

(19)日本国特許庁 ( J P )

# (12) 公開特許公報 ( A )

(11)特許出願公開番号

特開2002 - 281967

(P2002 - 281967A)

(43)公開日 平成14年10月2日(2002.10.2)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コード* (参考)
C 1 2 N 15/09		C 1 2 M 1/00	A 4 B 0 2 4
C 1 2 M 1/00		1/42	4 B 0 2 9
1/42		C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53			T

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 11数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 88381(P2001 - 88381)

(22)出願日 平成13年3月26日(2001.3.26)

(71)出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72)発明者 高山 美知雄

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリン

パス光学工業株式会社内

(74)代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA11 HA12

4B029 AA07 BB20 CC03 CC13 FA12

4B063 QA01 QQ42 QQ52 QR32 QR55

QR66 QR82 QS15 QS34 QS36

QS39 QX02

(54)【発明の名称】 印加によりその捕捉機能が制御できる捕捉手段を具備する生化学分析装置およびその装置を用いた生化学分析方法

(57)【要約】

【課題】 多種類の物質、例えば、複数のDNAおよびRNA等の核酸、並びに抗原および抗体等、を試料から一度に検出することが可能であり、且つ検出した後に目的とする物質のみを特異的に且つ容易に回収することが可能な方法およびその方法を行うための装置を提供する。

【解決手段】 プローブを具備した粒子が捕捉手段により、そこにおいて反応を行う反応部に維持される装置であって、前記捕捉手段の捕捉機能が印加によって制御されることを特徴とする装置。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 プローブを具備した粒子が捕捉手段により、そこにおいて反応を行う反応部に維持される装置であって、前記捕捉手段の捕捉機能が印加によって制御されることを特徴とする装置。

【請求項2】 請求項1に記載の装置であって、前記捕捉手段が電極からなり、前記粒子が誘電体であり、且つ前記捕捉が誘電泳動効果により得られることを特徴とする装置。

【請求項3】 請求項1に記載の装置であって、前記捕捉手段が電磁石からなり、前記粒子が磁性体であることを特徴とする装置。

【請求項4】 請求項1から3の何れか1項に記載の装置を製造する方法であって、

- (1) 粒子にプローブを固定化することと、
- (2) (1)で得られた粒子を前記反応部に添加することと、
- (3) 前記反応部に具備される捕捉手段に印可して前記粒子を捕捉し、それにより前記反応部に粒子を維持することによって前記装置を製造することと、を具備する方法。

【請求項5】 請求項1から3の何れか1項に記載の装置を製造する方法であって、

- (1) 第1から第nまでの粒子に第1から第nのプローブを、夫々種類毎に固定化することと(ここで、nは整数である)、
- (2) (1)で得られた第1の粒子を前記反応部に添加することと、
- (3) 前記反応部に具備される第1の捕捉手段に印加して前記第1の粒子を捕捉することと、
- (4) 反応部内の余分な第1の粒子を取り除くことと、
- (5) (1)で得られた第2の粒子を前記反応部に添加することと、
- (6) 前記反応部に具備される第2の捕捉手段に印加して前記第2の粒子を捕捉することと、
- (7) 反応部内の余分な第2の粒子を取り除くことと、
- (8) (1)で得られた第nの粒子を前記反応部に添加することと、
- (9) 前記反応部に具備される第nの捕捉手段に印加して前記第nの粒子を捕捉することによって前記装置を製造することと、を具備する方法。

【請求項6】 請求項5に記載の製造方法であって、前記各粒子を前記各捕捉手段に維持した後に、洗浄する工程が更に具備されることを特徴とする方法。

【請求項7】 請求項1から3の何れか1項に記載の装置により標的物質を検出するための方法であって、前記プローブは標的物質に特異的に結合するプローブであり、全ての捕捉手段への印加を維持したままで以下の操

\*作を行うことを特徴とする方法；

- (1) 前記標的物質に標識物質で標識することと、
- (2) 前記粒子に具備されるプローブと前記標的物質を結合させることと、
- (3) 前記標識物質を検出することによって標的物質を検出することと、を具備する方法。

【請求項8】 請求項1から3の何れか1項に記載の装置により標的物質を回収するための方法であって、前記プローブは標的物質に特異的に結合するプローブであり、且つ以下の操作を行うことを特徴とする方法；

- (1) 前記標的物質に標識物質で標識することと、
- (2) 前記粒子に具備されるプローブと前記標的物質を結合させることと、
- (3) 前記標識物質を検出することによって標的物質を検出することと、
- (4) 回収しようとする標的物質が捕捉されている捕捉手段のみの印加を中止して、標的物質を遊離することと、
- (5) 遊離した標的物質を回収することと、を具備する方法。

【請求項9】 そこにおいて反応を行うための反応部に、印加によりその捕捉機能が制御される捕捉手段を具備する装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、標的物質、特に、DNAおよびRNA等の核酸分子、並びに免疫関連物質等を、試料から検出および/または回収する生化学分析方法と、その方法を行うための装置に関する。

【0002】

【従来の技術】生化学分析分野において、DNAレベルで生体を理解し、病気の診断や生命現象を解明しようとする動きが活発化してきている。遺伝子の発現状況を調べる有効な方法として、現在では、主にDNAチップやDNAマイクロアレイが用いられている。

【0003】DNAチップは、例えば、フォーダーらにより報告されている(Stephen.P.A.Fodor et. al.:Light-Directed,Spatially Addressable Parallel Chemical Synthesis.Science Vol.251,767-773(1991))。このDNAチップは、基板上に10万種以上のプローブDNAを配列させたものである。該製造方法は、半導体工業で用いられている光リソグラフィ技術を利用するものであり、基板上に区画された多数のセル上に、予め設計された配列のオリゴマーを1塩基ずつ合成していくことにより、多数のプローブを具備するDNAチップを完成するものである。

【0004】一方、DNAマイクロアレイは、基板上に、予め準備したプローブDNAをスポットし、これを固定化して製造するものである。専用のスポット装置を用いることで1万程度のプローブDNAを基板上に固定

することが可能である。

【0005】DNA発現の解析をする場合、DNAチップおよびDNAマイクロアレイの何れの装置の場合も同様に、試料中のDNAを予め蛍光色素で修飾してから該装置に供する。次に、該装置に具備されるプローブDNAと、被検DNAとのハイブリダイゼーションを行い、特異的に結合した被検DNAの蛍光標識を検出することによって、試料中のDNAを解析する。

【0006】DNAチップは、極めて高密度にプローブDNAを配列できることが利点であるが、各プローブDNAを20塩基程度の長さにしかなないことが欠点である。更にまた、DNAチップの製作原理は、抗原抗体反応等のDNA以外の他の生化学反応評価に用いる装置、例えば、タンパク質アレイ（またはプロテインチップとも称す）、抗体アレイおよび細胞アレイ等の製造には応用できるものではない。

【0007】一方、DNAマイクロアレイは、任意のDNAをプローブとすることができ、その作製原理は他の生化学反応評価装置、例えば、タンパク質アレイ（またはプロテインチップとも称す）、抗体アレイおよび細胞アレイ等の製造にも応用可能である。しかし、高密度にプローブを形成するためには、高価な専用スポット装置が必要である。

【0008】また更に、このような従来の装置を用いた場合には、当該装置でのハイブリダイゼーションの後、検出した膨大な種類のDNAから、所望するDNAのみを特異的に回収することは非常に困難である。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】上記の状況に鑑み、本発明の目的の1つは、多種類の物質、例えば、複数のDNAおよびRNA等の核酸、並びに抗原および抗体等、を試料から一度に検出することが可能であり、且つ検出した後に目的とする物質のみを特異的に且つ容易に回収することが可能な方法およびその方法を行うための装置を提供することである。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記の問題を解決するために、本発明は以下の装置を提供する。即ち、プローブを具備した粒子を捕捉手段でその反応部に維持する装置であって、前記捕捉手段の捕捉機能が印加によって制御されることを特徴とする装置である。

【0011】

【発明の実施の形態】1. 装置

本発明の態様に従うと、プローブを具備した粒子を捕捉手段でその反応部に維持する装置であって、前記捕捉手段の捕捉機能が印加によって制御されることを特徴とする装置が提供される。

【0012】このような本発明の態様に従うと、前記プローブに結合することによって、試料に含まれる標的物質を検出および回収することが可能である。

【0013】ここで使用される「プローブ」の語は、検出対象である標的物質に対して特異的且つ高親和性に結合することが可能な物質を示す。

【0014】例えば、標的物質が核酸である場合、当該プローブは、標的核酸の配列に相補的な配列を有する核酸であってよい。標的核酸および核酸プローブは、任意の単純ヌクレオチド及び/又は修飾ヌクレオチドからなるポリヌクレオチドであってよい。標的核酸は、使用者が自由に選択することができる。標的核酸は、典型的には、cDNA、ゲノムDNA、及び合成DNA等のDNA、並びにmRNA、全RNA、hnRNA、及び合成RNA等のRNAである。

【0015】また、標的物質が免疫関連物質である場合、標的物質とプローブの組合せは、互いに特異的且つ高親和性に結合し得る組合せであり得る。即ち、標的物質に応じて種々の抗原（若しくは抗原決定基）または抗体をプローブとして使用することが可能である。

【0016】更に、標的物質とプローブの組合せは、糖類とレクチン等であってもよく、この場合も、標的物質に応じてプローブが選択される。

【0017】本発明の態様に従うと、上述の装置は、少なくともその一部に、前記プローブと標的物質との反応が行えるような反応部を有するものであればよい。このような装置は、基本的に、例えば、ガラス、プラスチック、石英およびシリコン等から形成されてもよい。当該装置は、凹凸により形成された溝状、凹部により構成される容器状および管状等であってよい。当該装置は、その中へ試薬等の流体を添加できるような開口部を少なくとも1つ有する。また、当該装置はその内部に流路として反応部を有していてもよい。反応部が流路である場合、導入口から容器内に流体が導入され、該装置の内部の流路を経て、排出口から排出されるよう構成することによって、より扱い易く、閉鎖系で汚染に強い装置が提供される。

【0018】本発明の態様における捕捉手段とは、粒子を捕捉するための手段であり、且つその機能が印加によってオンまたはオフの状態に制御できる手段である。言い換えれば、印加により捕捉機能が生じ、印加を止めると捕捉機能が消失するような捕捉手段であればよい。例えば、複数の電極を配置することにより誘電泳動効果を得られる手段、および電磁石等を使用することが可能である。例えば、本発明の態様において使用することが可能な捕捉手段は、電極および電磁石等であってよい。

【0019】電極を用いる場合、粒子をそこにおいて捕捉しようとする意図する捕捉部を取り囲む、または挟み込むように配置する。捕捉する際には、隣り合う電極に対して、互いに相反する極性を持たせるように印可すればよい。印加により生じる誘電泳動効果によって、目的とする粒子を捕捉することが可能である。更なる詳細は実施例において説明する。

【0020】電磁石を用いる場合、粒子をそこにおいて捕捉しようと意図する捕捉部に磁場が生じるように電磁石を形成する。

【0021】捕捉手段は、捕捉部が当該装置の反応部内に位置するように配置される。従って、捕捉手段自身が必ずしも当該装置の反応部内に配置される必要はない。即ち、電極を使用した場合には誘電誘導効果が、電磁石を使用した場合には磁場が、装置の反応部内の目的とする位置に得られるように配置すればよい。即ち、捕捉手段は装置の反応部内に配置しても、装置を構成するため 10 の壁に埋め込まれても、装置の外部に当該装置と一体化して、また、一体化されずに使用時に装着できる別の部品として提供されてもよい。

【0022】また、選択された捕捉手段に応じて、使用する粒子の性質が選択される。即ち、電極を使用する場合には該粒子は絶縁体であり、電磁石を使用する場合には磁性体であればよい。

【0023】本発明の態様に従うと、複数の捕捉手段を有した装置が反応部に配置された装置が提供される。当該装置は、複数種類のプローブを具備した粒子を、種類 20 別に反応部の所望する位置の捕捉手段に配置することができる。即ち、捕捉手段の印加を制御するだけで、使用者は所望に応じた反応部の位置にプローブを配置することができる。

【0024】図1を用いて、複数種類のプローブを具備した粒子をセットした装置の製造方法を説明する。先ず、粒子にプローブを固定化する。プローブの固定は、プローブの種類および特性に応じて、それ自身公知の方法を用いて行ってよい。

【0025】第1から第nまでの種類のプローブを、夫 30 々、粒子に固相化した場合には、図1aに示す通り、第1のプローブ試薬から第nのプローブ試薬までが得られる(ここで、「n」は整数)。ここで、「プローブ試薬」とは、当該粒子の表面に必要なプローブを固定することにより調製した試薬をいう。

【0026】本発明の態様に従うと、図1bに示すように、流路からなる反応部1に任意の個数の捕捉手段2が行列をなすように配置されている。各行毎に異なるプローブ試薬を捕捉させる場合を以下に説明する。一番右の行を第1の組とし、第1のプローブ試薬をセットする。 40 まず、第1の組に具備される捕捉手段2のみへの印加を開始する。その状態で、導入口から第1のプローブ試薬3を導入する。第1のプローブ試薬に含まれる粒子は、捕捉機能が働いている最も右の行に含まれる捕捉手段に捕捉される(図1b)。

【0027】次に、捕捉されなかった第1のプローブ試薬を排除し、必要ならば該反応部を洗浄する(図1c)。

【0028】続いて、第2のプローブ試薬の粒子をセッ 50 トする。第2の組に含まれる捕捉手段への印加を開始

し、反応部1に第2のプローブ試薬4を添加する(図1d)。

【0029】次に、捕捉されなかった第2のプローブ試薬を排除し、必要に応じて該反応部を洗浄する(図1e)。

【0030】この操作を第nのプローブ試薬まで繰り返す(図1f)。こうすることにより、所望する種類および数のプローブ試薬を該装置にセットすることが可能である。

【0031】また、夫々のプローブ試薬を回収する場合は、所望する位置の捕捉手段の印加を中止すれば、捕捉されている粒子のみが遊離できるので、これを回収すればよい。

【0032】本発明のもう1つの側面に従うと、そこにおいて反応を行うための反応部に、印加によりその捕捉機能が制御される捕捉手段を具備する装置が提供される。

#### 【0033】2. 生化学分析方法

本発明の態様に従うと、プローブを具備した粒子が捕捉手段により、そこにおいて反応を行う反応部内に維持される装置であって、前記捕捉手段の捕捉機能が印加によって制御されることを特徴とする装置を用いた生化学分析方法が提供される。

【0034】このような生化学分析方法に供される「試料」は、生物から採取した未処置の試料、例えば、ゲノムDNA、mRNA若しくはプラスミドを含む生物試料であってもよい。また、標的核酸を含む試料であってもよく、その場合、前記未処置の試料に対して様々な操作又は処理を行った試料であってもよい。このような操作又は処理は、核酸抽出操作、増幅操作、制限酵素、リガーゼ、ポリメラーゼ、ヌクレアーゼを含む酵素による処理、及び遺伝子工学の領域において周知であるその他の処理、並びにこれらの組み合わせであってもよい。また、「試料」は、抗原および抗体等の免疫関連物質を含有する何らかの生物試料であってもよい。例えば、血液、リンパ液、血球および各種体細胞および組織等の生物由来の試料であってもよい。

【0035】本発明の態様に従うと、当該粒子を具備する上述の装置を用いて、以下のように生化学分析を行うことが可能である。例えば、本発明の態様に従うと、標的物質の検出および/または回収を行うことが可能である。

【0036】標的物質の検出を行う場合、検出対象である標的物質に特異的且つ高親和性で結合するプローブを粒子に固定化し、これを捕捉手段によって捕捉して装置を製造する。一方、試料に含まれる標的物質には、標識物質により標識を行う。続いて、前記装置の反応部に該試料を添加する。その後、適切な温度条件下において、反応を行って、プローブと標的物質との結合を行う。次に標識物質を指標として標的物質の検出を行う。

【0037】検出された標的物質を回収する場合には、上記で検出された標識物質が結合しているプローブを具備する粒子を、捕捉手段の印加を中止することによって遊離させ、これを回収すればよい。

【0038】ここでは、試料を反応部に添加する前に標識したが、標識の時期はこれに限るものではなく、反応部における反応の後に行ってもよい。標識は、一般的に使用される何れかの方法によって行えばよい。また、標識物質の選択も、一般的に使用される何れかの標識物質を使用すればよい。或いは、標的物質をプローブに結合

【0039】以下に、本発明の好ましい態様の例を示す。

【0040】

【実施例】例1

本発明の第1の例を図2AおよびBを用いて説明する(図2)。本例の装置は、第1の基板21と第2の基板24から形成される(図2B)。第1の基板には流路22が具備され、前記流路22には複数の捕捉手段23が配置される。前記捕捉手段23は、夫々、独立して制御される。また、第2の基板24は、実質的に当該装置の蓋のような役割をする。前記基板24には、流路22に繋がる導入口25と排出口26が形成されている。

【0041】基板21および基板24は、ガラス、シリコン、プラスチック類およびポリマー類等の絶縁性物質を用いて形成することが可能であり、また、流す流体に浸食されない物質を用いることが好ましい。

【0042】本例では、捕捉手段23は電極を用いて形成される。本例における捕捉手段23とは、誘電誘導効果により捕捉を行う手段である。具体的には、例えば、ガンターらの文献に記載されるような電極を使用することが可能である(Gunter R.Fuhr and Christoph Reichle, Micro Total Analysis Systems, 261-264, (2000))。

【0043】本例における捕捉手段23を形成する場合の電極の配置例を図3に示す。4つの電極27a~27dを目的とする捕捉部28の周りに配置する。ここで、捕捉部28は粒子を捕捉する部位である。図には示されていないが、各捕捉手段23に具備される電極27aから27dは、夫々に、配線が施されており、夫々に印加条件が制御される。印加の制御は、一般的に使用される印加を行う印加手段と、印加の制御を行う制御手段により行われてもよい。

【0044】ここで、「誘電泳動」とは、不平等電界下である粒子に誘導される分極電荷と電界との相互作用により電気的に中性な粒子に力が働く現象のことをいう。一般に電界中に媒質よりも分極しやすい中性粒子をおくと、誘電分極により電気力線の上流側に $-q$ 、下流側に $+q$ の電荷が現れる。更に、図4を用いて説明する。基

板29に形成された正電極30aおよび負電極30bは、中間に存在する粒子31に対して誘電効果を及ぼす。図4に示すように、1つの平面上に電極が存在する場合には、粒子31に働く電気力線は湾曲しており、それによって $-q$ と $+q$ の各電荷に働く力の向きが異なる。その結果、合力が生じ、粒子は基板側へと引き寄せられる。また、電極に印加する電圧の極性を反転しても、粒子に誘起される電荷の極性も反転するので、粒子の作用する力の向きは変わらない。従って、誘電分極が追隨できる周波数範囲内では、交流電界下においても誘電泳動が生ずる。

【0045】各電極の材料には、金、白金およびチタニウム等を使用してよく、半導体形成に用いられる通常のフォトリソグラフィ法やリフトオフ法およびメッキ法等、一般的に電極を形成するのに使用される他の方法を使用して形成することができる。

【0046】一方、本例において上記の装置と共に使用される粒子は、誘電体となり得るものであれば何れの材質で何れの形状を有していてもよい。ここでいう「誘電体」とは、電界を加えると誘電分極を生ずる物質をいい、一般的には絶縁体とも称される物質である。本例において好ましい粒子は、例えば、粒径が $0.25\mu\text{m}$ から $1\text{mm}$ 、一般的には $10\mu\text{m}$ 以下の誘電体ビーズである。その材質は、ガラス、ラテックス、ポリスチレン等のプラスチック等でよい。

【0047】粒子を捕捉する際には、隣り合う電極の極性が異なるように、反転した高周波の交流電圧を加える。これによって誘電泳動効果が得られる。これによって、前記4つの電極27aから27dに囲まれたその中央に、電界の極小部が形成され、捕捉部28が形成される。ここで、印加される交流電圧周波数は、数百kHzから数十MHzであるが、一般的には1MHz程度を用いる。粒子を捕捉するための印加電圧は、電極間隔、捕捉する粒子の大きさや誘電率、媒質溶液の導電率、流速等に依存するが、一般的には、 $10\text{V}$ 以下の電圧を用いてよい。しかし、これに限られるものではなく、前記条件等に応じて変更してもよい。

【0048】使用の際は、その表面に目的とする物質と高親和性に結合できるプローブを固定した粒子を、該捕捉部28に捕捉した状態で目的の物質の検出を行う。次に、上述した装置に対して粒子をセットし、プローブアレイ領域を形成する方法について説明する。

【0049】図5aに示すように、まず、第1のプローブ試薬、第2のプローブ試薬および第3のプローブを準備する。例えば、分析の対象がDNAである場合、粒子の表面にアビジンを結合させ、このアビジンに対して、ビオチンを具備した目的のDNAの相補鎖を結合すればよい。また、直接に、当該粒子の表面にDNAを結合させてもよい。第1のプローブ試薬、第2のプローブ試薬および第3のプローブ試薬は、異なるプローブを具備す

る粒子31である。これらを用いることによって、非常に多くの種類の目的物質について一度に分析することが可能である。

【0050】次に、上述した図2に示す装置の捕捉手段23に該プローブ試薬31aをセットする。図5bに示すように、本例においては、捕捉手段23は、3行3列で配置され、各行は右から第1組、第2組および第3組であり、各組は3つの捕捉手段23を具備する。まず、第1組に対して第1のプローブ試薬31aをセットする。その場合、第1組以外の捕捉手段3の印加は行わ  
10  
ず、第1組の捕捉手段23aの印加のみを行う。この状態で、第1のプローブ試薬31aを表面に形成した粒子を流路22に導入する(図5b)。その結果、第1組に具備される捕捉手段23aにのみ、第1のプローブ試薬31aが捕捉される。

【0051】次に、図5cに示すように、第1組の捕捉手段22aの印加を行ったまま、流路内に含まれる捕捉されていない過剰な第1のプローブ31aを洗い流す。

【0052】続いて、図5dに示すように、第1組の捕捉手段23aの印加を行ったままで第2組の捕捉手段2  
20  
3bの印加を行う。その状態で第2のプローブ31bを該流路22に導入し、第2組の捕捉手段23bに第2のプローブ31bを捕捉させる。その後、第1組と第2組の印加を行ったままで、該流路内の第2のプローブ31bを洗い流す。

【0053】更に、同様の操作を行って、第3のプローブ31cを第3組の捕捉手段23cに捕捉させ、洗浄する(図5fおよびg)。

【0054】本例では、3種類のプローブ試薬を用いているが、これに限定するものではなく、1以上の所望する種類  
30  
のプローブ試薬を用いてよい。また、捕捉手段23の配列も3行3列に限るものではなく、所望する配列で具備させることが可能である。また、各組に含まれる捕捉手段23の数を等しくする必要も、および組毎に纏めて配置する必要は必ずしもなく、所望に応じて変更することが可能である。

【0055】また、プローブ試薬の種類が変更された場合には、その数に応じて上述の操作の回数を増減することによって目的の装置が製造できる。

【0056】上述の例では、1つの捕捉手段23に対し  
40  
て、プローブ試薬31である1粒子が捕捉される。しかしながら、必要であれば1捕捉手段23に対して複数の粒子31が捕捉されてもよい。

【0057】更に、使用するプローブは、DNAプローブに限るものではなく、その他の核酸分子プローブ、抗原若しくは抗体、またはその他の免疫関連物質等を用いてもよい。

【0058】次に、このようなプローブアレイ領域を具備する装置を用いての生化学的分析を行う方法を説明する。当該流路22に試料を導入し、温度制御した状態  
50

で、プローブと標的物質との結合反応を行う。

【0059】例えば、標的物質として特定の配列を有するDNAを検出する場合、その配列に相補的な配列のプローブが該粒子に固定されている。まず、試料に含まれる被検DNAに対して蛍光標識を行う。この蛍光標識は一般的に使用される何れの方法によっても行ってよい。

【0060】標識化の後、標識化被検DNAを含む試薬を流路22に導入する。15 から25 程度の低温においてハイブリダイゼーション反応を行う。反応処理後、未反応の被検試薬を洗い流す。次に、標識物質の蛍光を検出することによって、捕捉手段23に捕捉された  
10  
プローブ試薬に結合した物質があるか否かを検出する。

【0061】蛍光物質の検出は、一般的に蛍光を検出することが可能な手段を用いることが可能であり、例えば、共焦点顕微鏡、光電子増倍管およびCCDカメラ等を用いて検出することが可能である。

【0062】各プローブ試薬に具備されるプローブは既知物質であるので、蛍光を検出することによって、試料に含まれる物質を分析することが可能となる。

【0063】このような分析を行った後、特定のプローブ試薬に結合した被検物質を回収することが可能である。即ち、目的とするプローブ試薬の捕捉された捕捉手段23の印加を中止すれば、該プローブ試薬のみが遊離するので、これを回収すればよい。

【0064】この例では、標識物質として蛍光物質を使用した例を説明したが、これに限るものではなく、化学発光物質、ラジオアイソトープおよび色素等、一般的に標識物質として使用される何れの標識物質を使用してもよい。

【0065】また、本例では、プローブアレイ領域を形成するための捕捉手段にプローブ試薬を捕捉した状態で、試料との反応および検出を行った例を示したが、所望の組の捕捉を解除してから反応および/または検出を行ってもよい。

【0066】本例では、流路に接する基板21の表面に電極を配置したが、このように流路22に直接的に接しておらず、基板21の内部に電極を配置してもよい。また、電極の配置は、基板24の表面または内部であってもよい。また、電極の配置する位置は、流路22の内部の所望する部位に誘電泳動効果を生じ得る何れの位置でもよい。

【0067】また、上述した装置に加えて、捕捉手段の近くに温度を制御する手段や、発光および/または受光素子等のセンサ(即ち、反応の有無を検出するためのセンサである)を配置してもよい。このような構成を取ることによって、装置を小型化することが可能である。

【0068】また、上述した本例の装置では、導入口25と排出口26を設けたが、これらを1つの開口部によって代用することも可能である。また、プローブ試薬と試料の導入口を夫々に設けてもよい。

【0069】また、本例では、同性質の粒子を用いて、捕捉手段23への印加の有無で捕捉の制御を行った例を示したが、予めプローブ試薬の種類毎に粒子の性質を変更し、且つ夫々の捕捉手段による誘電誘導効果にも該特性に応じて差別化を行っておくことにより、複数のプローブ試薬を一度に捕捉手段にセットすることが可能である。例えば、そのような粒子の特性は、大きさおよび誘電率等である。捕捉手段23の誘電誘導効果を変更するためには、該捕捉手段23に具備される電極の周波数および/または電圧を変更すればよい。

【0070】また、当該装置を構成する基板21と24の形状は、このような矩形に限るものではなく、管状であっても、円筒状であってもよい、また他の形状であってもよい。また、基板は、一体化されていても、2以上のパーツからなってもよい。

#### 【0071】例2

第1の例の装置は、捕捉手段を形成する電極の数を増減することも可能である。本例は、第1の例の装置の電極を増加した例である。本例を図6AおよびB、並びに図7に示す。

【0072】この例の装置における捕捉手段43は、流路42を挟んだ上下の面に、電極43aと電極43bを向かい合って配置することにより形成される。このように電極を配置した場合、粒子は夫々の1組の電極の間点に捕捉される。電極の配置以外には、本例は第1の例の装置と同様であり、第1の例に準じて製造および変更することが可能である。

#### 【0073】例3

第3の例を図8AおよびBを用いて説明する。第3の例は、捕捉手段53を電磁石を用いて構成することと、粒子の少なくとも1部が磁性体を有すること以外は、例1および2と同様に製造すること、および変更を施すことが可能である(図8AおよびB)。

【0074】基板50および/または54に多数の捕捉手段53を配置するためには、捕捉手段53を構成する電磁石をある程度微小なものにする必要がある。微小な電磁石の製造方法の例を図9AからFに示す。ここで、製造工程は、図9A、9Bおよび9Cの順に進行する。図9Bは図9Aの断面図、図9Dは図9Cの断面図、図9Fは図9Eの断面図である。

【0075】まず、図9AおよびBに示すように、基板60にコアとなるFe-Ni合金等による支柱状パターン61をメッキ法等を用いて形成する(図9AおよびB)。続いて前記コア部61を中心にして、銅および金等によるコイル状パターン62を同様にメッキ法等により形成する(図9CおよびD)。次に、当該パターンを覆うように酸化シリコン膜またはポリイミド等による絶縁膜63を形成する(図9CおよびD)。更に、前記絶縁膜63を通過してコイル状パターン62の始点64と終点65のコンタクトホール66を形成する(図9Cお

よびD)。最後に、金、白金、銅またはアルミ等による配線パターン67を、前記コンタクトホール66から基板60の周辺部へと伸びるように形成する(図9EおよびF)。

【0076】磁力は、ガラス、シリコン、プラスチック類およびポリマー類を貫いて作用する。従って、本実施の形態に示す装置は、捕捉手段を形成した基板と、流路を形成した基板とを一体化した装置である必要は必ずしもない。従って、捕捉手段を有する第1の基板と、流路を形成した第2の基板を重ね合わせることにより構成してもよい。第1の基板は、使用後に第2の基板と分離され、再度使用され得る。このように流路を形成する基板を交換すれば、流路の洗浄不備による試料の混合により生じる問題や、コストパフォーマンスを改善することができる。

#### 【0077】例4

第4の態様は、上述の例1から例3の何れかの構成に、更に、流体噴出口を加えた装置である。第4の例を図10を用いて説明する。

【0078】図10に示す装置は、当該流体噴出口77を具備する以外は、上述の例1から例3に準じて製造すること、および変更を加えることが可能である。流体噴出口77は、そこから気体または液体等の流体を噴出するための開口部である。流体噴出口77からの流体の噴出によって、流路72に含まれる液体を攪拌することが可能である。流体噴出口77は、捕捉手段73の近傍に配置される。図10に示す通り、本例の装置は、流路72内の底面に、各捕捉手段73の近傍に、各捕捉手段73毎に流体噴出口77が配置されている。また、流体噴出口77は、各捕捉手段73の導入口75側に配置される。

【0079】このような流体噴出口77の設置により、流路72内の流体は首尾よく攪拌される。従って、プローブ試薬である粒子を、捕捉手段73に捕捉する場合に有用である。例えば、余分な粒子が、流路72内に滞っていたとしても、その滞留を改善することが可能である。

【0080】各流体噴出口77は、流体送達手段により送達される流体を流路72に噴出する。流体送達手段は、流体噴出口77に流体を送達するための手段であり、図10に示した態様では、流体の噴出量を制御することが可能なバルブ79を具備した送達路78により流体送達手段が形成される。

【0081】しかしながら、流体送達手段は、流体噴出口77に流体を送達することが可能な手段であれば他のどのような手段であってもよい。送達路78は、合成樹脂製の各種チューブであっても、金属製の管状構造物であっても、またはガラス管で構成されてもよい。前記バルブ79は、一般的に使用される流路の中を流れる流体の流量を制御することが可能なバルブ手段であればよ

い。また、流体噴出口77からの流体の噴出量および速度は目的に応じて調節されてよい。当該調節は、それ自体公知の流体噴出を制御する手段を使用することが可能である。

【0082】また、図10では、流体噴出口77は、流路72の底面に形成されているが、これに限るものではなく、流体噴出口77は、基板74に形成しても、基板71の壁部に形成してもよい。また、配置する流体噴出口77の数は、上述したように、1つの捕捉手段73に対して1つとする必要は必ずしもなく、所望に応じて配置することが可能である。

【0083】例5

本例は、図11に示すように、捕捉手段73の周囲の4箇所に流体噴出口77を具備する装置である。

【0084】本例の装置は、当該流体噴出口77を具備する以外は、上述の例1から例4に準じて製造および変更することが可能である。流体噴出口77は、そこから気体または液体等の流体を噴出するための開口部である。

【0085】本例では、捕捉手段73の近傍にこれを取り囲むように流体噴出口77が配置されている。1つの捕捉手段73に具備される4つの流体噴出口77に具備される送達路78は、バルブ79の手前で合流される。従って、流体噴出口77の噴出量および噴出速度は、捕捉手段73毎に調節することが可能である。

【0086】このような構成の装置は、複数のプローブ試薬をその種類毎に特定の捕捉手段73に確実に捕捉するために有効である。本例は、例えば、次のように使用することが可能である。

【0087】図1と図11を参照されたい。本例を用いて図1に示す操作を行う場合について説明する。先ず、工程aで調製したプローブ試薬を、工程bにおいて第1組の捕捉手段で捕捉する。工程cで該流路を洗浄する。この後に、第1組の捕捉手段73に具備される流体噴出口77から、流体を噴出させる。該噴出を維持したままの状態、工程dの第2組の捕捉手段73へのプローブ試薬の捕捉を行う。工程eの洗浄を、該噴出を維持したままで行う。続いて、第2組の捕捉手段73に具備される流体噴出口77から、流体を噴出させる。以下の工程を同様に繰り返して所望する組数の捕捉を行う。

【0088】このように捕捉を行うことにより、既に粒子を捕捉した捕捉手段73に本来目的としないプローブ試薬が更に捕捉されるのが防げる。即ち、噴出口77から噴出される流体の流れが、捕捉手段73の周囲にバリアを提供する。それにより該バリアよりも内側へは、余計な粒子は入り込まない。従ってこの場合、噴出口77は、バリア手段として機能すると言える。

【0089】本例では、捕捉手段73毎に流体噴出口77の制御を行える構成としたが、流体噴出口77毎に制御できるようにしても、該組毎に制御できるようにして\*

\*もよい。

【0090】また、攪拌手段としての流体噴出口77とバリア手段としての流体噴出口77を、1つの装置内に同時に配置してもよく、その場合、1つの流体噴出口77で両方の役割を担っても、役割毎に別途配置してもよい。

【0091】以上、本発明の態様について記載したが、これらの例は例示の目的で開示するのであり、本発明を何ら制限するものではない。また、本発明の構成は、本発明の範囲を超えない限り、どのように変更してもよい。

【0092】

【発明の効果】以上説明したとおり、本発明により、多種類の物質、例えば、複数のDNAおよびRNA等の核酸、並びに抗原および抗体等、を試料から一度に検出することが可能であり、且つ検出した後に目的とする物質のみを特異的に且つ容易に回収することができる方法およびその方法を行うための装置が提供される。また、本発明の装置は、従来の装置に比べて容易に製造することが可能である。また、使用者の設計に応じて自由に且つ容易に装置を構成および変更することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の態様に従う生化学分析方法を示すスキーム図。

【図2】本発明の態様に従う装置を示す図であって、Aは平面図、Bは線B-Bに沿った断面図。

【図3】本発明の態様に従う電極を用いた捕捉手段を示す図。

【図4】誘電誘導効果の模式図。

【図5】本発明の態様に従う生化学分析方法を示すスキーム図。

【図6】本発明の態様に従う装置を示す図であって、Aは平面図、Bは線B-Bに沿った断面図。

【図7】本発明の態様に従う電極を用いた捕捉手段を示す図。

【図8】本発明の態様に従う装置を示す図であって、Aは平面図、Bは線B-Bに沿った断面図。

【図9】本発明の態様に従う電磁石の製造方法の1例を示す図であって、A、CおよびEは平面図、並びにB、DおよびFは、夫々線B-B、線D-Dおよび線F-Fに沿った断面図。

【図10】本発明の態様に従う装置を示す図であって、Aは平面図、Bは線B-Bに沿った断面図。

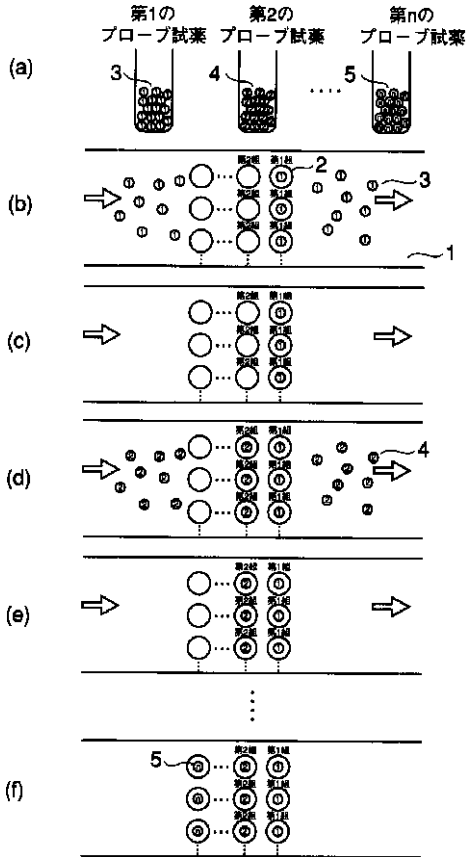
【図11】本発明の態様に従う装置を示す図であって、Aは平面図、Bは線B-Bに沿った断面図。

【符号の説明】

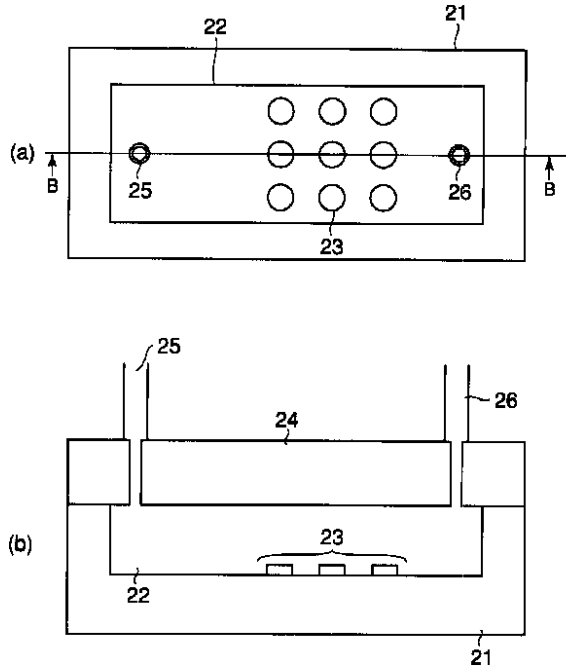
1．反応部 2．捕捉手段 3．第1のプローブ試薬に含まれる粒子 4．第2のプローブ試薬に含まれる粒子 5．第nのプローブ試薬に含まれる粒子  
21．基板 22．流路 23．捕捉手段 2

4 . 基板    25 . 導入口    26 . 排出口    27 . \*    31 . 粒子    47 . 電極    53 . 捕捉手段    7  
 電極    28 . 捕捉部    29 . 基板    30 . 電極 \*    7 . 流体噴出口

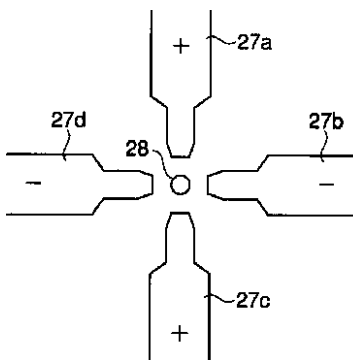
【図1】



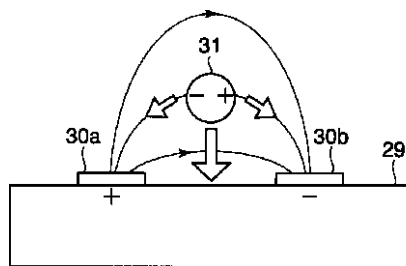
【図2】



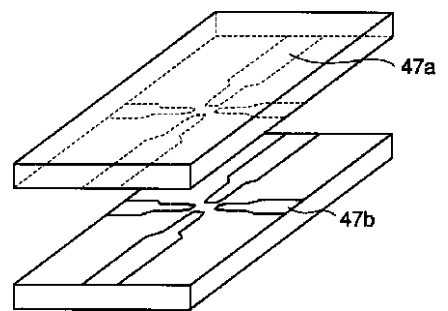
【図3】



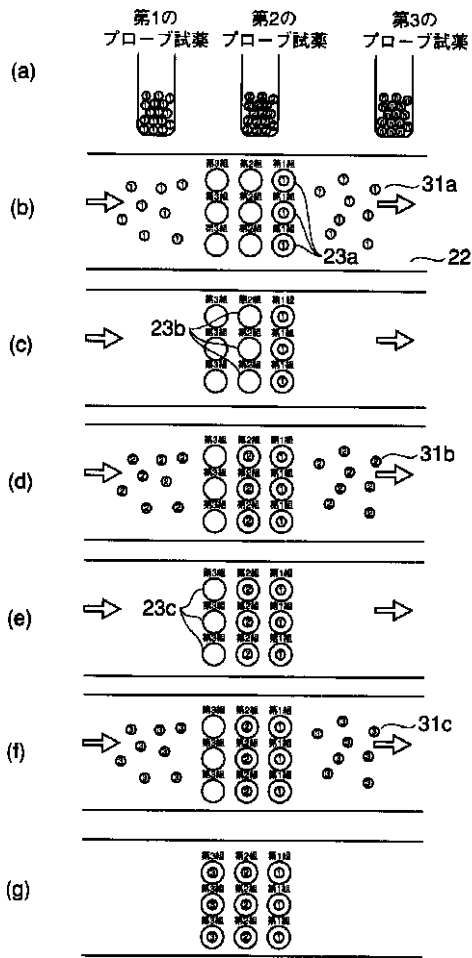
【図4】



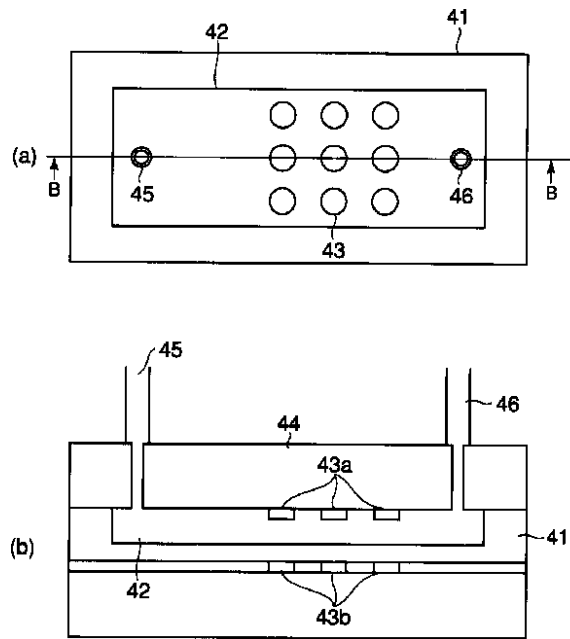
【図7】



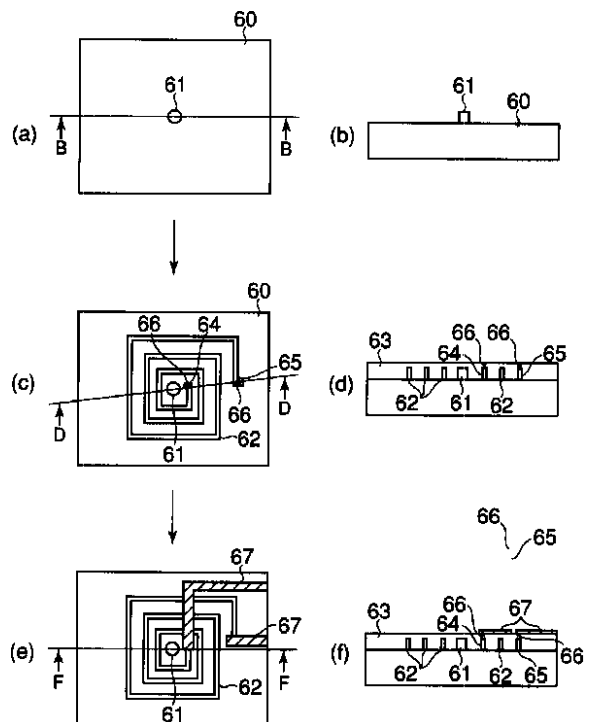
【図5】



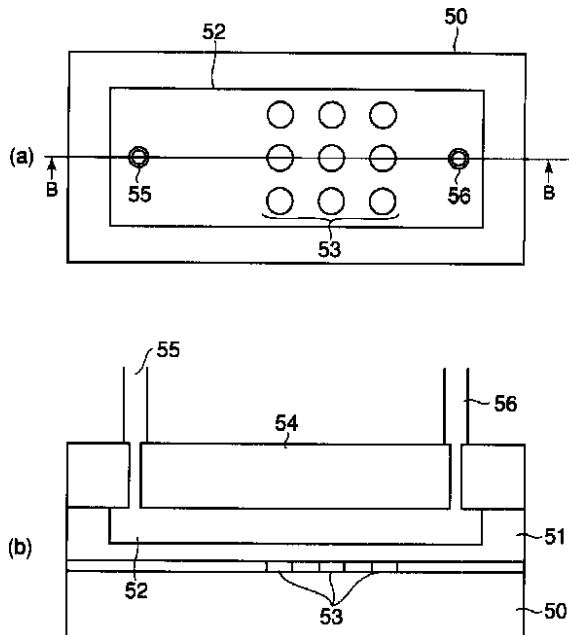
【図6】



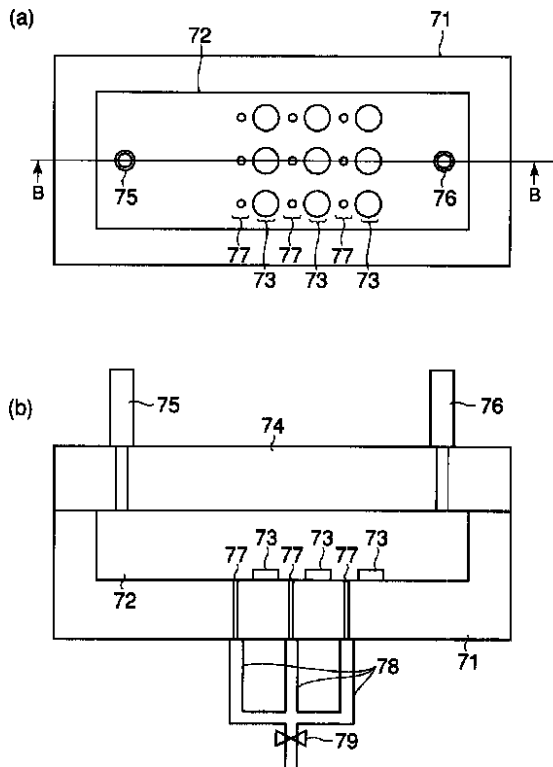
【図9】



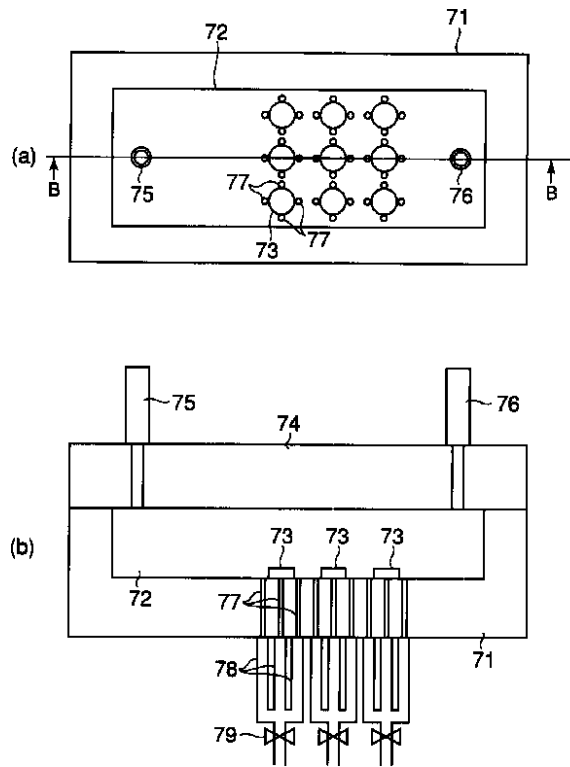
【図8】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

G 0 1 N 33/53  
 33/553  
 33/566  
 37/00

識別記号

1 0 2

F I

G 0 1 N 33/553  
 33/566  
 37/00  
 C 1 2 N 15/00

テ-マ-コ-ド' (参考)

1 0 2

F

专利名称(译)	一种生化分析装置，具有能够通过应用控制其捕获功能的捕获装置和使用该装置的生化分析方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002281967A</a>	公开(公告)日	2002-10-02
申请号	JP2001088381	申请日	2001-03-26
[标]申请(专利权)人(译)	奥林巴斯株式会社		
申请(专利权)人(译)	オリンパス光学工业株式会社		
[标]发明人	高山美知雄		
发明人	高山 美知雄		
IPC分类号	G01N33/53 C12M1/00 C12M1/42 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/553 G01N33/566 G01N37/00		
FI分类号	C12M1/00.A C12M1/42 C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/53.T G01N33/553 G01N33/566 G01N37/00.102 C12N15/00.F C12N15/09.200		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA11 4B024/HA12 4B029/AA07 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/CC13 4B029/FA12 4B063/QA01 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR66 4B063/QR82 4B063/QS15 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02		

摘要(译)

解决的问题：从样品中一次检测多种物质，例如，检测DNA和RNA等多种核酸以及抗原和抗体，并在检测后仅特异性靶向目标物质。本发明提供了可以容易且容易地回收的方法，以及用于执行该方法。解决方案：这是一种设备，其中将配备有探针的颗粒保持在反应区中，在该区中通过捕获装置进行反应，其中捕获装置的捕获功能通过应用来控制。

【图7】

