



(19)  
**Bundesrepublik Deutschland**  
**Deutsches Patent- und Markenamt**

(10) **DE 102 40 094 B4 2006.06.29**

(12)

## Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **102 40 094.6**  
 (22) Anmeldetag: **30.08.2002**  
 (43) Offenlegungstag: **10.04.2003**  
 (45) Veröffentlichungstag  
 der Patenterteilung: **29.06.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **G01N 33/50 (2006.01)**

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 2 Patentkostengesetz).

(30) Unionspriorität:  
**2001/264696 31.08.2001 JP**  
**2001/264716 31.08.2001 JP**  
**2001/264752 31.08.2001 JP**

(73) Patentinhaber:  
**Kabushiki Kaisha Toshiba, Tokio/Tokyo, JP**

(74) Vertreter:  
**HOFFMANN & EITLE, 81925 München**

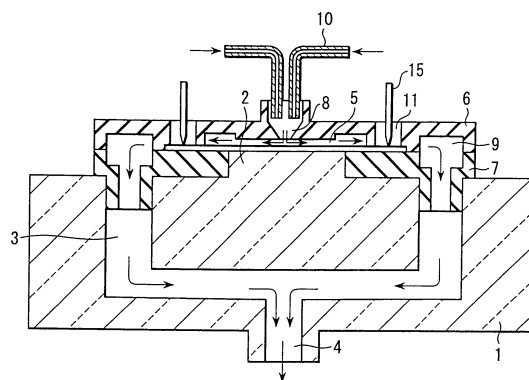
(72) Erfinder:  
**Kasahara, Akihiro, Chiba, JP; Ishimori, Yoshio, Kawasaki, Kanagawa, JP**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:  
**US 60 68 818 A**  
**WO 96/07 917 A1**  
**WO 95/12 808 A1**

(54) Bezeichnung: **Bauteil für die Detektion von biologischem Material und Verfahren und Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material**

(57) Hauptanspruch: Bauteil zur Detektion von biologischem Material, in das eine Probenflüssigkeit, enthaltend ein geladenes biologisches Material, eingeführt wird und das das biologische Material detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass es umfasst:

ein Substrat;  
 mindestens eine erste Elektrode, die an einer Position auf dem Substrat angebracht wird, zu der die Probenflüssigkeit eingeführt wird; und  
 eine Vielzahl von zweiten Elektroden, die in vorbestimmten Abständen um die erste Elektrode auf dem Substrat entlang einer Kreislinie angeordnet sind und an die jeweils Liganden, die mit vorbestimmten biologischen Materialien reagieren, immobilisiert sind; und  
 mindestens zwei ringförmige Elektroden, die konzentrisch zwischen der ersten Elektrode und der Anordnung von zweiten Elektroden angeordnet sind;  
 mindestens eine dritte Elektrode, die auf der äusseren Kreisumfangsseite der Anordnung der zweiten Elektroden auf dem Substrat gebildet wird.



**Beschreibung**

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG:

## Gebiet der Erfindung:

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein Bauteil für die Detektion von biologischem Material, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material und eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material, die verwendet werden, um biologisches Material, wie z.B. Gene und Proteine, zu detektieren.

## Stand der Technik

**[0002]** In letzter Zeit werden Systeme zur Detektion von biologischen Materialien, wie z.B. Genen und Proteinen, entwickelt. Beispielsweise wird die Detektion von Genen für die Vorhersage der durch Interferon bewirkten Heilungswirkung verwendet. Eine herkömmliche Detektionstechnik für biologisches Material wird unter Bezugnahme des Beispiels der Vorhersage der durch Interferon bewirkten Heilungswirkung beschrieben werden.

**[0003]** Es ist bekannt, dass, wenn eine Person mit Hepatitis C infiziert wird, diese Krankheit wahrscheinlich über eine Leberzirrhose zum Leberkrebs voranschreitet. Die Krankheit wird u.a. unter Verwendung von Interferon medizinisch behandelt. Es wird berichtet, dass die Injektion von Interferon lediglich bei etwa 20 bis 30 % der Japaner eine Heilungswirkung bewirkt und starke Nebenwirkungen zeigt, selbst wenn es diese Heilungswirkung bewirkt. Aus diesem Grund wird in letzter Zeit einer personalisierten medizinischen Behandlung Aufmerksamkeit geschenkt, bei der die Heilungswirkung von Interferon vorhergesagt wird, und Interferon nur verwendet wird, wenn eine Heilungswirkung erwartet werden kann.

**[0004]** Als ein Verfahren zur Vorhersage der Heilungswirkung von Interferon ist ein Verfahren des Überprüfens der Virusart und der Virusmenge auf dem Genniveau bekannt. Es wird angenommen, dass Interferon eine geringe Wirkung auf den Typ 1b hat, mit dem viele Japaner infiziert werden, aber eine Heilungswirkung auf den Typ 2a aufweist, und dass Interferon eine geringe Wirkung aufweist, wenn die Virusmenge  $10^6$  Kopien/ml oder mehr beträgt. Bei tatsächlichen Diagnosen werden diese Faktoren häufig vermischt, was zu einer Schwierigkeit bei der Vorhersage führt. In jüngerer Zeit ist als ein Verfahren zur Vorhersage der Heilungswirkung von Interferon ein Verfahren berichtet worden, bei dem eine einzelne Nukleotidpolymorphie [single nucleotide polymorphism (SNP)], die in dem Promotorbereich des Gens existiert, das für das MxA-Protein codiert, als ein Marker verwendet wird. Gemäss diesem Bericht ist die Wirkung von Interferon gerings, wenn die SNP vom

Typ G/G ist, während Interferon wirksam funktioniert, wenn die SNP vom Typ G/T oder T/T ist.

**[0005]** Wie oben beschrieben, ist es möglich geworden, die Heilungswirkung von Interferon durch Analyse auf dem Genniveau vorherzusagen. All diese Verfahren haben unhandliche, teure herkömmliche Techniken verwendet (Elektrophorese, Mikrotiter EIA und dergleichen), und daher bestand ein Bedarf an einfacheren Verfahren für die klinische Untersuchung.

**[0006]** Unter diesen Umständen ist in letzter Zeit Aufmerksamkeit einer Genuntersuchungstechnik unter Verwendung eines Bauteils für die Detektion von biologischem Material geschenkt worden, das als DNA-Chip bezeichnet wird (Beattie et al. 1993, Fodor et al. 1991, Khrapko et al. 1989 und Southern et al. 1994). Der DNA-Chip wird gebildet aus einem quadratischen Glas- oder Siliciumchip von einigen Zentimetern, auf dem eine Vielzahl von Typen von DNA-Sonden mit verschiedenen Sequenzen immobilisiert ist. Eine Mischung eines Probegens, markiert mit einem Fluoreszenzfarbstoff, Radioisotopenelement (RI) oder dergleichen oder nicht-markiertes Proben und markiertes Oligonukleotid werden auf dem Chip zur Reaktion gebracht. Wenn in der Probe eine Sequenz vorkommt, die zu der DNA-Sonde auf dem Chip komplementär ist, kann ein Signal durch den Marker bei einem spezifischen Segment auf dem Chip erhalten werden. Wenn die Sequenzen und die Position der immobilisierten DNA-Sonden zuvor bekannt sind, kann eine in der Genprobe existierende Basensequenz leicht überprüft werden. Ein solcher DNA-Chip ermöglicht es, viele Arten von Informationen betreffend Basensequenzen durch einen Test zu erhalten, und daher kann er als eine klinische Diagnostiktechnik verwendet werden (Pease et al. 1994, Parinov et al. 1996).

**[0007]** Das Prinzip einer elektrochemischen Gendetektionsmethode unter Verwendung eines DNA-Chips wird schematisch in **Fig. 25** gezeigt.

**[0008]** In einem typischen herkömmlichen DNA-Chip wird eine Probenflüssigkeit aus einer wässrigen Genlösung aus einem Probenflüssigkeits-Einführteil, der an einem Endteil der Chipoberfläche angebracht ist, eingeführt, fließt über verschiedene DNA-Sonden, die in den Zellen einer Matrix immobilisiert sind, und wird dann von einem Probenflüssigkeits-Entladeteil, das auf dem anderen Endteil der Chipoberfläche angebracht ist, entladen. Der gesamte DNA-Chip wird mit einem Harzgehäuse bedeckt, und der Teil, in dem die DNA-Sonden immobilisiert sind, ist transparent, um optische Signale, wie z.B. Fluoreszenz, abzulesen.

**[0009]** Der obige herkömmliche DNA-Chip ist so gestaltet, dass in dem Verfahren, in dem eine Proben-

flüssigkeit von einem Endteil der Chipoberfläche zu dem anderen Endteil fließt, die Flüssigkeit auf die DNA-Sonden geleitet wird, die in Form einer Matrix angeordnet sind. Da es schwierig ist, die Probenflüssigkeit gleichförmig über die DNA-Sonden fließen zu lassen, ist es schwierig zu erreichen, dass das Gen und die DNA-Sonde zuverlässig miteinander reagieren. Dies führt leicht zu Schwankungen im Detektionsergebnis.

**[0010]** Da die Genkonzentration in der Probenflüssigkeit im allgemeinen gering ist, muss, wenn ein herkömmlicher DNA-Chip ohne genkonzentrierende Wirkung verwendet wird, ein zu detektierendes Gen zuvor durch ein Genamplifikationsverfahren, wie z.B. das PCR-Verfahren, amplifiziert werden.

**[0011]** Herkömmlicherweise wird in einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material für die Detektion von Genen durch elektrochemische Messung unter Verwendung eines DNA-Chips eine Strommessung durchgeführt, während eine Spannung zwischen den Elektroden in einer geeigneten elektrolytischen Lösung, die sich in einem Gefäß (100) befindet, angelegt ist, wie in Fig. 27 gezeigt. Elektroden (101), (102) und (103), genannt Gegenelektrode, Referenzelektrode und Arbeitselektrode, werden in das Gefäß (100) eingeführt.

**[0012]** Die Referenzelektrode (102) ist eine Elektrode zum Anlegen eines Referenzpotentials zu der Gegenelektrode (101), die auf einem vorherbestimmten Potential gehalten wird. Ein Voltmeter (106) wird zwischen der Gegenelektrode (101) und der Referenzelektrode (102) angeschlossen, um das Potential der Gegenelektrode (101) zu messen. Zudem wird eine variable Gleichstrom-Spannungsquelle (104) zwischen der Gegenelektrode (101) und der Arbeitselektrode (103) angeschlossen. Die variable Gleichstrom-Spannungsquelle (104) verändert eine angelegte Spannung zwischen der Gegenelektrode (101) und der Arbeitselektrode (103). Das Spannungswobeln bewirkt eine Stromveränderung, die durch ein Amperemeter (105) gemessen wird, wodurch ein Gen detektiert wird.

**[0013]** WO96/07917 sowie WO95/12808 beschreiben zweidimensionale Elektrodenarrays, verwendbar zur Hybridisierung von Nucleinsäuren und der Synthese von Biopolymeren.

**[0014]** US 6,068,818 beschreibt Elektrodenarrays, welche Fokussierungselektroden umfassen.

**[0015]** Fig. 28 zeigt eine Verfahrensweise zur Detektion eines Gens durch eine Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material mit einer Anordnung, wie der in Fig. 27 gezeigten, unter Verwendung eines Nucleinsäureinterkalierenden Mittels. Zuerst wird eine Probenflüssigkeit zugeführt (Schritt S1). Mit die-

sem Vorgang wird die Flüssigkeitsprobe an eine DNA-Sonde (einzelsträngige DNA, die mit einem spezifischen Gen reagiert), die an der Arbeitselektrode immobilisiert ist, gehaftet, wobei sich die DNA in der Flüssigkeit in eine Einzelstrang-DNA umwandelt, wodurch sie hybridisiert. Die Probenflüssigkeit, die nicht an der DNA-Sonde haftet, wird dann gereinigt (Schritt S2). Anschliessend wird ein Interkalierungsreagens (Nucleinsäure-Interkalierungsmittel), das spezifisch mit einer doppelsträngigen DNA reagiert, zugeführt, um die Detektionsempfindlichkeit zu verbessern (Schritt S3), und nicht notwendiges Interkalierungsmittel wird weiterhin gespült. Schliesslich wird eine Spannung zwischen der Gegenelektrode (101) und der Arbeitselektrode (103) angelegt und der von dem Interkalierungsmittel erhaltene Oxidationsstrom wird gemessen, mit anderen Worten wird ein elektrochemisches Signal, das von dem Interkalierungsmittel erhalten wird, gemessen (Schritt S5).

**[0016]** Eine Strompotentialkurve von Hoechst 33258 als ein DNA-Binder, ist in Fig. 26 gezeigt.

**[0017]** Wie oben beschrieben, ist es in der herkömmlichen Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material schwierig, die Gendetektionsempfindlichkeit zu verbessern, da die Strommessung nur einmal in bezug auf eine Arbeitselektrode (DNA-Chip) durchgeführt werden kann.

**[0018]** Fig. 29 zeigt eine Veränderung in der Stromdichte, wenn ein gegebenes Plasmid (pYRB259) unter Verwendung eines elektrochemischen DNA-Chips gemessen wird. Wie offensichtlich ist, kann ein niederkonzentriertes Gen nicht detektiert werden, da der Untergrundstrom hoch ist. Im allgemeinen, da die Genkonzentration einer Probenflüssigkeit gering ist, muss ein Targetgen zuvor durch ein Genamplifikationsverfahren, wie z.B. die PCR-Methode, amplifiziert werden.

## Aufgabenstellung

### KURZE ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG:

**[0019]** Das der Erfindung zugrundeliegende Ziel ist die Bereitstellung eines Bauteils für die Detektion von biologischem Material und einer Detektionsvorrichtung, die es ermöglichen, dass ein biologisches Detektionstarget und ein Ligand miteinander unter gleichförmigen Bedingungen reagieren.

**[0020]** Es ist ein weiteres Ziel der Erfindung, ein biologisches Material in einer Probenflüssigkeit während der Detektion zu konzentrieren.

**[0021]** Um die obigen Ziele zu erreichen, wird gemäss den erfindungsgemässen Ausführungsformen ein Bauteil für die Detektion von biologischem Material bereitgestellt, in das eine Probenflüssigkeit, ent-

haltend ein geladenes biologisches Material, eingeführt wird und das das biologische Material detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass es umfasst:

ein Substrat;

mindestens eine erste Elektrode, die an einer Position auf dem Substrat angebracht wird, zu der die Probenflüssigkeit eingeführt wird; und

eine Vielzahl von zweiten Elektroden, die in vorbestimmten Abständen um die erste Elektrode auf dem Substrat entlang einer Kreislinie angeordnet sind und an die jeweils Liganden, die mit vorbestimmten biologischen Materialien reagieren, immobilisiert sind; und mindestens zwei ringförmige Elektroden, die konzentrisch zwischen der ersten Elektrode und der Anordnung von zweiten Elektroden angeordnet sind; mindestens eine dritte Elektrode, die auf der äusseren Kreisumfangsseite der Anordnung der zweiten Elektroden auf dem Substrat gebildet wird.

**[0022]** Gemäss den erfindungsgemässen Ausführungsformen wird eine Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material bereitgestellt, in die eine Probenflüssigkeit, enthaltend ein geladenes biologisches Material, eingeführt wird und die das biologische Material detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein erfindungsgemässes Bauteil zur Detektion von biologischem Material wie oben dargestellt umfasst, weiter umfassend:

einen Steuerstromkreis, der das Bauteil zur Detektion von biologischem Material durch Durchführen eines Steuerbetriebes mit Anlegen einer Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität des biologischen Materials an die erste Elektrode und Anlegen einer Spannung mit einer der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität an mindestens einige der zweiten Elektroden steuert; und

der Steuerstromkreis weiterhin den Steuerbetrieb des Anlegens von polaritätskontrollierten Spannungen an mindestens die zwei ringförmigen Elektroden leistet, um das biologische Material in der Probenflüssigkeit zu den zweiten Elektroden zu bewegen.

**[0023]** Eine weitere Ausführungsform der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material ist dadurch gekennzeichnet, dass der Steuerstromkreis weiterhin den Steuerbetrieb des Anlegens einer Spannung mit einer gegenüber der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität an einige der zweiten Elektroden in der Kreislinie und Anlegen einer Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität an einige andere Elektroden der zweiten Elektroden leistet, während in Folge die Positionen der Elektroden, an die Spannungen mit der entgegengesetzten Polarität und der gleichen Polarität angelegt werden sollen, verändert werden.

**[0024]** In einer weiteren Ausführungsform ist die oben dargestellte Vorrichtung, die ein geladenes biologisches Material, das in einer Probenflüssigkeit enthalten ist, detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass

sie umfasst:

einen Probenflüssigkeits-Einführteil, um die Probenflüssigkeit auf einen mittigen Abschnitt der Anordnung der Elektroden auf dem Substrat einzuführen; und

einen Mechanismus zum Bewegen der Probenflüssigkeit, um die zu dem mittigen Abschnitt des Substrats durch den Probenflüssigkeits-Einführteil eingeführte Probenflüssigkeit radial zu den Elektroden zu bewegen.

**[0025]** Schliesslich ist in einer weiteren Ausführungsform die Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material dadurch gekennzeichnet, dass sie umfasst: eine Kontrollvorrichtung, die so konfiguriert ist, dass ein Verfahren, welches wiederholt durchgeführt wird, kontrolliert wird, wobei das Verfahren eine Reihenfolge der Schritte umfasst:

(a) Zuführen eines Interkalierungsmittels auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material,

(b) Messen eines elektrochemischen Signals von dem Interkalierungsmittel, das auf einer Reaktion zwischen dem geladenen biologischen Material und dem Liganden basiert, und

(c) Entfernen des an dem Liganden haftenden interkalierenden Mittels, wodurch das geladene biologische Material detektiert wird.

**[0026]** Gemäss den erfindungsgemässen Ausführungsformen wird ein Detektionsverfahren von biologischem Material zur Detektion von geladenem biologischen Material, enthalten in einer Probenflüssigkeit, mit einem erfindungsgemässen Bauteil zur Detektion eines biologischen Materials oder unter Verwendung einer erfindungsgemässen Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material, bereitgestellt, wobei das Verfahren umfasst:

nach Zuführen der Probenflüssigkeit auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material Wiederholen einer Reihenfolge der Schritte:

(a) Zuführen eines Interkalierungsmittels auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material,

(b) Messen eines elektrochemischen Signals von dem Interkalierungsmittel, das auf einer Reaktion zwischen dem geladenen biologischen Material und dem Liganden basiert, und

(c) Entfernen des an dem Liganden haftenden interkalierenden Mittels, wodurch das geladene biologische Material detektiert wird.

#### Ausführungsbeispiel

#### KURZE BESCHREIBUNG DER VERSCHIEDENEN ANSICHTEN DER ZEICHNUNGEN:

**[0027]** [Fig. 1](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material, enthaltend ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss einer ersten erfindungsgemässen Ausführungsform, zeigt;

- [0028] [Fig. 2A](#) ist eine Draufsicht eines oberen Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0029] [Fig. 2B](#) ist eine Querschnittsansicht des oberen Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0030] [Fig. 2C](#) ist eine Ansicht von unten des oberen Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0031] [Fig. 3A](#) ist eine Draufsicht eines unteren Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0032] [Fig. 3B](#) ist eine Querschnittsansicht des unteren Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0033] [Fig. 3C](#) ist eine Ansicht von unten des unteren Halters in der ersten Ausführungsform;
- [0034] [Fig. 4](#) ist eine Draufsicht des Bauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform, die zeigt, wie ein Steuerstromkreis an das Bauteil zur Detektion von biologischem Material angeschlossen wird;
- [0035] [Fig. 5A–Fig. 5C](#) sind Ansichten zum Erklären des Grundbetriebs des Bauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform;
- [0036] [Fig. 6A–Fig. 6C](#) sind Ansichten zum Erklären der Bewegung eines biologischen Detektionstargets auf den Arbeitselektroden in dem Bauteil für die Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform;
- [0037] [Fig. 7A–Fig. 7C](#) sind Ansichten zum Erklären der Elektrodenanordnung eines Bauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform und der Konzentrierung eines biologischen Detektionstargets und seiner Bewegung zu einem Randabschnitt in dem Bauteil zur Detektion des biologischen Materials;
- [0038] [Fig. 8A–Fig. 8C](#) sind Ansichten zum Erklären der Bewegung eines biologischen Detektionstargets auf den Arbeitselektroden in dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform;
- [0039] [Fig. 9](#) ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material zeigt;
- [0040] [Fig. 10](#) ist eine Draufsicht eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material die zeigt, wie ein Steuerstromkreis an das Bauteil zur Detektion von biologischem Material angeschlossen wird;
- [0041] [Fig. 11](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material, umfassend ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss einer zweiten erfindungsgemässen Ausführungsform, zeigt;
- [0042] [Fig. 12](#) ist ein Flussdiagramm zur Erklärung einer Verfahrensweise zur Detektion von biologischem Material in der zweiten Ausführungsform;
- [0043] [Fig. 13](#) ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material zeigt;
- [0044] [Fig. 14](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material zeigt, bei der eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material angewendet wird, gemäss der dritten erfindungsgemässen Ausführungsform;
- [0045] [Fig. 15](#) ist eine Draufsicht, die die schematische Anordnung eines Vergleichsbauteils für die Detektion von biologischem Material zeigt;
- [0046] [Fig. 16A–Fig. 16C](#) sind Ansichten, die das erste Beispiel des Steuerbetriebs des Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss [Fig. 15](#) zeigen;
- [0047] [Fig. 17A–Fig. 17C](#) sind Ansichten, die das zweite Beispiel des Steuerbetriebs des Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss [Fig. 15](#) zeigen;
- [0048] [Fig. 18A–Fig. 18C](#) sind Ansichten, die das dritte Beispiel des Steuerbetriebs des Vergleichsbauteils zur Detektion für das biologische Material gemäss [Fig. 15](#) zeigen;
- [0049] [Fig. 19A–Fig. 19C](#) sind Ansichten, die das vierte Beispiel des Steuerbetriebs für das Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss [Fig. 15](#) zeigen;
- [0050] [Fig. 20A–Fig. 20C](#) sind Ansichten zur Erklärung einer weiteren Elektrodenanordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss [Fig. 15](#) und der Konzentrierung und Bewegung eines biologischen Detektionstargets in dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material;
- [0051] [Fig. 21A–Fig. 21B](#) sind eine Draufsicht und eine Querschnittsansicht, die eine weitere Anordnung einer Vergleichsvorrichtung zur Detektion von biologischem Material zeigen;
- [0052] [Fig. 22](#) ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material zeigt;

[0053] [Fig. 23](#) ist eine Draufsicht, die die schematische Anordnung einer Vergleichsvorrichtung zur Bearbeitung eines biologischen Materials zeigt, an die eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material angeschlossen ist,;

[0054] [Fig. 24](#) ist eine Ansicht, die eine mizellare Struktur zeigt, die in einer Vergleichsvorrichtung zur Bearbeitung eines biologischen Materials verwendet wird, an das eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material angeschlossen ist,;

[0055] [Fig. 25](#) ist eine Ansicht zur Erklärung des Prinzips einer elektrochemischen Gendetektionsmethode;

[0056] [Fig. 26](#) ist eine Grafik, die ein Beispiel einer Strompotentialantwort eines DNA-Binders (Hoechst 33258) in dem elektrochemischen Gendetektionsverfahren zeigt;

[0057] [Fig. 27](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung bei einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material unter Verwendung einer herkömmlichen elektrochemischen Messung zeigt;

[0058] [Fig. 28](#) ist ein Flussdiagramm, das ein Verfahren zur Detektion von biologischem Material auf Grundlage einer herkömmlichen elektrochemischen Messung zeigt; und

[0059] [Fig. 29](#) ist eine Grafik, die ein Beispiel des Gendetektionsergebnisses zeigt, das durch Detektion von biologischem Material unter Verwendung einer herkömmlichen elektrochemischen Messung erhalten wird.

#### DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG:

[0060] Die erfindungsgemässen Ausführungsformen werden unten unter Bezugnahme auf die Ansichten der begleitenden Zeichnungen beschrieben.

#### Erste Ausführungsform:

[0061] [Fig. 1](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material, umfassend ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten erfindungsgemässen Ausführungsform zeigt. Eine Basis (1) weist einen vorstehenden Bauteilmontierteil (2) auf ihrem mittleren oberen Abschnitt auf, auf dem ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) (wird später im Detail beschrieben) montiert ist. Die Basis (1) weist auch ein Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) in den zwei Seiten in [Fig. 1](#) und einen Probenflüssigkeitsaussag (4) in einem mittleren unteren Abschnitt, der mit dem Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) in Verbindung steht, auf.

[0062] Ein oberer Halter (6) und ein unterer Halter (7) werden auf der Basis (1) montiert. Der obere und der untere Halter halten das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5), das auf dem Bauteilmontierteil (2) montiert ist, von sowohl der oberen wie auch der unteren Seite und führen hauptsächlich eine Probenflüssigkeit in das Bauteil (5) und die Probenflüssigkeit, die durch das Bauteil (5) fließt, in das Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3). Die Strukturen des oberen und unteren Halters (6) und (7) werden im Detail später beschrieben.

[0063] Ein Probenflüssigkeits-Einführteil (8) wird in dem mittleren Abschnitt des oberen Halters (6) gebildet. Das distale Ende eines Probenflüssigkeits-Zufuhrrohres (10) wird mit diesem Probenflüssigkeits-Einführteil (8) verbunden. Eine Probenflüssigkeitsquelle (nicht gezeigt) wird mit dem proximalen Endteil (nicht gezeigt) des Probenflüssigkeits-Zufuhrrohres (10) verbunden. Eine Probenflüssigkeit mit einem geeigneten positiven Druck wird von dieser Probenflüssigkeitsquelle in den Probenflüssigkeits-Einführteil (8) zugeführt. Die zu dem Probenflüssigkeits-Einführteil (8) zugeführte Probenflüssigkeit wird auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) geleitet und für die Detektion eines biologischen Materials verwendet. Hiernach wird die Probenflüssigkeit ausserhalb durch einen Probenflüssigkeitsaussag (4) unter einem geeigneten negativen Druck über eine Probenflüssigkeitsleitung (9), die durch den unteren und oberen Halter (6) und (7) gebildet wird, und das Loch für die Probenflüssigkeitspassage, das in der Basis (1) gebildet ist, entladen.

[0064] Ein rechteckiges durchgehendes Loch (11) wird in dem oberen Halter (6) gebildet. Das distale Ende einer Kontaktelektrode (15) kann mit einer Elektrode, die als Arbeitselektrode dient, auf dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) durch Einführen der Kontaktelektrode (15) über das durchgehende Loch (11) in Kontakt gebracht werden. Durch Verwendung dieser Kontaktelektrode (15) kann ein Detektionssignal von biologischem Material als ein elektrisches Signal, wie z.B. ein Strom- oder Spannungssignal, abgenommen werden.

[0065] Die [Fig. 2A](#), [Fig. 2B](#) und [Fig. 2C](#) sind jeweils eine Draufsicht, eine Querschnittsansicht und eine Ansicht von unten des oberen Halters (6). Unter Bezugnahme auf [Fig. 2C](#) sind die Durchlaufwege einer Probenflüssigkeit durch die Pfeile in [Fig. 2C](#) angezeigt. Ein zentraler Teil (12) (ein Teil der Basis (1), der dem Bauteilmontierteil (2) gegenüberliegt) auf der unteren Oberfläche des oberen Halters (6), die dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) gegenüberliegt, steht leicht nach unten vor. Ein ringartiges Loch für die Probenflüssigkeitspassage (13), das mit der Probenflüssigkeitsleitung (9), die in [Fig. 1](#) gezeigt ist, in Verbindung steht, wird um den zentralen Teil (12) gebildet. Ein Vertiefungsteil (9A), der die

Probenflüssigkeitsleitung (9) bildet, wird in der unteren Oberfläche des oberen Halters (6) gebildet.

**[0066]** Der Probenflüssigkeits-Einführteil (8), der in dem zentralen Teil des oberen Halters (6) gebildet ist, ist ein sich verjüngendes Loch. Die in diesen Probenflüssigkeits-Einführteil (8) eingeführte Probenflüssigkeit dehnt sich radial aus. In diesem Verfahren wird die Probenflüssigkeit auf einen Ligandenimmobilisierenden Teil des Bauteils für die Detektion von biologischem Material (5) geleitet. Anschliessend wird die Probenflüssigkeit zu der Probenflüssigkeitsleitung durch das Loch für die Probenflüssigkeitspassage (13) geleitet und ausserhalb durch den Probenflüssigkeitsauslass (4) über das in der Basis (1) gebildete Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) entladen, wie oben beschrieben.

**[0067]** Die [Fig. 3A](#), [Fig. 3B](#) und [Fig. 3C](#) sind jeweils eine Draufsicht, eine Querschnittsansicht und eine Ansicht von unten des unteren Halters (7). Der untere Halter (7) weist ein Loch (14) in seinem zentralen Abschnitt auf, in den der Bauteilmontierteil (2) der Basis (1), gezeigt in [Fig. 1](#), eingeführt wird. Die rechteckigen Vertiefungsteile (9B) und die kreisförmigen Löcher (9C), die mit den Vertiefungsteilen (9B) in Verbindung stehen, die teilweise den anderen Teil der Probenflüssigkeitsleitung (9) bilden, gezeigt in [Fig. 1](#), werden sowohl in der linken wie auch der rechten Seite des unteren Halters (7) in den [Fig. 3A](#) bis [Fig. 3C](#) gebildet.

**[0068]** Die Probenflüssigkeit, die von dem Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) in dieser Weise zugeführt wird, wird durch den oberen Halter (6) und den unteren Halter (7) geleitet und von dem zentralen Teil in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) eingeführt. Nach dem gleichförmigen Zuführen der Probenflüssigkeit zu den Liganden-immobilisierenden Teilen, die auf dem Randteil des Bauteils (5) vorliegen, wird die Flüssigkeit unten entladen. Die Detektion eines biologischen Materials in der Probenflüssigkeit kann daher unter gleichförmigen Bedingungen vorgenommen werden.

**[0069]** Wie in [Fig. 1](#) gezeigt, wird das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) durch den oberen Halter (6) und den unteren Halter (7) gehalten. In diesem Fall kann das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) fest mit der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material verbunden sein, mit anderen Worten, es kann eine elektrodenintegrierte Anordnung aufweisen. Alternativ kann das Bauteil (5) so gestaltet sein, dass es von der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material durch Abtrennen des oberen Halters (6) abgetrennt wird, mit anderen Worten kann es eine Anordnung vom Elektrodentrennungstyp aufweisen.

**[0070]** Die detaillierte Anordnung des Bauteils zur

Detektion von biologischem Material (5) gemäss dieser Ausführungsform wird im folgenden unter Bezugnahme auf [Fig. 4](#) erläutert werden.

**[0071]** Wie in [Fig. 4](#) gezeigt, wird das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) durch Bereitstellen der Elektroden (21), (22) und (23) und der Elektrodenkontakte (24) auf einem Bauteilsubstrat (20) gebildet.

**[0072]** Erfindungsgemäss umfasst das Bauteil noch mindestens zwei ringförmige Elektroden, die konzentrisch zwischen der ersten Elektrode und der Anordnung von zweiten Elektroden angeordnet sind.

**[0073]** Die Oberflächen der Elektroden (21), (22) und (23) können mit der Oberfläche des Bauteilsubstrats (20) in einer Ebene liegen, oder sie können so eingebettet sein, dass sie leicht von der Oberfläche des Bauteilsubstrats (20) versenkt sind. Die Elektroden (21), (22) und (23) und die Elektrodenkontakte (24) werden miteinander über z.B. eine mehrschichtige Zwischenverbindung, die auf dem Bauteilsubstrat (20) gebildet wird, verbunden.

**[0074]** Die kreisförmige Elektrode (21), die auf dem zentralen Teil ausgebildet ist, dient als Gegenelektrode. Die Elektrode (23), die in einer ringförmigen Form mittig um die Elektrode (21) ausgebildet ist, dient als Referenzelektrode, um ein Referenzpotential für die Gegenelektrode bereitzustellen. Die kreisförmigen Elektroden (22) sind in regelmässigem Abstand auf einer Kreislinie auf der Innenseite der Elektrode (23) angeordnet. Diese Elektroden (22) dienen als Arbeitselektroden zur Detektion eines biologischen Materials. Die Oberflächen der Elektroden (21), (22) und (23) sind mit einem dünnen isolierenden Film (nicht gezeigt) bedeckt, und dieser dünne isolierende Film wird einer lithografischen Verarbeitung unterworfen. Bei der lithografischen Verarbeitung werden Teile der Oberfläche der Elektrode (21) und (23) entfernt und die leitfähigen Teile der Elektroden werden so freigelegt, dass elektrische Signale durch die Teile herausgenommen werden können. Die Details der auf dem dünnen isolierenden Film durchgeführten lithografischen Verarbeitung werden später beschrieben werden.

**[0075]** Zumindest ein spezifischer Detektionsligand wird an der Elektrode (22), die als eine Arbeitselektrode dient, immobilisiert. Das heisst, die Elektrode (22) dient auch als ein Liganden-immobilisierender Teil. Der an jeder Elektrode (22) immobilisierte Ligand wird ausgewählt aus einem Vertreter von z.B. einem Gen, einer Gensonde, einem Protein, einem Proteinsegment, einem Coenzym, einem Rezeptor und einer Zuckerkette gemäss dem zu detektierenden biologischen Material.

**[0076]** Wenn verschiedene Liganden an den jewei-

ligen Elektroden immobilisiert werden, kann eine Vielzahl von biologischen Materialien auf einmal detektiert werden. Zusätzlich, wenn identische Liganden an die jeweiligen Elektroden (22) immobilisiert werden, können viele biologische Materialien gleichzeitig detektiert werden. Wenn viele Elektroden (22) (Liganden-immobilisierende Teile) auf dem Bauteilsubstrat (20) zuvor durch Fotolithografie gemustert werden, verbessert sich die Produktivität der Bauteile zur Detektion von biologischem Material (5).

**[0077]** Wenn ein zu detektierendes biologisches Material ein Gen ist, wird eine DNA-Sonde als ein Ligand an der Elektrode (22) immobilisiert. Wie bekannt ist, ist eine DNA-Sonde ein einzelsträngiges Gen, das mit einem spezifischen Gen reagiert. Wenn Gene in einer Probenflüssigkeit zuvor in ein einzelsträngiges Gen umgewandelt werden, wird nur ein Gen mit einer spezifischen Sequenz, die der an der Elektrode (22) immobilisierten DNA-Sonde entspricht, durch die Elektrode (22) gefangen. Anschliessend binden die DNA-Sonde und das Gen komplementär zueinander (Hybridisierung).

**[0078]** Die obige Anordnung wird im weiteren Detail beschrieben werden. Als erstes ist ein für das Bauteilsubstrat (20) verwendetes Substratmaterial, obwohl es nicht hierauf beschränkt ist, beispielsweise ein anorganisches isolierendes Material, wie Glas, Quarzglas, Aluminiumoxid, Saphir, Forsterit, Siliciumcarbid, Siliciumoxid oder Siliciumnitrid. Alternativ kann eines der folgenden organischen Materialien als ein Substratmaterial verwendet werden: Polyethylen, Ethylen, Polypropylen, Polyisobutylen, Polymethylmethacrylat, Polyethylenterephthalat, ungesättigter Polyester, fluorhaltiges Harz, Polyvinylchlorid, Polyvinylidenchlorid, Polyvinylacetat, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetal, Acrylharz, Polyacrylnitril, Polystyrol, Acetalharz, Polycarbonat, Polyamid, Phenolharz, Harnstoffharz, Epoxyharz, Melaminharz, ein Styrol-Acrylnitril-Copolymer, ein Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymer, Siliconharz, Polyphenylenoxid, Polysulfon und dergleichen. Zusätzlich, wenn die Detektion von biologischem Material durch das später beschriebene optische Verfahren durchzuführen ist, kann eine dünne Faserfolie, wie z.B. Nylon oder Cellulose, verwendet werden.

**[0079]** Die für die Elektroden (21), (22) und (23) zu verwendenden Elektrodenmaterialien sind nicht besonders beschränkt. Als ein Material (einschliesslich dem Ligandenimmobilisierenden Punkt) für die Elektrode (22), die als eine Arbeitselektrode dient, kann, insbesondere wenn die Detektion von biologischem Material elektrochemisch durchzuführen ist, eines der folgenden Materialien verwendet werden. Ein einzelnes Metall, wie z.B. Gold, eine Goldlegierung, Silber, Platin, Quecksilber, Nickel, Palladium, Silicium, Germanium, Gallium oder Wolfram, Legierungen, die mindestens zwei dieser Metalle enthalten,

Kohlenstoff, wie z.B. Graphit oder glasartiger Kohlenstoff, Oxide hiervon, Verbindungen hiervon, Halbleiterverbindungen, wie z.B. Siliciumoxid, und verschiedene Arten von Halbleiterelementen, wie z.B. ein CCD, FET und CMOS.

**[0080]** Als ein Verfahren zur Bildung der Elektroden (21), (22) und (23) kann Galvanisieren, Bedrucken, Sputtern, Dampfabscheidung oder dergleichen verwendet werden. Als ein Dampfabscheidungsverfahren kann ein Widerstands-Heizverfahren, ein RF-Heizverfahren oder ein Elektronenstrahl-Heizverfahren verwendet werden. Als ein Sputterverfahren kann ein Gleichstrom-Bipolarsputtern, Gegenfeldsputtern, asymmetrisches Wechselstromsputtern, Gettersputtern und RF-Sputtern verwendet werden. Für eine Elektrode kann eine elektrolytische Polymerfolie oder ein leitfähiges Hochpolymer, wie z.B. Polypyrrol oder Polyanilin, verwendet werden.

**[0081]** Als ein für einen dünnen isolierenden Film, der die Oberflächen der Elektroden (21), (22) und (23) bedeckt, zu verwendendes isolierendes Material wird z.B. ein Fotopolymer oder ein Fotoresistmaterial verwendet, ist jedoch nicht hierauf beschränkt. Als ein Fotoresistmaterial kann ein Belichtungsfotoresist, ein Vakuum-UV-Fotoresist, ein Röntgenfotoresist oder ein Elektronenstrahlfotoresist verwendet werden. Ein Hauptmaterial für einen Belichtungsfotoresist umfasst Cyclokautschuk, Polyzimtsäure und Novolakharz. Als ein Vakuum-UV-Fotoresist kann Cyclokautschuk, Phenolharz, Polymethylisopropenylketon (PMIPK), Polymethylmethacrylat (PMMA) oder dergleichen verwendet werden. Als ein Röntgenfotoresist kann ein Material, das in "Thin Film Handbook" (Ohmsha, Ltd.) beschrieben ist, wie auch ein COP und Metallacrylat verwendet werden. Als ein Elektronenstrahlresist kann ein in "Thin Film Handbook" (Ohmsha, Ltd.) beschriebenes Material, wie z.B. PMMA, verwendet werden. Der in diesem Fall zu verwendende Resist weist vorzugsweise eine Dicke von 10 nm oder mehr und 1 mm oder weniger auf.

**[0082]** Die Fläche der Elektrode (22), die als eine Arbeitselektrode dient, kann durch Bedecken der Elektrode (22) mit einem Fotoresist und Durchführung der Lithografie gleichförmig gemacht werden. Mit diesem Verfahren werden die Mengen an zu immobilisierendem Liganden, wie z.B. der DNA-Sonde, zwischen den Elektroden (22) gleichmässig. Dies ermöglicht, eine Detektion von biologischem Material mit hervorragender Reproduzierbarkeit durchzuführen. Herkömmlicherweise wird ein Resistmaterial im allgemeinen am Ende entfernt. Wenn jedoch die Elektrode (22) für die Detektion eines an eine DNA-Sonde immobilisierten Gens dient, kann das Resistmaterial als Teil der Elektrode (22) verwendet werden, ohne entfernt zu werden. In diesem Fall muss ein Material mit einer hohen Wasserbeständigkeit als ein Resistmaterial verwendet werden.



**[0083]** Für den auf den Elektroden (21), (22) und (23) zu bildenden dünnen, isolierenden Film kann ein von den Fotoresistmaterialien verschiedenes Material verwendet werden. Zum Beispiel können Oxide, Nitride und Carbide von Si, Ti, Al, Zn, Pb, Cd, W, Mo, Cr, Ta, Ni und dergleichen und Legierungen hiervon verwendet werden. Nachdem ein dünner Film durch Sputtern, Dampfabcheidung, CVD oder dergleichen unter Verwendung eines dieser Materialien gebildet wird, wird der Film durch Fotolithografie gemustert, um freigelegte Elektrodenteile zu bilden, wodurch die Flächenkonstanz reguliert wird.

**[0084]** Diese Elektroden (21), (22) und (23) werden mit einem Steuerstromkreis (25) über die Elektrodenkontakte (24) verbunden. Der Steuerstromkreis (25) legt Spannungen mit vorherbestimmten Polaritäten an die jeweiligen Elektroden (21), (22) und (23) an, um die Probenflüssigkeit, die in den zentralen Teil auf dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) eingeführt wurde, in die Umgebung radial zu dispergieren, die Flüssigkeit auf eine gegebene Elektrode (22), die als Arbeitselektrode dient, zu leiten, und nacheinander ein biologisches Detektionstarget in der Probenflüssigkeit auf die Elektrode (22) in der Anordnungsrichtung (entlang der Kreislinie) der Elektroden (22) zu bewegen.

**[0085]** Dieser Vorgang wird unten unter Bezugnahme auf die [Fig. 5A](#) bis [Fig. 5C](#) beschrieben werden. Wenn ein biologisches Detektionstarget ein Gen ist, wird eine Probenflüssigkeit, die eine wässrige Lösung von Genen ist, aus dem Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) über den Probenflüssigkeits-Einführteil (8) eingeführt und auf die Elektrode (21) auf dem zentralen Teil zugeführt. Die Ladungspolarität des Gens ist negativ.

**[0086]** Wie in [Fig. 5A](#) gezeigt, wenn die Probenflüssigkeit einzuführen ist, legt der Steuerstromkreis (25) eine negative Spannung, deren Polarität die gleiche ist wie die Ladungspolarität des Gens, an der Elektrode (21), die als Gegenelektrode dient, eine positive Spannung, deren Polarität entgegengesetzt der Ladungspolarität des Gens ist, an die Elektroden (22), die als Arbeitselektroden dienen, und eine negative Spannung an die Elektrode (23) als Referenzelektrode an. Die zu der Elektrode (21) zugeführte Probenflüssigkeit unterliegt elektrostatischen Abstoßungskräften von der Elektrode (21), an die eine negative Spannung, deren Polarität die gleiche ist wie die Ladungspolarität des Gens, angelegt ist, und bewegt sich radial zu dem Randteil. In diesem Fall bewegt sich die Probenflüssigkeit schneller, wenn ein leichter Unterdruck an die Probenflüssigkeit angelegt wird.

**[0087]** Die Probenflüssigkeit, die sich von der Elektrode (21) zu dem Randteil bewegt hat, wird die Elek-

trode (22) erreichen. In diesem Fall, da eine positive Spannung, deren Polarität der Ladungspolarität der Gene in der Probenflüssigkeit entgegengesetzt ist, angelegt ist, wird das Gen auf der Elektrode (22) durch elektrostatische Anziehungskräfte gefangen. In diesem Fall, da eine negative Spannung, deren Polarität die gleiche ist wie die Ladungspolarität des Gens, an die ringartige Elektrode (23), die als eine Referenzelektrode dient, angeordnet an dem äußeren Umfang der Elektroden (22), wie die Elektrode (21), angelegt ist, unterliegt das Gen auf der Elektrode (22) elektrostatischen Anziehungskräften, die von der Elektrode (23) eingedämmt werden, und bewegt sich nicht ausserhalb von der Elektrode (23).

**[0088]** Wenn ein Gen in der Probenflüssigkeit auf der Elektrode (22) in dieser Weise gefangen wird, reagieren die DNA-Sonde, die der an die Elektrode (22) immobilisierte Ligand ist, und das spezifische Gen in der Probenflüssigkeit und binden miteinander. Dies ist eine Hybridisierung. In diesem Fall wird das Gen auf der Elektrode (22) aufkonzentriert, wenn es durch die elektrostatischen Anziehungskräfte, die von der Elektrode (23) herrühren, eingedämmt wird, wie oben beschrieben, und daher reagiert das Gen wirksam mit dem Liganden, mit anderen Worten wird die Hybridisierung wirksam durchgeführt.

**[0089]** Wie in [Fig. 5B](#) gezeigt, wird die Polarität von lediglich der Spannung, die an der Elektrode (23) angelegt ist, auf eine positive Polarität verändert, die der Ladungspolarität des Gens entgegengesetzt ist, während die Polaritäten der Spannungen, die an den Elektroden (21) und (22) angelegt sind, gleich gehalten werden, wie in [Fig. 5A](#) gezeigt. Mit diesem Arbeitsgang werden von den Genen in der Probenflüssigkeit auf der Elektrode (22) Gene, die nicht an der Reaktion mit dem Liganden beteiligt waren, von der Elektrode (22) durch die elektrostatischen Anziehungskräfte von der Elektrode (23) getrennt und auf der Elektrode (23) gefangen.

**[0090]** Wenn die Spannungen mit negativer Polarität an sowohl die Elektrode (22) und die Elektrode (23) angelegt werden, werden die Gene, die auf der Elektrode (23) gefangen worden sind, mit anderen Worten, die nicht an der Reaktion mit dem Liganden beteiligt waren, weiter nach aussen bewegt und über die Probenflüssigkeitsleitung (9) und das Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) von dem Probenflüssigkeitsauslass (4) entfernt, zusammen mit der Probenflüssigkeit auf dem Bauteils substrat (20).

**[0091]** Die Polaritäten der Elektroden (21), (22) und (23) können sich von dem in [Fig. 5A](#) gezeigten Zustand zu dem von

**[0092]** [Fig. 5C](#) verändern, und nicht zu dem von [Fig. 5B](#). Wie in [Fig. 5C](#) gezeigt, wird die Polarität der an der Elektrode (21) angelegten Spannung zum Po-

sitiven umgekehrt, die Polarität der an der Elektrode (22) angelegten Spannung wird ins Negative umgekehrt, und die Polarität der an der Elektrode (23) angelegten Spannung wird ins Positive umgekehrt. Zu beachten ist, dass in einer Modifizierung dieser Ausführungsform die Polarität der Elektrode (21) in [Fig. 5C](#) negativ sein kann. Da die Elektrode (21) eine positive Polarität aufweist, wird dies zu einem weiter verstärkten Effekt der Trennung des auf der Elektrode (22) gefangenen Gens hiervon resultieren. Jedoch verbleiben nach wie vor einige nicht notwendige Gene in einem zentralen Teil, und es wird notwendig sein, diese später in einem getrennten Schritt abzuwaschen. Wenn die Elektrode (21) eine negative Polarität aufweist, werden diese unnötigen Gene, die auf der Elektrode (22) gefangen sind, von der Elektrode (23), die sich auf einer Aussenseite befindet, angezogen. Somit wird der Waschschritt, der später durchgeführt werden muss, erleichtert. Es wird bevorzugt, dass die Polarität der Elektrode (21), entweder positiv oder negativ eingestellt, in Anbetracht der Gestaltung des Gesamtsystems, einschliesslich des Waschschrittes, bestimmt wird. Auch in dem in [Fig. 5C](#) gezeigten Fall ist es möglich, nicht-kombinierte Gene von der Elektrode (22) zu entfernen und hierdurch die Hybridisierung mit einem hohen Effizienzgrad durchzuführen.

**[0093]** Gemäss der obigen Beschreibung des Arbeitsgangs, wie in den [Fig. 5A](#) und [Fig. 5B](#) gezeigt, werden Spannungen, deren Polarität (negative Polarität) die gleiche ist wie die Ladungspolarität des Detektionstargetgens, an alle Elektroden (22) angelegt. Durch die Verwendung der Anordnung, in der die Elektroden (22) entlang der Kreislinie angeordnet sind, kann ein Gen in einer Probenflüssigkeit in bestimmter Folge auf den Elektroden (22) in der Anordnungsrichtung (entlang der Kreislinie) durch dynamisches Schalten der Polarität der an den Elektroden (22) angelegten Spannung bewegt werden.

**[0094]** Dieser Arbeitsgang wird unten unter Bezugnahme auf die [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) beschrieben werden. Wie in [Fig. 6A](#) gezeigt, werden positive Spannungen an Paare von benachbarten Elektroden der Elektroden (22) angelegt, die mit gepunkteten Linien eingekreist sind, und negative Spannungen werden an die Elektroden, die den Paaren benachbart sind, angelegt. Die Polaritäten der an die Elektroden (22) angelegten Spannungen sind angeordnet wie "positiv – positiv – negativ – positiv – positiv – negativ – positiv – positiv – negativ – positiv...", wenn man sie entlang der Kreislinie betrachtet, mit anderen Worten in der Anordnungsrichtung der Elektroden (22).

**[0095]** Nach Verstreichen einer vorherbestimmten Zeiteinheit, wie in [Fig. 6B](#) gezeigt, wird die Position jedes Paares von Elektroden, an die positive Spannungen anzulegen sind, um eine Elektrode verschoben, und die Position jeder Elektrode, die zu jedem

Paar von Elektroden benachbart ist und an die eine negative Spannung anzulegen ist, wird entsprechend um eine Elektrode verschoben. Wenn die vorherbestimmte Zeiteinheit wiederum verstrichen ist, werden die Position jedes Paares von Elektroden, an die positive Spannungen anzulegen sind, und die Position jeder Elektrode, an die eine negative Spannung anzulegen ist, um eine Elektrode verschoben, wie in [Fig. 6C](#) gezeigt. In dem in den [Fig. 6B](#) und [Fig. 6C](#) gezeigten Fall sind die Position eines jeden Paares von Elektroden, an die positive Spannungen anzulegen sind, und die Position einer jeden Elektrode, an die eine negative Spannung anzulegen ist, im Uhrzeigersinn verschoben. Anschliessend wird ein solches Schalten der Polaritäten von angelegten Spannungen nach jeder Zeiteinheit vorgenommen werden, mit anderen Worten in einem vorherbestimmten Zyklus.

**[0096]** Durch Anlegen von Spannungen an die Elektroden (22), während die Polaritäten in dieser Weise gewechselt werden, wird ein biologisches Detektionstarget (z.B. ein Gen) in einer Probenflüssigkeit auf der Anordnung der Elektroden (22) in der Kreislinienrichtung bewegt. Dies ermöglicht, dass das biologische Material gleichförmig und wirksam mit einem Liganden (z.B. einer DNA-Sonde), der auf jeder Elektrode (22) immobilisiert ist, reagiert. Das heisst, in diesem Verfahren des Bewegens der Anordnung der Elektroden (22) befindet sich das biologische Detektionsmaterial auf jeden Fall auf der Elektrode, an die der Ligand mit einer komplementären Beziehung zu dem biologischen Detektionstarget immobilisiert ist, und kann mit dem Liganden reagieren.

**[0097]** In diesem Fall, da Materialien, die mit den Elektroden nicht spezifisch binden, von den Elektroden (22), an denen Spannungen mit der gleichen Polarität wie die Ladepolarität des biologischen Detektionstargets angelegt sind, zwingend entfernt werden, kann die Detektionspräzision des biologischen Detektionstargets (einem Gen in diesem Fall), das auf der Elektrode (22) als einem Liganden-immobilisierenden Teil gefangen ist, stark verbessert werden.

**[0098]** In dem in den [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) gezeigten Fall werden Spannungen mit der ersten Polarität (negative Polarität in dem obigen Fall) an jedes Paar von benachbarten Elektroden der Elektroden (22) angelegt, und eine Spannung mit der zweiten Polarität (positive Polarität in dem obigen Fall), die der ersten Polarität entgegengesetzt ist, wird an jede Elektrode angelegt, die jedem Paar von Elektroden benachbart ist, während die Positionen der Elektroden, an die solche Spannungen angelegt werden, um eine Elektrode zu einem Zeitpunkt entlang der Kreislinienrichtung der Elektroden (22) verschoben werden. Die Erfindung ist jedoch nicht hierauf beschränkt. wenn n die Anzahl von Elektroden ist, an die Spannungen mit der ersten Polarität angelegt werden, m die Zahl von Elektroden ist, an die Spannungen mit der zweiten

Polarität angelegt werden, und  $p$  die Zahl von Elektroden ist, um die die Spannungsanlegepositionen verschoben werden, wenn die Polaritäten der angelegten Spannungen vertauscht werden, können  $n$ ,  $m$  und  $p$  beliebige Zahlen gleich oder grösser als 1 annehmen. Am einfachsten ist es ausreichend, wenn  $n = m = p = 1$  ist. In diesem Fall wird die Polarität einer angelegten Spannung periodisch und alternierend zwischen der positiven Polarität und der negativen Polarität unter dem Blickwinkel einer Elektrode (22) gewechselt.

[0099] Die Elektrodenanordnung eines Bauteils zur Detektion von biologischem Material gemäss der ersten Ausführungsform wird im folgenden unter Bezugnahme auf die [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) beschrieben werden.

[0100] In dem in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) gezeigten Bauteil für die Detektion von biologischem Material wird eine kreisförmige Elektrode (31), die als eine Gegenelektrode dient, auf dem zentralen Teil angeordnet, und eine ringförmige Elektrode (34A) wird auf der äusseren Umfangsseite der Elektrode (31) in einem vorherbestimmten Abstand angebracht. Eine weitere ringförmige Elektrode (34B) wird auf einem Kreisumfang angebracht, der sich auf der äusseren Kreisumfangsseite der Elektrode (34A) in einer vorherbestimmten Entfernung befindet. Wie in der obigen Ausführungsform sind eine Vielzahl von kreisförmigen Elektroden (32) in einer vorherbestimmten Beabstandung angeordnet. Diese Elektroden (32) dienen als Arbeitselektroden. Zusätzlich werden die ringförmigen Elektroden (33A) und (33B) nacheinander an der äusseren Kreisumfangsseite der Elektroden (32) in vorherbestimmten Entfernungen angeordnet. Diese Elektroden (33A) und (33B) dienen als Referenzelektroden.

[0101] In der erfindungsgemässen Ausführungsform kann ein biologisches Detektionstarget in einer Probenflüssigkeit auf einem Randteil durch Wechseln der Polaritäten der an den Elektroden (31), (34A), (34B), (32), (33A) und (33B) angelegten Spannungen unter Verwendung eines Steuerstromkreises (nicht gezeigt), wie in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) gezeigt, aufkonzentriert und bewegt werden.

[0102] Zuerst, wie in [Fig. 7A](#) gezeigt, werden eine negative Spannung, eine positive Spannung und eine negative Spannung jeweils an die Elektrode (31), die Elektrode (34A) und die Elektrode (34B) angelegt. Zudem werden positive Spannungen an die Elektroden (32) angelegt, und negative Spannungen werden an die Elektroden (33A) und (33B) angelegt. In diesem Fall, wie in der obigen Ausführungsform, bewegt sich ein biologisches Detektionstarget (z.B. ein Gen) mit einer negativen Ladungspolarität in einer Probenflüssigkeit, die zu dem zentralen Teil des Bauteils zur Detektion von biologischem Material ein-

geführt wurde, zu dem Randteil aufgrund der elektrostatischen Abstossungskräfte, die von der zentralen Elektrode (31) herrühren, an die eine Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität angelegt wird.

[0103] In diesem Fall wird eine Spannung mit einer entgegengesetzten Polarität zu der Ladungspolarität des biologischen Detektionstargets an die Elektrode (34A) angelegt, die näher an der äusseren Kreisumfangsseite als die Elektrode (31) liegt, und eine Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität wird an die Elektrode (34B) angelegt, die sich näher an der äusseren Umfangsseite als die Elektrode (34A) befindet. Mit diesem Arbeitsgang wird das biologische Detektionstarget, das von der Elektrode (31) auf die Elektrode (34A) bewegt wurde, auf der Elektrode (34A) gefangen und konzentriert aufgrund der elektrostatischen Anziehungskräfte, die durch die Elektrode (34A) bewirkt werden, und die elektrostatischen Abstossungskräfte, die durch die Elektrode (31) und die Elektrode (34A) bewirkt werden, die sich auf den zwei Seiten der Elektrode (34A) befinden.

[0104] Die Polarität der an der Elektrode (34A) angelegten Spannung und die Polarität der an der Elektrode (34B) angelegten Spannung werden dann jeweils zu einer negativen Polarität bzw. positiven Polarität umgekehrt durch den Steuerstromkreis, wie in [Fig. 7B](#) gezeigt. Die Polaritäten der an den verbleibenden Elektroden (31), (32), (33A) und (33B) angelegten Spannungen werden gleich gehalten, so wie in [Fig. 7A](#) gezeigt. Das biologische Detektionstarget, das auf der Elektrode (34A) in dem in [Fig. 7A](#) gezeigten Zustand gefangen ist, bewegt sich auf die Elektrode (34B) aufgrund der durch die Elektrode (34A) bewirkten elektrostatischen Abstossungskraft und der durch die Elektrode (34B) bewirkten elektrostatischen Anziehungskraft in dem in [Fig. 7B](#) gezeigten Zustand.

[0105] Wenn die Polarität von lediglich der an der Elektrode (34B) in dem in [Fig. 7B](#) gezeigten Zustand angelegten Spannung zu einer negativen Polarität durch den Steuerstromkreis, wie in [Fig. 7C](#) gezeigt, umgekehrt wird, bewegt sich das biologische Detektionstarget, das sich auf die Elektrode (34B) bewegt hat, auf die Elektrode (32) aufgrund der durch die Elektroden (34A) und (34B) bewirkten elektrostatischen Abstossungskräfte und den von den Elektroden (32) herrührenden elektrostatischen Anziehungskräfte. In diesem Zustand wird das biologische Detektionstarget auf der Elektrode (32) gefangen und auf der Elektrode (32) aufkonzentriert, aufgrund der elektrostatischen Anziehungskraft durch die Elektrode (32) und die elektrostatischen Abstossungskräfte durch die Elektroden (34A) und (33A).

[0106] Auf diese Weise wird das biologische Detektionstarget in der Probenflüssigkeit, die auf den zen-

tralen Teil des Bauteils zur Detektion von biologischem Material eingeführt wurde, nach und nach aufkonzentriert und zu dem Randteil bewegt. Schliesslich kann das biologische Detektionstarget in einem konzentrierten Zustand auf die Elektrode (32) zugeführt werden, auf der der Ligand immobilisiert ist. Gemäss dieser Ausführungsform kann, da das biologische Detektionstarget auf der Elektrode (32) aufkonzentriert ist, an die der Ligand immobilisiert ist, das biologische Detektionstarget und der Ligand miteinander effizient reagieren, ohne das biologische Detektionstarget zuvor durch eine Genamplifikationsmethode, wie z.B. die PCR-Methode, zu amplifizieren. Dies verbessert die Detektionseffizienz.

**[0107]** In dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäss einer Modifikation der ersten Ausführungsform, wie in der obigen Ausführungsform, kann ein Gen in einer Probenflüssigkeit in regelmässiger Folge auf die Elektroden (32) in der Anordnungsrichtung (Kreisumfangsrichtung) durch dynamisches Wechseln der Polarität der an jeder Elektrode (32), die als Arbeitselektrode dient, angelegten Spannung bewegt werden, wie in den [Fig. 8A](#) bis [Fig. 8C](#) gezeigt.

**[0108]** Zuerst, wie in [Fig. 8A](#) gezeigt, werden positive Spannungen an jedem Paar von benachbarten Elektroden von den Elektroden (32) angelegt, die mit gepunkteten Linien eingekreist sind, und eine negative Spannung wird an jeder Elektrode angelegt, die zu jedem Paar von benachbarten Elektroden benachbart ist. Nach Verstreichen einer vorherbestimmten Zeiteinheit, wie in [Fig. 8B](#) gezeigt, wird die Position jedes Paares von benachbarten Elektroden, an die positive Spannungen anzulegen sind, um eine Elektrode verschoben, und die Position jeder Elektrode, benachbart zu jedem Paar von benachbarten Elektroden, wird entsprechend um eine Elektrode verschoben. Wenn die vorherbestimmte Zeiteinheit wiederum verstrichen ist, werden die Position jedes Paares von benachbarten Elektroden, an die positive Spannungen anzulegen sind, und die Position jeder Elektrode, an die eine negative Spannung anzulegen ist, um eine Elektrode verschoben, wie in [Fig. 8C](#) gezeigt. Anschliessend werden die Polaritäten der angelegten Spannungen mit jeder Zeiteinheit gewechselt, mit anderen Worten in einem vorherbestimmten Zyklus, um zu gestatten, dass das biologische Detektionstarget in der Probenflüssigkeit auf der Anordnung der Elektroden (32) in der Kreislinienrichtung sich bewegt und wirksam mit dem an jeder Elektrode (32) immobilisierten Liganden reagiert.

**[0109]** [Fig. 9](#) zeigt die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material.

**[0110]** In diesem Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material wird eine erste Elektrode (41) mit einer Kreisform, die als eine Gegenelektrode

dient, auf einem zentralen Teil auf einem Bauteilssubstrat (40) angebracht, und eine dritte Elektrode (43) mit einer Ringform, die als eine Referenzelektrode dient, wird auf einem Randteil wie in den obigen zwei Ausführungsformen angebracht. Diese Vergleichsausführungsform unterscheidet sich von den obigen erfindungsgemässen Ausführungsformen dahingehend, dass die zweiten Elektroden (42A) und (42B), die als Arbeitselektroden dienen, in zwei konzentrischen Kreislinien angeordnet sind. In diesem Fall werden die Elektroden, die als Arbeitselektroden dienen, in zwei Anordnungen gebildet. Jedoch können drei oder mehr Anordnungen von Elektroden gebildet werden.

**[0111]** Durch Bilden einer Vielzahl von Anordnungen von Elektroden, die als Arbeitselektroden dienen, in dieser Weise, kann der an jeder Elektrode immobilisierte Ligand und ein biologisches Detektionstarget zuverlässiger miteinander in Kontakt gebracht werden, wodurch die Detektionseffizienz weiter verbessert wird.

**[0112]** [Fig. 10](#) ist eine Draufsicht eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material, das zeigt, wie ein Steuerstromkreis mit dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material verbunden ist. In einem derartigen Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material (5) ist die erste Elektrode (21), die in der obigen Ausführungsform beschrieben wurde, weggelassen, und eine Position, an der die Elektrode (21) entfernt wird, mit anderen Worten, der zentrale Teil der Anordnung der zweiten Elektroden (22), dient als ein Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (25). Zusätzlich sind, da die Elektrode (21) entfernt ist, die Verbindungen zwischen der Elektrode (21) und dem Steuerstromkreis (5) entfernt.

**[0113]** In der obigen Ausführungsform, wie unter Bezugnahme auf z.B. [Fig. 5A](#) beschrieben, unterliegt die der Elektrode (21) zugeführte Probenflüssigkeit der elektrostatischen Abstossungskraft durch die Ladungspolarität des Gens und der Elektrode (21), wenn eine negative Spannung, deren Polarität die gleiche ist wie die Ladungspolarität eines Gens, an die erste Elektrode (21) angelegt wird, und eine positive Spannung, deren Polarität entgegengesetzt der Ladungspolarität des Gens ist, an jede zweite Elektrode (22) angelegt wird. Dies erleichtert es, die Probenflüssigkeit radial zu den Elektroden (22) auf dem Randteil zu bewegen.

**[0114]** Wenn ein an die Probenflüssigkeit angelegter Unterdruck auf ein bestimmtes Mass erhöht wird, wenn die Probenflüssigkeit aussen von dem Probenflüssigkeitsauslass (4), oben beschrieben, entladen werden soll, kann die zu dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (25) zugeführte Probenflüssigkeit zu der Seite der Elektrode (22) nur durch die elektrostatischen Anziehungskräfte der zweiten Elektrode ohne

Verwendung der elektrostatischen Abstossungskräfte durch die erste Elektrode (21), wie in der obigen Ausführungsform, bewegt werden.

**[0115]** Zusätzlich kann eine ähnliche Modifizierung auch bei den Anordnungen, die in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 9](#) gezeigt sind, vorgenommen werden. Zum Beispiel kann die erste Elektrode (31) in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 8C](#) oder die erste Elektrode (41) in [Fig. 9](#) entfernt werden, und ein Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil kann an der Position gebildet werden, an der die Elektrode (31) oder (41) entfernt wurde.

**[0116]** Eine durch das Bauteil zur Detektion von biologischem Material oder der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material gemäss der Ausführungsform zu verarbeitende Probe kann z.B. Blut, Blutserum, Leukozyten, Urin, Stuhlgang, Sperma, Speichel, Gewebe, Zellkultur, Auswurf und dergleichen sein, ist aber nicht hierauf beschränkt. Wenn das biologische Detektionstarget ein Gen ist, wird das Gen aus diesen Proben extrahiert. Das Extraktionsverfahren kann ein Flüssig-Flüssig-Extraktionsverfahren, wie z.B. eine Phenolchloroformmethode, oder ein Fest-Flüssig-Extraktionsverfahren unter Verwendung eines Trägers sein, ist aber hierauf nicht beschränkt. Alternativ können im Handel erhältliche Nukleinsäure-Extraktionsverfahren, wie z.B. QIAamp (erhältlich von Qiagen), SUMAI-Test (erhältlich von Sumitomo Metal Industries, Ltd.) verwendet werden.

**[0117]** Die auf diese Weise extrahierte Genprobenlösung wird dann auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (DNA-Chip), das in der obigen Ausführungsform beschrieben wurde, eingeführt, und eine Hybridisierungsreaktion wird auf einer Elektrode, an die eine DNA-Sonde als ein Ligand immobilisiert ist, bewirkt. Eine Pufferlösung, die in einen Bereich von Ionenintensitäten von 0,01 bis 5 und einen pH-Bereich von 5 bis 10 fällt, wird als eine Reaktionslösung verwendet. Ein Hybridisierungs-Beschleunigungsmittel, wie z.B. Dextransulfat, Lachssperma-DNA, Rinderthymus-DNA, EDTA, können bei Bedarf zu dieser Lösung hinzugefügt werden. Das extrahierte Probenmaterial wird zu dieser Lösung hinzugefügt. Die Lösung muss bei 90°C oder mehr vor der Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material hitzedenaturiert werden. Ein nicht-umgesetztes Probenmaterial kann von dem Probenflüssigkeitsauslass (4) zur wiederholten Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material bei Bedarf zurückgewonnen werden.

**[0118]** Das extrahierte Gen kann durch vorhergehendes Markieren mit einem Fluoreszenzfarbstoff, wie z.B. FITC, Cy3, Cy5 oder Rhodamin, einem Enzym, wie z.B. Biotin, Hapten, Oxidase oder Phosphatase, oder einem elektrochemisch aktiven Material, wie z.B. Ferrocen oder Chinonen, oder unter Verwendung einer zweiten Sonde, die mit einem solchen Ma-

terial markiert ist, detektiert werden. Wenn das Gen mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert ist, kann es optisch detektiert werden.

**[0119]** Wenn das Gen unter Verwendung eines elektrochemisch aktiven DNA-Binders detektiert werden soll, wird die Detektion durch das folgende Verfahren erfolgen.

**[0120]** Ein DNA-Binder, der selektiv mit einem doppelsträngigen DNA-Teil kombiniert, wird mit dem doppelsträngigen DNA-Teil, das auf der Oberfläche einer Elektrode (Arbeitselektrode), an der eine DNA-Sonde immobilisiert ist, gebildet wird, umgesetzt, wodurch die elektrochemische Messung durchgeführt wird. Der zu verwendende DNA-Binder in diesem Fall ist z.B. Hoechst 33258, Acridinorange, Chinacridin, Dawnomycin, Metallinterkalator, Bisinterkalator, wie z.B. Bisacridin, Trisinterkalator oder Polyinterkalator. Zusätzlich kann ein solcher Interkalator zuvor durch einen elektrochemisch aktiven Metallkomplex, z.B. Ferrocen oder Viologen, modifiziert werden.

**[0121]** Obwohl die Konzentration eines DNA-Binders in Abhängigkeit von der Art des Materials variiert, wird das Material im allgemeinen im Bereich von 1 ng/ml bis 1 mg/ml verwendet. In diesem Fall wird ein Puffermittel im Bereich einer Ionenintensität von 0,001 bis 5 und einem pH-Bereich von 5 bis 10 verwendet.

**[0122]** Nach dem Umsetzen einer als Arbeitselektrode dienenden Elektrode und einem DNA-Binder wird gereinigt, und die elektrochemische Messung wird durchgeführt. Die elektrochemische Messung wird durch drei Elektroden, einschliesslich einer Referenzelektrode, Gegenelektrode und Arbeitselektrode, oder zwei Elektroden, umfassend eine Gegenelektrode und eine Arbeitselektrode, durchgeführt. Bei der Messung wird ein Potential angelegt, das gleich ist oder höher als ein Potential, bei dem der DNA-Binder reagiert, und der Reaktionsstromwert, der von dem DNA-Binder herrührt, wird gemessen. In diesem Fall wird das Potential bei einer konstanten Geschwindigkeit durchlaufen oder Pulse oder ein konstantes Potential können angelegt werden. Bei der Messung werden die Ströme und Spannungen mittels eines Potentiostaten, eines digitalen Multimeters, eines Funktionsgenerators und dergleichen kontrolliert.

#### BEISPIEL 1

**[0123]** Das unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 3C](#) und [Fig. 7A](#) bis [Fig. 8C](#) beschriebene Bauteil zur Detektion von biologischem Material wurde zu einem elektrodenintegrierten DNA-Chip zur Vorhersage der Heilungswirkung von Interferon ausgebildet, und das folgende Experiment wurde durchgeführt.

**[0124]** Zuerst wurde eine Chromosomen-DNA aus humanen Leukozyten extrahiert, und ein MxA-Genfragment von etwa 100 bp wurde unter Verwendung eines geeigneten Primers PCR-amplifiziert. Das amplifizierte Fragment wurde hitzedenaturiert. Das resultierende Fragment wurde dann in den DNA-Chip eingeführt. Zu beachten ist, dass eine DNA-Sonde für SNP (single nucleotide polymorphism), die in dem MxA-Gen existiert, zuvor auf einer Elektrode (32) des DNA-Chips immobilisiert wurde. Nach Einführen der Probe wurde sie 2 Stunden stehengelassen, und ein Reinigen wurde mit einem Puffermittel durchgeführt. Wenn ein DNA-Binder (Hoechst 33258) verwendet wurde, wurde gefunden, dass eine Heilungswirkung von Interferon vorhergesagt werden konnte, selbst wenn die Ladung nicht elektrisch kontrolliert wurde. Es wurde jedoch klar, dass die Ergebnisse von der Weise abhängen, mit der die Flüssigkeit fließt.

**[0125]** Im Gegensatz hierzu wurde gefunden, dass, wenn das eingeführte Gen an den Randteil bewegt wurde, während es durch Wechseln der Polaritäten der an die jeweiligen Elektroden angelegten Spannungen aufkonzentriert wurde, wie in den [Fig. 8A](#) bis [Fig. 8C](#) gezeigt, und das Gen auf der Anordnung der Elektroden (32) durch Wechseln der Polarität der an den jeweiligen Elektroden (32) angelegten Spannungen bewegt wurde, während das Gen auf der Elektrode (32) gefangen wurde, wie in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) gezeigt, eine Heilungswirkung genau ohne Durchführung einer PCR-Amplifikation vorhergesagt werden konnte.

#### BEISPIEL 2

**[0126]** Ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material, ähnlich dem in den Ausführungsformen beschriebenen, wurde in einen Detektionschip für biologisches Material vom Typ mit getrennten Elektroden ausgebildet, und das folgende Experiment wurde durchgeführt.

**[0127]** Antikörper für verschiedene humane Tumormarker wurden zuvor an eine Nylonfolie immobilisiert. Elektroden wurden dann unter der Folie so angeordnet, dass sie in Kontakt hiermit waren. Wenn ein Tumormarker unter Verwendung von Humanserum als Probe detektiert wurde, wurde gefunden, dass der Marker mit hoher Reproduzierbarkeit und hoher Empfindlichkeit in der Größenordnung von 0,1 ng/ml detektiert werden konnte. In diesem Fall wurde ein mit Meerrettich-Peroxidase markierter Antikörper als zweiter Antikörper verwendet, und ein Rahmen für die Lumineszenzdetektion wurde verwendet.

Zweite Ausführungsform:

**[0128]** [Fig. 11](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung eines Bauteils für die Detektion von biologischem Material gemäß einer zweiten erfindungs-

gemässen Ausführungsform zeigt. Eine Basis (1) weist einen vorstehenden Bauteilbefestigungsteil (2) auf dem mittleren oberen Teil auf, auf dem ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) befestigt wird. Die Basis (1) weist auch ein Loch für die Flüssigkeitspassage (3) in den zwei Seiten in [Fig. 1](#) auf, das das Durchleiten einer Probenflüssigkeit, eines Interkalierungsmittels, einer Reinigungslösung oder dergleichen ermöglicht, und einen Flüssigkeitsausgang (4) in einem mittleren unteren Teil, der mit dem Loch für die Flüssigkeitspassage (3) in Verbindung steht. Ein oberer Halter (6) und ein unterer Halter (7) werden auf der Basis (1) befestigt. Der obere und der untere Halter halten das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5), das auf dem Bauteilbefestigungsteil (2) befestigt ist, von sowohl der oberen wie auch der unteren Seite und führen hauptsächlich eine Flüssigkeit in das Bauteil (5), wobei die Flüssigkeit durch das Bauteil (5) in das Loch für die Flüssigkeitspassage (3) geführt wird. Ein Flüssigkeits-Einführteil (8) wird in dem mittleren Teil des oberen Halters (6) gebildet. Das distale Ende eines Flüssigkeits-Zufuhrrohres (10) wird mit diesem Flüssigkeits-Zuführteil (8) verbunden. Ein Probenflüssigkeits-Zufuhrabschnitt (51), ein Interkalierungsmittel-Zufuhrabschnitt (52) oder ein Reinigungslösungs-Zufuhrabschnitt (53), die durch einen Kontrollabschnitt (50) reguliert werden, werden selektiv mit dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) verbunden. Ein Messabschnitt (54), kontrolliert durch den Kontrollabschnitt (50), misst ein elektrochemisches Signal unter Verwendung eines Interkalierungsmittels und gibt das Detektionsergebnis bezüglich eines biologischen Materials aus, wie später beschrieben werden wird. Die von dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) in den Flüssigkeits-Einführteil (8) eingeführte Flüssigkeit wird auf das Bauteil für die Detektion von biologischem Material (5) geleitet und für die Detektion eines biologischen Materials verwendet. Hiernach wird die Flüssigkeit von einem Flüssigkeitsauslass (4) durch eine Flüssigkeitsleitung (9), die durch den unteren und den oberen Halter (6) und (7) gebildet wird, und das Loch für die Flüssigkeitspassage (3), das in der Basis (1) gebildet wird, entladen. Ein rechteckiges durchgehendes Loch (11) wird in dem oberen Halter (6) gebildet. Das distale Ende einer Kontaktelektrode (15) kann mit einer Elektrode in Kontakt gebracht werden, die als eine Arbeitselektrode bezüglich des Bauteils zur Detektion von biologischem Material (5) durch Einführen der Kontaktelektrode (15) durch das durchgehende Loch (11) dient. Durch Verwendung dieser Kontaktelektrode (15) kann ein Detektionssignal des biologischen Materials als ein elektrisches Signal, wie z.B. ein Strom- oder Potentialsignal, abgenommen werden.

**[0129]** In der in [Fig. 11](#) gezeigten Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material sind die genauen Anordnungen des oberen und unteren Halters (6) und (7) die gleichen wie die in den [Fig. 2A](#) bis [Fig. 3C](#) gezeigten. Die genaue Anordnung des Bau-

teils zur Detektion von biologischem Material (5) ist auch die gleiche wie die, die in [Fig. 4](#) gezeigt ist. Wenn, wie oben beschrieben, ein biologisches Detektionstarget ein Gen ist, wird eine DNA-Sonde als Ligand an einer Elektrode (22) immobilisiert. Die Gene in der Probenflüssigkeit werden zuvor in ein einzelsträngiges Gen umgewandelt. Nur ein Gen mit einer spezifischen Sequenz wird auf der Elektrode (22) entsprechend der an der Elektrode (22) immobilisierten DNA-Sonde gefangen. Anschliessend kombinieren die DNA-Sonde und das Gen komplementär miteinander (Hybridisierung). Weiterhin werden die gleichen Materialien und Methoden, wie oben unter Bezugnahme auf [Fig. 4](#) beschrieben, als ein Substratmaterial, das für das Bauteils substrat (20) verwendet wird, Elektrodenmaterialien, die für die Elektrode (21), die Elektroden (22) und eine Elektrode (23) verwendet werden, Verfahren zum Bilden der Elektroden (21), (22) und (23), ein isolierendes Material, das für einen dünnen isolierenden Film verwendet wird, der die Oberflächen der Elektroden (21), (22) und (23) bedeckt, usw. verwendet.

**[0130]** Ein Verfahren zur Detektion eines biologischen Materials in dieser Ausführungsform wird unten unter Bezugnahme auf das Flussdiagramm von [Fig. 12](#) beschrieben werden.

**[0131]** Zuerst führt der Probenflüssigkeits-Zufuhrabschnitt (51) eine Probenflüssigkeit, enthaltend ein biologisches Detektionstarget, zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) zu (Schritt 1). Die zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) zugeführte Probenflüssigkeit wird auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) über den Flüssigkeits-Einführteil (8) zugeführt und von der Elektrode (21) zu den Elektroden (22) und (23) (siehe [Fig. 4](#)) durch die durch die Elektroden (21) bis (23), an die vorbestimmte Spannungen von einem Steuerstromkreis (25) angelegt sind, generierte elektrostatische Kraft bewegt. Schliesslich wird die Probenflüssigkeit von dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) getrennt und aus dem Flüssigkeitsauslass (4) über die Flüssigkeitsleitung (9) und das Loch für die Flüssigkeitspassage (3) entladen.

**[0132]** In diesem Verfahren haftet die Probenflüssigkeit an dem an der Elektrode (22) immobilisierten Liganden, und es erfolgt eine Hybridisierung. Genauer gesagt, wenn z.B. ein biologisches Detektionstarget ein Gen ist und ein Ligand eine DNA-Sonde ist, mit anderen Worten einzelsträngige DNA, die mit einem spezifischen Gen reagiert, wird die DNA in der Probenflüssigkeit in einzelsträngige DNA umgewandelt, wenn die Probenflüssigkeit an der DNA-Sonde haftet.

**[0133]** Dann wird das erste Reinigen durchgeführt (Schritt S2). In dem ersten Reinigungsschritt führt der

Reinigungslösungs-Zufuhrabschnitt (53) eine Reinigungslösung zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) zu. Mit diesem Vorgang wird nicht erforderliche Probenflüssigkeit in der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material und insbesondere eine Probenflüssigkeit, die von der Probenflüssigkeit (biologisches Material), die an der Elektrode (22) haftet, verschieden ist, gereinigt und entfernt. Die entfernte, nicht erforderliche Probenflüssigkeit wird entladen, zusammen mit der Reinigungslösung.

**[0134]** Anschliessend führt der Interkalierungsmittel-Zufuhrabschnitt (52) ein Interkalierungsmittel zur Verbesserung der Detektionsempfindlichkeit eines biologischen Materials, z.B. ein Nukleinsäure-Interkalierungsmittel, das spezifisch mit doppelsträngiger DNA reagiert, zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (20) unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) (Schritt S3) zu. Dann wird das zweite Reinigen ausgeführt (Schritt S4).

**[0135]** In dem zweiten Reinigungsschritt führt der Reinigungslösungs-Zufuhrabschnitt (53) eine Reinigungslösung zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) zu. Mit diesem Vorgang wird nicht notwendige Probenflüssigkeit und insbesondere eine Probenflüssigkeit, die von der an der Elektrode (22) haftenden Probenflüssigkeit verschieden ist, gereinigt und entfernt. Die entfernte und nicht erforderliche Probenflüssigkeit wird zusammen mit der Reinigungslösung über den Reinigungslösungs-Entladeweg in der Probenflüssigkeits-Zuführverarbeitung gemäss Schritt (S1) entladen.

**[0136]** Der Messabschnitt (54) legt eine Spannung zwischen der Elektrode (21) als Gegenelektrode und der Elektrode (22) als Arbeitselektrode unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) an. Der Messabschnitt (54) misst einen Strom, der über die zwei Elektroden (21) und (22) fliesst, mit anderen Worten einen Oxidationsstrom, der in den Bindungsteil zwischen dem an der Elektrode (22) immobilisierten Liganden und dem spezifischen biologischen Material eintritt, und wird erhalten von einem Interkalierungsmittel, das an dem Bindungsteil haftet, wodurch ein elektrochemisches Signal unter Verwendung des Interkalierungsmittels gemessen wird (Schritt S5).

**[0137]** Der dritte Reinigungsschritt wird durchgeführt (Schritt S6). In dem dritten Reinigungsschritt führt der Reinigungslösungs-Zufuhrabschnitt (53) eine Reinigungslösung zu dem Flüssigkeits-Zufuhrrohr (10) unter Kontrolle des Kontrollabschnitts (50) zu. In diesem Fall wird das gesamte Interkalierungsmittel, einschliesslich des Interkalierungsmittels, das an dem an der Elektrode (22) immobilisierten Liganden haftet und zu der Messung des elektrochemischen Signals beigetragen hat, gereinigt und ent-

fernt.

**[0138]** Von den Schritten (S1) bis (S6) werden die Schritte (S3) bis (S6) wiederholt durchgeführt, bis in Schritt (S7) ermittelt ist, dass die Anzahl von Durchführungsläufen eine vorbestimmte Anzahl erreicht. Das heisst, eine Serie von Schritten, mit anderen Worten (a) Zufuhr eines Interkalierungsmittels, (b) Strommessung (Messung eines elektrochemischen Signals durch das Interkalierungsmittel) und (c) Entfernung des an dem Liganden haftenden Interkalierungsmittels, wird wiederholt.

**[0139]** Die gesetzte Betriebskapazität (**34**) integriert eine Vielzahl von Messergebnissen, die in dieser Serie von Schritten erhalten werden, mit anderen Worten Strom (Oxidationsstrom)-Werte, die von einem biologischen Detektionstarget abhängen. Mit diesem Vorgang werden nur elektrochemische Signale, die von dem Interkalierungsmittel in Abhängigkeit des biologischen Targets herrühren, integriert, und statistische Rauschkomponenten, wie z.B. Hintergrundströme, werden in dem Integrationsverfahren aufgehoben. Dies ermöglicht, ein spezifisches biologisches Material mit hoher Empfindlichkeit zu detektieren.

**[0140]** [Fig. 13](#) ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material zeigt.

**[0141]** In dem Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material wird ein Flüssigkeits-Einführteil (**41**) an einem Endteil (das linke Ende in [Fig. 13](#)) auf einem Bauteilsubstrat (**40**) gebildet, und ein Flüssigkeits-Entladeteil (**43**) wird an dem anderen Ende gebildet (das rechte Ende in [Fig. 13](#)), und Elektroden (**42**), die als Arbeitselektroden dienen, sind in dem mittleren Teil in Form einer Matrix angeordnet. Eine Probenflüssigkeit, ein Interkalierungsmittel oder eine Reinigungslösung werden aus dem Flüssigkeits-Einführteil (**41**) eingeführt. Diese Flüssigkeit wird aus dem Flüssigkeits-Entladeteil (**43**) nach Bewegen auf den Elektroden (**42**) entladen.

**[0142]** Selbst mit der Verwendung eines Bauteils zur Detektion eines biologischen Materials mit einer solchen Anordnung können die gleichen Wirkungen, wie die der obigen Ausführungsform, durch Durchführen der Schritte in dem in [Fig. 12](#) gezeigten Verfahren erhalten werden.

**[0143]** Eine durch das Bauteil zur Detektion von biologischem Material oder der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material gemäss der Ausführungsform zu verarbeitende Probe kann z.B. Blut, Blutserum, Leukozyten, Urin, Stuhlgang, Sperma, Speichel, Gewebe, Zellkultur, Auswurf und dergleichen sein, ist aber nicht hierauf beschränkt. Wenn das biologische Detektionstarget ein Gen ist, wird das Gen aus diesen Proben extrahiert. Das Extrakti-

onsverfahren kann ein Flüssig-Flüssig-Extraktionsverfahren, wie z.B. eine Phenolchloroformmethode, oder ein Fest-Flüssig-Extraktionsverfahren unter Verwendung eines Trägers sein, ist aber hierauf nicht beschränkt. Alternativ können im Handel erhältliche Nukleinsäure-Extraktionsverfahren, wie z.B. QIAamp (erhältlich von Qiagen), SUMAI-Test (erhältlich von Sumitomo Metal Industries, Ltd.) verwendet werden.

**[0144]** Die auf diese Weise extrahierte Genprobenlösung wird dann auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (DNA-Chip), das in der obigen Ausführungsform beschrieben wurde, eingeführt, und eine Hybridisierungsreaktion wird auf einer Elektrode, an die eine DNA-Sonde als ein Ligand immobilisiert ist, bewirkt. Eine Pufferlösung, die in einen Bereich von Ionenintensitäten von 0,01 bis 5 und einen pH-Bereich von 5 bis 10 fällt, wird als eine Reaktionslösung verwendet. Ein Hybridisierungs-Beschleunigungsmittel, wie z.B. Dextransulfat, Lachssperma-DNA, Rinderthymus-DNA, EDTA, können bei Bedarf zu dieser Lösung hinzugefügt werden. Das extrahierte Probenmaterial wird zu dieser Lösung hinzugefügt. Die Lösung muss bei 90°C oder mehr vor der Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material hitzedenaturiert werden. Ein nicht-umgesetztes Probenmaterial kann von dem Probenflüssigkeitsauslass (**4**) zur wiederholten Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material bei Bedarf zurückgewonnen werden.

**[0145]** Das extrahierte Gen kann durch vorhergehendes Markieren mit einem Fluoreszenzfarbstoff, wie z.B. FITC, Cy3, Cy5 oder Rhodamin, einem Enzym, wie z.B. Biotin, Hapten, Oxidase oder Phosphatase, oder einem elektrochemisch aktiven Material, wie z.B. Ferrocen oder Chinonen, oder unter Verwendung einer zweiten Sonde, die mit einem solchen Material markiert ist, detektiert werden. Wenn das Gen mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert ist, kann es optisch detektiert werden.

**[0146]** Wenn das Gen unter Verwendung eines elektrochemisch aktiven DNA-Binders detektiert werden soll, wird die Detektion durch das folgende Verfahren erfolgen.

**[0147]** Ein DNA-Binder, der selektiv mit einem doppelsträngigen DNA-Teil kombiniert, wird mit dem doppelsträngigen DNA-Teil, das auf der Oberfläche einer Elektrode (Arbeitselektrode), an der eine DNA-Sonde immobilisiert ist, gebildet wird, umgesetzt, wodurch die elektrochemische Messung durchgeführt wird. Der zu verwendende DNA-Binder in diesem Fall ist z.B. Hoechst **33258**, Acridinorange, Chinacridin, Dawnomycin, Metallinterkalator, Bisinterkalator, wie z.B. Bisacridin, Trisinterkalator oder Polyinterkalator. Zusätzlich kann ein solcher Interkalator zuvor durch einen elektrochemisch aktiven Metallkomplex, z.B. Ferrocen oder Viologen, modifiziert werden.



**[0148]** Obwohl die Konzentration eines DNA-Binders in Abhängigkeit von der Art des Materials variiert, wird das Material im allgemeinen im Bereich von 1 ng/ml bis 1 mg/ml verwendet. In diesem Fall wird ein Puffermittel im Bereich einer Ionenintensität von 0,001 bis 5 und einem pH-Bereich von 5 bis 10 verwendet.

**[0149]** Nach dem Umsetzen einer als Arbeitselektrode dienenden Elektrode und einem DNA-Binder wird gereinigt, und die elektrochemische Messung wird durchgeführt. Die elektrochemische Messung wird durch drei Elektroden, einschliesslich einer Referenzelektrode, Gegenelektrode und Arbeitselektrode, oder zwei Elektroden, umfassend eine Gegenelektrode und eine Arbeitselektrode, durchgeführt. Bei der Messung wird ein Potential angelegt, das gleich ist oder höher als ein Potential, bei dem der DNA-Binder reagiert, und der Reaktionsstromwert, der von dem DNA-Binder herrührt, wird gemessen. In diesem Fall wird das Potential bei einer konstanten Geschwindigkeit durchlaufen, oder Pulse oder ein konstantes Potential können angelegt werden. Bei der Messung werden die Strömung und Spannungen mittels eines Potentiostaten, eines digitalen Multimeters, eines Funktionsgenerators und dergleichen kontrolliert.

### BEISPIEL 3

**[0150]** Das in [Fig. 11](#) gezeigte Bauteil zur Detektion von biologischem Material wird in einen DNA-Chip vom Stromdetektionstyp, der die interferonheilende Wirkung vorhersagt, ausgebildet, und das folgende Experiment wurde durchgeführt.

**[0151]** Zuerst wurde eine Chromosomen-DNA aus humanen Leukozyten extrahiert, und ein MxA-Genfragment von etwa 100 bp wurde PCR-amplifiziert unter Verwendung eines geeigneten Primers. Das amplifizierte Fragment wurde hitzedenaturiert. Das resultierende Fragment wurde dann in den DNA-Chip eingeführt. Zu beachten ist, dass eine DNA-Sonde für SNP (single nucleotide polymorphism), die in dem MxA-Gen existiert, zuvor auf einer Elektrode (32) des DNA-Chips immobilisiert wurde. Nach Einführen der Probe wurde sie 2 Stunden stehengelassen, und ein Reinigen wurde mit einem Puffermittel durchgeführt. Wenn ein DNA-Binder (Hoechst 33258) verwendet wurde, wurde gefunden, dass eine Heilungswirkung von Interferon vorhergesagt werden konnte, selbst wenn die Ladung nicht elektrisch kontrolliert wurde. Es wurde jedoch klar, dass die Ergebnisse von der Weise abhängen, mit der die Flüssigkeit fliesst.

**[0152]** Im Gegensatz hierzu wurde gefunden, dass eine Heilungswirkung mit hoher Empfindlichkeit und hoher Genauigkeit ohne Durchführung einer PCR-Amplifikation durch das folgende Verfahren vorhergesagt werden konnte. Das eingeführte Gen wur-

de an den Randteil bewegt, während es durch Wechseln der Polaritäten der an den jeweiligen Elektroden angelegten Spannungen auf konzentriert wurde, wie in den [Fig. 8A](#) bis [Fig. 8C](#) gezeigt, und das Gen wurde auf der Elektrodenanordnung (32) durch Wechseln der Polaritäten der Spannungen, die in den jeweiligen Elektroden (32) angelegt waren, bewegt, während das Gen auf der Elektrode (32) gefangen wurde, wie in den [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) gezeigt. Wie unter Bezugnahme auf [Fig. 12](#) beschrieben, wird zusätzlich die Serie von Schritten (S3) bis (S6) mehrfach wiederholt.

Weitere Vergleichsausführungsform:

**[0153]** Diese Vergleichsausführungsform betrifft eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material zur Bewegung eines geladenen Materials, wie z.B. einem biologischen Material, z.B. einem Gen oder Protein, und insbesondere eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material, die für eine Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material geeignet ist. Diese Ausführungsform stellt eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material bereit, die ein geladenes Material, wie z.B. ein biologisches Material, bewegen kann, damit das Material wirksam mit jedem Liganden auf einem Bauteil zur Detektion von geladenem Material reagiert. Zudem wird eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material bereitgestellt, die ein geladenes Detektionstarget in einer Probe aufkonzentrieren und eine Verbesserung in der Detektionsempfindlichkeit erzielen kann, wenn sie für eine Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material verwendet wird.

**[0154]** [Fig. 14](#) ist eine Querschnittsansicht, die die Anordnung einer Vergleichsvorrichtung zur Detektion von biologischem Material, umfassend ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material, zeigt. Eine Basis (1) weist einen vorstehenden Bauteilmontierteil (2) auf ihrem mittigen oberen Abschnitt auf, auf dem ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) (wird später im Detail beschrieben) montiert ist. Die Basis (1) weist auch ein Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) in den zwei Seiten in [Fig. 14](#) und einen Probenflüssigkeitsausgang (4) in einem mittigen unteren Abschnitt, der mit dem Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3) in Verbindung steht, auf.

**[0155]** Ein oberer Halter (6) und ein unterer Halter (7) werden auf der Basis (1) montiert. Der obere und der untere Halter halten das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5), das auf dem Bauteilmontierteil (2) montiert ist, von sowohl der oberen wie auch der unteren Seite und führen hauptsächlich eine Probenflüssigkeit in das Bauteil (5) und die Probenflüssigkeit, die durch das Bauteil (5) fliesst, in das Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3). Die Strukturen des oberen und unteren Halters (6) und (7) werden im Detail später beschrieben.

**[0156]** Ein Probenflüssigkeits-Einführteil (8) wird in dem mittigen Abschnitt des oberen Halters (6) gebildet. Ein Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) wird mit diesem Probenflüssigkeits-Einführteil (8) verbunden. Die aus dem Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) in den Probenflüssigkeits-Einführteil (8) eingeführte Probenflüssigkeit wird auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) geleitet und für die Detektion eines biologischen Materials verwendet. Hiernach wird die Probenflüssigkeit ausserhalb von einem Probenflüssigkeitsauslags (4) durch eine Probenflüssigkeitsleitung (9), die durch den unteren und oberen Halter (6) und (7) gebildet wird, und das Loch für die Probenflüssigkeitspassage (3), das in der Basis (1) gebildet wird, entladen.

**[0157]** Ein rechteckiges durchgehendes Loch (11) wird in dem oberen Halter (6) gebildet. Das distale Ende einer Kontaktelektrode (15) kann mit einer Elektrode, die als Arbeitselektrode dient, auf dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) durch Einführen der Kontaktelektrode (15) über das durchgehende Loch (11) in Kontakt gebracht werden. Durch Verwendung dieser Kontaktelektrode (15) kann ein Detektionssignal von biologischem Material als ein elektrisches Signal, wie z.B. ein Strom- oder Spannungssignal, abgenommen werden.

**[0158]** Fig. 15 ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material (5) zeigt. Ein Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21), gebildet durch einen Vertiefungsabschnitt, wird unmittelbar unter dem Probenflüssigkeits-Einführteil (8) auf einem Bauteilsubstrat (20), gezeigt in Fig. 14, gebildet. Eine spiralförmige Probenflüssigkeits-Leitungsgrille (22) mit einem Ende, das mit dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21) verbunden ist, wird auf dem Bauteilsubstrat (20) gebildet. Eine Vielzahl von kreisförmigen Elektroden (23), die als Arbeitselektroden dienen, werden auf dem Boden der Leitungsgrille (22) entlang der Spirale angeordnet. Ein Probenflüssigkeits-Entladeteil (24) wird an dem anderen Ende der Leitungsgrille (22) auf dem Bauteilsubstrat (20) gebildet. Dieser Probenflüssigkeits-Ausführteil (24) steht in Verbindung mit einer Probenflüssigkeitsleitung (9), die in Fig. 14 gezeigt ist.

**[0159]** Mindestens eine Art eines spezifischen Detektionsliganden wird auf jeder Elektrode (23) immobilisiert. Das heisst, jede Elektrode (23) dient auch als ein Liganden-immobilisierender Teil. Der an jeder Elektrode (23) immobilisierte Ligand wird ausgewählt aus einem Gen, einer Gensonde, einem Protein, einem Proteinfsegment, einem Coenzym, einem Rezeptor und einer Zuckerkette gemäss dem zu detektierenden biologischen Material.

**[0160]** Wenn verschiedene Liganden an den jeweiligen Elektroden (23) immobilisiert werden, kann eine

Vielzahl von biologischen Materialien auf einmal detektiert werden. Zusätzlich, wenn identische Liganden an die jeweiligen Elektroden (23) immobilisiert werden, können viele biologische Materialien gleichzeitig detektiert werden. Wenn viele Elektroden (23) (Liganden-immobilisierende Teile) auf dem Bauteils substrat (20) zuvor durch Fotolithografie gemustert werden, verbessert sich die Produktivität der Bauteile zur Detektion von biologischem Material (5).

**[0161]** Die Elektroden (23) werden an die Elektrodenkontakte (25) über eine mehrschichtige Verbindung, die auf dem Bauteils substrat (20) gebildet wird, verbunden. Ein Steuerstromkreis (26) zum Steuern der Elektroden (23) durch Anlegen vorbestimmter Spannungen wird mit den Elektrodenkontakten (25) verbunden. Der Betrieb dieses Steuerstromkreises (26) wird später im Detail beschrieben werden.

**[0162]** Die von dem Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) auf diese Weise zugeführte Probenflüssigkeit wird durch den oberen Halter (6) und den unteren Halter (7) geleitet und von dem mittigen Abschnitt in das Bauteil zur Detektion des biologischen Materials eingeführt. Nach gleichförmigem Zuführen der Probenflüssigkeit zu den Ligandenimmobilisierenden Teilen, die auf dem Randteil des Bauteils (5) ausgebildet sind, wird die Flüssigkeit von unten entladen. Die Detektion eines biologischen Materials in der Probenflüssigkeit kann daher unter gleichförmigen Bedingungen vorgenommen werden.

**[0163]** Wenn ein zu detektierendes biologisches Material ein Gen ist, wird eine DNA-Sonde als ein Ligand an der Elektrode (23) immobilisiert. Wie bekannt ist, ist eine DNA-Sonde ein einzelsträngiges Gen, das mit einem spezifischen Gen reagiert. Wenn Gene in einer Probenflüssigkeit zuvor in ein einzelsträngiges Gen umgewandelt werden, wird nur ein Gen mit einer spezifischen Sequenz, die der an der Elektrode (23) immobilisierten DNA-Sonde entspricht, durch die Elektrode (23) gefangen. Anschliessend binden die DNA-Sonde und das Gen komplementär zueinander (Hybridisierung).

**[0164]** Die obige Anordnung wird im weiteren Detail beschrieben werden. Als erstes ist ein für das Bauteils substrat (20) verwendetes Substratmaterial, obwohl es nicht hierauf beschränkt ist, beispielsweise ein anorganisches isolierendes Material, wie Glas, Quarzglas, Aluminiumoxid, Saphir, Forsterit, Siliciumcarbid, Siliciumoxid oder Siliciumnitrid. Alternativ kann eines der folgenden organischen Materialien als ein Substratmaterial verwendet werden: Polyethylen, Ethylen, Polypropylen, Polyisobutylen, Polymethylmethacrylat, Polyethylenterephthalat, ungesättigter Polyester, fluorhaltiges Harz, Polyvinylchlorid, Polyvinylidenchlorid, Polyvinylacetat, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetal, Acrylharz, Polyacrylnitril, Polystyrol, Acetalharz, Polycarbonat, Polyamid, Phenol-

harz, Harnstoffharz, Epoxyharz, Melaminharz, ein Styrol-Acrylnitril-Copolymer, ein Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymer, Siliconharz, Polyphenylenoxid, Polysulfon und dergleichen. Zusätzlich, wenn die Detektion von biologischem Material durch das später beschriebene optische Verfahren durchzuführen ist, kann eine dünne Faserfolie, wie z.B. Nylon oder Cellulose, verwendet werden.

**[0165]** Das für die Elektroden (23) zu verwendende Elektrodenmaterial ist nicht besonders beschränkt. Als ein Material für die Elektrode, einschliesslich dem Ligandenimmobilisierenden Punkt, insbesondere wenn die Detektion von biologischem Material elektrochemisch durchzuführen ist, kann eines der folgenden Materialien verwendet werden. Ein einzelnes Metall, wie z.B. Gold, eine Goldlegierung, Silber, Platin, Quecksilber, Nickel, Palladium, Silicium, Germanium, Gallium oder Wolfram, Legierungen, die mindestens zwei dieser Metalle enthalten, Kohlenstoff, wie z.B. Graphit oder glasartiger Kohlenstoff, Oxide hiervon, Verbindungen hiervon, Halbleiterverbindungen, wie z.B. Siliciumoxid, und verschiedene Arten von Halbleiterelementen, wie z.B. ein CCD, FET und CMOS.

**[0166]** Als ein Verfahren zur Bildung der Elektroden (23) kann Galvanisieren, Bedrucken, Sputtern, Dampfabscheidung oder dergleichen verwendet werden. Als ein Dampfabscheidungsverfahren kann ein Widerstands-Heizverfahren, ein RF-Heizverfahren und ein Elektronenstrahl-Heizverfahren verwendet werden. Als ein Sputterverfahren kann ein Gleichstrom-Bipolarsputtern, Gegenfeldsputtern, asymmetrisches Wechselstromsputtern, Gettersputtern und RF-Sputtern verwendet werden. Für eine Elektrode kann eine elektrolytische Polymerfolie oder ein leitfähiges Hochpolymer, wie z.B. Polypyrrol oder Polyanilin, verwendet werden.

**[0167]** Als ein für einen dünnen isolierenden Film, der die Oberflächen der Elektroden (23) bedeckt, zu verwendendes isolierendes Material wird z.B. ein Fotopolymer oder ein Fotoresistmaterial verwendet, ist jedoch nicht hierauf beschränkt. Als ein Fotoresistmaterial kann ein Belichtungsphotoresist, ein Vakuum-UV-Fotoresist, ein Röntgenphotoresist oder ein Elektronenstrahlphotoresist verwendet werden. Ein Hauptmaterial für einen Belichtungsphotoresist umfasst cyclischen Cyclokautschuk, Polyzimtsäure und Novolakharz. Als ein Vakuum-UV-Fotoresist kann Cyclokautschuk, Phenolharz, Polymethylisopropenylketon (PMIPK), Polymethylmethacrylat (PMMA) oder dergleichen verwendet werden. Als ein Röntgenphotoresist kann ein Material, das in "Thin Film Handbook" (Ohmsha, Ltd.) beschrieben ist, wie auch ein COP und Metallacrylat verwendet werden. Als ein Elektronenstrahlresist kann ein in "Thin Film Handbook" (Ohmsha, Ltd.) beschriebenes Material, wie z.B. PMMA, verwendet werden. Der in diesem Fall zu

verwendende Resist weist vorzugsweise eine Dicke von 10 nm oder mehr und 1 µm oder weniger auf.

**[0168]** Die Fläche der Elektrode (23), die als eine Arbeitselektrode dient, kann durch Bedecken der Elektrode (23) mit einem Fotoresist und Durchführung der Lithografie gleichförmig gemacht werden. Mit diesem Verfahren werden die Mengen an zu immobilisierendem Liganden, wie z.B. der DNA-Sonde, zwischen den Elektroden (23) gleichmässig. Dies ermöglicht, eine Detektion von biologischem Material mit hervorragender Reproduzierbarkeit durchzuführen. Herkömmlicherweise wird ein Resistmaterial im allgemeinen am Ende entfernt. Wenn jedoch die Elektrode (23) für die Detektion eines an eine DNA-Sonde immobilisierten Gens dient, kann das Resistmaterial als Teil der Elektrode (23) verwendet werden, ohne entfernt zu werden. In diesem Fall muss ein Material mit einer hohen Wasserbeständigkeit als ein Resistmaterial verwendet werden.

**[0169]** Für den auf den Elektroden (23) zu bildenden dünnen, isolierenden Film kann ein von den Fotoresistmaterialien verschiedenes Material verwendet werden. Zum Beispiel können Oxide, Nitride und Carbide von Si, Ti, Al, Zn, Pb, Cd, W, Mo, Cr, Ta, Ni und dergleichen und Legierungen hiervon verwendet werden. Nachdem ein dünner Film durch Sputtern, Dampfabscheidung, CVD oder dergleichen unter Verwendung eines dieser Materialien gebildet wird, wird der Film durch Fotolithografie gemustert, um freigelegte Elektrodenteile zu bilden, wodurch die Flächenkonstanz reguliert wird.

**[0170]** Der Steuerbetrieb des Steuerstromkreises (26) wird unter Bezugnahme auf die [Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#), [Fig. 17A](#) bis [Fig. 17C](#), [Fig. 18A](#) bis [Fig. 18C](#) und [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#) beschrieben werden. Der Steuerstromkreis (26) legt Spannungen mit vorbestimmten Polaritäten an die Elektroden (23) an, um ein biologisches Detektionstarget in einer Probenflüssigkeit, die zu dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21) auf den mittigen Abschnitt des Bauteils zur Detektion von biologischem Material (5) eingeführt wurde, in Anordnungsrichtung der Elektroden (23) in Folge zu bewegen.

**[0171]** Wenn ein biologisches Detektionstarget ein Gen ist, wird eine Probenflüssigkeit, die eine wässrige Lösung von Genen ist, von dem Probenflüssigkeits-Zufuhrrohr (10) zu dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21) auf dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) über den Probenflüssigkeits-Einführteil (8) zugeführt und auf die Elektrode (23) über die Leitungsrille (22) geleitet. Die Ladungspolarität des Gens ist negativ. Die [Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#), [Fig. 17A](#) bis [Fig. 17C](#), [Fig. 18A](#) bis [Fig. 18C](#) und [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#) zeigen Fälle, in denen der Steuerbetrieb durchgeführt wird, wenn ein biologisches Detektionstarget ein Gen ist. Jede der

[Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#), [Fig. 17A](#) bis [Fig. 17C](#), [Fig. 18A](#) bis [Fig. 18C](#) und [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#) zeigt Veränderungen in dem Zustand der Spannungsanlegung in bezug auf die Elektroden (23) mit der Zeit. Es wird angenommen, dass sich der spannungsangelegte Zustand (die Polarität einer Spannung) in der Folge der Suffixe A, B und C, die an den jeweiligen Zeichnungsnummern angehängt sind, ändert.

[0172] Die in den [Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#) gezeigten Beispiele des Steuerbetriebs werden beschrieben werden. Wie in [Fig. 16A](#) gezeigt, wird zuerst eine positive Spannung, deren Polarität der Ladungspolarität eines Gens entgegengesetzt ist, an einer Elektrode (23-1) angelegt, die dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21) am nächsten ist, und eine negative Spannung wird dann an einer Elektrode (23-2), benachbart zu der Elektrode (23-1), angelegt. Die zu dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (21) zugeführte Probenflüssigkeit bewegt sich daher auf die Elektrode (23-1) aufgrund der durch die Elektrode (23-1) generierten elektrostatischen Anziehungskraft, an die die Spannung, deren Polarität der Ladungspolarität des Gens entgegengesetzt ist, angelegt ist. In diesem Fall, wenn ein leichter Unterdruck an der Probenflüssigkeit angelegt wird, kann sich die Probenflüssigkeit schneller bewegen. Da eine Spannung mit einer entgegengesetzten Polarität gegenüber der Ladungspolarität des Gens an der Elektrode (23-2), benachbart zu der Elektrode (23-1), angelegt ist, ist das Gen auf der Elektrode (23-1) gefangen.

[0173] Wie in [Fig. 16B](#) gezeigt, wird dann die Polarität der an der Elektrode (23-1) angelegten Spannung in eine negative Polarität umgewandelt, und die Polarität der an der benachbarten Elektrode (23-2) angelegten Spannung wird auch zu einer positiven Polarität umgewandelt. Zu diesem Zeitpunkt unterliegt das Gen in der Probenflüssigkeit elektrostatischen Abstossungskräften von der Elektrode (23-1), an die die Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität des Gens angelegt ist, und elektrostatischen Anziehungskräften von der Elektrode (23-2), an die die Spannung mit der gegenüber der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität angelegt ist. Das Gen bewegt sich daher von der Elektrode (23-1) auf die Elektrode (23-2) und wird auf der Elektrode (23-2) gefangen.

[0174] Wie in [Fig. 16C](#) gezeigt, wird die Polarität der an der Elektrode (23-2) angelegten Spannung in eine negative Polarität umgewandelt, und die Polarität der an der benachbarten Elektrode (23-3) angelegten Spannung wird auch zu einer positiven Polarität umgewandelt, wodurch das Gen in der Probenflüssigkeit von der Elektrode (23-2) zu der Elektrode (23-3) bewegt wird und auf der Elektrode (23-3) gefangen wird.

[0175] Anschliessend wird die Position einer Elektrode, an die eine Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität des Gens in der Probenflüssigkeit anzulegen ist, und die Position einer Elektrode, an die eine Spannung mit einer gegenüber der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität anzulegen ist, in Folge in dieser Weise verschoben, wodurch das Gen in Folge auf die benachbarten Elektroden bewegt wird. In dem Prozess dieser Bewegung, sofern das spezifische Gen auf einer gegebenen Elektrode eine Sequenz aufweist, die zu der des an der Elektrode immobilisierten Liganden komplementär ist, erreichen und kombinieren miteinander das Gen und der Ligand. Das heisst, es tritt eine Hybridisierung auf.

[0176] Auf diese Weise bewegt sich in dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material (5) das Gen nach und nach auf den Elektroden (23) entlang der Anordnungsrichtung und wird aus dem Bauteil (5) von den Elektrodenkontakten (24) entladen.

[0177] Die [Fig. 17A](#) bis [Fig. 17C](#) zeigen ein weiteres Beispiel des Steuerbetriebs des Steuerstromkreises (26) in dieser Ausführungsform. Siehe das Beispiel des Steuerbetriebs, das in den [Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#) gezeigt ist. Unter Bezugnahme auf [Fig. 16B](#) z.B. wird eine positive Spannung, deren Polarität die gleiche ist wie die Ladungspolarität des Gens, nur auf der Elektrode (23-1) der Elektroden (23) angelegt, die sich auf der zu der Elektrode (23-2) entgegengesetzten Seite in der Bewegungsrichtung des Gens befindet, auf der das Gen gefangen ist. Wie in [Fig. 17B](#) jedoch gezeigt, kann eine positive Spannung auch an der Elektrode (23-3), die sich entlang der Bewegungsrichtung des Gens befindet, angelegt werden. Die [Fig. 17A](#) bis [Fig. 17C](#) zeigen jeweils die Spannungsanlegezustände zu den gleichen Zeitpunkten wie in den [Fig. 16A](#) bis [Fig. 16C](#). Der in [Fig. 17A](#) gezeigte erste Zustand ist der gleiche wie der von

[0178] [Fig. 16A](#). In dem in den [Fig. 17B](#) und [Fig. 17C](#) gezeigten Fall werden jedoch negative Spannungen an die Elektroden, die sich vor und nach der Elektrode, entlang der Bewegungsrichtung des Gens befinden, an die eine positive Spannung angelegt wird, angelegt (auf beiden Seiten in der Anordnungsrichtung der Elektroden (23)).

[0179] Mit diesem Betrieb, da negative Spannungen an die zwei Elektroden angelegt sind, die sich vor und nach, entlang der Bewegungsrichtung des Gens, der Elektrode (23) befinden, auf der das Gen gefangen ist und an die eine positive Spannung angelegt wird, wird das Gen auf der Elektrode eingeschlossen, auf der das Gen durch die elektrostatischen Anziehungskräfte durch die zwei Elektroden gefangen ist, und das Gen kann konzentriert werden. Dies ermöglicht es, das Gen effizient zu detektieren. Zusätzlich ist es

nicht erforderlich, das Gen zu amplifizieren, oder der Grad der Amplifikation wird vermindert.

**[0180]** In dem in den [Fig. 18A](#) bis [Fig. 18C](#) gezeigten Beispiel des Steuerbetriebs werden positive Spannungen an die zwei benachbarten Elektroden der Elektroden (23) angelegt, und eine Spannung mit der entgegengesetzten Polarität wird an eine dem Elektrodenpaar benachbarte Elektrode angelegt. Dieser Betrieb wird durchgeführt, während jede Position der Spannungsanlegung um eine Elektrode zu einem Zeitpunkt in Anordnungsrichtung der Elektroden (23) verschoben wird.

**[0181]** In dem in den [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#) gezeigten Beispiel des Steuerbetriebs werden gleichzeitig Spannungen an alle Elektroden (23) angelegt. Wie in dem in den [Fig. 18A](#) bis [Fig. 18C](#) gezeigten Fall werden positive Spannungen an zwei benachbarte Elektroden der Elektroden (23) angelegt, und eine Spannung mit der entgegengesetzten Polarität wird an eine dem Elektrodenpaar benachbarte Elektrode angelegt. Dieser Betrieb wird durchgeführt, während jede Position der Spannungsanlegung um eine Elektrode zu einem Zeitpunkt in der Anordnungsrichtung der Elektroden (23) verschoben wird.

**[0182]** Wenn  $n$  die Anzahl von Elektroden der Elektroden (23) ist, an die positive Spannungen, deren Polarität der Ladungspolarität des Gens entgegengesetzt ist, angelegt werden,  $m$  die Anzahl von Elektroden ist, an die negative Spannungen, deren Polarität die gleiche wie die Ladungspolarität ist, angelegt werden, und  $p$  die Anzahl von Elektroden ist, um die die Positionen der Spannungsanlegung verschoben wird, wenn die Polaritäten der angelegten Spannungen verändert werden, können  $n$ ,  $m$  und  $p$  beliebige Zahlen gleich oder grösser als 1 sein. Am einfachsten genügt es, wenn  $n = m = p = 1$ . In diesem Fall wird die Polarität einer angelegten Spannung periodisch und alternierend zwischen positiver Polarität und negativer Polarität im Hinblick auf eine Elektrode (23) verändert.

**[0183]** Die [Fig. 20A](#) bis [Fig. 20C](#) zeigen die Elektrodenanordnung und ein Beispiel eines Steuerbetriebs eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material. Wie in den

**[0184]** [Fig. 20A](#) bis [Fig. 20C](#) gezeigt, wird gemäss dieser Vergleichsausführungsform eine Leitungsrille (32) auf einer Kreislinie um einen Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (31), die auf dem mittleren Teil eines Bauteilssubstrats in dem Bauteil zur Detektion von biologischem Material angebracht ist, gebildet, und Elektroden (33), an die Liganden immobilisiert werden, werden auf dem Bodenbereich dieser Leitungsrille (32) angeordnet. Eine von dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (31) zugeführte Probenflüssigkeit wird in den Leitungsrillen (32) geleitet und erreicht die

Elektrode (33).

**[0185]** In dieser Anordnung, wie in dem Beispiel des Steuerbetriebs von [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#), kann ein biologisches Detektionstarget, z.B. ein Gen, in einer Probenflüssigkeit auf den Elektroden (33) entlang der Kreislinie durch Anlegen von Spannungen an die Elektroden (33) unter Verwendung eines Steuerstromkreises (nicht gezeigt) in der in den [Fig. 20A](#) bis [Fig. 20C](#) gezeigten Weise bewegt werden.

**[0186]** Zuerst werden, wie in [Fig. 20A](#) gezeigt, positive Spannungen an ein Paar benachbarter Elektroden der Elektroden (33), die mit einer gepunkteten Linie eingekreist sind, angelegt, und eine negative Spannung wird an eine zu diesem Elektrodenpaar benachbarte Elektrode angelegt. Nach Verstreichen einer vorbestimmten Zeiteinheit, wie in [Fig. 20B](#) gezeigt, wird die Position des Elektrodenpaares, an die positive Spannungen anzulegen sind, um eine Elektrode verschoben, und die Position der Elektrode, die zu den Elektroden benachbart ist und an die eine negative Elektrode anzulegen ist, wird entsprechend um eine Elektrode verschoben. Wenn die vorbestimmte Zeiteinheit wiederum verstrichen ist, werden die Position des Elektrodenpaares, an die positive Spannungen anzulegen sind, und die Position der Elektrode, an die eine negative Spannung anzulegen ist, um eine Elektrode verschoben, wie in [Fig. 20C](#) gezeigt. Anschliessend wird ein solches Wechseln der Polarität der angelegten Spannungen mit jeder Zeiteinheit, mit anderen Worten in einem vorbestimmten Zyklus, durchgeführt werden. Mit diesem Betrieb bewegt sich ein biologisches Detektionstarget (z.B. ein Gen) in der Probenflüssigkeit auf der Anordnung von benachbarten Elektroden (33) in der Kreislinienrichtung. Dies ermöglicht es, dass das biologische Detektionstarget gleichförmig und effizient mit dem an jeder Elektrode (33) immobilisierten Liganden reagiert.

**[0187]** Auf diese Weise kann das biologische Detektionstarget in der in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material eingeführten Probenflüssigkeit in Folge auf die Elektroden (33) bewegt werden, während es auf konzentriert wird. Das heisst, gemäss dieser Ausführungsform, besteht keine Notwendigkeit, das biologische Detektionstarget durch eine Genamplifikationsmethode, wie z.B. der PCR-Methode, wie im Stand der Technik, zu amplifizieren, und das biologische Detektionstarget und der Ligand können wirksam miteinander in Kontakt kommen, da das biologische Detektionstarget auf der Elektrode (33), an der der Ligand immobilisiert wird, aufkonzentriert wird. Dies verbessert die Detektionseffizienz.

**[0188]** Die [Fig. 21A](#) und [Fig. 21B](#) sind jeweils eine Draufsicht und eine Querschnittsansicht, die eine weitere Anordnung einer Vergleichsvorrichtung zur Detektion von biologischem Material zeigen.

**[0189]** In dieser Vergleichsvorrichtung zur Detektion von biologischem Material wird ein Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (41) in der Mitte eines vorstehenden Teils (40A), das in dem mittleren Teil einer Basis (40) ausgebildet ist, gebildet, und ein Vertiefungsteil (42) ist so ausgebildet, dass es auf dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (41A) zentriert ist. Zusätzlich sind eine Vielzahl von fächerförmigen Elektroden (43) in dem Vertiefungsteil (42) ausgebildet, so dass sie sich radial von dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (41) erstrecken. Liganden werden an die Elektroden (43) immobilisiert. Zusätzlich weist die Basis (40) ein Loch für die Probenflüssigkeitspassage (44) auf, das die Probenflüssigkeit, die durch das Bauteil zur Detektion von biologischem Material passiert hat, zu dem Probenflüssigkeitsauslass leitet.

**[0190]** Auch in dieser Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material wird durch Steuern der Elektroden (43) unter Verwendung eines Steuerstromkreises (nicht gezeigt) in der gleichen Weise wie in dem Fall, der unter Bezugnahme auf die Fig. 20A bis Fig. 20C beschrieben wurde, das biologische Detektionstarget nacheinander in der Kreisrichtung, in der die Elektroden (43) angeordnet sind, bewegt, während es aufkonzentriert wird, und kann wirksam mit dem Liganden umgesetzt werden.

**[0191]** Fig. 22 ist eine Draufsicht, die die Anordnung eines Vergleichsbauteils zur Detektion von biologischem Material zeigt.

**[0192]** Ein Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (51) und ein Probenflüssigkeits-Entladeteil (54) sind nahe zweier gegenüberliegender Ecken auf einem Bauteilsubstrat (50) angeordnet. Eine Probenflüssigkeits-Leitungsgrille (52) in Zick-Zack-Form wird zwischen dem Probenflüssigkeits-Aufnahmeteil (51) und dem Probenflüssigkeits-Entladeteil (54) ausgebildet. Die Elektroden (53), an die Liganden immobilisiert sind, sind in dieser Probenflüssigkeits-Leitungsgrille (52) angeordnet.

**[0193]** Auch bei Verwendung des Bauteils zur Detektion von biologischem Material mit dieser Anordnung wird ein biologisches Detektionstarget nacheinander in der Kreisrichtung, in der die Elektroden (53) angeordnet sind, durch Durchführen des gleichen Steuerbetriebs, wie unter Verwendung eines Steuerstromkreises (nicht gezeigt) unter Bezugnahme auf Fig. 16A bis Fig. 16C, Fig. 18A bis Fig. 18C, Fig. 19A bis Fig. 19C und Fig. 20A bis Fig. 20C beschrieben wurde, bewegt. Zusätzlich, da das biologische Detektionstarget während der Bewegung aufkonzentriert wird, kann der Ligand wirksam mit dem Material umgesetzt werden.

Weitere Vergleichsausführungsform:

**[0194]** Fig. 23 zeigt die schematische Anordnung

einer Vergleichsvorrichtung zur Bearbeitung von biologischem Material mit einer Vielzahl von Reaktionsschritten.

**[0195]** In dieser Vergleichsausführungsform sind eine Vielzahl von Reaktionskammern (61A) bis (61F) auf einem Substrat (60) angeordnet. Diese Reaktionskammern (61A) bis (61F) stehen miteinander über Probenflüssigkeits-Leitungsgrillen (62) bei Bedarf in Kontakt. Die Elektroden (63) sind in den Probenflüssigkeits-Leitungsgrillen (62) angeordnet. Zum Beispiel können Liganden an den Elektroden (63) immobilisiert sein.

**[0196]** Auch in dieser Vorrichtung zum Bearbeiten von biologischem Material wird ein biologisches Detektionstarget nacheinander in Kreisrichtung, auf der die Elektroden (63) angeordnet sind, durch Durchführen des gleichen Steuerbetriebes, das unter Bezugnahme auf die Fig. 16A bis Fig. 16C, Fig. 18A bis Fig. 18C, Fig. 19A bis Fig. 19C und Fig. 20A bis Fig. 20C beschrieben wurde, unter Verwendung eines Steuerstromkreises (nicht gezeigt) bewegt. Zusätzlich, da das biologische Detektionstarget während der Bewegung aufkonzentriert wird, kann ein reaktives Bearbeiten des biologischen Detektionstargets in den Reaktionskammern (61A) bis (61F) effizient vorgenommen werden.

Weitere Vergleichsausführungsform:

**[0197]** Fig. 24 ist eine Ansicht, die eine Mizellare Struktur zeigt, die in einer Vergleichsvorrichtung zum Bearbeiten von biologischem Material verwendet wird, an die eine Vorrichtung zum Bewegen von geladenem Material angeschlossen wird. Diese Vergleichsausführungsform ist eine Vorrichtung, die zum Bearbeiten eines biologischen Materials ohne Ladung verwendet wird. In dieser Vorrichtung wird eine Mizellare Struktur z.B. durch ein Tensid gebildet.

**[0198]** Eine Mizellare Struktur ist eine Struktur, in der ein ungeladenes Material mit einer beabsichtigt geladenen Mizelle bedeckt ist. Unter Bezugnahme auf Fig. 24 ist ein biologisches Material zu einer negativen Polarität geladen. Selbst wenn ein biologisches Material, das beabsichtigt durch eine Mizellare Struktur auf diese Weise geladen wurde, bewegt werden soll, kann die Vorrichtung zum Bewegen von biologischem Material oder die Vorrichtung zum Bearbeiten von biologischem Material mit der Anordnung, die jeweils in den obigen Ausführungsformen beschrieben wurden, verwendet werden.

**[0199]** Eine durch das Bauteil zur Detektion von biologischem Material oder der Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material gemäss der Ausführungsform zu verarbeitende Probe kann z.B. Blut, Blutserum, Leukozyten, Urin, Stuhlgang, Sperma, Speichel, Gewebe, Zellkultur, Auswurf und dergleichen

chen sein, ist aber nicht hierauf beschränkt. Wenn das biologische Detektionstarget ein Gen ist, wird das Gen aus diesen Proben extrahiert. Das Extraktionsverfahren kann ein Flüssig-Flüssig-Extraktionsverfahren, wie z.B. eine Phenolchloroformmethode, oder ein Fest-Flüssig-Extraktionsverfahren unter Verwendung eines Trägers sein, ist aber hierauf nicht beschränkt. Alternativ können im Handel erhältliche Nukleinsäure-Extraktionsverfahren, wie z.B. QIAamp (erhältlich von Qiagen), SUMAI-Test (erhältlich von Sumitomo Metal Industries, Ltd.) verwendet werden.

**[0200]** Die auf diese Weise extrahierte Genprobenlösung wird dann auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material (DNA-Chip), das in der obigen Ausführungsform beschrieben wurde, eingeführt, und eine Hybridisierungsreaktion wird auf einer Elektrode, an die eine DNA-Sonde als ein Ligand immobilisiert ist, bewirkt. Eine Pufferlösung, die in einen Bereich von Ionenintensitäten von 0,01 bis 5 und einen pH-Bereich von 5 bis 10 fällt, wird als eine Reaktionslösung verwendet. Ein Hybridisierungs-Beschleunigungsmittel, wie z.B. Dextransulfat, Lachssperma-DNA, Rinderthymus-DNA, EDTA, können bei Bedarf zu dieser Lösung hinzugefügt werden. Das extrahierte Probenmaterial wird zu dieser Lösung hinzugefügt. Die Lösung muss bei 90°C oder mehr vor der Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material hitzedenaturiert werden. Ein nicht-umgesetztes Probenmaterial kann von dem Probenflüssigkeitsauslass (4) zur wiederholten Einführung in das Bauteil zur Detektion von biologischem Material bei Bedarf zurückgewonnen werden.

**[0201]** Das extrahierte Gen kann durch vorhergehendes Markieren mit einem Fluoreszenzfarbstoff, wie z.B. FITC, Cy3, Cy5 oder Rhodamin, einem Enzym, wie z.B. Biotin, Hapten, Oxidase oder Phosphatase, oder einem elektrochemisch aktiven Material, wie z.B. Ferrocen oder Chinonen, oder unter Verwendung einer zweiten Sonde, die mit einem solchen Material markiert ist, detektiert werden. Wenn das Gen mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert ist, kann es optisch detektiert werden.

**[0202]** Wenn das Gen unter Verwendung eines elektrochemisch aktiven DNA-Binders detektiert werden soll, wird die Detektion durch das folgende Verfahren erfolgen.

**[0203]** Ein DNA-Binder, der selektiv mit einem doppelsträngigen DNA-Teil kombiniert, wird mit dem doppelsträngigen DNA-Teil, das auf der Oberfläche einer Elektrode (Arbeits Elektrode), an der eine DNA-Sonde immobilisiert ist, gebildet wird, umgesetzt, wodurch die elektrochemische Messung durchgeführt wird. Der zu verwendende DNA-Binder in diesem Fall ist z.B. Hoechst **33258**, Acridinorange, Chinacridin, Dawnomycin, Metallinterkalator, Bisinterkalator, wie z.B. Bisacridin, Trisinterkalator oder Polyinterkalator.

Zusätzlich kann ein solcher Interkalator zuvor durch einen elektrochemisch aktiven Metallkomplex, z.B. Ferrocen oder Viologen, modifiziert werden.

**[0204]** Obwohl die Konzentration eines DNA-Binders in Abhängigkeit von der Art des Materials variiert, wird das Material im allgemeinen im Bereich von 1 ng/ml bis 1 mg/ml verwendet. In diesem Fall wird ein Puffermittel im Bereich einer Ionenintensität von 0,001 bis 5 und einem pH-Bereich von 5 bis 10 verwendet.

**[0205]** Nach dem Umsetzen einer als Arbeitselektrode dienenden Elektrode und einem DNA-Binder wird gereinigt, und die elektrochemische Messung wird durchgeführt. Die elektrochemische Messung wird durch drei Elektroden, einschliesslich einer Referenzelektrode, Gegenelektrode und Arbeitselektrode, oder zwei Elektroden, umfassend eine Gegenelektrode und eine Arbeitselektrode, durchgeführt. Bei der Messung wird ein Potential angelegt, das gleich ist oder höher als ein Potential, bei dem der DNA-Binder reagiert, und der Reaktionsstromwert, der von dem DNA-Binder herrührt, wird gemessen. In diesem Fall wird das Potential bei einer konstanten Geschwindigkeit durchlaufen oder Pulse oder ein konstantes Potential können angelegt werden. Bei der Messung werden die Ströme und Spannungen mittels eines Potentiostaten, eines digitalen Multimeters, eines Funktionsgenerators und dergleichen kontrolliert.

#### REFERENZ BEISPIEL 1

**[0206]** Das unter Bezugnahme auf die [Fig. 19A](#) bis [Fig. 19C](#) beschriebene Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material wurde als ein DNA-Chip zur Vorhersage der Heilungswirkung, von Interferon ausgebildet, und das folgende Experiment wurde durchgeführt.

**[0207]** Zuerst wurde eine Chromosomen-DNA aus humanen Leukozyten extrahiert, und ein MxA-Genfragment von etwa 100 bp wurde PCR-amplifiziert unter Verwendung eines geeigneten Primers. Das amplifizierte Fragment wurde hitzedenaturiert. Das resultierende Fragment wurde dann in den DNA-Chip eingeführt. Zu beachten ist, dass eine DNA-Sonde für SNP (single nucleotide polymorphism), die in dem MxA-Gen existiert, zuvor auf einer Elektrode (**23**) des DNA-Chips immobilisiert wurde. Nach Einführen der Probe wurden die Elektroden (**23**) angetrieben. Nach Entfernen von überschüssiger Probenflüssigkeit wurde schliesslich mit einem Puffermittel gereinigt. Wenn ein DNA-Binder (Hoechst 33258) verwendet wurde, wurde gefunden, dass die Heilungswirkung von Interferon vorhergesagt werden konnte.

**[0208]** In diesem Fall wurde gefunden, dass, wenn das eingeführte Gen zu dem Randteil bewegt wurde,

während es durch Wechseln der Polaritäten der an den Elektroden (23) angelegten Spannung in der gleichen Weise, wie unter Bezugnahme auf die Fig. 19A bis Fig. 19C beschrieben, bewegt wurde, und das Gen auf der Anordnung der Elektroden (32) durch Wechseln der Polaritäten der an den jeweiligen Elektroden (23) angelegten Spannungen bewegt wurde, während das Gen auf der Elektrode (23) gefangen wurde, die Heilungswirkung genau ohne Durchführung einer PCR-Amplifikation vorhergesagt werden konnte.

#### REFERENZ BEISPIEL 2

[0209] Das unter Bezugnahme auf Fig. 22 beschriebene Vergleichsbauteil zur Detektion von biologischem Material wurde in einen Chip zur Detektion von Tumormarkern ausgebildet, und das folgende Experiment wurde durchgeführt.

[0210] Um einen Chip zur Detektion von Tumormarkern zu bilden, werden Antikörper von verschiedenen humanen Tumormarkern auf den Oberflächen der Elektroden (53) immobilisiert. Um unspezifische Adsorption zu vermeiden, wurde 1 %-iges Rinderserumalbumin eingesetzt. Wenn die Ladungen der Elektroden ähnlich wie bei Betrieb in Beispiel 1 verändert wurden und die Tumormarker unter Verwendung von Humanserum als Probe detektiert wurden, wurde gefunden, dass die Marker mit hoher Reproduzierbarkeit und hoher Empfindlichkeit in der Größenordnung von 0,1 ng/ml detektiert werden konnten. In diesem Fall wurde ein mit Meerrettichperoxidase markierter Antikörper als zweiter Antikörper verwendet, und ein Rahmen für die Lumineszenzdetektion wurde anschliessend zugefügt.

[0211] Die obige Ausführungsform hat nur die Vorrichtung zum Bewegen von biologischem Material beispielhaft beschrieben. Die Erfindung ist jedoch nicht auf die Vorrichtung zum Bewegen von biologischem Material beschränkt und kann auf alle Vorrichtungen zum Bewegen von geladenem Material mit vorbestimmten Ladungspolaritäten angewendet werden.

[0212] Weitere Vorteile und Modifikationen werden dem Fachmann leicht einfallen. Daher ist die Erfindung in ihren breiteren Aspekten nicht auf die spezifischen Details und repräsentativen Ausführungsformen, die hier gezeigt und beschrieben werden, beschränkt. Dementsprechend können verschiedene Modifikationen vorgenommen werden, ohne vom Geist und Umfang des allgemeinen erfinderischen Konzepts, wie es durch die angelegten Ansprüche und ihre Äquivalente definiert ist, abzuweichen.

#### Patentansprüche

1. Bauteil zur Detektion von biologischem Materi-

al, in das eine Probenflüssigkeit, enthaltend ein geladenes biologisches Material, eingeführt wird und das das biologische Material detektiert, **dadurch gekennzeichnet**, dass es umfasst:

ein Substrat;  
mindestens eine erste Elektrode, die an einer Position auf dem Substrat angebracht wird, zu der die Probenflüssigkeit eingeführt wird; und  
eine Vielzahl von zweiten Elektroden, die in vorbestimmten Abständen um die erste Elektrode auf dem Substrat entlang einer Kreislinie angeordnet sind und an die jeweils Liganden, die mit vorbestimmten biologischen Materialien reagieren, immobilisiert sind; und  
mindestens zwei ringförmige Elektroden, die konzentrisch zwischen der ersten Elektrode und der Anordnung von zweiten Elektroden angeordnet sind;  
mindestens eine dritte Elektrode, die auf der äusseren Kreisumfangsseite der Anordnung der zweiten Elektroden auf dem Substrat gebildet wird.

2. Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material, in die eine Probenflüssigkeit, enthaltend ein geladenes biologisches Material, eingeführt wird und die das biologische Material detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäß Anspruch 1 umfasst, weiter umfassend:

einen Steuerstromkreis, der das Bauteil zur Detektion von biologischem Material durch Durchführen eines Steuerbetriebes mit Anlegen einer Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität des biologischen Materials an die erste Elektrode und Anlegen einer Spannung mit einer der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität an mindestens einige der zweiten Elektroden steuert; und  
der Steuerstromkreis weiterhin den Steuerbetrieb des Anlegens von polaritätskontrollierten Spannungen an mindestens die zwei ringförmigen Elektroden leistet, um das biologische Material in der Probenflüssigkeit zu den zweiten Elektroden zu bewegen.

3. Vorrichtung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Steuerstromkreis weiterhin den Steuerbetrieb des Anlegens einer Spannung mit einer gegenüber der Ladungspolarität entgegengesetzten Polarität an einige der zweiten Elektroden in der Kreislinie und Anlegen einer Spannung mit der gleichen Polarität wie die Ladungspolarität an einige andere Elektroden der zweiten Elektroden leistet, während in Folge die Positionen der Elektroden, an die Spannungen mit der entgegengesetzten Polarität und der gleichen Polarität angelegt werden sollen, verändert werden.

4. Vorrichtung gemäß Anspruch 2 oder 3, die ein geladenes biologisches Material, das in einer Probenflüssigkeit enthalten ist, detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass sie umfasst:

einen Probenflüssigkeits-Einführteil, um die Probenflüssigkeit auf einen mittigen Abschnitt der Anord-



nung der Elektroden auf dem Substrat einzuführen;  
und  
einen Mechanismus zum Bewegen der Probenflüssigkeit, um die zu dem mittigen Abschnitt des Substrats durch den Probenflüssigkeits-Einführteil eingeführte Probenflüssigkeit radial zu den Elektroden zu bewegen.

5. Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material gemäß einem der Ansprüche 2 bis 4, die ein geladenes biologisches Material, das in einer Probenflüssigkeit enthalten ist, detektiert, dadurch gekennzeichnet, dass sie umfasst:

eine Kontrollvorrichtung, die so konfiguriert ist, dass ein Verfahren, welches wiederholt durchgeführt wird, kontrolliert wird, wobei das Verfahren eine Reihenfolge der Schritte umfasst:

- (a) Zuführen eines Interkalierungsmittels auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material,
- (b) Messen eines elektrochemischen Signals von dem Interkalierungsmittel, das auf einer Reaktion zwischen dem geladenen biologischen Material und dem Liganden basiert, und
- (c) Entfernen des an dem Liganden haftenden interkalierenden Mittels, wodurch das geladene biologische Material detektiert wird.

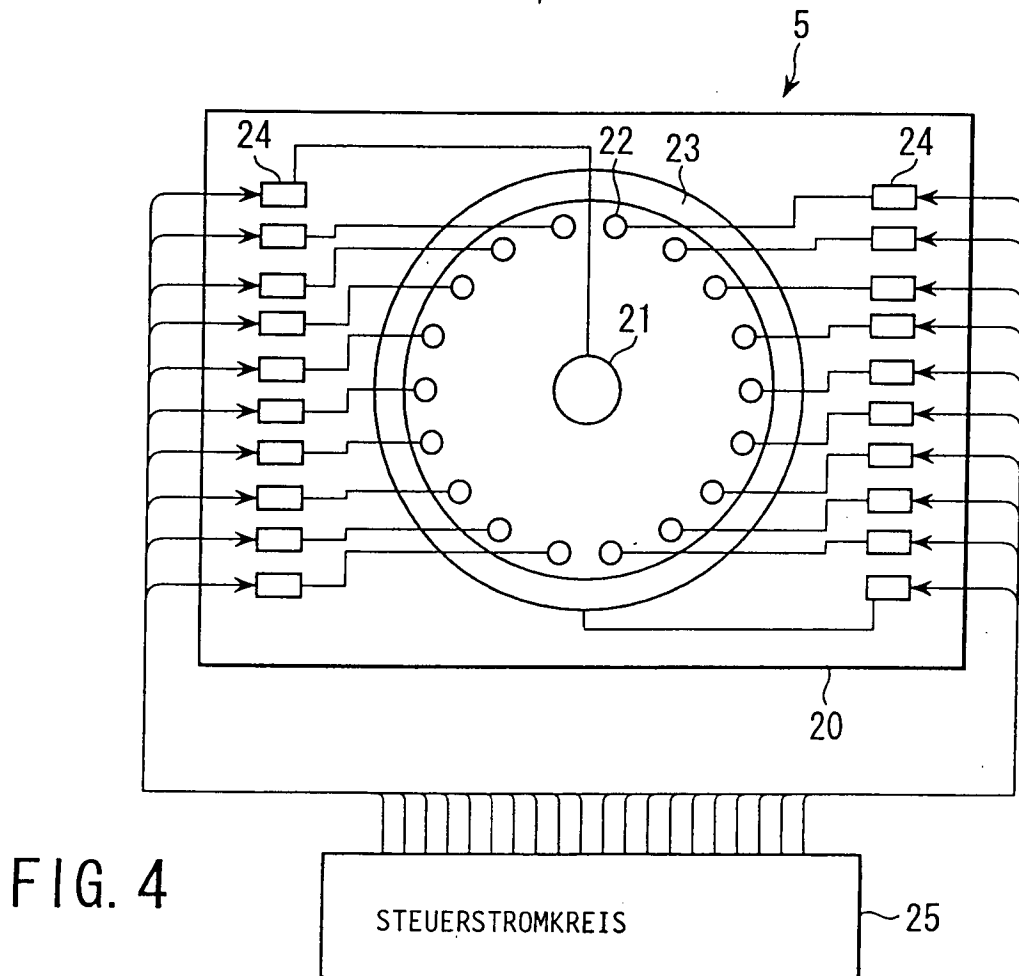
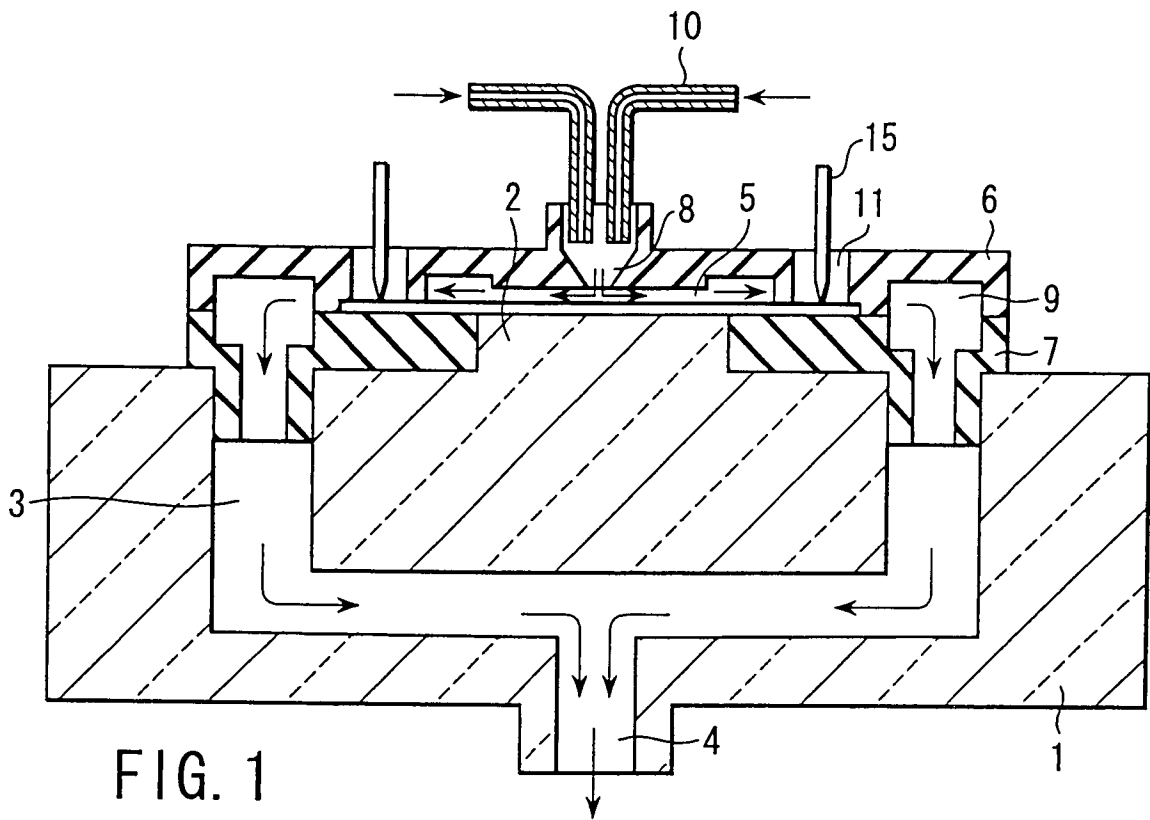
6. Verfahren zur Detektion von biologischem Material, zur Detektion von geladenem biologischen Material, das in einer Probenflüssigkeit enthalten ist, mit einem Bauteil zur Detektion von biologischem Material gemäß Anspruch 1 oder unter Verwendung einer Vorrichtung zur Detektion von biologischem Material gemäß einem der Ansprüche 2 bis 5, wobei die Methode umfasst:

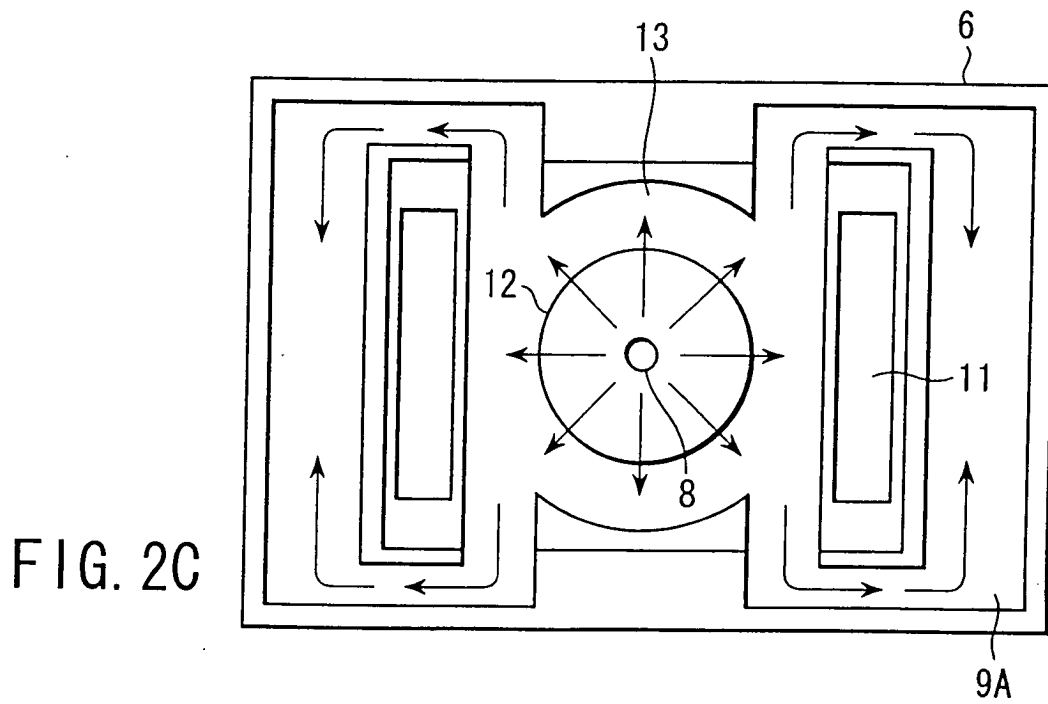
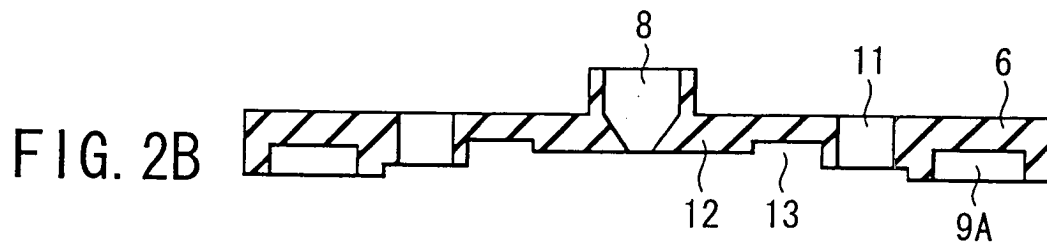
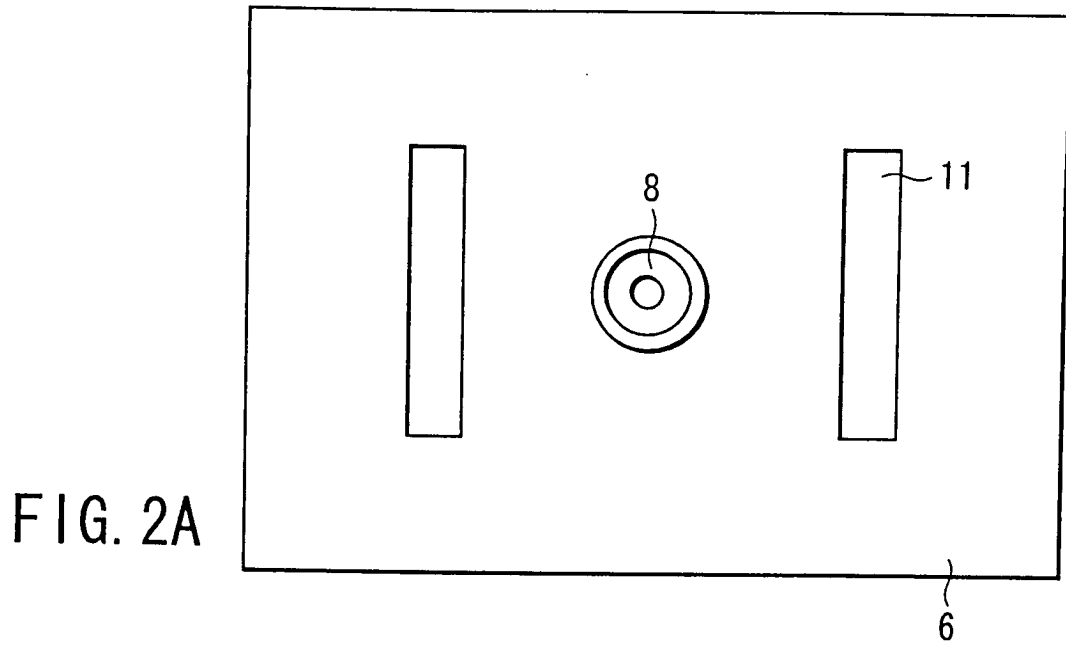
nach Zuführen der Probenflüssigkeit auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material Wiederholen einer Reihenfolge der Schritte:

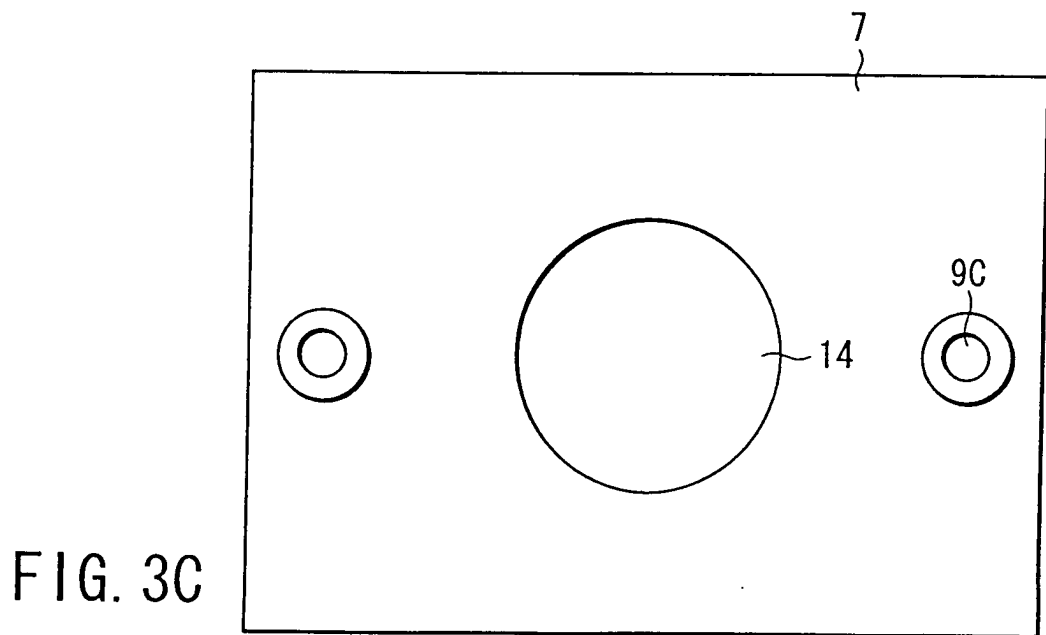
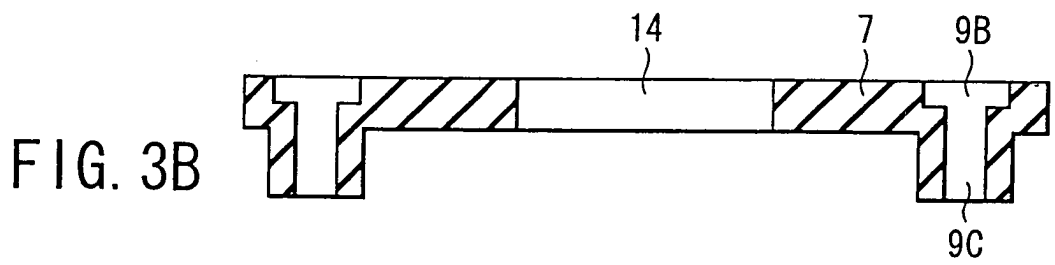
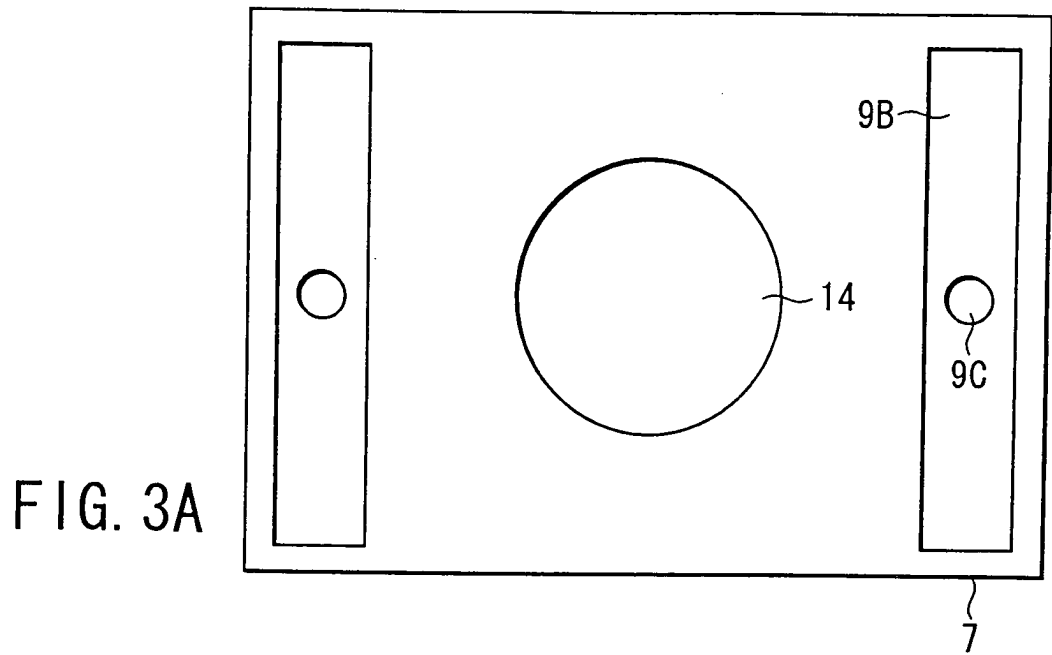
- (a) Zuführen eines Interkalierungsmittels auf das Bauteil zur Detektion von biologischem Material,
- (b) Messen eines elektrochemischen Signals von dem Interkalierungsmittel, das auf einer Reaktion zwischen dem geladenen biologischen Material und dem Liganden basiert, und
- (c) Entfernen des an dem Liganden haftenden interkalierenden Mittels, wodurch das geladene biologische Material detektiert wird.

Es folgen 17 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen







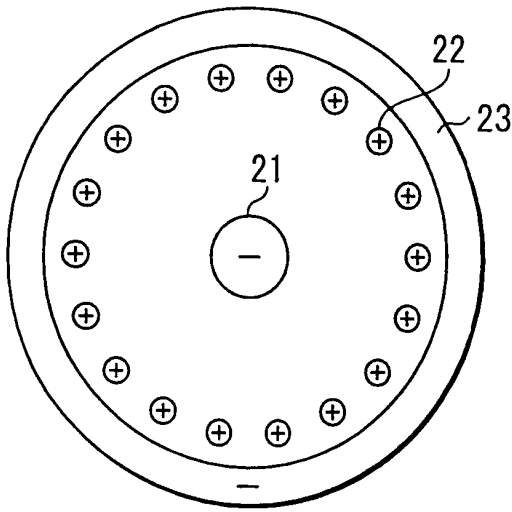


FIG. 5A

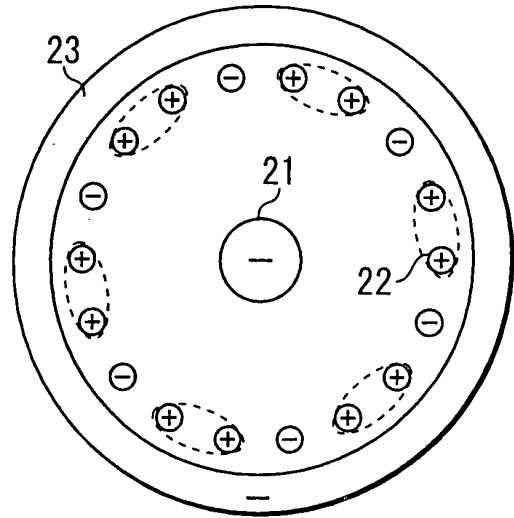


FIG. 6A

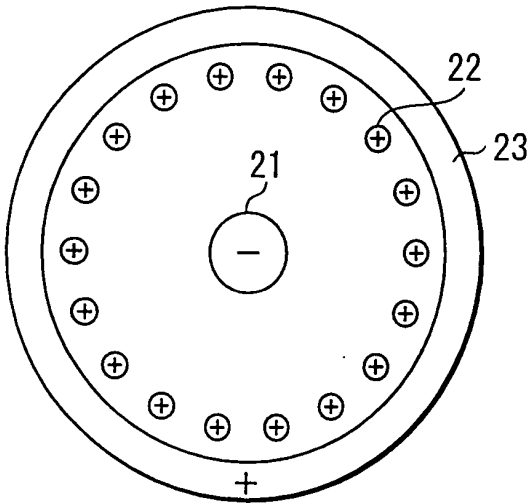


FIG. 5B

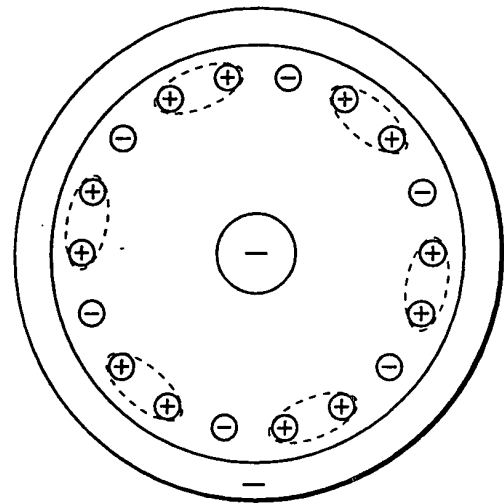


FIG. 6B

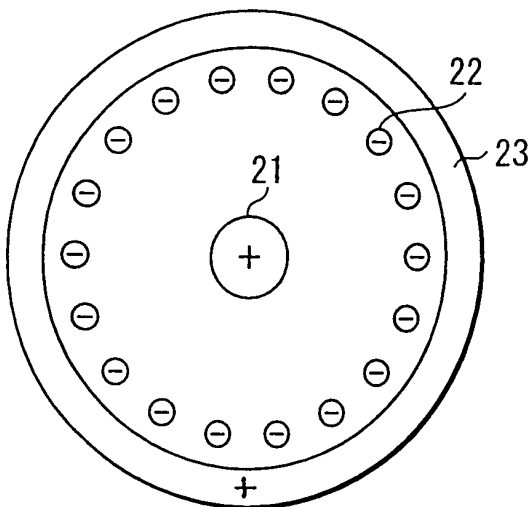


FIG. 5C

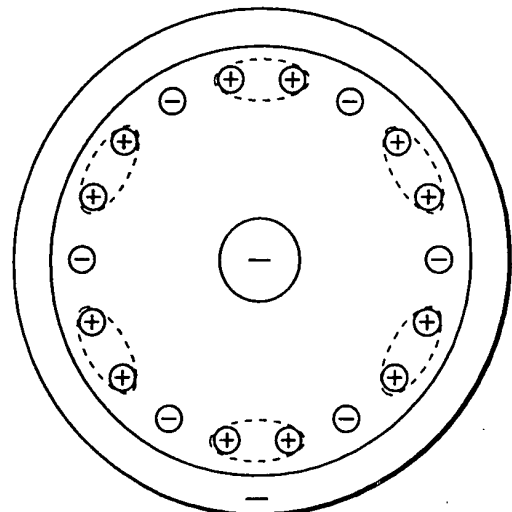


FIG. 6C

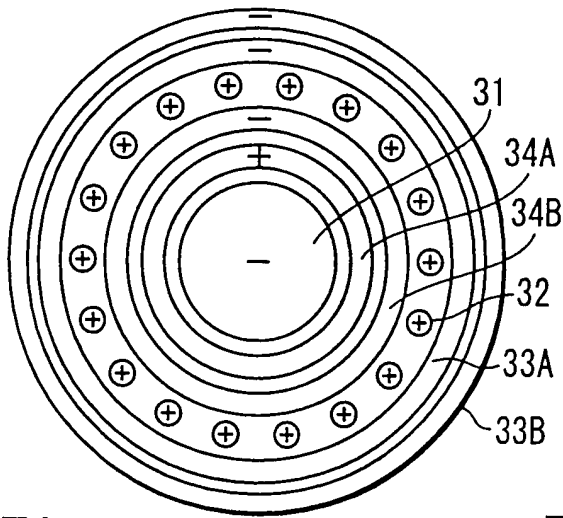


FIG. 7A

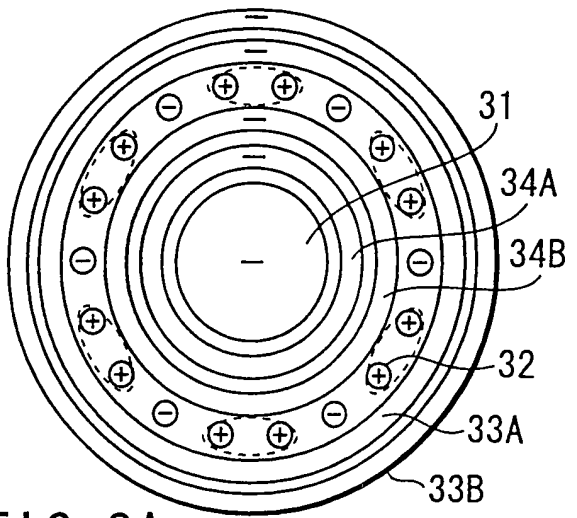


FIG. 8A

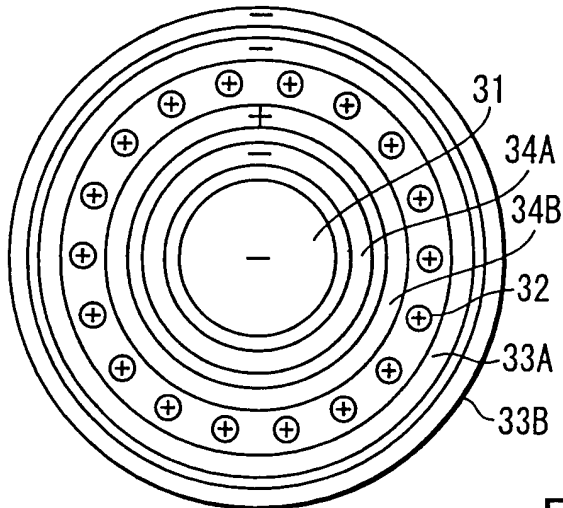


FIG. 7B

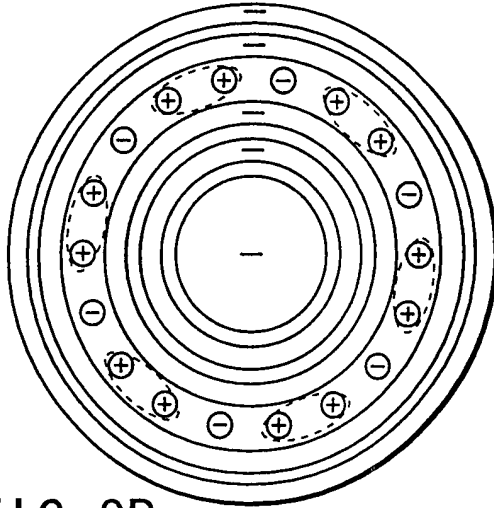


FIG. 8B

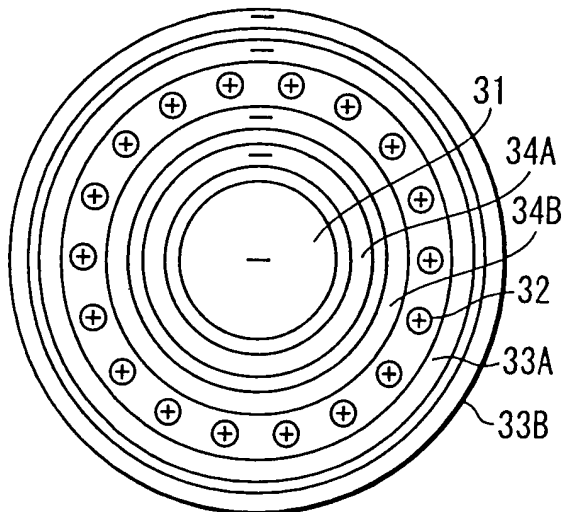


FIG. 7C

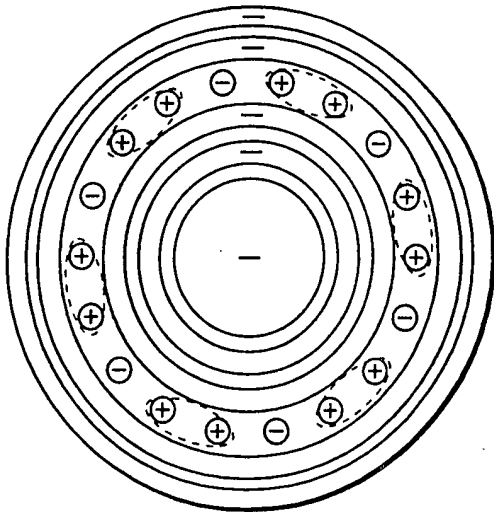
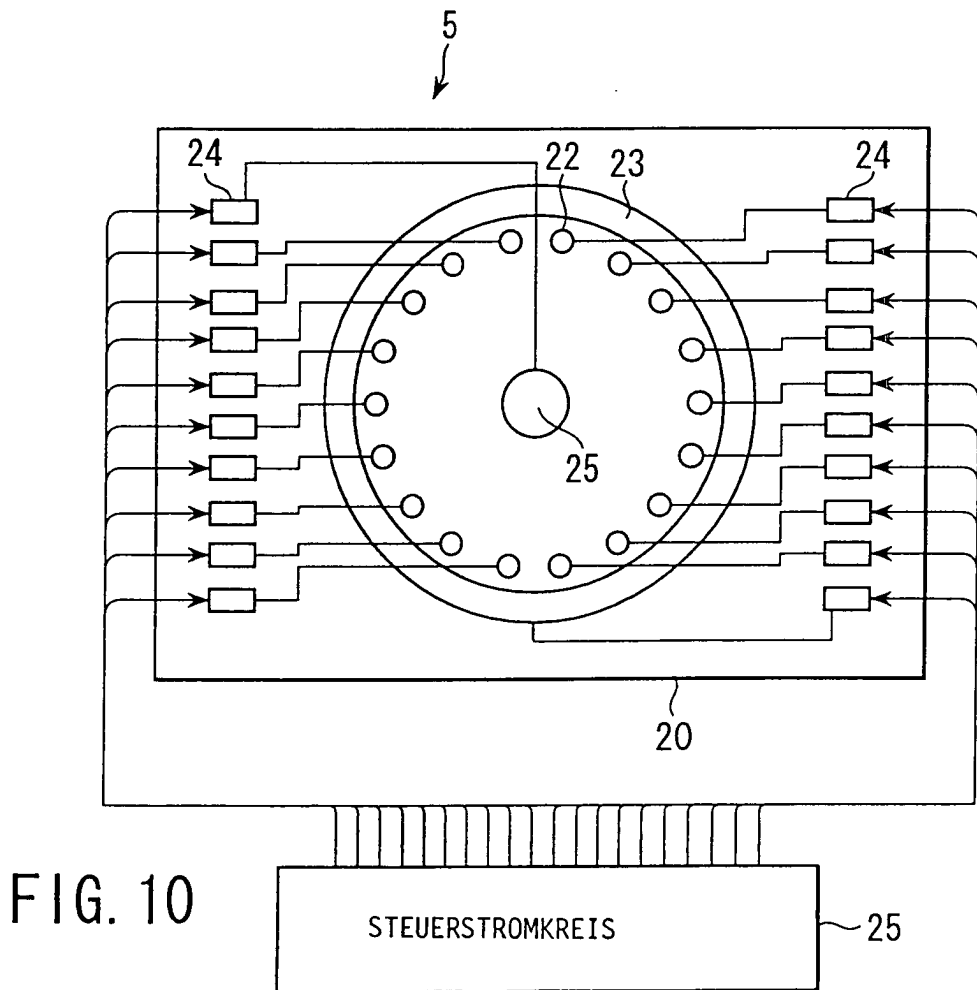
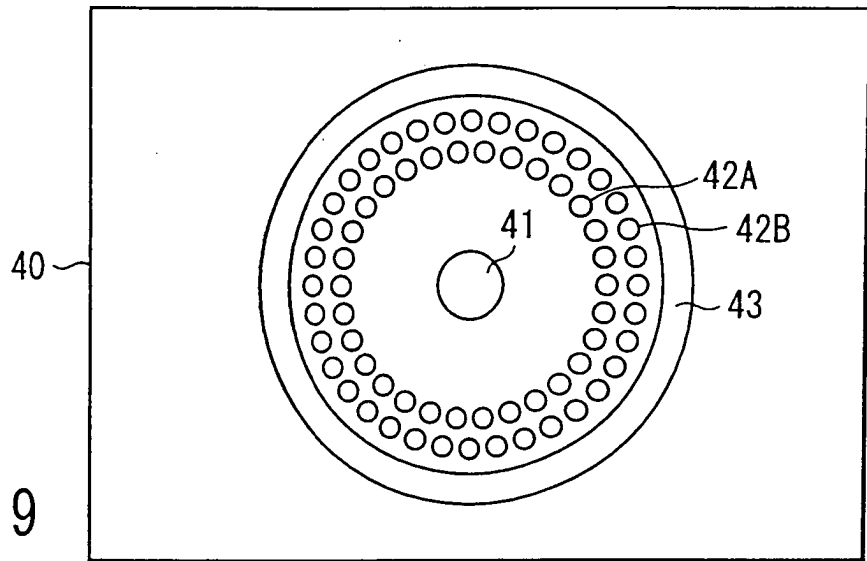


FIG. 8C



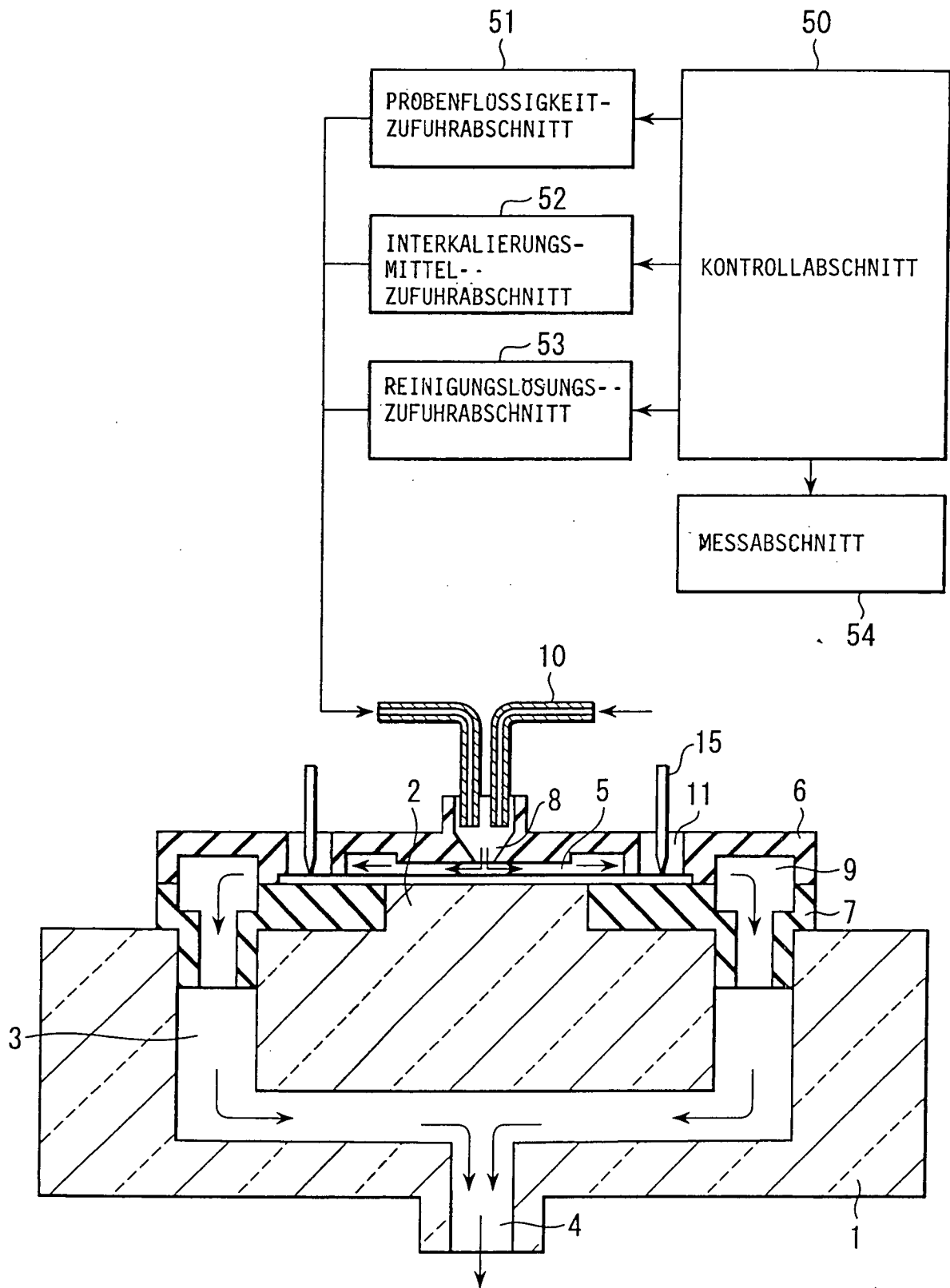


FIG. 11



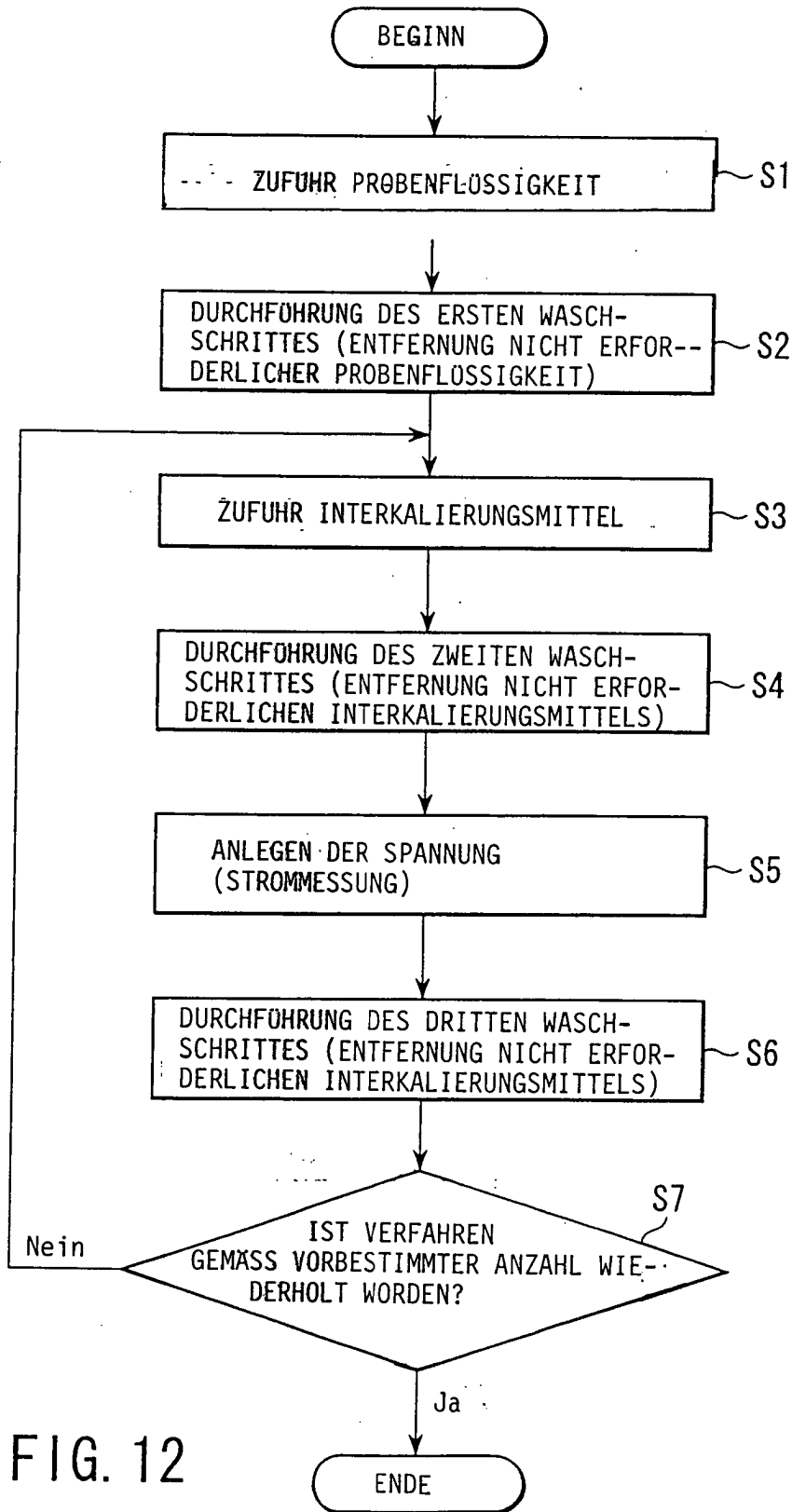


FIG. 12

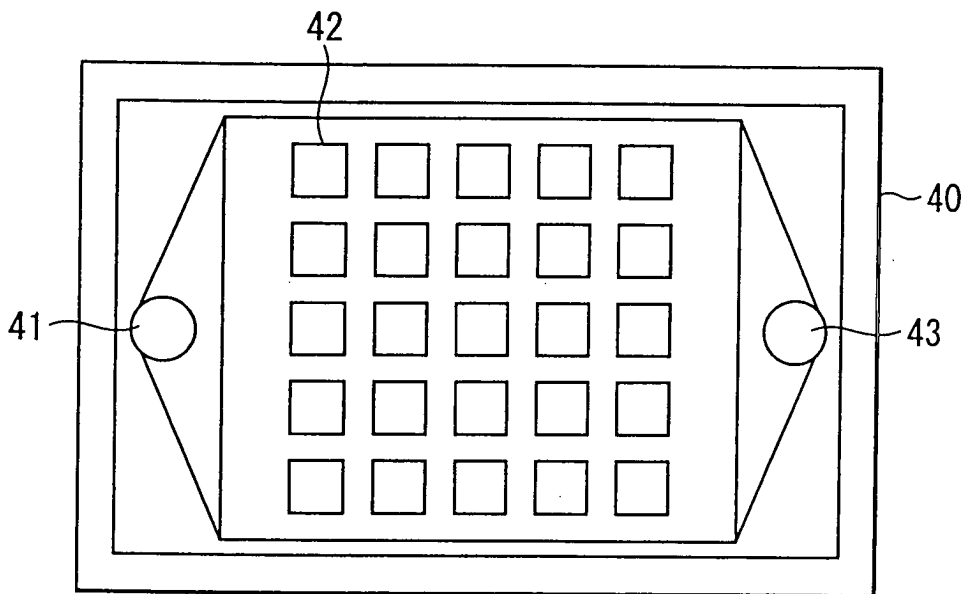


FIG. 13

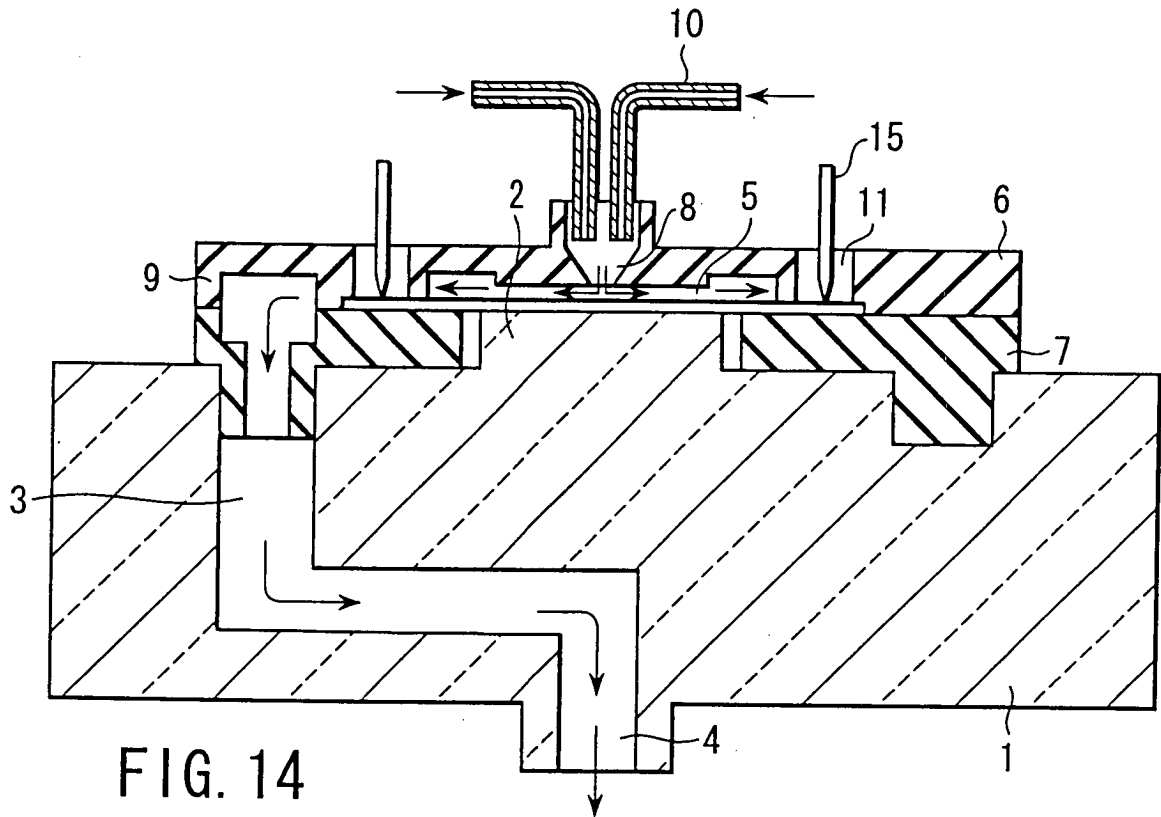


FIG. 14

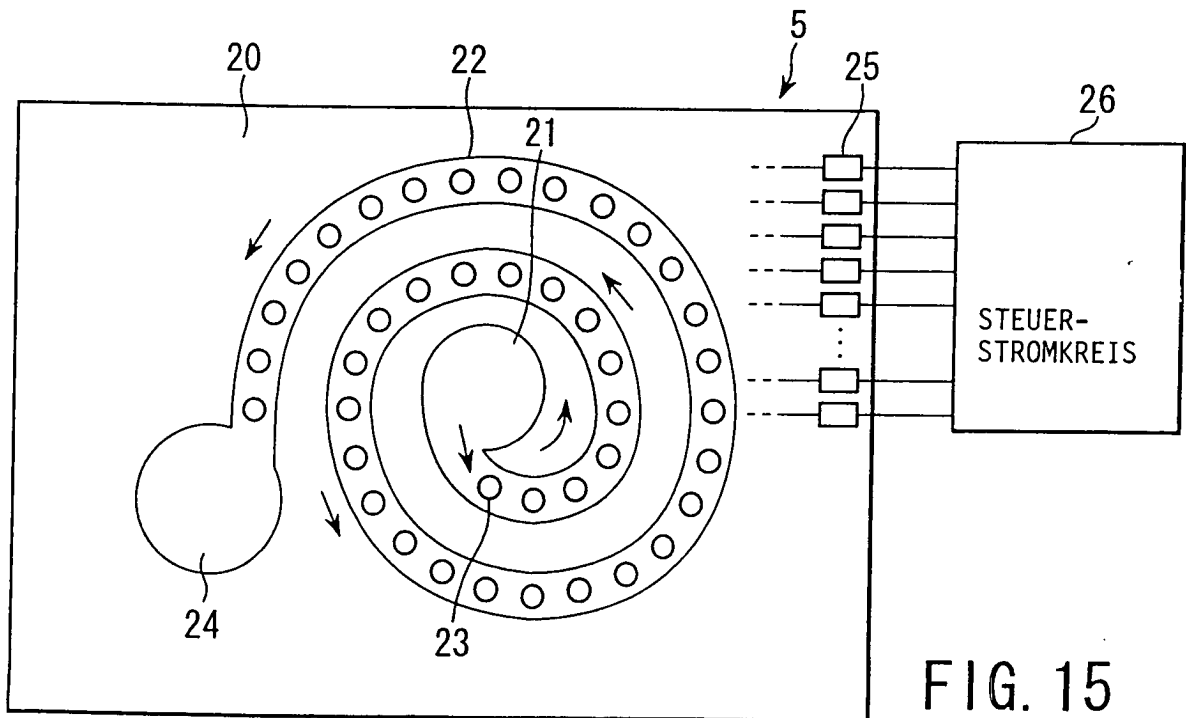


FIG. 15

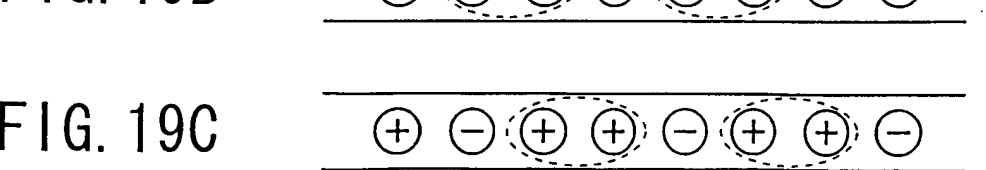
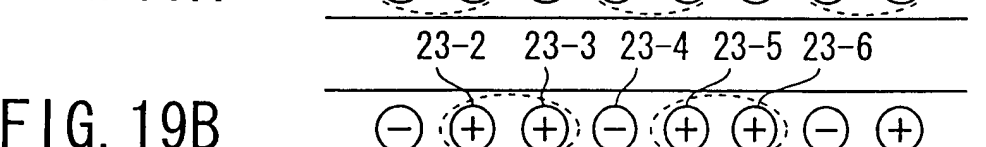
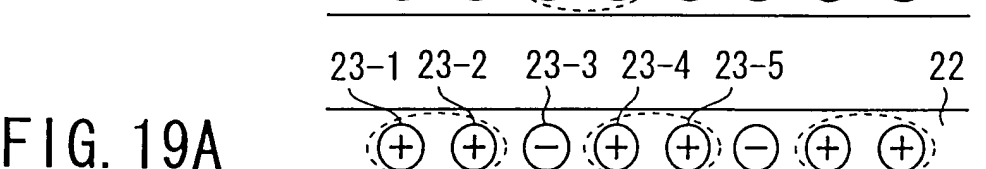
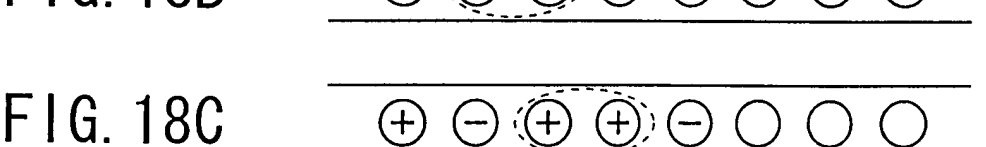
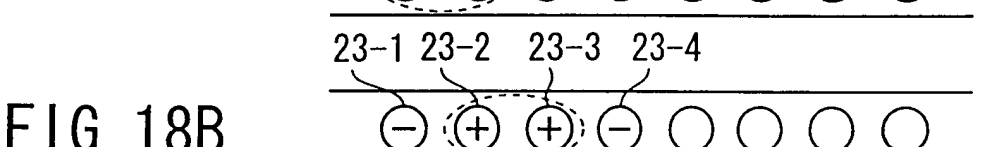
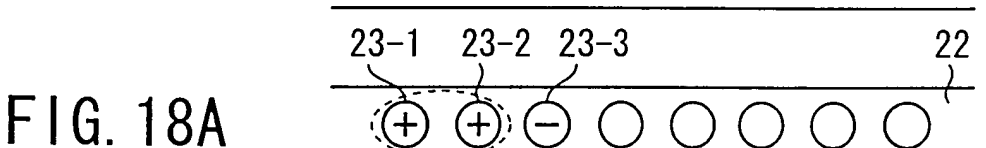
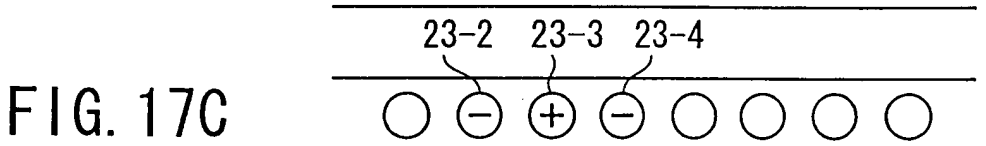
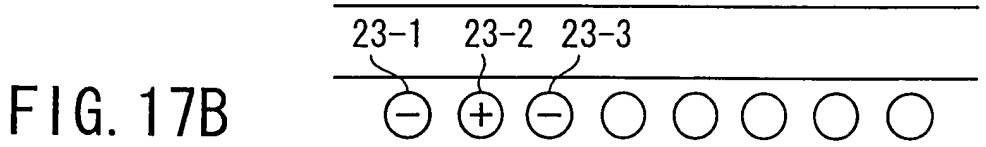
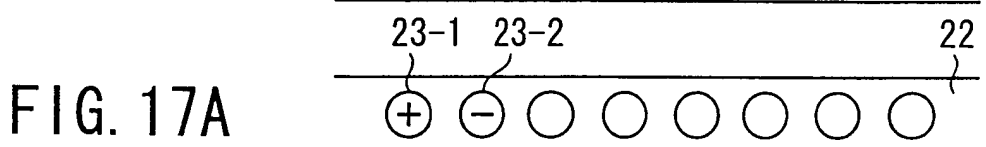
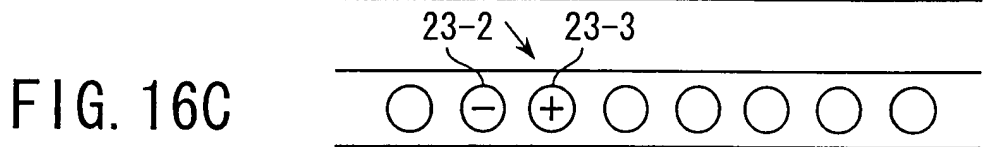
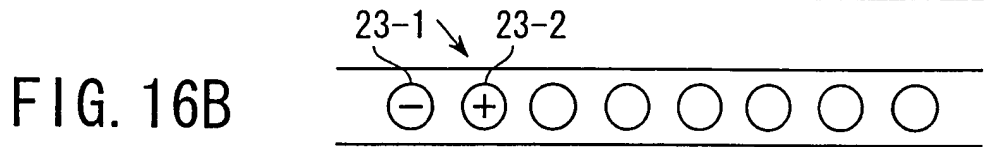
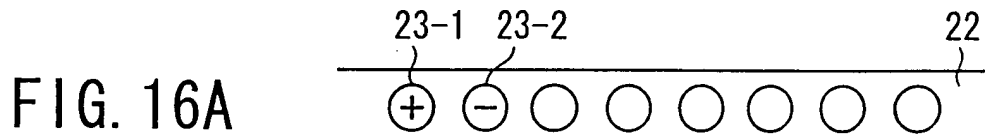


FIG. 20A

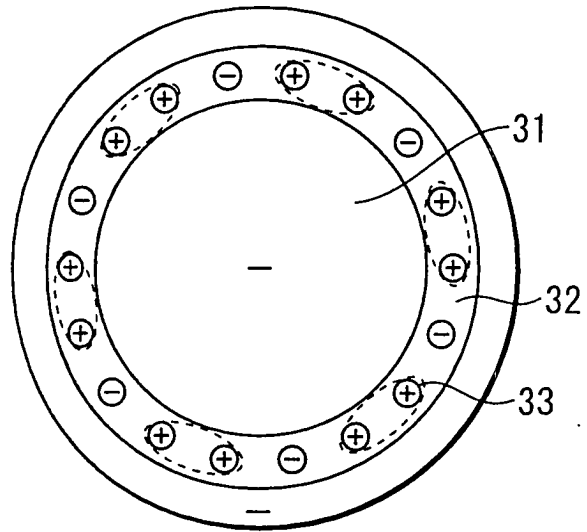


FIG. 20B

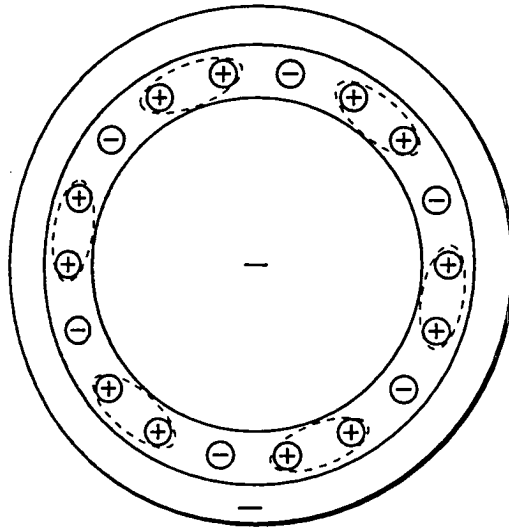
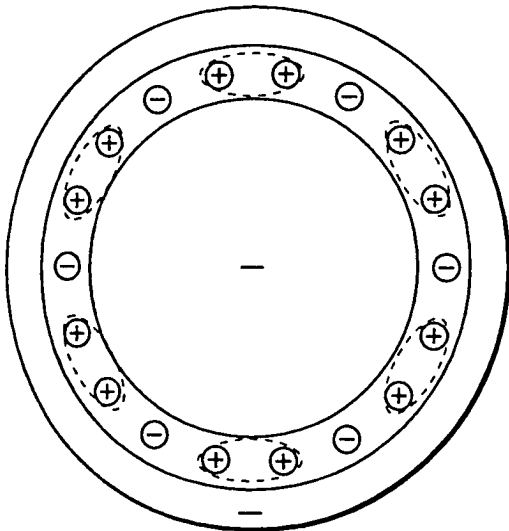


FIG. 20C



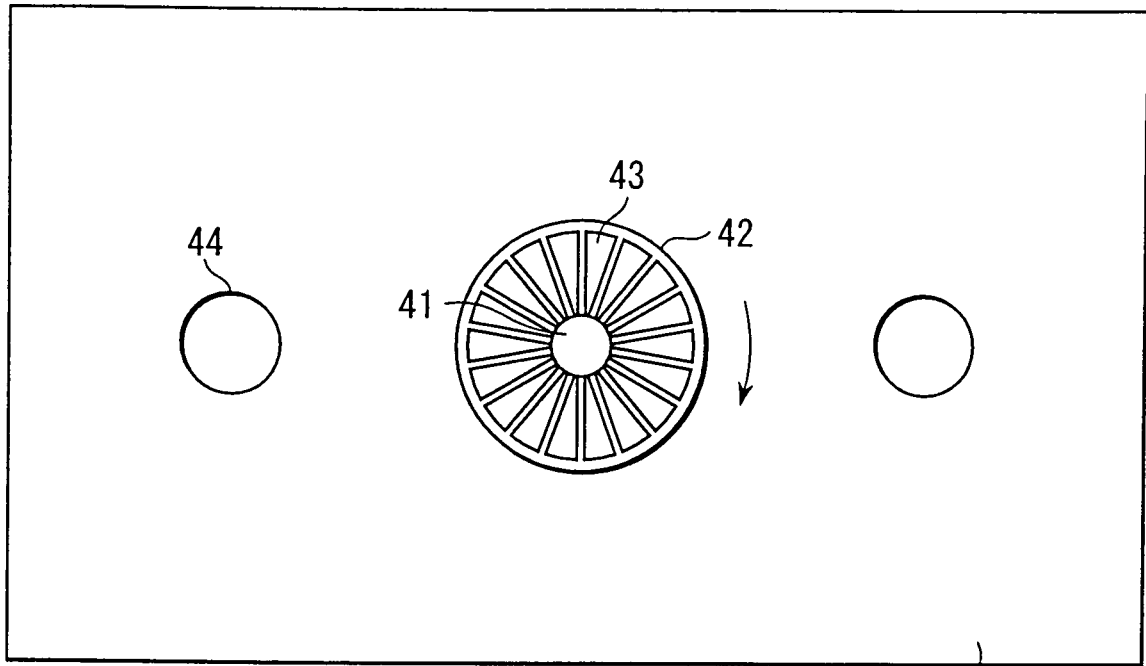


FIG. 21A

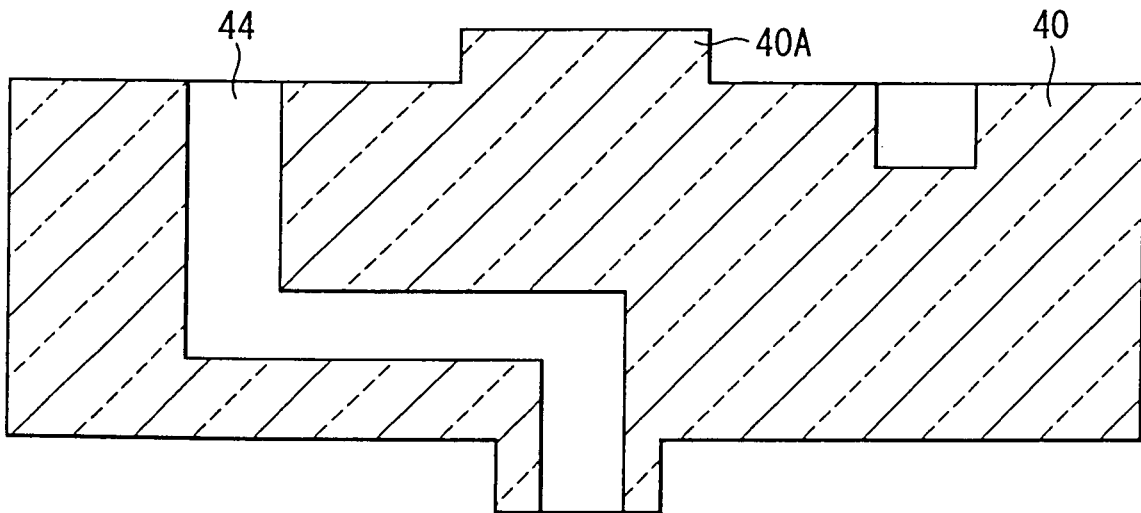
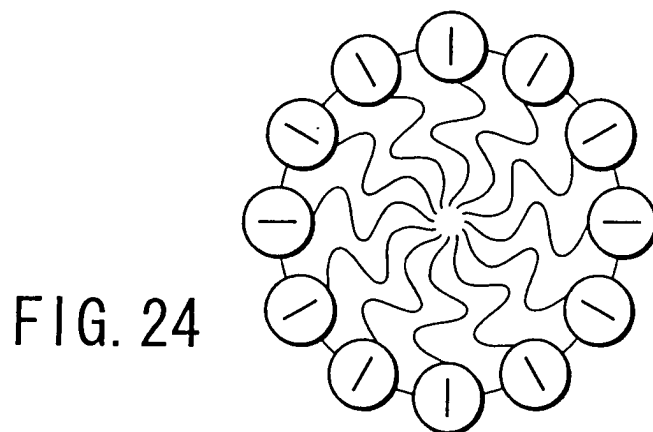
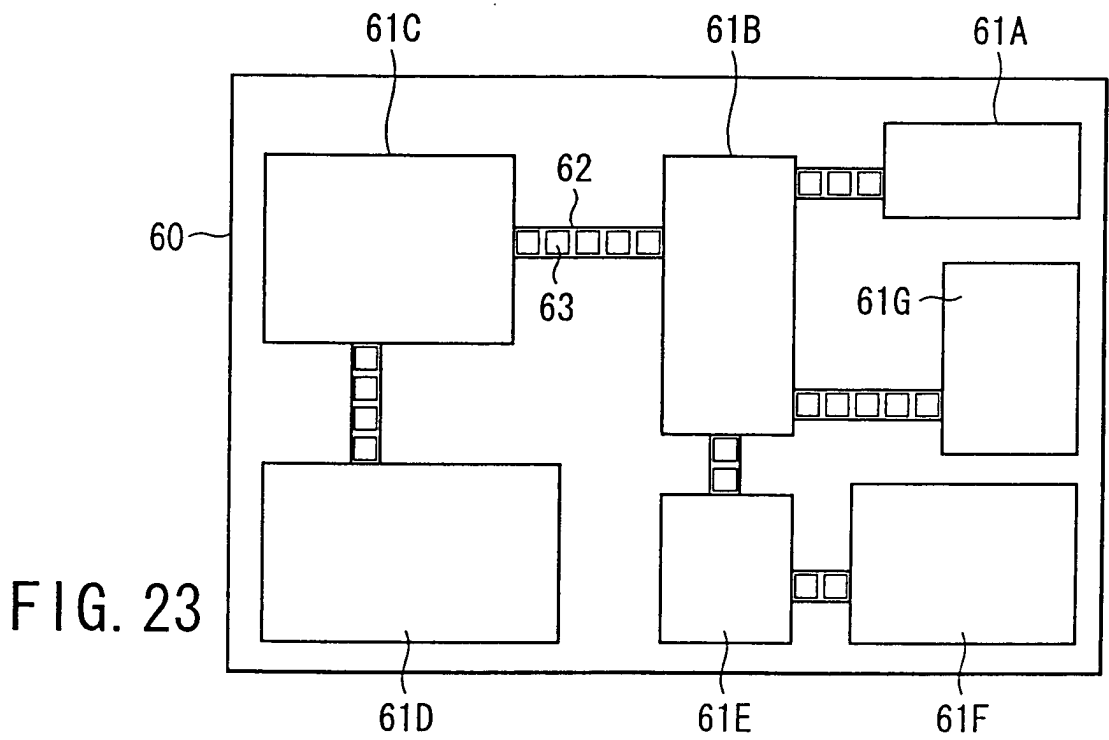
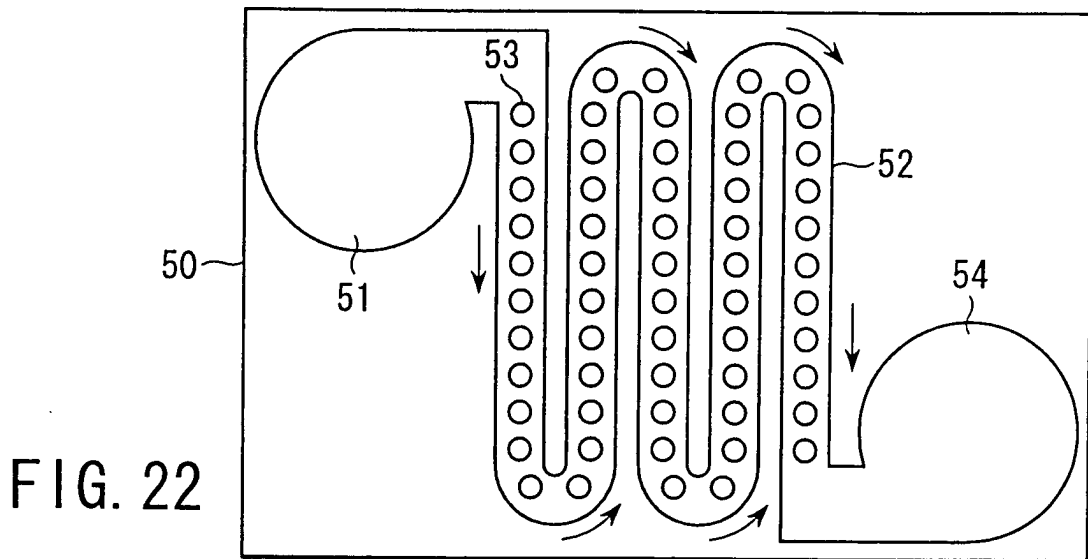


FIG. 21B



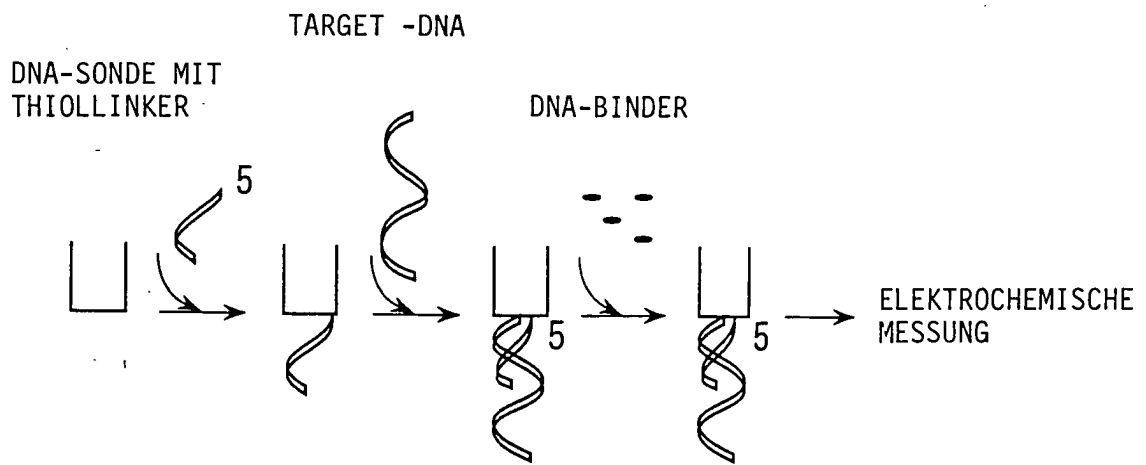


FIG. 25 (STAND DER TECHNIK)

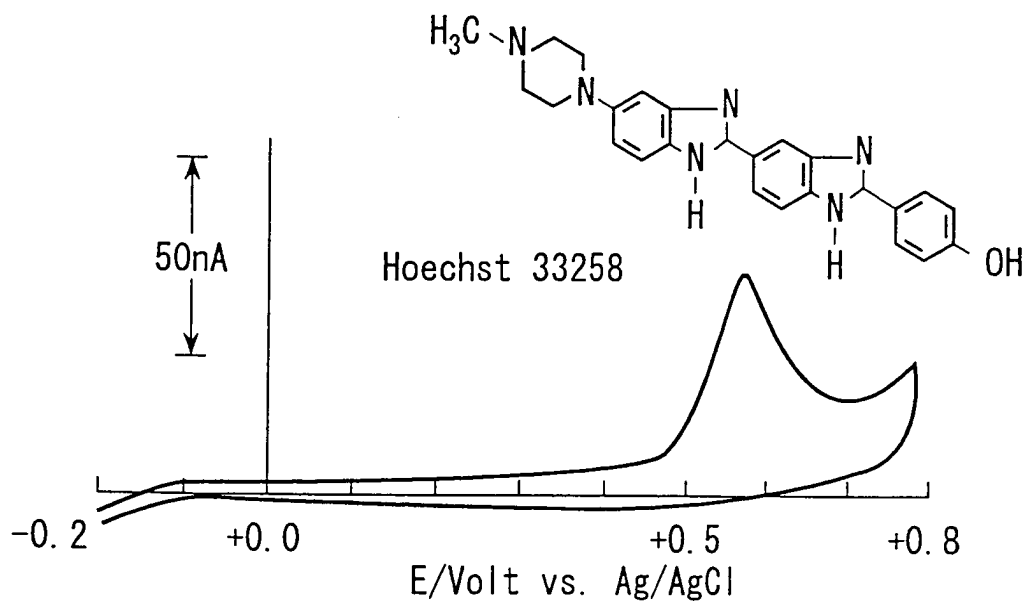
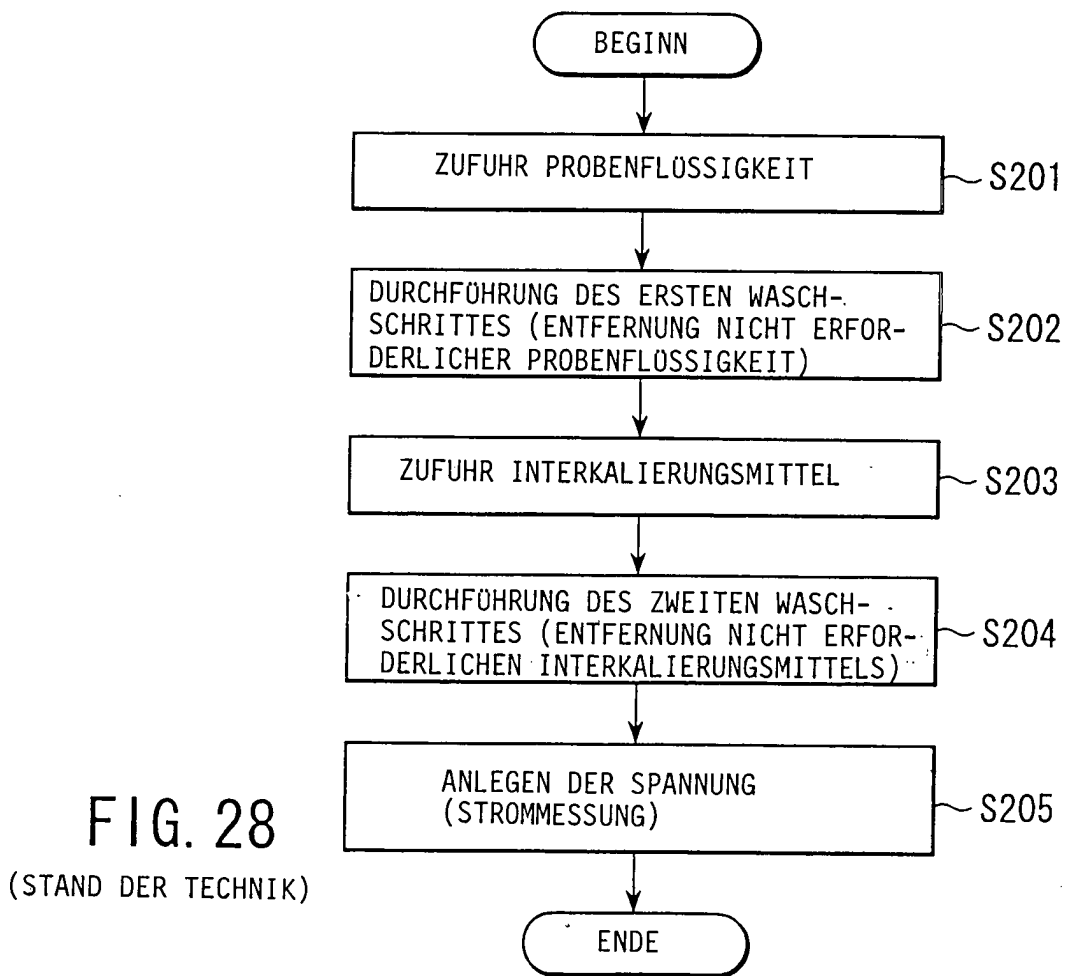
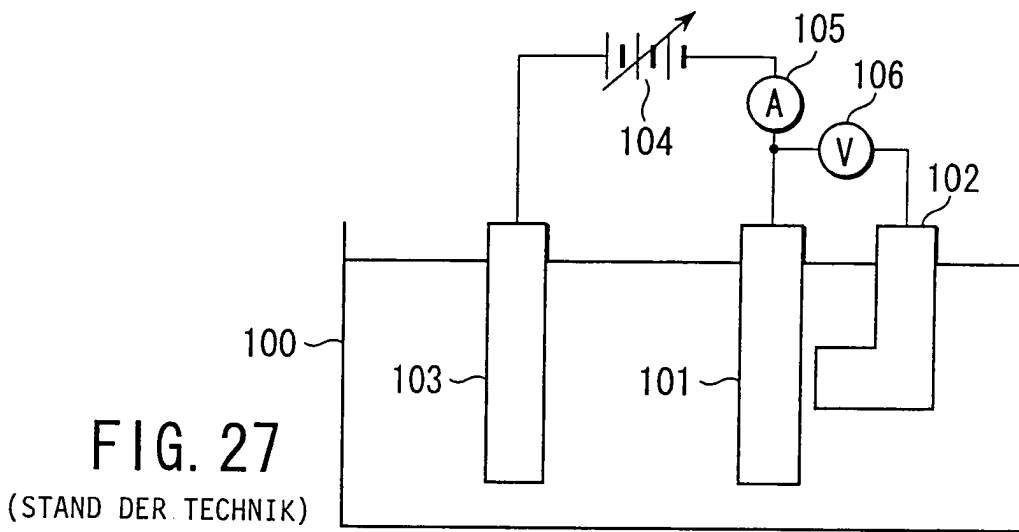
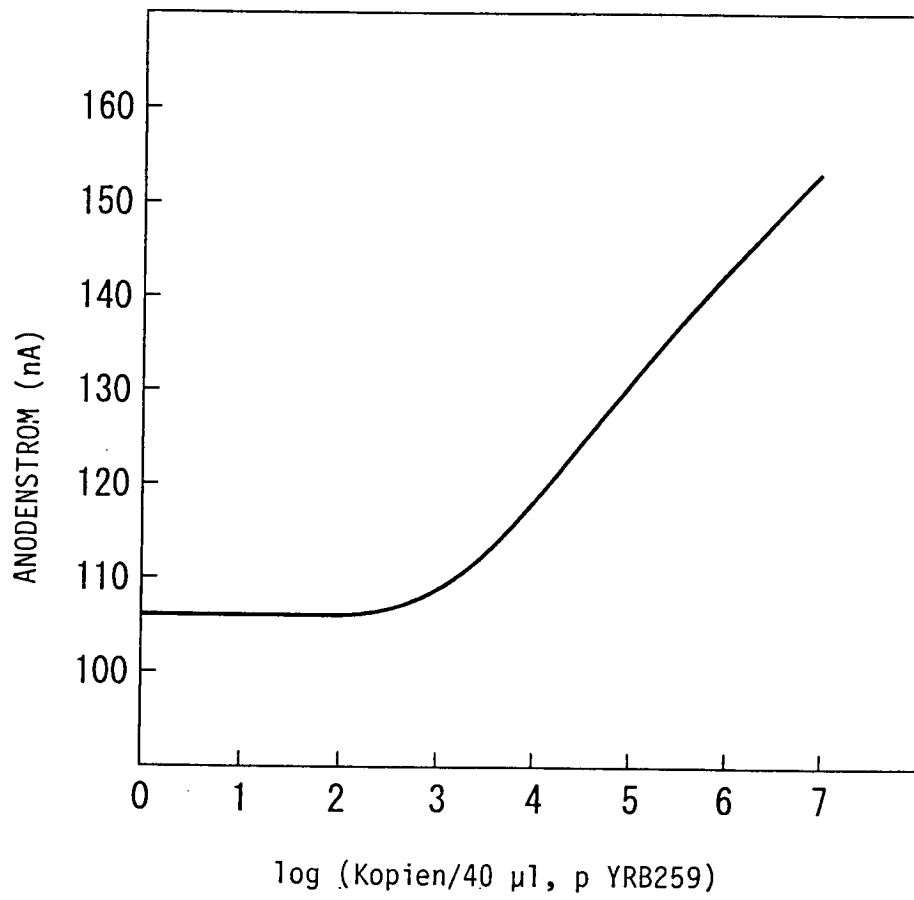


FIG. 26 (STAND DER TECHNIK)







**FIG. 29** (STAND DER TECHNIK)