

(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2011-527434

(P2011-527434A)

(43) 公表日 平成23年10月27日(2011.10.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 M	
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/553	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 O 1 M	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 38 頁)

(21) 出願番号 特願2011-517271 (P2011-517271)
 (86) (22) 出願日 平成21年7月10日 (2009.7.10)
 (85) 翻訳文提出日 平成23年3月2日 (2011.3.2)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2009/006688
 (87) 国際公開番号 W02010/004436
 (87) 国際公開日 平成22年1月14日 (2010.1.14)
 (31) 優先権主張番号 61/129,688
 (32) 優先日 平成20年7月11日 (2008.7.11)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 505273316
 ユニバーサル バイオセンサーズ ピーテ
 ィーワイ リミテッド
 UNIVERSAL BIOSENSOR
 S PTY LIMITED
 オーストラリア国 ヴィクトリア 317
 8, ロウビル, コーポレート アベニ
 ュー 1
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義教

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改良型免疫測定センサ

(57) 【要約】

流体試料中の標的分子の存在を検出する装置が開示されている。バイオセンサ装置は、少なくとも反応チャンバおよび検出チャンバを含むことができる。装置は、流体試料中に存在する1つの標的分子が複数の検出剤分子の、ひいては増幅信号の、発生/活性化をもたらすことができるように、増幅機構を含むことができる。また、そのようなバイオセンサ装置を製造および使用する方法も開示されている。

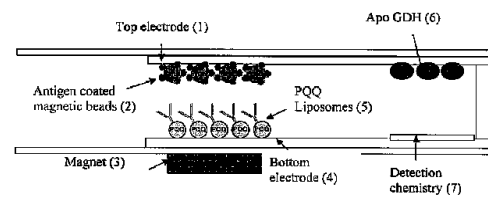


Figure 7

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

流体試料中の標的分析物を検出する装置であって、

反応チャンバであって、内表面、結合剤、およびプローブ剤を含み、前記プローブ剤は結合パートナーおよびビヒクルを含み、前記結合パートナーは前記ビヒクルに結合し、前記流体試料中の前記標的分析物は前記結合剤または前記結合パートナーと反応することができる反応チャンバと、

検出チャンバと、

前記反応チャンバと前記検出チャンバとの間の流体通路と

を含み、

前記装置は、反応した流体試料を、毛細管幻想によって前記流体通路を通じて前記反応チャンバから前記検出チャンバへ移動させるように構成されており、

ある濃度で前記流体試料中に前記標的分析物が存在することで、前記反応した流体試料とともに前記検出チャンバへ移動する前記プローブ剤の量の変化し、この変化は、前記検出チャンバによって検出可能であり、少なくとも前記濃度の閾値に依存する、装置。

【請求項 2】

充填チャンバをさらに含み、前記充填チャンバが内表面を含む、請求項 1 に記載の装置

。

【請求項 3】

前記内表面が内壁を含む、請求項 1 または 2 に記載の装置。

【請求項 4】

前記内表面が少なくとも 1 つの支持材の表面を含む、請求項 1 または 2 に記載の装置。

【請求項 5】

前記反応チャンバが雰囲気に対する開口部を含む、請求項 1 または 2 に記載の装置。

【請求項 6】

前記反応チャンバが遮断薬を含み、前記遮断薬は、前記反応チャンバの前記内表面に対するタンパク質または脂質粒子の非特異的結合を防止することができる、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記充填チャンバが遮断薬を含み、前記遮断薬は、前記充填チャンバの前記内表面に対するタンパク質または脂質粒子の非特異的結合を防止することができる、請求項 2 に記載の装置。

【請求項 8】

前記遮断薬が、界面活性剤および遮断タンパク質から選択される少なくとも 1 つを含む、請求項 6 または 7 に記載の装置。

【請求項 9】

前記遮断タンパク質がウシ血清アルブミンを含む、請求項 8 に記載の装置。

【請求項 10】

前記結合剤および前記プローブ剤が、前記反応チャンバの異なる内表面と結合する、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

前記結合剤が少なくとも 1 つの磁気ビーズを含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 12】

前記反応チャンバ内に前記結合剤を封じ込めるのに役立つ磁界をさらに含む、請求項 11 に記載の装置。

【請求項 13】

前記ビヒクルが活性剤の少なくとも 1 つの複製を含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 14】

前記ビヒクルが、活性剤の約 10 個から約 100000 個の複製を含む、請求項 1 に記載の装置。

10

20

30

40

50

- 【請求項 15】
前記活性剤が前記ビヒクルの中に封入されている、請求項 13 または 14 に記載の装置。
- 【請求項 16】
前記ビヒクルが少なくとも 1 つの脂質粒子を含む、請求項 15 に記載の装置。
- 【請求項 17】
前記活性剤が前記ビヒクルに結合する、請求項 13 または 14 に記載の装置。
- 【請求項 18】
前記ビヒクルが少なくとも 1 つのポリマーを含む、請求項 17 に記載の装置。
- 【請求項 19】 10
前記ポリマーがデンドリマーである、請求項 18 に記載の装置。
- 【請求項 20】
不活性化剤が前記反応チャンバ内で固定化され、前記不活性化剤が非結合または非封入活性剤と結合することができる、請求項 13 から 19 のいずれか一項に記載の装置。
- 【請求項 21】
前記不活性化剤が少なくとも 1 つの磁気ビーズを含む、請求項 20 に記載の装置。
- 【請求項 22】
前記検出チャンバが遊離剤を含み、前記遊離剤は前記ビヒクルから前記活性剤を遊離させることができる、請求項 13 から 21 のいずれか一項に記載の装置。
- 【請求項 23】 20
前記遊離剤が、中性洗剤、細胞溶解性ペプチド、酵素、加熱、冷却、超音波処理、およびビヒクルに組み込まれている光化学的に活性化された溶解剤を備える光源から選択される、少なくとも 1 つの因子を含む、請求項 22 に記載の装置。
- 【請求項 24】
前記中性洗剤が、n - オクチル - B - D - グルコピラノシド、ツイン 20、Brij 35、およびトリトン X - 100 から選択される 1 つの洗剤を含む、請求項 23 に記載の装置。
- 【請求項 25】
前記細胞溶解性ペプチドが、メリチン、および補体系の成分であるホスホリパーゼのクラスの 1 つから選択される 1 つのペプチドを含む、請求項 23 に記載の装置。 30
- 【請求項 26】
前記酵素が、プロテアーゼおよびトリプシンから選択される 1 つの酵素を含む、請求項 23 に記載の装置。
- 【請求項 27】
前記活性剤が酵素の補因子を含む、請求項 13 から 26 のいずれか一項に記載の装置。
- 【請求項 28】
前記検出チャンバが、前記補因子によって活性化されることが可能なアポ酵素を含む、請求項 27 に記載の装置。
- 【請求項 29】
前記酵素がグルコースオキシダーゼを含む、請求項 27 に記載の装置。 40
- 【請求項 30】
前記補因子がフラビンアデニンジヌクレオチドを含む、請求項 29 に記載の装置。
- 【請求項 31】
前記検出チャンバがアポグルコースオキシダーゼを含む、請求項 30 に記載の装置。
- 【請求項 32】
前記酵素がグルコースデヒドロゲナーゼを含む、請求項 27 に記載の装置。
- 【請求項 33】
前記補因子がピロロキノリンキノンを含む、請求項 32 に記載の装置。
- 【請求項 34】
前記検出チャンバがアポグルコースデヒドロゲナーゼを含む、請求項 33 に記載の装置。 50

- 。
- 【請求項 35】
前記補因子がフラビンアデニンジヌクレオチドを含む、請求項 32 に記載の装置。
- 【請求項 36】
前記検出チャンバが酵素基質をさらに含む、請求項 27 に記載の装置。
- 【請求項 37】
前記酵素基質が酸化基質を含む、請求項 36 に記載の装置。
- 【請求項 38】
前記酸化基質が、ガラクトース、マルトース、キシロース、および酢酸から選択される 1 つの基質を含む、請求項 37 に記載の装置。 10
- 【請求項 39】
前記酵素基質がグルコースを含む、請求項 37 に記載の装置。
- 【請求項 40】
前記検出チャンバが少なくとも 1 つのメディエータをさらに含む、請求項 27 に記載の装置。
- 【請求項 41】
前記メディエータが、ジクロロフェノールインドフェノール、フェナジンエトスルフェート、フェリシアニド、フェロセン、および遷移金属と窒素含有ヘテロ原子種との錯体から選択される 1 つの基質を含む、請求項 40 に記載の装置。
- 【請求項 42】 20
試料の pH を調整することができる緩衝剤をさらに含む、請求項 27 に記載の装置。
- 【請求項 43】
前記緩衝剤が、リン酸塩、クエン酸塩、シトラコン酸塩、メリト酸塩、トリス、PIPEES、MOPES、HEPES、フタル酸塩、イマダゾールから選択される物質を含む、請求項 42 に記載の装置。
- 【請求項 44】
前記プローブ剤の前記結合パートナーが前記結合剤と結合する、請求項 1 に記載の装置。
- 。
- 【請求項 45】 30
前記プローブ剤の前記結合パートナーが前記標的分析物と結合する、請求項 1 に記載の装置。
- 【請求項 46】
前記標的分析物が前記結合剤と結合する、請求項 45 に記載の装置。
- 【請求項 47】
前記検出チャンバの遠位末端に通気孔がある、請求項 1 に記載の装置。
- 【請求項 48】
前記通気孔が、前記装置の外層を穿孔することによって開口される、請求項 47 に記載の装置。
- 【請求項 49】 40
前記通気孔が、前記装置の外層の一部を除去することによって開口される、請求項 47 に記載の装置。
- 【請求項 50】
前記検出チャンバが、前記検出チャンバ内の電気化学反応を検出するために、少なくとも 2 つの電極を含む、請求項 1 に記載の装置。
- 【請求項 51】
前記電極のうち少なくとも 1 つが導電層で形成され、さらに前記検出チャンバ内の電極の少なくとも 1 つの縁を定義するのに役立つ断層が前記導電層内にある、請求項 50 に記載の装置。
- 【請求項 52】 50
少なくとも 1 つの電極が、パラジウム、白金、金、イリジウム、炭素、炭素と結合剤と

の混合物、酸化インジウム、酸化スズ、またはそれらの混合物を含む、請求項 5 0 に記載の装置。

【請求項 5 3】

前記検出チャンバ内の前記プローブ剤の量の変化が、前記検出チャンバ内の電気化学反応を通じて検出可能である、請求項 5 0 に記載の装置。

【請求項 5 4】

流体試料中の標的分析物を検出する方法であって、

前記流体試料を装置に送達するステップであって、前記装置は反応チャンバおよび検出チャンバを含み、前記反応チャンバは結合剤およびプローブ剤を含み、前記プローブ剤は結合パートナーおよびビヒクルを含むステップと、

前記反応チャンバ内において、前記結合剤と前記プローブ剤との反応を進めさせるステップであって、ある濃度で前記流体試料中に前記標的分析物が存在することで、前記反応チャンバ内で結合した前記プローブ剤の量および非結合プローブ剤の量に変化し、これらの変化は前記標的分析物の濃度に依存するステップと、

前記非結合プローブ剤が前記検出チャンバへ移動するように、毛細管現象によって前記反応チャンバから前記検出チャンバへ、反応した試料流体を移動させるステップと、

検出剤を通じて前記検出チャンバ内の前記プローブ剤の存在を検出するステップとを含む方法。

【請求項 5 5】

前記試料を前記装置に送達するステップが、前記装置の充填チャンバを通じて前記反応チャンバへ前記試料を送達するステップを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記試料流体を前記充填チャンバに送達するステップが毛細管現象を含む、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記検出剤がアポ酵素を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記ビヒクルが活性剤の少なくとも 1 つの複製を含み、前記活性剤の 1 つの複製が前記検出剤の少なくとも 1 つの複製を活性化させることができる、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記反応チャンバから前記検出チャンバへ前記試料を移動させるステップが、通気孔を開口するステップを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記検出チャンバから受信した電気信号を数値化するステップをさらに含み、前記電気信号の大きさが、前記試料流体中の前記標的分析物の前記濃度に依存する、請求項 5 4 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願および参照による組み込み

本願は、米国仮出願番号 61 / 129 , 688 (「Enhanced Immunoassay Sensor」の題名で、2008年7月11日出願、代理人整理番号 0089500 - 008PR0) の優先権を主張する。本願は、米国出願番号 11 / 284 , 097 (「BIOSENSOR APPARATUS AND METHODS OF USE」の題名で、2005年11月21日出願、代理人整理番号 0089500 - 004US0) の一部継続出願としての優先権を主張し、これは同様に米国出願番号 10 / 105 , 050 (「DIRECT IMMUNOSENSOR ASSAY」の題名で、2002年3月21日出願、代理人整理番号 0089500 - 002US0) および米国出願番号 10 / 830 , 841 (「IMMUNOSENSOR」の題名で、2004年4月22日出願、代理人整理番号 0089500 - 001US1) の一部継続出願としての優先

10

20

30

40

50

権を主張する。上記の出願の全ては、それぞれ全体として、参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

米国出願番号11/284,097は、2006年6月22日に米国特許出願公開第2006/0134713号明細書として公開された。米国出願番号10/105,050は、2003年9月25日に米国特許出願公開第2003/0180814号明細書として公開された。米国出願番号10/830,841は、2004年10月14日に米国特許出願公開第2004/0203137号明細書として公開された。

【0003】

以下の参考文献はそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：(1) 欧州特許第0300628号明細書；(2) 特許第7227298号明細書；(3) 米国特許第4622294号明細書；(4) 米国特許第2006226008号明細書；(5) 米国特許第2007131549号明細書；(6) 国際公開第02012885号パンフレット；(7) 国際公開第0240058A2号パンフレット；(8) 国際公開第0207635号パンフレット；(9) 国際公開第02082078号パンフレット；(10) 国際公開第02082078号パンフレット；(11) 国際公開第03097863号パンフレット；(12) 国際公開第03101427号パンフレット；(13) 国際公開第04041774号パンフレット；(14) 国際公開第05000902号パンフレット；(15) 国際公開第05116654号パンフレット；(16) 国際公開第06035431号パンフレット；(17) 国際公開第1992003730号パンフレット；(18) 国際公開第2000062351号パンフレット；(19) 国際公開第2004046717号パンフレット；(20) 国際公開第2006046524号パンフレット；(21) 国際公開第2006096619号パンフレット；(22) 国際公開第2006127167号パンフレット；(23) 国際公開第9203730号パンフレット；(24) 国際公開第9203730A1号パンフレット；(25) 国際公開第9820332号パンフレット；(26) 国際公開第96024062号パンフレット；(27) 国際公開第98004743号パンフレット；(28) 国際公開第99010743号パンフレット；および(29) Thomas R. DeCory, Richard A. Durst, Scott J. Zimmerman, Linda A. Garringer, Gary Paluca, Heleen H. DeCory, and Richard A. Montagna, 「Development of an Immunomagnetic Bead-Immunoliposome Fluorescence Assay for Rapid Detection of Escherichia coli O157:H7 in Aqueous Samples and Comparison of the Assay with a Standard Microbiological Method.」Appl. Environ. Microbiol. 2005, 71:1856-1864。上記参考文献の全ては、それぞれ全体として、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

免疫測定に基づくシステムを含む、従来の生物医学センサは、様々な分析物の存在および/または濃度を報告するために使用されてきた。免疫測定は、通常は2つのカテゴリに分類される。すなわち、競合測定およびサンドイッチ測定である。競合測定では、試験試料中の抗原は、抗体-プローブ複合体（一般的にはレポータ複合体と称される）と混合され、その後混合物は抗体との結合を競合する。サンドイッチ免疫測定では、試験試料中の抗原が抗体と結合し、その後第二抗体-プローブ複合体が抗原と結合する。これらの先行技術による測定方法では、通常1つ以上の洗浄ステップが必要とされる。洗浄ステップは、測定手順を複雑にする可能性があり、生物学的に危険な排液を生じる可能性がある。

【0005】

免疫測定は通常、もっとも多くの場合に単純な目視検出（たとえば色の変化）によって

得られる定性的結果（たとえば、「合否回答」）、または抗原の濃度などの定量的結果を、ユーザに提供する。ほとんどの定量的方法は、シンチレーションカウンタ（放射能監視用）、分光光度計、蛍光光度計（たとえば、米国特許第5,156,972号明細書参照）、表面プラズモン共鳴装置（たとえば、米国特許第5,965,456号明細書参照）などの、高価な機器を使用する。したがって、家庭または現場での使用に適した使用に十分安価で簡単な免疫測定を開発することは、有利であろう。このようなバイオセンサは、好ましくは遠心分離、希釈、ピペット操作、洗浄、またはタイミングのステップを必要とせず、最小限の廃棄物のみを生じる。

【発明の概要】

【0006】

本開示のいくつかの実施形態は、流体試料中の標的分析物を検出する装置を含み、装置は、反応チャンバであって、反応チャンバは内表面、結合材、およびプローブ剤を含み、プローブ剤は結合パートナーおよびビヒクルを含み、結合パートナーはビヒクルに結合し、流体試料中の標的分析物は結合剤または結合パートナーと反応することができる、反応チャンバと；検出チャンバと；反応チャンバと検出チャンバとの間の流体通路とを含み、装置は、反応した流体試料を、毛細管現象によって流体通路を通じて反応チャンバから検出チャンバへ移動させるようになっており、ある濃度における流体試料中の標的分析物の存在により、反応した流体試料とともに検出チャンバへ移動するプローブ剤の量が変化し、この変化は検出チャンバによって検出可能であって、少なくとも濃度の閾値に依存する。装置は充填チャンバをさらに含み、充填チャンバは内表面を含む。反応チャンバおよび充填チャンバの内表面は、内壁、および/または少なくとも1つの支持材の表面を含むことができる。反応チャンバは、雰囲気への開口部を含むことができる。

10

20

【0007】

反応チャンバおよび/または充填チャンバは、遮断薬を含むことができ、遮断薬は、反応チャンバの内表面へのタンパク質または脂質粒子の非特異的結合を防止することができる。脂質粒子は、リポソーム、小胞、細胞器官、などを含む。遮断薬は、界面活性剤および遮断タンパク質から選択される少なくとも1つを含むことができる。遮断タンパク質は、ウシ血清アルブミンを含むことができる。

【0008】

結合剤分子およびプローブ剤分子は、反応チャンバの異なる内表面に結合することが可能である。

30

【0009】

結合剤は、少なくとも1つの磁気ビーズを含むことができる。装置は、磁気ビーズ上に被覆された結合剤を反応チャンバ内に封じ込めるのに役立つ磁界を含むことができる。

【0010】

プローブ剤分子のビヒクルは、活性剤の少なくとも1つの複製を含むことができる。ビヒクルは、活性剤の約10個から約100000個の複製を含むことができる。活性剤は、少なくとも1つの脂質粒子を含むことができるビヒクルの中に封入されることが可能である。脂質粒子は、リポソーム、小胞、細胞器官、などを含むことができる。活性剤は、少なくとも1つのポリマーを含むことができるビヒクルに表面結合されることが可能である。ポリマーは、 dendrimer を含むことができる。

40

【0011】

プローブ剤の結合パートナーは、結合剤、または結合剤に結合する標的分析物、または結合剤に結合されない標的分析物に、結合されるようになっていてもよい。

【0012】

反応チャンバは、反応チャンバ内で固定化された不活性化剤を含むことができ、不活性化剤は、非結合または非封入活性剤と結合することができる。不活性化剤は、少なくとも1つの磁気ビーズを含むことができ、磁界によって反応チャンバ内に封じ込められることが可能である。

【0013】

50

充填チャンバおよび/または反応チャンバは、流体試料のpHを調整することができる緩衝剤を含むことができる。緩衝剤は、リン酸塩、クエン酸塩、シトラコン酸塩、メリト酸塩、トリス、PIPES、MOPS、HEPES、フタル酸塩、イマダゾールから選択された物質を含むことができる。

【0014】

検出チャンバは遊離剤を含むことができ、遊離剤はビヒクルから活性剤を遊離することができる。遊離剤は、中性洗剤、細胞溶解性ペプチド、酵素、加熱、冷却、超音波処理、およびビヒクルに組み込まれている光化学的に活性化された溶解剤を備える光源から選択される、少なくとも1つの因子を含むことができる。中性洗剤は、n-オクチル-B-D-グルコピラノシド、ツイン20、Brig35、およびトリトンX-100から選択される1つの洗剤を含むことができる。細胞溶解性ペプチドは、メリチン、および補体系の成分であるホスホリパーゼのクラスの1つから選択される1つのペプチドを含むことができる。酵素は、プロテアーゼおよびトリプシンから選択される1つの酵素を含む。遊離剤は、たとえば冷却、加熱、超音波処理などの物理的手段、または、たとえばセンサ内に誘導される光源によって開始される光化学反応などの物理的手段と化学的手段との組合せを、含むことができる。

10

【0015】

活性剤は、酵素の補因子を含むことができる。検出チャンバは、補因子によって活性化されることが可能な、アポ酵素を含むことができる。酵素はグルコースオキシダーゼを含むことができる。補因子/アポ酵素ペアは、フラビンアデニンジヌクレオチドおよびアポグルコースオキシダーゼを含むことができる。酵素はグルコースデヒドロゲナーゼを含むことができる。補因子/アポ酵素ペアは、ピロロキノリン(pyroloquinoline)キノン(PQQ)およびアポグルコースデヒドロゲナーゼ(GDH)を含むことができる。検出チャンバは、酵素基質をさらに含むことができる。酵素基質は酸化基質を含むことができる。酸化基質は、ガラクトース、マルトース、キシロース、および酢酸から選択される1つの基質を含むことができる。酵素基質はグルコースを含むことができる。検出チャンバは、少なくとも1つのメディエータをさらに含むことができる。メディエータは、ジクロロフェノールインドフェノール、フェナジンエトスルフェート、フェリシアニド、フェロセン、および遷移金属と窒素含有ヘテロ原子種との錯体から選択される、少なくとも1つの基質を含むことができる。

20

30

【0016】

検出チャンバは、遠位末端に通気孔を含むことができる。通気孔は、装置の外層を穿孔することによって、または装置の外層の一部を除去することによって、開口されることが可能である。

【0017】

検出チャンバは、検出チャンバ内の電気化学反応を検出するために、少なくとも2つの電極を含むことができる。電極のうち少なくとも1つは、導電層で形成されることが可能である。検出チャンバは、検出チャンバ内の電極の少なくとも1つの縁を定義するのに役立つことができる、導電層内の断路を含むことができる。少なくとも1つの電極は、パラジウム、白金、金、イリジウム、炭素、炭素と結合剤との混合物、酸化インジウム、酸化スズ、またはそれらの混合物を含むことができる。検出チャンバ内のプローブ剤の量の変化は、検出チャンバ内の電気化学反応を通じて検出可能である。

40

【0018】

本開示のいくつかの実施形態は、流体試料中の標的分析物を検出する方法を含み、本方法は：流体試料を装置に送達するステップであって、装置は反応チャンバおよび検出チャンバを含み、反応チャンバは結合剤およびプローブ剤を含み、プローブ剤は結合パートナーおよびビヒクルを含むステップと；結合剤とプローブ剤との間で反応チャンバ内において反応を進めさせるステップであって、ある濃度における流体試料中の標的分析物の存在により、反応チャンバ内で結合したプローブ剤の量および非結合プローブ剤の量が変化し、これらの変化は標的分析物の濃度に依存するステップと；非結合プローブ剤が検出チャ

50

ンバへ移動するように、毛細管現象によって反応チャンバから検出チャンバへ反応した流体試料を移動させるステップと；検出剤を通じて検出チャンバ内のプローブ剤の存在を検出するステップとを含む。試料は、毛細管現象によって装置の充填チャンバを通じて装置に送達される。検出剤は、アポ酵素を含むことができる。ビヒクルは、活性剤の少なくとも1つの複製を含むことができ、活性剤の1つの複製は検出剤の少なくとも1つの複製を活性化することができる。反応チャンバから検出チャンバへの試料の移動は、通気孔を開口するステップを含む。検出は、検出チャンバから受信した電気信号を数値化するステップを含むことができ、電気信号の大きさは、試料流体中の標的分析物の濃度に依存することができる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】Aは、例示的なU字型バイオセンサを示す。部位8は、反応および検出が起こり得る場所である。Bは、例示的なツリー型バイオセンサを示す。部位8は、反応および検出が起こり得る場所である。

【図2】本明細書に開示されるバイオセンサの一実施形態の上面図である。

【図3】線2-2に沿った図2のバイオセンサの断面図である。

【図4】本明細書に開示されるバイオセンサの別の実施形態の上面図である。

【図5】Aは線4A-4Aに沿った図4のバイオセンサの断面図である。Bは線4B-4Bに沿った図4のバイオセンサの断面図である。Cは線4C-4Cに沿った図4のバイオセンサの断面図である。Dは線4D-4Dに沿った図4のバイオセンサの断面図である。

【図6】本明細書に開示されるバイオセンサの別の実施形態の上面図である。

【図7】化学物質の位置を示す、図4または図6のバイオセンサの断面図である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

好適な実施形態を含む、さまざまな例示の実施形態が、以下に詳細に論じられる。特定の実施が論じられるものの、これが説明目的でのみ行われることは、理解されるべきである。関連技術の当業者は、本発明の精神および範囲を逸脱することなく、本明細書に提供されるシステム、方法、および特徴が使用され得ることを、認識することができる。さらに、本明細書に引用されるあらゆる参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0021】

グルコースデヒドロゲナーゼ(GDH)はピロロキノリンキノン(PQQ)であって、そのPQQ補因子を伴う組み替え型および伴わない組み替え型の両方で市販されている、細菌酵素を含むことができる。

【0022】

例示的な実施形態において、バイオセンサは、1分あたり1マイクロアンペアの変化を測定することが可能なポテンショスタットを使用する電気化学電池を含むことができ、全血に加えられた $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のGDHが、チャンバ内で事前に乾燥されたフェリシアン化カリウムを含有するグルコース溶液を使用して、電気化学的に検出され得ることが、予測できる。フェリシアン化カリウムは、基質から電極への電子の運搬のためのメディエータの役割を果たすことができる。さらに、この伝達処理をより効率よくすることができる、フェナジンエトスルフェート(PES)などの第二メディエータも、乾燥されてバイオセンサのチャンバ内に入れられることが可能であり、わずか $50\text{ng}/\text{ml}$ のGDHが、同じポテンショスタットを使用して確実に検出されることが可能である。

【0023】

例示的な実施形態において、抗体の結合活性およびGDH活性の両方を維持するようにGDHが抗体に結合され得る場合、上述の電気化学的検出システムを使用して、GDHと同じ大きさの抗原では $50\text{ng}/\text{ml}$ 、すなわち、モル濃度では 500pM が、検出可能である。多くの抗原、たとえばC反応性タンパク質およびDダイマーにとって、これは例示的な患者集団に見られる濃度の全範囲の測定を可能にするのに十分であろう。

【0024】

10

20

30

40

50

しかし、有益な臨床範囲が上記よりも低くなり得る抗原が、多数存在するかも知れない。これらは、たとえば、多くのサイトカイン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)などのホルモン、ならびにトロポニンIおよびPro-BNPなどの心筋梗塞マーカーを含む。例示的な実施形態において、これらは、たとえば1~10pMまたはpM未満の範囲など、はるかに低い濃度で存在し得る。

【0025】

例示的な実施形態において、これらの低レベルで抗原の迅速な検出を可能にすることができる方法が提供され得る。本方法は、米国出願番号11/284,097と類似の形式を使用するが、しかしこれを細菌GDH酵素の2つの追加特性と組み合わせることができる。例示的な実施形態において、第一に、補因子PQQの活性の要件があり、第二に、不活性アポ酵素およびPQQは、安定した活性酵素を形成するために、通常のpH条件下で再結合することができる。

10

【0026】

メカニズム

上述のように、本実施形態は、たとえば結合反応などを通じて、様々な分析物の存在および/または濃度を報告するために使用され得る、使い捨てまたは使い捨てではない生物医学ストリップまたは検知装置に適用可能である。本明細書内で使用される際に、結合反応は、互いに結合する少なくとも2つの種を含むいずれかの反応を表す。これは、競合結合測定、置換結合測定、二重抗体サンドイッチ測定、などを含むことができる。

20

【0027】

単に便宜目的のため、このようなバイオセンサがどのように働くかというメカニズムが、流体試料中の標的抗原の存在および/または濃度を試験するために使用され得る、反応チャンバおよび検出チャンバの2つのチャンバを備えるバイオセンサに関して、記載される。これは説明目的のみのために行われ、本開示の範囲を限定するように意図されるものではないことは理解される。

【0028】

バイオセンサの反応チャンバは、標的抗原に対する抗体を含むことができる。抗体は、反応チャンバ内で固定化される。反応チャンバは、固定化された抗体および/または標的抗原に結合することができるプローブ剤分子を含むことができる。流体試料中の標的抗原の存在のために固定化された抗体に結合されないプローブ剤分子は、流体試料とともに検出チャンバに移動することができる。プローブ剤分子の各々は、活性剤の複数の複製を含むことができる。検出チャンバは、活性剤によって活性化され得る検出剤分子を含むことができる。活性化された検出剤は、検出チャンバ内で測定可能な信号を生成することができる。その結果は、定性的におよび/または定量的に、流体試料内の標的抗原の存在および/または濃度を示すことができる。反応チャンバおよび検出チャンバは、流体試料が制御された状態で反応チャンバから検出チャンバへ流れることができるように、配置されることが可能である。

30

【0029】

流体試料は反応チャンバに進入することができ、流体試料の成分は、免疫学的反応を受けることができる。たとえば、1つの標的抗原は、1つの固定化抗体および/または1つのプローブ剤分子と結合することができる。反応チャンバ内で免疫学的反応が起こった後、プローブ剤分子のうち少なくともいくつかは、反応した流体試料とともに検出チャンバに送られることが可能である。検出チャンバ内に流入するプローブ剤分子の数は、流体試料内の標的抗原の存在および/または濃度に依存することができる。1つのプローブ剤分子は、活性剤の複数の複製を含むことができる。1つの活性剤分子が1つの検出剤分子を活性化して1単位の信号を生成することができる場合、検出チャンバ内に流入する1つのプローブ剤分子は、複数単位の信号を生成することができる。これは、試験の感度、および/または精度、および/または速度を向上させることができる。信号は、測定されて、標的抗原の存在および/または濃度を示す結果を生成するように処理されることが可能である。

40

50

【0030】

例示的な実施形態において、結合反応は、相互に結合し合ういずれか2つの種の間であってもよい。プローブ剤は、検出チャンバ内で検出可能な信号の生成をもたらす可能性のある、いずれの薬剤であってもよい。

【0031】

特定の例示的な実施形態を理解しやすくするために、抗体を含む結合剤、結合剤と結合することができる抗原を含む標的分析物、および結合剤と結合することができるが、標的分析物と比較すると低い結合親和性を有する抗原を含むプローブ剤の例が使用されてもよい。抗体は、磁界によって反応チャンバ内に封じ込められる磁気ビーズ上に被覆されることで固定化されることが可能である。プローブ剤は、ピロロキノリンキノン(PQQ)グルコースデヒドロゲナーゼ(GDH)のための封入酵素補因子を含むことができる。補因子は、検出チャンバ内でアポGDH酵素と結合することができ、これに起因して電気信号が生じる。封入粒子が、たとえば、100個以上のPQQ分子を含み、それらの各々は1つのアポGDH分子と結合してこれを活性化することができる場合、磁気ビーズと結合している単一の抗体-PQQ-リポソームを抑制することによって、100個以上のGDH分子を活性化させることができる。このようにして、たとえば、各リポソームが100個のPQQを含む場合には、たとえばわずか5 pMの抗原が検出可能であり、各々が1000個のPQQを含む場合には、500 fMが検出可能である。

10

【0032】

しかし、(1)結合剤、および/または標的分析物、および/またはプローブ剤が、たとえば、互いに結合し合う可能性のあるいずれの種であってもよいこと、(2)プローブ剤が、たとえば、検出チャンバ内で検出可能な信号を生じることができるいずれかの薬剤であってもよく、プローブ剤が検出チャンバ内で複数の信号生成剤分子を活性化させることができること、および(3)信号検出方法が、電気化学的および/または光吸収および/または蛍光など、いずれかの適切な方法であってもよいことは、明確に理解されるべきである。

20

【0033】

バイオセンサ

装置は1つのチャンバを含むことができ、反応および検出が同じチャンバ内で行うことができる。装置は、反応チャンバおよび検出チャンバの、2つのチャンバを含むこともできる。装置は2つより多いチャンバを含むこともできる。単なる例として、反応チャンバおよび検出チャンバに加えて、装置は充填チャンバを含むことができる。装置は、1つの試験において同じまたは異なる検出メカニズムに基づいて2つ以上の信号が検出され得るように、1つの反応チャンバおよび2つの検出チャンバを含むことができる。信号は、結果の精度を改善するために、たとえば平均化することにより、処理されることが可能である。異なるパラメータを示す信号が、1つの試験において検出されることが可能である。単なる例として、循環器疾患に関連のある異なる炎症サイトカインが1つの試験において同時に測定されることが可能であり、このことによって疾患の状況の予測および/または監視がより正確になる。装置が2つ以上のチャンバを有する場合、これらのチャンバのいずれのペアも、相互に直接流体連絡することができる。本明細書内で使用される際に、「直接」とは、チャンバのペアが直列に接続されることが可能であり、および/または第三のチャンバを経由せずに、直接流体を交換することができることを示す。いくつかのチャンバが並列に接続され、および/または第三のチャンバを経由して流体を交換することも可能である。チャンバのペアの間には、流体試料が1つのチャンバから別のチャンバへ流れることが可能な流体通路があってもよい。流体通路を通る流れは、たとえば毛細管現象、空気圧、外力など、またはこれらのいずれかの組合せなどを介した力平衡によって制御されることが可能である。

30

40

【0034】

バイオセンサは、たとえば、図1Aに示されるような一般的に「V」字型形状、図1Bに示されるような「ツリー」型構成、図2~7に示される矩形構成などの形状を有するこ

50

とができる。図 1 A および図 1 B において、部位 8 は、反応チャンバおよび / または検出チャンバが位置する場所となり得る。

【 0 0 3 5 】

図 2 は、バイオセンサの例示的な図である。センサ 2 0 は、反応チャンバ 2 2、検出チャンバ 2 8、チャンバ 2 2 および 2 8 の間の試料通路 3 8 を含むことができる。通気孔 3 0 は、検出チャンバ 2 8 の遠位末端に位置することができる。反応チャンバ 2 2 は、センサ 2 0 の縁 3 7 にある反応チャンバ 2 2 の近位末端 2 4 に、進入部 2 5 を含むことができる。接触領域 6 6 は、センサ 2 0 の末端に位置することができる、センサを計測器（図示せず）と電氣的に接続することができる。反応チャンバ 2 2 は、雰囲気に対して開口され得る通気孔 2 6 を含むことができ、これが流体試料によって置換された空気を逃がす。流体試料は反応チャンバ通気孔 2 6 まで満たされるまで反応チャンバ 2 2 内に引き込まれることが可能であり、その時点で充填が停止することができる。反応チャンバ 2 2 の容積は、少なくとも検出チャンバ 2 8 の容積と等しく、好ましくはそれより大きくなるように、選択される。

10

【 0 0 3 6 】

図 3 は、線 2 - 2 に沿った図 2 のバイオセンサの断面図である。センサ 2 0 の中間シート 3 6 は、反応チャンバ 2 2 および検出チャンバ 2 8 の側壁を定義する開口を有する。中間シート 3 6 は、1 つ以上の追加層 3 2、3 4 の間に挟まれており、追加層 3 2 および 3 4 は、反応チャンバ 2 2 にのみ対応する開口を有している。検出チャンバ 2 8 については、層 3 2 および 3 4 は、チャンバの端壁 6 0、6 2（すなわち、上面および底面）を定義することができる。検出チャンバの端壁 6 0 および 6 2 は、接続手段を通じて、測定回路に電氣的に接続可能な電極 5 4 および 5 2 を含む。反応チャンバ 2 2 は、1 つの内表面上に固定化結合剤分子 4 4 を、および対向する内表面上にプローブ剤分子を含むことができる。検出チャンバ 2 8 は、電極 5 4 および 5 2、酵素基質 6 4 などの少なくとも 1 つの内表面上に被覆された試薬、およびチャンバの遠位末端にある通気孔 3 0 を含むことができる。外層 4 2 および 4 6 は、センサ 2 0 を通じて縦方向に延在し、最初から穿孔されていない。層 4 6 の一部が、通気孔 3 0 を開口するために、5 6 において除去されてもよい。通気孔 5 6 は、たとえば、装置の外層に穴を空けること、装置の外層の一部を除去すること、および / または装置の一部を切り離すことなどによる様々な方法で開口されることが可能である。

20

30

【 0 0 3 7 】

図 4 は、バイオセンサ 1 2 0 の別の実施形態の上面図である。センサ 1 2 0 は、充填チャンバ 1 0 7、反応チャンバ 1 2 2、および検出チャンバ 1 2 8 を含むことができる。3 つのチャンバは、流体連絡に関して、直列に接続されている。スクラッチ 1 0 6 は、検出チャンバ 1 2 8 の近位末端の付近に位置することができる。通気孔 1 3 0 は、検出チャンバ 1 2 8 の遠位末端に位置することができる。電氣的接触領域 1 0 1、1 0 2、および 1 0 3 は、センサを計測器に電氣的に接続することができる。

【 0 0 3 8 】

図 5 A は、線 4 A - 4 A に沿った図 4 のバイオセンサの断面図である。充填チャンバ 1 0 7 は、下層 1 3 4 およびスペーサ層 1 3 6 の一部を除去しながら上層 1 3 2 および封止層 1 4 2 を無傷のまま残すことによって、形成されることが可能である。封止層 1 4 2 は、層 1 3 4 の外側に接着されることが可能であり、層 1 3 4 および 1 3 6 の切り取り部分ならびに層 1 3 2 の辺を用いて、毛細管現象によって試料を内部に引き込むことができる毛細管路を形成するのに役立つことができる。

40

【 0 0 3 9 】

図 5 B は、線 4 B - 4 B に沿った図 4 のバイオセンサの断面図である。通気孔穴 1 3 0 は、上層 1 3 2（または下層 1 3 4）の部分除去すること、または上層 1 3 2（または下層 1 3 4）を穿孔することによって、検出チャンバ 1 2 8 に組み込まれることが可能である。層 1 4 6 は、開口部を密封するために、ストリップの上面に積層されることが可能である。あるいは、下層 1 3 4 の一部が除去される場合、封止層 1 4 2 は、通気孔穴 1 3

50

0を開口するために、穿孔/除去されてもよい。

【0040】

図5Cは、線4C-4Cに沿った図4のバイオセンサの断面図である。上層および下層132、134上の導電性フィルムの一部は、電気化学反応を行うための電極152、154を提供する。封止層142は、層134の外側に接着されることが可能である。層142によって覆われていない層134の底面の一部は、センサを測定器に電氣的に接続することができる電氣的接触領域を提供することができる。反応チャンバ122および検出チャンバ128は、スペーサ層136の一部を除去しながら上層132および下層134を無傷のまま残すことによって、形成されることが可能である。

【0041】

図5Dは、線4D-4Dに沿った図4のバイオセンサの断面図である。充填チャンバ107は、下層134およびスペーサ層136の一部を除去しながら上層132および封止層142を無傷のまま残すことによって、形成されることが可能である。封止層142は、層134の外側に接着されることが可能である。反応チャンバ122は、スペーサ層136の一部を除去しながら上層132および下層134を無傷のまま残すことによって、定義されることが可能である。接触領域103は、上層132の導電性表面が露出されるように、下層134およびスペーサ層136の一部を除去することによって、形成されることが可能である。

【0042】

図6は、バイオセンサの例示的实施形態である。バイオセンサは、充填チャンバ(1)、反応チャンバ(2)、および検出チャンバ(3)を含むことができる。3つのチャンバは、流体連絡に関して直列に接続されている。スクラッチ(4)は、検出チャンバ(3)の近位末端の付近に位置することができる。通気孔穴(5)は、検出チャンバ(3)の遠位末端に位置することができる。バイオセンサは、対向する電極(6)を含むことができる。

【0043】

図7は、化学物質の位置を示す、図4または図6のバイオセンサの断面図である。反応チャンバは、上方内表面上に固定化結合剤分子を、および底部内表面上にプローブ剤分子を含むことができる。上部内表面は、検出チャンバ内まで延在することができる上部電極(1)であってもよい。底部内表面は、検出チャンバ内まで延在することができる底部電極(4)を含むことができる。結合剤は、磁気ビーズ(2)上に被覆されることが可能な抗原を含むことができる。磁気ビーズは、センサの底部の磁石(3)によって反応チャンバ内に封じ込められることが可能である。プローブ剤は、リボソーム(5)内に封入されたPQQ分子、および結合パートナーを含むことができる。検出チャンバは、上部内表面上のアポGDH(6)、および底部内表面上のその他の検出化学物質試薬(7)を含むことができる。

【0044】

バイオセンサを使用する試験は、約100ミリリットル未満、または約50ミリリットル未満、または約20ミリリットル未満、または約10ミリリットル未満、または約5ミリリットル未満、または約3ミリリットル未満、または約2ミリリットル未満、または約1ミリリットル未満、または約500マイクロリットル未満、または約200マイクロリットル未満、または約100マイクロリットル未満、または約50マイクロリットル未満、または約10マイクロリットル未満、または約1マイクロリットル未満、または約0.5マイクロリットル未満、または約0.3マイクロリットル未満、または約0.1マイクロリットル未満の流体試料を使用することができる。

【0045】

バイオセンサは、少なくとも1つの反応チャンバを含むことができる。反応チャンバは、近位末端および遠位末端を有することができる。流体試料は、近位末端から反応チャンバに進入することができ、遠位末端から流体通路を通じて、反応チャンバを出て、および/または検出チャンバ内に流入することができる。

10

20

30

40

50

【0046】

反応チャンバは、反応チャンバの外部および/または内部を定義することができる、少なくとも1つの壁を含むことができる。反応チャンバの少なくとも1つの壁は、たとえばポリエステル、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリオレフィン、ポリエチレン、テレフタレート、またはそれらの混合物などの材料を含むことができる。反応チャンバの少なくとも1つの壁は、たとえば、二酸化チタン、炭素、シリカ、ガラス、およびそれらの混合物などの充填剤を含むことができる。

【0047】

反応チャンバは、ある容積の内部を含むことができ、少なくともその一部が流体試料にアクセス可能である。容積は、約100ミリリットル未満、または約50ミリリットル未満、または約20ミリリットル未満、または約10ミリリットル未満、または約5ミリリットル未満、または約3ミリリットル未満、または約2ミリリットル未満、または約1ミリリットル未満、または約500マイクロリットル未満、または約200マイクロリットル未満、または約100マイクロリットル未満、または約50マイクロリットル未満、または約10マイクロリットル未満、または約1マイクロリットル未満、または約0.5マイクロリットル未満、または約0.3マイクロリットル未満、または約0.1マイクロリットル未満であってもよい。反応チャンバの内部は、正方形、長方形、円形、楕円形、三角形、菱形、台形などの断面形状を含むことができる。断面は、反応チャンバ内の流体試料のバルク流の方向に対して直角であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って、サイズおよび/または形状が均一であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って可変であってよい。単なる例として、断面は、バルク流の方向に沿って先が細くなってもよい。

10

20

【0048】

反応チャンバは、毛細管距離 h_1 を含むことができる。毛細管距離は、流体試料に対する毛細管力の大きさを決定する、反応チャンバおよび/またはその断面の寸法を指すことができる。毛細管距離は、反応チャンバの内部の最小寸法となることができる。毛細管力の大きさは、毛細管距離と逆相関することができる。毛細管距離は、約1センチメートル未満、または約5ミリメートル未満、または約2ミリメートル未満、または約1ミリメートル未満、または約500マイクロメートル未満、または約200マイクロメートル未満、および約100マイクロメートル未満、または約50マイクロメートル未満であってもよい。装置の異なるチャンバの間で流体試料を移動させる外力を発生させることが可能なユーザおよび/または装置によって、バイオセンサが使用される場合、装置および/またはそのチャンバは、より大きい寸法を含むことができる。単なる例として、バイオセンサは、約100センチメートル未満、または約50センチメートル未満、または約20センチメートル未満、または約10センチメートル未満、または約5センチメートル未満、または約1センチメートル未満の特徴的な長さを含むことができる。本明細書内で使用される際に、特徴的な長さとは、反応チャンバの断面全体を包囲する最小円の直径を指す。

30

【0049】

反応チャンバの内部は、少なくとも1つの内表面を含むことができる。内表面は、反応チャンバの内部の断面形状および/または容積を定義することができる、内壁を含むことができる。内壁は、固体材料、繊維性材料、マクロ多孔性材料、粉末状材料など、またはそれらの組合せを含むことができるが、これらに限定されるものではない。内表面は、反応チャンバ内の少なくとも1つの独立支持体の内表面を含むことができる。適切な支持体は、固体材料、メッシュ材料、繊維性材料、多孔性材料、粉末状材料、またはビーズ状の材料、またはそれらの混合物を含むことができるが、これらに限定されるものではない。メッシュ材料は、たとえば、ポリオレフィン、ポリエステル、ナイロン、セルロース、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリスルホンなどのポリマー、またはそれらの混合物を含むことができる。繊維性材料は、たとえば、ポリオレフィン、ポリエステル、ナイロン、セルロース、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリスルホンなどのポリマー、またはそれらの混合物を含むことができる。多孔性材料は、たとえば、焼結粉末、またはマクロ

40

50

多孔性膜を含むことができる。マクロ多孔性膜は、たとえば、ポリスルホン、ポリフッ化ビニリデン、ナイロン、酢酸セルロース、ポリメタクリレート、ポリアクリレートなどのポリマー材料、およびそれらの混合物を含むことができる。ビーズ材料は、たとえば結合剤などの試薬に適切な支持体が提供されるように選択されることが可能である。適切なビーズは、ノルウェイ、オスロのダイナルバイオテック (Dyna1 Biotech) よりダイナビーズRTM (DYNABEADS, RTM) として市販されているものを含むことができる。ビーズは、たとえば磁気ビーズを含むことができる。支持体は、以下の恩恵のうち、少なくとも1つを有することができる。第一に、反応チャンバ内において、たとえば結合剤、プローブ剤などの試薬が取り付けられる表面、および/または結合反応が起こり得る表面を増加させることができる。これにより、反応時間、および/または望ましくない処理 (たとえば、汚染、凝固など) が発生する可能性を、減少させることができる。第二に、反応チャンバの毛細管距離を減少させることにより、流体試料に対する毛細管力を増加させることができる。反応チャンバは雰囲気に対して開口された通気孔を含むことができ、したがって試料によって置換された空気を逃がす。流体試料は、反応チャンバが反応チャンバ通気孔まで満たされるまで、反応チャンバ内に引き込まれることが可能であり、その時点で充填が停止することができる。検出チャンバの容積は、大まかに反応チャンバの容積と等しく、好ましくはそれよりも小さくなるように、選択され得る。検出チャンバの容積は、反応チャンバの容積の約100%、または約95%、または約90%、または約85%、または約80%、または約75%、または約70%、または約60%、または約50%未満であってもよい。

10

20

【0050】

反応チャンバは、結合剤およびプローブ剤を含むことができる。結合剤とプローブ剤の相対的な量は、結合剤がプローブ剤をわずかに超過するように選択されることができる。この文脈において、わずかな超過とは、流体試料中で検出される標的分析物の量と比較したときに超過が小さいように定義されることが可能である。たとえば、超過は、流体試料中で期待される標的分析物の平均量の約40%未満、または約30%未満、または約25%未満、または約15%未満、または約10%未満、または約5%未満、または約3%未満、または約2%未満、または約1%未満を含むことができる。標的分析物の平均量は、たとえば、標的病態があるおよび/またはない対象母集団について見積もられることが可能である。

30

【0051】

結合剤は、結合剤および反応中にそれらに結合する種が、試験の間中ずっと反応チャンバ内に残留できるように、反応チャンバ内の少なくとも1つの内表面上で固定化されることが可能である。プローブ剤は、反応チャンバ内の少なくとも1つの内表面上で支持されることが可能である。固定化結合剤分子に結合されていないプローブ剤分子は、直接的または間接的に、流体試料とともに検出チャンバに移動することができる。本明細書で使用される際に、「直接的」とは、プローブ剤分子の一部が、結合剤分子の一部、たとえば結合部位と結合することを意味し、その一方で「間接的」とは、プローブ剤が別の薬剤、たとえば直接的または間接的に固定化結合剤と結合する標的分析物と、結合することを意味する。

40

【0052】

結合剤は、吸収されるか、あるいは化学結合を通じて反応チャンバの少なくとも1つの内表面上に固定化されることが可能である。結合剤は、試験の間中、反応チャンバ内に封じ込められることができるビーズ上に被覆されることが可能である。単なる例として、ビーズは磁気ビーズであってもよく、バイオセンサは、結合剤が被覆した磁気ビーズを反応チャンバ内に封じ込めるための磁界を含むことができる。たとえば、反応チャンバの下の磁石は、磁気ビーズの移動、およびビーズ上に被覆された結合剤および結合剤分子に結合したプローブ剤分子など、直接的または間接的にビーズに結合し得るいずれかの種の移動を防止することができる。その結果、例示的实施形態において、磁気ビーズに結合していないプローブ剤分子は、検出チャンバ内で測定されることが可能である。たとえば、流体

50

試料中の標的分析物の量および/または濃度は、検出チャンバ内に放出され得るプローブ剤の量/濃度と相関することができる。

【0053】

プローブ剤は、結合パートナーおよびビヒクルを含むことができる。結合パートナーは、ビヒクルの表面と結合することができる。ビヒクルは、活性剤の少なくとも1つの複製を含むことができる。結合パートナーは、固定化結合剤分子と、または固定化結合剤分子と結合しない自由標的分析物と、または固定化結合剤分子と結合する標的分析物と、プローブ剤分子との結合を促進することができる。活性剤の少なくとも1つの複製は、ビヒクル上に表面被覆されるか、またはビヒクル内に封入されることが可能である。

【0054】

プローブ剤分子は、反応チャンバの少なくとも1つの内表面上で支持されることが可能である。反応チャンバの内表面およびプローブ剤分子の被覆方法は、プローブ剤分子と内表面との間に弱い結合しか存在できないように選択され得る。このように、プローブ剤分子は、内表面が試料によって濡れているときに、試料内に遊離されることが可能である。内表面からのプローブ剤分子の溶解率は、試料が反応チャンバを充填する間に溶解がほとんど起こらないように選択されることが可能である。このように、プローブ剤分子は、充填後に反応チャンバの領域全体に均一に分散され得る。プローブ剤分子が支持される内表面は、結合剤分子が固定化される内表面と同じでも、異なってもよい。

【0055】

いくつかの実施形態において、プローブ剤分子は、流体試料が反応チャンバを充填してプローブ剤分子を溶解する前に、結合剤分子から分離すること、および/または結合剤と結合しないことができる。いくつかの実施形態において、プローブ剤分子は、反応チャンバ内で流体試料によって溶解された後、標的分析物と比較して低い結合親和性で、固定化された薬剤分子に結合され、競合測定を形成する。固定化結合剤分子との結合パートナーを通じたプローブ剤分子の低結合親和性は、以下の理由のうちの少なくとも1つによる。第一に、プローブ剤分子は、プローブ剤分子の結合パートナーとビヒクルが結合しているため、および/または標的分析物よりも結合パートナー自体のサイズが大きいため、標的分析物と比較して大きいサイズを含むことができる。第二に、プローブ剤分子の結合パートナーは、プローブ剤分子が結合パートナーを通じて固定化結合剤分子と結合することができるが、結合親和性は減少するように、標的分析物の化学的またはその他の方法で修飾されたバージョンであってもよい。プローブ剤分子が流体試料によって最初に溶解される必要があるため、および/または標的分析物よりも大きいサイズゆえに流体試料中でよりゆっくりと動くことができるため、プローブ剤分子の内部結合速度論もまた、プローブ剤分子が固定化結合剤分子に到達するのに流体試料中の標的分析物よりも長い時間かかることの結果として生じることができる。このように、流体試料中の標的分析物の量/濃度は、プローブ剤が定性的および/または定量的に測定され得る検出チャンバに放出されたプローブ剤の量/濃度と正相関することができる。別の実施形態では、反応チャンバ内で流体試料によって溶解された後、プローブ剤分子は、標的分析物と結合して、サンドイッチ測定または競合結合測定を形成することができる。サンドイッチ測定は、標的分析物が固定化結合剤分子と結合した後にプローブ剤分子が標的分析物と結合することができると形成され得る。このように、流体試料中の標的分析物の量/濃度は、プローブ剤分子が定性的および/または定量的に測定され得る検出チャンバに放出されるプローブ剤分子の量/濃度と逆相関することができる。競合結合測定は、プローブ剤分子が、反応チャンバ内で流体試料によって溶解されたとき、固定化結合剤分子と結合するよりも高い結合親和性で自由標的分析物と結合することができる場合に、形成可能である。自由標的分析物とは、本明細書内で使用される際に、固定化結合剤分子と結合しない標的分析物を指す。このように、流体試料中の標的分析物の量/濃度は、プローブ剤分子が定性的および/または定量的に測定可能な検出チャンバに放出されるプローブ剤の量/濃度と正相関することができる。

【0056】

いくつかの実施形態において、バイオセンサが製造されているとき、および/またはそのようなバイオセンサを使用した流体試料の試験の前に、プローブ剤分子は、固定化結合剤分子と結合することができる。そのようなプローブ剤分子の結合パートナーは、疑似分析物、修飾分析物などを含むことができる。本明細書内で使用される際に、疑似分析物は、固定化結合剤分子と結合できるが、標的分析物ほど強くは結合しないものを含むことができる。単なる例として、標的分析物がヒトタンパク質である場合、適切な疑似分析物は、イヌタンパク質またはブタタンパク質など、同じタンパク質の動物バージョンを含むことができる。修飾分析物は、結合剤分子との結合親和性が減少するように、化学的またはその他の方法で修飾されたものを含むことができる。結合パートナーを通じた固定化結合剤分子とのプローブ剤分子の結合親和性は、標的分析物の結合親和性よりも低い場合がある。10
プローブ剤分子の結合パートナーを通じた固定化結合剤分子との低い結合親和性は、以下の理由のうちの少なくとも1つによる。第一に、プローブ分子の結合パートナーとビヒクルが結合しているため、および/または結合パートナー自体のサイズが大きいため、プローブ剤は、標的分析物と比較してより大きいサイズを含むことができる。第二に、プローブ分子が結合パートナーを通じて固定化結合剤分子と結合することができるが、結合親和性は減少するように、プローブ剤分子の結合パートナーは、標的分析物の化学的またはその他の方法で修飾されたバージョン、または異なるバージョン（たとえばヒト分析物の動物バージョン）であってもよい。プローブ剤分子は、反応チャンバ内で流体試料によって溶解された後、低結合親和性のため、結合剤分子から標的分析物によって置換されることが可能である。このように、流体試料中の標的分析物の量/濃度は、置換されて、20
プローブ剤分子が定性的および/または定量的に測定され得る検出チャンバに放出された、プローブ剤分子の量/濃度と正相関することができる。

【0057】

プローブ剤分子は、ビヒクルを含むことができる。いくつかの実施形態において、ビヒクルは、たとえば放射性同位体、発色団、または蛍光色素など、少なくとも1つの標識分子を含むことができる。ビヒクルは、少なくとも約10個の標識分子、または少なくとも約50個の標識分子、または少なくとも約100個の標識分子、または少なくとも約200個の標識分子、または少なくとも約500個の標識分子、または少なくとも約1,000個の標識分子、または少なくとも約5,000個の標識分子、または少なくとも約10,000個の標識分子、または少なくとも約50,000個の標識分子、または少なくとも約100,000個の標識分子を含むことができる。標識分子は、ビヒクルの表面上に被覆されてもよく、またはビヒクルの中に封入されてもよい。ビヒクルは脂質粒子を含むことができる。標識分子は脂質粒子内に封入されることが可能である。脂質粒子は、リポソーム、小胞、細胞器官などから選択される、1つの粒子を含むことができる。ビヒクルはポリマーを含むことができる。活性剤分子は、ポリマーの表面と結合することができる。ポリマーは、デンドリマーなどを含むことができる。30

【0058】

その他の実施形態において、ビヒクルは、活性剤の少なくとも1つの複製を含むことができる。ビヒクルは、活性剤の複数の複製を含むことができる。ビヒクルは、活性剤の、少なくとも約5個の複製、または少なくとも約10個の複製、または少なくとも約50個の複製、または少なくとも約100個の複製、または少なくとも約200個の複製、または少なくとも約500個の複製、または少なくとも約1,000個の複製、または少なくとも約5,000個の複製、または少なくとも約10,000個の複製、または少なくとも約50,000個の複製、または少なくとも約100,000個の複製を含むことができる。活性剤分子は、ビヒクルの表面上に被覆されてもよく、またはビヒクルの中に封入されてもよい。ビヒクルは脂質粒子を含むことができる。活性剤分子は脂質粒子の中に封入されることが可能である。脂質粒子は、リポソーム、小胞、細胞器官などから選択される、1つの粒子を含むことができる。ビヒクルはポリマーを含むことができる、活性剤分子は、ポリマーの表面と結合することができる。ポリマーは、デンドリマーなどを含むことができる。40

【0059】

活性剤分子は、信号が生成されて検出されるように、検出チャンバ内で検出剤分子を活性化させることができる。単なる例として、検出剤は酵素を含むことができ、活性剤は、酵素を活性化させることが可能な補因子を含むことができる。より具体的な例として、検出剤はアポ酵素を含むことができ、活性剤は対応する補因子を含むことができる。アポ酵素と補因子とのペアは、アポグルコースオキシダーゼおよびフラビンアデニンジヌクレオチドを含むことができる。アポ酵素と補因子とのペアは、アポグルコースデヒドロゲナーゼおよびPQQを含むことができる。

【0060】

反応チャンバは、結合剤およびプローブ剤の他に、たとえば遮断薬、不活性化剤、またはそれらのいずれかの組合せなどの他の薬剤を含むことができる。

10

【0061】

遮断薬は、固定化結合剤、プローブ剤、および/または反応チャンバ内の内表面上への、薬剤の非特異的結合を遮断することができる。薬剤は、たとえばタンパク質または脂質粒子など、試験される流体試料中に存在する少なくとも1つを含むことができる。脂質粒子は、リポソーム、小胞、細胞器官などから選択される、少なくとも1つであってもよい。遮断薬は、遮断タンパク質および界面活性剤から選択される、少なくとも1つの薬剤を含むことができる。遮断タンパク質は、たとえば、ウシ血清タンパク質を含むことができる。非イオン界面活性剤は、たとえばペンシルバニア州フィラデルフィアのローム・アンド・ハース(Rohm & Haas)によって製造されているトリトンX-100(TRI TON X 100)、またはデラウェア州ウィルミントンのICIアメリカズ(ICI Americas)によって製造されているツイン(TWEEN)など、そのような薬剤としても使用されてもよい。いくつかの実施形態において、選択された非イオン界面活性剤は、タンパク質を変性させない。遮断薬は、反応チャンバのいずれかの内表面上に被覆されることが可能であり、内表面として、結合剤分子が固定化される場所、および/またはプローブ剤分子が支持される場所、および/または結合剤分子もプローブ剤分子も被覆されない場所が含まれる。遮断薬およびそれらと結合する薬剤は、試験の間、反応チャンバ内に封じ込められることが可能である。これは、結合剤分子が反応チャンバ内で固定化され得る方法のいずれによっても実現可能である。単なる例として、結合剤は、反応チャンバの多孔性内表面上に吸収されることが可能である。

20

30

【0062】

不活性化剤は、非結合または非封入活性剤と結合することができる。これにより、流体試料中の標的分析物の存在とは無関係な方法で、非結合または非封入活性剤が検出チャンバへ移動して検出剤を活性化させるのを防止することができるが、これは試験の精度および/または有効性を損なう可能性がある。本明細書で使用される際に、「非結合」または「非封入」とは、ビヒクル(およびプローブ剤)が反応チャンバ内にあるとき、および/またはビヒクル(およびプローブ剤)が反応した流体試料とともに検出チャンバに移動する前に、ビヒクルと結合せず、ビヒクルに封入されず、他の方法でも一体化されないことを意味する。これは、製造、保管の間、またはpH、温度などの特定の条件での試験の間に、漏れやすくなり、または破れ、または活性剤分子を脱着させる可能性のある、プローブ剤のビヒクルに起因する可能性がある。不活性化剤は、非結合または非封入活性剤と結合することが可能ないかなる薬剤も含むことができる。たとえば、活性剤がアポ酵素と結合することができる補因子を含む場合、不活性化剤はアポ酵素を含むことができる。不活性化剤分子は、反応チャンバの内表面上で固定化されることが可能である。したがって、それらと結合した活性剤分子は、試験の間、反応チャンバ内に封じ込められることが可能である。これにより、流体試料中の標的分析物の存在および/または量とは無関係な方法で、検出チャンバへ移動することができる非結合または非封入活性剤分子の量を減少させることができる。不活性化剤分子は、結合剤分子が反応チャンバ内で固定化され得るいずれかの方法によって固定化されることが可能である。単なる例として、不活性化剤分子は、それらを磁気ビーズと結合させることによって、反応チャンバ内で固定化されることが

40

50

可能であり、磁気ビーズは、磁界によって反応チャンバ内に封じ込められることが可能である。

【0063】

反応チャンバは、たとえば反応チャンバ内など、流体試料のpHを調整することができる緩衝剤を含むことができる。緩衝剤は、製造および/または保管の間、反応チャンバ内の試薬の少なくとも1つを安定させることができる。緩衝剤は、リン酸塩、クエン酸塩、シトラコン酸塩、メリト酸塩、トリス、PIPES、MOPS、HEPES、フタル酸塩、イマダゾールから選択される物質を含むことができる。

【0064】

反応チャンバ内の反応には、約0.1秒から約60秒、または約1秒から約30分、または約10秒から約25分、または約20秒から約20分、または約30秒から約15分、または約1分から約10分、または約2分から約8分、または約3分から約5分かかる可能性がある。

10

【0065】

装置は、少なくとも1つの検出チャンバを含むことができる。検出チャンバは、近位末端および遠位末端を有することができる。流体試料が反応チャンバ内での反応を完了した後、反応チャンバの遠位末端から反応チャンバを出る、反応した流体試料は、その近位末端から試料通路を通じて検出チャンバに進入することができる。検出チャンバは、検出チャンバへ移動するプローブ剤分子の存在および/または量に依存する方法で、検出チャンバ内で生成された信号を検出できるように構成されている。

20

【0066】

検出チャンバは、検出チャンバの外部および/または内部を定義することができる、少なくとも1つの壁を含むことができる。検出チャンバの少なくとも1つの壁は、充填剤を含むことができる。少なくとも1つの壁の設計および検出チャンバの充填剤は、反応チャンバのものと同様であってもよい。

【0067】

検出チャンバは、ある容積の内部を含むことができ、少なくともその一部が流体試料にアクセス可能である。容積は、約100ミリリットル未満、または約50ミリリットル未満、または約20ミリリットル未満、または約10ミリリットル未満、または約5ミリリットル未満、または約3ミリリットル未満、または約2ミリリットル未満、または約1ミリリットル未満、または500マイクロリットル未満、または約200マイクロリットル未満、または約100マイクロリットル未満、または約50マイクロリットル未満、または約10マイクロリットル未満、または約1マイクロリットル未満、または約0.5マイクロリットル未満、または約0.3マイクロリットル未満、または約0.1マイクロリットル未満であってもよい。検出チャンバの内部は、正方形、長方形、円形、楕円形、三角形、菱形、台形などの断面形状を含むことができる。断面は、検出チャンバ内の流体試料のバルク流の方向に対して直角であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って、サイズおよび/または形状が均一であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って可変であってもよい。単なる例として、断面は、バルク流の方向に沿って先が細くなってもよい。

30

【0068】

検出チャンバは、毛細管距離 h_2 を含むことができる。毛細管力の大きさは、毛細管距離と逆相関することができる。毛細管距離は、約1センチメートル未満、または約5ミリメートル未満、または約2ミリメートル未満、または約1ミリメートル未満、または約500マイクロメートル未満、または約200マイクロメートル未満、および約100マイクロメートル未満、または約50マイクロメートル未満であってもよい。検出チャンバの毛細管距離 h_2 は、反応チャンバの毛細管距離 h_1 よりも小さくてもよい。装置の異なるチャンバの間で流体試料を移動させる外力を発生させることが可能なユーザおよび/または装置によって、バイオセンサが使用される場合、装置および/またはそのチャンバは、より大きい寸法を含むことができる。本明細書内で使用される際に、外力は、検出チャンバの通気孔を開口するためにユーザによって生じる力を含まない。単なる例として、装置

40

50

は、約100センチメートル未満、または約50センチメートル未満、または約20センチメートル未満、または約10センチメートル未満、または約5センチメートル未満、または約1センチメートル未満の特徴的な長さを含むことができる。本明細書内で使用される際に、特徴的な長さとは、検出チャンバの断面全体を包囲する最小円の直径を指す。

【0069】

検出チャンバの内部は、少なくとも1つの内表面を含むことができる。内表面は、検出チャンバの内部の断面形状および/または容積を定義することができる、内壁を含むことができる。内表面は、検出チャンバ内の少なくとも1つの独立支持体の内表面を含むことができる。検出チャンバの内壁および/または独立支持体は、反応チャンバのものと同様であってもよい。

10

【0070】

検出チャンバは、雰囲気に対して開口された通気孔を含むことができる。通気孔は、検出チャンバの遠位末端に位置することができる。例示的な構成は、図2の通気孔30および図4の通気孔130として示されている。通気孔は、最初は閉鎖されていてもよい。このようにして、反応チャンバが流体試料で満たされると、検出チャンバへの試料通路は、検出チャンバ内に閉じこめられた空気によって生じた空気圧によって遮断されることが可能である。この空気圧は、流体試料が検出チャンバを満たすのを、実質的に防止することができる。試料が検出チャンバへの試料通路と最初に接触する時と、試料が試料通路の遠位側に接触する時との間の時間に、少量の試料が検出チャンバに進入することができる。試料通路から検出チャンバまでにわたり完全に試料で濡れると、検出チャンバの充填が停止することができる。反応チャンバの容積は、検出チャンバの容積と少なくとも等しく、好ましくはそれよりも大きくなるように選択され得る。検出チャンバの通気孔を雰囲気に向けて開口することにより、試料は検出チャンバを充填するために搬送されることが可能である。通気孔は、たとえば、装置を穿孔すること、および/または外層を除去すること、および/または装置の一部を切り離すこと(すなわち、ミシン目に沿って切り離すこと)によって、開口されることが可能である。単なる例として、通気孔は、ユーザ、または装置に接続された計測器のソレノイドによって制御される針を使用して、開口されることが可能である。通気孔を開口することにより、試料によって置換されて検出チャンバ内に閉じこめられた空気を逃がすことができ、したがって、空気圧を減少させることができ、流体試料中が検出チャンバを満たすのを防止することができる。装置は、検出チャンバ内の流体試料にかかる毛細管力が反応チャンバに存在するものよりも高くなるように構成されることが可能である。毛細管力の増加は、反応チャンバおよび検出チャンバの内表面を適切に被覆することによって、および/または検出チャンバの毛細管距離 h_2 を反応チャンバの毛細管距離 h_1 よりも短くなるように選択することによって提供されることが可能である。このようにして、流体試料は、ユーザによって、または、たとえばポンプやシリンジなどの外部装置によって生じるいかなるその他の外力も必要とせずに、単に通気孔を開口することによって、検出チャンバ内に引き込まれることが可能である。別の実施形態において、検出チャンバを(反応した)流体試料で満たすことは、ユーザによって、あるいは、たとえばポンプ、シリンジ、またはそれらの組合せなどの外部装置によって生じる外力で制御されることが可能である。外力は、毛細管力に加えて、反応チャンバから検出チャンバに流体試料を移動させるための補助力として供給されることも可能である。本明細書内で使用される際に、外力は、たとえば穿孔によって、検出チャンバの通気孔を開口させるためにユーザによって生じる力を含まない。

20

30

40

【0071】

プローブ剤分子は、反応した流体試料とともに、検出チャンバに搬送されることが可能である。検出チャンバ内のプローブ剤分子の存在は、たとえば放射性同位体、発色団、または蛍光色素などの標識分子によって生成された信号によって、定性的および/または定量的に検出されることが可能である。検出チャンバの少なくとも1つの壁は、そのような標識分子によって生成された信号に対して透過性であってもよい。単なる例として、検出チャンバの少なくとも1つの壁は、放射性同位体によって放射または吸収される放射線に

50

対して透明であってもよく、放射線は、検出チャンバ内のプローブ剤分子の存在または非存在を示すことができる。

【0072】

検出チャンバ内のプローブ剤分子の存在は、電気化学反応によって定性的および/または定量的に検出されることが可能である。そのような実施形態において、検出チャンバは、少なくとも2つの対向する電極、少なくとも1つの検知/作用電極、および少なくとも1つの対/参照電極を含むことができる、電気化学電池を含むことができる。反応した流体試料中のプローブ剤分子の存在を検出するステップは：電気化学電池の検知/作用電極と対/参照電極との間に電位を印加するステップと；電流を測定するステップとを含み、電流は、検出チャンバ内の反応した流体試料内のプローブ剤の定性的および/または定量的な表示となることができ、これは流体試料中の標的分析物の定性的および/または定量的な表示でもあり得る。

10

【0073】

検知電極は、抗酸化剤の場合は還元された酸化還元剤、または酸化剤の場合には酸化した酸化還元剤の量に対して敏感になることができる。検知電極の電位が存在する分析物のレベルを示す電位差測定センサの場合、少なくとももう1つの電極が、基準電位を供給する参照電極の役割を果たすことができる。検知電極電流が試料中の分析物のレベルを示す電流測定センサの場合、少なくとももう1つの電極が、電気回路と競合する対電極、および/または参照電極の役割を果たすことができる。あるいは、対電極および参照電極は、2つの個別の電極であってもよい。

20

【0074】

電極のうちの少なくとも1つは、たとえばアルミニウム、銅、ニッケル、クロミウム、鋼、ステンレス鋼、パラジウム、白金、金、イリジウム、炭素、炭素と結合剤との混合物、酸化インジウム、酸化スズ、導電性ポリマー、またはそれらの混合物などの、導電性材料を含むことができる。電気化学電池の陽極は、たとえばアルミニウム、銅、ニッケル、クロミウム、鋼、ステンレス鋼、白金、パラジウム、炭素、炭素と結合剤との混合物、酸化インジウム、酸化スズ、インジウム/酸化スズ混合物、金、銀、イリジウム、導電性ポリマーなど、またはそれらの混合物などの、導電性材料を含むことができる。導電性ポリマーは、たとえばポリピロールまたはポリアセチレンなど、またはそれらの組合せなどを含むことができる。装置の製造または保管中に酸化物質に接触する可能性のある、電気化学電池の陰極および/または電極は、たとえば白金、パラジウム、炭素、炭素と結合剤との混合物、酸化インジウム、酸化スズ、インジウム/酸化スズ混合物、金、銀、イリジウム、導電性ポリマーなど、またはそれらの混合物などの、少なくとも1つの導電性材料を含むことができる。導電性ポリマーは、たとえばポリピロールまたはポリアセチレンなど、またはそれらの組合せなどを含むことができる。電極としての使用に適した材料は、装置内に存在する試薬と適合することができ、すなわち、これらは選択された電位において、および/またはセンサの製造中、および/または保管中、および/または使用中に試薬と化学的に反応しない。対向する電極は、同じ導電性材料、または異なる材料を含むことができる。

30

【0075】

検知/作用電極および対/参照電極は、検出チャンバの少なくとも1つの内表面上に位置することができる。対向する電極は、検出チャンバが流体試料で満たされる前に、互いに電気的に絶縁されることができる。絶縁は、電気的絶縁材料で2つの対向する電極を分離することにより、あるいは導電層またはフィルム上に断路を形成することにより、実現されることが可能である。対向する電極は、検出チャンバの同じ内表面または異なる内表面上に位置する。対向する電極は、約5マイクロメートル、または約10マイクロメートル、または約15マイクロメートル、または約20マイクロメートル、または約25マイクロメートル、または約30マイクロメートル、または約35マイクロメートル、または約40マイクロメートル、または約45マイクロメートル、または約50マイクロメートル、または約75マイクロメートル、または約100マイクロメートル、または約125

40

50

マイクロメートル、または約 150 マイクロメートル、または約 175 マイクロメートル、または約 200 マイクロメートル、または約 250 マイクロメートル、または約 300 マイクロメートル、または約 350 マイクロメートル、または約 400 マイクロメートル、または約 450 マイクロメートル、または約 500 マイクロメートル、または約 600 マイクロメートル、または約 700 マイクロメートル、または約 800 マイクロメートル、または約 900 マイクロメートル、または 1 ミリメートル、または約 2 ミリメートル超、または約 3 ミリメートル超、または約 4 ミリメートル超、または約 5 ミリメートル超だけ、分離されることが可能である。相対位置については、対向する電極は、平行対向関係、または隣接関係、または平行だがずれた関係、または共平面関係にあってもよい。対向する電極は、同一または実質的に同様のサイズであってもよく、あるいは異なるサイズおよび/または異なる形状であってもよい。

10

【0076】

装置は 2 つより多い電極を含むことができる。単なる例として、装置は、対 / 参照電極となり得る第三電極を含むことができる。2 つの対 / 参照電極は、電氣的に接続されることが可能である。第三電極は、反応チャンバおよび/または検出チャンバの充填を検出することができる検知 / 作用電極とともに回路を形成することができる。単なる例として、このようにして検出された反応チャンバの充填は、反応時間が制御され、および/または、たとえば反応した流体試料を検出チャンバに搬送するなど試験のその後のステップが所定時間後に始動され得るように、時限装置を起動させるための信号として使用されることが可能である。別の例として、装置が 2 つの検出チャンバを含む場合、各検出チャンバは 1 つの対 / 参照電極を含むことができ、2 つの検出チャンバは、両方の検出チャンバまで延在する 1 つの検知 / 作用電極を共有することができる。このような実施形態では、1 つの試験に置いて 2 つの電気信号を得ることができる。

20

【0077】

電極の構成、間隔、および組み立てまたは製造のその他の変形例は、本開示の範囲内に含まれる。

【0078】

検出チャンバの内表面のうちの 1 つの少なくとも一部は、電極と電氣的に接続されるが電極を越えて延在することが可能な導電層またはフィルムを含むことができる。延在する導電層またはフィルムは、装置がたとえば計測器などの別の装置に電氣的に接続される接触領域として使用されることが可能である。特定の実施形態において、検出チャンバは、導電性フィルムを含み、および/または対向する電極と電氣的に接続するが互いに電氣的に絶縁されている、2 つの内表面を含むことができる。本明細書内で使用される際に、「実質的に」とは、2 つの内表面の片方の、少なくとも約 30%、または少なくとも約 40%、または少なくとも約 50%、または少なくとも約 60%、または少なくとも約 70%、または少なくとも約 80%、または少なくとも約 90%、または少なくとも約 95% が、導電性材料で被覆されていることを意味する。各導電性フィルムは、連続的またはパターン形成されることが可能である。たとえば、パターン形成導電性フィルムは、互いに導通している 2 つの電極、または電極と接触領域とを形成することができ、接触領域は、たとえば計測器などの外部装置に、電極を電氣的に接続することができる。

30

40

【0079】

検出チャンバの少なくとも 1 つの内表面上には、スクラッチがあってもよい。例示的な図は、図 4 のスクラッチ 106 であってもよい。スクラッチは、検出チャンバ内の導電性フィルムに断路を形成することができる。断路は、それが設けられるときに導電性フィルムにパターン形成することによって、または製造中に断路を形成することによって、生じることができる。スクラッチ 106 は、フィルムを擦ること、フィルムの一部を擦り取ることで、導電層またはフィルムを化学的にエッチングすること、導電層またはフィルムをレーザーアブレーションすること、またはその他の方法によって、生じることができる。導電層またはフィルムのスクラッチ 106 は、1 つには、検出チャンバ内に被覆された導電性材料を反応チャンバの導電性材料から電氣的に絶縁することによって、検出チャンバの

50

活性電極領域を定義するのに役立つことができる。これは、そうしなければ反応チャンバ内の導電層またはフィルムにおいて流れる可能性のあるいずれかの電気信号が試験結果に影響を及ぼすのを防止できるため有利となり得る。スクラッチは、スクラッチのある層の電気伝導を確実に遮断するのに十分な幅があってもよいが、たとえば毛細管現象でなど、流体がそこを横断するのを防止するほど幅広くなってもよい。スクラッチは、約1マイクロメートルから10ミリメートル、好ましくは約10マイクロメートルから約1ミリメートル、および最も好ましくは約20マイクロメートルから約200マイクロメートルであってもよい。スクラッチと検出チャンバの近位末端との間の距離は、検出チャンバの近位末端と遠位末端との間の距離の約1%、または約5%、または約10%、または約15%、または約20%、または約25%、または約30%、または約35%、または約40%、または約45%、または約50%、または55%超であってもよい。

10

【0080】

検出チャンバの少なくとも1つの内表面は、検出剤で被覆されることが可能である。検出剤は、検出チャンバ内の流体試料によって溶解され、および/またはその中で拡散することができ、検出チャンバのいずれかの内表面上に被覆されることが可能である。いくつかの実施形態において、検出剤は、流体試料によって溶解されたりその中に拡散したりすることはできない。そのような検出剤は、検出がなされ得る場所の付近に被覆されることが可能である。本明細書内で使用される際に、「付近」とは、たとえば電極などによって検出剤またはその誘導体が検出され得る距離内であることを意味する。検出剤の誘導体とは、プローブ剤、たとえば活性剤によって検出チャンバに搬送される種との検出剤の反応によって発生および/または活性化される種を意味する。検出剤は、たとえばグルコースオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼなどの酵素を含むことができる。検出剤は、流体試料によって検出チャンバに搬送されるプローブ剤分子上に表面結合された、またはその中に封入された活性剤によって活性化されることが可能な種を含むことができる。検出剤および活性剤のペアは、アポ酵素およびその補因子を含むことができる。単なる例として、検出剤および活性剤のペアは、アポグルコースオキシダーゼおよびフラビンアデニンジヌクレオチドを含むことができ、検出剤および活性剤のペアは、アポグルコースデヒドロゲナーゼおよびPQQを含むことができる。流体試料中に存在する標的分析物の1つの複製が、検出チャンバに搬送される活性剤の複数の複製を含む1つのプローブ剤分子に対応し、活性剤の1つの複製が、1単位の信号を生成するために検出剤分子を活性化させることができる場合、標的分析物の1つの複製は、複数単位の信号に対応することができる。これは、試験の感度、および/または精度、および/または速度を向上させることができる。

20

30

【0081】

検出チャンバは、活性剤分子が検出剤分子と反応してこれを活性化することができるように、プローブ剤分子のビヒクルから活性剤分子を遊離することができる遊離剤を含むことができる。遊離剤は、中性製剤、細胞溶解性ペプチド、酵素、加熱、冷却、超音波処理、光化学的に活性化された溶解剤を備える光源などから選択される少なくとも1つ、またはそれらの組合せを含むことができる。中性洗剤は、n-オクチル-B-D-グルコピラノシド、ツイン20、Br i j 35、およびトリトンX-100から選択される1つを含むことができる。ペプチドは、メリチン、および補体系の成分であるホスホリパーゼのクラスの1つから選択される、少なくとも1つを含むことができる。酵素は、プロテアーゼおよびトリプシンから選択される、少なくとも1つを含むことができる。遊離剤は、ビヒクルから活性剤分子を解放する物理的手段を含むことができる。ここには加熱、冷却、超音波処理、または、たとえばセンサ内に誘導される光源によって開始される光化学反応などの物理的および化学的手段の組合せを含むことができる。遊離剤は、検出チャンバ内の流体試料によって溶解され、および/またはその中で拡散することができ、検出チャンバのいずれかの内表面上に被覆されることが可能である。

40

【0082】

検出剤またはその誘導体が酵素である場合、検出チャンバは、検出可能な信号を生成す

50

るために、検出剤またはその誘導体と反応することができる酵素基質を含むことができる。例示的な図は、図3の酵素基質64である。酵素基質は、検出剤または存在するその誘導体と酵素基質の反応速度が、検出チャンバ内に存在する検出剤またはその誘導体の量によって決定されるように、十分な量とすることができる。酵素基質は、酸化基質を含むことができる。酸化基質は、ガラクトース、マルトース、キシロース、および酢酸から選択される、1つの基質を含むことができる。たとえば、検出剤またはその誘導体がグルコースオキシダーゼまたはグルコースデヒドロゲナーゼである場合、酵素基質はグルコースを含むことができる。

【0083】

検出チャンバは、検出可能な信号を生成するために、検出剤またはその誘導体と反応することができる少なくとも1つのメディエータを含むことができる。メディエータは、検出剤またはその誘導体と酵素基質の反応速度が、検出チャンバ内に存在する検出剤またはその誘導体の量によって決定されるように、十分な量とすることができる。電気化学的検出システムが使用される実施形態では、フェリシアニドが適切なメディエータとなり得る。その他の適切なメディエータは、ジクロロフェノールインドフェノール、および遷移金属と窒素含有ヘテロ原子種との錯体から選択される1つを含むことができる。検出チャンバは、特定の実施形態において検出反応の速度を上昇させることが可能な2つ以上のメディエータを含むことができる。

10

【0084】

検出チャンバは、たとえば、検出チャンバ内で流体試料のpHを調整することが可能な緩衝剤を含むことができる。緩衝剤は、製造および/または保管の間、検出チャンバ内の試薬のうちの少なくとも1つを安定させることができる。緩衝剤は、リン酸塩、クエン酸塩、シトラコン酸塩、メリト酸塩、トリス、PIPES、MOPS、HEPES、フタル酸塩、イマダゾールから選択される物質を含むことができる。

20

【0085】

酵素基質、および/またはメディエータ、および/または緩衝剤試薬は、検出剤またはその誘導体と酵素基質の反応速度が、検出チャンバ内に存在する検出剤またはその誘導体の量によって制限されるように、十分な量で存在することができる。

【0086】

一对のチャンバの間には、流体試料が1つのチャンバからもう一方へ流れることができる試料通路があってもよい。たとえば、図2に示されるように、反応チャンバと検出チャンバとの間に、試料通路38があってもよい。流体通路を通る流れは、たとえば毛細管現象、空気圧、外力など、またはそれらの組合せなどを介した力平衡によって制御されることが可能である。流体通路は、開放通路を含むことができる。流体通路は、実体を含むことができる。実体は、半透過性であってもよく、および/または、たとえばサイズ、電荷、モル浸透圧濃度など、またはそれらの組合せに基づいて、特定の種を通過させてその他のものを遮断することができる。単なる例として、そのような実体は、反応チャンバ内に特定の種を封じ込めるためのメカニズムを提供することができる。試料通路は、正方形、長方形、円形、楕円形、三角形、菱形、台形などの断面形状を含むことができる。断面は、反応チャンバから検出チャンバへの流体試料のバルク流の方向に対して直角であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って、サイズおよび/または形状が均一であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って可変であってもよい。単なる例として、断面は、バルク流の方向に沿って先が細くなってもよい。流体通路は毛細管距離を含むことができる。毛細管距離は、流体通路が接続する2つのチャンバの毛細管距離の間であることができる。これは、毛細管現象のみによって、すなわち外力のない状態で、流体通路を通じて流体試料を1つのチャンバからもう一方に流すことができる。本明細書内で使用される際に、外力は、たとえば穿孔によって、検出チャンバの通気孔を開口するためにユーザによって生じる力を含まない。たとえば、いくつかの実施形態において、流体試料は、たとえば穿孔によって、検出チャンバの遠位末端に通気孔を開口するとすぐに、1つのチャンバからもう一方へと移動することができる。毛細管力は、たとえば、充填チャンバの内表面の

30

40

50

少なくとも1つを被覆することによって操作されることが可能である。バイオセンサが、ユーザまたはたとえばポンプ、シリンジなどの機器によって生じる外力を使用するように構成されている場合、流体通路の毛細管距離は、流体通路が接続するチャンバの毛細管距離のいずれかよりも大きいか、または小さくてもよい。

【0087】

装置は充填チャンバを含むことができる。例示的な図は、図4の充填チャンバ107であってもよい。充填チャンバは、少なくとも1つの内表面を含むことができる。充填チャンバは、反応チャンバの外部および/または内部を定義することができる少なくとも1つの壁を含むことができる。充填チャンバは、ある容積の内部を含むことができ、少なくともその一部が流体試料にアクセス可能である。容積は、約100ミリリットル未満、または約50ミリリットル未満、または約20ミリリットル未満、または約10ミリリットル未満、または約5ミリリットル未満、または約3ミリリットル未満、または約2ミリリットル未満、または約1ミリリットル未満、または約500マイクロリットル未満、または約200マイクロリットル未満、または約100マイクロリットル未満、または約50マイクロリットル未満、または約10マイクロリットル未満、または約1マイクロリットル未満、または約0.5マイクロリットル未満、または約0.3マイクロリットル未満、または約0.1マイクロリットル未満であってもよい。

10

【0088】

充填チャンバの内部は、正方形、長方形、円形、楕円形、三角形、菱形、台形などの断面形状を含むことができる。断面は、充填チャンバ内の流体試料のバルク流の方向に対して直角であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って、サイズおよび/または形状が均一であってもよい。断面は、バルク流の方向に沿って可変であってもよい。単なる例として、断面は、バルク流の方向に沿って先が細くなってもよい。

20

【0089】

充填チャンバは毛細管距離を含むことができる。流体試料は充填チャンバ内に引き込まれることが可能である。毛細管距離は、反応チャンバの毛細管距離よりも大きくてもよい。これは、毛細管現象のみによって、すなわち外力のない状態で、流体試料を充填チャンバから反応チャンバに流すことができる。本明細書内で使用される際に、外力は、たとえば穿孔によって、検出チャンバの通気孔を開口するためにユーザによって生じる力を含まない。たとえば、いくつかの実施形態において、流体試料は、たとえば穿孔によって、検出チャンバの遠位末端に通気孔を開口するとすぐに、1つのチャンバからもう一方へと移動することができる。毛細管力は、たとえば、充填チャンバの内表面の少なくとも1つを被覆することによって操作されることが可能である。バイオセンサが、ユーザまたはたとえばポンプ、シリンジなどの機器によって生じる外力を使用するように構成されている場合、充填チャンバの毛細管距離は、反応チャンバの毛細管距離よりも小さくてもよい。

30

【0090】

充填チャンバの少なくとも1つの内表面は、遮断薬で被覆されることが可能である。充填チャンバの遮断薬は、反応チャンバの遮断薬と同様であってもよい。充填チャンバの少なくとも1つの内表面は、緩衝剤で被覆されることが可能である。緩衝剤は、反応チャンバおよび/または検出チャンバの緩衝剤と同様であってもよい。

40

【0091】

バイオセンサは、流体および/または電気信号の漏れを防止することができる、少なくとも1つの封止層を含むことができる。封止層用の例示的な材料は、たとえば、プラスチック(たとえばPET、PETG、ポリイミド、ポリカーボネート、および/またはポリスチレン)、シリコン、セラミック、ガラス、およびそれらのいずれかの組合せを含むことができる。封止層は、接着剤を含むことができ、または実質的に接着剤で形成されることが可能である。検出チャンバが電気化学電池を含む場合、封止層は、電極および/または導電層またはフィルムのうちの少なくとも1つに隣接して位置する。封止層は、第一および第二導電層またはフィルムのうちの少なくとも1つに隣接して位置することができる。封止層は、事前形成された通気孔穴にカバーを設けるために、検出チャンバの遠位末端

50

の通気孔穴の上に位置することができる。いくつかの実施形態において、封止層の一部は、閉じこめられた空気がバイオセンサのチャンバから逃げることができる通気孔穴を形成するために、たとえば穿孔によって、除去することができる。封止層は、バイオセンサが計測器と電氣的に接続される接触領域を形成するために、導電層またはフィルムの一部が露出されるように構成され得る。このような構成は、封止層が導電層またはフィルムの領域よりも小さい領域を有することができること、および/または封止層が導電層またはフィルム全体を覆わないように位置することができることを含むことができる。

【0092】

製造方法

単に便宜目的のため、本明細書に記載されるバイオセンサを製造する方法は、いくつかの例示的实施形態に関して記載される。しかし、これは説明目的のみであって、本開示の範囲を限定すると意図されないことは理解される。

【0093】

図2および3に示されるバイオセンサ20は、電気化学電池を含む検出チャンバ28、ならびに固定化結合剤分子およびプローブ剤分子を含有する反応チャンバ22を含む。検出チャンバ28および反応チャンバ22は、電気抵抗スペーサ材料のシート36を通じて延在する開口を形成することによって用意されることが可能である。開口は、反応チャンバ22および検出チャンバ28の両方の側壁、ならびにチャンバ22、28の間の試料通路38を定義するような形状であってもよい。センサ20の縁37を通じて反応チャンバ22の近位末端24から開口を延在させることによって、試料進入部25が形成され得る。一実施形態において、シート36の厚みは反応チャンバ22および検出チャンバ28の高さを定義することができ、これらのチャンバは等しい高さを有することができる。この実施形態によれば、検出チャンバ内の毛細管力は、反応チャンバの毛細管力よりも大きくてもよい。これは、反応チャンバおよび/または検出チャンバの表面を修飾することによって、または本明細書に開示されるような充填材料を検出チャンバに加えることによって実現され得る。

【0094】

別の実施形態において、反応チャンバ22の高さは、検出チャンバ28よりも高くてもよい。検出チャンバ28よりも高い反応チャンバ22は、たとえば、複数の内側シート32、34、36および/または外側封止シート42、46をとともに積層することによって用意されることが可能である。たとえば、図3において、センサ20の中間シート36は、上述のように反応チャンバ22および検出チャンバ28の側壁を定義する開口を有する。中間シート36はその後、1つ以上の追加層32、34の間にサンドイッチされてもよく、追加層32および34は、反応チャンバ22にのみ対応する開口を有する。検出チャンバ28に関しては、層32および34が、チャンバの端壁60、62（すなわち、上面および底面）を定義する。この実施形態において、検出チャンバの端壁60および62は、接続手段を通じて、測定回路に電氣的に接続可能な電極54および52を含む。電極は、以下により詳細に記載される。

【0095】

一態様において、電極52および54は、接続末端66を通じて計測器（図示せず）と電氣的に接続するように配置されることが可能である。接続末端は、計測器（図示せず）を、導電性軌道（図示せず）を通じて検出チャンバ28内の電極52および54と電氣的に連絡させることができる。接続領域66と接続している計測器は、検出チャンバ28内の電極52および54の間に電位を印加することができ、電気化学反応の間に生成された電気信号を検出することができる。

【0096】

図4、5、および7に示されるバイオセンサ120、または図6に示されるバイオセンサは、3つのチャンバを含む。センサは、反応チャンバ122および検出チャンバ128に加えて、充填チャンバ107を含むことができる。センサ120は、たとえば封止層142、下層134、スペーサ層136、および上層132を含む、上述のような複数の層

10

20

30

40

50

から形成されることが可能である。一態様において、各層は絶縁材料を含むことができるが、その一方で上層および下層 132、134 は、以下により詳細に論じられるように、導電性フィルムをさらに含む。センサの異なる位置の層の一部を除去することにより、充填チャンバ 107、反応チャンバ 122、および検出チャンバ 128 が形成される。さらに、上層および下層 132、134 上の導電性フィルムの一部を露出することで、電気化学反応を行うための電極 152、154 を提供し、センサを計測器に電氣的に接続するための電氣的接触領域 101、102、103 を提供する。

【0097】

下部導電性フィルムを備える下層 134 と電氣的に接触するための接触領域 101 は、スペーサ層 136 および上層 132 の末端を越えて下層 134 を延在させることによって形成されることが可能である。接触領域 102 は、上層 132 の一部を露出させるために層 134 および 136 の一部を除去することによって形成されることが可能である。接触領域 103 は、図 5D (図 4 の断面 D - D') に示されるように、下層 134 およびスペーサ層 136 の一部を除去することによって、同様に形成されることが可能である。

10

【0098】

充填チャンバ 107 は、下層 134 およびスペーサ層 136 の一部を除去しながら、上層 132 および封止層 142 を無傷のまま残すことによって形成されることが可能である。封止層 142 は、層 134 の外面に接着されることが可能であり、層 134 および 136 の切り取り部分ならびに層 132 の辺を用いて、毛細管現象によって試料を内部に引き込むことができる毛細管路を形成するのに役立つことができる。この経路は、図 5A (図 4 の断面 A - A') に示されている。

20

【0099】

反応チャンバ 122 は、スペーサ層 136 の一部を除去しながら、層 134 および 132 を無傷のまま残すことによって形成されることが可能である。これにより、毛細管スペーサの高さが充填チャンバ 107 の高さよりも低い毛細管空間を形成することができる。これにより、毛細管現象によって、充填チャンバ 107 から反応チャンバ 128 内に液体を引き込むことができる。反応チャンバが低いことで、反応チャンバ内の成分が比較的迅速に混合されることができる。一態様において、液体で反応チャンバを満たしている間に、反応チャンバ 122 は、空気を通気孔に流すためのストリップの側方縁で開放可能である。

30

【0100】

検出チャンバ 128 は、層 134 および 132 を無傷のまま残しながらスペーサ層 136 の一部を除去することによって、反応チャンバ 122 と同様の方法で形成されることが可能である。最初に、検出チャンバ 128 は、一端において反応チャンバ 122 に対して開放することができるが、しかし他の開口部はない。

【0101】

通気孔 130 は、上層 132 (または下層 134) の一部を除去すること、または層を穿孔することによって、検出チャンバ 128 に組み込まれることが可能である。図 5B (図 4 の断面 B - B') に示される層 146 は、開口部を密封するために、ストリップの上面に積層されることが可能である。あるいは、下層 134 の一部が除去される場合、封止層 142 は、通気孔穴 130 を開口するために、穿孔 / 除去されてもよい。

40

【0102】

一態様において、電極 52、152、54、154 を定義する導電性フィルムは、接着剤によって免疫センサの表面に接着されることが可能である。適切な接着剤は、たとえば、熱活性化接着剤、感圧接着剤、熱硬化接着剤、化学硬化接着剤、ホットメルト接着剤、ホットフロー接着剤などを含むことができる。代替態様において、導電性フィルムは、電気抵抗材料のシートを、たとえば白金、パラジウム、炭素、酸化インジウム、酸化スズ、酸化インジウム / 酸化スズ混合物、金、銀、イリジウム、それらの混合物などの適切な導電性材料で (たとえばスパッタ被覆またはスクリーン印刷によって) 被覆することによって、用意されることが可能である。電極としての使用に適した材料は、センサ 20、12

50

0 内に存在する試薬と適合することができる。適切な電気抵抗材料は、たとえば、ポリエステル、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリオレフィン、それらの混合物などを含む。

【0103】

図4のスクラッチ106は、上層132上の上部電極154を定義する導電性フィルムの断路を表す。断路は、それが設けられるときに導電性フィルムにパターン形成することによって、または製造中に断路を形成することによって、生じることができる。スクラッチ106は、フィルムを擦ること、フィルムの一部を擦り取ること、フィルムを化学的にエッチングすること、フィルムをレーザーアブレーションすること、または一般的に知られるその他の方法によって、生じることができる。

10

【0104】

異なる機能および小分子包接を備える様々なタイプのリポソームを作る方法は、文献において周知である。たとえば、*Liposomes: A Practical Approach (Second Edition, Editors: VA Torchilin and V Weissig, Oxford University 2003)*を参照されたい。代替抗体が間接的に添加されることが可能である。たとえば、ピオチンDHPE(N-(ピオチノイル)-1,2-ジヘキサデカノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン)などのピオチニル化脂質が、リポソームに組み込まれ、その後ストレプトアビジンまたはアビジンが添加され、そして最後にピオチニル化抗体が添加されることが可能である。さらに、小分子結合を備えるポリマーの構築方法も知られている。たとえば、Thomasらによる「*In Vitro Targeting of Synthesized Antibody-Confugated Dendrimer Nanoparticles*」(*Biomacromolecules*, 5(6): 2269-2274, 2004年11月8日)を参照されたい。

20

【0105】

バイオセンサで使用される試薬、たとえば固定化抗体/抗原、プローブ結合抗原/抗体、緩衝剤、メディエータ、酵素基質などは、反応チャンバ22、122の壁上に、またはマトリクス内で、チャンバ内に収容される独立支持体上に支持されることが可能であり、または自立可能であってもよい。試薬が内側チャンバ壁または電極上に支持される場合、たとえばインクジェット印刷、スクリーン印刷、リソグラフィなどの印刷技術を使用して、化学薬品が適用されてもよい。代替実施形態において、試薬を含有する溶液は、チャンバ内の内表面に適用され、乾燥させられる。たとえば固定化結合剤および/またはプローブ剤などの試薬は、独立支持体材料の上に乾燥させられ、その後反応チャンバ内に配置されてもよい。あるいは、固定化結合剤またはプローブ剤のいずれかが独立支持体材料上に組み込まれ、別の成分が反応チャンバ内の内壁の1つに支持されてもよい。反応チャンバの内壁は多孔性であってもよく、固定化結合剤および/またはプローブ剤が組み込まれている。これは、たとえば、反応チャンバの内壁を形成するためにマクロ多孔性膜を使用すること、および所望の領域からの試料の漏れを防止するために反応チャンバの周りで膜を圧縮することによって、実現されることが可能である。固定化結合剤および/またはプローブ剤は、ビーズ上で支持されることが可能である。そのようなビーズは、たとえば随意的に磁性材料(たとえばガンマ Fe_2O_3 および Fe_3O_4 など)を包み込む、アガロース、ポリスチレン、ポリメタクリラート、ポリメチルメタクリラートなどのポリマー材料を含むことができる。ビーズ材料は、結合すべき種に適切な支持体を与えられるように選択されることが可能である。磁石は、反応チャンバ内に磁気ビーズを保持し、磁気ビーズが検出チャンバに移動するのを防止するために、そのようなバイオセンサに含まれることが可能である。たとえば、固定化された結合部位は、反応チャンバ内の磁気ビーズ上に位置することができる。

30

40

【0106】

使用方法

単に便宜目的のため、本明細書に記載のバイオセンサの使用方法は、図4~7に示され

50

る実施形態に関連して記載される。これは説明目的のみのためであって、本開示の範囲を限定すると意図されないことは理解される。

【0107】

使用において、ユーザはまず、流体試料を充填チャンバおよび/または反応チャンバ内に導入することができる。試料は、毛細管現象またはウィッキング現象の影響下で、充填チャンバおよび/または反応チャンバ内に引き込まれることが可能である。試料は、たとえばシリンジ、および/またはポンプなどの装置、および/またはユーザによって生じる外力によって、充填チャンバおよび/または反応チャンバ内に引き込まれることが可能である。反応チャンバは、雰囲気に対して開口された通気孔を含むことができ、したがって試料によって置換された空気を逃がす。または、流体試料による充填チャンバおよび/または反応チャンバの充填は、空気を検出チャンバに移動させることができる。反応チャンバ122の容積は、少なくとも検出チャンバ128の容積と等しく、および好ましくはそれよりも大きくなるように選択されることが可能である。

10

【0108】

たとえば抗原などの標的分析物を含む全血などの生体試料の反応チャンバ内への進入は、1つの内表面から磁気ビーズを、および別の内表面からプローブ剤分子を、拡散させることができる。磁気ビーズは、結合剤分子で被覆されることが可能である。結合剤は、抗原を含むことができる。プローブ剤は、結合パートナーおよびビヒクルを含むことができる。結合パートナーは、血中の標的抗原と結合可能な抗体であってもよく、固定化結合剤と結合することができるが、結合親和性は低い。ビヒクルは、たとえば、リポソーム内に封入されたPQQ、またはデンドリマーなどのポリマーと表面結合したPQQを含むことができる。各リポソームは、PQQの複数の複製を封入することができる。試料中の標的分析物の存在は、投与量に依存した方法で、磁気ビーズ上に被覆された結合剤分子とのプローブ剤分子の結合を干渉することが可能である。

20

【0109】

たとえば約2分など、所与の時間の後に、通気孔穴が開けられ、これは毛細管現象による反応した流体試料の検出チャンバへの移動を可能にする。検出チャンバは、酵素活性の電気化学的測定のための試薬を含むことができる。検出チャンバは十分に満たされることが可能であり、すなわち、この十分な試料は、採用される検出方法によってプローブ剤の存在が検出および分析されるように、検出チャンバに搬送される。

30

【0110】

反応チャンバの下の磁石は、磁気ビーズの移動、および結合剤分子を通じてビーズと結合しているプローブ剤の移動を防止することができる。その結果、この例示的实施形態において、流体試料中の標的分析物が多いほど、固定化結合剤分子と結合することができるプローブ剤分子が少なくなり、より多くのプローブ剤分子が検出チャンバに移動して検出チャンバ内で検出されることが可能である。

【0111】

検出チャンバは、アポGDH、およびビヒクルからPQQを解放することができる遊離剤を含むことができ、アポGDHとの相互作用を可能にする。1つのビヒクルが、たとえば100個以上のPQQ分子を含有し、これらの各々が1つのアポGDHと結合して活性化させることができる場合、磁気ビーズと結合している単一抗体-PQQ-リポソームプローブ剤の阻害は、100個以上のGDH分子の活性化をもたらすことができる。このようにして、たとえば各リポソームが100個のPQQを含有する場合には、たとえばわずか5 pMの抗原が検出可能であり、各々が1000個のPQQを含有する場合には、500 fMが検出可能である。

40

【0112】

当業者は、本明細書に記載の異なる実施形態より、様々な構成および特徴の適用可能性を認識するであろう。同様に、上記で論じられた様々な構成および特徴は、各構成および特徴について他の公知の同等物と同様に、本明細書に記載の原理による方法を実行するために、この技術の当業者によって混合および適合されることが可能である。記載される例

50

が説明目的のみであって、本発明の範囲を制限するものではないことは理解されるべきである。

【 0 1 1 3 】

本明細書で参照されている全ての特許、特許出願、特許出願の公報、および他の資料、たとえば、記事、書籍、仕様書、出版物、書類、ものなどは、これに関連するいかなる審査履歴、本文献と一致しないまたは矛盾するもの、または本文献に現在または後に関連する請求項の最も広い範囲について限定効果を有する可能性のあるものを除き、全ての目的のためにこれらの全体がこの参照により本明細書に組み込まれる。例示により、組み込まれた資料のいずれかに関連する用語の記述、定義、および/または使用と、本文献に関連するものとの間に、何らかの不一致または矛盾があった場合は、本文献の用語の記述、定義、および/または使用を優先することとなる。

【 図 1 】

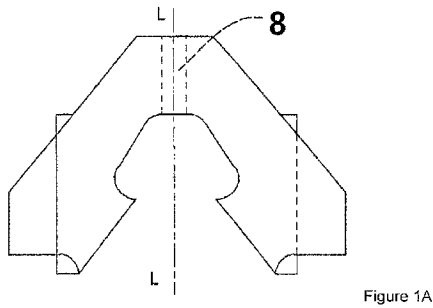


Figure 1A

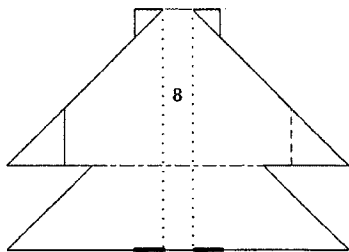


Figure 1B

【 図 2 】

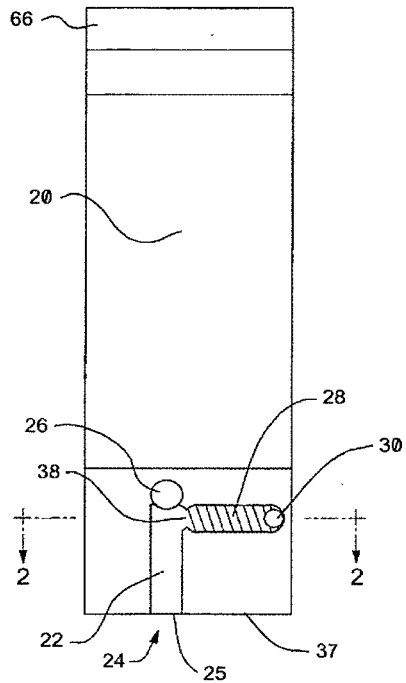


Figure 2

【 図 3 】

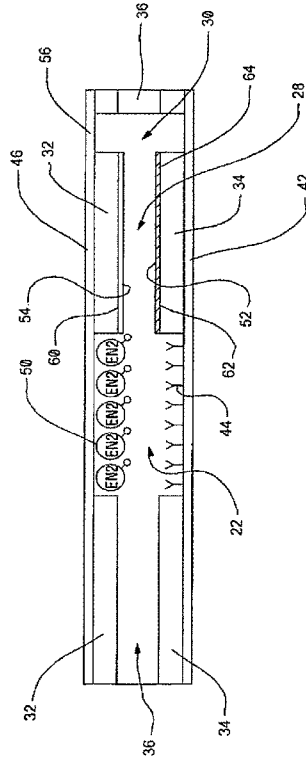


Figure 3

【 図 4 】

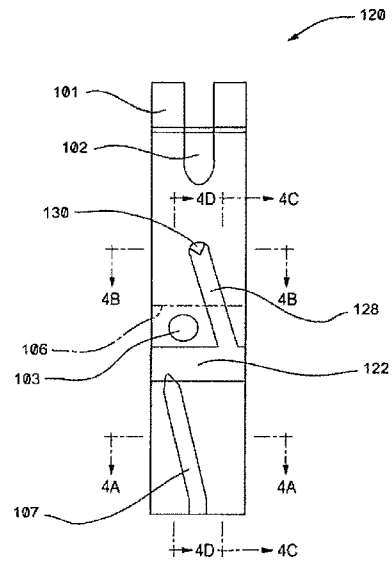


Figure 4

【 図 5 】

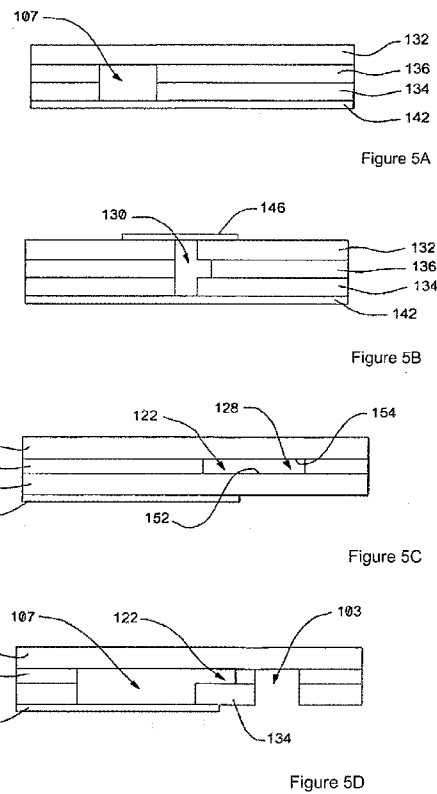


Figure 5A

Figure 5B

Figure 5C

Figure 5D

【 図 6 】

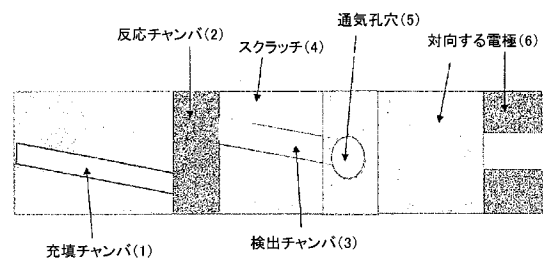


Figure 6

【 図 7 】

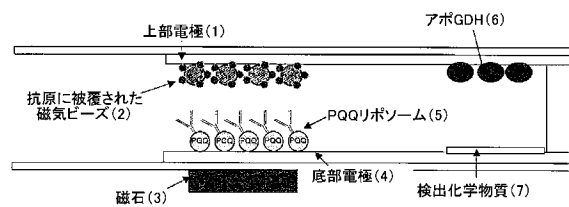


Figure 7

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2009/006688
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl. G01N 33/537 (2006.01)		
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)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPODOC, WPI; IPC: G01N 33/53/low; keywords: immunoassay, antibody, antigen, assay, sensor, biosensor, detect, activating agent, cofactor, apoenzyme, coenzyme, holoenzyme, apoprotein, flavin, PQQ, pyrroloquinone, lipid, liposome, encapsulate, electrode, lipid, dendrimer, glucose oxygenase, glucose dehydrogenase, and similar terms. CA, Medline, Biosis; keywords: antibody, antigen, sensor, biosensor, assay, detect, activating agent, coenzyme, cofactor, apoenzyme, apoprotein, holo enzyme, holo protein, PQQ, pyrroloquinolone, glucose oxidase, glucose dehydrogenase, flavin, dendrimer, liposome, encapsulate, electrode, capillary, microfluidic, chip, and similar terms.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/0134713 A1 (RYLATT et al) 22 June 2006 figure 2; paragraphs [0021]-[0080], [0111]; whole of document	1-18, 22-25, 27, 29, 30, 32, 33, 36-60
Y	figure 2; paragraphs [0021]-[0080]; [0111]; whole of document	18, 19, 22, 23, 26
X	EP 1 347 302 A2 (LIFESCAN, INC) 24 September 2003 figure 2; paragraphs [0076] to [0111]; whole of document	1-9, 11-13, 27-44, 47-60
Y	figure 2; paragraphs [0076] to [0111]; whole of document	18, 19, 22, 23, 26
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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 application or patent 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	"&" 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 18 December 2009		Date of mailing of the international search report 23 DEC 2009
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaustalia.gov.au Facsimile No. +61 2 6283 7999		Authorized officer GARETH COOK AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No : +61 3 9935 9629

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/IB2009/006688

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2002/008763 A2 (USF FILTRATION AND SEPARATIONS GROUP, INC) 31 January 2002 whole of document	1-10, 44-56, 59, 60
X	US 2004/0203137 A1 (HODGES et al) 14 October 2004 whole of document	1-10, 44-56, 59, 60
Y	US 2007/0289880 A1 (ZWEIG) 20 December 2007 figure 1; claim 1; whole of document	22, 23, 26
Y	WO 1997/007398 A1 (DADE INTERNATIONAL, INC) 27 February 1997 abstract; page 4 lines 17 to 24; whole of document	18, 19
A	WO 1999/018433 A1 (BIOSITE DIAGNOSTICS, INCORPORATED) 15 April 1999 whole of document	
A	WO 2002/082078 A2 (FRAUN-HOFER-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.) 17 October 2002 whole of document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/006688

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See Supplemental Box.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2009/006688

Supplemental Box

(To be used when the space in any of Boxes I to IV is not sufficient)

Continuation of Box No: III

This International Application does not comply with the requirements of unity of invention because it does not relate to one invention or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Both the independent claims (and a number of the dependent claims) are disclosed by the following prior art meaning they have no special technical feature to provide unity of invention:

US 2006/0134713 A1 (RYLATT et al)

EP 1 347 302 A2 (LIFESCAN, INC)

WO 2002/008763 A2 (USF FILTRATION AND SEPARATIONS GROUP, INC)

US 2004/0203137 A1 (HODGES et al)

This International Searching Authority has found that there are different inventions as follows:

- The use of a blocking agent, claims 6 to 9
- The binding agent and probe agent bound to different internal surfaces, claim 10
- The binding agent comprising at least one magnetic bead, claims 11 and 12
- The vehicle comprising an activating agent encapsulated within a liposome, claims 15, 16, 23 and 24
- The vehicle being a dendrimer, claim 19
- An unactivating agent which can bind to the activating agent being immobilized in the reaction chamber, claims 20 and 21
- The activating agent being released from the vehicle by a proteolytic enzyme, claim 26
- The activating agent being a cofactor for an enzyme: claims 27 to 43
- A vent located at the distal end of the detection chamber, claims 47 to 49 and 59
- Detection means comprising electrodes, claims 50 to 53 and 60
- Detecting agent being an apoenzyme, claim 57

All claims were searched in establishing this search report.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT.

Information on patent family members

International application No.

PCT/IB2009/006688

This Annex lists the known "A" publication level patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document Cited in Search Report		Patent Family Member					
US	2006134713	AR	029723	AU	29124/99	AU	37073/02
EP	1347302	AU	44547/99	AU	73197/01	AU	75549/96
WO	0208763	AU	75550/96	AU	75902/01	AU	76888/01
US	2004203137	AU	82890/01	AU	2003200891	AU	2006203606
	(Same Patent Family)	BR	9611513	BR	9611514	CA	2236848
		CA	2236850	CA	2322757	CA	2415342
		CA	2415602	CA	2416207	CA	2416249
		CA	2421466	CA	2577229	CN	1204399
		CN	1204400	CN	1254840	CN	1441901
		CN	1441902	CN	1441903	CN	1441905
		CN	1445540	CN	1445541	CN	1447117
		CN	1763518	CN	1928541	CN	1932500
		CN	1975421	CN	1975424	CZ	20030409
		CZ	20030416	EP	0882226	EP	0923722
		EP	0967480	EP	1064539	EP	1236995
		EP	1301780	EP	1303758	EP	1311849
		EP	1315967	EP	1347302	EP	1362922
		EP	1788391	HK	1018096	HK	1028914
		HK	1055147	HK	1056213	IL	124494
		IL	124495	IL	132089	JP	2003302403
		JP	2007139781	KR	20050042506	KR	20060097067
		KR	20080003941	MX	PA03000382	MX	PA03000383
		MX	PA03002454	NO	20030017	NO	20030027
		NO	20031284	PL	359282	PL	359335
		PL	359860	RU	2005127537	RU	2005136646
		SG	106675	SG	138459	SG	140463
		SG	143056	SG	143057	US	5942102
		US	6174420	US	6179979	US	6444115
		US	6475360	US	6521110	US	6632349
		US	6638415	US	6863801	US	6878251
		US	7022217	US	7431814	US	2001052470
		US	2002130043	US	2002175087	US	2003079987

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No.	
Information on patent family members				PCT/IB2009/006688	
	US	2003080001		US	2003180814
	US	2004026244		US	2004203137
	US	2006254932		WO	0206788
	WO	0206828		WO	0208763
	WO	9718465		WO	9946585
US	2007289880	US	6477901	US	6790632
		US	7166208	US	7288368
		US	2003061889	US	2003108972
		US	2004033624	US	2004241765
		US	2008070804	WO	2005111230
WO	9707398	AU	67227/96	CA	2201712
		US	6083708	EP	0786087
WO	9918433	AU	95942/98	US	6106779
WO	02082078	EP	1448991		
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.					
END OF ANNEX					

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ライラット, デニス

オーストラリア国 ヴィクトリア 3150, ホイーラーズ ヒル, キム クローズ 1

(72)発明者 ホッジス, アラスデア

オーストラリア国 ヴィクトリア 3130, ブラックバーン サウス, ジャスミン コート

15

专利名称(译)	改进的免疫分析传感器		
公开(公告)号	JP2011527434A	公开(公告)日	2011-10-27
申请号	JP2011517271	申请日	2009-07-10
[标]申请(专利权)人(译)	环球生物医疗感测仪私人有限公司		
申请(专利权)人(译)	通用生物传感器私人有限公司		
[标]发明人	ライラットデニス ホッジスアラスデア		
发明人	ライラット, デニス ホッジス, アラスデア		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/553 G01N33/543 G01N37/00		
CPC分类号	G01N33/54366 B01L3/5027 B01L2200/0621 B01L2200/10 B01L2300/0645 B01L2300/0825 B01L2300/087 B01L2400/0406 B01L2400/0694 C12Q1/001 C12Q1/004 C12Q1/005 C12Q1/006 C12Q1/26 C12Q1/32 G01N33/53 G01N33/5302 G01N33/5306 G01N33/537 G01N33/538 G01N33/539 G01N33/541 G01N33/54393 G01N33/558 G01N33/581 G01N33/66		
FI分类号	G01N33/53.M G01N33/553 G01N33/543.501.M G01N37/00.101		
优先权	61/129688 2008-07-11 US		
其他公开文献	JP5769620B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文公开了用于检测流体样品中靶分析物的存在的装置。生物传感器装置可包括至少一个反应室和一个检测室。该装置可以包括放大机制，使得存在于流体样品中的一种靶分析物分子可以导致多种检测剂分子的产生/活化，并因此导致放大的信号。还公开了制造和使用这种生物传感器装置的方法。

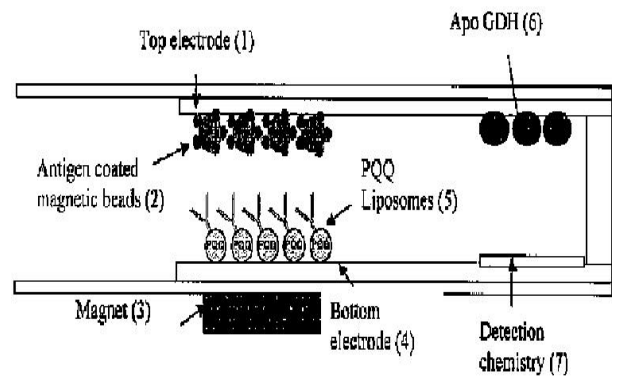


Figure 7