

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4075765号
(P4075765)

(45) 発行日 平成20年4月16日(2008.4.16)

(24) 登録日 平成20年2月8日(2008.2.8)

(51) Int.Cl.		F I	
GO 1 N 35/08	(2006.01)	GO 1 N 35/08	
BO 1 D 57/02	(2006.01)	BO 1 D 57/02	
BS 1 C 1/00	(2006.01)	BS 1 C 1/00	
GO 1 N 37/00	(2006.01)	GO 1 N 37/00	1 0 1

請求項の数 24 (全 42 頁)

(21) 出願番号	特願2003-365142 (P2003-365142)	(73) 特許権者	000004237
(22) 出願日	平成15年10月24日(2003.10.24)		日本電気株式会社
(65) 公開番号	特開2004-170396 (P2004-170396A)		東京都港区芝五丁目7番1号
(43) 公開日	平成16年6月17日(2004.6.17)	(74) 代理人	100110928
審査請求日	平成18年9月11日(2006.9.11)		弁理士 速水 進治
(31) 優先権主張番号	特願2002-316872 (P2002-316872)	(72) 発明者	佐野 亨
(32) 優先日	平成14年10月30日(2002.10.30)		東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	馬場 雅和
			東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
		(72) 発明者	飯田 一浩
			東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分離装置およびその製造方法、ならびに分析システム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

試料の通る流路と、
前記流路の延在方向に沿って設けられて前記流路の内部を外部から区画する隔壁部と、
該流路中に設けられた試料分離領域と、
を備え、

前記試料分離領域において、前記隔壁部の壁面に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部（複数のピラー型又はホール型のナノ人工構造物の利用により疎密構造の捕捉部を構成したものを除く）が設けられ、

前記捕捉部は、前記流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成されたことを特徴とする分離装置。

10

【請求項2】

請求項1に記載の分離装置において、複数の前記捕捉部が設けられたことを特徴とする分離装置。

【請求項3】

請求項1または2に記載の分離装置において、前記捕捉部は、前記流路の延在方向に対して垂直な方向に、幅狭に形成されたことを特徴とする分離装置。

【請求項4】

請求項1乃至3いずれかに記載の分離装置において、前記捕捉部は、前記隔壁部に設けられたくぼみ部であることを特徴とする分離装置。

20

【請求項 5】

請求項 1 乃至 4 いずれかに記載の分離装置において、
基板の表面に形成され、開口部を有する前記流路と、
前記開口部を被覆する蓋部と、
を有し、
前記蓋部が前記隔壁部の一部をなし、
前記基板と前記蓋部との間隙部が前記捕捉部を構成することを特徴とする分離装置。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の分離装置において、前記蓋部にくぼみ部が設けられたことを特徴とする分離装置。

10

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 いずれかに記載の分離装置において、
前記隔壁部の前記壁面が、前記捕捉部に対して凸曲面を有することを特徴とする分離装置。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 いずれかに記載の分離装置において、
前記隔壁部の前記壁面が、前記捕捉部に対して凹曲面を有することを特徴とする分離装置。

【請求項 9】

請求項 1 乃至 8 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路の下流側において、上流側よりも大きい前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

20

【請求項 10】

請求項 1 乃至 9 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路の下流側において、上流側に形成された前記捕捉部の開口幅よりも広い開口幅を有する前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

【請求項 11】

請求項 1 乃至 10 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路の下流側において、上流側に形成された前記捕捉部の奥行きよりも小さい奥行きを有する前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

30

【請求項 12】

請求項 1 乃至 11 いずれかに記載の分離装置において、
前記試料分離領域において、前記流路は、前記隔壁部により区画された複数の幅広部を有し、前記幅広部は前記試料分離領域の他の領域よりも幅が広く形成されたことを特徴とする分離装置。

【請求項 13】

請求項 1 乃至 12 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路は、試料の流れる方向に沿って広幅部および狭幅部を交互に有することを特徴とする分離装置。

【請求項 14】

試料の通る流路と、
該流路中に設けられた試料分離領域と、
を備え、
前記試料分離領域において、前記流路は、
複数の並行流路と、
前記流路の延在方向に沿って設けられて前記複数の並行流路を分断する隔壁部と、
各前記複数の並行流路の側方において、前記隔壁部の壁面に形成され、前記試料中の特定成分を捕捉する複数の捕捉部（複数のピラー型又はホール型のナノ人工構造物の利用により疎密構造の捕捉部を構成したものを除く）と、
を含み、

40

50

前記捕捉部は、前記並行流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成されたことを特徴とする分離装置。

【請求項 1 5】

請求項 1 乃至 1 4 いずれかに記載の分離装置において、
前記試料分離領域において、前記試料に対して前記流路の幅方向に外力を付与する幅方向外力付与手段をさらに備えたことを特徴とする分離装置。

【請求項 1 6】

請求項 1 乃至 1 5 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路と、前記試料分離領域とをそれぞれ複数と、
前記試料に対して前記流路の長さ方向に外力を付与して前記試料を前記複数の流路において異なる速度で移動せしめる外力付与手段と、
を備えたことを特徴とする分離装置。

10

【請求項 1 7】

請求項 1 乃至 1 6 いずれかに記載の分離装置において、
前記流路は、基板上に形成された溝部であって、
当該分離装置は、前記流路に試料を導く試料導入部と、前記流路中に設けられた、試料を複数の成分に分離する試料分離領域と、前記試料分離領域で分離された試料を分析または分取する試料回収部と、をさらに備えたことを特徴とする分離装置。

【請求項 1 8】

特定成分を検出するための分析システムであって、請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置と、当該分離装置により分離された前記特定成分を検出するための検出部と、を含むことを特徴とする分析システム。

20

【請求項 1 9】

請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置の製造方法であって、
基板上に前記流路となる溝部を形成し、前記溝部において、前記基板に複数のくぼみ部を形成する工程と、
複数の前記くぼみ部の表面を酸化して各前記くぼみ部の表面に酸化膜を成長させて曲面を有する前記捕捉部を形成する工程と、
を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置の製造方法であって、
基板上に複数の柱状体が互いに間隔を隔てるように形成する工程と、
前記柱状体の側面を酸化して柱状体の側面に酸化膜を成長させ、前記柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に曲面を有する前記捕捉部を形成する工程と、
を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

30

【請求項 2 1】

請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置の製造方法であって、
基板表面にレジスト膜を形成する工程と、凹凸の設けられた成型面をレジスト膜に当接させた状態で加圧し、レジスト膜に凹凸形状を付与する工程と、
前記凹凸形状の凹部に形成されたレジスト膜を除去し、レジスト開口部を設ける工程と

40

開口部の設けられたレジスト膜をマスクとして基板をエッチングし、前記捕捉部を形成する工程と、
を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

【請求項 2 2】

請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置の製造方法であって、少なくとも表面部分が樹脂材料により構成された基板に対し、凹凸の設けられた成型面を当接させた状態で加圧することにより、表面部分に前記捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法。

【請求項 2 3】

50

請求項 1 乃至 1 7 いずれかに記載の分離装置の製造方法であって、
基板の表面に、前記流路となる溝部を形成するとともに、前記溝部の表面にくぼみ部を形成する工程と、

前記試料分離領域において、前記基板上に被覆を配設し、前記くぼみ部と前記被覆との間に前記捕捉部を形成する工程と、
を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

【請求項 2 4】

請求項 1 9 乃至 2 3 いずれかに記載の分離装置の製造方法において、複数の前記捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、試料を分離する装置および方法に関し、さらに詳細には、微小スケールで様々なサイズの核酸断片をはじめとする物質、例えば細胞、核酸断片、あるいは、アミノ酸、ペプチド、タンパク質などの有機分子、金属イオン、コロイド、ラテックスビーズなどを分離する際などに用いて好適な分離装置および分離方法に関する。

【背景技術】

【0002】

細胞や核酸、タンパク質など生体物質の分析では、試料をあらかじめ分離精製したり、試料をサイズや電荷に応じて分離する操作が行われる。たとえば、DNA の塩基配列を決定する方法として、ジデオキシ法（サンガー法）が広く利用されている。サンガー法では、目的の 1 本鎖 DNA を鋳型として Taq ポリメラーゼと 4 種のデオキシリボヌクレオチドを用いて相補 DNA を合成する際、4 種のうち 1 種のジデオキシリボヌクレオチドを加えて DNA 合成を阻害させ、様々な長さのフラグメントを合成する。この反応をそれぞれ上記の 4 種類について行い、1 塩基の差で分けられる分解能をもったポリアクリルアミド電気泳動装置にかけて分離して DNA 配列を明らかにする。こうした分離操作は、分析時間の長短を決定する重要な因子となっており、分離に要する時間を短縮することは、この分野における重要な技術的課題となっている。この目的のため、十分に高い分離能を有し、この結果、短時間でも所望の物質を正確に分離できる分離装置の開発が望まれている。

20

【0003】

30

従来、分離装置として、超遠心分離装置やキャピラリ電気泳動装置が広く用いられてきた。しかしながら、超遠心分離装置やキャピラリ電気泳動は、分離に長時間を要する上、試料が大量に必要となる。また、分解能についても、必ずしも満足できる水準にはない。

【0004】

一方、目的物質を分離する装置として、米国特許第 6, 027, 623 号には、多数の障害物 (obstacle) をマトリクス状に配置し、DNA 分子の長さの違いによって DNA 分子を分離する分離装置が開示されている。ここでは、複数の障害物のコラム (columns) により境界付けられた複数の流体チャネル (fluid channel) と複数の障害物の列 (rows) により境界付けられた複数の流体通路 (fluid passageway) が形成されている。電界がかけられると、障害物の行間の流体チャネルを分子が通過するが、分子は障害物の後壁部分に押し返されて複数の液体チャネル間に拡散される。分子の拡散速度は分子のサイズやその他の物理特性に依存するため、異なる分子を分離することができる。このとき、小さい分子はより速く拡散するため、流体チャネル中で拡散される時間が長くなる。

40

【0005】

【特許文献 1】米国特許第 6, 027, 623 号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながらこの技術においては、多数の障害物を狭い間隔で精密に作製することが困難なため、障害物の間隔を十分に小さくすることは困難であった。また、多数の微細な障

50

害物がマトリクス状に形成された構成となっているため、分離装置の形成過程や使用段階において、障害物の損傷が生じやすいという問題もあった。また、ここでは、拡散速度の違いを利用して分子の分離が行われているが、分子の拡散速度は分子のサイズだけでなく、種々の物理特性にも依存するため、様々なサイズの分子を含む試料をより精度よく分離するためにはさらに検討が必要である。

【0007】

本発明は上記事情に鑑みなされたものであって、様々なサイズの物質を含む試料を優れた分解能で分離することができる分離技術を提供することを目的とする。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を短時間で分離することができる分離技術を提供することである。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を分離するためのコストを低減することができる技術を提供することである。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を分離するための分離装置を安定的に製造することができる技術を提供することである。

10

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明によれば、試料の通る流路と、流路の延在方向に沿って設けられて流路の内部を外部から区画する隔壁部と、流路中に設けられた試料分離領域と、を備え、試料分離領域において、隔壁部の壁面に、試料中の特定成分を捕捉する捕捉部（複数のピラー型又はホール型のナノ人工構造物の利用により疎密構造の捕捉部を構成したものを除く）が設けられ、捕捉部は、流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成されたことを特徴とする分離装置が提供される。

20

【0009】

本発明において、隔壁部は、流路の内部を外部から区画する部材であって、流路の外部を覆う部材、または流路内を区画する部材である。隔壁部は、単一部材から構成されてもよいし、複数の部材から構成されてもよい。また、捕捉部は試料中の成分が滞留する領域のことである。捕捉部は流路の側方に設けられてよい。流路を通過する試料中の成分はサイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の特定成分を捕捉部に捕捉し、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。このように、捕捉部が隔壁部に形成されるので、試料分離領域を微細な構成としても損傷を低減することができるため、捕捉部を精密に作製することができる。また、損傷を低減できるので、分離装置を安定的に製造することができ、コストを低減することができる。さらに、捕捉部が隔壁部に形成されるので、分離対象の試料に応じて種々の形状の捕捉部を設けることができ、これによりサイズの異なる成分の滞留時間の差を大きく異ならせることができ、分離能を高めることができる。このように分離能を高めることにより、分離に要する時間を短縮することができる、迅速な分離を行うことができる。

30

【0010】

本発明の分離領域において、複数の捕捉部が設けられてもよい。こうすることにより、試料中の成分をさらに確実に分離することができる。

【0011】

本発明の分離装置において、捕捉部は、流路の延在方向に対して垂直な方向に、幅狭に形成されてもよい。こうすることにより、所定の大きさ以下の成分のみが捕捉部に捕捉されるため、試料中の特定成分を確実に分離することができる。このとき、捕捉部は、底面の形状が円形または楕円形となるように形成されていてもよい。このようにすると、試料中の成分の目詰まりが抑制されるため、さらに確実な分離が可能となる。

40

【0012】

また、本発明の分離装置において、捕捉部は、流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成される。ここで、幅とは、分離装置の流路の水平面内および水平面と垂直方向のものを含む。このようにすると、サイズの小さい成分ほど流路の中心から遠ざかった捕捉部の奥深くまで進入することが可能であるため、捕捉部から脱出するのに時間を要する。そのため、サイズの大きい成分ほど速く流路を通過するため、サイズ

50

によって成分を精度よく分離することができる。このように、サイズの大きい成分は比較的スムーズに試料分離領域を通過する方式となるので、目詰まりが発生することなく、スループットが顕著に改善される。

【0013】

本発明の分離装置において、捕捉部は、底面の形状が略三角形となるように形成されてよい。このようにすると、サイズの大きい成分は捕捉部の奥には進入せず、サイズの小さい成分のみが捕捉部の奥深くに進入するので、サイズが異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

【0014】

本発明の分離装置において、隔壁部に、流路の中心に向かって突出する複数の凸部が形成されてよく、捕捉部は、隣り合う凸部の間に形成されてよい。

10

【0015】

本発明の分離装置において、捕捉部は、隔壁部に設けられたくぼみ部であってもよい。ここで、くぼみ部は、流路の中心から遠ざかる方向にくぼんだ領域である。くぼみ部は、隔壁部において、流路の水平面方向にくぼんでいてもよいし、水平面と垂直方向にくぼんでいてもよい。一つのくぼみ部をなす捕捉部が単一の部材により構成されていてもよい。また、一つのくぼみ部が複数の部材の間隙に形成されてもよい。

【0016】

本発明の分離装置において、基板の表面に形成され、開口部を有する流路と、開口部を被覆する蓋部と、を有し、蓋部が隔壁部の一部をなし、基板と蓋部との間隙部が捕捉部を構成することができる。こうすることにより、サイズの小さい成分のみが、基板と蓋部の間隙部に設けられた捕捉部に侵入する構成とすることができる。このため、試料中の成分を、サイズに応じて効率よく分離することができる。

20

【0017】

本発明の分離装置において、捕捉部が、流路の延在方向に沿って延在する構成とすることができる。

【0018】

本発明の分離装置において、隔壁部の壁面が、捕捉部に対して凸曲面を有することができる。これにより、捕捉部の奥部分の幅を狭く形成することができる。このようにすると、サイズの大きい成分は捕捉部の奥には進入せず、サイズの小さい成分のみが捕捉部の奥深くに進入するので、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

30

【0019】

本発明の分離装置において、隔壁部の壁面が、捕捉部に対して凹曲面を有することができる。このようにすると、サイズの比較的大きい分子も捕捉部に進入するが、サイズに応じて進入の程度が少しずつ変わるため、サイズにあまり差がないような成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

【0020】

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側よりも大きい捕捉部が形成されてよい。ここで、大きい捕捉部とは、サイズの大きい試料を捕捉可能に形成されたことをいう。複数の捕捉部は、流路の試料の流れる方向に沿って順次大きくなるように形成することもできる。また、流路の試料の流れる方向に沿って順次大きくなるように形成された捕捉部の間に、適当な大きさの複数の捕捉部が配置された構成とすることもできる。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むと、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるようになるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

40

【0021】

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側に形成された捕捉部の開口幅よりも広い開口幅を有する捕捉部が形成されてよい。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むほど捕捉可能な成分の大きさが大きくなるため、サイズが比

50

較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるようになるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

【0022】

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側に形成された捕捉部の奥行きよりも小さい奥行きを有する捕捉部が形成されてよい。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むほど捕捉可能な成分の大きさが大きくなるため、サイズが較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるようになるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

【0023】

本発明の分離装置において、試料分離領域において、流路は、隔壁部により区画された複数の幅広部を有し、幅広部は試料分離領域の他の領域よりも幅が広く形成されたことを特徴とする分離装置が提供される。

10

【0024】

このようにすれば、幅が広く形成された領域において、試料中の成分が滞留する。このため、幅広部が捕捉部として、試料中の成分を捕捉する構成とすることができる。試料中の成分のサイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。

【0025】

本発明の分離装置において、流路は、試料の流れる方向に沿って広幅部および狭幅部を交互に有することができる。このようにすれば、広幅部において、試料中の成分が滞留し、サイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。

20

【0026】

本発明の分離装置において、試料分離領域は、連続的に拡大および縮小するように形成することができる。

【0027】

本発明の分離装置において、試料分離領域は、段階的に拡大および縮小するように形成することができる。

【0028】

本発明によれば、試料の通る流路と、該流路中に設けられた試料分離領域と、を備え、試料分離領域において、流路は、複数の並行流路と、流路の延在方向に沿って設けられて複数の並行流路を分断する隔壁部と、各複数の並行流路の側方において、隔壁部の壁面に形成され、試料中の特定成分を捕捉する複数の捕捉部（複数のピラー型又はホール型のナノ人工構造物の利用により疎密構造の捕捉部を構成したものを除く）と、を含み、捕捉部は、並行流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成されたことを特徴とする分離装置が提供される。ここで、捕捉部は、隔壁部または流路の側壁のいずれか一方または両方に形成することができる。

30

【0029】

本発明の分離装置において、複数の並行流路において、捕捉部は、異なる大きさ、形状、またはパターンで形成されてよい。このようにすれば、種々の条件で同時に試料を分離することができる。

40

【0031】

本発明の分離装置は、試料分離領域において、試料に対して流路の幅方向に外力を付与する幅方向外力付与手段をさらに備えることができる。外力は、例えば電圧、圧力等とすることができる。外力が電圧の場合、幅方向外力付与手段は電極を含むことができる。試料の幅方向に外力を付与することにより、試料中の成分が捕捉部に捕捉されやすくなり、試料中の成分を精度よく分離することができる。

【0032】

本発明の分離装置において、流路と、試料分離領域とをそれぞれ複数と、試料に対して流路の長さ方向に外力を付与して試料を複数の流路において異なる速度で移動せしめる外

50

力付与手段と、を備えていてもよい。外力は、例えば電圧、圧力、毛細管現象とすることができる。外力が電圧の場合、外力付与手段は電極を含むことができる。

【0033】

このようにすれば、試料の分離を種々の条件で並行して行うことができるので、以下のような効果を生じる。

(1) 分離装置により試料中の成分の分離を行う際、分離中の成分の移動速度によって、最も精度よく分離される成分のサイズが異なる。たとえば移動速度が速い場合、サイズが大きめの成分の分離を精度よく行うことができる。一方、移動速度が遅い場合、サイズが小さめの成分の分離を精度よく行うことができる。したがって、複数の試料分離領域に異なる電圧を応じて試料の移動速度を異ならせることにより、いずれかの試料分離領域において、注目する成分と同等のサイズの成分を精度よく分離することができる。

10

(2) 試料中の成分の移動度 μ は、 $v = E \mu$ (E は電場、 v は成分の速度) と表すことができる。複数の試料分離領域における成分のピーク位置と付与した外力の関係を示す直線の傾きから、より正確な移動度 μ を求めることができる。

【0034】

本発明の分離装置において、流路は、基板上に形成された溝部であってよく、当該分離装置は、流路に試料を導く試料導入部と、流路中に設けられた、試料を複数の成分に分離する試料分離領域と、試料分離領域で分離された試料を分析または分取する試料回収部と、をさらに備えることができる。このようにすれば、基板上で試料の分離、分析および回収を行うことができるので、スループットを改善することができる。さらに、様々なサイズの物質を含む試料を分離するためのコストを低減することもできる。

20

【0035】

本発明によれば、特定成分を検出するための分析システムであって、上述したいずれかの分離装置と、当該分離装置により分離された特定成分を検出するための検出部と、を含むことを特徴とする分析システムが提供される。ここで、分析システムは、検出部および分離装置に加え、注入部、イオン化部、および分析部をさらに含む質量分析システムとすることができる。さらに、分析システムは、GC部またはLC装置を含むGC-MS分析装置またはLC-MS分析装置とすることもできる。

【0036】

本発明の分離装置において分離対象となる試料としては、微小スケールで様々なサイズの核酸断片をはじめとする核酸、あるいは、アミノ酸、ペプチド、タンパク質などの有機分子、金属イオン、コロイド、ラテックスビーズ等が挙げられる。このうち、たとえば核酸またはタンパク質を試料とした場合、より効果的である。これらの試料の分離に際しては、小さいサイズの分子を高い分解能で分離しなければならないため、数百ナノメートルオーダー以下の微小な間隙が設けられた構造が必須となる。一方、巨大物質による目詰まりを効果的に抑制することも要求される。本発明によれば、これらの要求の双方に充分に対応できるため、核酸またはタンパク質の分離に好適である。

30

【0037】

本発明の分離装置において、捕捉部の表面は親水性膜で覆うことができる。親水性膜としては、たとえば捕捉部を構成する材料の酸化膜とすることができる。具体的には、基板材料としてシリコンを用い、所定の形状に形成した基板表面に親水性膜としてシリコン酸化膜を設けた構成とすることができる。試料の分離に際しては装置内に緩衝液(水溶液)等を導入することが必要となるが、上記のような構成とすることによって、緩衝液等を装置内部に円滑に導入することができる。また、緩衝液等を導入して実際に装置を使用する際にも、空隙の形成を抑制し、試料の流動を円滑にする等の効果が得られる。

40

【0038】

本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、基板上に流路となる溝部を形成し、溝部において、基板に複数のくぼみ部を形成する工程と、複数のくぼみ部の表面を酸化して各くぼみ部の表面に酸化膜を成長させて曲面を有する捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。ここで、くぼみ部

50

は、流路の中心から遠ざかる方向にくぼんだ形状に形成する。

【0039】

このようにすると、たとえばリソグラフィ工程で凹部を形成した後に、凹部内にシリコン酸化膜を成長させて捕捉部が形成されるので、リソグラフィ工程で捕捉部を形成する場合よりも捕捉部をさらに微細な構造に形成することができる。ここで、くぼみ部の対向する壁面、およびこれらの壁面の間に他の面が存在する場合はその面からシリコン酸化膜を成長させ、これらのシリコン酸化膜が接触して流路から遠ざかるにつれて幅が狭くなる捕捉部が形成される。

【0040】

本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、基板上に複数の柱状体が互いに間隔を隔てるように形成する工程と、柱状体の側面を酸化して柱状体の側面に酸化膜を成長させ、柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に曲面を有する捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。ここで隣り合う柱状体が接するか、または近接する程度にシリコン酸化膜を成長することができる。このようにすると、たとえばリソグラフィ工程で複数の柱状体を形成した後に、柱状体の表面にシリコン酸化膜を成長させて柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に捕捉部が形成されるので、リソグラフィ工程で捕捉部を形成する場合よりも捕捉部をさらに微細な構造に形成することができる。

10

【0041】

本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、基板表面にレジスト膜を形成する工程と、凹凸の設けられた成型面をレジスト膜に当接させた状態で加圧し、レジスト膜に凹凸形状を付与する工程と、凹凸形状の凹部に形成されたレジスト膜を除去し、レジスト開口部を設ける工程と、開口部の設けられたレジスト膜をマスクとして基板をエッチングし、捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

20

【0042】

この本発明によれば、金型の成型面を当接させた状態で加圧することによってレジスト膜へ凹凸形状を付与するため、捕捉部を200nm以下、さらには100nm以下の間隔で精度良く形成することができる。通常、このような微細加工を行う際には、電子線露光によるリソグラフィ工程を経ることが必要となるが、この場合、生産性を十分に高くすることが困難であるという課題を有していた。本発明によれば、このようなリソグラフィ工程が不要となるため生産性が大幅に向上する。なお、本発明におけるレジスト膜は、光や電子線に対する感受性を備えている必要はなく、加熱、加圧により所望の形状に付与され、かつ、ドライエッチング耐性を有する材料により構成されることが望ましい。たとえばポリメチルメタクリレート系樹脂等が好適に用いられる。なお、凹部のレジスト膜の除去は、たとえばアッシングにより実施することができる。

30

【0043】

本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、少なくとも表面部分が樹脂材料により構成された基板に対し、凹凸の設けられた成型面を当接させた状態で加圧することにより、表面部分に捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

40

【0044】

この製造方法によれば、リソグラフィ工程が不要となるため生産性が大幅に向上する。

【0045】

また本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、酸化ケイ素からなる層を備えた基板に対し、当該酸化ケイ素からなる層上にケイ素からなる層を形成する工程と、上記ケイ素からなる層を選択的にエッチングする工程と、当該ケイ素からなる層を熱酸化することにより、当該ケイ素からなる層と上記酸化ケイ素からなる層とを一体化させる工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

【0046】

50

この方法により製造された分離装置における流路表面と基板とは完全に絶縁されているため、特に電界を用いて分離、分析を行う場合に効果的である。またその際には、より高電圧を印加することもできるため、自由度の高い分離、分析を実施することができる。

【0047】

本発明によれば、前記本発明における分離装置の製造方法であって、基板の表面に、流路となる溝部を形成するとともに、溝部の表面にくぼみ部を形成する工程と、試料分離領域において、基板上に被覆を配設し、くぼみ部と被覆との間隙に捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

【0048】

この方法によれば、簡便な方法で安定的に分離装置を製造することができる。また、分離装置の製造コストを低下させることができる。

10

【0049】

本発明の分離装置の製造方法において、複数の前記捕捉部を形成することができる。こうすることにより、試料中の成分をさらに確実に分離できる分離装置を安定的に製造することができる。

【0050】

なお、本発明における分離装置は、試料分離領域を備えているものであればよく、サンプル導入領域や外力付与手段は装置自体に備わっていてもよい。たとえば、本発明における分離装置を使い捨て型のカートリッジタイプとし、これを、所定のユニットに組み込んで使用する方式とすることもできる。

20

【発明の効果】

【0051】

本発明によれば、様々なサイズの物質を含む試料を優れた分解能で分離することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0052】

本発明において、流路や試料分離領域は、シリコン基板や石英等のガラス基板あるいはシリコン樹脂等のプラスチック材料により構成された基板の表面に形成することができる。たとえば、これらの基板の表面に溝部を設け、これを表面部材によって封止し、これらによって囲まれた空間内に流路や試料分離領域を形成することができる。

30

以下、図面を参照して本発明の実施の形態についてさらに説明する。

【0053】

(第一の実施の形態)

図1は、本発明の第一の実施の形態に係る分離装置の一例を示す図である。

基板110上に分離用流路112が形成され、これと交差するように投入用流路111および回収用流路114が形成されている。投入用流路111、分離用流路112および回収用流路114には、それぞれその両端に液溜め102a、液溜め102b、液溜め101a、液溜め101b、液溜め103a、液溜め103bが形成されている。各々の液溜めには電極が設けられており、これを用いて例えば投入用流路111、分離用流路112、および回収用流路114の両端のそれぞれに電界を印加することができる。

40

【0054】

また、分離用流路112には、検出部113が設けられている。装置の外形寸法は用途に応じて適宜な値が選択されるが、通常は、図示したように、縦5mm~50mm、横3mm~50mmの値とする。

【0055】

図2は、図1における液溜め101a付近の拡大図である。また図3は、図2におけるA-A'断面図である。分離用流路112および液溜め101aが設けられた基板110上には、緩衝液を注入できるようにするための開口部802が設けられた被覆801が配設される。また被覆801の上には、外部電源に接続することができるように伝導路803が設けられる。また、電極板804が液溜め101aの壁面と伝導路803とに沿うよ

50

うに配設される。電極板 804 と伝導路 803 とは圧着され、電氣的に接続される。なお、その他の液溜め 101b、102a、102b、103a、および 103b についても同様の構造を有する。

【0056】

図4は、分離装置100の分離用流路112の構造を詳細に示す図である。図4(a)は分離用流路112の斜視図、図4(b)は分離用流路112の上面図である。分離用流路112は、基板120に幅W、深さDの溝部が形成され、この中に2つの隔壁301aおよび隔壁301bが設けられている。隔壁301aおよび隔壁301bは、複数の柱状体302の連なりにより構成される。各柱状体302は、高さdの底面が菱形の四角柱である。複数の柱状体302は、隔壁301aおよび隔壁301bが、それぞれ、開口幅p、奥行きqの捕捉部300を複数有するように配置される。隔壁301aと隔壁301bとの間隔はr、隔壁301aと流路壁129a、または隔壁301bと流路壁129bとの間隔はsである。分離用流路112において、試料は隔壁301aと隔壁301bとの間、または隔壁301aと流路壁129aとの間、または隔壁301bと流路壁129bとの間をそれぞれ通過する。各寸法は、例えば以下の範囲とすることができる。

10

【0057】

W : 10 μ m ~ 30 mm

D : 10 nm ~ 500 μ m

d : 10 nm ~ 5 μ m

p : 10 nm ~ 10 μ m

q : 10 nm ~ 10 μ m

r : 10 nm ~ 10 μ m

s : 5 nm ~ 5 μ m

20

【0058】

本実施の形態において、溝部の幅W、深さD、柱状体302の高さd、捕捉部300の開口幅pおよび奥行きq、隔壁301aと隔壁301bとの間隔r、および隔壁301aまたは隔壁301bと流路壁129aまたは流路壁129bとの間隔sは、分離しようとする成分(核酸、アミノ酸、ペプチド、タンパク質などの有機分子、キレートした金属イオンなどの分子、イオン)のサイズに合わせて適宜選択される。例えば、

(i)細胞とその他の成分の分離、濃縮の場合、

30

W : 3 mm ~ 30 mm

D : 1 μ m ~ 500 μ m

d : 1 μ m ~ 500 μ m

p : 1 μ m ~ 10 μ m

q : 1 μ m ~ 10 μ m

r : 1 μ m ~ 10 μ m

s : 500 nm ~ 5 μ m

(ii)細胞を破壊して得られる成分のうち、固形物(細胞膜の断片、ミトコンドリア、小胞体)と液状分画(細胞質)の分離、濃縮の場合、

40

W : 300 μ m ~ 3 mm

D : 100 nm ~ 50 μ m

d : 100 nm ~ 50 μ m

p : 100 nm ~ 1 μ m

q : 100 nm ~ 1 μ m

r : 100 nm ~ 1 μ m

s : 50 nm ~ 500 nm

(iii)液状分画の成分のうち、高分子量成分(DNA、RNA、タンパク質、糖鎖)と低分子量成分(ステロイド、ブドウ糖等)の分離、濃縮の場合、

W : 30 μ m ~ 300 μ m

D : 10 nm ~ 5 μ m

50

d : 10 nm ~ 5 μm
 p : 10 nm ~ 100 nm
 q : 10 nm ~ 100 nm
 r : 10 nm ~ 100 nm
 s : 5 nm ~ 50 nm

とすることができる。

たとえば、隔壁301aと隔壁301bとの間隔rや隔壁301aまたは隔壁301bと流路壁129aまたは流路壁129bとの間隔sが広すぎると、サイズの小さい分子の分離が充分に行われなくなることがあり、これらの間隔rまたはsが狭すぎると、目詰まりが発生しやすくなる場合がある。これらのサイズを適切に設定することにより、分離能が一層向上する。

10

【0059】

図5は、2つの隔壁301aおよび301b間を試料が通過する様子を示す模式図である。図5に示すように、捕捉部300においては、小さな分子ほど捕捉部300の奥深くまで進入することが可能であるため、捕捉部300から脱出するのに時間を要することとなる。そのため、本実施の形態における分離用流路112では、大きな分子が小さな分子よりも先に通過していく。分子サイズが小さいほど、捕捉部300の奥深くを通過して長い経路を通ることになる一方、大きいサイズの物質は、隔壁301間を円滑に通過するからである。この結果、小さいサイズの物質は、大きいサイズの物質よりも後から排出される形で分離がなされる。サイズの大きい物質は比較的スムーズに分離領域を通過する方式

20

【0060】

ここで、分離用流路112に2つの隔壁301aおよび隔壁301bを設置した場合の図を用いて説明したが、隔壁は2つ以上設けてもよく、一つの隔壁のみ設ける構成としてもよい。また、流路壁129aおよび流路壁129bに複数の捕捉部300を形成する構成とすることもできる。この場合、分離用流路112には隔壁を設けなくてもよい。さらに、ここでは隔壁の両側面に捕捉部300を形成する構成としたが、隔壁の一方のみに捕捉部300を形成する構成とすることもできる。

【0061】

図1に戻り、分離装置100を使って試料の分離を行う方法について説明する。まず試料を液溜め102a、もしくは液溜め102bに注入する。液溜め102aに試料を注入した場合は、液溜め102bの方向へ試料が流れるように電圧を印加し、液溜め102bに注入した場合は、液溜め102aの方向へ試料が流れるように電圧を印加する。これにより、試料は投入用流路111へと流入し、結果的に投入用流路111の全体を満たす。この時、分離用流路112上では、試料は投入用流路111との交点にのみ存在し、投入用流路111の幅程度の狭いバンドを形成している。

30

【0062】

次に、液溜め102aおよび液溜め102b間の電圧印加をやめ、液溜め101aと液溜め101bとの間に、試料が液溜め101bの方向へ流れるように電圧を印加する。これにより試料は分離用流路112を通過する。試料は、分子のサイズと荷電の強さに応じた速度で、分離用流路112を進んでゆく。その結果、試料中の異なる分子群は、それぞれ異なる速度で移動するバンドに分離される。これらの分離されたバンドは、検出部113に至ると、光学的あるいは、他の物理化学的な方法で検出される。光学的検出とは、例えば、分子に蛍光物質を結合させておき、検出部113においてレーザーを照射し、分子から発せられる蛍光を観測することである。分離されたバンドは、さらに、バンドごとに回収することができる。所望のバンドが検出部113を通過したことを目安に、液溜め101aおよび液溜め101b間の電圧印加をやめ、代わりに液溜め103aと液溜め103bとの間に電圧を印加する。すると分離用流路112中と、回収用流路114の交差点に存在するバンドは、回収用流路114に流れこむ。液溜め103aおよび液溜め103b間の電圧印加を一定時間の後に停止すると、液溜め103aまたは液溜め103bに、

40

50

分離されたバンドに含まれる所望の分子が回収される。

【0063】

次に本実施の形態に係る分離装置100の製造方法を図6および図7を参照して説明する。分離装置100は、シリコン基板201表面に溝部(不図示)を設けて図1に示した投入用流路111、分離用流路112、回収用流路114、液溜め101a、101b、102a、102b、103a、103bを形成し、次いで分離用流路112の所定箇所に試料分離領域を形成することにより得られる。以下、分離用流路112の試料分離領域の作製方法を説明する。ここで、図6は、図4(b)に示す分離用流路112の構造におけるB-B'断面図、図7は、図4(b)に示す分離用流路112の構造における上面図である。まず、図6(a)に示すように、シリコン基板201上にシリコン酸化膜202、カリックスアレーン電子ビームネガレジスト203をこの順で形成する。シリコン酸化膜202、カリックスアレーン電子ビームネガレジスト203の膜厚は、40nm、65nmとする。

次に、電子ビーム(EB)を用い、分離用流路112の隔壁301aおよび隔壁301b領域を露光する。現像はアセトンを用いて行い、エタノールによりリンスする。この工程により、図6(b)に示すように、パターンニングされたレジスト204が得られる。このときの上面図を図7(a)に示す。

【0064】

次に、シリコン酸化膜202を CF_4 、 CHF_3 の混合ガスを用いてRIEエッチングする(図6(c))。レジストをアセトン、アルコール、水の混合液を用いた有機洗浄により除去した後、酸化プラズマ処理をする(図6(d))。このときの上面図を図7(b)に示す。つづいて、シリコン基板201をHBrガスを用いてECREッチングする。エッチング後のシリコン基板201のエッチング深さは、たとえば400nm以上1 μ m以下とすることができる(図6(e))。つづいてBHFバッファードフッ酸でウェットエッチングを行い、シリコン酸化膜202を除去する(図6(f))。このときの上面図を図7(c)に示す。

【0065】

その後、シリコン基板201を熱処理により熱酸化すると、シリコン基板201表面が酸化されて酸化膜211が形成され、柱状体が膨張して、隣り合う柱状体どうしが接して隔壁301aおよび隔壁301bが形成される(図6(g))。このときの上面図を図7(d)に示す。このようにシリコン基板201表面を熱処理することにより、分離用流路112に親水性を付与することができる。以上のプロセスにより、図4に示す分離用流路112の構造が作製される。

【0066】

また、たとえば親水基をもつカップリング剤を塗布したり、薬液と接触させることにより化学酸化する等の方法を採用してシリコン基板201表面に親水性処理を行うこともできる。このとき、シリコン基板表面を化学酸化することにより、均一な薄膜を表面に形成することができ好ましい。化学酸化の方法としては、たとえば濃硝酸を用いることができ、2nm程度の薄膜を形成することができる。

【0067】

さらに、流路壁に対してDNAやタンパク質などの分子が粘着することを防ぐために、流路壁に付着防止処理を行うことが好ましい。これにより、分離装置が良好な分離能を発揮することができる。付着防止処理としては、例えば、細胞膜を構成するリン脂質に類似した構造を有する物質を流路壁にコーティングすることが挙げられる。このような物質としてはリビジュア(登録商標、日本油脂社製)などが例示される。リビジュア(登録商標)を用いる場合は、0.5wt%となるようにTBE(トリス-ほう酸-EDTA)などの緩衝液に溶解させ、この溶液を流路内に満たし、数分間放置することによって流路壁をコーティングすることができる。そのようにすることによって、回収したい成分が、たとえばタンパク質などの生体成分である場合、成分の変性を防ぐ効果が発揮されるとともに、装置の流路への成分の非特異吸着を抑制することができるため、回収率を向上することができ

10

20

30

40

50

る。また、流路壁をフッ素系樹脂、あるいは牛血清アルブミンによりコーティングすることによって、DNAなどの分子が流路壁に粘着することを防止することもできる。

【0068】

次に、図8を参照して、本実施の形態に係る分離装置100の他の製造方法を説明する。図6(g)を参照して説明したシリコン基板201の熱酸化時に、酸化条件によっては膜が十分に形成されないこともあり得る。このような場合、電流が基板へ漏れてしまうことから、試料の分離を電気泳動により行う際には必要な電界が得られないことになる。これを回避するために、以下のようにして分離装置100を製造することもできる。

【0069】

まず、シリコン基板201を熱酸化することによりシリコン酸化膜202を形成する。その後、シリコン酸化膜202上に多結晶シリコンを堆積させ、多結晶シリコン膜707を形成する。つづいて多結晶シリコン膜707を熱酸化することにより酸化膜708を形成する(図8(a))。

【0070】

次に、酸化膜708上にカリックスアレーン電子ビームネガレジストを形成し、電子ビーム(EB)を用い、液溜めおよび試料の流路となる領域をパターン露光することによりレジストをパターンニングする。その後、レジストをマスクとして酸化膜708をRIEエッチングし、レジストを除去する(図8(b))。つづいて、エッチングされた酸化膜708をマスクとして多結晶シリコン膜707をECREッチングする(図8(c))。その後、酸化膜708を除去する(図8(d))。つづいて、エッチングされた多結晶シリコン膜707を熱処理により熱酸化すると、多結晶シリコン膜707表面が酸化されて酸化膜709が形成され、柱状体が膨張して、隣り合う柱状体どうしが接して隔壁301aおよび隔壁301bが形成される(図8(e))。このとき、酸化膜709はシリコン酸化膜202と一体化される。

【0071】

上記のようにして加工された分離用流路はシリコン基板201とは完全に絶縁されているため、電気泳動の際の電界を確実に確保することが可能である。

【0072】

なお、上記実施形態におけるシリコン基板201およびシリコン酸化膜202を石英基板で代替してもよい。また、シリコン基板201、シリコン酸化膜202および多結晶シリコン膜707の代わりにSOI(Silicon On Insulator)基板を利用することもできる。

【0073】

図9を参照して、本実施の形態に係る分離装置100のまた別の製造方法を説明する。分離装置100の分離用流路112は、レジストマスクを用いて直接シリコン基板201をエッチングすることにより形成することもできる。まず、シリコン基板201上にレジスト900を形成した後(図9(a))、パターンニングし(図9(b))、これをマスクとしてシリコン基板201をエッチングする(図9(c))。これ以降の処理は、図6(f)および図6(g)を参照して説明したのと同様の手法で行うことができる。

【0074】

図10を参照して、本実施の形態に係る分離装置100のまた別の製造方法を説明する。分離装置100の分離用流路112は、凹凸のある金型等の原盤を基板上のレジスト等に押しつけて加工するナノインプリンティング技術を用いてマスクのパターンニングを行う方法により形成することもできる。まず図10(a)に示すように、表面に樹脂膜160が形成されたシリコンからなるシリコン基板201と、成型面を所定の凹凸形状に加工した金型106とを用意する。ここで、金型106の凹凸形状は、図7(a)に示したような形状とする。樹脂膜160の材質はポリメチルメタクリレート系材料とし、その厚みは200nm程度とする。金型106の材質は特に制限がないが、Si、SiO₂、SiC等を用いることができる。

【0075】

10

20

30

40

50

次いで図10(b)に示すように、金型106成型面を樹脂膜160表面に当接させた状態で加熱しながら加圧する。圧力は600~1900psi程度とし、温度は140~180程度とする。その後、基板を脱型し、酸素プラズマアッシングを行い、樹脂膜160をパターンニングする(図10(c))。

【0076】

つづいて樹脂膜160をマスクとしてシリコン基板201をドライエッチングする。エッチングガスは、たとえばハロゲン系ガスを用いる(図10(d))。これ以降の処理は、図6(f)および図6(g)を参照して説明したのと同様の手法で行うことができる。

【0077】

以上のプロセスにより、図4に示す分離用流路112の構造が作製される。本実施の形態では、電子線露光によるマスク開口部の形成工程が不要となるため、生産性が顕著に向上する。

【0078】

さらに、分離装置100の製造方法の他の例として、金型を用いて直接柱状体302を形成することもできる。具体的には、所定のプラスチック材料を基板上にコートした後、図10に示したのと同様の工程により加工成型することができる。このとき、金型106の凹凸形状は、図7(d)に示したような形状とする。基板上にコートするプラスチック材料は、成型性が良好で、かつ、適度な親水性を有するものが好ましく用いられる。たとえば、ポリビニルアルコール系樹脂、特にエチレン-ビニルアルコール樹脂(EVOH)、ポリエチレンテレフタレート、ポリジメチルシロキサン(PDMS)等が好ましく用いられる。疎水性樹脂であっても、成型後、上記コーティングを行えば流路表面を親水性とすることができるので利用可能である。

【0079】

次に、図4に示した分離用流路112の変形例を図11~図16を参照して説明する。

図4に示した例では、2つの隔壁301aおよび隔壁301bは、それぞれの捕捉部300が互いに対向するように配置されているが、図11に示すように、隔壁301aおよび隔壁301bを、それぞれの捕捉部300が流路の左右に互い違いに配置された構成とすることもできる。この場合、大きな分子は図中波線で示した主流路311を通過していくが、小さな分子は捕捉部300の奥深くまで進行するため、捕捉部300から脱出するのに時間を要する。そのため、この例においても、試料中の成分を分離用流路112により分離することができる。

【0080】

また、図12に示すように、分離用流路112において、隔壁301aおよび隔壁301bをそれぞれ構成する複数の柱状体302は、底面が円形の円柱とすることもできる。このようにすれば、捕捉部300が凸曲面を有する。このようにすると、サイズの大きい分子は捕捉部300の奥には進入せず、サイズの小さい分子のみが捕捉部300の奥深くに進入するので、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。ここでは柱状体302は底面が円形の円柱としたが、柱状体302は、底面が楕円形の円柱とすることもできる。

【0081】

また、隔壁301aおよび隔壁301bは、複数の柱状体302を含む構成に限らず、図13に示すように、捕捉部300が凸曲面を有するように形成することもできる。この場合も、図12に示した例と同様に、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

【0082】

さらに、図14に示すように、隔壁301aおよび隔壁301bは、捕捉部300が凹曲面を有するように形成することもできる。このようにすると、サイズの比較的大きい分子も捕捉部300に進入するが、サイズに応じて進入の程度が少しずつ変わるため、サイズにあまり差がないような成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。このような隔壁301aおよび隔壁301bは、所定形状のマスクを用いた電子ビーム露光により

10

20

30

40

50

形成することができる。また、図15に示すように、シリコン基板201に矩形の凹部を形成した後(図15(a))、等方性エッチングにより凹曲面を有する捕捉部300を形成することもできる(図15(b))。

【0083】

さらに、図16に示すように、隔壁301aおよび隔壁301bは、主流路311から遠ざかる方向に沿って捕捉部300が段階的に縮小する形状となるように形成することもできる。このようにすれば、サイズが小さい分子ほど捕捉部300の奥深くまで進入することが可能であるため、サイズの小さな分子ほど捕捉部300から脱出するのに時間がかかる。これにより、サイズの異なる物質の分離を効果的に行うことができる。

【0084】

さらに、隔壁301aおよび隔壁301bは、図17から図19に示すような形状とすることもできる。ここでは、シリコン基板201をリソグラフィによりそれぞれ図17(a)、図18(a)、および図19(a)に示すように所定形状にエッチングした後、シリコン基板201の側面表面を酸化することにより酸化膜310を形成する。これにより、図17(b)、図18(b)、および図19(b)に示すように幅の狭い捕捉部300を有する隔壁301a(または隔壁301b)を形成することができる。たとえば、図17(c)および(d)に示すように、くぼみ部を微細な構造とした場合は、くぼみ部の対向する壁面およびこれらの壁面の間の面からシリコン酸化膜を成長させ、これらのシリコン酸化膜が接触して流路から遠ざかるにつれて幅が狭くなる捕捉部300が形成される。このようにすれば、リソグラフィでは加工が困難な微細な捕捉部300を形成することができる。

【0085】

また、捕捉部300は、図20に示すように、奥深くに進むほど幅が狭くなる形状とすることもできる。このようにすれば、サイズが小さい分子ほど捕捉部300の奥深くまで進入することが可能であるため、サイズの小さな分子ほど捕捉部300から脱出するのに時間がかかる。これにより、サイズの異なる物質の分離を効果的に行うことができる。

【0086】

(第二の実施の形態)

図21は、本実施の形態における分離用流路112の構造を詳細に示す上面図である。本実施の形態における分離装置の全体構成は図1に示した分離装置100と同様である。また、本実施の形態においても、第一の実施の形態における分離用流路112と同様、分離用流路112には2つの隔壁301aおよび隔壁301bが設けられる。隔壁301aおよび隔壁301bは、それぞれ複数の捕捉部300を有するように形成されるが、分離用流路112の流れ方向の先に進むほど、捕捉部300の開口比(開口幅/奥行き)が大きくなるように形成される。本実施の形態においても、隔壁301aおよび隔壁301bは、複数の柱状体302a、302b、および302cの連なりにより構成される。柱状体302a、302b、および302cは、底面が菱形の四角柱である。ここで、柱状体302a、302b、および302cは、分離用流路112の流れ方向の先に配置されたものほど菱形の鋭角部の角度が大きくなるように形成される。ここでは、柱状体302a、302b、および302cは、高さhが等しく、分離用流路112の流れ方向の先に配置されたものほど幅wが小さくなるように形成される。

【0087】

このようにすれば、たとえば、図中、柱状体302a間に形成された捕捉部300の開口比(開口幅 p_1 /奥行き q_1)は、分離用流路112の流れ方向の先に位置する柱状体302c間に形成された捕捉部300の開口比(開口幅 p_2 /奥行き q_2)より小さい。このように、分離用流路112の試料導入部付近の捕捉部300の開口比を小さくすることにより、試料導入部付近ではサイズの大きい分子は捕捉部300に捕捉されず、速やかに分離用流路112の流れ方向の先に進む。試料が分離用流路112の流れ方向の先に進むほど捕捉部300の開口比が大きくなるため、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部300に捕捉されるようになるので、分子をサイズの

10

20

30

40

50

違いに応じてより精度よく分離することができる。

【0088】

以上の例では、各柱状体302a、302b、および302cの高さhは等しく、分離用流路112の流れ方向の先に進むほど柱状体302a、302b、および302cの幅wが小さくなる構成としたが、図22に示すように、各柱状体302a、302b、および302cの幅wを等しくして、分離用流路112の流れ方向の先に進むほど柱状体302a、302b、および302cの高さhが大きくなる構成とすることもできる。

【0089】

さらに、隔壁301aおよび隔壁301bは、複数の柱状体302を含む構成に限らず、板状の隔壁に凹部または凸部が形成された構成とすることもできる。この場合も、分離用流路112の流れ方向の先に進むほど、捕捉可能な最大分子サイズが大きくなるように形成された捕捉部300を含むことができる。

【0090】

(参考形態)

図23は、本参考形態における分離用流路112の構造を詳細に示す上面図である。本参考形態における分離装置の全体構成は図1に示した分離装置100と同様である。また、本参考形態においても、第一の実施の形態における分離用流路112と同様、分離用流路112には2つの隔壁301aおよび隔壁301bが設けられる。ここでも隔壁301aおよび隔壁301bは、それぞれ、複数の柱状体302により構成され、複数の捕捉部300を有する。本参考形態において、隔壁301aおよび隔壁301bに複数の連通部303が形成される点で第一の実施および第二の実施の形態の形態と異なる。これにより、隔壁301aと隔壁301bとの間の流路、隔壁301aと流路壁129aとの間の流路、流路壁129bと隔壁301bとの間の流路がそれぞれ連通する。連通部303は、本参考形態における分離装置100の分離対象の試料中の成分のうち、サイズの小さい分子が通過できる程度の大きさとするとしてもできるが、それよりもさらに小さい大きさとするとしてもできる。このように隔壁301aおよび隔壁301bに連通部303を設けることにより、流路間の流体の移動を促進することができるので、たとえば分離用流路112で目詰まりなどが起こったときに洗浄して目詰まりを解消できる等、取り扱いを容易にすることができる。

【0091】

図24は、図23に示した分離用流路112の他の例を示す図である。ここで、分離用流路112の流路壁129aおよび流路壁129bには、電極304aおよび電極304bがそれぞれ設けられる。ここで、図1に示した液溜め101aと液溜め101bとの間に電圧を印加して分離用流路112に試料を流す処理と、電極304aと電極304bとの間に電圧を印加する処理とが交互に行われる。このとき、電極304aと電極304b間には、液溜め101aと液溜め101b間に印加する電圧より弱い電圧を印加する。これにより、分離用流路112中の試料は流れ方向に強い力を受けて液溜め101aから液溜め101bの方向に移動し、次いで分離用流路112の幅方向に微小な力を受ける。そのため、隔壁301aおよび隔壁301bに設けられた捕捉部300に進入可能なサイズの分子は、捕捉部300に捕捉されやすくなり、分離能をさらに向上させることができる。

【0092】

また、本参考形態においても、図25に示すように、分離用流路112において、隔壁301aおよび隔壁301bをそれぞれ構成する複数の柱状体302は、底面が円形の円柱とすることができる。このようにすれば、捕捉部300が凸曲面を有し、サイズの大きい分子は捕捉部300の奥には進入せず、サイズの小さい分子のみが捕捉部300の奥深くに進入するので、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。ここでは柱状体302は底面が円形の円柱としたが、柱状体302は、底面が楕円形の円柱とすることもできる。

【0093】

10

20

30

40

50

また、図 25 (b) に示すように、分離用流路 112 は、流路壁 129a および流路壁 129b に、電極 304a および電極 304b をそれぞれ設けた構成とすることもできる。

【0094】

(第三の実施の形態)

図 26 は、本発明の第三の実施の形態における分離装置 100 の構造を示す上面図である。本実施の形態において、分離装置 100 は、複数の分離用流路 112a、112b、および 112c を含む点で第一および第二の実施の形態において説明した分離装置 100 と異なる。複数の分離用流路 112a、分離用流路 112b、および分離用流路 112c には、それぞれの両端に液溜め 401a および液溜め 401b、液溜め 402a および液溜め 402b、ならびに液溜め 403a および液溜め 403b が形成されている。また、分離用流路 112a、分離用流路 112b および分離用流路 112c と交差するように投入用流路 111 が形成され、投入用流路 111 には、その両端に液溜め 102a および液溜め 102b が形成されている。また、分離用流路 112a、分離用流路 112b、および分離用流路 112c とそれぞれ交差するように回収用流路 114a、回収用流路 114b、および回収用流路 114c が形成される。回収用流路 114a、回収用流路 114b、回収用流路 114c には、それぞれその両端に液溜め 404a および液溜め 404b、液溜め 405a および液溜め 405b、ならびに液溜め 406a および液溜め 406b が形成されている。

【0095】

ここで、各々の液溜めには電極が設けられており、これを用いて例えば分離用流路 112a、分離用流路 112b、分離用流路 112c、投入用流路 111、回収用流路 114a、回収用流路 114b、および回収用流路 114c の両端のそれぞれに電界を印加することができる。このとき、分離用流路 112a、分離用流路 112b、および分離用流路 112c には、異なる電圧を印加することができる。

【0096】

このようにすれば、試料の分離を種々の条件で並行して行うことができるので、以下のような効果を生じる。

(1) 分離装置 100 により試料中の成分の分離を行う際、分離中の成分の移動速度によって、最も精度よく分離される分子のサイズが異なる。例えば印加する電圧が高ければ移動速度が速くなり、サイズが大きめの分子の分離を精度よく行うことができる。一方、印加する電圧が低ければ移動速度が遅くなり、サイズが小さめの分子の分離を精度よく行うことができる。したがって、複数の分離用流路 112a、分離用流路 112b、および分離用流路 112c に異なる電圧を印加して試料の移動速度を異ならせることにより、いずれかの分離用流路において、注目する分子と同等のサイズの成分を精度よく分離することができる。

(2) 試料中の成分の移動度 μ は、 $v = E \mu$ (E は電場、 v は成分の速度) と表すことができる。これにより、複数の分離用流路 112a、分離用流路 112b、または分離用流路 112c における成分のピーク位置と印加した電圧の関係を示す直線の傾きから、より正確な移動度 μ を求めることができる。

【0097】

なお、以上の実施の形態では電界を印加することにより試料を移動させる方式を説明したが、後述するように、分離装置 100 は、たとえば圧力を加えることにより試料を移動させる方式を用いることができる。この場合、本実施の形態において、複数の分離用流路 112a、分離用流路 112b、または分離用流路 112c には異なる圧力が加えられるように、ポンプ圧を調整することができる。この場合も、複数の分離用流路 112a、分離用流路 112b、または分離用流路 112c に異なる電圧を印加した場合と同様の効果を得ることができる。また、これらの分離用流路 112a、分離用流路 112b、または分離用流路 112c の幅を異ならせて、同じ圧力を加えるようにすることもできる。

【0098】

また、分離装置 100 は、隔壁 301 a および隔壁 301 b の構造やサイズが異なるように形成された複数の分離用流路を有してもよい。このようにしても、上記の(1)で説明した効果を得ることができる。

【0099】

なお、ここでは3つの分離用流路のみを示したが、分離装置 100 は、さらに多数の分離用流路を含む構成とすることができる。この場合、複数の分離用流路には、図示したように共通の投入用流路が形成されてもよいが、分離用流路毎にそれぞれ投入用流路が形成される構成とすることもできる。同様に、複数の分離用流路には、共通の回収用流路が形成される構成とすることもできる。

【0100】

なお、以上の実施の形態においては、捕捉部 300 が流路の側方に形成される例を説明したが、捕捉部 300 が流路の底部に形成された場合も、同様に試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。図 41 および図 42 に、捕捉部 300 を流路の底部に形成する工程を示す。図 41 に示すように、シリコン基板 201 にドライエッチングにより断面が V 字状の孔を形成し(図 41(a))、シリコン基板 201 の上面表面を酸化することにより酸化膜 310 を形成する(図 41(b))。これにより、流路の底部に捕捉部 300 を形成することができる。

【0101】

また、図 42 に示すように、表面の面方位が(100)のシリコン基板 312 を用いてウェットエッチングを行うことにより、基板表面に対して斜めの側壁を有し、四角錐の溝 313 を形成することもできる(図 42(a))。図 42(b)は、図 42(a)の B-B' 断面図である。ここで、 $\theta = \text{約 } 54.70^\circ$ となる。この後、図 41 に示した例と同様、シリコン基板 312 の上面表面を酸化することにより、流路の底部に捕捉部 300 を形成することができる(不図示)。

【0102】

(第四の実施の形態)

図 44(a) および図 44(b) は、本実施の形態における分離用流路 112 の構造を詳細に示す図である。図 44(a) は分離用流路 112 の断面図である。また、図 44(b) は、図 44(a) の分離用流路 112 を構成する基板 120 の構成を示す斜視図である。本実施の形態における分離装置の全体構成は図 1 に示した分離装置 100 と同様である。

【0103】

図 44(a) において、基板 120 に溝状に形成された分離用流路 112 の底面に、分離用流路 112 の延在方向に沿って互いに平行に形成された複数のカマボコ状の突起 323 を有する。突起 323 は凸曲面を有する。また、分離用流路 112 の上面に、平板状の被覆 322 が設けられている。

【0104】

本実施の形態の分離用流路 112 においては、凸曲面を有する突起 323 と被覆 322 との間に、分離用流路 112 の延在方向に延在する捕捉部 300 が形成される。図 44(a) および図 44(b) に示したように、捕捉部 300 は、被覆 322 と突起 323 との接触部に近づくに従って深さ方向の幅が次第に狭くなる隙間として形成される。

【0105】

突起 323 のサイズは、試料の種類に応じて選ぶことができるが、たとえば、高さおよび半径を $1 \mu\text{m} \sim 100 \mu\text{m}$ 程度とすることができる。また、突起 323 の中心線どうしが互いに $2 \sim 200 \mu\text{m}$ 程度の間隔を保って設置されてもよい。

【0106】

図 44(a) および図 44(b) の構成において、試料中の成分は、隣接する二つの突起 323 および被覆 322 により形成された分離用流路 112 中を、図 44(b) 中に矢印で示した流れ方向に移動する。移動の駆動力は、上述した他の実施の形態と同様に、たとえば電気泳動とすることができる。この時、捕捉部 300 の中に入り込めるサイズの分

10

20

30

40

50

子は、サイズ排除クロマトグラフィーの原理で、入り込めない分子よりも隙間から出てくる時間が延びることから、大きな分子は早く、小さな分子は遅く流れ、分子の大きさに応じた分離が実現する。

【 0 1 0 7 】

本実施の形態において、基板の材料として、熱可塑性で絶縁性の高い物質が好適に用いられる。具体的には、たとえば、ガラス、ポリスチレン（P S）、ポリエチレンテレフタレート（P E T）、またはポリメチルメタクリレート（P M M A）などが好適に利用できる。また、被覆 3 2 2 は、基板 1 2 0 と同種の材料とすることができる。

【 0 1 0 8 】

図 4 5 (a) ~ 図 4 5 (d) は、図 4 4 (a) および図 4 4 (b) に示した分離用流路 1 1 2 を製造する手順を説明する工程断面図である。図 4 5 (a) ~ 図 4 5 (d) では、基板 1 2 0 に突起 3 2 3 を形成するための金型 3 2 5 を用いる（図 4 5 (a)）。金型 3 2 5 は、突起 3 2 3 の幅に対応する幅の溝状の凹部 3 2 6 を有する。このような金型 3 2 5 は、たとえば、シリコン基板を流路の長手方向にガスエッチング、もしくはウェットエッチングすることによって得ることができる。または、金型 3 2 5 となる形状を、電気鋳造法によりニッケル板に転写したものをを用いることもできる。凹部 3 2 6 はカマボコ状突起に対応した形状である必要はなく、矩形の溝や、S i (1 0 0) 基板の異方性エッチングにより生じる台形の溝でもよい。

【 0 1 0 9 】

金型 3 2 5 と基板 1 2 0 を、基板 1 2 0 の材料のガラス転移点付近の温度に加熱した後、基板 1 2 0 と金型 3 2 5 を互いに押しつける（図 4 5 (b)）。このとき、基板 1 2 0 が変形しながら、金型 3 2 5 に彫られた凹部 3 2 6 の内部に向かって基板 1 2 0 が侵入し、凸曲面を有する突起 3 2 3 が形成される。このとき、突起 3 2 3 の高さまたは凸曲面の形状は、プレスする圧力またはプレス時の温度により制御することができる。被覆 3 2 2 と突起 3 2 3 によって形成される捕捉部 3 0 0 の狭さおよび狭まり具合は、この時の調節具合によって制御可能であり、分離したい試料に含まれる成分の分子のサイズ等に合わせ製造することができる。

【 0 1 1 0 】

次に、金型 3 2 5 および基板 1 2 0 を冷却し、金型 3 2 5 を基板 1 2 0 から離型する（図 4 5 (c)）。離型した金型 3 2 5 は次のプレスに用いる。さらに、離型して得られた突起 3 2 3 が形成された基板 1 2 0 に、被覆 3 2 2 を設置する（図 4 5 (d)）。こうして、図 4 4 (a) および図 4 4 (b) に示した分離用流路 1 1 2 が作製される。

【 0 1 1 1 】

図 4 5 (d) においては、平板状の被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 の上端に設置することにより、本実施の形態の分離用流路 1 1 2 が得られる。被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 上に設置する方法として、たとえば、被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 の頂部に当接させた状態で、基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 との端に適当なスペーサを設け、このスペーサを基板 1 2 0 および被覆 3 2 2 に接着固定することで実現できる。また、被覆 3 2 2 または基板 1 2 0 を適度に過熱して他方に融着してもよい。また、被覆 3 2 2 を構成する材料を溶解できる溶媒、たとえばアセトンを、被覆 3 2 2 の接着面に微量に噴霧した後、突起 3 2 3 の上部に押しつけて乾燥させてもよい。また、被覆 3 2 2 の表面に微量の接着剤を塗布し、同様に突起 3 2 3 の上端に接着することによっても被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 上に固定できる。

【 0 1 1 2 】

図 4 6 (a) および図 4 6 (b) は、突起の形状の他の例を示す図である。図 4 6 (a) は、分離用流路 1 1 2 の断面図である。また、図 4 6 (b) はその上面図である。なお、図 4 6 (b) では、被覆 3 2 2 は図示していない。

【 0 1 1 3 】

図 4 6 (a) および図 4 6 (b) において、分離用流路 1 1 2 の底面に、半球状の突起 3 2 4 が複数形成されている。図 4 4 (a) および図 4 4 (b) に示した構成のように、分離流路の延在方向に沿った突起 3 2 3 が形成されている場合、試料中の成分が、隣接す

10

20

30

40

50

る突起323によって形成される一つの流路から他の流路へと移動することができない。このため、試料が捕捉部300に詰まってしまう可能性がある。これに対し、図46(a)および図46(b)の形状の突起324は、この目詰まりを抑制することが可能な構成となっている。図46(b)に示したように、底面が円形の突起324を集積させることにより、図中に矢印で示したように、試料中の成分が一方方向に詰まった場合でも、別の方向へと流れてゆくことが可能となり、成分の目詰りを低減することができる。

【0114】

突起324は、半球状に形成されており、その高さおよび半径は、たとえば $1\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$ とすることができる。また、突起324の中心間の間隔は、たとえば $2 \sim 200\mu\text{m}$ 程度とすることができる。分離用流路112の材料および製造方法は、突起323を形成する場合と、金型の形状が異なる以外は、同様とすることができる。また、突起324の底面の形状は楕円形としてもよい。

10

【0115】

さらに、突起324が、球形であるような分離用流路112とすることもできる。図47(a)~図47(d)は、この場合の分離用流路112の作製手順を示す工程断面図である。

【0116】

基板120として、前述の材料を用いる(図47(a))。基板120上に約 $1\mu\text{m}$ 以下の厚さにアクリル樹脂などを基材とする接着剤328を塗布する(図47(b))。接着剤328の上に、分離用流路112の側方端を封止するための止め板329を分離用流路112方向の長手方向に沿って接着する。止め板329の材料は、たとえばガラスまたはアクリル系樹脂とすることができる。次に、半径数 $\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$ 程度のガラス、もしくはアクリル系樹脂などでできたビーズ327を散布し、分離用流路112の内部に固着させる(図47(c))。最後に被覆322を、前述と同様にして固定する(図47(d))。

20

【0117】

ビーズ327を突起として用いることにより、ビーズ327と基板120およびビーズ327と被覆322との接触部の近傍において、分離用流路112から遠ざかるに従って次第に狭くなる捕捉部300が形成される。この構成においても、サイズ排除型のクロマトグラフィーが実現できる。

30

【0118】

また、図48に示したように、以上に説明した形状の突起を有する基板120を積層し、分離用流路が縦方向に並列化された構成とすることもできる。

【0119】

本実施の形態の構成によれば、高価な加工装置を用いることなく、低コストの簡便な方法により分離用流路を作製することができる。このため、DNAやタンパク質などの微小な生体分子を分離するのに充分幅狭に形成された捕捉部300を有する分離用流路112をさらに低コストで得ることができる。

【0120】

さらに、平板状の被覆322にかえて、突起が形成された基板を被覆322としてもよい。被覆322に形成される突起の形状は、たとえば前述の凸曲面を有するカマボコ状や、半球状とすることができる。図49は、図44(a)に示した突起323を有する基板120に、基板120と同じく凸曲面を有する突起323が複数互いに平行に形成された被覆322を重ねた様子を示す図である。

40

【0121】

図49において、基板120の突起323の頂部と、被覆322に形成された突起323の頂部とを所望の位置だけずらした状態で、基板120上に被覆322が配設されている。このように、突起323の頂部同士を当接させず、適切な量だけずらして重ねることによって、捕捉部300の形状を好適に調節し、試料中の成分に応じた分離を実施することが可能となる。このため、分離効果を向上させることができる。

50

【 0 1 2 2 】

また、突起 3 2 3 の頂部同士をずらして基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 を重ねることによって、分離用流路 1 1 2 中に形成される捕捉部 3 0 0 の数を数倍程度に増加させることもできる。これについて、図 5 0 (a) および図 5 0 (b) を参照して説明する。

【 0 1 2 3 】

図 5 0 (a) および図 5 0 (b) は、分離用流路 1 1 2 において基板 1 2 0 に形成された突起を示す上面図である。図 5 0 (a) は、分離用流路 1 1 2 にカマボコ状の突起 3 2 3 が形成された場合の例である。図 5 0 (b) は、半球状の突起 3 2 4 を集積した場合の例である。これらの図に示された突起 3 2 3 または突起 3 2 4 において、淡色で示された部分ほど基板 1 2 0 の底面から突出している。また、図中に黒色で示した接触部 3 3 0 は、被覆 3 2 2 と当接される位置を示している。また、これらの図 5 0 (a) および図 5 0 (b) のそれぞれにおいて、左側の図は、それぞれ突起 3 2 3 または突起 3 2 4 の頂部と被覆 3 2 2 に形成された突起 3 2 3 または突起 3 2 4 の頂部とが当接する場合に形成される接触部 3 3 0 の位置を示す。また、右側の図は、基板 1 2 0 の頂部と被覆 3 2 2 の頂部とをずらした場合に形成される接触部 3 3 0 の位置を示す。

【 0 1 2 4 】

図 5 0 (a) の右側の図の場合、基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 の頂部をずらして重ねているため、捕捉部 3 0 0 となる部位が左側の図に対して 2 倍に増加している。また、図 5 0 (b) の右側の図中に黒の波線で示した三角形は、被覆 3 2 2 に形成された半球状の突起 3 2 4 の 1 個と接する基板 1 2 0 側の 3 個の突起 3 2 4 の接触部 3 3 0 をつないで示したものである。この場合、捕捉部 3 0 0 となる部位の数が 6 倍に増加していることがわかる。

【 0 1 2 5 】

このように、本実施の形態では、分離用流路 1 1 2 の側面をなす壁部に、分離用流路 1 1 2 の深さ方向の幅が狭い領域である捕捉部 3 0 0 が形成される。ここでいう壁部は、分離用流路 1 1 2 の側壁であってもよく、また、基板 1 2 0 の底面から分離用流路の中心に向かって突出した突起であってもよい。このような構成によっても、試料中の小さな分子を捕捉部 3 0 0 に捕捉することができるため、試料中の成分を安定的に分離することができる。

【 0 1 2 6 】

また、本実施の形態においては、電子線リソグラフィや、ガスエッチング、熱酸化などのコスト高な加工ステップを用いることなく分離用流路 1 1 2 を製造することができる。本実施の形態の分離用流路 1 1 2 は、ウェットエッチング、プレス加工、接着などの安価な加工ステップで得られるため、加工コストの安い分離用流路 1 1 2 を安定的に製造することができる。

【 0 1 2 7 】

なお、以上においては基板 1 2 0 に形成する突起と被覆 3 2 2 に形成する突起の形状が同一である場合を例に説明したが、基板 1 2 0 および被覆 3 2 2 に形成する突起の形状は同一の場合に限られず、分離対象となる成分の大きさ等に応じてそれぞれの形状を適宜選択することができる。突起 3 2 3 や突起 3 2 4 を被覆 3 2 2 に形成する際には、たとえば図 4 5 (a) ~ 図 4 5 (d) を用いて前述した方法等を利用することができる。

【 0 1 2 8 】

また、以上においては、分離用流路 1 1 2 に複数の捕捉部 3 0 0 が設けられた構成を例に説明をしたが、捕捉部 3 0 0 が一つであってもよい。図 5 1 は、一つの捕捉部 3 0 0 が設けられた分離用流路 1 1 2 の構成を示す断面図である。図 5 1 では、分離用流路 1 1 2 の側壁の一方が凸曲面となっており、基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 との間隙に、分離用流路 1 1 2 の延在方向に延在する捕捉部 3 0 0 が形成されている。このような構成とすれば、さらに簡便な構造で、試料中の特定成分を安定的に分離することができる。

【 0 1 2 9 】

< 分析システム >

次に、図 2 7 を参照して、第一 ~ 第四の実施の形態で説明した分離装置 1 0 0 を含む分

10

20

30

40

50

析システムの構成を説明する。図 27 に示すように、分離システムは、試料導入部、検出部、解析 - 出力部を備えた分析装置に、上記実施の形態のいずれかの分離装置が組み込まれて構成される。分析対象の試料は、分析装置の試料導入部に導入され、本件の分離装置で成分に分離される。これらの分離された成分は、検出部で検出される。このようにして得られた検出結果は、解析 - 出力部で解析され、解析データが出力される。

【0130】

上記分析装置は、たとえば図 28 に示すように、反応部および試薬群保持部をさらに含むこともできる。本件の分離装置で分離された試料中の各成分は反応部に送られ、試薬群保持部から供給された発色試薬等と混合される。この反応部における反応結果は検出部にて検出される。このようにして得られた検出結果は解析 - 出力部で解析され、解析データが出力される。ここで、上記反応部における反応が、例えば発色反応や発光反応であり、目視にて検出、測定が可能である場合には、検出測定部を省略することができる。

10

【0131】

上記分析装置は、たとえば図 29 に示すように、検出部および解析 - 出力部にかえて回収部を含むことができる。本件の分離装置で分離された試薬中の各成分は回収部で回収される。

【0132】

さらに、上記分析装置は、たとえば図 30 に示すように、解析 - 出力部にかえて、分離判定部および回収部を含むことができる。本件の分離装置で分離された試料中の各成分は検出部で検出され、検出結果に基づき、分離判定部で分離状態や目的成分の同定が行われる。分離判定部での判定結果は回収部に伝達され、回収部は目的成分を回収する。

20

【0133】

さらに、上記分析装置は、図 40 に示すように質量分析システムとして機能する構成とすることもできる。図 40 (a) は本実施の形態の質量分析システム (MS 分析装置) の基本構成を示す図である。本実施の形態の分析システムは、注入部、イオン化部、分析部、検出部および解析部を備えた分析装置に、例えば上記実施の形態のいずれかの分離装置が組み込まれて成っている。分析対象の試料は、上記分離装置に導入されて被検出成分と不要成分とに分離される。この被検出成分は上記分析装置の注入部に導入され、イオン化部に送られてイオン化される。イオン化された被検出成分は図のように順次、分析部、検出部で分析、検出される。こうして得られたデータは解析部にて解析され、当該解析データがアウトプットされる。

30

また、分析システムは、図 40 (b) に示すように、GC 部を備えた構成とすることができ、これにより、GC - MS 分析装置とすることができる。さらに、分析システムは、図 40 (c) に示すように、リザーバーおよび LC 装置を備えた構成とすることができ、これにより、LC - MS 分析装置とすることができる。図 40 (c) においては、比較的多くの被検出成分を LC 装置に供する目的でリザーバーを設けているが、必ずしも備える必要はない。また、図 40 (b) においてはリザーバーを設けていないが、GC 部の前にリザーバーを設けてもよい。

ここで、試料は特に限定されないが、例えば血液、組織抽出物などを挙げることができる。

40

【0134】

以上で説明した分析システムの全構成要素、またはたとえば試料導入部、本件の分離装置、反応部、試薬保持部、回収部等の一部の構成要素は分析チップに設けることができる。

【0135】

以上の第一～第四の実施の形態において、分離装置 100 は、電界を印加することによって試料を移動させるとして説明したが、電界の印加に代え、圧力を加える方式を採用することもできる。図 31 はこのような装置の一例である。分離用チップの投入用流路と分離用流路の端にある液溜め部分には、ジョイントメスが固着してある。それぞれのジョイントメスには、中空のチューブ 13、14、15、16 がつながれた、ジョイントオスを

50

接続する。ジョイントを用いる理由は、液漏れを防ぐためである。ジョイントの具体的な構造は、たとえば図32のようにする。

【0136】

ジョイントオスにつながれた各チューブは、それぞれ電磁弁10、4、5、11に接合されている。電磁弁10には、分離用ポンプ8、定速注入装置9を介して、液溜め7からバッファが供給される。電磁弁4には、投入用ポンプ2、定速注入装置3を介して、サンプル溜め1からサンプルが供給される。電磁弁5には、投入用流路19を介して送られてきたサンプルが供給され、廃液溜め6へと導かれる。電磁弁11には、分離用流路20を介して分離されたサンプルが供給され、オートサンプラー12にて回収される。

【0137】

制御ユニット21は、電磁弁4、5、10、11、および分離用ポンプ8、投入用ポンプ2、定速注入装置9、定速注入装置3、の稼動時点を制御する。

【0138】

この装置を用いた分離回収手順は以下のとおりである。まず、電磁弁10、電磁弁11を閉じる。これにより投入用流路19からサンプルが分離用流路20に流入することを防止できる。ついで電磁弁4、電磁弁5を開く。そして、サンプル溜め1にサンプルを投入する。

【0139】

次に投入用ポンプ2でサンプルを加圧し、サンプルを、定速注入装置3、電磁弁4、チューブ14を介して、投入用流路19へ導く。投入用流路19を介して漏出したサンプルは、チューブ15、電磁弁5を通過して、廃液溜め6に導かれる。

【0140】

投入用流路19にサンプルが満たされた後、電磁弁4、電磁弁5を閉じ、電磁弁10、電磁弁11を開く。つづいて分離用ポンプ8でバッファを加圧し、定速注入装置9、電磁弁10、チューブ13を介してサンプルを分離用流路20へ導く。こうして分離操作が開始する。分離用流路20の先から分離された物質がバッファとともにチューブ16、電磁弁11を介して出てくるので、これをオートサンプラー12で定期的に回収する。

【0141】

こうした手順により、サンプルの分離が行われる。この装置では、試料を移動させるための外力として圧力を利用しているため、比較的簡素な外力付与装置を設ければ済むので、製造コストの低減、装置の小型化に有利である。

【0142】

また、図1に示した分離装置100において、毛細管現象を利用して試料を移動させる方式を採用することもできる。この場合、電力、圧力等の外力の印加が不要で駆動のためのエネルギーが不要となる。

【0143】

(実施例1)

図6および図7を参照して説明したのと同様に、図1および図4に示した分離装置100を作成した。図33は、電子顕微鏡写真による本発明の分離装置100の分離用流路112の上面図を示す。ここで、間隔pは約700nm、間隔qは約2 μ m、間隔rは約1.2 μ mである。このように構成された分離用流路112を含む分離装置100を用いて、分子量マーカーの分離を行った。分子量マーカーとしては、Lambda DNA-Hind III Digest (タカラバイオ株式会社製)およびphiX-174 RF DNA-Hae III Digest (タカラバイオ株式会社製)を用いた。Lambda DNA-Hind III DigestおよびphiX-174 RF DNA-Hae III Digestは、それぞれ、図34(a)および図34(b)に示すフラグメントを有する。

【0144】

図35は、分子量マーカーとしてLambda DNA-Hind III Digestを用いた場合の分離結果を示す。図35(b)は、図35(a)のデータをスムージングしたものである。図35(b)に示すように、23kbp、9.4kbp、6.6kbp、4.4kbp、2.3kbp以下のピークが検出された。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 5 】

図 3 6 は、分子量マーカーとして phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 3 6 (b) は、図 3 6 (a) のデータをスムージングしたものである。図 3 6 (b) に示すように、1 . 4 k b p、1 . 1 k b p、8 7 2 b p、6 0 3 b p、3 1 0 b p 以下のピークが検出された。

【 0 1 4 6 】

(参照例)

また、参照例として、図 3 7 に示すような複数の柱状体を有する分離用流路を含む分離装置を用いて Lambda DNA-Hind III Digest および phiX-174 RF DNA-Hae III Digest の分離を行った。ここで、間隔 h は約 1 . 1 μm 、間隔 i は約 4 0 0 n m である。この参照例では、複数の柱状体が等間隔で配置されている。

10

【 0 1 4 7 】

図 3 8 は、分子量マーカーとして Lambda DNA-Hind III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 3 8 (b) は、図 3 8 (a) のデータをスムージングしたものである。図 3 8 (b) に示すように、2 3 k b p、9 . 4 k b p ~ 6 . 6 k b p、4 . 4 k b p、2 . 3 k b p 以下のピークが検出された。

【 0 1 4 8 】

図 3 9 は、分子量マーカーとして phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 3 9 (b) は、図 3 9 (a) のデータをスムージングしたものである。図 3 9 (b) に示すように、1 . 4 k b p ~ 6 0 3 b p のピークがブロードになり、分離されなかった。

20

【 0 1 4 9 】

Lambda DNA-Hind III Digest を用いた実施例の図 3 5 および参照例の図 3 8 を比較すると、実施例の分離装置 1 0 0 では、2 3 k b p、9 . 4 k b p、6 . 6 k b p、4 . 4 k b p、2 . 3 k b p 以下のピークがきれいに分離したが、参照例の分離装置では 9 . 4 k b p、6 . 6 k b p のピークがブロードになり、分離されなかった。同様に phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用いた実施例の図 3 6 および参照例の図 3 9 を比較すると、実施例の分離装置 1 0 0 では、1 . 4 k b p、1 . 1 k b p、8 7 2 b p、6 0 3 b p、3 1 0 b p 以下のピークがきれいに分離したが、参照例の分離装置では 1 . 4 k b p ~ 6 0 3 b p のピークがブロードになり、分離されなかった。

30

【 0 1 5 0 】

(実施例 2)

本実施例では、楔型チップの作製とこれを用いたタンパク質の分離を行った。図 6 および図 7 を参照して説明したのと同様に、図 1 および図 4 に示した分離装置 1 0 0 を作製した。サイズは図 3 3 において、間隔 p を約 6 0 0 n m、間隔 q は約 1 . 5 μm 、間隔 r は約 1 . 2 μm とした。このように構成された分離用流路 1 1 2 を含む分離装置 1 0 0 を用いて、タンパク質サンプルの分離および検出を行った。

【 0 1 5 1 】

2 種類のタンパク質サンプル (9 7 k D および 3 1 k D) について、S D S を含有する水溶液中で 1 0 0 7 分煮沸後、氷中で急冷して変性処理した。次に蛍光色素 S Y P R O R A N G E (M o l e c u l a r P r o b e s 社製) を 1 / 1 0 0 0 量添加し、1 時間染色処理した。次に、T B L バッファー (0 . 1 M トリス + 0 . 2 5 M ホウ酸 + 0 . 6 % L i p i d u r e H M (日本油脂社製)) で全流路をコーティング後、染色済みタンパク質サンプルを T B L バッファーと混合した物を用いて分離を行った。分離は電位差 (1 2 0 V) を印加して行った。また、タンパク質の蛍光強度を測定することにより、分離されたタンパク質の検出を行った。

40

【 0 1 5 2 】

図 4 3 は、タンパク質の分離結果を示す図である。図 4 3 において、蛍光強度はインジェクション部から 7 m m の地点で測定し、プロットした。2 種類各々の濃度比を変更しながら観察し、ピーク A が 9 7 k D タンパク質であり、ピーク B が 3 1 k D タンパク質であ

50

ることを確認した。このように、本実施例の分離装置を用いることにより、変性タンパク質をサイズにより分離し、これらを検出することができた。

【0153】

以上のように、実施例の分離装置100によれば、種々のサイズの分子を精度よく分離することができた。

【0154】

以上、本発明の実施の形態について説明したが、それぞれの実施の形態で用いた構成を任意に組み合わせることもできる。

【図面の簡単な説明】

【0155】

【図1】実施の形態における分離装置の一例を示す図である。

【図2】実施の形態の一例における液溜めの構造を説明するための図である。

【図3】実施の形態の一例における液溜めの構造を説明するための図である。

【図4】図1に示した分離用流路の構造を詳細に示した図である。

【図5】図1に示した分離用流路の構造を詳細に示した図である。

【図6】実施の形態の分離装置の製造方法を説明するための図である。

【図7】実施の形態の分離装置の製造方法を説明するための図である。

【図8】実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

【図9】実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

【図10】実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

【図11】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図12】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図13】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図14】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図15】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図16】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図17】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図18】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図19】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図20】実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

【図21】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

【図22】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

【図23】参考形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

【図24】参考形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

【図25】参考形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

【図26】実施の形態における分離装置の一例を示す上面図である。

【図27】分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

【図28】分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

【図29】分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

【図30】分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

【図31】本発明の分離装置の一例を示す図である。

【図32】本発明の分離装置に用いるジョイントの具体的な構造を示す図である。

【図33】電子顕微鏡写真による実施例の分離用流路の上面図を示す図である。

【図34】実施例で用いた試料のフラグメントを示す図である。

【図35】実施例における試料の分離結果を示す図である。

【図36】実施例における試料の分離結果を示す図である。

【図37】電子顕微鏡写真による参照例の分離用流路の上面図を示す図である。

【図38】参照例における試料の分離結果を示す図である。

【図39】参照例における試料の分離結果を示す図である。

【図40】分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

10

20

30

40

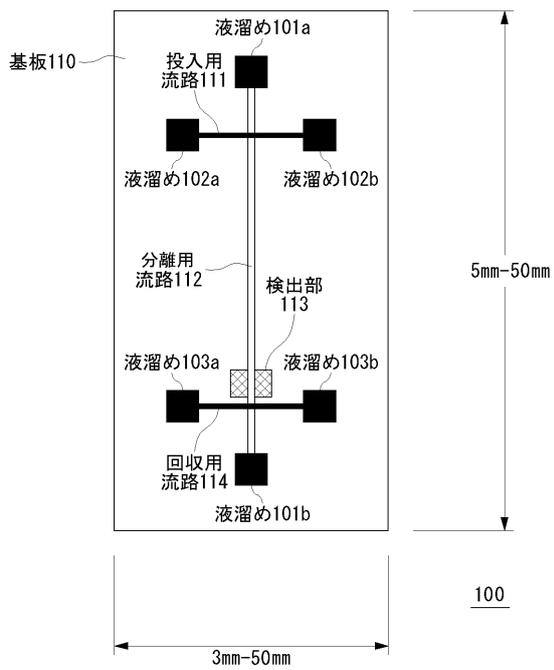
50

- 【図4 1】捕捉部が流路の底部に形成された構成を示す図である。
- 【図4 2】捕捉部が流路の底部に形成された構成を示す図である。
- 【図4 3】実施例における試料の分離結果を示す図である。
- 【図4 4】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図4 5】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図4 6】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図4 7】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図4 8】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図4 9】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【図5 0】実施の形態における分離用流路において基板に形成された突起を示す図である 10
- 。
- 【図5 1】実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。
- 【符号の説明】
- 【0 1 5 6】
- 1 サンプル溜め
- 2 投入用ポンプ
- 3 定速注入装置
- 4 電磁弁
- 5 電磁弁
- 6 廃液溜め 20
- 7 液溜め
- 8 分離用ポンプ
- 9 定速注入装置
- 1 0 電磁弁
- 1 1 電磁弁
- 1 2 オートサンプラー
- 1 3 チューブ
- 1 4 チューブ
- 1 5 チューブ
- 1 6 チューブ 30
- 1 9 投入用流路
- 2 0 分離用流路
- 2 1 制御ユニット
- 1 0 0 分離装置
- 1 0 1 a 液溜め
- 1 0 1 b 液溜め
- 1 0 2 a 液溜め
- 1 0 2 b 液溜め
- 1 0 3 a 液溜め
- 1 0 4 b 液溜め 40
- 1 0 6 金型
- 1 1 0 基板
- 1 1 1 投入用流路
- 1 1 2 分離用流路
- 1 1 2 a 分離用流路
- 1 1 2 b 分離用流路
- 1 1 2 c 分離用流路
- 1 1 3 検出部
- 1 1 4 回収用流路
- 1 1 4 a 回収用流路 50

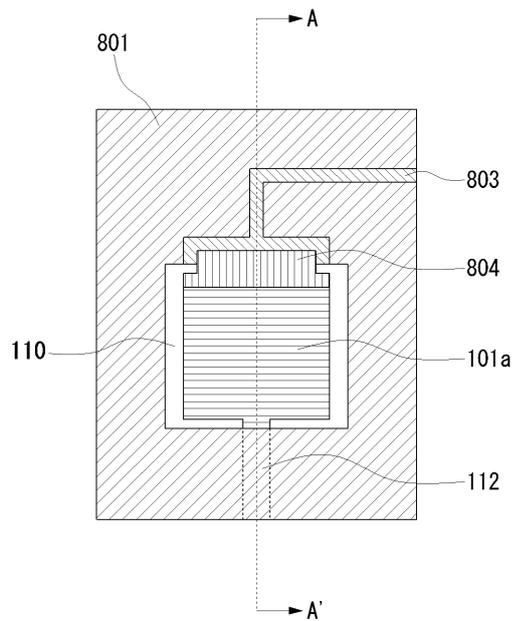
1 1 4 b	回収用流路	
1 1 4 c	回収用流路	
1 2 0	基板	
1 2 9 a	流路壁	
1 2 9 b	流路壁	
1 6 0	樹脂膜	
2 0 1	シリコン基板	
2 0 2	シリコン酸化膜	
2 0 3	カリックスアレーン電子ビームネガレジスト	
2 0 4	パターニングされたレジスト	10
2 1 1	酸化膜	
3 0 0	捕捉部	
3 0 1 a	隔壁	
3 0 1 b	隔壁	
3 0 2	柱状体	
3 0 2 a	柱状体	
3 0 2 b	柱状体	
3 0 2 c	柱状体	
3 0 3	連通部	
3 0 4 a	電極	20
3 0 4 b	電極	
3 1 0	酸化膜	
3 1 1	主流路	
3 1 2	シリコン基板	
3 1 3	溝	
3 2 2	被覆	
3 2 3	突起	
3 2 4	突起	
3 2 5	金型	
3 2 6	凹部	30
3 2 7	ビーズ	
3 2 8	接着剤	
3 2 9	止め板	
4 0 1 a	液溜め	
4 0 1 b	液溜め	
4 0 2 a	液溜め	
4 0 2 b	液溜め	
4 0 3 a	液溜め	
4 0 3 b	液溜め	
4 0 4 a	液溜め	40
4 0 4 b	液溜め	
4 0 5 a	液溜め	
4 0 5 b	液溜め	
4 0 6 a	液溜め	
4 0 6 b	液溜め	
7 0 7	多結晶シリコン膜	
7 0 8	酸化膜	
7 0 9	酸化膜	
8 0 1	被覆	
8 0 2	開口部	50

- 8 0 3 伝導路
- 8 0 4 電極板
- 9 0 0 レジスト

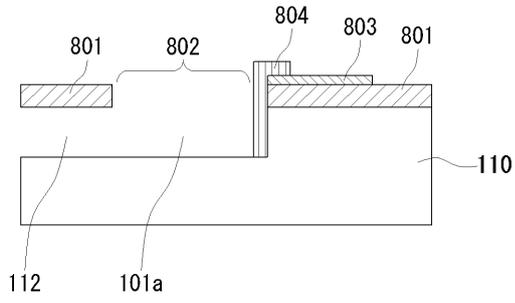
【 図 1 】



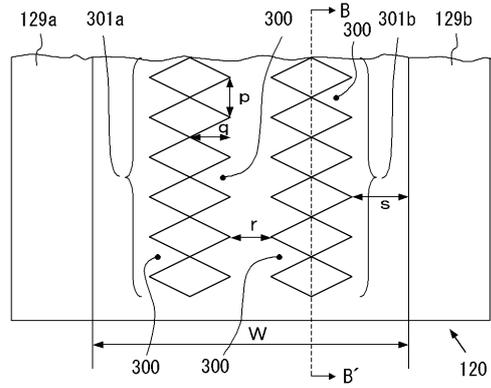
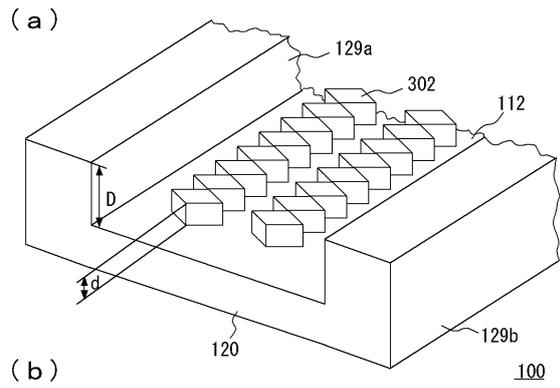
【 図 2 】



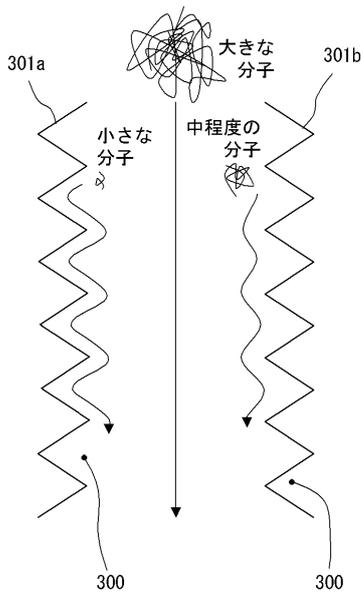
【図3】



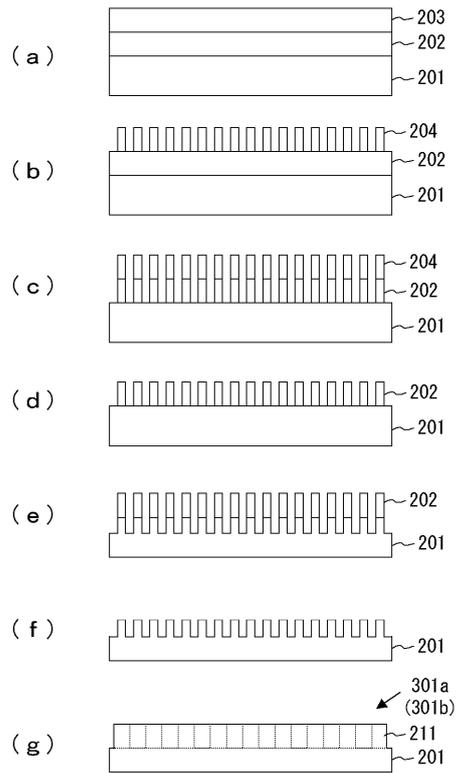
【図4】



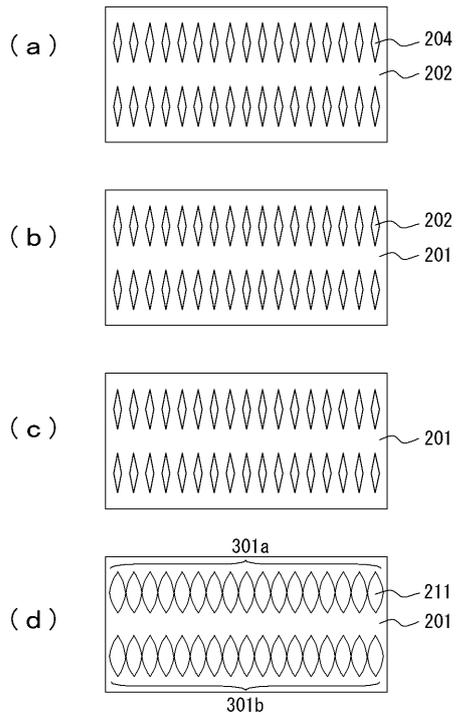
【図5】



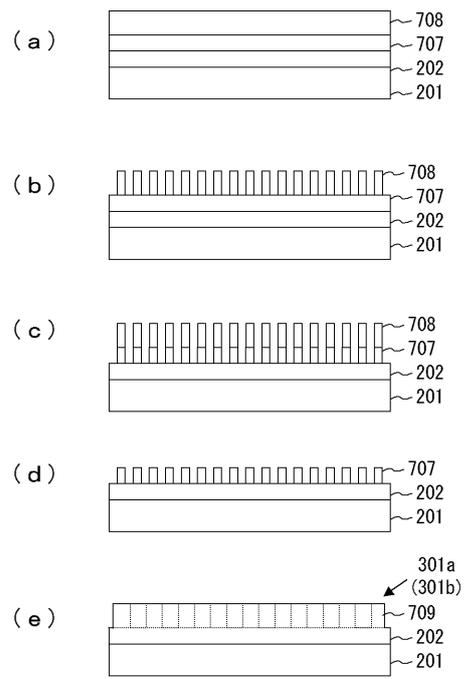
【図6】



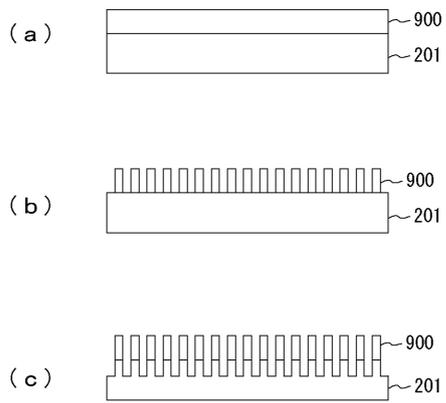
【 図 7 】



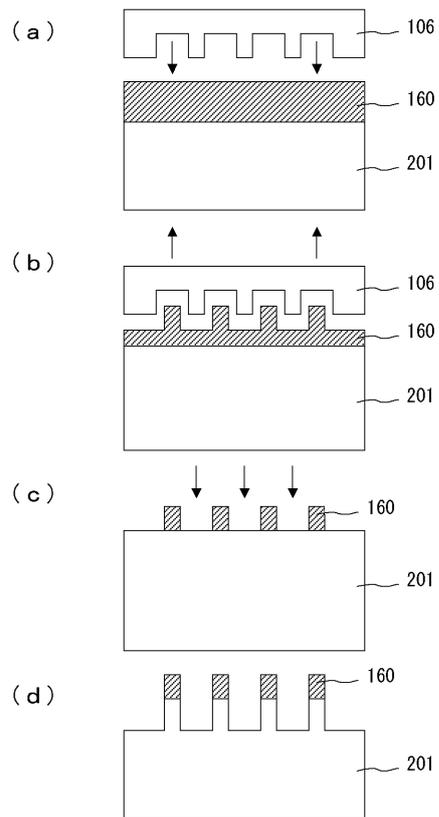
【 図 8 】



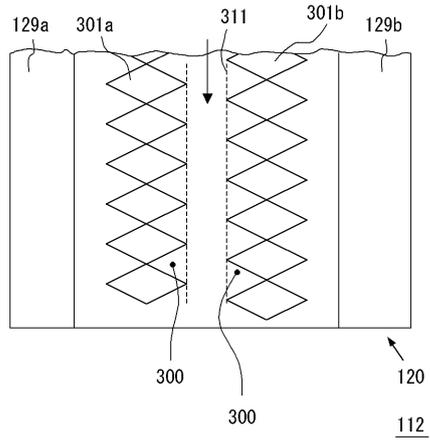
【 図 9 】



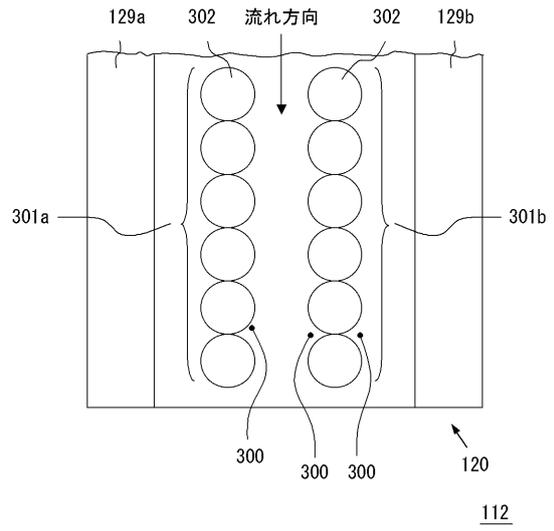
【 図 10 】



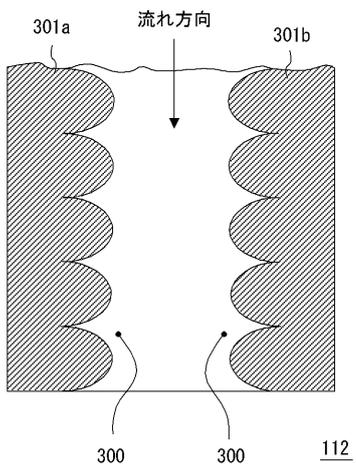
【図 1 1】



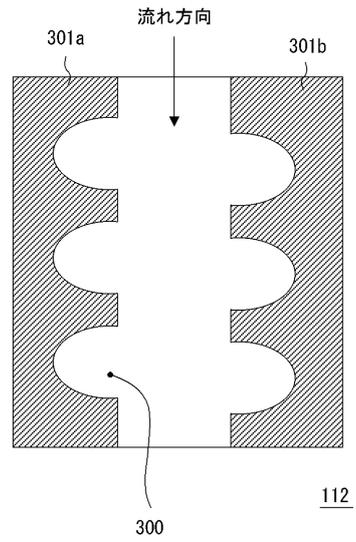
【図 1 2】



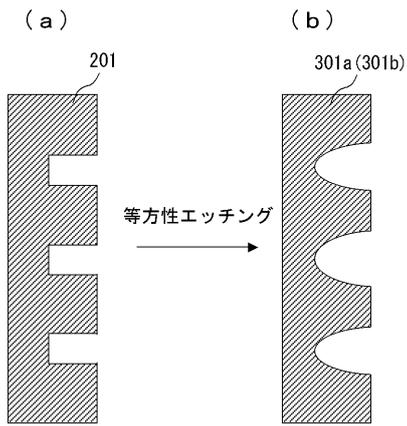
【図 1 3】



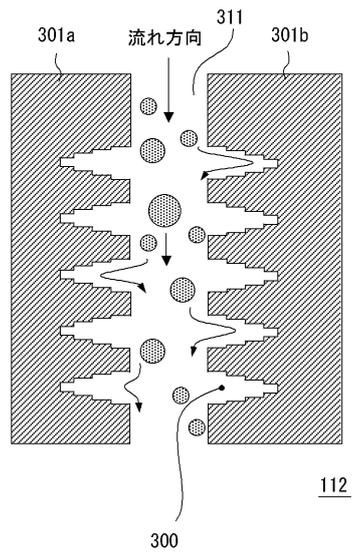
【図 1 4】



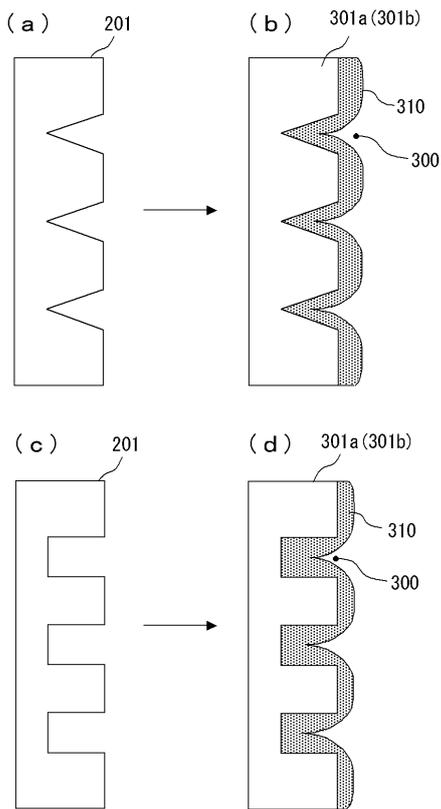
【図15】



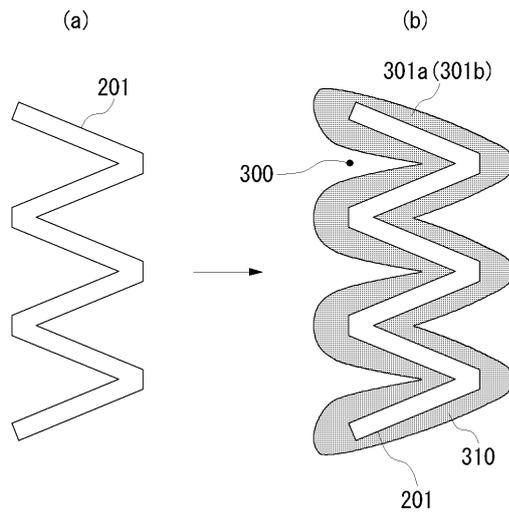
【図16】



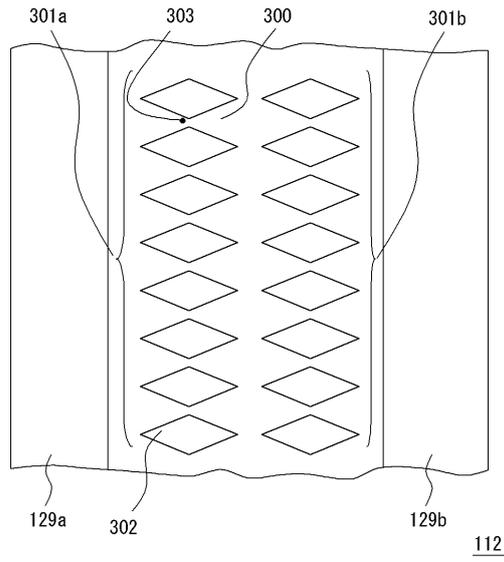
【図17】



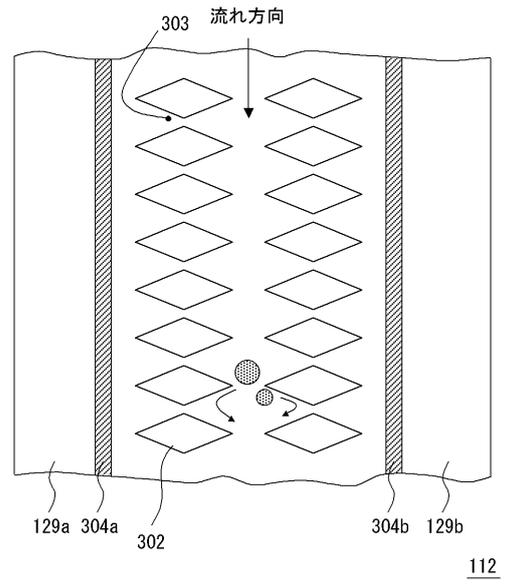
【図18】



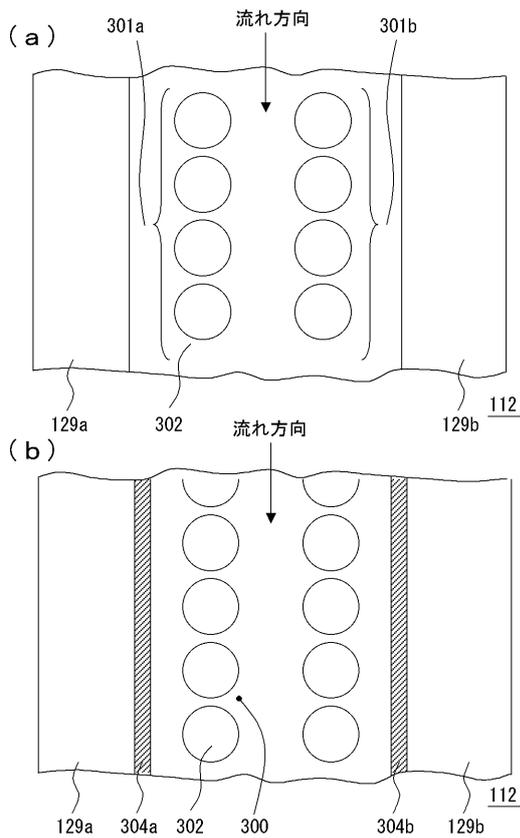
【図 2 3】



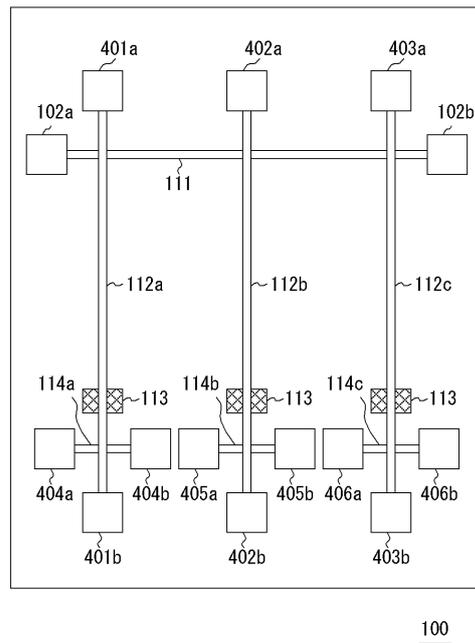
【図 2 4】



【図 2 5】



【図 2 6】



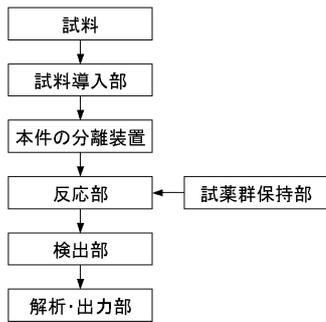
【図27】



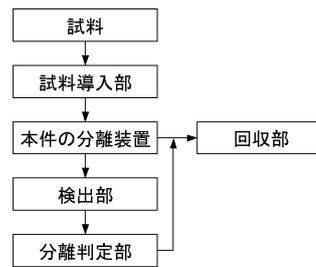
【図29】



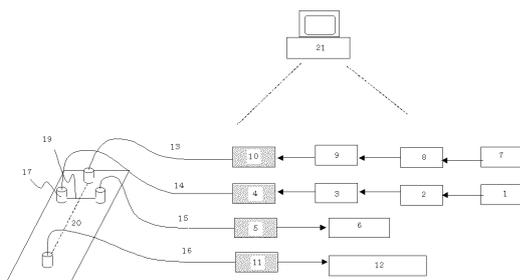
【図28】



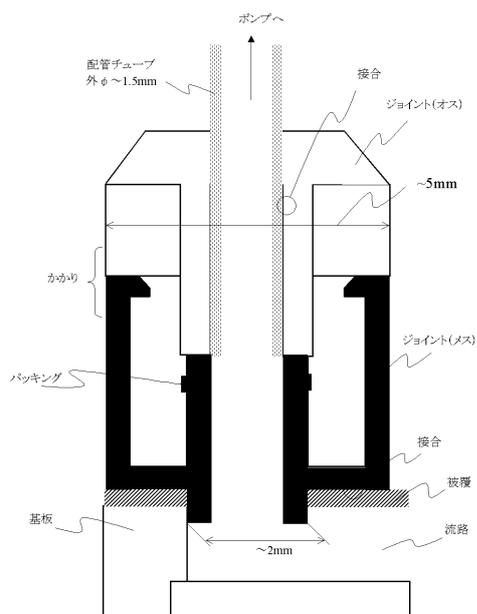
【図30】



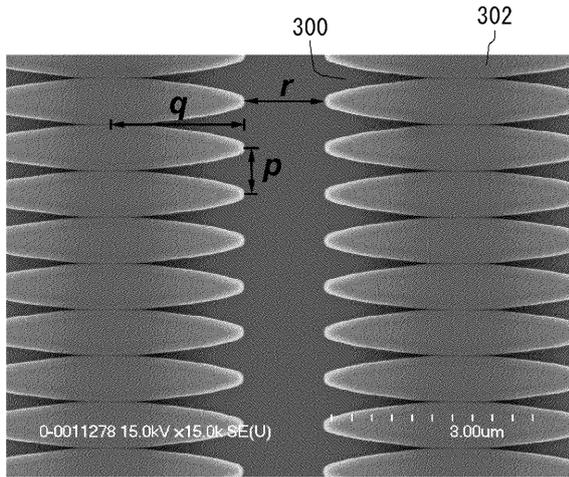
【図31】



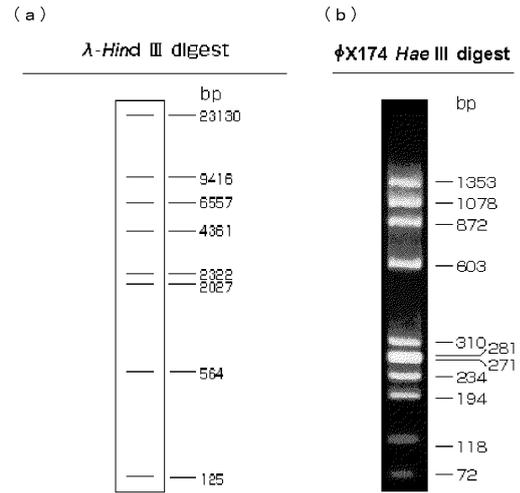
【図32】



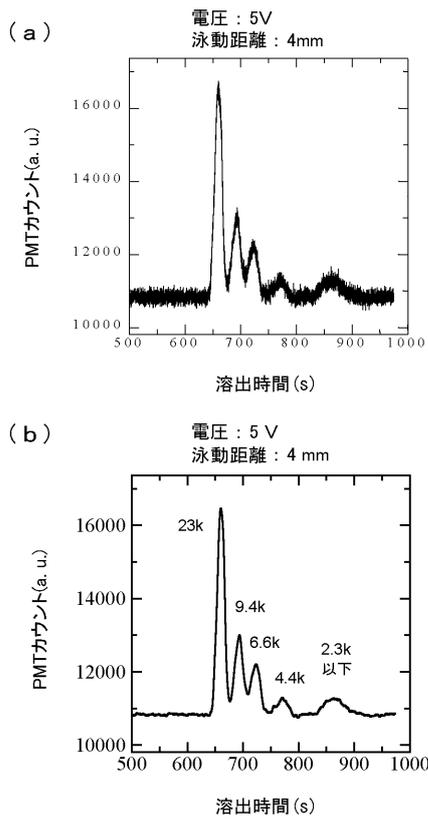
【図 3 3】



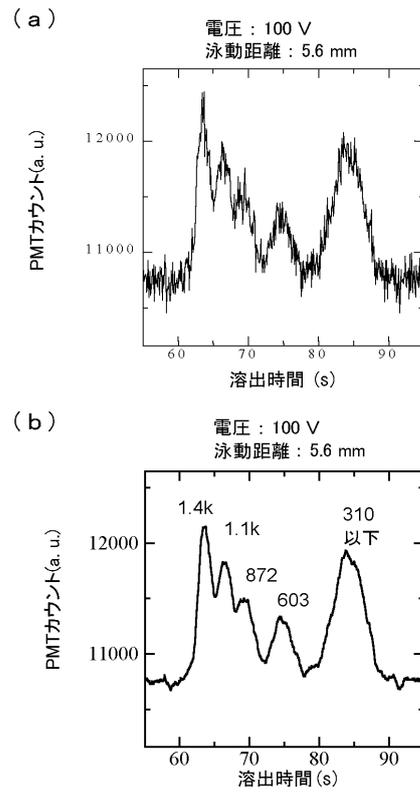
【図 3 4】



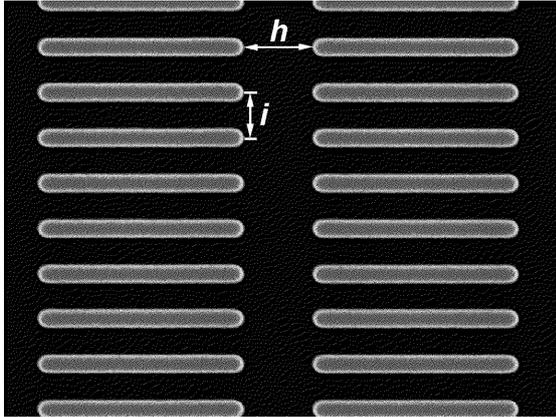
【図 3 5】



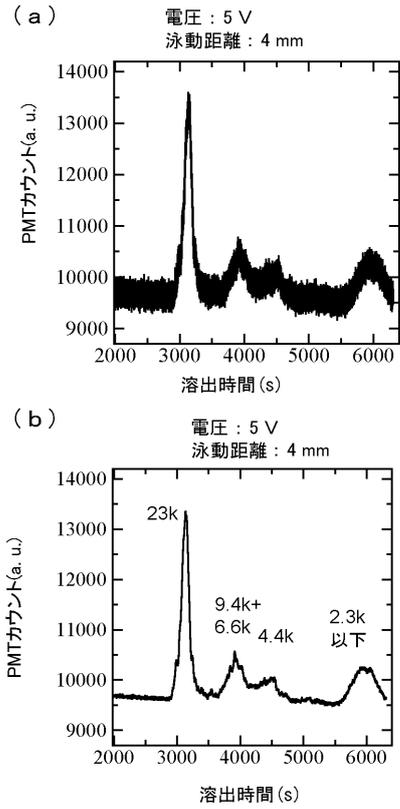
【図 3 6】



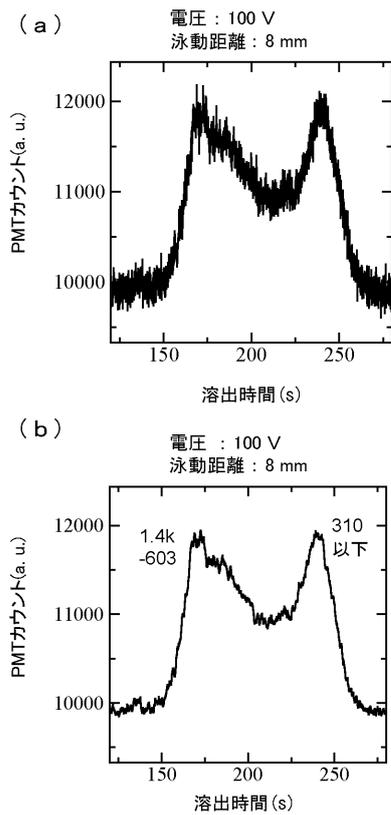
【図 37】



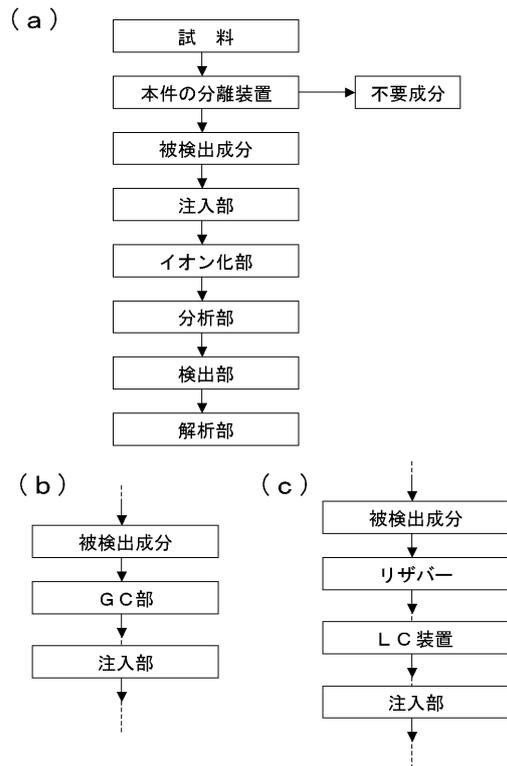
【図 38】



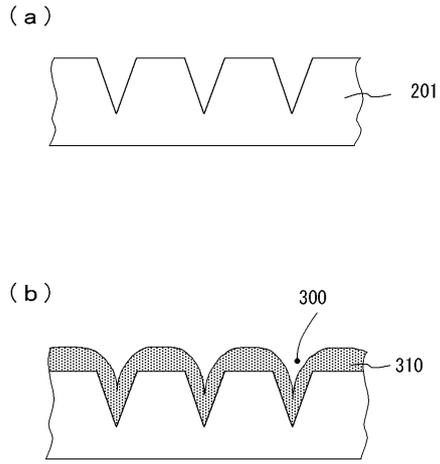
【図 39】



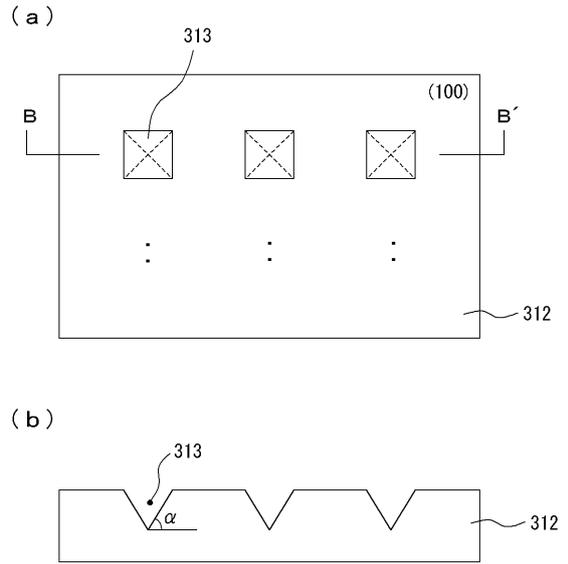
【図 40】



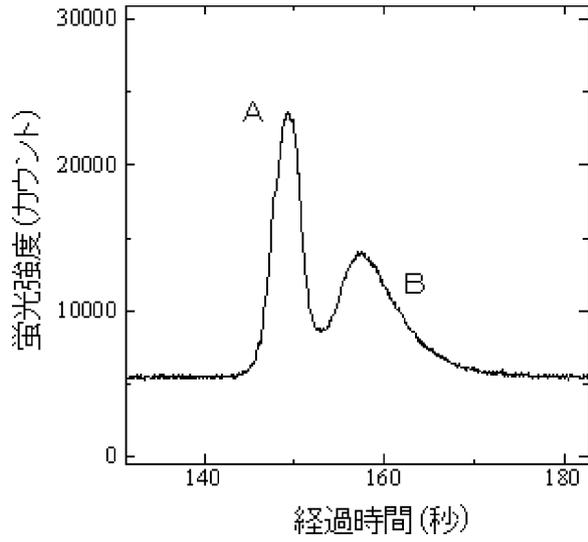
【図41】



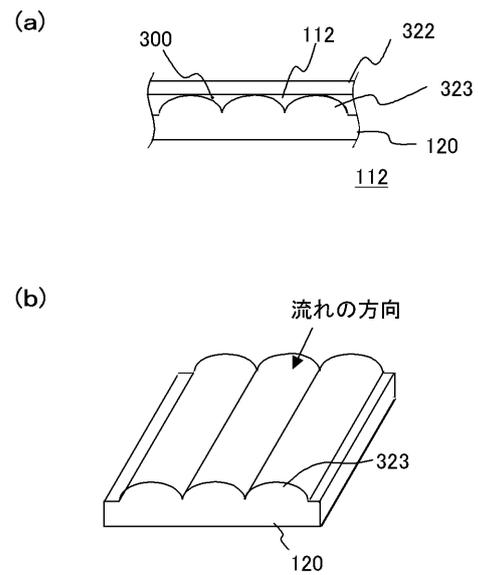
【図42】



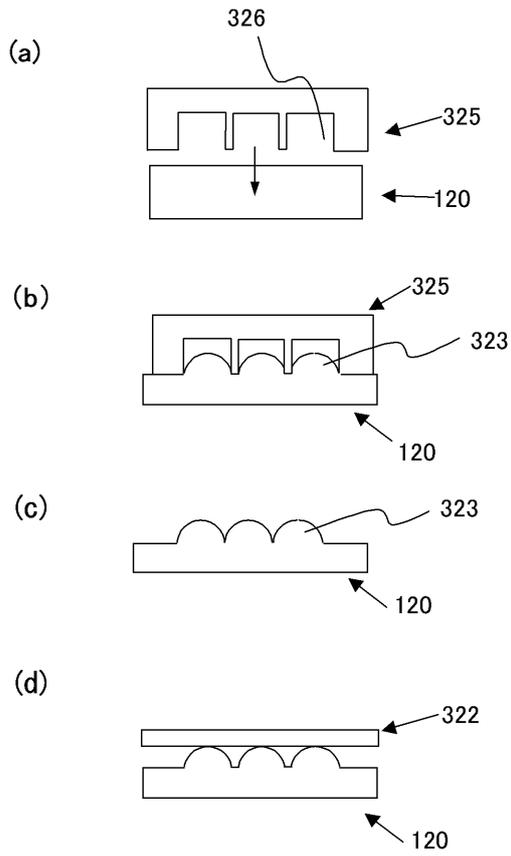
【図43】



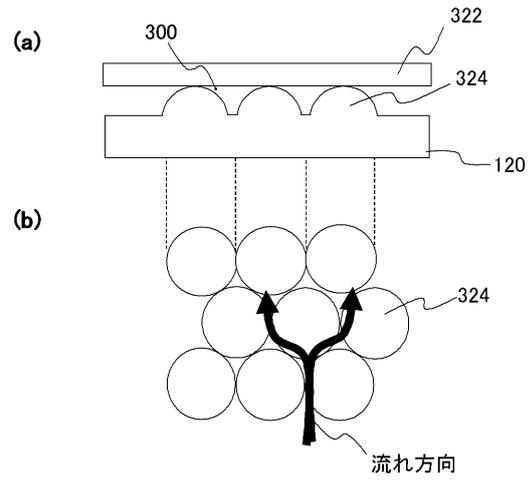
【図44】



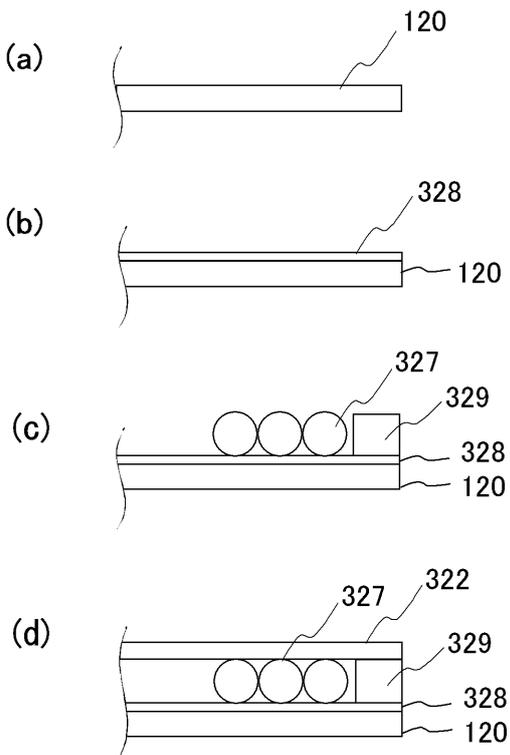
【 図 4 5 】



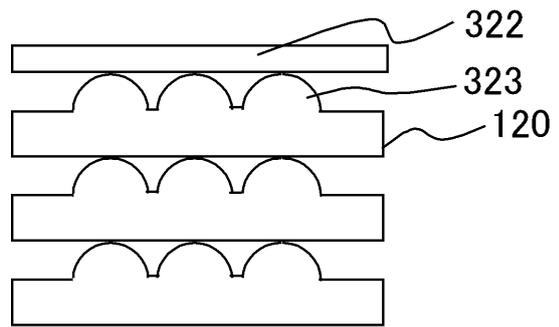
【 図 4 6 】



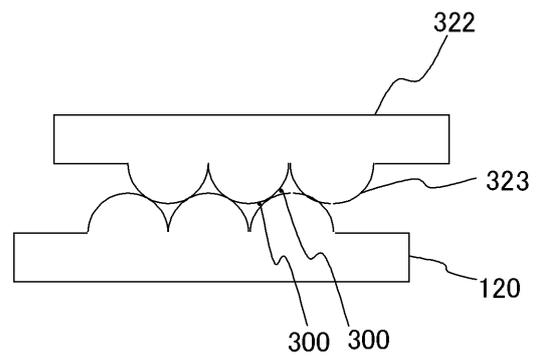
【 図 4 7 】



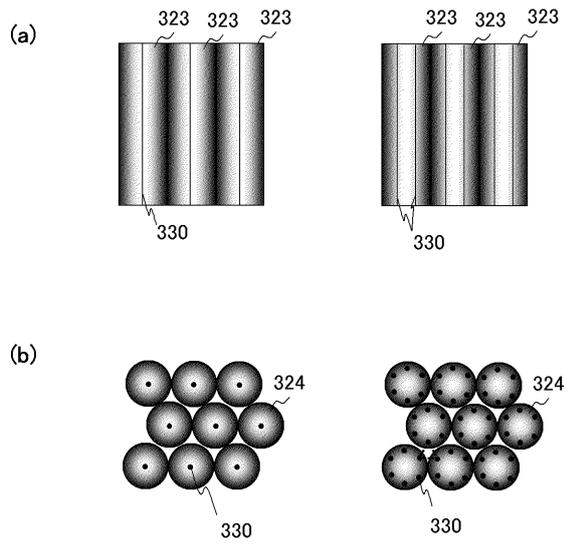
【 図 4 8 】



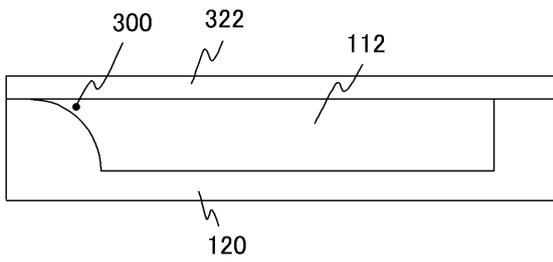
【 図 4 9 】



【 図 5 0 】



【 図 5 1 】



フロントページの続き

- (72)発明者 川浦 久雄
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
- (72)発明者 井口 憲幸
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
- (72)発明者 阪本 利司
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
- (72)発明者 服部 涉
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内
- (72)発明者 染谷 浩子
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内

審査官 高見 重雄

- (56)参考文献 米国特許第06027623 (US, A)
特開平09-504362 (JP, A)
国際公開第02/023180 (WO, A1)
特開2002-310992 (JP, A)
特開2002-055098 (JP, A)
特開平02-112755 (JP, A)
特開平07-043344 (JP, A)
佐野、馬場、井口、飯田、川浦、阪本，第63回応用物理学会学術講演会講演予稿集，日本，2002年 9月24日，第3分冊，p.1146 (25a-R-8)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|------|---------------|
| G01N | 35/00 - 37/00 |
| B01D | 57/02 |
| B81C | 1/00 |