

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-15533

(P2013-15533A)

(43) 公開日 平成25年1月24日(2013.1.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/553	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	U
	GO 1 N 33/53	D

審査請求 有 請求項の数 25 O L 外国語出願 (全 53 頁)

(21) 出願番号	特願2012-198586 (P2012-198586)	(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02139, ケンブリッジ, シドニー・ストリート 75
(22) 出願日	平成24年9月10日 (2012. 9. 10)	(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(62) 分割の表示	特願2008-510142 (P2008-510142) の分割	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
原出願日	平成18年5月2日 (2006. 5. 2)	(74) 代理人	100096013 弁理士 富田 博行
(31) 優先権主張番号	60/676, 759	(74) 代理人	100092967 弁理士 星野 修
(32) 優先日	平成17年5月2日 (2005. 5. 2)	(74) 代理人	100091063 弁理士 田中 英夫
(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)		

最終頁に続く

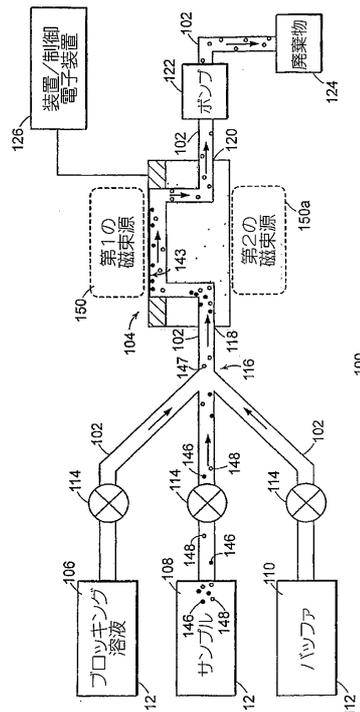
(54) 【発明の名称】 音響デバイスを用いてアナライトを検出する方法及び装置

(57) 【要約】

【課題】アナライトの検出方法を提供すること。

【解決手段】それぞれがアナライトとの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ている複数の粒子とサンプルとを組み合わせ、アナライト・粒子の複合体を複数形成する。また、本発明を実現するシステムは、サンプルをセンサ表面に輸送する輸送手段と、オプションではあるが、センサ表面及びセンサ表面に隣接する場所に磁場を生成するように構成された磁場生成手段とを含む。以上のような構成において、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。

【選択図】 図 1 A



【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 b) 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 15】

請求項 14 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 16】

請求項 14 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。

【請求項 17】

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 18】

請求項 17 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 19】

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、

ii) 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 20】

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 21】

請求項 20 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 22】

請求項 20 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 23】

請求項 20 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 24】

請求項 20 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 38】

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 39】

請求項 38 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 40】

請求項 38 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 41】

請求項 38 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 42】

請求項 38 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 43】

請求項 42 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 44】

請求項 38 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 45】

請求項 39 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 46】

請求項 38 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 47】

請求項 38 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 48】

請求項 47 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 49】

請求項 47 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 50】

50

請求項 3 8 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 5 1】

請求項 5 0 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 5 2】

請求項 5 1 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。

【請求項 5 3】

請求項 3 8 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 5 4】

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。

【請求項 5 5】

請求項 5 4 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 5 6】

請求項 5 4 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 5 7】

請求項 5 4 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 5 8】

請求項 5 4 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 5 9】

請求項 5 8 記載の方法において、前記磁束はステップ b) の前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 6 0】

請求項 5 4 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。

【請求項 6 1】

請求項 5 4 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 6 2】

請求項 5 4 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 6 3】

請求項 6 2 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。

10

20

30

40

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。

【請求項 6 7】

請求項 5 1 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。

【請求項 6 8】

請求項 3 8 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。

【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。

【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。

【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。

10

20

30

40

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、流体サンプルにおいて 1 又は複数のアナライトを検出する方法に関する。

【背景技術】**【0 0 0 2】**

液体培地（メディア）の中のアナライト（analytes）（例えば、生物学的因子（biological agents））を検出するシステムに対する著しい挑戦には、メディア中のアナライトの濃度やセンサ表面へのアナライトの輸送が含まれる。生物学的なアプリケーションでは、そのようなアナライトの濃度は低い傾向があるため、濃度の問題が生じるのは一般的である。更に、生物学的アナライト（例えば、細胞、細胞フラグメント、タンパク質や核酸のような高分子）は、比較的大きい傾向があり、これらのより大きなアナライトは流動性の溶液の中で非常にゆっくり拡散するので、輸送の問題が生じる。細胞、細胞フラグメント、タンパク質や核酸のような分子に加えて、小さな分子であるアナライトの検出は、疾病の診断、患者における薬剤ファルマコキネティクスの分析、潜在的な薬剤ターゲットのための小分子ライブラリのスクリーニングのための有用なマーカになりえる。小分子薬剤を含む多くの治療薬において、当該薬剤の有益な効果を最大化し、生じる可能性があり得る副作用を回避するため、患者の体内での頻繁なモニタリングが必要になるのである。

【0 0 0 3】

疾病の診断には、多くの場合、個体から得られたサンプル中のアナライトの迅速な検出が要求される。アナライトの検出は、緊急処置室や救急車両におけるような緊急の条件下で生じることが多い。しかし、患者のサンプルにおけるアナライトの検出には、典型的な場合、医師の診療室やクリニックにおいてサンプルを取得し、そのサンプルを解析のためにオフサイトに送ることが必要となる。アナライトによっては、その解析には 1 週間から数週間を要する場合がある。解析の結果は医師に送られ、解析結果を受け取った医師はその情報を用いて必要に応じて治療を調節し、新たな治療内容を伝えるために患者と連絡をとる。サンプルの分析に付随する遅延があると、医師が適切な治療を性格に特定することが困難になる。更に、もし疾病の進行において間違った段階で与えられると、特定の治療は効果がない場合があるし有害となる場合もある。例えば、レベル若しくは 1 又は複数の心臓損傷マーカは、患者が現在心臓発作を経験しているのか又は近い過去の時点において心臓発作を経験したのかを示すことがあり得る。

10

20

30

40

50

【0004】

アナライトの低濃度を迅速に検出することができる改善された分析に対する必要性が存在する。更に、薬剤療法 (drug regimens) をカスタマイズして個々の患者において希望しない副作用を低減しながら薬剤の効能を維持するために、小分子アナライトを含むアナライトをよりよく測定する必要がある。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及び (又は) 臨床的に適切なアナライトのポイントで用いることができる方法及び装置の必要がある。

【0005】

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アナライトの量である。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。アナライト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アナライト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、センサに選択的にアナライトを引き付けて、豎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。センサ表面にアナライト (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、アナライト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

【0006】

センサ表面へのアナライトの輸送を改善する様々な方法が提案されており、濾過 (フィルタリング)、新しいフロー幾何学的形状、音場、電場 (時間変動型、静的) 及び磁場などが含まれる。

20

【0007】

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用いるのは難しい。

【0008】

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、すべてのアナライト及びサンプル・タイプに普遍的に適用可能ではない。それらは、より大きなアナライト (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のシステム性能を预言することを難しくして、与えられた種及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、又は分析の中で条件を洗うことができる。更に、電気的なフィールドはエネルギーと熱の導電性流体 (例えば0.1 Mのリン酸緩衝液) を消すことができる。暖房と生物学のアナライトを破損する場合があるので、それは不適當である。

30

【0009】

免疫磁気分離 (IMS) 法はサンプルからアナライト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】

40

【0010】

ある実施例では、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。

【0011】

50

別の実施例では、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、ii) 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。

10

【0012】

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。

【0013】

別の実施例では、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。

20

【0014】

本発明は、サンプルにおいてウイルスを検出する方法に関する。本発明のある実施例では、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がなされた複数の粒子を流体チャンバの中に導入し、流体チャンバの少なくとも1つの表面は、ウイルスを結合させ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有する。音響デバイスから出力される信号がモニタされることにより、サンプルの中のウイルス負荷が検出される。

30

【0015】

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

【0016】

アナライト検出システムのある実施例では、アナライトが磁性粒子(例えば、磁性ビーズ)と結合して、アナライト・粒子の複合体が形成される。このアナライト・粒子の複合体は、勾配(グレイディアント)磁場を印加することによって、感知デバイスの表面に運ばれ、そこに局所化される。磁場により粒子の磁性材料において分極が誘導され、局所的な磁気線と位置合わせがなされる。粒子は、勾配(グレイディアント)の方向に正味の力を受け、その結果、粒子は、磁場がより強い領域に向かって移動する。磁場の分布は、アナライト・粒子の複合体がサンプルフローから引き出され、感知デバイスの表面全体に及ぶように調整される。サンプルとは無関係の背景成分(例えば、セル、プロテインなど)

50

は、一般的に、磁性粒子と比較するとはるかに低い磁化率 (magnetic susceptibility) を有するので、磁場はそれらに対してさほどの影響を有さない。従って、背景的な物質は非常に僅かな割合しかセンサ表面との間に相互作用を生じない。

【0017】

ある実施例では、感知デバイスは、たわみ板波 (flexural plate wave = FPW) デバイスであり、このデバイスは、2つの理由により磁性粒子との間で特にうまく機能する。第1に、感知デバイスの表面に磁性粒子が存在することの結果として、増幅されたFPW信号応答が生じる。アナライト・粒子の複合体の合計のサイズと密度とが大きければ大きいほど、アナライト単独の場合よりもより大きなFPW信号応答が生じる。第2に、FPWデバイスのセンサの表面は、典型的には数マイクロメートルの厚さの薄膜で構成されており、それによって、センサ表面においてより大きな磁場及び磁場勾配が生成されることが可能になる。これは、磁場のソースをサンプルフローにより近接するように配置することが可能であるからである。結果的に、サンプルからのアナライトの捕捉率が高くなる。捕捉率及び効率が高いことにより、従来行われていたよりも、より多くのサンプルをより短い時間で処理することが可能となる。

10

【0018】

ある特徴では、アナライトの検出装置が、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、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、を備えている。この装置は、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リング手段と、アナライトへの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、流体チャンバの少なくとも1つの内部表面に磁性粒子を選択的に引きつける第1の磁束源と、を更に含む。

20

【0019】

別の特徴では、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、を備えている。このカートリッジは、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。

【0020】

別の特徴では、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。

30

【0021】

別の特徴では、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。

40

【0022】

本発明は、サンプルにおいて検出されたアナライトのレベルに基づいて、疾病を診断する又は疾病が進行する危険を評価するのに用いることができる。更に、患者が1つ以上の心臓のマーカ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

50

の条件を評価するために用いることができる。その発明は感染（例えば、バクテリア、ウイルス、又は寄生生物）及び（又は）感染がどれくらい遠くに進歩したかを検知するために用いることができる。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）のアナライトの検出を許可する。更に、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及び（又は）臨床的に適切なアナライトのポイントで用いることができる。ここに使用されるように、注意の頂ポイントは例えば、診療室、クリニック、緊急処置室及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。

【0023】

本発明の結果、アナライトの下位レベルは従来与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、アナライトのより感知可能な検出を考慮に入れる。アナライトのサイズが粒子のサイズの命令である場合、及びアナライトが小さな分子である場合、これは見つかった。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、及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性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、センサ表面への磁性微粒子の魅力を高める。このように、傾斜磁場が、それらが境界アナライト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、キャプチャ・エージェントことができる、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用いることができ、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、本発明は精度及びアナライト検出の感度を改善する。

【図面の簡単な説明】

【0024】

本発明の上述した及びそれ以外の目的、その様々な特徴並びに本発明自体について、以後で行う説明を以下の図面を参照して読むことによって、より改善に理解することができるはずである。

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

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

【図2】図1Aに示されたFPWセンサのより詳細な図解を示している。

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

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

【図5】検出された最終的な信号変化を当初のアナライト濃度の関数として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PSA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、競合分子は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はタグに結合することができるキャプチャ・

10

20

30

40

50

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、競合分子は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は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】複数のFPWセンサからの信号の変化をPSA濃度の関数として示している。

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

【図13】パuffaにおけるFK-506の用量応答曲線である。

【図14】複数のFPWセンサからの信号の変化をパuffaにおけるFK-506濃度の関数として示している。

【図15】血清中のFK-506の用量応答曲線である。

【図16】複数のFPWセンサからの信号の変化を血清中のFK-506濃度の関数として示している。

【図17】複数のFPWセンサからの信号の変化を粒子濃度の関数として示している。

【図18】パuffa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。

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

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用いて、アナライトを検知する方法に引き付けられる、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(更にここに1位と呼ばれた、キャプチャ・エージェント)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、及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(更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。又は、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及び(又は)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及び(又は)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。

【0026】

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。

【0027】

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

10

20

30

40

50

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、及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。又は 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。

【0028】

より低い粒子濃度は更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たくない間、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。多数に用いてください。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 までの濃縮の中で用いることができる。別の実施例では、粒子状物質は、約 5×10^3 ~約 5×10^5 の濃縮にある。

10

【0029】

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の最初のメンバで標識付けされる。表面は、結合ペア32の最初のメンバ及び結合ペア22の第2のメンバで覆われる。

20

【0030】

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キャプチャ・エージェント、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及び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及び(又は)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。更に、サンプルの中にあるアナライトの存在又は量は、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、粒子状物質は磁性微粒子になりえる。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及び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

40

【0031】

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(更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はキャプチャ・エージェント、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

50

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、上塗りを施した粒子状物質は音響の装置の感知表面へ拘束する。

【0032】

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又はキャリア28への興味10境界の部分になりえる。また、第2はエージェント40を捕らえる、アナライトを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。表面の境界及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及び競争者分子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キャプチャ・エージェント、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

【0033】

本発明の方法はサンプル中のアナライトの濃縮又はレベルを決定するために用いることができる。本発明の方法によって検知されたか測定された濃縮は、絶対的濃縮又は相対的濃縮になりえる。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。更に、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、又は否定になりえる。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。

30

【0034】

ここで説明する実施例のそれぞれに対し、多くの修正を発明の範囲から逸脱することなく、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

【0035】

本発明で用い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きたように、サンプルは直接用いることができる。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、唾液、血漿、血清、接眼レンズ流体、脳脊髄液、汗、尿)のような任意の生物学のソース、ミルク、腹水、関節液、腹水、羊水などに由来する場合がある、また糞便。サンプルは、鼻か直腸綿棒のような生物学のスワブから得ることができる。更に、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、鳥又は他の適切なソースから得ることができる。

40

【0036】

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。サンプルも酵素で過し、蒸留し、抽出され、要約されるか又は濃縮することができる。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又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

50

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 (d e c o m p l e x) 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、又はキャプチャ・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。

【 0 0 3 7 】

生理液及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又は食糧生産分析のパフォーマンスに用いることができる。例えば、サンプルはミート、又は鶏肉洗浄 (溶液は鶏肉を洗うために使用される) になりえる。更に、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用いることができる。固体の試験サンプルは、液体培地を形成するか又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 (s t o m a c h e d) したか、可溶性にした) 。

10

【 0 0 3 8 】

サンプルボリュームは、10 μ L 又は 250 ml でもありえる。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

【 0 0 3 9 】

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又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 (K D) を持ったキャプチャ・エージェントことが好まれる。キャプチャ・エージェントは、更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、糖脂質及びリポタンパク質になりえる。抗体又は抗体断片は、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、キャプチャ・エージェントように、抗原は更に貢献する場合がある。配位子を拘束するレセプタ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、更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 (p h o t o c r o s s l i n k e d) される場合がある。

20

30

【 0 0 4 0 】

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、又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、更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、又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又は多クローンの場合がある。抗体は、I g G、I g M、I g A、I g D 及び I g E を含む任意の免疫グロブリンクラスのメンバである場合がある。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又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、又は抗体を生成する既知の方法を用いて製作した。

40

【 0 0 4 1 】

用語「抗体」は更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難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

50

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、F a b、驚くべき。」F (a b)₂、s c F v、F v、d s F v d i a b o d y 及びF d フラグメント。抗体断片は任意の手段によって生まれる場合がある。例えば、抗体断片は、完全な抗体のフラグメンテーションによって酵素で又は化学上生まれる場合がある。又は、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。又は、抗体断片は、全体の中で、又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。又は、フラグメントは、ジスフィド結合によって、ともにリンクされる複数連鎖を例えば含む場合がある。フラグメントは更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のアミノ酸を含みうる。

10

【0042】

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) 及び可変重鎖 (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NH₂のターミナルのドメインである場合がある。橋が重大な立体障害なしで2つの可変ドメインに架けられる限り、ポリペプチド・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又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 及び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、pH 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ド架橋の還元又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。

20

30

【0043】

適切なポリペプチドキャプチャ・エージェントは、更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、ポリペプチド又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、キャプチャ・エージェント、合成生産方式を用いて、組み換え法を用いて、例えば営利上得られる場合がある、又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、細胞表面及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及び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、菌による酵素及びウイルスの酵素)、DNA、RNA合成又はデグラデーションに関連したタンパク質、及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。

40

【0044】

特定の実施例中では、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になりえる。例えば、ウイルスがH I V である場合、キャ

50

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) 又は 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 又は 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 、 又は H L A - D R D P D Q のようなヒト白血球抗原 (H L A) 。

【 0 0 4 5 】

キャプチャ・エージェントは、更に R N A 又は D N A のような核酸、又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又はペプチド核酸アナライトに交雑することができる。更に、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、小さな有機分子又は無機の分子) 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又は修正されたヌクレオチドからできている R N A 又は D N A チェーンのいずれかになりえる。

10

【 0 0 4 6 】

適切なキャプチャ・エージェントは、更に拘束力のあるペアのメンバを含む。適切な拘束力のあるペアは例えば、ビオチン、アビジン又はアビジン (例えばストレプトアビジンとニュートラアビジン) のビオチン及び派生語を含む。

【 0 0 4 7 】

キャプチャ・エージェントは、表面に、又は、ビードに結合することができるが、これは、後述する方法によるか、又は、ポリペプチドや核酸などを表面に付着させる標準的な技術を用いることによる。

20

アナライト

【 0 0 4 8 】

ここに用いられる「アナライト」という用語は、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あるし、又は、レセプタによって拘束される配位子の一部を含むことがある。用語アナライトは、更に、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むより大きな分子を含む。アナライトは、細胞の一部、例えば細胞表面タンパク質でありうる。アナライトは、(例えば、予め選ばれた) ユーザによって選ばれた興味対象であるアナライトでもありうる。アナライトは、例えば、小さな分子ライブラリ・スクリーニングにおいて、興味対象であるキャプチャ・エージェントを拘束する能力に基づいて選択することができる。

30

【 0 0 4 9 】

ここに説明されるように、本発明は、アナライトのパネルの 1 又は複数のアナライトを測定するのに用いることができる。アナライトのパネルは、ここで述べるような競合フォーマットを用いて検知される 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用いて検知された。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用いて、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用いて、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、又はそれ、テストされる場合がある、異なるタイプの装置、 d e t e c t をテストするために使用される、異なるアナライト。

40

【 0 0 5 0 】

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 1 0 0 0 g / m o l の分子の重量がある有機か無機の分子を含んでいる、又はより少ない、典型的には、小さな分子アナライトは単一又はほんの少数の結合部位を含む。小さな分子が

50

少数又はたった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/又は量を計るために競合的結合を用いる。

【0051】

小さな分子は例えば、ステロイド、脂質、炭水化物、ペプチド、及び複素環式化合物（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及びケトン、オキシム、ヒドラゾン、セミカルバゾン、カルバジド、第一アミン、第二アミン、第三アミン、Nに代用されたヒドラジン、ヒドラジド、アルコール、エーテル、チオール類、チオエーテル、チオエステル、ジスルフィド、カルボン酸、エステル、アミド、尿素、カルバミン酸塩、炭酸塩、ケタール、チオケタール、アセタール、チオアセタール、ハロゲン化アリールの一部になりえる。アリル基を含むスルフォナート、ハロゲン化アルキル、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、oxazolines、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、アミノアルコール及び（又は）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、第二アミン及び（又は）ジスルフィド及び組合せなどである。

10

【0052】

興味のあるアナライトは、更にポリペプチド、核酸、炭水化物、核タンパク質、糖ペプチド又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、合成的に又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又は症状に関係している。

20

【0053】

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、顆粒球マクロファージ・コロニー刺激的なレセプタ、トロンボポイエチン(TPO)、EL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、EL-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(LPL)、CNTF及び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、テストステロン及び派生語、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-[]及びTGF-[]、他のホルモン、及び硬骨のようなレセプタ、morphogenicな要因、濾胞刺激ホルモン(FSH)及びleutinizingするホルモン(LH)（組織壊死要因(TNF)）、細胞死要因-1及び2(AP-1及びAP-2)、ならびにmdm2。

30

【0054】

1つの実施例では、アナライトは心臓のマーカである。心臓のマーカ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)及び乏血は、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用いることができる。1つの実施例では、心臓のマーカ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及びミオグロビンアナライトを含むことができる。

40

【0055】

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である。ウイルス感染のためのマーカは、ウイルス蛋白質、CD4+細胞、肝酵素及び抗ウイルスの抗体を循環させて、例えば、炎症性のマーカを含んでいる。

50

【0056】

薬経営目的又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更に治療薬になりえる。適切な治療薬は含んでいる、しかしプロテアーゼインヒビターと免疫抑制剤 (immunosuppressants) に制限されていない。適切なプロテアーゼインヒビターは a generaser、reyataz、lexiva、telzir、crixivian、kalettra、viracep、norvi、invirase、aortovase、aptivus 及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 及びその他同種のものを含んでいる。

10

【0057】

興味のあるアナライトは、バクテリア又は芽胞胞子のような病原体か微生物、ウイルス、寄生生物、プリオン又は他の病原体になりえる、又はグラム陽性のペプチドグリカンのようなそれらの細胞壁か表面のコンポーネント、リポタイコ酸、そして teichoic acids、またグラム陰性の内毒素 (例えば) リポ多糖類。バクテリアのアナライトは例えば、赤痢菌 sp を含んでいる。志賀赤痢菌、キャンピロバクター sp のように。キャンピロバクター jejuni、腸球菌 sp のように。エンテロコッカス - フェカリス、バチルス菌 [] nthr [] 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、ジフテリア菌及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、マラリア及び cryptosporidia を含んでいる。ウイルスのアナライトは例えば、ライノウイルス (黄熱病) を含んでいる、B Coxsachieviruses (CB1、CB2、CB3、CB4、CB5 及び CB6) をグループ化する、犬のパルボウイルス (CPV)、単純性疱疹ウイルスタイプ (HSV1)、Vaccina ウイルス、T4 のようなウイルス、アデノウイルス、インフルエンザ B 型ウイルス、インフルエンザ 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)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、西ナイルウイルス 1、またエボラウイルス。

20

【0058】

上述したように、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 (更にここに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。

30

【0059】

アナライトは、後述するように、又は、ポリペプチドや核酸など表面に結合させる標準的な技術を用いても、表面又はビーズに結合することができる。ある1つの実施例では、アナライトは、表面に間接的に結合できる。アナライトは、例えば、結合ペアの一方のメンバで表面をコーティングすることにより、表面に間接的に結び付けることができる。アナライトは、結合ペアの他方のメンバに結合される又は付着史、次に、結合ペアの第1及び第2のメンバの間のインタラクションによって表面に結び付けられる。適切な結合ペアには、例えば、ビオチンやアビジン、又は、ストレプトアビジンやニュートラアビジンのようなアビジンの派生物が含まれる。

40

分析フォーマット

【0060】

上述したように、本発明の1つの実施例では、多くの磁性微粒子は流体チャンバへ導入される。磁性微粒子は1位で覆われる、アナライト及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キャプチャ・エージェント、第2で覆われた音響の装置を含

50

む、競争者分子と結合することができるキャプチャ・エージェント。表面は、どんな適切な方法も用いて、結合ペアの第2のメンバ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、アビジン又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。

【0061】

別の実施例では、多くの磁性微粒子及び競争者分子は流体チャンバへ導入される。磁性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又はタグへの境界を含む。また、第2はキャプチャ・エージェント、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又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用いて、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用いて、結合ペアの第2のメンバ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、アビジン又はアビジンの派生語に露出することができる。

10

20

【0062】

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、キャプチャ・エージェント、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、核酸又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。又は、既知のリンク技術は競争者分子を形成するために用いることができる。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。

30

【0063】

本発明の方法の1つの実施例によれば、多くの粒子状物質を、様々な異なるオーダーの照射線量を用いて、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濃縮される場合がある。例えば、溶液から粒子状物質を取り除き、粒子状物質を液体のより小さな体積の中に再懸濁(resuspend)することにより濃縮することができる。

【0064】

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、流体チャンバの中に導入される。更に別の実施例では、多くの粒子状物質が、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

【0065】

別の実施例中で、上述したように、多くの粒子状物質はサンプル及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及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及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、サンプル及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。また別の実施例では、多くの粒子状物質は、流体チャンバにサンプル及び(又は)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

50

【0066】

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

10

【0067】

別の実施例では、制御信号は使用方式で得られる。例えば、特別のアナライト及び（又は）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、同じアナライト及び（又は）キャプチャ・エージェントを用いて得られる。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。

20

【0068】

マルチプレクスに関して後述されるように、異なる複数の磁性粒子を、流体チャンバの同一の又は異なる表面に露出することができる。

音響デバイス（装置）

【0069】

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、子羊波装置及び片持ばり（カンチレバー）装置を含んでいる。音響デバイスは、更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－高調波表面弾性波デバイス及び音響のプレート・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、装置（つまり、運動エネルギー、位置エネルギー及び損失は、流体に入れて主に運ばれる）の飛行機への接近中の流体に音響的に連結される飛行機運動から本質的。粘着性のインタラクション装置は、主として装置の飛行機への接近中の流体に音響的に連結されない、面内運動で答える。

30

【0070】

たとえば、流体の中の生物的又は化学的物質の検出及び数量化に関する応用例では、音響デバイスと流体との間の結合は、厚さについて、約100nmから10ミクロンの間であるのが典型的である。他方、粘着性のインタラクション装置と流体の間の結合は、当該装置の面に関して約10nmから約100nmの間である。

40

【0071】

表面弾性波デバイス及びシヤ－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－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。

【0072】

50

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 を通って様々な試液（更に「テスト流体」又は「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。次の米国特許及び特許出願（それらのすべては参照によって本出願で援用される）が、本発明で用い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 号及び米国特許出願 20040038195 号である。

【0073】

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を従って決定する。出力デバイスからの電気信号が伝播特性を表わすので、電気信号は更にシートに作用する測定量の値を表わす。

【0074】

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、例えば用いることができる。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、又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。更に、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、更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、多孔性及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及び生体臨床医学研究を含んでいる。

【0075】

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 のポート 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 及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、及び FPW 装置 104 を通って試液を引き寄せて、汚物投入器 124 に試液を向ける。

【0076】

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 及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、又は装置 104 を通ってフローを変更するじゃま板のような流体素子 101 を含んでいる場合があらん。1 つの実施例では、流体素子 101 は流体素子 101 が存在しなかった場合によりセンサ表面 143 に接近して通る装置 104 を通って、流量を引き起こすために作動する。更に、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、磁性微粒子は、最初に流体チャンバ105、及びアナライトを含んでいる流体が入力での磁性微粒子で調合される入力に位置する、流体チャンバ105、そして次に、FPW装置104が位置するカートリッジ103に向けられた磁性微粒子は、入力流体薬室105内に装置（例えばポンプ又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1B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る。

【0077】

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及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及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・結合はスパナ又はカップリングとデカップリングに影響する他のそのようなツールを要求する、糸が通されたカップリングのような、接続及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又はアクセサリーなしで、迅速で容易な手動接続及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、要求及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及び出力流体薬室がある。いくつかの実施例では、1つ以上の入力及び（又は）出力流体薬室はカートリッジ103の一部である。更に、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。

【0078】

FPW (flexural plate wave、たわみ板波) 装置104は、図2に、より詳細に示されている。FPW装置104では、歪エネルギーは、この装置のたわみ及び張力において運ばれる。いくつかの実施例では、FPW装置104の波長に対する厚さの比率は1未満であるのが好ましく、場合によっては、1よりはるかに小さいのが好ましい。一般に、FPW装置104の波長「 λ 」は、ここに説明しているインターディジット型（櫛型）電極のピッチとほぼ等しい。ある実施例では、FPW装置104の波長に対する厚さの比率は、 $2\mu\text{m}/38\mu\text{m}$ である。他の実施例では、FPW装置104は、特定のモード（例えば、ゼロ次のオーダー・モードから更に高いモードまでの任意のモード）、又は、この装置と関連するモードの帯域幅を分離するように設計されている。例えば、上述した $2\mu\text{m}/38\mu\text{m}$ の厚さ/波長を持っているFPW装置104は、FPW装置104の80番目モードを分離する。FPW装置104は、この装置に置かれたインターディジット型電極のため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。ある1つの実施例では、FPW装置104は形において長方形である。又は、FPW装置104は、円形や楕円形、又はそれ以外の平面的な形状でもありうる。

【0079】

一般に、FPW装置104は、当該技術の中で既知の微細加工技術を用いて、シリコンウエハ130から構築される。ここで説明する実施例では、キャビティ132は、長さおよそ 1.6mm である薄く保留されたメンブレン134を 0.3mm 広く生産するウエハ130及び $2\mu\text{m}$ 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、キャビティ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（つまりキャビティ132の向こうの表面）に置かれる。2セットの相互指のある金属溶接棒138はAlN層で置かれる。キャプチャ・エージェント（より詳細には後述する）の安定化を促進するため、金（およそ 500Å オングストローム）の薄層140は、メンブレン134の内部表面（つまりキャビティ132に面する表面）に置かれる。

10

20

30

40

50

【0080】

動作においては、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IAを参照して)は少なくとも1セットの電極138に時間を変える電気信号を適用する。機器/制御電子回路126は、更に少なくとも電極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のキャピティーサイド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及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、更に例えば、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。

10

【0081】

興味のあるアナライトをターゲットとするキャプチャ・エージェント、上述したように、メンブレン134の内部表面をカバーする金140の薄層上で動けなくされる。

表面は適切なリンクする化合物で覆われた=でありえる。適切なリンクする化合物は市販で入手可能である。1つの実施例では、下記に述べられるように、リンク化合物はビオチン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チェーンの薄片、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用いることができる。

20

【0082】

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

30

【0083】

FPW装置104及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、金属又は陶磁器を含む様々な材料から形成することができる。

40

【0084】

システム100は、システム100の中で、少数を指定するフロー、圧力又は軌道のような少なくとも1つの流動性の財産を変更するために1つ以上の流体素子を含んでいる。FIG1Aの中で示されるポンプ122及びバルブ114。それは装置を通して、及びセンサ表面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の一部に沿った磁性微粒子を分配するために行われる。上述したように、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。

50

いくつかの実施例では、ポンプは流体チャンバのエントランス側に置かれる。また、他の実施例では、ポンプは流体チャンバの出口側に置かれる。いくつかの実施例では、装置は、分流器（例えばプラグ、閉塞症壁、流体チャンバに関連があって、流体チャンバの少なくとも1つの内表面の近くに流量を変更するために配置されるじゃま板）である。

【0085】

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又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。

10

【0086】

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及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（又は期間中に）計られる。数学的モデル、分析的モデル、又は数学的モデル及び分析的なモデルとのハイブリッドな組合せに基づいて、このスケーリングを行うことができる場合がある。

20

【0087】

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粒子（例えば磁性微粒子と生体試料）。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）及び磁性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。

【0088】

1つの実施例では、磁性粒子（例えば常磁性のビード又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及び粒子状物質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及び148はサンプル貯水池112に位置する。

30

【0089】

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更に含んでいる。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200µm。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100µmに約50µmの間で位置している。

40

【0090】

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に磁性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

50

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、境界資料及び粒子状物質 148、境界、それらがセンサ表面 143に遭遇するまで、液体試料から移動する。アナライトはセンサ表面 143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 147、で、非特異的に、無を備えた、境界資料及び粒子状物質 148、境界、磁界によってセンサ表面 143で保持される。更に、弱い結合力は、粒子状物質 146と 147、148及びセンサ表面 143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)の洗浄ステップの間、磁石 150はセンサ表面 143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。洗浄流量はアナライトによって表面に結び付けられない粒子状物質 147及び 148を削除するために増加される。粒子状物質 147以来、で、不明確に、無を備えた粒子状物質 148と同様に境界資料も、境界、もっと弱くアナライト粒子複合体 146よりセンサ表面 143にリンクされる、それらはより低い洗浄流量(また対応する流体力学のフォース)でセンサ表面 143からリリースする。従って、磁石 150(つまり、センサ表面 143の粒子状物質 146、147及び 148によって経験された磁力を本質的に縮小して)の削除はそれらからアナライト 146を備えた粒子を識別するために使用される、なしで(粒子状物質 147及び 148)。磁石 150を取り撤回するための1つの技術は、それをカム・システム(図示せず)が始動するキャリッジ(図示せず)にマウントする予定である。

10

【0091】

磁石 150の材料、幾何学的構成及びセンサ表面 143からの距離が、磁場の形状及び磁場勾配を決定する、そしてしたがって、フォース、アナライト粒子複合体 146経験。伸縮自在の磁石 150として使用される高い強さ永久磁石は営利上利用可能である。例えば 1mm、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、1mmの直径及び5mmの長いNdFeB磁石 150は、センサ表面 143の0.1mm以内に位置する。撤回された時、磁石 150はセンサ表面 143からの少なくとも0.5mmである。FPW装置 104のメンブレン 134が非常に薄く、非磁性体(例えばシリコン、窒化アルミニウム又は金)で作られているので(2µm)、メンブレン 134は著しく装置 104のセンサ表面 143横の磁界を乱さない。その結果、高捕集効率に必要なように、非常に高い大きさ磁界及び大きな磁場勾配は達成することができる。

20

30

【0092】

チャンネル 102による試料噴霧速度はよい捕集効率に必要な滞留時間によって決定される(例えば、オペレーターによって指定された)。センサ表面 143上の平均速度が約1と約5mm/sの間にあるように、試料噴霧速度が調節される。およそ3µm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。

【0093】

磁束のソース 150(つまり磁石)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用いることができる。電磁石は、装置 104のセンサ表面 143の近くのフィールド・フラックスを濃縮させるために伸びるポール片を含んでいる。

40

【0094】

あるいは、磁化できる資料は、センサ表面 143(0.1mm以内に)、及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、作り位置することができる。資料に引き起こされた磁界は、センサ表面 143の近くの望ましい磁場勾配を見つける役目をする。このように、大きな低価格磁石は用いることができる。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用いることができる。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用いるという利点は、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。

50

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用いることができる。磁石150
がセンサ表面143のすぐ近くに位置する場合、記述された実施例では、精度の高位レ
ベルはよい分析繰返し精度を達成するために要求される。このアプローチを備えた電界強度
のある損失があるが、よい捕獲効率（例えば 10%）を達成する総合体系を設計するこ
とはまだ可能である。

【0095】

構造（例えば磁石又は強磁性体）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/又は濃縮するために調整される場合がある。FPW装置104（例
えば0.3mm×1.6mm）のサイズが、慣例通りに決まった磁石より典型的に小さい
か、誘導物質を機械加工したので、メンブレン134に隣接している構造を引き起こすフ
ィールドの部分はセンサ表面143に1つ以上の場所の磁界を集中するために先細りになり
える。チップを先細りにすることは局所場大きさ及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。

【0096】

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
対する磁束のオプションのセカンドソース150aを含んでいる。磁束のこのセカンドソ
ース150aはセンサ表面143に付着した磁性微粒子のうちのいくつかを移動させるた
めに用いることができる。それは、例えば、どんな結合されたアナライトもない磁性微粒
子148を移動させる場合がある。それらは、アナライトを結合した粒子状物質146と
してセンサ表面143に強く付けられなかった。いくつかの実施例では、磁束の最初のソ
ース150は切られるかセンサ表面143から立ち去った。次に、磁束のセカンドソース
150aは、流体チャンパの少なくとも1つの表面に関連があつて、選択的に磁性微粒子
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性微粒
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性微粒子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。

【0097】

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及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及び磁場勾
配を経験する。

【0098】

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性微粒
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、製作材料又は
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
度のリージョンかリージョンの磁性微粒子を集中するために形作られる場合がある。

【0099】

装置104を通して流量を変えることも与えられた磁界分布のためのアナライト粒子複
合体146のより一定の適用範囲を達成するために使用される場合がある。与えられたフ
ィールドに向かって、磁性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

10

20

30

40

50

によって決定されるようなセンサ表面 1 4 3 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 1 4 6 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 1 4 3 と対話させる場合がある。更に、磁性微粒子がフローを積重ねる（それらがセンサ表面 1 4 3 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 1 4 3 でより多くの粒子状物質を通信する。システム 1 0 0 の 1 つの実施例では、センサ表面 1 4 3 に沿った磁性微粒子の選択的な場所は、検出プロトコル、1 つ又は磁束ソース、及びセンサ表面 1 4 3 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。

10

【 0 1 0 0 】

システム 1 0 0 の 1 つの実施例は装置を含んでいる、例えば、視覚、センサ表面 1 4 3 に付けられているか引きつけられる磁性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 1 0 4 の不可欠な部品でありえる。又は、それは磁石 1 5 0 の一部でありえる。又は、それはシステム 1 0 0 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 1 4 3 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を更に決定するために使用されてもよい。

【 0 1 0 1 】

システム 1 0 0 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 1 0 0 又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、識別番号又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、集積回路又は他のそのようなコンポーネントのように、受動か活発である実際のコンポーネントを含んでいる場合があらん。どんな熟考された同定装置も使用されてもよいが、多くのそのような装置が当技術の中で知られている。

20

【 0 1 0 2 】

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 1 4 6 と結合して F P W 装置 1 0 4 を用いるための一般的な検出プロトコル 2 0 0 は、図 3 に示される。

30

【 0 1 0 3 】

検出プロトコル 2 0 0 の第一歩 2 0 2 は 2 0 2 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、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。

【 0 1 0 4 】

検出工程の次のステップ 2 0 4 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 5 0 n m から 1 0 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、タンパク質及び核酸）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、タンパク質及び核酸プローブ）で既に覆われて獲得することができる。又は、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、カルボキシル及びアミン）で購入することができる。標準の生化学のプロトコルはこの目的に利用可能である。

40

【 0 1 0 5 】

50

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、またキャプチャ・エージェント。このプロセス中に、アナライトが粒子状物質上で捕らえられるように、粒子状物質はアナライトで結合する。ある場合には、サンプルは、この時点で直接テストすることができる。しかし、他の場合では、元見本の残りから粒子状物質へのアナライト境界を分離するセパレーション・ステップ208を行なうことは有利である。これらのセパレーション・ステップ208は、分析中の他の生体試料からの干渉を縮小する。そのようなセパレーション・ステップを行なうためのマニュアル又は自動化機器は、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に表面上の常磁性の粒子状物質を局地化するために磁石を用いる。その後、磁石（例えばFIGの磁石150。IA）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。

10

【0106】

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

【0107】

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

20

【0108】

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。

30

【0109】

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、最初の基線信号及び最終の基線信号、それは対照溶液でのFPW装置104の震動の特性に以前に一致する、そしての後に、それぞれ、取得ステップ214。アナライト-粒子は、センサ表面143への146の境界を複雑にする、FPW装置104の震動の特性、及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。

【0110】

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

40

【0111】

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、磁性微粒子146、147及び148が表面で蓄積するとともに、FPW装置104の共振周波数が減少することを示す。一旦磁石150が削除され、磁性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、又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。

50

【0112】

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

【0113】

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。更に、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、又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。

10

【0114】

検出プロトコルにおける別の変異は洗浄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。

【0115】

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、オペレーター又は機器/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用いることができる。

20

【0116】

上述したように、システム100に別の第2の磁場(つまり磁束のセカンドソース)を導入することにより、分析条件の制御を向上させ、分析の精度を向上させることができる。例えば、上述したプロトコルの結合又は洗浄のステップの間にセンサ表面143にこの第2の磁場を適用して、弱く結合した磁性粒子を取り外す(引き剥がす)ように作用させることが可能である。この第2の磁場の強さは、特定の結合状態にある(specifically bound)アナライトの結合力よりも下であるが非特定の結合状態にある(nonspecifically bound)物質に対する典型的な結合力よりは上であるような力を、センサ表面143におけるアナライトと粒子との複合体146に作用させるように調整することが可能である。これら一連のステップを分析の間に複数回反復することにより、試験の精度を向上させることができる。

30

【0117】

センサ表面143上の様々なアナライトと粒子との複合体146の相対的な結合強度は、FPW装置104のレスポンスをモニタしながら、洗浄ステップの間に、この磁気的な引き剥がしの力を増大させること(連続的に又は個別に)により、決定することができる。相対的な結合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のに用いることができる。

40

【0118】

他の実施例では、サンプルと装置104とが境界を接する特定の方法は、異なることがありうる。上述した実施例では、システム100は、チャンネルを通過してサンプルを流して、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。システム100の別の態様では、FPW装置104はプローブに設置され、アナライトに結合された磁性微粒子を含む試験溶液に少なくとも部分的に沈められる。この実施例では、沈

50

めることが、センサ表面 1 4 3 の近傍に結合された磁性微粒子を配置するのに十分であり、よって、粒子状物質がセンサ表面 1 4 3 の方へ引き付けられ結果的に検出される。ベースライン信号を得るために、装置 1 0 4 (又はカートリッジ 1 0 3) は、基準試験溶液に浸される。またある実施例では、装置 1 0 4 (例えばメンブレン 1 3 4) の一部が、プローブに設置される。更に、メンブレン 1 3 4 のセンサ表面 1 4 3 の一部だけが、アナライトに結合された磁性微粒子を含む溶液と接触して置かれる。これらの実施例では、プローブを流体の中に沈める又は流体の中で制御された動作させることが、結合された磁性粒子をセンサ表面 1 4 3 の近傍に配置するのに十分であり、よって、粒子は、センサ表面 1 4 3 に向かって引き付けられ結果的に検出される。

【0119】

システム 1 0 0 の別の代替的な実施例は、サンプル 1 0 8 を保持するウェルの中に部分的に沈め次に撤回することができる管(チューブ)の内部にこの装置を設置することを含む。サンプルが沈められている場合には、ポンプは、チューブの中にそしてセンサ表面 1 4 3 (又はカートリッジ 1 0 3) の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。次に、サンプルは、ポンプを反転する、又は、単にチューブをベントすることにより、ウェルの中に放出される。サンプルを引っ張りそしてリリースするというこのサイクルを反復することによって、収集の効率及び従って分析のパフォーマンスを改善できる。

【0120】

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及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。

【0121】

例 1 : たわみ板波デバイス (Flexural Plate Wave Device) 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

【0122】

1 . 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。

【0123】

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及び 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 (SAM) である。SAM は、2 つのアルカン・チオール類の混合物から形成することができる ; 非リアクタンス性のグループで終了して、キャプチャ・エージェントの後の共有結合のアタッチメントのための反応的なグループ及び 1 で終了した 1 つ。例、EG3 - OH (EG3) 及び EG6 - OCH₂COOH (EG6) の混合物と終了した C11 経由でアルカン・チオール類はこの目的に使用されてもよい。1 つの実施例では、屈曲の薄板波装置 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。

【0124】

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・エージェント又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・エージェント又はアナライトの共有結合のアタッチメントに使用されてもよい。典型的な方法はビオチン・リンカー部分を SAM に共有結合でリンクし、その後、ストレプトアビジンをリンクする層によってビオチン化された抗体がアナライトを屈曲の薄板波デバイス表面 1 4 3 に結び付けることを含んでいる。

【0125】

例 II : 病原性大腸菌 O157 の検出 : 牛挽肉使用での H7、例えば図 3 (図 5 は、大腸菌の様々な濃度を表すデータを含む) の方法。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 6 】

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 2 7 】

a. 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濃縮する。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・レトリーバなど）又は手動の方法を用いて、免疫磁気分離を行ってもよい。典型的な手動での方法は次のものを含んでいる：

【 0 1 2 8 】

b. 再懸濁（resuspend）する、チューブの底の磁気ビーズペレットが消えるまで、大腸菌抗体（例えば Dynabeads 反大腸菌 0 1 5 7（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 Dynal MPC-S）に microcentrifuge チューブを置いてください。チューブ（磁気ビーズストックのボリュームは選択した、希望の最終のビード濃縮に基づく）の中への磁気ビーズ保存溶液のピペット 1 - 2 0 μ L。

10

【 0 1 2 9 】

c. 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、チューブを閉じる。

【 0 1 3 0 】

d. ラックを数回反転する。磁気ビーズが解決するのを防ぐために温和な連続的にかくはんで 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。

20

【 0 1 3 1 】

e. ペレットへチューブの横に磁気ビーズを濃縮するためにラックを数回反転する。適切な回復のために約 3 分を経過させる。

【 0 1 3 2 】

f. 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とする。

【 0 1 3 3 】

g. 磁性プレートを削除する。

【 0 1 3 4 】

h. チューブに洗浄バッファ（PBS 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。

30

【 0 1 3 5 】

j. ステップ e - h を 2 回反復する。

【 0 1 3 6 】

k. 簡潔にボルテックス・ミキサを用いて、チューブの内容を混合する。

【 0 1 3 7 】

2. 大腸菌 O 1 5 7 : H 7 の検出

【 0 1 3 8 】

a. 大腸菌 O 1 5 7 : H 7 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）。

40

【 0 1 3 9 】

b. チューブを含んでいる標準洗浄バッファ（0 . 0 5 % のトウイン 2 0 との I x P B S ）に最初入口ホースを入れて、大腸菌 O 1 5 7 : H 7 （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。最初の入口ホース及び第 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、又は第 2 の入口ホースからの流体は、流体チャンバ 1 6 0 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。

50

【0140】

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。

【0141】

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

【0142】

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

【0143】

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)磁気ビーズ及び2)磁気ビーズを洗うために、洗浄緩衝管からの流体は、流体チャンバ160へ導かれる。

【0144】

g. その後、磁束150の最初のソースは解放される。

20

【0145】

h. どんな磁気ビーズ又はマトリクス成分も削除するために自動的な洗浄プロトコルを始める。

【0146】

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

【0147】

III. 人間の血清において例えば図3の方法のステップを用いた前立腺特異抗原(PSA)の検出:

【0148】

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むアナライトのサンプルを準備する。

30

【0149】

2. 免疫磁気分離を実行して、溶液中のアナライトのサンプルを濃縮する。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マトリックス(Pathatrix))や、ダイナル・バイオテック社によるビーズ・レトリバなど)やマニュアルでの方法を用いて免疫磁気分離を行なうことができる。典型的なマニュアルでの方法には、次のものが含まれる。

【0150】

a. 試験管の底の磁気ビーズペレットが消えるまで、PSAの抗体(例えば、ダイナル・バイオテック社から入手可能なダイナビーズ・アンチPSA)でコーティングされた磁気ビーズを再懸濁(resuspend)する。磁性プレートのラック(例えば、ダイナル社のMPC-S)にマイクロ遠心管を配置する。1~20 μL の磁気ビーズ・ストック溶液を試験管の中にピペットで計量する(選択された磁気ビーズ・ストックの体積は、所望の最終ビーズ濃度に基づく)。

40

【0151】

b. 磁性プレートのラックにおける試験管にアナライトのサンプル1 mLを加えて、試験管を閉じる。

【0152】

c. ラックを数回反転する。緩慢な連続的攪拌を行い、10分~60分間室温で試験管

50

の中の溶液を培養し、磁気ビーズが沈殿するのを防ぐ。

【0153】

d. ラックを数回反転し、磁気ビーズを試験管の側面のペレットの中に集中させる。適切な回復のため、約3分経過させる。

【0154】

e. 試験管を開き、注意深く吸引して、試験管のキャップに残存する液体と共にサンプルの上澄みを廃棄する。

【0155】

f. 磁性プレートを取り除く。

【0156】

g. 試験管にウォッシュ・バッファ (PBS トウイン) 1 mL を加える。試験管のキャップを閉じ、ラックを数回反転させて、ビーズを再懸濁する。

【0157】

h. ステップ d からステップ g を2回反復する。

【0158】

i. ボルテックス・ミキサを用いて、試験管の内容を簡単に混合する。

【0159】

3. PSA の検出

【0160】

a. PSA の抗体を備えたたわみ板波デバイス (flexural plate device) 104 の表面143を機能させる (A. 3 及び A. 4 におけるステップに関して上述したのと同様)。

。

【0161】

b. 標準的なウォッシュ・バッファ (0.05% のトウイン20を有する1x PBS) を含む試験管に第1のインレット・ホースを入れ、PSA (B. 2で準備された) と結合された磁気ビーズを含む試験管に第2のインレット・ホースを入れる。第1のインレット・ホースと第2のインレット・ホースとはt-ジョイントによって連結され、2本のホースが流体的な接続状態にあり、第1のインレット・ホースと第2のインレット・ホースとのどちらか一方からの流体が流体チャンバ160のインレットに導かれる。2本のホースはそれぞれが、対応するホースを通過する流体のフローを許容する又は制限することができるバルブを有する。

【0162】

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。

【0163】

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

【0164】

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

【0165】

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、洗浄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) 磁気ビーズ及び2) 磁気ビーズ。

10

20

30

40

50

【0166】

g. その後、磁束150の最初のソースは解放される。

【0167】

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

【0168】

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

【0169】

例IV：口径測定器（キャリブレータ）I中のPSA

10

【0170】

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

20

【0171】

カートリッジ（図示せず）中のシングル・チップ上で提供される図2の屈曲の薄板波（FPW）装置104のうち8つは、1つのxPBS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monolaurate）を牽制して、火薬が最初に詰められた後に挨拶の反PSA抗体（PN、サンディエゴ（CA）のオフィスを持つスクリップス・ラボラトリーズ社90197）で機能的にされた[シグマ・セントルイス（MO）のオフィスを持つオールドリッチ社]。

【0172】

30

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「方法及び分析測定用装置」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、及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用いることにより見つかる。

40

【0173】

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、抵抗器及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。

50

【0174】

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用いて清潔になった。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。

10

【0175】

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10j t i g / m l 解決策を流すことにより、ニュートラアビジン（PN、ロックフォード、ELのオフィスを持つピアス・バイオテクノロジー社31000）でコーティングされた。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（I x P B S 0.1%のBSAバッファへ薄められた）の5つの $\mu\text{g} / \text{m l}$ 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。

20

【0176】

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及び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100 $\mu\text{L} / \text{min}$ でセンサ上に流れられた。このように、自由なPSAでコーティングされた、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。区別となるフォースを生じさせる各々多くのポンド、どれで、各々、装置の表面への束縛。群集、及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。

30

【0177】

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 P B S、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 P B S）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50 $\mu\text{L} / \text{分}$ 。

40

【0178】

フロー速度は、線形のインクリメント（フロー速度は30秒ごとにそのとき450秒間約17 $\mu\text{L} / \text{min}$ 増加された、フロー速度はおよそ50 $\mu\text{L} / \text{min}$ に減らされた）中の次の450秒（約18400秒から約18850秒まで）間およそ50 $\mu\text{L} / \text{min}$ からおよそ300 $\mu\text{L} / \text{min}$ 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。

50

【 0 1 7 9 】

図 1 1 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 1 0 4 の共振の近くの無限軌道のセンサ位相で装置 1 0 4 (p p m で) 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。

【 0 1 8 0 】

無限軌道の度数の p p m で示される各カーブのデータは、約 1 8 3 5 0 秒でそのカーブの値によって更に標準化され、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 1 8 3 5 0 秒で 1 0 0 % 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 1 8 4 0 0 秒で削除された後、その後、4 5 0 秒 (約 1 8 4 0 0 秒から約 1 8 8 5 0 秒まで) 間時間に関して統合された。

10

【 0 1 8 1 】

積分が、それぞれの装置信号レベルを集積し、各区間レベルにそれぞれの間隔時間期間が乗算され、総和が取ら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 1 4 3 への資料元素 (ビード) 境界の量及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 1 8 8 5 0 秒まで約 1 8 4 0 0 秒の間の期間中に各装置 1 0 4 の表面 1 4 3 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 1 1 に示されるように、自由な P S A のおよそ 1 0 p g / m L 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。

20

【 0 1 8 2 】

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、オペレーター、又はコンピュータプログラムによって、データからそばに取り除かれる場合がある。

【 0 1 8 3 】

例 V : 血清中のエストラジオール用競合アッセイ

30

【 0 1 8 4 】

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用いて、ダイナル社による M 2 8 0 トシルに活性化されたビードにつながれた。

【 0 1 8 5 】

センサ表面は、金のセンサ表面に二硫化物 - P E G ビオチンをつなぎ、その後、ニュートラアビジン (ピアス P N 3 1 0 0 0) を連結することにより構築された。次に、上述したように、ビオチン化された抗体は行なわれた。

【 0 1 8 6 】

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

40

【 0 1 8 7 】

7 0 % の木炭を含む試料溶液は、人間の血清 (テキサス生物学的製剤) に 3 0 % 綿を付けた、1 人の x P B S 0 . 0 5 % のトゥイーン 2 0 (ポリエチレングリコール・ソルビタン・モノロレート) が、0 p g / m l 、 1 0 p g / m l 、 3 0 p g / m l 、 2 0 0 p g / m l で急上昇された、自由なエストラジオール (シグマ) で作られた。ビード、濃縮 2 4 / m l の中で、2 時間の間サンプルでかえされた。その後、ビードは a p p r o

50

xの中で0.5時間得られた典型的なプロトコル及び結果を用いて、FPWの上に流れられた。

【0188】

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decomplexing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。

【0189】

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 μL/min 30秒ごとの区間で500 μL/minで終わって、50 μL/minで始まる洗浄プロトコルは、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、これらの信号は洗浄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がない状態で検出することができる。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。

10

【0190】

例VI：FK-506のための競合アッセイ

【0191】

1.0、0.5、2.0及び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、2mlのバッファ(0.05%の1X PBSのトゥイーン、20、1%のBSAを含んでいること)に加えられた。

20

【0192】

2.1 x 10⁷/mlのアンチFK-506 IgMの8 μLが、上述した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 IgM(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述した溶液で濃縮された。

【0193】

3.ラベルがFKで付けられた、溶液の含むキャリア(HRP)の500 μL 506 (ダイアソリン社)はサンプルに加えられ、室温で60分間培養された。

30

【0194】

4.サンプルは、センサがキャプチャ・エージェント(アンチ-FK-506 IgM)と機能的にされた場合FPW装置を用いて分析された。図10を参照して、センサ12は上述したようにニュートラアビジン30で機能的にされた。また、アンチFK-506 IgMは標準のビオチンラベル化法を用いて、ビオチン化された32だった。図10のパネルBの中で示されるように、アナライト10(このインスタンスFK-506の中の)は、キャプチャ・エージェント14(このインスタンス反-FK-506抗体中の)とラベルが付けられた、競争者分子24及び粒子状物質16と混じり合った。この例については、競争者分子24は、ラベルがアナライトFK-506で付けられたキャリアHRPを含んだ。パネルC及びDで示されるように、粒子状物質が競争者分子と結合し、そのためにセンサ表面に結び付けるのをサンプル中のFK-506の下位レベルが可能にすると予想される。粒子状物質のより多くの物がサンプルからのFK-506に結び付けられるので、FK-506の高位レベルが感知表面へ結合する、より少数の粒子状物質に帰着すると予想される。図13及び14(FK)に示されたように0.5ナノグラム/mlから20ナノグラム/mlに及ぶ506の濃縮が、装置へサンプルを導入することから15minほどで検出された。

40

【0195】

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

【0196】

50

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

【0197】

2. 600マイクロリットルのタンパク質消化試薬は各サンプルに加えられた。

【0198】

3. サンプルは攪拌により混合され、半透明な混合物を生産して、室温(約23度C)で15分間インキュベートされた。

【0199】

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

【0200】

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

【0201】

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

【0202】

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

【0203】

例VII バッファ中のcトロポニン

【0204】

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10-T79-クローン番号)中のM8010521、M0110609及びM0110510)は、比率2:2:1中のDyna1 M280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Ab、10-T79B、クローン数M8010509はインビトロゲン(Invitrogen)ラベル化キットF-6347でビオチン化され、PolypureビオチンPEG二硫化物リンカー(上に記述されたとともに)を用いて、金のコーティングを施したFPWセンサにつながれた(ニュートラアビジン(Neutravidin)(PN31000を貫通する)で続いて修正)。

【0205】

トロポニンI(心臓に関する)抗原は、濃縮での1つのxPBS 1%のBSAサンプルへ0ナノグラム/ml 0.2ナノグラム/ml 1ナノグラム/ml及び5ナノグラム/ml薄められた。ビード(更にここに粒子状物質と呼ばれた)は、5minの洗浄を後に続けて、センサ(3-5mins)に引き付けられる前に7-10minsのためにかえされた、2x10⁴/ml及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/mlのアナライトを含んでいるサンプルに関係する背景強度は、参考のための0.01ナノグラム/mlで計画される。

【0206】

例VIII チャコールストリップされた血清中のcトロポニン

【0207】

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0.05%のトウイン20で準備された。心臓のトロポニンI(Biospacific)は、終濃度に0ナノグラム/ml 0.4ナノグラム/ml 1ナノグラム/ml及び5ナノグラム/ml加えられた。ビードはDyna1標準プロトコルによって反cTroponin抗体(Biospacific PN A34440)で機能的にされ、サンプルがそれぞれ

10

20

30

40

50

のセンサ上に流れられる前に、15分間サンプルでインキュベートされた。

【0208】

ニュートラアビジン及び上述したビオチン化された多クローン性抗体 (Biospacific PN G - 129 - C) で機能的にされた場合 [0173] [00229] 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 uL / min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/ml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 mg / mlのcTroponinが検知された。

【0209】

例IX 溶解された全血中のcトロポニン

【0210】

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0.05%のツイーンと構築された、20.心臓のトロポニンI (Biospacific) は、濃縮で0ナノグラム/ml 0.4ナノグラム/ml 1ナノグラム/ml及び5ナノグラム/ml加えられた。Dynal標準プロトコルによって反cTroponin抗体 (Biospacific PN A34440) 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分間サンプルでインキュベートされた。

【0211】

ニュートラアビジン及び上述したビオチン化された反cTroponin多クローン性抗体 (Biospacific PN G - 129 - 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 uL / minのインクリメントの中で50 uL / minから150 uL / minまでなだらかなバッファによって30秒ごとに洗浄された。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/ml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 mg / mlのcトロポニンが検知された。

【0212】

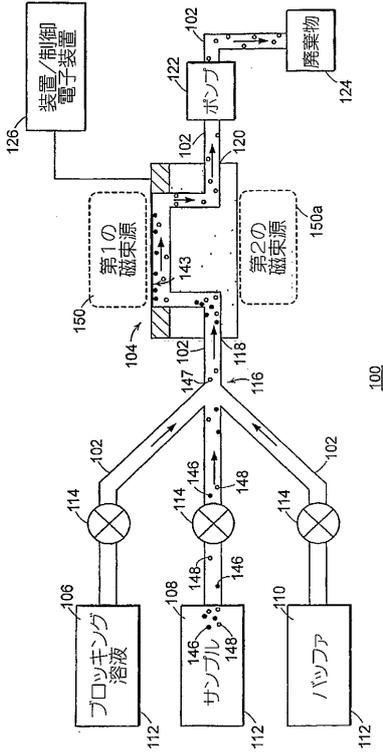
本発明は、その精神又は本質的特徴から逸脱することなく、他の特定の形式でも実現することができる。従って、ここで説明した実施例は、例示的であり非制限的であると考えべきであり、本発明の範囲は、以上で行った発明の詳細な説明ではなく、特許請求の範囲の記載によって画定される。それゆえ、特許請求の範囲の均等物の意味範囲に含まれるすべての変更は、本発明の範囲に含まれる。

10

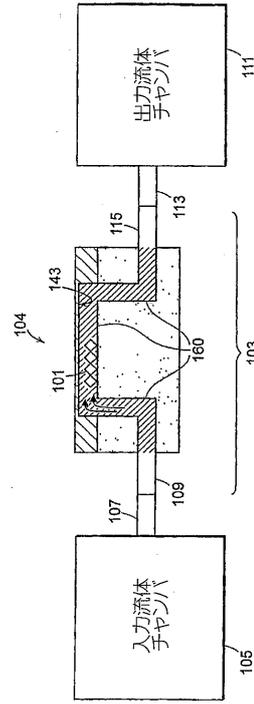
20

30

【図 1 A】



【図 1 B】



【図 2】

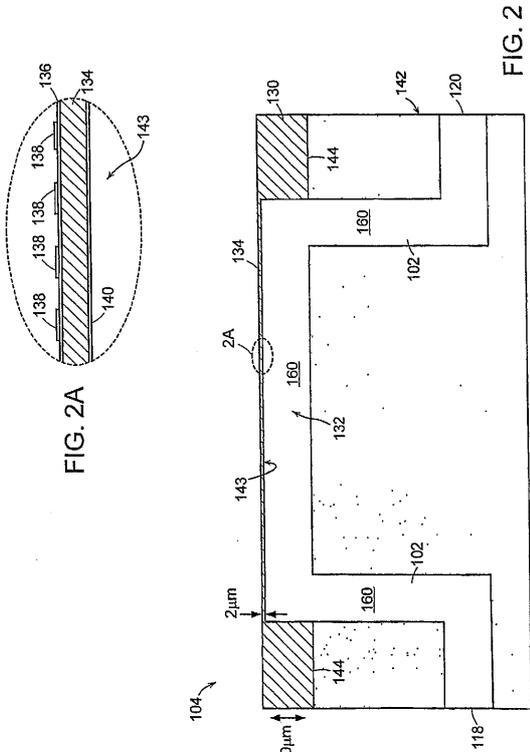
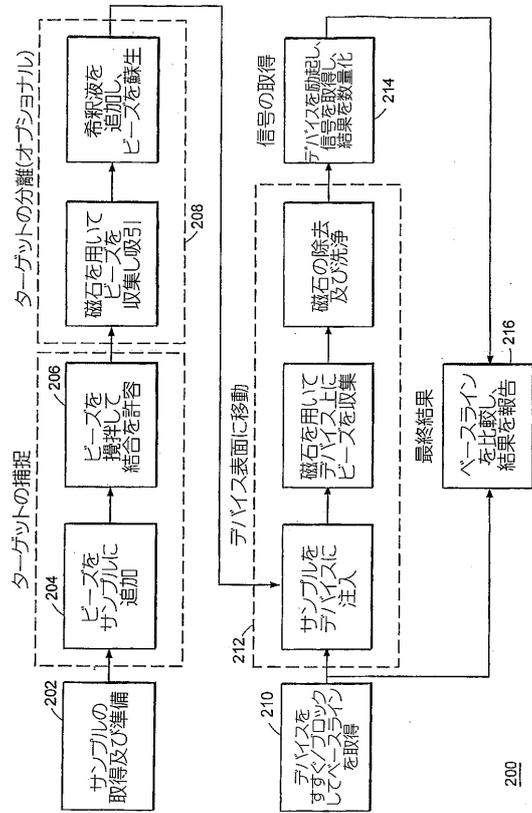
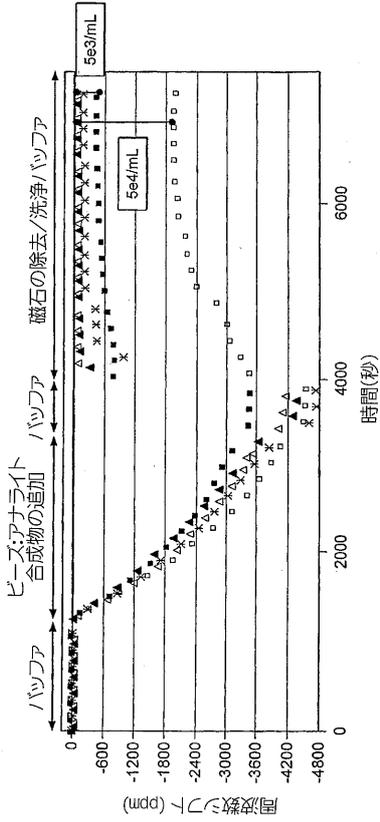


FIG. 2

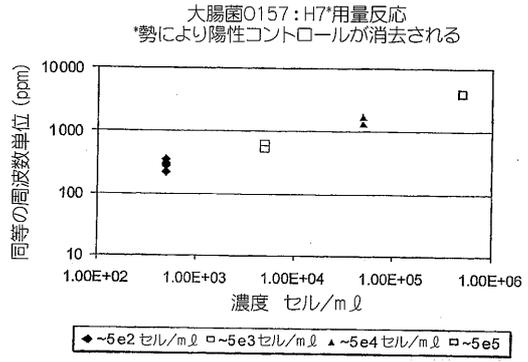
【図 3】



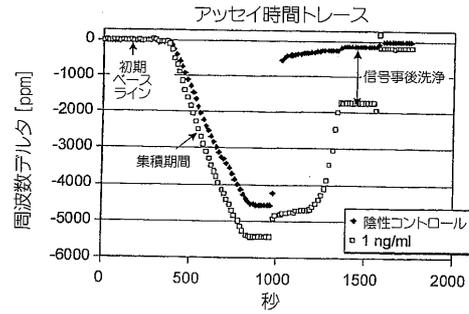
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】

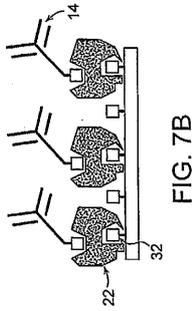


FIG. 7B

FIG. 7A

【 図 8 】

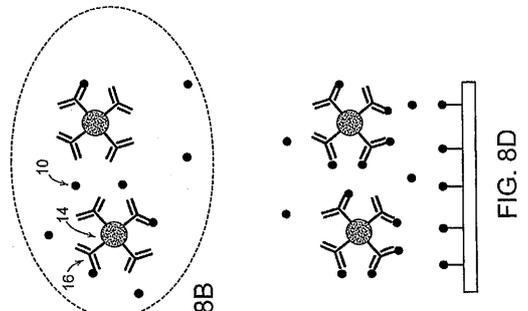


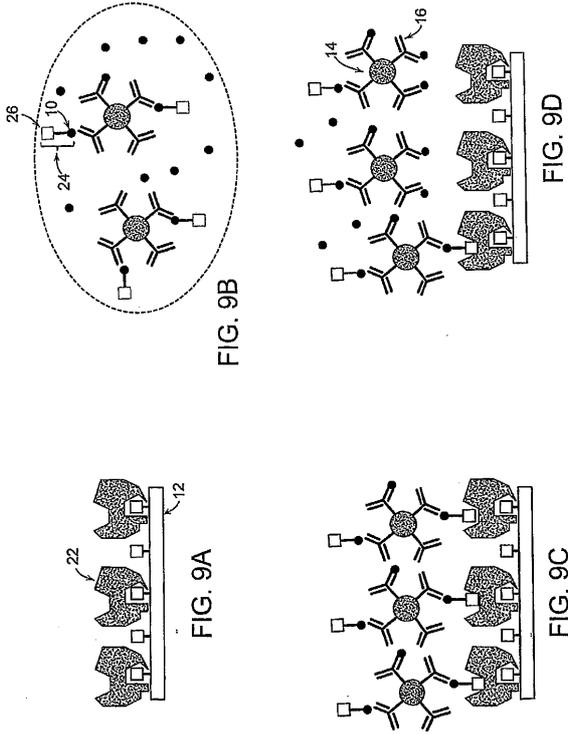
FIG. 8B

FIG. 8A

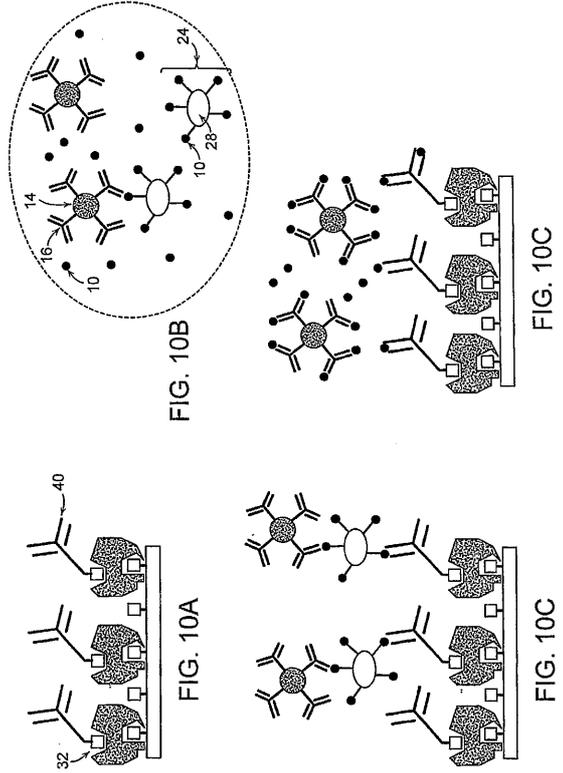
FIG. 8C

FIG. 8D

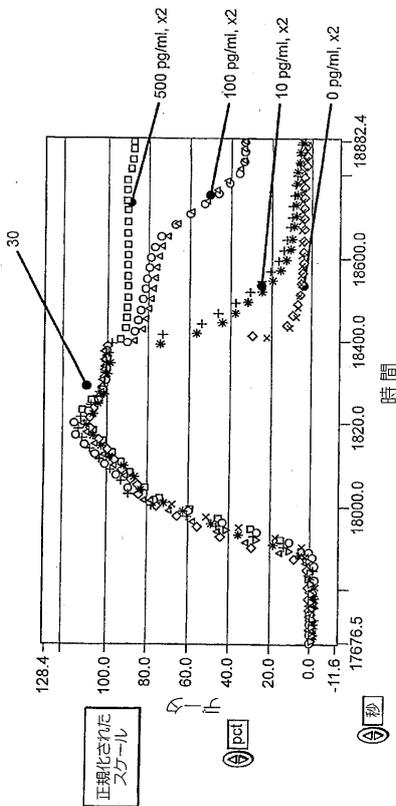
【 図 9 】



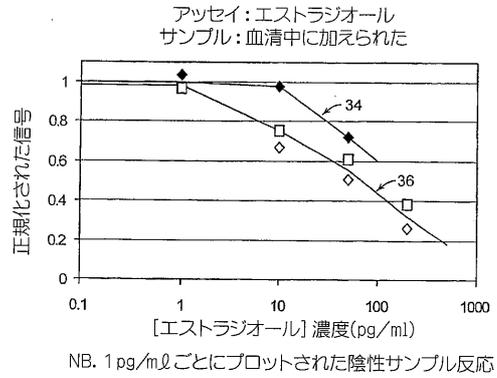
【 図 10 】



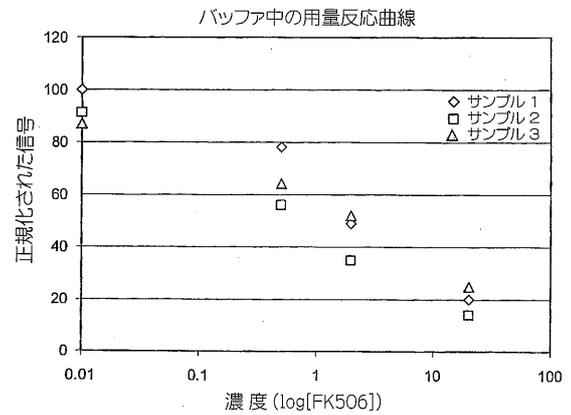
【 図 11 】



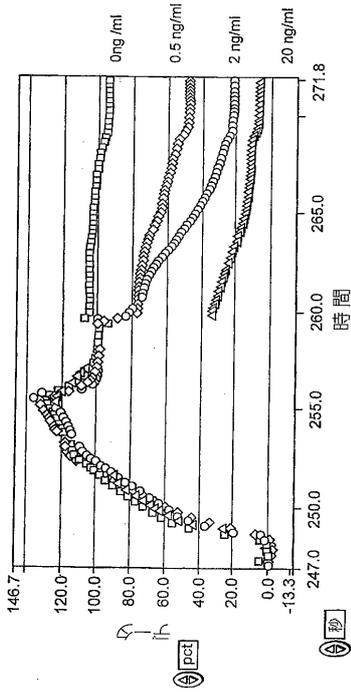
【 図 12 】



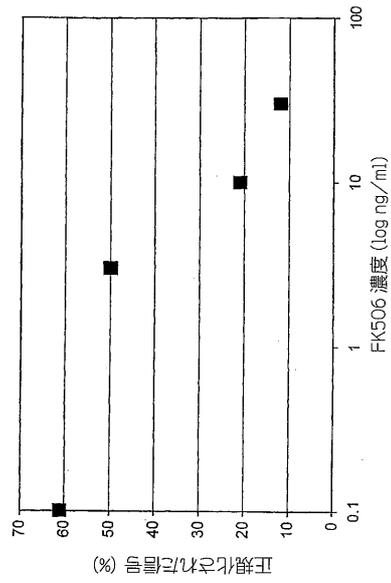
【 図 13 】



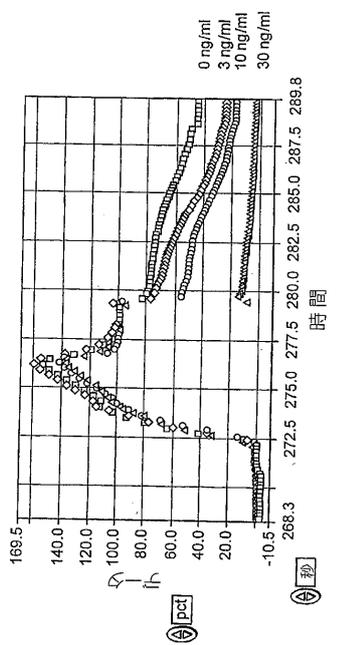
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】

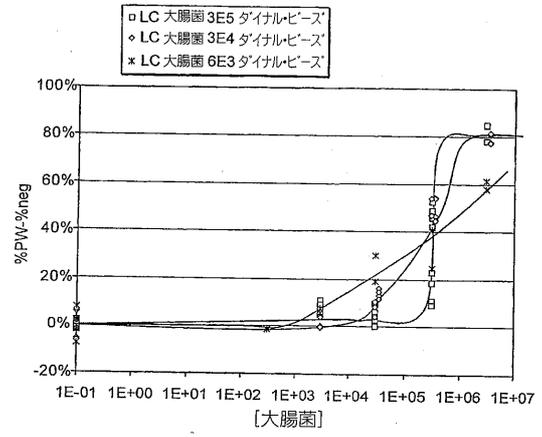


【 図 1 6 】



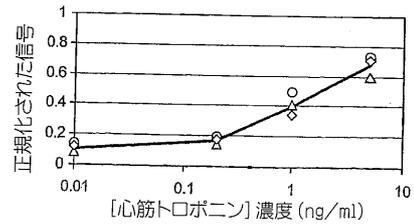
【 図 1 7 】

大腸菌アッセイに対する用量反応曲線の比較

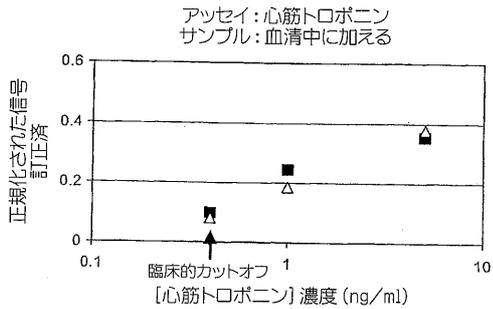


【 図 1 8 】

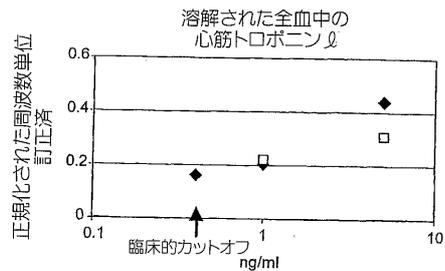
アッセイ: 心筋トロポニン
サンプル: 標準キャリブレーションプレートに加えられた



【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】平成24年10月10日 (2012.10.10)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】全文

【 補正方法 】変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

サンプルにおいて1又は複数のマーカを検出する方法であって、

a) 前記マーカを結合することができる第1のキャプチャ・エージェントでコーティングされた複数の磁性粒子を、前記サンプルに露出するステップと、

b) 前記複数の磁性粒子を前記サンプルに露出した後で、前記複数の磁性粒子を流体チャンバの中に導入するステップであって、前記流体チャンバの少なくとも1つの表面は、前記マーカを結合した磁性粒子を結合することができる第2のキャプチャ・エージェントを有する音響デバイスを含む、ステップと、

c) 前記音響デバイスの近傍において磁束を生成し、前記複数の磁性粒子の中の少なくとも1つを前記流体チャンバの前記少なくとも1つの表面に引き寄せるステップと、

d) 前記流体チャンバを通過してバッファ流体を取り出し、前記サンプルからの非特異的に結合された物質が前記少なくとも1つの表面から洗い流されることを可能にするステップと、

e) 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。

【 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 (flexural plate wave device) 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、前記磁束は、前記流体チャンバを通過して前記バッファ流体を取り出す前に除去されることを特徴とする方法。

【請求項 5】

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 6】

請求項 1 記載の方法において、前記 1 又は複数のマーカは、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 7】

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

【請求項 8】

請求項 1 記載の方法において、ステップ d) の信号出力と制御信号とを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 9】

請求項 8 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 10】

請求項 8 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 11】

請求項 1 記載の方法において、前記第 2 のキャプチャ・エージェントは前記流体チャンバの前記少なくとも 1 つの表面に間接的に結合されていることを特徴とする方法。

【請求項 12】

請求項 11 記載の方法において、前記少なくとも 1 つの表面は結合ペアの第 1 のメンバでコーティングされ、前記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 13】

請求項 11 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 14】

請求項 1 記載の方法において、前記第 1 のキャプチャ・エージェント又は第 2 のキャプチャ・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 15】

請求項 14 記載の方法において、前記第 1 のキャプチャ・エージェントと前記第 2 のキャプチャ・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 16】

アナライトの検出装置であって、

流体が入るための少なくとも 1 つの入口開口と流体が出るための少なくとも 1 つの出口開口と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であって、流体が、前記入口開口に入り、前記たわみ板波デバイスによって画定

される前記少なくとも1つの内部表面の前記少なくとも一部に沿って流れ、前記出口開口から出る、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。

【請求項17】

請求項16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18】

請求項16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。

【請求項19】

請求項16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20】

請求項16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21】

請求項16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。

【請求項22】

請求項16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23】

請求項16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ける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24】

請求項16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25】

請求項16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。

フロントページの続き

- (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・デヴオンシャー・プレイス

【外国語明細書】

2013015533000001.pdf

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	JP2013015533A	公开(公告)日	2013-01-24
申请号	JP2012198586	申请日	2012-09-10
[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	G01N33/553 G01N33/53		
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	G01N33/553 G01N33/53.U G01N33/53.D		
代理人(译)	小林 泰 星野 修 田中秀夫		
优先权	60/676759 2005-05-02 US 60/690592 2005-06-15 US 11/183484 2005-07-18 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供用于检测分析物的方法。溶解：将多个颗粒与样品组合，每个颗粒涂覆有对分析物具有亲和力的捕获剂，以形成多个分析物-颗粒复合物。本发明的系统还包括用于将样品传送到传感器表面的传送装置，以及可选地包括磁场感应装置，该磁场感应装置设置在传感器表面处和附近产生磁场。在上述配置中，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。

