



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103998940 B

(45)授权公告日 2016.07.27

(21)申请号 201280062684.7

(22)申请日 2012.11.05

(30)优先权数据

2011-282185 2011.12.22 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.06.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2012/078587 2012.11.05

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/094322 JA 2013.06.27

(73)专利权人 株式会社岛津制作所

地址 日本京都府京都市中京区西之京桑原
町1番地

(72)发明人 片所功 大桥铁雄

(74)专利代理机构 北京中原华和知识产权代理
有限责任公司 11019

代理人 寿宁 张华辉

(51)Int.Cl.

G01N 35/08(2006.01)

C12M 1/00(2006.01)

C12M 1/34(2006.01)

G01N 37/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101165486 A, 2008.04.23,

WO 2011/135881 A1, 2011.11.03,

CN 101013128 A, 2007.08.08,

JP 特开2008-39541 A, 2008.02.21,

审查员 夏丽

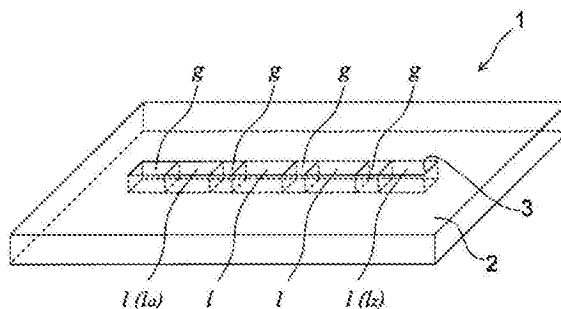
权利要求书2页 说明书25页 附图12页

(54)发明名称

芯片装置、操作芯片的制作方法
及操作对象成分的方法

(57)摘要

本发明提供一种芯片装置、操作芯片的制作方法
及操作对象成分的方法,在此装置内,试样
的一系列操作所需的试剂等多种液体物质分别
贯穿操作前后以分隔的状态稳定地固定。本发
明的芯片装置是用于操作对象成分的芯片装置,其
包括:操作芯片(1),其包括基板(2)、形成在所述
基板表面的沟(3)、及以使凝胶相(g)和水系液体
相(1)在所述沟(3)的长度方向上交替配置且凝
胶相(g)和水系液体相(1)彼此相互接触的方式
被收纳在所述沟内的操作用介质;磁性体粒子,
其应捕捉并搬运对象成分;及磁场施加单元,其
可通过对所述基板施加磁场而使所述磁性体粒
子在所述基板上的所述沟的长度方向上移动。



1. 一种芯片装置,其是用于操作对象成分的芯片装置,并且包括:

操作芯片,其包括:

基板;

形成在所述基板表面的沟;以及

以使凝胶相和水系液体相在所述沟的长度方向上交替配置且所述凝胶相和所述水系液体相彼此相互接触、且使所述凝胶相和所述水系液体相接触到所述沟的两侧壁、并且通过所述凝胶相固定化所述水系液体相的方式被收纳在所述沟内的操作用介质;

磁性体粒子,其应捕捉并搬运对象成分;以及

磁场施加单元,其通过对所述基板施加磁场并使所述磁场移动,而使所述磁性体粒子在所述基板上的所述沟的长度方向上于所述凝胶相和所述水系液体相的内部移动。

2. 根据权利要求1所述的芯片装置,其中所述水系液体相中,收纳在最接近所述沟的一端或另一端的位置的水系液体相是应最先供给包含所述对象成分的试样的水系液体相。

3. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述沟包含主沟和从所述主沟起分支的分支沟。

4. 根据权利要求3所述的芯片装置,其中收纳在最接近所述沟的主沟侧的端部的位置的水系液体相是应最先供给所述对象成分的水系液体相。

5. 根据权利要求3所述的芯片装置,其中收纳在最接近所述沟的分支沟侧的端部的位置的水系液体相是应最先供给所述对象成分的水系液体相。

6. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述沟包含交叉成方格状的多个沟。

7. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述沟的表面的和所述凝胶相接触的部分经过疏水性处理。

8. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述沟的表面的和所述水系液体相接触的部分经过亲水性处理。

9. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述沟为宽度 $0.005\text{mm}\sim 10\text{mm}$ 及深度 $0.005\text{mm}\sim 5\text{mm}$ 。

10. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述基板的具有所述沟的一侧的表面具有盖板。

11. 根据权利要求10所述的芯片装置,其中所述盖板是贯穿设置了孔的盖板,所述孔通向位于所述沟的至少一个末端的凝胶相。

12. 根据权利要求3所述的芯片装置,其中所述磁场施加单元是和所述基板面大致并行地配置成一维阵列状或二维阵列状的多个磁体,所述多个磁体是可在相互吸在一起的状态下和所述基板面大致并行且在所述主沟的长度方向上移动的多个磁体,在所述多个磁体的行进路线上且从所述主沟向所述分支沟的分支点处,设置了用于分离所述多个磁体的分离辅助具。

13. 根据权利要求1或2所述的芯片装置,其中所述水系液体相包含选自核酸提取液相、核酸清洗液相、及核酸扩增反应液相所组成的族群中的相。

14. 一种操作芯片的制作方法,所述操作芯片是根据权利要求1至13中任一项所述的芯片装置所含的操作芯片,所述方法包括以下工序:

(i)制备沿着形成在基板上的沟的长度方向相互隔离地配置了多个凝胶块的凝胶相部

的工序;以及

(ii)通过向和所述凝胶相部邻接的沟内空间加入水系液体,而制备水系液体相部的工序。

15.根据权利要求14所述的操作芯片的制作方法,其还包括(iii)在所述基板的具有所述沟的一侧的表面设置盖板的工序。

16.一种用于操作对象成分的方法,其使用根据权利要求1至13中任一项所述的芯片装置,所述方法包括以下工序:

(i)在位于所述操作芯片的一端的水系液体相中,获得含有包含对象成分的试样、磁性体粒子及水系液体的水系液体混合物的工序;

(ii)利用磁场施加单元产生磁场,将所述磁性体粒子和所述对象成分一起从位于最末端的所述水系液体混合物的相经过所述凝胶相而搬运到邻接的水系液体相中的工序;

(iii)在所述水系液体相中进行第一所需的处理的工序;

(iv)利用所述磁场施加单元产生磁场,将所述磁性体粒子和所述对象成分一起从所述水系液体相搬运到其他水系液体相的工序;

(v)在所述其他水系液体相中进行第二所需的处理的工序;

(vi)根据需要反复进行所述工序(iv)及所述工序(v)的工序;以及

(vii)将所述磁性体粒子和所述对象成分一起搬运到位于所述操作芯片的另一端的水系液体相的工序。

17.根据权利要求16所述的用于操作对象成分的方法,其中所述操作芯片存在多个,对多个所述操作芯片同时进行利用所述磁性体粒子所进行的搬运。

18.根据权利要求16或17所述的用于操作对象成分的方法,其中所述对象成分为核酸,在所述工序(i)中,位于一端的相中的所述水系液体混合物所含的水系液体是使所述核酸游离并结合或吸附在所述磁性体粒子上的液体,在所述水系液体中进行核酸提取,

在所述工序(ii)至所述工序(vi)中,所述水系液体相的至少1种包含所述磁性体粒子的清洗液,在所述清洗液中进行通过去除游离核酸所伴随的杂质而进行的核酸纯化。

19.根据权利要求18所述的用于操作对象成分的方法,其中在所述工序(vii)中,位于另一端的所述水系液体相包含核酸扩增反应液,在所述核酸扩增反应液中进行纯化核酸中的靶核酸的扩增。

20.根据权利要求19所述的用于操作对象成分的方法,其中实时地检测来自所述核酸扩增反应的生成物。

芯片装置、操作芯片的制作方法及操作对象成分的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种 μ TAS(Micro-Total Analysis Systems,微全分析系统)装置。

背景技术

[0002] 在日本专利特表2009-534653号公报(专利文献1)中,记载了在基板表面使用EWOD(electrowetting on dielectrics,介质上电润湿)技术来操作液滴,而进行试样的分割、混合、检测、区分及保管等的装置。另外,也记载了使用可和核酸结合的磁响应性珠的情况。

[0003] 在美国专利第6406604号说明书(专利文献2)中,记载了可通过在形成在基板上的分离用流道的一部分上固定抗体,而进行亲和浓缩和利用毛细管电泳分离的纯化的多元分析用芯片。

[0004] 在日本专利第4353900号说明书(专利文献3)中,记载了上部基板的流道和下部基板的流道交叉,在交叉部位,两条流道隔着多孔质硅膜等多孔质构件而接触的装置。

[0005] 在日本专利特开2008-233002号公报(专利文献4)中,记载了在基板上形成孔状反应容器和流道,且在孔状反应容器内配置了反应试剂固定化磁性体粒子的反应芯片。

[0006] 在日本专利特开2006-61031号公报(专利文献5)中,记载了如下分析处理芯片,此芯片是以流道将多个孔间连接的分析处理芯片,可通过施加磁场,使附着了核酸的磁性体从第一纯化孔通过流道移动到第二纯化孔,而纯化核酸。

[0007] 在日本专利特表2008-517259号公报(专利文献6)中,记载了在具有用以容纳试剂的具有几何学形状的微小通路的卡片内,使用磁性体粒子,综合且自动地分析测定试样的DNA或蛋白质的装置。

[0008] 在日本专利特开2007-315936号公报(专利文献7)中,记载了在基板上设置流道,可通过对设置了以截断流道的方式具有沟口的壁部的流体控制部进行加压,而控制流体的流动的微芯片。

[0009] 在日本专利特表2006-518221号公报(专利文献8)中,记载了如下样品处理小管,此小管是具有利用可破坏的封条以流体的形式隔离的含有试剂的至少3个区段的小管,可在此一个小管中连续进行从细胞提取核酸及通过基因扩增反应所进行的分析。

[0010] 现有技术文献

[0011] 专利文献

[0012] 专利文献1:日本专利特表2009-534653号公报

[0013] 专利文献2:美国专利第6406604号说明书

[0014] 专利文献3:日本专利第4353900号说明书

[0015] 专利文献4:日本专利特开2008-233002号公报

[0016] 专利文献5:日本专利特开2006-61031号公报

[0017] 专利文献6:日本专利特表2008-517259号公报

[0018] 专利文献7:日本专利特开2007-315936号公报

[0019] 专利文献8:日本专利特表2006-518221号公报

发明内容

[0020] 发明所要解决的问题

[0021] 关于在芯片上形成流道,集成分离及检测等功能而进行分析的 μ TAS(Micro-Total Analysis Systems,微全分析系统)装置,由于试样的微少化、或通过多元分析而提高分析处理量等优点,业界对其进行了大量研究。为了进行将检测器通用化的多检测体测定、纯化后的分析、无法同时使用的多种试剂的混合等复杂分析,需要使多个流道交叉,但迄今为止的方法由于需要多个泵或阀门,所以装置的构造变得复杂,无法充分地运用 μ TAS的优点。

[0022] 关于专利文献1的装置,虽然可在基板表面进行区分及反应等针对液滴的多种操作,但由于液滴的操作是基于EWOD而进行,所以需要复杂的电控制,并且因受到带电或表面状态的较大影响,因而液滴的操作的稳定性低。另外,无法将试剂液稳定地固定在装置上。由于试剂液每次需要从装置外供给,所以有可能受到污染。

[0023] 关于专利文献2的装置,主要进行利用固定化抗体等的亲和浓缩和利用电泳分离的纯化,未考虑到在流道内进行反应。其原因在于:流道内仅充满了1种溶液或1种凝胶,因而可进行的操作非常有限。

[0024] 专利文献3的装置是将试剂以干燥状态保管在流道内,并向流道通入溶液的系统,因此无法将溶液状态的试剂加以固定。虽然在交叉的流道的连接部设置了多孔质膜,但由于此膜是以过滤微粒子等为目的而设置,所以无法将试剂液固定化。另外,操作装置时需要泵及阀门。

[0025] 关于专利文献4、5、6及7的装置,由于液体本质上是在流道内移动,所以不可能以溶液状态保存装置内的试剂。

[0026] 关于专利文献8的装置,试剂溶液彼此是利用封条进行分隔而固定化,但使试样在试剂溶液间移动时,需要破坏将试剂溶液彼此分隔的封条,所以会伴有液体在管内的移动。

[0027] 因此,本发明的目的在于提供一种装置,在此装置内,试样的一系列操作所需的试剂等多种液体物质分别贯穿操作前后以分隔的状态稳定地固定。另外,本发明的目的在于提供一种试样的操作方法,其可在具备一系列操作所需的多种液体物质的装置内,以密封状态且操作性良好地进行一系列工序的全部。

[0028] 解决问题的手段

[0029] 本发明者等人发现:在形成在基板上的多个沟中以凝胶物质分隔、收纳多种水系液体,且利用可存在于收纳在沟内的水系液体中的磁性体粒子和可从基板外部进行操作的磁场施加单元,可实现本发明的目的,从而完成本发明,此磁性体粒子。

[0030] 本发明包括以下的发明。

[0031] (1)一种芯片装置,其是用于操作对象成分的芯片装置,并且包括:

[0032] 操作芯片,其包括基板、形成在所述基板表面的沟、及以使凝胶相和水系液体相在所述沟的长度方向上交替配置且所述凝胶相和所述水系液体相彼此相互接触的方式被收纳在所述沟内的操作用介质;

[0033] 磁性体粒子,其应捕捉并搬运对象成分;

[0034] 磁场施加单元,其通过对所述基板施加磁场而使所述磁性体粒子在所述基板上的所述沟的长度方向上移动。

[0035] 所述(1)的操作芯片的基本构造例示于图1。包含操作芯片的芯片装置的使用形态例示于图11。

[0036] (2)根据(1)所述的芯片装置,其中所述水系液体相中,收纳在最接近所述沟的一端或另一端的位置的水系液体相是应最先供给包含所述对象成分的试样的水系液体相。

[0037] 所述(2)的应最先供给试样的水系液体相在图1等中例示为1a。

[0038] (3)根据(1)或(2)所述的芯片装置,其中所述沟包含主沟和从所述主沟起分支的分支沟。

[0039] 所述(3)的分支形态例示在图3及4。

[0040] (4)根据(3)所述的芯片装置,其中收纳在最接近所述沟的主沟侧的端部的位置的水系液体相是应最先供给所述对象成分的水系液体相。

[0041] (5)根据(3)所述的芯片装置,其中收纳在最接近所述沟的分支沟侧的端部的位置的水系液体相是应最先供给所述对象成分的水系液体相。

[0042] (6)根据(1)或(2)所述的芯片装置,其中所述沟包含交叉成方格状的多个沟。

[0043] 所述(6)的交叉形态例示在图5。

[0044] (7)根据(1)至(6)中任一项所述的芯片装置,其中所述沟的表面的和所述凝胶相接触的部分经过疏水性处理。

[0045] (8)根据(1)至(7)中任一项所述的芯片装置,其中所述沟的表面的和所述水系液体相接触的部分经过亲水性处理。

[0046] (9)根据(1)至(8)中任一项所述的芯片装置,其中所述沟为宽度0.005mm~10mm及深度0.005mm~5mm。

[0047] (10)根据(1)至(9)中任一项所述的芯片装置,其中所述基板的具有所述沟的一侧的表面具有盖板。

[0048] (11)根据(10)所述的芯片装置,其中所述盖板是贯穿设置了孔的盖板,所述孔通向位于所述沟的至少一个末端的凝胶相。

[0049] 所述(11)的芯片装置的操作芯片例示在图6等。

[0050] (12)根据(4)及(7)至(11)中任一项所述的芯片装置,其中所述磁场施加单元是和所述基板面大致并行地配置成一维阵列状或二维阵列状的多个磁体,所述多个磁体是可在相互吸在一起的状态下和所述基板面大致并行且在所述主沟的长度方向上移动的多个磁体,在所述多个磁体的行进路线上且从所述主沟向所述分支沟的分支点处,设置了用于分离所述多个磁体的分离辅助具。

[0051] 所述(12)的芯片装置的磁体及分离辅助具的形态例示在图16。

[0052] (13)根据(1)至(12)中任一项所述的芯片装置,其中所述水系液体相包含选自由核酸提取液相、核酸清洗液相、及核酸扩增反应液相所组成的族群中的相。

[0053] (14)一种操作芯片的制作方法,此操作芯片是根据(1)至(13)中任一项所述的芯片装置所含的操作芯片,所述方法包括以下工序:

[0054] (i)制备沿着形成在基板上的沟的长度方向相互隔离地配置了多个凝胶块的凝胶相部的工序;以及

[0055] (ii)通过向和所述凝胶相部邻接的沟内空间加入水系液体,而制备水系液体相部的工序。

[0056] 所述(14)的方法示意性地示于图10。

[0057] (15)根据(14)所述的操作芯片的制作方法,其还包括(iii)在基板的具有所述沟的一侧的表面设置盖板的工序。

[0058] (16)一种用于操作对象成分的方法,其使用根据(1)至(13)中任一项所述的芯片装置,所述方法包括以下工序:

[0059] (i)在位于所述操作芯片的一端的水系液体相中,获得含有包含对象成分的试样、磁性体粒子及水系液体的水系液体混合物的工序;

[0060] (ii)利用磁场施加单元产生磁场,将所述磁性体粒子和所述对象成分一起从位于最末端的所述水系液体混合物的相经过所述凝胶相而搬运到邻接的水系液体相中的工序;

[0061] (iii)在所述水系液体相中进行所需的处理的工序;

[0062] (iv)利用磁场施加单元产生磁场,将所述磁性体粒子和所述对象成分一起从所述水系液体相搬运到其他水系液体相的工序;

[0063] (v)在所述其他水系液体相中进行所需的处理的工序;

[0064] (vi)根据需要反复进行所述工序(iv)及所述工序(v)的工序;以及

[0065] (vii)将所述磁性体粒子和对象成分一起搬运到位于所述操作芯片的另一端的水系液体相的工序。

[0066] 所述(16)的方法示意性地示于图11。

[0067] (17)根据(16)所述的用于操作对象成分的方法,其中所述操作芯片存在多个,对多个所述操作芯片同时进行利用所述磁性体粒子所进行的搬运。

[0068] 所述(17)的集成了多个操作芯片的装置例示在图13。

[0069] (18)根据(16)或(17)所述的用于操作对象成分的方法,其中所述对象成分为核酸,

[0070] 在所述工序(i)中,位于一端的相中的所述水系液体混合物所含的水系液体是使所述核酸游离并结合或吸附在所述磁性体粒子上的液体,在所述水系液体中进行核酸提取,

[0071] 在所述工序(ii)至所述工序(vi)中,所述水系液体相的至少1种包含所述磁性体粒子的清洗液,在所述清洗液中进行通过去除游离核酸所伴随的杂质而进行的核酸纯化。

[0072] (19)根据(18)所述的用于操作对象成分的方法,其中在所述工序(vii)中,位于另一端的所述水系液体相包含核酸扩增反应液,在所述核酸扩增反应液中进行纯化核酸中的靶核酸的扩增。

[0073] (20)根据(19)所述的用于操作对象成分的方法,其中实时地(real-time)检测来自所述核酸扩增反应的生成物。

[0074] 发明的效果

[0075] 根据本发明,可提供一种装置,其是小型且低运行成本的装置,在装置内,试样的一系列操作所需的试剂等多种液体物质分别贯穿操作前后以分隔的状态稳定地固定。另外,根据本发明,可实现一种试样的操作方法,其可在具备一系列操作所需的多种液体物质的装置内,以密封状态且操作性良好地进行一系列工序的全部。

附图说明

[0076] 图1是表示本发明的芯片装置的操作芯片的基本构造的立体图。

[0077] 图2是例示形成在操作芯片的基板上的沟中所收纳的凝胶相及水系液体相的配置图案的平面图。

[0078] 图3是表示形成在操作芯片的基板上的沟的分支例、及沟中所收纳的凝胶相及水系液体相的配置图案的例子的平面图。

[0079] 图4是表示形成在操作芯片的基板上的沟的分支例、及沟中所收纳的凝胶相及水系液体相的配置图案的例子的平面图。

[0080] 图5是表示形成在操作芯片的基板上的沟的交叉例、及沟中所收纳的凝胶相及水系液体相的配置图案的例子的平面图。

[0081] 图6是在基板表面设置了盖板的操作芯片的一个例子的立体图。

[0082] 图7是在基板表面设置了盖板的操作芯片的另一个例子的立体图。

[0083] 图8是将图6的操作芯片的一个例子的构成构件及相关构件相互离隔而表示的立体图。

[0084] 图9是将图8的构成构件及相关构件全部组合的状态下的沿着图8的IX-IX线的垂直剖面图。

[0085] 图10是通过立体图示意性地表示操作芯片的制作方法的一个例子的图。

[0086] 图11是通过垂直剖面图示意性地表示使用芯片装置的基本操作的一个例子的图。

[0087] 图12是通过垂直剖面图(一部分)示意性地表示对通过使用图7的操作芯片的操作而获得的磁性体粒子加以回收的方法的两例的图。在各例中,工序(g')及工序(g'')对应于图11的工序(g)。

[0088] 图13是包含多个操作芯片的集成型芯片装置的一个例子的立体图。

[0089] 图14是包含多个操作芯片的集成型芯片装置的另一个例子的立体图。

[0090] 图15是示意性地表示在使用具有分支沟的操作芯片的情况下利用沟的分支点来分割磁性体粒子群的方法的一个例子的平面图。

[0091] 图16是示意性地表示在使用具有分支沟的操作芯片的情况下利用沟的分支点来分割磁性体粒子群的方法的一个例子的平面图。

[0092] 图17是示意性地表示在图16的例子中,在沟的分支点处利用分离辅助具分离相互吸在一起的多个磁体的机构的图。工序(b)及工序(c)分别相当于图16的工序(b)及工序(c)。

[0093] 图18是表示图17的磁体的平面形状的变形例的图。

[0094] 图19是表示在沟的分支点处利用分离辅助具分离相互吸在一起的多个磁体的机构的变形例的图。

[0095] 图20是示意性地表示在图16及图17的例子中,安装了用以使多个磁体移动的磁体用夹具的磁体的图。

具体实施方式

[0096] [1.对象成分的操作]

[0097] [1-1.对象成分]

[0098] 在本发明的芯片装置中被操作的对象成分只要是通常可在水系液体中、或乳液中

等进行操作的成分,并无特别限定,不论生物体内成分及非生物体内成分均可。生物体内成分包括核酸(包括DNA(脱氧核糖核酸)及RNA(核糖核酸))、蛋白质、脂质、糖等生物分子。非生物体内成分包括所述生物分子的人工(不论化学及生化学)修饰体、标签化体、变异体等非生物分子、源于天然物的非生物分子、其他可在水系液体中进行操作的任何成分。

[0099] 对象成分通常可以包含其对象成分的试样的形态提供。作为这种试样,例如可列举:动植物组织、体液、排泄物等源于生物体的试样,细胞、原生动物、真菌、细菌、病毒等生物分子含有体。体液包括血液、痰液、脑脊液、唾液、乳汁,排泄物包括粪便、尿、汗,也可为这些的组合。细胞包括血液中的白细胞、血小板、或口腔细胞及其他粘膜细胞的剥离细胞,也可为这些的组合。这些试样可以临床拭子的形式获得。另外,所述试样也可制备成例如细胞悬浮液、匀浆、和细胞溶解液的混合液等形态。

[0100] 另外,包含对象成分的试样也可为对所述试样进行修饰、标签化、片段化、变异等处置而获得的试样。

[0101] 包含对象成分的试样还可为预先对所述试样适当进行前处理而制备的试样。作为前处理,例如可列举:从包含对象成分的试样提取、分离、纯化对象成分或对象成分含有物的处理等。然而,这种前处理由于可在本发明的芯片装置中进行,所以并非必须要求在供给到芯片装置内之前预先进行。通过在本发明的芯片装置中进行前处理,可避免通常在试样的前处理中令人担忧的污染问题。

[0102] [1-2.操作]

[0103] [1-2-1.操作的形态]

[0104] 在本发明的芯片装置中,包含所述对象成分的试样被供给到图1所例示的操作芯片,并在操作芯片中操作对象成分。本发明的对象成分的操作包括将所述对象成分供于各种处理、及在进行各种处理的多个环境之间搬运所述对象成分。

[0105] 虽然在下文会例示图1并进行详细说明,但在操作芯片1中,形成在基板2上的沟3中收纳了交替配置了包含凝胶的相g和包含水系液体的相l的多相作为操作用介质。水系液体主要是构建进行对象成分的处理的环境。

[0106] 因此,更具体而言,本发明的对象成分的操作包括将对象成分主要在水系液体内部供于处理、及经由凝胶相在进行处理的多个环境之间搬运对象成分。

[0107] [1-2-2.对象成分的处理]

[0108] 被供给对象成分的处理包括伴有对象成分的物质变化的处理、及伴有物理变化的处理。

[0109] 作为伴有对象成分的物质变化的处理,只要是通过受质间的键的产生或断裂而新产生不同的物质的处理,则可包括任何处理。更具体而言,包括化学反应及生化学反应。

[0110] 作为化学反应,包括伴有化合、分解、氧化及还原的任何反应。在本发明中,包括通常在水系液体中进行的反应。作为生化学反应,包括伴有生物体物质的物质变化的任何反应,通常是指活体外反应。例如可列举基于核酸、蛋白质、脂质、糖等生物体物质的合成系、代谢系及免疫系的反应。

[0111] 作为伴有对象成分的物理变化的处理,包括不伴有所述物质变化的任何处理。更具体而言,包括对象成分的变性(例如对象成分为包含核酸或蛋白质的生物体高分子及其他高分子的情况)、溶解、混合、乳化化、及稀释等。

[0112] 因此,通过本发明的处理,可进行对象成分的提取、纯化、合成、洗脱、分离、回收及分析等工序。通过这些工序,最终可进行对象成分的单分离、检测及鉴定等。

[0113] 此外,本发明的处理不仅包括目标处理(直接获得对象成分的单分离、检测及鉴定等效果的工序的处理),还适当包括其所随附的前处理及/或后处理。如果列举对象成分为核酸的情况下的例子,则可进行核酸扩增反应、或核酸扩增反应和扩增产物的分析等工序,作为这些前处理,必须进行从含核酸的试样提取核酸(细胞溶解)及/或纯化核酸(清洗)等,作为后处理,有时进行扩增产物的回收等。

[0114] [1-2-3.对象成分的搬运]

[0115] 对象成分的搬运是利用磁性体粒子及磁场施加单元而进行。磁性体粒子在操作时存在于操作芯片中,在通过使对象成分结合或吸附在其表面而加以捕捉的状态下在操作芯片内移动,由此可搬运对象成分。磁性体粒子可分散在操作芯片内的水系液体相中,通常通过从操作芯片外部利用磁场施加单元产生磁场而在水系液体相中凝聚。凝聚的磁性体粒子可伴随从操作芯片外部利用磁场施加单元所产生的磁场的变化而移动。凝聚的磁性体粒子可移动到凝胶相中。通过利用以下的3-2-3中所述的凝胶的触变性质(摇变性),凝聚的磁性体粒子可在不破坏凝胶相的情况下通过。在凝胶中,凝聚的磁性体粒子通过结合或吸附而伴有对象成分。严格而言,凝聚的磁性体粒子群上涂布了极少量的水系液体。

[0116] 即,可伴有对象成分以外的成分。但是,所涂布的水系液体的量极少。因此,可效率非常良好地进行对象成分的搬运。

[0117] [2.操作芯片]

[0118] [2-1.操作芯片的构造]

[0119] 本发明的装置包括具有图1所例示的基本构造的操作芯片。操作芯片1具有基板2,基板2上形成了沟3,沟3中收纳了沿着长度方向以凝胶相g和水系液体相1交替且凝胶相g和水系液体相1彼此相互接触的方式配置的操作作用介质。在图1中,揭示了凝胶相g位于沟的一个末端且水系液体相1位于另一末端的相配置图案,任一相位于沟的末端均可。例如图2的(a)~图2的(c)中例示了凝胶相g和水系液体相1的配置图案(基板及其他要素省略图示,在以下的图3~图5中也相同),但并不限定于这些。另一方面,在收纳在沟中的水系液体相中,最接近沟的任一末端的水系液体相通常可成为应最先被供给对象成分的水系液体相、即应最先被供给对象成分的构建操作环境的水系液体相。以下,有对应最先被供给对象成分的水系液体相附上1a的符号并加以说明的情况。此外,有对最接近沟内的水系液体相1a所在侧的相反侧的一端的水系液体相附上1z的符号并加以说明的情况。

[0120] [2-2.沟的形状]

[0121] 另外,作为沟的形状,可为如图2的(a)至图2的(c)所示的沟整体呈大致均匀宽度的形状,也可为如图2的(d)所示的在沟的末端部分沟宽度变宽的形状。沟深度也相同。在为如图2的(d)般的形状的沟的情况下,有如下优点:对象试样向操作芯片内的导入变得容易;及可增大可导入的对象试样的量。在沟宽度变宽的沟内,可在导入对象试样之前收纳水系液体,也可不收纳。

[0122] 此外,在图1中,沟3的长度方向的末端形成在基板2的端面的内侧,如下述图7般,沟3的长度方向的末端也可形成达到基板2的端面71、端面72。

[0123] 沟的形成图案并无特别限定,沟的形状为直线状及曲线状均可,沟可分支也可不

分支。在沟分支的情况下,例如图3的(a)~图3的(c)、图4的(a)及图4的(b)所示,沟可由主沟31、和自此主沟起分支的多个分支沟32所构成。在图3的(c)中,从主沟31起还分出分支沟34。分支沟32除了图示的以外,也可为分出任何阶段的分支沟。作为分支形态,可如图3的(a)及图3的(b)所述,2条分支沟32在分支点形成平角,也可如图3的(c)所示,主沟31及分支沟34在分支点形成直角,也可如图4的(a)及图4的(b)所示,2条分支沟32在分支点形成锐角。

[0124] 另外,也可例如图5所示,由交叉成方格状的多个沟所构成。更具体而言,也可将沿着纵向延伸的多个沟36、和沿着横向延伸的多个沟37设置成交叉状。

[0125] 此外,沟的尺寸为宽度0.005mm~10mm且深度0.005mm~5mm。如果低于所述范围,则有对操作性产生不良影响的倾向,如果超过所述范围,则有构成操作介质的凝胶相和水系液体相的多相因来自外部的冲击或重力的影响等而容易紊乱的倾向。

[0126] [2-3.基板的尺寸及材质]

[0127] 基板的尺寸并无特别限定,可沿袭迄今为止在 μ TAS(Micro-Total Analysis Systems,微全分析系统)领域一直使用的装置的基板尺寸。例如长度10mm~500mm、宽度10mm~500mm、厚度0.2mm~10mm。

[0128] 基板的材质并无特别限定,本领域技术人员可考虑各物性或加工性等而适宜决定。例如可列举:聚乙烯、聚丙烯、氟树脂(特氟龙(注册商标))、聚氯乙烯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(ABS(丙烯腈-丁二烯-苯乙烯)树脂)、丙烯腈-苯乙烯共聚物(AS(丙烯腈-苯乙烯)树脂)、丙烯酸系树脂、聚乙酸乙烯酯、聚对苯二甲酸乙二酯、聚醚醚酮(PEEK(聚醚醚酮)树脂)、以环氧树脂为基体的负性光刻胶(SU8(商品名))、聚二甲基硅氧烷(PDMS(聚二甲基硅氧烷)树脂)、环状聚烯烃等树脂原材料。采用树脂原材料在即便将芯片装置摔落或弯折时基板内的相也不容易紊乱而牢固性高的方面优选。

[0129] 另外,除了所述树脂原材料以外,也可使用陶瓷、玻璃(例如石英玻璃)、石英、金属等。

[0130] 此外,就防止制作操作芯片的工序中气泡混入沟内的观点而言,也可使用可吸藏气体的物质(具体而言为多孔性配位高分子)。

[0131] [2-4.基板的物性及表面处理]

[0132] 关于基板的材质,如果考虑到操作时的视觉辨认性、或从基板外部进行光学检测(具体而言为吸光度、荧光、化学发光、生物发光、折射率的变化等的测定)的情况,则优选具有透光性的材质。就此观点而言,尤其优选石英玻璃。

[0133] 就操作性的观点而言,构成形成在基板上的沟的内壁的搬运面优选平滑面,尤其优选表面粗糙度 $Ra=0.1\mu m$ 以下。例如,在使永磁体从基板的外部靠近基板,通过磁场的变化使带领着对象成分的磁性体粒子移动时,磁性体粒子一边被推压到搬运面上一边移动,通过使搬运面具有 $Ra=0.1\mu m$ 以下的表面粗糙度,可使磁性体粒子充分地具备对变化的磁场的追随性。

[0134] 此外,沟3内壁表面也可适宜实施表面处理。例如,就凝胶相的操作性及相固定的稳定性的观点而言,可对凝胶相所接触的部分的沟内壁表面实施疏水性处理,或对水系液体相所接触的部分的沟内壁表面实施亲水性处理,或实施这两种处理。另外,例如在将操作芯片用于操作蛋白质或核酸等的情况下,就防止吸附这种物质的观点而言,也可在沟内壁

表面涂布防吸附成分(例如肝素等)。

[0135] 另外,在基板的形成了沟的面侧(表侧)的相反侧(背侧)的面上,可设置发热体。作为使用这种形态的基板的情形,相当于在操作芯片内所进行的操作过程中需要加热的情形。发热体可设置在基板的一部分上。具体而言,可在和收纳了应加热的操作介质的沟部分对应的基板背侧面的部分设置发热体,使得可局部地加热进行需要加热的操作的操作介质。更具体而言,在芯片内的操作的最后进行PCR(Polymerase Chain Reaction,聚合酶链反应)的情况下,可在沟内的和PCR溶液相对应的基板背侧面的端部设置发热体。

[0136] 作为发热体的一个例子,可列举金属加热器。更具体而言,可列举铂等。为了将金属加热器设置在基板表面,可采用将金属薄膜形成在基板表面的方法。优选可通过溅镀法而将金属薄膜涂布在基板表面。

[0137] [2-5.其他构成构件]

[0138] 如图6所示,关于基板2,通常在形成了沟3的一侧的表面设置了盖板4。以下,将在基板2的沟3内收纳了操作介质且设置了盖板4的形态作为操作芯片1加以说明。盖板4覆盖基板的沟3整体,通过将沟3内的收纳物即操作介质和外部气体阻隔,可产生密闭空间。作为盖板的材质,可列举可用作基板材质的材质。关于盖板的材质的选择,可基于和选择基板材质时相同的观点进行。盖板及基板的材质可相同也可不同,可由本领域技术人员进行适宜组合。盖板4的尺寸可由本领域技术人员根据基板2或沟3的尺寸而适宜决定。例如为长度10mm~5mm、宽度10mm~500mm、厚度0.2mm~10mm。

[0139] 盖板4中可贯穿设置孔5。孔5是作为用以将对象成分供给到操作芯片1内的试样供给部而设置。成为试样供给部的孔5如图6所示,可通向收纳在沟3的一个末端的凝胶相ga。凝胶相ga和应最先被供给对象成分的水系液体相1a邻接。

[0140] 孔5的大小可考虑到沟的宽度、或本发明的试样的操作性等,而由本领域技术人员适宜决定。例如可设为 $0.01\text{mm}\phi\sim5\text{mm}\phi$ 。

[0141] 盖板4中还可贯穿设置另一孔6。孔6是相对于作为试样供给部的孔5,作为试样取出部而设置。成为试样取出部的孔6如图6所示,可通向收纳在沟3的另一末端的水系液体相1z。

[0142] 孔6的大小也可考虑到沟的宽度、或本发明的试样的操作性等,而由本领域技术人员适宜决定。例如可设为 $0.01\text{mm}\phi\sim5\text{mm}\phi$ 。

[0143] 成为试样供给部的孔5及成为试样取出部的孔6是根据沟的形成图案而设置。例如在图2所例示的情况下,成为试样供给部的孔5及成为试样取出部的孔6可分别形成1个。在图3的(a)或图4的(a)所例示的情况下,孔5对于主沟31可形成1个,孔6可根据分支沟32的最大分支数而形成多个(在为此例示的情况下为4个)。同样地,在图3的(b)、图3的(c)及图4的(b)所例示的情况下,孔5可形成多个,孔6可形成1个。在图5所例示的情况下,孔5及孔6可分别形成多个。

[0144] 将图6的变形例示于图7。在图7的例子中,基板2上形成了图2的(d)的形状的沟3,且设置了盖板4。图7的操作芯片常常在以沟宽度较宽的操作芯片在上而立起的状态下使用。沟3延伸到基板2的两端面71及72,此末端在基板2的两端面71及72开口。在基板2的上端面71开口的孔(上端孔)5可成为试样供给部,在下端面72开口的孔(下端孔)6可成为试样取出部。在图7的例子中,下端孔6是由凝胶相gz所密封。

[0145] 以下,对操作芯片的更具体的形态进行说明。将构成图6所例示的操作芯片的各构件及和其相关的构件相互隔离而表示的立体图示于图8,将在由图8所例示的全部构件组合的状态下的沿着图8的IX-IX线的垂直剖面图示于图9。

[0146] 孔5及孔6上可分别设置接头81及接头82。接头81及接头82可在孔5及孔6的内径特别小的情况等下以提高操作性为目的等而设置,此外,也可储存应供给到芯片内的试样液、或在芯片内产生操作结果的处理过的试样液。接头81及接头82的形状可相互相同,可为在近似圆柱状构件上具有贯通孔的形状,此贯通孔是从形成在此构件的下表面且和孔5或孔6对应的下方开口部83到形成在此构件的上表面的上方开口部84,优选以直径逐渐增大的方式形成。下方开口部83可与孔5或孔6连通,其内径优选和孔5或孔6相同,或小于孔5或孔6。接头81及接头82可分别通过熔接、粘接或使用紧固用构件(例如利用螺丝夹钳而进行,螺丝未图示)而固定在盖板4上。在通过使用紧固用构件进行固定的情况下,在接头81及接头82的下方开口部83和盖板4的孔5及孔6之间分别设置用以防止液体泄漏的密封材料(例如O型圈或垫片等,未图示)。

[0147] 就沟3内的污染的观点而言,孔5及孔6优选可封闭。例如,可使全部或一部分孔以可开放的方式封闭。另外,在孔5及孔6上设置了接头81及接头82的情况下,也可使接头的上方开口部84的全部或一部分以可开放的方式封闭。可封闭的机构是由本领域技术人员适宜决定。例如,作为使一部分以可开放的方式封闭的例子,可列举:利用具备止回阀功能的隔片(未图示)进行封闭的例子、及利用PDMS等的弹性体或凝胶进行封闭的例子。在此情况下,可利用注射针进行穿刺而供给或取出试样液。在利用隔片进行封闭的情况下,另外设置用以调整压力的压力调整口(未图示)。压力调整口具有过滤器,可防止污染,并且使和所注入的液体的体积相当的气体释放到操作芯片外。

[0148] 基板2可利用下部固定用支撑体85及上部固定用支撑体86进行固定。下部固定用支撑体85及上部固定用支撑体86的原材料并无特别限定,适宜使用树脂或金属等。通常使用强度大于基板2或盖板4的原材料。

[0149] 下部固定用支撑体85可通过设置在基板2的下表面侧,而固定包含操作芯片1的基板2的一侧。下部固定用支撑体85的上表面以可嵌合基板2的方式形成了固定用沟87。优选在固定用沟87内可形成贯通下部固定用支撑体85而挖空的下方窗孔88。此外,下部固定用支撑体85上也可形成多个螺孔92。

[0150] 上部固定用支撑体86可固定包含操作芯片1的盖板4的一侧。上部固定用支撑体86的下表面以可嵌合盖板4的方式形成了固定用沟89。此外,以可嵌通接头81及接头82的方式形成了孔91。优选在固定用沟89内可形成贯通上部固定用支撑体86而挖空的上方窗孔90。此外,上部固定用支撑体86上,可在下部固定用支撑体85的和螺孔92对应的位置形成螺孔93。

[0151] 下部固定用支撑体85及上部固定用支撑体86是使用紧固用构件(省略图示)而相互紧固。作为紧固用构件的使用例,可在螺孔92及和其对应的螺孔93中嵌插螺杆,并对所嵌插的螺杆旋接螺帽而进行固定。除了螺杆及螺帽以外,也可由本领域技术人员适宜选择紧固用构件。

[0152] [3.操作用介质]

[0153] 构成收纳在基板2的沟3内的操作用介质的凝胶相及水系液体相的数量及种类并

无特别限定,可根据被供给对象成分的操作的工序的数量及种类而由本领域技术人员适宜决定。

[0154] 关于收纳在一条沟或一条分支沟内的操作用介质,优选多个水系液体相分别是由不同种类的水系液体所构成。构成各相的水系液体可从应最先被供给对象成分的水系液体相1a侧起依序使用构成被供给对象成分的处理工序或反应工序各自所需的环境的液体。

[0155] 关于收纳在一条沟或一条分支沟内的操作用介质,可使多个凝胶相分别由相同的凝胶所构成,也可使一部分凝胶相由不同的凝胶所构成。例如,在多个水系液体相中的一部分水系液体相中进行利用加热的处理或反应的情况下,仅对此水系液体相的邻接的凝胶相使用可在所述加热所需的温度下保持凝胶状态或凝胶-溶胶中间状态的具有较高的溶胶-凝胶转变点的凝胶,其他凝胶相可使用具有相对较低的溶胶-凝胶转变点的凝胶。此外,也可根据构成邻接的水系液体相的水系液体的特性或体积等,而由本领域技术人员适宜选择具有适当特性的凝胶。

[0156] 在沟分支的情况下,例如如果列举图3的(a)、图3的(b)及图3的(c)、或图4的(a)及图4的(b)的分支例,则位于分支点的相33可如图示般为水系液体相,也可相反为凝胶相。应最先被供给对象成分的水系液体相1a可为收纳在最接近主沟侧的一端的位置的水系液体相(图3的(a)及图3的(b)),也可为收纳在最接近分支沟侧的一端的位置的水系液体相(图3的(b)、图3的(c)及图4的(b))。多个分支沟中可收纳具有相互相同种类的水系液体相-凝胶相图案的操作用介质(例如相当于多个分支沟32彼此的关系),也可收纳具有不同图案的操作用介质(例如相当于分支沟32和分支沟34的关系)。

[0157] 在沟是由交叉成方格状的多个沟所构成的情况下,例如如果列举图5的交叉形态的例子,则可使位于交叉点的相51如图示般为凝胶相,其他相为水系液体相。另外,也可使位于交叉点的相51为水系液体相,其他相为凝胶相。在交叉形态中,为了较好地固定水系液体相,凝胶相可设置成如图示般占据较大体积。

[0158] 凝胶相具有如下功能:在沟内,将水系液体的相分隔到沟的长度方向的两侧且将水系液体的相稳定地固定在沟内的规定部位。凝胶相的厚度可考虑到沟的宽度、深度及长度、利用磁场施加单元所搬运的磁性体粒子的量等,由本领域技术人员适宜决定可发挥出所需功能的厚度。例如可为1mm~20mm,优选3mm~10mm。如果低于所述范围,则有水系液体相缺乏固定强度的倾向。如果超过所述范围,则有必须过度延长基板,而使操作性、装置的耐久性、收纳性变差的倾向。

[0159] 水系液体相可提供被供给包含对象成分的试样的处理或反应等的环境。水系液体相的厚度可考虑到沟的宽度、深度及长度、对象成分的量、被供给对象成分的处理或反应的种类等,而由本领域技术人员适宜决定赋予达成对于对象成分而所需的处理或反应的水系液体量的厚度。例如可为0.5mm~30mm,优选3mm~10mm。如果低于所述范围,则有无法充分地达成对于对象成分的处理或反应的情况。如果超过所述范围,则水系液体相比凝胶相变得相对过厚的情况居多,有必须过度延长基板,而使操作性、装置的耐久性、收纳性变差的倾向。

[0160] 另一方面,在凝胶相包含水凝胶的情况下,水凝胶相不仅可发挥分隔水系液体的作用,还可和与水系液体相同样地提供被供给包含对象成分的试样的处理或反应等的环境。在此情况下,可有水凝胶相的厚度大于水系液体相的情况。

[0161] [3-2.凝胶的种类]

[0162] 凝胶相在和水系液体相接触的情况下,包含对于构成水系液体相的液体而言为不溶性或难溶性的化学惰性物质。所谓对于液体而言为不溶性或难溶性,是指25℃下在液体中的溶解度约为100ppm以下。所谓化学惰性物质,是指在对象成分的操作(即,水系液体中或水凝胶中的对象成分的处理、及经过分隔凝胶而搬运对象成分)中,不会对对象成分及水系液体或水凝胶产生化学影响的物质。本发明的凝胶包括有机凝胶和水凝胶这两种。

[0163] [3-2-1.有机凝胶]

[0164] 有机凝胶是通常可在非水溶性或水难溶性的液体物质中添加凝胶化剂而使之凝胶化的物质。

[0165] [3-2-1-1.非水溶性或水难溶性的液体物质]

[0166] 作为非水溶性或水难溶性的液体物质,可使用25℃下在水中的溶解度约为100ppm以下,且在常温(20℃±15℃)下为液体状的油。例如可从由液体油脂、酯油、烃油、及聚硅氧油所组成的族群中组合使用1种或2种以上。

[0167] 作为液体油脂,可列举:亚麻籽油、山茶油、澳洲胡桃油、玉米油、貂油、橄榄油、酪梨油、茶梅油、蓖麻油、红花油、杏仁油、肉桂油、荷荷巴油、葡萄油、葵花籽油、杏仁油(almond oil)、菜籽油、芝麻油、小麦胚芽油、米胚芽油、米糠油、棉籽油、大豆油、花生油、茶籽油、月见草油、蛋黄油、肝油、椰子油、棕榈油、棕榈仁油等。

[0168] 作为酯油,可列举:辛酸鲸蜡酯等辛酸酯、月桂酸己酯等月桂酸酯、肉豆蔻酸异丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯等肉豆蔻酸酯、棕榈酸辛酯等棕榈酸酯、硬脂酸异鲸蜡酯等硬脂酸酯、异硬脂酸异丙酯等的异硬脂酸酯、异棕榈酸辛酯等异棕榈酸酯、油酸异癸酯等油酸酯、己二酸异丙酯等己二酸酯、癸二酸乙酯等癸二酸酯、苹果酸异硬脂酯等苹果酸酯、甘油三辛酸酯、甘油三异棕榈酸酯等。

[0169] 作为烃油,可列举:十五烷、十六烷、十八烷、矿物质油、液态石蜡等。

[0170] 作为聚硅氧油,可列举:二甲基聚硅氧烷、甲基苯基聚硅氧烷及其他含苯基的聚硅氧油、甲基氢化聚硅氧烷等。

[0171] [3-2-1-2.凝胶化剂]

[0172] 作为凝胶化剂,可将选自羟基脂肪酸、糊精脂肪酸酯、及甘油脂肪酸酯所组成的族群中的油凝胶化剂组合使用1种或2种以上。

[0173] 作为羟基脂肪酸,只要为具有羟基的脂肪酸,则无特别限制。具体而言,例如可列举:羟基肉豆蔻酸、羟基棕榈酸、二羟基棕榈酸、羟基硬脂酸、二羟基硬脂酸、羟基十七烷酸、蓖麻油酸、反蓖麻油酸、次亚麻油酸等。这些中,尤其优选羟基硬脂酸、二羟基硬脂酸、蓖麻油酸。这些羟基脂肪酸可单独使用,也可并用2种以上。另外,作为这些的混合物的动植物油脂脂肪酸(例如蓖麻油脂肪酸、氢化蓖麻油脂肪酸等)也可用作所述羟基脂肪酸。

[0174] 作为糊精脂肪酸酯,例如可列举:糊精肉豆蔻酸酯[商品名“Rheoparl MKL”,千叶制粉股份有限公司制造]、糊精棕榈酸酯[商品名“Rheoparl KL”,“Rheoparl TL”,均由千叶制粉股份有限公司制造]、糊精(棕榈酸/2-乙基己酸)酯[商品名“Rheoparl TT”,千叶制粉股份有限公司制造]等。

[0175] 作为甘油脂肪酸酯,可列举山萘酸甘油酯、八硬脂酸甘油酯、二十烷酸甘油酯等,可将这些组合使用1种以上。具体而言,可列举:包含20%山萘酸甘油酯、20%八硬脂酸甘油

酯及60%硬化棕榈油的商品名“TAISET 26”[太阳化学股份有限公司制造],包含50%山萘酸甘油酯及50%八硬脂酸甘油酯的商品名“TAISET 50”[太阳化学股份有限公司制造]等。

[0176] 添加到非水溶性或难水溶性的液体物质中的凝胶化剂的含量可使用此液体物质的总重量的例如相当于0.1重量%~0.5重量%、0.5重量%~2重量%、或者1重量%~5重量%的量的凝胶化剂。但并不限于此,可由本领域技术人员适宜决定可达成所需的凝胶及溶胶状态的程度的量。

[0177] 凝胶化的方法可由本领域技术人员适宜决定。具体而言,加热非水溶性或难水溶性的液体物质,向经加热的此液体物质添加凝胶化剂,使凝胶化剂完全溶解后,进行冷却,由此可使该液体物质凝胶化。作为加热温度,可考虑所使用的液体物质及凝胶化剂的物性而适宜决定。例如有优选设为60℃~70℃左右的情况。凝胶化剂的溶解可对加温状态的此液体物质进行,此时,宜一边平稳地混合一边进行。冷却优选缓慢地进行。例如可以1小时~2小时左右的时间进行冷却。例如可降温到常温(20℃±15℃)以下、优选4℃以下后,完成冷却。作为应用所述凝胶化的方法的优选形态的一个形态,例如可列举使用所述TAISET 26[太阳化学股份有限公司制造]的形态。

[0178] [3-2-2.水凝胶]

[0179] 作为水凝胶,例如可使用:以明胶、胶原蛋白、淀粉、果胶、玻尿酸、甲壳素、壳聚糖或海藻酸及这些的衍生物作为水凝胶材料,使水凝胶材料在水或水系液体中平衡溶胀而制备的水凝胶。所述水凝胶中,优选使用由明胶所制备的水凝胶。另外,水凝胶也可将所述水凝胶材料化学交联,或利用凝胶化剂(例如锂、钾、镁等碱金属/碱土金属的盐、或者钛、金、银、铂等过渡金属的盐,还有二氧化硅、碳、氧化铝化合物等)进行处理而获得。对于这些化学交联或凝胶化剂,只要是本领域技术人员都可容易地选择。

[0180] 尤其是水凝胶和水系液体同样地提供被供给包含对象成分的试样的处理或反应等的的环境的情况下,由本领域技术人员适宜制备成具有适合这种处理或反应的组成。

[0181] 例如可列举以可合成蛋白质的聚二甲基硅氧烷作为基剂的DNA水凝胶(P-凝胶(商品名))。此水凝胶由作为凝胶支架的一部分的DNA构成。关于这种水凝胶,在对象成分为蛋白质合成用受质的情况下,可供给至由此对象成分获得蛋白质的反应(关于更具体的形态,本领域技术人员可参考Nature Materials(自然-材料学)8,432-437(2009)、及Nature Protocols(自然-实验手册)4:1759-1770(2009)而适宜决定)。生成的蛋白质例如可通过使用具有对此蛋白质为特异性的抗体的磁性体粒子来回收。

[0182] [3-2-3.凝胶的特性]

[0183] 通过利用凝胶相所进行的分隔,可从沟的长度方向的两侧夹入沟内的水系液体,而固定在沟内的规定位置。因此,可从制造时起至交付到使用者的手中为止保持预先在操作芯片内装填了液状试剂的状态,可实现液体试剂的稳定供给。

[0184] 另一方面,磁性体粒子在凝胶中也可因来自外部的磁场操作而移动,可通过凝胶。这是由凝胶的触变性质(摇变性)所产生。即,由于来自外部的磁体移动,沟内的磁性体粒子沿着搬运面对凝胶施加剪切力,磁性体粒子的行进方向前方的凝胶溶胶化而流动化,因此磁性体粒子可在此状态下前进。而且,在磁性体粒子通过后,解除了剪切力的溶胶迅速地恢复为凝胶状态,因此凝胶中不会形成由磁性体粒子通过所引起的贯通孔。如果利用此现象,则对象物可将磁性粒子作为搬运体而容易地移动,因此可以极短时间切换被供给对象物的

各种化学环境。例如,如果将本发明用于包含利用多种试剂的多个化学反应的系统,则可大幅度缩短对象物的处理时间。

[0185] 此外,不需要每个工序的试剂分取及分注操作,可减少劳力和时间,进而可防止由污染引起的分析精度的劣化。

[0186] 关于凝胶的物性,动态粘弹性中储存粘弹性(storage viscoelasticity) E' 可优选常温($20^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$)下为 $10\text{kPa} \sim 100\text{kPa}$ 、更优选 $20\text{kPa} \sim 50\text{kPa}$ 。如果低于所述范围,则有缺乏作为凝胶塞的强度的倾向。如果超过所述范围,则具有即使为粒径为数 μm 左右的磁性体粒子,其移动也容易受到妨碍的倾向。

[0187] [3-3.水系液体的种类]

[0188] 本发明的水系液体只要是对于凝胶而言为不溶性或难溶性的水系液体即可,可以水、水溶液或称为乳液的乳浊液、或者微粒子分散而成的悬浮液的形态提供。作为水系液体的构成成分,还包括用于提供本发明的被供给对象成分的反应或处理的环境的任何成分。

[0189] 作为更具体的例子,可列举:用于使成为本发明的操作对象的成分在水系液体相中游离并结合或吸附于磁性体粒子表面的液体(具体而言,对将对象成分从杂质分离而与磁珠表面结合或吸附具有促进作用的液体)、用于去除和对象成分共存的杂质的清洗液、用于将磁性体粒子所吸附的对象成分从磁性体粒子分离的洗脱液、及用于构建被供给对象成分的反应体系的反应液等。例如,在对象成分为核酸的情况下,可列举:用于破坏细胞而使核酸游离从而吸附于涂布了二氧化硅的磁性粒子表面的试剂液(细胞溶解液)、用于清洗磁性粒子以去除核酸以外的成分的清洗液、用于使核酸从磁性粒子分离的洗脱液(核酸洗脱液)、用于进行核酸扩增反应的核酸扩增反应液等。以下,将对象成分为核酸的情况作为例示,进一步对针对所述核酸的处理液及反应液、和被供给这些液体的处理及反应进行说明。

[0190] [3-3-1.细胞溶解液]

[0191] 作为细胞溶解液,可列举含有离液物质的缓冲液。此缓冲液还可包含EDTA(乙二胺四乙酸)和其他任意的螯合剂及TritonX-100(商品名)和其他任意的表面活性剂。缓冲液基于例如Tris(三羟甲基氨基甲烷)盐酸、其他任意的缓冲剂。作为离液物质,可列举:盐酸胍、异硫氰酸胍、碘化钾、脲等。

[0192] 离液物质是强力的蛋白质变性剂,具有将和核酸纠缠的组蛋白等蛋白质从核酸分离,促进在磁性体粒子的涂布了二氧化硅的表面的吸附的作用。缓冲剂可作为调整使核酸容易吸附于磁性体粒子表面的pH值(酸碱值)环境的辅助剂使用。

[0193] 离液物质还兼具细胞溶解(即破坏细胞膜)作用。然而,对于细胞溶解(即破坏细胞膜)作用而言,和离液物质相比,表面活性剂的贡献更大。

[0194] 螯合剂可作为促进细胞溶解的辅助剂使用。

[0195] 本领域技术人员可适宜决定从包含核酸的试样提取核酸的具体方案。本发明中,由于液滴封入介质内的核酸的搬运中使用磁性体粒子,所以核酸提取方法也优选采用了磁性体粒子的方法。例如,可将日本专利特开平2-289596号公报作为参考,使用磁性体粒子由包含核酸的试样实施核酸的萃取、纯化方法。

[0196] [3-3-2.清洗液]

[0197] 作为清洗液,优选为下述溶液:其可在核酸吸附于磁性体粒子表面的状态下,溶解含核酸的试样中所含的核酸以外的成分(例如蛋白质、糖质等)、及核酸提取等预先进行的

其他处理中使用的试剂和其他成分。具体而言,可列举:氯化钠、氯化钾、硫酸铵等高盐浓度水溶液、乙醇、异丙醇等醇的水溶液等。

[0198] 核酸的清洗是吸附了核酸的磁性体粒子的清洗。此清洗的具体方案也可由本领域技术人员适宜决定。另外,本领域技术人员可以核酸扩增反应时不产生不希望的阻碍的程度适宜选择吸附了核酸的磁性体粒子的清洗次数。另外,就同样的观点而言,在可忽略阻碍成分的影响的情况下,还可省略清洗工序。

[0199] 包含清洗液的水系液体相至少制备和清洗次数相同的数量。

[0200] [3-3-3.核酸洗脱液]

[0201] 作为核酸洗脱液,可使用包含水或盐等的缓冲液。具体而言,可使用Tris(三羟甲基氨基甲烷)缓冲液、磷酸缓冲液、蒸馏水等。

[0202] 本领域技术人员还可适宜决定从吸附了核酸的磁性体粒子分离核酸并洗脱到洗脱液中的具体方法。

[0203] [3-3-4.核酸扩增反应液]

[0204] 本发明的核酸扩增反应液中,包含于通常在核酸扩增反应中使用的各种要素中包含应扩增的碱基序列的核酸及在表面吸附了所述核酸的磁性体粒子。

[0205] 如下所述,核酸扩增反应并无特别限定,因此本领域技术人员可基于下述例示的公知的核酸扩增法等适宜决定核酸扩增反应中使用的各种要素。通常,包括MgCl₂、KCl等盐类、引物、脱氧核苷酸类、核酸合成酶及pH缓冲液。另外,所述盐类可适宜变更为其他盐类而使用。另外,有时还进一步添加二甲基亚砜、甜菜碱、甘油等用于减少非特异性引发的物质。

[0206] 本发明的核酸扩增反应液中,除了所述成分以外,还可包含封阻剂。封阻剂可用于防止由核酸聚合酶吸附于反应容器的内壁或磁性体粒子表面等所引起的失活。

[0207] 作为封阻剂的具体例,可列举:牛血清白蛋白(即BSA)和其他白蛋白、明胶(即变性胶原蛋白)、酪蛋白及聚赖氨酸等蛋白质、及肽(均不论天然及合成)、聚蔗糖(Ficoll)、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙二醇等。

[0208] 作为本发明的核酸扩增反应,并无特别限定,例如可使用PCR法(美国专利第4683195号说明书、美国专利第4683202号公报、美国专利第4800159号公报、美国专利第4965188号公报)、LCR(Ligase Chain Reaction,连接酶链式反应)法(美国专利第5494810号公报)、Q β (Q-beta)法(美国专利第4786600号公报)、NASBA(Nucleic Acid Sequence-Based Amplification,核酸序列扩增)法(美国专利第5409818号公报)LAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification,环介导等温扩增)法(美国专利第3313358号公报)、SDA(Strand Displacement Amplification,链置换扩增)法(美国专利第5455166号公报)、RCA(Rolling Circle Amplification,滚环扩增)法(美国专利第5354688号公报)、ICAN法(Isothermal and Chimeric primer-initiated Amplification of Nucleic acids,恒温嵌合引物引发的核酸扩增)(日本专利第3433929号公报)、TAS(Transcript Amplification System,转录本扩增系统)法(日本专利第2843586号公报)等。

[0209] 另外,还可在所述反应之前进行RT反应(Reverse Transcription Reaction,反转录反应)。

[0210] 本领域技术人员可适宜选择这些核酸扩增反应所需的反应液的组成以及反应温度。

[0211] 在实时核酸扩增方法中,利用可与双链DNA结合的荧光色素、或者利用荧光色素进行标记的探针,可对扩增产物进行荧光检测。

[0212] 作为实时核酸扩增法中的检测法,可列举下述方法。

[0213] 例如,在利用特异性高的引物可仅扩增目标靶的情况下,使用利用SYBR(注册商标)GREEN I(商品名)等的嵌入剂法。

[0214] 通过和双链DNA结合而发出荧光的嵌入剂和通过核酸扩增反应所合成的双链DNA结合,并通过照射激发光而发出特定波长的荧光。通过检测此荧光,可监控扩增产物的生成量。此方法不需要设计、合成对靶为特异性的荧光标记探针,可简便地用于各种靶的测定。

[0215] 另外,在需要对很相似的序列进行区别、检测的情况下,或在进行SNPs(单核苷酸多态性)的分型的情况下,采用荧光标记探针法。作为一个例子,有将利用荧光物质修饰5'末端且利用淬灭物质修饰3'末端的寡核苷酸用作探针的TaqMan(注册商标)探针法。

[0216] TaqMan探针在退火阶段和模板DNA特异性杂交,但由于在探针上存在淬灭剂,所以即使照射激发光,荧光发光也受到抑制。在延伸反应阶段,如果利用TaqDNA聚合酶所具有的5'→3'核酸外切酶活性,和模板杂交的TaqMan探针被分解,则荧光色素会从探针游离,由淬灭剂产生的抑制被解除而发出荧光。通过测定此荧光强度,可监控扩增产物的生成量。

[0217] 以下,说明通过这种方法利用实时PCR对DNA进行定量的原理。首先,将系列稀释的已知浓度的标准样品用作模板来进行PCR。然后,求出达到一定的扩增产物量的循环数(threshold cycle;Ct值)。以此Ct值作为横轴,以初始的DNA量作为纵轴作图,制作出校准曲线。

[0218] 对于未知浓度的样品,也在相同条件下进行PCR反应并求出Ct值。由此值和所述校准曲线可测定样品中的目标DNA量。

[0219] 此外,在嵌入剂法中将包含荧光色素的PCR反应后的液体从40℃缓慢地提高温度到95℃左右,连续地监控荧光强度,则可获得扩增产物的熔解曲线。

[0220] 核酸扩增反应中产生的双链DNA根据DNA的长度及其碱基序列而具有固有的T_m(melting temperature,解链温度)值。即,如果使包含结合了荧光色素的DNA的液滴的温度缓慢地上升,则可观测到荧光强度急剧减少的温度。如果调查荧光强度的变化量,则其温度峰与由碱基序列和长度所规定的T_m值大致一致。由此,可从视为阳性的数据中排除不是目标基因而是例如产生引物二聚物而观测到的数据等(即假阳性数据)。在基因检查中,由于多因试样中的杂质而引起非特异性反应,所以重要的是排除这样的假阳性。由此,也可判断所生成的扩增产物是否是靶基因所固有的。

[0221] [3-3-5.其他水系液体]

[0222] 关于所述以外的任何反应及处理,本领域技术人员可容易地决定各水系液体的组成。另外,在对象成分为所述核酸以外的情况下,本领域技术人员也可容易地决定各水系液体的组成。

[0223] [4.操作芯片的制作方法]

[0224] 参照图10的例示,说明操作芯片的制作方法。

[0225] 首先,在基板2的表面形成沟3(图10的(a))。沟3的形成可由本领域技术人员适宜进行。例如,沟3的形成可使用MEMS(Micro Electro Mechanical System,微电子机械系统)

的领域所使用的技术。例如,在基板的原材料为玻璃的情况下,可使用蚀刻技术或喷砂技术等而形成沟。另外,在基板的原材料为树脂的情况下,除了在为玻璃的情况下所使用的所述例示的技术以外,也可通过使用切削加工或模具等的方式等而形成沟。

[0226] 在形成沟3后,也可在应制备凝胶相的沟3的表面(即,在收纳了操作用介质的情况下和凝胶相接触的沟表面)进行疏水性处理。另外,也可在应制备水系液体相的沟3的表面(即,在收纳了操作用介质的情况下和水系液体相接触的沟表面)进行亲水性处理。此外,也可进行所述的疏水性处理及亲水性处理这两种。疏水性处理或亲水性处理可由本领域技术人员从公知的表面处理法中适宜选择。作为疏水性处理的例子,在基板原材料为玻璃或石英的情况下,可列举使用硅烷基化剂等的处理。作为亲水性处理的例子,可列举电浆处理。

[0227] 另外,也可在沟3的表面涂布防止吸附核酸或蛋白质等生物体物质的物质(例如肝素)。

[0228] 在基板2上所形成的沟3内,首先可形成操作用介质的凝胶相部,接着形成水系液体相部。在凝胶相部的形成中,沿着沟3的长度方向将多个凝胶块配置成相互隔离的状态。

[0229] 在具体的凝胶相部形成法的一个例子中,可通过将已处于凝胶状态的凝胶块堵塞到沟3内的多个部位而进行配置。

[0230] 在具体的凝胶相部形成法的另一个例子(图10的(b))中,对于将凝胶物质加热到凝胶-溶胶转变点以上而制备成溶胶状态的溶胶物质101,可利用适当的滴加单元102将其分别滴加到沟3内的多个部位而进行配置。在滴加物101'难以进入沟内的情况下,可将基板放入减压室内,而在减压下进行作业。

[0231] 溶胶物质101通常处于加热状态。溶胶滴加物101'在从滴加单元102滴出的过程中、或从滴加单元102滴落之后,通常以成为由不完全凝胶化引起的粘弹性高的凝胶-溶胶中间状态的程度离开热源。

[0232] 凝胶-溶胶中间物质因其粘弹性,可不像液体般在沟3内展开,而以块体的形式停留在规定位置。此时,例如在对应制备凝胶相的沟3的表面进行了疏水性处理的情况下、及/或对应制备水系液体相的沟3的表面进行了亲水性处理的情况下,可使凝胶-溶胶中间物质以块体的形式更稳定地停留在所需位置。

[0233] 此外,通过进一步冷却凝胶-溶胶中间物质使之完全凝胶化,而完成凝胶块g(即凝胶相部)。

[0234] 其后,在和凝胶相部g邻接的沟内空间中加入水系液体103进行填充,而完成水系液体相部1(图10的(c))。此外,在水系液体103难以进入沟内的情况下,可将基板放入减压室内,而在减压下进行作业。

[0235] 在完成凝胶相部g及水系液体相部1之后,可在基板2的具有沟3的一侧的表面设置盖板4。对于盖板4,可预先在和沟3的末端部对应的位置(更具体而言,在和基板2贴合时,设法通向沟3的末端所收纳的相)贯穿设置孔5及孔6。另外,在和基板2贴合时,可预先对和沟3内所收纳的凝胶相接触的表面进行疏水性处理,对和水系液体相接触的表面进行亲水性处理,或者进行这两种处理。在将操作芯片用于操作蛋白质或核酸等试样的情况下,就防止这些试样的吸附的观点而言,可预先在表面涂布防吸附成分(例如肝素等)。

[0236] 基板2和盖板4可以沟3作为内侧而相互贴合。

[0237] 作为使基板2和盖板4贴合的方法,例如可列举:热融合法、超声波融合法、及压接

法(层压密封法)等施加能量而进行贴合的方法;或使用粘接剂或填充剂进行贴合的方法。由于基板2中收纳了水系液体,所以优选在温和条件下进行贴合。在使用粘接剂的情况下,作为可使用的粘接剂,有环氧系粘接剂、异三聚氰酸系粘接剂、乙酸乙烯酯系粘接剂、硝基纤维素系粘接剂、氰基丙烯酸酯系粘接剂、聚硅氧系粘接剂等多种。

[0238] 关于粘接剂,可由本领域技术人员适宜选择耐水性高、对可在基板内进行的反应的影响小的粘接剂。另外,也可将和所述溶胶物质101相同的溶胶物质用作粘接剂,使之凝胶化而进行粘接。尤其在使用可吸藏气体的物质作为基板2及/或盖板4的原材料的情况下,可预先以在基板2上承载有盖板4的状态供给到减压环境,使可残存在沟3内的气体吸藏到此物质内而将其去除。

[0239] 此外,作为使基板2和盖板4贴合的其他方法,可列举在基板2上承载盖板4,并利用夹具进行压接固定的方法。就两构件间的压接性的观点而言,此方法优选用于对基板2及/或盖板4使用有弹性的原材料(例如聚二甲基硅氧烷等)的情况。

[0240] 使基板2和盖板4贴合而制作的操作芯片1尤其在含有包含如玻璃般容易破裂的原材料的构件的情况下,可将包含弹性物质(例如聚硅氧橡胶等)的垫片设置在上表面(盖板4侧表面)及/或下表面(基板2侧表面),并安装已在图8及9所示的相关构件。具体而言,操作芯片1可夹在下部固定用支撑体85及上部固定用支撑体86之间,通过使用紧固用构件使两支撑体相互紧固而进行夹持。

[0241] 接头81及接头82可分别通过粘接或熔接而固定在操作芯片1的上表面(盖板4侧表面),或者将密封材料设置在孔5及孔6之间并且利用紧固用构件紧固在操作芯片1的上表面(盖板4侧表面)。由此,接头81及接头82下方开口部83分别连通到孔5及孔6。上方开口部84可适宜地利用隔片等进行封闭。

[0242] [5.磁性体粒子]

[0243] 磁性体粒子用于通过来自操作芯片外的磁场变化而带领操作芯片内的对象成分而移动。用于通过这样的移动而可进行对象成分的分离、回收、纯化的磁性体粒子通常在其表面具有化学官能团。磁性体粒子也可不预先收纳在操作芯片内,也可预先收纳在操作芯片内。在预先收纳在操作芯片内的情况下,可包含在应最先被供给对象成分的水系液体相1a中。在磁性体粒子不预先收纳在操作芯片内的情况下,在将具有对象成分的试样供给到操作芯片内时,可在试样中混合了磁性体粒子的状态下供给到芯片内。

[0244] 磁性体粒子只要是对磁力有反应的粒子,则无特别限定,例如可列举具有磁铁矿、 γ -氧化铁、锰锌铁氧体等磁性体的粒子。另外,磁性体粒子可具有和供给到所述处理或反应的对象成分特异性结合的化学构造、例如氨基、羧基、环氧基、抗生物素蛋白、生物素、地高辛、A蛋白(Protein A)、G蛋白(Protein G)、络合物化的金属离子、或者具备抗体的表面,也可具有静电力、范德华力而和对象成分特异性结合的表面。由此,可使供给到反应或处理的对象成分选择性地吸附到磁性体粒子。

[0245] 作为磁性体粒子表面所具有的亲水性基,可列举羟基、氨基、羧基、磷酸基、磺酸基等。

[0246] 除了所述以外,磁性体粒子还可包括由本领域技术人员适宜选择的各种要素来构成。例如,作为表面具有亲水性基的磁性体粒子的具体形态,优选列举:包含磁性体和二氧化硅及/或阴离子交换树脂的混合物的粒子、利用二氧化硅及/或阴离子交换树脂覆盖表面

的磁性体粒子、经由巯基利用具有亲水性基的金覆盖表面的磁性体粒子、含有磁性体并且经由巯基在表面具有亲水性基的金粒子等。

[0247] 作为表面具有亲水性基的磁性体粒子的大小,平均粒径可为 $0.1\mu\text{m}\sim 500\mu\text{m}$ 左右。如果平均粒径小,则磁性体粒子在水系液体相中从磁场释放时容易以分散的状态存在。

[0248] 作为磁性体粒子市售的例子,可列举:作为东洋纺销售的Plasmid DNA Purification Kit(质粒DNA提取试剂盒)MagExtractor-Plasmid-(商品名)的构成试剂的用于提取核酸的涂布了二氧化硅的磁珠(Magnetic Beads)。在这样作为试剂盒的构成试剂销售的情况下,由于包含磁性体粒子的制品原液包含保存液等,所以优选通过利用纯水(例如10倍量左右)使之悬浮来进行清洗。在此清洗中,在利用纯水进行悬浮后,可通过离心操作或利用磁体所产生的凝聚而去除上清液来进行,另外,可反复进行悬浮及上清液去除。

[0249] [6.磁场施加单元]

[0250] [6-1.磁场施加单元]

[0251] 关于带来用于使操作芯片内的磁性体粒子和对象成分一起移动的磁场变化的磁场施加单元及其所具有的磁场移动机构,并无特别限定。作为磁场施加单元,可使用永磁体(例如铁氧体磁体或钕磁体)或电磁体等磁力源。

[0252] 如果参照表示下述项目8所述的本发明的芯片装置的使用形态的一个例子的图11的(a)~图11的(g),则磁场施加单元可像例如图11的(d)中以112所例示般在操作芯片1的外侧接近操作芯片1而配置。接近的程度是可使沟3内的水系液体相1a'中的磁性体粒子114凝聚在搬运面113侧的程度。如果在这样接近操作芯片1的状态下,使磁场施加单元112和操作芯片1的表面大致并行且沿着沟3的长度方向移动,则例如图11的(c)所示,在操作芯片1内的凝胶相ga中,可将磁性体粒子114以凝聚在搬运面113侧的状态搬运。由此,磁场施加单元可隔着沟3内的搬运面113对磁性体粒子114有效地产生磁场,可和磁性体粒子块一起捕捉及搬运对象成分。

[0253] [6-2.磁场移动机构]

[0254] [6-2-1.向操作芯片的沟的长度方向的移动]

[0255] 作为磁场施加单元所具有的磁场移动机构,可为在可保持磁性体粒子的凝聚形态的状态下可使磁场在操作芯片的沟的长度方向上移动的磁场移动机构。以下记载为磁场移动机构的情况下,此机构可进行停止位置的決定及移动速度的控制,此控制可手动进行,也可利用计算机等自动进行。移动速度例如为每秒 $0.5\text{mm}\sim 10\text{mm}$ 。

[0256] 磁场移动机构优选可以物理方式在操作芯片的沟的长度方向移动磁场施加单元本身。

[0257] [6-2-2.磁场的强度的控制]

[0258] 磁场施加单元所具有的磁场移动机构可为能够可变控制对磁性体粒子所施加的磁场的强度的磁场移动机构。具体而言,磁场可被截断或减弱。磁场的截断或减弱的程度优选为通过施加磁场可使凝聚的磁性体粒子群分散在水系液体相中的程度。

[0259] 例如,如果为电磁体的情况下,可使用通电控制单元将磁场截断。

[0260] 另外,例如,如果为永磁体的情况下,如图11的(e)所例示,可使用可使配置于操作芯片外侧的磁体从操作芯片远离的机构。此机构可手动控制,也可自动控制。通过减弱向磁性体粒子的磁场,优选从磁场释放磁性体粒子,而可在水系液体相中使磁性体粒子群自然

分散。由此,可使吸附于磁性体粒子的对象成分或可附带的不需要成分充分地暴露在构成水系液体相的液体中。

[0261] [6-2-3.多个操作芯片密集的装置的情况]

[0262] 在图13中表示使多个操作芯片密集的集成型装置的一个例子。图13中的操作芯片1是图6的操作芯片的变形例,是在一片操作芯片内形成了多条沟的例子。图14是集成型装置的另一个例子。图14中的操作芯片1是图7的操作芯片的变形例,是在一片操作芯片内形成了多条沟的例子。在图13及图14的装置中,和多个操作芯片对应的多个磁力源可通过单元化成可在操作芯片的沟的长度方向上移动的一个构件而被保持。这样单元化的构件可如图所例示般,可作为可在操作芯片1的沟的长度方向上移动的磁场施加单元即可动磁体板130而体现。可动磁体板130上形成了和多个操作芯片1分别对应的孔131,可通过在各孔131内插入操作芯片1,而对多个操作芯片1同时进行磁场施加及磁场移动。

[0263] [6-2-4.磁场的摇动]

[0264] 磁场移动机构可具备可进行磁场的振幅移动或旋转等摇动运动的机构。例如通过具备可使磁力源在操作芯片的沟的长度方向上进行振幅运动或旋转运动的功能,可代替搅拌器使用。由此,水系液体中的混合或搅拌变得容易。

[0265] 例如即使在不具有磁场的截断或减弱的功能的情况下,通过在使磁场施加单元接近操作芯片的状态下(即,使磁性体粒子凝聚的状态下)在水系液体相的厚度的范围内进行振幅运动或旋转运动数次,可使水系液体中吸附在磁性体粒子上的对象成分等充分地暴露在构成水系液体相的液体中。

[0266] [7.光学检测单元]

[0267] 在操作芯片中通过光学分析进行检测工序的情况下,所使用的光学单元并无特别限定,本领域技术人员可根据被供给对象成分的分析方法而容易地选择。例如可使用适宜包含光产生部、检测用单元、光传输单元及个人电脑等而构成的单元。

[0268] 如果列举一个例子,则可从光产生部向检测用单元(例如安装在检测用透镜的光纤电缆等光传输单元)进行入射,通过检测用透镜而可向收纳在操作芯片内的构建水系液体相的反应液进行光照射。利用光纤电缆将由检测用透镜所检测到的光学信号送至光接收元件,转换成电信号后,实时发送到个人电脑,可监控反应液的荧光强度的变化。这适合于本发明进行实时核酸扩增反应等进行可变化的荧光强度的检测的反应或处理的情况。

[0269] 此外,作为光产生部,可使用LED(发光二极管)、激光、灯等。另外,在检测中可利用从廉价的光电二极管到目标在于更高灵敏度的光电倍增管等各种光接收元件,并无特别限定。

[0270] 如果以进行实时核酸扩增反应等核酸关连反应或核酸关连处理的情况为例,则在使用例如SYBR(注册商标)GREEN I(商品名)的情况下,此色素会和双链DNA特异性结合并在525nm附近产生荧光,因此检测用单元可利用光学滤波器截止目标波长以外的光,而检测目标波长的光。

[0271] [8.使用芯片装置来操作对象成分的方法]

[0272] 以下,基于图11的(a)~图11的(g)的例示,对使用了芯片装置的对象成分的基本操作进行说明。

[0273] [8-1.基本操作]

[0274] 在使用芯片装置的一个例子中,使用注射针110,从利用隔片等密封单元(未图示)进行封闭的接头81的上方开口部84供给包含对象成分的试样液111(图11的(a))。试样液111中以分散状态包含了磁性体粒子。在为图示的情况下,试样液111通过被最初的凝胶相ga堵住,而停留在充满接头81内部的一部分和孔5内空间的状态。

[0275] 将磁体112靠近操作芯片1,从搬运面113侧向滞留在接头81内的试样液111的方向产生磁场(图11的(b))。由此,可使分散在试样液111中的磁性体粒子114凝聚并向搬运面113方向分离。由于下部固定用支撑体85上形成了下方窗孔88,所以可容易地使磁体112接近操作芯片1,而可产生充分的磁力。

[0276] 利用磁力而凝聚的磁性体粒子114群在凝胶相1a内被较薄地涂布于试样液111上,成为将对象成分和不需要成分一起吸附的形态(图11的(c))。

[0277] 在凝胶相1a内,如果使磁体112在沟3的长度方向上移动,则磁性体粒子114群会和磁体112一起在搬运面113上移动。此时,通过凝胶的触变性质(摇变性),磁性体粒子114群可在不对凝胶形成贯通孔的情况下,在保持所述形态的状态下移动。

[0278] 通过进一步使磁体112移动,使磁性体粒子114群移动到水系液体相1a内(图11的(d))。由此,在水系液体相1a内产生含有包含对象成分的试样和磁性体粒子的水系液体混合物1a'。

[0279] 此外,关于水系液体混合物的制备,除了所述例示的方法以外,还有预先使水系液体相1a包含磁性体粒子,仅将试样液供给到操作芯片内的方法。在此情况下,水系液体相1a位于通向孔5的位置。

[0280] 在水系液体相中,就提高处理效率的观点而言,优选以可使带领对象成分的磁性体粒子充分地接触水系液体的方式操作磁体。具体而言,通过使磁体112远离操作芯片1而减弱磁力,可使凝聚状态的磁性体粒子114分散到水系液体相1a内(图11的(e))。

[0281] 在构成水系液体相1a的液体是可使试样液111中所含的核酸游离并结合或吸附于磁性体粒子的液体的情况下,可通过所述操作而进行提取核酸的处理。

[0282] 再次使磁体112接近操作芯片1而产生磁场,从而使分散到水系液体混合物1a'的相中的磁性体粒子114凝聚。通过进一步使磁体112沿着沟3的长度方向移动,而使磁性体粒子114移动到凝胶相gb内(图11的(f))。在凝胶相gb内,凝聚的磁性体粒子114被较薄地涂布于水系液体混合物1a'所含的液体成分上。因此,不仅会带领作为对象成分的核酸,还会带领作为不需要成分的杂质等。

[0283] 通过进一步移动磁体112,可将磁性体粒子和核酸一起经过凝胶相gb而搬运到邻接的水系液体相1b内。在水系液体相1b内,也可以使磁性体粒子充分地接触水系液体的方式操作磁体。在构成水系液体相1b的液体为清洗液的情况下,可通过利用所述操作去除核酸所伴随的杂质,而进行纯化核酸的处理。

[0284] 同样地,可将磁性体粒子和核酸一起经过凝胶相gc而搬运到邻接的水系液体相1c内,在水系液体相1c内进行相同的操作。在构成水系液体相1c的液体为清洗液的情况下,可通过进一步去除利用所述工序所纯化的核酸中可残存的杂质,而提高核酸的纯化度。

[0285] 可根据需要进一步利用磁体112而重复所述操作。

[0286] 作为重复所述操作的例子,除了图11所示的例子以外,可列举在水系液体相1c和

量对应的次数重复搬运操作及处理操作。原则上,可使磁性体粒子仅向从水系液体相1a到水系液体相1z的一个方向移动。

[0287] 作为重复所述操作的另一个例子,允许在图11所示的操作芯片中通过在水系液体相之间往返,而重复所述工序。

[0288] 吸附了经过纯化的核酸的磁性体粒子114最终经过凝胶相gz而被搬运到水系液体相1z(图11的(g))。在凝胶相gz中,和核酸一起被磁性体粒子所搬运的夹杂成分的量无限接近零。磁性体粒子虽然伴有极少量的清洗液,但粒子表面的核酸被纯化到不会对以后的水系液体相1z中的处理产生障碍的水平。

[0289] 在构成水系液体相1z的液体为核酸扩增反应液的情况下,可进行纯化核酸中的靶核酸的扩增。核酸扩增物可通过利用荧光色素的实时检测法或利用终点检测法的荧光检测法进行分析。此外,在图11中,温度控制单元和光学检测单元省略了图示。

[0290] 在水系液体相1z中的处理结束后,可根据需要,可使用注射针等,从利用隔片等密封单元(未图示)进行封闭的接头82的上方开口部84取出处理液。

[0291] 在图11的例子中,最终相为水系液体相1z,另一方面,在其他例子中,最终相也可作为凝胶相gz。在最终相为凝胶相gz的例子中,回收凝胶相gz中的磁性体粒子。关于进行这种回收的目的,可列举:将磁性体粒子和其所吸附的操作完毕的试样一起加以保管的目的;及利用别的装置分析磁性体粒子所吸附的操作完毕的试样的目的。以下,列举回收方法的三个例子。

[0292] 关于从最终凝胶相gz回收磁性体粒子的方法的一个例子,可预先在操作芯片的构成构件的所需位置形成断裂导向沟,利用断裂导向沟将操作芯片分隔,和包含磁性体粒子的凝胶相gz一起回收。

[0293] 断裂导向沟是以沿着和沟的长度方向大致垂直的方向延伸的方式形成。在操作芯片1中的操作结束后,通过施加外力使断裂导向沟发生断裂,而将操作芯片的一部分分离成芯片小片。分离的芯片小片含有包含磁性体粒子的凝胶相gz部分作为回收物。

[0294] 在从最终凝胶相gz回收磁性体粒子的方法的另一个例子中,可如下所述将回收容器和操作芯片连接,利用磁场施加单元将磁性体粒子回收至回收容器内。

[0295] 在如图7的操作芯片般,沟3延伸到基板2的两端的面,而在这两个面上开口(上端孔5、下端孔6)的情况下,可通过图12(对操作芯片的下端附近进行图示)所例示的方法,而从这个面的下端孔6取出磁性体粒子。

[0296] 在图12中列举了两个例子,在各例子中,通过垂直剖面图来对和图11的工序(g)对应的工序(g')及工序(g'')、以及继这些工序之后的工序(h')及工序(h'')进行图示。

[0297] 在图12的例子中,使用回收容器120。回收容器120是如图所示,块体被挖空,而形成了在块体上表面开口的回收部123。此外,如工序(g')所示,和操作芯片的操作所使用的磁体112不同的别的回收容器侧磁体121也可形成磁体通用孔124,而可从外部使回收部123内产生磁场。

[0298] 在操作芯片1的下端,以操作芯片1侧的下端孔6和回收容器120侧的回收部123的上面开口端相对应的方式连接了回收容器120。结束操作芯片1中的操作,而附着了操作完毕的试样的磁性体粒子114到达凝胶相gz(g')。其后,回收容器120侧的磁体121上升,磁性体粒子114从磁体112变为回收容器侧磁体121(h')。由此,磁性体粒子114从操作芯片1内被

回收到回收容器120内。

[0299] 工序(g'')及工序(h'')所示的形态是回收容器120的形状不同的情况的变形例。关于此形态中的回收容器120,回收部123被形成为非对称形,回收容器120中的磁体接近面125和操作芯片1中的磁体接近面即盖板4表面成为大致同一面。因此,向回收容器120中的磁性体粒子114的回收可使用操作芯片1的操作所使用的磁体112来进行(h'')。

[0300] 此外,回收容器的形状可为如图12所例示般挖空块体而成的形状,也可为管等容器。另外,在如图14所例示的装置般,在一片操作芯片上形成了多条沟,或密集了多个操作芯片,而需要从多个下端孔回收磁性体粒子的情况下,回收容器可使用如多穴孔般在块体上挖出多个孔的形态。或者,回收容器也可使用仅将和下端孔的数量对应的数量的管等容器连接而成的形态。

[0301] 作为从最终凝胶相gz回收磁性体粒子的方法的又一个例子,可将回收容器和操作芯片连接,利用气压使凝胶相gz移动,将磁性体粒子和凝胶相gz一起回收到回收容器内。回收容器可依据所述例子而使用具有回收部的回收容器,但为了调整压力,还具有通向回收部的气体通用孔。

[0302] 例如和所述例子同样地在操作芯片上连接回收容器后,在试样供给部侧适宜连接接头而对沟内进行加压,使操作介质整体滑向试样取出部方向。通过使凝胶相gz从试样取出部飞出并进入回收容器的回收部内,而加以回收。通过停止加压,可结束回收操作。或者,也可从回收容器的气体通用孔进行减压,来代替在试样供给部侧对沟内加压,而进行同样的回收操作。

[0303] [8-2.从一条主沟向多个分支沟的方向进行操作的情况]

[0304] 在沟分支或交叉的情况下,可进行效率更高的操作。

[0305] 例如图3的(a)或图4的(a)所示,在为从一条主沟31向多个分支沟32的方向进行的操作的操作芯片的情况下,可对一个检测体进行多个项目的操作。例如可在主沟31内进行核酸提取及核酸纯化,在沟的分支点将磁性体粒子群分离成多个群,在各分支沟32中,进行使用不同引物的PCR分析。

[0306] [8-2-1.使用1个磁体的情况]

[0307] 在分支点,在将磁性体粒子群分离的方法的一个例子中,如图15所示,使用具有和行进方向A成大致直角方向的最大分支宽度d(即分支沟32整体的最大宽度)以上的长度D的磁体112。使这种磁体112位于在和行进方向A成大致直角方向上成为长度D的朝向,使之沿着行进方向A移动(图15的(a))。如果磁体112通过分支点,则磁性体粒子顺着分支沟而被分离(图15的(b))。在完全分离磁性体粒子群后,如果进一步使磁体112移动(图15的(c)),则会在下一个分支点进一步分离磁性体粒子群。磁性体粒子群最终被分离成和分支沟的最大分支数相同的数量的群(图15的(d))。由此,可将磁性体粒子上所吸附的对象物质分成多个等分试样(aliquot)。

[0308] 在此形态中,由于使用1个磁体112,所以所有磁性体粒子群同时且以相同速度移动。

[0309] 为了在分支点将磁性体粒子群分离成大致相等的多个群,优选相对于沟的长度方向的中心线为线对称地设置分支沟。例如相对于主沟31的长度方向的中心线为线对称地设置分支沟32。从分支沟进一步设置分支沟的情况也相同。

[0310] 就容易将磁性体粒子分开的观点而言,优选分支沟32以形成锐角的方式分支。为了使磁性体粒子容易分开,也可在位于分支点的相33(此情况下为水系液体相)中设置分隔板(未图示)。设置分隔板的形态对于分支角大于锐角的情况而言尤其优选。

[0311] [8-2-2.使用多个磁体的情况]

[0312] 作为在分支点将磁性体粒子群分离的方法的另一个例子中,可如图16所示,至少使用和最大分支沟数相等的数量的多个磁体112。多个磁体112如图示般配置成一维阵列状(具体而言,沿着和行进方向A大致成直角的方向排列),也可配置成二维阵列状。另外,在磁体的行进路线上且从主沟向分支沟的分支点处,可具备将多个吸在一起的磁体分离的分离辅助具160。

[0313] 如果使相互吸在一起的4个磁体112沿着行进方向A移动(图16的(a)),并逼近分支点(图16的(b)),则磁体112块被分支点所具备的分离辅助具160分离成2个磁体块(图16的(c))。在分离磁体112块的同时,磁性体粒子群114也被分离。在此形态中,可对每个分支沟独立地进行操作。即,可使分离后的磁体112块中的一个静置在一条分支沟中,并使分离后的磁体112块的其他沿着其他分支沟移动(图16的(d))。因此,伴随着磁体112,磁性体粒子群114沿着每条分支沟独立移动。

[0314] 对于分离磁体的机构,参照图17~图19进行说明。在图17~图19中,表示磁体112及分离辅助具160,操作芯片和磁性体粒子等其他要素省略了图示。关于磁体112及分离辅助具160中的阴影面,表示这些面位于和操作芯片的基板面(以下,设为基板的下表面作为例子)大致并行的面上、例如大致同一面上。另外,磁体112所带的箭头表示磁体112的运动方向,分离辅助具160所带的箭头表示分离辅助具160的运动方向。此外,A所示的箭头表示操作时的磁体的行进方向(和基板的下表面大致并行)。

[0315] 作为磁体112的形状,优选平面形状为圆(图17)或近似五边形以上的多角形(图18及图19),以将多个吸在一起的状态的磁体各自分离。

[0316] 作为分离辅助具160的形状,为了将相互吸在一起的磁体彼此分离,优选可进入相互吸在一起的磁体之间而将它们分开,且可将磁体彼此充分地分离的形状。例如,分离辅助具的一部分(即应进入磁体间而将其分开的部分)可优选形成为剖面锐角状。具体而言,可形成为楔形。

[0317] 图17的(b)表示图16的(b)中的磁体112及分离辅助具160的关系,图17的(c)表示图16的(c)中的磁体112及分离辅助具160的关系。磁体112和分离辅助具160是以阴影面位于和操作芯片的基板下表面大致并行的面上、例如大致同一面上的方式配置,且分离辅助具160固定在沿着行进方向A且未图示的沟的分支点。此时,关于分离辅助具160,以进入吸在一起的磁体间而将其分离的形式形成的部分(例如形成为剖面锐角状的部分)是朝向和磁体112的行进方向相反的方向配置。

[0318] 如果使4个磁体112相互吸在一起的状态的磁体块沿着行进方向A移动(图17的(b)),则到达分离辅助具160,分离辅助具160的形成为剖面锐角状的部分会进入磁体112之间而将其分离。如果进一步使磁体块在行进方向A上移动,则磁体112之间会依照分离辅助具160的形状缓慢地展开(图17的(c)),4个磁体112被分离为各2个磁体112。

[0319] 图18是图17中的磁体的平面形状的变形例。图18的(b)及图18的(c)分别相当于图17的(b)及图17的(c)。

[0320] 图19是和图17及图18的机构不同的,在沟的分支点分离磁体的机构的另一个变形例。在图19中所例示的磁体和图18中的磁体为相同形状,但朝向不同方向。在为图19的情况下,磁体112是以阴影面位于和操作芯片的基板下面大致并行的面上、例如大致同一面上的方式配置,且分离辅助具160是设置在基板的下方,且以通过上升而可接近此面的方式设置。

[0321] 如果使4个磁体112相互吸在一起的状态的磁体块靠近未图示的沟的分支点的大致正下方(图19的(b1)),则使分离辅助具160从操作芯片的基板下方上升,并朝向基板下表面移动。由此,在沟的分支点的大致正下方,分离辅助具160进入磁体112间而将其分离,如果进一步使分离辅助具160朝向操作芯片的基板下表面上升,则磁体112之间会依照分离辅助具160的形状而缓慢地展开(图19的(b2)),4个磁体112被分离为各2个磁体112)。

[0322] 此外,磁体的移动可在利用图20的(a)、(b)所例示的磁体用夹具200夹住磁体112的状态下容易地进行。

[0323] [8-3.沿着从多个分支沟到一条主沟的方向进行操作的情况]

[0324] 例如图3的(b)、图3的(c)及图4的(b)所示,在为沿着从多个分支沟32到一条主沟31的方向进行操作的操作芯片的情况下,在分支沟32中可将处理个别化,另一方面,在主沟31中可将处理通用化。在通用化的处理中,例如可进行利用图3的(c)示意性地表示的检测单元35的检测等。

[0325] 作为一个例子,可通过将在各分支沟32中进行处理而获得的试样在主沟31中进行混合,而供于反应等处理。于此情况下,通过使用8-2-1所记载的1个磁体,使之从分支沟32侧向主沟侧31移动,可多个分支沟32中的各试样一次性地移动而合并。

[0326] 作为另一个例子,可不将在各分支沟32中对不同的试样进行处理而获得的各自不同的试样混合,而分别在主沟31供于相同的反应、检测、分析等处理。在此情况下,可通过对每条分支沟32准备磁体,使各磁体从分支沟32侧向主沟侧31独立地移动,而对多个分支沟32中的各试样个别地进行操作。

[0327] 此外,从图3的(c)所示的分支沟34分支的分支沟中可收纳试剂或清洗液等。例如可根据操作芯片的用途,而收纳分支沟32中未收纳的不同种类的试剂等。试剂等可利用磁性体粒子而搬运到主沟中。

[0328] [8-4.多个沟交叉的情况]

[0329] 在如图5所示般多个沟交叉的情况下,试样可在交叉的沟内自在地移动。因此,例如可操作多个试样,并且将一部分试样分割。另外,可操作多个试样,并且针对一部分试样,将处理通用化。如此,可自由地进行试样的分割或通用化。

[0330] 另外,通过使多个沟交叉,而在小面积的基板上收纳多种相。因此,可汇集多种的反应、检测、分析等处理。

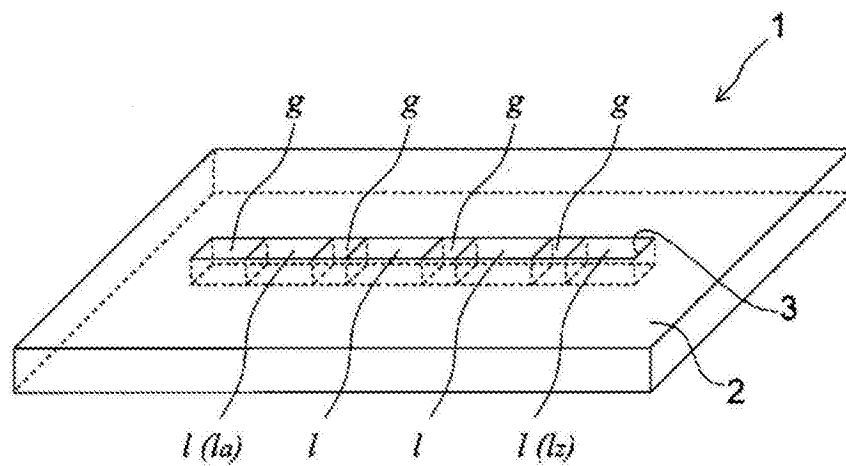


图1

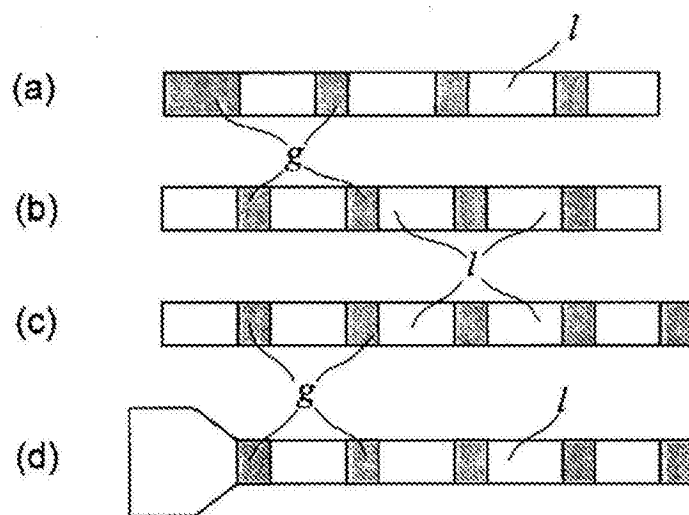


图2

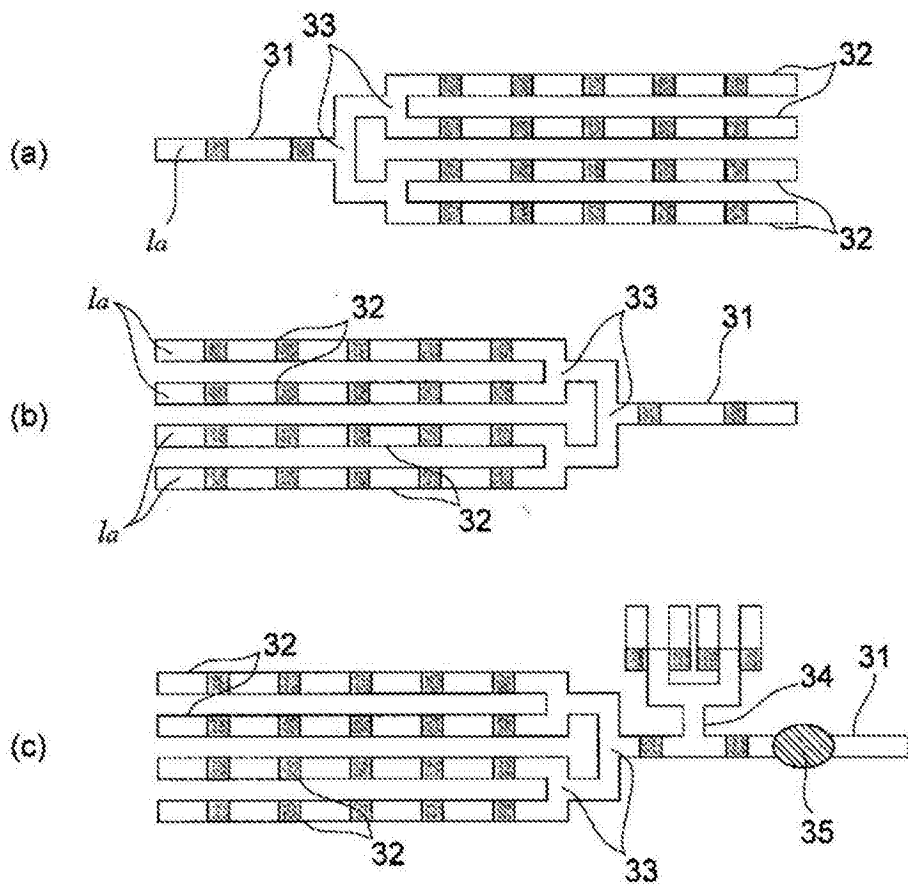


图3

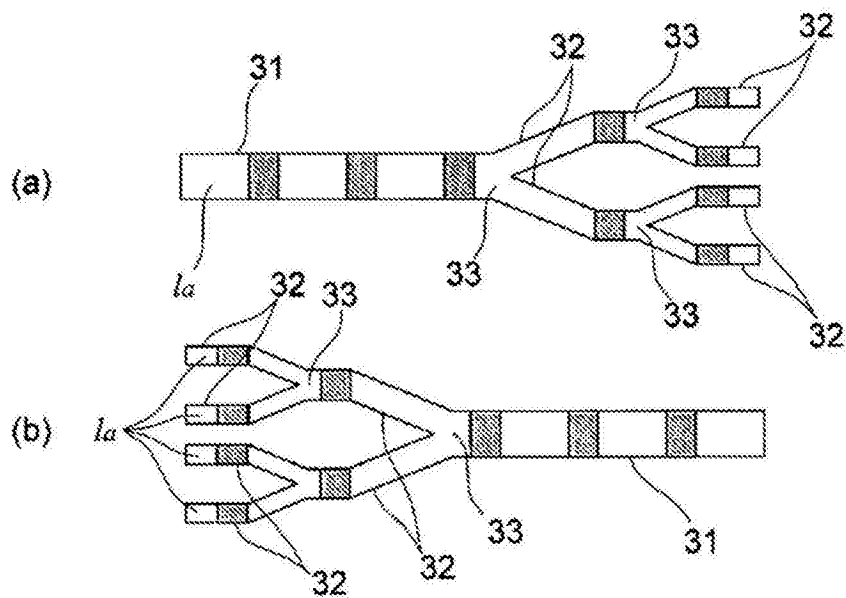


图4

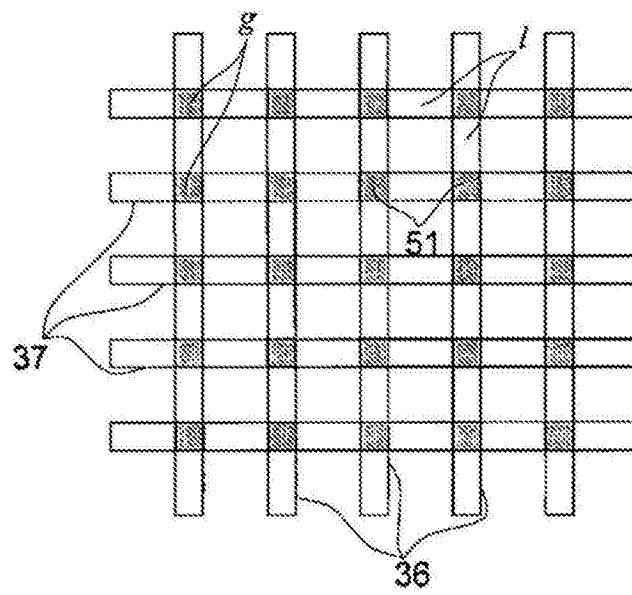


图5

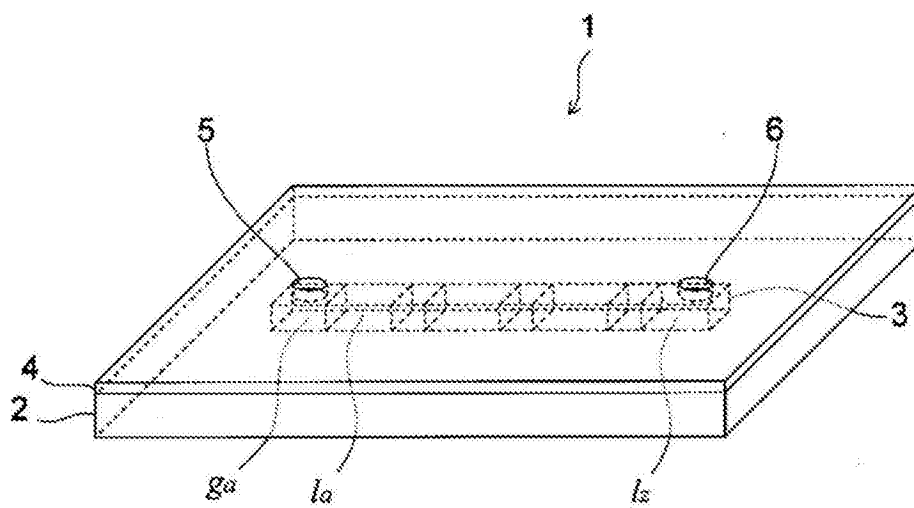


图6

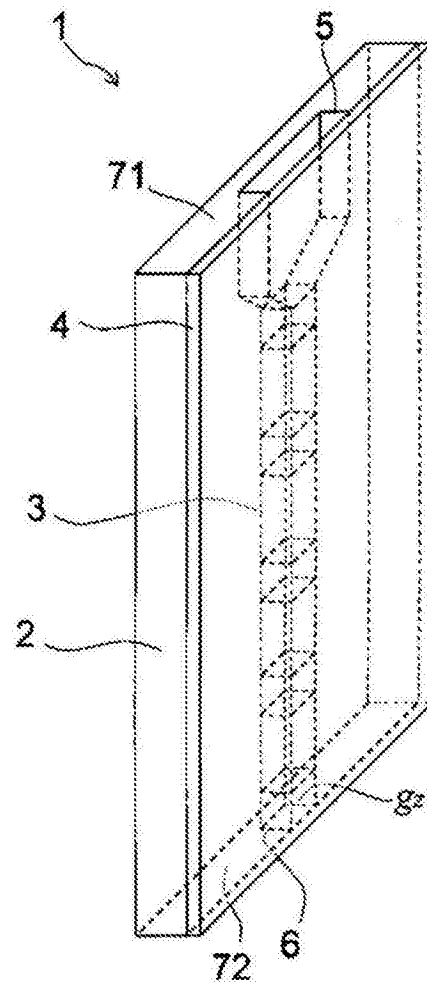


图7

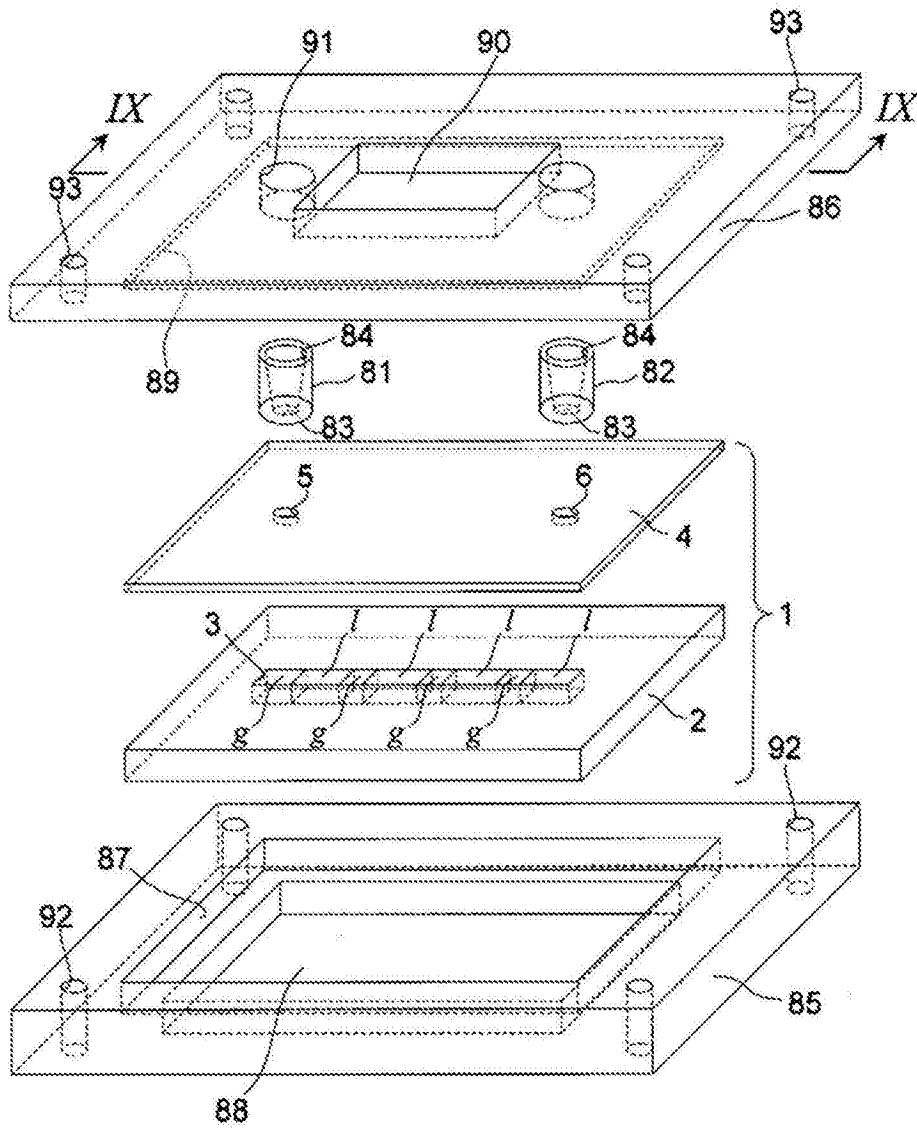


图8

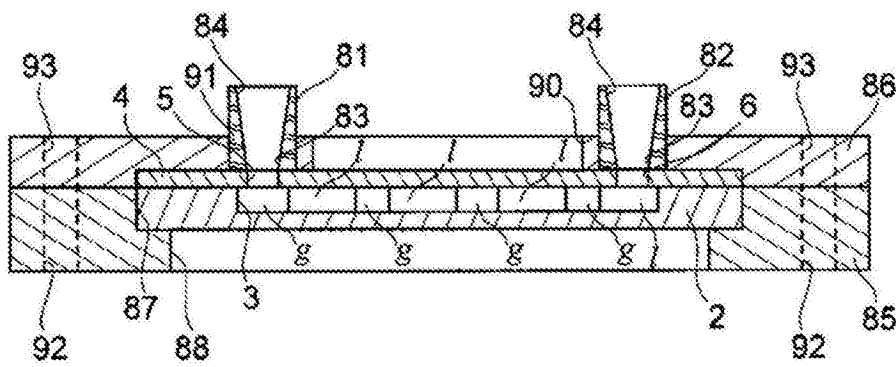


图9

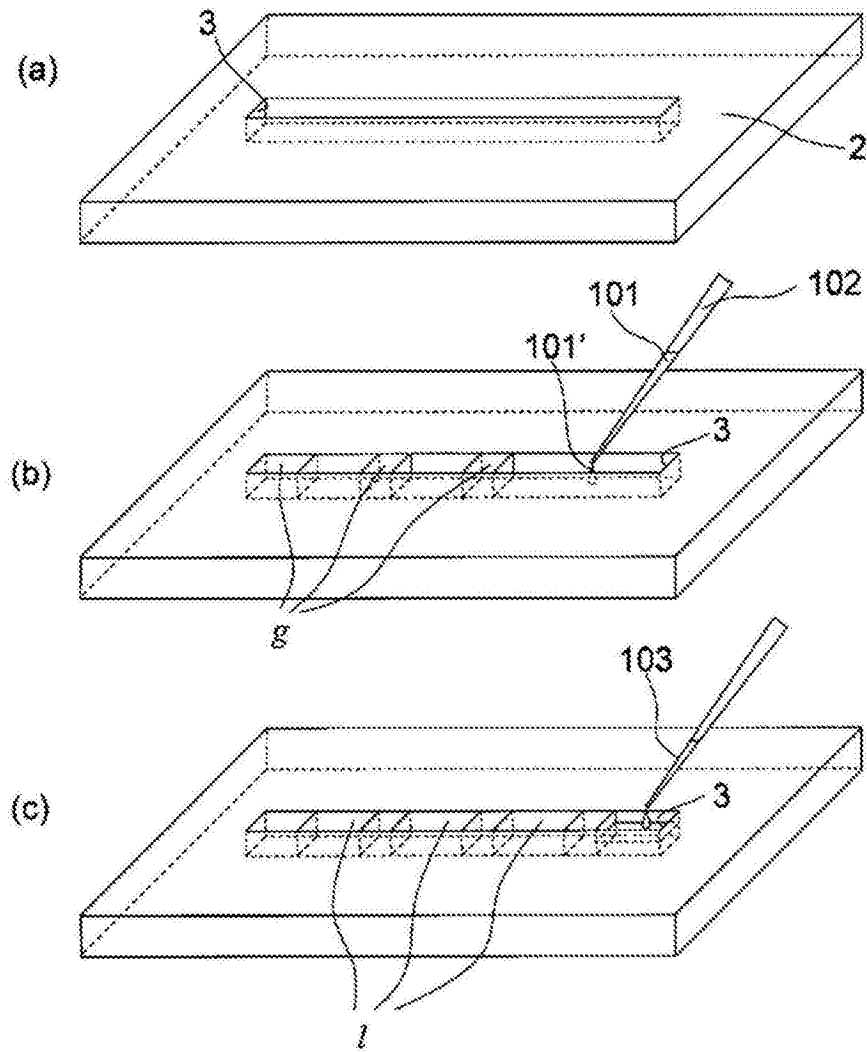


图10

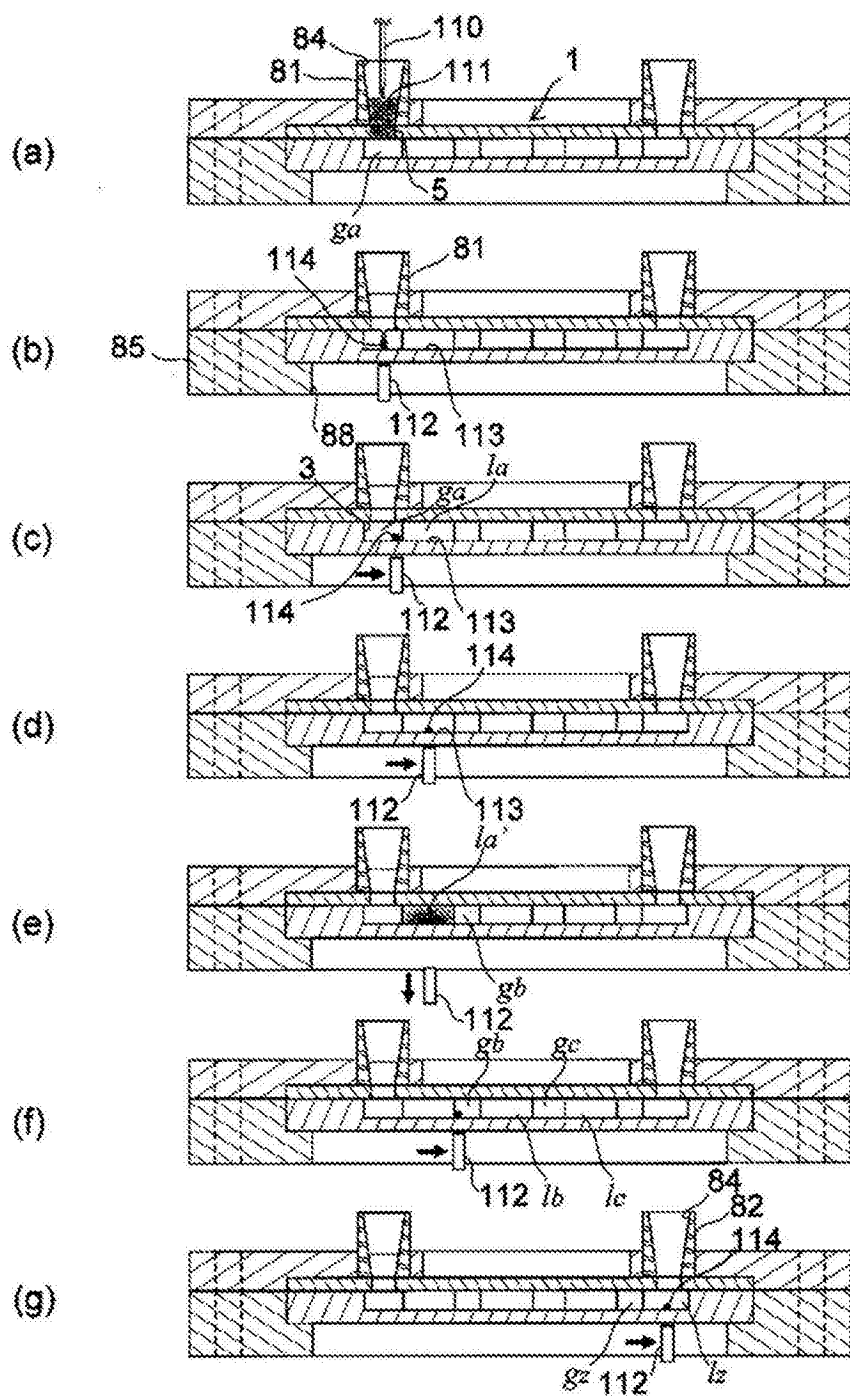


图11

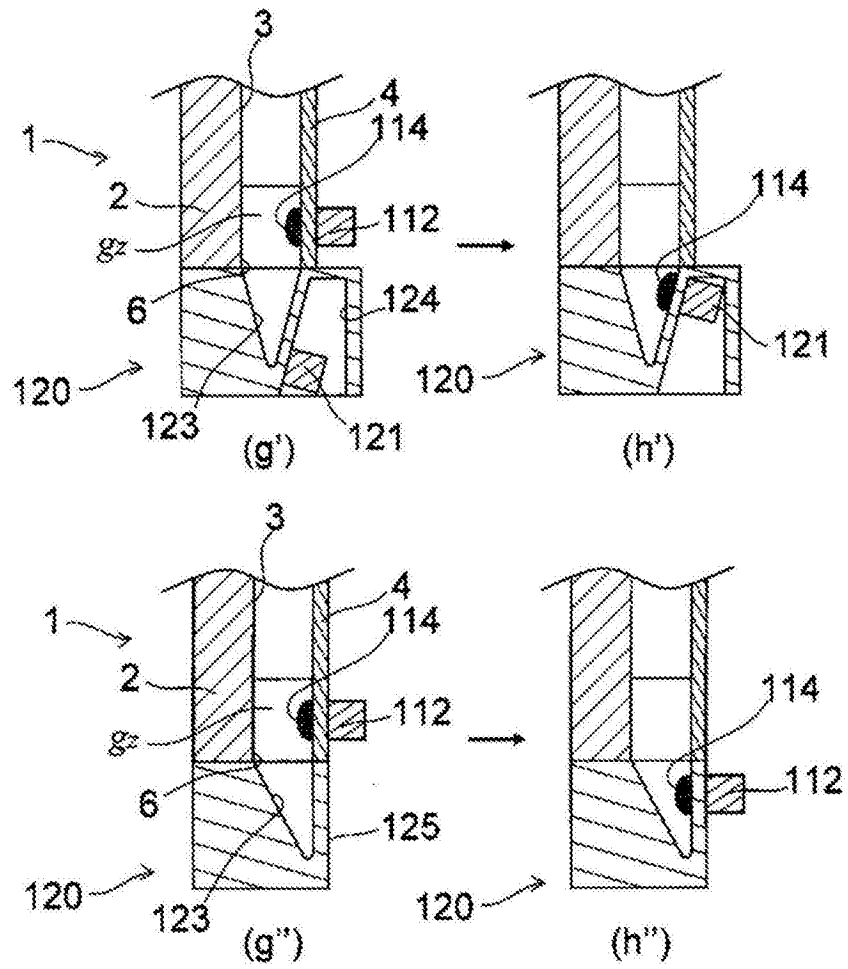


图12

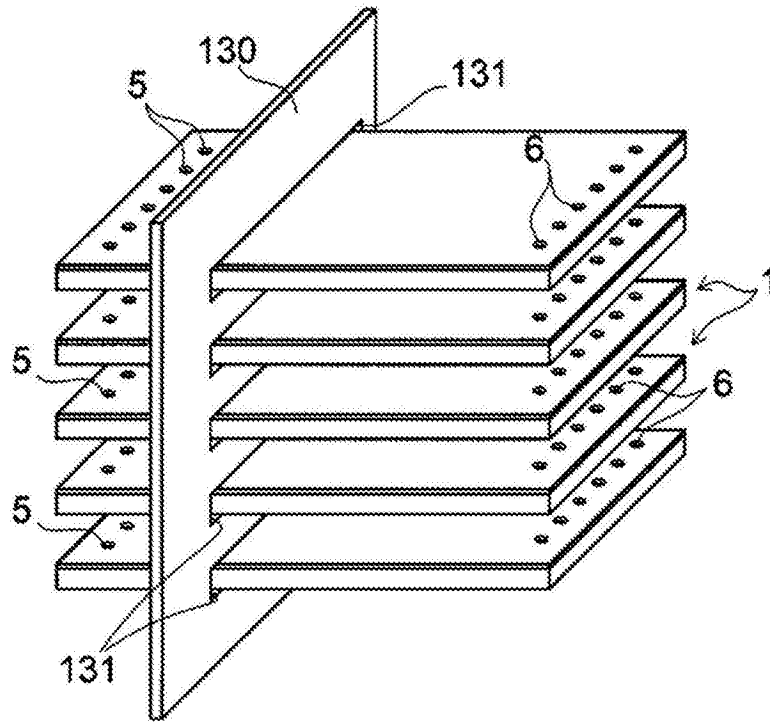


图13

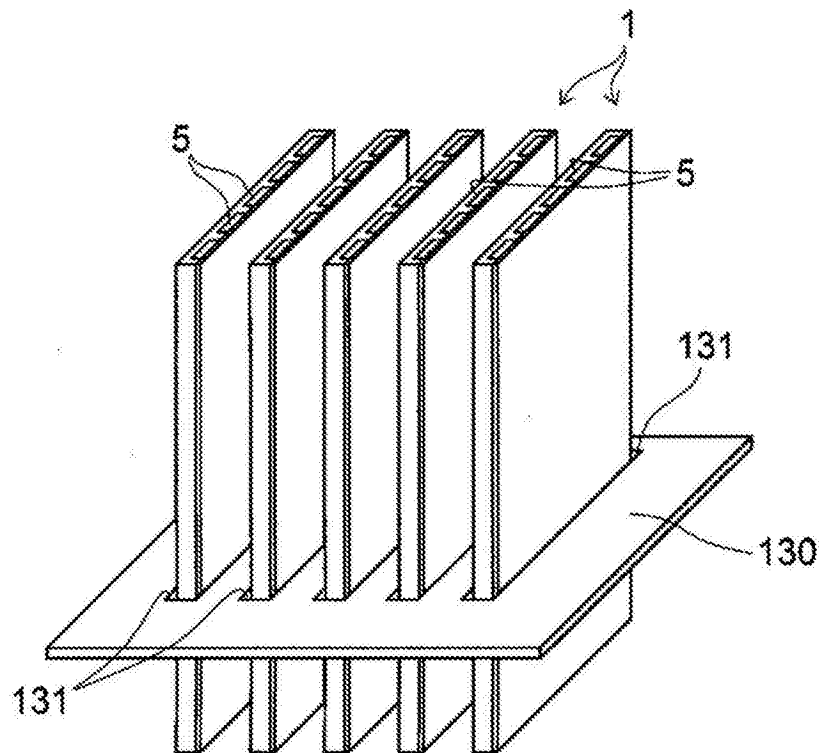


图14

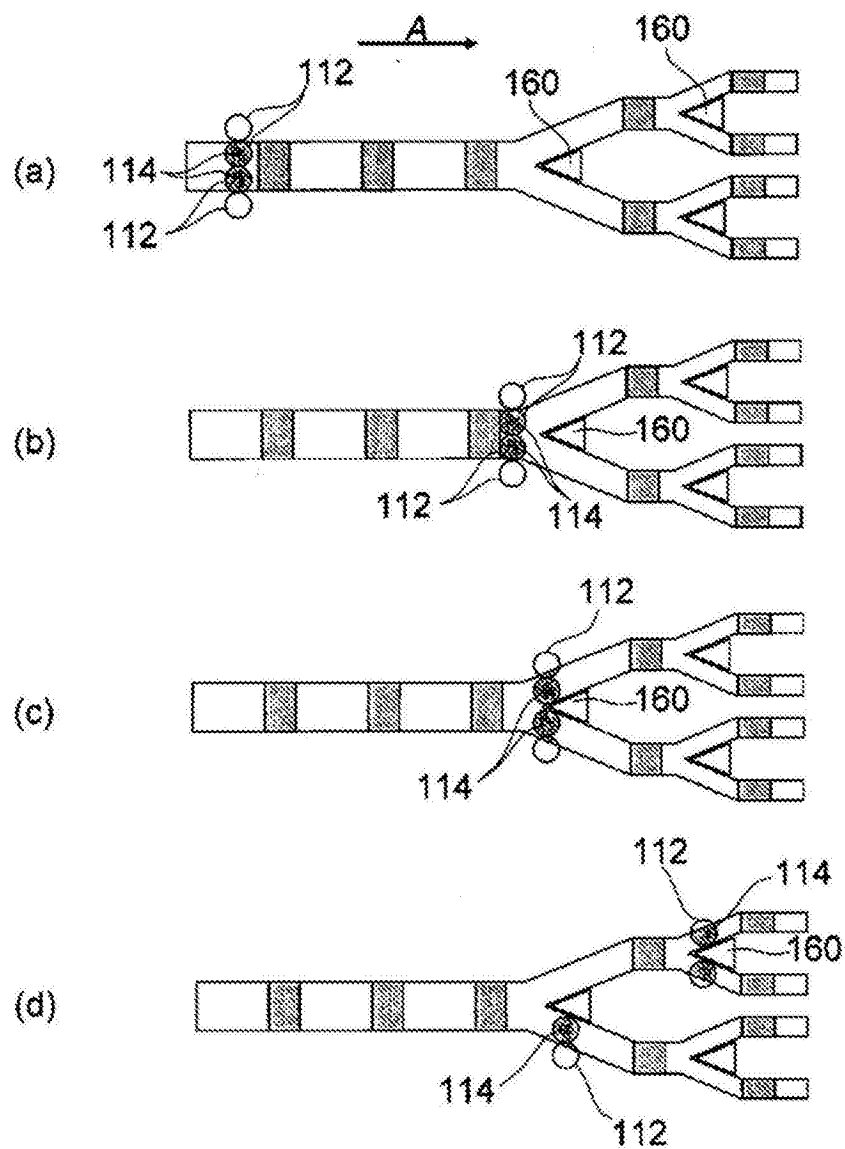


图16

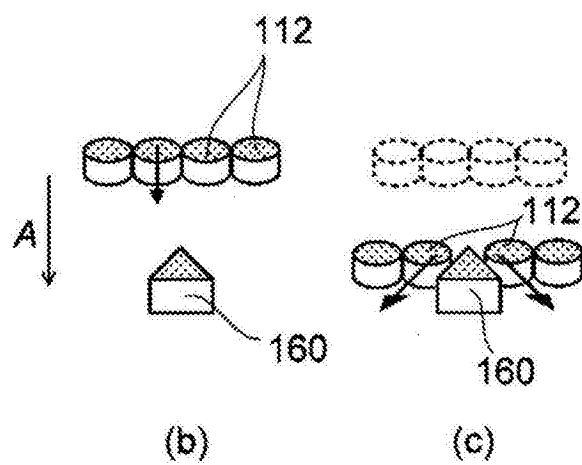


图17

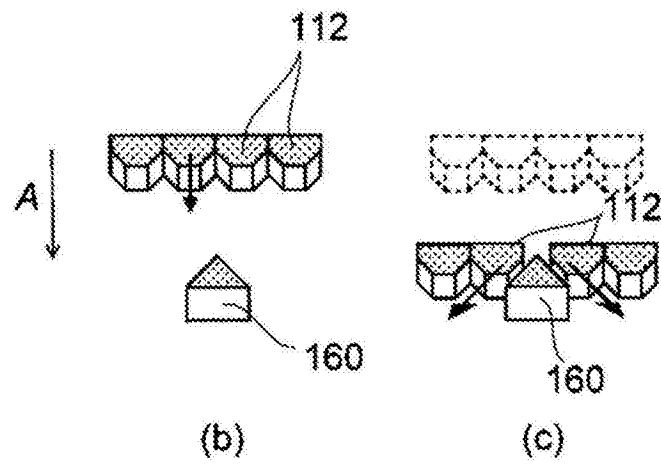


图18

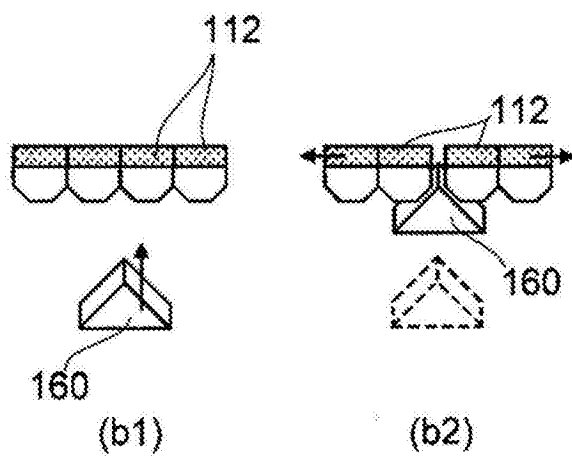


图19

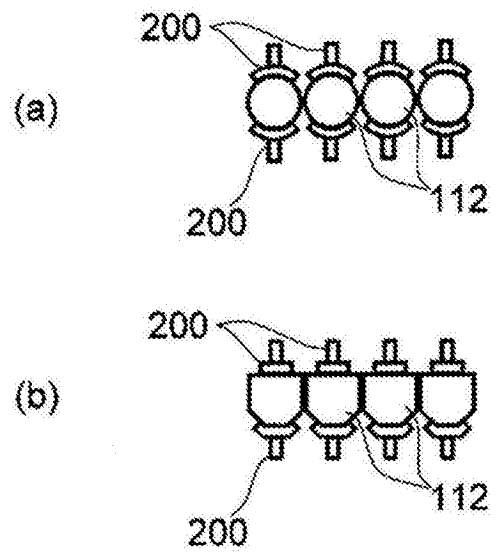


图20