

(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2005-535874  
(P2005-535874A)

(43) 公表日 平成17年11月24日(2005.11.24)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543	GO 1 N 33/543 5 2 5 C	2 G O 5 4
GO 1 N 21/78	GO 1 N 33/543 5 0 1 F	2 G O 5 8
GO 1 N 27/447	GO 1 N 21/78 C	4 B O 2 9
GO 1 N 30/00	GO 1 N 21/78 Z	
GO 1 N 30/88	GO 1 N 30/00 C	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-527060 (P2004-527060)  
 (86) (22) 出願日 平成15年8月12日 (2003. 8. 12)  
 (85) 翻訳文提出日 平成17年3月9日 (2005. 3. 9)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2003/003511  
 (87) 国際公開番号 W02004/015418  
 (87) 国際公開日 平成16年2月19日 (2004. 2. 19)  
 (31) 優先権主張番号 GB0218797. 9  
 (32) 優先日 平成14年8月13日 (2002. 8. 13)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

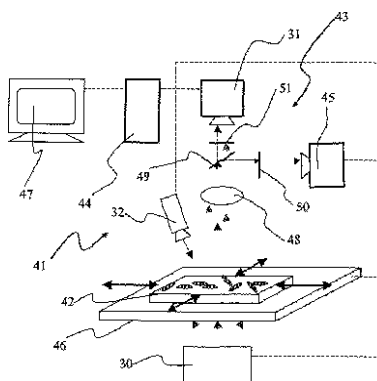
(71) 出願人 503293112  
 スマートビード テクノロジーズ リミテ  
 イド  
 イギリス国, ケンブリッジ シービー2  
 4 エーティー, バブラハム, バブラハム  
 ホール  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087871  
 弁理士 福本 積  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分析装置

(57) 【要約】

本発明は、試料中の標的分子を捕獲するための分析装置を提供する。当該装置は、( a ) 5 0 0 μ m 以下の最大寸法を有する支持体であって、各支持体が、これに結合した少なくとも一つの捕獲検体を含み、当該少なくとも一つの検体が、蛋白質、抗体、抗体断片、DNA アプタマー、核酸、小分子及び標的分子に結合するために用いられる他のいずれかの分子の 1 以上に親和性を示す少なくとも一つの捕獲剤である、前記支持体；並びに ( b ) 少なくとも一つの標的分子と少なくとも一つの検体との結合が、前記少なくとも一つの標的分子の存在を示すように、流体溶液中において、少なくとも一つの支持体の前記少なくとも一つの検体に、試料を接触させるための配置を含む。当該装置は、( c ) 各支持体が、前記装置が前記支持体を識別することができる手段を識別することを含み；( d ) 前記装置が、前記少なくとも一つの標的分子と前記少なくとも一つの検体との結合を検出する手段を問い合わせることを含み、当該装置は、それによって、各支持体をその対応する標的分子と関連付けることができ；並びに ( e ) 分子が前記支持体に結合した前



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

試料中の標的分子を捕獲するための分析装置であって、当該装置が、

(a) 500  $\mu\text{m}$ 以下の最大寸法を有する支持体であって、各支持体が、これに結合した少なくとも一つの捕獲検体を含み、当該少なくとも一つの検体が、蛋白質、抗体、抗体断片、DNA アプタマー、核酸、小分子及び標的分子に結合するために用いられる他のいずれかの分子の1以上に親和性を示す少なくとも一つの捕獲剤である、前記支持体；

(b) 流体溶液中において、少なくとも一つの支持体の前記少なくとも一つの検体に、試料を接触させ、少なくとも一つの標的分子と少なくとも一つの検体との結合が、前記少なくとも一つの標的分子の存在を指示する接触手段；

を含み、ここで、

(c) 各支持体が、前記装置が前記支持体を識別することができる識別手段を含み；

(d) 前記装置が、前記少なくとも一つの標的分子と前記少なくとも一つの検体との結合を検出する問い合わせ手段を含み、それによって、当該装置は、各支持体をその対応する標的分子と関連付けることができ；並びに

(e) 前記装置が、前記支持体に結合された前記少なくとも一つの検体によって分子が捕獲されにくい試料の残余を回収し、かつ分析するための分析手段を更に含む；

ことを特徴とする、前記装置。

10

## 【請求項 2】

その対応する少なくとも一つの検体上に捕獲される少なくとも一つの標的分子が、可逆的に結合されるため、前記少なくとも一つの可逆的結合分子が、回収され易く、特徴付けられ易く、かつ前記問い合わせ手段を用いて定量され易い、請求項 1 記載の装置。

20

## 【請求項 3】

試料中に存在する標的分子の量が、前記少なくとも一つの捕獲検体に結合された量から定量できる、請求項 1 又は 2 記載の装置。

## 【請求項 4】

試料の残余を分析する前記分析手段が、当該分析を実施するための1以上の次の手段：マイクロアレイ、顕微分光分析法、2D - GE、クロマトグラフィー、塩基配列決定法、フローサイトメトリー及び免疫沈降法を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか1項記載の装置。

30

## 【請求項 5】

前記支持体の最大寸法が300  $\mu\text{m}$ 未満である、請求項 1 ~ 4 のいずれか1項記載の装置。

## 【請求項 6】

前記支持体の最大寸法が150  $\mu\text{m}$ 未満である、請求項 1 ~ 4 のいずれか1項記載の装置。

## 【請求項 7】

前記支持体の最大寸法が50  $\mu\text{m}$ 未満である、請求項 1 ~ 4 のいずれか1項記載の装置。

## 【請求項 8】

前記識別手段が、各支持体を識別できる形状、大きさ、バーコード又はドットコードのような1以上の識別形態を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか1項記載の装置。

40

## 【請求項 9】

少なくとも一つの識別手段が、放射性周波数識別トランスポンダ (RFID) である、請求項 1 ~ 8 のいずれか1項記載の装置。

## 【請求項 10】

少なくとも一つの識別手段が、蛍光又は色彩系のような光学的識別である、請求項 1 ~ 9 のいずれか1項記載の装置。

## 【請求項 11】

前記流体溶液が液体である、請求項 1 ~ 10 のいずれか1項記載の装置。

50

## 【請求項 1 2】

試料中の標的分子を捕獲及びろ過する方法であって、当該方法が次のステップ：

( a ) 5 0 0  $\mu$  m 以下の最大寸法を有する支持体であって、各支持体が、これに結合した少なくとも一つの捕獲検体を含み、当該少なくとも一つの検体が、蛋白質、抗体、抗体断片、DNA アプタマー、核酸、小分子及び標的分子に結合するために用いられる他のいずれかの分子の 1 以上に親和性を示す少なくとも一つの捕獲剤である、前記支持体を提供すること；

( b ) 流体溶液中において、少なくとも一つの支持体の前記少なくとも一つの検体に試料を接触させ、少なくとも一つの標的分子と少なくとも一つの検体との結合が、前記少なくとも一つの標的分子の存在を指示すること；

を含み、ここで、

当該方法が次のステップ：

( c ) 前記支持体を識別することができる識別手段を有する各支持体を提供すること；

( d ) 前記少なくとも一つの標的分子と前記少なくとも一つの検体との結合を検出し、それによって、各支持体をその対応する標的分子と関連付けること；並びに

( e ) 前記支持体に結合された前記少なくとも一つの検体によって分子が捕獲されにくい試料の残余を回収し、かつ分析すること；

を更に含むことを特徴とする、前記方法。

10

## 【請求項 1 3】

その対応する少なくとも一つの検体上に捕獲される少なくとも一つの標的分子が、可逆的に結合されるため、前記少なくとも一つの可逆的結合分子が、回収され易く、特徴付けられ易く、かつ問い合わせ手段を用いて定量され易い、請求項 1 2 記載の方法。

20

## 【請求項 1 4】

試料中に存在する標的分子の量が、前記少なくとも一つの捕獲検体に結合された量から定量できる、請求項 1 2 又は 1 3 記載の方法。

## 【請求項 1 5】

ステップ ( e ) において、試料の残余が、1 以上の次の手段：マイクロアレイ、顕微分光分析法、2 D - G E、クロマトグラフィー、塩基配列決定法、フローサイトメトリー及び免疫沈降法を用いて分析される、請求項 1 2 ~ 1 4 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 1 6】

前記支持体の最大寸法が 3 0 0  $\mu$  m 未満である、請求項 1 2 ~ 1 5 のいずれか 1 項記載の方法。

30

## 【請求項 1 7】

前記支持体の最大寸法が 1 5 0  $\mu$  m 未満である、請求項 1 2 ~ 1 6 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 1 8】

前記支持体の最大寸法が 5 0  $\mu$  m 未満である、請求項 1 2 ~ 1 7 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 1 9】

前記識別手段が、各支持体を識別できる形状、大きさ、バーコード又はドットコードのような 1 以上の識別形態を含む、請求項 1 2 ~ 1 8 のいずれか 1 項記載の方法。

40

## 【請求項 2 0】

少なくとも一つの識別手段が、放射性周波数識別トランスポンダ ( R F I D ) である、請求項 1 2 ~ 1 9 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 2 1】

少なくとも一つの識別手段が、蛍光又は色彩系のような光学的識別である、請求項 1 2 ~ 2 0 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 2 2】

前記流体溶液が液体である、請求項 1 2 ~ 2 1 のいずれか 1 項記載の方法。

## 【請求項 2 3】

50

試料の複雑性を減ずる目的のために標的分子を可逆的に捕獲し、かつ図 1 ~ 8 の 1 以上を参照して上述した捕獲分子を特徴付けるための装置。

【請求項 24】

試料の複雑性を減ずる目的のために標的分子を可逆的に捕獲し、かつ図 1 ~ 8 の 1 以上を参照して上述した捕獲分子を特徴付けるための方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、捕獲分子及び残留未捕獲分子を特徴とする試料の複雑性を減ずるための、試料中の標的分子を捕獲し、ろ過するための分析装置に関する。更に、本発明は、捕獲分子及び残留未捕獲分子を特徴とする試料の複雑性を減ずるための、試料中の標的分子の捕獲及びろ過する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

近年、例えば酵母、細菌、哺乳類及び細胞株等の多数のタイプの生物の蛋白質及び核酸の特徴を測定するための技術や関連するシステムに、かなり興味を持たれている。例えば、現在、バイオテクノロジー、医薬、診断、獣医、石油、パルプ及び紙、食品及び飲料、並びに化学工業において、蛋白質（プロテオミクス）の同定及び特徴付けのための大規模並列ハイスループット技術が求められている。

【0003】

同様に、最近、例えば酵母、細菌、哺乳類、細胞株、薬物ターゲット及び可能性のある治療等の複合試料のハイスループット分析のための技術や関連するシステムにも、かなり興味を持たれている。当該分析は、細胞内の出来事についての大容量の情報を提供する蛋白質や遺伝子の発現のハイスループット・プロファイリングを含む。病気のメカニズムや治療効果は、蛋白質及び遺伝的プロファイルに関連する。従って、その分析は、診断試験及び新薬の開発のための情報を提供する。しかしながら、細胞内の出来事の全てを同時分析する試みは、非常に複雑な作業であり、そのため、試料は、例えばミトコンドリア又は核酸等の関連する小群に分画するなどにより、一般的に、まず単純化しておくことが必要である。

20

【0004】

例えば、プロテオミクスの分野、すなわち、蛋白質レベルでの全遺伝子の発現の同時分析は、生物装置を研究し、また種々の発現遺伝子と遺伝子産物間との関係を理解するための主なアプローチの一つに急速になっている。ヒトゲノムについての知識が蓄積されるに従い、対応するプロテオーム、すなわち、特定の細胞、生物又は組織のタイプによって発現される蛋白質全体の技術や関連する装置の開発に、並行して興味を持たれている。特に、特定の疾患症状又は環境条件の特定のセットに関連するプロテオームの特徴を測定するための技術の開発に興味を持たれている。

30

【0005】

現在のところ、試料中の蛋白質の特徴を検出する試験は、非常に多数の実験ステップを必要とする。当該ステップは、溶解による試料の調製、次いで、蛋白質の二次元ゲル電気泳動（2D-GE）、電気泳動抽出を行い、そして、マススペクトロメトリー、クロマトグラフィー、マイクロアッセイ又は別の電気泳動法を行うことを含む。プロテオミクスに現在用いられているコアの方法、いわゆる 2D-GE は、一回の実験で、単純な複合混合物から、多数の蛋白質及びペプチドを分離することができる技術である。蛋白質は、まず、その等電点、いわゆるその実効電荷がゼロになる pH によって分離され、次いで電気泳動段階で用いる見かけ上の質量により直角に分離される。個々の蛋白質は、標準的な染色プロトコールを使用することにより、ゲル上に分離したスポットとして現れる。

40

【0006】

しかしながら、多くの一般的な方法のように、2D-GE 分析には、ハイスループット容量に適用するための当該方法の利用に疑問を投げかける、多数の深刻な限界がある。当

50

該深刻な限界としては、蛋白質を識別するために必要とされる実験ステップの数、低再現性、分離困難性、少量の蛋白質を視覚化する不可能性、高度な技術的スキル、一つの抽出物から、他のものの上ではなく、ゲル又はプロット上に存在する蛋白質スポットを識別するための高機能のコンピューター解析が含まれる。

【0007】

このような先述の方法は、一般的には、特定の細胞中の約半分の蛋白質を特徴付けることにすぎない。残余の蛋白質を特徴付けるためには、上記方法が少なくとも1回再度繰り返される。主に、全細胞抽出物の2Dゲルから、セル溶解物中に豊富に存在する蛋白質しかほとんど認識することができない、例えば、100~600の豊富に存在する蛋白質のみが、無数の異なった蛋白質/アイソフォームの分画を与えるにすぎない、という理由により、現在の方式の2D-GEが、大規模なプロテオミクス研究に最も重大な障害をもたらしていると、研究者のほとんどは考えている。一般的には、全細胞抽出物の2Dゲル分析を行う場合には、約250の異なった生成物のみしか与えない蛋白質が分析される。2Dゲルでの蛋白質の分離は、等電点及び分子量に基いているため、同様な性質を有するポリペプチドは分離されない。すなわち、当該ポリペプチドは、ゲル上で同じスポットを与える。

10

【0008】

新規薬物標的の発見において、分析は、細胞中にほとんどが豊富に存在し、かつ最高の特徴を有する蛋白質を超えて拡張される必要がある。これらの豊富な蛋白質の多数は、分析中に問題を引き起こすことが多い。細胞の差分画法(differential fractionation)では、通常、標準的な2Dゲルを使用する前に、クロマトグラフィー及び沈降法等の他の技術を使って分析される核、細胞質及びミトコンドリア群等の成分に、細胞を分割する。

20

しかしながら、試料を成分に分割し、成分の分析のために種々の異なった方法を使用する連続的方法は、時間を消費し、関連する実験を行うために高スキルの技術者を必要とする。

【0009】

2Dゲル又は蛋白質アレイによる分析の以前に、細胞抽出物から蛋白質やペプチドを分離する一般的な方法は、親和性捕獲試験である。当該試験は、細胞溶解物をスクリーニングするために抗体等の公知の捕獲分子を使用することを含む。すなわち、抗体は、それぞれの標的に結合し、残余の対応する上清は、Li, J. et al., Mol Cell proteomics 2002 Feb 1 (2):pp. 157-68の刊行物に記載の2Dゲル法を用いて分析される。

30

【0010】

先行技術に記載されている親和性捕獲装置としては多くの例がある。例えば、PCT特許出願番号第PCT/GB01/04182号には、抗体が、アレイに固定され、溶解試験由来の公知のペプチド断片を結合するために使用されるOxford Glycosciences Ltdのマイクロアレイ親和性捕獲装置が記載されている。

【0011】

更に、Immco Diagnostics LtdのPCT特許出願番号第PCT/US99/12708には、親和性試験を用いる試験試料中の検体の定量法が記載されている。検体は、第一親和性分子と結合し、複合体を形成する。次いで、複合体を、固体マトリックスに固定化し、検体を含む固定化複合体を標識するために、標識第二親和性分子と接触させる。試料中の検体の量を、固定化された標識量から定量する。

40

【0012】

PCT特許出願第PCT/US98/12843号では、Ciphergen ProteinChip(登録商標)は、極微量の親和性捕獲蛋白質に対して特定の表面化学を示すアレイの使用を述べている。当該技術は、捕獲蛋白質を識別するために、表面増強レーザー脱理イオン化(SELDI)の使用を必要である。当該技術の一般的欠点は、蛋白質の変性、非特異的結合検体及びアレイ上の隣接分子の相互作用を引き起こすことである。核酸の複合混合物由来の標的分子及び潜在的な治療薬となり得る化学物質等の小分子を

50

捕獲する場合には、同様な問題が起こる。

【0013】

標的分子に可逆的に結合できる、磁気ビーズを含む回収可能な支持体を用いる親和性試験を実施するための方法は、Amoco Ltdの欧州特許第0265244号に記載されている。科学論文、Tarkkinen, P. et al., Clin Chem 2002 Feb 48 (2): pp. 269-77に記載のように、ビーズは、C反応性蛋白質の定量的抗体捕獲試験を開発するために使用されてきた。方法及び試験のいずれも、標的検体の捕獲のためのビーズに結合された捕獲検体を使用する。

【0014】

科学論文、Turecek, F. J Mass Spectrom 2002 Jan 37 (1): pp. 1-14に記載のように、同位体コード親和性タグ (ICAT) もまた、複合試料由来の分子の選択的な親和性捕獲のために開発されていった。

10

【0015】

親和性捕獲はまた、核酸又は小分子の複合混合物を精製に用いられる。欧州特許出願第EP0296557A2号では、一本鎖分子及び二本鎖分子の複合混合物由来の望ましくない一本鎖核酸を除去する方法を述べている。捕獲検体は、水不溶性ビーズに結合された一本鎖核酸からなる。

【0016】

米国特許第US5759778号は、標的配列に相補的配列を含むビオチン化プローブを用いるライブラリーから、標的核酸分子を単離し、回収する方法に関する。更に、国際PCT特許出願番号第PCT/US97/02852号では、環境汚染物質、乱用薬物、治療薬物及びホルモン等の小分子を検出する結合試験を述べている。当該試験は、標的検体に結合する検体受容体を含むクロマトグラフィーのストリップの使用を含む。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

本発明者らは、前記の方法、技術及び試験の限界を理解しており、そのため、当該限界を解決することができる分析装置を見出した。

【課題を解決するための手段】

【0018】

本発明の第一の目的は、分子の分析のための改良分析装置を提供することにある。

30

【0019】

本発明の第二の目的は、複合試料中の分子の分析効率を改善するために、分析装置を提供することにある。

【0020】

本発明の第三の目的は、一般的な試料分析装置の試験処理能力を改善するために、分析装置を提供することにある。

【0021】

本発明の第一の特徴によれば、請求項1で定義された分析装置を提供する。当該装置は、本発明の前記目的の少なくとも一つを解決することができるという利点がある。

40

【0022】

本発明は、独自にコードされた支持体が、その主表面に結合された捕獲分子を有する、複合混合物からの分子捕獲の方法に関する。多数の標識支持体及び結合捕獲分子が同時に試験中に存在し得るため、無数の試験の多重化実験が一度にできる。支持体と組み合わせた当該捕獲分子の使用により、捕獲分子の識別や回収が可能になる。

【0023】

本発明の好ましい具体例では、一次支持体は、各同時試験法に用いられる試薬の量を減ずる微粒子の形態にある。

【0024】

本発明は、好ましくは、可逆的親和性捕獲試験で使用するためのコード化三次元微粒子

50

アレイを分析装置に組み込む。当該装置は、親和性捕獲検体が結合されたコード化微粒子を含み、当該微粒子は、溶液中に存在し、及び/又はカラムに充填されている。このような処理は、アレイの大規模多重化を可能にする。

【0025】

検体は、特に限定されないが、抗体、抗原、蛋白質、酵素、基質、炭水化物、ペプチド、アフィビーンズ（登録商標）、核酸、ペプチド核酸、細胞株、化学成分、オリゴヌクレオチド、血清成分、小合成分子、薬物又はその誘導体もしくは断片を含む。本発明は、複合試料から捕獲分子を分離する、すなわち各コード化微粒子は異なった捕獲標的を運ぶ、という利点を提供するものであり、当該利点により、標的分子間の望ましくない相互作用を潜在的に抑制することができ、溶液中の分子が変性しないように維持できる。コード化微粒子は、2D-GE等の複合分析法を用いずに、可逆的捕獲分子を識別し、回収し、特徴付けることができる。標的分子をろ過することにより、当該装置は、試料の複雑性を低減し、それによって分析の処理能力を上げる。分析装置には、例えば細胞群中の蛋白質の比較分析や薬物標的スクリーニング試験等の幅広い応用がある。

10

【0026】

本発明の他の好ましい具体例では、識別手段は、形状、大きさ、バーコード又はドットコード等の各支持体の識別を可能にする識別形態を含む。識別手段としては、例えば、ノイズ率に良好なシグナルを与え、スペクトルの重複や偽陽性の危険を減ずるバーコードなどの精通した識別基準を利用することができる。

【0027】

本発明の他の好ましい具体例は、放射性周波数識別トランスポンダ（RFID）、あるいは蛍光又は色彩コード等の光学的識別の使用を含む。RFIDの使用は、非常に多くのコードが使用できるという利点を与え、また測定手段と識別可能な支持体との間に視覚的伝達を必要としない。支持体上の視覚コードの使用では、波長又は色彩と、例えばFITC標識等の標準蛍光マーカーと組み合わせることはできないが、低コストの標識支持体の使用が可能になる。

20

【0028】

本発明の第二の特徴によれば、請求項12で定義された方法を提供する。

【0029】

本発明の第二の特徴では、分子特性を検出し、定量する分析装置であって、これは2つの異なったタイプのシグナルを記録するために配置された検出手段及び識別手段を有し、第一シグナルは、活性化シグナル放出標識の検出及び定量に関連付けられ、第二シグナルは、支持体の逐次認識の読みに関連付けられる。異なったタイプのシグナルの過半数は、最新かつ高価な画像処理装置を使用する見込みの必要性を低減させる。

30

【0030】

本発明の請求の範囲から乖離しなければ、本発明の特徴をいずれの組み合わせにも組み合わせることができることは理解できよう。

【発明の効果】

【0031】

本発明の分析装置は、本発明の前記目的の少なくとも一つを解決できるという利点がある。

40

本発明の分析方法は、本発明の前記目的の少なくとも一つを解決することができるという利点がある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0032】

図1では、本発明に従う分析装置で使用する支持体の好ましい具体例の図を示す。一つの一次支持体(1)を示す。該支持体は、マイクロキャリア、微粒子又は以下の説明では「ビード」とも言われる。支持体(1)は、例えば1以上のポリマー、ケイ酸塩、ガラス、ファイバー、金属又は合金等の不溶性材料又は固体材料から実質的に作られる。本発明の好ましい具体例では、支持体(1)は、金、銀、銅、ニッケル、亜鉛等の金属、好まし

50

くはアルミニウムから作られる。支持体(1)を作る場合には、ポリスチレン、ポリアクリレート、ポリアミド又はポリカーボネート等の1以上のポリマーを使用することも好ましい。支持体(1)は、好ましくは、上記材料のうちのいずれか1以上で部分的又は全体的に被覆されている。

#### 【0033】

支持体(1)は、次の説明では識別コード又は識別タグとも言われる識別形態(2)を組み込む。識別形態(2)の例は、連続識別、支持体(1)の異なった形状及び大きさ、支持体(1)に結合されたトランスポンダ(例えば、放射性周波数識別チップ、RFIDs)、及び支持体(1)の蛍光コード又は種々の色彩の内の1以上に基いている。好ましくは、識別形態(2)は、溝、切り目、窪み、突出、突起の少なくとも一つ(又はそれらのいずれかの組み合わせ)の形状、より好ましくはホール(穴部)の形状にある連続識別である。支持体(1)の一部である識別形態(2)は、製造後に各支持体(1)を標識する必要がないという利点がある。連続識別(2)は、好適には、機械で読み取り可能な伝送光学バーコードであり、伝送又は反射で読むならば、ノイズ率に対してシグナルを増加させることができる。その結果、関連する連続識別コードは、例えば、商業用小売店で商品に標識を付するために使用されるような慣用的バーコードシステムに見られるスキームと類似したコード体系を用いる一連のホールとして、支持体(1)中に記録される。該コードは、支持体(1)の識別形態(2)を決定するために、現存する読み取り技術を使用することができ、本発明に従う技術を採用すると、それにより、初期投資を減ずることができる。

10

20

#### 【0034】

好ましい具体例では、一次支持体(1)は、実質的には、図1で説明した、少なくとも主面(6)を有する平面形態である。支持体(1)は、幅(4)対長さ(3)の割合が、好適には約1:2~約1:20の範囲、より好ましくは約1:5~約1:15の範囲である。更に、支持体(1)は、好ましくは約3 $\mu$ m未満、より好ましくは約1 $\mu$ m未満の厚さ(5)を有する。厚さ(5)が約1 $\mu$ m未満の場合、過酷な実験条件下で使用可能な支持体(1)を提供するのに十分な機械的支持強度を与えることが判った。支持体(1)の最大寸法(3)は、約500 $\mu$ m以下、好ましくは約300 $\mu$ m以下、より好ましくは約150 $\mu$ m以下、より好ましくは約100 $\mu$ m以下、更により好ましくは約50 $\mu$ m以下、最も好ましくは約10 $\mu$ m以下である。本発明の好ましい具体例は、約100 $\mu$ mの長さ(3)、約10 $\mu$ mの幅(4)及び約1 $\mu$ mの厚さ(5)を有する支持体(1)に関する。すなわち、該支持体(1)は、100,000を超える種々の識別配列バーコード(2)を保有することができる。

30

#### 【0035】

支持体(1)に類似する約250万の支持体は、最近確立された製造技術を用いて、例えば、シリコンウエハーのような直径3インチの半導体型ウエハー上に加工されている。有利なことに、支持体(1)の形状は、1ウエハー当り製造される支持体(1)の数を最適化し、実質的に、支持体(1)上に可能な識別コードの数を最適化もする形状である。支持体(1)は、必要なデザインや識別コードを注文して作ることができる高価で効率的な製造技術を利用する。前記のように、支持体(1)の大きさと同様に形状は、微細加工製造技術を用いて、好適に変化してもよい。可能性のある形状の非網羅的な例は、例えば、同一又は異なった材料の円形、楕円形、細長い形、正方形、長方形、多角形の支持体又は多層形の支持体でもある。適用によっては、約500nm以下の最大寸法を有する超微粒子の大きさの支持体が好ましい場合もある。該超微粒子の例は、円筒型のナノバーを含む。しかしながら、大きさの下限は、実現する反応速度論の十分な感度によって支配されている。

40

#### 【0036】

一般的なフォトリソグラフィ及びドライエッチング方法は、材料層を製造し、パターン化して、バーコード識別(2)を有する分離固体支持体(1)を得るために用いられる製造技術の例である。支持体(1)に類似した多数の支持体を製造するための加工方法は、

50

次のステップ：

1. 溶解剥離層を平面ウエハー上に蒸着させること；
2. 支持材料層を該剥離層上に、該ウエハーから離して蒸着させること；
3. フォトリソグラフィ方法及びエッチング方法により、該支持材料層での、連続識別形態(2)を含む支持形態を決めること；
4. 好適な溶媒を用いて該剥離層を除去して、該平面ウエハーから剥がれた支持体を得ること；並びに
5. 場合により、該支持材料を処理してその結合特性を改善することを含む。

【0037】

図2は、蛋白質、抗体、抗体断片、DNAアプタマー、核酸、アフィポディーズ(登録商標)、小分子及び捕獲検体(7)として用いられる他のいずれかの小分子等の捕獲検体(7)が、支持体(1)の区分6にどのようにして結合されるかを説明する。支持材料を化学的に処理し、物理的学に変える多くの方法は、捕獲検体の結合を促進するために、任意のステップ5に使用してもよい。あるいは、支持材料層の処理であるステップ5は、場合により、省略することもできる。支持体(1)の処理は、前記のように、ウエハーからの剥離の後、あるいはウエハーからの剥離の前に又は製造方法のステップの早い段階に行われる。支持体(1)の表面(6)又は捕獲検体(7)を修飾することにより、捕獲検体(7)と支持体(1)間の結合は改善される。

10

【0038】

アルミニウムは、支持体(1)の好ましい材料であり、その結合特性を改善するために、アルミニウム陽極酸化により、多孔質表面を増大させる公知の方法がある。同様に、該多孔質表面を被覆する方法も知られている。出願人は、かかる知識を活用して、厳密に制御された多孔率及び深さを有する吸収表面を増大させる比較的簡単な方法を開発してきた。該多孔質表面(6)は、捕獲検体(7)に機械的に結合させることができる。アビジン-ビオチン系の使用は、支持体(1)とその関連する捕獲検体(7)との化学的結合を改善する別の方法である。支持体(1)の表面(6)は、ケイ素及び/又はビオチン等の結合材料で処理され、更に結合特性が増大する。支持体(1)は、好ましくは、その表面(6)上に焼成シランを有する。例えばアビジン-ビオチン・サンドウィッチ系等の捕獲検体(7)への分子の結合は、その化学的分子結合特性を更に改善する。

20

【0039】

増大する結合は、好ましくは、支持体(1)の結合表面と捕獲検体間の共有結合を介して行われる。共有結合は、捕獲検体が支持体(1)から遊離するのを防ぎ、分析中のバックグラウンドノイズを乱さないようにする。遊離した捕獲検体(7)は、生じた反応の識別を妨げてしまうという潜在的な問題もある。分析中の実験において、そうしないと、ノイズを増加させるようないずれかの過剰な検体(7)を除くために、捕獲検体(7)の結合後に活性支持体(1)を洗浄することが重要であることが判っている。支持体(1)を用いる試験の識別は、高いシグナル対ノイズ比によって増大する。

30

【0040】

捕獲検体(7)は、上記のものに限定されず、独自に区別され及び識別され得る広範囲の化合物を含むことができることは理解できよう。例えば、捕獲検体(7)は、抗体、抗原、蛋白質、酵素基質、炭水化物、ペプチド、アフィポディーズ(登録商標)、核酸、ペプチド核酸、細胞株、化学成分、オリゴヌクレオチド、血清成分、小合成分子、薬物又はその誘導体もしくは断片を含む。このような広範囲の捕獲検体(7)の全ては、フォトリソグラフィ工程の実施又は平面基質からの支持体(1)の遊離の前あるいは後のいずれかに、上記ステップ1~5によって、加工された支持体に結合することができる。

40

【0041】

上記の支持体(1)の好適な識別は、特定の捕獲検体(7)の特定の識別の使用と重要に関連している。当該調整は、一定の捕獲検体(7)に対する未決定識別コード(2)の使用を可能にするものであり、実験を設計する場合に、識別コード(2)と所望の捕獲検

50

体(7)との適合を可能にするものである。

【0042】

図3は、一般法(8)を示す。すなわち、

1. 標的分子(9)を含む試料を、支持体(1)に結合された捕獲検体(7a)に接触させる；次いで、
2. シグナル放出標識(10)を捕獲検体(7b)に結合させる。

【0043】

対応する特定の連続識別コード(2)を有する各支持体(1)は、特定の標的分子(9)と結合及び/又は相互作用する、特定の捕獲剤である捕獲検体(7a)、例えばペプチド又は抗体と関連している。シグナル放出標識(10)は、例えば蛍光標識である。検出される標的分子(9)に結合している捕獲検体(7a)を有する支持体(1)のみが、シグナル放出標識(10)に結合し、それによってその放出標識(11)由来の蛍光を発する。該試験結果は、結合分子に関連する支持体(1)の様々なタイプの蛍光度を測定する。結合シグナル放出標識(11)の蛍光強度は、検出標識分子(9)のレベルを定量化する。良いか否かの反応表示が望まれる実験では、方法(8)の支持体(1)が、未決定蛍光レベルに比例した十分な蛍光を有するか否かを決定する必要があるだけである。

10

【0044】

あるいは、標的分子を含む試験試料は、マイクロタイタープレート又は試験管等の固体支持体に結合する。結合捕獲検体(7)を有する支持体(1)の混合物が添加される。その対応する特定の連続識別形態(2)を有する各支持体(1)は、特定の標的分子(9)と結合及び/又は相互作用する特定の捕獲検体(7)と、例えばペプチド的に又は抗体的に関連する。捕獲検体(7)は、各標的分子と結合し、非結合支持体(1)は洗浄して除去される。結合支持体(1)は、試験試料から解離され、試験試料中の標的分子の量に比例又は反比例する、その対応する特定の連続識別形態(2)を用いて、各支持体(1)タイプの数とを計数することによって読み取られる。当該方法において、シグナル放出標識(10)は使用されない。

20

【0045】

図4では、親和性捕獲試験の第一ステップの概念図を示している。当該例では、3種の異なった捕獲検体(12)、(13)及び(14)のパネルは、3種の異なった連続識別(2)コードを有する支持体(1)に結合されている。支持体(1)に結合された捕獲検体(12)、(13)及び(14)は、液体中に懸濁され、プラスチック又はガラス製のカラム(15)に充填される。標的分子(17)、(18)及び(19)を含む試料(16)は、カラム(20)の上部に導入され、カラムの中を移動する。標的分子(17)、(18)及び(19)は、その親和性捕獲検体(12)、(13)及び(14)によってそれぞれ捕獲される。一方、捕獲検体(7)が存在しない試料(16)中の分子(21)は、カラムを通過し、更に分析に供される溶離液(22)として集められる。

30

【0046】

図5では、親和性捕獲試験で行われる次の第二ステップを示している。溶出緩衝液(23)は、カラム(20)の上部に添加される。これは、その結合標的分子(17)、(18)及び(19)を有する捕獲検体(12)、(13)及び(14)の溶離液(24)を、更なる試験のためにカラムから溶出する。更に、捕獲試験が可逆的である場合には、標的分子(17)、(18)及び(19)は、定量等の更なる分析のため、捕獲検体(12)、(13)及び(14)から除去される。支持体(1)上の連続識別(2)コードは、特定の標的分子の識別及び回収を可能とする。

40

【0047】

図4及び5の親和性捕獲試験に用いられる支持体(1)の異なったタイプ数は、求められる試験処理能力によるが、数百、数千又は数百万の検体である。使用される同一タイプの支持体(1)の数は、特に、所望の統計的解析の質及び所望の解析の簡便さによる。シグナル放出標識(10)もまた、親和性捕獲試験に加えられる。該シグナル放出標識(10)は相互作用を表示するため、すなわち、支持体(1)上の捕獲検体(7)と、分析試

50

料(16)中で追求される標的分子(9)との結合を表示するために用いられる。シグナル放出標識(10)を親和性捕獲試験に添加する多くの異なった方法がある。例えば、該標識は、カラム(15)に分けて添加され、標的分子(9)に結合され、試料(16)がカラム(15)に添加される前に分析される。あるいは、支持体(1)に結合する前後に捕獲検体(7)に結合される。捕獲検体(7)と分析試料(16)中の標的分子(9)との相互作用を表示するための、シグナル放出標識(10)に関する多くの異なった方法もある。そのような方法の一つは、標的分子(9)に適合する捕獲検体(7)とシグナル放出標識(10)との間に相互作用があるならば、シグナル放出標識(10)によって活性化される、蛍光又は他の波長(色)の光等のシグナルである。あるいは、シグナル放出標識(1)は、標識分子(9)とのいずれかの相互作用の前に活性化される。捕獲検体(7)と標識分子(9)との間に相互作用がある場合には、活性シグナル放出標識(10)は、シグナルを不活性化する他の分子から放出される。先に述べたことと反対の検出結果になる。すなわち、例えば良いか又は否かの実験で、反応が支持体上に生じていることを示すシグナルが存在しない。同様に、放出標識(11)由来の蛍光シグナルの減少は、カラム(15)に導入される分析試料(16)に存在する標的分子(9)の量の指標となり得る。

10

20

30

40

50

#### 【0048】

親和性捕獲試験の適用としては、細胞、組織、器官又は全生物又は細胞抽出物、溶解物あるいはこれら由来の蛋白質分画が含まれる。当該試験は、細胞、組織、器官、全生物及び細胞抽出物、溶解物又はこれら由来の蛋白質分画のエピトーププロファイルを測定するためにも使用される。当該適用は、薬物標的の分析、治療薬物のライブラリー及び診断薬にも好適である。本発明の装置は、まず、その捕獲検体(7)をそれぞれ有する公知の標的分子(9)をろ過することによって、試料の複雑性を低減するものであるため、同一性や機能がその後容易に明らかにされる低量分子用の試料を豊富にする。

#### 【0049】

例を挙げれば、例えば細胞培養由来の試料は、まず、溶液中に全ての蛋白質及びペプチド、すなわち、細胞当たり10,000を超える蛋白質を放出するために、溶解される。溶解物は、図4の示したカラムに、すなわち、結合捕獲検体(7)を含む支持体(1)上に導入される。捕獲検体(7)は、例えば特定のペプチドアイソフォームを捕獲するために前もって選択される。次いで、得られる試料溶離液は、捕獲検体(7)によって捕獲されない分子のみを含む。すなわち、該試料には、非特徴的な分子が豊富に存在し、実験は、まさに、未知分子を特徴付けることに焦点を当てることができる。更に利点は、実験に対するインプット分子の総数を減じることによって、本発明の装置を使う研究者は、例えば2D-GE上に同じスポットを電気泳動するペプチドのような、分析で重複する分子を検出する機会が減る可能性があることである。

#### 【0050】

入手可能な連続識別コード(2)を有する多数の支持体(1)は、新規な標的分子(9)が識別され、捕獲検体(7)がそのために作られる場合には、該標的分子は親和性捕獲試験に加えられ、低量分子用の試料を豊富にする手段を提供することができる、ことを意味する。

#### 【0051】

可逆的親和性捕獲試験支持体と共に使用する読み取り装置をここで説明する。出願人は、2部類の読み取り装置を開発している。支持体(1)を取り扱うためのフローセルと、塗布した支持体(1)の平面画像に基いている。

#### 【0052】

フロー系読み取り装置は、フローサイトメトリーに構造上類似し、1秒間に無数の支持体(1)を引き出すために用いることができ、それによって、各支持体(1)の連続識別コード(2)及び関連する試験結果を同時に読み取る。試験結果は、良いか又は否かの2つの結果、あるいは蛍光(11)度で測定される。

#### 【0053】

図6では、フロー系読み取り装置は、一般的に(25)によって表示される。下流端部

では、読み取り装置(25)は、上流端部にあるインジェクション・ノズル(27)から下流端部にある測定装置(26)への流れの操作で運ばれる記録支持体(1)のための、(26)によって示される測定装置を含む。装置(26)は、読み取り域(28)、読み取り装置(29)、光源(30)、検出装置(31)、シグナル放出装置(32)及び処理装置(33)を含む。

#### 【0054】

例えば分散された多数の支持体(1)を含む液体である試料(38)は、集束域(34)に導入される。更に、流体(35)の流れは、上流端部から下流端部方向へ管(36)に沿って生じる。好ましくは、管(36)に沿って流れている流体(35)は、液体である。あるいは、流体(35)は、ノズル(27)に比例する減圧下では気体であってもよく、出口(37)に対して支持体(1)を運ぶ液体は、出口(37)で気化し、それにより、支持体(1)を管(36)中に発射する。しかしながら、流体が液体である場合には、管(36)内に層流体制を確立することは容易であるが、管(36)を通る気体流は、急速な支持体(1)を与え、読み取り域(28)に関連する問い合わせを与えることになりかねない。

10

#### 【0055】

読み取り(25)は、支持体(1)を、定義済みの問い合わせ域(28)を通過して管(36)の中央域に沿って流れさせるように設計されている。加速した覆い(sheath)流体(35)の構成及びインジェクション・ノズル(27)を用いることにより、管(36)の中央域にインジェクションされた支持体(1)は、流体力学焦点効果(39)に供され、全ての支持体(1)を縦に直線に並べ、すなわち軸方向に並べ、そして、出口(37)から下流の問い合わせ域(28)の定義済みの中心(40)を通過する。出口(37)と問い合わせ域(28)との距離は、インジェクション・ノズルによって起こる乱気流を分散させるために十分長いことが必要である。この十分な長さは、記録流体(35)の層流を実質的に可能にし、支持体(1)に中心(40)から離れた位置に振動を与えない。必要ならば、管(36)内でより対称的な速度プロファイルが得られるように、ノズル(27)は、集束域(34)から、フィード管(feed tubelets)の半径方向に対称的な配置で取り付けてもよい。管(36)の末端面に近い面領域の境界では、管(36)の内面で、流速は徐々に実質的にゼロに減少する。

20

#### 【0056】

支持体(1)は、出口(37)から追い出され、流れ(37)通過し、管(36)に沿って読み取り域(28)に入り、次いでここを通過する。1以上の支持体(1)が読み取り域(28)に入る場合には、光源(30)からの光は、1以上の支持体(1)が読み取り装置(29)にシルエットとして現れるように、中心(40)で該支持体(1)を照射する。読み取り装置(29)は、支持体(1)の連続識別(29)を測定するために、その後の画像処理のための処理装置(33)に伝達される対応するシルエットを生じる。好ましくは、光源(30)は、試料の流れ(35)方向に実質的に垂直な面A-Aで、かつ2つの異なったラジカル方向から、好ましくは相互角分離、例えば約45°の相互角分離を有するラジカル方向から光を放出する。このような支持体(1)の中心(40)での照射調整により、支持体(1)を縦軸に沿ってその回転位置に関係なく、識別することができる。

30

40

#### 【0057】

集束域(34)を通過した各支持体(1)に関しては、処理装置(33)は、対応する蛍光度を有する支持体(1)の連続識別(2)を測定するようにプログラムされている。光源(3)に相対的な問い合わせ域(28)の反対側に実質的に位置する読み取り装置(29)は、中心(40)にある1以上の支持体(1)を通過する光を読み取る。検出装置(32)は、問い合わせ域(28)に生じる蛍光を検出し、処理装置(33)によって後で受け取られる対応する蛍光シグナルを生じる。検出装置(31)は、支持体(1)上で活性化シグナル標識によって得られる蛍光シグナル(11)の強度を測定する。この強度は、試料中に存在する反応性標識分子(9)の相対的な量を測定するために推定される反

50

応度を示す。更に、処理装置(33)は、連続識別(2)を、関連する捕獲検体(7)によって提供される試験と関連付ける関連データベースに接続する。

【0058】

成功した所望分子の捕獲を示す蛍光シグナルを有する仕分け支持体(1)の成功実験例は、1秒間当たり20支持体(1)の速度で、Union Biometrica、COPAS(登録商標)フローサイトメーターで、96ウェル式マイクロプレートの1ウェルに1支持体(1)を仕分けして行った。COPAS(登録商標)での当該結果は、実験条件によっては定性的あるいは定量的である。ポジティブな支持体(1)を測定し、仕分けするためにまた首尾よく使用される他のフローサイトメーターは、DakoCytomation製のMoFlo(登録商標)及びBecton Dickinson製のFACS Scan(登録商標)である。

10

【0059】

各支持体(1)の一方の端にマーキングする形態での特徴は、読み取り情報の翻訳の仕方を読み取り装置(29)に指示するために使用される。このことにより、縦軸に沿ったいずれかの方向から、支持体(1)を読み取ることが可能になる。マーキングはまた、支持体(1)上の可能な連続識別コードの数を、100,000以上に大幅に増やすために用いることができる。例えば、支持体(1)の分離セット上の4種の異なったマーキングの使用は、約400,000の支持体の識別組み合わせの数を増やすことができる。情報コードがいかんして読み取られるかを示す他の特徴は、0秒間で各ブロックを開始し、1秒間で該ブロックを終了すること、あるいはその逆もまた同様である。更に別の特徴は、好ましくは、パリティ・ビット検査及び/又は前進型誤信号訂正のための誤信号訂正であり、これにより試験信頼性を改善することができる。

20

【0060】

図6のフロー系読み取り装置の他の特徴としては、平面読み取りシステムが使用できる。すなわち、

(a) 支持体(1)を平面基質上に塗布し、次いで

(b) 蛍光マイクロコピー及び関連画像処理が、支持体のバーコード及びその関連する試験結果を読み取るために使用される。

【0061】

図7では、一般的に(41)で表される平面読み取り装置を示す。図6に関連して記載したように、捕獲試験が完了した後、支持体(1)は、平面基質(42)上に蒸着される。好ましくは、平面基質(42)はポリマー、ガラス系材料又はシリコン系材料、例えば顕微鏡スライドから作られる。一般的な蛍光顕微鏡法を実施するために配置された平面測定装置(43)は、放出標識(11)の蛍光レベルを測定し、支持体充填基質(42)の異なった支持体(1)の連続識別(2)を測定することにより、支持体塗布基質(42)を体系的に分析するために用いられる。

30

【0062】

一般的に、充填基質(42)上の支持体(1)は全て、実験の総合的品質を確認するために分析される。時間を節約し、及び/又は処理能力を上げるために望ましい場合には、読み取り装置(41)の処理装置(44)で実行するソフトウェアは、例えば蛍光シグナル標識(10)によって、放出標識(11)が蛍光を発し、標識分子(9)との相互作用が起きていることを示す支持体(1)のみを分析するように一致させることができる。平面測定装置(43)を用いる充填基質(42)の分析は、非常に費用有効性が高く、実施が容易であり、また例えば各基質(42)上の数千の支持体に対して単一の形態のような範囲で、媒体試料数を低減するための解析容量を増やす好適な方法である。

40

【0063】

平面測定装置(43)の画像処理のための読み取り装置(45)は、支持体(1)が貼付されることになる基質(42)の各分野のデジタル画像を捕獲するために用いられる。こうして得られたデジタル画像は、基質(42)及びその関連するベースプレート(46)を通過して、次いでシルエット的に見える支持体(1)を提供する支持体(1)を通過して

50

放出される光に対応している。すなわち、支持体(1)のシルエット画像は、処理装置(44)と組み合わせた読み取り装置(45)によって分析される。支持体(1)の連続識別(2)は、反射光によって読み取ってもよい。例えばバーコード等の各支持体(1)と関連する連続識別(2)は、読み取り装置(45)によって、その放出光プロファイル又はその反射光プロファイルから識別される。シグナル放出装置(32)は、蛍光シグナルを生成し、シグナル放出装置(32)は、蛍光シグナルを生成し、そのシグナルは、標識分子(9)と相互作用する支持体(1)上のシグナル放出標識(11)を蛍光させる。検出装置(31)は、反応度を識別するために、活性化支持体(1)から蛍光度を検出する。活性化支持体(1)の表面(6)上に積算した蛍光シグナルは、統計的解析が可能なデータセットを構築するために、識別バーコード(2)と関連して記録される。

10

**【0064】**

処理装置(44)は、光源(30)、シグナル装置(32)、読み取り装置(45)、検出装置(31)及びディスプレイ(47)に接続される。更に、処理装置(44)は、光源(30)及びシグナル装置(32)を制御するための制御装置を含む。光シルエット又は反射光及び支持体(1)由来の蛍光シグナルは、光学アセンブリ(48)、例えばアセンブリは、1以上のレンズ及び/又は1以上の鏡、あるいは電気化学的方法によるシャッター及びフィルターホイール(filter wheels)を含み、を通過して検出装置(31)及び読み取り装置(45)の方へ通過する。例を挙げれば、示した鏡アセンブリは、読み取り装置(41)で使用することができる。鏡(49)は、光学シグナルを2つの経路に分割するために用いられ、光学フィルター(50)、(51)は、その波長によって望ましくない光学シグナルをろ過して除くために使用される。あるいは、光源(30)及びシグナル装置(32)は、間隔をおいて、例えば交互に作動させたり消したりすることもできる。シグナルは、読み取り装置(45)及び検出装置(31)から受け取り、このシグナルが処理され、対応する統計的解析結果がディスプレイ(47)上に表示される。各タイプの支持体(1)の同様な数が、実験の光学的統計解析のために必要とされる。このような統計的解析は、当該分野で良く知られている。

20

**【0065】**

図8では、フラッシュセル読み取り装置が示され、これは通常、(100)で表される。フラッシュ装置(100)は、平面装置(41)と同じ方法で構成されるが、読み取られる支持体(1)を誘導するフラッシュ作動を使用する。前記捕獲試験が終了後、支持体(1)は、試料流入管(120)によって読み取りセル(110)に流される。好ましくは、読み取りセル(42)は、透明ポリマー、ガラス又はシリコン系材料、例えばPersepeから作られる。測定装置(43)は、一般的な蛍光顕微鏡法を実施するために配置され、読み取りセル(110)のベース上に貼付された支持体(1)を分析するために、作動中に使用され、それによって、支持体(1)の蛍光レベル及び支持体(1)上の対応する連続識別(2)を測定できる。

30

**【0066】**

一般的には、充填読み取りセル(110)上の全ての支持体(1)は、実験の総合的品質を確認するために分析される。時間を節約し、及び/又は処理能力を上げるために望ましい場合には、処理装置(44)のソフトウェアは、好ましくは、蛍光シグナル標識(10)が蛍光を発することを含み、蛍光シグナルを放出する支持体(1)のみを分析するように構成されている。これは、標的分子(9)との相互作用が起こっていることを示すものである。平面測定装置(43)を用いる充填読み取りセル(110)の分析は、非常に費用有効性が高く、実施が容易であり、また例えば各読み取りセル(110)上の数千の支持体に対して単一の形態のような範囲で、媒体試料数を低減するための解析容量を増やす好適な方法である。

40

**【0067】**

平面測定装置(43)の画像処理のための読み取り装置(45)は、支持体(1)が貼付された読み取りセル(110)の各分野のデジタル画像を捕獲するために用いられる。こうして得られたデジタル画像は、読み取りセル(110)及びそのベースプレート(4

50

6) を通って、次いでシルエット的に見える支持体(1)を提供する支持体(1)を通して放出される光に対応している。すなわち、支持体(1)のシルエット画像は、処理装置(44)と組み合わせた読み取り装置(45)によって分析される。支持体(1)の連続識別(2)は、反射光によって読み取ってもよい。各支持体(1)と関連するバーコード等の連続識別(2)は、読み取り装置(45)によって、その放出光プロファイル又はその反射光プロファイルから識別される。シグナル放出装置(32)は、蛍光シグナルを生成し、そのシグナルは、標識分子(9)と相互作用する支持体(1)上のシグナル放出標識(11)を蛍光させる。検出装置(31)は、反応度を識別するために、活性化支持体(1)から蛍光度を検出する。活性化支持体(1)の表面(6)上に積算した蛍光シグナルは、統計的解析が可能なデータセットを構築するために、識別バーコード(2)と関連して記録される。

10

**【0068】**

処理装置(44)は、光源(30)、シグナル装置(32)、読み取り装置(45)、検出装置(31)及びディスプレイ(47)に接続される。更に、処理装置(44)は、光源(30)及びシグナル装置(32)を制御するための制御装置を含む。光シルエット又は反射光及び支持体(1)由来の蛍光シグナルは、光学アセンブリ(48)、例えばアセンブリは、1以上のレンズ及び/又は1以上の鏡、あるいは電気化学的方法によるシャッター及びフィルターホイール(filter wheels)を含み、を通して検出装置(31)及び読み取り装置(45)の方へ通過する。例を挙げれば、示した鏡アセンブリは、読み取り装置(41)で使用することができる。

20

**【0069】**

例として、鏡アセンブリを示す。鏡(49)は、光学シグナルを2つの経路に分割するために用いられ、光学フィルター(50)、(51)は、その波長によって望ましくない光学シグナルをろ過して除くために使用される。あるいは、光源(30)及びシグナル装置(32)は、間隔をおいて、例えば交互に作動させたり消したりすることもできる。シグナルは、読み取り装置(45)及び検出装置(31)から受け取り、このシグナルが処理され、対応する統計的解析結果がディスプレイ(47)上に表示される。各タイプの支持体(1)の同様な数が、実験の光学的統計解析のために必要とされる。このような統計的解析は、当該分野で良く知られている。

**【0070】**

支持体(1)が該装置で一旦認識されると、緩衝液は、緩衝液流入管(130)を通り、読み取りセル(110)から勢いよく流され、読み取り支持体(1)は、排気管8140)を通り、読み取りセル(110)から洗浄される。次いで、読み取られる支持体の次の試料は、試料流入管(120)により導入される。

30

**【0071】**

添付された請求の範囲によって定義された本発明の請求の範囲から離れなければ、前記の本発明の具体例に対して種々の変更ができることは理解できよう。

【 図 1 】

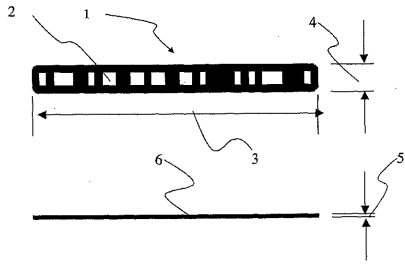


Fig. 1

【 図 2 】

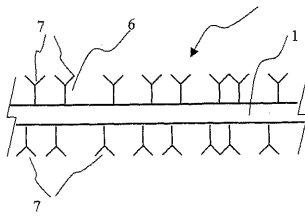


Fig. 2

【 図 3 】

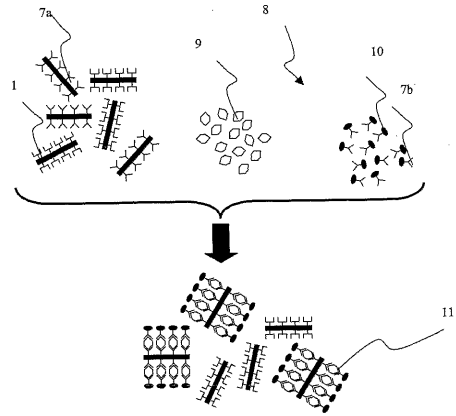
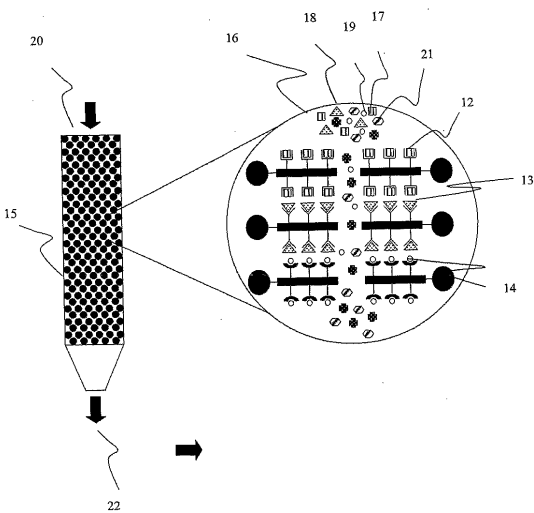


Fig. 3

【 図 4 】

Fig. 4



【 図 5 】

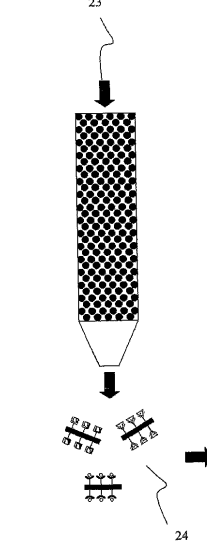


Fig. 5

【 図 6 】

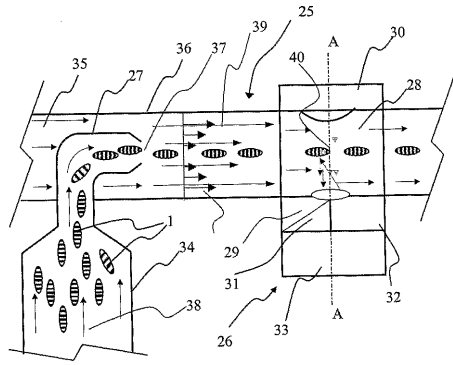


Fig. 6

【 図 7 】

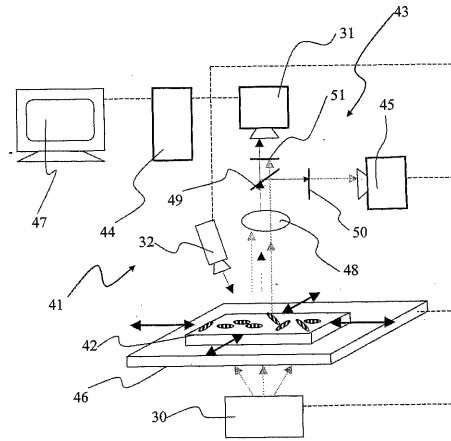


Fig. 7

【 図 8 】

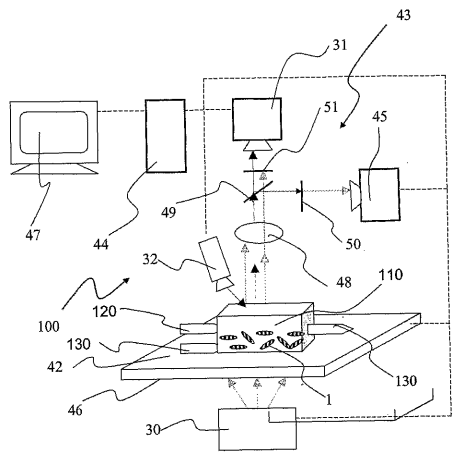


Fig. 8

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internat. Application No. PCT, no. 03/03511
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 601N33/543		
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 7 601N		
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, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 04382 A (ZYOMYX INC) 27 January 2000 (2000-01-27) abstract page 15, paragraph 5 page 51, paragraph 4 example 7	1-22
X	WEIJLAND ALBERT ET AL: "Src regulated by C-terminal phosphorylation is monomeric" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 94, no. 8, 1997, pages 3590-3595, XPO02261446 1997 ISSN: 0027-8424 abstract page 3591, left-hand column table 1	1-22
--- -/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 doubt 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. *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search  13 November 2003		Date of mailing of the international search report  19/12/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Weijland, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) July 1992

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter	pplication No
PC: /	J3/03511

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02 48674 A (EMMERT-BUCK MICHAEL R ;HARTMANN DAN-PAUL (US); KNEZEVIC VLADIMIR ( ) 20 June 2002 (2002-06-20) the whole document ---	1-22
A	WO 01 42508 A (GASKIN MIKE ;CHOONG VI EN (US); GALLAGHER SEAN (US); LI CHANGMING) 14 June 2001 (2001-06-14) the whole document -----	1-22

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/GB 03/03511

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.: 23, 24  
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 FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
  
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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/GB 03/3511

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 23, 24

Present claims 23 and 24 relate to an extremely large number of possible compounds and methods. In fact, the claims contain so many options and variables, that a lack of clarity (and/or conciseness) within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which do appear to be clear (and/or concise), namely claims 1-22.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT, No. 03/03511

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 0004382	A	27-01-2000	US 6406921 B1	18-06-2002
			AU 5102399 A	07-02-2000
			AU 765508 B2	18-09-2003
			AU 5102599 A	07-02-2000
			CA 2337075 A1	27-01-2000
			CA 2337654 A1	27-01-2000
			EP 1097377 A2	09-05-2001
			EP 1097380 A1	09-05-2001
			JP 2002520618 T	09-07-2002
			JP 2002520620 T	09-07-2002
			US 2002132272 A1	19-09-2002
			WO 0004389 A2	27-01-2000
			WO 0004382 A1	27-01-2000
			US 2003003599 A1	02-01-2003
			US 2002106702 A1	08-08-2002
			US 2002110933 A1	15-08-2002
			US 6475808 B1	05-11-2002
			US 6329209 B1	11-12-2001
			US 6630358 B1	07-10-2003
			US 6475809 B1	05-11-2002
US 6365418 B1	02-04-2002			
US 2002119579 A1	29-08-2002			
WO 0248674	A	20-06-2002	US 6602661 B1	05-08-2003
			US 2002012920 A1	31-01-2002
			AU 4323602 A	24-06-2002
			CA 2428441 A1	20-06-2002
			EP 1358314 A2	05-11-2003
WO 0248674 A2	20-06-2002			
WO 0142508	A	14-06-2001	US 2002051975 A1	02-05-2002
			US 2002064775 A1	30-05-2002
			AU 2907201 A	18-06-2001
			CA 2393733 A1	14-06-2001
			EP 1238114 A2	11-09-2002
			JP 2003516165 T	13-05-2003
			WO 0142508 A2	14-06-2001
			US 2003096283 A1	22-05-2003

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 30/88	E
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 35/02	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 37/00	G 0 1 N 33/53	N
// C 1 2 M 1/00	G 0 1 N 33/566	
	G 0 1 N 35/02	C
	G 0 1 N 37/00	1 0 2
	G 0 1 N 27/26	3 1 5 H
	C 1 2 M 1/00	A

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, 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, IT, LU, MC, NL, 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, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100134784

弁理士 中村 和美

(74) 代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72) 発明者 ガレー, キャロライン

イギリス国, ケンブリッジ シービー 4 1 ビーエヌ, マリナーズ ウェイ 1 7

(72) 発明者 スワーブリック, ピーター

イギリス国, ケンブリッジ シービー 4 9 ビーエル, インピントン, カレッジ ロード 3

(72) 発明者 ハドリー, ジョディー

イギリス国, ケンブリッジ シービー 6 3 ダブリュエル, エリー, コロンバイン ロード 2 9

F ターム(参考) 2G054 AA06 AB04 BB03 BB04 CA22 CA23 EA03 EA06 GE07

2G058 GA02 GA11 GC02 GC05

4B029 AA07 AA21 AA23 BB15 BB20 CC03 CC08 FA15

## 【要約の続き】

記少なくとも一つの検体によって捕獲されにくい試料の残余を回収し、かつ分析するための分析手段を更に含むことを特徴とする。

专利名称(译)	分析装置		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005535874A</a>	公开(公告)日	2005-11-24
申请号	JP2004527060	申请日	2003-08-12
[标]申请(专利权)人(译)	智能珠科技有限公司德开球		
申请(专利权)人(译)	智能珠技术Rimitido		
[标]发明人	ガレーキャロライン スワーブリックピーター ハドリージョディー		
发明人	ガレー, キャロライン スワーブリック, ピーター ハドリー, ジョディー		
IPC分类号	C12M1/00 G01N21/78 G01N27/447 G01N30/00 G01N30/88 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/566 G01N33/58 G01N35/02 G01N37/00		
CPC分类号	G01N33/54313 G01N33/543 G01N33/58		
FI分类号	G01N33/543.525.C G01N33/543.501.F G01N21/78.C G01N21/78.Z G01N30/00.C G01N30/88.E G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/53.N G01N33/566 G01N35/02.C G01N37/00.102 G01N27/26. 315.H C12M1/00.A		
F-TERM分类号	2G054/AA06 2G054/AB04 2G054/BB03 2G054/BB04 2G054/CA22 2G054/CA23 2G054/EA03 2G054 /EA06 2G054/GE07 2G058/GA02 2G058/GA11 2G058/GC02 2G058/GC05 4B029/AA07 4B029/AA21 4B029/AA23 4B029/BB15 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/CC08 4B029/FA15		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 喀米·金加缪拉 西山雅也		
优先权	2002018797 2002-08-13 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种用于捕获样品中的靶分子的分析仪。(A)最大尺寸为500μm或更小的载体，每个载体包含至少一种与其结合的捕获分析物，其中所述至少一种分析物是蛋白质，抗体，抗体片段，DNA适体，核酸，小分子和用于结合靶分子的任何其他分子中的1个其中所述载体是至少一种对所述载体表现出亲和力的捕获剂；(b)使至少一种载体的至少一种分析物与流体溶液接触，使得至少一种靶分子与至少一种分析物之间的结合指示至少一种靶分子的存在，包括接触样品的安排。(C)每个支持包括识别设备可以识别支持的手段；

