

(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2015-521735

(P2015-521735A)

(43) 公表日 平成27年7月30日(2015.7.30)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543	5 1 1 F 2 G 0 5 4
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	1 0 1 2 G 0 5 8
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/553	
GO 1 N 33/569 (2006.01)	GO 1 N 33/543	5 7 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/569	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 47 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-517612 (P2015-517612)
 (86) (22) 出願日 平成25年6月21日 (2013. 6. 21)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年1月30日 (2015. 1. 30)
 (86) 国際出願番号 PCT/DK2013/050208
 (87) 国際公開番号 W02013/189502
 (87) 国際公開日 平成25年12月27日 (2013. 12. 27)
 (31) 優先権主張番号 PA201270353
 (32) 優先日 平成24年6月22日 (2012. 6. 22)
 (33) 優先権主張国 デンマーク (DK)

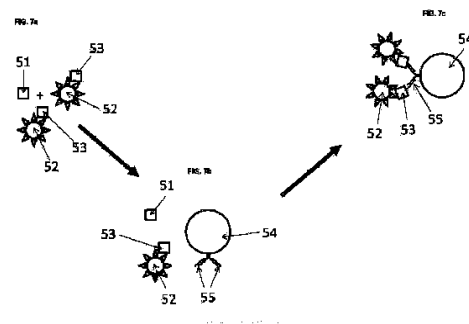
(71) 出願人 514325295
 スカンジナビアン マイクロ バイオデバイ
 シズ エイピーエス
 SCANDINAVIAN MICRO
 BIODEVICES APS
 デンマーク国 DK-3520 ファール
 ム ガンメルガーズヴァイ 87セ
 (74) 代理人 100105957
 弁理士 恩田 誠
 (74) 代理人 100068755
 弁理士 恩田 博宣
 (72) 発明者 ヘラー、マーティン
 デンマーク国 DK-2860 セーボ
 ブディングヴァイ 354 2. テホ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 標的成分の定量的判定又は定性的判定のための方法及びシステム

(57) 【要約】

本発明は、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための方法及びシステムに関する。本方法は、i) 標的成分の1つ以上の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子を用意する工程と、ii) 磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体を用意する工程と、iii) 透過性窓を備えるマイクロ流体デバイスの流路チャンネル内において液体試料を蛍光体及び磁性粒子と接触させる工程と、iv) 磁石を使用して透過性窓に隣接する磁性粒子を少なくとも一時的に固定化し、固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取り、読み取られた信号に基づき標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施する工程とを含む。また、本発明は、本方法/本システムにおいて使用されるのに適したマイクロ流体デバイスと、液体試料を調製するためのキットとに関する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための方法において、
前記標的成分の 1 つ以上の捕獲部位をそれぞれの表面に備える複数の磁性粒子を設ける
工程と、

前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合するための複数の蛍光体を設ける工程と、

流路チャネル内への透過性窓を備えたマイクロ流体デバイスの前記流路チャネル内に前
記液体試料、前記蛍光体、及び前記磁性粒子を搬送する工程と、

磁石を使用して前記磁性粒子を前記透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化し、
前記固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、前記固定化された磁性粒子により
捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取り、読み取られた前記信号に基づき前記標
的成分の定量的判定又は定性的判定を実施する工程とからなる、方法。

10

【請求項 2】

前記液体試料は、ヒト若しくは動物又は野菜の体液などの生物流体又は生物流体の一部
、例えば血液、唾液、尿、乳、サイトソル（細胞内液）、間質液（組織液）、及びそれら
のうちの 1 つ以上の物の一部、及び混合物のうちの少なくとも一方など、ならびに / ある
いは、懸濁状生物固体、例えば組織又は固形食品、例えば肉もしくは野菜などからなる、
請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記標的成分は、単一の有機分子又は有機分子構造体などの生体分子からなる、請求項
1 又は 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記標的成分は、細菌性病原体、ウイルス性病原体、又は菌類病原体の中の少なくとも
1 つなどの微生物、例えば大腸菌 *E. coli*、シトロバクター種、アエロモナス種、パ
スツレラ種、非血清グループ D 1 サルモネラ属、カンピロバクターブドウ球菌種、及びそ
れらの組合せなどからなる、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記標的成分は、血液細胞、幹細胞、又は腫瘍細胞などの細胞からなる、請求項 1 ~ 4
のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記標的成分は、タンパク、ヌクレオチド、炭水化物、又は脂質、特に酵素、抗原、又
は抗体からなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 7】

捕獲部位が、前記標的成分に対して特異的である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載
の方法。

【請求項 8】

捕獲部位が、1 つ以上の標的成分からなる成分群に対して特異的である、請求項 1 ~ 7
のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記磁性粒子は、前記捕獲部位を含んでなるコーティングを備えたコーティング済み磁
性粒子であり、前記捕獲部位は、前記標的成分の捕獲部位になるように選択され、前記コ
ーティングは、例えば抗原、抗体、アビジン、ビオチン、又はヤギ抗 - マウス Ig G の形
態の捕獲部位を備える、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記蛍光体は、量子ドット、又は、芳香族プローブ及び複合プローブのうちの少なくと
も一方、例えば、フルオレセイン、ベンゼン誘導体、及び金属 - カルコゲニド蛍光体であ
る、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記蛍光体は、前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合し得る成分に固着されることにより
前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合するように構成され、前記成分は、好適には前記標的

50

成分と同一又は同族体である、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記蛍光体は、光源により刺激された場合に、1 つ以上の別個の光周波数を発する量子ドットである、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

各量子ドットは、半導体ナノ粒子又は希土類元素ドーパ酸化物コロイド状ナノ粒子などの励起可能物質のコアを備える、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

それぞれの前記量子ドットは、2 ~ 10 nm など、最大で 25 nm のサイズを有するコアを備え、前記量子ドットは、好適にはポリマー・コーティングなどの有機コーティングを備え、前記コーティングは、前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合し得る成分に固着される、請求項 12 又は 13 に記載の方法。

10

【請求項 15】

それぞれの前記量子ドットは、任意には硫化亜鉛を含む又は硫化亜鉛からなる透過性シェルで覆われた、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、ヒ化インジウム、又はリン化インジウムなどの二元半導体合金のコアを備える、請求項 12 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記液体試料は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネルの外部において、前記蛍光体の中の 1 つ又は複数及び前記磁性粒子の中の 1 つ又は複数と接触状態になり、その後前記液体試料は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネルに送られ、好適には、前記液体試料は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネルの外部において、前記蛍光体の中の 1 つ又は複数及び前記磁性粒子の中の 1 つ又は複数と接触状態になり、その後前記液体試料は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネルに送られる、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 17】

前記液体試料は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内において前記蛍光体及び前記磁性粒子の中の 1 つ又は複数と接触状態になる、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記蛍光体及び前記磁性粒子は、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内に配置され、前記方法は、前記流路チャンネル内に前記液体試料を送る工程をさらに備え、前記蛍光体及び前記磁性粒子は、好適には相互に距離を置いて前記流路チャンネル内に配置される、請求項 15 に記載の方法。

30

【請求項 19】

前記蛍光体及び前記磁性粒子は、前記流路チャンネルに前記液体試料を送る前に前記蛍光体及び前記磁性粒子が相互に結合し得ないように、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内で一時的に固定化される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記液体試料は、前記流路チャンネルに吸入されることにより前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内に送られ、前記吸入は、アクチュエータにより実現される、請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 21】

前記アクチュエータは、前記流路チャンネルに前記液体試料を吸入するための吸入力を生成するために、前記流路チャンネル又は前記流路チャンネルと流体連通状態にあるシンク・セクションの可撓性壁部セクションを移動させるように構成され、前記流路チャンネルは、好適には第 1 の送給端部と、前記可撓性壁部セクションを備える第 2 のアクチュエータ端部とを備える流路チャンネルである、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記方法は、前記磁性粒子の前記捕獲部位に前記液体試料及び蛍光体の少なくとも一方

50

の中の想定される標的成分を捕獲させる工程をさらに備え、前記方法は、好適には任意にアクチュエータを使用して前記流路チャンネル内の前記液体試料を脈動させる工程をさらに備え、その後、前記磁性粒子は、磁石を使用して前記透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化される、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記磁石は、前記透過性窓に隣接して前記磁性粒子を少なくとも一時的に固定化するために十分な強度の磁場を有する、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記少なくとも一時的に固定化された磁性粒子は、前記磁性粒子の前記捕獲部位に捕獲された想定される蛍光体の少なくとも一部が励起されるように、前記電磁ビームにさらされ、その後、任意の捕獲された蛍光体から発せられる信号が、読み取られ、前記標的成分の定量的判定又は定性的判定が、前記読み取られた信号に基づき実施される、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 2 5】

前記少なくとも一時的に固定化された磁性粒子は、前記電磁ビームにさらされる前に前記磁石により印加される磁力から解放される、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記複数の蛍光体は、実質的に同一である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 7】

前記複数の蛍光体は、2 つ以上の蛍光体群からなり、前記 2 つ以上の蛍光体群は、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び量のうちの少なくとも 1 つに関して相互に異なる、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記複数の磁性粒子は、捕獲部位において、ならびに任意には捕獲部位の、個数及びサイズの少なくとも一方において実質的に同一のものである、請求項 1 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記複数の磁性粒子は、2 つ以上の磁性粒子群からなり、前記 2 つ以上の磁性粒子群は、例えばサイズ、捕獲部位、個数、及びタイプのうちの少なくとも 1 つなどにおいて互いに異なる、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 3 0】

前記方法は、液体試料中の 2 つ以上の標的成分の定量的判定又は定性的判定からなり、前記磁性粒子は、前記 2 つ以上の標的成分に対して 1 つ以上のタイプの捕獲部位を備え、1 つの標的成分の捕獲部位が、好適には別の標的成分の捕獲部位とは異なる、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記複数の蛍光体は、1 つの標的成分の捕獲部位に結合するように構成された少なくとも 1 つの蛍光体群と、別の標的成分の捕獲部位に結合するように構成された少なくとも別の蛍光体群とからなる、請求項 3 0 に記載の方法。

40

【請求項 3 2】

前記方法は、前記標的成分の定量的判定又は定性的判定のために前記液体試料に対して 2 つ以上の並行アッセイを実施する工程をさらに備え、各アッセイが、

透過性窓を備えるマイクロ流体デバイスにおいて前記液体試料の一部を前記蛍光体及び前記磁性粒子に接触させることと、

磁石を使用して前記透過性窓に隣接して前記磁性粒子を少なくとも一時的に固定化し、前記固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、前記固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取ることと、

からなる、請求項 1 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 3 3】

前記 2 つ以上の並行アッセイの中の 1 つで使用される蛍光体が、前記 2 つ以上の並行アッセイの中の別の 1 つで使用される蛍光体とは異なり、好適には、前記 2 つ以上の並行アッセイの中の 1 つで使用される蛍光体が、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び量のうちの少なくとも 1 つにおいて前記 2 つ以上の並行アッセイの中の別の 1 つで使用される蛍光体とは異なる、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記 2 つ以上の並行アッセイの中の 1 つで使用される磁性粒子が、前記 2 つ以上の並行アッセイの中の別の 1 つで使用される磁性粒子とは異なり、好適には、前記 2 つ以上の並行アッセイの中の 1 つで使用される磁性粒子が、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び量のうちの少なくとも 1 つにおいて前記 2 つ以上の並行アッセイの中の別の 1 つで使用される磁性粒子とは異なる、請求項 3 2 又は 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 2 つ以上の並行アッセイは、同一のマイクロ流体デバイスにおいて同時に実施され、前記 2 つ以上の並行アッセイは、同一のマイクロ流体デバイスの平行流路チャンネル内など、各流路チャンネル内で実施される、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

液体試料中の標的成分の前記定量的判定又は定性的判定は、前記読み取られた信号を基準スケジュールと比較することにより実施される、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 7】

液体試料中の標的成分の前記定量的判定又は定性的判定は、前記読み取られた信号を好適には人工知能プロセッサを使用して既知の組成の液体試料から得られた信号と比較することにより実施される、請求項 1 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 8】

液体試料中の標的成分の前記定量的判定又は定性的判定は、例えば同一のアッセイなどによる種々の蛍光体群からの、並行アッセイによる蛍光体からの、及び / 又は既知のもしくは未知の液体試料の基準検査における蛍光体からの、読み取られた信号を多重化することにより実施される、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のためのシステムにおいて、
透過性窓及び前記液体試料の入口を有する少なくとも 1 つの流路チャンネルを備えるマイクロ流体デバイスと、
前記標的成分の 1 つ以上の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子と、
前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体と、
前記透過性窓に隣接して前記磁性粒子を少なくとも一時的に固定化するように構成された磁石と、
前記蛍光体を励起するためのエミッタと、
前記蛍光体から発せられる信号を読み取るためのリーダと、
からなるシステム。

【請求項 4 0】

前記マイクロ流体デバイスは、ポリマー及びガラスのうちの少なくとも一方からなる、請求項 3 9 に記載のシステム。

【請求項 4 1】

前記マイクロ流体デバイスは、前記流路チャンネル用の溝と前記流路チャンネルを覆うフォイルとを有する基板からなる、請求項 4 0 に記載のシステム。

【請求項 4 2】

前記マイクロ流体デバイスは、前記流路チャンネルへの入口を備え、前記入口は、好適には吸入用開口、毛管入口、又は膜被覆された入口である、請求項 4 1 に記載のシステム。

【請求項 4 3】

10

20

30

40

50

前記マイクロ流体デバイスは、前記液体試料を吸入するための入口を備える、請求項 4 1 又は 4 2 に記載のシステム。

【請求項 4 4】

前記マイクロ流体デバイスは、前記流路チャンネル又は前記流路チャンネルと流体連通状態にあるシンク・セクションの可撓性壁部セクションを備え、前記システムは、好適にはアクチュエータを備え、好適には前記アクチュエータは、前記可撓性壁部セクションを移動させるように構成され、前記アクチュエータは、任意にはステップ・モータ被動アクチュエータである、請求項 4 1 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 4 5】

前記入口及び前記アクチュエータは、前記アクチュエータの作動時に前記可撓性壁部セクションが移動され、空気が前記流路チャンネルから押し出され、その後、前記可撓性壁部がその初期位置に戻り、前記液体試料が前記流路チャンネルに吸入されるように構成される、請求項 4 4 に記載のシステム。

【請求項 4 6】

前記流路チャンネルは、前記マイクロ流体デバイスのシンク・セクションと流体連通状態にある、請求項 4 1 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 4 7】

前記マイクロ流体デバイスは、任意に並行検査を実施するための 2 つ以上の流路チャンネルを備え、前記 2 つ以上の流路チャンネルは、任意には共通入口を有する、請求項 4 1 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 4 8】

前記マイクロ流体デバイスは、前記透過性窓の形態の読取りゾーンと呼ばれる励起及び読出しゾーンを備え、前記窓は、前記蛍光体の少なくとも励起波長及び放出波長に対する透過性を有する、請求項 3 9 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 4 9】

前記マイクロ流体デバイスは、マイクロ流体デバイスであり、前記マイクロ流体デバイスは、少なくとも 3 mm など、少なくとも 5 mm など、好適には少なくとも 1 mm の長さ寸法を有する励起及び読出しセクションを備える、請求項 4 8 に記載のシステム。

【請求項 5 0】

前記マイクロ流体デバイスは、透過性材料からなる、請求項 3 9 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5 1】

前記システムは、前記流路チャンネル内の前記液体試料の温度を調整するための温度調整器を備え、前記温度調整器は、任意にはペルチエ素子、薄膜加熱素子、及び他の抵抗加熱素子のうちの少なくとも 1 つからなる、請求項 3 9 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5 2】

前記磁性粒子は、前記捕獲部位を備えるコーティングを備えるコーティングされた磁性粒子であり、前記捕獲部位は、生体分子などの前記標的成分の捕獲部位になるように選択される、請求項 3 9 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5 3】

前記蛍光体は、量子ドット、又は、芳香族プローブ及び複合プローブのうちの少なくとも一方であり、前記蛍光体は、好適には量子ドットである、請求項 3 9 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5 4】

前記蛍光体は、前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合し得る成分に固着されることにより前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合するように構成され、前記成分は、好適には前記標的成分と同一又は同族体である、請求項 3 9 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5 5】

前記蛍光体及び前記磁性粒子は、前記流路チャンネルに液体試料を送る前に前記蛍光体及

10

20

30

40

50

び前記磁性粒子が相互に結合し得ないように、前記マイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内で一時的に固定化される、請求項 39 ~ 54 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 56】

前記磁石は、前記磁性粒子の前記捕獲部位により捕獲された想定される蛍光体の少なくとも一部を前記エミッタにより励起するために、及び捕獲され得る蛍光体からの放出されるいずれかの信号を読み出すために十分な時間にわたり、前記磁性粒子を前記透過性壁部セクションに隣接して少なくとも一時的に固定化するように構成される、請求項 39 ~ 55 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 57】

前記エミッタは、前記蛍光体の前記励起波長を備える電磁放射を放出し得る発光ダイオード又はレーザである、請求項 39 ~ 56 のいずれか 1 項に記載のシステム。

10

【請求項 58】

前記エミッタは、前記透過性窓に向けられた電磁放射を発するように構成され、前記窓は、平坦表面を有し、前記エミッタは、好適には、前記窓の前記表面に対して垂直に又は $30^\circ \sim 150^\circ$ など $20^\circ \sim 170^\circ$ である前記窓の前記表面に対する角度を有して、前記透過性窓に向けられた電磁放射を発するように構成される、請求項 39 乃至 59 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 59】

前記リーダは、前記窓に隣接して一時的に固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取るように構成される、請求項 39 ~ 58 のいずれか 1 項に記載のシステム。

20

【請求項 60】

前記エミッタは、前記電磁放射を発するための出力端部を有する少なくとも 1 つの光ファイバを備え、前記リーダは、磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる前記信号を受領するための入力端部を有する少なくとも 1 つの光ファイバを備え、好適には、前記エミッタの前記光ファイバ及び前記リーダの前記光ファイバは、前記出力端部及び前記入力端部のそれぞれに隣接する少なくとも各長さセクションにおいて相互に隣接して配置される、請求項 39 ~ 59 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 61】

前記エミッタは、前記電磁放射を発するための出力端部をそれぞれ有する複数の光ファイバを備え、前記リーダは、磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる前記信号を受領するための入力端部をそれぞれ有する複数の光ファイバを備え、好適には、前記エミッタの前記光ファイバ及び前記リーダの前記光ファイバは、前記出力端部及び前記入力端部のそれぞれに隣接する少なくとも各長さセクションにおいて相互に隣接して配置され、より好適には、前記出力端部及び前記入力端部は、所定のパターンで配置される、請求項 60 に記載のシステム。

30

【請求項 62】

前記システムは、前記読み取られた信号に基づき液体試料中の標的成分の前記定量的判定又は定性的判定を実施するためのコンピュータを備える、請求項 39 ~ 61 のいずれか 1 項に記載のシステム。

40

【請求項 63】

前記コンピュータは、読み取られた信号と、実施された定量的判定もしくは定性的判定とのうちの少なくとも 1 つを格納するためのメモリを備える、請求項 62 に記載のシステム。

【請求項 64】

前記コンピュータは、前記判定を実施するために前記読み取られた信号を比較するための基準スケジュールを備えるメモリを備え、前記基準スケジュールは、好適には読み取られた信号を用いた定量的判定又は定性的判定のセットを備える、請求項 62 又は 63 に記載のシステム。

【請求項 65】

50

前記コンピュータは、読み取られた信号を、既知の組成を有する液体試料から得られた格納された信号と比較するようにプログラミングされた人工知能プロセッサである、請求項 6 2 ~ 6 4 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 6 6】

前記システムは、前記コンピュータを備える信号処理プロセッサを備え、前記信号処理プロセッサは、種々の蛍光体群からの、並行アッセイによる蛍光体からの、及び / 又は既知のもしくは未知の液体試料の基準検査における蛍光体からの信号を多重化するように構成される、請求項 6 2 ~ 6 5 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 6 7】

前記システムは、前記コンピュータを備える信号処理プロセッサを備え、前記信号処理プロセッサは、同一のアッセイにおいて適用された種々の蛍光体群からの信号を多重化するように構成される、請求項 6 2 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載のシステム。

10

【請求項 6 8】

液体試料中の複数の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に前記試料を調製するためのキットにおいて、

各前記標的成分について、あるタイプの捕獲部位を表面に備える複数の磁性粒子と、前記磁性粒子の前記タイプの捕獲部位の中の 1 つに結合するようにそれぞれが構成された複数の蛍光体群とからなる、キット。

【請求項 6 9】

各前記標的成分に対して 1 つのタイプの捕獲部位を備える、N 個のタイプの捕獲部位を備える複数の磁性粒子と、

20

前記磁性粒子の前記タイプの捕獲部位の中の 1 つに結合するようにそれぞれが構成された N 個の蛍光体群と、

からなる、N を 2 以上の整数として液体試料中の N 個の異なる標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に前記試料を調製するための請求項 6 8 に記載のキット。

【請求項 7 0】

1 つの標的成分に対して 1 つのタイプの捕獲部位をそれぞれが備える N 個の磁性粒子群と、

前記磁性粒子の前記タイプの捕獲部位の中の 1 つに結合するようにそれぞれが構成された N 個の蛍光体群と、

30

からなる、N を 2 以上の整数として液体試料中の N 個の異なる標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に前記試料を調製するための請求項 6 8 に記載のキット。

【請求項 7 1】

2 つ以上の蛍光体群が、1 つの単体溶液中に設けられ、好適には前記磁性粒子は、1 つの溶液又は懸濁液の形態で用意される、請求項 6 8 ~ 7 0 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 7 2】

2 つ以上の蛍光体群が、同一波長の電磁波により励起され得る量子ドットである、請求項 6 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のキット。

40

【請求項 7 3】

前記キットは、マイクロ流体デバイス及び磁石のうちの少なくとも一方をさらに備える、請求項 6 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 7 4】

N は、2 ~ 1 0 の整数である、請求項 6 8 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 7 5】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に前記試料を調整する際に使用するためのマイクロ流体デバイスにおいて、透過性窓及び前記液体試料の入口を有する少なくとも 1 つの流路チャンネルを備えるマイクロ流体デバイスにおいて、

50

前記流路チャンネル内に、

前記標的成分の捕獲部位を表面に備える複数の磁性粒子と、

前記磁性粒子の前記捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体と、
をさらに備え、

好適にはマイクロ流体デバイスである、マイクロ流体デバイス。

【請求項 76】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に前記試料を調整する際に使用するためのマイクロ流体デバイスにおいて、流路チャンネル用の溝及び前記流路チャンネルを覆うフォイルを有する基板からなり、前記流路チャンネルは、透過性窓及び前記液体試料の吸入用の入口を備え、前記マイクロ流体デバイスは、前記流路チャンネルの又は前記流路チャンネルと流体連通状態にあるシンク・セクションの可撓性壁部セクションを備え、前記可撓性壁部セクションは、空気が前記流路チャンネルから押し出され、その後前記可撓性壁部がその初期位置に戻り、好適には前記流路チャンネルが前記マイクロ流体デバイスのシンク・セクションと流体連通状態になるように移動され得る、マイクロ流体デバイス。

10

【請求項 77】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のためのサンドイッチ・タイプ・アッセイにおいて、

前記標的成分の1つ以上の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子を設けることと、

前記標的成分の1つ以上の捕獲部位を備える複数の蛍光体を設けることと、

20

流路チャンネル内への透過性窓を備えたマイクロ流体デバイスの前記流路チャンネル内に前記液体試料、前記蛍光体、及び前記磁性粒子を搬送することと、

磁石を使用して前記磁性粒子を前記透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化し、前記固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、前記標的成分を経由して前記固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取り、前記読み取られた信号に基づき前記標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施することと、
からなるサンドイッチ・タイプ・アッセイ。

【請求項 78】

前記マイクロ流体デバイスは、請求項 76 に記載のマイクロ流体デバイスである、請求項 77 に記載のサンドイッチ・タイプ・アッセイ。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、液体試料中の標的成分、より詳細には、生物学的標的成分又は任意には同一の液体試料中における複数の標的成分の、定量的判定又は定性的判定のための方法及びシステムに関する。

【背景技術】

【0002】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための複数の方法及びデバイスが、従来から公知である。これらの従来技術の方法の多くは、洗浄工程などの複雑な又は多大な時間を要する工程を有する。長年にわたり、改良方法が絶えず新たに開発されてきており、特に光標識システム及び読出しシステムを使用する方法が挙げられる。

40

【0003】

また、捕獲プローブとの組合せによる磁性粒子の使用が、複数の方法において探られてきた。

磁性粒子を用いた蛍光免疫学的アッセイが、特許文献 1 に記載されている。この文献においては、磁性物質を含み透過性試験管内で調査すべき抗体の抗原を保有するプラスチック・パールを使用して検査を実施する。これらのパールは、調査対象の抗体及び蛍光分子でマーキングされた抗体を含む試料と共に、試験管内に配置される。反応の完了時に、固相にて抗原に付着するマーキングされた抗体の量が、蛍光計にて測定される。蛍光計では

50

、励起放射が、試料に通されると共に、蛍光放射が、測定容器の底部を通して検出器に収集される。さらに、蛍光計は、磁場を発生させるための手段を備え、それにより、パールは、測定時間の間にわたって測定容器の底部に引き寄せられる。さらに、励起放射の波長にて又は放出放射の波長にて強力に吸収することにより、液相に留まる過剰トレーサによる又は測定によるバックグラウンド放射による干渉を低減させるために、測定前に着色剤が試料に添加される。

【0004】

しかし、上記の方法は、実際には利用されていない。

例えば、特許文献2は、流体デバイスとの組合せにおける磁性粒子の使用を開示している。この明細書において開示される流体デバイスは、主要チャンネルを有し、第1の入口が、主要チャンネルの上流端部に流体連通する。また、この方法は、チャンネルへの磁性ビーズの導入を含む。磁性ビーズは、標的に結合するように構成される。磁石が適用されることにより、磁性ビーズは、磁性ビーズによる標的の捕獲を可能にする流体デバイスの様々なセクションを通過し、洗浄工程及び磁性ビーズに捕獲された標的の定量化の実現に必要とされる他の工程まで磁氣的に移動される。

10

【0005】

特許文献3は、回転磁性ビーズ・トラップに磁性ビーズを捕獲するためのデバイス及び方法を開示している。このデバイスにより、自動化システムにおけるビーズの捕獲、洗浄、溶離、及び排出が可能となる。検体は、LC-MS/MS分析に適合する毛管スケール流体システム内の小容積で溶離される。

20

【0006】

特許文献4は、種々の標的タンパクの高速検出用のマイクロ流体チップ及び方法を開示している。マイクロ流体チップは、抗体結合磁性ビーズを使用して標的タンパクに結合することにより磁性複合体を形成し、次いでこの磁性複合体を認識し得る信号標識抗体を使用する。この方法は、バイオチップのマイクロ磁場により磁性複合体を純化することと、チップの蛍光検出領域にこの純化された磁性複合体を導入することにより純化された複合体中の標的タンパクの量を即座に検出することを含む。

【0007】

特許文献5は、乳中の抗生物質の存在を検出するための方法を開示しており、この方法は、(a)純化された固定化抗体が付着した固体マトリクスをある量の乳及び酵素標識抗生物質に接触させる工程であって、この抗体がこの抗生物質に対する特異的なものである工程と、(b)乳からマトリクスを分離し、水でマトリクスを洗滌することにより、過剰乳及び酵素標識抗生物質を除去する工程と、(c)洗滌されたマトリクスを基板に接触させる工程であって、基板は酵素標識抗生物質の存在下において変色を示し、この変色量が、酵素標識抗生物質の量と定量的に相関する工程と、(d)基板の変色を基準と比較することにより乳中に存在する抗生物質の量を測定する工程とを含む。また、(a)分子中にラクタム環を有する抗生物質をラクタム環によってそれに結合することが可能なタンパクに対して共有結合により複合化する工程と、(b)工程(a)で得られた複合体をその抗生物質に対する特異的な抗体を産生することが可能な宿主動物に注入することにより特定の抗体を産生する工程と、(c)工程(a)の同一の抗生物質をラクタム環によりそれに結合し得る及び工程(a)において使用されたタンパクとは異なる第2のタンパクに対して共有結合により複合化して、第2の複合体を形成する工程と、(d)第2の複合体を固体マトリクスに対して共有結合により複合化して、抗体を純化するためのアフィニティ・マトリクスを形成する工程と、(e)宿主動物の血清をアフィニティ・マトリクスに接触させることにより工程(b)で産生された特定の抗体を単離及び純化する工程と、(f)特定の抗体を純粋形態で回収する工程とにより、前述の検出方法において使用するために純化された抗体を生成する方法が提供される。

30

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

50

【特許文献1】米国特許第4,731,337号

【特許文献2】WO2010/042242

【特許文献3】WO2008/109675

【特許文献4】米国特許出願公開第2010/0248258号

【特許文献5】米国特許第4,347,312号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の目的は、単純かつ高速であり、2つ以上の標的成分の判定を同時に実施することが可能な、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための新規の方法を提供することにある。

10

【0010】

さらに、本発明の目的は、各判定のコストが比較的低い、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施するためのシステムを提供することにある。

さらに、本発明の一実施形態における目的は、多大な時間を要する洗浄工程を必要とせず、好適には例えば数分でなど比較的高速で判定を実施し得る方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0011】

これらの目的は、特許請求の範囲で規定され以下で説明される本発明及びその実施形態により達成された。

20

本発明は、液体中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための全く新しいアプローチを提供して見せた。

【0012】

さらに、非常に良好かつ正確な結果が高速かつ単純な方法で実現され得ることが判明している。

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための本発明の方法は、

標的成分の1つ又は複数の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子を用意する工程と、

磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体を用意する工程と、
透過性窓を備えるマイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に液体試料、蛍光体、及び磁性粒子を搬送する工程と、

30

磁石を使用して磁性粒子を透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化し、固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取り、読み取られた信号に基づき標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施する工程と

からなる。

【0013】

本発明の方法は、1つ又は複数の標的成分の定性的判定に非常に適しており、本方法は、高精度の結果を実現し得ることが判明している。しかし、本発明の方法は、例えばスクリーニング目的などの定性的判定にも非常に適することが判明している。この例をさらに以下で説明する。

40

【0014】

「方法」は、「検査」という用語によっても表され、本発明の方法を受ける液体は、検査される/検査を受ける。

「磁性粒子を透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化する」という用語は、磁性粒子が、磁性粒子に捕獲された想定される蛍光体を励起しかかる蛍光体から発せられる信号を読み取るのに十分な時間にわたり固定化されるべきであることを意味するものとして理解されたい。これは以下においてさらに説明される。

【0015】

50

液体試料、蛍光体、及び磁性粒子は、それらが相互に接触状態になるように、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に送られる。一実施形態においては、液体試料、蛍光体、及び磁性粒子の中の2つ又は全てが、液体チャンネル内に送られる前に接触状態になる。一実施形態においては、液体試料、蛍光体、及び磁性粒子は、液体チャンネル内で接触状態におかれる。

【0016】

透過性窓は、例えば流路チャンネルの透過性壁部セクションの形態である。

マイクロ流体デバイスを使用してこの検査を実施することにより、本方法は非常に高速なものとなり、少量の試料のみが必要となる。

【0017】

今までは、マーキングされた成分を捕獲するために磁性粒子を使用して検査を実施する場合には、有効な判定を得るために、何らかの種類の洗浄が必要とされることが、又は少なくとも偽陽性のマスキングが必要とされることが、通常要件であった。驚くべきことに、この検査の実施のためにマイクロ流体デバイスを使用することにより、洗浄が不要となりむしろ望ましくないことが判明した。実際に、好適なこととしては、磁性粒子の固定化後には、さらなる液体は一切追加されるべきではなく、好適な一実施形態では、流路チャンネル内の液体は静止状態にあり、すなわち流路チャンネル内に流れも乱流も存在しない。さらに、試料中に元来的に存在するもの以外の光吸収要素が追加されないことが望ましい。一実施形態においては、試料は、蛍光体及び磁性粒子ならびに液体試料中に元来的に存在するもの以外の追加的な光吸収要素を一切含まない。一実施形態においては、試料は、
20

【0018】

本方法は、2つ以上の標的成分を同時に判定しつつも驚くべき高信頼度の結果をもたらすことを示している。

好適なマイクロ流体デバイスを以下でさらに説明する。

【0019】

「液体試料」という用語は、分散液及び懸濁液などの固体部分を含む液体試料からなる試料を含む任意の液体を意味する。この試料は、本発明を実施する時点において液体を含む。

【0020】

原則的には、分散粒子などの粒子を含む液体試料を含むがそれに限定されない任意の液体試料が適用され得る。一実施形態においては、液体試料は、任意に水と混合された粉砕食品もしくは粉砕組織であり、又はその抽出物であってもよい。したがって、例えば、本発明の方法は、組織、野菜、及び肉等に対する定量検査及び/又は定性検査を実施するために適用され得る。

【0021】

一実施形態においては、液体試料は、例えば水性懸濁液中のヒト又は動物の糞便を含む。

一実施形態においては、液体試料は、排水又は例えば湖沼もしくは河川などの自然供給源からの水を含む。

【0022】

好適には、液体試料は、好適には存在することが想定される標的成分が磁性粒子に結合し得るようになど、蛍光体及び磁性粒子と混合されるのに十分な低粘度を有するべきである。この粘度が過度に高い場合には、試料は検査前に水などの液体で希釈されてもよい。本発明の一実施形態においては、液体試料は、判定の精度向上のために複数の希釈液中で及び例えば非希釈状態などで検査される。

【0023】

一実施形態においては、液体試料は、生物流体又は生物流体の一部からなる。かかる生物流体の例には、血液、唾液、尿、乳、サイトソル（細胞内液）、間質液（組織液）及び/又は1つもしくは複数のそれらの一部及び/又は混合物などの、ヒト又は動物又は野菜
50

10

20

30

40

50

の流体が含まれる。

【0024】

「標的成分」という用語は、特定タイプの成分の1つ又は複数の分子を意味する。「2つ以上の又は複数の標的成分」という用語は、2つ以上又は複数の異なるタイプの標的成分を意味する。

【0025】

あるタイプの成分は、磁性粒子の特定の捕獲部位により捕獲され得る成分を含む。あるタイプの成分に含まれる成分は、同一成分であることが可能であり、又は磁性粒子の特定の捕獲部位により捕獲され得ることを含む何らかの類似性を有する成分であることが可能である。

10

【0026】

以下において、「標的成分」という用語は、簡略化のために主に単数形で使用されるが、特に指定のない限り「標的成分」という用語の複数形をさらに含むこととする。

「標的成分」及び「標的検体」という用語は、同義的に使用される。

【0027】

標的成分は、原則的には結合アッセイで判定され得る任意の種類 of 標的成分であることが可能である。当業者は、適切な標的成分及び磁性粒子上に設けられるべき対応する捕獲部位を選択するために、他のタイプの結合アッセイからの知識を簡単に使用し得る。

【0028】

以下では、定量的判定及び/又は定性的判定のための方法は、1つ又は複数の標的成分に対して同時に実施され得ると共に、特に指定のない限り単数形の「標的成分」の用語は、複数形の「標的成分」の用語をさらに含むものとして解釈されるべきである点を理解されたい。

20

【0029】

一実施形態においては、標的成分は、例えば有機体など、単一の有機分子又は有機分子構造などの生体分子である。例えばヘルスケア業界、食品業界等の業界での需要が高いため、本発明の方法は、生体分子の定量的判定及び/又は定性的判定における使用に非常に適する。その理由としては、特に、本発明の方法が、非常な高速性かつ高い信頼性を共に有するからである。

【0030】

本発明の一実施形態においては、例えば、標的成分は、分子又は微生物などの有機体の突然変異体などであってもよい。

30

一実施形態においては、標的成分は、例えば大腸菌 *E. coli*、シトロバクター種、アエロモナス種、パストレラ種、非血清グループD1サルモネラ属、カンピロバクター種、及びそれらの組合せなど、細菌性病原体、ウイルス性病原体、又は菌類病原体の中の少なくとも1つなどの微生物であるか又はそれらからなる。

【0031】

一実施形態においては、標的成分は、血液細胞、幹細胞、又は腫瘍細胞などの細胞であるか又はそれらからなる。

一実施形態においては、標的成分は、タンパク、ヌクレオチド、炭水化物、又は脂質、特に酵素、抗原、又は抗体であるか又はそれらからなる。

40

【0032】

一実施形態においては、標的成分は、「ハプテン」であるか又はそれらからなる。ハプテンは、タンパクなどの大きな担体に付着した場合にのみ免疫反応を誘発し得る小分子であり、この担体は、それ自体では免疫反応を誘発しないものであってもよい。ハプテンは、例えばステロイド、ホルモン、抗生物質、又は無機成分であってもよい。

【0033】

標的成分は、捕獲部位が設けられ得る任意の種類 of 成分であることが可能である点が当業者には理解されよう。

標的成分及び対応する捕獲部位は、当技術分野において周知である。また、磁性粒子な

50

どの表面上のかかる捕獲部位を固定化することは、周知である。

【0034】

捕獲部位及び微生物標的成分のかかる捕獲部位を備える磁性粒子の例は、例えばWO 2012016107などにおいて見ることができる。

捕獲部位は、捕獲部位が少なくとも1つの標的成分に結合するように、少なくとも1つの標的成分に関連付けて選択される。

【0035】

本発明の方法の一実施形態においては、磁性粒子は、捕獲部位を備えるコーティングを備えるコーティングされた磁性粒子であり、捕獲部位は、標的成分の捕獲部位として選択され、コーティングは、例えば抗原、抗体、アビジン、ビオチン、又はヤギ抗-マウスIgGの形態の捕獲部位を備える。

10

【0036】

一実施形態においては、捕獲部位は、標的成分に対する特異的なものである。

2つ以上の標的成分が存在する場合には、複数の捕獲部位群が存在してもよく、又は全ての標的成分の捕獲部位である1つのタイプの捕獲部位が存在してもよい。

【0037】

2つ以上の標的成分が存在する一実施形態においては、捕獲部位は、例えば類似するが同一ではない標的成分群に対してなど、2つ以上の標的成分に対する特異的なものである。

【0038】

20

本発明の一実施形態においては、捕獲部位は、1つ又は複数の標的成分を含む成分群に対する特異的なものである。

一実施形態においては、捕獲部位は例えばタンパクに対する結合部位であり、それにより、タンパク含有量が判定され得る。一実施形態においては、捕獲部位は、事前選択されたタイプのタンパク又はタンパク群に対する結合部位である。

【0039】

一実施形態においては、結合部位は、例えばステロイドホルモン、抗生物質、又はさらに他の起源の他のハプテン分子など、小有機分子などのハプテンの結合部位である。

磁性粒子は、原則的にはマイクロ流体デバイスにおける処理に適した任意のサイズを有し得る。

30

【0040】

特に抗体コーティングされた磁性ビーズ及び免疫磁性ビーズである、定量的及び定性的な生物学的検査における磁性粒子技術の用途は、広く使用されており、かかる検査用の磁性粒子は、多数の形態で市販されている。

【0041】

免疫磁性粒子を構築するための方法は、当技術分野において一般的に知られている（例えば、サファリク、アイ（Safarik, I.）及びサファリコヴァ、エム（Safarikova, M.）“Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides.” BioMagn. Res. Technol. 2（2004））。

40

【0042】

磁性粒子は、好適にはミクロンサイズ又はナノサイズである。好適には、磁性粒子は、最大で約50µmの、より好適には最大で約25µmの、約1～約20µmなどの平均サイズを有する。

【0043】

磁性粒子は、球状又は非球状であってもよい。磁性粒子のいくつかの例には、Cortex Megacell（商標）-Streptavidin磁性粒子、Cortex Megabeads（商標）-Streptavidin CM3454（8.8µm粒径であり磁化可能ポリスチレン/酸化鉄粒子でコーティングされた）、Cortex M

50

egabeads (商標) - Streptavidin CTM - C M019 (15.6 μm 粒径でありポリスチレン共重合体 / 酸化鉄粒子でコーティングされた)、Dynabeads (商標) M - 280 - Streptavidin (3 ~ 4 μm 粒径)、及び Genpoint Bug Trap (商標) 磁性ビーズが含まれる。

【0044】

適切な磁性粒子の他の例は、例えば200 ~ 500 nmのより小さなサイズの磁性ビーズサイズなどを備える、すなわちストレプトアビジン、タンパクA又は / 及びGならびに複数の異なる抗体により官能化された、スフェロテック社 (Spherotech, Inc.) [米国所在]、アデムテック社 (Ademtech) [フランス所在] から入手可能な磁性粒子である。直接タンパク複合用の、製品番号03152 Master Beads Streptavidin (平均直径約500 nm)、製品番号03231 Bio-Adembeads Streptavidin plus (平均直径約300 nm)、製品番号03221 Bio-Adembeads streptavidin plus product (平均直径約200 nm)、02650 Active-Masterbeads (平均直径約500 nm)。バングラボ社 (Banglabs Inc) [米国所在]、BM549 BioMag (登録商標) Goat anti-Mouse IgG (平均直径約1.5 μm)、BM551 / 10272 BioMag (登録商標) Streptavidin (平均直径約1.5 μm)、BM553 / 9750 BioMag (登録商標) Protein G (平均直径約1.5 μm)、PMS3N / 10098 ProMag (商標) 3 Series · Streptavidin (平均直径約3.28 μm)、CM01N COMPEL (商標) Magnetic Streptavidin modified (平均直径約8 μm)。蛍光体は、当技術分野において周知であり、定量アッセイ及び定性アッセイの技術の中で広く使用される。

【0045】

蛍光体 (蛍光色素又は開花発色団とも呼ばれる) は、光エネルギーを吸収することにより励起され得る分子であり、特定波長にてエネルギーを再放出する。放出されるエネルギーの波長、量、及び放出前の時間は、励起状態にある分子が周辺分子と相互作用し得るため、蛍光体及びその化学的環境の両方により決定される。

【0046】

励起エネルギーは、非常に狭い又はより幅広なエネルギー帯であり得るか、又はカットオフ・レベルを超過するあらゆるエネルギーであり得る。放出エネルギー及び放出波長は、通常は励起エネルギーよりも特有であり、通常はより長い波長又はより低いエネルギーからなる。励起エネルギーは、紫外スペクトルから可視スペクトルまでの範囲に及び、放出エネルギーは、可視光から近赤外領域まで及び得る。

【0047】

一般的には、標的成分のより単純な定性的判定又は定量的判定のためには比較的特定の放出波長及び放出エネルギーを有する蛍光体を選択することが望ましい。特に、放出波長は、比較的特有的波長であることが望ましく、すなわち、好適には判定方法において他の放出と区別するのに十分な狭さの波長帯域を有するべきである。

【0048】

「比較的特有的波長」という用語は、その波長が、検査において他の放出波長から識別され得ることを意味する。

特に、複数の異なる蛍光体及び任意には複数の標的成分が存在する状況においては、蛍光体は、各蛍光体からの放出が相互に識別され得るように、比較的特有的放出波長を有することが好適である。

【0049】

蛍光体は、磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成され得る任意のタイプの蛍光体であることが可能である。蛍光体は、当業者には周知であり、市販されている。

量子ドットの例は、米国特許第7498177号において説明されており、ライフ・テクノロジーズ・ヨーロッパ・ビー・ブイ社 (Life Technologies Eu

10

20

30

40

50

rope BV) から入手可能な量子ドットは、例えば 525、545、565、585、605、625、655、ならびに IR705 及び 800 nm の各放出波長を有する量子ドットなど、広範な波長範囲に及ぶ放出波長を有する 150 を超える異なる製品構成を含む。一実施形態においては、ストレプトアビジン、ビオチン、抗体、及び多数の異なる官能性は、量子ドット製品の Invitrogen / ライフ・テクノロジーズ社 (Life Technologies) 製品ラインにおいて複合されたものである。

【0050】

また、量子ドットの例には、オーシャン・ナノテック社 (Ocean NanoTech) [72764 米国アーカンソー州スプリングデール (Springdale) 所在] から入手可能な量子ドットが含まれ、これは、例えば 530、550、580、590、600、610、620、及び 630 nm の各放出波長を有する、nm に及ぶ放出波長及び官能性 PEG アウターコア又は他の生物学的に同等のコーティングを有する 40 を超える異なる製品構成を含む。オーシャン・ナノテック社 (Ocean NanoTech) による量子ドットは、例えばアミン、COOH、フェニルボロン酸 (PBA) などの種々の官能基を有する量子ドット、ならびに両親媒性ポリマー及び PEG コーティングを有する量子ドットを含む。オーシャン・ナノテック社 (Ocean NanoTech) から入手可能な量子ドットの他の例は、例えばトルエン中にて提供される単一コアを有する、ならびにオクタデシルアミン・コートのみを有する又は両親媒性ポリマー及び PEG コーティングを有する、量子ドットである。

10

【0051】

一実施形態においては、蛍光体は、フルオレセイン、ベンゼン誘導体、金属 - カルコゲニド蛍光体、又はそれらの組合せなどの、量子ドットあるいは芳香族プローブ及び / 又は複合プローブである。

20

【0052】

蛍光体は、好適には磁性粒子の捕獲部位に結合し得る成分に固着されることにより磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成される。

一実施形態においては、成分は、標的成分と同一である。殆どの状況において、標的成分と同一である成分に蛍光体を固着することにより捕獲部位に結合するように蛍光体を構成することが、最も簡易である。

30

【0053】

一実施形態においては、成分は、標的成分と同族体である。例えば標的成分が病原体、高額成分、もしくは希少成分である場合、又はいくつかの他の状況では、標的成分同族体に蛍光体を固着することにより捕獲部位に結合するように蛍光体を構成することが、非常に有益となり得る。

【0054】

本明細書においては、「標的成分と同族体の成分」という用語は、同族体成分の少なくとも一部が同等のモル量の標的成分及び同族体成分の競合アッセイに適用された場合に磁性粒子の捕獲部位に結合するように、その成分が標的成分と同族関係を有するべきであることを意味する。

40

【0055】

本発明の好適な一実施形態においては、蛍光体は、光源により刺激された場合に 1 つ又は複数の別個の光周波数を発する量子ドットである。この実施形態においては、複数の異なる量子ドットが、同一波長で、又は少なくとも比較的小さな帯域幅を有する光線で励起され得る。

【0056】

好適には、各量子ドットは、半導体ナノ粒子又は希土類元素ドーパ酸化物コロイド状ナノ粒子などの励起可能物質のコアを備える。

一実施形態においては、量子ドットは、2 ~ 10 nm など、最大で約 25 nm のサイズを有するコアをそれぞれ備える。量子ドットは、好適にはポリマー・コーティングなどの有機コーティングでコーティングされる。好適には、コーティングは、例えば上述のよう

50

に磁性粒子の捕獲部位に結合し得る成分に結合される。

【0057】

本発明の一実施形態においては、各量子ドットは、任意には硫化亜鉛を含む又は硫化亜鉛からなる透過性シェルで覆われた、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、ヒ化インジウム、又はリン化インジウムなどの二元半導体合金のコアを備える。

【0058】

液体試料、蛍光体の中の1つ又は複数、及び磁性粒子の中の1つ又は複数は、原則的には任意の順序で、及びマイクロ流体デバイスの外部にて又はマイクロ流体デバイスの流路チャンネル内にて、相互に接触状態におかれてもよい。

【0059】

一実施形態においては、液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネルの外部において、前記蛍光体の中の1つ又は複数及び前記磁性粒子の中の1つ又は複数と接触状態になり、その後、液体試料が、マイクロ流体デバイスの流路チャンネルに送られる。

【0060】

本発明の一実施形態においては、液体試料は、マイクロ流体デバイスの形態のマイクロ流体デバイスの外部において、蛍光体の中の1つ又は複数及び磁性粒子の中の1つ又は複数と接触状態になり、その後液体試料が、マイクロ流体デバイスの流路チャンネルに送られる。

【0061】

一実施形態においては、磁性粒子及び液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に液体試料を配置する前に例えばシリンジ又は第2の試験管などの中で相互に接触状態におかれ、その後、磁性粒子を含む液体試料が、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に送られ、液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内にて蛍光体と混合される。この状況においては、標的成分は、もしそれが十分な量で存在する場合には、磁性粒子の本質的に全ての捕獲部位にて捕獲されることになり、蛍光体からの検出可能な放出は全く又は殆ど存在しないことになる。他方で、大きな放出信号が検出される場合には、標的成分が液体試料中に存在しないという結論が下され得る。

【0062】

一実施形態においては、蛍光体及び液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に液体試料を配置する前に例えばシリンジ又は試験管などの中で相互に接触状態におかれ、液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内で磁性粒子と混合される。この状況においては、標的成分は、もし存在する場合には、磁性粒子の捕獲部位に関して蛍光体と競合することになり、検出される放出信号は、標的成分の量に関する情報を提供することになる。

【0063】

一実施形態においては、蛍光体、磁性粒子、及び液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に液体試料を配置する前に例えばシリンジ又は試験管などの中で相互に接触状態におかれ、液体試料が、判定のためにマイクロ流体デバイスの流路チャンネルに送られる。この状況においては、標的成分は、もし存在する場合には、磁性粒子の捕獲部位に関して蛍光体と競合することになり、反応（競合）が、マイクロ流体デバイスの外部において開始され、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内におけるさらなる混合時間又は反応時間（温置）は、不要となり得る。

【0064】

好適な一実施形態においては、液体試料は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内において蛍光体及び磁性粒子の中の1つ又は複数と接触状態におかれる。

一実施形態においては、蛍光体及び磁性粒子は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に配置され、本方法は、流路チャンネル内に液体試料を送る工程を含み、蛍光体及び磁性粒子は、好適には相互に距離を置いて流路チャンネル内に配置される。

【0065】

一実施形態においては、蛍光体及び磁性粒子は、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル

10

20

30

40

50

内に配置され、本発明の方法は、流路チャンネル内に液体試料を送る工程を含み、蛍光体及び磁性粒子は、好適には相互に距離を置いて流路チャンネル内に配置される。

【0066】

蛍光体及び磁性粒子は、好適には、磁性粒子の捕獲部位が液体試料と混合される前に任意のかなりの量の蛍光体を捕獲しないように、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に配置されるべきである。蛍光体及び磁性粒子は、例えば流路チャンネルのセクションにてドライアウトすることによってなど、任意の方法によって適用され得る。一実施形態においては、蛍光体及び/又は磁性粒子は、流路チャンネル用の溝及び蓋を有する基板中にマイクロ流体デバイスを形成することにより適用され、蛍光体及び/又は磁性粒子は、マイクロ流体デバイスに蓋を追加する前に配置される。

10

【0067】

一実施形態においては、蛍光体及び/又は磁性粒子は、流路チャンネルに液体試料を送る前に蛍光体及び磁性粒子が相互に結合し得ないように、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内で一時的に固定化される。

【0068】

マイクロ流体デバイスにて成分を一時的に固定化することは周知であり、かかる周知の方法のいずれもが本発明の方法に適用され得る。

磁性粒子は、例えば磁力により一時的に固定化され得る。

【0069】

一実施形態においては、蛍光体及び/又は磁性粒子は、流路チャンネル内で乾燥されることにより一時的に固定化される。

20

液体試料が、一時的に固定化された蛍光体及び/又は一時的に固定化された磁性粒子と接触状態になると、蛍光体及び/又は磁性粒子は、再懸濁される。本明細書においては、「再懸濁される」という用語は、蛍光体/磁性粒子が液体内で溶解される又は懸濁されることを意味するように使用される。

【0070】

一実施形態においては、磁性粒子は、磁力により永久的に固定化され、液体試料は、磁性粒子と接触状態となるように流される。この実施形態においては、少量のみの想定される標的成分が、磁性粒子の捕獲部位に達することになるため、磁性粒子は、液体試料と自由に混合することが一般的には望ましく、すなわち磁性粒子は、好適には永久的に固定化されるべきではない。

30

【0071】

液体試料は、例えばピペットにより、シリンジを使用することにより、入口中に滴下することにより、又は流体デバイスの形態のマイクロ流体デバイスの流路チャンネルに吸入されることによりなど、任意の方法及び手段によって流路チャンネル内に送られ得る。

【0072】

本発明の一実施形態においては、液体試料は、流路チャンネルに吸入されることによりマイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に送られ、この吸入は、アクチュエータにより実現される。有利には、アクチュエータは、流路チャンネルの又は流路チャンネルと流体連通状態にあるシンク・セクションの可撓性壁部セクションを移動させるように構成される。

40

【0073】

好適には、アクチュエータは、流路チャンネルに液体試料を吸入するための吸入力を生成するために流路チャンネルの又はシンク・セクションの可撓性壁部セクションを移動させるように構成されてもよい。流路チャンネルは、好適には第1の送給端部と、可撓性壁部セクションを備える第2のアクチュエータ端部とを備える。一実施形態においては、流体連通状態にあるシンク・セクションと組み合わせられた流路チャンネルは、第1の送給端部と、可撓性壁部セクションを備える第2のアクチュエータ端部とを備え、第2のアクチュエータ端部は、シンク・セクションの一部又は全てである。

【0074】

正確な定量的判定を実現するために、本方法は、好適には、磁性粒子の捕獲部位に液体

50

試料及び/又は蛍光体中の想定される標的成分を捕獲させる工程を含む。反応時間は、通常は非常に短く、約10分以下など例えば数秒から数分である。好適には、反応時間は、約1分以下である。好適な一実施形態においては、本方法は、流路チャンネル内で液体試料を攪拌及び/又は脈動させる工程を含む。かかる脈動は、例えばアクチュエータを使用して実現され得る。一定の事前選択された反応時間後に、磁性粒子は、磁石を使用して透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化される。

【0075】

磁石が永久磁石である一実施形態においては、磁性粒子は、試料が流路チャンネルに導入された後に、磁石に即座に引き寄せられることになる。磁力が、例えば以下に説明するように適切な強度である場合には、磁性粒子は、磁性粒子の捕獲部位の少なくとも一部の及び好適には捕獲部位の殆ど又は実質的に全ての固定化の前に、想定される標的成分及び蛍光体との反応が実施されるように、適切な速度で透過性窓へと引き寄せられることになる。検査が、定量検査である場合には、反応時間は、検査が定性検査である場合よりも通常は短くなり得る。

10

【0076】

透過性窓は、有利にはマイクロ流体デバイスの流路チャンネルの窓である。

本明細書においては、「透過性の」という用語は、窓が蛍光体の励起波長及び放出波長に対して透過性を有することを意味する。したがって、窓は、目視検査に対する透過性を有する必要はないが、一般的には、窓又は好適には流路チャンネル全体が目視検査に対する透過性を有することが望ましい。

20

【0077】

一般的には、マイクロ流体デバイスを作製することが知られており、一般的な作製方法及び材料の例は、例えば米国特許出願公開第2010/0254858号及び欧州特許第1827693号などにおいて見ることができる。

【0078】

一実施形態においては、壁部セクション又は流路チャンネルの壁部全体が、好適には透過性を有する。

一般的には、磁石は、磁性粒子を透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化するのに十分な強度の磁場を有することが望ましい。

30

【0079】

磁石は、原則的には、適切な強度を有する任意のタイプの磁石であってもよい。一実施形態においては、磁石は、磁性粒子を固定化するために透過性窓に隣接して磁場を発生させるように選択され、この磁場は、例えば約0.1~約0.5テスラなど、例えば約0.15~約0.3テスラなど、約0.05~約1テスラである。

【0080】

磁場は、均質である必要はない。一実施形態においては、磁石は、約1mmの距離において約0.2~約0.3テスラの磁場を生成し、約2.5mmの距離において約0.01~約0.2テスラの磁場を生成する。一実施形態においては、磁石は、2.5mmの距離において磁場を生成し、これは、約1mmの距離における磁場の強度の約1/3~1/2である。

40

【0081】

磁石が、望ましくない高い強度である場合には、これは、磁性粒子の過度の高速固定化をもたらす場合があり、すなわち磁性粒子の捕獲部位は、磁性粒子の固定化前に標的成分又は蛍光体を結合するのに適した時間を有さない場合がある。当然ながら、これは、磁石が永久磁石である場合にのみ関係する。磁石が、望ましくない弱い強度である場合には、これは、十分な量の磁性粒子を固定化することができない場合がある。数回の検査により、当業者は、本発明の特定の方法に適合する適切な磁石強度を見出すことが可能である。

【0082】

磁石は、好適には、簡易性及び低コストの理由から永久磁石であってもよい。しかし、一実施形態においては、例えば液体試料を蛍光体及び/又は磁性粒子と混合する際に磁力

50

が印加される場合などには、調節可能な電磁石などの電磁石が適切である場合がある。

【0083】

磁石は、本発明の方法を実施するための設定によっては可動式であっても又は定置式であってもよい。単純な構造の場合には、磁石は、励起のために磁性粒子を固定化し透過性窓に隣接して読み出すために定置的に配置されることが望ましい。

【0084】

好適な一実施形態においては、少なくとも一時的に固定化された磁性粒子は、磁性粒子の捕獲部位により捕獲された想定される蛍光体の少なくとも一部が励起されるように、電磁ビームにさらされ、その後、捕獲され得る蛍光体から発せられる信号が、読み取られ、標的成分の定量的判定又は定性的判定が、読み取られた信号に基づき実施される。

10

【0085】

磁性粒子が磁石の使用により固定化された後の流路チャネル内の流体が、静止状態にある場合に、少なくとも一時的に固定化された磁性粒子は、磁石の磁力の影響からの磁性粒子の解放後の最大で数分などの時間に少なくともわたって固定化された状態に留まることが判明している。これにより、磁石は、透過性窓から移動され得るため、エミッタが蛍光体を励起するための及びリーダが蛍光体からの任意の信号を読み出すためのスペースが得られる。これにより、エミッタ及び/又はリーダは、以前に磁石が位置決めされていた位置に位置決めされ得ることになり、これは、きわめて高い信頼度の結果をもたらすことが判明している。一実施形態においては、エミッタは、透過性窓に直に隣接して（例えば磁性粒子の固定時に磁石が配置された位置に）配置された出力端部を備える1つ又は複数の放出光ファイバを介して電磁ビームを放出するように構成される。一実施形態においては、レシーバは、透過性窓に直に隣接して（例えば磁性粒子の固定時に磁石が配置された位置に）配置された入力端部を備える1つ又は複数のレシーバ光ファイバを介して蛍光体からの信号を受領するように配置される。

20

【0086】

放出光ファイバの出力端部及びレシーバ光ファイバの入力端部は、有利にはあるパターンで配置される。一実施形態においては、放出光ファイバの出力端部は、レシーバ光ファイバの入力端部を囲む円状に配置される。一実施形態においては、レシーバ光ファイバの入力端部は、放出光ファイバの出力端部を囲む円状に配置される。一実施形態においては、1つ又は複数のレンズが、信号を収集しそれをレシーバ光ファイバの入力端部に送るように配置される。

30

【0087】

蛍光体の励起方法は、当技術分野において周知である。励起波長は、好適には蛍光体の励起ピークに調節される。一実施形態においては、励起光は、励起光が液体試料又はその中の要素の望ましくない加熱を結果的にもたらしことのないように、相対バンド放出及び好適には比較的低いエネルギーである。

【0088】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、結合を最適化し、望ましくない温度が結合アッセイを妨害しないように、制御温度に維持される。

本発明の一実施形態においては、複数の蛍光体が、実質的に同一である。

40

【0089】

1つのみの標的成分が判定対象である場合には、適用される蛍光体は、励起及び放出に関して実質的に同一であることがしばしば望ましいが、原則的には、1つの標的成分が、同一検査において種々のタイプの蛍光体を使用して検出され得る点を理解されたい。

【0090】

本発明の好適な一実施形態においては、複数の蛍光体が、2つ以上の蛍光体群からなり、2つ以上の蛍光体群は、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び/又は量に関して相互に異なる。

【0091】

2つ以上の蛍光体群が存在する場合には、それらは、原則的には相互に無関係に選択さ

50

れ得るが、好適には別個の波長で放出するように選択され得る。この状況においては、蛍光体として量子ドットを適用することが特に好適である。なぜならば、異なるサイズの量子ドットは、異なる波長で放出を行い、また一方では実質的に同一波長にて励起されるからである。

【0092】

蛍光体の量は、好適には液体試料における想定される標的成分について推定される競合をもたらすように選択される。蛍光体の量は、数回の検査により判定され得る。蛍光体の量の選択するための想定される手始めとしては、液体試料中の標的成分の最大推定量に相当する量の約1～約50倍の量など又は約10～約50倍の量など、液体試料中の標的成分の最大推定量に相当する量の約0.02～約100倍の量が選択されるべきである。結果の精度の向上のためには、種々の量の蛍光体を使用して液体試料中の標的成分の判定を繰り返すことがしばしば望ましい。

10

【0093】

蛍光体の量は、例えば約0.02～約50 nM (ナノモル) で、好適には約0.1～約10 nM で変動し得る。

磁性粒子は、相互に同等であってもよく又は異なってもよい。一実施形態においては、磁性粒子は、捕獲部位に関して実質的に同一であり、任意には捕獲部位の個数及び/又はサイズに関して実質的に同一である。

【0094】

一実施形態においては、複数の磁性粒子は、2つ以上の磁性粒子群からなり、2つ以上の磁性粒子群は、例えばサイズ、捕獲部位個数、及び/又はタイプなどに関して相互に異なる。

20

【0095】

方法が液体試料中の2つ以上の標的成分の定量的判定又は定性的判定からなる本発明の一実施形態においては、磁性粒子は、2つ以上の標的成分に対して1つ又は複数のタイプの捕獲部位を備え、ある標的成分の捕獲部位が、好適には別の標的成分の捕獲部位とは異なる。例えば、ある磁性粒子群が、あるタイプの捕獲部位を備えることが可能であり、別の磁性粒子群が、別のタイプの捕獲部位を備えることが可能である。

【0096】

複数の蛍光体は、例えばある標的成分のある捕獲部位に結合するように構成された少なくとも1つの蛍光体群と、別の標的成分の捕獲部位に結合するように構成された少なくとも別の蛍光体群とからなってもよい。

30

【0097】

本明細書における数個の例により及び教示に基づき、当業者は、本発明の方法による所与の検査に適した蛍光体及び磁性粒子を見出すことが可能である。

本発明の好適な一実施形態においては、本方法は、標的成分の定量的判定又は定性的判定のために液体試料に対して2つ以上の並行アッセイを実施する工程を含み、各アッセイが、

透過性窓を備えるマイクロ流体デバイスにおいて液体試料の一部を蛍光体及び磁性粒子に接触させることと、

40

磁石を使用して磁性粒子を透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化し、固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取ることと、

からなる。

【0098】

好適には、2つ以上の並行アッセイの中の1つで使用される蛍光体は、2つ以上の並行アッセイの中の別の1つで使用される蛍光体とは異なる。

例えば、2つ以上の並行アッセイの中の1つで使用される蛍光体は、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び/又は量に関して2つ以上の並行アッセイの中の別の1つで使用される蛍光体とは異なる。

50

【0099】

本発明の一実施形態においては、2つ以上の並行アッセイの中の1つで使用される磁性粒子は、2つ以上の並行アッセイの中の別の1つで使用される磁性粒子とは異なる。例えば、2つ以上の並行アッセイの中の1つで使用される磁性粒子は、タイプ、サイズ、コーティング、形状、及び/又は量に関して2つ以上の並行アッセイの中の別の1つにおける磁性粒子とは異なる。

【0100】

一実施形態においては、2つ以上の並行アッセイは、同一のマイクロ流体デバイスにおいて同時に実施される。2つ以上の並行アッセイは、例えば、同一のマイクロ流体デバイスの平行流路チャンネル内など各流路チャンネル内で実施され得る。

10

【0101】

本発明の一実施形態においては、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定は、読み取られた信号を基準スケジュールと比較することにより実施される。

基準スケジュールは、例えば当技術分野で一般的に知られるような、読み取られた信号の較正に適用され得る任意のタイプの基準スケジュールであることが可能である。

【0102】

本発明の一実施形態においては、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定は、読み取られた信号を例えば人工知能プロセッサを使用することなどにより、既知の組成を有する液体試料から得られた信号と比較することによって実施される。

【0103】

本発明の一実施形態においては、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定は、例えば同一のアッセイなどによる種々の蛍光体群からの、並行アッセイによる蛍光体からの、及び/又は既知のもしくは未知の液体試料の基準検査における蛍光体からの読み取られた信号を多重化することにより実施される。

20

【0104】

また、本発明は、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のためのシステムをさらに含む。

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムは、具体的には本発明の方法を実施するための使用に適しており、したがって、定量的判定又は定性的判定のためのシステム及びその実施形態は、上述の利点の中の少なくともいくつかを有する。

30

【0105】

液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のためのシステムは、

透過性窓及び液体試料の入口を有する少なくとも1つの流路チャンネルを備えるマイクロ流体デバイスと、

標的成分の1つ又は複数の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子と、

磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体と、

磁性粒子を透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化するように構成された磁石と、

蛍光体を励起するためのエミッタと、

蛍光体から発せられる信号を読み取るためのリーダーと、

40

からなる。

【0106】

有利には、マイクロ流体デバイスは、本明細書の別の箇所で説明されるようなものである。磁性粒子、蛍光体、及び磁石は、例えば上述のようなものであってもよい。

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、ポリマー及び/又はガラスからなる。

【0107】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、流路チャンネル用の溝と流路チャンネルを覆うフィルムとを有する基板からなる。

マイクロ流体デバイスは、好適には、読取りゾーンとも呼ばれ、透過性窓の形態で提供

50

される、励起及び読出しゾーンを備える。この透過性窓は、好適には蛍光体の少なくとも励起波長及び放出波長に対する透過性を有する。

【0108】

一実施形態においては、励起及び読出しゾーンは、磁石が磁性粒子の固定化のために磁性粒子に作用している場合に位置決めされるゾーンと同一である。磁性粒子が磁石の使用により固定化され、流路チャンネル内の任意の液体が静止状態になった後に、磁石は移動され、一方で磁性粒子は蛍光体を励起し蛍光体から発せられる信号を読み取るのに十分な時間に少なくともわたって固定化された状態に留まる。

【0109】

エミッタ及びリーダは、有利には共通エミッタ及びリーダ・ユニットである。

10

一実施形態においては、エミッタは、出力端部を備える放出光ファイバを備え、レシーバは、入力端部を備える1つ又は複数のレシーバ光ファイバを備える。有利には、エミッタの光ファイバ出力端部を備えるファイバ・セクション及びリーダの光ファイバ入力端部を備えるファイバ・セクションは、共通放出・読取りファイバ束を形成するように相互に固着される。放出光ファイバの出力端部及びレシーバ光ファイバの入力端部は、有利には例えば上述のようなパターンで配置される。

【0110】

マイクロ流体デバイスの流路チャンネルは、原則的には任意の形状を有し得る。一実施形態においては、流路チャンネルは、細長流路セクション及び1つ又は複数のチャンバ・セクション（流路セクションよりも実質的に大きな断面を有するチャンバ・セクション）を備える。蛍光体及び磁性粒子は、例えばかかるチャンバ・セクションにおいて一時的に固定化され得る。

20

【0111】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、ポリマー及び/又はガラスあるいはそれらの組合せからなる。好適な一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、ポリマーからなる。ポリマー・マイクロ流体デバイスは、作製が容易かつ費用対効果が高い。マイクロ流体デバイスは、好適には流路チャンネル用の溝及び流路チャンネルを覆うフォイルを有する基板からなる。

【0112】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、流路チャンネルへの入口を備える。この入口は、例えば吸入用開口、毛管入口、又は膜被覆された入口である。

30

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスの入口は、膜被覆された入口である。この実施形態においては、液体試料は、例えばシリンジ又は膜を穿刺するために使用され得る同様の針支援デバイスを使用して流路チャンネルに導入され得る。膜は、例えば流路チャンネル内のガスの排出路を同時に提供してもよい。

【0113】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスの入口は、毛管入口であり、すなわち液体試料は、毛管力を利用して流路チャンネル内に引き込まれ得る。この実施形態においては、特に入口に隣接する流路チャンネルの内方表面は、比較的高い表面張力を有し、毛管力を生成するのに十分な小ささの寸法を有することが望ましい。毛管入口をマイクロ流体デバイスに与えることは、当技術分野において周知である。殆どのポリマーは、比較的低い表面張力を有し、流路チャンネルの内方表面が例えば水性液体などの液体に毛管力を作用させるべき場合には、ポリマー・マイクロ流体デバイスの表面を処理することが、しばしば必要とされる。

40

【0114】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスの入口は、吸入用開口であり、すなわち、マイクロ流体デバイスは、液体試料が流路チャンネルに吸入されるように適合化されるように構成される。この実施形態においては、流路チャンネルの内方表面は、毛管力を生成する必要はなく、マイクロ流体デバイスが低い表面張力を有する材料からなる場合であっても、かかる表面は、表面張力を増大させるように処理される必要はない。したが

50

って、吸入入口を有するマイクロ流体デバイスは、作製が非常に容易であり、比較的コストにて実現され得る。

【0115】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、液体試料を吸入するための入口を備える。有利には、マイクロ流体デバイスは、可撓性壁部セクションを備え、システムは、有利にはアクチュエータを備えることが可能であり、アクチュエータは、可撓性壁部セクションを移動させるように構成される。アクチュエータは、例えばステップ・モータ被動アクチュエータである。

【0116】

システムがアクチュエータを備え、マイクロ流体デバイスの入口が可撓性壁部セクションを備え、入口が吸入用開口である、本発明の一実施形態においては、入口及びアクチュエータは、アクチュエータの作動時に可撓性壁部セクションが移動され、空気が流路チャンネルから押し出され、その後、可撓性壁部がその初期位置に戻り、液体試料が流路チャンネルに吸入されるように構成される。これにより、流路チャンネルへの液体試料の単純かつ効果的な吸入と、蛍光体及び磁性粒子との試料の単純かつ効果的な混合とが、実現され得る。

10

【0117】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、シンク・セクションを備え、流路チャンネルは、シンク・セクションと流体連通状態にある。

マイクロ流体デバイスのシンク・セクションは、磁性粒子が励起及び読出しのために少なくとも一時的に固定化される位置である、透過性窓から距離を置いて配置されるセクションである。一実施形態においては、シンク・セクションは、検査の完了時又は完了後に試料又は試料の殆どを収集するために配置される。励起及び読出しのために磁性粒子を透過性窓に隣接して同時に固定化しつつ、試料又は試料の殆どを収集することにより、試料中の蛍光体による疑似信号を取得するリスクが、大幅に低下し得る。

20

【0118】

有利には、シンク・セクションは、流路チャンネルへの入口から離れて位置決めされる。好適には、入口を経由して導入される流体は、液体がシンク・セクションに到達する前に、磁性粒子が励起及び読出しのために少なくとも一時的に固定化される位置である透過性窓を通過しなければならない。

30

【0119】

「シンク」及び「シンク・セクション」という用語は、同義的に使用される。

流路チャンネルは、任意の形状を有してもよく、好適には約 $1 \mu\text{l}$ ~ 約 1ml など、好適には約 $5 \mu\text{l}$ ~ 約 0.5ml など、比較的少量の液体試料に対する判定を実施するように適合化される。流路チャンネルは、任意の辺が任意に丸められた、例えば円形、楕円形、半楕円形、多角形、四辺形、正方形、矩形、及び台形から選択される断面形状などを有する任意の形状を有することが可能である。一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、例えば蛍光体及び/又は磁性粒子に液体試料を混合するためのチャンネル・セクションならびにオプションの捕獲された蛍光体の励起と想定される放出エネルギーの読出しとのために磁性粒子を少なくとも一時的に固定化するための透過性窓を有するチャンネル・セクションなどの、2つ以上の異なる流路チャンネル・セクションを備える。

40

【0120】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、流路チャンネルからガスを逃がし得る少なくとも1つのガス排出開口を備える。ガス排出開口は、例えば先行技術のマイクロ流体デバイスから知られるような、任意のタイプ及び形状からなるものであってもよい。ガス排出開口は、例えばマイクロ流体デバイスからガスを完全に外部に逃がし得るように構成されてもよく、又は例えば膨張可能ユニットの形態などのガス収集チャンパ内にガスを逃がし得るものであってもよい。

【0121】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、流路チャンネルの入口にて吸

50

入力を生成するために使用され得る可撓性壁部セクションを備える。この実施形態においては、入口は、ガス排出開口として機能し得る。

【0122】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、2つ以上の流路チャンネルを備え、2つ以上の流路チャンネルは、共通セクションを備えるか又は共通シンク・セクションと流体連通状態にあり、共通セクション又は共通シンク・セクションは、流路チャンネルの入口にて吸入力を生成するために使用され得る可撓性壁部セクションを備える。

【0123】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、2つ以上の流路チャンネルを備え、2つ以上の流路チャンネルあるいは流体連通状態にある1つ又は複数のシンク・セクションは、流路チャンネルの各入口にて吸入力を発生させるために使用され得る可撓性壁部セクションをそれぞれ備える。この実施形態においては、吸入力は、各流路チャンネル内に個別に印加され得る。一実施形態においては、可撓性壁部セクションは、試料又はその一部が検査の実施後に収集され得るシンク・セクションの壁部セクションとして適用される。シンク・セクションは、例えば上述のようなものである。

10

【0124】

一実施形態においては、可撓性壁部セクションは、励起及び読出しのために磁性粒子を透過性窓に隣接して同時に固定化しつつ磁性粒子が試料及び蛍光体と混合された後に、試料をポンプ送出的ために使用され、これにより、試料中に残留する蛍光体による疑似信号取得のリスクが低下する。

20

【0125】

マイクロ流体デバイスが試料の収集用のシンクと流体連通状態にある流路チャンネルと任意にはシンク内外に試料をポンプ送給するのに適した可撓性壁部とを備える一実施形態においては、表面活性剤などの試料調節剤が、シンク内に配置される。試料が、可撓性壁部セクション又は他のポンプ手段を使用することによりシンク内にポンプ送給されると、試料は、表面活性剤と混合され、したがって試料の表面張力は、低下する。透過性窓を備える流路チャンネルのエリアに試料を再度導入することにより、透過性窓に隣接して固定化された磁性粒子は、調節された試料で洗浄されることになる。シンク内に配置される調節剤は、例えば、試料がシンクに導入されるまで試料と混合しないように、乾燥形態であってもよい。

30

【0126】

一実施形態においては、可撓性壁部セクションは、検査の終了後に試料をポンプ送出的ために使用される。シンク・セクション内に試料を収集するか、試料をポンプ送出的か、又は流路チャンネル内に試料を分配させることのいずれが好適かは、適用される試料の種類及び毒性に大きく左右される。例えば、望ましくない汚染のリスクが存在する場合、又は試料が例えば細菌、ウイルス、もしくは同様のものなど拡散の望ましくない要素を含む場合には、検査の実施時又は実施後にシンク・セクションにて試料を収集することが望ましい場合がある。

【0127】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスの流路チャンネルは、例えば蛍光体及び/又は磁性体に液体試料を混合するためなどの1つ又は複数のチャンバを備える。一般的には、流路チャンネルは、少なくとも500 μm など、少なくとも約100 μm の少なくとも1つの寸法(しばしば幅寸法)を有する少なくとも1つの液体流路チャンネル・セクションを備えることが望ましい。実際には、処置により許容される程度の幅であることが可能である。例えばチャンネルの深さなどの他の寸法は、所望に応じて幅の半分など、又は例えば約25 μm までもしくは約10 μm までなど、好適には幅よりも小さい。

40

【0128】

このコンテキストにおいて、流路チャンネルのチャンバは、流路チャンネルの隣接セクションよりも少なくとも50%など少なくとも25%大きな断面積を有する流路チャンネルのサブセクションを意味する。チャンバは、例えばより幅広であることにより隣接するチャネ

50

ル・セクションよりも大きな断面積を有してもよい。流路チャネルの深さは、実質的に一定であってもよく、又は変化してもよい。

【0129】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、透過性窓を備える長さセクションの形態の励起及び読出しゾーンを備え、窓は、蛍光体の少なくとも励起波長及び放出波長に対して透過性を有する。

【0130】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、例えば少なくとも約3mmなど、例えば少なくとも約5mmなど、少なくとも約1mmの長さ寸法を有する励起及び読出しセクションを備える。

10

【0131】

読出しセクションは、エミッタ及びリーダに対するマイクロ流体デバイスの簡単な位置決めを実現するために、好適には流路チャネルの幅狭部分として又は流路チャネルの拡張部分として形成される。

【0132】

本発明のシステムによれば、マイクロ流体デバイスの少なくとも窓は、透過性材料からなる。

一実施形態においては、流路チャネル全体が、材料の透過性により視認可能である。一実施形態においては、マイクロ流体デバイス全体が、透過性材料からなる。

【0133】

好適な一実施形態においては、少なくとも透過性窓が、蛍光体の励起波長及び放出波長に対して透過性を有する。一実施形態においては、少なくとも透過性窓が、赤外光(約700nm~約1000μm)、可視光(約400nm~約700nm)、UV光(約400nm~約10nm)、及びX線光(約10nm~約0.01nm)から選択される少なくとも1つの波長に対する透過性を有する。

20

【0134】

一実施形態においては、判定のために短波光を印加することが望ましく、すなわち蛍光体は、好適には熱発生が比較的小さく判定を妨害しない短波長エネルギーにより励起可能である。

【0135】

マイクロ流体デバイスに使用され得る材料の例には、ガラス及びポリマーから選択される材料が、好適には環状オレフィン共重合体(COC)、アクリロニトリル-ブタジエン-スチレン共重合体、ポリカーボネート、ポリジメチル・シロキサン(PDMS)、ポリエチレン(PE)、ポリメチルメタクリレート(PMMA)、ポリメチルペンテン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリスルホン、ポリテトラ・フルオロエチレン(PTFE)、ポリウレタン(PU)、ポリ塩化ビニル(PVC)、ポリ塩化ビニリデン(PVDC)、フッ化ポリビニリデン、スチレン-アクリル共重合体ポリイソブレン、ポリブタジエン、ポリクロロブレン、ポリイソブチレン、ポリ(スチレン-ブタジエン-スチレン)、シリコーン、エポキシ樹脂、ポリエーテルブロックアミド、ポリエステル、アクリロニトリルブタジエンスチレン(ABS)、アクリル、セルロイド、酢酸セルロース、エチレン酢酸ビニル(EVA)、エチレンビニルアルコール(EVAL)、フッ素樹脂、ポリアセタール(POM)、ポリアクリレート(アクリル)、ポリアクリロニトリル(PAN)ポリアミド(PA)、ポリアミドイミド(PAI)、ポリアリーールエーテルケトン(PAEK)、ポリブタジエン(PBD)、ポリブチレン(PB)、ポリブチレンテレフタル酸塩(PBT)、ポリエチレンテレフタル酸塩(PET)、ポリシクロヘキシレン・ジメチレン・テレフタル酸塩(PCT)、ポリケトン(PK)、ポリエステル/ポリエチレン/ポリエテン、ポリエーテルエーテルケトン(PEEK)、ポリエーテルイミド(PEI)、ポリエーテルサルホン(PES)、ポリエチレンクロリネート(PEC)、ポリイミド(PI)、ポリ乳酸(PLA)、ポリメチルペンテン(PMP)、ポリフェニレンオキシド(PPO)、ポリフェニレンスルフィド(PPS)、ポリフタルアミド(PPA)、及びそ

30

40

50

これらの混合物から選択されるポリマーが含まれる。

【0136】

一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、例えば基板中に射出成形により又はレーザー彫刻により作製された、剛性材料のベース部分から形成される。ベース部分は、フォイルで覆われ、このフォイルは、ベース部分に結合されることにより流路チャンネル及び任意にはシンク・セクションを形成する。

【0137】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、任意には並行検査の実施のために2つ以上の流路チャンネルを備え、これらの2つ以上の流路チャンネルは、任意には共通入口を有する。

10

【0138】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、システムは、流路チャンネル内の液体試料の温度を調整するための温度調整器を備える。いくつかの検査の場合には、想定される標的成分と捕獲部位との間の反応は、感温性であり、したがって温度を調整することが望ましい可能性がある。温度調整器は、例えばペルチエ素子、薄膜加熱素子、及び/又は他の抵抗加熱素子からなるものが可能である。

【0139】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、磁性粒子は、捕獲部位を備えるコーティングを備えるコーティングされた磁性粒子であり、捕獲部位は、生体分子などの標的成分の捕獲部位として選択される。

20

【0140】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、蛍光体は、量子ドットあるいは芳香族プローブ及び/又は複合プローブであり、蛍光体は、好適には量子ドットである。

【0141】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、蛍光体は、磁性粒子の捕獲部位に結合し得る成分に固着されることにより磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成され、成分は、好適には標的成分と同一又は同族体である。

【0142】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、蛍光体及び磁性粒子は、流路チャンネルに液体試料を送る前にそれらが相互に結合し得ないように、マイクロ流体デバイスの流路チャンネル内にて一時的に固定化される。

30

【0143】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、磁石は、磁性粒子の捕獲部位により捕獲された想定される蛍光体の少なくとも一部をエミッタにより励起するのに、及び捕獲され得る蛍光体からの放出され得る信号を読み出すのに十分な時間にわたり、磁性粒子を透過性壁部セクションに隣接して少なくとも一時的に固定化するように構成される。

【0144】

電磁波のエミッタ及びリーダは、当技術分野において周知であり、蛍光体を選択された場合に、当業者は、蛍光体との組合せにおいて有用であるエミッタ及びリーダを簡単に選択することが可能となる。

40

【0145】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、エミッタは、蛍光体の励起波長を含む電磁放射を放出することが可能である発光ダイオード又はレーザーである。

【0146】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、エミッタは、透過性窓に向けられた電磁放射を放出するように構成され、窓は、平坦表面を有し、エミッタは、好適には約30°~約150°など、約20°~約170°の窓表面に対

50

する角度で透過性窓に向けられた電磁放射を放出するように構成される。好適には、窓の表面は、励起作用及び放出作用を最適化するために実質的に平坦である。

【0147】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、リーダは、窓に隣接して一時的に固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取るように構成される。

【0148】

エミッタ及びリーダは、有利には共通エミッタ及びリーダ・ユニットである。

一実施形態においては、エミッタは、出力端部を備える放出光ファイバを備え、レシーバは、入力端部を備える1つ又は複数のレシーバ光ファイバを備える。有利には、エミッタの光ファイバ出力端部を備えるファイバ・セクション及びリーダの光ファイバ入力端部を備えるファイバ・セクションは、共通放出・読取りファイバ束を形成するように相互に固着される。放出光ファイバの出力端部及びレシーバ光ファイバの入力端部は、有利には例えば上述のようなパターンで配置される。

10

【0149】

定量的判定又は定性的判定のための本発明のシステムの一実施形態においては、システムは、読み取られた信号に基づき液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施するためのコンピュータを備える。コンピュータは、読み取られた信号に基づき液体試料中の標的成分の定量的判定及び/又は定性的判定を実施するようにプログラミングされる。

20

【0150】

一実施形態においては、コンピュータは、読み取られた信号及び/又は実施された定量的判定もしくは定性的判定を格納するためのメモリを備える。

一実施形態においては、コンピュータは、メモリを備え、このメモリは、判定を実施するために読み取られた信号を比較するための基準スケジュールを備える。基準スケジュールは、好適には読み取られた信号を用いた定量的判定又は定性的判定のセットを備えてよく、例えば、データ・セットは、a) 既知の含有量の標的成分を含む液体試料に関して読み取られた信号の結果と、b) 標的成分の既知の含有量とを含む。

【0151】

一実施形態においては、コンピュータは、読み取られた信号を、既知の組成を有する液体試料から得られた格納された信号と比較するようにプログラミングされた人工知能プロセッサである。

30

【0152】

一実施形態においては、システムは、コンピュータを備える信号処理プロセッサを備え、信号処理プロセッサは、種々の蛍光体群からの、並行アッセイによる蛍光体からの、及び/又は既知のもしくは未知の液体試料の基準検査における蛍光体からの信号を多重化するように構成される。

【0153】

一実施形態においては、システムは、コンピュータを備える信号処理プロセッサを備え、信号処理プロセッサは、同一のアッセイにおいて適用された種々の蛍光体群からの信号を多重化するように構成される。

40

【0154】

信号の多重化は、当技術分野において周知であり、また種々の波長を放出する蛍光体で標識された2つ以上の標的を定量化するために検査試料を分析する技術分野において適用されてきた。例えば、米国特許出願公開第2009/0270269号及びWO2010/141105などを参照されたい。また、多重化に関するさらなる情報は、“Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging” チャンら(Chan et al.) Current Opinion in Biotechnology 2002, 13: 40-46, Elsevier Scienceにおいても見ること

50

ができる。

【0155】

多重化の利用により定量的判定又は定性的判定を実施する場合に、適用される蛍光体は、量子ドットであることが好適である。本発明によれば、蛍光体として量子ドットを使用し、信号を多重化することにより、例えば10以上又はさらには50以上などの複数の標的成分を同時に定量的に判定することが可能となることが判明している。

【0156】

エミッタ、リーダ、及びコンピュータを備える信号処理プロセッサは、有利には共通の又は少なくとも相互接続されたユニットの形態である。

また、本発明は、上述のような本発明の方法による分析のために液体試料を調製するためのキットに関する。

【0157】

本発明のキットは、試料中の複数の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に液体試料を調製するように構成される。このキットは、

各標的成分について、あるタイプの捕獲部位を表面に備える複数の磁性粒子と、
磁性粒子のそのタイプの捕獲部位の中の1つに結合するようにそれぞれが構成された複数の蛍光体群と、
からなる。

【0158】

磁性粒子及び蛍光体群は、上述のようなものである。

試料中のN個の異なる標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に液体試料を調製するためのキットであり、Nが2以上の整数であるキットの一実施形態においては、キットは、

各標的成分に対して1つのタイプの捕獲部位を備える、N個のタイプの捕獲部位を備える複数の磁性粒子と、
磁性粒子のそれらのタイプの捕獲部位の中の1つに結合するようにそれぞれが構成されたN個の蛍光体群と
からなる。

【0159】

試料中のN個の異なる標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用に液体試料を調製するためのキットであり、Nが2以上の整数であるキットの一実施形態においては、キットは、

1つの標的成分に対して1つのタイプの捕獲部位をそれぞれが備えるN個の磁性粒子群と、
磁性粒子のそれらのタイプの捕獲部位の中の1つに結合するようにそれぞれが構成されたN個の蛍光体群と
からなる。

【0160】

一実施形態においては、2つ以上の蛍光体群は、1つの単体溶液中に用意される。有利には、磁性粒子は、処理の簡易化のために1つの溶液又は懸濁液の形態で用意される。

2つ以上の蛍光体群は、上述のようなものであり、好適には2つ以上の蛍光体群は、同一波長の電磁波により励起され得る量子ドットである。

【0161】

一実施形態においては、キットは、マイクロ流体デバイス及び/又は磁石をさらに備える。マイクロ流体デバイス及び/又は磁石は、例えば上述のようなものであることが可能である。

【0162】

原則的には、Nは、量子ドットなどの種々の蛍光体から得られるのと同数の数であることが可能である。一実施形態においては、Nは、2~10の整数である。

また、本発明は、試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用

10

20

30

40

50

に液体試料を調整する際に使用するためのマイクロ流体デバイスに関する。マイクロ流体デバイスは、透過性窓及び液体試料の入口を有する少なくとも1つの流路チャンネルを備える。マイクロ流体デバイスは、その流路チャンネル内に、

標的成分の捕獲部位を表面に備える複数の磁性粒子と、
磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成された複数の蛍光体と、

をさらに備える。

【0163】

マイクロ流体デバイスは、好適には上述のようなマイクロ流体デバイスである。

さらに、本発明は、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のための光学的分析用にその試料を調整する際に使用するためのマイクロ流体デバイスに関する。このマイクロ流体デバイスは、流路チャンネル用の溝及び流路チャンネルを覆うフォイルを有する基板を備え、流路チャンネルは、透過性窓と、液体試料を吸入するための入口とを備える。マイクロ流体デバイスは、流路チャンネルの又は流路チャンネルと流体連通状態にあるシンク・セクションの可撓性壁部セクションを備える。可撓性壁部セクションは、空気が流路チャンネルから押し出されるように移動され得るものであり、その後、可撓性壁部は、その初期位置に戻る。

10

【0164】

本発明の一実施形態においては、マイクロ流体デバイスは、シンク・セクションを備え、流路チャンネルは、シンク・セクションと流体連通状態にある。

マイクロ流体デバイスのシンク・セクションは、磁性粒子が励起及び読出しのために少なくとも一時的に固定化される位置である、透過性窓から距離を置いて配置されるセクションである。一実施形態においては、シンク・セクションは、検査の完了時又は完了後に試料又は試料の殆どを収集するために配置される。有利には、シンク・セクションは、流路チャンネルへの入口に対して離れて位置決めされる。

20

【0165】

マイクロ流体デバイスのさらなる好適な実施形態は、上述のようなものである。

さらなる1態様においては、本発明の変更形態が、液体試料中の標的成分の定量的判定又は定性的判定のためのサンドイッチ・タイプ・アッセイに関する。このアッセイは、

標的成分の1つ又は複数の捕獲部位を各表面に備える複数の磁性粒子を用意することと、

30

標的成分の1つ又は複数の捕獲部位を備える複数の蛍光体を用意することと、

流路チャンネル内への透過性窓を備えるマイクロ流体デバイスの流路チャンネル内に液体試料、前記蛍光体、及び前記磁性粒子を搬送することと、

磁石を使用して前記磁性粒子を前記透過性窓に隣接して少なくとも一時的に固定化し、前記固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出し、前記標的成分を經由して前記固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取り、読み取られた信号に基づき前記標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施することと、
からなる。

【0166】

磁性粒子は、有利には上述のようなものである。

40

蛍光体は、有利には蛍光体が磁性粒子の捕獲部位に結合するように構成されないが、代わりに蛍光体が標的成分の1つ又は複数の捕獲部位を備える変更を伴った、上述のようなものである。

【0167】

液体試料、蛍光体、及び磁性体は、有利には上述の方法を利用して接触状態になされる。

。

マイクロ流体デバイスは、有利には上述のようなものである。

【0168】

磁性粒子の少なくとも一時的な固定化、励起、及び読出しは、有利には上述のようなものである。

50

サンドイッチ・タイプ・アッセイは、具体的には、標的成分が2つ以上の捕獲部位を備える比較的大きな成分であり、そのため標的成分が磁性粒子と蛍光体との間に挟まれ得る場合に使用すると有利である。

【0169】

本明細書においては、「備える／備えている」という用語は、オープンな表現として解釈されるべきであり、すなわち要素、ユニット、整数、工程、構成要素、及びそれらの組合せなどの具体的に述べられた特徴の存在を指定するものとして理解されるべきであるが、1つ又は複数の他の述べられた特徴の存在又は追加を排除しない点を強調しておく。

【0170】

範囲及び好適な範囲を含む本発明の全ての特徴は、かかる特徴を組み合わせない具体的理由が存在しない限りは、本発明の範囲内において様々な方法で組み合わせられ得る。

以下、例及び好適な実施形態に関連してならびに図面を参照して、本発明をさらに十分に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0171】

【図1a】本発明の方法を実施するのに適したマイクロ・タイター・プレートの概略を示す上面図。

【図1b】図1の線A - A'における概略を示す断面図。

【図2】本発明の方法を実施するのに適したマイクロ流体デバイスの概略を示す上面図。

【図3】図2の線B - B'における概略を示す側部断面図。

【図4】本発明の方法を実施するのに適しており、一時的に固定化された磁性粒子及び一時的に固定化された蛍光体を有する、マイクロ流体デバイスの概略を示す上面図。

【図5】マイクロ流体デバイス、エミッタ、及びリーダを備える、本発明のシステムの概略を示す斜視図。

【図6】本発明における使用に適した量子ドットの形態の蛍光体の概略を示す構造図。

【図7a】本発明の方法の一実施形態の概略を示す図。

【図7b】本発明の方法の一実施形態の概略を示す図。

【図7c】本発明の方法の一実施形態の概略を示す図。

【図8a】本発明の方法の別の実施形態の概略を示す図。

【図8b】本発明の方法の別の実施形態の概略を示す図。

【図8c】本発明の方法の別の実施形態の概略を示す図。

【図9】エミッタ・リーダ・アセンブリの概略を示す側面図。

【発明を実施するための形態】

【0172】

これらの図面は、概略的なものであり、明確にするために簡略化される場合がある。全体を通じて、同一の参照数字が、同一の又は対応する部分について使用される。図1a及び図1bは、本発明における適用に適した検査用プレートを示す。図示する検査用プレートは、12×8個のウェル1を有するマイクロ・タイター・プレートである。図9は、エミッタ・リーダ・アセンブリの概略側面図である。マイクロ・タイター・プレートは、当技術分野ではウェル・プレート及びマイクロ・プレートなどの多数の名称で周知である。マイクロ・タイター・プレートは、小試験管として使用される複数の「ウェル」を有するほぼ平坦なプレートである。図示するマイクロ・タイター・プレートは、薄いカバー・フィルム2を備え、これは、タイター・プレートの使用前に剥離される。カバー・フィルム2は、例えば1つのみ又は全数未満の個数のみのウェルがカバー・フィルム2のあるセクションの除去によって露出されるようになど、いくつかのセクションに分かれて剥離され得るように、いくつかのセクションに分割され得る。マイクロ・タイター・プレートは、こぼれを低減させるためにエッジ4を有する。

【0173】

マイクロ・プレートの各ウェル1は、典型的には数十ナノリットル～数ミリリットルの間の液体を保持する。適切なマイクロ・タイター・プレートのウェルは、原則的には円形

又は正方形などの任意の形状を有することが可能であり、それらの各底部は、丸形又は平坦状が可能である。図示するマイクロ・タイター・プレートにおいては、ウェル1は、円形であり、平坦状底部3を有する。各ウェル1の円形底部2は、励起及び読出しのために使用可能な透過性窓を構成する。使用時に、蛍光体及び磁性粒子は、例えばドライ形態で及び例えば一時的に固定化された形態で、ウェル内に事前準備され得る。代替的には、蛍光体及び磁性粒子は、液体試料の添加直前に、添加と同時に、又は添加後にウェルに添加され得る。例えば振動ボード上などにおける選択された温置時間後に、マイクロ・タイター・プレートは、透過性窓に隣接してすなわち底部3に磁性粒子を一時的に固定化するために、磁石上に配置される。エミッタが、固定化された磁性粒子に励起電磁ビームを放出するために配置され、リーダが、固定化された磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取るために配置される。読み取られた信号は、標的成分の定量的判定又は定性的判定を実施するために使用される。ノイズを軽減するために、液体が、各ウェルから除去され得ると共に、任意には、ウェルは、例えば信号の読出し前に水などで洗浄される。温置時間は、通常は非常に短く、例えば数分である。

10

【0174】

図2及び図3は、本発明における適用に適した検査用プレートを示す。図示する検査用プレートは、マイクロ流体デバイスである。任意のマイクロ流体デバイスが、原則的には本発明において適用され得るが、図示するマイクロ流体デバイスは、目的に特化して設計され、本明細書において説明されるようなさらなる利点を本発明にもたらす。

【0175】

マイクロ流体デバイスは、3つの流路チャンネル11を有する基板12を備える。チャンネル11は、フォイル11aで覆われた溝の形態で提供される。各チャンネル11は、入口13を備え、チャンネル11は、共通シンク14と流体連通状態にある。

20

【0176】

入口13は、ウェル形状入口の形態である。

マイクロ流体デバイスの共通シンク14は、可撓性壁部セクション15を備える。可撓性壁部セクション15は、上述のように例えば図示しないアクチュエータを使用することなどにより移動され得る。

【0177】

可撓性壁部セクション15を押すことにより、この可撓性壁部セクション15は移動され、空気がチャンネル11から押し出され、その後、可撓性壁部セクション15はその初期位置に戻り、入口に配置された液体試料は所望の位置へとチャンネルに吸入される。可撓性壁部セクションをさらに操作することにより、液体試料は、チャンネル11にさらに引き込まれ得るか、又はチャンネル内で脈動され得る。最終的に、可撓性壁部セクション15は、所望に応じて、シンク内に試料を収集するように及びチャンネル内に試料を再度流し込むように操作され得る。これにより、可撓性壁部セクション15は、マイクロ流体デバイスにおいて液体試料を制御する単純かつ安価な方法を実現する。

30

【0178】

また、マイクロ流体デバイスは、チャンネル11に読出しセクション16を与えるくぼみを備える。チャンネル11の読出しセクション16に、チャンネルは透過性窓を備え、磁性粒子は図示しない磁石を使用して一時的に固定化され得る。

40

【0179】

図4は、本発明における使用に適した別の好適なマイクロ流体デバイスを示す。

マイクロ流体デバイスは、5つの流路チャンネル21を有する基板22を備える。各チャンネル21は、入口23を備え、図示しない可撓性壁部セクションを有するシンク24と流体連通状態にある。

【0180】

また、マイクロ流体デバイスは、チャンネル21に読出しセクション26を与えるくぼみを備える。この位置において、チャンネルは、透過性窓を備え、磁性粒子は、図示しない磁石を使用して一時的に固定化され得る。

50

【0181】

各チャンネル21は、一時的に固定化された磁性粒子及び一時的に固定化された蛍光体を備える。マイクロ流体デバイスは、入口ゾーンであるゾーン0と、液体試料と接触状態になるまで反応しないように配置された一時的に固定化された蛍光体及び磁石粒子17を備えるゾーン1及びゾーン2と、読出しゾーンであるゾーン3と、シンク・ゾーンであるゾーン4とからなるゾーンに分割される。

【0182】

一実施形態においては、ゾーン1は、一時的に固定化された蛍光体を備え、ゾーン2は、一時的に固定化された磁性粒子を備える。

一実施形態においては、ゾーン1は、一時的に固定化された磁性粒子を備え、ゾーン2は、一時的に固定化された蛍光体を備える。

10

【0183】

マイクロ流体デバイスは、所望に応じてゾーン1及びゾーン2の複数のサブゾーンを備えることが可能である。

使用時に、液体試料は入口23に送られ、試料は可撓性壁部セクションを使用してチャンネルのゾーン1に吸入される。任意には、液体試料は、ゾーン1において脈動されて、ゾーン1内の固定化した要素17を溶解又は再懸濁する。その後、液体試料は、ゾーン2において固定化した要素17を溶解又は再懸濁するためにチャンネル21内へとさらにゾーン2まで引き込まれる。予め選択された温置時間後には、液体試料は、シンク24内に完全に引き込まれる。磁性粒子は、読出しゾーン3において固定化される。所望に応じて、液体試料は、シンク24の可撓性壁部を使用することによりチャンネル21に再導入され、固定化された磁性粒子は、液体試料を使用してフラッシングされることにより固定化されない蛍光体及びノイズを発生させる恐れのある他の要素を除去し得る。

20

【0184】

図5は、マイクロ流体デバイス31を支持する支持要素32と、エミッタ38と、コンピュータ34に結合されたリーダ39とを備える、本発明のシステムを示す。マイクロ流体デバイスは、読出しセクション36を備える。支持要素32は、検査中に所望の温度に液体試料を維持するための温度制御素子35を備える。支持要素32は、磁石33をさらに備える。マイクロ流体デバイスは、磁石が読出しセクション36に隣接して配置されることにより読出しセクション36の磁性粒子を一時的に固定化するように、配置される。エミッタ38は、読出しセクション36に向けられた電磁放射を発することにより固定化した磁性粒子上の蛍光体を励起するように構成される。リーダ39は、固定化した磁性粒子により捕獲された蛍光体から発せられる信号を読み取るように構成され、読み取られた信号は、標的成分の定量的判定及び/又は定性的判定のための処理を行うコンピュータ34に送出される。

30

【0185】

図6は、本発明における使用に適した量子ドットの形態の蛍光体を示す。量子ドットは、透過性シェル42によって覆われた二元半導体合金のコア41を備え、この透過性シェル42は、コアにより発せられる波長に対する透過性を少なくとも有する。シェル42は、例えば上述などの磁性粒子の捕獲部位に結合し得る1つ又は複数の図示しない成分に固着する、ポリマー・コーティングなどの有機コーティング43によりさらに覆われる。

40

【0186】

図7a、図7b、及び図7cは、3つの工程における本発明の方法の実施を示す。工程1は、図7aに示される。標的成分51を含む試料が、同族体標的成分53に結合された蛍光体52と混合される。同族体標的成分53に結合された蛍光体52に対する標的成分51の相対量は、比較的低い。工程2は、図7bに示される。標的成分51と同族体標的成分53に結合された蛍光体52との混合物が、標的成分51及び同族体標的成分53の捕獲部位55を担持する磁性粒子54とさらに混合される。工程3は、図7cに示される。標的成分51及び同族体標的成分53は、磁性粒子54により担持された捕獲部位55により捕獲される。図示する例においては、同族体標的成分53のみが捕獲部位55によ

50

り捕獲される。これは、捕獲される同族体標的成分 5 3 の量が比較的高く、したがって固定化される蛍光体 5 2 の量が比較的高いことを説明するために図示される。磁性粒子 5 4 が透過性窓に隣接して配置された磁石を使用して固定化され、蛍光体 5 2 が励起されると、蛍光体 5 2 から発せられる信号は比較的高く、標的成分 5 1 の量が判定され得る。

【 0 1 8 7 】

図 8 a、図 8 b、及び図 8 c は、3つの工程における本発明の方法の別の実施を示す。工程 1 は、図 8 a に示される。標的成分 6 1 を含む試料が、同族体標的成分 6 3 に結合された蛍光体 6 2 と混合される。同族体標的成分 6 3 に結合された蛍光体 6 2 に対する標的成分 6 1 の相対量は、比較的高い。工程 2 は、図 8 b に示される。標的成分 6 1 と同族体標的成分 6 3 に結合された蛍光体 6 2 との混合物は、標的成分 6 1 及び同族体標的成分 6 3 の捕獲部位 6 5 を担持する磁性粒子 6 4 とさらに混合される。工程 3 は、図 8 c に示される。標的成分 6 1 及び同族体標的成分 6 3 は、磁性粒子 6 4 により担持された捕獲部位 6 5 により捕獲される。この図においては、捕獲された標的成分 6 1 の量が比較的高く、したがって固定化した磁性粒子 6 2 の量が比較的低いか又は全く存在しない場合があり、磁石を使用して磁性粒子 6 4 が透過性窓に隣接して固定化され、蛍光体 6 2 が励起されている場合に、蛍光体 6 2 から発せられる信号が比較的低いか又は存在せず、標的成分 6 1 の量が判定され得ることを説明するために、捕獲部位 6 5 により捕獲された標的成分 6 1 のみが図示される。

【 0 1 8 8 】

図 9 に示すエミッタ・リーダ・アセンブリは、各波長の蛍光体を励起するための各中心波長を有する複数の図示しないダイオードを備えるケーシング 9 0 であるか、又はケーシング 9 0 を備える。エミッタ・リーダ・アセンブリは、マイクロ流体デバイスにおいて一時的に固定化された磁性粒子に結合された図示しない蛍光体に光を案内するために各ダイオードと光連通状態にある複数の光ファイバを備えるエミッタ・ファイバ束 9 1 をさらに備える。エミッタ・ファイバ束 9 1 は、光 9 9 が発せられる光ファイバのエミッタ出力端部 9 3 に隣接する位置に長さセクション 9 2 を有する。

【 0 1 8 9 】

長さセクション 9 2 において、エミッタ束 9 1 は、長さセクションが共通エミッタ・リーダ長さセクション 9 2 になるように、リーダ・ファイバ束 9 6 と合体される。共通エミッタ・リーダ長さセクション 9 2 は、スリーブ 9 4 により共に保持される。リーダ・ファイバ束 9 6 は、蛍光体から光信号 9 9 を受領するように構成されたリーダ入力端部 9 5 を有する複数の光ファイバを備える。リーダ・ファイバ束 9 6 は、コネクタ 9 7 に固定され、例えば別のファイバ束などの形態の導波管 9 8 により、例えば分光器などの図示しない読取りユニットに固着される。

【 0 1 9 0 】

エミッタ出力端部 9 3 及びリーダ入力端部 9 5 は、有利には所定のパターンで配置される。所定のパターンは、有利には高い励起率及び高い読取り率を実現するようになど選択される。エミッタ出力端部 9 3 及びリーダ入力端部 9 5 は、有利には例えば磁性粒子を固定化する際に磁石が配置された位置など、透過性窓に直に隣接して、及び/又は磁石に直に隣接して位置決めされる。

(実施例)

(実施例 1)

スクリーニング・テスト

乳試料が、標的検体であるアンピシリンに関してスクリーニングされる。

【 0 1 9 1 】

図 5 に示すシステムが使用される。マイクロ流体デバイスは、図 4 のマイクロ流体デバイスと同様のカートリッジの形態であるが、5つの各流路チャンネルが入口ウェルを有する各入口を有するという相違点を伴う。適用される磁石は、読取りゾーンで磁性粒子を固定化するように構成された永久磁石である。

【 0 1 9 2 】

10

20

30

40

50

これらのチャンネルは、シンク・セクション4と流体連通状態にあり、このシンク・セクションと共に、5つのゾーンを、すなわち入口ゾーン0、一時的に固定化された磁性粒子を有するゾーン1、一時的に固定化された蛍光体を有するゾーン2、透過性窓を有する読取りゾーン3、ならびに可撓性壁部及びシンク・セクションを有するゾーン4を有する。

【0193】

別個の入口を有する5つの別個の流路チャンネルを有することにより、5つの異なる試料を同時にスクリーニングすることが可能となる。

一時的に固定化された磁性粒子は、タンパクGに担持された (loaded) アンピシリン抗体を含むキアゲン社 (Qiagen) の $1.5 \mu\text{m}$ BioMag Protein G 磁性粒子である。緩衝液中の $1 \mu\text{L}$ の 0.4 重量% 磁性粒子溶液が、チャンネル (ゾーン1) 内に配置され、ドライダウンされる。

【0194】

一時的に固定化された蛍光体は、アンピシリンを担持した Invitrogen の Qdot 655 Biotin Conjugate である。Qdot 655 の $1 \mu\text{L}$ の 15 nM 緩衝溶液が、チャンネル (ゾーン2) 内に配置され、ドライダウンされる。

【0195】

内部基準信号として、アデムテック社 (Ademtech) の Bio-Adembeads Streptavidin 磁性ビーズが、Invitrogen の Qdot 605 Biotin Conjugate で標識される。

【0196】

Bio-Adembeads Streptavidin 磁性ビーズは、蛍光体ゾーン (ゾーン2) 内に配置される。

これらの検査は以下の通りに実施される。

【0197】

5つの異なる乳試料が、カートリッジ上の5つの入口ウェルにロードされる。各試料は、カートリッジの各チャンネルに引き込まれ、ゾーン1において磁性粒子を再懸濁する。温置が、固定化された磁性粒子を備える部位で20秒間にわたり流れを循環させることにより実施されることによって、これらが再懸濁され、磁性粒子による露出された試料ボリューム中の標的検体の捕獲が可能となる。次いで、試料は、カートリッジのチャンネル内へとさらにゾーン2まで引き込まれ、Qdotを再懸濁する。温置が、20秒間にわたり流れを循環させることにより再度実施される。最後に、試料は、シンク・セクション4内に引き込まれ、これにより、試料の通過中に磁石に接近する磁性粒子は、読取りゾーンにおいて固定化される。

【0198】

磁性粒子は励起波長を被り、発せられる信号が記録される。

655 nm にて記録された信号は、 605 nm にて記録された信号で正規化され得る。結果的に得られる信号は、各試料が標的検体を含むか否かを示すことになる。

(実施例2)

1つの標的検体の定量的判定

マウス血清が、マウス IgG に関して検査される。これらの試料は、緩衝液中でマウス血清を希釈することにより調製される。

【0199】

図5に示すようなシステムが使用される。マイクロ流体デバイスは、図4のマイクロ流体デバイスと同様のカートリッジの形態であるが、マイクロ流体デバイスが入口ウェルを有する共通入口を有する2つの流路チャンネルを備え、マイクロ流体デバイスがこれらの流路チャンネルと流体連通状態にある共通シンク・セクションを備えるという相違点を伴う。マイクロ流体デバイスは、これらの流路チャンネルに共通の可撓性壁部セクションをさらに備える。この実施例では、流路チャンネル及び流路チャンネル内への配置が本質的に同一である点が重要となる。

【0200】

10

20

30

40

50

適用される磁石は、読取りゾーンで磁性粒子を固定化するように構成された永久磁石である。

シンク・セクション4と流体連通状態にあるこれらのチャンネルは、5つのゾーンを、すなわち共通入口ゾーン0、一時的に固定化された蛍光体を有するゾーン1、一時的に固定化された磁性粒子を有するゾーン2、透過性窓を有する読取りゾーン3、ならびに可撓性壁部及びシンク・セクションを有する共通ゾーン4を有する。この実施例の磁性粒子ゾーン及び蛍光体ゾーンは、実施例1のそれらのゾーンの順序とは逆になる点に留意されたい。

【0201】

別個の入口を有する5つの別個の流路チャンネルを有することにより、5つの異なる試料を同時にスクリーニングすることが可能となる。

一時的に固定化された磁性粒子は、タンパクGに担持されたマウスIgGを含むキアゲン社(Qiagen)の1.5 μ m Biomag Protein G 磁性粒子である。緩衝液中の1 μ Lの0.4重量%磁性粒子溶液が、チャンネル(ゾーン2)内に配置され、ドライダウンされる。

【0202】

一時的に固定化された蛍光体は、InvitrogenのQdot 655 Goat F(ab')₂ anti-Mouse IgG Conjugate (H+L)である。Qdot 655の1 μ Lの15nM緩衝溶液が、チャンネル(ゾーン1)内に配置され、ドライダウンされる。

【0203】

さらに、洗浄剤の形態の表面活性剤が、シンク・セクションに配置される。

これらの検査は以下の通りに実施される。

試料が、ウェル内に配置され、カートリッジのチャンネルに引き込まれ、ゾーン1にてQdotを再懸濁する。温置が、固定化されたQdotの部位で20秒間にわたり流れを循環させることにより実施されることによって、これらが再懸濁される。次いで、試料は、カートリッジのチャンネル内へとさらに引き込まれ、ゾーン2において固定化された磁性粒子を再懸濁し、また同時に磁性粒子は、検体及びQdotを捕獲することになる。検体及びQdotは、磁性粒子の捕獲部位に関して競合することになる。温置が、20秒間にわたり流れを循環させることにより再度実施される。最後に、試料は、シンク・セクション内に引き込まれ、これにより、試料の通過中に磁石に接近する磁性粒子は、読取りゾーンにおいて固定化される。シンク・セクションでは、ドライダウンされた洗浄剤が溶解され、それにより試料の表面張力が低下する。バックグラウンド・ノイズを軽減するために、試料は、最終的にはチャンネル内に押し戻され、そこで固定化されない試料の読取りゾーンをフラッシングするが、読取り部位に信号を含む磁性粒子を残す。洗浄剤は、流体システムのフラッシングを向上させる。

【0204】

磁性粒子は励起波長を被り、発せられる信号が記録される。

取得した信号を例えば較正曲線などの上述のような基準スケジュールと比較することにより、定量的判定を得ることができる。

(実施例3)

2つの標的検体の定量的判定

乳試料が、標的検体のアンピシリン及び標的検体のテトラサイクリンに関して検査される。

【0205】

図5に示すシステムが使用される。マイクロ流体デバイスは、図4のマイクロ流体デバイスと同様のカートリッジの形態であるが、マイクロ流体デバイスが、入口ウェルを有する共通入口と共通可撓性壁部セクションとを有し、共通シンク・セクションと流体連通状態にある2つの流路チャンネルを備えるという相違点を伴う。この実施例では、流路チャンネル及び流路チャンネル内への配置が、精度向上のために本質的に同一であることが望ましい

10

20

30

40

50

。

【0206】

適用される磁石は、読取りゾーンで磁性粒子を固定化するように構成された永久磁石である。

シンク・セクション4と流体連通状態にあるこれらのチャンネルは、5つのゾーンを、すなわち共通入口ゾーン0、一時的に固定化された磁性粒子を有するゾーン1、一時的に固定化された蛍光体を有するゾーン2、透過性窓を有する読取りゾーン3、ならびに可撓性壁部及びシンクを有する共通ゾーン4を有する。

【0207】

一時的に固定化された磁性粒子は、タンパクGに担持されたアンピシリン抗体を含むキアゲン社 (Qiagen) の $1.5 \mu\text{m}$ Biomag Protein G 磁性粒子、及びタンパクGに担持されたテトラサイクリン抗体を含むキアゲン社 (Qiagen) の $1.5 \mu\text{m}$ Biomag Protein G 磁性粒子である。緩衝液中の $1 \mu\text{L}$ の 0.2 重量%の各磁性粒子溶液が、チャンネル(ゾーン1)内に配置され、ドライダウンされる。

10

【0208】

一時的に固定化された蛍光体は、アンピシリンを担持した Invitrogen の Qdot 655 Biotin Conjugate、及びテトラサイクリン抗体を担持した Invitrogen の Qdot 605 Biotin Conjugate である。両 Qdot の $1 \mu\text{L}$ の 7.5 nM 緩衝溶液が、チャンネル(ゾーン2)内に配置され、ドライダウンされる。

20

【0209】

これらの検査は以下の通りに実施される。

試料が、ウェル内に配置され、カートリッジのチャンネル内に引き込まれ、ゾーン1にて磁性ビーズを再懸濁する。温置が、固定化された磁性粒子の部位で20秒間にわたり流れを循環させることにより実施されることによって、これらが再懸濁され、磁性粒子による露出された試料ポリウム中の標的検体の捕獲が可能となる。次いで、試料は、カートリッジのチャンネル内へとさらに引き込まれ、ゾーン2においてQdotを再懸濁する。温置が、20秒間にわたり流れを循環させることにより再度実施される。最後に、試料は、シンク・セクション内に引き込まれ、これにより、試料の通過中に磁石に接近する磁性粒子は、読取りゾーンにおいて固定化される。磁性粒子は、励起波長を被り、発せられる信号が記録される。

30

【0210】

655 nm にて記録された信号は、試料中におけるアンピシリンの含有量に相関づけられる。 605 nm にて記録された信号は、試料中におけるテトラサイクリンの含有量に相関づけられる。

(実施例4)

全血中の1つの標的検体の定量的判定

全血がCRPに関して検査される。試料は希釈されない。

【0211】

図5に示すようなシステムが使用される。マイクロ流体デバイスは、図4のマイクロ流体デバイスと同様のカートリッジの形態であるが、マイクロ流体デバイスが入口ウェルを有する共通入口を有し、共通可撓性壁部セクションを有し、共通シンク・セクションと流体連通状態にある2つの流路チャンネルを備えるという相違点を伴う。この実施例では、流路チャンネル及び流路チャンネル内への配置が、本質的に同一であることが重要となる。

40

【0212】

適用される磁石は、読取りゾーンで磁性粒子を固定化するように構成された永久磁石である。

シンク・セクション4と流体連通状態にあるこれらのチャンネルは、5つのゾーンを、すなわち共通入口ゾーン0、一時的に固定化された蛍光体を有するゾーン1、一時的に固定

50

化された磁性粒子を有するゾーン2、透過性窓を有する読取りゾーン3、ならびに可撓性壁部及びシンク・セクションを有する共通ゾーン4を有する。別個の入口を有する5つの別個の流路チャンネルを有することにより、5つの異なる試料を同時にスクリーニングすることが可能となる。

【0213】

一時的に固定化された磁性粒子は、タンパクGに担持されたCPRを含むキアゲン社(Qiagen)の1.5 μ m Biomag Protein G 磁性粒子である。緩衝液中の1 μ Lの0.4重量%磁性粒子溶液が、チャンネル(ゾーン2)内に配置され、ドライダウンされる。

【0214】

一時的に固定化された蛍光体は、CRP抗体を担持したInvitrogenのQdot 655 Biotin Conjugateである。Qdot 655の1 μ Lの15nM緩衝溶液が、チャンネル(ゾーン1)内に配置され、ドライダウンされる。

【0215】

これらの検査は以下の通りに実施される。

試料が、ウェル内に配置され、カートリッジ内に引き込まれ、ゾーン1にてQdotを再懸濁する。温置が、固定化されたQdotの部位で40秒間にわたり流れを循環させることにより実施される。次いで、試料は、カートリッジのチャンネル内へとさらに引き込まれ、固定化された磁性ビーズを再懸濁し、また同時に磁性粒子は、検体及びQdotを捕獲することになる。検体及びQdotは、磁性粒子の捕獲部位に関して競合することになる。温置が、40秒間にわたり流れを循環させることにより再度実施される。最後に、試料は、シンク・セクション内に引き込まれ、これにより、試料の通過中に磁石に接近する磁性粒子は、読取りゾーンにおいて固定化される。

【0216】

磁性粒子は励起波長を被り、発せられる信号が記録される。

取得した信号を例えば較正曲線などの上述のような基準スケジュールと比較することにより、定量的判定を得ることができる。

(実施例5)

実施例1が、水で希釈された粉碎牛肉抽出物を使用して繰り返される。それぞれ異なる希釈度の試料が適用される。

(実施例6)

実施例2が、ウェルに試料を配置しカートリッジのチャンネル内にそれを引き込む前に、試料が磁性粒子及び蛍光体と混合されるという相違点を伴いつつ繰り返される。

【0217】

マウス血清は、緩衝液中で希釈され、バイアル内で磁性粒子溶液及び量子ドット溶液と混合され、ウェル内への配置及びチャンネルへの導入前に5分間にわたって温置される。

試料は、シンク・セクション内に即座に引き込まれ得るため、これにより、試料の通過中に磁石に接近する磁性粒子は、読取りゾーンにおいて固定化される。

(実施例7)

実施例2が、シンク・セクションからチャンネル内に試料を押し込んで読取りゾーンの固定化されない試料をフラッシングするが、読取り部位にて信号を含む磁性粒子を残すことにより、システムが試料でフラッシングされるといふ相違点を伴いつつ繰り返される。

【0218】

システムがフラッシングされると、読出しモジュールが、1つのチャンネルの上方に位置決めされる。Qdotは420LEDを使用して励起され、放出されるスペクトルが記録される。PC上で動作するアルゴリズムが、655nm及び605nmでのピーク光強度を認識及び記録する。次いで、読出しモジュールは、次のチャンネルの上方に位置決めされる。

【0219】

前述ではいくつかの好適な実施形態を示したが、本発明はこれらに限定されず、以下の

10

20

30

40

50

特許請求の範囲で規定される主題に含まれる他の方法で具現化され得る点に留意されたい。

【図 1 a】

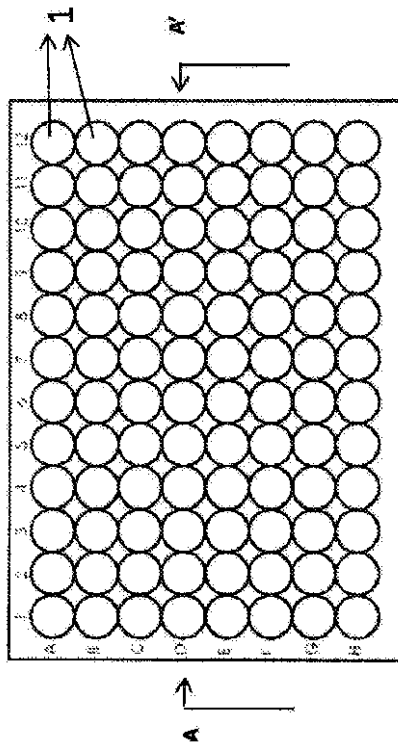


FIG. 1a

【図 1 b】

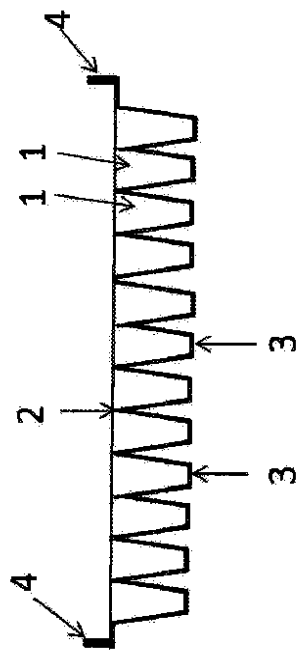
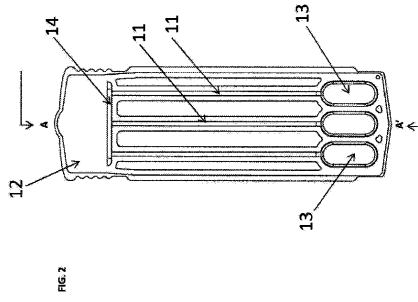
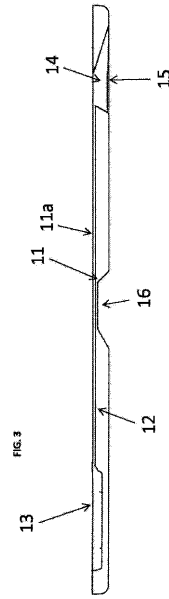


FIG. 1b

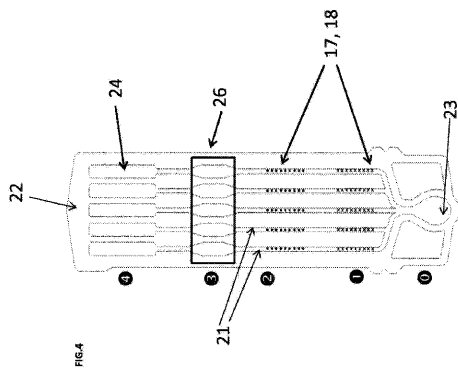
【 図 2 】



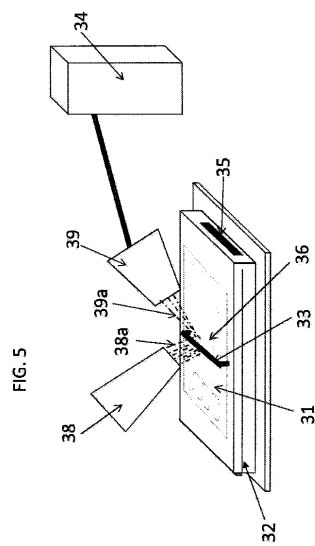
【 図 3 】



【 図 4 】

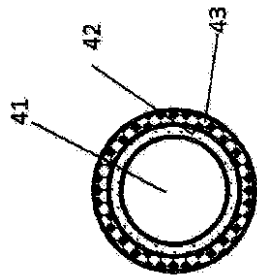


【 図 5 】

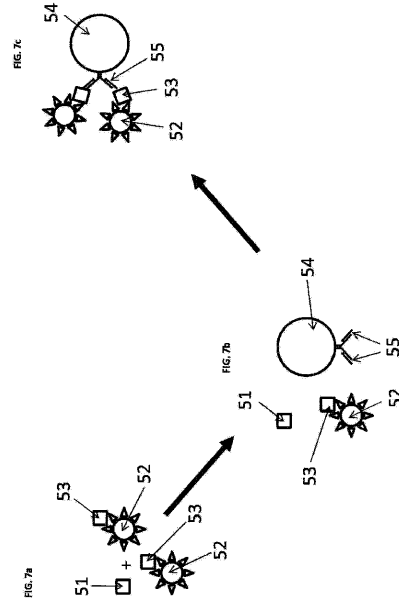


【 図 6 】

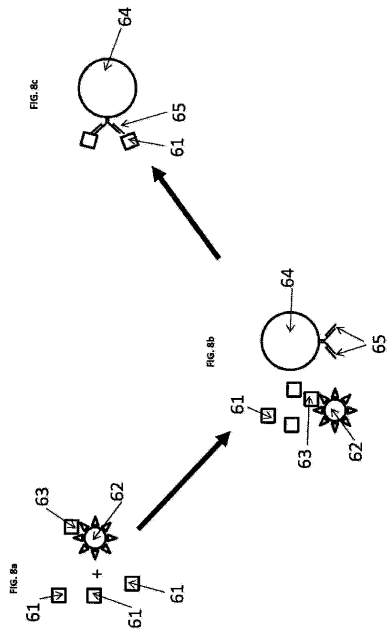
FIG. 6



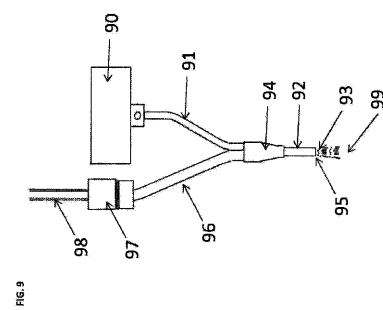
【 図 7 a - 7 c 】



【 図 8 a - 8 c 】



【 図 9 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/DK2013/050208
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/543 (2006.01), G01N 33/58 (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) IPC&CPC: G01N Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched DK, NO, SE, FI: Classes as above. Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPODOC, WPI, FULL TEXT: ENGLISH, XPESP, MEDLINE, NPL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 20040043512 (SONG, X. et al.) 2004.03.04 Abstract; [0007]-[0018], [0046], [0051]; Figures 1, 10; Example 4; claims 1-35	1-78
X	WO 2007092713 A2 (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA [US]) 2007.08.16 Abstract; page 5, line 5 – page 7, line 19; Figures 1a, 1b; claims 1, 4-6, 12, 16, 29-30, 35	1-78
X	EP 2287611 A1 (FUJIFILM CORPORATION [JP]) 2011.02.23 Abstract; claim 1; Figures 6, 7A, 7B, 8-9	1-78
X	US 4331337 (LUOTOLA, J.E.I. et al.) 1998.03.15 Cited in the application Abstract; claims 1-4, 17-18	1-78
A	CHAN, M.-L. et al.: "Magnetic scanometric DNA microarray detection of methyl tertiary butyl ether degrading bacteria for environmental monitoring", BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS (2011), Vol. 26, pages 2060-2066 Whole document	
<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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "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 "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
10/09/2013		12/09/2013
Name and mailing address of the ISA Nordic Patent Institute Helgeshøj Allé 81 DK - 2630 Taastrup, Denmark. Facsimile No. + 45 43 50 80 08		Authorized officer Tine Haarmark Nielsen Telephone No. +45 43 50 80 57

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DK2013/050208

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HENARES, T.G. et al.: "Current development in microfluidic immunosensing chip", ANALYTICA CHIMICA ACTA (2008), Vol. 611, pages 17-30 Whole document	
A	YANG, S.-Y. et al.: "Micro flow cytometry utilizing a magnetic bead-based immunoassay for rapid virus detection". BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS (2008), Vol. 24, pages 855-862 Whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DK2013/050208

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.: 1-78 (all partly)

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:

See extra sheet

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:

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/DK2013/050208

Continuation of Box II, 2.:

Present claims 1-78 relate to an extremely large number of possible methods/assays/devices. Support and disclosure in the sense of Article 6 and 5 PCT is to be found however for only a very small proportion of the methods/assays/devices claimed, see example 1-7 and figures 7a-7c and 8a-8c, namely immunobinding assays for biological material. Thus, the search has been restricted to the subject matter of the present claims relating to immunobinding assays for biological material.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/DK2013/050208

Patent document cited in search report / Publication date	Patent family member(s) / Publication date
US 2004043512 A1 2004.03.04	WO 2004021003 A1 2004.03.11 CA 2495075 A1 2004.03.11 AU 2003237485 A1 2004.03.19 MXPA 05001680 A 2005.04.19 EP 1532448 A1 2005.05.25 KR 20050062528 A 2005.06.23 CN 1675544 A 2005.09.28 AT 386936T T 2008.03.15 ES 2300590T T3 2008.06.16 DE 60319230T T2 2009.03.12
WO 2007092713 A2 2007.08.16	NONE
EP 2287611 A1 2011.02.23	US 2011025315 A1 2011.02.03 JP 2011033454 A 2011.02.17 CN 101988922 A 2011.03.23
US 4731337 A 1988.03.15	FI 852881 A 1986.01.27 EP 0169434 A2 1986.01.29 JPS 6141966 A 1986.02.28 AT 67858T T 1991.10.15

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 35/08 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	K
G 0 1 N 35/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 21/78 (2006.01)	G 0 1 N 35/08	A
	G 0 1 N 35/00	B
	G 0 1 N 21/78	C

(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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, 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, PA, 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

(72)発明者 オーヴァーバイ、ベント

デンマーク国 DK - 2 6 0 0 グロストルブ エーダルスヴァイ 5 0

(72)発明者 パウ - マドセン、ニールズ クリスチアン

デンマーク国 DK - 2 9 0 0 ヘレルブ エガースヴァイ 4 5

Fターム(参考) 2G054 AA02 AA07 AA08 AB01 AB05 BB01 BB05 BB10 BB13 CA22
CA23 CA25 CA28 CD03 CE02 EA03 EB01 FA07 FA09 FA16
FA32 FA37 GA01 GA02 GA03 GA04 GA05 JA05 JA06
2G058 CC02 EA16 EB17 GA02

专利名称(译)	用于定量或定性测定目标组分的方法和系统		
公开(公告)号	JP2015521735A	公开(公告)日	2015-07-30
申请号	JP2015517612	申请日	2013-06-21
[标]申请(专利权)人(译)	斯堪的纳维亚微生物设备师祖荣个基点		
申请(专利权)人(译)	北欧潘德微バイオデバイスズ鯉鱼电线工业		
[标]发明人	ヘラーマーティン オーヴァーバイベント パウマドセンニールズクリスチアン		
发明人	ヘラー、マーティン オーヴァーバイ、ベント パウ-マドセン、ニールズ クリスチアン		
IPC分类号	G01N33/543 G01N37/00 G01N33/553 G01N33/569 G01N33/53 G01N35/08 G01N35/00 G01N21/78		
CPC分类号	B01L3/502761 B01L2200/0668 B01L2300/0816 B01L2300/087 B01L2400/043 B01L2400/0481 B01L2400/049 B82Y15/00 G01N21/6428 G01N21/6489 G01N33/5005 G01N33/53 G01N33/54326 G01N33/569 G01N33/582 G01N33/587 G01N33/588 G01N2021/6441 G01N2021/6484 G01N2033 /0095 B01L3/502715 B01L3/50273 B01L2300/0654 B01L2300/0663 B01L2300/0877 B01L2300/123 B01L2300/18 G01N33/04 G01N33/12 G01N33/54333 G01N33/54386 G01N2021/6439		
FI分类号	G01N33/543.511.F G01N37/00.101 G01N33/553 G01N33/543.575 G01N33/569.B G01N33/53.K G01N33/53.D G01N35/08.A G01N35/00.B G01N21/78.C		
F-TERM分类号	2G054/AA02 2G054/AA07 2G054/AA08 2G054/AB01 2G054/AB05 2G054/BB01 2G054/BB05 2G054 /BB10 2G054/BB13 2G054/CA22 2G054/CA23 2G054/CA25 2G054/CA28 2G054/CD03 2G054/CE02 2G054/EA03 2G054/EB01 2G054/FA07 2G054/FA09 2G054/FA16 2G054/FA32 2G054/FA37 2G054 /GA01 2G054/GA02 2G054/GA03 2G054/GA04 2G054/GA05 2G054/JA05 2G054/JA06 2G058/CC02 2G058/EA16 2G058/EB17 2G058/GA02		
代理人(译)	昂达诚		
优先权	201270353 2012-06-22 DK		
其他公开文献	JP6301322B2 JP2015521735A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于定量或定性测定液体样品中的目标组分的方法和系统。该方法包括：i) 在其各自的表面上提供多个磁性颗粒，所述磁性颗粒包括用于目标组分的一个或多个捕获位点；ii) 提供多个荧光团，其配置成与磁性粒子的捕获位点结合；iii) 使液体样品与包含透明窗口的微流体装置的流动通道中的荧光团和磁性颗粒接触；iv) 至少暂时使用磁铁固定邻近透明窗口的磁性颗粒，向固定的磁性颗粒发射激发的电磁束，读取由固定的磁性颗粒捕获的荧光团发出的信号，并对目标进行定量或定性测定基于读信号的分量。本发明还涉及用于该方法/系统的合适的微流体装置和用于制备液体样品的试剂盒。

(21) 出願番号	特願2015-517612 (P2015-517612)	(71) 出願人	514325295
(86) (22) 出願日	平成25年6月21日 (2013. 6. 21)		スカンジナビアン マイクロ ハイオデバ
(85) 翻訳文提出日	平成27年1月30日 (2015. 1. 30)		イシズ エイビーエス
(86) 国際出願番号	PCT/DK2013/050208		SCANDINAVIAN MICRO
(87) 国際公開番号	WO2013/189502		BIODEVICES APS
(87) 国際公開日	平成25年12月27日 (2013. 12. 27)		デンマーク国 DK-3520 ファール
(31) 優先権主張番号	PA201270353		ム ガンメルガーズヴァイ 87セ
(32) 優先日	平成24年6月22日 (2012. 6. 22)	(74) 代理人	100105957
(33) 優先権主張国	デンマーク (DK)		弁理士 恩田 誠
		(74) 代理人	100068755
			弁理士 恩田 博宣
		(72) 発明者	ヘラー、マーティン
			デンマーク国 DK-2860 セーボー
			プディングヴァイ 354 2. テホ
			最終頁に続く