

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-531456

(P2010-531456A)

(43) 公表日 平成22年9月24日(2010.9.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 A	2 G 0 5 8
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 1	3 C 0 8 1
B 8 1 B 1/00 (2006.01)	B 8 1 B 1/00	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2010-514651 (P2010-514651)
 (86) (22) 出願日 平成20年7月23日 (2008.7.23)
 (85) 翻訳文提出日 平成21年12月28日 (2009.12.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2008/004315
 (87) 国際公開番号 W02009/014380
 (87) 国際公開日 平成21年1月29日 (2009.1.29)
 (31) 優先権主張番号 10-2007-0073657
 (32) 優先日 平成19年7月23日 (2007.7.23)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(71) 出願人 506388989
 デジタル バイオテクノロジー カンパ
 ー リミテッド
 大韓民国、151-742 ソウル、カヌ
 ワック、シンリムードン、サン 56-
 1、ソウル ナショナル ユニバーシティ
 、インスティテュート オブ アドバンス
 ト マシーナリー、304
 (74) 代理人 100070150
 弁理士 伊東 忠彦
 (74) 代理人 100091214
 弁理士 大貫 進介
 (74) 代理人 100107766
 弁理士 伊東 忠重

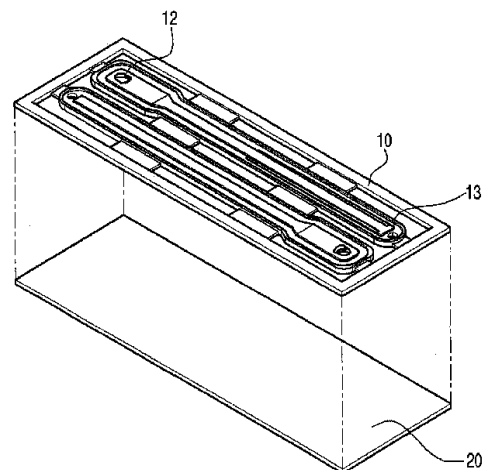
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 流体における検体を検出するためのモジュール及び該モジュールを有するチップ

(57) 【要約】

本発明は、流体における検体を高い有効性で迅速に検出するためのモジュール及びそのモジュールを有するチップを開示する。モジュールは、マイクロチャンネルを含み、該マイクロチャンネルは、ノイズ物質を取り除くためのフィルター・ゾーン及び検体の検出のラベリング反応及び固定化反応が実施される反応ゾーンを有し、サンプル流体は、毛細血管の浮遊によってマイクロチャンネルの中を移動している。流体における検体を検出するために、モジュールを有するチップが使用される場合、高い容積比が実行されるように、サンプル流体の死容積を最小限にすることが可能である。従って、そのチップは、最小限の量のサンプル流体から検体を検出することにおいて使用できる。

FIG. 3



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

流体における検体を検出するためのモジュールであり：

サンプル流体を注入するためのサンプル注入部分；

ノイズ物質を除去するためのフィルター・ゾーン；

検体の検出をするための反応が実施される反応ゾーン；

を含み、

前記フィルター・ゾーン及び前記反応ゾーンは、閉鎖されたマイクロチャンネルに含まれ、サンプル流体が毛細血管の浮遊によってその中を移動する、ことを特徴とするモジュール。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載されたモジュールであり、前記マイクロチャンネルの高さが h 以上及び H 未満であり、該マイクロチャンネルの幅は、 $2H$ 以上及び L 未満であり、高さ h は、前記流体において存在している検体が、該マイクロチャンネルの中を通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、高さ H は、前記流体において存在しているノイズ物質が、該マイクロチャンネルの中を通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、幅 L は、基質の幅である、モジュール。

【請求項 3】

流体における検体を検出するためのチップであり：

該チップの外へ伸びるサンプル注入口；及び

該チップの外へ伸びるサンプル排出口；

を含み、

前記サンプル注入口及び前記サンプル排出口が、請求項 1 又は 2 に記載されたモジュールを通して互いに連絡する、ことを特徴とするチップ。

20

【請求項 4】

前記サンプル注入口及び前記サンプル排出口が、複数のモジュールを通して互いに連絡する、請求項 3 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 5】

前記マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する拡大された内側の空間を有し、複数のマイクロチャンネルの間に形成された中央チャンネルをさらに含む、請求項 3 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

30

【請求項 6】

前記マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する拡大された内側の空間を有し、複数のマイクロチャンネルの間に形成された中央チャンネルをさらに含む、請求項 4 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 7】

マイクロチャンネルの高さよりも高い高さ及び該マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する、貯留層としてのサンプル注入部分が前記サンプル注入口の下端部に含まれている、請求項 3 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 8】

マイクロチャンネルの高さよりも高い高さ及び該マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する、貯留層としてのサンプル注入部分が前記サンプル注入口の下端部に含まれている、請求項 4 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

40

【請求項 9】

マイクロチャンネルの高さよりも高い高さ及び該マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する、貯留層としてのサンプル注入部分が前記サンプル注入口の下端部に含まれている、請求項 5 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 10】

マイクロチャンネルの高さよりも高い高さ及び該マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する、貯留層としてのサンプル注入部分が前記サンプル注入口の下端部に

50

含まれている、請求項 6 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 1 1】

前記サンプル流体が血液サンプルであり、請求項 3 乃至 5 のいずれか 1 項に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 1 2】

前記モジュールのマイクロチャンネルの高さが 1 乃至 30 μm であり、100 μl 未満の全血が使用される、請求項 1 1 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 1 3】

前記マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する拡大された空間を有する拡大する部分が、前記モジュールのマイクロチャンネルの両側の各内側壁の 1 部分又は全ての部分で形成される、請求項 1 乃至 2 のいずれか 1 項に記載された、流体における検体を検出するためのモジュール。

10

【請求項 1 4】

前記マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する拡大された空間を有する拡大する部分が、前記モジュールのマイクロチャンネルの両側の各内側壁の 1 部分又は全ての部分で形成される、請求項 3 乃至 1 0 のいずれか 1 項に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

【請求項 1 5】

前記マイクロチャンネルの断面積よりも大きい断面積を有する拡大された空間を有する拡大する部分が、前記モジュールのマイクロチャンネルの両側の各内側壁の 1 部分又は全ての部分で形成される、請求項 1 2 に記載された、流体における検体を検出するためのチップ。

20

【請求項 1 6】

流体における検体を検出するためのシステムであり：

サンプル流体を注入するためのサンプル注入部分を含む、流体における検体を検出するためのモジュール；

ノイズ物質を除去するためのフィルター・ゾーン；及び

検体の検出をするための反応が実施される反応ゾーン；

を含み、

該フィルター・ゾーン及び該反応ゾーンは、閉鎖されたマイクロチャンネルにおいて含まれ、サンプル流体が毛細血管の浮遊によってその中を移動し、

30

前記モジュールのマイクロチャンネルの高さは h 以上及び H 未満であり、該マイクロチャンネルの幅は $2H$ 以上及び L 未満であり、高さ h は、流体において存在する検体が、該マイクロチャンネルを通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、高さ H は、流体において存在するノイズ物質が、該マイクロチャンネルを通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、 L は、基質の幅であり、

前記サンプル流体の有効容積比は 50% 以上である、

ことを特徴とするシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

本発明は、流体における検体を検出するためのモジュール及び該モジュールを有するチップに関し、さらに具体的には、毛細血管の浮遊によってマイクロチャンネルの中を移動する流体における検体を、高い効率で迅速に検出するためのモジュールに関する。

【背景技術】

【0002】

ラボオンチップ (lab-on-a-chip) とは、例えば、サンプルの分離、精製、混合、ラベリング、分析、及び洗浄などの、実験室で実施される様々な試験処理が実施される小さなサイズのチップである。また、マイクロ流体工学及びマイクロLHSに関連する技術は、通常、そのラボオンチップを設計する際に使用される。また、マイクロ流体工学及びマイク

50

口LHSを実施するチップ構造の製造において、半導体回路設計技術を使用することによって内部にマイクロチャンネルが形成されるチップが、市場に出されている。例えば、マイクロアレイ・チップにおいて、検出される物質及び反応される深針（例えば、たんぱく質又はDNA）は、所定の間隔で基質上に粘着され、それらに結合される物質が検出される。従って、マイクロアレイ・チップは、異状又は病気の診断に使用される。たんぱく質が配置されているチップは、マイクロアレイたんぱく質チップであり、DNAが配置されているチップは、マイクロDNAチップである。例えば、たんぱく質、抗体などの血液において存在する検体は、ごく少量で存在する。従って、基質上に配列された深針の集積度を増やすことによって検出効率を上げる試みが、持続的に実施されている。結果として、深針の集積をナノレベルで増やすナノアレイ・チップが報告されている。

10

【0003】

一般に、サンプル流体の分析は、通常、患者から収集される血液及び体液を分析するため及び該分析を通して病気を診断するために使用されており、化学及び生物学の分野においても使用されている。そのように、血液、体液、尿などのサンプル流体に含まれる検体をごく少量で検出し、分析することは、サンプル流体が、抗原、抗体などのたんぱく質、DNA/RNA、受容体、又はチップ上に以前固定化されている他の物質に対して反応するかどうかを分析することを含む。それは、サンプル流体が、チップの内部で形成されたパイプ状構造を有するチャンネルの中を移動する間に、蛍光物質などの光学的手段又は電気的手段を使用した信号の検出を通して実施される。サンプル流体の分析において、バイオチップ、及びラボオンチップにおいても、サンプルを非常に小さい量で分析することは、かなり重要である。

20

【0004】

一般に、サンプル流体を分析するためのラボオンチップは：チップにサンプル流体を供給するためのサンプル注入部分；流体における検体を除いたノイズ物質を除去するために、紙のフィルターを使用したフィルター・ゾーン；検体と検出信号発生物質（例えば、蛍光物質）との間の結合が実施され、その検出信号発生物質に結合された検体と、特にその検体に反応する基質の上に固定化された物質との間の反応が実施される、反応ゾーン；及び血液、尿、体液におけるたんぱく質などの検体を、チップを使用することによって検出し、接続された検出装置を通して検出信号を検出するための検出ゾーン；を含む。

30

【0005】

全血は血漿（46 - 63%）及び赤血球（ドーナツ形状であり、直径：7 - 8 μm / 厚さ：2 μm ）を有する血球（37 - 54%）、白血球（不定形の球状であり、直径：1 - 3 μm ）、及び血小板（直径：1 - 3 μm ）を含む。血漿及び血球に加えて、トラブル及び病気の診断に使用される様々な種類の検体（例えば、たんぱく質、抗原及び抗体、配位子、受容体など）が、血液に存在する。従って、全血からトラブル及び病気に関する検体を検出するための様々な方法及び装置が、開発されている。一方、極端に少ない量の血球、移行上皮細胞（直径：20 - 40 μm ）、及び扁平上皮細胞（直径：40 - 60 μm ）が、尿に含まれている。

【0006】

血液の分析において、ラボオンチップを使用して、クリニックで収集された最終の血液（end blood）から様々な情報を迅速に得るための研究が、最近進歩してきている。結果として、ラピッド・チップ（rapid-chip）及びラピッド・キット（rapid-kit）が開発された。図1に表わされるように、Armkel, LLC Corpによって出願された特許文献1において開示されているキットは、血液サンプルが希釈され、多孔質膜が使用されるフィルター処理を、根本的な処理として含む。反応ゾーンにおいて、検体と指標との間の、検体が指標（例えば、蛍光物質）によってラベリングされることを可能にするような接合、指標と深針との間の結合、及び洗浄が膜の中において実施される。このキットは、希釈血液サンプルを使用するため、低ヘマトクリット値により比較的高い有効容積比を提供する。しかし、そのキットは、定量分析に適しなく、希釈などの前処理が、検体を迅速に検出することを難しくする（表1参照）。

40

【0007】

50

【表 1】

表 1

	容積 (μl)
特徴	定性/半定量分析
1.サンプリング	>100
2.フィルタリング	18
3.ラベリング (接合)	8
4.結合反応	10.2
5.洗浄	23.8
6.有効容積比(3+4+5)/1	<42%

10

フィルタリング(2)は、チップにおける前処理ユニットで実施され、ラベリング(3)、結合反応(4)、及び洗浄(5)は、反応ゾーンにおいて実施される。

【0008】

20

一方、Biosite corpによって出願された米国特許第6905882号(特許文献2)は、流体の速度がマイクロチャンネル及び基質(親水性/疎水性)の物質を通して制御され、既知の多孔質膜に結合されて使用されるチップを開示している。それは、サンプル注入部分及び反応ゾーンにおける流体の動作速度は、選択的にマイクロチャンネル又は基質の物質(親水性/疎水性)を使用することによって制御されることを示している。また、Biosite corpによって発明されたチップは、膜の代わりに、流体のチャンネルにおいて実施される反応ゾーンを有する。従って、指標と検体との間の全ての接合、検体と指標との間の反応、及び洗浄は、マイクロチャンネルの中において実施される(表2参照)。このチップが血液分析において使用される場合、定量分析が可能であり、全血が希釈などの前処理無しで使用されることが出来る。しかし、サンプルの高ヘマトクリット値が原因で、有効容積比が非常に低くなり、それは、サンプル量が反応に加わることを意味し、それは、最初に注入されたサンプル量の検出に必要とされる(表2参照)。また、フィルター処理が実施されない場合は、検体に加えて、大量なノイズ物質が、チャンネルの中を通り抜け、正確な分析結果を得ることが非常に困難になる。従って、正確な分析を実施するためには、追加のフィルター処理の手段又は段階が必要である。

30

【0009】

【表 2】

表 2

	容積 (μl)
特徴	定量分析
1. サンプリング	140-150
2. フィルタリング	105
3. ラベリ付け (接合)	1
4. 結合反応	5
5. 洗浄	25
6. 有効容積比 (3+4+5) /1	12-22%

10

フィルター処理(2)は、チップにおける前処理ユニットで実施され、ラベリング(3)、結合反応(4)、及び洗浄(5)は、反応ゾーンにおいて実施される。

【0010】

20

他の血液分析チップ (rapid-chip) は実質的に、フィルター処理を、根本的な処理として含む。フィルター処理、及び特に紙のフィルターを使用したフィルター処理は、サンプル流体の死容積の原因となり、それは、そのサンプル流体が、フィルターにおいて吸収されるからである。その結果、そのサンプルにおいて存在する検体を検出し分析するためには、サンプルの最小限の注入量 (血液学的分析の場合、 $>100\mu\text{l}$) が必要とされる。これは、流体に存在する検体を、その最小限の量で分析することを不可能にする。従って、マイクロ流体学に関する研究が、紙のフィルターを置き換えるために、持続的に進められている。しかし、実際には、サンプル流体の死容積は、これまでに減少していない。

【0011】

従って、本発明の発明者は、マイクロチャンネルにおいて流体における検体の検出及び分析が実施されるフィルター・ゾーン及び反応ゾーンを開発しており、モジュールを有するチップを製造している。また、最小限の量のサンプル流体からの検体の検出が実施されている。結果として、そのサンプル流体の死容積は、定量的及び定性的な分析が、最小限の量のサンプルを使用して迅速に実施されることが立証されるように、大きく縮小された。それに応じて、本発明は、上記の立証された結果に基づいて発明された。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】米国特許第6,485,982号明細書

【特許文献2】米国特許第6,905,882号明細書

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明は、上記の問題を考慮して発明されており、流体における検体の検出のためのモジュールを提供する。そのモジュールは、ノイズ物質を取り除くためのフィルター・ゾーン及び検体の検出をするための反応が実施される反応ゾーンを含み、また、マイクロチャンネルを含み、サンプル流体がその中を移動する。本発明は、また、そのモジュールを有するチップを含む。

【課題を解決するための手段】

【0014】

50

本発明の態様に従って、流体における検体を検出するためのモジュールが提供され、そのモジュールは、マイクロチャンネル、そのマイクロチャンネルの高さによって除去されるノイズ物質、検体の検出の反応が実施される、閉鎖したマイクロチャンネルに含まれる反応ゾーン、及びフィルター・ゾーンを有し、反応ゾーンは、そのマイクロチャンネルにおいて総合的に形成されている。

【0015】

本発明のもう1つの態様に従って、流体において検体を検出するためのモジュールが提供され、そのモジュールは：サンプル流体を注入するためのサンプル注入部分；ノイズ物質を取り除くためのフィルター・ゾーン；及び検体の検出のための反応が実施される反応ゾーン；を含み、該フィルター・ゾーン及び反応ゾーンは、マイクロチャンネルに含まれている。該マイクロチャンネルの高さは h 以上及び H 未満であり、マイクロチャンネルの幅は、 $2H$ 以上及び L 未満であり、高さ h は、流体において存在する検体が、そのマイクロチャンネルを通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、 L は基質の幅である。マイクロチャンネルの幅は、好ましくは、 $2H$ であり、ノイズ物質を除いた検体がマイクロチャンネルの中を移動することを可能にする。

10

【0016】

本発明の他の態様に従って、流体における検体を検出するためのチップが提供され、そのチップは、チップの外側に伸びている少なくとも1つのサンプル注入口及びチップの外側に伸びる少なくとも1つの排出口を含み、そのサンプル注入口及びサンプル排出口は、少なくとも1つのモジュールと連絡する。

20

【0017】

さらに、本発明は、流体における検体を検出するためのチップを提供し、そのチップは、チップの外へ伸びるサンプル注入口及びサンプル排出口が含まれる構造を有し、少なくとも1つのサンプル注入口と少なくとも1つの放電開口が、少なくとも1つのモジュールを通して互いに連絡する。そのように、本発明に従って流体解析チップにおいて、サンプル流体がマイクロチャンネルに流れ込む間、ノイズ物質が、実質的に毛管力及びマイクロチャンネルの限られた高さによって、サンプル流体の[ノイズ物質]/[検体]の値が、反応ゾーンでゼロにかなり近いレベルまで減少するように、フィルターされる。さらに、サンプルの死容積によれば、有効容積比は、従来の個別のフィルタリング手段（例えば、紙のフィルター）の使用によって、減少しない。

30

【0018】

本発明に従って流体における検体を検出するためのチップにおいて、サンプル注入口が、上方の基質に含まれ、あるいは、チャンネルは、外部と連絡するように基質の側面から伸びる（図6参照）。下記の表3及び表4は、血液が本発明に従ってチップを使用することによって分析される場合と、血液が従来のチップを使用することによって分析される場合との間の比較を表わす。

【0019】

【表 3】

表 3

	多孔質膜のみが使用される	膜+マイクロチャンネル	マイクロチャンネルのみが使用される
血漿の分離	多孔質膜	多孔質膜	—
反応	マイクロチャンネル	マイクロチャンネル	マイクロチャンネル
洗浄	マイクロチャンネル	マイクロチャンネル	マイクロチャンネル
特許	特許文献 1	特許文献 2	本発明

10

表 4

	多孔質膜のみが使用される	膜+マイクロチャンネル	マイクロチャンネルのみが使用される
分析タイプ	定量分析	定量分析	定量分析
サンプルの量 (μl)	5 (血液) + 95 (希釈液体) → 合計 100	140-250	<5
反応期間	15 分後及び前	15 分後及び前	5 分以内
利便性	サンプルの前処理 (血液が希釈液体を使用して希釈される)	前処理無し	前処理無し

20

30

そのように、本発明に従って、モジュール及びそのモジュールを有するチップにおいて、最小限の量のサンプル流体からのサンプルに含まれる最小限の量の検体を迅速に検出し分析することが可能である。

【0020】

1つの実施形態に従って、本発明によるモジュール及びそのモジュールを有するチップが、サンプル注入口に置かれた貯留層を含み、該貯留層は、拡大された奥まった形 (recess-shaped) をしており、断面積は、そのサンプル注入口の下方部分に近いマイクロチャンネルの断面積よりも大きい。従って、マイクロチャンネルは、貯留層を通り抜けた後にサンプル注入口と連絡し、その貯留層は、マイクロチャンネルよりも高さが高い (図4及び7参照)。貯留層の高さは、Fahreus-Lindquist効果 (参照: Biomechanics: Motion, Flow, Stress and Growth) の結果、移動している流体の粘性の係数が、貯留層からマイクロチャンネルまで移動する間に、大きく減少するように、そのマイクロチャンネルの高さよりも高い。従って、モジュール及びチップが、本発明に従って血液分析に使用される場合、マイクロチャンネル内のヘマトクリット値が減少する。

40

【0021】

流体分析チップは、本発明によると、少なくとも1つのサンプル注入口、少なくとも1つの貯留層、少なくとも1つのモジュール、及び少なくとも1つのサンプル排出口を含ん

50

でもよい（図8参照）。

【0022】

上記のように、本発明に従って、チップにおいてマイクロチャンネルの中を移動している流体における検体は、チャンネルの底部の表面に固定化されている、特異的に検体に反応する物質（例えば、たんぱく質、抗原、抗体、DNA、RNA、又は受容体）に結合しており、それらは、検出手段によって検出され分析される。必要に応じて、検体が基質に固定され接着されている物質に結合される前に、ラベリングがされることが可能である。例えば、サンプル流体における抗原Aが、検出される場合において、抗原Aと蛍光物質との間で接合が実施された後に、抗原Aは、抗原Aと蛍光物質との間の接合が、基質に結合されている、抗原Aに関連する抗体によって固定されるような方式で、抗原Aが検出に使用される。以下（表5）は、様々な信号発生条件及び信号検出方法を含む信号検出システムを表わし、該システムは、本発明に従って、チップのモジュール内で、反応ゾーンにおいて検体を検出するために使用することができる。

10

【0023】

【表4】

表 5

測定手段	信号発生条件	測定方法
光学的手段	光刺激／反応	蛍光発光、干渉法、偏光分析法
	電氣的及び化学的刺激／反応	ECL（電気化学発光）
	生化学的刺激／反応	ELISA（エライザ）
電氣的手段	電圧の印加	電氣的検出（抵抗変化検出） FET（電界効果トランジスタ）、インピーダンス、抵抗、 キャパシタンス
物理的手段	所定の周波数の振動に導く	QCM（水晶発振子マイクロ バランス測定法）SAW（表面 水晶マイクロバランス）カン チレバー

20

30

そのように、本発明に従って、チップは、様々な化合物の検出、その検出された化合物を使用した環境に有害な物質の検出、血液分析、尿検査、抗原抗体反応を通じた免疫テスト、配位子受容体結合を通じた新しい薬品になる候補物質の検索、DNA/RNA分析などを含む様々な分野において、幅広く使用されることが可能である。さらに、少なくとも2つのモジュールが、少なくとも2つの検体が同時に検出され、分析されるように、含まれることも可能である。

40

【0024】

図12は、1つのチャンネルにおける検体a1を、制御グループb1に比較するための方法を表わし、図13は、3つの検体a1、a2、及びa3を3つの制御グループb1、b2、及びb3に比較し、それらを検出するための方法を表わす。また、図14は、3つの検体a1、a2、及びa3を

50

1つの制御グループb1に比較するための方法を表わす。

【0025】

1つの実施形態に従って、少なくとも2つのマイクロチャンネルが、それらが間接的に貯留層と連絡するように、貯留層に接続している他のマイクロチャンネルから分岐している。貯留層に接続しているマイクロチャンネルは、マイクロ弁を含み、流体の流れを制御することができる構造を有するチップが備えられている(図9参照)。

【0026】

1つの実施形態に従って、本発明によるモジュール及びチップが、血液分析に使用される。本発明によるチップが、血液分析に使用される場合、5 μ l未満の量の全血を使用することによって5分以内に検体を検出することが可能である。図3に表わされているように、本発明による血液分析チップは、前処理を実施する必要なしに、5 μ l未満の量の全血を使用することができる。血液が、本発明に従って、血液分析チップの中に注入される場合、血液サンプルは、毛管力によってサンプル排出口の方向へ移動する。また、その血液内のノイズ物質は(例えば、血球)、チャンネルの限られた高さによって、そのチャンネル(1~10 μ m)の中を移動することができなく、サンプル注入部分又は貯留層に残る。従って、フィルタリングの前処理、検体のラベリング、検体と深針との間の結合、及び洗浄は、マイクロチャンネルにおいて実施される。現時点で、[注入されたサンプル量 - そのサンプルの失われた量] / [注入されたサンプル量]として示される有効容積比は、50~100%であり、従来技術に比較して、かなり優れた結果を表わす。

【0027】

そのように、本発明によるモジュール及びチップは、マイクロチャンネルによってノイズ物質を取り除き、検出することができる。従って、有効容積比の50~100%は、流体において存在する検体が、有効にその流体から最小限の量で検出されるように導入される。本発明は、様々な種類の流体の解析において使用される。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】流体内における検体を検出する処理を従来の膜を使用したチップを使用することによって表わす図である。

【図2】従来のマイクロチャンネルを使用することによって、その流体流動を制御するためのチップを使用することによって流体内における検体を検出する処理を表す図である。

【図3】本発明の第1の好ましい実施形態に従って流体解析チップを表わす斜視図である。

【図4】図3において表わされた流体解析チップの断面図であり、そのチップが縦方向に切断された断面図である。

【図5】図3において表わされた流体解析チップの断面図であり、そのチップが横方向に切断された断面図である。

【図6】本発明の第2の好ましい実施形態に従って縦方向に切断された流体解析チップを表わす断面図である。

【図7】本発明の第3の好ましい実施形態に従って縦方向に切断された流体解析チップを表わす断面図である。

【図8】本発明の第4の好ましい実施形態に従って横方向に切断された流体解析チップを表わす断面図である。

【図9】本発明の第5の好ましい実施形態に従って横方向に切断された流体解析チップを表わす断面図である。

【図10】全血を使用して血液を分析することによって得られる結果を表わした蛍光顕微鏡写真である。

【図11】血球が全血から除去された後に残っている血液を分析することによって得られた結果を表わす蛍光顕微鏡写真である。

【図12】制御グループを持つ1つのチャンネルにおいて1つの検体を比較するための方法を表わす概略図である。

10

20

30

40

50

【図13】3つの分析されるべき検体を3つの制御グループにそれぞれ比較する方法及びそれらを検出する方法を表わす概略図である。

【図14】3つの検体a1、a2及びa3を1つの制御グループb1に比較する方法を表わす概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0029】

以下、本発明の模範的な実施形態が、付属の図に関連して説明されている。

【0030】

本発明において使用される用語「閉鎖されたチャンネル」は、チップの内部で形成され、パイプ形状の構造を有するチャンネルを意味し、流体は、該チャンネルの中を移動している間、チップの外にさらされることは無い。

10

【0031】

本発明において使用される用語「チャンネルの内側の壁」は、チップの内部における、流体が中を通り抜ける、チャンネルが限定する空間の各表面を意味する。

【0032】

本発明において使用される用語として、「有効容積速度」は、[注入された流体のサンプルの量 - サンプル流体の死容積の量]/[注入されたサンプル流体]を意味する。

【0033】

本発明において使用される用語「前処理ユニット」は、サンプル流体において検体を検出し分析するために、そのサンプル流体などを希釈する処理を実施するユニットである。

20

【0034】

本発明において使用される用語「フィルター・ゾーン」は、サンプル流体において検体を検出し分析するように、ノイズ物質を除去するためのゾーンを意味する。

【0035】

本発明において使用される用語「反応ゾーン」は、検体及び信号発生物質が互いに反応し、検体は基質の上に集まっている、マイクロチャンネル内のゾーンである。

【0036】

以下、1つの実施形態に従って製造された流体分析チップが、付属の図表に関連して詳しく説明される。

【実施例1】

30

【0037】

図3は、本発明の第1の好ましい実施形態による流体解析チップの斜視図であり、図4は、図3において表わされている流体解析チップの断面図であり、チップは縦方向に切断されている。図5は、図3に表わされた流体解析チップの断面図であり、そのチップは、横方向に切断されている。

【0038】

表わされているように、本発明の第1の好ましい実施形態に従って、チップは、上方のプレート10及び下方のプレート20を有し、それらは互いに組み立てられる。そのチップに含まれるモジュールは、マイクロチャンネル11を含み、それは、所定の深さで上方のプレート10に置かれ、上方のプレート10が下方のプレート20と組み立てられるとき、密閉された空間を形成するように縦方向に伸びる。マイクロチャンネルは、フィルター・ゾーンがある一端を有し、それは、マイクロチャンネル11がその外側及びサンプル排出口13に接続された他の端部と連絡できるように、マイクロチャンネルの外側に伸びるサンプル注入口12に接続されている。

40

【0039】

図4に表わされるように、マイクロチャンネル11の高さは、注入されたサンプル流体に存在する検体の高さよりも高く、その注入されたサンプル流体の中に存在しているノイズ物質の高さHよりも低い。図5に表わされるように、マイクロチャンネル11の幅bは、注入されたサンプル流体において存在しているノイズ物質の高さHよりも2倍大きく、基質の幅Lよりも小さい。

50

【0040】

本発明の第1の好ましい実施形態に従って、チップが血液分析又は尿分析に使用される場合において、マイクロチャンネル11の高さaは、ノイズ物質である血球の流れを中断するように1~10 μ mである。

【0041】

全血が、サンプル流体として、本発明の第1の好ましい実施形態に従って上記に記載されているように構成されたチップに注入されるとき、サンプル注入口12を通過して、流体サンプルは、毛管力によってマイクロチャンネル11の側を通った後にサンプル排出口13に向かって移動し、全血におけるノイズ物質である血球は、マイクロチャンネル11の高さが原因で、そのマイクロチャンネル11の中へ移動できなく、そのまま同じ場所に残る。また、反応ゾーンも、マイクロチャンネル11において実施される。血液が、血球の数が減少する状態にある間、それは、マイクロチャンネル11の中を移動し、ラベリング検体、検体と深針との間の結合、及び洗浄は、反応ゾーンにおいて実施される。

10

【実施例2】

【0042】

同様に、図6に表わされるように、本発明の第2の好ましい実施形態に従って、流体解析チップは、マイクロチャンネル11を有し、そのマイクロチャンネルは、直接外側と接続できるように、チップの外側に伸びる一端を有し、その一端にサンプル注入口12を含む。さらに、チップの残っている構造及びその機能は、本発明の第1の好ましい実施形態に等しい。この段階では、マイクロチャンネルのもう一方の端部が、直接外側と接続していること

20

【0043】

同様に、図7に表わされているように、本発明の第3の実施形態に従って、流体解析チップが、サンプル注入口12及びマイクロチャンネル11が互いに接続されている部分において、貯留層14を有する。その貯留層14は、注入されたサンプル流体が一時的に、貯留層に残ることを可能にするように、マイクロチャンネル11の断面積よりも大きい断面積を有する。また、チップの残っている構造及びその機能は、本発明の第1の好ましい実施形態に従ってチップに等しい。

【実施例3】

【0044】

上記で説明された流体解析チップ構造は、本発明の第3の好ましい実施形態に従って、サンプル流体が、サンプル注入口12を通してチップの中へ注入されるとき、流体サンプルは一時的に貯留層14に残る。従って、貯留層14に大量にあるサンプル流体の位置エネルギーによって、マイクロチャンネル11に導入されたサンプル流体が、マイクロチャンネル11に流れ込むサンプル流体の速度が増加するように、加圧される。

30

【0045】

同様に、図8に表わされるように、本発明の第4の実施形態に従って、流体解析チップが、複数のマイクロチャンネル11が1つの貯留層14から分岐する構造を有し、それらは、好ましくは、表わされるように、一方向に分岐する。しかし、マイクロチャンネルが1つの貯留層14から異なる方向に分岐することも可能である。また、少なくとも3つのマイクロチャンネルが、貯留層14から分岐する構造も可能である。

40

【0046】

また、残っている構造及び機能は、本発明の第3の実施形態に従って、チップの構造及び機能に等しい。

【実施例4】

【0047】

上記の流体解析チップ構造において、本発明の第4の好ましい実施形態によれば、サンプル流体が、サンプル注入口12を通してチップに注入されるとき、流体のサンプルは、一時的に貯留層14に残る。従って、貯留層14に大量に存在するサンプル流体の位置エネルギーによって、複数のマイクロチャンネル11の中へ導入された流体サンプルが、マイクロチ

50

チャンネル11の中へ流れ込む流体サンプルの速度が増加するように、加圧される。

【0048】

同様に、図9に表わされるように、流体解析チップは、本発明の第5の好ましい実施形態に従って、中央のチャンネル15が貯留層14と連絡する構造を有し、複数のマイクロチャンネル11は、その中央のチャンネル15から分岐する。中央チャンネル15は、各マイクロチャンネル11の断面積よりも大きい断面積を持つ内側の受取り空間が、上方のプレート10が下方のプレートと組み合わせられるときに形成されるように、上方のプレートの上に所定の深さで置かれるような方法で形成される。また、残っている構造及び機能は、本発明の第4の好ましい実施形態に従って、チップの構造及び機能に等しい。

【実施例5】

【0049】

上記の流体解析チップ構造は、本発明の第5の好ましい実施形態によると、サンプル流体がサンプル注入口12を通して注入されるとき、そのサンプル流体の位置エネルギーが、サンプル流体の前進速度がその位置エネルギーによって増加するように、サンプル流体が一時的に貯留層14に残る間に発生する。サンプル流体が、貯留層14を通過した後に中央チャンネル15に導入されるとき、そのサンプル流体は、中央チャンネル15を通過する間に、連続的にそれぞれのマイクロチャンネル11の中へ流れ込む。また、その中央チャンネル15は、流体流動を適切に変えることが可能なような値を有する。

【実施例6】

【0050】

同様に、表わされていないが、本発明の第6の好ましい実施形態によると流体解析チップを有するシステムは、流体における検体を検出するためのモジュールであり、サンプル流体を注入するための注入部分、ノイズ物質を取り除くためのフィルター・ゾーン及び検体を検出するための反応が実施される反応ゾーンを含む。フィルター・ゾーン及び反応ゾーンは、閉鎖されたマイクロチャンネルに含まれ、サンプル流体が毛細血管の浮遊によってそれを通して流れる。モジュールのマイクロチャンネルの高さは、 h 以上及び H 未満であり、マイクロチャンネルの幅は、 $2H$ 以上及び L 未満である。高さ h は、サンプルにおいて存在する検体がマイクロチャンネルを通り抜けることを可能にする最小限の高さであり、高さ H は、サンプル流体において存在するノイズ物質が、マイクロチャンネルを通り抜けることを可能にする最小限の高さである。また、 L は、基質の高さである。このシステムは、サンプル流体の50%以上の有効容積比を有するシステムである。

【実施例7】

【0051】

本発明に従って、上記の実施形態におけるマイクロチャンネル11の構造に等しい構造を有し、 $8\mu\text{m}$ の高さのマイクロチャンネルを有するチップを使用することによって、トロポニンIが、全血から検出された。トロポニンIをラベリングするように蛍光物質（オレンジ（540/560）、インビトロジェン）で標識されている抗トロポニンI抗体（クローン16A11、単クローン抗体及びHytest）が、基質の上に一時的に固定化されている。全血が、マイクロチャンネルの注入口から血球を取り除くようにサンプル注入口の中へ注入され、その血液に存在しているトロポニンIは、基質上に一時的に固定化されている抗トロポニンIに結合される。全血が、サンプル注入口穴に注入され、血球がマイクロチャンネルの入口から除去される。続いて、反応に加わらなかった、蛍光物質で標識された余分なトロポニンIが、チップを洗浄することによって除去される。蛍光の程度は、蛍光顕微鏡を使用することによってチェックされる（図10参照）。そのように、トロポニンIは、血球が全血から除去された後に残っている血液を使用することによって検出される（図12参照）。図10、11及び12に表わされているように、全血が使用される場合において、本発明によるチップは検出感度を示し、それは、血球が無い血液が使用される場合における検出感度におよそ等しい。

【0052】

そのような実施形態は、表6に表わされる病気を検査することにおいて使用される様々

10

20

30

40

50

な検体の検出に適用されることが可能である。

【 0 0 5 3 】

【 表 5 】

表 6

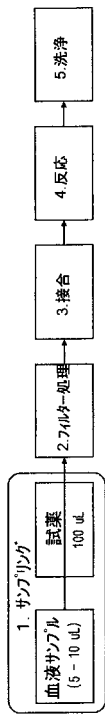
病気	検出物質
感染症	インフルエンザなど
バセドウ病	甲状腺刺激ホルモン (TSH) トリヨードチロニン (T3) サイロキシシン (T4) トリヨードサイロキシシン・フリー (FT3) サイロキシシン・フリー (FT4) など
骨粗しょう症	NTx など
心疾患	トリポニン I CK-MB ミオグロビン NT-proBNP D-dimer など
炎症性疾患	(hs-) CRP など
ホルモン	成長ホルモン 黄体形成ホルモン コルチゾール エストラジオール hCG テストステロン 卵胞刺激ホルモン (FSH) など

10

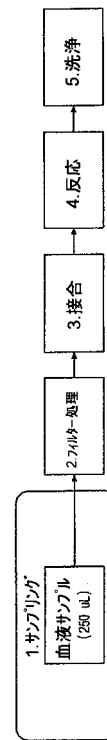
20

30

【 図 1 】

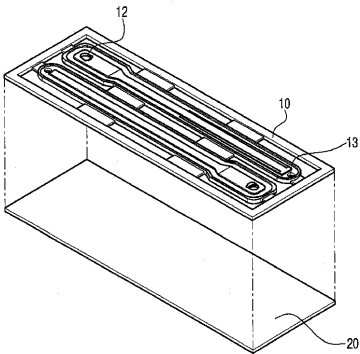


【 図 2 】



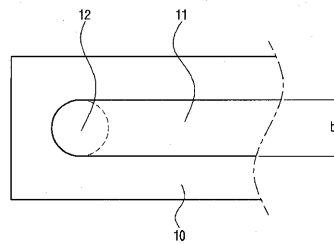
【 図 3 】

FIG. 3



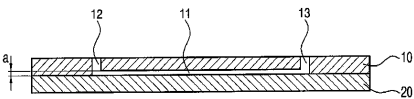
【 図 5 】

FIG. 5



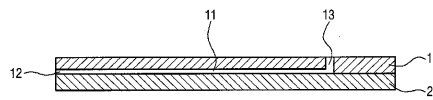
【 図 4 】

FIG. 4



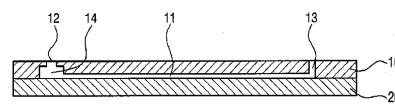
【 図 6 】

FIG. 6



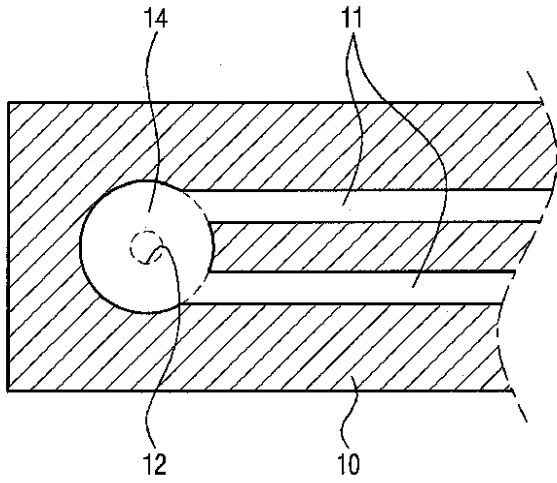
【 図 7 】

FIG. 7



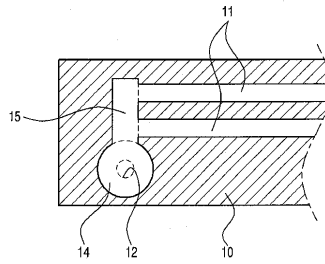
【 図 8 】

FIG. 8



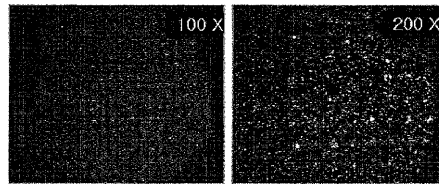
【 図 9 】

FIG. 9



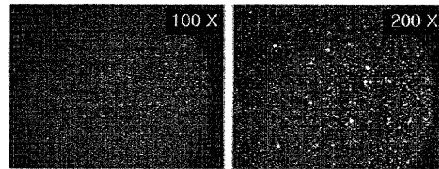
【 図 10 】

FIG. 10



【 図 11 】

FIG. 11



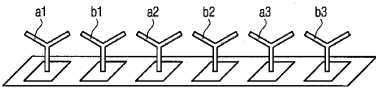
【 図 12 】

FIG. 12



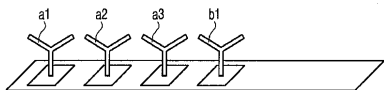
【 図 13 】

FIG. 13





【 図 14 】

FIG. 14



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/KR2008/004315
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 35/00(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: G01N 35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Utility models and applications for Utility models since 1975 Japanese Utility models and applications for Utility models since 1975		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKIPASS(KIPO internal) & keywords: closed microchannel, filtering zone, reaction zone		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2005512071 A (THE TECHNOLOGY PARTNERSHIP PUBLIC LIMITED COMPANY) 28 APRIL 2005 See paragraphs [8],[48]-[58]; figure 2.	1-16
Y	KR 1020060017701 A (LG CHEM. LTD.) 27 FEBRUARY 2006 See page 3, line 45-52; page 7, line 45 - page 8, line 15; figures 9-10.	1-16
A	US 5147606 A (CHARLTON, STEVEN C. et al.) 15 SEPTEMBER 1992 See abstract; claims 1-9; figures 1-5.	1-16
A	US 5135719 A (HILLMAN, ROBERT S. et al.) 4 August 1992 See abstract; claims 1-7; figures 1-3.	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 05 FEBRUARY 2009 (05.02.2009)		Date of mailing of the international search report 05 FEBRUARY 2009 (05.02.2009)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer RYU Chang Yong Telephone No. 82-42-481-5546 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2008/004315

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 2005512071 A	28.04.2005	AU 2002350946 A1	23.06.2003
		DE 60209780 D1	04.05.2006
		EP 1450954 A1	01.09.2004
		GB 0129816 D0	30.01.2002
		WO 0304-9860A1	19.06.2003
KR 1020060017701 A	27.02.2006	EP 1787129 A1	23.05.2007
		JP 2007523355 A	16.08.2007
		TW 278626 A	11.04.2007
		WO 2006022487 A1	02.03.2006
US 5147606 A	15.09.1992	AU 626760 B2	06.08.1992
		AU 8129691 A	20.02.1992
		CA 2047038 A1	07.02.1992
		DE 69111150 D1	17.08.1995
		EP 0470438 A1	12.02.1992
		JP 04232855 A	21.08.1992
		JP 2937568 B2	23.08.1999
		JP 4232855 A	21.08.1992
		US 5208163 A	04.05.1993
US 5135719 A	04.08.1992	AU 598312 B2	21.06.1990
		AU 8043987 A	05.05.1988
		CA 1307448 C	15.09.1992
		DE 3781645 D1	15.10.1992
		EP 0269240 A1	01.06.1988
		ES 2035077 T3	16.04.1993
		GR 3006417 T3	21.06.1993
		JP 6064051 B	22.08.1994
		JP 63177059 A	21.07.1988
		US 4753776 A	28.06.1988

フロントページの続き

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

(72)発明者 パク, ジュン ハ

大韓民国 440-729 キョンギ-ド スウォン-シ ジャンアン-グ ジョンジャ 3-ドン
デーウォルマウル 817-1905 (番地なし)

(72)発明者 リー, チャン ソブ

大韓民国 425-876 キョンギ-ド アンサン-シ ダヌオン-グ チョジ-ドン 14-
ダンジ グリーンヴィル・ジュゴン・アパート 9-204 (番地なし)

(72)発明者 リム, ヒョン チャン

大韓民国 151-855 ソウル グァナック-グ シルリム 2-ドン 116-15 10
1

(72)発明者 チョン チャン イル

大韓民国 135-866 ソウル カンナム-グ サムスン 1-ドン ホンシル・アパート
6-907 (番地なし)

(72)発明者 チャン ジュン グン

大韓民国 ソウル ソチョ-グ パンペ 4-ドン グランドシエル・ヴィラ 501 (番地なし)
)

Fターム(参考) 2G058 DA07 GA02

3C081 AA14 BA23 EA27 EA28