

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4171075号  
(P4171075)

(45) 発行日 平成20年10月22日(2008.10.22)

(24) 登録日 平成20年8月15日(2008.8.15)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 27/447 (2006.01)	GO 1 N 27/26 3 3 1 E
GO 1 N 31/20 (2006.01)	GO 1 N 31/20
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 1

請求項の数 66 (全 28 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平10-547027                  (86) (22) 出願日 平成10年4月13日(1998.4.13)                  (65) 公表番号 特表2001-523341(P2001-523341A)                  (43) 公表日 平成13年11月20日(2001.11.20)                  (86) 国際出願番号 PCT/US1998/007444                  (87) 国際公開番号 W01998/049548                  (87) 国際公開日 平成10年11月5日(1998.11.5)                  審査請求日 平成17年2月17日(2005.2.17)                  (31) 優先権主張番号 08/845,754                  (32) 優先日 平成9年4月25日(1997.4.25)                  (33) 優先権主張国 米国(US)                  (31) 優先権主張番号 60/060,902                  (32) 優先日 平成9年10月3日(1997.10.3)                  (33) 優先権主張国 米国(US)</p>	<p>(73) 特許権者                  カリパー・ライフ・サイエンシズ・インコーポレーテッド                  アメリカ合衆国 カリフォルニア 94034, マウンテン ビュー, フェアチャイルド ドライブ 605                  (74) 代理人                  弁理士 川原田 一穂                  (72) 発明者                  ダブロー, ロバート エス.                  アメリカ合衆国 カリフォルニア 94070, サン カルロス, オレンジ アベニュー 766</p>
---	---

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改良されたチャンネル幾何学的形状を組み込む微小流体装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

内部および外部を有するボディ構造と、  
 該内部に配置される少なくとも第1、第2および第3の微小規模チャンネルと、を含み、該第2のチャンネルは、第1の交差部で該第1のチャンネルに交差し、該第3のチャンネルは、第2の交差部で該第1のチャンネルに交差し、  
 該ボディ構造に配置される複数の試料リザーバであって、該複数の試料リザーバの各々が該第2のチャンネルに接続される複数の試料リザーバと、  
該第3のチャンネルに接続された少なくとも1つの試料リザーバと、  
該第3のチャンネルに接続される少なくとも第1の廃棄物リザーバと、  
該第2のチャンネルに接続された少なくとも第2の廃棄物リザーバとをさらに含む、微小流体装置。

【請求項2】

前記第2のチャンネルが前記第1のチャンネルに交差する該第1のチャンネルの側と、前記第3のチャンネルが前記第1のチャンネルに交差する該第1のチャンネルの側とが互いに反対側にある、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項3】

前記第1および第2の交差部が、前記第1のチャンネル上の共通のポイントに配置される、請求項2に記載の微小流体装置。

【請求項4】

前記第 2 および第 3 のチャンネルが、同一線上にある、請求項 3 に記載の微小流体装置。

【請求項 5】

前記第 1 の廃棄物リザーバが、前記少なくとも 1 つの試料リザーバと前記第 1 の交差部との間で前記第 3 のチャンネルに接続される、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 6】

前記第 1 の廃棄物リザーバが、第 1 の廃棄物チャンネルにより前記第 3 のチャンネルに接続され、該第 1 の廃棄物チャンネルは、第 3 の交差部で該第 3 のチャンネルに交差し、該第 3 の交差部は、前記少なくとも 1 つの試料リザーバと前記第 2 の交差部との間に配置され、前記第 2 の廃棄物リザーバが、第 2 の廃棄物チャンネルにより前記第 2 のチャンネルに接続され、該第 2 の廃棄物チャンネルは、第 4 の交差部で該第 2 のチャンネルに交差し、該第 4 の交差部は、前記複数の試料リザーバと前記第 1 の交差部との間に配置される、請求項 5 に記載の微小流体装置。

10

【請求項 7】

前記第 3 および第 4 の交差部がそれぞれ、前記第 2 および第 1 の交差部の約 5 mm 以内に配置される、請求項 6 に記載の微小流体装置。

【請求項 8】

前記第 3 および第 4 の交差部がそれぞれ、前記第 2 および第 1 の交差部の約 2 mm 以内に配置される、請求項 6 に記載の微小流体装置。

【請求項 9】

前記ボディ構造が、

20

少なくとも第 1 の平面表面を有する第 1 の平面基板と、

該少なくとも第 1 の平面表面に配置される複数の溝であって、前記少なくとも第 1、第 2 および第 3 のチャンネルに対応する複数の溝と、

第 1 の平面表面を有する第 2 の平面基板と、を含み、該第 2 の基板の該第 1 の平面表面は、該第 1 の基板の該第 1 の平面表面と合わされ、該溝を封止可能に覆って該第 1、第 2 および第 3 のチャンネルを形成し、該チャンネルは、前記内部を規定し、該ボディ構造が、該第 1 および第 2 の基板の少なくとも一方に配置される複数の開口部であって、該第 1、第 2 および第 3 のチャンネルと連通して、前記複数の試料リザーバと、少なくとも第 1 の廃棄物リザーバとを規定する複数の開口部をさらに含む、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 10】

30

前記第 1 および第 2 の平面基板の少なくとも一方が、シリカベースの基板を含む、請求項 9 に記載の微小流体装置。

【請求項 11】

前記シリカベースの基板が、ガラス、石英、および溶融シリカから選択される、請求項 10 に記載の微小流体装置。

【請求項 12】

前記シリカベースの基板が、ガラスを含む、請求項 10 に記載の微小流体装置。

【請求項 13】

前記第 1 および第 2 の平面基板の少なくとも一方が、ポリマー材料を含む、請求項 1 に記載の微小流体装置。

40

【請求項 14】

前記ポリマー材料が、ポリジメチルシロキサン、ポリメタクリル酸メチル、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ポリスルホン、ポリカーボネート、ポリメチルペンテン、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリビニリデンフルオリド、およびアクリロニトリル - ブタジエン - スチレンコポリマーから選択される、請求項 13 に記載の微小流体装置。

【請求項 15】

前記ポリマー材料が、ポリメタクリル酸メチルを含む、請求項 13 に記載の微小流体装置。

【請求項 16】

50

前記複数の試料リザーバが、少なくとも2つの試料リザーバを含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項17】

前記複数の試料リザーバが、少なくとも4つの試料リザーバを含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項18】

前記複数の試料リザーバが、少なくとも8つの試料リザーバを含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項19】

前記複数の試料リザーバが、少なくとも12個の試料リザーバを含む、請求項1に記載の微小流体装置。

10

【請求項20】

前記第3のチャンネルに接続される少なくとも2つの試料リザーバをさらに含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項21】

前記第3のチャンネルに接続される少なくとも4つの試料リザーバをさらに含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項22】

前記第3のチャンネルに接続される少なくとも8つの試料リザーバをさらに含む、請求項1に記載の微小流体装置。

20

【請求項23】

前記第3のチャンネルに接続される少なくとも12個の試料リザーバをさらに含む、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項24】

前記複数の試料リザーバが、前記ボディ構造において直線状に配列され、且つ、定間隔に配置される、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項25】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約9mmの間隔をあけて配置される、請求項24に記載の微小流体装置。

【請求項26】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約4.5mmの間隔をあけて配置される、請求項24に記載の微小流体装置。

30

【請求項27】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約2.25mmの間隔をあけて配置される、請求項24に記載の微小流体装置。

【請求項28】

前記複数の試料リザーバが、格子状に配列され、且つ、定間隔に配置される、請求項1に記載の微小流体装置。

【請求項29】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約9mmの間隔をあけて配置される、請求項28に記載の微小流体装置。

40

【請求項30】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約4.5mmの間隔をあけて配置される、請求項28に記載の微小流体装置。

【請求項31】

前記定間隔に配置される試料リザーバが、中心間に約2.25mmの間隔をあけて配置される、請求項28に記載の微小流体装置。

【請求項32】

前記複数の試料リザーバの各々が、別個の試料チャンネルを介して前記第2のチャンネルに接続され、該別個の試料チャンネルが、別個の試料リザーバと流体連通し、且つ、前記第2の

50

チャンネルに交差する、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 3】

前記複数の試料リザーバの各々に接続される前記試料チャンネルの各々が、共通交差部で前記第 2 のチャンネルに交差する、請求項 3 2 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 4】

前記共通交差部が、前記第 1 の交差部の約 5 mm 以内にある、請求項 3 3 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 5】

前記共通交差部が、前記第 1 の交差部の約 2 mm 以内にある、請求項 3 3 に記載の微小流体装置。

10

【請求項 3 6】

前記試料チャンネルの各々の長さがほぼ等しい、請求項 3 3 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 7】

前記第 2 のチャンネルの少なくとも 1 つが、前記第 1 のチャンネルの幅寸法よりも小さい幅寸法を有する、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 8】

少なくとも前記第 2 のチャンネルが、約 10  $\mu\text{m}$  と約 50  $\mu\text{m}$  との間の幅を有する、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 3 9】

少なくとも前記第 1 のチャンネルが、該チャンネル内に配置された分離媒質を有する、請求項 1 に記載の微小流体装置。

20

【請求項 4 0】

前記分離媒質が、ふるい分けマトリックスを含む、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 4 1】

前記ふるい分けマトリックスが、ポリアクリルアミドを含む、請求項 4 0 に記載の微小流体装置。

【請求項 4 2】

前記試料リザーバに配置される試料材料をさらに含み、該試料材料が、核酸を含む、請求項 1 に記載の微小流体装置。

【請求項 4 3】

30

内部および外部を有するボディ構造と、

該内部に配置される少なくとも第 1、第 2 および第 3 の微小規模チャンネルと、を含み、該第 2 のチャンネルは、第 1 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、該第 3 のチャンネルは、第 2 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、

該ボディ構造に配置される複数の試料リザーバであって、少なくとも 1 つの試料リザーバが該第 2 のチャンネルに接続され、少なくとも 1 つの試料リザーバが該第 3 のチャンネルに接続される、複数の試料リザーバと、

少なくとも第 1 および第 2 の廃棄物リザーバと、をさらに含み、該第 1 の廃棄物リザーバが、該第 2 のチャンネルに接続され、該第 2 の廃棄物リザーバが該第 3 のチャンネルに接続される、微小流体装置。

40

【請求項 4 4】

微小流体装置であって、

内部および外部を有するボディ構造と、

該内部に配置される第 1 のチャンネルと、

該第 1 のチャンネルと流体連通する少なくとも第 1 の試料プレロードモジュールと、を含み、該プレロードモジュールが、

第 1 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差する第 1 の試料ローディングチャンネルと、

該第 1 の試料ローディングチャンネルと流体連通する第 1 の複数の試料リザーバと、

該第 1 の複数の試料リザーバと該第 1 の交差部との間で該第 1 の試料ローディングチャンネルと連通する第 1 の廃棄物リザーバと、を含み、微小流体装置。

50

## 【請求項 4 5】

前記第 1 のチャンネルと流体連通する少なくとも第 2 の試料プレロードモジュールをさらに含み、該第 2 のプレロードモジュールが、  
第 2 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差する第 2 の試料ローディングチャンネルと、  
該第 2 の試料ローディングチャンネルと流体連通する第 2 の複数の試料リザーバと、  
該第 2 の複数の試料リザーバと該第 2 の交差部との間で該第 2 の試料ローディングチャンネルと連通する第 2 の廃棄物リザーバと、を含む、請求項 4 4 に記載の微小流体装置。

## 【請求項 4 6】

前記第 1 および第 2 の交差部が、前記第 1 のチャンネルに沿った共通のポイントに配置される、請求項 4 5 に記載の微小流体装置。

10

## 【請求項 4 7】

前記第 1 および第 2 の試料ローディングチャンネルが、同一線上にある、請求項 4 5 に記載の微小流体装置。

## 【請求項 4 8】

複数の試料を分析する方法であって、

- a) 微小流体装置を提供する工程を包含し、該微小流体装置は、  
内部および外部を有するボディ構造と、  
該内部に配置される少なくとも第 1、第 2 および第 3 の微小規模チャンネルと、を含み、該  
第 2 のチャンネルは、第 1 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、該第 3 のチャンネルは、第  
2 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、  
該ボディ構造に配置される複数の試料リザーバであって、該複数の試料リザーバの各々が  
該第 2 のチャンネルに接続される複数の試料リザーバと、  
該第 3 のチャンネルに接続された少なくとも 1 つの試料リザーバと、  
該第 3 のチャンネルに接続される少なくとも第 1 の廃棄物リザーバと、  
該第 2 のチャンネルに接続された少なくとも第 2 の廃棄物リザーバとをさらに含み、  
b) 該複数の試料リザーバの第 1 の試料リザーバからの試料材料を、該第 2 のチャンネルを  
通り、該第 1 および第 2 の交差部を通過して、該第 3 のチャンネルに入れ、該第 1 の廃棄物リ  
ザーバに向かって輸送する工程と、  
c) 該試料材料の部分を、該第 1 の交差部で、該第 1 のチャンネルに注入する工程と、  
d) 該第 1 の試料材料の部分を、該第 1 のチャンネルに沿って輸送する工程と、  
e) 該分析チャンネルにおいて、該第 1 の試料材料の部分を分析する工程と、をさらに包含  
する、方法。

20

30

## 【請求項 4 9】

前記複数の試料リザーバの少なくとも第 2 の試料リザーバからの試料材料を用いて前記工程 b) ~ e) を繰り返す工程をさらに包含する、請求項 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 5 0】

前記複数の試料リザーバの各々からの試料材料を用いて前記工程 b) ~ e) を繰り返す工程をさらに包含する、請求項 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 5 1】

前記提供する工程で提供される前記微小流体装置が、廃棄物チャンネルにより、第 3 の交差部で、第 2 の廃棄物リザーバを前記第 2 のチャンネルに接続する少なくとも第 4 のチャンネルをさらに含み、該第 3 の交差部は、前記複数の試料リザーバと前記第 1 の交差部との間の該第 2 のチャンネル上にあり、

40

前記第 1 の試料リザーバからの試料材料を前記第 1 の交差部に輸送する前記工程が、まず該試料材料を該第 2 のチャンネルを通過して該第 3 の交差部に輸送し、そして該第 4 のチャンネルに入れて、該第 2 の廃棄物リザーバの方に輸送する工程を包含する、請求項 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 5 2】

前記第 1 の試料リザーバからの試料材料を前記第 1 の交差部に輸送する前記工程が、前記第 3 の交差部の材料を、前記第 2 のチャンネルを通して前記第 1 の交差部に輸送する工程を

50

包含する、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記試料リザーバからの試料材料を輸送する前記工程が、該試料材料を該試料リザーバから前記第 1 の交差部に動電学的に移動させる工程を包含する、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記動電学的に移動させる工程が、前記試料リザーバと前記第 1 の廃棄物リザーバとの間に電圧勾配を付与して、前記試料材料を、前記第 1 および第 2 の交差部を通過して前記第 3 のチャンネルに入れ、そして前記第 1 の廃棄物リザーバに向かって移動させる工程を包含する、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記提供する工程において、前記第 1 および第 2 の交差部は、前記第 1 のチャンネル上の共通のポイントに配置され、

該第 1 および第 2 の交差部で、前記第 1 の試料材料を動電学的に挟む工程をさらに包含する、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記試料材料の部分を前記第 1 のチャンネルを通過して輸送する前記工程が、該第 2 および第 3 のチャンネルの該試料材料を、それぞれ前記第 1 および第 2 の交差部から離れるように動電学的に輸送する工程をさらに包含する、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 7】

試料材料の成分要素を分離する方法であって、

a) 微小流体装置を提供する工程を包含し、該微小流体装置は、

内部および外部を有するボディ構造と、

該内部に配置される少なくとも第 1、第 2 および第 3 の微小規模チャンネルと、を含み、該第 2 のチャンネルは、第 1 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、該第 3 のチャンネルは、第 2 の交差部で該第 1 のチャンネルに交差し、

該ボディ構造に配置される複数の試料リザーバであって、該複数の試料リザーバの各々が該第 2 のチャンネルに接続される複数の試料リザーバと、

該第 3 のチャンネルに接続された少なくとも 1 つの試料リザーバと、

該第 3 のチャンネルに接続される少なくとも第 1 の廃棄物リザーバと、

該第 2 のチャンネルに接続された少なくとも第 2 の廃棄物リザーバとをさらに含み、

b) 該複数の試料リザーバの第 1 の試料リザーバからの試料材料を、該第 2 のチャンネルを通り、該第 1 および第 2 の交差部を通過して、該第 3 のチャンネルに入れ、該第 1 の廃棄物リザーバに向かって輸送する工程と、

c) 該試料材料の部分を、該第 1 の交差部で、該第 1 のチャンネルに注入する工程と、

d) 該試料材料を該第 1 のチャンネルに沿って輸送して、該試料材料の成分要素を分離する工程と、をさらに包含する、方法。

【請求項 5 8】

前記提供する工程が、少なくとも前記第 1 のチャンネルに分離媒質を提供する工程をさらに包含する、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記第 1 の試料リザーバからの試料材料を輸送する前記工程が、該試料リザーバと前記第 1 の廃棄物リザーバとの間に電圧勾配を付与する工程を包含する、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記第 1 のチャンネルにおいて前記試料材料の別個の成分要素を検出する工程をさらに包含する、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記試料材料の成分要素を分離および検出する際の、請求項 1、4 3、4 4 または 4 5 のいずれかに記載の微小流体装置の使用。

【請求項 6 2】

10

20

30

40

50

前記試料材料の成分要素が、核酸を含む、請求項6 1に記載の使用。

【請求項 6 3】

前記試料材料の成分要素が、タンパク質を含む、請求項6 1に記載の使用。

【請求項 6 4】

外部および内部を有するボディ構造と、

該内部に配置される分析チャンネルと、

該内部に配置され、第 1 の交差部で該分析チャンネルに交差する試料ローディングチャンネルと、

該ボディ構造に配置される複数の試料リザーバと廃棄物リザーバとを含む試料プレローディングモジュールと、を含み、該複数の試料リザーバと該廃棄物リザーバとの各々は、該第 1 の交差部の同じ側面側で該試料ローディングチャンネルと流体連通する、微小流体装置

10

【請求項 6 5】

内部および外部を有するボディ構造と、

該内部に配置される分析チャンネルと、

該内部に配置される第 1 および第 2 の横方向チャンネルと、を含み、該第 1 の横方向チャンネルは、該分析チャンネルの第 1 の側に配置され、第 1 の交差部で該分析チャンネルに交差し、該第 2 の横方向チャンネルは、該分析チャンネルの第 2 の側に配置され、第 2 の交差部で該分析チャンネルに交差し、

該第 1 の横方向チャンネルと流体連通する複数の試料源と、

20

該内部に配置され、第 3 の交差部で該第 1 の横方向チャンネルに交差する第 1 の廃棄物チャンネルと、

該内部に配置され、第 4 の交差部で該第 2 の横方向チャンネルに交差する少なくとも第 2 の廃棄物チャンネルと、

第 1 および第 2 の試料源の各々から、それぞれ該第 1 および第 2 の横方向チャンネルを介して該第 1 および第 2 の廃棄物チャンネルに試料を個々に輸送し、且つ、該試料を該分析チャンネルに選択的に注入するための材料方向付けシステムと、をさらに含む、微小流体システム。

【請求項 6 6】

複数の異なる試料材料に対して分析を行う方法であって、

30

微小流体装置を提供する工程を包含し、該微小流体装置は、

内部および外部を有するボディ構造と、

該内部に配置される分析チャンネルと、

該内部に配置され、第 1 の交差部で該分析チャンネルに交差する試料ローディングチャンネルと、

該ボディ構造に配置される少なくとも第 1 および第 2 の試料リザーバと廃棄物リザーバとを含む試料プレローディングモジュールと、を含み、該複数の試料リザーバと該廃棄物リザーバとの各々は、該試料ローディングチャンネルと流体連通し、

該第 1 の試料リザーバからの第 1 の試料を、該第 1 の交差部に輸送する工程と、

該第 1 の試料の部分を、該分析チャンネルに注入する工程と、

40

該第 1 の試料の部分を、該分析チャンネルにおいて分析し、それと同時に、該第 2 の試料リザーバからの第 2 の試料を、該ローディングチャンネルに輸送し、次いで、該廃棄物リザーバに輸送する工程と、

該第 2 の試料を、該ローディングチャンネルから該交差部に輸送する工程と、

該第 2 の試料の部分を、該分析チャンネルに注入する工程と、

該分析チャンネルにおいて、該第 2 の試料の部分を分析する工程と、をさらに包含する、方法。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

調製能力および分析能力の両方において、化学的および生化学的情報の獲得のための微小

50

規模流体システムの開発および製造に、ますます関心が高まってきている。フォトリソグラフィ、ウェット化学エッチング、などのエレクトロニクス産業からの技術の上記流体システムへの応用が、この高まる関心をさらに高める助けとなっている。

微小規模流体システムが化学分析または生化学分析のために用いられた最初の分野の1つは、毛管電気泳動(CE)の分野である。CEシステムは概して、溶解シリカ毛管を使用するか、あるいはより最近では、適切な分離マトリックスまたは媒質で満たされた、平面シリカ基板のエッチングされたチャネルを使用する。分析される試料流体は、毛管またはチャネルの一方端で注入される。次いで、毛管への電圧印加により、試料内の種の電気泳動移動が可能になる。例えば構成要素(constituent elements)の正味の荷電または大きさの差などに起因する、試料流体の構成要素の電気泳動移動度差により、構成要素の分離、同定、および分析が可能になる。CE法の一般的な説明については、例えば、Wiktorowiczの米国特許第5,015,350号、および、Petersenらの米国特許第5,192,405号を参照されたい。

平面チップ技術を用いるCEシステムの製造もまた、説明されている。例えば、Mathiesら、Proc. Nat'l Acad. Sci. (1994) 91:11348-11352、Jacobsenら、Anal. Chem. (1994) 66:1114-1118、Effenhauserら、Anal. Chem. (1994) 66:2949-2953を参照されたい。しかし、典型的には、そのようなシステムは、単一の試料導入ポイント、例えば、毛管チャネルで分析される試料を導入するための単一のウェル、を使用する。これは、各分析の前にウェルのすすぎおよび再ロードを必要とする。さらに、より多くの数の試料を分析したい場合、例えば、大きい核酸断片、タンパク質などの、各試料のより大きい成分が、試料ローディングおよび分離チャネル内に蓄積し得、および/または、毛管壁に吸着し得、最終的にシステムの動作に影響を及ぼしてしまう。

従って、多数の試料のより速い分析を可能にし、なおかつ、最低限でしかも低減されたコスト、空間および時間要求で、多数の試料のより速い分析を可能にする、CEシステムなどの微小流体装置を提供することが望ましい。本発明は、上記およびその他の要求を満たすものである。

#### 発明の要旨

第1の局面では、本発明は、第1の表面を有する平面基板を含む微小流体装置を提供する。少なくとも第1、第2および第3の微小規模チャネルが、内部に配置され、第2のチャネルは、第1の交差部で第1のチャネルに交差し、第3のチャネルは、第2の交差部で第1のチャネルに交差する。複数の試料リザーバがボディ構造に配置され、試料リザーバの各々は、第2のチャネルに接続される。少なくとも第1の廃棄物リザーバが、第3のチャネルに接続される。

本発明はまた、上記のような微小流体装置であって、少なくとも1つの試料リザーバが第2のチャネルに接続され、少なくとも1つの試料リザーバが第3のチャネルに接続される微小流体装置を提供する。この装置はまた、少なくとも第1および第2の廃棄物リザーバを含み、第1の廃棄物リザーバは、第1のチャネルに接続され、第2の廃棄物リザーバは、第2のチャネルに接続される。

別の局面では、本発明はまた、上記のような微小流体装置であって、第1のチャネルと連通するプレローディングモジュールを含む微小流体装置を提供する。プレローディングモジュールは、第1の交差部で第1のチャネルに交差する第1の試料ローディングチャネルを含む。プレローディングモジュールはまた、第1の試料ローディングチャネルと流体連通する第1の複数の試料リザーバと、第1の複数の試料リザーバと第1の交差部との間で第1の試料ローディングチャネルと連通する第1のロード/廃棄物リザーバと、を含む。

本発明はまた、上記のような微小流体装置を用いて複数の試料を分析する方法を提供する。複数の試料リザーバがボディ構造に配置され、これらの試料リザーバの各々は、第2のチャネルに接続される。少なくとも第1の廃棄物リザーバが、第3のチャネルに接続される。この方法はまた、複数の試料リザーバのうちの第1の試料リザーバからの試料材料を、第2のチャネルを通り、第1および第2の交差部を通過して、第3のチャネルに入れ、第1の廃棄物リザーバに向かって輸送する工程を含む。試料材料の部分は、第1の交差部で

10

20

30

40

50

第1のチャンネルに注入され、第1のチャンネルに沿って輸送され、そして、分析チャンネルで分析される。

関連する局面では、本発明は、上記の微小流体装置であって、複数の試料リザーバを含む微小流体装置を用いて試料材料の成分要素 (component elements) を分離する方法を提供する。試料リザーバの各々は、第2のチャンネルに接続され、少なくとも第1の廃棄物リザーバは、第3のチャンネルに接続される。この方法はまた、複数の試料リザーバのうちの第1の試料リザーバからの試料材料を、第2のチャンネルを通り、第1および第2の交差点部を通過して、第3のチャンネルに入れ、第1の廃棄物リザーバに向かって輸送する工程を含む。試料材料の成分要素を分離するために、試料材料の部分は、第1の交差点部で第1のチャンネルに注入され、そして、第1のチャンネルに沿って輸送される。

10

本発明はまた、内部および外部を有するボディ構造と、内部に配置される少なくとも第1、第2および第3の微小規模チャンネルと、を含み、第2のチャンネルは第1の交差点部で第1のチャンネルに交差し、第3のチャンネルは第2の交差点部で第1のチャンネルに交差し、第2のチャンネルと連通する複数の試料リザーバであって、中に複数の異なる試料材料が配置された複数の試料リザーバと、第3のチャンネルと連通する廃棄物リザーバと、をさらに含む微小流体装置の、試料材料の成分要素分離における使用を提供する。

本発明の別の局面は、分析チャンネルと、第1の交差点部で分析チャンネルと流体連通する試料ローディングチャンネルと、を含む微小流体装置を提供する。複数の試料源が試料ローディングチャンネルと流体連通し、それにより、第1の交差点部の各側に、試料ローディングチャンネルと流体連通する複数の試料源のうちの少なくとも1つがある。第1および第2のロード/廃棄物チャンネルはそれぞれ、第2および第3の交差点部で、試料ローディングチャンネルに交差する。第2および第3の交差点部は、第1の交差点部の異なる側にある。

20

別の局面では、本発明は、分析チャンネルを含む微小流体装置を提供する。試料ローディングチャンネルは、分析チャンネルの第1の側にあり、第1の交差点部で分析チャンネルに交差する。複数の試料リザーバが、第1の交差点部の第1の側で試料ローディングチャンネルと流体連通し、廃棄物チャンネルは、分析チャンネルの第2の側にあり、第2の交差点部で分析チャンネルに交差する。廃棄物リザーバは、第1の交差点部の第2の側で廃棄物チャンネルと流体連通する。

本発明の別の局面は、分析チャンネルを含む微小流体装置を提供する。試料ローディングチャンネルは、第1の交差点部で分析チャンネルに交差する。この装置はまた、ボディ構造に配置される複数の試料リザーバと廃棄物リザーバとを含む試料プレローディングモジュールを含む。複数の試料リザーバと廃棄物リザーバとの各々は、第1の交差点部の同じ側で試料ローディングチャンネルと流体連通する。

30

追加の局面では、本発明は、分析チャンネルを含み、そしてまた、内部に配置される第1および第2の横方向チャンネルを含む、微小流体装置を提供する。第1の横方向チャンネルは、分析チャンネルの第1の側に配置され、第1の交差点部で分析チャンネルに交差する。第2の横方向チャンネルは、分析チャンネルの第2の側に配置され、第2の交差点部で分析チャンネルに交差する。第1の試料源は、第1の横方向チャンネルと流体連通して配置され、第2の試料源は、第2の横方向チャンネルと流体連通して配置される。第1の廃棄物チャンネルは、第3の交差点部で第1の横方向チャンネルに配置され、第2の廃棄物チャンネルは、第4の交差点部で第2の横方向チャンネルに配置される。この装置はまた、第1および第2の試料源の各々からそれぞれ第1および第2の横方向チャンネルを介して第1および第2の廃棄物チャンネルに試料を個々に輸送し、且つ、試料を分析チャンネルに選択的に注入するための材料方向付けシステムを含む。

40

さらに他の局面では、本発明は、内部に配置される分析チャンネルと第1および第2の横方向チャンネルとを含む微小流体装置を提供する。第1の横方向チャンネルは、分析チャンネルの第1の側に配置され、第1の交差点部で分析チャンネルに交差する。第2の横方向チャンネルは、分析チャンネルの第2の側に配置され、第2の交差点部で分析チャンネルに交差する。複数の試料源が、第1の横方向チャンネルと流体連通する。第1の廃棄物チャンネルは、内部に配置され、そして、第3の交差点部で第1の横方向チャンネルに交差する。少なくとも第2の廃棄

50

物チャンネルが、内部に配置され、そして、第4の交差部で第2の横方向チャンネルに交差する。この装置はまた、第1および第2の試料源の各々から、それぞれ第1および第2の横方向チャンネルを介して第1および第2の廃棄物チャンネルに試料を個々に輸送し、且つ、試料を分析チャンネルに選択的に注入するための材料方向付けシステムを含む。

本発明の別の局面は、分析チャンネルと、分析チャンネルと流体連通して配置される試料ローディングチャンネルと、を含む微小流体装置を提供する。複数の試料源もまた、試料ローディングチャンネルと流体連通して設けられる。

さらに他の局面では、本発明は、分析チャンネルを含む微小流体装置で複数の異なる材料を分析する方法を提供する。試料ローディングチャンネルは、装置に配置され、第1の交差部で分析チャンネルに交差する。複数の試料源が、試料ローディングチャンネルと流体連通する。第1の試料は、複数の試料源の第1の試料源から、試料ローディングチャンネルを通過して、第1の交差部に輸送される。第1の試料の部分が分析チャンネルに注入され、分析チャンネルにおいて、この第1の試料の部分を分析する。第2の試料は、複数の試料源の第2の試料源から、ローディングチャンネルを通過して、交差部に輸送される。第2の試料の部分が分析チャンネルに注入され、分析チャンネルにおいて、この第2の試料の部分を分析する。

本発明のさらに他の局面は、分析チャンネルを備える第1の表面を有する平面基板を含む微小流体装置を用いて、複数の異なる試料材料に対して分析を行う方法を提供する。この装置はまた、第1の交差部で分析チャンネルに交差する試料ローディングチャンネルと、ボディ構造に配置される少なくとも第1および第2の試料リザーバと廃棄物リザーバとを含む試料プレローディングモジュールと、を含み、複数の試料リザーバと廃棄物リザーバとの各々は、試料ローディングチャンネルと流体連通する。試料は、第1の試料リザーバから第1の交差部に輸送される。第1の試料の部分が、分析チャンネルに注入される。この第1の試料の部分は、分析チャンネルにおいて分析され、それと同時に、第2の試料リザーバからの第2の試料は、ローディングチャンネルに輸送され、次いで、廃棄物リザーバに輸送される。第2の試料は、ローディングチャンネルから交差部に輸送され、そして、分析チャンネルに注入され、分析チャンネルにおいて分析される。

本発明はまた、ボディ構造を含み、分析チャンネルがボディ構造に配置される微小流体装置を提供する。複数の試料源もまた、ボディ構造に配置され、各試料源は、1つ以上の試料チャンネルを介して、分析チャンネルの第1のポイントと流体連通する。複数の試料源の第1の試料源と、分析チャンネルのポイントとの間のチャンネル距離は、複数の試料源の第2の試料源と、分析チャンネルのポイントとの間のチャンネル距離と実質的に等しい。

本発明の別の局面は、ボディ構造を含み、分析チャンネルおよび第1の試料導入チャンネルがボディ構造に配置される微小流体装置であって、試料導入チャンネルが、第1のポイントで分析チャンネルに交差する微小流体装置を提供することである。第1の複数の試料源が、ボディ構造に配置され、第1の複数の試料源の各々は、それぞれボディ構造に配置された第1の複数の別個の試料チャンネルを介して、第1の試料導入チャンネルと流体連通する。第1の複数の試料源の第1の試料源と、第1のポイントとの間のチャンネル距離は、複数の試料源の第2の試料源と、第1のポイントとの間のチャンネル距離と実質的に等しい。

本発明の別の局面は、分析チャンネルと、分析チャンネルに交差して分析チャンネルと流体連通する試料ローディングチャンネルと、を備えるボディ構造を含む微小流体装置である。本発明のこの局面によれば、分析チャンネルおよび試料ローディングチャンネルは、典型的には、 $50\ \mu\text{m}$ 未満の幅を有する。複数の試料源もまた、試料ローディングチャンネルと流体連通して設けられる。

関連する局面では、本発明は、第1の基板の第1の平面表面に複数のチャンネルを作る工程を包含する、微小流体装置の製造方法を提供する。複数のチャンネルは、典型的には、分析チャンネルと、分析チャンネルの第1の側に配置され、第1の交差部で分析チャンネルに交差する試料ローディングチャンネルと、を含む。第1の交差部の第1の側で試料ローディングチャンネルに交差する複数の試料チャンネルと、分析チャンネルの第2の側に配置され、第2の交差部で分析チャンネルに交差する廃棄物チャンネルともまた、含まれる。第2の平面基板は、第1の基板の平面表面の上に置かれ、複数のチャンネルを封止する。第2の平面基板は、第

10

20

30

40

50

2の平面基板を通して配置される複数のポートを有し、これらの複数のポートは、分析チャンネルの反対側の端部と連通する2つのポートと、廃棄物チャンネルの交差していない終端部と連通する廃棄物ポートと、試料チャンネルの交差していない終端部とそれぞれ別個に連通する複数の試料ポートと、からなる。

本発明の別の局面は、分析チャンネルと、第1の交差部で分析チャンネルに交差する試料ローディングチャンネルと、を有する微小流体装置を提供する。複数の試料の各々の分析のために、試料ローディングチャンネルと流体連通して配置される複数の試料源もまた、含まれる。

追加の局面では、本発明は、本明細書に示される方法および装置を実施するキットを提供する。本発明のキットは、任意に、以下のうちの1つ以上を含む。(1)本明細書に示される装置または装置構成要素、(2)本明細書に示される方法を実行するため、および/または、本明細書に示される装置または装置構成要素を動作させるための説明書、(3)1つ以上のアクセシ成分、(4)装置またはアクセシ成分を保持するための容器、ならびに(5)包装材料。

#### 【図面の簡単な説明】

図1A~図1Cは、本発明の装置に使用されるチャンネルリザーバ幾何学的形状と、多数の試料のロードおよび注入時(図1Aおよび図1B)ならびに試料のプレロード時(図1C)の装置の動作とを、概略的に示す。

図2は、本発明の微小流体装置において毛管電気泳動を行う際に含まれる様々な材料輸送工程のクロノロジー(下)を、プレローディング特徴のないCEシステム(上)と比較して示す概略図である。

図3は、多数の試料のシリアルな分析を行うための改良されたチャンネル/試料ウェル幾何学的形状を組み込む微小流体装置の1つの実施形態を示す。

図4は、多数の試料のシリアルな分析を行うための改良されたチャンネル/試料ウェル幾何学的形状を組み込む微小流体装置の別の実施形態を示す。

図5は、多数の試料のシリアルな分析を行うための微小流体装置のさらに他の代替チャンネル幾何学的形状を示す。

図6は、本発明の改良されたチャンネル/試料ウェル幾何学的形状を使用する基板に作られるCEチャンネルに注入した蛍光染色された核酸断片の保持時間のプロットである。

図7A~図7Cは、蛍光色素が挿入されたPCR断片の組(図7A)、HaeIIIで切断された(cleaved)且つ蛍光色素が挿入されたPhiX174DNA(図7B)、および緩衝液ブランク(buffer blank)(図7C)を、本発明のチャンネル/試料ウェル幾何学的形状を組み込む微小流体装置の分析チャンネルにシリアルに注入した場合の蛍光対時間のプロットである。

図8Aおよび図8Bは、30 $\mu$ mのチャンネル幅(図8A)および70 $\mu$ mのチャンネル幅(図8B)を有する微小流体装置において行われた核酸分離分析を示す。

#### 発明の詳細な説明

##### I. 概要

本発明は概して、改良されたチャンネルおよびリザーバ幾何学的形状を組み込む微小流体装置と、流体により運ばれる材料の分析、調製、またはその他の操作にこれらの装置を用いて、より少ないコスト、材料、および/または空間要求で、これらの装置により、上記材料のより高い処理能力を達成する方法と、を提供する。

本明細書で使用される「微小流体装置またはシステム」という用語は概して、少なくとも2つの交差するチャンネルまたは流体導管を組み込む装置またはシステムを指し、チャンネルの少なくとも1つは、約0.1~約500 $\mu$ mの範囲、好ましくは、約1~約100 $\mu$ mの範囲の、少なくとも1つの断面寸法を有する。

本発明の微小流体装置は、様々な微小流体要素が配置される中心ボディ構造を含む。ボディ構造は、外部または外面と、微小流体装置全体の様々な微小規模チャンネルおよび/またはチャンバを規定する内部と、を含む。例えば、本発明の微小流体装置のボディ構造は、典型的には、固体または半固体基板を使用する。この固体または半固体基板は、典型的には、平面構造である。即ち、実質的に平坦であるか、または、少なくとも1つの平坦な表

10

20

30

40

50

面を有する。適切な基板は、様々な材料のいずれか1つの材料が、または、材料の組み合わせから製造され得る。しばしば、平面基板は、微小製造の分野で一般的な固体基板と、その他の公知の基板、即ち、ガリウム砒素 (gallium arsenide) とを用いて製造される。微小製造の分野で一般的な固体基板は、例えば、ガラス、石英、シリコンまたはポリシリコンなどのシリカベースの基板である。上記の基板の場合、フォトリソグラフィ技術、ウェット化学エッチング、微小機械加工、などの一般的な微小製造技術は、微小流体装置および基板の製造において容易に適用され得る。微小機械加工とは、即ち、きりもみ、ミリング、などである。あるいは、本発明の装置を製造するために、ポリマー基板材料が使用されてもよい。ポリマー基板材料には、例えば、ポリジメチルシロキサン (PDMS)、ポリメタクリル酸メチル (PMMA)、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル (PVC)、ポリスチレン、ポリスルホン、ポリカーボネート、ポリメチルペンテン、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリビニリデンフルオライド、ABS (アクリロニトリル - ブタジエン - スチレンコポリマー)、などがある。そのようなポリマー材料の場合、本明細書に記載されるようなチャンネルおよびリザーバ幾何学的形状を有する基板を形成するために、射出成形法またはエンボシング法が使用され得る。そのような場合、原型は、上記の材料および方法のいずれかを用いて製造され得る。

装置のチャンネルおよびチャンバは、典型的には、平面基板の1つの表面に、その表面中の溝、ウェルまたは窪みとして作られる。典型的には同じまたは同様の材料から準備される第2の平面基板は、第1の基板の上に置かれ且つ第1の基板に結合され、それにより、装置のチャンネルおよび/またはチャンバを規定し且つ封止する。それとともに、第1の基板の上面と、この上面と合わされる、上側基板の下面とが、装置の内部を規定する。即ち、装置のチャンネルおよびチャンバを規定する。

本明細書に記載される装置では、分析チャンネルとも呼ばれる少なくとも1つのメインチャンネルが、基板の表面に配置され、このチャンネルを通して、試料が輸送され、特定の分析を受ける。典型的には、多数の試料が、それぞれの源からシリアルに輸送され、メインチャンネルに交差する横方向チャンネルに試料を入れることによりメインチャンネルに注入される。このチャンネルは、「試料ローディングチャンネル」とも呼ばれる。試料源は、例えば中間試料チャンネルなどにより、例えば装置内に配置され且つ試料ローディングチャンネルと流体連通する複数のウェルなどとして、好ましくは装置と一体にされる。しかし、本発明の装置はまた、それ自体は装置のボディの外部にあるが、試料ローディングチャンネルとは流体連通したままである試料源を含んでもよい。

ローディングチャンネル中の試料は、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの交差部を横切って運ばれるまたは輸送される。次いで、これら2つのチャンネルの交差部内に配置される試料の体積または「プラグ (plug)」は、分析チャンネルに沿って下方に運ばれ、そのとき、この体積またはプラグは、所望の分析を受ける。例えばメインチャンネルおよびローディングチャンネルの場合のように、2つのチャンネルの交差部は、「T字型」即ち「3方向」交差部であり得る。この場合、ローディングチャンネルは、メインチャンネルに交差し且つメインチャンネルで終端するか、またはその逆である。あるいは、2つのチャンネルは、互いに交差し且つ横切って、「4方向」交差部を作ってもよい。この場合、注入される試料の体積は、交差部の体積に直接関係する。より大きい体積の試料が望まれる場合、概して、試料ローディングチャンネルの入口側、例えば試料側、の交差部と、ローディングチャンネルの出口側、例えば廃棄物側、の交差部とを互い違いに配置してもよい。それにより、例えば互い違いに配置された交差部間の分析チャンネルの長さにより規定されるように、より多くの試料が、ロード中に分析チャンネル内に配置される。

説明を簡単にするために、本発明の装置およびシステムは概して、試料に対して毛管電気泳動分析 (CE) を実行することに関して説明される。従って、そのような動作のために、メイン即ち分析チャンネルは概して、このチャンネル内に配置されるふるい分けマトリックス、緩衝液、または媒質を含み、試料の構成要素の電気泳動分離を最適にする。しかし、本開示を読めば、本明細書に記載される改良された幾何学的形状を組み込む微小流体装置が、幅広い様々な非CE応用にも適用可能であり、そして、例えば本願と同一の譲受人に

10

20

30

40

50

譲渡される国際出願第W098/00231号に記載されているように、試料に多数の異なる分析反応のうちの一つを行うために使用されてもよいことが認識される。本明細書において、上記国際出願全体を、あらゆる目的のために参考として援用する。

上記のように、本発明の装置は、装置自体を製造するために必要とされる材料の量を減らすことにより装置の製造に関連するコストを削減する、チャンネルおよびリザーバ幾何学的形状を使用する。さらに、(1)特定の試料が装置上の起点から分析領域またはチャンネルまで移動しなければならない、または、輸送されなければならない距離を減らし、(2)任意の2つの試料が起点から分析領域またはチャンネルまで移動しなければならない距離を等しくし、従って、そのような移動がその試料に及ぼすいかなる影響をも等しくし、(3)単一の装置に入れられ得る試料の数を増やし、(4)別の試料がその後の分析のために運ばれて入れられている間、即ち、「プレロード」されている間に、1つの試料が分析されることを可能にし、(5)試料がそのポイントまでプレロードされ得る共通のポイントを提供し、それにより、ロードおよび注入サイクルのタイミングが、すべての試料について標準化され、そして、(6)分析チャンネル内の材料領域、例えば、種のバンドまたはプラグ、の高い検出および解像度を提供することにより、本発明の装置は、はるかに高い処理能力レートで分析を行うことができるとともに、この分析を容易にすることができる。

#### II . コスト削減

概して、微小製造を使用する分野では、「縮小 (shrinking)」の原理を使用して製造プロセスを最適化することが望ましい。縮小とは概して、第1のスケールで装置を最適化した後、装置のサイズをそれに比例してスケールダウンすることを指す。縮小は、装置の設計および製造において2倍の利点を提供する。まず、縮小は、全体的な製品サイズを低減するという非常に明らかな利点を提供する。このようなより小さいサイズのため、製品はより小さい空間要求を有し、このより小さい空間要求は、装置をより小さい全体システムに集積することにより活用され得る。さらに、多くの場合、例えば微小プロセッサ、微小流体装置、などの微小製造された装置は、例えばシリコン、シリカ、などの基板材料からなるより大きいウエハから製造される。そのため、個々の装置のサイズをそれぞれ低減することにより、単一のウエハから作られ得る装置数を増やすことができ、それに応じて材料費が削減される。

さらに、このように単一のウエハから作られる装置数が増えると、所定のウエハまたはプレート中の傷のために損なわれる装置数が実質的に減少する。例えば、単一の基板ウエハから装置を4個しか作らない場合、1つの装置内に完全に含まれる1つの小さな重大な傷により、損失は25%となる。即ち、4個の装置のうち1個が傷を含む。しかし、単一のウエハから20個の異なる装置を作る場合、装置の5%、即ち、20個のうちの1個しか傷を含まない。従って、装置サイズの低減によるコスト面の利点は、それ自体で2倍である。

本発明の装置の場合、装置あたりの寸法は概して、多数の試料を分析することができる装置では、およそ約5mm~約100mmの範囲の長さおよび幅寸法である。ただし、行われる分析の数と、試薬リザーバの所望の体積とに依存して、それよりも大きいまたは小さい装置が準備されてもよい。好適な局面では、装置は、約5mm~約50mmの長さおよび幅寸法を有する。

本発明の装置に組み込まれる最適化されたチャンネルおよびウェル幾何学的形状は、装置あたりの基板要求の実質的な低減を可能にする。基板要求の低減の結果、ウエハあたりの基板数が増え且つウエハあたりの基板の損失パーセンテージが減るため、装置の基板の局面に関連するコストが実質的に削減される。ここではシリカまたはシリコンベースの基板材料に関して説明されているが、本発明により提供されるコストおよび材料の節約が、例えばガラス、ポリマー材料、などの幅広い範囲の基板材料に当てはまるのが容易に認識される。

#### III . 処理能力の増加

上述のように、本発明の装置に組み込まれる改良されたチャンネルおよびリザーバ幾何学的形状はまた、多数の試料に対して特定の分析を行う場合の処理能力の実質的な向上を可能

10

20

30

40

50

にする。具体的には、いかなる流体システムにおいても、システムの1つの場所から別の場所に材料を輸送するだけで、かなりの時間が費やされる。これは、システムの1つの場所から別の場所への材料輸送、即ち、試料ウェルから分離毛管への材料輸送が、電気泳動により行われる毛管電気泳動システムにおいて特に当てはまる。システムが多数の異なる試料のシリアル分析に用いられる場合、この問題点はさらに大きくなる。

一方、本発明の装置およびシステムに組み込まれるチャネルおよびリザーバ幾何学的形状では、試料リザーバから、装置の分析部、例えばチャネルへの運搬時間は、実質的により短くなる。改良された幾何学的形状はまた、基板の単位面積あたり、より多くの試料リザーバを組み込むことを可能にする。さらに、この幾何学的形状は、「プレロード」動作の実行を可能にする。「プレロード」動作は、別の試料がそのリザーバから分析領域またはチャネルに隣接する場所に輸送されている間に、その分析領域またはチャネルで1つの試料を分析することを可能にする。これらの要素の組み合わせは、装置の処理能力の実質的な増加を可能にする。

#### A. 多数の試料ウェル

1つの局面では、本発明の装置およびシステムは、所定の分析チャネルに、多数の試料源、ウェルまたはリザーバを使用し、試料の各々をそれぞれのリザーバから分析チャネルに順次注入するだけで、即ち、第1のリザーバから試料を引き出して分析チャネルに注入し、次いで、第2のリザーバから試料を引き出して分析チャネルに注入するだけで、単一の装置において多数の試料のシリアル分析を可能にする。本明細書では概して微小流体装置に作られる試料ウェルまたはリザーバについて説明されているが、そのような試料リザーバはまた、本明細書に記載されるように装置上の様々なポイントとは流体連通したままで、それ自体は装置の外部にあってもよいこともまた、理解される。

多数の試料リザーバの使用は、前の試料の分析が終わった後に各試料を手動でロードする必要なく、多数の試料をシリアルに分析することができるという利点を提供する。本発明の装置は、単一の基板上に、所定の分析チャネルと流体連通する少なくとも2つの別個の試料リザーバを含む。典型的には、装置は、所定の分析チャネルに関して、少なくとも4つの別個の試料リザーバを含み、より典型的には少なくとも6つの別個の試料リザーバを含み、好ましくは少なくとも8つの別個の試料リザーバを含み、より好ましくは少なくとも12個の別個の試料リザーバを含み、しばしば少なくとも16個の別個の試料リザーバを含む。試料ウェルの各々は、典型的には、試料ローディングチャネルと流体連通し、試料ローディングチャネルは、分析チャネルに交差し且つ分析チャネルと流体連通する。ロード/廃棄物リザーバには、典型的には、ローディングチャネルと分析チャネルとの交差部の反対側で試料ローディングチャネルと流体連通して供給される。これは、交差部を横切ってロード/廃棄物リザーバの方に試料を運ぶことにより試料がロードされることを可能にする。追加のプレロードチャネルおよびリザーバは、ロードされる試料と同じ側で試料ロードチャネルと流体連通して設けられ、前の試料がメインチャネルに沿って輸送されている間に1つの試料をプレロードすることを可能にする。このプレロードは、例えば、試料を、その試料自体のウェルから、交差部の同じ側にあるロード/廃棄物ウェルに流すことにより行われるため、交差部を横切らない。

上記のように、本発明の装置は、典型的には、単位基板面積あたり比較的高密度の試料リザーバおよびその他のリザーバを含む。具体的には、試料および緩衝液ウェルは、典型的には約2個/cm<sup>2</sup>よりも大きいリザーバ密度、好ましくは4個/cm<sup>2</sup>よりも大きいリザーバ密度、そして、場合によっては8個/cm<sup>2</sup>よりも大きいリザーバ密度で、装置に組み込まれる。特に好適な局面では、本発明の装置に含まれるリザーバは、定間隔に置かれる。具体的には、そのような間隔は、既存の流体処理システムで見られる間隔を補足するものであり、例えば、マルチウェルプレート寸法に適合する。例えば、好適な局面では、リザーバは、定間隔で、直線状(例えば、線に沿って)または格子状に配置または配列される。例えば、好適な局面では、装置のウェルは、直線状または格子状配列で、中心間に約9mmの間隔をあけて配置され(96ウェルプレートに適合)、より好ましくは中心間に4.5mmの間隔をあけて配置され(384ウェルプレートに適合)、場合によっては

10

20

30

40

50

中心間に約 2 . 2 5 m m の間隔をあけて配置される ( 1 5 3 6 ウェルプレートに適合 ) 。好適な局面では、多数の試料リザーバは、基板上の、分析チャンネルの両側の場所に配置される。試料リザーバを分析チャンネルの両側に配置することにより、試料が分析チャンネルに注入されるポイント付近に試料リザーバを密集させることによって、任意の所定のリザーバと、分析チャンネル上のポイントであって、試料が分析チャンネルに注入されるポイントとの間の距離、従って、チャンネル長を最小にすることができる。試料リザーバと分析チャンネルとの間のチャンネル長を最小にすることにより、試料をそのリザーバから分析チャンネルに輸送するための運搬時間が最小にされる。さらに、流体の輸送中に生じるいかなる影響も最小にされる。これらの影響には、例えば、装置への成分の付着、および、電気浸透 ( E / O ) システムまたは電気泳動システムにおける電气的影響であって、例えば試料成分の電気泳動付勢 ( biasing ) または分離、などの分析チャンネルへの注入前には望ましくない場合がある影響、がある。

10

特に好適な局面では、試料リザーバは、分析チャンネルの両側に等しく割り当てられる。従って、これらの好適な局面では、装置は、少なくとも 2 つ、典型的には少なくとも 3 つ、好ましくは少なくとも 4 つ、より好ましくは少なくとも 6 つ、さらにより好ましくは少なくとも 8 つの別個の試料リザーバを、分析チャンネルの各側に含む。

別のまたはさらに好適な局面では、様々な試料源またはリザーバは、試料源またはリザーバの各々からの材料が注入チャンネル ( または、以下により詳細に説明される試料注入チャンネル ) に到達するために輸送されなければならないチャンネル距離が実質的に等しくなるように、設けられる。「実質的に等しい」とは、任意の所定のリザーバに関するこのチャンネル距離が、他の任意の試料源またはリザーバに関する同じ距離よりも 2 5 % 以下だけ上下する、好ましくは 1 5 % 以下、より好ましくは 1 0 % 以下、さらにより好ましくは 5 % 以下だけ、他の任意の試料源またはリザーバに関するチャンネル距離よりも上下することを意味する。最も好適な局面では、これらのチャンネル距離は、互いの約 2 % 以内である。

20

注入またはプレロードポイントから、チャンネル距離に関して等距離に試料リザーバを設けることにより、様々な利点が得られる。最初に、多くの応用では、流動緩衝液 ( running buffers ) 、ふるい分けマトリックス、動的コーティング ( dynamic coatings ) 、などの流体を、例えば緩衝液または廃棄物リザーバ、などの単一のリザーバに入れることにより、これらの流体が、微小流体装置のチャンネルに付加される。次いで、流体は、毛管作用および / または流体力学的圧力もしくは付与圧力により、装置のチャンネルに逃げる。これらの場合、流体は概して、ほぼ等しいレートで等しい大きさのチャンネルを通過して移動する。従って、微小流体装置が、注入ポイントからの様々なチャンネル距離を有する場合、流体は、より短いチャンネルの終端部のリザーバに先に到達する。付与圧力または流体力学的圧力の場合、流体が残りのリザーバに達する前に、これらのリザーバに流体が満たされ始める。その結果、異なる試料リザーバで流体水位が異なり、これにより、試料の各々について異なる希釈度になり、試料を定量的に比較する能力に影響を及ぼしてしまう。等しいチャンネル距離にすると、流体が実質的に同じ時間およびレートで様々なリザーバに到達してこれらのリザーバを満たすため、この問題点は実質的に防止される。

30

希釈の問題点を防止することに加えて、本明細書に記載されるように、等しいチャンネル距離を組み込むと、試料運搬時間、即ち、リザーバの各々から注入またはプレロードまでの時間が等しくなる。これには、幾つかの利点がある。最初に、各試料は、同じ時間量の間運搬環境に置かれ、それにより、そのような運搬時間が有し得るいかなる影響をも標準化する。例えば、核酸分析の場合、挿入色素はしばしば、装置のチャンネル内の流動緩衝液と混合され、そのとき、この色素は、それらのチャンネルを通過して移動する核酸に取り込まれる。即ち、試料源から分析チャンネルへの運搬中に取り込まれる。運搬時間差により、色素の取り込みに差が生じ得、それらの異なる試料から、異なる最終信号強度が得られる。さらに、等しい試料ロード時間はまた、システムのオペレータが各試料のロードまたはプレロードに必要とされる時間量を標準化することを可能にするという点で、有用な利点を提供する。具体的には、各試料は、ロードまたはプレロードに同じ時間量を必要とし、それにより、微小流体装置の動作を非常に容易にする。

40

50

注入ポイントから等距離に試料源を設けることにより得られる同じ利点は、チャンネル構造または幾何学的形状のその他の変更を与えることによっても得られ、それにより、例えば試料などの所定の流体の、1つの試料源への運搬時間または1つの試料源からの運搬時間は、流体または試料の、別の源への運搬時間または別の源からの運搬時間と等しくなる。例えば、等距離の試料源を設ける代わりに、チャンネル幅の変動を与えて、2つの異なる源に移動している流体、または、2つの異なる源から移動している流体の運搬時間を釣り合わせてもよい。具体的には、注入ポイントまたはプレロードポイントにより近い試料源は、任意に、より幅の広いチャンネルを介して注入またはプレロードポイントと流体連通するように設けられる。そのため、例えば付与電場など、同様または同一の材料輸送条件下では、試料は、源からそのチャンネルを通して注入またはプレロードポイントに移動するのに、より長いより幅の狭いチャンネルによって接続される試料源と実質的に同じ時間量を必要とする。同様に、そのようなチャンネルの変更は、本明細書において以下に詳細に説明されるように、例えば装置を緩衝液で満たす場合など、流体が共通チャンネルを通して導入される場合に流体が試料源のいずれかに到達するのに必要とされる時間量を釣り合わせるのに有用である。

10

「実質的に同じ時間量」とは、例えば付与圧力または電場など、同じ輸送条件下では、即ち、動電学的輸送では、試料がその源から微小流体装置上の注入ポイントまたはプレロードポイントに移動する時間が、別の試料がその源から注入またはプレロードポイントに移動する時間量の約25%以内であり、好ましくは15%以下だけ、より好ましくは10%以下だけ、さらにより好ましくは5%以下だけ、他の任意の試料源またはリザーバの方が長いことを意味する。最も好適な局面では、試料が異なる試料源から注入またはプレロードポイントに移動する時間は、互いの約2%以内である。

20

多数の試料の各々の運搬時間が、装置内のその他の試料の運搬時間と同様になることを確実にすることに加えて、例えばローディングチャンネルなど、試料が注入ポイントに到達するために通らなければならない共通チャンネルの量または長さを減らすことも、概して望ましい。具体的には、ローディングチャンネルと試料チャンネルとの交差部と、プレロード/廃棄物チャンネルとの間のローディングチャンネルの長さを低減すると、最終的な注入に相互汚染材料が存在する可能性が低減される。具体的には、短くされたローディングチャンネルは、次の試料が注入クロスまたは交差部に実際に注入される前に、完全に洗い流されやすい。従って、本発明の少なくとも1つの局面では、試料チャンネルとローディングチャンネルとの交差部は、ロードチャンネルとロード/廃棄物チャンネルとの交差部により近くに配置され、例えば、約5mm以内、好ましくは約4mm以内、より好ましくは約2mm以内、そしてしばしば約1mm以内に配置され、それにより、試料チャンネル交差部と、注入交差部またはプレロード交差部との間に、約5mm未満、好ましくは約4mm未満、より好ましくは約2mm未満の長さを有するロードチャンネルを作り出す。

30

上述のように、メイン分析チャンネルへの試料の注入は、典型的には、試料を、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの交差部を横切って運ぶ工程を含む。従って、好適な局面では、本発明の装置およびシステムは、典型的には、ロードされる試料から、分析チャンネルの反対側で試料ローディングチャンネルと流体連通するロード/廃棄物リザーバおよびチャンネルを含む。次いで、所望の試料リザーバと、分析チャンネルの反対側のロード/廃棄物リザーバとの間に電圧勾配を付与することにより、試料ローディングチャンネルを通り、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの交差部（注入ポイントとも呼ばれる）を横切って、ロード/廃棄物チャンネルおよびリザーバに入る材料輸送が起こる。

40

本発明の装置およびシステムは、好ましくは、分析チャンネルの各側に配置される試料を含むため、そのような装置はまた、典型的には、分析チャンネルの各側に、試料ローディングチャンネルと流体連通する、ロード/廃棄物リザーバと、対応するチャンネルとを含む。具体的には、分析チャンネルの一方側の試料のプレローディングウェルは、チャンネルの他方側の試料のロード/廃棄物リザーバである。この特徴の概略図が、図1に示される。

簡単に言えば、図1Aは、例えばメイン分析チャンネル100および試料ローディングチャンネル102などの、微小流体装置（図示せず）の2つのチャンネル間の交差部を概略的に示

50

す。試料ローディングチャンネルはまた、交差部 108 の反対側でそれぞれ試料ローディングチャンネルと流体連通する第 1 および第 2 の試料導入チャンネル 104 および 106 を含む。これらの試料導入チャンネルはまた、例えば装置に配置される試料リザーバ、などの第 1 および第 2 の試料源 110 および 112 とそれぞれ流体連通する。第 1 および第 2 の試料チャンネルに加えて、交差部の各側の試料ローディングチャンネルはまた、第 1 および第 2 のロード/廃棄物チャンネル 114 および 116 とそれぞれ流体連通し、第 1 および第 2 のロード/廃棄物チャンネル 114 および 116 は、第 1 および第 2 のロード/廃棄物リザーバ 118 および 120 とそれぞれ流体連通する。

図 1 B は、第 1 および第 2 の試料ウェルの各々からの試料の連続注入を概略的に示す。具体的には、図 1 B のパネル I および II は、試料ローディングチャンネル 102 に運ばれ、ローディングチャンネルとメインチャンネル 100 との交差部 108 を横切って、第 2 のロード/廃棄物チャンネル 116 内に運ばれる第 1 の試料（ハッチングで示される）を示す。例えば本明細書に概して説明される E/O 流または電気泳動輸送システム、などの電気材料方向付けシステムでは、これは、第 1 の試料リザーバ 110 および第 2 のロード/廃棄物リザーバ 120 に電圧を印加して、電流の流れの経路に沿った材料移動を達成することにより、達成される。次いで、メインチャンネル上のポイントであって、交差部 108 の反対側にあるポイントに電圧を印加することにより、即ち、メインチャンネル 100 の終端部に配置される緩衝液および廃棄物リザーバに電圧を印加することにより、交差部の試料材料のプラグが、メインチャンネル 100 に注入される。注入の間、試料リザーバ 110 および第 2 のロード/廃棄物リザーバ 120 に印加された電圧は除去され得、例えば、これらのリザーバが「浮遊 (float)」するのを可能にする。しかし、典型的には、電圧はこれらのリザーバで維持され、例えば試料を交差部から離れるように引き寄せするなど、交差部から離れる方向への正味の材料流を達成し、分析中に試料が交差部に少しでも拡散または漏出するのを防ぐ。

第 2 の試料（クロスハッチングで示される）は、図 1 B のパネル III および IV に示されるように、第 1 の試料と同じ態様で、メインチャンネル 104 にロードおよび注入される。ただし、ロード中、電圧は、第 2 の試料リザーバ 112 および第 2 のロード/廃棄物ウェル 118 に印加される。

分析チャンネルの両側から試料を分析チャンネルに注入することを可能にするに加え、そして、この特徴が無い装置とは異なり、分析チャンネルの両側にロード/廃棄物リザーバを組み込むことは、上記のように、別の試料が分析チャンネルで分析されている間に、1 つの試料がプレロードされることも可能にする。

例えば、分離チャンネルとローディングチャンネルとを交差チャンネル構造で組み込む典型的な平面チップベースの CE 装置では、ローディングチャンネルの終端部のリザーバに試料を入れ、そして、試料がローディングチャンネルと分離チャンネルとの交差部を横切って電気泳動するまでローディングチャンネルに電圧を印加することにより、試料は、分離チャンネルにロードされる。典型的には、電圧の印加は、所定のチャンネルの終端部のリザーバまたはウェル（「ポート」とも呼ばれる）内に配置される電極を介する。次いで、分析または分離チャンネルの長さに応じた電圧勾配を付与することにより、交差部の材料のプラグは、分離チャンネルに沿って下方に電気泳動される。試料の分析または分離の中断、即ち、電場の遮断による試料の分析または分離の中断を防ぐために、その分離が終了するのを待ってから、その後の試料をロードしなければならない。

しかし、本明細書に記載されるチャンネル構造では、第 1 の試料が、例えば電気泳動などによって、分析チャンネルで分析されている間に、その後の試料が、注入ポイントにより近いローディングチャンネルの場所に、または、注入ポイントに隣接するローディングチャンネルの場所にも、輸送され得る。具体的には、試料リザーバと、分析チャンネルの同じ側で試料ローディングチャンネルと流体連通するロード/廃棄物リザーバとに適切な電圧を印加することにより、試料は、分析チャンネルを横切ることなく、それぞれのリザーバから、試料ローディングチャンネルの部分を通り、そしてそのロード/廃棄物リザーバに輸送される。さらに、このプレロード手順で印加される電圧を、例えばロード/廃棄物チャンネル 114 と

10

20

30

40

50

ローディングチャンネル 102 との交差部、などのプレロードポイントの電圧が、注入ポイント (108) の電圧と実質的に等しくなるようなレベルに維持することにより、分析チャンネル内での材料の輸送に影響を及ぼすことなく、例えば、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの間に横方向の電場を生成することなく、このプレロードを実行することができる。一方端  $V_a$  に印加される第 1 の電圧と、他方端  $V_b$  に印加される第 2 の電圧とを有する、チャンネル ( $V_i$ ) の所定の中間ポイントでのこの電圧を決定しようとしている場合、この中間電圧の決定は、以下のように行われる。

$$V_i = V_a + \frac{R_b(V_b - V_a)}{R_a + R_b}$$

ここで、 $R_a$  は、 $V_a$  が印加されるポイントと、 $V_i$  が決定される中間ポイントとの間の抵抗であり、 $R_b$  は、 $V_b$  が印加されるポイントと、 $V_i$  が決定される中間ポイントとの間の抵抗である。

10

以前と同様に、前の試料の分析が終了すると、その後、既に試料ローディングチャンネル内にあるその後の試料は、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの交差部を横切って輸送されるだけでよく、次いで、交差部の試料材料のプラグが、分析チャンネルに沿って下方に運ばれる。

図 1 C は、図 1 B に示されるチャンネル交差構造と同じチャンネル交差構造を示す。ただし、図 1 C では、その構造は、前の試料がメインチャンネルに沿って分析されている間に 1 つの試料をプレロードするために使用される。具体的には、パネル I は、例えば上で図 1 B を参照して説明されたような、第 1 の試料の注入後を示す。第 1 の試料が分析されている間、第 2 の試料を試料ローディングチャンネル内、そして第 2 のロード/廃棄物チャンネル内に移動させることにより、第 2 の試料は、注入部即ち交差部 108 により近い試料ローディングチャンネルの場所に輸送される。パネル I I に示されるように、例えば電気泳動分離などの、第 1 の試料の分析の終了後、第 2 の試料を交差部 108 を横切るように運び、そして第 2 の試料を分析チャンネルに注入することにより、第 2 の試料が分析チャンネルにロードされる (パネル I I I)。その後、このプロセスは、分析されるすべての試料について、繰り返される。

20

図 2 は、このプレロード特徴を組み込んでいない装置の場合に対する、この特徴を組み込む装置を用いた試料プレロードから得られる実質的な時間節約を概略的に示す。簡単に言えば、パネル A は、典型的な微小流体装置、即ち、分析チャンネルの各側に別個のロード/廃棄物リザーバを含まない微小流体装置を用いて、多数の試料を分析チャンネルにロードおよび注入するために必要とされる事象のタイミングを概略的に示す。具体的には、任意の所定の試料をロードするには、分析チャンネルとローディングチャンネルとの交差部を横切るように試料を輸送し、その後、その交差部の試料プラグを分離チャンネルに沿って下方に輸送することが必要である。これらの典型的な装置では、所定の試料が分析されている間には、試料はロードされない。試料がロードされると、分析チャンネル内での材料流が妨害されてしまうからである。従って、1 つの試料の分析は、次の試料をロードする前に効果的に終了されなければならない。矢印で示されるように、試料のロードと分析とが重ならない試料ロードおよび注入時間線となる。

30

図 2 のパネル B は、ロードされる試料を含むリザーバと同じ側に追加のロード/廃棄物リザーバを組み込む本発明の装置でシリアルに分析される試料に関する同様の時間線を提供する。この追加のロード/廃棄物リザーバを組み込むことは、試料が分析チャンネル内の材料流を横切るまたはその他の方法でこの材料流に影響を及ぼすことなく、試料をそれぞれのリザーバからローディングチャンネルに輸送することを可能にする。この輸送は、「プレロード」とも呼ばれる。そのため、1 つの試料が分析チャンネルに沿って輸送されて分析されている間に、その後の試料が、ローディングチャンネルにプレロードされ得る。示されるように、多数の試料 (例えば、8、10、12、16、またはそれ以上) が分析されている場合には特に、かなりの時間節約になり得る。

40

プレロードされた試料と分析チャンネルとのデッドボリューム量を低減するためには、ロード/廃棄物チャンネルが、ローディングチャンネルと分析チャンネルとの交差部に比較的近いボ

50

イントで試料ローディングチャンネルに交差することが概して望ましい、本発明の微小流体装置では、上記2つの交差部間の距離は、典型的には5 mm未満であり、好ましくは2 mm未満であり、より好ましくは1 mm未満であり、しばしば0.5 mm未満である。

さらに、多数の試料リザーバ装置の場合、各試料を試料ローディングチャンネルの同じポイントまでプレロードできることが概して望ましい。これは、各試料のプレロード、ロードおよび注入のタイミングの標準化および簡略化を可能にする。さらに、このプレロード時間中に、希釈、基板またはその他の反応物との化合、などの無数の他の動作が、試料に行われ得る。そのため、ロード/廃棄物チャンネルが、すべての試料リザーバとメインチャンネルとの間の点で、試料ローディングチャンネルに交差することが概して望ましい。従って、好適な局面では、各ロード廃棄物チャンネルは、(1) 試料ローディングチャンネルとメインチャンネルとの交差部と、(2) 試料ローディングチャンネルと試料チャンネルの各々との交差部との間のポイントで、試料ローディングチャンネルに交差する。これらの装置における試料のロードおよびプレロードについては、以下により詳細に説明される。

最後に、少なくとも部分的に注入ポイントに通じる別個の経路をそれぞれが有する多数の試料源を組み込むことは、上記利点の他に、少なくとも1つの追加の利点を提供する。この利点は、そのシステムがCEの応用に適用される場合に特に、提供される。典型的なCEシステムは、同じ経路により分析されている各試料を導入する。例えば、同じ試料ウェルを通して分析されている各試料、または、同じチャンネルもしくは通路を介して分析されている各試料を導入する。しばしば、これにより、例えば非常に大きい核酸分子または複合体、タンパク質など、非常にゆっくりと移動する材料がその経路内で蓄積され得、この蓄積の結果、分離チャンネルまたは毛管が全体的に詰まり得る。

多数の試料を同じ経路で導入するのではなく、分析されている別個の各試料のための別個の導入経路、即ち、本明細書において提供されているような導入経路を含むことにより、そのようなゆっくり移動する材料は概して、試料源内に保持されるか、または、その試料源を共通試料ローディングチャンネルに接続するチャンネル内に保持される。この効果は、これらのより大きい種の移動レート差を強調するふるい分けマトリックスまたは媒質を装置の様々なチャンネル内に含むCEの応用において特に明らかである。

ある特定の実施形態では、本発明の微小流体装置は、任意に、特に装置の注入ポイントでより狭い幅寸法を有するチャンネルを含む。具体的には、少なくとも注入交差部で寸法を狭くすることにより、分析チャンネルに注入される試料プラグの大きさを実質的に低減することができ、それにより、検出するためのより幅の狭いバンドを提供し、従って、隣接するバンド間のより大きい解像度を提供する。

より狭い幅寸法を有する分析チャンネルを提供することはまた、レーザー蛍光検出システムを使用するシステムにおいて特に有用である。具体的には、注入チャンネルおよび分析チャンネルの幅を狭くして、分析チャンネルの検出部に入射するレーザースポットサイズの約1倍~約5倍の範囲にすることにより、装置の感度を実質的に変えることなく、上記のように分析チャンネルのバンドの解像度が增加される。より少ない材料が分析チャンネルに注入され、検出器を通して輸送されているにもかかわらず、検出器は、その材料のより大きいパーセンテージを検出することができる。従って、幾つかの好適な局面では、10 μmのスポットサイズを有するレーザーを用いると、分析チャンネルは、任意に、約10 μm~約50 μmの幅を有し、好ましくは約20 μm~約40 μm、より好ましくは約30~35 μmの幅を有する。

#### IV. 装置の説明

本発明による改良されたチャンネルおよびリザーバ幾何学的形状を使用する装置の実施例が、図3に示される。示されるように、装置300は、平面基板302から製造され、平面基板320は、その表面に作られた様々なチャンネルを有する。第2の平面層は第1の平面層の上であり、第2の平面層を通して配置されて様々なリザーバを形成する孔を含む。次いで、この第2の平面エレメントは、第1の平面エレメントに結合される。

示されるように、装置は、基板の中央部を長手方向に下方に走るメイン分離または分析チャンネル304を含む。メインチャンネル304は、緩衝液リザーバ306で始まり且つ緩衝

10

20

30

40

50

液リザーバ306と流体連通し、そして、廃棄物リザーバ308および310で終端し且つ廃棄物チャンネル312を介して廃棄物リザーバ308および310と流体連通する。試料ローディングチャンネル314は、メインチャンネル304に交差し、且つ、メインチャンネル304と流体連通する。示されるように、装置はまた、多数の別個の試料リザーバ316から346(316および346を含む)を含み、試料リザーバ316~346の各々は、そのそれぞれの試料チャンネル348~378を介して直接試料ローディングチャンネル314と流体連通するか、または、中間試料チャンネルを介して試料ローディングチャンネル314と流体連通する。試料ローディングチャンネルとメインチャンネル304との交差部の反対側には、その交差部と、その交差部のそれぞれの側の試料チャンネルとの間に、試料ローディングチャンネル314と流体連通するロード/廃棄物チャンネル380および382もまた、設けられる。これらのロード/廃棄物チャンネルの各々は、ロード/廃棄物リザーバ384および386の一方でそれぞれ終端する。

10

試料が分析チャンネルに到達するために移動しなければならない距離を最小にしながら、基板上に適合するリザーバの数を最大にするために、多数の別個の試料リザーバは、メインチャンネルの両側に配置される。

装置内での材料の電気泳動による移動を制御し且つ方向付けるために、リザーバ306~310、316~346、384および386の各々と電氣的に接する電極が配置される。ここでも、本実施例は、電気泳動による装置内の材料の輸送および方向付けに関して説明されているが、その他の形態の材料輸送および方向付けも考えられ、そして、そのような材料輸送および方向付けが本発明によって等しく有利となることが、容易に認識される。

20

動作において、第1の試料は、例えばリザーバ316などの試料リザーバ内に入れられる。試料リザーバ316と廃棄物リザーバ386とに適切な電圧を印加することにより、試料は、試料チャンネル348に沿ってローディングチャンネル314に輸送され、ローディングチャンネル314とメインチャンネル304との交差部を横切る。好適な局面では、適切な電圧はまた、緩衝液リザーバ306と、廃棄物リザーバ308および310とに印加され、メインチャンネルからの流体の強制的な流れを付与し、交差部を横切る試料の流れを「挟み」、それにより、交差部での試料の漏出または拡散を防ぐ。挟まれるロードについては、Ramseyらの公開されたPCT出願第WO 96/04547号に詳細に説明されている。本明細書において、上記PCT出願全体を、あらゆる目的のために参考として援用する。

30

次いで、緩衝液リザーバ306と廃棄物リザーバ308および310との間に電圧を印加することにより、ローディングチャンネル314とメインチャンネル304との交差部の試料プラグ、例えば挟まれたプラグは、メインチャンネル304に沿って下方に運ばれ、リザーバ316および386は浮遊することが可能にされる。場合によっては、ローディングチャンネル内の試料を交差部から離れるように運んで試料が分析チャンネルに漏れるのを防ぐために、これらの浮遊リザーバに、適切な電圧が印加されてもよい。

第1の試料が、メインチャンネル304に沿って輸送されて、例えば電気泳動分離などの、該当する分析を受けている間に、第2の試料は、その後の分析のために、ローディングチャンネル314内の適切な場所に「プレロード」され得る。このその後の試料は、試料リザーバ318とロード/廃棄物チャンネル384とに適切な電圧を印加することにより、試料リザーバ318からローディングチャンネル314に入り、そして、ローディングチャンネル314を出てロード/廃棄物チャンネル380を通り、ロード/廃棄物リザーバ384にプレロードされる。上記のように、これらのリザーバに印加される電圧は、典型的には、注入ポイント(チャンネル304と314との交差部)の電圧が、プレロードポイント(チャンネル314と382との交差部)の電圧とほぼ等しくなるようなレベルに維持され、プレロード手順の間に、ローディングチャンネルとメインチャンネルとの間に横方向の電場、即ち、電圧勾配が発生するのを防ぐ。

40

一旦第1の試料がメイン分析チャンネル304に沿って下方に流されると、試料リザーバ3

50

18とロード/廃棄物リザーバ386とに電圧を印加することにより、ローディングチャンネル314内のプレロードされた試料は、ローディングチャンネル314とメインチャンネル304との交差部を横切って注入される。次いで、再びメインチャンネルに電圧を印加することにより、交差部の試料プラグが、メインチャンネル304に沿って輸送され、その一方で第3の試料が上記のようにプレロードされる。これが、メインチャンネルの各側の各試料リザーバに関して繰り返される。従って、示されるように、メインチャンネルの各側は、試料ローディングチャンネルと流体連通する試料リザーバおよびチャンネルの集まりを含む別個の「プレローディングモジュール」を含む。各プレローディングモジュールは、試料ローディングチャンネルと流体連通する、そのモジュール自体のロード/廃棄物リザーバおよびチャンネルを含み、それにより、試料は、メインチャンネル内の材料の移動に影響を及ぼすことなく、それぞれのリザーバからローディングチャンネルに輸送され、そして、ローディングチャンネルとメインチャンネルとの交差部に近いローディングチャンネルの場所に輸送され得る。上記のように、試料のプレロードと、その試料の注入との間のデッドボリュームを最小にするために、プレローディングモジュールのためのロード/廃棄物チャンネル、例えば、ロード/廃棄物チャンネル380が、ローディングチャンネルとメインチャンネルとの交差部に近いポイントで、そのローディングチャンネル、例えば314に交差することが、概して好ましい。

12個の別個の試料リザーバと、上記のプレローディング特徴とを含む装置に関する同様のチャンネル/リザーバ幾何学的形状が、図4に示される。よりコンパクトな幾何学的形状を達成するために、緩衝液リザーバ306、廃棄物リザーバ310、ならびにロード/廃棄物リザーバ384および386は、装置の底部で一列に配置される。これにより、試料/廃棄物/緩衝液リザーバの格子状アレイが得られ、12試料装置は、図3に示される装置に必要とされる基板面積のほぼ半分しか占有しない。この装置は、図3に示される上述の装置よりも少ない試料リザーバを含むが、チャンネルおよびリザーバ幾何学的形状を最適化することにより、試料：面積比は、実質的に増加される。具体的には、図4に示される装置が17.5mmの辺寸法（例えば、17.5mm×17.5mm）を有する場合、5"×5"の1枚の正方形基板プレートまたはウエハから、49個の別個の装置を得ることができ、プレートあたり588の試料の分析を可能にする。図3に示される装置が22.4mm×37mmであるとする、基板プレートあたり、15個の別個の装置または240のアッセイしか得ることができない。

上記のように、本発明の装置、システムおよび方法の応用は、毛管電気泳動の応用に限定されず、様々な材料輸送機構を使用する流体システム、などの微小流体工学の分野に広く適用され得る。この流体システムには、例えば、電気浸透輸送システム、電気泳動輸送システム、そしてさらに圧力駆動式システム、などがある。しかし、これらの装置、システムおよび方法が、毛管電気泳動の応用で使用される場合、即ち、例えば核酸断片などの試料成分を分離するために使用される場合、装置のチャンネル内の電気浸透流のレベルを低減し、それにより、帯電または大きさが異なる種のシステム内での移動度差と、従ってこれらの種の分離可能性とを最適化することが、概して望ましい。

従って、好適な局面では、本発明の装置およびシステムは、毛管電気泳動の応用で使用され、装置のチャンネルは、動的ふるい分けマトリックスで予め処理される。そのような動的ふるい分けマトリックスは、典型的には、毛管チャンネルの壁を結合することができる、例えば線状ポリアクリルアミドポリマーなどの帯電ポリマーを含み、それにより、これらの壁の帯電表面を覆って電気浸透流を低減する。特に好適な動的ふるい分けマトリックスの例としては、米国特許第5,264,101号に記載されているマトリックス、およびPerkin Elmer Corp.から入手可能なGeneScan™ふるい分け緩衝液、などがある。本明細書において、上記米国特許全体を、あらゆる目的のために参考として援用する。

本発明による別のチャンネル幾何学的形状を組み込む装置が、図5に示される。示されるように、装置は、図4に示されるチャンネル幾何学的形状と同様のチャンネル幾何学的形状を含む。具体的には、示されるように、基板502から製造される微小流体装置500は、メインチャンネル504を含み、メインチャンネル504の終端部に、緩衝液リザーバ506お

10

20

30

40

50

よび廃棄物リザーバ508が配置される。メインチャンネル504は、試料ローディングチャンネル512および514（示されるように、それぞれ左側および右側にある）の第1の端部と交差し、且つ、これらの第1の端部と流体連通する。試料チャンネル512は、その第2の端部で、試料チャンネル542～550を介してそれぞれ試料リザーバ516～526と流体連通し、試料ローディングチャンネル514は、その第2の端部で、試料チャンネル552～562を介してそれぞれ試料リザーバ528～538と流体連通する。試料プレロード廃棄物チャンネル582および584は、注入ポイントまたは交差部に近いポイントで、それぞれ試料ローディングチャンネル512および514に交差する。

示される装置は、図3および図4に示される装置と実質的に同じ動作を行う。ただし、示されるように、装置500は、それぞれのリザーバから、それぞれの試料ロードチャンネル（512または514）との交差ポイントまでの長さが実質的に等しい、試料チャンネル540～562を含む。示される装置は、上述の利点をすべて提供する。

さらに、上記の別の局面では、図5を参照して、試料ローディングチャンネルの長さを最小にし、それにより、プレロード中に試料の相互汚染が起こる可能性を低減するために、試料ローディングチャンネル512および514と、それぞれの試料/プレロードチャンネル582および584との交差部は、これらの試料ローディングチャンネルとそれぞれの試料チャンネルとの交差部、例えば540～550と552～562との交差部により近い場所に配置される。好適な局面では、これらの交差部間の上記ローディングチャンネル長は、約5mm未満であり、好ましくは、約2mm未満である。

上記のように、本明細書で説明される装置およびシステムは概して、化学材料および生化学材料の分析に使用され得る。例えば、少なくとも1つの局面では、本発明は、例えば核酸、タンパク質、またはその他の高分子種、などの試料材料の成分要素、および、帯電の異なる材料の成分要素を分離する際の、そのような装置およびシステムの使用を提供する。本発明の装置は、任意に、キットで提供される。本発明のキットは、任意に、以下のうちの1つ以上を含む。（1）例えば上記の微小流体装置（単数または複数）などの、本明細書に示される装置または装置構成要素、（2）本明細書に示される方法を実行するため、および/または、本明細書に示される装置または装置構成要素を動作させるための説明書、（3）例えば、試薬、蛍光色素、標準物質（standards）、ふるい分けマトリックス、などの1つ以上のアッセイ成分、（4）装置またはアッセイ成分を保持するための容器、ならびに（5）包装材料。

本明細書で説明されるように、上述の微小流体装置は、典型的には、装置のリザーバの各々に電極を配置して装置の動作を実行する電気コントローラユニットに配置される。材料を装置のチャンネルを通るように向けるために、このコントローラユニットは、装置のリザーバに接する電極を通して適切な電流を送達する。コントローラにより送達される電流は、典型的には、ユーザによりコンピュータに入力される、各電極の電流および時間プロファイルである。このコンピュータは、コントローラに作動的に接続される。次いで、上記のように、コンピュータは、材料を制御された態様で装置のチャンネルを通して移動させるよう、様々な電極への電流付与をコントローラに指示し、例えば、制御された動電材料輸送を達成するのに十分な電流レベルを提供する。

以下の実施例を参照して、本発明をさらに説明する。これらの実施例は、本発明を限定するものではない。

#### 実施例

##### 実施例1：多試料分析

図3に示される幾何学的形状を有する16試料容量装置またはLabChip™を、500μmの厚さを有する直径100mmの白色クラウンガラスウエハから製造した。ウエハを、市販で最も入手しやすいフォトリソグラフィ装置との適合性のために使用した。標準のフォトリソグラフィ技術を用いて、示された構成を有する幅75μm、深さ12μmのチャンネルをガラス基板にエッチングした。別個のガラス片の端から5インチの所にドリルで孔をあけ、これにより、孔は、様々なチャンネルの終端部に対応した。2つのガラス片を熱結合させ、示されるチャンネルおよびウェル構造を形成した。より大きい材料から、22.4m

10

20

30

40

50

m × 37 mm の寸法を有する装置を切断した。

2.5 グラムのGeneScanポリマー (Perkin Elmer Corp.)、0.5 g の遺伝分析緩衝液 (Perkin Elmer Corp.)、および 2.5 ml の水を計量し、20 ml のシンチレーションバイアルに入れて、ふるい分け緩衝液を調製し、次いで、これを 30 秒間渦流させた (vortexed)。1 μl の Syber Green I DNA 挿入色素 (Molecular Probes Inc.) を 0.5 ml のふるい分け緩衝液に添加し、これを、1.5 ml のエッペンドルフ管で再び 30 秒間渦流させた。50 ~ 1000 bp の大きさの 6 個の DNA 断片を含む 5 μl の PCR マーカ (Promega Corp.) を、Syber Green を含む緩衝液 15 μm と混合し、渦流させた。LabChip™ のチャンネルを、3.5 % の Gene Scan™ 緩衝液 (Perkin-Elmer Corp.) で満たした。これは、緩衝液ウェルに 5 μl の緩衝液を加え、次いで、シリンジでウェルに 5 秒間わずかな圧力を付与することにより行った。この緩衝液はポリマーを含み、このポリマーは、DNA の大きさに関する DNA の移動を遅くし、そしてまた、チャンネルの壁を改変して電気浸透流を減らす。次いで、GeneScan 緩衝液 4 μl を、緩衝液および廃棄物ウェルに加えた。

10

DNA 標準物質、即ち、HinfI で切断された PhiX174 (Promega Corp.) を、1 μM の Syber Green DNA 挿入色素 (Molecular Probes Inc.) を含む 3.5 % の GeneScan™ 緩衝液に 50 : 1 で希釈し、そして、この溶液 4 μl を、16 個の試料ウェルの各々に加えた。次いで、装置を、PTI Model 814 の P M T 検出システムを備えた Nikon の倒立顕微鏡 Diaphot200 の下に置き、落射蛍光検出を行った。40 倍顕微鏡対物レンズを通して結合される Opti-Quip1200-1500 の 50 W タングステン / ハロゲンランプが、光源を提供した。適切なフィルタ / ダイクロイックミラーを備える FITC フィルタキューブ (Chroma、ヴァーモント州ブラットルボロ (Brattleboro)) で、励起波長および発光波長を選択した。微小流体装置の別個のリザーバの各々のために別個の制御可能な電極を有する電圧コントローラを用いて、チップ上の試薬ウェル電流及び電圧を制御した。試料のシリアル注入は、以下のサイクルに沿って進んだ。

20

工程 1 : 最初の試料プレロード (45 秒)

工程 2 : 試料ロード (5 秒)

工程 3 : 注入 (1 秒)

工程 4 : 引き戻し (2 秒)

工程 5 : ラン / 次の試料プレロード (85 秒)

30

工程 6 : 次の試料ロード (5 秒)

工程 7 : 工程 3 ~ 6 の繰り返し

単一のサイクル中に様々なリザーバに付与される電流のサイクルの例が、以下の表に提供される。試料をローディングチャンネルとメインチャンネルとの交差部から離し、それにより、試料の浸出 (bleeding over) を防ぐために、試料引き戻し工程を挿入した。また、例えば工程 2 および 6、などのロード工程の間、対流効果により試料の流れがメインチャンネルに拡散しないように、交差部には、それを挟む流れを送達した。印加電圧は、例えば本願と同一の譲受人に譲渡される 1996 年 7 月 3 日出願の米国特許出願シリアル番号第 08/678,436 号に記載されるような、電流ベースの制御システムを用いて制御した。本明細書において、上記米国特許出願全体を、あらゆる目的のために参考として援用する。上記工程の各々で付与された電流は、以下の表 1 に示される通りであるメイン緩衝液リザーバ 306 に印加される電圧は、この電圧がシステムの残りで適切な平衡電流を提供するレベルに制御した。

40

表 1

工程	試料 ウェル	試料 電流 ( $\mu\text{A}$ )	ロード/廃棄物電流		廃棄物電流 ( $\mu\text{A}$ )	
			ロード/廃棄物ウェル	( $\mu\text{A}$ ) 緩衝液ウェル		
1	332	-7	386	10	310	-2
2	332	-7	384	10	310	-2
3	332	5	384	5	308	-12
4	332	1	384	1	308	-8
5	334	-7	386	10	308	-7.5
6	334	-7	384	10	310	-2

この方法を用いた最初の分離の結果が、図 6 に示される。この図から明らかであるように、毛管電気泳動を行うこの方法は、実質的に低減された時間フレームで高解像度をもたらす。さらに、16 の試料すべての分離にわたって、解像度の低下は見られなかった。

#### 実施例 2：連続的な試料についての相互汚染レベルの判定

装置における連続的なランで少しでも試料の相互汚染が起こるかどうかを確かめるために、2 つの異なる核酸断片試料と、プレーン (plain) 緩衝液試料とを連続的に流し、汚染影響の有無を調べた。

上記 16 ウェル装置の各ウェルに、PCR マーカ、HaeIII で切断された PhiX174、またはプレーン緩衝液のいずれかをロードした。PCR マーカ、HaeIII で切断された PhiX174、およびプレーン緩衝液がこの順序で連続的に注入されるように、これらのウェルにロードした。各ランの蛍光データを、時間の関数としてプロットした。

図 7 A、図 7 B および図 7 C は、PCR マーカ、PhiX174 / HaeIII、および緩衝液ブランクとの連続注入のプロットを示す。図 7 B は、前の PCR マーカのランから PhiX174 / HaeIII のランへの浸出に偽の蛍光ピークが検出不可能であることを示す。さらに、図 7 C は、プレーン緩衝液のランでも、前の DNA 含有試料からの検出可能なレベルの相互汚染はないことを示す。

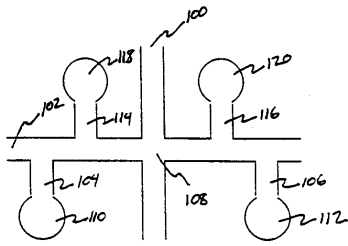
#### 実施例 3：狭いチャンネルへの注入

図 5 に示されるチャンネル幾何学的形状を組み込む微小流体装置を、上の実施例 1 に示されるように準備した。ただし、装置の全チャンネルの幅は、 $30\ \mu\text{m}$  に低減し、チャンネルの深さは、約  $12\ \mu\text{m}$  に維持した。この装置を、図 4 に示される幾何学的形状を有する微小流体装置であって、実施例 1 に示されるように約  $70\ \mu\text{m}$  のチャンネル幅を有する微小流体装置と比較するために使用した。これら 2 つの装置の分離チャンネルの長さは、実質的に等しかった。

上記のように、2 つの装置をふるい分け緩衝液を用いて準備し、各装置を用いて、ウィスコンシン州マディソン (Madison) の Promega Corp. から市販で入手可能な核酸標準の 100 塩基対はしご (nucleic acid standard 100 base pair ladder) を分離した。幅の狭いチャンネルの装置および幅の広いチャンネルの装置の分離結果は、それぞれ図 8 A および図 8 B に示される。幅の狭いチャンネルの装置 (図 8 A) で得られた解像度は、より幅の広いチャンネルを組み込む装置 (図 8 B) よりも実質的に高くなっていることがすぐに分かる。あらゆる刊行物および特許出願を、あたかも個々の刊行物または特許出願の各々が、参考として援用されるよう具体的且つ個々に示されているかのように、本明細書において同じ程度に参考として援用する。以上、本発明を、明瞭さおよび理解のために、例示および実施例により幾らか詳細に説明してきたが、添付の請求の範囲の範囲内で、ある特定の変更および改変が実施され得ることが明らかである。

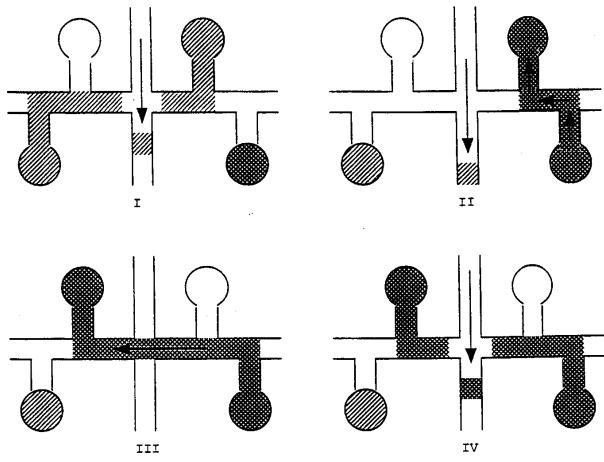
【図1A】

Figure 1A



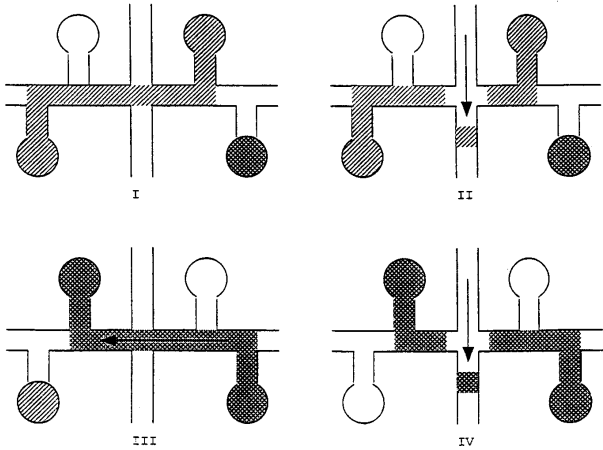
【図1C】

Figure 1C



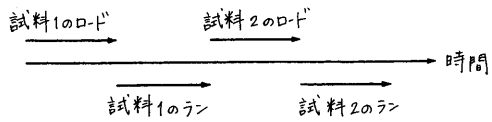
【図1B】

Figure 1B



【図2】

A



B

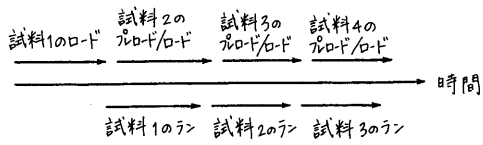


Figure 2

【図3】

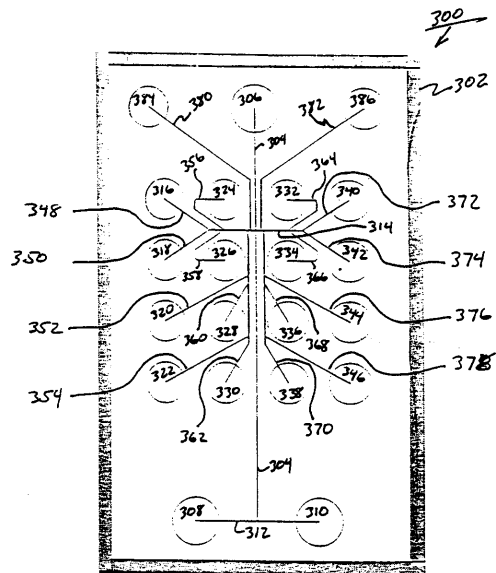


Fig. 3

【 4 】

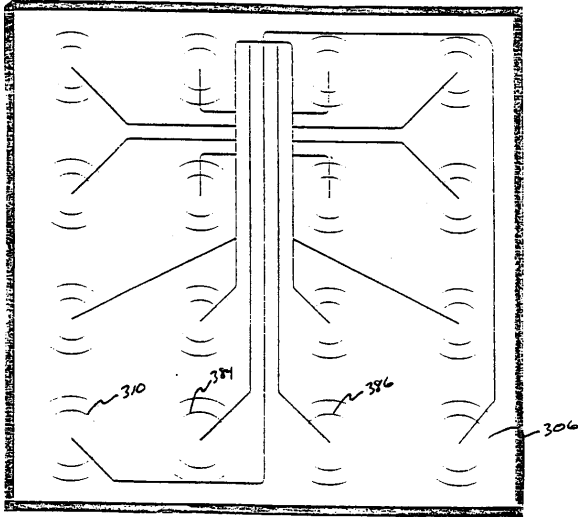


Fig. 4

【 5 】

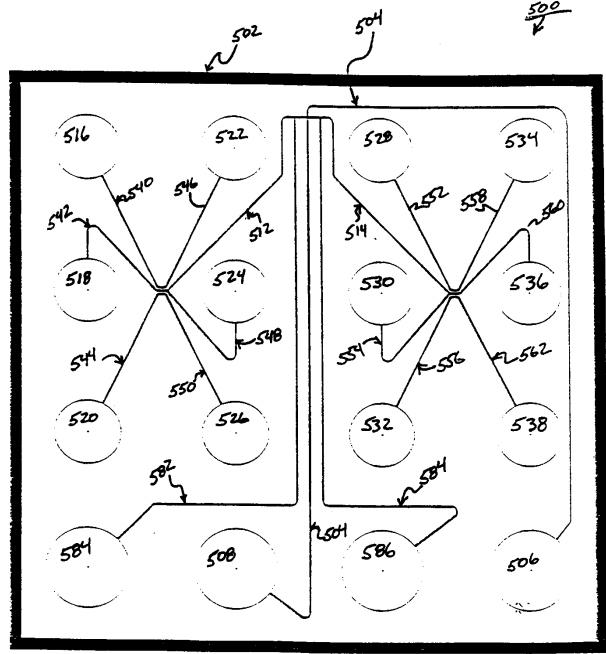


Fig. 5

【 6 】

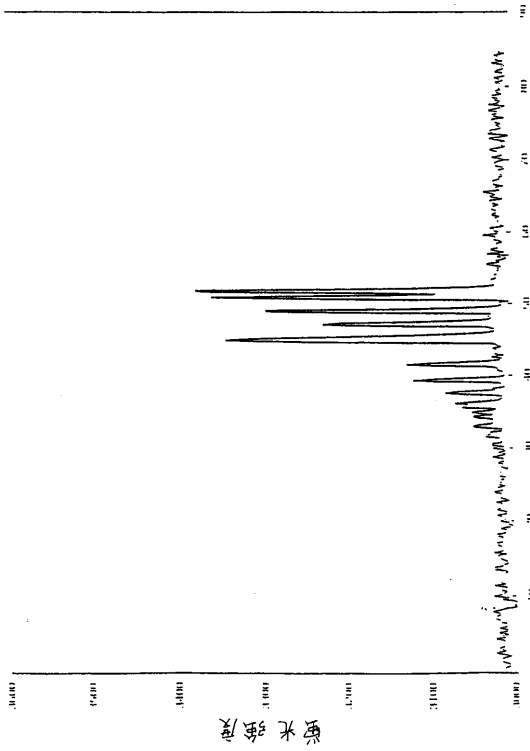


Fig. 6

【 7 A 】

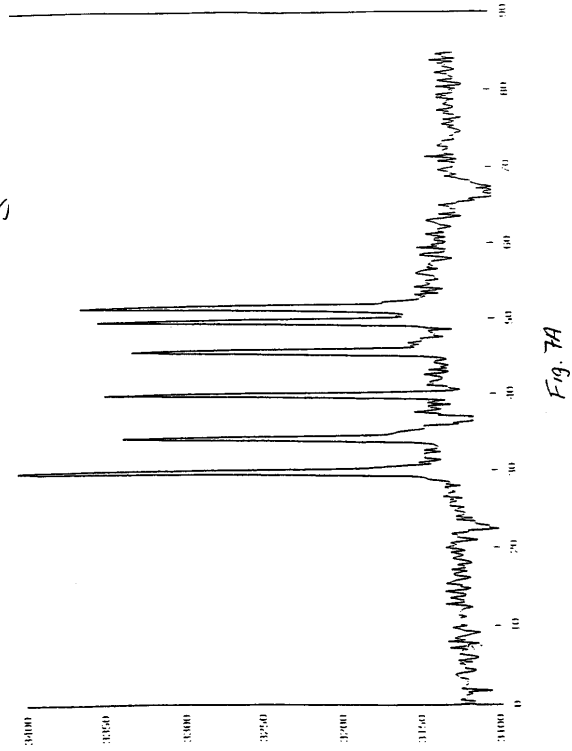


Fig. 7A

【 7 B 】

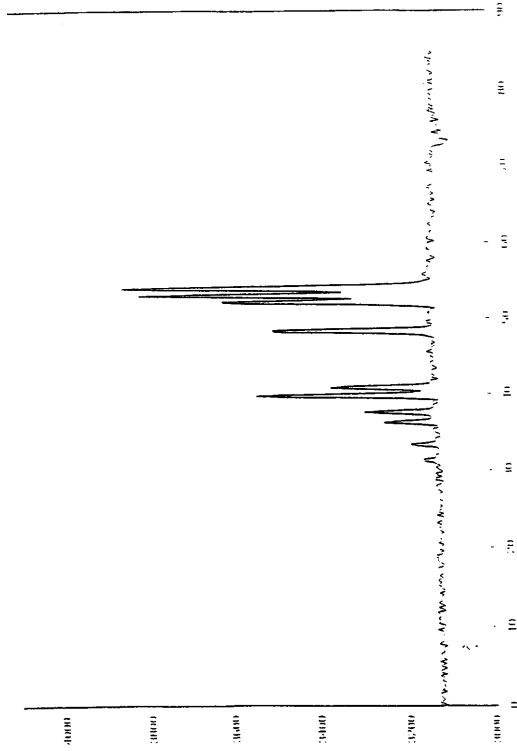


Fig. 7B

【 7 C 】

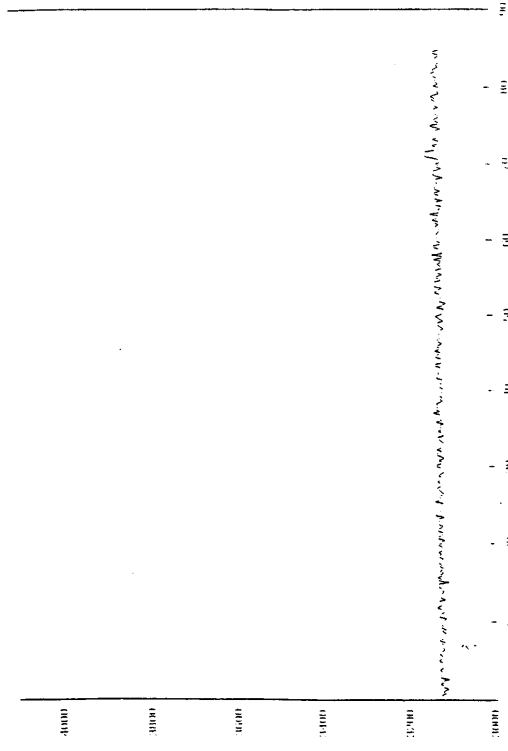
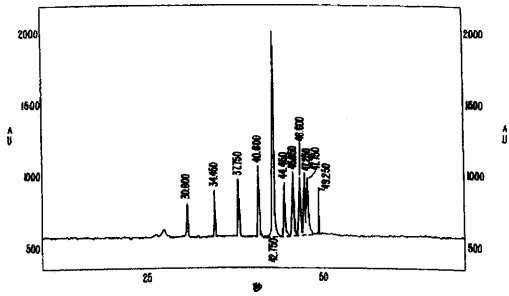
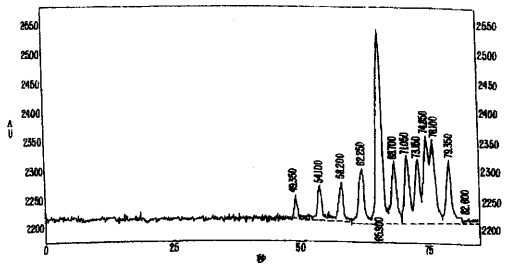


Fig. 7C

【 8 A 】



【 8 B 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 ケネディ, コリン ビー .  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 9 4 1 , ミル バレー , アッシュ ストリート 4 1 3
- (72)発明者 ボウッセ, リュック  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロ パーク , ハイト ストリート 3 1 1

審査官 郡山 順

- (56)参考文献 特開平07 - 012777 (JP, A)  
特開平07 - 232056 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 27/447

G01N 31/20

G01N 37/00