(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4455014号
(P4455014)

(45)発行日　平成22年4月21日(2010.4.21)　(24)登録日　平成22年2月12日(2010.2.12)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 35/08	(2006.01)	G01N	35/08	A
G01N 5/02	(2006.01)	G01N	5/02	A
G01N 33/483	(2006.01)	G01N	33/483	Z
G01N 37/00	(2006.01)	G01N	37/00	101

請求項の数 6　(全 14 頁)

(21)出願番号　特願2003-378227 (P2003-378227)
(22)出願日　平成15年11月7日 (2003.11.7)
(65)公開番号　特開2005-140666 (P2005-140666A)
(43)公開日　平成17年6月2日 (2005.6.2)
審査請求日　平成18年10月5日 (2006.10.5)

前置審査

(73)特許権者　000002325
セイコーインスツル株式会社
千葉県千葉市美浜区中瀬１丁目８番地
(74)代理人　100154863
弁理士　久原　健太郎
(74)代理人　100142837
弁理士　内野　則彰
(74)代理人　100123685
弁理士　木村　信行
(72)発明者　新荻　正隆
千葉県千葉市美浜区中瀬１丁目８番地　セイコーインスツルメンツ株式会社内
(72)発明者　加藤　玄樹
千葉県千葉市美浜区中瀬１丁目８番地　セイコーインスツルメンツ株式会社内
最終頁に続く

(54)【発明の名称】検査用マイクロチップおよび検査装置と検査方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
基板に形成された反応槽部に、前記基板に形成された液体流路部から試薬を供給して、前記反応槽部内に設けられているカンチレバー上に前記試薬内の物質を付着させる試薬付着ステップと、
前記試薬付着ステップの後に、前記反応槽部に前記液体流路部から洗浄液を供給して、前記カンチレバー上に付着している前記試薬内の物質のみを残留させ、それ以外の前記試薬を前記反応槽から排出させる試薬排出ステップと、
前記試薬排出ステップの後に、空気流路部から取り込んだ空気を、前記反応槽内に満たす空気導入ステップと、
前記空気導入ステップの後に、前記反応槽部に前記液体流路部から検体を供給して、前記検体内の物質を、前記カンチレバー上に付着している前記試薬内の物質と反応させることによって前記カンチレバー上に捕捉する検体捕捉ステップと、
前記検体捕捉ステップの後に、前記検体内の物質が前記カンチレバー上に捕捉された状態で、前記カンチレバーの撓み量を測定する測定ステップと、
前記測定ステップの後に、前記カンチレバーの前記撓み量に基づいて、前記検体内の物質の同定および／または定量を行う同定定量ステップと、
を含む検査方法。
【請求項２】
試薬付着ステップの後に、空気流路部から取り込んだ空気を、前記反応槽内に満たす空

気導入ステップを含む、請求項１に記載の検査方法。
【請求項３】
前記試薬内の物質と前記検体内の物質のうちの一方は抗原であり、他方は抗体である、請求項１または２に記載の検査方法。
【請求項４】
前記液体流路部から前記反応槽部への前記試薬と前記検体と前記洗浄液の供給を、前記反応槽部内を負圧にすることができるポンプと、前記液体流路部に設けられており流体の流通を制御する開閉可能なバルブ部とを作動させることによって独立して制御する、請求項１から３のいずれか１項に記載の検査方法。
【請求項５】
前記バルブ部の開閉のタイミングを制御することによって、前記試薬内の物質と前記検体内の物質との反応時間を任意に設定する、請求項４に記載の検査方法。
【請求項６】
前記反応槽部を複数設け、互いに独立した複数の前記カンチレバーを前記各反応槽部内にそれぞれ設けておき、前記各カンチレバー毎に独立して異なる検査を行う、請求項１から５のいずれか１項に記載の検査方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗原抗体反応などを利用して行われる検査に用いられる検査用マイクロチップおよび検査装置と検査方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
従来、疾患の原因の特定などを目的として、ＥＩＡ（酵素免疫測定法）やＲＩＡ（放射性免疫測定法）に代表される、抗原抗体反応を利用した免疫（血清）測定法が広く実施されている。これらは、試料（検体）中の特定の抗原または抗体の同定および定量を行うものである。
【０００３】
具体的には、例えば、ＲＩＡでは、放射性同位元素で標識付けられた所定量の抗原（標識抗原）と検体中の抗原とを、所定量の抗体と競合的に結合させ、沈殿した抗原抗体錯体を残して非結合の抗原や抗体を洗浄する。それから、抗原抗体錯体を対象として放射性同位元素の測定を行うことによって、抗体と結合した標識抗原の量が求められ、それに基づいて検体中の抗原の同定および定量を行うことができる。一方、ＥＩＡでは、放射性同位元素ではなく特定の酵素で標識付けられた標識抗原と検体中の抗原とを所定量の抗体と競合的に結合させ、抗原抗体錯体を対象として、標識抗原の酵素の反応に関わる適切なプローブ原子の個数の変化を測定することによって、または色原性基質を添加して酵素を発色させて比色することによって、ＲＩＡと同様に抗体と結合した標識抗原の量が求められ、それに基づいて検体中の抗原の量を推定することができる。この他にも、蛍光物質で標識付けられた標識抗原を用いるＦＩＡ（蛍光免疫測定法）などの方法が存在する。
【０００４】
なお、前記したような競合的結合ではなく非競合的結合を用いる場合には、標識抗原ではなく標識抗体が用いられる。また、ここでは検体中の特定の抗原の量を測定する例について説明したが、これらの免疫測定法は、検体中の特定の抗体の量を測定する場合にも用いることができる。
【０００５】
いずれにしても、前記した各種の免疫測定法では、標識付けられた物質の量を測定しており、抗原抗体錯体自体の量を直接測定するものではない。例えば、測定すべき物質と競合反応させられる標識物質の量を求め、それに基づいて測定すべき物質の量を推定することになる。また、放射性同位元素や酵素や蛍光物質などの標識物質が必ず必要なものである。

【０００６】
従来、ＥＩＡやＲＩＡなどの免疫測定法を行うための検査装置は、比較的大型のものが主流であり、検査に必要な血液などの検体の量は数十ｍｌ～百ｍｌであり、被験者への負担は小さいとは言えない。また、検査に用いられる試薬の量も、検体量に対応して最低数十ｍｌ程度は必要である。そして、このような検査装置は、１種類の検査を大量の検体に対して連続的に行うのに適した構成であり、１つの検体の検査のみを行うには時間およびコストの面で効率が悪く、１回の検査のみで使い捨てにするには適していない。
【０００７】
そこで、検体や試薬の量が少なくても済む小型の検査装置が特許文献１により提案されている。特許文献１に開示されている検査装置は、固体微粒子が収容されているマイクロチャンネル反応槽部と、抗原および標識抗体を反応槽部にそれぞれ導くマイクロチャンネル流入部とを有するマイクロチップを有している。このマイクロチップは、ガラスやシリコン等の基板からなり、公知の加工技術によって微細に形成することができ、それに伴って、検体や試薬の必要量を大幅に減らすことができる。
【特許文献１】特開２００１－４６２８号（［０００８］～［００１６］、図１）
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００８】
前記した特許文献１においても、抗原抗体錯体自体の量を直接測定するものではなく、測定すべき物質の量を標識物質の量から推定するため、信頼性に乏しい。実際に測定されるのは標識物質の量であり抗原抗体錯体の量ではないため、何らかの不具合によって測定誤差が生じる可能性がある。また、特許文献１でも、放射性同位元素や酵素や蛍光物質などの標識物質が必ず必要であるという問題がある。すなわち、標識物質が必要であるため試薬のコストが高くなる。特に、標識物質として放射性同位元素を用いる場合には、その取り扱いが非常に煩雑であり、簡単に検査を行うことはできない。標識物質として酵素を用いる場合には、酵素の分子量が比較的大きいために抗原抗体反応に影響を及ぼすおそれがあり、色原性基質の添加がさらに必要であるなどの欠点がある。
【０００９】
また、特許文献１に記載の検査装置では、小型化に伴って検査がより簡便に行えるようになり、検査時間の短縮が図れ、１つの検体の検査のみを行う場合にも効率がよいが、１つの検体に対して１種類の検査を行うことしか想定していないため、１回の検査のみで使い捨てにすることは、やはりコストなどの面で不適切である。
【００１０】
そこで本発明の目的は、小型で検体および試薬の必要量が少なく、しかも標識物質を必要としない検査用マイクロチップおよび検査装置と検査方法を提供することにある。また、本発明のもう１つの目的は、１つの検体に対して複数の検査を実質的に同時に行うことができる検査用マイクロチップおよび検査装置と検査方法を提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【００１１】
本発明の検査用マイクロチップは、基板に形成された反応槽部と、該基板に形成されており、少なくとも試薬と検体とをそれぞれ独立して反応槽部に供給可能な流路部と、該基板に形成されており、反応槽部に連通している廃液タンク部と、流路部に設けられており、流体の流通を制御する開閉可能なバルブ部と、反応槽部内に配置されており、試薬内の物質と検体内の物質の少なくともいずれか一方を表面上に捕捉可能であり、かつ試薬内の物質と検体内の物質が結合する反応が行われるステージとなるカンチレバーとを有することを特徴とする。この検査用マイクロチップによると、検査に用いられる試薬および検体の量が少なくてすみ、しかも標識物質を用いることなく検査が行えるため、検査に要するコストが低減できる。また、従来のように標識物質の検知を行うのではなく、反応した物質、例えば抗原抗体錯体自体を直接検知することになるため、検査の信頼性が向上する。そして、流路部から反応槽部に試薬や検体を流すだけで、カンチレバー上に抗体や抗原な

どを付着させることができ、作業が非常に簡単である。流路部は、試薬と検体と洗浄液とをそれぞれ独立して反応槽部に供給可能であることが好ましい。

【００１２】

反応槽部が複数設けられており、互いに独立した複数のカンチレバーが各反応槽部内にそれぞれ配置されていると、単一のマイクロチップを用いて同一の検体に対して複数の異なる検査を実質的に同時にまたは連続的に行うことが可能になるため、非常に効率がよい。

【００１３】

本発明の検査装置は、前記したいずれかの構成の検査用マイクロチップと、反応槽部内を負圧にすることができるポンプと、バルブ部を任意に開閉させることができるバルブ制御手段と、カンチレバーの撓みを検知可能な検知手段とを有することを特徴とする。これによって、前記した効果を容易に達成することができる。

【００１４】

検知手段はカンチレバーの撓みを光学的に検知するものであってもよい。または、検知手段はカンチレバーの撓みを電気抵抗の変化として検知するものであってもよい。

【００１５】

本発明の検査方法は、基板に形成された反応槽部に、該基板に形成された流路部から試薬を供給して、反応槽部内に設けられているカンチレバー上に試薬内の物質を付着させるステップと、反応槽部に流路部から洗浄液を供給して、カンチレバー上に付着している物質のみを残留させ、それ以外の試薬を反応槽部から排出させるステップと、反応槽部に流路部から検体を供給して、検体内の物質を、カンチレバー上に付着している物質と反応させることによってカンチレバー上に捕捉するステップと、検体内の物質がカンチレバー上に捕捉された状態で、カンチレバーの撓み量を測定するステップと、カンチレバーの撓み量に基づいて、検体内の物質の同定および／または定量を行うステップとを含むことを特徴とする。

【００１６】

試薬内の物質と検体内の物質のうちの一方は抗原であり、他方は抗体であってもよい。

【００１７】

流路部から反応槽部への試薬と検体と洗浄液の供給を、反応槽部内を負圧にすることができるポンプと、流路部に設けられており流体の流通を制御する開閉可能なバルブ部とを作動させることによって独立して制御することができる。

【００１８】

バルブ部の開閉のタイミングを制御することによって、試薬内の物質と検体内の物質との反応時間を任意に設定すると、より精緻な検査を行うことができる。

【００１９】

複数の反応槽部を設け、互いに独立した複数のカンチレバーを各反応槽部内にそれぞれ設けておき、各カンチレバー毎に独立して異なる検査を行うと、非常に効率の良い検査が行える。

【発明の効果】

【００２０】

本発明によると、非常に微細なマイクロチップ上で検査が行えるため試薬や検体の量が少なくて済むとともに、標識物質を用いることなく検査が行えるため、検査に要するコストを低減することができる。また、従来のように標識物質の検知を行うのではなく、カンチレバー上の反応物質、例えば抗原抗体錯体自体を直接検知するので、検査の信頼性が向上する。しかも、流路部から反応槽部に向けて試薬や検体を流すだけで、カンチレバー上への物質の付着が行えるため、作業が非常に簡単である。特に、バルブ部とポンプを用いて、同一基板上の流路部から反応槽部へ試薬や検体を供給する構成であると、非常に簡単な構成で容易に作業が行える。同様にして流路部や反応槽部に洗浄液を流すことができると、より効果的である。

【００２１】

複数の反応槽部を設け、各反応槽部内に、互いに独立した複数のカンチレバーをそれぞれ配置して、各カンチレバー毎に独立して異なる検査を行うと、単一のマイクロチップを用いて同一の検体に対して連続的に複数の異なる検査を行うことが可能になるため、非常に効率がよい。その結果、コスト的な効率があまり低下しないため、１個の検査用マイクロチップを１回の使用で使い捨てにするのに適している。

【発明を実施するための最良の形態】

【００２２】

以下、本発明の実施の形態について図面を参照して説明する。

【００２３】

本発明の検査用マイクロチップ１が、図１～４に示されている。その基本構成について説明する。この検査用マイクロチップ１の基部は、樹脂基板２とガラス基板３の積層体からなる。樹脂基板２は、シリコンゴムの一種であるＰＤＭＳ（ポリジメチルシロキサン）からなり、フォトレジストにて形成された反転型の形状を転写されることによって一方の面に凹部が形成されている。そして、この凹部を塞ぐようにガラス基板３が積層され、O_2プラズマボンディング法などによって両基板２，３は互いに接合されている。

【００２４】

図４を参照して、樹脂基板２の一方の面に形成されている凹部について詳細に説明すると、この凹部は、複数の流体供給口５と、単一の廃液タンク部６と、一部が分岐した形状の微細な流路部７と、空気供給路８とからなる。廃液タンク部６は、樹脂基板２がガラス基板３と積層された時にガラス基板３の凹部４と一体化して大容積になる。

【００２５】

流路部７は、複数（図示した例では３つ）に分岐した部分（分岐部分）７ｂと、合流した部分（合流部分）７ａとからなる。分岐部分７ｂの各端部は各流体供給口５にそれぞれ連通しており、合流部分７ａの端部は廃液タンク部６に連通している。流路部７の分岐部分７ｂには、空気供給路８がそれぞれ接続されている。また、流路部７の合流部分７ａは、切欠部２ａの位置において、樹脂基板２がガラス基板３と積層された時にガラス基板３に形成されている凹部９と一体化して大容積の反応槽部１０を構成する。分岐部分７ｂと空気供給路８には、それぞれ大面積のバルブ部１１が中間部に設けられている。後述するが、バルブ部１１は開閉して流体の流通を制御するものである。本実施形態では、樹脂基板２の切欠部２ａとガラス基板３の凹部９が重なった位置において、流路部７中に反応槽部１０が形成されている。

【００２６】

本実施形態では、流路部７のうち３つに分岐した分岐部分７ｂが、それぞれ試薬と洗浄液と検体を、各流体供給口５から供給されて、合流部分７ａを介して反応槽部１０へ独立して供給可能である。試薬が供給される分岐部分７ｂ中には攪拌用の蛇行部１２が、検体が供給される分岐部分７ｂ中にはフィルタ部１３が設けられている。各流体供給口５にはそれぞれ外部から流体を導入可能であり、各空気供給路８にはそれぞれ外部から空気を導入可能な開口８ａが設けられており、さらに廃液タンク部６には、図５，６に示すポンプ１４が接続される開口６ａが設けられている。

【００２７】

本実施形態では、樹脂基板２の切欠部２ａとガラス基板３の凹部９が重なった部分に支持部材１５が配設されて、支持部材１５の端部に設けられている２つのカンチレバー（片持ち梁）１６が、反応槽部１０内に突出している。これらのカンチレバー１６が、後述する検査方法における反応のステージとなる。カンチレバー１６の数は限定されないが、本実施形態では、実際に検査を行うためのカンチレバーと、変位の基準とするための基準カンチレバーとが設けられている。なお、後述するが、１つの検査用マイクロチップ１において実質的に同時に複数の検査を行うために、複数のカンチレバー１６を設けることもできる。

【００２８】

図５，６に概略的に示すように、この検査用マイクロチップ１の開口６ａに、接続管１

９を介してポンプ１４が接続されている。また、各バルブ部１１に対向して、駆動手段１８によって互いに独立して上下動可能な作動棒１７が配置されている。この駆動手段１８と作動棒１７を合わせてバルブ制御手段と総称される。各流体供給口５には、試薬や洗浄液や検体を導入するための導入管２０が接続されている。そして、反応槽部１０内のカンチレバー１６の撓みを検出可能な検知手段２１が設けられている。このようにして本発明の検査装置が構成されている。

【００２９】

この検査装置の作動について簡単に説明すると、ポンプ１４が作動して、廃棄タンク部６を介して流路部７および空気供給部８を吸引すると、反応槽部１０が負圧になり、流体供給口５や空気供給路８からこの検査用マイクロチップ１に供給された様々な流体（試薬や検体や洗浄液など）や空気を、流路部７中の反応槽部１０内に導入することができる。ただし、バルブ部１１上に配置された作動棒１７が駆動手段１８に駆動されて下降して樹脂基板２を１００ｇ～２００ｇ程度の荷重で押圧すると、樹脂基板２が撓んで、流路部７や空気供給路８が部分的に遮蔽され、流体や空気の流通が阻止される。すなわち、駆動手段１８を適宜に作動させて各作動棒１７を選択的に上下させることによって、各バルブ部１１を必要に応じて開閉し、所望の流体または空気を自在に流路部７から反応槽部１０内へ導入可能な構成になっている。

【００３０】

以上説明した構成の、本発明の検査用マイクロチップ１を含む検査装置を用いて免疫検査を行う方法について、図７のフローチャートを参照して説明する。

【００３１】

まず第１に、駆動手段１８を作動させて全ての作動棒１７を下降させて全バルブ部１１を閉じる（ステップＳ１）。そして、各流体供給部５に、検体、洗浄液、試薬をそれぞれ供給する（ステップＳ２）。検体は例えば被験者の血液であり、洗浄液は流路部７およびカンチレバー１６の表面を洗浄可能な液体である。試薬は抗原抗体反応を引き起こすための抗体を含む溶液であるが、この抗体は標識付けられておらず、標識物質は含まれていない。各流体の供給は、例えば図示しないインクジェットヘッドによる滴下であってもよく、供給する流体の量は数μｌ程度でよい。なお、以下の説明において、各バルブ部１１を選択的に開閉させる際には、そのたびに駆動手段１８を作動させていずれかの作動棒１７を選択的に上下させるが、その点については説明を省略する。

【００３２】

全バルブ部１１を閉じたまま、反応槽部１０を含む流路部７をポンプ１４によって実質的に真空に吸引する（ステップＳ３）。次に、洗浄液が供給された流体供給部５に繋がる流路部７のバルブ部１１を開き、洗浄液を流路部７から反応槽部１０内へ供給し、流路部７およびカンチレバー１６の表面を洗浄する（ステップＳ４）。それから、洗浄液が供給された流体供給部５に繋がる流路部７のバルブ部１１を閉じるとともに、そこに接続されている空気供給路８のバルブ部１１を開く。それによって、流入した空気が洗浄液を廃液タンク部６へ押し流す（ステップＳ５）。それから、その空気供給路８のバルブ部１１を閉じて反応槽部１０を含む流路部７を実質的に真空に保つ。

【００３３】

そこで、試薬が供給された流体供給部５に繋がる流路部７のバルブ部１１を開き、試薬を流路部７から反応槽部１０内へ供給する（ステップＳ６）。このとき、試薬は蛇行部１２を通ることによって攪拌され、抗体が溶液内に均等に分散して溶け込んだ状態で反応槽部１０内に供給される。反応槽部１０内では、試薬内の抗体の一部がカンチレバー１６の表面に付着して固相化する（ステップＳ７）。詳述しないが、カンチレバー１６の表面には、公知のいわゆるＳＡＭ（Self-Assembled Monolayer）膜が形成されて活性化されており、抗体と反応してその抗体を捕捉し固相化させる。このとき、所望の量の試薬のみを反応槽部１０内へ供給するために、この流路部のバルブ部１１は一旦開いた後に所定のタイミングで閉じる。そして、この流路部７に接続された空気供給路８のバルブ部１１を開いて、空気によって試薬を廃液タンク部６へ押し流す（ステップＳ８）。これらの一連のバ

ルブ部１１の開閉のタイミングは、カンチレバー１６の表面のＳＡＭ膜と抗体との反応時間を適切に制御するように設定される。

【００３４】

それから、洗浄液が供給された流体供給部５に繋がる流路部７のバルブ部１１を開き、洗浄液を再び流路部７から反応槽部１０内へ供給し、流路部７およびカンチレバー１６の表面を洗浄する（ステップＳ９）。ステップＳ８，Ｓ９において空気および洗浄液を供給することによって、カンチレバー１６の表面のＳＡＭ膜と反応して固相化した抗体のみを残留させ、カンチレバー１６に付着していない、またはカンチレバー１６の表面上に単に乗っているが反応していない抗体と、抗体が溶け込んでいた溶液を、廃液タンク部６へ押し流す。そして、その空気供給路８のバルブ部１１を閉じて反応槽部１０を含む流路部７を実質的に真空に保つ。

【００３５】

次に、検体（血液）が供給された流体供給部５に繋がる流路部７のバルブ部１１を開き、検体を流路部７から反応槽部１０内へ供給する（ステップＳ１０）。このとき、検体はフィルタ部１３を通ることによって血清のみが分離して反応槽部１０内に供給される。反応槽部１０内では、検体内の抗原が、カンチレバー１６の表面にて固相化した抗体と反応して捕捉される（ステップＳ１１）。すなわち、抗原抗体反応によって生成された錯体がカンチレバー１６上に位置する。それによって、当然カンチレバー１６上に加わる重量が増加するため、カンチレバー１６の撓みが増大する。従って、検知手段２１がカンチレバー１６の撓み量の増加を測定することによって、カンチレバー１６上で固相化した抗体と反応して捕捉された抗原の量が求められる（ステップＳ１２）。なお、前記したように、本実施形態では２本のカンチレバーが設けられており、そのうちの１本は基準カンチレバーである。この基準カンチレバーは、抗原抗体錯体を捕捉しないように構成されている。従って、検査用のカンチレバーと基準カンチレバーとを比較して、検査用のカンチレバーが基準カンチレバーよりも大きく撓んでいることが検知されれば、検査用のカンチレバーに抗原抗体錯体が捕捉されたことが判る。このように、基準カンチレバーを用いることによって、それほど厳密な撓み測定を行う必要はなく、単に基準カンチレバーと比較して撓みの大小を見るだけで、抗原抗体錯体の有無を知ることができる。ただし、基準カンチレバーと検査用カンチレバーの撓み量を厳密に測定して、捕捉された抗原の量を精度よく求めることももちろん可能である。

【００３６】

カンチレバー１６の撓み量を測定する検知手段２１の一例としては、図８に概略的に示すような光学系が挙げられる。この光学的な検知手段２１は、大まかに言うと、発光手段２２とプリズム２３と受光素子２４とからなり、発光手段２２からプリズム２３を介してカンチレバー１６に光を照射して、その反射光を受光素子２４によって受光する構成である。前記したように抗原抗体反応によって抗原が捕捉されてカンチレバー１６が撓むと、カンチレバー１６による光の反射角が変わり、受光素子２４の受光位置が変わる。その受光位置のずれによってカンチレバー１６の撓み量を求めることができる。検知手段２１の他の例としては、カンチレバー１６の圧電効果を利用する方法が挙げられる。その方法によると、カンチレバー１６を図示しない電気回路に接続し、撓みに伴う電気抵抗の変動を測定することによって、撓み量を求めることができる。

【００３７】

なお、いずれの場合も、抗原抗体反応が起こる前の、カンチレバー１６上に固相化された抗体のみが存在する場合の撓み量を予め求めておき、それと、抗原抗体反応後の撓み量とを比較することによって、抗原の捕捉による撓み量の増加を知ることができる。カンチレバー１６の撓み量から、抗原抗体反応によって捕捉された抗原の量を求めることができる。従って、所定量の検体中の特定の抗体の同定および定量を行うことができ、それに基づいて、疾患の原因を推定することなどができる。このように抗原抗体反応前のカンチレバーの撓み量を予め求めておくことは、前記したような基準カンチレバーを持たず、検査用の１本のカンチレバーのみが設けられている構成の場合には、特に有効である。

【００３８】
なお、所望の量の検体を反応槽部１０内へ供給するために、この流路部７のバルブ部１１は一旦開いた後に所定のタイミングで閉じる。そして、この流路部７に接続された空気供給路８のバルブ部１１を開いて、空気によって検体を廃液タンク部６へ押し流す。これらの一連のバルブ部１１の開閉のタイミングは、カンチレバー１６上での抗原抗体反応の反応時間を適切に制御するように設定される。
【００３９】
以上説明したような免疫検査をより効率よく行うために、図９に概略的に示すように、複数（図９（ａ），（ｂ）に示す例では５つ）の反応槽部１０Ａ～１０Ｅを設け、複数のカンチレバー１６Ａ～１６Ｅを各反応槽部１０Ａ～１０Ｅ内にそれぞれ配置する構成にすることもできる。その場合、複数の反応槽部１０Ａ～１０Ｅと、各反応槽部１０Ａ～１０Ｅにそれぞれ異なる試薬を供給するために、反応槽部と同数の互いに独立している試薬供給路（図示せず）が形成され、それぞれに空気供給路が付属している。なお、検体や洗浄液は各反応槽部１０Ａ～１０Ｅに共通に供給すればよいので、これらの供給路は１系統であってよい。
【００４０】
この構成によると、各反応槽部１０Ａ～１０Ｅにそれぞれ異なる試薬を供給することによって、各カンチレバー１６Ａ～１６Ｅにそれぞれ異なる種類の抗体を付着させて固相化することができる。そして洗浄した後に、各反応槽部１０Ａ～１０Ｅに同一の検体を供給することによって、１つの検体に対して異なる検査を同時に行うことができる。すなわち、特定の抗体には特定の抗原が反応するため、カンチレバー１６Ａ～１６Ｅ毎に異なる種類の抗体が固相化していると、検体中の異なる種類の抗原が、各カンチレバー１６Ａ～１６Ｅのそれぞれの抗体と抗原抗体反応を起こして捕捉される。もちろん、いずれかのカンチレバー１６Ａ～１６Ｅに固相化されている抗体と反応する抗原が検体中に存在しない場合には、抗原抗体反応は生じずそのカンチレバー１６Ａ～１６Ｅは撓まない。
【００４１】
例えば、図９（ｂ）に示す例では、抗体２７Ａ，２７Ｂ，２７Ｅとそれぞれ反応する抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅが検体中に存在するため、抗原抗体反応を生じてカンチレバー１６Ａ，１６Ｂ，１６Ｅ上に捕捉される。検知手段２１がこのカンチレバー１６Ａ，１６Ｂ，１６Ｅの撓み量を測定することによって、所定量の検体中の抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅの量を求めることができる。一方、抗体２７Ｃ，２７Ｄと反応する抗原は検体中に存在せず、カンチレバー１６Ｃ，１６Ｄ上に抗原は捕捉されない。検知手段２１がカンチレバー１６Ｃ，１６Ｄの撓み量が変化していないことを検知することによって、抗体２７Ｃ，２７Ｄと反応する抗原が検体中に存在しないことが検知される。
【００４２】
なお、図９には概略的に示しているが、実際には、各抗体２７Ａ～２７Ｅの質量や各抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅの質量がそれぞれ異なるため、各カンチレバー１６Ａ～１６Ｅは図９に示すように一様な撓み量を示すわけではない。また、各カンチレバー１６Ａ，１６Ｂ，１６Ｅ上の抗体２７Ａ，２７Ｂ，２７Ｅと反応して捕捉される抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅの量がそれぞれ異なり、各カンチレバー１６Ａ，１６Ｂ，１６Ｅの撓み量はそれぞれ異なる。
【００４３】
従って、各カンチレバー１６Ａ～１６Ｅ上に各抗体２７Ａ～２７Ｅが付着した状態と検体を供給した後の状態とのカンチレバーの撓み量の差を求めることによって、各抗体２７Ａ～２７Ｅと反応する抗原が検体中に存在するかどうかを求めることができる。さらに、検体中に存在すると認められた抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅに関しては、各抗体２７Ａ，２７Ｂ，２７Ｅと各抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅの質量に基づいて、所定量の検体中に存在する各抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅのそれぞれの含有量を割り出すことができる。例えば、仮に各抗原２８Ａ，２８Ｂ，２８Ｅが同程度の質量であったとすると、検体中には、最も撓み量の大きいカンチレバー１６Ａに捕捉された抗原２８Ａが最も多く存在し、最も

撓み量の小さいカンチレバー１６Ｂに捕捉された抗原２８Ｂが最も少なく存在することが判る。もちろん、実際には、各抗体と各抗原のそれぞれの質量に基づいて、検体中の各抗原の含有量は精緻に求められる。なお、前記した説明においてカンチレバーの撓みを検知すると述べているのは、撓み量の変化量を検知することを含むものである。

【００４４】

図９（ａ），（ｂ）に示すように５つのカンチレバー１６Ａ～１６Ｅを用いて検査を行う場合に、抗原抗体反応が生じない基準状態を示すために、図１～３に示す構成と同様に基準カンチレバー１６Ｆを設けることもできる（図９（ｃ）参照）。この構成によると、各カンチレバー１６Ａ～１６Ｅの撓みを基準カンチレバー１６Ｆと比較することによって、撓み量の変動を正確に容易に知ることができ、準備作業を簡素化することができる。なお、基準カンチレバー１６Ｆは、図９（ｃ）に示すように複数設けられていても、１つのみ設けられていてもよい。また、図９（ｃ）に示す構成では、基準カンチレバー１６Ｆのための反応槽部１０Ｆが設けられている。しかし、基準カンチレバー１６Ｆは、他の反応槽部、例えば反応槽部１０Ａや１０Ｅ内に配設してもよい。その場合、その反応槽部、例えば反応槽部１０Ａや１０Ｅは大容積に形成される。

【００４５】

本発明は、以上説明した原理によって、検体中の抗体または抗原の同定および／または定量を行うことができる。特に、複数の反応槽部が設けられ、互いに独立した複数のカンチレバー１６が各反応槽部内にそれぞれ設けられている構成であると、１つの検査装置で一度に多数の抗原および抗体の検査が行える。その結果、複数の検査装置を用いる必要がなく、検査時間が短く、試薬や検体の量を大幅に減少させることができ、非常に効率のよい検査が行える。コスト効率が非常によいため、検査用マイクロチップを１回の検査で使い捨てにする場合にも適している。

【００４６】

図１０には、本発明の検査装置をパッケージングして汎用的に使用できるようにした状態を示している。すなわち、取り扱いが容易なパッケージ２９の内部に、前記したようなバルブ制御手段（例えば作動棒１７および駆動手段１８）と、ポンプ１４と、検知手段２１が内蔵されており、検査結果を画面に表示可能な表示手段３０と、使用者が様々な検査条件を設定するための入力手段３１と、試薬導入口３２および検体導入口３３と、検査用マイクロチップ挿入口３４が設けられている。

【００４７】

図１０に示すパッケージングされた検査装置を用いる場合には、図１～６に示しているのと同様な構成の検査用マイクロチップ１を検査用マイクロチップ挿入口３４に挿入するとともに、試薬を収容している試薬タンク３５を試薬導入口３２に、検体を収容している検体タンク３６を検体導入口３３にそれぞれ装着する。これによって、試薬タンク３５に収容されている試薬が、試薬導入口３２から、図５，６に示す導入管２０を介して流体供給口５へ導かれ、同様に、検体タンク３６に収容されている検体が、検体導入口３３から、他の導入管２０を介して他の流体供給口５へ導かれる。洗浄液はパッケージ２９内に設けられている図示しない洗浄液タンクから、さらに他の液体供給口５に導かれる。そして、入力手段３１から入力された条件に従って前記したのと同様な検査が行われ、その検査データを図示しない分析手段が分析して、分析結果が表示手段３０に表示される。

【００４８】

検査が終了すると、試薬タンク３５および検体タンク３６を試薬導入口３２および検体導入口３３から取り外すとともに、検査用マイクロチップ１を検査用マイクロチップ挿入口３４から抜き取る。次の検査を行う場合には、新たな試薬タンク３５と検体タンク３６と検査用マイクロチップ１をパッケージ２９に装着して行う。ただし、同一の試薬または検体を再度用いる場合には、試薬タンク３５または検体タンク３６を取り外す必要はない。取り外された検査済みの検査用マイクロチップ１は廃棄してもよい。

【００４９】

なお、以上の説明では、抗原抗体反応を用いた検査について説明したが、本発明は、こ

れに限定されるものではなく、特定の反応を行う物質の組み合わせに基づく様々な検査に応用することができる。また、抗原抗体反応を利用する場合にも、カンチレバーに抗原を付着させる場合と抗体を付着させる場合が考えられ、また、検体中の抗体を検知する場合と抗原を検知する場合が考えられる。

【図面の簡単な説明】

【００５０】

【図１】本発明の検査用マイクロチップの斜視図である。

【図２】（ａ）は図１に示す検査用マイクロチップの平面図、（ｂ）はその正面図である。

【図３】図１に示す検査用マイクロチップの分解斜視図である。

【図４】（ａ）は図１に示す検査用マイクロチップの樹脂基板の平面図、（ｂ）はその裏面図、（ｃ）はその斜視図である。

【図５】図１に示す検査用マイクロチップを含む検査装置の概略斜視図である。

【図６】（ａ）は図５に示す検査装置の概略平面図、（ｂ）はその概略正面図である。

【図７】本発明の検査装置を用いた検査方法のフローチャートである。

【図８】図５に示す検査装置の検知手段の一例を説明する概略斜視図である。

【図９】（ａ）～（ｃ）は複数のカンチレバーを有する検査装置による検査方法を説明するための要部拡大図である。

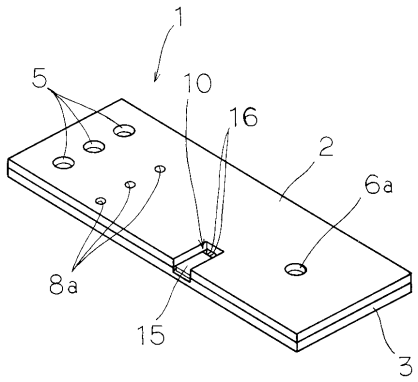
【図１０】パッケージ化された本発明の検査装置の斜視図である。

【符号の説明】

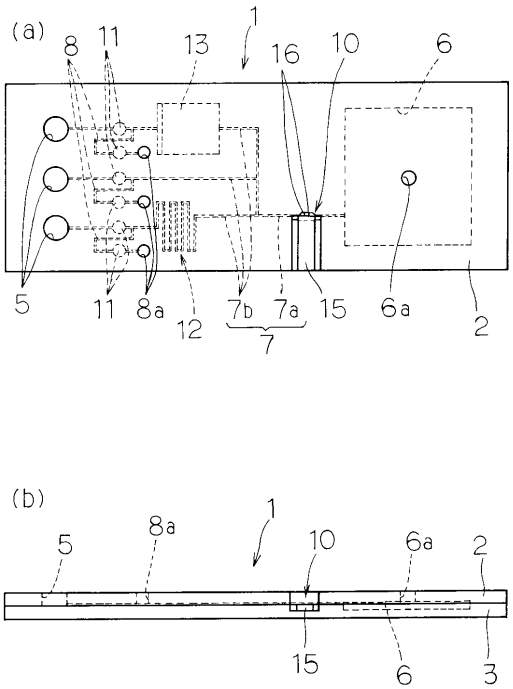
【００５１】

１　検査用マイクロチップ
２　樹脂基板
３　ガラス基板
５　流体供給口
６　廃液タンク部
７　流路部
７ａ　合流部分
７ｂ　分岐部分
８　空気供給路
１０　反応槽部
１１　バルブ部
１４　ポンプ
１６，１６Ａ～１６Ｅ　カンチレバー
１７　作動棒
１８　駆動手段
２１　検知手段
２２　発光手段
２３　プリズム
２４　受光素子
２６Ａ～２６Ｅ　ＳＡＭ膜
２７Ａ～２７Ｅ　抗体
２８Ａ，２５Ｂ，２８Ｅ　抗原

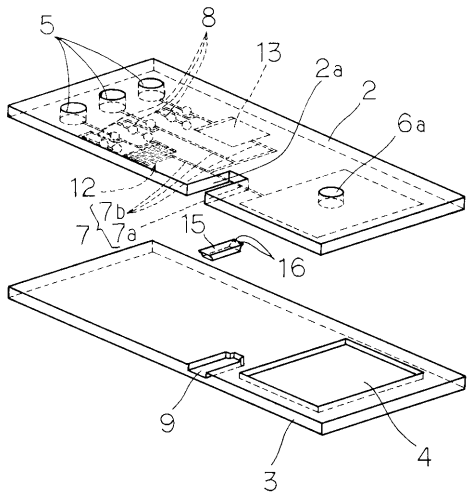
【図１】


1
5
10
16
2
6a
8a
15
3

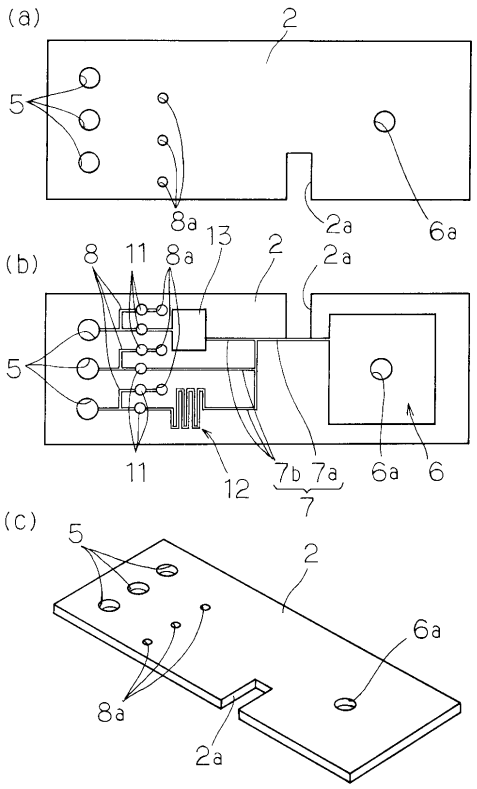
【図２】


(a)
1
8
11
13
16
10
6
5
11
8a
12
7b
7a
7
15
6a
2
(b)
1
8a
5
10
6a
2
15
6
3

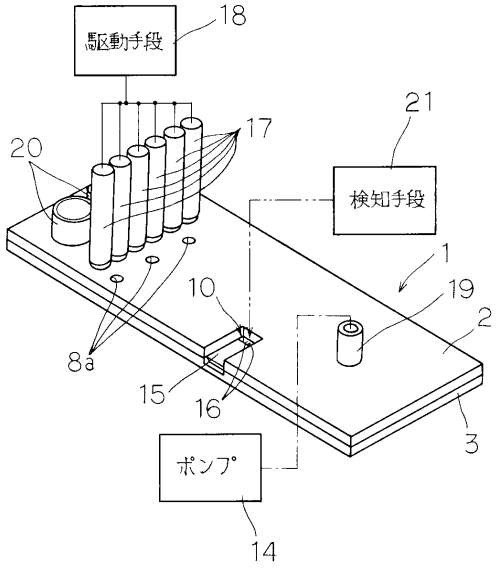
【図３】


5
8
13
2a
2
6a
12
7b
7
7a
15
16
9
4
3

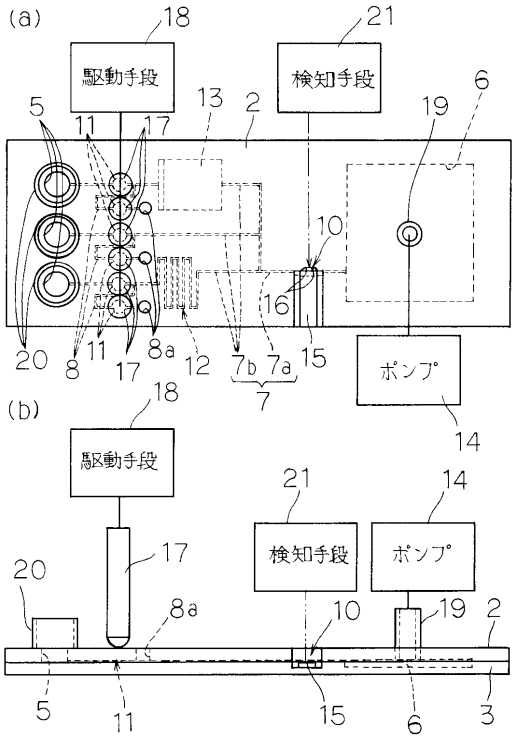
【図４】


(a)
2
5
8a
2a
6a
(b)
8
11
8a
13
2
2a
5
11
12
7b
7a
7
6a
6
(c)
5
2
6a
8a
2a

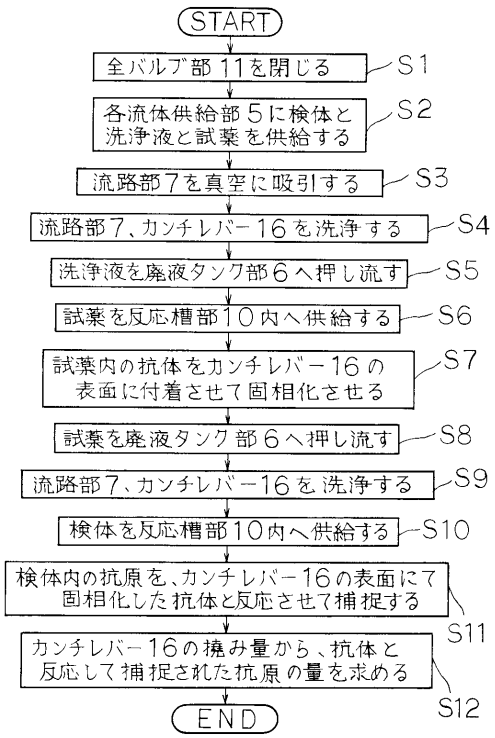
【図５】


駆動手段
18
21
検知手段
17
20
1
19
2
10
8a
15
16
3
ポンプ
14

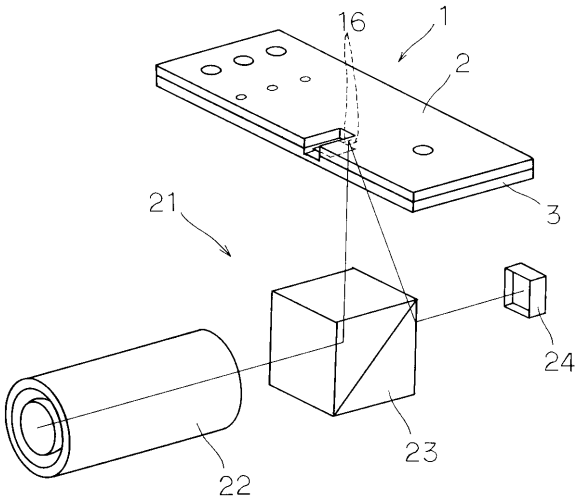
【図６】


(a)
18
駆動手段
21
検知手段
6
5
11
17
13
2
19
10
16
20
8
11
17
8a
12
7b
7a
15
7
ポンプ
14
(b)
18
駆動手段
21
検知手段
14
ポンプ
17
20
8a
10
19
2
5
11
15
6
3

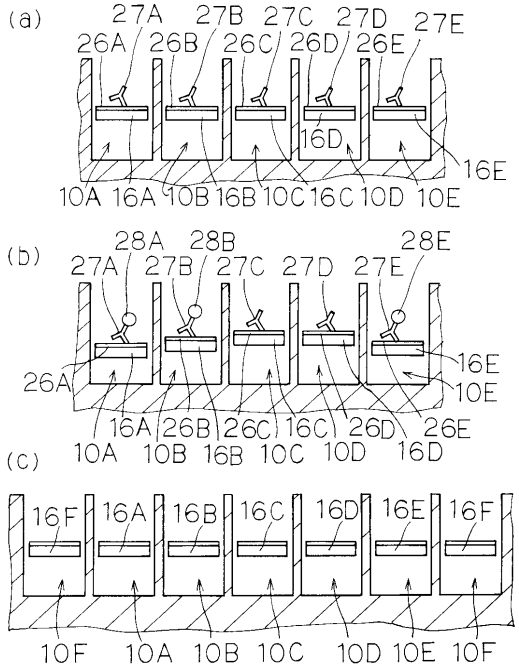
【図７】


START
全バルブ部11を閉じる
S1
各流体供給部5に検体と洗浄液と試薬を供給する
S2
流路部7を真空に吸引する
S3
流路部7、カンチレバー16を洗浄する
S4
洗浄液を廃液タンク部6へ押し流す
S5
試薬を反応槽部10内へ供給する
S6
試薬内の抗体をカンチレバー16の表面に付着させて固相化させる
S7
試薬を廃液タンク部6へ押し流す
S8
流路部7、カンチレバー16を洗浄する
S9
検体を反応槽部10内へ供給する
S10
検体内の抗原を、カンチレバー16の表面にて固相化した抗体と反応させて捕捉する
S11
カンチレバー16の撓み量から、抗体と反応して捕捉された抗原の量を求める
S12
END

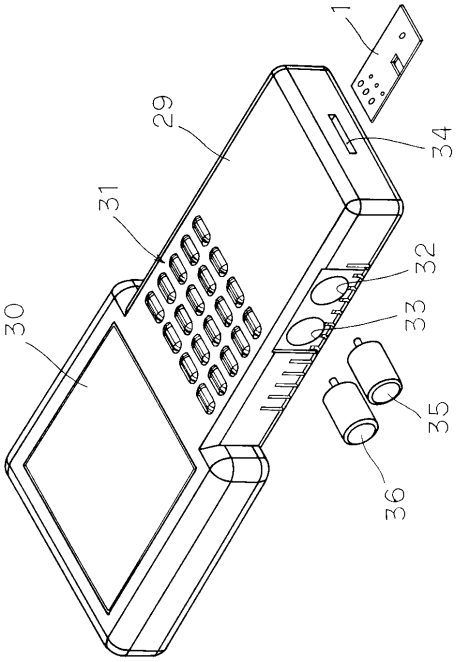
【図８】


16
1
2
3
21
24
23
22

【図９】


(a)
27A 27B 27C 27D 27E
26A 26B 26C 26D 26E
16D
16E
10A 16A 10B 16B 10C 16C 10D 10E
(b)
28A 28B 28E
27A 27B 27C 27D 27E
16E
26A
10E
16A 26B 26C 16C 26D 26E
10A 10B 16B 10C 10D 16D
(c)
16F 16A 16B 16C 16D 16E 16F
10F 10A 10B 10C 10D 10E 10F

【図１０】


1
29
34
31
32
30
33
35
36

フロントページの続き

(72)発明者　前田　英孝
千葉県千葉市美浜区中瀬１丁目８番地　セイコーインスツルメンツ株式会社内

審査官　▲高▼見　重雄

(56)参考文献　特開２００２－２３６１３１（ＪＰ，Ａ）
特開２００１－００４６２８（ＪＰ，Ａ）
特表２００２－５０１１９８（ＪＰ，Ａ）
国際公開第０１／０３３２２６（WO，Ａ１）
国際公開第９８／０５０７７３（WO，Ａ１）
国際公開第００／０１４５３９（WO，Ａ１）
国際公開第００／０５８７２９（WO，Ａ１）
米国特許第０５８０７７５８（ＵＳ，Ａ）
特開２００３－３０２３３０（ＪＰ，Ａ）
特表２００４－５０６８７２（ＪＰ，Ａ）
特開平１０－０２６６２５（ＪＰ，Ａ）
特開２００４－１２５７０６（ＪＰ，Ａ）
Kyo Seon Hwang, Jeong Hoon Lee, Jaebum Park, Jung Ho Park, Tae Song Kim, Protein mass detection system in liquid for prostate-specific antigen (PSA) using PDMS liquid cell by resonant frequency shift of micromachined PZT cantilever, Micro Total Analysis Systems 2003, 米国, 2003年10月 5日, VOL. 2, P. 1267-1269, Squaw Valley, California, USA

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　３５／００－３７／００
Ｇ０１Ｎ　　５／０２
Ｇ０１Ｎ　３３／４８３