

(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2008-541052

(P2008-541052A)

(43) 公表日 平成20年11月20日 (2008. 11. 20)

(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 9 3	
GO 1 N 33/53 (2006. 01)	GO 1 N 33/53 U	
GO 1 N 9/00 (2006. 01)	GO 1 N 33/53 A	
	GO 1 N 9/00 C	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 55 頁)

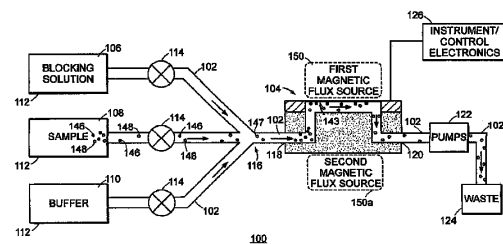
(21) 出願番号	特願2008-510128 (P2008-510128)	(71) 出願人	507255101
(86) (22) 出願日	平成18年5月2日 (2006. 5. 2)		バイオスケール・インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成20年1月4日 (2008. 1. 4)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州02 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/016809		3 9, ケンブリッジ, シドニー・ストリー
(87) 国際公開番号	W02007/030155		ト 7 5
(87) 国際公開日	平成19年3月15日 (2007. 3. 15)	(74) 代理人	100089705
(31) 優先権主張番号	60/676, 759		弁理士 社本 一夫
(32) 優先日	平成17年5月2日 (2005. 5. 2)	(74) 代理人	100140109
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	60/690, 592	(74) 代理人	100075270
(32) 優先日	平成17年6月15日 (2005. 6. 15)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100080137
(31) 優先権主張番号	11/183, 484		弁理士 千葉 昭男
(32) 優先日	平成17年7月18日 (2005. 7. 18)	(74) 代理人	100096013
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 音響デバイスを用いてアナライトを検出する方法及び装置

(57) 【要約】

サンプルの中のアナライトを検出する方法が提供される。検出対象であるアナライトに対して親和性を有するキャプチャ・エージェントでそれぞれがコーティングされた複数の粒子がサンプルと結合して複数のアナライト粒子複合体が形成される。このシステムは、また、サンプル及び／又は粒子をセンサ表面まで輸送する輸送手段を含み、更にはオプションルではあるが、センサ表面の近傍におちえ磁場を生じるように構築され構成された磁場誘導構造を含む。共鳴センサがセンサ表面と結合するアナライト粒子複合体の量に対応する信号を生じる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプルの中に 1 又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出する方法であって、

a) キャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は第 1 のアナライトが結合された音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記表面に引き寄せるステップと、

c) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより 1 又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 2】

請求項 1 記載の方法において、前記音響デバイスはたわみ板波デバイスであることを特徴とする方法。

【請求項 3】

請求項 1 記載の方法において、前記磁束はステップ c) の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 4】

請求項 1 記載の方法において、ステップ c) の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

20

【請求項 5】

請求項 1 記載の方法において、前記複数の磁性粒子は前記流体チャンバの中に導入される前に前記サンプルに露出されることを特徴とする方法。

【請求項 6】

請求項 1 記載の方法において、前記サンプルは前記複数の磁性粒子を導入する前に前記流体チャンバの中に導入されることを特徴とする方法。

【請求項 7】

請求項 1 記載の方法において、前記サンプルは生体サンプルであることを特徴とする方法。

【請求項 8】

請求項 6 記載の方法において、前記生体サンプルは、唾液、喀痰、脳脊髄液、血液、血清、血漿、尿及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

30

【請求項 9】

請求項 4 記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

【請求項 10】

請求項 4 記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項 11】

請求項 4 記載の方法において、前記制御信号は、

a) キャプチャ・エージェントでコーティングされた第 2 の複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は第 2 のアナライトが結合された音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記第 2 の複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記表面に引き寄せるステップと、

c) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタするステップと、
によって取得されることを特徴とする方法。

40

【請求項 12】

請求項 11 記載の方法において、前記第 1 及び第 2 のアナライトは同一の化学構造を有することを特徴とする方法。

【請求項 13】

50

請求項 1 1 記載の方法において、前記第 1 及び／又は第 2 のアナライトはより大きな分子の一部であることを特徴とする方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 記載の方法において、前記アナライトは前記表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 記載の方法において、前記表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記アナライトは前記結合ペアの第 2 のメンバに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン及びビオチン／ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 1 8】

サンプルの中に 1 又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出する方法であって、

a) 競合分子 (competitor molecule) と複数の磁性粒子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記磁性粒子は前記アナライトと結合することができる第 1 のキャプチャ・エージェントでコーティングされており、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は前記競合分子と結合することができる第 2 のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記表面に引き寄せるステップと、

c) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより 1 又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 8 記載の方法において、前記流体チャンバの中に導入される前に、前記複数の磁性粒子は前記サンプルと前記競合分子とに露出されることを特徴とする方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 記載の方法において、前記競合分子はタグに結合されたアナライトを含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記タグに結合することができることを特徴とする方法。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 記載の方法において、前記タグはビオチンであることを特徴とする方法。

【請求項 2 2】

請求項 2 0 記載の方法において、前記競合分子はキャリアに結合された 2 以上のアナライト分子を含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記アナライトを結合することを特徴とする方法。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 記載の方法において、前記キャリアは、ホースラディッシュ・ペロキシダーゼとアルブミンとで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 2 4】

請求項 1 8 記載の方法において、前記サンプルと前記競合分子とは前記複数の磁性粒子を導入する前に前記流体チャンバの中に導入されることを特徴とする方法。

【請求項 2 5】

請求項 1 8 記載の方法において、前記サンプルは生体サンプルであることを特徴とする方法。

【請求項 2 6】

請求項 25 記載の方法において、前記生体サンプルは、唾液、喀痰、脳脊髄液、血液、血清、血漿、尿及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 27】

請求項 18 記載の方法において、ステップ c) の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 28】

請求項 27 記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

【請求項 29】

請求項 27 記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項 30】

請求項 27 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは前記表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 31】

請求項 30 記載の方法において、前記表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記キャプチャ・エージェントは前記結合ペアの第 2 のメンバに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 32】

請求項 31 記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン及びビオチン／ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 33】

請求項 18 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 34】

個人における薬剤用量を調整すべきかどうかを判断する方法であって、

a) サンプルの中に 1 又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出するステップであって、

i) キャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は第 1 のアナライトが結合している音響デバイスを含む、ステップと、

i i) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記表面に引き寄せるステップと、

i i i) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより 1 又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、

を含むステップと、

b) 前記サンプルの中の前記 1 又は複数のアナライトのレベルに基づいて前記薬剤用量を調整すべきかどうかを判断するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 35】

キャプチャ・エージェントを結合することができるアナライトを検出する方法であって、

a) 異なる複数のアナライトでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面はキャプチャ・エージェントが結合された音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタするステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 36】

10

20

30

40

50

請求項 35 記載の方法において、前記音響デバイスはたわみ板波デバイスであることを特徴とする方法。

【請求項 37】

請求項 35 記載の方法において、前記複数の粒子は磁性体であり、前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ前記複数の粒子の中の少なくとも 1 つを前記表面に引き寄せるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 38】

請求項 35 記載の方法において、前記複数の粒子を用意するステップを更に含み、この前記複数の粒子を用意するステップは、前記複数の粒子が別のアナライトでコーティングされた粒子を含むように粒子をアナライトの集団に露出するステップを含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 39】

請求項 35 記載の方法において、前記複数の粒子を用意するステップを更に含み、この前記複数の粒子を用意するステップは、前記複数の粒子の表面にアナライトを合成するステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 40】

サンプルにおいてエストラジオールを検出する方法であって、

a) エストラジオールを結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面はエストラジオールが結合された音響デバイスを含む、ステップと、

20

b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記サンプルの中でエストラジオールを検出するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 41】

請求項 40 記載の方法において、前記音響デバイスはたわみ板波デバイスであることを特徴とする方法。

【請求項 42】

請求項 40 記載の方法において、基準と比較されたエストラジオールの増加レベルが当該個人が乳ガンを発生している蓋然性が高いことを示すことを特徴とする方法。

30

【請求項 43】

請求項 40 記載の方法において、前記複数の粒子は前記流体チャンバの中に導入される前に前記サンプルに露出されることを特徴とする方法。

【請求項 44】

請求項 40 記載の方法において、前記サンプルは前記複数の粒子を導入する前に前記流体チャンバの中に導入されることを特徴とする方法。

【請求項 45】

請求項 40 記載の方法において、前記複数の粒子は磁性体であり、前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記少なくとも 1 つの表面に引き寄せるステップを更に含むことを特徴とする方法。

40

【請求項 46】

請求項 45 記載の方法において、前記磁束はステップ b) の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 47】

請求項 40 記載の方法において、前記エストラジオールは約 10 pg/ml の濃度で前記サンプルの中に存在することを特徴とする方法。

【請求項 48】

請求項 40 記載の方法において、前記エストラジオールは、フリー・エストラジオール、性ホルモン結合グロブリン (SHBG) が結合されたエストラジオール、エストロン-3-β-グルクロナイド及びエストラジオール-3-β-グルクロナイドで構成されるグループか

50

ら選択されることを特徴とする方法。

【請求項 49】

請求項 40 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血清、血漿、尿、唾液及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 50】

請求項 40 記載の方法において、ステップ b) の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 51】

請求項 50 記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

10

【請求項 52】

請求項 50 記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項 53】

請求項 40 記載の方法において、前記エストラジオールは前記表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 54】

請求項 53 記載の方法において、前記表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記エストラジオールは前記結合ペアの第 2 のメンバに結合されることを特徴とする方法。

20

【請求項 55】

請求項 54 記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン及びビオチン／ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 56】

請求項 1 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 57】

サンプルにおいてエストラジオールを検出する方法であって、

a) 競合分子とエストラジオールを結合することができる第 1 のキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は前記競合分子に結合することができる第 2 のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、

30

b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることによりエストラジオールを検出するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 58】

請求項 57 記載の方法において、前記音響デバイスはたわみ板波デバイスであることを特徴とする方法。

【請求項 59】

請求項 57 記載の方法において、基準と比較されたエストラジオールの増加レベルが当該個人が乳ガンを発生している蓋然性が高いことを示すことを特徴とする方法。

40

【請求項 60】

請求項 57 記載の方法において、前記流体チャンバの中に導入される前に、前記複数の粒子は前記サンプルと前記競合分子とに露出されることを特徴とする方法。

【請求項 61】

請求項 60 記載の方法において、前記競合分子はタグに結合されたエストラジオールを含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記タグに結合することができることを特徴とする方法。

【請求項 62】

50

請求項 6 1 記載の方法において、前記タグはビオチンであることを特徴とする方法。

【請求項 6 3】

請求項 5 8 記載の方法において、前記競合分子はキャリアに結合された 2 以上のエストラジオール分子を含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントはエストラジオールを結合することを特徴とする方法。

【請求項 6 4】

請求項 6 3 記載の方法において、前記キャリアは、ホースラディッシュ・ペロキシダーゼとアルブミンとで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 6 5】

請求項 5 7 の方法において、前記複数の粒子は磁性体であり、前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記少なくとも 1 つの表面に引き寄せるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 6 6】

請求項 6 5 記載の方法において、前記磁束はステップ b) の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 6 7】

請求項 5 7 記載の方法において、前記エストラジオールは約 10 pg/ml の濃度で前記サンプルの中に存在することを特徴とする方法。

【請求項 6 8】

請求項 5 7 記載の方法において、前記エストラジオールは、フリー・エストラジオール、性ホルモン結合グロブリン (SHBG) が結合されたエストラジオール、エストロン-3-グルクロナイド及びエストラジオール-3-グルクロナイドで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 6 9】

請求項 5 7 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血清、血漿、尿、唾液及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 7 0】

請求項 5 7 記載の方法において、ステップ b) の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 7 1】

請求項 7 0 記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項 7 2】

請求項 7 0 記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

【請求項 7 3】

請求項 5 7 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 7 4】

請求項 7 3 記載の方法において、前記少なくとも 1 つの表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記キャプチャ・エージェントは前記結合ペアの第 2 のメンバに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 7 5】

請求項 7 4 記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン/アビジン、ビオチン/ストレプトアビジン及びビオチン/ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 7 6】

請求項 5 7 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 7 7】

10

20

30

40

50

サンプルにおいて1又は複数の免疫抑制剤を検出する方法であって、

a) 前記免疫抑制剤を結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は前記免疫抑制剤が結合された音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記サンプルの中の前記免疫抑制剤を検出するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項78】

請求項77記載の方法において、個人に投与される前記免疫抑制剤の用量を前記サンプル中の前記薬剤のレベルに基づいて調整するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項79】

請求項77記載の方法において、前記流体チャンバの中に導入される前に、前記複数の粒子が前記サンプルに露出されることを特徴とする方法。

【請求項80】

請求項77記載の方法において、前記サンプルは前記複数の粒子を導入する前に前記流体チャンバの中に導入されることを特徴とする方法。

【請求項81】

請求項77の方法において、前記複数の粒子は磁性体であり、前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ前記複数の磁性粒子の中の少なくとも1つを前記少なくとも1つの表面に引き寄せるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項82】

請求項81記載の方法において、前記磁束はステップb)の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項83】

請求項77記載の方法において、前記サンプルは、血液、血清、血漿、脳脊髄液、尿、唾液及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項84】

請求項77記載の方法において、前記免疫抑制剤は、シクロスポリン、タクロリムス、ラパマイシン及びミコフェノール酸モフェチルで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項85】

請求項77記載の方法において、ステップb)の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項86】

請求項85記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項87】

請求項85記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

【請求項88】

請求項77記載の方法において、前記免疫抑制剤は前記流体チャンバの前記少なくとも1つの表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項89】

請求項88記載の方法において、前記少なくとも1つの表面は結合ペアの第1のメンバでコーティングされ、前記免疫抑制剤は前記結合ペアの第2のメンバに結合されることを特徴とする方法。

【請求項90】

請求項88記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン及びビオチン／ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

10

20

30

40

50

【請求項 9 1】

請求項 7 7 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 9 2】

サンプルにおいて 1 又は複数の免疫抑制剤を検出する方法であって、

a) 複数の粒子と競合分子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記粒子は免疫抑制剤と結合することができる第 1 のキャプチャ・エージェントでコーティングされており、前記流体チャンバの少なくとも 1 つの表面は前記競合分子と結合することができる第 2 のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、

b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記免疫抑制剤を検出するステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 3】

請求項 9 2 記載の方法において、前記音響デバイスはたわみ板波デバイスであることを特徴とする方法。

【請求項 9 4】

請求項 9 2 記載の方法において、個人に投与される前記免疫抑制剤の用量を前記サンプル中の前記薬剤のレベルに基づいて調整するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 5】

請求項 9 2 記載の方法において、前記流体チャンバの中に導入される前に、前記複数の粒子が前記サンプルと前記競合分子とに露出されることを特徴とする方法。

【請求項 9 6】

請求項 9 5 記載の方法において、前記競合分子はタグに結合された免疫抑制剤を含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記タグに結合することができることを特徴とする方法。

【請求項 9 7】

請求項 9 6 記載の方法において、前記タグはビオチンであることを特徴とする方法。

【請求項 9 8】

請求項 9 5 記載の方法において、前記競合分子はキャリアに結合された 2 以上の免疫抑制剤分子を含み、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記免疫抑制剤を結合することを特徴とする方法。

【請求項 9 9】

請求項 9 8 記載の方法において、前記キャリアは、ホースラディッシュ・ペロキシダーゼとアルブミンとで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 0】

請求項 9 2 の方法において、前記複数の粒子は磁性体であり、前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ前記複数の磁性粒子の中の少なくとも 1 つを前記少なくとも 1 つの表面に引き寄せるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 0 1】

請求項 1 0 0 記載の方法において、前記磁束はステップ b) の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 2】

請求項 9 2 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血清、血漿、脳脊髄液、尿、唾液及び生検材料で構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 3】

請求項 9 2 記載の方法において、前記免疫抑制剤は、シクロスポリン、タクロリムス、ラパマイシン及びミコフェノール酸モフェチルで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 4】

10

20

30

40

50

請求項 9 2 記載の方法において、ステップ b) の信号出力を制御信号と比較するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 0 5】

請求項 1 0 4 記載の方法において、前記制御信号はサンプルが存在しないときに取得されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 6】

請求項 1 0 4 記載の方法において、前記制御信号は標準曲線であることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 7】

請求項 9 2 記載の方法において、前記免疫抑制剤は前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 8】

請求項 1 0 7 記載の方法において、前記少なくとも 1 つの表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記キャプチャ・エージェントは前記結合ペアの第 2 のメンバに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 9】

請求項 1 0 8 記載の方法において、前記結合ペアは、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン及びビオチン／ニュートラアビジンで構成されるグループから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 1 1 0】

請求項 9 2 記載の方法において、前記キャプチャ・エージェントは抗体であることを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、広くは、電氣的に応答性のデバイスと、電氣的に応答性のデバイスを製造する方法とに関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

液体培地の被検体（例えば化学薬品および 0 の生物学的因子）を発見するシステムのための著しい挑戦は、メディア中の被検体の濃縮、およびセンサ表面への被検体の輸送を含んでいる。生物学のアプリケーションについては、そのような被検体の濃縮は低い傾向があるので、濃縮問題は一般に発生する。さらに、生物学の被検体（例えばセル、セル・フラグメント、およびタンパク質と核酸のような高分子）は、比較的大きい傾向がある；従って、これらのより大きな S 被検体が流動性の溶液で非常にゆっくり拡散するので、輸送問題は発生する。

【0 0 0 3】

セル、セル・フラグメント、およびタンパク質と核酸のような分子に加えて、小さな分子被検体の検出は、疾病（患者の中のモニタリング薬ポピュレーションファルマコキネティクス）を分析するための、および潜在的な薬ターゲット用の小さな分子ライブラリを遮るための有用なマーカーになりえる。小さな分子医薬品を含む多くの治療薬が、薬の有益な効果を最大限にし、かつ生じる場合がある悪影響を回避するために患者の中の 0 の頻繁なモニタリングを要求する。

【0 0 0 4】

例えば、エストラジオールは多くの健康状態を評価するために使用される小さな分子である。例えば、濾胞刺激ホルモン（F S H）およびエストラジオール（E 2）用血液検査は卵巣の埋蔵量をチェックするために使用することができる、そして適切な卵子機能のために。さらに、その 5 つのエストラジオールおよび代謝産物は危険因子行列式として乳癌に使用することができる。エストラジオールの高いレベルは、乳癌になる、増加した危険と関連している。しかしながら、低いエストラジオール・レベルは脊椎骨折のための増

10

20

30

40

50

加した危険と関連している。アメリカ食品薬品局は、ある患者の中の乳癌の予防での薬タモキシフェンの使用を承認した。しかしながら、タモキシフェンは、脊椎骨折の入射を増加させるポイントへの血清エストラジオール・レベルを低下させることができる。したがって、脊椎骨折の危険を増加させない間に危険 *1 of* 乳癌を縮小するために、ある範囲内にエストラジオール・レベルが残ることを保証するために、医師が患者の中のエストラジオール・レベルを頻繁にモニタすることができることは望ましい。

【0005】

治療薬は、さらに患者の中の頻繁なモニタリングを要求する。治療薬は、例えば、シクロスポリン、tacrolimus (FK-506)、rapamycinおよびmycophenolicなmofetilのような免疫抑制薬投薬を含んでいる。免疫抑制薬は、生物学的利用能に埋葬するかつイントラ忍耐強い変異性の狭い治療指数および高い程度を持っている。免疫抑制薬は、毒性（感染）のような過度の免疫抑制の悪影響を回避する間に移植拒絶反応を防ぐために必要とされる免疫抑制のレベルの平衡を保つために忍耐強いサンプル中の注意深く頻繁なモニタリングを要求し、癌になる危険を増加させた。

10

【0006】

エストラジオールのような小さな分子の検出は多くの場合困難である、だけでなく、のために、潜在的に、サンプル中の、小さな分子被検体を結合するために使用することができる適切な捕獲エージェントの制限のある数のために低レベル。そのような制限の結果、酵素のように、既存の分析を設計するか修正することの多くの場合難しいーリンクしたimmunosorbantはそれを分析する、低レベルの小さな分子被検体を検知するように十分に感知可能で、明確である。

20

【0007】

典型的には、忍耐強いサンプル中の被検体の検出は診療室かクリニックのサンプルを得て解析のためにサイトからサンプルを送ることを要求する。被検体によって、その解析はある日数週間を好きになることができる。解析の結果はドクターに送信される。その後、この人は必要なときに治療を調節するために情報を使用し、新しい治療摂生を伝えるために患者と連絡をとる。サンプルの分析に関連した遅れは、ドクターが正確に適切な治療を指定することを困難にする。

【0008】

より容易に小さな分子被検体を検知し、かつ被検体の低濃度を検知するために使用することができる、改善された分析の必要がある。さらに、個々の患者の中の望まれない副作用を低減する間に薬の効能を維持する薬摂生をカスタマイズするために小さな分子被検体を含む被検体の改善された測定の必要がある。更に、サンプルを得ることと分析の結果を得ることの間の遅れを縮小するために生物学上測定する注意および（または）臨床的に適切な被検体のポイントで使用方法および装置の必要がある。

30

【0009】

競合し得る検出用の重要なメトリックは、1つの単位時間当たりのセンサに蓄積された被検体の量である。よい業績については、蓄積（また生じる信号の過渡現象）のレートは、センサ漂流レートに速く関連のある必要がある。被検体検出法用の別の重要な性能メトリックは、システムがセンサ表面に興味のある被検体を優先的に集めることができる程度である。多くの生物学的試料が外来の背景成分（例えば他のタンパク質、細胞、核酸、汚れ）を含んでいるので、これらの背景成分が希望の測定に邪魔をするのを防ぐことが必要である。したがって、センサに選択的に被検体を引き付けて、堅坑周囲への妨げる背景成分を許可する輸送方法は、有限の長所を持つ。センサ表面に被検体（例えば抗体、挨拶のDNA鎖など）の選択的な結合と協力して使用されるそのような方法は、被検体の量に関する大量の外来の背景成分を備えたサンプルのための高感度測定を伝えることができる。

40

【0010】

センサ表面への被検体の輸送を改善する様々な方法は濾過、新しいフロー幾何学、音場、電場（電界、時間的に変化する、及び、静的）および磁界を含めて提案された。音響の励起はフィールド結節に細胞を引き付けるために使用された。しかし、表面へ資料を輸送

50

するためにこの技術を単独で使用するの難しい。

【0011】

電場（電気泳動と誘電泳動）は輸送を向上させるために使用されたが、すべての被検体およびサンプル・タイプに普遍的に適用可能ではない。それらは、より大きな被検体（例えば細胞）に一般により有効である。更に、微生物の電気的性質はすべての意図した操作条件の下でシステム性能を予言することを難しくして、与えられた種および株の内に変わる場合がある。時々、輸送のパフォーマンスを改善するサンプルのイオン強度を調整することが必要である。この要求は最適結合と矛盾するか、あるいは分析の中で条件を洗うことができる。さらに、電気的なフィールドはエネルギーと熱の導電性流体（例えば0.1 Mのリン酸緩衝液）を消すことができる。暖房と生物学の被検体を破損する場合があるので、それは不適當である。

10

【0012】

免疫磁気分離（IMS）法はサンプルから被検体を分離することで当技術の中で知られている。

【発明の概要】

【0013】

本発明によると、サンプルの中に1又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出する方法であって、a) キャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は第1のアナライトが結合された音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも1つを前記表面に引き寄せるステップと、c) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより1又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、を含む方法が提供される。

20

【0014】

別の実施例では、サンプルの中に1又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出する方法であって、a) 競合分子（competitor molecule）と複数の磁性粒子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記磁性粒子は前記アナライトと結合することができる第1のキャプチャ・エージェントでコーティングされており、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は前記競合分子と結合することができる第2のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも1つを前記表面に引き寄せるステップと、c) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより1又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、を含む方法が提供される。

30

【0015】

更に、本発明によると、個人における薬剤用量を調整すべきかどうかを判断する方法であって、a) サンプルの中に1又は複数のアナライトが存在するかどうかを検出するステップであって、i) キャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は第1のアナライトが結合している音響デバイスを含む、ステップと、ii) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生じ、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも1つを前記表面に引き寄せるステップと、iii) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより1又は複数のアナライトが前記サンプルの中に存在するかどうかを検出するステップと、を含むステップと、b) 前記サンプルの中の前記1又は複数のアナライトのレベルに基づいて前記薬剤用量を調整すべきかどうかを判断するステップと、を含む方法が提供される。

40

【0016】

また、キャプチャ・エージェントを結合することができるアナライトを検出する方法であって、a) 異なる複数のアナライトでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの

50

中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面はキャプチャ・エージェントが結合された音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタするステップと、を含む方法が提供される。

【0017】

本発明によると、更に、サンプルにおいてエストラジオールを検出する方法であって、a) エストラジオールを結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面はエストラジオールが結合された音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記サンプルの中でエストラジオールを検出するステップと、を含む方法が提供される。

10

【0018】

また、サンプルにおいてエストラジオールを検出する方法であって、a) 競合分子とエストラジオールを結合することができる第1のキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は前記競合分子に結合することができる第2のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることによりエストラジオールを検出するステップと、を含む方法が提供される。

【0019】

本発明によると、更に、サンプルにおいて1又は複数の免疫抑制剤を検出する方法であって、a) 前記免疫抑制剤を結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は前記免疫抑制剤が結合された音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記サンプルの中の前記免疫抑制剤を検出するステップと、を含む方法が提供される。

20

【0020】

別の実施例では、サンプルにおいて1又は複数の免疫抑制剤を検出する方法であって、a) 複数の粒子と競合分子とを流体チャンバの中に導入するステップであって、前記粒子は免疫抑制剤と結合することができる第1のキャプチャ・エージェントでコーティングされており、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は前記競合分子と結合することができる第2のキャプチャ・エージェントでコーティングされた音響デバイスを含む、ステップと、b) 前記音響デバイスによって出力される信号をモニタすることにより前記免疫抑制剤を検出するステップと、を含む方法が提供される。

30

【0021】

本発明は、被検体（アナライト）の改善された測定を提供する。ある実施例では、被検体は、エストラジオールと治療薬を含み、これらに限定されない小さな分子を含むことができる。本発明の結果、与えられた薬のポピュレーションファルマコキネティクスは容易に決定することができる。また、薬摂取は望まれない副作用を低減する間に薬の効能を維持するためにより容易にカスタマイズすることができる（例えば医師によって）。さらに、本発明は、注意をカスタマイズし、かつ忍耐強いコンプライアンスのレベルを増加させるために遅れ（例えば離れた試験施設への送るサンプルに関係していた）を回避する間に生物学上測定する注意および（または）臨床的に適切な被検体のポイントでを使用することができる。ここに使用されるように、注意の項ポイントは例えば、診療室、クリニック、緊急処置室およびモバイルの処理施設（例えば救急車）を含むことができる。1つの実施例では、方法はサンプル中の前述の薬のレベルに基づいた個体に投与された前述の治療薬の線量を調節することをさらに含む。治療薬のレベルは、テストされている治療薬用の既知の治療域によって異なることができる。

40

【0022】

本発明は記相疾病に慣れることができるか、あるいはサンプルに検知された被検体のレベルに基づいた疾病にかかる危険を評価することができる。1つの実施例では、その病気

50

は乳癌である。乳癌マーカーを検知する方法は、個体の乳癌を発見するために乳房造影図のような他の診断テストと共に例えば使用することができる。別の実施例では、乳癌マーカーを検知する方法は個体が乳癌になる可能性を決定するために使用することができる。更に、その発明は例えば、患者の条件を評価するために使用することができる、患者の受胎はエストラジオール・レベルに基づいて決定することができる。本発明は患者の中の生物学上あるいは臨床的に適切な物質のレベルをモニタするために使用することができる。更に、本発明は患者が薬を受け取るのに適格か、患者の中の与えられた被検体のレベルに基づいて、薬研究に含められるのに適格かどうか判断するために使用することができる。

【0023】

図1のシステム100に関連した効率と低い運転費用は、分析を実行する前に、多くのサンプルが得られるバッチモードの中で作動することを要求しない方法で個体サンプルを実行することには良く適する。このように、本発明の実施例は、個別基準上のサンプルの分析によく適している。

【0024】

被検体検出法の1つの実施例では、被検体は被検体粒子複合体を形成するために磁粉（例えば磁気ビーズ）に拘束する。被検体一粒子複合体は傾斜磁場の適用により検出装置の表面上に輸送され局地化される。磁界は、地方の磁界ラインと提携する粒子の磁性材料中の分極を引き起こす。粒子は勾配の方向に純フォースを経験し、その結果より高い電界強度のリージョンの方へ粒子を移動させる。磁界分布は、サンプル・フローから被検体粒子複合体を取り出し、かつ検出装置の表面を横切ってそれらを分配するために調整される。外来、磁気微粒子と比較して、サンプル（例えば細胞、タンパク質）の背景成分には一般にはるかに低い磁化率がある、それで、磁界は著しくそれらに影響を及ぼさない。従って、この背景資料の非常に小さな小片だけがセンサ表面と対話する。

【0025】

1つの実施例では、検出装置は屈曲の薄板波（FPW）装置である。機能は特に2つの理由で磁気微粒子でそれを噴出させる。最初に、検出装置の表面上の磁気微粒子の存在は、増幅されたFPW信号レスポンスに帰着する。被検体粒子複合体のより大きな結合したサイズおよび密度は、被検体だけより大きなFPW信号レスポンスを産出する。次に、FPW装置中のセンサの表面は、わずかに数マイクロメートル典型的に厚い、薄いメンブレンから成る。フィールド・ソースがサンプル・フローに接近して位置することができるので、それはより大きな磁界および磁場勾配がセンサ表面で作成されることを可能にする。これはサンプルからの被検体のより高い断片的な捕獲に帰着する。このより高い捕獲レートおよび効率で、そうでなければ可能だろうより短い回でより大きなサンプルボリュームを処理することは可能である。

【0026】

1つの様相では、被検体の検出用の装置は、入るべき流体の少なくとも1つの開口部がある流動性の薬室、および少なくとも流動性の薬室の少なくとも1つの内表面の一部を定義する屈曲の薄板波装置を含んでいる。装置は、さらにモニターへの聴話装置を含んでいる、屈曲の薄板波装置による少なくとも1つの信号出力、被検体への類似性を持っている捕獲エージェントで覆われた多くの磁気微粒子、および選択的に流動性の薬室の少なくとも1つの内表面に磁気微粒子を引きつける磁束の最初のソース。

【0027】

別の様相では、共振する装置系のためのカートリッジは、入るべき流体の少なくとも1つの開口部がある最初の流動性の薬室、および流動性の薬室の少なくとも1つの内表面を定義する屈曲の薄板波装置を含んでいる。装置は、選択的に最初の流動性の薬室の少なくとも1つの内表面に磁気微粒子を引きつけるために磁束の最初のソースをさらに含んでいる。

【0028】

別の様相では、被検体の検出のための方法は被検体が少なくともある被検体に結び付けられたいくつかの磁気微粒子を少なくとも生産するためにアフィニティーを持っている捕

10

20

30

40

50

獲エージェントを含む多くの磁気微粒子を備えた被検体を含んでいる流体を組み合わせることを含んでいる。方法は最初の流動性の葉室に結合した流体を向けることをさらに含んでいる。そこでは屈曲の薄板波装置の少なくとも1つの表面は、最初の流動性の葉室の流体との流動性のコミュニケーションにある。方法はさらに磁氣的に屈曲の薄板波装置の少なくとも1つの表面へ境界磁気微粒子のうちのいくつかを少なくとも引きつける屈曲の薄板波装置への接近に最初の磁束を作成することを含んでいる。

【0029】

別の様相では、被検体の検出のための方法は少なくとも1位を備えた流動性の葉室にある屈曲の薄板波装置の表面の一部を覆うことを含んでいる、エージェントを捕らえる、また流動性の葉室へ被検体のうちのいくらかを屈曲の薄板波装置に置かれた捕獲エージェントに結び付けるように被検体を含んでいる流体に命令すること。方法は流動性の葉室へ別の捕獲エージェントを含む多くの磁気微粒子を含んでおり、屈曲の薄板波装置の表面への磁気微粒子のうちのいくつかを少なくとも引きつける屈曲の薄板波装置への接近に磁束を作成する流体を指図することをさらに含んでいる。

10

【0030】

本発明の結果、被検体の多くの下位レベルは従来の分析と比較して検知することができる。被検体の検出限界は多くの要因だけ改善される、1つの実施例では、本発明は、サンプル中の被検体の濃縮が低いところでさえ、被検体でより濃厚に覆われる粒子状物質に帰着して、1つのサンプル当たりのより少数の粒子状物質をそのために使用する。1つの粒子当たりの被検体の高位レベルの存在の結果、上塗りを施した粒子にはそれぞれ感じる表面用のより高い結合力がある。

20

【0031】

分析フォーマットが競合分析で、すなわち、感じる表面が、被検体で覆われる場合、被検体でより濃厚に覆われる粒子状物質は、粒子がそれぞれ感じる表面上の被検体に自由に拘束することができるより少数の捕獲エージェント分子を含むので、感じる表面へ拘束することからより有効に閉鎖される、また、他のワード、被検体比率へのより低い粒子は、サンプル中の被検体、とより低い濃縮の検出を考慮に入れる、感じる表面上の被検体のよりよい競合に帰着する、のサンプル中の被検体。したがって、粒子状物質が被検体でより濃厚に覆われるので、本発明は精度およびシステムの感度を改善し、感じる表面用のより高い結着強度を持っている。

30

【0032】

センサ表面が薄いので（例えば数ミクロンの命令の1つの実施例の中で）、別の実施例、作り上げられた装置、および本発明の法則によって行なわれた方法は、粒子状物質の低濃度を捕らえるのに特に役立つ。1つの実施例では、薄い表面は傾斜磁場と磁気微粒子と共に使用される。センサ表面が薄いので、大きな傾斜磁場は引き起こされた1つでありえる、センサ表面の側面。サンプルに含まれていた他の資料がそばに流れることを可能にしている間、大きな傾斜磁場はセンサの表面に近いフィールドを集中させることにより、センサ表面への粒子状物質の魅力を高めることができる。サンプルに含まれていた他の資料がそばに流れることを可能にしている間、大きな傾斜磁場はセンサの表面に近いフィールドを集中させることにより、センサ表面への磁気微粒子の魅力を高めることができる。この方法では、傾斜磁場が、それらが境界被検体と対話することができるか、分析フォーマットに依存して、エージェントを捕らえることができる、感じる表面の近くの粒子状物質を集中する役目をするので、より低い微粒子数はシステムの検出限界を改善して、そのために使用することができる。様々な実施例では、磁場勾配は任意の非特異的に拘束された粒子状物質が押し流されることを可能にするために削除することができる。様々な実施例では、傾斜磁場は任意の非特異的に拘束された粒子状物質が押し流されることを可能にするために撤去することができる。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0033】

本発明は、音響デバイスを使用して、小さな分子アナライトを含むアナライトを検出す

50

る方法に引き付けられる。典型的には、小さな分子アナライトは、キャプチャ・エージェントによって認識することができる単一あるいはほんの少数の結合部位を含んでいる。小さな分子が少数あるいはたった1つの結合部位を持つので、本発明の1つの実施例は、アナライトを検出し及び／又は量を計るために競合的結合を使用する。アナライトに2時までに認識することができるか、もっとエージェントを捕らえる結合部位があるところで、アナライトは2つの異なるキャプチャ・エージェントとサンドイッチ測定を使用して、例えば検出することができる。

【0034】

増加した内因的なエストラジオールは、臨床的に女性の中の乳癌の流行と関連している。増加した乳房造影法の胸密度（過度の胸組織エストロゲン合成の臨床症状）を持った女性が、乳癌（ボイド（N. F. 及び N. Engl ら）（Boyd, N. F. et al., N. Engl. J. Med., 347:886- 94 (2002)）。のより高い危険にいたることは示された。（例えば）追加とそれは、上部の矩象中の血清エストラジオール・レベルのレベルを持った女性が、より低い矩象（Cauley, J. A. ら、アン。）中の正常血清エストラジオール・レベルを持った閉経後の女性より乳癌になる危険性がより高いことを示された（Cauley, J. A. et al., Ann. Intern. Med., 130(4 Pt 1):270-7 (1999)）。したがって、エストラジオールを検出する方法は乳癌を検出するために使用することができる。さらに、本発明の方法は、個体の乳癌を発見するために乳房造影図のような他の診断テストと共に使用することができる。別の実施例では、エストラジオールを検出する方法は個体が乳癌になる可能性を決定するために使用することができる。

【0035】

エストラジオールを検出する方法は、個体のための治療計画を評価するか展開するかあるいは個体が特別の治療、治療あるいは臨床研究にふさわしいかか適格かどうか判断するために使用することができる。例えば、方法は個体がタモキシフェンを備えた治療に対する候補かどうか評価するために使用することができる。別の実施例では、エストラジオール・レベルは高いエストラジオール・レベルの危険とホルモン置換の有益性を比較検討するために患者の中のホルモン補充療法をモニタするために使用することができる。

【0036】

一般に、アナライトは、音響デバイスの鳴り響く度数を変更するためにキャプチャ・エージェント（さらにここに最初のキャプチャ・エージェントと呼ばれた）で覆われた粒子状物質の能力に基づいて検出される。キャプチャ・エージェントはアナライトに結合することができる。1つの実施例では、キャプチャ・エージェントで覆われた多くの粒子状物質は、サンプルおよび競争者分子がある状態で音響デバイスの感知表面に露出される。感知表面はここに記述されるような流体チャンバかチャンネルの一部になりえる。例えば、さらに、上塗りを施した粒子状物質は、静的なモードにおける感知表面に露出することができる、上塗りを施した粒子状物質は、薬室へ導入し、与えられた期間のためにかえすことができる。別の実施例では、上塗りを施した粒子状物質は、ノナ中の感知表面に露出することができる一例えば静的なモード、流体チャンバかチャンネルを通して上塗りを施した粒子状物質を流すことによって。

【0037】

ここに記述されるように、アナライトのより低い濃縮の検出のために許可された粒子状物質のより低い濃縮の使用は驚くほどそれと分かれた。発見は予期しなかった、ので、一般通念、含んでいる分析の中で、粒子状物質をそばに捕らえる、捕獲効率を最大限にするために高い量の粒子状物質の使用を要求する。

【0038】

一般に、本発明の競合的結合フォーマットでは、音響デバイスの感知表面へ結合することができる粒子状物質の量は、サンプルの中にあるように興味のあるアナライトの量に反比例する。サンプルからのアナライトによって占められている粒子状物質上のキャプチャ・エージェントのより多くの物の中のサンプル結果中のアナライトの高位レベル、および、音響デバイスの感知表面と対話することができる粒子状物質の数あるいは量に影響して

、競争者分子とそのために結合することができる粒子状物質上のより少数のキャプチャ・エージェント。下記に述べられるように、競争者分子は溶液の中にありえるか、あるいは音響デバイスの感知表面に結び付けることができる。好ましい実施例では、粒子状物質は磁気である。また、磁束は、接近に感知表面への多くの磁粉の少なくとも1つを引きつける音響デバイスに適用される。

【0039】

1つの実施例では、1つ以上のアナライトを検出する方法はアナライトをくくって流体チャンバにすることができるキャプチャ・エージェントで覆われた多くの粒子状物質を導入することを含む。そこでは流体チャンバの少なくとも1つの表面は、それに結合されたアナライトを結合することができるキャプチャ・エージェントがある音響デバイスを含む。このフォーマットはここにサンドイッチ・フォーマットと呼ばれる。複数の粒子状物質は葉室へ粒子状物質を導入する前にサンプルで連絡を受けることができる。あるいは、サンプルは粒子状物質の導入に先立って、あるいはその導入と同時に葉室へ導入することができる。前述の音響デバイスによる信号の出力はモニタされ、それによって、サンプルの1つ以上のアナライトを発見する。

分析フォーマット

一方、理論によって結合されたくないこと、小さな分子アナライトの場合には、分析フォーマットが競合分析である場合、すなわち、感知表面は、アナライトで覆われる、粒子状物質のわずかの粒子状物質あるいはより低い濃縮に使用する、粒子状物質がより濃厚になることを可能にする、アナライトで覆われた。粒子がそれぞれ感知表面上のアナライトに自由に結合することができる、より少数のキャプチャ・エージェント分子を含むので、アナライトでより濃厚に覆われる粒子状物質は感知表面へ結合することからより有効に閉鎖される。言い換えれば、アナライト比率へのより低い粒子は、サンプル中のアナライトと、サンプル中のアナライトのより低い濃縮の検出を許可する、感知表面上のアナライトのよりよい競合に帰着する。粒子状物質は、mL当たり約 1×10^2 から約 1×10^7 までの濃縮の中で使用することができる。別の実施例では、粒子状物質は、mL当たり約 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^5$ の濃縮にある。音響デバイスの感知表面がアナライトで覆われる場合、図7は3つの実施例を示す。パネル(B)では、アナライト10は、化学のリンカーによって表面12へ直接境界である。パネルAおよびCでは、アナライトは、表面に間接的に結び付けられる。パネルAの中で、表面、12は結合ペア32の最初のメンバーで覆われる。結合ペア22の第2のメンバー、1つ以上のアナライト分子10境界をそれへにしておくことは、表面を覆う結合ペアの最初のメンバーに結合することを許される。パネルCで、表面、12は結合ペアの最初のメンバーで覆われる。結合ペア22の第2のメンバーは、結合ペアの第1のメンバーを表面境界に結び付けて、結合ペア32の最初のメンバーでラベルが付けられたエージェント16を捕らえることを許される、結合ペアの第2のメンバーを結合するために許可される。それに1つ以上のアナライト分子を結合するキャリアを含む競争者分子24は、キャプチャ・エージェント16に結合することを許される。

【0040】

図8に示されるように、1つの実施例では、競争者分子は音響デバイス(パネルA)の感知表面12への興味10境界のアナライトを含む。キャプチャ・エージェント16で覆われた粒子状物質14はアナライト18(パネルB)を含んでサンプリングするために露出される。粒子結合された、サンプル20からのアナライトを結合していないエージェントを捕らえる、アナライト境界を音響デバイス(パネルC)の表面に自由に結び付けることができること。パネルの中で示されたように、CおよびD、粒子状物質上のキャプチャ・エージェント・プレゼントのより多くの物がサンプルからのアナライトに従事するので音響デバイスの感知表面を結合する、より少数の粒子状物質中のサンプル結果中のアナライトの高位レベル。音響デバイスによる信号の出力は表面へ結合した量および(または)微粒子数をそのために決定するためにモニタされる、検出、かどうか、1つ以上のアナライト、サンプルの中にある。さらに、サンプルの中にあるアナライトの存在あるいは量は

、信号をコントロールと比較することにより例えば決定することができる。代替実施例の中で、ここに記述されるように、粒子状物質は磁気微粒子になりえる。流体チャンバへ粒子状物質を導入した後に、磁束は、感知表面（同様に図1A、1Bおよび2に、例えば述べられていたとともに）への多くの磁粉の少なくとも1つを引きつける音響デバイスへの接近に作成される。

【0041】

別の実施例の中で、図9に示されるように、音響デバイスの感知表面12は、競争者分子24と結合することができるキャプチャ・エージェント22（さらにここに別のキャプチャ・エージェントと呼ばれた）で覆われる。競争者分子は例えばタグ26への興味10境界のアナライトになりえる。また、第2はエージェントを捕らえる、タグに結合することができると図9（粒子状物質16上で出席しているキャプチャ・エージェントのより多くの物がサンプルからのアナライトに従事するので、音響デバイスの感知表面へのより少数の粒子状物質14結合の中のサンプル結果中のアナライトの高位レベル）に示されたように。第2のキャプチャ・エージェントが競争者分子のタグ部分に結合することができるので、粒子状物質が競争者分子を結合している場合のみ、上塗りを施した粒子状物質は音響デバイスの感知表面へ結合する。

10

【0042】

別の実施例の中で、図10に示されるように、競争者分子24は、例えば2つ以上のアナライト分子あるいはキャリア26への興味10境界の部分になりえる。また、第2はエージェント40を捕らえる、アナライトを結合することができる。図10に示されるように、第2のキャプチャ・エージェントは音響デバイス感知表面に間接的に結び付けることができる。表面の境界および粒子結合されたのキャプチャ・エージェントは同じキャプチャ・エージェントになりえる。キャプチャ・エージェント16で覆われた粒子状物質14は、アナライト10および競争者分子24（パネルB）を含んでサンプリングするために露出される。粒子結合された、それがアナライトを結合していないエージェントを捕らえる、サンプルは自由に競争者分子を結合することができる。それは、感知表面（パネルC）に結び付けられるキャプチャ・エージェントによって次には結合される。パネルDの中で示されたように、粒子状物質上のキャプチャ・エージェント・プレゼントのより多くの物がサンプルからのアナライトに従事するので音響デバイスの感知表面を結合する、より少数の粒子状物質中のサンプル結果の中にあるアナライトの高位レベル。アナライトが与えられたエピトープか結合部位のたった1つのコピーがある小さな分子である場合、もしただ粒子状物質が競争者分子と結合していれば、上塗りを施した粒子状物質は音響デバイスの感知表面へ結合するだろう。

20

30

【0043】

本発明は1つ以上の興味のある小さな分子のために遮るために使用することができる。この実施例では、多くの粒子状物質は流体チャンバへ導入される。多くの粒子状物質は、異なるアナライトで覆われた粒子状物質を含んでいる。流体チャンバの少なくとも1つの表面は、キャプチャ・エージェント境界がそれにある音響デバイスを含む、そこではキャプチャ・エージェントは興味のあるアナライトを結合することができる。前述の音響デバイスによる信号の出力はモニタされ、それによって、キャプチャ・エージェントを結合することができるアナライトを検出する。

40

【0044】

本発明の方法は、アナライトの存在を検出するかつ、またはサンプル中のアナライトの濃縮あるいはレベルを決定するために使用することができる。本発明の方法によって検出されたか測定された濃縮は、絶対的集中または相対的集中になりえる。例えば、その濃縮は、体液の同じサンプルの中にある参照アナライトの濃縮に関する比率である場合がある。その濃縮は実際の濃縮の重要な変化が生じたかどうか判断するためにデータを異なる時に得られた類似データと比較することにより得ることができる。ここに記述された実施例のうちのどの中でも、読出しは陽性か陰性の読出しとして方法によって提供することができる。他の実施例では、方法は陽性の読み取りを提供することができる。アナライトのあ

50

るスレシヨルドが検出される場合、外出する。

のために、個々、実施例の、ここに記述した、多くの変異は発明のスコープから外れずに、下記に述べられるような方法に作ることができる。

サンプル

本発明で使用するにふさわしいサンプルは、アナライトを含んでいた疑いをかけられたどんな資料も含んでいる。ソースから得られるか、サンプルを修正する1ステップ以上に続いていたように、サンプルは直接使用することができる。1つの実施例では、サンプルは生物学的試料である。サンプルは、生理的な流動性の（例えば血液、唾液、唾液、血漿、血清、接眼レンズ流体、脳脊髄液、汗、尿）のような任意の生物学のソース、ミルク、腹水、関節液、腹水、羊水などに由来する場合がある、また糞便。サンプルは、鼻か直腸綿棒のような生物学のスワブから得ることができる。さらに、サンプルは生検資料になりえる。サンプルは人間、霊長類、動物、鳥あるいは他の適切なソースから得ることができる。

10

【0045】

サンプルは、粘性流体などを薄めて、血液からの準備をする血漿のような使用に先立って前処理することができる。サンプルもろ過するか、蒸留するか、抽出されるか、集中することができる。例えば、いくつかの小さな分子医薬品は血球に浸透し、血液（例えばFK506）中のタンパク質に結合する。小さな分子はタンパク質析出エージェントおよび細胞を溶解するエージェントを加えることにより抽出することができる。例えば、硫酸亜鉛、ポリエチレングリコールおよびメタノールの混合物は血液、および遠心分離の後に溶出された溶媒相に加えることができる。代替準備方法は、小さな分子をリリースするタンパク質および細胞を分類するためにタンパク質消化酵素および洗剤を含んでいる混合物を加える予定である。遠心分離の後、液相は元見本中の小さな分子濃縮を決定すると溶出され分析される。サンプルもアナライトまたは検出工程に邪魔をすることができるサンプル中のあるアクティビティを不活性化するか修正するために処理することができる。例えば、複合解除（decomplex）するアンタゴニストは、結合される場合がある他の分子からのアナライトを分離するサンプルに加えることができ、かつ、またはキャプチャ・エージェントがアナライトに結び付ける能力に邪魔をする場合がある。そのようなアンタゴニスト（antagonists）は例えばステロイド・アンタゴニストでありえる。エストラジオール検出の場合には、サンプルは、性ホルモン結合蛋白質からのエストラジオールを分離するためにダナゾールを加えることにより処理することができる。

20

30

【0046】

生理液に加えて他の液体試料は水、食物製品などのように環境上の分析あるいは食糧生産分析のパフォーマンスに使用することができる。さらに、アナライトを含んでいた疑いをかけられた固形物質は、試験サンプルとして使用することができる。固体の試験サンプルは、液体培地を形成するかあるいはアナライトをリリースするために修正することができる（例えば、均質化したか、抽出したか、可溶性にした）。

【0047】

サンプルボリュームは、10ほどの μ ポンドあるいは250もn i Lになりえる。1つの実施例では、サンプルボリュームは、50ほどの μ Lあるいは5もm Lになりえる。1つの実施例では、サンプルボリュームは約5 m Lに約1である。

40

【0048】

1つの実施例では、単一のサンプルは下記に述べられるような単一のカートリッジ上で実行することができる。さらに、1つ以上のアナライトのパネルをテストするために、単一のサンプルを2つ以上の部分標本に分割することができる。部分標本はそれぞれ、各々アナライトがテストされるように異なるカートリッジを使用して、異なるアナライトに関して例えばテストすることができる。このように、すなわち、それらがバッチモードの中ではなく患者から得られるので、サンプルは個別基準上で分析することができ、例えば、同時にあるいは同じマシンランの中で分析する多数のサンプルの蓄積。

キャプチャ・エージェント

50

本発明で使用される適切なキャプチャ・エージェントは、興味のあるアナライトに結合することができるどんな分子も含む。用語「キャプチャ・エージェント」は、興味のあるアナライトと結合することができる分子あるいは多重分子複合体を含んでいる。キャプチャ・エージェントは、本質的に特定のやり方でそれらがパートナーを結合することにむしり結合する。約10未満の解離定数(KD)を持ったエージェントを捕らえる「6」好まれる。キャプチャ・エージェントは、さらに例えばポリペプチド、核酸、炭水化物、核タンパク質、糖タンパク質、糖脂質およびリポタンパク質になりえる。抗体または抗体断片は、キャプチャ・エージェントのように高度に適切である。選択のアナライトに結合することができる抗体は営利上得られる場合があるし、あるいは抗体の生成のために標準分析法を使用して準備されている場合がある。

10

【0049】

それらが結合力のある抗体ができるので、エージェントを捕らえるように、抗原はさらに貢献する場合がある。配位子を結合するレセプターは可能なキャプチャ・エージェントの別の例である。タンパク質キャプチャ・エージェントは単に非共有相互作用を通じてそれらがパートナーを結合することと対話するエージェントに制限されていないために了解される。キャプチャ・エージェントは、さらに自由にそれらが結合するタンパク質に共有結合で付けられるようになる場合がある。例えば、キャプチャ・エージェントは結合に続くその結合パートナーにフォトクロスリンク(photo cross linked)される場合がある。

【0050】

用語「抗体」はどんな免疫グロブリンも含んでいる、かどうか、当然全体の中で、あるいは一部分製作されたか合成的に製作された。抗体が興味のあるアナライトに結び付ける能力を維持する抗体の派生語も含まれている。この用語は、さらに免疫グロブリン束縛領域へ同族か、大部分は同族の束縛領域があるどんなタンパク質も含んでいる。これらのタンパク質は全体の中で、あるいは一部分合成的に製作されて、自然源に由来する場合がある。抗体は単クローンの場合がありあるいは多クローンの場合がある。抗体は、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEを含む任意の免疫グロブリンクラスのメンバーである場合がある。アナライトが担体蛋白質を結合すると知られている場合、抗体は、アナライトの自由形式あるいはアナライトのキャリアに結合された形式には特定の場合がある。選択のアナライトを結合することができる抗体は営利上得ることができるか、あるいは抗体を生成する既知の方法を使用して製作した。

20

30

【0051】

用語「抗体」はさらに抗体断片を含んでいる。用語「抗体断片」は、短縮していないとは言いがたい抗体の任意の派生語を指す。むしろ、抗体断片は、興味のあるアナライトを結合する能力を少なくとも保存する。抗体断片の例は含んでいる、しかし制限されない、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、Fv、dsFv、diabodyおよびFdフラグメント。抗体断片は任意の手段によって生まれる場合がある。例えば、抗体断片は、完全な抗体のフラグメンテーションによって酵素であるいは化学上生まれる場合がある。あるいは、それは部分的な抗体シーケンスをコード化する遺伝子から組み換えに製作される場合がある。あるいは、抗体断片は、全体の中で、あるいは一部分合成的に生まれる場合がある。抗体断片は自由に単一のチェーン抗体断片である場合がある。あるいは、フラグメントは、ジスフィルド結合によって、ともにリンクされる複数連鎖を例えば含む場合がある。フラグメントはさらに自由に多重分子の複合体である場合がある。機能的な抗体断片は典型的には少なくとも約50のアミノ酸を含み、典型的には少なくとも約200のアミノ酸を含むだろう。

40

【0052】

単一のチェーンのFvs(scFvs)は、ポリペプチド・リンカーによって互いに共有結合で接続された、可変軽鎖(VL)および可変重鎖(VH)だけから成る組み換えの抗体断片である。VLかVHのいずれかはNH₂のターミナルのドメインである場合がある。橋が重大な立体障害なしで2つの可変ドメインに架けられる限り、ポリペプチド・

50

リンカーは可変長と組成である場合がある。典型的には、リンカーは、主としてグリシン、あるグルタミン酸を備えたセリン残基あるいは溶解度のために点在したリジン残基の伸張で構成される。「ダイアボディ (Diabodies)」は二量体の s c F v s である。ダイアボディのコンポーネントは典型的にはほとんどの s c F v s より短いペプチド・リンカーを持っている。また、それらは、二量体として関連させることに対する好みを示す。「F v」フラグメントは、非共有相互作用によって一緒にしておかれた 1 つの V H および 1 つの V L ドメインから成る抗体断片である。用語「d s F v」は V H — V L ペアを安定させるために巧みに計画実行された分子間にあるジスルフィド結合と F v を参照するためにここに使用される。1 つの「F (a b)」2 (フラグメントは、p H 4. 0 — 4. 5 で酵素ペプシンを備えた消化によって免疫グロブリン (典型的に I g G) から得られたそれと本質的に等価な抗体断片である。) フラグメントは組み換えに生まれる場合がある。1 つの「驚くべき」' フラグメントは、F (a b)」2 フラグメントの中で 2 つの重鎖部分を連結するジスルフィド架橋の還元あるいはブリッジによって得られたそれと本質的に等価な抗体断片である。驚くべきフラグメントは組み換えに生まれる場合がある。「驚くべき」フラグメントは、e n 2 y m e パパインで免疫グロブリン (典型的に I g G) の消化によって得られたそれと本質的に等価な抗体断片である。抗原結合性フラグメントは組み換えに製作される場合がある。抗原結合性フラグメントの重鎖セグメントは F d ピースである。

【0053】

適切なポリペプチドキャプチャ・エージェントは、さらに興味のあるアナライトに結合することができるか、小さな有機分子のような小さな分子あらゆるペプチド、ポリペプチドあるいはタンパク質を事実上含む。1 つの実施例では、キャプチャ・エージェントは興味のあるアナライトに結合することができる抗体である。好ましい実施例では、キャプチャ・エージェントは小さな分子と結合することができる。適切なポリペプチド、エージェントを捕らえる、合成生産方式を使用して、組み換え法を使用して、例えば営利上得られる場合がある、あるいは自然源からの浄化によって。ポリペプチドは、例えば、リンパ球表面レセプタ、ステロイド受容体、核タンパク、情報伝達分子、転写因子、アロステリック酵素インヒビター、凝固因子、酵素 (例えばプロテアーゼおよび t h y m i d y l a t e シンテターゼ、セリン／トレオニン・キナーゼ、トレオニン・キナーゼ、ホスファターゼ、細菌酵素、菌による酵素およびウイルスの酵素)、DNA、RNA 合成あるいはデグラデーションに関連したタンパク質、およびその他同種のものののような、細胞表面および可溶の受容蛋白質を含んでいる。1 つを超えるキャプチャ・エージェントが使用される場合、より詳細に下に記述されるように、キャプチャ・エージェントは例えば互いのアイソフォームになりえる。

【0054】

キャプチャ・エージェントは、さらに RNA または DNA のような核酸、あるいはペプチド核酸になりえる。1 つの実施例では、核酸かペプチド核酸が核酸あるいはペプチド核酸アナライトに交雑することができる。さらに、キャプチャ・エージェントは、アプタマー (非ヌクレオチドアナライト (例えばタンパク質、小さな有機分子あるいは無機の分子) に結合することができる核酸) になりえる。ここに使用されるように、アプタマーは、自然発生のヌクレオチドあるいは修正されたヌクレオチドからできている RNA あるいは DNA チェーンのいずれかになりえる。

【0055】

適切なキャプチャ・エージェントは、さらに結合力のあるペアのメンバーを含む。適切な結合力のあるペアは例えば、ビオチン、アビジンあるいはアビジン (例えばストレプトアビジンとニュートラアビジン) のビオチンおよび派生語を含んでいる。

【0056】

エージェントを捕らえる、表面あるいは表面へポリペプチド、核酸などを付けるために標準配置を使用すること以下に、あるいは使用により記述されるようなビードに結び付けることができる。

10

20

30

40

50

アナライト

ここに使用されるように、用語「アナライト」は例えばキャプチャ・エージェントによって認識される分子構造を指す。例えば、用語アナライトは、抗体によって認識されたエピトープを指すことができるか、あるいはレセプターによって結合される配位子のその部分を含むことができる。用語アナライトは、さらにキャプチャ・エージェントによって認識される分子構造を含んでいる、より大きな分子を含んでいる。アナライトは細胞（例えば細胞表面タンパク質）の一部になりえる。アナライトはユーザ（例えば、あらかじめ選ばれた）によって選ばれた興味のあるアナライトになりえる。アナライトは、小さな分子ライブラリ・スクリーニングで興味のあるキャプチャ・エージェントを結合する能力に、例えば基づいて選択することができる。

10

【0057】

ここに記述されるように、本発明はアナライトのパネルの1つ以上のアナライトを測定するために使用することができる。アナライトのパネルは、ここに記述されるような競合フォーマットを使用して検出される1つ以上のアナライトを含むことができる。アナライトのパネルは1つ以上のアナライトを含むことができる、ここに記述されるようなサンドイッチ分析フォーマットを使用して、検出された。1つの実施例では、アナライトはそれぞれ検出される、下記に述べられるような個別のカートリッジの使用、1つ以上のアナライトのパネルをテストする命令、単一のサンプルは2つ以上の部分標本に分割することができる。部分標本はそれぞれ、各々アナライトがテストされるように異なるカートリッジを使用して、異なるアナライトに関して例えばテストすることができる。このように、異なるアナライトのパネルは多数のサンプルが得られることを要求せず、かつ、またはそれ、テストされる場合がある、異なるタイプの装置、detectをテストするために使用される、異なるアナライト。

20

【0058】

1つの実施例では、興味のあるアナライトは小さな分子である。小さな分子は有機か無機の分子を含んでいる、持っていること、1つの、分子、重さ約約1000 g/molである、あるいはより少ない。典型的には、小さな分子アナライトは単一あるいはほんの少数の結合部位を含むだろう。小さな分子が少数あるいはたった1つの結合部位を持つので、本発明は、小さな分子アナライトを検出し及び/又は量を計るために競合的結合を使用する。

30

【0059】

しかしながら、サンドイッチ分析フォーマットでいくつかの小さな分子を検出することができることは理解される。例えば、1つのキャプチャ・エージェントあるいはタンパク質インタラクション・パートナーが磁気ヘッド上のセンサ表面、別のキャプチャ・エージェントあるいはタンパク質パートナー上で動けなくされて、ラパマイシン（rapamycin）の検出は直接のサンドイッチ免疫測定によって達成することができる。結合力のあるラパマイシンの原因である2つのタンパク質は、12-kD FK506結合蛋白質（FKBP）、およびFKBP-rapamycin束縛領域（FRB）として知られているrapamycin（mTOR）の哺乳類のターゲットの100のアミノ酸ドメインである。FKBPとFRBが、rapamycinがない状態に互いへの明白なアフィニティーを示さないことが示された。

40

【0060】

小さな分子は例えば、ステロイド、脂質、炭水化物、ペプチド、および複素環式化合物（例えばFADとNADHのような共同要因を含む基礎）を含むことができる。アナライト（例えば小さな分子）は、アルデヒドを含む小さな有機分子のライブラリおよびケトン、オキシム、ヒドラゾン、セミカルバゾン、カルバジド、第一アミン、第二アミン、第三アミン、Nに代用されたヒドラジン、ヒドラジド、アルコール、エーテル、チオール類、チオエーテル、チオエステル、ジスルフィド、カルボン酸、エステル、アミド、尿素、カルバミン酸塩、炭酸塩、ケタール、チオケタール、アセタール、チオアセタール、ハロゲン化アリールの一部になりえる、アリル基を含むスルフォナート、ハロゲン化アルキル、

50

スルホン酸アルキル、芳香族化合物、複素環式化合物、アニリン、アルケン、アルキン、ジオール、アミノアルコール、oxazolidines、オキサゾリン、チアゾリジン、thiazolines、エナミン、スルホンアミド、エポキシド、アジリジン、イソシアナート、塩化スルフォニル、ジアゾ化合物、酸塩化物（できればアルデヒド）、ケトン、第一アミン、第二アミン、アルコール、チオエステル、ジスルフィド、カルボン酸、アセタール、アニリン、ジオール、アミノアルコールおよび（または）エポキシド、最も好ましくは、アルデヒド、ケトン、第一アミン、第二アミンおよび（または）ジスルフィドおよび組合せ、それについて。

【0061】

特別の実施例では、アナライトはエストラジオールである。用語エストラジオールはエストラジオールおよびすべての測定可能なエストラジオール代謝産物を含んでいる。用語エストラジオールは含むことができる。したがって、エストロン-3-グルクロニド（E3G）、エストラジオール-3-グルクロニド、エストラジオール-17のグルクロニド、エストリオール-3-グルクロニド、エストリオール-16-グルクロニドおよびエストロン-3-硫酸塩。

【0062】

1つの実施例では、エストラジオール・レベルは、患者の中の卵巣の埋蔵量のステータスを決定するかつ、または患者の中の繁殖力を予言するために使用することができる。本発明は卵巣の蓄えステータスあるいは受胎ステータスを決定するために部分あるいはアナライトのパネルとして測定することができる。アナライトパネルは例えば、エストラジオールとFSHを含むことができる。例えば、Buyalosに述べられているように、予言する方法は当技術中で知られている、et、で、Fertile Sterile 68:272-277、1997年。それらの教えは参照によってそれらの全体にここに組み入れられる。

【0063】

興味のあるアナライトは、さらにポリペプチド、核酸、炭水化物、核タンパク質、糖ペプチドあるいは糖脂質のような生物学のアナライトになりえる。有用なアナライトは例えば、酵素、ステロイド、ホルモン、転写因子、発育因子、免疫グロブリン、ステロイド受容体、核タンパク、情報伝達コンポーネント、アロステリック酵素調整器などを含んでいる。興味のあるアナライトは、自然源から例えば、営利上、組み換えに、合成的にあるいは浄化によって得ることができる。好ましい実施例では、興味のあるアナライトは特定の人間の疾病あるいは症状に関係している。適切な発育因子は、エリトロポイエチン／EPOのようなサイトカインのために、顆粒球コロニーを含んでいる、刺激的なレセプター、顆粒球マクロファージ・コロニー刺激的なレセプター、トロンボポイエチン（TPO）、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、EL-11、DL-12、成長ホルモン、プロラクチン、ヒト胎盤性ラクタゲン（LPL）、CNTF、またoctostatin。適切なステロイドは含んでいる、しかし制限されない、エストラジオール、プロゲステロン、テストステロンおよび派生語、それについて。他の適切なアナライトは例えば、インシュリンを含んでいる、インシュリン様増殖因子（IGF-I）、表皮成長因子（EGF）、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、胎盤の発育因子（PLGF）1、TGF- α およびTGF- β 、他のホルモン、および硬骨のようなレセプター、morphogenicな要因、follicle刺激的なホルモン（FSH）およびleutinizingするホルモン（LH）（組織壊死要因（TNF））、細胞死演算項目1および-2（AP-1およびAP-2）、またmdm2。生物学のアナライトは、さらに例えば、表面レセプタのような適切な検出できるマーカーを含んでいるセルのアナライトを含んでいる。

【0064】

1つの実施例では、アナライトは乳癌マーカーである。乳癌マーカーは含んでいる、例えばエストラジオール、上に記述されるようなその代謝産物。さらに、乳癌マーカーは含める、しかしワトキンズらにUS 6,936,424に述べられていたタンパク質に

10

20

30

40

50

制限されていない。それらの教えはそれらの全体にここに組み入れられる。

【0065】

薬経営目的のために忍耐強いサンプル中で例えば薬のレベルを測定することが有用だろうところで、興味のあるアナライトはさらに治療薬になりえる。適切な治療薬は含んでいる、しかしプロテアーゼインヒビターと免疫抑制剤 (immunosuppressants) に制限されていない。適切なプロテアーゼインヒビターは ageneraser、reyataz、lexiva、telzir、crixivan、kalettra、viracep、norvi、invirase、aortovase、aptivus およびその他同種のものを含んでいる。適切な免疫抑制薬はシクロスポリン、tacrolimus (FK-506)、rapamycin、mycophenolic mofetil およびその他同種のもの (m 1 実施例) を含んでいる、興味のある治療薬は競合分析を使用して検出される。

10

【0066】

別の実施例では、治療薬はサンドイッチ分析フォーマットで検出される。上に記述されるように、治療薬はキャリアか結合蛋白質に結び付けることができ、サンドイッチに検出することができる、キャリアを結合することができるキャプチャ・エージェントを使用して分析する。別の実施例では、治療薬は治療の生物学的製剤である。生物学の治療学の例は次のものを含んでいる：単クローン抗体、酵素、ホルモンおよび他の5つのタンパク質。これらの分子がはるかに大きいので、それらは一般に多数のエピトープを持っており、サンドイッチ測定に検出することができる。

20

【0067】

臓器移植患者は通常規定される、免疫抑制薬医薬品の組合せ。例えば、シクロスポリンと tacrolimus のようなカルシニューリン・インヒビターは、mycophenolic mofetil と一緒にしばしば規定される。さらに、rapamycin (sirolimus) は、単独あるいは tacrolimus とシクロスポリンと結合して使用することができる。そのため、医師がそれらの薬レベルへの改良を決定するのを援助するために一人の患者からの測定のパネルを提供することは有益である。アナライトのパネルは小さな分子および生物学的製剤を含むことができる (さらにここにバイオマーカーと呼ばれた)。アナライトパネルは、例えば、1つ以上の炎症性のサイトカインのような、処方された治療薬および自由に免疫反応マーカーの1つ以上を含むことができる。更に、モニター感染あるいは拒絶への治療薬およびバイオマーカーの測定を組み合わせることは可能である。同様の戦略を他の患者条件および治療学に使用することができる場合がある。

30

【0068】

興味のあるアナライトは、バクテリアまたは芽胞胞子のような病原体か微生物、ウイルス、寄生生物、プリオンあるいは他の病原体になりえる、あるいはグラム陽性のペプチドグリカンのようなそれらの細胞壁か表面のコンポーネント、リボタイコ酸、そして teichoic acids、またグラム陰性の内毒素 (例えば) リボ多糖類。バクテリアのアナライトは例えば、赤痢菌 sp を含んでいる。志賀赤痢菌、キャンピロバクター sp のように。キャンピロバクター jejuni、腸球菌 sp のように。エンテロコッカス・フェカリス、バチルス菌 [α] nthr [α] シス、ペスト菌、百日咳菌、連鎖球菌の種、黄色ブドウ球菌、結核菌、クロストリジウム・ディフィシル、クロストリジウム属 Jetani、ボツリヌス菌、大腸菌、サルモネラ菌 thyphimurim、サルモネラ菌 enterica、クラミジア種、梅毒トレポネーマ、淋菌、ボレリア・ブルグドルフェリ、コレラ菌、ジフテリア菌およびヘリコバクターピロリのように。寄生生物は例えば、ギアリダ属、マラリアおよび cryptosporidia を含んでいる。ウイルスのアナライトは例えば、ライノウイルス (黄熱病) を含んでいる、B Coxsachieviruses (CB1、CB2、CB3、CB4、CB5 および CB6) をグループ化する、犬のパルボウイルス (CPV)、単純性疱疹ウイルスタイプ (HSV1)、Vaccinia ウイルス、T4 のようなウイルス、アデノウイルス、インフルエンザ B 型ウイルス、イ

40

50

ンフルエンザ A 型、鳥インフルエンザ、ライノウイルス、コロナウイルス（例えば S A R S）、ヒト免疫不全ウィルス（H T V）、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、西ナイルウイルス 1、またエボラウイルス。

【0069】

上に記述されるように、いくつかの実施例では、1つを超えるアナライトは検出される。1つの実施例では、アナライトには同じ分子構造がある。アナライトは例えば興味のある同じ分子種になりえる。別の実施例では、異なるアナライト（さらにここに1番目と2番目アナライトと呼ばれた）は、より大きな分子の一部である。したがって、アナライトは特別の結合部位（エピトープのような）になりえる、より大きな分子に付くか、含む。そのため、検出されている異なるアナライトは異なる分子の一部になりえる。

10

【0070】

アナライトは表面あるいは表面へ小さな分子、ポリペプチド、核酸などを付けるために標準配置を使用すること以下に、あるいは使用により記述されるようなビードに結び付けることができる。1つの実施例では、アナライトは、表面に間接的に結び付けられる。アナライトは、結合ペアの最初のメンバーで表面を覆うことにより、表面に例えば間接的に結び付けることができる。アナライトは結合ペアの別のメンバーに結び付けられるか付けられる。次に、アナライトは、結合ペアの1番目と2番目メンバー間のインタラクションによって表面に結び付けられる。適切な結合力のあるペアは例えば、ビオチン、アビジンあるいは *streptavidin* と *neutravidin* のようなアビジンのビオチンおよび派生語を含んでいる。

20

【0071】

本発明の方法の1つの実施例によれば、多くの粒子状物質は様々な異なるフォーマットを使用して、サンプルに露出することができる。例えば、1つの実施例では、多くの粒子状物質はサンプルに露出され、次に、流体チャンバへ導入される。サンプルは、流体チャンバへサンプルを露出した粒子状物質を導入する前に集中される場合がある。サンプルは、液体のより小さなボリューム中の溶液および再懸架からビードを取り除くことにより例えば集中される場合がある。

【0072】

別の実施例では、サンプルは多くの粒子状物質を導入する前に流体チャンバへ導入される。まだ別の実施例では、多くの粒子状物質は流体チャンバにサンプルを加える前に流体チャンバへ導入される。

30

【0073】

別の実施例中で、上に記述されるように、多くの粒子状物質はサンプルおよび競争者分子に露出される。多くの粒子状物質はできる、サンプルおよび多くの異なるフォーマットでの競争者分子にさらされた。例えば、1つの実施例では、多くの粒子状物質はサンプルおよび競争者分子に露出され、次に、流体チャンバへ導入される。別の実施例では、サンプルおよび競争者分子は多くの粒子状物質を導入する前に流体チャンバへ導入される。まだ別の実施例では、多くの粒子状物質は、流体チャンバにサンプルおよび（または）競争者分子を加える前に流体チャンバへ導入される。

【0074】

上に記述されるように、本発明の1つの実施例では、多くの磁気微粒子および競争者分子は流体チャンバへ導入される。磁気微粒子は1位で覆われる、アナライトおよび流体チャンバの少なくとも1つの表面を結合することができるエージェントを捕らえる、第2で覆われた音響デバイスを含む、競争者分子と結合することができるエージェントを捕らえる。1つの実施例では、競争者分子は、リンクしたアナライトあるいはタグへの境界を含む。また、第2はエージェントを捕らえる、タグに結合することができることタグはキャプチャ・エージェントによって認識することができるあらゆる部分になりえる。1つの実施例では、タグは結合ペアの1人のメンバーである。また、キャプチャ・エージェントは結合ペアの別のメンバーである。例えば、タグはビオチンになりえる。また、キャプチャ・エージェントはアビジン、*streptavidin* あるいは *neutravidin*

40

50

になりえる。この実施例では、ビオチンは分子をビオチンにリンクする既知の方法を使用して、競争者分子を形成するためにアナライトにリンクされる。表面は、どんな適切な方法も使用して、結合ペアの第2のメンバーで覆うことができる。例えば、表面は下記に述べられるようなビオチンで覆うことができる。次に、ビオチン化された表面は、アビジンあるいはアビジンの派生語に露出することができる。

【0075】

別の実施例では、競争者分子は2つ以上のアナライト分子を含む、キャリアと第2にはねる、エージェントを捕らえる、アナライトを結合することができること。キャリアは2つ以上のアナライト分子がリンクされるか結合することができるあらゆる分子になりえる。キャリアはタンパク質、核酸あるいは他のポリマーになりえる。1つの実施例では、キャリアはウシ血清アルブミンのようなアルブミンである。別の実施例では、キャリアはワサビペルオキシダーゼである。この実施例では、2つ以上のアナライト分子は下記に述べられるようなキャリアにリンクすることができる。あるいは、既知のリンク技術は競争者分子を形成するために使用することができる。表面は下記に述べられるようなキャプチャ・エージェントで覆うことができる。

【0076】

上に記述されるように、本発明は1つ以上の興味のある小さな分子用の小さな分子ライブラリを遮るために使用することができる。本発明の方法に役立つタイプの小さな分子ライブラリは、当技術において有名な方法によって形成される場合があるし、あるいは営利上（例えばchembridge.comのワールド・ワイド・ウェブ上のChemBridgeから）得られる場合がある。小さな分子ライブラリは組み合わせのライブラリを含んでいる。組み合わせのライブラリは、サブユニットの異なるシーケンスによって典型的に特徴づけられた、異なるシーケンスのオリゴマーあるいは側鎖と結合の異なるシーケンスの組合せに、10の〈3〉と10の〈6〉の間で典型的に多数を含んでいる分子のライブラリになりえる、あるいは異なる一置換分として働く化合物。小さな分子ライブラリを準備するための様々な固相あるいは溶液位相合成法が知られている。1つのアプローチでは、ライブラリを形成する目標化合物への連続の先駆物質を牽制するビードは、各ステップで分離されたビードの各グループに加えられている試薬の選択された数のうちの1つと、交互に混じり合って分離される（Furka, et al., Int. J. Pept. Protein Res. 37:487-493 (1991); Chen et al., J. Am. Chem. Soc. 116:2661-2662 (1994); Pham, et al., WO 9513538 (1995); Dillard, et al., WO 9408051 (1994)）。この実施例では、ビードはそれぞれわずか1つの化学種しか含んでいない。多くの粒子状物質は上に記述されるような既知の方法を使用して、各粒子の表面上のアナライトを合成することにより準備することができる。1つの実施例では、異なるアナライトは各粒子上で合成される。

【0077】

1つの実施例では、方法は異なるアナライトをそれにはねさせる多くの粒子状物質を準備することを含む。1つの実施例では、多くの粒子状物質は、粒子状物質の2つ以上のグループを含んでいる。そこでは粒子状物質のグループはそれぞれ異なるアナライトで覆われる。粒子状物質はグループ中の粒子状物質が異なるアナライトで覆われるようになるように、異なるアナライトに粒子状物質の個別のグループを露出することにより準備することができる。その後、粒子状物質のグループは、本発明の方法の中で使用することができるか、あるいは本発明の方法での使用に先立ってともに混合することができる。

制御信号／正規化

別の実施例では、サンプル露出に応答する音響デバイスの信号出力は、制御信号と比較される、又は、制御信号を用いて標準化される。制御信号は、ユーザによって提供されるか、又は、ユーザによって取得されうる。例えば、制御信号は、特定のアナライト、キャプチャ・エージェント、又は、用いられているデバイスの特定のモデル、バージョン若しくはタイプに基づいて、ユーザに提供される値でありうる。ある実施例では、制御信号は、ロットに基づいて得られる。例えば、制御信号は、ユーザが取得したアナライトの特別のロットを表す信号でありうる。代表的な信号は、例えば、サンプルの試験の前、間、又

は後に実験的に導くことができる。いくつかの実施例では、制御信号は、例えば特定のキャプチャ・エージェントとのアナライトの分析する既知数および音響デバイスの特定のバージョンによって得られる標準曲線である。

【0078】

別の実施例では、制御信号は使用方式で得られる。例えば、特別のアナライトおよび（または）キャプチャ・エージェントが特別の音響デバイス上でテストされるごとに、ユニークな制御信号は得ることができる。1つの実施例では、制御信号はサンプルがない状態で、しかしながら、同じアナライトおよび（または）キャプチャ・エージェントを使用して得られる。制御信号はキャプチャ・エージェントで覆われる流体チャンバの中への粒子の別の複数の導入により得ることができる。流体チャンバの少なくとも1つの表面は、別のアナライトをそれに結合する音響デバイスを含む。信号の出力、によって、後の試験の中で使用されるために制御信号を決定するために、音響デバイスがモニタされると言った。

音響装置

音響デバイスは、装置と流体の間の音響のインタラクションによって流体に主に連結される。典型的な音響デバイスは表面弾性波デバイス、屈曲の薄板波装置、子羊波装置および片持ばり（カンチレバー）装置を含んでいる。音響デバイスは、さらに装置と流体の間のある粘着性のインタラクションによって流体に連結される。しかし、カップリングは主に音響結合である。粘着性のインタラクション装置は、装置と流体の間の粘着性のインタラクションによって流体に主に連結される。典型的な粘着性のインタラクション装置は石英微量天秤（QCM）装置、シヤー高調波表面弾性波デバイスおよび音響のプレート・モード装置を含んでいる。用語「表面弾性波」は、エネルギーがデバイス構造で運ばれる方法を指す、ではなく、どのように、流体への装置カップル。流体が装置の飛行機の本質的なエリアー帯に対話するところで、音響デバイスは装置である。音響デバイスは答える、で、装置（つまり、運動エネルギー、位置エネルギーおよび損失は、流体に入れて主に運ばれる）の飛行機への接近中の流体に音響的に連結される飛行機運動から本質的。粘着性のインタラクション装置は、主として装置の飛行機への接近中の流体に音響的に連結されない、面内運動で答える。

一般的な考察

アプリケーションについては、粘着性のインタラクション装置と流体の間のカップリングが厚さ（装置の飛行機に関する）約10nmと約100nmの間にある場合、包含（例えば流体中の生物学か化学物質の検出および量化）、音響デバイス間のカップリングおよび流体が、厚さ（装置の飛行機に関する）約100nmと約10ミクロンの間に典型的にある。

【0079】

表面弾性波デバイスおよびシヤー高調波表面弾性波デバイスは両方とも、同様の風習でそれぞれの構造に入れてエネルギーを運ぶ。表面弾性波デバイスは、音響的に流体に著しく連結される。その一方でシヤー高調波表面弾性波デバイスは粘着性のインタラクションによって流体に主に連結されている。

【0080】

発明によって構築されたアナライト検出法100の1つの実施例は、FIG 1Aで示される。システム100は、FPW装置104を通して様々な試液（さらに「テスト流体」あるいは「流体」とここに呼ばれた）を輸送するためにチャンネル102のネットワークを含んでいる。次の米国特許および特許出願（それらのすべては参照によって本出願で援用される）が、本発明で使用するにふさわしい様々なタイプのFPW装置の例について記述する。米国特許第5,189,914号、第5,129,262号、米国特許第6,688,158号B2、米国特許出願第10/324,685号、米国特許5,668,303号、米国特許5,836,203号および米国特許出願20040038195号である。

【0081】

例えば、米国特許第 5, 129, 262 号は、形成材料の薄い平面のシートがある超音波センサについて記述する、ラム波伝播媒体。プレート・モード波として知られている板波は、有限の厚さの材料によってのみ繁殖することができる。表面弾性波（SAW）とは対照的に、それは厚さを持っている伝播媒体を要求する、の命令で、何百回、繁殖する SAW の波長、板波、大部分だけにある伝播媒体を要求する、いくつかの波長、厚い、そして典型的に、繁殖するラム波の波長の小片だけ。シートの厚さは高々約 20 ミクロンである。ラム波ジェネレータは、平面のシート中の板波を生成する。また、出力デバイスは、シートに沿って繁殖する板波の伝播特性を表わす電気信号を生成する。測定装置は、出力電気信号の選択された特性を測定する。平面のシートにはある物性がある、それはシートに作用する測定量の値に依存する、そしてそれら、物性、シートに沿って繁殖する板波の伝播特性に従って決定する。出力デバイスからの電気信号が伝播特性を表わすので、電気信号はさらにシートに作用する測定量の値を表わす。

10

【0082】

米国特許第 5, 129, 262 号に述べられていたラム波装置は、生物学的感知の中で、例えば使用することができる。平面のシートは上に記述した、予めコーティングされた抗体分子で覆われた、その結果浸漬上の装置変更の度数、の中で、あるいは対応する抗原を含んでいる液体とのコンタクト。伝播媒体の表面での抗原抗体アタッチメントはシート中の板波の位相速度を変更するために作用する。位相速度の変化は装置の遅延ライン発振器形式で振動数を変わらせる。さらに、シートはシートのより大きな表面積一帯の抗体分子のコーティングを許可し、さらに抗原抗体アタッチメントを促進するために抗原含んでいる液体がメンブレンによって流れられることを可能にして、多孔性および透過性材料で作られている場合があらん。他の生物相互作用もセンスされる場合がある。また、追加のアプリケーションは免疫測定、臨床検査室試験、生体内の生物医学的なモニタリングおよび生体臨床医学研究を含んでいる。

20

【0083】

記述された実施例（例えばブロッキング溶液 106、サンプル 108、バッファー 110）の中で使用される試液は、貯水池コンテナ 112 から部品外注される。チャンネルパス、から、個々、貯水池 112 の、FPW 装置 104 の通関港 118 に通じる、組合せポイント 116 への特別の試液のフローをコントロールするためにバルブ 114 でゲート制御される。試液は出口ポート 120 経由で FPW 装置 104 および出口を通して流れる。それはポンプ 122 に結びつく。ポンプ 122 は、チャンネル 102 のネットワーク、および FPW 装置 104 を通って試液を引き寄せて、汚物投入器 124 に試液を向ける。

30

【0084】

図 1 B は、アナライト検出システム 100 の別の実施例を示す。この実施例は、カートリッジ 103（つまり削除され交換することができる消費可能なコンポーネント）として FPW 装置 104 およびその関連する流体薬室 160 をパッケージにする。いくつかの実施例は、プラグ、閉塞症、あるいは装置 104 を通ってフローを変更するじゃま板のような流体素子 101 を含んでいる場合があらん。1 つの実施例では、流体素子 101 は流体素子 101 が存在しなかった場合によりセンサ表面 143 に接近して通る装置 104 を通って、流量を引き起こすために作動する。さらに、入力試液のソースは、カートリッジ 103 の入口 109 に試液を向けるために出口 107 を持っている入力流体薬室 105 として示される。いくつかの実施例、磁気微粒子は、最初に流体チャンバ 105、およびアナライトを含んでいる流体が入力での磁気微粒子で調合される入力に位置する、流体チャンバ 105、そして次に、FPW 装置 104 が位置するカートリッジ 103 に向けられた磁気微粒子は、入力流体薬室 105 内に装置（例えばポンプまたは磁気攪拌器のアクションによる）によってアナライトを含んでいる流体と結合する場合がある。図 1 B さらなるショー、出力、カートリッジ 103 の出口 115 から流体を受け取る入口 113 を備えた流体チャンバ 111。この出力流体薬室 111 は 1 つ含んでいるか、流体素子にもっとここに記述した。また、それは廃液の格納及び／又は処理のために 1 つ以上のメカニズムを含んでいる場合があらん。

40

50

【0085】

少なくとも1つの実施例では、入力流体薬室105の出口107がカートリッジ103のその入口109に遭遇するところで、接合・結合は反復可能な接続および切断を許可すると構築され整えられる。同様に、カートリッジ103の出口115が出力流体薬室111のその入口113に遭遇するところで、接合・結合は反復可能な接続および切断を許可すると構築され整えられる。いくつかの実施例では、これらの接合・結合はスパナあるいはカップリングとデカップリングに影響する他のそのようなツールを要求する、糸が通されたカップリングのような、接続および切断用ツールを要求すると構築され整えられる。他の実施例では、これらの接合・結合は余分なツールあるいはアクセサリなしで、迅速で容易な手動接続および切断を許可すると構築され整えられる。そのようなカップリング、要求および要求しないツールは当技術の中で知られている。いくつかの実施例では、マルチ入力流体薬室および出力流体薬室がある。いくつかの実施例では、1つ以上の入力および（または）出力流体薬室はカートリッジ103の一部である。さらに、いくつかの実施例では、磁束の1つ以上のソースはカートリッジの一部である。

10

【0086】

F P W装置104は、図2に、より詳細に示される。F P W装置104では、歪エネルギーは曲がることおよび装置中の張力に入れて運ばれる。いくつかの実施例では、それは、1未満であるF P W装置104の厚さから波長への比率には、および非常に1未満のいくつかの場合において望ましい。一般に、波長「 λ 」は、F P W装置104にここに記述されるようなインターディジット型（櫛型）電極のピッチとほぼ等しい。1つの実施例では、F P W装置104の厚さから波長への比率は、 $2\mu\text{m}/38\mu\text{m}$ である。他の実施例では、F P W装置104は、装置に関連したモードの特別のモード（例えばゼロ次のオーダー・モードから高位モードまでの任意のモード）か帯域幅を分離するように設計されている。例えば、上に記述されるような $2\mu\text{m}/38\mu\text{m}$ の厚さ／波長を持っているF P W装置104は、F P W装置104の80番目モードを分離するだろう。F P W装置104は、装置に置かれたインターディジット型電極に特定パターンを選ぶことにより、この結果を達成するように設計することができる。1つの実施例では、F P W装置104は形において長方形である。F P W装置104は循環的になりえるか（二者択一で）あるいは楕円になりえる、あるいは他のある平面形状。

20

【0087】

一般に、F P W装置104は当技術の中で既知の微細加工技術を使用して、シリコンウエハ130から構築される。記述された実施例では、キャビティ132は、長さおよそ1.6mmである薄く保留されたメンブレン134を0.3mm広く生産するウェーハ130および $2\mu\text{m}$ にエッチングされる。全面的なウェーハ130厚さはおよそ $500\mu\text{m}$ である。したがって、キャビティ132の深さはちょうどわずかにウェーハ130厚さ未満である。図2の拡張した視界挿入物の中で示されるように、窒化アルミニウム（AlN）の $0.5\mu\text{m}$ 層136は、メンブレン134の外部表面（つまりキャビティ132の向こうの表面）に置かれる。2セットの相互指のある金属溶接棒138はAlN層で置かれる。キャプチャ・エージェント（より詳細に下に記述された）の不動化を促進するために、金（およそ500オングストローム）の薄層140は、メンブレン134の内部表面（つまりキャビティ132に面する表面）に置かれる。

30

40

【0088】

オペレーションでは、保留されたメンブレン134中の振動を生成するために、機器／制御電子回路126（図1Aを参照して）は少なくとも1セットの電極138に時間を変える電気信号を適用する。機器／制御電子回路126は、さらに少なくとも電極138の別のセットからセンサ・シグナルを受け取ることにより、メンブレン134の震動の特性をモニタする。液体がメンブレン134のキャビティサイド132に接している場合、プレート構造の最大のレスポンスは約15–25MHzである。度数の機能としてセンサ・シグナルの相対的な大きさおよび位相角の変化を決定するために、機器／制御電子回路126は、基準信号を電極の第2のセットからのセンサ・シグナルと比較する。機器／制

50

御電子回路126は、ターゲットとされたアナライトの存在を検出するためにこれらの変更を解釈する。いくつかの実施例では、機器／制御電子回路は、さらに例えば、メンブレン134の内部表面上のターゲットとされたアナライトの濃縮を決定する。

【0089】

興味のあるアナライトをターゲットとするエージェントを捕らえる、上に記述されるように、メンブレン134の内部表面をカバーする金140の薄層上で動けなくされる。表面は適切なリンクする化合物で覆われた＝でありえる。適切なリンクする化合物は市販で入手可能である。1つの実施例では、下記に述べられるように、リンク化合物はジオチンPEGジスルフィドを含む。別の実施例では、チオールを終了したアルキル・チェーンは、自己集合した単分子層（SAM）を形成する金表面にリンクされる。SAMチェーンの小片、許可するために反応的なグループ（例えばカルボキシル）で終了する、共有結合、SAMにキャプチャ・エージェントをリンクすることはつなぐ、当技術の中で既知の生化学的プロセスステップの使用。SAMチェーンの剰余は、非リアクタンス性のグループ（できれば非特異性の結合（例えばエチレングリコールのオリゴマー）に抵抗するために親水性の形質を持っているオン）で終了してください。他の界面化学は文献に述べられており、捕獲表面を生むために使用することができる。

【0090】

FPW装置104はメンブレン134の外部表面上の電極138への電気接続を許可するためにパッケージにされる。さらに、FPW装置104は、メンブレン134の内部表面のために試液と連絡をとることを可能にするためにチャンネルブロック142に機械的に支援される。また、インターフェースはセンサ表面143を液体試料と接触させるために提供される。チャンネルブロック142は、入力ポート118から、メンブレン134の内部表面を過ぎて、その後出口ポート120から試液が流れるためにパス（流体チャンバ160）を作成する。シール144は、FPW装置104およびチャンネルブロック142の組合せの内に形成されたチャンネル102から試液が逃げるのを防ぐFPW装置104とチャンネルブロック142の間で形成される。チャンネルブロック142はこのように流体チャンバ（FPW装置104はそれに内壁のうちの1つを含む）を形成する。

【0091】

FPW装置104およびチャンネルブロック142の組合せによるチャンネル102は、直径およそ0.5mmである。チャンネルブロック142は他の材料中にプラスチック、金属あるいは陶磁器を含む様々な材料から形成することができる。

【0092】

システム100は、システム100の中で、少数を指定するフロー、圧力あるいは軌道のような少なくとも1つの流動性の財産を変更するために1つ以上の流体素子を含んでいる。FIG1Aの中で示されるポンプ122およびバルブ114。それは装置を通して、およびセンサ表面143（試験プロトコルを実行するために必要とされたとともに）上に様々な試液のフローを指図しコントロールする、すべて流体素子の例である。一般に、流体素子は、装置104の流体チャンバ160内の少なくとも1つの表面の近くに少なくとも1つの流動性の特性を変更する。一般に、これは少なくともセンサ表面143の一部に沿った磁気微粒子を分配するために行われる。上に記述されるように、いくつかの実施例では、流体素子は、ポンプ（例えば蠕動ポンプ、遠心ポンプ、回転ポンプ、電気浸透のポンプ）である。いくつかの実施例では、ポンプは流体チャンバのエントランス側に置かれる。また、他の実施例では、ポンプは流体チャンバの出口側に置かれる。いくつかの実施例では、装置は、分流器（例えばプラグ、閉塞症壁、流体チャンバに関連があって、流体チャンバの少なくとも1つの内表面の近くに流量を変更するために配置されるじゃま板）である。

【0093】

図1Aを参照すると、単一のポンプ122はFPW装置104の不用の側に置かれる。ポンプ122が生成するサクションは、FPW装置104の供給横のそれぞれの貯水池コンテナ112からサンプル108中のバッファ110あるいはアナライトを取り出す。

バルブ 1 1 4 は、どの試液が試験プロトコル中にセンサ表面 1 4 3 上にいつでも導かれるかコントロールする装置 1 0 4 の供給側に置かれる。ポンプ 1 2 2 は、テストの流量をコントロールする。

【0094】

温度（例えば熱電冷却機）を規制するための装置は F P W 装置 1 0 4 およびチャネルブロック 1 4 2 に関係している場合がある。これは、比較的一定の知られていた温度で装置 1 0 4 を維持することにより、F P W 装置 1 0 4 出力への可変環境要因の影響を縮小する。代替実施例では、温度センサは、F P W 装置 1 0 4 の一部としてシステム 1 0 0 内に例えば含まれている。F P W 装置 1 0 4 からのセンサ・シグナルは、温度変化の影響に依存しない信号を生成するために温度センサの出力に基づいて、特定の瞬間で、そのうちに（あるいは期間中に）計られる。数値モデル、解析的モデル、あるいは数学的・分析的なモデルのあるハイブリッドの組合せに基づいて、この大はがれを行うことができる場合があらん。

10

【0095】

システム 1 0 0 のいくつかの実施例では、フィルタは試液のパスに含まれている、に、選択的に、彼らが流体チャンバに入るのを防ぐ特別のサイズのフィルター粒子（例えば磁気微粒子と生体試料）。例経路で、特別の試験プロトコルはテストの間にフィルタを変更するためにステップを含んでいる場合があらん。これは、異なるタイプのアナライト（つまりサイズ）および磁気微粒子が流体チャンバへ導かれ、そのために、システム 1 0 0 によってテストされることをテストの異なる部分中に可能にするだろう。

20

【0096】

1 つの実施例では、磁気微粒子（例えば常磁性のビードあるいはスーパー正磁性ビード、ミクロスフェア）（それらはキャプチャ・エージェントでそれらの表面を覆う）は、アナライトを含んでいるサンプルと混じり合っている。規定された混合時間アナライトの後に — 何も結合していない非特異性の材料および粒子状物質 1 4 8 を結合した粒子状物質 1 4 7 が行うように、粒子は 1 4 6 の結果を複雑にする。粒子状物質 1 4 6、1 4 7 および 1 4 8 はサンプル貯水池 1 1 2 に位置する。

【0097】

システム 1 0 0 は、メンブレン 1 3 4 の近くに磁束を生産するために構造 1 5 0 を引き起こす磁界をさらに含んでいる。図 1 A において、磁束のソースは、通常 F P W 装置 1 0 4 のメンブレン 1 3 4 に隣接していると整えられた伸縮自在の磁石 1 5 0 である。磁石 1 5 0 がメンブレン 1 3 4 に隣接している場合、磁石 1 5 0 はメンブレン 1 3 4 の近くに重要な傾斜磁場を生産する。機器／制御電子回路 1 2 6 の管理の下で、伸縮自在の磁石 1 5 0 は、本質的にメンブレン 1 3 4 の近くに磁界を縮小するのに十分な距離によってメンブレン 1 3 4 から遠ざけて撤回することができる。1 つの実施例の中で、メンブレン 1 3 4 への隣接では、磁石 1 5 0 が位置している場合、メンブレン 1 3 4 のセンサ表面 1 4 3 からのおよそ 2 0 0 μm 。別の実施例の中で、メンブレンへの隣接中にいる場合、磁石 1 5 0 は、メンブレン 1 3 4 のセンサ表面 1 4 3 からの約 1 0 0 μm に約 5 0 μm の間で位置している。

30

【0098】

磁石 1 5 0 がメンブレン 1 3 4 に隣接している場合、磁石 1 5 0 は、サンプルからセンサ表面 1 4 3 に磁気微粒子を引き付けるために磁束のソースを提供する。アナライト粒子複合体 1 4 6、粒子状物質 1 4 7 と同様に、で、非特異的に、無を備えた、境界資料および粒子状物質 1 4 8、境界、それらがセンサ表面 1 4 3 に遭遇するまで、液体試料から移動する。アナライトはセンサ表面 1 4 3 上のキャプチャ・エージェントと団結する。したがって、アナライトは、磁粉とセンサ表面の間のリンクを形成する。粒子状物質 1 4 7、で、非特異的に、無を備えた、境界資料および粒子状物質 1 4 8、境界、磁界によってセンサ表面 1 4 3 で保持される。さらに、弱い結合力は、粒子状物質 1 4 6 と 1 4 7、1 4 8 およびセンサ表面 1 4 3 の間に作用することができる。プロトコル（より詳細に下に記述された）の洗濯ステップの間、磁石 1 5 0 はセンサ表面 1 4 3 で蓄積した粒子状物質に

40

50

よって経験された磁力を縮小するために撤回される。洗濯流量はアナライトによって表面に結び付けられない粒子状物質 147 および 148 を削除するために増加される。粒子状物質 147 以来、で、不明確に、無を備えた粒子状物質 148 と同様に境界資料も、境界、もっと弱くアナライト粒子複合体 146 よりセンサ表面 143 にリンクされる、それらはより低い洗濯流量（また対応する流体力学のフォース）でセンサ表面 143 からリリースする。従って、磁石 150（つまり、センサ表面 143 の粒子状物質 146、147 および 148 によって経験された磁力を本質的に縮小して）の削除はそれらからアナライト 146 を備えた粒子を識別するために使用される、なしで（粒子状物質 147 および 148）。磁石 150 を取り撤回するための 1 つの技術は、それをカム・システム（図示せず）が始動するキャリッジ（図示せず）にマウントする予定である。

10

【0099】

磁石 150 資料、幾何学およびセンサ表面 143 からの距離は、フィールド形および磁場勾配を決定する、そしてしたがって、フォース、アナライト粒子複合体 146 経験。伸縮自在の磁石 150 として使用される高い強さ永久磁石は営利上利用可能である。例えば 1 mm、円筒状の NdFeB 磁石から購入することができる直径、数人のベンダー（例えばデクスター・マグネチック・テクノロジーズ）、1 つの実施例では、1 mm の直径および 5 mm の長い NdFeB 磁石 150 は、センサ表面 143 の 0.1 mm 以内に位置する。撤回された時、磁石 150 はセンサ表面 143 からの少なくとも 0.5 mm である。FPW 装置 104 のメンブレン 134 が非常に薄く、非磁性体（例えばシリコン、窒化アルミニウムあるいは金）で作られているので（2 μ m）、メンブレン 134 は著しく装置 104 のセンサ表面 143 横の磁界を乱さない。その結果、高捕集効率に必要なように、非常に高い大きな磁界および大きな磁場勾配は達成することができる。

20

【0100】

チャンネル 102 による試料噴霧速度はよい捕集効率に必要な滞留時間によって決定される（例えば、オペレーターによって指定された）。センサ表面 143 上の平均速度が約 1 と約 5 mm/s の間にあるように、試料噴霧速度が調節される。およそ 3 μ m の直径を備えた酸化鉄の常磁性の粒子で、50% に接近する捕集効率は達成することができる。

【0101】

磁束（つまり磁石）のソース 150 の他の構成は使用されてもよい。例えば、電磁石は永久磁石の代わりに使用することができる。電磁石は、装置 104 のセンサ表面 143 の近くのフィールド・フラックスを集中させるために伸びるポール片を含んでいる。

30

【0102】

あるいは、磁化できる資料は、センサ表面 143（0.1 mm 以内に）、および磁化できる材料中の磁界を引き起こすために磁化できる材料の開いた切羽と結合した個別の磁石に隣接していて、作り位置することができる。資料に引き起こされた磁界は、センサ表面 143 の近くの望ましい磁場勾配を見つける役目をする。このように、大きな低価格磁石は使用することができる。また、単一の磁石は資料の成形に依存して、多数のセンサをアドレスするために使用することができる。この目的のための有用物質の例は高く純鉄である、合金（高いニッケル含有率鉄）、sna ケイ素鋼（典型的な 1-2% のシリコン）49 のような μ メタル。関連する磁石を備えたそのような磁化できる材料を使用するという利点は、より低コスト生産を許可して、センサ組立を単純化することができるということである。低精度アクチュエーターは磁石が単に強磁性の核心と連絡をとる必要があるか、完全に取消しされる必要があるので、磁石を取り撤回するために使用することができる。磁石 150 がセンサ表面 143 のすぐ近くに位置する場合、記述された実施例では、精度の高位レベルはよい分析繰返し精度を達成するために要求される。このアプローチを備えた電界強度のある損失があるが、よい捕獲効率（例えば > 10%）を達成する総合体系を設計することはまだ可能である。

40

【0103】

構造（例えば磁石または強磁性体）を引き起こすフィールドのチップの形は表面で磁場

50

勾配を向上させて及び／又は集中するために調整される場合がある。F P W装置104（例えば0.3mm x 1.6mm）のサイズが、慣例通りに決まった磁石より典型的に小さいか、誘導物質を機械加工したので、メンブレン134に隣接している構造を引き起こすフィールドの部分はセンサ表面143に1つ以上の場所の磁界を集中するために先細りになりえる。チップを先細りにすることは局所場大きさおよび局所場勾配の両方を増加させるために作用する。例えば、V字形のチップは、よく現在のF P W装置形状に適する。

【0104】

システム100の1つの実施例は、磁束の最初のソース150に反対するか部分的に反対する磁束のオブションのセカンドソース150aを含んでいる。磁束のこのセカンドソース150aはセンサ表面143に付着した磁気微粒子のうちのいくつかを移動させるために使用することができる。それは、例えば、どんな結合されたアナライトもない磁気微粒子148を移動させる場合がある。それらは、アナライトを結合した粒子状物質146としてセンサ表面143に強く付けられなかった。いくつかの実施例では、磁束の最初のソース150は切られるかセンサ表面143から立ち去った。次に、磁束のセカンドソース150aは、流体チャンバの少なくとも1つの表面に関連がって、選択的に磁気微粒子を削除するために位置する。これは例えば、どんな結合されたアナライトもない磁気微粒子148を削除するために行われる場合がある。したがって、それらはセンサ表面143に強く結び付けられない。これはどんな結合されたアナライトもない磁気微粒子148を削除するために流体のフローを増加させるとして同様の結果を達成するだろう。

【0105】

装置104が保留されたメンブレン134を持ち、メンブレン134のすべての部分が等しく検出できる共振の動いている質量に寄与するとは限らないので、装置104の表面143上のアナライト粒子複合体146の分配のコントロールは、デバイス性能を改善する場合がある。例えば、システム100はメンブレン134の長軸の中心線の中央の3分の2に沿ったF P W装置104幅の3分の1の内のアナライト粒子複合体146を分配すると構築され整えることができる。考慮に入れる、フロー電界効果、フィールドのチップの形一構造（例えば磁石150）を引き起こすことは、センサ・メンブレン134上のフローの方向にフィールド大きさおよび磁場勾配が増加するような状態である場合がある。すなわち、下流領域のアナライト粒子複合体146（ここで境界層はアナライトを部分的に失う）は、上流領域のアナライト粒子複合体146を行うより高いフィールドおよび磁場勾配を経験する。

【0106】

一般に、システム100はセンサ表面143の1つ以上の特別のリージョンの磁気微粒子を集中すると構築され整えることができる。装置104のレスポンスは、製作材料あるいはセンサ設計の詳細の特性によりセンサ表面143上に一定ではない場合がある。したがって、装置104の高感度リージョンは、装置104の長く短い軸椎中心線に関して非同一で非対称の場合がある。したがって、構造を引き起こすフィールドのチップは最も高い感度のリージョンからリージョンの磁気微粒子を集中するために形作られる場合がある。

【0107】

装置104を通して流量を変えることも与えられた磁界分布のためのアナライト粒子複合体146のより一定の適用範囲を達成するために使用される場合がある。与えられたフィールドに向かって、磁気微粒子は非常に弾道のオブジェクトのように、バルク流量割合によって決定されるようなセンサ表面143と対話する、重力物体力がある状態に落ちる場合がある。この場合、しかしながら、磁気引き起こされたフォースは支配する。流量を変えることによって、アナライト粒子複合体146にストリーム賢明な流れの向きに沿って本質的に異なる場所でセンサ表面143と対話させる場合がある。更に、磁気微粒子がフローを積重ねる（それらがセンサ表面143にさらされることになっている場合、望ましくない発生）ので、逆にすることができ、続いて、パイルを引くために前に脈を打った、の上に、またしたがってセンサ表面143でより多くの粒子状物質を通信する。システム100の1つの実施例では、センサ表面143に沿った磁気微粒子の選択的な場所は、

検出プロトコル、1つあるいは磁束ソース、およびセンサ表面143に沿った流量の特性か、特性両方のいずれかの間に、選択的に変わることにより達成される。

【0108】

システム100の1つの実施例は装置{を含んでいる、例えば、視覚、センサ表面143に付けられているか引きつけられる磁気微粒子の少なくとも1つの特性を特徴づけることには磁気この装置はFPW装置104の不可欠な部品でありえる。あるいは、それは磁石150の一部でありえる。あるいは、それはシステム100の他のコンポーネントとは別に個別部品でありえる。そのような装置は、粒子状物質の存在を検出し、かつ粒子（例えばサイズ、量、濃縮、センサ表面143に引きつけられる粒子状物質の密度）と関係するパラメーターをさらに決定するために使用されてもよい。

10

【0109】

システム100の1つの実施例は、オペレーターかコンピューターがシステムかコンポーネントの使用法の追跡のためにシステム100あるいはシステムの特別のコンポーネントを識別することを可能にするための同定（識別）装置（identification device）を含んでいる。同定装置は、バーコード、識別番号あるいは他の識別マークのようなシンボルかイメージを含んでいる場合があらん。同定装置は、識別情報の提供で当技術の中で知られていた、RFIDタグ、集積回路あるいは他のそのようなコンポーネントのように、受動か活発である実際のコンポーネントを含んでいる場合があらん。どんな熟考された同定装置も使用されてもよいが、多くのそのような装置が当技術の中で知られている。

20

【0110】

生物学のアナライトの検出のためのアナライト粒子複合体146と結合してFPW装置104を使用するための一般的な検出プロトコル200は、図3に示される。

検出プロトコル200の第一歩202は202を得ており準備している、アナライトサンプル。様々な準備プロセスはテストされているアナライトの特定タイプに依存して、試験に先立って行なわれる必要がある場合がある。例えば、食物（例えば牛挽肉中の大腸菌）の微生物を発見すると、サンプルは、濃縮ブイヨンと最初に混じり合って、身体に入り（stomached）、インキュベートされ、ろ過した。血液のタンパク質の発見のために、サンプルは最初にろ過されるか遠心分離機にかけられるだろう。また、血清は分離した。試料調製ステップを含んでいる試験プロトコルの特定の例はここに記述される。

30

【0111】

検出工程の次のステップ204はアフィニティーを上塗りを施した常磁性の粒子状物質（つまりビード）を準備したアナライトサンプルと混合している。常磁性か、非常に常磁性の粒子状物質は、多くのベンダー（例えば、ノルウェイのオスロ所在のダイナル・バイオテック社）から市販されている。典型的な直径は50nmから10μmまで及ぶ。また、そのような粒子状物質は、様々なアナライト（例えばセル、タンパク質および核酸）をターゲットとする、アフィニティー・エージェント（例えば抗体、タンパク質および核酸プローブ）で既に覆われて獲得することができる。あるいは、粒子状物質は選択のキャプチャ・エージェントを付けるために様々な反応的な化学基（例えばエポキシ、カルボキシルおよびアミン）で購入することができる。標準の生化学のプロトコルはこの目的に利用可能である。

40

【0112】

常磁性の粒子状物質を備えたサンプルは加えた、特別のアナライトによって決定された時間の量のための動揺した206である、またエージェントを捕らえる。このプロセス中に、アナライトが粒子状物質上で捕らえられるように、粒子状物質はアナライトで結合する。ある場合には、サンプルは、この時点で直接テストすることができる。しかし、他の場合では、元見本の残りから粒子状物質へのアナライト境界を分離するセパレーション・ステップ208を行なうことは有利である。これらのセパレーション・ステップ208は、分析中の他の生体試料からの干渉を縮小する。そのようなセパレーション・ステップを行なうためのマニュアルあるいは自動化機器は、市販されている（例えばデクスター・マグネティック・テクノロジーズ、ダイナル・バイオティック）。塩基性製鋼法は、大多数

50

のサンプル液体を吸引することができるように表面上の常磁性の粒子状物質を局地化するために磁石を使用する。その後、磁石（例えばF I Gの磁石150。I A）は削除される。また、清潔な緩衝液は粒子状物質を再保留するために付け加えられる。

【0113】

1つの実施例では、基線ステップ210は、FPW装置104を備えた処理されたアナライトサンプルをテストする前に実行される。基線ステップ210の間、対照溶液106はすすぎ／ブロックへのシステムによって流れられる、センサ104、また、機器／制御電子回路126は装置104を興奮させる、また装置104からの生じる最初の基線信号を記録する。

【0114】

サンプル輸送ステップ212は基線ステップ210に従う。アナライト粒子複合体146を含んでいるサンプル108は、磁石150を取って、センサ表面143上に流れられる。アナライト粒子複合体146はセンサ表面143に集められる。サンプル108の規定されたボリュームが装置104を通して流れた後、磁石150はアナライトを結合していないセンサ表面143からの粒子状物質147および148を放すために撤回される。また、フローは洗濯溶液（例えば緩衝液110）に切り替えられる。洗濯溶液の流量はセンサ表面143に結合した場合があるサンプル中の他の資料と同様に境界粒子状物質147および148を緩く削除するのを支援するために増加される。

【0115】

取得ステップ214はサンプル輸送ステップ212に従う。対照溶液106は、装置104に再び突き通される。また、機器／制御電子回路126は、装置104からの最終の基線信号を得て記録する装置104を興奮させる。

【0116】

システム100は、216の比較により輸送ステップ212の間にセンサ表面143に蓄積されたアナライトの量を決定する、最初の基線信号および最終の基線信号、それは対照溶液でのFPW装置104の震動の特性に以前に一致する、そしての後に、それぞれ、取得ステップ214。アナライトー粒子は、センサ表面143への146の境界を複雑にする、FPW装置104の震動の特性、および震動の特性への変更の量を変更する、アナライト粒子複合体の量に一致する、センサ表面143にはねる。

【0117】

図4は、典型的な検出プロトコルのための時間の機能として多数のFPW装置104からの信号の変化を示す。正方形のシンボルはアナライトに露出された装置104に相当する。三角形とスターは、負の対照（アナライトがそれにビード上にない）に相当する。図4（また下記に述べられるような図5）に示されるデータは、アナライトがそのために大腸菌バクテリアである典型的な検出プロトコル、あるいは一般にセルのアナライトを表わす。

【0118】

特にこの実験では、共振するピークの度数は追跡された。図4は、磁気微粒子146、147および148が表面で蓄積するとともに、FPW装置104の共振周波数が減少することを示す。一旦磁石150が削除され、磁気微粒子のうちのいくつかは押し流されれば、装置104の度数は増加する。結局、システムは、テストの最初に得られた、最初の基線、あるいはコントロールのそれと比較することができる最終基線を確立する。

【0119】

図5は、オリジナルのアナライト濃縮の機能として検出された最終信号変化を示す簡略なプロットである。

他の検出プロトコルは上に記述されたシステム100と共に使用されてもよい。個々のステップは特定のアプリケーションかアナライトの必要条件に依存して、除去するか加えることができる。例えば、図6は、検出プロトコル（図4に示されるものに似ている）のための時間進化プロットを示す。しかしながら、図6は、PSAの分析のための検出プロトコルを描く。それは、タンパク質の検出に対するシステム100の能力を実証する。

10

20

30

40

50

さらに、流れの向きはプロトコル中に逆転することができる。例えば、流れの向きの逆転は、不明確に装置からの境界物質を洗うのに、あるいは利用可能なサンプルをより効率的に利用するのに役立つ場合がある。

【0120】

検出プロトコルにおける別の変異は洗濯ステップと結合力のあるステップを交互にすることを含んでいる。これは、装置のダイナミックレンジのよりよい使用を認めることができる。この場合には、粒子状物質の大きな小片、特に低いアナライト濃縮で、アナライトを結合していない。遠方に繰り返し粒子状物質を結合し洗うことによって、より多くのアナライト粒子複合体146を蓄積し、従って、測定感度を改善することは可能である。

【0121】

輸送ステップ212の間にセンサ表面143で磁界分布を変更するか操作することは、特別の粒子に付けられたアナライトがセンサ表面143に遭遇する見込みを向上させる場合がある。例えば、フィールドの空間分布が結合中に交互にされる場合、常磁性の粒子状物質をセンサ表面143で回転させることは可能である。いくつかの実施例では、フィールドの空間分布のコントロールによって、オペレーターあるいは機器/制御電子回路126はセンサ表面143に沿った常磁性の粒子状物質の圧延をコントロールするために使用することができる。

【0122】

上に記述されるように、システム100に別の磁界（つまり磁束のセカンドソース）を導入することは、分析条件のコントロールを改善し、分析の特異性を向上させることができる。結合中に、例えば、あるいはセンサ表面143に第2の磁界を適用して、上に記述されるようなプロトコルのステップを洗う、弱い境界磁気微粒子を取り外すために作用することができる。第2のフィールド（磁場）の強さは結合力未満であるセンサ表面143でアナライト粒子複合体146上のフォースを生成するために調整することができる、特に境界アナライト、しかし典型的な結合力上に、のために、不明確に、境界資料。ステップのこのシーケンスは、さらにテストの特異性を増加させる分析中の繰り返された複数回になりえる。

【0123】

F PW装置104のレスポンスをモニタしている間、センサ表面143上の様々なアナライト粒子複合体146の相対的な結着強度は、洗濯ステップの間にこの磁気道路寄せフォースを増加させること（連続的にあるいは個別に）により決定することができる。相対的な結着強度についての情報はサンプル108中の異なるアナライトを識別するために使用することができる。

【0124】

サンプルが装置104と接続する特別の方法は他の実施例において異なることができる。上記実施例では、アナライト粒子複合体146とセンサ表面143の間のコンタクトを確立するために、システム100はチャンネルを通してサンプルを流す。システム100の相対変異では、F PW装置104はプローブにマウントされ、アナライトに結び付けられた磁気微粒子を含んでいる試液へ少なくとも部分的に没頭する。この実施例については、浸漬はここに記述されるように、粒子状物質がセンサ表面143の方へ引きつけられ、続いて、検出されるように、センサ表面143への接近に境界磁気微粒子を置くのに十分である。ベースライン（基線）信号を得るために、装置104（あるいは103にカートリッジを付ける）は参考試験溶液に浸される、m、いくつかの実施例、装置104（例えばメンブレン134）の一部はプローブにマウントされる。さらに、メンブレン134のセンサ表面143の一部だけが、アナライトに結び付けられた磁気微粒子を含んでいる溶液に接して置かれる。これらの実施例の中で、浸漬、あるいは流体中のプローブの移動をコントロールした、粒子状物質がセンサ表面143の方へ引きつけられ、続いて、検出されるように、センサ表面143への接近に境界磁気微粒子を置くのに十分である。

【0125】

システム100の別の代替実施例は装置104をマウントすることを含んでいる、サン

10

20

30

40

50

プル108を保持し、次に、撤回された井戸へ部分的に没頭することができるチューブの内部。サンプルが没頭する場合、ポンプは、チューブに、およびセンサ表面143（あるいは103にカートリッジを付ける）上にサンプルを引っ張って行くためにサクションを適用する。その後、サンプルは、ポンプを逆にするにより、あるいは単にチューブの放出により井戸へ後ろに取り出される。サンプルを引きリリースするこのサイクルは捕集効率およびしたがって分析のパフォーマンスを改善するために繰り返すことができる。

【0126】

次の例は、ここに記述されたシステム100、準備をするためのステップおよびアナライトの検出のためにシステム100を利用することの1つの実施例のために示す。

例

例1：屈曲薄板波装置の表面のキャプチャ・エージェント機能化のための一般化された方法

1. 屈曲の薄板波装置（たわみ板波デバイス）104の表面（例えばセンサ表面143）上への預金金、また例えば酸素プラズマを備えた金表面143を清潔にする。

【0127】

2. 金の表面143のための理想的な界面化学は、キャプチャ・エージェントの共有結合のアタッチメントのための表面に置かれた非特異性の結合抵抗性および2）反応的なグループを1）に供給するオンである。金の表面143のための典型的な界面化学は、アルカン・チオール類の自己集合した単分子層（SAM）である。SAMは、2つのアルカン・チオール類の混合物から形成することができる；非リアクタンス性のグループで終了して、キャプチャ・エージェントの後の共有結合のアタッチメントのための反応的なグループおよび1で終了した1つ。例、EG3-OH（EG3）およびEG6-OCH₂COOH（EG6）の混合物と終了したC11経由でアルカン・チオール類はこの目的に使用されてもよい。1つの実施例では、屈曲の薄板波装置104（特に装置104の表面143）は、アルカンに接して置かれる、メルカプト基を含む溶液、また例えば約16時間室温でかえるために許可された。その後、屈曲の薄板波装置104の表面143はエタノールですすがれ、窒素で乾燥しているように吹かれる。

【0128】

3. 次のステップは、屈曲の薄板波装置104の表面143へのキャプチャ・エージェントあるいはアナライトの共有結合のアタッチメントを含んでいる。多くの方法はキャプチャ・エージェントあるいはアナライトの共有結合のアタッチメントに使用されてもよい。典型的な方法はビオチン・リンカー部分をSAMに共有結合でリンクし、その後、ストレプトアビジンをリンクする層によってビオチン化された抗体かアナライトを屈曲の薄板波デバイス面143に結び付けることを含んでいる。

【0129】

例II：病原性大腸菌O157の検出：牛挽肉使用でのH7、例えば図3（図5は、大腸菌の様々な濃縮のデータ代表を牽制する）の方法。

1. 約100cfu/mLより大きな濃縮を備えた大腸菌O157：H7を含んでいるアナライトサンプルを準備する。

【0130】

2. 免疫磁気分離を行なうことにより溶液でのアナライトサンプルを集中する。様々な市販の装置（例えば、マトリクス・マイクロサイエンス社によるパストリックス（Pathatrix）や、ダイナル・バイオテック社によるビーズ・レトリバなど）あるいは手動の方法を用いて、免疫磁気分離を行ってもよい。典型的な手動での方法は次のものを含んでいる：

a. 再延期する、チューブの底の磁気ビーズペレットが消えるまで、大腸菌抗体（例えばDynabeads反大腸菌O157（Dynal バイテクから利用可能））で覆われた磁気ビーズ。磁性プレートのラック（例えばDynal MPC-S）にmicrocentrifugeチューブを置いてください。チューブ（磁気ビーズストックのボリュームは選択した、希望の最終のビード濃縮に基づく）の中への磁気ビーズ保存溶液のピペ

10

20

30

40

50

ット 1 - 20 μ L。

【0131】

b. 磁性プレートのラック中のチューブにアナライトサンプルの 1 mL を加えて、チューブを閉じてください。

c. ラックを数回逆にしてください。磁気ビーズが解決するのを防ぐために温和な連続的なかくはんで 10 ~ 60 分間室温でチューブ中の溶液を培養してください。

【0132】

d. ペレットへチューブの横に磁気ビーズを集中するためにラックを数回逆にしてください。適切な回復のために約 3 分をみておいてください。

e. チューブを開く、そして注意深く、吸引液、またサンプル上澄みを廃棄する、と同様に、チューブのキャップにおいて液体のままであること。

【0133】

f. 磁性プレートを削除してください。

g. チューブに洗濯バッファー (PBS トゥイーン) の 1 mL を加えてください。チューブのキャップを閉じて、ビードを再保留するためにラックを数回逆にしてください。

【0134】

h. 2 度ステップ d - g を繰り返してください。

i. 簡潔にボルテックス・ミキサーを使用して、チューブの内容を混合してください。

3. 大腸菌 O157 : H7 の検出

a. 大腸菌 O157 : H7 抗体を備えた屈曲の薄板波装置 104 の表面 143 を機能的にしてください (同様に A. 3 と A. 4 のステップによって記述されたとともに)。

【0135】

b. チューブを含んでいる標準洗濯バッファー (0.05 % のトゥイーン 20 との I x P B S) に最初入口ホースを入れて、大腸菌 O157 : H7 (B. 2 の中で準備された) と結び付けられた磁気ビーズを含んでいるチューブに別の入口ホースを入れてください。最初の入口ホースおよび第 2 の入口ホースは継ぎ目によって連結され、したがって、2 本のホースが流動性のコミュニケーションにある。また、一方の最初の入口ホース、あるいは第 2 の入口ホースからの流体は、流体チャンバ 160 の入口に導かれる。2 本のホースの各々にはそれぞれのホースを通して流体のフローを許すか制限することができるバルブがある。

【0136】

c. 流体チャンバ 160 の出口との流動性のコミュニケーションに最初の出口ホースを置いてください。最初の出口ホースからの流体は不用の収集ボトルに集められる。

d. 基線出力信号は屈曲の薄板波装置を使用して得られる。基線信号は測定される、標準、標準ポンプ速度 (例えば 200 μ L / min) で約 5 分間流体チャンバ 160 に、および流体チャンバ 160 から流れ込むバッファーを洗う。

【0137】

e. 磁束 150 の最初のソースは取られる。次に、アナライトを含んでいるチューブからの流体は流体チャンバ 160 の入口へ導かれる。所望量が少なくとも 1 つの表面 143 へ付けられているまで、屈曲の薄板波装置 160 の少なくとも 1 つの表面 143 上の大腸菌 O157 : H7 と結び付けられた磁気ビーズを蓄積するために、流体は、流体チャンバ 160 の入口へ導かれる。1 つの実施例では、例えば、約 4000 ppm. の屈曲の薄板波装置 104 の出力に振動数シフトがある場合、所望量は達成される。

【0138】

f. その後、アナライトを含んでいるチューブからの流体のフローは中止される。その後、境界アナライトで不明確に結合された資料 (つまり 1 以外の材料) 磁気ビーズおよび 2) 磁気ビーズを洗うために、洗濯緩衝管からの流体は、流体チャンバ 160 へ導かれる。

【0139】

g. その後、磁束 150 の最初のソースは解放される。

h. どんな磁気ビーズあるいはマトリクス成分も削除するために自動的な洗濯プロトコルを始めてください。

【0140】

i. その後、屈曲の波長板装置104による最終の信号出力は測定される。基線信号は、アナライトサンプル中の大腸菌O157:H7の濃縮を決定する最終信号と比較される。

【0141】

例III: 例えば、図3の方法ステップを使用する人間の血清の中での前立腺特異性抗原(PSA)の検出

1. 遠心分離によって人間の血液サンプルから得られた人間の血清を含んでいるアナライトサンプルを準備してください。

【0142】

2. 免疫磁気分離を行なうことにより溶液でのアナライトサンプルを集中してください。様々な市販の装置(例えば、マトリクス・マイクロサイエンス社によるパスマトリックス(Pathatrix)や、ダイナル・バイオテック社によるビーズ・レトリバーなど)あるいは手話教授法は、免疫磁気分離を行なうために使用されてもよい。典型的な手話教授法は次のものを含んでいる:

a. 再延期する、チューブの底の磁気ビーズペレットが消えるまで、PSAの抗体(例えばDynabeads反PSA(Dynal バイテクから利用可能))で覆われた磁気ビーズ。磁性プレートのラック(例えば、ダイナル社のMPC-S)にマイクロ遠心管を置いてください。チューブ(磁気ビーズストックのボリュームは選択した、希望の最終のビード濃縮に基づく)の中への磁気ビーズ保存溶液のピペット1-20 μ L。

【0143】

b. 磁性プレートのラック中のチューブにアナライトサンプルの1mLを加えて、チューブを閉じてください。

c. ラックを数回逆にしてください。磁気ビーズが解決するのを防ぐために温和な連続的なかくはんで10~60分間室温でチューブ中の溶液を培養してください。

【0144】

d. ペレットへチューブの横に磁気ビーズを集中するためにラックを数回逆にしてください。適切な回復のために約3分をみておいてください。

e. チューブを開く、そして注意深く、吸引液、またサンプル上澄みを廃棄する、と同様に、チューブのキャップにおいて液体のままであること

f. 磁性プレートを削除してください。

【0145】

g. チューブに洗濯バッファー(PBSTツイーン)の1mLを加えてください。チューブのキャップを閉じて、ビードを再保留するためにラックを数回逆にしてください。

h. 2度ステップd-gを繰り返してください。

【0146】

i. 簡潔にボルテックス・ミキサーを使用して、チューブの内容を混合してください。

3. PSAの検出

a. PSAの抗体を備えた屈曲の薄板波装置104の表面143を機能的にしてください(同様にA. 3とA. 4のステップによって記述されたとともに)。

【0147】

b. チューブを含んでいる標準洗濯バッファー(0.05%のツイーン20とのIX PBS)に最初入口ホースを入れて、PSA(B. 2の中で準備された)と結び付けられた磁気ビーズを含んでいるチューブに別の入口ホースを入れてください。最初の入口ホースおよび第2の入口ホースはトーションによって連結され、したがって、2本のホースが流動性のコミュニケーションにある。また、一方の最初の入口ホース、あるいは第2の入口ホースからの流体は、流体チャンバ160の入口に導かれる。2本のホースの各々にはそれぞれのホースを通して流体のフローを許すか制限することができるバルブがある。

【0148】

c. 流体チャンバ160の出口との流動性のコミュニケーションに最初の出口ホースを置いてください。最初の出口ホースからの流体は不用の収集ボトルに集められる。

d. 基線出力信号は屈曲の薄板波装置104を使用して得られる。基線信号は測定される、標準、標準ポンプ速度（例えば200 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）で約5分間流体チャンバ160に、および流体チャンバ160から流れ込むバッファを洗う。

【0149】

e. 磁束150の最初のソースは取られる。次に、アナライトを含んでいるチューブからの流体は流体チャンバ160の入口へ導かれる。所望量が少なくとも1つの表面143へ付けられているまで、屈曲の薄板波装置104の少なくとも1つの表面143上のPSAと結び付けられた磁気ビーズを蓄積するために、流体は、流体チャンバ160の入口へ導かれる。1つの実施例では、例えば、約4000 ppm. の屈曲の薄板波装置104の出力に振動数シフトがある場合、所望量は達成される。

10

【0150】

f. その後、アナライトを含んでいるチューブからの流体のフローは中止される。その後、洗濯緩衝管からの流体は、押し流す流体チャンバ160へ導かれる、非特異的に結合され、境界アナライトを備えた、境界資料（つまり1以外の材料）磁気ビーズおよび2）磁気ビーズ。

【0151】

g. その後、磁束150の最初のソースは解放される。

20

h. どんな磁気ビーズあるいはマトリクス成分も削除するために自動的な洗濯プロトコルを始めてください。

【0152】

i. その後、屈曲の波長板装置104による最終の信号出力は測定される。基線信号は、アナライトサンプル中のPSAの濃縮を決定する最終信号と比較される。

例IV：口径測定器（キャリブレータ）I中のPSA

実例経由で、実験はどのデータが、本発明の原理による図1Aのシステム100を使用して得られたかに行なわれた。ダイナル社のトシルに活性化された最高の常磁性のビード、反前立腺特異性抗原（PSA）で機能的にされた、抗体（PN、サンディエゴ（CA）のオフィスを持つスクリップス・ラボラトリーズ社90205）を捕らえる、サンプルにさらされた。サンプルはスパイクがおおよそ0 pg/mLでつけられて、1x PBS（燐酸塩緩衝食塩水）および1%のウシ血清アルブミン（BSA）を含んだ、自由なPSAの10 pg/mL、100 pg/mLおよび500 pg/mL（マサチューセッツ州コンコード所在のフィッツジェラルド・インダストリーズ・インターナショナル社）。ほぼサンプルに関しての2x10⁴ ビーズ/mLの命令のビード濃縮は、実験の中で使用された。1時間温和な連続的なかくはんを備えたビードでかえされた場合スパイクがつけられたサンプル。

30

【0153】

カートリッジ（図示せず）中のシングル・チップ上で提供される図2の屈曲の薄板波（FPW）装置104のうちの8つは、1つのx PBSが0.05%のトゥーイン20（ポリエチレングリコール・ソルビタンmono laurate）を牽制して、火薬が最初に詰められた後に挨拶の反PSA抗体（PN、サンディエゴ（CA）のオフィスを持つスクリップス・ラボラトリーズ社90197）で機能的にされた〔シグマーセントルイス（MO）のオフィスを持つオールドリッチ社〕。

40

【0154】

2006年5月2日（代理人ドケット番号BIO-008）にファイルされて、マスターズ他による「方法および分析測定用装置」とタイトルをつけられた米国の特許出願で、記述されるように、データは例えば得られ分析された。8つの個々の度数（レファレンス信号に関して無限軌道のセンサ位相に各々各々一致して）の基線測定（同様に以前にここに記述されたとともに）は、約17800秒でなされた。レスポンスの大きさがピーク値

50

に近い場合、および位相特性が周波数変化に関して重要な線形の範囲を持つところで、追跡する位相は、度数の近くで、装置の共振帯域内にある各装置に、最初に選ばれる。センサ位相を追跡する場合、各時間点では、独立デバイスを追跡する度数は、一連の度数の上に1) 各装置をさっと動かし、基準信号に関して各励起周波数でレスポンスの位相を記録し、2) 各装置の測定された位相に励起周波数を関連づける機能に適合し、3) 以前に決定されたトラッキング位相に対応するトラッキング度数を計算するその機能を使用することにより見つかる。

【0155】

この実施例では、装置は20MHzの近くで操作される。また、一掃範囲はほぼ20kHzである。この範囲にわたり、適当な機能が線形であることを可能にして、位相特性は本質的に線形である。各装置の基準信号は、励起によって同時に運転されて、受動の電気部品、抵抗器およびコンデンサのネットワークの出力を含む。参照ネットワークは、減衰と一致し、かつ共振の近くの装置のために好ましい位相ずれを提供するために選択されている。基線度数は参考文献として載せられ、標準化される、無限軌道の度数、また選択された時点でppm (ppm) として示される。

【0156】

各装置104の感知表面143は、キャプチャ・エージェントと機能的にされた。金の上塗りを施したチップは、典型的な加工条件が約2分間約50Wだった酸素プラズマソースを使用して清潔になった。チップは、30分間純粋なエタノールに続いて浸された。次に、チップは、エタノールの中でビオチンPEGジスルフィド解決策（カタログ番号41151-0895番、ノルウェイのオスロ所在のポリビュア社）の0.5のHiM解決策に転送され、夜通しかえることを許された。チップは、30分間純粋なエタノール溶液へ後ろに転送された。チップは簡潔で最終のエタノールすすぎを受け取り吹分けられた、乾燥している、窒素ストリームの使用。準備条件上の変異は達成された同様の結果で作ることができる。

【0157】

装置104の合成のビオチン化された表面は、1時間ビオチン化された表面に関するニュートラアビジンの10⁶ copies/mL 解決策を流すことにより、ニュートラアビジン (PN、ロックフォード、ELのオフィスを持つピアス・バイオテクノロジー社31000) で覆われた。抗体は、メーカーの命令 (PN F-6347、カールスバード (CA) のオフィスを持つInvitrogen株式会社) によってビオチン化され、次に、ニュートラアビジンの上にビオチン化された抗体 (1x PBS 0.1%のBSAバッファへ薄められた) の5つのμg/mL 解決策を流すことにより、ニュートラアビジン化された表面につながれた、1時間表面を覆った。

【0158】

PSAのサンプルは導入された。また、同時に、磁界は約17900から約18200秒までセンサ表面143の近くで生成された。自由なPSAのおよそ0pg/mL、10pg/mL、100pg/mLおよび500pg/mLのサンプルは各々、2つの異なる装置104 (8つの装置に達する) に提供された。サンプルは、センサ上に流れる500のμボンドの完全なサンプル実行/ボリューム用のおよそ100μL/minでセンサ上に流れられた。このように、自由なPSAで覆われた、ダイナル社のトシルに活性化された最高の常磁性のビードは、装置104の本質的な表面 (表面143) に結び付けられた。ビードはそれぞれ多くのボンドによって装置104の表面143に結び付けられた。区別となるフォースを生じさせる各々多くのボンド、どれで、各々、装置の表面への束縛。群集、および各サンプルのビードのアンサンブルの解離の特性は、そのサンプル中のアナライトの濃縮を決定する。

【0159】

およそ18200秒で、サンプルは、発火用意をするバッファ (1つのx PBS、0.05%のトウイーン20 (polyethylene glycol sorbitan monolaurate、ポリエチレングリコール・ソルビタン・モノロレート) と取り替えられた。図11に示されるように

、信号の各々の変化（場所 30 を参照）は 18200 秒から 18400 秒まで観察され、バッファ流体にサンプル流体から変わることに関連したバルク流体特性の変化を表わす。およそ 18400 秒で、磁界は解放された。バッファ流体（0.05% のトゥイン 20 を牽制する 1xPBS）のフロー速度はそうだった、ほぼ、約 18200 秒と 18400 秒（センサ表面 143 のおよそ 1.5 mm/秒のフロー速度に対応する）の間のおよそ 50 μ L/分。

【0160】

フロー速度は、線形のインクリメント（フロー速度は 30 秒ごとにそのとき 450 秒間約 17 μ L/min 増加された、フロー速度はおよそ 50 μ L/min に減らされた）中の次の 450 秒（約 18400 秒から約 18850 秒まで）間およそ 50 μ L/min からおよそ 300 μ L/min に増加された。このように、抑制された外部影響（つまりこの実施例中のフロー速度）は、約 18400 と約 18850 秒の間のフロー速度を増加させることにより、ビードに適用された。約 18400 と約 18850 秒の間のカーブの部分は、その時限にわたるセンサ表面 143 へのビード（また他の非特異性の資料）境界の量の変化を示す信号を表わす。

【0161】

図 11 は、時間に対して獲得したデータのプロットのグラフ式の実例である。プロットの Y 軸は、装置 104 の共振の近くの無限軌道のセンサ位相で装置 104（ppm）による信号の出力の相対的な大きさの変化である。プロットの X 軸は秒のユニットで時間である。プロットは無限軌道の度数の変化である、参考文献として載せられた、また選択された時点で無限軌道の度数によって標準化された。

【0162】

無限軌道の度数の ppm で示される各カーブのデータは、約 18350 秒でそのカーブの値によってさらに標準化され、サンプル流体の導入の前に測定された基線度数に参考文献として載せられた。データ・カーブはそれぞれ、サンプルがいつ導入されるかと比較して、約 18350 秒で 100% の値にそのために計られた。データ、提携された、個々、標準化されたカーブの、磁界が約 18400 秒で削除された後、その後、450 秒（約 18400 秒から約 18850 秒まで）間時間に関して統合された。

【0163】

積分は、それぞれの間隔時間期間を掛けたそれぞれの装置信号レベルおよび各区分レベルを蓄積し和が行なわれた期間で最終和を割ることにより行なわれた。これは時間を提供する、装置の表面 143 への資料元素（ビード）境界の量およびこれらの値を標準化した、各サンプルに関連したアナライトの濃縮の基準であるためにここに示される。このように、アナライトの濃縮は、約 18850 秒まで約 18400 秒の間の期間中に各装置 104 の表面 143 に結び付けられた資料元素の量の変化に基づいて決定される。図 11 に示されるように、自由な PSA のおよそ 10 pg/mL が、システムへサンプルを導入する約 9 分未満以内に検出された。

【0164】

いくつかの実施例では、カーブの中で観察された正常変動の外部に、例えばあるデータポイントは省略される。例えば、隣接したデータポイントに関連のある値の中の桁を越えるものによって変わる偽性のデータポイントは、後の解析から省略される場合がある。例えば、データポイントは、データからそばに取り除かれる場合があるオペレーター、あるいはコンピュータプログラムによって。

【0165】

例 V：血清中のエストラジオール用競合アッセイ

自由なエストラジオールには特定の羊単クローン抗体は標準分析法を使用して、ダイナル社による M280 トシルに活性化されたビードにつながれた。

【0166】

センサ表面は、金のセンサ表面に二硫化物-PEG ビオチンをつなぎ、その後、ニュートラアビジン（ピラス PN31000）を連結することにより構築された。次に、上に記

述されるように、ビオチン化された抗体は行なわれた。

【0167】

B S Aはエストラジオールを連結した、その後、E 2-6-C M O-B S A（シグマ P N E 5 6 3 0）はB S Aが連結した1 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を流すことにより抗体表面につながれた、1時間抗体表面に関する1つのx P B Sのバッファーの中で薄められたエストラジオール。エストラジオールがB S A（B S Aの1 m o l当たりの3 0 m o lのエストラジオール）の上の多数のアミン・サイトにつながれるので、前述のアプローチは、溶液に提示された適度に濃厚な小さな分子表面に備える。

【0168】

7 0 %の木炭を含む試料溶液は、人間の血清（テキサス生物学的製剤）に3 0 %綿を付けた、1人のx P B S 0. 0 5 %のトゥイーン2 0（ポリエチレングリコール・ソルビタン・モノロレート）が、0 p g / m l、1 0 p g / m l、3 0 p g / m l、2 0 0 p g / m lで急上昇された、自由なエストラジオール（シグマ）で作られた。ビード、濃縮 $\sim 2 \times 4 \times 10^4$ / m lの中で、2時間の間サンプルでかえされた。その後、ビードはa p p r o xの中で0. 5時間得られた典型的なプロトコルおよび結果を使用して、F P Wの上に流れられた。

【0169】

いくつかのサンプルでは、ダナゾールもエストラジオールからの性ホルモン結合蛋白質のようなどんな妨げる分子も削除するためにd e c o m p l e x i n gするアンタゴニストとして加えられた。およそ1 0-1 0 0ナノグラム / m lレベルが加えられた。

【0170】

サンプルは磁界を取って、およそ7 0 [ミュー] l / m i nのF P Wの上に流れられた。また、ビードはセンサ表面に蓄積された。5 0 $\mu\text{L}/\text{min}$ 3 0秒ごとの区間で5 0 0 $\mu\text{L}/\text{min}$ で終わって、5 0 $\mu\text{L}/\text{min}$ で始まる洗濯プロトコルは、センサ表面から境界ビードを洗い流すために使用された。F P W信号は標準化された合図で知らせる露光レベルによって標準化された。また、これらの信号は洗濯期間の間統合された。図1 2に示されるように、1 0未満p g / m Lは、アンタゴニスト添加剤3 6がある状態で検出することができる。また、5 0未満p g / m Lは、アンタゴニスト添加剤3 4がない状態に検出することができる。

【0171】

図1 2に示されるように、1, 0 0 0 p g / m Lから1 0 p g / m Lまで及ぶエストラジオール濃縮は検出された。

例V I：F K-5 0 6のための競合アッセイ

1. 0、0. 5、2. 0および2 0ナノグラム / m lのF K-5 0 6濃縮を備えたアナライツサンプルを生産するために、F K-5 0 6は、2 m lのバッファー（0. 0 5 %の1 X P B Sのトゥイーン、2 0、1 %のB S Aを含んでいること）に加えられた。

【0172】

2. 1×10^7 / m lのアンチF K-5 0 6 I g Mの8 μL が、上に記述されるように準備されたビードを覆った、各サンプルに加えられ、室温で3 0-6 0分間培養された。ビードは、メーカーの指示（インビトロゲン社）による常磁性のビードにアンチF K-5 0 6 I g M（フィッツジェラルド社）をつなぐことにより準備されている。アナライツサンプルは上に記述されるような溶液で集中された。

【0173】

3. ラベルがF Kで付けられた、溶液の含むキャリヤ（H R P）の5 0 0 μL -5 0 6（ダイアソリン社）はサンプルに加えられ、室温で6 0分間培養された。

4. サンプルは、センサがキャプチャ・エージェント（アンチ-F K-5 0 6 I g M）と機能的にされた場合F P W装置を使用して分析された。図1 0を参照して、センサ1 2は上に記述されるようにニュートラアビジン3 0で機能的にされた。また、アンチF K-5 0 6 I g Mは標準のビオチンラベル化法を使用して、ビオチン化された3 2だった。図1 0のパネルBの中で示されるように、アナライツ1 0（このインスタンスF K-5 0 6

の中の)は、キャプチャ・エージェント14(このインスタンス反-FK-506抗体中の)とラベルが付けられた、競争者分子24および粒子状物質16と混じり合った。

この例については、競争者分子24は、ラベルがアナライトFK-506で付けられたキャリヤHRPを含んだ。パネルCおよびDで示されるように、粒子状物質が競争者分子と結合し、そのためにセンサ表面に結び付けるのをサンプル中のFK-506の下位レベルが可能にすると予想される。粒子状物質のより多くの物がサンプルからのFK-506に結び付けられるので、FK-506の高位レベルが感知表面へ結合する、より少数の粒子状物質に帰着すると予想される。図13および14(FK)に示されたように-0.5ナノグラム/mlから20ナノグラム/mlに及ぶ506の濃縮が、装置へサンプルを導入することから15minほどで検出された。

10

【0174】

例VII:処理された人間の全血マトリックス中のFK-506のための競合アッセイ

1. 血液の各々のひとつの100μLが元あった4つのサンプルが、0、3、10、あるいは30ナノグラム/mlのFK-506で急上昇した。薬は、メーカーの指示(ダイナソリン社)によってタンパク質消化プロトコルを行なうことにより、血液マトリックスから抽出された。

【0175】

2. 600マイクロリットルのタンパク質消化試薬は各サンプルに加えられた。

3. サンプルは攪拌により混合され、半透明な混合物を生産して、室温(約23度C)で15分間かえた。

20

【0176】

4. 消化リアクションは、暗褐色混合物を生産して、35分の75の度Cでサンプルをかえすことにより止められた。

5. サンプルは攪拌により混合され、上澄みの500-600μLを生産して、10minで1800gで遠心分離機にかけられた。

【0177】

6. 500マイクロリットル、表面に浮かぶ、新しいチューブへ転送された、4つは、FK-506の同じ濃縮をサンプリングする、FK-506の各濃縮の2mlの上澄みを生産して、1本のチューブの中で組み合わせられた。

【0178】

7. 上に記述されるように、サンプルが分析された。図15および16に示されるように、0.5ナノグラム/mlから20ナノグラム/mlに及ぶFK-506濃縮は、装置へサンプルを導入することから8minほどで検出された。

30

【0179】

本発明は、その精神又は本質的な特性から逸脱することなく、他の特定の形式でも実現することができる。従って、ここで説明した実施例は、例示的であり非制限的であると考えべきであり、本発明の範囲は、以上の発明の詳細な説明ではなく、特許請求の範囲によって画定される。特許請求の範囲の意味範囲に含まれるすべての変更は、従って、本発明の範囲に含まれる。

【図面の簡単な説明】

40

【0180】

【図1A】本発明によって構築されたアナライト検出システムの1つの実施例を示している。

【図1B】図1Aに示されたアナライト検出システムの一部に関する別の実施例を示している。

【図2】図1に示されたFPWセンサのより詳細な図解を示している。

【図3】生体アナライトの検出のためのアナライト・粒子複合体と組み合わせてFPWセンサを用いるための一般的な検出プロトコルを示している。

【図4】例示的な検出プロトコルに関して時間の関数としての複数のFPWセンサからの信号の変化を示している。

50

【図 5】有機アナライト濃度の関数として、検出された最終信号変化を示す概略的なプロットである。

【図 6】図 4 に示されたプロットと類似するがむしろ P S A アナライトに関する検出プロトコルのための時間的進展を示している。

【図 7】キャプチャ・エージェントを音響デバイスの感知表面に付着させる 2 つのフォーマットの概略である。

【図 8】本発明の 1 つの実施例の概略であり、競合分子（例えば、アナライト）が感知表面に結合された様子が示されている。

【図 9】本発明の 1 つの実施例の概略であり、競合分子がタグにリンクされた関心対象のアナライトであり、音響デバイスの感知表面が前記タグを結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされている様子が示されている。

【図 10】本発明の 1 つの実施例の概略であり、競合分子がキャリアとそれに結合された関心対象である 2 以上のアナライト分子とを含み、音響デバイスの感知表面が前記関心対象のアナライトに結合することができるキャプチャ・エージェントでコーティングされている様子が示されている。

【図 11】P S A 濃度の関数としての複数の F P W センサからの信号の変化を示している。

【図 12】血清中のエストラジオール濃度の関数としての複数の F P W センサからの信号の変化を示している。

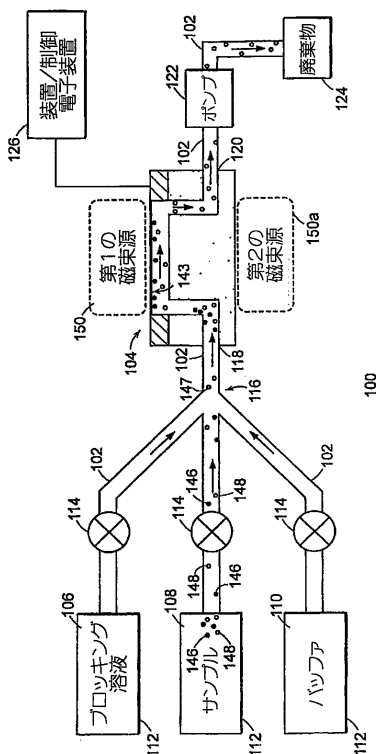
【図 13】バッファにおける F K - 5 0 6 の用量応答曲線である。

【図 14】バッファにおける F K - 5 0 6 濃度の関数としての複数の F P W センサからの信号の変化を示している。

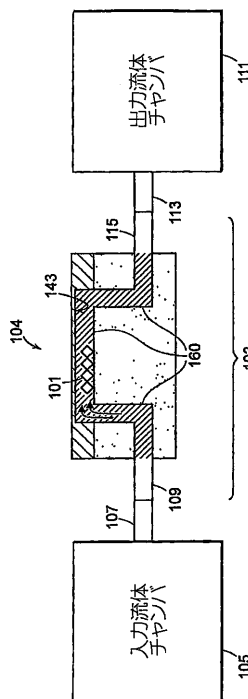
【図 15】血清中の F K - 5 0 6 の用量応答曲線である。

【図 16】血清中の F K - 5 0 6 濃度の関数としての複数の F P W センサからの信号の変化を示している。

【図 1 A】



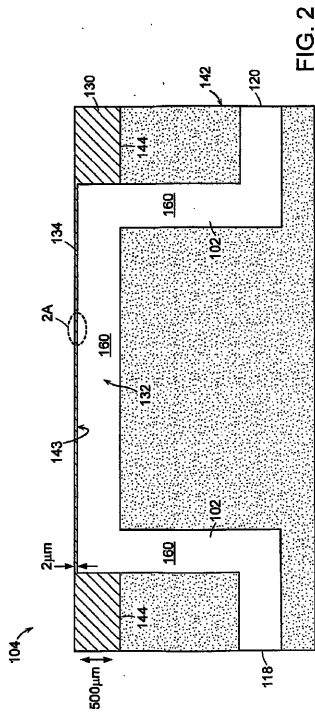
【図 1 B】



10

20

【図 2】



【図 2 A】

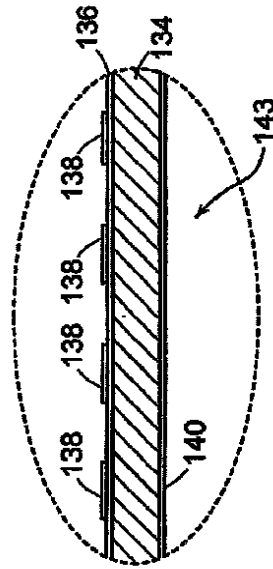
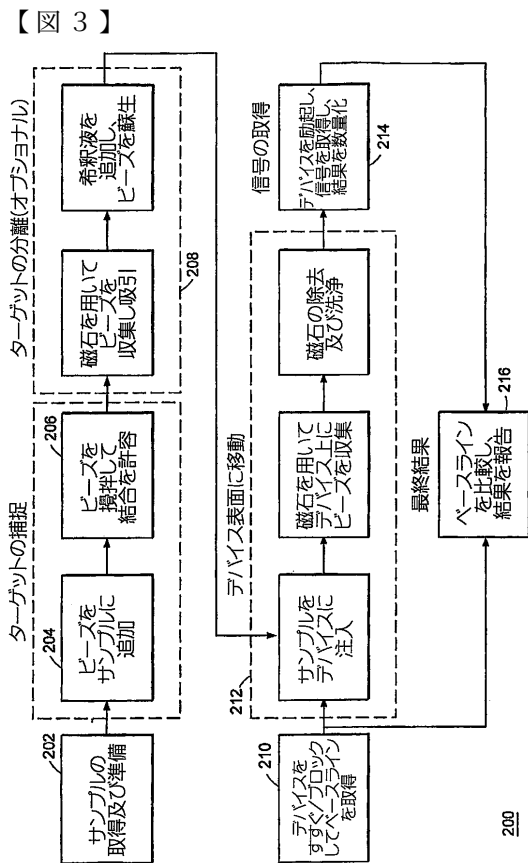
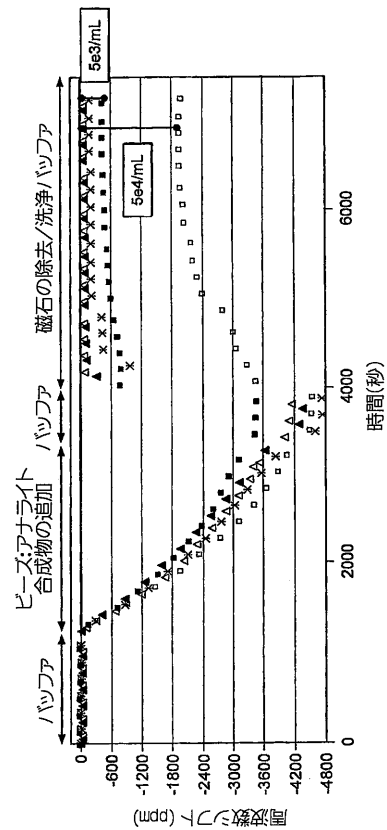


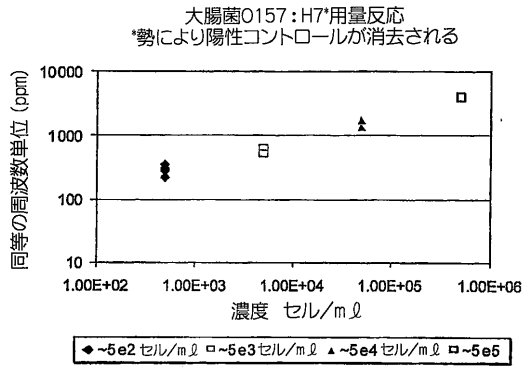
FIG. 2A



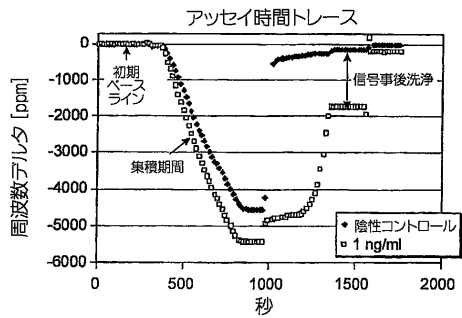
【図 4】



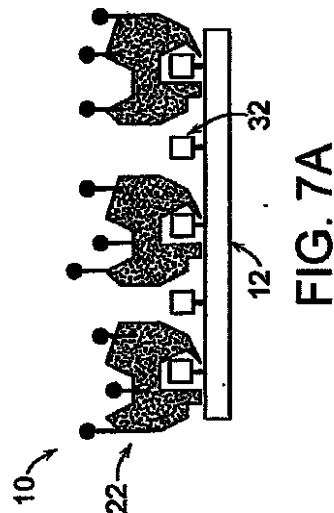
【図 5】



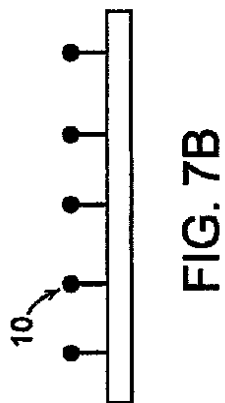
【図 6】



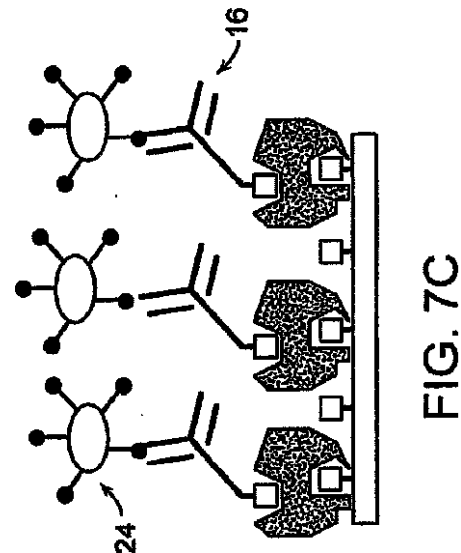
【図 7 A】



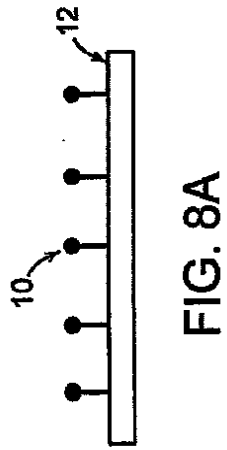
【図 7 B】



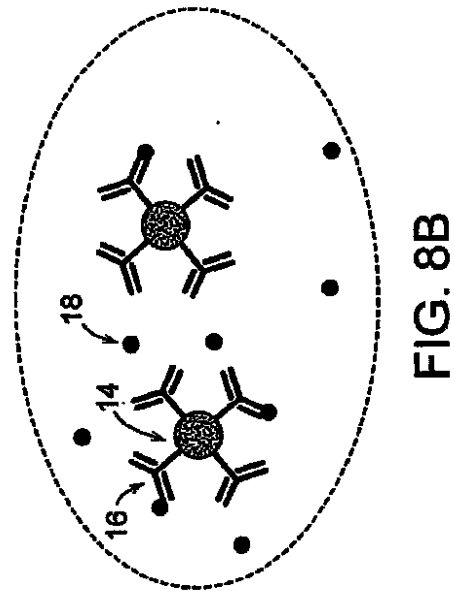
【図 7 C】



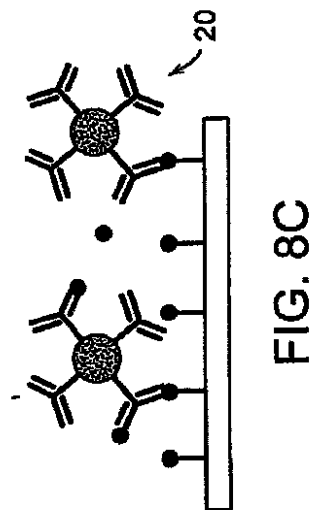
【図 8 A】



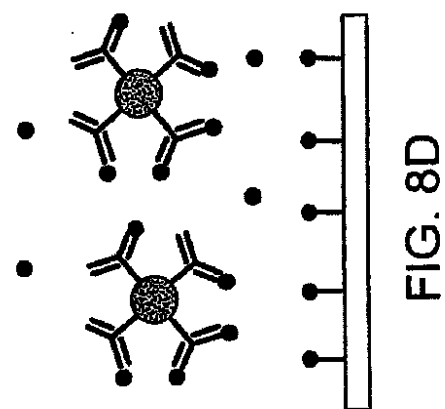
【図 8 B】



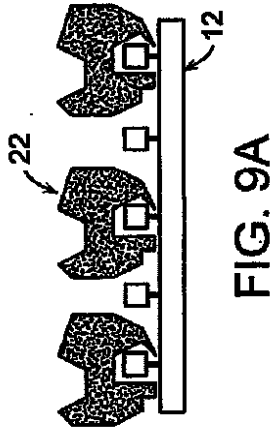
【図 8 C】



【図 8 D】



【図 9 A】



【図 9 B】

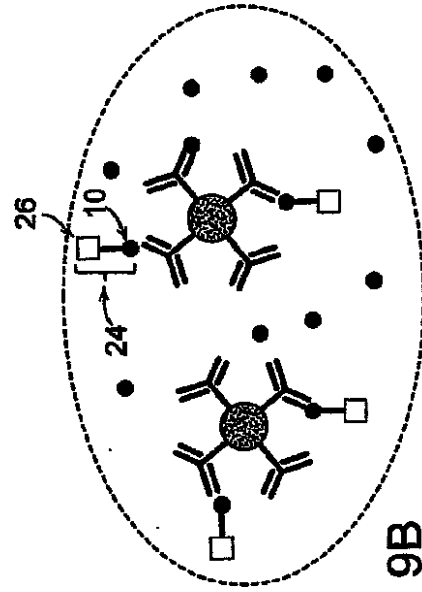


FIG. 9B

【図 9 C】

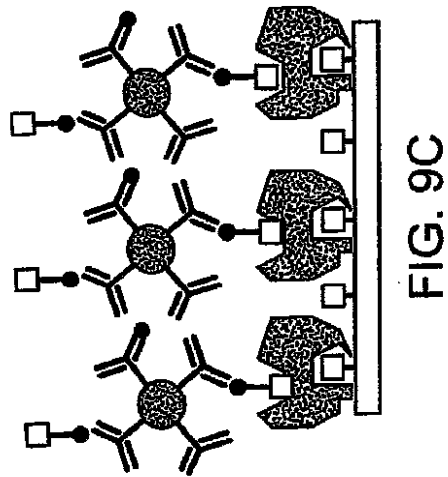


FIG. 9C

【図 9 D】

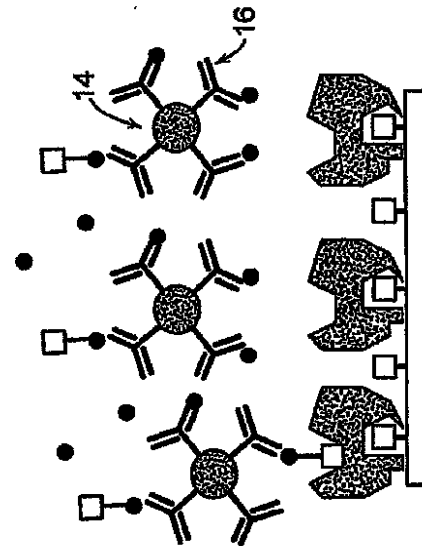
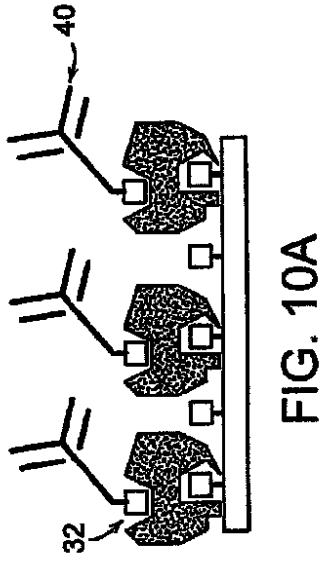
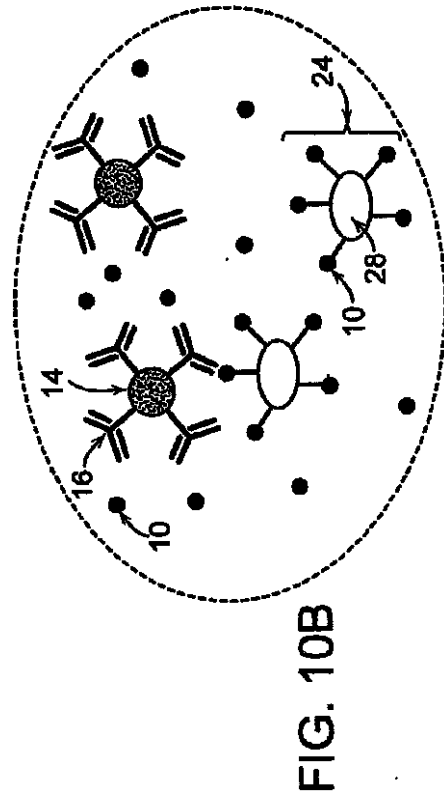


FIG. 9D

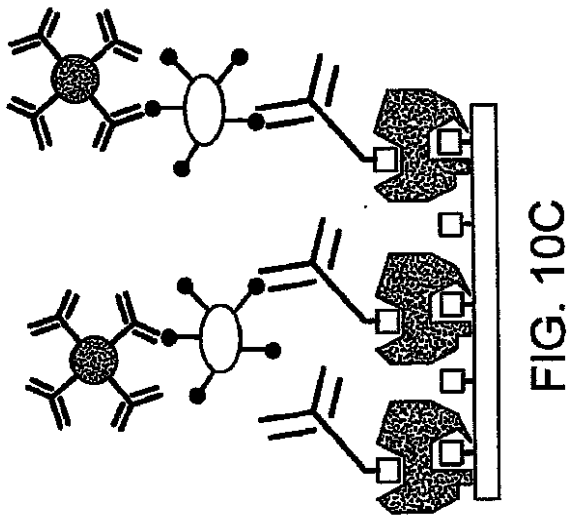
【図 10 A】



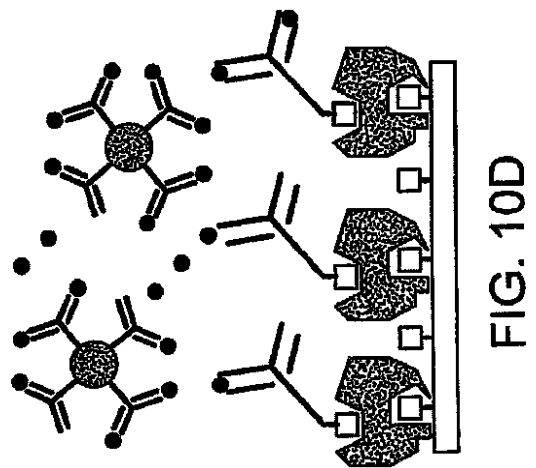
【図 10 B】



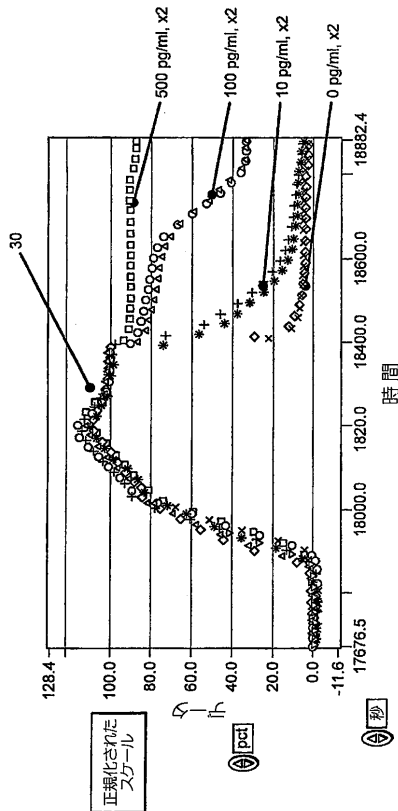
【図 10 C】



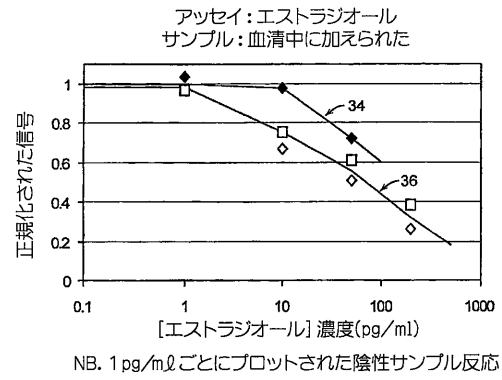
【図 10 D】



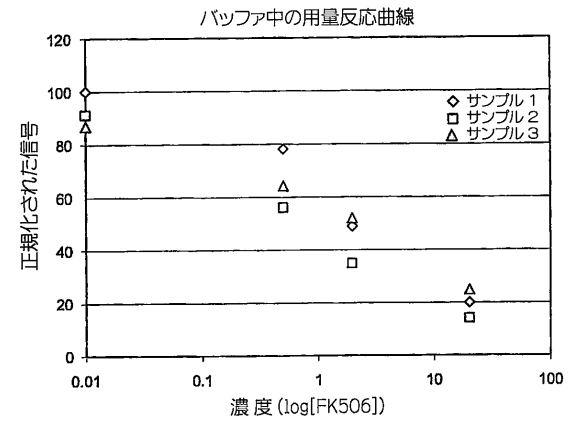
【図 1 1】



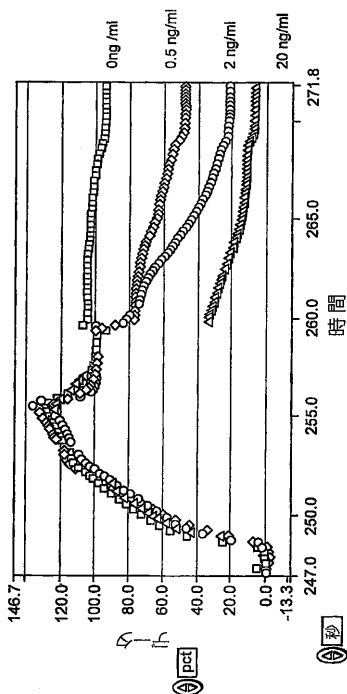
【図 1 2】



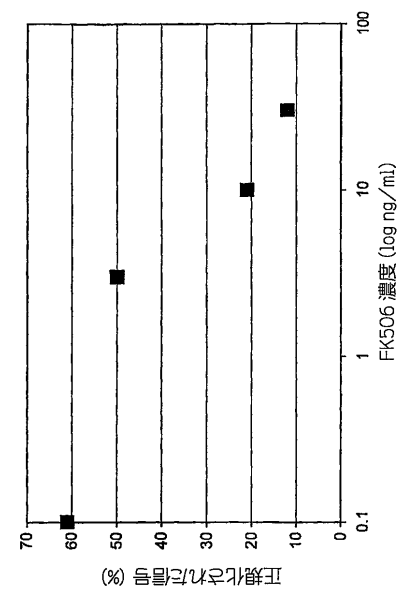
【図 1 3】



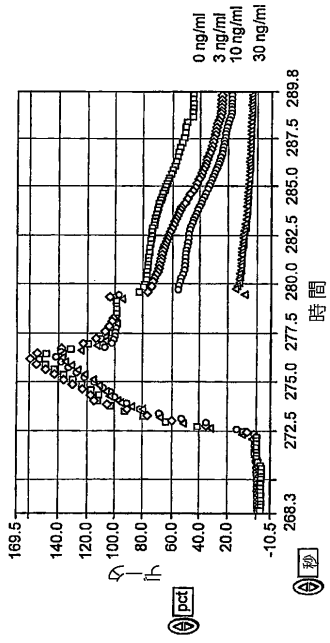
【図 1 4】



【図 1 5】



【図 16】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/543		International application No PCT/US2006/016809
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		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PYUN J C ET AL: "Development of a biosensor for E. coli based on a flexural plate wave (FPW) transducer" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 13, no. 7-8, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 839-845, XP002342141 ISSN: 0956-5663	35-39
Y	abstract page 843, left-hand column, last paragraph - right-hand column ----- -/-	1-34, 40-110
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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 document 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 20 February 2007		Date of mailing of the international search report 28/02/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Weijland, Albert

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2006/016809

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PEPPER J ET AL: "Detection of proteins and intact microorganisms using microfabricated flexural plate silicon resonator arrays" SENSORS AND ACTUATORS B, ELSEVIER SEQUOIA S.A., LAUSANNE, CH, vol. 96, no. 3, 1 December 2003 (2003-12-01), pages 565-575, XP004475580 ISSN: 0925-4005 abstract page 574, left-hand column, last paragraph	1-34, 40-110
Y	CHOI J-W ET AL: "A new magnetic bead-based, filterless bio-separator with planar electromagnet surfaces for integrated bio-detection systems" SENSORS AND ACTUATORS B, ELSEVIER SEQUOIA S.A., LAUSANNE, CH, vol. 68, no. 1-3, 25 August 2000 (2000-08-25), pages 34-39, XP004216589 ISSN: 0925-4005 abstract page 38, right-hand column, last paragraph	1-34, 40-110

フロントページの続き

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

(74)代理人 100096068

弁理士 大塚 住江

(72)発明者 スリヴァスタナ, エイロック

アメリカ合衆国カリフォルニア州94107, サン・フランシスコ, サザン・ハイツ・アヴェニュー 10

(72)発明者 ワン, ウェイン

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02138, ケンブリッジ, ケンブリッジ・ストリート 1643 ナンバー7

(72)発明者 ミラー, マイケル

アメリカ合衆国ニューハンプシャー州03049, ホリス, ウィーラー・ロード 73

(72)発明者 マスターズ, ブレット・ピー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02472, ウォータータウン, キーナン・ストリート 37

(72)発明者 グラティ, ヴィシヤル・ケイ

イギリス国 エスダブリュー1ピー 4エイエル ロンドン, リージェンシー・ストリート 97, グラッドストーン・コート 4

(72)発明者 ランストローム, マーク

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02109, ボストン, ワン・デヴォンシャー・プレイス

专利名称(译)	使用声学装置检测分析物的方法和设备		
公开(公告)号	JP2008541052A	公开(公告)日	2008-11-20
申请号	JP2008510128	申请日	2006-05-02
[标]申请(专利权)人(译)	生物公司规模		
申请(专利权)人(译)	生物的规模，公司		
[标]发明人	スリヴァスタナエイロック ワンウェイン ミラーマイケル マスターズブレットピー グラティヴィシャルケイ ランストロームマーク		
发明人	スリヴァスタナ,エイロック ワン,ウェイン ミラー,マイケル マスターズ,ブレット・ピー グラティ,ヴィシャル・ケイ ランストローム,マーク		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N9/00		
CPC分类号	G01N33/54313 B01L3/502761 B01L2200/0647 B01L2300/0681 B01L2300/1822 B01L2400/043 B01L2400/0487 B82Y15/00 B82Y30/00 G01N29/022 G01N29/036 G01N29/4418 G01N33/56911 G01N2291/0256 G01N2291/02836 G01N2291/0422 G01N2291/0423 G01N2291/0426 G01N2291/ /0427 G01N2800/324 Y02A50/52 Y02A50/57		
FI分类号	G01N33/543.593 G01N33/53.U G01N33/53.A G01N9/00.C		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/676759 2005-05-02 US 60/690592 2005-06-15 US 11/183484 2005-07-18 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

用于检测样品中的分析物的系统包括谐振传感器，其具有涂覆有捕获剂的传感器表面。将多个磁性颗粒与样品组合，每个磁性颗粒涂覆有对分析物具有亲和力的捕获剂，以形成多个分析物-颗粒复合物。该系统还包括用于将样品传送到传感器表面的传送装置，以及构造和布置成在传感器表面处和附近建立磁场的磁场感应结构。共振传感器产生对应于结合到传感器表面的分析物-颗粒复合物的量的信号。

