

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7627819号
(P7627819)

(45)発行日 令和7年2月7日(2025.2.7)

(24)登録日 令和7年1月30日(2025.1.30)

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N 27/00 (2006.01)

G 0 1 N 27/00

Z

請求項の数 15 (全17頁)

(21)出願番号	特願2021-560630(P2021-560630)	(73)特許権者	524456725
(86)(22)出願日	令和2年4月9日(2020.4.9)		ピンポイント サイエンス インコーポレ
(65)公表番号	特表2022-527225(P2022-527225		イテッド
	A)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9
(43)公表日	令和4年5月31日(2022.5.31)		4 1 0 2 サンフランシスコ オーク ス
(86)国際出願番号	PCT/US2020/027550		トリート 5 2 2
(87)国際公開番号	WO2020/210548	(74)代理人	100079108
(87)国際公開日	令和2年10月15日(2020.10.15)		弁理士 稲葉 良幸
審査請求日	令和5年4月7日(2023.4.7)	(74)代理人	100109346
(31)優先権主張番号	16/383,491		弁理士 大貫 敏史
(32)優先日	平成31年4月12日(2019.4.12)	(74)代理人	100117189
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 江口 昭彦
		(74)代理人	100134120
			弁理士 内藤 和彦
		(72)発明者	ダイヤモンド, リサ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 複合ナノ細孔を備えるナノセンサチップ

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

液体サンプル中の標的分子を検出する又は定量化するためのナノセンサチップであって、
1つ以上の複合ナノ細孔（「コンポア」）を含む基板を備え、
各コンポアは、前記基板に形成された、周囲の前記基板よりも薄い中央領域を備えたア
パーチャを含むとともに、複数のナノ細孔を含み、更に、
前記ナノ細孔の各々は、大きい開口と小さい開口を有し、
前記ナノ細孔の各々は、前記ナノ細孔の側壁に付着された複数の固定化プローブ分子で
機能化され、

前記ナノセンサチップは更に、各コンポアごとに、前記複数のナノ細孔を取り囲む形状
を有すると共に前記複数のナノ細孔に総電流を伝導するよう配置された対応する電極構造
を備え、それによって、前記液体サンプル中の標的分子が前記プローブ分子に結合するこ
とに応じて前記総電流が変化する、ナノセンサチップ。

【請求項2】

前記基板は、複数のコンポアを含む、請求項1に記載のナノセンサチップ。

【請求項3】

各コンポアごとの前記電極構造は、前記基板の一方側に配置された第1の電極と、前記
基板の反対側の第2の電極と、を含み、
前記第1の電極は、前記複数のナノ細孔を取り囲み、
前記第1及び第2の電極は、前記複数のナノ細孔において電界を生成すると共に前記複

数のナノ細孔に電流を伝導させるように配置されている、請求項 1 に記載のナノセンサチップ。

【請求項 4】

前記プローブ分子は、抗体、抗体類似体、タンパク質、アプタマー、ポリマー、オリゴヌクレオチド、及びナノボディから成る群から選択される、請求項 1、2 又は 3 のうち 1 項に記載のナノセンサチップ。

【請求項 5】

前記基板は、異なるプローブ分子で機能化された複数のコンポアを含む、請求項 4 に記載のナノセンサチップ。

【請求項 6】

前記基板は、同一のプローブ分子で機能化された複数のコンポアを含む、請求項 4 に記載のナノセンサチップ。

【請求項 7】

前記基板は、半導体材料を含む、請求項 1 に記載のナノセンサチップ。

【請求項 8】

前記プローブ分子は、共有結合、非共有結合、又は物理吸着によって前記ナノ細孔に取り付けられている、請求項 1 に記載のナノセンサチップ。

【請求項 9】

液体サンプル中の標的分子を検出する／又は定量化するための方法であって、
(a) 1 つ以上の複合ナノ細孔（「コンポア」）を含む基板を備えるナノセンサチップを提供することを含み、

各コンポアは、前記基板に形成された、複数のナノ細孔が前記基板を貫通するように形成されているアパーチャを含み、

前記ナノ細孔は、標的分子と特異的に結合する固定化プローブ分子で機能化され、

前記コンポアは更に、前記コンポア内の全ての前記ナノ細孔に電圧を印加するよう構成された電極構造を含み、

前記方法は更に、

(b) 前記液体サンプル中の標的分子が前記固定化プローブ分子と結合することを可能とすることと、

(c) 前記電極構造を用いて、標的分子とプローブ分子との特異的結合が前記複数のナノ細孔に印加された電界の関数として変動するように、前記コンポア内の前記複数のナノ細孔の全てに対して電圧源からある範囲の電圧を印加することと、

(d) 前記電極構造に接続された電流センサを用いて、前記電圧に応じた前記コンポア内の前記複数のナノ細孔の全てを流れる総電流を検出することと、を含み、

標的分子とプローブ分子との結合は、前記総電流の変化を発生させ、これによって前記液体サンプル中の前記標的分子の存在／又は濃度を示す、方法。

【請求項 10】

(c) において、前記電極構造を用いて前記範囲の電圧を印加することは、前記 1 つ以上のコンポアに同時に電圧を印加することを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記ナノセンサチップからいずれかの結合した標的分子を除去するステップと、

前記ナノセンサチップを再使用するステップと、
を更に含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

血液、唾液、脊髄液、尿、食品、飲料、又は水の形態の前記液体サンプルを適用するステップを更に含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記複数のナノ細孔に交番する正と負の電圧を印加するステップを更に含み、これによって標的分子は前記プローブ分子から解離する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 14】

異なる電圧で前記総電流の変化を測定して、前記サンプル中の標的分子の濃度を決定するステップを更に含む、請求項9に記載の方法。

【請求項15】

異なるプローブ分子を含むコンポアを用いることによって前記サンプル中の異なる標的を検出するステップを更に含む、請求項9に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

[0001] 本出願は、2019年4月12日に出願された米国特許出願第16/383,491号の優先権を主張する。その全体的な内容は参照により本願に含まれる。

【背景技術】

【0002】

[0001] 液体サンプル中の生体分子を検出するためにナノピペット (nanopipette) が開発されている。現在のナノピペットセンサは単一のじょうご状構造を有し、この構造の内壁にプローブ分子を備えている。ナノピペットセンサは液体サンプルに浸され、センサに電界が印加される。電界が特定の電圧で印加されると、プローブ分子に標的分子が結合する。この結合によって、ナノピペットセンサに検出可能な電流の変化が生じる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

[0002] 石英ガラス毛细管から作られる現在のナノピペットセンサには重大な欠点がある。それらは大規模に作製及び製造するのが難しく、更に、壊れやすく容易に破損する。加えて、個々のナノピペットに大きなばらつきがあるので、正確な結果を得るため個別に校正しなければならない。また、繰り返し使用した後、ナノピペット先端部は化学的及び電氣的な劣化を生じ、これによって性能が著しく損なわれ、再利用が制限される。

【課題を解決するための手段】

【0004】

[0003] 本明細書において、液体サンプル中の標的分子を検出する及び／又は定量化するためのナノセンサチップが開示される。ナノセンサチップは半導体基板を含み、この半導体基板に1つ以上の複合ナノ細孔 (compound nanopore) が形成されている。各複合ナノ細孔は、複数のナノ細孔を含むアパーチャであり、ナノ細孔の各々は固定化プローブ分子で機能化 (functionalize) されている。プローブ分子は、液体サンプル中の標的分子を検出するために用いられる。本明細書では複合ナノ細孔を「コンポア (compore)」と称する。

【0005】

[0004] 各コンポアは、半導体基板上に対応する電極構造を有する。電極構造は、コンポアに対して、コンポア内の全てのナノ細孔に電界を印加することができる形状と位置を有する。また、電極構造は、コンポア内の全てのナノ細孔を流れる総電流を検出するための伝導経路を提供する。検出される総電流は、液体サンプル中の標的分子がプローブ分子に結合することに応じて変化する。この結合は印加電界の関数である。

【0006】

[0005] 例えば、液体サンプルが何らかの標的分子 (例えば生体液サンプル中の特定のウイルスタンパク) を含む場合、コンポアに特定の電界 (又は電圧) が印加されると標的分子はナノ細孔内のプローブ分子に結合する。コンポアを機能化するプローブ分子は、特定の電界が印加された場合に特定の標的分子に結合するよう選択される。標的分子がプローブ分子に結合すると、ナノ細孔開口の電氣的特徴が変化し、これによってコンポアを通る総電流の変化が生じる。所与のプローブ分子と標的分子の対 (pairing) は、特定の電界強度又は電界強度範囲の存在下で結合する。液体サンプルが標的分子を含まず、かつ、電界が印加された場合、総電流の変化は生じない。更に、特定の電界強度又は電界強度範囲

10

20

30

40

50

とは異なる電界が印加された場合も、標的分子はプローブ分子に結合せず、総電流の変化は生じない。

【0007】

[0006] コンポア構造は、従来のナノピペットセンサよりも高いレベルの信頼性を提供する。例えば、コンポアのナノ細孔のうち1つが塞がったか又は詰まった場合は、他の塞がっていないナノ細孔内のプローブ分子と標的分子との結合に基づいて総電流の変化が検出される。更に、所与のコンポアのナノ細孔がプローブ分子で均一に機能化されていない場合、例えば一部のナノ細孔が高濃度のプローブ分子を有すると共に他のナノ細孔が低濃度のプローブ分子を有する場合は、液体サンプル中の標的分子の存在を検出する際、全てのナノ細孔を通る総電流の変化はこの濃度のばらつきを平均化する。この信頼性向上のため、コンポアセンサは従来のナノピペットセンサよりも精度と信頼性が高い。

10

【0008】

[0007] ナノセンサチップは、ナノピペット技術よりも優れた他の利点も有し得る。具体的には、ナノセンサチップは効率的かつ安価に大規模な製造が可能である。複数のチップを含むウェーハ全体を同時にプローブ分子で機能化できる。これに対して、従来のナノピペットは個別に機能化される。一貫性の向上により、ナノピペットを個別に校正するのではなく、単一のチップを用いて複数のチップを含むウェーハ全体を校正できる。

【0009】

[0008] 他の態様は、上記のいずれかに関連したコンポーネント、デバイス、システム、改良、方法、プロセス、適用例、及び他の技術を含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】 [0009] 複数のコンポアを備えたナノセンサチップの上面図である。

【図2】 [0010] 単一のコンポアの斜視図である。

【図3A】 [0011] 単一のコンポアの上面図である。

【図3B】 [0012] 図3Aに示されているコンポアの断面図である。

【図4】 [0013] コンポア内の単一のナノ細孔の断面図である。

【図5A】 [0014] ナノ細孔の動作を示す断面図である。

【図5B】 [0014] ナノ細孔の動作を示す断面図である。

【図6A】 [0015] コンポアの動作を示すグラフである。

30

【図6B】 [0015] コンポアの動作を示すグラフである。

【図7】 [0016] コンポア内のナノ細孔の第1の代替的な配置を示す上面図である。

【図8】 [0017] コンポア内のナノ細孔の第2の代替的な配置を示す上面図である。

【図9】 [0018] 半導体技術を用いて作製されたコンポアの断面図である。

【図10】 [0019] ナノセンサチップを含む検出システムのブロック図である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

[0020] 図面及び以下の説明は、単に一例として好適な実施形態に関する。以下の考察から、特許請求されるものの原理から逸脱することなく採用され得る実行可能な代替案として、本明細書に開示される構造及び方法の代替的な実施形態が容易に認識されることに留意するべきである。

40

【0012】

[0021] これより、いくつかの実施形態を詳細に参照する。これらの実施形態の例が添付図面に示されている。実施可能な場合はいつでも、類似の又は同様の参照番号が図面で用いられ、これらは類似の又は同様の機能を示すことに留意するべきである。図面は、例示のみの目的で、開示されるナノセンサチップの実施形態を図示する。以下の記載から、本明細書に記載される原理から逸脱することなく、本明細書に例示される構造及び方法の代替的な実施形態が採用され得ることは、当業者には容易に認められよう。

【0013】

[0022] 図1は、コンポア120とも称される複数の円錐形の複合ナノ細孔120を備え

50

たナノセンサチップ100の上面図である。ナノセンサチップ100は、例えばシリコン又はガリウムヒ素（GaAs）基板のような半導体基板110から形成されている。この代わりに、ガラス、プラスチック、フィルム、及びその他の材料のような、代替的な基板を使用することも可能である。半導体基板110に1つ以上のコンポア120が形成されている。コンポア120は、半導体基板110に形成された、複数のナノ細孔130を含むアパーチャである。ナノ細孔130は、半導体基板110を貫通する孔を形成する。ナノ細孔130は、コンポア120の上部（図1に示されている）及びナノセンサチップ100の裏側のコンポア120の下部（図1では見えない）の開口を有する。コンポア120のナノ細孔130は、固定化プローブ分子で機能化されており、集合的に半導体基板110を貫通するアパーチャを形成する。コンポア120は、1ミクロン～1000ミクロンまでの最大幅を有し得る。コンポア120は、液体サンプルに接触させる、例えば、垂直方向でサンプルとバッファ槽との間に位置決めすることができる。これを使用して、プローブ分子に対する標的分子の結合に基づき、液体サンプル中に1つ以上の標的分子が存在するか否かを検出すること、及び／又は、液体サンプル中の標的分子の濃度を定量化すること、ができる。

【0014】

[0023] コンポア120を用いて、例えばサンプルの血液、唾液、脊髄液、尿、食品、飲料、水のような、対象の標的分子が存在する可能性のある任意の液体サンプルのアッセイを行うことができる。異なるナノセンサチップ100、及び単一のナノセンサチップ100内の異なるコンポア120は、異なるタイプの液体サンプルのアッセイを行い、液体サンプル内の1つ以上の種類の標的分子を検出するように構成できる。例えば、1つのナノセンサチップ100は血液サンプル中の一組の抗体を試験するように構成され、別のナノセンサチップ100は水サンプル中の一組の汚染物質を試験するように構成され得る。

【0015】

[0024] コンポア120内のナノ細孔130の各々は、固定化プローブ分子で機能化されている。各ナノ細孔130は2つの開口の間に延出する側壁を有し、ナノ細孔130のこの側壁にプローブ分子が付着している。図5A及び図5Bに、ナノ細孔130内のプローブ分子の例示的な配置が示されている。プローブ分子は、例えば、血液サンプル中の特定の抗体もしくは特定の一組の抗体を検出するか又は水中の特定の汚染物質を検出するため、液体サンプル中の特定のタイプの標的分子又は特定の一組の標的分子を検出するように選択され得る。特定の電界の存在下でサンプル中の標的分子がプローブ分子に結合するように、プローブ分子は標的分子に対する結合親和性を有する。標的分子はプローブ分子に対して可逆的に結合し得るので、電界が除去された場合、標的分子はプローブ分子から解放される。プローブ分子の例には、抗体、抗体類似体、タンパク質、アプタマー、ポリマー、オリゴヌクレオチド、及びナノボディ（nanobody）が含まれる。

【0016】

[0025] 各コンポア120は、半導体基板110上に配置された対応する電極構造140を有する。電極構造140は、コンポア120に対して、コンポア120の全てのナノ細孔130に電界を印加するのに適した形状と位置を有する。また、電極構造140は、コンポア120のナノ細孔130を流れる総電流を伝導させるための伝導経路を提供する。例えば電極構造140は、コンポア120の上部の1つ以上の電極（図1に示されている）と、コンポア120の裏側の1つ以上の電極を含み得る（図1では見えない）。図3及び図9に例示的な電極構造が示されている。電極構造140は、ナノセンサチップ100上に配置された、電界の電圧源を供給するため及び／又は総電流を検出するための回路に接続し得る。あるいは、電極構造140はオフチップ源及び／又は検出器に接続し得る。

【0017】

[0026] 液体サンプルが標的分子を含み、かつ、コンポア120に正しい電界が印加された場合、標的分子はナノ細孔130の固定化プローブ分子に結合する。この結合は、コンポア120を流れる総電流を変化させる。総電流は、電極構造140を介して、ナノセンサチップ100上の又はナノセンサチップ100に接続された電流検出器へ流れる。コン

ポア120の全てのナノ細孔130を流れる総電流の変化は、液体サンプル中の標的分子の存在を示す。総電流が変化する量を用いて、液体サンプル中の標的分子の濃度又は量を決定することができる。これに対して、コンポア120に特定の電界が印加されているが総電流の変化が検出されない場合、これは液体サンプル中に標的分子が存在しないことを示す。

【0018】

[0027] 各コンポア120は同一の電界を受ける複数のナノ細孔130を含み、全てのナノ細孔を流れる総電流が検出されるので、コンポア120は以前のナノセンサよりも信頼性が高い。例えば、ナノ細孔130のうち1つ又は少数のものが塞がれるか又は詰まった場合であっても、コンポア120内のナノ細孔130のセットを流れる総電流は、電界の存在下で液体サンプル中の標的分子がプローブ分子に結合したことに応じて変化する。同様に、ナノ細孔130が均一に機能化されない場合、例えば、いくつかのナノ細孔が他のナノ細孔よりも多くの固定化プローブ分子を有する場合であっても、ナノ細孔130のセットを流れる総電流の変化を検出することができる。更に、複数のナノ細孔130を用いると、ナノ細孔130を複数の異なるタイプのプローブ分子で機能化することができるので、単一のコンポア120を用いて検出できる標的分子のタイプの数が増える。複数のタイプのプローブ分子を備えた構成については、図5A及び図5Bに関連付けて記載する。

【0019】

[0028] 図1に示されているナノセンサチップ100は4つのコンポア120を含む。他の構成におけるナノセンサチップ100は、例えば1、4、16、又は数百、又は数千のコンポアのように、任意の数のコンポアを含み得る。ナノセンサチップ100上の2つのコンポア120は、同一の液体サンプル又は異なる液体サンプルを試験することができる。ナノセンサチップ100上のコンポアは同一であるか、又はコンポアの一部もしくは全部は相互に異なる場合がある。例えば、単一のナノセンサチップ100上の2つのコンポア120は、異なるサイズ、異なる形状、異なる数のナノ細孔、異なるサイズもしくは形状のナノ細孔、又は異なるプローブ分子を備えたナノ細孔を有し得る。単一のナノセンサチップ100上に異なるコンポアを含むことにより、単一のナノセンサチップ100が複数の異なる試験を実行して、例えば、複数の異なる標的分子を試験すること、異なる感度の試験を行うこと、又は、精度を検証するため及びナノセンサチップ100を認証するための対照を含むことを可能とする。単一のナノセンサチップ100上に複数の同一のコンポアを含むことを用いて、単一のナノセンサチップ100の精度と信頼性を向上させることも可能である。

【0020】

[0029] 図1において、ナノセンサチップ100上の各コンポア120は、各電極構造140を用いて個々にアドレス指定することができる。各コンポア120が別々の電極構造140を有するので、電極構造140に接続された電流検出器によって、各コンポア120を流れる総電流を個別に測定できる。いくつかの実施形態において、各電極構造140は、各コンポア120に個々に電界を印加するためにも使用される。他の実施形態では、コンポアに電界を印加するための電極構造は、コンポアを流れる総電流を測定するため用いられる電極構造とは別個である。そのような実施形態では、複数のコンポアに同一の電界又は電圧を同時に印加できるように、電界を印加するための電極構造を2つ以上のコンポアに接続してもよい。

【0021】

[0030] 図2は単一のコンポア120の斜視図であるが、電極構造は示されていない。図2はコンポア120の構造を詳細に示す。コンポア120は、半導体基板110よりも薄い中央領域210を有する。この薄い中央領域内にナノ細孔130が形成されている。例えば、中央領域210は1ミクロン未満の厚さまで薄くすることができる。また、中央領域210の厚さはコンポア120内に形成されたナノ細孔130の高さでもある。図1に示されているナノセンサチップ100のような複数のコンポアを備えるナノセンサチップでは、コンポアの薄い領域は、薄くない領域によって相互に分離されている。所望の場合

、これを用いて、異なるコンポアの液体サンプル間の分離を維持すること、並びに、異なるコンポアの電圧及び電流間の分離を維持することができる。

【0022】

【0031】 コンポア120は、中央領域210の上部と半導体基板110の上部との間にコンポア側壁220を有する。コンポア側壁220は傾斜しているものとして図示されているが、直線や湾曲した形状であってもよく、又は他の構成を有してもよい。いくつかの実施形態では、中央領域210とコンポア側壁220によって形成されたくぼみに液体サンプルを配置し、コンポア120の他方側に緩衝液を配置することができる。他の実施形態では、緩衝液を含む槽と液体サンプルを含む槽の2つの槽の間に垂直方向でナノセンサチップ100を位置決めすることができる。

10

【0023】

【0032】 コンポア120に液体サンプルを提供するための様々な他の構成も使用され得る。例えば、コンポア120の反対側を液体サンプルに曝してもよい。そのような実施形態では、コンポア側壁220で囲まれたコンポア120の部分は緩衝液を受容することができる。

【0024】

【0033】 図3Aは単一のコンポア120の上面図を示す。図3Aは、コンポア120内のナノ細孔130の例示的な配置を示す。隣接したナノ細孔130は、ある間隙230で分離されている。単一のコンポア120内の2つの隣接したナノ細孔間の間隙距離230は、例えば1ナノメートル～100ナノメートルとすればよい。図3Aに示されている例では、コンポア120は10のナノ細孔130を有する。他の実施形態では、コンポア120は、例えば2～数百のナノ細孔のように異なる数のナノ細孔130を有し得る。図3Aのナノ細孔130は3列に配置されたナノ細孔130を示すが、他の実施形態では、ナノ細孔130は異なる配置を有し得る。

20

【0025】

【0034】 図3Bは、図3Aに示されているコンポア120のラインA-A'での断面図である。コンポア断面は、半導体基板110を貫通する3つのナノ細孔130a、130b、及び130cを含む。この実施形態において、ナノ細孔構造の一方側は、薄い中央領域の上部とコンポア側壁で形成されたくぼみによって特徴付けられる。便宜上、この側を上側と呼び、裏側を下側と呼ぶ。上側又は下側のいずれかを液体サンプルに曝すことができ、他方側は典型的に緩衝剤に曝す。図3Bでは、コンポア120の上面に上部電極330が形成され、下面に下部電極340が形成されている。しかしながら代替的な実施形態では、これらの電極の一方又は双方をチップの外部に、例えばチップレセプタクルに搭載してもよい。

30

【0026】

【0035】 上部電極330及び下部電極340は、コンポア120に電界を印加するため、及びナノ細孔130を流れる総電流を伝導させるための電極構造を形成する。コンポア120の全てのナノ細孔130は相互に密接しているので、ナノ細孔130の側部に配置された上部電極330と下部電極340を含む電極構造は、全てのナノ細孔130に電界を印加すると共に全てのナノ細孔130を流れる総電流を検出するには充分であり得る。代替的な実施形態では、電極構造はより複雑なものであり得る。例えば上部電極330は、ナノ細孔130aの左側の部分、又は全てのナノ細孔を取り囲む部分を有し得る（図1に示されているように）。また、上部電極330はナノ細孔130a～130c間のエリアまで延出し得る。同様に下部電極340は、ナノ細孔130aの左側に形成された追加部分、ナノ細孔を取り囲む追加部分、及び／又はナノ細孔130a～130c間のエリアまで延出する追加部分を有し得る。

40

【0027】

【0036】 上部電極330及び下部電極340は、電圧源350及び電流検出器360に接続されている。電圧源350は、選択された電圧を上部及び下部電極340に電圧を供給し、これによってコンポア120の全てのナノ細孔130に電界を発生させる。電流検出

50

器 3 6 0 は、コンポア 1 2 0 の全てのナノ細孔 1 3 0 を流れる総電流を検出する。電圧源 3 5 0 と電流検出器 3 6 0 は異なる電極を用いてもよい。

【 0 0 2 8 】

[0037] いくつかの実施形態において、電圧源 3 5 0 及び／又は電流検出器 3 6 0 はナノセンサチップ 1 0 0 に組み込まれている。そのような実施形態では、ナノセンサチップ 1 0 0 は更に、電圧源 3 5 0 及び電流検出器 3 6 0 を制御するためのコントローラを含み得る。例えばコントローラは、印加電圧の大きさ又は周波数を変動させるように電圧源 3 5 0 を制御できる。異なるパターンの印加電圧（すなわち電界）を用いて、異なる標的分子を調べることができる。電流検出器 3 6 0 から、コントローラは、コンポア 1 2 0 を流れる測定総電流が印加電圧の関数として変化しているか否かを決定できる。例えばコントローラは、一連の異なる電圧をコンポア 1 2 0 に印加するよう電圧源 3 5 0 に命令し、各電圧において測定総電流の変化レベルを検出することができる。コントローラは、電流検出器 3 6 0 によって検出された電流を示すか、又は決定された検出電流の変化を示す信号を生成し、この信号を更に処理するためチップ外プロセッサへ送信することができる。コントローラは、ナノセンサチップ上に、及び／又は外部デバイスもしくはコンポーネントの一部として実装され得る。

【 0 0 2 9 】

[0038] 図 4 は、コンポア 1 2 0 の単一のナノ細孔 1 3 0 の断面図である。コンポア 1 3 0 は、ナノ細孔 1 3 0 の上部にある上部開口 4 1 0 と、ナノ細孔 1 3 0 の下部にある下部開口 4 3 0 とを有する。上部開口 4 1 0 は上部直径 4 1 5 を有し、下部開口 4 3 0 は下部直径 4 3 5 を有する。上部直径 4 2 0 は 1 ナノメートル～3 0 0 ナノメートルの範囲内とすればよい。この例では、下部直径 4 4 0 は上部直径 4 2 0 よりも小さく、3 0 0 ナノメートル未満であり得る。しかしながら他の実施形態では、上部開口の方が小さくなるようにナノ細孔を「反転させる (flip)」ことも可能である。ナノ細孔 1 3 0 は、ナノ細孔の薄い中央領域 2 1 0 の高さと同じである高さ 4 5 0 を有する。ナノ細孔の高さ 4 5 0 は 1 ミクロン以下とすればよい。ナノ細孔は、上部開口 4 1 0 と下部開口 4 3 0 との間に延出する側壁を有する。側壁の傾斜は、6 度～6 0 度とすればよい角度 θ によって規定される。他の実施形態では、側壁は図 4 に示されているような直線状でなく、湾曲しているか又は他の何らかの形状を有し得る。

【 0 0 3 0 】

[0039] 図 5 A 及び図 5 B は、ナノ細孔の動作を示す断面図である。図 5 A は、側壁に付着したプローブ分子 5 2 0 を有するナノ細孔 1 3 0 を示す。図 5 A に示されているように、プローブ分子は、小さい方の開口すなわち図 4 に示されている下部開口 4 3 0 の付近で側壁に付着している。プローブ分子 5 2 0 は側壁全体に広がっている場合があり、又は側壁の一部に、例えば下部開口 4 3 0 の付近で側壁の下部に集中している場合がある。プローブ分子 5 2 0 は、共有結合、非共有結合、又は物理吸着によって、ナノ細孔 1 3 0 の側壁に取り付けられればよい。

【 0 0 3 1 】

[0040] 図 5 A 及び図 5 B に示されている例において、ナノ細孔 1 3 0 は標的分子 5 3 0 を含む液体サンプルに曝される。図 5 A に示されている例では、標的分子を有するサンプルはナノ細孔 1 3 0 の下方に配置されている。上述のように、他の実施形態では、標的分子を含むサンプルをナノ細孔 1 3 0 の他方側に配置してもよい。図 5 A は、適正な電界が印加されていないナノ細孔を示す。この状態では、標的分子 5 3 0 はプローブ分子 5 2 0 から離れた状態を保っている。

【 0 0 3 2 】

[0041] 図 5 B は、コンポアに特定の電界を印加した後の同一のナノ細孔を示す。この電界の存在下では、標的分子 5 3 0 はナノ細孔内に引き付けられ、個々の標的分子 5 3 0 は対応するプローブ分子 5 2 0 に結合してプローブ／標的結合 5 4 0 を形成する。この結合によって、ナノ細孔 1 3 0 を流れる電流にイオン電流変化が生じる。また、コンポア内の他のナノ細孔も同一のプローブ分子 5 2 0 で機能化されており、同一のサンプル及び電界

に曝されるので、サンプル中の他の標的分子530は他のナノ細孔内へ流れてコンポア全体で追加のプローブ／標的結合540を形成する。コンポアのナノ細孔におけるプローブ／標的結合540は、電流センサによって測定できる総イオン電流変化を発生させる。

【0033】

[0042] 電界が除去されたか又は変化した場合、標的分子530はプローブ分子520から解放される。標的分子530はナノ細孔130から流出し、図5Aに示されている構成に戻ることができる。プローブ／標的結合540は可逆的であるので、コンポアに変動電圧が印加された場合、標的分子530は連続的にプローブ分子520と結合すると共にプローブ分子520から解放される。コンポア120の使用後、例えば標的分子530が結合して解放され、コンポア120を緩衝液でリセットした後、プローブ分子520はナノ細孔の側壁に付着したままである。プローブ分子520が使用後に付着したままであるので、コンポア120を複数のサンプルに対して再使用することができる。

10

【0034】

[0043] いくつかの適用例では、単一のコンポア120のナノ細孔は2つ以上の異なるプローブ分子で機能化される。プローブ分子は、同一のカテゴリの分子（例えば2つの抗体）、又は異なるカテゴリの分子（例えば1つの抗体と1つのタンパク質）とすることができる。これにより、単一のコンポア120を用いて複数の異なるタイプの標的分子を検出することが可能となる。1つの例示的な適用例では、第1のプローブ分子は第1の電界強度（例えば+0.2ボルト）で第1の標的分子と対を作り、第2のプローブ分子は第2の電界強度（例えば+0.4ボルト）で第2の標的分子と対を作り、第3のプローブ分子は第3の電界強度（例えば+0.6ボルト）で第3の標的分子と対を作る。一連の異なる電界をコンポア120に印加して、3つの標的分子のうちいずれかがサンプル内に存在するか否かを決定できる。これにより、コンポア120を用いて、単一のセンサによって単一のサンプルで複数の試験を同時に高効率で実行することができる。

20

【0035】

[0044] 他の適用例では、プローブ分子は、複数の標的プローブ対が同一の電圧範囲で結合できるように選択され得る。この構成を用いて、例えば、食品内に存在し得る一組の汚染物質又は血液サンプル中の一組の標的抗体のような、一組の標的分子のうちいずれかの存在を検出できる。同一電圧で結合する複数の標的プローブ対を用いることにより、コンポア120はサンプルの陰性の結果を効率的に識別できる。いくつかの適用例では、陽性の結果が得られた場合、最初の陽性の結果が得られた後に試験を更に実行して、どの標的分子が存在するかを決定できる。

30

【0036】

[0045] 単一のコンポア120内に複数のナノ細孔130を含めることにより、コンポア120を従来のセンサよりも多くのタイプのプローブ分子で機能化することができる。特殊な高解像度プリンタを用いて、複数のナノセンサチップを含むウェーハ全体にプローブ分子を同時に高精度で配置することができる。これにより、複数の試験及び試験パネルを低コストで生成できる。加えて、コンポア120は、検証及び較正のための陽性対照及び陰性対照、並びにナノセンサチップ及び試薬の整合性を認証し検証するためのマーカを検出するように機能化できる。

40

【0037】

[0046] 図6A及び図6Bはコンポアの動作を示すグラフである。図6Aは標的分子が存在しない場合のコンポアの挙動を示すグラフであり、図6Bは標的分子による応答を示す。この例において、電圧源350は、最初に-400ミリボルト（mV）、次いで-200mV、0mV、+200mVの電圧で、方形波電流を発生する。プローブと標的分子の個々のペアは、それらが結合する固有の電圧を有する。これによってナノプローブ130開口の電気的特徴が変化し、固有の電圧が-200mVである図6Bに示されているように電流が変化する。図6Aに比べると出力電流は変化している。これは、-200mV電界の存在下で標的分子がプローブ分子と結合しているため、-200mVでプローブ分子と結合する標的分子がサンプル中に存在することを示す。また、電流変化の大きさはサン

50

ブル中の標的分子の濃度を示し得る。可変電圧が用いられる場合、標的分子はプローブ分子との結合及びプローブ分子からの解放が可能である。特定の標的分子は結合及び解放されるのではなく、結合してその結合を維持し得る。

【0038】

[0047] 図1から図3に示されているコンポア120は円形の形状と円形のナノ細孔130を有するが、他の実施形態では、コンポア120及び／又はナノ細孔130は異なる形状を有し、ナノ細孔はコンポア内で異なるように配置され得る。図7は、コンポア内のナノ細孔の第1の代替的な配置を示す上面図である。図7は、方形のナノ細孔730を有する方形コンポア720を示す。他の実施形態ではコンポア720は、楕円形、矩形、別の多角形、又は他の何らかの形状としてもよい。同様にナノ細孔730は、楕円形、矩形、他の何らかの多角形、又は他の何らかの形状としてもよい。ナノ細孔730の形状はコンポア720の形状と異なってもよい。

【0039】

[0048] 図8は、コンポア内のナノ細孔の第2の代替的な配置を示す上面図である。コンポア120及び720は一貫したサイズのナノ細孔を有したが、他の実施形態では、単一のコンポア内のナノ細孔は異なるサイズを有してもよい。図8は、小さいナノ細孔830Aと大きいナノ細孔830Bを含む複数の異なるサイズのナノ細孔830を有するコンポア820を示す。異なるサイズのナノ細孔830は、同一の角度（例えば各々が10度の側壁角を有する）又は異なる角度の傾斜側壁を有し得る。いくつかの実施形態では、複数の異なるサイズのナノ細孔を用いると、ナノセンサの感度とダイナミックレンジを向上させることができる。

【0040】

[0049] 図9は、半導体技術を用いて作製されたコンポア900の断面図である。コンポア900の構造は図3に示されているコンポアと同様である。コンポア900は、半導体基板110の一例であるシリコン910の層を含む。他の実施形態では、シリコン910の代わりに他の半導体材料を用いてもよい。あるいは、ガラス、プラスチック、フィルム、又は他の非伝導もしくは半導体材料の基板上に、ナノセンサを実装することができる。例えばウェットエッチング又はドライエッチング等、様々なエッチングプロセスを用いて基板を薄くして、シリコン910にコンポア中央領域を形成することができる。イオンビームリソグラフィのような別個のプロセスを用いて、ナノ細孔を形成することができる。図9にはコンポア900が1つだけ示されているが、図1に示されているように、複数のコンポアを形成すると共に電極構造を配置することができる。

【0041】

[0050] シリコン910の上部及び下部に、2つの窒化ケイ素の層920及び930がそれぞれ堆積されている。2つの窒化ケイ素層920及び930を堆積するため、例えば化学蒸着又はプラズマ化学蒸着のような種々の窒化ケイ素の堆積プロセスを使用できる。図9には1つだけのコンポア900のための窒化ケイ素層920及び930が示されているが、窒化ケイ素層920及び930は、ナノセンサチップに含まれる各コンポアのためにナノセンサチップ全体に延出してもよい。

【0042】

[0051] 上部窒化ケイ素層920及び下部窒化ケイ素層930のそれぞれに、2つの電極層940及び950が堆積されている。電極層940及び950は、例えば銅、銀、又は白金のような、任意の伝導性材料から形成することができる。2つの電極層940及び950を堆積するため、例えば蒸着又は化学蒸着のような、伝導性材料を堆積するための種々の堆積プロセスを使用できる。この実施形態では、電極層940及び950はコンポア900の各側に配置されている。他の実施形態では、電極層940及び950は、図3に関して記載されているように、コンポア900上で異なるように配置され得る。例えば他の実施形態では、電極層940をシリコン側壁上に及び／又は薄くしたシリコンの表面上に形成してもよい。ナノセンサチップに含まれる各コンポアは、同様の電極構造を有し得る。他の実施形態では、電極のうち任意のものをチップ外に、チップが搭載されているチップ

レセプタクルのような別個のコンポーネント内に配置してもよい。

【0043】

[0052] 図10は、ナノセンサチップを含む検出システム1000のブロック図である。検出システム1000は、ナノセンサチップ1010、チップレセプタクル1020、電圧源1030、電流検出器1040、コントローラ1050、ユーザインタフェース1060、ディスプレイ1070、及び通信インタフェース1080を含む。他のコンポーネント（図示せず）には、プロセッサ、メモリ、デジタルアナログ変換器、及びアナログデジタル変換器が含まれ得る。他の実施形態では、検出システム1000は、図10に示されているものに対して追加のコンポーネント、代替的なコンポーネント、又はより少ないコンポーネントを有する。

10

【0044】

[0053] 図1から図9に関して記載されているようなナノセンサチップ1010は、1つ以上のコンポアを有する。チップレセプタクル1020は、ナノセンサチップ1010を受容し保持すると共に、ナノセンサチップ1010のコンポーネントと検出システム1000の他のコンポーネントとの間の電気接続を形成するように構成されている。例えばチップレセプタクル1020は、図1に示されている電極構造140に接続するよう構成された電極を含み得る。また、チップレセプタクル1020は、例えばナノセンサチップ1010のコンポアに1つ以上の液体サンプルを移送するため、又はナノセンサチップ1010のコンポアに緩衝液を移送するため、ナノセンサチップ1010に対する1つ以上の流体接続も有し得る。

20

【0045】

[0054] 電圧源1030は、電極がコンポアに供給する電界を発生する。電圧源1030は、ある電圧範囲の変動電流を1つ以上のコンポアに対して発生する可変電圧源とすればよい。いくつかの実施形態では、電圧源1030はナノセンサチップ1010内に一体化されている。検出システム1000は、1つの電圧源1030又は複数の電圧源を有することができ、例えばナノセンサチップ1010に含まれる各コンポアに1つずつの電圧源を有し得る。検出システム1000の電圧源の数がコンポアよりも少ない場合、ナノセンサチップ1010は一度に1つずつのコンポアに電圧を印加するためのスイッチング機構を有するか、又はナノセンサチップ1010は同時に2つ以上のコンポアに同一の電圧を印加するよう構成することができる。

30

【0046】

[0055] 電流検出器1040は、コンポアを流れる電流を検出する。いくつかの実施形態では、電流検出器1040はナノセンサチップ1010内に一体化されている。検出システム1000は1つの電流検出器1040を有することができ、例えばナノセンサチップ1010に含まれる各コンポアに対して1つの電流検出器を有し得る。あるいは、これは複数の電流検出器を有し得る。検出システム1000の電流検出器の数がコンポアよりも少ない場合、ナノセンサチップ1010は、電流検出器が選択されたコンポアを個々にアドレス指定することを可能とするスイッチング機構を含み得る。

【0047】

[0056] コントローラ1050は、電圧源1030及び電流検出器1040を制御する。コントローラ1050は、図3に関して記載されているコントローラと同様のものとすればよい。コントローラ1050は、ナノセンサチップ1050内に一体化するか、又は別個のコンポーネントもしくはデバイスの一部とすることができる。検出システム1000は、電圧源、電流検出器、及び検出システム1000に含まれる任意のスイッチング機構の全てを制御するための1つのコントローラ1050を有し得る。あるいは検出システム1000は、例えば各コンポアに1つずつのように、複数のコントローラ1050を有し得る。電圧源1030及び電流検出器1040を制御することに加えて、コントローラ1050は、例えばユーザインタフェース1060、ディスプレイ1070、及び通信インタフェース1080のような、検出システムの他のコンポーネントと相互作用するように構成されている。

40

50

【0048】

[0057] ユーザインタフェース1060は、例えばサンプル分析を開始するためのユーザからのコマンド又はサンプルを分析するためのパラメータ等、ユーザ入力を受信するように構成されている。例えばユーザインタフェース1060は、コンポアに印加される1つ以上の電圧を記述するパラメータ、又はコンポア上で実行される電圧セットによって予めプログラムされた試験手順の指示を受信することができる。ユーザインタフェース1060は、これらのコマンド又はパラメータをコントローラ1050に渡す。ユーザインタフェース1060は、ボタン、キーボード、タッチスクリーン、マイクロフォンと音声認識ソフトウェア、又はユーザから入力を受信するための他の任意の適切な機構を含み得る。あるいは検出システム1000は、携帯電話アプリケーション、タブレット、PC、もしくはウェブアプリケーションから、又は自動化外部制御システムから、コマンド及びパラメータを受信できる。

10

【0049】

[0058] ディスプレイ1070は、検出システム1000によって実行される試験に関する視覚的出力をユーザに提供する。例えば、ディスプレイ1070をユーザインタフェース1060及びコントローラ1050と共に用いて、ユーザによって選択可能なオプションをユーザに表示することができる。またディスプレイ1070は、例えば、所与の標的分子がサンプル中で検出されたか否か、又はサンプル中で検出された標的分子の濃度のような、コントローラ1050によって生成された試験結果を出力できる。

20

【0050】

[0059] 通信インタフェース1080は、検出システム1000が、例えばローカルネットワークもしくはインターネットのようなネットワークを介して、又は、シリアルもしくはパラレル、無線もしくは有線のインタフェースによって、例えばブルートゥース、USB、又は他の通信プロトコルによって、1つ以上の他のデバイスと通信することを可能とする。例えば通信インタフェース1080は、検出システム1000により実行された試験の結果を更に処理するため別のデバイス又はコンポーネントにアップロードすること、又は試験結果をデータベースにアップロードすることができる。

【0051】

[0060] 本開示を読むことで、当業者には、ナノセンサチップ及び検出システムのための追加の代替的な構造的設計及び機能的設計が認められるであろう。従って、特定の実施形態及び適用例を図示し記載したが、記載した主題は本明細書に開示されている正確な構成及びコンポーネントに限定されないこと、並びに、本明細書に開示されている装置の構成、動作、及び詳細において当業者に明らかとなる様々な修正、変更、及び変形が実施され得ることは理解されよう。

30

【0052】

[0061] 本明細書で用いられる場合、「一実施形態」又は「実施形態」に対する言及は、その実施形態に関連して記載される特定の要素、特徴部(feature)、構造、又は特徴が、少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。本明細書の様々な箇所における「一実施形態」という語句の出現は、必ずしも全てが同一の実施形態を指すわけではない。

【0053】

40

[0062] 本明細書で用いられる場合、「備える(comprise)」、「備えている(comprising)」、「含む(include)」、「含んでいる(including)」、「有する(has)」、「有している(having)」、又はそれらの他の任意の変形は、非排他的な包含(non-exclusive inclusion)をカバーすることが意図されている。例えば、要素の列挙を含むプロセス、方法、物品(article)、又は装置は、必ずしもそれらの要素のみに限定されず、明示的に列挙されていないか又はそのようなプロセス、方法、物品、又は装置に固有でない他の要素を含み得る。更に、特に他の指示がない限り、「又は(or)」は包含的論理和を示し、排他的論理和は示さない。例えば、ある条件A又はBが満足されるのは、Aが真であり(又は存在し)、かつBが偽である(又は存在しない)場合、Aが偽であり(又は存在せず)、かつBが真である(又は存在する)場合、及び、AとBの双方が真である(又

50

は存在する) 場合、のうちいずれか1つである。

【0054】

[0063] 更に、「a」又は「an」の使用は、本明細書の実施形態の要素及びコンポーネントを記述するために用いられる。これは単に便宜上、開示の一般的な意味を与えるために行われる。この記載は、1つ又は少なくとも1つを含むように読まれるべきであり、他の意味を示すことが明らかである場合を除いて、単数形は複数形も含む。

10

20

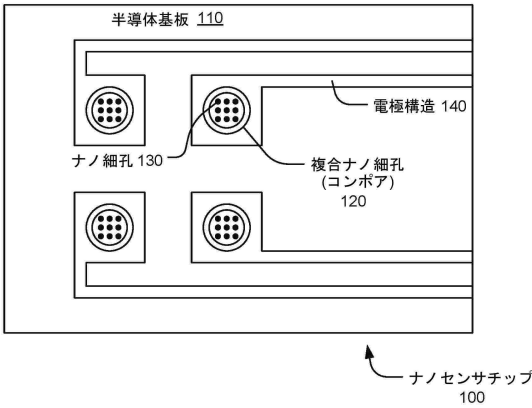
30

40

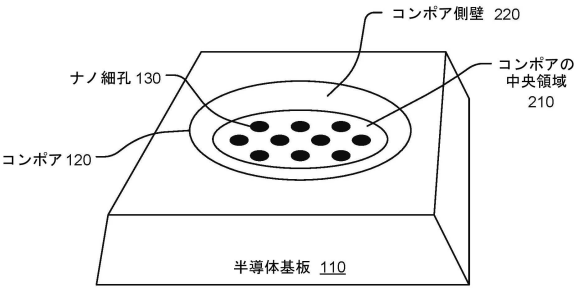
50

【図面】

【図 1】

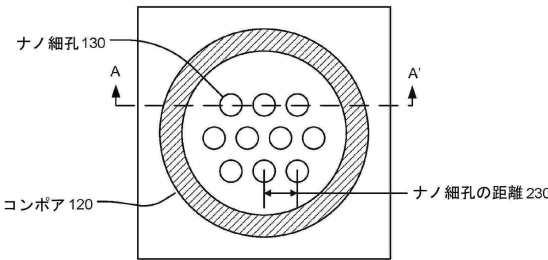


【図 2】

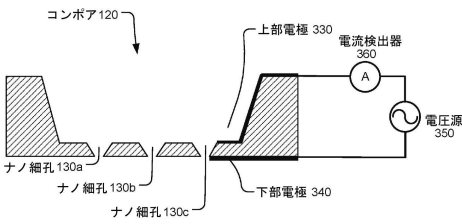


10

【図 3 A】

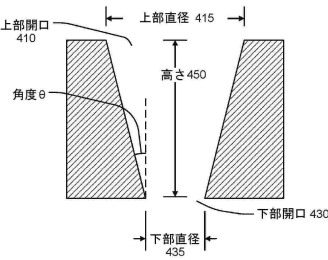


【図 3 B】

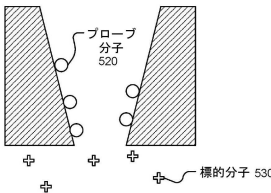


20

【図 4】



【図 5 A】

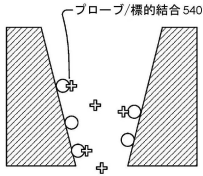


30

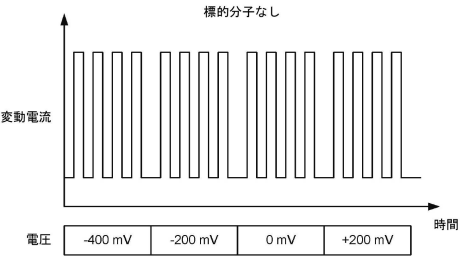
40

50

【図 5 B】

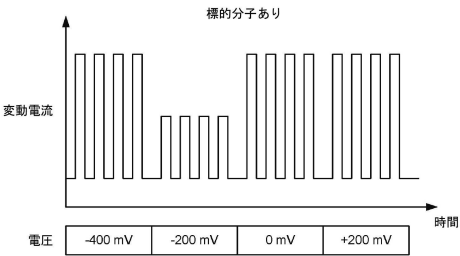


【図 6 A】

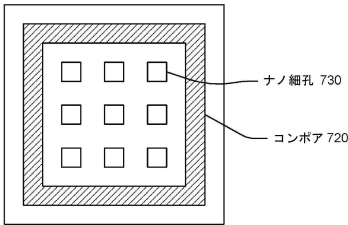


10

【図 6 B】

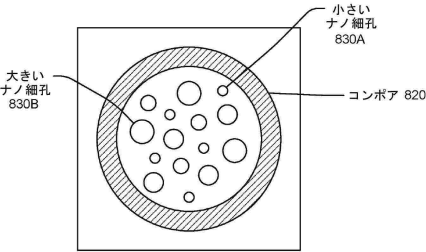


【図 7】

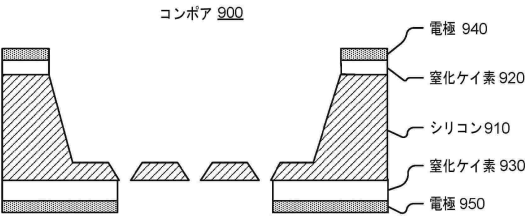


20

【図 8】



【図 9】



30

40

50

【図 10】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

アメリカ合衆国，カリフォルニア州 94102，アラメダ，ピー．オー． ボックス 2546，
ワールドワイド バイオセンサース エルエルシー内

審査官 吉田 将志

- (56)参考文献 特表平09-504864 (JP, A)
米国特許出願公開第2013/0164522 (US, A1)
特開2002-350446 (JP, A)
米国特許出願公開第2006/0210995 (US, A1)
特表2017-509899 (JP, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
G01N 27/00 - G01N 27/10
G01N 27/14 - G01N 27/24