

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-58302

(P2008-58302A)

(43) 公開日 平成20年3月13日(2008.3.13)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 35/00 (2006.01)	GO 1 N 35/00 D	2 G 0 5 8
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 T	
BO 3 C 1/00 (2006.01)	BO 3 C 1/00 A	
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/553	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1	

審査請求 未請求 請求項の数 23 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-184581 (P2007-184581)
 (22) 出願日 平成19年7月13日 (2007.7.13)
 (31) 優先権主張番号 10-2006-0082941
 (32) 優先日 平成18年8月30日 (2006.8.30)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(71) 出願人 390019839
 三星電子株式会社
 Samsung Electronics
 Co., Ltd.
 大韓民国京畿道水原市靈通区梅灘洞416
 (74) 代理人 100072349
 弁理士 八田 幹雄
 (74) 代理人 100110995
 弁理士 奈良 泰男
 (74) 代理人 100114649
 弁理士 宇谷 勝幸
 (74) 代理人 100129126
 弁理士 藤田 健
 (74) 代理人 100130971
 弁理士 都祭 正則

最終頁に続く

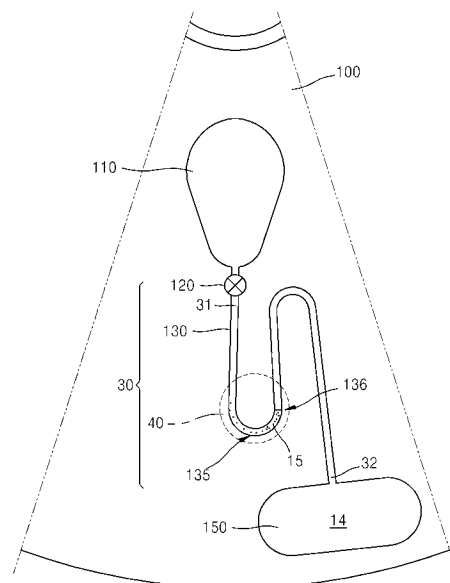
(54) 【発明の名称】 遠心力を利用した磁性ビードパッキングユニット、それを備えた微細流動装置及び前記微細流動装置を利用した免疫学的検出方法

(57) 【要約】

【課題】 遠心力を利用した磁性ビードパッキングユニット、それを備えた微細流動装置及び微細流動装置を利用した免疫学的検出方法を提供する。

【解決手段】 制御可能に回転する回転体100と、回転体上に配置されたものであって、入口31が回転の中心に近く配置され、出口32は回転の中心から入口より遠く配置されて、遠心力により入口から出口まで流体が流れる流路を提供する微細流動チャンネル130と、微細流動チャンネルの一部区間であって、流路が回転の中心から遠い方に向かって進んでいて再び近い方に向かうように曲がった屈曲部135と、屈曲部に対応して配置され、微細流動チャンネルに沿って流れる流体に磁気力を及ぼす磁石40と、を備える。

【選択図】 図1B



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

制御可能に回転する回転体と、

前記回転体上に配置されたものであって、入口が回転の中心に近く配置され、出口は前記回転の中心から前記入口より遠く配置されて、遠心力により前記入口から前記出口まで流体が流れる流路を提供する微細流動チャンネルと、

前記微細流動チャンネルの一部区間であって、前記流路が回転の中心から遠い方向に向かって進んで再び近い方向に向かうように曲がった屈曲部と、

前記屈曲部に対応して配置され、前記微細流動チャンネルに沿って流れる流体に磁気力を及ぼす磁石と、を備えることを特徴とする磁性ビードパッキングユニット。

10

【請求項 2】

前記微細流動チャンネルは、前記屈曲部と近い位置に流路が狭くなるボトルネック部をさらに備えることを特徴とする請求項 1 に記載の磁性ビードパッキングユニット。

【請求項 3】

前記ボトルネック部は、前記屈曲部の出口側の後端に設けられたことを特徴とする請求項 2 に記載の磁性ビードパッキングユニット。

【請求項 4】

前記磁石は、前記屈曲部と隣接するように前記回転体に固定されたことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の磁性ビードパッキングユニット。

【請求項 5】

前記磁石は、前記回転体の外部に前記回転体の回転中心から前記屈曲部までの距離を半径とするリング状に設けられたことを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の磁性ビードパッキングユニット。

20

【請求項 6】

前記屈曲部は、凸状の部分が回転中心から外側に向かう U 字または V 字状になっていることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の磁性ビードパッキングユニット。

【請求項 7】

前記回転体は、コンパクトディスク型の回転板であることを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の磁性ビードパッキングユニット。

【請求項 8】

制御可能に回転し、回転の中心に近い方に配置された試料液チャンバーおよび、前記試料液チャンバーに比べて相対的に回転の中心から遠い方に配置されたウエストチャンバーを備える回転体と、

30

前記回転体上に配置されたものであって、入口が前記試料液チャンバーと連結され、出口は前記ウエストチャンバーに連結されて、遠心力により前記入口から前記出口まで流体が流れる流路を提供する微細流動チャンネルと、

前記微細流動チャンネルの一部区間であって、前記流路が回転の中心から遠い方向に向かって進んで再び近い方向に向かうように曲がった屈曲部と、

前記屈曲部に対応して配置され、前記微細流動チャンネルに沿って流れる流体に磁気力を及ぼす磁石と、を備えることを特徴とする微細流動装置。

40

【請求項 9】

前記微細流動チャンネルは、前記屈曲部と近い位置に流路が狭くなるボトルネック部をさらに備えることを特徴とする請求項 8 に記載の微細流動装置。

【請求項 10】

前記ボトルネック部は、前記屈曲部の出口側の後端に設けられたことを特徴とする請求項 9 に記載の微細流動装置。

【請求項 11】

前記磁石は、前記屈曲部と隣接するように前記回転体に固定されたことを特徴とする請求項 8 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の微細流動装置。

【請求項 12】

50

前記磁石は、前記回転体の外部に前記回転体の回転中心から前記屈曲部までの距離を半径とするリング状に設けられたことを特徴とする請求項 8 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の微細流動装置。

【請求項 13】

前記屈曲部は、凸状の部分が回転中心から外側に向かう U 字または V 字状を有することを特徴とする請求項 8 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の微細流動装置。

【請求項 14】

前記回転体は、コンパクトディスク型の回転板であることを特徴とする請求項 8 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の微細流動装置。

【請求項 15】

前記試料液チャンパーと前記微細流動チャンネルの入口との間に流体の流れをコントロールする弁をさらに備えることを特徴とする請求項 8 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の微細流動装置。

【請求項 16】

請求項 8 に記載の微細流動装置を利用して免疫学的検出を行う方法において、
前記試料液チャンパー内に磁性ビードが混合された試料液を準備するステップと、
前記回転体の回転による遠心力により前記磁性ビードが混合された試料液を前記微細流動チャンネルに通過させることによって、前記屈曲部内に前記磁性ビードをパッキングするステップと、を含むことを特徴とする免疫学的検出方法。

【請求項 17】

前記磁性ビードは、その直径が 10 ないし 50 μm であることを特徴とする請求項 16 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 18】

前記磁性ビードは、磁性物質からなるコアと、前記コアを取り囲むものであって、非磁性物質からなるシェルと、を備えることを特徴とする請求項 16 または 17 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 19】

前記シェルは、生物学的に不活性の高分子物質からなり、前記シェルの表面は、生物学的に活性化されたことを特徴とする請求項 18 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 20】

前記シェルは、スチレン、アガロース、デキストラン及びポリエチレングリコール (PEG) からなるグループから選択されたいずれか一つの物質からなることを特徴とする請求項 19 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 21】

前記シェルの表面は、所定の生体分子の特異的な付着が可能に改質されたことを特徴とする請求項 19 または 20 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 22】

前記シェルの表面は、抗体、抗原、DNA、ビオチン、蛋白質、アミノ基 (NH_2 -) 及びカルボキシ基 (COOH -) からなるグループから選択された少なくとも一つのプロープを有することを特徴とする請求項 21 に記載の免疫学的検出方法。

【請求項 23】

前記シェルの表面は、シリカからなることを特徴とする請求項 18 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の免疫学的検出方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、遠心力を利用した磁性ビードパッキングユニット、それを備えた微細流動装置及び前記微細流動装置を利用した固体表面基盤の免疫学的検出方法に係り、特に生物学的に活性化された磁性ビードの表面を利用して免疫学的検出を行うとき、表面に抗原が付着された磁性ビードを効果的にパッキングできる微細流動装置、及びそれを利用した免疫

10

20

30

40

50

学的検出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

一般的に、免疫学的検出とは、抗原及び抗体のいずれか一つまたは両方を放射性同位元素または化学蛍光物質などで表示し、抗原抗体反応により抗原または抗体の存在を確認することをいう。放射性同位元素を利用した方法を放射免疫測定法ともいい、化学蛍光物質を利用した方法を免疫蛍光法ともいう。

【0003】

最近では、かかる免疫学的検出を、微細製造技術により作られたバイオチップ、バイオセンサーまたは微細流動装置などを利用して行おうとする研究が進められている。それら
10
のうち微細流動装置内で、マイクロビードを利用した固体表面を基盤とする免疫学的検出を行うためには、試料溶液が流れるチャンネルまたはチャンバーのような所定の空間にビードをパッキングする必要がある。したがって、微細流動装置内に多量のビードを溜めて凝集させる構造物が必要になる。最近では、コンパクトディスク(CD)型の微細流動装置内で遠心力を利用して流体を移動させつつ色々な作業を行うための研究が進められている。ビードを利用した固体表面基盤の免疫学的検出をかかるCD型の微細流動装置で行うためには、遠心力を利用してビードを効果的にパッキングできる装置が要求される。

【0004】

一方、微細流動装置内にビードをパッキングするとき、従来の商用化された磁性ビードのようにビードの直径が小さすぎれば、ビードを溜めるための構造物を作り難いだけでなく、パッキングされたビードを通過しつつ微細流動装置内で流体の圧力損失が大きく発生
20
するという問題がある。特に、CD型の微細流動装置の場合、かかる圧力損失は、流体移送のために装置の回転数を非常に増加させねばならないことを意味する。また、ビードの直径が大きすぎれば、かかる圧力損失を減らす代わりに、パッキングされたビード間の孔隙も大きくなって免疫学的反応の効率性が低下する問題がある。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、前記した問題点を改善するためのものであって、回転体上に設けられた微細流動構造物内で遠心力と磁気力とを利用して磁性ビードを効果的にパッキングできる
30
磁性ビードパッキングユニット、及びそれを備えた微細流動装置を提供するところにある。

【0006】

本発明の他の目的は、前記微細流動装置とパッキングに適切なサイズを有する磁性ビードとを利用して効果的に免疫学的検出を行う方法を提供するところにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明による磁性ビードパッキングユニットは、制御可能に回転する回転体と、前記回転体上に配置されたものであって、入口が回転の中心に近く配置され、出口は前記回転の中心から前記入口より遠く配置されて、遠心力により前記入口から前記出口まで流体が流
40
れる流路を提供する微細流動チャンネルと、前記微細流動チャンネルの一部区間であって、前記流路が回転の中心から遠い方に向かって進んで再び近い方に向かうように曲がった屈曲部と、前記屈曲部に対応して配置され、前記微細流動チャンネルに沿って流れる流体に磁気力を及ぼす磁石と、を備える。

【0008】

前記微細流動チャンネルは、前記屈曲部と近い位置に流路が狭くなるボトルネック部をさらに備え、前記ボトルネック部は、前記屈曲部の出口側の後端に設けられる。前記磁石は、前記屈曲部と隣接するように前記回転体に固定されてもよく、これと異なり、前記回転体の外部に前記回転体の回転中心から前記屈曲部までの距離を半径とするリング状に設けられてもよい。前記屈曲部は、凸状の部分が回転中心から外側に向かうU字またはV字
50

状を有しうる。前記回転体は、回転に適した多様な形状を有したものであり、一例としてC D型の回転板でありうる。

【0009】

本発明の一側面による微細流動装置は、制御可能に回転し、回転の中心に近い方に配置された試料液チャンバーおよび、前記試料液チャンバーに比べて相対的に回転の中心から遠い方に配置されたウエストチャンバーを備える回転体と、前記回転体上に配置されたものであって、入口が前記試料液チャンバーと連結され、出口は前記ウエストチャンバーに連結されて、遠心力により前記入口から前記出口まで流体が流れる流路を提供する微細流動チャンネルと、前記微細流動チャンネルの一部区間であって、前記流路が回転の中心から遠い方に向かって進んで再び近い方に向かうように曲がった屈曲部と、前記屈曲部に対応して配置され、前記微細流動チャンネルに沿って流れる流体に磁気力を及ぼす磁石と、を備える。

10

【0010】

前述した磁性ビードパッキングユニットの場合と同様に、前記微細流動チャンネルは、前記屈曲部と近い位置に流路が狭くなるボトルネック部をさらに備え、前記ボトルネック部は、前記屈曲部の後端に設けられる。前記磁石は、前記屈曲部と隣接するように前記回転体に固定されてもよく、これと異なり、前記回転体の外部に前記回転体の回転中心から前記屈曲部までの距離を半径とするリング状に設けられてもよい。前記屈曲部は、凸状の部分が回転中心から外側に向かうU字またはV字状を有しうる。前記回転体は、回転に適した多様な形状を有したものであり、一例としてC D型の回転板でありうる。

20

【0011】

一方、本発明の他の側面によれば、前記微細流動装置を利用した免疫学的検出方法が提供される。本発明による免疫学的検出方法は、前記試料液チャンバー内に磁性ビードが混合された試料液を準備するステップと、前記回転体の回転による遠心力により前記磁性ビードが混合された試料液を前記微細流動チャンネルに通過させることによって、前記屈曲部内に前記磁性ビードをパッキングするステップと、を含む。

【0012】

ここで、前記磁性ビードは、その直径が10ないし50 μ mでありうる。また、前記磁性ビードは、磁性物質からなるコアと、前記コアを取り囲むものであって、非磁性物質からなるシェルと、を備える。前記シェルは、生物学的に不活性の高分子物質からなり、前記シェルの表面は、生物学的に活性化されうる。

30

【0013】

さらに具体的に、前記シェルは、スチレン、アガロース、デキストラン及びポリエチレングリコール(PEG)からなるグループから選択されたいずれか一つの物質からなりうる。前記シェルの表面は、所定の生体分子の特異的な付着が可能に改質されうる。この場合、前記シェルの表面は、抗体、抗原、DNA、ビオチン、蛋白質、アミノ基(NH₂-)及びカルボキシ基(COOH-)からなるグループから選択された少なくとも一つのプローブを有することもできる。一方、前記シェルは、シリカからなることもある。

【発明の効果】

【0014】

本発明は、回転体上に設けられた微細流動構造物内で遠心力と磁気力とを利用して磁性ビードを効果的にパッキングできる。すなわち、本発明による磁性ビードパッキングユニット及びそれを備えた微細流動装置は、簡単な構成による装置の小型化に有利であり、駆動に必要な動力を減らし、高効率の免疫学的反応を引き出すことができる。

40

【0015】

また、本発明による免疫学的検出方法は、本発明の微細流動装置と適切なサイズを有する磁性ビードとを利用して、少ない駆動エネルギーで簡便に免疫学的検出を行える。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

以下、添付された図面を参照しつつ、本発明の実施形態を詳細に説明する。

50

【 0 0 1 7 】

図 1 A 及び図 1 B は、本発明による微細流動装置の実施形態を示す平面図であって、それぞれ磁性ビードのパッキング前と後の状態を示す。

【 0 0 1 8 】

本発明による磁性ビードパッキングユニット 3 0 は、制御可能に回転する回転体の非制限的な例としての回転板 1 0 0 上に配置される。微細流動チャンネル 1 3 0 は、入口 3 1 と出口 3 2 とを有し、前記入口 3 1 と出口 3 2 との圧力差により流体が流れる流路を提供する。前記入口 3 1 は、前記回転板 1 0 0 の回転中心に相対的に出口 3 2 よりも近く配置され、前記出口 3 2 は、相対的に入口 3 1 よりも遠く配置されている。したがって、前記回転板 1 0 0 の回転による遠心力により入口 3 1 と出口 3 2 との間に圧力差が発生する。

10

【 0 0 1 9 】

前記微細流動チャンネル 1 3 0 は、その一部の区間に前記流路が回転の中心から遠い方に向かって進んでいて再び近い方に向かうように曲がった屈曲部 1 3 5 を有する。一方、前記微細流動チャンネル 1 3 0 内には、前記屈曲部 1 3 5 と近い位置に流路の断面積が急激に狭くなるボトルネック部 1 3 6 がさらに設けられうる。前記ボトルネック部 1 3 6 は、磁性ビード 1 5 が混合された試料液の流れを遅らせて磁性ビード 1 5 を前記屈曲部 1 3 5 内に溜める補助をする。

【 0 0 2 0 】

そして、前記屈曲部 1 3 5 に隣接するように磁石 4 0 が配置される。前記磁石 4 0 は、前記屈曲部 1 3 5 の後端に設けられた前記ボトルネック部 1 3 6 の前方に隣接して配置されうる。前記磁石 4 0 は、磁性ビードが混合された試料液 1 3 から前記磁性ビード 1 5 を前記屈曲部 1 3 5 内に溜めて凝集させる程度、すなわちパッキングできる程度の強度の磁気力を印加することが望ましい。

20

【 0 0 2 1 】

本発明の一側面による微細流動装置の実施形態を見れば、回転板 1 0 0 上に、その回転軸から相対的に近い方に試料液チャンバー 1 1 0 が配置され、相対的に遠い方にウエストチャンバー 1 5 0 が配置される。そして、前記試料液チャンバー 1 1 0 と前記ウエストチャンバー 1 5 0 との間には、それらを連結する微細流動チャンネル 1 3 0 が配置される。前記微細流動チャンネル 1 3 0 は、その流路が U 字または V 字状に曲がった屈曲部 1 3 5 を備えるが、前記屈曲部 1 3 5 は、凸状の部分が回転の中心から遠い方、すなわち前記回転板 1 0 0 の外周縁に向かって配置される。前記屈曲部 1 3 5 は、前記試料液チャンバー 1 1 0 と連結された入口 3 1 側流路 1 3 1 と、前記ウエストチャンバー 1 5 0 と連結された出口 3 2 側流路 1 3 2 との間に配置され、前記屈曲部 1 3 5 の屈曲が終わる部分に流路の断面積が急激に狭くなるボトルネック部 1 3 6 が設けられうる。

30

【 0 0 2 2 】

磁石 4 0 は、前記屈曲部 1 3 5 の上、下または上と下にいずれにも配置され、望ましくは、前記屈曲部 1 3 5 の下部に配置されうる。このように磁石 4 0 が微細流動チャンネル 1 3 0 の下部に配置された構成は、前記微細流動チャンネル 1 3 0 内にパッキングされた磁性ビードの表面を観測するのに有利である。前記磁石 4 0 は、永久磁石または電磁石でありうる。ただし、磁束密度が高く、かつサイズが小さくて携帯性の高い永久磁石を採用することが望ましい。一方、前記図 1 A 及び図 1 B に示した実施形態と異なり、磁石は、前記回転板 1 0 0 の回転中心から前記屈曲部 1 3 5 までの距離を半径とする円状を有するものであって、前記屈曲部 1 3 5 の回転軌跡に対応して前記回転板 1 0 0 の外部に配置されることもある（図示せず）。

40

【 0 0 2 3 】

一方、前記微細流動チャンネル 1 3 0 の入口 3 1 と前記試料液チャンバー 1 1 0 の出口との間には、流体の流れを制御する弁 1 2 0 が設けられうる。前記弁 1 2 0 としては、前記回転板 1 0 0 の回転数調節により開閉可能な毛細管弁または疎水性弁をはじめとして、微細流動構造物内で流体の流れを制御できる多様な形態の弁が採用されうる。

【 0 0 2 4 】

50

本実施形態による微細流動装置の動作を通じて本発明の特徴を説明すれば、次の通りである。まず、磁性ビード 15 が混合された試料液 13 が前記試料液チャンバー 110 に注入される。前記弁 120 が開放された状態で前記回転板 100 が回転すれば、遠心力により流体が集まる前記微細流動チャンネル 130 の入口 31 側は圧力が高くなり、また、遠心力により内部の流体が流れ出る前記微細流動チャンネル 130 の出口 32 側は圧力が低くなって、前記微細流動チャンネル 130 内に試料液の流れが形成される。

【0025】

磁性ビード 15 が混合された試料液 13 が前記ボトルネック部 136 の入り口に設けられた前記屈曲部 135 に達したとき、磁性ビード 15 は、前記ボトルネック部 136 によりその移動速度が遅くなり、結局、前記磁石 40 の磁気力に引かれて前記屈曲部 135 内にパッキングされうる（図 1 B を参照）。また、前記回転板 100 の外周縁に向かって凸状に屈曲された前記屈曲部 135 の構造的な特性は、前記磁性ビード 15 が前記ボトルネック部 136 を通過して抜け出ないようにする役割を行う。磁性ビード 15 は、試料液より密度が高くて遠心力の影響をさらに大きく受けるので、回転半径の大きい位置からさらに小さい位置に移動し難い。磁性ビードが混合された試料液 13 から磁性ビード 15 が分離されて残ったウエスト 14 は、前記出口側流路 132 を通じてウエストチャンバー 150 に排出される。

10

【0026】

図 2 は、図 1 A 及び図 1 B に示した実施形態の構成についての理解を補助するための 3 次元イメージである。回転板 100 の下板に試料液チャンバー 110、微細流動チャンネル 130 及びウエストチャンバー 150 をなす構造物が陰刻されている。その上には、透明なカバー（図示せず）が覆われうる。図 3 は、図 2 の III - III 線に沿う断面図である。回転板の下板 102、カバー 101、前記下板 102 に陰刻して形成された入口側チャンネル 131 及びボトルネック部 136 などの構造物が示されている。ただし、本図面に示されたことは、一つの実施形態に過ぎず、本発明の構成は、前記構造物をカバー側に配置するなど多様な形態で実施されうる。

20

【0027】

図 4 及び図 5 は、本発明の微細流動装置を利用した免疫学的検出の実行に使われる磁性ビードの例を示す顕微鏡写真である。図 4 は、約 10 ないし 20 μm の直径を有する磁性ビードを示し、図 5 は、約 20 ないし 50 μm の直径を有する磁性ビードを示す。磁性ビード 15（図 1 A の部分拡大図を参照）は、磁性体粒子であるコア 16 と、前記コアを取り囲むコーティング層であるシェル 17 と、を備え、その全体直径 d は、前述したような理由により、10 ないし 50 μm の範囲内であることが望ましい。

30

【0028】

前記磁性ビード 15 は、従来に商用化された磁性ビードの直径がほとんど 10 μm 未満である点と比較して相対的にサイズが大きいという特徴を有する。前記磁性ビード 15 の直径が小さすぎれば、パッキングされた磁性ビードの間を通過して流れる試料液の流れに大きい圧力損失が発生する。また、洗浄や基質付着などパッキングされた磁性ビード 15 の表面に対する作業も効率性が低下する。一方、前記磁性ビード 15 の直径が大きすぎれば、パッキングされた磁性ビード群の孔隙率が大きくなって、試料液に含まれて検出の目的となる生体分子の相当量が前記磁性ビード 15 の表面に接触せずにそのまま通過して、免疫学的検出の実行に不適である。

40

【0029】

前記磁性ビード 15 のコア 16、すなわち磁性粒子は、従来に知られた磁性ビードと同様に、磁性を有し、直径が数十 nm ないし数 μm レベルである粒子であれば、いずれでも問題ない。特に、強磁性体を有する Fe, Ni, Cr の金属及びそれらの酸化物からなる群から選択される一つ以上の物質を含むことが望ましい。

【0030】

前記磁性ビード 15 のシェル 17 は、非磁性物質からなり、前記非磁性物質は、磁場を遮蔽しない物質であることが望ましい。また、前記シェル 17 自体は、生物学的に不活性

50

であることが望ましい。生物学的試料と接触する機会が多いため、不要な生化学的反応を未然に防止するためである。かかる要件を備えたシェル17素材の例として、スチレン、アガロース、デキストランまたはPEGなどが挙げられる。ただし、それらは非制限的な例に過ぎない。

【0031】

前記シェル17の表面は、生体分子との非特異的または特異的な結合が可能に生物学的に活性化されうる。前記生物学的な活性化は、化学的な表面改質を含む概念である。一例として、前記磁性ビード15のシェル17の表面に核酸を非特異的にバインディングさせるために、前記シェル17の表面をシリカに改質しうる。かかる場合、細胞溶液とカオトロピック塩 (chaotropic salt), NaOH溶液などが混合された核酸抽出溶液から前記磁性ビード15の表面に核酸をバインディングすることによって、核酸を抽出または精製できる。

10

【0032】

一方、前記シェル17の表面は、所定の生体分子の特異的な付着が可能に改質されることもある。前記シェル17は、その表面に検出しようとする所定の生体分子と特異的な結合が可能な抗体、抗原、DNA、ビオチン、蛋白質、NH₂-及びCOOH-からなるグループから選択された少なくとも一つのプローブを有しうる。前記シェル17は、生物学的に不活性物質からなるので、ここに前記プローブを形成するために、前記シェル17の表面にエポキシまたはストレプトアビジンなどの物質を先にコーティングできる。前記磁性ビード15が抗体に表面改質された場合、すなわち抗体からなるプローブを有する場合、抗体は、特定の抗原のみを選択的に捕獲できるため、少量の試料から低い濃度の抗原を検出しようとする場合にも有効である。

20

【0033】

以下では、さらに具体的に免疫学的検出のために本発明の微細流動装置に使われる磁性ビードを製造する方法の一例を簡略に説明する。

【0034】

- 磁性ナノ粒子の製造

20 mlの0.4 M FeCl₂, 0.25 M FeCl₃溶液を準備した後、常温で30分間攪拌してよく混ぜる。これに20 mlの5 M NaOH溶液を徐々に添加しつつ10分間攪拌し、磁性粒子を形成する。磁性粒子を蒸留水で中性となるまで洗浄する。磁性粒子は、80 °Cで完全に乾燥後、乾燥重量を決定する。

30

【0035】

- 磁性アガロースビードの製造

4 gのアガロースを100 mlの蒸留水に入れた後、電子レンジで完全に溶かして4 gの磁性粒子を添加した後、均一に混ぜるようによく攪拌する。5 gのエチルセルロースを100 mlのトルエンに溶かした後、60 °Cで攪拌しつつ2時間以上で完全に溶かし、前記で準備したアガロース溶液を徐々に入れた後に30分間攪拌する。温度を徐々に25 °Cまで低め、100%エチルアルコールで2回、70%エチルアルコールで2回洗浄後、蒸留水で数回洗浄する。

40

【0036】

生成されたビードのサイズは、顕微鏡を利用して確認する。前記した方法で製造したアガロースのビードのサイズは、約10ないし50 μmの直径を有する。

【0037】

- 磁性アガロースビードのクロスリンク及び活性化

100 mlのアガロースビードを100 mlの0.5 N水酸化ナトリウムに入れ、ここに10 mlの1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルまたはエピクロルヒドリンを添加した後、25 °Cで8時間攪拌して反応させる。5 Lの蒸留水で洗浄後、ビードに導入されたエポキシ基の分子数を3 M Na₂S₂O₃溶液で解離されて生成されるエポキシ分子のHCl滴定法で確認して4 %に保管する。

50

【0038】

- 抗体のコンジュゲーション

前記方法で製造したエポキシ活性の磁性アガロースビードに抗体をコンジュゲーションする方法は、次の通りである。50 mM 炭酸ナトリウムバッファ (pH 9.0) に数回洗浄したビードに 0.1 ないし 1 mg/ml (50 mM 炭酸ナトリウムバッファ) の濃度で希釈した抗体を混ぜた後、4 で 16 時間以上反応させる。ビードに結合した抗体の量は、反応溶液に残っている抗体の量をブラッドフォード方法で蛋白質定量を通じて求めた後に換算する。反応が終わったビードを 50 mM 炭酸ナトリウムバッファで数回洗浄した後、1 M グリシン溶液で 12 時間処理して抗体が見つからない未反応活性基を除去する。ビードを PBS で数回洗浄して中性化した後、4 で保管する。ビードに結合した抗体の活性は、抗原をコーティングしたプレートを利用して ELISA 方法で確認する。

10

【0039】

図 6 は、本発明の実施形態による CD 型微細流動装置を利用して磁性ビードをパッキングする過程を経時的に示す連続写真である。写真の右側は、本発明による磁性ビードパッキングユニットを備えた微細流動装置であり、左側は、本発明との比較のために磁石を除外させた装置である。各写真の最右上端に表示された数字は、経過された時間を秒単位で表示したものである。

【0040】

まず、前記のように準備された磁性ビードと試料液とを試料液チャンバーに注入して混合する。CD 型微細流動装置の回転板を回転させつつ、試料液チャンバーの出口と連結された弁を開放する。磁性ビードが混合された試料液は、微細流動チャンネルを通過する中で前記屈曲部に達し、ここで、磁性ビードは、磁気力及び遠心力により前記屈曲部内にパッキングされ、残りの試料液ウエストは、ウエストチャンバーに抜け出る。3 秒以後に、磁石に隣接した前記屈曲部に磁性ビードがパッキングされている形態を明確に見ることができる。

20

【0041】

図 7 は、本発明の実施形態による CD 型微細流動装置を利用して免疫学的検出を行う過程を経時的に示す連続写真である。試料液チャンバーに抗原を含む試料液を注入し、ここに準備された磁性ビードを混合する (図 7 左上の 3 図参照)。混合作業は、微細流動装置の回転板を両方向に数回反復して回転させることによって行われうる。本実施形態では、120 rpm の回転数で時計回り方向及び逆時計回り方向に 100 秒間反復して回転させた。一方、試料液にあらかじめ前記磁性ビードを混合した状態で前記試料液チャンバーに注入することもできることはいうまでもない。

30

【0042】

次いで、磁性ビードが混合された試料液を、微細流動チャンネルを通じて移動させる (図 7 右上の 2 図参照)。移動作業も、遠心力により行われうる。本実施形態では、いずれか一方の方向に 900 rpm の回転数で 10 秒間回転させた。磁性ビードが混合された試料液が図 7 に示したように、前記微細流動チャンネルを通過して移動し、その過程で屈曲部に磁性ビードがパッキングされる。

【0043】

次いで、前記試料液チャンバーにバッファ液を入れ、前記のような方法でバッファ液を遠心力により移動させつつパッキングされた磁性ビードを洗浄できる (図 7 左下の図参照)。本実施形態では、回転板を 600 rpm の回転数で回転させつつ、30 秒間 100 μ l のバッファ液を利用して洗浄した。次いで、前記洗浄作業のような方法で免疫反応の検出のための基質 20 μ l を入れてパッキングされた磁性ビードの表面に付着させうる (図 7 右下の図参照)。前記基質の種類に応じて蛍光、色素または放射性同位元素の測定などの方法で免疫反応を検出できる。免疫反応の定量的な検出も可能であることはいうまでもない。

40

【0044】

以上、本発明による望ましい実施形態が説明されたが、これは、例示的なものに過ぎず、当業者ならば、これから多様な変形及び均等な他の実施形態が可能であるという点を理

50

解できるであろう。したがって、本発明の保護範囲は、特許請求の範囲により決まらねばならない。

【産業上の利用可能性】

【0045】

本発明は、免疫学的検出関連の技術分野に適用可能である。

【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1A】本発明による微細流動装置の実施形態を示す平面図であって、磁性ビードパッキング前の状態を示す図面である。

【図1B】本発明による微細流動装置の実施形態を示す平面図であって、磁性ビードパッキング後の状態を示す図面である。

【図2】図1A及び図1Bに示した構成についての理解を助けるための3次元イメージである。

【図3】図2のIII-III線に沿う断面図である。

【図4】本発明の微細流動装置を利用した免疫学的検出の実行に使われる磁性ビードの例を示す顕微鏡写真である。

【図5】本発明の微細流動装置を利用した免疫学的検出の実行に使われる磁性ビードの例を示す顕微鏡写真である。

【図6】本発明の実施形態による微細流動装置を利用して磁性ビードをパッキングする過程を経時的に示す連続写真である。

【図7】本発明の実施形態による微細流動装置を利用して免疫学的検出を行う過程を経時的に示す連続写真である。

【符号の説明】

【0047】

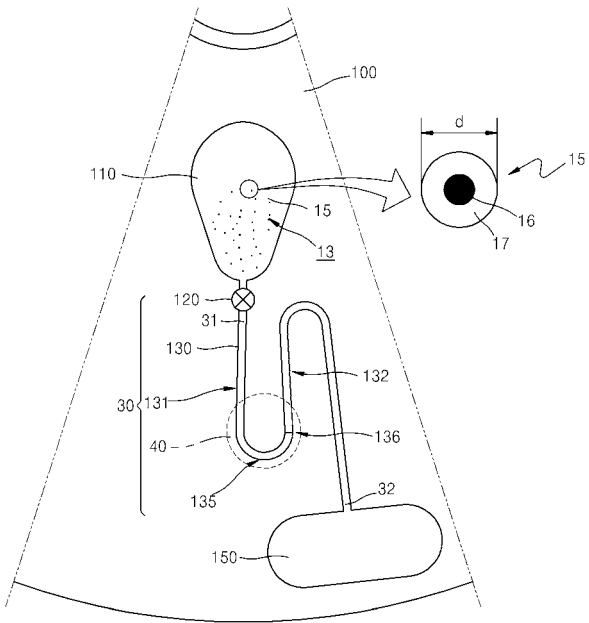
- 14 ウエスト
- 15 磁性ビード
- 30 磁性ビードパッキングユニット
- 31 入口
- 32 出口
- 40 磁石
- 100 回転板
- 110 試料液チャンバー
- 120 弁
- 130 微細流動チャンネル
- 135 屈曲部
- 136 ボトルネック部
- 150 ウエストチャンバー

10

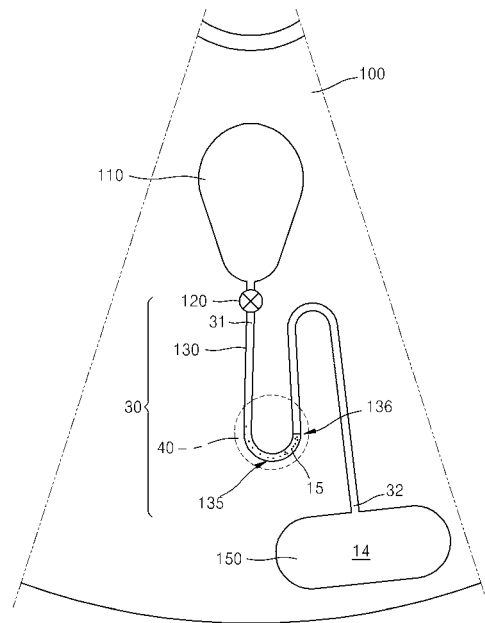
20

30

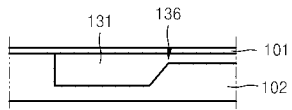
【 図 1 A 】



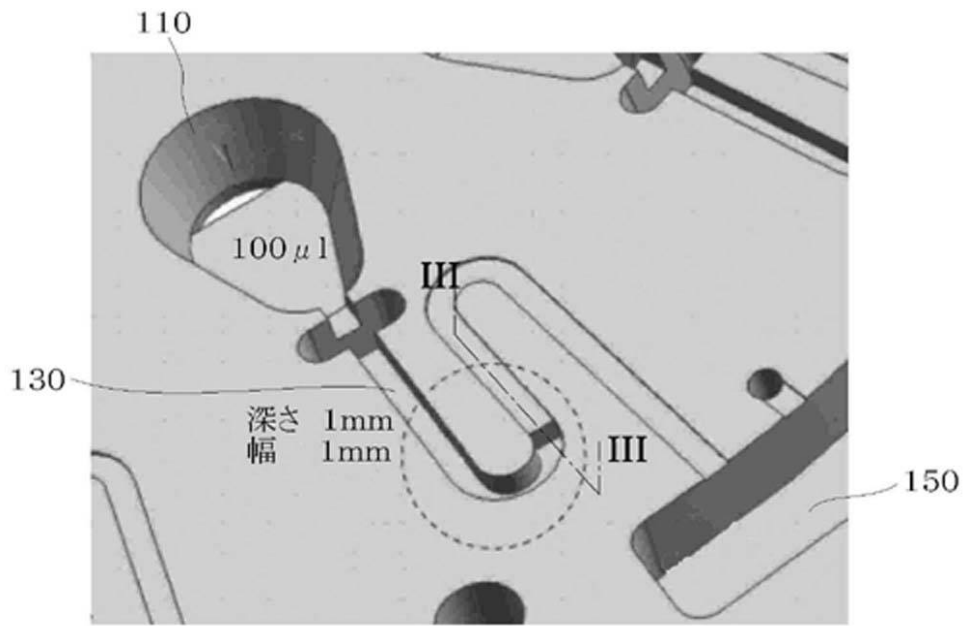
【 図 1 B 】



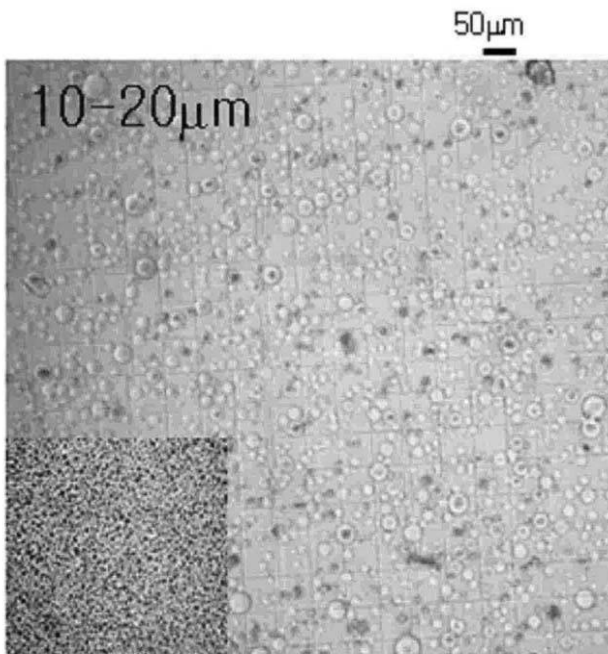
【 図 3 】



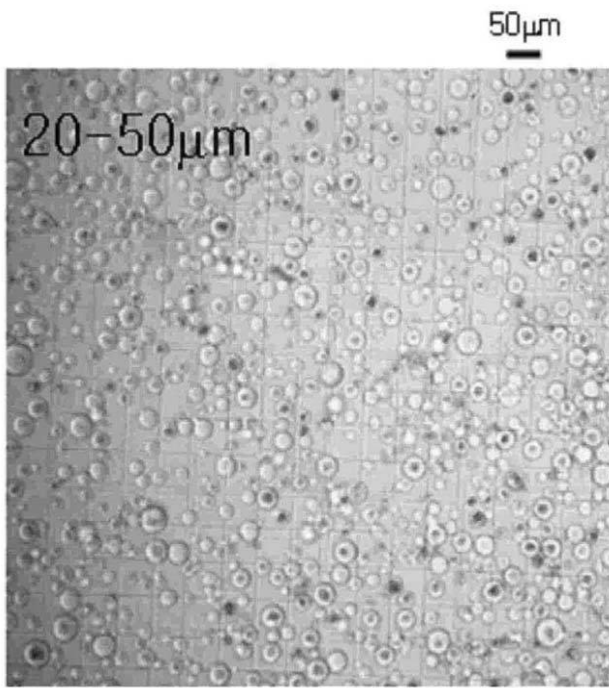
【 図 2 】



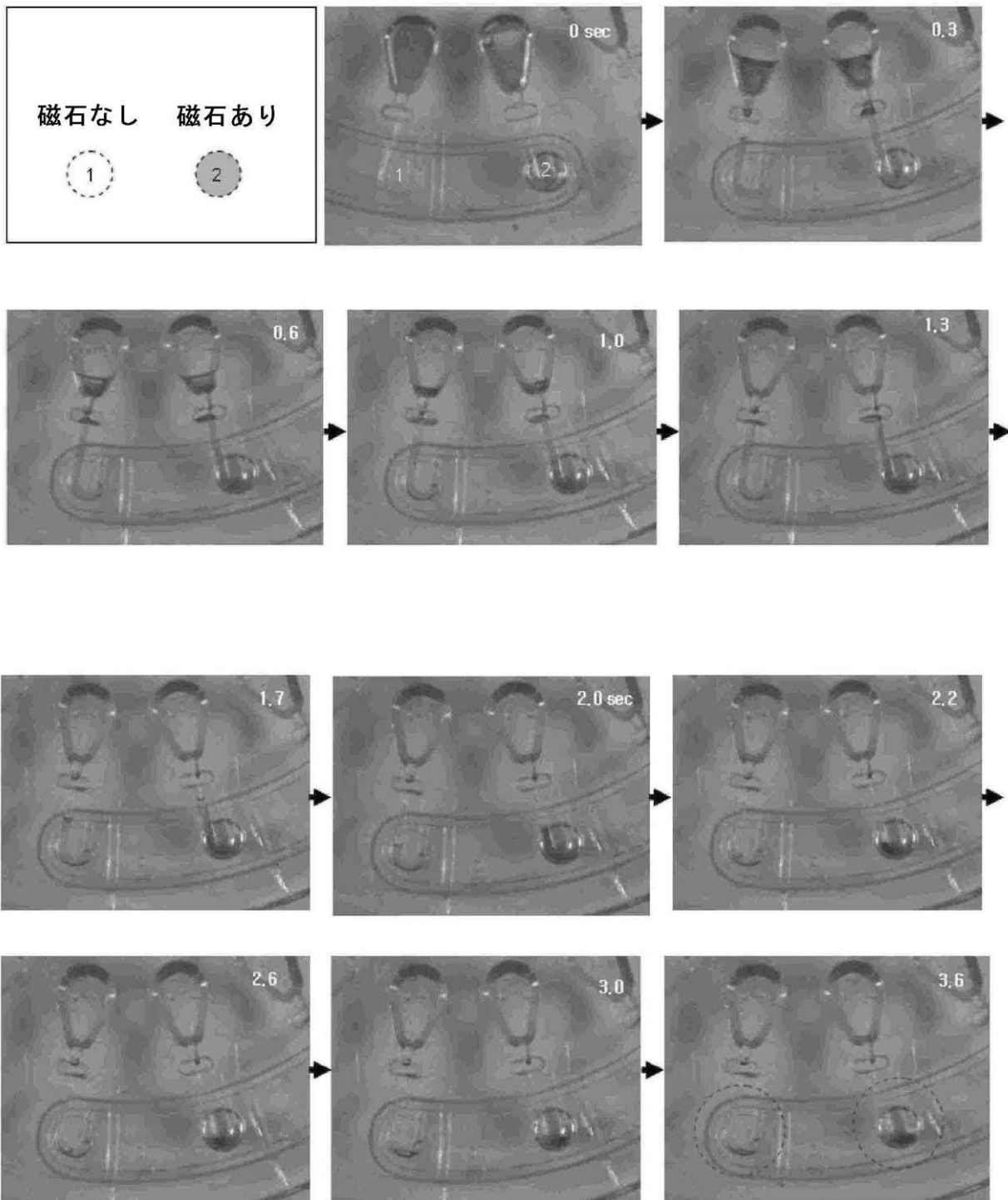
【 図 4 】



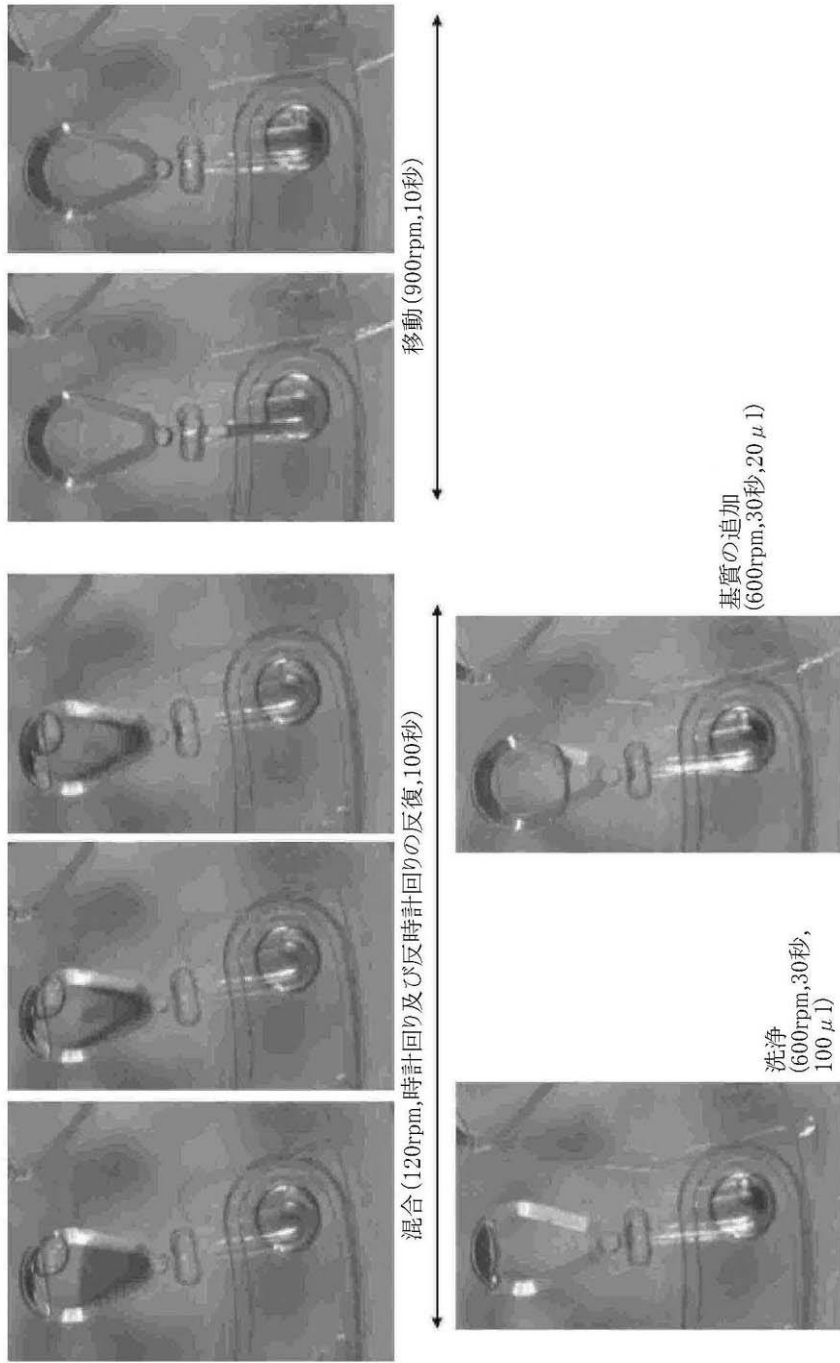
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード(参考)
G 0 1 N 35/08 (2006.01) G 0 1 N 35/08 A

(74) 代理人 100134348

弁理士 長谷川 俊弘

(72) 発明者 趙 允 卿

大韓民国京畿道龍仁市器興区農書洞山 1 4 - 1 番地 三星綜合技術院内

(72) 発明者 李 凡 石

大韓民国京畿道龍仁市器興区農書洞山 1 4 - 1 番地 三星綜合技術院内

(72) 発明者 李 廷 健

大韓民国京畿道龍仁市器興区農書洞山 1 4 - 1 番地 三星綜合技術院内

F ターム(参考) 2G058 DA07 EA14

专利名称(译)	使用离心力的磁珠填充单元，具有该磁珠填充单元的微流体装置，以及使用该微流体装置的免疫学检测方法		
公开(公告)号	JP2008058302A	公开(公告)日	2008-03-13
申请号	JP2007184581	申请日	2007-07-13
[标]申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
[标]发明人	趙允卿 李凡石 李廷健		
发明人	趙允卿 李凡石 李廷健		
IPC分类号	G01N35/00 G01N33/53 B03C1/00 G01N33/553 G01N37/00 G01N35/08		
CPC分类号	B01L3/502761 B01L3/50273 B01L3/502738 B01L2300/0806 B01L2400/0409 B01L2400/043 G01N33/5304		
FI分类号	G01N35/00.D G01N33/53.T B03C1/00.A G01N33/553 G01N37/00.101 G01N35/08.A B03C1/00.B B03C1/00.H B03C1/01 B03C1/14 B03C1/28		
F-TERM分类号	2G058/DA07 2G058/EA14		
代理人(译)	宇谷 胜幸 藤田 健		
优先权	1020060082941 2006-08-30 KR		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供使用离心力的磁珠包装单元，具有该磁珠包装单元的精细流动装置，以及使用该装置的免疫学检测方法。ZSOLUTION：磁珠填料单元包括可控制旋转的旋转器100，设置在旋转器上方的细流道130，其具有靠近旋转中心布置的入口31和远离旋转中心布置的出口32。用于提供流体通过离心力从入口流到出口的通道，弯曲部分135形成精细流动通道的一部分并弯曲，使得通道在远离旋转中心的方向上转动并转动在再次靠近它的方向上，磁铁40对应于弯曲部分设置，用于在流过细流动通道的流体上施加磁力。Z

