

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4580608号
(P4580608)

(45) 発行日 平成22年11月17日(2010.11.17)

(24) 登録日 平成22年9月3日(2010.9.3)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 35/08 (2006.01) GO 1 N 35/08 A
GO 1 N 37/00 (2006.01) GO 1 N 37/00
GO 1 N 37/00 1 O 1

請求項の数 25 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2001-548220 (P2001-548220)	(73) 特許権者	505358004
(86) (22) 出願日	平成12年12月11日(2000.12.11)		ユィロス・パテント・アクチボラグ
(65) 公表番号	特表2003-518610 (P2003-518610A)		Gyros Patent AB
(43) 公表日	平成15年6月10日(2003.6.10)		スウェーデン751 83ウプサラ、ウプ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2000/012478		サラ・サイエンス・パーク
(87) 国際公開番号	W02001/047637	(74) 代理人	100062144
(87) 国際公開日	平成13年7月5日(2001.7.5)		弁理士 青山 稔
審査請求日	平成19年11月20日(2007.11.20)	(74) 代理人	100067035
(31) 優先権主張番号	9904802-7		弁理士 岩崎 光隆
(32) 優先日	平成11年12月23日(1999.12.23)	(72) 発明者	ヘレネ・デランド
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)		スウェーデン、エス-187 35ストック
			ホルム、タビー、エンスタヴァーゲン3
			3番

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微小流体デバイス表面

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

プラスチックで作られた平面支持体の表面に作製された1個以上のカバーされたマイクロチャンネル構造1組を含み、当該マイクロチャンネル構造がそれぞれ、

i) 水性液体流によって、溶質および/または粒子を、同一のマイクロチャンネル構造中の一つの機能的部分から他へ輸送することを意図するものであり、

ii) (a)反応チャンバーまたは空洞、(b)容量規定ユニット、(c)混合チャンバーまたは空洞、および(d)検出チャンバーまたは空洞から選択される、1個以上の機能的部分を含み、

iii) 再水和できる乾燥状態である、微小流体デバイスであって、

A) 各マイクロチャンネル構造の少なくとも一つの当該機能的部分における表面部分が、当該少なくとも一つの機能的部分の表面部分に結合したポリマー骨格に共有結合的に結合している、ポリオキシエチレン鎖の1個以上のブロックを含む、非イオン性親水性ポリマーをその表面に呈示するコートを有すること；および

B) 水性液体が当該機能的部分の入口を通過したとき、該液体が、自己吸引により、当該機能的部分に入ることが可能であること；

を特徴とする、微小流体デバイス。

【請求項 2】

当該少なくとも一つの機能的部分が、容量規定ユニットを含むことを特徴とする、請求項1に記載の微小流体デバイス。

10

20

【請求項 3】

当該少なくとも一つの機能的部分が、反応チャンバーまたは空洞、混合チャンバーまたは空洞、および、検出チャンバーまたは空洞を含むことを特徴とする、請求項 2 に記載の微小流体デバイス。

【請求項 4】

該マイクロチャネル構造 1 組が 5 個以上のカバーされたマイクロチャネル構造を含むことを特徴とする、請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

【請求項 5】

該ポリマー骨格がポリアミンであることを特徴とする、請求項 1 から 4 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

10

【請求項 6】

コートのない当該少なくとも一つの機能的部分の表面が、その後にコートを結合させることを可能にする官能基を導入するために、プラズマ処理または酸化剤により親水性化されていることを特徴とする、請求項 1 から 5 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

【請求項 7】

該非イオン性親水性ポリマーが、その一端で骨格に共有結合的に結合しているポリエチレングリコールまたはモノメトキシポリエチレングリコールであることを特徴とする、請求項 1 から 6 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

【請求項 8】

該ポリマー骨格がポリエチレンイミンであることを特徴とする、請求項 1 から 7 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

20

【請求項 9】

該マイクロチャネル構造における液体流が、向心力および自己吸引によって駆動される、請求項 2 から 8 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

【請求項 10】

該骨格が、静電的相互作用または疎水性相互作用を介して当該表面部分に結合している、請求項 1 から 9 の何れか 1 項に記載の微小流体デバイス。

【請求項 11】

プラスチックで作られた平面支持体の表面に作製された 1 個以上のカバーされたマイクロチャネル構造 1 組を含む微小流体デバイスにおける、非特異的吸着および親水性を最適化するための非イオン性親水性ポリマーを呈示するコートの使用であって、当該マイクロチャネル構造がそれぞれ、

30

i) 毛管力および / または向心力を含む力によって駆動される水性液体流によって、溶質および / または粒子を、同一のマイクロチャネル構造中の一つの機能的部分から他へ輸送することを意図するものであり、

ii) 乾燥状態であり、

iii) (a) 反応チャンバーまたは空洞、(b) 容量規定ユニット、(c) 混合チャンバーまたは空洞、および (d) 検出チャンバーまたは空洞から選択される、1 個以上の機能的部分を含み、

各マイクロチャネル構造の少なくとも一つの当該 1 個以上の機能的部分における表面部分上に存在する当該コートが、ポリマー骨格に共有結合的に結合しており、そして、当該水性液体が当該機能的部分の入口を通過したとき、当該液体が、自己吸引により、当該機能的部分に入ることが可能である、使用。

40

【請求項 12】

当該少なくとも一つの機能的部分が、容量規定ユニットを含むことを特徴とする、請求項 11 に記載の使用。

【請求項 13】

当該少なくとも一つの機能的部分が、(a) 反応チャンバーまたは空洞、(b) 混合チャンバーまたは空洞、および (c) 検出チャンバーまたは空洞を含むことを特徴とする、請求項 12 に記載の使用。

50

【請求項 14】

該非イオン性親水性ポリマーが、表面に結合したポリマー骨格に共有結合的に結合していることを特徴とする、請求項 11 から 13 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 15】

該マイクロチャンネル構造 1 組が 5 個以上のカバーされたマイクロチャンネル構造を含むことを特徴とする、請求項 11 から 14 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 16】

各マイクロチャンネル構造が、 $1\ \mu\text{l}$ の容量を有する、請求項 11 から 15 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 17】

該デバイスが、丸いディスク形であることを特徴とする、請求項 11 から 16 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 18】

非イオン性ポリマーが、複数のヒドロキシ基、エチレンオキシ基、および / またはアミド基を含むポリマーから選択されることを特徴とする、請求項 11 から 17 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 19】

該非イオン性親水性ポリマーが、多糖類およびその水溶性誘導体、ポリビニルアルコールならびにポリ(ヒドロキシ低級アルキルビニルエーテル)ポリマーから選択されることを特徴とする、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 20】

該非イオン性親水性ポリマーが、ポリエチレングリコールまたはモノメトキシポリエチレングリコールであることを特徴とする、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 21】

該非イオン性親水性ポリマーが、少なくともアクリルアミド、メタクリルアミドおよびビニルピロリドンから選択されるモノマーと重合化 / 共重合化していることを特徴とする、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 22】

当該骨格がポリアミンであることを特徴とする、請求項 14 に記載の使用。

【請求項 23】

当該骨格がポリエチレンジイミンであることを特徴とする、請求項 22 に記載の使用。

【請求項 24】

該骨格が、 $10,000 \sim 3,000,000$ ダルトンの分子量を有することを特徴とする、請求項 14 および 22 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 25】

コートのない支持体表面が、該表面部分にコートを結合させる前に、プラズマ処理または酸化剤により親水性化されていることを特徴とする、請求項 11 から 24 の何れか 1 項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明は、平面支持体の表面上に作製された 1 個以上の、好ましくは 5 個以上のカバーされたマイクロチャンネル構造 1 組を含む、微小流体デバイスに関する。

【0002】

“カバーされた”なる用語は、蓋がマイクロチャンネル構造をカバーし、それにより液体の望ましくない蒸発を最少にするまたは防止することを意味する。カバー / 蓋は、支持体表面上の各マイクロチャンネル構造に適合する微小構造を有し得る。

【0003】

“組立てられた”なる用語は、二次元および / または三次元微小構造が表面に存在することを意味する。二次元と三次元微小構造の差は、前者においては、構造を線引きする物理

10

20

30

40

50

的障壁が存在しないが、後者においては存在することである。例えば、WO 9 9 5 8 2 4 5 (Larsson et al) 参照。

【 0 0 0 4 】

マイクロチャネルの内部に面するカバー / 蓋の部分は、マイクロチャネル構造の表面に含まれる。

【 0 0 0 5 】

平面支持体は、典型的に無機および / または有機物質から、好ましくはプラスチックから成る。種々の無機および有機物質の例は、下記の表題 “ 微小流体デバイスにおける物質 ” なる段落参照。

【 0 0 0 6 】

微小流体デバイスは、液体中に分散した溶質および / または粒子の、一つの構造の一つの機能的部分から他への大量輸送をもたらす液体流があるものを含む。溶質を分離目的のための電場の適用により移動させるキャピラリー電気泳動に使用するための、適用のための領域および検出のための領域を恐らく伴う単なるキャピラリーは、本発明の内容で意図する微小流体デバイスではない。電気泳動キャピラリーは、しかし、キャピラリーがそこからおよび / またはそこに向かって液体流による溶質の大量輸送が上記のように行なわれる、1 個以上の更なる機能的部分が存在するマイクロチャネル構造の一部である場合、微小流体デバイスの一部であり得る。

【 0 0 0 7 】

液体は典型的には、極性、例えば、水のような水性である。

【 0 0 0 8 】

(技術的背景)

微小流体デバイスは、液体流がチャネルを通して容易に通過し、試薬および検体の非特異的吸着ができるだけ低く、すなわち、行なう反応に対して問題にならないものでなければならぬ。

【 0 0 0 9 】

試薬および / または検体は、タンパク質、核酸、炭水化物、細胞、細胞粒子、細菌、ウイルス等を含む。タンパク質は、ポリまたはオリゴペプチド構造を示す任意の化合物を含む。

【 0 0 1 0 】

マイクロチャネル構造内の表面の親水性は、構造の種々の部分への水性液体の再現性のあるそして予め決定された浸透を支持しなければならない。一度液体が構造の入口部分の起こり得るブレーキを通過したら、液体は本質的にその部分に毛管作用 (受動的移動) により自然に入る。これは、したがって、マイクロチャネル構造内の表面の親水性が、マクロフォーマットからマイクロフォーマットになった場合に重要性を増すことを意味する。

【 0 0 1 1 】

我々の経験から、20 ° 付近またはそれ以下の水接触角が、しばしば、マイクロチャネル構造への確かな受動的流体移動を達成するために必要となり得る。しかし、永久にこのような低い水接触角を有する表面を作ることとは単純ではない。貯蔵中に水接触角が変化する傾向がしばしばあり、これが標準化された流動特性を有する微小流動デバイスの商品化を困難にする。

【 0 0 1 2 】

この状況は、非常に低い水接触角を有する表面を調製する方法が、必ずしも試薬およびサンプル成分の非特異的吸着の能力を減少しないという事実により複雑になる。表面 / 容量比は、マクフォーマットがより小さいフォーマットに小さくなったときに増加する。これは、表面の非特異的吸着の能力が、表面に取り囲まれる容量に伴い、逆に増加することを意味する。非特異的吸着は、したがって、大きなデバイスよりもマイクロフォーマットデバイスでより重要となる。

【 0 0 1 3 】

生体分子の許容されない非特異的吸着は、疎水性表面構造の存在にしばしば付随する。こ

10

20

30

40

50

れは特に問題であり、したがって、天然シリコン表面および他の類似の無機物質から成る表面と比較して、プラスチックおよび他の疎水性物質から成る表面に関連して、より重要である。

【0014】

種々の生体分子および他の試薬の非特異的吸着を減少させるために親水性となるように表面を処理するための多くの利用可能な方法がある。しかし、これらの方法は、一般に、マクロフォーマットをマイクロフォーマットに小型化した場合の低非特異的吸着と信頼でき、再現性のある液体流のバランスを考慮していない。例えば、Elbert et al., (Annu. Rev. Mater. Sci. 26 (1996) 365-394)と対照。

【0015】

一般に、ポリエチレンイミンと親水性ポリマーの間の付加物でのコーティングによりバイオポリマーに対する反発を付与されている表面が、最近10年間の間に記載されている (Brink et al (US 2,240,994), Bergstroem et al., US5,250,613; Holmberg et al., J. Adhesion Sci. Technol. 7(6) (1993) 503-517; Bergstroem et al., Polymer Biomaterials, Eds Cooper, Bamfors, Tsuruta, VSP (1995) 195-204; Holmberg et al., Mittal Festschrift, Eds Van Ooij, Anderson, VSP 1998, p 443-460; およびHolmberg et al., Biopolymers at Interfaces, Dekker 1998 (Surfactant Science Series 75), 597-626)。ポリエチレンイミンと親水性ポリマーの連続的結合もまた記載されている (Kiss et al., Prog. Colloid Polym. Sci. 74 (1987) 113-119)。

【0016】

非特異的吸着および/または電気浸透は、典型的には疎水性ポリマーの形の、疎水性相と共に使用するキャピラリーの内部表面のコーティングにより制御毛管電気泳動において制御されている (例えば、van Alstine et al. US4,690,749; Ekstroem & Advidsson WO 9800709; Hjerten, US 4,680,201 (ポリメタクリルアミド); Karger et al., US5,858,188 およびUS 6,054,034 (アクリル酸マイクロチャネル)。キャピラリー電気泳動は、検体の大量輸送および分離のための電場の適応を利用する狭いキャピラリーで実施する分離法の一般名である。

【0017】

Larsson et al (WO 9958245, Amersham Pharmacia Biotech)は、とりわけ、二つの平面支持体の間のマイクロチャネルが、少なくとも支持体の一つで、親水性および疎水性領域の間の界面により定義されている、微小流体デバイスを示す。水性液体に関して、親水性領域が流体経路を定義する。異なる目的のための疎水性および親水性表面のパターンを得るための種々の方法、例えば、プラズマ処理、疎水性表面の親水性ポリマーでのコーティング等が議論されている。示唆される親水性コートポリマーは、アリアル基を含んでも含んでいなくてもよく、Larsson et alは水接触角をできるだけ低くすることまたは非特異的吸着を避けることに焦点を絞ってないことを示唆する。

【0018】

Larsson, OcklindおよびDerand(1999年3月24日出願のSE9901100-9を優先権主張しているPCT/EP00/05193)は、プラスチックから成る非常に親水性の表面の製造を記載している。表面は、水性液体と接触した後でさえ、その親水性を保持する。PCT/EP00/05193における別の論点は、永久親水性と良好な細胞付着特性のバランスである。表面は、主に、微細加工されたデバイスでの使用が示唆される。

【0019】

ポリエチレングリコールは、タンパク質吸着を防止するポリエチレングリコールの能力の試験のためのシリコン中に組立てられたマイクロチャネルの表面に直接結合している。Bell, Brody and Yager (SPIE-Int. Soc. Opt. Eng. (1998) 3258 (Micro- and Nanofabricated Structures and Devices for Biomedical Environmental Applications) 137-140) 参照。

【0020】

本発明の目的。

第1の目的は、微小流動デバイスにおける試薬およびサンプル成分(例えば、検体)の十分に信頼でき、再現性のある大量輸送の達成である。

【0021】

第2の目的は、微小流動デバイスにおける信頼でき、再現性のある水性液体流を可能にすることである。

【0022】

本発明

我々は、親水性非イオン性ポリマーを、微小流体デバイスにおけるマイクロチャネル構造の表面に結合させることにより、上記の問題を、またほとんどの重要な表面物質に関して、容易に最少化できることを発見した。この発見は、微小流体デバイスにおける試薬およびサンプル成分の信頼でき、再現性のある輸送を可能にする表面の創生を容易にする。

【0023】

本発明の主な態様は、表題“技術分野”の段落の下に定義のような微小流体デバイスである。特徴的な性質は、各マイクロチャネル構造の少なくとも一部の表面が、堅く結合した非イオン性親水性ポリマーを構造の内面に暴露することである。

【0024】

非イオン性親水性ポリマーは、マイクロチャネル構造の表面に直接、または複数結合点を介して表面に結合するポリマー骨格を介して、結合し得る。

【0025】

非イオン性親水性ポリマー

非イオン性親水性ポリマーは、複数の親水性中性基を含む。中性基は、pH変化により荷電できる非荷電基を除く。典型的な中性親水性基はヘテロ原子(酸素、硫黄または窒素)を含み、ヒドロキシ、エチレンオキシ(例えば、ポリエチエンオキサイド中の)のようなエーテル、N-置換であり得るアミド等をから選択し得る。ポリマーそれ自体はまた微小流体デバイスで使用する試薬および化学物質に対して不活性である。

【0026】

説明的非イオン性親水性ポリマーは、好ましくは、表面に結合しないとき水溶性である。その分子量は約400から約1,000,000ダルトン、好ましくは約1,000から約2000,000の範囲内、例えば、100,000ダルトン未満である。

【0027】

非イオン性親水性ポリマーは、ポリエチレングリコール、または多かれ少なかれ、低アルキレンオキサイド(C_{1-10} 、例えば、 C_{2-10})または低級アルキレン(C_{1-10} 、例えば、 C_{2-10})ビスエポキシド(ここで、エポキシド基が共に2-10sp³炭素を含む炭素鎖を介して結合している)の、無作為に分布したまたはブロック分布したホモおよびコポリマーで説明される。炭素鎖は、1個以上の位置でエーテル酸素により中断され得、すなわち、エーテル酸素が二つの炭素原子の間に挿入されている。メチレン基の1個以上の水素原子は、ヒドロキシ基または低級アルコキシ基(C_{1-4})で置換し得る。安定性の理由のために、最大1個の酸素原子が一つのそして同じ炭素原子に結合しなければならない。

【0028】

他の適当な非イオン性親水性ポリマーは、完全にまたは部分的に天然であるか、完全に合成であり得るポリヒドロキシポリマーである。

【0029】

完全にまたは部分的に天然のポリヒドロキシポリマーは、多糖類、例えばデキストランおよびその水溶性誘導体、澱粉の水溶性誘導体、およびある種のセルロースエーテルのようなセルロースの水溶性誘導体により代表される。興味のある可能性のあるセルロースエーテルは、メチルセルロース、メチルヒドロキシプロピルセルロースおよびエチルヒドロキシエチルセルロースである。

【0030】

目的の合成ポリヒドロキシポリマーは、また恐らく一部アセチル化形であるポリビニルア

10

20

30

40

50

ルコール、ポリ(ヒドロキシ低級アルキルビニルエーテル)ポリマー、エピクロロヒドリンの重合化により得られるポリマー、グリシドールおよびポリヒドロキシポリマーとなる類似の2官能性反応性モノマーである。

【0031】

ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド等は、複数のアミド基が存在するポリマーの例である。

【0032】

更に適当な親水性ポリマーは、所望により高級アルキレンオキサイドまたはビスエポキシドと組み合わせたエチレンオキサイド、またはテトラヒドロフランと、グリセロール、ペンタエリスリトールのジヒドロキシまたはポリヒドロキシ化合物および前段落において言及している任意のポリヒドロキシポリマーの反応産物(付加物)である。

10

【0033】

非イオン性親水性ポリマーは、引用して本明細書に包含させるBerg et al (WO 9833572)に定義されたエクステンダーに関して記載のものと同じ構造を有し得る。Berg et alと対照的に、本発明で使用する親水性ポリマー上に親和性リガンドが存在する回避できない必要性はない。

【0034】

非イオン性親水性ポリマーにおける1個以上の位置を結合のために利用し得る。親水性ポリマーを柔軟にするために、結合点をできるだけ少なく、例えば、ポリマー分子当たり1個、2個または3個の位置にすべきである。ポリエチレンオキサイドに類似した、低級アルキレンオキサイドポリマーのような直鎖ポリマーに関して、結合点の数は、典型的に1個または2個、好ましくは1個である。

20

【0035】

マイクロチャネル構造内の表面のコートされた部分の位置に依存して、親水性ポリマーは固定化反応物(親和性反応を意図する場合、しばしば、リガンドと呼ばれる)を担持し得る。マイクロチャネル構造の具体的な使用に依存して、このような反応物は、サンプルに存在する検体または添加した反応体もしくは汚染物を補足するために使用する、いわゆる親和性反応体であり得る。固定化リガンドはまた固定化酵素を含む。本発明により、この種の反応体は好ましくは反応チャンバー/空洞に存在する(下記参照)。

【0036】

骨格

骨格は、無機または有機物質の有機または無機カチオン性、アニオン性または中性ポリマーであり得る。

30

【0037】

無機骨格に関して、好ましい異形はシリコンオキサイドのようなポリマーである。実験部参照。

【0038】

有機骨格に関して、好ましい異形は、ポリアミンのようなカチオン性ポリマー、すなわち、2個以上の1級、2級または3級アミン基または4級アンモニウム基を含むポリマーである。好ましいポリアミンはポリアルキレンイミン、すなわち、アミン基がアルキレン鎖により中断されているポリマーである。アルキレン鎖は、例えば、 C_{1-6} アルキレン鎖から選択される。アルキレン鎖は、中性親水性基、例えば、ヒドロキシ(HO)またはポリ(オリゴを含む)低級アルキレンオキシ基 $[-O-((C_2H_4)_nO)_mH]$ (ここで、 n は1-5および m は1以上、例えば ≤ 100 または ≤ 50 である)および、他の中性基および/または微小流体デバイスに適用する条件下で非反応性である基を担持し得る。

40

【0039】

ポリアミン骨格を含む骨格の好ましい分子量は10,000-3,000,000ダルトン、好ましくは約5,000-2,000,000ダルトンの範囲内である。骨格の構造は、直鎖、分枝鎖、高分枝または樹枝状であり得る。好ましいポリアミン骨格はポリエチレンイミンであり、この化合物は、例えば、エチレンイミンの重合化により、通常、高分枝

50

鎖とすることにより達成できる。

【0040】

非イオン性親水性ポリマーの結合

非イオン性親水性ポリマー基のチャンネル表面への導入は、本分野で既知の原則により、例えば、親水性ポリマーを表面の望ましい部分に直接、または上記の骨格の種を結合することにより行ない得る。骨格と非イオン性ポリマーの間の付加物は(i)表面に結合する前に別々に形成するまたは(ii)最初に骨格を、ついで親水性ポリマーを結合させることによりなし得る。別法(ii)は、(a)調製した非イオン性親水性のポリマーを骨格にグラフティングすることにより、または(b)適当なモノマーのグラフト重合化により行なうことができる。

10

【0041】

非イオン性親水性ポリマーおよび骨格の両方共、共有結合的結合、静電氣的相互作用等を介しておよび/またはその場でのまたはその後の架橋により、基礎を成す表面に安定化し得る。ポリアミン骨格は、例えば、そのアミン官能基と、非コート支持体表面に元々存在するまたは挿入されているアミン反応性基を反応させることにより共有結合的に結合し得る。本発明に従いコートする剥き出しのままの表面部分が、非イオン性親水性ポリマーと表面の間および骨格と表面の間の安定な相互作用を可能にする基を有することが重要である。カチオン性骨格、例えば、ポリアミンは、陰性に荷電したまたは荷電できる基、または別な方法でアミン基と結合できる、典型的には親水性の基が表面に暴露されていることが必要である。極性および/または荷電または荷電可能な基は、例えば、 O_2 -およびアクリル酸-含有プラズマでの処理により、濃縮硫酸中の過マンガン酸塩(permanaganate)またはピクロメートでの酸化により、これらのタイプの基を含むポリマーでのコーティングにより等、プラスチック表面に容易に導入し得る。言い替えると、科学および特許文献から既知の方法で、プラスチック表面それ自体、また任意の前処理なしに、即ち、上記のタイプの基を担持するか、または重合化の後に容易にこのような基に変換できる基を担持するモノマーの重合化により得ることにより、この種の基を含む。

20

【0042】

コートする表面が金属、例えば、金またはプラチナから成る場合、および非イオン性親水性ポリマーまたは骨格がチオール基を有する場合、結合は部分的に共有である結合を介して達成できる。

30

【0043】

非イオン性親水性ポリマーまたは骨格が炭化水素基、例えば、純粹アルキル基またはフェニル基を有する場合、支持体表面への結合が疎水性相互作用を介して行なうことができる。と考えることができる。

【0044】

水接触角

最適な水接触角はマイクロチャンネル構造で行なう分析および反応、構造のマイクロチャンネルおよびチャンバーの寸法、使用する液体の組成および表面張力等に依存する。経験則として、本発明のコートは、 $\leq 30^\circ$ 、例えば $\leq 25^\circ$ または $\leq 20^\circ$ である水接触角を提供するように選択しなければならない。これらの数字は、使用する温度、主に室温で得られる値を言及する。

40

【0045】

現在までで、最も優れた表面は、非イオン性親水性ポリマーのポリエチレンイミン骨格へのモノサイト(単基末端)結合を伴う、ポリエチレンイミンとポリエチレングリコールの間の付加物に基づくものである。今日までの最良のモードのこの好ましい異形は、実験部(実施例1)に示す。

【0046】

コートの厚さ

非イオン性親水性ポリマーにより提供される水和コートの厚さは、本発明に従いコートされた表面を含むマイクロチャンネル構造の二つの向かい合う部分の間の最少距離の ≤ 50

50

%、例えば、 $\leq 20\%$ でなければならない。これは、典型的に、最適な厚さが $0.1 - 1000\text{ nm}$ 、例えば $1 - 100\text{ nm}$ の間であることを意味するが、但し、コートは望ましい流れを通過させなければならない。

【0047】

微小流体デバイスの構造

微小流体デバイスは、種々の外形のディスク形であり得、丸形が好ましい異形である(CD形)。

【0048】

丸形を有するデバイスにおいて、マイクロチャネル構造は、内部適用領域から放射状にディスクの末端に向かって、意図される流れの方向に放射状に配置し得る。この異形において、流れを推進するための最も実質的な方法は、毛管作用、向心力(ディスクの回転)および/または流体力学である。

【0049】

各マイクロチャネル構造は、1個以上のチャネルおよび/または1個以上の空洞をマイクロフォーマット中に含む。構造の異なるパーツは、異なる別の機能を有し得る。したがって、(a)適用チャンバー/空洞/領域(b)液体輸送のための導管、(c)反応チャンバー/空洞、(d)容量規定ユニット、(e)混合チャンバー/空洞、(f)サンプル中の成分を、例えば、キャピラリー電気泳動、クロマトグラフィー等により分離するためのチャンバー、(g)検出チャンバー/空洞、(h)廃棄導管/チャンバー/空洞等として機能し得る1個以上の部分が存在する。本発明に従い、これらのパーツの少なくとも一つはその表面に本発明のコートを有し、即ち、上記の表面部分に対応する。

【0050】

この構造を使用する場合、検体を含む必要な試薬および/またはサンプルを適用領域陰適用し、液体流を適用することにより構造の下流に輸送する。試薬のいくつかはチャンバー/空洞に予め分配していてもよい。液体流は、毛管力および/または向心力、マイクロチャネル構造にわたり外部から提供する圧力差および/または外部から適用し、液体および検体および試薬の同じ方向への輸送をもたらす他の非動電学的力により推進し得る。液体流はまた構造内に創生される電気浸透により発生する圧力により推進し得る。液体流は、したがって、試薬および検体および他の成分を、適用領域/空洞/チャンバーから、予め選択したパーツ(b)-(h)の特定の順番を含む連続に輸送する。液体流は、試薬および/または検体が、それらが特定の工程に付されるパーツ、例えば、分離パーツにおけるキャピラリー電気泳動、反応パーツにおける反応、検出パーツにおける検出等に付す、予め選択したパーツに到達したとき、中止し得る。

【0051】

先の段落で記載のような液体、試薬および検体の輸送を伴う本発明の微小流体デバイスを利用する、下記のような分析および調製法は、本発明の別の態様を構成する。

【0052】

マイクロフォーマットは、構造中の少なくとも一つの液体導管がマイクロフォーマット範囲、即ち、 $< 10^3\text{ }\mu\text{m}$ 、好ましくは $< 10^2\text{ }\mu\text{m}$ である深さおよび/または広さを有することを意味する。各マイクロチャネル構造は、平面支持体物質の共通平面に伸びる。加えて、他の方向、主に共通平面に垂直における拡大があり得る。このような他の拡大は、サンプルまたは液体適用領域、または共通平面に位置しない他のマイクロチャネル構造への接続として、例えば、機能し得る。

【0053】

チャネル内の二つの向かい合う壁の間の距離は $\leq 1000\text{ }\mu\text{m}$ 、例えば、 $\leq 100\text{ }\mu\text{m}$ 、または $\leq 10\text{ }\mu\text{m}$ 、例えば $\leq 1\text{ }\mu\text{m}$ でさえある。本構造はまた、チャネルに接続し、 $\leq 500\text{ }\mu\text{l}$ 、例えば $\leq 100\text{ }\mu\text{l}$ 、および $\leq 10\text{ }\mu\text{l}$ 、例えば $\leq 1\text{ }\mu\text{l}$ でさえある容量を有する、1個以上のチャンバーまたは空洞を含み得る。チャンバー/空洞の深さは、典型的に $\leq 1000\text{ }\mu\text{m}$ 、例えば、 $\leq 100\text{ }\mu\text{m}$ 、例えば $\leq 10\text{ }\mu\text{m}$ 、または $\leq 1\text{ }\mu\text{m}$ でさえある。下限は常に使用する試薬の最大量よりも有意に大きい。チャンバーおよびチャネルの下限は、乾

10

20

30

40

50

燥形で送達するデバイスに関しては、 $0.1 - 0.01 \mu\text{m}$ の範囲である。

【0054】

本発明の微量流体デバイスの好ましい異形は、乾燥状態で消費者に届くと考えられる。デバイスのマイクロチャネル構造の表面は、したがって、使用する水性液体を毛管力(自己吸引)により本構造のチャネルの異なる部分に浸透させるのに十分な親水性を有するべきである。

【0055】

セット内の個々のマイクロチャネル構造の間の液体伝達を可能にする導管があり得る。

【0056】

微小流体デバイスにおける物質。

10

本発明に従いコートする表面は、典型的には無機および/または有機物質から成り、好ましくはプラスチックから成る。ダイヤモンド物質および元素炭素の他の形は有機物質なる用語に含まれる。とりわけ適当な無機表面物質は、表面、例えば、金、プラチナ等から成ると記載できる。

【0057】

本発明に従いコートするプラスチックは、炭素-炭素二重結合および/または炭素-炭素三重結合のような不飽和部分を含むモノマーの重合化により得られているものであり得る。

【0058】

モノマーは、例えば、モノ-、ジ-およびポリ/オリゴ不飽和化合物、例えば、ビニル化合物および不飽和を含む他の化合物から選択し得る。説明的モノマーは：

20

(i)アルケン/アルカジエン(エチレン、ブタジエン、プロピレンのようなおよびビニルエーテルのような置換形を含む)、シクロアルケン、ポリフルオロビニルヒドロカーボン(例えば、テトラフルオロエチレン)、アルケン含有酸、エステル、アミド、ニトリル等、例えば、種々のメタクリル/アクリル化合物；および

(ii)所望により例えば低級アルキル基(C1-6)で置換し得るビニルアリアル化合物(モノ-、ジ-およびトリビニルベンゼンのような)等

である。

【0059】

他のタイプのプラスチックは、モノマーがアミノ、ヒドロキシ、カルボキシ等の基から選択される2個以上の基を示す化合物から選択される、縮合ポリマーに基づく。特に強調されるモノマーは、ポリアミノモノマー、ポリカルボキシモノマー(対応する反応性ハライド、エステルおよび無水物を含む)、ポリヒドロキシモノマー、アミノ-カルボキシモノマー、アミノ-ヒドロキシモノマーおよびヒドロキシ-カルボキシモノマーであり、ここでポリは2個、3個またはそれ以上の官能基を意味する。多官能性化合物は、2個に反応性の官能基、例えば、炭酸またはホルムアルデヒドを有する化合物を含む。プラスチックは、典型的にポリカーボネート、ポリアミド、ポリアミン、ポリエーテル等を意図する。ポリエーテルは、シリコンゴムのような対応するシリコンアナログを含む。

30

【0060】

プラスチックのポリマーは架橋形であり得る。

40

プラスチックは、2個以上の異なるポリマー/コポリマーの混合物であり得る。

【0061】

特に興味深いプラスチックは、 $200 - 800 \text{ nm}$ の間の励起波長および $400 - 900 \text{ nm}$ の間の放出波長で非有意な蛍光を有する。非有意な蛍光は、上記の放出波長の間での蛍光強度が対照プラスチック(=蛍光付加物なしのビスフェノールAのポリカーボネート)の蛍光強度の50%未満でなければならないことを意味する。実際、プラスチックの蛍光強度が対照プラスチックの蛍光強度より低い、例えば、 $< 30\%$ または $< 15\%$ 、例えば、 $< 5\%$ または 1% である場合、有害ではない。許容できる蛍光を有する典型的なプラスチックは、シクロアルケン(例えば、ノルボルネンおよび置換ノルボルネン)、エチレン、プロピレン等のような重合可能炭素-炭素二重結合を含む脂肪族モノマーのポリマー、ならび

50

に高純度の他の非芳香族ポリマー、例えば、一定のグレードのポリメチルメタクリレートに基づく。

【 0 0 6 2 】

本発明の好ましい異形において、蛍光に関する同じ限界がまた本発明に従いコートされた後の微小流体構造に適用される。

【 0 0 6 3 】

本発明の微小流体デバイスが使用できる適用。

本発明の微小流体デバイスの主な使用は、分析的および調製化学および生化学システムにおいてである。

【 0 0 6 4 】

本明細書に記載の典型的な分析システムは、主段階として、(a) サンプル調製、(b) アッセイ反応および(c) 検出の1個以上を含む。サンプル調製は、アッセイ反応および/またはある活性または分子そのものの検出に適するようにサンプルを調製することを意味する。これは、例えば、アッセイ反応および/または検出を妨害する物質を除去するか、そうでなければ中和する、物質を増幅するおよび/または誘導体化する等を意味する。典型的な例は、(1) サンプル中の1個以上の核酸配列の、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による増幅、(2) 親和性反応に関与する検体と交差反応する種の除去等である。典型的なアッセイ反応は(i) 細胞が関与する反応、(ii) 親和性反応、例えば、免疫反応、酵素反応、ハイブリダイゼーション/アニーリング等を含む生体特異的(biospecific)親和性、(iii) 沈降反応、(iv) 共有結合の形成または破壊に関与する純粋化学反応等である。検出反応は、蛍光、化学発光法(chemiluminometry)、質量分析、比濁分析、濁度測定等が関与し得る。検出反応は、アッセイ反応の結果の検出および元のサンプルにおける活性の定量的または定性的存在に関する結果の発見の関連を目的とする。化合物の存在それ自体、または単に既知のまたは未知の化合物の活性としてであり得る。システムを診断的目的で使用する場合、検出段階における結果は更にサンプルが由来する個体の医学的状態と相関し得る。適用できる分析システムは、したがって、免疫アッセイ、ハイブリダイゼーションアッセイ、細胞生物学アッセイ、変異検出、ゲノム特徴付け、酵素アッセイ、新規親和性対の発見のためのスクリーニング等を含み得る。タンパク質、核酸、炭水化物、脂質および特別の重要性のある他の生物-有機分子のサンプル含量の分析のための方法も含まれる。

【 0 0 6 5 】

本発明の微小流体デバイスはまた、例えば、固相合成による、合成ペプチドおよびオリゴヌクレオチドライブラリーの調整のための使用も見出されている。いわゆる化合物のコンビナトリアル・ライブラリーの合成も含まれる。

【 0 0 6 6 】

本発明を、原則の証明としての役目を果たす、非限定的実施例を参照して記載する。

【 0 0 6 7 】

実験部分

A . PEG - PEI 付加物のコート

a . PEG - PEI 付加物の合成

0.43 g のポリエチレンジアミン(BASF, GermanyのPolymin SN)を45 mlの50 mM ホウ酸ナトリウム緩衝液(pH 9.5)に45 で溶解した。5 g のモノメトキシポリエチレングリコールのグリシジルエーテル(Mw 5000)を攪拌中に添加し、混合物を3時間45度で攪拌した。

【 0 0 6 8 】

b . 表面処理

窪んだマイクロチャネルパターンを有するポリカーボネートCDディスク(ビスフェノールAのポリカーボネート、Macrolon DP-1265, Bayer AG, Germany)をプラズマリアクター(Plasma Science PS0500, BOC Coating Technology, USA)に置き、酸素プラズマで5 sccm ガス流および500 W RFパワーで10分間処理した。リアクターを排気した後、ディスク

10

20

30

40

50

をホウ酸緩衝液 pH 9.5 中の PEG - PEI 付加物の 0.1 % 溶液に 1 時間浸した。次いで、ディスクを蒸留水で濯ぎ、窒素で通風乾燥し、水接触角(定着性滴)をRame-Hart手動ゴニオメーターベンチで測定した。6 個の並行測定(3 滴)の平均は 24 度であった。処理表面の XPS スペクトルは、以下の元素組成: 73.2 % C、3.7 % N、23.1 % O となり、表面が本質的に吸着 PEG - PEI 付加物でカバーされたことを示した。

【0069】

c. キャピラリーぬらし(wetting)

上記と同じ物質の窪んだマイクロチャンネルパターンを有する他のポリカーボネート CD ディスクを、実施例 2 のように処理した。次いで、それを、マイクロチャンネル上に開いた穴を有するシリコンゴム蓋でカバーした。水滴をマイクロピペットで穴に置いた場合、水は毛管力により吸引され、接近できるチャンネルシステム全体に浸透した。

10

【0070】

d. 表面処理の比較例

a) 上記と同じ物質の窪んだマイクロチャンネルパターンを有するポリカーボネートディスクをフェニルデキストランの 0.5 % 水溶液(置換度: デキストランモノサッカライド単位当たり 0.2、Mw 40000)に 1 時間浸した。水で濯いだ後、ディスクを窒素で通風乾燥させた。水接触角は 30 度であった。シリコンゴム蓋を、チャンネル上に穴を有するディスク上に置いたとき、小滴は本質的にその中に吸引されなかった。蓋の他の穴を通して真空を適用したとき、小滴はしかし吸引により挿入された。

【0071】

b) 上記と同じ物質の窪んだマイクロチャンネルパターンを有するポリカーボネートディスクを、一晩、ポリエチレングリコール“ポリプロピレングリコール”ポリエチレングリコールトリブロックコポリマー(BASFからのPluronic F108)の 1 % 水溶液に浸した。水で濯いだ後、ディスクを窒素で通風乾燥させた。水接触角は 60 度であった。シリコンゴム蓋を、チャンネル上に穴を有するディスク上に置いたとき、小滴は本質的にその中に吸引されなかった。蓋の他の穴を通して真空を適用したとき、小滴はしかし吸引により挿入された。

20

【0072】

B. ポリ(アクリルアミド)コーティング

a) 表面の活性化

酸化シリコンの薄層で蒸発コートさせた PET ホイル(ポリエチレンテレフタレート、Melinex(登録商標), ICI)を蓋として使用した。PET ホイルの酸化シリコン側をエタノールで洗浄し、その後 UV / オゾン(UV O クリーナー、モデルナンバー 144A X-220, Jelight Company, USA)で 5 分間処理した。15 mm Bind シラン(3 - メタクリロールオキシプロピルトリメトキシシラン、Amersham Pharmacia Biotech)、1.25 ml 10 % 酢酸および 5 ml エタノールを混合し、その後ブラシを使用してホイル上に適用した。溶媒の蒸発後、ホイルをエタノールで洗浄し、窒素で通風乾燥させた。水接触角をRame-Hart手動ゴニオメーターで測定した。繰り返した測定の平均は 62 度であった。

30

【0073】

b. 活性化表面へのポリアクリルアミドのグラフティング

8.5 ml の 3 M アクリルアミド水溶液および 1.5 ml の 100 mM Irgacure 184(エチレングリコールに溶解、Ciba-Geigy)を混合した。得られた溶液を石英プレート上に広げ、活性化 PET ホイルを上にした。モノマー溶液を 20 分間、石英プレートを通して UV 照射した。内で、PET ホイルを水で徹底的に洗浄し、繰り返した測定の平均接触角は 17 度であった。

40

【0074】

c. キャピラリーぬらし

マイクロチャンネル構造および二つの穴を有する室温で加硫処理したシリコンゴム(Memosil, Wacker Chemie)の断片を、ポリアクリルアミドグラフトした PET ホイル(蓋)上に置いた(上記 b に従う)。水滴をマイクロピペットで穴に置いたとき、水は毛管力により吸引さ

50

れた。

【 0 0 7 5 】

d . キャピラリーぬらしの比較例

マイクロチャンネル構造および二つの穴を有する室温で加硫処理したシリコンゴム (Memosil , Wacker Chemie) の断片を、ポリアクリルアミドグラフトした P E T ホイル (蓋) 上に置いた (上記 a に従う)。水滴をマイクロピペットで穴に置いたとき、水は毛管力により吸引されなかった。真空を他の穴を通してチャンネルに適用したとき、小滴はチャンネルに吸い込まれた。

フロントページの続き

(72)発明者 アンデッシュ・ラーション

スウェーデン、エス - 1 6 7 7 2 プロマ、タペツェラルヴァーゲン 1 4 番

(72)発明者 ジェイムズ・ヴァン・アルスタイン

スウェーデン、エス - 1 1 2 5 4 ストックホルム、2 テーアル、オッドヴァール・オッズ・ヴァーグ 8 番

審査官 長谷 潮

(56)参考文献 国際公開第 9 7 / 0 2 1 0 9 0 (W O , A 1)

特開 2 0 0 0 - 0 4 6 7 9 7 (J P , A)

国際公開第 9 9 / 2 9 4 2 9 (W O , A 1)

特開 2 0 0 1 - 1 2 4 7 3 7 (J P , A)

国際公開第 9 9 / 5 8 2 4 5 (W O , A 1)

国際公開第 0 1 / 1 4 4 3 7 (W O , A 1)

特表平 6 - 5 0 2 1 5 6 (J P , A)

特表平 6 - 5 0 2 2 0 1 (J P , A)

特表平 5 - 5 0 4 6 2 8 (J P , A)

特開平 3 - 2 2 3 6 7 4 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 35/00-37/00