

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4230460号
(P4230460)

(45) 発行日 平成21年2月25日(2009.2.25)

(24) 登録日 平成20年12月12日(2008.12.12)

(51) Int.Cl.

F 1

GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	D
GO 1 N 37/00	(2006.01)	GO 1 N 37/00	1 O 2
C 1 2 Q 1/68	(2006.01)	GO 1 N 33/53	M
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 M 1/00	(2006.01)	C 1 2 N 15/00	F

請求項の数 48 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-568369 (P2004-568369)
 (86) (22) 出願日 平成15年3月28日(2003.3.28)
 (65) 公表番号 特表2006-514285 (P2006-514285A)
 (43) 公表日 平成18年4月27日(2006.4.27)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2003/000228
 (87) 国際公開番号 W02004/074835
 (87) 国際公開日 平成16年9月2日(2004.9.2)
 審査請求日 平成18年3月1日(2006.3.1)
 (31) 優先権主張番号 03104663.0
 (32) 優先日 平成15年2月20日(2003.2.20)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 504278260
 キャピタルバイオ コーポレーション
 中華人民共和国 ベイジン 102206
 , チャンピン ディストリクト, ライ
 フ サイエンス パークウェイ 18
 (73) 特許権者 598098331
 ツインファ ユニバーシティ
 中華人民共和国 ベイジン 100084
 , ハイダン ディストリクト, ツイン
 ファ ユニバーシティ
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 制御可能な反応容積を有するマイクロアレイデバイス

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイクロアレイ反応デバイスであって、該デバイスは以下：

- a) 第1の複数の突出部を備えるマイクロアレイチップ；
- b) 第2の複数の突出部を備えるカバー；
- c) 該マイクロアレイチップおよび/または該カバー上の支持構造；ならびに
- d) 該マイクロアレイチップおよび/または該カバー上の位置決め構造、

を備え、ここで、複数の反応スペースが、少なくともいくつかの第1の突出部と少なくともいくつかの第2の突出部との間に形成され、該複数の反応スペースの高さは、実質的に同一であり、かつ、該支持構造の高さによって制御可能であり、そして該第1の複数の突出部と該第2の複数の突出部との間の相対的な位置は、該位置決め構造によって制御可能である、

マイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 2】

前記マイクロアレイチップおよび/または前記カバーが、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含む、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 3】

前記第1の複数の突出部および/または前記第2の複数の突出部の表面が、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせから

なる群より選択される材料を含む、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 4】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部の表面が、疎水性または親水性である、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 5】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部の表面が、正方形、長方形、円形、楕円形、卵円形および不規則な形状からなる群より選択される形状を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 6】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部の厚さが、約 0 . 1 mm ~ 約 2 mm の範囲である、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。 10

【請求項 7】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部の表面が、約 1 mm^2 ~ 約 600 mm^2 の範囲の面積を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 8】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部の数が、約 2 ~ 約 2 , 500 の範囲である、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 9】

前記第 1 の複数の突出部が、同一あるいは異なる、形状および / または表面積を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。 20

【請求項 10】

前記第 2 の複数の突出部が、同一あるいは異なる、形状および / または表面積を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 11】

同一あるいは異なる数の、第 1 および第 2 の複数の突出部を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 12】

前記第 1 の複数の突出部および前記第 2 の複数の突出部が、同一あるいは異なる、形状および / または表面積を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 13】

前記第 1 の複数の突出部および / または前記第 2 の複数の突出部が、その上にプローブを付着するためのアレイ位置を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。 30

【請求項 14】

前記支持構造および / または前記位置決め構造が、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含む、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 15】

前記支持構造が、前記マイクロアレイチップ上に位置する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 16】

前記支持構造が、前記カバー上に位置する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。 40

【請求項 17】

前記位置決め構造が、前記マイクロアレイチップ上に位置する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 18】

前記位置決め構造が、前記カバー上に位置する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 19】

前記位置決め構造が、封着リングをさらに備える、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応 50

デバイス。

【請求項 20】

請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイスであって、ここで、前記マイクロアレイチップ、前記第 1 の複数の突出部、前記カバー、前記第 2 の複数の突出部、前記支持構造および/または前記位置決め構造が、モデリング、グルーイング、ダイシング/カッティング、スライシング、陽極接合、超音波溶接、EDMワイヤーカッティングおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法によって作製される、マイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 21】

複数の反応スペースが、前記マイクロアレイチップ上の全ての第 1 の突出部と、前記カバー上の全ての第 2 の突出部との間に形成される、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

10

【請求項 22】

前記複数の反応スペースが、約 0.01 mm ~ 約 1 mm の範囲の高さを有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 23】

前記複数の反応スペースが、約 0.01 mm³ ~ 約 600 mm³ の範囲の容積を有する、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

【請求項 24】

前記複数の反応スペースが、相互汚染を避けるために互いに空間的に分離される、請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス。

20

【請求項 25】

製品であって、該製品は以下：

- a) 包装材料；
- b) 請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス；および
- c) 分析物をアッセイするための製品であることを示しているラベル、

を備える、製品。

【請求項 26】

分析物をアッセイするための方法であって、該方法は以下：

- a) 請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイスを提供する工程；
 - b) 工程 a) において提供される該マイクロアレイ反応デバイスの、前記第 1 の複数の突出部および/または前記第 2 の複数の突出部に、複数の反応物を付着させる工程であって、ここで、少なくとも 1 つの該反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である、工程；
 - c) サンプル中に該分析物が存在する場合に、該分析物を該反応物に結合させる適切な条件下で、該分析物を含んでいると疑いある該サンプルを、工程 a) において提供される該反応物と接触させる工程；および
 - d) 該サンプル中の該分析物の存在および/または量を決定するために、該分析物と該反応物との間の結合を評価する工程、
- を包含する、方法。

30

40

【請求項 27】

前記分析物が、細胞、細胞内小器官、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より選択される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記細胞が、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からなる群より選択される、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記細胞内オルガネラが、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、小胞体、ゴルジ装置、リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、液胞およびマイクロソームからなる群より選択される、請求項 27 に記載の方法。

50

【請求項 30】

前記分子が、無機分子、有機分子およびそれらの複合体からなる群より選択される、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 31】

前記有機分子が、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からなる群より選択される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記サンプルが、哺乳動物サンプルである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 33】

前記哺乳動物が、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、イヌおよびブタからなる群より選択される、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記サンプルが、臨床的サンプルである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 35】

前記臨床的サンプルが、血清、血漿、全血、痰、脳脊髄液、羊水、尿、胃腸内容物、毛髪、唾液、汗、歯肉擦過物および生検からの組織からなる群より選択される、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記臨床的サンプルが、ヒト臨床的サンプルである、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 37】

前記反応物が、前記分析物に特異的に結合する、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 38】

前記反応物が、細胞、細胞内小器官、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より選択される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 39】

前記反応物が、抗体である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 40】

前記反応物が、核酸である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 41】

直接アッセイ形式、サンドウィッチアッセイ形式または競合アッセイ形式において用いられる、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 42】

異なる複数の反応物が、単一の分析物をアッセイするために用いられる、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 43】

異なる複数の反応物が、異なる複数の分析物をアッセイするために用いられる、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 44】

複数の反応物が、前記マイクロアレイの前記第 1 の複数の突出物に接着される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 45】

全ての反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 46】

分析物をアッセイするためのキットであって、該キットは以下：

a) 請求項 1 に記載のマイクロアレイ反応デバイス；

b) a) において提供される該マイクロアレイ反応デバイスの、前記第 1 の複数の突出部および/または前記第 2 の複数の突出部に、複数の反応物を接着させるための手段であって、ここで、該反応物の少なくとも 1 つが、分析されるべき分析物に結合することが

10

20

30

40

50

可能である、手段；ならびに

c) 前記サンプル中の該分析物の存在および/または量を決定するために、該分析物と該反応物との間の結合を評価する手段、
を備える、キット。

【請求項 47】

複数の反応物をさらに備え、ここで少なくとも1つの該反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である、請求項 46 に記載のキット。

【請求項 48】

前記分析物をアッセイするためのキットを使用するための指示書をさらに備える、請求項 46 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、概して、マイクロアレイ反応デバイスおよびその使用の分野に関する。特に、本発明は、マイクロアレイ反応デバイスを提供し、ここで、複数の反応スペースが、第1の複数の突出部と第2の複数の突出部との間に形成され、この複数の反応スペースの高さは、実質的に同一であり、かつ支持構造によって制御可能であり、そしてこの第1の複数の突出部と第2の複数の突出部との間の相対的な位置は、位置決め構造によって制御可能である。マイクロアレイ反応デバイスを含む製品、およびマイクロアレイ反応デバイスを用いて分析物をアッセイするための方法もまた提供される。

【背景技術】

【0002】

マイクロアレイデバイスおよびその使用は、生化学および分子生物学の不可欠な部分となってきた。ハイスループットな検出技術として、マイクロアレイデバイスは、生物学、医学および他の関連分野（例えば、生命科学研究、薬物スクリーニング、疾患診断、農業または食品監査および司法検査など）において広く使用されてきた（Bull et al., Br. J. Cancer, 84(11):1512-9(2001); および Zhu et al., Science, 293:2101-5(2001)）。

【0003】

マイクロアレイ反応は、マイクロアレイデバイスによって影響を受ける。マイクロアレイデバイスの品質は、反応の速度および利便性のみならず、例えばシグナルの強度、ノイズの強度、シグナル均一性およびアッセイ信頼性といった反応結果の質をも決定する。

【0004】

遺伝子チップを例として挙げると、現在のマイクロアレイ反応デバイスは、マイクロアレイスライド、カバーおよびハイブリダイゼーションカセットから構成される。マイクロアレイスライドは、1「x3」のサイズを有する標準的なスライドであることが多く、そしてこのカバーは、0.16mmの厚さを有するプラスチックプレートまたはガラスプレートであることが多い。ハイブリダイゼーションカセットまたは反応カセットは、金属、プラスチックまたはそれらの組み合わせから構成されることが多い。マイクロアレイ反応デバイス、特にハイブリダイゼーションカセットまたは反応カセットは、大いに改良されてきた（米国特許番号第6,159,727号および同第6,258,593号）。しかしながら、このマイクロアレイスライドおよびカバーは、以下を含む多数の局面においてさらに改良され得る：1) 標準的なサイズのスライドが用いられるので、比較的多い量のサンプルがスライドを覆うために必要であり、これは貴重なサンプルあるいは高価なサンプルの浪費を生じ得る；2) 単一のスライド上で複数のサンプルが分析される場合、相互汚染を有し易く、そしてアッセイ信頼性を減少させ易い；3) スライドとカバーとの間に位置決め構造が無いので、このカバーは、スライドの表面に沿って滑り得、ハイブリダイゼーション液の不均一な厚みを引き起こし、シグナルの均一性を減少させ、そして特定の領域においてノイズレベルを増大させる；および4) 単一のスライド上で複数のサンプルが分析される場合、プローブを接着させるために、アレイされた位置を探索する必要があ

10

20

30

40

50

ることが多く、操作を不便にし、速度およびアッセイ信頼性を減少させる。

【0005】

単一のスライド上で複数のサンプルが分析される場合、チップの表面近くに接着された格子の使用が、示唆されている(CN1261669)。この設計は、操作をより簡便にし得るが、なおアッセイの整合性および安定性に取り組んでいない。

【0006】

本発明は、上記の問題および当該分野における他の関連する問題に取り組む。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0007】

(発明の開示)

1つの局面において、本発明はマイクロアレイ反応デバイスに関し、このデバイスは、以下：a)第1の複数の突出部を備えるマイクロアレイチップ；b)第2の複数の突出部を備えるカバー；c)上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の支持構造；ならびにd)上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の位置決め構造、を備え、ここで、複数の反応スペースが、少なくともいくつかの第1の突出部と少なくともいくつかの第2の突出部の間に形成され、上記複数の反応スペースの高さは、実質的に同一であり、かつ上記支持構造によって制御可能であり、そしてこの上記第1の複数の突出部および第2の複数の突出部との間の相対的な位置は、上記位置決め構造によって制御可能である。

【0008】

別の局面において、本発明は製品を対象とし、この製品は以下：a)包装材料；b)上のマイクロアレイ反応デバイス；およびc)分析物をアッセイするための製品であることを示しているラベル、を備える。

【0009】

さらに別の局面において、本発明は分析物をアッセイするための方法に関し、この方法は以下：a)上のマイクロアレイ反応デバイスを提供する工程；b)工程a)において提供される上記マイクロアレイ反応デバイスの、上記第1の複数の突出部および/または上記第2の複数の突出部に、複数の反応物を付着させる工程であって、ここで、少なくとも1つの上記反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である、工程；c)サンプル中に上記分析物が存在する場合に、上記分析物を上記反応物に結合させる適切な条件下で、上記分析物を含んでいると疑いあるサンプルを、工程a)において提供される上記反応物と接触させる工程；およびd)上記サンプル中の上記分析物の存在および/または量を決定するために、上記分析物と上記反応物との間の結合を評価する工程、を包含する。

【0010】

なお別の局面において、本発明は分析物をアッセイするためのキットに関し、このキットは以下：a)上のマイクロアレイ反応デバイス；b)a)において提供される上記マイクロアレイ反応デバイスの、上記第1の複数の突出部および/または上記第2の複数の突出部に、複数の反応物を接着させるための手段であり、ここで、上記反応物の少なくとも1つが、分析されるべき分析物に結合することが可能である手段；およびc)上記サンプル中の上記分析物の存在および/または量を決定するために、上記分析物と上記反応物との間の結合を評価する手段、を備える。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

(発明を実施する態様)

開示を限定するためではなく、明瞭にするために、発明の詳細な説明を以下の小節中に分ける。

【0012】

(A.定義)

10

20

30

40

50

他に定義されない限り、本明細書中に使用される全ての科学技術用語は、本発明が属する分野において当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書中に参照される全ての特許、出願、公開された出願および他の刊行物は、参考として全体が援用される。この節に記載される定義が、本明細書中に参考として援用される特許、出願、公開された出願および他の刊行物に記載される定義に反するか、あるいは他に矛盾する場合、この節に記載される定義が、本明細書中に参考として援用される定義より優先する。

【0013】

本明細書中に使用される「a」または「an」とは、「少なくとも1つ」または「1つ以上」を意味する。

10

【0014】

本明細書中に使用される「マイクロアレイチップ」とは、複数の1次元、2次元または3次元の、マイクロ構造またはマイクロスケール構造を備える固体基板をいい、この上で、特定の処理（例えば、物理的処理、化学的処理、生物学的処理、生物物理学的処理または生物化学的処理など）が、実施され得る。マイクロ構造またはマイクロスケール構造（例えば、チャンネルおよびウェル）は、チップ上での物理的、化学的、生物学的、生物物理学的または生物化学的な反応あるいは処理を容易にするために、この固体基板に組み込まれるか、組み立てられるかあるいは別の方法で取り付けられる。チップは、1次元においては薄くあり得、他の次元においては、例えば、矩形、円形、楕円形または他の不規則な形状を有し得る。チップの主要な表面のサイズは、かなり変化し得、例えば約 1 mm^2 ~ 約 0.25 m^2 である。好ましくは、チップのサイズは約 4 mm^2 ~ 約 25 cm^2 であり、約 1 mm ~ 約 5 cm の特徴的な寸法を備える。チップ表面は、平面または非平面であり得る。非平面表面を備えるチップは、表面上に組み立てられたチャンネルまたはウェルを備え得る。

20

【0015】

本明細書中に使用される「マイクロ位置」とは、マイクロアレイチップおよび/または他の構造あるいはデバイスが位置される、表面上または基板内の場所への接着場所をいう。

【0016】

本明細書中に使用される「明確なマイクロ位置」とは、必要とされる場合に、試薬が追加および/または回収され得、そして反応が別のマイクロ位置から独立して1つのマイクロ位置において行われ得るように、マイクロ位置が十分に分離されていることをいう。各マイクロ位置は、全ての他のマイクロ位置から「区別」される必要はないが、特定の実施形態において、各マイクロ位置は、全ての他のマイクロ位置から「区別」され得る。

30

【0017】

本明細書中に使用される「マイクロ位置がウェル形式である」とは、マイクロアレイチップおよび/または他の構造あるいはデバイス（例えば、温度制御装置）が組み込まれるか、あるいは配置され得るように、マイクロ位置に適切な3次元形状を備える窪みがあることを意味する。

【0018】

本明細書中に使用される「マイクロ位置が断熱される」とは、マイクロ位置が、他のマイクロ位置または任意のマイクロ位置外の場所から独立して、望ましいレベルにマイクロ位置の温度が調整され、かつ維持されるために用いられ得る、特定の構造または基板を備えることを意味する。

40

【0019】

本明細書中に使用される「上記複数の反応スペースの高さが、実質的に同一である」とは、上記複数の反応スペースの高さの間の差異が、アッセイの均一性に統計学的に影響しないくらい十分に小さいことを意味する。通常、最も高い高さ、最も低い高さとの間の差異は、反応スペースの最も高い高さの50%未満である。好ましくは、最も高い高さ、最も低い高さとの間の差異は、反応スペースの最も高い高さの40%、30%、20%

50

、10%、5%、2%または1%未満である。

【0020】

本明細書中に使用される「構造的におよび/または機能的に関連するタンパク質の群」とは、それらの天然の状態、構造的に関連し、同じ細胞内位置(例えば、細胞内小器官)に局在し、同じ組織または器官に局在し、同じ生物学的段階(例えば、特定の細胞周期段階または発生段階)において発現されおよび/または機能的であり、あるいは同じ生物学的経路(例えば、特定の代謝経路、シグナル伝達経路など)において発現されおよび/または機能的であるタンパク質の群をいう。この「構造的におよび/または機能的に関連するタンパク質の群」は、同じ群に属する少なくとも2つのタンパク質を含むことのみを必要とする。この「構造的におよび/または機能的に関連するタンパク質の群」は、好ましくは、同じ群に属する二つ以上のタンパク質(例えば、大多数のタンパク質あるいは全てのタンパク質が、同じ群に属する)を含み得る。

10

【0021】

本明細書中に使用される「組織特異的様式または器官特異的様式において発現される」とは、遺伝子が、一過性かまたは構成的にかのいずれかで、特定の組織または器官においてのみ発現され、他の組織または器官においては発現されない遺伝子発現パターンをいう。

【0022】

本明細書中に使用される「組織」とは、類似の細胞およびそれらの周囲にある細胞内物質の集合をいう。体内には、4つの基本組織がある：1)上皮；2)血液、骨および軟骨を含む結合組織；3)筋組織；4)神経組織。

20

【0023】

本明細書中に使用される「器官」とは、呼吸機能、分泌機能または消化機能のような特定の機能を実行する、身体の任意の部分を用いる。

【0024】

本明細書中に使用される： mismatchesの百分率を決定することにおける「ハイブリダイゼーションのストリンジェンシー」とは、以下の通りである；

- 1) 高いストリンジェンシー： $0.1 \times \text{SSPE}$ 、 $0.1\% \text{SDS}$ 、65；
- 2) 中程度のストリンジェンシー： $0.2 \times \text{SSPE}$ 、 $0.1\% \text{SDS}$ 、50 (穏やかなストリンジェンシーともいう)；および
- 3) 低いストリンジェンシー： $1.0 \times \text{SSPE}$ 、 $0.1\% \text{SDS}$ 、50。

30

【0025】

等価なストリンジェンシーは、代替的な緩衝液、塩および温度を用いて達成され得ることが理解される。

【0026】

本明細書中に使用される「遺伝子」とは、染色体上に特定の座を占める遺伝形質の単位をいい、その存在は、異なる対立形質の出現によって確認され得る。分断化された遺伝子の出現によって、遺伝子はまた、単一のポリペプチドを生成するために必要とされるDNA配列のセット(エキソン)を包含する。

【0027】

本明細書中に使用される「遺伝子チップ」とは、表面に固定化されたオリゴヌクレオチドのアレイをいい、RNAサンプル(逆転写後)をスクリーニングするために使用され得、そしてこのようにして、細胞または組織において、どのRNAが現われるかによってどの遺伝子が発現されているかを迅速に決定するための方法をいう。

40

【0028】

本明細書中に使用される「特異的に結合する」とは、特定の分子構造の存在に依存する様式における、ある物質の別の物質に対する結合をいう。例えば、レセプターは、リガンド結合部位に相補的な化学構造を含むリガンドに選択的に結合する。

【0029】

本明細書中に使用される「特異的な結合対」とは、リガンドに対して特異的な結合親和

50

性を有し、他の物質を除外する任意の物質または物質のクラスをいう。1つの実施形態において、この特異的な結合対は、免疫化学様式においてサンプルリガンドまたはリガンドに対するサンプルの結合能に相互作用する特異的結合アッセイ試薬を含む。例えば、試薬および/またはサンプルリガンドもしくはリガンドに対するサンプルの結合能との間には抗原-抗体関係またはハプテン-抗体関係がある。さらに、リガンドと結合パートナーとの間の、他の結合相互作用は、特異的結合アッセイの基礎として機能し、例えば、ホルモン、ビタミン、代謝物および薬剤と、それらのそれぞれのレセプターおよび結合物質との間の結合相互作用が挙げられることが当該分野においてよく理解されている(例えば、Langranら、編、*Ligand Assay*, pp.211以下参照, Masson Publishing U.S.A. Inc., New York, 1981を参照のこと)。

10

【0030】

本明細書中に使用される「抗体」とは、免疫グロブリンの特定の型、すなわち、IgA、IgD、IgE、IgG(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃およびIgG₄)およびIgMをいう。抗体は、任意の適切な形態で存在し得、そしてまた任意の適切なフラグメントまたは誘導体を包含し得る。例示的な抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fvフラグメント、二重特異性抗体、単鎖抗体および抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【0031】

20

本明細書中に使用される「サンプル」とは、本発明の方法および/またはキットを用いて、分離または単離されるべき、標的細胞、標的細胞内小器官または標的ウイルスを含み得る任意のものをいう。このサンプルは、生物学的サンプル(例えば、生物学的流体および生物学的組織)であり得る。生物学的流体の例としては、尿、血液、血漿、血清、唾液、精液、便、痰、脳髄液、涙液、粘液、羊水などが挙げられる。生物学的組織は、通常、細胞内物質と一緒に備える特定の種類の細胞の凝集体であり、ヒト、動物、植物、細菌、真菌またはウイルス構造の構造材料の1つ(例えば、結合組織、上皮組織、筋組織および神経組織が挙げられる)を形成する。生物学的組織の例はまた、器官、腫瘍、リンパ節、動脈および個々の細胞を含む。生物学的組織は、細胞懸濁サンプルを得るために処理され得る。このサンプルは、インビトロで調製された細胞の混合物でもあり得る。このサンプルはまた、培養細胞懸濁液でもあり得る。生物学的サンプルの場合、このサンプルは粗製のサンプルまたは元のサンプルに対する種々の処理または調製後に得られる処理されたサンプルであり得る。例えば、種々の細胞分離法(例えば、磁気的に活性化された細胞のソーティング)が、体液サンプル(例えば、血液)から標的細胞を分離または濃縮するために適用され得る。本発明について使用されるサンプルは、このような標的細胞を濃縮した細胞調製物を含む。

30

【0032】

本明細書中に使用される「液体(流体)サンプル」とは、液体または流体として天然に存在するサンプル(例えば、生物学的流体)をいう。「液体サンプル」はまた、天然には非液体の状態(例えば、固体またはガス)において存在するが、この固体またはガスのサンプル物質を含む、液体、流体、溶液あるいは懸濁液として調製されるサンプルをいう。例えば、液体サンプルは、生物学的組織を含む液体、流体、溶液または懸濁液を包含し得る。

40

【0033】

本明細書中に使用される「成分」とは、試験成分および標的成分の両方を包含する。成分の非限定的例としては、細胞、細胞内小器官、ウイルス、粒子、分子(例えば、タンパク質、DNAおよびRNA)あるいはそれらの凝集体または複合体が挙げられる。

【0034】

本明細書中に用いられる「低分子」とは、同一の凝集体を形成しないか、あるいは高分子またはアジュバントに接着することなく、この低分子に特異的に結合する抗体を産生で

50

きない分子をいう。好ましくは、この低分子は、約10,000ダルトン未満の分子量を有する。より好ましくは、この低分子は、約5,000ダルトン未満の分子量を有する。

【0035】

(B. マイクロアレイ反応デバイスおよび製品)

1つの局面において、本発明は、マイクロアレイ反応デバイスに関し、このデバイスは、以下：a) 第1の複数の突出部を備えるマイクロアレイチップ；b) 第2の複数の突出部を備えるカバー；c) 上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の支持構造；およびd) 上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の位置決め構造を備え、ここで、複数の反応スペースが、少なくともいくつかの第1の突出部と少なくともいくつかの第2の突出部の間に形成され、上記複数の反応スペースの高さは、実質的に同一であり、かつ上記支持構造の高さによって制御可能であり、そしてこの上記第1の複数の突出部および第2の複数の突出部との間の相対的な位置は、上記位置決め構造によって制御可能である。

10

【0036】

マイクロアレイチップおよび/またはカバーは、任意の適切な材料を含み得る。例えば、マイクロアレイチップおよび/またはカバーは、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含み得る。

【0037】

第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、任意の適切な材料を含み得る。例えば、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含み得る。

20

【0038】

第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、疎水性または親水性であり得る。

【0039】

第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、任意の適切な形状を有し得る。例えば、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、正方形、長方形、円形、楕円形、卵円形および不規則な形状からなる群より選択される形状を有し得る。

30

【0040】

第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部は、任意の適切な厚さを有し得る。例えば、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の厚さは、約0.1mm~約2mmの範囲であり得る。

【0041】

第1の複数の突出部および/または第2の複数の表面は、任意の適切な表面積を有し得る。例えば、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、約1mm²~約600mm²の範囲の面積を有し得る。

【0042】

本発明のマイクロアレイ反応デバイスは、任意の適切な数の第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部を有し得る。例えば、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の数は、約2~約2,500の範囲であり得る。好ましくは、複数の反応スペースは、マイクロアレイチップ上の全ての第1の突出部と、カバー上の全ての第2の突出部との間に形成される。

40

【0043】

第1の複数の突出部は、同一あるいは異なる、形状および/または表面積を有し得る。第2の複数の突出部は、同一あるいは異なる、形状および/または表面積を有し得る。好ましくは、本発明のマイクロアレイ反応デバイスは、同一あるいは異なる数の、第1の複数の突出部および第2の複数の突出部を有する。また好ましくは、第1の複数の突出部お

50

よび第2の複数の突出部は、同一あるいは異なる、形状および/または表面積を有する。また好ましくは、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部は、その上にプローブを付着するためのアレイ位置を有する。

【0044】

支持構造および/または位置決め構造は、任意の適切な材料を含み得る。例えば、支持構造および/または位置決め構造は、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含み得る。

【0045】

支持構造および/または位置決め構造は、任意の適切な位置を有し得る。例えば、支持構造は、マイクロアレイチップ上またはカバー上に位置し得る。同様に、位置決め構造は、マイクロアレイチップ上またはカバー上に位置し得る。位置決め構造は、封着リングをさらに備え得る。

10

【0046】

マイクロアレイチップ、第1の複数の突出部、カバー、第2の複数の突出部、支持構造および/または位置決め構造は、任意の適切な方法によって作製され得る。例えば、マイクロアレイチップ、第1の複数の突出部、カバー、第2の複数の突出部、支持構造および/または位置決め構造は、モデリング、グルーイング、ダイシング/カッティング、スライシング、陽極接合、超音波溶接、放電加工(EDM)ワイヤーカッティングおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法によって作製され得る。

20

【0047】

複数の反応スペースは、任意の適切な高さを有し得る。例えば、複数の反応スペースは、約0.01mm~約1mmの範囲の高さを有し得る。複数の反応スペースは、任意の適切な容積を有し得る。例えば、複数の反応スペースは、約0.01mm³~約600mm³の範囲の容積を有し得る。好ましくは、複数の反応スペースは、相互汚染を避けるために互いに空間的に分離される。

【0048】

別の局面において、本発明は製品を対象とし、この製品は以下：a)包装材料；b)上記のマイクロアレイ反応デバイス；およびc)分析物をアッセイするための製品であることを示しているラベル、を備える。

30

【0049】

(C.分析物をアッセイするための方法およびキット)

さらに別の局面において、本発明は分析物をアッセイするための方法に関し、この方法は以下：a)上記のマイクロアレイ反応デバイスを提供する工程；b)工程a)において提供される上記マイクロアレイ反応デバイスの、上記第1の複数の突出部および/または上記第2の複数の突出部に、複数の反応物を付着させる工程であって、ここで、少なくとも1つの上記反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である、工程；c)サンプル中に上記分析物が存在する場合に、上記分析物を上記反応物に結合させる適切な条件下で、上記分析物を含んでいると疑いある上記サンプルを、工程a)において提供される上記反応物と接触させる工程；およびd)上記サンプル中の上記分析物の存在および/または量を決定するために、上記分析物と上記反応物との間の結合を評価する工程、を包含する。

40

【0050】

本発明の方法は、任意の分析物(例えば、細胞、細胞内小器官、ウイルス、分子およびそれらの凝集体または複合体)をアッセイするために使用され得る。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。動物細胞、植物細胞、真菌細胞、細菌細胞は、動物界、植物界、真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、鞭毛虫および微孢子虫の任意の属または亜属に由来する細胞もまた、本発明の方法によってアッセイされ得る。ニワトリのような鳥類、魚のような脊椎動物、ならびにマウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ブ

50

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およびヒトのような哺乳動物に由来する細胞は、本発明の方法によってアッセイされ得る。

【0051】

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、本発明の方法によってアッセイされ得る。例えば、結合組織細胞、上皮組織細胞、筋組織細胞または神経組織細胞が、アッセイされ得る。同様に、副眼器、らせん形器官、聴覚器官 (auditory organ)、チーヴィッツ器官、脳室周囲器官、コルティ器官、危険臓器、エナメル器、終末器、女性の外生殖器、男性の外生殖器、遊走器官 (floating organ)、ルフィーニ散形器官、生殖器、ゴルジ腱紡錘、味覚器 (gustatory organ)、聴覚器 (organ of hearing)、女性の内生殖器、男性の内生殖器、陰茎、ヤコブソン器官、神経血液器官、神経腱紡錘、嗅覚器 (olfactory organ)、耳石器、遊走器官 (ptotic organ)、ローゼンミュラー器官、感覚器、嗅覚器 (organ of smell)、らせん器 (spiral organ)、交連下器官、脳弓下器官、過剰器官、触覚器 (tactile organ)、標的器官、味覚器 (organ of taste)、触角器 (organ of touch)、泌尿器、大脳終板の血管器、前庭器、平衡聴覚器、痕跡器官、視覚器 (organ of vision)、視覚器 (visual organ)、鋤鼻器、遊走器官 (wandering organ)、ウェーバー器官およびツッカーカンドル器官が、使用され得る。好ましくは、脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆嚢、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、腺、血管内腔などのような内部動物器官に由来する細胞が、アッセイされ得る。さらに、任意の植物、真菌 (例えば、酵母)、細菌 (例えば、真正細菌または古細菌) に由来する細胞が、アッセイされ得る。動物細胞、植物細胞、真菌細胞または細菌細胞のような、任意の真核供給源または原核供給源に由来する組換え細胞もまた、アッセイされ得る。血液、尿、唾液、骨髄液、精液または他の腹水のような体液ならびにそれらの細画分 (例えば、血清または血漿) もまた、アッセイされ得る。

【0052】

細胞内小器官の例としては、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、小胞体、ゴルジ装置、リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、液胞およびマイクロソームが挙げられる。分子の例としては、無機分子、有機分子およびそれらの複合体が挙げられる。有機分子の例としては、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。

【0053】

任意のアミノ酸が、本発明の方法によってアッセイされ得る。例えば、D - アミノ酸および L - アミノ酸がアッセイされ得る。さらに、Ala (A)、Arg (R)、Asn (N)、Asp (D)、Cys (C)、Gln (Q)、Glu (E)、Gly (G)、His (H)、Ile (I)、Leu (L)、Lys (K)、Met (M)、Phe (F)、Pro (P)、Ser (S)、Thr (T)、Trp (W)、Tyr (Y) および Val (V) を含む、天然に存在するペプチドおよびタンパク質の、任意のビルディングブロックが、本発明の方法によってアッセイされ得る。

【0054】

任意のタンパク質またはペプチドが、本発明の方法によってアッセイされ得る。例えば、酵素、輸送タンパク質 (例えば、イオンチャネルおよびポンプ)、栄養タンパク質または貯蔵タンパク質、収縮タンパク質または運動タンパク質 (例えば、アクチンおよびミオシン)、構造タンパク質、防御タンパク質または制御タンパク質 (例えば、抗体、ホルモンおよび成長因子) が、アッセイされ得る。タンパク質性またはペプチド性の抗原もまた、アッセイされ得る。

【0055】

単鎖核酸、二重鎖核酸および三重鎖核酸を含む任意の核酸が、本発明の方法によってア

10

20

30

40

50

ッセイされ得る。このような核酸の例としては、A型DNA、B型DNAまたはZ型DNAのようなDNAならびにmRNA、tRNAおよびrRNAのようなRNAが挙げられる。

【0056】

任意のヌクレオチドが、本発明の方法によってアッセイされ得る。このようなヌクレオチドの例としては、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は、本発明の方法によってアッセイされ得る。このようなヌクレオチドの例としては、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。

10

【0057】

任意のビタミンが、本発明の方法によってアッセイされ得る。例えば、チアミン、リボフラミン、ニコチン酸、パントテン酸、ピリドキシン、ピオチン、葉酸、ビタミンB₁₂およびアスコルビン酸のような水溶性ビタミンが、アッセイされ得る。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のような脂溶性ビタミンが、アッセイされ得る。

【0058】

D-単糖であろうとL-単糖であろうと、そしてアルドースであろうとケト-スであろうと、任意の単糖が、本発明の方法によってアッセイされ得る。単糖の例としては、グリセルアルデヒドのようなトリオース、エリトロースおよびトレオースのようなテトロース、リボースのようなペントース、アラビノース、キシロース、リキソースおよびリブロース、ヘキソース（例えば、アロース、アルトース、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）ならびにセドヘプツロースのようなヘプトースが挙げられる。

20

【0059】

任意の脂質が、本発明の方法によってアッセイされ得る。脂質の例としては、トリステアリン、トリパルミチンおよびトリオレインのような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のようなホスホグリセリド、スフィンゴミエリン、セラブロシドおよびガングリオシドのようなスフィンゴ脂質、コレステロールおよびスチグマステロールのようなステロール、ならびにステロール脂肪酸エステルが挙げられる。この脂肪酸は、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のような飽和脂肪酸であり得るが、あるいは、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のような不飽和脂肪酸であり得る。

30

【0060】

本発明の方法は、任意のサンプルをアッセイするために使用され得る。例えば、本発明の方法は、哺乳動物サンプルをアッセイするために使用され得る。例示的な哺乳動物としては、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、イヌおよびブタが挙げられる。本発明の方法はまた、臨床的サンプルをアッセイするために使用され得る。例示的な臨床的サンプルとしては、血清、血漿、全血、痰、脳脊髄液、羊水、尿、胃腸内容物、毛髪、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、本発明の方法は、ヒト臨床的サンプルをアッセイするために使用され得る。

40

【0061】

任意の適切な反応物が、本発明の方法において使用され得る。好ましくは、本発明の方法において使用される反応物は、分析物に特異的に結合する。例示的な反応物としては、細胞、細胞内小器官、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。好ましくは、この反応物は抗体である。また好ましくは、この反応物は核酸である。

【0062】

50

本発明の方法は、任意の適切なアッセイ形式において使用され得る。例えば、本発明の方法は、直接アッセイ形式、サンドウィッチアッセイ形式または競合アッセイ形式において使用され得る。

【0063】

1つの実施形態において、異なる複数の反応物は、単一の分析物をアッセイするために用いられる。別の実施形態において、異なる複数の反応物は、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において、複数の反応物は、マイクロアレイの第1の複数の突出部に接着される。なお別の実施形態において、全ての反応物は、分析されるべき分析物に結合することが可能である。

【0064】

なお別の局面において、本発明は、分析物をアッセイするためのキットに関し、このキットは以下：a)上記のマイクロアレイ反応デバイス；b) a)において提供される上記マイクロアレイ反応デバイスの、上記第1の複数の突出部および/または上記第2の複数の突出部に、複数の反応物を接着させるための手段であって、ここで、上記反応物の少なくとも1つが、分析されるべき分析物に結合することが可能である、手段；およびc)上記サンプル中の上記分析物の存在および/または量を決定するために、上記分析物と上記反応物との間の結合を評価する手段、を備える。

【0065】

このキットは、複数の反応物をさらに備え得、ここで少なくとも1つの反応物が、分析されるべき分析物に結合することが可能である。このキットはまた、分析物をアッセイするためのキットを使用するための指示書をさらに備え得る。

【0066】

本発明の方法およびキットは、細胞、細胞内小器官、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より選択される成分間の、任意の相互作用を検出するために使用され得る。例えば、本発明の方法およびキットは、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-タンパク質などの相互作用のような、高分子の間、あるいはそれらのうちの相互作用を検出するために使用され得る。本発明の方法およびキットはまた、高分子-低分子相互作用あるいは低分子-低分子相互作用を検出するために使用され得る。本発明の方法およびキットはまた、より複雑な相互作用（例えば、2つ以上の成分間の相互作用）を検出するために使用され得る。DNA-DNA、DNA-RNA、RNA-RNA相互作用が検出される場合、接触させる（すなわち、ハイブリダイズさせる）工程は、適切な条件（例えば、低いストリンジェンシー、中程度のストリンジェンシーまたは高いストリンジェンシー）の下で行われ得る。

【0067】

上記試験成分と、上記複数の標的成分との間の相互作用は、任意の適切な方法によって検出され得る。例えば、試験成分および/または標的成分は、検出を容易にするために標識され得る。任意の適切な標識が、用いられ得る。例示的な標識としては、放射性標識、蛍光標識、化学標識、酵素標識、発光標識およびFRET (fluorescence resonance energy transfer: 蛍光共鳴エネルギー遷移) 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、試験成分単独に、または標識成分単独に、あるいは両方に対して、直接的または間接的に、接着または結合され得る。読取りは、陽性シグナルまたは陰性シグナルであり得る。任意の適切なアッセイ形式（例えば、サンドウィッチ形式または競合形式）が使用され得る。

【0068】

好ましい実施形態において、本発明の方法およびキットは、試験成分と複数の遺伝子、遺伝子フラグメントまたはそれらのコードする産物との間の、またはそれらのうちの相互作用を検出するために使用される。より好ましくは、この複数の標的遺伝子、遺伝子フラグメントまたはそれらのコードする産物は、生物学的経路に関与し、同一あるいは類似の生物学的機能を備え、細胞周期のある段階において発現され、ある細胞型において発現さ

10

20

30

40

50

れ、ある組織型において発現され、ある器官型において発現され、ある発生段階において発現され、その発現および/または活性が疾患あるいは障害の型または段階において変更されるタンパク質、あるいはその発現および/または活性が薬物または他の処理によって変更されるタンパク質、を含むタンパク質の群に属する。

【0069】

本発明の方法およびキットは、単一の試験成分または試験物質と複数の標的成分との間のあるいはそれらのうちの相互作用の検出において使用され得る。好ましくは、本発明の方法は、ハイスループット様式(すなわち、複数の試験成分または試験物質と複数の標的成分との間のあるいはそれらのうちの相互作用の検出において)において使用される。この複数の試験成分または試験物質と複数の標的成分との間の相互作用は、同時に、あるいは連続的に検出され得る。

10

【実施例】

【0070】

(D. 例示的な実施形態)

本発明の特定の好ましい実施形態の1つの目的は、現在利用可能なマイクロアレイ反応デバイスの欠点に対処することである。本発明の特定の好ましい実施形態の別の目的は、簡便であり、高速であり、そして信頼のあるマイクロアレイ反応デバイスをユーザーに提供することである。

【0071】

上記の目的を達成するために、本発明の好ましい実施形態は、以下を備えるマイクロアレイ反応デバイスに関する：a) 第1の複数の突出部を備えるマイクロアレイチップ；b) 第2の複数の突出部を備えるカバー；c) 上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の支持構造；ならびにd) 上記マイクロアレイチップおよび/または上記カバー上の位置決め構造。このデバイスにおいて、複数の反応スペースが、少なくともいくつかの第1の突出部と少なくともいくつかの第2の突出部との間に形成され、上記複数の反応スペースの高さは、実質的に同一であり、上記支持構造体の高さによって制御可能であり、そして上記第1の複数の突出部と第2の複数の突出部との間の反応スペースは、上記位置決め構造体によって制御可能である。

20

【0072】

マイクロアレイ反応デバイスの第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部はさらに、プローブが接着するためのアレイ位置を備え得る。マイクロアレイ反応デバイスにおける複数の反応スペースは、約0.01mm~約1mmの範囲の高さを有し得る。第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、正方形、長方形、円形、楕円形、卵円形、および不規則な形状からなる群より選択される形状を有し得る。第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、約1mm²~約600mm²の範囲の面積を有し得る。第1の複数の突出部および第2の複数の突出部は、同一の形状または異なる形状および/あるいは同一の表面積または異なる表面積を有し得る。

30

【0073】

例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、核酸間の相互作用、タンパク質に関する免疫反応、タンパク質と核酸との間の相互作用、リガンド-レセプター相互作用、ならびに低分子と核酸との相互作用またはタンパク質と核酸との相互作用をアッセイするために使用され得る。

40

【0074】

マイクロアレイチップ、カバー、第1の複数の突出部および/または第2の複数の突出部の表面は、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される物質を含み得る。マイクロアレイチップ、第1の複数の突出部、カバー、第2の複数の突出部、支持構造体および/または位置決め構造体は、モデリング、グルーイング、ダイシング/カッティング、スライシング、陽極接合、超音波溶接、EDMワイヤーカッティングおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法によって作製され得る。

50

【 0 0 7 5 】

例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、以下の利点を有する：1) 小さな表面積を備える第1の複数の突出部の使用によって、より少ないサンプル容積が必要とされ、コスト削減をもたらす；2) 位置決め構造の使用によって、複数の突出部の間の相対位置の制御を確実にし、そして結果として、反応（例えば、ハイブリダイゼーション）液の厚さまたは容積の均一性を確実にする；3) 複数のサンプルがアッセイされる場合、複数の反応（例えば、ハイブリダイゼーション）スペースの存在は、相互汚染を減少させ、そしてアッセイ信頼性を確実にする；4) 位置決め構造の使用によって、プローブを接着させるためのアレイ位置に対する位置を探す必要が無く、従って操作をより簡便にすると同時にアッセイ信頼性を増大させる。

10

【 0 0 7 6 】

例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、疾患予後または疾患診断、生命科学研究、農業および環境モニタリング、食品監査および衛生監査ならびに司法検査において使用され得る。特に、例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、最小の相互汚染で使用され得る。従って、例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、複数のサンプルの同時アッセイに特に適し、そして種々の予後または診断（例えば、複数のマーカー、複数の疾患および/または複数の患者に対する同時アッセイ）において有用である。

【 0 0 7 7 】

図1～図5において示されるように、例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、マイクロアレイチップ(1)、カバー(2)、支持構造(3)および反応スペースを備え得る。反応スペースは、位置決め構造(4)、封着リング(5)および加圧カバーなどを備え得る。このマイクロアレイチップ(1)は、サンプル処理のために使用される。マイクロアレイチップ(1)、カバー(2)、支持構造(3)および位置決め構造(4)は、共同で反応スペースを形成する。

20

【 0 0 7 8 】

マイクロアレイチップ(1)は、2つ以上の突出部(6)を備え得る。カバー(2)は、同数の突出部(7)を備え得る。支持構造(3)および位置決め構造(4)は、マイクロアレイチップ(1)上の複数の突出部とカバー(2)上の複数の突出部との間の相対位置を制御し、制御可能な厚みまたは容積を備える多数の反応スペース(8)を形成するために使用され得る。アッセイ信頼性を評価するために、複数の反応スペースにおいて同一の反応が実施され得る。複数のサンプルまたはマーカーを同時にアッセイするために、複数の反応スペースにおいて、異なる反応が実施され得る。十分な距離またはスペースが、異なる反応スペース間に認められるべきであり、相互汚染を最小化し、そしてアッセイ精度を増大させる。

30

【 0 0 7 9 】

マイクロアレイチップは、シリコン、プラスチック、ガラス、セラミック、ゴム、金属、ポリマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される材料を含み得る。マイクロアレイチップは、モデリング、グルーイング、ダイシング/カッティング、スライシング、陽極接合、超音波溶接、EDMワイヤーカッティングおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される方法によって形成され得る。例えば、マイクロアレイチップの基板および突出部は、両方ともガラスであり得、そして互いに張り合わせられ得る。特殊な接着デバイスが、接着効果を増大させるために使用され得る。接着耐久性を確実にするために、特殊な紫外線接着剤(水、水蒸気、 K_2CrO_4/H_2SO_4 および他の有機溶媒に耐え得る)が、使用され得る。マイクロアレイチップ(1)上の突出部(6)は、サンプル処理のために使用され得、そして正方形、長方形、円形、楕円形、卵円形、および不規則な形状からなる群より選択される形状を有し得る。突出部の表面は、約 1mm^2 ～約 600mm^2 の範囲の面積を有し得る。

40

【 0 0 8 0 】

カバー(2)は、マイクロアレイチップ(1)を作製するための材料および方法と同一のものを使用して作製され得る。カバー(2)は、複数の突出部の別のセットを提供し得

50

、マイクロアレイチップ(1)上に提供される突出部と共に、反応スペース(8)を形成する。さらに、支持構造は、複数の反応スペースの高さを制御するために使用され得る。

【0081】

位置決め構造は、好ましくはプラスチックから作製され、そして好ましくはモールドイングによって作製される。位置決め構造は、マイクロアレイチップ上の複数の突出部とカバー上の複数の突出部との間の相対位置を制御し、正確に反応スペースを形成するために使用され得る。位置決め構造は、封着リング(5)に適合性がある環状溝(9)を、さらに備え得る。封着リングは、好ましくは気密で軟らかい材料(例えば、ゴム)で作製される。

【0082】

図6は、2×3の突出部を有するマイクロアレイチップを備えるマイクロアレイ反応デバイスを図示する。このデバイスは、2つのサンプルをアッセイするために使用され得、そして各サンプルは3回アッセイされ得る。

【0083】

図6に図示される例示的なマイクロアレイ反応デバイスは、核酸間の相互作用、タンパク質に関する免疫応答、タンパク質と核酸との間の相互作用、リガンド-レセプター相互作用、ならびに低分子とタンパク質または核酸との相互作用のアッセイにおいて使用され得る。このデバイスは、80℃までの反応温度に耐え得る。このデバイスはまた、液体洗浄に耐え得る。

【0084】

サンプルAと突出部A上のプローブとの間の反応、およびサンプルBと突出部B上のプローブとの間の反応を、図7に図示する。各突出部のセット内のプローブは、同一である。サンプルA中の核酸にハイブリダイズすることが可能なプローブを、それぞれの突出部Aに接着する(最初の2列、合計10の平行位置)。サンプルB中の核酸にハイブリダイズすることが可能なプローブを、それぞれの突出部Bに接着する(3列目および4列目、合計10の平行位置)。反応を、65℃で1時間行った。サンプル核酸を、蛍光色素Cy5で標識した。このCy5色素は、635nmで走査装置によって励起され得、675nmで蛍光を示し、これはサンプル中の標的核酸に正比例する。走査のパラメータは以下の通りであった:レーザー、80%;光電子増倍管、80%;および検出限界、10μm。図7Aは、サンプルAと突出部A上のプローブとの反応後の蛍光走査スペクトルを示す。1列目および2列目のみが、検出可能なシグナルを有する。図7Bは、サンプルBと突出部B上のプローブとの反応後の蛍光走査スペクトルを示す。3列目および4列目のみが、検出可能なシグナルを有する。これらの結果は、シグナルが均質であり、そして相互汚染が無かったことを示す。

【0085】

以下は、例示的なデバイスを用いる、例示的な操作手順を説明する:1)アッセイされるべきサンプルに従って、各突出部上のプローブ位置を決定し、適切なサンプル処理デバイスを用いて、規定の位置にプローブを接着させる;2)突出部上に、同一かあるいは異なるサンプルを適用する;3)反応を進行させるために、カバーを適用および閉じる;ならびに4)反応終了後にカバーを洗浄し、そして蛍光走査装置でマイクロアレイチップを分析する。

【0086】

上記の実施例は、例示的な目的のために包含され、本発明の範囲を制限することを意図しない。上に記載されるものに対する多くのバリエーションが、可能である。上に記載される実施例に対する改変およびバリエーションは、当業者に明らかであるので、本発明は添付の特許請求の範囲によってのみ制限されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【0087】

【図1】図1は、例示的なマイクロアレイ反応デバイスの種々の構成要素を示す。

【図2】図2は、マイクロアレイチップ上の複数の突出部と、カバースリット上の複数の

10

20

30

40

50

突出部との間に形成された反応スペースを示す。

【図3】図3は、図1において図示されたマイクロアレイチップの3次元の図である。

【図4】図4は、図1において図示されたカバースリップ上の例示的な支持構造の3次元の図である。

【図5】図5は、図1において図示された例示的な位置決め構造の3次元の図である。

【図6】図6は、2×3の突出部を有する例示的なマイクロアレイチップの3次元の図である。

【図7】図7は、例示的なマイクロアレイ反応デバイスを用いる2つの異なるサンプルの分析の、蛍光走査結果を示す。

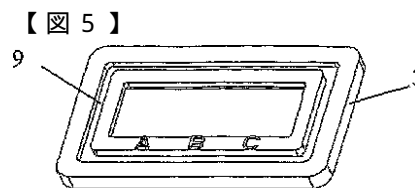
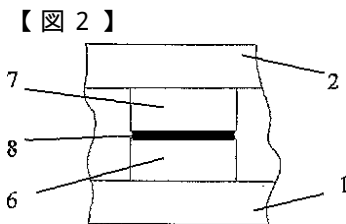
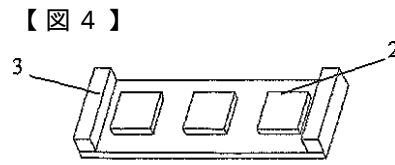
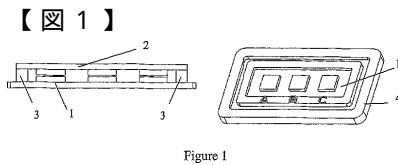


Figure 2

Figure 5

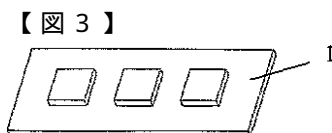


Figure 3

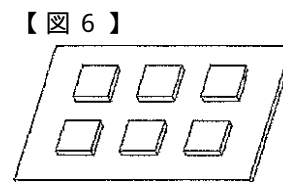


Figure 6

【 図 7 】



Figure 7

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 1 2 M 1/00 A

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 シン, ワンリ

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベイジン, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユニバーシティ

(72)発明者 シャン, フェイジュン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベイジン, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユニバーシティ

(72)発明者 ワン, シャンファ

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベイジン, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユニバーシティ

(72)発明者 チェン, ジン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベイジン, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユニバーシティ

審査官 高 見 重雄

(56)参考文献 米国特許第6485918(US, B1)

米国特許第6258593(US, B1)

国際公開第01/2094(WO, A1)

米国特許第6403368(US, B1)

米国特許出願公開第2002/0102186(US, A1)

米国特許出願公開第2002/0155481(US, A1)

特開平11-099000(JP, A)

特開平10-185923(JP, A)

特表平06-507486(JP, A)

特開2003-107198(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53

C12M 1/00

C12N 15/09

C12Q 1/68

G01N 37/00

专利名称(译)	具有可控反应体积的微阵列装置		
公开(公告)号	JP4230460B2	公开(公告)日	2009-02-25
申请号	JP2004568369	申请日	2003-03-28
[标]申请(专利权)人(译)	博奥生物芯片有限责任公司 清华大学		
申请(专利权)人(译)	博奥生物芯片有限责任公司 Tsuinfa大学		
当前申请(专利权)人(译)	首都生物公司 Tsuinfa大学		
[标]发明人	シンワンリ シャンフェイジュン ワンシャンファ チェンジン		
发明人	シン, ワンリ シャン, フェイジュン ワン, シャンファ チェン, ジン		
IPC分类号	G01N33/53 G01N37/00 C12Q1/68 C12N15/09 C12M1/00 B01L3/00 C40B30/04 C40B40/06 C40B40/10 C40B40/12 G01N33/68		
CPC分类号	C40B30/04 B01J2219/00509 B01J2219/00542 B01J2219/00574 B01J2219/00576 B01J2219/00585 B01J2219/00596 B01J2219/00605 B01J2219/0061 B01J2219/00612 B01J2219/00621 B01J2219/00657 B01J2219/00659 B01J2219/00662 B01J2219/00722 B01J2219/00725 B01J2219/00731 B01L3/50853 B01L2300/0636 B01L2300/0809 B01L2300/0822 B01L2400/0406 C12Q1/6837 C40B40/06 C40B40/10 C40B40/12		
FI分类号	G01N33/53.D G01N37/00.102 G01N33/53.M C12Q1/68.A C12N15/00.F C12M1/00.A		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	03104663.0 2003-02-20 CN		
其他公开文献	JP2006514285A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明一般涉及微阵列反应装置及其用途领域。特别是，本发明提供了一种微阵列反应装置，其中在第一和第二多个突起之间形成多个反应空间，多个反应空间的高度基本相同并且可以通过支撑结构和第一和第二多个突起之间的距离来控制相对位置可以通过定位结构来控制。还提供了用于测定使用的产品的分析物的方法，以及包括微阵列反应装置，微阵列反应装置。

【 图 4 】

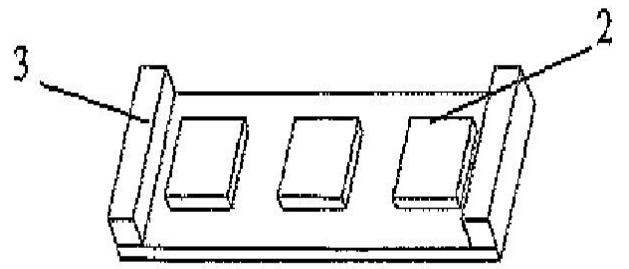


Figure 4