(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2004-507732
(P2004-507732A)
(43)公表日　平成16年3月11日(2004.3.11)

(51)Int.Cl.[7]	F I			テーマコード（参考）
G01N 33/543	G01N	33/543	593	2G052
C12M 1/00	G01N	33/543	541A	2G060
G01N 1/02	C12M	1/00	A	4B029
G01N 27/00	G01N	1/02	K	
G01N 27/22	G01N	27/00	Z	

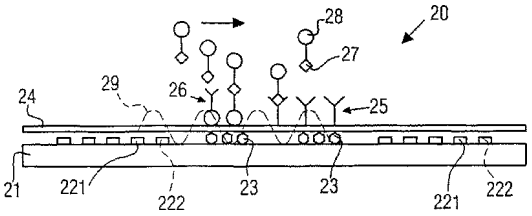
審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 51 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2002-521951(P2002-521951)
(86)(22)出願日　平成13年8月23日(2001.8.23)
(85)翻訳文提出日　平成15年2月24日(2003.2.24)
(86)国際出願番号　PCT/SE2001/001799
(87)国際公開番号　WO2002/016904
(87)国際公開日　平成14年2月28日(2002.2.28)
(31)優先権主張番号　0002990-0
(32)優先日　平成12年8月23日(2000.8.23)
(33)優先権主張国　スウェーデン(SE)
(31)優先権主張番号　60/228,015
(32)優先日　平成12年8月24日(2000.8.24)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　503073798
イメゴ　アーベー
スウェーデン国、エス－４１１　３３　エーテボリ、アルビド　ヘドファルス　パック　４
(74)代理人　100086461
弁理士　齋藤　和則
(72)発明者　ストレック、デェィヴッド
スウェーデン国、エス－４１２　６２　エーテボリ、ゴルブレグアーガータ　４　セー
(72)発明者　シュニーベルガー、ニクラウス
スイス国、シーエィチ－２０１７　ボウドリー、ルート　デ　バシリーズ　４２
最終頁に続く

(54)【発明の名称】磁気粒子を井戸内へまた井戸から移送するためのミクロ流体デバイスおよび方法

(57)【要約】
本発明は、液体媒体に沈めることができるサンプル（１５，２７）を作成するための装置（１０，２０）に関する。上記装置は、制御信号により、磁界を制御できるように発生するためのデバイス（１３，２３）を備えているセクションを含んでいて、上記磁界は、第１の段階のところで、上記少なくとも第１および第２のタイプのサンプル（１５，２７）の少なくとも一部を引き寄せ、また第２の段階で上記第１または第２のタイプのサンプルの中の少なくとも一方を反発するように発生する。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
少なくとも第１または第２のタイプのサンプル（１５，２７）を含む、異なるサンプルの検出を改善するための液体媒体に沈めることができる装置（１０，２０）であって、
前記装置が、制御信号により、磁界を制御できるように発生するためのデバイス（１３，２３）を備えているセクションを含んでいて、前記磁界が、第１の段階のところで、前記少なくとも第１および第２のタイプのサンプル（１５，２７）の少なくとも一部を引き寄せ、また第２の段階で、前記第１または第２のタイプのサンプルの中の少なくとも一方を反発することを特徴とする装置。
【請求項２】
前記デバイス（１３，２３）が、コイルである請求項１記載の装置。
【請求項３】
前記デバイスが、磁気的に活性な材料である請求項１記載の装置。
【請求項４】
前記デバイスが、好適には、アルミニウムであることが好ましい導電性材料からできている前記請求項のいずれか記載の装置。
【請求項５】
導体（１７）を通して、種々の強さの電流が、各デバイスに供給される前記請求項のいずれか記載の装置。
【請求項６】
前記コイル内の電流の振幅および巻線の数が、前記磁界の強さに比例する請求項２記載の装置。
【請求項７】
前記装置（１０）が、基板（１１）内に設けられている凹部（１２）を備える請求項１から６のいずれか記載の装置。
【請求項８】
前記凹部（１２）を閉じるための磁気蓋（１４）を備えている請求項７記載の装置。
【請求項９】
前記ビードが、各凹部（１２）の周囲に位置する前記材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより凹部の方を向いている請求項３および８記載の装置。
【請求項１０】
前記蓋が、前記液体媒体内に導入された微小ビードである請求項８記載の装置。
【請求項１１】
空間内で引き寄せるための磁界を発生するために、前記凹部の前記コイルに電流を供給した場合に、前記粒子（１４）が、所定の凹部に引き寄せられる請求項１記載の装置。
【請求項１２】
前記凹部内にもっと小さな磁気粒子が引き寄せられる請求項１１記載の装置。
【請求項１３】
前記サンプル（１５）が、適当な化学薬品によりカバーされている磁気粒子である前記請求項のいずれか記載の装置。
【請求項１４】
引き寄せる磁界を発生し、それにより、前記ビードが、トランス内の磁気ヨークのような働きをしてインダクタンスを増大する、前記制御回路内のインダクタンスの変化を検出することにより、前記キャッピングが検出される請求項１３記載の装置。
【請求項１５】
磁気粒子が、前記開口部を通して凹部内に入り、凹部から出た場合に、インダクタンスの変化を検出するための手段を備える前記請求項のいずれか記載の装置。
【請求項１６】
前記表示が、コイルを流れる前記電流の方向を変化させることにより、または外部磁界の極性を逆にすることにより、外部制御磁界の向きにより決定される請求項１記載の装置。

【請求項１７】
前記粒子が、その凹部内の液体、または前記凹部の壁部上に吸着している前記コーティングと反応する特殊な分子コーティングを含む請求項１３または１４記載の装置。
【請求項１８】
前記基板が、シリコン（Ｓｉ）、または酸化シリコン、窒化シリコンまたは炭化シリコンのようなシリコン化合物、またはその組合わせ、またはポリエチレン、ポリエチレン・グリコール、酸化ポリエチレン、ポリマを含むフッ素（ＰＴＦＥ－テフロン）、またはポリマを含むシリコンのような適当なポリマからできている請求項７から１２のいずれか記載の装置。
【請求項１９】
前記装置が、キャリヤ基板（２４）を備える請求項１記載の装置。
【請求項２０】
前記装置（２０）が、基板またはキャリヤ（２１）上に、音波を発生するための部材（２２）および前記デバイス（２３）を備える請求項１から６のいずれか記載の装置。
【請求項２１】
前記デバイスおよび音波を発生するための前記部材が、前記キャリヤを構成する絶縁層（２４）で覆われている請求項２０記載の装置。
【請求項２２】
前記絶縁層上に、磁化することができる材料の受容体－ビードの組合わせ（２５）が取り付けられている請求項２０記載の装置。
【請求項２３】
サンプル（２７）が、前記受容体（２５，２６）の方に引き寄せることができる磁気部分（２８）を備えている請求項２２記載の装置。
【請求項２４】
受容体－ビードの組合わせが、前記絶縁層（２４）に取り付けられている受容体より強力な前記音波（２９）を減衰する請求項２３記載の装置。
【請求項２５】
前記絶縁層（２４）の表面が、前記受容体に対して不活性であり、前記受容体－ビードの組合わせが、前記ビード上に作用する磁力により前記表面に取り付けられている請求項２０から２３記載の装置。
【請求項２６】
前記装置が、互いに入れ込んでいる電極のマトリックスを含み、それにより、ある数の電極のペアが１つのサイトと見なされ、コンデンサを構成する請求項２３記載の装置。
【請求項２７】
マトリックスの各サイトが、種々の薬剤を使用して、ビードに吸着されている特定分子と一緒に、ビードを磁界で前記サイト方に向けることにより、またこれらサイトから粒子を引き離すことにより、種々の方法で作られていて、前記表面に近い層の誘電率が変動し、粒子だけの吸着と比較した場合、キャパシタンスの大きな変化が検出される請求項２６記載の装置。
【請求項２８】
流体媒体内の分析装置で種々のサンプル（１５，２７）を分析するための方法であって、前記サンプルが、磁気部材を備えていて、前記装置が、キャリヤ構造体を備えていて、前記キャリヤ構造体上の試験セクションが、制御信号を受信した場合の磁界発生装置を備えていて、前記試験セクションが、前記サンプルの少なくとも１つのタイプに反応する試験材料を含んでいて、前記方法が、磁気的に引き寄せる力を発生し、反応後前記１つのタイプのサンプルでないサンプルを反発することにより、前記試験セクションに前記種々のサンプルを引き寄せるステップを含むことを特徴とする方法。
【請求項２９】
前記発生装置に、種々の強さの電流が供給される請求項２８記載の方法。
【請求項３０】

前記装置が、基板（１１）内に凹部（１２）を備えている請求項２９記載の方法。
【請求項３１】
前記凹部（１２）を閉じるための磁気蓋（１４）を配置する請求項３０記載の方法。
【請求項３２】
各凹部（１２）の周囲に位置する前記材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより、前記ビードを凹部の方向に向ける請求項３１記載の方法。
【請求項３３】
前記凹部を密閉する前に、前記凹部内にもっと小さな磁気粒子を引き寄せる請求項２８から３２のいずれか記載の方法。
【請求項３４】
前記サンプルが、適当な化学薬品により覆われている磁気粒子である請求項２８から３２のいずれか記載の方法。
【請求項３５】
磁気粒子が、前記開口部を通して凹部内に入り、凹部から出た場合に、インダクタンスの変化を検出する請求項３０から３４のいずれか記載の方法。
【請求項３６】
コイルを流れる前記電流の方向を変化させることにより、または外部磁界の極性を逆にすることにより、外部制御磁界の向きにより前記表示を決定する請求項３５記載の方法。
【請求項３７】
各凹部内のサンプルの数および各コーティングの密度が分かっている場合に、前記凹部の壁部上の前記コーティングと小さなサンプル上のコーティング間の反応の数に関する量的データを、サンプルの数をカウントすることにより入手する請求項３０から３６のいずれか記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
発明の技術分野
本発明は、少なくとも第１または第２のタイプのサンプルを含む種々のサンプルの検出を改善するための方法および装置に関する。
【０００２】
発明の背景
例えば、人間または動物（または、さらには植物）のような生きている有機体を考えてみよう。このような有機体の基本的サブユニットは細胞である。細胞を分類する１つの方法は、例えば、上皮細胞、（皮膚）筋肉細胞、神経細胞等のように、細胞がある有機体内で行おうとしている機能により分類する方法である。これらすべての細胞の中、通常は、その中のいくつかは、細胞壁内に存在している蛋白質と呼ばれる多くの種々の複雑な分子を含む複雑な機構により外界と連絡している。細胞は全有機体と非常によく似た方法で生きたり、死んだり、また成長し、分裂する。所与の細胞の多くの種々の部分／成分が、これらすべての機能に関与する。これらの成分は、蛋白質である場合もあるし、（細胞内で行われるある種の反応に対して触媒としての働きをする）酵素である場合もあるし、またＤＮＡ、ＲＮＡおよびｔＲＮＡ等である場合もある。それ故、単位時間内に、有機体内また有機体の各細胞内において、膨大な数のプロセス（変化）が起こる。これらの変化の中のあるものは、健康にとって重要なものであるが、例えば、癌性の変化のような他の変化は危険なものである。
【０００３】
それ故、そこで行われる反応およびその反応による生成物（通常は、新しい細胞、ＤＮＡおよび／または蛋白質の生成）をハッキリと知るために、少なくとも部分的に細胞の行動を予見できれば、それは非常に重要なことである。他の有機体（ビールスまたは細菌）の侵入、または身体自身内で起こるプロセス（自己免疫）により、または外部の環境要因（例えば、ストレス）により起こる恐れがある、体の中の有害な障害を治癒できることも同様に重要である。これらすべてのプロセス中に発生する障害は無数にある。例えば、ＤＮ

Ａの螺旋構造について考えてみよう。その機能および化学的性質が遥かに複雑な、さらに多数の蛋白質の生成、その機能および化学的性質が、ＤＮＡ自身のものよりもさらに複雑なさらに多数の蛋白質の生成に貢献する無数のＤＮＡが存在する。
蛋白質またはその機能または薬剤についてはいうまでもなく、数千のＤＮＡ分子の構造を確立するだけでも多くの世代が掛かるだろう。それ故、平行して情報を入手することができる技術、およびそのような情報を記憶し、処理するための有効な手段の開発が待望されている。
過去数十年間に、このような方法を開発するための研究が行われてきた。このような技術の通称として、「高性能スクリーニング」（ＨＴＳ）という用語が新たに作られた。このアイデアは、（高価で希少な化学薬品を大量に使用しないですむように）できるだけ小さなサンプルをできるだけ多数作るという考え方である。（情報処理という観点から言えば）最も簡単で論理的な方法は、このような複雑なサンプルをマトリックスの形に配列するという方法である。半導体産業では、このようなマトリックスは、「チップ」と呼ばれている。

【０００４】

図１は、このようなサンプル作成の一例である（バイオフォトニクス、２０００年１／２月号、ウィスコンシン大学フランコ・セリーナ他）。この技術によれば、マトリックスは、他の場所に追加の化学薬品を蒸着させながら、チップ上の選択した場所で沈殿物を焼却することにより作成される。かなり高速で安価ではあるが、この方法は、マトリックス上に、１回の実験で使い切ってしまう永久的なパターンを形成する。それ故、新しく実験をする度に、新しいマトリックスを作成しなければならない。
マトリックス内の素子（点）の数は、作成方法により種々であるが、通常１０，０００は超えない。しかし、今迄に、１，０００，０００の点を持つマトリックスが報告されている。それ故、１回の各「実験」の結果は、せいぜい１０，０００である。実際には、この数は、今日まで作成された最善のマトリックスでも品質が非常に悪いために、遥かに少ない（約２０％）。
上記の作成とは無関係であるが、完全なＨＴＳシステムは、また、各点内で起こる障害を検出し、データを転送し、評価するための手段を含んでいなければならない。

【０００５】

フランス特許第２，７８１，８８６号は、微小なカップを含む構造体からなる、化学的または生物学的分析のための複数の点を含む微小システムの製造に関する。各微小カップは、導体ポリマと結合している試薬を受け入れるように設計されている。各微小カップは、受容電極を有していて、その上には、試薬が結合しているポリマ導体により試薬が固定されている。各微小カップは、微小カップの容量で、その対向電極とその受容電極との間に電界を掛けるように配置されている対向電極を有する。構造体は、すべての受容電極を第１の電位に同時に接続するための手段と、上記電界を発生するために、すべての対向電極を第２の電位に同時に接続するための手段を有する。

【０００６】

米国特許第５，８７４，２１９号は、複数の試験用井戸を含む生物学的チップ・プレートを供給することにより、複数の生物学的チップを同時に処理するための方法を開示している。各試験用井戸は、分子プローブ・アレーを有する生物学的チップを有していて、試験用井戸内にサンプルを導入し、サンプル内の標的分子とプローブ間の反応を行うためのステップを自動的に実行する流体処理デバイスにより、生物学的チップ・プレートを操作し、また、標的分子とプローブとの間のすべての反応を検出するために、プローブ・アレーに問い合わせをする生物学的チップ・プレートを生物学的チップ・プレート・リーダに掛ける。

【０００７】

国際特許出願第ＷＯ００／５４８８２号は、個々にアドレスすることができる微小電磁ユニットのアレーを有する電磁チップおよび電磁バイオチップ、およびバイオ分子および化学試薬のような微小粒子および微小構造体のある方向を持った操作のために、これらのチ

ップを使用する方法を開示している。電磁バイオチップは、その表面上に固定したリガンド分子を含む、個々にアドレスすることができる微小電磁ユニット・チップを備える。アレーの各ユニットのところの電磁界を制御し、このような制御とバイオ分子の磁気修正とを一緒に使用することにより、これらのチップを、生化学分析または化学的分析の感度を向上させ、評価時間（ａｓｓａｙ　ｔｉｍｅ）を短縮するために、バイオ分子のある方向への操作、合成および解放のために使用することができる。これらチップの他の利点としては、生物学的分子の損傷を最小限度まで低減できること、および評価結果の再現性を改善できることなどがある。本発明によれば、磁気的に修正した分子および粒子を制御および操作するために、また、分子間作用および／またはチップ表面上の反応を促進するために、磁力を使用することができる。しかし、他の分子も検出するために、検出感度が低いという欠点もある。

【０００８】

発明の概要

本発明の主な目的は、検出感度を改善することにより、「１回ずつ」の実験を改善する装置を提供することである。

また、この技術を使用すれば、その機能の点、および（重要なことだが）所与の薬剤が持っているかもしれない副作用の測定の点両方について、薬剤として使用する新しい化学薬品を、比較的迅速にスクリーニングすることができるが、この技術は、また、ゲノムの決定、プロテオミクス、および他の用途のような多くの他の用途にも使用することができる。

本発明の装置の場合には、井戸の寸法および数を比較的簡単に変更することができる。また、設計が簡単なので、チップ上に反応生成物検出システムを集積することができ、また恐らく活性物質の複数の井戸を蒸着するための装置も集積することができる。

本発明のもう１つの目的は、チップ製造のために使用する技術に類似している技術を使用して、研究中の障害に対する検出限界を改善する方法を提供することである。

【０００９】

これらの目的は、制御信号により、磁界を制御できるように発生するためのデバイスを含むセクションを備える、冒頭のところで説明した装置により達成することができる。上記磁界は、１つの段階のところで、上記少なくとも第１および第２のタイプのサンプルの少なくとも一部を引き付け、第２の段階で上記第１または第２のタイプのサンプルの中の少なくとも一方を反発するためのものである。

好適には、上記デバイスは、コイルまたは磁気的に能動な材料であることが好ましく、また好適には、アルミニウムであることが好ましい導電性材料で作ることが好ましい。各デバイスには、導体を通して、種々の強さの電流が供給され、そのため、コイル内の電流の振幅および巻線の数は磁界の強さに比例する。

【００１０】

第１の態様によれば、本発明の装置は、基板内に設けられた凹部と、該凹部を閉じるための蓋とを備える。好適には、上記蓋は、磁気ビードであることが好ましい。上記ビードは、各凹部の周囲に位置する材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより、凹部の方向を向いている。デバイスが、各凹部を囲んでいて、このデバイスは、各凹部の周囲に位置する材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより上記蓋の方向を決める。上記凹部は、シリコンの表面内にエッチングされ、上記蓋は、流体内の大きな磁気粒子として供給される。空間内で引き付ける磁界を発生するために、上記凹部のコイルに電流を流した場合、上記粒子は、所定の凹部に引き付けられる。凹部を密閉する前に、もっと小さい磁気粒子が凹部内に引き付けられる。サンプルは、適当な化学薬品で覆われた磁気粒子である。ある実施形態の場合には、本発明の装置は、凹部を覆っている磁気キャッピング蓋の存在を検出するための手段を備える。ある実施形態の場合には、このキャッピングは、引き寄せる磁界を発生する制御回路内のインダクタンスの変化を検出することにより検出され、それにより、ビードは、トランス内の磁気ヨークのような働きをして、インダクタンスを増大する。他の実施形態の場合には、キャッピン

グは、凹部内の検出器への電磁放射の減少、または凹部内の電極間のまたは凹部の縁部近くの容量の変化により検出される。
本発明の装置は、また、開口部を通して凹部内へまたは凹部から磁気粒子が通過した場合の、インダクタンスの変化を検出するための手段を備えることもできる。表示は、コイルを流れる電流の向きを変化させることにより、または外部磁界の極性を逆にすることにより、外部制御磁界の方向により決定される。好適には、粒子は、その凹部内の液体または凹部の壁部上に付着したコーティングと反応する特定の分子コーティングを含むことが好ましい。
【００１１】
基板は、シリコン（Ｓｉ）、または酸化シリコン、窒化シリコンまたは炭化シリコンのようなシリコン化合物、またはその組合わせ、またはポリエチレン、ポリエチレン・グリコール、酸化ポリエチレン、ポリマを含むフッ素（ＰＴＦＥ－テフロン）、またはポリマを含むシリコンのような適当なポリマから作ることができる。
【００１２】
第２の態様によれば、本発明の装置は、音波を発生するための部材を含む。上記デバイスは、基板またはキャリヤ上に位置する。音波を発生する上記デバイスおよび部材は、絶縁層で覆われている。絶縁層の上には、磁化することができる材料の受容ビードの組合わせが位置する。サンプルは、受容装置の方向に引き付けることができる磁気部分を含む。受容ビードの組合わせは、絶縁層に取り付けられている受容装置より強い音波を減衰する。好適には、絶縁層の表面は、受容装置に対して不活性であり、受容ビード組合わせは、ビード上で作用する磁力により表面に取り付けることが好ましい。
本発明は、また、流体媒体内の分析装置で種々のサンプルを分析するための方法に関する。上記サンプルは、磁気部材を備えていて、上記装置は、キャリヤ構造体、制御信号を受信した場合の、磁界発生装置を含む上記キャリヤ構造体上の試験セクションを備える。上記試験セクションは、上記サンプルの少なくとも１つのタイプに反応する試験材料を備える。上記方法は、磁気引力を発生し、反応後に、上記１つのタイプのサンプルではないサンプルを反発することにより、上記試験セクションに上記種々のサンプルを引き付けるステップを含む。
【００１３】
各発生装置には、種々の強さの電流が供給される。この装置は、基板内に凹部を含む。上記方法は、さらに、上記凹部を閉鎖するステップと、各凹部の周囲に位置する材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより、上記ビードを凹部の方向に向けるステップと、凹部を密閉する前に、もっと小さい磁気粒子を凹部内に引き付けるステップとを含む。好適には、サンプルは、適当な化学薬品で覆われた磁気粒子であることが好ましい。本発明の方法によれば、凹部を覆っている磁気キャッピング蓋の存在を検出することができる。キャッピングは、引き寄せる磁界を発生する制御回路内のインダクタンスの変化を検出することにより決定され、それにより、ビードは、トランス内の磁気ヨークのような働きをして、インダクタンスを増大する。キャッピングは、また、凹部内の検出器への電磁放射の減少、または凹部内の電極間の、または凹部の縁部近くの容量の変化により検出される。本発明の方法によれば、開口部を通して凹部内へまたは凹部から磁気粒子が通過した場合のインダクタンスの変化を検出することができ、上記表示を、コイルを流れる電流の向きを変化させることにより、または外部磁界の極性を逆にすることにより、外部制御磁界の方向により決定することができる。
本発明の方法によれば、各凹部内のサンプルの数および各コーティングの密度が分かっていれば、凹部の壁部上のコーティングと小さなサンプル上のコーティングの間の反応の数に関する量的データを、サンプルの数をカウントすることにより入手することができる。
添付の図面を参照しながら、以下に本発明をさらに説明するが、この説明は、本発明を制限するものではない。
【００１４】
実施形態の詳細な説明

本発明の基本的アイデアは、エラー源の数を減らすことにより、検出および分析を改善する装置を提供することである。驚くべきことに、この目的は、１つのセクションにいくつかのサンプルを引きよせ、例えば、上記セクション内のある薬剤と反応しないサンプルを反発することにより達成できた。
図２および図３は、本発明の装置の第１の例を示す。図２は、多数のサンプル収集装置１０を含むチップ１９の一部の拡大した略図である。各サンプル収集装置は、基板１１内に設けられた凹部（クレータ、ポケット、井戸）１２と、キャップ（蓋、カバー）１４を制御するための手段１３とを備えている。各制御手段１３は、接続１７を通して、コントローラ１８（図３）に接続している。
図３は、デバイス１０の略断面図である。しかし、この図は、サンプル１５が収集され、クレータ１２が蓋または閉鎖手段１４により閉ざされた段階のデバイス１０を示す。この特殊な場合のサンプルは、その直径が、適当な化学薬品で覆われた蓋の直径より遥かに小さい磁気粒子である。
この実施形態の場合には、蓋制御手段１３は、電気的に動作するコイルを備えていて、蓋１４は磁化することができるビードである。
個々に制御される蓋１４を備えている多くのクレータ１２を形成することにより、液体内で供給する固体、および／または液体の種々のタイプの混合を同時に行うことができる。種々の液体／固体が、クレータの外側に導入されるので、開いた蓋を持つユーザが選択したクレータだけが、閉じたクレータの外側へ、液体／固体による混合のために供給される。
もちろん、各クレータ１２の大きさおよび形状は、両方とも、その直径および深さに関して長い間隔内で変化する。クレータは、例えば、直径約１００μｍ、深さ約５０μｍの円形の断面を持つことができる。数μｍからそれ以上の範囲内の直径と、数μｍから数百μｍの範囲内の深さを持つ、例えば、正方形のクレータを形成するのは比較的簡単である。
【００１５】
基板の材料としては、シリコンを使用することができ、製造プロセスは、マイクロプロセッサまたはメモリ・チップを製造するプロセスに類似している微小機械加工を含むことができる。１つのデバイスは、いわゆるチップを供給する一片のシリコン上に数百以上のクレータを含むことができる。もちろん、何万というクレータを市販のユニット上に配置することができる。
好適には、蓋は、液体内に導入したマイクロビードであることが好ましい。蓋作動機構、すなわち、各クレータを開閉する機構は、導入したビードの運動に影響を与える切替え可能な磁界により実行される。磁界は、各クレータの周囲に位置するコイル１３により発生する。
各クレータを囲んでいるコイル１３は、導電性材料からできている。好適な実施形態の場合には、導体は、アルミニウム（Ａｌ）からできているが、任意の導体も使用することができる。好適には、種々の強さの電流を別々に各コイルに供給することができるように、各コイルへは、導電性リードを通してアクセスすることができることが好ましい。電流の振幅およびコイルの巻線の数は、変化することができる磁界の強さに比例する。当然のことながら、各クレータを囲んでいるコイルの巻線の数、およびその幅および厚さは、広い範囲内で変更することができる。好適には、コイルは２回から１０回の巻線を持つことが好ましいが、これに限定されるわけではない。
【００１６】
他の実施形態の場合には、コイル１３の代わりに、また制御手段の代わりに、各クレータを囲んでいる磁気的に活性な材料を使用することができ、各クレータ１２の周囲に位置する材料が発生する磁界を打ち消す磁界を発生する外部マグネットにより、ビードの方向に向けることができる。
好適には、シリコン表面内に、クレータがエッチングにより形成され、蓋は、液体内の大きな磁気粒子１４により供給されることが好ましい。それ故、空間内で引き付けるための磁界を発生するために、このクレータのコイルに電流を供給すると、選択したクレータに

粒子１４を引き付けることができる。しかし、選択したクレータを密閉する前に、もっと小さな磁気粒子をクレータに引き付けることもできる。上記のもっと小さな磁気粒子１５をクレータに引き付けるために、そこを流れる進み電流によりコイルは励起される。コイルに電流が流れると磁界が確立する。この磁界は、液体から磁気粒子１５を引き付ける。これらのもっと小さな粒子は、もっと大きな粒子と比較すると、より容易に移動することができ、そのためクレータにより速く達し、より大きな蓋となる。大きな蓋の粒子は、後の段階でクレータに蓋をする。好適には、大きな粒子としては、約１００ミクロンの大きさの強磁性材料または超常磁性材料のような市販の磁気粒子を使用することが好ましい。一方、もっと小さな粒子の大きさは、クレータの大きさよりも遥かに小さい。他の大きさおよび粒子タイプのものも市販されているが、本発明は、広い範囲の粒子の大きさ、形状および材料にも適用することができる。

閉じたクレータを開くために、外部またはコイルを流れる電流の向きを反対にすることにより反発磁界が発生する。また、コイルを流れる電流を止めることもできる。それにより、クレータが「倒置」されている場合には、流れる液体のせん断力により、または重力により粒子を解放することができる。

【００１７】

電流制御磁界によるクレータの簡単な動作、およびチップ上の多数のクレータにより、チップを制御装置により自動的に動作させなければならなくなる。好適には、チップは、チップとの電気接続を確立し、ビードおよび化学薬品で周囲の流体を処理するインタフェース・デバイスを備えることが好ましい。使用後、チップをクリーニング、再使用または廃棄のために取り出すことができる。クレータ上の動作のシーケンスを液体処理システムを制御するために、インタフェース・デバイスは、適当なソフトウェアを備えているコンピュータに接続される。ソフトウェアは、また、プロセスのシーケンスを確立し、各シーケンスのクレータの蓋の状態を決めるために、ユーザのためのインタフェースを供給する。磁気キャッピング・ビードも検出することができる。クレータがカバーされているフィードバックを入手することが重要である。クレータ上の正しい位置に位置する磁気キャッピング・ビードの存在は、吸引磁界を発生する電気回路のインダクタンスの変化により検出することができる。ビードは、トランス内の磁気ヨークのような働きをして、インダクタンスを増大する。次に、共振回路または他の回路は、このインダクタンスの変化を検出することができる。

キャッピング・ビードの存在は、クレータ内の検出器への電磁放射の減少、またはクレータ内の電極間のまたはクレータの縁部付近の容量の変化のような種々の他のスキームにより検出することができる。

【００１８】

特定の検出方法用に、各井戸／クレータの底部を作ることができる。例えば、光学的検出用には、ガラスの底部を、または容量測定／電気化学検出用には、蒸着電極を持つクレータの底部を作ることができる。

類似のもう１つの可能な用途としては、井戸への開口部を通して小さな磁気球体が通過した場合のインダクタンスの変化の検出がある。本発明の装置を使用することにより、球体が井戸に入ったかどうか、または球体が井戸から出たかどうかを判断することができる。この判断は、（コイルを流れる電流の方向を変化させることによる、または他の手段により外部磁界形成デバイスの極性を逆にすることによる）外部制御磁界の方向により行われる。このような球形は、その井戸内の液体またはクレータの壁部上に吸収されたコーティングと反応する特定の分子コーティングを含むことができる。各井戸内の球体の数および各コーティングの密度が分かっていれば、井戸上のコーティングと小さなビード上のコーティングの間の反応の数に関する量的データを、単に球体の数をカウントすることにより入手することができる。

【００１９】

＜下記の例は、本発明の理解を助けるためのものであり、本発明を制限するものではない＞

第１の例の場合には、磁気ビードを含む液体Ａが導入される。ユーザが選択したクレータ１２に電流が供給され、そのためクレータはカバーされる。残りのビードは、クリーニング液により洗い流される。次に、ユーザにとって関心のある材料からできている、Ｘと呼ぶ小さな（キャッピング・ビードより遥かに小さい）粒子を含む液Ｂが導入される。カバーされていないクレータだけがＸを受け入れる。次に、もっと多くの磁気ビードが導入され、選択したクレータがカバーされＸを捕捉する。すべての余分なクリーニング液は洗い流される。次に、化学試薬Ｙを含む液体を導入することができ、いくつかのクレータが開く。ＸおよびＹは混合し、反応することができるが、それはユーザが選択した領域内だけである。例えば、光学的技術により、システムに容易に内蔵することができる、感知技術により上記反応を追跡することができる。以下に説明するように、他の可能な新規な検出技術も、本発明に容易に内蔵させることができる。

【００２０】

第２の例の場合には、ある物質が、クレータの内面に取り付けられている。反復シーケンスの場合には、いくつかのクレータは、ビードにより閉ざされ、他のクレータは反応性の化学薬品Ａに対して露出している。反応が行われた後で、化学薬品は洗い流され、いくつかのクレータは、他の化学薬品Ｂに対して露出する。それ故、あるクレータは、化学薬品ＡおよびＢに対して露出し、あるクレータは化学薬品Ａに対して露出し、あるクレータは化学薬品Ｂに対して露出し、あるクレータは全然露出されない。このプロセスは、多くの化学薬品を使用して反復して行うことができ、選択した種々の場所（クレータ）に位置する非常に多くの別々に修正した物質を作り出すことができる。１０の種々の化学薬品を使用するシーケンスにより、例えば、１，０００以上の種々の組合わせが得られる。より詳細に説明すると、この方法は、ＤＮＡ螺旋構造を合成するのに、または（適当な周知の技術を使用して）種々の蛋白質の機能を研究するために使用することができる。

それ故、井戸は、サンプルを引き寄せるのに使用することができ、１つの井戸または複数の井戸内の反応性物質による反応の後で磁界を変化させることにより、未反応のサンプルおよび反発力に耐えられないサンプルを反発するために使用される。ビードは、反応中に井戸を閉じるために使用することができる。

さらにもう１つの用途は、種々の化学薬品で満たされた井戸内に細胞を固定し、これらの化学薬品に対する細胞の反応（細胞増殖、分化、拡張等）を監視することである。そうすることにより、例えば、薬剤の迅速で高能率のスクリーニングを行うことができる。

本発明の装置は、また、別々に、１つずつ、例えば、反応容器内のある１つの場所または複数の場所のところに、ある１つの化学薬品または複数の化学薬品を局地的に運び、反応生成物を局地的に監視し、人体の内部に薬剤を運ぶのに使用することができる。

【００２１】

本発明のデバイスの可能な用途のもう１つの分野は、通常、「ロースループットスクリーニング」（ＬＴＳ）と呼ばれるものによりトリガされてきた。ＬＴＳは、多くの場合、必要な情報量は少ないが、分析の濃度またはある量の試薬で、ある時間内に起こった反応の数についての量的情報を、さらに入手したい場合に使用される。ＬＴＳのベースとなっているアイデアは、多くのものを、現在まで多くの場合に使用されてきたもう１つのタイムリーなアイデア、すなわち、「電子の舌」と共通して持っている。電子の舌は、液体の成分を決定することができるデバイスである。次に、これらの成分を、ある味覚（甘さ、酸っぱさ、塩辛さ等、またはこれらの組合わせ）と関連づけることができる。液体の混合物内の簡単な液体の内容、例えば、カップの中身を作るために使用した茶の量と一緒にカップ内に溶けている砂糖の百分率、さらには、恐らく、使用した種々の茶のブレンドを決定するために、これらの成分を、ある味覚（甘さ、酸っぱさ、塩辛さ等、またはこれらの組合わせ）と関連づけることができる。これらすべてを知るためには、種々の茶のブレンド、および使用した各ブレンドからの茶の種々の量、およびこの茶の中に溶けている砂糖の量に対して種々の方法で反応する成分について、数回の実験を行わなければならない。これらすべては、本発明の装置を使用し、各クレータに対して種々の適当な試薬を選択し、これらを最初「標準」サンプルと反応させ、（ある混合してない液体を認識するために「

舌をトレーニング」し）、後でこれらのサンプルを砂糖を含んでいる、または含んでいない、種々の茶のブレンドの混合物と接触させることにより行うことができる。標準サンプルについて入手した結果と比較した、結果からの適当なデータを処理することにより、多くの場合、使用したブレンドおよび溶けている砂糖の量についての情報を入手することができる。

本発明のデバイスは、球体、またはビードをある方向に向けるための磁界を発生するためのコイルに限定されないし、また、ビードの使用にも限定されないし、他の形状も使用することができる。最後に、本発明のデバイスは、クレータ・マトリックスを形成するためのシリコン技術の使用に限定されない。この目的のために、他の材料を使用することもできる。

【００２２】

＜以下の説明は、種々のクレータ形成技術の他の例であり、検出感度を改善するためのそれと一緒に使用する材料についての説明であり、本発明を制限するものではない＞

これらの例のベースになっている一般的なアイデアは、粒子を操作するための駆動力として磁界を使用して、基板の表面上の選択したある場所に、小さな粒子を運ぶために、小さな粒子を操作することである。基板の表面には、特殊な方法でパターンを形成してもよいし、しなくてもよい。基板上にパターンを形成し、そのパターンがクレータからなる場合には、好適には、いくつかは粒子を、すでに説明したように、各クレータを閉じるためのキャップまたは蓋として使用することが好ましい。基板上にパターンが形成されていないか、別の方法でパターンが形成されている場合には（下記の例参照）、いくつかの粒子を、主として、本発明のデバイスで行われているプロセスの検出感度を改善するために使用することができる。

粒子を操作するための磁力は、すでに説明したように、コイルを使用して発生することができるが、磁力は、また、外部のマグネットにより発生させることもできる。コイルを使用する場合には、磁界の強さ（および、すなわち、力の大きさ）は、主として、コイルの巻線の数、および電流の大きさにより決まる。外部のマグネットを使用する場合には、マグネットの位置および強さを適当に選択することにより、磁力の強さを制御することができる。

【００２３】

基板は、（すでに説明したように）シリコン（Ｓｉ）、または酸化シリコン、窒化シリコンまたは炭化シリコンのようなシリコン化合物、またはその組合わせから作ることができる。基板は、また、その表面に蒸着したＺｎＯのような、適当な厚さ（例えば、数ミクロン）のもう１つのフィルムを含む薄い自立シリコンまたはシリコン化合物から作ることもできる。デバイスが検出のための音波デバイスとして機能する場合には、この追加のフィルムが必要になる。

基板は、また、シリコン以外の他の材料から作ることもできる。例えば、ポリエチレン、ポリエチレン・グリコール、酸化ポリエチレン、ポリマを含むフッ素（ＰＴＦＥ－テフロン）、またはポリマを含むシリコンのような適当なポリマも、基板の材料として使用することができる。

基板をパターン形成する場合には、基板の材料およびパターンにより、別の技術を使用することもできる。それ故、半導体製造の際に使用する周知の技術により、シリコンおよびシリコン化合物を適当にパターン形成することができる。ポリマをパターン形成する場合には、ポリマ・スタンピングまたはポリマ成形のような周知の技術を使用することができる。

基板上のパターンは、クレータに限定されない。例えば、本発明のデバイスを音波検出器として使用する場合には、音波の発生および検出器に必要な多くの互いに入れ込んだパターンからなるマトリックスを形成することができる。図４および図５は、そのようなデバイスの一例である。

コイルは、電気メッキ、蒸着またはスパッタのような周知の技術によりパターン形成することができる。

【００２４】
＜以下に、化学反応の検出感度を改善するためのビードの磁気操作をベースとするいくつかの類似の技術の使用方法について説明するが、これに限定されない＞
図４および図５は、表面弾性波（ＳＡＷ）デバイスのマトリックスの１つのサイトである。各デバイス２０は、基板またはキャリヤ２１上に音波を発生するための装置２２および磁界制御手段２３を備える。音波を発生し、検出するための装置は、２本の指の形をしている、制御手段２３の両側面上に位置する、対向して配置された導体２２１および２２２を備える。制御手段２３は、上記実施形態のところで説明した、コントローラ（図示せず）に接続しているコイルの形で配置されている。コイルおよび音波を発生するための装置は、例えば、ガラス層またはプラスチック層またはバイオ分子層からできている絶縁層２４（図５）で覆われている。（バイオ分子）「受容体」２５をこの絶縁層上に吸着させることができる。受容体２５は、その自然の状態で使用することができ、適当に形成された絶縁層２４上に自然に吸着される。受容体は、また、小さな磁気ビード２３上に予め吸着させることができ、全複合物（磁気ビード－受容体）を、コイル２３に電流を流すことにより発生する磁界により、ＳＡＷデバイスの表面に引き寄せることができる。ビード＋受容体は、自然の受容体が絶縁層２４に引き寄せられる場合と比較した場合、何倍も強い音波２９を減衰し、その結果、受容体－ビード複合体が吸着されると、吸着質の濃度は遥かに低くなる。
【００２５】
センサの表面上に吸着した試薬（例えば、核酸の相補抗原または相補シーケンス）と反応すると思われる特定の試薬（例えば、抗体または核酸シーケンス）で磁気ビードをコーティングすることにより、センサの能動領域だけが、研究対象の試薬によりコーティングされ、センサの残りの領域（例えば、図４の電極部分２２１）は、不活性（反応しない）コーティングでコーティングされる。コーティングされたビードは、コイルが形成する位置に引き寄せられる。ビードを使用することにより、２つの試薬の間だけで化学的反応が起こった場合と比較すると、音波は大きく減衰する。それ故、デバイスの感度は増大する。しかし、いくつかのビードは、特定の化学的反応の影響を受けなかった、または他の望ましくない反応の影響を受けた磁界により表面に引き寄せられる。これら後者のビードは、「偽の」信号を発生する。望ましくない信号を除去する１つの方法は、ビードを洗浄することであるが、このような洗浄は、場合よっては、容易にできない場合もあるし、もっと困難である場合もあるし、または時間が掛かる場合もある。磁気コイルおよび／または外部磁界を使用することにより、望ましくないビードを除去することができる。そうするための１つの方法は、コイルを流れる電流の向きを反対にすることである。電流を注意深く増大することにより、磁界を強くし、必要な結合を持つ粒子だけを残して、結合の緩い粒子を反発することができる。
【００２６】
このような構成のもう１つの利点は、デバイスを再生することができることである。受容体自身に対して不活性な絶縁層２４を作ることもできる。その場合、受容体およびビードの複合体は、ビードに作用する磁力により表面に引き寄せられる。調査が終了すると、磁界を除去することができ（または、外部マグネットにより磁界の向きを変えることができ）、受容体およびビード複合体は吸着される。そのため、表面は、他の研究がすぐにできる、準備が完了した状態になる。
これらの受容体と適当な「ドナー」２７との間の反応を研究したい場合には，上記ドナーをその自然な段階で導入（２７）、または磁気ビード２８に結合することができる。
この場合も、ドナーを磁気ビードに結合することにより、受容体－ドナー反応が起こった場合に（上記反応が、追加のドナーに由来するビードを表面に吸着させたかどうか、または上記反応が、反応生成物（受容体＋ビード／ドナー＋ビード）の脱着させたかどうかとは無関係に）、音波を大きく減衰することができる。それにより、デバイスの所与の感度のために必要な反応の数が少なくてすむようになる。
ビードは、音波の伝搬を相互に反応する分子の場合よりも何倍も速くするので、これらの

分子を含む化学反応の検出を何倍も改善することができる。このような反応の１つの、しかし、１つどころではない特殊な例は、抗体－抗原反応である。もう１つの例は、ＤＮＡ－相補ＤＮＡ（または、ＰＮＡ）反応である。上記反応は、マトリックスの多くのサイトで自発的に行われるが、他のサイトでは反応は起こらない。各サイトから粒子を除去するために、別々に磁界を掛けることにより、（ｉ）複数のサイトの上にあるパターンが形成され、（ｉｉ）各サイトのところで起こった反応の数についての量的情報を入手することができる。（図６Ａ－図６Ｃ参照）。

【００２７】

相互に入れ込んだ電極を含むマトリックスのもう１つの使用方法は、コンデンサとして使用する方法である。ある数の電極ペアは、１つのサイトと見なされ、コンデンサを形成する。マトリックスの各サイトは、種々に、すなわち、種々の化学的作用で作られる。ビードを、それらビードに引き寄せられている特定の分子と一緒に、磁界によりこれらのサイトに向けることにより、またはこれらのサイトから粒子を引き離すことにより、表面に近い層の誘電率を変動させ、それにより、分子だけを引き寄せた場合と比較すると、デバイスのキャパシタンスが大きく変化する。

キャパシタンス測定デバイスは、図４の２２１および２２２類似の相互に入れ込んだ電極のマトリックスを含むことができるが、感知領域が、電極２２１および２２２間の領域であり、（図４類似の）電極ペア間の領域でない点が異なる。化学反応による電界の変化、電極２２１および２２２間の［周波数（または所与の周波数）の関数としての交流電流および／または電圧の変化］を測定することにより、（電極間の電界が大きい領域内の誘電率の変化による）キャパシタンスの変化が検出される。液体内に沈めた生物学的試薬の場合には、このような変化は通常小さい。何故なら、水の誘電率および試薬の誘電率は、相互にあまり違わないからである。磁気ビードを使用することにより、感度が劇的に改善される。何故なら、磁気ビード（金属）の誘電率は無限であるからである。

また、磁気ビードを使用することにより、流体の光学的吸光度のような光学的検出を改善することができる。ビードを使用することにより、プラズモン共鳴分光法または光子相関分光法のような他の検出手段も使用することができる。

上記それぞれの場合に、測定に役に立つビードが、必ず望ましい化学的性質を持っているものであることが重要である。

本発明は、上記実施形態には制限されず、添付の特許請求の範囲から逸脱することなしに、種々の方法で変更することができるし、本発明の装置および方法は、用途、機能ユニット、ニーズおよび要件等により種々の方法で実施することができる。

【図面の簡単な説明】

【図１】

従来技術の装置である。

【図２】

本発明のチップの略平面図である。

【図３】

図２のチップの一部を通して、ＩＩ－ＩＩ線に沿って切断した拡大断面を示す略図である。

【図４】

本発明のもう１つのチップの一部の略平面図である。

【図５】

図４のチップの一部を通して、ＩＶ－ＩＶ線に沿って切断した拡大断面を示す略図である。

【図６】

図６ａ－図６ｃは、図５の装置の検出のいくつかの段階を示す。

【符号の説明】

１０　サンプル収集装置　　１１　基板　　１２　凹部（井戸、クレータ）
１３　制御手段　　１４　キャップ（蓋、カバー）　１５　サンプル

１７　接続　　１８　コントローラ　　１９　チップ
２０　デバイス　　２１　キャリア　　２３　磁気ビード
２４　絶縁層　　２５　受容体　　２７　サンプル
２２１、２２２　導体（電極）

【図１】

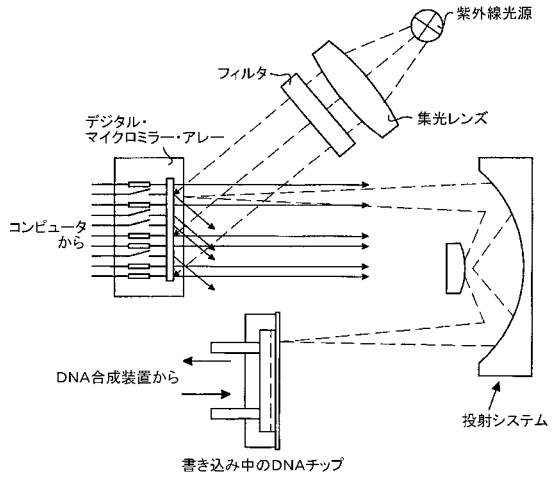


Fig.1

【図２】

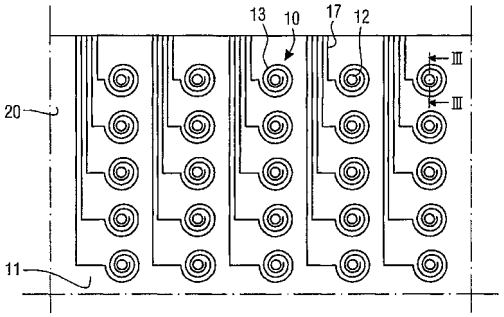


Fig.2

【図３】

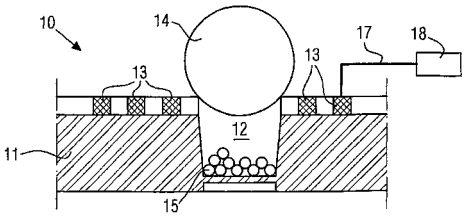


Fig.3

【図４】

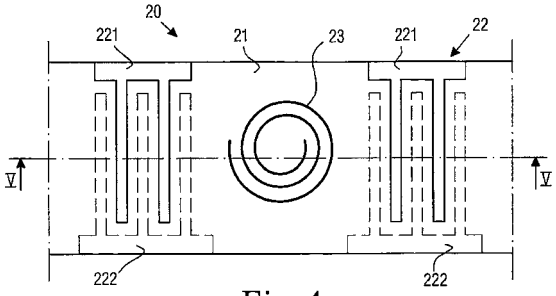


Fig.4

【図５】

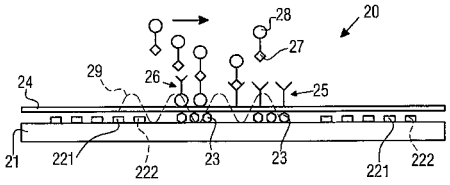


Fig.5

【図６】

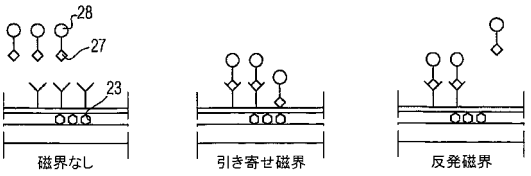


Fig.6a Fig.6b Fig.6c

【国際公開パンフレット】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
28 February 2002 (28.02.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/16904 A2

(51) International Patent Classification[7]: G01N

(21) International Application Number: PCT/SE01/01799

(22) International Filing Date: 23 August 2001 (23.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0002990-0 23 August 2000 (23.08.2000) SE
60/228,015 24 August 2000 (24.08.2000) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **IMEGO AB** [SE/SE]; Aschebergsgatan 46, Byggnad 11, S-411 33 Göteborg (SE).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **STOREK, David** [SE/SE]; Golvläggaregatan 4 C, S-412 62 Göteborg (SE). **SCHNEEBERGER, Niklaus** [CH/CH]; Route des Buchilles 42, CH-2017 Boudry (CH). **OTILLAR, Robert, P.** [US/US]; 833 Ashburry 2, San Francisco, CA 94177-4465 (US). **KROZER, Anatol** [SE/SE]; Klampare-gatan 5, S-413 17 Göteborg (SE).

(74) Agent: **GÖTEBORGS PATENTBYRÅ DAHLS AB**; Sjöporten 4, S-417 64 Göteborg (SE).

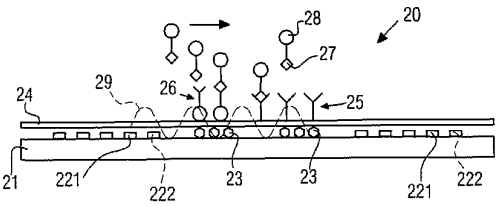
(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, CZ (utility model), DE, DE (utility model), DK, DK (utility model), DM, DZ, EC, EE, EE (utility model), ES, FI, FI (utility model), GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SK (utility model), SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, 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, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

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.

(54) **Title:** A SAMPLE PREPARING ARRANGEMENT AND A METHOD



(57) **Abstract:** The present invention relates to an arrangement (10, 20) for preparing samples (15, 27), submergible in a liquid medium. The arrangement comprises a section provided with a device (13, 23) for controllable generation of a magnetic filed through influence of a control signal, said magnetic field being generated to attract at least part of said at least first and second type of samples (15, 27) at one stage and to repel at least one of said first or second type of samples in a second stage.

WO 02/16904 A2

TITLE

A SAMPLE PREPARING ARRANGEMENT AND A METHOD

TECHNICAL FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to a method and arrangement for enhancing detection of different samples comprising at least first or second type of samples.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Consider a living organism, e.g. a human being or an animal (or even a plant). A basic subunit of such an organism is a cell. One way to catalogize the cells is by the functions they are aimed to perform in an organism, e.g. epithelial cells, (skin) muscle cells, neural cells etc. All these cells communicate with the surrounding world via complex mechanisms, which usually involve many different complex molecules called proteins some of which are embedded into a cell wall. Cells live and die very much like the whole organism; also they grow, divide, etc. In all these functions many different parts/components of a given cell take part. These components can be proteins, enzymes (acting as catalysts for certain reactions occurring in the cell) as well as DNAs, RNAs and tRNAs, etc. Thus there exist an enormous number of processes (mutations) occurring in an organism per unit time and also in each cell of the organism. Some of these mutations are important for the well being, but other are dangerous, like, e.g. cancerous mutations.

Therefore it is very important to be able to foresee, at least partly, the behaviour of a cell, to map out the reactions that occur there and their products (usually creation of new cells DNAs and/or proteins). It is equally important to be able to cure maligneous events in the body, which can arise by either invasion of other organisms (viruses or bacterias) or by processes caused within the body itself (autoimmune reactions), or by outer environmental factors (e.g. stress). In all these processes the number of out coming events is immense. Take for example DNA strands. There are millions and millions of different DNAs, which contribute to production of even larger number of proteins whose function and chemistry is by far more complex then that

even larger number of proteins whose function and chemistry is by far more complex then that of the DNAs themselves.

It would take many lifetimes to establish the structure of even few thousands of the DNA molecules, not to talk about proteins or their functions, or about the drugs. One needs therefore fast techniques enabling acquisition of information in parallel, and effective means of storage and handling of such information.

During the past decades, a search to develop such methods has been started. The common name for such techniques has been coined " high throughput screening" (HTS). The idea is to prepare in parallel as small samples as possible (so as not to use large amounts of expensive and rare chemicals) and as many of these as possible. The easiest and the most logical (from the information handling point of view of) way is to arrange such complex samples in a matrix. Taken from the semiconductor industry these matrices are often referred to as "chips".

One example of such preparation is given in Fig.1 (Biophotonics, January/February 2000, Univ. of Wisconsin, Franco Cerrina, et.al.). According to this technique, a matrix is created by burning away deposits from certain selected places on a chip, while depositing additional chemicals on other places. This method, although fairly fast and cheap, produces a permanent pattern on a matrix, which will be used up after single experiment. Thus, each new experiment requires production of a new matrix.

The number of elements (spots) in a matrix varies depending on the preparation method, but usually does not exceed 10,000, although matrices as large as 1,000,000 sites have been reported. The outcome of each single "experiment" therefore gives at best 10,000 results. In reality this number is much lower (around 20%) due to the very poor quality of even the best matrices produced to date.

Apart from preparation mentioned above a complete HTS-system has to include also means of detection for the events taking place in each spot as well as data transfer and evaluation.

FR 2,781,886 concerns fabrication of a microsystem with multiple points for chemical or biological analysis consisting of a structure provided with micro-cups, each micro-cup designed to receive a reagent coupled with a conductor polymer, each micro-cup having a receiving electrode whereon is fixed the reagent via of the polymer conductor, with which it is coupled, each micro-cup having a counter-electrode arranged so as to apply, in a volume of the micro-cup, an electric field between its counter-electrode and its receiving electrode, the structure having means for simultaneously connecting all the receiving electrodes to a first electric potential and means for simultaneously connecting all the counter-electrodes to a second electric potential for generating said electric field.

US 5,874,219 discloses methods for concurrently processing multiple biological chip assays by providing a biological chip plate comprising a plurality of test wells, each test well having a biological chip having a molecular probe array; introducing samples into the test wells; subjecting the biological chip plate to manipulation by a fluid handling device that automatically performs steps to carry out reactions between target molecules in the samples and probes; and subjecting the biological chip plate to a biological chip plate reader that interrogates the probe arrays to detect any reactions between target molecules and probes.

The international application No. WO 00/54882 provides electromagnetic chips and electromagnetic biochips having arrays of individually addressable micro-electromagnetic units, as well as methods of utilizing these chips for directed manipulation of micro-particles and microstructures such as biomolecules and chemical reagents. An electromagnetic biochip comprises an individually addressable micro-electromagnetic unit chip with ligand molecules immobilized on its surface. By controlling the electromagnetic field at each unit of the array and combining this control with magnetic modification of biomolecules, these chips can be used for directed manipulation, synthesis and release of biomolecules in order to increase sensitivity of biochemical or chemical analysis and reduce assay time. Other advantages with these chips include minimized damages to biological molecules and increased reproducibility of assay results. According to this invention, magnetic forces are used to control and manipulate magnetically modified molecules and particles and to promote molecular interactions and/or reactions on the surface of the chip. However, the drawback is that the detection is not sensitive

as other molecules will also be detected.

SUMMARY OF THE INVENTION

The main object of the invention is to present an arrangement which improves the "one by one" experimentation through enhancing the detection sensetivity.

The technique also allows a relatively rapid screening of new chemicals to be used as drugs, both with regard to their function and (importantly) with regard to the determination of the side effects that a given drug might exert, but can also be used in many other applications such as genome determination, proteomics and others.

In the arrangement according to the invention, it is relatively easy to change both the dimensions and the number of the wells. Also the simplicity of the design will allow integrating the reaction product detection system on-chip and perhaps also the facility for multi-well deposition of the active substance.

Another object of the invention is to describe how the detection limits for the events under study can be improved using techniques similar to those used for chip production.

These objects are achieved by the initially mentioned arrangement comprises a section provided with a device for controllable generation of a magnetic filed through influence of a control signal, said magnetic field being generated to attract at least part of said at least first and second type of samples at one stage and to repel at least one of said first or second type of samples in a second stage.

Preferably, said device is a coil or a magnetically active material and it is made of an electrically conducting material, preferably aluminium. Each device is applied through a conductor a current of different strength, whereby the current amplitude and the number of windings in the coil are proportional to the strength of the magnetic field.

According to the first aspect of the invention the arrangement comprises a cavity provided in a substrate and a lid for closing said cavity. Preferably, the lid is a magnetic bead. The bead is directed onto a cavity using external magnets that create magnetic fields counteracting the field created by the material deposited around each cavity. Each cavity is surrounded by a device, which directs said lid using external magnets that creates magnetic fields counteracting the field created by material deposited around each cavity. The cavities are etched in a silicon surface and the lid is provided as a large magnetic particle in the liquid. The particle is attracted to a predetermined cavity when the coil of said cavity is energised by electric current to produce magnetic field of spatial attraction. Before sealing off the cavity, smaller magnetic particles are attracted into the cavity. The sample is a magnetic particle covered with appropriate chemical(s). In one embodiment, the arrangement comprises means for detection of presence of a magnetic capping lid capping a cavity. In one embodiment, the capping is detected by detecting the change in inductance in the control circuit, which produces the attractive magnetic field, whereby the bead acts like a magnetic yoke in a transformer, increasing the inductance. In another embodiment, the capping is detected through decrease of electromagnetic radiation to a detector inside the cavity or by changes of capacitance between electrodes inside the cavity or near a cavity rim.

The arrangement may also comprise means for detection of changes of inductance when a magnetic particle passes through the opening into or out of a cavity. The indication is determined using the direction of externally controlled magnetic field, either by changing the direction of the electric current flowing through a coil or flipping an external magnetic. Preferably, the particle contains particular molecular coating, which reacts with the liquid in that cavity or with the coating adsorbed on the walls of the cavity.

The substrate can be made of silicon, Si, or of Si-compound, such as Si-oxide Si-nitride or Si-carbide, or combinations thereof, or a suitable polymer, such as polyethylene, polyethylene glycol, polyethylene oxide, fluorine containing a polymer (PTFE –Teflon), or silicon containing a polymer.

According to a second aspect of the invention, the arrangement comprises a member for generating acoustic waves and said device on a substrate or carrier. The device and the member for generating acoustic waves are covered with an insulating layer. On the insulating layer, a combination of receptor-bead of a magnetisable material are attached. A sample is provided with a magnetic portion, which can be attracted towards the receptor. The combination of receptor-bead attenuate the acoustic wave stronger than receptors attached to the insulating layer. Preferably, the surface of the insulating layer is inert to receptors, and that the receptor-bead combination is attached to the surface by magnetic forces acting on the bead.

The invention also relates to a method for analysing different samples in a analyses arrangement in a fluid medium, said samples being provided with magnetic members, the arrangement comprising a carrier structure, a testing section on said carrier structure provided with a magnetic filed generator upon reception of a control signal, wherein said testing section is provided with a test material reactive to at least one type of said samples, the method comprising attracting said different samples to said testing section by generating a magnetic attraction force and after reaction repelling samples not being said one type of samples.

Each generator is applied a current of different strength. The arrangement is provided by a cavity in a substrate. The method comprises the further steps of arranging a magnetic lid for closing said cavity, directing said bead onto a cavity using external magnets that create magnetic fields counteracting the field created by the material deposited around each cavity, and attracting smaller magnetic particles into the cavity before sealing off the cavity. Preferably, the sample is a magnetic particle covered with an appropriate chemical(s). According to the method it is possible to detect presence of a magnetic capping lid capping a cavity. The capping is determined by detecting the change in inductance in the control circuit, which produces the attractive magnetic field, whereby the bead acts like a magnetic yoke in a transformer, increasing the inductance. The capping may also be determined through decrease of electromagnetic radiation to a detector inside the cavity or by changes of capacitance between electrodes inside the cavity or near the cavity rim. According to the method it is possible to

detect changes of inductance when a magnetic particle passes through the opening into or out of a cavity, and determining said indication using the direction of externally controlled magnetic field, either by changing the direction of the electric current flowing through a coil or flipping an external magnetic.

According to the method, given a known number of samples in each cavity and a density of respective coatings, quantitative data on the number of reaction between the coating on a wall of the cavity and the coating on a small sample is obtained by counting the number of samples.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

In the following, the invention will be further described in a non-limiting way under reference to the accompanying drawings in which:

Fig. 1 shows an arrangement according to prior art,
Fig. 2 is a schematic view from above of chip according to the invention,
Fig. 3 is a schematic view, showing an enlarged cross-section along line II-II through a part of the chip according to fig. 2,
Fig. 4 is a schematic view from above of a part of another chip according to the invention,
Fig. 5 is a schematic view, showing an enlarged cross-section along line IV-IV through a part of the chip according to fig. 4, and
Figs. 6A-6C illustrate different stages of detection in the arrangement of Fig. 5.

DETAILED DESCRIPTION OF THE EMBODIMENTS

The basic idea of the present invention is to present an arrangement which enhances the detection and analyses by reducing the number of error sources. Surprisingly, it has been achieved by attracting some samples to a section and repelling the samples not achieved, e.g. a reaction with an agent in the section.

Figs. 2 and 3 illustrate a first example of an arrangement according to the invention. Fig. 2 illustratess an enlarged schematic view of a part of chip 19 comprising a number of sample collecting arrangements 10. Each sample collecting arrangement comprises a cavity (crater,

pocket, well) 12 provided in a substrate 11 and means 13 to control the cap (lid, cover) 14. Each control means 13 is connected to controller 18 (fig. 3) through connections 17.

Fig. 3 is a schematic cross-section through the device 10. However, the device 10 is shown in a stage where samples 15 are collected and the crater 12 is closed by means of the lid or closure 14. The samples in this particular case are magnetic particles of diameter(s) much smaller than the diameter of the lid, covered with appropriate chemical(s)

In this embodiment, the lid control means 13 comprise electrically actuated coils and the lid 14 is a magnetizeable bead .

By making many craters 12, all with individually controlled lids 14, different types of mixing of solids dispensed in a liquid and/or liquids can be achieved at the same time. As different liquids/solids are introduced to the outside of the craters only user-selected craters with open lids will be reached for the mixing by the liquids/solids external to the closed craters.

The dimensions and the shapes of each crater 12 can of course vary within a large interval both with respect to its diameter and depth. The craters can have circular cross-section, e.g. having about 50 μm deep with the diameters of approximately 100 μm. It is relatively easy to produce craters with dimensions ranging from few μm and larger and with depth ranging from few μm and up to several hundreds of μm, having, e.g. square shapes.

The material of the substrate can be silicon and the manufacturing process may include micro-machining, similar to the process of making microprocessors or memories chips. A device may contain from several hundreds of craters on a single piece of silicon, providing a so-called chip. Of course tens of thousands of craters on commercial units can be arranged.

Preferably, the lid is a micro-bead introduced in a liquid. The lid-actuation mechanism, i.e. the closing and the opening of each of the craters is performed using switchable magnetic fields that influence the motion of the introduced beads. The magnetic fields are created using the coils 13 deposited around each crater.

The coils 13 surrounding each of the craters are made of an electrically conducting material. In the preferred embodiment the conductor is made of aluminium, Al, but any electrical conductor can be used. Preferably, each coil is accessible through electrically conducting leads so that a current of different strength can be applied separately to each coil. The current amplitude and the number of windings in the coil are proportional to the strength of the magnetic field, which can thus be varied. Clearly, it is possible to change the number of windings in the coils surrounding each crater as well as their width and thickness within a broad range of dimensions. Preferably but not exclusively, coils can have from 2 and up to 10 windings.

In an alternative embodiment, instead of the coils 13, the control means can be substituted by a magnetically active material surrounding each crater and direct the beads using external magnets that will create magnetic fields counteracting the field created by the material deposited around each crater 12.

Preferably, the craters are etched in the silicon surface and the lid is provided by a large magnetic particle 14 in the liquid. Thus, particle 14 can be attracted to the crater of choice when the coil of this crater is energised by electric current to produce magnetic field for spatial attraction. Before sealing off the crater of choice, however, it is also possible to attract smaller magnetic particles into the crater. To attract the smaller magnetic particles 15 to the crater we energize the coil by leading electric current through it. When the coil is energized, a magnetic field is established. This field will attract the magnetic particle 15 from the liquid. These smaller particles have higher mobility in the liquid compared to the mobility of larger particles and will thus reach crater faster then the larger lids. The large lid-particle will cap the crater at a later stage. Preferably, as large particles commercially available magnetic particles such as ferromagnetic or super-paramagnetic having about 100 micrometers in size can be used, while the size of the smaller particles is much smaller than the crater's size. There are other dimensions and particle types on the market and the invention is applicable a broad range of particle sizes, shapes and materials.

To open a closed crater, a repelling field is generated either externally or by inverting the direction of the current flowing through the coil. It is also possible to terminate the current through the coil, whereby the particle may be released due to shear force from the flowing liquid or due to gravitational forces if the craters are positioned "upside down".

The simple actuation of the crater lid using current controlled magnetic field(s) and the large number of craters on a chip makes it necessary that the chip is operated automatically through controlling arrangement. The chip is preferably provided with an interface device that establishes electrical connection with the chip and provides the handling of the surrounding fluid with the beads and chemicals. After use the chip may be removed for cleaning and reuse or disposal. The interface device will be connected to a computer equipped with suitable software to control the sequence of operations on the craters and the liquid handling system. The software will also provide an interface for the user to establish the process sequence and to plan the states of the crater lids in each sequence.

Detection of a magnetic capping bead can also be done. It is important to obtain feedback on which craters are capped. The presence of a magnetic capping bead, in place over a crater, can be detected by the change in inductance in the electric circuit, which produces the attractive magnetic field. The bead acts like a magnetic yoke in a transformer, increasing the inductance. A resonant, or other, circuit can then detect this inductance change.

The presence of the capping bead can be detected by various other schemes, like the decrease of electromagnetic radiation to a detector inside the crater or by changes of capacitance between electrodes inside the crater or near the crater rim.

Each well/crater bottom can be prepared for a particular detection method; for example glass bottom for optical detection or crater bottom having deposited electrodes for the capacitance measurements/electrochemical detection.

Another possible application along similar lines is the detection of changes of inductance when a small magnetic sphere passes through the opening into a well. Using the arrangement

according to the invention it is possible to determine whether a sphere is entering the well or if it is leaving the well. This is determined using the direction of externally controlled magnetic field (either by changing the direction of the electric current flowing through a coil or flipping an external magnetic field creating device by other means). Such a sphere may contain particular molecular coating, which will react with the liquid in that well or with the coating adsorbed on the walls of the crater. Given one knows the number of spheres in each well and the density of the respective coatings quantitative data on the number of reaction between the coating on the wall and the coating on a small bead can be obtained by simply counting the spheres.

Following non-limiting examples are given for simplifying the understanding of the invention:

According to a first example liquid A containing magnetic beads is introduced. User selected craters 12 are energized and hence capped. The remaining beads are flushed away with a cleaning liquid. Now liquid B is introduced, containing small (much smaller than the capping beads) particles, called X, made of a material interesting to the user. Only uncapped craters will accept X. Then, more magnetic beads are introduced and selected craters are capped, trapping X. Cleaning liquid will flush all excess away. A liquid containing chemical reagent Y can then be introduced and some craters are opened. X and Y are allowed to mix and react, but only in the user-selected areas. This reaction can be followed using sensing techniques, which can easily be incorporated into the system, for example using optical techniques. Other possible novel detection techniques easily incorporated into the present embodiment are mentioned below.

In a second example, a substance is attached to the craters inner surface. In a repeating sequence some craters are closed by the beads and the others are exposed to a reactive chemical A. After the reaction the chemical is flushed and some craters are exposed to another chemical B. So there will be craters that have been exposed to A and B, some to A, some to B, and some to neither. This process can be repeated with many chemicals producing very large numbers of differently modified substances residing in different locations (craters) of choice. With a sequence of 10 different chemicals, for example, more than 1000 different combinations are

obtained. In particular, this could be used to synthesize DNA strands or (using appropriate well-known techniques) to investigate the function(s) of different proteins.

Thus, the wells are used to attract samples and after reaction by reactive substances inside the well or walls of the well, by changing the magnetic field, to repel the samples, which are not reacted and do not withstand the repulsive force. The bead can be used to close the well during the raction.

Yet another application is to lock the cells in the wells filled with different chemicals and monitor the reaction of cells (cell proliferation, differentiation, spreading or others) to these chemistries. This would enable, for example a fast high throughput screening of drugs.

The arrangement may also be used separately, one-by-one, for example to deliver a certain chemical or chemicals locally at a certain place or places in a reaction vessel, and monitor reaction products locally, or to deliver a drug inside a body.

Another field of possible applications of the device has been triggered by something generally referred to as a "low throughput screening" (LTS). LTS is often used when the amount of required information is smaller but in addition one wants to obtain some quantitative information about concentrations of analyses or number of reactions that occur during certain time at certain amounts of reagents. The idea behind LTS has much in common with another timely idea often used to day: an "electronic tongue". Electronic tongue is a device that enables one to determine components in a liquid. These components can then be associated with certain tastes (sweet, sour, salt, etc. or combinations thereof). To determine the content of simple liquids in a liquid mixture, for example % of sugar dissolved in a cup of tea along with the amount of tea used to prepare this cup, and even perhaps different tea blends used. To acquire knowledge about all these requires performing several experiments with constituents that react differently to different tea blends and to different amounts of tea from each blend that has been used, as well as to the amounts of sugar being dissolved in this tea. All these can be made by LTS methods using our equipment and choosing appropriate reagents different for each crater and letting these first to react with a "standard" samples ("learning the tongue" to recognise

certain non-mixed liquids) and later exposing these samples to mixtures of different tea blends with or without sugar. Appropriate data processing from the outcome compared with the results obtained on standard samples enables one often to obtain information about tea blends used and the amount of sugar dissolved.

The device is not limited to spheres or coils for creation of magnetic fields that direct beads nor is it limited to the use of beads, and other shapes can be used. Finally it is not limited to the use of silicon technology to fabricate the crater matrices; other materials can be used for this purpose.

Below are additional, *non*-limiting examples of different crater preparation techniques and materials of use paired with its utilisation for enhancing the detection sensitivity:
The general idea behind these examples is to manipulate small particles in order to bring them to a chosen place on the surface of the substrate using magnetic field(s) as a driving force for particle manipulation. The surface of the substrate may be either patterned in a particular manner, or not. When the substrate is patterned and the pattern consists of craters some particles are used preferably as caps or lids to close each crater as described earlier. When the substrate is left without a pattern or patterned in a different manner (see below for an example) the particles can be used mainly as a way to enhance sensitivity of detection of the processes taking place in the device.

The magnetic force to manipulate the particles can be created using coils as described above, but it also may be created using externally applied magnets. In the former case the field strength (and thus the magnitude of the force) is determined primarily by the number of windings in the coil and the magnitude of the electric current. In the latter case it is possible to control the magnitude of the magnetic force by appropriate choice of magnet position and strength.

The substrate may be made of silicon (described above), Si, or of Si-compound, e.g. Si-oxide Si-nitride or Si-carbide, or combinations thereof. It may also consist of thin self-supporting Si, or of a Si- compound, with another film of suitable thickness (for example few micrometers),

such as ZnO, evaporated onto its surface. This additional film is needed if the device is to work as an acoustic wave device for detection.

The substrate may also be fabricated using other material than silicon. For example a suitable polymer, e.g. polyethylene, polyethylene glycol, polyethylene oxide, fluorine containing a polymer (PTFE –Teflon), or silicon containing a polymer, may be used as a substrate material.

When patterning the substrate different techniques may be used depending on the substrate material and the pattern. Thus, Si and Si-compounds are suitably patterned applying well-known techniques from the semiconductor fabrication. When patterning polymers one can use known techniques like polymer stamping or moulding.

The patterns on the substrate are not limited to craters. For example when using the device as an acoustic wave detector one may produce matrices consisting of many interdigitated patterns needed for acoustic wave generation and detection. Figs. 4 and 5 show one example of such a device.

The coils can be patterned using well-known techniques such as electroplating, vapour deposition or sputter.

In the following, few non-limiting examples of how similar techniques based on the magnetic manipulation of beads can be used to enhance detection sensitivity of chemical reactions are described:

A single site of a matrix of the Surface Acoustic Wave, SAW, devices is shown in figs. 4 and 5 Each device 20, comprises an arrangement 22 for generating acoustic waves and magnetic field control means 23 on a substrate or carrier 21. The arrangement for generation and detection of acoustic waves comprises two finger-shaped, reversed arranged conductors 221 and 222 provided on both sides of the control means 23. The control means 23 is arranged as a coil connected to a controller (not shown) as described in conjunction with foregoing embodiment. The coil and the arrangement for generating acoustic waves are covered with an insulating layer

24 (fig. 5), made of, e.g. glass or plastic, or a biomolecular layer. Onto this insulating layer, (biomolecular) "receptors" 25 can be adsorbed. The receptors, 25, can be used in their native state and adsorb spontaneously onto a suitably prepared insulating layer, 24. They may also be pre-adsorbed onto small magnetic beads, 23, and the whole complex (magnetic bead-receptor) can be attracted to the surface of the SAW – device by magnetic field created by letting the current pass through the coil 23. The beads + receptors attenuate the acoustic wave, 29, many times stronger compared to the case when native receptors are attached to the insulating layer 24 and thus much lower concentrations of adsorbates at the surface are needed when the receptor-bead complexes are adsorbed.

By coating the magnetic beads using a specific reagent (e.g. an antibody or a nucleic acid sequence) that is supposed to react with another reagent adsorbed on the surface of the sensor (e.g. an complementary antigene or a complementary sequence of nucleic acids). Only active sensor area is coated using reagent to be studied, the rest of the sensor (for example the electrode area, 221 in fig. 4 is coated with the inert (=non-reacting) coating. The coated beads are attracted to localities defined by the coils. The presence of the beads will enhance attenuation of an acoustic wave compared with the situation when the chemical reaction occurs between the two reagents only. Thus the sensitivity of the device increases.

However, there are beads that have been attracted to the surface by the magnetic field that did not undergo specific chemical reaction, or underwent another non-desirable reaction. These latter beads will produce "false" signals. One way to eliminate the undesirable signal is to wash away the beads, which in certain situations may be inconvenient, more difficult or time consuming. By using magnetic coils and/or external magnetic filed, the undesired beads can be removed. One possibility to achieve this is simply to reverse the direction of current flowing in the coil. By carefully increasing current, it is possible to increase the magnetic field and repel loosely bound particles leaving only those having the desired bond.

Another advantage of such configuration is that it allows for the regeneration of the device. It may be possible to manufacture the surface of the insulating layer, 24, inert to receptors themselves, so that the receptor and bead complex is attached to the surface by magnetic forces

acting on a bead. Once the investigation is completed the magnetic field can be removed (or the direction of the field changed using external magnet) causing the receptor and bead complex to desorb. This will leave the surface in its as-prepared state ready for another investigation.

If one wishes to study the reaction between these receptors and appropriate "donors", 27, the latter may be introduced in their native stage (27), or coupled to a magnetic bead 28.

Again, coupling the donors to magnetic beads allows for larger attenuation of acoustic wave when the acceptor-donor reaction has occurred (irrespective from whether this reaction caused additional donor-derived beads to be adsorbed on the surface or whether it caused the desorption of the reaction product – receptor + bead/donor + bead) which decreases the necessary number of reaction needed for a given sensitivity of the device.

Since the beads influence the propagation of acoustic waves stronger than do the molecules, which react, to each other one obtains manifold enhancement of the detection of the chemical reaction involving these molecules. One particular, but far from the only one, example of such reaction is the antibody-antigene reaction. Another example would be DNA- complementary DNA (or PNA) reaction. The reaction may occur spontaneously over many sites of the matrix, leaving other sites unreacted. By separately applying the magnetic field so as to remove particles from each site one obtains (i) a pattern over sites where reaction did take place, and (ii) a quantitative information about the number of reaction that did take place at each site (see, Fig. 6A-6C).

Another way to use the matrix with interdigitated electrodes is as a capacitor; a certain number of electrode pairs will be considered as a single site and will constitute a capacitor. One prepares each site of the matrix differently, i.e. using different chemistries. By directing beads, with specific molecules attached to them, to these sites using magnetic field, or withdrawing particles from these sites, one is able to perturb the dielectric constant of a layer close to the surface and therefore produce large changes of the capacitance of the device compared to attachment of only (bio)molecules.

Capacitance measuring device may comprise, the matrix of interdigitated electrodes, similar to 221 and 222 in fig. 4, but with the difference that the sensing area is the area between the electrodes 221 and 222 and not in-between the electrode pairs (like in fig 4). One detects changes in capacitance (which is due to changes in the dielectric constant within the area where the electric filed is between the electrodes is large) by measuring the chemical reaction induced changes of the electric field [changes in the AC-current and/or voltage as a function of frequency (or at a given frequency)] present between the 221 and 222 electrodes. For biological reagents submerged in the liquid such changes are usually small since the dielectric constant of water and that of the reagents do not differ too much from each other. Use of magnetic beads would increase the sensitivity dramatically since the dielectric constant of a magnetic bead (metal) is infinite.

The use of magnetic beads may also enhance optical detection, for example optical absorbance of a fluid. Availability of beads introduces also a possibility to use other detection means such as plasmon resonance spectroscopy or photon correlation spectroscopy.

It is of importance to assure that the beads contributing to measurements in each of the cases above are the ones that have been responsible for the desirable chemistry.

The invention is not limited the shown embodiments but can be varied in a number of ways without departing from the scope of the appended claims and the arrangement and the method can be implemented in various ways depending on application, functional units, needs and requirements etc.

CLAIMS

1. In a liquid medium submergible arrangement (10, 20) for enhancing detection of different samples comprising at least first or second type of samples (15, 27),
characterised in
that the arrangement comprises a section provided with a device (13, 23) for controllable generation of a magnetic filed through influence of a control signal, said magnetic field being generated to attract at least part of said at least first and second type of samples (15, 27) at one stage and to repel at least one of said first or second type of samples in a second stage.

2. The arrangement according to claim 1,
characterised in,
that said device (13, 23) is a coil.

3. The arrangement according to claim 1,
characterised in,
that said device is a magnetically active material.

4. The arrangement according to any of preceding claims,
characterised in,
that the device is made of an electrically conducting material, preferably aluminium.

5. The arrangement according to any of preceding claims,
characterised in,
that each device through a conductor (17) is applied a current of different strength.

6. The arrangement according to claim 2,
characterised in,
that a current amplitude and the number of windings in the coil are proportional to the strength of the magnetic field.

7. The arrangement (10) according to any one of claims 1 - 6,
characterised in
that said arrangement comprises a cavity (12) provided in a substrate (11).

8. The arrangement according to claim 7,
characterised in,
that it comprises a magnetic lid (14) for closing said cavity (12).

9. The arrangement according to claim 3 and 8,
characterised in,
that the bead is directed onto a cavity using external magnets that create magnetic fields counteracting the field created by the material deposited around each cavity (12).

10. The arrangement according to claim 8,
characterised in,
that said lid is a micro-bead introduced in said liquid medium.

11. The arrangement according to claim 1,
characterised in,
that said particle (14) is attracted to a predetermined cavity when the coil of said cavity is energised by electric current to produce magnetic field of spatial attraction.

12. The arrangement according to claim 11,
characterised in,
that before sealing off the cavity, smaller magnetic particles are attracted into the cavity.

13. The arrangement according to any of preceding claims,
characterised in,
that said sample (15) is a magnetic particle covered with appropriate chemical(s).

14. The arrangement according to claim 13,

characterised in,
that said capping is detected by detecting the change in inductance in the control circuit, which produces the attractive magnetic field, whereby the bead acts like a magnetic yoke in a transformer, increasing the inductance.

15. The arrangement according to any of preceding claims,
characterised in,
that it comprises means for detection of changes of inductance when a magnetic particle passes through the opening into or out of a cavity.

16. The arrangement according to claim 1,
characterised in,
that the indication is determined using the direction of externally controlled magnetic field, either by changing the direction of the electric current flowing through a coil or flipping an external magnetic.

17. The arrangement according to claim 13 or 14,
characterised in,
that said particle contains particular molecular coating, which reacts with the liquid in that cavity or with the coating adsorbed on the walls of the cavity.

18. The arrangement according to any of claims 7-12,
characterised in,
that the substrate is made of silicon, Si, or of Si-compound, such as Si-oxide Si-nitride or Si-carbide, or combinations thereof, or a suitable polymer, such as polyethylene, polyethylene glycol, polyethylene oxide, fluorine containing a polymer (PTFE -Teflon), or silicon containing a polymer.

19. The arrangement according to claim 1,
characterised in
that the arrangement comprises a carrier substrate (24).

20. The arrangement according to any of claims 1-6,
characterised in,
that the arrangement (20) comprises a member (22) for generating acoustic waves and said device (23) on a substrate or carrier (21).

21. The arrangement according to claim 20,
characterised in,
that the device and the member for generating acoustic waves are covered with an insulating layer (24) constituting said carrier.

22. The arrangement according to claim 20,
characterised in,
that on the insulating layer, a combination of receptor-bead (25) of a magnetisable material are attached.

23. The arrangement according to claim 22,
characterised in,
that a sample (27) is provided with a magnetic portion (28), which can be attracted towards the receptor (25, 26).

24. The arrangement according to claim 23,
characterised in,
that said combination of receptor-bead attenuate the acoustic wave (29) stronger than receptors attached to the insulating layer (24).

25. The arrangement according to any of claims 20 - 23,
characterised in
that said surface of the insulating layer (24) is inert to receptors, and that the receptor-bead combination is attached to the surface by magnetic forces acting on the bead.

26. The arrangement according to claim 23,

characterised in,
that the arrangement comprises of a matrix of interdigitated electrodes, whereby a certain number of electrode pairs are considered as a single site and constitute a capacitor.

27. The arrangement according to claim 26,
characterised in,
that each site of the matrix is prepared differently, by using different agents, and by directing beads, with specific molecules attached to them, to said sites using magnetic field, or withdrawing particles from these sites, the dielectric constant of a layer close to the surface is perturbed and large changes of the capacitance of the device compared to attachment of only molecule is detected.

28. A method for analysing different samples (15, 27) in a analyses arrangement in a fluid medium, said samples being provided with magnetic members, the arrangement comprising a carrier structure, a testing section on said carrier structure provided with a magnetic filed generator upon reception of a control signal, wherein said testing section is provided with a test material reactive to at least one type of said samples, the method comprising attracting said different samples to said testing section by generating a magnetic attraction force and after reaction repelling samples not being said one type of samples.

29. The method of claim 28,
characterised in
that said generator is applied a current of different strength.

30. The method of claim 29,
characterised in
that said arrangement is provided with a cavity (12) in a substrate (11).

31. The method of claim 30,
characterised by
arranging a magnetic lid (14) for closing said cavity (12).

32. The method of claim 31,
characterised by
directing said bead onto a cavity using external magnets that create magnetic fields counteracting the field created by the material deposited around each cavity (12).

33. The method according to any of claims 28-32,
characterised by
attracting smaller magnetic particles into the cavity before sealing off the cavity.

34. The method according to any of claims 28-32,
characterised in
that said sample is a magnetic particle covered with an appropriate chemical(s).

35. The method according to any of claims 30-34,
characterised by
detection of changes of inductance when a magnetic particle passes through the opening into or out of a cavity.

36. The method according to claim 35,
characterised by
determining said indication using the direction of externally controlled magnetic field, either by changing the direction of the electric current flowing through a coil or flipping an external magnetic.

37. The method according to any of claims 30-36,
characterised by
given a known number of samples in each cavity and a density of respective coatings, quantitative data on the number of reaction between the coating on a wall of the cavity and the coating on a small sample is obtained by counting the number of samples.

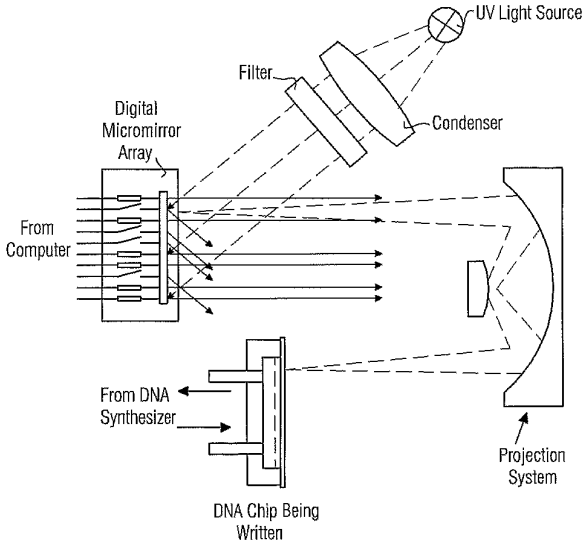

UV Light Source
Filter
Condenser
Digital
Micromirror
Array
From
Computer
From DNA
Synthesizer
Projection
System
DNA Chip Being
Written

Fig.1

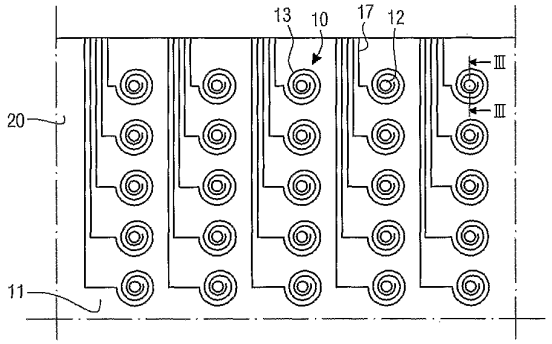


Fig.2

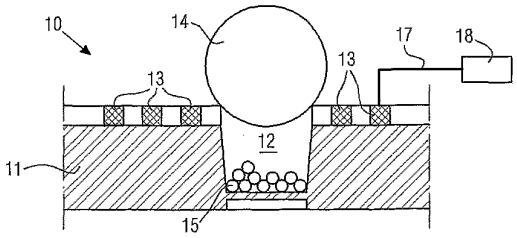


Fig.3

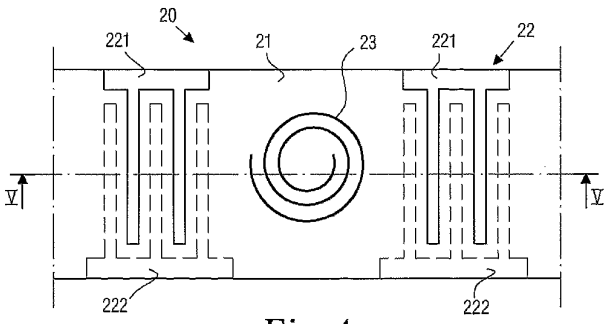


Fig.4

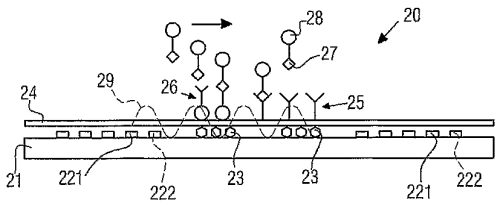


Fig.5

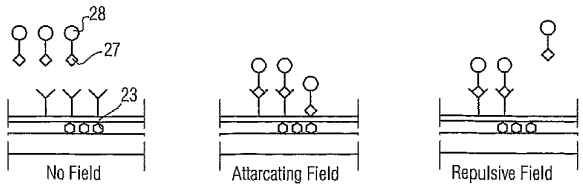


Fig.6a Fig.6b Fig.6c

【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)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
28 February 2002 (28.02.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/16904 A3

(51) International Patent Classification⁷: G01N 33/543, C12Q 1/00, B01L 3/00, B03C 1/00, B01J 19/00

(21) International Application Number: PCT/SE01/01799

(22) International Filing Date: 23 August 2001 (23.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0002990-0 23 August 2000 (23.08.2000) SE
60/228,015 24 August 2000 (24.08.2000) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **IMEGO AB** [SE/SE]; Aschebergsgatan 46, Byggnad 11, S-411 33 Göteborg (SE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **STOREK, David** [SE/SE]; Golvläggaregatan 4 C, S-412 62 Göteborg (SE). **SCHNEEBERGER, Niklaus** [CH/CH]; Route des Buchilles 42, CH-2017 Boudry (CH). **OTILLAR, Robert, P.** [US/US]; 833 Ashburry 2, San Francisco, CA 94177-4465 (US). **KROZER, Anatol** [SE/SE]; Klampare-gatan 5, S-413 17 Göteborg (SE).

(74) Agent: **GÖTEBORGS PATENTBYRÅ DAHLS AB**; Sjöporten 4, S-417 64 Göteborg (SE).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, CZ (utility model), DE, DE (utility model), DK, DK (utility model), DM, DZ, EC, EE, EE (utility model), ES, FI, FI (utility model), GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SK (utility model), SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

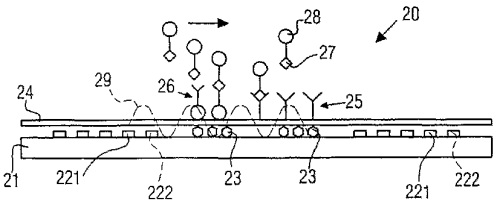
(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,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

Published:
— *with international search report*

(88) Date of publication of the international search report:
23 May 2002

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.

(54) Title: MICROFLUIDIC DEVICE AND METHOD WITH TRANSPORT OF MAGNETIC PARTICLES INTO AND OUT OF WELLS



(57) Abstract: The present invention relates to an arrangement (10, 20) for preparing samples (15, 27), submergible in a liquid medium. The arrangement comprises a section provided with a device (13, 23) for controllable generation of a magnetic filed through influence of a control signal, said magnetic field being generated to attract at least part of said at least first and second type of samples (15, 27) at one stage and to repel at least one of said first or second type of samples in a second stage.

WO 02/16904 A3

【国際調査報告】

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE 01/01799

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: G01N 33/543, C12Q 1/00, B01L 3/00, B03C 1/00, B01J 19/00
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)

IPC7: G01N, C12Q, B01L

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

SE,DK,FI,NO classes as above

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

EPO-INTERNAL, INSPEC, BIOSIS, WPI DATABASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 9615450 A1 (DAVID SARNOFF RESEARCH CENTER INC.), 23 May 1996 (23.05.96), page 2, line 29 - page 3, line 30; page 10, line 31 - page 11, line 5; page 12, line 36 - page 13, line 11, example 2, figures 6B,6C,7C --	1-13,18,19, 28-34,37
X	WO 0043534 A1 (SOMALOGIC INC.), 27 July 2000 (27.07.00), page 14, line 26 - page 15, line 12; page 15, line 24 - page 16, line 3 --	1-13,18,19, 28-34,37
X	WO 9626011 A1 (SIDDIQI IQBAL, W.), 29 August 1996 (29.08.96), page 20, line 27 - page 21, line 12; page 8, line 5 - page 9, figures 10A,10B --	1

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of 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
25 February 2002	27-02-2002
Name and mailing address of the ISA Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86	Authorized officer CARL-OLOF GUSTAFSSON/BS Telephone No. +46 8 782 25 00

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE 01/01799

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 9814641 A1 (SYMYX TECHNOLOGIES), 9 April 1998 (09.04.98), page 5, line 26 - page 6, line 5; page 13, line 11 - page 14, line 21, claims 16-18 --	1
A	US 5655665 A (ALLEN ET AL), 12 August 1997 (12.08.97), column 1 - column 2, claims --	1
P,X	WO 0060356 A1 (CELLOMICS, INC.), 12 October 2000 (12.10.00), page 49, line 21 - page 51, figures 37,38 --	1-13,18,19, 28-34,37
P,X	WO 0054882 A1 (ARTLOON CORPORATION), 21 Sept 2000 (21.09.00), pages 8, 9, 42-44, claims, figu res 11A, 11B --	1-13,18,19, 28-34,37
X	WO 0049382 A2 (THE PERKIN-ELMER CORPORATION), 24 August 2000 (24.08.00), page 4, line 15 - line 23 --	1-7,28-30

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)

INTER. .TIONAL SEARCH REPORT

I.. ..national application No.
PCT/SE01/01799

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-6
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see next sheet*

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see next sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTER. .TIONAL SEARCH REPORT | International application No. PCT/SE01/01799

*
The present claims 1-6 relate to an extremely large number of possible "arrangements" and methods The multitude of alternatives being created by not stating all "means" that are required to obtain the intended function of the arrangement as revealed in the description. In fact, the claim contains so many options that a lack of clarity and conciseness within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the whole scope of the claims impossible.

Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which appear to be clear and concise, namely *an arrangement and method involving a carrier structure with at least one sample attracting/repelling magnetic field and means for control of the sample attracting/repelling magnetic field, at least one cavity for receiving a sample, a magnetic covering structure i.e. for magnetic opening/closing operation and means for controlling this activity, characterised in that the covering structure is a lid or a magnetic bead.*

**

Invitation to Pay Additional Fees

According to PCT Rules 13.1 and 13.2, an international application shall relate to one invention only or a group of inventions linked by one or more of the same corresponding "special technical features", i.e. features that define a contribution which each of the inventions makes over the prior art.

In Your application the following inventions have been found:

1. Arrangement and method for "enhancing detection of different samples" comprising a device for "controllable generation of a magnetic field" attracting at least part of said sample(s) in one stage and repelling said samples in a second stage, according to claims 1-6, 28 and 29 and 13, 16, 19, and 34 (partially).

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE01/01799

2. Arrangement and method for "enhancing detection of different samples" comprising a device for "controllable generation of a magnetic field" attracting at least part of said sample(s) in one stage and repelling said samples in a second stage and further comprising a cavity for receiving the sample and a magnetic covering structure i.e. for magnetic opening/closing operation and means for controlling this activity, characterised in that the covering structure is a lid or a magnetic bead according to claims 7-12, 14, 15, 17, 18, 30-33, and 13, 16, 19, 34 and 37 (partially).

3. Arrangement and method for "enhancing detection of different samples" comprising a device for "controllable generation of a magnetic field" attracting at least part of said sample(s) in one stage and repelling said samples in a second stage and further comprising a cavity for receiving the sample and a magnetic covering structure i.e. for magnetic opening/closing operation and means for controlling this activity, characterised in that the cavity comprises means for detecting particles entering/leaving the cavity according to claims 15 and 35-36 and 37 (partially).

4. Arrangement and method for "enhancing detection of different samples" comprising a device for "controllable generation of a magnetic field" attracting at least part of said sample(s) in one stage and repelling said samples in a second stage, further comprising an acoustic wave generator according to claims 20-27 (partially).

The special technical feature of invention 1 is considered to be the general use of controllable magnetic fields for trapping magnetic particles in samples. The special technical feature of invention 2 is considered to be the use of controllable magnetic fields for opening/closing a lid that covers a cavity for sampled magnetic particles. The special technical feature of invention 3 is considered to be the use of means for detecting particles entering or leaving a cavity in a method for handling magnetic sample particles. Invention 4 involves the use of acoustic wave generators as a special technical feature.

../...

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (July1998)

INTER..TIONAL SEARCH REPORT

In..ational application No.
PCT/SE01/01799

A new common "special technical feature" does not link invention 1, 2, 3 and 4 required by PCT Art. 13. Arrangements are already known that performs a separation of e.g. sample particles by means of magnets that functions by attracting or repelling magnetic particles (see e.g. WO9626011, WO0049382) and lids in the form of a magnetic particle, e.g. a magnetic ball valve, has been used (see WO9615450 and WO9615576).

Inventions 1 and 2 have been searched to the extent it was possible (see the remark for restricted search in Box I). Invention 2 was covered by the search in the parallel application.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

28/01/02

International application No.
PCT/SE 01/01799

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9615450 A1	23/05/96	AU 705351 B	20/05/99
		AU 705659 B	27/05/99
		AU 4152396 A	06/06/96
		AU 4233796 A	06/06/96
		CA 2204912 A	23/05/96
		CA 2205066 A	23/05/96
		EP 0791238 A	27/08/97
		EP 0808456 A	26/11/97
		JP 11500602 T	19/01/99
		JP 2001509727 T	24/07/01
		US 5585069 A	17/12/96
		US 5593838 A	14/01/97
		US 5643738 A	01/07/97
		US 5681484 A	28/10/97
		US 5755942 A	26/05/98
		US 5846396 A	08/12/98
		US 5858804 A	12/01/99
		US 5863708 A	26/01/99
		US 5985119 A	16/11/99
		WO 9615576 A	23/05/96
WO 0043534 A1	27/07/00	AU 3209200 A	07/08/00
		EP 1144669 A	17/10/01
WO 9626011 A1	29/08/96	AT 172890 T	15/11/98
		AU 4927496 A	11/09/96
		DE 69600924 D,T	10/06/99
		EP 0810905 A,B	10/12/97
		JP 11500952 T	26/01/99
		US 6033574 A	07/03/00
		US 6228268 B	08/05/01
		US 6231760 B	15/05/01
		US 2001007312 A	12/07/01
WO 9814641 A1	09/04/98	AU 4662097 A	24/04/98
US 5655665 A	12/08/97	NONE	
WO 0060356 A1	12/10/00	AU 4063700 A	23/10/00
		EP 1166116 A	02/01/02
WO 0054882 A1	21/09/00	AU 6045799 A	04/10/00
		CN 1267089 A	20/09/00
WO 0049382 A2	24/08/00	AU 3365700 A	04/09/00
		EP 1153303 A	14/11/01

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1998)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
// Ｇ０１Ｎ 37/00	Ｇ０１Ｎ 27/22	Ｚ	
	Ｇ０１Ｎ 37/00	１０２	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,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,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,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,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
テフロン

(72)発明者 オティラー、ロバート、ピー
アメリカ合衆国、カリフォルニア州 ９４１７７－４４６５、サンフランシスコ、８３３ アッシュベリー ２
(72)発明者 クローザー、アナトル
スウェーデン国、エス－４１３ １７ エーテボリ、クランパレガータ ５

Ｆターム(参考) 2G052 AA28 AD29 DA01 DA12 ED04 HA00 JA15 JA16
2G060 AA10 AE40 AF10 AF20
4B029 AA07 AA27 BB20 CC03 FA12