

(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2014-524741

(P2014-524741A)

(43) 公表日 平成26年9月25日(2014.9.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12M 1/34 (2006.01)	C12M 1/34 Z	2G045
C12Q 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68 A	4B029
C12Q 1/37 (2006.01)	C12Q 1/37	4B063
C12Q 1/04 (2006.01)	C12Q 1/04	
G01N 33/53 (2006.01)	C12M 1/34 F	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-518924 (P2014-518924)
 (86) (22) 出願日 平成24年6月26日 (2012.6.26)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年3月6日 (2014.3.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/044235
 (87) 国際公開番号 W02013/006312
 (87) 国際公開日 平成25年1月10日 (2013.1.10)
 (31) 優先権主張番号 61/504,793
 (32) 優先日 平成23年7月6日 (2011.7.6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/507,863
 (32) 優先日 平成23年7月14日 (2011.7.14)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 512222264
 アドバンスド リキッド ロジック イン
 コーポレイテッド
 ADVANCED LIQUID LOG
 IC, INC.
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2
 7709 リサーチ トライアングル パ
 ーク ビーオーボックス 14025
 (74) 代理人 100147485
 弁理士 杉村 憲司
 (74) 代理人 100164448
 弁理士 山口 雄輔
 (74) 代理人 100179866
 弁理士 加藤 正樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 液滴アクチュエーターにおける試薬保存

(57) 【要約】

1つ以上の試薬を含む液滴を提供する方法であって、1つ以上の試薬を含む第1の水滴を表面に付着させる工程と、液滴を乾燥させて、1つ以上の試薬を含む表面上に乾燥組成物を生成させる工程と、乾燥組成物をオイルで被覆する工程と、オイル中の第2の水滴を乾燥組成物に接触させ、それにより1つ以上の試薬を再懸濁させる工程とを含む方法。

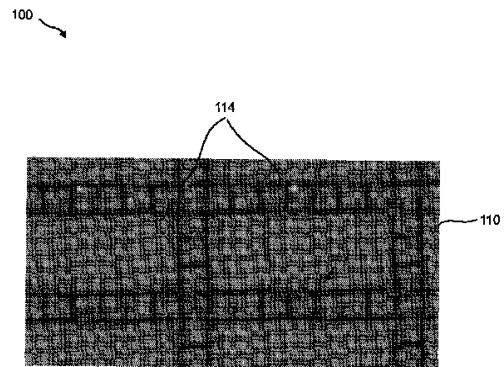


Figure 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1つ以上の試薬を含む液滴を提供する方法であって、
 (a) 1つ以上の試薬を含む第1の水滴を表面に付着させる工程と、
 (b) 前記液滴を乾燥させて、前記1つ以上の試薬を含む表面上に乾燥組成物を生成させる工程と、
 (c) 前記乾燥組成物をオイルで被覆する工程と、
 (d) 前記オイル中の第2の水滴を前記乾燥組成物に接触させ、それにより1つ以上の試薬を再懸濁させる工程と、
 を含む、方法。

10

【請求項 2】

前記水滴がさらに安定化剤を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 3】

前記安定化剤が糖を含む、請求項2以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 4】

前記糖が、デキストラン、スクロース、およびトレハロースからなる群より選択される請求項3以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記安定化剤がポリマーを含む、請求項2以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

前記1つ以上の試薬が、ビーズ、タンパク質、核酸、塩、糖、および界面活性剤からなる群より選択される試薬を含む、請求項2以降のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 7】

前記1つ以上の試薬が、標的を含むサンプルと組み合わせた際に標的核酸を増幅させるよう選択された試薬を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記1つ以上の試薬が抗体を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記1つ以上の試薬が、ビーズに添加された抗体を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 10】

前記1つ以上の試薬が、プロテアーゼを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

前記1つ以上の試薬がプロテアーゼKを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

前記1つ以上の試薬がレクチンを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

前記1つ以上の試薬がphaseolus vulgaris agglutininを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

前記1つ以上の試薬がビーズを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 15】

前記1つ以上の試薬がウイルスを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

前記1つ以上の試薬が孢子を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

前記1つ以上の試薬がバクテリアを含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】

前記1つ以上の試薬が菌を含む、請求項1以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

50

前記 1 つ以上の試薬が *armored RNA* を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

前記 1 つ以上の試薬が *armored DNA* を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

前記 1 つ以上の試薬がバクテリオファージを含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

前記 1 つ以上の試薬が MS2 を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 23】

前記 1 つ以上の試薬がポリマーを含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

前記 1 つ以上の試薬が感温性ポリマーを含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 25】

前記 1 つ以上の試薬が蛍光体を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 26】

前記 1 つ以上の試薬が核酸を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 27】

前記 1 つ以上の試薬が溶解試薬を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 28】

前記 1 つ以上の試薬がバッファーを含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 29】

前記 1 つ以上の試薬が磁気応答性ビーズを含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 30】

前記第 2 の水滴が、約 10 ピコリットル～約 10 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 31】

前記第 1 の水滴が、約 1 ナノリットル～約 3 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 32】

前記第 1 の水滴が、約 5 ナノリットル～約 1 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 33】

前記第 2 の水滴が、約 10 ピコリットル～約 10 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 34】

前記第 2 の水滴が、約 100 ピコリットル～約 5 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 35】

前記第 2 の水滴が、約 50 ナノリットル～約 2 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 36】

前記第 2 の水滴が、約 100 ナノリットル～約 0.5 ミリリットルの範囲の容量をもつ、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 37】

前記第 1 の水滴が界面活性剤を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 38】

前記第 2 の水滴が界面活性剤を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

50

- 【請求項 39】
前記表面が電極を含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 40】
前記表面がプラスチック表面からなる、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 41】
前記表面が疎水性である、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 42】
前記表面が電極を含み、前記乾燥組成物が前記電極の上に配置される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 43】 10
前記電極が、電極アレイの構成要素である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 44】
前記電極アレイが、前記表面上で液滴操作を行うよう構成されている、請求項 4 3 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 45】
前記第 2 の水滴と前記電極との、液滴容量：電極、の比が、約 1 ピコリットル：1 電極～約 5 ミリリットル：1 電極の範囲である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 46】 20
前記第 2 の水滴と前記電極との、液滴容量：電極、の比が、約 10 ピコリットル：1 電極～約 3 ミリリットル：1 電極の範囲である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 47】
前記第 2 の水滴と前記電極との、液滴容量：電極、の比が、約 1 ナノリットル：1 電極～約 1 ミリリットル：1 電極の範囲である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 48】
前記第 2 の水滴と前記電極との、液滴容量：電極、の比が、約 10 ナノリットル：1 電極～約 0.5 ミリリットル：1 電極の範囲である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 49】 30
前記第 2 の水滴と前記電極との、液滴容量：電極、の比が、約 50 ナノリットル：1 電極～約 0.3 ミリリットル：1 電極の範囲である、請求項 4 2 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 50】
工程 (d) がエレクトロウェットング液滴操作で媒介される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 51】
前記エレクトロウェットング液滴操作が約 0.5 ボルト～約 1000 ボルトの範囲の電圧を用いて媒介される、請求項 5 0 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 52】 40
前記エレクトロウェットング液滴操作が約 2 ボルト～約 700 ボルトの範囲の電圧を用いて媒介される、請求項 5 0 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 53】
前記エレクトロウェットング液滴操作が約 4 ボルト～約 500 ボルトの範囲の電圧を用いて媒介される、請求項 5 0 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 54】
前記エレクトロウェットング液滴操作が、約 0.1 Hz～約 10000 Hz の範囲の周波数で交流電圧を用いて媒介される、請求項 5 0 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 55】
前記エレクトロウェットング液滴操作が、約 1 Hz～約 1000 Hz の範囲の周波数で交流電圧を用いて媒介される、請求項 5 0 以降のいずれかに記載の方法。
- 【請求項 56】 50

前記エレクトロウエットング液滴操作が、約 2 Hz ~ 約 500 Hz の範囲の周波数で交流電圧を用いて媒介される、請求項 50 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 57】

工程 (d) が誘電泳動液滴操作で媒介される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 58】

前記第 2 の液滴にパルス印加する工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 59】

前記パルス印加が、電極により媒介される、請求項 58 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 60】

前記パルス印加が、エレクトロウエットングで媒介される、請求項 59 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 61】

前記パルス印加の on / off パルス比が、1 : 1 ~ 20 : 1 である請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 62】

前記パルス印加の on / off パルス比が、5 : 1 ~ 15 : 1 である請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 63】

前記パルス印加の on / off パルス比が、8 : 1 ~ 12 : 1 である請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 64】

前記パルス印加の on / off パルス比が 1 : 1 ~ 20 : 1 であり、各パルス印加サイクルが 1 ナノ秒 ~ 1 分である、請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 65】

前記エレクトロウエットング媒介パルス印加が on / off パルス比を有し、各パルス印加サイクルが 1 ミリ秒 ~ 30 秒である、請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 66】

前記エレクトロウエットング媒介パルス印加が on / off パルス比を有し、各パルス印加サイクルが 100 ミリ秒 ~ 5 秒である、請求項 60 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 67】

前記乾燥組成物が、約 15 分未満で実質的に溶解する、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 68】

前記乾燥組成物が、約 7 分未満で実質的に溶解する、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 69】

前記乾燥組成物が、約 5 分未満で実質的に溶解する、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 70】

前記乾燥組成物が、約 3 分未満で実質的に溶解する、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 71】

前記方法が、前記第 2 の液滴を、前記乾燥組成物を横切って前後に往復させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 72】

前記乾燥組成物を横切る、前記第 2 の液滴の前後の前記往復が、電極により媒介される、請求項 71 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 73】

前記第 2 の液滴の往復がエレクトロウエットングで媒介される、請求項 71 以降のい

10

20

30

40

50

ずれかに記載の方法。

【請求項 7 4】

前記乾燥組成物を横切る、前記第 2 の液滴の前記往復が、2 つの隣接する電極を ON にすることにより媒介される、請求項 7 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 5】

前記乾燥組成物を横切る、前記第 2 の液滴の前記往復が、1 つの電極のみを ON にすることにより媒介される、請求項 7 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 6】

第 2 の液滴が前記乾燥組成物を通過する頻度が、10 ミリ秒毎に 1 回 ~ 20 秒毎に 1 回の範囲である、請求項 7 1 以降のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 7 7】

第 2 の液滴が前記乾燥組成物を通過する頻度が、100 ミリ秒毎に 1 回 ~ 15 秒毎に 1 回の範囲である、請求項 7 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 8】

第 2 の液滴が前記乾燥組成物を通過する頻度が、200 ミリ秒毎に 1 回 ~ 10 秒毎に 1 回の範囲である、請求項 7 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 9】

前記オイルが約 0.5 cSt ~ 約 15 cSt の範囲の粘度をもつオイルである、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 0】

前記オイルが約 1 cSt ~ 約 10 cSt の範囲の粘度をもつシリコンオイルである、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 8 1】

前記オイルが、シリコンオイル、過フッ素化オイル、およびヘキサデカンからなる群より選択される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 2】

前記乾燥組成物の 50% 超が、前記第 2 の液滴によって再懸濁される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 3】

前記乾燥組成物の 80% 超が、前記第 2 の液滴によって再懸濁される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 8 4】

前記乾燥組成物の 90% 超が、前記第 2 の液滴によって再懸濁される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 5】

前記乾燥組成物の 95% 超が、前記第 2 の液滴によって再懸濁される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 6】

前記乾燥組成物の 99% 超が、前記第 2 の液滴によって再懸濁される、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 8 7】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて測定を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 8】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて免疫測定を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 9】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて細胞操作処理を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 0】

50

前記再懸濁された乾燥組成物を用いた電気化学測定をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 1】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて酵素分析を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 2】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いてポリメラーゼ連鎖反応測定 (PCR) を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 3】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 測定を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 9 4】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いてサンプル調製を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 5】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて血液のサンプル調製を行う工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 6】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて血球を凝集させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 9 7】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて赤血球を凝集させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 8】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて細胞を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 9】

前記前記再懸濁された乾燥組成物を用いて胞子を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いてバクテリアを溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 1 0 1】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて菌類を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 2】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて血球を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 3】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いてウイルスを溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 1 0 4】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて armored RNA を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 5】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて armored DNA を溶解させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 6】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて核酸をビーズに結合させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

50

【請求項 107】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて抗原をビーズに結合させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 108】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて前記サンプルを洗浄する工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 109】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いてビーズを洗浄する工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 110】

前記再懸濁された乾燥組成物を用いて核酸を溶離させる工程をさらに含む、請求項 1 以降のいずれかに記載の方法。

【請求項 111】

前記第 1 の水滴が、約 1 ナノリットル～約 20 マイクロリットルの範囲の容量の、核酸増幅のための試薬を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 112】

前記第 1 の水滴が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 113】

前記第 1 の水滴が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 114】

前記第 1 の水滴が、約 0 % w / v ~ 約 50 % w / v の範囲の濃度のデキストランを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 115】

前記第 1 の水滴が、約 0 % w / v ~ 約 30 % w / v の範囲の濃度のデキストランを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 116】

前記第 1 の水滴が、約 0.05 μ M ~ 約 5 μ M の範囲の濃度のプライマーを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 117】

前記第 1 の水滴が、約 0.05 μ M ~ 約 2 μ M の範囲の濃度のプローブを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 118】

前記第 1 の水滴が、約 0.1 mM ~ 約 10 mM の範囲の濃度の酢酸マンガンを含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 119】

前記第 1 の水滴が、約 0.2 倍 ~ 約 15 倍の範囲の濃度の、PCR 可能な酵素を含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 120】

前記第 1 の水滴が、約 0.2 倍 ~ 約 15 倍の範囲の濃度の、RT-PCR 可能な酵素を含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 121】

前記第 1 の水滴が、約 0.2 倍 ~ 約 20 倍の範囲の濃度の、RNase 阻害物質を含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 122】

前記第 1 の水滴が、約 0.2 倍 ~ 約 20 倍の範囲の濃度の、DNase 阻害物質を含む、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 123】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル～約 100 マイクロリットルの間の容量の ar

10

20

30

40

50

more d RNAを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

armored RNAの濃度が、約 10^9 / mL ~ 約 10^2 / mL である、請求項 1 2 3 に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 100 マイクロリットルの間の容量をもつ 1 つ以上の糖および armored RNA を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

armored RNAの濃度が、約 10^9 / mL ~ 約 10^2 / mL の範囲内である、請求項 1 2 5 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 7】

前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

20

【請求項 1 3 1】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 100 マイクロリットルの範囲の容量のウイルスを含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 1 3 4】

ウイルスの濃度が、約 10^9 c f u / mL ~ 約 10^2 c f u / mL の範囲内である、請求項 1 3 3 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 100 マイクロリットルの範囲の容量の 1 つ以上の糖およびウイルスを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 6】

ウイルスの濃度が、約 10^9 c f u / mL ~ 約 10^2 c f u / mL の範囲内である、請求項 1 3 5 に記載の方法。

40

【請求項 1 3 7】

前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 1 3 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 8】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 1 3 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 9】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 3 5 に記載の方法。

【請求項 1 4 0】

50

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約40% w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項135に記載の方法。

【請求項141】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約60% w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項135に記載の方法。

【請求項142】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約20% w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項135に記載の方法。

【請求項143】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル ~ 約100マイクロリットルの範囲の容量のMS2を含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項144】

MS2の濃度が、約 10^9 cfu/mL ~ 約 10^2 cfu/mLの範囲内である、請求項143に記載の方法。

【請求項145】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル ~ 約100マイクロリットルの範囲の容量の1つ以上の糖およびMS2を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項146】

MS2の濃度が、約 10^9 cfu/mL ~ 約 10^2 cfu/mLの範囲内である、請求項145に記載の方法。

20

【請求項147】

前記1つ以上の糖の濃度が、約0% w/v ~ 約70% w/vの範囲内である、請求項145に記載の方法。

【請求項148】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項145に記載の方法。

【請求項149】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約70% w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項145に記載の方法。

【請求項150】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約40% w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項145に記載の方法。

30

【請求項151】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約60% w/vの範囲の濃度のデキストランを含む、請求項145に記載の方法。

【請求項152】

前記1つ以上の糖が、約0% w/v ~ 約20% w/vの範囲の濃度のデキストランを含む、請求項145に記載の方法。

【請求項153】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル ~ 約100マイクロリットルの範囲の容量のarmored DNAを含む、請求項1に記載の方法。

40

【請求項154】

armored DNAの濃度が、約 10^9 コピー/mL ~ 約 10^2 コピー/mLの範囲内である、請求項153に記載の方法。

【請求項155】

前記第1の水滴が、20ナノリットル ~ 100マイクロリットルの間の容量をもつarmored DNAおよび約20ナノリットル ~ 約100マイクロリットルの間の容量の1つ以上の糖を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項156】

armored DNAの濃度が、約 10^9 コピー/mL ~ 約 10^2 コピー/mLの範

50

囲内である、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 5 7】

前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 5 8】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 5 9】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 5 5 に記載の方法。

10

【請求項 1 6 0】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 1】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 2】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 3】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 0 マイクロリットルの範囲の容量をもつ胞子を含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 1 6 4】

前記胞子の濃度が、約 10^9 / mL ~ 約 10^1 / mL の範囲である、請求項 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 6 5】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 0 マイクロリットルの範囲の容量をもつ 1 つ以上の糖および胞子を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 6 6】

前記胞子の濃度が、約 10^9 / mL ~ 約 10^1 / mL の範囲である、請求項 1 6 5 に記載の方法。

30

【請求項 1 6 7】

前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 8】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 9】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 6 5 に記載の方法。

40

【請求項 1 7 0】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 7 1】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 7 2】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 7 3】

50

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約100マイクロリットルの範囲の容量のバクテリアを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項174】

バクテリアの濃度が、約 10^9 / mL～約 10^1 / mLの範囲内である、請求項173に記載の方法。

【請求項175】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約100マイクロリットルの範囲の容量の1つ以上の糖およびバクテリアを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項176】

バクテリアの濃度が、約 10^9 / mL～約 10^1 / mLの範囲内である、請求項175

10

に記載の方法。

【請求項177】

前記1つ以上の糖の濃度が、約0% w / v～約70% w / vの範囲内である、請求項175に記載の方法。

【請求項178】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項175

に記載の方法。

【請求項179】

前記1つ以上の糖が、約0% w / v～約70% w / vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項175に記載の方法。

20

【請求項180】

前記1つ以上の糖が、約0% w / v～約40% w / vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項175に記載の方法。

【請求項181】

前記1つ以上の糖が、約0% w / v～約60% w / vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項175に記載の方法。

【請求項182】

前記1つ以上の糖が、約0% w / v～約20% w / vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項175に記載の方法。

【請求項183】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約100マイクロリットルの範囲の容量をもつレクチンを含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項184】

レクチンの濃度が、約10 ng / mL～約1 mg / mLの範囲内である、請求項183

に記載の方法。

【請求項185】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約100マイクロリットルの範囲の容量をもつ1つ以上の糖およびレクチンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項186】

レクチンの濃度が、約10 ng / mL～約1 mg / mLの範囲内である、請求項185

40

に記載の方法。

【請求項187】

前記1つ以上の糖の濃度が、約0% w / v～約70% w / vの範囲内である、請求項185

に記載の方法。

【請求項188】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項185

に記載の方法。

【請求項189】

前記1つ以上の糖が、約0% w / v～約70% w / vの範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項185に記載の方法。

50

- 【請求項 190】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 185 に記載の方法。
- 【請求項 191】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 185 に記載の方法。
- 【請求項 192】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 185 に記載の方法。
- 【請求項 193】 10
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 100 マイクロリットルの範囲の容量をもつ *phaseolus vulgaris agglutinin* を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 194】
phaseolus vulgaris agglutinin の濃度が、約 10 ng / mL ~ 約 1 mg / mL の範囲内である、請求項 193 に記載の方法。
- 【請求項 195】
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 100 マイクロリットルの範囲の容量をもつ 1 つ以上の糖および *phaseolus vulgaris agglutinin* を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 196】 20
前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 197】
前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 198】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 199】 30
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 200】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度のデキストランを含む、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 201】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度のデキストランを含む、請求項 195 に記載の方法。
- 【請求項 202】
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの範囲の容量のプロテイナーゼ K を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 203】 40
プロテイナーゼ K の濃度が、約 1 ng / mL ~ 約 40 mg / mL の範囲内である、請求項 202 に記載の方法。
- 【請求項 204】
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの範囲の容量をもつ 1 つ以上の糖およびプロテイナーゼ K を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 205】
プロテイナーゼ K の濃度が、約 1 ng / mL ~ 約 40 mg / mL の範囲内である、請求項 204 に記載の方法。
- 【請求項 206】 50
前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 2

04に記載の方法。

【請求項207】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項204に記載の方法。

【請求項208】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約70%w/vの範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項204に記載の方法。

【請求項209】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約40%w/vの範囲の濃度のトレハロースを含む、請求項204に記載の方法。

【請求項210】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約60%w/vの範囲の濃度のデキストランを含む、請求項204に記載の方法。

【請求項211】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約20%w/vの範囲の濃度のデキストランを含む、請求項204に記載の方法。

【請求項212】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約1mLの範囲の容量の溶解バッファーを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項213】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約1mLの範囲の容量の1つ以上の糖および溶解バッファーを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項214】

前記1つ以上の糖の濃度が、約0%w/v～約70%w/vの範囲内である、請求項213に記載の方法。

【請求項215】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項213に記載の方法。

【請求項216】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約70%w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項213に記載の方法。

【請求項217】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約40%w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項213に記載の方法。

【請求項218】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約60%w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項213に記載の方法。

【請求項219】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約20%w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項213に記載の方法。

【請求項220】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約10マイクロリットルの範囲の容量をもつ感磁ビーズを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項221】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約10マイクロリットルの範囲の容量をもつ1つ以上の糖および感磁ビーズを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項222】

前記1つ以上の糖の濃度が、約0%w/v～約70%w/vの範囲内である、請求項221に記載の方法。

【請求項223】

10

20

30

40

50

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 2 4】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 2 5】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 2 6】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 2 1 に記載の方法。

10

【請求項 2 2 7】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 2 8】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 マイクロリットルの範囲の容量をもつビーズを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 2 9】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 マイクロリットルの範囲の容量をもつ 1 つ以上の糖およびビーズを含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 2 3 0】

前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 2 2 9 に記載の方法。

【請求項 2 3 1】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 2 9 に記載の方法。

【請求項 2 3 2】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 2 9 に記載の方法。

【請求項 2 3 3】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 2 9 に記載の方法。

30

【請求項 2 3 4】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 2 9 に記載の方法。

【請求項 2 3 5】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 2 9 に記載の方法。

【請求項 2 3 6】

前記第 1 の水滴が、ビーズが約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 m L の範囲の容量をもつ核酸に結合できるようにするバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 2 3 7】

前記第 1 の水滴が、ビーズが約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 m L の範囲の容量をもつ 1 つ以上の糖および核酸に結合できるようにするバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 3 8】

前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 2 3 9】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 3 7 に記載の方法。

50

- 【請求項 2 4 0】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 3 7 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 1】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 3 7 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 2】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 3 7 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 3】 10
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 3 7 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 4】
前記第 1 の水滴が、タンパク質が約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 m L の範囲の容量のビーズに結合できるようにするバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 5】
前記第 1 の水滴が、タンパク質が約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 m L の範囲の容量の 1 つ以上の糖およびビーズに結合できるようにするバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 6】 20
前記 1 つ以上の糖の濃度が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 7】
前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 8】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 4 9】 30
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 0】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 1】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 4 5 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 2】
前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 5 0 マイクロリットルの間の容量をもつ核酸に結合したビーズを洗浄するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 3】 40
前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 5 0 マイクロリットルの間の容量をもつ 1 つ以上の糖および核酸に結合したビーズを洗浄するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 4】
前記糖の濃度が 0 % w / v ~ 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 2 5 3 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 5】
前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 5 3 に記載の方法。
- 【請求項 2 5 6】 50

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 253 に記載の方法。

【請求項 257】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 253 に記載の方法。

【請求項 258】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 253 に記載の方法。

【請求項 259】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 253 に記載の方法。

10

【請求項 260】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 50 マイクロリットルの間の容量のタンパク質に結合したビーズを洗浄するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 261】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 50 マイクロリットルの間の容量の 1 つ以上の糖およびタンパク質に結合したビーズを洗浄するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 262】

前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 261 に記載の方法。

20

【請求項 263】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 261 に記載の方法。

【請求項 264】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 261 に記載の方法。

【請求項 265】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 261 に記載の方法。

30

【請求項 266】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 261 に記載の方法。

【請求項 267】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 261 に記載の方法。

【請求項 268】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 20 マイクロリットルの間の容量のビーズから核酸を溶離するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 269】

前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 20 マイクロリットルの間の容量をもつ 1 つ以上の糖およびビーズから核酸を溶離するバッファーを含む、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 270】

前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 269 に記載の方法。

【請求項 271】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 269 に記載の方法。

【請求項 272】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロース

50

を含む、請求項 2 6 9 に記載の方法。

【請求項 2 7 3】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 6 9 に記載の方法。

【請求項 2 7 4】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 6 9 に記載の方法。

【請求項 2 7 5】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 6 9 に記載の方法。

【請求項 2 7 6】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 2 0 マイクロリットルの間の容量の感温性ポリマーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 7 7】

前記感温性ポリマーが、約 0 % w / v ~ 約 5 0 % w / v の範囲の濃度をもつ、請求項 2 7 6 に記載の方法。

【請求項 2 7 8】

前記感温性ポリマーがポリ (N - イソプロピルアクリルアミド) を含む、請求項 2 7 6 に記載の方法。

【請求項 2 7 9】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 マイクロリットルの間の容量の抗体を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 0】

抗体の濃度が、約 1 n g / m L ~ 約 1 m g / m L の範囲内である、請求項 2 7 9 に記載の方法。

【請求項 2 8 1】

前記第 1 の水滴が、約 2 0 ナノリットル ~ 約 1 0 マイクロリットルの間の容量の 1 つ以上の糖および抗体を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 2】

抗体の濃度が、約 1 n g / m L ~ 約 1 m g / m L の範囲内である、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 3】

前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 4】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 5】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 6】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 7】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 8】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 2 8 1 に記載の方法。

【請求項 2 8 9】

10

20

30

40

50

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約10マイクロリットルの間の容量の - ガラクトシダーゼを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項290】

- ガラクトシダーゼの濃度が約0.01nM～約10μMの範囲内である、請求項289に記載の方法。

【請求項291】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約10マイクロリットルの間の容量の1つ以上の糖および - ガラクトシダーゼを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項292】

- ガラクトシダーゼの濃度が約0.01nM～約10μMの範囲内である、請求項291に記載の方法。

10

【請求項293】

前記1つ以上の糖の濃度が約0%w/v～約70%w/vの範囲内である、請求項291に記載の方法。

【請求項294】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項291に記載の方法。

【請求項295】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約70%w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項291に記載の方法。

20

【請求項296】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約40%w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項291に記載の方法。

【請求項297】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約60%w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項291に記載の方法。

【請求項298】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約20%w/vの範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項291に記載の方法。

【請求項299】

30

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約30マイクロリットルの間の容量のウシ血清アルブミンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項300】

ウシ血清アルブミンの濃度が、約100ng/mL～約50mg/mLの範囲内である、請求項299に記載の方法。

【請求項301】

前記第1の水滴が、約20ナノリットル～約30マイクロリットルの間の容量の1つ以上の糖およびウシ血清アルブミンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項302】

ウシ血清アルブミンの濃度が、約100ng/mL～約50mg/mLの範囲内である、請求項301に記載の方法。

40

【請求項303】

前記1つ以上の糖の濃度が約0%w/v～約70%w/vの範囲内である、請求項301に記載の方法。

【請求項304】

前記1つ以上の糖が、デキストランおよび/またはトレハロースを含む、請求項301に記載の方法。

【請求項305】

前記1つ以上の糖が、約0%w/v～約70%w/vの範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項301に記載の方法。

50

- 【請求項 306】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 301 に記載の方法。
- 【請求項 307】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 301 に記載の方法。
- 【請求項 308】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 301 に記載の方法。
- 【請求項 309】 10
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの間の容量をもつ血清を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 310】
血清の濃度が約 1 % ~ 約 30 % の範囲内である、請求項 309 に記載の方法。
- 【請求項 311】
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの間の容量の 1 つ以上の糖および血清を含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 312】
血清の濃度が約 1 % ~ 約 30 % の範囲内である、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 313】 20
前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲内である、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 314】
前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 315】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 70 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 316】 30
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 40 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 317】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 60 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 318】
前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 20 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 311 に記載の方法。
- 【請求項 319】 40
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの間の容量をもつ 4 - メチルウンベリフェロンを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 320】
4 - メチルウンベリフェロンの濃度が、約 1 μ M ~ 約 1 mM の範囲内である、請求項 319 に記載の方法。
- 【請求項 321】
前記 4 - メチルウンベリフェロンが、2 - アミノ - 2 - メチル - 1 - プロパノール (AMP) バッファーに溶解される、請求項 319 に記載の方法。
- 【請求項 322】
前記第 1 の水滴が、約 20 ナノリットル ~ 約 30 マイクロリットルの間の容量の 1 つ以上の糖および 4 - メチルウンベリフェロンを含む、請求項 1 に記載の方法。
- 【請求項 323】 50

4 - メチルウンベリフェロンの濃度が、約 1 μ M ~ 約 1 mM の範囲内である、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 2 4】

前記 4 - メチルウンベリフェロンが、2 - アミノ - 2 - メチル - 1 - プロパノール (AMP) バッファーに溶解される、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 2 5】

前記 1 つ以上の糖の濃度が約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲内である、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 2 6】

前記 1 つ以上の糖が、デキストランおよび / またはトレハロースを含む、請求項 3 2 2 に記載の方法。

10

【請求項 3 2 7】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 7 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 2 8】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 4 0 % w / v の範囲の濃度をもつトレハロースを含む、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 2 9】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 6 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 3 2 2 に記載の方法。

20

【請求項 3 3 0】

前記 1 つ以上の糖が、約 0 % w / v ~ 約 2 0 % w / v の範囲の濃度をもつデキストランを含む、請求項 3 2 2 に記載の方法。

【請求項 3 3 1】

前記 1 つ以上の試薬が RNase 阻害物質を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3 2】

前記 1 つ以上の試薬がプロテアーゼ阻害物質を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3 3】

前記 1 つ以上の試薬が DNase 阻害物質を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3 4】

前記 1 つ以上の試薬がトレハラゼ阻害物質を含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 3 3 5】

前記 1 つ以上の試薬が、糖の消化を阻む分子または化合物を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3 6】

前記 1 つ以上の試薬が、炭水化物の消化を阻む分子または化合物を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 3 7】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が核酸を増幅させ得る、疎水性表面。

40

【請求項 3 3 8】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が RT - PCR を実行し得る、疎水性表面。

【請求項 3 3 9】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が PCR を実行し得る、疎水性表面。

【請求項 3 4 0】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が armored RNA を含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 1】

50

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が *armored DNA* を含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 2】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴がウイルスを含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 3】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が *MS 2* を含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 4】

請求項 1 に記載したように、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴がレクチンを含む、疎水性表面。

10

【請求項 3 4 5】

請求項 1 に記載したように、その上に 3 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *MS 2* を含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 6】

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *MS 2* を含み、第 4 の再懸濁された液滴がレクチンを含む、疎水性表面。

20

【請求項 3 4 7】

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *MS 2* を含み、第 4 の再懸濁された液滴が *ph aseolus vulgaris agglutinin* を含む、疎水性表面。

【請求項 3 4 8】

請求項 1 に記載したように、その上に 5 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *MS 2* を含み、第 4 の再懸濁された液滴が *ph aseolus vulgaris agglutinin* を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ *K* を含む、疎水性表面。

30

【請求項 3 4 9】

請求項 1 に記載したように、その上に 8 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *MS 2* を含み、第 4 の再懸濁された液滴が *ph aseolus vulgaris agglutinin* を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ *K* を含み、第 6 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 7 の再懸濁された液滴が、ビーズから核酸を溶離させるバッファーを含み、第 8 の液滴が血液を溶解させるバッファーを含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 0】

請求項 1 に記載したように、その上に 3 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *armored RNA* を含む、疎水性表面。

40

【請求項 3 5 1】

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が *RT-PCR* を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が *armored RNA* を含み、第 4 の再懸濁された液滴がレクチンを含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 2】

50

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が a r m o r e d R N A を含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 3】

請求項 1 に記載したように、その上に 5 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が a r m o r e d R N A を含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含む、疎水性表面。

10

【請求項 3 5 4】

請求項 1 に記載したように、その上に 8 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が a r m o r e d R N A を含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含み、第 6 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 7 の再懸濁された液滴が、ビーズから核酸を溶離させるバッファーを含み、第 8 の液滴が血液を溶解させるバッファーを含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 5】

請求項 1 に記載したように、その上に 3 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がバクテリオファージを含む、疎水性表面。

20

【請求項 3 5 6】

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴を供給する疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がバクテリオファージを含み、第 4 の再懸濁された液滴がレクチンを含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 7】

請求項 1 に記載したように、その上に 4 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がバクテリオファージを含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含む、疎水性表面。

30

【請求項 3 5 8】

請求項 1 に記載したように、その上に 5 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がバクテリオファージを含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含む、疎水性表面。

【請求項 3 5 9】

請求項 1 に記載したように、その上に 8 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が R T - P C R を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がバクテリオファージを含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含み、第 6 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 7 の再懸濁された液滴が、ビーズから核酸を溶離させるバッファーを含み、第 8 の液滴が血液を溶解させるバッファーを含む、疎水性表面。

40

【請求項 3 6 0】

請求項 1 に記載したとおり、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が感磁ビーズを含む、疎水性表面。

【請求項 3 6 1】

50

請求項 1 に記載したとおり、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴がビーズを含む、疎水性表面。

【請求項 3 6 2】

請求項 1 に記載したとおり、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が感温性ポリマーを含む、疎水性表面。

【請求項 3 6 3】

請求項 1 に記載したとおり、その上に 1 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、前記再懸濁された液滴が感温性ポリマーを含む、疎水性表面。

【請求項 3 6 4】

請求項 1 に記載したように、その上に 8 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が PCR を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が armored DNA を含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含み、第 6 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 7 の再懸濁された液滴が、ビーズから核酸を溶離させるバッファーを含み、第 8 の液滴が血液を溶解させるバッファーを含む、疎水性表面。

10

【請求項 3 6 5】

請求項 1 に記載したように、その上に 8 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が PCR を実行し得、第 2 の再懸濁された液滴が磁気ビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴が DNA を含み、第 4 の再懸濁された液滴が phaseolus vulgaris agglutinin を含み、第 5 の再懸濁された液滴がプロテイナーゼ K を含み、第 6 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 7 の再懸濁された液滴が、ビーズから核酸を溶離させるバッファーを含み、第 8 の液滴が血液を溶解させるバッファーを含む、疎水性表面。

20

【請求項 3 6 6】

請求項 1 に記載したように、その上に 5 滴のユニーク液滴が供給される疎水性表面であって、第 1 の再懸濁された液滴が抗体を含み、第 2 の再懸濁された液滴がビーズを含み、第 3 の再懸濁された液滴がレクチンを含み、第 4 の再懸濁された液滴がビーズを洗浄するバッファーを含み、第 5 の再懸濁された液滴が 4 - メチルウンベリフェロン - Pi を含む、疎水性表面。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1 政府の権利

本発明は、米国保健福祉省により付与された H G 0 0 4 3 5 4 に基づく政府の援助を受けてなされたものである。米国政府は本発明に一定の権利を有する。

【背景技術】

【0002】

2 背景

液滴アクチュエーターは、通常、液滴操作を行うための表面または間隙を形成するように構成された 1 つ以上の基板を含む。1 つ以上の基板は液滴操作を行うための液滴操作表面または間隙をなし、液滴操作を行うために配置された電極を含んでいてもよい。液滴操作基板または基板間の液滴操作間隙は、液滴を形成する液体と混和しない充填流体で被覆または充填されていてもよい。

40

【発明の概要】

【0003】

液滴アクチュエーターは、デジタルマイクロ流体工学の自由度が高く広範であることにより高速かつ高感度な多機能検査装置が提供されるポイントオブケア検査などの分子診断検査をはじめとした様々な用途に用いられる。ポイントオブケア検査では、診断装置は通常、診断検査に必要な測定試薬が予めセットされた状態で提供される。そのため、液滴アク

50

チューエーターにおいて測定試薬を保存する方法が必要とされる。

【0004】

3 定義

以下の用語は、本明細書では以下に示された意味を有する。

【0005】

1つ以上の電極に対して「活性化する」とは、1つ以上の電極の電気的狀態の変化に影響を及ぼすことを意味し、液滴の存在下では、これにより液滴操作が行われる。電極の活性化は、交流電流または直流電流により達成され得る。適したいずれの電圧を用いてもよい。例えば、約150Vより大きい、または約200Vより大きい、または約250Vより大きい、または約275V～約375V、または約300Vの電圧を用いて電極を活性化してもよい。交流電流を用いる場合、いずれの適した周波数を用いてもよい。例えば、約1Hz～約100Hz、または約10Hz～約60Hz、または約20Hz～約40Hz、または約30Hzの周波数を有する交流電流を用いて電極を活性化してもよい。

10

【0006】

液滴アクチュエーターにおけるビーズに関して「ビーズ」は、液滴アクチュエーター上の液滴または液滴アクチュエーターに近接する液滴に相互作用し得る何らかのビーズまたは粒子を意味する。ビーズは、球、略球、卵形、ディスク形、立方体、不定形および他の3次元形状等の多種多様な形状であってもよい。ビーズは、例えば、液滴アクチュエーター上の液滴内で液滴操作を受けてもよく、またそうでなければ、液滴アクチュエーター上の液滴が液滴アクチュエーター上のおよび/または液滴アクチュエーター外のビーズに接触できるように、液滴アクチュエーターに対して構成されてもよい。ビーズは、液滴中、液滴操作間隙中、または、液滴操作表面上に供給されてもよい。ビーズは、液滴操作間隙の外部のリザーバ内に設けられてもよく、または液滴操作表面から離れた場所に位置するリザーバ内に設けられてもよい。当該リザーバは、ビーズを含む液滴を液滴操作間隙または液滴操作表面に運ぶことができる流体通路に連結していてもよい。ビーズは、例えば、樹脂、およびポリマーを含む多種多様な材料を用いて製造されてもよい。ビーズは、例えば、マイクロビーズ、マイクロ粒子、ナノビーズおよびナノ粒子を含むいずれの適した大きさであってもよい。いくつかの場合、ビーズは、磁気応答性であり、他の場合ではビーズはそれほど磁気応答性ではない。磁気応答性ビーズでは、磁気応答性材料が実質的にビーズの全てを構成していてもよく、ビーズの一部を構成していてもよく、またはビーズの一部のみを構成していてもよい。ビーズの残部は、とりわけ、ポリマー材料、コーティング、および測定試薬を付着させることができる部分を含んでいてもよい。好適なビーズの例は、フローサイトメトリーマイクロビーズ、ポリスチレンマイクロ粒子およびポリスチレンナノ粒子、機能化ポリスチレンマイクロ粒子および機能化ポリスチレンナノ粒子、被覆ポリスチレンマイクロ粒子および被覆ポリスチレンナノ粒子、シリカマイクロビーズ、蛍光マイクロスフェアおよび蛍光ナノスフェア、機能化蛍光マイクロスフェアおよび機能化蛍光ナノスフェア、被覆蛍光マイクロスフェアおよび被覆蛍光ナノスフェア、着色ダイマイクロ粒子および着色ダイナノ粒子、磁気マイクロ粒子および磁気ナノ粒子、超常磁性マイクロ粒子および超常磁性ナノ粒子（例えば、DYNABEADS（登録商標）粒子、CA、CarlsbadのInvitrogen Group社から入手可能）、蛍光マイクロ粒子および蛍光ナノ粒子、被覆磁気マイクロ粒子および被覆磁気ナノ粒子、強磁性マイクロ粒子および強磁性ナノ粒子、被覆強磁性マイクロ粒子および被覆強磁性ナノ粒子、および2005年11月24日に公開された題名「Multiplex flow assays preferably with magnetic particles as solid phase」の米国特許出願公開第20050260686号明細書；2003年7月17日に公開された題名「Encapsulation of discrete quanta of fluorescent particles」の米国特許出願公開第20030132538号明細書；2005年6月2日に公開された題名「Multiplexed Analysis of Clinical Specimens Apparatus and Method」の米国特許出願公開第20050118574号明細書；2005年12月15日に公開された題名「Microparticles with Multiple Fluorescent Signals and Methods of Using Same」の米国特許出願公開第20050277197号明細書；2006年7月20日に公開された題名「Magnetic Micros

20

30

40

50

pheres for use in Fluorescence-based Applications」の米国特許出願公開第20060159962号明細書に記載のビーズを含み、当該明細書のビーズならびに磁気応答性材料および磁気応答性ビーズに関する教示を参照して、その開示全体が本明細書に援用される。ビーズは、生体分子と、または、生体分子と結合して錯体を形成し得る他の物質と、予備結合してもよい。ビーズは、抗体、タンパク質もしくは抗原、DNA/RNAプローブまたは所望の標的への親和性を有する何らかの他の分子と予備結合してもよい。磁気応答性ビーズおよび/または非磁気応答性ビーズを固定するためのおよび/またはビーズを用いた液滴操作手順を実行するための液滴アクチュエーター技術の例が、以下に記載されており、その開示全体が参照により本明細書に援用される：2006年12月15日に出願された題名「Droplet-Based Particle Sorting」の米国特許出願第11/639,566号；2008年3月25日に出願された題名「Multiplexing Bead Detection in a Single Droplet」の米国特許出願第61/039,183号；2008年4月25日に出願された題名「Droplet Actuator Devices and Droplet Operations Using Beads」の米国特許出願第61/047,789号；2008年8月5日に出願された題名「Droplet Actuator Devices and Methods for Manipulating Beads」の米国特許出願第61/086,183号；2008年2月11日に出願された題名「Droplet Actuator Devices and Methods Employing Magnetic beads」の国際特許出願第PCT/US2008/053545号；2008年3月24日に出願された題名「Bead-based Multiplexed Analytical Methods and Instrumentation」の国際特許出願第PCT/US2008/058018号；2008年3月23日に出願された題名「Bead Sorting on a Droplet Actuator」の国際特許出願第PCT/US2008/058047号；および2006年12月11日に出願された題名「Droplet-based Biochemistry」の国際特許出願第PCT/US2006/047486号。本発明の複数の態様でビーズ特性を用いてもよい。複数の態様に適した特性を有するビーズの例は、斯かるビーズから放出される信号を検出および解析する方法と同様に、以下の文献に見出すことができる：2008年12月11日に公開された題名「Systems and Methods for Multiplex Analysis of PCR in Real Time」の米国特許出願公開第20080305481号明細書；2008年6月26日に公開された題名「Methods and Systems for Dynamic Range Expansion」の米国特許出願公開第20080151240号明細書；2007年9月6日に公開された題名「Methods, Products, and Kits for Identifying an Analyte in a Sample」の米国特許出願公開第20070207513号明細書；2007年3月22日に公開された題名「Methods and Systems for Image Data Processing」の米国特許出願公開第20070064990号明細書；2006年7月20日に公開された題名「Magnetic Microspheres for use in Fluorescence-based Applications」の米国特許出願公開第20060159962号明細書；2005年12月15日に公開された題名「Microparticles with Multiple Fluorescent Signals and Methods of Using Same」の米国特許出願公開第20050277197号明細書；および2005年6月2日に公開された題名「Multiplexed Analysis of Clinical Specimens Apparatus and Method」の米国特許出願公開第20050118574号明細書。

10

20

30

40

50

【0007】

「液滴」は、液滴アクチュエーターにおけるある容量の液体を意味する。通常、液滴は充填流体により少なくとも部分的に境界をつけられる。例えば、液滴は充填流体に完全に覆われていてもよいし、または充填流体および液滴アクチュエーターの1つ以上の表面により境界をつけられてもよい。他の例として、液滴は、充填流体、液滴アクチュエーターの1つ以上の表面、および/または大気により境界をつけられてもよい。さらに別の例として、液滴は、充填流体および大気により境界をつけられてもよい。液滴は、例えば、水性もしくは非水性であってもよいし、または水性成分および非水性成分を含む混合物またはエマルションであってもよい。液滴は、多種多様な形状を取ってもよい；液滴の形状の例はこれらに限定されないが、以下の形状を含む：略ディスク形、ガラス玉形、平頭球形、楕円体、球形、一部偏平な球、半球、卵形、円筒形、斯かる形状の組み合わせ、および混合もしくは分割等の液滴操作の間に形成される様々な形状、または斯かる形状が液滴アクチュエーターの1つ以上の表面と接触する結果形成される様々な形状。本発明の方法を用いた液滴操作を施してもよい液滴流体の例については、2006年12月11日に出願

された題名「Droplet-Based Biochemistry」の国際特許出願第PCT/US06/47486号を参照されたい。様々な実施形態で、液滴は、全血、リンパ液、血清、血漿、汗、涙、唾液、痰、脳脊髄液、羊水、精液、膣排泄物、漿液、滑液、心膜液、腹水、胸膜液、濾出液、滲出液、囊胞液、胆汁、尿、胃液、腸液、糞試料、単細胞または複数細胞を含む液体、細胞小器官を含む液体、流動組織、流動有機体、多細胞生物を含む液体、生物学的スワブ、および生物学的洗浄剤等の生物学的サンプルを含んでいてもよい。さらに、液滴は、水、脱イオン水、食塩水、酸性溶液、塩基性溶液、清浄液および/またはバッファー等の試薬を含んでいてもよい。液滴内容物の他の例は、生化学的な手順用の試薬等、核酸増幅手順、親和性に基づく測定手順、酵素測定手順、配列決定手順、および/または生物学的流体の分析手順等の試薬を含む。

10

【0008】

「液滴アクチュエーター」は、液滴操作をするための装置を意味する。液滴アクチュエーターの例は、以下を参照されたい：2005年6月28日に発行されたPamulaらによる題名「Apparatus for Manipulating Droplets by Electrowetting-Based Techniques」の米国特許第6,911,132号明細書；2006年1月30日に出願されたPamulaらによる題名「Apparatuses and Methods for Manipulating Droplets on a Printed Circuit Board」の米国特許出願第11/343,284号明細書；2006年12月11日に出願されたPollackらによる題名「Droplet-Based Biochemistry」の国際特許出願第PCT/US2006/047486号；Shenderovによる2004年8月10日に発行された題名「Electrostatic Actuators for Microfluidics and Methods for Using Same」の米国特許第6,773,566号明細書、および2000年1月24日に発行された題名「Actuators for Microfluidics Without Moving Parts」の米国特許第6,565,727号明細書；Kimおよび/またはShahらによる2003年1月27日に出願された題名「Electrowetting-driven Micropumping」の米国特許出願第10/343,261号明細書、2006年1月23日に出願された題名「Method and Apparatus for Promoting the Complete Transfer of Liquid Drops from a Nozzle」の米国特許出願第11/275,668号明細書、2006年1月23日に出願された題名「Small Object Moving on Printed Circuit Board」の米国特許出願第11/460,188号明細書、2009年5月14日に出願された題名「Method for Using Magnetic Particles in Droplet Microfluidics」の米国特許出願第12/465,935号明細書、および2009年4月30日に出願された題名「Method and Apparatus for Real-time Feedback Control of Electrical Manipulation of Droplets on Chip」の米国特許出願第12/513,157号明細書；2009年6月16日に発行されたVelevによる題名「Droplet Transportation Devices and Methods Having a Fluid Surface」の米国特許第7,547,380号明細書；2007年1月16日に発行されたSterlingらによる題名「Method, Apparatus and Article for Microfluidic Control via Electrowetting, for Chemical, Biochemical and Biological Assays and the Like」の米国特許第7,163,612号明細書；BeckerおよびGascoyneらによる2010年1月5日に発行された題名「Method and Apparatus for Programmable fluidic Processing」の米国特許第7,641,779号明細書、および2005年12月20日に発行された題名「Method and Apparatus for Programmable fluidic Processing」の米国特許第6,977,033号明細書；Decreらによる2008年2月12日に発行された題名「System for Manipulation of a Body of Fluid」の米国特許第7,328,979号明細書；Yamakawaraによる2006年2月23日に公開された題名「Chemical Analysis Apparatus」の米国特許出願公開第20060039823号明細書；Wuによる2008年12月31日に公開された題名「Digital Microfluidics Based Apparatus for Heat-exchanging Chemical Processes」の国際特許公開第W0/2009/003184号明細書；Fouilletらによる2009年7月30日に公開された題名「Electrode Addressing Method」の米国特許公開第20090192044号明細書；Fouilletらによる2006年5月30日に発行された題名「Device for Displacement of Small Liquid Volumes Along a Micro-catenary Line by Electrostatic Forces」の米国特許第7,052,244号明細書；Marchandらによる2008年5月29日に公開された題名「Droplet Microreactor」の米国特許出願公開第20080124252号明細書；Adachiらによる2009年12月31日に公開され

20

30

40

50

た題名「Liquid Transfer Device」の米国特許出願公開第20090321262号明細書；Rouxらによる2005年8月18日に公開された題名「Device for Controlling the Displacement of a Drop Between two or Several Solid Substrates」の米国特許出願公開第20050179746号明細書；Dhindsaらによる題名「Virtual Electrowetting Channels: Electronic Liquid Transport with Continuous Channel Functionality」のLab Chip、10号、第832～836頁、2010年；これらの優先権文献と共に、これらの内容を参照して、その開示全体が本明細書に援用される。所定の液滴アクチュエーターは、基板間に間隙を有するように配置された1つ以上の基板と、1つ以上の基板に結合し（例えば、重ね、取り付け、かつ/あるいは埋め込まれ）、1つ以上の液滴操作を行うよう配置された電極を含む。例えば、所定の液滴アクチュエーターは、基部（または底部）基板、前記基板に結合した液滴操作電極、前記基板および/または電極の頂部の1つ以上の誘電体層、ならびに任意に前記基板、誘電体層および/または液滴操作表面を形成する電極の頂部の1つ以上の疎水性層を含む。一般に液滴操作間隙と称される間隙により液滴操作表面から分離した頂部基板を設けてもよい。頂部および/または底部基板上における電極の様々な配列が、上記参考特許および出願において検討されており、本明細書の記述では特定の新しい電極配列が説明されている。液滴操作の間、液滴が、アースまたは参照電極と連続的または頻繁な接触を保つことが好適である。アースまたは参照電極は、間隙で、間隙に面した頂部基板、間隙に面した底部基板に結合してもよい。両方の基板上に電極を設ける場合、電極を制御またはモニターするための液滴アクチュエーター機器に電極を結合するための電気的な接触は、1つまたは両方の基板に結合してもよい。場合によっては、一方の基板上の電極を、他方の基板に電気的に結合することにより、一方の基板のみを液滴アクチュエーターに接続させる。一実施形態では、導電性材料（例えば、エポキシ、NJ、HackensackのMaster Bond社から入手可能なMASTER BOND（商標）Polymer System EP79等）が、一方の基板上の電極と、他方の基板上の電気路との間の電気的接続をもたらす；例えば、頂部基板上のアース電極は、斯かる導電性材料により底部基板上の電気路に結合してもよい。複数の基板を用いる場合、スペーサーを基板間に設けることにより基板間の間隙の高さを決定し、分配リザーバを規定してもよい。スペーサーの高さは、例えば、約5 μm ～約600 μm 、または約100 μm ～約400 μm 、または約200 μm ～約350 μm 、または約250 μm ～約300 μm 、または約275 μm であってもよい。スペーサーは、例えば、頂部基板または底部基板を形成する突起層、および/または頂部基板と底部基板の間に挿入された材料として形成してもよい。液体が通って液滴操作間隙に供給され得る流体通路を形成するために、1つ以上の開口部を1つ以上の基板に設けてもよい。1つ以上の開口部は、場合によっては、1つ以上の電極との相互作用のために配列してもよく、例えば、開口部を通った液体が1つ以上の液滴操作電極と十分近接し、液体を用いた液滴操作電極により液体操作が行われるように配列してもよい。場合によっては、基部（または底部）基板および頂部基板を、1つの一体化した部材として形成してもよい。1つ以上の参照電極を、基部（または底部）基板上および/または頂部基板上および/または間隙内に設けてもよい。参照電極配列の例が、上記参考特許および参考特許出願に開示される。様々な実施形態では、液滴アクチュエーターによる液滴の操作は、エレクトロウエットイング媒介または誘電泳動媒介またはクーロン力媒介等の電極媒介であってもよい。本発明の液滴アクチュエーターで用いてもよい、液滴操作を制御するための他の技術の例は、機械的原理（例えば、外部シリンジポンプ、空気圧膜ポンプ、振動膜ポンプ、真空装置、遠心力、圧電ポンプ/超音波ポンプおよび音響力）；電気的原理または磁気的原理（例えば、電気浸透流、動電学的ポンプ、強磁性流体プラグ、電気流体力学ポンプ、磁力を利用した引力または斥力、および電磁流体力学ポンプ）；熱力学的原理（例えば、気泡発生/相転移体積膨張）；他の種類の表面湿潤原理（例えば、エレクトロウエットイング、および光電濡れと同様に化学的な、熱的な、構造的なおよび放射性的誘起表面張力勾配）；重力；表面張力（例えば、毛細管現象）；静電力（例えば、電気浸透流）；遠心力（コンパクトディスク上に配置され、回転された基板）；磁力（例えば、振動イオンが流れを引き起こす）；電磁流体力学的な力；および真空差または加圧差等に基づき動作するもの等の

10

20

30

40

50

、流体力学的な流体圧を誘起する装置、の使用を含む。ある実施形態では、上記技術の2つ以上の組み合わせを用いて、本発明の液滴アクチュエーターでの液滴操作を行ってもよい。同様に、上述したものの1つ以上を用いて、例えば、他の装置のリザーバから、または、液滴アクチュエーターの外部リザーバ（例えば、液滴アクチュエーター基板に結合したリザーバおよび当該リザーバから液滴操作間隙への流体通路）から、液体を液滴操作間隙内に供給してもよい。本発明の特定の液滴アクチュエーターの液滴操作表面は、疎水性材料でできていてもよく、または、液滴操作表面を疎水性とするために被覆または処理されていてもよい。例えば、いくつかの場合、液滴操作表面の一部または全部を、溶液中のポリもしくはパーフルオロ化合物、または、重合性単量体等の化合物を使用した、堆積または原位置合成等により、低界面エネルギー材料または化学的性質により誘導体化させてもよい。例として、TEFLON（登録商標）AF（DE、Wilmington、DuPont社から入手可能）、材料のサイトップファミリーの一部、疎水性のFLUOROPEL（登録商標）ファミリーにおけるコーティングおよび超疎水性コーティング（MD、Beltsville、Cytonix社から入手可能）、シランコーティング、フルオロシランコーティング、疎水性ホスホン酸誘導体（例えば、Aculon社から販売されている商品）、およびNOVEC（商標）電気コーティング（MN、St. Paul、3M Company社から入手可能）、およびプラズマ化学気相成長法（PECVD）用の他のフッ素化された単量体が挙げられる。いくつかの場合、液滴操作表面は、約10nm～約1000nmの厚みを有する疎水性コーティングを含んでいてもよい。さらに、いくつかの実施形態では、液滴アクチュエーターの頂部基板は、導電性有機ポリマーを含み、頂部基板は、次いで、疎水性コーティングで被覆され、または、液滴操作表面を疎水性にするために他の処理をされる。例えば、プラスチック基板上に堆積される導電性有機ポリマーは、ポリ（3，4-エチレンジオキシチオフェン）ポリ（スチレンスルホネート）（PEDOT：PSS）であってもよい。導電性有機ポリマー層および代替の導電層の他の例は、Pollackらによる題名「Droplet Actuator Devices and Methods」の国際特許出願第PCT/US2010/040705号明細書に記載されており、その開示全体が参照により本明細書に援用される。1つまたは両方の基板を、基板としてプリント回路基板（PCB）、ガラス、インジウムスズ酸化物（ITO）被覆ガラス、および/または半導体材料を用いて作製してもよい。基板がITO被覆ガラスの場合、ITOコーティングは、約20nm～約200nmの範囲が好ましく、約50nm～約150nmの範囲、または約75nm～約125nm、または約100nmの厚みが好ましい。いくつかの場合、頂部基板および/または底部基板は、ポリイミド誘電体等の誘電体で被覆されたPCB基板を含み、PCB基板は、いくつかの場合、被覆または他の処理がなされて、液滴操作表面を疎水性にしてもよい。基板がPCBを含む場合、以下の材料が好適な材料の例である：MITSUI（商標）BN-300（CA、San Jose、MITSUI Chemical America社から入手可能）；ARLON（商標）11N（CA、Santa Ana、Arlon社から入手可能）；NELCO（登録商標）N4000-6およびN5000-30/32（NY、Melville、Park Electrochemical社から入手可能）；ISOLA（商標）FR406（AZ、Chandler、Isola Group社から入手可能）、特にIS620；フルオロポリマーファミリー（低バックグラウンド蛍光を有するため蛍光検出に適している）；ポリイミドファミリー；ポリエステル；ポリエチレンナフタレート；ポリカーボネート；

ポリエーテルエーテルケトン；液晶ポリマー；シクロオレフィンコポリマー（COC）；シクロオレフィンポリマー（COP）；アラミド；THERMOUNT（登録商標）不織布アラミド補強材（DE、Wilmington、DuPont社から入手可能）；NOMEX（登録商標）ブランド繊維（DE、Wilmington、DuPont社から入手可能）；および紙。種々の材料についても、基板の誘電体部材としての使用に適している。例としては以下のものを含む：PARYLENE（商標）C（特にガラス上）およびPARYLENE（商標）N（TX、Katy、Parylene Coating Services社から入手可能）等の蒸着した誘電体；TEFLON（登録商標）AFコーティング；サイトップ；TAIYO（商標）PSR4000シリーズ、TAIYO（商標）PSRおよびAUSシリーズのような液体光画像形成可能なソルダーマスク（NV、Carson City、Taiyo America社から入手可能）（熱制御を含む用途に良好な

10

20

30

40

50

熱特性)、およびPROBIMER(商標)8165(熱制御を含む用途に良好な熱特性)(CA、Los Angeles、Huntsman Advanced Materials Americas社から入手可能)等のソルダーマスク;VACREL(登録商標)乾燥フィルムソルダーマスク系(DE、Wilmington、DuPont社から入手可能)等の乾燥フィルムソルダーマスク;ポリイミドフィルム(例えば、KAPTON(登録商標)ポリイミドフィルム、DE、Wilmington、DuPont社から入手可能)等のフィルム誘電体、ポリエチレン、およびフルオロポリマー(例えば、FEP)、ポリテトラフルオロエチレン;ポリエステル;ポリエチレンナフタレート;シクロオレフィンコポリマー(COC);シクロオレフィンポリマー(COP);上で列挙した他のPCB基板材料のいずれか;ブラックマトリックス樹脂;およびポリプロピレン。液滴輸送の電圧と周波数は、個別の測定手順で用いられる試薬の性能によって選択してもよい。設計パラメーターは異なってもよく、例えば、アクチュエーターのリザーバの数と配置、独立した電極接続の数、異なるリザーバの大きさ(体積)、磁石/ビーズ洗浄ゾーンの配置、電極サイズ、電極間の間隔、および間隙高さ(頂部基板と底部基板の間)は、個別の試薬、手順、液滴体積等の使用のために異なってもよい。いくつかの場合、本発明の基板は、溶液中のポリもしくはパーフルオロ化合物または重合性単量体等の化合物を使用した、堆積または原位置合成等により、低界面エネルギー材料または化学的性質により誘導体化させてもよい。例としては、浸漬またはスプレーコーティング用のTEFLON(登録商標)AFコーティングおよびFLUROPEL(登録商標)コーティング、ならびにプラズマ化学気相成長法(PECVD)用の他のフッ素化された単量体が挙げられる。加えて、いくつかの場合、液滴操作表面の一部または全部は、PCB基板からのバックグラウンド蛍光発光等のバックグラウンドのノイズを低減する物質で被覆されてもよい。例えば、ノイズ低減コーティングは、日本の東レ株式会社から入手可能なブラックマトリックス樹脂等のブラックマトリックス樹脂を含んでもよい。液滴アクチュエーターの電極は、通常、コントローラーまたはプロセッサにより制御され、コントローラーまたはプロセッサは、それ自体、システムの一部として設けられ、処理機能と同様に、データおよびソフトウェアストレージならびに入力および出力機能を含んでもよい。試薬は、液滴アクチュエーター上であって、液滴操作間隙内、または、液滴操作間隙に流体的に結合したりリザーバ内に供給されてもよい。試薬は、液滴等の液体形態でもよく、または試薬は、液滴操作間隙内または液滴操作間隙に流体的に結合したりリザーバ内で再構成可能な形態で供給されてもよい。再構成可能な試薬は、通常、再構成のために液体と組み合わせることができる。本発明での使用に好適な再構成可能な試薬の例として、Meathrelらによる2010年6月1日に特許された題名「Disintegratable films for diagnostic devices」の米国特許第7,727,466号明細書に記載された試薬が挙げられる。

【0009】

「液滴操作」は、液滴アクチュエーター上での液滴の何らかの操作を意味する。液滴操作は、例えば、以下を含む:液滴アクチュエーターへの液滴の装填;液滴源からの1または複数の液滴の分配;一の液滴を2以上の液滴とする分割(splitting)、分離(separating)または分割(dividing);一の位置からいずれかの方向の他の位置への液滴の輸送;2以上の液滴を単一の液滴にする混成(merging)または結合(combining);液滴の希釈;液滴の混合(mixing);液滴の攪拌;液滴の変形;適所での液滴の保持;液滴の保温;液滴の加熱;液滴の気化;液滴の冷却;液滴の廃棄;液滴の液滴アクチュエーター外への輸送;本明細書に記載の他の液滴操作;および/または上記の組み合わせ。用語「混成させる」、「混成」、「結合する」、「結合」等は、2以上の液滴から1の液滴を生成することを記載するために用いる。2以上の液滴に関して斯かる用語を使用するときは、2以上の液滴の結合により1の液滴とするのに十分な何らかの液滴操作の組み合わせを用いてもよいことを理解されたい。例えば、「液滴Aと液滴Bとの混成」は、液滴Aを静止した液滴Bと接触するように輸送すること、液滴Bを静止した液滴Aと接触するように輸送すること、または液滴AおよびBを互いに接触するように輸送することにより達成される。用語「分割」、「分離」および「分割」は、生成する液滴の体積(すなわち、生成する液滴の体積は同じかまたは異なり得る)または生成する液滴の数(生成する液滴の数が2

10

20

30

40

50

、3、4、5またはそれ以上であってもよい)に関して何ら特定の結果を意味することを意図したものではない。用語「混合(mixing)」は、液滴中で1つ以上の構成要素をより均一に分布させる液滴操作をいう。液滴操作の「装填」の例として、微小透析装填、圧力補助装填、ロボット装填、受動装填、およびピペット装填が挙げられる。液滴操作は、電極媒介されてもよい。いくつかの場合、液滴操作は、表面上の親水性領域および/または疎水性領域の使用により、および/または物理的障害により、さらに促進される。液滴操作の例については、「液滴アクチュエーター」という定義の下で、引用された上記特許および特許出願文献を参照されたい。インピーダンスまたは静電容量検知または画像化技術を、液滴操作の結果を決定または確認するために用いることがあってもよい。斯かる技術の例は、Sturmerらによる2008年8月21日に公開された題名「Capacitance Detection in a Droplet Actuator」の国際特許公開第WO/2008/101194号明細書に記載されており、その開示全体が参照により本明細書に援用される。一般的に言えば、検知または画像化技術は、特定の電極に液滴が存在するか否かを確認するのに用いることが可能である。例えば、ある液滴分配操作後の、目的電極における分配された液滴の存在により、その液滴分配操作が効果的であったことが確認される。同様に、測定手順の適当な工程の検出場所に液滴が存在することにより、前の一連の液滴操作が検出用液滴を良好に生成したことを確認することができる。液滴輸送時間は、かなり早くてもよい。例えば、様々な実施形態において、一の電極から隣の電極までの液滴の輸送は、約1秒、または約0.1秒、または約0.01秒、または約0.001秒を超えてもよい。一実施形態では、電極は直流モードで動作するが、画像化のために交流モードに切り替えられる。エレクトロウエット

10

20

30

40

50

【0010】

「充填流体」は、液滴アクチュエーターの液滴操作基板に関連する流体を意味し、ここで流体は十分に液滴相に対し非混和性であるため液滴相が電極媒介の液滴操作に供される。例えば、液滴アクチュエーターの間隙は、通常、充填流体で充填される。充填流体は、例えば、シリコンオイルまたはヘキサデカン充填流体等の低粘性オイルであってもよい。充填流体は、液滴アクチュエーターの間隙全体を充填していてもよいし、または液滴アクチュエーターの1つ以上の表面を被覆していてもよい。充填流体は、導電性または非導電性であってもよい。充填流体は、例えば、界面活性剤または他の添加剤が添加されていてもよい。例えば、添加剤を選択して、液滴操作を改良してもよいし、および/または、液滴からの試薬もしくは目標物質の損失、微小液滴の形成、液滴間の相互汚染、液滴アクチュエーター表面の汚染、液滴アクチュエーター材料の劣化等を低減してもよい。界面活性剤の添加を含む充填流体の組成は、個別の測定手順で用いられる試薬の性能、および、液滴アクチュエーターの材料との効果的な相互作用または非相互作用、により選択してもよい。本発明での使用に適した充填流体および充填流体の配合の例は、Srinivasanらによる2010年3月11日に公開された題名「Droplet Actuators, Modified Fluids and Methods」の国際特許公開第WO/2010/027894号明細書および2009年2月12日に公開された題名「Use of Additives for Enhancing Droplet Operations」の国際特許公開第WO/2009/021173号明細書; Sistaらによる2008年8月14日に公開された題名「Droplet Actuator Devices and Methods Employing Magnetic beads」の国際特許公開第WO/2008/098236号明細書; およびMonroeらによる2007年5月17日に出願された題名「Electrowetting Devices」の米国特許出願公開第20080283414号明細書に記載されており、本明細書で引用された他の特許および特許出願文献と同様に、その開示全体が参照により本明細書に援用される。

10

20

30

40

50

【0011】

磁気応答性ビーズに関して「固定する」は、ビーズが液滴アクチュエーター上の液滴中または充填流体中の位置に実質的に拘束されることを意味する。例えば、一実施形態では、固定されたビーズは、液滴中で位置に実質的に拘束され、液滴分割操作の実行が可能となり、実質的に全てのビーズを有する1の液滴と、実質的にビーズを欠く1の液滴とを生ずる。

【0012】

「磁気応答性」は、磁場に対する応答性を意味する。「磁気応答性ビーズ」は、磁気応答性材料を含むかまたは磁気応答性材料から構成される。磁気応答性材料の例として、常磁性材料、強磁性材料、フェリ磁性材料、およびメタ磁性材料が挙げられる。好適な常磁性材料の例として、鉄、ニッケル、およびコバルトとともに、 Fe_3O_4 、 $BaFe_{12}O_{19}$ 、 CoO 、 NiO 、 Mn_2O_3 、 Cr_2O_3 、および $CoMnP$ 等の金属酸化物が挙げられる。

10

【0013】

「リザーバ」は液体を保持、保存、または供給するよう構成された密閉容器または部分密閉容器を意味する。本発明の液滴アクチュエーターシステムは、オンカートリッジリザーバおよび/またはオフカートリッジリザーバを含んでもよい。オンカートリッジリザーバは、(1)液滴操作間隙内または液滴操作表面上のリザーバである、オンアクチュエーターリザーバ、(2)液滴アクチュエーターカートリッジ上で液滴操作間隙の外にあり、液滴操作表面と接触しないリザーバである、オフアクチュエーターリザーバ、または(3) オンアクチュエーター領域およびオフアクチュエーター領域を有する、ハイブリッドリザーバであってもよい。オフアクチュエーターリザーバの一例として、頂部基板内のリザーバが挙げられる。オフアクチュエーターリザーバは通常、液体を、オフアクチュエーターリザーバからオンアクチュエーターリザーバのような液滴操作間隙に供給するために配置した開口または流体通路に流体連通している。オフカートリッジリザーバは、液滴アクチュエーターカートリッジを構成せず、液滴アクチュエーターカートリッジの一部に液体を供給するリザーバであってもよい。例えば、オフカートリッジリザーバは、動作中に液滴アクチュエーターカートリッジを結合させるシステムまたはドッキングステーションの一部であってもよい。同様に、オフカートリッジリザーバは、オンカートリッジリザーバ内もしくは液滴操作間隙内に強制的に流体を供給するために用いる試薬保存容器またはシリンジであってもよい。オフカートリッジリザーバを用いるシステムは、通常、流路手段を含み、これにより液体をオフカートリッジリザーバからオンカートリッジリザーバ内または液滴操作間隙内に移す。

20

30

【0014】

液滴および/または液滴中の磁気応答性ビーズに関して、本明細書で用いられる「磁石の磁場への輸送」、「磁石への輸送」等は、液滴中の磁気応答性ビーズを実質的に引き付けることができる磁場領域への輸送についての言及を意図している。同様に、液滴および/または液滴中の磁気応答性ビーズに関して、本明細書で用いられる「磁石または磁場から離れる輸送」、「磁石の磁場外への輸送」等は、液滴または磁気応答性ビーズが磁場から完全に除去されるか否かに関わらず、液滴中の磁気応答性ビーズを実質的に引き付けることができる磁場領域から離れる輸送についての言及を意図している。本明細書に記載の斯かる場合のいずれにおいても、液滴は磁場の所望の領域へ向けてまたは領域から離れるよう輸送されてもよく、かつ/あるいは磁場の所望の領域が液滴へ向けてまたは遠ざけて移動されてもよいことが理解されるだろう。磁場「内部に(within)」または磁場「内に(in)」ある電極、液滴、または磁気応答性ビーズ等への言及は、電極が、液滴を磁場の所望の領域へまたは領域外へ輸送できる態様で電極が設けられている状況、または液滴または磁気応答性ビーズが、磁場の所望の領域に位置している状況の記載を意図しており、いずれの場合も、所望の領域内の磁場は、液滴中のいずれかの磁気応答性ビーズを実質的に引き付けることができる。同様に、磁場「外の(outside of)」または磁場「から離れた(away from)」電極、液滴、または磁気応答性ビーズ等への言及は、電極が、液滴を

40

50

磁場の特定の領域から離れて輸送できる態様で電極が設けられている状況、または液滴または磁気応答性ビーズが、磁場の特定の領域から離れて位置している状況の記載を意図しており、いずれの場合においても、斯かる領域の磁場は、液滴中のいずれの磁気応答性ビーズも実質的に引き付けることができないか、または、斯かる領域におけるいずれの残余の引力も、当該領域で行われる液滴操作の有効性を低減しない。本発明の様々な態様では、システム、液滴アクチュエーター、またはシステムの他の構成要素は、1つ以上の永久磁石（例えば、単一の円筒状もしくは棒磁石またはHalbach配列等の斯かる磁石の配列）、または、電磁石もしくは電磁石の配列等の磁石を含み、磁気応答性ビーズまたはチップの他の構成要素と相互作用する磁場を形成してもよい。斯かる相互作用は、例えば、保存中、もしくは液滴操作中の液滴内の磁気応答性ビーズを実質的に固定すること、もしくは動きもしくは流れを抑制すること、または液滴外へ磁気応答性ビーズの引き出しを含む。

10

【0015】

ビーズの洗浄に関して「洗浄」は、ビーズに接触している液滴から、ビーズに接触しているまたはさらされている1つ以上の物質の量および/または濃度を低減することを意味する。物質の量および/または濃度の低減は、部分的、実質的に完全、または、完全であってもよい。物質は広範な種類の物質のいずれでもよく、例としては、さらなる分析のための標的物質、ならびに、サンプルの成分、汚染物質、および/または過剰な試薬等の不要な物質が挙げられる。いくつかの実施形態では、洗浄操作は、磁気応答性ビーズに接触した開始液滴から始まり、ここで当該液滴は、初期量および初期濃度の物質を含む。洗浄操作は、様々な液滴操作を用いて進めてもよい。洗浄操作は、磁気応答性ビーズを含む液滴を生成してもよく、ここで、当該液滴は、物質の初期量および/または初期濃度よりも少ない物質の合計量および/または濃度を有する。好適な洗浄技術の例は、Pamulaらによる2008年10月21日に発行された題名「Droplet-Based Surface Modification and Washing」の米国特許第7,439,014号に記載されており、その開示全体が参照により本明細書に援用される。

20

【0016】

用語「頂部(top)」、「底部(bottom)」、「上(over)」、「下(under)」および「上(on)」は、液滴アクチュエーターの頂部基板および底部基板の相対的位置等の液滴アクチュエーターの構成要素の相対的位置に関する説明で用いられている。液滴アクチュエーターは、空間での液滴アクチュエーターの配向に関わらず機能することが理解されよう。

30

【0017】

いずれかの形態（例えば、動いているまたは静止している液滴もしくは連続体）の液体が、電極、アレイ、マトリックスまたは表面「上(on)」、「に(at)」、または「上(over)」にあると記載される場合、斯かる液体は、電極/アレイ/マトリックス/表面に直接接触するか、または、液体と電極/アレイ/マトリックス/表面との間に挿置される1つ以上の層もしくは膜に接触するかのいずれでもよい。

【0018】

液滴が液滴アクチュエーター「上に(on)」または「に装填されて(loaded on)」あると記載されるとき、(i)液滴アクチュエーターを用いて、液滴への1つ以上の液滴操作を容易にする態様で、液滴が液滴アクチュエーター上に配置されている、(ii)液滴の特性または液滴からの信号を検知するのを容易にする態様で、液滴が液滴アクチュエーター上に配置されている、および/または、(iii)液滴が液滴アクチュエーターで液滴操作を受けたと理解されたい。

40

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1は、液滴アクチュエーターの一部の例の上面図を表し、特定の液滴操作電極上の乾燥された試薬液滴の配列の一例を示す。

【図2】図2は、液滴アクチュエーターの一部の例の上面図を表し、オンアクチュエーター試薬分配電極上の乾燥された試薬液滴の一例を示す。

50

【図3】図3A、3B、3Cは、液滴アクチュエーターの電極配列の一部の一例の上面図を表し、液滴アクチュエーターにおける試薬再構成手順を行う工程を示す。

【図4】図4A～4Eは、図3Aの電極配列の上面図を表し、液滴アクチュエーターにおける試薬再構成手順を行う別の工程を示す。

【発明を実施するための形態】

【0020】

5 説明

本発明は、液滴アクチュエーター上の測定試薬の保存および再構成（例えば、試薬回収）の方法を提供する。一実施形態において、本発明は、液滴アクチュエーターの固体表面上で1つ以上の測定試薬を乾燥させる方法を提供する。別の実施形態において、本発明は、液滴アクチュエーター上で1つ以上の液体試薬を保存する方法を提供する。さらに別の実施形態において、本発明は、デジタルマイクロ流体液体処理手順を用いて、1つ以上の乾燥した測定試薬を液滴アクチュエーターの固体表面から回収する方法を提供する。乾燥した試薬および表面は充填流体、例えばシリコンオイルなどで被覆されてもよい。

10

【0021】

測定試薬は、乾燥試薬、液体試薬、および/またはそれらの組み合わせとして、液滴アクチュエーターに事前に装填され保存されてもよい。保存される試薬の最大限の安定性（例えば、12ヶ月以上の有効期間）をもたらすよう保存形態（すなわち、乾燥試薬または液体試薬）を選択してもよい。保存形態は、特別な取り扱い、注意、または保存状態を要しないよう選択することができる。測定試薬が液滴アクチュエーターに事前に装填されており、乾燥試薬の再構成にデジタルマイクロ流体液体処理手順が用いられるため、使用者の操作は最小限となる。

20

【0022】

一実施形態において、本発明の方法を用いることにより、ポイントオブケア（POC）およびサンプル応答診断検査に適した、事前装填の使い捨て液滴アクチュエーターを提供する。一例において、本発明の方法は、HIVのPOCおよびサンプル応答検査用に構成された液滴アクチュエーター上の試薬保存および再構成に用いてもよい。この例において、サンプル調製、HIV抗体の免疫測定、およびHIVウイルス負荷の定量逆転写PCR（RT-qPCR）のための乾燥試薬を、液滴アクチュエーターに事前装填し、保存してもよい。液体試薬、例えば洗浄バッファーおよびオイル充填流体を液滴アクチュエーター上で保存してもよい。

30

【0023】

5.1 液滴アクチュエーターにおける試薬保存

本発明は、液滴アクチュエーター上で試薬を保存および再構成（すなわち、試薬回収）する方法を提供する。化学試薬（例えば、サンプル調製試薬、免疫測定試薬、およびRT-qPCR試薬）を固体表面で維持および保存するための利用可能な試薬乾燥技術を選択して液滴アクチュエーター上での使用に適応させてもよい。デジタルマイクロ流体液体処理手順を用いて乾燥試薬を回収してもよい。液体試薬（例えば、オイル充填流体、再水和バッファー、および特定測定試薬）もまた液滴アクチュエーター上で保存してもよく、再構成に先立ち、これをもって前述の試薬を被覆してもよい。試薬は、リザーバ内でもまたは、液滴操作間隙または表面に続く流路内で乾燥させてもよい。試薬は、液滴操作表面、例えば液滴アクチュエーターの疎水性表面上で乾燥させてもよい。

40

【0024】

液滴アクチュエーター上で保存される試薬は乾燥試薬、液体試薬、および/またはこれらの組み合わせであってもよく、1つ以上サンプル調製手順および/または1つ以上の測定手順を行うのに適している。一例において、1つ以上のサンプル調製手順および/または1つ以上の測定手順を行うためのすべての試薬を乾燥試薬として液滴アクチュエーター上に供給してもよい。別の例において、一つの試薬を乾燥試薬として供給し、他のすべての試薬を液体試薬として供給してもよい。

【0025】

50

液滴アクチュエーター上でのサンプル調製は通常、1つ以上の分子アッセイの分子標的を放出させるためのサンプルの精製および/またはサンプルの溶解を含む。1つ以上の乾燥、再構成された試薬および/または乾燥試薬と液体試薬の組み合わせを用いて液滴アクチュエーターに行われうるサンプル調製手順は、血液調製（例えば、血球の凝集、赤血球の凝集、および血球の溶解）および、細胞、孢子、バクテリア、菌類、ウイルス、armored RNA、およびarmored DNAのための様々な溶解手順を含みうるが、これらに限定されない。

【0026】

1つ以上の乾燥、再構成された試薬および/または乾燥試薬と液体試薬の組み合わせを用いて液滴アクチュエーターに行われうる分子アッセイは、免疫測定法、電気化学測定法、酵素測定法、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）測定法、および/または逆転写酵素（RT：reverse transcriptase）-PCR測定法を含みうるが、これらに限定されない。

10

【0027】

本発明は、液滴アクチュエーターの固体表面上の1つ以上の測定試薬を乾燥させ、当該乾燥試薬を再構成する方法を提供する。一例において、本発明の方法は、これらに限定されないが、以下の工程を含んでいてもよい。

- 1．液滴アクチュエーターの表面上に、1つ以上の試薬を含む水滴を堆積（付着）させる行程、
- 2．前記液滴を乾燥させて、液滴アクチュエーターの表面上に乾燥した組成物を生成する工程、
- 3．前記乾燥組成物をオイル充填流体で被覆する工程、および
- 4．前記オイル充填流体内の第2の水滴（すなわち、再水和液滴）を輸送して前記乾燥組成物に接触させ、それにより1つ以上の乾燥試薬を再懸濁させる工程。

20

【0028】

液滴アクチュエーターは、例えば、間隙で分離された底部基板および頂部基板を含んでいてもよい。底部基板は、液滴操作電極（例えば、エレクトロウエット電極）の通路および/またはアレイならびに疎水性材料（例えばサイトップ）で被覆されうる1以上の流体リザーバ電極等の電極配列を含んでもよい。疎水性の被膜は液滴を効率的にエレクトロウエットするために設ける。頂部基板は、同様に疎水性材料で被覆されていてもよい単一の大きな接地基準電極を含んでもよい。1つ以上の液滴（例えば、サンプル液滴、試薬液滴）は2つの基板間の間隙内に位置してもよい。頂部および底部基板の間隙を充填流体、例えばオイル充填流体で充填して、液滴の蒸発を防止し、液滴操作を容易にしてもよい。好適なオイル充填流体の例として、シリコンオイル、過フッ素化オイル、およびヘキサデカンが挙げられる。オイル充填流体の粘度は、約0.5 cSt ~ 約15 cStの範囲にあってもよい。オイル充填流体は、例えば粘度が約1 cSt ~ 約10 cStの範囲にあるシリコンオイルであってもよい。一例において、オイル充填流体は、0.005%のSpan 85を含む7 cStのシリコンオイルであってもよい。

30

【0029】

一実施形態において、試薬液滴は、液滴アクチュエーター上の電極上に装填させ乾燥させてもよい。例えば、試薬液滴を、液滴アクチュエーターの特定の液滴操作電極（例えば、エレクトロウエット電極）上に付着させ乾燥させてもよい。液滴操作は、液滴操作表面上の液滴操作電極頂部で行われる。別の例において、試薬液滴は、液滴アクチュエーター上の1つ以上のリザーバ電極上に付着させ、乾燥させてもよい。別の実施形態において、試薬溶液は、液滴アクチュエーターのプラスチック表面に付着させてもよい。別の実施形態において、試薬溶液は、液滴操作表面または間隙に続く、液滴アクチュエーターの流路内に注入してもよい。別の実施形態において、試薬溶液は、液滴アクチュエーターの液体リザーバ内に供給してもよく、ここでリザーバは、リザーバから液滴操作表面に続くかまたは液滴操作間隙に繋がる流路に液体が流入して閉塞させる可能性なくして液体が定着して乾燥するように設計された形状または特徴をもつ。

40

【0030】

50

試薬液滴は、1つ以上の試薬を含んでもよい。試薬液滴は、約1ナノリットル(nL)~約3ミリリットル(mL)または約5nL~約1mLの範囲の容量であってもよい。試薬液滴は、液滴アクチュエーターの表面上で直接乾燥させるか、表面上での乾燥に先立ち、試薬安定剤および/または保護化合物と組み合わせてもよい。試薬の例として、ビーズ、タンパク質、核酸、塩、糖、および/または界面活性剤が挙げられるが、これらに限定されない。試薬の具体例として、抗体、ビーズに添加した抗体、プロテアーゼ(例えば、プロテアーゼK)、レクチン(例えば、Phaseolus vulgaris agglutinin)、ウイルス、胞子、バクテリア、菌、armored RNA、armored DNA、バクテリオファージ(例えば、MS2)、ポリマー(例えば、感温性ポリマー)、蛍光物質、溶解試薬、バッファー(例えば、洗浄バッファー、溶離バッファー)、界面活性剤、および/または磁気応答性ビーズが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0031】

再水和液滴は、乾燥した試薬液滴を効率的に再構成するための再水和バッファーおよび界面活性剤を含んでもよい。再水和バッファーの例として、0.1%のTween(登録商標)20を含むPBS、0.02%のTween(登録商標)20を含むPBS、および0.02%のTween(登録商標)20を含む水が挙げられる。より高濃度の界面活性剤(例えば、0.1%のTween(登録商標)20)は、より迅速な乾燥試薬スポットの再構成を可能にする。別の例において、再水和液滴は解析対象となるサンプル流体の液滴であってもよい。様々な実施形態において、再水和液滴の容量は、約10ピコリットル(pL)~約10mLまたは約100pL~約5mLまたは約50nL~約2mLまたは約100nL~約0.5mLの範囲であってもよい。様々な実施形態において、再水和液滴の容量と1つの電極との比は、約1pL:1電極~約5mL:1電極または約10pL:1電極~約3mL:1電極または約1nL:1電極~約1mL:1電極または約10nL:1電極~約0.5mL:1電極または約50nL:1電極~約0.3mL:1電極の範囲であってもよい。

20

【0032】

液体保存モジュールを液滴アクチュエーターに作製中に組み込み、液体試薬、例えばオイル充填流体(例えば、0.005%のSpan85を含む7cStのオイル)および再水和バッファーの保存に用いてもよい。

30

【0033】

5.1.1 乾燥試薬保存

固体表面上の試薬流体を乾燥させる既存の技術を選択し、液滴アクチュエーターでの使用に適応させてもよい。一例において、オイル充填液滴アクチュエーター内の乾燥試薬を効率的に回収するために試薬乾燥技術を選択してもよい。別の例において、測定および/または液滴操作を実質的に阻害しないよう、試薬安定剤および/または保護化合物を選択してもよい。さらに別の例において、試薬乾燥技術は、異なる環境条件(例えば、運送温度、湿度等)において長期間安定性(有効期間)をもたらすよう選択してもよい。場合によっては、試薬液滴が非常に小さいために、特別な乾燥技術を必要としない。さらに別の例において、使用者の操作を不要とするため、試薬を再構成するための分配操作を自動化してもよい。

40

【0034】

一実施形態において、本発明の方法により、試薬安定剤および/または保護化合物を添加することなく、液滴アクチュエーターの表面上の試薬溶液液滴を直接乾燥させることが可能になる。表面上で直接乾燥可能で、再水和液滴を用いた液滴操作によって再構成可能な試薬溶液の例として、磁気応答性ビーズ溶液、洗浄バッファー、溶解バッファー、溶離バッファー、IgG(0.6mg~1.2mg/mL)、BSA(20mg/mL)、MS2ファージ原液(1:10および1:100希釈液)、および/またはレクチン溶液(PBS内に200μg/mL)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0035】

別の実施形態において、本発明の方法は、液滴アクチュエーターにおける乾燥測定試薬

50

の保存および放出制御のために試薬液滴水に1つ以上の安定化剤を用いる。一例において、安定化剤はポリマーであってもよい。別の例において、安定化剤は糖マトリックスであってもよい。適当な糖の例として、デキストラン、スクロース、および/またはトレハロースが挙げられる。トレハロースおよびデキストランは、乾燥試薬の調製においてタンパク質を安定化する(すなわち、酵素活性を維持する)ために一般的に用いられる2つの糖である。トレハロースはまた、DNA二次構造およびDNA融解温度を約2 ~ 3 低減することにより逆転写(RT) - PCR反応を高めることが分かっている。トレハロースはさらに、高温における酵素の熱安定性をもたらす。液滴アクチュエーター上での乾燥に先立ち、安定化剤(例えば、トレハロース/デキストランマトリックス)と組み合わせて再水和液滴を用いた液滴操作により再構成される試薬溶液の例として、MS2ファージ原液(1:10および1:100希釈液)、サンプル調製用のレクチン(PBS内で200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、ならびに/または酵素、塩、プローブ、プライマー、および/もしくはデオキシヌクレオチドを含むPCRマスターミックス溶液が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0036】

液滴アクチュエーター上の乾燥した測定試薬の保存における糖マトリックスの使用を評価するために用いる一般的な手順の一例は以下の手順を含んだ: 各試験溶液のアリコート(例えば、約0.6 μL ~ 約1.5 μL 以上)を、サイトップで被覆された、液滴アクチュエーターの底部基板上の液滴操作電極(蓄積電極)に配置した。試験液は、トレハロース/デキストランマトリックスおよび試験スポットを視覚化するためのローダミン色素を含んでいた。トレハロース/デキストランマトリックス組成物の例を表1に示す。試験溶液はさらに1つ以上の測定試薬(例えば、RT - PCRマスターミックス、磁気応答性ビーズ、MS2)を含んでもよい。底部基板をオープン内で一晚、約35 ~ 37 で保温させ、底部基板表面上で試験スポットを乾燥させた。翌日、液滴アクチュエーターを組立て、使用まで周囲条件でデシケーター内で保存した。一定期間後、オイル充填流体および再水和バッファー(例えば、水またはPBS)を液滴アクチュエーターに充填した。乾燥試薬スポットを、再水和バッファーの液滴を乾燥試薬の位置にエレクトロウェッティングさせることにより再水和した。図3を参照して再構成手順の一例を説明する。

【0037】

【表1】

糖溶液	トレハロース % (w/v)*	デキストラン % (w/v)*
A	40	0
B	20	0
C	10	0
D	40	20
E	20	10
F	0	0

* 再構成後の最終濃度

【0038】

液滴アクチュエーター上で乾燥試薬を保存するための糖マトリックスの評価において評価されたパラメーターは、試薬液滴の容量、マイクロ流体輸送(例えば、粘度、偶発的な液滴の分裂)、および再構成時間を含むものとした。液滴操作電極に充填可能な試薬液滴の容量は、トレハロース/デキストラン糖マトリックスの組成による。例えば、40%トレハロース/20%デキストランを含む約1.5 μL を超える試薬溶液は、液滴アクチュ

エーターの通常の間隙高さ（すなわち、 $275\ \mu\text{m}$ ）よりも大きいことがある。乾燥試薬の再構成後の液滴の完全性を維持するために、再構成した液滴を、2倍の液滴として蓄積電極から離れるよう輸送してもよい。再構成した液滴は、適切なデジタルマイクロ流体測定手順によって評価し、かつ/あるいは、液滴アクチュエーターから除去して適切な台上（on-bench）手順によって評価してもよい。

【0039】

一例において、表1を参照して説明されるとおり、RT-PCRマスターミックスを糖マトリックスと組み合わせ、再構成および液滴アクチュエーター上でのエレクトロウェッティングを評価した。異なる濃度の酵素およびマスターミックスを含む2種類のRT-PCR原液を用いた。一方のRT-PCR原液は、10倍の酵素および5倍のマスターミックスを含みグリセロールをほとんど含まず、第2のRT-PCR原液は2.3倍の酵素および2.3倍のマスターミックスとともにグリセロールを含んだ。10倍酵素/5倍マスターミックス原液の希釈液を表2に示す。原液および希釈液のアリコートを、表1に示す糖マトリックスのアリコートと組み合わせた。表1を参照して説明するとおり、各混合溶液の $0.6\ \mu\text{L}$ のアリコートを、液滴アクチュエーターの個別の液滴操作電極に配置し、図3を参照して説明する電極パルス印加手順を用いて再水和した。乾燥したRT-PCRマスターミックス/糖マトリックス溶液の180よりも多い液滴を評価した。すべての乾燥した液滴を約3分以下で再構成した。各種の乾燥したマスターミックス溶液は、表3に示す糖含有量に基づいてほぼ同じ時間フレームで再構成した。

10

【0040】

20

【表2】

マスターミックス溶液	
1	6倍酵素 3倍マスターミックス (グリセロールなし)
2	2.73倍酵素 1.365倍マスターミックス (グリセロールなし)
3	1.365倍酵素 0.6825倍マスターミックス (グリセロールなし)
4	1.365倍酵素 1.365倍マスターミックス (グリセロール)
* 再構成後の最終濃度	

30

【0041】

【表 3】

糖溶液	トレハロース % (w/v)*	デキストラン % (w/v)*	パルス(秒)
A	40	0	~50
B	20	0	~50
C	10	0	~40
D	40	20	~150
E	20	10	~125
F	0	0	~50

10

【0042】

図1は、液滴アクチュエーター100の一部の上面図であり、特定の液滴操作電極上の、乾燥された試薬液滴の配列の一例を示す。この例では、表1を参照して説明するように、試薬液滴を液滴アクチュエーター上に装填し、乾燥させた。液滴アクチュエーター100は、間隙で分離された底部基板110および頂部基板(図示せず)を含んでもよい。その間隙は、シリコンオイル等の充填流体(図示せず)で充填されてもよい。底部基板110は、例えば、プリント回路基板(PCB)であってもよい。配列、例えば液滴操作電極112(例えば、エレクトロウェット電極)の通路および/またはアレイを底部基板110の一部として形成し、液滴操作間隙内で液滴操作を行うように配列してもよい。液滴操作は、通常、液滴操作間隙内の液滴操作電極112頂部で行われる。1つ以上の試薬溶液液滴114を特定の液滴操作電極112(蓄積電極)上に装填し、保存のために乾燥させてもよい。試薬溶液液滴114は例えば、約0.6 μ L~約1 μ Lの容量であってもよい。試薬溶液液滴114は乾燥されるとともに、隣接する電極間に局所化した。液滴操作電極112の微細構成によるものと考えられる。ディポット、バターニングした表面、親水性領域、または他の要素を用いて電極頂上で直接乾燥した試薬を局所化させてもよいが、乾燥した試薬液滴が電極間に局所化しても乾燥した試薬液滴の再構成に影響を与えないものと思われる。

20

30

【0043】

オンアクチュエーターリザーバ上における試薬溶液液滴の装填および乾燥も評価した。図2は、液滴アクチュエーター200の一部の上面図を表し、オンアクチュエーター試薬分配電極上の乾燥した試薬液滴の一例を示す。液滴アクチュエーター200は、間隙で分離された底部基板210および頂部基板212を含んでもよい。その間隙は、シリコンオイル等の充填流体(図示せず)で充填されてもよい。底部基板210は、例えば、PCBであってもよい。底部基板210は試薬分配電極214を含んでもよい。試薬分配電極214は、複数の別個に制御される電極に区分けされていてもよい。底部基板210および頂部基板212を組み合わせた要素は、オンアクチュエーター試薬リザーバ216を形成する。オンアクチュエーター試薬リザーバ216は、例えば2つの投入口218(例えば、投入口218aおよび218b)を有する。そのため、投入口218aおよび218bは、試薬分配電極214の少なくとも一部に近接する頂部基板112と一体化されている。ポート(例えば、投入口218aおよび218b)は液滴操作間隙に入口/出口(開口)をもたらす。液体は前記ポートを通して間隙のいずれかの部分、例えば、間隙のリザーバ領域または液滴操作通路上へ流ることが可能である。ポートを用いて間隙に充填流体を充填してもよい。ただし、多くの場合、液体を用いた1回以上の液滴操作、例えば液滴輸送、分割、および/または分配を行うために電極を用いることができるように、ポートを通して流れる試薬流体またはサンプル流体が、電極に十分近づく必要がある。

40

50

【0044】

オンアクチュエーター試薬リザーバ216および投入口218aおよび218bは、乾燥試薬液滴が再水和のためのエレクトロウェッティングを受けられるように設計される。1つ以上の試薬溶液液滴220を試薬分配電極214に装填し、保存のために乾燥させてもよい。例えば、1つの試薬溶液液滴220aを、投入口218aを介して試薬分配電極214に装填し、保存のために乾燥させてもよい。さらに、1つの試薬溶液液滴220bを、投入口218bを介して試薬分配電極214に装填し、保存のために乾燥させてもよい。試薬液溶液滴220は例えば、約20 μ Lの容量であってもよい。

【0045】

5.1.2 試薬再構成手順

本発明の試薬再構成方法は、乾燥試薬の回収にデジタルマイクロ流体液体処理手順を用いる。一実施形態において、本発明の方法は、乾燥試薬液滴を回収するための水滴の操作に、エレクトロウェッティングを媒介した液滴操作を用いる。重要なことは、本発明者が、オイルを通過して乾燥試薬に接触するよう液滴を輸送することにより、乾燥試薬をオイル充填流体で被覆し、実質的に完全に再構成することが可能であることを発見したということである。

【0046】

エレクトロウェッティング媒介液滴操作における液滴の電圧は、例えば、約0.5ボルト~約1000ボルト、約2ボルト~約700ボルト、約4ボルト~約500ボルトの範囲であってもよい。エレクトロウェッティング媒介液滴操作は、例えば、約0.1Hz~約10000Hz、または約1Hz~約1000Hz、または約2Hz~約500Hzの範囲の周波数のAC電圧を用いる。別の実施形態において、本発明の方法は誘電泳動媒介液滴操作を採用する。

【0047】

本発明の試薬再構成方法は、約50%を超える乾燥試薬液滴、約80%を超える乾燥試薬液滴、約90%を超える乾燥試薬液滴、約95%を超える乾燥試薬液滴、または約99%を超える乾燥試薬液滴を回収することを可能にする。

【0048】

本発明の試薬再構成方法は、約15分未満、約7分未満、約5分未満、または約3分未満で、実質的にすべての乾燥試薬液滴を再構成（回収）することを可能にする。

【0049】

好適な実施形態において、電極パルス印加手順（すなわち、エレクトロウェッティング媒介液滴パルス印加）を用いて、乾燥試薬液滴の再構成のために水滴を操作してもよい。様々な実施形態において、パルス印加は、約1:1~約20:1、約5:1~約15:1、または約8:1~12:1のON/OFFパルス比であってもよい。様々な実施形態において、エレクトロウェッティング媒介パルス印加は、約1:1~約20:1のON/OFFパルス比でもよく、ここで各パルス印加サイクルは約1ナノ秒~1分、約1ミリ秒~約30秒、または約100ミリ秒~約5秒である。

【0050】

図3A、3B、および3Cは、液滴アクチュエーターの電極配列300の一部の一例の上面図を表し、液滴アクチュエーターに対し試薬再構成手順を行う工程を示す。図3A~3Cの本発明の方法は、電極パルス印加を用いて液滴アクチュエーター上の特定の液滴操作電極に保存された乾燥試薬を再構成する、試薬再構成手順の一例である。

【0051】

電極配列300は、液滴操作を行うよう構成された液滴操作電極310（例えば、エレクトロウェッティング電極）の通路および/またはアレイを含んでもよい。液滴操作は、液滴操作表面上の液滴操作電極310頂部で行われる。特定の液滴操作電極310に乾燥され濃縮した試薬液滴312が存在していてもよい。一例において、乾燥試薬312は、RT-PCR増幅に十分な酵素、塩、プライマー対、デオキシヌクレオチド、およびプローブを含む逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）マスターミックス液滴であっ

10

20

30

40

50

てもよい。乾燥試薬 3 1 2 は、例えば、手動での配置もしくは自動プリント装置によって所定位置に乾燥させることができる。電極パルス印加を用いた乾燥測定試薬の再構成方法の一例は、これらに限定されないが、以下の工程を含んでもよい。試薬液滴 3 1 2 は充填流体、例えば、シリコンオイル充填流体などのオイル充填流体で被覆してもよい。

【0052】

一工程において、図 3 A を参照すると、乾燥試薬 3 1 2 が特定の液滴操作電極 3 1 0 に存在し、再構成の準備が整っている。オイル充填流体（図示せず）は、乾燥試薬 3 1 2 を含む表面を被覆している。乾燥試薬 3 1 2 は高濃度の乾燥試薬をもたらす。再水和液滴 3 1 4 は、別の液滴操作電極 3 1 0 に存在し、液滴操作を介して乾燥試薬 3 1 2 に輸送される準備が整っている。再水和液滴 3 1 4 は、1 倍液滴であってもよい。1 倍液滴は、専有面積が、1 つの液滴操作電極 3 1 0 の面積とほぼ等しいことを意味する。一例において、再水和液滴 3 1 4 は、サンプル液滴（図示せず）との混合および保温に先立つ乾燥試薬液滴の再構成に用いられる再水和バッファ（例えば、0.02%の Tween（登録商標）20 を含む水）であってもよい。別の例において、再水和液滴 3 1 4 は、乾燥試薬 3 1 2 の再構成に用いるサンプル液滴であってもよい。

10

【0053】

別の工程において、図 3 B を参照すると、液滴操作によって、液滴操作電極 3 1 0 に沿って乾燥試薬 3 1 2 に接触するよう再水和液滴 3 1 4 を輸送する保温工程が行われる。その際、乾燥試薬 3 1 2 を再水和して反応液滴 3 1 6 を形成する。試薬液滴 3 1 2 の再水和を促進するため、試薬液滴 3 1 2 を保持する液滴操作電極 3 1 0 のパルスを繰り返し ON および OFF にしてもよい。例えば、液滴操作電極 3 1 0 のパルスを約 0.9 秒間（例えば、300V、30Hz）ON にし、約 0.1 秒間 OFF にする。このパルス印加は約 40 回～約 150 回繰り返してもよい。液滴操作電極 3 1 0 の ON 回数を増やすとより効率的に電極をウェットिंगすることが可能になり、再水和液滴が乾燥試薬を再懸濁しなければならない回数が増える。パルス印加は、また液滴内に対流を起こし、乾燥試薬液滴の再水和をさらに促進する。代替実施形態において、乾燥試薬は、従来の疎水性マイクロ流体チャネル内に供給してもよく、乾燥試薬がチャネルの表面に存在する状態で、当該チャネルに隣接して配置された電極を用いて（オイル充填流体に囲まれた）チャネル内の液滴にパルス印加し、チャネル内で試薬を再構成する。

20

【0054】

別の工程において、図 3 C を参照すると、乾燥試薬の再構成に十分な保温期間（例えば 3 分以下）の後、反応液滴 3 1 6 を、さらなる処理のために、液滴操作電極 3 1 0 に沿った液滴操作によって輸送する。さらに、反応液滴 3 1 6 を 2 倍液滴として輸送する。2 倍液滴は、その専有面積が 1 つの液滴操作電極 3 1 0 の面積の約 2 倍であることを意味する。反応液滴 3 1 6 を 2 倍液滴として輸送することにより、偶発的な液滴の分裂が抑制される。

30

【0055】

別の実施形態において、液滴往復手順（すなわち、エレクトロウェットिंगを媒介した液滴往復）を用いて、乾燥試薬液滴の再構成のために水滴を操作してもよい。一例において、隣接する 2 つの液滴操作電極を ON にすることにより、乾燥試薬液滴を横切って 1 滴の水滴を往復させてもよい。別の例において、1 つの隣接する液滴操作電極を ON にすることにより、乾燥試薬液滴を横切って 2 滴の水滴を往復させてもよい。乾燥試薬液滴を横切る液滴往復の頻度は、例えば、約 10 ミリ秒毎に 1 回～約 20 秒毎に 1 回、約 100 ミリ秒毎に 1 回～約 15 秒毎に 1 回、または約 200 ミリ秒毎に 1 回～約 10 秒毎に 1 回の範囲であってもよい。

40

【0056】

図 4 A ~ 4 E は、図 3 A の電極配列 3 0 0 の上面図を表し、液滴アクチュエーターに対し試薬再構成手順を行う別の工程を示す。図 4 A ~ 4 E の本発明の方法は、水滴を前後に往復させることにより液滴アクチュエーター上の特定の液滴操作電極に保存された乾燥試薬液滴を再構成する、試薬再構成手順の一例である。電極往復を用いた乾燥測定試薬の再

50

構成方法の一例は、これらに限定されないが、以下の工程を含んでもよい。

【0057】

一工程において、図4Aを参照すると、乾燥試薬312が特定の液滴操作電極310に存在し、再構成の準備が整っている。乾燥試薬312は高濃度の乾燥試薬をもたらす。再水和液滴314は、別の液滴操作電極310に存在し、液滴操作を介して乾燥試薬312に輸送される準備が整っている。再水和液滴314は1倍液滴であってもよい。

【0058】

別の工程において、図4Bを参照すると、液滴操作によって、液滴操作電極310に沿って乾燥試薬312に接触するよう再水和液滴314が輸送される。その際、乾燥試薬312を再水和して反応液滴316を形成する。

10

【0059】

別の工程において、図4C、4D、および4Eを参照すると、乾燥試薬312を十分に再水和させるために、乾燥試薬312を保持する液滴操作電極310上で反応液滴316を前後に往復させる処理が行われる。乾燥試薬312に隣接する2つの液滴操作電極310をONにすることにより、反応液滴316を2倍液滴として往復させる。反応液滴316を2倍液滴として輸送することにより、偶発的な液滴の分裂を抑制する。乾燥試薬312を保持する液滴操作電極310上で反応液滴316を前後に往復させると、乾燥試薬312が再水和される。往復処理は、乾燥試薬312を再水和させるのに十分な回数で繰り返すことができる。かくして、反応液滴316のさらなる処理への準備が整う。

20

【0060】

5.1.3 液体試薬保存

液滴アクチュエーターにおいて、特定の他の試薬とともに再構成バッファを液体状で保存してもよい。1つ以上の物理的構造物および/または要素を液滴アクチュエーター内に組み入れて液体試薬の格納に用いてもよい。一例において、物理的構造物および/または要素は、運送時に液体試薬を格納できるよう選択してもよい。大量の試薬流体、例えば洗浄バッファを、独立したリザーバ(例えば、頂部基板上のリザーバ)内に保存してもよい。液体保存に適切な試薬は、有効期間研究に基づいて選択することができる。

【0061】

液滴アクチュエーターに事前装填され保存された液体試薬は、液滴アクチュエーターが使用されるまでそれらが格納されるよう保護層に覆われてもよい。例えば、保護層は、液滴アクチュエーターを機器に挿入することにより保護層が破れるような脆弱層(感圧性)であってもよい。保護層が破れると、液体試薬が、例えば、液滴操作によって液体試薬が分配される特定の液滴操作電極に近づくよう放出され得る。別の例において、液体試薬は、乾燥試薬が保存される1つ以上の隣接する区画内に放出されてもよい。液体がその区画に入ると、乾燥試薬が再構成される(すなわち、再水和される)。

30

【0062】

5.2 応用例

本発明の方法は、HIVの混合(すなわち、サンプル応答)サンプル調製および多重検出のためのポイントオブケア(POC)診断装置を提供するよう用いられる。この例において、サンプル調製、HIV抗体の免疫測定、およびHIVウイルス負荷を測定するRT-PCRのための乾燥試薬を液滴アクチュエーター上で保存することができる。液体試薬、例えば、洗浄バッファおよびオイル充填流体もまた液滴アクチュエーター上で保存することができる。

40

【0063】

5.3 システム

本発明の様々な態様を、方法、システム、コンピューターで読み取り可能な媒体、および/またはコンピュータープログラム製品として実施してもよいことが理解されるだろう。本発明の態様は、ハードウェアの実施形態、ソフトウェアの実施形態(ファームウェア、常駐ソフトウェア、マイクロコード等を含む)、または通常、本明細書で「回路」、「モジュール」または「システム」として言及する全てのソフトウェアおよびハードウェア

50

の態様を組み合わせた実施形態を取り得る。さらに、本発明の方法は、コンピューターで使用可能なストレージ媒体でのコンピュータープログラムプロダクトの形態を取ってもよく、当該媒体は、当該媒体で実施される、コンピューターで使用可能なプログラムコードを有する。

【0064】

本発明のソフトウェアの態様に、任意の好適なコンピューターで使用可能な媒体を利用してもよい。コンピューターで使用可能なまたはコンピューターで読み取り可能な媒体は、例えば、これらに限定されないが、電氣的、磁氣的、光学的、電磁氣的、赤外線、もしくは半導体の、システム、機器、装置、または伝搬媒体であってもよい。コンピューターで読み取り可能な媒体は、一時的および/または持続的実施形態を含んでもよい。コンピューターで読み取り可能な媒体のより詳細な例（非包括的なリスト）は、以下の一部または全部を含む：1つ以上の配線を有する電氣的接続、ポータブルコンピューターディスク、ハードディスク、ランダムアクセスメモリ（RAM）、リードオンリーメモリ（ROM）、イレーザブル（消去可能）プログラマブルリードオンリーメモリ（EPROMまたはフラッシュメモリ）、光ファイバー、ポータブルコンパクトディスクリードオンリーメモリ（CD-ROM）、光学ストレージデバイス、インターネットまたはイントラネットをサポートする伝送媒体等の伝送媒体、または磁気ストレージデバイス。なお、コンピューターで使用可能なまたはコンピューターで読み取り可能な媒体は、プログラムが印刷された紙または他の好適な媒体であってもよいが、それはプログラムが、例えば、紙または他の媒体の光学スキャンを経て電子的に保存され、次いで、蓄積され、読み取られ、そうでなければ必要に応じて好適な手法で処理され、次いでコンピューターのメモリに保存され得るからである。本文書の文脈では、コンピューターで使用可能なまたはコンピューターで読み取り可能な媒体は、指示実行システム、機器、もしくは装置により、または、指示実行システム、機器、もしくは装置に関連して使用されるプログラムを含み、保存し、通信し、伝搬し、または伝送し得るいずれの媒体であってもよい。

10

20

【0065】

本発明の操作を実行するためのプログラムコードは、Java、Smalltalk、C++等のオブジェクト指向プログラム言語で書かれていてもよい。しかしながら、本発明の操作を実行するためのプログラムコードは、従来の手続型プログラム言語、例えば「C」プログラム言語または同様のプログラム言語で書かれていてもよい。プログラムコードは、プロセッサ、特定用途向け集積回路（ASIC）、またはプログラムコードを実行する他の構成要素で実行されてもよい。プログラムコードは、単に、メモリ（上述したコンピューターで読み取り可能な媒体等）に保存されるソフトウェアアプリケーションと呼んでもよい。プログラムコードは、プロセッサ（またはプロセッサ制御装置）にグラフィカルユーザーインターフェイス（「GUI」）を生成させてもよい。グラフィカルユーザーインターフェイスは、ディスプレイ装置に視覚的に生成されてもよく、さらにグラフィカルユーザーインターフェイスは、可聴式要素を有していてもよい。しかしながら、プログラムコードは、コンピューター、サーバー、携帯情報端末、電話、テレビ、またはプロセッサおよび/またはデジタル信号プロセッサを利用する任意のプロセッサ制御装置等の任意のプロセッサ制御装置内で動作してもよい。

30

40

【0066】

プログラムコードは、その場または遠隔で実行されてもよい。プログラムコードは、例えば、全体または一部がプロセッサ制御装置のローカルメモリに保存されてもよい。しかしながら、プログラムコードは、少なくとも部分的に、プロセッサ制御装置に、遠隔で保存され、アクセスされ、およびダウンロードされてもよい。使用者のコンピューターにより、例えば、プログラムコードを全て実行してもよいし、あるいはプログラムコードの一部のみ実行してもよい。プログラムコードは、少なくとも一部が使用者のコンピューターにあるスタンドアロンソフトウェアパッケージであってもよく、かつ/あるいは、リモートコンピューターで部分的に実行されてもよいし、あるいはリモートコンピューターもしくはサーバーで全て実行されてもよい。後者の状況では、リモートコンピューター

50

ーは、使用者のコンピューターに通信ネットワークを通じて接続されていてもよい。

【0067】

本発明は、ネットワーク環境に関わらず適用することができる。通信ネットワークは、無線周波数ドメインおよび/またはインターネットプロトコル(IP)ドメインで動作するケーブルネットワークであってもよい。しかしながら、通信ネットワークは、インターネット(代替的に「ワールドワイドウェブ」として知られることもある)、イントラネット、ローカルエリアネットワーク(LAN)、および/または広域ネットワーク(WAN)等の分散コンピューティングネットワークを含んでいてもよい。通信ネットワークは、同軸ケーブル、銅線、光ファイバー線、および/またはハイブリッド同軸線を含んでいてもよい。通信ネットワークは、電磁気スペクトルのいずれかの部分およびシグナリング規格(IEEE 802のファミリー規格、GSM/CDMA/TDMAもしくはセルラー方式規格、および/またはISM帯等)のいずれかを利用する無線部分を含んでいてもよい。通信ネットワークは、電力線部分を含んでいてもよく、そこで信号は電気配線を通じて伝えられる。本発明は、物理的構成部品、物理的構成、または通信規格に関わらず、いずれの無線/有線通信ネットワークに適用することが可能である。

10

【0068】

本発明の特定の態様は、様々な方法および方法の工程を参照して記載されている。方法の各工程が、プログラムコードにより、および/または機械命令により実施され得ることが理解されるだろう。プログラムコードおよび/または機械命令により、方法で特定された機能/動作を実施するための手段を生成してもよい。

20

【0069】

プログラムコードは、コンピューターで読み取り可能なメモリーに保存されてもよく、当該メモリーは、コンピューターで読み取り可能なメモリーに保存されたプログラムコードが、様々な方法の工程の態様を実施する指示手段を含む製品を作成または変換するように、プロセッサ、コンピューター、または他のプログラム可能なデータを処理する機器を特定の方法で機能するように指示することができる。

【0070】

プログラムコードは、コンピューターまたは他のプログラム可能なデータを処理する機器に搭載され、プログラムコードが本発明の方法で規定された様々な機能/動作を実施するための工程を提供するように、プロセッサ/コンピューターが実施する処理を生成する一連の操作工程を実行させてもよい。

30

【0071】

6 結び

上述した、実施形態の詳細な説明は、添付の図面を参照し、当該図面は、本発明の特定の実施形態を表す。異なる構造および動作を含む他の実施形態は本発明の範囲から逸脱しない。用語「本発明」等は、本明細書で説明した出願人の発明の多くの代替態様または実施形態のいくつかの特定の例を参照して用いられ、その使用または不使用は出願人の発明の範囲または特許請求の範囲を限定することを意図しない。本明細書は、読者の便宜のために章で分割されている。見出しは、発明の範囲を限定するものとして解釈すべきでない。定義は本発明の記載の一部として意図されている。本発明の範囲を逸脱することなく本発明の様々な詳細を変更してもよいことが理解されるだろう。さらに、上述の記載は説明のみのためのものであり、限定を目的としたものではない。

40

【 図 1 】

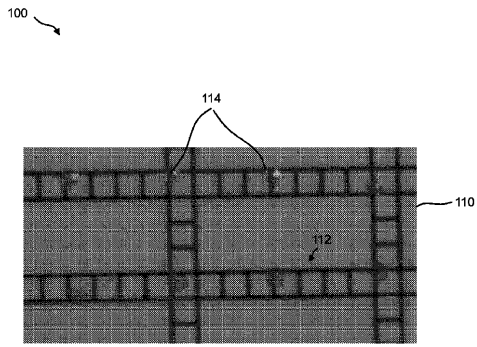


Figure 1

【 図 2 】

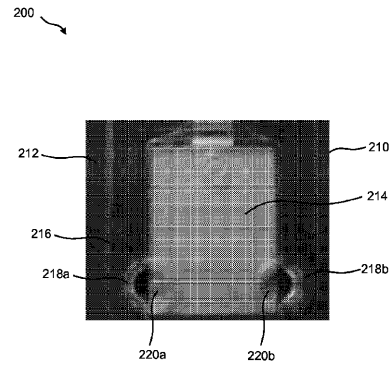


Figure 2

【 図 3 A 】

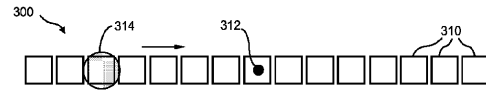


Figure 3A

【 図 3 B 】

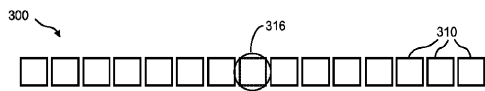


Figure 3B

【 図 4 C 】

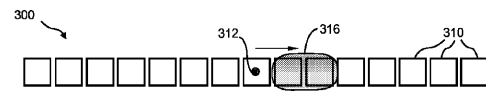


Figure 4C

【 図 3 C 】



Figure 3C

【 図 4 D 】

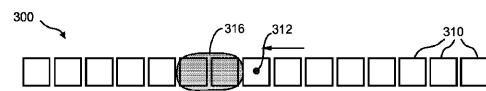


Figure 4D

【 図 4 A 】

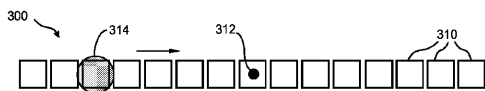


Figure 4A

【 図 4 E 】

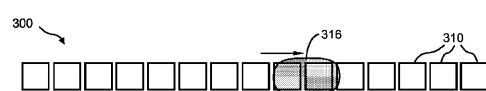


Figure 4E

【 図 4 B 】

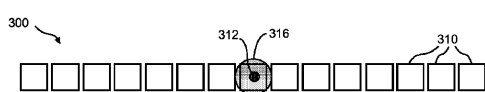


Figure 4B

【手続補正書】

【提出日】平成26年6月13日(2014.6.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

1つ以上の試薬を含む液滴を提供する方法であって、

(a) 1つ以上の試薬を含む第1の水滴を表面に付着させる工程と、

(b) 前記液滴を乾燥させて、前記1つ以上の試薬を含む表面上に乾燥組成物を生成させる工程と、

(c) 前記乾燥組成物をオイルで被覆する工程と、

(d) 前記オイル中の第2の水滴を前記乾燥組成物に接触させ、それにより1つ以上の試薬を再懸濁させる工程と、

を含む、方法。

【請求項2】

前記水滴がさらに安定化剤を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記安定化剤が糖を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記糖が、デキストラン、スクロース、およびトレハロースからなる群より選択される請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記安定化剤がポリマーを含む、請求項2 ~ 4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記第1の水滴が界面活性剤を含む、請求項1 ~ 5のいずれかに記載の方法。

【請求項7】

前記第2の水滴が界面活性剤を含む、請求項1 ~ 6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

前記表面が電極を含む、請求項1 ~ 7のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

前記表面がプラスチック表面からなる、請求項1 ~ 8のいずれかに記載の方法。

【請求項10】

前記表面が疎水性である、請求項1 ~ 9のいずれかに記載の方法。

【請求項11】

前記表面が電極を含み、前記乾燥組成物が前記電極の上に配置される、請求項1 ~ 10のいずれかに記載の方法。

【請求項12】

前記電極が、電極アレイの構成要素である、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記電極アレイが、前記表面上で液滴操作を行うよう構成されている、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

工程(d)がエレクトロウェッティング液滴操作で媒介される、請求項1 ~ 13のいずれかに記載の方法。

【請求項15】

前記第2の液滴にパルス印加する工程をさらに含む、請求項1 ~ 14のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

前記パルス印加が、電極により媒介される、請求項15に記載の方法。

【請求項 17】



前記パルス印加が、エレクトロウェッティングで媒介される、請求項16に記載の方法

。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/044235

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 27/403(2006.01)i, G01N 33/48(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 35/00(2006.01)i</i>		
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) G01N 27/403; B01L 3/00; G01N 1/00; G01N 27/26; G01N 33/543; B01J 19/08		
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) cKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: droplet, reagent, drying, hydrophobic surface, oil, suspension, amplifying, RNA, DNA, and RT-PCR.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010-0282609 A1 (POLLACK; MICHAEL G. et al.) 11 November 2010 See the whole document.	1,111-366
A	WO 2008-098236 A2 (ADVANCED LIQUID LOGIC, INC. et al.) 14 August 2008 See the whole document.	1,111-366
A	US 2011-0104816 A1 (POLLACK MICHAEL G. et al.) 05 May 2011 See the whole document.	1,111-366
A	US 2010-0236927 A1 (POPE; LAVERN et al.) 23 September 2010 See the whole document.	1,111-366
<input 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:	"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	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 28 JANUARY 2013 (28.01.2013)	Date of mailing of the international search report 28 JANUARY 2013 (28.01.2013)	
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer KIM Sang Woo Telephone No. 82-42-481-8384	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/044235

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.: 43-49
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:
Claims 43-49 are unclear under PCT Article 6 because these claims are dependent on claims 42 and 43 which do not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. Claims Nos.: 2-44, 50-110
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:

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

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

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2012/044235

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2010-0282609 A1	11.11.2010	WO 2009-052095 A1	23.04.2009
WO 2008-098236 A2	14.08.2008	AU 2008-212808 A1	14.08.2008
		CA 2712863 A1	14.08.2008
		GN 101627308 A	13.01.2010
		EP 2111554 A2	28.10.2009
		JP 2010-518403 A	27.05.2010
		KR 10-2010-0014917 A	11.02.2010
		US 2010-0068764 A1	18.03.2010
		WO 2008-098236 A3	14.08.2008
US 2011-0104816 A1	05.05.2011	WO 2009-137415 A2	12.11.2009
US 2010-0236927 A1	23.09.2010	WO 2009-052354 A2	23.04.2009
		WO 2009-052354 A3	20.08.2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	B
G 0 1 N 33/483 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/543	5 2 5 W
	G 0 1 N 33/543	5 2 5 U
	G 0 1 N 33/483	F

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, 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, RS, 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, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

- 1 . J A V A
- 2 . G S M
- 3 . S m a l l t a l k

(72)発明者 ジェニファー フォレイ
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2 7 5 1 3 ケーリー バーウィック バレー レーン
 7 2 4

(72)発明者 ステファン ブルデ
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2 7 5 1 9 ケーリー シャーウッド フォレスト プレ
 イス 5 1 6

Fターム(参考) 2G045 AA25 FB05
 4B029 AA07 BB01 BB17 BB20 CC02 CC08 FA03 FA12 GB09 GB10
 4B063 QA13 QA18 QQ05 QQ53 QQ67 QQ79 QR36 QR43 QR48 QR62
 QR74 QS02 QS33 QS34 QS39 QX01

专利名称(译)	在液滴致动器中保存试剂		
公开(公告)号	JP2014524741A	公开(公告)日	2014-09-25
申请号	JP2014518924	申请日	2012-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	先进流体逻辑公司		
申请(专利权)人(译)	先进的液体Logic公司		
[标]发明人	ジェニファーフォレイー ステファンブルデ		
发明人	ジェニファー フォレイー ステファン ブルデ		
IPC分类号	C12M1/34 C12Q1/68 C12Q1/37 C12Q1/04 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/483		
CPC分类号	C12Q1/703 B01L3/502784 B01L3/502792 B01L7/525 B01L2200/0678 B01L2200/16 B01L2300/0816 B01L2400/0427 C12Q1/6806		
FI分类号	C12M1/34.Z C12Q1/68.A C12Q1/37 C12Q1/04 C12M1/34.F C12M1/34.B G01N33/53.D G01N33/543. 525.W G01N33/543.525.U G01N33/483.F		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/FB05 4B029/AA07 4B029/BB01 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC02 4B029 /CC08 4B029/FA03 4B029/FA12 4B029/GB09 4B029/GB10 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ05 4B063/QQ53 4B063/QQ67 4B063/QQ79 4B063/QR36 4B063/QR43 4B063/QR48 4B063/QR62 4B063 /QR74 4B063/QS02 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX01		
代理人(译)	杉村健二 山口佑介 加藤正树		
优先权	61/504793 2011-07-06 US 61/507863 2011-07-14 US		
其他公开文献	JP5894272B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

一种提供包含一种或多种试剂的液滴的方法，所述方法包括：在表面上沉积包含所述一种或多种试剂的第一水性液滴；干燥液滴，在包含一种或多种试剂的表面上产生干燥的组合物；用油覆盖干燥的组合物；使油中的第二水滴与干燥的组合物接触，从而重悬一种或多种试剂。

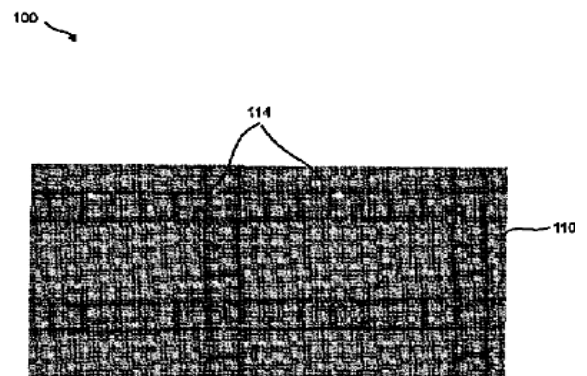


Figure 1