(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2004-521738
(P2004-521738A)
(43)公表日　平成16年7月22日(2004.7.22)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
B01J 19/00	B01J 19/00	311A	4D054
B01D 57/02	B01D 57/02		4G075
B03C 5/00	B03C 5/00	Z	

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 62 頁）

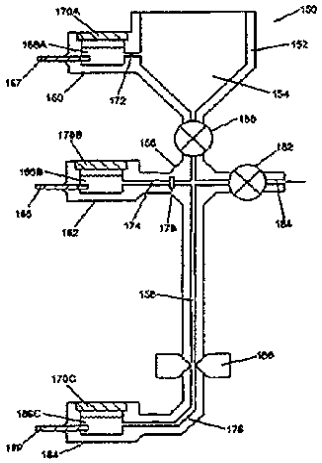
(21)出願番号　特願2003-506856(P2003-506856)
(86)(22)出願日　平成11年3月17日(1999.3.17)
(85)翻訳文提出日　平成12年9月18日(2000.9.18)
(86)国際出願番号　PCT/US1999/006150
(87)国際公開番号　WO1999/047255
(87)国際公開日　平成11年9月23日(1999.9.23)
(31)優先権主張番号　09/040,498
(32)優先日　平成10年3月17日(1998.3.17)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　500065565
シーフィード
アメリカ合衆国９４０８９カリフォルニア州サニーベイル、ボアガス・アベニュー１１９０番
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100084146
弁理士　山崎　宏
(72)発明者　エム・アレン・ノースラップ
アメリカ合衆国９４７０８カリフォルニア州バークリー　、ビスタモント・アベニュー６１６番

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ユニタリ化学処理装置

(57)【要約】
試料処理装置（１５０）は、好ましくは型鋳込みされたポリマー部品であるユニタリボディ（１５２）を備え、ユニタリボディ（１５２）はその中に、試料を化学的に反応させるための反応チャンバ（１５４）と、試料の成分を分離させるための分離領域（１５８）と、上記反応チャンバ（１５４）と分離領域（１５８）とを接続する移行領域（１５６）とを形成している。反応チャンバ（１５４）と移行領域（１５６）と分離領域（１５８）とは、ユニタリボディ（１５２）内に形成され、ユニタリボディ（１５２）によって包囲されている。加えて、移行領域（１５６）は、反応チャンバ（１５４）と分離領域（１５８）の間の流体の流れを制御するために、少なくとも１つの流制限器を含む。更に、移行領域（１５６）を形成するユニタリボディ（１５２）の部分は、反応チャンバ（１５４）を形成するボディの部分よりも低い熱伝導を有し、それ故に移行領域（１５６）は移行領域（１５６）から反応チャンバ（１５４）を断熱する。好ましい実施例では、反応チャンバ（１５４）は試料中の核酸を増幅するための増幅チャンバであり、分離領域（



【特許請求の範囲】
【請求項１】
流体試料を処理するための装置であって、上記装置はユニタリボディを備え、上記ユニタリボディはその中に、
ａ）上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｂ）上記試料の成分を分離するための分離領域と、
ｃ）上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを形成し、
上記反応チャンバと上記移行領域と上記分離領域とは上記ユニタリボディ内に形成されると共に上記ユニタリボディによって包囲され、上記反応チャンバと上記分離領域との間の流体の流れを制御するために、上記移行領域は少なくとも１つの流制限器を含み、上記移行領域が上記反応チャンバを上記分離領域から実質的に断熱するために、上記移行領域を形成するユニタリボディの部分は上記反応チャンバを形成するユニタリボディの部分よりも低い熱伝導を持っていることを特徴とする装置。
【請求項２】
請求項１に記載の装置において、上記ユニタリボディに結合された少なくとも２つの電極を更に備え、上記電極間に電圧が印加されたとき上記試料を上記反応チャンバまたは上記移行領域から上記分離領域に強制的に流すように、上記電極が配置されていることを特徴とする装置。
【請求項３】
請求項２に記載の装置において、上記ユニタリボディはモールドされたポリマー部品を備え、上記ポリマー部品はその中に埋め込まれた上記電極を有していることを特徴とする装置。
【請求項４】
請求項３に記載の装置において、上記電極の一端が上記ボディの外部表面を貫いて突出すると共に上記電極の他端が上記ボディの内部領域内に突出するように、上記電極の各々は上記ボディの中に埋め込まれていることを特徴とする装置。
【請求項５】
請求項２に記載の装置において、上記反応チャンバを加熱するための加熱器を有すると共に上記電極に電力を供給するための電気接続器を有する外部器械と組み合わせ、かつ上記外部器械に挿入されるように設計されていることを特徴とする装置。
【請求項６】
請求項５に記載の組み合わせ装置において、上記試料の分離された成分を検出するために或いは上記反応チャンバを光学的にモニターするために、上記器械は光学機器を更に含んでいることを特徴とする装置。
【請求項７】
請求項１に記載の装置において、
ａ）　上記反応チャンバに隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた注入電極と、
ｂ）　上記分離領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた分離電極と、
ｃ）　上記移行領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた共通電極と、
ｄ）　上記移行領域に配置された高分子量フィルタとを更に備えて、
電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の高分子量種が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ上記フィルタ上に採集されると共に、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記フィルタ上に採集された上記高分子量種は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。
【請求項８】
請求項１に記載の装置において、上記移行領域を形成する上記ユニタリボディの部分は、上記反応チャンバを形成する上記ボディの部分よりも狭いことを特徴とする装置。
【請求項９】
請求項１に記載の装置において、上記ユニタリボディは上記移行領域を包囲するエアーポケットを形成していることを特徴とする装置。

【請求項１０】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は分離物質の入っている電気泳動毛細管を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１１】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は、上記試料中の相補結合対に結合するために、結合対のメンバーが入っている少なくとも１つの配位子結合部を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１２】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は、上記試料中の標的分析物を交雑するために、固定化試薬を持つ少なくとも１つの交雑部を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１３】
請求項１に記載の装置において、上記流制限器は、上記移行領域において０．０１ｍｍから１．０ｍｍの範囲の内径を持つ緊縮器を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１４】
請求項１に記載の装置において、試薬を上記移行領域に添加するために、上記ユニタリボディはその中に、上記移行領域と連通する少なくとも１つの側方チャンネルを更に形成していると共に、上記チャンネルを通る流体の流れを制御するために、上記側方チャンネルは少なくとも１つの流制御器を含んでいることを特徴とする装置。
【請求項１５】
請求項１４に記載の装置において、上記側方チャンネルは上記流制限器の上流側の移行領域に接続すると共に、上記試料を上記試薬と混合するために、上記移行領域は採集領域を更に含んでいることを特徴とする装置。
【請求項１６】
試料処理装置を生産するための方法であって、上記方法はａ）　一体型ポリマーボディをモールドするステップを備え、
上記一体型ポリマーボディは、
ｉ）　上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｉｉ）　上記試料の成分を分離するための分離領域と、
ｉｉｉ）　上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを有し、上記反応チャンバと上記移行領域と上記分離領域とが上記ボディ内に形成されると共に上記ボディによって包囲されるように、また、上記移行領域を形成する上記ボディの部分が上記反応チャンバを形成する上記ボディの部分よりも低い熱伝導を持つように、上記ポリマーボディはモールドされ、
ｂ）　上記ポリマーボディの中に少なくとも２つの電極を埋め込むステップを備えて、上記電極間に電圧差が印加されたとき上記試料を上記反応チャンバから或いは上記移行領域から上記分離領域に強制的に流すように、上記電極が配置されていることを特徴とする方法。
【請求項１７】
請求項１６に記載の方法において、モールド内の選定された場所に上記電極を部分的に挿入することによって上記電極は上記ポリマーのボディにオーバーモールドされ、材料が上記モールド内に加えられた後には、上記電極は上記ボディの中に生め込まれることを特徴とする方法。
【請求項１８】
請求項１７に記載の方法において、上記電極はスクリーン印刷または成膜によって上記ポリマーボディの中に生め込まれることを特徴とする方法。
【請求項１９】
流体試料を処理するための装置であって、
ａ）　上記装置はボディを備え、上記ボディはその中に、
ｉ）　上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｉｉ）　上記試料の成分を分離するための分離領域と、

ｉｉｉ）　上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを形成し、上記反応チャンバと上記分離領域との間の流体の流れを制御するために、上記移行領域は少なくとも１つの流制限器を含み、上記移行領域が上記反応チャンバを上記分離領域から実質的に断熱するために、上記移行領域を形成するユニタリボディの部分は上記反応チャンバを形成するユニタリボディの部分よりも低い熱伝導を持ち、上記装置は
ｂ）　上記反応チャンバに隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた注入電極と、
ｃ）　上記分離領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた分離電極と、
ｄ）　上記移行領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた共通電極とを備え、電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の成分が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記試料成分は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。
【請求項２０】
請求項１９に記載の装置において、上記移行領域に配置された高分子量フィルタとを更に備え、電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の高分子量種が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ、上記フィルタ上に採集されると共に、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記フィルタ上に採集された上記高分子量種は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。
【請求項２１】
請求項１９に記載の装置において、試薬を上記移行領域に添加するために、上記ボディは上記ボディの中に、上記移行領域に連通している少なくとも１つの側方チャンネルを更に形成していると共に、上記チャンネルを通る流体の流れを制御するために、上記側方チャンネルは少なくとも１つの流制御器を含んでいることを特徴とする装置。
【請求項２２】
請求項２１に記載の装置において、上記側方チャンネルは上記流制限器の上流側の移行領域に接続すると共に、上記試料を上記試薬と混合するために、上記移行領域は採集領域を更に含んでいることを特徴とする装置。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
（技術分野）
本発明は概して化学的処理の分野に関し、特に流体試料を処理するための統合された装置に関する。
【０００２】
（背景技術）
化学的処理の分野においては、薬品の反応前あるいは反応後に化学成分を分離することが望ましい適用例が多くある。成分の分離を必要とする反応の例として、有機反応や無機反応や生化学反応や分子反応が含まれる。化学反応の例としては、熱サイクル増幅、例えばポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、リガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ）、等温核酸増幅、自己持続配列複製、酵素運動論研究、均一配位子結合測定、親和力結合測定、より複雑な生化学機械論研究が含まれる。従来の分離技法は、電気泳動たとえば毛細管電気泳動と同時周期電気泳動と自由流電気泳動を含む。従来の分離技法は、また、等電点電気泳動（ＩＥＦ）と交雑形成と液体およびガスクロマトグラフィと分子シーヴィング（分子ふるい掛け）と濾過とを含む。
【０００３】
様々な試料の中で分離される成分は、核酸、アミノ酸、ペプチド、プロテイン（蛋白質）、細胞、ウィールス、バクテリア、有機化合物、炭水化物等を含む。例えば、増幅の適用には、多くの生物のために設計された多数のオリゴヌクレオチドプライマーおよびプローブが使用されて、試料内の多くの生物からＤＮＡを増大させる。増幅後、電気泳動またはＩＥＦのような分離手法が使用されて、或る特性たとえば分子量によって増幅生成物を分離し、続いて蛍光法によって検出する。

【０００４】
化学分離の分野では、統合された反応チャンバと分離領域とを含んだ装置の利用が関心を呼んでいる。このような統合された装置は、流体試料を反応装置と分離装置の間で移動させる従来の装置と比較して、幾つかの利点を提供する。例えば、化学反応および分離のステップが、唯一つの統合された装置の中で行われる場合、試料または反応成生物の汚染および交差を回避することができる。更に、統合された装置は、試料を実質的により速く処理かつ分析できる。
【０００５】
特にＭＥＭＳとマイクロ製造とマイクロ流体工学の分野では、唯一つの装置において処理と分析の機能を統合するという新しい努力によって、接合複式サブストレートを含む装置が進展している。通常、このサブストレートは接着剤を用いて接合されるか、あるいは熱密封または溶解結合またはアノード結合によって接合される。これらの複式サブストレート装置は典型的には反応チャンバを含み、上記反応チャンバは、適当な電気泳動ゲルの入った例えば毛細管のような別の分離部品に、エポキシ樹脂のような接着剤によって接続されている。二者択一的に、これらの複式サブストレート装置は、反応チャンバと、プレート内にエッチされた分離チャンネルと、プレートの頂部に結合されたカバーとを有している。例えば、ヘイズらに発行された米国特許第５，８４９，２０８号は、このような複式サブストレート装置を開示している。
【０００６】
これらの複式サブストレート装置には多くの欠点がある。第１に、サブストレートの接合中に、装置間の均一性がしばしば損なわれる。第２に、複式サブストレート装置の大量生産は、費用がかかり労働集約的で自動化するのが困難であり、したがって実用的ではない。例えば、エポキシ樹脂のような接着剤を塗布するとき、エポキシ樹脂を特定の領域にのみに隔離することは、生産ベースでは実施または制御するのが困難であり、特に装置が小さなマイクロチャンネルを含む場合には困難である。更に、接着剤は漏洩が見込まれ、装置のコストを増加させる。
【０００７】
そのうえ、現在の統合された装置は、反応領域と分離領域の間の流体を限定的に制御するだけである。例えば、反応チャンバ内に存在する液体やガスの熱膨張とか、気泡の生成とか、あるいはチャンバの内部で行われる化学反応によって、高い内圧が反応チャンバ内で発生し得る。この圧力は、チャンバ内で上昇した温度と一緒になって、反応チャンバから上流側または下流側の流体の成分と性能に有害な影響を及ぼす。特に問題なのは、この上昇した圧力と温度によって、薬品が反応チャンバから好ましくない領域へ流出すなわち拡散することである。高感度の検出方法および装置が反応チャンバより下流側に位置しているとき、この状況はとりわけ問題となる。
【０００８】
従来の統合された装置に付随するさらなる問題は、化学反応を行うべく反応チャンバを加熱したとき、熱伝導のために分離領域も加熱されることである。分離領域が加熱されると、この領域に含まれる分離物質たとえば電気泳動ゲルの品質が低下して装置を作動不能にする。分離物質の劣化に加えて、反応チャンバと分離領域の間の熱伝導によって装置内に大きな熱勾配が生じ、反応チャンバ内の試料を十分に加熱するのが妨げられる。
【０００９】
更に、毛細管電気泳動やマイクロ電気泳動およびＩＥＦのように、分離領域に電極が必要な場合、従来技術の設計が取り組んでこなかった問題が数多く存在する。従来技術の多くは、毛細管チャンネル自体の設計、製造、操作に関する問題に焦点を合わせてきた。対照的に、流体と接触する電極であると共に、流体の動電学的な運動のもとなる電極の設計は、まだ十分に取り扱われていない。これら電極の正しい設計は、唯一つの装置において反応チャンバと分離領域との双方を合体させた大容量かつ使い捨て型のシステムを、適切かつ実用的に費用効率よく実施するためには必要不可欠である。現在の最先端技術は、各毛細管チャンネルの端部付近の大きな開口容器（１００μＬ以上）を合体させ、次に、分離

した金属電極を各開口容器の中に「浸漬」する。このような粗雑な構成は、使い捨て型アセンブリを大量生産するためには、不適当である。更に、外部電極は使い捨て型アセンブリ内の流体と接触して配置されており、使用前には洗浄するかさもなければ「調製する」必要があるので、一般には実用的ではない。

【００１０】

（発明の開示）

（発明が解決しようとする技術的課題）

概要

本発明は、上で検討した従来技術の欠点を克服する統合反応分離装置を提供する。特に、本発明の統合された装置は、不都合な結合技法を使用することを避け、装置の安価かつ大量の生産を可能にする。加えて、この統合された装置は、分離領域から断熱された反応チャンバを含み、これによって、分離領域を劣化させることなく、試料の適切な加熱を可能にしている。

【００１１】

（その解決方法）

好ましい実施例においては、装置はユニタリボディを備え、上記ユニタリボディは好ましくはモールド（型成形）されたポリマー部品であり、その中に、上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、上記試料の成分を分離するための分離領域と、上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを形成している。上記反応チャンバと上記移行領域と上記分離領域とは、上記ユニタリボディ内に形成されると共に上記ユニタリボディによって包囲されている。その上、上記移行領域は、上記反応チャンバと上記分離領域との間の流体の流れを制御するために少なくとも１つの流制限器を含んでいる。更に、上記移行領域が実質的に熱的に上記反応チャンバを上記分離領域から絶縁するために、上記移行領域を形成するユニタリボディの部分は、上記反応チャンバを形成するユニタリボディの部分よりも低い熱伝導を持っている。

【００１２】

ユニタリボディは、差圧供給源や起動電源や加熱器や光源や光学検出器などの外部の機能部品によって包囲され得る。好ましい実施例では、反応チャンバは試料中の核酸を増幅するための増幅チャンバである。また、好ましい実施例では、分離領域は電気泳動のコラム（柱）または毛細管を備え、電気泳動のコラムまたは毛細管には、試料中の核酸片を分離するために、電気泳動ゲルまたはバッファのような適当なマトリックス物質が入っている。

【００１３】

以下の説明と添付の図面をよく検討すると、本発明についてのより完全な理解が得られる。

【００１４】

（発明を実施するための最良の形態）

詳細な説明

本発明は、流体試料を処理（プロセシング）するための統合された装置を提供する。この装置は、反応チャンバと、生成物分離領域と、反応チャンバを分離チャンバに接続している流体移行領域とを備える。好ましい実施例において、反応チャンバと移行領域と分離領域とは、唯一つのユニタリボディの中に形成されると共に、唯一つのユニタリボディによって取り囲まれ、好ましくは、唯一つのユニタリボディはポリマー（重合体）でできたモールド品である。「ユニタリ」という用語は、ここでは、反応チャンバと移行領域と分離領域とを形成する装置のボディが唯一つの部材品であることを意味している。このユニタリ設計によって、装置を安価かつ大量に生産できる。

【００１５】

操業中は、流体試料は１つの領域からもう１つの領域に移動され、試料の流れは領域の間で制御される。唯一の統合された装置には、１以上の反応チャンバや移行領域や分離領域が存在してもよい。また、上述したように、１つ或いはそれ以上の領域と隣接するボディ

内に１以上の電極を生め込んだ装置が設けられる。電極はむきだしか或いは被覆された形であってもよい。装置のボディは、起動電源や加熱器や光源や光検出器といった外部の機能部品に取り囲まれて接続され得る。この装置は大きな装置の構成要素であってもよく、例えば、他の化学処理機能を有する流体流カートリッヂのようなものであってもよい。このようなカートリッジは、１９９８年１２月２４日に出願された同時係属特許出願ＰＣＴ／ＵＳ９８／２７６３２に記載されている。上記出願の開示内容は言及によって本文に組み込まれる。

【００１６】

上記ボディは、ポリマーやセラミックあるいはその他の材料でよいが、これらの材料は、直接、チャンバおよびチャンネルにモールドできるものである。ボディは様々な形状と大きさのものであり得る。チャンバとチャンネルの内部回路網は、巨大サイズまたは中間サイズまたは微小サイズであるか、或いはそれらの組み合わせたサイズである。例えば、上記装置は、微小チャンネル移行領域と分離領域とに通じる巨大スケールの反応チャンバを含み得る。一般に、本発明の統合された装置は１以上の反応チャンバを含み、上記チャンバは１以上の移行領域を介して１以上の分離領域と流体で連通している。チャンバと移行領域と分離領域の様々な組合せは、本発明の範囲内であると解釈される。例えば、分離領域は、反応チャンバに先行することができるし、反応チャンバから始めることもできる。また、多数の分離領域は直列に或いは並列に接続され得る。これらの分離領域は、多彩な種類からなり得て、それぞれ異なった分離機能を提供し得る。例えば、反応チャンバは移行領域を通って交雑形成部に通じ、この交雑形成部は電気泳動チャンネルに通じる。

【００１７】

図１は、ユニタリボディ４によって形成された処理装置２の一実施例を示す。上記ボディ４は、その中に、反応チャンバ６と分離領域８と移行領域１０とを形成し、上記移行領域１０は反応チャンバを分離領域に接続している。反応チャンバ６は、チャンバ内で行われる特定の反応に必要な試料および試薬を添加するために、入口ポート１２を有している。この装置２は入口ポート１２ばかりでなく出口も含んでいる。これらのポートは装置を外部ポンプや真空供給源や洗浄器に接続する働きをする。二者択一的に、上記出入口は通気口として機能し得る。この実施例において、分離領域８は毛細管電気泳動管であって、毛細管電気泳動管には、試料の成分を分離するために、例えば電気泳動ゲルまたはポリマーなどの適当な分離物質が入っている。このような分離材料は、当該技術分野では公知になっている。

【００１８】

統括された装置２は、また、ユニタリボディ４に埋め込まれた注入電極２０と分離電極２２を含んでいる。上記電極２０と２２は、装置の互いに反対側となる端部に位置していて、分離領域８を通って流れる電気泳動イオンまたは電気浸透性イオンまたはＩＥＦイオンを駆動する。各電極は、好ましくは、電極の一端がボディの外表面を貫いて突出すると共に電極の他端がボディの内部領域の中に突出するように、ボディ４内に生め込まれている。

【００１９】

好ましい実施例では、上記装置２は、外部装置（図示せず）に組み込んで使用されると共に、外部装置の中に嵌め込むように設計されている。上記外部装置は、反応チャンバ６を加熱するための加熱器と、上記電極２０，２２間に電圧を印加するための電気接続部とを有している。この外部装置は、随意に、光検出器１６を含んで、分離領域８内で分離された試料成分を検出することができる。更に、上記装置は、反応チャンバ６をモニターするために、１対の光学アセンブリ１８Ａ，１８Ｂを含む。本発明の装置と一緒に使用するのに適した光学アセンブリは、１９９８年５月１９日に出願された米国特許連続番号第０９／０８１，２６０号に開示されている。この開示内容はこの参照によってここに組込まれる。

【００２０】

反応チャンバ６は、特定の処理が行われるように設計されている。上記特定の処理には、

例えば、ＰＣＲ、ＬＣＲ、等温核酸増幅、自己持続配列複製、酵素運動論研究、均一配位子結合測定、親和力結合測定、より複雑な生化学機械論研究、生理学プロセスの研究、および配位子結合プロセスが含まれる。チャンバの容積収容能力はその用途によって左右される。好ましい実施例では、チャンバは、約１０～１００マイクロリットルの容積収容能力を持つ。熱エネルギーは、チャンバを形成するボディ４の部分を外部加熱器に結合することによって、反応チャンバ６に供給される。二者択一的に、発熱体はスクリーン印刷法または薄膜成膜法によってボディに永続的に結合されてもよい。

【００２１】

分離領域８について、電気泳動または交雑形成またはＩＥＦの機能、或いは異なる濾過やその他の分離機構たとえば分子シーヴィングが存在する。分離機能が電気泳動である場合、分離領域８は、図１に示すように、好ましくは毛細管である。当該技術分野では公知となっているが、分離領域は適当な分離マトリックスを含み、分離マトリックスは、例えば、電気泳動またはＩＥＦに適したゲルやその他の溶液である。この溶液は緩衝剤や添加剤やポリマー薬剤等を含む。好ましい実施例では、毛細管１４は、直径が約０．０５ｍｍから１．０ｍｍの間であり、長さが１～１０ｃｍの間である。

【００２２】

図２は処理装置３０の別の実施例を示す。この処理装置３０において、分離領域３２は、核酸交雑形成部の配列を組込んだ交雑形成領域である。各交雑形成部は、好ましくは、チャンネルまたはチャンバであって、チャンネルまたはチャンバはポリヌクレオチドプローブ等の固定化試薬で被覆されている。固定化試薬は、共有結合あるいは非共有結合によって構造物の表面に付着した試薬のことである。固定化試薬は、当該技術分野において周知の様々な方法によって上記表面に塗布することができる。上記方法には、例えば、浸漬、ペンによる刻み込み、毛細管を通しての試薬投与、試薬ジェット印刷あるいはその他の適当な投与技法を用いた試薬投与がある。

【００２３】

相補分析物ポリヌクレオチドを固定化ポリヌクレオチドプローブに結合させる際に、例えば蛍光プローブなどの標識付けされたプローブを添加して、分析物ポリヌクレオチドに結合することができる。蛍光の量は、試料中の分析物の量に直接比例している。二者択一的に、ポリヌクレオチドが検出レベルにまで共役されている場合、交雑形成評価は拮抗的フォーマットにおいて実施され得る。標識付けされたポリヌクレオチド試薬は、分析物と競合して、固定化ポリヌクレオチドに結合する。別の実施例においては、交雑形成領域は微小構造のコラムを含む。これは、１９９８年７月１４日に出願された同時係属米国特許連続番号第０９／１１５，４５４号に記載されている。その開示内容は参照によってここに組込まれる。

【００２４】

本発明による他の分離領域は配位子結合部を含み、結合対のメンバーが上記結合部に配置されて試料中の相補結合対と結合する。加えて、分離領域は分子量フィルタのような選択フィルタを含んでいる。複数の機能が一つの分離領域に設置される。例えば電気泳動のような電動分離は、フィルタと組合せて、試料を事前処理する。プロテインのバックグラウンドと核酸との混合物は、起電力によって、分子量カットオフフィルタを貫流させ、これによってプロテインを濾過する。

【００２５】

差圧、流体力、起電力、毛細管現象、空気圧、油圧、機械的力などによって、反応チャンバと分離領域の間に流れが存在する。ユニタリ装置は、ポンプや吸引装置や電気接続部品など、流体流を起動させる装置に接続される。等電点電気泳動の移動におけるような分子特に核酸の電気移動は、移動を予知できるために、好都合な移動機構である。緩衝材のイオン力、チャンネル寸法、ゲルの種類と密度、電流密度、電圧降下、時間などの条件が一定であるとき、分子の位置を予知するのは比較的簡単である。制御された条件下では、時間（Ｔ）における分析物の位置は、一貫して位置（Ｘ）でなければならない。この概念は図５に示されていて、図５では部位１１４が標的の位置を示している。

【００２６】
電気的に誘導された流れに対して、一連の電極が、装置のボディの中に部分的或いは完全に埋め込まれるか、二者択一的に、使用する前に挿入される。図１に示されるように、反応チャンバ６から分離チャンバ８に或いは分離チャンバ８から反応チャンバ６に流体流を誘導するように、電極２０，２２が作動される。更に、システムの性能や反応チャンバ６の要求に依って、分離手順を押し進めるために、移行領域１０あるいはその近傍に配置された共通電極（図示せず）が含まれる。電極間に電圧を印加することによって、試料注入と電気泳動の両方が実施され得る。電圧は装置の外部の電源によって供給される。二者択一的に、適当な電源がこの装置の中に統合され得る。
【００２７】
使用前には、上記装置は、乾燥した電極または電解質流体で覆われた電極または電解質流体と予め接触した電極を有している。装置を使用するには、電極は電解質液に晒らされなければならない。電極領域に流体を注入することによって、或いは、接続している槽から予め処理された流体を放出することによって、乾燥電極は溶液と接触する。電極が被覆されている場合、被覆は様々な手段によって解かされて、電極は溶解液に接触する。更に、特定の電極の被覆を解かすタイミングが制御されて、各電極の働きを制御し、したがって流体または成分が電気的に駆動された動きをする。
【００２８】
上記装置のボディの中に電極を埋め込むことには、多くの利点がある。埋め込まれた電極は、各装置における電極位置の再現性を容易にし、幾つかの装置の中で再製することができる。更に、埋め込まれた電極は、このような装置を大量生産することを可能にし、製造コストを低減させる。更に、本発明の使い捨て式の一度だけ使用する装置は、電極が永続的に固定されて多数回使用され、長期間に渡って電導性流体と接触している場合に起こ得る電極汚染の問題を回避させる。
【００２９】
電極は、幾つかの手法によって、殆どコストを掛けることなく、ユニタリ装置に埋め込まれる。まず、金属電極はプラスチック射出成形機内に位置して、射出成形工程中に「オーバーモールド」される。次に、金属電極は、選択的に、スクリーン印刷かそうでなければメッキや薄膜成膜等によって成膜されて、装置のユニタリボディ上にパターン化される。例えば、スクリーン印刷された金属ラインの一端は装置内の流体と接触し、一方、他端はコネクタを形成して外部装置と電気的に係合する。これら技法の双方および他の同じような技法は、費用効果に優れ、大量生産ラインに最適である。上記電極は、好ましくは、通気口の近傍に配置され、上記通気口は、電気泳動に付随して高電場を印加する間に発生するガスを換気させる。通気口は、管自体の純然たる開口部か、あるいはゴアテックス（Ｇｏｒｅ－Ｔｅｘ：登録商標）などのガス透過疎水性部材における開口部かである。
【００３０】
本発明による処理装置の別の側面は、反応チャンバと分離領域との間の流体移行領域にある。或る実施例では、移行領域は反応チャンバと分離チャンバの間の簡単な流体接続部であって、流体接続部は例えば管のようなものである。他の実施例では、移行領域はバルブと流体入口ポートと混合領域などを含んでいる。各実施例において、移行領域は、粘性マトリックスのような流体流制限器と、緊縮器と、流体コンデンサーと、ポートと、および／または、少なくとも１つのバルブを有する。上記バルブは機械的な２方向バルブあるいは３方向バルブである。上記流体流制限器は、反応チャンバと分離領域との間の流体の流れを制御するために使用される。
【００３１】
図３Ａ－図３Ｅは、統合された装置の幾つかの実施例を示し、反応チャンバ４０と分離領域５０との間の移行領域６０の透視図である。図３Ａは移行領域６０を有する装置８０を示し、上記移行領域６０において、流量制限器が緊縮器６２となっている。緊縮器６２の内径は、先行する区域たとえば反応チャンバ４０と比較すると、非常に狭い。緊縮器６２の内径は十分に小さく、好ましくは０．０１から１．０ｍｍの範囲内になければならない

。したがって、電極５１，５３，５５が作動する迄は、表面張力は、流体が反応チャンバ４０から分離領域５０に流れるのを防止する。

【００３２】

図３Ｂは具体例としての別の装置８２を示し、上記装置８２は移行領域６０に配置された２方向バルブ６４を有する。このバルブ６４は、ピンチオフバルブまたは膜バルブ等のオンオフバルブであって、閉塞位置にあるとき流体がバルブを流れるのを防止し、開放位置にあるとき流体を流す。流体は、バルブ６４の直ぐ上流側の採集領域６６において採集される。このようにして、反応チャンバ４０から分離領域５０内に注入する前に、流体試料に作用することができる。例えば、反応チャンバ４０内で核酸増幅の反応が行われている間はバルブ６４を閉じ、次にバルブ６４を開いて試料を分離領域５０に注入する。更に、流体が流れるのを阻止するためにバルブを閉塞位置に戻すことが望ましく、したがって、流体のプラグ（ｐｌｕｇ）のみが分離領域５０内に入って行く。

【００３３】

上記バルブ６４は、反応チャンバ４０内で生じるプロセスをリアルタイムでモニターする際にも使用される。反応チャンバ内で反応が進行すると、設定された間隔でバルブ６４を開閉することによって、流体試料は反応プロセス中にバルブ６４を通過することができる。成分の分離と薬品の検出のために、流体は分離領域５０内に流れ込み、したがって、流体は所定の時間において反応プロセスの状態を示すことになる。最適の結果を得るために反応手順が調整されるべきかは、試料の検出によって示めされる。例えば、反応チャンバにおいて核酸増幅が起こっている場合、増幅中に低い核酸濃度が検出されたならば、所望する結果によって熱サイクル数は増やされる。したがって、装置の使用者は、過多あるいは過少なサイクルが継続するのを回避することができる。

【００３４】

移行領域および移行領域の前の区域たとえば反応チャンバ４０に配置された電極は、流体が移行領域６０の中に移動するのを容易にする。埋め込まれた電極７０Ａ，７０Ｂは、図３において２方向バルブ構造の形態で示されている。電極７０Ａは反応領域４０に埋め込まれ、第２電極７０Ｂは、バルブ６４の直ぐ下流側のチャンネル７２内に埋め込まれる。電極７０Ａ，７０Ｂは、装置のユニタリボディを貫いて突出し、それらの一部がチャンバおよびチャンネルの内側の流体に晒されている。

【００３５】

図３Ｃおよび図３Ｄに示された実施例の移行領域６０は、それぞれ、上記移行領域に接続されたチャンネルと数個の２方向バルブとの連結を含む。これらの実施例において、側方バルブ６８は側方チャンネル７４に配置されていて、流体の移行領域６０への流れを制御する。例えば、試薬と流体は、側部チャンネル７４を通って分離領域６０に添加され、また、分離領域６０から側部チャンネル７４まで導かれる。試料を分離領域５０に注入する前または注入している間または注入した後に、これらの添加流体が注入される。このようなチャンネルとバルブの配置で、例えば、洗浄や、分離領域５０内での等電位点電気泳動のための両性ライン（ａｍｐｈｏｌｉｎｅ）の混合や、標識の注入といった機能が利用される。

【００３６】

図３Ｃの装置８４では、側方チャンネル７４は、中間バルブ６４より下流側の移行領域６０と連通している。図３Ｄの装置８６では、側方チャンネル７４は、中間バルブ６４より上流側に位置する採集部６６内の移行領域６０と連通している。この実施例では、流体を分離領域５０に注入する前に、試薬は採集部６６の流体と反応する。図３Ｃと図３Ｄとの実施例においても、埋め込まれた共通電極７０Ｂは、側方チャンネル７４に対向する移行領域６０に配置されている。共通電極７０Ｂは幾つかの機能を持つ。この共通電極は、側方チャンネルから流体流を導くために、側方チャンネル７４内の側方電極（図示せず）と協働する。更に、共通電極７０Ｂは注入電極７０Ａと協働し、反応チャンバから流体が流れるのを促進する。

【００３７】

装置の移行領域における複数種のバルブに加えて、複合的な２方向バルブの機能が、唯一の３方向バルブによって実現される。図３Ｅは３方向バルブ６９を有する装置８８を示し、上記３方向バルブ６９は、例えば試薬のような追加流体が側方チャンネル７４を通って移行領域６０の中に注入されるのを可能にしている。３方向バルブあるいは２方向バルブの組合せは、等電点電気泳動ゲルと共通電極とを有する濃縮チャンネルと連通している。この実施例において、化学薬品の試料は上記チャンネルの中に流れ込んで流体プラグを生成させ、次いで流体プラグは分離領域に移動される。

【００３８】

図４Ａの平面図および図４Ｂの断面図に、例証的な膜バルブが示されている。膜バルブ９０は薄くて可撓性の有るポリマー層９２を備え、上記ポリマー層９２は、上記ポリマー層９２を表面９４に付勢する力Ａを受けて、２つのチャンネル９６，９８の間の流体路を密封する。次に、力Ａを取り除くことによって、バルブ９０が開放され、膜を弛緩させて、流体はチャンネル９６と９８の間を流れることができる。可撓性の膜を逸らせる力Ａは、空気圧や油圧や機械的に例えば機械的なプランジャによって生じる。

【００３９】

図３Ａ～図３Ｅを参照すると、移行領域６０が反応チャンバ４０を分離領域５０から熱的に絶縁する（断熱する）ことが重要である。この断熱によって、反応チャンバ４０における試料を適切に加熱でき、そして分離領域５０における物質の劣化が防止される。この断熱は、移行領域６０に熱抵抗性を持たせることによって、すなわち、移行領域６０が反応領域４０よりも低い熱伝導性を確実に持たせることによって達成される。移行領域６０の熱伝導は、移行領域を形成する物質の熱電導性と、反応チャンバに対する移行領域の大きさとに関係する。本発明は、移行領域６０が反応チャンバ４０よりも低い熱伝導を持つことを確実にするために、幾つかの方法を企図している。第１に、移行領域６０を形成するボディの部分は、反応チャンバ４０を形成するボディの部分よりも狭く作られていて、移行領域６０は反応チャンバ４０を分離領域５０から実質的に断熱している。これが、目下のところ好ましい技法であり、図１～３Ｅの様々な実施例において示される。第２に、移行領域６０は、反応チャンバ４０を形成する物質とは異なった低い熱伝導を持つ物質からなる。第３に、エアーポッケットのような断熱体が、移行領域６０を囲むボディ内に形成される。勿論、これらの技法を適当に組合せて使用してもよい。

【００４０】

１つまたはそれ以上の光学アセンブリが、装置の反応チャンバや分離領域やおよび／またはその他の区域と連通している。上記光学アセンブリは、装置に外部から連結されてもよく、好ましくは、フォトダイオードとかＬＥＤのような固体構成部品を含んでもよい。図５に示すように、装置１００は、ＬＥＤのような光源１０２と、レンズや光フィルタやフォトダイオードといった光学検出器１０４を含む。上記光源１０２と検出器１０４は、電気泳動毛細管１０８内の分離された成分たとえば核酸片を検出するために配置されている。核酸片は、臭化エチジウムのような挿間染料で着色されたときに検出される。このフォーマットの例では、臭化エチジウムは電極の起電力を介して側方チャンネル（図示せず）から添加される。光源１０２は接続器１１２によって制御器に連結され、データは検出器１０４から接続器１１０を通って制御器に受信される。制御器は１つまたはそれ以上のマイクロプロセッサーまたはマイクロコントローラを備えて、流体流の動きや光学装置や検出等のオペレーションを制御する。

【００４１】

二者択一的に、光検出システムはレーザーとＣＣＤを備える。この実施例では、光検出装置は、当該検出波長を通す緩衝フィルタあるいはバンドパスフィルタのような光学フィルタと、集束光学装置と、反射器／分散器と、アルゴンイオンレーザとを含む。オペレーションは以下のとおりである。レーザは、生成物の検出に関連した蛍光指示染料を励起する。蛍光信号は、ＣＣＤによってモニターされ、制御器に通される。二者択一的に、蛍光指示染料を励起するためにＬＥＤが使用されてもよい。同様に、吸収分光器が使用される。

【００４２】

図６は本発明の別の実施例を示し、この実施例では処理装置１５０は電極領域１６０，１６２，１６４を含んでいる。各電極領域は、電気泳動で運搬された流体を貯蔵するために、貯蔵器１６６Ａ，１６６Ｂ，１６６Ｃを含む。各電極領域は、装置のボディ１５２に埋め込まれた電極１６７，１６８，１６９を有する。各電極はボディ１５２を貫いて突出し、貯蔵器の内側に部分的に突っ込んでいる。更に、各貯蔵器は膜１７０Ａ，１７０Ｂ，１７０Ｃを持ち、ガスを換気する。上記膜はゴーテックス（Ｇｏｒｅ－Ｔｅｘ登録商標）あるいはその他の利便性のある多孔性物質からできている。

【００４３】

第１の電極領域１６０はチャンネル１７２によって反応チャンバ１５４に接続されている。同様に、第２の電極領域１６２はチャンネル１７４によって移行領域１５６に接続されている。更に、チャンネル１７４はフィルタ１７８好ましくは高分子量フィルタを含んで、選択された分子成分のみを通過させる。第３の電極領域１６４はチャンネル１７６によって分離領域１５８の端末部に取付けられる。移行領域１５６のバルブ１８０は反応チャンバ１５４からの流体流を制御し、バルブ１８２は、側方チャンネル１８４を通る流体である交差流を制御する。好ましい実施例では、装置１５０は核酸分析のために使用され、反応チャンバ１５４は核酸増幅チャンバである。

【００４４】

作業の例

本発明は、更に、上述した反応分離装置の様々な実施例を活用するために特別な方法を企図している。

【００４５】

１．本発明の電気泳動装置を使用するための方法

ｉ）　未知の試料が、例えばマスターミックス溶液のような適当なＰＣＲと一緒に混合され、分析システムの反応チャンバ部に導入される。

ｉｉ）　ＰＣＲ反応シークエンス（または他のＤＮＡ増幅技法または化学反応）が反応チャンバ内の溶液について行われる。

ｉｉｉ）　チャンバ内の反応生成物の光学的なモニタリングが行われて、増幅反応の進行を追跡する。

ｉｖ）　反応チャンバ内で例えば核酸のような生成物が十分に生成されことが確定すると、注入電極および共通電極が作動されて、移行領域を介して試料プラグを分離領域の頂部内に引張り込む。上記分離領域は、例えば、適当なゲルを含んだ電気泳動管である。この電気泳動注入ステップは非常に短期間で完了できるので、反応チャンバ内の泡の発生を最小にする。

ｖ）　共通電極および電気泳動電極が作動して、ゲルによって試料プラグを移動させ、中空の分離管を下降させる。

ｖｉ）　分子の分離された帯域が管の長手を横切るとき、上記分離帯は光学検出システムを通過し、生成物を示すデータが測定される。

【００４６】

２．図６に示された電気泳動装置を使用する方法

ｉ）　試料および適当な試薬は、反応チャンバ１５４内で核酸増幅処理を受け、その間、バルブ１８０，１８２は閉塞される。

ｉｉ）　チャンバ内の反応生成物の光学モニタリングが行われて、増幅反応の進行状態を追跡する。

ｉｉｉ）　バルブ１８０が閉塞されている間に、バルブ１８２が開かれ、適当な緩衝液が入口ポート１８４を通って分離コラムまたは毛細管１５８の中に注入される。

ｉｖ）　電極１６７，１６８の間に適当な電気泳動電圧が印加され、その間、バルブ１８０は開放されると共にバルブ１８４は閉塞される。この段階の間、高分子量種が高分子量フィルタ１７８の上に採集される。

ｖ）　次に、電極１６８，１６９の間に適当な電気泳動電圧が印加され、その間、バルブ１８０，１８２は閉塞している。この段階の間、高分子量フィルタ１７８の上に採集され

た高分子量種は、電気泳動によって分離毛細管１５８を下降する。
ｖｉ） 捕獲された分子種が電気泳動によって分離毛細管１５８を下降すると、上記分子種は光学検出器１８６に到達し、光学的蛍光によって検出される。
【００４７】
３．交雑領域と３方向バルブを持つ装置を使用する方法
ｉ） 例１におけるステップｉ）～ｉｉｉ）が試料上で行われる。
ｉｉ） 移行領域における第１の３方向バルブが開放されて、流体力の下で、反応混合物は、反応チャンバから、上記バルブを通り、交雑領域（第１分離領域）を通り、第２の３方向バルブを通って、接続された廃棄領域の中に流れ込む。流体が交雑領域を通って流れるときに、試料中の標的分子は交雑して、交雑領域の表面に共有結合した配位子（リガンド）またはプローブを捕獲する。
ｉｉｉ） 第１の３方向バルブが切換えられて、試薬は、試薬アクセスチャンネルから、第１の３方向バルブを通り、交雑領域を通り、第２の３方向バルブを通って、廃棄領域の中に流入する。リポータ分子またはプローブは、ステップｉｉ）において捕獲された標的分子と交雑または結合する。
ｉｖ） 洗浄液が、試薬アクセスチャンネルに導入され、交雑領域を通り、第２の３方向バルブを通って、廃棄領域に流入する。
ｖ） 溶離溶液が、試薬アクセスチャンネルに導入され、第１の３方向バルブを通って、交雑領域が充填されるまで交雑領域内に流入する。充填されると、その時点で、選択された期間の間、流れは停止される。
ｖｉ） 第２の３方向バルブは、交雑領域と第２アクセスチャンネルとを第２分離領域に接続するように切換えられる。
ｖｉｉ） 標的分子を持つ溶離溶液は、化学的または熱的または電気的な手段によって交雑表面から溶離される。
ｖｉｉｉ） 標的分子を持つ溶離溶液は再び第２の３方向バルブを通って流れ、同時に、試薬が第２のアクセスチャンネルを通して添加される。第２のアクセスチャンネルでは、溶液と試薬とが合流して第２の分離領域内に一緒に流れ込む
ｉｘ） 第２分離領域と連通する電極が作動されて、標的分子を分離し、ｐＩ位置に移動させる。
ｘ） ＣＣＤカメラが分離チャンネルの全長を光学的に映して、バーコード状の結果を提供する。
【００４８】
４．交雑領域と電気泳動領域と３方向バルブを持つ装置を使用する方法
ｉ） 例３におけるステップｉ）～ｖｉｉ）が試料に行われる。
ｉｉ） 標的分子を持つ溶離溶液は、再び第２の３方向バルブを通って流れる。
ｉｉｉ） 第２の分離領域に連通する電極が作動されて、標的分子を持つ溶離溶液を分離領域に流入させ、第２分離領域に配置されたマトリックス内において標的分子を分離させる。
ｉｖ） ＣＣＤカメラが第２分離チャンネルの全長を光学的に映して、バーコード状の結果を提供する。
【００４９】
製造
本発明の装置は、射出成形または鋳造または機械加工またはその他の利便性のある手段によって製造される。上記手段は一体品を作るためのものであって複数の部品を結合するものではない。成形物は、隣接する反応チャンバと移行領域と分離領域との形成を考慮したものである。バルブ構造物は成形の中に含まれてもよいし、あるいは二者択一的に、ユニタリボディが成形された後に装置に付け加えられてもよい。
【００５０】
現在のところ、一体型のボディが好ましいが、本発明の装置は、成形されたポリマー部品に、１枚またはそれ以上のプラスチックフィルムを密閉または積層することによっても製

造され得る。例えば、装置のボディは、反応チャンバと移行領域とその中に形成された分離領域とを有するモールドポリマー部品を備え、また、第１と第２のプラスチックフィルムを備える。上記第１と第２のプラスチックフィルムは、上記モールドされたポリマー部品の対向する側面を密封して、反応チャンバおよび／または移行領域および／または分離領域を包囲する。試料成分へのエネルギーの伝搬や成分の光学的検出に資するために、プラスチックは比較的薄いものが好まれる。例えば、各フィルムは０．０１～０．５ｍｍの範囲内の厚みを有し、より好ましくは約０．０５ｍｍの厚みを有する。

【００５１】

本発明の統合された装置は、好ましくは、数種のポリマー材料から作られる。限定する意図はないが、それらの中には、ポリオレフィン例えばポリプロピレンおよびポリエチレン、ポリエステル例えばポリエチレンテレフタレート、ポリマーを含むスチレン例えばポリスチレン、スチレンアクリロニトリル、アクリロニトリルブタジエンスチレン、ポリカーボネイト、アクリルポリマー例えばポリメチルメタクリレートおよびポリアクリロニトリル、ポリマーを含む塩素例えばポリ塩化ビニールおよびポリ塩化ビニリデン、アセタールホモポリマーおよびコポリマー、セルロースおよびそのエステル、セルロースナイトレート、ポリマーを含むフッ素例えばポリビニリデンフルオライド、ポリテトラフルオロエチレン、ポリアミド、ポリイミド、ポリエーテルエーテルケトン、ポリマーを含む硫黄たとえばポリフェニレンサルファイドおよびポリエーテルスルホン、ポリウレタン、ポリマーを含むシリコン例えばポリジメチルシロキサン。更に、この構造物は、ガラスやセラミックばかりでなく、コポリマーや上記材料の混合および／または積層物から作ることができる。

【００５２】

更に、選定された箇所においてモールド（型）の中に電極を部分的に挿入することによって、電極は「オーバーモールド」される。それは、材料がモールド内に加えられた後、電極がユニタリボディの中に埋め込まれて凝固するように行われる。電極は白金、銀、炭素、金、その他の適当な導電性物質から作られる。同じ様にして、他の構成部品がこの装置に随意にオーバーモールドされ得る。

【００５３】

二者択一的に、ユニタリボディが形成された後、電極やフィルタや抵抗型加熱体等は、スクリーン印刷または薄膜成膜法を使用して、ボディ内に埋め込まれる。試薬やマトリックスや流体は、形成されたボディの中の様々な貯蔵器やチャンネルに注入され得る。更に、上記装置は、例えば、光学部品とか、電極に接続された電気接続部とか、ボディ内に埋め込まれた加熱器とか、ポンプまたは真空装置への空気圧接続器等とかのユニタリボディの外部部品を含む。二者択一的に、このような構成部品は外部機器に配置され得る。この外部機器の中には、上述したように、ユニタリ装置が配置されて試料処理する。

【００５４】

要約すると、反応チャンバと移行領域と分離領域との全アセンブリは、好ましくは、唯一かつユニタリな使い捨て型のボディの中に形成される。本発明の装置が従来の機器よりも遥かに改善されている。その理由は幾つかある。

１）　全装置は使い捨て式であり、したがって試料の持ち越しおよび試料から試料への汚染は問題にならない。

２）　装置のあらゆる主要な構成要素は１つの分析部品に統合される。反応チャンバを持つ１つの装置から分離管を持つ別の装置に、試料や反応生成物を運搬する必要がない。

３）　反応チャンバを分離チャンバから断熱することに対して備えがなされており、これによって、試料の適切な加熱および分離領域の良好な操作性が保証される。

４）　反応チャンバと分離管の両方において光学的検出に対して備えがなされている。

５）　電気泳動中または等電点電気泳動中に発生するガスを換気することに対して、そうでない場合にはガスを処置することに対して備えがなれている。

６）　サブストレートを接続するための不都合な結合技法が回避されている。

７）　埋め込まれた電極は、再生産性および低コスト大量生産に対処している。

【００５５】
本発明は、特定の実施例および図を参照して多様かつ詳細に上述されている。修正および
は交換が、本発明の広範な範囲から逸脱することなく、この開示に基づいて記載された装
置と方法に対して為され得ることは理解されねばならない。したがって、本発明の範囲は
上記クレームおよびそれらの法的に同等のものによって決定される。
【図面の簡単な説明】
【図１】本発明の一実施例による統合された反応チャンバと移行領域と毛細管電気泳動分
離領域とを有するユニタリ処理装置の斜視図である。
【図２】本発明の第２実施例による統合された反応チャンバと移行領域と交雑形成領域と
を有するもう１つの処理装置の斜視図である。
【図３Ａ】本発明による反応チャンバと分離領域とを接続する移行領域の変形例の概略図
であり、移行領域における緊縮器を示す。
【図３Ｂ】本発明による反応チャンバと分離領域とを接続する移行領域の変形例の概略図
であり、２方向バルブを示す。
【図３Ｃ】本発明による反応チャンバと分離領域とを接続する移行領域の変形例の概略図
であり、入口チャンネルと共に複数の２方向バルブを示す。
【図３Ｄ】本発明による反応チャンバと分離領域とを接続する移行領域の変形例の概略図
であり、入口チャンネルと共に複数の２方向バルブを示す。
【図３Ｅ】本発明による反応チャンバと分離領域とを接続する移行領域の変形例の概略図
であり、３方向バルブを示す。
【図４Ａ】本発明による例証的な機械バルブの平面図を示す。
【図４Ｂ】図４Ａのバルブの断面図を示す。
【図５】本発明の第３の実施例による化学反応分離装置の斜視図である。
【図６】本発明の第４の実施例による別の化学反応分離装置の概略図である。

【国際公開パンフレット】

PCT WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification 6 : B01J 19/00 — A1

(11) International Publication Number: WO 99/47255

(43) International Publication Date: 23 September 1999 (23.09.99)

(21) International Application Number: PCT/US99/06150

(22) International Filing Date: 17 March 1999 (17.03.99)

(30) Priority Data:
09/040,498 17 March 1998 (17.03.98) US

(71) Applicant: CEPHEID [US/US]; 1190 Borregas Avenue, Sunnyvale, CA 94089 (US).

(72) Inventors: NORTHRUP, M., Allen; 616 Vistamont Avenue, Berkeley, CA 94708 (US). PETERSEN, Kurt, E.; 3655 Valley Ridge Lane, San Jose, CA 95148 (US). McMILLAN, William, A.; 8051 Presidio Drive, Cupertino, CA 95014 (US). KOVACS, Gregory, T., A.; 105 Peter Coutts Circle, Stanford, CA 94305 (US).

(74) Agents: CHOW, Y., Ping et al.; 525 University Avenue, Palo Alto, CA 94301 (US).

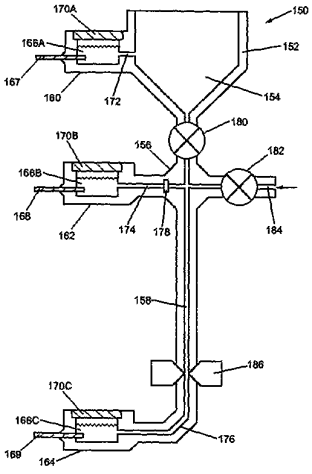
(81) Designated States: AL (Utility model), AM (Utility model), AT (Utility model), AU, AZ, BA, BB, BG (Utility model), BR (Utility model), BY (Utility model), CA, CH, CN (Utility model), CU, CZ (Utility model), DE (Utility model), DK (Utility model), EE (Utility model), ES (Utility model), FI (Utility model), GB, GD, GE (Utility model), GH (Utility model), GM, HR, HU (Utility model), ID, IL, IN, IS, JP (Utility model), KE (Utility model), KG (Utility model), KP, KR (Utility model), KZ (Utility model), LC, LK, LR, LS (Utility model), LT, LU, LV, MD (Utility model), MG, MK, MN, MW, MX (Utility model), NO, NZ, PL (Utility model), PT (Utility model), RO, RU (Utility model), SD, SE, SG, SI, SK (Utility model), SL, TJ (Utility model), TM, TR (Utility model), TT, UA (Utility model), UG, UZ (Utility model), VN (Utility model), YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
With international search report.
Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.

(54) Title: UNITARY CHEMICAL PROCESSING DEVICE

(57) Abstract

A sample-processing device (150) comprises a unitary body (152), preferably a molded polymeric part, having formed therein a reaction chamber (154) for chemically reacting a sample, a separation region (158) for separating components of the sample, and a transition region (156) connecting the reaction chamber (154) to the separation region (158). The reaction chamber (154), transition region (156), and separation region (158) are formed in and enclosed by the unitary body (152). Additionally, the transition region (156) includes at least one flow restrictor (180) for controlling the flow of fluid between the reaction chamber (154) and the separation region (158). Further, the portion of the unitary body (152) defining the transition region (156) has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber (154) so that the transition region (156) thermally isolates the reaction chamber (154) from the separation region (156). In a preferred embodiment, the reaction chamber (154) is an amplification chamber for amplifying nucleic acid in the sample, and the separation region (158) comprises an electrophoresis column or capillary containing a suitable matrix material, such as electrophoresis gel or buffer, for separating nucleic acid fragments in the sample. Electrodes (167, 168, 169) are embedded in the body (152) for forcing the sample to flow from the reaction chamber (154) to the separation region (158). The unitary body (152) may also be surrounded by external, functional components such as an optical detector (186) for detecting separated components of the sample.



(R)60250150031

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon			PL	Poland		
CN	China	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakstan	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Denmark	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
EE	Estonia	LR	Liberia	SG	Singapore		

UNITARY CHEMICAL PROCESSING DEVICE

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates generally to the field of chemical processing, and in particular to an integrated device for processing of a fluid sample.

BACKGROUND OF THE INVENTION

There are many applications in the field of chemical processing in which it is desirable to separate chemical components prior to or after reacting chemicals. Examples of reactions requiring separation of components include organic, inorganic, biochemical, and molecular reactions. Examples of chemical reactions include thermal cycling amplification, such as polymerase chain reaction (PCR), ligase chain reaction (LCR), isothermal nucleic acid amplification, self-sustained sequence replication, enzyme kinetic studies, homogeneous ligand binding assays, affinity binding assays, and more complex biochemical mechanistic studies. Conventional separation techniques include electrophoresis, such as capillary electrophoresis, synchronized cyclic electrophoresis, and free flow electrophoresis. Conventional separation techniques also include isoelectric focusing (IEF), hybridization, liquid and gas chromatography, molecular sieving and filtering.

Components to be separated in various samples include nucleic acids, amino acids, peptides, proteins, cells, viruses, bacteria, organic compounds, carbohydrates, etc. For example, in amplification applications, multiple oligonucleotide primers and probes designed for many organisms can be used to multiply DNA from numerous organisms in a sample. After amplification, separation techniques such as electrophoresis or IEF can be employed to separate the amplification products by certain properties, such as molecular weight, for subsequent detection by fluorescence methods.

Of increasing interest in the field of chemical separation is the use of devices that include an integrated reaction chamber and separation region. Such integrated devices provide a number of advantages over conventional devices in which one transfers a fluid sample

between a reaction apparatus and a separation device. For example, where the chemical reaction and separation steps are performed in a single integrated device, one may avoid contamination and crossover of sample or reaction products. In addition, an integrated device may allow for substantially faster sample processing and analysis.

Recent efforts to integrate processing and analytical functionalities in a single device, especially in the field of MEMS, microfabrication, and microfluidics, have resulted in the development of devices that include multiple substrates bonded together. The substrates are usually bonded with adhesives, or by heat sealing, fusion bonding, or anodic bonding. These multi-substrate devices typically include a reaction chamber that is connected to a separate separation component, such as a capillary tube containing a suitable electrophoresis gel, by an adhesive such as epoxy. Alternatively, these multi-substrate devices have reaction chambers and separation channels etched into a plate and a cover bonded over top of the plate. For example, U.S. Patent 5,849,208 issued to Hayes et al. discloses such a multi-substrate device.

These multi-substrate devices have many disadvantages. First, the uniformity between devices is often compromised during bonding of the substrates. Second, mass production of the multi-substrate devices is costly, labor intensive, difficult to automate, and therefore impractical. For example, when applying adhesives such as epoxy, isolating the epoxy to only specific areas is difficult to implement and to control on a production basis, especially where the device includes small microchannels. Furthermore, adhesives may allow for leaks and add to the cost of the device.

Moreover, current integrated devices provide for only limited control of fluid between reaction and separation regions. For example, high internal pressure can develop in a reaction chamber due to the thermal expansion of liquid or gas present in this region, the generation of gas bubbles, or the chemical reactions performed inside of the chamber. This pressure, combined with any elevated temperatures within the chamber, can have detrimental effects on fluidic components and performance upstream and downstream from the reaction chamber. A particular problem is the flow or diffusion of chemicals

from the reaction chamber into unwanted regions caused by the elevated pressure or temperature. This situation is especially problematic when sensitive detection methods and apparatus are located downstream from the reaction chamber.

A further problem with prior integrated devices is that when the reaction chamber is heated to perform a chemical reaction, the separation region is also heated due to thermal conduction. If the separation region is heated, however, the separation material contained in the region, e.g., electrophoresis gel, degrades and renders the device inoperable. In addition to degrading the separation material, the thermal conduction between the reaction chamber and separation region causes large thermal gradients within the device and prevents adequate heating of a sample in the reaction chamber.

Moreover, where the separation region requires electrodes, as in capillary electrophoresis, micro-electrophoresis, and IEF, there are many issues that have not been addressed by prior art designs. Much of the prior art has focused on issues regarding the design, fabrication, and operation of the capillary channel itself. In contrast, the design of the electrodes which are in contact with the fluid, and which are responsible for the electrokinetic movement of the fluid, has not yet been adequately addressed. The correct design of these electrodes is necessary for the proper, practical, and cost-effective implementation of high-volume, disposable systems that incorporate both reaction chambers and separation regions in a single device. Current state-of-the-art is to incorporate large, open reservoirs (100 μL or more) near the end of each capillary channel, and then "dip" a separate metal electrode into each open reservoir. Such a crude arrangement is unsuitable for mass production of disposable assemblies. Furthermore, external electrodes, which are placed in contact with the fluid in the disposable assembly, are generally not practical because they may need to be cleaned or otherwise "prepared" prior to each use.

SUMMARY

The present invention provides an integrated reaction and separation device that overcomes the disadvantages of the prior art discussed above. In particular, the

integrated device of the present invention avoids the use of inconvenient bonding techniques, enabling inexpensive, high-volume production of the device. Additionally, the integrated device includes a reaction chamber that is thermally isolated from the separation region, thereby enabling proper heating of a sample without degrading the separation region.

In a preferred embodiment, the device comprises a unitary body, preferably a molded polymeric part, having formed therein a reaction chamber for chemically reacting a sample, a separation region for separating components of the sample, and a transition region connecting the reaction chamber to the separation region. The reaction chamber, transition region, and separation region are formed in and enclosed by the unitary body. Additionally, the transition region includes at least one flow restrictor for controlling the flow of fluid between the reaction chamber and the separation region. Further, the portion of the unitary body defining the transition region has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber so that the transition region substantially thermally isolates the reaction chamber from the separation region.

The unitary body may be surrounded by external, functional components such as differential pressure sources, electro-motive sources, heaters, light sources, and optical detectors. In the preferred embodiment, the reaction chamber is an amplification chamber for amplifying nucleic acid in the sample. Also in the preferred embodiment, the separation region comprises an electrophoresis column or capillary containing a suitable matrix material, such as electrophoresis gel or buffer, for separating nucleic acid fragments in the sample.

A more complete understanding of the present invention may be gained upon consideration of the following description and the accompanying drawings.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Fig. 1 is a schematic view of a unitary processing device having an integrated reaction chamber, transition region, and capillary electrophoresis separation region according to one embodiment of the present invention.

Fig. 2 is a schematic view of another processing device having an integrated reaction chamber, transition region, and hybridization separation region according to a second embodiment of the present invention.

Figs. 3 A, B, C, D, E are schematic views of several variations of the transition regions connecting a reaction chamber and separation region according to the present invention. Fig. 3A shows a constrictor in the transition region. Fig 3B shows a two-way valve. Figs. 3C and 3D show multiple two-way valves with an inlet channel. Fig. 3E shows a three-way valve.

Fig. 4 A is a plan view of an exemplary mechanical valve according to the present invention.

Fig. 4B is a cross-sectional view of the valve of Fig. 4A.

Fig. 5 is a perspective view of a chemical reaction and separation device according to a third embodiment of the invention.

Fig. 6 is a schematic view of another chemical reaction and separation device according to a fourth embodiment of the present invention.

DETAILED DESCRIPTION

The present invention provides an integrated device for the processing of a fluid sample. The device comprises a reaction chamber, a product separation region, and a fluid transition region connecting the reaction chamber to the separation region. In the preferred embodiment, the reaction chamber, transition region, and separation region are

formed in and enclosed by a single unitary body, preferably a molded piece of polymeric material. The term "unitary" is herein intended to mean that the body of the device that forms the reaction chamber, transition region, and separation region is a single piece of material. This unitary design enables inexpensive, mass production of the device.

In operation, a fluid sample is moved from one region to another and the sample flow is controlled between regions. There may be more than one reaction chamber, transition region, or separation region in a single integrated device. Also provided is a device as described having one or more electrodes embedded in the body adjacent to one or more of the regions. The electrodes may be in dry or coated form. The body of the device may be surrounded by external, functional components such as electro-motive sources, heaters, light sources, and optical detectors. The device may also be a component of a larger system, for example, a fluid flow cartridge that has other chemical processing functionalities. Such a cartridge is described in co-pending patent application PCT/US98/27632 filed December 24, 1998 the disclosure of which is incorporated by reference herein.

The body may be a polymer, ceramic, or other material that permits the molding of chambers and channels directly into the material. The body may be of various shapes and sizes. The internal network of chambers and channels may be macro, meso or micro scale size, or a combination thereof. For example, the device may include a macro scale reaction chamber which leads to a microchannel transition region and separation region. In general, the integrated device of the present invention includes one or more reaction chambers in fluidic communication with one or multiple separation regions through one or more transition regions. A variety of combinations of chambers, transition regions, and separation regions are intended to be within the scope of the invention. For example, a separation region may precede a reaction chamber and/or lead from the chamber. Also, multiple separation regions may be connected in series or in parallel. These separation regions may be of assorted types, each providing different separating functions. For

example, a reaction chamber may lead through a transition region to a hybridization site which in turn leads to an electrophoresis channel.

Fig. 1 shows one embodiment of a processing device **2** formed by a unitary body **4**. The body **4** has formed therein a reaction chamber **6**, a separation region **8**, and a transition region **10** connecting the reaction chamber to the separation region. The reaction chamber **6** has an inlet port **12** for adding sample and reagents as required by the particular reaction performed in the chamber. The device **2** may include an outlet port as well as the inlet port **12**. The ports may serve to connect the device to an external pump, vacuum source, or syringe. Alternatively, the ports may function as vents. In this embodiment, the separation region **8** is a capillary electrophoresis tube **14** containing appropriate separation material, e.g. electrophoresis gels or polymers, for separating components of the sample. Such separation materials are well known in the art.

The integrated device **2** also includes an injection electrode **20** and a separation electrode **22** embedded in the unitary body **4**. The electrodes **20** and **22** are located at opposite ends of the device to drive electrophoretic, electro-osmotic, or IEF ion flow through the separation region **8**. Each electrode is preferably embedded in the body **4** such that one end of the electrode protrudes through an external surface of the body and such that the other end of the electrode protrudes into an internal region of the body.

In a preferred embodiment, the device **2** is used in combination with and designed to be inserted into an external instrument (not shown) having a heater for heating the reaction chamber **6** and having electrical connections for applying a voltage difference between the electrodes **20**, **22**. The instrument may optionally include an optical detector **16** for detecting separated components of the sample in separation region **8**. Additionally, the instrument may include a pair of optics assemblies **18A**, **18B** for monitoring the reaction chamber **6**. Suitable optics assemblies for use with the device of the present invention are disclosed in U.S. application Ser. No. 09/081,260 filed May 19, 1998 the disclosure of which is incorporated by reference herein.

The reaction chamber **6** is designed for the particular process being performed, such as PCR, LCR, isothermal nucleic acid amplification, self-sustained sequence replication, enzyme kinetic studies, homogenous ligand binding assays, affinity binding assays, chemical or temperature mediated lysis of target microorganisms, more complex biochemical mechanistic studies, the study of certain physiologic process and other synthetic and ligand binding processes. The volume capacity of the chamber depends on its application. In a preferred embodiment, for PCR applications, the chamber has a volume capacity between about 10 to 100 microliters. Thermal energy may be supplied to the reaction chamber **6** by coupling the portion of the body **4** forming the chamber to an external heater. Alternatively, a heating element may be permanently coupled to the body using screen-printing or thin-film depositing techniques.

In terms of the separation region **8**, there may be electrophoretic, hybridization, or IEF functionalities, different filtrations, or other separation mechanisms, such as molecular sieving. Where the separation functionality is electrophoresis, the separation region **8** is preferably a capillary, as in Fig. 1. The separation region may contain an appropriate separation matrix such as a gel or other solution suitable for electrophoresis or IEF, as is known in the art. The solutions may include buffers, additives, polymeric agents, etc. In the preferred embodiment, the capillary tube **14** is between about .05 to 1.0 mm in diameter and 1-10 cm in length.

Fig. 2 shows another embodiment of a processing device **30** in which the separation region **32** is a hybridization region incorporating an array of nucleic acid hybridization sites **34**. Each hybridization site is preferably a channel or chamber coated with immobilized reagent such as polynucleotide probes. Immobilized reagent refers to reagent that is covalently or non-covalently attached to the surface of the structure. The immobilized reagent can be applied to the surface by a variety of methods well known in the art, e.g., dipping, inscribing with a pen, dispensing through a capillary tube or through the use of reagent jet-printing or any other suitable dispensing techniques.

Upon binding of the complementary analyte polynucleotide to the immobilized polynucleotide probe, a labeled probe, e.g., a fluorescent-labeled probe can be added to bind to the analyte polynucleotide. The amount of fluorescence is directly proportional to the amount of analyte in the test sample. Alternatively, the hybridization assay can be performed in a competitive format where a polynucleotide is conjugated to a detectable label. The polynucleotide labeled reagent competes with the analyte for binding to the immobilized polynucleotide. In another embodiment, the hybridization area comprises microstructure columns as described in co-pending application, U.S. Serial No. 09/115,454 filed July 14, 1998, the disclosure of which is incorporated by reference herein.

Other separation regions according to the present invention include ligand-binding sites in which members of a binding pair are located in the sites and couple to complementary binding pairs in the sample. In addition, the separation region may include selective filters such as molecular weight filters. Multiple functionalities may be located in one separation region. For example, electromotive separations such as electrophoresis may be combined with filters to pre-process certain samples where a mixture of protein background and nucleic acid is made to flow by electrical motive forces through a molecular weight cut-off filter, thereby filtering out the protein.

Flow between the reaction chamber and the separation region may be by differential pressure, hydrodynamic forces, electrical motive forces, capillary action, pneumatic forces, hydraulic forces, mechanical forces, etc. The unitary device may be coupled to instruments to actuate fluid flow such as pumps, vacuums, electrical connections, and the like. Electromotive mobility of molecules, and especially nucleic acids, as in isoelectric focus and electrophoretic mobility, is a convenient movement mechanism because of the predictability of movement. When conditions such as buffer ionic strength, channel dimensions, gel type and density, current density, voltage drop, time, etc. are constant, it is relatively easy to predict the location of molecules. Under controlled conditions, at time (T), the position of the analyte should be at position (X) consistently. This concept is illustrated in Fig. 5 in which site **114** denotes the location of the target.

For electrically motivated flow, a series of electrodes may be partially or fully embedded in the body of the device, or alternatively inserted prior to use. As shown in Fig. 1, electrodes **20, 22** may be actuated to induce fluid flow from the reaction chamber **6** to the separation region **8**, or from the separation region **8** to the reaction chamber **6**. Additionally, depending on the performance of the system and the requirements of the reaction chamber **6**, a common electrode (not shown) located in or proximal to the transition region **10** may be included to drive the separation procedures. Both sample injection and electrophoresis can be achieved by applying a voltage between electrodes. The voltage may be applied by a power source external to the device. Alternatively, a suitable power source may be integrated into the device.

Prior to use, the device may have electrodes that are dry, coated, or pre-contacted with electrolytic fluids. In order to use the device, the electrodes should be exposed to electrolytes. Dry electrodes may be made to contact solutions by injecting fluids into the electrode regions or by releasing pre-disposed fluids from connecting reservoirs. Where the electrodes are coated, the coating may be dissolved by various means, to allow the electrodes to contact the electrolytic solution. Furthermore, the timing in which the coating of particular electrodes is dissolved may be controlled to control the activation of each electrode and thus dictate the resulting electrically driven movement of fluids or components.

There are numerous advantages to embedding electrodes in the body of the device. Embedded electrodes facilitate reproducibility of electrode position in each device, to allow one to achieve reproducible results among several devices. In addition, embedded electrodes permit mass production of such devices resulting in decreased cost of manufacture. Moreover, the disposable, single use device of the present invention avoids issues of electrode contamination which may occur where electrodes are permanently secured in multiple use devices and in contact with conducting fluids for a long period of time.

The electrodes may be embedded into the unitary device with little additional cost by several techniques. First, metal electrodes can be situated inside a plastic injection molding production machine and "over-molded" during the injection molding process. Second, the metal electrodes may be selectively screen-printed, or otherwise deposited by plating, thin-film deposition, etc., and patterned on the unitary body of the device. For example, one end of a screen-printed metal line may be used to contact fluid in the device while the other end forms a connector which is electrically engaged by an external instrument. Both of these techniques, and other similar techniques are cost-effective and very suitable for high-volume production lines. The electrodes are preferably located near vents which allow the venting of gases generated during the application of the high electric fields associated with electrophoresis. The vent ports could be simple openings in the tube itself or gas permeable hydrophobic membranes such as Gore-Tex®.

Another aspect of the processing device according to the present invention is the fluid transition region between the reaction chamber and separation region. In some embodiments, the transition region may be a simple fluidic connection, *e.g.* a tube, between the reaction chamber and the separation region. In other embodiments, the transition region includes valves, fluid inlet ports, mixing regions, and the like. In each embodiment, the transition region has a fluid flow restrictor, such as a viscous matrix, a constrictor, fluidic capacitor, ports, and/or at least one valve, which may be a mechanical two-way or three-way valve. The fluid flow restrictor is used to control the flow of fluid between the reaction chamber and separation region.

Figures 3A-E show several embodiments of an integrated device from the perspective of the transition region **60** between the reaction chamber **40** and separation region **50**. Fig. 3A shows a device **80** having a transition region **60** in which the flow restrictor is a constrictor **62**. The inner diameter of the constrictor **62** is very narrow compared to the preceding area, *e.g.*, the reaction chamber **40**. The inner diameter of the constrictor **62** should be sufficiently small, preferably in the range of 0.01 to 1.0 mm, so that surface tension prevents the flow of fluid from the reaction chamber **40** to the separation region **50** until the electrodes **51**, **53**, **55** are activated.

Fig. 3B shows another exemplary device **82** having a two-way valve **64** located in transition region **60**. This valve **64** may be an on-off valve, such as a pinch-off valve, a membrane valve, or the like, to prevent fluid from flowing through the valve when in a closed position and to permit fluid flow when in an open position. Fluids may be allowed to collect in a collection area **66** just upstream of the valve **64**. In this manner, it may be possible to perform functions on the fluid sample prior to injection from the reaction chamber **40** into the separation region **50**. For example, the valve **64** may be closed during nucleic acid amplification reactions in the reaction chamber **40**, then opened just prior to sample injection into the separation region **50**. Furthermore, it may be desirable to return the valve to a closed position to stop fluid flow and thus allow only a plug of fluid to pass into the separation region **50**.

The valve **64** may also be used in the real-time monitoring of the processes occurring in the reaction chamber **40**. As the reaction proceeds in the reaction chamber, a sample of fluid may be allowed to pass through the valve **64** by opening and closing the valve at selective intervals during the course of the reaction process. The fluid flows into the separation region **50** for separation of components and detection of chemicals, thus indicating the status of the reaction process at any given time. The detection of the sample may indicate that the reaction procedure should be adjusted to optimize results. For example, where nucleic acid amplification is occurring in the reaction chamber **40**, if a low nucleic acid concentration is detected during the course of the amplification, the number of thermal cycles may be increased according to the desired outcome. Thus, a user of the device may avoid running too many or few cycles.

Electrodes positioned in the transition region and areas prior to the transition region, e.g., the reaction chamber 40, may facilitate movement of fluid into the transition region 60. Embedded electrodes **70A**, **70B** are shown by the form of the two-way valve configuration in Figure 3C. The electrode **70A** is embedded in the reaction region **40** and the second electrode **70B** is embedded in a channel **72** immediately downstream from the

valve **64**. The electrodes **70A, 70B** protrude through the unitary body of the device to be partially exposed to the fluid inside of the chamber and channel.

The embodiments of the transition region **60** shown in Figs. 3C and 3D each include a combination of several two-way valves with a channel connected to the transition region. In these embodiments, a side valve **68** is located in a side channel **74** to control flow of fluids into the transition region **60**. For example, reagents and fluids may be added to or channeled away from the separation region **60** through the side channel **74**. These additional fluids may be injected prior to, during, or after the injection of the sample into the separation region **50**. Functions such as washing, incorporation of ampholines for isoelectric focusing in the separation region **50**, injection of markers, etc. may be utilized with such a channel and valve arrangement.

In the device **84** of Fig. 3C, the side channel **74** communicates with the transition region **60** downstream from the intermediary valve **64**. In the device **86** of Fig. 3D, the side channel **74** communicates with the transition region **60** in the collection section **66** located upstream from the intermediary valve **64**. In this embodiment, reagents may be allowed to interact with fluid in the collection section **66** prior to injecting the fluid into the separation region **50**. Also in the embodiments of Figs. 3C and 3D, the embedded common electrode **70B** is positioned in the transition region **60** opposite the side channel **74**. The common electrode **70B** may have several functions. The common electrode may either work with a side electrode (not shown) in the side channel **74** to induce fluid flow from the side channel. In addition, the common electrode **70B** may work with the injection electrode **70A** to facilitate fluid flow from the reaction chamber **40**.

Further to the types of valves in the transition region of the device, the function of multiple, two-way valves may be realized through a single three-way valve. Fig. 3E shows a device **88** having a three-way valve **69** that allows injection of additional fluids, e.g. reagents, into the transition region **60** through the side channel **74**. A three-way valve or combination of two-way valves may also communicate with a concentration channel having a focusing gel and a common electrode. In this embodiment, a sample of

chemicals flows into the channel to produce a fluid plug which may then be moved into the separation region.

An exemplary membrane valve is shown in plan view in Fig. 4A and cross-sectional view in Fig. 4B. The membrane valve **90** comprises a thin flexible polymer layer **92** that can be exposed to a force **A** to bias the layer **92** against a surface **94** to seal the fluidic path between two channels **96** and **98**. The valve **90** may then be released by removing the force A, causing the membrane to relax and permitting fluid to flow between the channels **96** and **98**. The force A which deflects the flexible membrane may be pneumatically, hydraulically, or a mechanically induced, for example by a mechanical plunger.

Referring again to Figs. 3A-3E, it is important that the transition region **60** thermally isolate the reaction chamber **40** from the separation region **50**. This thermal isolation enables proper heating of a sample in the reaction chamber **40** and prevents the degradation of material in the separation region **50**. The thermal isolation is achieved by making the transition region **60** thermally resistive, i.e., by ensuring that the transition region **60** has a lower thermal conduction than the reaction chamber **40**. The thermal conduction of the transition region **60** relates to both the conductivity of the material forming the transition region and the size of the transition region relative to the reaction chamber **40**. The present invention contemplates several methods for ensuring that the transition region **60** has a lower thermal conduction than the reaction chamber **40**. First, the portion of the body defining the transition region **60** is made narrower than the portion of the body forming the reaction chamber **40** so that the transition region **60** substantially thermally isolates the reaction chamber **40** from the separation region **50**. This is the presently preferred technique and is illustrated in the various embodiments of Fig. 1-3E. Second, the transition region **60** may comprise a different material having a lower thermal conductivity than the material forming the reaction chamber **40**. Third, thermal insulators, such as air pockets, may be formed in the body surrounding the transition region **60**. Of course, suitable combinations of these techniques may also be employed.

One or more optical assemblies may communicate with the reaction chamber, separation region and/or other areas of the device. The optical assemblies may be externally coupled to the device and preferably include solid-state components, such as photodiodes and LEDs. As shown in Fig. 5, a device **100** includes a light source **102**, such as an LED, and an optical detector **104**, such as a lens, optical filter, and photodiode. Light source **102** and detector **104** are positioned to detect separated components, *e.g.* nucleic acid fragments, of the sample in the electrophoresis capillary **108**. The nucleic acid fragments may be detected when stained with an intercalating dye such as ethidium bromide. An example of this format provides for ethidium bromide being added from a side channel (not shown) via electromotive forces of electrodes. The light source **102** is coupled to a controller by a connector **112** and data is received by the controller from detector **104** through a connector **110**. The controller may comprise one or more microprocessors or microcontrollers for controlling operations such as fluid flow actuation, optics, detection, etc.

Alternatively, the optical detection system may comprise a laser and CCD. In this embodiment, the optical detection arrangement preferably includes an optical filter, such as an interference filter or band pass filter for passing the detection wavelength of interest, a CCD, focusing optics, a reflector/splitter, and an Argon ion laser. The operation is as follows: The laser excites the fluorescent indicator dye associated with product detection. The fluorescent signal is monitored by the CCD and passed to the controller. Alternatively, an LED may be used to excite the fluorescent indicator dye. Absorption spectroscopy could similarly be used.

Fig. 6 illustrates another embodiment of the present invention in which a processing device **150** includes electrode regions **160**, **162** and **164**. Each electrode region includes a respective reservoir **166A**, **166B**, **166C** for storing electrophoretically transported fluid. Each of the electrode regions also has a respective electrode **167**, **168** and **169** embedded in the body **152** of the device. Each electrode protrudes through the body **152** to be partially immersed inside of a reservoir. Each reservoir further has a respective

membrane **170A**, **170B**, and **170C** to vent gases. The membranes may be made of Gore-Tex® or other convenient hydrophobic porous materials.

The first electrode region **160** is connected to a reaction chamber **154** by a channel **172**. Similarly, the second electrode region **162** is connected to a transition region **156** by a channel **174**. The channel **174** further includes a filter **178**, preferably a high molecular weight filter, to allow only selected molecular components to pass. The third electrode region **164** is attached to the terminal end of a separation region **158** by a channel **176**. A valve **180** in transition region **156** controls fluid flow from the reaction chamber **154** and a valve **182** controls cross-flow of fluid through a side channel **184**. In a preferred embodiment, the device **150** is used for nucleic acid analysis and the reaction chamber **154** is a nucleic acid amplification chamber.

Examples of Operation

The present invention further contemplates particular methods for using various embodiments of the reaction and separation device described above.

1. **Method for using an electrophoresis device of the present invention:**

i) an unknown sample is mixed with the appropriate PCR, for example, mastermix solution and introduced into the reaction chamber portion of the analysis system;

ii) a PCR reaction sequence (or other DNA amplification technique or chemical reaction) is performed on the solution inside the reaction chamber;

iii) optical monitoring of the reaction products inside the chamber is performed to track the progress of the amplification reaction;

iv) when it is determined that sufficient product, such as nucleic acid, has been generated inside the reaction chamber, the injection and common electrodes are activated, drawing a sample plug through the transition region into the top portion of the separation region, e.g., an electrophoresis tube containing a suitable gel. This electrophoretic injection step can be completed within a very short time, thereby minimizing the generation of bubbles within the reaction chamber;

v) the common and electrophoresis electrodes are activated, causing the sample plug to drift through the gel and down the hollow separation tube;

vi) as the separated bands of molecules traverse the length of the tube, they pass by the optical detection system and data representing the product is determined.

2. Method of using the electrophoresis device shown in Figure 6:

i) the sample and appropriate reagents are subjected to a nucleic acid amplification process in the reaction chamber **154**, while valves **180** and **182** are closed;

ii) optical monitoring of the reaction products inside the chamber **154** is performed to track the progress of the amplification reaction;

iii) while valve **180** is closed, valve **182** is opened and an appropriate buffer solution is injected into the separation column or capillary **158** through the inlet port **184**;

iv) an appropriate electrophoresis voltage is applied between electrodes **167** and **168** while valve **180** is opened and valve **182** is closed. During this phase, high molecular weight species are collected on the high molecular weight filter **178**;

v) an appropriate electrophoresis voltage is then applied between electrodes **168** and **169**, while valves **180** and **182** are closed. During this phase, the high molecular weight species collected on the filter **178** are electrophoretically transported down the separation capillary **158**;

vi) as the captured molecular species are electrophoretically transported down the capillary **158**, they reach the optical detector **186** and are detected by optical fluorescence.

3. Method of using a device with a hybridization region and three-way valve:

i) steps i) to iii) in Example 1 are performed on a sample;

ii) a first three-way valve in the transition region is opened to allow the reaction mixture to flow under hydrodynamic force from the reaction chamber, through the valve, through a hybridization region (first separation region), through a second three-way valve, and into a connected waste area. As the fluid flows through the hybridization region, target molecules in the sample hybridize to

capture ligands or probes covalently bound to the surface of the hybridization region;

iii) the first three-way valve is switched to allow a reagent to flow hydrodynamically from a reagent access channel, through the first three-way valve, through the hybridization region, through the second three-way valve, and into the waste area. Reporter molecules or probes hybridize or bind to any target molecules captured in the prior step ii);

iv) a wash solution is introduced into the reagent access channel and flows through the hybridization region, through the second three-way valve and into the waste;

v) an elution solution is introduced into the reagent access channel and flows through the first three-way valve and into the hybridization region until the region is filled, at which time flow is stopped for a selected period of time;

vi) the second three-way valve switches to connect the hybridization area and a second access channel to a second separation region;

vii) the elution solution with the target molecules is eluted from the hybridization surface by chemical, thermal or electrical means;

viii) the elution solution with the target molecules resumes flow through the second three-way valve at the same time that a reagent is added through the second access channel where the elution and reagent meet and flow together into the second separation region;

ix) electrodes in communication with the second separation region are activated causing the target molecules to separate and migrate to their pI location;

x) a CCD camera optically images the entire length of the second separation channel to provide a barcode-like result.

4. Method of using a device with a hybridization region, electrophoresis region and three-way valve:

i) steps i) to vii) in Example 3 are performed on a sample;

ii) the elution solution with the target molecules resume flow through the second three-way valve;

iii) electrodes in communication with the second separation region are activated causing the elution solution with target molecules to flow into the separation region and the target molecules to separate in the matrix located in the second separation region;

iv) a CCD camera optically images the entire length of the second separation channel to provide a barcode-like result.

Fabrication

The devices of the present invention may be produced by injection molding, casting, machining or other convenient means of making a one-piece body without bonding multiple pieces together. Molding allows for formation of a contiguous reaction chamber, transition region, and separation region. Valve structures may also be included in the mold, or in the alternative, added to device after the unitary body is molded.

Although a one-piece body is presently preferred, a device of the present invention may also be produced by sealing or laminating one or more plastic films to a molded polymeric part. For example, the body of the device may comprise a molded polymeric part having the reaction chamber, transition region, and separation region formed therein and first and second plastic films sealed to opposite sides of the molded polymeric part to enclose the reaction chamber, transition region, and/or separation region. To aid in the transfer of energy to the sample components or to aid in optical detection of the components, it is preferred that the plastic films be relatively thin, e.g., that the films each have a thickness in the range of 0.01 to 0.5 mm, and more preferably have a thickness of about 0.05 mm.

The integrated devices of the present invention are preferably made of any number of polymeric materials. Included among these are, but not intended to be limited to, polyolefins such as polypropylene and polyethylene, polyesters such as polyethylene terephthalate, styrene containing polymers such as polystyrene, styreneacrylonitrile, and acrylonitrilebutadienestyrene, polycarbonate, acrylic polymers such as polymethylmethacrylate and poly acrylonitrile, chlorine containing polymers such as

polyvinylchloride and polyvinylidenechloride, acetal homopolymers and copolymers, cellulosics and their esters, cellulose nitrate, fluorine containing polymers such as polyvinylidenefluoride, polytetrafluoroethylene, polyamides, polyimides, polyetheretherketone, sulfur containing polymers such as polyphenylenesulfide and polyethersulfone, polyurethanes, silicon containing polymers such as polydimethylsiloxane. In addition, the structures can be made from copolymers, blends and/or laminates of the above materials, as well as glass and ceramic materials.

Furthermore, electrodes may be "overmolded" by partially inserting electrodes at their selected locations into the mold such that the electrodes become embedded in the unitary body after the material is added to the mold and allowed to solidify. The electrodes may be made of platinum, silver, carbon, gold or any other suitable electrically conductive material. Other components may be optionally overmolded to the device in a similar fashion.

In the alternative, after the unitary body is formed, electrodes, filters, resistive heating elements, etc. may be embedded into the body using screen-printing or thin-film depositing techniques. Reagents, matrices or fluids may be injected into various reservoirs and channels of the formed body. Furthermore, the device may include components external to the unitary body, such as optics, electrical connections to the electrodes, heater(s) embedded in the body, pneumatic interfaces to pumps or vacuums, etc. Alternatively, such components may be located in an external instrument into which the unitary device is placed for sample processing, as described above.

To summarize, the entire assembly of the reaction chamber, transition region, and separation region are preferably formed in a single, unitary, disposable body. There are a number of reasons why the device of the present invention is much improved over prior implementations.

1) the entire device is disposable, so that sample carry-over and contamination from sample to sample is not a problem;

2) all major elements of the device are integrated into one analytical component; it is not necessary to transfer the sample or the reaction products from one device having a reaction chamber to a separate device having a separation tube;

3) provision is made for thermally isolating the reaction chamber from the separation region, thereby ensuring proper heating of a sample and operability of the separation region;

4) provision is made for optical detection both in the reaction chamber as well as the separation tube;

5) provision is made for venting and otherwise dealing with the gases generated during electrophoresis or during isoelectric focusing;

6) the inconvenience of bonding techniques to connect substrates and modules is avoided; and

7) embedded electrodes provide for reproducibility and low cost mass production.

The present invention has been described above in varied detail by reference to the particular embodiments and figures. It is to be understood that modifications or substitutions may be made to the devices and methods described based upon this disclosure without departing from the broad scope of the invention. Therefore, the scope of the invention should be determined by the following claims and their legal equivalents.

CLAIMS

What is claimed is:

1. A device for processing a fluid sample, the device comprising a unitary body having formed therein:

a) a reaction chamber for chemically reacting the sample;

b) a separation region for separating components of the sample; and

c) a transition region connecting the reaction chamber to the separation region;

wherein the reaction chamber, transition region, and separation region are formed in and enclosed by the unitary body, the transition region includes at least one flow restrictor for controlling the flow of fluid between the reaction chamber and the separation region, and the portion of the unitary body defining the transition region has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber so that the transition region substantially thermally isolates the reaction chamber from the separation region.

2. The device of claim 1, further comprising at least two electrodes coupled to the unitary body, wherein the electrodes are positioned to force the sample to flow from the reaction chamber or transition region into the separation region when a voltage is applied between the electrodes.

3. The device of claim 2, wherein the unitary body comprises a molded polymeric part having the electrodes embedded therein.

4. The device of claim 3, wherein each of the electrodes is embedded in the body such that one end of the electrode protrudes through an external surface of the body and such that the other end of the electrode protrudes into an internal region of the body.

5. The device of claim 2, wherein the device is in combination with and designed to be inserted into an external instrument having a heater for heating the reaction chamber and having electrical connections for supplying power to the electrodes.

6. The combination of claim 5, wherein the instrument further includes optics for detecting separated components of the sample or for optically monitoring the reaction chamber.

7. The device of claim 1, further comprising:

a) an injection electrode embedded in the unitary body adjacent the reaction chamber;

b) a separation electrode embedded in the unitary body adjacent the separation region;

c) a common electrode embedded in the unitary body adjacent the transition region; and

d) a high molecular weight filter positioned in the transition region such that when a voltage is applied between the injection and common electrodes, high molecular weight species in the sample are transported from the reaction chamber to the transition region and collected on the filter, and such that when a subsequent voltage is applied between the common and separation electrodes, the high molecular weight species collected on the filter are electrophoretically transported into the separation region.

8. The device of claim 1, wherein the portion of the unitary body forming the transition region is narrower than the portion of the body forming the reaction chamber.

9. The device of claim 1, wherein the unitary body defines air pockets surrounding the transition region.

10. The device of claim 1, wherein the separation region comprises an electrophoresis capillary containing a separation material.

11. The device of claim 1, wherein the separation region comprises at least one ligand binding site containing members of a binding pair for coupling to complementary binding pairs in the sample.

12. The device of claim 1, wherein the separation region comprises at least one hybridization site having immobilized reagent for hybridizing target analyte in the sample.

13. The device of claim 1, wherein the flow restrictor comprises a constrictor in the transition region having an inner diameter in the range of .01 to 1.0 mm.

14. The device of claim 1, wherein the unitary body further has formed therein at least one side channel communicating with the transition region for adding reagents to the transition region, and wherein the side channel includes at least one flow controller for controlling the flow of fluids through the channel.

15. The device of claim 14, wherein the side channel connects to the transition region upstream of the flow restrictor, and wherein the transition region further includes a collection area for mixing the sample with the reagents.

16. A method for producing a sample-processing device, the method comprising the steps of:

a) molding a one-piece polymeric body having:

i) a reaction chamber for chemically reacting a sample;

ii) a separation region for separating components of the sample; and

iii) a transition region connecting the reaction chamber to the separation region, wherein the polymeric body is molded such that the reaction chamber, transition region, and separation region are formed in and

enclosed by the body and such that the portion of the body defining the transition region has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber; and

b) embedding at least two electrodes in the polymeric body such that the electrodes are positioned to force the sample to flow from the reaction chamber or from the transition region into the separation region when a voltage difference is applied to the electrodes.

17. The method of claim 16, wherein the electrodes are overmolded in the polymeric body by partially inserting the electrodes at selected locations in a mold so that the electrodes become embedded in the body after material is added to the mold.

18. The method of claim 17, wherein the electrodes are embedded in the polymeric body by screen-printing or depositing.

19. A device for processing a fluid sample, the device comprising:

a) a body having formed therein:

i) a reaction chamber for chemically reacting the sample;

ii) a separation region for separating components of the sample; and

iii) a transition region connecting the reaction chamber to the separation region, wherein the transition region includes at least one flow restrictor for controlling the flow of fluid between the reaction chamber and the separation region, and wherein the portion of the body defining the transition region has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber so that the transition region substantially thermally isolates the reaction chamber from the separation region;

b) an injection electrode embedded in the body adjacent the reaction chamber;

c) a separation electrode embedded in the body adjacent the separation region; and

d) a common electrode embedded in the body adjacent the transition region such that when a voltage is applied between the injection and common electrodes, the components in the sample are transported from the reaction chamber to the transition region, and such that when a subsequent voltage is applied between the common and separation electrodes, the sample components are electrophoretically transported into the separation region.

20. The device of claim 19, further comprising a high molecular weight filter positioned in the transition region such that when the voltage is applied between the injection and common electrodes, high molecular weight species in the sample are transported from the reaction chamber to the transition region and collected on the filter, and such that when the subsequent voltage is applied between the common and separation electrodes, the high molecular weight species collected on the filter are transported into the separation region.

21. The device of claim 19, wherein the body further has formed therein at least one side channel communicating with the transition region for adding reagents to the transition region, and wherein the side channel includes at least one flow controller for controlling the flow of fluids through the channel.

22. The device of claim 21, wherein the side channel connects to the transition region upstream of the flow restrictor, and wherein the transition region further includes a collection area for mixing the sample with the reagents.

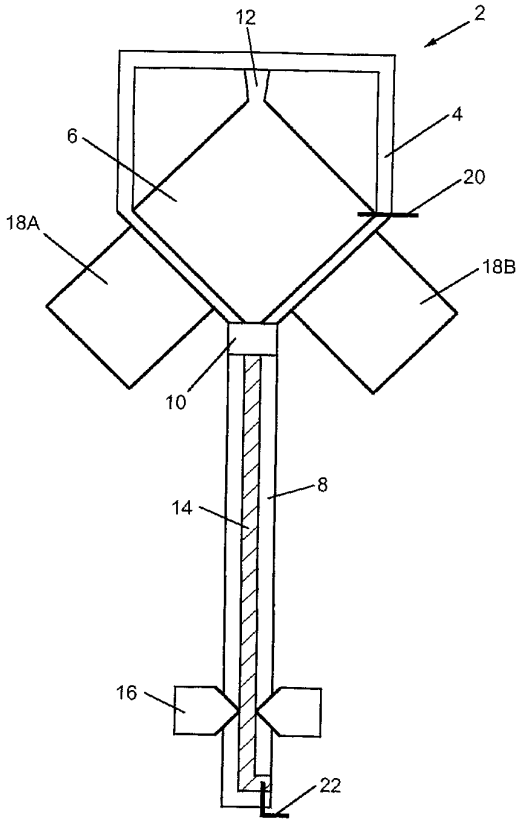


FIG. 1

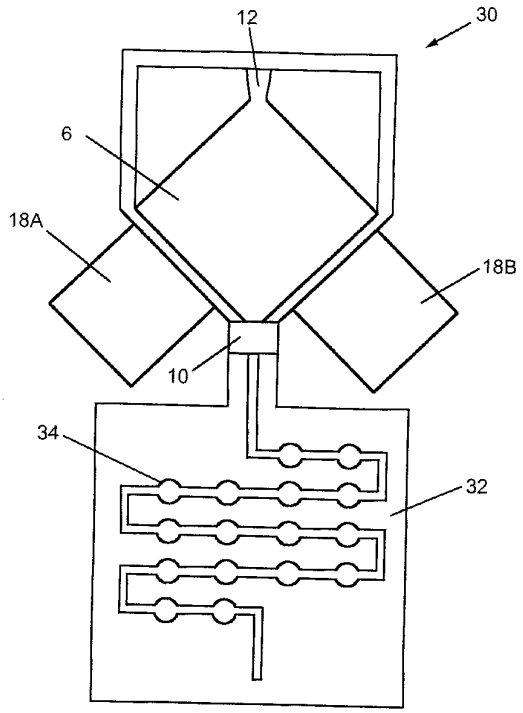


FIG. 2

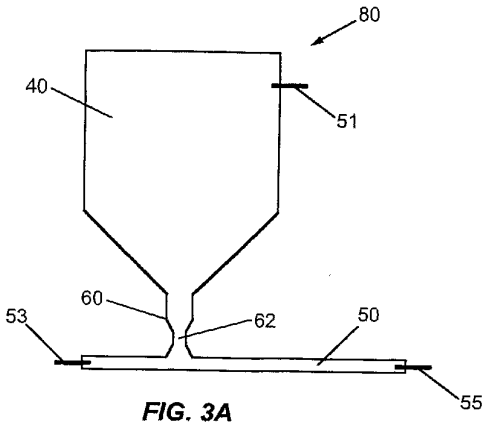


FIG. 3A

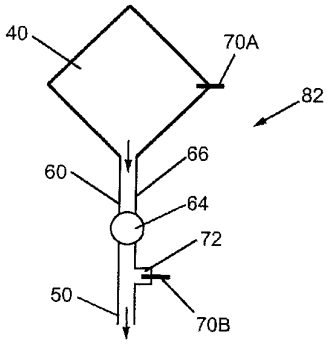


FIG. 3B

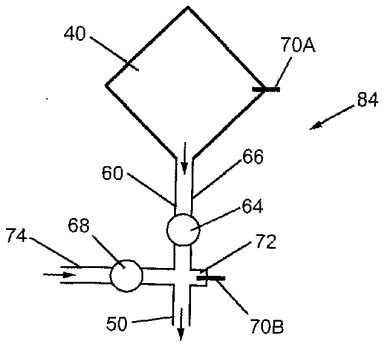


FIG. 3C

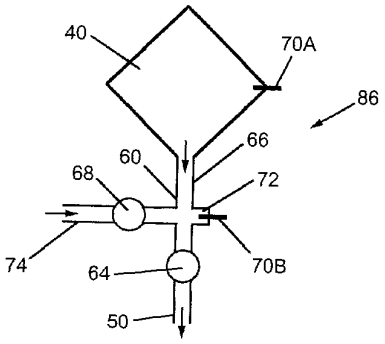


FIG. 3D

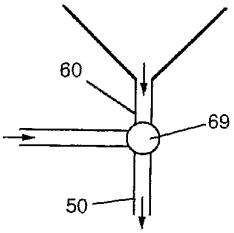


FIG. 3E

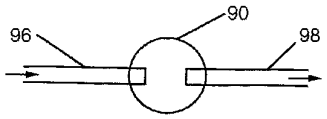


FIG. 4A

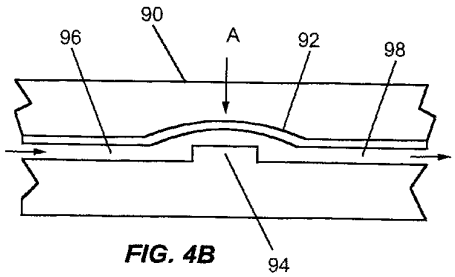


FIG. 4B

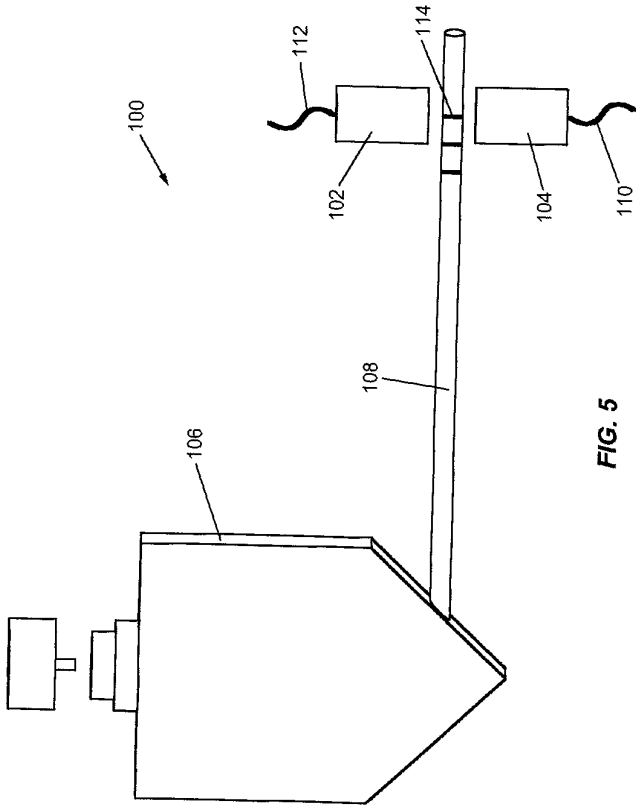


FIG. 5

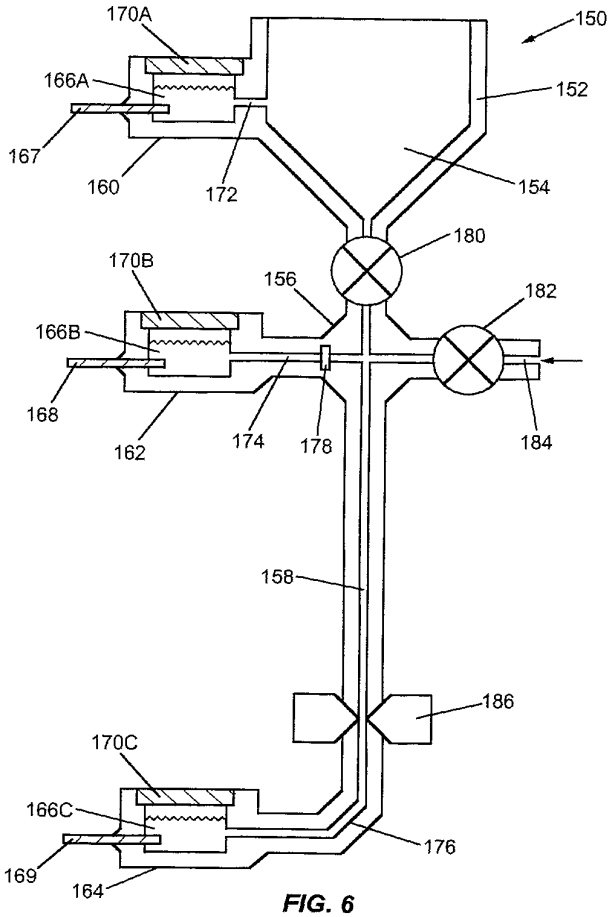

170A
150
166A
152
167
160
172
154
180
170B
156
182
166B
168
162
174
178
184
158
186
170C
166C
176
169
164

FIG. 6

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

CORRECTED VERSION

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
23 September 1999 (23.09.1999)

PCT

(10) International Publication Number
WO 99/47255 A1

(51) International Patent Classification⁶: B01J 19/00

(21) International Application Number: PCT/US99/06150

(22) International Filing Date: 17 March 1999 (17.03.1999)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
09/040,498 17 March 1998 (17.03.1998) US

(71) Applicant: CEPHEID [US/US]; 1190 Borregas Avenue, Sunnyvale, CA 94089 (US).

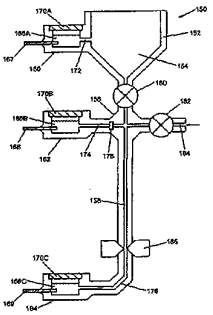
(72) Inventors: NORTHRUP, M., Allen; 616 Vistamont Avenue, Berkeley, CA 94708 (US). PETERSEN, Kurt, E.; 3655 Valley Ridge Lane, San Jose, CA 95148 (US). McMILLAN, William, A.; 8051 Presidio Drive, Cupertino, CA 95014 (US). KOVACS, Gregory, T., A.; 105 Peter Coutts Circle, Stanford, CA 94305 (US).

(74) Agents: CHOW, Y., Ping et al.; 525 University Avenue, Palo Alto, CA 94301 (US).

(81) Designated States *(national)*: AL (utility model), AM (utility model), AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG (utility model), BR (utility model), BY (utility model), CA, CH, CN (utility model), CU, CZ (utility model), DE (utility model), DK (utility model), EE (utility model), ES (utility model), FI (utility model), GB, GD, GE (utility

[Continued on next page]

(54) Title: UNITARY CHEMICAL PROCESSING DEVICE



特許庁
2002.11.07
国際出願課

(57) Abstract: A sample-processing device (150) comprises a unitary body (152), preferably a molded polymeric part, having formed therein a reaction chamber (154) for chemically reacting a sample, a separation region (158) for separating components of the sample, and a transition region (156) connecting the reaction chamber (154) to the separation region (158). The reaction chamber (154), transition region (156), and separation region (158) are formed in and enclosed by the unitary body (152). Additionally, the transition region (156) includes at least one flow restrictor (180) for controlling the flow of fluid between the reaction chamber (154) and the separation region (158). Further, the portion of the unitary body (152) defining the transition region (156) has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber (154) so that the transition region (156) thermally isolates the reaction chamber (154) from the separation region (156). In a preferred embodiment, the reaction chamber (154) is an amplification chamber for amplifying nucleic acid in the sample, and the separation region (158) comprises an electrophoresis column or capillary containing a suitable matrix material, such as electrophoresis gel or buffer, for separating nucleic acid fragments in the sample. Electrodes (167, 168, 169) are embedded in the body (152) for forcing the sample to flow from the reaction chamber (154) to the separation region (158). The unitary body (152) may also be surrounded by external, functional components such as an optical detector (186) for detecting separated components of the sample.

WO 99/47255 A1

(R)60250160003

model), GH (utility model), GM, HR, HU (utility model), ID, IL, IN, IS, JP, KE (utility model), KG (utility model), KP, KR (utility model), KZ (utility model), LC, LK, LR, LS (utility model), LT, LU, LV, MD (utility model), MG, MK, MN, MW, MX (utility model), NO, NZ, PL (utility model), PT (utility model), RO, RU (utility model), SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SL, TJ (utility model), TM, TR (utility model), TT, UA (utility model), UG, UZ (utility model), VN (utility model), YU, ZA, ZW.

(84) **Designated States** *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI utility model (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

(48) **Date of publication of this corrected version:**
19 July 2001

(15) **Information about Correction:**
see PCT Gazette No. 29/2001 of 19 July 2001, Section II

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

CORRECTED VERSION

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
23 September 1999 (23.09.1999)

PCT

(10) International Publication Number
WO 99/47255 A1

(51) International Patent Classification⁶: B01J 19/00

(21) International Application Number: PCT/US99/06150

(22) International Filing Date: 17 March 1999 (17.03.1999)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
09/040,498 17 March 1998 (17.03.1998) US

(71) Applicant: CEPHEID [US/US]; 1190 Borregas Avenue, Sunnyvale, CA 94089 (US).

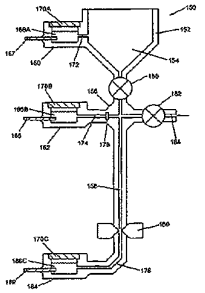
(72) Inventors: NORTHRUP, M., Allen; 616 Vistamont Avenue, Berkeley, CA 94708 (US). PETERSEN, Kurt, E.; 3655 Valley Ridge Lane, San Jose, CA 95148 (US). McMILLAN, William, A.; 8051 Presidio Drive, Cupertino, CA 95014 (US). KOVACS, Gregory, T., A.; 105 Peter Coutts Circle, Stanford, CA 94305 (US).

(74) Agents: CHOW, Y., Ping et al.; 525 University Avenue, Palo Alto, CA 94301 (US).

(81) Designated States *(national)*: AL (utility model), AM (utility model), AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG (utility model), BR (utility model), BY (utility model), CA, CH, CN (utility model), CU, CZ (utility model), DE (utility model), DK (utility model), EE (utility model), ES (utility model), FI (utility model), GB, GD, GE (utility

[Continued on next page]

(54) Title: UNITARY CHEMICAL PROCESSING DEVICE



特許庁
15. 3. 31
国際出願課

(57) Abstract: A sample-processing device (150) comprises a unitary body (152), preferably a molded polymeric part, having formed therein a reaction chamber (154) for chemically reacting a sample, a separation region (158) for separating components of the sample, and a transition region (156) connecting the reaction chamber (154) to the separation region (158). The reaction chamber (154), transition region (156), and separation region (158) are formed in and enclosed by the unitary body (152). Additionally, the transition region (156) includes at least one flow restrictor (180) for controlling the flow of fluid between the reaction chamber (154) and the separation region (158). Further, the portion of the unitary body (152) defining the transition region (156) has lower thermal conduction than the portion of the body defining the reaction chamber (154) so that the transition region (156) thermally isolates the reaction chamber (154) from the separation region (156). In a preferred embodiment, the reaction chamber (154) is an amplification chamber for amplifying nucleic acid in the sample, and the separation region (158) comprises an electrophoresis column or capillary containing a suitable matrix material, such as electrophoresis gel or buffer, for separating nucleic acid fragments in the sample. Electrodes (167, 168, 169) are embedded in the body (152) for forcing the sample to flow from the reaction chamber (154) to the separation region (158). The unitary body (152) may also be surrounded by external, functional components such as an optical detector (186) for detecting separated components of the sample.

WO 99/47255 A1

(L)60300531541

WO 99/47255 A1



model), GH (utility model), GM, HR, HU (utility model), ID, IL, IN, IS, JP, KE (utility model), KG (utility model), KP, KR (utility model), KZ (utility model), LC, LK, LR, LS (utility model), LT, LU, LV, MD (utility model), MG, MK, MN, MW, MX (utility model), NO, NZ, PL (utility model), PT (utility model), RO, RU (utility model), SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SL, TJ (utility model), TM, TR (utility model), TT, UA (utility model), UG, UZ (utility model), VN (utility model), YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI utility model (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

(48) **Date of publication of this corrected version:**
19 July 2001

(15) **Information about Correction:**
see PCT Gazette No. 29/2001 of 19 July 2001, Section II

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

【手続補正書】
【提出日】平成12年1月27日(2000.1.27)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
流体試料を処理するための装置であって、上記装置はユニタリボディを備え、上記ユニタリボディはその中に、
ａ）上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｂ）上記試料の成分を分離するための分離領域と、
ｃ）上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを形成し、
上記反応チャンバと上記分離領域との間の流体の流れを制御するために、上記移行領域は少なくとも１つの流制限器を含み、上記移行領域が上記反応チャンバを上記分離領域から実質的に断熱するために、上記移行領域を形成するユニタリボディの部分は上記反応チャンバを形成するユニタリボディの部分よりも低い熱伝導を持っていることを特徴とする装置。
【請求項２】
請求項１に記載の装置において、上記ユニタリボディに結合された少なくとも２つの電極を更に備え、上記電極間に電圧が印加されたとき上記試料を上記反応チャンバまたは上記移行領域から上記分離領域に強制的に流すように、上記電極が配置されていることを特徴とする装置。
【請求項３】
請求項２に記載の装置において、上記ユニタリボディはモールドされたポリマー部品を備え、上記ポリマー部品はその中に埋め込まれた上記電極を有していることを特徴とする装置。
【請求項４】
請求項３に記載の装置において、上記電極の一端が上記ボディの外部表面を貫いて突出すると共に上記電極の他端が上記ボディの内部領域内に突出するように、上記電極の各々は上記ボディの中に埋め込まれていることを特徴とする装置。
【請求項５】
請求項２に記載の装置において、上記反応チャンバを加熱するための加熱器を有すると共に上記電極に電力を供給するための電気接続器を有する外部器械と組み合わせ、かつ上記外部器械に挿入されるように設計されていることを特徴とする装置。
【請求項６】
請求項５に記載の組み合わせ装置において、上記試料の分離された成分を検出するために或いは上記反応チャンバを光学的にモニターするために、上記器械は光学機器を更に含んでいることを特徴とする装置。
【請求項７】
請求項１に記載の装置において、
ａ）　上記反応チャンバに隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた注入電極と、
ｂ）　上記分離領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた分離電極と、
ｃ）　上記移行領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた共通電極と、
ｄ）　上記移行領域に配置された高分子量フィルタとを更に備えて、
電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の高分子量種が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ上記フィルタ上に採集されると共に、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記フィルタ上に採集された上記高分子量種は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。

【請求項８】
請求項１に記載の装置において、上記移行領域を形成する上記ユニタリボディの部分は、上記反応チャンバを形成する上記ボディの部分よりも狭いことを特徴とする装置。
【請求項９】
請求項１に記載の装置において、上記ユニタリボディは上記移行領域を包囲するエアーポケットを形成していることを特徴とする装置。
【請求項１０】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は分離物質の入っている電気泳動毛細管を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１１】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は、上記試料中の相補結合対に結合するために、結合対のメンバーが入っている少なくとも１つの配位子結合部を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１２】
請求項１に記載の装置において、上記分離領域は、上記試料中の標的分析物を交雑するために、固定化試薬を持つ少なくとも１つの交雑部を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１３】
請求項１に記載の装置において、上記流制限器は、上記移行領域において０．０１ｍｍから１．０ｍｍの範囲の内径を持つ緊縮器を備えていることを特徴とする装置。
【請求項１４】
請求項１に記載の装置において、試薬を上記移行領域に添加するために、上記ユニタリボディはその中に、上記移行領域と連通する少なくとも１つの側方チャンネルを更に形成していると共に、上記チャンネルを通る流体の流れを制御するために、上記側方チャンネルは少なくとも１つの流制御器を含んでいることを特徴とする装置。
【請求項１５】
請求項１４に記載の装置において、上記側方チャンネルは上記流制限器の上流側の移行領域に接続すると共に、上記試料を上記試薬と混合するために、上記移行領域は採集領域を更に含んでいることを特徴とする装置。
【請求項１６】
試料処理装置を生産するための方法であって、上記方法はａ）　一体型ポリマーボディをモールドするステップを備え、
上記一体型ポリマーボディは、
ｉ）　上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｉｉ）　上記試料の成分を分離するための分離領域と、
ｉｉｉ）　上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを有し、上記移行領域を形成する上記ボディの部分が上記反応チャンバを形成する上記ボディの部分よりも低い熱伝導を持つように、上記ポリマーボディはモールドされ、
ｂ）　上記ポリマーボディの中に少なくとも２つの電極を埋め込むステップを備えて、上記電極間に電圧差が印加されたとき上記試料を上記反応チャンバから或いは上記移行領域から上記分離領域に強制的に流すように、上記電極が配置されていることを特徴とする方法。
【請求項１７】
請求項１６に記載の方法において、上記ポリマーボディの中に上記電極を埋め込む上記ステップは、材料がモールド内に添加された後に上記電極が上記ボディの中に生め込まれるように、上記モールド内の選定された場所に上記電極を部分的に挿入するステップを備えていることを特徴とする方法。
【請求項１８】
請求項１７に記載の方法において、上記電極はスクリーン印刷または成膜によって上記ポリマーボディの中に生め込まれることを特徴とする方法。
【請求項１９】

流体試料を処理するための装置であって、
ａ）　上記装置はボディを備え、上記ボディはその中に、
ｉ）　上記試料を化学的に反応させるための反応チャンバと、
ｉｉ）　上記試料の成分を分離するための分離領域と、
ｉｉｉ）　上記反応チャンバを上記分離領域に接続する移行領域とを形成し、上記反応チャンバと上記分離領域との間の流体の流れを制御するために、上記移行領域は少なくとも１つの流制限器を含み、上記移行領域が上記反応チャンバを上記分離領域から実質的に断熱するために、上記移行領域を形成するユニタリボディの部分は上記反応チャンバを形成するユニタリボディの部分よりも低い熱伝導を持ち、上記装置は
ｂ）　上記反応チャンバに隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた注入電極と、
ｃ）　上記分離領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた分離電極と、
ｄ）　上記移行領域に隣接する上記ユニタリボディの中に埋め込まれた共通電極とを備え、電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の成分が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記試料成分は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。
【請求項２０】
請求項１９に記載の装置において、上記移行領域に配置された高分子量フィルタとを更に備え、電圧が上記注入電極と上記共通電極との間に印加されたとき、試料中の高分子量種が上記反応チャンバから上記移行領域に運ばれ、上記フィルタ上に採集されると共に、次の電圧が上記共通電極と上記分離電極との間に印加されるとき、上記フィルタ上に採集された上記高分子量種は電気泳動的に上記分離領域に運ばれることを特徴とする装置。
【請求項２１】
請求項１９に記載の装置において、試薬を上記移行領域に添加するために、上記ボディは上記ボディの中に、上記移行領域に連通している少なくとも１つの側方チャンネルを更に形成していると共に、上記チャンネルを通る流体の流れを制御するために、上記側方チャンネルは少なくとも１つの流制御器を含んでいることを特徴とする装置。
【請求項２２】
請求項２１に記載の装置において、上記側方チャンネルは上記流制限器の上流側の移行領域に接続すると共に、上記試料を上記試薬と混合するために、上記移行領域は採集領域を更に含んでいることを特徴とする装置。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In ional Application No
PCT/US 99/06150

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 B01J19/00

(R)60250160007

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 6 B01J B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BURNS M A ET AL: "MICROFABRICATED STRUCTURES FOR INTEGRATED DNA ANALYSIS" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA., vol. 93, 1 May 1996 (1996-05-01), pages 5556-5561, XP002058000 NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON., US ISSN: 0027-8424 the whole document --- -/--	1-22

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in 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 document 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 another 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	Date of mailing of the international search report
20 August 1999	27/08/1999

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Stevnsborg, N

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

2

In ional Application No
PCT/US 99/06150

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 04547 A (LOCKHEED MARTIN ENERGY SYSTEMS, INC.) 15 February 1996 (1996-02-15) abstract page 8, line 33 - page 9, line 21 page 10, line 7 - page 11, line 8 page 37, line 6 - line 27 page 39, line 32 - page 42, line 6 figures 1,25,30 ---	1-22
A	US 5 726 026 A (PETER WILDING & LARRY J. KRICKA) 10 March 1998 (1998-03-10) the whole document ---	1,5-8, 14-16, 19,21,22
A	US 5 646 039 A (M. ALLEN NORTHRUP & RICHARD M. WHITE) 8 July 1997 (1997-07-08) the whole document ---	1,5,7-9, 16,19
A	US 5 415 841 A (NORMAN J. DOVICHI & KAREN C. WALDRON) 16 May 1995 (1995-05-16) the whole document ---	1-22
A	WO 97 06437 A (AKZO NOBEL N.V.) 20 February 1997 (1997-02-20) ---	
A	US 4 756 884 A (ROBERT S. HILLMAN ET AL.) 12 July 1988 (1988-07-12) -----	

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 99/06150

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9604547 A	15-02-1996	AU 701348 B	28-01-1999
		AU 3150895 A	04-03-1996
		CA 2196429 A	15-02-1996
		CN 1168720 A	24-12-1997
		EP 0775306 A	28-05-1997
		JP 10507516 T	21-07-1998
		US 5858195 A	12-01-1999
US 5726026 A	10-03-1998	US 5635358 A	03-06-1997
		US 5498392 A	12-03-1996
		US 5304487 A	19-04-1994
		AU 704277 B	15-04-1999
		AU 4236996 A	06-06-1996
		AU 698213 B	29-10-1998
		AU 4282896 A	06-06-1996
		AU 4282996 A	06-06-1996
		CA 2181189 A	23-05-1996
		CA 2181190 A	23-05-1996
		CN 1157639 A	20-08-1997
		CN 1143917 A	26-02-1997
		EP 0739240 A	30-10-1996
		EP 0739423 A	30-10-1996
		JP 9511407 T	18-11-1997
		JP 9509498 T	22-09-1997
		WO 9615269 A	23-05-1996
		WO 9614933 A	23-05-1996
		WO 9614934 A	23-05-1996
		US 5928880 A	27-07-1999
		AT 155711 T	15-08-1997
		AT 167816 T	15-07-1998
		AT 140025 T	15-07-1996
		AT 140880 T	15-08-1996
		AT 174813 T	15-01-1999
		AU 677780 B	08-05-1997
		AU 4222393 A	29-11-1993
		AU 680195 B	24-07-1997
		AU 4222593 A	29-11-1993
		AU 677781 B	08-05-1997
		AU 4222693 A	29-11-1993
		AU 4222793 A	29-11-1993
		AU 677197 B	17-04-1997
		AU 4223593 A	29-11-1993
		CA 2134474 A	11-11-1993
		CA 2134475 A	11-11-1993
		CA 2134476 A	11-11-1993
		CA 2134477 A	11-11-1993
		CA 2134478 A	11-11-1993
		DE 69303483 D	08-08-1996
		DE 69303483 T	06-02-1997
		DE 69303898 D	05-09-1996
		DE 69303898 T	20-02-1997
		DE 69312483 D	04-09-1997
		DE 69312483 T	12-02-1998
		DE 69319427 D	06-08-1998
		DE 69319427 T	10-12-1998
		DE 69322774 D	04-02-1999
		DE 69322774 T	17-06-1999
		EP 0637996 A	15-02-1995

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l Application No PCT/US 99/06150

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5646039 A	08-07-1997	US 5639423 A	17-06-1997
		AU 5092193 A	29-03-1994
		EP 0711200 A	15-05-1996
		JP 7508928 T	05-10-1995
		WO 9405414 A	17-03-1994
		US 5674742 A	07-10-1997
US 5415841 A	16-05-1995	CA 2097257 A	29-11-1994
		US 5565171 A	15-10-1996
WO 9706437 A	20-02-1997	AU 6788796 A	05-03-1997
		CA 2228485 A	20-02-1997
		EP 0843817 A	27-05-1998
US 4756884 A	12-07-1988	AT 105084 T	15-05-1994
		AU 593001 B	01-02-1990
		AU 6088486 A	12-02-1987
		CA 1275231 A	16-10-1990
		DE 3650530 D	18-07-1996
		DE 3650530 T	21-11-1996
		DE 3650574 D	31-10-1996
		DE 3650574 T	13-03-1997
		DE 3650610 D	15-05-1997
		DE 3650610 T	25-09-1997
		DE 3689812 D	01-06-1994
		DE 3689812 T	01-09-1994
		EP 0212314 A	04-03-1987
		EP 0483117 A	29-04-1992
		EP 0485368 A	13-05-1992
		EP 0488994 A	03-06-1992
		JP 7092169 A	07-04-1995
		JP 7104356 B	13-11-1995
		JP 1945801 C	23-06-1995
		JP 6058373 B	03-08-1994
		JP 62129759 A	12-06-1987
		JP 2032116 C	19-03-1996
		JP 6094722 A	08-04-1994
		JP 7069330 B	26-07-1995
		JP 2595422 B	02-04-1997
		JP 6094723 A	08-04-1994
		JP 2075360 C	25-07-1996
		JP 6094724 A	08-04-1994
		JP 7117546 B	18-12-1995
		US 5004923 A	02-04-1991
		US 5164598 A	17-11-1992
		US 5144139 A	01-09-1992
		US 5204525 A	20-04-1993
		US 5140161 A	18-08-1992
		US 5300779 A	05-04-1994
		US 4963498 A	16-10-1990
		US 4948961 A	14-08-1990

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,SD,SL,SZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CH,CN,CU,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MD,MG,MK,MN,MW,MX,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 カート・イー・ピーターセン
アメリカ合衆国９５１４８カリフォルニア州サンノゼ、 バレー・リッジ・レイン３６５５番
(72)発明者 ウィリアム・エイ・マクミラン
アメリカ合衆国９５０１４カリフォルニア州クペルティ ノ、プレシディオ・ドライブ８０５１番
(72)発明者 グレゴリー・ティ・エイ・コバクス
アメリカ合衆国９４３０５カリフォルニア州スタンフォ ード、ピーター・クッツ・サークル１０５番

Ｆターム(参考) 4D054 FA03 FB05 FB18 FB20
4G075 AA02 AA39 AA45 AA62 AA63 BB05 CA13 EA06 EC21 FB12

【要約の続き】
１５８）は、試料中の核酸片を分離するために、電気泳動ゲルまたはバッファのような適当なマトリックス物質が入った電気泳動コラムまたは毛細管を備えている。試料を上記反応チャンバ（１５４）から分離領域（１５８）に強制的に流すために、電極（１６７，１６８，１６９）がボディ（１５２）の中に埋め込まれている。ユニタリボディ（１５２）はまた、試料の分離された成分を検出するために、光学検出器（１８６）のような外部機能部品によって取り囲まれる。