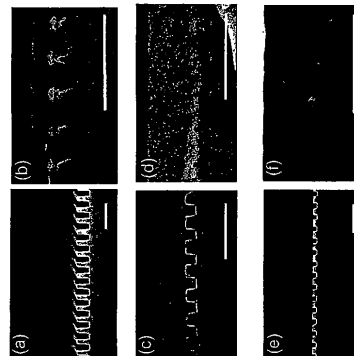
【 図 5 】



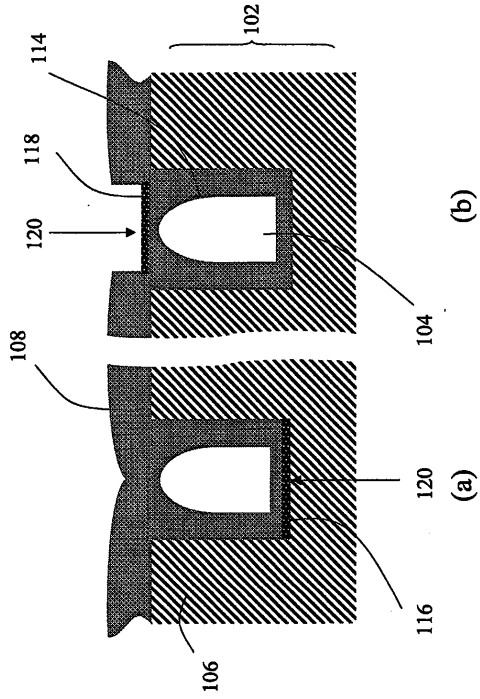
【 図 6 】



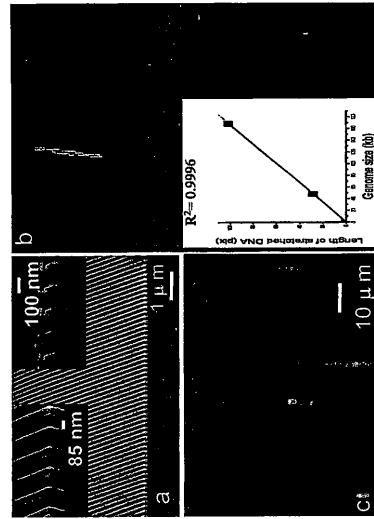
【 図 7 】



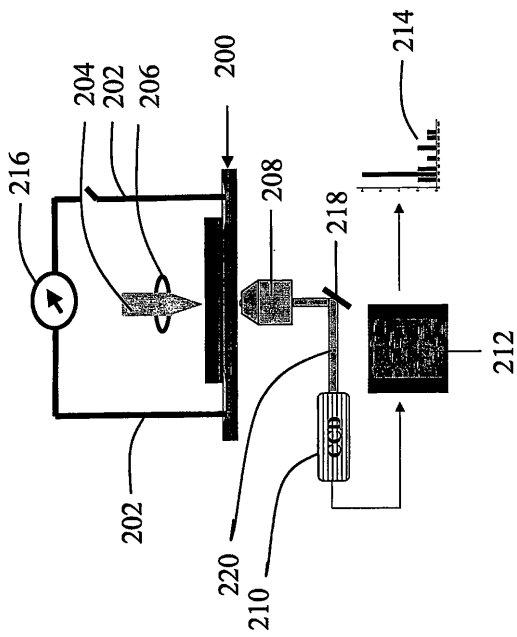
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 10 】



フロントページの続き

- (72)発明者 カオ, ハン
アメリカ合衆国ニュージャージー州08504, ブラウエンバーグ, グレイト・ロード 1131
- (72)発明者 オースティン, ロバート・エイチ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08540, プリンストン, ハリス・ロード 135
- (72)発明者 ユー, ザオニン
アメリカ合衆国ニュージャージー州08540, プリンストン, ウエスト・ドライブ, ローレンス
・アパートメンツ 605
- (72)発明者 テゲンフェルト, ジョナズ・オー
アメリカ合衆国ニュージャージー州08540, プリンストン, オールデン・レイン 28

審査官 森 竜介

- (56)参考文献 国際公開第99/012016 (WO, A1)
国際公開第98/052691 (WO, A1)
国際公開第01/027610 (WO, A1)
国際公開第00/042233 (WO, A1)
特表2001-515204 (JP, A)
特表2002-503336 (JP, A)
特表2003-535310 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/08
C12M 1/00
C12Q 1/68
G01N 37/00