

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4766046号  
(P4766046)

(45) 発行日 平成23年9月7日(2011.9.7)

(24) 登録日 平成23年6月24日(2011.6.24)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 35/10 (2006.01)	GO 1 N 35/06 A
GO 1 N 35/00 (2006.01)	GO 1 N 35/00 B
GO 1 N 35/02 (2006.01)	GO 1 N 35/02 D
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 I O I

請求項の数 19 (全 40 頁)

(21) 出願番号	特願2007-512524 (P2007-512524)	(73) 特許権者	303000420 コニカミノルタエムジー株式会社 東京都日野市さくら町1番地
(86) (22) 出願日	平成18年3月28日 (2006.3.28)	(74) 代理人	110001070 特許業務法人 S S I N P A T
(86) 国際出願番号	PCT/JP2006/306213	(72) 発明者	東野 楠 日本国大阪府高槻市桜町1番2号コニカ ノルタテクノロジーセンター株式会社内
(87) 国際公開番号	W02006/106643	(72) 発明者	山東 康博 日本国大阪府高槻市桜町1番2号コニカ ノルタテクノロジーセンター株式会社内
(87) 国際公開日	平成18年10月12日 (2006.10.12)	(72) 発明者	中島 彰久 日本国東京都日野市さくら町1番地コニカ ミノルタエムジー株式会社内
審査請求日	平成21年3月13日 (2009.3.13)		
(31) 優先権主張番号	特願2005-106588 (P2005-106588)		
(32) 優先日	平成17年4月1日 (2005.4.1)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		
(31) 優先権主張番号	特願2005-109803 (P2005-109803)		
(32) 優先日	平成17年4月6日 (2005.4.6)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロ総合分析システム、検査用チップ、及び検査方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有する検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有するシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路内に充填された断熱用オイルであることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

【請求項2】

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有する検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、

収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路の断面積より小さくした断面積で、前記検査用チップ内の前記両端部に設けられた狭隘流路であることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

【請求項 3】

前記検査用チップが、

該検査用チップの前記ポンプ接続部と、前記マイクロポンプを含むマイクロポンプユニットのチップ接続部とを液密に密着させた状態で該検査用チップを前記システム本体に装着した後、

試料収容部に収容された試料または該試料を流路内で処理した処理液に含まれる標的物質と、試薬収容部に収容された試薬とを、前記混合流路へ送液して混合し、反応させた後、

得られた反応生成物質もしくはその処理物質を前記検査流路に送液して前記検出部により検出する一連の微細流路が形成されたチップであることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 4】

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記システム本体の前記マイクロポンプが、

流路抵抗が差圧に応じて変化する第 1 流路と、

差圧の変化に対する流路抵抗の変化割合が第 1 流路よりも小さい第 2 流路と、

前記第 1 流路および前記第 2 流路に接続された加圧室と、

該加圧室の内部圧力を変化させるアクチュエータと、

該アクチュエータを駆動する駆動装置と、を備えることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

【請求項 5】

前記加熱部が、

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記加熱部が前記被加熱流路の前記入口端を加熱して前記混合された混合溶液の反応処理を行い、

該反応処理の直後に、前記断熱部が前記出口端を冷却することを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 6】

前記加熱部が、

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行った後、

副反応が生じる前に前記断熱部が前記出口端を冷却するように制御されていることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 7】

10

20

30

40

50

前記加熱部および前記断熱部が、電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とする請求項 4 ~ 6 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 8】

前記加熱部および前記断熱部が、別々に設けられていることを特徴とする請求項 4 ~ 6 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 9】

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

10

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記加熱部および断熱部が、

電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

20

【請求項 10】

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、試料と試薬の混合溶液を冷却するように構成されていることを特徴とする請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

【請求項 11】

試料および試薬を混合させ、加熱による反応処理を行わせる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路と、を有し、これらの混合流路と検査流路とが一連の流路で連続的に接続された検査用チップと、

前記検査用チップを装着し、前記検査を行うシステム本体と、

30

を用いた検査方法であって、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止するとともに、

前記加熱および前記断熱を、

電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子によって行うことを特徴とする検査方法。

【請求項 12】

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記加熱部が前記混合流路の加熱される被加熱流路の前記入口端を加熱して反応処理を行い、

該反応処理の直後に、前記出口端をただちに冷却することを特徴とする請求項 11 に記載の検査方法。

40

【請求項 13】

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行った後、副反応が生じる前に前記出口端を冷却することを特徴とする請求項 11 または 12 に記載の検査方法。

【請求項 14】

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、試料と試薬の混合溶液を冷却することを特徴とする請求項 11 ~ 13 のいずれかに記載の検査方法。

【請求項 15】

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、

マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ、加熱により反応処理させ

50

る混合流路と、

前記混合流路を加熱する加熱部と、

前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路と、を備え、

前記混合流路と前記検査流路とが一連の流路で連続的に接続された検査用チップであって、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を、前記加熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記加熱部および断熱部が、

電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とする検査用チップ。

10

【請求項 16】

前記加熱部が、

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記混合流路の加熱される前記被加熱流路の前記入口端を加熱して試料と試薬の反応処理を行うものであって、

前記反応処理を行った後、ただちに前記断熱部が前記出口端を冷却することを特徴とする請求項 15 に記載の検査用チップ。

【請求項 17】

前記加熱部が前記反応処理を行った後、副反応が生じる前に前記断熱部が前記出口端を冷却するように制御されていることを特徴とする請求項 15 または 16 に記載の検査用チップ。

20

【請求項 18】

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、

前記断熱部が前記入口端と前記出口端を冷却することを特徴とする請求項 15 ~ 17 のいずれかに記載の検査用チップ。

【請求項 19】

請求項 15 ~ 18 のいずれかに記載の検査用チップを脱着自在に装着して、

前記検査用チップ内の試料の検査を実施するように構成したことを特徴とするマイクロ総合分析システム。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

本発明は、例えば、遺伝子検査などにおいて、マイクロリアクタとして利用可能な検査用マイクロチップおよびそれを用いたマイクロ総合分析システムならびに検査方法に関する。

【背景技術】

【0002】

最近では、従来の試料調製、化学分析、化学合成などを行うための装置、手段、例えば、ポンプ、バルブ、流路、センサなどを、マイクロマシン技術および超微細加工技術を駆使して微細化することによって、1チップ上に集積化したシステムが開発されている。

40

【0003】

このようなシステムは、 $\mu$ -TAS (Micro total Analysis System)、バイオリアクタ、ラブ・オン・チップ (Lab-on-chips)、バイオチップとも呼ばれ、医療検査・診断分野、環境測定分野、農産製造分野などでその応用が期待されている。

【0004】

特に、遺伝子検査の場合のように、煩雑な工程、熟練した手技、機器類の操作が必要とされる場合には、自動化、高速化および簡便化されたマイクロ化分析システムは、コスト、必要試料量、所要時間などの低減ができるだけでなく、時間と場所を選ばない分析が可能であり、その効果は非常に大きいものである。

【0005】

50

この場合、臨床検査を始めとする各種検査を行う現場では、場所を選ばず、迅速に結果を出すことができるチップタイプのマイクロリアクタを用いた測定の際にも、その定量性、解析の精度などが重要視されている。

【0006】

各種の分析、検査ではこれらの分析用チップにおける分析の定量性、解析の精度、経済性などが重要視される。そのためシンプルな構成で、高い信頼性の送液システムを確立することが課題である。精度が高く、信頼性に優れるマイクロ流体制御素子が求められており、好適なマイクロポンプシステムおよびその制御方法を本発明者らはすでに提案している（特許文献1～3）。

【0007】

このようなマイクロポンプを用いて、検体と試薬とを反応させ、反応生成物を検出部位に送液して検出する操作を一つのチップで行えるように、一連の微細流路を該チップ内に形成する場合、検体および試薬の収容部、試薬の混合部、反応部、検出部およびこれらを連通する流路などからなる流路系および付随する機能エレメントを限られたスペースに密に集積化して配置する必要がある。

【0008】

また、特許文献4において、本発明者等は、検体を収容する検体収容部と、試薬が収容される試薬収容部と、検体収容部に収容された検体と、試薬収容部に収容された試薬とを合流させて、所定の反応処理を行う反応流路を有する反応部と、反応部の反応で得られた反応処理物質に対して、所定の検査を行う検査流路を有する検査部とを備え、これらの検体収容部と、試薬収容部と、反応部と、検査部とが一連の流路で、上流側から下流側に連続的に流路によって接続された検査用マイクロチップ（マイクロリアクタ）を、既に提案している。

【0009】

すなわち、特許文献4のような従来の検査用マイクロチップ100では、図12に示したように、検体102を収容する検体収容部104と、試薬106が予め封入された試薬収容部108とを備えている。

【0010】

そして、試薬収容部108に収容された各試薬106が混合される混合流路110を備えている。この混合流路110で混合された混合試薬と、検体収容部104からの検体102とが、Y字流路などを介して合流して混合され、ヒータ116により反応が開始される反応流路112を備えている。

【0011】

さらに、反応流路112で混合試薬と反応された検体は、下流の分析流路114に送液されて、分析流路114に設けられた検出部位において反応が検出されるようになっている。

【0012】

このような従来の検査用マイクロチップでは、例えば、検査用マイクロチップが、ICAN法（Isothermal chimera primer initiated nucleic acid amplification）により増幅反応を行うものである場合には、検体収容部104には、血液もしくは喀痰から抽出した検体が収容されている。

【0013】

一方、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするビオチン修飾したキメラプライマー、鎖置換活性を有するDNAポリメラーゼ、およびエンドヌクレアーゼを含む試薬が、試薬収容部108に収容されている。

【0014】

従って、混合流路110で混合された混合試薬と、検体収容部104からの検体102とが、Y字流路などを介して合流して反応流路112で混合した際には、遺伝子増幅反応を促進するために、例えば、ニクロム線ヒータ、シーズヒータ、ITO膜、基板上に金属薄膜（クロム、金、白金など）を成膜したヒータなどのヒータ116で、50～65、

10

20

30

40

50

例えば、55 に加熱制御して、反応を促進していた。

【0015】

PCR (polymerase chain reaction) 法による増幅反応が例として挙げられるように、反応部位を構成する流路、必要であれば前処理を行う流路も所定温度に加熱する必要がある。その一方で、多数の機能部位からなる一連の微細流路内には、昇温されることが望ましくない領域も存在する。例えば検体、試薬には、加熱されると変質し易いものが多く、冷却が必要となる。そうした検体、試薬が収容される部位、または試薬類同士を混合する部位では選択的に放熱もしくは冷却しなければならない。

【0016】

上記のように限られたスペースに一連の微細流路を集積化するチップでは、加熱を要する反応部位に近接して昇温が望ましくない流路が配置される場合、あるいは中途半端な温度分布により反応に支障が生じる場合には、加熱部位の熱が周辺の流路に伝達されることを防止する必要がある。例えば流路内の液体の一部を加熱する時に、液体のメニスカス(流路内の液体の先頭界面)が加熱領域内もしくはその近傍にあった場合、液体がメニスカスから気化して蒸発してしまう恐れがある。これは定量の精度に影響を及ぼすとともに、様々なトラブルの原因となる。特に $\mu$ TAS内で液体を加熱部で加熱工程を完了した後に次の反応工程部に液体を送液するような場合、加熱領域にある液体を一定時間その場にどめておく必要があるため、上記の問題が発生しやすい。

【0017】

しかしながら、この種のヒータによる加熱では、ヒータの加熱時間が長いと、検体と試薬との混合液に気泡が発生してしまい、試薬、例えば、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするビオチン修飾したキメラプライマーと、検体とがこの気泡の作用によって、結合するのが阻害されることになって、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【0018】

また、この種のヒータによる加熱では、加熱時間が長いと、検体と試薬との反応以外に、副反応、すなわち、目的物質以外の種々の物質による副反応が発生してしまい、それらの増幅産物が目的物質の増幅を阻害することになって、所期の目的とする反応による分析を行うことが困難となって、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【0019】

また、この種のヒータによる加熱では、加熱を中止したとしても、ヒータが冷却されるまで所定の時間を要するので、このような余熱時間が長いと、余熱温度の影響によって、上記の気泡の発生、副反応の発生が生じてしまうことになる。

さらに、上記の試薬収容部108に収容された試薬106は、温度の影響によって変性する性質を有するので、このような加熱時間、余熱時間が長いと、試薬収容部108に収容される試薬106が変性してしまい、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【特許文献1】特開2001-322099号公報

【特許文献2】特開2004-108285号公報

【特許文献3】特開2004-270537号公報

【特許文献4】国際公開第2005/108571号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0020】

本発明は上述の問題に鑑みてなされたものであり、 $\mu$ TAS、検査用チップにおいて、加熱部位の余熱が近隣の流路に伝わることを極力抑制し、チップ内の温度分布をなるべく画然とさせる流路構成を含むマイクロ総合分析システムおよびその方式を提供することを課題とする。

【0021】

10

20

30

40

50

さらに、本発明は、検査用マイクロチップにおいて、合流路で混合された混合試薬と、検体収容部からの検体とが合流して、混合反応流路で混合した際に、迅速に反応に必要な温度まで加熱することができるとともに、必要な温度に達した際には、反応に必要な時間だけ加熱して、気泡の発生、副反応を発生しないように、迅速に冷却することが可能で、これによって、精度が高く、正確な検査を実施でき、信頼性に優れる検査用マイクロチップおよびそれをを用いたマイクロ総合分析システムを提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0022】

本発明の一つの態様においては、

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

10

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路内に充填された断熱用オイルであることを特徴とするマイクロ総合分析システムが提供される。

20

また、本発明の別の態様においては、

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

30

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路の断面積より小さくした断面積で、前記検査用チップ内の前記両端部に設けられた狭隘流路であることを特徴とするマイクロ総合分析システムが提供される。

さらに、本発明の別の態様においては、

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

40

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記システム本体の前記マイクロポンプが、

流路抵抗が差圧に応じて変化する第1流路と、

差圧の変化に対する流路抵抗の変化割合が第1流路よりも小さい第2流路と、

50

前記第1流路および前記第2流路に接続された加圧室と、  
該加圧室の内部圧力を変化させるアクチュエータと、  
該アクチュエータを駆動する駆動装置と、を備えることを特徴とするマイクロ総合分析システムが提供される。

また、本発明の別の態様においては、  
マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、  
収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、  
を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記加熱部および断熱部が、  
電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とするマイクロ総合分析システムが提供される。

#### 【0023】

本発明の別の態様においては、前記態様における前記マイクロ総合分析システムは、前記加熱部が、試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記加熱部が前記被加熱流路の前記入口端を加熱して前記混合された混合液の反応処理を行い、該反応処理の直後に、前記断熱部が前記出口端を冷却することを特徴とする。

#### 【発明の効果】

#### 【0024】

本発明は、温度分布管理が厳格になされた微細流路を有するチップを用いるマイクロ総合分析システムを提供する。

#### 【0025】

本発明のマイクロ総合分析システムによれば、チップ微細流路の所定領域のみ選択的かつ均一に加熱もしくは冷却し、隣接する流路の加熱もしくは冷却を十分に防止できる。また加熱部位の余熱が近隣の流路に伝わることを極力抑制し、選択的に加熱される微細流路の両端において中間的な温度領域をなるべく少なくすることにより、チップ内の温度分布をなるべく画然とさせることができる。また、そのような中間温度領域が存在することによる副反応の発生、流路から試薬類の喪失を防止することができる。

#### 【0026】

さらに、本発明によれば、加熱冷却手段によって、反応部において、検体収容部に収容された検体と、試薬収容部に収容された試薬とが反応流路で合流した直後に、検体と試薬の混合液を加熱して反応処理を行った後、ただちに冷却することができる。

#### 【0027】

従って、合流路で混合された混合試薬と、検体収容部からの検体とが合流して、混合反応流路で混合した際に、迅速に反応に必要な温度まで加熱することができる。

#### 【0028】

しかも、必要な温度に達した際には、反応に必要な時間だけ加熱して、気泡の発生、副反応を発生しないように、迅速に冷却することが可能であり、精度が高く、信頼性に優れる正確な検査を実施でき、信頼性に優れる検査を実施することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0029】

【図1】本発明のマイクロ総合分析システムの実施例を示した概略斜視図である。

【図2】図1のマイクロ総合分析システムのベース本体に検査用チップを装着した状態を

10

20

30

40

50



示した装置本体内部の概略図である。

【図3】マイクロ総合分析システムの一実施形態における検査用チップの反応部流路と試薬混合流路の周辺、およびチップ面に当接する加熱部材、放熱部材および冷却部材の断面図である。

【図4】加熱部材によるチップの加熱領域周辺の上面図である。

【図5】加熱領域よりも先方にある液体メニスカスの酸化を防止するとともに、加熱領域の液体内部から蒸気を発生させないようにする対策を示す。

【図6】試薬収容部およびその中の試薬を封止する封止剤を示す図である。この封止剤が加熱部（例えば反応部）流路の両端部を加熱部側に対し断熱する断熱用オイルとして使用される。

10

【図7】前記加熱部流路端部につながる微細流路を先後の流路よりも狭隘の流路とした構成を示す図である。本図は、検査用チップの流路系の一部のみを示している。

【図8】(a)は、ピエゾポンプの一例を示した断面図、(b)は、その上面図である。(c)は、ピエゾポンプの他の例を示した断面図である。

【図9】(a)及び(b)は、ピエゾポンプをチップとは別体とした場合におけるチップのポンプ接続部周辺の構成を示した図である。

【図10】図1のマイクロ総合分析システムの検査用マイクロチップを示した概略斜視図である。

【図11】図1のマイクロ総合分析システムの検査用マイクロチップの別の実施例を示した概略斜視図である。

20

【図12】従来の検査用マイクロチップの概略図である。

【符号の説明】

【0030】

1	マイクロ総合分析システム
10	システム装置本体
13	疎水性バルブ
14	検査用チップ出入口
15 a	加熱部（反応部）流路
15 b	流路狭隘部
19	表示部
22	チップ搬送トレイ
24	駆動液収容部
25	封止液収容部
26	マイクロポンプユニット
27	空気抜き用流路
28	ポンプ制御装置
29	駆動液
30	駆動液タンク
31	チップ
31 a	チップ面
33	加熱領域
34	非加熱領域
35	加熱部材
36	冷却部材
37	冷却領域
38	放熱部材
39	試薬混合流路
41	上側基板
42	基板
43	振動板

30

40

50

4 4	圧電素子	
4 5	加圧室	
4 6	第 1 流路	
4 7	第 2 流路	
4 8	第 1 液室	
4 9	第 2 液室	
5 0	検査用マイクロチップ	
5 1	ポンプ流路	
5 2	検体収容部	
5 3	検体供給流路	10
5 4	検体	
5 5	合流部	
5 6	試薬収容部	
5 7	ポンプ流路	
5 8	試薬	
6 0	反応流路	
6 1	分析流路	
6 4	ポンプ接続部	
6 6	チップ接続部	
7 1	シリコン基板	20
7 2	ポート	
7 3	ポート	
1 0 2	検体	
1 0 4	検体収容部	
1 0 6	試薬	
1 0 8	試薬収容部	
1 1 0	混合流路	
1 1 2	反応流路	
1 1 4	分析流路	
1 1 6	ヒータ	30
1 3 4	<u>ペルチェ素子</u>	
1 3 6	<u>ヒータ</u>	
1 3 6 A	加熱装置	
1 3 6 B	冷却装置	
1 3 8	<u>加熱冷却装置</u>	
1 4 0	LED	
1 4 2	フォトダイオード	
1 4 4	検出装置	
	【発明を実施するための最良の形態】	
	【0031】	40
	本発明は以下の構成および方法を含む。	
	(構成1)	
	<u>マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、</u>	
	<u>前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、</u>	
	<u>を有し、</u>	50

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路内に充填された断熱用オイルであることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

(構成2)

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記断熱部は、前記検査用チップの前記両端部の流路の断面積より小さくした断面積で、前記検査用チップ内の前記両端部に設けられた狭隘流路であることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

(構成3)

前記検査用チップが、

該検査用チップの前記ポンプ接続部と、前記マイクロポンプを含むマイクロポンプユニットのチップ接続部とを液密に密着させた状態で該検査用チップを前記システム本体に装着した後、

試料収容部に収容された試料または該試料を流路内で処理した処理液に含まれる標的物質と、試薬収容部に収容された試薬とを、前記混合流路へ送液して混合し、反応させた後、

得られた反応生成物質もしくはその処理物質を前記検査流路に送液して前記検出部により検出する一連の微細流路が形成されたチップであることを特徴とする構成1または2に記載のマイクロ総合分析システム。

(構成4)

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記システム本体の前記マイクロポンプが、

流路抵抗が差圧に応じて変化する第1流路と、

差圧の変化に対する流路抵抗の変化割合が第1流路よりも小さい第2流路と、

前記第1流路および前記第2流路に接続された加圧室と、

該加圧室の内部圧力を変化させるアクチュエータと、

該アクチュエータを駆動する駆動装置と、を備えることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

(構成5)

前記加熱部が、

10

20

30

40

50

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記加熱部が前記被加熱流路の前記入口端を加熱して前記混合された混合溶液の反応処理を行い、

該反応処理の直後に、前記断熱部が前記出口端を冷却することを特徴とする構成 1 ~ 4 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

(構成 6)

前記加熱部が、

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行った後、

副反応が生じる前に前記断熱部が前記出口端を冷却するように制御されていることを特徴とする構成 1 ~ 5 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

(構成 7)

前記加熱部および前記断熱部が、電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とする構成 4 ~ 6 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

(構成 8)

前記加熱部および前記断熱部が、別々に設けられていることを特徴とする構成 4 ~ 6 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

(構成 9)

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ加熱により反応処理させる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路とを有す検査用チップと、

前記検査用チップを収容する収容部と、試料および試薬を注入するマイクロポンプと、収容された前記検査用チップの前記混合流路を加熱する加熱部と、前記検査用チップの前記検査流路で混合溶液の検査を行なう検出部と、を有すシステム本体と、

を有し、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を前記加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を前記検査用チップと前記システム本体の少なくとも一方に有し、

前記加熱部および断熱部が、

電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とするマイクロ総合分析システム。

(構成 10)

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、試料と試薬の混合溶液を冷却するように構成されていることを特徴とする構成 1 ~ 9 のいずれかに記載のマイクロ総合分析システム。

(構成 11)

マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、

マイクロポンプにより注入された試料および試薬を混合させ、加熱により反応処理させる混合流路と、

前記混合流路を加熱する加熱部と、

前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路と、を備え、

前記混合流路と前記検査流路とが一連の流路で連続的に接続された検査用チップであって、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を、前記加熱から断熱して温度上昇を防止する断熱部を有し、

前記加熱部および断熱部が、

電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子から構成されていることを特徴とする検査用チップ。

(構成 12)

10

20

30

40

50

前記加熱部が、

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記混合流路の加熱される前記被加熱流路の前記入口端を加熱して試料と試薬の反応処理を行うものであって、

前記反応処理を行った後、ただちに前記断熱部が前記出口端を冷却することを特徴とする構成 1 1 に記載の検査用チップ。

(構成 1 3)

前記加熱部が前記反応処理を行った後、副反応が生じる前に前記断熱部が前記出口端を冷却するように制御されていることを特徴とする構成 1 1 または 1 2 に記載の検査用チップ。

(構成 1 4)

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、前記断熱部が前記入口端と前記出口端を冷却することを特徴とする構成 1 1 ~ 1 3 のいずれかに記載の検査用チップ。

(構成 1 5)

構成 1 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の検査用チップを脱着自在に装着して、前記検査用チップ内の試料の検査を実施するように構成したことを特徴とするマイクロ総合分析システム。

(方法 1)

試料および試薬を混合させ、加熱による反応処理を行わせる混合流路と、前記混合流路で混合、反応処理された混合溶液に対して所定の検査が行われる検査流路と、を有し、これらの混合流路と検査流路とが一連の流路で連続的に接続された検査用チップと、

前記検査用チップを装着し、前記検査を行うシステム本体と、を用いた検査方法であって、

前記混合流路の加熱される被加熱流路の入口端と出口端の両端部に接続する流路を加熱部の熱から断熱して温度上昇を防止するとともに、

前記加熱および前記断熱を、電流の切り替えによって、加熱と冷却を行う同一のペルチェ素子によって行うことを特徴とする検査方法。

(方法 2)

試料と試薬とが前記混合流路で混合された直後に、前記加熱部が前記混合流路の加熱される被加熱流路の前記入口端を加熱して反応処理を行い、

該反応処理の直後に、前記出口端をただちに冷却することを特徴とする方法 1 に記載の検査方法。

(方法 3)

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行った後、副反応が生じる前に前記出口端を冷却することを特徴とする方法 1 または 2 に記載の検査方法。

(方法 4)

試料と試薬の混合溶液を加熱して反応処理を行う直前まで、試料と試薬の混合溶液を冷却することを特徴とする方法 1 ~ 3 のいずれかに記載の検査方法。

**【 0 0 3 2 】**

以下、本発明の実施形態の詳細を説明する。

**【 0 0 3 3 】**

本明細書において、「流路エレメント」とは、検査用チップに設置される機能部品をいう。「微細流路」は、本発明の検査用チップ(マイクロリアクタ・チップ)に形成された微小な溝状の流路のことである。試薬類などの収容部、反応部位もしくは検出部位が、容量の大きい広幅の液溜め状に形成されている場合にも、これらを含めて「微細流路」ということもある。微細流路内を流れる流体は、実際は液体であることが多く、具体的には、各種の試薬類、試料液、変性剤液、洗浄液、駆動液などが該当する。「遺伝子」とは、何らかの機能を発現する遺伝情報を担う DNA または RNA をいうが、単に化学的実体である DNA、RNA の形でいうこともある。分析対象である標的物質を「アナライト」とい

10

20

30

40

50

うこともある。

#### マイクロ総合分析システム

本発明による本実施形態のマイクロ総合分析システムは、マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部と、微細流路と、該微細流路の温度調節領域に含まれ、選択的に加熱される微細流路領域の両端部を加熱側に対して断熱する手段と、が設けられた検査用チップと、システム本体と、を備え、そのシステム本体は、少なくともベース本体と、そのベース本体内に配置され、該検査用チップに連通させるための流路開口を有するチップ接続部と、複数のマイクロポンプとを含むマイクロポンプユニットと、検出処理装置と、少なくとも該マイクロポンプユニットの機能と該検出処理装置の機能とを制御する制御装置と、を備え、該検査用チップのポンプ接続部と該マイクロポンプユニットのチップ接続部とを液密に密着させた状態で該検査用チップを該ベース本体内に装着した後、該検査用チップにおいて検体中の標的物質を分析することを特徴としている。

10

#### 【0034】

本発明は、種々の実施の形態において、本発明の趣旨に沿って任意の変形、変更が可能であり、それらは本発明に含まれる。すなわち、本発明のマイクロ総合分析システムの全体または一部について、構造、構成、配置、形状形態、寸法、材質、方式、方法などを本発明の趣旨に合致する限り、種々のものにすることができる。

#### 【0035】

以下、本発明の実施の形態（実施例）を図面に基づいて詳細に説明する。

#### 【0036】

図1は、本発明の検査用マイクロチップを用いたマイクロ総合分析システムの実施例を示した概略斜視図、図2は、図1のマイクロ総合分析システムのベース本体に検査用チップを装着した状態を示した装置本体内部の概略図、図10は、図1のマイクロ総合分析システムの検査用マイクロチップを示した概略斜視図である。

20

#### 【0037】

図1において、1は、全体で、本発明の検査用マイクロチップを用いたマイクロ総合分析システム（以下、単に「分析システム」とも言う）を示している。

#### 【0038】

分析システム1は、図1に示したように、システム装置本体10を備えており、システム装置本体10には、その正面部分に、検査用マイクロチップ50を内部に取り入れるための検査用チップ出入口14と、システム装置本体10内で行われる所定の検査結果を出力する表示部19とが設けられている。

30

#### 【0039】

検査用マイクロチップ50は、チップ搬送トレイ22上に載置された後、検査用チップ出入口14からシステム装置本体10内に取り入れられ、装着される。

#### 【0040】

システム装置本体10の内部には、図2に示したように、チップ搬送トレイ22上に載置された検査用マイクロチップ50の送液、反応、検出等を制御するための各種の装置が設けられている。

#### 【0041】

本実施例では、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64と接続して、検体や処理液を所定箇所に移動させるマイクロポンプユニット26と、マイクロポンプユニット26の送液制御を行うポンプ制御装置28を備えている。

40

#### 【0042】

図1は、本発明のマイクロ総合分析システムの一実施形態における構成を示した概念図である。かかる実施形態では、図示したように検査用マイクロチップ50とともに、このチップを収容する装置として、反応のための加熱・冷却ユニット（ペルチエ素子134、ヒータ136）と、送液用マイクロポンプ、駆動液タンク30およびチップ接続部を有するマイクロポンプユニット26と、その送液、温度、反応の各制御に関わる制御装置（図示せず）と、光学検出系（LED140、フォトダイオード142など）を含み、データ

50

の収集（測定）および処理をも受け持つ検出処理装置（図示せず）とを備えているシステム装置本体 10 がある。

【0043】

さらに、本発明の本実施形態におけるマイクロ総合分析システムは、上記の検査用マイクロチップを脱着自在に装着して、検査用マイクロチップの検査部の検査を実施するように構成されている。

【0044】

このように構成することによって、携帯に便利で、取り扱いに優れた検査用マイクロチップを検査装置に装着するだけで、特別な技術、複雑で煩雑な操作を必要とすることなく、正確にかつ迅速に所定の検査を実施することが可能である。

10

【0045】

検査用マイクロチップ 50 は、一般に分析チップ、マイクロリアクタ・チップなどとも称されるものと同様である。検査用チップは、例えば樹脂、ガラス、シリコン、セラミックスなどを材料とし、そこに微細加工技術によりその幅および高さが約 10  $\mu\text{m}$  ~ 数百  $\mu\text{m}$  のマイクロオーダーのサイズを有する微細流路を形成したものである。その縦横のサイズは、通常、数十  $\text{mm}$ 、高さが数  $\text{mm}$  程度である。

【0046】

上記チップでは、各種試薬の収容部、検体収容部などの各収容部内の液体が、マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部 64 によってこれらの各収容部に連通された上記マイクロポンプによって送液される。

20

【0047】

検査用マイクロチップ 50 以外の構成要素については、これらを一体化したシステム装置本体 10 とし、検査用マイクロチップ 50 をこの装置本体に着脱するように構成することが望ましい。またマイクロポンプは、検査用マイクロチップ 50 に設けることも可能であるが、通常、複数のマイクロポンプが装置本体に組み込まれる。これら複数のマイクロポンプと、検査用チップに連通させるための流路開口を有するチップ接続部とを含むマイクロポンプユニットが、本発明システム本体のベース本体内に配置されている。図示したように検査用マイクロチップ 50 を該装置本体に装着し、面同士で重ね合わせることにより検査用マイクロチップ 50 のポンプ接続部を装置本体のマイクロポンプユニットにあるチップ接続部のポートに接続するようになっている。

30

【0048】

マイクロポンプを制御する電気制御システムの装置は、流量の目標値を設定し、それに応じた駆動電圧をマイクロポンプに供給している。そうした制御を受け持つ制御装置についても、後述するように本発明システムの装置本体に組み込んで、検査用チップのポンプ接続部を装置本体のマイクロポンプユニットのチップ接続部に接続させた場合に作動制御させるようにしてもよい。

【0049】

光学的検出、データの収集および処理を受け持つユニットである検出処理装置は、例えば可視分光法、蛍光測光法などの手法が適用される場合、その光学的測定的手段として特に限定されないが、LED、光電子増倍管、フォトダイオード、CCDカメラなどがその構成要素としてシステム装置本体内に適宜設置されることが望ましい。

40

【0050】

少なくとも前記マイクロポンプユニットの機能と検出処理装置の機能とを制御する制御装置が本発明システムの装置本体に組み込まれている。その制御装置は、さらに温度管理、測定データの記録と処理なども含めてシステムを統括的に制御支配させてもよい。

この場合の制御装置は、予め送液の順序、容量、タイミングなどに関して設定された諸条件が、マイクロポンプおよび温度の制御とともにプログラムの内容として分析システムに搭載されたソフトウェアに組み込まれている。

測定試料である検体の前処理、反応および検出の一連の分析工程は、前記のマイクロポンプ、検出処理装置および制御装置とが一体化されたシステム装置本体 10 にチップを装

50

着した状態で行なわれる。

装着したチップに試料を注入してから、あるいは試料を注入したチップを装置本体に装着してから分析を開始してもよい。試料および試薬類の送液、前処理、混合に基づく所定の反応および光学的測定が、一連の連続的工程として自動的に実施され、測定データが、必要な条件、記録事項とともにファイル内に格納される形態が望ましい。

#### 【0051】

従来の分析チップでは、異なる分析または合成などを行う場合には、変更される内容に対応するマイクロ流体デバイスとその都度構成する必要があった。これとは異なり、本発明のマイクロ総合分析システムでは脱着可能な上記チップのみ交換すればよい。各流路エレメントの制御変更も必要となる場合には、装置本体に格納された制御プログラムを適宜変更すればよい。

10

#### 検査用チップ

本発明のシステムに用いられる検査用マイクロチップ50は、マイクロリアクタとして化学分析、各種検査、試料の処理・分離、化学合成などに利用されるように、各流路エレメントまたは構造部が、機能的に適切な位置に微細加工技術により配設されている。検査用マイクロチップ50には、流体収容部として検体液を収容する検体収容部のほか、各試薬を収容するための複数の試薬収容部が設けられ、この試薬収容部には所定の反応に用いる試薬類、洗浄液、変性処理液などが収容される。これは、場所や時間を問わず迅速に検査ができるように、予め試薬が収容されていることが望ましいためである。チップ内に内蔵される試薬類などは、蒸発、漏失、気泡の混入、汚染、変性などを防止するため、その試薬部の表面が密封処理されている。

20

#### 【0052】

本発明の検査用チップにおける好ましいその構造は、溝形成基板および被覆基板なる基本的基板を用いて、構造部として、ポンプ接続部、弁基部および液溜部（試薬収容部、検体収容部などの各収容部、廃液貯留部）、送液制御部、逆流防止部、試薬定量部、混合部などの構造部を形成するとともに、流路が少なくとも該溝形成基板上に形成されており、該溝形成基板における、少なくともこれらの構造部、該流路および検出部に被覆基板を密着させて覆い、少なくとも検出部を光透過性の被覆基板を密着させて覆うことを特徴としている。

30

#### 【0053】

検査用チップの基本構造は、通常は1以上の成形材料を適宜組み合わせで作製されるが、その成形材料として様々な成形材料が使用可能であり、個々の材料特性に応じて使用される。

例えばポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリテトラフルオロエチレンなどのフルオロカーボン樹脂、ポリジメチルシロキサンなどのポリシロキサン系ポリマー、ポリメチルメタクリレート、ポリビニルアルコール、エチレン-ビニルアルコール共重合体などのポリオレフィン系ポリマー、ポリエチレンテレフタレートやポリブチレンテレフタレートなどのポリエステル系ポリマー、6-ナイロン、6,6-ナイロンなどのポリアミド系ポリマー、環状シクロオレフィン樹脂、ポリアリレート樹脂、酢酸セルロースやニトロセルロースのようなセルロース系ポリマー、各種の無機ガラス、シリコン、セラミックス、金属などが挙げられる。

40

なかでもポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリメチルメタクリレート、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリジメチルシロキサンなどのポリシロキサン系ポリマー、シリコン、ガラスなどが好ましい。

もっとも本発明はこれらの例示に限定されるものではない。

#### 【0054】

このように材料の選択肢は幅広く各種の材料を用いることができるが、加工性、耐薬品性、耐熱性、廉価性などを満たすことが望まれる。このような要求すべてに応え得る、優れた単一の材料はないために、チップの構造、用途、検出方法などを考慮してチップ材料を適切に選択することが求められる。また複数の材料を適宜組み合わせたチップも作製さ

50



れている。また多数の測定検体、とりわけ汚染、感染のリスクのある臨床検体を対象とするチップに対しては、ディスポーザブルであることが望まれ、さらに多用途対応性、量産性なども具えることが望ましい。

#### 【0055】

以上の観点から本発明のシステムに使用される検査用チップにおいては、その流路、流路エレメントおよび躯体は、チップを製造容易なディスポーザブルタイプとするために、量産可能であり、軽量で衝撃に強く、焼却廃棄が容易なプラスチック樹脂で形成される。

用いられるプラスチック樹脂は、好ましくは加工成形性、非吸水性、耐薬品性、耐熱性、廉価性などの特性が良好であることが望まれる。

溝形成基板には、ポリスチレン系樹脂が好ましい。ポリスチレンが、透明性、機械的特性および成形性に優れて微細加工がしやすいからである。これらの材質特性を少しでも多く有するプラスチックを使用すれば、チップを構成する部材の種類は少なくなり、加工製造の工程も複雑化しない。

#### 【0056】

分析の都合により100℃近くに加熱する必要がある場合には、耐熱性に優れる樹脂、例えばポリカーボネート、ポリイミド、ポリエーテルイミド、ポリベンツイミダゾール、ポリエーテルエーテルケトンなどに変更する必要がある。

#### 【0057】

アナライトの検出を行う反応を進行させるために、マイクロリアクタの流路の所定箇所または反応部位を所望する温度まで加熱することが多い。加熱領域において局所的に加熱する温度は、通常100℃程度までである。他方、高温では不安定になる検体、試薬類を冷却する必要に迫られることもある。チップ内のそうした局所的な温度の昇降を考慮して、適切な熱伝導率の材料を選択することが望ましい。このような材質としては、樹脂材、ガラス材などを挙げることができ、熱伝導率が小さい材質でこれらの領域を形成することにより、面方向への熱伝導が抑制され、加熱領域のみ選択的に加熱することができる。

#### 【0058】

蛍光物質または呈色反応の生成物などを光学的に検出するために、検査用チップ表面のうち少なくとも微細流路の検出部位を覆うその検出部分は、光透過性である部材であることが必要である。

したがって、光透過性の被覆基板は、透明な材料、アルカリガラス、石英ガラス、透明プラスチック類が使用可能である。その被覆基板は、透明板として、該溝形成基板上の、少なくともこれらの構造部、該微細流路および検出部を覆う形態となるように、溝形成基板と接着されている。なお、そうした被覆基板が、チップ上面全体を覆う形態でも構わない。

#### 微細流路

マイクロリアクタとしての検査用チップの流路は、基板上に目的に応じて予め設計された流路配置に従って、形成される(図7、図9(a)、図9(b))。

流体が流れる流路は、例えば幅数十～数百 $\mu\text{m}$ 、好ましくは50～100 $\mu\text{m}$ 、深さ25～200 $\mu\text{m}$ 程度、好ましくは50～100 $\mu\text{m}$ に形成されるマイクロメーターオーダーの微細流路である。流路幅が50 $\mu\text{m}$ 未満であると、流路抵抗が増大し、流体の送出および検出上不都合である。

幅500 $\mu\text{m}$ を超える流路ではマイクロスケール空間の利点が薄まる。その形成方法は、従来の微細加工技術による。

典型的にはフォトリソグラフィ技術による感光性樹脂による微細構造の転写が好適であり、その転写構造を利用して、不要部分の除去、必要部分の付加、形状の転写が行われる。

チップの構成要素を型どるパターンをフォトリソグラフィ技術により作製し、このパターンを樹脂に転写成形する。

したがって、検査用チップの微細流路を形成する基本的基板の材料は、サブミクロンの構造も正確に転写でき、機械的特性の良好なプラスチックが好ましく用いられる。ポリス

10

20

30

40

50

チレン、ポリジメチルシロキサンなどは形状転写性に優れる。必要であれば射出成形、押し出し成形などによる加工も使用してもよい。

【 0 0 5 9 】

・ 検査用チップ微細流路の所定部位に対する温度制御

以下、図 3 および図 4 を参照しながら、本発明のマイクロ総合分析システムにおけるチップの微細流路の温度制御について、好ましい実施形態を説明する。

【 0 0 6 0 】

加熱領域と冷却領域とを同一チップ上にとともに設ける形態は、生体物質分析用のチップでは珍しくない態様である。通常、検体、試薬類などは冷却することが望ましく、検出、反応には高温であることが必要であるためである。温度調節領域に含まれ、選択的に加熱される微細流路の例として、標的物質と試薬とを反応させる、反応部位を構成する流路を挙げることができる。反応部位を構成する流路における反応の具体例として、アナライトと試薬との PCR 法による遺伝子増幅反応を挙げることができる。また温度調節領域に含まれ、選択的に冷却される微細流路の例として、検体収容部、試薬収容部および/または複数の試薬を合流させて混合する流路を挙げることができる。この場合、前記試薬の例として、遺伝子増幅反応用の試薬を挙げることができる。

【 0 0 6 1 】

本発明では、一連の微細流路が形成されたチップにおける、選択的に加熱すべき流路部位を含む加熱領域のチップ面に、発熱体もしくは発熱体に接続された熱伝導部材等を当接させて該加熱領域を加熱する。あるいは、選択的に冷却すべき流路部位を含む冷却領域のチップ面に、冷却体もしくは冷却体に接続された熱伝導部材等を当接させて該冷却領域を冷却させる。このような加熱領域および冷却領域は、検査用チップの温度調節領域として、システムの温度管理下に置かれる。

【 0 0 6 2 】

図 3 は、一実施形態における検査用チップの反応部流路と試薬混合流路の周辺、およびチップ面に当接する加熱部材、放熱部材および冷却部材の当接位置における断面図である。

本実施形態では、システム本体に備える制御部の温度制御に関わる各部材を、機能の異なる各微細流路に配置して各領域の選択的な加熱、冷却および放熱を行っている。

すなわち反応部流路 6 0 を含む加熱領域 3 3 に加熱部材 3 5 を押し付けて所定温度に加熱し、これに隣接する他の流路 6 1 を含む非加熱領域 3 4 に放熱部材 3 8 を押し付けて常温に維持し、試薬類が混合される試薬混合流路 3 9 を含む冷却領域 3 7 に冷却部材 3 6 を押し付けて所定温度に冷却している。

【 0 0 6 3 】

本実施形態では、検体もしくは検体から抽出した生体物質（例えば DNA またはそれ以外の生体物質）と試薬との反応、例えば遺伝子増幅反応を行う微細流路である反応部流路 6 0 を含む加熱領域 3 3（一点鎖線で囲んだチップ領域）におけるチップ面 3 1 a に、加熱部材 3 5 を押し付けてこの加熱領域 3 3 を局所的に加熱している（図 4）。

加熱領域 3 3 では、チップ厚さが好ましくはそのチップ面方向の幅 W の 1 / 2 以下とされる。これにより加熱部材 3 5 からの熱が加熱領域 3 3 における厚さ方向へ充分に行き渡り、チップ厚さ方向に温度勾配が生じることなく均一に所定温度まで加熱することができる。

【 0 0 6 4 】

図 4 において加熱部材 3 5 は、システム本体に検査用チップを装着することによりチップ面 3 1 a に押し当てられる。加熱部材 3 5 としては、通電により抵抗体を発熱させ、直接にあるいは誘電体等を介して熱を伝達する面状発熱体（ヒータ）、ヒータに熱伝導率の高い部材、例えばアルミニウム等の金属部材を接続してこの部材面をチップ面 3 1 a に当接させるようにしたもの、およびペルチェ素子を挙げることができる。

加熱部材 3 5 は、加熱領域 3 3 の均一な加熱、あるいは迅速な昇温のために必要であれば、チップ 3 1 の両面に配置してもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 6 5 】

加熱部材 3 5 には温度センサが設けられ、温度センサにより計測した温度に基づいて加熱部材 3 5 への通電等を制御する。また、温度センサは、加熱動作に関する制御プログラムが格納されたメモリを有するコントローラに接続され、コントローラは当該プログラムに従って、加熱部材 3 5 に接続された電源回路を制御する。加熱領域 3 3 における加熱温度は、例えば 1 0 0 程度までである。

## 【 0 0 6 6 】

このようにして検査用チップに形成された一連の微細流路における複数の機能部位のそれぞれにおいて、選択的かつ均一な加熱もしくは冷却を行うことができる。

## 【 0 0 6 7 】

本実施形態の構成は、検体もしくは検体から抽出した生体物質の分析、特に P C R 法により遺伝子増幅反応を行う場合に好ましく用いられる。PCRのサイクルでは、迅速な昇温、具体的には 4 0 程度から 9 0 程度まで急速に昇温させることが求められ、頻繁に温度の昇降を繰り返す必要があるために好適である。

## 【 0 0 6 8 】

## ・ 温度分布管理

PCR法を含むバイオアッセイおよび合成反応では、温度条件を厳密にしないと反応の成否に影響したり、反応の制御に支障が生じることも往々にしてある。例えばPCRでは、温度条件のみならずその加熱時間を厳密に管理することが求められる。反応部流路に中間温度領域が存在すると、副反応として非特異的な増幅が生じ、これにより標的配列の増幅が阻害されてしまう。このため目的の増幅反応が十分に起こらない可能性もある。したがって遺伝子増幅などが行なわれる反応部流路とその両端との温度差は、画然としていることが望ましい。このことは流路から試薬、検体およびそれらの混合液体が失われることを防止する観点からも利点がある。微細流路の液体が蒸発などにより失われる原因は、チップのシステム本体との密着面に閉じ込められた空気が膨張し、気泡となって流路内の流路圧力を上げ、それにより液体が押し出される。さらに空気が抜ける際に密着面にできる隙間に試薬などが入りこんでそこから試薬などが漏れるためと想定されている。また、加熱領域内もしくはその近傍の液体内部から上記の気泡が形成することも、流路内の液体の喪失とそうした気泡によるトラブルの発生に関わっている。

## 【 0 0 6 9 】

微細流路における温度調節領域、とりわけ加熱領域とその隣接領域とは、加熱側に対し、断熱手段により有効に熱伝導が遮断され、両者間に温度勾配が生じることなく厳密に断熱されている限り、流路に存在する中間温度領域も少なくなる。このような温度調節に伴って所定の温度調節領域に隣接した外側の流路が加熱されることを十分に防止することができる。

## 【 0 0 7 0 】

本発明のマイクロ総合分析システムにおいて、断熱手段の具体的態様は、特に限定されないが、好ましい手段として、以下のいずれか、またはそれらの組み合わせが望ましい。

## 【 0 0 7 1 】

選択的に加熱される微細流路領域の両端部を加熱側に対して断熱する手段として、まず、その両端部を冷却する部材が挙げられる。かかる冷却部材を図 3 に示すように当該両端部へ当接する。冷却部材 3 6 としては、ペルチェ素子が好ましい(図 3)。ペルチェ素子には、その熱を放熱するためにヒートシンクを接触配置してもよい。また、熱伝導率の高い部材、例えばアルミニウム等の金属部材からなるブロックを併用してもよい。冷却部材 3 6 は、冷却領域 3 7 の均一な冷却、あるいは迅速な降温のために必要であれば、チップ 3 1 の両面に配置してもよい。

## 【 0 0 7 2 】

このような冷却が求められる具体的な個所の一つとして、流路内の液体の一部を加熱する場合の加熱領域の近傍、特に先方にある液体のメニスカスである。すなわち、液体を加熱部で加熱工程を完了した後に次の反応工程部に液体を送液するような場合、加熱領域に

10

20

30

40

50

ある液体を一定時間その場にとどめておく必要がある。そうしたときに流路内の該液体のメニスカスを所定の温度以下に冷却しないと、液体がメニスカスから気化して蒸発してしまい、上記のようなトラブルの原因となる。

この問題を解決するには、図5に示したように冷却域に「疎水性バルブ」を設けて、次のような対策を講じるのが望ましい。

【0073】

(1) 断熱域(冷却域)よりも先方、もしくは冷却域内に疎水性の液体ストッパー(疎水性バルブ)があり、液体加熱時においてメニスカスはその疎水性バルブで止まっている。

【0074】

(2) (1)において、さらに液体加熱時は疎水性バルブから液体が漏れない程度の圧力でマイクロポンプによって液体に圧力が加えられている。

【0075】

前記の選択的に加熱される微細流路領域の両端部を加熱側に対して断熱する手段の別の態様として、その両端部の微細流路内に充填された断熱用オイルにより、加熱側からの熱伝導を遮断する形態がある(図6)。このような断熱用オイルとして、反応試薬を使用時まで試薬収容部に封入するための封止剤と同じオイルであることが好ましい(図6)。封止剤は、水に対して難溶性の可塑性物質であればいずれの物質でもよいが、水に対する溶解度が1%以下で、かつ融点が8 ~ 室温(おおよそ25 )の油脂が特に好ましい。冷蔵保管時には固体状態で試薬を封止しており、使用時には流動状態となって試薬収容部に通じる流路から容易に送出できるためである(図6)。具体的な脂質の例を次の表に掲げる。さらに同じオイルを、送液される検体液もしくは検体処理液の後に流すことも望ましい。反応部の流路両端をこれらの封止剤を断熱用オイルとして挟むことにより、反応混合液(すなわち検体液と反応試薬)の均一な加熱および近隣への熱伝導を遮断する目的が達成できる。断熱用オイルはオイルストッカーから供給されてもよい。オイルストッカーはシステム本体に付属され、検査時には検査用チップにおける前記の選択的に加熱される微細流路領域、例えば反応部の両端部微細流路に充填されるようにマイクロポンプによって送出される。

【0076】

10

20

【表 1】

化合物			化合物		
名称	融点	(°C)	名称	融点	(°C)
ペンタデカン	9.9		ヘキサデカン	18.2	
トリデシルベンゼン	10		パルチミン酸ブチル	18.3	
プロピルフェニルケトン	11		11-メチルテトラデカン酸	18.5	19
1-ヘプタデセン	11.2		酢酸ヘキサデシル	18.5	
酢酸ペンタデシル	11.4		ペンタデカン酸メチル	18.5	
ミリスチン酸エチル	12.3		ミリスチン酸メチル	18.5	
ペラルゴン酸	12.5		エチルフェニルケトン	19	20
2-メチルウンデカン酸	13		パルチミン酸アミル	19.4	
カプロン	14	15	オレイン酸メチル	19.9	
デカン-2-オン	14		クス実脂	20	23
ペンタデカン酸エチル	14		クスム脂	20	30
5-メチルテトラデカン酸	14.5	15	グリセリン	20	
12-トリデセノール-1	15		ドデカン-2-オン	20	
6-メチルテトラデカン酸	15	15.5	ヤシ油	20	28
ウンデカン-2-オン	15		パルチミン酸プロピル	20.4	
7-メチルテトラデカン酸	15.5	16	トリデカン酸メチル	20.5	
ウンデカン-1オール	15.9		メチルフェニルケトン	20.5	
ジデシルエーテル	16		11-メチルオクタデカン酸	21	
テトラデシルベンゼン	16		ラウリン酸ドデシル	21	
リシノエライジン酸エチル	16		フタル酸モノオクチル	21.5	22.5
カプロン酸ペンタデシル	16.3		ヘプタデカン	21.9	
ヘプチルフェニルケトン	16.4		ババス核油	22	26
10-メチルテトラデカン酸	16.5	17	ペンタデシルベンゼン	22	
フタル酸モノヘプチル	16.5	17.5	メチルドコサン酸	22	
カプリル酸	16.7		パルチミン酸オクチル	22.5	
トリデカン-2-オール	17		ヘプタン1,7ジオール	22.5	
ヘキシルフェニルケトン	17		2-ブチルテトラデカン酸	23	24
1-オクタデセン	17.6		1-ノナデセン	23.4	
2-ヘプチルウンデカン酸	18	19	ドデカン-1オール	24	
コーフン核脂	18	24	酢酸ヘプタデシル	24.6	

## 【0077】

前記の選択的に加熱される微細流路領域の両端部を断熱する手段の好ましい別の形態は、その両端部微細流路の断面積をより小さくした狭隘流路である。具体的には図7に示すように、選択的に加熱される微細流路領域の入り口と出口付近の微細流路を先後の微細流路よりも狭くすればよい。狭くする程度は、先後の流路断面積の3/4以下、好ましくは2/3以下がよいが、流路抵抗に鑑みて上記流路断面は、幅および深さがいずれも50 μmを下回らないことが望ましい。より具体的には1/10~3/4、好ましくは1/3~2/3ほどの流路断面積となるようにするのがよい。また狭隘にする当該流路の長さは、チップ内の配置、材質なども考慮に入れて個別に設計される。これにより流路を通じた熱伝導の効率が低下し、実質的に断熱効果が得られる。

## 【0078】

選択的に加熱される微細流路領域の両端部を断熱する手段として、以上の形態のいずれとも併用でき、または単独に用い得る別の態様として、これら両端部およびこれに隣接する非加熱領域34の少なくとも一部は、比較的熱伝導率が小さい材質（熱伝導率が10 W/m・K以下、好ましくは2 W/m・K以下の材質）で形成することが望ましい。このよ

うな材質としては、樹脂材、ガラス材などを挙げることができ、熱伝導率が小さい材質でこれらの領域を形成することにより、面方向への熱伝導が抑制されるので、所定の温度調節領域のみ選択的に加熱され、実質的に断熱効果が得られる。

【 0 0 7 9 】

本発明による方法は、マイクロ総合分析システムにおいて、検体中の標的物質を分析するための検査用チップに設けられた微細流路のうち、選択的に加熱される微細流路領域の両端部を加熱側に対して断熱する方法が、チップの少なくとも該両端部を熱伝導率が  $10 \text{ W/m} \cdot \text{K}$  以下の材質で構成するか、該両端部を冷却部材で当接して冷却するか、該両端部の流路内に断熱用オイルを充填するか、または該両端部の流路の断面積を先後よりも小さくして狭隘流路とするか、のうち、いずれか1以上の手段を用いる方法であることを特徴とする、選択的に加熱される微細流路領域の両端部を加熱側に対して断熱する方法である。

10

マイクロポンプユニット

本発明のシステム装置本体10は、該検査用チップに連通させるための流路開口を有するチップ接続部と、複数のマイクロポンプとを含むマイクロポンプユニットを構成単位として有している。

【 0 0 8 0 】

マイクロポンプは、例えば複数のマイクロポンプがフォトリソグラフィ技術などにより形成されたチップ状のポンプユニットとしてシステム装置本体10に組み込まれていてもよい。

20

マイクロポンプとしては、アクチュエータを設けた弁室の流出入孔に逆止弁を設けた逆止弁型のポンプなど各種のものが使用できるが、ピエゾポンプを用いることが好適である。

図8(a)は、ピエゾポンプの一例を示した断面図、図8(b)は、その上面図である。このマイクロポンプには、第1液室48、第1流路46、加圧室45、第2流路47、および第2液室49が形成された基板42と、基板42上に積層された上側基板41と、上側基板41上に積層された振動板43と、振動板43の加圧室45と対向する側に積層された圧電素子44と、圧電素子44を駆動するための駆動部(図示せず)とが設けられている。

この駆動部と、圧電素子44表面上の2つの電極とは、フレキシブルケーブルなどによる配線で接続されており、かかる接続を通じて当該駆動部の駆動回路によって圧電素子44に特定波形の電圧を印加する構成となっている。

30

【 0 0 8 1 】

この例では、基板42として、厚さ  $500 \mu\text{m}$  の感光性ガラス基板を用い、深さ  $100 \mu\text{m}$  に達するまでエッチングを行なうことにより、第1液室48、第1流路46、加圧室45、第2流路47および第2液室49を形成している。第1流路46はその幅を  $25 \mu\text{m}$ 、長さを  $20 \mu\text{m}$  としている。また、第2流路47は、その幅を  $25 \mu\text{m}$ 、長さを  $150 \mu\text{m}$  としている。

【 0 0 8 2 】

ガラス基板である上側基板41を、基板42上に積層することにより、第1液室48、第1流路46、第2液室49および第2流路47の上面が形成される。上側基板41の加圧室45の上面に当たる部分は、エッチングなどにより加工されて貫通している。

40

【 0 0 8 3 】

上側基板41の上面には、厚さ  $50 \mu\text{m}$  の薄板ガラスからなる振動板43が積層され、その上に、例えば厚さ  $50 \mu\text{m}$  のチタン酸ジルコン酸鉛(PZT)セラミックスなどからなる圧電素子44が積層されている。

【 0 0 8 4 】

駆動部からの駆動電圧により、圧電素子44とこれに貼付された振動板43が振動し、これにより加圧室45の体積が増減する。第1流路46と第2流路47とは、幅および深さが同じで、長さが第1流路よりも第2流路の方が長くなっており、第1流路46では、差圧が大き

50

くなると流路の出入り口およびその周辺で渦を巻くように乱流が発生し、流路抵抗が増加する。一方、第2流路47では、流路の長さが長いので差圧が大きくなっても層流になり易く、第1流路に比べて差圧の変化に対する流路抵抗の変化割合が小さくなる。

【0085】

例えば、圧電素子44に対する駆動電圧により、加圧室45の内方向へ素早く振動板43を変位させて大きい差圧を与えながら加圧室45の体積を減少させ、次いで加圧室45から外方向へゆっくり振動板43を変位させて小さい差圧を与えながら加圧室45の体積を増加させると、流体は同図のB方向へ送液される。逆に、加圧室45の外方向へ素早く振動板43を変位させて大きい差圧を与えながら加圧室45の体積を増加させ、次いで加圧室45から内方向へゆっくり振動板43を変位させて小さい差圧を与えながら加圧室45の体積を減少させると、流体は同図のA方向へ送液される。

10

【0086】

なお、第1流路と第2流路における、差圧の変化に対する流路抵抗の変化割合の相違は、必ずしも流路の長さの違いによる必要はなく、他の形状的な相違に基づくものであってもよい。

【0087】

上記のように構成されたピエゾポンプによれば、ポンプの駆動電圧および周波数を変えることによって、所望する流体の送液方向、送液速度を制御できるようになっている。図8(a)、図8(b)には図示されていないが、第1液室48には、駆動液タンク30につながるポート72が設けられており、その第1液室は、「リザーバ」の役割を演じ、ポート72で駆動液タンク30から駆動液の供給を受けている。第2液室49はマイクロポンプユニット26の流路を形成し、その流路の先にチップ接続部のポート73があり、検査用チップの「ポンプ接続部」12とつながる。

20

【0088】

図8(c)に、このポンプの他の例を示した。この例では、ポンプをシリコン基板71、圧電素子44、および図示しないフレキシブル配線から構成している。シリコン基板71は、シリコンウエハをフォトリソグラフィ技術により所定の形状に加工したものであり、エッチングにより加圧室45、第1流路46、第1液室48、第2流路47、および第2液室49が形成されている。

第1液室48にはポート72が、第2液室49にはチップ接続部のポート73がそれぞれ設けられており、例えばこのピエゾポンプを図1の検査用マイクロチップ50とは別体とする場合には、このポート73を介して検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64と連通する。

30

例えば、ポート72、73が穿孔された基板と、検査用チップのポンプ接続部近傍とを上下に重ね合わせることによって、ポンプを検査用マイクロチップ50に接続することができる。また、前述したように、1枚のシリコン基板に複数のポンプを形成することも可能である。

この場合、検査用マイクロチップ50と接続したポートの反対側のポートには、駆動液タンク30が接続されていることが望ましい。ポンプが複数個ある場合、それらのポートは共通の駆動液タンクに接続されてもよい。

40

【0089】

上記マイクロポンプと、図1に示した本発明システムとの関係を以下説明する。図1の例では、マイクロポンプは、検査用マイクロチップ50とは別の装置としてシステム本体に属し、駆動液タンクと連通している。マイクロポンプは、検査用マイクロチップ50とは、両者が互いに所定の形態で接合したときに、マイクロポンプユニット26にあるチップ接続部のポート73と、検査用チップにあってマイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部64とが連結して検査用チップの流路と連通するようになる。

【0090】

図9(a)、図9(b)は、マイクロポンプとしてのピエゾポンプを図1の検査用マイクロチップ50とは別体とした場合における検査用マイクロチップ50のポンプ接続部周

50

辺の構成を示す。この図でマイクロポンプの流体送出用のポートから検査用チップの流路へと連通するポンプ接続部64から下流の流路が検査用チップ上にある。図9(a)は駆動液を送液するポンプ部の構成を示し、図9(b)は試薬を送液するポンプ部の構成を示している。ここで、24は駆動液の収容部であり、図1の駆動液タンクに相当する。駆動液は鉱物油などのオイル系、あるいは水系のいずれであってもよい。25は、予め収容された試薬を封止する封止液の収容部である。この封止液は、微細流路への漏出により試薬が反応してしまうこと等を防止するためのものであり、使用前に、検査用チップが保管される冷蔵条件下では、固化もしくはゲル化しており、使用時、室温にすると融解し流動状態となる。封止液は、微細流路中に充填してもよく、あるいは封止液用に設けられた貯留部に充填してもよい。

10

#### 【0091】

なお、別の態様として、マイクロポンプそのものも検査用チップ上に組み込むことも可能である。特にチップ上の流路が比較的単純であり、繰り返し使用を前提とするような目的または用途、例えば化学合成反応用の検査用チップとする場合にはこの形態を採り得る。

#### 【0092】

##### ・検査用チップの実施態様

検査用マイクロチップ50は、例えば50×76×3mmの大きさの矩形板状であり、好ましくは自己シール性を有する弾性材料からなり、少なくとも検出部では透明または半透明である。このような自己シール性を有するチップは、ガラス基板などの表面に載せるだけで自己吸着により密着する。かかる検査用チップの材料として、例えばシリコンゴムの一種であるPDMS(Polydimethylsiloxane)が用いられる。

20

#### 【0093】

検査用マイクロチップ50には、分析用または化学合成用の微細流路がパターンニングされている。微細流路の寸法形状の例を挙げると、幅が100μm程度、深さが100μm程度の断面矩形の溝である。検査用チップ内には、ポンプ接続部、微細流路、検体収容部、試薬収容部、送液制御部、反応部、検出部などが設けられ、それぞれ流路で連絡されている。さらに送液の精度を高めるために、逆流防止部、定量送液機構なども配設することが望ましい。上記以外の種々の構成および材料を採用することができる。

#### 【0094】

##### ・分析の実施態様

本発明のマイクロ総合分析システムに用いられる前記検査用チップは、以下の処理を行なうことができる、一連の微細流路が形成されたチップである：

該検査用チップのポンプ接続部と前記マイクロポンプユニット26のチップ接続部とを液密に密着させた状態で該検査用チップをベース本体内に装着した後、検体収容部に収容された検体または該検体を流路内で処理した処理液に含まれる標的物質と、試薬収容部に収容された試薬とを、反応部位を構成する流路へ送液して合流させて、これらを反応させた後、得られた反応生成物質もしくはその処理物質を、検出部位を構成する流路へ送液してその検出を前記検出処理装置により行なう。

30

#### 【0095】

##### ・検体

本発明の測定対象となる検体は、生体由来のアナライト含有試料である。試料自体にも特に制限はないが、例えば全血、血漿、血清、パフィーコート、尿、糞便、唾液、喀痰など生体由来のほとんどの試料が該当する。

40

#### 【0096】

遺伝子検査の場合、増幅反応の鋳型となる核酸として遺伝子、DNAまたはRNAがアナライトである。検体は、このような核酸を含む可能性のある試料から調製または単離したものであってよい。したがって上記の試料の他に、細胞培養物；ウィルス、細菌、カビ、酵母、植物、動物などの核酸含有試料；微生物などが混入または含有する可能性のある試料、その他核酸が含有されている可能性のあるあらゆる試料が対象となる。そのような

50



試料から遺伝子、DNAまたはRNAを調製する方法は、特に限定されず、従来技術を使用することができる。本発明のマイクロ総合分析システムは、従来の装置を使用して行う手作業の場合に比べて、必要とされる検体量は極めて少ない。例えば、縦横の長さが数cmのチップに2~3 $\mu$ L程度の血液検体を注入するだけでよい。例えば遺伝子の場合、DNAとして0.001~100ngである。このため、微量の検体しか得られない場合も含めて、本発明のシステムによる生体物質検査は検体面からの制約が少なく、必然的に試薬類も少ない量で済み、検査コストの低減となる。

#### 【0097】

##### ・遺伝子検査

本発明のシステムは、特に遺伝子または核酸(DNA、RNA)の検査に好適に用いることができる。その場合、検査用マイクロチップ50の微細流路はPCR増幅に適した構成とされるが、遺伝子検査以外の生体物質についても基本的な流路構成はほぼ同一になるといえる。通常は検体前処理部、試薬類、プローブ類を変更すればよく、その場合、送液エレメントの配置、数などは変化するであろう。当業者であれば、例えばイムノアッセイ法のために必要な試薬類などを検査用マイクロチップ50に搭載し、若干の流路エレメントの変更、仕様の変更を含む修正を施すことにより、分析の種類を容易に変更することができる。ここにいう遺伝子以外の生体物質とは、各種の代謝物質、ホルモン、タンパク質(酵素、抗原なども含む)などをいう。

#### 【0098】

検査用マイクロチップ50の好ましい一態様では、一つのチップ内において、検体もしくは検体から抽出したアナライト(例えば、DNA、RNA、遺伝子)が注入される検体収容部と、検体の前処理を行う検体前処理部と、プローブ結合反応、検出反応(遺伝子増幅反応または抗原抗体反応なども含む)などに用いる試薬が収容される試薬収容部と、ポジティブコントロールが収容されるポジティブコントロール収容部と、ネガティブコントロールが収容されるネガティブコントロール収容部と、プローブ(例えば、遺伝子増幅反応により増幅された検出対象の遺伝子にハイブリダイズさせるプローブ)が収容されるプローブ収容部と、これらの各収容部に連通する微細流路と、前記各収容部および流路内の液体を送液する別途のマイクロポンプに接続可能なポンプ接続部と、が設けられている。

#### 【0099】

一方、検査用マイクロチップ50は、図10に概略を示したような構造となっている。

#### 【0100】

すなわち、検査用マイクロチップ50は、検体54を収容する検体収容部52と、試薬58が検査用マイクロチップ50に予め封入された試薬収容部56とを備えている。

#### 【0101】

そして、試薬収容部56は、複数設けられており、その上流側においてそれぞれ、ポンプ流路51を介して、図2に示したマイクロポンプと接続するためのポンプ接続部64が設けられている。また、試薬収容部56は、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60に接続されている。

#### 【0102】

また、検体収容部52は、上流側においてポンプ流路57を介して、図2に示したマイクロポンプと接続するためのポンプ接続部64が設けられている。そして、これらの検体収容部52は、複数の流路に分岐した下流側の検体供給流路53を介して、下流側においてそれぞれ、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60、分析流路61に接続されている。

#### 【0103】

なお、これらの各流路51、53、57、60などは、弁部等が適宜の位置に配置され、例えば送液量の定量、各液体の混合などの制御がなされている。

#### 【0104】

また、このような検査用マイクロチップ50は、プラスチック樹脂、ガラス、シリコン、セラミックスなどの1以上の部材を適宜組み合わせる一枚のチップとするの

10

20

30

40

50

が望ましい。

【0105】

また、検査用マイクロチップ50の微細流路および躯体は、加工が容易であり安価であり、焼却廃棄が容易なプラスチック樹脂で形成されるのが好ましい。

【0106】

例えば、ポリスチレン樹脂は、成形性に優れ、ストレプトアビジンなどを吸着する傾向が強く、微細流路上に検出部位を容易に形成することができる。微細流路は、幅および深さが例えば約10 μm～数百 μmに形成される。

【0107】

また、蛍光物質または呈色反応の生成物などを光学的に検出するために、検査用マイクロチップ50の表面のうち少なくとも微細流路の検出部位を覆うその検出部分は透明である部材、好ましくは透明なプラスチックとなっているのが望ましい。

【0108】

そして、このように試薬収容部56に収容された試薬58は、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60に供給される。一方、検体収容部52に収容された検体54はそれぞれ、複数の流路に分岐した下流側の検体供給流路53を介して、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60に供給される。

【0109】

これによって、反応流路60において、検体54と各試薬58とが混合され、昇温等により反応が開始される。そして、反応流路60の下流側に設けられた分析流路61に設けられた検出部位において、光を照射するLED140と、透過した光を受光するフォトダイオード142から成る検出装置144によって、反応が検出されるようになっている。

【0110】

なお、図3に示したように、これらの反応流路60、分析流路61は、複数の流路に分かれているが、これらはポジティブコントロールとの反応、検出系、ネガティブコントロール反応、検出系を構成している。

【0111】

このように構成されるマイクロ総合分析システム1では、以下のように作動されるようになっている。

【0112】

すなわち、予め試薬58が封入された検査用マイクロチップ50の検体収容部52に検体液を注入して、その検査用マイクロチップ50を、システム装置本体10の検査用チップ出入口14の外部に予め突出するように移動されたチップ搬送トレイ22上に載置する。

【0113】

これにより、チップ搬送トレイ22が、検査用チップ出入口14からシステム装置本体10内に取り入れられ、装着される。これによって、システム本体に装着され、送液用のマイクロポンプを作動させるための機構的連結がなされる。従って、システム本体に検査用マイクロチップ50を装着すると、検査用マイクロチップ50は作動状態となる。

【0114】

すなわち、マイクロポンプユニット26には、例えば、検体収容部52、複数の試薬収容部56、ポジティブコントロール収容部、ネガティブコントロール収容部など、上流側から駆動液29によって押し出して送液すべき部位の数に対応して複数のマイクロポンプが設けられている。

【0115】

そして、検査用マイクロチップ50をシステム本体に装着することによって、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64を介して、検査用マイクロチップ50へマイクロポンプが接続され、マイクロポンプとして機能する構成となっている。

【0116】

すなわち、マイクロポンプユニット26には、複数のマイクロポンプと、検査用マイク

10

20

30

40

50

ロチップ50に連通させるための流路開口を有するチップ接続部66と、が設けられている。

【0117】

一方、検査用マイクロチップ50には、マイクロポンプに連通させるための流路開口を有するポンプ接続部64が設けられており、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64とマイクロポンプユニット26のチップ接続部66とを液密に密着させることによって、マイクロポンプを検査用マイクロチップ50のポンプ流路51、57へ連通させることができるようになっている。

【0118】

なお、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64は、マイクロポンプに連通させるための流路開口とその周囲の接触面とからなり、マイクロポンプユニット26のチップ接続部66は、検査用マイクロチップ50に連通させるための流路開口と、その周囲の接触面とから構成されている。

10

【0119】

そして、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64の流路開口と、マイクロポンプユニット側の流路開口とが合致した状態で、マイクロポンプユニット側の接触面と検査用チップ側の接触面とを密着させることによって、検査用マイクロチップ50のポンプ接続部64の流路開口と、マイクロポンプユニット側の流路開口とが接続されるようになっている。

【0120】

20

なお、この密着は、例えば、検査用マイクロチップ50とマイクロポンプユニット26とを加圧することによって行うことができる。また、チップ接続部66、ポンプ接続部64には、例えば、テフロン(登録商標)のような軟質の樹脂からなるシール部材を配置して、このシール部材のシール面を検査用マイクロチップ50とマイクロポンプユニット26との接触面としてもよい。

【0121】

そして、このような接続状態で、図2に示したように、駆動液タンク30に收容された、例えば、オイルやバッファ液などの駆動液29が、ポンプ制御装置28によって駆動されるマイクロポンプによって送り出されるようになっている。

【0122】

30

このようにマイクロポンプから駆動液29を供給することによって、試薬收容部56に收容された試薬58は、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60に供給される。一方、検体收容部52に收容された検体54はそれぞれ、複数の流路に分岐した下流側の検体供給流路53、Y字流路の合流部55を介して、下流側の反応流路60に供給される。

【0123】

これによって、反応流路60において、検体54と各試薬58とが混合され、昇温等により反応が開始される。そして、反応流路60の下流側に設けられた分析流路61に設けられた検出部位において、光を照射するLED140と、透過した光を受光するフォトダイオード142から成る検出装置144によって、反応が検出されるようになっている。

40

【0124】

ところで、検査用マイクロチップでは、例えば、検査用マイクロチップ50が、ICAN法(Isothermal chimera primer initiated nucleic acid amplification)により増幅反応を行うものである場合には、検体收容部52には、血液もしくは喀痰から抽出した検体が收容されている。

【0125】

一方、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするピオチン修飾したキメラプライマー、鎖置換活性を有するDNAポリメラーゼ、およびエンドヌクレアーゼを含む試薬が、試薬收容部56に收容されている。

【0126】

50

従って、試薬収容部 5 6 からの試薬 5 8 と、検体収容部 5 2 からの検体 5 4 とが、Y 字流路などを介して合流して、反応流路 6 0 で混合した際には、遺伝子増幅反応を促進するために、5 0 ~ 6 5 、例えば、5 5 に加熱制御して、反応を促進する必要がある。

【0127】

しかしながら、加熱時間が長いと、検体と試薬との混合液に気泡が発生してしまい、試薬、例えば、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするビオチン修飾したキメラプライマーと、検体とがこの気泡の作用によって、結合するのが阻害されることになって、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【0128】

また、加熱時間が長いと、検体と試薬との反応以外に、副反応、すなわち、目的物質以外の種々の物質による副反応が発生してしまい、それらの増幅産物が目的物質の増幅を阻害することになって、所期の目的とする反応による分析を行うことが困難となって、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【0129】

また、ヒータによる加熱では、加熱を中止したとしても、ヒータが冷却されるまで所定の時間を要するので、冷却されるまでの余熱時間が長いと、余熱温度の影響によって、上記の気泡の発生、副反応の発生が生じてしまうことになる、

さらに、試薬収容部 5 6 に収容された試薬 5 8 は、温度の影響によって変性する性質を有するので、このような加熱時間、余熱時間が長いと、試薬収容部 5 6 に収容される試薬 5 8 が変性してしまい、検査部において所期の検査を実施できないことになるおそれがある。

【0130】

従って、本発明では、図 2 および図 3 に示したように、検査用マイクロチップ 5 0 上に接触して、反応流路 6 0 の温度を制御する加熱冷却装置 1 3 8 を備えている。

【0131】

この加熱冷却装置 1 3 8 では、反応部である反応流路 6 0 において、検体収容部 5 2 に収容された検体 5 4 と、試薬収容部 5 6 に収容された試薬 5 8 とが反応流路 6 0 で合流した直後に、検体 5 4 と試薬 5 8 の混合液を加熱して反応処理を行った後、ただちに冷却するように、予め組み込まれたプログラムに基づいて温度制御装置で制御されるように構成されている。

【0132】

従って、合流路で混合された混合試薬と、検体収容部からの検体とが合流して、混合反応流路で混合した際に、迅速に反応に必要な温度まで加熱することができる。

【0133】

しかも、必要な温度に達した際には、反応に必要な時間だけ加熱して、気泡の発生、副反応を発生しないように、迅速に冷却することが可能であり、精度が高く、信頼性に優れた正確な検査を実施でき、信頼性に優れた検査を実施することができる。

【0134】

このように、加熱時間を反応促進に必要な時間とでき、しかも、迅速に冷却できるので、検体と試薬との混合液に気泡が発生することがなく、例えば、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするビオチン修飾したキメラプライマーと、検体とがこの気泡の作用によって、結合するのが阻害されることがなく、検査部において所期の検査を実施できる。

【0135】

この場合、好ましくは、加熱冷却が、検体と試薬の混合液を加熱して反応処理を行った後、副反応が生じる前に冷却するように行うのが望ましい。

【0136】

従って、この場合、所定の加熱温度、例えば、5 5 に加熱を維持する時間としては、検体 5 4、試薬 5 8 の種類によって異なるが、副反応、気泡の発生を生じないように、1 0 分 ~ 6 0 分、好ましくは 1 5 ~ 3 0 分の時間に維持するように設定するのが望ましい。

10

20

30

40

50

## 【0137】

また、上記のように検体54と試薬58の混合液を加熱して反応処理を行った後の冷却速度（冷却開始から、ほぼ常温（雰囲気温度）付近まで下がる時間）としては、検体54、試薬58の種類によって異なるが、副反応、気泡の発生を生じないように、3分以下、好ましくは1分以下の冷却速度に維持するように設定するのが望ましい。

## 【0138】

また、加熱時間を反応促進に必要な時間とでき、しかも、迅速に冷却できるので、検体と試薬との反応以外に、副反応、すなわち、目的物質以外の種々の物質による副反応が発生してしまい、それらの増幅産物が目的物質の増幅を阻害することがないので、目的とする反応による分析を行うことができ、検査部において所期の検査を実施できる。

10

## 【0139】

さらに、上記のように検体54と試薬58の混合液を加熱する加熱速度としては、副反応の防止と、増幅反応時間の短縮のためには、混合液を増幅させるための加熱速度（加熱開始から、所望の温度になるまでの時間）をできるだけ短くすることが好ましく、該加熱速度は、5分以内、好ましくは2分以内が望ましい。

## 【0140】

このような加熱冷却装置136としては、電流の切り替えによって、加熱と冷却を行うペルチェ素子から構成するのが望ましい。

## 【0141】

このペルチェ素子は、電気的物理効果のペルチェ効果を利用したものであって、異種金属を接合し、その両端に電圧をかけると接合部が、加熱または冷却する原理を使用するものである。

20

## 【0142】

すなわち、例えば、ビスマスとテルルを主材料とした合金で作った半導体で、p形とn形の熱電半導体を銅電極で接合し、n形の方から直流電流を流すと、一方向に発熱が生じ、p形から逆方向に電流を流すと反対方向に発熱が生じる原理を使用するものである。

## 【0143】

このように加熱冷却手段として、ペルチェ素子を用いることによって、電流の流れる方向を切り替えるだけで、加熱にも冷却にも利用できるとともに、加熱と冷却を高精度に温度制御でき、しかも、コンパクトにすることができる。

30

## 【0144】

従って、反応部である反応流路60において、検体収容部52に収容された検体54と、試薬収容部56に収容された試薬58とが合流した直後に、検体54と試薬58の混合液を加熱して反応処理を行った後、ただちに冷却することができる。

## 【0145】

従って、検体収容部52に収容された検体54と、試薬収容部56に収容された試薬58とが合流して、反応流路60で混合した際に、ペルチェ素子によって、迅速に反応に必要な温度まで加熱することができる。

## 【0146】

しかも、必要な温度に達した際には、反応に必要な時間だけ加熱して、気泡の発生、副反応を発生しないように、ペルチェ素子の電流の流れる方向を逆転することによって、迅速に冷却することが可能であり、精度が高く、信頼性に優れた正確な検査を実施でき、信頼性に優れた検査を実施することができる。

40

## 【0147】

このように、加熱時間を反応促進に必要な時間とでき、しかも、迅速に冷却できるので、検体と試薬との混合液に気泡が発生することがなく、例えば、検出対象である遺伝子に特異的にハイブリダイゼーションするピオチン修飾したキメラプライマーと、検体とがこの気泡の作用によって、結合するのが阻害されることがなく、検査部において所期の検査を実施できる。

## 【0148】

50

また、加熱時間を反応促進に必要な時間とでき、しかも、迅速に冷却できるので、検体と試薬との反応以外に、副反応、すなわち、目的物質以外の種々の物質による副反応が発生してしまい、それらの増幅産物が目的物質の増幅を阻害することがないので、目的とする反応による分析を行うことができ、検査部において所期の検査を実施できる。

【0149】

さらに、温度の影響によって変性する性質を有する試薬収容部に収容された試薬に対して、加熱温度による影響を防止することができ、試薬の試薬効果を維持でき、検査部において所期の検査を実施できる。

【0150】

なお、この実施例では、加熱冷却装置136として、ペルチェ素子を用いて、電流の流れる方向を切り替えるように制御して、加熱と冷却を行うようにしたが、図11に示したように、加熱冷却装置138として、加熱装置136Aと冷却装置136Bを一对として隣接するように配置することも可能である。

【0151】

このように構成することによって、加熱装置136Aによって、反応部である反応流路60において、検体収容部52に収容された検体54と、試薬収容部56に収容された試薬58とが反応流路60で合流した直後に、冷却装置136Bによって、検体54と試薬58の混合液を加熱して反応処理を行った後、ただちに冷却することができ、精度が高く、信頼性に優れる正確な検査を実施でき、信頼性に優れる検査を実施することができる。

【0152】

しかも、別々の加熱手段と冷却手段である加熱装置136Aと冷却装置136Bを用いているので、加熱装置136Aによって加熱した後、加熱を中止して、冷却装置136Bによる冷却を実施することによって、加熱装置136Aの余熱を冷却手段によって急速に冷却することができる。

【0153】

このような加熱装置136Aとしては、特に限定されるものではなく、例えば、ペルチェ素子、ニクロム線ヒータ、シーズヒータ、ITO膜、温風加熱ヒータ、基板上に金属薄膜(クロム、金、白金など)を成膜したヒータなどのヒータが適用可能である。

【0154】

また、冷却装置136Bとしては、特に限定されるものではなく、ペルチェ素子、水ジャケットによる冷却装置などを使用することができる。

【0155】

さらに、冷却装置136Bとしては、コンプレッサー等によって、フロン、代替フロンなどの冷媒を圧縮・膨張させて熱を奪う方式でも良い。

【0156】

また、冷却装置を直接検査用マイクロチップ50の冷却部に押し当てる構成でも良いし、冷やされた冷媒をパイプ内を送液させてチップの冷却部近傍に送り込んだり、冷却装置とチップの冷却部間に熱伝導性の良い部材(鉄、銅、アルミ、単結晶シリコンなど)を橋渡しして熱を奪い去る方法でも良い。

【0157】

また、この実施例では、検査用マイクロチップ50上に接触して試薬等の温度制御する冷却装置を設けているが、この冷却装置も、特に限定されるものではなく、上記冷却装置136Bと同様な冷却装置を使用することができる。

【0158】

さらに、この実施例では、検査用マイクロチップ50上に接触して試薬等の温度、特に、反応流路60の温度を制御する冷却装置と加熱冷却装置を、システム装置本体10側に設けたが、冷却装置と加熱冷却装置を、例えば、ペルチェ素子にして、検査用マイクロチップ50側に設け、電流の供給源をシステム装置本体10側に設けることも可能である。

【0159】

また、上記のように検体54と試薬58の混合液を加熱して反応処理を行う直前まで、

10

20

30

40

50

検体 5 4 と試薬 5 8 の混合液を、冷却しても良い。例えば、I C A N 法の場合に、0 ~ 4 に冷却するのが望ましい。

【 0 1 6 0 】

このように、反応処理を行うまでの過程で、検体と試薬の混合液、試薬、また、必要な場合には検体が熱によって変性するのを防止できるので、精度が高く、信頼性に優れた正確な検査を実施でき、信頼性に優れた検査を実施することができる。

【 0 1 6 1 】

このように、各収容部から検体液および試薬液を押し出してこれらを合流させることによって、遺伝子増幅反応、アナライトのトラップまたは抗原抗体反応といった分析に必要な反応が開始される。そして、分析が開始されると、検体および試薬類の送液、混合に基づく遺伝子増幅、アナライトとプローブとの結合などの反応、反応物の検出および光学的測定が、一連の連続的工工程として自動的に実施され、測定データが、必要な条件、記録事項とともにファイル内に格納され、生体物質の測定が自動的に行われる。

【 0 1 6 2 】

送液、温度、反応の各制御に関わる制御系、光学的検出、データの収集および処理を受け持つユニットは、マイクロポンプおよび光学装置とともにシステム本体を構成する。

【 0 1 6 3 】

このシステム本体は、これに検査用マイクロチップ 5 0 を装着することにより各検体サンプルに対して共通で使用される。

【 0 1 6 4 】

遺伝子増幅などの反応およびその検出は、送液順序、容量、タイミングなどについて予め設定された条件として、マイクロポンプおよび温度の制御、光学的検出のデータ処理とともにプログラムとしてシステム本体に搭載されたソフトウェアに組み込まれている。

【 0 1 6 5 】

検査用マイクロチップ 5 0 の微細流路内の反応を検出する検出装置 1 4 4 は、検査項目ごとの分析流路上の検出部位に対して、例えば、LED などから測定光を照射し、フォトダイオード、光電子増倍管などの光学的な検出手段で透過光もしくは反射光を検出する。

【 0 1 6 6 】

本発明のマイクロ総合分析システム 1 は、いずれのコンポーネントも小型化され、持ち運びに便利な形態としているために、使用する場所および時間に制約されず、作業性、操作性が良好である。

【 0 1 6 7 】

また、場所、時間を問わずに迅速に測定することができるために、緊急医療での利用や、在宅医療での個人的な利用も可能である。

【 0 1 6 8 】

また、送液に使用するマイクロポンプユニット 2 6 が装置本体側に組み込まれているために、検査用マイクロチップ 5 0 はディスポーザブルタイプとして好適に使用できる。

【 0 1 6 9 】

本発明のシステムは、特に遺伝子または核酸の検査に好適に用いることができる。

【 0 1 7 0 】

その場合、検査用マイクロチップ 5 0 の微細流路は P C R 増幅に適した構成とされるが、遺伝子検査以外の生体物質についても基本的な流路構成はほぼ同様に構成することが可能である。

【 0 1 7 1 】

通常は、検体前処理部、試薬類、プローブ類を変更すればよく、その場合、送液エレメントの配置、数などは適宜変更して用いることができる。

【 0 1 7 2 】

また、当業者であれば、例えば、免疫アッセイ法のために必要な試薬類などを検査用マイクロチップ 5 0 に搭載し、若干の流路エレメントの変更、仕様の変更を含む修正を施すことにより、分析の種類を容易に変更することができる。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 7 3 】

ここにいう遺伝子以外の生体物質とは、各種の代謝物質、ホルモン、タンパク質（酵素、抗原なども含む）などをいう。

## 【 0 1 7 4 】

検査用マイクロチップ50の好ましい一態様では、一つのチップ内において、検体もしくは検体から抽出したアナライト物質（例えば、DNA）が注入される検体収容部と、検体の前処理を行う検体前処理部と、プローブ結合反応、検出反応（遺伝子増幅反応または抗原抗体反応なども含む）などに用いる試薬が収容される試薬収容部と、ポジティブコントロールが収容されるポジティブコントロール収容部と、ネガティブコントロールが収容されるネガティブコントロール収容部と、プローブ（例えば、遺伝子増幅反応により増幅された検出対象の遺伝子にハイブリダイズさせるプローブ）が収容されるプローブ収容部と、これらの各収容部に連通する微細流路と、前記各収容部および流路内の液体を送液する別途のマイクロポンプに接続可能なポンプ接続部と、が設けられている。

10

## 【 0 1 7 5 】

この検査用マイクロチップ50には、ポンプ接続部64を介してマイクロポンプが接続され、検体収容部52に収容された検体54もしくは検体から抽出した生体物質（例えばDNAまたはそれ以外の生体物質）と、試薬収容部56に収容された試薬58とを反応流路60へ送液するようになっている。

## 【 0 1 7 6 】

そして、微細流路の反応部位、例えば、遺伝子増幅反応（タンパク質の場合、抗原抗体反応など）の部位で混合して反応させた後、その下流側流路にある検出部へ、この反応液を処理した処理液62と、プローブ収容部に収容されたプローブとを送液するようになっている。これによって、流路内で混合してプローブと結合（またはハイブリダイゼーション）させ、この反応生成物に基づいて生体物質の検出を行うように構成されている。

20

## 【 0 1 7 7 】

また、ポジティブコントロール収容部に収容されたポジティブコントロールおよびネガティブコントロール収容部に収容されたネガティブコントロールについても、同様に上記反応および検出を行うようになっている。

## 【 0 1 7 8 】

さらに、検査用マイクロチップ50の検体収容部52は、検体注入部に連通し、検体の一時収容および混合部への検体供給を行うようになっている。

30

## 【 0 1 7 9 】

なお、検体収容部52の上面から検体を注入する検体注入部は、外部への漏失、感染および汚染を防ぎ、密封性を確保するために、ゴム状材質などの弾性体からなる栓が形成されているか、あるいはポリジメチルシロキサン（PDMS）などの樹脂、強化フィルムで覆われていることが望ましい。

## 【 0 1 8 0 】

例えば、このようなゴム材質の栓を突き刺したニードル、または、蓋付き細孔を通したニードルで、シリンジ内の検体を注入するようになっている。

## 【 0 1 8 1 】

この場合、ゴム材質の栓を突き刺したニードルの場合には、ニードルを抜くとその針穴が直ちに塞がるのが好ましい。なお、他の検体注入機構を設置してもよい。

40

## 【 0 1 8 2 】

検体収容部52に注入された検体54は、必要に応じて、試薬58との混合前に、予め流路60に設けられた検体前処理部にて、例えば、検体54と処理液62とを混合することによって前処理される。好ましい検体前処理として、分析対象物（アナライト）の分離または濃縮、除タンパクなどが含まれる。

## 【 0 1 8 3 】

従って、検体前処理部は、分離フィルター、吸着用樹脂、ビーズなどを含んでもよい。

## 【 0 1 8 4 】

50



検査用マイクロチップ50の試薬収容部56には、必要な試薬類が予め所定の量だけ封入されている。従って、使用時にその都度、試薬58を必要量充填する必要はなく、即座に使用可能の状態になっている。

【0185】

さらに、検体中の生体物質を分析する場合、測定に必要な試薬類は、通常それぞれ公知である。例えば、検体に存在する抗原を分析する場合、それに対する抗体、好ましくはモノクローナル抗体を含有する試薬が使用される。抗体は、好ましくはビオチンおよびFITCで標識されている。

【0186】

遺伝子検査用の試薬類には、遺伝子増幅に用いられる各種試薬、検出に使用されるプローブ類、発色試薬とともに、必要であれば前記の検体前処理に使用する前処理試薬も含めてもよい。

10

【0187】

マイクロポンプから駆動液29を供給することにより各収容部から検体液および試薬液を押し出してこれらを合流させることによって、遺伝子増幅反応、アナライトのトラップまたは抗原抗体反応といった分析に必要な反応が開始される。

【0188】

試薬と試薬との混合、および検体と試薬との混合は、単一の混合部で所望の比率で混合してもよく、あるいは何れかもしくは両方を分割して複数の合流部を設け、最終的に所望の混合比率となるように混合してもよい。

20

【0189】

この場合、反応部位の態様は特に限定されるものではなく、様々な形態および様式が考えられる。

【0190】

一例としては、試薬を含む2以上の液体を合流させる合流部（流路分岐点）から先に、各液が拡散混合される微細流路が設けられ、この微細流路の下流側端部から先に設けられた、微細流路よりも広幅の空間からなる液溜めにおいて反応が行われる。

【0191】

なお、DNA増幅方法としては、多方面で盛んに利用されているPCR増幅法を使用することができる。その増幅技術を実施するための諸条件が詳細に検討され、改良点も含めて各種文献などに記載されている。

30

【0192】

PCRの改良として最近開発されたICAN(Isothermal chimera primer initiated nucleic acid amplification)法は、50～65における任意の一定温度の下にDNA増幅を短時間で実施できる特徴を有する（特許第3433929号）。

【0193】

したがって、ICAN法は、本発明の検査用マイクロチップ50では、簡便な温度管理で済むために好適な増幅技術である。

【0194】

ICAN法では、手作業では、1時間程度かかるが、本発明の検査用マイクロチップを用いたマイクロ総合分析システムでは、10～20分、好ましくは15分で解析まで終了することができる。

40

【0195】

検査用マイクロチップ50の微細流路における反応部位よりも下流側には、アナライト、例えば、増幅された遺伝子を検出するための検出部位が設けられている。

【0196】

少なくともその検出部分は、光学的測定を可能とするために透明な材質、好ましくは透明なプラスチックとなっている。

【0197】

さらに、微細流路上の検出部位に吸着されたビオチン親和性タンパク質（アビジン、ス

50

トレプトアビジン、エクストラアビジン（R）、好ましくはストレプトアビジン）はプローブ物質に標識されたビオチン、または遺伝子増幅反応に使用されるプライマーの5'末端に標識されたビオチンと特異的に結合する。

【0198】

これにより、ビオチンで標識されたプローブまたは増幅された遺伝子が本検出部位でトラップされる。

【0199】

なお、分離されたアナライトまたは増幅された目的遺伝子のDNAを検出する方法は特に限定されないが、好ましい態様として基本的には、以下の工程で行われる。すなわち、  
（1a） 検体もしくは検体から抽出したDNA、あるいは検体もしくは検体から抽出したRNAから逆転写反応により合成したcDNAと、5'位置でビオチン修飾したプライマーとを、これらの収容部から下流の微細流路へ送液する。

【0200】

反応部位の微細流路内で、遺伝子を増幅する工程が行われ、微細流路内で増幅された遺伝子を含む増幅反応液と変性液とを混合して、増幅された遺伝子を変性処理により一本鎖にする。そして、これと末端をFITC (fluorescein isothiocyanate) で蛍光標識したプローブDNAとをハイブリダイズさせる。

【0201】

次いで、ビオチン親和性タンパク質を吸着させた微細流路内の検出部位に送液し、増幅遺伝子を微細流路内の検出部位にトラップする。なお、増幅遺伝子を検出部位でトラップした後に蛍光標識したプローブDNAとをハイブリダイズさせてもよい。（1b） 検体に存在する抗原、代謝物質、ホルモンなどのアナライトに対する特異的な抗体、好ましくはモノクローナル抗体を含有する試薬を検体と混合する。その場合、抗体は、ビオチンおよびFITCで標識されている。

【0202】

従って、抗原抗体反応により得られる生成物は、ビオチンおよびFITCを有する。

【0203】

これをビオチン親和性タンパク質（好ましくはストレプトアビジン）を吸着させた微細流路内の検出部位に送液し、ビオチン親和性タンパク質とビオチンとの結合を介して、検出部位に固定化する。（2） 上記微細流路内にFITCに特異的に結合する抗FITC抗体で表面を修飾した金コロイド液を流し、これにより固定化したアナライト・抗体反応物のFITCに、あるいは遺伝子にハイブリダイズしたFITC修飾プローブに、その金コロイドを吸着させる。（3） 上記微細流路の金コロイドの濃度を光学的に測定する。

【0204】

本発明は、温度分布管理が厳格になされた微細流路を有するチップを用いるマイクロ総合分析システムを提供する。

【0205】

本発明のマイクロ総合分析システムによれば、チップ微細流路の所定領域のみ選択的かつ均一に加熱もしくは冷却し、隣接する流路の加熱もしくは冷却を十分に防止できる。また加熱部位の余熱が近隣の流路に伝わることを極力抑制し、選択的に加熱される微細流路の両端において中間的な温度領域をなるべく少なくすることにより、チップ内の温度分布をなるべく画然とさせることができる。また、そのような中間温度領域が存在することによる副反応の発生、流路から試薬類の喪失を防止することができる。

【0206】

本発明によれば、加熱冷却手段によって、反応部において、検体収容部に収容された検体と、試薬収容部に収容された試薬とが反応流路で合流した直後に、検体と試薬の混合液を加熱して反応処理を行った後、ただちに冷却することができる。

【0207】

従って、合流路で混合された混合試薬と、検体収容部からの検体とが合流して、混合反応流路で混合した際に、迅速に反応に必要な温度まで加熱することができる。

10

20

30

40

50

【 0 2 0 8 】

しかも、必要な温度に達した際には、反応に必要な時間だけ加熱して、気泡の発生、副反応を発生しないように、迅速に冷却することが可能であり、精度が高く、信頼性に優れた正確な検査を実施できる。

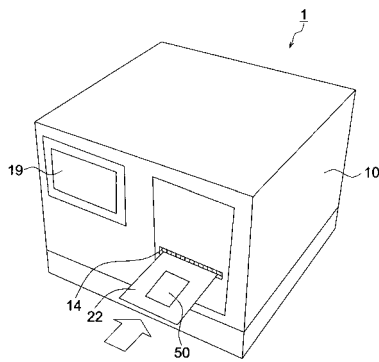
【 0 2 0 9 】

以上、本発明の好ましい実施の態様を説明してきたが、本発明はこれに限定されることはなく、例えば、上記実施例では、遺伝子検査用の検査用マイクロチップとしてICAN法について説明したが、その配置、形状、寸法、大きさなどは、検体の種類、検査項目などに応じて、種々変更可能である。

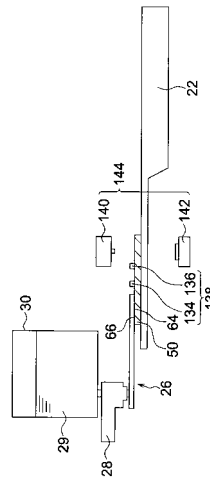
【 0 2 1 0 】

また、上記実施例では、検査用マイクロチップ50は、チップ搬送トレイ22上に載置された後、検査用チップ出入口14からシステム装置本体10内に取り入れられ、装着されるようにしたが、チップ搬送トレイを設けることなく、直接、カードリーダーのように、検査用マイクロチップ50を本体内に挿入する機構、または、開閉扉を設けて、直接、検査用マイクロチップ50を検査位置に載置する方法など本発明の目的を逸脱しない範囲で種々の変更が可能である。

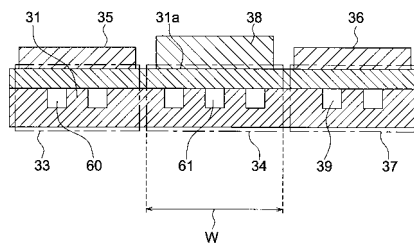
【 図 1 】



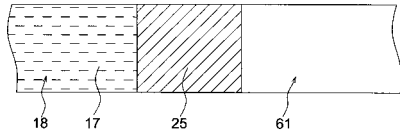
【 図 2 】



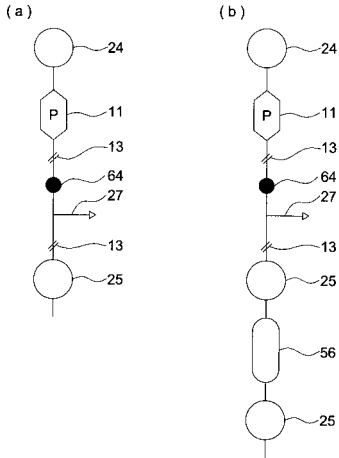
【 図 3 】



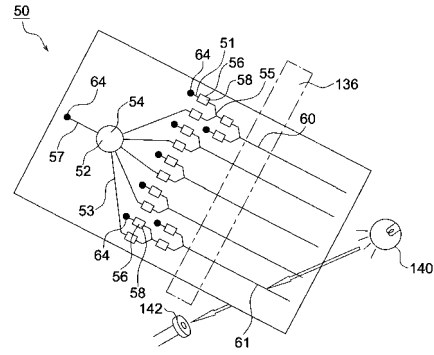
【図6】



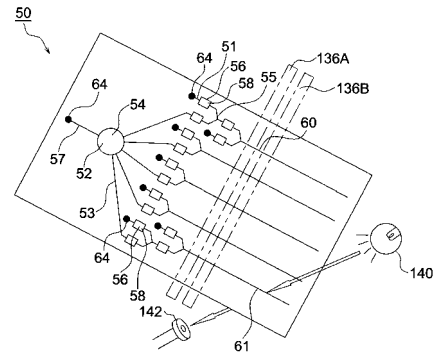
【図9】



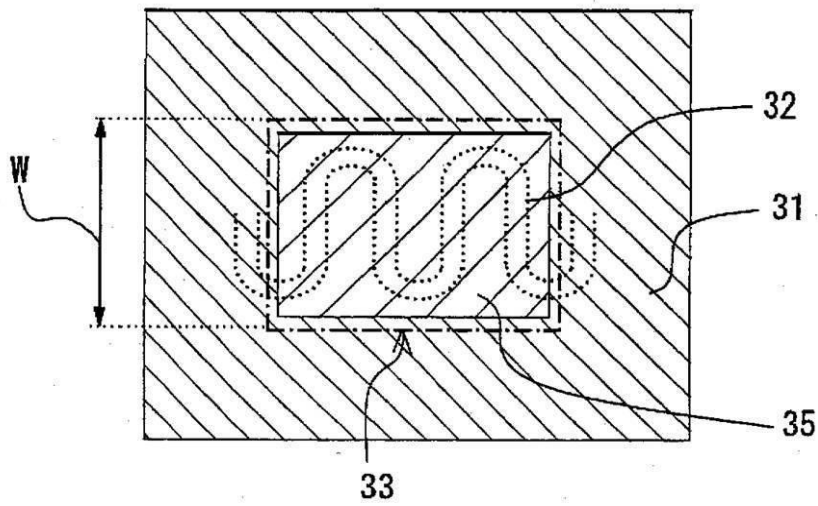
【図10】



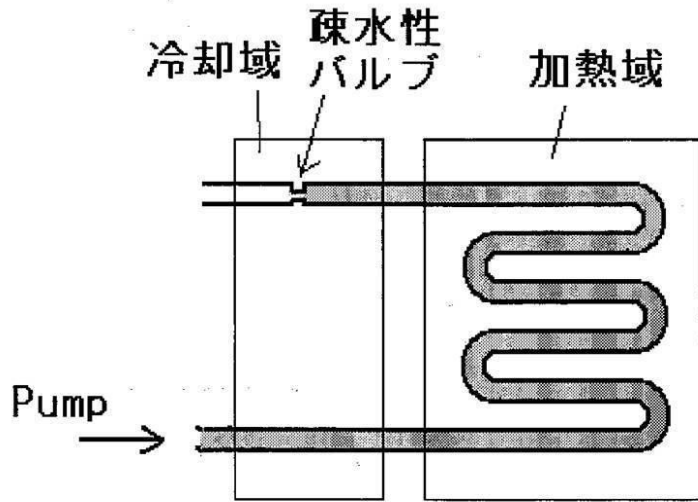
【図11】



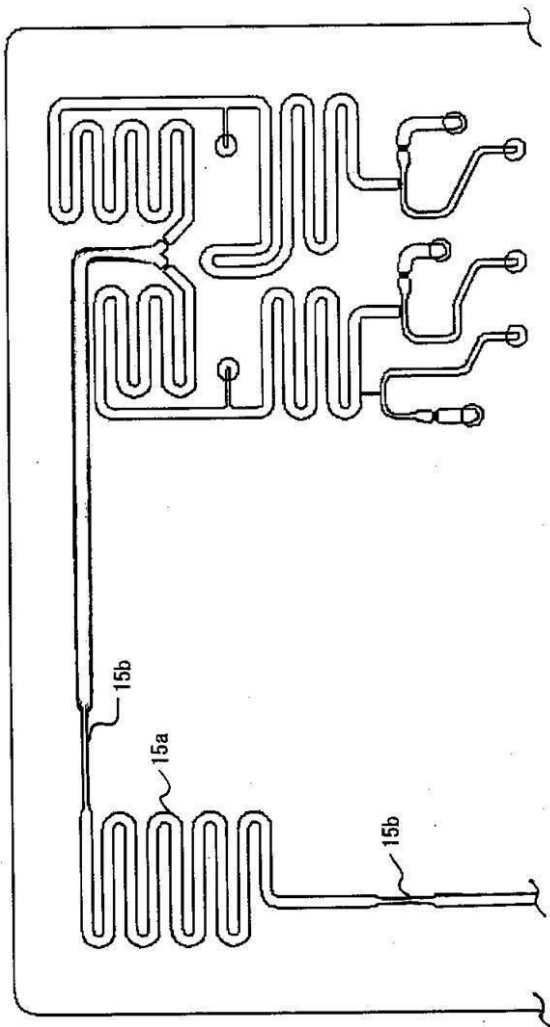
【図4】



【図5】

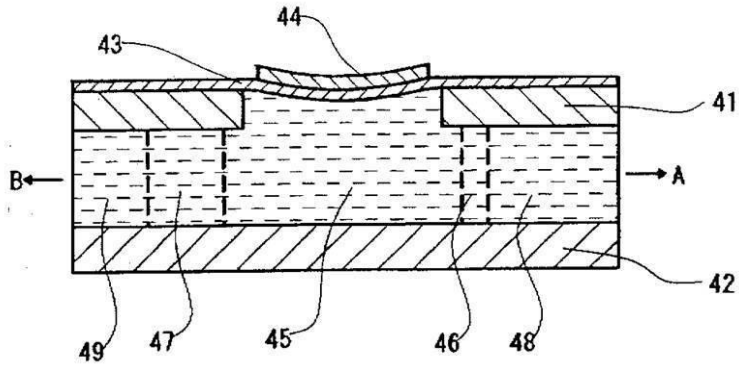


【図7】

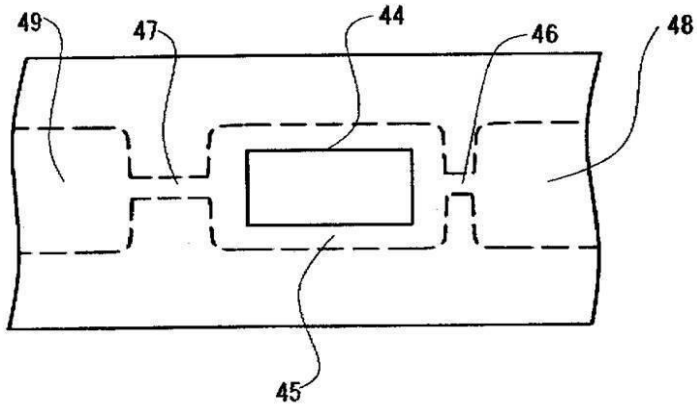


【 図 8 】

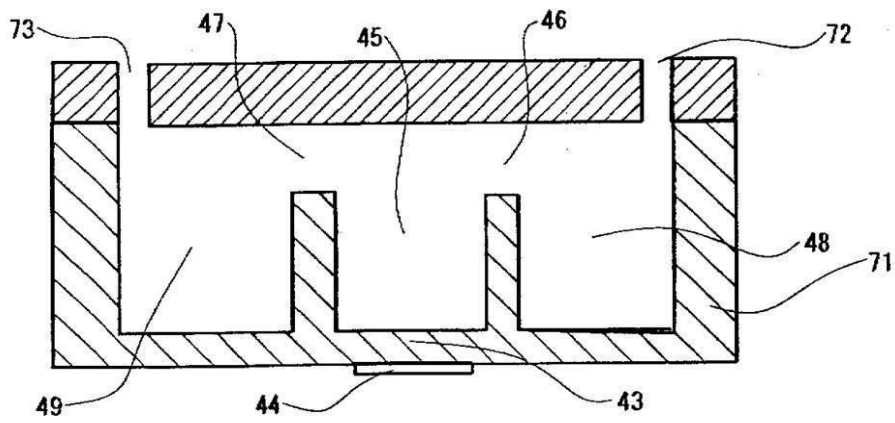
(a)



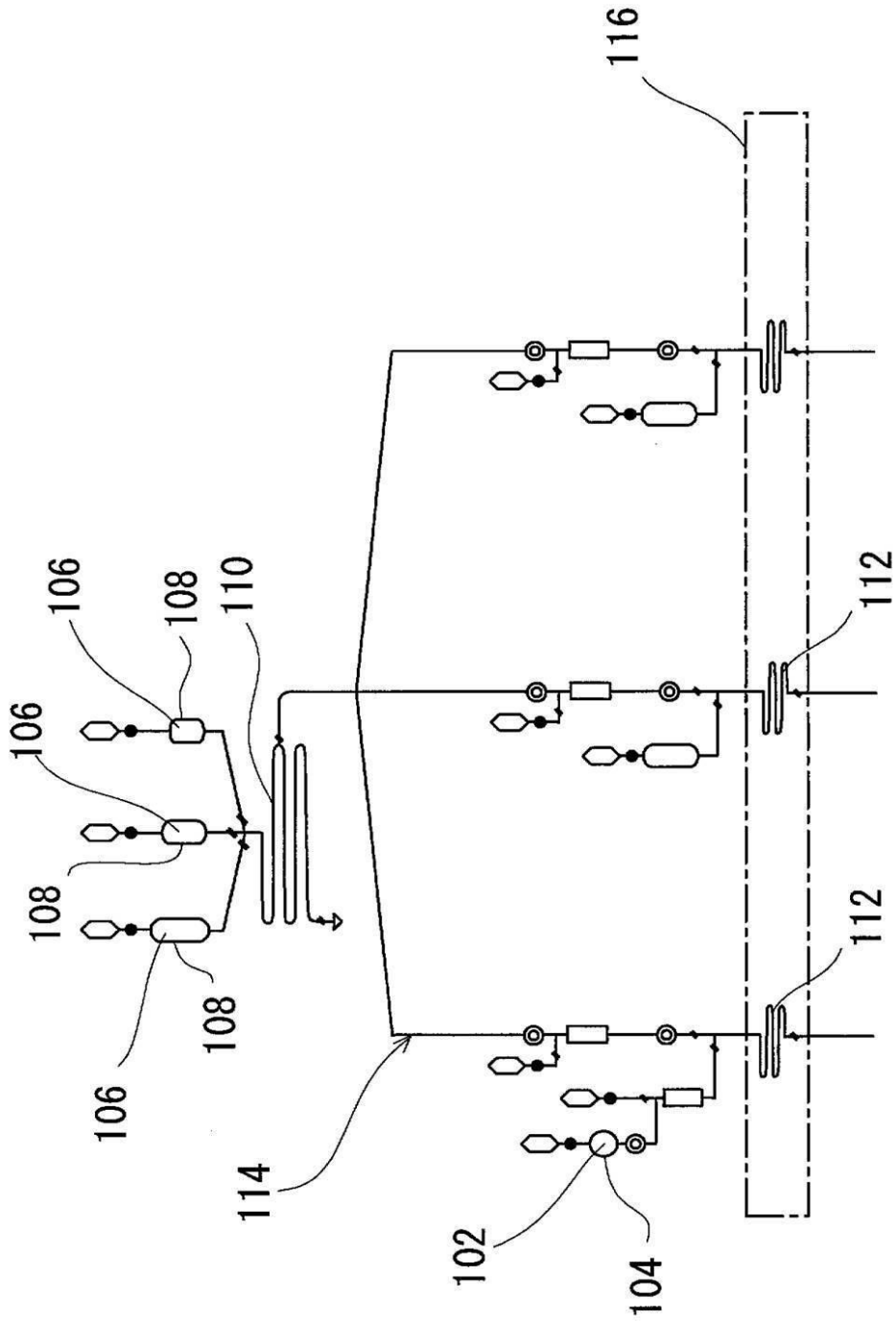
(b)



(c)



【図12】



---

フロントページの続き

審査官 秋田 将行

- (56)参考文献 特開2001-258868(JP,A)  
特開2003-180350(JP,A)  
特表2003-504637(JP,A)  
特表2003-517591(JP,A)  
特開2004-313840(JP,A)  
特開2005-013859(JP,A)  
特開2005-059157(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/00-35/10

G01N 37/00