

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-514152

(P2004-514152A)

(43) 公表日 平成16年5月13日(2004.5.13)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/53	Z C C M
BO 1 J 19/00	BO 1 J 19/00	2 G O 5 8
GO 1 N 37/00	GO 1 N 37/00	3 2 1
// GO 1 N 35/02	GO 1 N 35/02	1 O 2
		4 G O 7 5
		B

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 38 頁)

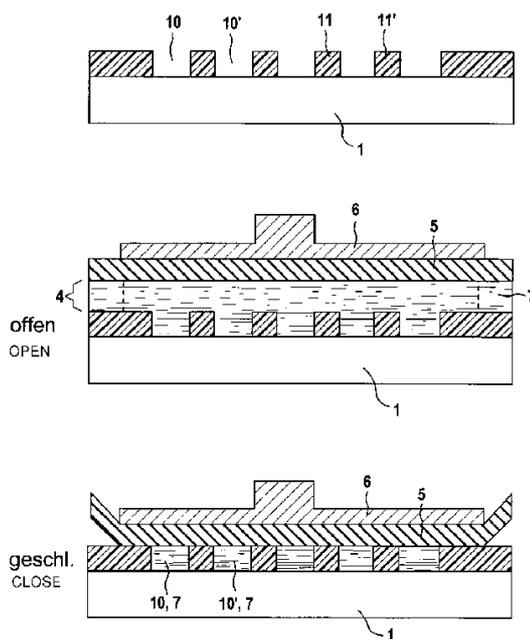
(21) 出願番号	特願2002-544162 (P2002-544162)	(71) 出願人	390039413 シーメンス アクチエンゲゼルシャフト Siemens Aktiengesellschaft ドイツ連邦共和国 D-80333 ミュンヘン ヴィッテルスバッハープラッツ 2
(86) (22) 出願日	平成13年11月26日 (2001.11.26)	(74) 代理人	100075166 弁理士 山口 巖
(85) 翻訳文提出日	平成15年5月22日 (2003.5.22)	(72) 発明者	ムント、コンラート ドイツ連邦共和国 91080 ウッテンロイト ランゲンブルッカー ヴェーク 10
(86) 国際出願番号	PCT/DE2001/004437		
(87) 国際公開番号	W02002/041992		
(87) 国際公開日	平成14年5月30日 (2002.5.30)		
(31) 優先権主張番号	100 58 394.6		
(32) 優先日	平成12年11月24日 (2000.11.24)		
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR) , CA, JP, US		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生化学分析方法と装置

(57) 【要約】

一緒に化学的又は生化学的に反応する物質のための少なくとも2個の反応室を備えるマイクロ反応アレイを使用した生化学的分析方法に関する。反応室の容量は1 μリットル未満であり、前記反応室は貫流により一緒に充填されるが、その後はその中に保持されている物質の化学的又は生化学的反應が個別に分離された反応室内で発生するので、個別反応室内の反応物間のクロストークが防止され、反応生成物は当該反応室内に封入されたまま残留する。前記装置は、平面アレイは物質を受け入れる少なくとも2つの反応室を有し、物質交換を防止する目的で反応室を閉鎖するための手段を備えている。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

化学的又は生化学的に反応する物質のための少なくとも 2 個の反応室を備えるマイクロ反応アレイを使用する生化学分析方法であって、下記の事項を特徴とする方法。

局所的に区切られた反応室を第 1 容積として使用し、

反応室を第 2 容積の上方で所謂供給容積に結合させ、

個々の反応室内で定量的および / 又は相違する種類の化学的ないし生化学的反応を進行させ、更に

反応室と供給容積との間の物質交換を各々必要に応じて一方向又は両方向において許容し又は阻止する。

10

【請求項 2】

第 1 時点 (t_1) で、反応室と供給容積との間で所定の物質交換を行い、第 2 時点 (t_2) で、反応室間の物質交換を極めて広範囲に抑制又は阻止することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

反応室内での相違する液体中の化学物質の相違する溶解挙動により一方向への物質交換を阻止することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

所定の物質交換のために、反応室を機械的に開・閉することを特徴とする請求項 2 記載の方法。

20

【請求項 5】

反応室の閉鎖を、供給容積の排除で実現することを特徴とする請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

所定の時点での物質交換のため、反応室と供給容積内に存在する物質間の相境界を一時的に透過性にすることを特徴とする請求項 2 記載の方法。

【請求項 7】

相境界の閉鎖を、遮断媒質による供給容積の排除により実現することを特徴とする請求項 5 記載の方法。

【請求項 8】

供給容積内の液体を、該液体と不混合の液体又は気体により排除することを特徴とする請求項 7 記載の方法。

30

【請求項 9】

反応相手の相違する溶解挙動に基づき、反応室と供給容積内に存在する物質間の相境界を非透過性にすることを特徴とする請求項 3 記載の方法。

【請求項 10】

ヒドロゲル層において進行する化学反応の遊離体は供給容積からヒドロゲル層内へ拡散するが、該反応の少なくとも 1 種の生成物はヒドロゲル層から外へ拡散しないことを特徴とする請求項 3 記載の方法。

【請求項 11】

個別の相互に分離した反応室内で、物質のコンビナトリアル解析および / 又は合成を行うことを特徴とする請求項 1 記載の方法。

40

【請求項 12】

酸化還元リサイクル法での使用を特徴とする請求項 1 ないし 11 の 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

酵素結合反応法での使用を特徴とする請求項 1 ないし 12 の 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

平面アレイ (8、8' . . .) が、供給容積 (4) から物質を受け入れる少なくとも 2 つの反応室 (10、10' . . .) を有し、更に反応室 (10、10' . . .) を閉鎖する手段が存在することを特徴とする平面アレイを使用して請求項 1 から 13 の 1 項に記載の方法を実施するための装置。

50

【請求項 15】

反応室(10、10'...)が、各々1μリットル未満の容積を有することを特徴とする請求項14記載の装置。

【請求項 16】

平面アレイ(8、8'...)が、シリコン基板(1)上に取付けられたことを特徴とする請求項14記載の装置。

【請求項 17】

反応室(10、10'...)が、シリコン上に被着されたポリマ層(11)で相互に分離されたことを特徴とする請求項16記載の装置。

【請求項 18】

反応室(10、10'...)が、シリコン基板内へマイクロ構造技術で形成されたことを特徴とする請求項16記載の装置。

10

【請求項 19】

反応室(10、10'...)が、物質交換のために開放され、かつ液体を充填された空洞であり、供給容積(4)と接触し、その結果複数の反応室が同時に充填可能であることを特徴とする請求項4記載の装置。

【請求項 20】

液体を充填された反応空洞(10、10'...)と供給容積(4)との物質交換が閉鎖により阻止され、この際空気等の他の媒質が空洞(10、10'...)へ到達しないことを特徴とする請求項14記載の装置。

20

【請求項 21】

反応室(10、10'...)を閉鎖する閉鎖層が存在することを特徴とする請求項14記載の装置。

【請求項 22】

閉鎖が、シリコーンゴム等の部分的に弾性の平面状ポリマ層(5)により行われることを特徴とする請求項21記載の装置。

【請求項 23】

反応室(10、10'...)の開口部の閉鎖が、供給容積(4)の排除により行われることを特徴とする請求項22記載の装置。

【請求項 24】

供給容積(4)の排除のため、気体又は不混合の液体(9)を用いることを特徴とする請求項23記載の装置。

30

【請求項 25】

反応室(10、10'...)が、ゲルが充填された空洞(3)により形成され、該空洞が物質交換のためにゲルと供給容積の相境界を有することを特徴とする請求項14~24の1項に記載の装置。

【請求項 26】

相境界の閉鎖により、充填された反応室(10、10'...)の物質交換が阻止されることを特徴とする請求項25記載の装置。

【発明の詳細な説明】

40

【0001】

本発明は、他の物質と化学的又は生化学的に反応する物質を受け入れる少なくとも2個の反応室を備えたマイクロ反応アレイを使用する生化学的分析方法に関する。更に本発明は、本方法を実施するための装置にも関する。

【0002】

生命科学産業(医薬品)、食品技術、農業技術(植物保護)における新規活性物質の開発のため、医学診断において、更に一般バイオテクノロジーにおける様々な課題を解決するためにも、現代では益々多くコンビナトリアル解析ないし合成が利用されている。このために、例えば約 $12 \times 8 \text{ cm}^2$ のアレイ面積上で同時反応させるために96ウエル又は更に384ウエルを組み込んだアレイ構造の反応ウエルを用いる所謂マイクロタイタープレー

50

ト技術が使用されている。このアレイ密度は将来更に上昇しようが、これは種類の異なる化学反応を、益々密に配置された反応室内で発生させねばならないことを意味する。

【0003】

極めて多いのは、例えば平面基板、所謂DNAチップ上に僅か数10 μ mの間隔で、mm²当たり例えば数百の位置密度で配置した、例えば様々なDNA捕捉分子のアレイにおける状況である。例えば未知のDNAの分析学的検出において自由に移動可能な分子が関わっている場合は、そうした高密度アレイでは化学的クロストークが発生する。

【0004】

例えば特異性が高く検出限界が低いというような一連の理由から、生化学分析では酵素結合検出方法が頻繁に利用されている。一般に広く普及しているのは、例えば医学診断および研究分野における所謂ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay(酵素免疫吸着検査法))試験である(B. Alberts他(編集)、Molekularbiologie der Zelle(細胞の分子生物学)(1997)、第3巻、第216頁、VCHワインハイムの文献を参照)。更にDNAチップの分野で使用するためには、よく知られている酸化還元リサイクリング法において酵素マーカを用いる方法が使用されている(A. V. D. Berg, P. Bergveld(編集)、 μ TAS'94研究会のプロシーディング集(1994)、第249~254頁、Kluwer Academic Publishers、ドルトレヒト)。

10

【0005】

技術文献の中で報告されている全てのケースで、酵素は所謂アッセイと呼ばれる装置の液相内に自由に存在するのではなく結合されているので、「酵素標識」として主として検出すべき物質をマーキングする。このとき検出すべき物質への酵素分子の「結合」は常に化学量論的に行われる。これを増幅する、つまり増強するために、酵素が添加されている基板分子が高速で分解される。この分解がそのつど使用された基板ないしは発生する生成物に従って例えば光学的又は電気化学的に定量される。このために、使用する方法とは無関係に、特に生成物Pの濃度上昇、即ち時間依存性関数 $dc(P)/dt$ が追求される。

20

【0006】

そのアッセイを先行技術の項で詳細に説明したように1つのアレイ内で実施すると、酵素によって形成され、自由に移動する反応生成物が隣接する酵素を含まないアレイ位置へ到達し、そこで酵素標識が存在するかのように見せかける可能性がある。これはクロストークと呼ばれており、測定誤差を導き、それにより間違った結果を生じる可能性がある。

30

【0007】

このため本発明の課題は、クロストークを回避することで先行技術に比べ高い信頼性を持ち、更に「擬陽性」の結果の排除を保証できる方法と相応の装置を提供することである。精度の上昇に伴い、特に測定効率を改善できる。

【0008】

この課題は、本発明に従うと上記の種類の方法において請求項1に記載の方法により解決される。その他の態様は従属する方法請求項に示す。対応装置は、特許請求項14の対象である。これに関連するその他の態様は従属する物の請求項に記載してある。

【0009】

本発明に従う方法では、局所的に区切った反応室を第1容積として使用する。この際反応室は第2容積の上方で所謂供給容積に結合し、個々の反応室内では定量的および/又は種類の異なる化学的ないし生化学的反応が進行する。種類の異なる反応とは、質的に又は量的に異なるプロセスである。この際同様に、反応室と供給容積との間の物質交換が各々必要に応じ—又は両方向において許容されるか阻止される。

40

【0010】

本発明の本質的な長所は、反応室が密に隣接するにも係らず、測定結果を歪める可能性がある干渉性のクロストークが不可能になり、その結果選択性が改善されることにある。更に、本発明により検出感度も上昇する。即ち検出限界が極めて低い量へ移動する。

【0011】

50

検出感度の上昇を実際的に実現するには、基板 / 生成物濃度の時間的変化をできる限り上昇させることが重要である。これは本発明に従う方法では反応容積を著明に 1 μ リットル未満、特に 1 nリットルの範囲に迄低下させ、かつそれに結び付いている基板 / 生成物濃度変化を上昇することにより達成される。

【0012】

本発明に従う装置は、1つの平面基板上に装置されている数 mm^2 、好ましくは 1 ~ 約 10 mm^2 上の、各々 2 以上、典型的には数百の位置を備えるアレイである。各アレイは反応室アレイとして形成され、反応室と一緒に接近できる供給容積を備えた容器の構成要素である。このような供給容積は、例えばそれを通して検出又は合成反応のために必要な化学 / 生化学物質の全体的な液体処理を進行させる貫流セル内に反応室アレイを埋め込むことで実現できる。

10

【0013】

貫流セル内で平面基板に対向する、例えばシリコンゴム製の弾性膜又は層を用いると、本発明の好適な第 1 実施形態では基板に機械的装置を強く押し付けることで個々のアレイ位置に形成された反応室を相互に分離し、その結果クロストークを効果的に防止できる。この装置は、それらを用いると反応室で形成されたキャビティが閉鎖される、例えば蓋、押し型 (スタンプ) 又は密封性の膜の形状で形成できる。キャビティを閉じると、個別アレイ位置の上方の液体室の容積も減少するので、化学 / 生化学反応に伴い惹起される基板 / 生成物の濃度が上昇する。これにより同時に検出感度が上昇する利点がある。

【0014】

本発明の別の好適な実施形態では、遮断液で被覆することにより同様の効果を得る。反応キャビティ内の液体と混合しない適切な遮断液を貫流導管に充填すると、これはシリコン製押し型を用いたアレイキャビティの閉鎖と同一の作用を果たす。遮断液は例えばシリコン油である。本実施形態の有益な変形例では、反応室に、遮断液が貫流導管内に流入した際に水分を含有し、反応室へ機械的安定性を与えるヒドロゲルを充填する。ヒドロゲルとして、シリコン油に比べ要求される特性を示す、例えばポリアクリルアミドを使用する。

20

【0015】

本発明の方法の更なる変形例では、関与する材料と物質の相異なる化学的溶解挙動を利用する。本発明に従う装置のこの実施形態でも、反応室にヒドロゲルを充填するとよい。供給容積の貫流導管内のヒドロゲル - 反応室と適切な液相管との間で溶解挙動が相違するため、反応遊離体は液相からヒドロゲル相内へ進入するが、反応生成物はもはやヒドロゲル相から離れられない結果となる。この反応遊離体は、例えば酵素基質である。

30

【0016】

本発明の詳細および長所を、特許請求項と結び付いた図面を基に、下記の実施例の図の説明から明らかにする。

【0017】

図面には、同一ないし同様に作用する部分に同一ないし対応する参照符号を付してある。以下、これら図面を部分的に共通して説明する。

【0018】

図 1 で 1 は、例えばシリコンチップの結晶構造表面にて形成された平面状表面を持つ基板を示す。基板 1 上に、光 / 電気検出器 2、2' . . . のアレイが、それらを用いて一方では捕捉分子、他方では分析物分子を使用する所謂酵素結合反応を含むバイオ分析検査が行われるアレイ位置 8、8' . . . に形成されている。アレイ位置 8、8' . . . 上に相違する捕捉分子 110、120 . . . が存在するので、各特定のアレイ位置上では相異なる分析物分子を検出できる。

40

【0019】

詳細には、図 1 ではバイオ分析検査のための方法において、アレイ位置 8 の上の第 1 捕捉分子は 110、アレイ位置 8' の上の第 2 捕捉分子は 120、分析物分子は 200 そして所謂酵素標識は 300 で示す。このとき、例えば捕捉分子 110 は相補的分析物分子 20

50

0と特異的に反応するので、アレイ内で位置特異的に酵素標識300を固定化する。引き続き遊離体として添加される酵素基質400は酵素標識300の触媒作用によって生成物500内へ移動させられる。

【0020】

従って分析物分子200は、図1では捕捉分子110と反応するが、捕捉分子120とは反応しない。ウエハー1の各分析位置8、8'・・・上では、そこに装置した光/電気検出器2、2'・・・を用いて、基板/生成物の増減を測定できる。測定技術上特に有益なのは電気検出器である。

【0021】

先行技術では、分析位置8、8'・・・それ自身と、それらの間隔とをできる限り小さくすべく努力している。しかし先行技術では、個々の位置8、8'・・・間で、所謂化学的クロストークが発生する可能性がある点が問題になる。これは、先に遊離体であると定義した酵素基質400も、第1アレイ位置8の反応生成物500も第2アレイ位置8'へ達する可能性があることを意味する。仮に隣接位置に達すると、陽性結果であるように見せかける疑似信号が発生する。実際には、これは「偽陽性」信号とも呼ばれている。

10

【0022】

図2～4では、別の代替実施形態のためのアレイに各々1μリットル未満の個別容積を持つ個々の反応室10、10'・・・を設けている。この際反応室10、10'・・・は、通常の作業条件下では相互に分離されている。

【0023】

図2は、反応室10、10'・・・を壁11、11'・・・により分離したある装置の活動を3段階で例示する。壁11、11'・・・は、特別な幾何学的実施形態では、例えば内径150μm、外径180μm並びに高さ50μmの、フォトプロセスで成形された円形のポリマリングにより実現できる。反応室10、10'・・・には、例えば電解質7中に溶解させた酵素基質等の反応遊離体が充填されるが、この際電解質液2は供給容積4を経て個別反応室へ供給される。

20

【0024】

反応室10、10'・・・は、図2ではハウジング上部5により機械的押し型6を用いて閉鎖できる。開放状態では、キャピティの上方に液状電解質を含む供給容積4が存在する。図2では、最初にハウジング上部5を取り除いた際に開放しているチャンバとしての反応室10、10'・・・に電解質/遊離体7が貫流にて充填されるが、電解質7のためのリザーバは、ここでは示していない。反応キャピティ10、10'・・・が電解質/遊離体7で充填されると、押し型6を用いて、例えばシリコン膜から形成したハウジング上部5が既に述べたようにポリイミドからなる壁11、11'・・・上に載せられる。この結果反応室10、10'・・・が閉鎖され、それに伴いその後の物質交換が防止される。

30

【0025】

図3では、下方領域を図2と同様に構成している。壁11、11'・・・は、図3では明白にならない特別な実施形態では、例えば150μmの内径 d ($d = 2r$)、180μmの外径 D 並びに5μmの高さ h を有し、特にフォトプロセスで成形された円形のポリマリングで実現できる。この寸法の結果として生じる約0.1nリットル ($r^2 \cdot h = 75 \mu m^2 \times 3.14 \times 5 \mu m$)の充填量を持つ反応キャピティには、この特別な実施形態では、例えばポリアクリルアミド等の含水能力の高いヒドロゲル3を充填する。ヒドロゲル3には、その後特異的DNA検出のため捕捉DNAを固定化させて組み込むことができる。

40

【0026】

アッセイを実現するため、反応室10、10'・・・に、再び共通の供給容積4を経て緩衝液、試薬類そして最後に酵素基質を供給する。全反応室10、10'・・・の1つのヒドロゲル3が酵素基質含有緩衝液と平衡して酵素分解が始まった後、供給容積4に例えばシリコン油等の遮断液を流す。これは反応室の上方の液体をシリコン油で追い出すように作用する。ヒドロゲル構造は反応室の機械的安全性をもたらす。シリコン油中では酵素生成物が不溶のため、ヒドロゲルから隣接反応室への酵素生成物の拡散を防止できる

50

。そこで反応生成物は隣接反応室に到達することなく反応室内に高度に蓄積する。その結果、同様に高い感受性と選択性が生ずる。

【0027】

本質的に、図2、3に従う2つの実施例では、各反応室10、10'・・・に最初に供給容積4から貫流する電解質7を充填し、その後例えばシリコン油9等の、電解質7と界面を形成する物質を供給する。この界面によって、もはや物質交換が不可能となり、干渉性の歪曲を排除できる。

【0028】

図3に従う実施形態の特別な変形例では、反応室10、10'・・・に、シリコン油等の遮断液9が貫流導管に進入した際に水を含む反応室10、10'・・・に機械的安定性を与えるポリアクリルアミド等のヒドロゲル3を充填する。

10

【0029】

図4は、本質的には図2における構造と一致している。反応室10、10'・・・を、図2、3と同様供給容積4からの貫流で充填する。ここでは、Eで示す反応遊離体は、特異的な溶解挙動により、充填後に反応室10、10'・・・内に存在する電解質7内へ進入する能力を有している。

【0030】

図4に示す装置では、反応室内の反応は上述のとおり進行する。尤もこの反応では、ここではPで示す、反応生成物の特異的な溶解挙動に伴いPからの物質放出は不可能である。従って、同様に干渉性のクロストークを防止できる。この実施形態でも、図3と同じく、反応室にヒドロゲル3を充填するとよい。

20

【0031】

上述の方法とそれに関連する装置は、特に医学診断およびバイオテクノロジーで使用すると良好な結果を得ることができる。本質的な誤差要因であるクロストークを排除できることから、従来方法と比べ一層正確な結果を入手できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

先行技術に従った測定構成を示す図である。

【図2】

AからCは機械的に閉鎖するための装置例を3段階で示す図である。

30

【図3】

AからCは遮断媒質を用いてキャビティを閉鎖する対応装置例を3段階で示す図である。

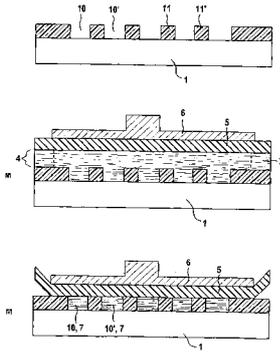
【図4】

AからCはキャビティの閉鎖が関与する媒質の相違する溶解挙動により達成される第3の装置例を3段階で示す図である。

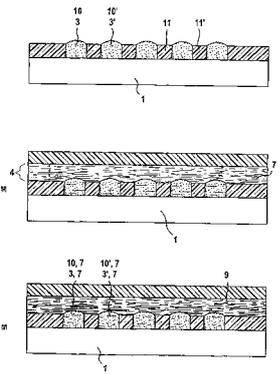
【符号の説明】

1 基板、3 ヒドロゲル、7 電解質、8、8' アレイ位置、9 シリコン油、10、10' 反応室、11、11' 壁、110、120 捕捉分子、200 分析物分子、300 酵素標識、400 酵素基質、500 反応生成物。

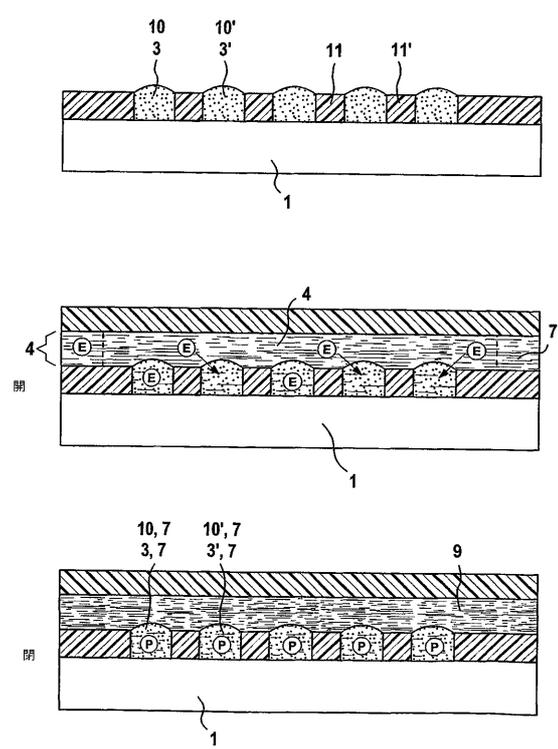
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【国際公開パンフレット】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
30. Mai 2002 (30.05.2002)

PCT

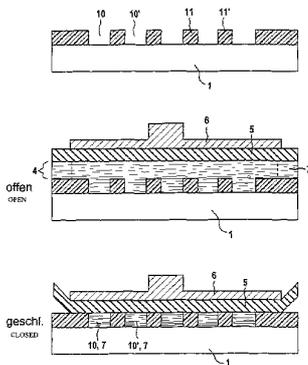
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/41992 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation: B01L 3/00
- (72) Erfinder; und
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/04437
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MUND, Konrad [DE/DE]; Langenbrucker Weg 10, 91080 Untermuth (DE); GUMBRECHT, Walter [DE/DE]; In der Röhle 1, 91074 Herzogenmarch (DE); STANZEL, Manfred [DE/DE]; Tannstr. 100, 91056 Erlangen (DE); HINTSCHE, Rainer [DE/DE]; Gravensteinerstr.61 C, 13127 Berlin (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 26. November 2001 (26.11.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (74) Gemeinsamer Vertreter: SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).
- (30) Angaben zur Priorität: 100 58 394.6 24. November 2000 (24.11.2000) DE
- (81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, US.
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Wirtelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR BIOCHEMICAL ANALYSIS AND CORRESPONDING ARRANGEMENT

(54) Bezeichnung: VERFAHREN FÜR DIE BIOCHEMISCHE ANALYTIK UND ZUGEHÖRIGE ANORDNUNG



(57) Abstract: The invention relates to a method for biochemical analysis using a micro-reaction array with at least two reaction chambers for materials which react together chemically or biochemically. According to the invention, the reaction chambers are smaller than 1 µl, said reaction chambers are filled together by throughflow, the chemical or biochemical reactions of the substances retained therein then occurs in the individual isolated reaction chambers, thus preventing an interference between the reactions in the individual reaction chambers and the reaction products remain enclosed in the relevant reaction chambers. According to the invention, in said arrangement the planar array has at least two reaction chambers for substances, whereby means are provided for closing the reaction chambers with the goal of preventing an exchange of substances.

(57) Zusammenfassung: Bei einem Verfahren für die biochemische Analytik wird ein Mikroreaktionsarray mit mindestens zwei Reaktionsräumen zur Aufnahme von Stoffen, die miteinander chemisch bzw. biochemisch reagieren, verwendet. Gemäß der Erfindung sind die Reaktionsräume kleiner als 1 µm, werden die Reaktionsräume gemeinsam im Durchfluss befüllt, erfolgen anschließend in den einzelnen voneinander getrennten Reaktionsräumen die chemischen bzw. biochemischen Reaktionen der dort eingeschlossenen Substanzen, wobei ein Übersprechen von Reaktionen zwischen den einzelnen Reaktionsräumen ausgeschlossen ist, und bleiben die Reaktionsprodukte in den jeweiligen Reaktionskammern eingeschlossen. Bei der zugehörigen Anordnung hat das planare Array wenigstens zwei Reaktionsräume zur Aufnahme von Stoffen, wobei Mittel zum Schließen der Reaktionsräume zum Zwecke des Verhindern eines Stoffaustausches vorhanden sind.



WO 02/41992 A2

WO 02/41992 A2

**Erklärungen gemäß Regel 4.17:**

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die folgenden Bestimmungsstaaten CA, JP, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR)
- Erfinderverklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

Veröffentlicht:

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

Beschreibung

Verfahren für die biochemische Analytik und zugehörige
Anordnung

5

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren für die biochemische Analytik, unter Verwendung eines Mikroreaktionsarrays mit mindestens zwei Reaktionsräumen zur Aufnahme von Stoffen, die mit anderen Substanzen chemisch bzw. biochemisch
10 reagieren. Daneben bezieht sich die Erfindung auch auf eine Anordnung zur Durchführung des Verfahrens.

Zur Entwicklung neuer Wirkstoffe in der Life Science Industrie (Pharmaka), Lebensmittel-Technologie, Agrar-Technik
15 (Pflanzenschutz), in der medizinischen Diagnostik, aber auch zur Lösung von verschiedensten Aufgaben in der allgemeinen Biotechnologie, werden heute in zunehmendem Maße Methoden der kombinatorischen Analyse bzw. Synthese angewandt. Dazu werden z.B. sog. Mikro-Titerplatten-Techniken mit Reaktionswannen in
20 Arraystruktur verwendet, die zur gleichzeitigen Reaktion auf einer Arrayfläche von beispielsweise ca. 12x8 cm² entweder 96 oder sogar 384 Wannen einsetzen. Die Dichte dieser Arrays wird in Zukunft weiter steigen, was bedeutet, dass verschiedenartige chemische Reaktionen in immer dichter angeordneten
25 Reaktionsräumen stattfinden müssen.

Extrem ist die Situation z.B. bei einem Array von verschiedenen DNA-Fängermolekülen, die in einem Abstand von nur einigen zehn Mikrometern und einer Dichte von z.B. einigen hundert
30 Positionen pro wenigen mm² auf einem ebenen Substrat angeordnet sind, dem sog. DNA-Chip. Sind beim analytischen Nachweis von z.B. unbekannter DNA frei bewegliche Moleküle beteiligt, kommt es bei solch dichten Arrays zu chemischem Übersprechen.

35

Aus einer Reihe von Gründen, z.B. wegen der hohen Spezifität und der niedrigen Nachweisgrenze, bedient man sich bei der

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

2

biochemischen Analytik häufig enzymgekoppelter Nachweisverfahren. Weit verbreitet sind z.B. in der medizinischen Diagnostik und im Forschungsbereich sog. ELISA(Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay)-Tests. (Literatur s.h. B. Alberts et al. (eds.), Molekularbiologie der Zelle (1997), 3. Aufl., Seite 216, VCH Weinheim) Auch für Anwendungen auf dem Gebiet des DNA-Chips werden Verfahren mit Enzymmarkern bei einer bekannten Methode des Redox-(Re)cyclings eingesetzt (A.v.d.Berg, P. Bergveld (eds.) Proceedings of the μ TAS '94 Workshop (1994), Seiten 249 bis 254, Kluwer Academic Publishers Dordrecht).

In allen in der Fachliteratur erwähnten Fällen liegt das Enzym nicht frei in der flüssigen Phase der als sog. Assays bezeichneten Anordnung vor, sondern ist gebunden und markiert so als „Enzym-Label“ die primär nachzuweisende Substanz. Dabei erfolgt die „Bindung“ der Enzymmoleküle an die nachzuweisende Substanz stets stöchiometrisch. Zur Amplifikation, d.h. Verstärkung, kommt es, indem das Enzym zugesetzte Substratmoleküle mit hoher Geschwindigkeit umsetzt. Dieser Umsatz wird, je nach verwendetem Substrat bzw. entstehendem Produkt, beispielsweise optisch oder elektrochemisch quantifiziert. Hierfür wird - unabhängig vom eingesetzten Verfahren - insbesondere die Konzentrationszunahme des Produktes P, d.h. die zeitabhängige Funktion $dc(P)/dt$, verfolgt.

Werden solche Assays in einem Array, wie beim Stand der Technik im Einzelnen beschriebenen ist, durchgeführt, können vom Enzym gebildete, frei bewegliche Reaktionsprodukte auch benachbarte enzymfreie Arraypositionen erreichen und dort die Gegenwart der Enzym-Label vortäuschen. Man spricht vom Übersprechen, was zu Messfehlern führt und somit falsche Ergebnisse liefern kann.

35 Davon ausgehend ist es Aufgabe der Erfindung, Verfahren und zugehörige Anordnungen anzugeben, mit denen gegenüber dem Stand der Technik eine erhöhte Verlässlichkeit durch Vermei-

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

3

dung von Übersprechen und damit Ausschluss von „falsch positiven“ Resultaten sichergestellt ist. Mit einer erhöhte Genauigkeit sollen Verbesserungen insbesondere in der Effektivität der Messungen erreicht werden.

5

Die Aufgabe ist erfindungsgemäß bei einem Verfahren der eingangs genannten Art durch die Maßnahmen des Patentanspruches 1 gelöst. Weiterbildungen sind in den abhängigen Verfahrensansprüchen angegeben. Eine zugehörige Anordnung ist Gegenstand des Patentanspruches 14. Diesbezügliche Weiterbildungen sind in den abhängigen Sachansprüchen angegeben.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren werden lokal abgegrenzte Reaktionsräume als erstes Volumen verwendet, wobei die Reaktionsräume über ein zweites Volumen, dem sog. Versorgungsvolumen, miteinander verbunden werden können und in den einzelnen Reaktionsräumen quantitativ und/oder spezies-differente chemische bzw. biochemische Reaktionen ablaufen. Unter spezies-differente Reaktionen werden qualitativ unterschiedliche bzw. qualitativ differente Prozesse verstanden. Dabei wird gleichermaßen der Stoffaustausch zwischen Reaktionsräumen und dem Versorgungsvolumen je nach Bedarf in einer oder beiden Richtungen zugelassen oder verhindert.

25 Wesentlicher Vorteil der Erfindung ist, dass trotz der eng benachbarten Reaktionsräume nunmehr ein störendes Übersprechen, das die Messergebnisse verfälschen kann, unmöglich gemacht wird und somit die Selektivität verbessert wird. Außerdem wird durch die Erfindung auch die Nachweisempfindlichkeit erhöht, d.h. die Nachweisgrenze wird zu geringeren Mengen verschoben.

Zur praktischen Realisierung der Nachweisempfindlichkeits-Erhöhung ist es sinnvoll, die zeitliche Änderung der Substrat/Produktkonzentration möglichst zu steigern. Dies wird beim erfindungsgemäßen Verfahren durch eine gezielte Verringerung des Reaktionsvolumens auf deutlich kleiner 1 μm ,

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

4

insbesondere im Bereich von einem Nanoliter (nl), und einer damit verbundenen Steigerung der Substrat-Produktkonzentrations-Änderungen erreicht.

5 Bei den erfindungsgemäßen Anordnungen handelt es sich jeweils um Arrays von mehr als zwei, typisch aber mit einigen hundert Positionen auf wenigen Quadratmillimetern, vorzugsweise 1 bis ca. 10 mm², die auf einem planaren Substrat angeordnet sind. Das jeweilige Array ist als Reaktionsräume- bzw. Reaktionskammer-Array ausgeführt und ist vorteilhafterweise Bestandteil eines Behältnisses mit einem für die Reaktionsräume gemeinsam zugänglichen Versorgungsvolumen. Ein solches Versorgungsvolumen kann z.B. durch Einbettung des Reaktionskammer-Arrays in einer Durchflussszelle, über die das gesamte Fluid-
10 handling der für die Nachweis- oder Synthese-Reaktion notwendigen chemischen/biochemischen Stoffe abgewickelt werden kann, realisiert werden.

Mittels einer in der Durchflussszelle dem planaren Substrat gegenüberliegenden elastischen Membran oder Schicht, die z.B. aus Silikongummi bestehen kann, werden bei einer ersten vorzugsweisen Ausführungsform der Erfindung durch Anpressen einer mechanischen Vorrichtung an das Substrat die durch die einzelnen Arraypositionen gebildeten Reaktionsräume voneinander getrennt, so dass ein Übersprechen wirksam verhindert wird. Eine solche Vorrichtung kann z.B. in Form eines Deckels, eines Stempels oder einer dichtenden Membran ausgebildet sein, mit denen die von den Reaktionsräumen gebildeten Kavitäten verschlossen werden. Mit dem Verschließen der
25 Kavitäten findet auch eine Volumenverringerng der Flüssigkeitsräume über den einzelnen Arraypositionen statt, so dass die durch die chemischen/biochemischen Reaktionen ausgelöste Konzentrationsänderung von Substrat/Produkt erhöht wird. Damit wird also vorteilhafterweise ebenfalls die Nachweis-
30 empfindlichkeit gesteigert.

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

5

Gleiches kann durch Überschichtung mit einer Sperrflüssigkeit bei einer anderen vorzugsweisen Ausführungsform der Erfindung erreicht werden. Sobald eine geeignete Sperrflüssigkeit, die nicht mischbar mit der Flüssigkeit in den Reaktionskavitäten ist, den Durchflusskanal erfüllt, führt dies zu den gleichen Effekten wie das Verschließen der Arraykavitäten mittels eines Silikonstempels. Die Sperrflüssigkeit ist dabei z.B. Silikonöl. In einer vorteilhaften Variante dieser Ausführungsform werden die Reaktionsräume mit Hydrogel gefüllt, um so den wasserhaltigen Reaktionsräumen mechanische Stabilität zu verleihen, wenn die Sperrflüssigkeit in den Durchflusskanal eintritt. Als Hydrogeil kann z.B. Polyacrylamid verwendet werden, das gegenüber Silikonöl die geforderten Eigenschaften aufweist.

15

In einer eigenerfinderischen Weiterbildung des beanspruchten Verfahrens kann auch ein unterschiedliches chemisches Löslichkeitsverhalten der beteiligten Stoffe und Substanzen ausgenutzt werden. Auch bei dieser Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung werden die Reaktionsräume vorteilhaft mit einem Hydrogel gefüllt. Ein unterschiedliches Löslichkeitsverhalten zwischen Hydrogel-Reaktionsraum und einer geeigneten flüssigen Phase im Durchflusskanal des Versorgungsvolumens sorgt dann dafür, dass Reaktions-Edukte aus der flüssigen Phase in die Hydrogelphase eintreten, Reaktionsprodukte die Hydrogelphase jedoch nicht mehr verlassen können. Ein solches Reaktions-Edukt ist z.B. das Enzymsubstrat.

30

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Figurenbeschreibung von Ausführungsbeispielen anhand der Zeichnung in Verbindung mit den Patentansprüchen. Es zeigen jeweils in schematischer Darstellung

35

Figur 1 einen Messaufbau nach dem Stand der Technik, aus dem das Messverfahren einerseits und das störende Übersprechen andererseits ersichtlich ist,

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

6

Figur 2 in drei Teilschritten eine beispielhafte Anordnung zum mechanischen Verschließen von Kavitäten,
Figur 3 in drei Teilschritten eine entsprechende Anordnung zum Verschließen der Kavitäten mittels Spermedien
5 und
Figur 4 in drei Teilschritten eine dritte Anordnung, bei der das Verschließen der Kavitäten durch unterschiedliches Löslichkeitsverhalten der beteiligten Medien erreicht wird.

10

In den Figuren haben gleiche bzw. gleichwirkende Teile gleiche bzw. sich entsprechende Bezugszeichen. Die Figuren werden nachfolgend teilweise gemeinsam beschrieben.

15 In Figur 1 ist mit 1 ein Substrat mit planarer Oberfläche bezeichnet, das beispielsweise durch die kristallographische Oberfläche eines Silizium-Chips gebildet ist. Auf dem Substrat 1 ist ein Array von optischen/elektrischen Detektoren 2, 2', ... auf Arraypositionen 8, 8', ... realisiert, mit
20 denen bioanalytische Untersuchungen mit sog. enzymgekoppelten Reaktionen vorgenommen werden, wozu Fänger-moleküle einerseits und Analytmoleküle andererseits verwendet werden. Auf den Arraypositionen 8, 8', ... befinden sich unterschiedliche Fänger-moleküle 110, 120, ..., so dass auf jeder spezifischen
25 Arrayposition unterschiedliche Analytmoleküle nachgewiesen werden können.

Im Einzelnen ist in Figur 1 bei einem Verfahren für bioanalytischen Untersuchungen ein erstes Fänger-Molekül mit 110 auf
30 der Arrayposition 8 und ein zweites Fänger-molekül 120 auf der Arrayposition 8', ein Analyt-Molekül mit 200 und ein sog. Enzym-Label mit 300 bezeichnet. Dabei reagiert beispielsweise das Fänger-molekül 110 spezifisch mit einem komplementären Analytmolekül 200 und immobilisiert so im Array positions-spezifisch einen Enzym-Label 300. Ein anschließend als Edukt zugegebenes Enzym-Substrat 400 wird durch die katalytische
35 Wirkung des Enzym-Labels 300 in ein Produkt 500 überführt.

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

7

Das Analyt-Molekül 200 kann in Figur 1 also nur mit dem Fänger-molekül 110, nicht aber mit dem Fänger-molekül 120 reagieren. Auf jeder Arrayposition 8, 8', ... des Wafers 1 kann mit Hilfe des dort lokalisierten optischen oder elektrischen Detektors 2, 2', ... die Abnahme/Zunahme von Substrat/Produkt gemessen werden. Speziell elektrische Detektoren haben Vorteile der Messtechnik.

Entsprechend dem Stand der Technik ist man bemüht, die Arraypositionen 8, 8', ... und deren Abstände möglichst klein auszubilden. Problematisch ist beim Stand der Technik, dass ein sog. chemisches Übersprechen zwischen den einzelnen Positionen 8, 8', ... auftreten kann. Dies bedeutet, dass entweder Enzym-Substrat 400, das vorstehend als Edukt definiert wurde, oder das Reaktionsprodukt 500 von einer ersten Arrayposition 8 auf eine zweite Arrayposition 8' gelangen kann. Falls eine Nachbarposition erreicht ist, wird ein falsches Signal erzeugt, das ein positives Ergebnis vortäuscht. In der Praxis spricht man auch von einem „falsch positiven“ Signal.

In den Figuren 2 bis 4 sind für unterschiedliche Alternativen einzelne Reaktionsräume 10, 10', ... mit einem Einzelvolumen von jeweils kleiner 1µl in einer Arraykonfiguration angeordnet. Die Reaktionsräume 10, 10', ... sind dabei betriebsmäßig voneinander getrennt.

In Figur 2 ist in drei Teilschritten das Betätigen einer Anordnung verdeutlicht, bei der Reaktionsräume 10, 10', ... durch Wände 11, 11', ... getrennt sind. Die Wände 11, 11' können in einer besonderen geometrischen Ausführungsform durch photostrukturierte, kreisförmige Polymerringe von z.B. 150 µm innerem Durchmesser, 180 µm äußerem Durchmesser sowie 50 µm Höhe realisiert werden. Die Reaktionsräume 10, 10', ... sind beispielsweise mit in einem Elektrolyten 7 gelösten Reaktions-Edukt, z.B. einem Enzym-Substrat, befüllt, wobei

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

8

der Elektrolyt 2 über ein Versorgungsvolumen 4 den einzelnen Reaktionsräumen zugeführt wird.

Die Reaktionsräume 10, 10', ... können in Figur 2 durch ein Gehäuseoberteil 5 mittels eines mechanischen Stempels 6 abgeschlossen werden. Im offenen Zustand befindet sich über den Kavitäten ein Versorgungsvolumen 4 mit einem flüssigen Elektrolyten. In Figur 2 werden zuerst die Reaktionsräume 10, 10', ... als bei entferntem Gehäuseoberteil 5 offene Kammern im Durchfluss mit dem Elektrolyten/Edukt 7 befüllt, wobei das Reservoir für den Elektrolyten 7 hier nicht im Einzelnen dargestellt ist. Nach Befüllung der Reaktionskavitäten 10, 10', ... mit Elektrolyt/Edukt 7 wird mittels des Stempels 6 das Gehäuseoberteil 5, das z.B. aus einer Silikonmembran bestehen kann, auf die Wandungen 11, 11', ..., die wie bereits erwähnt aus Polyimid bestehen, aufgesetzt. Damit werden die Reaktionsräume 10, 10', ... abgeschlossen, so dass anschließend ein Stoffaustausch verhindert wird.

In Figur 3 ist der untere Bereich ähnlich Figur 2 aufgebaut. Die Wände 11, 11', ... können in einer besonderen Ausführungsform, was in der zeichnerischen Wiedergabe der Figur 3 nicht ersichtlich ist, speziell durch photostrukturierte, kreisförmige Polymerringe mit innerem Durchmesser d ($d=2r$) von z.B. $d=150 \mu\text{m}$, äußerem Durchmesser D von z.B. $D=180 \mu\text{m}$ einer Höhe h von z.B. $h=5 \mu\text{m}$ realisiert sein. Die aus solchen Abmessungen resultierenden Reaktionskavitäten mit einem Füllvolumen von etwa $0,1 \text{ nl}$ ($r^2\pi h = (75 \mu\text{m})^2 \cdot 3,14 \cdot 5 \mu\text{m}$) werden in dieser besonderen Ausführungsform mit einem Hydrogel 3 hoher Wasseraufnahmefähigkeit, z.B. Polyacrylamid, gefüllt. Im Hydrogel 3 kann dann eine Fänger-DNA für einen spezifischen DNA-Nachweis immobilisiert eingebracht werden.

Zur Realisierung des Assays werden die Reaktionsräume 10, 10', ... wiederum über das gemeinsame Versorgungsvolumen 4 mit Puffer, Reagenzien und schließlich Enzymsubstrat versorgt. Nachdem das Hydrogel 3 eines jeden Reaktionsraumes 10,

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

9

10' mit Enzym-substrathaltigem Puffer ins Gleichgewicht gebracht wurde und der enzymatische Umsatz begonnen hat, wird das Versorgungsvolumen 4 mit einer Sperrflüssigkeit, z.B. Silikonöl, geflutet. Dies bewirkt, dass die Flüssigkeit über den Reaktionsräumen durch Silikonöl verdrängt wird. Die Hydrogelstruktur sorgt für die mechanische Stabilität der Reaktionsräume. Aufgrund der Unlöslichkeit von Enzymprodukt in Silikonöl wird Diffusion desselben aus dem Hydrogel heraus, hin zu Nachbarreaktionsräumen verhindert. Das Reaktionsprodukt kann sich so in den Reaktionsräumen stark anreichern ohne die Nachbarreaktionsräume zu erreichen. Es ist also eine gleichermaßen hohe Empfindlichkeit und hohe Selektivität vorhanden.

15 Wesentlich ist bei beiden Ausführungsbeispielen gemäß Figur 2 und 3, dass die einzelnen Reaktionskavitäten 10, 10', ... zuerst mit dem Elektrolyten 7 im Durchlauf aus dem Versorgungsvolumen 4 befüllt werden und dann ein Material, beispielsweise ein Silikonöl 9, das mit dem Elektrolyten 7 Phasengrenzen bildet, aufgebracht wird. Durch die Phasengrenze wird erreicht, dass nunmehr ein Stoffaustausch nicht mehr möglich ist und störende Verfälschungen ausgeschlossen werden.

25 In der spezifischen Variante der Ausführungsform gemäß Figur 3 werden die Reaktionsräume 10, 10', ... mit Hydrogel 3, z.B. Polyacrylamid, gefüllt, um so den wasserhaltigen Reaktionsräumen 10, 10', ... mechanische Stabilität zu verleihen, wenn die Sperrflüssigkeit 9, z.B. Silikonöl, in den Durchflusskanal eintritt.

Figur 4 entspricht vom Aufbau wiederum im Wesentlichen Figur 2. Die Reaktionsräume 10, 10', ... werden entsprechend Figur 2 und Figur 3 im Durchlauf aus dem Versorgungsvolumen 4 befüllt. In diesem Fall haben aber die Reaktions-Edukte, die hier mit E bezeichnet sind, das Vermögen, durch ihr spezifisches Löslichkeitsverhalten in den nach Befüllung in den

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

10

Reaktionsräumen 10, 10', ... befindlichen Elektrolyten 7 einzudringen.

Bei der Anordnung gemäß Figur 4 läuft die Reaktion in den
5 Reaktionskammern dann wie bereits vorstehend beschrieben ab.
Durch das spezifische Löslichkeitsverhalten des entstehenden
Reaktionsproduktes, das hier mit P bezeichnet ist, ist bei
der Reaktion allerdings ein Stoffaustritt von P nicht mög-
lich. Es wird also somit ebenfalls das störende Übersprechen
10 verhindert. Auch in dieser Ausführungsform werden entspre-
chend Figur 3 die Reaktionsräume vorteilhaft mit einem Hydro-
gel 3 gefüllt.

Das beschriebene Verfahren und die zugehörigen Anordnungen
15 können insbesondere erfolgreich in der medizinischen Diagnos-
tik und der Biotechnologie eingesetzt werden. Durch den nun-
mehr erreichten Ausschluss des Übersprechens als wesentliche
Fehlerquelle lassen sich damit genauere Ergebnisse als bisher
erzielen.

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

11

Patentansprüche

1. Verfahren für die biochemische Analytik, unter Verwendung eines Mikroreaktionsarrays mit mindestens zwei Reaktions-
5 räumen zur Aufnahme von Stoffen, die miteinander chemisch bzw. biochemisch reagieren, mit folgenden Maßnahmen:
- es werden lokal abgegrenzte Reaktionsräume als erstes Volumen verwendet,
 - die Reaktionsräume sind über ein zweites Volumen, dem sog.
10 Versorgungsvolumen, miteinander verbunden,
 - in den einzelnen Reaktionsräumen laufen quantitativ und/oder spezieis-differente chemische bzw. biochemische Reaktionen ab,
 - der Stoffaustausch zwischen Reaktionsräumen und dem Ver-
15 sorgungsvolumen wird je nach Bedarf in einer oder beiden Richtungen zugelassen oder verhindert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n -
z e i c h n e t , dass zu einem ersten Zeitpunkt (t_1) ein
20 definierter Stoffaustausch zwischen den Reaktionsräumen und dem Versorgungsvolumen erfolgt und zu einem zweiten Zeitpunkt (t_2) der Stoffaustausch zwischen den Reaktionsräumen weitestgehend unterdrückt oder verhindert wird. (FIG 2, 3)
- 25 3. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n -
z e i c h n e t , dass durch unterschiedliches Löslichkeitsverhalten von chemischen Substanzen in verschiedenen Flüssigkeiten in den Reaktionsräumen und dem Versorgungsvolumen der Stoffaustausch in einer Richtung selektiv ver-
30 hindert wird. (FIG 4)
4. Verfahren nach Anspruch 2, d a d u r c h g e k e n n -
z e i c h n e t , dass zum Zweck des definierten Stoffaustausches die Reaktionsräume mechanisch geöffnet und ver-
35 schlossen werden. (FIG 2)

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

12

5. Verfahren nach Anspruch 4, d a d u r c h g e k e n n -
z e i c h n e t , dass das Verschließen der Reaktionsräume
durch Verdrängen des Versorgungsvolumens realisiert wird.
- 5 6. Verfahren nach Anspruch 2, d a d u r c h g e k e n n -
z e i c h n e t , dass zum Zweck des zeitlich definierten
Stoffaustausches die Phasengrenzen zwischen den in den Reak-
tionsräumen und dem Versorgungsvolumen befindlichen Stoffen
zeitweise durchlässig gemacht werden. (FIG 3)
- 10 7. Verfahren nach Anspruch 5, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass das Verschließen der Phasen-
grenzen durch Verdrängen des Versorgungsvolumens durch ein
Sperr-Medium realisiert wird.
- 15 8. Verfahren nach Anspruch 7, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Flüssigkeit im Versor-
gungsvolumen durch ein Gas, beispielsweise Luft, oder durch
eine nicht mischbare Flüssigkeit, beispielsweise Silikonöl,
20 verdrängt wird.
9. Verfahren nach Anspruch 3, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass aufgrund von unterschied-
lichem Lösungsverhalten der Reaktionspartner die Phasen-
25 grenzen zwischen den in den Reaktionsräumen und dem Versor-
gungsvolumen befindlichen Stoffen undurchlässig werden.
10. Verfahren nach Anspruch 3, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass Edukte einer chemischen
30 Reaktion, die in einer Hydrogelschicht abläuft, aus dem
Versorgungsvolumen in die Hydrogelschicht eindiffundieren,
aber mindestens ein Produkt der chemischen Reaktion nicht aus
der Hydrogelschicht herausdiffundiert.
- 35 11. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass in den einzelnen, von-

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

13

einander getrennten Reaktionsräumen eine kombinatorische Analyse und/oder Synthese der Substanzen erfolgt.

12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
5 g e k e n n z e i c h n e t durch die Anwendung beim Redoxrecycling.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
g e k e n n z e i c h n e t durch die Anwendung bei enzym-
10 gekoppelten Reaktionen.
14. Anordnung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 1
oder einem der Ansprüche 2 bis 13, unter Verwendung eines
planaren Arrays, d a d u r c h g e k e n n z e i c h -
15 n e t , dass das planare Array (8, 8', ...) wenigstens zwei
Reaktionsräume (10, 10', ...) zur Aufnahme von Stoffen aus
einem Versorgungsvolumen (4) aufweist, wobei Mittel zum
Schließen der Reaktionsräume (10, 10', ...) vorhanden sind.
- 20 15. Anordnung nach Anspruch 14, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Reaktionsräume (10, 10',
...) jeweils ein Volumen von weniger als 1 µl aufweisen.
16. Anordnung nach Anspruch 14, d a d u r c h g e -
25 k e n n z e i c h n e t , dass das planare Array (8, 8',
...) auf einem Silizium-Substrat (1) aufgebracht ist.
17. Anordnung nach Anspruch 16, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Reaktionsräume (10, 10',
30 ...) durch eine auf Silizium aufgebrachte Polymerschicht (11)
voneinander getrennt sind.
18. Anordnung nach Anspruch 16, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Reaktionsräume (10, 10',
35 ...) in das Silizium-Substrat durch Mikrostrukturtechnik
eingebracht sind.

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

14

19. Anordnung nach Anspruch 4, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Reaktionsräume (10, 10',
...) flüssigkeitsgefüllte Hohlräume sind, die zum Zwecke des
5 Stoffaustausches offen sind, so dass sie in Kontakt mit einem
Versorgungsvolumen (4) stehen und somit gleichzeitig füllbar
sind.

20. Anordnung nach Anspruch 14, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass der Stoffaustausch der
10 flüssigkeitsgefüllten Reaktionshohlräume (10, 10', ...) mit
dem Versorgungsvolumen (4) durch Verschließen unterbunden
wird, wobei kein weiteres Medium, wie etwa Luft, an die
Hohlräume (10, 10', ...) gelangen kann.

21. Anordnung nach Anspruch 14, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass für das Verschließen der
15 Reaktionsräume (10, 10', ...) eine Verschlusschicht vor-
handen ist.

22. Anordnung nach Anspruch 21, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass der Verschluss durch eine
20 planare, partiell elastische Polymerschicht (5), wie z.B.
Silicongummi, realisiert ist.

23. Anordnung nach Anspruch 22, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass das Verschließen der Öffnung
25 der Reaktionsräume (10, 10', ...) durch Verdrängen des Ver-
sorgungsvolumens (4) erfolgt.

24. Anordnung nach Anspruch 23, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass zum Verdrängen des Ver-
30 sorgungsvolumens (4) Gas, beispielsweise Luft, oder eine nicht
mischbare Flüssigkeit (9) vorhanden ist.

25. Anordnung nach einem der Ansprüche 14 bis 24, d a -
d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Reak-
35 tionsräume (10, 10', ...) durch gelgefüllte Hohlräume (3),

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

15

die zum Zwecke des Stoffaustausches eine Phasengrenze Gel/
Versorgungsvolumen besitzen, realisiert sind.

26. Anordnung nach Anspruch 25, d a d u r c h g e -
5 k e n n z e i c h n e t , dass durch Verschließen der
Phasengrenze der Stoffaustausch der gelgefüllten Reaktions-
räume (10, 10', ...) unterbindbar ist.

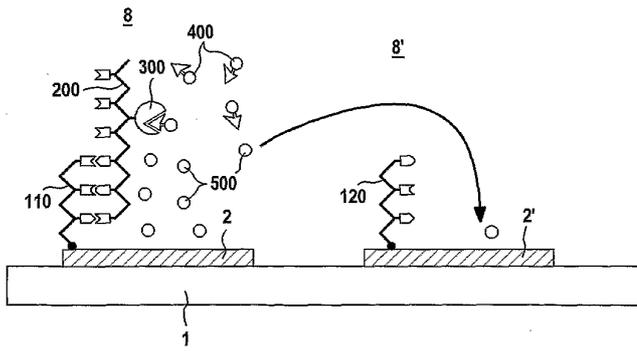


FIG 1

2/4

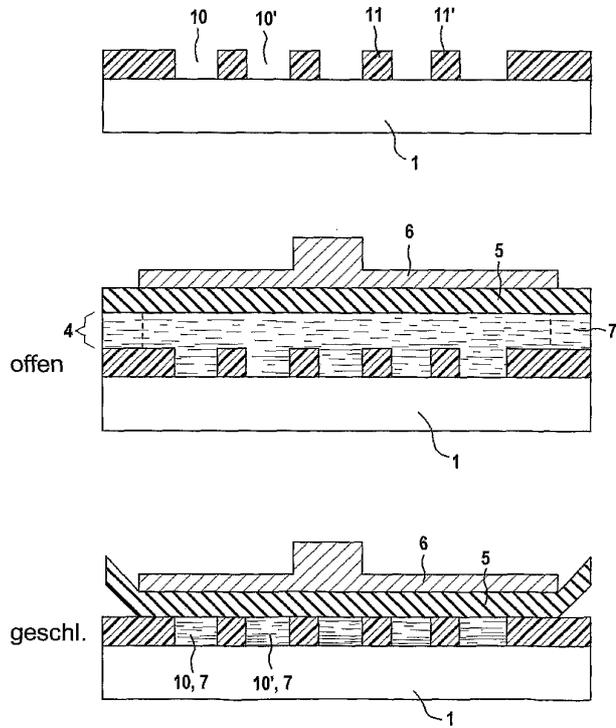


FIG 2

WO 02/41992

PCT/DE01/04437

3/4

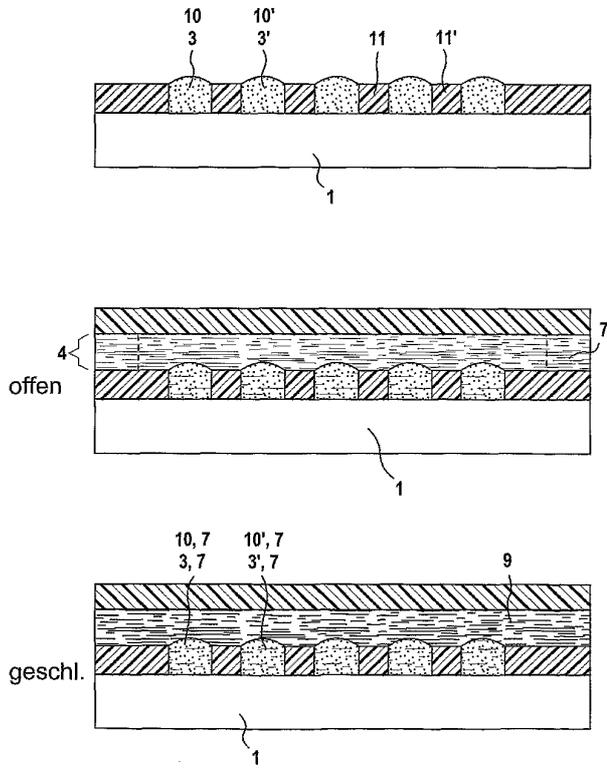


FIG 3

4/4

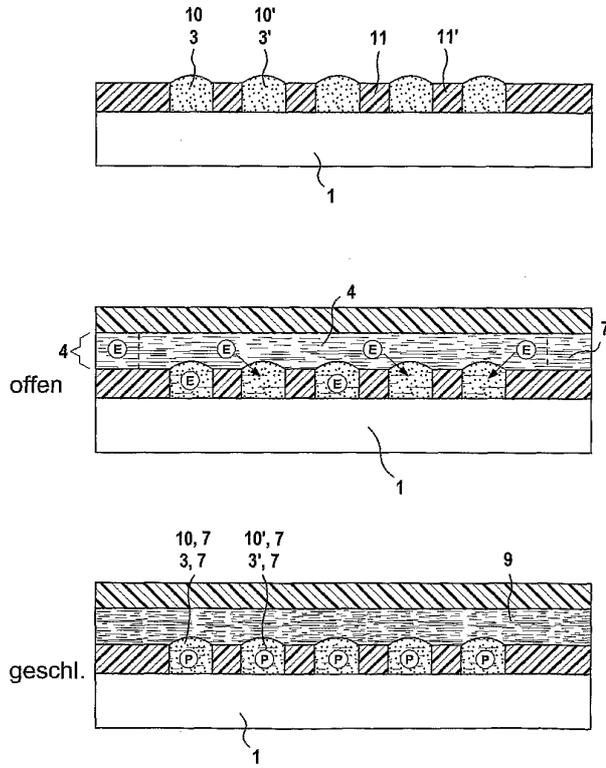


FIG 4

【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
30. Mai 2002 (30.05.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/041992 A3

(51) Internationale Patentklassifikation: B01L 3/00 (30) Angaben zur Priorität:
B01L 19/00 100 58 394.6 24. November 2000 (24.11.2000) DE

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/04437 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];
Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. November 2001 (26.11.2001) (72) Erfinder; und

(25) Einreichungssprache: Deutsch (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MUND, Konrad
[DE/DE]; Langenbrucker Weg 10, 91080 Uttenreuth (DE);
GUMBRECHT, Walter [DE/DE]; In der Rote 1, 91074
Herzogenaurach (DE); STANZEL, Manfred [DE/DE];

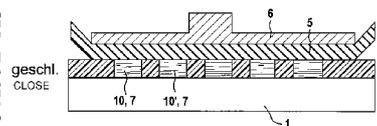
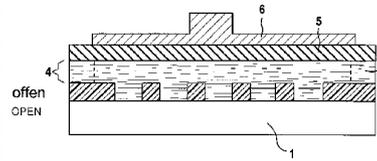
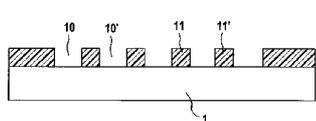
[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR BIOCHEMICAL ANALYSIS AND CORRESPONDING ARRANGEMENT

(54) Bezeichnung: VERFAHREN FÜR DIE BIOCHEMISCHE ANALYTIK UND ZUGEHÖRIGE ANORDNUNG



WO 02/041992 A3



(57) Abstract: The invention relates to a method for biochemical analysis using a micro-reaction array with at least two reaction chambers for materials which react together chemically or biochemically. According to the invention, the reaction chambers are smaller than 1 µl, said reaction chambers are filled together by throughflow, the chemical or biochemical reactions of the substances retained therein then occurs in the individual isolated reaction chambers, thus preventing an interference between the reactions in the individual reaction chambers and the reaction products remain enclosed in the relevant reaction chambers. According to the invention, in said arrangement the planar array has at least two reaction chambers for substances, whereby means are provided for closing the reaction chambers with the goal of preventing an exchange of substances.

(57) Zusammenfassung: Bei einem Verfahren für die biochemische Analytik wird ein Mikroreaktionsarray mit mindestens zwei Reaktionsräumen zur Aufnahme von Stoffen, die miteinander chemisch bzw. biochemisch reagieren verwendet. Gemäß der Erfindung sind die Reaktionsräume kleiner als 1 µm, werden die Reaktionsräume gemeinsam im Durchfluss befüllt, erfolgen anschließend in den einzelnen voneinander getrennten Reaktionsräumen die chemischen bzw. biochemischen Reaktionen der dort eingeschlossenen Substanzen, wobei ein Überschneiden von Reaktionen zwischen

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 02/04192 A3 

- Tannusstr. 100, 91056 Erlangen (DE), **HINTSCHE, Rainer** [DE/DE]; Gravensteinerstr.61 C, 13127 Berlin (DE).
- (74) Gemeinamer Vertreter: SIEMENS AKTIENGESSELLSCHAFT**; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national):** CA, JP, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional):** europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- Erklärungen gemäß Regel 4.17:**
 — hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die folgenden Bestimmungsstaaten CA, JP, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR)
 — Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US
- Veröffentlicht:**
 — mit internationalem Recherchenbericht
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:** 29. August 2002
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

den einzelnen Reaktionsräumen ausgeschlossen ist, und bleiben die Reaktionsprodukte in den jeweiligen Reaktionskammern eingeschlossen. Bei der zugehörigen Anordnung hat das planare Array wenigstens zwei Reaktionsräume zur Aufnahme von Stoffen, wobei Mittel zum Schließen der Reaktionsräume zum Zwecke des Verhindern eines Stoffaustausches vorhanden sind.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/DE 01/04437
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 B01L3/00 B01J19/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 B01J B01L		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 143 496 A (KALININA OLGA V ET AL) 7 November 2000 (2000-11-07) column 4, line 29 -column 30, line 38 figures 1-8 ---	1-26
X	PROUDNIKOV D ET AL: "IMMOBILIZATION OF DNA IN POLYACRYLAMIDE GEL FOR THE MANUFACTURE OF DNA AND DNA-OLIGONUCLEOTIDE MICROCHIPS" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 259, 1998, pages 34-41, XP002928888 ISSN: 0003-2697 page 34, column 1, line 1 -page 35, column 1, line 16 --- -/--	1,3,9, 10,14, 25,26
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*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
E earlier document but published on or after the international filing date		*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
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)		*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
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*S* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 31 May 2002		Date of mailing of the international search report 11/06/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Tiede, R

Form PCT/ISA(210) (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/DE 01/04437
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GUSCHIN D Y ET AL: "OLIGONUCLEOTIDE MICROCHIPS AS GENOSENSORS FOR DETERMINATIVE AND ENVIRONMENTAL STUDIES IN MICROBIOLOGY" APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, vol. 63, no. 6, 1 June 1997 (1997-06-01), pages 2397-2402, XP002064989 ISSN: 0099-2240 page 2397	1,3,9, 10,14, 25,26
P,X	WO 01 34842 A (STRIZHKOV BORIS N ;MIKHAILOVICH VLADIMIR (US); MIRZABEKOV ANDREI () 17 May 2001 (2001-05-17) abstract page 8, line 4 -page 8, line 21	1-21, 23-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/DE 01/04437

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US 6143496	A	07-11-2000	AU 7128998 A WO 9847003 A1	11-11-1998 22-10-1998
WO 0134842	A	17-05-2001	AU 3072101 A WO 0134842 A2	06-06-2001 17-05-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Internationales Aktenzeichen PCT/DE 01/04437
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 B01L3/00 B01J19/00		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoß (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 B01J B01L		
Recherchiere aber nicht zum Mindestprüfstoß gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, MEDLINE		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 6 143 496 A (KALININA OLGA V ET AL) 7. November 2000 (2000-11-07) Spalte 4, Zeile 29 -Spalte 30, Zeile 38 Abbildungen 1-8	1-26
X	PROUDNIKOV D ET AL: "IMMOBILIZATION OF DNA IN POLYACRYLAMIDE GEL FOR THE MANUFACTURE OF DNA AND DNA-OLIGONUCLEOTIDE MICROCHIPS" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, Bd. 259, 1998, Seiten 34-41, XPO02928888 ISSN: 0003-2697 Seite 34, Spalte 1, Zeile 1 -Seite 35, Spalte 1, Zeile 16 --- -/--	1, 3, 9, 10, 14, 25, 26
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung bestritten werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegender ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 31. Mai 2002		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 11/06/2002
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Tiede, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 01/04437

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	GUSCHIN D Y ET AL: "OLIGONUCLEOTIDE MICROCHIPS AS GENOSENSORS FOR DETERMINATIVE AND ENVIRONMENTAL STUDIES IN MICROBIOLOGY" APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, Bd. 63, Nr. 6, 1. Juni 1997 (1997-06-01), Seiten 2397-2402, XP002064989 ISSN: 0099-2240 Seite 2397 -----	1,3,9, 10,14, 25,26
P,X	WO 01 34842 A (STRIZHKOV BORIS N ;MIKHAILOVICH VLADIMIR (US); MIRZABEKOV ANDREI () 17. Mai 2001 (2001-05-17) Zusammenfassung Seite 8, Zeile 4 -Seite 8, Zeile 21 -----	1-21, 23-26

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zu der selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/04437

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6143496	A	AU 7128998 A	11-11-1998
		WO 9847003 A1	22-10-1998
WO 0134842	A	AU 3072101 A	06-06-2001
		WO 0134842 A2	17-05-2001

フロントページの続き

(72)発明者 グンブレヒト、ヴァルター

ドイツ連邦共和国 9 1 0 7 4 ヘルツォーゲンアウラッハ イン デア レーテ 1

(72)発明者 シュタンツェル、マンフレート

ドイツ連邦共和国 9 1 0 5 6 エルランゲン タウヌスシュトラッセ 1 0 0

(72)発明者 ヒンチュケ、ライナー

ドイツ連邦共和国 1 3 1 2 7 ベルリン グラーフェンシュタインシュトラッセ 6 1 ツェー

Fターム(参考) 2G058 CC02 CC19 GA11

4G075 AA39 AA62 AA65 BA05 BA06 BA10 BB03 FA01 FA05 FA12

FB02 FB12

专利名称(译)	生化分析方法和装置		
公开(公告)号	JP2004514152A	公开(公告)日	2004-05-13
申请号	JP2002544162	申请日	2001-11-26
[标]申请(专利权)人(译)	西门子公司		
申请(专利权)人(译)	西门子激活日元Gezerushiyafuto		
[标]发明人	ムントコンラート グンブレヒトヴァルター シュタンツェルマンフレート ヒンチュケライナー		
发明人	ムント、コンラート グンブレヒト、ヴァルター シュタンツェル、マンフレート ヒンチュケ、ライナー		
IPC分类号	G01N33/53 B01J19/00 B01L3/00 C40B60/14 G01N35/02 G01N37/00		
CPC分类号	B01J19/0093 B01J19/0046 B01J2219/00317 B01J2219/00333 B01J2219/00335 B01J2219/00351 B01J2219/00608 B01J2219/00612 B01J2219/00621 B01J2219/00644 B01J2219/00659 B01J2219 /00783 B01J2219/00828 B01J2219/0086 B01J2219/00867 B01L3/502 B01L3/50853 B01L2200/0642 B01L2200/0673 B01L2300/0819 B01L2300/0829 C40B60/14 G01N27/3277		
FI分类号	G01N33/53.ZCC.M B01J19/00.321 G01N37/00.102 G01N35/02.B		
F-TERM分类号	2G058/CC02 2G058/CC19 2G058/GA11 4G075/AA39 4G075/AA62 4G075/AA65 4G075/BA05 4G075 /BA06 4G075/BA10 4G075/BB03 4G075/FA01 4G075/FA05 4G075/FA12 4G075/FB02 4G075/FB12		
代理人(译)	山口岩		
优先权	10058394 2000-11-24 DE		
其他公开文献	JP2004514152A5 JP4347564B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

用于生化分析的方法使用具有至少两个反应室的微反应阵列，用于化学或生物化学一起反应的材料。反应室小于1μl，反应室通过通流填充在一起，其中保留的物质的化学或生物化学反应随后发生在各个隔离的反应室中，从而防止各个反应室中的反应之间的干扰。反应产物保持封闭在相关的反应室中。在该系统中，平面阵列具有至少两个用于物质的反应室，由此封闭反应室以防止物质交换。

