

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 2 年 3 月 12 日 (2020.3.12)

【公表番号】特表 2019-506902 (P2019-506902A)

【公表日】平成 31 年 3 月 14 日 (2019.3.14)

【年通号数】公開・登録公報 2019-010

【出願番号】特願 2018-559168 (P2018-559168)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/10 Z

C 1 2 M 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 1 月 28 日 (2020.1.28)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) マイクロ流体チップの第 1 のチャンネルに、(i) 第 1 の核酸および第 1 の汚染物質を含む第 1 の試料、(ii) 第 1 の終局イオンを含む第 1 の終局電解質緩衝液であって、前記第 1 の終局イオンの実効移動度の大きさが、前記第 1 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 1 の終局電解質緩衝液、ならびに (iii) 第 1 の先導イオンを含む第 1 の先導電解質緩衝液であって、前記第 1 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 1 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい、第 1 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、

(b) 前記マイクロ流体チップの第 2 のチャンネルに、(i) 第 2 の核酸および第 2 の汚染物質を含む第 2 の試料、(ii) 第 2 の終局イオンを含む第 2 の終局電解質緩衝液であって、前記第 2 の終局イオンの大きさが、前記第 2 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 2 の終局電解質緩衝液、および (iii) 第 2 の先導イオンを含む第 2 の先導電解質緩衝液であって、前記第 2 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 2 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい、第 2 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、ならびに

(c) 前記マイクロ流体チップに連通している第 1 の電気回路を独立して制御して、前記第 1 のチャンネル中で、前記第 1 の終局イオン、前記第 1 の核酸および前記第 1 の先導イオンを用いた等速電気泳動を行い、第 2 の電気回路を独立して制御して、前記第 2 のチャンネル中で、前記第 2 の終局イオン、前記第 2 の核酸および前記第 2 の先導イオンを用いた等速電気泳動を行い、これらにより、前記第 1 の汚染物質から前記第 1 の核酸を、および前記第 2 の汚染物質から前記第 2 の核酸を同時に精製するステップを含む、少なくとも 2 つの異なる試料から核酸を同時に精製する方法。

【請求項 2】

前記第 1 の試料および前記第 2 の試料が、異なる試料タイプである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の核酸および前記第 2 の核酸が、異なるタイプまたは長さの核酸である、請求

項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 の終局電解質緩衝液または前記第 1 の先導電解質緩衝液が、溶解剤または組織破壊剤をさらに含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記溶解剤または前記組織破壊剤が、約 12 よりも大きな pH を有する溶液、プロテイナーゼ、尿素、チオ尿素および界面活性剤からなる群から選択される 1 種または複数の作用剤を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 の試料または前記第 2 の試料が溶解した固形組織、溶解した細胞、固定化細胞、固定化組織または包埋組織を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記第 1 の試料が、前記等速電気泳動を行うステップ中に、前記第 2 の試料と接触しない、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

(d) 前記マイクロ流体チップの第 3 のチャンネルに、(i) 第 3 の核酸および第 3 の汚染物質を含む第 3 の試料、(ii) 第 3 の終局イオンを含む第 3 の終局電解質緩衝液であって、前記第 3 の終局イオンの実効移動度の大きさが、前記第 3 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 3 の終局電解質緩衝液、ならびに(iii) 第 3 の先導イオンを含む第 3 の先導電解質緩衝液であって、前記第 3 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 3 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい第 3 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、ならびに

(e) 前記マイクロ流体チップに連通している第 3 の電気回路を独立して制御して、前記第 3 のチャンネル中、前記第 3 の終局イオン、前記第 3 の核酸および前記第 3 の先導イオンを用いた等速電気泳動を行い、これにより、前記第 1 の汚染物質から前記第 1 の核酸、前記第 2 の汚染物質から前記第 2 の核酸、および前記第 3 の汚染物質から前記第 3 の核酸を同時に精製する、  
をさらに含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 および第 2 の電気が、異なる一式の電極から発生する、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 および第 2 のチャンネルが、独立したセンサーに連結されている、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記独立したセンサーからのフィードバック信号を使用して、前記第 1 および第 2 の電気回路を独立して制御する、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記独立したセンサーが電圧を検出し、前記フィードバック信号を使用して、前記第 1 および第 2 のチャンネル内の電流を制御するか、または前記独立したセンサーが電流を検出し、前記フィードバック信号を使用して、前記第 1 および第 2 のチャンネル内の電圧を制御する、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

各チャンネルは、等速電気泳動を駆動するための一式の専用の電極および電気回路を有する、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記核酸が DNA または RNA を含む、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

(a) i . 第 1 の流体チャンネル、

i i . 第 1 の試料レザーバー、

i i i . 第 1 の緩衝液用レザーバー、および

i v . 第 2 の緩衝液用レザーバー

を含むマイクロ流体チップ中の第 1 の等速電気泳動領域であって、前記第 1 の流体チャンネル、前記第 1 の試料レザーバー、前記第 1 の緩衝液用レザーバーおよび前記第 2 の緩衝液用レザーバーが互いに液体連通している、第 1 の等速電気泳動領域、ならびに

( b ) i . 第 2 の流体チャンネル、

i i . 第 2 の試料レザーバー、

i i i . 前記第 2 の流体チャンネルに流体連結している第 3 の緩衝液用レザーバー、および

i v . 第 4 の緩衝液用レザーバー

を含む前記マイクロ流体チップ中の第 2 の等速電気泳動領域であって、前記第 2 の流体チャンネル、前記第 2 の試料レザーバー、前記第 3 の緩衝液用レザーバーおよび前記第 4 の緩衝液用レザーバーが互いに液体連通している、第 2 の等速電気泳動領域

を含む、マイクロ流体システムであって、

前記第 1 の等速電気泳動領域が、前記第 2 の等速電気泳動領域と液体連通しておらず、前記マイクロ流体システムが、前記第 1 の等速電気泳動領域に電流を印加する第 1 の電気回路と前記第 2 の等速電気泳動領域に電流を印加する第 2 の電気回路とを独立して制御するように構成されている、マイクロ流体システム。

【請求項 16】

第 1 の等速電気泳動ゾーンと第 2 の等速電気泳動ゾーンとの間のリーク速度が、 $1\ \mu\text{L}/\text{時}$ 未満であるか、または前記第 1 の領域と前記第 2 の領域との間のリーク電流が  $1\ \mu\text{A}$  未満である、請求項 15 に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 17】

前記第 1 のチャンネルと前記第 2 のチャンネルとの間の電気インピーダンスが、 $0.1$  メガオームより大きい、請求項 15 または 16 に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 18】

前記第 1 の流体チャンネルが、 $100\ \mu\text{L}$  より多い液体体積を保持する、請求項 15 から 17 のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 19】

前記第 1 の流体チャンネルが、前記第 1 のチャンネルの幅の多くとも 5 分の 1 である距離の分、前記第 2 の流体チャンネルから離されている、請求項 15 から 18 のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 20】

前記マイクロ流体システムが、前記第 2 の電気回路と同時に、かつ前記第 2 の電気回路と独立して、前記第 1 の電気回路を制御するように構成されている、請求項 15 から 19 のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 21】

前記第 1 および第 2 のチャンネルとそれぞれ流体連通している第 1 および第 2 の溶出用レザーバーをさらに含み、温度センサーが前記溶出用レザーバーのそれぞれと最大約  $10\ \text{mm}$  で配置されている、請求項 15 から 20 のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 22】

請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法であって、前記第 1 のチャンネルおよび前記第 2 のチャンネルとそれぞれ流体連通している第 3 のチャンネルおよび第 4 のチャンネルをさらに含み、前記第 3 のチャンネルおよび第 4 のチャンネルはそれぞれ、第 1 の溶出緩衝液および第 2 の溶出緩衝液を含み、前記方法が前記第 1 の電気回路および第 2 の電気回路を独立して制御した後に、前記第 1 の電気回路または第 3 の電気回路に印加して、前記第 3 のチャンネル中で等速電気泳動を行うステップ、および前記第 4 のチャンネル中で、それぞれ前記第 2 の電気回路または第 4 の電気回路に印加するステップをさらに含み、必要に応じて、

前記第 1 の溶出チャンネルの第 1 の排出レザーバーから前記精製済みの第 1 の核酸を含む第 1 の排出溶液を溶出させ、前記第 2 の溶出チャンネルの第 2 の排出レザーバーから前記精製済みの第 2 の核酸を含む第 2 の排出溶液を溶出させるステップをさらに含む、方法。

【請求項 2 3】

前記マイクロ流体システムが、前記第 1 の緩衝液用レザーバーと前記第 1 の溶出用レザーバーとの間で電流を印加する前記第 1 の電気回路、および前記第 2 の緩衝液用レザーバーと前記第 2 の溶出用レザーバーとの間で電流を印加する前記第 2 の電気回路のそれぞれを独立して制御するよう構成される、請求項 2 1 に記載のマイクロ流体システム。

【請求項 2 4】

前記第 1 の流体チャンネルが第 1 の独立したセンサーに連結されており、前記第 2 の流体チャンネルが第 2 の独立したセンサーに連結されている、請求項 1 5 から 2 1 および 2 3 のいずれかに記載のマイクロ流体システム。

【請求項 2 5】

前記第 1 の独立したセンサーからの第 1 のフィードバック信号が、前記第 1 の電気回路を独立して制御するよう構成され、前記第 2 の独立したセンサーからの第 2 のフィードバック信号が、前記第 2 の電気回路を独立して制御するよう使用されており、必要に応じて、( a ) 前記第 1 のフィードバック信号を使用して前記第 1 の流体チャンネル内の電流を独立して制御し、前記第 2 のフィードバック信号を使用して前記第 2 の流体チャンネル内の電流を独立して制御するか、または ( b ) 前記第 1 のフィードバック信号を使用して前記第 1 の流体チャンネル内の電圧を独立して制御し、前記第 2 のフィードバック信号を使用して前記第 2 の流体チャンネル内の電圧を独立して制御する、請求項 2 4 に記載のマイクロ流体システム。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 1】

本発明の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に、詳細に説明されている。本発明の特徴および利点のよりよい理解は、本発明の原理が利用されている例示的な実施形態を説明している以下の詳細説明、および以下の添付の図面を参照することにより得られる。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

( a ) 流体デバイスに

( i ) 溶解した固形組織を含む組織試料であって、前記溶解した固形組織は核酸および汚染物質を含む、組織試料、

( i i ) 前記核酸の実効移動度の大きさよりも小さい大きさを有する実効移動度を有する第 1 の終局電解質イオンを含む終局電解質緩衝液、および

( i i i ) 第 2 の実効移動度を有する第 1 の先導電解質イオンを含む先導電解質緩衝液であって、前記第 2 の実効移動度が、前記核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有する、先導電解質緩衝液を装入するステップ、ならびに

( b ) 前記流体デバイス内に電場を印加して、前記第 1 の終局電解質イオン、前記核酸および前記第 1 の先導電解質イオンを用いた等速電気泳動を行い、これにより、前記組織試料中の前記汚染物質から前記核酸を精製するステップを含む、試料精製方法。

(項目 2)

前記第 1 の終局電解質イオンの前記実効移動度が、前記汚染物質の実効移動度の大きさよりも大きな大きさを有する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記流体デバイスが、マイクロ流体チップであり、前記組織試料、前記終局電解質緩衝液および前記先導電解質緩衝液が、前記マイクロ流体チップの第1のゾーンに装入される、項目1に記載の方法。

(項目4)

前記マイクロ流体チップの前記第1のゾーン中で、(1)包埋材の除去、(2)組織の破壊、(3)細胞の溶解、(4)前記核酸の脱架橋、(5)タンパク質の消化および(6)前記核酸の消化からなる群から選択される少なくとも1つの試料調製手順を、前記組織試料に行うステップをさらに含む、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目5)

前記等速電気泳動が、前記マイクロ流体チップの第2のゾーン中で行われ、前記第2のゾーンは、前記第1のゾーンから離されており、前記第1のゾーンに流体接続されている、項目1から4のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

前記固形組織が固形器官に由来する、項目1から5のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

前記溶解した固形組織が化学固定剤を含む、項目1から6のいずれか一項に記載の方法

。

(項目8)

前記化学固定剤がホルマリンである、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記固形組織がホルマリン固定パラフィン包埋組織(F F P E)である、項目8に記載の方法。

(項目10)

前記溶解した固形組織が尿素またはチオ尿素を含む、項目1から9のいずれか一項に記載の方法。

(項目11)

細胞間結合、細胞外マトリックスまたは結合組織を破壊して、前記溶解した固形組織を得るステップをさらに含む、項目1から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目12)

前記溶解した固形組織が固形粒子を含む、項目1から10のいずれか一項に記載の方法

。

(項目13)

前記核酸が分散したまたは溶媒和した核酸を含む、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目14)

前記汚染物質が、架橋化核酸、包埋材、組織細片、化学固定剤、タンパク質、阻害剤およびそれらの組合せからなる群から選択される、項目1から13のいずれか一項に記載の方法。

(項目15)

前記汚染物質が架橋化核酸を含む、項目1から14のいずれか一項に記載の方法。

(項目16)

前記組織試料が、前記装入するステップ前に、前記終局電解質緩衝液と一緒にされる、項目1から15のいずれか一項に記載の方法。

(項目17)

前記組織試料が、前記装入するステップ前に、前記先導電解質緩衝液と一緒にされる、項目1から16のいずれか一項に記載の方法。

(項目18)

前記先導電解質緩衝液を前記装入するステップが、前記組織試料を前記装入するステップ前に行われる、項目1から17のいずれか一項に記載の方法。

(項目19)

前記固形組織が、前記組織試料を前記装入するステップ前に、前記先導電解質緩衝液において溶解される、項目 1 から 18 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 20)

前記固形組織が、前記組織試料を前記装入するステップ前に、前記終局電解質緩衝液において溶解される、項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 21)

前記試料調製手順が、前記電場を前記印加するステップ前に、少なくとも約 1 分間の期間、少なくとも約 37 の温度で、前記流体デバイス中で前記組織試料をインキュベートすることにより、包埋材を除去するステップを含む、項目 4 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 22)

前記温度が約 40 ～ 約 80 である、項目 21 に記載の方法。

(項目 23)

前記期間が、約 1 分間～約 120 分間である、項目 21 に記載の方法。

(項目 24)

前記試料調製手順が、前記組織試料に機械応力を適用することにより、組織を破壊するステップまたは細胞を溶解するステップを含む、項目 4 から 23 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 25)

前記試料調製手順が、前記組織試料に熱を適用することにより、組織を破壊するステップまたは細胞を溶解するステップを含む、項目 4 から 24 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 26)

前記熱を適用することにより、前記組織試料の温度が約 30 ～ 約 80 の範囲内となる、項目 4 から 25 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 27)

前記試料調製手順が、少なくとも 10 の pH を有する溶液に前記組織試料を接触させる、または前記組織試料をタンパク質分解により消化させることによる、組織を破壊するステップまたは細胞を溶解するステップを含む、項目 4 から 26 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 28)

前記タンパク質分解による消化が、約 25 より高い温度で行われる、項目 27 に記載の方法。

(項目 29)

前記試料調製手順が、前記組織試料に少なくとも 1 つの界面活性剤を適用することにより、組織を破壊するステップまたは細胞を溶解するステップを含む、項目 4 から 28 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 30)

前記試料調製手順が、前記組織試料または細胞試料に尿素を含む溶液を適用することにより、組織を破壊するステップまたは細胞を溶解するステップを含む、項目 4 から 29 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 31)

前記溶液がチオ尿素をさらに含む、項目 30 に記載の方法。

(項目 32)

前記溶液中の前記尿素の濃度が、約 4 M ～ 約 9 M の範囲内にあり、前記溶液中の前記チオ尿素の濃度が、約 0.5 M ～ 約 3.5 M の範囲にある、項目 31 に記載の方法。

(項目 33)

前記溶液中の前記尿素の濃度が、約 6.5 M ～ 約 7.5 M であり、前記溶液中の前記チオ尿素の濃度が、約 1.5 M ～ 約 2.5 M である、項目 31 に記載の方法。

(項目 34)

前記試料調製手順が、プロテイナーゼ K を用いて架橋タンパク質を消化することによ

て、前記核酸を脱架橋するステップを含む、項目4から33のいずれか一項に記載の方法。

(項目35)

前記試料調製手順が、DNアーゼまたはRNアーゼを用いて、前記核酸を消化するステップを含む、項目4から34のいずれか一項に記載の方法。

(項目36)

前記流体デバイスの排出用レザーバーから前記精製済み核酸を含む排出溶液を溶出させるステップをさらに含む、項目1から35のいずれか一項に記載の方法。

(項目37)

前記排出溶液中の前記精製済み核酸の濃度が、前記組織試料中の前記核酸の濃度よりも少なくとも約2倍高い、項目36に記載の方法。

(項目38)

前記排出溶液中の前記組織試料および前記精製済み核酸が架橋化核酸を含み、前記排出溶液中の前記架橋化核酸の濃度が、前記組織試料中の前記架橋化核酸の濃度の多くとも約2分の1である、項目36に記載の方法。

(項目39)

前記汚染物質が、前記組織試料中の前記汚染物質の濃度の多くとも2分の1である濃度で前記排出溶液中に存在する、項目36に記載の方法。

(項目40)

前記第1の終局電解質イオンがカブロン酸を含む、項目1から39のいずれか一項に記載の方法。

(項目41)

前記第1の先導電解質イオンが塩化物イオンを含む、項目1から40のいずれか一項に記載の方法。

(項目42)

前記終局電解質緩衝液が、前記第1の終局電解質イオンとは異なる実効移動度を有する第2の終局電解質イオンを含む、項目1から41のいずれか一項に記載の方法。

(項目43)

前記第2の終局電解質イオンが、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)またはMOPS(3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸)を含む、項目42に記載の方法。

(項目44)

前記第2の終局電解質イオンが、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)を含み、前記第1の終局電解質イオンがカブロン酸を含む、項目42に記載の方法。

(項目45)

前記第2の終局電解質イオンが、MOPS(3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸)を含み、前記第1の終局電解質イオンがカブロン酸を含む、項目42に記載の方法。

(項目46)

前記第2の終局電解質イオンが、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)を含み、前記第1の終局電解質イオンがMOPSを含む、項目42に記載の方法。

(項目47)

前記終局電解質緩衝液が、第2の実効移動度を有する第2の終局電解質イオンを含み、前記第2の実効移動度が、前記汚染物質の前記実効移動度の前記大きさとほぼ同じ大きさ、またはそれより小さい大きさを有する、項目1から46のいずれか一項に記載の方法。

(項目48)

前記流体デバイスに装入された前記組織試料が、少なくとも50 $\mu$ lの体積を有する、項目1から47のいずれか一項に記載の方法。

(項目49)

前記マイクロ流体チップの前記第 1 のゾーン中で、前記組織試料に、第 1 の試料処理手順を行うステップ、および前記マイクロ流体チップの第 2 のゾーン中で、前記組織試料に酵素反応を行うステップをさらに含む、項目 1 から 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0)

前記第 1 の試料処理手順が、包埋材の除去、組織の破壊または細胞溶解を含み、前記酵素反応が、前記核酸の脱架橋、タンパク質の消化または核酸の消化を含む、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 1)

前記第 1 のゾーンおよび前記第 2 のゾーンがそれぞれ、37 より高い温度までそれぞれ加熱される、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 2)

前記第 1 のゾーンが、前記第 1 の試料処理手順の間に、約 60 ～ 100 の温度に加熱され、前記第 2 のゾーンが、40 ～ 60 の温度に加熱される、項目 4 9 に記載の方法。

(項目 5 3)

(a) マイクロ流体チップの第 1 のチャンネルに、(i) 第 1 の核酸および第 1 の汚染物質を含む第 1 の試料、(ii) 第 1 の終局イオンを含む第 1 の終局電解質緩衝液であって、前記第 1 の終局イオンの実効移動度の大きさが、前記第 1 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 1 の終局電解質緩衝液、ならびに(iii) 第 1 の先導イオンを含む第 1 の先導電解質緩衝液であって、前記第 1 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 1 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい、第 1 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、

(b) 前記マイクロ流体チップの第 2 のチャンネルに、(i) 第 2 の核酸および第 2 の汚染物質を含む第 2 の試料、(ii) 第 2 の終局イオンを含む第 2 の終局電解質緩衝液であって、前記第 2 の終局イオンの大きさが、前記第 2 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 2 の終局電解質緩衝液、および(iii) 第 2 の先導イオンを含む第 2 の先導電解質緩衝液であって、前記第 2 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 2 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい、第 2 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、ならびに

(c) 前記マイクロ流体チップ内に第 1 の電場を印加して、前記第 1 のチャンネル中で、前記第 1 の終局イオン、前記第 1 の核酸および前記第 1 の先導イオンを用いた等速電気泳動を行い、第 2 の電場を印加して、前記第 2 のチャンネル中で、前記第 2 の終局イオン、前記第 2 の核酸および前記第 2 の先導イオンを用いた等速電気泳動を行い、これらにより、前記第 1 の汚染物質から前記第 1 の核酸を、および前記第 2 の汚染物質から前記第 2 の核酸を同時に精製するステップ

を含む、少なくとも 2 つの異なる試料から核酸を同時に精製する方法。

(項目 5 4)

前記第 1 の試料および前記第 2 の試料が、異なる試料タイプである、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 5)

前記第 1 の核酸および前記第 2 の核酸が、異なるタイプまたは長さの核酸である、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記第 1 の終局電解質緩衝液または前記第 1 の先導電解質緩衝液が、溶解剤または組織破壊剤をさらに含む、項目 1 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 7)

前記溶解剤または前記組織破壊剤が、約 12 よりも大きな pH を有する溶液、プロテイナーゼ、尿素、チオ尿素および界面活性剤からなる群から選択される 1 種または複数の作用剤を含む、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8)



前記第 1 の試料が溶解した固形組織を含む、項目 5 3 から 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 9)

前記第 2 の試料が溶解した細胞を含む、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

前記第 1 の試料が、前記等速電気泳動を行うステップ中に、前記第 2 の試料と接触しない、項目 5 3 から 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 1)

前記マイクロ流体チップの第 3 のチャンネルに、( i ) 第 3 の核酸および第 3 の汚染物質を含む第 3 の試料、( i i ) 第 3 の終局イオンを含む第 3 の終局電解質緩衝液であって、前記第 3 の終局イオンの実効移動度の大きさが、前記第 3 の核酸の実効移動度の大きさよりも小さい、第 3 の終局電解質緩衝液、ならびに( i i i ) 第 3 の先導イオンを含む第 3 の先導電解質緩衝液であって、前記第 3 の先導イオンの実効移動度の大きさが、前記第 3 の核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きい第 3 の先導電解質緩衝液を装入するステップをさらに含み、前記電場を前記マイクロ流体チップ内に印加して、前記第 3 のチャンネル中、前記第 3 の終局イオン、前記第 3 の核酸および前記第 3 の先導イオンを用いた前記等速電気泳動を行い、これにより、前記第 1 の汚染物質から前記第 1 の核酸、前記第 2 の汚染物質から前記第 2 の核酸、および前記第 3 の汚染物質から前記第 3 の核酸を同時に精製する、項目 5 3 から 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 2)

前記第 1 および第 2 の電場が、単一の電極対から発生する、項目 5 3 から 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 3)

前記第 1 および第 2 の電場が、異なる電極対から発生する、項目 5 3 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 4)

前記第 1 および第 2 のチャンネルが、独立したセンサーに連結されている、項目 6 3 に記載の方法。

(項目 6 5)

前記独立したセンサーからのフィードバックを使用して、前記第 1 および第 2 の電場を独立して制御する、項目 6 4 に記載の方法。

(項目 6 6)

前記独立したセンサーが電圧を検出し、前記フィードバックを使用して、前記第 1 および第 2 のチャンネル内の電流を制御する、項目 6 4 に記載の方法。

(項目 6 7)

前記核酸が D N A を含む、項目 1 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 8)

前記核酸が R N A を含む、項目 1 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 9)

( a ) 流体デバイスに

( i ) 固定化細胞、固定化組織または包埋組織を含む試料であって、核酸を含む試料

、

( i i ) 終局電解質を含む終局電解質緩衝液であって、前記終局電解質が前記核酸よりも低い実効移動度を有する、終局電解質緩衝液、および

( i i i ) 先導電解質を含む先導電解質緩衝液であって、前記先導電解質が前記核酸よりも高い実効移動度を有する、先導電解質緩衝液を装入するステップ、ならびに

( b ) 前記流体デバイスに電場を印加して、前記終局電解質、前記核酸および前記先導電解質を用いた等速電気泳動を行い、これにより、前記試料中の汚染物質から前記核酸を精製するステップ

を含む、試料精製方法。

(項目 7 0)

前記汚染物質が、架橋化核酸、包埋材、化学固定剤、酵素および阻害剤からなる群から選択される、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 1)

前記試料が、前記固定化細胞、前記固定化組織、または前記固定化細胞と前記固定化組織の両方を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 2)

前記試料がホルマリン固定されている、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 3)

前記試料が前記包埋組織を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 4)

前記試料がパラフィンに包埋されている前記組織を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 5)

前記試料がホルマリン固定パラフィン包埋 ( F F P E ) 組織試料である、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 6)

前記試料が組織生検体を含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記試料が切除したホルマリン固定パラフィン包埋 ( F F P E ) 試料である、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 8)

前記核酸の特徴を他の試料に由来する核酸の特徴と比較するステップをさらに含み、前記特徴が、発現レベル、核酸配列、分子量、核酸完全性、核酸純度または核酸の鎖性である、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 9)

前記試料が腫瘍試料である、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記終局電解質緩衝液が、約 7 より大きな pH を有する、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記電場を前記印加するステップの前に、少なくとも約 1 分間の期間、少なくとも約 3 7 の温度で、前記流体デバイス中で前記組織試料をインキュベートするステップをさらに含む、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記温度が約 4 0 ~ 約 8 0 である、項目 8 1 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記期間が、約 1 分間 ~ 約 1 2 0 分間である、項目 8 1 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記先導電解質緩衝液がプロテイナーゼ K を含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記プロテイナーゼ K を使用して、前記核酸からタンパク質架橋を除去するステップをさらに含む、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記電場を前記印加するステップの後に、熱を使用して、前記核酸からタンパク質架橋を除去するステップをさらに含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記流体デバイスの排出用レザーバーから前記精製済み核酸を含む排出溶液を溶出させるステップをさらに含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記排出溶液中の前記精製済み核酸の濃度が、前記組織試料中の前記核酸の濃度よりも少なくとも約 2 倍高い、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記排出溶液中の架橋化核酸の濃度が、前記組織試料中の前記架橋化核酸の濃度の多くとも約 2 分の 1 である、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記排出溶液が、約 5 0  $\mu$  L に等しい体積またはそれ未満の体積を有する、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記組織試料が、少なくとも約 1 n g の質量を有する、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記組織試料が、2 5  $\mu$  L より多い体積を有する、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記終局電解質が、前記汚染物質より高い実効移動度を有する、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記終局電解質が、( i ) 前記汚染物質よりも大きな実効移動度の大きさを有する第 1 のイオン、および ( i i ) 前記汚染物質とほぼ同じ、またはそれより小さな実効移動度の大きさを有する第 2 のイオンを含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記等速電気泳動を行うステップが、前記組織試料の p H を約 7 . 5 までクエンチする、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記装入するステップ前に、前記試料に脱パラフィンを行うステップをさらに含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記核酸の濃度を検出するステップをさらに含む、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 9 8)

前記濃度が、約 1 ピコグラム / マイクロリットル ( p g /  $\mu$  L ) 未満であるか、またはそれに等しい、項目 8 8 に記載の方法。

(項目 9 9)

( a ) 流体デバイスに、

( i ) 溶解した固形組織および核酸を含む組織試料、

( i i ) 第 1 の実効移動度を有する終局電解質イオンを含む終局電解質緩衝液であって、前記第 1 の実効移動度が、前記核酸の実効移動度の大きさよりも小さい大きさを有する、前記終局電解質緩衝液、

( i i i ) 第 1 の先導電解質用レザーバー中の、第 2 の実効移動度を有する第 1 の先導電解質イオンを含む第 1 の先導電解質緩衝液であって、前記第 2 の実効移動度が、前記核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有する、前記第 1 の先導電解質緩衝液、ならびに

( i v ) 第 2 の先導電解質用レザーバー中の、第 3 の実効移動度を有する第 2 の先導電解質イオンを含む第 2 の先導電解質緩衝液であって、前記第 3 の実効移動度が、前記核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有する、前記第 2 の先導電解質緩衝液を装入するステップであって、前記第 1 の先導電解質緩衝液が、前記第 2 の先導電解質緩衝液とは異なる、ステップ

( b ) 前記終局電解質イオン、前記核酸および前記第 1 の先導電解質イオンを用いた第 1 の等速電気泳動を行い、これにより、前記組織試料中の汚染物質から前記核酸を精製するステップ、ならびに

( c ) 前記終局電解質イオン、前記核酸および前記第 2 の先導電解質イオンを用いた第 2 の等速電気泳動を行うステップを含む、試料精製方法。

(項目 1 0 0)

前記第2の等速電気泳動を行うステップが、第1のチャンネルから第2のチャンネルまでの印加電流を変更するステップを含む、項目99に記載の方法。

(項目101)

前記第1の先導電解質イオンが前記第2の先導電解質イオンと同じであり、前記第1の先導電解質緩衝液中の前記第1の先導電解質イオンの濃度が、前記第2の先導電解質緩衝液中の前記第2の先導電解質イオンの濃度とは異なる、項目99または100に記載の方法。

(項目102)

前記第2の実効移動度が、前記第3の実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有する、項目99、100または101に記載の方法。

(項目103)

前記第1の先導電解質イオンが、前記第2の先導電解質イオンとは異なる、項目99から102のいずれか一項に記載の方法。

(項目104)

前記第1の先導電解質イオンが前記第2の先導電解質イオンと同じであり、前記第1の先導電解質緩衝液中の前記第1の先導電解質イオンの濃度が、前記第2の先導電解質緩衝液中の前記第2の先導電解質イオンの濃度と同じであり、前記第1の先導電解質緩衝液が第3の先導電解質イオンを含む、項目99から103のいずれか一項に記載の方法。

(項目105)

前記第1の先導電解質イオンが前記第2の先導電解質イオンと同じであり、前記第1の先導電解質緩衝液中の前記第1の先導電解質イオンの濃度が、前記第2の先導電解質緩衝液中の前記第2の先導電解質イオンの濃度と同じであり、前記第2の先導電解質緩衝液が第3の先導電解質イオンを含む、項目99から104のいずれか一項に記載の方法。

(項目106)

前記第2の先導電解質用レザーバー中の前記核酸を収集するステップ、および前記第2の先導電解質用レザーバーから前記核酸を除去するステップをさらに含む、項目99から105のいずれか一項に記載の方法。

(項目107)

前記第1の等速電気泳動を行うステップおよび前記第2の等速電気泳動を行うステップが、単一の電場を印加することにより行われる、項目99から106のいずれか一項に記載の方法。

(項目108)

前記第1の等速電気泳動を行うステップおよび前記第2の等速電気泳動を行うステップが、1つより多い電場を印加することにより行われる、項目99から107のいずれか一項に記載の方法。

(項目109)

前記第2の先導電解質緩衝液中の前記第2の先導電解質イオンの濃度が、50mM未満である、項目99から108のいずれか一項に記載の方法。

(項目110)

前記第2の先導電解質緩衝液が、50mM Tris HClを含む、項目99から108のいずれか一項に記載の方法。

(項目111)

(a) i . 第1の流体チャンネルと流体連通している第1の試料用レザーバー、

i i . 前記第1の流体チャンネルと流体連通している第1の緩衝液用レザーバー、および

i i i . 前記第1のチャンネルと流体連通している第2の緩衝液用レザーバーを含むマイクロ流体チップ中の第1の等速電気泳動領域、ならびに

(b) i . 第2の流体チャンネルと流体連通している第2の試料用レザーバー、

i i . 前記第2の流体チャンネルと流体連通している第3の緩衝液用レザーバー、および

i i i . 前記第 2 のチャンネルと流体連通している第 4 の緩衝液用レザーバーを含む前記マイクロ流体チップ中の第 2 の等速電気泳動領域を含む、マイクロ流体デバイスであって、

前記第 1 の等速電気泳動領域が、前記第 2 の等速電気泳動領域と流体連通しておらず、前記マイクロ流体デバイスが、前記第 1 の等速電気泳動領域に電流を印加する第 1 の電気回路と前記第 2 の等速電気泳動領域に電流を印加する第 2 の電気回路とを独立して制御するよう構成されている、マイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 2)

第 1 の等速電気泳動ゾーンと第 2 の等速電気泳動ゾーンとの間のリーク速度が、 $1 \mu\text{l}$  / 時未満である、項目 1 1 1 に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 3)

前記第 1 の領域と前記第 2 の領域との間のリーク電流が  $1 \mu\text{A}$  未満である、項目 1 1 1 または 1 1 2 に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 4)

インピーダンスが、1メガオームより大きい、項目 1 1 1、1 1 2 または 1 1 3 に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 5)

前記第 1 の流体チャンネルが、 $100 \mu\text{l}$  より多い液体体積を保持する、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 6)

前記第 1 の流体チャンネルが、前記第 1 のチャンネルの幅の多くとも 5 分の 1 である距離の分、前記第 2 の流体チャンネルから離されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 7)

前記マイクロ流体デバイスが、前記第 2 の電気回路と同時に、かつ前記第 2 の電気回路と独立して、前記第 1 の電気回路を制御するよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 8)

前記第 1 のチャンネルと流体連通している溶出用レザーバーをさらに含み、温度センサーが前記溶出用レザーバーの 5 mm 以内に配置されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 1 9)

( a ) チャンネルと流体連通している試料投入用レザーバーを含む界面動電流体デバイスを用意するステップ、

( b ) 前記試料投入用レザーバーに試料体積を装入するステップ、

( c ) 前記試料投入用レザーバーに追加体積分を添加することなく、前記試料体積の少なくとも 50 % を前記試料投入用レザーバーから前記チャンネルに移動させるステップ、および

( d ) 前記チャンネルを介してイオン電流を印加するステップを含む、方法。

(項目 1 2 0)

前記移動させるステップが、重力を利用して行われる、項目 1 1 9 に記載の方法。

(項目 1 2 1)

前記イオン電流が前記チャンネルを実質的に通らない、項目 1 1 9 または 1 2 0 に記載の方法。

(項目 1 2 2)

前記試料体積の前記少なくとも 50 % が、前記試料体積の少なくとも 80 % を含む、項目 1 1 9、1 2 0 または 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

前記試料体積が核酸を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 4)

前記試料体積が、組織試料またはホルマリン固定パラフィン包埋 ( F F P E ) 試料を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 5)

前記イオン電流を印加するステップが、等速電気泳動を行うことを含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 6)

前記試料投入用レザーバーに装入される試料体積の合計が、前記投入用レザーバーの内部体積未満であるか、またはそれに等しい、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 7)

前記試料投入用レザーバーが、テーパ型領域を介して底部領域に接続された上部領域を含み、前記上部領域が第 1 の直径を有しており、前記底部領域が第 2 の直径を有しており、前記第 1 の直径が前記第 2 の直径よりも少なくとも 2 倍長いことにより、前記試料投入用レザーバーから前記チャンネルに前記試料体積の少なくとも 5 0 % を前記移動させるステップが円滑化される、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 8)

前記試料投入用レザーバーに装入される前記試料体積が少なくとも  $25 \mu\text{l}$  である、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 9)

第 1 の試料投入用レザーバーであって、テーパ型領域を介して底部領域に接続されている上部領域を含み、前記上部領域は第 1 の水力内径を有し、前記底部領域は第 2 の水力内径を有し、前記第 1 の水力内径は、前記第 2 の水力内径よりも少なくとも 2 倍大きく、前記第 1 の試料投入用レザーバーは、第 1 のチャンネルと流体連通している、第 1 の試料投入用レザーバー、

前記第 1 のチャンネルと流体連通している第 1 の緩衝液用レザーバーであって、前記第 1 の試料用レザーバー中の液体の自由表面が前記第 1 の緩衝液用レザーバー中の液体に対して無視できる程の緩衝液ヘッド高差を有するよう、前記第 1 の試料用レザーバーが構成されている、第 1 の緩衝液用レザーバー、および

前記第 1 のチャンネルと流体連通している第 2 の緩衝液用レザーバーを含む、マイクロ流体チップ。

(項目 1 3 0)

前記第 1 の水力内径が、約  $1 \text{ mm}$  ~ 約  $1.5 \text{ mm}$  の範囲内である、項目 1 2 9 に記載のマイクロ流体チップ。

(項目 1 3 1)

前記第 2 の水力内径が、約  $0.5 \text{ mm}$  ~ 約  $5 \text{ mm}$  の範囲である、項目 1 2 9 または項目 1 3 0 に記載のマイクロ流体チップ。

(項目 1 3 2)

前記第 1 の試料用レザーバーが、少なくとも  $100 \mu\text{l}$  の試料体積を保持するよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体チップ。

(項目 1 3 3)

真空が前記マイクロ流体チップに適用されると、前記第 1 の試料用レザーバーから前記第 1 のチャンネルに前記試料体積の少なくとも 5 0 % が移動するよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体チップ。

(項目 1 3 4)

前記第 1 のチャンネルに入る試料に等速電気泳動を行うよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体チップ。

(項目 1 3 5)

( a ) 細胞または組織を含む生物学的試料を、尿素またはチオ尿素を含む溶液に曝露させて、これにより、前記生物学的試料中の前記細胞または組織を溶解して、細胞溶解物を生成するステップ、

(b) デバイスに前記細胞溶解物を導入するステップ、および

(c) 前記デバイスを用いて等速電気泳動を行って、前記細胞溶解物から核酸を単離するステップ

を含む、核酸を抽出する方法。

(項目 1 3 6)

プロテイナーゼ K により前記試料を消化するステップをさらに含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 7)

前記溶液が、尿素およびチオ尿素を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 8)

前記溶液が、約 2 対 1 の尿素対チオ尿素の比を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 9)

前記溶液中の前記尿素の濃度が、約 4 M ~ 約 9 M であり、前記溶液中の前記チオ尿素の濃度が、約 0.5 M ~ 約 3.5 M である、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 0)

前記溶液中の前記尿素の濃度が、約 6.5 M ~ 約 7.5 M であり、前記溶液中の前記チオ尿素の濃度が、約 1.5 M ~ 約 2.5 M である、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 1)

前記溶液が、終局電解質イオンもしくは先導電解質イオン、または終局電解質イオンと先導電解質イオンの両方を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 2)

組織試料から高分子量核酸を精製する方法であって、

(a) 流体デバイスに、

(i) ゲノム DNA および汚染物質を含む細胞試料であって、前記流体デバイスに前記細胞試料を装入する前または後に、前記細胞試料を溶解緩衝液に接触させる、前記細胞試料、

(i i) 第 1 の実効移動度を有する終局電解質イオンを含む、終局電解質緩衝液であって、前記第 1 の実効移動度が、前記高分子量核酸の実効移動度の大きさよりも小さい大きさを有し、かつ前記汚染物質の大きさよりも大きな大きさを有する前記終局電解質緩衝液、ならびに

(i i i) 第 2 の実効移動度を有する第 1 の先導電解質イオンを含む、第 1 の先導電解質緩衝液であって、前記第 2 の実効移動度は、前記高分子量核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有する、第 1 の先導電解質緩衝液を装入するステップ、

(b) 前記終局電解質イオン、前記高分子量核酸および前記第 1 の先導電解質イオンを用いた等速電気泳動を行い、これにより前記汚染物質から前記高分子量核酸を分離し、等速電気泳動ゾーン中に前記高分子量核酸を富化させるステップ、ならびに

(c) 排出用レザーバー中の溶液に前記ゲノム DNA を溶出させるステップであって、前記溶液中の核酸の質量の 50 % を超える量が、30 キロベースよりも大きい、ステップを含む、方法。

(項目 1 4 3)

前記溶解緩衝液が、アルカリ緩衝液を含まない、項目 1 4 2 に記載の方法。

(項目 1 4 4)

前記溶解緩衝液が、オクチルフェノールエトキシレートを含む、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 5)

前記溶液中の核酸の質量の 50 % を超える量が、50 キロベースよりも大きい、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 6)

( a ) 溶解した固形組織を含む組織試料を含む試料投入用レザーバー、第 1 の先導電解質緩衝液を含む第 1 の緩衝液用レザーバー、及び終局電解質緩衝液を含む第 2 の緩衝液用レザーバーと流体連通している第 1 のチャンネルを含む流体デバイスを用意するステップ、

( b ) 第 1 の電極を前記第 1 の緩衝液用レザーバー中の前記第 1 の先導電解質緩衝液に接触させるステップ、

( c ) 第 2 の電極を前記第 2 の緩衝液用レザーバー中の前記終局電解質緩衝液に接触させるステップ、および

( d ) 前記流体デバイス内に電場を印加して、等速電気泳動を行うステップであって、前記組織試料と前記第 1 および第 2 の電極との間の直接接触なしに前記等速電気泳動を行う、ステップ

を含む、等速電気泳動を行う方法。

(項目 1 4 7)

前記流体デバイスが、前記第 1 のチャンネルおよび前記第 1 の緩衝液用レザーバーと流体連通している第 3 の緩衝液用レザーバーをさらに含み、前記第 3 の緩衝液用レザーバーが、前記第 1 の緩衝液用レザーバーよりも低い濃度の前記第 1 の先導電解質緩衝液を含む、項目 1 4 6 に記載の方法。

(項目 1 4 8)

前記第 3 の緩衝液用レザーバーおよび前記第 1 の緩衝液用レザーバーを、1 つまたは複数のキャピラリーバリアを含む第 2 のチャンネルによって接続して、前記第 2 のチャンネル内の圧力駆動流、および記第 3 の緩衝液用レザーバーと前記第 1 の緩衝液用レザーバーとの間の圧力駆動流を制限する、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 9)

前記流体デバイスが溶出用レザーバーをさらに含み、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 0)

前記溶出用レザーバーが、第 4 の緩衝液用レザーバーと流体連通している、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 1)

( a ) 第 1 のチャンネル、および前記第 1 のチャンネルと流体連通している第 1 のレザーバーを含むマイクロ流体チップであって、前記第 1 のチャンネルおよび前記第 1 のレザーバーが、第 1 の合流点で出会う、マイクロ流体チップ、および

( b ) 第 1 の歯を含む機械部材であって、前記第 1 の歯を介して、前記第 1 のチャンネルに機械圧力をかけて、前記第 1 のチャンネルの少なくとも 1 つの壁の可塑的変形によって前記第 1 のチャンネルを少なくとも一部閉鎖するように、および前記第 1 のチャンネルと前記第 1 のレザーバーとの間の流体抵抗を増大するように構成されている、前記機械部材を含む、マイクロ流体システム。

(項目 1 5 2)

前記マイクロ流体チップが、前記第 1 のレザーバーと流体連通している第 2 のレザーバー、および前記第 1 のレザーバーと前記第 2 のレザーバーを接続している第 2 のチャンネルをさらに含み、前記機械部材が、前記第 2 のチャンネルに機械圧力をかけて前記第 2 のチャンネルを可塑的に閉鎖するように、および前記第 1 のレザーバーと前記第 2 のレザーバーとの間の流体連通を防止するように構成されている第 2 の歯をさらに含む、項目 1 5 1 に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 3)

前記第 1 の歯が、前記第 1 の合流点に機械的圧力をもたらして、前記第 1 のチャンネルの少なくとも 1 つの壁の可塑的変形によって前記第 1 のチャンネルを閉鎖するように構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 4)

前記第 1 の歯が、前記第 1 のチャンネルを加熱するよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。



(項目 1 5 5)

前記機械部材が、前記第 1 のチャンネルのヤング弾性率より大きなヤング弾性率を有する材料を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 6)

等速電気泳動を行うよう構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 7)

前記第 1 の歯が、加熱素子と熱的に連結されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 8)

前記第 1 の歯が、前記第 1 のチャンネルの前記少なくとも 1 つの壁のガラス転移温度より高い温度に加熱される、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体システム。

(項目 1 5 9)

項目 1 5 1 に記載の前記マイクロ流体システムを使用して、可塑的変形により、前記第 1 のチャンネルを少なくとも一部閉鎖し、これにより、前記第 1 のチャンネルと前記第 1 のレザーバーとの間の流体流動に対する抵抗を増大させるステップを含む、流体システムにおけるプロセスを完了する方法。

(項目 1 6 0)

前記機械部材の前記第 1 の歯が、前記第 1 のチャンネルに少なくとも 0 . 2 5 1 b の力を加える、項目 1 5 9 に記載の方法。

(項目 1 6 1)

前記流体システムにおける前記プロセスが、等速電気泳動である、項目 1 5 9 に記載の方法。

(項目 1 6 2)

( a ) マイクロ流体チップの第 1 のレザーバーに核酸を含む試料を装入するステップ、  
( b ) 前記マイクロ流体チップの第 2 のレザーバーに終局電解質緩衝液を装入するステップであって、前記終局電解質緩衝液は、前記核酸の実効移動度の大きさよりも小さい大きさを有する実効移動度を有する第 1 の終局電解質イオンを含む、ステップ、

( c ) 前記マイクロ流体チップの第 3 のレザーバーに先導電解質緩衝液を装入するステップであって、前記第 3 のレザーバーは、第 2 の実効移動度を有する第 1 の先導電解質イオンを含み、前記第 2 の実効移動度が、前記核酸の前記実効移動度の前記大きさよりも大きな大きさを有するステップ、

( d ) 前記マイクロ流体チップ内に電場を印加して、前記第 1 の終局電解質イオン、前記核酸および前記第 1 の先導電解質イオンを用いた等速電気泳動を行い、これにより、前記核酸またはその一部を等速電気泳動ゾーンに閉じ込めるステップ、および

( e ) 前記等速電気泳動ゾーン中またはその近傍の温度変化を感知するために温度センサーを使用するステップであって、前記温度センサーからのフィードバックを使用して、前記電場を制御するステップ

を含む、核酸を含む試料に等速電気泳動を行う方法。

(項目 1 6 3)

前記電場の前記制御により、溶出用レザーバー中、または前記マイクロ流体チップの領域中に、前記核酸またはその一部が位置することになる、項目 1 6 2 に記載の方法。

(項目 1 6 4)

前記温度センサーが、前記溶出用レザーバーの多くとも 8 m m 以内に配置される、項目 1 6 2 または 1 6 3 に記載の方法。

(項目 1 6 5)

前記温度変化が約 0 . 2 ~ 5 の範囲内にある、項目 1 6 2 、 1 6 3 または 1 6 4 に記載の方法。

(項目 1 6 6)

前記印加された電場が、前記先導電解質および前記終局電解質が、等速電気泳動界面で

出会い、前記温度センサーが、前記等速電気泳動界面を感知する、先行する項目のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6 7)

( a ) i . 第 1 の流体チャネルと流体連通している第 1 の試料用レザーバー

i i . 前記第 1 の流体チャネルと流体連通している第 1、第 2 および第 3 の緩衝液用レザーバーであって、前記第 1 および第 2 の緩衝液用レザーバーがキャピラリーバリアによって離されている、第 1、第 2 および第 3 の緩衝液用レザーバー、ならびに

i i i . 前記第 1 の流体チャネルと流体連通している溶出用レザーバーを含む、マイクロ流体チップ中の第 1 の等速電気泳動領域、

( b ) 前記第 1 の等速電気泳動領域内の前記第 1 の流体チャネルにおける、温度変化を検出するよう構成されているセンサー、ならびに

( c ) 前記第 1 の等速電気泳動領域内の前記第 1 のチャネル内に電流を供給するよう置かれている装置

を含む、マイクロ流体デバイス。

(項目 1 6 8)

前記センサーが熱的信号を受信すると、前記電流の低下または解除を作動するよう構成されている制御装置をさらに含む、項目 1 6 7 に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 6 9)

前記温度変化が、約 0 . 2 ~ 5 の範囲内の温度上昇である、項目 1 6 7 または 1 6 8 に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 7 0)

前記センサーが温度の変化を検出した後に、前記溶出用レザーバー中の核酸の試料を単離するようさらに構成されている、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 7 1)

前記核酸の前記感知が、前記溶出用レザーバーの多くとも 8 mm 以内に配置されているセンサーにより行われる、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 7 2)

前記第 1 のチャネルが、単一センサーを含む、先行する項目のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

(項目 1 7 3)

( a ) 項目 1 1 1 に記載の前記マイクロ流体デバイス、項目 1 6 7 に記載の前記マイクロ流体デバイスまたは項目 1 2 9 に記載の前記マイクロ流体チップ、

( b ) 終局電解質を含む終局電解質緩衝液、および

( c ) 先導電解質を含む先導電解質緩衝液を含むキット。

(項目 1 7 4)

前記終局電解質緩衝液が、異なる実効移動度を有する少なくとも 2 つの電解質の混合物を含む、項目 1 7 3 に記載のキット。

(項目 1 7 5)

前記混合物が、( i ) 核酸よりも小さい実効移動度の大きさ、かつ汚染物質よりも大きい実効移動度の大きさを有する第 1 の電解質、および ( i i ) 前記汚染物質よりも小さい実効移動度の大きさを有する第 2 の電解質を含む、項目 1 7 4 に記載のキット。

(項目 1 7 6)

前記第 1 の電解質がカブロン酸を含む、項目 1 7 5 に記載のキット。

(項目 1 7 7)

前記第 2 の電解質が H E P E S ( 4 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) - 1 - ピペラジンエタンスルホン酸 ) を含む、項目 1 7 5 または 1 7 6 に記載のキット。

(項目 1 7 8)

試料用緩衝液をさらに含み、前記試料用緩衝液が、先導電解質緩衝液、終局電解質緩衝

液または尿素を任意の組合せで含む、項目 1 7 5 から 1 7 7 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 1 7 9)

尿素およびチオ尿素を含む試料用緩衝液をさらに含む、項目 1 7 8 に記載のキット。