

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2008 年 7 月 24 日 (24.07.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/087828 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 35/08 (2006.01) G01N 37/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/074509
- (22) 国際出願日: 2007 年 12 月 20 日 (20.12.2007)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2007-008973 2007 年 1 月 18 日 (18.01.2007) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): コニカミノルタエムジー株式会社 (KONICA MINOLTA MEDICAL & GRAPHIC, INC.) [JP/JP]; 〒1918511 東京都日野市さくら町 1 番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 中島 彰久 (NAKAJIMA, Akihisa) [JP/JP]; 〒1918511 東京都日野市さく

ら町 1 番地コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社内 Tokyo (JP). 青木 洋一 (AOKI, Youichi) [JP/JP]; 〒1918511 東京都日野市さくら町 1 番地コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社内 Tokyo (JP). 東野 楠 (HIGASHINO, Kusunoki) [JP/JP]; 〒1918511 東京都日野市さくら町 1 番地コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社内 Tokyo (JP). 山東 康博 (SANDO, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒1918511 東京都日野市さくら町 1 番地コニカミノルタテクノロジーセンター株式会社内 Tokyo (JP).

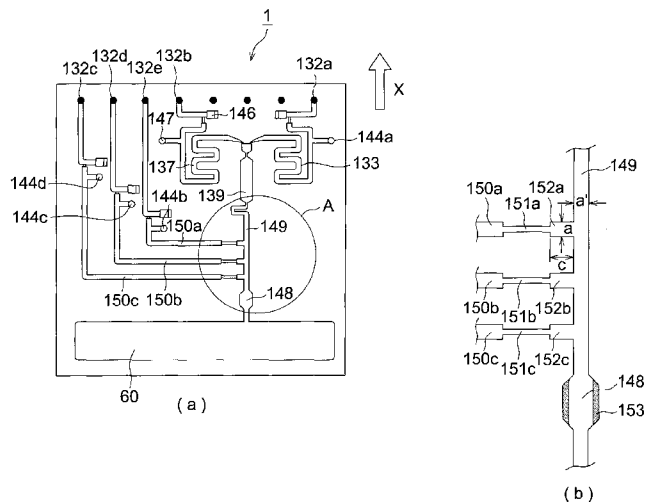
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,

[続葉有]

(54) Title: MICROCHIP

(54) 発明の名称: マイクロチップ

[図3]



(57) Abstract: A microchip which can detect a target substance accurately by feeding a reagent sequentially from a plurality of sub-channels to a main channel. The microchip is characterized by comprising a main channel through which a liquid mixture of a reagent and a sample flows, a sub-channel through which the reagent flows, a water-repellent valve portion provided at the downstream side end of the sub-channels, and a joint having a width and a depth larger than those of the water-repellent valve portion and provided at the downstream side end of the water repellent valve portion and connected to a certain position along the main channel.

(57) 要約: 本発明の目的は、主流路に複数の副流路から試薬を順次送液して、目的物質を正確に検出できるマイクロチップを提供することである。本発明に係るマイクロチップは、試薬と試料の混合液が流れる主流路と、試薬が流れる副流路と、副流路の下流側端部に設けられた撥水バルブ部と、撥水バルブ部の下流側端部に設けられるとともに主流路の途中に接続される、撥水バルブ部よりも幅及び深さの大きい接続部と、を有することを特徴とする。



WO 2008/087828 A1



OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

マイクロチップ

技術分野

[0001] 本発明は、マイクロチップに関する。

背景技術

[0002] 近年、マイクロマシン技術および超微細加工技術を駆使することにより、従来の試料調製、化学分析、化学合成などを行うための装置、手段(例えばポンプ、バルブ、流路、センサーなど)を微細化して1チップ上に集積化したシステムが注目されている。これは、 μ -TAS (Micro Total Analysis System)とも呼ばれ、マイクロチップといわれる部材に、試料(例えば、検査を受ける被験者の尿、唾液、血液を処理して抽出したDNA処理した抽出溶液など)と試薬を混合させ、その反応を検出することにより試料の特性を調べるシステムである。

[0003] マイクロチップは、樹脂材料やガラス材料からなる基体に、フォトリソプロセス(パターン像を薬品によってエッチングして溝を作成する方法)や、レーザ光を利用して溝加工を行い、試薬や試料を流すことができる微細な流路と試薬を蓄える液溜部を設けており、さまざまなパターンのマイクロチップが提案されている。

[0004] そして、これらマイクロチップを用いて試料の特性を調べる際は、マイクロポンプなどでマイクロチップ内に収容されている試薬や試料を送液することにより、試薬と試料とを反応させて被検出部に導き、検出を行う。被検出部では、例えば光学的な検出方法などによって目的物質の検出が行われる。

[0005] 例えば、特許文献1には、マイクロチップの被検出部に目的物質をトラップするための物質を予め固定化しておき、当該被検出部に試料の増幅に用いる試薬と試料とを反応させて得られた増幅産物及び検出に用いる複数の試薬を定められた順番に供給して検出のための反応を行わせた後、検出を行うことが記載されている。

[0006] 被検出部に試料及び試薬を定められた順番に供給して、被検出部で検出を行う場合、例えば、被検出部に向かう第1の試薬の流路の途中から第2の試薬の流路を合流させる構成が考えられる。この場合、第1の試薬を送液する際に、第2の試薬が第1

の試薬の流れによる負圧の影響により引っ張り込まれ、第2の試薬が第1の試薬の中に混入した状態で、第1の試薬が被検出部に送液されてしまうことが考えられる。

[0007] その結果、試薬と試薬、または、試薬と試料とが事前にお互いに反応してしまい、目的物質の検出を正確に行うことができないという問題が生じる。

[0008] 上記問題を解決するために、特許文献2には、複数の試薬を順番に送液するために、撥水バルブを用いて待機させた2液をタイミング良く合流させ、かつ層流で混合させることができる検査装置について記載されている。なお撥水バルブとは、疎水性の基材からなる微細流路に親水性の液が充填され、静圧状態のときは表面張力により流路出口から液が漏れないように保持し、加圧状態のときに送液するようにしたものである。通常、複数の試薬を送液するには、試薬を保管する副流路と撥水バルブと送液するためのマイクロポンプなどが試薬の数だけ必要となる。

特許文献1:国際公開第2005/108571号パンフレット

特許文献2:特開2003-190751号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] しかしながら特許文献2に記載の検査装置では、一度撥水バルブから試薬が送液されると、撥水バルブの微細流路の液出口部は試薬によって濡れてしまう。一度濡れると液を保持している表面張力が機能しなくなり、再度液を保持することができなくなる。さらに複数の試薬を順に主流路(試液を送液する流路)へ合流させようとする場合、第2、第3の撥水バルブの表面張力が機能しなくなり、第2の試薬または第3の試薬が主流路の中に混入した状態で、反応物質に送液されてしまうことが考えられ、目的物質の検出を正確に行うことができないという問題が生じる。

[0010] 本発明の目的は、主流路に複数の副流路から試薬を順次送液して、目的物質を正確に検出できるマイクロチップを提供することである。

課題を解決するための手段

[0011] 上記目的は、下記構成により達成できる。

[0012] 1. 内部に疎水性の微細流路を有するマイクロチップにおいて、試薬と試料の混合液が流れる主流路と、試薬が流れる副流路と、前記副流路の下流側端部に接続され

、試薬を前記副流路内に保持させる撥水バルブ部と、前記撥水バルブ部の下流側端部に接続されるとともに前記主流路の途中に接続される、前記撥水バルブ部よりも幅及び深さの大きい接続部と、を有することを特徴とするマイクロチップ。

- [0013] 2. 前記接続部の流路長さは、前記接続部の幅及び深さよりも大きいことを特徴とする前記1に記載のマイクロチップ。

発明の効果

- [0014] 本発明によれば、接続部に存在する空気により撥水バルブの出口側端部が濡れることがなく、撥水バルブの出口側端部において試薬を堰き止めるための表面張力が正常に機能する。この結果、被検出部への試料又は試薬の送液順に従って被検出部の遠くから流路を合流させるような流路構成であって、副流路の試薬を主流路に引っ張り込もうとする負圧が試薬に作用しても、副流路の試薬が撥水バルブを通過し主流路に流れ込むことがなく目的物質の検出を正確に行うことができる。

図面の簡単な説明

- [0015] [図1]本実施形態に係るマイクロチップを用いる検査装置の外観図である。
[図2]本実施形態に係るマイクロチップを用いる検査装置の構成図である。
[図3]図3(a)は本実施形態に係るマイクロチップの構成図であり、図3(b)は図3(a)のA部を拡大した図である。
[図4]主流路と接続部と撥水バルブの拡大図である。
[図5]接続部がないときの液体の流れを示した図である。
[図6]マイクロチップ1と中間流路部材70とマイクロポンプ5の構成を上から見たブロック図である。

符号の説明

- [0016] 1 マイクロチップ
4 光検出部
5 マイクロポンプ
60 廃液部
70 中間流路部材
80 検査装置

132a～132e 開口

133 試薬収容部

137 試料収容部

139 反応部

144a～144d 試薬入口部

147 試料入口部

148 被検出部

149 主流路

150a～150c 副流路

151a～151c 撥水バルブ

152a～152c 接続部

発明を実施するための最良の形態

[0017] 本発明の実施形態を説明する。なお、本発明を図示の実施形態に基づいて説明するが、本発明は該実施形態に限らない。また、以下の、本発明の実施形態における断定的な説明は、ベストモードを示すものであって、本発明の用語の意義や技術的範囲を限定するものではない。

[0018] 以下、図面に基づき本発明の実施形態を説明する。

(装置構成)

図1は、本実施形態に係るマイクロチップを用いる検査装置80の外観図である。検査装置80は、マイクロチップ1に予め注入された検体と試薬とを自動的に反応させ、反応結果を自動的に出力する装置である。

[0019] 検査装置80の筐体82には、マイクロチップ1を装置内部に挿入するための挿入口83、表示部84、メモ리카ードスロット85、プリント出力口86、操作パネル87、外部入出力端子88が設けられている。

[0020] 検査担当者は、図1の矢印方向にマイクロチップ1を挿入し、操作パネル87を操作して検査を開始させる。検査装置80の内部では、マイクロチップ1内の反応の検査が自動的に行われ、検査が終了すると表示部84に結果が表示される。検査結果は操作パネル87の操作により、プリント出力口86よりプリントを出力したり、メモ리카ードス

ロット85に挿入されたメモリカードに記憶することができる。また、外部入出力端子88から例えばLANケーブルを使って、パソコンなどにデータを保存することができる。

検査終了後、検査担当者はマイクロチップ1を挿入口83から取り出す。

[0021] 図2は、本実施形態に係るマイクロチップを用いる検査装置80の構成図である。図2においては、マイクロチップが図1に示す挿入口83から挿入され、セットが完了している状態を示している。

[0022] 検査装置80は、マイクロチップ1に予め注入された検体及び試薬を送液するための駆動液11を貯留する駆動液タンク10、マイクロチップ1に駆動液11を供給するためのマイクロポンプ5、マイクロポンプ5とマイクロチップ1とを駆動液11が漏れないように接続するポンプ接続部6、マイクロチップ1の必要部分を温調する温度調節ユニット3、マイクロチップ1をずれないように温度調節ユニット3及びポンプ接続部6に密着させるためのチップ押圧板2、チップ押圧板2を昇降させるための押圧板駆動部21、マイクロチップ1をマイクロポンプ5に対して精度良く位置決めする規制部材22、マイクロチップ1内の検体と試薬との反応状態等を検出する光検出部等を備えている。

[0023] チップ押圧板2は、初期状態においては、図2に示す位置より上方に退避している。これにより、マイクロチップ1は矢印X方向に挿抜可能であり、検査担当者は挿入口83(図1参照)から規制部材22に当接するまでマイクロチップ1を挿入する。その後、チップ押圧板2は、押圧板駆動部21により下降してマイクロチップ1に当接し、マイクロチップ1の下面が温度調節ユニット3及びポンプ接続部6に密着される。

[0024] 温度調節ユニット3は、マイクロチップ1と対向する面にペルチェ素子31及びヒータ32を備え、マイクロチップ1が検査装置80にセットされたときに、ペルチェ素子31及びヒータ32がマイクロチップ1に密着するようになっている。試薬が収容されている部分をペルチェ素子31で冷却して試薬が変性しないようにしたり、検体と試薬とが反応する部分をヒータ32で加熱して反応を促進させたりする。

[0025] 光検出部は、発光部4a及び受光部4bから構成され、発光部4aからの光をマイクロチップ1に照射し、マイクロチップ1を透過した光を受光部4bにより検出する。受光部4bはチップ押圧板2の内部に一体的に設けられている。発光部4a及び受光部4bは、後述のマイクロチップ1の被検出部148に対向するように設けられている。

- [0026] マイクロポンプ5は、ポンプ室52、ポンプ室52の容積を変化させる圧電素子51、ポンプ室52のマイクロチップ1側に位置する第1絞り流路53、ポンプ室の駆動液タンク10側に位置する第2絞り流路54、等から構成されている。第1絞り流路53及び第2絞り流路54は絞られた狭い流路となっており、また、第1絞り流路53は第2絞り流路54よりも長い流路となっている。
- [0027] 駆動液11を順方向（マイクロチップ1に向かう方向）に送液する場合には、まず、ポンプ室52の容積を急激に減少させるように圧電素子51を駆動する。そうすると、短い絞り流路である第2絞り流路54において乱流が発生し、第2絞り流路54における流路抵抗が長い絞り流路である第1絞り流路53に比べて相対的に大きくなる。これにより、ポンプ室52内の駆動液11は、第1絞り流路53の方に支配的に押し出され送液される。次に、ポンプ室52の容積を緩やかに増加させるように圧電素子51を駆動する。そうすると、ポンプ室52内の容積増加に伴って駆動液11が第1絞り流路53及び第2絞り流路54から流れ込む。このとき、第2絞り流路54の方が第1絞り流路53と比べて長さが短いので、第2絞り流路54の方が第1絞り流路53と比べて流路抵抗が小さくなり、ポンプ室52内には第2絞り流路54の方から支配的に駆動液11が流入する。以上の動作を圧電素子51が繰り返すことにより、駆動液11が順方向に送液されることになる。
- [0028] 一方、駆動液11を逆方向（駆動液タンク10に向かう方向）に送液する場合には、まず、ポンプ室52の容積を緩やかに減少させるように圧電素子51を駆動する。そうすると、第2絞り流路54の方が第1絞り流路53と比べて長さが短いので、第2絞り流路54の方が第1絞り流路53と比べて流路抵抗が小さくなる。これにより、ポンプ室52内の駆動液11は、第2絞り流路54の方に支配的に押し出され送液される。次に、ポンプ室52の容積を急激に増加させるように圧電素子51を駆動する。そうすると、ポンプ室52内の容積増加に伴って駆動液11が第1絞り流路53及び第2絞り流路54から流れ込む。このとき、短い絞り流路である第2絞り流路54において乱流が発生し、第2絞り流路54における流路抵抗が長い絞り流路である第1絞り流路53に比べて相対的に大きくなる。これにより、ポンプ室52内には第1絞り流路53の方から支配的に駆動液11が流入する。以上の動作を圧電素子51が繰り返すことにより、駆動液11が

逆方向に送液されることになる。

- [0029] ポンプ接続部6は、必要なシール性を確保して駆動液の漏出を防止するために、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン樹脂などの柔軟性(弾性、形状追随性)をもつ樹脂によって密着面が形成されることが好ましい。このような柔軟性を有する密着面は、例えばマイクロチップの基材自体によるものであってもよく、また、ポンプ接続部6における流路開口の周囲に貼着された柔軟性を有する別途の部材によるものであってもよい。

(マイクロチップの構成)

図3(a)は本実施形態に係るマイクロチップ1の一例を示すものである。マイクロチップ1は、溝形成基板と溝形成基板を覆う被覆基板とから構成されている。図3(a)では被覆基板が取り外された状態での微細流路及び流路エレメントの配置を模式的に示しており、図3(a)において矢印Xは、検査装置80に対するマイクロチップ1の挿入方向を示している。

- [0030] マイクロチップ1は疎水性の基材を用いており、また液状の試薬と同じく液状の試料(検体)を混合・反応させるための微細流路及び流路エレメントが配設されている。微細流路はマイクロメートルオーダーで形成されており、微細流路の幅は、例えば数十～数百 μm (好ましくは50～100 μm)、微細流路の深さは、例えば25～200 μm 程度(好ましくは50～100 μm)である。

- [0031] これらの微細流路および流路エレメントによってマイクロチップ1内で行われる処理の一例について説明する。

- [0032] 図3(a)に示す132a～132eは、マイクロチップ1の一方の面から外部へ解放された開口である。これらの開口132a～132eは、ポンプ接続部6を介してマイクロチップ1をマイクロポンプ5に重ね合わせて接続した際に、マイクロポンプ5の接続面に設けられた流路開口と位置合わせされてマイクロポンプ5に連通される。144a～144dは、試薬を注入する試薬入口部であり、マイクロチップ1の一方の面から外部へ解放された開口となっている。また、147は、試料を注入する試料入口部であり、試薬入口部と同様にマイクロチップ1の一方の面から外部へ解放された開口となっている。133は試薬を収容する試薬収容部であり、137は試料を収容する試料収容部である。な

お、146は駆動液と試薬または試液との間の空気を抜く空気抜き用流路である。

[0033] 試薬収容部133及び試料収容部137の下流には、試薬収容部133からの試薬と試料収容部137からの試料とが混合され反応する反応部139が設けられている。

[0034] 試薬収容部133に収容された試薬は、開口132aに連通するマイクロポンプ5から送り込まれる駆動液11により、反応部139へ流れ込む。一方、試料収容部137に収容された試料は、開口132bに連通する別途のマイクロポンプ5から送り込まれる駆動液11により、反応部139へ流れ込む。これにより、反応部139において、試薬収容部133から送り込まれた試薬と試料収容部137から送り込まれた試料とが混合される。また、マイクロチップ1に駆動液11を注入しない構成として、例えばマイクロチップ1から空気抜きを取り除き、開口132a～132eからマイクロポンプ5により空気を吹き込む構成や、開口132a～132eに接続する配管にそれぞれ弁を設け、例えば副流路150cの試薬を送る場合には、開口132c以外の弁を閉じ、廃液部60の排気口から吸引ポンプで吸引する構成などが考えられる。

[0035] 反応部139で混合された試薬と試料は、検査装置80に設けられたヒータ32からの加熱によって反応が促進される。反応後の混合液は、被検出部148へ送液される。また、被検出部148には副流路からの試薬が送液される。これにより、被検出部148において、固定化されている反応物質に目的物質が捕捉されるとともに、副流路からの試薬により検出のための反応が行われる。光検出部4により当該反応の検出が行われる。

[0036] (本発明の構成)

次に主流路と副流路の接続について図3(b)を用いて説明する。図3(b)は、図3(a)におけるA部を拡大した図である。図3(b)において、149は反応部139から送液された混合液が流れる主流路、150a～150cは試薬が流れる副流路、151a～151cは試薬を副流路内に保持させるための撥水バルブ部、152a～152cは撥水バルブ部151a～151cと主流路149とを接続する接続部を示す。

[0037] 図4は、主流路149と接続部152aと撥水バルブ151aの拡大図である。撥水バルブ151a、151b、151cは同様の構成であるため、撥水バルブ151aを用いて図4における説明を行う。同様に、接続部152aを用いて図4における説明を行う。接続部1

52aの断面形状(幅 $a \times$ 深さ b)は、主流路の断面形状(幅 $a' \times$ 深さ b')と同等であり、接続部152aの幅 a は撥水バルブ151aの幅 a' より大きく、接続部152aの深さ b は撥水バルブ151aの深さ b' より大きい。また、接続部152aの流路長さ c は、接続部152aの断面の幅 a 及び深さ b より長い。

[0038] すなわち

$$a \div a', b \div b'$$

$$a > a', b > b'$$

$$c > a, c > b$$

である。

[0039] なお、接続部152bと撥水バルブ151bとの幅、深さの関係、接続部152cと撥水バルブ151cとの幅、深さの関係は、接続部152aと撥水バルブ151aとの幅、深さの関係と同様である。

[0040] 本実施形態では、接続部152aの幅 a は約 $300 \mu\text{m}$ 、接続部152aの深さ b は約 $200 \mu\text{m}$ 、接続部152aの流路長さ c は約 3mm である。また撥水バルブ151aの幅 a' は $50 \sim 100 \mu\text{m}$ 、撥水バルブ151aの深さ b' は $50 \sim 100 \mu\text{m}$ である。このような寸法の撥水バルブ151a及び接続部152aでは、副流路150a内に保管されている試薬は、マイクロチップの基材が疎水性であるため、撥水バルブ151aの出口で試薬の表面張力 f_1 により、試薬は接続部152a側に流出しないように保持されている。この表面張力 f_1 は、試薬の粘性や、撥水バルブ151aの寸法などにより左右される。

[0041] 試薬を撥水バルブ151aから接続部152aに送液するためには、開口132eと連通しているマイクロポンプ5から送液される駆動液11の送液力 f_2 を、表面張力 f_1 より大きくする。

[0042] 上記のような構成において、主流路149に反応部139からの混合液が流れる場合について考える。

[0043] 主流路149に反応部139からの混合液が流れると、副流路150a～150cにおける主流路149と接続される箇所が混合液により濡れることになる。また、混合液が主流路149を流れると、副流路150a～150cの試薬を主流路149に引っ張り込もうとする負圧が副流路150a～150cの試薬に作用する。

- [0044] このとき、図5に示すように、もし図3(b)で示すような接続部152a～152cを設けていなければ、撥水バルブ151'の出口側端部が主流路149'を流れる混合液により濡れることになる。撥水バルブ151'の出口側端部が濡れてしまうと、試薬の表面張力 f_1 は機能しなくなる。
- [0045] そして、この状態において、副流路150'の試薬を主流路149'に引っ張り込もうとする負圧が副流路150'の試薬に作用すると、試薬は撥水バルブ151'を通過し主流路149'に流れ込むことになる。
- [0046] 一方、本実施形態では、主流路149と撥水バルブ151a～151cとの間に撥水バルブ151a～151cより幅及び深さの大きい接続部152a～152cが設けられているので接続部152a～152cには空気が介在することとなる。このため、主流路149に混合液が流れたとしても、撥水バルブ151a～151cの出口側端部は濡れることがない。つまり、撥水バルブ151a～151cの出口側端部において試薬の表面張力 f_1 は維持された状態である。
- [0047] 従って、混合液が主流路149を流れるときに発生する負圧が副流路150a～150cの試薬に影響せず、主流路149を流れる混合液に副流路150a～150cの試薬が混合することはない。
- [0048] さらに、接続部152a～152cの流路長さ c を接続部152a～152cの幅 a 、及び接続部152a～152cの高さ b よりも長くすれば、副流路150a～150cの先頭に十分な量の空気を保持することができ好ましい。このようにすれば、副流路150a～150cから試薬を押し出した際に、十分な量の空気がまず主流路149に押し出されることになるので、主流路149を流れる先行する混合液と副流路150a～150cからの試薬とが完全に隔離される。これにより、主流路149を流れる混合液に対して副流路150a～150cの試薬が混ざり込むことが無くなる。

(検出手段)

次に複数の副流路150a～150cが有するそれぞれの試薬を、被検出部148の上流で遠い順に送液することについて説明する。

- [0049] 被検出部148では混合液をそのまま光検出することはできず、一般には、まず、混合液と、被検出部148の流路壁に固定化されている目的物質をトラップするための

反応物質153とを反応させ、目的物質を被検出部148の流路壁にトラップする。さらに、目的物質とハイブリダイゼーション反応する蛍光標識したプローブを結合させて光学的に検出できるようにしている。被検出部148の少なくともその検出部分は、光学的測定を可能とするために透明な材質、好ましくは透明なプラスチックとなっている。

[0050] ここで具体的に遺伝子検査を例にして説明する。

[0051] 1: 反応部139において検体の遺伝子増幅を行う試薬は、ビオチン修飾したプライマーであり、増幅された遺伝子を変性処理により一本鎖にした反応後の検体が被検出部148に送られる。被検出部148の流路壁には予めstreptavidin等のビオチン親和性タンパク質(アビジン、streptavidin、extravidin(R)、好ましくはstreptavidin)が反応物質153として担持されて固定化されている。反応部139で反応後の検体(混合液)が被検出部148に流入すると、ビオチン親和性タンパク質と、プローブ物質に標識されたビオチンと、の結合反応によって検体の遺伝子が被検出部148の流路壁に固定化(トラップ)される。前述したビオチン親和性タンパク質とビオチンとの結合反応は、公知のアビジン-ビオチン反応である。

[0052] さらに、混合液(この例では増幅遺伝子)をトラップする工程を経て、増幅遺伝子をトラップした被検出部148に、末端にFITC (Fluorescein isothiocyanate)で蛍光標識したプローブDNAを流し、これを固定化した遺伝子にハイブリダイズさせる。(予め増幅遺伝子と蛍光標識したプローブDNAとをハイブリダイズさせたものを被検出部でトラップしてもよい。)この状態で、蛍光計測を行っても良いがさらに、

2: 微細流路内にFITCに特異的に結合する抗FITC抗体で表面を修飾した金コロイド液を流し、これにより遺伝子にハイブリダイズしたFITC修飾プローブに、その金コロイドを吸着させる。

[0053] 3: 上記微細流路の金コロイドの濃度を光学的に測定する。

[0054] 以上のように、被検出部148では、微細流路に収容される各試薬(試薬)が順に送液され被検出部148に固定化されている反応物質と反応を行うが、この順序は予め決まっている。

[0055] 反応部139から送液され主流路149を通過した混合液は、被検出部148に送液さ

れ、被検出部148に固定化されている反応物質との反応が行われる(例えばアビチン-ビオチン反応)。

[0056] 次に、副流路150aに収容される試薬(試薬a:例えばFITC標準プローブDNA)が、被検出部148に送液され、被検出部148にてハイブリダイゼーション反応が行われる。

[0057] 次に、副流路150bに収容される試薬(試薬b:例えば抗FITC抗体修飾PEG化金コロイドなどの色素)が被検出部148に送液され、被検出部148にて抗原抗体反応が行われる。

[0058] 次に、副流路150cに収容される試薬(試薬c:洗浄液)が被検出部148に送液され、被検出部148に付着した余分な試薬が被検出部148から排出される。

[0059] その後、光検出部4により、被検出部148の測定が行われる。検出後の増幅産物は、廃液部60に送液される。

[0060] このように本実施形態では、複数の副流路150a～150cが有するそれぞれの試薬を、反応物質153の上流で遠い順に送液するようにしている。つまり、副流路150a、150b、150cの順に収容されている試薬a、b、cを送液する。このため、当該順番に送液してもよいように各副流路150a～150cに保管しておく試薬を決定して保管しておく。

[0061] 当該順番に送液する手段は、それぞれの副流路150a～150cに駆動液を送液するマイクロポンプを駆動することより行うことができる。

[0062] 図6は、マイクロチップ1と中間流路部材70とマイクロポンプ5の構成を上から見たブロック図であり、内容を解かり易くするために蓋などは省略してある。また駆動液の不純物をフィルタリングするフィルター部71の上流側についても省略してある。

[0063] マイクロチップ1は、試薬と試液の種類とその数により流路パターンがそれぞれ異なるが、駆動液を取り入れる開口部132は一定のピッチp1で設けられている。一方マイクロポンプ5は、ピッチp2の間隔で複数個基材上に形成されている。この時、ピッチp2は必ずしもピッチp1と一致するとは限らない。そのため、中間流路部材70を設けてピッチを合わせている。

[0064] 中間流路部材70とマイクロチップ1との接続部C1、及びマイクロポンプ5と中間流

路部材70との接続部C2は、必要なシール性を確保して駆動液の漏出を防止するために、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン樹脂などの柔軟性(弾性、形状追随性)をもつ樹脂によって密着面が形成されることが好ましい。このような柔軟性を有する密着面は、例えばマイクロチップ1の構成基材自体によるものであってもよく、また、接続部C1、C2における流路開口の周囲に貼着された柔軟性を有する別途の部材によるものであってもよい。またG1はマイクロチップ1を中間流路部材70に対して精度良く位置決めする規制部材であり、同じく中間流路部材70をマイクロポンプ5に対して精度良く位置決めする規制部材G2を備えている。

[0065] このように、複数のマイクロポンプ5を所定の順序で駆動させるように不図示の制御部から制御することにより、順番に副流路から主流路に試薬を送液することができる。

[0066] 以上のように、本実施形態によれば、主流路149に合流する複数の副流路150a～150cのそれぞれに、撥水バルブ151a～151c及び撥水バルブ151a～151cより幅及び深さの大きい接続部152a～152cを設けた。これにより、接続部152a～152cに存在する空気により撥水バルブ151a～151cの出口側端部が濡れることがなく、撥水バルブ151a～151cの出口側端部において試薬を堰き止めるための表面張力が正常に機能する。この結果、被検出部148への試料又は試薬の送液順に従って被検出部148の遠くから流路を合流させるような構成であって、副流路150a～150cの試薬を主流路149に引っ張り込もうとする負圧が当該試薬に作用しても、副流路150a～150cの試薬が撥水バルブ151a～151cを通過し主流路149に流れ込むことがない。

[0067] また、本実施形態のように接続部152a～152cの長さを、接続部152a～152cの幅及び深さよりも長くすれば、副流路150a～150cの先頭に十分な量の空気を保持することができる。このようにすれば、副流路150a～150cから試薬を押し出した際に、十分な量の空気がまず主流路149に押し出されることになるので、主流路149を流れる先行する混合液と副流路150a～150cからの試薬とが完全に隔離される。これにより、主流路149を流れる混合液に対して副流路150a～150cの試薬が混ざり込むことが無くなる。その結果、目的物質の検出を正確に行うことができる。

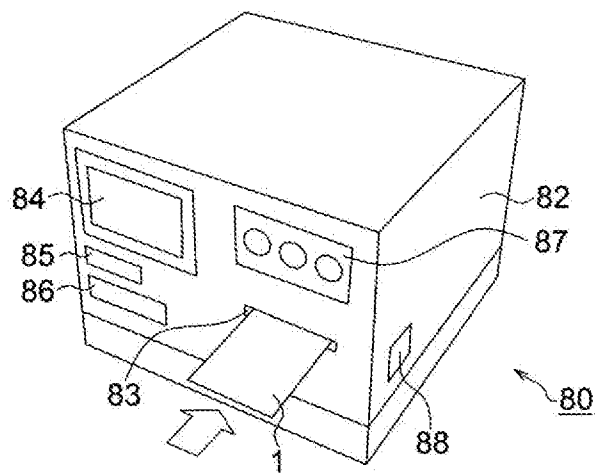
[0068] 本実施形態では、一例として被検出部148を例として説明したが、これに限らず、

ある箇所への流路の途中に別の流路が接続されている流路構成において、順に送液を行う場合に本発明を適用することができる。

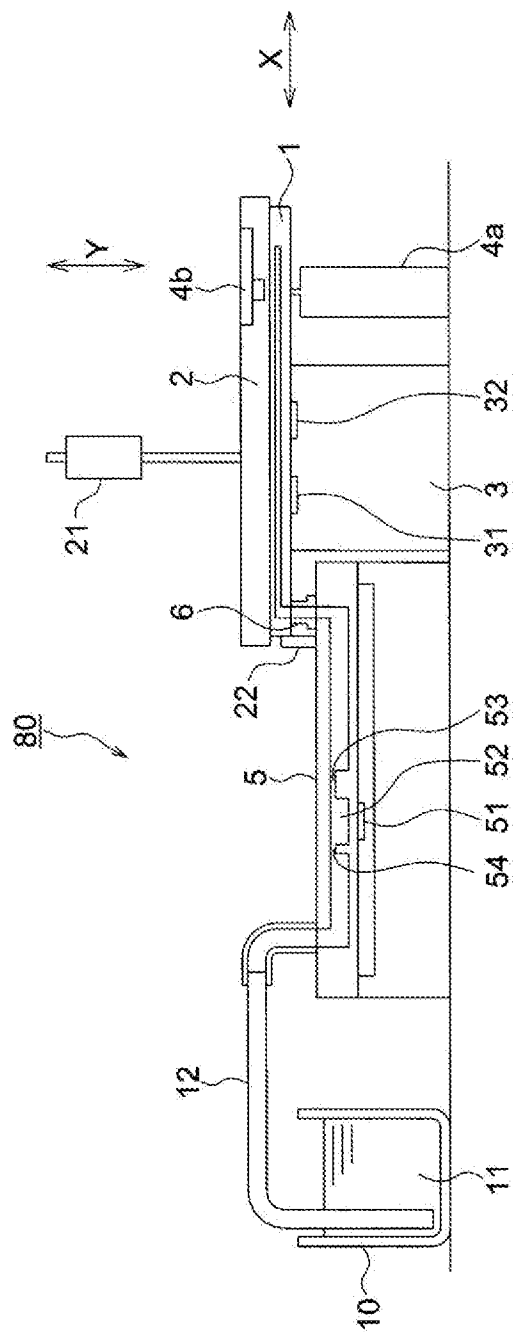
請求の範囲

- [1] 内部に疎水性の微細流路を有するマイクロチップにおいて、
試薬と試料の混合液が流れる主流路と、
試薬が流れる副流路と、
前記副流路の下流側端部に接続され、試薬を前記副流路内に保持させる撥水バルブ部と、
前記撥水バルブ部の下流側端部に接続されるとともに前記主流路の途中に接続される、前記撥水バルブ部よりも幅及び深さの大きい接続部と、
を有することを特徴とするマイクロチップ。
- [2] 前記接続部の流路長さは、前記接続部の幅及び深さよりも大きいことを特徴とする請求の範囲第1項に記載のマイクロチップ。

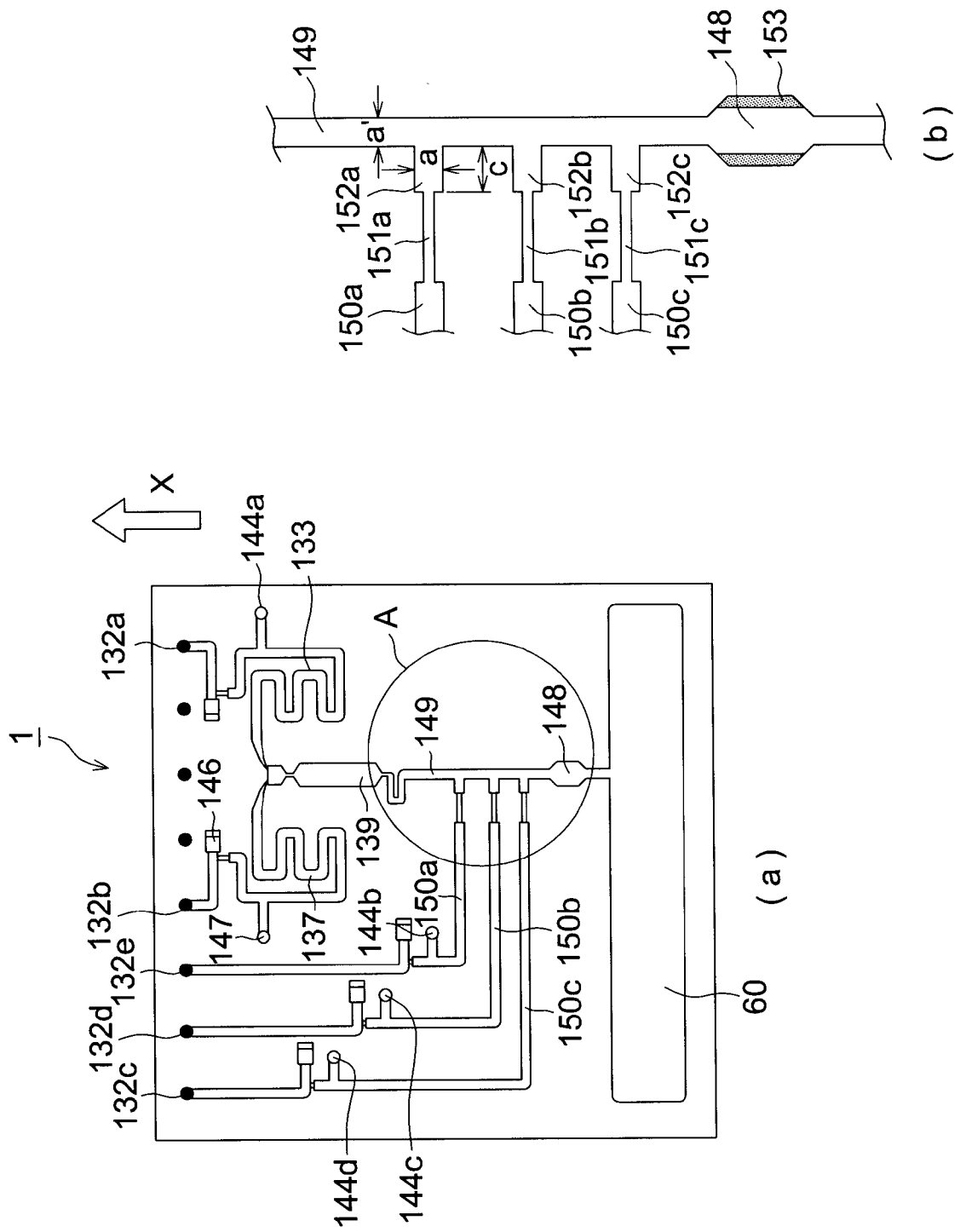
[図1]



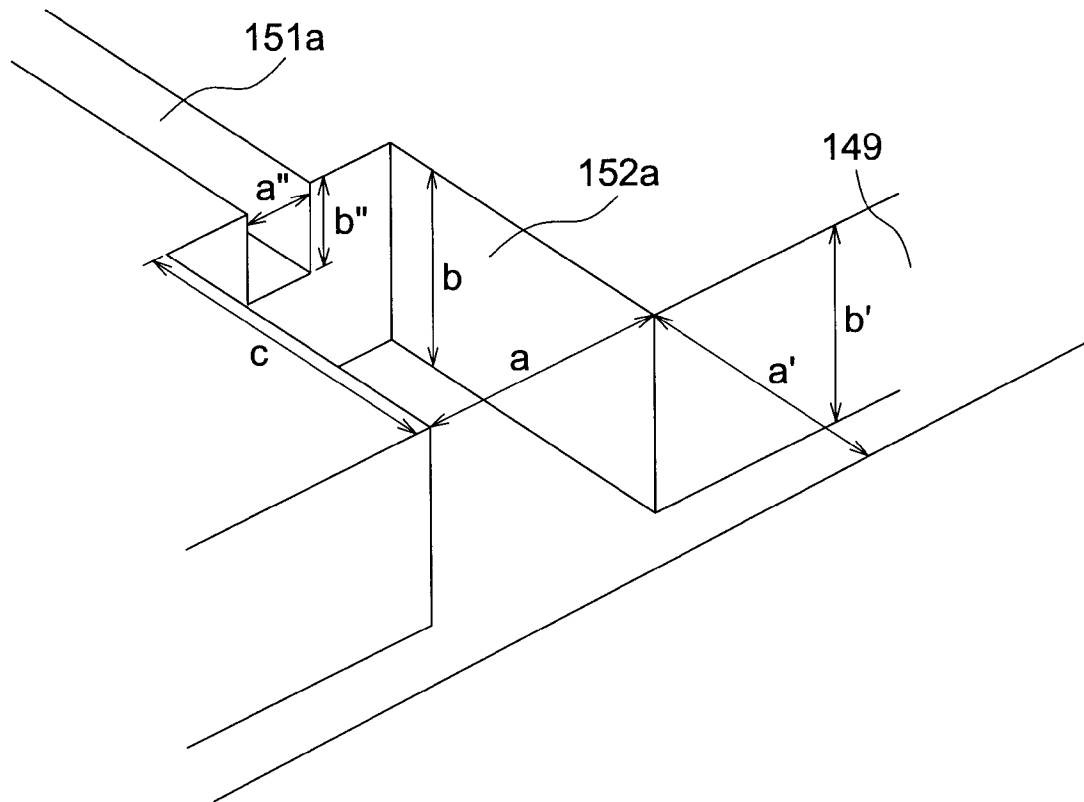
[図2]



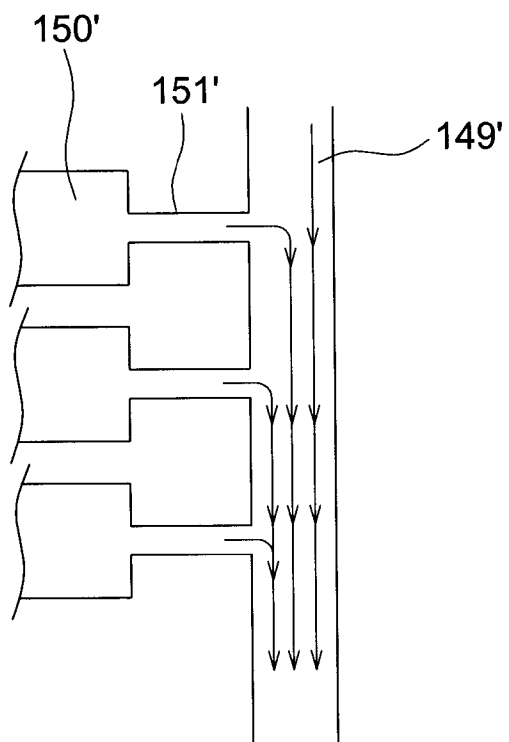
[図3]



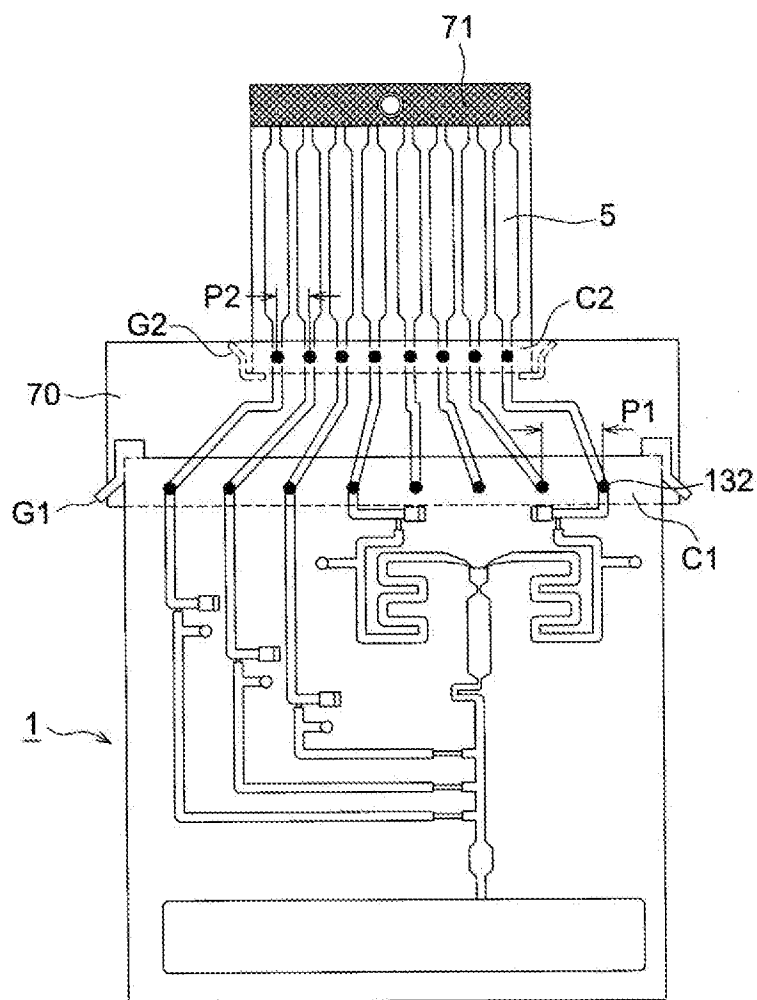
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/074509

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N35/08(2006.01) i, G01N37/00(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N35/00-37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2008

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2008 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-247533 A (Bussan Nanotech Research Institute Inc.), 21 September, 2006 (21.09.06), Par. Nos. [0004], [0039] to [0057]; Fig. 8 (Family: none)	1, 2
Y	JP 2005-017057 A (Aida Engineering, Ltd.), 20 January, 2005 (20.01.05), Par. Nos. [0012], [0019]; Figs. 1, 5 (Family: none)	1, 2
A	WO 2006/112498 A1 (Konica Minolta Medical & Graphic, Inc.), 26 October, 2006 (26.10.06), Par. Nos. [0046] to [0047]; Fig. 4 (Family: none)	1, 2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 February, 2008 (15.02.08)

Date of mailing of the international search report
26 February, 2008 (26.02.08)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G01N35/08(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G01N35/00-37/00			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2008年 日本国実用新案登録公報 1996-2008年 日本国登録実用新案公報 1994-2008年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
Y	JP 2006-247533 A（株式会社物産ナノテク研究所）2006.09.21 【0004】；【0039】－【0057】，【図8】（ファミリーなし）	1, 2	
Y	JP 2005-017057 A（アイダエンジニアリング株式会社）2005.01.20 【0012】；【0019】，【図1】；【図5】（ファミリーなし）	1, 2	
A	WO 2006/112498 A1（コニカミノルタエムジー株式会社）2006.10.26 [0046]－[0047]，[図4]（ファミリーなし）	1, 2	
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 15.02.2008		国際調査報告の発送日 26.02.2008	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 福田 裕司 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	