

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2010-14647

(P2010-14647A)

(43) 公開日 平成22年1月21日(2010.1.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 U	4 B 0 2 4
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 W	4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 2	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 F	
審査請求 有 請求項の数 16 O L (全 22 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2008-176716 (P2008-176716)
 (22) 出願日 平成20年7月7日(2008.7.7)

(71) 出願人 000006231
 株式会社村田製作所
 京都府長岡京市東神足1丁目10番1号
 (74) 代理人 100085143
 弁理士 小柴 雅昭
 (72) 発明者 柴原 輝久
 京都府長岡京市東神足1丁目10番1号
 株式会社村田製作所内
 Fターム(参考) 4B024 AA11 AA19 CA04 CA05 CA06
 CA09 CA10 HA08 HA12 HA14
 HA19
 4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC03
 CC11 FA12

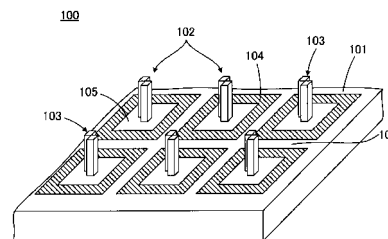
(54) 【発明の名称】 プローブアレイ用基体ならびにプローブアレイおよびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】集積度が高く、十分な量のプローブ分子を保持できる、プローブアレイを構成するために適し、隣り合うプローブ溶液の液滴同士が接触するといった不都合が生じにくく、さらに、このような不都合が生じた場合には、それを簡単かつ確実に検出できる、プローブアレイ用基体を提供する。

【解決手段】配列される複数のプローブ保持部102の各々に、親水性を示す突起103を設けるとともに、各プローブ保持部102を取り囲むように疎水性領域104を形成する。さらに、複数のプローブ保持部102間でのプローブ溶液の混じり合いの有無を検査するため、親水性を示す検査用領域106を、複数のプローブ保持部102の隣り合うもの間において、各プローブ保持部102に対して疎水性領域104を隔てて位置するように形成する。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

主面を有し、かつ前記主面に沿って複数のプローブ保持部が配列されているプローブアレイ用基体であって、

各前記プローブ保持部には、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す突起が設けられ、

プローブ溶液に対して比較的低い濡れ性を示す低濡れ性領域が各前記プローブ保持部の周囲を実質的に取り囲むように形成されている、プローブアレイ用基体。

【請求項 2】

前記突起は、前記低濡れ性領域から立ち上がるように設けられていて、前記プローブ保持部は、前記突起のみによって与えられる、請求項 1 に記載のプローブアレイ用基体。

10

【請求項 3】

前記主面上であって、前記突起の周囲の領域に、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す高濡れ性領域が形成され、前記プローブ保持部は、前記突起および前記高濡れ性領域によって与えられる、請求項 1 に記載のプローブアレイ用基体。

【請求項 4】

各前記プローブ保持部には、前記主面から陥凹した形状が付与されている、請求項 3 に記載のプローブアレイ用基体。

【請求項 5】

複数の前記プローブ保持部間でのプローブ溶液の混じり合いの有無を検査するため、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す検査用領域が、複数の前記プローブ保持部の隣り合うものの間において、各前記プローブ保持部に対して前記低濡れ性領域を隔てて位置するように形成されている、請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体。

20

【請求項 6】

前記突起には、前記プローブ保持部へのプローブ溶液の導入を円滑にするための案内溝が形成されている、請求項 1 ないし 5 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体。

【請求項 7】

主面を有し、かつ前記主面に沿って複数のプローブ保持部が配列されているプローブアレイ用基体であって、

30

各前記プローブ保持部は、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す領域によって与えられ、

プローブ溶液に対して比較的低い濡れ性を示す低濡れ性領域が各前記プローブ保持部の周囲を実質的に取り囲むように形成され、

複数の前記プローブ保持部間でのプローブ溶液の混じり合いの有無を検査するため、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す検査用領域が、複数の前記プローブ保持部の隣り合うものの間において、各前記プローブ保持部に対して前記低濡れ性領域を隔てて位置するように形成されている、
プローブアレイ用基体。

40

【請求項 8】

プローブ溶液は水溶液であり、前記プローブアレイ用基体は親水性を有する材料からなり、前記低濡れ性領域はプローブアレイ用基体の表面にフォトリソグラフィ技術を用いてパターンニングされて形成された感光性樹脂膜によって与えられる、請求項 1 ないし 7 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体。

【請求項 9】

プローブ溶液は水溶液であり、前記プローブアレイ用基体は親水性を有する材料からなり、前記プローブアレイ用基体の主面には樹脂膜が形成され、前記プローブ保持部は、前記樹脂膜を形成した後、前記樹脂膜をプラズマアッシングによって除去した部分に形成され、前記低濡れ性領域は、プラズマアッシングによって除去した後に残った前記樹脂膜によって与えられる、請求項 1 ないし 8 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体。

50

【請求項 10】

複数の前記プローブ保持部の各々において、前記突起を取り囲むように隔壁が形成され、隣り合う前記隔壁間には溝部分が形成され、前記溝部分には樹脂が付与され、前記低濡れ性領域は、前記溝部分内の前記樹脂がなくなる程度にプラズマアッシングされた後に残された前記樹脂の表面によって与えられ、前記高濡れ性領域の少なくとも一部は、前記プラズマアッシングされて余分な前記樹脂が除去された部分によって与えられる、請求項 3 または 4 に記載のプローブアレイ用基体。

【請求項 11】

請求項 1 ないし 10 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体と、前記プローブアレイ用基体の各前記プローブ保持部に保持されたプローブ分子とを備える、プローブアレイ。

10

【請求項 12】

請求項 1 ないし 6 および 10 のいずれかに記載のプローブアレイ用基体を用意する工程と、

複数の前記突起に対応するように配列され、かつ各々にプローブ溶液が充填されたノズルを有する、供給器を用意する工程と、

前記プローブアレイ用基体の前記突起に、前記供給器の前記ノズルを近接させて、前記プローブ溶液と前記突起とを接触させることによって、前記プローブ溶液を前記プローブ保持部に導く工程とを備える、プローブアレイの製造方法。

20

【請求項 13】

前記突起の中心から前記低濡れ性領域までの距離を I 、および、前記ノズルの外径を D としたとき、

$I > D / 2$ の関係が成立する、

請求項 12 に記載のプローブアレイの製造方法。

【請求項 14】

前記突起の中心から前記低濡れ性領域までの距離を I 、

前記ノズルの外径を D 、

前記ノズルの長さを N 、および、

前記ノズルの外周面と前記プローブ溶液との間の濡れ角を θ_3 とし、かつ、

ψ を、 $\psi = \operatorname{arcsinh}(\tan \theta_3)$ で定義したとき、

30

$I > D / 2$ のときに、

$N > D \times [\operatorname{arccosh}\{(2I/D) \times \cosh(\psi)\} - \psi] / [2 \times \cosh(\psi)]$

の関係が成立する、

請求項 12 に記載のプローブアレイの製造方法。

【請求項 15】

請求項 3、4 または 10 に記載のプローブアレイ用基体を用意する工程と、

複数の前記突起に対応するように配列され、かつ各々にプローブ溶液が充填されたノズルを有する、供給器を用意する工程と、

前記プローブアレイ用基体の前記突起に、前記供給器の前記ノズルを近接させて、前記プローブ溶液と前記突起とを接触させることによって、前記プローブ溶液を前記プローブ保持部に導く工程とを備え、

40

前記ノズルの外径を D 、

前記突起の中心から前記低濡れ性領域までの距離を I 、

前記プローブアレイ用基体における前記プローブ保持部周辺の前記高濡れ性領域と前記プローブ溶液との間の濡れ角を θ_2 、および、

前記ノズルの外周面とプローブ溶液との間の濡れ角を θ_3 としたとき、

$I < [D \times \cosh\{\operatorname{arcsinh}(1/\tan \theta_2)\}] / [2 \times \cosh\{\operatorname{arcsinh}(\tan \theta_3)\}]$

の関係が成立する、

50

プローブアレイの製造方法。

【請求項 16】

請求項 5 に記載のプローブアレイ用基体を用意する工程と、

複数の前記突起に対応するように配列され、かつ各々にプローブ溶液が充填されたノズルを有する、供給器を用意する工程と、

前記プローブアレイ用基体の前記突起に、前記供給器の前記ノズルを近接させて、前記プローブ溶液と前記突起とを接触させることによって、前記プローブ溶液を前記プローブ保持部に導く工程と、

次いで、前記検査用領域に前記プローブ溶液が付着していないことを確認する工程とを備える、プローブアレイの製造方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、化学または生物化学の分野で用いるプローブアレイ用基体、ならびにプローブアレイ用基体を用いて構成されるプローブアレイおよびその製造方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

遺伝子診断を同時に多項目に関して行なう場合、あるいは多種類の mRNA に関してその発現量を同時に調査する場合、またあるいは多項目の SNPs (single nucleotide polymorphisms: 一塩基多型) の調査を同時に行なう場合等のツールとして、DNA チップが注目されている。DNA チップは、DNA マイクロアレイとも呼ばれるもので、標的とする DNA 分子や RNA 分子とハイブリダイゼーションを起こす既知の DNA をプローブとし、周期的に配列された複数のプローブ保持部に複数種類のプローブを保持したプローブアレイである。

20

【0003】

また、多種類の抗体や抗原に関してその有無を同時に調査する場合に用いられるツールとして、抗原チップや抗体チップが注目を集めている。抗原チップは、標的とする抗体分子と結合する既知の抗原をプローブとし、周期的に配列された複数のプローブ保持部に複数種類のプローブを保持したプローブアレイである。抗体チップは、標的とする抗原と結合する既知の抗体分子をプローブとし、周期的に配列された複数のプローブ保持部に複数種類のプローブを保持したプローブアレイである。

30

【0004】

プローブアレイを製造するための一般的な方法として、スライドガラスなどの基板上にプローブ溶液(プローブ分子を含む溶液)をドット状に付着させ(以下、「スポッティング」と呼ぶ。)、基板表面にプローブ分子を化学的に結合させることで、基板表面上にプローブのスポットを配列していく方法が知られている。スポッティングの具体的な方法としては、注射針、マイクロピペット、インクジェットなどでプローブ溶液を基板上に吐出する方法や、針先に付着させたプローブ溶液を基板に接触させる方法が知られている。

【0005】

40

上記のスポッティングによる方法を実施する場合において、微小体積の液滴を高密度に整列させるために使用されるマイクロピペットがたとえば特開 2004-45055 号公報(特許文献 1)に開示されている。また、マイクロピペットから供給される液滴を効率良くアレイ基板上に配列し、かつ液滴の混入を防ぐような構造を有するアレイ基板の製造方法がたとえば特開 2004-4076 号公報(特許文献 2)に開示されている。

【0006】

スポッティング工程においては、前述したように、複数種類のプローブ溶液を基板上に配列する必要がある。そのため、注射針、マイクロピペット、インクジェットなどを用いると、1 点の塗布を行なう度に溶液交換が必要となり、コストや生産スピードが犠牲になる。そのため、1 回のスポッティング工程で複数種類のプローブ溶液を付着させ得ること

50

が要望される。

【０００７】

また、スポッティングの際に、隣り合うプローブ溶液の液滴同士が接触すると、両者が混じり合い、プローブアレイとしては不良品となる。したがって、このような不良品を生じさせにくくすることが要望される。さらに、このような不良品が生じた場合には、それを簡単かつ確実に検出できることが望まれる。

【特許文献１】特開２００４－４５０５５号公報

【特許文献２】特開２００４－４０７６号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【０００８】

そこで、この発明の目的は、上述した要望を満たし得る、プローブアレイ用基体、ならびにプローブアレイ用基体を用いて構成されるプローブアレイおよびその製造方法を提供しようとすることである。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

この発明は、主面を有し、かつ主面に沿って複数のプローブ保持部が配列されているプローブアレイ用基体にまず向けられるものであって、上述した技術的課題を解決するため、各プローブ保持部には、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す突起が設けられ、また、プローブ溶液に対して比較的低い濡れ性を示す低濡れ性領域が各プローブ保持部の周囲を実質的に取り囲むように形成されていることを特徴としている。

20

【００１０】

なお、「比較的高い濡れ性」とは、液体の自由表面が、その接触する固体表面となす角度、すなわち接触角（濡れ角）が９０度以下の場合の濡れ性を言い、「比較的低い濡れ性」とは、接触角（濡れ角）が９０度を超える場合の濡れ性を言う。したがって、プローブ溶液が水溶液である場合、「比較的高い濡れ性」は親水性を意味し、「比較的低い濡れ性」は疎水性を意味する。

【００１１】

上記突起は、低濡れ性領域から立ち上がるように設けられていて、プローブ保持部は、突起のみによって与えられてもよいが、好ましくは、主面上であって、突起の周囲の領域に、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す高濡れ性領域が形成され、プローブ保持部は、突起および高濡れ性領域によって与えられる。

30

【００１２】

各プローブ保持部には、主面から陥凹した形状が付与されていてもよい。

【００１３】

この発明に係るプローブアレイ用基体において、複数のプローブ保持部間でのプローブ溶液の混じり合いの有無を検査するため、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す検査用領域が、複数のプローブ保持部の隣り合うものの間において、各プローブ保持部に対して低濡れ性領域を隔てて位置するように形成されていることが好ましい。

【００１４】

40

この発明に係るプローブアレイ用基体において、突起には、プローブ保持部へのプローブ溶液の導入を円滑にするための案内溝が形成されていることが好ましい。

【００１５】

この発明に係るプローブアレイ用基体は、他の局面では、突起を備えず、各プローブ保持部は、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す領域によって与えられる。また、プローブ溶液に対して比較的低い濡れ性を示す低濡れ性領域が各プローブ保持部の周囲を実質的に取り囲むように形成され、複数のプローブ保持部間でのプローブ溶液の混じり合いの有無を検査するため、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す検査用領域が、複数のプローブ保持部の隣り合うものの間において、各プローブ保持部に対して低濡れ性領域を隔てて位置するように形成される。

50

【 0 0 1 6 】

プローブ溶液が水溶液であるとき、比較的高い濡れ性は親水性であり、比較的低い濡れ性は疎水性であるということになるため、当該プローブアレイ用基体は親水性を有する材料からなり、前述した低濡れ性領域はプローブアレイ用基体の表面にフォトリソグラフィ技術を用いてパターンングされて形成された感光性樹脂膜によって与えられることが好ましい。

【 0 0 1 7 】

また、プローブ溶液が水溶液であるとき、当該プローブアレイ用基体は親水性を有する材料からなり、プローブアレイ用基体の主面には樹脂膜が形成され、前述したプローブ保持部は、この樹脂膜を形成した後、樹脂膜をプラズマアッシングによって除去した部分に形成され、前述した低濡れ性領域は、プラズマアッシングによって除去した後に残った上記樹脂膜によって与えられることが好ましい。

10

【 0 0 1 8 】

また、複数のプローブ保持部の各々において、突起を取り囲むように隔壁が形成され、隣り合う隔壁間には溝部分が形成され、溝部分には樹脂が付与され、低濡れ性領域は、溝部分内の樹脂がなくなる程度にプラズマアッシングされた後に残された樹脂の表面によって与えられ、高濡れ性領域の少なくとも一部は、プラズマアッシングされて余分な樹脂が除去された部分によって与えられてもよい。

【 0 0 1 9 】

この発明は、また、前述したこの発明に係るプローブアレイ用基体と、プローブアレイ用基体の各プローブ保持部に保持されたプローブ分子とを備える、プローブアレイにも向けられる。

20

【 0 0 2 0 】

この発明は、さらに、この発明に係るプローブアレイ用基体を用いて実施される、プローブアレイの製造方法にも向けられる。

【 0 0 2 1 】

この発明に係るプローブアレイの製造方法は、この発明に係るプローブアレイ用基体を用意する工程と、複数の突起に対応するように配列され、かつ各々にプローブ溶液が充填されたノズルを有する、供給器を用意する工程と、プローブアレイ用基体の突起に、供給器のノズルを近接させて、プローブ溶液と突起とを接触させることによって、プローブ溶液をプローブ保持部に導く工程とを備えることを特徴としている。

30

【 0 0 2 2 】

上述のプローブアレイの製造方法において、
突起の中心から低濡れ性領域までの距離を I 、および、
ノズルの外径を D としたとき、
 $I > D / 2$ の関係が成立することが好ましい。

【 0 0 2 3 】

あるいは、上述のプローブアレイの製造方法において、さらに、
前記ノズルの長さを N 、および、
ノズルの外周面とプローブ溶液との間の濡れ角を θ_3 とし、かつ、
 ψ を、 $\psi = \arcsinh (\tan \theta_3)$ で定義したとき、
 $I > D / 2$ のときに、

40

$$N > D \times [\operatorname{arccosh} \{ (2 I / D) \times \cosh (\psi) \} - \psi] / [2 \times \cosh (\psi)]$$

の関係が成立することが好ましい。

【 0 0 2 4 】

この発明に係るプローブアレイの製造方法を実施するにあたり、前述したように、主面上であって、突起の周囲の領域に、プローブ溶液に対して比較的高い濡れ性を示す高濡れ性領域が形成され、プローブ保持部は、突起および高濡れ性領域によって与えられる、そのようなプローブアレイ用基体を用意される場合、

ノズルの外径を D 、

50

突起の中心から低濡れ性領域までの距離を I 、

プローブアレイ用基体におけるプローブ保持部周辺の高濡れ性領域とプローブ溶液との間の濡れ角を θ_2 、および、

ノズルの外周面とプローブ溶液との間の濡れ角を θ_3 としたとき、

$$I < [D \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (1 / \tan \theta_2) \}] / [2 \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (\tan \theta_3) \}]$$

の関係が成立することが好ましい。

【0025】

この発明に係るプローブアレイの製造方法を実施するにあたり、前述したように、検査用領域が形成されたプローブアレイ用基体を用意される場合、プローブ溶液をプローブ保持部に導く工程の後、検査用領域にプローブ溶液が付着していないことを確認する工程を実施することが好ましい。

10

【発明の効果】

【0026】

この発明に係るプローブアレイ用基体によれば、プローブ保持部において比較的高い濡れ性が与えられるとともに、比較的低い濡れ性を示す低濡れ性領域が各プローブ保持部の周囲を実質的に取り囲むように形成されているので、プローブ保持部へのプローブ溶液の導入を円滑に行なうことができるとともに、プローブ保持部に導入されるべきプローブ溶液の主面上での濡れ広がりを低濡れ性領域によって確実に防止することができる。そのため、プローブアレイにおけるプローブの集積度を高めることができる。

20

【0027】

また、この発明に係るプローブアレイ用基体において、プローブ保持部に比較的高い濡れ性を示す突起が設けられていると、プローブ溶液と突起との間に働く濡れ力により、プローブ保持部へのプローブ溶液の導入をより円滑に行なうことができる。

【0028】

また、この発明に係るプローブアレイ用基体に検査用領域が形成されていると、プローブアレイ用基体のプローブ保持部にプローブ溶液を導入した後、検査用領域が濡れていないか、あるいは濡れた後に乾いた形跡がないかなどを検査することにより、隣り合うプローブ溶液の液滴同士の混じり合い（クロスコンタミネーション）による不良の発生を確実に検出することができる。

30

【0029】

この発明に係るプローブアレイの製造方法によれば、一度に多くの種類のプローブ溶液を供給器からプローブアレイ用基体へ供給することができるため、プローブアレイの製造を能率的かつ低コストで実施することができる。なお、供給器にある複数のノズルにプローブ溶液を充填するときには、異なる種類のプローブ溶液を複数のノズルの各々に充填する必要があるため、比較的時間およびコストを要する作業となるが、一旦充填の完了した供給器を使って、多数のプローブアレイ用基体に対してプローブ溶液の供給を行なうことができるため、1つのプローブアレイについて見たときの作業時間およびコストはそれほどかかるものではない。

【0030】

40

また、この発明に係るプローブアレイの製造方法によれば、プローブ保持部に設けられている比較的高い濡れ性を示す突起とプローブ溶液が充填されたノズルとを近接させ、突起とプローブ溶液とを接触させることによって、プローブ溶液をプローブ保持部に導くようにしているので、プローブ溶液と突起との間に働く毛細管現象や濡れ力により、プローブ保持部へのプローブ溶液の導入を円滑かつ確実に進めることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0031】

図1に、この発明の第1の実施形態によるプローブアレイ用基体100の一部が斜視図で示されている。図2は、図1に示したプローブアレイ用基体100の一部を示す上面図である。

50

【 0 0 3 2 】

図 1 および図 2 を参照して、プローブアレイ用基体 1 0 0 は、主面 1 0 1 を有し、全体として板状をなしている。プローブアレイ用基体 1 0 0 には、主面 1 0 1 に沿って複数のプローブ保持部 1 0 2 が行および列をなすように配列されている。

【 0 0 3 3 】

各プローブ保持部 1 0 2 には、親水性を示す突起 1 0 3 が設けられる。なお、「親水性」および「疎水性」の用語は、通常、水に対する濡れ性（親和性）の有無を示す用語として用いられるが、以下の説明においては、プローブ溶液が水溶液であるか否かに関わらず、プローブ溶液に対する濡れ性が高い場合に「親水性」を有すると表現し、濡れ性が低い場合に「疎水性」を有すると表現する。

10

【 0 0 3 4 】

また、プローブアレイ用基体 1 0 0 の主面上には、疎水性領域 1 0 4 が各プローブ保持部 1 0 2 の周囲を取り囲むように形成されている。この実施形態では、主面 1 0 1 であって、親水性を有する突起 1 0 3 の周囲の領域に、方形状の親水性領域 1 0 5 が形成されている。したがって、プローブ保持部 1 0 2 は、前述した突起 1 0 3 および親水性領域 1 0 5 によって与えられることになる。このことから、各プローブ保持部 1 0 2 において保持され得るプローブ溶液の量を十分に確保することができ、また、このことは、各プローブ保持部 1 0 2 に保持されるプローブ溶液の量のばらつきを減じることにもつながる。

【 0 0 3 5 】

さらに、プローブアレイ用基体 1 0 0 の主面 1 0 1 上には、複数のプローブ保持部 1 0 2 間でのプローブ溶液の混じり合い（クロスコンタミネーション）の有無を検査するため、親水性を示す検査用領域 1 0 6 が設けられている。検査用領域 1 0 6 は、複数のプローブ保持部 1 0 2 の隣り合うものの間において、各プローブ保持部 1 0 2 に対して疎水性領域 1 0 4 を隔てて位置するように、たとえば格子状に形成されている。このように検査用領域 1 0 6 が形成されていると、プローブ保持部 1 0 2 にプローブ溶液を導入した後、検査用領域 1 0 6 が濡れていないか、あるいは濡れた後に乾いた形跡がないかなどを検査することにより、隣り合うプローブ溶液の液滴同士の混じり合いによる不良の発生を確実に検出することができる。

20

【 0 0 3 6 】

前述した突起 1 0 3 は、2 本の正四角柱を、各々の 1 つの稜線が接するように配置しながら、対角線方向に並べた形状を有している。上記正四角柱の断面を規定する正方形の辺の長さは、図 2 に表示されるように、たとえば $5 \mu\text{m}$ とされる。また、突起 1 0 3 と疎水性領域 1 0 4 との間隔は、たとえば $10 \mu\text{m}$ とされる。また、検査用領域 1 0 6 の幅は、たとえば $10 \mu\text{m}$ とされる。さらに、突起 1 0 3 の高さは、たとえば $100 \mu\text{m}$ とされ、隣り合う突起 1 0 3 間の配列ピッチは、たとえば $60 \mu\text{m}$ とされる。

30

【 0 0 3 7 】

上述のような形状を有する突起 1 0 3 には、面 1 0 7 および 1 0 8 によって規定される断面 L 字状の案内溝 1 0 9 と、面 1 1 0 および 1 1 1 によって規定される断面 L 字状の案内溝 1 1 2 とが互いに対角線方向に対向して形成されることになる。これら突起 1 0 3 および案内溝 1 0 9 および 1 1 2 のそれぞれの機能については後述する。

40

【 0 0 3 8 】

次に、プローブアレイ用基体 1 0 0 の製造方法について説明する。図 3 には、プローブアレイ用基体 1 0 0 を製造するために実施される典型的な工程が示されている。

【 0 0 3 9 】

まず、図 3 (1) に示すように、プローブアレイ用基体 1 0 0 となるべき板状の材料基板 1 2 0 が用意される。材料基板 1 2 0 は、たとえば、厚み $500 \mu\text{m}$ の単結晶シリコン基板から構成される。

【 0 0 4 0 】

次に、同じく図 3 (1) に示すように、フォトリソグラフィーを用いて、材料基板 1 2 0 の表面にレジストパターン 1 2 1 が形成される。図 2 に示したプローブアレイ用基体 1

50

00との関連で説明すると、レジストパターン121は、突起103となるべき部分を被覆するように形成される。

【0041】

次に、図3(2)に示すように、レジストパターン121をマスクとして、材料基板120が、たとえば100 μ mの深さをもってドライエッチングされる。このドライエッチングのため、たとえば、ICP-RIE(Inductive Coupling Plasma - Reactive Ion Etching)技術が有利に適用され、CF₄やSF₆などのフッ素原子を含むガスのプラズマによるエッチングが実施される。この工程を終えたとき、材料基板120に、突起103の形状が付与される。

【0042】

次に、図3(3)に示すように、硫酸と過酸化水素水との混合液での洗浄が行なわれ、レジストパターン121が除去されるとともに、表面の有機汚染が除去される。

【0043】

次に、図3(4)に示すように、前述した疎水性領域104を与えるようにパターニングされた感光性樹脂膜122が形成される。感光性樹脂膜122は、図3(4)において、その厚みが誇張されて図示されているが、パターニングされた感光性樹脂膜122を形成するため、次のような工程が実施される。

【0044】

まず、図3(3)に示す構造物が得られた後、たとえば感光性ポリイミドのような感光性樹脂がその全面に塗布される。

【0045】

次に、適当なフォトリソマスクを使用して、ステッパーなどにより紫外線照射が行なわれる。感光性樹脂がネガ型の場合であれば、フォトリソマスクは、疎水性領域104となるべき部分以外の部分、すなわち、突起103、親水性領域105および検査用領域106の部分を遮光し、疎水性領域104となるべき部分を透光するパターンとなっている。

【0046】

紫外線照射の後に、現像処理を行なうと、感光性樹脂がパターニングされて、図3(4)に示すように、疎水性領域104を与える感光性樹脂膜122が形成される。

【0047】

その後、感光性樹脂膜122が消滅しない程度にプラズマアッシングが実施される。これによって、突起103、親水性領域105および検査用領域106といった感光性樹脂膜122を形成したくない部分に少量付着した樹脂が除去される。また、材料基板120が前述したようにシリコンから構成される場合、プラズマアッシングにおいて酸素プラズマが用いられるので、シリコンの最表面が酸化され、これによって、突起103、親水性領域105および検査用領域106に良好な親水性が与えられる。

【0048】

このようにして、プローブアレイ用基体100が得られる。

【0049】

なお、疎水性領域104は、上述したようにフォトリソグラフィ技術を用いてパターニングされて形成された感光性樹脂膜122によって与えられるのではなく、単なる樹脂膜によって与えられ、この樹脂膜をプラズマアッシングによって除去することによって、プローブ保持部102となる突起103および親水性領域105を露出させるとともに、検査用領域106を露出させるようにしてもよい。

【0050】

また、上述したプローブアレイ用基体100の製造方法では、単結晶シリコンからなる材料基板120をドライエッチングすることによって、突起103を形成した。この方法を用いれば、微細かつ高アスペクトの突起103を、一度のエッチング工程で形成することができる。ここで、高アスペクトというのは、開口部の幅に対して、エッチングする深さが大きいことを意味している。単結晶シリコンからなる材料基板120のドライエッチングでは、アスペクト比(エッチングする深さを開口部の幅で割った値)が20を超える

10

20

30

40

50

ような加工が可能である。なお、このようなドライエッチングによる方法に代えて、より低コストのウェットエッチングによる方法を適用してもよい。

【0051】

上述したプローブアレイ用基体100を用いて構成されるプローブアレイ、より具体的には、複数種類のプローブDNAを配列したDNAチップを製造するにあたり、図4に示すような供給器200が使用される。

【0052】

供給器200は、複数の貫通孔201がたとえば $240\mu\text{m}$ のピッチで形成された、たとえば厚み $400\mu\text{m}$ のガラス部202と、微細加工されたシリコン部203とから構成されている。シリコン部203は、ガラス部202に形成された貫通孔201に連通するノズル204を有している。ノズル204の内径はたとえば $30\mu\text{m}$ であり、ノズル204の壁の厚みはたとえば $10\mu\text{m}$ であり、ノズル204の外径はたとえば $50\mu\text{m}$ である。また、ノズル204の長さはたとえば $150\mu\text{m}$ である。

10

【0053】

次に、図5を参照して、供給器200の製造方法の一例について説明する。図5は、供給器200における特定の切断面で切断して示した端面図である

まず、図5(1A)に示すように、両面が平面研磨された、たとえば厚み $400\mu\text{m}$ のガラスウエハに対して、フォトリソグラフィで形成したレジストパターンをマスクとしたサンドブラスト加工を施すことにより、貫通孔201を形成して、供給器200のためのガラス部202を得る。このとき、ガラスウエハの片面のみから加工を行なって貫通孔201を形成しても、あるいは、ガラスウエハ250の片面からまず半分を越える程度の深さの加工を行ない、次に反対面から加工を行なって貫通孔201を貫通させてもよい。

20

【0054】

他方、図5(1B)に示すように、両面が平面研磨された、たとえば厚み $350\mu\text{m}$ のシリコンウエハ211の一方主面上に、レジストパターン212をフォトリソグラフィによって形成し、このレジストパターン212をマスクとして、シリコンウエハ211に対して、ICP-RIEによるエッチングを実施し、たとえば深さ $150\mu\text{m}$ 程度の掘り込み加工を行なう。これによって、シリコン部203に備えるノズル204の形状が得られる。

【0055】

次に、図5(2B)に示すように、硫酸と過酸化水素水との混合溶液を用いて、シリコンウエハ211からレジストパターン212を除去するとともに、このレジストパターン212が形成されていた主面とは逆の主面上に、レジストパターン213を、レジストパターン212の場合と同様の方法により形成する。

30

【0056】

次に、図5(3B)に示すように、レジストパターン213をマスクとして、シリコンウエハ211に対して、ICP-RIEによるエッチングを実施し、ノズル204の内部を貫通する状態とする。

【0057】

次に、図5(4B)に示すように、硫酸と過酸化水素水との混合溶液を用いて、シリコンウエハ211からレジストパターン213を除去する。これによって、供給器200のためのシリコン部203を得る。

40

【0058】

次に、図5(5)に示すように、シリコン部203のノズル204とガラス部202の貫通孔201とを整列させた状態で、シリコン部203とガラス部202とを陽極接合によって接合する。陽極接合とは、シリコンとガラスとを重ね合わせて、 $300\sim 500$ 程度まで加熱し、シリコンを陽極、ガラスを陰極とする方向に数百ボルトの直流電圧を印加することで、シリコンとガラスとを接合する技術である。陽極接合を行なうと、シリコン最表面の原子とガラス最表面の原子とが結合し、気密レベルの接合がなされる。

【0059】

50

以上のようにして、供給器 200 を得ることができる。

【0060】

次に、上述の供給器 200 を用いて実施される、プローブアレイの製造方法、より具体的には、複数種類のプローブ DNA を配列した DNA チップの製造方法について説明する。

【0061】

プローブアレイ用基体 100 がシリコンをもって構成される場合、プローブアレイ用基体 100 のシリコンの露出している部分、すなわち、突起 103 および親水性領域 105 からなるプローブ保持部 102 ならびに検査用領域 106 には、シリコン酸化膜が形成されているが、ここにアミノシランを作用させることで、シリコン表面にアミノ基を導入する。その後、N - (6 - マレイミドカプロイロキシ) スクシイミド (N - (6 - Maleimidocaproxy)succinimide) を含む試薬を作用させて、プローブアレイ用基体 100 の最表面のアミノ基を、マレイミド基に置換する。

【0062】

他方、供給器 200 が用意され、この供給器 200 の貫通孔 201 の各々に、図 6 (1) に示すように、プローブ DNA を含むプローブ水溶液 210 を装填する。この装填には、マイクロピペットやインクジェットが用いられる。なお、プローブ水溶液 210 としては複数種類のものが用意され、それぞれ、異なる貫通孔 201 に装填される。プローブ水溶液 210 に含まれるプローブ DNA としては、5' 末端にチオール基が付加されたプローブ DNA が使用される。貫通孔 201 の各々に装填されたプローブ水溶液 210 は、貫通孔 201 およびノズル 204 の内径が十分に小さいため、毛細管現象によって、ノズル 204 の先端にまで迅速に達し、かつ、そこで表面張力が働くため、ノズル 204 から自然に流れ落ちることはない。

【0063】

供給器 200 の表面にプローブ DNA が吸着されて、プローブ水溶液 210 の濃度が低下することを防ぐために、何度か水洗いをしてよく、あるいは、プローブ水溶液 210 を貫通孔 201 の各々に入れる前に、BSA (ウシ血清アルブミン) や適当な DNA 断片の水溶液で洗って、供給器 200 の表面をブロッキングしておいてもよい。

【0064】

次に、プローブアレイ用基体 100 と供給器 200 とを位置合わせした状態で互いに近接させる。その結果、ノズル 204 の各開口の中に位置しているプローブ水溶液 210 の各々が、プローブアレイ用基体 100 側の突起 103 に接触する。このとき、一例として、ノズル 204 の先端とプローブアレイ用基体 100 の主面 101 との間の距離が 80 μ m 程度になるまで近接させれば、ノズル 204 の内部に突起 103 が 20 μ m 程度挿入されるため、プローブ水溶液 210 と突起 103 とが確実に接触する。

【0065】

詳細な作用機序については後述するが、上述のように、プローブ水溶液 210 と突起 103 とが接触したとき、プローブ水溶液 210 とプローブアレイ用基体 100 のプローブ保持部 102 との間に働く濡れ力によって、プローブ水溶液 210 は、突起 103 に沿って濡れ伝わり、疎水性領域 104 で食い止められるまで親水性領域 105 上で濡れ広がる。このようにして、図 6 (2) に示すように、プローブ保持部 102 の各々にプローブ水溶液 210 が導入される。

【0066】

次いで、所定時間経過後に、供給器 200 をプローブアレイ用基体 100 から離せば、図 6 (3) に示すように、プローブアレイ用基体 100 の突起 103 を含むプローブ保持部 102 にプローブ水溶液 210 が付着した状態が得られる。

【0067】

プローブアレイ用基体 100 に 60 μ m ピッチで突起 103 が形成され、供給器 200 に 240 μ m ピッチでノズル 204 が形成されている場合には、図 6 に示した方法では、プローブアレイ用基体 100 のすべてのプローブ保持部 102 に、プローブ水溶液 210

を付着させることはできない。しかし、異なるプローブ水溶液 210 を充填した供給器 200 を 4 個準備して、順次、プローブアレイ用基体 100 へのプローブ水溶液 210 の導入を行なえば、すべてのプローブ保持部 102 に、それぞれ異なるプローブ水溶液 210 を付着させることができる。

【0068】

プローブアレイ用基体 100 のプローブ保持部 102 にプローブ水溶液 210 が付着した状態で一定時間放置すれば、プローブ保持部 102 に露出しているシリコン表面に結合しているマレイミド基とプローブ DNA 分子に導入されたチオール基とが化学的に結合して、結果的に、プローブアレイ用基体 100 のプローブ保持部 102 に、プローブとなるプローブ DNA 分子が保持された状態が得られる。この後、水洗を行ない、乾燥すれば、DNA チップが完成される。

10

【0069】

上述の実施形態では、プローブ DNA 分子とプローブアレイ用基体 100 との間の結合に、マレイミド基とチオール基の結合を利用したが、アビジン - ビオジン間の結合など、他の種類の結合を利用してもよい。

【0070】

供給器 200 を使用せずに、単純なノズル（毛細管）を使用して、プローブアレイ用基体 100 にプローブ DNA 水溶液を付着させてもよいが、プローブアレイ用基体 100 上のすべてのプローブ保持部 102 に対して、一回一回位置合わせをしてノズル近接を行なわなければならないため、時間とコストがかかる。そのため、図 6 に示したように、複数のノズルが配列された供給器 200 を使用することが好ましい。

20

【0071】

なお、供給器 200 にある複数のノズル 204 にプローブ水溶液 210 を充填するときには、異なる種類のプローブ水溶液 210 を複数のノズル 204 の各々に充填する必要があるため、比較的長時間およびコストを要する作業となるが、一旦充填の完了した供給器 200 を使って、多数のプローブアレイ用基体 100 に対してプローブ水溶液 210 の供給を行なうことができるため、1つのプローブアレイについて見たときの作業時間およびコストはそれほどかかるものではない。

【0072】

図 6（2）に示したプローブ水溶液 210 の、プローブアレイ用基体 100 側への転写工程において、隣接するプローブ保持部 102 にまでプローブ水溶液 210 が到達してしまうと、複数のプローブ保持部 102 間でのプローブ水溶液 210 の混じり合い（クロスコンタミネーション）が生じ、本来の意図とは異なる種類のプローブ DNA 分子が結合することになるため、このようにして得られた DNA チップは不良となる。したがって、このような不良が発生したときには、これを不良品として確実に検出する必要がある。

30

【0073】

この実施形態によれば、隣接するプローブ保持部 102 にまで、プローブ水溶液 210 が到達してしまったときには、必ず、検査用領域 106 にもプローブ水溶液 210 が到達していることになる。したがって、検査用領域 106 にプローブ水溶液 210 が到達しなかったことを確認できれば、上述したようなクロスコンタミネーションによる不良は発生していないと判断できる。そのため、図 6（2）に示した工程の直後、または図 6（3）に示した工程の直後に、検査用領域 106 が濡れていないかどうかを検査することにより、クロスコンタミネーションによる不良を検出することができる。あるいは、図 6（2）および（3）に示した各工程を終え、さらに後の工程を終えたとき、検査用領域 106 においてプローブ水溶液 210 が一旦付着し乾燥した痕跡（たとえば、塩分の残留など）がないかどうかを検査することにより、クロスコンタミネーションによる不良を検出するようにしてもよい。

40

【0074】

図 6 に示した方法を用いた場合、前述したように、プローブアレイ用基体 100 のプローブ保持部 102 とプローブ水溶液 210 との間に働く濡れ力によって、プローブアレイ

50

用基体 1 0 0 のプローブ保持部 1 0 2 にプローブ水溶液 2 1 0 が導入されかつ充填される。その作用機序について、図 7 ないし図 1 0 を用いて以下に説明する。

【 0 0 7 5 】

説明の前準備として、まず、図 7 を参照する。図 7 は、液体 4 0 0 の液面に、固体の円柱 4 0 1 を、液面に対して垂直に入れたときの状態を示している。図 7 において、円柱 4 0 1 の中心軸に沿って x 軸をとる。x 座標ごとに断面をとれば、液体 4 0 0 の液面は x 軸を中心とする円になっている。

【 0 0 7 6 】

この円の半径を y とすると、液体 4 0 0 の液面の表面積 S は、次の数式 1 によって表現されることができる。

10

【 0 0 7 7 】

【数 1】

$$S = \int_{x_1}^{x_2} 2 \pi y \cdot \sqrt{(dx)^2 + (dy)^2}$$

$$= \int_{x_1}^{x_2} 2 \pi y \cdot \sqrt{y'^2 + 1} \cdot dx \quad \dots < \text{数式 1} >$$

20

【 0 0 7 8 】

表面張力の作用により、液体 4 0 0 の表面積は最小値をとる。また、液体 4 0 0 には供給源があるから、液体 4 0 0 の体積を一定に保つ制約もない。したがって、数式 1 の定積分は、y の関数形の微小な変化に対して停留値をとる。よって、次の数式 2 で表されるオイラーの微分方程式が成立する（原島鮮著，「力学II - 解析力学」，第 2 1 版，裳華房，1 9 9 0 年 1 0 月 2 5 日，p . 1 3 - 2 0 参照）。

【 0 0 7 9 】

【数 2】

30

$$\frac{d}{dx} \frac{\partial}{\partial y}, (2 \pi y \cdot \sqrt{y'^2 + 1}) = \frac{\partial}{\partial y} (2 \pi y \cdot \sqrt{y'^2 + 1})$$

\dots < 数式 2 >

【 0 0 8 0 】

上記数式 2 を整理していくと、次の数式 3 が得られる。

【 0 0 8 1 】

40

【数 3】

$$\frac{d}{dx} (2 \pi y \cdot y' / \sqrt{y'^2 + 1}) = 2 \pi \cdot \sqrt{y'^2 + 1}$$

$$1 + y'^2 - y \cdot y'' = 0 \quad \dots < \text{数式 3} >$$

【 0 0 8 2 】

50

そして、上記数式 3 の微分方程式を解くことにより、下記の数式 4 が導かれる。

【 0 0 8 3 】

$$y = A \cdot \cosh \{ (x - B) / A \} \quad \dots < \text{数式 4} >$$

数式 4 において、A および B は任意の定数であって、境界条件によって定まる。たとえば、図 7 の場合には、「円柱 4 0 1 と液体 4 0 0 のなす角度 θ が、固有の濡れ角になる。」ということが境界条件となる。また、 $\cosh$ は双曲線余弦関数であって、下記の数式 5 によって定義される。

【 0 0 8 4 】

$$\cosh \xi = \{ \exp \xi + \exp (-\xi) \} / 2 \quad \dots < \text{数式 5} >$$

図 6 に示した方法を用いた場合、プローブアレイ用基体 1 0 0 のプローブ保持部 1 0 2 に形成された突起 1 0 3 とプローブ水溶液 2 1 0 とが接触したとき、最初の物理ステップとして、プローブ水溶液 2 1 0 が突起 1 0 3 に導かれてプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 に到達する。突起 1 0 3 は親水性であるから、突起 1 0 3 の案内溝 1 0 9 および 1 1 2 (図 2 参照) を伝って、いわゆる毛細管現象によって、プローブ水溶液 2 1 0 がプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 にまで誘引される。

【 0 0 8 5 】

なお、突起 1 0 3 に案内溝が形成されていない場合であっても、供給器 2 0 0 のシリコン部 2 0 3 で形成されたノズル 2 0 4 の開口の奥深くまで突起 1 0 3 を挿入して、ノズル 2 0 4 の先端とプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 とを十分に近づければ、プローブ水溶液 2 1 0 がプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 にまで到達する。そのため、突起 1 0 3 に案内溝が必ずしも形成されていなくてもよいが、プローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 へのプローブ水溶液 2 1 0 の誘引をより確実にかつより円滑にするためには、突起 1 0 3 に案内溝が形成されていることが望ましい。

【 0 0 8 6 】

上述のように、突起 1 0 3 がプローブ水溶液 2 1 0 をプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 にまで導くことができたならば、次の物理ステップとして、プローブ水溶液 2 1 0 が、プローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 を十分に濡れ広がって、疎水性領域 1 0 4 の内縁部にまで到達することが好ましい。この物理ステップが遂行されるための条件を、図 8 を用いて説明する。

【 0 0 8 7 】

現実には、プローブ保持部 1 0 2 は有限の大きさを持ち、疎水性領域 1 0 4 の内縁部によって規定されるが、以下の考察においては、プローブ保持部 1 0 2 が無限に大きく、疎水性領域 1 0 4 が存在しない状態を考える。このような条件下でのプローブ水溶液 2 1 0 の濡れ広がり量 R_w が、プローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 を越えていれば、プローブ水溶液 2 1 0 が親水性領域 1 0 5 の全域をカバーしたことを理論上示したことになる。

【 0 0 8 8 】

図 8 においても、プローブ水溶液 2 1 0 の液面半径 y と x との間には、前掲の数式 4 が成立する。また、プローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 における「濡れの先端」においては、プローブ保持部 1 0 2 とプローブ水溶液 2 1 0 との間の角度は、固有の濡れ角 θ_2 となる。また、ノズル 2 0 4 の外周面における「濡れの先端」においては、ノズル 2 0 4 の外周面とプローブ水溶液 2 1 0 との間の角度は、固有の濡れ角 θ_3 となる。これらから、プローブ水溶液 2 1 0 の濡れ広がり量 R_w を計算すると、下記の数式 6 が得られる。

【 0 0 8 9 】

$$R_w = [D \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (1 / \tan \theta_2) \}] / [2 \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (\tan \theta_3) \}] \quad \dots < \text{数式 6} >$$

ここで、 D は供給器 2 0 0 のノズル 2 0 4 の外径である。したがって、突起 1 0 3 の中心から疎水性領域 1 0 4 までの距離を I としたときに、下記の数式 7 が成立すれば、プローブ水溶液 2 1 0 がプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 の全域をカバーすると言える。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 0 】

$I < [D \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (1 / \tan \theta 2) \}] / [2 \times \cosh \{ \operatorname{arcsinh} (\tan \theta 3) \}]$... < 数式 7 >

現実には、プローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 の微細な凹凸の凹部を伝うようにして、プローブ水溶液 2 1 0 が上記の計算以上に濡れ広がる場合もあるから、数式 7 が成立していなければ、プローブ水溶液 2 1 0 が親水性領域 1 0 5 の全域をカバーしない、とは必ずしも言えないが、プローブ水溶液 2 1 0 が親水性領域 1 0 5 の全域を確実にカバーするようにするためには、数式 7 が成立していることが望ましい。

【 0 0 9 1 】

前述した具体例に従って説明すると、突起 1 0 3 の中心から疎水性領域 1 0 4 までの距離 I は $15 \mu\text{m}$ であり、供給器 2 0 0 のノズル 2 0 4 の外径 D は $50 \mu\text{m}$ であり、シリコン酸化膜と水との間の濡れ角となる $\theta 2$ および $\theta 3$ は、 $4 \sim 20^\circ$ である。なお、これら $\theta 2$ および $\theta 3$ の値は、表面の清浄度によって変わるが、シリコン酸化膜と水との間での一般的な値である。

【 0 0 9 2 】

これらの値を使って数式 7 の左辺と右辺とを計算すると、左辺は $15 [\mu\text{m}]$ となる一方、右辺は、 $\theta 2$ および $\theta 3$ の値によって異なるが、 $4 \sim 20^\circ$ の範囲で考えれば、 $\theta 2 = \theta 3 = 4^\circ$ のときに最も小さく、 $68 [\mu\text{m}]$ となり、 $\theta 2 = \theta 3 = 20^\circ$ のときに最も大きく、 $357 [\mu\text{m}]$ となる。したがって、いずれにしても数式 7 が成立していることがわかる。したがって、前述した具体例によれば、プローブ水溶液 2 1 0 はプローブ保持部 1 0 2 の親水性領域 1 0 5 の全域を確実にカバーし得ると言える。

【 0 0 9 3 】

ところで、供給器 2 0 0 のシリコン部 2 0 3 におけるノズル 2 0 4 の長さが不足していると、ノズル 2 0 4 の外周面を濡れ上がったプローブ水溶液 2 1 0 が供給器 2 0 0 の下方に向く面にまで到達してしまっていて、隣り合うノズル 2 0 4 の各々内のプローブ水溶液 2 1 0 同士が混合してしまう危険がある。このような異なるプローブ水溶液 2 1 0 同士の混合を回避するためには、ノズル 2 0 4 の長さが十分に長いことが必要である。以下に、ノズル 2 0 4 の好ましい長さについて検討する。

【 0 0 9 4 】

まず、図 9 に示すように、ノズル 2 0 4 の外径を D 、突起 1 0 3 の中心から疎水性領域 1 0 4 までの距離を I としたときに、 $I > D / 2$ の関係が成立すれば、ノズル 2 0 4 の長さ N に関わらず、プローブ溶液 2 1 0 がノズル 2 0 4 の外周面を濡れ上がることはない。

【 0 0 9 5 】

次に、図 1 0 に示すように、 $I > D / 2$ の関係が成立する場合、ノズル 2 0 4 の好ましい長さを求めるには、図 1 0 における濡れ上がり量 N_w を計算すればよいことがわかる。図 1 0 においても、プローブ水溶液 2 1 0 の液面半径 y と x との間には、前掲の数式 4 が成立する。また、ノズル 2 0 4 の外周面における「濡れの先端」においては、ノズル 2 0 4 の外周面とプローブ水溶液 2 1 0 との間の角度は、固有の濡れ角 $\theta 3$ となる。これらから N_w を計算すると下記の数式 8 のとおりとなる。

【 0 0 9 6 】

$$N_w = D \times [\operatorname{arccosh} \{ (2 I / D) \times \cosh (\psi) \} - \psi] / [2 \times \cosh (\psi)]$$

... < 数式 8 >

ここで、 ψ は、 $\theta 3$ を用いて、下記の数式 9 により定義される。

【 0 0 9 7 】

$$\psi = \operatorname{arcsinh} (\tan \theta 3)$$

... < 数式 9 >

ノズル 2 0 4 の長さを N としたとき、 N が上に計算した N_w よりも長く、下記の数式 10 が成立すれば、プローブ水溶液 2 1 0 の濡れ上がりをノズル 2 0 4 の途中で停止させることができる。

$$N > D \times [\operatorname{arccosh} \{ (2 I / D) \times \cosh (\psi) \} - \psi] / [2 \times \cosh (\psi)]$$

... < 数式 10 >

10

20

30

40

50

前述した具体例に従って説明すると、ノズル 204 の長さ N が $150\ \mu\text{m}$ であり、ノズル 204 の外径 D が $50\ \mu\text{m}$ であり、突起 103 の中心から疎水性領域 104 までの距離 I が $15\ \mu\text{m}$ であり、シリコン酸化膜と水の間の濡れ角となる θ_3 は、 $4 \sim 20^\circ$ である。これらの値を使って数式 10 が成立しているかを確認する。

【0098】

まず、数式 10 の左辺は $150\ \mu\text{m}$ である。右辺は、 θ_3 の値によって異なるが、 θ_3 を $4 \sim 20^\circ$ の範囲で考えれば、 $\theta_3 = 4^\circ$ のときに $28\ \mu\text{m}$ で最大となり、 $\theta_3 = 20^\circ$ のときに $21\ \mu\text{m}$ で最小となる。したがって、いずれにしても、数式 10 が成立していることがわかる。このことから、前述した具体例によれば、プローブ水溶液 210 のノズル 204 の外周面での濡れ上がりは、ノズル 204 の途中で停止するため、プローブ水溶液 210 が供給器 200 の下方に向く面にまで濡れ上がって、異なるプローブ水溶液 210 同士が混合する危険は少ない。

10

【0099】

数式 8 および数式 10 には「 arccosh 」という関数が含まれているが、これは数式 5 で定義されている双曲線余弦関数「 $\cosh$ 」の逆関数である。双曲線余弦関数「 $\cosh$ 」の逆関数は、理論上 2 つ考えられるが、「 arccosh 」で定義されている逆関数は、常に関数値として 0 以上の値をとる関数である。以上の定義から、「 arccosh 」は一義的に決まる。

【0100】

図示した供給器 200 のように、複数のノズルが配列された供給器を使用する場合、供給器の下方に向く面へのプローブ水溶液の濡れ上がりは、前述したとおり、異なるプローブ水溶液同士の混合の原因となるため、避けることが望ましく、したがって、数式 10 が成立することが望ましい。単独のノズルを使用する場合であっても、ノズルをつかんで操作する部分に、プローブ水溶液が濡れ上がってくることは好ましくないため、数式 10 が成立し、プローブ水溶液の濡れ上がり量に対して、ノズルが十分に長いことが好ましい。

20

【0101】

また、ノズルの外周面が疎水性になっていれば、プローブ水溶液の濡れ上がりが抑制されるため、より好ましい。このとき、ノズルの外周面のすべてが疎水性になっている必要はなく、ノズルの先端付近は親水性のままで、ノズルの少なくとも根元付近が疎水性になっていれば、過剰な濡れ上りを抑制するという効果が得られる。ノズルの外周面を疎水性にするための方法としては、たとえば、疎水性の液体を塗布するなどの方法がある。

30

【0102】

図 11 は、この発明の第 2 の実施形態を説明するための図 2 に対応する図である。図 11 において、図 2 に示した要素に相当する要素には同様の参照符号を付し、重複する説明は省略する。

【0103】

図 11 に示したプローブアレイ用基体 100a においては、プローブ保持部 102 の一部をなす親水性領域 105 と検査用領域 106 とが、疎水性領域 104 を横切る幅の狭い親水性領域 114 で連結されている。このような実施形態の場合であっても、親水性領域 114 の幅が十分に狭ければ、プローブ保持部 102 に適正に導入されたプローブ溶液が、幅の狭い親水性領域 114 を通って検査用領域 106 に流れ込むことはない。親水性領域 114 の幅が十分に狭ければ、親水性領域 114 をプローブ溶液が濡れ進む際、親水性領域 114 の表面が濡れることによる表面自由エネルギーの減少分よりも、親水性領域 114 の両側にある疎水性領域 114 が濡れることによる表面自由エネルギーの増加分とプローブ溶液の表面積が増加することによる表面張力自由エネルギーの増加分との和の方が大きくなるからである。

40

【0104】

なお、幅の狭い親水性領域 114 は特に有利な作用効果を発揮するものではないが、上記の第 2 の実施形態は、このような親水性領域 114 が形成されたものも、この発明の範囲内にあることを確認する意義がある。

【0105】

50

図 1 2 は、この発明の第 3 の実施形態を説明するための図 1 に対応する図である。図 1 2 において、図 1 に示した要素に相当する要素には同様の参照符号を付し、重複する説明は省略する。

【0106】

図 1 2 に示したブローブアレイ用基体 1 0 0 b においては、突起 1 0 3 によってのみブローブ保持部 1 0 2 が与えられることを特徴としている。したがって、ブローブアレイ用基体 1 0 0 b の主面 1 0 1 における突起 1 0 3 が設けられた部分以外の部分は疎水性領域 1 0 4 とされ、突起 1 0 3 は、疎水性領域 1 0 4 から立ち上がるように設けられている。

【0107】

このようなブローブアレイ用基体 1 0 0 b を製造するにあたっては、前述の図 3 (1) ~ (3) に示した工程を経て、材料基板 1 2 0 に突起 1 0 3 を形成した後、液状の樹脂を材料基板上に付与し、スピンコートを用いて樹脂膜を形成し、次いで、これを硬化させる。このとき、突起 1 0 3 の上面および側面に形成される樹脂膜の厚みは、突起 1 0 3 以外の部分に形成される樹脂膜の厚みより薄くなる。その後、突起 1 0 3 の上面および側面に形成された樹脂膜が完全に除去され、かつ、突起 1 0 3 以外の部分に形成された樹脂膜がなくなる程度の条件で、たとえばプラズマアッシングを実施すれば、目的とするブローブアレイ用基体 1 0 0 b が得られる。

【0108】

上述の製造方法によれば、フォトリソグラフィ技術を用いることなく、疎水性領域 1 0 4 となる樹脂膜を形成することができるため、前述のブローブアレイ用基体 1 0 0 の場合に比べて、より低コストでの製造が可能となる。また、用いられる樹脂は、感光性である必要がないため、樹脂の選択の幅を広げることができる。

【0109】

図 1 3 は、この発明の第 4 の実施形態を説明するための図 1 に対応する図である。図 1 3 において、図 1 に示す要素に相当する要素には同様の参照符号を付し、重複する説明は省略する。

【0110】

図 1 3 に示したブローブアレイ用基体 1 0 0 c では、複数のブローブ保持部 1 0 2 の各々において、突起 1 0 3 を取り囲むように隔壁 1 1 6 が形成されていることを特徴としている。隔壁 1 1 6 は、突起 1 0 3 と同じ高さである。隣り合う隔壁 1 1 6 間に挟まれた溝部分には、樹脂 1 1 7 が充填される。疎水性領域 1 0 4 は、この溝部分を充填する樹脂 1 1 7 の表面によって与えられる。また、検査用領域 1 0 6 は、隣り合う隔壁 1 1 6 間の溝部分に島状に形成された立ち上がり壁 1 1 8 の上面によって与えられる。

【0111】

このようなブローブアレイ用基体 1 0 0 c を製造するにあたっては、前述の図 3 (1) ~ (3) に示した工程と同様の工程を実施して、突起 1 0 3 を形成すると同時に隔壁 1 1 6 および立ち上がり壁 1 1 8 を形成する。そして、隣り合う隔壁 1 1 6 間に、液状の樹脂を流し込み、これを硬化させる。次いで、隣り合う隔壁 1 1 6 間に充填された樹脂 1 1 7 がなくなる程度に、たとえばプラズマアッシングを実施し、隣り合う隔壁 1 1 6 間の溝以外の部分や立ち上がり壁 1 1 8 の上面に付着した樹脂を除去する。このような加工を行なう材料基板がシリコンからなる場合、上述のプラズマアッシングによって、その最表面に酸化膜が形成される。

【0112】

上述のようなブローブアレイ用基体 1 0 0 c を使用した場合、ブローブ保持部 1 0 2 が陥凹した形状によって与えられているため、前述のブローブアレイ用基体 1 0 0 を使用した場合と比較して、大量のブローブ溶液をブローブ保持部 1 0 2 で保持することができる。このように、比較的大量のブローブ溶液をスポッティングすることができるため、スポッティングするブローブ溶液量の制御が容易であり、スポッティングされるブローブ溶液量のばらつきを小さくすることが容易である。

【0113】

10

20

30

40

50

また、このようなプローブアレイ用基体 100c を使用した場合には、若干過剰量のプローブ溶液をスポッティングしても、隔壁 116 でプローブ溶液の濡れ広がりを食い止めることができる。したがって、スポッティングするプローブ溶液量を多めに設定することができる。このことも、スポッティングするプローブ溶液量の制御の容易化、およびスポッティングされるプローブ溶液量のばらつきの低減の容易化に寄与する。

【0114】

さらに、このようなプローブアレイ用基体 100c を使用した場合、プローブ保持部 102 が陥凹した形状によって与えられているため、その側面にもプローブ分子が保持されることができる。したがって、プローブ保持部 102 に保持され得るプローブ分子の数、すなわち、スポットに保持されるプローブ分子の数を多くすることができ、プローブアレイの感度を高めることができる。

10

【0115】

なお、図 13 に示したプローブアレイ用基体 100c の変形例として、検査用領域 106 を与える立ち上がり壁 118 を備えず、隣り合う隔壁 116 間の間隔をより狭くして、プローブアレイ用基体を小型化することも可能である。

【図面の簡単な説明】

【0116】

【図 1】この発明の第 1 の実施形態によるプローブアレイ用基体 100 の一部を示す斜視図である。

【図 2】図 1 に示したプローブアレイ用基体 100 の一部を示す上面図である。

20

【図 3】図 1 に示したプローブアレイ用基体 100 を製造するために実施される工程を示す断面図である。

【図 4】図 1 に示したプローブアレイ用基体 100 を用いてプローブアレイを製造するため、プローブアレイ用基体 100 と組み合わされて有利に用いられる供給器 200 を示す断面図である。

【図 5】図 4 に示した供給器 200 を製造するために実施される工程を説明するためのもので、供給器 200 における特定の切断面で切断して示した端面図である。

【図 6】図 1 に示したプローブアレイ用基体 100 と図 4 に示した供給器 200 とを用いてプローブアレイを製造するために実施される工程を示す断面図である。

【図 7】液体 400 の液面に、固体の円柱 401 を、液面に対して垂直に入れたときの状態を説明するための図である。

30

【図 8】プローブ保持部 102 の親水性領域 105 にまで導かれたプローブ水溶液 210 が、親水性領域 105 上で十分に濡れ広がる過程を説明するための図である。

【図 9】プローブ保持部 102 の親水性領域 105 の全域をカバーした状態にあるプローブ水溶液 210 の、ノズル 204 の外周面に沿う濡れ上がりを説明するための図であって、 $I < D/2$ の関係が成立する場合を示している。

【図 10】プローブ保持部 102 の親水性領域 105 の全域をカバーした状態にあるプローブ水溶液 210 の、ノズル 204 の外周面に沿う濡れ上がりを説明するための図であって、 $I > D/2$ の関係が成立する場合を示している。

【図 11】この発明の第 2 の実施形態を説明するための図 2 に対応する図である。

40

【図 12】この発明の第 3 の実施形態を説明するための図 1 に対応する図である。

【図 13】この発明の第 4 の実施形態を説明するための図 1 に対応する図である。

【符号の説明】

【0117】

100, 100a, 100b, 100c プローブアレイ用基体

101 主面

102 プローブ保持部

103 突起

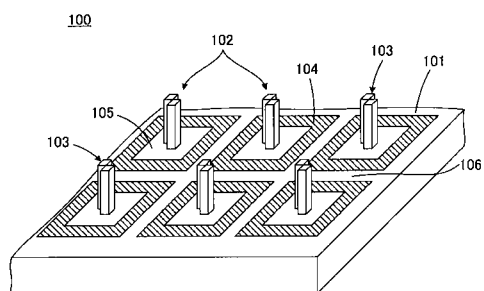
104 疎水性領域

105 親水性領域

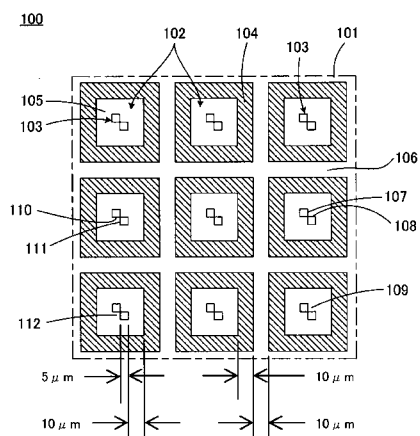
50

106 検査用領域
 109, 112 案内溝
 122 感光性樹脂膜
 200 供給器
 204 ノズル
 210 プロープ水溶液

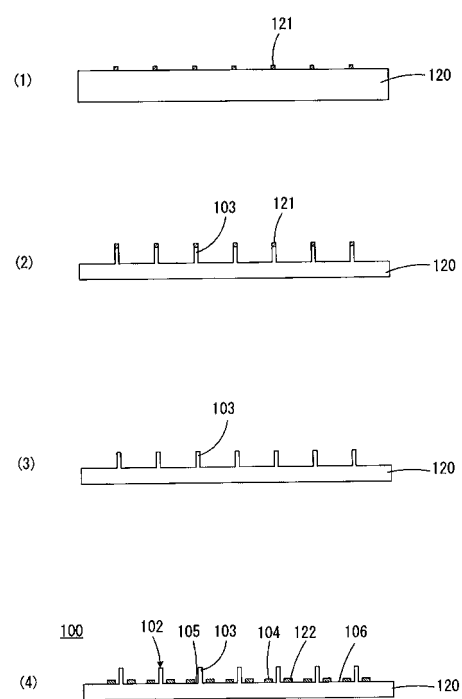
【図1】



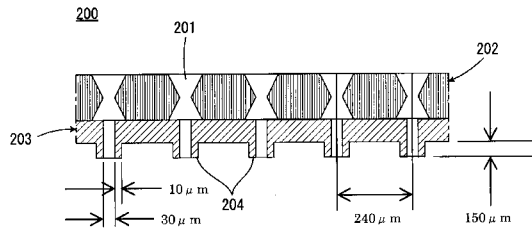
【図2】



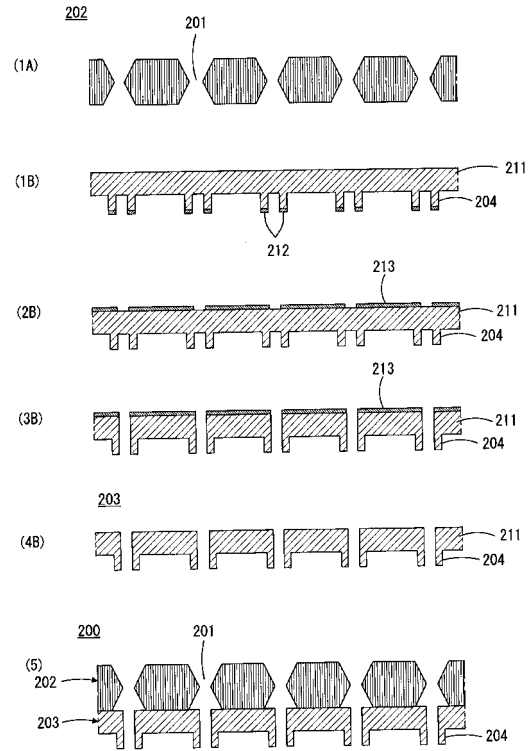
【図3】



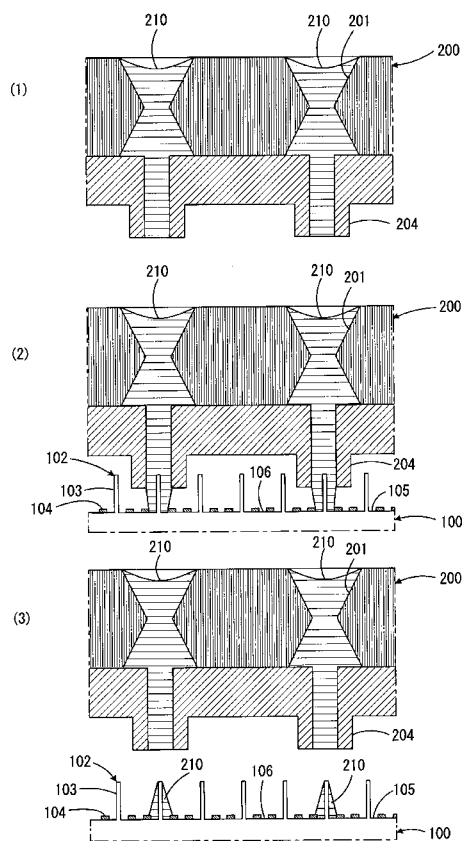
【図 4】



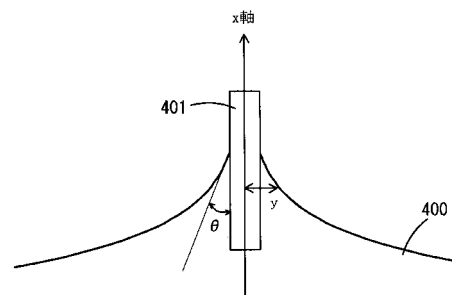
【図 5】



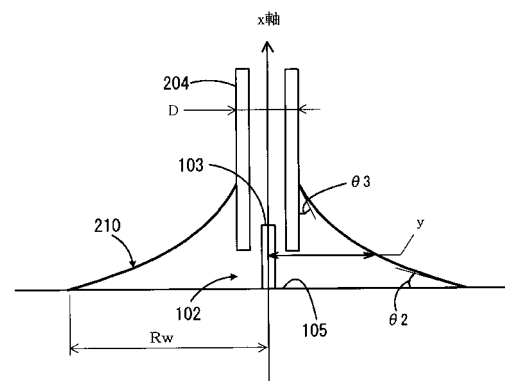
【図 6】



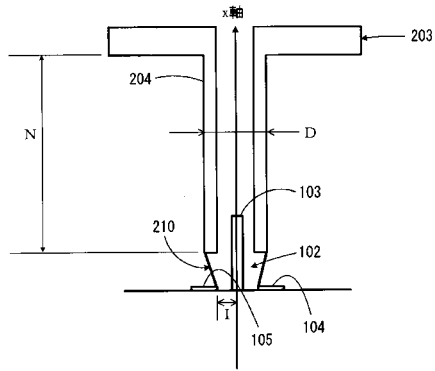
【図 7】



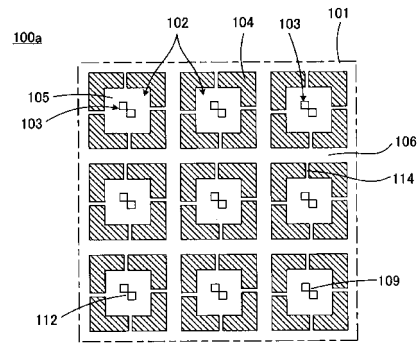
【図 8】



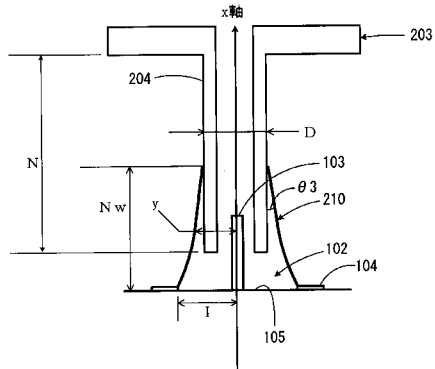
【図 9】



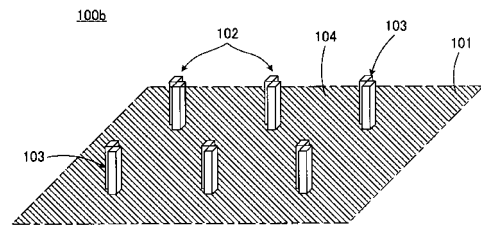
【図 1 1】



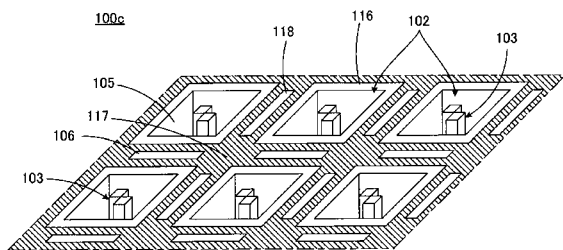
【図 1 0】



【図 1 2】



【図 1 3】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.

F I

テーマコード (参考)

G 0 1 N 33/53

M