

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4887298号
(P4887298)

(45) 発行日 平成24年2月29日(2012.2.29)

(24) 登録日 平成23年12月16日(2011.12.16)

(51) Int.Cl.	F 1	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	
GO 1 N 35/10 (2006.01)	GO 1 N 37/00	1 0 2
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 35/06	C
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	GO 1 N 33/53	M
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	

請求項の数 17 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-534910 (P2007-534910)
 (86) (22) 出願日 平成17年10月4日(2005.10.4)
 (65) 公表番号 特表2008-516199 (P2008-516199A)
 (43) 公表日 平成20年5月15日(2008.5.15)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/035860
 (87) 国際公開番号 W02006/041938
 (87) 国際公開日 平成18年4月20日(2006.4.20)
 審査請求日 平成20年5月2日(2008.5.2)
 (31) 優先権主張番号 60/615,882
 (32) 優先日 平成16年10月4日(2004.10.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 506115514
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
 ティ オブ カリフォルニア
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 607 オークランド フランクリン ス
 トリート 1111 トゥエルフス フロ
 ア
 (74) 代理人 100100158
 弁理士 鮫島 睦
 (74) 代理人 100068526
 弁理士 田村 恭生
 (74) 代理人 100138863
 弁理士 言上 恵一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アドレス可能な生化学分析のためのマイクロパレットを有する微細パターン化プレート

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

上面を有するプレートと、
 該プレートの上面に取り付けられ当該上面から上方に延びる取り外し可能なパレットの
 アレイと、

前記パレットの位置において前記プレートにレーザーパルスを印加し前記プレートから
前記パレットを取り外すレーザーと、を備える、アドレス可能な生化学分析のためのシス
テム。

【請求項 2】

前記取り外し可能なパレットのアレイにおけるパレットが、マイクロパレットである、
 請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 3】

さらに、前記取り外し可能なパレットの上面に配置されたサンプルサイトを有し、該サ
 ンプルサイトは生体サンプルを受容するよう構成されたことを特徴とする、請求項 1 に記
 載のシステム。

【請求項 4】

前記プレートに連結されたキャップをさらに備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記キャップが流体チャネルを備える、請求項 4 に記載のシステム。

【請求項 6】

前記プレートが、取り外し可能なパレットの位置において透明である、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 7】

上面を有するプレートと、

1 以上のパレット側面、パレット上面、及びパレット底面を有し、前記パレット底面は前記プレートの上面に取り外し可能に連結され、前記パレット上面は前記プレートの上面から上方へ延びるパレットのアレイと、

1 以上のサンプルを受容するよう構成された 1 以上のパレット上面上に配置されたサンプルサイトであって、1 以上のパレット側面及びプレート上面と異なる上面を有するサンプルサイトと、

10

前記パレットの位置において前記プレートにレーザーパルスを印加し前記プレートから前記パレットを取り外すレーザーと、を備える、アドレス可能な生化学分析のためのシステム。

【請求項 8】

前記サンプルサイトが、分析されるサンプルを捕捉するように適合されている、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 9】

前記サンプルサイトが、分析されるサンプルの付着を可能にするように適合されている、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 10】

20

前記プレートが第一の材料から形成され、前記パレットが第二の材料から形成されている、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 11】

前記プレートの上面及び前記 1 以上のパレット側面上において疎水性層をさらに含む、請求項 10 に記載のシステム。

【請求項 12】

前記プレートが微細パターン化されて、該プレートの上面上に、パレットのアレイが形成された、請求項 11 に記載のシステム。

【請求項 13】

プレート上の特定の部位に配置されたパレットに生体物質のサンプルを付着させる工程と、

30

該プレートをスクリーニングして、目的のサンプルを同定する工程と、

該目的のサンプルを含むパレットを、高エネルギーのレーザーパルスを特定の部位へ向けることにより、該プレート上の特定の部位から取り外す工程と、
を包含する、方法。

【請求項 14】

前記浮動しているパレットを収集する工程をさらに包含する、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記サンプルが細胞を含む、請求項 14 に記載の方法。

40

【請求項 16】

前記遊離された細胞から新規の細胞培養物を増殖させる工程をさらに包含する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

DNA 鎖に対する標的として働くオリゴヌクレオチドがスポットティングされたパレットをプレート上の特定の部位へ配列する工程と、

プレート 80 の一面にわたって DNA を分散させる工程と、

該 DNA をハイブリダイズさせ、特定の部位において、該 DNA とオリゴヌクレオチド標的とを一致させる工程と、

該プレートをスクリーニングして、目的の DNA を同定する工程と、

50

該目的のDNAを含むパレットを、高エネルギーのレーザーパルス将该パレットへ向けることにより取り外す工程と、
を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、生化学分析に関し、より詳しくは、アドレス可能な生化学分析を容易にする、マイクロパレットを有する微細パターン化(micropatterned)プレートに関する。

10

【背景技術】

【0002】

(背景)

従来のシステムは、生体物質を表面上に整列させて配置することを可能にする。特定の位置に物質を機械的に置く(「スポッティング(spotting)」)か、物質を収集する空洞(マイクロウェル)を構築するか、特定の領域内の表面を処理するか、またはこれらの方法の組み合わせにより、物質を配置することができる。これらの技術の大半は、生細胞に対して奏功しない。一旦配置したら、さらなる分析のためにも処理のためにも、サンプルを取り外すことはほとんどできない。

【0003】

20

接着性細胞は、代表的に、これらを表面上にプレートし、その後顕微鏡を使用してそれらを探すことにより分析される。細胞の位置はランダムであり、その結果、細胞を見つけることは、時間のかかるプロセスとなり得る。このことを迅速化するために、機械視覚(machine vision)を利用するロボットシステムが、顕微鏡像の視野内に細胞を見つけるために時折使用される。いくつかの場合において、細胞の部分集合は、以下の方法により単離される：犠牲的な(sacrificial)基層をプレート上に配置する。細胞を、この基層上に増殖させる。高出力のレーザーを使用して、犠牲的な層を通して目的の細胞の周りの円を切り出す。この犠牲的な層をはがすことによってか、または高出力のレーザーパルスを使用して、プレートから切断された物質(細胞を保持する)を飛び出させる(catapult)ことによって細胞を単離することができる。

30

【0004】

非接着性細胞は、細胞の流れが検出装置を通過して迅速に流れるフローサイトメトリを使用して、迅速に分析することができる。目的の細胞は、下流の静電的なシステムにより分別され得、この静電的なシステムは、小滴を収集容器へ動かし得る。また、この方法は、他の生体媒質(例えば、タンパク質およびDNA)が小さなビーズに付着し得る場合に、これらにも働く。この方法は、より大きなサンプル(例えば、多細胞生物)には奏功せず、多重化するのが困難である。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0005】

40

(要旨)

本発明は、プレートを提供し、このプレートは、サンプルについてアドレス可能な分析を実行する目的のために、このプレート上の特定の位置(本明細書では、サイトと呼ぶ)に、細胞、微生物、タンパク質、DNA、生体分子および他の生体媒質(本明細書では、サンプルと呼ぶ)を配置することができる様式で製造される。さらに、本発明にしたがって、一部または全部のサイトは、取り外し可能な材料(本明細書では、パレットと呼ぶ)から構築され、その結果、目的のサンプルの部分集合を、さらなる処理または分析のために、プレートから容易に単離することができる。プレートは、サンプルの付着および/または機能を増大または促進し、そしてそれらの分析を促進または補助する構造または化学処理を含み得る。また、プレートは、プレートと外部機器との間の連結を補助する構造も

50

含み得る。また、プレートは、サンプルのために適切な化学的状態を維持するような補助的な操作を支援する追加の構造も含み得る。

【0006】

本発明は、以下を有利に提供する：(1) 既知の位置にサンプルを付着させることを意図される、その上にパターン化された構造(サイト)を有するプレート、(2) サンプルについての分析を実行する能力を改善するために、処理されるか、またはさらにパターン化される構造およびプレート、(3) レーザー切断を必要とせず、かつ遊離したサンプルを容易に収集することができるように、必要に応じて取り外し可能なサイト、(4) さらに微細パターン化特徴(例えば、アレイプレートの操作を補助する構造要素、電極および光学的なエンコーダ)、(5) 従来のカセットまたはトレイにおける、これらのサイトの配置、ならびに(6) 特殊化されたカセットまたはトレイにおける、これらのサイトの配置。それゆえ、本発明は、生物学的なサンプルおよび化学的なサンプルのアドレス可能な高速分析、ならびにサンプルのより大きな集団からサンプルの部分集合を単離するのに効率的な方法を可能にする。

10

【0007】

さらに、本発明の目的および利点は、以下の詳細な説明から明らかとなる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

(好ましい実施形態の詳細な説明)

アドレス可能な生化学分析を容易にするマイクロレットを有する、改善された微細パターン化プレートを提供するために、以下に開示される、さらなる特徴および教示の各々を個別に使用しても、他の特徴および教示と組み合わせて使用してもよい。本発明の代表的な実施例(これらの実施例は、多くのこれらのさらなる特徴および教示を、個別および組み合わせての両方で使用する)は、添付の図面を参照して、ここでさらに詳細に記載される。この詳細な説明は、本教示の好ましい局面を実施するために、単に当業者にさらなる詳細を教示することを意図され、本発明の範囲を限定するとは意図されない。したがって、以下の詳細な説明に開示される特徴および工程の組み合わせは、最も広い意味において本発明を実施するのに必要とされ得ず、その代わりに、単に本教示の代表的な実施例を詳しく記載するために教示される。

20

【0009】

さらに、代表的な例および従属する特許請求の範囲の種々の特徴は、本教示のさらなる有用な実施形態を提供するために、具体的かつ明示的には列挙されない方法で組み合わせてもよい。加えて、元の開示の目的のため、ならびに、実施形態および/または特許請求の範囲内の特徴の構成から独立した、特許請求される目的の事項を限定する目的のために、本説明および/または特許請求の範囲に開示される全ての特徴が個別かつ互いに独立して開示されるよう意図されることに明確に留意される。また、元の開示の目的ならびに特許請求される目的の事項を限定する目的のために、実体の群についての全ての値の範囲または指標が、全ての可能な中間値または中間の実体を開示することにも明確に留意される。

30

【0010】

本発明は、以下を有利に提供する：(1) 既知の位置にサンプルを付着させることを意図される、その上にパターン化された構造(サイト)を有するプレート、(2) サンプルについての分析を実行する能力を改善するために、処理され得るか、またはさらにパターン化され得る構造およびプレート、(3) レーザー切断を必要とせず、かつ遊離したサンプルを容易に収集することができるように、必要に応じて取り外し可能なサイト、(4) さらに微細パターン化特徴(例えば、アレイプレートの操作を補助する構造要素、電極および光学的なエンコーダ)、(5) 従来のカセットまたはトレイにおける、これらのサイトの配置、ならびに(6) 特殊化されたカセットまたはトレイにおける、これらのサイトの配置。それゆえ、本発明は、生物学的なサンプルおよび化学的なサンプルのアドレス可能な高速分析、ならびにサンプルのより大きな集団からサンプルの部分集合を単離する

40

50

のに効率的な方法を可能にする。

【0011】

本発明のシステムは、一つのみまたは数個のサンプルを付着させることのできる取り外し可能な領域を有利に提供する。これらの領域はアドレス可能である。なぜなら、それらの位置は事前に知られているからである。光学的なエンコーダおよび電極などにより、本発明を外部計測手段に連結することを容易にし、このことは高速かつアドレス可能な細胞アッセイを可能にする。機械により、プレートを動かして、顕微鏡下で任意のアドレス可能なサイトに位置づけることができる。画像化 (i m a g i n g) のために、高倍率の対物レンズを使用することができる。なぜなら、(多くの細胞からなる広い視野とは対照的に) 一つのサイトのみが画像化されるからである。細胞のために、このことは、現在利用可能なものに比べ、はるかに迅速な分析を可能にする。

10

【0012】

したがって、このパターン化システムを既存のトレイまたはカセット (例えば、標準的なウェルプレート) 内に配置する場合、高スループットの機器は、高速の細胞分析から恩恵を受けることができる。標準的なピペティング (p i p e t t i n g) 装置および操作装置を使用することができる。

【0013】

このシステムを、その表面に付着する分子、化合物、細胞、生物、生体媒質および化学的な媒質、ならびに表面に付着しないサンプルとともに使用することができる。空洞または他の捕捉デバイスを使用して、非接着性のサンプルを位置づけることができる。

20

【0014】

また、本発明のシステムは、サンプルのポジティブ選択についての課題も解決する。アレイ上の取り外し可能なパレットは、さらなる処理のために、プレートから迅速かつ選択的にサンプルを取り外すことを可能にする。取り外し可能なパレットを使用することは、サンプルの周りを切断する必要をなくし、速度とスループットとを大幅に高める。その一方で、サンプルを選択する複雑性は低減される。これらのパレットは、プレート上に配列されるので、高速の分析およびサンプルの選択を、フローサイトメトリに匹敵する速度で、かつはるかにより単純な様式で実行することができる。

【0015】

図1Aに示されるように、本発明は、基本的に、取り外し可能なサイト13 (パレット12と呼ぶ) のアレイを有するプレート10を提供する。好ましい実施形態において、プレート10またはパレット12は、プレートとパレットとの操作をさらに向上させる改変を含む。

30

【0016】

好ましい実施形態において、プレート10は、サンプル14についてのアドレス可能な分析を実行する目的のために、細胞、微生物、タンパク質、DNA、生体分子および他の生体媒質 (本明細書において、サンプルと呼ぶ) を、プレート10上の特定の位置 (本明細書において、サイト13と呼ぶ) に配置することができる様式で製造される。さらに、一部または全てのサイト13は、好ましくは、取り外し可能な材料 (本明細書において、パレット12と呼ぶ) から構築され、その結果、さらなる処理または分析のために、目的のサンプル14の部分集合をプレート10から容易に単離することができる。プレートは、サンプル14の付着および/または機能を増大または促進し、そしてそれらの分析を促進または補助する構造または化学処理を含み得る。また、プレート10は、プレート10と外部機器との間の連結を補助する構造も含み得る。また、プレート10は、サンプルのために適切な化学的状态を維持するような補助的な操作を支援する追加の構造も含み得る。

40

【0017】

図1Bを参照して、示される微細パターン化プレート10は、特定のアドレス可能なサイト (すなわち、パレット12) に付着されたサンプル (細胞) 14を含む。この実施形態において、サンプル14を検出器16の下の位置へ迅速に動かすにつれて、他の検出器

50

の顕微鏡 16 を使用してサンプル 14 を画像化する。他の検出スキームを使用することができる。サンプルは、小さく、薄いパレット 12 へ付着され、このパレット 12 は、サイト 13 においてプレート 10 に接着する。パレット 12 を使用することは任意であるが、単一の目的のサンプルを単離するのに有益である。パレット 12 を後に取り外すことができ、実験者が目的のサンプルを単離することを可能にする。

【0018】

図 1 A に示されるように、プレート 10 は、その表面上に調製されたサイト 13 のアレイを有し、この表面は、好ましくは、プレート 10 のバルクの材料とは異なる特性を有する。サイト 13 は、各々のサイト 13 に数個または単一の細胞、微生物、生体分子、他の生体媒質または化学的な媒質（本明細書において、サンプル 14 と呼ぶ）を捕捉するのに十分に小さいことが意図される領域である。

10

【0019】

サイト 13 は、第二の材料（本明細書において、パレット 12 と呼ぶ）から構成され得、これらは、サンプル 14 を保持しながら支持プレート 10 から取り外すことができる。パレット 12 を、種々の機構により取り外すことができ、その結果、サンプル 14 の支持パレット 12 を取り外すことによって、プレート 10 からサンプル 14 を単離および取り外すことができる。サイト 13 は、表面の化学的性質を局所的に改変することによってか、表面を物理的に変更することによって調製され得る。プレート 10 は、単一のサンプル 14 または少数のサンプル 14 を各々のサイト 13 に収集することを可能にする。続いて、各々のサイト 13 は、画像化され得るか、または光または他のエネルギー（例えば、磁気エネルギー、電気エネルギー、力学的エネルギー、熱エネルギー）により調べられ得、サイト 13 に捕捉されたサンプル 14 の特性を決定し得るか、またはサイト 13 のサンプル 14 を改変し得る。さらに、目的のサンプル 14 を含むサイト 13 は、さらなる分析または処理のため、プレート 10 から単離するために、プレート 10 から取り外すことができる。また、パレット 12 は、プレート 10 から取り外した後のパレット 12 の移動または配置を補助する構造も含み得る。

20

【0020】

パレット 12 は、任意の適切な手段により取り外され得る。例示的な方法としては、以下が挙げられる：プレート 10 からパレット 12 を機械的に押すか、もしくは持ち上げること、限局性の熱もしくは光を使用して、パレット 12 の接着特性を変化させること、音響性ショック（acoustical shock）もしくは機械的ショックを使用して、プレート 10 からパレット 12 を取り外すこと、高エネルギーのレーザーパルスを使用して、プレート 10 からパレット 12 を取り外すこと、およびパレット 12 の電気特性または磁気特性を変化させることなど。

30

【0021】

図 2 を参照して、レーザー 18 からのレーザーパルス 17 を使用するパレットの取り外しの例が示される。示されるように、サンプル 14 のポジティブ選択は、プレート 10 からサンプル 14 を含むパレット 12 を解放することにより達成される。先に留意されるように、パレットを解放する他の方法（力学的エネルギー、電気エネルギー、熱エネルギー、光学エネルギー、磁気エネルギー）を使用してもよい。解放されたパレット 12 は、収集のために下流に流されても、他の手段（例えば、デカントまたはピペッティング）により収集されてもよい。

40

【0022】

好ましくは、サイト 13 は互いに密接に形成され、その結果、プレート 10 を分析装置の下で移動させて、多くのサイト 13 の分析を迅速に実行することができる。例えば、サイト 13 を 0.1 mm ずつ離して配置する場合、プレート 10 を 50 mm / 秒で移動させて、毎秒 500 個のサンプルを分析することができる。サンプル 14 を、任意の種々の数の方法によりサイト 13 へ付着させることができる。例えば、サイトに付着するまで、生細胞を培地中に浮かべさせることができる。残存する細胞を洗い流し得、迅速に画像化し得る細胞のアドレス可能なアレイが残り得る。また、従来の方法（例えば、スポットイン

50

グ、シルクスクリーン、ステンシル (stenciling)、リソグラフィ、光学的な操作または機械的な付着) を使用して、サイトにサンプルを付着させることもできる。

【0023】

サイト13は、矩形または他の一定のパターン(例えば、六角形、円、直線など)を形成しても、ランダムな方向に置いてよい。パターン化サイトを、例えば、マルチウェルプレートの底部における、より大きな構造内に配置することができる。パターン化プレートは、他の構造がその中に配置されることを可能にし得、他の機能(例えば、異なるサンプルがプレートの異なる領域へ導入されることを可能にする一過的な仕切り、またはサイトを横切ったの緩衝液の流れを促進する流体構造(例えば、チャネル)(図3に示される)の使用)を促進し得る。

10

【0024】

図3を参照して、微細パターン化プレート20が、特定のアドレス可能なサイト23に付着されたサンプル24(生物)とともに示される。この実施形態において、プレート20上の3-D構造を持つパターン25は、特定のサイトにおいてサンプル24の収集を補助し、ここで、サンプル24は、各々のサイト23において、プレート20に直接付着されても、小さなパレット22にされてもよい。

【0025】

表面の物理的な形状は、サイトにおける捕捉を増大する(かつ、サイトではない部分では増大しない)ようにか、または分析を改善するように改変され得る。例えば、サイト(図4の33を参照のこと)は、支柱の頂部に形成され得る。このことは、サイトではない部分が、顕微鏡画像化システムの焦点が外れており(図4の35を参照のこと)、画像中のバックグラウンドを低減する利点を提供する。他の例は、サンプルをその中に捕捉する空洞またはプレート上の不透明な領域を含み得る。

20

【0026】

外部機器へのプレートの連結を容易にするために、他の特徴をプレートに追加してもよい。例えば、配置を容易にするために、光学的なエンコーダデバイス、電極デバイスまたは磁気デバイスをプレート上に備えてもよく、増殖状態を試験するために、センサーを使用してもよく、光学的な調整のための基準の目印が含まれていてもよい、など。

【0027】

上記の改良(enhancement)のいくつかは、図4に示される。図4に示されるように、微細パターン化プレート30は、特定のアドレス可能なサイト33におけるパレット32または支柱に付着したサンプル(細胞)34を含む。この実施形態において、サンプル34が対物レンズ36の下の位置に迅速に移動されるにつれて、顕微鏡の対物レンズ36を使用して、「焦点が合っている(in focus)」サンプル34を画像化する。含まれる他の特徴としては、パターン化された電極37、パターン化された不透明な領域38、および外部から適用される電場39(これは、目的の特定の細胞を溶解するために使用され得る)が挙げられる。

30

【0028】

また、サイトの化学的な特性は、サイトにおける捕捉を増大する(かつ、サイトではない部分では増大しない)ようにか、分析を改善するように改変され得る。例えば、表面の化学的性質は、一部の領域を疎水性にし、他の領域を親水性にして疎水性サイトにおける細胞の接着を増大するように改変され得る。また、表面の化学的性質を使用して、プレートのサイトではない部分を不透明にし、サイトの領域を透明にして、光学的な画像化の向上のための局所的な開口部を提供することができる。

40

【0029】

サイトのアレイは、既存の工業規格のトレイおよびカセット内に作製され得る。例えば、サイトは、マルチウェルプレートの底部内に製造され得、工業規格の装置に高速のアドレス可能なアッセイを提供し得る(例えば、図5を参照のこと)。また、サイトのアレイは、カートリッジの特注のシステム内に作製され得る。特注のカートリッジの例は、図6に示される。

50

【0030】

図5に示されるように、微細パターン化プレート40は、マルチウェルプレート41の単一のウェル47の底部に配置され、従来のツールをプレート40とともに使用することを可能にする。微細パターン化プレート40は、複数のサイト43（これらは、サンプル44を有する）を形成する複数のパレット42を備える。緩衝溶液で、この単一のウェルを満たす。

【0031】

図6に示されるように、流体キャップ(fluidic cap)55に装着された一過的または恒久的な仕切り51を備える微細パターン化プレート50が示され、この仕切り51により、異なる型または過程のサンプル54をプレート50上の異なる位置にプレートすることが可能となる。このことにより、多重化された分析を単一のプレート上で行うことが可能となる。また、仕切り構造51は、解放されたパレット52の抽出のために、サンプル領域を覆っての緩衝液の流れを促進し得る。

10

【0032】

図7Aおよび図7Bを参照して、接着性細胞のスクリーニングおよび培養のために、パレットプレートを使用するプロセスにおける工程が示される。この例は、どのようにして開示されるシステムを使用して、細胞の大規模な収集物から希少な細胞をスクリーニングし得るかを示す。例えば、接着性細胞は患者の生検から取得され得、そして開示されるシステムを使用して、異常または悪性な挙動を示す細胞を探索し、選択することができる。または、接着性細胞は、細胞にトランスフェクトすることが期待されるDNAベクターにより処理され得、そしてこのシステムを使用して、適切にトランスフェクトされた細胞を見出し、単離することができる。

20

【0033】

例示的なプロセスにしたがって、工程1において、適切なプロトコールにより細胞60は事前に処理される。次に、工程2において、細胞60はプレート70の一面にわたって分散され、複数のサイト73において、プレート70またはパレット72に付着させる。このことを、示されるマルチウェルプレート62内で行っても、単一のウェルプレート内で行ってもよい。工程3において、細胞は、サンプル74として、プレート70またはパレット72に付着する。プレートは処理され、かつパターン化されているので、細胞は特定のサイトに付着しやすい。続いて、工程4において、好ましくは、プレートは洗浄され、好ましくは、さらなるアッセイ作業を実行して、目的の細胞を標識する。工程5において、プレートは、検出器76によりスクリーニングされ、細胞の集団についての統計情報を取得し、目的の細胞を同定する。工程6において、目的の細胞を含むパレット72aは、好ましくは、例えば、レーザー78からの高エネルギーのレーザーパルス77によって、プレートから取り外される（解放される）（サンプル74）。次に工程7において、浮動しているパレット72aを緩衝溶液から収集する。工程8において、新規の細胞培養物が解放された細胞74から増殖する。

30

【0034】

ここで図8Aおよび図8Bを参照して、DNAのスクリーニングのために、パレットプレートを使用するプロセスにおける工程が示される。この例は、どのようにして開示されるシステムを使用して、DNAの大規模な収集物から希少なDNA鎖をスクリーニングし得るかを示す。例えば、未知の疾患を生じる因子をDNAプレートに対してスクリーニングして、目的の鎖を選択することができる。次に、目的の鎖を単離し得、PCRを実行してそれらをさらなる分析のために増幅することができる。プロセスの工程は、以下の通りである：工程1において、プレート80は、特定のサイト83においてオリゴヌクレオチド（これらは、DNA鎖に対する標的として働く）によりスポットされる。また、このオリゴは、コントロールとして働くように調製される。

40

【0035】

工程2において、DNA85は、サンプルから取得され、適切なプロトコールにしたがって変性および事前に処理される。工程3において、DNA85は、プレート80の一面

50

にわたって分散され、特定のサイト 83 において、それらと一致する標的とハイブリダイズさせる。工程 4 において、プレートを徹底的に洗浄し、未結合の DNA を除去する。さらなるアッセイ作業を行い、目的の DNA を標識する。次に、工程 5 において、プレートは、サンプルの統計分析のために検出器 86 によりスクリーニングされ、目的の DNA を同定する。工程 6 において、目的の DNA 84 を含むパレット 82 a は、レーザー 88 からの高エネルギーのレーザーパルス 87 によって、プレートから取り外される（解放される）。工程 7 において、浮動しているパレットを緩衝溶液から収集する。工程 8 において、DNA 84 を、パレットから変性させ、PCR 反応で使用するサンプルを増幅する。

【0036】

図 9 を参照して、自動化アッセイ用の一体型パレットプレートカセット 90 が示される。この例は、どのようにして開示されるシステムが他のシステムに統合され得、自動化カートリッジシステムを生成し得るかを示す。図 9 に示されるように、一体型パレットプレートカセット 90 は、プレート 99 上に 3 つのアレイで形成される複数のパレット 92 を有するマイクロパレットプレート 99、およびその裏面に形成される小さなチャンネル 95 を有する流体キャップ 91 を備える。キャップ 91 は、マイクロパレットプレート 99 と係合し、パレット 92 の一面にわたって緩衝液を流す。

【0037】

図 10 A ~ 図 10 M を参照して、微細機械加工された (micro-machined) 一体型パレットプレートカセット 100 を使用するプロセスが示される。カセット 100 は、好ましくは、細胞培養のための解放可能なパレット 102 の予めセットされた (pre-set) アレイを含むパレットプレート 109 を備え、パレット 102 は、ガラスなどから形成されるプレート 109 の上に解放可能に配置される。パレット 102 は、好ましくは、パレット 102 の中央における細胞の増殖を促進するように処理される。カセット 100 を使用する前にパレット 102 の位置が既知であるように、好ましくは、パレット 102 はインデックス (例えば、バーコード) をつけられる。

【0038】

図 10 B および図 10 C において、キャップ 101 は、アクセスホール 107 を表面に有するプレート 109 を閉じ込める。図 10 D において、細胞はプレート 109 の一面にわたって分散され、特定のサイト 10 においてプレートに付着させる。次に、図 10 E に示されるように、プレート 109 は、サンプルの統計分析のために検出器 106 によりスクリーニングされ、目的の細胞を同定する。図 10 F に示されるように、目的の細胞を含むパレット 102 a は、レーザー 108 からの高エネルギーのレーザーパルスによって、プレート 109 から取り外される（解放される）。図 10 G に示されるように、浮動しているパレット 102 a は、プレート 109 の端に向かう緩衝溶液から収集される。図 10 H において、さらなる目的の細胞を含む第二のパレット 102 b は、レーザー 108 からの高エネルギーのレーザーパルスによって、プレート 109 から取り外される（解放される）。図 10 I に示されるように、浮動しているパレット 102 b は、プレート 109 の端に向かう緩衝溶液から収集される。図 10 J および図 10 K に示されるように、パレット 102 a およびパレット 102 b は、抽出機 110 を使用して、アクセスホール 107 を通して抽出される。図 10 L および図 10 M に示されるように、新規の細胞培養物が解放された細胞から増殖する。

【0039】

図 11 に示されるように、カセット 170 は、ガラスなどから形成された基板またはプレート 179、およびキャップ 171 を備える。プレート 169 は、プレート 179 上に配置されたマイクロパレット 172 のアレイ (例えば、500,000 個 (50 x 50 ミクロン) のパレットサイトを提供する) を備え得る。カセット 170 は、画像化、蛍光分析およびソーティングなどのための顕微鏡付属部品 (attachment) 150 とともに使用され得る。高容量のスクリーニングおよび細胞の選択のために、コンピュータ 160 上で提供される分析ソフトウェアを使用することができる。パレット抽出機を使用して、カセット 170 から選択されたパレットを抽出することができる。

10

20

30

40

50

【0040】

本発明は、種々の改変および代替的な形態を許容する一方で、その特定の実施例を図面中で示し、本明細書において詳細に記載した。しかしながら、本発明が開示される特定の形態にも方法にも限定されないが、反対に、本発明は、添付の特許請求の意図および範囲内の全ての改変、等価物および代替物を包含することが理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】図1Aは、マイクロパレットのアレイを有するマイクロパレットプレートである。図1Bは、パレットの特定のアドレス可能なサイトに付着されたサンプル（細胞）を有する微細パターン化プレートの側面図である。

10

【図2】図2は、微細パターン化プレートの別の実施形態についての側面図であり、プレートからサンプルを含むパレットを解放することによる、サンプルのポジティブ選択を示す。

【図3】図3は、特定のアドレス可能なサイトに付着されたサンプル（生物）を有する、微細パターン化プレートの別の実施形態についての側面図である。

【図4】図4は、特定のアドレス可能なサイトに付着されたサンプル（細胞）を有する微細パターン化プレートの別の実施形態についての側面図である。

【図5】図5は、マルチウェルプレートの単一のウェルの底部に配置される微細パターン化プレートの別の実施形態についての側面図であり、これは、従来のツールをこのプレートとともに使用することを可能にする。

20

【図6】図6は、異なる型または過程のサンプルをプレート上の異なる位置または異なるチャンネル内にプレートすることを可能にする、一過的または恒久的な仕切りの使用を示すプレートの側面図である。

【図7A】図7Aおよび図7Bは、接着性細胞のスクリーニングおよび培養のためのパレットプレートを使用するプロセスにおける工程を示す。

【図7B】図7Aおよび図7Bは、接着性細胞のスクリーニングおよび培養のためのパレットプレートを使用するプロセスにおける工程を示す。

【図8A】図8Aおよび図8Bは、DNAスクリーニングのためのパレットプレートを使用するプロセスにおける工程を示す。

【図8B】図8Aおよび図8Bは、DNAスクリーニングのためのパレットプレートを使用するプロセスにおける工程を示す。

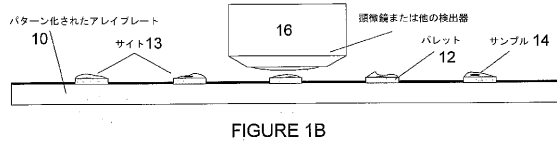
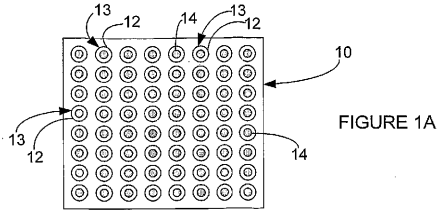
30

【図9】図9は、自動化アッセイのための一体型パレットプレートカセットの斜視図である。

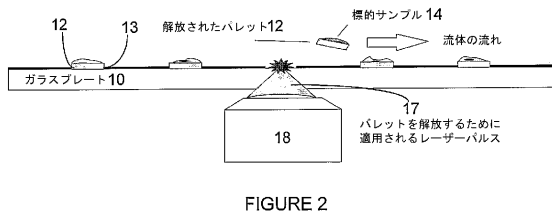
【図10】図10A～図10Mは、サンプルのスクリーニングおよび培養のための一体型パレットプレートカセットを使用するプロセスにおける工程を示す。

【図11】図11は、マイクロパレットのアレイを備えるマイクロパレットカセットを使用する高容量のスクリーニングおよび細胞選択システムの概略図である。

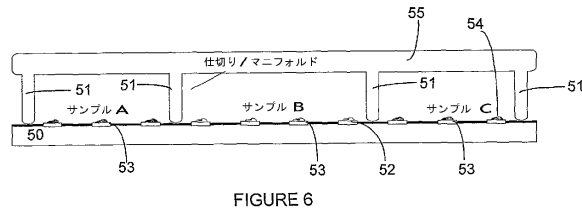
【図1】



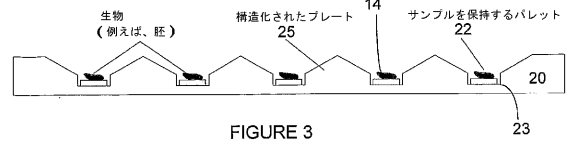
【図2】



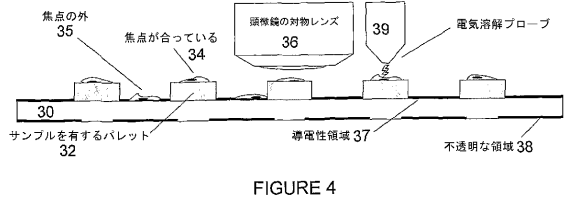
【図6】



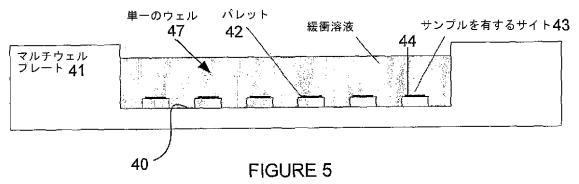
【図3】



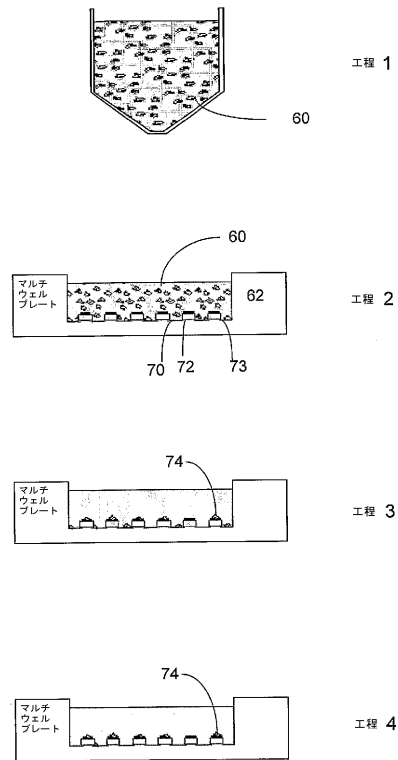
【図4】



【図5】



【図7A】



【図 7 B】

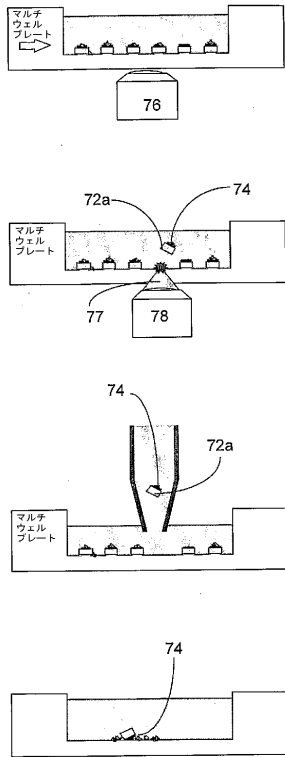


FIGURE 7B

【図 8 A】

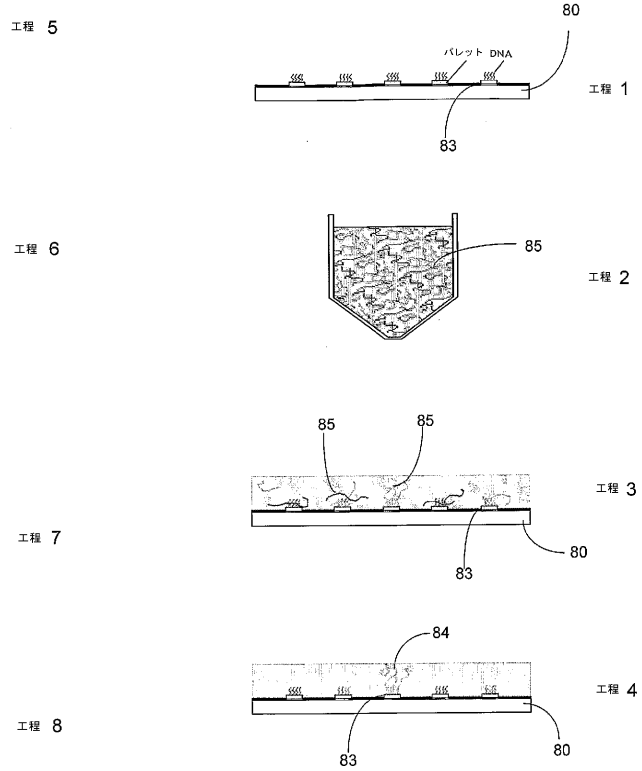


FIGURE 8A

【図 8 B】

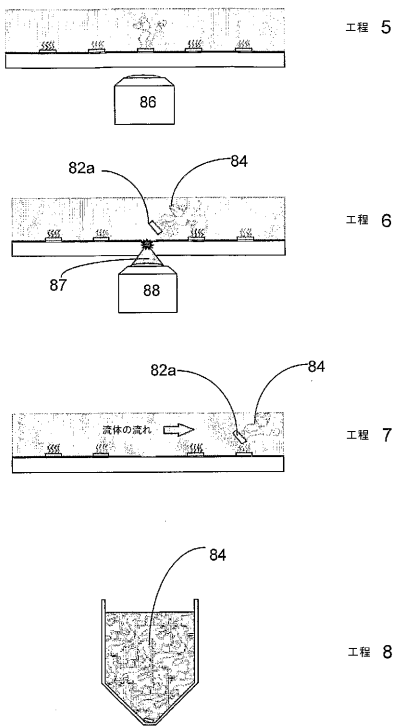


FIGURE 8B

【図 9】

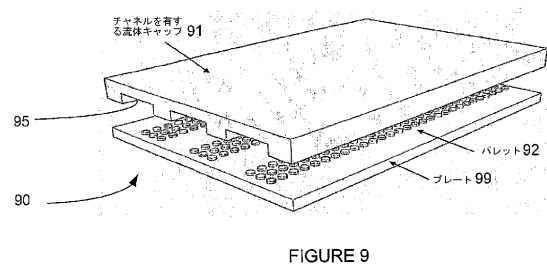


FIGURE 9

【 図 10 】

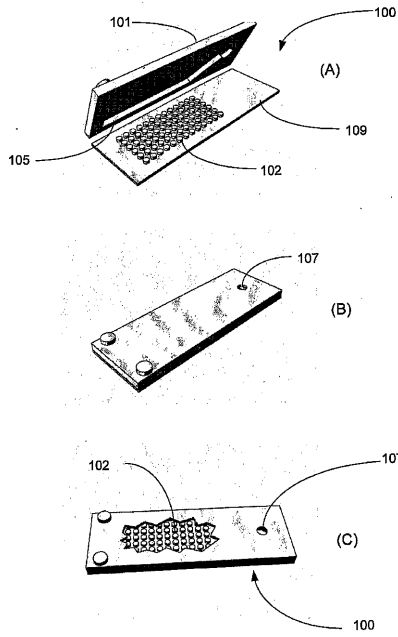


FIGURE 10

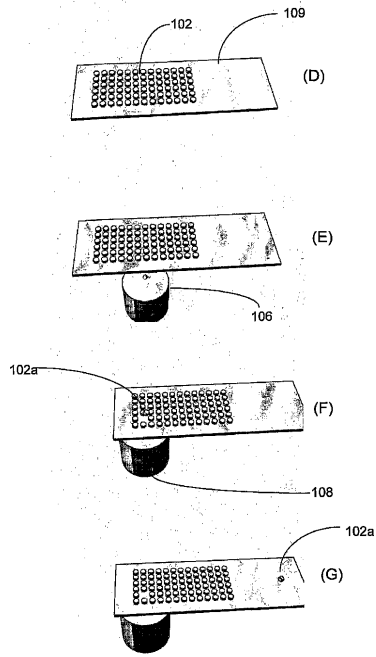


FIGURE 10

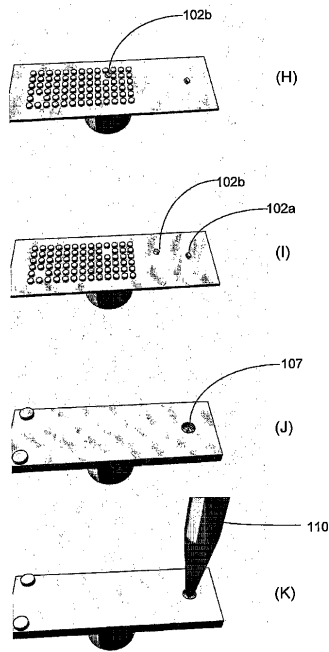


FIGURE 10

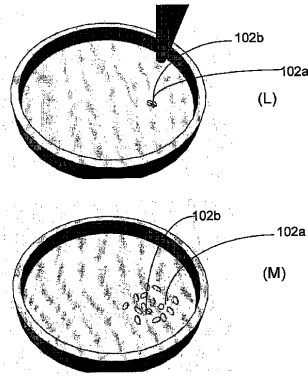


FIGURE 10

【 図 11 】

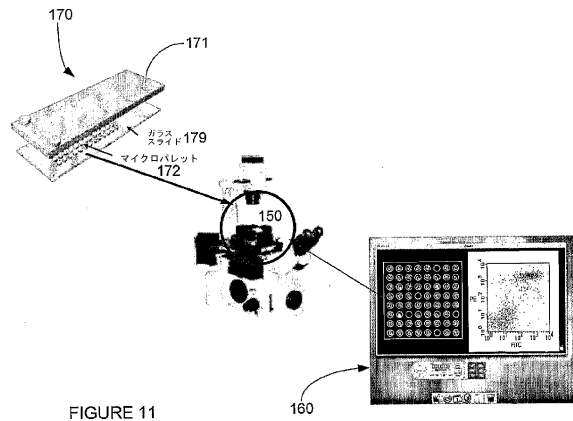


FIGURE 11

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 1 2 Q 1/68 A

- (72)発明者 バックマン, マーク
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 6 1 2 , アービン, パーキンス コート 2 8
- (72)発明者 リ, グアン - ピン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 6 1 2 , アービン, ヤング コート 2 0
- (72)発明者 オールブリットン, ナンシー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 6 1 2 , アービン, バージル コート 2 2
- (72)発明者 シムズ, クリストファー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 6 1 2 , アービン, バージル コート 2 2

審査官 長谷 潮

- (56)参考文献 特開2003 - 247990 (JP, A)
特開平10 - 185923 (JP, A)
特開2000 - 321183 (JP, A)
特開2003 - 033177 (JP, A)
特開2002 - 098697 (JP, A)
特開2000 - 346842 (JP, A)
特開平07 - 202427 (JP, A)
特表2004 - 537712 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/00-37/00
G01N 33/53
C12Q 1/04
C12Q 1/68

专利名称(译)	带微托盘的微图案板，用于可寻址的生化分析		
公开(公告)号	JP4887298B2	公开(公告)日	2012-02-29
申请号	JP2007534910	申请日	2005-10-04
[标]申请(专利权)人(译)	加利福尼亚大学董事会		
申请(专利权)人(译)	加州大学董事会		
当前申请(专利权)人(译)	加州大学董事会		
[标]发明人	バックマンマーク リグアンピン オールブリットンナンシー シムズクリストファー		
发明人	バックマン, マーク リ, グアン-ピン オールブリットン, ナンシー シムズ, クリストファー		
IPC分类号	G01N37/00 G01N35/10 G01N33/53 C12Q1/04 C12Q1/68		
CPC分类号	B01L3/5085 B01J19/0046 B01J2219/00315 B01J2219/00441 B01J2219/00527 B01J2219/00547 B01J2219/00585 B01J2219/00596 B01J2219/00605 B01J2219/00619 B01J2219/00621 B01J2219/ /00653 B01J2219/00659 B01J2219/00662 B01J2219/00677 B01J2219/00689 B01J2219/00722 B01J2219/00725 B01J2219/00743 B01L3/508 B01L2300/0636 B01L2300/0819 B01L2300/0829		
FI分类号	G01N37/00 G01N37/00.102 G01N35/06.C G01N33/53.M C12Q1/04 C12Q1/68.A		
代理人(译)	言上 恵一		
审查员(译)	潮长谷		
优先权	60/615882 2004-10-04 US		
其他公开文献	JP2008516199A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

制造的板可使细胞，微生物，蛋白质，DNA，生物分子和其他生物培养基的样品定位在板上的特定位置或位点，以便对样品进行可寻址分析。优选地，一些或所有的部位由可移除的材料或托盘构成，使得感兴趣的样品的子集可以容易地与板分离以用于进一步的处理或分析。该板可以包含增强或促进样品的附着和/或功能的结构或化学处理，并且促进或辅助其分析。

【図4】

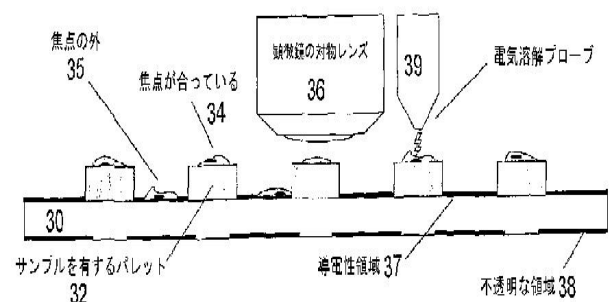


FIGURE 4