

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4260369号  
(P4260369)

(45) 発行日 平成21年4月30日 (2009. 4. 30)

(24) 登録日 平成21年2月20日 (2009. 2. 20)

(51) Int. Cl. F I  
 GO 1 N 35/10 (2006. 01) GO 1 N 35/06 A  
 GO 1 N 27/447 (2006. 01) GO 1 N 27/26 3 3 1 E

請求項の数 14 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2000-558383 (P2000-558383)	(73) 特許権者	502015979
(86) (22) 出願日	平成11年3月23日 (1999. 3. 23)		ジーイー・ヘルスケア・(エスプイ)・コーポレーション
(65) 公表番号	特表2002-519695 (P2002-519695A)		アメリカ合衆国94085カリフォルニア州サニーベイル、イースト・アルケス・アベニュー928番
(43) 公表日	平成14年7月2日 (2002. 7. 2)	(74) 代理人	100093908
(86) 国際出願番号	PCT/US1999/006359		弁理士 松本 研一
(87) 国際公開番号	W02000/002038	(72) 発明者	デイビッド・ジェイ・ローチ
(87) 国際公開日	平成12年1月13日 (2000. 1. 13)		アメリカ合衆国95032カリフォルニア州ロス・ガトス、チェリー・ブラッサム・レイン15904番
審査請求日	平成18年3月20日 (2006. 3. 20)		
(31) 優先権主張番号	09/109, 676		
(32) 優先日	平成10年7月2日 (1998. 7. 2)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自動制御マイクロチャンネル生体分析機器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイクロチャンネル化学分析をロボット制御 (robotically) で実施する方法であって、  
 a) 負荷ステーションの第1マイクロチップ基板に複数の流入口を有するマイクロチャンネルを供する工程；

b) マイクロチャンネルから間隔をあけて試料ウェルの群を供する工程；

c) 流入口および試料ウェルへと運動可能なマイクロチャンネル負荷デバイスを供する工程；

d) 負荷デバイスを試料ウェルにロボット制御で運動させ、特徴的な移動速度を有する検出可能な標的分子を有する試料をロボット制御で拾い上げ、ついで流入口に運動させる工程；

e) 試料をロボット制御で複数の流入口に同時に分配する工程；

f) 所望の数の流入口が試料を受けるまで、工程 d) および e) を繰返す工程；

g) 上記第1マイクロチップ基板が上記負荷ステーションから離れるようにロボット制御で運動させ、置換マイクロチップ基板が収容できるように上記負荷ステーションを開放する工程；

h) 所望の試料分離が達成されるまで上記第1マイクロチップ基板のマイクロチャンネル中で試料分離を引き起こさせる工程； ついで

i) 測定場所 (location) で上記試料分離を検出する工程

を含み、マイクロチャンネル負荷デバイスを供する工程 c) が、さらに、マイクロチップ基

10

20

板用のステージを有する第 1 トラック、ならびに試料ウェルおよびピペッターチップ用のステージを有する第 2 トラックを含む運動可能なステージを有する 2 つの平行トラックを、上記 2 つのトラックの間を運動可能である負荷デバイスと共に供することを含む、方法

【請求項 2】

さらに、工程 g ) の後に、前記負荷場所で前記第 1 マイクロチップ基板を前記置換基板でロボット制御で置換することを含む請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記負荷ステーションにおいて前記第 1 マイクロチップ基板を前記置換基板でロボット制御で置換することが、前記第 1 基板を、基板内に含まれる試料を有していない置換基板で置換することを含む請求項 2 記載の方法。

10

【請求項 4】

さらに、前記試料分離を検出した後に、前記測定場所から前記第 1 マイクロチップをロボット制御で運動させ、前記置換マイクロチップ基板のために前記測定場所を開放し、ついで置換マイクロチップ基板を用いて工程 b ) - i ) を繰返すことを含む請求項 2 記載の方法。

【請求項 5】

前記第 1 マイクロチップ基板を用いて工程 h ) および i ) を同時に実施し、前記置換マイクロチップ基板を用いて工程 d )、e ) および f ) を実施することを特徴とする請求項 4 記載の方法。

20

【請求項 6】

さらに、複数の置換マイクロチップ基板を用いて工程 c ) - i ) を連続して繰返すことを含み、工程 h ) および i ) を前記複数のマイクロチップ基板のうちの 1 つの上で同時に実施し、工程 d )、e ) および f ) を他のマイクロチップ基板を用いて実施することを特徴とする請求項 4 記載の方法。

【請求項 7】

さらに、工程 g ) の後に、前記試料ウェル中の前記試料をロボット制御で置換することを含む請求項 4 記載の方法。

【請求項 8】

前記第 1 マイクロチップ基板のマイクロチャネルで試料分離を引き起こすことを、前記基板上の複数の個別マイクロチャネルがアノード・ワイヤおよびカソード・ワイヤと接触するように複数のワイヤとチップを接触させて位置させるようにチップをロボット制御で運動させ、ついで前記マイクロチャネルを通して電流を導入して電気泳動分離を実施することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

30

【請求項 9】

前記検出が、複数のマイクロチャネルを光学的に走査することによってさらに特徴付けられる請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

前記光学的走査が、複数のマイクロチャネルを共焦点光学的に走査することによってさらに特徴付けられる請求項 9 記載の方法。

40

【請求項 11】

前記走査が、前記試料分離と同時に起こる請求項 9 記載の方法。

【請求項 12】

マイクロチップ基板にマイクロチャネルを供することが、走査領域を画定する横断線と平行にまたは角度をなして配置されたマイクロチャネルを供することを含む請求項 9 記載の方法。

【請求項 13】

マイクロチャネル負荷デバイスを供する工程が：

マイクロチャネル基板を負荷ステーションの第 1 トラック上に運動可能にマウントし；

試料ウェルを第 2 トラック上に運動可能にマウントし；ついで

50

多機能マイクロチャンネル負荷デバイスを、第1トラックと第2トラックとにまたがる (spanning) ガントリ上にマウントすることを含む請求項1記載の方法。

【請求項14】

マイクロチャンネル負荷デバイスを供する工程が、試料ウェルおよび流入口の間隔に等しい間隔で複数のピペッターを供することを含む請求項1記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

技術分野

本発明は、分子分離技術に関し、より詳細には、マイクロチャンネル中で複数の試料を分析するための自動制御機器に関する。

【0002】

背景技術

過去10年間ほどにおいては、電気泳動によるごとき、平行キャピラリーが分子分離用に広く用いられている。キャピラリー電気泳動はDNAおよびタンパク質を分析するために、ならびに、小イオン、小分子、細菌およびウイルスを分離するために用いられている。溶液、ゲルおよびポリマーを包含する異なる分離媒体がキャピラリーにおいて用いられている。各技術において、標的の移動度を測定し得る。

【0003】

キャピラリーは、DNA断片長分析およびDNAシーケンシングの双方に適用されている。ヌクレオチド配列の実験は、ポリヌクレオチド断片の高分解能の分離に依存している。断片のファミリー中の各断片を、蛍光マーカで標識し、キャピラリーチャンネル中のモレキュラー・マイグレーションにおける差を観察する。単一塩基対にのみ相違を有する断片は、蛍光検出で日常的に分離される。

【0004】

処理量を増加するために、多数のキャピラリーを平行で使用し得る。平行チャンネル電気泳動により、多数の試料を同時に分析し、高処理速度を得ることができる。

最近、幾つかのグループがマイクロチャンネル形式のキャピラリー電気泳動を完成している

(A. T. Woolley, G. F. SensabaughおよびR. A. Mathies, "High-Speed DNA Genotyping Using Microfabricated Capillary Array Electrophoresis Chips", *Anal. Chem.*, 69:2181-2186 (1997); A. T. WoolleyおよびR. A. Mathies, *Anal. Chem.*, 67: 3676-3680 (1995); A. T. Woolley, P. C. Simpson, S. Liu, R. Johnston, G. F. Sensabaugh, A. N. GlazerおよびR. A. Mathies, "Advances in Microfabricated Integrated DNA Analysis Systems", *HPCE98* (1998); P. C. Simpson, D. Roach, A. T. Woolley, T. Thorsen, R. Johnston, G. F. SensabaughおよびR. A. Mathies, "High-throughput genetic analysis using microfabricated 96-sample capillary array electrophoresis microplates", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:2256-2261 (1998))。このアプローチは、分離チャンネルとして、キャピラリーの代わりに基板にエッチングまたは成形したマイクロチャンネルを用いている(R. M. McCormick, R. Nelson, M. G. Alonso-Amigo, D. J. BenvegnoおよびH. H. Hooper, "Microchannel electrophoretic separation of DNA in injection-molded plastic substrates", *Anal. Chem.* 69: 2626-2630 (1997); 1994年にB. Ekstrom, G. Jacobson, O. OhmanおよびH. Sjodinに対して発行された米国特許第5,376,252号)。

基板全体の物理的サイズはマイクロチップ・サイズ、すなわち一辺が数ミリメートルの寸法、からウェハー・サイズ、すなわち半導体ウェハー(直径10-20cm)から48cm長のマイクロチャンネル“マクロチップ”と同様の寸法まで変化し得るが(C. Davidson, J. Balch, L. Brewer, J. Kimbrough, S. Swierkowski, D. Nelson, R. Madabhushi, R. Pastrone, A. Lee, P. McCready, A. Adamson, R. Bruce, R. MariellaおよびA. Carrano, "Development of a Microchannel Based DNA Sequencer", DOE Human Genome Program Contractor-Grantee Workshop VI, Santa Fe, NM (1997))、得られたデバイスはマイクロチップと一般的に呼ばれている。マイクロチップのサイズの決定因子は、マイクロチャンネル経路の複雑さおよび分離チャンネルの長さである。チャンネルの長さは試料注入、試料移動お

10

20

30

40

50

よび測定ゾーンを許容しなければならない。チャンネルは、典型的には、8ないし40 $\mu\text{m}$ の深さおよび30ないし150 $\mu\text{m}$ の幅の寸法のものである。小さなチャンネルは、より大きな断面積を有するキャピラリーよりも顕著に短時間でDNA断片を分離する。

#### 【0005】

平行試料ウェルを供し、自動化光学ディテクターおよびソフトウェア・アナライザーを供することによって、平行キャピラリーを供することを超えて、分析の速度における幾つかの進歩が達成されている。これらの進歩にもかかわらず、特に標本を取扱い、分析機器に提示することにおける精巧な分離はなお時間がかかり、かつ労働集約的なプロセスである。

#### 【0006】

本発明の目的は、マイクロチャンネルにおける平行高処理分析のために、マイクロチップおよびマクロチップで標本を自動制御的(robotically)に取扱いおよびそこに提示するための装置を考案することにある。さらなる目的は、電極が設けられ、試料を分離チャンネルに注入し、分離を行い、かつ試料を検出する分析ステーションへのチップの提示を自動化することにある。

#### 【0007】

発明の概要

上記目的は、マイクロチップ上のマイクロチャンネル中の電気泳動に基づく機器中で試料を負荷し、取扱い、流動させ(running)および分析するためのマクロないしマイクロ・インターフェースで達成された。該マイクロチップは、マイクロチャンネルに通じるマクロスケールの流入口を有する。該流入口は、編成されたピペッターチップのアレイのピペッターのサイズおよび間隔に適合するように離されている。

#### 【0008】

マイクロチャンネルは、マイクロリットルよりも遥かに小さい微視的体積を供し、その中で分析が行われる。当該機器は、ピペッター、電極およびディテクターに関するマイクロチップの相対的な運動を有する、マイクロチップ取扱機を特徴とする。マイクロチップを運動させる場合もあるが、他のコンポーネントを運動させる場合もある。試料を含まないマイクロチップをチャック上に置き、ピペット操作デバイスで試料をマイクロチップに負荷し、マイクロチップ中のマイクロチャンネルを電極と接触させ、試料を分離マイクロチャンネルに注入し、電気泳動分離を行い、分離を検出および測定し、ついでマイクロチップを除去することを含む一連の自動操作が存在する。

#### 【0009】

好ましい具体例において、分離マトリクスを予め充填しているが試料は充填していないマイクロチップは、試料負荷ステーションから試料分析ステーションに第1のY-軸トラック上で非常に正確に運動可能である真空チャックに保持される。マイクロチップのマイクロチャンネルは、試料分離を高めるためのシーブとして作用し得るポリマーまたは他のマトリクスで予め充填する。試料負荷ステーションでは、ピペッターを含む多機能デバイスによって、試料をマイクロチップに負荷し得る。該多機能デバイスは、第1のY-軸トラック上の試料負荷ステーションと、第1のY-軸トラックに平行な第2のY-軸トラック上のチップおよび試料ステーションの双方との間を横行X-軸ガントリに沿って運動する。第2のトラックはピペットチップ、試薬トレイ、試料を含むマイクロタイター・トレイまたは他の物体を、多機能デバイスによる使用のための位置に自動的に運動させることができる。ガントリによって運搬される多機能デバイスは、XおよびY軸と垂直をなすZ-軸上を昇降する。すべての軸に沿った運動は、正確かつ厳密な位置決定を達成し得るように、ステッピング・モーターによって運転される。正確な位置制御には、サーボモーターまたは他のアクチュエーター系を用い得る。

#### 【0010】

多機能デバイスは、複数の編成ピペッター、個別ピペッターおよび真空ラインを含む。複数のピペッターは、マイクロタイター・プレート上のウェルの間隔に適合する間隔で編成されている。同じ間隔が、マイクロチップ上の試料負荷流入口に用いられる。この様にし

10

20

30

40

50

て、多チャンネルピペッターは、複数の試料を試料流入口に同時に負荷し得る。

【0011】

最初に、多機能デバイスは、第1トラック上の試料負荷ステーションから第2トラック上のチップおよび試料ステーションに運動し得、そこで新たなピペットチップが編成ピペッターに適用される。ついで、多機能デバイスは、ガントリ上を運動してチップガイドを拾い上げ(pick up)、ついで第2トラック上のチップおよび試料ステーションに戻る。ついで、第2トラックは、ガントリ上の編成ピペッターがトラック上のマイクロタイター・プレートから試料を回収(withdraw)し得る位置まで運動し得る。ついで、多機能デバイスは、ガントリ上を試料負荷ステーションまで運動し、そこで、第1トラック上のマイクロチップ中の試料流入口に試料を投入する。多機能デバイスは、ガントリに沿って戻って、まずチップガイドを放出し、ついでチップおよび試料ステーションに戻り、そこで、第2トラックによって多機能デバイスの下方の位置に運動された使用済みチップトレイに使用済みチップを廃棄する。チップ、チップガイドおよび試料を拾い上げ；試料をマイクロチップに分配し；ついで、チップガイドを置き、使用済みチップを廃棄するサイクルは、マイクロチップが完全に負荷されるまで繰返す。

10

【0012】

マイクロチップが負荷された後に、それは、試料分析ディテクターの下方の第1トラック上の試料分析ステーションに運動し、上昇して、第1トラック上のプラットフォームによって支持されたワイヤ電極のアレイと合体する。マイクロチップの最終位置は、マイクロチャンネルを試料分析ステーションのディテクターの焦平面に設置する。該ディテクターは、好ましくは、分離の間に蛍光標識分子を検出することができる走査型共焦点レーザー顕微鏡を含む。

20

【0013】

電極の電位を制御して、まず正確なサブ-マイクロリットル体積の試料を負荷ウェルから分離マイクロチャンネルの注入領域に運動させ、ついで分離マイクロチャンネルにおけるエレクトロ・マイグレーションを刺激し得る。

試料はマイクロチャンネル中で分離するため、マイクロチップの領域は、典型的には走査型共焦点レーザー顕微鏡によってモニターして分子の分離を検出する。DNAシーケンシングに関しては、分離の4色電気泳動図を形成するために4種の蛍光マーカを通常検出する。4色電気泳動図をプロセッシングして、塩基を最終的に求めて、試料のDNA配列を決定し得る。

30

【0014】

本発明を実施するためのベストモード

図1に参照して、マイクロチャンネル化学分析用の自動制御機器は、平行トラック20および30を橋かけする(spanning)ガントリ33と、2の該平行トラックとを特徴として示される。トラック20および30ならびにガントリ33は、半導体装置分野でよく知られているParker Daedal社製の線形平行移動ステージである。Y-軸に沿って並んだ第1トラック20は、中ほどに親ネジ21を有する平行レール17および19を有する。ネジ21は、ローラーベアリングによってレール17および19上に載る第1フレーム13を所望の場所に位置し得るように、ステッピング・モーターによって運転される精密ネジである。ネジを運転するモーターは図示しない。ローラーベアリングは、第1フレーム13とレール17および19とを接触させている。ネジ21を回転させることにより、第1フレーム13は、多機能デバイス35の下方のごとき所望の場所に正確に位置し得る。

40

【0015】

フレームは、半導体ウエハーを確実に保持するための真空チャックとしても半導体産業で知られている、基板チャック11を運搬する。電極洗浄ステーション10に隣接する基板チャック11は、上にマイクロチャンネルを有するディスク型マイクロチップ基板15を保持する。

本明細書中で用いるマイクロチップなる語は、マイクロチャンネルを含む基板をいう。本発明のマイクロチップは、典型的に、集積回路マイクロチップよりも遥かに大きい。マイク

50

ロチップ15は、より大きいまたはより小さいデバイスや他の形状のものも用い得るが、約4インチの直径を有するガラスまたはシリコンウエハーのサイズで示される。本発明は、いずれかの特定のサイズまたは形状のマイクロチャネルを有する基板に限定されるものではない。さらに、マイクロチップ上のマイクロチャネルの構造もいずれか特定のデザインに限定されるものではなく、むしろ、二次元および三次元マイクロチャネルの双方を含むいずれの立体構造も包含する。

#### 【0016】

本明細書中で用いるマイクロチャネルなる語は、ミリメートル未満の断面線寸法を有するいずれのチャネルをもいう。マイクロチャネルは、典型的に、30ないし150 $\mu\text{m}$ の範囲内の幅および5ないし50 $\mu\text{m}$ の範囲内の深さを有する。マイクロチャネルは、典型的に、エンボス、微小成形、沈澱および他の微細加工技術を含む他の技術も用い得るが、マイクロチップ製造技術、すなわちマスキングおよびエッチング、によりその中に形成される。

10

#### 【0017】

これもY-軸に沿って並ぶ第2トラック30は、平行レール27および29を有する。これらのレールは、低摩擦回転関係で第2フレーム23を支持する。ネジ31が第2フレームを運転する。第2フレームはマイクロタイター・プレート25、ならびにホルダー14、16および18に着座し得る他のラックまたはプレートを運搬する。

ガントリ33は、Y-軸と垂直をなすX-軸に沿って並び、平行レール37および39を有し、多機能デバイス35を支持する第3フレームを運搬している第3トラックである。ステッピング・モーター（図示せず）によって回転されるネジ41は、第1トラック20と第2トラック30との間に第3フレーム38および多機能デバイス35を運動させる。多機能デバイスは、編成ピペッター、個別ピペッターおよび真空デバイスまたは他のデバイスを有するピペッター・アセンブリを運搬するロボットアームとして機能する。

20

#### 【0018】

多機能デバイス35は、X軸およびY軸と垂直をなすZ-軸で運動し得る。モーター43は、Z-軸における昇降運動で多機能デバイス35を運動させる。この運動は、ピペットチップ42も上下に運動させる。さらに、エア・シリンダー（図示せず）を用いて、多機能デバイス35によって保持されるピペットチップ42を吸収様式でマイクロチップ、マイクロタイター・プレート25、またはピペットチップ・ラックに押し出す。運動可能なピペットチップは、それが試料負荷のためにマイクロチップと接触するところで何ら妨害されることなく、マイクロタイター・プレートに挿入して試料を回収するために降下し、ついで上昇し、第2トラックにガントリ上を運動することができる。

30

#### 【0019】

図1に示していないものは、第1トラックの向い合う側の台座パッド45および47上に直立するプラットフォーム上に配置される走査型共焦点レーザー顕微鏡のごとき、ディテクターまたは測定機器である。ディテクターは第1フレーム13の上方のプラットフォームに設置し、これを用いて蛍光を誘導し、マイクロチップ上のマイクロチャネルからの蛍光光を収集する。

#### 【0020】

図2に参照して、第1トラック20は、前記した台座パッド上に直立しているプラットフォーム50によって橋かけされている。プラットフォーム50は、電極ワイヤのアレイ、および走査型共焦点レーザー顕微鏡のごとき試料分析ディテクターを運搬する。第1フレーム13は、多機能デバイス35の位置まで前進し、そこで、第3フレーム38に結合した多機能デバイス35上に運搬されているピペッターのアレイが試料材料をマイクロチップ15内の流入口に分配する。ピペッターはZ-軸に沿って昇降することができ、降下した位置で試料をマイクロチップ中の穴部に分配する。昇降は、ピペッター・アセンブリをその標的位置に運ぶステッピング・モーター43で制御される。多機能デバイス上のエア・シリンダーは、意図するピペッターを動かす、それによって試料をマイクロチップに分配させる。

40

50

## 【 0 0 2 1 】

ピペッター・アレイを運搬している多機能デバイス 35 は、マイクロタイター・プレート 25 および 26 ならびにラック 34 および 36 中の新しいピペッターチップが存在する第 2 トラック 30 付近まで運動可能である。使用済みチップは、チップ廃棄ラック 42 および 44 に廃棄し得る。多機能デバイス上のピペッター・アレイは、新たなチップをピペッターに取付け、使用済みチップをピペッターから放出するために第 2 エア・シリンダーを用いる。廃棄チップラックまで運動した後、ピペッター・アセンブリのピペッター本体の背後のエア・シリンダーは結合して、個別ピペッターからチップを押し取り外す。チップを拾い上げるためには、ピペッター・アセンブリを新たなチップ・トレイ上方に運動させる。ついで、ステッピング・モーター 43 は、ピペッターチップ付近に多機能デバイス 35 を降下させ、そこで、エア・シリンダーは、多機能デバイス 35 に関してピペッター・アセンブリを上昇させ、ついで突然降下させ、ピペッターにチップを押し出すことによって新たなチップ・トレイからのチップの拾い上げを確保するスプリング・アクションを供する。新しいチップは、摩擦結合によって適所に保持される。

10

## 【 0 0 2 2 】

第 2 エア・シリンダーは、ピペッターを動かして、流体を拾い上げ、配送する。分配する材料よりもより多い材料が拾い上げられ、それによって、ウェル中に泡が形成される可能性が減じられる。泡は、マイクロチャンネル中の適当な電流の流れを妨害するおそれがある。

チップガイド 40 は、第 2 トラック 30 と第 1 トラック 20 との間に位置する。チップガイド 40 は、ピペッターチップが入れる円錐形穴部のアレイを有するブロックである。チップガイドは、真空によって多機能デバイス上に保持されている。チップガイドは、マイクロチップ中の穴部と正確に並べるために、ピペッター上にチップを位置決定する。チップガイドの使用は任意であって、マイクロチップのデザインに依存する。

20

## 【 0 0 2 3 】

図 3 に参照して、第 1 トラック 20 は、基板チャック 11 および該チャック上のマイクロチップ 15 を運搬している第 1 フレーム 13 と共に第 1 支持テーブル 24 上にマウントされるように示し得る。多機能デバイス 35 は、ピペッターチップが基板中の穴部に入り得るように、昇降するようマウントされる。ガントリ 33 は、第 1 トラック 20、チップガイド 40 および第 2 トラック 30 に関する多機能デバイス 35 の位置決定を許容する。第 2 支持テーブル 32 は、マイクロタイター・プレート 25 および 26 ならびにピペッターラック 34 および 36 を支えている第 2 フレーム 23 を運搬する第 2 トラック 30 を保持している。多機能デバイス 35 は、横方向に運動し、マイクロタイター・プレート 25 および 26 と連絡し得る。光学および機械式位置センサーは、多機能デバイスのピペッター・アセンブリに関して第 1 および第 2 トラック上のフレームを配置する。多機能デバイス用のコントローラーは、第 1 フレーム上の基板チャックの、ならびに試料を受け正確な場所に配送するために第 2 フレーム上のマイクロタイター・プレートの正確な位置を確かめなければならない。

30

## 【 0 0 2 4 】

多機能デバイス 35 は、幾つかの他の特徴を有して示される。それは、ピペッター・アセンブリ 48 中の編成ピペッターの線状アレイから僅かに離れて間隔があげられた単一チャンネルピペッター 63 を使用して、必ずしも編成ピペッターの間隔で存在する必要はないウェルの中または外に液体をピペッター操作する。それは、吸引ライン 65 を有してマイクロチップから試料またはマトリクスを除去し、かつ、加圧ライン 67 を有して必要に応じてマトリクスを運動させまたは試料注入を容易にする。加えて、多機能デバイス 35 は、キャピラリー、微細口径管系または体積測定デバイスと共にピペッター操作デバイスを使用するとく、試料をマイクロチップに運動させる他の手段を適応し得る。多機能デバイス 35 は、溶液のバルクピペッター操作の貯留部にアクセスするように適応することもできる。正確な体積測定制御が必要な場合には、圧電性配送装置も加え得る。ラックもしくはホテル (hotel) または同様なデバイスに保持される複数のマイクロチップから自動化プロ

40

50

セスによってマイクロチップを負荷すること、ならびに、マイクロタイター・プレートおよびピペッターチップのラックも自動化機構によって置換されることは、本発明の趣旨内に存在する。

【0025】

図4に参照して、多機能デバイス35は、個別ピペッターチップ101-108のアレイと、単一チャンネルピペッターチップ63を運搬するように示される。チップが拾い上げられると、1ないし全てのピペッターにチップが嵌着される。各チップは流体ピペッター操作機構に連結され、それは標準的なエッペンドルフ・ピペッターとし得る。ピペッターは、U-型チップ放出機110を通して延在している。空気圧シリンダー121は、命令により、チップ101-108のアレイを通して所望の量の流体をピペッター操作するために、エレクトロニック・コントローラーによって制御される。微小スイッチ141および143は、ツール35が高いか低いかを感知し、かつ、他のデバイスに位置をシグナル伝達するために、2の異なる高さで、ツール35の向い合う側にマウントされる。吸引ライン65は、マイクロチップから試料またはマトリクスを除去するために、ツール35の側にマウントされる。加圧ライン67は、マトリクスを補充するため、または試料注入を支援するために用いられる。

10

【0026】

チップ放出機110は、当該チップ放出機の上方運動を制限する一对の終止部125および127と共に、短いレール上を昇降するようにマウントされる。コントローラーに連結された空気圧シリンダー123はチップ放出機を運動させるための力を供給する。空気圧シリンダー123がチップ放出機110を超えてチップを上昇させようとし、チップ放出機が一对の終止部125および127に対して終止した場合、チップが放出される。この状態においては、チップは上方に運動するが、チップ放出機110に対して終止し、ピペッターから落ちる。

20

【0027】

多機能デバイス35は、ライン(図示せず)によって供給される吸引によって適所に保持されるチップガイド129も運搬しているが、その吸引はオン-オフを命令し得る。チップガイドは、マイクロチップ流入口に向けて外側に各ピペッターからピペッターチップが直線になるように、開口部131-139を有する。チップガイドは、新しいチップがピペッターに結合された後であって、チップを用いてマイクロタイター・プレートから試料を回収する前に、特定の場所から拾い上げられるアSEMBリである。同様にして、チップガイドは、使用済みチップを使用済みチップホルダーまたはトレイに廃棄し得る前に開放される。

30

【0028】

図5に参照して、試料材料をマイクロチップ15に導入する時点で、マイクロチップ15およびチャック11はトラック20およびそのステッピング・モーターによってピペッター48の下方に直接運動し、ついでピペッターチップ101-108はマイクロチップ中の穴部に降下して試料材料を配送する。マイクロチップ中の穴部のパターンは、アレイを用いる場合にはピペッターアレイ中のチップ穴部の間隔に適合する。基板は、試料材料を種々の場所のエントリー穴部に配送し得るように、トラック20と繋がっているハウジング22中のステッピング・モーターを用いて異なる場所まで多機能デバイスの下方を運動することができる。

40

マイクロチップ中のマイクロチャンネルは、好ましくは列にグループ化され、一列当たり8の開口部を有する。これにより、多機能デバイス上のアレイ・ピペッターは複数のマイクロチャンネルに同時に供給することができる。試料を、8ないし12、おそらくはより多い試料場所、あるいは全てのマイクロチャンネルが試料を有するまで全ての試料場所に同時に配送することは有利である。このことにより、複数のマイクロチャンネルに対する試料負荷が顕著に速められる。例えば、96のマイクロチャンネルおよび8のピペッターチップが存在する場合には、全てのマイクロチャンネルに試料材料が備えられるように、基板は少なくとも12回運動させる必要があるであろう。さらに、ピペッターチップが基板中の所望の

50

穴部に嵌合するように、基板がトラック 20 上の位置まで運動する間にピペッターを横方向に運動させる必要があるかもしれない。

【0029】

全ての試料を負荷した後に、ついでマイクロチップはプラットフォーム 50 下方の適当な位置まで運動する。基板チャック 11 は、空気圧 24 によって上昇され、プラットフォーム 50 の下側にマウントされた回路基板 76 から突出する電極として用いられる細ワイヤのレイ 78 は、マイクロチップ中の開口部に自動的に挿入される。該細ワイヤは半導体産業で使用されているウエハープローブ・ワイヤに類似する自己-支持性の硬いワイヤであって、分離用のカソードおよびアノードとして使用され、マイクロチップに他の電位を供給する。通常、かかるワイヤは典型的には 200  $\mu\text{m}$  ないし 500  $\mu\text{m}$  の直径を有し良好な導電率および耐腐食性を有する白金または他の材料である。

10

【0030】

ある種の電極を適当な電圧源に接続すると、電場を用いて試料は試料流入口から分離チャンネルに運動し得；この運動を試料注入ともいう。ついで、電圧源を変化させて、電気泳動によって試料を分離する。典型的には、マイクロチャンネルは、適当な分離媒体で予め負荷しておく。例えば、尿素およびホルムアミドと組み合わせたヒドロキシエチルセルロース (HEC) を含む分離マトリクスが、本発明の譲受人に譲渡された J. Bashkin, D. Barke r および R. Johnston による米国特許第 5,534,123 号に開示されている。

【0031】

試料移動が起きると、マイクロチップ上の検出領域がモニターされる。蛍光検出に関しては、励起光源 52 は、標的タグからの蛍光を刺激するであろう波長を有するように選択される。走査型共焦点レーザー顕微鏡の検出に関しては、レーザービーム励起光は、一般に“マクロ走査対物レンズ”として知られている対物レンズ 56 を介してマイクロチップを走査する検流計ベースの走査ミラー 54 に指向される。かかる対物レンズは、大きい範囲の蛍光試料を走査することにつき記載されており；例えば、蛍光イメージング系は、Robert Kain による米国特許第 5,719,391 号に記載されており、本発明の譲受人に譲渡された。対物レンズはマイクロチャンネル中で電気泳動移動下にある蛍光標識標的分子から放出された蛍光光を集光する。適当な波長を選択するための共焦点空間フィルターおよびフィルター群のごとき中間光学部材の後に、光電子増倍管 58、CCD アレイまたは他のフォトディテクターがこの蛍光光を電気シグナルに変換し、これが収集され、プロセッシングされて電気泳動図が形成される。

20

30

【0032】

図 6 に参照して、マイクロチップ 15 は、もう 1 のプレートに結合している (図示せず) 1 のプレートに形成された複数の分離マイクロチャンネル 61 を有するように示される。背景情報として、このマイクロチップ 15 は、P. C. Simpson, D. Roach, A. T. Woolley, T. Thorsen, R. Johnston, G. F. Sensabaugh および R. A. Mathies, “High-throughput genetic analysis using microfabricated 96-sample capillary array electrophoresis microplates”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:2256-2261 (1998) に記載されている。チャンネルは、流体が回避できないように底プレートを有する。マイクロチャンネルは、カソード貯留部として使用される開放開口部 66 で終結する。これらの貯留部は各チャンネル用、あるいは図示するごとく、複数のマイクロチャンネルを提供し得るかのいずれかとし得る。試料負荷貯留部、破線矩形列 63 で示される 2 の列は、試料を配送するためにピペッターチップが入るのに十分に大きいものとし得る。

40

【0033】

好ましい具体例において、試料負荷貯留部 63 は、後記するごとく分離マイクロチャンネルを横切る注入マイクロチャンネルによって、破線矩形行 64 で図示されている廃棄貯留部に連結される。分離マイクロチャンネル端部は、マイクロチップの上面の穴部を通してアクセス可能である共通アノード貯留部 65 に合流する。試料負荷貯留部 63、廃棄貯留部 64、アノード貯留部 65 およびカソード貯留部 66 は、マイクロチップが位置に上昇した場合には電極ワイヤと個別に接触するか、あるいは、図 7 に図示するごとく、マイクロチッ

50

ブの縁部に位置する導電性コネクタで終結する、マイクロチップの表面上または中央内にめっきされた電極と各々が個別に接触する。

【 0 0 3 4 】

図 7 に示す DNA 断片分析に関する好ましい具体例において、分離マイクロチャネルはシャープな湾曲部 7 1 を含み得る。これらの湾曲部はバンドの広がりを導入するが、効果は、遺伝子型決定のごとき断片分析適用に許容し得る。シャープな湾曲部を用いて 4" マイクロチップ上の少なくとも 4 8 の分離チャネルまでチャネル密度を増大させ、かつ、それを用いて流路長を均一にし得る。

【 0 0 3 5 】

図 7 は、縁部導電性コネクタ 7 3 および 7 5 をマイクロチップ導入することを図示している。縁部コネクタ 7 3 および 7 5 は、半導体産業でよく知られているマスキングおよび蒸着技術を用いて、マイクロチャネルをエッチングした後に金、白金または銅のごとき金属をガラス上に蒸着させることによって形成し得る。縁部コネクタは、電子回路基板縁部コネクタのように平坦なタブである。縁部コネクタは電極として作用し、マイクロチップからの電氣的接続をマイクロスケールへ単純化する。線 8 0 は、外部からの電気コネクタへのアクセスを許容する基板上のカバーがどこで終結するかを示している。線 8 0 の下方では、基板は電気ターミナル上にカバーを有し、そこではカバーを通して延在する入口 7 2、7 4、7 6 を通る以外はターミナルがアクセス不可能である。縁部コネクタ 7 3 の部分はカソード・ターミナルであり、一方縁部コネクタ 7 5 はアノード・ターミナルである。三組配置の入口 7 2、7 4、7 6 により、試料をマイクロチャネル 8 2 に注入するための主マイクロチャネル 8 2 の部分を横切る試料の運動が許容される。マイクロチャネル 8 2 は、全てのマイクロチャネルが平行アレイとなっている主トランク 8 6 に通じる路湾曲部 8 4 を有する。

【 0 0 3 6 】

好ましい具体例において、蛍光検出は、走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて、走査線 7 7、アノード口 7 9 から遠くない仮想線、で起こる。走査線 7 7 におけるレーザー走査は平行アレイのマイクロチャネルに対して横方向である。ロケータ穴部 7 8 を用いて、マイクロチップを所望の場所に位置決定する。

【 0 0 3 7 】

図 8 に参照して、マイクロチップ 1 2 0 は、ハブとしてスポーク - 様パターンの認識 (considering) コレクター 1 3 0 を有する放射状に分布したマイクロチャネル 1 2 3 を有する。マイクロチャネルの数は、マイクロチップのサイズによって支配される。大きなアレイであれば、共通コレクターの周りに 3 6 0 ° パターンのマイクロチャネルを有するであろう。マイクロチャネルはガラスウエハーにエッチングされ、これは同様または同一の直径の第 2 のフラットウエハーでカバーされる。各放射状マイクロチャネルはコレクター 1 3 0 に向けて集まる。コレクターは、電極を挿入し得るアノード口 1 2 6 に接続された端部貯留部である。走査線 1 4 0 は仮想線であり、そこで、走査ビームはコレクター 1 3 0 の非常に近くで、集結するマイクロチャネルを横断するであろう。ビーム、典型的にはレーザービームは、マイクロチャネル中で蛍光を励起し、放射された蛍光はディテクターによって測定されるであろう。各マイクロチャネルは、各々、カソード、廃棄および試料貯留部につき三組の流入口 1 3 1、1 3 3 および 1 3 5 を有する。路波状起伏部 1 3 7 は、エレクトロ・マイグレーション目的で全ての路が同一の長さとなるように、路長を一様にする目的で導入される。

放射状構成のマイクロチャネルは、注入領域と検出領域との間に湾曲部または曲がり部が存在しないという利点を有する。該湾曲部または曲がり部は、分離物の品質を低下させ、DNA シークエンシングに必要な高分解能の分離を妨げ得る。

【 0 0 3 8 】

図 9 においては、図 6 - 8 に図示した注入機および三組の流入口の詳細を拡大している。試料貯留部 6 3 は、廃棄貯留部 6 4 へのマイクロチャネル路を有するように示し得る。各貯留部は、マイクロチャネルに通じる、マイクロチップ表面に直径約 2 mm の開口部を有

10

20

30

40

50

する。全ての試料が負荷貯留部 63 に負荷された後、試料は、負荷貯留部と廃棄貯留部との間の電位差を用いて第 2 突出マイクロチャンネル 60 を介して廃棄貯留部に向けて突出マイクロチャンネル 62 を通って運動する。別の具体例は、毛管作用、圧力、磁気、光学捕捉、等電点電気泳動、および真空注入法を使用して、試料を分離マイクロチャンネルに運動させ得る。典型的には、3 ないし 5  $\mu\text{l}$  を負荷貯留部 63 に挿入するが、注入領域 68 の体積は 150  $\text{p}\mu\text{l}$  ないし 5  $\text{n}\mu\text{l}$  しか含有しない。この微視的体積しか、電場の影響下で分離チャンネル 61 中で分離されない。

#### 【0039】

好ましい具体例における試料注入に関する一連の事象は、バイアス電圧をアノード貯留部 65 およびカソード貯留部 66 に加えて分離チャンネル 61 への試料拡散を防ぎつつ、注入電圧を各セットの試料負荷貯留部 63 および廃棄貯留部 64 の間に加えることである。注入電圧は、試料負荷貯留部 63 および廃棄貯留部 64 の間のマイクロチャンネルの注入領域 68、および分離マイクロチャンネル 61 に試料が運動するまで、維持する。

#### 【0040】

ついで、試料負荷貯留部 63 および廃棄貯留部 64 に逆バイアス (back bias) を加えてさらなる試料が分離マイクロチャンネル 61 に入るのを防ぎつつ、分離電圧をアノード貯留部 65 とカソード貯留部 66 との間に加える。チャンネル長に依存して、分離電圧は典型的に 50 ないし 300  $\text{V}/\text{cm}$  であって、逆バイアスは典型的に 90 ないし 1000  $\text{V}$  である。分離電圧は、試料が走査領域 69 を通過するまで加える。注入領域 68 から走査領域 69 のディテクターまでの典型的な分離路長は 10  $\text{cm}$  である。ディテクターは、最大限の分離を達成し得るように、分離チャンネル 61 の直線部分の端部にできるだけ近接して配置する。典型的な分離時間は、断片に関しては 5 分、DNA シークエンシングに関しては 5 ないし 10 分である。

注入領域 68 からアノード 65 までの全ての路は等しい長さを有するのが好ましく、さらに、カソード貯留部 66 からアノード 65 までの路は等しい長さを有し、試料負荷貯留部 63 から廃棄貯留部 64 までの路は等しい長さを有するのが好ましい。

#### 【0041】

スキャナーからの光学ビームは、走査領域を横断してスイープし、領域を照射して標識標的分子の蛍光を生じさせる。マイクロチャンネルの走査範囲は、分離が最も良好に測定される範囲である。標的分子は、色素または蛍光物質で標識されている。標的分子を照射すると、光学シグナル・ディテクターによって同時に測定されるスキャナーによる刺激の際に、色素、蛍光タグまたは標的物質の特徴的な光学シグナルが放出されるであろう。複数の色または波長を用いて、異なる標的を識別する。現在のところ、DNA シークエンシングに関しては、4 のヌクレオチド塩基に対応する 4 の色が用いられているが、異なる色を分離するディテクターの能力、蛍光を発生するビームの能力、および特定の適用に依存していずれの数を用いてもよい。遺伝子型決定に関しては、より多くの色は分離チャンネル当たりより多くの試料を多重送信し得るであろうが、典型的に 1 または 2 の色を用いる。

#### 【0042】

図 6 - 8 のマイクロチャンネル配置により、走査領域を横切る単一のビーム走査で多くのチャンネルを走査することができる。ビームは公知またはホーム位置から出発し、公知の走査速度で各マイクロチャンネルを順次照射する。走査の特徴を知ることによって、正確なビーム位置がわかり、したがって照射されたマイクロチャンネルの同一性がわかる。典型的に、ビームのスポットサイズは、マイクロチャンネルの幅よりも遥かに小さい 10  $\mu\text{m}$  である。多数の分離を同時に行い得るため、シークエンシングのごとき分析作業における時間が大幅に減じられる。分離データから、標的試料を同定し得る。

#### 【0043】

電極に電圧を加えることを中止し、データファイルをセーブし、マイクロチップを含有する真空チャックを低下させることによって運転が終結する。ついで、マイクロチップを有する真空チャックは、第 1 トラック 20 に沿ってマイクロチップ設置位置に運動し、そこで、マイクロチップは手動で除去される。電極ワイヤは、図 2 に図示するごとく、洗浄ス

10

20

30

40

50

ーション10が電極の下方に位置するまで第1トラック20を運動させることによって掃除される。掃除溶液を含有する洗浄ステーションは、電極が掃除されるまで昇降する。

【0044】

図10に参照して、第1トラック上のプラットフォームから電極を支持するために使用される回路基板76は、5の独立ワイヤ(または線)路164、164a、174、184および194を有して示されている。各路は、線に沿った白丸として示される、1またはそれを超える電極ターミナルに電力ターミナルを接続する。電極ターミナル163および163aは、ワイヤ線164および164aならびに試料ターミナル165および165aに接続されている。電極ターミナル173は、ワイヤ線174およびカソード貯留部ターミナル175に接続されている。電極ターミナル183は、ワイヤ線184および廃棄貯留部ターミナル185に接続されている。電極ターミナル193はワイヤ線194およびアノード貯留部ターミナル195に接続されている。ワイヤ線164、164a、174、184または194のいずれも他のワイヤ線を交差しないが、ワイヤ線は互いに絶縁関係で存在することは注記しておく。前記した電極ワイヤは、試料ターミナル165および165a、カソード貯留部ターミナル175、廃棄貯留部ターミナル185、ならびにアノード貯留部ターミナル195に接続されるが、図10に図示していない。ワイヤは、自己-支持様式で回路基板76から垂直に延在する。回路基板76は、移動測定に使用されるマイクロチップのすぐ上方であってマイクロチップの走査領域の直近のプラットフォーム50の下面と当該基板の底面が一般的に平行となるようにマウントされる。

適当な電圧をターミナル163、163a、173、183および193に加える。各線の長さにはわたる電圧低下は存在しない、すなわち各線の抵抗は非常に小さく、低い電流しか流れていないため、各接続ワイヤの長さによって同一の電圧が現れる。

【0045】

エレクトロニクスは4のモジュール：運動制御、高電圧制御、データ取得および種々雑多なもの、からなる。

図11に参照して、運動制御エレクトロニクスは、4のRS-232コミュニケーション・ポートを介して4のモーター・コントローラ210、214、218および222と通信するコンピュータ200、好ましくはWindows NT Workstation、によって制御される。モーター・コントローラ210は、X-軸でガントリを動かすモーター212を制御する。モーター・コントローラ214は、Z-軸を動かすモーター216を制御する。モーター・コントローラ218は、第1のY-軸を動かすモーター220を制御する。モーター・コントローラ222は、第2のY-軸を動かすモーター224を制御する。

【0046】

ワークステーション200は、Intel 386SX装着コントローラのごとき、コンピュータを含む制御モジュール228とも、SCSIバス・ライン226を介してコミュニケーションする。ワークステーション200は、データを取扱いおよび表示機能を行う一方、制御モジュール228はデータ収集機能を指揮するのみである。制御モジュールはリレイ回路230を使用して、5の空気圧バルブ232、234、236、238および240を動かす。空気圧バルブ232はシリンダーを動かして、多機能デバイスのステージを下方に運動させる。空気圧バルブ234はシリンダーを動かして、多機能デバイスのステージを上方に運動させる。空気圧バルブ236はシリンダーを動かしてピペット・プランジャーを下方に運動させる。空気圧バルブ238は、シリンダーを動かして、基板チャックを上方に運動させる。基板チャックを下方に運動させるためには、バルブ238が圧力を開放し、重力が基板チャックを下方にもたらす。空気圧バルブ240は真空を供してチップガイドを多機能デバイスに保持させ、あるいは、真空を開放してチップガイドを開放する。もう1つの手動式空気圧バルブ(図示せず)を使用して、真空チャックにマイクロチップを保持する真空を作動させる。

【0047】

図12は、データ取得エレクトロニクスの概略図である。マイクロチップ中の試料からの蛍光は、まず、Hanamatsu R1477のごとき光電子増倍管250で検出する。光電子増倍管

10

20

30

40

50

のバイアス電圧を制御して、光電子増倍管の出力範囲を選択する。光電子増倍管の出力は電流であり、典型的には100 fAないし100  $\mu$ Aの範囲内である。ついで、電流を増幅させ、トランスインピーダンス増幅器252によって0.001Vから100Vまでの電圧に変換する。ついで、トランスインピーダンス増幅器の出力を、対数減衰増幅器254によって、0Vより大きい値から10Vまでの範囲でデータの対数表示に変換する。ついで、シグナルを、65,536のダイナミック・レンジを供する16ビットにシグナルをデジタル化するBurr-Brown ADS7805 Analog to Digital Converterのごとき16 - ビットA - Dコンバーター256を通す。ついで、A - Dコンバーター256の出力を、まず真数変換を行い、ついで適当な間隔でトランスインピーダンス増幅器252への内部参照信号入力に基づいて直線性補正を行い、最後にシグナルの平方根を行ってシグナルを16

10

#### 【0048】

図13に参照して、高電圧制御エレクトロニクスは、SCSIコミュニケーション・ライン226を介してコントローラー228と通信するコンピュータ200によって制御される。制御モジュール228は、6のD - Aコンバーターを含むD - A回路260を制御する。D - Aコンバーターは、6の高電圧電源262、264、266、268、269および270の出力電圧を制御する。高電圧電源270は、光電子増倍管250にバイアス電流を供給する。5の高電圧電源262、264、266、268および269はスイッチング・ネットワーク272を通して電極回路275に接続された電流源である。スイッチング・ネットワーク272は、電流シンク (current sink) としての接地電位または電流源としての高電圧電源のいずれかを選択し得る高電圧リレイを含む。高電圧電源262は、好ましい具体例において、アノードについての電極回路275に5000Vまで供給し得る。他の4の高電圧電源264、266、268および269は、各々、カソード、廃棄および2の試料電極に1500Vまで供給し得る。

20

#### 【0049】

図14に参照して、高電圧制御エレクトロニクスは、SCSIコミュニケーション・ライン226を介して制御モジュール228と通信するコンピュータ200によって制御される。制御モジュール228は、電圧パルスを検流計運転回路282に送るデジタルシグナル・プロセッサ280を制御する。検流計運転回路282は、上にマウントされた走査ミラー285を有する、General Scanning G325のごとき検流計284に電圧を送る。レーザー52からのレーザービーム281は、走査ミラー54に指向される。検流計運転回路を制御することによって、検流計の位置を容易に調整して、ビーム281を用いたマイクロチップ299を横断する線走査を行い得る。別の具体例は、2軸で制御可能である検流計を用いて、より大きな断面積を走査し、またはマイクロチップの任意の好ましいセクションを選択して走査し得る。制御モジュール228は、5のセンサー、286、288、290、292および294からのシグナルを受けるデジタル入力回路を制御する。4のセンサー、286、288、290および292は、単一極板の単一スロースイッチ (throw switch) である。チップガイドがテーブル上に存在する場合にはセンサー286が感知する。マルチチャネル・ピペッターが上昇し、したがってピペットチップが放出された場合にはセンサー288が感知する。ピペット・ステージが上昇した位置に存在する場合にはセンサー290が感知する。マイクロチップ・チャックが上昇した位置に存在する場合には、センサー292が感知する。ピペットチップ・カウンター294は、ビームが遮られると感知し得る、Skan-a-matic L60 / P60シリーズ準小型LED - IREDペアのごとき通過ビーム光源およびディテクターである。ピペットチップ・カウンター294を用いて、多機能デバイス上のピペット数をカウントして、ピペットチップの拾い上げまたは放出を確かめる。

30

40

#### 【0050】

50

図 1 1 ないし 1 4 に記載したエレクトロニクスは、ソフトウェアによって制御される。制御ソフトウェアは 6 の主要な機能ユニットを有する。機能ユニットは：( 1 ) イニシャライズ、( 2 ) 試料負荷、( 3 ) マイクロチップ負荷、( 4 ) 試料注入、( 5 ) 分離および走査、ならびに( 6 ) 運転終結、である。機能ユニットは、モジュール、サブルーチン、オブジェクト、スクリプトまたは他の構成としてのプログラミング言語で組み入れ得る。

【 0 0 5 1 】

イニシャライズ機能ユニットは、エレクトロニクス、ステージ、多機能デバイスおよび Y - ステージをイニシャライズすることによってシステムを準備させる。イニシャライゼーションは、エレクトロニクスをイニシャライズすること、ステージを自動誘導させること、いずれかのピペットチップを放出し、いずれかの液体もしくは微小流体サブシステムを調製することによって多機能デバイスをイニシャライズすること、ならびに該ステージを運動させて試料負荷の準備させること、よりなる。

10

【 0 0 5 2 】

試料負荷機能ユニットは、試料をマイクロタイター・プレートのごとき貯留部からマイクロチップに負荷する。ソフトウェアは各プレートについてプロセッシングを制御する。プレートからの試料は、多機能デバイスによって同時に移すことができる一連のウェルによってくる ( loop through ) ことができる。新しいピペットチップおよびチップガイドを拾い上げる。ついで、プレートからピペッターに試料を負荷する。多機能デバイスをマイクロチップに運動させる。マイクロチップにおいて、試料を試料負荷ウェルに置く。ついで、プレート中の一連のウェルを、マイクロチップが完全に負荷されるまで、くぐる。マイクロチップが完全に負荷されていない場合、残っているウェルを記録する。負荷した一連のウェルは列、行または分離したウェルとし得る。もう 1 つの具体例において、キャピラリー負荷機 ( loader ) のごときデバイスにより同時に負荷することによって、あるいは試料を含有するもう 1 つのマイクロチップから、多チャンネルを有する圧電性エレクトリック・デバイスから、または他の負荷ストラテジーによって、全試料を一度に負荷し得る。

20

【 0 0 5 3 】

マイクロチップの負荷機能ユニットは、必要によりステージをイニシャライズし、負荷したマイクロチップをスキャナーの位置に運動させ、および光学検出系を用いる場合にはディテクターの焦平面の位置にマイクロチップを収容する。

試料注入機能ユニットは、試料負荷口からの試料をマイクロチップの注入領域まで運動させるようにデザインされている。試料注入機能ユニットは、各電極への高電圧電力を制御する注入プロフィールを設定し、実行する。プロフィールは電極、電位差、および各電位差についての時間を特定する。単純または複雑な注入および分離プロフィールを用い得る。他の具体例において、圧力、毛管流動、磁気、または他の手段をプロフィールとして用いて、試料を試料負荷口から注入機に運動し得る。

30

【 0 0 5 4 】

分離および走査機能ユニットは全機能を行って、コンポーネントの分析および検出用の構成コンポーネントに注入試料を分離する。高電圧源は、まず分離プロフィールに設定する。データについてのファイル名を選択し、データ・ファイルを作成する。データ収集エレクトロニクスを診断し、補正し、パラメータを設定し；該パラメータには、ライン当たりの画素数、ラインの数、データ収集エレクトロニクスの時間的調節、または他の情報が含まれ得る。光電子増倍管バイアス電圧を設定する。なお、複数の光電子増倍管が存在し得る。検流計を始動する。ついで、分離プロフィールを開始し、電圧を電極に加える。走査を開始し、走査パラメータが行われるまで全てのデータ・パケットを判読する。ついで、検流計を停止し、光電子増倍管および電源への電圧を 0 または他の電位にリセットする。運転終結機能ユニットにおいては、必要に応じてステージをイニシャライズし、ついで洗浄トレイを電極下に移動する。ついで、水とし得るかまたはさらなるコンポーネントを有し得る掃除溶液に電極を浸漬しつつ、間隔を置いて洗浄トレイを上下に運動させることによってそれを掃除する。もう 1 つの具体例は、1 または一連の液体または気体で電極を洗浄すること、または、加熱、プラズマ処理、マイクロ波、または電極を掃除するための他

40

50

の方法によって電極を洗浄することである。

【0055】

運転終止機能ユニットを実行した後、該システムはもう1つのサイクルの準備ができてい  
る。もう1つのマイクロチップを用いる場合には、システムをイニシャライゼーション機  
能ユニットで始動し得る。別法として、複数の試料を各分離チャンネルに多重化する場合、  
ソフトウェアは注入試料機能ユニットにつづいて分離および走査、ならびに運転終止機能  
ユニットに続行し得る。

【0056】

前記した具体例において、平行で、間隔のあけた線状トラックを、横断ガントリと一緒に  
示して、試料でマイクロチャンネルを負荷し、化学試験および分析を行うタスクを成し遂げ  
るために必要な自動制御運動を供した。洗浄形式を用いる必要はない。

10

【0057】

図15は、矢印Aによって示されるいずれかの向きで回転しつつ、中心軸73の周りに移  
動アーム自動制御71が回転する回転形式を図示する。移動アーム71は、マイクロチッ  
プを拾い上げるためのツール、ならびに試料スタック94から試料のカセットを、新たな  
チップ・スタック93から新たなチップを、使用済みチップスタック91から使用済みチ  
ップ・カセットを、およびスタック95から洗浄または他のカセットを抜き取るためのカ  
セット拾い上げツールを有するグリッパー・アーム75を運搬している。移動アーム71  
は、複数の放射状に配された貯蔵場所の上を巡回し得、そこで、これらのカセットは保存  
され、矢印Bによって示される直線向きで運動することができる線状トラックを有する負  
荷ステーション90にそれらを運動させる。

20

【0058】

第1フレームを含む負荷ステーション90は、昇降運動し得る編成ピペッターを含む多機  
能ツールをマウントするガントリ77によって橋かけされている。新たなチップは、まず  
、ガントリ77上に運搬される多機能ツールによってチップ・ラック84の外側に拾い上  
げられる。これには、負荷ステーション90が、ガントリ77上の多機能デバイス上に支  
持される編成ピペッターが新たなチップに到達し、それをピペッターに押し付け得るよ  
うに、ガントリ77下にチップラック84を前進させることが必要である。ピペッターが下  
方に運動し、所望の量の試料を拾い上げ得るように、ピペッターは上昇し、試料ラック8  
5はガントリ77の下方に置かれる。ついで、マイクロチップ・ステーション83のマイクロ  
チップはガントリ77の下方に運動し、試料は前記したようにマイクロチップ中の穴部  
に入る。全てのマイクロチップ・ウェルが試料で負荷されるまで、負荷シークエンスを繰返  
す。

30

【0059】

マイクロチップ・ステーション83のマイクロチップが試料で負荷されると、スキャナ  
ーがプラットフォーム81によって支持されている第2フレームを含む分析ステーション77  
にグリッパー・アーム75がマイクロチップを運動させる。その後、グリッパー・アーム  
は、マイクロチップ・ホテルまたはカセット80のスタックのもう1つのマイクロチップ  
を取り、それをさらなるプロセッシングのためにマイクロチップ・ステーション83に運動  
させる。

40

【0060】

分析ステーション77は、もう1つのマイクロチップを負荷ステーション90で負荷しつ  
つ、1つのマイクロチップを同時に分析し得る。分析ステーション77は、前記したごと  
き試料注入および分離を刺激するためにマイクロチャンネル中の液体と接触させるマイクロ  
チップ中のバイアス(vias)または開口部に挿入された電極をも支持している。試料注入  
、ついでスキャナー、好ましくは走査型共焦点顕微鏡によって走査しつつ、電気泳動分離  
を刺激するために適当な電圧を加える。データ収集が完了したら、さらに使用する前に洗  
浄ウェル中で濯ぐことによって電極を掃除し得るように、スキャナー下方の洗浄ウェル8  
8の位置までステージが運動し、グリッパー・アーム75は使用済みマイクロチップ・ス  
タック92までマイクロチップを運動させ得る。エレクトロニクスおよび制御ソフトウェ

50

アは、前記したものと同様であろう。

【0061】

本明細書において、“ピペッター”という場合、その語は、限定されるものではないが、単一ピペッター、多チャンネル・ピペッター、キャピラリー・ピペッターまたは微小流体デバイス、圧電性デバイスまたは流体を運動させるための他の手段を包含すると理解されるべきである。“プレート”という場合、その語は、限定されるものではないが、マイクロタイター・プレート、管、マイクロアレイ・デバイス、貯留部または微小流体デバイスのごとき試料を保存もしくは産出し得るデバイスを包含すると理解されるべきである。前記の主要な例は電気泳動に関するが、同様な装置をエレクトロ・クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィーに用い得るであろう。また、マイクロチャンネルの充填もマイクロピペッター・デバイスに限定されるものではない。例えば、小さなキャピラリーを用い得るであろう。かかる非・ピペッター・デバイスは、マイクロチップにおける穴部間隔に合致しなくてもよい。

10

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、試料分析ディテクター、チップカウンターまたはチップガイドを有していない、本発明の装置の斜視図である。

【図2】 図2は、試料分析ディテクターおよびチップガイドを有する、図1の装置の上面図である。

【図3】 図3は、チップガイドを有する、図1の装置の正面平面図である。

【図4】 図4は、図1の装置に使用した多機能デバイスの詳細正面図である。

20

【図5】 図5は、試料分析ステーションおよびディテクターの部分断面図を有する、図1の装置の左側面図である。

【図6】 図6は、図1の装置に使用するためのマイクロチップ上のマイクロチャンネル構造の拡大上面図である。

【図7】 図7は、図6に示した構造の別の具体例を示す上面図である。

【図8】 図8は、図6に示した構造の別の具体例を示す上面図である。

【図9】 図9は、図6 - 8に示したマイクロチップ中のマイクロチャンネル路の簡略図である。

【図10】 図10は、図1の装置に使用するための電極接続を示す回路基板の平面図である。

30

【図11】 図11は、図1の装置に使用した運動制御エレクトロニクスに関する電氣的平面図である。

【図12】 図12は、図1の装置に使用したデータ収集エレクトロニクスに関する電氣的平面図である。

【図13】 図13は、図1の装置に使用した高電圧制御に関する電氣的平面図である。

【図14】 図14は、図1の装置に使用したセンサーおよび光学スキャナーに関する電氣的平面図である。

【図15】 図15は、本発明の装置の別の具体例を示す平面図である。

【 図 1 】

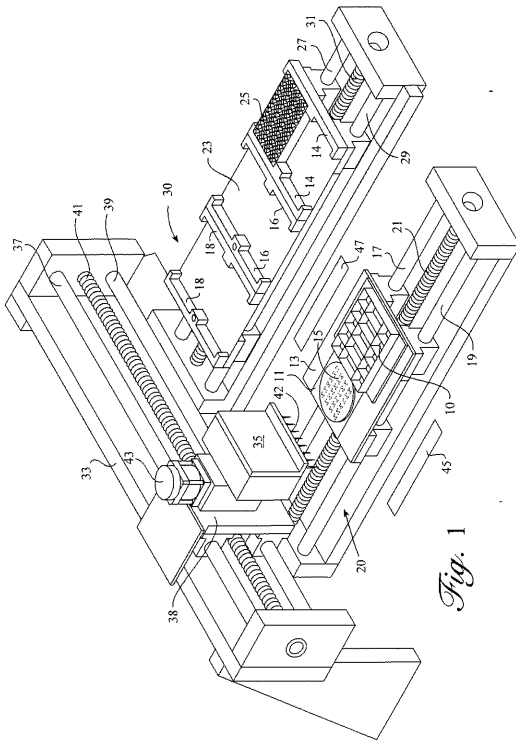


Fig. 1

【 図 2 】

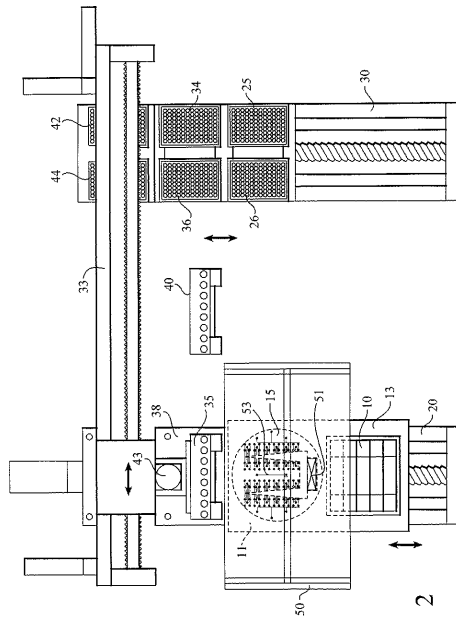


Fig. 2

【 図 3 】

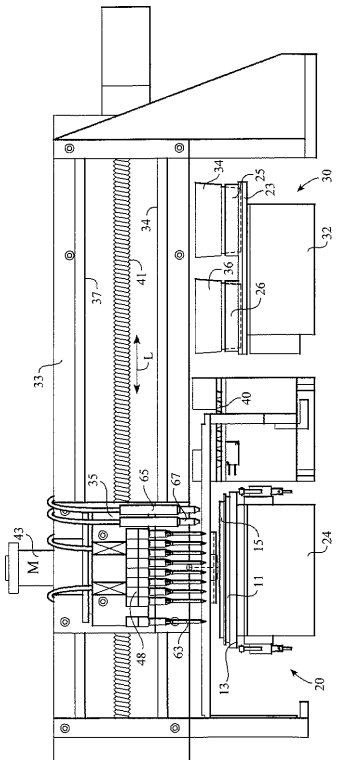


Fig. 3

【 図 4 】

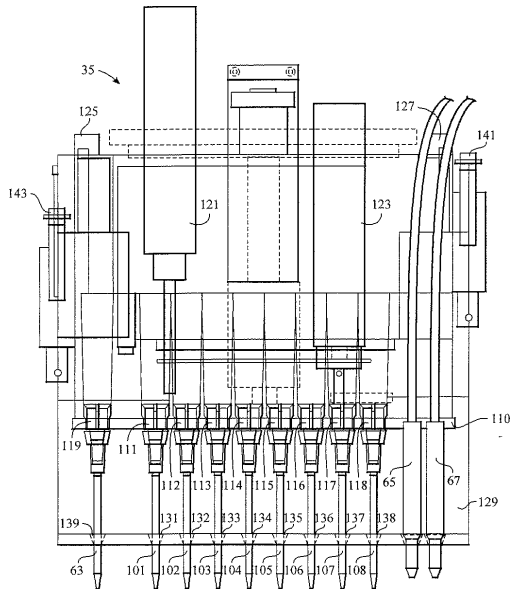


Fig. 4

【 図 5 】

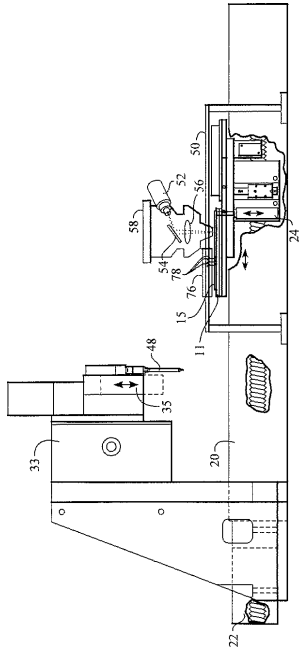


Fig. 5

【 図 6 】

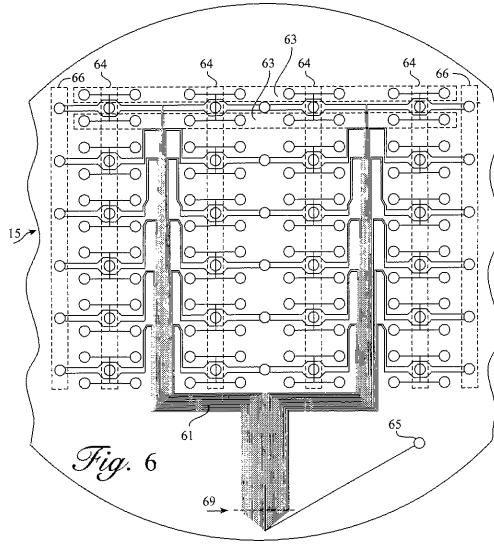


Fig. 6

【 図 7 】

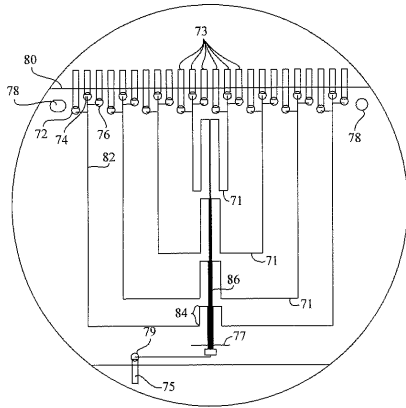


Fig. 7

【 図 8 】

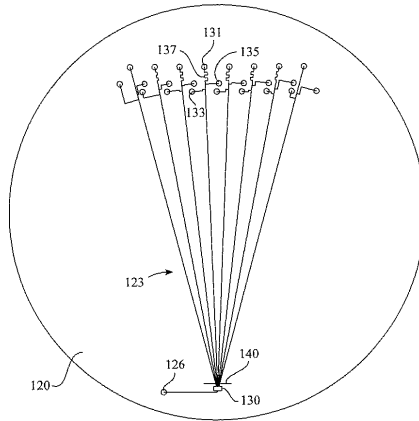


Fig. 8

【 図 9 】

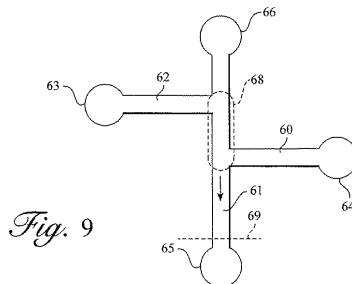


Fig. 9

【 10 】

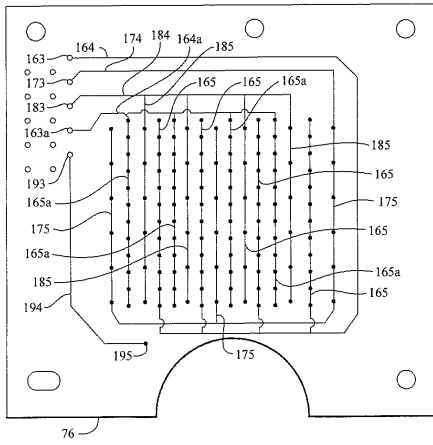


Fig. 10

【 11 】

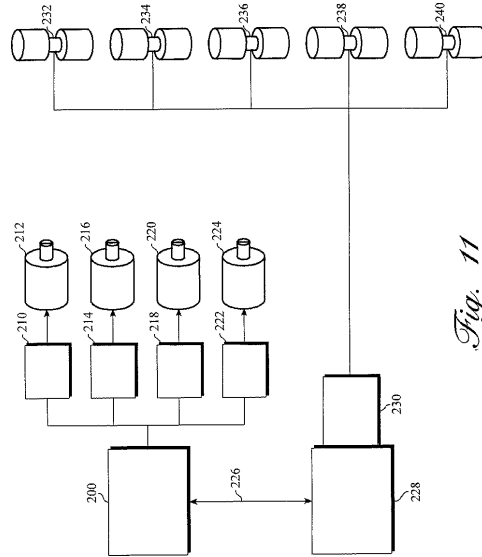


Fig. 11

【 12 】

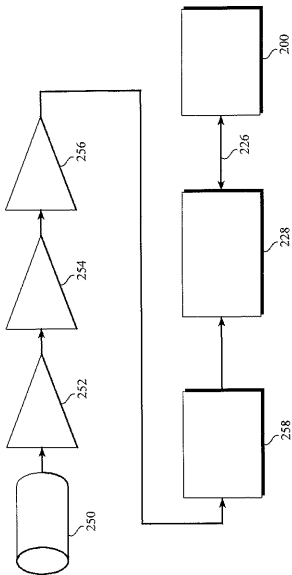


Fig. 12

【 13 】

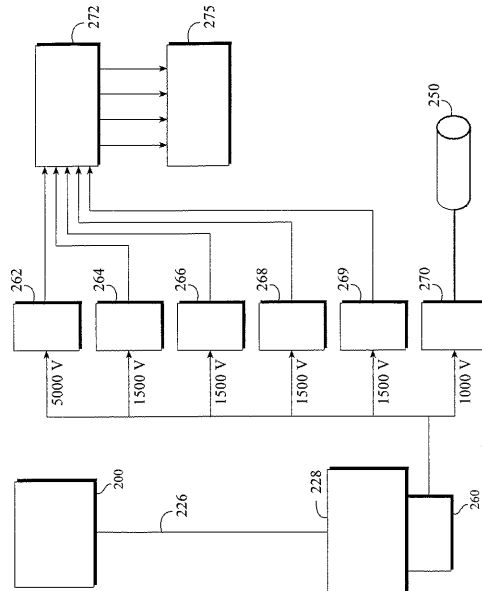
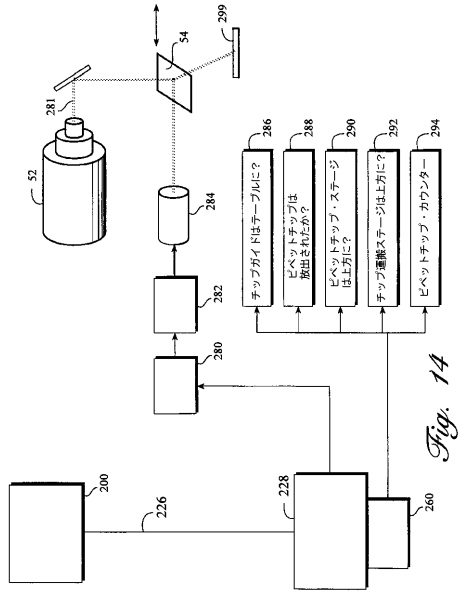
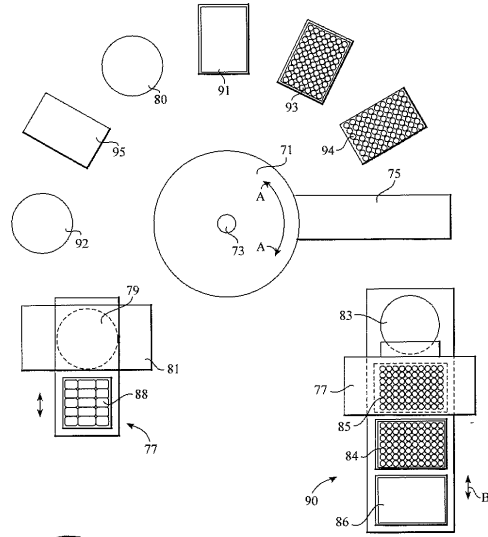


Fig. 13

【 図 14 】



【 図 15 】



## フロントページの続き

- (72)発明者 ロバート・ティ・ローダー・ジュニア  
アメリカ合衆国94087カリフォルニア州サニーベイル、レッドウィング・アベニュー1619番
- (72)発明者 トーマス・エム・アームストロング  
アメリカ合衆国94306カリフォルニア州パロ・アルト、エル・カミノ・レアル・ナンバー158、3790番
- (72)発明者 デニス・ダブリュー・ハリス  
イギリス、エイチピー15・6ティディ、バッキンガムシャー、ホーマー・グリーン、キルデア・コモン
- (72)発明者 ステバン・ビー・ジョバノビチ  
アメリカ合衆国94550カリフォルニア州リバーモア、ヘイゼル・ストリート723番
- (72)発明者 リチャード・エフ・ジョンストン  
アメリカ合衆国95247カリフォルニア州マーフィーズ、マーフィーズ・キャンプ・ロード4551番

審査官 尾崎 淳史

- (56)参考文献 特開平07-027705(JP,A)  
Adam T.Woolley, et al, High-Speed DNA Genotyping Using Microfabricated Capillary Array Electrophoresis Chips, Analytical Chemistry, 米国, American Chemical Society, 1997年 6月 1日, Vol.69, No.11, p.2181-2186

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/10  
G01N 27/447