

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-519969

(P2008-519969A)

(43) 公表日 平成20年6月12日 (2008.6.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/28 (2006.01)	GO 1 N 27/28 3 3 1 D	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 29 頁)

(21) 出願番号	特願2007-540593 (P2007-540593)	(71) 出願人	507154549 ディアグノスイス ソシエテ アノニム スイス国, セアッシュー 1 8 7 0 モンテ イ, セ/オ シモ ソシエテ アノニム, ルート ドゥ リルーオ ボワ 2
(86) (22) 出願日	平成17年11月11日 (2005.11.11)	(71) 出願人	507154712 ビオメリウー ソシエテ アノニム フランス国, エフ-6 9 2 8 0 マルシー レトワール, シュマン ドゥ ロルム
(85) 翻訳文提出日	平成19年7月10日 (2007.7.10)	(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤
(86) 国際出願番号	PCT/EP2005/012112	(74) 代理人	100077517 弁理士 石田 敬
(87) 国際公開番号	W02006/050972	(74) 代理人	100087413 弁理士 古賀 哲次
(87) 国際公開日	平成18年5月18日 (2006.5.18)		
(31) 優先権主張番号	60/627, 055		
(32) 優先日	平成16年11月12日 (2004.11.12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

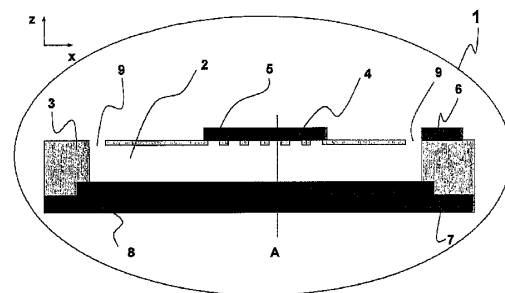
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 オーム抵抗の最小化を伴うマイクロ流体装置

(57) 【要約】

電気化学マイクロ流体装置であって、導電手段 (7) が一体化されマイクロ構造内のオーム抵抗を低減するマイクロチャンネル (1) のような一又は複数のマイクロ構造、そしてそれによって、特に大電流密度が含まれる場合に、電気化学的測定を改善する。導電手段は対抗電極として接続可能でありかつ作用電極 (4) で生じる反応生成物を再生するために使用されることも可能である。導電手段のような電気化学マイクロ流体装置を加工する方法も開示される。本発明は小容積で検知が行われるあらゆる電気化学センサーを適用するところで特に使用可能である。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

固体基材に少なくとも一つのマイクロ構造を含む電気化学マイクロ流体装置であって、前記マイクロ構造が前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部分に統合した少なくとも一つの作用電極又は作用電極の配列及び前記マイクロ構造における電気抵抗を低減することに適合した導電手段を有する、電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 2】

前記導電手段は前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部分の一体化部分である、請求項 1 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 3】

前記導電手段は前記マイクロ構造の全体の長さに沿って置かれる、請求項 1 又は 2 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 4】

前記導電手段は、前記マイクロ構造の少なくとも一部を取り囲む導電材料でできたフリーズ (frieze) を形成する、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 5】

前記導電手段は該電極システムの一部ではなく、前記マイクロ構造におけるオーム抵抗を低減する導電手段を構成するだけとなるように、前記導電手段は外部電気計器、例えば電位電界装置 (ポテンシオスタット) 又は電源、と接続されていない、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 6】

前記導電手段は対抗電極又は擬似参照電極として外部電気計器、例えば電位電界装置 (ポテンシオスタット) 又は電源、に接続されている、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 7】

前記導電手段は該マイクロ構造を支持する固体基材の少なくとも一部を被覆する金属層である、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 8】

前記一体化作用電極又は作用電極配列及び前記導電手段がお互いの前方に置かれる、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 9】

前記一体化作用電極又は作用電極配列は前記固体基材の一辺に造られ、かつ前記導電手段は前記固体基材の反対の辺に造られる、請求項 8 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 10】

前記マイクロ構造を被覆するための被覆層をさらに含む、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 11】

前記被覆層が前記導電手段の上方に置かれる、請求項 10 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 12】

前記被覆層がポリマーである、請求項 10 又は 11 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 13】

前記被覆層自体が少なくとも一つのマイクロ構造を含む、請求項 10、11 又は 12 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 14】

一又は複数のシールしたマイクロチャンネル (そこから各マイクロチャンネルへ接続する少なくとも一つのアクセスホールを伴う) を形成するように、前記被覆層が前記マイク

10

20

30

40

50

口構造を被覆するように設計されている、請求項 10 ~ 13 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 15】

前記固体基材及び / 又は前記被覆層は、前記マイクロ構造及び / 又はアクセスホールの望ましい配置 (alignment) のために正確な相対位置でこれら (前記固体基材及び / 又は前記被覆層) を組み立てる手段を備えている、請求項 10 ~ 14 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 16】

前記マイクロ構造、前記導電手段及び前記カバー層を含む前記固体基材の組立物は 1 mm 未満の厚さを有する、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

10

【請求項 17】

前記電気化学マイクロ流体装置は多層体であって、該多層体は、少なくとも一つの一体化作用電極又は作用電極配列を有する前記マイクロ構造を伴う少なくとも一つの前記基材、前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部を形成する導電手段、及び前記マイクロ構造を近接させることに適合する前記固体基材の少なくとも一部の上方でありかつ前記金属パッドの上方にある被覆層、を有する請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 18】

補助的な硬い層をさらに含む、請求項 1 ~ 17 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

20

【請求項 19】

前記補助的な硬い層が、該マイクロ構造の入口及び / 又は出口にある溶液貯留槽として及び / 又は試薬貯留槽としての役割を果たす、一又は複数のスルーホール及び / 又はキャビティを含む、請求項 18 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 20】

前記貯留槽は少なくとも一つの乾燥及び / 又は固定化した試薬を含む、請求項 19 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 21】

前記試薬はメンブレン、フィルター及び / 又はビーズのいずれか一つで乾燥及び / 又は固定化される、請求項 20 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

30

【請求項 22】

前記マイクロ構造の少なくとも一つの入口及び / 又は出口が前記導電手段と接触している、請求項 1 ~ 21 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 23】

参照電極又は擬似参照電極をさらに含んでなる、請求項 1 ~ 22 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 24】

前記参照電極又は擬似参照電極が前記マイクロ構造で一体化されている、請求項 24 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

40

【請求項 25】

前記参照電極又は擬似参照電極が該マイクロ構造の外側に置かれているが前記マイクロ構造の入口及び / 又は出口で溶液と接している、請求項 23 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 26】

前記参照電極又は擬似参照電極が金属及び / 又は伝導性インクを含む、請求項 23 ~ 25 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 27】

前記参照電極又は擬似参照電極が金属パッドに置かれた金属及び / 又は伝導性インクから形成される、請求項 26 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

50

【請求項 28】

前記マイクロ流体装置は、前記一体化作用電極又は作用電極配列の、前記導電手段の、前記対抗電極の及び／又は前記参照電極若しくは擬似参照電極の、少なくとも一つを一又は複数の外部機器へ接続することを可能にする導電性トラック及び／又はパッドを含む、請求項 1～27 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 29】

前記一体化作用電極又は電極配列、前記導電手段及び／又は前記対抗電極のいずれかは伝導性インク、又は金属、例えば電気化学的に不活性な金属（例えば金又はプラチナ）で被覆した銅又はニッケルから造られている、請求項 1～28 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

10

【請求項 30】

前記マイクロ構造が少なくとも一つの化学及び／又は生物学的材料を含む、請求項 1～29 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 31】

前記化学又は生物学的材料は、カルボキシル、アミノ、チオール若しくはフェノール基、抗原、抗体、酵素、親和剤、DNA、DNA ストレイン、オリゴヌクレオチド、ペプチド、ハプテン、細胞、バクテリア又はウィルスの少なくとも一つである、請求項 30 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 32】

前記化学又は生物学的材料は、好ましくは、物理吸着、化学吸着、共有結合又はイオン結合のいずれかによって、前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部で固定化されている、請求項 30 又は 31 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

20

【請求項 33】

前記マイクロ構造の少なくとも一部が媒体を受け取る（前記媒体は流体、固体、ゾルゲル又はゲルである）ように電気化学マイクロ流体装置が形成されていることを特徴とする、請求項 1～32 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 34】

前記媒体は少なくとも一つの化学又は生物学的実在物を伴って官能基化されている、請求項 33 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 35】

前記媒体はビーズ、フィルター及び／又はメンブレンを含む、請求項 34 に記載された電気化学マイクロ流体装置。

30

【請求項 36】

液体クロマトグラフ、キャピラリー電気泳動装置、等電点電気泳動システム、寸法識別装置、マススペクトルメーター又はそれらに類するもののような、分析システムと一体になっている手段を含む、請求項 1～35 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 37】

前記マイクロ流体装置は、センサーチップ又は流体分配器の、電気スプレー又はナノスプレーチップのいずれか一つのように形成されていることを特徴とする、請求項 1～36 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

40

【請求項 38】

化学及び／又は生物学的分析法、例えば物理化学的化合物特性試験、免疫学的分析法、親和性分析法、イオンの投与、酵素分析法、オリゴヌクレオチド分析法、DNA 試験又は細胞分析法、が実施可能なやり方で、前記電気化学マイクロ流体装置が形成されることを特徴とする、請求項 1～37 のいずれかに記載された電気化学マイクロ流体装置。

【請求項 39】

任意の順で以下の工程：固体基材で少なくとも一つのマイクロ構造を形成すること、前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部に一体化した少なくとも一つの作用電極又は作用電極配列を形成すること、及び前記マイクロ構造において電気抵抗を低減することに適合

50

した導電手段を形成すること、を含む電気化学マイクロ流体装置を加工する方法。

【請求項 4 0】

前記導電手段は、前記マイクロ構造の少なくとも一つの壁部の一体化部分として形成される、請求項 3 9 に記載された電気化学装置を加工する方法。

【請求項 4 1】

前記導電手段は、前記マイクロ構造の全体の長さに沿って置かれる、請求項 3 9 又は 4 0 に記載された電気化学装置を加工する方法。

【請求項 4 2】

前記導電手段は、前記マイクロ構造の少なくとも一部を取り囲む導電材料でできたフリーズ (frieze) を形成する、請求項 3 9 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載された電気化学装置を加工する方法。

10

【請求項 4 3】

前記マイクロ構造を被覆するために前記電気化学マイクロ流体装置に被覆層が加えられる、請求項 3 9 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載された電気化学装置を加工する方法。

【請求項 4 4】

ラミネート加工、接着付加、圧力適用、及び / 又は化学活性又はプラズマに曝露処理した後の結合によって、前記被覆層が前記固体基材及び / 又は前記導電手段に加えられる、請求項 4 3 に記載された方法。

【請求項 4 5】

エンボス、ポリマーキャストリング、射出成形、レーザー研磨、化学エッチング、物理エッチング、プラズマエッチング、UV L i g a (リソグラフィ電気メッキ成型)、複数の層の組み立て、又はこれらの任意の組合せによって、前記マイクロ流体装置が加工される、請求項 3 9 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置を加工する方法。

20

【請求項 4 6】

前記導電手段は、該マイクロ構造を支持する基材で該マイクロ構造を製造するためのマスクとしての役目を果たす少なくとも一つのスルーホールを含む、請求項 3 9 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置を加工する方法。

【請求項 4 7】

該導電手段に対して望ましい形状、寸法及び電気化学特性をもたらすように、前記マイクロ構造の加工工程の後に、前記マスクは金属 (例えば銅) で機械加工され及び / 又は不活性金属 (例えば金又はプラチナ) で被覆される、請求項 4 6 に記載された方法。

30

【請求項 4 8】

該マスク周辺のアンダーエッチングによって該導電手段が前記電気化学マイクロ流体装置に存在する溶液と接触することが可能となるように、前記マイクロ構造の製造は等方性エッチングによってなされる、請求項 4 6 又は 4 7 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置を加工する方法。

【請求項 4 9】

好ましくは溶液でそして特に合成と関連して、化学及び / 又は生物学的反応を実施するために、及び / 又は特に化学及び / 又は生物学的分析 (例えば物理化学的化合物特性試験、免疫学的分析法、親和性分析法、イオンの投与、酵素分析法、オリゴヌクレオチド分析法、DNA 試験又は細胞分析法) と関連して、及び / 又は分離技術 (例えば電気泳動、クロマトグラフ、マススペクトル) と関連して、化学及び / 又は生物学的分析を実施するために、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載された電気化学マイクロ流体装置を使用する方法。

40

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0 0 0 1】

分析装置の小型化は二つの理由により分析化学におけるトレンドとなっており、その理由とは：単一の分析に要する時間を低減すること及び試料 / 廃棄物の寸法を小さくするこ

50

とである。マイクロ流体装置の製造及び発展しつつある検定のためにこの装置が使用されることにおいて、多くの成果がここ数年にわたって見られる。

【 0 0 0 2 】

分析システムの小型化のひとつのボトルネックは、マイクロ流体装置の小容積に存する少量の分子の検知下限を確保することである。光学、質量スペクトル又は電気化学検知を含む、種々の検知手段は、かなり高濃度の検体を検知するためには首尾良く実施されてきた。例えば、多くのマイクロシステムは、マイクロ流体装置におけるグルコースの検知のために存在する。例えばTherasenseが開発したシステムがあり、これはわずか $0.3 \mu\text{L}$ の毛細管血における電量検知の遂行を可能にする。大きなダイナミックレンジを確保する一方で低濃度を検知することは、検知方法の最適化だけでなくマイクロ流体装置の配置の最適化も必要とする。本発明は、酸化還元活性分子の低濃度の検知を可能にする特定の方法及び関連する装置（特に酵素及び免疫検定（免疫学的検定）に適用される）を目的とする。

10

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 3 】

本発明は電気化学マイクロ流体装置及びマイクロ構造における電気化学的検知を最適化する方法に関係する。（そして好ましくは、マイクロチャンネル又はマイクロチャンネルのネットワークに関係する。）この装置の本質的な特徴はマイクロ構造のオーム抵抗を最小化することである。マイクロ構造のオーム抵抗（またはさらにはインピーダンス）の最小化は、電気化学的検知及び特に電気的測定の改善を可能にする、というのはオーム抵抗を補償するために適用する過電位も最小化され得るからであり、これは電気信号の品質の改善を可能にする。

20

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 4 】

本発明の目的の一つは従ってマイクロ流体装置における電気化学的な検知を最適化することである。マイクロ流体装置における電気化学検知は、小容積の酸化還元活性分子の検知のための魅力的な解決策として既に示されてきた。この技術は、例えば、分離後の検知手段として又は酵素若しくは免疫学的検定分析のために使用可能である。マイクロ流体システムの制約の一つは、マイクロ構造の典型的な寸法が電流の伝導に対して極めて好ましくないことである。実際に、例えばマイクロ構造が、長さ（ L ）が一又は数 cm の典型的な寸法を有しそして直径（ d ）が数十 μm である管状毛細管からなる場合、たとえ溶液の抵抗率（ ρ ）がかなり低くとも、そのオーム抵抗（ R ）は高く、式 1 のオームの法則によって表現される：

30

【 0 0 0 5 】

$$R = L / A \quad \text{式 1}$$

ここで、 A は管状毛細管の断面積であって、 $A = d^2 / 4$ である

【 0 0 0 6 】

例として、毛細管の半径が $20 \mu\text{m}$ であり且つ溶液を運ぶ毛細管の長さが 1 cm であるとき、係数 L / A は $8 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}$ に等しい。 100 mM のリン酸塩溶液の場合、このチャンネルに沿って小電流密度のみ流れることができるように、そのようなマイクロチャンネルに沿った抵抗はかねてから 10^6 である。

40

【 0 0 0 7 】

マイクロ流体装置に存在する大きな抵抗は電気的な用途に対して重大な欠点である。実際に、この抵抗は応答を誤って伝えることがあり、このオーム抵抗による電圧降下を補償するためのフィードバック電圧を必要とするか又は大きな信号が正確に測定されるのを妨げる。このような電気化学的用途の場合、及び特に、電気化学的バイオセンサーの場合、低減した抵抗を持つマイクロ流体装置を有することは従って大きな利点となる。

【 0 0 0 8 】

我々の発明では、このマイクロ構造の寸法は上記の例（この cm 範囲のチャンネルの長

50

さ及び数十 μm のチャンネル直径)の寸法と同程度の大きさである。しかしながら、導電手段は、チャンネルの一点から別の点まで電気が流れるようにマイクロチャンネルの全体に沿って配置されるか又はマイクロ構造の一部に配置される。この場合、電流はチャンネルを通じたイオン電流によってのみ流れるわけではなく、この導電手段を通じても流れる。

【0009】

上述したのと同等の寸法のマイクロチャンネルを有するマイクロ構造において導電手段を有する場合と有さない場合に行った実験は、オーム抵抗(又は「 iR 降下」)がない場合に流れ得る電流強度がマイクロ構造が導電手段を含まない場合でより大きくなることを示した。ある場合には、導電手段は逆反応がチャンネル内部で起こるように対抗電極として接続されることが可能であり、そしてそれゆえにこの反応生成物の再生が作用電極で生じる。

10

【0010】

以下でさらに詳細に示されるように、導電手段が接続されておらず、従って検知の役に立つ電極を組合せたもの(以降「電極システム」としても言及される)の一部ではない場合でさえ、優れた電気化学的応答が得られることが可能であるということも証拠にあげられる。明瞭にするために、二電極システムは作用電極及び擬似参照電極だけ含みそして、三電極システムは作用電極、対抗電極及び参照電極を含む。本発明では、マイクロ流体装置は導電手段を含み、この導電手段は二電極システム又は三電極システムに加えられて存在してもよく、そしてこの導電手段はその後これらの電極のいずれかとも接続されない。このような場合で、マイクロ流体装置は溶液で満たされるとき、接点が電極の組合せと導電手段との間で生じ、このようにして広範囲の電気回路の一部となる。本発明において、導電手段はそれ自体に対抗電極又はみせかけの参照電極を構成し、そしてその後電極の組合せの一部となる。両方の配置において、この導電手段は適用され非常に低抵抗の電流経路を提供し、非常に小さい断面積のマイクロ構造の場合ですら、マイクロ構造の広範囲の抵抗は最小限にされる。以下でさらに詳細に記載されるように、このマイクロ構造の抵抗は、導電手段が直接に接続されていないときでさえ、このように低減されるようである。

20

【0011】

この現象は、マイクロシステムにおける電気化学検知信号の動揺を防ぐために、非常に興味深いものであり、そしてマイクロ構造に沿った導電手段の存在がシステムを作り、このシステムは概略的に二つの平行な電極(一つはマイクロ構造の小さな寸法の結果である大きな抵抗、 R_m 、及び導電手段として役に立つ導電材料の非常に低い抵抗性のせいで非常に低い抵抗、 R_c)によって表される。そして導電手段が電気化学検知回路に接続されない場合でさえ、これらの抵抗は同時に稼働する。従って、この結果としての広範囲の抵抗、 R_g 、はおおよそ R_c に等しく、導電手段が一種の抵抗のバイパスとして作用することになり、これは電流にとってより有利なルートを提供する。システムの非常に低い広範囲の抵抗のために、(大電流が存在するときでさえ)適用される電位はしたがってマイクロ構造全体に沿ってほぼ一定に維持される。導電手段の集積は従って iR 降下によるみせかけの電気化学信号を妨げ、そして本発明は、マイクロセンサーシステムにおける電気化学検知のために得ることが可能である、信号の品質を改善する強力な手段をこのようにして提供する。

30

40

【0012】

本発明の装置では電気泳動は不可能であることに着目すべきである、というのは導電手段がマイクロ構造に沿ってほぼ一定の電位を維持するからであり、この結果ほとんど電界勾配は発生せず、したがって電気浸透さらに電気泳動分離を妨げることもない。

【0013】

本発明はマイクロ流体装置を提供し、マイクロ流体装置は少なくとも一つのマイクロ構造を含み、マイクロ構造は一または一連の作用電極を含み、さらにマイクロ構造内部で一体化した導電手段をマイクロ構造内部のオーム抵抗を低減するようなやり方で含む。オーム抵抗の低減は特に小さな寸法の(例えばマイクロチャンネル)のセンサーで又は大電流

50

密度が使用されるときに必要とされる、なぜならばこのオーム抵抗が電気化学的に測定可能な信号を妨害するからである。本発明のマイクロ流体装置は低減したオーム抵抗を有する電気化学センサーを対象としており、それによって電気化学応答の改善を可能にしている。

【0014】

本発明の一実施態様において、導電手段は対抗電極として接続され、これは検知すべき検体を再生するための還元又は酸化（又は「酸化還元」）の間に都合良く使用されることができる。別の実施態様では、この伝導手段は外部の電気計器（例えばポテンシオスタット、電源、等）に接続されていない。従って、このような構成では、この導電手段は電極ではなく（というのは、これが接続されていないから）、高い電気抵抗でできた経路（例えばマイクロチャンネルの溶液）のまわりに電流を導くためのマイクロ流体装置に加えた道具にすぎず、それによってこのシステムの全体の抵抗を低減することが可能になる。このような導電手段はマイクロ構造のオーム抵抗を低減させることが可能であり、したがって酸化還元反応の際に得ることができる信号を最適化する。例えば、全体の長さに沿った導電手段を含むマイクロチャンネル及びマイクロチャンネルの入口又は出口に置かれた対抗電極又は擬似参照電極を伴い、一方で作用電極はマイクロチャンネルの壁部分の中で一体化されているとき、この導電手段は（接続されていないときであっても）マイクロチャンネルに沿って、従って入口又は出口に置かれた対抗電極又は擬似参照電極から離れた作用電極までの距離にわたって、電流を運ぶことが可能であり、このことが抵抗を最小にし、従ってこのような装置で得ることができる電気化学信号を最適化することを可能にする。ここで本発明の装置は必ずしも参照電極又は擬似参照電極を含まないということが強調されるべきである。実際に、この参照電極又は擬似参照電極は他の機器の一部によってもたらされてもよく、従ってマイクロ流体装置の一体化部分ではない。例えば、参照電極又は擬似参照電極は銀／塩化銀ワイヤーであってもよく、これはマイクロ構造の入口又は出口の貯留槽に置かれているか又は溶液をマイクロ流体装置に分注するのに役立つ手段（例えば注射器）に置かれており、そのやり方はこの参照電極又は擬似参照電極が電気化学検知の間に検体溶液と接触するようなやり方である。これは、本発明のマイクロ流体装置が使い捨てであって従って各分析後又は境界の明確な一連の試験の後に廃棄されることが予定されており、一方でマイクロ流体装置が新しいものに取り替えられても参照電極又は擬似参照電極が残っていることが予定される場合に、達成可能である。

【0015】

本発明のさらなる態様はマイクロ流体装置を加工する方法を提供し、この方法は、マイクロ構造内のオーム抵抗を最小にするためにマイクロ構造に存在する溶液と接触するように導電手段を一体化することを含む。一実施態様において、導電手段は少なくとも一つのスルーホールを伴って形成され、スルーホールはマイクロ構造を支持（サポート）する基材にマイクロ構造を造るためのマスクとしての役目を果たし、そしてそこではマスクの周りでアンダーエッチングが実施されて導電手段がマイクロ流体装置に存在する溶液と接触可能となる。

【0016】

本発明の第三の態様は請求項49に記載された電気化学マイクロ流体装置の使用を提供することである。

【0017】

本発明の装置及び方法は電気化学センサー用途で都合良く使用されることができ、そして特に化学的及び／又は生物学的分析、例えば化合物の物理化学特性試験又は分析試験、例えば免疫学的分析法、酵素、イオン、DNA、ペプチド、オリゴヌクレオチド又は細胞分析法で都合良く使用されることができる。本発明は医学的診断、獣医試験、環境又は水の分析、品質管理、産業管理、薬剤調査、戦争用薬剤の検知、製造プロセスの監視、等において多くの用途を見つけることができる。

【0018】

本発明はこのようにしてマイクロ構造（概してマイクロチャンネル又はマイクロチャン

ネルのネットワーク)内のオーム抵抗を最小化することを可能にする一又は複数の導電手段を含むマイクロ流体装置を提供する。本発明のマイクロ流体装置はまた、前記導電手段に加えて、一又は複数の作用電極(好ましくはマイクロ電極)を含む。作用電極及び導電手段の両方が、それぞれ個々の作用電極と導電手段との間の距離を最短化するために、お互いに向き合うようなやり方でマイクロ構造の壁部分に一体化されてもよい。概して、参照電極又は擬似参照電極もまたマイクロ流体装置の部分であり(それがマイクロチャンネルである場合、マイクロ構造の入口及び/又は出口に置かれるのが好ましい)、そして一つ又は一連の対抗電極も、三電極モードにおいて電気化学検知を可能とするために、マイクロ流体装置の部分になり得る。

【0019】

マイクロ流体装置又はマイクロ構造の寸法及び形状に制約はなく、これらは任意の手段(例えば、限定はされないが、射出成形、エンボス、ポリマーキャスト、ケイ素エッチング、UV Litho(リソグラフィ電気メッキ成型)、湿潤エッチング、乾燥エッチング)によって且つ任意の電気絶縁材料(例えば、ガラス、水晶、セラミック、ポリマー又はこれらの組合せ)において加工されることができる。一実施態様において、マイクロ流体装置は材料を組立てたもの及びしっかりした構造から構成される:例えばポリマーホイルでできたマイクロ流体センサーではマイクロ構造サポートとしての役目を果たしここでは(プリント回路ボードシステムのように)種々の電極、導電手段並びに接続パッド及び接続トラックが存在することがあり、さらに例えばポリマー又はガラスでできた被覆層であって、これがマイクロ流体操作を可能にするためにマイクロ構造をシール又は被覆するのに役立つ。追加部分は別のポリマー材料から造ることができ、そして例えば入口及び/又は出口へのアクセスホール並びに追加的な貯留槽を含んでもよく、これは試料及び試薬の注入又は引き抜き及び/又は流体制御ユニットへの接続を可能にし、センサーの取り扱いを促進するために、これはまた完全なセンサー装置に剛性をもたらすこともでき又はマイクロ構造それ自体に比べれば比較的大きなサイズのマイクロ流体センサーカートリッジにすることができる。このような多構造及び多材料装置はピックアンドブレースアプローチによって都合良く加工することができ、ここではその被覆層を伴うマイクロ構造サポートがパネル又はボードから切り出され、このパネル又はボードは追加的部分(例えば射出成形構造)に正確に組み立てられる(例えば糊付けによって)前の一連のマイクロ構造を含み、追加部分は流体の及び/又は電気の接続のためのアクセスホールを有し且つ随機的に試料又は試薬貯留槽を有する(例えば以下の図15の例を参照)。さらに電気接続を確実にしまたは促進するために、又は(銀又は銀/塩化銀インクドットのような)参照電極を一体化するために、導電トラック及びパッドが造られてもよい。このようなマイクロ流体センサー装置を加工するために他のプロセスが使用されてもよく、例えばマイクロ構造サポート及び例えばアクセスホール及び/又は試薬貯留槽を提供するのに適したポリマー部分を伴う被覆層をオーバーモールドすることによって加工されてもよい。

【0020】

作用電極は前記マイクロ流体装置に存在する流体の電気化学的特性の一つ又は複数を制御、監視及び/又は測定することに適合している。特に、これらの電極はアンペロメトリック、サイクリックボルタメトリック、クロノアンペロメトリック及び/又はインピーダンス測定に適合しており、そして本発明の装置は化学的及び/又は生物学的用途、例えば限定はされないが免疫学的、酵素、親和性、イオン、ペプチド、DNA、オリゴヌクレオチド又は細胞分析法、さらに物理化学試験、例えば溶解性、脂質親和性又は浸透性分析法又は酸化還元特性の測定において、都合良く使用されることが可能である。用途に応じて、このマイクロ構造はまた化学的及び/又は生物学的化合物で都合良く官能化されてもよい。最後まで、官能化基はマイクロ構造の内部表面で造られることが可能である(例えば化学的又は物理的手段によって)。例えばカルボキシル、アミノ、チオール又はフェノール基は、マイクロ構造表面を構成する材料を伴う化学反応によって又は電極又は導電手段としての役目を果たすものを伴う化学反応によって一体化されることができる。化学的及び/又は生物学的化合物はまたマイクロ構造の少なくとも一部で可逆的に又は不可逆的に

10

20

30

40

50

、例えば限定はされないが吸着、イオン結合又は共有結合で固定化される。化学的及び／又は生物学的化合物はマイクロ構造壁の少なくとも一部に及び／又は一体化した作用電極及び導電手段に固定化されることができる。一実施態様において、本発明の装置は固定化した化合物を含まずに一体化した作用電極のみを維持することに適合させてもよく、すなわちこの装置は化学的及び／又は生物学的化合物を作用電極に接触することはなくマイクロ構造の壁に固定できることに適合し得る。最後まで、このマイクロ流体装置は、作用電極がマイクロ構造に埋め込まれるようなやり方で、都合良く加工可能である。このような凹みは疎水性に造られてもよく、及び／又は親水性溶液がこのマイクロ構造を通過し作用電極に接触することなくこの凹みを通過する適当な形状を有してもよく、これによって化学的又は生物学的材料を伴う官能化を防ぐ。このようなマイクロ流体装置では例えば、作用電極を濡らすことができる溶液（例えば試料、緩衝液、洗浄媒体、捕捉した分子の曝露）がマイクロ構造に導入されないかぎり、溶液が作用電極に接触しないやり方で、多工程分析が実施されることが可能である。マイクロ構造はそのような湿潤溶液で満たされているとき、例えばそれは埋め込まれた金の作用電極を有するポリイミドマイクロチャンネル中の T w e e n 緩衝剤のような界面活性剤を伴って達成され、その埋め込み部の疎水性は低減し、結果としてマイクロ構造が他のもの、親水性溶液でもよい、で満たされることでさらに作用電極を濡らすことになる。この湿潤溶液の導入は分析のあらゆる工程で行うことができ、作用電極がマイクロ構造に存在する溶液と接触していることが望まれるときであるかどうかによって決まる。例えば免疫学的試験のような多工程分析では、これらの多様な溶液と作用電極との間に全く接触させずそして検知の直前に湿潤溶液（これは例えば捕捉した検体を明らかにするのに役立つ酵素基材を含むことができる）を追加しないで、この分析法の全ての工程（望ましい検体の捕捉、洗浄、第二の抗体の培養及び追加の洗浄）を実施することが実際に有利である可能性がある。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 1 】

別の実施態様において、本発明の装置は作用電極のみが化学的又は生物学的物質と官能化するやり方で製造されてもよい。これは例えば直接的に作用電極だけに付着することによって達成され得る。このようなプロセスは作用電極を例えばオリゴヌクレオチド、DNA ストレイン又は細胞と官能化させるために仕様され得る。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施態様において、乾燥した試薬もマイクロ流体装置を官能化させるために使用されてよく、そして官能化はまた望ましい化学的及び／又は生物学的実在物を含むビーズ、メンブレン又はフィルターを使用することによって達成され得る。

【 0 0 2 3 】

一実施態様において、本発明のマイクロ流体装置はマイクロ構造の少なくとも一つの壁部に一体化されている少なくとも一つの作用電極（又は作用電極配列）及び一つの擬似参照電極（すなわち、一つの電極が参照電極と対抗電極の両方の役割を果たしている）を含む二電極システムであって；このような二電極構成において、作用電極及び擬似参照電極に加えて導電手段が存在しているが、電気化学検知のために役立つ二電極システムの部分にはならないように導電性手段は接続はされていない；この場合に、この擬似参照電極はマイクロ構造の外側で、入口及び／又は出口の近くで、且つプローブに溶液が接するようなやり方で都合良く置かれてもよい。導電手段のおかげで、抵抗はマイクロ構造に沿って劇的に減少し、それによって最適な電気化学操作及び検知が可能になり；導電手段が対抗電極として接続されることを必要としない事実は予想されていなかった、しかしこの事実は本発明の補助的な利点を構成する。

【 0 0 2 4 】

別の実施態様において、本発明の装置は少なくとも一つの作用電極（又は作用電極配列）、少なくとも一つの参照電極及び少なくとも一つの導電手段を含む三電極システムを構成する。一実施態様において、この導電手段は直接に対抗電極としての役目を果たすことに適合することが可能である。別の実施態様において、導電手段は三電極システムの部分ではなく、それは電極に接続されず、そして装置は対抗電極としての役目を果たす少なく

とも一つの追加的な電極をさらに含む。

【0025】

或る実施態様において、本発明のマイクロ流体装置は導電手段をマイクロ構造の長さ全体に沿って含み、そして導電手段はマイクロ構造を都合良く取り囲むことができ且つマイクロ構造に存在する溶液と接触する伝導性材料でできたフリーズ（frieze：帯状の浮き彫りにしたようなもの）を形成する。

【0026】

さらなる実施態様において、導電手段及び擬似参照電極も短絡されることが可能である。これは例えばマイクロ流体装置を提供することによって達成されることが可能であり、このマイクロ流体装置では導電手段が入口及び／又は出口を包み込むマイクロ構造の周りのフリーズを形成する伝導パッドであり且つ溶液と接触するやり方で参照電極又は擬似参照電極が入口及び／又は出口の外側の伝導パッドに単純に付着される。

【0027】

本発明の用途のいくつかにおいて、作用電極で生じる反応の生成物を再生するために対抗電極が使用可能であり、これにより測定信号が増加しそれによってこの装置の分析感度を改善する。導電手段はこの目的のために都合良く使用されることが可能であり；このような場合、導電手段は対抗電極の役割及び、検知すべき化合物を再生する役割、及びマイクロ構造に沿った抵抗を最小にする役割の全てを果たす。

【0028】

本発明のさらなる実施態様において、マイクロ流体装置は少なくとも一つの生物学的及び／又は化学的実在物を含んでもよい。このような生物学的及び／又は化学的部分はマイクロ構造の少なくとも一つの壁の少なくとも一部で物理吸着、共有結合、イオン結合又は単純に乾燥させることのいずれかによって固定されることが可能である。別の実施態様において、一又は複数の目標の試料分子を捕捉するため又は試料を洗浄若しくは脱塩するためにマイクロ流体装置もビーズ及び／又はメンブレン（これは例えばマイクロ構造の入口及び／又は出口に置かれることができる）を含むことがある。このようなビーズ又はメンブレンはまた一又は複数の生物学的及び／又は化学的実在物を含んでもよく、それらはこれらのタイプのサポートに固定され得る。

【0029】

マイクロ構造の壁及び／又は一体化した電極若しくは導電手段はまた部分的に有機相（固化されているか又はされていない）で被覆されることが可能であり、この有機相は例えば電極の保護層として又は試料溶液と混合しない相として使用されることもでき且つ二つの不混和性溶液の間の界面でのイオン移動反応の測定のためにセットアップされることもできそして例えばイオンの投与のために使用されることもできる。

【0030】

マイクロ流体装置は補助的な層によって取り囲まれることができ、この補助的な層は固化剤として使用されることができ及び／又は貯留槽（例えば試薬を蓄えること及び／又は溶液の洗浄のための貯留槽）、さらに流体の及び／又は電気的な接続のためのアクセスホール、又は他の機器と相互作用するためのガイドを含む。

【0031】

本発明のマイクロ流体装置では、マイクロ構造基材の又はこの被覆層の化学的及び／又は物理的性質における制約はない。この基材及び被覆層の各々は例えばポリマー（例えばポリイミド、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、アクリレート、液晶ポリマーがあるが、これらに限定はされない）、ガラス、水晶、セラミック等から造られてもよい。本発明において、「基材」という用語は実際にはそこでマイクロ構造が加工され得る任意の材料を言及する。ある基材はポリマーホイルであって、1 mm未満の厚みを有する。一実施態様において、被覆層はマイクロ流体操作（例えばマイクロチャンネルを用いる）が可能となるようにマイクロ構造をシールするのに役立ち、そしてこの被覆層はそこで一又は複数の電極が加工され得るマイクロ構造及び／又は伝導パッドを含んでもよい。同様に、「マイクロ構造」が概して少なくとも寸法を有し、そ

10

20

30

40

50

れが1mm未満であれば、本発明のマイクロ流体装置の材料及び／又は性質における制約はなく、マイクロ構造の形状及び寸法においても制約はない。好ましい実施態様において、マイクロ流体装置は多重層体でもあり、少なくとも一つの組立物から構成されていて、その組立物はマイクロ構造基材、この装置のオーム抵抗を減らすのに役立つ電極及び／又は導電手段を形成する導電トラック、さらにマイクロ構造をシールするのに概して役立つ（これによってマイクロ流体操作が可能になる）被覆層からできている。さらに好ましい実施態様では、被覆層はポリマー層であり、これはマイクロ構造基材にラミネート加工又は糊付けされている。

【0032】

導電手段のみならず電極は任意の導電材料で造られることができ、導電材料は例えば金属（例えば金、銀、プラチナ又は任意の不活性金属）又は金属組立物（例えば金、銀、プラチナまたはそれに類するもので被覆した銅（例えば電気メッキによる））、導電インク（例えばAg/AgClインク）又はゲル（例えば透過性ゲル）であるがこれらに限定はされない。

【0033】

マイクロ流体システムを加工するための本方法において、オーム抵抗は一又は複数の導電手段の存在のおかげで減少する。一実施態様において、本発明は一又は複数のマイクロ構造（好ましくはマイクロチャンネル）、マイクロ構造の少なくとも一つの壁の部分画定する一又は複数の導電手段、及び前記マイクロ構造を被覆し及び／又はシールするための被覆層を有する基材を含む多重層体に特定の配列をもたらす。本発明の或るマイクロ流体装置では、単数又は複数のその導電手段が一又は複数の溝又は穴を含み、前記マイクロ構造が導電手段のその辺に被覆又はシールされる場合、この溝又は穴はマイクロ構造の部分である（図1参照）。

【0034】

別の実施態様では、本発明はマイクロ構造の少なくとも一部に沿って単数又は複数のスルーホールを有する導電手段を含む電気化学マイクロ流体装置を製造する方法を提供し；被覆層を適用することによりマイクロ構造を被覆し又はシールすることによって、これらのホールがマイクロ構造に対して反対のホールのある側でシールされることが可能であり、この結果それらのホールはマイクロ構造の部分となり、このマイクロ構造はその後異なる材料（すなわち以下の図2の断面図で示されるような、マイクロ基材の部分、導電手段の材料の部分、及び被覆層の部分）を組み立てたものでできた少なくとも一つの壁の部分有する。マイクロ構造が溶液で満たされるとき、このマイクロ構造内の溶液はその後自動的に導電手段と接触し、これはその形状及び種々の要素（以下の図1及び2の例で示されるマイクロ構造を構成しているもの）から容易に推測可能である。好ましい実施態様において、導電手段はこのようにしてスルーホールをもたらすことができ、そしてこの組立品はまた基材でのマイクロ構造の加工のためのパターン付けマスクとしての役目も都合良く果たすことができ；実際に、さらなるマイクロ加工のための望ましいパターンのスルーホールを形成するために（例えば従来のフォトレジスト付着及びそれに続いて光にあてること（例えば高解像コンピューター駆動プリンターで）によって）導電手段は例えばマイクロ構造基材に直接的に付着されてもよい。この導電手段はこのようにしてマスクを形成しそして、第二の加工工程で、エッチング又は研磨媒体に曝される基材の部分のおかげで、マイクロ構造は前記基材において（例えば、湿潤エッチング、化学エッチング、フォトアブレーション又はこれらの組合せにより）加工される。好ましい実施態様において、マイクロ加工工程は等位性エッチングプロセス（例えばプラズマ若しくはガスエッチング、又は任意の湿潤エッチングプロセス）から選択される、なぜならばこのような等位性プロセスは結果として三次元空間におけるエッチングをもたらし、したがってマスク側で材料の除去をもたらすからである。「アンダーエッチング」として知られるこの現象は、マイクロ構造が被覆又はシールされている（例えばラミネート加工層によって）ときであっても、導電手段がマイクロ構造に存在する溶液と接触することを確実にすることが可能である。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 5 】

導電手段に及び他の電極と接続するパッドとトラックに望ましいデザインを与えるために、前記マイクロ構造の加工の後で、望ましくない導電部分（概してマイクロ加工プロセスのエッチング工程の間に曝されてはならない基材部分を保護するために使用される）が除去され得る（例えば化学エッチングによって）。電極は実際には、プロセス中に、マイクロ構造を閉じるため又はシールするために役立つ被覆層を加える前に、一体化されることも可能である。単数又は複数の作用電極が、例えばマイクロ構造の壁部で一体化されることが可能であり、そして好ましくは導電手段の反対にあるマイクロ構造基材の側から一体化されることが可能である。このような配置は実際にはマイクロ流体装置の全体の加工を促進するように、また一体化した作用電極と導電手段との間の距離を最小にするように選択されることが可能であり、これによりオーム抵抗を最小まで減らし、導電手段が対抗電極として使用され且つ検知すべき検体を再生するのに役立つ場合に拡散距離をほとんどもたらさない。

10

【 0 0 3 6 】

マイクロ構造が官能化されなければならないとき（例えば、生物学的及び／又は化学的物質によって）、物理的（例えばプラズマ照射）及び／又は化学的手段（酸または塩基処理）によってマイクロ構造の壁の少なくとも一部を洗浄し又は修飾することが有利な場合がある。同様に、マイクロ構造の官能化は被覆層を加える前に都合よく実施されてもよい。

【 発明を実施するための最良の形態 】

20

【 0 0 3 7 】

図 1 は本発明のマイクロ流体装置の一例の縦断面図であり、この装置は基材（3）（この基材は非伝導性ポリマー材料から優先的に選択されるが、限定はされない）に加工されたマイクロ構造（2）を含み、前記マイクロ構造は作用電極として単数又は複数のマイクロ電極又はマイクロ電極配列（4）を含み、概して外部ポテンシオスタットへ接続するための一つ又はいくつかの伝導性接続パッド（5）を提示し、さらにこの装置は導電手段（7）を含み、これ（7）はマイクロ構造基材の反対辺にあって、マイクロ構造と直接接触しており且つ本ケースでは作用マイクロ電極の前に置かれている。図 1 のマイクロ構造は被覆層（8）でシールされており、このカバー層はこの加工プロセスの最後に例えば糊付けされ又はラミネート加工される。図 1 の場合、マイクロ構造はアクセスホール（9）を含んだマイクロチャンネルであり、アクセスホールは入口及び出口としての役目を果たし、そして流体が導入(introduction)、送出し(uptake)、引戻し(withdrawal)又は分注(dispensing)されることを可能にする。

30

【 0 0 3 8 】

図 1 及び 2 での好ましい実施態様において、このマイクロ流体装置は少なくとも一つの電極（任意の適当な材料、例えば金属、から作られている）を伴うポリマーボディから作られている。このマイクロ流体装置（1）は基材（3）に組み込まれた少なくとも一つのマイクロ構造（2）から構成され、ここで前記構造は好ましくは $500\text{ }\mu\text{m}$ 未満の断面積を画定し、前記マイクロ構造は一体化したマイクロ電極又はマイクロ電極配列（4）を有し、前記マイクロ電極又はマイクロ電極配列は伝導性パッド（5）によって支持（サポート）されている；このマイクロ流体装置は参照電極又は擬似参照電極も含み、この電極は例えば別の伝導性パッド（6）に付着された伝導性インク（例えば Ag / AgCl インク）から構成され、これは都合良くマイクロ構造の入口及び／又は出口で溶液と接触するように置かれる；マイクロ構造はさらに導電手段（7）を含み、前記導電手段（7）は重要な部分に存在するか又はマイクロ構造の長さ全体に沿って存在する；この電極、導電手段及び接続パッド又はトラックは、以下で記載されるデモンストレーション例のように、例えば金のような不活性金属で被覆した銅から作られる。マイクロ構造は好ましくはラミネート層（8）で被覆され；示される実施態様において、マイクロ構造（2）は溶液がマイクロ構造へ入りそして出ることを可能にする二つの流体アクセスホール（9）を伴うマイクロチャンネルである。

40

50

【0039】

本発明のマイクロ流体電気化学センサーの実施態様において、製造プロセスを単純にするために、擬似電極（二電極モードで作動する場合）はマイクロ構造の外側に置かれ、入口及び／又は出口に近接するがプローブに溶液が接触するのに適合している。この場合、マイクロ構造内で一体化した作用電極と擬似参照電極との間の距離はかなり長く、これは、マイクロ構造の小さい区分に加えて、比較的大きい抵抗そしてそれによる電気化学応答の摂動をもたらす傾向にある。導電手段の一体化は作用電極と擬似参照電極との間の抵抗を最小化することを可能にする。図1の概略的な説明から推察することができるように、マイクロ構造が長さ1 cm且つ直径50 μ mのマイクロチャンネルであって、チャンネルの中間（すなわち入口から5 mmのところ）に位置した一体化した作用電極を有し、擬似作用電極がマイクロチャンネルの入口に置かれ、導電手段が作用電極の前で且つマイクロチャンネルの長さ全体に沿って置かれる場合、 iR 降下は主に作用電極と導電手段との間の抵抗によるものであり、これは非常に小さい。実際に、式1の比率 L/A は非常に好ましい、というのは、本例の形状において、 L はマイクロチャンネルの深さ（即ち50 μ m）であり、一方考慮すべき断面積 A は導電手段がマイクロチャンネル全体に沿って存在しているのでマイクロチャンネルの幅（すなわちここでは約50 μ m）にマイクロチャンネルの長さ（すなわち1 cm）を掛けたものとされる。このやり方で、比率 L/A は 10^2 m^{-1} となり、100 mMリン酸塩緩衝溶液の抵抗は約100 Ω となる。擬似参照電極と導電手段との間に、同じ抵抗を連続して適用することを考慮すると、装置全体の抵抗は約200 Ω となり、100 nAの電流はわずか20 μ Vの iR 降下を生じる。

10

20

【0040】

マイクロチャンネルに沿った導電手段がない場合、 iR 降下は0.5 cmに渡って擬似参照電極と作用電極とに分岐して流れる電流の抵抗によってもたらされ（作用電極がマイクロチャンネルの長さの中間に位置する場合）、比率 L/A は $0.5 \text{ cm} / (50 \mu\text{m})^2 \text{ m} = 2 \times 10^6 \text{ m}^{-1}$ となる。この場合、装置全体の抵抗は $\sim 10^6 \Omega$ であり（これは同じマイクロ流体装置に導電手段を組み込んだときの約5000倍より大きい）、そして100 nAの電流は従って $\sim 100 \text{ mV}$ の iR 降下を生じ、これは電気化学測定を邪魔する可能性の重大な転換を意味する。

【0041】

導電手段が対抗電極として繋がれたとき、抵抗の経路は上述の場合（そこでは導電手段は存在しているが、接続はされていない）と同じであり、オーム抵抗も iR 降下と同様に最小化されることが着目される。

30

【0042】

図3は本発明の電気化学マイクロ流体装置の三次元的な部分を示し、ここでは導電手段（7）がマイクロ構造を取り囲むようなやり方で加工され、ここでマイクロ構造は伝導性パッドで支持され埋め込まれた作用電極（4'）を有するマイクロチャンネルであり、これ（パッド）は電気化学的に不活性の金属でできた露出表面を有し且つこれ（パッド）はマイクロ構造基材（3）のこちら側に置かれ、導電手段を有する側との反対側にある。このマイクロ構造は図3で開放している(open)マイクロチャンネルとして表現されているが、特にマイクロ流体操作を可能にするために、ラミネーションホイルのような被覆層を使用して基材の導電手段を含む側でシールされることもできる。この例では、導電手段はマイクロチャンネルの周りにフリーズを形成し、マイクロ構造の壁部分をその全体の長さに沿って構成し且つマイクロ構造に存在する溶液との接触を確実にする。

40

【0043】

光子にマイクロ構造へのそして従ってこのマイクロ構造に存在する溶液へのアクセスを提供するように、図3の構成が都合良く選択されることも出来る。実際に、マイクロ構造が透明な材料（例えばガラス又はポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート若しくはポリエステルのようなポリマーがあるがこれらに限定はされない）で被覆される場合、導電手段で画定したフリーズの中心はマイクロ構造の上方にあるホールであり、これが光子の通過を可能にする窓を画定する。この特徴は、マイクロ構造内部で何

50

が起きているかを調査するために光学的手段が必要となる用途において、又はマイクロ構造内で溶液が光を照らされる用途において、又は光学的検知（例えば蛍光、U V - V i s 又は化学 - 若しくは電気化学 - 発行があるがこれらに限定はされない）のために検知窓が必要とされる用途において、非常に有益なものとなり得る。

【 0 0 4 4 】

図 4 は本発明のマイクロ流体装置の一例を加工するために使用され得る加工工程の一例を、 $x - z$ 平面で示している、すなわち：A) 両辺を保護層 (20) (例えば銅のような金属) で被覆した基材 (3) (例えばポリイミド、ポリカーボネート又は液晶ポリマー) を用意すること；B) 保護層 (20) の両辺にフォトレジスト (21) を被覆すること；C) 多重層の両辺に接するフォトレジスト層に二つの第一マスク (22 及び 22') を構築 (例えばフォトリソグラフによる) すること、これは基材にパターンをつけるマイクロ構造に対応する (本発明のいくつかの実施態様において、マスクは基材と直接は接触せずに、基材をエッチし望ましいマイクロ構造へ加工するためにレーザーフォトアブレーションが使用される場合のように離れている)；D) 基材の部分を露出するように多重層体層両辺に接する保護層に最終的なマスク (23、23') を加工すること (例えば化学エッチングによる)；E) 単数又は複数のシールしていないマイクロ構造 (2') (ここではアクセスホール (9) を有する) を造るために、マスク (23 及び 23') を介して基材に傷をつけること (好ましくはアンダーエッチングによりマスク (10) の下方の基材材料の部分を除去するために等方性のエッチングプロセスを使用する)；F) マイクロシステムのオーム抵抗を減らすために役立つ最終導電手段 (7) 及び最終導電パッド (5) をそれぞれ造るのに役立つ導電パッド (5' 及び 7') を造るために、基材を被覆している保護層の不必要な部分を除去すること (例えば化学エッチングによる)；G) 単数又は複数の電極 (4) (これは相互接続されてもされていなくてもよく、そして参照電極、作用電極及び / 又は対抗電極を造ってもよい) を造るために、導電パッド (5') の上方に基材をさらに構築すること、そして、必要に応じて、被覆した電極 (5) 及び導電パッド (7) を造るために、導電パッド (例えば限定はしないが金のような不活性金属の電気メッキによって) を被覆すること；図 4 に示すように、この電極加工工程のために使用されるプロセス (たとえば、レーザーフォトアブレーション、エッチング、機械的除去、等) に応じて、この電極は異なる形状を有してもよく及び / 又はマイクロ構造において異なる形状に曝されてもよく (突き出ている、平坦な又は埋め込まれた電極 (基材に真っ直ぐ又は傾いた壁を伴う)) さらに異なる幾何学形状 (丸、多角形又はさらには画定していない形状) に曝されてもよい；G) 最後に、多くの用途のために、被覆層 (8) が最後にこの装置に加えられ (例えばポリマー層の糊付け又はラミネート加工による)、これによってマイクロ流体操作が可能となる。

【 0 0 4 5 】

図 5 は図 4 と同様の一組の加工工程を示すが、 $y - z$ 平面のものでありそして図 4 D ~ 4 H の工程にのみ対応する。4 D ~ 4 H は、すなわち、図 5 A は図 4 D を $y - z$ 平面から表したものであり、図 5 B は図 4 E に対応し、図 5 E に対応する図 4 H まで同様である。

【 0 0 4 6 】

本発明の方法の有利で随意的な特徴の一つは金属マスクを使用してマイクロ構造を基材に造り、その後それ自体が導電手段としての役目を果たすようなやり方で構築されることに存する。等方性エッチングプロセスは基材をマイクロ構造化するために使用されてもよく、そしてこのような方法の一つの利点は導電手段がまずマイクロ構造の製造のためのマスクとしての役目を果たすという事実を当てにしており、これは、等方性エッチング工程の間に、結果として基材材料の除去をマスクの空いている部分だけでなくアンダーエッチ (10) のおかげでマスクの下方にももたらし、それによって被覆層でマイクロ構造をカバーした後でも大きな接触表面を提供し、これはマイクロ構造に存在する溶液が導電手段と物理的に接触することを可能にし、それによりマイクロ構造に沿ってオーム抵抗を減少させることが可能になる。

【 0 0 4 7 】

本実施態様は本発明の装置を加工するために使用される可能性のある手段を限定しない。例えばエンボス、射出成形、ポリマーキャスト、ケイ素エッチング又はUV LIGA（リソグラフィ電気メッキ成型）のような技術があるがこれらに限定はされず、これらの技術がマイクロ構造を加工するために使用され得る。

【0048】

図6は本発明によるマイクロ流体装置の上面図を示し、マイクロ流体装置は作用電極(4)との接触を可能にする導電トラック(11及び11')、外部世界(例えばポテンシオスタット、インピーダンス測定システム、マルチメーター及び/又はポテンシオスタット)へ接続するために役に立つパッド(12および12')へそれぞれつながる擬似参照電極及び最終的には導電手段を伴う。図6の構成において、一体化した作用電極さらには参照電極(6)を支持し且つ画定するのに役立つ電気パッド(5)がマイクロ流体装置の上側辺に置かれ、一方で導電手段(7)及びそれに対応する伝導トラック(11')及び(12')はマイクロ構造基材の反対辺に置かれる。

10

【0049】

図7は75 µm厚ポリイミドホイル(3)の写真(上側(A)及び下側(B)図)を表し、そこには図6に示されたものと同じ特徴を有する八つの独立したマイクロ流体装置がプラズマエッチングプロセスを使用して加工されている。

【0050】

これらのマイクロ流体装置の各々は、1 cm長さのマイクロチャンネル(2)、金で被覆した銅のサポート(5)(これは直径50 µmでマイクロチャンネル壁に対して約15 µm奥まったところにある24つの作用電極を含む)、参照電極及び/又は対抗電極(Ag/AgClドットが使用されるがここでは示されない)のための金で被覆した銅パッド(6)、入口及び出口としての役目を果たすアクセスホール(9)、及びポテンシオスタットのような外部電気メーターに接続するために役立つ電気トラック(11)とパッド(12)を含む。ポリイミドサポート(3)の反対辺に、各装置はまた金で被覆した銅からできた導電手段(7)を含み、さらに例えば導電手段を対抗電極として接続するために使用されることができると接続をするために役立つパッド(12')及び電気トラック(11')を含む。本例において、導電手段はまずマイクロ構造をエッチするためのマスクとしての役目を果たすので、導電手段はマイクロチャンネル(2)を取り囲んでいる。導電手段を含む辺で、ポリイミドサポートは~32 µmまでの厚みのポリエチレン/ポリエチレンテレフタレート層で被覆されているが、図7ではその透明性のせいで見えない、そしてこれはシールしたマイクロチャンネル(2)を造ることを可能にする。

20

30

【0051】

図7に関連して短く上述したように、導電手段(7)は例えば基材にマイクロ構造を造るため使用される金属マスクの残留部分であってもよい。これらの場合において、このマスクは溝彫りパターンを示し、これはエッチング又はアブレーション媒体(例えば湿潤エッチングの場合は化学溶液、物理又は乾燥エッチングの場合はプラズマ、又はフォトアブレーションの場合はレーザービーム)に基材を曝すことを可能にする。マイクロ構造はこのようにして、望ましいマイクロ構造(形状及び寸法)を形成するために必要な期間に基材をエッチング又はアブレーション媒体に曝すことによって、加工される。アクセスホール(概して入口及び/又は出口)が同様に(且つエッチングプロセスにおいてマイクロ構造に対して同時であってもよい)基材の反対辺に追加的なマスクを提供することによって加工可能であり、これは望ましい基材部分、例えば加工すべきマイクロ構造の脚に相当する部分、を曝露することが可能である。このやり方で、基材は両辺からエッチされ、そしてスルーホールが追加したマスクによって画定した場所に造られることを確実になるように曝露時間が選択される。この基材の両辺からエッチされる部分が正確に重なり合うように、このプロセスでは二つのマスクの間の正確な位置合わせが要求される。金属マスクの望ましくない部分が除去可能であり(一方電極のためのサポート、導電手段又はトラック若しくはパッドの接続としての役目を果たすことを要求される部分は維持する)、及びこの残留部分は電極(例えば金、銀、プラチナ、チタン又はそれらに類するもの)としての

40

50

役目を果たすのに適している金属で被覆されてもよい。最終的に、マイクロ構造は基材の導電手段を有する側で閉じることが可能であり（例えば被覆層の糊付け又はラミネート加工によって）、この場合スルーホールも基材のこちら側で閉じられ、それにより基材の反対側からアクセスできる入口及び出口を伴うシールしたマイクロ構造が提供されるようなやり方で行われる。

【0052】

マイクロ構造を閉じるために使用されるチップ基材の辺にある導電手段の存在はシーリングの役に立つ被覆層の適用を促進し得ることが着目される。図7で示されるマイクロ流体装置の加工の際に、比較的大規模の導電手段(7)はポリエチレン/ポリエチレンテレフタレートラミネート加工層を安定化させ、このラミネート加工層はマイクロ構造を遮断

10

【0053】

図8は実際に材料を組み立て及び一体化した作用電極及び導電手段を説明し、一例としてラミネート加工層のようなものでマイクロ構造をシールする前の本発明の電気化学マイクロ流体センサーのものを説明する。この図8の写真は、図6で示されたものと同等の特性を有し且つ図4及び5と関連して述べられるものと同様のエッチングプロセスを使用する50 μ m厚のポリイミドホイルで製造されている、本発明の装置の断面を示す。この例において、構造物(2)(ここではマイクロチャンネル)の上部の周りにフリーズを形成している導電手段(7)は金(7'')で被覆した銅(7')で出来ており、そして導電手段(7)の銅の部分(7')は基材にマイクロ構造を造るために使用されたマスクの残留部分であり、一方銅の部分(7')を被覆する金の層(7'')は露出した銅表面を電気メッキすることによって製造されている。この図はまた一体化した作用電極(4)のひとつも表し、マイクロ構造の入口及び出口(ここでは示されない)の加工のためのマスクとしての役目を果たす銅のサポート(5')の境界の明瞭な部分を曝露できるように、この一体化した作用電極はマイクロ構造の底部にあるポリイミド基材の部分を除くことによって加工される。凹み部がその後マイクロ構造の底部に形成され、そして作用電極(4)はその後銅のサポート(5')の露出部分に金を電気メッキすることによって形成される。

20

【実施例】

30

【0054】

本発明の対象はポリマーマイクロ流体装置(1)の加工によって説明され、ここで導電手段(7)はマイクロ構造(2)を取り囲む金被覆した銅の層であり、この特定の場合において、このマイクロ構造は両辺を銅で被覆したポリイミドホイルを等位性エッチングによって製造した1cmの長さ及び約100 μ mの直径のマイクロチャンネルである。作用電極(4)及び擬似参照電極(6)は金で被覆した銅の電極であり、これはそれぞれのパッド(12)によってポテンシオスタットへ接続される。作用電極配列(4)は直径50 μ mのマイクロ電極24つで構成される。本マイクロ構造はポリエチレン及びポリエチレンテレフタレートでできた32 μ m厚さの層のラミネート加工によってシールされる。導電手段(7)がない場合の0.5mMフェロセンカルボン酸の検知を図9に表した、ここではサイクリックボルタメトリーを使用してより大きな電流が発生したときの抵抗の影響を明らかにする。実際に、電流の強度はボルタメトリーのスキャン速度とともに上昇する。低スキャン速度では、ボルタモグラムはピークからピークまで約100mV離れている前進波と後退波を良好に示し、ここでより高いスキャン速度では、このピークは前進スキャンではより大きなポテンシャル値へ移動し、後退スキャンではより小さなポテンシャル値へ移動する。この過剰なポテンシャルはマイクロチャンネルに沿った約1Mの抵抗によるものであり、これは0.4 μ Aを超える場合、iR降下は約0.4Vであることを意味する。これは実際には変形信号として測定されるものである。導電手段(7)がチップに加えられそしてパッド(12)によって対抗電極としてポテンシオスタットには接続されていないときに、図10(ここではボルタモグラム変形することなく1 μ Aまでの電流

40

50

がマイクロ構造（２）を通過する）で示されるように、この iR 降下はほとんど零である。

【００５５】

本発明の一つの実施態様において、生じる逆反応に応じて、導電手段（７）は対抗電極として接続されてもよいし、されなくてもよい。例えば、対抗電極が作用電極（４）を汚染することがある場合、マイクロ構造（２）の外側、マイクロ構造の入口及び／又は出口にある溶液と接触して置かれている擬似参照電極で、二電極モードで作動しているポテンシオスタットを伴って、この反応を生じさせることがより良いだろう。このシステムはまだ十分に稼働しており、そして導電手段（７）は、接続されていなくても、なお大きな iR 降下を回避している。可逆の又は擬似可逆の反応が存在するところでは、対抗電極としての導電手段（７）の接続が図１１で示されるような作用電極（４）で検知された少なくともいくつかの分子を再生させることを可能にする。導電手段（７）が接続されていないとき（これは二電極モードにおける検知システムに相当する）、作用電極配列（４）に適用される電圧はフェロセンカルボン酸の酸化を可能にし、結果として測定されるアンペロメトリック電流は継続的に降下する、なぜなら低減したフェロセン分子は直ぐにマイクロ構造（２）において減少し、且つそれゆえに作用電極周りの体積が減少し、これがアンペロメトリック測定の時間スケールで探查されるからである。別の例では、同じマイクロ流体装置（１）が三電極モードで接続され、対抗電極としての導電手段（７）及びマイクロ構造入口又は出口に置かれた参照電極を伴う場合（すなわち金で被覆した銅パッドに付着した $Ag/AgCl$ インクドット）、作用電極で酸化された分子はその後対抗電極で還元され、結果としてリサイクルプロセスが確立され、これは酸化した分子をフェロセンカルボン酸へ戻す再生を可能にする。この再生プロセスは直ぐに平衡状態に達し、結果として定常状態の電流が測定される。

10

20

【００５６】

いくつかの場合において、例えばマイクロ構造で酵素反応が生じるとき、検出すべき検体の濃度は時間と共に増加し、結果としてその濃度は iR 降下することなくチップを通過することが困難な電流強度を生じる濃度に到る。結果として、電位 - 電流応答が移動しそして所与の電位での電流はオーム（ iR ）降下のために横ばい状態に達する。この事例は、加水分解した p -アミノフェノールリン酸塩アルカリリン酸塩（ALP）を用いて 200 mV で検知をする際の図１２に示される。マイクロ流体装置（１）が導電手段（７）を有しないとき、検知から数秒後に横ばい状態に達する。対照的に、本発明による導電手段（７）を有するマイクロ流体装置（１）を伴う場合、同じ反応がより線形的な形状を示す。この特徴は従って例えば電気化学検知を伴うバイオセンサー装置の最適化のために最も重要な関心事項である。

30

【００５７】

さらなる実施態様において、この酵素反応は導電手段（７）を有するマイクロ流体装置で検知可能であり、この場合対抗電極が接続されていてもされなくてもよい。この場合、酵素加水分解の生成物（ここではアミノフェノール）はキノンイミドに酸化され得る。この酸化反応は可逆的であり、結果としてキノンイミドは対抗電極で又は検出すべき検体分子を再生するために作用電極の印加電位を反転することによって p -アミノフェノールに還元され得る。導電手段が対抗電極として接続されるこの場合には、キノンイミドの還元は対抗電極で行われ、そして p -アミノフェノールの濃度はより大きくなり、従って反応中により大きな電流応答をもたらす。この事例は図１２で示される。

40

【００５８】

本発明の装置を適用する別の例として、図１３は甲状腺ホルモン（TSH）のアンペロメトリック検知の際に得た電流の時間変化を示し、甲状腺ホルモン（TSH）の検知は血漿中の免疫吸着法（EliS_a）と関連する酵素によって行われ、装置は（Ａ）一体化した導電手段を伴わない（Ｂ）一体化した導電手段を伴うマイクロ流体センサー装置であり、両マイクロ流体装置は同等の幾何学的特性（すなわち ~ 1 cm の長さ及び ~ 50 μ m の深さ）及びマイクロチャンネルの入口に置いた $Ag/AgCl$ 電極を分別よく有するマイ

50

クロチャンネルを含み、図 7 で示されたものと同様であるが金を被覆した銅サポートで造られた一連の 48 つの金の作用電極を伴っている。今は、一体化した導電手段が対抗電極として接続され、そして $Ag / AgCl$ 電極は擬似参照電極として使用される。

【0059】

血漿中の TSH 濃度測定のために、マイクロ流体装置はまず坑 TSH で被覆しそして仔牛の血清溶液を使用する非特異性の吸着に対して遮断 (block) される。既知の濃度である $56.1 \mu UI / mL$ を有する TSH 試料の培養の後、アルカリリン酸塩 (ALP) で共役させ標識化した坑 - TSH の溶液でマイクロチャンネルを満たした。それからアンペロメトリック測定により検知を、酵素基材として p - アミノフェニルリン酸塩 (PAPP) を伴いつつ、 $Ag / AgCl$ に対して 200 mV の適用している種々の時間に、行った。この分析は両タイプのマイクロチップを伴って二度繰り返され、そして測定した電流の時間変化が図 13 に示す。チップが導電手段を全く有さないとき (曲線 B)、電流は横ばい状態に達し、これは酵素反応の生成物の減少とマイクロチャンネルに沿った抵抗 (iR 降下) の組合せが信号の増加を制限することを意味する。チップが対抗電極として働く一体化した導電手段を伴う場合 (曲線 A)、測定した電荷は制限されずそして時間と共に継続的に上昇し、これはほとんど iR 降下がないこと及び酸化した生成物の部分 (即ちこの場合はキノイミド) は p - アミノフェノールに還元されていることを示す。

【0060】

ここで電極のサイズが図 13 A と 13 B で示されたデータを出すために使用した装置で正確には同じではないことを強調しておく。マイクロチャンネルの長手方向部に沿った導電手段を含む装置は導電性手段を有さない装置より小さい作用電極を有する (直径が約 $50 \mu m$ ではなく約 $30 \mu m$)。これがなぜ測定の最初の部分で測定した電流が図 13 B より図 13 A で若干低いのかを説明する。両システムが完全に同一の幾何学的特性及び寸法 (電極サイズも含む) を有する場合、測定の最初の部分において電流応答はほぼ同等になるはずである。検体の濃度がこれらの試験時間と共に増加するにつれて、図 13 B では導電手段がないために測定電流は数分後に飽和し、これは iR 降下の増大を生じさせそして高濃度で測定可能な電流を制限する電位の移動を生じさせる。このようなアンペロメトリック測定において、印加される電位は実際にはポテンシオスタットにおける所与の値に固定され、結果として作用電極と擬似参照電極との間に効果的に印加される電圧が実際に iR 降下の値により減少される。従来の電気化学システムにおいては、電位の減少は過剰電位の印加により補償されるべきであった、これはセンサーでは実施が困難である (あきらかに、印加すべき電位の追加は溶液の性質、装置の幾何学的形状、及び本例のように時間と共に変化し得る検体の濃度によって決まるからである)。導電手段の一体化は iR 降下を最小にすることを可能にし、そしてそれゆえ大電流を伴って印加される可能性のある電位の移動を補償するための器具を必要としない。これは実際に図 13 A で確認され、これは明らかに測定した電流が常に増加していることを示し、これはマイクロシステムの全体の抵抗が最小にされているからであり、結果として iR 降下は常に小さく、大電流を伴う場合でも小さい。

【0061】

さらなる実施態様において、完全な組立品を固めて且つ安定化するために、本発明のマイクロ流体装置は上部層 (10) を含み、好ましくはポリマーから構成される。この上部層 (30) は図 14 及び 15 で説明され、これは対応するカートリッジの図面を示し、そしてこの上部層は異なる構成要素を含んでもよく、異なる機能を果たしてもよい、例えば：

a) 本事例においてホール (31) でできた入射口 (又は入口) 貯留槽であって、効果的に貯留槽を空にできるように、マイクロチャンネルの入射口が貯留槽の壁の底部にあるようなやり方で、ホールが置かれる、

b) 他の貯留槽 (32) は乾燥した又は湿潤の試薬又は溶液の貯蔵を可能にする、

c) マイクロ流体装置を操作し、そしてそれを簡単に器具のインターフェース (例えば流体及び / 又は電気接続用) に接触させて置くためのポジションガイド (33) ; これら

のポジションガイドはなおマイクロ流体装置（１２'）の上部（トップ）及び下部（バック）サイドに伝導トラック（１２）接続のための空間をのこしている。

【００６２】

本発明のマイクロ流体装置は分析用途において都合よく利用可能であり、例えば限定はしないが電気化学センサ、イオンスプレーのイオン化によるサンプリング又は毛管電気泳動での検知器がある。

【図面の簡単な説明】

【００６３】

本発明の特定の実施態様が添付図面を参照しながら説明される（しかしここで示される特徴に限定されることはない）。

【００６４】

【図１】本発明の電気化学マイクロ流体装置（１）の一例の、マイクロ構造（２）を構成するマイクロチャンネル方向の、概略縦断面図。

【図２】図１の装置の、マイクロチャンネル（２）に垂直な方向の、すなわち図１で示される軸Ａに続く、概略横断面図。

【図３】本発明の電気化学マイクロ流体装置の一部分の三次元図であって、ここで導電手段（７）は電気化学的に不活性な材料でできた露出表面を有するパッド（５）で支持される埋め込み作用電極（４'）を一体化しているマイクロチャンネル（２）の周りにフリーズを形成する。

【図４】本発明のマイクロ流体装置を製造するために使用することができる加工工程の例の概略縦断面図。

【図５】図１及び２の装置を製造するために使用することができる加工工程の例の概略横断面図であって、工程５Ａ～５Ｅはそれぞれ図４の４Ｄ～４Ｈに対応する。

【図６】本発明のマイクロ流体装置の上面図であって、作用電極（４）、擬似参照電極（６）及び最終的には導電手段（７）を別個のパッド（１２）へ接触させることを可能にする導電トラック（１１）を伴う。

【図７】 $75\mu\text{m}$ 厚のポリイミドフォイル（３）に独立した本発明のマイクロ流体装置を八つ複製したシステムの上（Ａ）及び下（Ｂ）の写真であり、これは図６で概略的に示されたものと同じ特徴を有する。

【図８】本発明の装置の、マイクロチャンネル（２）の方向に垂直な方向の、断面の電子顕微鏡写真であって、マイクロチャンネルは $50\mu\text{m}$ 厚のポリイミドフォイル（３）に製造されている。この写真は導電手段（７）を示し、これ（７）はマイクロ構造加工の役に立つマスクの残留銅部分（７'）で構成され、これ（７'）は金の層（７''）で被覆されている。この写真はさらに埋め込まれた作用電極（４）も示し、これ（４）はマイクロ構造入口及び出口の加工に役立つマスクの残留銅部分（５'）によって支持され、これも金で被覆されている。

【図９】導電手段がマイクロ流体装置にない場合（先行技術）に、 $1\text{V}/\text{秒}$ （曲線Ａ）から $5\text{V}/\text{秒}$ （曲線Ｅ）まで変化するスキャン速度で $50\mu\text{m}$ 直径の一体化した作用電極を２４つ伴う、 1cm 長さ \times $100\mu\text{m}$ 直径のマイクロチャンネルにおいて、 0.5mM フェロセンカルボン酸の検知の際に得たサイクリックボルタモグラム。

【図１０】マイクロ流体装置が、繋がっていない導電手段として役立つマイクロチャンネルに沿った薄い金で被覆した銅の層を含む場合に、 $1\text{V}/\text{秒}$ （曲線Ａ）から $5\text{V}/\text{秒}$ （曲線Ｅ）まで変化するスキャン速度で、図５及び６で示されるものと同様の装置のマイクロチャンネルに沿って一体化した $50\mu\text{m}$ 直径の金で被覆した銅の作用電極をを２４つ伴う、 1cm 長さ \times $100\mu\text{m}$ 直径のマイクロチャンネルにおいて、 0.5mM フェロセンカルボン酸を、二電極モードで、検知する際に得たサイクリックボルタモグラム。

【図１１】 0.5mM フェロセンカルボン酸を検知する際に得たクロノアンペログラムを示し：Ａ）導電手段が繋がっておらず且つ擬似参照電極はマイクロチャンネルの入口又は出口に近接してマイクロ構造の外側に配置される二電極システム、及びＢ）導電手段が対抗電極としての役目を果たし且つ図６で示されるものと同じ構成で、マイクロ流体装置は

10

20

30

40

50

さらに第三の参照電極をマイクロチャンネルの入口又は出口に近接してマイクロ構造の外側に有する三電極システム、である。

【図 1 2】 p - アミノフェニルリン酸塩とアルカリ性リン酸塩との加水分解反応によって生じた p - アミノフェノールを 2 0 0 m V で検知する際に得た酵素反応クロノアンペログラム応答を示し、 A) 二電極モード (すなわちマイクロ構造の入口及び出口にある貯留槽 (reservoir) における電極が擬似参照電極として (すなわち対抗電極及び参照電極の両方として) の役目を果たし、且つ導電手段は存在するが繋がれてはいない構成) ; B) 三電極モード (すなわち導電手段が対抗電極として繋がれ、且つマイクロ構造の入口及び出口にある貯留槽 (reservoir) における電極が参照電極としての役目を果たす構成) のものを示す。

10

【図 1 3】 一体化した導電手段を伴う (A) 及び伴わない (B) 二電極マイクロ流体センサー装置で 5 6 . 1 μ U I / m L での T S H 免疫学的検定の際に得た電流の時間変化 (time evolution) を示し、両マイクロ流体装置は、同様の形状的特徴 (すなわち ~ 1 c m の長さ及び $\sim 5 0 \mu$ m の深さ) 、さらに 4 8 つの一体化した金の作用電極、及びマイクロ構造の入口に置かれた A g / A g C l 擬似参照電極を分別よく有するマイクロチャンネルを含んでいる。

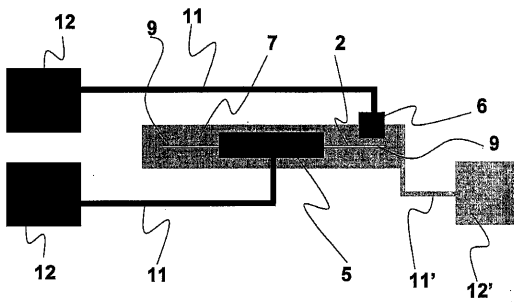
【図 1 4】 本発明のマイクロ流体装置の一例の等角図であって、この装置は：固化剤または固いサポートとしての役目を果たすトップ層 (3 0) ; マイクロ構造入射口 (図には入射口は示されない) にアクセスする貯留槽を有することを可能にするトップ層の一部のホール (3 1) ; 乾燥又は湿潤状態の試薬を含むことができる単数又は複数の補助的な貯留槽 (3 2) ; 及び機器への簡単な接続及び / 又は外部接続との正確な位置合わせ、サンプリング及び / 又は分配手段、を可能にするガイド (3 3) を含む。トップ層は、導電トラック (1 2) が例えば定電位電界装置 (ポテンシオスタット) のような外部機器との電気接続がなお得られるように、作られている。

20

【図 1 5】 図 1 4 で示されたマイクロ流体装置の例の背面図であって、ここで接続トラック (1 2 ') は外部機器 (例えばポテンシオスタット) への導電手段の接続を可能にする。

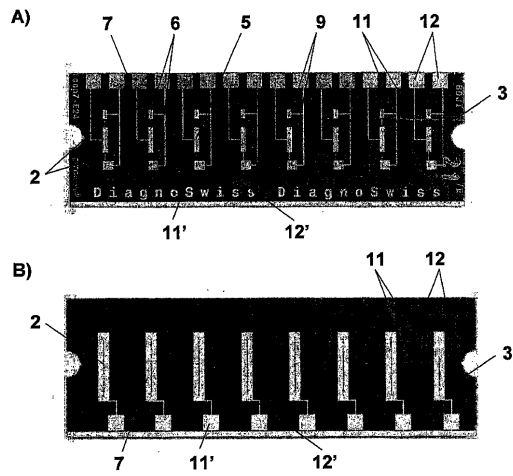
【 図 6 】

Fig. 6



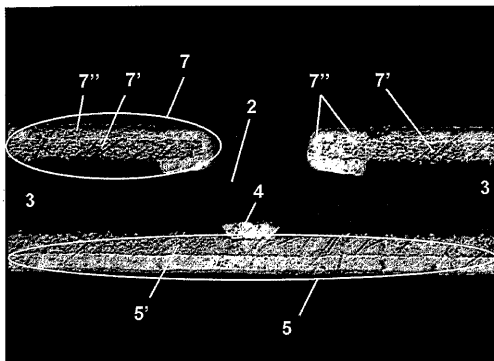
【 図 7 】

Fig. 7



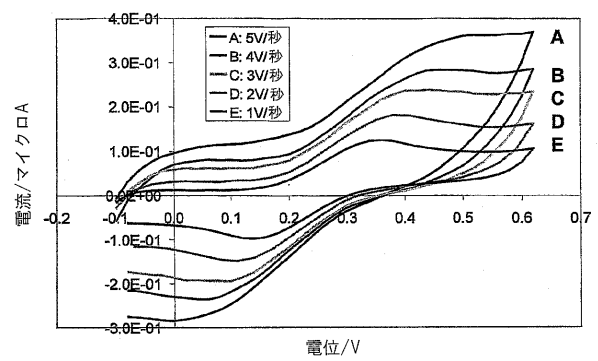
【 図 8 】

Fig. 8



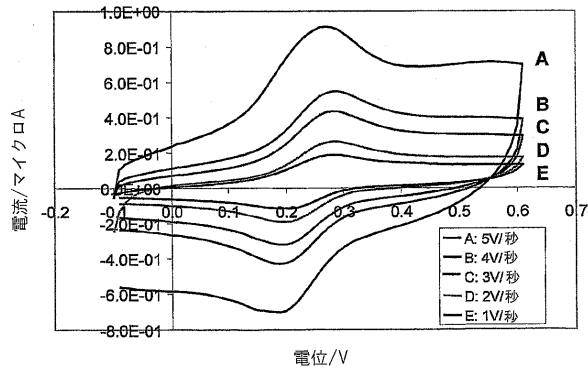
【 図 9 】

Fig. 9



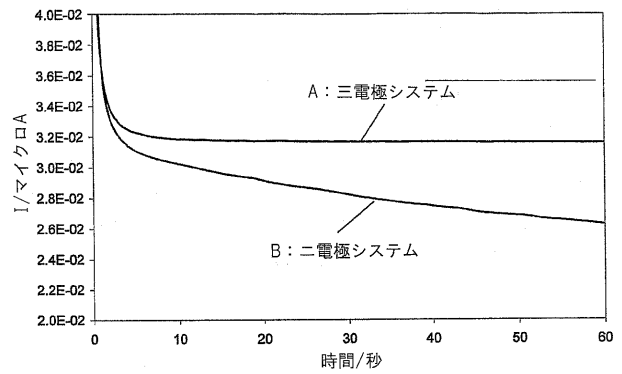
【図 10】

Fig. 10



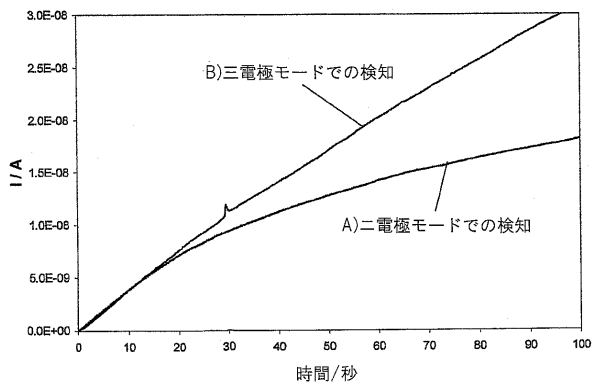
【図 11】

Fig. 11



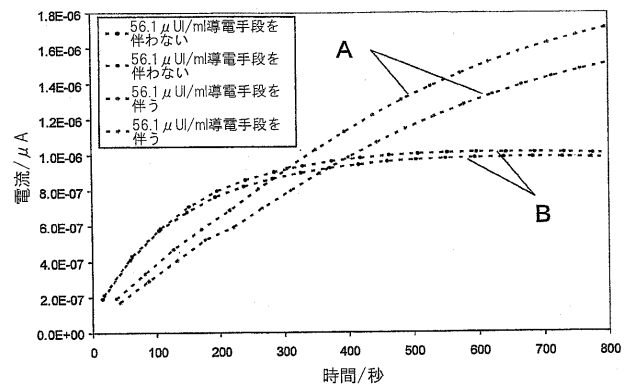
【図 12】

Fig. 12



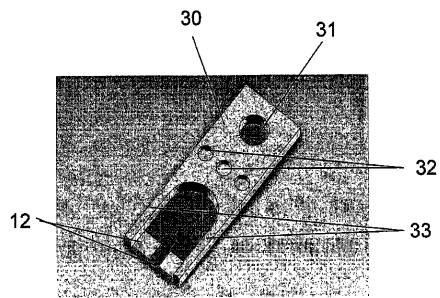
【図 13】

Fig. 13



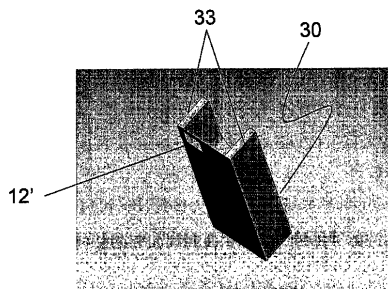
【 図 1 4 】

Fig. 14



【 図 1 5 】

Fig. 15



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/012112

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N27/447 G01N27/49 B01L3/00 C12Q1/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N B01L C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, COMPENDEX, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 520 787 A (HANAGAN ET AL) 28 May 1996 (1996-05-28) abstract column 8 example 2	1-49
X	EP 1 385 002 A (SENSLAB - GESELLSCHAFT ZUR ENTWICKLUNG UND HERSTELLUNG BIOELEKTROCHEMI) 28 January 2004 (2004-01-28) paragraphs '0012! - '0017! example 1 ----- -/-	1,2,4,6, 9-20, 26-34, 39-49
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
11 January 2006		18/01/2006
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentleer 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Michalitsch, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/012112

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ROSSIER J S ET AL: "ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY ON A MICROCHIP WITH ELECTROCHEMICAL DETECTION" LAB ON A CHIP, ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, CAMBRIDGE, GB, vol. 1, no. 2, December 2001 (2001-12), pages 153-157, XP009030699 ISSN: 1473-0197 page 154	1-49
Y	ROSSIER J ET AL: "POLYMER MICROFLUIDIC CHIPS FOR ELECTROCHEMICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSES" ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, DE, vol. 23, no. 6, March 2002 (2002-03), pages 858-867, XP001080091 ISSN: 0173-0835 page 860	1-49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/012112

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5520787	A	28-05-1996	AU 1911795 A CA 2179309 A1 EP 0752099 A1 JP 9509485 T WO 9522051 A1	29-08-1995 17-08-1995 08-01-1997 22-09-1997 17-08-1995
EP 1385002	A	28-01-2004	DE 10234564 A1	12-02-2004

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100144417

弁理士 堂垣 泰雄

(72)発明者 レイモン, フレデリック

スイス国, セアッシュ - 1 0 9 3 ラ コンベルション, ルート ドゥ コルシ 2 3

(72)発明者 ロシール, ジョエル, ステファヌ

スイス国, セアッシュ - 1 8 9 5 ビオンナ, シュマン デ ラヴィーヌ 1 3

(72)発明者 モリエール, パトリック

スイス国, セアッシュ - 1 8 0 7 ブロネイ, シュマン デ ベーゼマン 7