(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第4932066号
(P4932066)
(45)発行日　平成24年5月16日(2012.5.16)　(24)登録日　平成24年2月24日(2012.2.24)

(51)Int.Cl.		F I		
B01J 19/00	(2006.01)	B01J	19/00	321
B81B 1/00	(2006.01)	B81B	1/00	
C12M 1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A
G01N 15/14	(2006.01)	G01N	15/14	C
G01N 27/00	(2006.01)	G01N	27/00	Z

請求項の数 36　(全 38 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-544208(P2011-544208)
(86)(22)出願日　平成22年7月26日(2010.7.26)
(86)国際出願番号　PCT/JP2010/062497
(87)国際公開番号　WO2011/067961
(87)国際公開日　平成23年6月9日(2011.6.9)
審査請求日　平成23年12月5日(2011.12.5)
(31)優先権主張番号　特願2009-274921(P2009-274921)
(32)優先日　平成21年12月2日(2009.12.2)
(33)優先権主張国　日本国(JP)
(31)優先権主張番号　特願2009-293960(P2009-293960)
(32)優先日　平成21年12月25日(2009.12.25)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

早期審査対象出願

(73)特許権者　503360115
独立行政法人科学技術振興機構
埼玉県川口市本町四丁目１番８号
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100102576
弁理士　渡辺　敏章
(74)代理人　100101063
弁理士　松丸　秀和
(72)発明者　山本　貴富喜
東京都杉並区高井戸東３－９－３２－４１１

審査官　北村　龍平

最終頁に続く

(54)【発明の名称】流路デバイス及びそれを含むサンプル処理装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

分子を含むサンプル溶液が流れるナノサイズ流路を有し、当該ナノサイズ流路に少なくとも１つの電極対が配置され、前記電極に交流電圧を印加するための交流電源を有し、

前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、

前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路の幅よりも狭く構成されている、流路デバイス。

【請求項２】

分子を含むサンプル溶液が流れるナノサイズ流路と、分岐部と、当該分岐部において前記ナノサイズ流路から分岐する複数の分岐流路と、電極対を備え、

前記電極対は、前記ナノサイズ流路を挟むように配置され、

前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、

前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路部分の幅よりも狭く構成されている、流路デバイス。

【請求項３】

請求項２の流路デバイスにおいて、

さらに、前記ナノサイズ流路に配置された電極対とは別の電極対が前記分岐流路の近傍に配置され、

前記分岐流路近傍に配置された電極対は、前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われている、流路デバイス。

【請求項４】

請求項２の流路デバイスにおいて、前記分岐流路の断面の大きさがナノメートルサイズであることを特徴とする流路デバイス。

【請求項５】

分子を含むサンプル溶液が流れるナノサイズ流路を有し、当該ナノサイズ流路に少なくとも１つの電極対が配置された流路デバイスと、

前記電極に交流電圧を印加するための交流電源と、

前記流路を流れるサンプル溶液に含まれる分子１個を同定する測定部と、を備え、

前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、

前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路の幅よりも狭く構成されている、サンプル処理装置。

【請求項６】

流路デバイスと、スイッチング部と、を備え、

前記流路デバイスは、分子を含むサンプル溶液が流れるナノサイズ流路と、分岐部と、当該分岐部において前記ナノサイズ流路から分岐する複数の分岐流路と、第１及び第２の電極対と、を有し、

前記第１の電極対は、前記ナノサイズ流路を挟むように配置され、前記ナノサイズ流路に配置された第１の電極対とは別の前記第２の電極対が前記分岐流路に配置され、

前記第１及び第２の電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、

前記第１の電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記第１の電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路部分の幅よりも狭く構成され、

前記スイッチング部は、前記サンプル溶液に含まれる分子１個に前記第２の電極対を介して電気的刺激を与え、これにより前記分子に力学的挙動を促し、この力学的挙動により所定の分岐流路に前記分子を誘導する、サンプル処理装置。

【請求項７】

請求項６のサンプル処理装置において、前記分岐流路の断面の大きさがナノメートルサイズであることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項８】

サンプル溶液に含まれる分子を同定するサンプル処理装置であって、

サンプル溶液を注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、前記サンプル溶液に含まれる分子を移動させるためのナノサイズ流路と、を含む流路デバイスと、

前記ナノサイズ流路に設置された電極対の電極間に電圧を印加し、前記分子が前記電極間を通過するときのインピーダンスを測定する測定部と、

前記測定部によって測定されたインピーダンス値に基づいて、前記分子を同定する演算処理部と、を備え、

前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、

前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路の幅よりも狭く構成されていることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項９】

請求項８において、

前記ナノサイズ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、

前記同定された分子を分離する分子分離部と、を備え、

前記ナノサイズ流路は、その先に分岐部と当該分岐部から前記出力部につながる複数の

分岐流路とを備え、

前記分子分離部は、前記同定された分子を、前記ナノサイズ流路から前記複数の分岐流路のうち所定の分岐流路に誘導することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１０】

請求項９において、

前記分子分離部は、前記複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、前記ナノサイズ流路側に設けられた電極対、又は前記複数の出口電極間で共通に用いられる共通電極によって構成される所定電極と、前記所定電極の対又は前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかに電圧を印加するための電圧印加部と、i)前記所定電極の電極対又はii)前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかとの電極対を選択するためのスイッチング部と、を有し、

前記演算処理部は、前記同定された分子の情報に基づいて、いずれかの前記電極対を選択し、前記電圧を印加するように前記分子分離部を制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１１】

請求項１０において、

前記ナノサイズ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置されており、

前記計測部は、前記分子が前記各電極対を通過するときのインピーダンスを測定し、

前記演算処理部は、測定したインピーダンス値の測定時間差に基づいて、前記分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて前記電圧を印加するタイミングを制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１２】

請求項８において、

前記流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成され、

前記サンプル溶液は、前記注入部から前記ナノサイズ流路に毛管現象の作用により導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１３】

請求項８において、

前記サンプル溶液に電圧を印加するための導入用電極対の一方の電極が前記注入部に配置され、他方の電極が前記ナノサイズ流路に配置され、

前記導入用電極対間に電場を生じさせることにより、前記サンプル溶液が前記注入部から前記ナノサイズ流路に導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１４】

請求項８において、

前記注入部は、断面の大きさがマイクロメートルオーダーのサイズを有していることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１５】

サンプル溶液に含まれる所定の分子を分離するサンプル処理装置であって、

サンプル溶液を注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、前記サンプル溶液に含まれる分子を移動させるためのナノサイズ流路と、前記ナノサイズ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、を含み、前記ナノサイズ流路が、その先に分岐部と当該分岐部から前記複数の出力部につながる複数の分岐流路とを備えた流路デバイスと、

前記ナノサイズ流路に設置された電極対の電極間に電圧を印加し、前記電極間を前記分子が通過したときの抵抗又はインピーダンスを測定する測定部と、

前記測定部によって測定された抵抗値又はインピーダンス値と分子とを関連付ける演算処理部と、

前記測定された抵抗値又はインピーダンス値と関連付けられた分子を、前記ナノサイズ流路から前記複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する分子分離部と、を備え、

前記流路デバイスにおいて、前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路の幅よりも狭く構成されている、ことを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１６】

請求項１５において、

前記分子分離部は、前記ナノサイズ流路側に設けられた電極対又は共通電極からなる所定電極と、前記複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、前記所定電極の対又は前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかに電圧を印加するための電圧印加部と、i)前記所定電極の対又はii)前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかとの対を選択するためのスイッチング部と、を有し、

前記演算処理部は、前記測定された抵抗値又はインピーダンス値の情報に基づいて、前記の対を選択し、前記電圧を印加するように前記分子分離部を制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１７】

請求項１６において、

前記ナノサイズ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置されており、

前記測定部は、前記分子が前記各電極対を通過するときの抵抗又はインピーダンスを測定し、

前記演算処理部は、測定した抵抗値又はインピーダンス値の測定時間差に基づいて、前記分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて前記電圧を印加するタイミングを制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１８】

請求項１５において、

前記流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成され、

前記サンプル溶液は、前記注入部から前記ナノサイズ流路に毛管現象の作用により導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項１９】

請求項１５において、

前記サンプル溶液に電圧を印加するための導入用電極対の一方の電極が前記注入部に配置され、他方の電極が前記ナノサイズ流路に配置され、

前記導入用電極対間に電場を生じさせることにより、前記サンプル溶液が前記注入部から前記ナノサイズ流路に導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項２０】

請求項１５において、

前記注入部は、断面の大きさがマイクロメートルオーダーのサイズを有していることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項２１】

請求項８において、

さらに、前記ナノサイズ流路に設置された電極対の電極間に交流電圧を印加する交流電源を有し、

前記測定部は、前記分子が前記電極対間を通過するときのインピーダンスを測定することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項２２】

請求項２１において、

前記交流電源は、周波数可変の交流電源であり、

前記測定部は、前記交流電源の周波数を所定範囲内で変化させたときのインピーダンスを測定することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項２３】

請求項２１において、
さらに、前記ナノサイズ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、
前記同定された分子を分離する分子分離部と、を備え、
前記ナノサイズ流路は、その先の分岐部と当該分岐部から前記複数の出力部につながる複数の分岐流路とを備え、
前記分子分離部は、前記同定された分子を、前記ナノサイズ流路から前記複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導することを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２４】
請求項２３において、
前記分子分離部は、前記ナノサイズ流路側に設けられた電極対又は共通電極からなる所定電極と、前記複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、前記所定電極の対又は前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかに電圧を印加するための電圧印加部と、i)前記所定電極の対又はii)前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかとの対を選択するためのスイッチング部と、を有し、
前記演算処理部は、前記同定された分子の情報に基づいて、前記の対を選択し前記電圧を印加するように前記分子分離部を制御することを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２５】
請求項２４において、
前記ナノサイズ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置されており、
前記測定部は、前記分子が前記各電極対を通過するときのインピーダンスを測定し、
前記演算処理部は、測定したインピーダンス値の測定時間差に基づいて、前記分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて前記電圧を印加するタイミングを制御することを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２６】
請求項２１において、
前記流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成され、
前記サンプル溶液は、前記注入部から前記ナノサイズ流路に毛管現象の作用により導入されることを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２７】
請求項２１において、
前記サンプル溶液に電圧を印加するための導入用電極対の一方の電極が前記注入部に配置され、他方の電極が前記ナノサイズ流路に配置され、
前記導入用電極対間に電場を生じさせることにより、前記サンプル溶液が前記注入部から前記ナノサイズ流路に導入されることを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２８】
請求項２１において、
前記注入部及び複数の出力部は、断面の大きさがマイクロメートルオーダーのサイズを有していることを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項２９】
請求項１５において、
前記電圧は交流電圧であることを特徴とするサンプル処理装置。
【請求項３０】
請求項２９において、
前記分子分離部は、前記ナノサイズ流路側に設けられた電極対又は共通電極からなる所定電極と、前記複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、前記所定電極の対又は前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかに電圧を印加するための電圧印加部と、i)前記所定電極の対又はii)前記所定電極と前記複数の出口電極のどれかとの対を選択するためのスイッチング部と、を有し、
前記演算処理部は、前記測定されたインピーダンス値の情報に基づいて、前記の対を選

択し前記電圧を印加するように前記分子分離部を制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３１】

請求項３０において、

前記ナノサイズ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置されており、

前記測定部は、前記分子が前記各電極対を通過するときのインピーダンスを測定し、

前記演算処理部は、測定したインピーダンス値の測定時間差に基づいて、前記分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて前記電圧を印加するタイミングを制御することを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３２】

請求項２９において、

前記流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成され、

前記サンプル溶液は、前記注入部から前記ナノサイズ流路に毛管現象の作用により導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３３】

請求項２９において、

前記サンプル溶液に電場を印加するための導入用電極対の一方の電極が前記注入部に配置され、他方の電極が前記ナノサイズ流路に配置され、

前記導入用電極対間に電場を生じさせることにより、前記サンプル溶液が前記注入部から前記ナノサイズ流路に導入されることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３４】

請求項２９において、

前記注入部及び前記複数の出力部は、断面の大きさがマイクロメートルオーダーのサイズを有していることを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３５】

サンプル溶液を注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、前記サンプル溶液に含まれる分子を移動させるためのナノサイズ流路と、を含む流路デバイスと、

前記ナノサイズ流路に設置された電極対の電極間に、少なくとも周波数を変化させながら交流電圧を印加する交流電源と、

前記電極対間に前記分子を滞留させて、前記分子の環境を変化させるとともに、前記交流電源の周波数を変えながら前記電極間に交流電圧を印加したときのインピーダンスを測定する測定部と、

前記測定部によって測定されたインピーダンス値に基づいて、前記分子の立体構造又はその動的な変化を検知する演算処理部と、を備え、

前記流路デバイスにおいて、前記電極対は、前記ナノサイズ流路を流れる前記サンプル溶液に接触しないように絶縁体材料で覆われており、前記電極対が配置された箇所の前記ナノサイズ流路の幅は、前記電極対が配置された箇所以外の前記ナノサイズ流路の幅よりも狭く構成されている、ことを特徴とするサンプル処理装置。

【請求項３６】

請求項３５において、

前記交流電源は、前記ナノサイズ流路の電極対間に印加すべき最大電圧値が可変であり、

前記測定部は、前記交流電源の周波数及び最大電圧値を変えながら、前記インピーダンスを測定し、

前記演算処理部は、前記交流電源の周波数及び最大電圧値を変化させたとき、測定したインピーダンス値の変化によって、前記分子の立体構造又はその動的な変化を検知することを特徴とするサンプル処理装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】
【０００１】
本発明は、流路デバイス及びそれを含むサンプル（ここでは「サンプル」とはサンプル液のことである）処理装置に関する。本発明は、例えば、サンプルに含まれる分子を１個ずつ同定（特定、検知、検出、測定を含む）又は分離（分画sortingを含む）することが可能である。
【背景技術】
【０００２】
従来、サンプルの中から所望の分子を分離する際には、クロマトグラフィー技術を用いることが知られている。この方法は、分離担体と呼ばれるものへの分子の吸着と脱離を繰り返すもので、確率過程での移動度の違いにより分子を分離するものである（例えば、特許文献１参照）。より具体的には、例えば、多孔質の粒子（分離担体）を詰め込んだ筒（このような分離担体を詰め込んだユニットを「カラム」という）に、様々な分子を含むサンプルを流す。すると、多孔質の孔より小さい分子はその孔に入ることができるが、孔より大きな分子は孔に入り込め無くて素通りする。すなわち、孔より小さい分子は孔に入ったり出たりするため移動速度が遅くなり、孔より大きな分子は孔に入り込めないため早く移動できる。この移動速度の違いにより分子を分離する。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００３】
【特許文献１】特開２００７－２７９０２８号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
しかしながら、特許文献１に開示されるような従来のクロマトグラフィーを用いる方法では、原理的に（理想的な条件下でも）所望の分子を１００％分離することは、できない。これは、分離担体の孔に分子が入ったり出たりするのは、ブラウン運動している分子が偶然（ここが確率過程）孔に入ったり、偶然出たりするためである。また、大きさが近いものは同じように孔に入ったり出たりするため、それらを区別するのが難しいからである。さらに、従来の手法によれば、多種類の分子の中から数種類程度は分離できるが、全てを網羅的に分離するのは不可能である。
【０００５】
本発明は、上記のような孔のサイズに頼る機械的原理とは全く異なる原理に基づき、分子を１個ずつ同定又は分離可能な技術を提供する。
【課題を解決するための手段】
【０００６】
最近、加工技術が進歩し、断面の大きさがナノメートルサイズの流路即ちナノメートルサイズ流路を手に入れることができるようになった。
【０００７】
本発明者は、別途、ナノメートルサイズの分子例えば生体分子を扱っており、両者を結びつけることで、ナノメートルサイズ流路に「ナノメートルサイズの分子を含むサンプル」を流せば、その分子が１個ずつ流れることが可能なことを着想した。更に本発明者は、その分子の電気的性質に着目した。この性質には分子に電気的刺激を与えた時又はその与えている間にその分子が示す電気的性質も含まれる。
【０００８】
その結果、本発明者は、分子１個が流れるナノメートルサイズ流路（ここではナノメートルサイズ流路を単にナノサイズ流路又はナノ流路ということがある）の近傍に少なくとも１つの電極対を配置した流路デバイスを着想した。この着想に基づき、分子１個が流れるナノサイズ流路を有し、その近傍に少なくとも１つの電極対が配置され、かつ前記電極に交流電圧を印加するための交流電源を有する流路デバイスを発明した（第１の基本発明

）。

【０００９】

図１Ａは、最も簡単な構成の流路デバイスの一つを示す概略平面図である。ナノ流路１２を上から見ている。ナノ流路１２の周辺は基板である。ナノ流路は図１Ａのように基板上に形成されたものでも、或いはパイプの内部に形成されたものであっても良く、限定されない。電極対のＥ１、Ｅ２を介して交流電源（ＡＳ）により分子１個１個に交流電圧が印加され、その結果、ナノ流路を１個ずつ流れる分子の電気的性質を測定することができる。このことから、分子1個１個を同定することができる。この場合、交流電圧を用いるので、高感度・高精度に同定することができる。同定の意味は広く、分子の状態、例えば、分子の立体構造（conformation）やその動的な変化（動態）を検知することも同定に含まれる。

【００１０】

このように分子１個の同定（検知）ができれば、流路の出口で、その分子１個を特定的に捕捉することができる。従って、本発明の流路デバイスは、サンプルから特定の分子だけを分離することに使用できる。

【００１１】

更には、分子は電気的刺激（電気信号）を受けることで力学的に固有の挙動を示すことがある。その場合には、本発明の流路デバイスの出口に複数の分岐流路（ナノメートルサイズかそれより太くとも可）を用意しておけば、流路を流れる分子１個ずつに特定の電気的刺激を与えることで、例えば第１種分子は、第１の力学的挙動を示し、その結果、第１分岐流路に誘導され、例えば第２種分子は、第２の力学的挙動を示し、その結果、第２分岐流路に誘導される。

【００１２】

従って、本発明は、分子１個が流れるナノ流路、分岐部及び複数の分岐流路を備えた流路デバイスを提供する（第２の基本発明）。分岐流路の断面の大きさは、ナノメートルからマイクロメートルサイズである。

【００１３】

図１Ｂは、複数の分岐流路１２ａ、１２ｂを持つ流路デバイスの一つを示す概略平面図である。分離に有用な流路デバイスである。ナノ流路１２を上から見ている。ナノ流路１２の周辺は基板である。ナノ流路１２の出口側（図に向って右側）は分岐部を介して２つの分岐流路１２ａ、１２ｂへと分岐し、流路全体はＹ字形をしている。この場合、電極対は、i)ナノ流路１２を挟む電極Ｅ１とＥ２、又はii)ナノ流路１２の近傍に配置された電極Ｅ１と分岐流路に配置された電極Ｅ３、又はiii)ナノ流路１２の近傍に配置された電極Ｅ２と分岐流路に配置された電極Ｅ４である。

【００１４】

電極対（Ｅ２とＥ４の対、又はＥ２とＥ１の対）の間に所定の電圧を印加することでサンプル中に含まれる所定の分子Ｍに対し電気的刺激を与えることで、分子Ｍは分岐流路１２ｂへ誘導される。

【００１５】

更に、本発明は、分子１個が流れるナノ流路、分岐部及び複数の分岐流路、i)前記ナノ流路の近傍であって当該ナノ流路を挟むように電極対が配置され、又はii)電極対の一方が前記ナノ流路の近傍に配置され、他方が前記分岐流路の近傍に配置された流路デバイスを提供する（第３の基本発明）。

【００１６】

これらの分岐流路を有する流路デバイスは、例えば、分離に有用である。しかし、別の使い方では、分岐流路からナノ流路に向ってサンプルを流す使い方もある。

【００１７】

基本的に「ある電極」に向かって引っ張る(あるいは反発させる)ことができるので、例えば図１Ｂにおいて向って左から右に分子Ｍが流れていく中で、電極Ｅ２（又は電極Ｅ４）側に引っ張れば下側分岐流路１２ｂへ誘導でき、電極Ｅ１（又は電極Ｅ３）側に引っ張

れば上側分岐流路１２ａへ誘導できる。この場合、電気泳動(electrophoresis)といって、分子の極性(＋、－)を利用してクーロン力で誘導することもできるが、誘電泳動(dielectrophoresis)といって、「分子の極性に関係なく」誘導することも可能である。従って、誘電泳動力を使うと分子の極性を気にせずにスイッチングできるので、誘電泳動力は汎用性が高い。

【００１８】

つまり、本発明の流路デバイスを使えば、サンプル中に第１種分子と第２種分子が含まれている場合、これらを分子１個ずつサンプルから分離することができる。分子１個ずつなので、原理的には純度１００％で分離することができる。異なる分岐流路→出口への誘導（換言すれば、分岐流路を切り替えるスイッチング動作）には、スイッチングを行うモードとスイッチングを行わないモードの２つの操作モードがある。

【００１９】

（１）スイッチングを行うモード

この場合、スイッチングにより電気的刺激を変化させるサブモード１と、スイッチングにより電極対を選択するサブモード２に分けられる。

【００２０】

サブモード１では、図１Ｂにおいて向って左から右に分子Ｍが流れていく中で、予め分子の種類を検知した後、電極対（Ｅ１、Ｅ２）の間にその分子Ａに固有の直流電圧あるいは固有の周波数Ａの交流電圧を印加することにより分子Ａを分岐流路１２ａへ誘導する。別の分子Ｂの種類を検知したときは、その分子Ｂに固有の直流電圧あるいは固有の周波数の交流電圧Ｂを電極対（Ｅ１、Ｅ２）の間に印加することにより分子Ｂを分岐流路１２ｂへ誘導する。この場合、分子Ａ、Ｂに固有の直流電圧又は固有の周波数を有する交流電圧は、複数ある場合もある。

【００２１】

サブモード２では、図１Ｂに向って左から右に分子Ｍが流れていく中で、予め分子の種類を検知した後、その分子Ａに対応する電極対（電極Ｅ１、電極Ｅ３）を選択し、それらの間に所定の直流電圧又は所定の周波数を有する交流電圧Ａを印加することにより分子Ａを分岐流路１２ａへ誘導する。別の分子Ｂを検知したときは、その分子Ｂに対応する電極対（電極Ｅ２、電極Ｅ４）を選択し、それらの間に所定の直流電圧又は所定の周波数を有する交流電圧Ｂを印加することにより分子Ｂを分岐流路１２ｂへ誘導する。この場合、前記直流電圧又は前記周波数を有する交流電圧Ａと前記直流電圧又は前記周波数を有する交流電圧Ｂは同一でも異なっていても良い。

【００２２】

（２）スイッチングを行わないモード

予め分子を検知することなく、電極対（Ｅ１、Ｅ２）の間に、或いは電極対（Ｅ１、Ｅ３）の間に、或いは電極対（Ｅ２、Ｅ４）の間に、分子Ａに固有の直流電圧又は固有の周波数の交流電圧を印加する。印加は、そこを通るどの分子にも与えておく。これにより、分子Ａだけを所定の分岐路に誘導することができる。

【００２３】

網羅的に全ての分子を個別に分離回収するためには、１）モードが望ましく、単に狙った分子だけを取り出すような場合は２）モードも使用することができる。

【００２４】

ナノ流路から分岐部を経て複数の分岐流路への分岐の仕方は、図１Ｂに示すＹ字形に限らず、例えば、図１Ｃに示す形状でも、図１Ｄに示す形状でも良い。また分岐流路数に上限はない。

【００２５】

なお、本発明にかかる流路デバイスは、分子の同定や分離に限らず、別の目的にも使用可能である。例えば、ナノ流路に順に分子Ａと分子Ｂを流し、電極対を通じて電気的刺激を与えることにより、電気化学反応や周囲温度の上昇により分子Ａと分子Ｂとを反応させ、分子ＡＢ連結体を合成することもできる。あるいは、ナノ流路の入口側に複数の入力部

（断面の大きさはナノメートルのサイズでもマイクロメートルのサイズでもよい）を設けてもよく、その数に上限はない。

【００２６】

本発明は、また、（図１Ａ）分子１個が流れるナノ流路を有し、その近傍に少なくとも１つの電極対が配置された流路デバイス、（図１Ｂ）前記電極に交流電圧を印加するための交流電源、及び（図１Ｂ）前記流路を流れるサンプルに含まれる分子１個を同定する測定部を備えたサンプル処理装置を提供する（第４の基本発明）。

【００２７】

本発明は、また、（図１Ａ）分子１個が流れるナノ流路、分岐部及び複数の分岐流路を備え、i)前記ナノ流路の近傍であって当該ナノ流路を挟むように少なくとも１つの電極対が配置され、又はii)電極対の一方が前記ナノ流路の近傍に配置され、他方が前記分岐流路の近傍に配置された流路デバイス及び（図１Ｂ）前記ナノ流路を流れるサンプルに含まれる分子１個に前記の電極対を介して電気的刺激を与え、これにより前記分子に力学的挙動を促し、この力学的挙動により所定の分岐流路に前記分子を誘導するスイッチング部を備えたサンプル処理装置を提供する（第５の基本発明）。

【００２８】

次に、電気的性質を具体化した応用発明、電気的刺激を具体化した応用発明及び力学的挙動を具体化した応用発明を本発明の一つとして説明する。

【００２９】

本発明によるサンプル処理装置は、流路デバイスと、測定部と、演算処理部と、を備えている。流路デバイスは、処理対象のサンプルを注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、を含有している。測定部は、ナノ流路に設置された電極対の間に電圧を印加し、分子が電極対の間を通過したときの抵抗値又はインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定部によって測定された抵抗値又はインピーダンス値に基づいて、分子を同定する。

【００３０】

当該サンプル処理装置は、さらに、ナノ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、同定された分子を分離する分子分離部と、を備えている。この場合、ナノ流路には、抵抗値又はインピーダンス値を測定する測定部が配置され、ナノ流路は分岐部を介して複数の分岐流路及びその先の出力部へと連結されている。そして、分子分離部は、同定された分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。

【００３１】

本発明によるサンプル処理装置は、サンプルに含まれる分子を種類ごとに分離する装置であって、流路デバイスと、測定部と、演算処理部と、分子分離部と、を備えている。そして、流路デバイスは、サンプルを注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、前記サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、ナノ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、を含んでいる。さらに、ナノ流路は、分岐部を介して複数の分岐流路及びその先の出力部へと連結されている。測定部は、ナノ流路に設置された電極対の間に電圧を印加し、分子が電極対の間を移動する（横切る）ときの抵抗又はインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定部によって測定された抵抗値又はインピーダンス値と分子とを関連付ける。そして、分子分離部は、測定された抵抗値又はインピーダンス値と関連付けられた分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。

【００３２】

上述のサンプル処理装置において、ナノ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置するようにしても良い。この場合、測定部は、分子が各電極対を通過するときの抵抗又はインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、抵抗値又はインピーダンス値の測定時間差に基づいて、分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて電圧を印加（電場を印加する）するタイミングを制御する。

【００３３】
さらに、上述の装置において、分子分離部は、ナノ流路側に設けられた電極対又は共通の電極からなる所定電極と、複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、所定電極間又はそれと出口電極との間に電圧を印加するための電圧印加部と、i)電極対からなる所定電極又はii)所定電極と１つの出口電極の対又はiii)所定電極と他の出口電極の対又はiv)所定電極と他の出口電極の対又はv)所定電極と他の・・・・・・を選択するためのスイッチング部と、を有している。そして、演算処理部は、同定された分子の情報に基づいて、前記i)、ii)、iii)、iv)、v)のどれかの対を決定し、直流又は交流電圧を印加するように分子分離部を制御する。

【００３４】
なお、上述の装置において、流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成される。この場合、サンプルは、注入部からナノ流路に毛管現象の作用により導入される。別の例として、サンプルに直流又は交流電圧を印加するための誘導用電極対の一方の電極を注入部に配置し、他方の電極をナノ流路に配置するようにしても良い。この場合、誘導用電極対間に電場を生じさせることにより、サンプルが注入部からナノ流路に誘導される。

【００３５】
また、上記課題を解決するために、本発明によるサンプル処理装置は、流路デバイスと、直流あるいは交流電源と、測定部と、演算処理部と、を備えている。流路デバイスは、処理対象のサンプルを注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、を含有している。測定部は、ナノ流路に設置された電極対の電極間に分子があるときに直流あるいは交流電圧を印加して抵抗あるいはインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定部によって測定された抵抗値あるいはインピーダンス値に基づいて、分子を同定する。注入部の断面の大きさはナノメートルからマイクロメートルオーダーのサイズであることが好ましい。

【００３６】
当該サンプル処理装置は、さらに、断面の大きさがナノメートルからマイクロメートルオーダーのサイズを有し、ナノ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、同定された分子を分離する分子分離部と、を備えている。この場合、ナノ流路は、分岐部を介して複数の分岐流路及びその先の出力部に連結している。そして、分子分離部は、同定された分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。

【００３７】
また、本発明による他のサンプル処理装置は、サンプルに含まれる分子を種類ごとに分離する装置であって、流路デバイスと、直流あるいは交流電源と、測定部と、演算処理部と、分子分離部と、を備えている。そして、流路デバイスは、サンプルを注入するための注入部と、断面の大きさがナノメートルオーダーのサイズを有し、サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、ナノ流路を移動してきた分子を取り出すための複数の出力部と、を含んでいる。ナノ流路は、分岐部を介して複数の分岐流路及びその先の出力部に連結している。測定部は、ナノ流路に設置された電極対の電極間に直流あるいは交流電圧を印加し、電極間に分子があるときの抵抗あるいはインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定部によって測定された抵抗値あるいはインピーダンス値と分子とを関連付ける。そして、分子分離部は、測定されたインピーダンス値と関連付けられた分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。

【００３８】
上述のサンプル処理装置において、ナノ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置するようにしても良い。この場合、測定部は、分子が各電極対を通過するときの抵抗あるいはインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定されたインピーダンス値の測定時間差に基づいて、分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて電圧を印加する（電場を印加する）タイミングを制御する。

【００３９】

さらに、上述の装置において、分子分離部は、ナノ流路側に設けられた電極対又は共通電極からなる所定電極と、複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、所定電極の間又はそれと出口電極との間に電圧を印加するための電圧印加部と、i)電極対からなる所定電極又はii)所定電極と１つの出口電極の対又はiii)所定電極と他の出口電極の対又はiv)所定電極と他の出口電極の対又はv)所定電極と他の・・・・・・を選択するためのスイッチング部と、を有している。そして、演算処理部は、同定された分子の情報に基づいて、前記i)、ii)、iii)、iv)、v)・・・・・のどれかの対を決定し、電圧を印加するように分子分離部を制御する。

【００４０】

なお、上述の装置において、流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成される。この場合、サンプルは、注入部からナノ流路に毛管現象の作用により導入される。別の例として、サンプルに電場を印加するための誘導用電極対の一方の電極を注入部に配置し、他方の電極をナノ流路に配置するようにしても良い。この場合、誘導用電極対間に電場を生じさせることにより、サンプルが注入部からナノ流路に誘導される。

【００４１】

さらに、本発明によるサンプル処理装置において、交流電源は、ナノ流路に設置された電極対の電極間に、少なくとも周波数を変化させながら交流電圧を印加するものである。

【００４２】

一方、測定部は、電極対間に分子を滞留させて、分子の環境を変化させるとともに、交流電源の周波数を変えながら電極間に交流電圧を印加したときのインピーダンスを測定するようにしてもよい。そして、演算処理部は、測定部によって測定されたインピーダンス値に基づいて、分子の構造やその動態を検知する。また、交流電源は、ナノ流路の電極対間に印加すべき電圧値が可変である。このとき、測定部は、交流電源の周波数及び電圧値を変えながらインピーダンスを測定する。演算処理部は、交流電源の周波数及び電圧値を変化させたときのインピーダンス値の変化によって分子の立体構造（conformation）やその動的な変化（動態）を検知する。

【００４３】

さらなる本発明の特徴は、以下、本発明を実施するための最良の形態および添付図面によって明らかになるものである。

【発明の効果】

【００４４】

本発明によれば、原理的に１００％の同定、分離精度を実現することが可能である。少量のサンプルからも従来の手法に比べて短時間に所望の分子を同定又は分離することができる。従って、装置の小型化が可能となる。

【００４５】

また、本発明によれば、分子サイズが同じでも異なる種類の分子を同定又は分離でき、生体分子の立体構造やその動的な変化（動態）を検知することができるようになる。

【図面の簡単な説明】

【００４６】

【図１Ａ】本発明の実施形態による流路デバイスを上から見た場合の概略構成例（１）を示す図である。

【図１Ｂ】本発明の実施形態による流路デバイスを上から見た場合の概略構成例（２）を示す図である。

【図１Ｃ】本発明の実施形態による流路デバイスを上から見た場合の概略構成例（３）を示す図である。

【図１Ｄ】本発明の実施形態による流路デバイスを上から見た場合の概略構成例（４）を示す図である。

【図１Ｅ】本発明の実施形態による流路デバイスを上から見た場合の概略構成例（５）を示す図である。

【図２】第１の実施形態（図１Ｅ）による流路デバイスのナノ流路を上から見た場合の詳

細構成を示す図である。
【図３】図１Ｅに示す流路デバイスのＡＡ'における断面を示す図である。
【図４】本発明の第１の実施形態による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。
【図５】本発明の第１及び第２の実施形態の変形例で用いられるサンプル導入部の概略構成を示す図である。
【図６】本発明の第１の実施形態の変形例による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。
【図７】本発明の第１及び第２の実施形態の変形例によるナノ流路の構成を示す図である。
【図８】サイズが15.0kbpのＤＮＡがナノ流路を移動する様子を３．３ｍｓの間隔で撮影した図（写真）である。
【図９】サイズが15.0kbpのＤＮＡがナノ流路を移動するときの電流値の変化を示すグラフであり
【図１０】各サイズのＤＮＡ分子の電流測定値、及び各ＤＮＡ分子の分離の様子を示す図である。
【図１１】３つのＤＮＡ溶液の混合液を用いて、各ＤＮＡ分子を同時に分離する実験の結果を示す図である。
【図１２】第２の実施形態による流路デバイスのナノ流路を上から見た場合の詳細構成を示す図である。
【図１３】本発明の第２の実施形態による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。
【図１４】異なる分子（例えば、生体分子）が流路を移動する場合のインピーダンス値の変化の例を示す図である。
【図１５】生体分子（例）と酵素との反応前後における分子の立体構造の動的な変化（動態）を検知する原理を説明するための図である。
【図１６】交流電源の周波数を変化させ、それぞれの周波数のときに電圧を掃引したときの実験結果を示す図である。
【図１７】本発明の第２の実施形態の変形例による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。
【図１８】本発明の流路デバイスの製造工程を説明するための図である。
【図１９】矩形流路とＶ字型流路の形成工程を説明するための図である。
【図２０】基板上に形成された異なる電極パターンと得られる電場を示す図である。
【図２１】電極パターンを形成する工程を説明するための図である。
【図２２】電極パターン上に絶縁膜をコーティングする様子を示す図である。
【図２３】矩形流路とＶ字型流路の特徴を比較説明するための図である。
【図２４】実際に作製した流路デバイスを示す図（電子顕微鏡写真）である。
【発明を実施するための形態】
【００４７】
本発明は、理想的な条件下では原理的に１００％の精度で分子（同一サイズで種類の異なる分子であっても）を同定したり、分離したりすることができ（従来の方法では理想的な条件下でも１００％の精度で分子を分離することは不可能であった）、また、分子の立体構造やその動的な変化（動態）を検知することができ、さらに、小型化を可能にする分子分離装置（サンプル処理装置の一例）を提供する。
【００４８】
本発明の処理の対象となるサンプルは、水溶性の分子を親水性の溶媒に溶解又は懸濁したものでも良いし、疎水性の分子を疎水性の溶媒（例えば、アセトン、酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン等）に溶解又は懸濁させて生成しても良い。この溶媒は、分子をしてナノ流路中を移動させるキャリアー媒体となる。
【００４９】

以下、添付図面を参照して本発明の実施形態について説明する。ただし、本実施形態は本発明を実現するための一例に過ぎず、本発明の技術的範囲を限定するものではない。また、各図において共通の構成については同一の参照番号が付されている。

【００５０】

Ｉ．第１の実施形態

第１の実施形態は、ナノ流路に設置された電極対の電極間に電圧を印加し、電極間に分子が存在するときに流れる電流から抵抗を測定し、その測定された抵抗値に基づいて、分子を同定する分子分離装置に関するものである。

【００５１】

＜分子分離装置における流路デバイス構成＞

図１Ｅは、本発明の実施形態に係る分子分離装置（サンプル処理装置）で用いられる流路デバイス１０の外観構成を示す図である。当該流路デバイス１０は、基板上に形成された、サンプルを注入するための部位である注入部１１と、分子の同定および分離処理を行う部位であるナノ流路１２と、分離された分子を取り出すための部位である出力部１３及び１４と、を備えている。

【００５２】

当該基板は、石英、ガラス、プラスチック、又はセラミック等の絶縁材料で構成することができるが、基板の親水性を利用してサンプルを処理する場合（例えば、毛管現象を利用してサンプルをナノ流路１２に導入する場合）には石英やガラスで構成することが重要である。ナノ流路１２は細すぎて直接サンプルを出し入れすることが難しいため、よりサイズの大きな流路をナノ流路のインターフェースとして利用することもある。この場合、注入部１１、出力部１３及び１４は、ナノ流路である必要はなくより大きなサイズの流路でもかまわない。注入部１１、出力部１３及び１４に関し、例えば、入出力口は直径１～３ｍｍ、流路の幅は１～１００μｍ、流路の深さは1～１０μｍ程度である。さらに、ナノ流路１２は、例えば、幅及び深さが共に数ｎｍ～５００ｎｍである。なお、各流路の長さは特に制限はないが、装置の大きさを考慮して決定すればよい。

【００５３】

図２は、ナノ流路１２のより詳細な構成を示す図である。図２に示されるように、ナノ流路１２は、複数の分岐流路を連結したナノ流路１２と、ナノ流路を通過する分子を同定するための測定用ナノ電極１２２と、通過するサンプルを流れる電流から抵抗を測定するための測定用電流計１２３と、ナノ流路の分岐部に設置され、分子を所望の流路に誘導するためのスイッチング用ナノ電極１２５から構成されている。スイッチング時にサンプルの間を流れる電流から抵抗を測定し、当該分子が本来の流路に導入されているかを確認するための確認用電流計１２４を設置しても良い。

【００５４】

測定用ナノ電極１２２は、複数ペアの電極で構成されることが好ましい。複数ペア設けることにより、最初の電極ペアで抵抗を測定した分子が下流の電極ペアに到達するまでの時間を測定し、ナノ流路を流れる分子の流速を検知することが可能となる。そして、この流速を基に、スイッチング用ナノ電極１２５に到達するまでの時間を演算することができ、各分子を適切に所望の流路に分離することができるように構成されている。ナノ流路１２の分岐部分に設置されているスイッチング用ナノ電極１２５は、共通電極と、各出口流路に設けられた出口電極とを備え、各出口電極と共通電極との間に、所定の電圧を印加（電場換算で例えば、数ＭＨｚ、数ＭＶ／ｍ程度の電場）することにより、各分子を所望の分岐流路に誘導できる（スイッチＯＮ）ようになっている。

【００５５】

図３は、流路デバイス１０（図１Ｅ）のＡＡ'（測定用ナノ電極が設けられた部分）における断面図である。流路デバイス１０は、基板１０１にナノ流路１２（実際は電極の厚さよりも浅い）を形成し、その上に測定用ナノ電極１２２やスイッチング用ナノ電極１２５を配置する。そして、接着部材１６を用いてガラス板１５と基板１０１とを接着する。なお、接着部材１６としては、例えばＰＤＭＳ（Polidimethylsiloxane）を用い、これを

ＳｉＯ$_2$化させる。これにより、ナノ流路１２の深さよりも厚い電極を覆いつつ基板に接着させることができるようになる。

【００５６】

＜分子分離装置の回路構成＞

図４は、本発明の第１の実施形態による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。当該分子分離装置は、各構成要素からの情報を取得し所定の演算を行い、必要に応じて各構成要素を制御するための演算処理部４０と、測定用ナノ電極１２２と、測定用電流計１２３と、電極１２２に電圧を印加する電源（図示せず）とを有する測定部４１と、スイッチング用ナノ電極１２５と、確認用電流計１２４と、各電極と共通電極間に電圧を印加する電圧印加部（図示せず）とを有するスイッチング部４２と、各種分子を含むサンプルに電圧を印加した場合の抵抗値と各種分子との対応関係を示す抵抗値‐分子対応テーブル４３と、メモリ４４と、ユーザが所定の指示等を入力し、分離処理の結果等を出力（表示）する情報入力／出力部４５と、を備えている。

【００５７】

演算処理部４０は、測定部４１からナノ流路１２を分子が通過したときの抵抗値を取得し、この抵抗値と抵抗値‐分子対応テーブル４３とを照合し、当該通過した分子の種類を同定する（測定した抵抗値はメモリ４４に一時的に格納される）。サンプルに含まれる分子が未知の場合には測定抵抗値がテーブル４３内にはないので、それぞれ測定した抵抗値をメモリ４４に格納し、分子の種類が未知のまま分離することになる。ただし、以下の説明では電流計で電流値が計測されるため、抵抗値を測定するには、測定部４１やスイッチング部４２が印加電圧と電流値から抵抗値を算出する必要があることに注意すべきである。

【００５８】

また、演算処理部４０は、測定部４１に含まれる測定用ナノ電極１２２の複数の電極対間を通過する分子の時間を計測し、その時間と電極対間の距離から当該分子の流速を演算する。そして、演算処理部４０は、例えば測定用ナノ電極１２２の最後の電極対からスイッチング用ナノ電極１２５までの距離と演算した流速から、スイッチング用ナノ電極のどの出口電極と共通電極との間に電圧（電場）を印加するか、及び印加のタイミングをスイッチング部４２に指示する。その指示に従って、スイッチング部４２において、分子が所望の分岐流路に引き込まれるようになっており、分子の分離が実現できるようになっている。

【００５９】

なお、スイッチング部４２は、確認用電流計１２４によって分子が通過したときの抵抗を測定し、その測定値を演算処理部４０に供給する。そして、演算処理部４０は、その抵抗値と測定部４１で測定した抵抗値を比較し、分離する分子の種類にエラーが無いか確認することができるようにしても良い。

【００６０】

＜分子分離装置の動作＞

（１）サンプル注入及び流れ制御

まず、注入部１１にサンプルが導入される。当該サンプルは、既知の分子や未知の分子を含んでいる。当該分子分離装置によれば、サンプルが既知の分子のみを含む場合には分子の種類ごとに分子を分類することができ、一方、サンプルが未知の分子を含む場合には分子の種類が未知のまま測定される抵抗値が同じ値を示す分子として分類することができるようになる。

【００６１】

流路デバイス１０は、基板１０１が石英又はガラスなどで構成されているので、流路の壁面が親水性を有している。そのため、サンプルは、毛管現象によって自動的に注入部１１→ナノ流路１２→出力部１３及び１４（出口側）へと吸い込まれていく。そして、出口部分から出てくる液量は極微量であるため、瞬間的に流れ出た全てのキャリアー媒体が蒸発する。そのため、蒸発で失われた液体を補うために毛細管現象でサンプルが自発的に流

れ続け、一定量の流れがナノ流路１２内で生じることになる。また、蒸発するのはキャリアー媒体だけなので、分子は濃縮されて分離回収される。その結果、後工程で分子を分析する場合、好都合である。これも重要な利点である。例え、回収しても、濃度が低いと従来のアッセイ分析の感度が低いので分析できない。

【００６２】

また、流路デバイス１０の全体あるいは一部分を冷却することによって、流速をある程度制御することができる。例えば、室温付近では、サンプルがナノ流路１２から出力部１３及び１４にさしかかる部分で全て蒸発する。よって、この蒸発を防ぐために流路デバイス１０の全体あるいは一部を冷却すると、サンプルは出口まで流れる。なお、冷却する温度は４～２５℃（室温）程度でよい。

【００６３】

ここでは、毛管現象を利用してサンプルをナノ流路１２に導入しているが、これに限られるものではなく、後述のように（変形例）、電気的な制御によってサンプルをナノ流路に導入することができる。

【００６４】

（２）単一分子の検知

ナノ流路１２のナノ流路１２の幅はナノメートル単位のサイズであるため、サンプルに含まれる各分子が単一分子の形でナノ流路１２を移動する。

【００６５】

本発明の第１の実施形態による分子分離装置では、測定部４１は、電流計１２３を用いて測定用ナノ電極１２２で電極対の間を流れる電流から抵抗値を測定している。分子が当該測定用ナノ電極１２２を通過すると、抵抗は変化する。また、分子（例えば分子サイズ）が異なれば、抵抗も異なっている。この性質を利用して分子を同定することが可能となる。

【００６６】

演算処理部４０は、この測定した抵抗値を測定部４１から取得し、メモリ４４に格納すると共に、当該取得した抵抗値と抵抗値‐分子対応テーブル４３とを照合する。そして、演算処理部４０は、取得した抵抗値に対応する分子がテーブル４３に含まれていれば分子を同定して分離処理を継続し、含まれていなければ分子を同定しないまま分離処理を継続することになる。

【００６７】

測定用ナノ電極１２２が複数ペアの電極で構成されている場合、演算処理部４０は、各電極ペア間に生じる抵抗値の時間遅れから、ナノ流路１２（の電極配置箇所）における移動速度（流速）を算出し、さらに、該当する分子が何秒後にナノ流路１２の分岐部に到達するか算出する。このようにすることにより、特定の分子について逐一移動速度を算出することができるようになっているので、移動速度が未知の分子であっても適切に分離処理を実行することが可能となる。なお、本実施形態では、測定用ナノ電極１２２を複数ペアの電極で構成するようにしたが、移動速度が既知の分子であれば複数ペアの電極を設ける必要がなく、１対の電極を設置すれば足りる。

【００６８】

（３）スイッチング

上述したように、分離の対象となっている分子がナノ流路１２の分岐部に到達するタイミングが分かる。従って、このタイミングで、分子の種類又はその電流値に対応して、演算処理部４０は、スイッチング用ナノ電極１２５の共通電極と、当該対象の分子を誘導すべき流路側の出口電極との間に電場を印加する。すると、ナノ流路から誘導すべき流路である分岐流路の方向に誘電泳動、電気泳動、電気浸透流（Electroosmotic flow）の何れかが働き、分子が当該分岐流路に誘導される。

【００６９】

なお、本実施形態では、流路デバイス１０がナノ流路とそこから分岐する２つの分岐流路を有している例が示されているが、これに限られたものではなく、分岐流路の数は分離

すべき分子の種類数分設けることができるのはもちろんのことである。また、ナノ流路から複数の分岐（分岐流路）を持たせる方法としては、１つのナノ流路から同時に複数股の分岐流路を設けて分岐させても良いし、二股構成をカスケード状につなげて最終的に複数股に分岐させるような構成でも良く、分岐流路の構成は限定しない。

【００７０】

＜変形例＞

（１）サンプル導入

（ｉ）上述の実施形態では、毛管現象を利用してサンプルをマイクロ流路からナノ流路に導入しているが、ここでは電気的な制御によりサンプルをナノ流路に導入する手段を説明する。このように電気的な制御によってサンプル導入を実現すれば、高精度の流れ制御から測定精度や分離精度を向上することができ、さらに流路デバイス１０の基板１０１が親水性である必要がなくなり、プラスチックやセラミックのような材料でも構成することが可能となる。

【００７１】

図５は、変形例によるサンプル導入部５１の構成を示す図である。サンプル導入部５１は、サンプルに電場を印加するための電極対５１１及び５１２と、電源５１３と、を有する。ただし、電極５１１は注入部１１側に、電極５１２はナノ流路１２側に設けられている。

【００７２】

ここでは分子は帯電しているので、マイナスに帯電している分子については、図５に示される方向に電場を印加すると、各分子はナノ流路１２の方向に引き込まれる。一方、プラスに帯電しているサンプルについては、逆の方向に電場を印加すれば良い。このように、サンプルがどちらに帯電しているかによって電場を印加する方向を切り替えてサンプルの分子をナノ流路１２に導入することができる。

【００７３】

図６は、当該変形例による分子分離装置の回路構成を示すブロック図であり、図４との差は、サンプル導入部５１を有していることのみである。サンプル導入部５１の電極に印加する電圧（印加方向及び電圧値等）は、情報入力／出力部４５から入力された指示に従い、演算処理部４０によって制御される。

【００７４】

（ii）また、電気浸透流を利用してサンプルを導入することも可能である。この場合、流路デバイス１０の基板１０１の材料としてはガラスなどの親水性材料を用いるのが好ましい。ガラスはマイナスに帯電しているため、サンプル中のプラスイオンがガラスのマイナス電荷に引っ張られ、電気二重層が形成される。ここに電圧を印加すると、サンプル中の荷電部分が動き、これに引かれてサンプル全体が流れ出す。これが電気浸透流を用いたサンプル導入の原理である。なお、電気浸透流の場合、表面の帯電は正負どちらでも良い。

【００７５】

（２）ナノ流路の構成（分子測定箇所）

図７は、流路デバイス１０におけるナノ流路１２の測定用ナノ電極１２２が配置される箇所の別の構成例を示す図である。上述したように、測定用ナノ電極１２２を用いて、ナノ流路を流れる分子を検知し、その移動速度を複数の電極対における電流値計測タイミングの違いによって算出しているが、より適切に分子を同定できるようにするために、抵抗測定箇所のナノ流路の幅をその箇所以外の幅に比べて狭く設定する。このようにすると、分子による電流変化分は、分子の体積／電極間の体積比に比例するため、電極間の体積が減ることによって体積比が大きくなる。その結果、分子による電流変化分が大きくなるため高感度な抵抗測定に繋がると言える。

【００７６】

＜実験について＞

第１の実施形態で説明した原理及び動作に基づいて行った実験について説明し、本発明の有効性を示す。

【００７７】
（１）ナノ流路の仕様
全体の長さが１５０μｍ、深さが５０～１００ｎｍ、幅が５０～５００ｎｍの構造を有するナノ流路を用いて実験した。
【００７８】
（２）使用サンプル
サイズが15.0kbp(kilo base pairs)、33.5kbp、48.5kbpの３種類のＤＮＡについてそれぞれＤＮＡ溶液（サンプル）を作製し、実験に用いた。各サンプルの濃度は、０．１×ＴＢＥ緩衝液中１ｆＭとなるように調整した。なお、計算上の見掛けの各ＤＮＡの長さの予測値は、15.0kbpのＤＮＡは１．１μｍ、33.5kbpのＤＮＡは２．４μｍ、48.5kbpのＤＮＡは３．６μｍであった。
【００７９】
（３）測定用ナノ電極への印加電圧
０．１Ｖ
（４）実験内容
（ｉ）各サンプルをナノ流路に独立して導入し、i）流速度を測定し、ii）ＤＮＡの１分子を同定し、iii）各ＤＮＡに対応させた、流路の適切な出力部への誘導を実行した（実験結果については図８乃至１０参照）。
【００８０】
（ii）各サンプルを混合した新しいサンプルから、各ＤＮＡに分離できるか実験した（実験結果については図１１参照）。
【００８１】
（５）実験結果
（ｉ）図８は、サイズが15.0kbpのＤＮＡ分子がナノ流路を移動する様子を３．３ｍｓの間隔で撮影した図（写真）である。なお、ナノ流路は電極の幅（１μｍ）に比べて極小なので図面上では不可視であるが、白い垂直線はナノ流路を移動するＤＮＡの位置を示している。
【００８２】
図９は、サイズが15.0kbpのＤＮＡ分子がナノ流路を移動するときの電流値の変化を示すグラフであり、図９（ａ）はサンプルを所定時間流し続けたときの電流値の変化を示し、図９（ｂ）は図９（ａ）中の点線で囲まれた部分の拡大図である。
【００８３】
図９（ａ）において、電流値に大きな変化がある部分（電流が極小となる部分）が見られるが、この部分はＤＮＡがナノ流路の電極部分を通過中であって、ＤＮＡによって電流の流れが遮られるため電流値に大きな変化が生じるのである。従って、図９（ｂ）に示されるように、図８（ａ）の状態では、ＤＮＡ分子はまだ電極部に差し掛かってないため、電流値の変化はノイズ分のみ（背景の電流値は約１ｐＡであった）となっているが、図８（ｂ）の状態では、ＤＮＡが電極部を通過中で電極間の電流を完全に遮っているので測定される電流値が極小となっている。上述したように、この電流値から抵抗値を求めて分子を同定したり、分子を分離することができるようになる。また、図８（ｃ）及び（ｄ）で示されるように、ＤＮＡと電極との重複部分が少なくなれば、電流値も図８（ａ）の状態に戻っていくのが分かる。
【００８４】
図１０は、各サイズのＤＮＡの電流測定値、及び各ＤＮＡの分離の様子を示す図である。ここでは、三股の分岐流路を有するナノ流路において、15.0kbpサイズのＤＮＡは左の分岐流路に誘導され（図１０Ａ参照）、33.5kbpサイズのＤＮＡは中央の分岐流路に誘導され（図１０Ｂ参照）、48.5kbpサイズのＤＮＡは右の分岐流路に誘導される（図１０Ｃ）ように制御した。
【００８５】
図１０の各グラフから分かるように、各ＤＮＡが電極部を通過する際には、各ＤＮＡ特

有の電流値の変化を示している。そして、これら分子特有の電流値の変化に基づいて抵抗値を求め、ナノ流路の分岐部においてスイッチング動作を実行することにより、所望の分子を所望の分岐流路に誘導できることが分かる。

【００８６】

（ii）続いて、上記３つのＤＮＡの混合液を用いて、各ＤＮＡ分子を同時に分離する実験を行った。図１１は当該混合液の分離実験の結果を示す図であり、図１１（Ａ）は各ＤＮＡ分子の蛍光発光強度を示し、図１１（Ｂ）は分離前後の各ＤＮＡ分子の蛍光発光強度を示している。

【００８７】

本実験では、各ＤＮＡ分子について６０００個の分子（１ｆＭの溶液に含まれる分子数）を用意したが、時間の制約等の問題から全ての分子をカウントすることなく、最大１００個の分子のみをカウントして実験を終了した。

【００８８】

図１１（Ｂ）からも分かるように、分離前後の各ＤＮＡ分子の蛍光発光強度はほぼ一致しており、よって、本発明の分子分離装置を用いた分離処理が適切に行われたと言える。

【００８９】

ＩＩ．第２の実施形態

第２の実施形態は、ナノ流路に設置された電極対の電極間に分子があるときに交流電圧を印加してインピーダンスを測定し、測定されたインピーダンス値に基づいて、分子を同定する分子分離装置に関するものである。

【００９０】

＜分子分離装置における流路デバイス構成＞

第２の実施形態で用いられる流路デバイス１０の外観構成、及び流路デバイス１０のＡＡ'（測定用ナノ電極が設けられた部分）における断面構成は、第１の実施形態（図１Ｅ及び３参照）と同じなので、説明を省略する。

【００９１】

図１２は、第２の実施形態によるナノ流路１２のより詳細な構成を示す図である。なお、図２と同じ構成には同じ参照番号は付されている。

【００９２】

図１２に示されるように、ナノ流路１２は、複数の分岐を有するナノ流路１２と、分岐前のナノ流路を通過する分子に交流電圧を印加するための測定用ナノ電極１２２と、測定用ナノ電極１２２間の分子のインピーダンスを測定するための測定部２２３と、ナノ流路の分岐部に設置され、分子を所望の分岐流路に誘導するためのスイッチング用ナノ電極１２５と、スイッチング時に分子のインピーダンスを測定し、当該分子が本来の分岐流路に誘導されているかを確認するための確認用電流計２２４を設置しても良い。なお、誘電率を分極率（分子１個の分極率はその内部構造の局所的な分極率の総和であり、誘電率と等価である）と表現しても差し支えない。要は、交流電圧を電極間に印加した際の位相ずれ（遅れ又は進み）を誘電率又は分極率として測定する。

【００９３】

測定用ナノ電極１２２は、複数対の電極で構成されることが好ましい。複数対設けることにより、最初の電極対でインピーダンスを測定した分子が下流の電極対に到達するまでの時間を測定し、ナノ流路を流れる分子の流速を検知することが可能となる。そして、この流速を基に、スイッチング用ナノ電極１２５に到達するまでの時間を演算することができ、各分子を適切に所望の流路に誘導することができるように構成されている。ナノ流路１２の分岐部分に設置されているスイッチング用ナノ電極１２５は、共通電極と、各出口流路に設けられた出口電極とを備え、各出口電極と共通電極との間に、所定の電圧を印加（電場の場合：例えば、数ＭＨｚ、数ＭＶ／ｍ程度の電場）を印加することにより、各分子を所望の流路に誘導する（スイッチＯＮ）ようになっている。

【００９４】

＜分子分離装置の回路構成＞

図１３は、本発明の第２の実施形態による分子分離装置の回路構成を示すブロック図である。当該分子分離装置は、各構成要素からの情報を取得し所定の演算を行い、必要に応じて各構成要素を制御するための演算処理部９０と、測定用ナノ電極１２２と、インピーダンス測定部２２３とを有する測定部９１と、測定部９１内の測定用ナノ電極１２２に交流電圧を印加するための電圧・周波数可変交流電源９６と、スイッチング用ナノ電極１２５と、確認用電流計２２４と、各電極と共通電極間に電圧を印加する電圧印加部（図示せず）とを有するスイッチング部９２と、測定用ナノ電極１２２間に存在する各種分子を含むサンプルに電圧を印加した場合のインピーダンス値と各種分子との対応関係を示すインピーダンス‐分子対応テーブル９３と、メモリ４４と、ユーザが所定の指示等を入力し、分離処理の結果等を出力（表示）する情報入力／出力部９５と、を備えている。

【００９５】

演算処理部９０は、測定部９１からナノ流路１２を分子が通過したときの抵抗値又はインピーダンス値を取得し、このインピーダンス値とインピーダンス値‐分子対応テーブル９３とを照合し、当該通過した分子の種類を同定する（測定した抵抗値又はインピーダンス値はメモリ９４に一時的に格納される）。サンプルに含まれる分子が未知の場合には測定抵抗値又はインピーダンス値がテーブル９３内にはないので、それぞれ測定したインピーダンス値をメモリ９４に格納し、インピーダンス値に従って分子の種類が未知のまま分離することになる。

【００９６】

また、演算処理部９０は、測定部９１に含まれる測定用ナノ電極１２２の複数の電極対間を通過する分子の時間を計測し、その時間と電極対間の距離から当該分子の流速を演算する。そして、演算処理部９０は、例えば測定用ナノ電極１２２の最後の電極対からスイッチング用ナノ電極１２５までの距離と演算した流速から、スイッチング用ナノ電極のどの出口電極と共通電極との間に電圧を印加するか、及び印加のタイミングをスイッチング部９２に指示する。その指示に従って、スイッチング部９２において、分子が所望の分岐流路に誘導されるようになっており、分子の分離が実現できるようになっている。

【００９７】

なお、スイッチング部９２は、確認用電流計２２４によって分子が通過したときのインピーダンスを測定し、その測定値を演算処理部９０に供給する。そして、演算処理部９０は、そのインピーダンス値と測定部９１で測定したインピーダンス値を比較し、分離する分子の種類にエラーが無いか確認することができるようにしても良い。

【００９８】

＜分子分離装置の動作＞

（１）サンプル注入及び流れ制御

まず、ユーザによって注入部１１にサンプルが滴下される。当該サンプルは、既知の分子や未知の分子を含んでいる。当該分子分離装置によれば、サンプルが既知の分子のみを含む場合には分子の種類ごとに分子を分離することができ、一方、サンプルが未知の分子を含む場合には分子の種類が未知のまま測定されるインピーダンス値が同じ値を示す分子として分離することができるようになる。

【００９９】

流路デバイス１０は、基板１０１の全面が石英又はガラスなどで構成され、流路の壁面が親水性を有している。そのため、サンプルは、毛管現象によって自動的に注入部１１→ナノ流路１２→出力部１３及び１４（出口側）へと吸い込まれていく。そして、出口部分から出てくる液量は極微量であるため、瞬間的に流れ出た全てのキャリアー媒体が蒸発する。そのため、蒸発で失われた液体を補うために毛細管現象でサンプルが自発的に流れ続け、一定量の流れがナノ流路１２内で生じることになる。

【０１００】

また、流路デバイス１０の全体あるいは一部分を冷却することによって、流速をある程度制御することができる。例えば、室温付近では、サンプルがナノ流路１２から出力部１３及び１４にさしかかる部分で全て蒸発する。よって、この蒸発を防ぐために流路デバイ

ス１０の全体あるいは一部を冷却すると、サンプルは出口まで流れる。なお、冷却する温度は４～２５℃（室温）程度でよい。

【０１０１】

ここでは、毛管現象を利用してサンプルをナノ流路１２に導入しているが、これに限られるものではなく、後述のように（変形例）、電気的な制御によってサンプルをナノ流路に導入することができる。

【０１０２】

（２）単一分子の検知

ナノ流路１２の幅はナノメートル単位のサイズであるため、サンプルを構成する各分子が単一分子でナノ流路１２を移動する。

【０１０３】

本発明による分子分離装置では、測定部９１は、電流計２２３を用いて測定用ナノ電極１２２で電極対の間を流れる電流からインピーダンスを測定している。分子が当該測定用ナノ電極１２２を通過すると、インピーダンスは変化する。サイズが同一でも分子の種類が異なれば、インピーダンスは異なっている。この性質を利用して分子を同定することが可能となる。

【０１０４】

演算処理部９０は、この測定したインピーダンス値を測定部９１から取得し、メモリ９４に格納すると共に、当該取得したインピーダンス値とインピーダンス‐分子対応テーブル９３とを照合する。そして、演算処理部９０は、取得したインピーダンス値に対応する分子がテーブル９３に含まれていれば分子を同定して分離処理を継続し、含まれていなければ分子を同定しないまま分離処理を継続することになる。

【０１０５】

図１４は、異なる分子（例えば、生体分子）が流路を移動する場合のインピーダンス値の変化の例を示す図である。図１４に示されるように、例えば、生体分子Ｂ１が測定用ナノ電極１２２間にあるときの周波数変化に対するインピーダンス値変化の特性がＰ１で表され、生体分子Ｂ２が測定用ナノ電極１２２間にあるときの周波数変化に対するインピーダンス値変化の特性がＰ２で表されるものとする。この周波数変化は、電圧・周波数可変交流電源の周波数を所定範囲内で掃引させることを意味する。つまり、生体分子Ｂ１に関して、測定用ナノ電極１２２間に滞留させ、交流電源の周波数を変化させると、その周波数変化に対応して測定されるインピーダンス値も変化する。この変化特性をグラフで表したものがＰ１である。生体分子Ｂ２に関しても同様である。

【０１０６】

ここで、生体分子Ｂ１及びＢ２の分子サイズはほぼ同一であった場合、直流電流を測定用ナノ電極１２２間に流して測定された抵抗値の変化は両者において変らない。これでは、種類の異なる分子がほぼ同一サイズであると、分子を同定又は分離することはできなくなってしまう。この点、生体分子の代表格であるタンパク質は、元々は２０種類のアミノ酸が数珠つなぎになった１本の紐状分子から構成されており（これをポリペプチドと呼ぶ）、アミノ酸同士の相互作用により自発的に規則正しく折りたたまれて（フォールディングと呼ぶ）３次元の立体構造を構成している。当然、その内部構造や全体の構造は個々の分子で異なっている。このような生体分子に外部から交流電場を印加すると、内部の局所的な構造が外部電場に引かれて分極するわけであるが、例えば周波数によって外部電場に追随して分極するところや分極が追随出来ずに遅れ（位相差）が生ずる部分が発生し、そうした局所的な内部の分極の総和として、分子全体の分極率が決定される。こうした単一分子が持つ分極特性（分極率）を電気インピーダンス測定によって測定すると、個々の分子を区別出来るようになる。そこで、本発明では、測定用ナノ電極１２２間に分子が存在する場合、そのサイズが同一でも種類が異なれば、インピーダンス変化が異なることに着目し、この性質を利用して分子を同定又は分離するようにしている。

【０１０７】

例えば、同定又は分離すべき複数の分子の種類が予め分かっている場合には、分子に固

有の周波数を用いて、その周波数でのインピーダンス値を測定し、そのインピーダンス値に対応する分子をインピーダンス－分子対応テーブル４３に基づいて同定すればよい。一方、同定又は分離すべき複数の分子の種類が予め分かっていない場合には、まずは１分子ずつ測定用ナノ電極１２２に滞留させ、交流電源における周波数を掃引させて当該分子のインピーダンス値変化特性Ｐｋ（ｋ＝１、２、・・・、ｎ）を取得する。そして、それぞれの特性に応じて、分子を分離して、同種類の分子を所定の出力部に誘導する。

【０１０８】

なお、インピーダンスの検知感度が不十分である場合などには、同定又は分離すべき分子に、例えばフェロセンなどを含む導電性分子をラベルするようにしても良い。これにより、誘電率や導電率の違いを強調することができるので、インピーダンスの検知感度を高くすることが可能となる。

【０１０９】

また、測定用ナノ電極１２２が複数ペアの電極で構成されている場合、演算処理部４０は、各電極ペア間に生じるインピーダンス変化の時間遅れから、ナノ流路１２（の電極配置箇所）における移動速度（流速）を算出し、さらに、該当する分子が何秒後にナノ流路１２の分岐部に到達するか算出する。このようにすることにより、特定の分子について逐一移動速度を算出することができるようになっているので、移動速度が未知の分子であっても適切に分離処理を実行することが可能となる。なお、本実施形態では、測定用ナノ電極１２２を複数ペアの電極で構成するようにしたが、移動速度が既知の分子であれば複数ペアの電極を設ける必要がなく、１対の電極を設置すれば足りる。

【０１１０】

（３）スイッチング

上述したように、分離の対象となっている分子がナノ流路１２の分岐部に到達するタイミングが分かる。従って、このタイミングで、分子の種類又はそのインピーダンス値に対応して、演算処理部９０は、スイッチング用ナノ電極１２５の共通電極と、当該対象の分子を誘導すべき流路側の出口電極との間に電場を印加する。すると、ナノ流路から誘導すべき流路である分岐流路の方向に誘電泳動、電気泳動、電気浸透流の何れかが働き、分子が当該分岐流路に誘導される。

【０１１１】

なお、本実施形態では、流路デバイス１０が分岐流路とそこから分岐する２つの分岐流路を有している例が示されているが、これに限られたものではなく、分岐流路の数は分離すべき分子の種類数分設けることができるのはもちろんのことである。また、ナノ流路から複数の分岐（分岐流路）を持たせる方法としては、１つの分岐流路から同時に複数股の分岐流路を設けて分岐させても良いし、二股構成をカスケード状につなげて最終的に複数股に分岐させるような構成でも良く、分岐流路の構成は限定しない。

【０１１２】

（４）単一分子の立体構造の電気的動態測定

本発明の第２の実施形態による分子分離装置によれば、上述（（２）及び（３））したように、異なる分子を同定又は分離することができるだけでなく、単一分子の立体構造やその動態を測定することができる。以下、単一分子の立体構造の電気的動態測定処理について説明する。

【０１１３】

（ｉ）電気的動態測定の必要性について

生体分子の機能はその分子構造に由来するというのが構造生物学の基本概念であり、したがって分子構造を知ることは、その機能を理解するための最短路となる。ただし、例え膨大な労力を費やして結晶解析やＮＭＲなどによって複雑な静的、準静的構造が決定されたとしても、生体分子の機能の本質である環境変化（反応基質濃度、ｐＨ、温度、イオン濃度等々）に伴う動的な構造変化を捉えることが出来なくては生体分子の構造と機能を理解したことにはならない。今後の分子生物学や構造生物学の発展と、プロテオーム解析や創薬などにおける大規模なタンパク質の機能解析への応用、さらには生体分子のような分

子機械を人為的にデザインして創造したりするようなナノバイオテクノロジーへの応用を考えるに、生体分子の立体構造（conformation）やその動的な変化（動態）を検知する手法と、それを応用した生体分子の機能解析や同定手法の開発は必至と考えられる。

【０１１４】

本発明はこのような分子の動態検知における基礎研究から応用までの幅広い有効性に鑑み、電気的な生体分子の構造測定法を提供するものである。

【０１１５】

（ii）従来の手法及びその問題点

従来、生体分子を解析する場合には、Ｘ線回折やＮＭＲなどの解析手法を用いており、これらにおいては分子を溶液や結晶の状態で取り扱っている。このように生体分子を懸濁液又は溶液のような多分子系で扱うと、個々の分子で起こっている反応とそれに伴う構造変化や時間応答などの情報が多分子間のランダムな動きの平均化によって失われてしまう。一方、結晶化させれば規則正しく配列している結晶の周期性を利用して静的な立体構造を得ることが出来る反面、生理的環境から逸脱してしまうため肝心の立体構造の変化といった動態に関する情報が失われてしまう。すなわち、構造解析の分解能を上げると動態に関する情報が得られず、動態の情報を得ようとすると分解能が上がらないというジレンマが、従来のＸ線回折やＮＭＲなどの解析手法にはある。

【０１１６】

これに対して、もし１分子のみに注目した操作や分析が出来るのであれば、個々の分子における反応の素過程で分子の構造変化とその時間応答といった分子構造のダイナミクスに関する情報を得ることが出来るであろうと考えられる。ところで、従来の１分子測定系においては、その分析手法のほとんどは蛍光色素を利用した光学的な検知に限られている。例えば蛍光標識することでモータータンパク質のような「動く」タンパク質の動きを可視化したり、ＦＲＥＴと呼ばれる手法では２つの蛍光色素間のエネルギー移動を利用して局所的な構造変化を検知する、などである。このような手法は、極めて膨大な時間と手間を費やしてようやく１分子の一カ所のみを測定出来るため極めて汎用性に乏しいため、一般的な解析手法とはならないのが実情である。つまり、まずＸ線回折で立体構造を知り、かつ電気泳動や質量解析でアミノ酸の１次配列情報を得る必要がある。そして、特定のアミノ酸の部位にのみ蛍光色素が結合するような遺伝子操作をし、観察用のテスト分子を作らなくてはならない。このようにテスト分子自体を人工的に作らなくてはならなく、自然界の分子をそのまま使うことが出来ない。

【０１１７】

本発明の実施形態による分子分離装置によれば、自然界の分子をそのまま用いて分子の立体構造（conformation）やその動的な変化（動態）を簡単に測定することができるようになる。装置構成は上述したものと同一であるが、測定の方法が異なる。以下、当該測定方法について説明する。

【０１１８】

（iii）生体分子の動態変化の測定の原理について

図１５は、例えば生体分子と酵素との反応前後における分子の構造やその動態を検知する原理を説明するための図である。図１５において、Ｃ１は反応前の生体分子の構造を模式的に示し、Ｃ２は反応中若しくは反応後の生体分子の構造を模式的に示している。また、特性Ｐ３は、測定用ナノ電極１２２間にある生体分子がＣ１構造を採るときに、当該電極間に交流電圧を印加し、周波数をある範囲で掃引させたときのインピーダンス特性を示す。同様に、特性Ｐ４は、測定用ナノ電極１２２間にある同一の生体分子がＣ２構造を採るときに、当該電極間に交流電圧を印加し、周波数をある範囲で掃引させたときのインピーダンス特性を示す。このように、単一分子であっても構造に変化が起こると、測定されるインピーダンス値に変化が生じる。この性質を利用して、分子の構造やその動態をリアルタイムに検知することができるようになる。

【０１１９】

ところで、誘電泳動力は、誘電体（ここでは生体分子）に外部電場を加えた際に生ずる

誘電体内の双極子の配向や周囲溶液のカウンターイオン等によって分子表面に誘起される分極電荷が外部電場と相互作用することにより得られる効果である。すなわち、十分な外部電場強度があればわずか１分子に誘起した分極電荷を利用して分子を動かせるのであれば、逆に分子の立体構造（conformation）の変化に起因するような分極率変化を電気インピーダンス測定から検知できる。さらには、誘電泳動力で強制的に分子に分極を誘起しつつ、あるいは分子の立体構造（conformation）自体を変形させつつ測定することで、例えば、タンパク質の高次構造を壊して１次構造である１本のポリペプチド鎖に戻しながらその電気インピーダンスを測定するなどして、分子の同定やその構造のダイナミクスを分析する全く新規な測定法が考えられる。

【０１２０】

（iv）生体分子の立体構造を電気的に制御しながらの立体構造測定の実施例

単一分子の構造の動態測定に当たっては、まず、例えば、ＤＮＡなどの生体分子を溶解したサンプルを用意する。

【０１２１】

次に、このサンプルを、分子分離装置における流路デバイス１０の注入部１０に注入し、当該ＤＮＡを１分子ずつナノ流路１２の測定用ナノ電極１２２まで導入する。そして、当該ＤＮＡ分子を測定用ナノ電極１２２の間に滞留させる。

【０１２２】

続いて、交流電源の電圧値（電場強度）を所定の値に固定し、周波数を一定範囲内で掃引したときのインピーダンスを測定する。また、上記電圧値を別の値（最初の値より大きい値）に固定し、同様に周波数を掃引してインピーダンスを測定する。このように、交流電源の電圧値を徐々に変化させ、それぞれの電圧値のときに周波数を掃引させる。ＤＮＡの分極率（誘電率）の周波数依存性を利用すると、特定の電場強度以上、かつ特定の周波数で誘電泳動力が効果的に働き、ＤＮＡがランダムコイルから直線的に引き延ばされる（図１６（ａ）及び（ｂ）参照：ただし、図１６の実験系では、観察を容易にするため、電極間のギャップはマイクロオーダーとなっている）。これにより、誘電泳動力で強制的に分子に分極を誘起しつつ、あるいは立体構造（conformation）自体を変形させつつ測定することができるようになる。

【０１２３】

例えば、図１６（ｃ）で示されるように、電場強度が３ＭＶ/m、周波数が１ｋＨｚ以上のの場合にＤＮＡがランダムコイルから直線的に引き延ばされることによってインピーダンスに顕著な変化が生じる。逆に、このインピーダンス値の変化が検知されると、ＤＮＡがランダムコイルから直線的ＤＮＡに構造が変化したことが判る。

【０１２４】

ここでは、誘電泳動力によって起こる構造変化について述べているが、これに限られず、ｐＨ変化、温度変化、イオン濃度変化、酵素反応などによって起こる構造変化についても同様に検知（測定）することができる。

【０１２５】

（v）ナノ流路を用いることによる顕著な効果

幅が大きい（マイクロオーダー以上）流路を用いる場合、数分子といった極微量のサンプルの測定では、周囲の水分子の数に対する測定対象の分子数が小さくなりＳ／Ｎが低下してしまう。また、液中の測定の場合、測定感度の向上のために高電圧（図中ではＭＶ／ｍも印加している）を印加すると電極反応により電極が分解してしまうという問題がある。

【０１２６】

しかし、ナノ流路を用いれば、これらの問題を解決することができる。すなわち、ナノ流路のように測定空間を大幅に小さくすることで、測定対象となる単一分子周囲の水分子数を制限することが出来る。これによってターゲット分子の周囲を取り巻く水分子の熱運動による熱ノイズを抑制し、マクロな測定系では達成不可能な高感度化が可能となる。しかも体積が少ないため、濃度の観点からは実は１分子なのに濃度が高くなる。

【０１２７】
　また、ギャップ長がナノメートルオーダーの電極系では、電極－溶液界面の電気２重層がオーバーラップして実質的に無視出来るようになるため、特に低周波領域での超高感度化が可能となる。通常、固－液界面には必ず電気二重層が発生し、電気測定ではこれがキャパシタンス成分として含まれてしまい測定の精度を下げるが、ナノメートルサイズ系ではこれが無くなるため絶対精度が向上する。
【０１２８】
　さらに、電場強度は電極間隔に比例する（電場強度Ｖ＝印加電圧Ｅ／ギャップ長ｄ）ため、ギャップ長が短ければ短いほど同じ印加電圧で高電場を得ることができる。従って、ナノギャップ電極は電極間隔が極端に短いので、電気分解が生じない電圧で上述のＭＶ／ｍの電場強度を得ることが出来る。
【０１２９】
　＜変形例＞
（１）サンプル導入部、及びそれを有する分子分離装置の構成
（i）サンプル導入の変形例については、第１の実施形態と同じ構成（図５参照）を適用することが可能であるので、その説明は省略する。
【０１３０】
　図１７は、当該変形例による分子分離装置の回路構成を示すブロック図であり、図１３との差は、サンプル導入部５１を有していることのみである。サンプル導入部５１の電極に印加する電圧（印加方向及び電圧値等）は、情報入力／出力部９５から入力された指示に従い、演算処理部９０によって制御される。
【０１３１】
（ii）また、電気浸透流を利用してサンプルを導入することも可能である。この場合、流路デバイス１０の基板１０１の材料としてはガラスなどの親水性材料を用いるのが好ましい。ガラスはマイナスに帯電しているため、サンプル中のプラスイオンがガラスのマイナス電荷に引っ張られ、電気二重層が形成される。ここに電圧を書けると、サンプル中の荷電部分が動き、これに引かれてサンプル全体が流れ出す。これが電気浸透流を用いたサンプル導入の原理である。なお、電気浸透流の場合、表面の帯電は正負どちらでも良い。
【０１３２】
（２）ナノ流路の構成（分子検知箇所）
　第１の実施形態による、流路デバイス１０におけるナノ流路１２の測定用ナノ電極１２２が配置される箇所の別の構成例（図７参照）は、第２の実施形態にも適用可能である。
【０１３３】
　上述したように、第２の実施形態では、測定用ナノ電極１２２を用いて、ナノ流路を流れる分子を検知し、その移動速度を複数の電極対におけるインピーダンス計測タイミングの違いによって算出しているが、より適切に分子を同定できるようにするため、インピーダンス測定箇所のナノ流路の幅をその箇所以外の幅に比べて狭く設定する。このようにすると、分子による電流変化分は、分子の体積／電極間の体積比に比例するため、電極間の体積が減ることによって体積比が大きくなる。その結果、分子によるインピーダンス変化分が大きくなるため高感度な測定に繋がると言える。
【０１３４】
Ⅲ．流路デバイスの製造例
　以下、第１及び第２の実施形態で使用する流路デバイスの製造方法の一例を説明する。
【０１３５】
（１）製造工程
　図１８は、本発明による流路デバイス１０の製造工程を説明するための図である。
【０１３６】
　工程１：石英又はガラスで構成される基板の上にチタンを、例えば１ｎｍ厚で真空蒸着させ、その上に金を、例えば５０～２００ｎｍ厚で真空蒸着させる。金は電極の材料となるものであり、チタンは金と基板を接着させるための接着剤として機能する。これにより

、基板の上に電極材料が着膜される（図１８（Ａ）参照）。

【０１３７】

工程２：通常のフォトリソグラフィー技術を用いて、ナノ電極部分（例えば、上述のナノ電極１２２に相当する部分）をパターンニングする（図１８（Ｂ）参照）。

【０１３８】

工程３：集束イオンビーム（ＦＩＢ）又は反応性イオンエッチング（ＲＩＥ）を用いて、工程２で作製したナノ電極パターン付き基板を削って溝（ナノ流路）を作製する。ナノ電極バターンも同時に削られるため、電極対も同時に作製される（図１８（Ｃ）参照）。

【０１３９】

工程４：工程３で作製したナノ流路の端部をさらに削ってマイクロ流路（上述の注入部１１に相当）を作製する（図１８（Ｄ）参照）。

【０１４０】

工程５：石英又はガラスにスピンコートでシリコンゴムを例えば１μｍ厚でコーティングし、例えば１５０℃まで温めて固定させて蓋部材を作製する（図１８（Ｅ）参照）。

【０１４１】

工程６：工程５で作製した蓋部材を工程４で作製した流路材にかぶせ、真空ＵＶ光（波長１７２ｎｍ）、酸素プラズマ、大気圧プラズマなどのいずれかを照射することにより、蓋部材を流路材に接着する（図１８（Ｆ）参照）。

【０１４２】

（２）流路形状について

図１９は、形状の異なる流路を作製する方法について説明するための図である。本発明では、断面が矩形の流路とＶ字型の流路について考える。ただし、矩形流路の場合、正確な矩形である必要はなく、例えば、底面が丸みを帯びていてもよい。また、Ｖ字型流路の場合も、正確にＶ字である必要はなく、例えば、流路の底面に行くにつれて流路幅が狭くなっていれば良い。

【０１４３】

矩形流路場合、上述の工程２によって電極パターンを形成した基板の上に電子ビームレジストを形成し（図１９（Ａ）参照）、反応性イオンエッチング（ＲＩＥ）を用いて基板を削り、ナノメートルサイズの流路を形成する（図１９（Ｂ）参照）。

【０１４４】

一方、Ｖ字型流路の場合、上述の工程２によって電極パターンを形成した基板に集束イオンビーム（ＦＩＢ）を照射して基板を削って加工する（図１９（Ａ）参照）。集束イオンビーム（ＦＩＢ）はビームが一点に集束するため、ビームプロファイルに沿った形状（Ｖ字形状）の溝が基板上に形成される（図１９（Ｂ）参照）。

【０１４５】

（３）電極パターンについて

図２０は、基板上に形成された異なる電極パターンについて説明するための図である。図２０（Ａ）は電極パターンが流路エッジまでしかないパターン１を示し、図２０（Ｂ）は電極パターンが流路内部にまで入り込んでいる場合のパターン２を示す図である。

【０１４６】

パターン１の場合、電極が基板表面にしかないため、電極間に生じる電気力線（電場）が流路の底部にまで入らない。従って、パターン１では、流路の底部では通過分子の抵抗又はインピーダンスを測定することが困難となる。

【０１４７】

一方、パターン２の場合、電極が流路側面を覆うように形成されている。したがって、パターン２では、流路の底部においても均一な電場を作ることができるので、流路の底部でも通過分子の抵抗又はインピーダンスを測定することができる。

【０１４８】

（４）電極パターン形成について

図２１は、図２０のパターン１及びパターン２の電極パターンを形成する工程、具体的

には図１８（Ｃ）で示される工程３の詳細を説明するための図である。

【０１４９】

工程３－１：電極が表面にパターンニングされた基板を準備し（図２１（Ａ）参照）、反応性エッチング（ＲＩＥ）で縦に溝を掘る、又は集束イオンビーム（ＦＩＢ）でエッチングする（図２１（Ｂ）参照）。パターン１（図２０（Ａ））を作製する場合にはここまでの工程で終了させれば良い。パターン２（図２０（Ｂ））を作製する場合には以降の工程を継続する。

【０１５０】

工程３－２：矩形流路及びＶ字型流路の双方の場合で、反応性エッチングにおける条件を変更して（例えばプラズマ圧力を変える）、さらに基板に適用する。すると、基板に対して縦方向及び横方向にさらに溝を削ることができる。すると、電極パターンが残されるため、流路のエッジ部分を越えて延設された状態（オーバーハング）となる（図２１（Ｃ）参照）。

【０１５１】

工程３－３：工程３－２で作製された基板を、例えば水につけて引き上げる。濡れた状態の基板を乾燥させると、表面張力で電極のオーバーハング部分が流路側面に引き寄せられる。このようにして、電極パターンが流路側面を覆う構成が実現される（図２１（Ｄ）参照）。

【０１５２】

（５）電極の絶縁膜コーティング

図２２は、電極パターン上に絶縁膜をコーティングする様子を示す図である。

【０１５３】

流路デバイスの使用時は、ナノ流路に設けられた電極パターンがサンプルに直接触れているので、電極を構成する金属がサンプルに溶解してしまう可能性がある。この点、直流電圧を印加して抵抗を測定する場合（第１の実施形態）には、電極はサンプルに触れている必要があるので、電極パターンを保護膜等で覆うことはできないが、交流電圧を印加してインピーダンスを測定する場合（第２の実施形態）には、高周波になればなるほど電極がサンプルに直接触れている必要はない。このため、電極パターンの表面を絶縁膜で被覆し、その絶縁膜越しにインピーダンス測定を実行することができる。よって、電解反応による電極の溶解を防止することができる。

【０１５４】

この絶縁膜は、例えば、SiO_2やSi_3N_4を電極パターン上にスパッタリングして、例えば数ｎｍ～数１００ｎｍ厚の膜を付着させることにより形成することができるようになる。

【０１５５】

（６）矩形流路とＶ字型流路の比較

図２３は、矩形流路とＶ字型流路（電極パターンがナノ流路側面にない場合）の特徴を比較するための図である。

【０１５６】

まず、図２３（Ａ）を参照してナノ流路において電気測定できる範囲を検証すると、矩形流路の場合、電気力線（電場）が回り込まない領域が多く、特に底面の角部には電場が存在しない。一方、Ｖ字型流路の場合、ナノ流路のＶ字先端部には電気力線が届いていないが、全体として電場が存在しない領域が矩形流路の場合よりも少ない。

【０１５７】

続いて、図２３（Ｂ）を参照してナノ流路において分子が流れる位置（深さ方向）について検証すると、矩形流路の場合、底面部分の幅が分子の径よりも大きいので、分子が底面部分を流れることが多い。一方、Ｖ字型流路の場合、ナノ流路は深さ方向に幅が細くなっているので、分子は電場が在在しない領域を流れることが少ない。

【０１５８】

よって、図２３（Ａ）及び（Ｂ）から分かるように、Ｖ字型流路の場合、流路断面に対

する電気力線の充足率が高く、測定領域の割合が広くなっている。また、Ｖ字型流路の場合、底部分が狭くなっているため、サンプルに含まれる分子は底部分を流れにくくなっており、測定領域のみに流れる可能性が高くなる。

【０１５９】

なお、電極パターンがナノ流路側面に存在する場合（図２０（Ｂ）及び図２１（Ｄ）参照）には、矩形流路であっても上述の問題は解消される。

【０１６０】

（７）実際の流路

図２４は、上述の製造方法に従って作製した実際の流路デバイスを示す図である。図２４からも分かるように、当該流路デバイスは、１つの注入部と、１つのナノ流路と３つの分岐流路からなるナノ流路と、３つの出力部と、（分子速度測定電極及び１分子同定用電極（測定用ナノ電極）と、分岐流路に振り分けるための電極（スイッチング用ナノ電極）と、を有している。

【０１６１】

Ⅳ．まとめ

（１）本発明により同定又は分離可能な分子は、ナノメートルサイズの分子例えばＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質全般、ポリペプチド、アミノ酸、多糖類、脂質、サイトカイン、シグナル伝達物質、ホルモンなどの生体分子である。生体分子の他に一般的な有機高分子、例えばポリエチレン、ポリカーボネイト、アクリルなどの合成樹脂やナイロン、ビニルなどの合成繊維、シリコーン樹脂などや、無機高分子も同定又は分離可能である。さらにナノメートルサイズの粒子状物質、例えばコロイドやナノ粒子なども同定又は分離可能である。

【０１６２】

（２）本発明のサンプル処理装置は、生物が関わるあらゆる業種に利用できる。例えば、病変細胞の検査、病原性のバクテリアの検知、インシュリンのモニタリングなどの携帯型センサ、動植物細胞からの有効物質の抽出、オンサイトでの血液検査チップ、病理検査チップ(血液以外のサンプル検査)、ポータブル人体モニタリング(身体状態のモニタリング)、人工臓器用センサ、オンサイトでの感染検査チップ、毒物検査チップなどの医療用途、創薬(製薬)における新規薬物の効果検証、薬物検査チップ、投薬結果分析チップなどの創薬用途、毒性バクテリアの検知、環境:病原性バクテリアの検査、バイオハザード測定チップ、環境における生物汚染をオンサイトで計測（Ｏ－１５７など）などの環境関係用途、プロテオミクスなどの網羅的なタンパク質解析全般、生化学:タンパク質の構造解析、生化学反応の解析全般、ＤＮＡ、タンパク質のシークエンシング、プロテオーム、トランスクリプトーム、エピジェネテックなどの網羅的タンパク質分析のあらゆる分野などのライフサイエンスにおける用途、衛生モニタリング（毒性バクテリア等の繁殖モニタリング）、生産量のモニタリング（醗酵全般における状態のモニタリング(ビール、チーズなど)）汚染検査チップ(Ｏ－１５７やＢＳＥ等のモニタリング）、醗酵装置内での酵母の活性モニタリングなどの食品・衛生分野の用途、絆創膏感覚で使えるような血液検査チップ（妊娠検査、糖尿病検査、その他、あらゆるタンパク質の測定による検知系）等の用途に利用できる。

【０１６３】

（３）第１の実施形態では、ナノ流路に設置された電極対の電極間で分子を移動させたときの抵抗変化を測定する。そして、演算処理部は、抵抗測定部によって測定された抵抗値に基づいて、分子を同定する。このように、ナノ流路を単一分子ずつ移動させ、分子が電極対の間を通過することによって生じる抵抗変化の情報を取得し、その情報に基づいて分子を同定する。これにより、分子を精度良く同定することができるようなると共に、ナノ流路を用いているので装置の小型化も可能となる。

【０１６４】

ナノ流路は、分岐部と当該分岐部から複数の出力部につながる複数の分岐流路とを備えている。そして、同定された分子を、メイン流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流

路に誘導する。分子の誘導処理は、メイン流路側に設けられた共通電極と、複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、共通電極と複数の出口電極のそれぞれに電圧を印加するための電圧印加部と、共通電極と１つの出口電極のペアを選択するためのスイッチング部と、によって実現される。そして、演算処理部は、同定された分子の情報に基づいて、共通電極と出口電極のペアを決定し、電圧を印加するように制御する。このようにすることにより、所望の分子を他の分子と分離して正確に取得することができるようになる。

【０１６５】

また、第１の実施形態では、流路デバイスは、処理対象のサンプルを注入するための注入部（本実施形態では、マイクロメートルオーダーの幅及び深さを有しているが、サンプルを注入できればこのオーダーに限られるものではないのは当然である。）と、ナノメートルオーダーの幅及び深さを有し、サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、マイクロメートルオーダーの幅及び深さを有し、ナノ流路を移動してきた分子を誘導し取り出すための複数の出力部と、を含んでいる。さらに、ナノ流路は、分岐部と当該分岐部から前記複数の出力部につながる複数の分岐流路と備えている。そして、ナノ流路に設置された電極対の電極間に電圧を印加し、分子が電極間を通過したときの抵抗を測定する。また、演算処理部は、測定された抵抗値と分子とを関連付ける。そして、測定された電流値（インピーダンス値）と関連付けられた分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。誘導処理は、ナノ流路側に設けられた共通電極と、複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、共通電極と複数の出口電極のそれぞれに電圧を印加するための電圧印加部と、共通電極と１つの出口電極のペアを選択するためのスイッチング部と、によって実現される。このようにすることにより、サンプルに含まれる分子の種類が未知であっても、各分子が測定用ナノ電極の前を移動するときの抵抗値に従って分子を分離することができるようになる。

【０１６６】

なお、上述の装置において、ナノ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置するようにしても良い。この場合、測定部は、分子が各電極対を通過するときの抵抗を測定する。また、演算処理部は、抵抗値の測定時間差に基づいて、分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて電圧（電場でも良い）を印加するタイミングを制御する。このようにすることにより、より正確に分子を分離することができるようになる。

【０１６７】

また、上述の装置において、流路デバイスは親水性のある絶縁体材料で構成される。この場合、サンプルは、注入部からナノ流路に毛管現象の作用により導入される。このように毛管現象の作用を利用すれば、装置構成がさらに簡単となり、より小型化が可能となる。別の例として、新たな電極対の一方の電極を注入部に配置し、他方の電極をナノ流路に配置するようにしても良い。この場合、その電極対間に電場を生じさせることにより、サンプルが注入部からナノ流路に導入される。電気的に流れを制御出来るため、より高精度の測定が可能となる。

【０１６８】

（４）第２の実施形態では、ナノ流路に設置された電極対の電極間に交流電圧を印加し、電極間に分子があるときのインピーダンスを測定する。そして、演算処理部は、測定されたインピーダンス値に基づいて、分子を同定する。このように、ナノ流路を単一分子ずつ移動させ、分子が電極対の間に分子が存在するときのインピーダンス値の変化の情報を取得し、その情報に基づいて分子を同定する。これにより、同一サイズの異なる種類の分子を精度良く同定することができるようなると共に、ナノ流路を用いているので装置の小型化も可能となる。

【０１６９】

ナノ流路は、分岐部と当該分岐部から複数の出力部につながる複数の分岐流路を備えている。そして、同定された分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に

誘導する。分子の誘導処理は、ナノ流路側に設けられた共通電極と、複数の出力流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、共通電極と複数の出口電極のそれぞれに電圧（電場）を印加するための電圧印加部（電場印加部）と、共通電極と１つの出口電極のペアを選択するためのスイッチング部と、によって実現される。そして、演算処理部は、同定された分子の情報に基づいて、共通電極と出口電極のペアを決定し、電圧を印加するように制御する。このようにすることにより、所望の分子を他の分子と分離して正確に分離することができるようになる。

【０１７０】

また、第２の実施形態では、流路デバイスは、マイクロメートルオーダーの幅及び高さを有し、処理対象のサンプルを注入するための注入部と、ナノメートルオーダーの幅及び深さを有し、サンプルに含まれる分子を移動させるためのナノ流路と、ナノ流路を移動してきた分子を分離するための複数の出力部と、を含んでいる。ナノ流路は、分岐部を介して当該分岐部から前記複数の出力部につながる複数の分岐流路を有している。そして、ナノ流路のメイン流路に設置された電極対の電極間に交流電圧を印加し、電極間に分子があるときのインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、測定されたインピーダンス値と分子とを関連付ける。そして、測定されたインピーダンス値と関連付けられた分子を、ナノ流路から複数の分岐流路のうち所望の分岐流路に誘導する。誘導処理は、ナノ流路側に設けられた共通電極と、複数の分岐流路側にそれぞれ設けられた複数の出口電極と、共通電極と複数の出口電極のそれぞれに電圧を印加するための電圧印加部（電場印加部）と、共通電極と１つの出口電極のペアを選択するためのスイッチング部と、によって実現される。このようにすることにより、サンプルに含まれる分子の種類が未知であっても、各分子が測定用ナノ電極の前を移動するときのインピーダンス値に従って分子を分離することができるようになる。

【０１７１】

なお、上述の装置において、ナノ流路には複数の電極対が設けられ、当該各電極対は所定の間隔を隔てて配置するようにしても良い。この場合、測定部は、分子が各電極対を通過するときのインピーダンスを測定する。また、演算処理部は、インピーダンス値の測定時間差に基づいて、分子の移動速度を算出し、算出した分子の移動速度に基づいて電圧（電場）を印加するタイミングを制御する。このようにすることにより、より正確に分子を分離することができるようになる。

【０１７２】

また、上述の装置において、流路デバイスの基板は親水性のある絶縁体材料で構成される。この場合、サンプルは、注入部からナノ流路に毛管現象の作用により導入される。このように毛管現象の作用を利用すれば、装置構成がさらに簡単となり、より小型化が可能となる。別の例として、上記の通り、新たな電極対の一方の電極を注入部に配置し、他方の電極をナノ流路に配置するようにしても良い。この場合、その電極対間に電場を生じさせることにより、サンプルが注入部からナノ流路に導入される

さらに、電極対間に分子（生体分子）を滞留させて、分子の環境を変化（酵素と反応させる、温度を変化させる、ｐＨを変化させる、イオン濃度を変化させる等）させるとともに、交流電源の周波数を変えながら電極間に交流電圧を印加したときのインピーダンスを測定する。そして、測定されたインピーダンス値に基づいて、分子の立体構造やその動態を検知する。なお、交流電源は、周波数可変だけでなく、ナノ流路の電極対間に印加すべき電圧が可変である。この場合、交流電源の周波数及び電圧を変えながら、インピーダンスを測定し、交流電源の周波数及び電圧を変化させたときのインピーダンス値の変化によって分子の立体構造（conformation）とその動的な変化（動態）を検知する。これにより、分子（特に、生体分子）の構造変化を動的に捉えることができるようになるので、分子の機能を把握することができるようになる。

【０１７３】

（５）上述の実施形態では、流路デバイスが１つの注入部１１と複数の出力部１４を有している形態について説明しているが、複数の注入部と複数の出力部を有していても良い。

この場合、流路デバイスは、複数の注入部と、各注入部からナノ流路につながる複数の注入用流路と、１つのナノ流路、複数の分岐流路、複数の出力部で構成される。また、流路デバイスは、１つの注入部と１つの出力部のみ有するものであっても良い。この場合、流路デバイスは、１つの注入部と、１つのナノ流路と、１つの出力部で構成される。この流路デバイスは、例えば、サンプルが１つの特定の分子を含むか否かを検査するとき等に利用される。

【符号の説明】

【０１７４】

Ｍ…分子

ＡＳ…交流電源

Ｅ１，Ｅ２，Ｅ３，Ｅ４，Ｅ５，Ｅ６…電極

１０…流路デバイス

１１…注入部

１２…ナノ流路

１２ａ、１２ｂ、１２ｃ…分岐流路

１３…出力部

１４…出力部

１５…ガラス

１６…接着部材

４０…演算処理部

４１…測定部

４２…スイッチング部

４３…電流値‐分子対応テーブル

４４…メモリ

４５…情報入力／出力部

５１…サンプル導入部

９０…演算処理部

９１…測定部

９２…スイッチング部

９３…インピーダンス‐分子対応テーブル

９４…メモリ

９５…情報入力／出力部

９６…交流電源

１０１…基板

１２２…測定用ナノ電極

１２３…電流計

１２４…電流計

２２３…インピーダンス測定部

２２４…確認用インピーダンス測定部

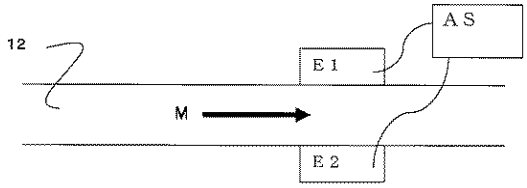
１２５…スイッチング用ナノ電極

５１１…電極

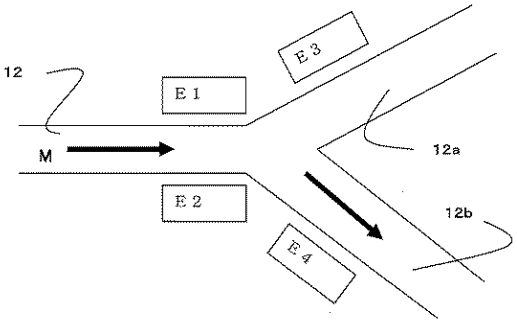
５１２…電極

５１３…電源

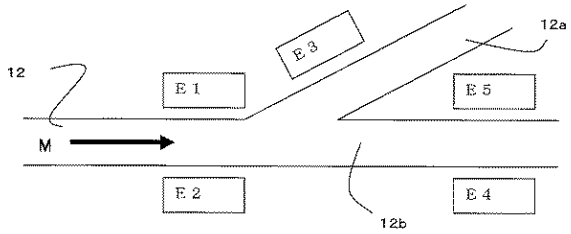
【図１Ａ】



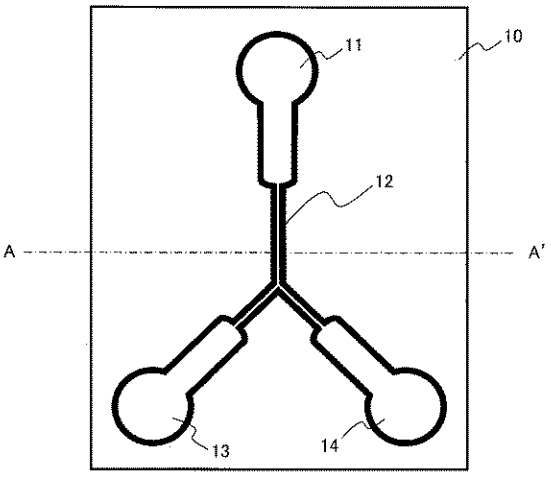
【図１Ｂ】



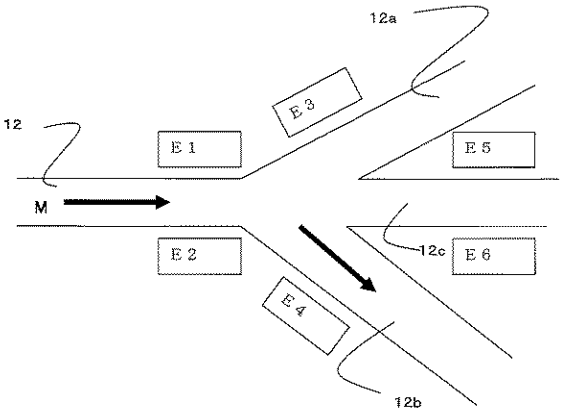
【図１Ｃ】



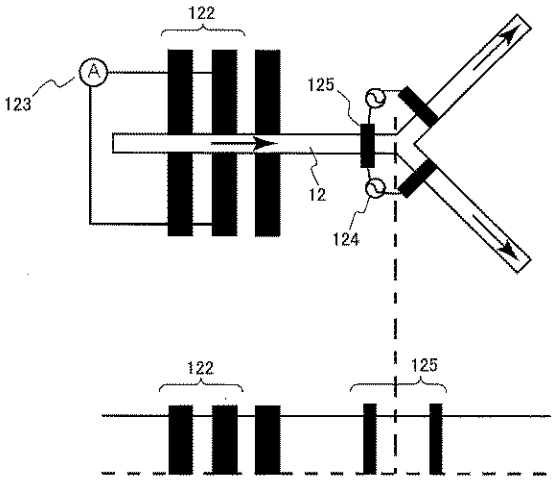
【図１Ｅ】



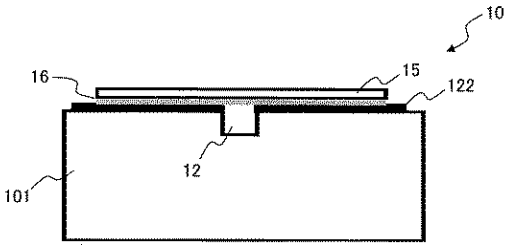
【図１Ｄ】



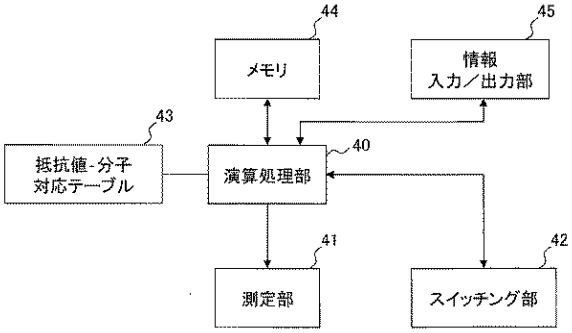
【図２】



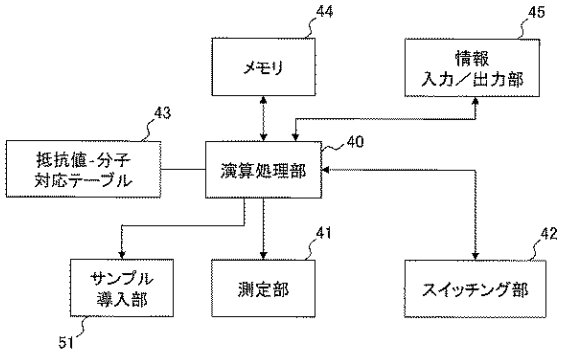
【図３】



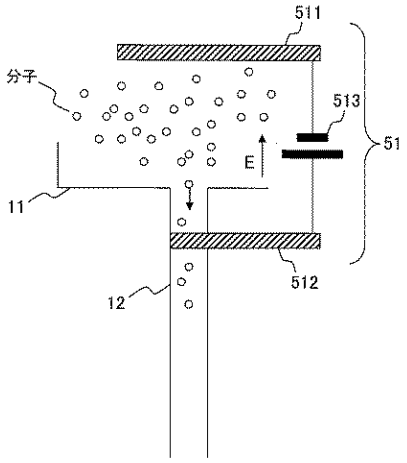
【図４】



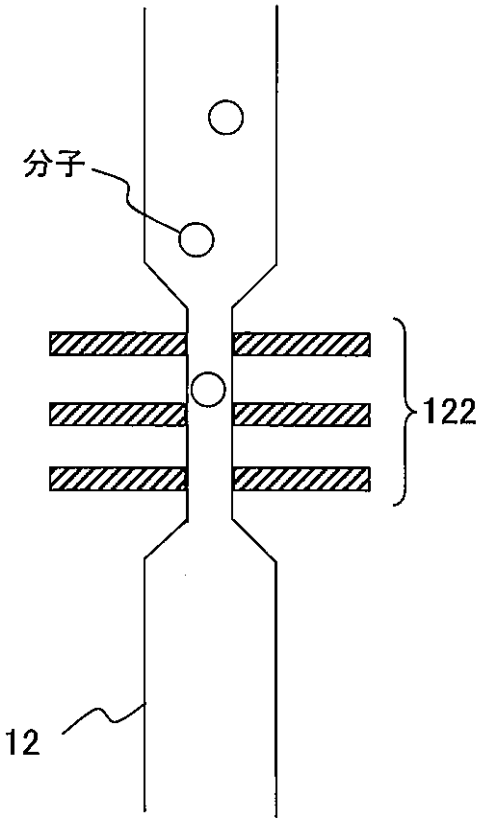
【図６】



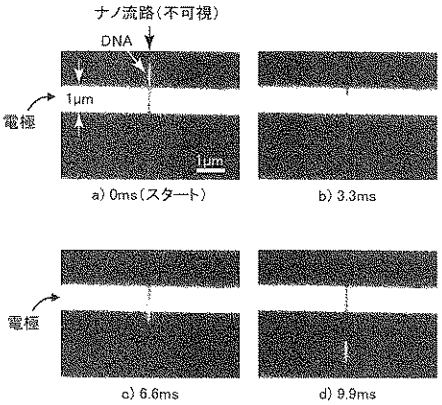
【図５】



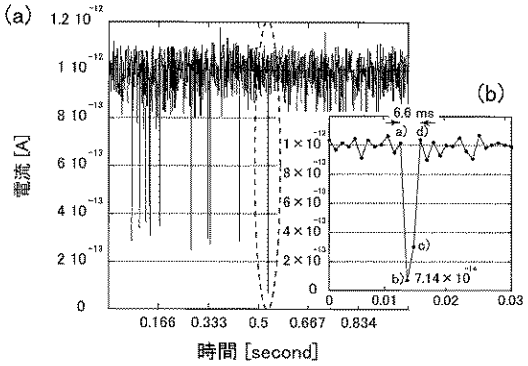
【図７】



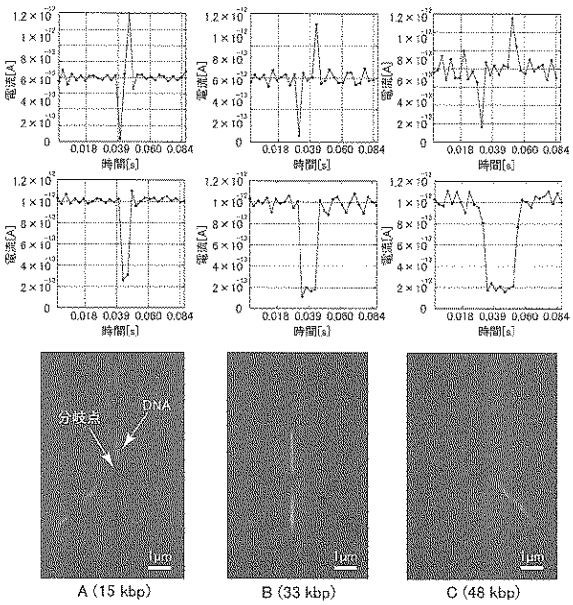
【図８】



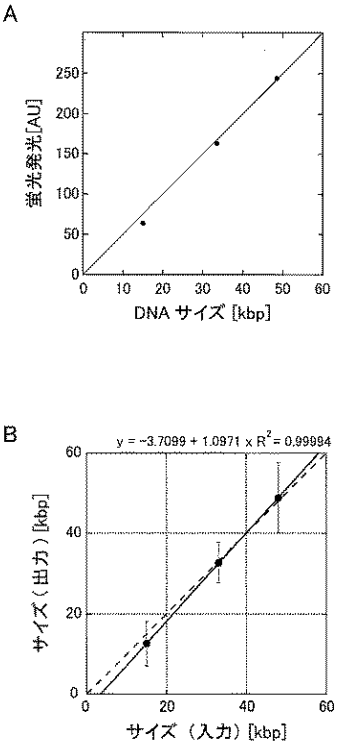
【図９】



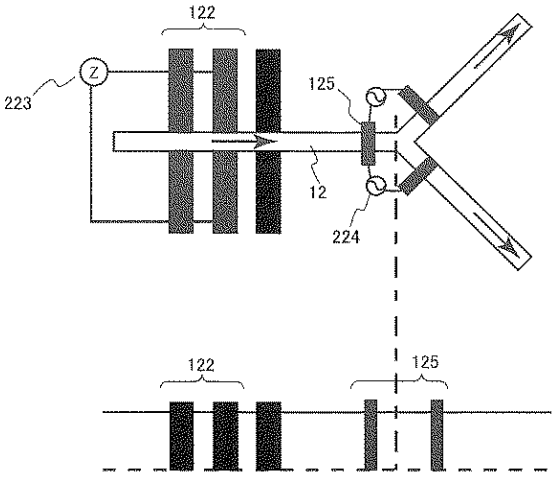
【図１０】



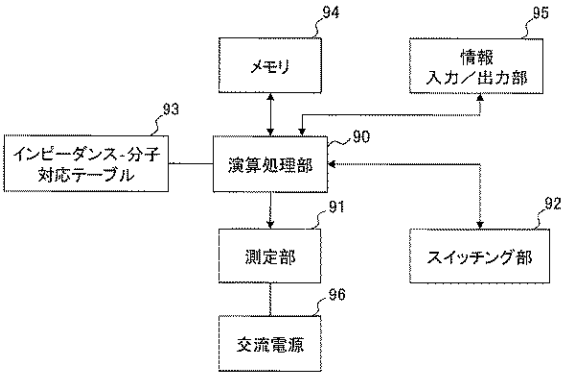
【図１１】



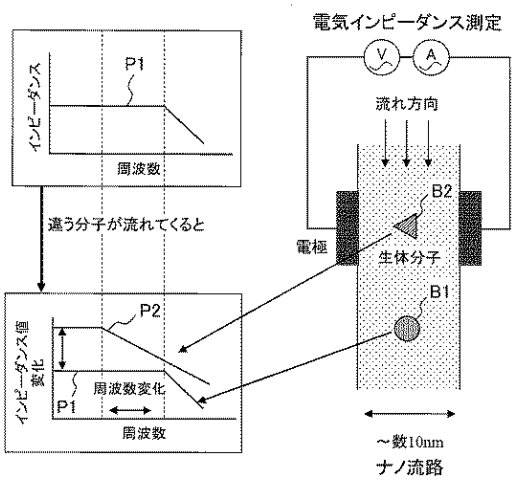
【図１２】



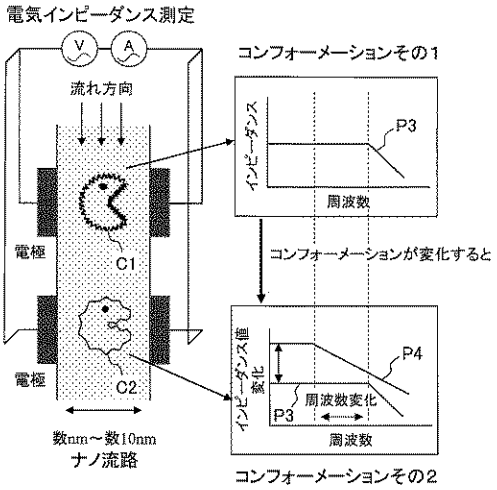
【図１３】



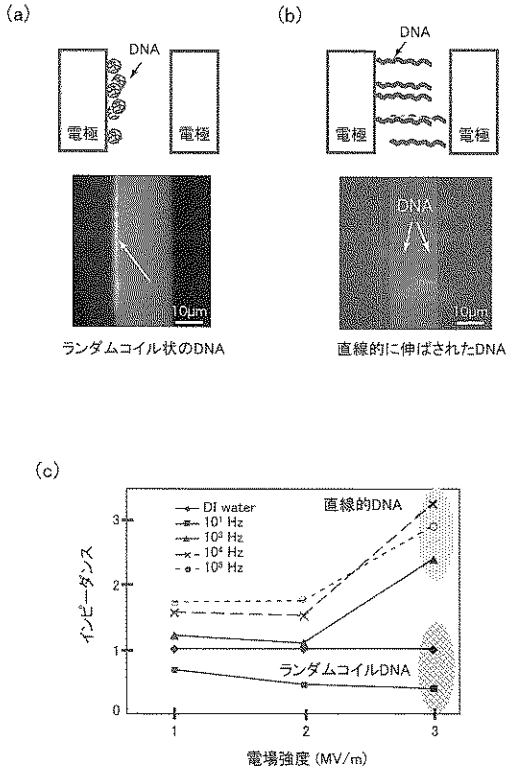
【図１４】



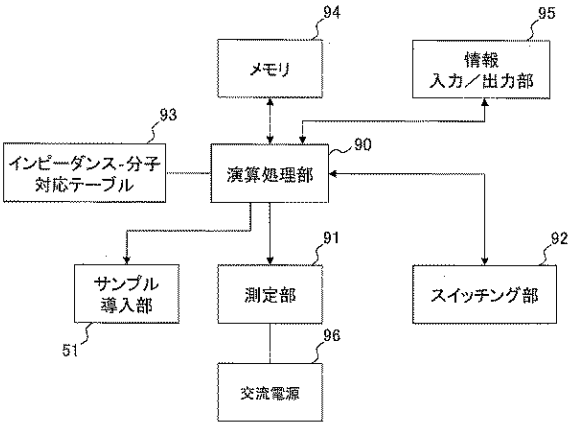
【図１５】



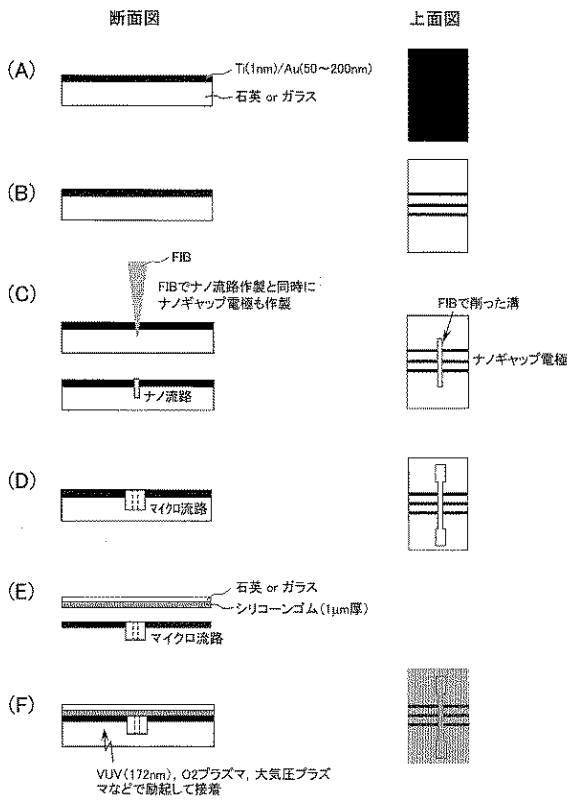
【図１６】



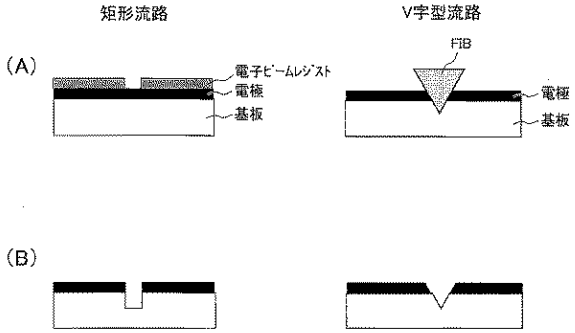
【図１７】



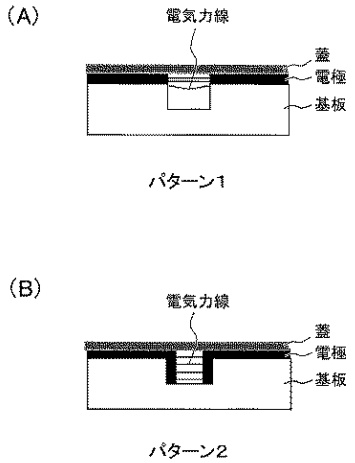
【図１８】



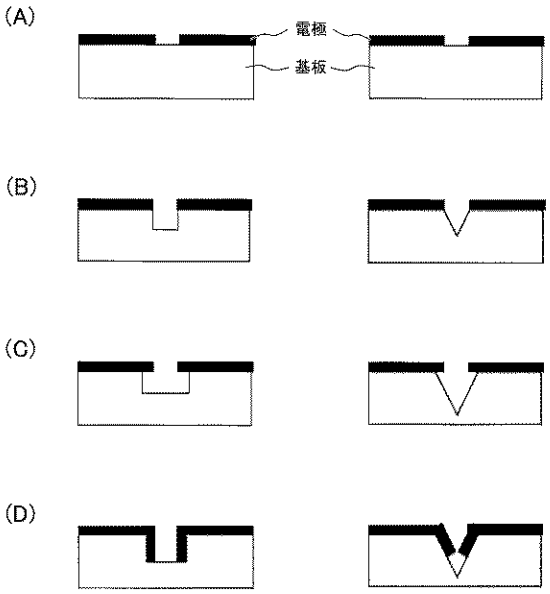
【図１９】



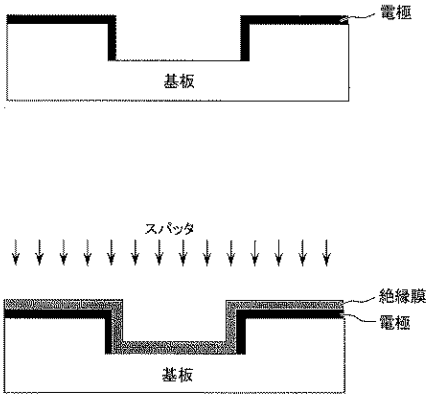
【図２０】



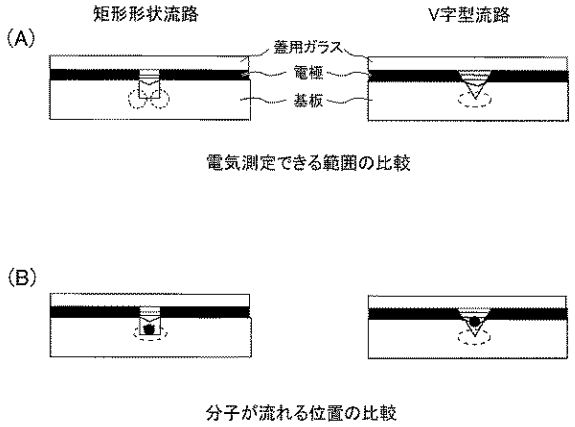
【図２１】



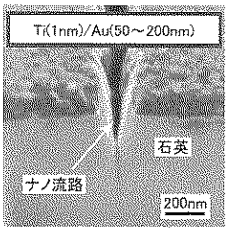
【図２２】

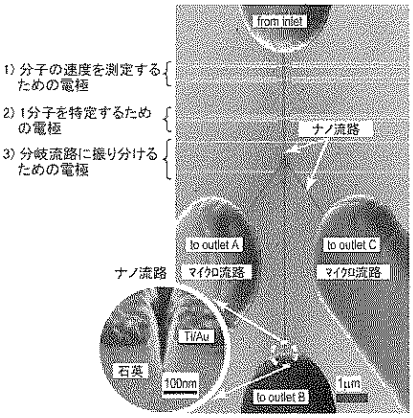


【図２３】



【図２４】


Ti(1nm)/Au(50～200nm)
石英
ナノ流路
200nm


from inlet
1) 分子の速度を測定するための電極
2) 1分子を特定するための電極
3) 分岐流路に振り分けるための電極
ナノ流路
to outlet A
to outlet C
ナノ流路
マイクロ流路
マイクロ流路
Ti/Au
石英
100nm
to outlet B
1μm

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
Ｇ０１Ｎ 37/00 (2006.01) Ｇ０１Ｎ 37/00 １０１

(56)参考文献 特表２００３－５１００３４（ＪＰ，Ａ）
特表２００８－５３２７３３（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００８／０４１７１８（WO，Ａ１）
米国特許出願公開第２００９／００２３１４６（ＵＳ，Ａ１）
国際公開第２００８／０７９１６９（WO，Ａ１）
米国特許出願公開第２００６／０２７５９１１（ＵＳ，Ａ１）
米国特許出願公開第２００８／０２５１３８２（ＵＳ，Ａ１）
特表２００８－５３６１２４（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
B01J 10/00 - 12/02
14/00 - 19/32
B81B 1/00
B82B 1/00
C12M 1/00
G01N 15/14
27/00
37/00