

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4753517号
(P4753517)

(45) 発行日 平成23年8月24日(2011.8.24)

(24) 登録日 平成23年6月3日(2011.6.3)

(51) Int. Cl.	F I		
GO 1 N 27/447 (2006.01)	GO 1 N 27/26	3 3 1 E	
BO 1 D 57/02 (2006.01)	BO 1 D 57/02		
BO 1 J 19/00 (2006.01)	BO 1 J 19/00	3 2 1	
BO 3 C 5/00 (2006.01)	BO 3 C 5/00		Z
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	1 0 1	

請求項の数 19 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2001-558721 (P2001-558721)	(73) 特許権者	501014795
(86) (22) 出願日	平成13年2月10日(2001.2.10)		アクララ バイオサイエンシース, イン
(65) 公表番号	特表2003-534532 (P2003-534532A)		コーポレイテッド
(43) 公表日	平成15年11月18日(2003.11.18)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/004412		43-1432, マウンテン ビュー,
(87) 国際公開番号	W02001/059440		ペアー アベニュー 1288
(87) 国際公開日	平成13年8月16日(2001.8.16)	(74) 代理人	100078282
審査請求日	平成20年1月30日(2008.1.30)		弁理士 山本 秀策
(31) 優先権主張番号	60/182,049	(74) 代理人	100062409
(32) 優先日	平成12年2月11日(2000.2.11)		弁理士 安村 高明
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	60/185,035		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成12年2月25日(2000.2.25)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サンプル注入器を備えるマイクロ流体デバイスおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

チャンネルネットワークを有するマイクロ流体デバイス中の電解質チャンネルに液体サンプルを注入する方法であって、該チャンネルネットワークは、上流チャンネル部分および下流チャンネル部分を有する電解質チャンネル、ならびに第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネル、および第3サイドチャンネルを備え、該第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネル、および第3サイドチャンネルは、第1ポート、第2ポートおよび第3ポートのそれぞれで、2個の該チャンネル部分の間で該電解質チャンネルを横切り、ここで、該ポートの少なくとも1個は、他の2個のポートから該電解質チャンネルの長手軸に沿って間隔を空けている、デバイスであり、該方法は、以下：

(a) 該第1サイドチャンネルにサンプルを供給する、工程；

(b) 該第1サイドチャンネルと他の2個の該サイドチャンネルの少なくとも1個に、有効な電圧電位を印加して、該第1ポートと、該第1ポートから該電解質チャンネルの長手軸に沿ってずれている少なくとも1個の他のポートとの間を延びる該電解質チャンネルの容積要素に、該第1チャンネルに含まれる液体サンプルを移動させる、工程；

(c) 3個の該サイドチャンネル、および必要に応じて、該上流チャンネルおよび下流チャンネルの末端部分の少なくとも1個に印加した該電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および/またはサンプル容積要素内でのサンプル成分の分布を有する、該電解質チャンネル内の該容積要素を作製する、工程；ならびに

(d) 該上流チャンネル部分および下流チャンネル部分、ならびに該サイドチャンネルの少な

くとも 2 個に印加した該電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および / またはサンプル成分の分布を有するサンプル要素を該電解質チャンネル内の下流方向に進める、工程、
を包含する、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、該方法は、複数のサンプル成分の容積要素内に、該サンプル成分を含むサンプルを注入するのに使用され、ここで：

前記第 1 ポートは、前記第 2 ポートと第 3 ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第 2 ポートと第 3 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第 1 チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり、そして

制御工程 (c) は、電解質溶液を前記上流チャンネル部分から該第 2 ポートを通して移動させ、そして電解質溶液を前記下流チャンネル部分から該第 3 ポートを通して移動させるのに有効であり、これにより、該サンプル容積の上流の境界と下流の境界を鋭くする、
方法。

【請求項 3】

前記第 1 ポートが、前記第 2 ポートと共に前記電解質チャンネルの長手軸に沿って整列されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 ポートが、前記第 2 ポートおよび第 3 ポートから前記電解質チャンネルの長手軸に沿って間隔を空けている、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

請求項 2 に記載の方法であって、ここで、制御工程 (d) は、前記第 2 ポート、第 1 ポートおよび第 3 ポートを連続して通って、前記上流チャンネル部分の電解質溶液を移動させ、前記電解質チャンネルから離して 3 個の前記サイドチャンネルに含まれるサンプルを移動させるのに有効である、方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の方法であって、該方法は、容積要素中に複数のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および電気泳動移動度に従って、該容積要素内の該サンプル成分を予め確保する工程に使用され、ここで：

該サンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の成分、および該サンプル成分よりも大きな電気泳動移動度を有するリーディングエッジイオンまたは該サンプル成分よりも小さな電気泳動移動度を有するトレーリングエッジイオンのうちの一つを含み、

前記第 1 ポートは、前記第 2 ポートと第 3 ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第 2 ポートと第 3 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第 1 チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり、

制御工程 (c) は、前記上流チャンネル部分から該第 2 ポートを通して電解質溶液を移動させ、そして前記下流チャンネル部分から該第 3 ポートを通して電解質溶液を移動させるのに有効であり、これにより、該サンプル容積の上流の境界と下流の境界を鋭くし、該上流部分と下流部分の両方中の該電解質溶液は、リーディングエッジイオンまたはトレーリングエッジイオン以外を含み、そして

制御工程 (d) は、電気泳動移動度に従って等速回転電気泳動分離によって、該サンプルの容積中に該サンプル成分を確保するのに最初に有効である、
方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の方法であって、ここで、前記制御工程 (d) は、前記第 2 ポート、第 1 ポートおよび第 3 ポートを連続して通って、前記上流チャンネル部分の電解質溶液を移動させ、前記電解質チャンネルから離して 3 個の前記サイドチャンネルに含まれるサンプルを移動させるのに有効である、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 8】

請求項 1 に記載の方法であって、該方法は、容積要素中に複数のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および電気泳動移動度に従って、該容積要素内に該サンプル成分を予め確保する工程に使用され、ここで：

該サンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の成分を含み；

前記第 2 ポートは、前記第 1 ポートと第 3 ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第 1 ポートと第 2 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第 1 チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり；

制御工程 (c) は、前記サンプル成分よりも大きな電気移動度を有するリーディングエッジイオンの一つを含む溶液を移動させるか、または前記第 3 チャンネルから前記第 2 チャンネルに該サンプル成分よりも小さな電気移動度を有するトレーリングエッジイオンを移動させるのに有効であり；そして

制御工程 (d) は、電気泳動移動度に従って等速回転電気泳動分離によって、該サンプルの容積中に該サンプル成分を確保するのに最初に有効である、方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法であって、ここで、制御工程 (d) は、前記第 2 ポート、第 1 ポートおよび第 3 ポートを連続して通って、前記上流チャンネル部分の電解質溶液を移動させ、前記電解質チャンネルから離して前記サイドチャンネルに含まれるサンプルを移動させるのに有効である、方法。

【請求項 10】

請求項 1 に記載の方法であって、該方法は、1 以上のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および前記サンプル容積の上流側または下流側において該成分を濃縮する工程に使用され、ここで：

前記第 1 ポート、第 2 ポート、および第 3 ポートは、互いに前記電解質チャンネルの長手軸に沿って間隔を空けており、そして該第 2 ポートは、該第 1 ポートと該第 3 ポートとの間に配置され；

印加工程 (b) は、該第 1 サイドチャンネルと第 2 サイドチャンネルに、DC 電圧電位を印加して、前記第 1 チャンネルを、該第 1 ポートと該第 2 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に該第 1 チャンネル中のサンプルを移動させる工程を包含し；

制御工程 (c) は、該第 3 サイドチャンネルと上流チャンネル部分または下流チャンネル部分との間に、AC 電圧を印加し、AC 電圧が印加される該チャンネル部分に隣接する該サンプル容積の末端に、該サンプル容積中のサンプル成分を濃縮するのに有効な、サンプルプラグの上流末端または下流末端に隣接する誘電性集束場を形成する工程を包含する、方法。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の方法であって、ここで、

前記第 1 ポート、第 2 ポート、および第 3 ポートが、上流から下流の方向に、前記電解質チャンネルに沿って位置決めされており、そして

制御工程 (c) が、前記上流チャンネル部分と前記第 3 サイドチャンネルとの間に AC 電圧を印加する工程を包含する、方法。

【請求項 12】

請求項 10 に記載の方法であって、前記第 1 チャンネルおよび第 3 チャンネルは、前記電解質チャンネルの反対側に整列またはほぼ整列され、前記第 2 チャンネルが、該第 1 チャンネルと第 3 チャンネルから前記電解質チャンネルの長手軸に沿ってに間隔を空けられ、そして

制御工程 (c) は、該第 3 チャンネルと、隣接する前記上流チャンネルまたは下流チャンネルの末端部分との間に AC 電圧を印加する工程を包含する、方法。

【請求項 13】

電解質チャンネルを通る輸送用に、規定の容積の液体サンプルを電解質チャンネルに注入するのに使用するために設計された、マイクロ流体システムであって、該システムは、以下

：
 チャンネルネットワークを有するマイクロ流体デバイスであって、該チャンネルネットワークは、上流チャンネル部分および下流チャンネル部分を有する電解質チャンネル、ならびに第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネル、および第3サイドチャンネルを備え、該第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネル、および第3サイドチャンネルは、第1ポート、第2ポートおよび第3ポートのそれぞれで、2個の該チャンネル部分の間で該電解質チャンネルを横切り、ここで、該ポートの少なくとも1個は、他の2個のポートから該電解質チャンネルの長手軸に沿って間隔を空けている、デバイス；

該電解質チャンネルおよび該サイドチャンネルに液体媒体を供給するためポート；

上流電極および下流電極、ならびに第1電極、第2電極および第3電極であって、該電極は、該電解質チャンネルの上流部分および下流部分、ならびに該第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネルおよび第3サイドチャンネルのそれぞれに含まれる液体媒体と電氣的に接触するように適応されている、電極；ならびに

電圧制御器であって、以下：

(a) 該第1サイドチャンネルと他の2個の該サイドチャンネルの少なくとも1個に、有効な電圧電位を印加して、該第1ポートと、該第1ポートから該電解質チャンネルの長手軸に沿ってずれている少なくとも1個の他のポートとの間を延びる該電解質チャンネルの容積要素に、該第1チャンネルに含まれる液体サンプルを移動させるために；

(b) 3個の該サイドチャンネル、および該上流チャンネルおよび下流チャンネルの末端部分の少なくとも1個に印加した該電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および/または容積要素内でのサンプル成分の分布を有する、該電解質チャンネル内の該サンプル容積要素を作製するために；ならびに

(c) 該上流チャンネル部分および下流チャンネル部分、ならびに該サイドチャンネルの少なくとも2個に印加した該電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および/またはサンプル成分の分布を有する該サンプル要素を該電解質チャンネル内の下流方向に進めるために、

該上流電極および下流電極、ならびに該第1電極、第2電極および第3電極に作動可能に接続された、電圧制御器、
 を備える、システム。

【請求項 14】

請求項 13 に記載のシステムであって、該システムは、サンプル成分の容積要素中に、複数のサンプル成分を含むサンプルを注入するのに使用され、ここで：

前記第1ポートは、前記第2ポートと第3ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第2ポートと第3ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第1チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり、そして

制御工程 (c) は、電解質溶液を前記上流チャンネル部分から該第2ポートを通して移動させ、そして電解質溶液を前記下流ポート部分から該第3ポートを通して移動させるのに有効であり、これにより、該サンプル容積の上流の境界と下流の境界を鋭くする、システム。

【請求項 15】

請求項 14 に記載のシステムであって、ここで、制御工程 (d) は、前記第2ポート、第1ポートおよび第3ポートを連続して通って、前記上流チャンネル部分の電解質溶液を移動させ、前記電解質チャンネルから離して3個の前記サイドチャンネルに含まれるサンプルを移動させるのに有効である、システム。

【請求項 16】

請求項 13 に記載のシステムであって、該システムは、容積要素中に複数のサンプル成

10

20

30

40

50

分を含むサンプルを注入する工程、および電気泳動移動度に従って、該容積要素内に該サンプル成分を予め確保する工程に使用され、該サンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の成分、および該サンプル成分よりも大きな電気泳動移動度を有するリーディングエッジイオンを含み、ここで：

前記第 1 ポートは、前記第 2 ポートと第 3 ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第 2 ポートと第 3 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第 1 チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり、

制御工程 (c) は、前記上流チャンネル部分から該第 2 ポートを通して電解質溶液を移動させ、そして前記下流ポート部分から該第 3 ポートを通して電解質溶液を移動させるのに有効であり、これにより、該サンプル容積の上流の境界と下流の境界を鋭くし、該上流部分と下流部分の両方中の該電解質溶液は、該サンプル成分よりも小さな電気泳動移動度を有する、トレーリングエッジイオンを含み、そして

制御工程 (d) は、電気泳動移動度に従って等速回転電気泳動分離によって、該サンプルの容積中に該サンプル成分を確保するのに最初に有効である、システム。

【請求項 17】

請求項 13 に記載のシステムであって、該システムは、容積要素中に複数のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および電気泳動移動度に従って、該容積要素内に該サンプル成分を予め確保する工程に使用され、該サンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の成分、および該サンプル成分よりも大きな電気泳動移動度を有するリーディングエッジイオンを含み、ここで：

前記第 2 ポートは、前記第 1 ポートと第 3 ポートとの間で前記電解質チャンネルの長手軸に沿って配置され、

印加工程 (b) は、該第 1 ポートと第 2 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に、前記第 1 チャンネルのサンプルを移動させるのに有効であり；

制御工程 (c) は、前記第 3 チャンネルから前記第 2 チャンネルに、前記サンプル成分よりも大きな電気移動度を有するリーディングエッジイオンの一つを含む溶液を移動させるか、または該サンプル成分よりも小さな電気移動度を有するトレーリングエッジイオンを移動させるのに有効であり；そして

制御工程 (d) は、電気泳動移動度に従って等速回転電気泳動分離によって、該サンプルの容積中の該サンプル成分を確保するのに最初に有効である、システム。

【請求項 18】

請求項 13 に記載のシステムであって、該システムは、1 以上のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および前記サンプル容積の前記上流側または下流側において該成分を濃縮する工程に使用され、ここで：

前記第 1 ポート、第 2 ポート、および第 3 ポートは、互いに前記電解質チャンネルの長手軸に沿って間隔を空けており、そして該第 2 ポートは、該第 1 ポートと該第 3 ポートとの間に配置され；

印加工程 (b) は、該第 1 サイドチャンネルと第 2 サイドチャンネルに、DC 電圧電位を印加して、該第 1 ポートと該第 2 ポートとの間で延びる前記電解質チャンネルの容積要素に該第 1 チャンネル中のサンプルを移動させる工程を包含し；そして

制御工程 (c) は、該第 3 サイドチャンネルと上流チャンネル部分または下流チャンネル部分との間に、AC 電圧を印加する工程を包含し、該第 1 ポートおよび第 2 ポートは、該第 3 サイドチャンネルと該 AC 電圧が印加されるチャンネル部分との間に配置され、そして間隔を空けており、これにより、AC 電圧が印加される該チャンネル部分に隣接する該サンプル容積の末端において、サンプル容積中のサンプル成分を濃縮する、システム。

【請求項 19】

10

20

30

40

50

請求項 13 に記載のシステムであって、該システムは、1 以上のサンプル成分を含むサンプルを注入する工程、および前記サンプル容積の前記上流側または下流側において該成分を濃縮する工程に使用され、ここで：

前記第 1 チャネルおよび第 3 チャネルは、前記電解質チャネルの反対側に整列またはほぼ整列され、前記第 2 チャネルが、該第 1 チャネルと第 3 チャネルから前記電解質チャネルの長手軸に沿って間隔を空けており、

印加工程 (b) は、該第 1 サイドチャネルと第 2 サイドチャネルに、DC 電圧電位を印加して、該第 1 ポートと該第 2 ポートとの間で延びる前記電解質チャネルの容積要素に該第 1 チャネル中のサンプルを移動させる工程を包含し；そして

制御工程 (c) は、該第 3 サイドチャネルと上流チャネル部分または下流チャネル部分との間で、隣接する前記上流チャネルまたは下流チャネルの末端部分と、該第 3 チャネルとの間に、AC 電圧を印加する工程を包含し、これにより、AC 電圧が印加される、該チャネル部分に隣接する該サンプル容積の末端において、サンプル容積中のサンプル成分を濃縮する、

システム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明の分野は、流体およびイオンのマイクロ流体操作である。

【0002】

(背景)

マイクロ流体は、活動が化学的操作および物理的操作のかなりの割合において実行される方法において革命を起こしている。マイクロ流体の 1 つの領域は、チャネルおよびレザバのネットワークが存在する固体基材上の少量の液体または液体組成物の操作である。電氣的に伝導する液体とともに電場を使用することによって、容積および/またはイオンが、1 つの部位から別の部位に動き得、異なる溶液が液体および/またはイオンを混合することによって形成され、反応が行われ、分離が行われ、そして分析が行われる。実際、通俗的には、このシステムは、「チップ上の研究所 (a laboratory on a chip)」と呼ばれている。このタイプの種々の先行技術のデバイスとしては、米国特許第 6,010,608 号、同第 6,010,607 号、同第 6,001,229 号、同第 5,858,195 号、同第 5,858,187 号および PCT 出願番号 96/0547 が挙げられ、これらは、サンプル溶液の注入に関連したファミリーの出願である。米国特許第 5,599,432 号、EPA 0620432、および Verheggenら、J. of Chromatography 452 (1988) 615-622 もまた参照のこと。

【0003】

操作の多くにおいて、特定のイオンまたはグループのイオンの境界がシャープであり、そして直線的であるかまたはわずかに曲がったプラグとしての、鋭く規定された容量のイオンを作製することに興味がある。同時に、十分に規定された容量を有するサンプルを注入ことが望ましくあり得る。あるいは、例えば、サンプルの成分の電気泳動分離を改善するために、多成分サンプル中の成分を予め確保する (prestack) ことが望ましくあり得る。なお他の適用において、例えば、電気泳動分離によって、サンプルを分析のために注入する前に、サンプルに存在するサンプル成分を濃縮することが望ましい。

【0004】

(発明の要旨)

これらの種々の望ましいサンプル注入特徴を達成するために制御され得るマイクロ流体デバイスおよびシステムを提供することが本発明の一般的な目的である。本発明は、1 つの局面において、チャネルネットワークを有するマイクロ流体デバイス中の電解質チャネルに液体サンプルを注入するための方法を包含し、このチャネルネットワークは、電解質チャネルならびに第 1 サイドチャネル、第 2 サイドチャネルおよび第 3 サイドチャネルを

10

20

30

40

50

備え、この電解質チャンネルは上流チャンネル部分および下流チャンネル部分を有し、この第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネルおよび第3サイドチャンネルは、第1ポート、第2ポート、および第3ポートのそれぞれにおいて2つのチャンネル部分の間で電解質チャンネルを横切り、ここで、これらのポートのうち少なくとも1つが、他の2つのポートから電解質チャンネルに沿って軸方向に間隔が空けられている。

【0005】

本発明の方法は、(a) サンプルを第1サイドチャンネルに供給する工程、(b) 第1サイドチャンネルおよび他の2個のサイドチャンネルの少なくとも1つにわたって、有効な電圧電位を印加して、第1ポートと、第1ポートから軸方向にずれた少なくとも1個の他のポートとの間を延びる電解質チャンバの容積要素に、第1チャンネルのサンプルを移動させる工程；(c) 3個のサイドチャンネル、および必要に応じて、上流チャンネル末端部分および下流チャンネル末端部分の少なくとも1個または両方に印加した電圧を同時に制御して、サンプル容積要素内に所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および/またはサンプル成分の分布を有する、電解質チャンネル内のサンプル容積要素を作製する工程；ならびに(d) 上流チャンネル部分および下流チャンネル部分、ならびにサイドチャンネルの少なくとも2個に印加した電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状ならびに/あるいはサンプル成分の分布を有するサンプル要素を電解質チャンネル内の下流方向に進める工程を包含する。

10

【0006】

実質的に均一な分布のサンプル成分を有する容積要素内に、複数のサンプル成分を含むサンプルを注入する際の使用のために、第1ポートは、第2ポートと第3ポートとの間に軸方向に配置され、印加工程(b)は、第1チャンネル内のサンプルを第2ポートと第3ポートとの間に延びる電解質チャンバの容積要素に移動させるのに効果的であり、そして制御工程(c)は、電解質溶液を上流チャンネル部分から第2部分を通して移動させ、そして電解質溶液を下流部分から第3ポートを通して移動させるのに効果的であり、サンプル容量の上流および下流の境界を鋭くする。

20

【0007】

第1ポートは、第2ポートと軸方向に整列され得るか、または第2ポートと第3ポートとの両方から軸方向に間隔を空けられ得る。制御工程(d)は、上流チャンネル部分の電解質溶液を連続的に第2ポート、第1ポートおよび第3ポートを通して動かして、これら3つのサイドチャンネルに含まれるサンプルを電解質チャンネルから動かすのに効果的である。

30

【0008】

別の実施形態において、本発明の方法は、容積要素内に複数のサンプル成分を含むサンプルを注入し、そして電気泳動移動度に従って容積要素内にサンプル成分を予め確保するために使用され、ここで、このサンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の成分、およびそのサンプル成分の電気泳動移動度よりも大きい電気泳動移動度を有するリーディングエッジイオンまたはそのサンプル成分の電気泳動移動度よりも小さい電気泳動移動度を有するトレーリングエッジイオンの1つを含む。この方法において、第1ポートは、第2ポートと第3ポートとの間に軸方向に配置され、印加工程(b)は、第1チャンネル内のサンプルを第2ポートと第3ポートとの間に延びる電解質チャンバの容積要素に移動させるのに効果的であり、制御工程(c)は、電解質溶液を上流チャンネル部分から第2ポートを通して移動させ、そして電解質溶液を下流部分から第3ポートを通して移動させるのに効果的であり、このようにしてサンプル容量の上流および下流の境界を鋭くし、ここで、上流部分と下流部分との両方の電解質溶液は、リーディングエッジイオンまたはトレーリングエッジイオンの他方を含み、そして制御工程(d)は、等速回転電気泳動分離によって、それらの電気泳動移動度に従って、容積容量内にサンプル成分を確保するのに、最初に効果的である。

40

【0009】

上記のように、第1ポートは、第2ポートと軸方向に整列され得るかまたは第2ポートと第3ポートとの両方から軸方向に間隔を空けられ得る。制御工程(d)は、上流チャネ

50

ル部分の電解質溶液を連続的に、第2ポート、第1ポートおよび第3ポートを通して移動させて、電解質チャンネルからこれら3つのサイドチャンネル内に含まれるサンプルを動かすのに効果的である。

【0010】

あるいは、サンプル成分を予め確保するために、第2ポートは、第1ポートと第3ポートとの間に軸方向に配置され、印加工程(b)は、第1チャンネル内のサンプルを第1ポートと第2ポートとの間に延びる電解質チャンバの容積要素に移動させるのに効果的であり、制御工程(c)は、サンプル成分の電気泳動移動度よりも大きい電気泳動移動度を有するリーディングエッジイオンまたはサンプル成分の電気泳動移動度よりも小さい電気泳動移動度を有するトレーリング(ターミネーティング)エッジイオンの1つを含む溶液を、第3チャンネルから第2チャンネルに移動させるのに効果的であり、そして制御工程(d)が、等速回転電気泳動分離によって、それらの電気泳動移動度に従って、サンプル容積内にサンプル成分を確保するのに最初に効果的である。リーディングエッジイオンまたはトレーリングエッジイオンの他方は、電解質チャンネルの上流部分および下流部分に含まれる。

10

【0011】

別の実施形態において、1つ以上のサンプル成分を含むサンプルを注入し、そしてサンプル容積の上流側または下流側に成分を濃縮するために、第1ポート、第2ポート、および第3ポートは、互いに軸方向に間隔を空けられ、そして第2ポートは、第1ポートと第3ポートとの間に配置される。印加工程(b)は、第1サイドチャンネルおよび第2サイドチャンネルを横切ってDC電圧電位を印加して、第1チャンネル内のサンプルを第1ポートと第2ポートとの間に延びる電解質チャンバの容積要素に移動させる工程を包含し、制御工程(c)は、第3サイドチャンネルと上流チャンネル部分または下流チャンネル部分との間にAC電圧を印加する工程を包含し、ここで、第1ポートおよび第2ポートは、第3サイドチャンネルとAC電圧が印加されるチャンネル部分との間に配置され、そしてこれらの第3サイドチャンネルおよびチャンネル部分から間隔を空けられており、これによって、AC電圧が印加されるチャンネル部分に隣接するサンプル容積の末端部にサンプル容積内のサンプル成分を濃縮する。

20

【0012】

なお別の実施形態において、サンプル成分を濃縮するために、第1チャンネルおよび第3チャンネルは、電解質チャンネルの反対側に軸方向に整列するかまたはほぼ整列しており、第2チャンネルが、第1チャンネルおよび第3チャンネルから軸方向に離れて配置され、印加工程(b)が、第1サイドチャンネルおよび第2サイドチャンネルを横切ってDC電圧電位を印加して、第1チャンネル内のサンプルを第1ポートと第2ポートとの間に延びる電解質チャンバの容積要素に移動させる工程を包含し、そして制御工程(c)は、第3チャンネルと上流チャンネル末端部分または下流チャンネル末端部分との間、第3サイドチャンネルと上流チャンネル部分または下流チャンネル部分との間にAC電圧を印加して、これによってAC電圧が印加されるチャンネル部分に隣接するサンプル容積の末端部にサンプル容積内のサンプル成分を濃縮する工程を包含する。

30

【0013】

本発明の別の局面を形作るのは、チャンネルを介した輸送のために、キャピラリー電解質チャンネルに、規定された容量の液体サンプルを注入する際に使用するためのマイクロ流体システムである。このデバイスは、(a)チャンネルネットワークを有するマイクロ流体デバイスであって、このチャンネルネットワークは、電解質チャンネルならびに第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネルおよび第3サイドチャンネルを備え、この電解質チャンネルは上流チャンネル部分および下流チャンネル部分を有し、この第1サイドチャンネル、第2サイドチャンネルおよび第3サイドチャンネルは、第1ポート、第2ポート、および第3ポートのそれぞれにおいて2つのチャンネル部分の間で電解質チャンネルを横切り、ここで、これらのポートのうちの少なくとも1つが、他の2つのポートから電解質チャンネルに沿って軸方向に間隔が空けられている、マイクロ流体デバイス、(b)液体媒体を電解質チャンネルおよびサイドチャンネルに供給するためのポート、ならびに(c)上流電極および下流電極、ならびに

40

50

第1電極、第2電極、および第3電極であって、これらは、電解質チャンネルの上流部分および下流部分、ならびに第1チャンネル、第2チャンネルおよび第3チャンネルにそれぞれ含まれる液体媒体と連絡するように適合される、上流電極および下流電極、ならびに第1電極、第2電極、および第3電極、ならびに

電圧コントローラー(d)であって、上流電極、下流電極、第1電極、第2電極、および第3電極に作動可能に接続される、電圧コントローラー(d)を備え、このデバイスは、(i)第1サイドチャンネルおよび他の2個のサイドチャンネルの少なくとも1つにわたって、有効な電圧電位を印加して、第1ポートと、第1ポートから軸方向にずれた少なくとも1個の他のポートとの間を延びる電解質チャンバの容積要素に、第1チャンネルに含まれる液体サンプルを移動させ、(ii)3個のサイドチャンネル、および上流チャンネル末端部分および下流チャンネル末端部分の少なくとも1個に印加した電圧を同時に制御して、サンプル容積要素内に所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状、および/またはサンプル成分の分布を有する、電解質チャンネル内のサンプル容積要素を作製し、そして(iii)上流チャンネル部分および下流チャンネル部分、ならびにサイドチャンネルの少なくとも2個に印加した電圧を同時に制御して、所望のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの形状ならびに/あるいはサンプル成分の分布を有するサンプル要素を電解質チャンネル内の下流方向に進めるためのデバイスである。

【0014】

このデバイスは、上記の構造的特徴および制御された電圧の特徴を有する。

【0015】

本発明のこれらの目的および他の目的は、本発明の以下の詳細な説明が添付の図面とともに読まれる場合、より十分に明かになる。

【0016】

(発明の詳細な説明)

(I. マイクロ流体システム)

本発明は、1つの局面において、チャンネルを介した輸送のために、キャピラリー電解質チャンネルに、規定された容量の液体サンプルを注入する際の使用するためのマイクロ流体システムを包含する。「規定された容量」とは、注入される容量が、電解質チャンネル(以下に示されるようにサンプルが充填される)の容量によって規定される既知の容量を有することを意味する。電解質チャンネルを介した輸送は、サンプルをシステムの別のステーションに運ぶため、例えば、電解質チャンネルに沿った電気泳動分離によるサンプル成分の分離のため、または例えば、チャンネル内の特定の反応部位においてチャンネルの長さに沿った1つ以上の位置において成分を分析するためであり得る。

【0017】

本発明に従う1つの例示的なシステムは、図1の10に示される。このシステムは、マイクロ流体デバイスを含み、チャンネルネットワーク14を含む12で一般的に示される。以下に記載されるように、チャンネルネットワークは、マイクロ流体基材(例えば、シリコンまたはポリマー基材)で都合良く形成され、これは、基材の上表面に形成されるキャピラリーチャンネルのネットワークを有し、そして上基材表面に取り付けられる蓋によって囲まれる。チャンネルネットワークは、電解質チャンネル16を備え、これは、緩衝液または電解質レザバ20と連絡する上流部分18および廃棄レザバ24と連絡する下流部分22を有する。操作において、以下に記載されるように、サンプルを上流チャンネル部分と下流チャンネル部分との間の電解質チャンネルに注入し、引き続いて、サンプル分離のため、分析のため、そして/またはデバイスの別の部位への輸送のために電解質チャンネルの下流の方向に(図の右に)移動させる。

【0018】

チャンネルネットワークには、電解質チャンネルをポート32、34、および36でそれぞれ横切る、第1サイドチャンネル26、第2サイドチャンネル28、および第3サイドチャンネル30もまた、備えられる。3つのポートは、図1および2の実施形態に示されるように、上流電解質チャンネル部分と下流電解質チャンネル部分との間に配置され、そして互いに軸

10

20

30

40

50

方向に間隔が空けられるが、いくつかの適用において、図3を参照して議論されるように、2つのサイドチャンネルポートが電解質チャンネルの異なる側に軸方向に整列し得る。「第1」チャンネル、「第2」チャンネル、および「第3」チャンネルのような特定のサイドチャンネルの名称は、任意であり、そして以下に記載される種々の方法の間で変わり得る。より一般的には、「第1」チャンネルは、サンプル材料が供給されるチャンネルを示し、そして「第2」チャンネルおよび「第3」チャンネルは、サンプルを受容するドレインチャンネルかまたは他の成分を電解質チャンネルに供給し得るチャンネルのいずれかを示す。

【0019】

チャンネル26、28、および30は、示されるように、その遠位端において、それぞれサンプルレザバ38、およびドレインレザバ40、42と連絡する。これらのレザバの少なくとも1つ、そして好ましくは全てが、ポート(図示せず)を有し、このポートにおいて、液体物質がレザバに添加され得る。各レザバは、電極(例えば、電極44、46、48、50、および52)を、それぞれレザバ20、24、38、40、および42に提供するか、または受容するよう適合される。これらの電極は、基材上に形成されても、(例えば、電極が関連するレザバ中の液体と接触するために基材上に配置される電極板上に)独立して形成されてもよい。各電極は、次に、制御ユニットまたは電圧制御装置54に作動可能に接続され、この制御ユニットは、以下に記載される種々の様式で作動して、所望のサンプル注入モードの選択された型の1つを生じる。

【0020】

3つのサイドチャンネルの間(between and among)の相対的な間隔、およびチャンネル注入の領域における電解質チャンネルの断面積は、注入されるサンプルプラグの所望の容量を決定する。明らかに、所定の容量に対して、チャンネルの断面積は大きくなるほど、間隔は小さくなり得る。間隔は、特定の配置に依存して、対称的であっても非対称的であってもよく、通常は、ドレインチャンネルの中心間で測定する場合に、供給源チャンネルから離れたプラグの全長の少なくとも約10%である。チャンネル中心からチャンネル中心への間隔は、1 μ m~3cm、より通常には約5 μ m~1mmの範囲である。プラグに対する容量は、一般に、約1nl~1 μ lの範囲、より通常には約1nl~10nlの範囲であるが、より大きいかまたはより小さな容量が、特定の状況において有用であり得る。

【0021】

サイドチャンネルの3つの代替の配置を、図1~3に示す。図1の配置において、第1のサイドチャンネルポートが、第2および第3のチャンネルポートの間に位置し、そしてこれらのポートから軸方向に間隔を空けており、そして電解質チャンネルの反対側にある(サンプルが注入される「第1の」チャンネルは、選択される特定のサンプル注入配置に依存して、これら3つのチャンネルのいずれでもよいことが理解される)。図2に示す実施形態においては、チャンネルネットワーク56は、電解質チャンネル58、ならびに第1、第2、および第3のサイドチャンネル60、62、および64をそれぞれ備え、これらのチャンネルは、3つのポート66、68、および70においてそれぞれチャンネル58と交差し、これは、互いから軸方向に間隔を空けており、そして電解質チャンネルの同じ側に位置する。

【0022】

図3は、電解質チャンネル74ならびに第1、第2、および第3のチャンネル76、78、80を備えるチャンネルネットワーク72を有する実施形態を示し、これらのチャンネルは、それぞれ3つのポート82、84、86においてチャンネル74と交差し、ここで、第1および第2のサイドチャンネルは軸方向に整列しており、そして電解質チャンネルの反対側にポートを有し、そして両方が、第3のチャンネルから軸方向に間隔を空けている。

【0023】

ここで、このシステムのマイクロ流体デバイスの作製を考慮すると、チャンネルが存在する基材またはカードは、一般に、少なくとも約20 μ m、より通常には少なくとも約40 μ m、そして約0.5cm以下、通常には約0.25cm以下の厚みを有する。基材の幅は、収容されるべきユニットの数によって決定され、そして約2mm程度に小さくあり得

10

20

30

40

50

、そして約6 cmまでか、またはそれより大きい。他方向の寸法は、一般に、少なくとも約0.5 cmであり、そして約50 cm以下であり、通常は、約20 cm以下である。基材は、可撓性フィルムまたは比較的不可撓性の固体であり得、ここで、微小構造体（例えば、レザバおよびチャネル）は、エンボス加工、成形、機械加工などによって提供される。チャネルの寸法は、一般に、約0.1 μm ~ 1 mmの範囲の深さ、および約0.5 μm ~ 1 mmの幅の範囲であり、ここで、断面は一般に、0.1 μm² ~ 約1 mm²である。チャネルの長さは、そのチャネルが使用される操作に依存して広く変動し、一般に、約0.05 mm ~ 50 cmの範囲、より通常には約0.5 mm ~ 20 cmの範囲である。メインチャネルおよびサイドチャネルは、同じかまたは異なる断面積、および同じかまたは異なる形状を有し得る。

10

【0024】

接合領域において所望される流れパターンに依存して、サイドチャネルは、メインチャネルより大きいかまたは小さな断面であり得る。レザバは、一般に、約10 nl ~ 100 μlの範囲の容量；より通常には約500 nl ~ 10 μlの範囲の容量を有する。レザバは、円筒形状、円錐形状（例えば、切頭体）、または他の規則的な形状であり得る。

【0025】

このデバイスの作製は、微小特徴を含む基材、支持フィルム、封入フィルム、またはこれらの組み合わせを含み得る。支持フィルムは、一般に、少なくとも約40 μmの厚みであり、そして約5 mm以下の厚みである。チャネルおよびレザバの底部を封入するために使用されるフィルムは、一般に、約10 μm ~ 2 mmの範囲、より通常には約20 μm ~ 1 mmの範囲の厚みを有する。選択される厚みは、良好な熱移動（例えば、温度制御）のための所望によって制御され得るが、そうでなければ、通常は、好都合であって良好な密封を保証するものであり、そしてデバイスが使用される様式が、器具類を収容するものである。封入フィルムはまた、基材の底部が完全に閉じた位置で、上記範囲内の厚みを有し、そしてレザバまたはアクセスを必要とする他の特徴と位置合わせされた穿孔を含み、一方でチャネルを封入する。従って、この範囲は重要ではない。

20

【0026】

示されるように、基材は、可撓性フィルムまたは不可撓性固体であり得るので、作製の方法は、この基材の性質によって変化する。エンボス加工のためには、少なくとも2つのフィルムが使用され、ここで、これらのフィルムは、ロールから引かれ得、一方のフィルムがエンボス加工され、そして他方のフィルムが、このエンボス加工されたフィルムに接着されて、物理的支持を提供する。個々のユニットには刻み目が付けられ得、これによって、別個に使用されることが可能であるか、またはデバイスのロールはインタクトなままであり得る。例えば、出願番号PCT/98/21869を参照のこと。デバイスが個々に作製される場合には、これらのデバイスは、通常、従来の成形技術を使用して、成形される。基材および付随するフィルムは、一般にプラスチックであり、特に有機ポリマーであり、ここで、このポリマーは、さらなるポリマー（例えば、アクリレート、メタクリレート、ポリオレフィン、ポリスチレンなど）を含むか、または縮合ポリマー（例えば、ポリエーテル、ポリエステル、ポリアミド、ポリイミド、ジアルキルシロキサンなど）であるが、ガラス、シリコンまたは他の物質が、使用され得る。望ましくは、ポリマーは、固有に低い蛍光を有するか、または添加剤もしくは漂白（例えば、光退色）によって、低蛍光性にされ得る。フィルムは、通常、少なくともチャネルを封入するように基材上に配置され、このフィルムは通常、レザバとの連絡のための開口部を有し、そして適切である場合には、電極をレザバに導入する。封入フィルムは、任意の好都合な手段（例えば、熱結合、接着剤など）によって、基材に接着され得る。文献は、このようなフィルムを接着する多数の例を有する。例えば、米国特許第4,558,333号；および同第5,500,071号を参照のこと。

30

40

【0027】

(II. サンプル注入法)

上記システムは、以下の下位区分A ~ Cに詳述される、種々のサンプル注入操作を実施

50

するために設計される。一般に、本発明のサンプル注入法は、最初にサンプルを第1のサイドチャンネルに供給する工程を包含する。このサンプルは、代表的に、複数の生物学的成分または生物学的に活性な成分（例えば、異なる長さおよび配列のDNAフラグメント、異なるタンパク質、または治療化合物など、あるいは蛍光レポーター分子）を含む、水性サンプルであり、これらは、チャンネルへの注入後、電解質チャンネルを通して移送され、このチャンネルにおいて分析され、そしてこのチャンネルに沿って分離される。1つの例示的な適用において、このサンプルは、異なる電気泳動移動度を有する複数の化合物（例えば、核酸化合物）を含み、そして電解質チャンネルの下流部分は、電解質チャンネルにおける成分のゾーン電気泳動分離またはキャピラリー電気泳動（CE）分離のための、電気泳動媒体を含む。

10

【0028】

さらに、このデバイスの他のチャンネルに、好ましくはそのデバイスの関連するレザバと連絡するポートを通して、液体が添加される。一般に、残りのチャンネルおよびレザバは、電解質溶液（例えば、約2～250mMの間の緩衝塩を含む、標準電気泳動溶液）で満たされる。

【0029】

このデバイスがこのように充填されると、制御ユニットが、電圧を、第1サイドチャンネルおよび他の2つのサイドチャンネルの少なくとも1つ（特に、第1のサイドチャンネルから軸方向に間隔を空けるチャンネル）を横切って印加するよう作動される。電位の電圧および極性は、サンプル物質がサンプルレザバからサンプルチャンネルを通過して、電圧が制御されたサイドチャンネル間の電解質チャンネルのセグメント内に入り、そしてこのチャンネルを通過して、第2の、および必要に応じて第3のサイドチャンネル、ならびにリザーバに入るように、動電学的に移動するようなものである。この動電学的移動は、パルク相電気浸透フロー（EOF）、サンプルの個々の成分の電気泳動的移動、またはこれらの組み合わせであり得る。従って、電圧が制御されたサイドチャンネルのポート間の電解質チャンネルの部分は、サンプル容量で満たされ、このサンプル容量は、このようなポート間のチャンネルの容量によって、そして少なくとも部分的にこのようなポートを含んで、規定される。代表的に、サイドチャンネル間に印加される電圧は、約10～5,000ボルトの間の直流電圧である。

20

【0030】

本発明の重要な特徴によれば、サンプル容量のリーディングエッジおよびトレーリングエッジの所望の形状、ならびにサンプル容量内でのサンプル成分の所望の分布が、3つのサイドチャンネル、および必要に応じて、上流または下流の電解質チャンネル部分の少なくとも1つに印加される電圧を同時に制御することによって達成される。以下の下位区分AおよびBは、サンプル容量のリーディングエッジおよびトレーリングエッジが、2つのチャンネル部分から第2および第3のサイドチャンネルへの緩衝剤または緩衝イオンの内向きの流れによって形成される、サンプル充填方法を詳述する；下位区分Cは、サンプル成分が、誘電収束によってサンプル容量の一端において濃縮される、サンプル充填方法を詳述する。サンプルが第1のチャンネルから電解質チャンネルへと充填され、次いで形成および/または濃縮される、これら2つの工程はまた、本明細書中において、サンプル充填工程と称される。

30

40

【0031】

サンプル充填、ならびにサンプル容量中でのサンプル成分の適切な形成および/または分配の後に、制御デバイスが、上流および下流のチャンネル部分、ならびにサイドチャンネルの少なくとも2つにわたって印加される電圧を同時に制御するよう操作されて、電解質チャンネルにおける下流方向へとサンプルを進める。この工程はまた、本明細書中において、サンプル注入工程と称される。下位区分AおよびCに記載される方法において、サンプル注入は、サンプル容量を、形成されたサンプルプラグ（下位区分A）または濃縮成分を有するプラグ（C）として電解質チャンネルの下流部分に移動させる工程を包含する；下位区分Bにおいて、サンプル注入は、最初に、サンプル中の異なるサンプル成分を等速回転電

50

気泳動によって予め確保するよう働き、次いで、これらのサンプル成分を、電気泳動的移動によって移動させる。これら3つのサンプル注入モードを、ここでさらに詳細に考慮する。

【0032】

(A. 規定容量のサンプル注入)

図1～3は、形成されたリーディングエッジおよびトレーリングエッジを有する規定容量のサンプルプラグを生成するための、3つの異なるサイドチャンネル配置におけるサンプル充填工程を示す。図1の実施形態において、制御ユニットは、図示するように、第1のサイドチャンネルならびに第2および第3の各々のサイドチャンネルにわたってDC電位を印加し、サンプル物質を、サンプルレザバ38から、ポート34、36の間の電解質チャンネル内へ、およびこのチャンネルを通して、そして第2および第3のサイドチャンネル内へと、移動させるように、作動する。電位の極性(任意にV(-)からV(+))で示される)は、サンプルを動電学的に所望の方向に移動させるよう選択される。代表的に、サイドアームにわたる電位勾配は、約10V/cmと500V/cmとの間である。

10

【0033】

同時に、サンプル充填工程の一部として、電位が、電解質チャンネルの上流部分および下流部分に印加されて、レザバ20、24内の緩衝剤または緩衝イオンを、サイドチャンネル28、30に向けてこれらのチャンネル内へと移動させる。すなわち、5つ全てのレザバにおける電圧制御が、同時に制御される。示されるように、チャンネルおよび関連するサイドチャンネルの各端部にわたる電圧差は、同じチャンネルと第1サイドチャンネルとにわたる電圧差より小さく、その結果、電解質チャンネルの反対側の端部からの緩衝剤の流れは、示されるように、2つの外側サイドチャンネルに制限される。

20

【0034】

接合領域において場の強度を制御することによって、ドレインチャンネルにおける2つの流れ(サンプルおよび電解質緩衝剤)の断面積の比率が、サンプル流れおよび緩衝剤流れに関して、約5:95～95:5、より通常には10:90～90:10、そして好ましくは約25:75～75:25で、変動され得る。緩衝剤流れまたはサンプル流れの割合が小さすぎると、プラグの縁部の直線性および鋭さが低下する。陽イオンの流れについては、一般に、供給源と排液部との間に、より低いポテンシャルが存在する。相対的な場の強度は、電極における電圧、接合領域からの電極の距離、流れの電気抵抗などの関数である。従って、電圧の言及は、他のパラメータの知識なしには、意味をなさない。それにもかかわらず、約1～20mmの範囲の接合領域からの電極の距離、および約 1×10^{-4} ～ 4×10^{-2} mm²の範囲の断面積を有する従来のシステムに関して、マイクロ流体デバイスに対して使用される通常の塩濃度を用いて、供給源チャンネル、ドレインチャンネル、メインチャンネルおよびメインチャンネル中のサンプルプラグに関する接合領域の場の強度は、1～0.5:100～0.01:100～0.01:100の比の範囲である。

30

【0035】

サンプル充填電圧は、好ましくは、サンプル容量における代表的なサンプル組成を得るために必要とされる時間にわたって、印加される。具体的には、サンプル移動が電気泳動サンプル移動の成分を含む場合には、例えば、EPOO, 620, 432 A1に記載されるように、この電圧は、このサンプルにおいて最も遅く移動する成分を、サンプル容量内へ、そしてサンプル容量を通して移動するために必要な時間にわたって、印加される。図1に見られるように、サンプル充填工程は、規定容量のサンプルプラグ90を電解質チャンネルに移動させるために効果的であり、そしてこのプラグのリーディングエッジおよびトレーリングエッジを、それぞれのサイドチャンネルポートのちょうど内側の、十分に規定された境界に制限する。

40

【0036】

図2は、類似のサイドチャンネル配置における同じサンプル充填工程を示すが、ここで、第1(サンプル)チャンネルは、電解質チャンネルと同じ側に配置されている。操作およびサンプル充填の結果は、図1に記載したものと実質的に同じであり、形成されたリーディン

50

グエッジおよびトレーリングエッジを有する規定容量のサンプルプラグ 9 2 を生成する。

【 0 0 3 7 】

図 3 の配置において、第 1 および第 2 のチャンネルポートは、軸方向に整列しており、その結果、サンプル容量は、これらの整列した第 1 ポートと第 2 ポート、および第 3 の下流ポートの間の、電解質チャンネルの領域として規定される。サンプル充填工程は、図 1 に関して記載したものと同一であり、形成されたリーディングエッジおよびトレーリングエッジを有する規定容量のサンプルプラグ 9 4 を生成する。

【 0 0 3 8 】

図 4 A ~ 4 C は、図 1 に示すデバイスにおけるサンプル注入工程の間の、サンプル容量の移動の種々の段階を示し、ここで、図 4 A は、サンプル充填の間のデバイスの条件を示す。

10

【 0 0 3 9 】

規定容量のサンプル 8 0 をこの図の下流方向に注入するために、ここで制御ユニットが、「サンプル移動」電圧を、電解質チャンネルの上流部分および下流部分にわたって（すなわち、図 4 B に示すレザバ 2 0、2 4 にわたって）印加するよう作動する。V / cm として表される電位、および電圧極性は、サンプル充填の間にサイドチャンネルにわたって印加されるものと比較可能であり、そしてサンプルプラグもしくはその中の成分を、E O F および / または電気泳動移動によって、下流の方向に、サンプル移動の所望の速度で移動させるためのものである。

【 0 0 4 0 】

20

同時に、より低い電位が、3 つのサイドチャンネルの各々に印加されて、レザバ 2 0 から下流の方向へと移動している電解質を、3 つのサイドチャンネル内へもまた指向して、サイドチャンネル内のサンプルを電解質チャンネルから離して移動させる。図 4 B および 4 C に見られ得るように、この「押し戻し」効果は、サンプル注入の間に、サンプル成分の、サンプルプラグの上流の電解質チャンネルへの所望でない拡散または移動を排除するために設計される。

【 0 0 4 1 】

この 5 チャンネル配置は、サンプル充填およびサンプル注入の間にこれら 5 つのチャンネルの各々において同時に制御されて、従来技術において公知の単純なチャンネルが交差するかまたは二重 T である配置より重要な利点を有する。特に、このシステムは、上流と下流の両方のサンプル容量縁部において形成された（鋭い界面境界を有する）、正確に規定されたサンプル容量を可能にする。この様式で、正確にわかった容量のサンプルが、電解質チャンネル内に計量され得る。

30

【 0 0 4 2 】

（ B . 過渡的な予めの確保を伴うサンプル注入 ）

この方法において、電解質チャンネルに規定容量として注入されたサンプルは、例えば、電気泳動チャンネルの下流部分におけるサンプルの電気泳動分離を改善するために、過渡的な等速回転電気泳動（ I T P ）によって、サンプル注入の間に予め確保される。この方法は、図 1 のサイドチャンネル配置に関して図 5 A ~ 5 C に示されており、他のサイドチャンネル配置が、以下で理解されるように、この方法に適切であることが、認識される。

40

【 0 0 4 3 】

I T P 分離の理論は、例えば、「Capillary Electrophoresis in Analytical Biotechnology」Righetti, P. G. 編、1996、CRC Press, 84 - 87 頁に記載されている。簡単に言えば、異なる電気泳動移動度を有する成分を含むサンプルが、リーディングエッジイオンを有する緩衝剤とトレーリングエッジイオンを含む緩衝剤との間に配置される。リーディングエッジイオンは、サンプル成分のいずれよりも大きな電気泳動移動度を有する、小さなイオン（例えば、塩化物イオン）である。リーディングエッジイオンの対イオンは、溶液を緩衝するその能力に起因して選択される。同様に、トレーリングエッジのイオンは、最も遅く移動するサンプル成分より低い電気泳動移動度を有するものである。このサンプル

50

にわたって電位を印加することによって、最も速く移動するサンプル成分がリーディングエッジ緩衝液に隣接して濃縮され、そして最も遅く移動する成分がトレーリングエッジの緩衝液に接するまで、サンプル成分が、このサンプルを通過の移動によってバンドに分離する。

【 0 0 4 4 】

図 5 A ~ 5 C に例示される方法において用いられる過渡的 I T P 法は、サンプルがリーディングエッジイオンまたはトレーリングエッジイオンのいずれかを含むように処方され、そしてこのサンプルが間に配置される（すなわち、このサンプルが、リーディングエッジイオンを含む場合、他のイオン（例えば、トレーリングエッジイオン）を含む緩衝液の間に注入される）という点で、上記のアプローチとは異なる。このサンプルに電圧を印加すると、このサンプル成分は、通常の I T P の場合と同様にバンドに分離するが、同時にこのサンプル中のリーディングエッジイオンおよびトレーリングエッジイオン、ならびに境界のサンプルが混合し、I T P に必要な I T P イオン移動勾配の損失を導く。イオンの混合が起こる場合、このサンプル成分は、本来の電気泳動力下で移動し始め、そしてこのサンプル成分は、電解質チャンネルに移るため、さらなる分離は、電気泳動分離に基づく。

【 0 0 4 5 】

図 5 A ~ 5 C に示される実施形態において、リーディングエッジイオン (L) は、サンプル成分 (S) と共に入れられ、そして図 1 に記載の方法に従って、トレーリングイオン (T) を含む電解質の間に注入される。すなわち、レザバ 2 0 および 2 4、ならびにそれらの間の電解質チャンネルは、最初にトレーリングイオンを含む緩衝溶液で満たされ、そしてトレーリングイオン緩衝液は、サンプル注入の間に、第 2 および第 3 のサイドチャンネルに向かって方向付けされて、9 6 において示される、サンプル容量の鋭角境界を形成する。最適な注入時間は、サンプル成分の移動度、サンプルのサイズおよび接合領域の容量に依存する。通常、注入時間は、少なくとも 1 秒、そして約 2 0 0 秒以下、通常、約 9 0 秒以下、より通常では、約 5 ~ 6 0 秒の範囲である。

【 0 0 4 6 】

確保は、トレーリングイオンから始まるので、レザバ緩衝液がトレーリングイオンを含む場合、サンプル成分はこのサンプルの上流末端において確保を開始し、そして下流方向に進行し、そしてこのトレーリングイオンがサンプル中に含まれる場合、右から左の方向で、サンプル容量の前から逆方向に確保する。両方の場合において、このサンプルのバンドは、より速く移動している成分が遅く移動している成分の下流に位置決めされるように、配置される。

【 0 0 4 7 】

電解質の濃度は、一般的に、約 0 . 1 ~ 1 , 0 0 0 m M の範囲、より通常は、約 1 ~ 1 0 0 m M の範囲である。ターミネート電解質について、その範囲は、一般的に、約 1 ~ 1 0 0 m M であり、一方、リーディング電解質について、その範囲は、約 1 ~ 1 0 0 0 m M である。特定の濃度は、電解質およびサンプルの特徴、I T P が行われる条件などにより影響を受ける。緩衝液の濃度は、特定の系で、経験的に容易に最適化され得る。このサンプルの濃度はまた、サンプルの特徴、成分の数、これらが分離される容易さなどに依存して、広範に変化し得る。一般的に、このサンプルの成分の全濃度は、約 0 . 1 p M ~ 1 μ M の範囲である。

【 0 0 4 8 】

代表的な電解質（主に、リーディングイオンおよびターミネートイオンを提供するために使用される塩をいう）としては、塩化ナトリウム、H E P E S、T A P S、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、四ホウ酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウム、C A P S、グリシン酸ナトリウム、T r i s - C l、ギ酸ナトリウム、エタンスルホン酸ナトリウム、ペンタンスルホン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウムなどが挙げられる。T R I S およびナトリウムは最も一般的な対イオンであるが、これらは、カチオンについて、アンモニウム、リチウム、カリウム、マグネシウムなどで置き換えられ、アニオンについて、プロミド、ニトレート、ニトリト、スルフェート、シアニドな

10

20

30

40

50

どで置き換えられ、そして上記の電解質イオンによって置き換えられ得る。メインチャンネル中の電解質溶液と比較したサンプルのイオン強度は広範に変化し得、メインチャンネル中の電解質溶液のイオン強度未満か、少なくともこのイオン強度と等しいか、またはこのイオン強度より大きくてもよい。これは、約5～250mMの範囲、より通常は、約5～100mMの範囲、そして好ましくは、約20～75mMの範囲で、塩（例えば、アルカリ金属塩化物）をサンプル溶液に添加することによって達成され得る。

【0049】

図5Aに例示されるサンプル充填工程の後、制御ユニットは、サンプル注入工程の一部として、図5Bに例示されるように、電解質チャンネルの上流部分および下流部分に電圧電位を印加するように作動する。ここで、このサンプル成分は、サンプルイオンがサンプル容量を通って移動する場合、それらの移動度に従って確保されるようになる。図96Aに示されるサンプル容量は、ここで、一連の確保バンド（例えば、98、100）に凝縮されている。リーディングエッジイオンを含むサンプルについて、ITPから電気泳動ゾーンへの移動は、サンプルイオンが下流チャンネル部分においてトレーリングイオンを追い越し始める場合に起こる。トレーリングエッジイオンを含むサンプルにおいて、この移動は、上流チャンネル部分内のリーディングエッジイオンがサンプルイオンを追い越し始める場合に起こる。従って、図5Cに示されるように、サンプル注入電圧を連続して印加する場合、予め確保された成分は、電気泳動によってさらに分離されるか、そうでなければ、個々の成分のバンドとして、電解質チャンネル中でさらに処理される。

【0050】

図6A～6Cは、本発明に従うサンプル注入の代替のITP法を例示する。この方法において、初期サンプルの注入は、第1チャンネル28および第2中間チャンネル26の2つのチャンネルに電圧電位を印加することによって、この2つのチャンネルの間で起こる。同時に、リーディングイオンLは、同じ極性を有する電圧電位を印加することによって、第3チャンネル30から第2チャンネル26に供給される。図6Aに示されるように、このサンプル注入は、第1チャンネルポートと第2チャンネルポートとの間の電解質チャンネル内にサンプル容量要素102を生成し、そしてこのサンプル容量のすぐ下流にリーディングイオンのプラグ104を生成し、そして鋭い境界によってそこから分離される。従って、上流から下流の方向に進むにつれて、電解質チャンネルは、レザバ20から供給されたトレーリングイオン、レザバ40からのサンプル容量、レザバ42から供給されるリーディングイオンを含む溶液のプラグ、およびトレーリングイオンを含む溶液を含む。あるいは、レザバ40内のサンプルのいずれかまたは両方、およびレザバ20内の溶液はまた、リーディングイオンLを含み得る。

【0051】

サンプル注入について、電圧電位は、図6Bに示されるように、レザバ20および24に印加される。サンプル容量は、リーディングイオンのプラグとターミネートイオンのプラグとの間に制限されるため、このサンプル容量中のサンプル成分は、上記のように、最初にITPによって確保され、確保されたバンド（例えば、バンド104、106）を有するサンプルプラグ102Aを形成し、ここで、最も速く移動するバンドは、リーディングイオンに対して最初に確保する。この効果は、一時的にすぎない。なぜなら、トレーリングイオンTより高い移動度を有するサンプルイオンは、これらのイオンを最終的に追い越し、そしてこの系は、ITPからキャピラリー電気泳動（CE）に移動し、ここで、サンプルイオンは、上記のように、それらの相対移動度によって分離される。

【0052】

リーディングイオンおよびターミネートイオンの役割は、ここで記載される方法において逆転され得ることが理解され、ここで、リーディングイオンはレザバ20から供給され、ターミネートイオンは、レザバ40から供給され、サンプルはレザバ42から供給され、そしてリーディングイオンはレザバ24から供給される。

【0053】

この方法は、当該分野で公知の複合型ITP/CE法を越える有意な利点を提供する。

第1に、図5A～5Cに例示される実施形態に関して、5個全ての電極の制御を包含するサンプル充填工程は、十分に規定された容量要素、およびこの容量要素とトレーリング（またはリーディング）イオンとの間の鋭い境界の両方を生成するように行われる。従って、サンプル材料の量は、正確に測量され、そしてITPの予めの確保は、正確に制御され得る。同様に、図6A～6Cに例示される実施形態において、規定の容量のサンプル容量は、ターミネートイオンの溶液とリーディングイオンの溶液との間に注入され、ここで、このサンプル注入手順は、サンプルとリーディングイオンとの間の鋭い界面を生成し、また結果として、サンプル材料は正確に測量され、そしてITPの制御を改善する。

【0054】

（C．誘電泳動サンプル濃度を用いるサンプル注入）

10

第3の方法において、本発明のシステムは、電解質チャンネル中のサンプル容量の一端において、またはこれに隣接してサンプル成分を濃縮するために使用される。この方法は、図7A～7Cに例示され、これらの図は、図1と同じチャンネルネットワーク14を示す。サンプル充填の最初の工程は、図7Aに示される。ここで、第1チャンネル26内のサンプルは、第1および第2のチャンネルにDC電圧電位を印加することによって、電解質チャンネルに注入され、そして第2の隣接チャンネル26に注入されて、電解質チャンネル内に規定のサンプル容量100を形成する。この電圧電位および極性は、サンプル充填のために上に示されたものと同様である。

【0055】

同時に、およびサンプル充填工程の一部として、AC電圧は、第3のチャンネル30および第3のチャンネルポートからより遠位の電解質チャンネル部分（この場合、図7Bに示されるような上流チャンネル部分）に印加される。印加されたAC電圧は、代表的には、1kHz～1MHzの範囲であり、好ましくは、約10kHzであり、そして500～2000V/cm、典型的には、約1,000V/cmの電場強度を有する。図7Bに示されるように、交流電圧場は、チャンネルネットワーク内の2つの領域において、サンプル成分の誘電収束を生成するために有効である。112で示される第1の領域は、サンプル容量110の上流末端かまたはそのすぐ上流にある。この領域はサンプル容量に対して近位にあるため、サンプル成分は、サンプル成分は、この領域で濃縮され得、そしてサンプル材料は、第1のチャンネルおよび電解質チャンネルによって形成されたエルボーを通過して移動する。従って、サンプル成分の濃縮は、サンプル充填工程の持続時間によって、適度に制御され得る。

20

30

【0056】

誘電収束の第2の領域（示さず）は、第3のサイドチャンネルと電解質チャンネルとのエルボーの付近にある。この領域は、サンプル容量中のサンプル成分がこの領域で濃縮されるサンプル容量から十分に遠位にあり、それ故、電解質成分のみがこの領域に存在する。図7Bに示されるように、サンプル充填の正味の結果は、高度に濃縮されたサンプル成分の小さな領域112の形成、およびあまり濃縮されていない成分の下流容量である。最適なサンプル充填のために、レザバから供給されるサンプルは比較的薄く、そしてサンプル充填期間は、高度に濃縮されたサンプル混合物を生成するのに十分長い。

【0057】

40

サンプル注入工程において、DC電圧は、図7Cに示されるように、濃縮されたサンプル領域および下流サンプル容量を、電解質チャンネルに電解質チャンネルを通して移動させるために、電解質チャンネルの上流部分および下流部分に印加される。この移動の間、2つのチャンネル内のサンプル材料を電解質チャンネルから押し戻し、サイドチャンネルからのサンプル混入物を減らすために、上記のように、DC電圧電位はまた、第1および第2サイドチャンネルに印加される。第3のチャンネルはサンプル材料を含まないため、このチャンネルの電圧は浮遊され得、またこのチャンネルへのサンプルの所望しない移動を防止され得る。

【0058】

この方法の別の実施形態は、図3に示されるサイドチャンネル構成に関して例示され得、ここで、サンプルサイドチャンネルは、他のサイドチャンネルの1つと軸方向に整列するかま

50

たはほぼ整列する。図3に示される要素に関して、サンプル材料は、初めに、2つのチャンネルにDC電圧を印加することによって、第1のサイドチャンネル76から電解質チャンネルのセグメントを通して、第2のサイドチャンネル80に注入され、この2つのチャンネルの間にサンプル容量を生成する。同時に、AC電圧が上流レザバ("B)および第3のチャンネル78(これは、第1のチャンネルと軸方向に整列されている)に印加されて、整列されたサイドチャンネルおよび電解質チャンネルの接合部付近に誘電集束の単一の領域を生成する。3つのサイドチャンネルおよび上流チャンネル部分にDC電圧とAC電圧とを同時に印加することによって、サンプル材料は蓄積し、そしてサンプル容量の上流端部において誘電集束することによって、濃縮する。次いで、この容量が、上記のように注入され、その濃縮サンプル領域を有する容量を電解質チャンネルの下流部分に運搬する。

10

【0059】

サンプル濃縮方法は、従来技術で提案された誘電集束方法を越える有意な利点を提供する。特に、第3の遠隔サイドチャンネル(これは、サンプルの移動に参与しない)を設けることによって、誘電サンプル成分集束は、サンプル容量に隣接して選択された領域、およびこのサンプル容量から遠位の点で生じ得、たった1つの領域のみでのサンプルの濃縮を可能にする。

【0060】

上記から、本発明の様々な目的および特徴がどのように満たされるかが理解される。本発明のデバイスを用いる方法は、約1nl~500μlの範囲の容量、約10nl~0.5mlの範囲の容量、通常は、20nl~0.1mlの範囲の容量のデバイスの微小構造への移動に関連し得る。この容量は、任意の効率的な手段(ピン、インクジェットディスプレイペンサー、他の圧電デバイス、ピペットなどを含む)によって移され得る。

20

【0061】

本発明の注入器は、多数の目的のために、規定の容量を提供するために使用され得る。所定のプラグは、遺伝学において、DNA配列の同定のため、DNA配列決定のため、単一のヌクレオチド多型("snps")の検出のため(ここで、特定のsnpsを同定するための様々なタグが含まれ得る)、または他のDNA分析のため;アッセイ(特に、プロテオームアッセイまたはイムノアッセイ(診断アッセイ、化合物活性のスクリーニング、化合物の反応性、酵素活性および他の分析を含む)のため、個々の種の同定(ここで、この種は、特に混合物で検出され得、この成分は分離され得る)のためなどのプラグを使用して、利用され得る。

30

【0062】

本発明の注入器は、サンプルを、電気泳動分離チャンネル、HPLC、ガスクロマトグラフ、質量分光計、または成分を同定するための他のデバイスに供給するために使用され得る。注入器を補助デバイス(例えば、キャピラリーコネクタおよびチューブ)に連結するために、様々な手段が使用され得る。本発明は、多くの利点を提供する。規定の容量のプラグとして鋭く規定されたサンプルが生成され得、ここで、サイズのある程度の変化は、サイドチャンネルの断面積、電極電圧、要するに、接合領域で生成される電位勾配、サイドチャンネルの分離、メインチャンネルの断面積および形状などに依存する。このように、デバイスは、分離に供され得るプラグを再現可能に生成するために設けられ得、本来のプラグの鋭く規定されたセグメントを可能にする。これは、再現可能な様式で、サンプルの成分のより感度の高い正確な決定を可能にし、ここで、プラグ容量は、1nlから50nl以上に変わり得る。

40

【0063】

本明細書中で記載される全ての刊行物および特許出願は、本発明に関する分野の当業者のレベルを示す。本明細書中に記載される全ての刊行物および特許出願は、各個の刊行物または特許出願が参考として援用されていることが詳細かつ個々に示されているのと同じ程度まで、参考として援用される。

【0064】

本発明は、ここで、十分に記載されてきたが、当業者は、多くの変更および改変は、添

50

付の特許請求の範囲の精神または範囲から逸脱することなく行われ得ることを理解する。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、本発明の1つの実施形態に従うサイドチャンネル構成を有するマイクロ流体システムにおけるサンプル充填工程を示す。

【図2】 図2は、本発明に従う第2のサイドチャンネル構成の、図1に対応するサンプル充填工程を示す。

【図3】 図3は、本発明に従う第3のサイドチャンネル構成の、図1に対応するサンプル充填工程を示す。

【図4】 図4A~4Cは、本発明の方法の1つの一般的な実施形態に従う、規定された容量のサンプルプラグを充填しそして注入する工程を示す。

【図5】 図5A~5Cは、本発明の方法の別の一般的な実施形態に従う、サンプル成分を充填し、そして予め確保する工程を示す。

【図6】 図6A~6Cは、本発明に従うサンプル成分を充填し、そして予め確保する別の方法における工程を示す。

【図7】 図7A~7Cは、本発明の方法の第3の一般的な実施形態に従う、サンプル成分を充填し、濃縮し、そして注入する工程を示す。

【図1】

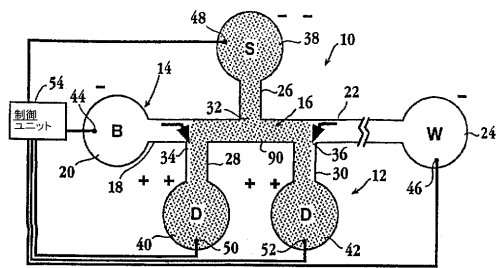


Fig. 1

【図3】

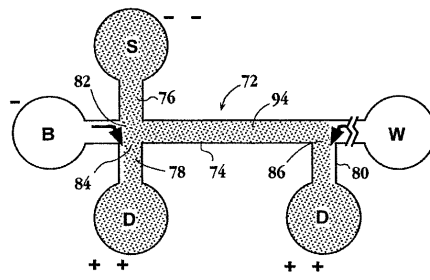


Fig. 3

【図2】

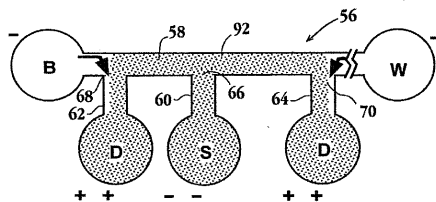


Fig. 2

【 図 4 】

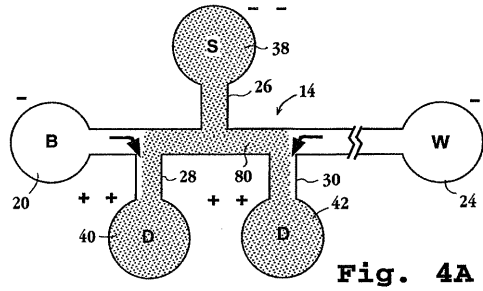


Fig. 4A

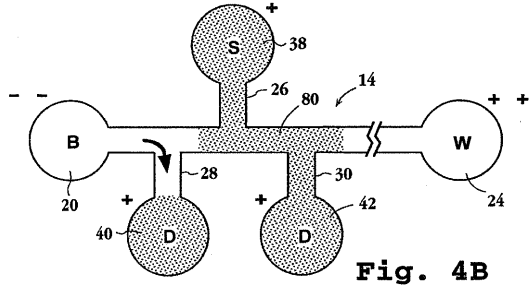


Fig. 4B

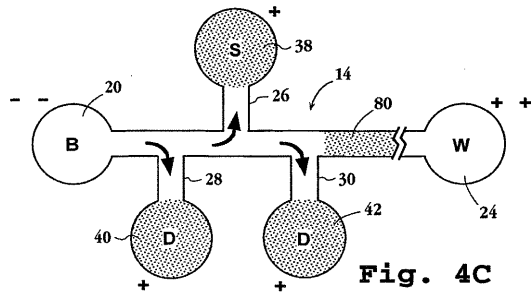


Fig. 4C

【 図 5 】

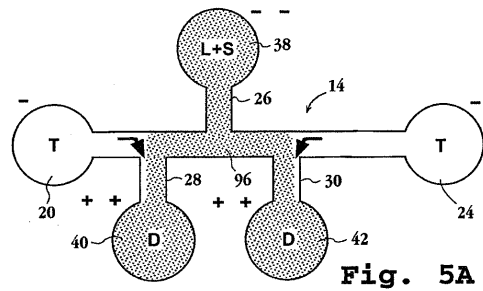


Fig. 5A

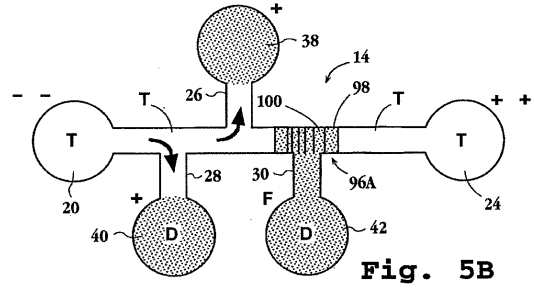


Fig. 5B

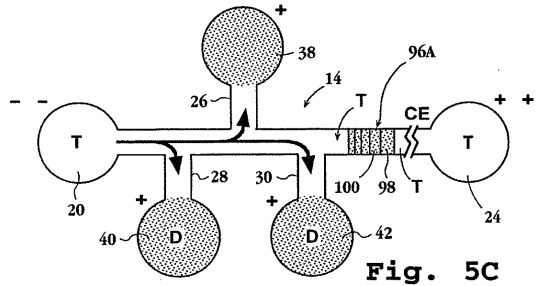


Fig. 5C

【 図 6 】

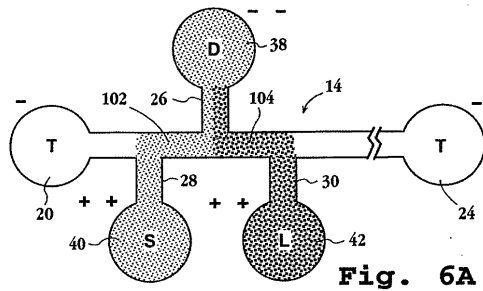


Fig. 6A

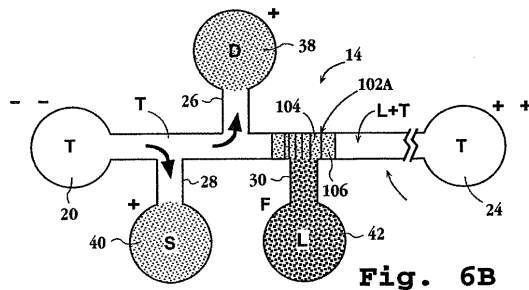


Fig. 6B

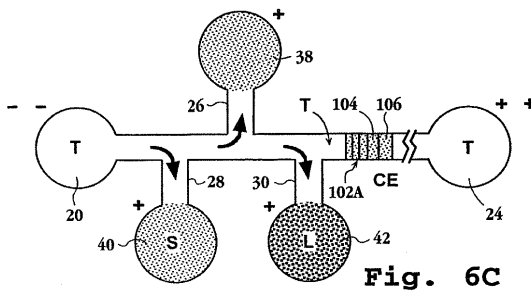


Fig. 6C

【 図 7 】

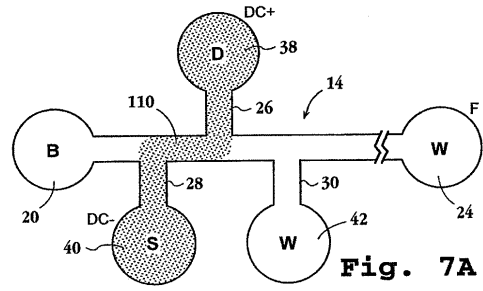


Fig. 7A

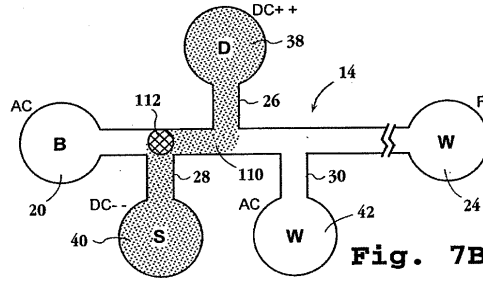


Fig. 7B

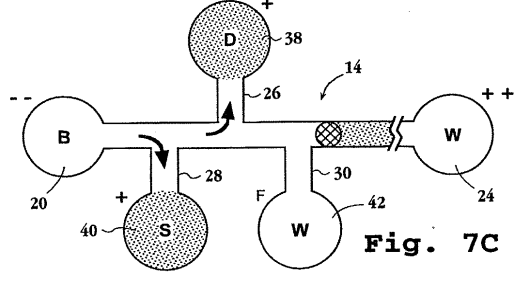


Fig. 7C

フロントページの続き

- (72)発明者 ウィリアムズ, スティーブン ジェイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94402, サン マテオ, ディー. デラウェア スト
リート 617
- (72)発明者 タン, ホン ドン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95132, サン ノゼ, イサドラ ドライブ 3301
- (72)発明者 カオ, フン ピン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94536, フレモント, メイプル ストリート 379
81
- (72)発明者 プリーランド, ワヤット エヌ.
アメリカ合衆国 イリノイ 60640, シカゴ, 1/2 エヌ ポーリーナ 4514,
アパートメント 2-イー

審査官 柏木 一浩

- (56)参考文献 特開平09-210960(JP,A)
特開平11-326274(JP,A)
特開平05-302912(JP,A)
特開平07-012777(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 27/447
B01D 57/02
B01J 19/00
B03C 5/00
G01N 37/00