

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) 公表特許公報 ( A )

(11)特許出願公表番号

特表2002 - 534700

(P2002 - 534700A)

(43)公表日 平成14年10月15日(2002.10.15)

(51) Int. Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* ( 参考 )
G 0 1 N 35/08		G 0 1 N 35/08	B 2 G 0 4 2
C 1 2 Q 1/25		C 1 2 Q 1/25	2 G 0 5 8
1/68		1/68	A 4 B 0 6 3
G 0 1 N 31/20		G 0 1 N 31/20	
33/53		33/53	M

審査請求 未請求 予備審査請求 ( 全 55数 ) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 593769(P2000 - 593769)

(86) (22)出願日 平成12年1月18日(2000.1.18)

(85)翻訳文提出日 平成13年7月19日(2001.7.19)

(86)国際出願番号 PCT/US00/01268

(87)国際公開番号 W000/42212

(87)国際公開日 平成12年7月20日(2000.7.20)

(31)優先権主張番号 09/233,700

(32)優先日 平成11年1月19日(1999.1.19)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 カリパー・テクノロジーズ・コープ .  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9404  
3 マウンテン ヴュー フェアチャイルド  
ドライブ 605

(72)発明者 アン・アール . . コッフ - シル  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9402  
8 ポートラ ヴァリー ミノカ ロード  
30

(72)発明者 アンドレア・ダブリュー . . チャウ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9402  
4 ロス アルトス キュースタ ドライブ  
670

(74)代理人 弁理士 川原田 一穂

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 最適な高スループット分析システム

(57)【要約】

マイクロ流体の連続分析システムのスループットが、近接度および速度を最大にして複数の異なるサンプルをマイクロ流体チャンネル網に連続的に導入することにより最適化される。所与の試薬、反応時間などに対して、所望のスループットに基づいて最適化されたパラメータを含む装置が包含される。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ミクロ流体チャネルにおいて複数の試験化合物プラグを連続的に輸送する方法であって、

下記最大寸法dより小さい最小断面寸法を有する第1ミクロ流体チャネルを設定し、

【数1】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}}$$

第1試験化合物プラグを導入し、ここで、Pは前記試験化合物プラグをチャネル中に導入する期間であり、Dは前記試験化合物プラグ中の試験化合物の拡散係数であり、Kは比例因子であり、Tは前記試験化合物プラグがチャネルに導入されてから検出地点に移動するまでの時間であり、nは時間Tにおける前記試験化合物プラグ中の試験化合物の平均分散距離に対する初期プラグ長の比であり、TはPより大きく、そして

前記第1試験化合物プラグの後に第2試験化合物プラグをチャネルに導入することを含む上記方法。

【請求項2】 Pが60秒より短く、Dが約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-8}$  cm<sup>2</sup>/sであり、Tが1秒より長く、nが約0.5～約20である、請求項1記載の方法。

【請求項3】 Pが20秒より短く、Dが約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-7}$  cm<sup>2</sup>/sであり、Tが約5秒より長く、nが約1～約8である、請求項1記載の方法。

【請求項4】 Kが約1/210～約1/24である、請求項1記載の方法。

【請求項5】 前記ミクロ流体チャネルが矩形断面領域を含み、Kが約1/210以上である、請求項1記載の方法。

【請求項6】 前記ミクロ流体チャネルが円形断面領域を含み、Kが約1/192に等しい、請求項1記載の方法。

【請求項7】 前記ミクロ流体チャネルが楕円断面領域を含み、Kが

## 【数2】

$$\frac{1}{192} \left( \frac{5 + 14r^2 + 5r^4}{12(r + r^3)} \right)$$

にほぼ等しく、ここで、 $r = b / a$ であり、ここで、 $b$ は楕円断面領域の短軸であり、 $a$ は楕円断面領域の長軸であり、

## 【数3】

$$d = \sqrt{ab}$$

である、請求項1記載の方法。

【請求項8】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、 $200 \mu\text{m}$ より狭い幅を有する、請求項1記載の方法。

【請求項9】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、 $100 \mu\text{m}$ より狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項10】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、 $50 \mu\text{m}$ より狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項11】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、 $20 \mu\text{m}$ より狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項12】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、 $10 \mu\text{m}$ より狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項13】 生化学システムの少なくとも第1成分の流れを試験化合物プラグと同時に第1マイクロ流体チャンネルの少なくとも一部を通して流し、そして

第1マイクロ流体チャンネル内にて生化学システムの第1成分に対する試験化合物の効果を検出する、

ステップをさらに含む請求項1記載の方法。

【請求項14】 前記生化学システムの少なくとも第1成分の流れが、細胞の懸濁流からなり、前記検出ステップが、前記細胞の機能における試験化合物の効果を検出することを含む、請求項13記載の方法。

【請求項15】 前記生化学システムの少なくとも第1成分が、酵素と酵素に対する基質を含み、前記検出ステップが、前記酵素と基質との相互作用に対する試験化合物の効果を検出することを含み、請求項13記載の方法。

【請求項16】 前記生化学システムの少なくとも第1成分が、特定の結合対の第1及び第2メンバーを含む、請求項13記載の方法。

【請求項17】 前記特定の結合対がレセプターとその相補リガンドからなる、請求項16記載の方法。

【請求項18】 前記特定の結合対が第1及び第2核酸配列からなり、該第1核酸配列は、前記第2核酸配列の少なくとも一部に相補的であり、前記第1核酸配列と前記第2核酸配列の交配を十分可能にする、請求項16記載の方法。

【請求項19】 前記第1試験化合物プラグを導入するステップは、隣接のスペーサ流体プラグを続けて導入し、その際、第1マイクロ流体チャンネルの開放端を第1試験化合物源に接触して配置して所要量の第1試験化合物を吸引して第1試験化合物プラグを形成し、次に、マイクロ流体チャンネルの開放端をスペーサ流体源に接触して配置して所要量のスペーサ流体をマイクロ流体チャンネルに吸引して試験化合物プラグに隣接してスペーサ流体プラグを形成することを含み、また

前記第2試験化合物プラグを導入するステップが、マイクロ流体チャンネルの開放端を第2試験化合物源に接触して配置して所要量の第2試験化合物をマイクロ流体チャンネルに吸引して第2試験化合物プラグを形成することを含み、請求項1記載の方法。

【請求項20】 前記マイクロ流体チャンネルを真空引きすることにより、前記第1試験化合物、スペーサ流体及び第2試験化合物を前記マイクロ流体チャンネルに吸引する、請求項19記載の方法。

【請求項21】 前記第1試験化合物、スペーサ流体及び第2試験化合物を動電学的に前記マイクロ流体チャンネルに吸引する、請求項19記載の方法。

【請求項22】 前記設定ステップで設定されるマイクロ流体チャンネルが、平面本体構造中に配置され、該本体構造は、それに取り付けられた外部ピペット要素を有し、該外部ピペット要素は、それを通して配置されたチャンネルを有し、該チャンネルは、第1端にて開放し、第2端にて前記第1マイクロ流体チャンネルに流動

自在に連結される、請求項19記載の方法。

【請求項23】 少なくとも第1マイクロ流体チャンネルの中に配置した本体構造、及び

スペーサ流体プラグにより分離され前記チャンネル中に配置された第1及び第2試験化合物プラグ

を含むマイクロ流体装置であって、前記チャンネルは、下記dより小さい最小断面寸法を有し、

【数4】

$$d = \frac{L_p - \sqrt{2DT}}{U \sqrt{\frac{2KT}{D}}}$$

ここで前記第1試験化合物プラグとスペーサ流体プラグの長さが $L_p$ であり、 $n$ は試験化合物プラグ中の試験化合物の所望の分散距離に対する初期プラグ長の比であり、約0.5～約10であり、 $D$ は第1試験化合物の拡散係数であり、 $K$ は比例因子であり、 $T$ は試験化合物プラグがチャンネルへ導入されてから検出地点に移動するまで時間であり、 $U$ は第1微小スケールチャンネルを通る試験化合物プラグの平均直線速度である、前記マイクロ流体装置。

【請求項24】  $L_p$ は10mmより短く、 $U$ は約0.05～10mm/secであり、 $D$ は約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-8}$ cm<sup>2</sup>/sであり、 $T$ は1秒より長く、 $K$ は約1/210以上であり、 $n$ は約0.5～約10である、請求項23記載のマイクロ流体装置。

【請求項25】  $L_p$ は約6mm以下であり、 $U$ は約0.2～2mm/secであり、 $D$ は約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-7}$ cm<sup>2</sup>/sであり、 $T$ は約5秒より長く、 $n$ は約1～約8である、請求項23記載のマイクロ流体装置。

【請求項26】 前記マイクロ流体チャンネルが、矩形断面領域を含み、 $K$ が約1/210以上である、請求項23記載のマイクロ流体装置。

【請求項27】 前記マイクロ流体チャンネルが、円形断面領域を含み、 $K$ が約

1 / 192 に等しい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 28】 前記マイクロ流体チャンネルが、楕円断面領域を含み、K が  
【数 5】

$$\frac{1}{192} \left( \frac{5 + 14r^2 + 5r^4}{12(r + r^3)} \right)$$

にほぼ等しく、ここで  $r = b / a$  であり、ここで  $b$  は楕円断面領域の短軸であり、  
 $a$  は楕円断面領域の長軸であり、

【数 6】

$$d = \sqrt{ab}$$

である、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 29】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルの最小断面寸法が  $200 \mu\text{m}$  より小さい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 30】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルの最小断面寸法が  $100 \mu\text{m}$  より小さい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 31】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルの最小断面寸法が  $50 \mu\text{m}$  より小さい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 32】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルの最小断面寸法が  $20 \mu\text{m}$  より小さい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 33】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルの最小断面寸法が  $10 \mu\text{m}$  より小さい、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 34】 前記マイクロ流体チャンネルが円筒形であり、前記最小断面寸法が前記マイクロ流体チャンネルの直径である、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 35】 前記マイクロ流体チャンネルが方形又は矩形であり、前記最小断面寸法が該チャンネルの深さである、請求項 23 記載のマイクロ流体装置。

【請求項 36】 前記第 1 マイクロ流体チャンネルと交差して流動自在に連通する少なくとも第 2 マイクロ流体チャンネルをさらに含む、請求項 23 記載のマイクロ流

体装置。

【請求項37】 前記第2マイクロ流体チャンネルが、前記第1マイクロ流体チャンネルと実質的に同じ断面寸法を有する、請求項36記載のマイクロ流体装置。

【請求項38】 前記本体構造が平面構造である、請求項1記載のマイクロ流体装置。

【請求項39】 前記平面本体構造が、少なくとも第1及び第2平面基板層を含み、それらが共に合わさってその間に第1マイクロ流体チャンネルを形成する、請求項38記載のマイクロ流体装置。

【請求項40】 前記平面基板層が、シリカベース基板及びポリマー基板から選択される、請求項39記載のマイクロ流体装置。

【請求項41】 連続分析を行うためのマイクロ流体チャンネル網を設計する方法であって、

試験化合物プラグとスペーサプラグとを含む試験プラグのサイクル長を選択し

、

試験化合物の拡散係数を同定し、

試験化合物の総反応時間を選択し、そして

分析を行うための最大チャンネル直径とチャンネル長の1つ又は1つ以上をサイクル長、拡散係数及び総反応時間に基づいて決め、それにより、試験化合物プラグ中の試験化合物が、総反応時間中にスペーサ流体プラグの50%より狭く分散する、

ことを含む上記方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****発明の背景**

マイクロ流体分析システムは、化学・生化学システムの分析におけるスループットを増し、コストを低減し、自動化を改善し、データの質を向上させるという要求を満たすための実用可能な手段としてますます見なされつつある。多くの場合、これらの要求の多くを達成するというマイクロ流体素子工学の目標が、小型化された従来技術の大規模な並列化により達せられてきた。従来技術に対して多くの恩恵を与える一方で、より小規模な並列システムは、例えば並列チャンネル数のファクターだけ従来技術に対して改善するのみである。特に、これらのより小さいマイクロ流体システムは、従来技術の制限のいくつかを取り除く一方で、それら全てを除去するわけではない。よって、これらのシステムは一般に従来技術に対する小さな改善（例えばコスト改善）を行い、マイクロ流体システムが解決できないさらなる制限（例えば並列システムの同時制御）に突き当たるのみである。

共有に係る公開された国際出願No. 98/00231には、これらのことのいくつかに取り組んだ方法及びシステムが記載されている。特に、試験化合物（例えば製薬ライブラリ化合物）を連続してスクリーニングし、これらの化合物のどれが所与の生体システムに所望の効果を有するのかを決めるアッセイ方法が記載されている。単一のマイクロ流体チャンネル網にて化合物を連続してスクリーニングすることにより、相対的に高い連続スループットを依然として生じつつ、システムの制御が単純化される。加えて、システムが例えば複数の独立のチャンネル網を設けて複数の化合物を連続的にスクリーニングすることにより並列化されるならば、スループットはさらに増す。

**【0002】**

しかしながら、直列システムでは、スループットを最大にする上で困難が生じ得る。特に、スループットを最適化するには、システムに連続的に導入される化合物間の間隔を最小にする必要がある。しかしながら、いくつかの要因、例えば流体物質の拡散、電気泳動バイアス、分散などは、連続導入される隣接した化合物間の間隔の最小化に不利となる。特に、流体サンプルは拡散し、分散しそして

電気泳動用のバイアスが付加され、又は汚される (smeared) ので、連続的に導入される流体物質の混合を避けるために、各流体の容積に実質的な間隔が与えられることが一般に要求される。試験化合物間に要する間隔が大きくなれば、複数の化合物をスクリーニングするのに要する時間が長くなる。さらに、このような分散は、微小スケールのチャンネル内の流体物質の過度の稀釈を生じ得る。マイクロ流体システムの寸法は極度に小さいので、一般に従来の分析で用いるよりも実質的に少ない物質を用いてマイクロ流体分析を始めるが、場合によってはしばしばこのような稀釈が起こることは許されない。

それにも関わらず、間隔を最小にして物質を連続的に導入可能にすることによりスループットを最大にできるマイクロ流体システム、これらのシステムの使用法、及びこれらのシステムの設計方法を提供することが一般に望まれる。本発明はこれらの要求と多様なその他の要求を満たす。

### 【0003】

#### 発明の概要

一般に、本発明は、マイクロ流体チャンネルシステム内で連続的に処理される物質に対して最適なスループットを有する方法、装置及びシステムを提供する。

例えば、第1の態様では、本発明はマイクロ流体チャンネル内に複数の試験化合物プラグ (plug) を連続的に輸送する方法を提供する。この方法は、最大寸法  $d$  より小さな最小断面寸法を有する第1のマイクロ流体チャンネルを設けることを含む。ここで、

#### 【数7】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}}$$

第1の試験化合物プラグが導入され、続いて隣接のスペーサ流体プラグが導入される。上式において、 $P$  は試験化合物プラグと隣接スペーサ流体プラグをチャンネルに導入するのに要する時間である。 $D$  は試験化合物プラグにおける試験化合物の拡散係数である。 $T$  は試験化合物プラグがチャンネルに導入されてから検出地点に移動する時間量である。 $K$  はチャンネルの断面形状の性質に基づいた比例定数で

ある。nは、TがPより大きいという条件下で、時間Tにおえる試験化合物プラグ中の試験化合物の平均分散距離に対する初期プラグ長の比である。スペーサ流体プラグに隣接して、第2試験化合物プラグが導入される。

【0004】

本発明の別の態様は、本体構造を有し、少なくとも第1マイクロ流体チャネルをその中に配置したマイクロ流体装置である。このチャネルは次式のdより小さな最小断面寸法を有する。

【数8】

$$d = \frac{L_p - \sqrt{2DT}}{U \sqrt{\frac{2KT}{D}}}$$

第1及び第2試験化合物プラグは、チャネル中にスペーサ流体プラグにより分離されて配置される。第1試験化合物プラグとスペーサ流体プラグは、 $L_p$ の長さを有する。nは、試験化合物プラグ中の試験化合物の所望の分散距離に対する初期プラグ長の比であり、約0.5～約10である。Dは第1試験化合物の拡散係数である。Tは試験化合物プラグがチャネルに導入されてから検出地点に移動するまでの時間である。Uは第1の微小スケールチャネルを通る試験化合物プラグの平均直線速度である。Kはチャネルの断面形状の性質に基づいた比例定数である。

本発明の別の態様は、連続分析を行うためのマイクロ流体チャネル網を設計する方法である。この方法は、試験化合物プラグとスペーサプラグとを含む試験プラグのサイクル長を選択することを含む。試験化合物の拡散係数が同定される。試験化合物に対して、総反応時間が選択される。サイクル長、拡散係数及び総反応時間に基づいて、分析を行うための最大チャネル直径及びチャネル長の1又はそれ以上が決められる。試験化合物プラグ中の試験化合物は、総反応時間中にスペーサ流体プラグの50%より少ないものが分散する。

【0005】

## 発明の詳細説明

### I. 一般的な議論

本発明は、マイクロ流体装置又はシステムのチャンネルを連続的に通過するサンプル間に要求される時間を最小にすることにより、マイクロ流体装置又はシステムにおける高スループットの実験及び超高スループットの実験でさえ行える方法を提示する。特に、本発明は、いくつかの最適基準を満たすマイクロ流体チャンネルを設けることにより、マイクロ流体チャンネル中に連続的に導入され一定の間隔を置いて配置された流体サンプルのスループットを最大にする方法を提供する。一般に、十分に小さな断面寸法のマイクロ流体システムを設けることにより、及び層流範囲において流体操作を行うことにより、マイクロ流体チャンネル中での拡散、分散及び他の攪乱効果のレベルを実質的に下げることができ、それにより連続的に導入される物質間の間隔を最小にできる。これらの連続的に導入される物質間の間隔を小さくすることにより、単位時間あたりにチャンネルに連続的に導入できる異なる物質の数（これも「スループット」という）を最大にできる。1つのチャンネル内において1化合物/分より大きな速度でスクリーニングされる化合物は、一般に高スループットをいい、1化合物/10秒より大きな速度での化合物のスクリーニングは、一般に超高スループットの範疇に入る。

#### 【0006】

図1は、本発明の連続分析方法及びシステムを概略示す。図示されているように、マイクロ流体装置100は本体構造102を含み、その中に主分析チャンネル104を配置する。一般に、主分析チャンネル104は、主チャンネル104中で連続的に分析される様々なサンプル物質/試験化合物の源（図示せず）と流動自在に連通している。図示されているように、主チャンネルとサンプル物質の源との連通は、チャンネル104aを中に配した本体ピペット要素106を介して与えられ、このチャンネル104aは主分析チャンネル104と流動自在に連通している。操作中、一般には所与の分析用の試薬が主チャンネル104に沿って流される。次に、複数のサンプル物質/試験化合物プラグ108が主チャンネルに連続的に導入され、そこで分析試薬と相互作用する。連続して導入される試験プラグ間の分離を維持するために、スペーサ流体プラグ110がピペットチャンネル104a及び分析

チャンネル104に導入される。試験プラグ及び相互作用する試薬は、それらが検出器（例えば光検出器118）とセンシング上において連通したチャンネル中の検出地点に到達するまで、主チャンネル104に沿って輸送される（矢印で示す）。図1から明らかなように、システムのチャンネル中により近づけて試験プラグを共に詰めることができれば、単位時間当たりさらに多くの試験プラグを分析できる。連続した高スループット分析のこの面は本発明の方法及びシステムにより直接扱われる。

#### 【0007】

特に、本発明は、少なくとも2つの異なる流体領域をマイクロ流体チャンネルを通して輸送し、それにより2つの流体領域相互間の分散又は拡散が最小化される方法を提供する。一般にこれは本発明によりマイクロ流体チャンネルを設けることにより達成され、該チャンネルは、スループットが最適化されたチャンネル寸法を有し、試験プラグ物質の最小の分散/拡散を示す。一般にこれは、所与の分析システムに対する最適なチャンネル断面寸法や例えば反応時間、試験プラグ物質の拡散係数、試験プラグの所望の厳格さ(stringency)/分解能などを選択することにより達成される。ここで議論しているように、「分散」は流体媒体内での対流誘導型の長手方向の物質分散として定義される。これは、例えば圧力駆動フローシステム、カーブやコーナー付近での動電学的に駆動されるフローシステム、及び一様なバッファイオン濃度（例えば同じチャンネルシステム内での高及び低塩溶液のプラグ）を有する動電学的に駆動されるフローシステムにおいてストリームラインを横切る速度変化を原因とする。本発明のチャンネルシステムの目的のためには、分散は一般にはフローと分子拡散とのカップリングによるもの、すなわちテーラー(Taylor)分散として定義される。この態様では、対流的な輸送による分散の時間スケールは、長く、すなわち流れ方向に直交する方向での分子拡散の時間スケールに匹敵する。分散及びテーラー分散についての議論は、例えばTaylor et al., Proc. Roy. Soc. London, (1953) 219A:186-203、Aris, Proc. Roy. Soc. London (1956) A235:67-77、Chatwin et al., J.Fluid mech. (1982) 120:347-358、Doshi et al., Chem. Eng. Sci. (1978) 33:795-804 及びGuell et al., Chem. Eng. Comm. (1987) 58:231-244を特に参照されたい。これらの各々はあらゆる

目的のため文献全体としてここに援用する。

【0008】

II . 最適化されたマイクロ流体システム

マイクロ流体チャネル内での試験プラグ物質の拡散/分散を図2に略示する。特に、チャネルへの初期導入の地点では、試験プラグは明瞭な非拡散プラグとして示されている(上図、時間=0)。試験プラグがチャネルに沿って輸送される所与の時間(T)の後、図2(下図)に示されるように、円と四角で示された試験プラグ内の物質が、元の試験プラグ容積から拡散及び分散する。平均分散距離は、鎖線により示される。所望の分散距離と後に詳細に記載するnとの相関があるので、元の試験プラグ長( $L_{plug}$ )、周期長( $L_p$ )及び直線速度(U、矢印)を図2に示す。ここに記載のように、例えば鎖線で示されたような所望のレベルの拡散/分散を例えば越える過度な拡散/分散を許容しない最適化されたマイクロ流体チャネルが選択/設計される。

本発明に従って使用されるマイクロ流体チャネルシステムに対する最適基準を決める際には、多くの要因を考慮することを伴う。システムを最適にするためには、例えばシステムが使用される特定の用途における一時的で化学的な要求だけでなく、システムの構造的な特性の両方を考慮しなければならない。

【0009】

特に、所与のサンプル又は試験化合物物質の流体プラグ(「試験プラグ」ともいう)をどのくらい近づけてチャネルに導入できるかを決める際に考慮しなければならないのは、(1)例えば物質の拡散係数のような物質の特性、(2)例えば十分に検出可能な信号および物質プラグの許容できるレベルの粘着性を与えるための、例えばサンプル又は試験化合物物質の導入と該物質の検出との間で必要な時間のような用途における要求、及び(3)例えばチャネルの断面寸法のようなマイクロ流体チャネルの構造特性である。もちろん、他のいくつかの事項、例えばマイクロ流体装置及びシステムの製造コスト、反応速度、検出機構の感度なども上記基準の各々に影響し得る。しかしながら、本発明は、上記基準に対して最適化され且つこれら後者の基準やその他の影響因子を最適化することもできるマイクロ流体装置及びシステムの製造及び使用方法を提供する。

## 【0010】

言及したように、一般に所与のアッセイを行うための特定の連続入力システムのスルーットを最適化するには、隣接した試験プラグ間の過度な混合を起こさずできるだけ近づけて試験プラグを連続的に導入する必要がある。1番目として、このことは、試験プラグ間を分離するために試験プラグ間にスペーサ流体プラグを導入することを要求する。しかしながら、2番目として、単位時間当たりシステムを通して移動する試験プラグ数を最大にするために、スペーサプラグの長さを考慮して最小にする一方で、必要な分離又は区分機能はなお実行する。スペーサ流体プラグのこのような最小化において考慮を要することは、試験プラグ中の物質がマイクロ流体チャンネルを通して進む間に拡散又は分散する速度、及び許容できるレベルの拡散/分散のみを可能にするスペーサ流体プラグの長さの選択である。

## 【0011】

試験プラグ物質の分散は、同物質の拡散と類似している。よって、拡散係数  $E$  は、該物質の拡散係数に類似し、次式で定義される。

## 【数9】

$$E = K \frac{d^2 U^2}{D} \quad (1)$$

ここで、 $d$  はチャンネルの最小断面寸法であり、 $U$  はチャンネルを通して移動する物質の平均直線速度（単位：mm/秒）であり、 $K$  はチャンネルの断面形状の関数である比例因子であり、 $D$  は物質又は溶質の分子拡散係数である。分子が拡散する距離（ $x$ ）は、次式で与えられる。

## 【数10】

$$x = \sqrt{2DT} \quad (2)$$

ここで、 $T$  は決められた拡散の時間量である。特定のシステムに分散と拡散の両方が存在するならば、分散を追加的な拡散源として扱い、分子が移動する距離を拡散と分散の結合により次の通り計算できる。

## 【数11】

$$x = \sqrt{2K \frac{(dU)^2 T}{D}} + \sqrt{2DT} \quad (3)$$

## 【0012】

上述したように、ここに記載のシステムに関して真の関係領域は、結合した試験ノスペースプラグの長さ $L_p$ に対して所与の分子が移動する距離である。拡散距離に対するプラグ長の比を $n$ として定義すると、次式が得られる。

## 【数12】

$$\frac{1}{n} = \frac{x}{L_p} = \frac{\sqrt{2K \frac{(dU)^2 T}{D}} + \sqrt{2DT}}{L_p} \quad (4)$$

この式を整理して $d$ について解くと、次式が得られる。

## 【数13】

$$d = \frac{\frac{L_p}{n} - \sqrt{2DT}}{U \sqrt{\frac{2KT}{D}}} \quad (5)$$

ここで、 $d$ は、特定のパラメータセット、例えば試験ノスペースプラグ長 $L_p$ 、チャンネル中での物質の直線速度 $U$ 、チャンネル中での保留時間 $T$ 及び所望の又は許容できる分散距離 $n$ の下での、問題のチャンネルの直径における上限である。

## 【0013】

試験プラグとスペースの単一サイクルを導入するのに要する時間が $P$ で定義されるならば（これはシステムのスループットの逆数である）、元の周期長 $L_p$ は、試験プラグノスペース流体プラグの直線速度 $U$ とこれらのプラグを導入するための期間 $P$ との積として書き直すことができる。これは上記等式を次のように簡

単にする。

【数14】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}} - \frac{1}{U} \sqrt{\frac{D^2}{K}} \quad (6)$$

一般に、マイクロ流体システムにおいては、拡散が相対的に速い一方でシステムの直線速度は遅い場合、例えばDが大きくUが小さい場合にのみ分子拡散の効果が重要になる。しかしながら、一般的なマイクロ流体システムでは、物質が過度に拡散する前にシステムを通過して移動させることが一般に望まれるので、一般に逆は真である。その際、上記等式の第2項は小さくなり、一般には無視でき、よって次式が得られる。

【数15】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}} \quad (7)$$

【0014】

上記式に基づき、特定のアッセイにより定められたそれらのパラメータを単に挿入すること、及び与えられてないそれらのパラメータを調整又は最適化することにより、連続入力の高スループット分析を最適化できる。例えば、所与に拡散係数(D)、化合物間の所望の分解能(n)及び所望のスループット(1/P)を有する試験化合物に対しチャンネル内での所望の保留時間(T)が与えられたならば、分析が行われるチャンネルの最も大きい最小断面寸法(d)を決めることができる。逆に、特定の寸法のチャンネル(d)が与えられたならば、特定の拡散係数(D)と化合物間の所望の分解能(n)とを有する所与の試験化合物に対して許容された最大分析時間(T)を決めることができる。種々のパラメータも図2に示されており、例えばここで、nは時間Tでの試験化合物物質の平均拡散長( $L_{diff(avg.)}$ )に対する試験プラグの開始長( $L_{plug}$ )の比として示されている。図2に示されるように、鎖線は時間Tでの試験化合物物質の平均分散又は拡散

距離を表す。

【0015】

したがって、第1の態様では、本発明は、サンプル物質又は試験化合物物質を含む流体プラグ（ここでは「試験プラグ」という）をマイクロ流体チャネルを通して連続的に輸送する方法を提供し、その際、それら試験プラグはスペーサ流体のプラグ、例えばバッファにより分離される。これを達成するために、試験プラグを連続的に輸送するマイクロ流体チャネルが設けられ、その最小断面寸法は下記dより小さいか又はほぼdに等しい。

【数16】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}}$$

ここで、Dは存在する流体における試験プラグ中のサンプル物質又は試験化合物物質の拡散係数であり、Tはマイクロ流体チャネル中の試験プラグの全保留時間、例えば、試験プラグがチャネルへ導入されてからチャネルに沿ったある地点で試験プラグから所与の結果を検出するまでの時間である。特に好ましい態様では、Pは約60秒より短く、Dは約 $10^{-5} \sim 10^{-8} \text{ cm}^2 / \text{s}$ であり、Tは1秒より長く、nは約0.5～約20である。

【0016】

関連の態様では、本発明は、連続した高スループット分析を行うためのマイクロ流体装置を提供する。特に、これらの装置は一般に本体構造を含み、その中に少なくとも第1マイクロ流体チャネルを配置する。少なくとも1つのチャネルは、下記dより小さな最小断面寸法を有する。

【数17】

$$d = \frac{\frac{L_p}{n} - \sqrt{2DT}}{U \sqrt{\frac{2KT}{D}}} \quad (8)$$

ここで、チャネル中に配置される第1及び第2試験化合物プラグは、スペーサ流

体プラグにより分離され、第1試験化合物プラグと任意に含まれるスペーサ流体プラグは長さが $L_p$ であり、 $n$ は、試験化合物プラグにおける試験化合物の所望の分散距離に対する初期プラグ長の比であって約0.5～約10であり、 $D$ は第1試験化合物の拡散係数であり、 $K$ は比例因子であり、 $T$ は試験化合物プラグがチャンネルに導入されて検出地点に移動するまでの時間であり、 $U$ は第1の微小スケールチャンネルを通る試験化合物プラグの平均直線速度である。特に好ましい態様では、 $L_p$ は約10mmより小さく、好ましくは約6mm以下であり、 $U$ は約0.05～約10mm/秒であり、好ましくは約0.2～2mm/秒であり、 $D$ は約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-8}$ cm<sup>2</sup>/sであり、 $T$ は約1秒より長く、 $K$ は約1/210より大きく、好ましくは約1/210～1/24であり、 $n$ は約0.5～約10である。

【0017】

上述のように、マイクロチャンネルにおける分散の性質は、少なくとも部分的には問題のマイクロチャンネルの断面形状に依存する。例えば、円筒形で例えば円形の断面形状を有するチャンネルは、有限の幅又は無限の幅の(すなわち幅により限定されない)楕円、矩形のチャンネルとは異なる分散プロファイルを有する。上述した計算は、各場合において比例因子 $K$ を組み入れることにより、これらの異なるチャンネル形状に対してなお適用できる。円筒チャンネルの場合には、比例定数は1/192である。一方、楕円チャンネルの場合には、式(1)で使用される $d^2$ が( $ab$ )に等しく(ここで $a$ は楕円チャンネルの長軸であり、 $b$ は楕円チャンネルの短軸である(図5Bに示す))、かつ、 $r = b/a$ であるならば、比例定数( $K$ )は次式で与えられる。

【数18】

$$K = \frac{1}{192} \left( \frac{5 + 14r^2 + 5r^4}{12(r + r^3)} \right) \quad (9)$$

よって、楕円チャンネルの場合に上記式(7)及び(8)を整理すると、 $d$ は

【数19】

$$\sqrt{ab}$$

に等しい。

【0018】

分散がチャンネル幅により制限されず、例えば「無限幅」を有し、 $d$ がチャンネル深さである矩形チャンネルの場合には、比例因子は $1/210$ である。しかしながら、例えば図5Aに断面で示されるように、分散に影響しない幅、すなわち「有限幅」を有するチャンネルの場合には、比例因子は次の通りである。

【数20】

$$K = \frac{1}{210} f\left(\frac{b}{a}\right) \quad (10)$$

ここで、 $f(b/a)$ は図4に示されるグラフから決められ、このグラフはChatwin, et al., J. Fluid Mech. (1982) 120:347-358から得られたものであり、ここにあらゆる目的のために文献として援用する。

【0019】

一様な断面寸法を有するチャンネルに関して一般的に記載したが、図6A～6Cに略示するように、変化する断面寸法を含むチャンネルシステム、例えば狭い断面から広い断面になるチャンネルにも適用できる。特に、上述した分散の計算は、上記使用した直線速度の代わりに一定の容量流速(volumetric flow rate)により再定式化される。特に、このように変化するチャンネルシステム内では、流体の直線速度は、流体が狭いチャンネルから広いチャンネルに流れる際に変わるけれども、容量流速は同じままである。直線速度は容量流速と次のように関係する。

【0020】

【数21】

$$U = \frac{Q}{S} \quad (11)$$

ここで、 $S$ はチャンネルの断面積である。よって、これを上記式(11)に代用す

ると、次式が得られる。

【数22】

$$E = K \frac{d^2 Q^2}{S^2 D} \quad (12)$$

よって、 $K = 1 / 192$ である円筒チャネルの場合には、分散係数は次のように計算される。

【0021】

【数23】

$$E = \frac{1}{12\pi^2} \frac{Q^2}{d^2 D} \quad (13)$$

媒質がチャネルを流れて、その直径が図6Aに示されるように $d_1$ から $d_2$ に変わる場合には、分散係数の比を解くことができ、最終的には次式となる。

【数24】

$$\frac{E_2}{E_1} = \left( \frac{d_1}{d_2} \right)^2 \quad (14)$$

驚くべきことに、この等式から分かるのは、一定の容量流速の下で狭いチャネル（例えば $d_1$ ）から広いチャネル（例えば $d_2$ ）に移動する際には、分散係数は広いチャネル部分において初めに期待したように増大するのではなく減少することである。このことは異なる断面形状のチャネル、例えば図6Bと6Cにそれぞれ示されるような幅か深さの寸法のどちらかが変化する矩形チャネルなどにおいても成り立つ。例えば、幅（深さではない）が $a_1$ から $a_2$ に変化する矩形チャネルでは、分散は次式で計算される。

【0022】

【数25】

$$\frac{E_1}{E_2} = \frac{f\left(\frac{b}{a_2}\right)}{f\left(\frac{b}{a_1}\right)} \left(\frac{a_1}{a_2}\right)^2 \quad (15)$$

【数26】

$$\frac{f\left(\frac{b}{a_2}\right)}{f\left(\frac{b}{a_1}\right)}$$

が1のオーダーならば、

【数27】

$$\frac{E_1}{E_2} \approx \left(\frac{a_2}{a_1}\right)^2$$

となり、再度分かるように、分散は幅が大きくされたチャンネルでは減少する。

【0023】

チャンネル深さが増大し、‘a’は一定のままでbが $b_1$ から $b_2$ に変化する場  
合にも、次式により示されるように、同じことが成り立つ。

【数28】

$$E = \frac{f\left(\frac{b}{a}\right)}{210} \cdot \frac{Q^2}{a^2 D} \quad (16)$$

分かるように、bが $b_1$ から $b_2$ に増大すると、 $f(b/a)$ は減少し、その結  
果として相対分散、例えば $E_1/E_2$ が減少する。変化した断面形状を有するチ  
ャネルの議論についても、Taylor et al., Proc. Soc. London, (1953) 219A:18  
6-203、Aris, Proc. Roy. Soc. London (1956) A235:67-77、Chatwin et al.,  
J. Fluid mech. (1982) 120:347-358、Doshi et al., Chem. Eng. Sci. (1978)

33:795-804、及びGuell et al., Chem. Eng. Comm. (1987) 58:231-244を参照のこと。

【0024】

本発明は、最適化されたチャネル断面寸法を与えるという観点で一般的に記載されてきたが、チャネル形状の他の要素は代替性があり例えば容易に変えられる。しかしながら、特定の場合には、他のチャネル寸法は例えばスリーブットに関係しない理由により決められる。例えば、光学的検出方法が用いられる場合には、十分に大きな断面寸法を有するチャネルを使用して検出器による十分な信号取得を可能にする必要がある。それとは別に、チャネルは、特定の物質が例えば細胞やビードなどを通過し又は直線速度を落として反応体の適当なインキュベーションを可能にすべく十分な大きさの断面を必要とし得る。このような場合には、必要な断面寸法は上記表式に組み入れることができ、その要求に基づいてスリーブットを最適化する。

【0025】

一般に、所与の分子の拡散係数は、分子サイズ及び分子が溶解した媒体の性質の関数である。いずれにしても、一般にこれらの係数は、低粘性溶媒中の溶質の拡散係数を概算するためのStokes-Einstein式から次式の通り容易に求めることができる。

【数29】

$$D = \frac{k_{\beta} T}{6\pi\mu R_0} \quad (17)$$

ここで、

【外1】

$$k_{\beta}$$

はボルツマン定数であり、Tはシステムの温度であり、 $\mu$ は溶媒の粘性であり、 $R_0$ は溶質の半径である。高い粘性の溶媒では、分散係数は $\mu^{-2/3}$ として変化する一方、極度に高い粘性の溶媒、例えばポリマー溶液やゲルでは分散は通常は粘

性に依存しない。

#### 【0026】

特に好ましい態様では、本発明の方法及びシステムは、製薬ライブラリのスクリーニング、例えば潜在的な薬理学的活性を有する化合物の大規模な収集において使用される。一般に、このようなライブラリ化合物は、相対的に小さな分子、例えば分子量が10,000ドルトンより小さく、好ましくは約1000ドルトンより小さいものからなる。そのような場合には、これらの化合物は一般に、約 $10^{-5}$ より小さく典型的には約 $10^{-5} \sim 10^{-8}$ に匹敵する拡散係数を有する。好ましい態様では、本発明によるマイクロ流体方法及びシステムの最適化は、約 $10^{-5} \sim 10^{-7}$ の範囲の拡散係数を有する化合物に対して行われる。

所与の試験プラグに対する総保留時間(T)は、基準の数に依存して変わり得る。一般に、保留時間は、試験プラグがマイクロ流体チャンネルの検出部の前を通過する前に十分検出可能な信号を発生するのに要する時間に依存する。最も蛍光性のアッセイでは、この保留時間は一般に変化するが、一般には約1秒より長く、好ましくは約5秒より長く、しばしば30秒より長く、ある場合には60秒より長い。もちろん、極度に速い反応では、保留時間は、最小化でき、又は全体の処理の最適化(例えばサンプリングシステムが次の試験プラグを取る上げるのに十分な時間を可能にしつつスループットを最大すること)のために単に選択され得る。

#### 【0027】

上述したように、特定の分析チャンネルのスループットは、単位時間当たりに分析チャンネルを通して移動させ得る試験プラグ数、又はどれくらい近づけてこれらのプラグをチャンネルに導入できるかに部分的に依存する。したがって、試験プラグ及びそれに伴うスペーサプラグの長さは、例えば分析用の適当な試験プラグ物質の存在を保證するのに必要な試験プラグのサイズだけでなく、所望のスループットレベルにも依存する。よって、このパラメータは一般に、研究者の選択に依存して変わり得る。しかしながら、高スループットの製薬スクリーニングの好適な用途では、試験プラグとその隣接したスペーサ流体プラグの結合長( $L_p$ )は、約0.1~約30mmであり、好ましくは約1~約10mmである。試験プラ

グとその隣接するスペーサ領域を導入するための期間長 ( P ) も同様に、導入されるプラグの平均直線速度 ( U ) だけでなく、プラグ長 ( L<sub>p</sub> ) に依存する。一般に、期間長は変わるが、一般には約 60 秒より短く、好ましくは 30 秒より短く、適切には 20 秒より短く、さらに好ましくは 10 秒より短く、しばしば 5 秒より短く、一方、システム中での流体の直線速度は一般に約 0.05 mm / sec から約 10 mm / sec まで変わり、好ましくは約 0.2 mm / sec から約 2 mm / sec まで変わる。

#### 【0028】

上記基準の多くと共に、許容される拡散 / 分散の量 ( n により測定 ) は、研究者が試験プラグ間で望む分解能に依存して研究者が事前に決めるパラメータである。例えば、所与の化合物ライブラリの粗いスクリーニングを行うことを望むならば、複数患者サンプル分析のようないくつかのクリティカルなサンプルの高度に厳しい分析を行うよりもさらに拡散 / 分散に対し寛容となり得る。項 n は、例えば時間 = 0 での元の試験プラグ長の観点からの拡散 / 分散長の逆数として定義される。よって、例えば試験プラグ分子が元のサンプルプラグの長さの 1 / 5 の平均分散 / 拡散を有すると仮定すると、元の試験プラグの縁の分子は、元のプラグ長の 1 / 5 の平均長を拡散 / 分散する。この場合、n は 5 に等しい。好ましい態様では、ここに記載のマイクロ流体システムにおける許容できる平均分散 / 拡散は、0.5 より大きく、好ましくは 1 以上、さらに好ましくは 2 以上、多くの場合には 4 以上である n 値により与えられる。これは、元の試験プラグ長の 200 % より小さく、好ましくは 100 % より小さく、さらに好ましくは 50 % より小さく、多くの場合 25 % 以下である平均分散距離に達する。一般に、n の値は、20 より小さく、しばしば 10 以下であり、多くの場合 8 以下であり、生じる平均パーセント分散は、5 % 以上、しばしば 10 % 以上、多くの場合 12.5 % 以上である。好ましい態様では、n は一般に上記の上限と下限の間、例えば 0.5 ~ 20、好ましくは 1 ~ 10、4 ~ 10 又は 1 ~ 8 の間にある。

#### 【0029】

上記基準の好適な範囲に基づいて本発明により最適化されたマイクロ流体チャネルは、約 200 μm より小さい、好ましくは約 100 μm より小さい、さらに好

ましくは約50  $\mu\text{m}$ より小さい、多くの場合約20  $\mu\text{m}$ より小さく場合によっては約10  $\mu\text{m}$ より小さい最小の断面寸法を有するであろう。

本明細書から理解できるように、マイクロ流体装置の最適化方法を提示することにより、本発明は連続分析を行うためのそのような最適化システムを設計する方法をも提供する。特に、これらの方法は、試験化合物プラグとスペーサプラグとを含んだ試験プラグのサイクル長を選択することを含む。試験化合物の拡散係数が同定される。試験化合物に対する総反応時間は、行われる反応の性質により要求される所望の反応時間に基づいて選択される。サイクル長、拡散係数及び総反応時間に基づいて例えば上記表式から、分析を実行するための最大チャンネル直径とチャンネル長のうちの1つ又は1以上が決められる。これらの方法が一般に使用されてマイクロ流体システムを設計し、その際、試験化合物プラグ中の試験化合物は、総反応時間中、元の試験化合物プラグ長の200%より短い平均分散長を有し、好ましくは元の試験化合物プラグ長の100%より短い、さらに好ましくは50%より短い、しばしば25%より短い平均分散距離を有する。

#### 【0030】

ここに記載のような最適化された寸法のチャンネルを組み込んだマイクロ流体チャンネル、装置及びシステムは、単純な毛細管からその内部領域内で集積化されたチャンネル網を組み込んださらに複雑な平面マイクロ流体装置までのいくつかの構造的な構成を組み込むことができる。好ましい態様では、ここに記載の方法が実行されるマイクロ流体チャンネルは、マイクロ流体装置における集積化チャンネル網の一部である。このような集積化装置は、分離した部分、例えば毛細管要素、微小製造チャンバーなどの集合を含むことができ、典型的にはこのようなマイクロ流体装置は、一緒に合わさった少なくとも2つの別々の平面基板から成る層状構造を有する。それにより、チャンネル網は、例えば平面基板層の一方又は両方の面内に製造されることにより、合わさった基板の界面にて形成される。このような装置は、例えば米国特許出願No. 08/845,754 (1997年4月25日提出)に詳細に記載されており、全ての目的のため文献としてここに援用する。層状構造を組み込んだマイクロ流体装置の例が、図1に示されており、装置100の主な本体構造102が少なくとも2つの別々の基板層114及び116から成り、これ

らの層は一緒に合わさって装置100のチャンネル部分(例えばチャンネル104)を形成する。ここに記載の装置を製造する際使用する基板は、それらが受けるであろう条件、例えば過度の塩濃度、pH、圧力、温度などとの適合性だけでなく、微小製造の容易さに基づいて一般に選択される。一般に、例えばリソグラフィ製造技術を用いた微小製造に対する従順性や反応/分析条件に対する一般的な不活性故に、シリカベースの基板が好ましい。別に好ましいのはポリマー基板であり、例えば射出成形、エンボス、スタンプ、又は他の製造方法を用いるシリカベース基板に対してコスト及び製造の容易さの点で優れ、それにより、多数の安価な使い捨て装置を一度に製造できる。好ましいポリマー物質の例やこれらの物質からマイクロ流体装置を作る方法は、例えば米国特許出願No. 08/843,212(1997年4月14日提出)に記載されており、全ての目的のためそのまま文献としてここに援用する。

#### 【0031】

高スループットの連続分析を行う際に使用するための好適なマイクロ流体システム300の全体例が、図3Aと図3Bに示される。図示されているように、マイクロ流体装置302は、その内部領域に配置された少なくとも第1分析チャンネル304を有し、これは廃棄物リザーバー306内で一端が終端する。このチャンネルは、チャンネル316~322を介してそれぞれ試薬源308~314に流動自在に連結される。分析チャンネルは、ピペット要素324内に配置されたピペットチャンネル304aにも流動自在に連結される。異なる試験プラグとスペーサ流体プラグは、ピペット要素324の開放端を例えばマルチ窪みプレート332の窪み330内に配置された試験化合物源とスペーサ流体源に接触させることにより、チャンネル304a及び304内に吸引される。次に、試験プラグと分析上でのそれらの効果が、例えば検出器334により分析チャンネル104において検出される。

#### 【0032】

図3に示される装置のチャンネルを通して流体試薬、試験プラグ及びスペーサプラグを移動させることだけでなく、試験流体プラグをスペーサプラグをマルチ窪みプレートから分析チャンネルに吸い入れることは、いくつかの方法のうちの任意

のものにより行われる。例えば、好ましい態様では、流体の移動は、差圧を与えてそれにより流体流を所望することにより実現される。これは、真空、例えば負の圧力又は正の圧力を装置の種々のチャンネルの終点でのリザーバー／ポートのうちの1つ又は1以上に適用して流体をチャンネルを通して制御自在に駆動することにより、適宜達成される。交わる異なったチャンネルセグメントを通して差圧を制御して与えることにより、チャンネルセグメントの各々を通して移動する物質の比を制御できる。

別法として、それらのチャンネルの長さに沿って電場をかけて流体及びその他の物質を移動させる動電学的システムを用いて、流体輸送を行うことができる。一般に、チャンネル長の両端に電場をかけることは、種々のチャンネル終点のリザーバー／ポートに配置された流体と接触して設けられた電極により達成される。この電極は、必要な電圧を電極に送る適当な電子コントローラに接続される。制御された動電学的流体輸送システムを用いることにより、機械的なポンプ構造やバルブ構造の必要性がなく、マイクロ流体装置内で流体及びその他の物質の流れと方向を効果的に制御できる。制御された動電学的輸送は、例えば公開された国際特許出願No. 96/04547、Ramsey et al. に詳細に記載されており、全ての目的のために文献としてここに援用する。

#### 【0033】

本発明の最適化方法の性能を示すため、いくつかの代表的な分析が設定された。次の表は、異なる分析に対するいくつかの異なる基準、及び異なる基準に基づいて分析を行うため最適化されたチャンネル断面寸法の決定を示す。

#### 【0034】

#### 【表1】

表 1

D ( $\text{cm}^2/\text{sec}$ )	T (sec)	P (sec)	n	U (mm/sec)	最大 d ( $\mu\text{m}$ )
$1 \times 10^{-5}$	1	60	2	$\gg 0.001$	9300
$1 \times 10^{-5}$	1	1	2	$\gg 0.1$	155
$1 \times 10^{-5}$	1	3	2	$\gg 0.03$	464
$1 \times 10^{-5}$	5	5	2	$\gg 0.04$	346
$1 \times 10^{-5}$	20	5	2	$\gg 0.08$	173
$1 \times 10^{-5}$	20	5	3	$\gg 0.12$	116
$1 \times 10^{-5}$	20	5	6	$\gg 0.2$	58
$1 \times 10^{-5}$	20	20	2	$\gg 0.02$	693
$1 \times 10^{-5}$	60	60	2	$\gg 0.01$	1200
$1 \times 10^{-5}$	60	60	$1/2$	$\gg 0.003$	4800
$3.3 \times 10^{-6}$	20	5	3	$\gg 0.07$	66
$3.3 \times 10^{-6}$	20	5	6	$\gg 0.013$	33
$3.3 \times 10^{-6}$	20	5	6	1.0	31
$3.3 \times 10^{-6}$	20	20	3	$> 0.02$	266
$3.3 \times 10^{-6}$	20	20	6	$\gg 0.03$	66
$7.0 \times 10^{-7}$	60	2	6	$\gg 0.3$	3.5
$7.0 \times 10^{-7}$	60	10	6	$\gg 0.06$	18

## 【0035】

## III . 最適化されたマイクロ流体システムの用途

上述のように、一般に、本発明の最適化されたマイクロ流体チャネル、装置及びシステムは、高スループット及び超スループットの連続分析を行う際に有効である。特に好ましい高スループット分析は、生化学システムに有効な多数の製薬ライブラリ化合物のスクリーニング、例えば臨床分析のための多数の患者サンプルのスクリーニングなどを含む。

高スループットの製薬スクリーニング操作を行うためのマイクロ流体装置及びシステムの使用が、共有の国際特許出願No. WO98/00231に詳細に記載してあり、全ての目的のためにそのまま文献としてここに援用する。要は、マイクロ流体チャンネルが設けられ、それを通して生化学システムの少なくとも第1の成分が一般には連続流として流れる。ここで使用されているように、一般に、「生化学システム」とは、生体内で一般に見られる種類の分子間の化学的な相互作用をいう。このような相互作用は、酵素反応、結合反応、シグナリング反応及びその他の反応を含めて生体システムで起こる異化及び同化反応の全範囲を含む。さらに、ここに定義した生化学システムは、特定の生化学的相互作用の模倣であるモデルシステムをも含むであろう。本発明を行う上で特に興味ある生化学システムの例としては、例えばレセプター-リガンドの相互作用、酵素-基質の相互作用、バイオ有効性のスクリーニングのためモデル障壁システム（例えば細胞又は膜片）を伴う細胞のシグナリング経路、輸送反応、及び種々の他の一般システムが挙げられる。細胞又は生体の生存能力又は活性も、例えば毒物学の研究において本発明の方法及び装置を用いてスクリーニングされ得る。

#### 【0036】

生化学システムで有効な化合物をスクリーニングするための方法及び装置を提供するために、本発明は一般に、アフェクター(affector)化合物が望まれる所与の生体内生化学システムを模擬する生体外モデルシステムを組み入れる。化合物がスクリーニングでき且つアフェクター化合物が望まれるシステムの範囲は広い。例えば、望ましくない効果を有する生化学システムに関連した主要な事象を遮断し、遅くし又は禁止する際に有効な化合物がスクリーニングできる。例えば、遺伝病、癌、バクテリア又はウィルス感染などを含めて、病気の始まりや病気の特定の症状の発生に対して少なくとも部分的に応答するシステムを遮断できる試験化合物をスクリーニングできる。次に、これらのスクリーニングアッセイ方法において約束した結果を示す化合物が、さらに適宜試験されて病気や病気の症状を処理するのに有効な薬理学的薬剤が同定される。別法として、例えば患者に存する欠陥を治療するのに望ましいと信じられている機能を有する生化学システムを模擬、強化又は誘導できる化合物がスクリーニングされ得る。

一旦モデルシステムが選択されると、次に試験化合物のバッテリーがこれらのモデルシステムに適用される。特定の生体外生化学システムに影響するそれらの試験化合物を同定することにより、生体内システムの潜在的なアフェクターを同定できる。

#### 【0037】

それらの最も単純な形式では、本発明の方法及び装置において使用される生化学システムモデルは、生化学システムの2つの成分間の相互作用、例えばレセプター - リガンド相互作用、酵素 - 基質相互作用などにおける試験化合物の効果をスクリーニングする。この形式では、一般に、生化学システムモデルは、アフェクターが探されるシステムにおける通常的な相互作用を行う2つの成分、例えばレセプターとそのリガンド、又は酵素とその基質を含む。

試験化合物がこの相互作用に影響するかどうかを決めることは、システムを試験化合物に接触させてシステムの機能、例えばレセプター - リガンド結合又は基質転換をアッセイすることを伴う。次に、アッセイされた機能は、制御、例えば試験化合物の無いとき又は既知のアフェクターの存在するときの同じ反応と比較される。

二成分生化学システムの観点から記載されているが、本方法及び装置を用いて、システムの結果又は最終製品が既知であり所定レベル、例えば酵素経路、細胞シグナリング経路などにおいてアッセイ可能であるさらに複雑なシステムのアフェクターをスクリーニングすることもできる。別法として、ここに記載の方法及び装置を用いて、生化学システムの単一の成分と相互作用する化合物、例えば特定の生化学化合物（例えば、レセプター、リガンド、酵素、核酸、構造的高分子など）を特定の結合する化合物をスクリーニングすることができる。

#### 【0038】

生化学システムモデルは、細胞システム全体においても実現できる。例えば、細胞応答に影響する試験化合物をスクリーニングして探しているならば、細胞全体が利用できる。製薬研究に特に興味ある細胞機能 / 応答のいくつかの一般的な例としては、輸送機能（すなわちイオンチャネル活性化）、結合機能（すなわちリガンド / レセプター結合）、核酸交配、発現機能（すなわち遺伝子発現）及び

蛋白質転位、並びに細胞全体の生存能力が含まれる。これらの細胞機能をスクリーニングするためのマイクロ流体細胞ベーススクリーニングアッセイは、米国特許出願No. 09/104,519(1998年6月25日提出)に一般的に記載されており、すべての目的のためそのまま文献としてここに援用する。変更された細胞システムは、ここに包含されたスクリーニングシステムにおいても使用できる。例えば、キメラレポーターシステムは、特定の生化学システムでの試験化合物の効果の指示薬として使用できる。一般に、キメラレポーターシステムは、レセプターの結合をそのリガンドに知らせる信号経路中に集積化された異種構造のレポーターシステムを組み入れる。例えば、レセプターは、異種構造の蛋白質、例えば容易に分析できる活性を有する酵素に融合し得る。リガンド結合によるレセプターの活性化は、異種構造の蛋白質を活性化し、それが検出を可能にする。よって、代理レポーターシステムは、容易に検出できるイベント又は信号を作り、それによりレセプター/リガンド結合のアッセイを与える。このようなキメラレポーターシステムの例は、当該技術分野において以前から記載されている。

#### 【0039】

加えて、バイオ有効性(例えば輸送)をスクリーニングする場合には、生体障壁が含まれる。一般に、用語「生体障壁」とは、生体システム内での細胞層又は膜層、又はその合成モデルをいう。このような生体障壁の例としては、上皮及び内皮層(例えば血管内皮)などが含まれる。したがって、細胞ベースのスクリーニング操作の場合には、細胞の懸濁液が主マイクロ流体チャンネルに沿って輸送されて、そこに導入された試験化合物プラグと接触させられる。

生体応答は、しばしば、レセプターとそのリガンドとの結合により起こされ及び/又は制御される。例えば、成長因子(すなわちEGF, FGF, PDGFなど)とそれらのレセプターとの相互作用は、例えば細胞増殖及び分化、媒介酵素の活性化、メッセンジャー転換の刺激、イオンフラックスの変化、酵素の活性化、細胞形状の変化、及び遺伝子発現レベルの変化を含めて、多様な生体応答を刺激する。したがって、レセプターとそのリガンドとの相互作用の制御は、その相互作用により起こされた生体応答の制御を与え得る。

#### 【0040】

したがって、一つの態様では、本発明は、レセプター分子とそのリガンドとの相互作用に影響する化合物をスクリーニングするのに有効である。ここに使用されているように、一般に用語「レセプター」は特定の相互に認識して結合する1対の化合物のうち的一方をいう。この対のうちのもう一方は、「リガンド」という。よって、レセプター/リガンドの対としては、典型的な蛋白質レセプター（通常は会合した膜）とその天然リガンド（例えば別の蛋白質又は小さな分子）を挙げることができる。レセプター/リガンド対としてはまた、抗体/抗原結合対、相補的核酸、核酸会合蛋白質、及びそれらの核酸リガンドも含まれる。特定の会合した多くの生化学化合物が、当該技術分野では周知であり、本発明を行うのに利用できる。

従来、レセプター/リガンド対のアフェクターをスクリーニングする方法は、試験化合物の存在下においてレセプター/リガンド結合対をインキュベーションすることを伴っていた。次に、レセプター/リガンド対の結合レベルが、負及び/又は正の制御と比較される。正常な結合の減少が見られる場合には、試験化合物はレセプター/リガンド結合の反応抑制剤(inhibitor)であると決められる。その結合の増加が見られる場合には、試験化合物は相互作用の向上剤又は誘発剤であると決められる。

#### 【0041】

類似でかつたぶん重なった生化学システムの組は、酵素とそれらの基質との相互作用を含む。一般に、ここで使用される用語「酵素」は、触媒として作用して他の化合物又は「基質」に化学変化を誘導する蛋白質をいう。

一般に、基質に対する酵素の活性のアフェクターは、スクリーニングされる化合物の存在下又は不存在下において酵素の活性の変化を検出するのに最適な条件の下で酵素を基質に接触させることによりスクリーニングされる。所定の反応時間の後、混合物が分析され、反応生成物の存在又は基質量の減少が調べられる。次に、触媒作用された基質量が、制御、すなわち試験化合物の不存在下又は公知のエフェクター(effector)の存在下にて基質と接触される酵素を比較される。上述のように、基質に対する酵素の活性を低下させる化合物は「反応抑制剤」といい、一方、その活性を強める化合物を「誘発剤」という。

一般に、本発明が包含する種々のスクリーニング方法は、複数の試験化合物をマイクロ流体装置に連続的に導入することを伴う。一旦装置に注入されたなら、連続した直列又は並列の分析方針(orientation)で生体システムに影響のある試験化合物をスクリーニングできる。

#### 【0042】

ここに使用されているように、用語「試験化合物」は、特定の生化学システムに影響を与えることができる化合物でありスクリーニングされるものの集合をいう。試験化合物は、広い種類の異なる化合物を含み、その際、化学化合物、化学化合物の混合物(例えば多糖類)、小さい有機又は無機分子、生体高分子(例えばペプチッド、蛋白質、核酸)、又は例えばバクテリア、植物、菌類又は動物細胞や組織のような生体物質からの抽出物、天然に生じる組成物又は合成組成物をも含む。実施される特定の実施例に依存して、試験化合物が与えられ、例えば注入されて溶液中に開放され、又はキャリアー又は固体サポート(例えばビード)に付着させ得る。試験化合物の固定化のために、いくつかの適当な固体サポートを用いることができる。適当な固体サポートの例としては、アガロース、セルロース、デキストラン(Sephadex、Sephacroseとして市販)、カルボキシメチルセルロース、ポリスチレン、ポリエチレングリコール(PEG)、濾紙、ニトロセルロース、イオン交換樹脂、プラスチックフィルム、ガラスビード、ポリアミンメチルビニルエーテル-マレイン酸共重合体、アミノ酸共重合体、エチレン-マレイン酸共重合体、ナイロン、絹などが挙げられる。加えて、ここに記載の方法及び装置では、試験化合物は個別に又はグループでスクリーニングされ得る。有効な試験化合物のヒット率の期待が、所与のグループに対する一つの正の結果よりも期待されていないくらい低い場合に、グループスクリーニングは特に有効である。

#### 【0043】

上述のスクリーニングアッセイを行う際、システムの機能は検出可能なイベント又は信号を作ることにより示される。一般に、このような検出可能な信号は、使用される特定のモデル生化学システムの機能に関連した発色又は蛍光信号を含む。酵素システムでは、このような信号は、例えば発色基質又は蛍光基質に対す

る酵素の触媒作用の発揮により一般に作られる。結合システム、例えばレセプターリガンド相互作用の場合には、一般に信号は、ラベル付きリガンドとレセプターの会合又はその逆、又は会合が信号に量的又は一時的に与える変化を含む。

好ましい態様では、連続システムは、システムに影響を与える試験化合物が導入されるときにのみ変わる一定信号を発生する。特に、システム成分がチャンネルに沿って流れる際、チャンネルの検出領域又は窓にて相対的に一定の信号レベルを作る。試験化合物は、周期的にチャンネルに導入され、システム成分と混合される。それらの試験化合物がシステムに影響する場合には、検出窓にて一定の信号レベルからの偏差を生じる。この偏差は、スクリーニングされた特定の試験化合物と相関され得る。

#### 【0044】

例えば、第1成分が酵素で第2成分が基質である実施例では、基質は発色基質又は蛍光基質とでき、酵素が基質に作用するとき適宜検出可能な信号を発生する。第1成分がレセプターで第2成分がリガンドである場合には、リガンドかレセプターのどちらかが検出可能な信号を伝え得る。どちらかのイベントでは、一般に化合物の混合物及び流速は一定のままであり、それにより、検出窓116を通過する第1及び第2成分の混合物の流れが、定常状態信号を発生する。一般に、「定常状態信号」は、規則的で予測可能な信号強度プロファイルを有する信号を意味する。そのようなものとしての定常状態信号には、一定の信号強度 $w$ を有する信号、又は規則的な周期の強度を有する信号（これに対して正常信号プロファイルにおける変化が測定できる）が挙げられる。この後者の信号は、連続流システムの説明において記載したように、例えば別の試験化合物を充填するため流体流が周期的に中断される場合に発生される。上述の酵素システムで作られる信号は、チャンネルの長さに沿って変わる、すなわち、酵素が蛍光基質を蛍光性生成物に変換する際には露光時間につれて増大するけれども、所与の一定流速の場合にはチャンネルに沿って任意の特定地点での信号は一定のままである。

#### 【0045】

レセプター/リガンドシステムでも、定常状態信号における同様の変化が観測され得る。特に、レセプターとその蛍光性リガンドは、チャンネルに沿って異なる

流速を有するようによする。このことは、チャンネル内にサイズ排除マトリックスを組み入れること、又は電気浸透法の場合には2つの成分の相対的な電気泳動移動度を変えてレセプターがより速くチャンネルを流れるようにすることにより達成できる。再度、このことは、サイズ排除マトリックスの使用、又は電荷が変わった化合物の異なる流速を生じさせるチャンネル内での異なる表面電荷の使用により達成できる。試験化合物がレセプターに結合する場合には、蛍光性信号において暗いパルスを生じ、次により明るいパルスが続く。特定の動作原理に束縛されることなく、定常状態信号は、自由な蛍光性リガンド及びレセプターに結合した蛍光性リガンドの両方の結果であると信じられている。結合したリガンドは、レセプターと同じ流速で進む一方、結合していないリガンドはもっと遅く進む。試験化合物がレセプター - リガンド相互作用を抑制する場合には、レセプターは蛍光性リガンドに「沿って運ばれ」ず、流れの方向にて蛍光性リガンドを稀釈し、自由な蛍光性リガンドの超過を後ろに残す。このことは、定常状態信号を一時的に小さくし、次に蛍光を一時的に大きくする。別法として、酵素システムで用いるものと類似の構成が使用でき、その際、レセプターとそのリガンドとの相互作用を表す信号が存在する。例えば、レセプター - リガンド結合のpH効果を示すpH指示薬は、例えばカプセル入りの細胞の形態で生化学システムと共に装置に組み入れることができ、それにより、結合から生じるわずかなpH変化も検出できる。Weaver, et al., Bio/Technology(1988)6:1084-1089 を参照のこと。さらに、レセプターリガンド結合から生じる酵素の活性化、例えばキナーゼの活性化をモニターでき、又は活性化の際のそのような酵素における配座変化を、例えば発蛍光団(fluorophore)の組み入れにより検出できる。この発蛍光団は、活性化の際の酵素における配座変化により活性化又は抑制される。

以下の非制限的な実施例により本発明をさらに説明する。

#### 【0046】

##### 実施例

矩形反応チャンネル(「チャンネル」)を有する外部サンプリングピペット要素(「毛細管」)を含むマイクロ流体装置の最適なアッセイパラメータを決めるのに、上述の計算を用いた。その際、反応チャンネル内に酵素と基質を混合すべく圧力駆

動流を利用する一方、試験化合物を毛細管要素を通して周期的に導入した。外部サンプリング毛細管要素を組み入れたマイクロ流体装置の概略図を図3 A及び3 Bに示す。表2（左欄）は、予め決められたチャンネル形状及び/又はアッセイ要件に基づいたシステムの入力値を示す。表2（右欄）は、一旦所定の又は予め定められた値が確かめられたときの残りの変数に対する最適化された値を示す。

【0047】

【表2】

入力:		計算:	
チャンネル寸法		チャンネル中	
幅 (a)	7.4	最大速度 (cm/s)	0.22
深さ (b)	1.2	平均速度 (cm/s)	0.13
反応器長 (cm)	3.2	反応抑制剤 E (cm <sup>2</sup> /s)	$2.51 \times 10^{-4}$
主チャンネル長 (cm)	4.7	基質 E (cm <sup>2</sup> /s)	$7.53 \times 10^{-4}$
断面積 (cm <sup>2</sup> )	$8.88 \times 10^{-6}$	酵素 E (cm <sup>2</sup> /s)	$1.51 \times 10^{-3}$
アスペクト比 (b/a)	0.16	毛細管中	
U <sub>a</sub> /U <sub>m</sub>	0.58	最大速度 (cm/s)	0.72
f (b/a)	6.7	平均速度 (cm/s)	0.36
毛細管寸法		反応抑制剤 E (cm <sup>2</sup> /s)	$9.1 \times 10^{-4}$
内径 (μm)	20	基質 E (cm <sup>2</sup> /s)	$2.7 \times 10^{-3}$
外径 (μm)	365	酵素 E (cm <sup>2</sup> /s)	$5.5 \times 10^{-3}$
長さ (cm)	2	毛細管中の総時間	5.53
面積 (cm <sup>2</sup> )	$3.1 \times 10^{-6}$	分散 (L)	
面積比(チャンネル/毛細管)	2.8	毛細管中の反応抑制剤(cm)	0.10
バッファ/アナライト特性		チャンネル中の反応抑制剤 (cm)	0.11
反応抑制剤拡散 (cm <sup>2</sup> /s)	$3 \times 10^{-6}$	チャンネル中の基質 (cm)	0.19
基質拡散 (cm <sup>2</sup> /s)	$1 \times 10^{-6}$	チャンネル中の酵素 (cm)	0.27
酵素拡散 (cm <sup>2</sup> /s)	$5 \times 10^{-7}$	限界分散 (cm)	0.27
バッファ粘度 (cP)	1	初期のプラグL/分散L (cm)(n)	6.0
インキュベーション時間		チャンネル中のスペーサ長 (cm)	0.82
チャンネル中の時間 (s)	2.5	チャンネル中のサンプル長 (cm)	0.82
圧力降下 (psi)	1.6	毛細管中のスペーサ長(cm)	2.33
		毛細管中のサンプル長(cm)	2.33
		ドウェル時間スペーサ (s)	6.4
		ドウェル時間サンプル (s)	6.4
		1/スループット (s/サンプル) (P)	12.9

## 【0048】

上記表2から分かるように、いくつかのアッセイ及びチャンネルパラメータが、実行される装置において実行されるアッセイに基づいて予め決められた。例えば、マイクロ流体装置構造の実際性（例えばチャンネル及び毛細管の寸法）のみならず

、バッファ／アナライト(analyte)特性及びインキュベーション時間である。これは、反応混合物が反応チャンネル中に残る時間を決定し、それは流速とチャンネル長の関数である。同様に、チャンネル深さは、チャンネル内で信号を検出するのに使用されるシステムの検出限界により、例えば検出領域で適当な信号レベルが存在できるように決めることができる。

これらの所定又は予め決められたパラメータに基づいて、例えばスループット及び／又は分散／拡散について最適化されたその他のパラメータを決めることができる。例えば、与えられた実施例では、目標は、スループットを最適化することであった。これは、外部毛細管要素内のみならず装置のチャンネル内の両方での流速値、及びサンプル流体プラグとスペーサプラグ(例えばサンプル流体プラグ間に設けられる)の長さの値の計算を生じ、それにより、過度のサンプルプラグの混合無しに最適なスループットを可能にする、例えばスペーサプラグ長を最小にする。例として、表式(6)を整理して次式を得ることによりスループットが最適化される。

【数30】

$$P = n \left( d \sqrt{\frac{2KT}{D}} + \sqrt{\frac{2DT}{U}} \right) \quad (18)$$

【0049】

特記ないかぎり、ここに与えられた全ての濃度値は所与の成分の濃度をいい、その成分は、その成分の任意の変換、分離又は反応とは独立な混合物又は溶液に加えられて、一旦混合物又は溶液に加えられるとその成分を変えるか又は1以上の異なる種にその成分を変形する。さらに、特定の方法が特許請求の範囲に特定のステップ順で記載されているが、これらのステップ順が特許請求の範囲の文言で明示的に与えられていない限り、種々のステップを任意の順で実行できることが分かる。

まるで各個別の刊行物又は特許出願が特定の又は個別的に示されて文献として援用されているように、全ての刊行物と特許出願が、同程度に文献としてここに援用される。本発明は明確さと理解の容易さのために図及び実施例としていくら

か詳細に説明してきたが、特許請求の範囲の範囲内で特定の変化及び変更を行うことができるのは明らかである。

【図面の簡単な説明】

【図1】

複数のサンプル物質 / 試験化合物プラグを連続分析するためのマイクロ流体システムの実施例を断面にて略示する。

【図2】

マイクロ流体装置のマイクロ流体チャネル内での特定分析中のサンプル物質 / 試験化合物物質の拡散 / 分散を略示する。

【図3】

本発明により使用されるサンプル / 試験化合物のライブラリに複数の分析を行うためのマイクロ流体装置及びシステムを略示する。

【図4】

矩形断面のチャネルを通る層流の  $f(b/a)$  の変化を表すグラフである。

【図5】

図5 Aは矩形チャネルの断面を略示し、図5 Bは適切に参照符号の付けられた長軸と短軸を有する楕円チャネルの断面を示す。

【図6】

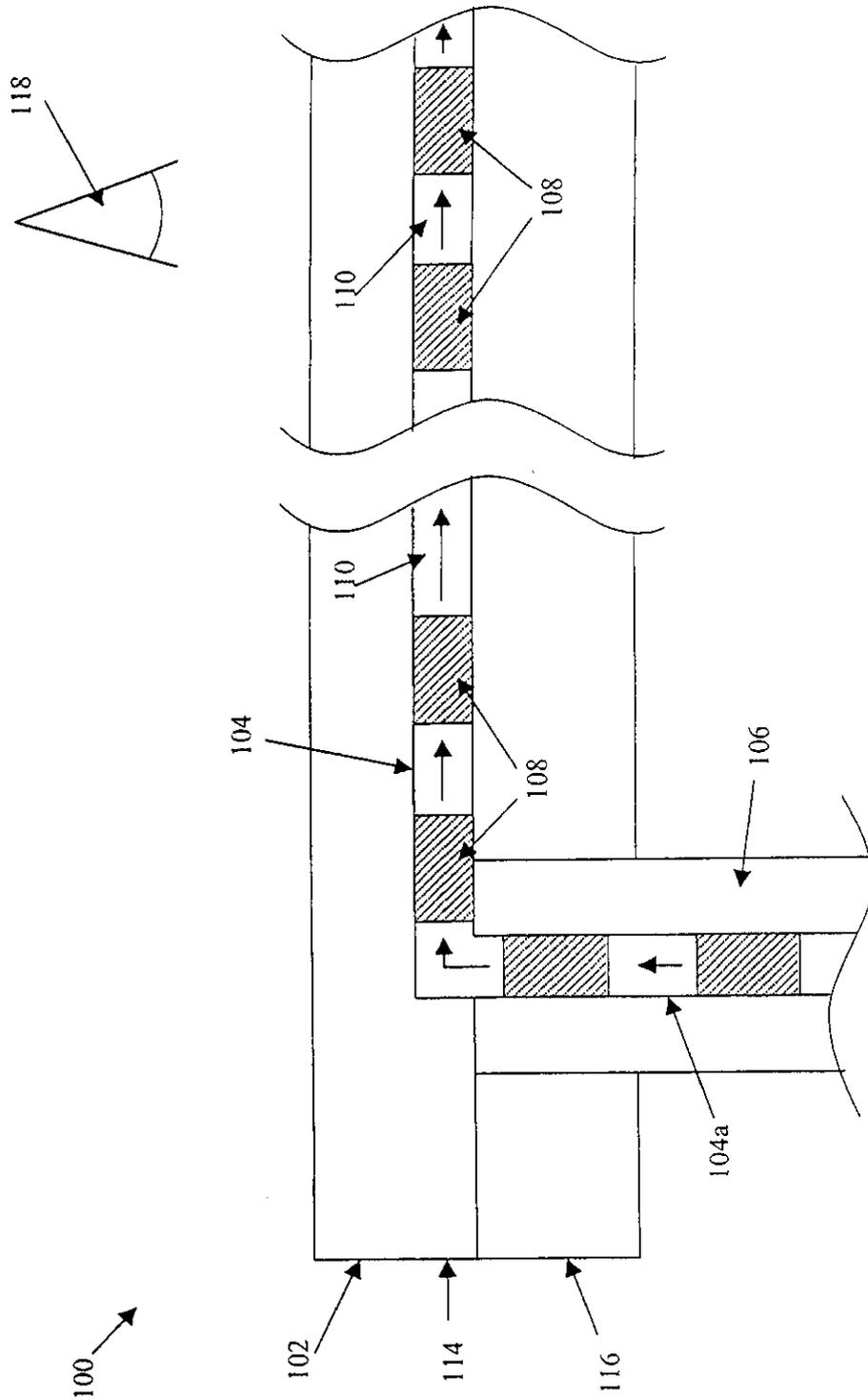
図6 A ~ 6 Cは、3つの断面寸法が変わっているチャネルを略示する。

【符合の説明】

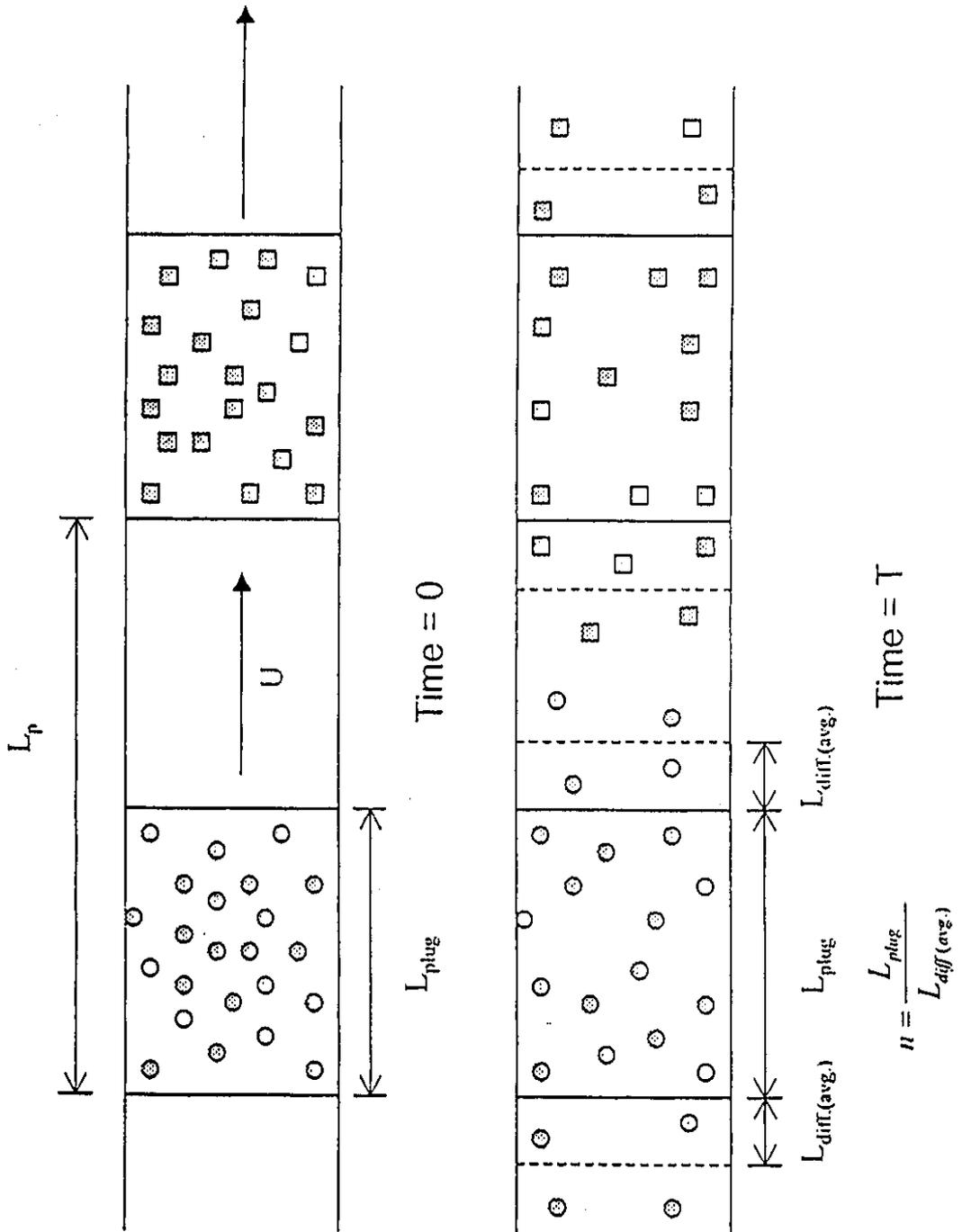
- 100     マイクロ流体装置
- 102     本体構造
- 104     主分析チャネル
- 104 a    ピペットチャネル
- 106     ピペット要素
- 108     サンプル物質 / 試験化合物プラグ
- 110     スペーサ流体プラグ
- 114     基板層
- 116     基板層

- 118 検出器
- 300 ミクロ流体システム
- 302 ミクロ流体装置
- 304 第1分析チャンネル
- 304 a ピペットチャンネル
- 308、310、312、314 試薬源
- 316、318、320、322 チャンネル
- 324 ピペット要素
- 330 窪み
- 332 マルチ窪みプレート
- 334 検出器

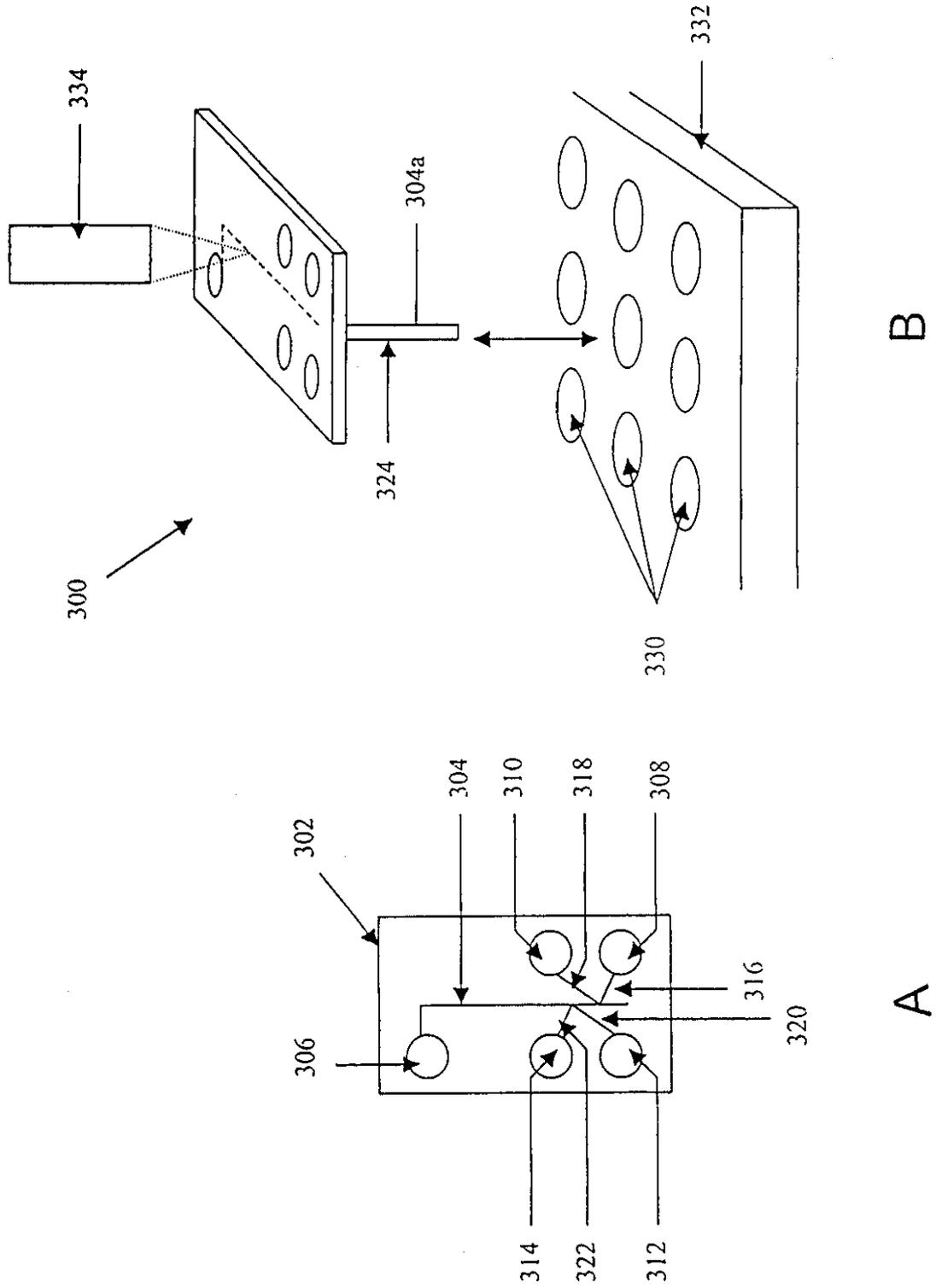
【図1】



【図 2】

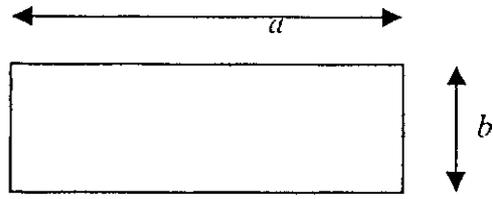


【図3】

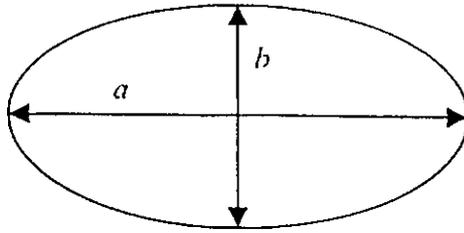




【図5】

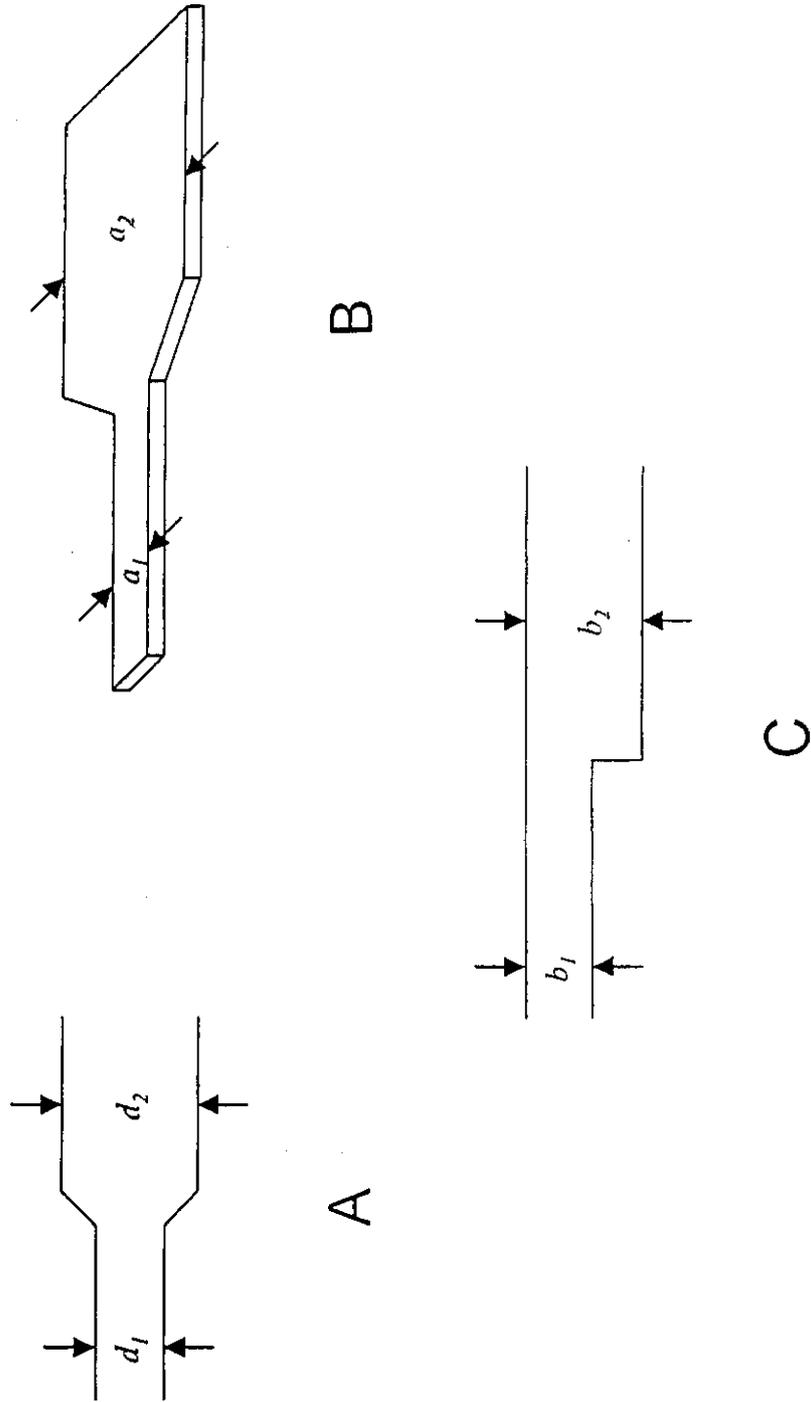


A



B

【图6】



【手続補正書】

【提出日】平成13年7月23日(2001.7.23)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ミクロ流体チャネルにおいて複数の試験化合物プラグを連続的に輸送する方法であって、

下記最大寸法  $d$  より小さい最小断面寸法を有する第1ミクロ流体チャネルを設定し、

【数1】

$$d = \frac{P}{n} \sqrt{\frac{D}{2KT}}$$

第1試験化合物プラグを導入し、ここで、 $P$ は前記試験化合物プラグをチャネル中に導入する期間であり、 $D$ は前記試験化合物プラグ中の試験化合物の拡散係数であり、 $K$ は比例因子であり、 $T$ は前記試験化合物プラグがチャネルに導入されてから検出地点に移動するまでの時間であり、 $n$ は時間 $T$ における前記試験化合物プラグ中の試験化合物の平均分散距離に対する初期プラグ長の比であり、 $T$ は $P$ より大きく、そして

前記第1試験化合物プラグの後に第2試験化合物プラグをチャネルに導入することを含む上記方法。

【請求項2】  $P$ が60秒より短く、 $D$ が約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-8}$   $\text{cm}^2 / \text{s}$ であり、 $T$ が1秒より長く、 $n$ が約0.5～約20である、請求項1記載の方法。

【請求項3】  $P$ が20秒より短く、 $D$ が約 $10^{-5}$ ～約 $10^{-7}$   $\text{cm}^2 / \text{s}$ であり、 $T$ が約5秒より長く、 $n$ が約1～約8である、請求項1記載の方法。

【請求項4】 Kが約1/210～約1/24である、請求項1記載の方法

。

【請求項5】 前記マイクロ流体チャンネルが矩形断面領域を含み、Kが約1/210以上である、請求項1記載の方法。

【請求項6】 前記マイクロ流体チャンネルが円形断面領域を含み、Kが約1/192に等しい、請求項1記載の方法。

【請求項7】 前記マイクロ流体チャンネルが楕円断面領域を含み、Kが

【数2】

$$\frac{1}{192} \left( \frac{5 + 14r^2 + 5r^4}{12(r + r^3)} \right)$$

にほぼ等しく、ここで、 $r = b/a$ であり、ここで、bは楕円断面領域の短軸であり、aは楕円断面領域の長軸であり、

【数3】

$$d = \sqrt{ab}$$

である、請求項1記載の方法。

【請求項8】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、200 μmより狭い幅を有する、請求項1記載の方法。

【請求項9】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、100 μmより狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項10】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、50 μmより狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項11】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、20 μmより狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項12】 前記設定ステップで設定されるチャンネルが、10 μmより狭い幅の最小断面寸法を有する、請求項1記載の方法。

【請求項13】 生化学システムの少なくとも第1成分の流れを試験化合物

プラグと同時に第1マイクロ流体チャネルの少なくとも一部を通して流し、そして第1マイクロ流体チャネル内にて生化学システムの第1成分に対する試験化合物の効果を検出する、ステップをさらに含む請求項1記載の方法。

【請求項14】 前記生化学システムの少なくとも第1成分の流れが、細胞の懸濁流からなり、前記検出ステップが、前記細胞の機能における試験化合物の効果を検出することを含む、請求項13記載の方法。

【請求項15】 前記生化学システムの少なくとも第1成分が、酵素と酵素に対する基質を含み、前記検出ステップが、前記酵素と基質との相互作用に対する試験化合物の効果を検出することを含む、請求項13記載の方法。

【請求項16】 前記生化学システムの少なくとも第1成分が、特定の結合対の第1及び第2メンバーを含む、請求項13記載の方法。

【請求項17】 前記特定の結合対がレセプターとその相補リガンドからなる、請求項16記載の方法。

【請求項18】 前記特定の結合対が第1及び第2核酸配列からなり、該第1核酸配列は、前記第2核酸配列の少なくとも一部に相補的であり、前記第1核酸配列と前記第2核酸配列の交配を十分可能にする、請求項16記載の方法。

【請求項19】 前記第1試験化合物プラグを導入するステップは、隣接のスペーサ流体プラグを続けて導入し、その際、第1マイクロ流体チャネルの開放端を第1試験化合物源に接触して配置して所要量の第1試験化合物を吸引して第1試験化合物プラグを形成し、次に、マイクロ流体チャネルの開放端をスペーサ流体源に接触して配置して所要量のスペーサ流体をマイクロ流体チャネルに吸引して試験化合物プラグに隣接してスペーサ流体プラグを形成することを含み、また

前記第2試験化合物プラグを導入するステップが、マイクロ流体チャネルの開放端を第2試験化合物源に接触して配置して所要量の第2試験化合物をマイクロ流体チャネルに吸引して第2試験化合物プラグを形成することを含み、請求項1記載の方法。

【請求項20】 前記マイクロ流体チャネルを真空引きすることにより、前記第1試験化合物、スペーサ流体及び第2試験化合物を前記マイクロ流体チャネルに

吸引する、請求項19記載の方法。

【請求項21】 前記第1試験化合物、スペーサ流体及び第2試験化合物を動電学的に前記マイクロ流体チャンネルに吸引する、請求項19記載の方法。

【請求項22】 前記設定ステップで設定されるマイクロ流体チャンネルが、平面本体構造中に配置され、該本体構造は、それに取り付けられた外部ピペット要素を有し、該外部ピペット要素は、それを通して配置されたチャンネルを有し、該チャンネルは、第1端にて開放し、第2端にて前記第1マイクロ流体チャンネルに流動自在に連結される、請求項19記載の方法。

【請求項23】 ミクロ流体チャンネル網において連続分析を行う方法であって、

試験化合物プラグとスペーサプラグとを含む試験プラグのサイクル長を選択し

、

前記試験化合物プラグ中の試験化合物の拡散係数を同定し、

前記試験化合物の総反応時間を選択し、

分析を行うための最大チャンネル断面寸法とチャンネル長のうちの1つ又は1つ以上を、前記サイクル長、拡散係数及び総反応時間に基づいて決め、それにより、前記試験化合物プラグ中の試験化合物は、総反応時間中に試験化合物プラグ長の200%より短い距離だけ分散し、

前記最大チャンネル断面寸法とチャンネル長のうちの1つ又は1つ以上を有する少なくとも第1のマイクロ流体チャンネルを設定し、

前記サイクル長を有する少なくとも第1の試験プラグを少なくとも第1のマイクロ流体チャンネルに導入し、そして

前記第1マイクロ流体チャンネルにおいて前記試験化合物を分析する、ことを含む上記方法。

【請求項24】 前記試験化合物プラグが、前記総反応時間中に前記試験化合物プラグ長の100%より短い距離だけ分散する、請求項23記載の方法。

【請求項25】 前記試験化合物プラグが、前記総反応時間中に前記試験化合物プラグ長の50%より短い距離だけ分散する、請求項23記載の方法。

【請求項26】 前記試験化合物プラグが、前記総反応時間中に前記試験化

合物プラグ長の25%より短い距離だけ分散する、請求項23記載の方法。

【請求項27】 前記第1マイクロ流体チャンネルが円形断面を含み、前記断面寸法が前記第1マイクロ流体チャンネルの直径である、請求項23記載の方法。

【請求項28】 前記第1マイクロ流体チャンネルが矩形断面を含み、前記断面寸法が前記第1マイクロ流体チャンネルの深さである、請求項23記載の方法。

【請求項29】 前記第1マイクロ流体チャンネルが楕円断面を含み、前記断面寸法が前記第1マイクロ流体チャンネルの短軸である、請求項23記載の方法。

【請求項30】 前記試験プラグ長が約0.1～約30mmである、請求項23記載の方法。

【請求項31】 前記試験プラグ長が約1～約10mmである、請求項23記載の方法。

【請求項32】 前記サイクル長を有する少なくとも第2の試験プラグを前記第1マイクロ流体チャンネルに導入し、前記第1マイクロ流体チャンネルにおいて前記第2試験プラグを分析することを含む、請求項23記載の方法。

【請求項33】 前記少なくとも第1のチャンネルが平面状マイクロ流体装置中に配置される、請求項23記載の方法。

【請求項34】 前記平面状マイクロ流体装置が、その中に配置される少なくとも第2のマイクロ流体チャンネルを含む、請求項33記載の方法。

【請求項35】 前記第2マイクロ流体チャンネルが、前記第1マイクロ流体チャンネルと流動自在に連通する、請求項34記載の方法。

【請求項36】 前記平面状マイクロ流体装置が、該平面状マイクロ流体装置から延びる一体ピペット要素を含み、該ピペット要素は、その中を通して配置される毛細管チャンネルを有し、前記ピペット要素中の該毛細管チャンネルは、前記第1マイクロ流体チャンネルと流動自在に連通している、請求項33記載の方法。

【請求項37】 前記ピペット要素中の前記毛細管チャンネルを通して前記第1試験プラグを前記第1マイクロ流体チャンネルに吸引する、請求項36記載の方法。

【請求項38】 長さとして第1断面寸法とを有する第1チャンネルセグメントを含むマイクロ流体装置であって、前記長さとして断面寸法のうちの少なくとも1つが、

次の要件、すなわち試験化合物プラグ中の試験化合物が、予め選択された反応時間において前記試験化合物プラグの全長の200%より短い長さだけ該試験化合物プラグから分散するという要件の下で最大長さとなるように選択される、前記マイクロ流体装置。

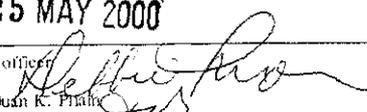
【請求項39】 前記長さと同断面寸法のうちの少なくとも1つが、次の要件、すなわち試験化合物プラグ中の試験化合物が、予め選択された反応時間において前記試験化合物プラグの全長の100%より短い長さだけ該試験化合物プラグから分散するという要件の下で最大長さとなるように選択される、請求項38記載のマイクロ流体装置。

【請求項40】 前記長さと同断面寸法のうちの少なくとも1つが、次の要件、すなわち試験化合物プラグ中の試験化合物が、予め選択された反応時間において前記試験化合物プラグの全長の50%より短い長さだけ該試験化合物プラグから分散するという要件の下で最大長さとなるように選択される、請求項38記載のマイクロ流体装置。

【請求項41】 前記長さと同断面寸法のうちの少なくとも1つが、次の要件、すなわち試験化合物プラグ中の試験化合物が、予め選択された反応時間において前記試験化合物プラグの全長の25%より短い長さだけ該試験化合物プラグから分散するという要件の下で最大長さとなるように選択される、請求項38記載のマイクロ流体装置。

【請求項42】 前記マイクロ流体チャンネルが、円形、矩形又は楕円形から選択された断面形状を含む、請求項38記載のマイクロ流体装置。

## 【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/01268
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(7) : C12Q 1/00, 1/68; G01N 33/53, 33/53, 33/567 US CL : 435/4, 6, 7.1, 7.2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/4, 6, 7.1, 7.2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) STN. EAST		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,498,392 A (WILDING ET AL.) 12 March 1996(12/3/96).	1-41
A, P	US 5,942,443 A (PARCE ET AL.) 24 August 1999(24/8/99).	1-41
A	US 5,585,069 A (ZANZUCCHI ET AL.) 17 December 1996(17/12/96).	1-41
A	US 5,304,487 A (WILDING ET AL.) 19 April 1994(19/4/94)	1-41
A, P	US 5,957,579 A (KOPF-SILL ET AL.) 28 September 1999(28/9/99).	1-41
A	JACOBSON ET AL. High-speed separation of a microchip. Anal. Chem. April 1994, Vol. 66, No. 7, pages 1114-1118.	1-41
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "D" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 03 APRIL 2000		Date of mailing of the international search report <b>25 MAY 2000</b>
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer  Minh-Quan K. Pham Telephone No. (703) 305-0196

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US00/01268

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EFFENHAUSER ET AL. Glass chips for high-speed capillary electrophoresis separations with submicrometer plate heights. Anal. Chem. October 1993, Vol. 65, No. 19, pages 2637-2642.	1-41
A	SEILER ET AL. Planar glass chips for capillary electrophoresis: Repetitive sample injection, quantitation, and separation efficiency. Anal. Chem. May 1993, Vol. 65, No. 10, pages 1481-1488.	1-41
A	JACOBSON ET AL. Microchip electrophoresis with sample stacking. Electrophoresis. 1995, Vol. 16, pages 481-486.	1-41
A	MANZ ET AL. Miniaturized total chemical analysis systems: a novel concept for chemical sensing. Sensors and Actuators. 1990, Vol. B1, pages 244-248.	1-41
A	JACOBSON ET AL. Fused quartz substrates for microchip electrophoresis. Anal. Chem. July 1995, Vol. 67, No. 13, pages 2059-2063.	1-41

## フロントページの続き

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

識別記号

F I

テ-マ-ト (参考)

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/566

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

Fターム(参考) 2G042 AA01 BD18 BD20 CA10 CB03  
 DA10 FB05 HA03 HA07  
 2G058 AA09 DA01 DA07  
 4B063 QA01 QQ21 QQ41 QR01 QR31  
 QR56 QR67 QR83 QS32 QS39  
 QX02

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002534700A5</a>	公开(公告)日	2006-11-16
申请号	JP2000593769	申请日	2000-01-18
[标]申请(专利权)人(译)	卡利杆技术公司		
申请(专利权)人(译)	钳技术公司..		
当前申请(专利权)人(译)	钳技术公司..		
[标]发明人	アンアールコッフシル アンドレアダブリューチャウ		
发明人	アン・アール・コッフ-シル アンドレア・ダブリュー・チャウ		
IPC分类号	G01N35/08 C12Q1/25 C12Q1/68 G01N31/20 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	B01F13/0093 C12Q1/6813 B01F13/0071 G01N27/44743 Y10S366/02 C12Q2565/629		
FI分类号	G01N35/08.B C12Q1/25 C12Q1/68.A G01N31/20 G01N33/53.M G01N33/566		
F-TERM分类号	2G042/AA01 2G042/BD18 2G042/BD20 2G042/CA10 2G042/CB03 2G042/DA10 2G042/FB05 2G042/HA03 2G042/HA07 2G058/AA09 2G058/DA01 2G058/DA07 4B063/QA01 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QR01 4B063/QR31 4B063/QR56 4B063/QR67 4B063/QR83 4B063/QS32 4B063/QS39 4B063/QX02		
优先权	09/233700 1999-01-19 US		
其他公开文献	JP2002534700A		

#### 摘要(译)

通过以最大的接近度和速度依次将多个不同的样品引入微流体网络，可以优化连续微流体分析系统的通量。包括一种设备，该设备包括基于期望的通量针对给定试剂，反应时间等优化的参数。