

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6957517号  
(P6957517)

(45) 発行日 令和3年11月2日(2021.11.2)

(24) 登録日 令和3年10月8日(2021.10.8)

(51) Int.Cl.	F I		
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08	A	
GO 1 N 35/00 (2006.01)	GO 1 N 35/00	D	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	I O I	

請求項の数 13 (全 39 頁)

(21) 出願番号	特願2018-560523 (P2018-560523)	(73) 特許権者	504278260
(86) (22) 出願日	平成29年5月18日 (2017.5.18)		キャピタルバイオ コーポレーション
(65) 公表番号	特表2019-515308 (P2019-515308A)		CapitalBio Corporation
(43) 公表日	令和1年6月6日 (2019.6.6)		中華人民共和国 102206 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 18
(86) 国際出願番号	PCT/CN2017/084928		18 Life Science Parkway, Changping District, Beijing, 102206, People's Republic of China
(87) 国際公開番号	W02017/198195	(74) 代理人	110001195
(87) 国際公開日	平成29年11月23日 (2017.11.23)		特許業務法人深見特許事務所
審査請求日	令和2年5月15日 (2020.5.15)		
(31) 優先権主張番号	201610331399.0		
(32) 優先日	平成28年5月18日 (2016.5.18)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 集積型マイクロ流体チップおよび使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基板と前記基板上の集積型ユニットとを備えるマイクロ流体チップであって、前記集積型ユニットは、

(1) 試料チャンバと、混合チャンバと、反応チャンバとを含み、前記試料チャンバは、前記混合チャンバと第1の流体接続を形成するように構成され、前記混合チャンバは、前記反応チャンバと第2の流体接続を形成するように構成され、前記集積型ユニットはさらに、

(2) 前記試料チャンバと前記混合チャンバとの間に空気接続を提供するように構成される回路を含み、

前記混合チャンバは、

前記基板上に配置されたスリーブと、

前記スリーブ内に配置されるロータとを含み、前記ロータ、前記スリーブ、および前記基板は、前記混合チャンバ内の空間を取り囲み、前記混合チャンバはさらに、

前記基板上に2つの開口部を含み、第1の開口部は前記混合チャンバと前記試料チャンバとの間に流体接続を形成するように構成され、第2の開口部は前記混合チャンバと分配路との間に流体接続を形成するように構成され、前記分配路は、前記混合チャンバを前記反応チャンバと接続し、

前記混合チャンバはさらに、

前記ロータ上に配置され、前記基板に向かって延びる構造を含み、前記構造は一方また

は両方の開口部を遮断または閉鎖するよう構成される、マイクロ流体チップ。

【請求項 2】

前記試料チャンバは、試料入口を含み、前記回路の第 1 の通路は、前記試料入口に対して遠位の位置で前記試料チャンバに接続される、請求項 1 に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 3】

前記マイクロ流体チップは、前記試料チャンバと前記混合チャンバとの間の前記空気接続を提供するように構成される前記回路への前記分配路からの液体流を遮断するように構成される第 1 の液体遮断構造をさらに含み、

前記第 1 の通路は、前記混合チャンバに接続される第 2 の液体遮断構造を含み、前記第 2 の液体遮断構造は疎水性材料を含む、請求項 2 に記載のマイクロ流体チップ。

10

【請求項 4】

前記第 1 の通路は、前記混合チャンバから前記試料チャンバへの方向に連続的に配置される第 1 のセグメント、第 2 のセグメント、および第 3 のセグメントを含み、

前記第 1 の通路は、開閉するように構成される第 1 の排気口を含む、請求項 3 に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 5】

前記マイクロ流体チップは、回転中心の周りを回転するように構成された遠心マイクロ流体チップである、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 6】

前記試料チャンバ、前記混合チャンバ、および前記反応チャンバは、試料が前記試料チャンバから前記混合チャンバに流入して最終的には前記反応チャンバに流入するように前記回転中心から距離が増加する順に前記マイクロ流体チップ内に配置される、請求項 5 に記載のマイクロ流体チップ。

20

【請求項 7】

前記マイクロ流体チップは、前記回転中心から実質的に同じ距離に配置される複数の反応チャンバを備える、請求項 5 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 8】

前記マイクロ流体チップは、前記混合チャンバと前記反応チャンバとの間に前記分配路を含み、

前記分配路は波状であり、少なくとも 1 つのピークと少なくとも 1 つの谷を含み、前記少なくとも 1 つのピークは前記回転中心に向かう方向を指し、前記少なくとも 1 つの谷は回転中心から離れる方向を指す、請求項 5 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップ。

30

【請求項 9】

前記少なくとも 1 つのピークは前記少なくとも 1 つの谷よりも前記回転中心に近い、請求項 8 に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 10】

前記少なくとも 1 つの谷は、前記反応チャンバの各々に接続される、請求項 8 または 9 に記載のマイクロ流体チップ。

【請求項 11】

並列に接続される複数の前記試料チャンバを備え、各試料チャンバは同じ混合チャンバに接続される、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップ。

40

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップを備える、システム。

【請求項 13】

分析物を分析する方法であって、

1) 請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載のマイクロ流体チップの試料チャンバ内に試料をロードすることと、

2) 回転中心のまわりで前記マイクロ流体チップを回転させて、試料が前記試料チャンバから前記混合チャンバに送達され、前記混合チャンバ内で混合され、および/または前

50

記混合チャンバから前記反応チャンバに送達されるようにすることと、

3) 前記反応チャンバの内部で反応を実行することと、

4) 前記反応の指標を測定することとを備え、

前記指標は、前記試料中の分析物の存在、欠如、量、および/または性質を示す、分析物を分析する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願との相互参照

本出願は、2016年5月18日に提出された中国特許出願第201610331399.0号の優先権の恩恵を主張するものであり、その内容はすべての目的のためにその全体をここに引用により援用する。

10

【0002】

技術分野

本開示は、一般に、マイクロ流体チップ、生体分子の検出および分析、化学分析、生物学および医学的検査の分野に関する。特定の局面において、本開示は、集積型マイクロ流体チップおよび使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

マイクロ流体チップ技術は、生物学、化学および医学的分析プロセス中の試料調製、反応、分離および検出のような基本的な操作単位をマイクロスケールのチップに統合し、一般的には分析プロセス全体を自動的に完了させる。加えて、マイクロ流体チップは、マイクロトータルアナリシスシステム(Micro Total Analysis System:  $\mu$ -TAS)の開発におけるホットスポットである。マイクロ流体チップ技術は、生物学技術、化学技術、および/または薬剤スクリーニング技術と組合せて、マイクロ流体チップをオペレーティングプラットフォームとして用いる。典型的に、プラットフォームは、試薬のローディング、分離、反応、および/または検出を含むが、それらに限定はされない、全分析プロセスにおける工程の大半を完了することができる。近年、バイオチップ技術の急速な発展に伴い、マイクロ流体チップがライフサイエンス、分析化学、および医学の分野で果たす役割はますます重要になりつつある。

20

30

【0004】

試料の高効率、高速、かつ高スループット検出のために、チップは典型的に、多数の反応チャンバと、試料または試薬を反応チャンバに運ぶことが可能な有効伝達モードとを有する必要がある。一般に、マイクロ流体チップは、電磁力、遠心力などの外力を用いて試料をチップの内部ウェル、経路、または孔に搬送する。マイクロ流体チップは、マイクロ流体技術の実現のための主要なプラットフォームであり、流体を収容する効果的な構造(経路、反応チャンバ/セルおよび他の機能的構成要素)が少なくとも一次元でマイクロスケールに属することを主な特徴とする。マイクロ流体チップは、制御可能な液体の流れ、少量のサンプルおよび試薬の消費、ならびに速い分析速度などを含む多くの利点を有する。

40

【0005】

並列反応体積における試料および/または試薬の円滑な流れならびに均一な分布は、高処理量、高感度、および高精度試薬送達ならびに分析のために重要である。しかしながら、試料をマイクロ流体チップの所定の経路に円滑に流すことができる方法は、緊急に解決する必要がある技術的課題のままである。本開示は、これおよび関連する要望を解決する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

50

### 発明の概要

概要は、請求項に記載の主題の範囲を限定するために用いられることを意図していない。請求項に記載の主題の他の特徴、詳細、効用、および利点が、添付の図面および添付の請求項に開示されているそれらの局面を含む詳細な説明から明らかになるであろう。

#### 【0007】

一般に、マイクロ流体チップは、マイクロ経路を介して接続されるチャンバを備える。外部支援装置は、分析中、たとえば試料/試薬送達、反応および分析のプロセス中に、試料が種々の経路および/またはチャンバに連続的に出入りすることを可能にするよう動力を提供することができる。しかしながら、実際には、より多くの液体が経路またはチャンバに入ると経路またはチャンバ内の残留空気が圧縮され、経路またはチャンバ内の空気圧が上昇することがしばしば見出される。その結果、経路またはチャンバ内の試料または試薬は、完全におよび/または円滑に次の経路またはチャンバに流れ込むことができないことがよくある。試料チャンバ、混合チャンバ、および反応チャンバのような複数のチャンバがチップ上にある場合、試料チャンバ内の試料もしくは試薬が完全におよび/もしくは円滑に混合チャンバに流れ込むことができない、ならびに/または混合チャンバ内の試料もしくは試薬が反応チャンバ内に完全におよび/もしくは円滑に流れ込むことができないことがよくある。その結果、圧力不均衡によってマイクロチップ内の効率的で滑らかな流体の流れが妨げられる。

10

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

1つの局面では、本開示は、試料がマイクロ流体チップの1つ以上の経路および/または1つ以上のチャンバを含む所定のルートで円滑に流れ、最終的に1つ以上の目標生成物を製造することができることを確実にするために、集積型マイクロ流体チップを提供する。1つの局面では、集積型マイクロ流体チップは、試料セルおよび混合セル内の空気圧均衡を保証する。したがって、マイクロ流体チップの所定の経路内での試料の円滑な流れも保証され、目標生成物を製造するための信頼できる基盤を提供する。

20

#### 【0009】

1つの局面では、上記の技術的課題を解決するために、集積型マイクロ流体チップの基板上に少なくとも1つの集積型反応ユニットが設けられ、集積型反応ユニットは、液体連通のための経路を介して接続される、少なくとも試料セルと、混合セルと、反応セルとを含む。1つの局面では、試料セルの一端に試料入口が設けられる。別の局面では、試料セルは、空気回路の内部循環システムをさらに含む。一実施形態では、空気回路の内部循環システムの一部は、混合セルに接続され、他端は、試料入口から遠い、または試料入口に対して遠位の、試料セルの端部に接続される、少なくとも第1の循環分岐回路を含む。

30

#### 【0010】

一実施形態では、第1の循環分岐回路には、制御可能に開閉可能な排気口が設けられており、空気回路の内部循環システムには、混合セルの近傍または混合セルに対して近位の位置で液体を遮断するための液体遮断構造が設けられる。

#### 【0011】

一実施形態では、集積型マイクロ流体チップは、回転中心を有する遠心マイクロ流体チップである。回転中心からの試料セル、混合セル、および反応セルの距離は連続的に増加する。この例では、マイクロ流体チップ内の試料および/または試薬は、所定の方向に、試料入口から、試料チャンバ、混合チャンバ、任意選択で分配路および緩衝チャンバを通過して、最後に、反応チャンバに流れ得る。たとえば、試料、試薬、生成物、および/もしくは副産物の沈降ならびに/または収集のために、反応チャンバの後に1つ以上のチャンバを設けることもできる。

40

#### 【0012】

一実施形態では、集積型マイクロ流体チップは、反応セルと混合セルとの間に配置された緩衝プール/チャンバをさらに備える。

#### 【0013】

50

一実施形態では、少なくとも2つの反応セルがあり、これらの反応セルと回転中心との間の距離は実質的に同じであり、混合セルは1つ以上の分配路を介して反応セルと接続される。

【0014】

一実施形態では、分配路は波形である。1つの局面では、波の峰は回転中心に近く、波の窪みは回転中心から遠く離れている。いくつかの実施形態では、波形の分配路は、複数の峰および/または複数の窪みを含む。1つの局面では、反応セルは分配路の窪みに接続され、混合セルは分配路の先頭端などの一端に接続される。分配路の先頭および末尾は、液体の流れの方向に関して決定することができ、液体は先頭端から入り、末尾端に向かって流れる。

10

【0015】

1つの局面では、空気回路の内部循環システムの一部は、分配路の末尾端に接続される第2の循環分岐回路をさらに含む。

【0016】

1つの局面では、空気回路の内部循環システムと混合チャンバとを接続する点を第1の接続点と呼び、空気回路の内部循環システムにおける第1の循環分岐回路と第2の循環分岐回路とを接続する点を第2の接続点と呼び、第1の接続点と回転中心との距離は、第2の接続点と回転中心との距離よりも大きい。

【0017】

1つの局面では、廃液プールが、分配路の先頭端および/または末尾端にそれぞれ接続される。たとえば、廃液プールは、先頭端に隣接する1つ以上の窪みに接続することができ、または分配路の末尾端に隣接する1つ以上の窪みに接続することができる。

20

【0018】

1つの局面では、第1の液体遮断構造がさらに循環分岐回路上に配置される。一実施形態では、第1の液体遮断構造は、突然の体積変化を伴う第1の体積拡張チャンバである。別の局面では、空気回路の内部循環システムには、混合セルに近い位置で液体を遮断するための第2の液体遮断構造がさらに設けられる。一実施形態では、第2の液体遮断構造は、突然の体積変化のための第2の体積拡張チャンバである。いくつかの実施形態では、液体遮断構造は、1つ以上の疎水性材料から形成されるか、または液体遮断構造の内部に適用される疎水性層を含む。

30

【0019】

1つの局面では、マイクロ流体チップは、反応セルに接続される沈降タンクをさらに備え、回転中心からのその距離は、反応セルと回転中心との間の距離よりも大きい。

【0020】

さらに別の局面では、マイクロ流体チップの混合セルは、基板の一方の側に設けられたスリーブと、基板上に設けられ、スリーブ内部に接続される少なくとも2つの微細孔と、スリーブに係合し、基板に対して遠位のスリーブの頂面と協調するロータと、ロータ上に設けられ、微細孔のどれでも封鎖および開放するためのチョークプラグとを含む。一実施形態では、少なくとも2つの微細孔は、基板の2つの側を貫通し、たとえば基板の外部の1つ以上の経路またはチューブを介して、試料チャンバおよび/または分配路に接続される。別の実施形態では、少なくとも2つの微細孔は、スリーブの内部に面する基板の表面上に開口を有し、各微細孔の他端は、基板内の経路に接続され、この内部経路は、たとえば、基板の外部の1つ以上の経路またはチューブを介して、直接的または間接的に、試料チャンバおよび/または分配路に接続されてもよい。

40

【0021】

1つの局面では、マイクロ流体チップは、並列に接続される複数の試料セルを備え、試料セルのすべてが混合セルに接続される。別の局面では、マイクロ流体チップは、直列に接続される複数の混合セルを備える。

【0022】

1つの局面では、空気回路の内部循環システムと混合セルとの間の接続点は、混合セル

50

の排気口であり、混合セルの試料流入穴は、混合セルの液体入口穴である。一実施形態では、液体入口孔（たとえば、図1の14）と回転中心との間の距離は、排気口（たとえば、図1の15）と回転中心との間の距離より大きい。

【0023】

1つの局面において、緩衝ゾーンが提供される。一実施形態では、緩衝ゾーンの一端は第1の循環分岐回路に接続され、他端は試料セルに接続される。緩衝ゾーンは、試料チャンパ内の液体が空気回路に入るのを防止する液体停止構造として機能することができる。

【0024】

1つの局面では、1つ以上の反応試薬が、試料セル、混合セル、および/または反応セル内に提供、たとえば予め埋め込まれる。

【0025】

1つの局面では、基板は、ガラス、シリコン、金属、およびポリマー、ならびにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される材料を含む。

【0026】

1つの局面では、基板およびその対応するカバープレートのカプセル化または接合方法は、ホットプレス、接着、レーザ溶接、超音波溶接、ねじ留め、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。

【0027】

本発明の技術的解決策の1つの局面では、集積型マイクロ流体チップの基板上に少なくとも1つの集積型反応ユニットが設けられる。一実施形態では、集積型反応ユニットは、混合セルに接続される少なくとも試料セルを含み、混合セルは、反応セルに接続される。付加的な局面では、一端が混合セルに接続され、他端が試料セルに接続される第1の循環分岐回路を少なくとも含む、空気回路循環システムが提供される。

【0028】

1つの局面では、試料セルの試料入口に試料を加えるとき、試料セル内の空気は、まず、液体経路を通過して混合セルに送られ、低速で遠心分離を行った後、試料セル内の液体は、徐々に混合セルに移送される。この時点では、先に液体試料によって占められていた試料セル内の領域は空であるため、試料セル内の空気圧は低下し、先に混合セルに移送された空気の圧力は、液体が入るにつれ、上昇する。空気回路の内部循環システムの2つの端部はそれぞれ混合セルおよび試料セルに接続されるので、混合セル内の空気は、圧力差の作用下で空気回路の内部循環システムに沿って試料セルに戻ることができ、それにより、試料セルと混合セルとの空気圧均衡を確保し、小さな遠心力の作用で試料が円滑にマイクロ流体チップの所定の経路を流れ得ることを保証するとともに、より大きな遠心力下での高速流試料の混合セル入口に対する衝撃を回避し、したがって、目標生成物を生成するための信頼できる基礎を提供する。同様に、試料が混合セルを通過して分配路に流入すると、分配路内の空気は内部空気回路を通過して分配路を出て、混合セルに戻る。これにより、混合された試料は、すべての分配路または同じ分配路の全長を完全に満たすことができ、混合された試料が、高速遠心分離の下で分配路を充填する前に異なる反応物質が充填された反応セルに入り、汚染および/または時期尚早の反応を引き起こす、という状況が回避される。

【0029】

1つの局面において、本明細書に開示されるのは、基板と、基板上の集積型ユニットとを備えるマイクロ流体チップである。一実施形態では、集積型ユニットは、(1)試料チャンパと、混合チャンパと、反応チャンパとを含み、試料チャンパは、混合チャンパと第1の流体接続を形成するように構成され、混合チャンパは、反応チャンパと第2の流体接続を形成するように構成され、集積型ユニットはさらに、(2)試料チャンパと混合チャンパとの間に空気接続を提供するように構成される回路を含む。一実施形態において、第1の流体接続および/または第2の流体接続は、液体流路を介して形成される。

【0030】

先行する実施形態のいずれかにおいて、試料チャンパは、試料入口を含み得る。一実施

10

20

30

40

50

形態において、回路の第1の通路は、試料入口に対して遠位の位置で試料チャンバに接続される。別の実施形態において、第1の通路は、試料チャンバに接続される第1の液体遮断構造を含む。たとえば、第1の液体遮断構造は疎水性材料を含む。さらに別の実施形態において、第1の通路は、混合チャンバに接続される第2の液体遮断構造を含み、たとえば、第2の液体遮断構造は疎水性材料を含む。

【0031】

先行する実施形態のいずれかにおいて、第1の液体遮断構造および/または第2の液体遮断構造は、拡張された体積を有するチャンバを含み得る。先行する実施形態のいずれかにおいて、チャンバの内表面は疎水性材料でコーティングされ得る。

【0032】

先行する実施形態のいずれかにおいて、第1の通路は第1の排気口を含み得る。先行する実施形態のいずれかにおいて、第1の排気口は開閉するように構成され得る。一実施形態において、第1の通路は、混合チャンバから試料チャンバへの方向に連続的に配置される第1のセグメント、第2のセグメント、および第3のセグメントを含む。別の実施形態では、第1の排気口は、第2のセグメントと第3のセグメントとの間の接合部にある。先行する実施形態のいずれかにおいて、第2のセグメントの断面は、第1のセグメントおよび/または第3のセグメントの断面よりも大きくあり得る。

【0033】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、遠心マイクロ流体チップなどの、回転中心の周りを回転するように構成されたマイクロ流体チップであり得る。一実施形態において、試料チャンバ、混合チャンバ、および反応チャンバは、回転中心から増加する距離でマイクロ流体チップ内に配置される。別の実施形態では、反応チャンバは、回転中心から遠くに位置する沈降チャンバに接続される。

【0034】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、回転中心から実質的に同じ距離に配置される複数の反応チャンバを備え得る。

【0035】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、混合チャンバと反応チャンバとの間に分配路を含み得る。先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、分配路と反応チャンバとの間に緩衝チャンバを含み得る。先行する実施形態のいずれかにおいて、混合チャンバは、分配路の一端に接続され得、分配路の他端は、たとえば回路の第2の通路を介して、回路に接続され得る。一実施形態において、分配路の一方または両方の端部は、たとえば1つ以上の緩衝チャンバを介して、廃棄物チャンバに接続される。

【0036】

先行する実施形態のいずれかにおいて、第1の通路は、第1の接続点で混合チャンバに接続され得、第2の通路は、第2の接続点で第1の通路に接続され得、第2の接続点は回転中心への距離が第1の接続点よりも近くあり得る。一実施形態において、試料チャンバは、第3の接続点で混合チャンバに接続され、第1の接続点は回転中心への距離が第3の接続点よりも近い。

【0037】

先行する実施形態のいずれかにおいて、第2の通路は、分配路に接続される第3の液体遮断構造を含み得、一実施形態において、第3の液体遮断構造は疎水性材料を含む。別の実施形態において、第3の液体遮断構造は、拡張された体積を有するチャンバを含む。ある特定の実施形態では、チャンバの内表面は疎水性材料でコーティングされる。

【0038】

先行する実施形態のいずれかにおいて、分配路は波状であり得、少なくとも1つのピークと少なくとも1つの谷とを含み得る。一実施形態において、少なくとも1つのピークは回転中心に向かう方向を指す。別の実施形態において、少なくとも1つの谷は回転中心から離れる方向を指す。別の実施形態では、少なくとも1つのピークは少なくとも1つの谷

10

20

30

40

50

よりも回転中心に近い。

【0039】

先行する実施形態のいずれかにおいて、少なくとも1つの谷は、反応チャンバの各々に接続され得る。

【0040】

先行する実施形態のいずれかにおいて、混合チャンバは：基板上に配置されたスリーブ；スリーブ内に配置されるロータであって、ロータ、スリーブ、および基板は、混合チャンバ内の空間を取り囲む、ロータ；基板上の2つの開口部であって、各開口部は、混合チャンバと試料チャンバまたは分配路との間に、たとえば経路を介して流体接続を形成するように構成される、2つの開口部；および/またはロータ上に配置され、基板に向かって延びる構造であって、一方または両方の開口部を遮断または閉鎖するよう構成される構造、を含み得る。

10

【0041】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、並列に接続される複数の試料チャンバを備え得、各試料チャンバは同じ混合チャンバに接続される。

【0042】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、試料チャンバと分配路との間に直列に接続される複数の試料チャンバを備え得る。

【0043】

先行する実施形態のいずれかにおいて、試料チャンバ、混合チャンバ、および/または反応チャンバは、チャンバ内にたとえば配置または予め埋め込まれた1つ以上の試薬を含み得る。

20

【0044】

先行する実施形態のいずれかにおいて、基板は、ガラス、シリコン、金属または合金、ポリマー、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される材料を含み得る。

【0045】

先行する実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、ホットプレス、接着、レーザ溶接、超音波溶接、ねじ留め、一体成形、固定一体射出成形、またはそれらの任意の組み合わせによりカバープレートを基板に接合することにより製造され得る。

【0046】

別の局面においては、実施形態1～23のいずれか1つのマイクロ流体チップがここに開示される。

30

【0047】

さらに別の局面においては、先行する実施形態の任意の1つのマイクロ流体チップを備えるシステムがここに開示される。一実施形態において、システムはさらに、マイクロ流体チップ内の反応を検出するための手段を備える。

【0048】

1つの他の実施形態では、先行する実施形態の任意の1つのマイクロ流体チップを備えるキットがここに開示される。1つの実施形態では、キットは、さらに、マイクロ流体チップ内で反応を行うための1つ以上の試薬、および/またはマイクロ流体チップ内の反応を検出するための1つ以上の試薬を備える。

40

【0049】

さらに別の局面においては、分析物を分析する方法がここに開示され、この方法は、1) 先行する実施形態の任意の1つのマイクロ流体チップの試料チャンバ内に試料をロードすることと、2) 回転中心のまわりでマイクロ流体チップを回転させることと、3) 反応チャンバの内部で反応を実行することと、4) 反応の指標を測定することとを備える。この方法の一実施形態では、指標は、試料中の分析物の存在、欠如、量、および/または性質を示す。別の実施形態では、マイクロ流体チップを回転させることにより、試料は、試料チャンバから混合チャンバに送達され、混合チャンバ内で混合され、および/または混合チャンバから反応チャンバに送達される。

50

## 【 0 0 5 0 】

先行する実施形態のいずれかにおいて、試料は、たとえば、結合、上皮、筋もしくは神経組織；脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆のう、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、腺、および内部血管からなる群から選択される組織；または血液、尿、唾液、骨髄、精液、腹水、およびたとえば血清もしくは血漿などのそれらの亜分画からなる群から選択される体液などの、組織または体液に由来する試料などの、生体試料であり得る。

## 【 0 0 5 1 】

先行する実施形態のいずれかにおいて、反応は、生体反応、化学反応、免疫反応、PCR反応のような核酸増幅反応、またはポリヌクレオチド/ポリペプチドシーケンシング反応であり得る。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 5 2 】

【 図 1 】本開示の一実施形態における集積型マイクロ流体チップの集積型反応ユニットの構造図である。

【 図 2 】本開示の一実施形態における集積型マイクロ流体チップの構造図である。

【 図 3 】本開示の一実施形態における集積型マイクロ流体チップの構造図である。

【 図 4 】本開示の一実施形態における集積型マイクロ流体チップの構造図である。

【 図 5 】本開示の一実施形態における、混合チャンバまたはセルの構造図である。

【 図 6 】本開示の一実施形態における、混合チャンバまたはセルの上面図である。

【 図 7 】本開示の一実施形態において、複数の直列に接続された混合チャンバまたはセルを備える集積型マイクロ流体チップの構造図である。

【 図 8 】本開示の一実施形態において、並列に配置された複数の試料チャンバまたはセルを備える集積型マイクロ流体チップの構造図である。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 5 3 】

上記の図において、1は試料チャンバ/セル、2は混合チャンバ/セル、3は反応チャンバ/セル、4は試料入口、51は混合チャンバを試料チャンバに接続する第1の通路の第1のセグメント、52は混合チャンバを試料チャンバに接続する第1の通路の第2のセグメント、53は混合チャンバを試料チャンバに接続する第1の通路の第3のセグメント、54は、第1の通路の第2のセグメントと第3のセグメントとの接合部に位置する排気口、6は試料チャンバを混合チャンバに接続する液体経路、7は混合チャンバからの液体流を低減または遮断するために第1のセグメントの残りの部分と比較して拡張された体積を有するチャンバ、10は分配路、8は試料チャンバと混合チャンバとの間に空気接続を与えるよう構成される回路への分配路からの液体流を低減または遮断するために、拡張された体積を有する別のチャンバ、9は分配路を第1の通路に接続する、回路の第2の通路、11は緩衝プール（緩衝チャンバとも呼ばれる）、12は沈降チャンバ/タンク、13は廃液プール（廃棄物チャンバとも呼ばれる）、14は混合チャンバ/セルのための、液体流を試料チャンバから混合チャンバに向けるための入口、15は混合チャンバ/セルのための、回路への空気接続のための排気口、16はマイクロ流体チップのための基板、17はチップトレイ、18はスリーブ、19はロータ、20は微細孔、21はチョークプラグのようなロータ上の構造、22はマイクロ経路である。

## 【 0 0 5 4 】

## 詳細な記載

請求項に記載の主題の1つ以上の実施形態の詳細な説明が、請求項に記載の主題の原理を示す添付の図面とともに以下に提供される。請求項に記載の主題はそのような実施形態に関連して説明されるが、いずれの特定の実施形態にも限定されない。請求項に記載の主題はさまざまな形態で具体化され得、多数の代替、修正および均等物を包含すると理解すべきである。したがって、本明細書に開示される具体的な詳細は限定的であると解釈すべきでなく、むしろ請求項の基礎として、かつ当業者が請求項に記載の主題を実質的に任意

10

20

30

40

50

の適切に詳述されるシステム、構造、または態様で採用するための代表的な基礎として解釈すべきである。本開示の完全な理解を提供するために、以下の説明では多数の具体的な詳細が述べられる。これらの詳細は例示のために提供され、請求項に記載の主題はこれらの具体的な詳細のいくつかまたはすべてがなくても請求項に従って実践され得る。請求項に記載の主題の範囲から逸脱することなく、他の実施形態も用いられることができ、構造的な変更を行うことができると理解すべきである。個々の実施形態の1つ以上に記載されるさまざまな特徴および機能は、それらが記載されている特定の実施形態に適用性が限定されないと理解すべきである。それらは代わりに、単独でまたは何らかの組合せにおいて、そのような実施形態が記載されているかいないかにかかわらず、かつそのような特徴が記載されている実施形態の一部であると提示されているかいないかにかかわらず、開示の他の実施形態の1つ以上に適用可能である。明確にするために、請求項に記載の主題に関連する技術分野において公知の技工物は、請求項に記載の主題を不必要に不明瞭にしないように、詳細に記載されていない。

10

**【0055】**

特に定義されない限り、本明細書に用いられるすべての専門用語、表記ならびに他の技術および化学用語または術語は、請求項に記載の主題が関連する技術の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を持つことが意図されている。場合によっては、一般に理解される意味を有する用語は明確にするためにおよび/または容易に参照するために本明細書において定義され、本明細書におけるそのような定義の包含は、当該技術において一般的に理解されているものとの実質的な相違点を表わしていると必ずしも解釈すべきでない。本明細書に記載または参照される技術および手順の多くは、当業者によってよく理解されており、従来技法を用いて一般に採用されている。

20

**【0056】**

本願において参照される特許文献、科学論文およびデータベースを含むすべての出版物は、個々の各出版物が参照によって個別に援用されているのと同じ程度まで、その全内容があらゆる目的のために参照により援用される。本明細書に記載される定義が、参照により本明細書に援用される特許、特許出願、公開出願または他の出版物に記載される定義に反しているか、またはそうでなければ当該定義と矛盾している場合、本明細書に記載される定義が、参照により本明細書に援用される定義より優先する。出版物または文書の引用は、それらのいずれかが関連の先行技術であるという承認であることを意図しておらず、それらの出版物または文書の内容または日付についての如何なる承認を構成するものでもない。

30

**【0057】**

すべての表題は読者の利便性のためであり、そのように規定されない限り、表題に続く本文の意味を限定するために用いられるべきでない。

**【0058】**

本開示全体にわたって、請求項に記載の主題のさまざまな局面が範囲の形態で提示される。範囲の形態における記載は利便性および簡潔性のために過ぎず、請求項に記載の主題の範囲に対する柔軟性のない限定として解釈されるべきでないとして理解すべきである。したがって、範囲の記載は、すべての可能なサブ範囲およびその範囲内の個々の数値を具体的に開示していると見なされるべきである。たとえば、値の範囲が提供される場合、その範囲の上限と下限との間にある各値、およびその記載範囲内のその他の記載される、または間にある値が請求項に記載の主題に包含されると理解すべきである。これらのより小さい範囲の上限および下限は独立してより小さい範囲に含まれてもよく、さらに、記載範囲内の任意の具体的に排除された限定を受け、請求項に記載の主題に包含される。記載範囲が上下限の一方または両方を含む場合、それらの含まれる限界の一方または両方を排除する範囲も請求項に記載の主題に含まれる。これは、範囲の幅に係わらず適用される。

40

**【0059】**

提供される実施形態の実践では、特に明記しない限り、当該技術において実践する当業者の範囲内にある、有機化学、高分子技術、分子生物学（組換え技術を含む）、細胞生物

50

学、生化学、およびシーケンシング技術の従来技術ならびに説明を採用する。そのような従来技術として、ポリペプチドおよびタンパク質合成および修飾、ポリヌクレオチド合成および修飾、ポリマー配列合成、ポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションおよびライゲーション、ならびに標識を用いたハイブリダイゼーションの検出が挙げられる。本明細書中の例を参照することによって、好適な技術の具体的な例示を有することができる。しかし、他の同等の従来手順も、もちろん使用可能である。そのような従来技術および説明は、Green, et al., Eds., Genome Analysis: A Laboratory Manual Series ( Vols. I-IV) (1999) ; Weiner, Gabriel, Stephens, Eds., Genetic Variation: A Laboratory Manual (2007) ; Dieffenbach, Dveksler, Eds., PCR Primer: A Laboratory Manual (2003) ; Bowtell and Sambrook, DNA Microarrays: A Molecular Cloning Manual (2003) ; Mount, Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis (2004) ; Sambrook and Russell, Condensed Protocols from Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2006) ; および Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2002) (すべて Cold Spring Harbor Laboratory Press より) ; Ausubel et al. eds., Current Protocols in Molecular Biology (1987) ; T. Brown ed., Essential Molecular Biology (1991), IRL Press ; Goeddel ed., Gene Expression Technology (1991), Academic Press ; A. Bothwell et al. eds., Methods for Cloning and Analysis of Eukaryotic Genes (1990), Bartlett Publ. ; M. Kriegler, Gene Transfer and Expression (1990), Stockton Press ; R. Wu et al. eds., Recombinant DNA Methodology (1989), Academic Press ; M. McPherson et al., PCR: A Practical Approach (1991), IRL Press at Oxford University Press ; Stryer, Biochemistry (4th Ed.) (1995), W. H. Freeman, New York N.Y. ; Gait, Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach (2002), IRL Press, London ; Nelson and Cox, Lehninger, Principles of Biochemistry (2000) 3rd Ed., W. H. Freeman Pub., New York, N.Y. ; Berg, et al., Biochemistry (2002) 5th Ed., W. H. Freeman Pub., New York, N.Y. ; D. Weir & C. Blackwell, eds., Handbook of Experimental Immunology (1996), Wiley-Blackwell ; A. Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology (1991, 1994), W.B. Saunders Co. ; ならびに J. Coligan et al. eds., Current Protocols in Immunology (1991) などの標準的な実験室マニュアルに見つけることができ、上記マニュアルのすべてはその全内容があらゆる目的のために参照により本明細書に援用される。

#### 【 0 0 6 0 】

##### A : 定義

本明細書および添付の請求項において使用する単数形「 a 」、「 a n 」、および「 t h e 」は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、複数対象物を含む。たとえば、「 a 」または「 a n 」は「少なくとも1つの」または「1つ以上の」を意味する。ゆえに、「試薬 ( a reagent ) 」の言及は1つ以上の試薬を指し、「当該方法 ( t h e method ) 」の言及は本明細書に開示される、および/または当業者に公知の同等の工程および方法の言及を含む、等である。

#### 【 0 0 6 1 】

本明細書において使用する「マイクロ流体デバイス」という用語は一般に、材料、特に、液体などの、流体で運ばれる材料が、ある実施形態ではマイクロスケールで、ある実施形態ではナノスケールでその中を通して輸送され得るデバイスを指す。ゆえに、本明細書に開示される主題によって記載されるマイクロ流体デバイスはマイクロスケール特徴、ナノスケール特徴、およびそれらの組合せを含み得る。

#### 【 0 0 6 2 】

したがって、例示的なマイクロ流体デバイスは典型的に、ミリメートルスケール以下のオーダで寸法決めされる構造的または機能的特徴を含み、これらは流体を  $\mu\text{L}$  / 分以下のオーダの流量で操作可能である。典型的に、そのような特徴には、経路、流体リザーバ、反応チャンバ、混合チャンバ、および分離領域が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの例では、経路は約  $0.1\ \mu\text{m}$  から約  $500\ \mu\text{m}$  の範囲内の少なくとも1つの断

面寸法を含む。このオーダの寸法を用いることによって、小さい面積内に多くの経路を組込むことができ、利用される流体の量が減少する。

【0063】

マイクロ流体デバイスは単独で存在してもよいし、またはマイクロ流体システムの一部であってもよく、当該システムは、たとえば限定されずに、たとえば試料、試薬、緩衝液などの流体をシステム内におよび/またはシステム全体に導入するためのポンプ；検出機器またはシステム；データ記憶システム；ならびにデバイス内の流体輸送および/または方向を制御し、たとえば温度、電流などのデバイス内の流体が晒される環境条件を監視および制御するための制御システムを含み得る。

【0064】

本明細書において使用する「経路」、「マイクロ経路」、「流路」、および「マイクロ流路」という用語は同義で用いられ、パターンを有する基板から材料内にパターンを付与することによって、もしくは任意の好適な材料除去技術によって材料に形成される凹部もしくは空洞を意味し得るか、または、管、毛細管などの、凹部もしくは空洞内に装着された任意の好適な流体伝導構造と組合せた凹部もしくは空洞を意味し得る。本発明では、経路サイズはマイクロ流路の断面積を意味する。

【0065】

本明細書において使用する「流路」および「制御路」という用語は同義で用いられ、たとえば気体または液体など、流体などの材料が内部を流れることが可能なマイクロ流体デバイスの経路を意味し得る。より特定的には、「流路」という用語は、たとえば溶媒または化学試薬などの対象材料が内部を流れることが可能な経路を指す。さらに、「制御路」という用語は、たとえば気体または液体など、流体などの材料が弁またはポンプを動作させるように内部を流れることが可能な流路を指す。

【0066】

本明細書において使用する「チップ」は、物理的、化学的、生物学的、生物物理学的もしくは生化学的プロセス等の一定のプロセスをその上で実行可能な、複数の一、二もしくは三次元のマイクロ構造またはマイクロスケール構造を有する固体基板を指す。経路およびウェル、電極要素、電磁要素などのマイクロ構造またはマイクロスケール構造は、チップ上の物理的、生物物理学的、生物学的、生化学的、化学的反応またはプロセスを容易にするために基板に組込まれるか、基板上に製作されるか、またはそうでなければ基板に取付けられる。チップは一次元において薄くてもよく、たとえば矩形、円、楕円、または他の不規則形状など、他の次元におけるさまざまな形状を有してもよい。本発明のチップの主面のサイズは、たとえば約  $1 \text{ mm}^2$  から約  $0.25 \text{ m}^2$  のように、大きく異なり得る。好ましくは、チップのサイズは約  $4 \text{ mm}^2$  から約  $25 \text{ cm}^2$  であり、特性寸法は約  $1 \text{ mm}$  から約  $5 \text{ cm}$  である。チップ面は平坦であってもよいし、平坦でなくてもよい。非平坦面を有するチップは、表面上に製作された経路またはウェルを含んでもよい。

【0067】

本明細書において使用する「実質的に同一の」または「実質的に同じ」反応体積または距離は、反応体積（または距離）同士の差がアッセイ均一性に統計的に影響しないほど十分小さいことを意味する。一実施形態では、同じマイクロ流体チップ上の反応チャンバの体積は実質的に同一である。通常、最大体積と最小体積との差は、最大反応体積の約 50% 未満である。好ましくは、最大体積と最小体積との差は、最大反応体積の約 40%、約 30%、約 20%、約 10%、約 5%、約 2%、約 1%、約 0.5%、約 0.1%、約 0.01% 未満、または約 0.001% 未満である。別の実施形態では、同じマイクロ流体チップの複数の試料チャンバの回転中心までの距離は、実質的に同一または同じである。さらに別の実施形態では、同じマイクロ流体チップの複数の混合チャンバの回転中心までの距離は、実質的に同一または同じである。さらに別の実施形態では、同じマイクロ流体チップの複数の反応チャンバの回転中心までの距離は、実質的に同一または同じである。通常、最大距離と最小距離との間の差は、最大反応距離の約 50% 未満である。好ましくは、最大距離と最小距離との間の差は、最大距離の約 40%、約 30%、約 20%、約 1

10

20

30

40

50

0%、約5%、約2%、約1%、約0.5%、約0.1%、約0.01%、または約0.001%未満である。

【0068】

本明細書において使用する「試料」は、溶液、懸濁液、液体、粉末、ペースト、水性、非水性またはそれらの任意の組合せであり得る。本開示の生体試料は、溶液、懸濁液、液体、粉末、ペースト、水性試料、または非水性試料の形態の試料を包含する。本明細書において使用する「生体試料」は、生体またはウイルス（もしくはプリオン）源または高分子および生体分子の他のソースから得られた任意の試料を含み、そこから核酸、タンパク質および/または他の高分子を得ることができる対象の任意の細胞種類または組織を含む。生体試料は、生物源から直接得られた試料、または処理される試料であり得る。たとえば、増幅される単離核酸は生体試料を構成する。生体試料には、動物および植物からの血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、尿および汗、組織および臓器試料などの体液、ならびにそれに由来する処理済み試料が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0069】

「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」という用語は本明細書において同義で用いられ、任意の長さのヌクレオチドの高分子形態を指し、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、およびそれらの類似体または混合物を含む。当該用語は、三本鎖、二本鎖および一本鎖のデオキシリボ核酸（「DNA」）ならびに三本鎖、二本鎖および一本鎖のリボ核酸（「RNA」）を含む。当該用語はさらに、たとえばアルキル化によって、および/またはキャッピングによって修飾された、ならびに修飾されていない形態のポリヌクレオチドを含む。より特定のには、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」、および「核酸分子」という用語は、ポリデオキシリボヌクレオチド（2-デオキシ-D-リボースを含有する）、スプライスされているかいないかにかかわらず、tRNA、rRNA、hRNA、およびmRNAを含むポリリボヌクレオチド（D-リボースを含有する）、プリンまたはピリミジン塩基のN-またはC-グリコシドであるその他の種類のポリヌクレオチド、ならびに非ヌクレオチド骨格を含む他のポリマー、たとえば、ポリアミド（たとえばペプチド核酸（「PNA」））およびポリモルホリン（Neugeneとしてオレゴン州コーバリスのAnti-Virals, Inc.社から市販されている）ポリマー、ならびに、DNAおよびRNA中に見られるような塩基対合および塩基スタッキングを可能にする構成内の核酸塩基をポリマーが含有しているという条件で、他の合成配列特異的核酸ポリマーを含む。ゆえに、これらの用語は、たとえば、3'-デオキシ-2',5'-DNA、オリゴデオキシリボヌクレオチドN3'-P5'ホスホルアミデート、2'-O-アルキル置換RNA、DNAとRNAとの、またはPNAとDNAまたはRNAとのハイブリッドを含み、さらに、公知の種類の修飾、たとえば、標識、アルキル化、「キャップ」、ヌクレオチドの1つ以上を、類似体、ヌクレオチド間修飾で、たとえば、非荷電結合（たとえばメチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメート等）を有する、負荷電結合（たとえばホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等）、および正荷電結合（たとえばアミノアルキルホスホルアミデート、アミノアルキルホスホトリエステル）を有するもので、たとえばタンパク質（酵素（たとえばヌクレアーゼ）、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ-L-リジン等を含む）などのペンダント部分を含有するもので、インターカレータ（たとえばアクリジン、ソラレン等）を有するもので、（たとえば金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属等の）キレートを含有するもので、アルキル化剤を含有するもので、修飾結合（たとえばアルファノマー核酸等）および非修飾形態のポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドを有するもので置換することを含む。核酸は一般にリン酸ジエステル結合を含有するが、場合によっては、ホスホルアミダイト、ホスホロジチオエート、もしくはメチルホスホロアミダイト結合；またはペプチド核酸骨格および結合などの代替骨格を有する核酸類似体が含まれてもよい。他の類似の核酸は、ロックド核酸、正骨格、非イオン性骨格および非リボース骨格を含む二環構造を有するものを含む。リボースリン酸骨格の修飾が、分子の安定性を増加させるために行なわれてもよく、たとえば、PNA:DNAハイブリッドは環境

20

30

40

50

によってはより高い安定性を示すことができる。「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」という用語は、少なくとも5個、6個、7個、8個、9個、10個、20個、30個、40個、50個、100個、200個、300個、400個、500個、1000個以上のヌクレオチドなどの、任意の好適な長さを含み得る。

#### 【0070】

本明細書において使用する「ヌクレオシド」および「ヌクレオチド」という用語は、公知のプリンおよびピリミジン塩基だけでなく、修飾された他の複素環塩基も含有するそれらの部分を含むことが認識されるであろう。そのような修正は、メチル化プリンもしくはピリミジン、アシル化プリンもしくはピリミジン、または他の複素環を含む。修飾ヌクレオシドまたはヌクレオチドは、たとえば、ヒドロキシル基の1つ以上がハロゲン、脂肪族基で交換されるか、またはエーテル、アミンなどとして官能化される、糖部分に対する修飾も含み得る。「ヌクレオチド単位」という用語は、ヌクレオシドおよびヌクレオチドを包含することが意図されている。

10

#### 【0071】

「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は本明細書において同義で用いられ、たとえば、少なくとも5個、6個、7個、8個、9個、10個、20個、30個、40個、50個、100個、200個、300個、400個、500個、1000個以上のアミノ酸などの、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指す。ポリマーは直鎖状でも分岐状でもよく、修飾アミノ酸を含んでもよく、非アミノ酸によって中断されてもよい。当該用語はさらに、自然にまたは介入によって、たとえば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分を用いた共役などのその他の操作もしくは修飾によって修飾されたアミノ酸ポリマーを包含する。この定義には、たとえば、アミノ酸の1つ以上の類似体（たとえば、非天然アミノ酸等を含む）を含有するポリペプチド、および当該技術において公知の他の修飾も含まれる。

20

#### 【0072】

本明細書に開示されるチップを用いて検出および/または分析可能な分析物は、タンパク質、核酸、脂質、炭水化物、イオン、または上記のいずれかを含有する多成分複合体を含むがこれらに限定されない任意の生体分子であり得る。対象の細胞内分析物の例には、細胞小器官、たとえば、ミトコンドリア、ゴルジ体、小胞体、葉緑体、エンドサイトーシス小胞、エキソサイトーシス小胞、液胞、リソソーム、等が挙げられる。例示的な核酸分析物には、さまざまなコンフォメーションのゲノムDNA（たとえば、A-DNA、B-DNA、Z-DNA）、ミトコンドリアDNA（mtDNA）、mRNA、tRNA、rRNA、hRNA、miRNA、およびpiRNAが挙げられ得る。

30

#### 【0073】

シーケンシング反応などは、核酸のヌクレオチド塩基配列に関連する情報の判定を含む。そのような情報は、核酸の部分的なおよび完全な配列情報の同定または判定を含み得る。配列情報は、異なる程度の統計的信頼性または信頼度で判定され得る。一局面において、当該用語は、核酸内の複数の近接するヌクレオチドの同一性および順序付けの判定を含む。「高スループットシーケンシング」または「次世代シーケンシング」は、多くの（典型的に数千から数十億の）核酸配列を本質的に並列な態様で判定する、すなわちDNAテンプレートが一度に1つずつではなくバルク処理におけるシーケンシングのために調製され、多くの配列が好ましくは並列に読出される方法を用いる、または代替的に、それ自体が並列化され得る超高スループット直列処理を用いる、配列判定を含む。そのような方法として、パイロシーケンス法（たとえば、コネチカット州ブランフォードの454 Life Sciences, Inc.社によって商品化されている）；ライゲーションによるシーケンシング（たとえば、カリフォルニア州カールスバッドのLife Technologies, Inc.社のSOLiD（商標）技術において商品化されている）；修飾ヌクレオチドを用いる合成によるシーケンシング（カリフォルニア州サンディエゴのIllumina, Inc.社によるTruSeq（商標

40

50

）およびHiSeq（商標）技術；マサチューセッツ州ケンブリッジのHelicos Biosciences Corporation社によるHeliScope（商標）；およびカリフォルニア州メンローパークのPacific Biosciences of California, Inc.社によるPacBio RSにおいて商品化されている）、イオン検出技術によるシーケンシング（カリフォルニア州カールスバッドのLife Technologies社のIon Torrent（商標）技術など）；DNAナノボールのシーケンシング（カリフォルニア州マウンテンビューのComplete Genomics, Inc.社）；ナノポアを用いたシーケンシング技術（たとえば、イギリスのオックスフォードのOxford Nanopore Technologies, LTD社によって開発されている）、ならびに同様の高度に並列化されたシーケンシング法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0074】

本明細書における「マルチプレクシング」、「マルチプレックスアッセイ」、または「マルチインデックスアッセイ」は、たとえば複数の核酸配列などの複数の標的の存在および/または量が、たとえば1つよりも多い捕捉プローブ抱合体を用いて同時にアッセイされ得るアッセイまたは他の分析方法を指し得、抱合体の各々は少なくとも1つの異なる検出特性、たとえば蛍光特性（たとえば励起波長、発光波長、発光強度、FWHM（半値全幅ピーク高さ）、もしくは蛍光寿命）または固有の核酸もしくはタンパク質配列特性を有する。

【0075】

本明細書に記載される発明の局面および実施形態は、「からなる」および/または「から本質的になる」の局面および実施形態を含むと理解される。

【0076】

#### B. マイクロ流体チップおよびマイクロ流体システム

1つの局面では、本開示は、たとえば、最終的に目標生成物を製造するために、試料がマイクロ流体チップの所定の経路で円滑に流れ得ることを確実にするために、集積型マイクロ流体チップを提供する。

【0077】

たとえば、図1に示される集積型マイクロ流体チップでは、基板16上に少なくとも1つの集積型反応ユニットが設けられる。1つの局面では、集積型反応ユニットは、少なくとも試料チャンバ/セル1、混合チャンバ/セル2、および/または反応チャンバ/セル3を含む。一実施形態では、試料チャンバは、1つ以上の試料を一時的に保管するために使用される。一実施形態では、混合チャンバは、試料が1つ以上の他の物質と混合される場所として使用される。他の実施形態では、反応チャンバは、試料が1つ以上の試薬と反応し、最終的に1つ以上の目標生成物を生成する場所として使用される。1つの局面では、これら3つのチャンバは液体接続を形成することができ、たとえば、これらチャンバは経路を介して接続される。図1に示すように、試料チャンバは、細長い形状、たとえば、長いストリップ形状であってもよい。1つの局面では、試料チャンバは、マイクロ流体チップの回転方向に、回転中心の周りで伸長させることができる。別の局面では、試料チャンバは湾曲形状であってもよい。1つの局面では、試料チャンバの一端には、たとえば試料が注入された後に制御可能に閉じられ得る試料入口4が設けられる。さらなる局面では、マイクロ流体チップは、空気または気体用の内部循環システム/回路をさらに備え、その一端は混合チャンバに接続され、他端は、試料チャンバに、たとえば試料入口4の遠位にある試料チャンバの端部で接続される第1の循環分岐回路（たとえば、セグメント52および53を含む分岐）を少なくとも含む。

【0078】

図1に示すように、試料が試料入口4を介して試料チャンバ1に加えられると、試料チャンバ内の空気（または気体）は、まず、たとえば、図に示す液体経路6のような1つ以上の液体経路を通して混合チャンバ2に送られる。1つの局面では、1つ以上の支援装置に支援されて、たとえばチップを回転させることにより、試料チャンバ内の液体が徐々に混合チャンバに移送される。この時点で、液体試料によって以前に占められていた試料チャンバ内の体積または空間は空になる。汚染を回避または低減するために試料入口4を閉

10

20

30

40

50

鎖することができるので、外部環境からの空気が試料チャンバに入って空の空間を満たすことはない。結果として、試料チャンバ内の空気圧は低下し、混合チャンバに先に移送された空気の圧力は、液体が試料チャンバから入るにつれて、上昇する。内部空気循環システム/回路の一端は混合チャンバに接続され、他端は試料チャンバに接続されるので、混合チャンバ内の空気は圧力差の作用下で内部空気循環システム/回路に沿って試料チャンバに戻ることができる。たとえば、試料チャンバ1内の液体試料によって混合チャンバ2内に押し込まれた空気は、通気口15を介して混合チャンバから出て、セグメント51、セグメント52、およびセグメント53に沿って移動し、最後に試料チャンバに戻る。これにより、試料チャンバと混合チャンバとの空気圧均衡がとられ、結果として、試料は、たとえば、低回転速度で、マイクロ流体チップ内の所定の方向に円滑に流れることができる。1つの局面では、本チップ設計は、混合チャンバの入口(たとえば、図1の入口14)への試料の衝突も低減し、したがって、1つ以上の目標生成物などの、下流の用途のための信頼性のある基礎を提供する。

10

#### 【0079】

さらなる局面では、試料を追加する際に、試料チャンバ、混合チャンバ、ならびに/または接続パイプおよび/もしくは経路(空気回路循環経路および液体経路)に多すぎる空気を残さないようにするために、開閉可能な排気口54が設けられている。たとえば、第1の循環分岐回路に排気口を設けることができる。試料を試料チャンバに加えるとき、排気口54は開いたままであり、試料が加えられた後、試料の漏れおよび/または外部環境からの汚染を避けるために、試料入口4および排気口54の両方が閉じられる。

20

#### 【0080】

別の局面では、混合チャンバ内の液体が空気回路の内部循環システムに流れるのを防止するために、空気回路は、液体が空気経路に入るのを阻止する液体遮断構造をさらに含む。一実施形態では、内部表面が疎水性材料で被覆された拡張された体積および/またはセグメントを有するチャンバなどの液体遮断構造が、混合チャンバに対して近位の位置に配置される。図1に示すように、液体遮断構造は、拡張された体積を有するチャンバ-チャンバ7-であってもよく、経路の他の部分と比較して、その急激な体積変化により、空気回路に入る液体を集め、それがセグメント51、52、53を移動するのを防ぐことができる。

#### 【0081】

図1に示すように、本実施形態の第1の循環分岐回路は、第2のセグメント52と第3のセグメント53との2つのセグメントを含む。第1の通路は、さらに、混合チャンバに接続された空気回路の内部循環システムの一部としての第1のセグメント51と、試料チャンバに接続された第3のセグメント53とを含み得、第2のセグメント52は、第1のセグメントと第3のセグメントとを接続する中間セグメントである。一実施形態では、第1のセグメント51および/または第3のセグメント53の流れセクションは、第2のセグメント52の流れセクションよりも小さく、試料チャンバおよび/または混合チャンバ内の液体が内部空気循環システム/回路に入るのを防ぐ。

30

#### 【0082】

別の実施形態では、試料が混合チャンバから内部空気循環システム/回路内に流入するのを防止するために、内部空気循環システム/回路には、混合チャンバに対して近位の位置に液体遮断構造が設けられる。1つの局面では、液体遮断構造は、1つ以上の弁を含むことができる。別の局面では、液体遮断構造として、チャンバ7のような拡張体積を有するチャンバが設けられる。1つの局面では、その通路に沿って突然の体積変化を有するパイプ/経路は、液体流を効果的に遮断し、液体試料または試料混合物(1つ以上の他の試薬を伴う)が内部空気循環システム/回路に入るのを防止する。

40

#### 【0083】

1つの局面では、1つ以上の支援構造および/または装置を、本明細書に開示されるマイクロ流体チップと共に使用することができる。たとえば、支援装置は、マイクロ流体チップ内の試料流を作動させるための動力を供給するだけでなく、マイクロ流体チップ内の

50

1つ以上の他のマイクロ構成要素の動作を起動させることもできる。したがって、マイクロ流体チップ（集積型マイクロ流体チップの略語）における試料は、多くの異なる方法で送られることができる。たとえば、支援装置は、空気または気体を供給して、試料を流動させ、またはマイクロ流体チップを回転させて遠心力によって試料を流動させるようにすることができる。1つの局面では、集積型マイクロ流体チップは、回転中心を有する単純な遠心マイクロ流体チップである。この例では、試料を、試料チャンバ（たとえばチャンバ1）から混合チャンバ（たとえばチャンバ2）に、次いで反応チャンバ（たとえばチャンバ3）に、遠心力の作用で順次流れさせるために、試料チャンバ、混合チャンバおよび反応チャンバの回転中心までの距離が順次増加する。

**【0084】**

回転中心は、マイクロ流体チップの基板16上に、またはマイクロ流体チップの外側に位置することができることに留意されたい。いくつかの実施形態では、マイクロ流体チップは、実際の遠心プロセスにおいてチップトレイ17上に載置されることが多いため、回転中心はチップトレイ上にあることもできる。

**【0085】**

図2～図4に示すように、マイクロ流体チップ上には1つの集積型反応ユニットしか存在せず、さらに、マイクロ流体チップ内に配置された2つ以上の集積型反応ユニットが存在することもできる（図3に示す4つのユニット）。加えて、2つ以上のマイクロ流体チップ（図4に示す2つのチップ）をチップトレイ17に設ける（たとえば、埋め込む）ことができ、1つ以上の集積型反応ユニットを、チップトレイ17に埋め込まれた各マイクロ流体チップ上に設けることができる。

**【0086】**

さらなる実施形態では、試料をマイクロ流体チップに加えるとき、または他の操作を実行するときに、緩衝の役割を果たすために、第1の循環分岐回路と試料セルとの間に緩衝ゾーンを設けることができる。加えて、試料セルと第1の循環分岐回路との間に特別な緩衝ゾーンを設けなくてもよく、かわりに、第1の循環分岐回路を直接試料セルに接続してもよい。

**【0087】**

図1に示すように、1つの局面では、試料が反応セルに入る際に大きな衝撃が生じるのを避けるために、反応セル3と混合セル2との間に緩衝チャンバ/プール11を設け、たとえば、遠心マイクロ流体チップの低速分速速度によって駆動される低速流速で試料が反応セルに低速流状態で入ることを保証する。

**【0088】**

1つの局面では、異なる必要性に応じて、1つ以上の反応セルが存在し得る。2つ以上の反応セルがある場合、各反応セルと回転中心との間の距離は実質的に同じであるべきであり、混合セルはこれらの反応セルと分配路（たとえば、図1の波形経路10）を介して接続される。図1～図4および図7～図8に示すように、分配路は波状であり、この波状の分配路10の峰は回転中心に近く、その窪みは回転中心から遠い。1つの局面では、反応セルは分配路の窪みに接続され、混合セルは分配路の先頭端に接続される。

**【0089】**

1つの局面では、分配路は全体としてマイクロ流体チップの周方向に沿って延びるので、分配路の任意の端部がその先頭端であり得、他端がその末尾端である。たとえば、実際の設計プロセスでは、混合セルは、分配路の、より近い端部に接続するだけでよい。したがって、この端部は分配路の先頭端であり、他端は末尾端である。

**【0090】**

別の実施形態では、2つ以上の反応セルがある場合、廃液プール13が、分配路の先頭端および末尾端に隣接する窪みにそれぞれ接続され得る。1つの局面では、各廃液プールの体積は、各反応セルの体積の約0.5～約1.0倍である。特定の例では、各廃液プールの体積は、各反応セルの体積の約0.3倍、約0.4倍、約0.5倍、約0.6倍、約0.7倍、約0.8倍、約0.9倍、約1.0倍、約2.0倍、約2.5倍、約3.0倍、

10

20

30

40

50

約 3.5 倍、約 4.0 倍、約 4.5 倍、約 5.0 倍、約 5.5 倍、約 6.0 倍、約 6.5 倍、約 7.0 倍、約 7.5 倍、約 8.0 倍、約 8.5 倍、約 9.0 倍、約 9.5 倍、約 10.0 倍、約 10.5 倍、約 11.0 倍であるかまたは約 11.0 倍より大きい。

【0091】

1つの局面では、混合セルに近い廃液プールは、混合セル内の残留液体を収容するために使用され、混合セルに対して遠位の廃液プールは、分配路内の余剰液体を収容するために使用され得る。

【0092】

図1に示すように、1つの局面では、空気回路循環システム他端は、分配路10の末端に接続される第2の循環分岐回路9をさらに含む。1つの局面では、この第2の循環分岐回路は、分配路内の空気の内部循環をさらに可能にする。具体的には、試料が分配路に流れると、分配路内の空気は、まず、第2の循環分岐回路（たとえば、図1の経路9）に送られ、支援装置の支援で、混合セル内の液体は徐々に分配路に移送される。このとき、混合セル内において液体試料が占有していた領域が空いているため、混合セル内の空気圧が低下し、第2の循環分岐回路に先に移動していた空気の圧力は、液体が入るにつれ、上昇する。混合セルは空気回路の内部循環システムに接続されているので、第2の循環分岐回路内の空気は、たとえば圧力差の作用下で、空気回路の内部循環システムにおいて第1のセグメント51に沿って混合セルに戻ることができる。このようにして、本マイクロ流体チップは、混合セルおよび分配路における空気圧均衡を保証し、さらに、試料が分配路を完全に満たし得、マイクロ流体チップの所定の経路内を円滑に流れ得ることを保証する。

【0093】

1つの局面では、第2の循環分岐回路の断面積は、混合セルに接続される空気回路内部循環経路の端部の断面積、すなわち、第1のセグメントの断面積（たとえば、図1のセグメント51）よりも有意に大きい。特定の実施形態では、セグメント52および/または分岐9の断面積は、セグメント51および/またはセグメント53の断面積よりも大きい。たとえば、セグメント52および/または分岐9の断面積は、セグメント51および/またはセグメント53の断面積の約1.1倍、約1.5倍、約2.0倍、約2.5倍、約3.0倍、約3.5倍またはそれ以上である。

【0094】

さらに、1つの局面では、試料が分配路から第2の循環分岐回路へ流入するのを防止するために、第2の循環分岐回路には分配路からの液体を遮断するための液体遮断構造が設けられている。遮断構造は、1つ以上の弁を含んでもよい。加えて、遮断構造は、急激な体積変化のための第1の体積拡張チャンバ（たとえば、図1の8）を含むことができる。1つの局面では、突然の面積/体積変化を有するパイプは、液体流を効果的に遮断し、液体試料が空気循環分岐回路に入るのを防止する。

【0095】

1つの局面では、液体遮断効果を改善するために、試料セル、混合セル、分配路、および/または反応セルの接続パイプの内表面、ならびに空気回路の内部循環システムのパイプの内表面が、1つ以上の疎水性材料から形成されてもよく、または疎水性コーティングを含んでもよい。この分野で公知の任意の好適な疎水性材料および/または疎水性コーティングを使用することができる。特定の実施形態では、第1の液体遮断構造（たとえば、図1の8）および第2の液体遮断構造（たとえば、図1の7）の両方が疎水性材料で形成されるか、またはそれらの内壁が疎水性材料で塗布またはコーティングされて、理想的な液体遮断効果を達成する。

【0096】

図1に示すように、一局面では、空気回路の内部循環システムと混合セル2とを接続する点を第1接続点と呼び、空気回路の内部循環システムと第1の循環分岐回路または第2の循環分岐回路9とを接続する点を第2の接続点と呼ぶ。1つの局面では、第1の接続点と回転中心との間の距離は、第2の接続点と回転中心との間の距離よりも大きい。この設

10

20

30

40

50

計により、空気回路の内部循環システムが偏心状態を示し、混合セル2内の液体が空気回路の内部循環システムに進入することを効果的に防止し、空気回路の内部循環システムの正常動作を確保することができる。

【0097】

図1に示すように、1つの局面では、反応セル3の末尾端に沈降タンク12を設けることができ、沈降タンク12と回転中心との距離は反応セル3と回転中心との距離よりも大きい。1つの局面では、沈降タンクは、反応または反応に用いられ得る固体支持体（マイクロビーズまたは金粒子など）の結果として形成され得る任意の沈殿物（たとえば、免疫錯体）のような、反応セル3中の溶液の固形分を収集するために使用される。1つの局面では、沈降チャンバの体積は、反応セルの体積の約0.05倍～約1倍である。特定の実施形態では、沈降チャンバの体積は、反応チャンバの体積の約0.01倍、約0.05倍、約0.1倍、約0.2倍、約0.5倍、約1.0倍または約1.5倍である。

10

【0098】

1つの局面では、図5は、本開示のマイクロ流体チップの混合セルの構造図を示す。一実施形態では、混合セルは、スリーブ18、微細孔20およびロータ19を含み、スリーブは基板16の一方の側で膨らみ、少なくとも2つの微細孔20がある。一実施形態では、微細孔は基板16の2つの側面を貫通している。1つの局面では、スリーブ18の内部は、マイクロ経路22に接続されている。1つの局面では、ロータ19はスリーブ内に埋め込まれ、基板から遠いスリーブの上面と協働し、ロータ19上には微細孔20を封鎖および開放するためのチョークプラグ21が設けられる。

20

【0099】

1つの局面では、本明細書における混合セル/チャンバおよび/またはマイクロ流体チップ上のその配置は、2016年9月30日に提出された「マイクロ流体弁およびそれを備えるチップまたはシステム（A microfluidic valve and a chip or system comprising the microfluidic valve）」と題される国際特許出願PCT/CN2016/000549に開示されるとおりであり、その内容は、すべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0100】

1つの局面では、本明細書で提供されるのは、マイクロ流体弁およびそれを備えるマイクロ流体チップであり、マイクロ流体弁は、開口部、たとえば、微細孔が設けられるベースと、ベース上に配置されるスリーブと、スリーブ内に配置され、ベースから離れたスリーブの端部に位置する回転可能なロータとを含み、ロータと、スリーブと、ベースとは、混合チャンバを形成する。1つの局面では、微細孔は、混合チャンバと連通するかまたは混合チャンバと連通することができるように構成される。1つの局面では、マイクロカラムがロータ上に配置され、混合チャンバに位置する。いくつかの実施形態では、微細孔はマイクロカラムによって閉鎖することができる。

30

【0101】

別の局面では、本開示は、マイクロ流体弁を提供し、それは、ロータの回転により、ベースに設けられた開口部、たとえば微細孔のオン/オフスイッチとして機能することができるだけでなく、混合チャンバ内の液体を混合および/または攪拌することができる。したがって、1つの局面では、マイクロ流体弁は、流路のオンオフを制御するだけでなく、流体を攪拌することによって、マイクロ流体チップに設けられる部品を減らし、組み立てを容易にする。

40

【0102】

1つの他の局面では、開口部、たとえば微細孔を含むベースを備えるマイクロ流体弁が提供される。一実施形態では、マイクロ流体弁は、ベース上に配置されるスリーブをさらに備える。

【0103】

前述の実施形態のいずれにおいても、回転可能なロータをスリーブ内に配置することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ロータは、ベースから離れたスリーブの端

50

部上に配置することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ロータ、スリーブ、およびベースは、混合チャンバを形成することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔は、混合チャンバと連通するかまたは連通可能であるように構成される。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロカラムをロータ上に配置し、混合チャンバ内に位置させることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロカラムは、微細孔と混合チャンバとの間の連通を遮断または閉鎖することができる。

【0104】

前述の実施形態のいずれにおいても、ロータは、ベースから離れたその端面上に、ロータを回転させるためのインターフェース構造を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、インターフェース構造は、ロータを回転させるために、バンプ、溝、またはそれらの組み合わせを任意選択的に含むことができる。

10

【0105】

前述の実施形態のいずれにおいても、スリーブは、ベースから離れたその端部に、内方向環状突起を含むことができる。1つの局面では、内方向環状突起は、ロータの位置をスリーブの内側においてスリーブの軸線に沿って固定する。

【0106】

前述の実施形態のいずれにおいても、ベースから離れたスリーブの端面は、ベースから離れたロータの端面と同一平面上にあってもよく、またはそれより高くてもよい。

【0107】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、スリーブに接続されるカバープレートにさらに備えることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、カバープレートは、ベースの方を向くその端面上に、スリーブの位置を固定し、およびロータをスリーブの軸線に沿って固定するよう、環状溝を含むことができる。

20

【0108】

前述の実施形態のいずれにおいても、カバープレートは、環状溝に接続される操作貫通穴をさらに含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、操作貫通穴は、ロータをマイクロ流体弁の外部環境に露出させることができる。

【0109】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、複数のスリーブを備えることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、カバープレート上に複数の環状溝を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、各スリーブは、カバープレート上の環状溝に対応することができる。

30

【0110】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、2つの開口部、たとえば、2つの微細孔を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、第1のマイクロカラム、第2のマイクロカラム、および第3のマイクロカラムを含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、第1のマイクロカラムおよび第3のマイクロカラムは、ロータの両側に配置することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、第1のマイクロカラムおよび第3のマイクロカラムは、2つの微細孔を同時に開閉するか、または開閉することができるように構成することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、第2のマイクロカラムは、2つの微細孔のうち的一方を開状態または閉状態にしたまま、他方の微細孔を開閉するかまたは開閉することができるように構成することができる。

40

【0111】

前述の実施形態のいずれにおいても、ベース方向に向かうスリーブの端部およびベース方向に向かうマイクロカラムの端部は、ベース内に少なくとも部分的に埋め込むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ベースは、マイクロカラムの方向に向いたその表面上に、マイクロカラムと係合可能な環状溝を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ベース方向に向かうマイクロカラムの端部は、環状溝内を摺動するかまたは摺動可能なように構成され得る。前述の実施形態のいずれにおいても、スリーブと

50

マイクロカラムの外壁との間に弾性ガスケットを設けることができる。

【0112】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔を弾性ガスケット上に設けることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、スリーブの接続端面とベースの接続端面との間に微細孔を設けることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロカラムの外壁は、微細孔を封鎖もしくは閉鎖するか、または封鎖もしくは閉鎖することができるように構成することができる。

【0113】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔は、ベースの厚みに沿った方向に設けることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ロータから離れたマイクロカラムの端面は、微細孔を封鎖もしくは閉鎖するか、または封鎖もしくは閉鎖することができるように構成することができる。

10

【0114】

前述の実施形態のいずれにおいても、ロータは、ベースの方向に向かう端面の周上に、案内スリーブを含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、案内スリーブはスリーブとともに回転することができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ構造（マイクロカラムなど）を案内スリーブ上に設けることができる。

【0115】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔は、チャンバを含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、微細孔は、マイクロ経路を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ経路は、チャンバを介して混合チャンバと連通するように構成することができる。

20

【0116】

前述の実施形態のいずれにおいても、チャンバは、混合チャンバに対して近位の第1のセクションと、混合チャンバに対して遠位の第2のセクションとを含むことができる。

【0117】

前述の実施形態のいずれにおいても、第1のセクションと第2のセクションとの直径の比は、約1:3～約1:10であり得る。

【0118】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔の直径は、ロータの直径の約1%よりも大きくあることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、開口部、たとえば微細孔の直径は、ロータの直径の約1/2より小さくあることができる。

30

【0119】

別の局面では、本明細書では、チップ本体と前述の実施形態のいずれかによるマイクロ流体弁の1つ以上とを備えるマイクロ流体チップが提供される。

【0120】

1つの局面では、本明細書で提供されるのは、マイクロ流体弁であり、マイクロ流体弁は、ベースと、ベース上に配置されるスリーブと、スリーブ内に配置されるロータとを備え、ロータ、スリーブ、およびベースは、混合チャンバを形成し、マイクロ流体弁はさらに、混合チャンバと連通するかまたは混合チャンバと連通することができるように構成される開口部と、ロータ上に配置される構造とを備え、構造は開口部と混合チャンバとの間の連通を遮断もしくは閉鎖または遮断もしくは閉鎖することができるように構成される。一実施形態では、開口部は、開口部、たとえば、微細孔であるか、またはこれを含む。別の実施形態において、ベースは開口部、たとえば微細孔を含む。前述の実施形態のいずれにおいても、ロータ上の構造はマイクロカラムであってもよいし、マイクロカラムを含んでもよい。一実施形態では、マイクロカラムは、混合チャンバ内の物質の混合または攪拌を容易にするための特徴を含む。

40

【0121】

前述の実施形態のいずれにおいても、ロータは、ベースに対して遠位のその端面上に、ロータを回転させるためのインターフェース構造を含むことができる。一実施形態では、

50

インターフェース構造は、突起、溝、またはそれらの組み合わせを含む。

【0122】

前述の実施形態のいずれにおいても、スリーブは、ベースに対して遠位のその端部上に、内方向環状突起を含むことができる。一実施形態では、内方向環状突起は、ロータの位置をスリーブの内側においてスリーブの軸線に沿って固定する。

【0123】

先行する実施形態のいずれにおいても、ベースに対して遠位のスリーブの端面は、ベースに対して遠位のロータの端面と同一平面上にあってもよく、またはそれより高くてもよい。

【0124】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、スリーブに固定されるかまたはスリーブに取り外し可能に接続されるカバープレートをさらに備えることができる。1つの局面では、カバープレートは、ベースに対して近位であるその端面上に、スリーブの位置を固定し、およびスリーブの軸線に沿ってロータを固定するよう、環状溝を含む。別の局面では、カバープレートは、環状溝に接続される操作貫通穴をさらに含み、操作貫通穴は、ロータをマイクロ流体弁の外側に露出させるかまたは露出可能なように構成される。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、カバープレート上に複数の環状溝を備えることができる。

【0125】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、複数のスリーブを備えることができる。一実施形態では、複数のスリーブの各々は、カバープレート上の環状溝に対応する。

【0126】

前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、2つの微細孔のような1つ以上の開口部を備えることができる。前述の実施形態のいずれにおいても、マイクロ流体弁は、3つのマイクロカラム、すなわち、第1のマイクロカラム、第2のマイクロカラム、および第3のマイクロカラムなど、ロータ上に1つ以上の構造を備えることができる。一実施形態では、第1のマイクロカラムおよび第3のマイクロカラムは、ロータの両側に配置される。一実施形態では、第1のマイクロカラムおよび第3のマイクロカラムは、2つの微細孔を同時に開閉するか、または開閉することができるように構成される。別の実施形態では、第2のマイクロカラムは、2つの微細孔のうち的一方を開閉するかまたは開閉することができるように構成される。

【0127】

前述の実施形態のいずれにおいても、ベースに対して近位のスリーブの端部は、ベースに少なくとも部分的に埋め込まれ得る。前述の実施形態のいずれにおいても、ベースに対して近位のロータ上の構造の端部は、ベース内に少なくとも部分的に埋め込むことができる。

【0128】

前述の実施形態のいずれにおいても、ベースは、ロータに対して近位のその表面上に、ロータ上の構造と係合可能な環状溝を含むことができる。前述の実施形態のいずれにおいても、ベースに対して近位の構造の端部は、環状溝内を摺動可能に構成され得る。

【0129】

前述の実施形態のいずれにおいても、弾性ガスケットが、スリーブとロータ上の構造の外壁との間に提供され得る。一実施形態では、開口部は弾性ガスケット上に設けられる。1つの他の実施形態では、開口部は、スリーブの接続端面とベースの接続端面との間に設けられる。さらに別の実施形態では、開口部は、弾性ガスケット上、およびスリーブの接続端面とベースの接続端面との間に設けられる。いくつかの実施形態では、ロータ上の構造の外壁は、開口部を封鎖もしくは閉鎖するか、または封鎖もしくは閉鎖することができるように構成される。

【0130】

10

20

30

40

50

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部は、ベースの厚みに沿った方向に設けることができる。1つの局面では、ロータ上の構造は、ベースに対して近位の端面を有し、その端面は、開口部を封鎖もしくは閉鎖するか、または封鎖もしくは閉鎖することができるように構成される。

【0131】

前述の実施形態のいずれにおいても、ロータは、ベースに対して近位の端面の周上に、案内スリーブを含むことができる。1つの局面では、案内スリーブは、スリーブと共に回転するかまたは回転可能なように構成される。前述の実施形態のいずれにおいても、ロータ上の構造を案内スリーブ上に設けることができる。

【0132】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部は、開口部チャンバおよび経路を含むことができる。1つの局面では、経路は、開口部チャンバを介して混合チャンバと連通するように構成される。別の局面では、開口部チャンバは、混合チャンバに対して近位の第1のセクションと、混合チャンバに対して遠位の第2のセクションとを含む。さらに別の局面では、第1のセクションと第2のセクションとの直径の比は、約1:3~約1:10である。

【0133】

前述の実施形態のいずれにおいても、開口部の直径は、ロータの直径の約1%より大きくあり得る。前述の実施形態のいずれにおいても、開口部の直径は、ロータの直径の約1/2より小さくあり得る。いくつかの実施形態では、開口部の直径は、ロータの直径の約1パーセントより大きく、ロータの直径の約1/2より小さい。

【0134】

前述の実施形態のいずれにおいても、混合チャンバは、混合されるべき物質、分析されるべき1つ以上の試料、および/または反応のための1つ以上の試薬を含むことができる。

【0135】

別の局面では、本明細書では、チップ本体と前述の実施形態のいずれかによるマイクロ流体弁の1つ以上とを備えるマイクロ流体チップが提供される。

【0136】

さらに別の局面では、本明細書で開示されるシステムは、本明細書に開示されるマイクロ流体チップの1つ以上と、任意選択的に、マイクロ流体チップにおける反応を検出するための手段とを備える、システムである。

【0137】

別の局面では、本明細書で開示されるキットは、ここに開示されるマイクロ流体チップの1つ以上、ならびに任意選択的に、マイクロ流体チップ内で反応を行うための1つ以上の試薬、および/または前記マイクロ流体チップ内の反応を検出するための1つ以上の試薬を備える。

【0138】

さらに別の局面では、本明細書で提供されるのは、方法であって、1) 先の実施形態のいずれかによるマイクロ流体弁の開口部を開くようにロータを回転させることと、2) 開口部を介して混合チャンバに液体を導入することと、3) ロータを回転させて混合チャンバ内の液体をかき混ぜるまたは攪拌して、たとえば、液体中の物質を混合することとを備える。一実施形態では、本方法は、開口部を介して混合チャンバから液体を排出することをさらに備える。一実施形態では、液体は、マイクロ流体弁に遠心力を加えることによって排出される。

【0139】

1つの局面では、ロータ19の任意の好適な動力源が使用されてもよく、たとえば、動力は、支援装置、ならびにマイクロ流体チップ上に個別に設けられるマイクロ電気機械またはマイクロモータによって供給され得る。

【0140】

10

20

30

40

50

1つの局面では、図6に示すように、混合セルでは、空気回路の内部循環システムと混合セルとを接続する点は、混合セルの排気口15であり、混合セルの試料流入穴は、その液体入口穴14である。1つの局面では、液体入口穴14と回転中心との間の距離は、排気口15と回転中心との間の距離よりも大きい。1つの局面では、図6に示すように、これにより、試料が混合セルを充填した後に排気口に入らないようにすることを保証できる。したがって、一方では、混合セルの体積が十分に利用され、他方では、空気回路の内部循環システムにおける円滑な気体流が効果的に確保される。

#### 【0141】

1つの局面では、開示されるマイクロ流体チップを使用して、異なる試料を同時に送達および/またはアッセイすることができる。たとえば、各異なる試料は、マイクロ流体チップ上の異なる試料セルに注入することができ、複数の試料セルは、並列に接続することができ、たとえば、それらすべてが混合セルに接続される。図8に示すように、このような構造により、いくつかの試料をマイクロ流体チップ上で処理することができ、もしくは異なる試料セルと混合セルとの接続シーケンスを制御することによって、異なる試料を試薬と均一かつ連続的に混合することができ、またはいくつかの混合セルを（たとえば、図7に示すように）直列に接続して、試料を異なる試薬と均一に混合し連続的に反応させることができるようにすることができ、なぜならば、連続して接続される各混合セル内に異なる試薬が提供され得るからである。

#### 【0142】

1つの局面では、反応のための1つ以上の試薬が、たとえば、試料セル1、混合セル2、および反応セル3内に予め埋め込まれて提供され得、それは単一の物質またはいくつかの物質の混合物であってもよい。1つの局面では、予め提供される試薬は、液体、固体、粉末、顆粒、フィルム形状またはゼラチンなどであり得る。提供方法としては、液状または固形状の物質を直接添加してもよいし、添加後の自然乾燥、オープン乾燥、風乾または凍結乾燥により液状物質を乾燥固化させてもよい。

#### 【0143】

特定の実施形態では、マイクロ流体チップの基板16材料は、ガラス、シリコン、金属、もしくはポリマーのうちの1つまたはそれらの混合物であってもよい。ポリマーは、PDMS（ポリジメチルシロキサン）、PMMA（ポリメチルメタクリレート）、PCエンジニアリングプラスチック、COC（シクロオレフィンのコポリマー）、PET（ポリエチレンテレフタレート）、日本ゼオンのCOP（シクロオレフィンポリマー）、ABS（アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体）、およびそれらの任意の適切な組合せが挙げられる。特定の実施形態では、マイクロ流体チップの基板およびその取り揃えられたカバープレートのカプセル化または接合方法は、ホットプレス、接着、レーザ溶接、超音波溶接、ねじ留め、またはそれらの任意の組み合わせから選択することができる。

#### 【0144】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるマイクロ流体チップは、生物学的、化学的および免疫学的および他の分野における一連の複雑な反応を完了させるよう、ならびにサンプル処理およびさらには全検出処理を自動的に一つのチップで完了させるよう、単純かつ効果的に集積される。

#### 【0145】

別の局面では、ここに開示されるのは、ここに開示されるマイクロ流体チップを使用する方法であって、

- 1) 試料入口を通してマイクロ流体チップの試料セルに試料を加えることと、
- 2) 試料入口および/または排気口を封止することと、
- 3) 任意選択的に、試料を試料セルにおいて1つ以上の試薬、たとえば予め埋め込まれた試薬と、たとえば支援装置の支援により、混合し反応させることとを備え、チップを必要に応じて回転させることができ、および/または試料チャンバの内部の試料の温度を制御することができ、上記方法はさらに、
- 4) チップを第1の速度（たとえば、低速）で遠心分離にかけ、工程2)または3)か

10

20

30

40

50

らの液体を混合セルに移送することと、任意選択的に支援装置の支援により、液体を混合セルにおいて1つ以上の試薬、たとえば予め埋め込まれた試薬と混合し反応させることを備え、その間に、チップを必要に応じて回転させることができ、または試料セルおよび/または混合セルの内部の温度を必要に応じて制御することができ、上記方法はさらに、

5) チップを第2の速度(たとえば、中間速度、または第1の速度よりも高速度)で遠心分離にかけ、工程4)の混合液体を分配路に移送することと、

6) チップを第3の速度(たとえば、高速、または第2の速度より高速)で遠心分離にかけ、分配路内の液体を各反応セルに移送することと、

7) 任意選択的に支援装置の支援により、液体を反応セル内において1つ以上の試薬と反応させることと、

8) 反応結果を試験および/または分析することとを備える。

#### 【0146】

特定の実施形態では、マイクロ流体チップが遠心分離にかけられる第1の速度は、約100rpmと約700rpmとの間、たとえば約100rpm、約150rpm、約200rpm、約250rpm、約300rpm、約350rpm、約400rpm、約450rpm、500rpm、約550rpm、約600rpm、約650rpm、または約700rpmである。一実施形態では、第1の速度は約600rpmであり、これは、試料セル内の試薬および/または試料を混合セルに移すための低速度である。

#### 【0147】

特定の実施形態では、マイクロ流体チップが遠心分離にかけられる第2の速度は、約700rpmと約2000rpmとの間、たとえば約700rpm、約800rpm、約900rpm、約1000rpm、約1100rpm、約1200rpm、約1300rpm、約1400rpm、約1500rpm、約1600rpm、約1700rpm、約1800rpm、約1900rpm、または約2000rpmである。一実施形態では、第2の速度は、約800rpmであり、これは、混合セル内の試薬および/または試料を分配路に移送するのに適度な速度である。

#### 【0148】

特定の実施形態では、マイクロ流体チップが遠心分離にかけられる第3の速度は、約2000rpmと約8000rpmとの間、たとえば約2000rpm、約2500rpm、約3000rpm、約3500rpm、約4000rpm、約4500rpm、約5000rpm、約5500rpm、約6000rpm、約6500rpm、約7000rpm、約7500rpm、または約8000rpmである。一実施形態では、第3の速度は、約4000rpmであり、これは、分配路内の試薬および/または試料を反応チャンバに移送するための高速度である。

#### 【0149】

特定の実施形態では、本明細書に開示される集積型マイクロ流体チップは、その構造的な特徴および支援装置が単純である。具体的には、遠心力を用いてマイクロ流体チップ内の液体を流動させる。1つの局面では、混合セル内のロータ上のチョークプラグを使用して、チップ内の異なるチャンバ間の流体または気体の流れを制御する。1つの局面では、空気回路の相互接続された内部循環システムを使用して、試料処理ゾーン、混合ゾーンおよび反応ゾーンなどの異なる領域によって必要とされる空気圧均衡の均一な制御を達成し、反応セルにおける汚染問題を回避し、混合セルとマイクロ流体チップとの集積の封止の問題を解決する。もう1つの局面では、沈降タンクを用いて反応セル内の溶液中の固形分を回収し、反応生成物の精製を効果的に回避する。1つの局面では、試料セルに接続される緩衝ゾーンの特定の位置に設けられる特殊な液体遮断構造と、試料セル、混合セル、分配プールおよび反応セル間の接続パイプならびに空気回路内部循環パイプとを使用して、液体の熱膨張によって、または異なる反応セル間の液体の移送プロセスで生じるオーバーフローを効果的に緩衝する。1つの局面では、本明細書に開示される完全に集積されたチップおよびその支援装置の全自動処理は、作業者の作業を大幅に簡素化し、作業効率を改善

10

20

30

40

50

し、核酸増幅反応、生化学反応および免疫反応などのようなさまざまな形の反応のための効果的なプラットフォームを提供し、臨床診断、食品安全性、環境モニタリングなどの生体反応を必要とする分野に広く適用可能である。

#### 【0150】

1つの局面では、マイクロ流体チップ上における、本明細書における分配路およびその構成は、2016年9月6日に出版され、US 2017/0014818 A1として公開され、「マルチインデックス検出マイクロ流体チップおよび使用方法 (Multi-index detection microfluidic chip and methods of use)」と題される米国特許出願連続番号第15/123,978号に開示されるものであり、その内容は、すべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態において、マイクロ流体チップは、1つ以上の標的が検出および/またはアッセイされる、試料を反応チャンバ内に均一に分布させるための遠心分離を採用する。一局面において、本開示は、分配路の断面積同士の好適な比を用いることによって試料の均一な分布を達成する。一局面において、分配路の断面積同士の比は、反応チャンバ内への試料の最適な均一の分布を達成するように調整され得る。別の局面において、本開示は、緩衝チャンバの設計によって、反応チャンバが遠心分離の後に試料で完全に充填されることを保証する。一局面において、本開示は、反応チャンバが反応期間全体にわたって完全に充填された状態を維持することを保証し、特定の実施形態において、各反応チャンバの反応生成物が分配路および隣接した反応チャンバに広がることを減少させるか防止する。

10

#### 【0151】

いくつかの局面において、例示的なマイクロ流体デバイスの本体構造は、典型的に、平面構造であり得る、たとえば実質的に平坦であるか少なくとも1つの平坦面を有する、固体または半固体構造を採用する。好適な基板は、さまざまな材料のいずれか1つから、または材料の組合せから製作され得る。しばしば、平面基板は、微細加工の分野で一般的な固体基板、たとえば、ガラス、石英、シリコンまたはポリシリコンなどのシリカベースの基板、およびたとえばガリウムヒ素などの他の公知の基板を用いて製造される。これらの基板の場合、フォトリソグラフィ技術、湿式化学エッチング、たとえばドリル加工、ミリング加工などのマイクロマシニングなどの一般的な微細加工技術が、マイクロ流体デバイスおよび基板の製作に容易に適用され得る。代替的に、たとえば、ポリジメチルシロキサン (PDMS)、ポリメチルメタクリレート (PMMA)、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル (PVC)、ポリスチレン、ポリスルホン、ポリカーボネートなどを含むポリマー基質材料を用いて、本発明のデバイスを製作してもよい。そのようなポリマー材料の場合、射出成形またはエンボス加工法を用いて、本明細書に記載されるような経路およびリザーバ形状を有する基板を形成してもよい。そのような場合、原型は上述の材料および方法のいずれかを用いて製作されてもよい。

20

30

#### 【0152】

例示的なデバイスの経路およびチャンバは典型的に、平面基板の一方の表面に、その表面の溝、ウェルまたは窪みとして製作される。典型的に同一のまたは同様の材料から準備される第2の平面基板が第1の平面基板に被せられて接合されることによって、デバイスの経路および/またはチャンバを規定して封止する。第1の基板の上面、および上面の下側の嵌合面は、ともにデバイスの内部を規定し、すなわちデバイスの経路およびチャンバを規定する。いくつかの実施形態において、上層が下層にリバーシブルに結合されてもよい。

40

#### 【0153】

例示的なシステムはさらに、デバイス自体の本体の外部にあるが、依然として試料ローディング経路と流体連結している試料源を含み得る。いくつかの実施形態において、システムはさらに、マイクロ経路への入口および/または出口を含み得る。いくつかの実施形態において、システムはさらに、試料をマイクロ経路に導入するための搬送手段を含み得る。いくつかの実施形態において、システムはさらに、液体をマイクロ経路に導入するための注入手段を含み得る。ピペット、ポンプ等の任意の液体操作機器が、液体をマイクロ

50

経路に導入するための注入手段として用いられ得る。

【0154】

いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個の谷を含む。いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも約10個、約20個、約40個、約60個、約80個、約100個、約120個、約140個、約160個、約180個、または約200個の谷を含む。いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個のピークを含む。いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも約10個、約20個、約40個、約60個、約80個、約100個、約120個、約140個、約160個、約180個、または約200個のピークを含む。いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個の谷/ピーク対(互いに隣接および接続している1つのピークおよび1つの谷)を含む。いくつかの実施形態において、波形の分配路は、少なくとも約10個、約20個、約40個、約60個、約80個、約100個、約120個、約140個、約160個、約180個、または約200個の谷/ピーク対を含む。上記の実施形態のいずれかにおいて、分配路の谷の各々は、ボトムプレート上の連結路を介して少なくとも1つの反応チャンバに接続され得る。

10

【0155】

一局面において、連結路は少なくとも1つの緩衝チャンバを含み、緩衝チャンバは、反応チャンバと分配路との間の連結路上に位置している。一局面において、緩衝チャンバの体積は、緩衝チャンバが接続されている反応チャンバの体積の約0.2から約0.8倍である。いくつかの局面において、緩衝チャンバの体積と反応チャンバの体積との比は、約0.2未満、約0.2から約0.3、約0.3から約0.4、約0.4から約0.5、約0.5から約0.6、約0.6から約0.7、約0.7から約0.8、または約0.8よりも大きい。

20

【0156】

別の局面において、連結路と反応チャンバとの接合部は、マイクロ流体チップの中心と反応チャンバとを接続する直線内に位置している。

【0157】

一実施形態において、ボトムプレートにおいて、分配路は1つ以上の円に分布されている。別の局面において、1つ以上の分配路が1つ以上の円によって形成される。

30

【0158】

いくつかの実施形態において、反応チャンバの体積は、約0.1  $\mu\text{L}$  から約5.0  $\mu\text{L}$  である。

【0159】

特定の実施形態において、マイクロ流体チップの反応チャンバの少なくとも1つまたはすべては、試料の1つ以上の成分との特異的な相互作用および/または反応が可能な試薬が予めロードされている。一局面において、試薬は、たとえば、試料中の1つ以上の標的核酸との特異的ハイブリダイゼーションが可能なポリヌクレオチドなどの核酸を含む。

【0160】

いくつかの実施形態において、分配路の任意のV字形部分(谷を含むV字形部分)の体積と、当該谷に接続された反応チャンバの体積との比は約1.2から約1.8であり、特定の実施形態において、当該比は約1.2未満、約1.2から約1.3、約1.3から約1.4、約1.4から約1.5、約1.5から約1.6、約1.6から約1.7、約1.7から約1.8、または約1.8よりも大きい。

40

【0161】

いくつかの実施形態において、分配路における最も幅狭の断面積と最も幅広の断面積との比は約0.2から約1であり、特定の実施形態において、当該比は約0.2未満、約0.2から約0.3、約0.3から約0.4、約0.4から約0.5、約0.5から約0.6、約0.6から約0.7、約0.7から約0.8、約0.8から約0.9、または約0

50

．9から約1．0である。一局面において、分配路における最も幅狭の断面積と最も幅広の断面積との比が約1．0未満である場合、ピークの断面積は谷の断面積よりも小さい。

【0162】

上記の実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは約5個から約100個の反応チャンバを含み得る。いくつかの実施形態において、マイクロ流体チップは、少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個の反応チャンバを含む。いくつかの実施形態において、マイクロ流体チップは、少なくとも約10個、約20個、約40個、約60個、約80個、約100個、約120個、約140個、約160個、約180個、または約200個の反応チャンバを含む。マイクロ流体チップ上の反応チャンバは1つ以上のグループに分割され得る。たとえば、同一の分配路に接続される反応チャンバはともにグループ分けされ得、マイクロ流体チップは1つよりも多い分配路を含み得、各分配路は別個のグループの反応チャンバに接続される。一局面において、異なるグループの反応チャンバは接続されない。

10

【0163】

上記の実施形態のいずれかにおいて、両面接着テープを用いてボトムプレートとカバープレートとを堅固に接合してもよい。一局面において、両面接着テープは所望の接着強度および従来の加熱温度に対する耐性を有し、チップ内の反応の特異性に大きな悪影響を及ぼさない。

【0164】

一般に、ポリマーマイクロ流体チップは、熱プレスおよび/またはレーザ溶接を用いて、ボトムプレートおよびカバープレートの表面を加熱および溶融することによって両プレートを接合することによって製造され得る。しかし、熱プレスおよびレーザ溶接は比較的高価である。チップの底に予めロードされた試料の場合、レーザ溶接および熱プレスの処理は、予めロードされた試料の生物活性および/または化学的性質に悪影響を及ぼし得る。加えて、これら2つの処理方法はマイクロ流路の形状に影響を及ぼし得、さらには経路閉塞またはチップ漏れの原因ともなり得る。

20

【0165】

本開示では、一局面において、両面接着テープは、生物学的アッセイにおけるさまざまな加熱条件に耐えるのに十分な接着強度および能力を有する。一局面において、両面接着テープはさまざまな加熱条件におけるチップ漏れを防止し、したがってチップ漏れによる試験の失敗または環境汚染を防止する。

30

【0166】

本開示では、一局面において、両面接着テープは適切な生体適合性を有し、包埋試料を含む試験試料の生物活性および化学的性質を維持し得る。別の局面において、両面接着テープは、チップ内の反応の特異性を含むチップ内の反応に大きなまたは悪い影響を及ぼさない。

【0167】

本開示では、一局面において、両面接着テープは、本開示における検出手段と適合性のある光学的性質を有する。たとえば、通過する蛍光を検出するために蛍光検出を用いる場合、両面接着テープは、反応チャンバから発せられた蛍光に対して十分な光透過率を有する。別の局面において、蛍光を反射によって検出する場合、両面接着テープの蛍光バックグラウンドは、反応チャンバから発せられた蛍光の高感度検出を可能にするように検出波長において十分低い。

40

【0168】

一局面において、開示のチップは、封止するために粘性封止膜を用いる。他の局面において、チップは、チップ内に最初にロードされた試料を封止するために、二次的なローディングによって鉱油またはシリコン油を用いて封止されてもよい。鉱油またはシリコン油を用いる場合と比較して、チップを封止するために粘性封止膜を用いると二次的なローディングが回避され、オペレータに対する負担が軽減される。

【0169】

50

一局面において、本開示のマイクロ流体チップを用いて、オペレータは、たとえばチップ生産時に、異なる反応チャンバ内に異なる物質を予めロードすることができる。ゆえに、本開示は、核酸増幅反応、生化学反応（たとえば酵素触媒反応）、および免疫反応を含む、同一のチップ上の（または同じ設計のチップ上の）さまざまな形態の検出を可能にする。別の局面において、本開示は、同一のチッププラットフォーム上の複数のアプリケーションが実行され得るように、同一の反応において異なる物質の検出を可能にする。たとえば、（突然変異遺伝子または病原微生物の遺伝子などの）チップ上の核酸増幅反応によって試料中の特定の核酸フラグメントを検出するために、試験試料中の異なる核酸フラグメントとの特異的な生化学反応に必要なプライマおよび補助成分が、異なる反応チャンバ内に予めロードされてもよい。別の例では、（グルコースまたはトリグリセリドなどの）チップ上の生化学反応によって試料中の特異物質または成分を検出するために、試験試料中の標的物質または成分との特異的な生化学反応に必要な試薬が、異なる反応チャンバ内に予めロードされてもよい。さらに別の例では、（特異的な抗原または抗体などの）チップ上の免疫反応によって試料中の特異成分を検出するために、標的物質または成分との特異的な免疫反応に必要な試薬が、異なる反応チャンバ内の試験試料に予めロードされてもよい。

10

## 【0170】

上記の実施形態のいずれかにおいて、マイクロ流体チップは、反応時にリアルタイム検出のために用いられてもよいし、または、たとえば、蛍光、濁度、色、検出機器、もしくは裸眼による直接観察によって、反応後に検出されてもよい。

20

## 【0171】

典型的に、試料が遠心分離を介して反応チャンバに分布されると、試料の液膜は連結路の内面上に残る。2つの隣接する反応チャンバが連結路によって接続され、連結路のみによって分離される場合は、各反応チャンバの反応生成物は液膜を介して隣接するチャンバ内に拡散し、相互汚染につながる可能性がある。

## 【0172】

一局面において、本開示は、連結路内の緩衝チャンバを、相互汚染を回避するように設計する。典型的に、試薬、標的分子、および反応生成物は高濃度から低濃度に拡散する。たとえば、反応生成物（たとえば核酸増幅反応からの増幅生成物）が反応チャンバから拡散すると、それらはまず緩衝チャンバ内に拡散し、拡散した生成物の濃度が劇的に低下する。そのため、緩衝チャンバ内の反応生成物は、連結路内に、分配路内に、および/または隣接する反応チャンバ内にさらに拡散する可能性が低くなる。したがって、本開示は拡散した生成物が連結路に広がる機会を減少させ、したがって試験結果の精度を向上させる。

30

## 【0173】

一局面において、本開示は製造品に向けられ、当該製造品は、a) パッケージング材料；b) 本明細書に開示されるマイクロ流体チップ；随意に、c) たとえば分析物をアッセイするための、当該物品がアッセイ用であることを示す標識；および随意に、d) たとえば製造品をアッセイのために用いるための指示を含む。

## 【0174】

本開示は、本明細書に開示されるマイクロ流体チップまたはアッセイデバイスを含むキットを含む。たとえば、病状もしくは病気（たとえば癌）を診断するための、もしくは当該診断を助けるための、または病状もしくは病気をモニタするためのキットが含まれる。一実施形態において、キットは、たとえば病状または病気と関連付けられるバイオマーカなどの1つ以上の分析物を検出するための1つ以上の試薬を含む。試薬は、生体試料中のバイオマーカに対応するポリペプチドもしくはポリペプチドをコード化するmRNAを検出可能な標識付けられた成分または薬剤と、試料中のポリペプチドまたはmRNA（たとえば、ポリペプチドまたはポリペプチドをコード化するDNAまたはmRNAに結合するオリゴヌクレオチドプローブに結合する抗体）の欠如、存在、および/または量を判定するための手段とを含む。バイオマーカに対応するポリペプチドと結合するための好適な試

40

50

薬には、抗体、抗体誘導体、抗体フラグメントなどが挙げられる。核酸と結合するための好適な試薬（たとえばゲノムDNA、mRNA、スプライスされたmRNA、cDNAなど）は相補的核酸を含む。一実施形態において、キットは参照試料を含む。一局面において、参照試料を用いて、試験中の試料から得られた結果が比較される。キットはさらに、緩衝剤、保存剤、またはタンパク質安定化剤などの他の成分を含み得る。キットはさらに、検出可能な標識を検出するのに必要な成分（たとえば酵素または基質）を含み得る。

#### 【0175】

キットの各成分は個別の容器内に封入されてもよく、さまざまな容器のすべてが、キットを用いて行なわれるアッセイの結果を解釈するための指示とともに、単一のパッケージ内であってもよい。

10

#### 【0176】

一局面において、本明細書に開示される製造品またはキットは、被験者の病状または病気を診断するために、病状もしくは病気を発症している被験者のリスクを査定するために、および/または、たとえば、療法による被験者の治療に続いて、被験者の病状または病気の進行を評価するために用いられる。一局面において、製造品は、病状または病気を発症している、またはを発症している疑いのある被験者から得られた試料をアッセイするために用いられる。

#### 【0177】

##### C. マイクロ流体チップの使用

本マイクロ流体チップは、特に少量の反応体積を伴うアッセイについて、アッセイ精度、再現性、および/または感度を向上させるために任意の好適なアッセイにおいて用いられ得る。たとえば、マイクロ流体チップは、たとえば核酸などのさまざまな部分同士の間の相互作用、タンパク質を伴う免疫反応、タンパク質と核酸との相互作用、リガンド-レセプタ相互作用、ならびに小分子およびタンパク質または核酸相互作用等をアッセイする際に用いられ得る。

20

#### 【0178】

本マイクロ流体チップは、たとえば、細胞、細胞小器官、ウイルス、分子、およびそれらの凝集体または複合体などの、任意の分析物をアッセイするために用いられ得る。例示的な細胞として、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、細菌細胞、組換え細胞、および培養細胞が挙げられる。動物、植物、真菌、細菌細胞は、動物界、植物界、菌界または細菌界の任意の属または亜属に由来し得る。繊毛虫類、細胞性粘菌類、鞭毛虫類および微孢子虫類の任意の属または亜属に由来する細胞も、本方法によってアッセイ可能である。ニワトリなどの鳥類、魚などの脊椎動物、ならびにマウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、雌ウシ、雄ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、サルおよび他の非ヒト霊長類、ならびにヒトなどの哺乳動物に由来する細胞も、本方法によってアッセイ可能である。

30

#### 【0179】

動物細胞について、特定の組織または器官に由来する細胞がアッセイ可能である。たとえば、結合、上皮、筋または神経組織細胞がアッセイ可能である。同様に、脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆のう、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、腺、内部血管等の内部動物器官に由来する細胞もアッセイ可能である。さらに、任意の植物、酵母などの真菌、真性細菌または古細菌などの細菌に由来する細胞もアッセイ可能である。動物、植物、真菌もしくは細菌細胞などの任意の真核または原核源に由来する組換え細胞もアッセイ可能である。血液、尿、唾液、骨髄、精液または他の腹水、およびたとえば血清または血漿などのそれらの亜分画などの体液もアッセイ可能である。

40

#### 【0180】

例示的な細胞小器官には、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、ER、ゴルジ体、リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、空胞およびマイクロソームが挙げられる。例示的な分子には、無機分子、有機分子およびそれらの複合体が挙げられる。例示的な有機分子には、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレ

50

オチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質、およびそれらの複合体が挙げられる。

【0181】

任意のアミノ酸が本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。たとえば、D-およびL-アミノ酸がアッセイ可能である。任意のタンパク質またはペプチドが本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。たとえば、酵素、イオンチャネルおよびポンプなどの輸送タンパク質、栄養素または保管タンパク質、アクチンおよびミオシンなどの収縮または運動タンパク質、構造タンパク質、抗体、ホルモンおよび増殖因子などの防御タンパク質または調節タンパク質がアッセイ可能である。タンパク質性またはペプチド性抗原もアッセイ可能である。

10

【0182】

任意のヌクレオシドが本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。そのようなヌクレオシドの例には、アデノシン、グアノシン、シチジン、チミジン、およびウリジンが挙げられる。任意のヌクレオチドが本開示に従ってアッセイ可能である。そのようなヌクレオチドの例には、AMP、GMP、CMP、UMP、ADP、GDP、CDP、UDP、ATP、GTP、CTP、UTP、dAMP、dGMP、dCMP、dTMP、dADP、dGDP、dCDP、dTDP、dATP、dGTP、dCTPおよびdTTPが挙げられる。一本鎖、二本鎖および三本鎖の核酸を含む任意の核酸が本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。そのような核酸の例には、A-、B-またはZ-型DNAなどのDNA、ならびにmRNA、miRNA、piRNA、tRNAおよびrRNAなどのRNAが挙げられる。

20

【0183】

任意のビタミンが本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。たとえば、チアミン、リボフラビン、ニコチン酸、パントテン酸、ピリドキシン、ビオチン、葉酸、ビタミンB12およびアスコルビン酸などの水溶性ビタミンがアッセイ可能である。同様に、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、およびビタミンKなどの脂溶性ビタミンがアッセイ可能である。

【0184】

D-単糖であるかL-単糖であるかにかかわらず、かつアルドースであるかケトースであるかにかかわらず、任意の単糖が本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。単糖の例には、グリセルアルデヒドなどの三炭糖、エリトロースおよびトレオースなどの四炭糖、リボース、アラビノース、キシロース、リキソースおよびリブロースなどの五炭糖、アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロースおよびフルクトースなどの六炭糖、ならびにセドヘブツロースなどの七炭糖が挙げられる。

30

【0185】

任意の脂質が本マイクロ流体チップによってアッセイ可能である。脂質の例には、トリステアリン、トリパルミチンおよびトリオレインなどのトリアシルグリセロール、ワックス、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールおよびカルジオリピンなどのホスホグリセド、スフィンゴミエリン、セレブロシドおよびガングリオシドなどのスフィンゴ脂質、コレステロールおよびスチグマステロールおよびステロール脂肪酸エステルなどのステロールが挙げられる。脂肪酸は、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸およびリグノセリン酸などの飽和脂肪酸であってもよいし、または、パルミトレイン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸およびアラキドン酸などの不飽和脂肪酸であってもよい。

40

【0186】

本マイクロ流体チップは任意の試料をアッセイするために用いられ得る。たとえば、本方法は哺乳動物試料をアッセイするために用いられ得る。例示的な哺乳動物には、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ウサギ、モルモット、マウス、ヒト、ネコ、サル、イヌおよびブタ

50

が挙げられる。本マイクロ流体チップは、臨床試料をアッセイするためにも用いられ得る。例示的な臨床試料には、血清、血漿、全血、喀痰、脳脊髄液、羊水、尿、胃腸内容物、毛、唾液、汗、歯肉擦過物および生検からの組織が挙げられる。好ましくは、本マイクロ流体チップはヒト臨床試料をアッセイするために用いられる。

**【0187】**

任意の好適な試薬が本開示に従ってアッセイにおいて用いられ得る。一局面において、本開示において用いられる試薬は、試料中の分析物と特異的に結合するか相互作用する。例示的な試薬には、細胞、細胞小器官、ウイルス、分子、およびそれらの凝集体または複合体が挙げられる。一局面において、試薬は抗体または核酸である。

**【0188】**

本マイクロ流体チップは、たとえば、直接アッセイフォーマット、サンドイッチアッセイフォーマット、または競合アッセイフォーマットなどの、任意の好適なアッセイフォーマットで用いられ得る。一実施形態において、異なる複数の試薬が、単一の分析物をアッセイするために用いられる。別の実施形態では、異なる複数の試薬が、異なる複数の分析物をアッセイするために用いられる。さらに別の実施形態では、複数の試薬が反応チャンバの内面に付着させられ、たとえば、1つ以上の試料中の1つ以上の分析物をアッセイするために用いられる。

**【0189】**

本マイクロ流体チップは、細胞、細胞小器官、ウイルス、分子、およびそれらの凝集体または複合体からなる群から選択される部分同士の間でのいずれかの相互作用を検出するために用いられ得る。たとえば、DNA - DNA、DNA - RNA、RNA - RNA、DNA - タンパク質、RNA - タンパク質およびタンパク質 - タンパク質等の相互作用などの、高分子間の相互作用が分析され得る。他の実施形態では、高分子 - 小分子または小分子 - 小分子の相互作用が本マイクロ流体チップを用いて検出または分析される。2つよりも多い部分同士の間での相互作用を含むより複雑な相互作用も、本開示に従って検出および/または分析可能である。DNA - DNA、DNA - RNA、RNA - RNA相互作用を検出する場合、接触させる、すなわちハイブリダイズさせる工程が、試料または試薬が本開示に従って反応体積に搬送された後、たとえば低、中または高ストリンジェンシー下などの好適な条件下で行なわれ得る。

**【0190】**

試験部分と複数の標的部分との相互作用は任意の好適な方法によって検出され得、本マイクロ流体チップは特定の検出方法に適するように作られ得る。たとえば、試験部分および/または標的部分は検出を容易にするように標識付けられ得る。任意の好適な標識が用いられ得る。例示的な標識には、放射性、蛍光、化学、酵素、発光およびFRET（蛍光共鳴エネルギー移動）標識が挙げられる。発光標識は、化学発光標識または生物発光標識であり得る。標識は、試験部分のみに、標的部分のみに、または両方に、直接的にまたは間接的に付着させられるか共役させられ得る。読出は、正または負の信号であり得る。サンドイッチまたは競合フォーマットを含む任意の好適なアッセイフォーマットが用いられ得る。標識、PCR反応のプライマもしくはdNTP、または酵素を含む試料または試薬のいずれかが、本マイクロ流体チップを用いて搬送され得る。

**【0191】**

一実施形態において、本マイクロ流体チップは、試験部分と複数の遺伝子、遺伝子フラグメントまたはそれらのコード化製品同士の間での相互作用を検出するために用いられる。たとえば、複数の標的遺伝子、遺伝子フラグメントまたはそれらのコード化製品が生物学的経路に含まれ、同一または同様の生物学的機能を有するタンパク質の塩基に属し、細胞周期のある段階で発現し、細胞種類で発現し、組織種類で発現し、器官種類で発現し、発達段階で発現し、その発現および/または活性が病気もしくは疾患の種類もしくは段階で変わるタンパク質、またはその発現および/または活性が薬もしくは他の治療によって変わるタンパク質。

**【0192】**

10

20

30

40

50

本マイクロ流体チップは、単一の試験部分または物質と複数の標的部分との間の相互作用を検出する際に用いられ得る。好ましくは、本方法は高スループットモードにおいて、たとえば、複数の標的部分、および/または複数の試験部分もしくは物質同士との相互作用を検出する際に用いられる。複数の試験部分または物質と複数の標的部分との相互作用は、同時にまたは連続的に検出され得る。

【0193】

本開示のマイクロ流体チップは、核酸増幅反応、生化学反応、免疫反応などを含むがこれらに限定されないさまざまな用途および反応、およびたとえば等温増幅反応において用いられ得る。

【0194】

ゆえに、本マイクロ流体チップおよび方法を用いて、被験者の多数の感染症または感染状態を検出することができる。病原性ウイルスとして、レトロウイルス科（たとえばHIV-1（HTLV-II I, LAVまたはHTLV-II I / LAV、またはHIV-II Iとも称される）などのヒト免疫不全ウイルス）；およびHIV-LPなどの他の分離菌；ピコルナウイルス科（たとえばポリオウイルス、A型肝炎ウイルス；エンテロウイルス、ヒトコクサッキーウイルス、ライノウイルス、エコーウイルス）；カリシウイルス科（たとえば胃腸炎を引き起こす株）；トガウイルス科（たとえばウマ脳炎ウイルス、風疹ウイルス）；フラウイルス科（たとえばデング熱ウイルス、脳炎ウイルス、黄熱病ウイルス）；コロナウイルス科（たとえばコロナウイルス）；ラブドウイルス科（たとえば水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス）；フィロウイルス科（たとえばエボラウイルス）；パラミクソウイルス科（たとえばパラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス）；オルトミクソウイルス科（たとえばインフルエンザウイルス）；ブンガウイルス科（たとえばハンタンウイルス、ブンガウイルス、フレボウイルスおよびナイロウイルス）；アレナウイルス科（出血熱ウイルス）；レオウイルス科（たとえばレオウイルス、オルビウイルスおよびロタウイルス）；ピマウイルス科；ヘパドナウイルス科（B型肝炎ウイルス）；パルボウイルス科（パルボウイルス）；パポバウイルス科（パピローマウイルス、ポリオーマウイルス）；アデノウイルス科（ほとんどのアデノウイルス）；ヘルペスウイルス科（ヘルペス単純ウイルス（HSV）1および2、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、ヘルペスウイルス）；ポックスウイルス科（痘瘡ウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス）；およびイリドウイルス科（たとえばアフリカブタ熱ウイルス）；C型肝炎ウイルス；ならびに分類不能ウイルス（たとえばデルタ肝炎の病原体（B型肝炎ウイルスの欠損サテライトと考えられる）；ノーウォークおよび関連ウイルス、ならびにアストロウイルス）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0195】

病原性細菌として、ヘリコバクターピロリ、ボレリア・ブルグドルフェリ、レジオネラ・ニューモフィリア、マイコバクテリア種（たとえば結核菌、M.アビウム、M.イントラセルラーレ、M.カンサイイ、M.ゴールドナエ）、黄色ブドウ球菌、淋菌、髄膜炎菌、リステリア・モノサイトゲネス、化膿レンサ球菌（A群レンサ球菌）、ストレプトコッカス・アガラクチア（B群レンサ球菌）、ストレプトコッカス（ピリダンス群）、大便レンサ球菌、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス（嫌気性種）、肺炎レンサ球菌、病原性カンピロバクター種、エンテロコッカス種、インフルエンザ菌、炭疽菌、ジフテリア菌、コリネバクテリウム種、ブタ丹毒菌、ウェルシュ菌、破傷風菌、エンテロバクター・アエロゲネス、肺炎桿菌、パストツレラ・ムルトシダ、バクテロイデス種、フゾバクテリウム・ヌクレアタム、大腸菌の病原株、ストレプトバシルス・モニリフォルミス、トレポネーマ・パリジウム、トレポネーマ・ベルテヌエ、レプトスピラ、およびアクチノミセス・イスラエリイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0196】

感染性真菌として、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ、ヒストプラスマ・カプスラタム、コッキディオイデス・イムミティス、ブラストミケス・デルマティティディス、ク

10

20

30

40

50

ラミディア・トラコマティス、カンディダ・アルビカンズが挙げられるが、これらに限定されない。

【0197】

感染性原虫として、たとえば熱帯熱マラリア原虫などのマラリア原虫種；たとえばクルーズトリパノソーマなどのトリパノソーマ類；およびトキソプラズマ・ゴンディが挙げられるが、これらに限定されない。

【0198】

本マイクロ流体チップは、たとえば、感染体を示す特異的な核酸配列のPCRによってそれらの遺伝物質を検出することによって、感染体を示すタンパク質、脂質、もしくは多糖を検出することによって、および/または感染体への宿主応答（たとえば感染体への宿主抗体）を検出することによって、上記の感染体の検出に好適である。

【0199】

アレルゲンとして、花粉、昆虫毒液、動物の鱗屑粉塵、真菌孢子および薬（たとえばペニシリン）が挙げられるが、これらに限定されない。天然の動物および植物アレルゲンの例として、以下の属：イヌ属（カニス・ファミリアリス）；デルマトファゴイデス属（たとえばコナヒョウダニ）；ネコ属（フェリス・ドメスティクス）；ブタクサ属（ブタクサ；ドクムギ属（たとえばホソムギまたはネズミムギ）；スギ属（スギ）；アルテルナリア属（アルテルナリア・アルテルナータ）；ハンノキ；ハンノキ属（アルヌス・グルティノサ）；カバノキ属（ベツ標識コサ）；カシ属（クウエルクス・アルバ）；オリーブ属（オレア・エウロパ）；ヨモギ属（アルテミシア・ブルガリス）；オオバコ属（たとえばヘラオオバコ）；パリエタリア属（たとえばパリエタリア・オフィチナリスまたはパリエタリア・ユダイカ）；チャバネゴキブリ属（たとえばチャバネゴキブリ）；ミツバチ属（たとえばアピス・ムルティフロルム）；イトスギ属（たとえばクプレスス・セムペルビレンス、クプレスス・アリゾニカおよびクプレスス・マクロカルパ）；ビャクシン属（たとえばユニベルス・サビノイデス、ユニベルス・ビルギニアナ、ユニベルス・コムニスおよびユニベルス・アシェイ）；クロベ属（たとえばコノテガシワ）；ヒノキ属（たとえばヒノキ）；ゴキブリ属（たとえばワモンゴキブリ）；カモジグサ属（たとえばアグロピロン・レペンス）；ライムギ属（たとえばライムギ）；コムギ属（たとえばコムギ）；カモガヤ属（たとえばカモガヤ）；ウシノケグサ属（たとえばヒロハウシノケグサ）；イチゴツナギ属（たとえばナガハグサまたはポア・コンプレッサ）；カラスムギ属（たとえばマカラスムギ）；シラゲガヤ属（たとえばシラゲガヤ）；ハルガヤ属（たとえばハルガヤ）；オオカニツリ属（たとえばオオカニツリ）；ヌカボ属（たとえばコヌカグサ）；アワガエリ属（たとえばオオアワガエリ）；クサヨシ属（たとえばクサヨシ）；スズメノヒエ属（たとえばパスパルム・ノタツム）；モロコシ属（たとえばソルグム・ハレペンシス）；ならびにスズメノチャヒキ属（たとえばコスズメノチャヒキ）に特異的なタンパク質が挙げられる。抗体検出および分析のために、本方法における上述のアレルゲンからのエピトープを使用することも考えられる。この方法を用いて、宿主の体液内に生成された抗体などのアレルゲンに対する宿主応答がアッセイ可能である。本明細書に開示されるマイクロ流体チップは、宿主抗体の高感度なマルチプレックス検出に特に好適である。

【0200】

以下の実施形態は、本開示のさまざまな局面をさらに説明および例示することが意図されており、本開示の範囲をいずれの態様、形状、または形態においても、明示的にまたは非明示的に限定することを意図していない。

【0201】

実施形態1：少なくとも1つの集積型反応ユニットが基板（16）上に設けられ、集積型反応ユニットは、液体経路（6）を介して接続される少なくとも1つの試料セル（1）と混合セル（2）と反応セル（3）とを含む集積型マイクロ流体チップ。試料セル（1）の一端には試料入口（4）が設けられている。試料セルは、空気回路の内部循環システムをさらに含むことを特徴とする。空気回路の内部循環システム的一端は、混合セル（2）に接続され、他端は、試料入口（4）から遠い試料セル（1）の端部に接続される第1の

10

20

30

40

50

循環分岐回路を少なくとも含む。

【0202】

実施形態2：実施形態1に係る集積型マイクロ流体チップは、開閉可能な排気口(54)が第1の循環分岐回路に設けられ、空気回路の内部循環システムに、混合セル(2)に近い位置で液体を遮断するための第2の液体遮断構造が設けられることを特徴とする。

【0203】

実施形態3：実施形態1の集積型マイクロ流体チップは、回転中心を有する遠心マイクロ流体チップであり、試料セル(1)、混合セル(2)および反応セル(3)から回転中心までの距離を順次増加させることを特徴とする。

【0204】

実施形態4：実施形態3に係る集積型マイクロ流体チップは、反応セル(3)と混合セル(2)との間に配置される緩衝プール(11)をさらに含むことを特徴とする。

【0205】

実施形態5：実施形態3に係る集積型マイクロ流体チップは、複数の反応セル(3)が設けられ、これらの反応セル(3)と回転中心との距離は同じであり、混合セル(2)は分配路(10)を介して反応セル(3)に接続されることを特徴とする。

【0206】

実施形態6：実施形態5に係る集積型マイクロ流体チップは、分配路(10)は波状であり、その峰は回転中心に近く、その窪みは回転中心から遠いことを特徴とする。反応セル(3)は分配路(10)の窪みに接続され、混合セル(2)は分配路(10)の先頭端に接続される。

【0207】

実施形態7：実施形態6に係る集積型マイクロ流体チップは、空気回路の内部循環システムの他端が、分配路(10)の末尾端に接続される第2の循環分岐回路(9)をさらに含むことを特徴とする。

【0208】

実施形態8：実施形態7に係る集積型マイクロ流体チップは、空気回路の内部循環システムと混合セル(2)とを接続する点を第1の接続点と呼び、空気回路の内部循環システムの第1の循環分岐回路と第2の循環分岐回路とを接続する点を第2の接続点と呼び、第1の接続点と回転中心との間の距離は第2の接続点と回転中心との距離よりも大きいことを特徴とする。

【0209】

実施形態9：実施形態7に係る集積型マイクロ流体チップは、廃液プール(13)が、分配路(10)の先頭端および末尾端に隣接する窪みにそれぞれ接続されることを特徴とする。

【0210】

実施形態10：実施形態7に係る集積型マイクロ流体チップは、第1の液体遮断構造がさらに循環分岐回路(9)上に配置されることを特徴とする。

【0211】

実施形態11：実施形態10に係る集積型マイクロ流体チップは、第1の液体遮断構造は、突然の体積変化を伴う第1の体積拡張チャンバ(8)であることを特徴とする。

【0212】

実施形態12：実施形態10に係る集積型マイクロ流体チップは、空気回路の内部循環システムには、混合セル(2)に近い位置で液体を遮断するための第2の液体遮断構造がさらに設けられることを特徴とする。

【0213】

実施形態13：実施形態12に係る集積型マイクロ流体チップは、第2の液体遮断構造は、突然の体積変化のための第2の体積拡張チャンバ(7)であることを特徴とする。

【0214】

実施形態14：実施形態12に係る集積型マイクロ流体チップは、第1の液体遮断構造

10

20

30

40

50

および第2の液体遮断構造の両方が疎水性材料から形成されるか、または疎水性層が第1の液体遮断構造および第2の液体遮断構造の内側に適用されることを特徴とする。

【0215】

実施形態15：実施形態5に係る集積型マイクロ流体チップは、反応セル(3)に接続される沈降タンク(12)をさらに備え、回転中心からのその距離は、反応セル(3)と回転中心との間の距離よりも大きいことを特徴とする。

【0216】

実施形態16：実施形態1～15のいずれか1つに係る集積型マイクロ流体チップは、混合セル(2)が、

基板(16)の一方側に設けられたスリーブ(18)と、

基板(16)の2つの側を貫通し、スリーブ(18)内部に接続された少なくとも2つの微細孔(20)と、

スリーブ(18)に埋設され、基板(16)から遠いスリーブ(18)の上面と協働するロータ(19)と、ロータ(19)上に設けられ、微細孔(20)のいずれか1つを封鎖および開放するためのチョークプラグ(21)とを含むことを特徴とする。

【0217】

実施形態17：実施形態1～15のいずれか1つに係る集積型マイクロ流体チップは、並列に接続される複数の試料セル(1)を備え、すべての試料セル(1)は混合チャンバ(2)に接続されることを特徴とする。

【0218】

実施形態18：実施形態1～15のいずれか1つに係る集積型マイクロ流体チップは、直列に接続された複数の混合セル(2)があることを特徴とする。

【0219】

実施形態19：実施形態7に係る集積型マイクロ流体チップは、空気回路の内部循環システムと混合セル(2)との間の接続点は、混合セル(2)の排気口であり、混合セル(2)の試料流入穴は、その液体入口穴(14)であり、液体入口穴(14)と回転中心との間の距離は、排気口(15)と回転中心との間の距離よりも大きいことを特徴とする。

【0220】

実施形態20：実施形態1～15のいずれか1つに係る集積型マイクロ流体チップは、さらに、緩衝ゾーンを備え、その一端は第1の循環分岐回路に接続され、他端は試料セル(1)に接続されることを特徴とする。

【0221】

実施形態21：実施形態1に係る集積型マイクロ流体チップは、必要な反応試薬が、試料セル(1)、混合セル(2)および反応セル(3)に予め埋め込まれていることを特徴とする。

【0222】

実施形態22：実施形態1に係る集積型マイクロ流体チップは、基板材料(16)が、ガラス、シリコン、金属もしくはポリマーのうちの1つまたはそれらの混合物であることを特徴とする。

【0223】

実施形態23：実施形態1に係る集積型マイクロ流体チップは、基板(16)およびその取り揃えられたカバープレートの封止方法が、ホットプレス、接着、レーザ溶接、超音波溶接、またはねじ留めから選択されることを特徴とする。

【0224】

実施例1：

唾液試料分析用の集積型マイクロ流体チップ

この例では、唾液試料分析を例として使用して、本明細書に開示された集積型マイクロ流体チップの使用法をさらに詳細に説明する。

【0225】

10

20

30

40

50

最初に、唾液試料を、試料入口を介して、ウイルス分解試薬が予め埋め込まれた集積型マイクロ流体チップの試料セルに添加した。次に、上記チップ（集積型マイクロ流体チップの略）を支援装置を介して65℃で30分間加熱し、ウイルス核酸抽出物を得た。次いで、ロータを混合セル内で回転させ、試料セルと混合セルとを、接続パイプおよび混合セルに設けられた微細孔を介して接続した。次に、チップを600rpmで回転させ、1分間遠心分離にかけた。

【0226】

次いで、上記ウイルス核酸抽出物を混合セルに移送し、ロータを混合セル内で回転させて、混合セルに予め埋め込まれた等温増幅試薬をウイルス核酸抽出物と均一に混合した。次に、ロータを回転させて混合セルと分配プールとを接続し、チップを800rpmで回転させ、1分間遠心分離にかけた。次いで、上記の混合液体を分配プールに移送し、その後チップを4000rpmで回転させ、1分間遠心分離にかけた。分配プール中の液体は、結果として、試料核酸と特異的に反応することができるプライマーが予め埋め込まれている反応セルに均一に分配された。次いで、チップを65℃で60分間加熱し、反応セル内で等温増幅反応を行い、最後に反応セルの蛍光を、支援装置を用いてリアルタイムで検出して、検出結果を得た。

10

【図1】

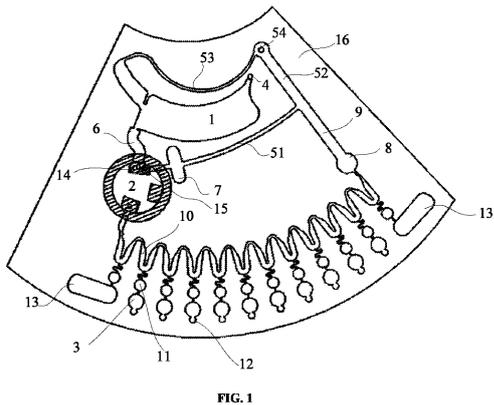


FIG. 1

【図3】

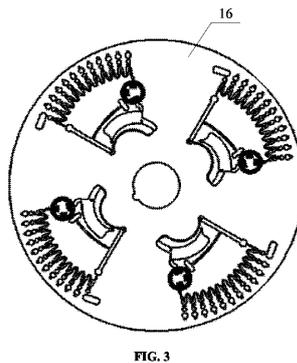


FIG. 3

【図2】

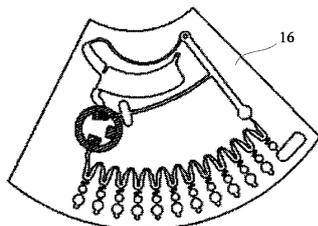


FIG. 2

【図4】

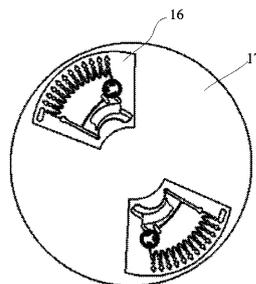


FIG. 4

【 図 5 】

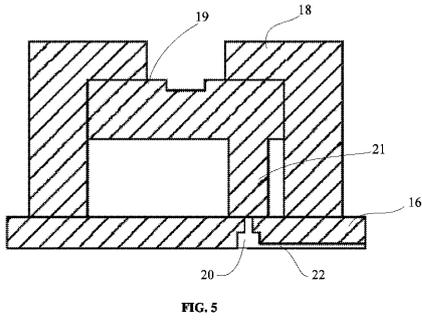


FIG. 5

【 図 6 】

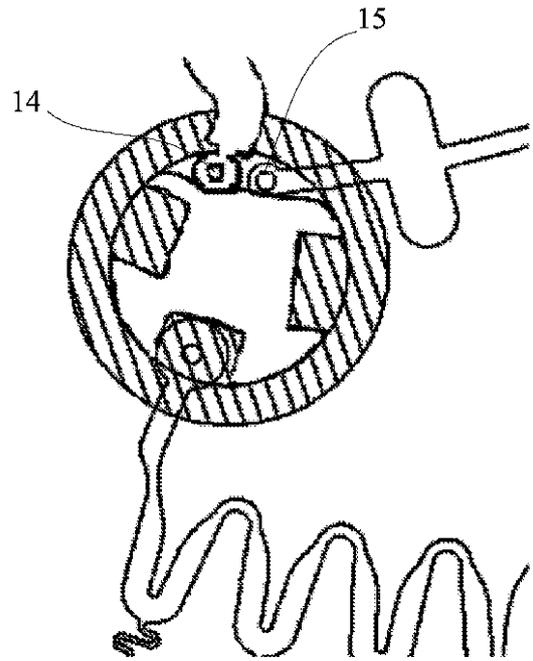


FIG. 6

【 図 7 】

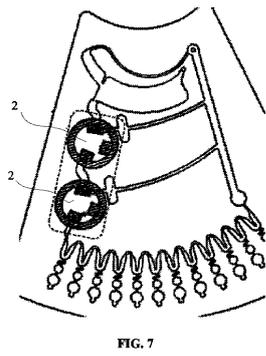


FIG. 7

【 図 8 】

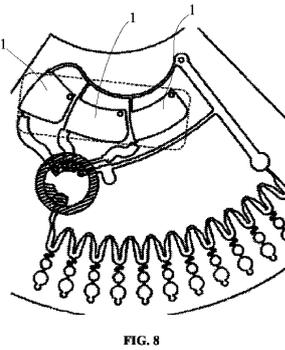


FIG. 8

## フロントページの続き

- (72)発明者 ワン, レイ  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 チョウ, ヤオ  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 シン, ワンリ  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 ワン, フウ  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 チェン, ジン  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 チェン, シアン  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8
- (72)発明者 リン, ミンシエン  
中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区 ライフ サイエンス パークウェイ 1 8

審査官 川瀬 正巳

- (56)参考文献 特開2005-030999(JP, A)  
国際公開第2016/002731(WO, A1)  
特表2010-539511(JP, A)  
特表2011-513712(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G 0 1 N 3 5 / 0 8  
G 0 1 N 3 5 / 0 0  
G 0 1 N 3 7 / 0 0