

(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2008-541053

(P2008-541053A)

(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 7 1

GO 1 N 33/53 (2006. 01)

GO 1 N 33/53 D

GO 1 N 9/00 (2006. 01)

GO 1 N 33/53 U

GO 1 N 9/00 C

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 54 頁)

(21) 出願番号 特願2008-510142 (P2008-510142)
 (86) (22) 出願日 平成18年5月2日 (2006. 5. 2)
 (85) 翻訳文提出日 平成20年1月4日 (2008. 1. 4)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/016874
 (87) 国際公開番号 W02006/119308
 (87) 国際公開日 平成18年11月9日 (2006. 11. 9)
 (31) 優先権主張番号 60/676, 759
 (32) 優先日 平成17年5月2日 (2005. 5. 2)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/690, 592
 (32) 優先日 平成17年6月15日 (2005. 6. 15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 11/183, 484
 (32) 優先日 平成17年7月18日 (2005. 7. 18)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

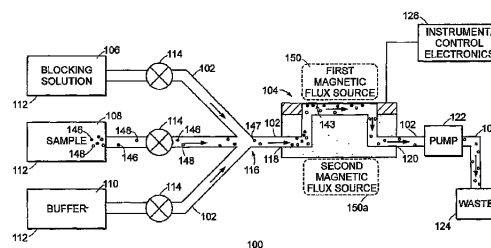
(71) 出願人 507255101
 バイオスケール・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
 39, ケンブリッジ, シドニー・ストリー
 ト 75
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100140109
 弁理士 小野 新次郎
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行

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】

アナライトの検出方法が提供される。それぞれがアナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の粒子がサンプルと混合されて、アナライト - 粒子の複合体を形成する。また、このシステムは、サンプルをセンサ表面に移動させる移動手段を含み、更にオプションであるが、磁場により、構築された構造がセンサ表面に隣接して磁場を確立する。共振センサが、センサ表面に結合されたアナライト - 粒子の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】**

サンプルにおいて 1 又は複数の心臓マーカを検出することによって心臓損傷 (cardiac injury) を検出する方法であって、

a) 前記心臓マーカ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 つの表面は前記心臓マーカを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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において 1 又は複数の心臓マーカ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、基準と比較して前記心臓マーカのレベルが高い場合には心臓損傷を示す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、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。

20

【請求項 5】

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 6】

請求項 1 記載の方法において、前記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 7】

請求項 6 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。

30

【請求項 8】

請求項 1 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血漿、血清、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 9】

請求項 1 記載の方法において、前記 1 又は複数の心臓マーカは、c - トロポニン - I、ミオグロビン、クレアチンキナーゼ MB (CK - MB) 及び虚血修飾アルブミ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 10】

請求項 1 記載の方法において、前記心臓マーカは c - トロポニン - Iであることを特徴とする方法。

40

【請求項 11】

請求項 1 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 12】

請求項 11 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 13】

請求項 11 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 14】

50

請求項 1 記載の方法において、前記心臓マーカを結合することができる前記キャプチャ・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 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、前記心臓マーカ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 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 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】

請求項 1 7 記載の方法において、前記粒子が結合されたキャプチャ・エージェントと表面が結合されたキャプチャ・エージェントとは同一のキャプチャ・エージェントであることを特徴とする方法。

【請求項 1 9】

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) サンプルにおいて 1 又は複数の心臓マーカのレベルを検出するステップであって、

i) 前記心臓マーカ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と前記サンプル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 つの表面は前記心臓マーカを結合することができるキャプチャ・エージェントを有す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における 1 又は複数の心臓マーカのレベル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 又は複数の心臓マーカ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 2 0】

サンプルにおけるバクテリアを検出する方法であって、

a) 前記バクテリア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 つの表面は前記バクテリアを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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におけるバクテリア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 2 1】

請求項 2 0 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 2 2】

請求項 2 0 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 2 3】

請求項 2 0 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 2 4】

請求項 2 0 記載の方法において、前記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

10

20

30

40

50

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 25】

請求項 24 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 26】

請求項 20 記載の方法において、前記サンプルは、唾液、鼻腔スワブ (nasal swab)、血液、血漿、血清、脳脊髄液、尿、及び糞便 (fecal matter) 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 20 記載の方法において、前記サンプルは鶏肉洗浄液及び鶏肉 (poultry wash and meat) から選択されることを特徴とする方法。 10

【請求項 28】

請求項 20 記載の方法において、前記バクテリアは、病原性大腸菌、淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、ボレリア・バーグドルフェリ (ライム病原因菌、*Borrelia burgdorferi*)、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*/*Salmonella thyphimurim*)、サルモネラエンテリカ (*Salmonella enterica*)、赤痢菌 (*Shigella* sp.)、カンピロバクタ (*Campylobacter* sp.)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、クリプトスポリジア (*Cryptosporidium* sp.) 及び腸球菌 (*Enterococcus* sp.) 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。 20

【請求項 29】

請求項 20 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 30】

請求項 29 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 31】

請求項 29 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 32】

請求項 20 記載の方法において、前記バクテリアを結合することができる前記キャプチャ・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。 30

【請求項 33】

請求項 32 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 34】

請求項 32 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。 40

【請求項 35】

請求項 20 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 36】

請求項 35 記載の方法において、前記粒子が結合されたキャプチャ・エージェントと表面が結合されたキャプチャ・エージェントとは同一のキャプチャ・エージェントであることを特徴とする方法。

【請求項 37】

請求項 36 記載の方法において、前記サンプルは肉又は鶏肉洗浄液を含み、サンプルにおいてバクテリアを検出することによって食品の安全性を評価するステップを更に含むこ 50

とを特徴とする方法。

【請求項 3 8】

サンプルにおけるバクテリアを検出することによって食品の安全性を評価する方法であって、

a) 前記バクテリア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 つの表面は前記バクテリアを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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におけるバクテリア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 3 9】

請求項 3 8 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 4 0】

請求項 3 8 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 4 1】

請求項 3 8 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。

20

【請求項 4 2】

請求項 3 8 記載の方法において、前記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 4 3】

請求項 4 2 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 4 4】

請求項 3 8 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血漿、血清、脳脊髄液、尿、及び糞便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 4 5】

請求項 3 9 記載の方法において、前記サンプルは鶏肉洗浄液及び鶏肉から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 4 6】

請求項 3 8 記載の方法において、前記バクテリアは、病原性大腸菌、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*/*Salmonella thyphimurim*)、サルモネラエンテリカ (*Salmonella enterica*)、赤痢菌 (*Shigella* sp.)、カンピロバクタ (*Campylobacter* sp.)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、クリプトスポリジア (*Cryptosporidium* sp.) 及び腸球菌 (*Enterococcus* sp.) 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。

40

【請求項 4 7】

請求項 3 8 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 4 8】

請求項 4 7 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 4 9】

請求項 4 7 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 5 0】

50

請求項 38 記載の方法において、前記バクテリアを結合することができる前記キャプチャ・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 51】

請求項 50 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 52】

請求項 51 記載の方法において、前記結合ペアは、ピオチン / アビジン、ピオチン / ストレプトアビジン及びピオチン / 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

【請求項 53】

請求項 38 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 54】

個人におけるウイルス負荷 (viral load) を検出する方法であって、

a) ウイルス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 つの表面は前記ウイルスを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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個人におけるウイルス負荷を検出するステップと、
を含む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 56】

請求項 54 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 57】

請求項 54 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。

30

【請求項 58】

請求項 54 記載の方法において、前記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 59】

請求項 58 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 60】

請求項 54 記載の方法において、前記サンプルは、血液、血漿、血清、脳脊髄液及び尿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。

40

【請求項 61】

請求項 54 記載の方法において、前記ウイルスはヒト免疫不全ウイルス (Human Immunodeficiency virus) であることを特徴とする方法。

【請求項 62】

請求項 54 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 63】

請求項 62 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。

50

【請求項 6 4】

請求項 6 2 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 6 5】

請求項 5 4 記載の方法において、前記ウイルスを結合することができる前記キャプチャ・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 6 6】

請求項 6 5 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。

10

【請求項 6 7】

請求項 6 6 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 6 8】

請求項 5 4 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 6 9】

請求項 6 8 記載の方法において、前記粒子が結合されたキャプチャ・エージェントと表面が結合されたキャプチャ・エージェントとは同一のキャプチャ・エージェントであることを特徴とする方法。

20

【請求項 7 0】

アナライトの検出装置であって、
流体が入るために少なくとも 1 つの開口を有する流体チャンバと、
前記流体チャンバの少なくとも 1 つの内部表面の少なくとも一部を画定するたわみ板波デバイスと、
前記たわみ板波デバイスによって出力される少なくとも 1 つの信号をモニタするモニタ手段と、
前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子と、
磁性粒子を前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面に向かって選択的に引き寄せる第 1 の磁束源と、
を備えていることを特徴とする装置。

30

【請求項 7 1】

請求項 7 0 記載の装置において、前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面の近傍において流体のフロー、圧力又は軌跡の中の少なくとも 1 つを変更するように構成された流体制御手段を更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 7 2】

請求項 7 0 記載の装置において、前記第 1 の磁束源は、前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面から約 200 μm の範囲内であって前記流体チャンバの外部に存在することができることを特徴とする装置。

40

【請求項 7 3】

請求項 7 0 記載の装置において、第 2 の磁束源を更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 7 4】

請求項 7 0 記載の装置において、前記少なくとも 1 つの内部表面に引きつけられた磁性粒子の性質を特徴付ける手段を更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 7 5】

請求項 7 4 記載の装置において、前記性質は、粒体の濃度、密度、サイズ及びそれらの組合せ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装置。

50

【請求項 76】

請求項 70 記載の装置において、この装置の使用をトラッキングする識別手段を更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 77】

請求項 70 記載の装置において、前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面の近傍で流体フローを変化させるフロー発散手段を更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 78】

請求項 70 記載の装置において、前記たわみ板波デバイスは複数の櫛形電極を備えていることを特徴とする装置。

【請求項 79】

請求項 70 記載の装置において、前記流体チャンバに入る前に前記流体が通過するフィルタを更に備えていることを特徴とする装置。

【請求項 80】

共鳴デバイス・システムのためのカートリッジであって、
流体が入るために少なくとも 1 つの開口を有する第 1 の流体チャンバと、
前記流体チャンバの少なくとも 1 つの内部表面を画定するたわみ板波デバイスと、
磁性粒子を前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面に向かって選択的に引き寄せる第 1 の磁束源と、
を備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 81】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、前記第 1 の流体チャンバの前記少なくとも 1 つの開口と流体的に連絡する少なくとも 1 つの出口を含む第 2 の流体チャンバを更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 82】

請求項 81 記載のカートリッジにおいて、当初は前記第 2 の流体チャンバの内部に配置されている複数の磁性粒子を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 83】

請求項 82 記載のカートリッジにおいて、前記複数の磁性粒子の少なくとも一部と流体の中に配置されたアナライトとを組み合わせる手段を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 84】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、第 2 の磁束源を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 85】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、前記少なくとも 1 つの内部表面に引きつけられた磁性粒子の性質を特徴付ける手段を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 86】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、このカートリッジの使用をトラッキングする識別手段を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 87】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、前記第 1 の流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面の近傍で流体フローを変化させるフロー発散手段を更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 88】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、前記第 1 の磁束源は、前記第 1 の流体チャンバの前記少なくとも 1 つの内部表面から約 200 μm の範囲内であって前記第 1 の流体チャンバの外部に存在することができることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 89】

請求項 80 記載のカートリッジにおいて、前記流体チャンバに入る前に前記流体が通過するフィルタを更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

10

20

30

40

50

【請求項 9 0】

請求項 8 2 記載のカートリッジにおいて、前記第 1 の流体チャンバの出口と流体的に連絡する少なくとも 1 つの入口を含む第 2 の流体チャンバを更に備えていることを特徴とするカートリッジ。

【請求項 9 1】

アナライトの検出方法であって、

アナライトを含む流体と前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントを含む複数の磁性粒子とを混合し、少なくとも一部のアナライトに結合された少なくとも一部の磁性粒子を生じるステップと、

前記混合された流体を第 1 の流体チャンバの中に方向付けるステップであって、たわみ板波デバイスの少なくとも 1 つの表面は前記第 1 の流体チャンバの中の流体と流体的に連絡している、ステップと、

前記たわみ板波デバイスの近傍において第 1 の磁束を生じ、前記複数の結合された磁性粒子の少なくとも一部を前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面に引きつけるステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 2】

請求項 9 1 記載の方法において、前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の近傍において前記第 1 の磁束の少なくとも 1 つを選択的に変化させる、又は、前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の近傍において流体フローの少なくとも 1 つの性質を変化させ、前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の少なくとも一部における前記複数の結合された磁性粒子の少なくとも一部を選択的に特定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 3】

請求項 9 2 記載の方法において、前記流体フローの前記少なくとも 1 つの性質は、流体の圧力、流率及び流体の軌跡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 9 4】

請求項 9 2 記載の方法において、前記流体の少なくとも 1 つの性質を変化させるステップは、前記流体のフロー経路を変化させて前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の近傍において前記磁性粒子の動きを制御するステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 5】

請求項 9 1 記載の方法において、前記第 1 の磁束と対向する方向に第 2 の磁束を適用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 6】

請求項 9 5 記載の方法において、前記第 2 の磁束を変化させ、前記磁性粒子の中でアナライトに結合されていないものの少なくとも一部を前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面から選択的に移動させるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 7】

請求項 9 1 記載の方法において、前記第 1 の磁束を終了し、第 2 の磁束を生じて前記磁性粒子の一部を前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面から選択的に除去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 8】

請求項 9 1 記載の方法において、前記たわみ板波デバイスを励起し前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面に接着する物質を選択的に移動させるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 9】

請求項 9 1 記載の方法において、前記少なくとも 1 つの内部表面に引き寄せられた前記磁性粒子の性質を特徴付けるステップを更に含むことを特徴とする方法。

10

20

30

40

50

【請求項 100】

請求項 91 記載の方法において、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの中に方向付ける前に前記混合された流体をフィルタリングするステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 101】

請求項 91 記載の方法において、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの中に方向付けるステップは、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの第 1 の開口の中へ及び前記第 1 の流体チャンバの第 2 の開口の中から外へ移動させるステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 102】

請求項 91 記載の方法において、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの中へ方向付けるステップは、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの第 1 の開口の中へ流すステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 103】

請求項 91 記載の方法において、前記第 1 の流体チャンバはカートリッジの中に存在し、前記アナライトを含む流体と前記キャプチャ・エージェントを含む前記複数の磁性粒子の少なくとも一部とは、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの中に方向付ける前に、前記カートリッジの第 2 の流体チャンバの中で混合されることを特徴とする方法。

【請求項 104】

請求項 91 記載の方法において、前記混合された流体の少なくとも一部を前記第 1 の流体チャンバの開口の中から外へ方向付けるステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 105】

請求項 91 記載の方法において、前記混合された流体を前記第 1 の流体チャンバの中へ方向付けるステップは、前記第 1 の流体チャンバを含むカートリッジを前記混合された流体を含む容器の中に沈めるステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 106】

請求項 91 記載の方法において、前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の近傍において前記第 1 の磁束の少なくとも 1 つを選択的に変化させる、又は、前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも 1 つの表面の近傍において流体フローの少なくとも 1 つの性質を変化させ、前記混合された流体の中にある物質を前記第 1 の流体チャンバから選択的に除去するステップを更に含むことを特徴とする方法。

【請求項 107】

請求項 106 記載の方法において、前記物質は、磁性粒子、アナライト、結合された磁性粒子及びこれらの組合せ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 108】

アナライトの検出方法であって、

流体チャンバの中にあるたわみ板波デバイスの表面の少なくとも一部を第 1 のキャプチャ・エージェントでコーティングするステップと、

アナライトを含む流体を前記流体チャンバの中に方向付け、前記アナライトの一部を、前記たわみ板波デバイスの上に存在する前記キャプチャ・エージェントに結合するステップと、

第 2 のキャプチャ・エージェントを含む複数の磁性粒子を含む流体を、前記流体チャンバの中に方向付けるステップと、

前記たわみ板波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少なくとも一部を前記たわみ板波デバイスの前記表面の方向に引きつけるステップと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 109】

請求項 108 記載の方法において、前記複数の磁性粒子の少なくとも一部は前記たわみ板波デバイスの前記表面の上のアナライト又はキャプチャ・エージェントに結合することを特徴とする方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1 0】

請求項 1 0 9 記載の方法において、前記磁束を選択的に変化させ結合されていない粒子が前記流体チャンバを出ることを可能に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 1 1】

アナライトの検出装置であって、
サンプルに少なくとも部分的に接触する表面を画定するたわみ板波デバイスと、
前記たわみ板波デバイスによって出力される少なくとも 1 つの信号をモニタするモニタ手段と、

前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子と、

磁性粒子を選択的に前記表面に引きつける第 1 の磁束源と、
を備えていることを特徴とする装置。

【請求項 1 1 2】

共鳴デバイス・システムのためのカートリッジであって、
流体が入る少なくとも 1 つの開口を有する第 1 の流体チャンバと、
前記流体チャンバの少なくとも 1 つの内部表面を画定するたわみ板波デバイスと、
を備えており、前記カートリッジは、前記たわみ板波デバイスの近傍において磁束源を提供し磁性粒子を前記第 1 の流体チャンバの少なくとも 1 つの内部表面に引きつけるように構築され構成されていることを特徴とするカートリッジ。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は流体サンプルの 1 つ以上の被検体を発見する方法に関する。

【背景技術】**【0 0 0 2】**

液体培地の被検体（例えば生物学的因子）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（例えば細胞、細胞フラグメント、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。細胞、細胞フラグメント、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頻繁なモニタリングを要求する。

【0 0 0 3】

疾病の診断書は、しばしば個体から得られたサンプル中の被検体の迅速な検出を要求する。被検体の検出が、しばしば緊急処置室か救急車でのように緊急条件の下で生じる。しかしながら、忍耐強いサンプル中の被検体の検出は典型的に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、その解析はいくつかのことへの 1 週かかる場合がある。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。更に、もし疾病進行の間違ったステージで与えられれば、特別の治療は効果がない場合があるしあるいは有毒の場合がある。例えば、レベルあるいは 1 つ以上の心外傷マーカーが、患者が現在心臓発作を経験しているか最近の出来事に心臓発作の持病があったかどうかを示す場合がある。

【0 0 0 4】

速く被検体の低濃度を検知することができる、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損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。

【 0 0 0 5 】

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。よいパフォーマンスについては、蓄積（また生じる信号の過渡現象）の割合は、センサ漂流割合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。

10

【 0 0 0 6 】

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、電気的なフィールド（時間変えること、そして静的）および磁界を含めて提案された。

20

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、表面へ資料を輸送するためにこの技術を単独で使用するの難しい。

【 0 0 0 7 】

電場（電界、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測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0.1M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。

30

【 0 0 0 8 】

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 】

【 0 0 0 9 】

本発明によると、サンプルにおいて1又は複数の心臓マーカを検出することによって心臓損傷（cardiac injury）を検出する方法であって、a）前記心臓マーカ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つの表面は前記心臓マーカを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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において1又は複数の心臓マーカを検出するステップと、を含む方法が提供される。

40

【 0 0 1 0 】

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）サンプルにおいて1又は複数の心臓マーカのレベルを検出するステップであって、i）前記心臓マーカ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

50

ングされた複数の粒子と前記サンプル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つの表面は前記心臓マーカを結合することができるキャプチャ・エージェントを有す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における1又は複数の心臓マーカのレベル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又は複数の心臓マーカ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。

【0011】

また、本発明によると、サンプルにおけるバクテリアを検出する方法であって、a) 前記バクテリア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つの表面は前記バクテリアを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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におけるバクテリアを検出するステップと、を含む方法が提供される。

10

【0012】

本発明では、前記バクテリアは、病原性大腸菌、淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、ボレリア・バーグドルフェリ (ライム病原因菌、*Borrelia burgdorferi*)、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*/*Salmonella thyphimurim*)、サルモネラエンテリカ (*Salmonella enterica*)、赤痢菌 (*Shigella* sp.)、カンピロバクタ (*Campylobacter* sp.)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、クリプトスポリジア (*Cryptosporidium* sp.) 及び腸球菌 (*Enterococcus* sp.) で構成されるグループから選択される。

20

【0013】

本発明によると、サンプルにおけるバクテリアを検出することによって食品の安全性を評価する方法であって、a) 前記バクテリア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つの表面は前記バクテリアを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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におけるバクテリアを検出するステップと、を含む方法が提供される。

30

【0014】

本発明によると、個人におけるウイルス負荷 (viral load) を検出する方法であって、a) ウイルス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つの表面は前記ウイルスを結合することができるキャプチャ・エージェントを有する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個人におけるウイルス負荷を検出するステップと、を含む方法が提供される。

40

【0015】

本発明によると、アナライトの検出装置であって、流体が入るために少なくとも1つの開口を有する流体チャンバと、前記流体チャンバの少なくとも1つの内部表面の少なくとも一部を画定するたわみ板波デバイスと、前記たわみ板波デバイスによって出力される少なくとも1つの信号をモニタするモニタ手段と、前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子と、磁性粒子を前記流体チャンバの前記少なくとも1つの内部表面に向かって選択的に引き寄せる第1の磁束源と、を備えている装置が提供される。

【0016】

本発明によると、共鳴デバイス・システムのためのカートリッジであって、流体が入るために少なくとも1つの開口を有する第1の流体チャンバと、前記流体チャンバの少なく

50

とも1つの内部表面を画定するたわみ板波デバイスと、磁性粒子を前記流体チャンバの前記少なくとも1つの内部表面に向かって選択的に引き寄せる第1の磁束源と、を備えているカートリッジが提供される。

【0017】

本発明によると、アナライトの検出方法であって、アナライトを含む流体と前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントを含む複数の磁性粒子とを混合し、少なくとも一部のアナライトに結合された少なくとも一部の磁性粒子を生じるステップと、前記混合された流体を第1の流体チャンバの中に方向付けるステップであって、たわみ板波デバイスの少なくとも1つの表面は前記第1の流体チャンバの中の流体と流体的に連絡している、ステップと、前記たわみ板波デバイスの近傍において第1の磁束を生じ、前記複数の結合された磁性粒子の少なくとも一部を前記たわみ板波デバイスの前記少なくとも1つの表面に引きつけるステップと、を含む方法が提供される。

10

【0018】

本発明によると、アナライトの検出方法であって、流体チャンバの中にあるたわみ板波デバイスの表面の少なくとも一部を第1のキャプチャ・エージェントでコーティングするステップと、アナライトを含む流体を前記流体チャンバの中に方向付け、前記アナライトの一部を、前記たわみ板波デバイスの上に存在する前記キャプチャ・エージェントに結合するステップと、第2のキャプチャ・エージェントを含む複数の磁性粒子を含む流体を、前記流体チャンバの中に方向付けるステップと、前記たわみ板波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少なくとも一部を前記たわみ板波デバイスの前記表面の方向に引きつけるステップと、を含む方法が提供される。

20

【0019】

本発明によると、アナライトの検出装置であって、サンプルに少なくとも部分的に接触する表面を画定するたわみ板波デバイスと、前記たわみ板波デバイスによって出力される少なくとも1つの信号をモニタするモニタ手段と、前記アナライトに対する親和性を有するキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子と、磁性粒子を選択的に前記表面に引きつける第1の磁束源と、を備えている装置が提供される。

【0020】

本発明によると、共鳴デバイス・システムのためのカートリッジであって、流体が入る少なくとも1つの開口を有する第1の流体チャンバと、前記流体チャンバの少なくとも1つの内部表面を画定するたわみ板波デバイスと、を備えており、前記カートリッジは、前記たわみ板波デバイスの近傍において磁束源を提供し磁性粒子を前記第1の流体チャンバの少なくとも1つの内部表面に引きつけるように構築され構成されているカートリッジが提供される。

30

【0021】

本発明は診断書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。さらに、患者が1つ以上の心臓のマーカーのレベルに基づいた心臓発作を経験したとしても、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。その発明は感染（例えば、バクテリア、ウイルス、あるいは寄生生物）および（または）感染がどれくらい遠くに進歩したかを検知するために使用することができる。本発明は、実時間（すなわちサンプルが分析されているとともに）の被検体の検出を許可する。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。本発明の結果、被検体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。驚いたことに、1つのサンプル当たりのより少数の粒子状物質の使用は、被検体のより感知可能な検出を考慮に入れる。被検体のサイズが粒子のサイズの命令である場合、および被検体が小さな分子である場合、これは見つかった

40

50

。更に、センサ表面が薄いので（例えば数ミクロンの命令の1つの実施例中で）、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、センサ表面への磁気微粒子の魅力を高める。このように、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、感知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使用することができ、それによって、システムの検出限界を改善する。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される。したがって、本発明は精度および被検体検出の感度を改善する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

本発明の以上の及びそれ以外の目的と本発明自体とその様々な特徴とは、添付の図面を参照して以下の詳細な説明を読むことによって、より完全に理解されうる。

本発明は音響の装置を使用して、アナライトを検知する方法に引き付けられる、やあ、一般項、アナライトは音響の装置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1位と呼ばれた、エージェントを捕らえる）で覆われた粒子状物質の能力に基づいて検知される。キャプチャ・エージェントはアナライトに拘束することができる。キャプチャ・エージェントで覆われた多くの粒子状物質は、サンプルがある状態、および自由に競争者分子がある状態で音響の装置の感知表面に露出される。検知されるアナライトのタイプによって、感知表面は、アナライト（例えばサンドイッチ結合フォーマット）を拘束することができる、キャプチャ・エージェント（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。あるいは、感知表面は、競争者分子（e.g.（小さな分子フォーマット））で覆われる。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である、やあ、例えば、追加、上塗りを施した粒子状物質および（または）サンプルは、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および（または）サンプルは、薬室へ導入し、与えられた期間用の期間で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、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り、非静的なモードにおける感知表面に例えば露出することができる。

【0023】

一般に、本発明のサンドイッチ分析フォーマットでは、音響の装置の感知表面へ拘束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アナライトの量に比例する。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。アナライトは粒子状物質を覆った、表面を感じて上着を着たキャプチャ・エージェントにそのとき拘束することができること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の装置に適用される。

【0024】

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。発見はそうだった、予期しない、ので、含んでいる分析中の一般通念、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の粒子状物質要請をそばに捕らえる。しかしながら、図17に示されるように、粒子濃度、およびより低い濃縮でアナライトの検出のために許可された、より低い粒子濃度のその使用によって検出限界が非常に影響されたことが分かった。簡潔に、実際の大腸菌の様々な濃縮は 3×10^5 、 3×10^4 でかえされた。あるいは 6×10^3 dynal なビード、また本発明の方法によって分析された。

【0025】

10

20

30

40

50

より低い粒子濃度はさらに捕獲効率を低下させる。しかしながら、すべてを考慮して、検出限界における大きな改良は、捕獲効率に対するより小さな影響より重要だった。粒子の命令のサイズのアナライトの場合には理論によって拘束されていく間、1つの粒子当たり1つのアナライトの結合はアナライトに拘束された粒子がキャプチャ・エージェントを拘束することを可能にすることが十分であると思われる、ひとつには境界アナライトが典型的にはキャプチャ・エージェントによって結ぶことができる多数のサイトを含んでいるので、表面を覆った。多数に使用してください。さもないと、粒子状物質の高濃度は、表面を非特異的に拘束する粒子状物質の量を増加させることにより、アナライト境界（その後、それは背景信号を増加させる）を持っていない多くの粒子状物質に帰着する。更に、粒子状物質の濃縮が高い場合、非特異的に拘束された粒子状物質は表面へ拘束することからのアナライトを拘束した粒子状物質を閉鎖する場合があるし防ぐ場合がある。粒子状物質は、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、約 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^5$ の濃縮にある。

10

【0026】

音響の装置の感知表面12がキャプチャ・エージェントで覆われる場合、図7は2つの実施例を示す。パネル(A)では、キャプチャ・エージェント14は、感知表面12へ直接境界である。パネルBでは、キャプチャ・エージェント14は結合ペア32の最初のメンバーで標識付けされる。表面は、結合ペア32の最初のメンバーおよび結合ペア22の第2のメンバーで覆われる。

20

【0027】

図8に示されるように、小さな分子フォーマットの1つの実施例では、競争者分子24は音響の装置(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10(パネルB)を含んでサンプリングするために露出される。粒子拘束された、それがアナライトを拘束していないエージェントを捕らえる、サンプル20は、自由にアナライト境界を音響の装置(パネルC)の表面に結び付けることができる。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の装置の感知表面を拘束する、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。音響の装置による信号の出力は表面へ拘束した量および(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、検知、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の装置への接近に作成される。

30

【0028】

小さな分子フォーマットの別の実施例の中で、図9に示されるように、音響の装置の感知表面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、タグに拘束することができること。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、音響の装置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拘束することができるので、粒子状物質が競争者分子を拘束している場合のみ、上塗りを実施した粒子状物質は音響の装置の感知表面へ拘束する。

40

【0029】

小さな分子フォーマットの別の実施例の中で、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28への興味10境界の部分に

50

なりえる。また、第2はエージェント40を捕らえる、アナライトを拘束することができる。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の装置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拘束されたキャプチャ・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。粒子拘束された、それがアナライトを拘束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拘束することができる。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拘束される。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の装置の感知表面を拘束する、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が結合部位のたった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の装置の感知表面へ拘束するだろう。

10

20

30

40

50

【0030】

本発明の方法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知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。その濃縮はデータを実際の濃縮の重要な変化が生じたかどうか判断する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。さらに、検知されたアナライトの量が前もって定義したレベルが濃縮未満である場合、本発明は、検知されたアナライトの量が前もって定義したレベルが濃縮以上である場合、陽性の読出しを提供するバイナリフォーマットの中で使用しかつ、または否定になりえる。他の実施例では、アナライトのあるスレシールドが検知される場合、方法は陽性の読出しを提供することができる。

【0031】

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、生理的な流体（例えば血液、唾液、涙液、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。

【0032】

下記に述べられるように、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。サンプルも酵素でろ過し、蒸留し、抽出され、要約されるかあるいは集中することができる。1つの実施例では、血液サンプルは個体から得られ遠心分離機にかけられる。また、血漿が分析される。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、拘束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は例えばステロイド・アンタゴニストになりえる。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。

【0033】

生理液および固体に加えて他のサンプルは水、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。例えば、サンプルはミート、あるいは鶏肉洗濯（溶液は鶏肉を洗うために使用される）になりえる。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、消化された（stomach ed）したか、可溶性にした）。

【0034】

サンプルボリュームは、10 μ L あるいは250 ml でありえる。別の実施例では、サンプルボリュームは約5 ml まで約1である。

キャプチャ・エージェント

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拘束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拘束することにむしろ拘束する。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ことが好まれる。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、糖脂質およびリボ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。それらが拘束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。配位子を拘束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拘束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拘束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（photocrosslinked）される場合がある。

【0035】

用語「抗体」はどんな免疫グロブリンも含んでいる、かどうが、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、用語に含まれている。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拘束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拘束された形式には特定の場合がある。選択のアナライトを拘束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。

【0036】

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拘束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、驚くべき。」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

10

20

30

40

50

、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。

【0037】

単一のチェーンの F v s (s c F v s) 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 (V L) および可変重鎖 (V H) だけから成る組み換えの抗体断片である。V L か V H のいずれかは N H 2 の一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・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 (D i a b o d i e s) 」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フィルド結合と 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。「驚くべき」1 f r a g m e n t i s、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フィル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。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、酵素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。

【0038】

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拘束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拘束することができる抗体である。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、細胞表面タンパク質、細胞表面および可溶の受容蛋白質 (リンパ球表面レセプタ、ステロイド受容体のような)、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 f 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)、D N A、R N A 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。

【0039】

特別の実施例中で、アナライトがウイルスである場合、キャプチャ・エージェントはウイルス用の細胞表面レセプターになりえる。例えば、ウイルスが H I V である場合、キャプチャ・エージェントは、樹状細胞に特有の I C A M - 3 つかむ非インテグリン (D C - S I G N) あるいは C D 4 になりえる。別の実施例では、キャプチャ・エージェントは拘束力のあるウイルス抗原ができる抗体になりえる。例えば、抗原は g p 4 1 または g p 1 2 0 でありえる。キャプチャ・エージェントは拘束力のあるホストを派生した抗原に有能な抗体になりえる。例えば、抗原は C D 4 4 (C D 5 4) になりえる、H L A - D R、あ

10

20

30

40

50

るいはHLA - DRDPDQのようなヒト白血球抗原 (HLA)。

【0040】

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) に拘束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。

【0041】

適切なキャプチャ・エージェントは、さらに拘束力のあるペアのメンバーを含む。適切な拘束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。

【0042】

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。

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拘束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ー (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・エージェントを拘束する能力に、例えば基づいて選択することができる。

【0043】

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知される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知された。1つの実施例では、アナライトはそれぞれ1つ以上のアナライトのパネルをテストするために下記に述べられるような個別のカートリッジを使用して、検知される、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。

【0044】

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、約1000g/molの分子の重量がある有機か無機の分子を含んでいる、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知しかつ/または量を計るために競合的結合を使用する。

【0045】

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

10

20

30

40

50

、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、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。

10

【0046】

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係している。

20

【0047】

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、IL-11、IL-12、成長ホルモン、プロラクチン、ヒト胎盤性ラクトゲン(PLP)、CNTFおよび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、濾胞刺激ホルモン(FSH)およびleutinizingするホルモン(LH)(組織壊死要因(TNF))、細胞死要因-1および-2(AP-1およびAP-2)、ならびにmdm2。

30

【0048】

1つの実施例では、アナライトは心臓のマーカーである。心臓のマーカーは当技術において有名で、例えば、c-トロポニンIを含んでいる。また、T、ミオグロビン、クレアチン・キナーゼMB(CK-MB)および乏血は、アルブミンを修正した。1つの実施例では、本発明は患者の状態を評価するためにアナライトのパネルを検知するために使用することができる。1つの実施例では、心臓のマーカーのパネルはテストされる。パネルは例えば、c-トロポニン-I、CK-MBおよびミオグロビンアナライトを含むことができる。

40

【0049】

別の実施例では、アナライトはバイアル感染のためのマーカーである。ウィルス感染のためのマーカーは、ウィルス蛋白質、CD4+細胞、肝酵素および抗ウィルスの抗体を循環させて、例えば、炎症性のマーカーを含んでいる。

【0050】

薬経営目的あるいは忍耐強いコンプライアンス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

50

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、crixivian、kaletra、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 な mofetil およびその他同種のものを含んでいる。

【0051】

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が微生物、ウィルス、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が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・フェカーリス、パチルス菌 [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、破傷風菌、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。ウィ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、犬のバルボウイルス (CPV)、単純性疱疹ウィルスタイプ (HSV1)、Vaccina ウィルス、T4 のようなウィルス、アデノウイルス、インフルエンザ B 型ウィルス、インフルエンザ 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 SARS)、ヒト免疫不全ウィルス (HIV)、肝炎ウィルス、ヘルペスウィルス、西ナイルウイルス1、またエボラウイルス。

【0052】

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知される。1つの実施例では、アナライトには同じ分子構造がある。例えば、アナライトはある場合がある、興味のある同じ分子種。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、検知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。

【0053】

アナライトは表面あるいは表面ヘポリペプチド、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。適切な拘束力のあるペアは例えば、ピオチン、アビジンあるいはストレプトアビジンとニュートラアビジンのようなアビジンのピオチンおよび派生語を含んでいる。

分析フォーマット

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つの表面を拘束することができるエージェントを捕らえる、第2で覆われた音響の装置を含む、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。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い、次に、ビオチン化された表面を、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。また、第2のキャプチャ・エージェントはビオチンにリンクすることができる。

【0054】

別の実施例では、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。磁気微粒子はアナライトを拘束することができる最初のキャプチャ・エージェントで覆われる。流体チャンバの少なくとも1つの表面は、競争者分子と結合することができる別のキャプチャ・エージェントで覆われた音響の装置を含む。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、タグに拘束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、ストレプトアビジンあるいはニュートラアビジンになりえる。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。

10

【0055】

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、アナライトを拘束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拘束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。

20

【0056】

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照射線量の様々な異なる注文を使用して、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、溶液から粒子状物質を取り除いて、例えば集中され、液体のより小さなボリューム中の粒子状物質を *resuspending* する場合がある。

30

【0057】

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。

40

【0058】

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サンプルおよび多くの異なる注文での競争者分子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。

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

50

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。

【0059】

10

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

20

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。項「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

30

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。

40

【0060】

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。

【0061】

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

50

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。

【0062】

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

【0063】

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

30

【0064】

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。チャンネルバス、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を通して試液を引き寄せて、汚物投入器124に試液を向ける。

【0065】

図1B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を通し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を通して、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

40

50

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。

【0066】

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、系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ーなしで、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。

【0067】

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）が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。

【0068】

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、キャピティ 132 は、長さおよそ 1.6 mm である薄く保留されたメンブレン 134 を 0.3 mm 広く生産するウエハ 130 および $2 \mu\text{m}$ にエッチングされる。全面的なウエハ 130 厚さはおよそ $500 \mu\text{m}$ である。したがって、キャピティ 132 の深さはちょうどわずかにウエハ 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（つまりキャピティ 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（つまりキャピティ 132 に面する表面）に置かれる。

【0069】

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 I A を参照して）は少なくとも 1 セットの電極 138 に時間を変

わ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のキャビティーサイド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 - 25 MHz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。

【0070】

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ものでありえる。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、リンク化合物はピオチン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。

【0071】

F PW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、F PW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、F PW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F PW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(F PW装置104はそれに内壁のうちの1つを含む)を形成する。

【0072】

F PW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0.5 mm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。

【0073】

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。FIG 1A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って、流体

10

20

30

40

50

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。

【0074】

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114は、どの試液が試験プロトコル中にセンサ表面143上にいつでも導かれるかコントロールする装置104の供給側に置かれる。ポンプ122は、テストの流量をコントロールする。

【0075】

温度(例えば熱電冷却機)を規制するための装置はFPW装置104およびチャンネルブロック142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104を維持することにより、FPW装置104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、FPW装置104の一部としてシステム100内に例えば含まれている。FPW装置104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。数理モデル、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る。

【0076】

システム100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る。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100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。

【0077】

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148を結合した粒子状物質147が行うように、粒子は146の結果を複雑にする。粒子状物質146、147および148はサンプル貯水池112に位置する。

【0078】

システム100は、メンブレン134の近くに磁束を生産するために構造150を引き起こす磁界をさらに含んでいる。図1Aにおいて、磁束のソースは、通常FPW装置104のメンブレン134に隣接していると整えられた伸縮自在の磁石150である。磁石150がメンブレン134に隣接している場合、磁石150はメンブレン134の近くに重要な傾斜磁場を生産する。機器/制御電子回路126の管理の下で、伸縮自在の磁石150は、本質的にメンブレン134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134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134への隣接では、磁石150が位置している場合、メンブレン134のセンサ表面143からのおよそ200 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150は、メンブレン134のセンサ表面143からの約100 μm に約50 μm の間で位置している。

【0079】

磁石150がメンブレン134に隣接している場合、磁石150は、サンプルからセンサ表面143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146、粒子状物質147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148、境界、それらがセンサ表面143に遭遇するまで、液体試料から移

10

20

30

40

50

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 1 4 7 および 1 4 8 を削除するために増加される。粒子状物質 1 4 7 以来、で、不明確に、無を備えた粒子状物質 1 4 8 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 1 4 6 よりセンサ表面 1 4 3 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 1 4 3 からリリースする。従って、磁石 1 5 0（つまり、センサ表面 1 4 3 の粒子状物質 1 4 6、1 4 7 および 1 4 8 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 1 4 6 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 1 4 7 および 1 4 8）。磁石 1 5 0 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

【0080】

磁石 1 5 0 資料、幾何学およびセンサ表面 1 4 3 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 1 4 6 経験。伸縮自在の磁石 1 5 0 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）、やあ、取られた時、1 つの実施例、1 mm の直径および 5 mm の長い NdFeB 磁石 1 5 0 は、センサ表面 1 4 3 の 0.1 mm 以内に位置する。撤回された時、磁石 1 5 0 はセンサ表面 1 4 3 からの少なくとも 0.5 mm である。FPW 装置 1 0 4 のメンブレン 1 3 4 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 1 3 4 は著しく装置 1 0 4 のセンサ表面 1 4 3 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

【0081】

チャネル 1 0 2 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 1 4 3 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。

30

【0082】

磁束（つまり磁石）のソース 1 5 0 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 1 0 4 のセンサ表面 1 4 3 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。

【0083】

あるいは、磁化できる資料は、センサ表面 1 4 3（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 1 4 3 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。

40

50

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。

【0084】

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。FPW装置 104（例えば 0.3 mm x 1.6 mm）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 FPW 装置形状に適する。

【0085】

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 150 a を含んでいる。磁束のこのセカンドソース 150 a 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 150 a は、流体チャンバの少なくとも 1 つの表面に関連があつて、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。

【0086】

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 FPW 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—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。

【0087】

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。

【0088】

装置 104 を通っ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が、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。

【0089】

システム 100 の 1 つの実施例は装置 1 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 F P W 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。

【0090】

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、R F I D 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。

【0091】

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 F P W 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。

【0092】

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 50 nm から 10 μ m 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。

【0093】

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

10

20

30

40

50

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、他の場合には、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、大多数のサンプル液体を吸引することができるよう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。

【0094】

1つの実施例では、基線ステップ 210 は、F P W 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。

【0095】

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 を通って流れた後、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。

【0096】

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。

【0097】

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 F P W 装置 104 の震動の特性に以前に一致する、そしてその後、それぞれ、取得ステップ 214。アナライト - 粒子は、センサ表面 143 への 146 の境界を複雑にする、F P W 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。

【0098】

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 F P W 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。

【0099】

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、F P W 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。

【0100】

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

10

20

30

40

50

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が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。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。

【0101】

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、やあ、来る、ケース、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。

【0102】

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。

【0103】

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。

【0104】

FPW 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。

【0105】

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、FPW 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

10

20

30

40

50

メンブレン 1 3 4) の一部はプローブにマウントされる。さらに、メンブレン 1 3 4 のセンサ表面 1 4 3 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 1 4 3 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 1 4 3 への接近に境界磁気微粒子を置くのに十分である。

【 0 1 0 6 】

システム 1 0 0 の別の代替実施例は装置 1 0 4 をマウントすることを含んでいる、サンプル 1 0 8 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 1 4 3 (あるいは 1 0 3 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。

10

【 0 1 0 7 】

次の例は、ここに記述されたシステム 1 0 0、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 1 0 0 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) 1 0 4 の表面 (例えばセンサ表面 1 4 3) 上への預金金、また例えば酸素プラズマを備えた金表面 1 4 3 を清潔にする。

20

【 0 1 0 8 】

2 . 金の表面 1 4 3 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 1 4 3 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 (S A M) である。S A M 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、E G 3 - O H (E G 3) および E G 6 - O C H 2 C O O H (E G 6) の混合物と終了した C 1 1 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 1 0 4 (特に装置 1 0 4 の表面 1 4 3) 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 1 6 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 1 0 4 の表面 1 4 3 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。

30

【 0 1 0 9 】

3 . 次のステップは、屈曲の薄板波装置 1 0 4 の表面 1 4 3 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 S A M 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がアナライトを屈曲の薄板波デバイス面 1 4 3 に結び付けることを含んでいる。

40

【 0 1 1 0 】

例 I I : 病原性大腸菌 O 1 5 7 の検出 : 牛挽肉使用での H 7、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 1 0 0 c f u / m L より大きな濃縮を備えた大腸菌 O 1 5 7 : H 7 を含んでいるアナライトサンプルを準備する。

【 0 1 1 1 】

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・レトリバーなど) あるいは手動の方

50

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Dyna beads 反大腸菌0157（Dyna1 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Dyna1 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ット1-20 μ L。

【0112】

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。

【0113】

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。

【0114】

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（PBS トウイン）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。

【0115】

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）。

【0116】

b．チューブを含んでいる標準洗濯バッファ（0.05%のトウイン20とのI x PBS）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t-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。

【0117】

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を洗う。

【0118】

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。

10

20

30

40

50

【 0 1 1 9 】

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 1 6 0 へ導かれる。

【 0 1 2 0 】

g . その後、磁束 1 5 0 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。

【 0 1 2 1 】

i . その後、屈曲の波長板装置 1 0 4 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 O 1 5 7 : H 7 の濃縮を決定する最終信号と比較される。

【 0 1 2 2 】

例 I I I : 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 (P S A) 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。

【 0 1 2 3 】

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・レトリーバなど）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、P S A の抗体（例えば D y n a b e a d s 反 P S A (D y n a l 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 M P C - 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 - 2 0 μ L 。

【 0 1 2 4 】

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 m L 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 1 0 ~ 6 0 分間室温でチューブ中の溶液を培養してください。

【 0 1 2 5 】

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。

【 0 1 2 6 】

g . チューブに洗濯バッファ (P B S トウイン) の 1 m L 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。

【 0 1 2 7 】

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 . P S A の検出

a . P S A の抗体を備えた屈曲の薄板波装置 1 0 4 の表面 1 4 3 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）。

【 0 1 2 8 】

b. チューブを含んでいる標準洗濯バッファ (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、P S A (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t-関節によって連結され、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。

【0129】

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。

10

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 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を洗う。

【0130】

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P S A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。

20

【0131】

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。

【0132】

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。

【0133】

30

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P S A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P S A

実例経路で、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 (P S A) で機能的にされた、抗体 (P N、サンディエゴ (C A) 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よそ0 pg / mL でつけられて、1 x P B S (燐酸塩緩衝食塩水) および1%のウシ血清アルブミン (B S A) を含んだ、自由なP S A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2 x 10⁻⁴ 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。

40

【0134】

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 (F P W) 装置104のうちの8つは、1つのx P B Sが0.05%のトゥイーン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P S A抗体 (P N、サンディエゴ (C A) 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 - セントルイス (

50

MO)のオフィスを持つオールドリッチ社]。

【0135】

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。

10

【0136】

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。

20

【0137】

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ピュア社)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。

30

【0138】

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10jtg/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ラス・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(Ix 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。

40

【0139】

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ポ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ポンドによって装置104の表面143に結び付けられた。区

50

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プルの解離の特性は、そのサンプル中のアナライトの濃縮を決定する。

【0140】

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%のトゥイーン20（polyethylene glycol sorbitan monolaurate、ポリエチレングリコール・ソルビタン・モノラレート）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%のトゥイーン20を牽制する1x PBS）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1.5mm/秒のフロー速度に対応する）の間のおよそ50μL/分。

10

【0141】

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17μL/min増加された、フロー速度はおよそ50μL/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50μL/minからおよそ300μL/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。

20

【0142】

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。

【0143】

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。

30

【0144】

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10pg/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。

40

【0145】

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。

50

【0146】

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。

【0147】

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。

【0148】

B SAはエストラジオールを連結した、その後、E2-6-CMO-B SA（シグマPN E5630）はB SAが連結した10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 PBSのバッファ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 SA（B SAの1mol当たりの30mol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。

【0149】

70%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30%綿を付けた、1人のx PBS 0.05%のトゥイーン20（ポリエチレングリコール・ソルビタン・モノレート）が、0 pg/mL 、10 pg/mL 、30 pg/mL 、200 pg/mL 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⁻²⁴ $/\text{mL}$ 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、FPWの上に流れられた。

【0150】

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10 - 100ナノグラム/ mL レベルが加えられた。

【0151】

サンプルは磁界を取って、およそ70 [ミュー] L/min のFPW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。50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 30秒ごとの区間で500 $\mu\text{L}/\text{min}$ で終わって、50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 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。FPW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12に示されるように、10未満 pg/mL は、アンタゴニスト添加剤36がある状態で検出することができる。また、50未満 pg/mL は、アンタゴニスト添加剤34がない状態に検出することができる。

【0152】

図12に示されるように、1,000 pg/mL から10 pg/mL まで及ぶエストラジオール濃縮は検出された。

例VI：FK-506のための競合アッセイ

1.0、0.5、2.0および20ナノグラム/ mL のFK-506濃縮を備えたアナライトサンプルを生産するために、FK-506は、2 mL のバッファ（0.05%の1X PBSのトゥイーン、20、1%のB SAを含んでいること）に加えられた。

【0153】

2.1 $\times 10^7/\text{mL}$ のアンチFK-506 Ig 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30 - 60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FK-506 Ig 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。アナライトサンプルは上に記述されるような溶液で集中された。

【0154】

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 μ L — 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、アナライト 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 1 4 (このインスタンス反 - F K - 5 0 6 抗体中の) とラベルが付けられた、競争者分子 2 4 および粒子状物質 1 6 と混じり合った。

この例については、競争者分子 2 4 は、ラベルがアナライト F K - 5 0 6 で付けられたキャリヤ H R P 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 F K - 5 0 6 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 F K - 5 0 6 に結び付けられるので、F K - 5 0 6 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 1 3 および 1 4 (F K) に示されたように— 0 . 5 ナノグラム / m l から 2 0 ナノグラム / m l に及ぶ 5 0 6 の濃縮が、装置へサンプルを導入することから 1 5 m i n ほどで検出された。

【 0 1 5 5 】

例 V I I : 処理された人間の全血マトリックス中の F K - 5 0 6 のための競合アッセイ

1. 血液の各々のひとつの 1 0 0 μ L が元あった 4 つのサンプルが、0、3、10、あるいは 3 0 ナノグラム / m l の F K - 5 0 6 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。

【 0 1 5 6 】

2. 6 0 0 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 2 3 度 C) で 1 5 分間かえた。

【 0 1 5 7 】

4. 消化リアクションは、暗褐色混合物を生産して、3 5 分の 7 5 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 5 0 0 - 6 0 0 μ L を生産して、1 0 m i n で 1 8 0 0 g で遠心分離機にかけられた。

【 0 1 5 8 】

6. 5 0 0 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、F K - 5 0 6 の同じ濃縮をサンプリングする、F K - 5 0 6 の各濃縮の 2 m l 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。

【 0 1 5 9 】

7. 上に記述されるように、サンプルが分析された。図 1 5 および 1 6 に示されるように、0 . 5 ナノグラム / m l から 2 0 ナノグラム / m l に及ぶ F K - 5 0 6 濃縮は、装置へサンプルを導入することから 8 m i n ほどで検出された。

【 0 1 6 0 】

例 V I I バッファ中の c トロポニン

3 つのモノクローナルキャプチャ抗体 (フィッツジェラルド 1 0 - T 7 9 - クローン番号) 中の M 8 0 1 0 5 2 1、M O 1 1 0 6 0 9 および M O 1 1 0 5 1 0) は、比率 2 : 2 : 1 中の D y n a l M 2 8 0 トシルに活性化されたビーズにそれぞれつながれた。単クローンの A b、1 0 - T 7 9 B、クローン数 M 8 0 1 0 5 0 9 はインビトロゲン (I n v i t r o g e n) ラベル化キット F - 6 3 4 7 でビオチン化され、P o l y p u r e ビオチン P E G 二硫化物リンカー (上に記述されたとともに) を使用して、金の上塗り施した F P W センサにつなげられた (ニュートラアビジン (N e u t r a v i d i n) (P N 3 1 0 0 0 を貫通する) で続いて修正) 。

10

20

30

40

50

【0161】

トロポニン I（心臓病患者）抗原は、濃縮での 1 つの x P B S 1 % の B S A サンプルへ 0 ナノグラム / m l 0 . 2 ナノグラム / m l 1 ナノグラム / m l および 5 ナノグラム / m l 薄められた。ビード（さらにここに粒子状物質と呼ばれた）は、5 m i n の洗濯を後に続けて、センサ（3 - 5 m i n s）に引き付けられる前に 7 - 10 m i n s のためにかえされた、2 x 10⁴ / m l およびサンプルの濃縮で加えられた。結果は図 18 に示される。0 ナノグラム / m l の被検体を含んでいるサンプルに係する背景強度は、参考のための 0 . 0 1 ナノグラム / m l で計画される。

【0162】

例 V I I I チャコールストリップされた血清中の c トロポニン

サンプルは、70 % の木炭に裸にされた血清、30 % の燐酸塩緩衝食塩水 0 . 0 5 % のトゥイーン 20 で準備された。心臓のトロポニン I（B i o s p a c i f i c）は、終濃度に 0 ナノグラム / m l 0 . 4 ナノグラム / m l 1 ナノグラム / m l および 5 ナノグラム / m l 加えられた。ビードは D y n a l 標準プロトコルによって反 c T r o p o n i n 抗体（B i o s p a c i f i c P N A 3 4 4 4 0）で機能的にされ、サンプルがそれぞれのセンサ上に流れられる前に、15 分間サンプルでかえされた。ニュートラアビジンおよび上に記述されるようなビオチン化された多クローン性抗体（B i o s p a c i f i c P N G - 1 2 9 - C）で機能的にされた場合 [0 1 7 3] [0 0 2 2 9] センサ。ビーズ / 複合剤はセンサ上に流れられた。また、センサは、5 分間 15 u l / m i n でバッファを流すことにより洗われた。データは、2 分のポスト磁界削除の時間点で観察された。0 ナノグラム / m l のサンプルは負の正確な信号に背景強度に使用された。図 19 に示されるように、わずか 0 . 4 m g / m l の c T r o p o n i n が検知された。

例 I X 溶解された全血中の c トロポニン

サンプルは、50 % の全血（テキサス生物学的製剤）50 % の燐酸塩緩衝食塩水 0 . 0 5 % のトゥイーンと構築された、20 . 心臓のトロポニン I（B i o s p a c i f i c）は、濃縮で 0 ナノグラム / m l 0 . 4 ナノグラム / m l 1 ナノグラム / m l および 5 ナノグラム / m l 加えられた。D y n a l 標準プロトコルによって反 c T r o p o n i n 抗体（B i o s p a c i f i c P N A 3 4 4 4 0）で機能的にされたビードは、それぞれのセンサ上に流れられた結果の前に 15 分間サンプルでかえされた。

【0163】

ニュートラアビジンおよび上に記述されるようなビオチン化された反 c T r o p o n i n 多クローン性抗体（B i o s p a c i f i c P N G - 1 2 9 - C）で機能的にされた場合センサ。ビーズ / 複合剤にセンサを露出した後に、センサは 10 u l / m i n のインクリメントの中で 50 u l / m i n から 150 u l / m i n までなだらかなバッファによって 30 秒ごとに洗われた。信号データは洗浄時期の本質的な部分上に統合された。0 ナノグラム / m l のサンプルは負の正確な信号に背景強度に使用された。図 20 に示されるように、わずか 0 . 4 m g / m l の c トロポニンが検知された。

【0164】

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】

【0165】

【図 1 A】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 1 B】図 1 A 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 F P W 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 F P W 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 F P W センサからの信号の変化を示している。

【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 - 506 の用量応答曲線である。

【図 14】バッファにおける F K - 506 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 - 506 の用量応答曲線である。

【図 16】血清中の F K - 506 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 17】粒子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 18】バッファにおける c - トロポニン - I の用量応答曲線を示している。

【図 19】血清中の c - トロポニン - I の用量応答曲線を示している。

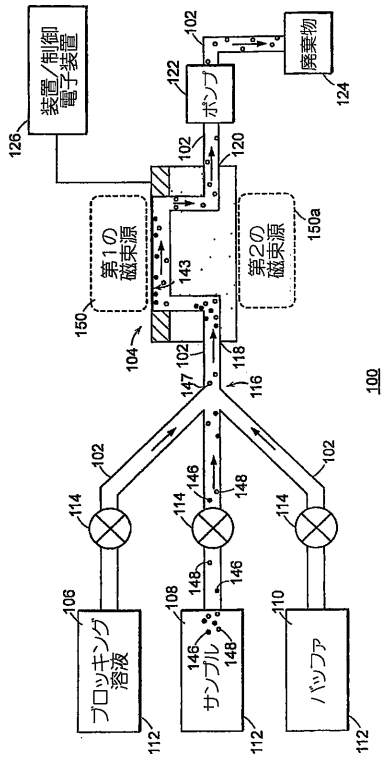
【図 20】溶解全血 (lysed whole blood) 中の c - トロポニン - I の用量応答曲線を示している。

10

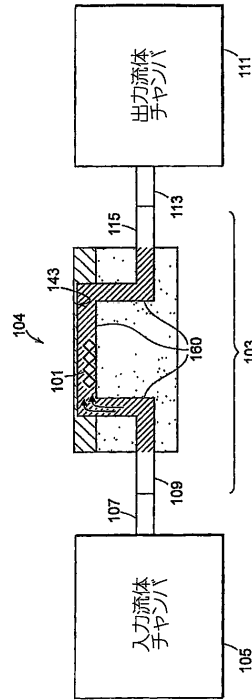
20

30

【図 1 A】



【図 1 B】



【図 2】

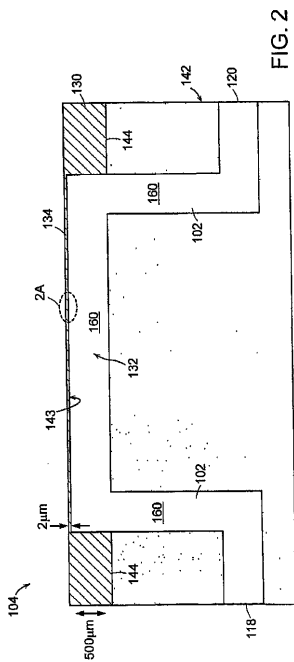


FIG. 2

【図 2 A】

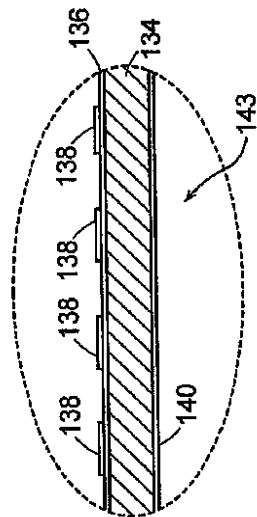
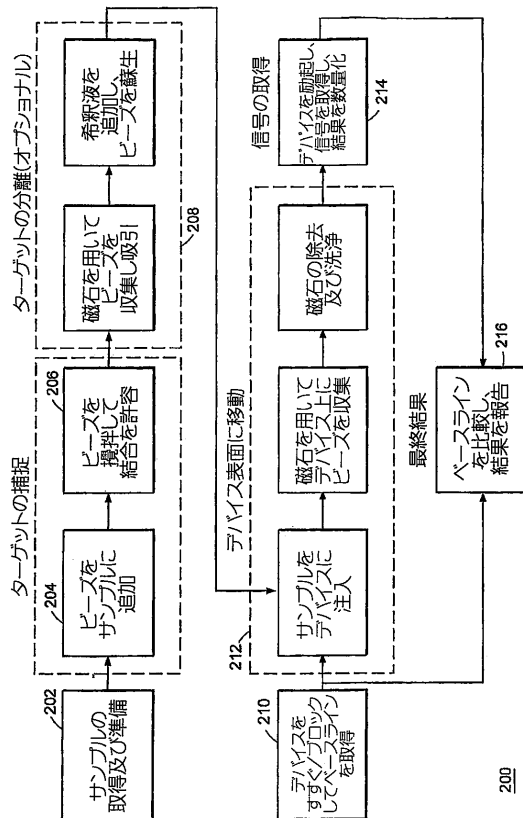
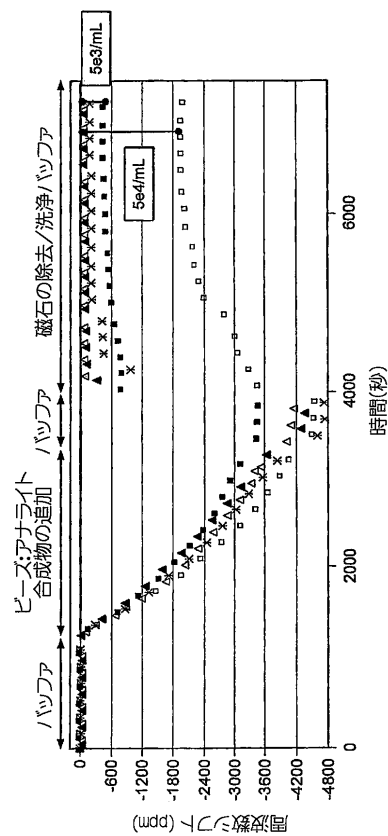


FIG. 2A

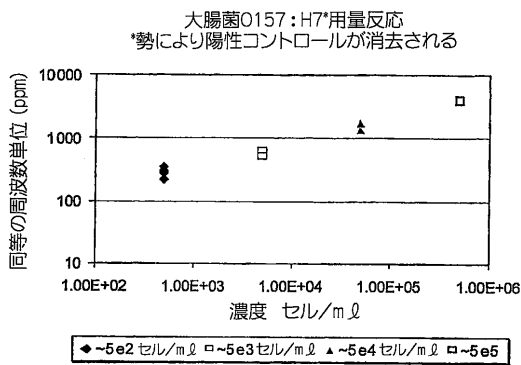
【 図 3 】



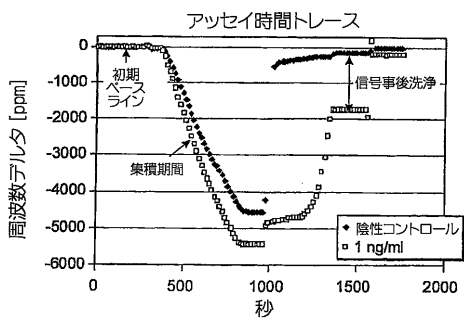
【 図 4 】



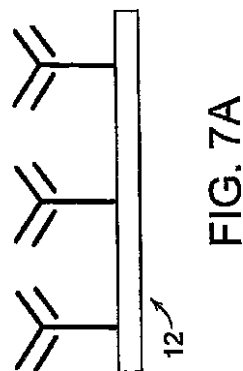
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 A 】



【 図 7 B 】

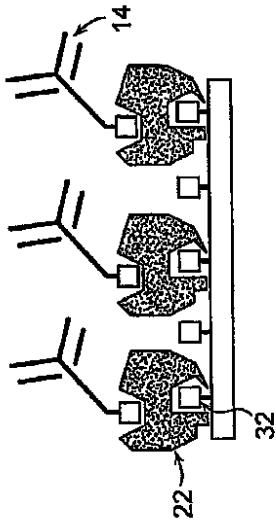


FIG. 7B

【 図 8 A 】

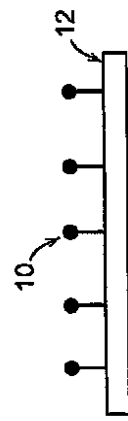


FIG. 8A

【 図 8 B 】

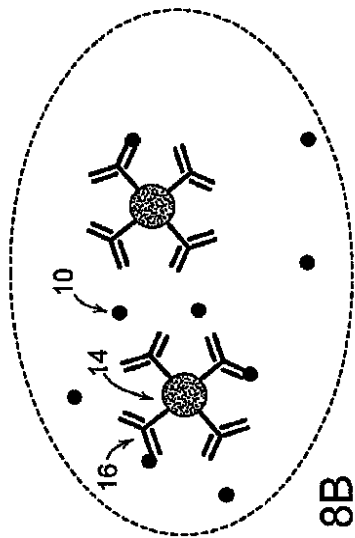


FIG. 8B

【 図 8 C 】

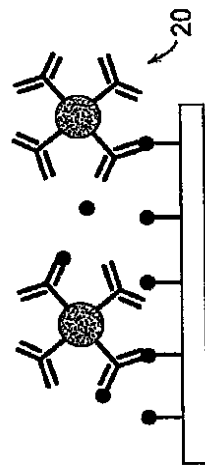
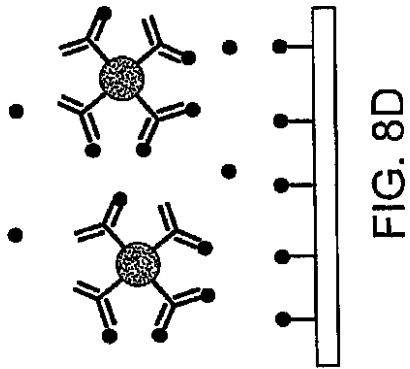
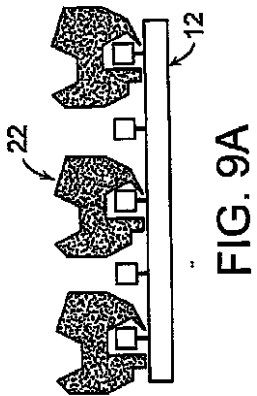


FIG. 8C

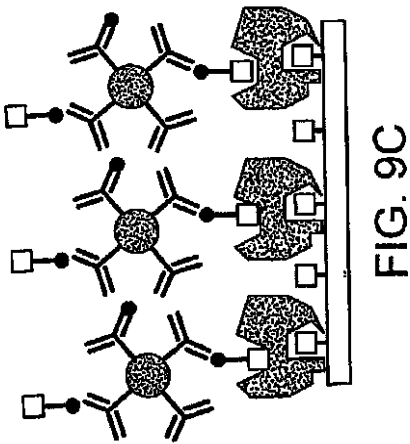
【図 8 D】



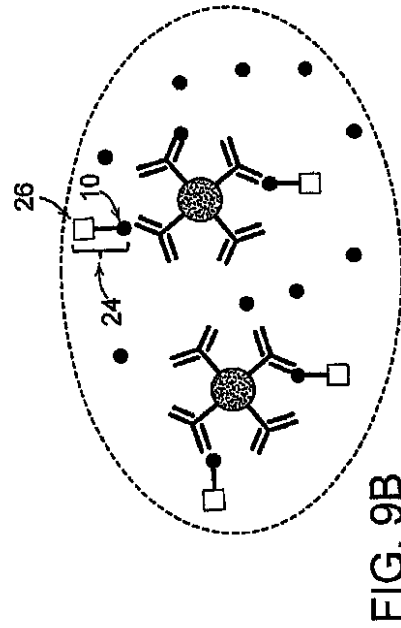
【図 9 A】



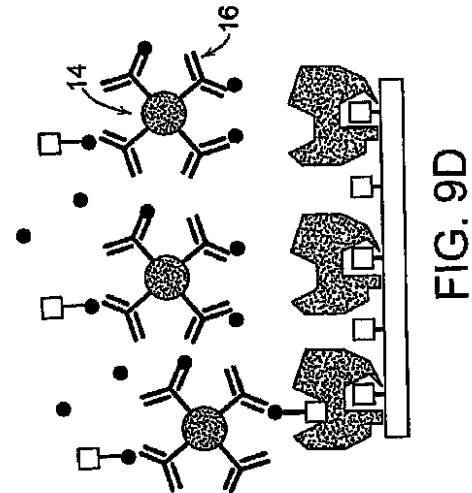
【図 9 C】



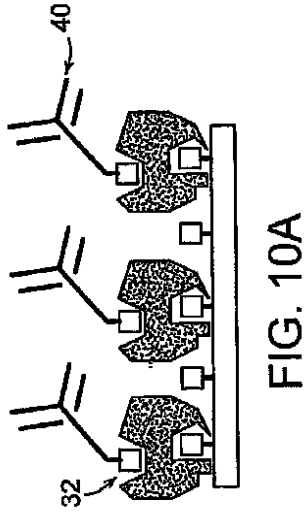
【図 9 B】



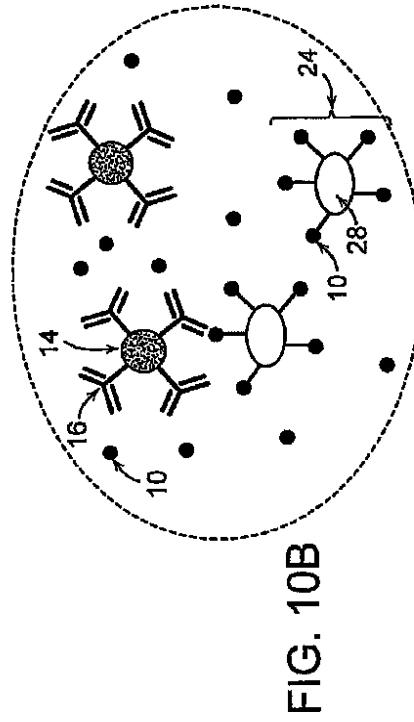
【図 9 D】



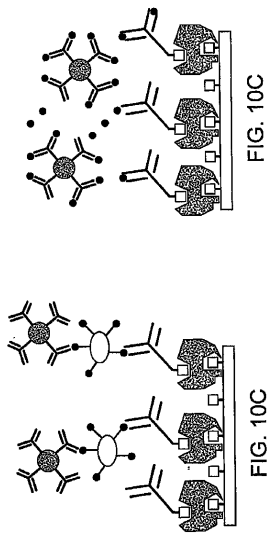
【図 10 A】



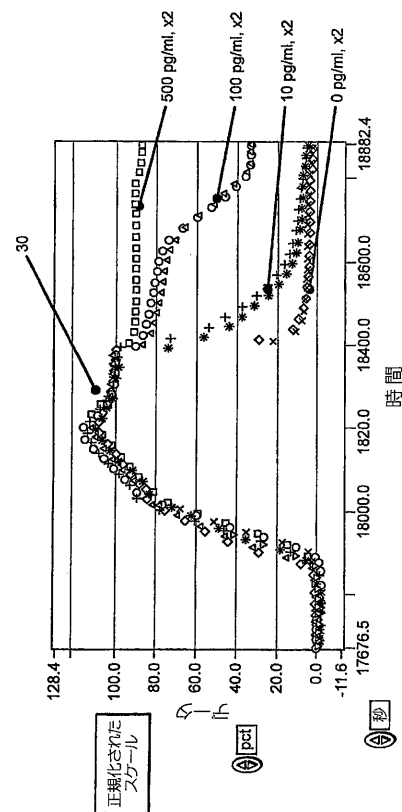
【図 10 B】



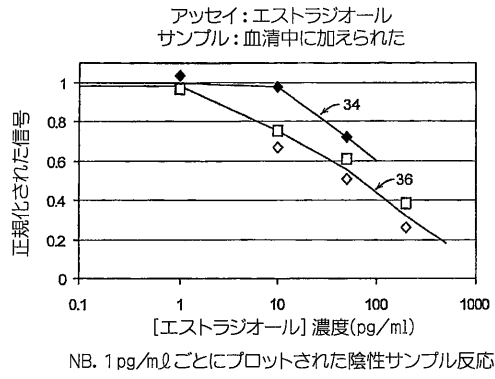
【図 10 C】



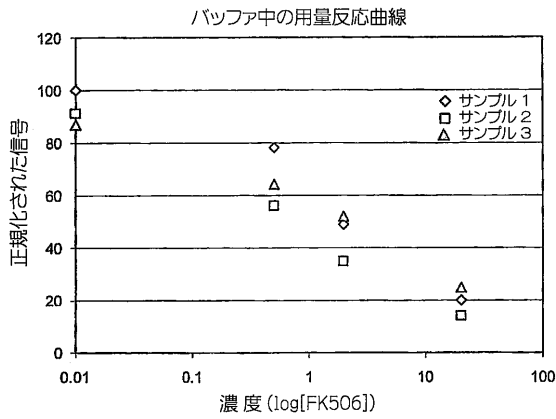
【図 11】



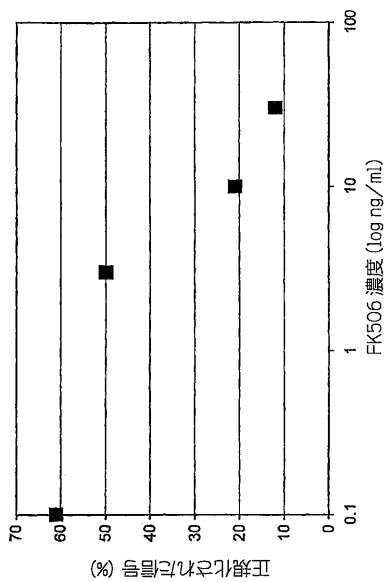
【図 1 2】



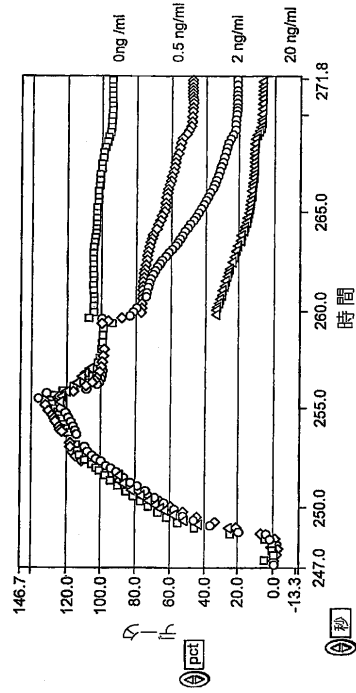
【図 1 3】



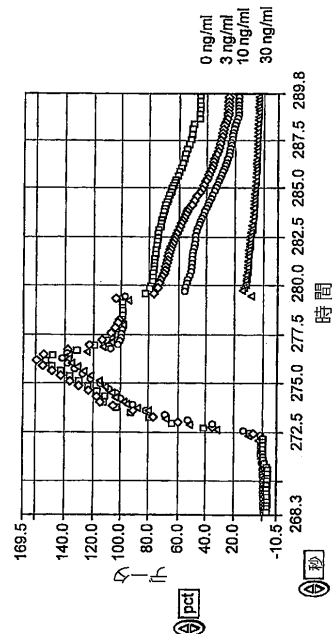
【図 1 5】



【図 1 4】

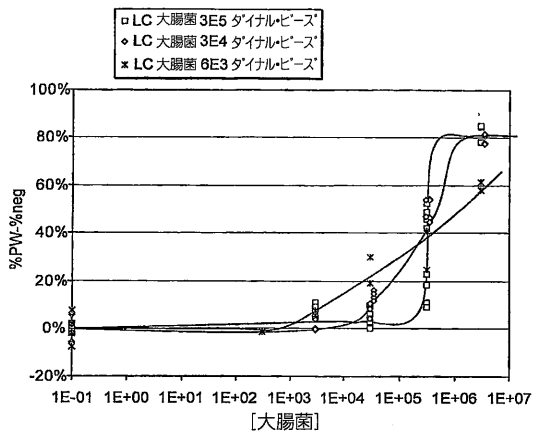


【図 1 6】

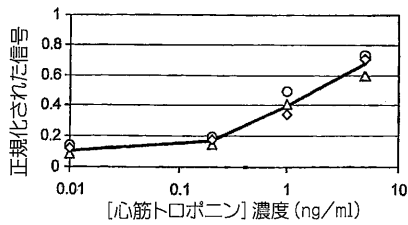


【図 17】

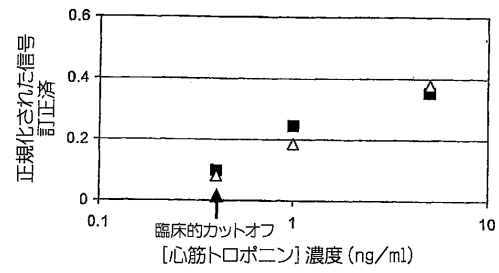
大腸菌アッセイに対する用量反応曲線の比較



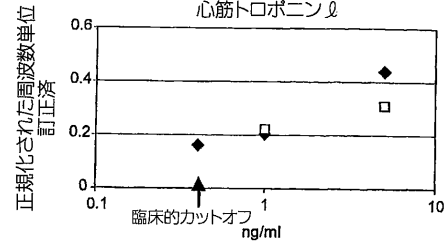
【図 18】

アッセイ: 心筋トロポニン
サンプル: 標準キャリブレーションに追加された

【図 19】

アッセイ: 心筋トロポニン
サンプル: 血清中に加える

【図 20】

溶解された全血中の
心筋トロポニン

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2006/016874

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/543

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)
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

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. 1 OCT 1998, vol. 13, no. 7-8, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 839-845, XP002407528 ISSN: 0956-5663	20-53
Y	abstract page 843, left-hand column, last paragraph page 843, right-hand column	1-19, 54-112
A	US 2004/101990 A1 (DUNN GREGORY J [US] ET AL) 27 May 2004 (2004-05-27) abstract; figures 1,3 ----- -/-	1-112

☒ 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

23 November 2006

Date of mailing of the International search report

04/12/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 apo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Weijland, Albert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2006/016874

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 -----	1-19, 54-69
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; figure 1 -----	70-112

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2006/016874

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004101990	A1	27-05-2004	NONE

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 サウアー - バッジ, アレクシス・エフ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 1 7 7 3, リンコン, サウス・グレート・ロード 1 1 7

(72)発明者 フィッチ, エリック

アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2 4 7 6, アーリントン, プレザント・ストリート 2 5 1

(72)発明者 マスターズ, プレット・ピー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2 4 7 2, ウォータータウン, キーナン・ストリート 3 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 0 3 0 4 9, ホリス, ウィーラー・ロード 7 3

(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 0 2 1 0 9, 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	JP2008541053A	公开(公告)日	2008-11-20
申请号	JP2008510142	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	サウアーバッジアレクシスエフ フィッチエリック マスターズブレットピー ミラーマイケル ランストロームマーク		
发明人	サウアー-バッジ,アレクシス・エフ フィッチ,エリック マスターズ,ブレット・ピー ミラー,マイケル 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	G01N33/543.571 G01N33/53.D G01N33/53.U 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		
其他公开文献	JP5197357B2		

摘要(译)

提供了一种用于检测分析物的方法。将各自涂覆有对分析物具有亲和力的捕获剂的多个颗粒与样品混合以形成分析物 - 颗粒的复合物。该系统还包括用于将样品移动到传感器表面的移动装置，并且可选地，通过磁场，所构造的结构在传感器表面附近建立磁场。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。

