

(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2012-506995

(P2012-506995A)

(43) 公表日 平成24年3月22日(2012.3.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 35/02 (2006.01)	GO 1 N 35/02 A	2 G O 5 8
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 35/02 G	
	GO 1 N 37/00 1 O 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 113 頁)

(21) 出願番号	特願2011-525213 (P2011-525213)	(71) 出願人	502221282
(86) (22) 出願日	平成21年8月27日 (2009. 8. 27)		ライフ テクノロジーズ コーポレーショ
(85) 翻訳文提出日	平成23年4月18日 (2011. 4. 18)		ン
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/055255		アメリカ合衆国 カリフォルニア 920
(87) 国際公開番号	W02010/025302		08, カールスバッド, バン アレン
(87) 国際公開日	平成22年3月4日 (2010. 3. 4)		ウェイ 5791
(31) 優先権主張番号	61/098, 586	(74) 代理人	100091096
(32) 優先日	平成20年9月19日 (2008. 9. 19)		弁理士 平木 祐輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100118773
(31) 優先権主張番号	61/139, 539		弁理士 藤田 節
(32) 優先日	平成20年12月19日 (2008. 12. 19)	(74) 代理人	100122389
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新井 栄一
(31) 優先権主張番号	61/108, 019	(74) 代理人	100111741
(32) 優先日	平成20年10月23日 (2008. 10. 23)		弁理士 田中 夏夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物学的サンプルの処理装置および処理方法

(57) 【要約】

本発明は、自動化されたバイオペロセシングのためのシステム、デバイス、装置および方法を提供する。本発明のために好適なプロトコルおよびバイオペロセシング手順の例には、免疫沈殿、クロマチンの免疫沈殿、組換えタンパク質の単離、核酸の分離および単離、タンパク質の標識化、分離および単離、細胞の分離および単離、食品の安全性分析、ならびに、ビーズに基づく自動分離が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明は、ウェスタンブロット処理の自動化されたシステム、自動化されたデバイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法を提供する。他の実施形態には、核酸（例えば、プラスミドDNA、ゲノムDNA、細菌DNA、ウイルスDNAおよび何らかの他のDNAを含めて、DNAまたはRNAまたはそれらのフラグメントなど）の分離、調製および精製のための自動化されたシステム、自動化されたデバイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法、ならびに、タンパク質およびペプチドなどの処理、分離および精製のための自動化されたシステム、自動化されたデ

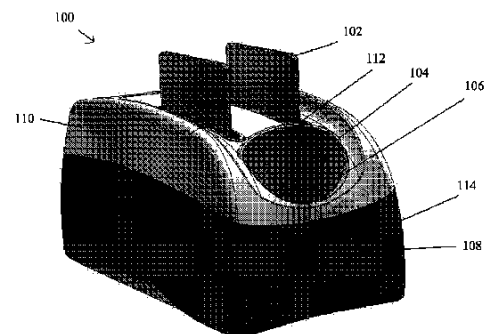


FIGURE 1B

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

a) 固体支持体を含有するために構成される少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバー、

b) 少なくとも 1 つのポンプを介して前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび / またはミクロスケールのプロセス流体通路 (ただし、前記少なくとも 1 つのポンプはバイオプロセッシングカートリッジの中または表面に含まれる)

を含むバイオプロセッシングカートリッジ。

【請求項 2】

少なくとも 1 つのアクセスバルブを、前記複数のプロセス流体通路の少なくとも 1 つによって規定される流路の内部に含む、請求項 1 に記載のカートリッジ。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つのアクセスバルブのそれぞれが、プロセス流体コネクタと、前記複数のプロセス流体通路の少なくとも 1 つとの間における流路の内部に位置し、ただし、それぞれのプロセス流体コネクタが、カートリッジを 1 つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される、請求項 2 に記載のカートリッジ。

【請求項 4】

2 つ以上のアクセスバルブを含み、ただし、それぞれのアクセスバルブが、独立したプロセス流体コネクタと、前記複数のプロセス流体通路の 1 つとの間における流路の内部に置かれ、それぞれの独立したプロセス流体コネクタが、カートリッジを 1 つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される、請求項 3 に記載のカートリッジ。

【請求項 5】

前記プロセス流体コネクタが、マニホールドを経由して前記流体容器に接続するために構成される、請求項 3 に記載のカートリッジ。

【請求項 6】

前記プロセス流体コネクタが、吸引チューブおよび / または吐出チューブを経由して前記流体容器に接続するために構成される、請求項 3 に記載のカートリッジ。

【請求項 7】

前記プロセス流体コネクタが吸引チューブおよび / または吐出チューブである、請求項 3 に記載のカートリッジ。

【請求項 8】

アクセスバルブを、前記プロセス流体コネクタのそれぞれと、前記複数のプロセス流体通路のそれぞれとの間における流路のそれぞれの内部に含む、請求項 2 に記載のカートリッジ。

【請求項 9】

少なくとも 1 つのプロセスバルブを、前記ポンプと、前記チャンバーとの間における流路においてさらに含む、請求項 1 に記載のカートリッジ。

【請求項 10】

2 つ以上のバイオプロセッシングチャンバーを含む、請求項 1 に記載のカートリッジ。

【請求項 11】

複数の制御流体通路をさらに含む、請求項 1 に記載のカートリッジ。

【請求項 12】

前記複数の制御流体通路のそれぞれにつながる制御流体コネクタをさらに含み、ただし、それぞれの制御流体コネクタが、カートリッジを 1 つまたは複数の自動化された制御システムに流体接続するために構成される、請求項 11 に記載のカートリッジ。

【請求項 13】

少なくとも 1 つのプロセス流体通路と流体連結している色素チャンバーを含み、ただし、前記色素チャンバーの内部の物質は、流体と接触したとき、色が変わる、請求項 1 に記載のカートリッジ。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

a) バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される 1 つまたは複数のカートリッジスロット、

b) バイオプロセッシング期間中における使用のための容器を保持するために構成される少なくとも 1 つの流体容器ホルダーを含む取り外し可能な流体容器トレイ、および

c) 1 つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングに関連する少なくとも 1 つのパラメーターを制御するために構成される自動化された制御システム

を含む自動化されたバイオプロセッシングデバイス。

【請求項 15】

10

2 個 ~ 8 個のカートリッジスロットを含む、請求項 14 に記載のデバイス。

【請求項 16】

前記カートリッジスロットがさらに、前記流体容器ホルダーの内部の 1 つまたは複数の流体容器を 1 つまたは複数のプロセス流体コネクタと流体接続するために構成される流体マニホールド、ならびに / あるいは、1 つまたは複数の制御流体コネクタを 1 つまたは複数の自動化された制御システムに接続するために構成される制御流体マニホールドを含む、請求項 14 に記載のデバイス。

【請求項 17】

前記カートリッジスロットが、カートリッジにおける吸引チューブおよび / または吐出チューブを受け取り、かつ、該吸引チューブおよび / または吐出チューブを前記流体容器ホルダーにおける流体容器の中に導くための多数の開口部またはガイド機構を含む、請求項 14 に記載のデバイス。

20

【請求項 18】

前記自動化された制御システムが独立して、前記カートリッジスロットのそれぞれの中のバイオプロセッシングカートリッジにおける前記ポンプおよび前記バルブを制御する、請求項 14 に記載のデバイス。

【請求項 19】

a) i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバー、および

30

i i) 前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび / またはミクロスケールのプロセス流体通路を含むバイオプロセッシングカートリッジを提供すること ; および

b) 少なくとも 1 つのプロセス流体を、前記複数のプロセス流体通路の少なくとも 1 つを介して前記バイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することを含む、バイオプロセッシングの自動化された方法。

【請求項 20】

前記ポンプ送出することが、1 つまたは複数の試薬および / またはサンプルを前記プロセスチャンバーの中にポンプ送出し、前記支持体と接触させることを含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

40

前記ポンプ送出することが、前記試薬の少なくとも 1 つを、前記チャンバーの上部部分につながる通路から、前記カートリッジにおけるポンプを介して、前記チャンバーの底部部分につながる通路の中に循環することを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記ポンプ送出することが、少なくとも 1 つのプロセス流体をポンプ送出して、前記少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバーにおいて、フィルターまたはメンブランを通過またはその表面を横切るようにすることを含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

自動化されたウェスタンブロット処理方法を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】

50

核酸の分離、精製および／または回収の自動化された方法を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 25】

1 つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法であって、下記の工程：

a) 少なくとも 1 つのバイオプロセッシングカートリッジをバイオプロセッシングデバイスの中に挿入する工程であって、前記バイオプロセッシングカートリッジが、

i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバー、および

ii) 前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび／またはミクロスケールの通路

を含む、工程、

b) ポンプ作動シーケンスを前記カートリッジに対して行う工程であって、前記ポンプ作動シーケンスが、流体が 1 つまたは複数の容器から流体流れ通路の 1 つを介して前記チャンバーの中にポンプ送出される 1 つまたは複数の流体添加サイクルに入ることを含む、工程

を含み、

ただし、前記流体添加サイクルのいずれかで添加される流体が、前記流体添加サイクルのいずれか他で添加される流体と同じまたは異なる、上記方法。

【請求項 26】

前記ポンプ作動シーケンスがさらに、前記チャンバー内の流体を指定された廃液容器の中にポンプ送出することを含む、それぞれの流体添加サイクルの後でのパージ処理サイクルに入ることを含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記ポンプ作動シーケンスがさらに、前記流体添加サイクルのいずれかの後での循環サイクルに入ることを含む、ただし、前記循環サイクルは、前記チャンバーの底部に接続される流体流れ通路におけるバルブを開けること、および、流体をポンプ送出して、前記チャンバーの底部部分から 1 つまたは複数の流体流れ通路を介して前記チャンバーの上部部分の中に入れることを含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

前記パージ処理シーケンスを、プログラム可能なコントローラーを使用して開始および停止することをさらに含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 29】

前記カートリッジのそれぞれに対して行われる前記ポンプ作動シーケンスが同時に行われる、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 30】

a) i) バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される 1 つまたは複数のカートリッジスロット、および

ii) 1 つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングに関連する少なくとも 1 つのパラメーターを制御するために構成される自動化された制御システム

を含むバイオプロセッシングデバイスと、

b) i) 固体支持体を含有するために構成される少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバー、

ii) 少なくとも 1 つのポンプを介して前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび／またはミクロスケールのプロセス流体通路（ただし、前記少なくとも 1 つのポンプはバイオプロセッシングカートリッジの中または表面に含まれる）

を含む 1 つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジと

を含む自動化されたバイオプロセッシングシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体分子を処理するための装置および方法に関連し、より具体的には、生体分子を処理するための自動化された方法および装置に関連する。

【背景技術】

【0002】

いくつかの実験室手順は依然として、当該手順を行う科学者または研究室技術者によって個人の注意を必要とする非効率的な手作業方法を使用して大部分が行われるままである。これらの手順の多くが自動化からの利益を受けると考えられる。例えば、核酸の精製、例えば、プラスミドの調製などは現在、未だに自動化が行われていない、時間のかかる非効率的な仕事である。徐々に進む様々な改善により、例えば、沈殿化フィルターの導入などにより、要求される手作業時間が削減されている。しかしながら、最も進んだ核酸精製キットでさえ、依然として数時間の時間および個人の注意を必要とする。同様に、ウエスタンブロット分析のための処理は、このプロセスの期間中は実験台に拘束されることを科学者または研究室技術者に要求する労働集約的なプロセスであり得る。加えて、そのようなプロセスは、手作業集約的手順に固有的な人為的エラーおよび再現性の欠如に悩まされる。必要とされるもの、および、本明細書中において提供されるものが、1つには、使用の増大した利便性、低下した作業時間、低下したエラー、および、増大した再現性を有する、固体支持体上で行われる反応、プロテオミクス前のサンプル調製、核酸適用および細胞分離適用のための、小さくて、価格が手頃であり、使用者に優しい、融通のきく器具である。

10

20

【発明の概要】

【0003】

いくつかの実施形態において、本発明は、自動化されたバイオプロセッシングのためのシステム、デバイス、装置および方法を提供する。本発明のために好適なプロトコルおよびバイオプロセッシング手順の例には、免疫沈殿、クロマチンの免疫沈殿、組換えタンパク質の単離、核酸の分離および単離、タンパク質の標識化、分離および単離、細胞の分離および単離、ならびに、ビーズに基づく自動分離が含まれるが、これらに限定されない。具体的な実施形態において、本発明は、ウエスタンブロット処理の自動化されたシステム、自動化されたデバイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法を提供する。他の実施形態には、核酸（例えば、プラスミドDNA、ゲノムDNA、細菌DNA、ウイルスDNAおよび何らかの他のDNAを含めて、DNAまたはRNAまたはそれらのフラグメントなど）の分離、調製および精製のための自動化されたシステム、自動化されたデバイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法、ならびに、タンパク質およびペプチドなどの処理、分離および精製のための自動化されたシステム、自動化されたデバイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法が含まれる。

30

【0004】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングシステムは、バイオプロセッシングデバイス、少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジ、流体供給、および、バイオプロセッシングカートリッジを使用するバイオプロセッシングに関連する少なくとも1つのパラメーターを制御するためのコンピューター制御システムを含む。いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングシステムは、多数のバイオプロセッシングカートリッジを含むことができる。

40

【0005】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングデバイスは、バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される1つまたは複数のカートリッジスロットと、バイオプロセッシング期間中における使用のための流体容器を保持するために構成される多数の流体容器ホルダーを含む取り外し可能な流体容器トレイと、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングに関連する少なくとも1つのパラメーターを制御するために構成されるコンピューター制御システムと

50

を含む。

【0006】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングデバイスは、流体容器ホルダー内の1つまたは複数の流体容器を1つまたは複数のプロセス流体コネクタと流体接続するために構成される流体マニホールドを含む。いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングデバイスは、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数の制御流体コネクタを1つまたは複数の制御流体供給に接続するために構成される流体マニホールドを含むことができる。

【0007】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジは、固体支持体を含むために構成される少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーを含み、この場合、カートリッジはさらに、少なくとも1つのポンプを介してバイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの流体流れ通路を含む。

10

【0008】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングの自動化された方法は、固体支持体を含む少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、ならびに、バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの流体流れ通路を含むバイオプロセッシングカートリッジを提供すること、そして、少なくとも1つのプロセス流体を、複数のメソスケールまたはミクロスケールの流体流れ通路の少なくとも1つを介してバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送することを含

20

【0009】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるものが、プロットティングメンブランを含むために構成される少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールのプロセス流体通路、ならびに、流体を、プロセス流体通路を介してポンプ送するために構成される複数の組み込まれたポンプを含むバイオプロセッシングカートリッジである。プロセス流体通路の直径は約10 μm ~ 約10 mmの間の範囲であり得るか、または、約100 μm ~ 約5 mmの間の範囲であり得るか、または、約250 μm ~ 約2.5 mmの間の範囲であり得るか、または、約500 μm ~ 約2 mmの間の範囲であり得るか、または、直径が約1 mmであり得る。カートリッジはプラスチック製カートリッジであり得る。カートリッジはさらに、非柔軟性の配管を含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジは、少なくとも1つのアクセスバルブを、複数のプロセス流体通路の少なくとも1つによって規定される流路の内部に含むことができる。少なくとも1つのアクセスバルブのそれぞれを、少なくとも1つのプロセス流体コネクタと、複数のプロセス流体通路の少なくとも1つとの間の流路の内部に設けることができ、この場合、それぞれのプロセス流体コネクタが、カートリッジを1つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される。いくつかの実施形態において、カートリッジは2つ以上のアクセスバルブを含むことができ、この場合、それぞれのアクセスバルブを、独立したプロセス流体コネクタと、複数のプロセス流体通路の1つとの間の流路の内部に置くことができ、それぞれの独立したプロセス流体コネクタが、カートリッジを1つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される。そのようなプロセス流体コネクタは複数のコネクタであり得る（例えば、2本~20本の吸引チューブおよび/または吐出チューブ、2本~10本の吸引チューブおよび/または吐出チューブ、あるいは、4本~8本の吸引チューブおよび/または吐出チューブなど）。いくつかの実施形態において、カートリッジは、アクセスバルブを、プロセス流体コネクタのそれぞれと、複数のプロセス流体通路のそれぞれとの間の流路のそれぞれの内部に含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジは、アクセスバルブを、プロセス流体コネクタのそれぞれと、複数のプロセス流体通路のそれぞれとの間の流路のそれぞれの内部に含むことができ

30

40

50

る。いくつかの実施形態において、カートリッジはプロットティングメンブランをバイオプロセッシングチャンバーの内部に含むことができる。プロットティングメンブランはウエスタンプロットティング用のメンブランであり得る。カートリッジの形状は変化し得る。カートリッジのいくつかの実施形態において、深さが約 2 mm から約 5 cm までの間の範囲であり得るか、または、約 4 mm から約 4 cm までの間の範囲であり得るか、または、約 5 mm から約 2 cm までの間の範囲であり得るか、または、約 8 mm から約 1.5 cm までの間の範囲であり得るか、または、約 9 mm から約 1.2 cm までの間の範囲であり得るか、または、約 1 cm であり得るか、または、1 cm であり得る。カートリッジの高さが約 10 cm ~ 約 25 cm の間の範囲であり得るか、または、約 12 cm ~ 約 20 cm の間の範囲であり得るか、または、約 14 cm ~ 約 18 cm の間の範囲であり得るか、または、約 15 cm ~ 約 17 cm の間の範囲であり得るか、または、約 16 cm であり得るか、または、16 cm であり得る。カートリッジの幅がその最大で、約 10 cm ~ 約 25 cm の間の範囲であり得るか、または、約 12 cm ~ 約 22 cm の間の範囲であり得るか、または、約 16 cm ~ 約 20 cm の間の範囲であり得るか、または、約 17 cm ~ 約 19 cm の間の範囲であり得るか、または、約 18 cm であり得るか、または、18 cm であり得るか、または、約 18.2 cm であり得るか、または、18.2 cm であり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは長方形形状または正方形形状を有することができる。プロセス流体コネクタは直径が約 10 μ m ~ 約 10 mm の間の範囲であり得るか、または、直径が約 100 μ m ~ 約 5 mm の間の範囲であり得るか、または、直径が約 250 μ m ~ 約 2.5 mm の間の範囲であり得るか、または、直径が約 500 μ m ~ 約 2 mm の間の範囲であり得るか、または、直径が約 1 mm であり得る。いくつかの実施形態におけるカートリッジはパッケージによって包まれ得る。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 つのプロセス流体コネクタは、その遠位端においてより小さい内径に先細りする直径を有することができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体通路に最も近い（近位）部分におけるそのような少なくとも 1 つのプロセス流体コネクタの内径が約 0.5 mm ~ 約 1.5 mm であり、または、約 1 mm ~ 約 10 mm であり、または、約 2 mm ~ 約 6 mm であり、または、約 4 mm であり、または、4 mm であり、かつ、プロセス流体通路から最も遠い（遠位）部分におけるそのような少なくとも 1 つのプロセス流体コネクタの終端の内径が約 10 μ m ~ 約 10 mm の間の内径を有し、または、約 100 μ m ~ 約 5 mm の間の内径を有し、または、約 250 μ m ~ 約 2.5 mm の間の内径を有し、または、直径が約 500 μ m ~ 約 2.0 mm の間の内径を有し、または、直径が約 1 mm である。カートリッジは、本明細書において提供されるような要素のどのような組合せでも含むことができる。

【0010】

本明細書中に提供されるものが、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される 1 つまたは複数のカートリッジスロットと、バイオプロセッシングカートリッジ内のプロットティングメンブランをプロットティングプロトコルで処理することに関連する少なくとも 1 つの工程を制御するために構成される自動化された制御システムとを含む自動化されたプロット処理デバイスである。いくつかの実施形態において、デバイスは約 1 個から約 8 個までの間のカートリッジスロットを含むことができ、または、約 2 個から約 6 個までの間のカートリッジスロットを含むことができ、または、約 3 個から約 5 個までの間のカートリッジスロットを含むことができ、または、約 4 個のカートリッジスロットを含むことができる。いくつかの実施形態において、デバイスはさらに、バイオプロセッシングカートリッジを含むことができる。バイオプロセッシングカートリッジはプロットを含むことができ、この場合、プロットはウエスタンプロットであり、プロットティングプロトコルはウエスタンプロット処理プロトコルである。いくつかの実施形態において、プロット処理デバイスはさらに、プロットティングメンブランをバイオプロセッシングカートリッジの内部に含むことができる。自動化された制御システムは、プロット処理プロトコル（例えば、ウエスタンプロット処理プロトコルなど）のほとんどの工程、全工程、あるいは、1 つの工程を除く全工程、2 つの工程を除く全工程、

10

20

30

40

50

3つの工程を除く全工程、または、4つの工程を除く全工程を自動的に制御するために構成され得る。いくつかの実施形態において、自動化されたプロット処理デバイスは、プロット処理プロトコル（例えば、ウエスタンプロット処理プロトコルなど）の全工程、1つの工程を除く全工程、2つの工程を除く全工程、または、3つの工程を除く全工程についての必要性を排除するために構成される自動化された制御システムを含むことができる。自動化されたプロット処理デバイスは、本明細書中に提供されるデバイスの実施形態のいずれかに従うどのようなデバイスであってもよい。自動化されたプロット処理デバイスでは、本明細書においてこの場合に記載されるどのようなバイオプロセッシングカートリッジも使用することができる。

【0011】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングの自動化された方法は、a)少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジを自動化されたバイオプロセッシングデバイスの中に挿入すること（ただし、前記バイオプロセッシングカートリッジは、i)固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、および、ii)前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、および、b)バイオプロセッシングプロトコルを前記バイオプロセッシングデバイスに対して開始すること（ただし、前記プロトコルは下記の1つまたは複数を含む：i)前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを1つまたは複数の容器から少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーに供給するために制御すること、ii)前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーを通り抜けるように再循環するために制御すること、ならびに/あるいは、iii)前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーから除くために制御すること）を含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、上記方法は、a)少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジを自動化されたバイオプロセッシングデバイスの中に挿入すること（ただし、前記バイオプロセッシングカートリッジは、i)固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、および、ii)前記少なくとも1つバイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、b)ポンプ作動シーケンスを前記カートリッジに対して行うこと（ただし、前記ポンプ作動シーケンスは、流体が1つまたは複数の容器から複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路の少なくとも1つを通して少なくとも1つのチャンバーの中にポンプ送出される1回または複数回の流体添加サイクルを含む）を含む、1つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法を含む。

【0013】

本明細書中に提供されるものが、a)本明細書中に記載されるバイオプロセッシングカートリッジのいずれかの実施形態に従うバイオプロセッシングカートリッジを提供すること（ただし、前記バイオプロセッシングカートリッジはプロットティングメンブランを含有する）、および、少なくとも1つのプロセス流体をポンプ送出して、前記複数のプロセス流体通路の少なくとも1つを介して前記バイオプロセッシングカートリッジの中に入れることを含む、プロットを処理する自動化された方法である。いくつかの実施形態において、本方法は、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングデバイスのいずれかに従うデバイスによって行うことができる。本方法は、そのようなデバイスによってプロットティングメンブランに対して行われるプロットティングプロトコルの工程のすべて、1つの工程を除くすべて、2つの工程を除くすべて、または、3つの工程を除くすべてを含むことができる。

【0014】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングシステム、自動化されたバイオプロセッシングデバイス、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジおよび自動化されたバイオプロセッシング方法は、ウエスタンブロット処理システム、ウエスタンブロット処理デバイス、ウエスタンブロット処理カートリッジおよびウエスタンブロット処理方法を含む。

【0015】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングシステム、自動化されたバイオプロセッシングデバイス、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジおよび自動化されたバイオプロセッシング方法は、核酸の分離、精製および/または回収のためのシステム、核酸の分離、精製および/または回収のためのデバイス、核酸の分離、精製および/または回収のためのカートリッジ、ならびに、核酸の分離、精製および/または回収のための方法を含む。

10

【0016】

さらに本明細書中に提供されるものが、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングカートリッジのいずれかを含むキットである。本キットはさらに、1つまたは複数のチューブ、容器または任意の他の好適な流体リザーバーを含むことができる。

【0017】

本明細書中に提供されるものが、固体支持体を含有するために構成される少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、および、少なくとも1つのポンプを介して前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはマイクロスケールのプロセス流体通路（ただし、前記少なくとも1つのポンプはバイオプロセッシングカートリッジの中または表面に含まれる）を含むバイオプロセッシングカートリッジである。いくつかの実施形態において、カートリッジは、少なくとも1つのアクセスバルブを複数のプロセス流体通路の少なくとも1つによって規定される流路の内部に含むことができる。前記少なくとも1つのアクセスバルブのそれぞれを、プロセス流体コネクタート、複数のプロセス流体通路の少なくとも1つとの間における流路の内部に設けることができ、ただし、それぞれのプロセス流体コネクタートが、カートリッジを1つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される。いくつかの実施形態において、カートリッジは2つ以上のアクセスバルブを含むことができ、ただし、それぞれのアクセスバルブが、独立したプロセス流体コネクタート、複数のプロセス流体通路の1つとの間における流路の内部に置かれ、それぞれの独立したプロセス流体コネクタートが、カートリッジを1つまたは複数の流体容器に流体接続するために構成される。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタートが、マニホールドを経由して前記流体容器に接続するために構成され得る。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタートが、吸引チューブおよび/または吐出チューブを経由して前記流体容器に接続するために構成される。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタートが吸引チューブおよび/または吐出チューブであり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、アクセスバルブを、プロセス流体コネクタートのそれぞれと、複数のプロセス流体通路のそれぞれとの間における流路のそれぞれの内部に含むことができる。固体支持体が、プロッティングメンブラン、フィルターカセット、フィルターメンブラン、ろ紙、固相抽出カセット、固相抽出ディスク、複数のビーズ（磁気ビーズを含む）、および、それらの組合せからなる群から選択され得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、少なくとも1つのプロセスバルブ、または、少なくとも2つのプロセスバルブ、または、少なくとも3つのプロセスバルブを、ポンプと、チャンバーとの間における流路において含むことができる。いくつかの実施形態において、前記プロセスバルブまたは前記アクセスバルブの少なくとも1つが、バルブを閉じるための、および/または、バルブを開けるための作動装置を含む。いくつかの実施形態において、前記プロセスバルブおよび/または前記アクセスバルブの少なくとも1つはチェックバルブを含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは2つ以上のバイオプロセッシングチャンバーを含むことができ、または、3つ以上のバイオプロセッシングチャンバーを含むことができる。いく

20

30

40

50

つかの実施形態において、カートリッジはさらに、複数の制御流体通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジはさらに、前記複数の制御流体通路のそれぞれにつながる制御流体コネクタを含むことができ、ただし、それぞれの制御流体コネクタが、カートリッジを1つまたは複数の自動化された制御システムに流体接続するために構成される。いくつかの実施形態において、自動化された制御システムはプロセスバルブおよびアクセスバルブの開閉を制御し、かつ、少なくとも1つのポンプを制御する。いくつかの実施形態において、カートリッジは、少なくとも1つのプロセス流体通路と流体連結している色素チャンバーを含むことができ、ただし、前記色素チャンバーの内部の物質は、流体と接触したとき、色が変わる。いくつかの実施形態において、カートリッジは多回使用カートリッジを含むことができる。処理チャンバーは、いくつかの実施形態において、使用者による処理チャンバーへのアクセスを提供するために構成され得る。いくつかの実施形態において、本カートリッジは単回使用カートリッジである。

10

【0018】

さらに本明細書中に提供されるものが、バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される1つまたは複数のカートリッジスロットと、バイオプロセッシング期間中における使用のための容器を保持するために構成される少なくとも1つの流体容器ホルダーを含む取り外し可能な流体容器トレート、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングに関連する少なくとも1つのパラメータを制御するために構成される自動化された制御システムとを含む自動化されたバイオプロセッシングデバイスである。デバイスは2個～8個のカートリッジスロットを含むことができ、または、2個～4個のカートリッジスロットを含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジスロットはさらに、流体容器ホルダー内の1つまたは複数の流体容器を1つまたは複数のプロセス流体コネクタと流体接続するために構成される流体マニホールド、および/あるいは、1つまたは複数の制御流体コネクタを1つまたは複数の自動化された制御システムに接続するために構成される制御流体マニホールドを含むことができる。マニホールドは、1つまたは複数の制御流体コネクタを1つまたは複数の自動化された制御システムに接続するために構成され得る。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の自動化された制御システムは真空供給および空気圧供給を含む。真空供給および/または空気圧供給をデバイス内に含むことができる。代替として、真空供給および/または前記空気圧供給はデバイスの外部であってもよい。いくつかの実施形態において、真空供給は真空ポンプを含むことができる。いくつかの実施形態において、空気圧供給はコンプレッサを含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジスロットは、カートリッジにおける吸引チューブおよび/または吐出チューブを受け取り、かつ、その吸引チューブおよび/または吐出チューブを流体容器ホルダーにおける流体容器の中に導くための多数の開口部またはガイド機構を含むことができる。デバイスのいくつかの実施形態において、デバイスは、試薬および/またはサンプルをそれぞれのカートリッジスロットの中のそれぞれのバイオプロセッシングカートリッジに供給するために構成される1組の流体容器ホルダーまたはリザーバーを含む少なくとも1つの取り外し可能な流体容器トレートを含むことができる。1組の流体容器ホルダーはさらに、流体を多数のバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれから受け取るために、または、流体を多数のバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれに供給するために構成される容器を含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスはGUIを含むことができる。いくつかの実施形態において、自動化された制御システムは独立して、カートリッジスロットのそれぞれの中のバイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブの制御を備えることができる。いくつかの実施形態において、自動化された制御システムは、1つまたは複数の制御パラメータの使用者入力、事前にプログラムされたプロトコルの使用者選択、および/あるいは、使用者によるプロトコルの作製および保管を備えることができる。

20

30

40

【0019】

さらに本明細書中に提供されるものが、固体支持体をその中に含有する少なくとも1つ

50

のバイオプロセッシングチャンバー、および、前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールのプロセス流体通路を含むバイオプロセッシングカートリッジを提供すること、そして、少なくとも1つのプロセス流体を、前記複数のプロセス流体通路の少なくとも1つを介して前記バイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することを含むバイオプロセッシングの自動化された方法を使用する方法である。いくつかの実施形態において、ポンプ送出することは、1つまたは複数の試薬および/またはサンプルを前記セッシングチャンバーの中にポンプ送出し、固体支持体と接触させることを含むことができる。加えて、ポンプ送出することは、前記試薬の少なくとも1つを、前記チャンバーの上部部分につながる通路から、前記カートリッジにおけるポンプを介して、前記チャンバーの底部部分につながる通路の中に循環することを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ送出することは、少なくとも1つのプロセス流体をポンプ送出して、前記少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーにおいて、フィルターまたはメンブランを通過または横切るようにすることを含む。いくつかの実施形態において、フィルターまたはメンブランはプロットメンブランを含むことができる。いくつかの実施形態において、プロットメンブランはバイオプロセッシングチャンバー内のプロットメンブランホルダーによって保持され得る。いくつかの実施形態において、フィルターまたはメンブランはウエスタンプロットメンブランを含むことができる。いくつかの実施形態において、フィルターまたはメンブランは細胞分離メンブランを含むことができる。いくつかの実施形態において、フィルターまたはメンブランは溶解物フィルターを含むことができる。いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体は、少なくとも1つのブロッキング緩衝液を含むことができる。少なくとも1つのプロセス流体は、少なくとも1つの抗体および/または少なくとも1つの洗浄流体を含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ送出することは、a)ブロッキング緩衝液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、b)前記ブロッキング緩衝液を、プロットメンブランを通り抜けるように再循環して、ブロッキング処理されたプロットメンブランを形成すること、c)少なくとも1つの抗体溶液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、および、d)前記少なくとも1つの抗体溶液を、前記ブロッキング処理されたプロットメンブランを通り抜けるように再循環することを含むことができる。少なくとも1つの抗体液を、前記ブロッキング処理されたプロットメンブランを通り抜けるように再循環することは、a)一次抗体溶液を、前記ブロッキング処理されたプロットメンブランを通り抜けるように再循環すること、b)プロットメンブランを洗浄すること、c)二次抗体溶液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、および、d)二次抗体溶液を、洗浄されたプロットメンブランを通り抜けるように再循環することを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ送出することは、少なくとも1つのプロセス流体をポンプ送出して、少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーにおいて、少なくとも1つの固相抽出メンブラン、少なくとも1つの固相抽出カセットまたは少なくとも1つの固相抽出ディスクに通すことを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、固相抽出メンブラン、固相抽出カセットまたは固相抽出ディスクは、シリカの可逆的結合性リガンドを含むことができる。いくつかの実施形態において、ポンプ送出することは、細胞培養培地を、細胞分離フィルターを通り抜けるようにポンプ送出して、細胞を細胞培養培地から分離することを含むことができ、この場合、前記細胞がフィルターに捕獲される。いくつかの実施形態において、ポンプ送出することはさらに、a)捕獲された細胞を再懸濁緩衝液に再懸濁すること、b)細胞を溶解溶液において溶解して、溶解物を形成すること、c)溶解液を中和すること、および、d)溶解液を清澄化することを含むことができる。細胞を再懸濁し、ポンプ送出して、バイオプロセッシングチャンバーから出して、溶解液を含有する容器の中に入れることができる。いくつかの実施形態において、溶解物を清澄化することは、望まれない細胞分子を除くために、溶解物をポンプ送出してフィルターまたはメンブランに通すことを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ送出することはさらに、a)少なくとも1つの生体分子を、結合性メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーにおいて

10

20

30

40

50

抽出すること、b) 結合性メンブランを洗浄すること、c) 生体分子を結合性メンブランから溶出することを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ送出することはさらに、生体分子を、沈殿化フィルターを含有するバイオプロセッシングチャンパーにおいて沈殿させることを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、本方法はさらに、サンプルをポンプ送出の前に前処理することを含むことができる。いくつかの実施形態において、前処理することは、塩溶液をサンプルに加えることを含むことができる。いくつかの実施形態において、塩溶液はNaClであり得る。

【0020】

さらに本明細書中に提供されるものが、下記のa)およびb)を含む、バイオプロセッシングの自動化された方法である：a) 少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジをバイオプロセッシングデバイスの中に挿入すること（ただし、前記バイオプロセッシングカートリッジは、i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンパー、および、ii) 前記バイオプロセッシングチャンパーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、b) バイオプロセッシングプロトコルを前記バイオプロセッシングデバイスに対して開始すること（ただし、前記プロトコルは下記の1つまたは複数を含む：i) 前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを1つまたは複数の容器から少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンパーに供給するために制御すること、ii) 前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンパーを通り抜けるように再循環するために制御すること、ならびに/あるいは、iii) 前記バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンパーから除くために制御すること）。

【0021】

本明細書中に提供されるものが、1つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法であり、この方法は、a) 少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジをバイオプロセッシングデバイスの中に挿入する工程（ただし、前記バイオプロセッシングカートリッジは、i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンパー、および、ii) 前記バイオプロセッシングチャンパーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、b) ポンプ作動シーケンスを前記カートリッジに対して行う工程（ただし、前記ポンプ作動シーケンスは、流体が1つまたは複数の容器から流体流れ通路の1つを介してチャンパーの中にポンプ送出される1つまたは複数の流体添加サイクルに入ることを含む）を含み、ただし、前記流体添加サイクルのいずれかで添加される流体は、流体添加サイクルのいずれか他で添加される流体と同じまたは異なる。いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスはさらに、チャンパー内の流体を指定された廃液容器の中にポンプ送出することを含む、それぞれの流体添加サイクルの後でのパージ処理サイクルに入ることを含むことができる。本方法のいくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスはさらに、流体添加サイクルのいずれかの後での循環サイクルに入ることを含む、この場合、前記循環サイクルは、チャンパーの底部に接続される流体流れ通路におけるバルブを開けること、および、流体をポンプ送出して、チャンパーの底部部分から1つまたは複数の流体流れ通路に通してチャンパーの上部部分の中に入れることを含む。本方法のいくつかの実施形態において、本方法はさらに、ポンプ作動シーケンスを、プログラム可能なコントローラーを使用して開始および停止することを含むことができる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、流体流れ通路に入る流体の量または流体流れ通路から出る流体の量を選択的に制御するために、プロセス流体コネクタのそれぞれにおけるバルブを独立して開閉することを含むことができる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、多数のカートリッジをカートリッジスロットの中に挿入すること、および、ポンプ作動シーケンスをカートリッジのそれぞれに対し

10

20

30

40

50

て行うことを含むことができ、この場合、それぞれのカートリッジに対して行われるポンプ作動シーケンスは、いずれかの他のカートリッジに対して行われるポンプ作動シーケンスと同じまたは異なる。カートリッジのそれぞれに対して行われるポンプ作動シーケンスは同時に行うことができる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、カートリッジのそれぞれに対するポンプ作動シーケンスを、プログラム可能なコントローラーを使用して開始および停止することを含むことができる。いくつかの実施形態において、コントローラーは、コンピューターの中央処理ユニットであり得る。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、1つまたは複数の選択可能なプログラムを前記コントローラーに記憶させることを含むことができる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、指定されたポンプ作動シーケンスを、前記コントローラーに記憶されるプログラムを選択することによって開始することを含むことができる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、1つまたは複数の選択可能なプログラムをGUIに表示することを含むことができる。

10

20

30

40

50

【0022】

さらに本明細書中に提供されるものが、下記のa)およびb)を含む自動化されたバイオプロセッシングシステムである：a) i) バイオプロセッシングカートリッジを収容するためにそれぞれが構成される1つまたは複数のカートリッジスロット、および、ii) 1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングに関連する少なくとも1つのパラメーターを制御するために構成される自動化された制御システムを含むバイオプロセッシングデバイス、および、b) i) 固体支持体を含有するために構成される少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、ii) 少なくとも1つのポンプを介してバイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールのプロセス流体通路（ただし、前記少なくとも1つのポンプはバイオプロセッシングカートリッジの中または表面に含まれる）を含む1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジ。

【0023】

本明細書中で使用される場合、カード、カートリッジ、バイオプロセッシングカードおよびバイオプロセッシングカートリッジは、相互に交換可能であることが意図される。さらに本明細書中に提供されるものが、プロットがタンパク質または核酸を含む、本明細書中に記載される先行技術実施形態のいずれかのカートリッジ、デバイスまたは方法である。

【0024】

本発明の新規な特徴が、添付された請求項において具体的に示される。本発明の特徴および利点のより良好な理解が、本発明の原理が利用される例示的な実施形態を示す下記の詳細な説明、および、添付された図面を参照することによって得られる。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1A】 バイオプロセッシングデバイスの代替実施形態を示す。

【図1B】 バイオプロセッシングデバイスの代替実施形態を示す。

【図1C】 バイオプロセッシングデバイスの代替実施形態を示す。

【図1D】 バイオプロセッシングデバイスの代替実施形態を示す。

【図2A】 バイオプロセッシングデバイスの代替背面図を示す。

【図2B】 バイオプロセッシングデバイスの代替背面図を示す。

【図2C】 バイオプロセッシングデバイスの代替背面図を示す。

【図3A】 グラフィカル・ユーザー・インターフェース（GUI）の実施形態を示す。

【図3B】 グラフィカル・ユーザー・インターフェース（GUI）の実施形態を示す。

【図4】 バイオプロセッシングデバイスの1つの実施形態の分解図を示す。

【図5】 外側の筐体が除かれたバイオプロセッシングデバイスの1つの実施形態を示す。

【図6】 取り外し可能な流体容器トレイの1つの実施形態の分解図を示す。

【図7】 流体容器ホルダーの1つの実施形態の分解図を示す。

【図8A】 試薬トレイおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。

- 【図 8 B】試薬トレーおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。
- 【図 8 C】試薬トレーおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。
- 【図 8 D】試薬トレーおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。
- 【図 8 E】試薬トレーおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。
- 【図 8 F】試薬トレーおよび試薬リザーバーの様々な図および実施形態を示す。
- 【図 8 G】トレーの底から見たときの試薬リザーバートレーの 1 つの実施形態を示す。
- 【図 9 A】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の透視図を示す。
- 【図 9 B】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の透視図を示す。
- 【図 10 A】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の側面図を示す。
- 【図 10 B】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の側面図を示す。
- 【図 11 A】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の断面図を示す。
- 【図 11 B】カートリッジホルダーの 1 つの実施形態の断面図を示す。
- 【図 12】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の分解図を示す。
- 【図 13 A】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面図および背面図を示す。
- 【図 13 B】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面図および背面図を示す。
- 【図 14】正面層および背面層を示すバイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の透視図を示す。
- 【図 15】プロセス流体コネクタと、吸引 / 吐出チューブとの間における接続の 1 つの実施形態の詳細図を示す。
- 【図 16 A】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の分解図を示す。
- 【図 16 B】図 16 A に示されるバイオプロセッシングカートリッジの様々な部分の拡大図を示す。
- 【図 16 C】図 16 A に示されるバイオプロセッシングカートリッジの様々な部分の拡大図を示す。
- 【図 16 D】図 16 A に示されるバイオプロセッシングカートリッジの様々な部分の拡大図を示す。
- 【図 17 A】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面層図および背面層図を示す。
- 【図 17 B】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面層図および背面層図を示す。
- 【図 18 A】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面図および背面図を示す。
- 【図 18 B】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面図および背面図を示す。
- 【図 19 A】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の内面図および外面図をそれぞれ示す。
- 【図 19 B】バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の内面図および外面図をそれぞれ示す。
- 【図 20 A】バイオプロセッシングカートリッジの代替実施形態を示す。
- 【図 20 B】バイオプロセッシングカートリッジの代替実施形態を示す。
- 【図 21 A】バイオプロセッシングカートリッジの様々な実施形態の中に挿入され得るプロットメンブランホルダーの詳細図を示す。
- 【図 21 B】バイオプロセッシングカートリッジの様々な実施形態の中に挿入され得るプロットメンブランホルダーの詳細図を示す。
- 【図 22 A】プロットメンブランホルダーの代替実施形態を示す。
- 【図 22 B】プロットメンブランホルダーの代替実施形態を示す。
- 【図 23】バイオプロセッシングデバイスの 1 つの実施形態を操作するための基本的なユーザインターフェースの高水準フローチャートを示す。

【図 3 2 B】実施例 1 8 A および実施例 1 8 B ならびに実施例 1 7 A および実施例 1 7 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

50

【図 3 2 C】実施例 1 8 A および実施例 1 8 B ならびに実施例 1 7 A および実施例 1 7 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 2 D】実施例 1 8 A および実施例 1 8 B ならびに実施例 1 7 A および実施例 1 7 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 3 A】実施例 1 9 A および実施例 1 9 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 3 B】実施例 1 9 A および実施例 1 9 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 4 A】実施例 2 0 A および実施例 2 0 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

10

【図 3 4 B】実施例 2 0 A および実施例 2 0 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 5 A】実施例 2 1 A および実施例 2 1 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 5 B】実施例 2 1 A および実施例 2 1 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 6 A】実施例 2 2 A および実施例 2 2 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 3 6 B】実施例 2 2 A および実施例 2 2 B に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

20

【図 3 7】実施例 2 3 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 3 8】実施例 2 4 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 3 9】実施例 2 5 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 4 0】実施例 2 6 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 4 1 A】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 1 B】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 1 C】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 1 D】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 1 E】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 1 F】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

30

【図 4 2 A】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 2 B】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 2 C】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 A】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 B】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 C】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 D】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 E】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 3 F】実施例 2 7 に記載されるように行われるウエスタンブロットの結果を示す。

【図 4 4 A】実施例 3 0 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

40

【図 4 4 B】実施例 3 0 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 4 5 A】実施例 3 1 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 4 5 B】実施例 3 1 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【図 4 6】実施例 3 2 に記載されるように行われる核酸精製の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 2 6】

本明細書中に開示される自動化されたバイオペロセシングシステム、自動化されたバイオペロセシングデバイス、自動化されたバイオペロセシングカートリッジおよび自動化されたバイオペロセシング方法は、生体分子を処理するための 1 つまたは複数のプロトコルを行うための自動化されたバイオペロセシングシステム、自動化されたバイオペロセシ

50

グデバイス、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジおよび自動化されたバイオプロセッシング方法を含み、例えば、免疫沈殿、クロマチンの免疫沈殿、組換えタンパク質の単離、核酸の分離および単離、タンパク質の標識化、分離および単離、細胞の分離および単離、食品の安全性分析、ならびに、ビーズに基づく自動分離（磁気ビーズに基づく自動分離を含む）から選択されるバイオプロセッシング手順を行うためなどの自動化されたバイオプロセッシングシステム、自動化されたバイオプロセッシングデバイス、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジおよび自動化されたバイオプロセッシング方法を含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングシステムは、標識された分子の使用を含むことができ、この場合、標識には、例えば、Qdot（登録商標）ナノ結晶またはAlexa Fluor（登録商標）色素を含めて、様々な免疫蛍光標識または蛍光標識が含まれる。いくつかの実施形態において、生体分子を処理するためのプロトコルは、固体支持体に固定化される生体分子を処理するためのプロトコルであり、例えば、結合した生体分子を有するプロッティングメンブランなどを処理するためのプロトコルである。そのようなものとして、プロトコルは、ウエスタンブロット（すなわち、免疫ブロット）、ノーザンブロットまたはサザンブロットを処理するためのプロトコルが可能である。本明細書中に開示される自動化されたバイオプロセッシングシステム、自動化されたバイオプロセッシングデバイス、自動化されたバイオプロセッシングカートリッジおよび自動化されたバイオプロセッシング方法は、プロトコルがバイオプロセッシングデバイスに対して開始されると、自動化された「手を触れない」バイオプロセッシングを提供し、一方で、類似する手作業処理よりも良好でないとしても、類似する手作業処理と少なくとも同じくらい良好であり、および/または、混入/クリーンアップを最小限に抑え、および/または、効率かつ柔軟性を増大させる履行をもたらす。

10

20

30

40

50

【0027】

I. バイオプロセッシングデバイス

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される自動化されたバイオプロセッシングデバイスは、生体分子を処理するための1つまたは複数のプロトコルを行うための自動化されたデバイスを含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスは、免疫沈殿、クロマチンの免疫沈殿、組換えタンパク質の単離、核酸の分離および単離、タンパク質の標識化、分離および単離、細胞の分離および単離、食品の安全性分析、ならびに、ビーズに基づく自動分離（磁気ビーズに基づく自動分離を含む）から選択されるプロトコルおよびバイオプロセッシング手順を行うために構成され得る。

【0028】

いくつかの実施形態において、自動化されたバイオプロセッシングデバイスは、バイオプロセッシングカートリッジを収容するための1つまたは複数のスロット（例えば、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上または6つ以上のスロット）を含む。それぞれのスロットが独立して、バイオプロセッシングカートリッジをデバイス内に収容および/または支持するために、また、デバイスとともに使用され得る1つまたは複数の流体容器へのカートリッジの流体接続を備えるために構成され得る。それぞれのスロットはさらに、カートリッジホルダーを含むことができる。いくつかの実施形態において、スロットはそれぞれが、バイオプロセッシングカートリッジを1つまたは複数のプロセス流体供給に接続するための流体マニホールドを含む。いくつかの実施形態において、スロットは、カートリッジを収容するための開口部を含み、そして、1つまたは複数の吸引/吐出チューブを1つまたは複数のプロセス流体容器（例えば、デバイス内に置かれるか、または、デバイス内に含まれる1つまたは複数のプロセス流体容器など）の中に導くことができる。いくつかの実施形態において、スロットのそれぞれが、少なくとも1つのガイド（例えば、スロットの片側または両側における突出または溝など）を含むただ1つだけの開口部、ならびに/あるいは、1つまたは複数の吸引/吐出チューブを1つまたは複数のプロセス流体容器（例えば、デバイス内に置かれるか、または、デバイス内に含まれる1つまたは複数のプロセス流体容器など）の中に導くカートリッジホルダーを含む。いくつかの実施形態において、吸引/吐出チューブはバイオプロセッシングカートリッジに一体化されているか、または

、バイオプロセッシングカートリッジにおける流体コネクタに取り付けることができる。それぞれの吸引／吐出チューブが、デバイスに対する中央処理ユニットに含まれるバイオプロセッシングプロトコルに従って、または、使用者が選択したプロトコルに従って吸引／吐出チューブがそれに関して特定される機能を果たすために適切なサイズを有し得る。吸引／吐出チューブは互いに関して、同じ長さであり得るか、または、長さが異なり得る。

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態において、スロットのそれぞれが、スロット内に置かれるバイオプロセッシングカートリッジに対する１つまたは複数の制御流体供給の接続を備える。そのような接続は、例えば、それぞれのスロットに挿入されるカートリッジに対する制御流体マニホールドの接続を含むことができる。いくつかの実施形態において、制御流体マニホールドは、スロット内のバイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタとの封止接続を形成するために構成される。いくつかの実施形態において、制御流体マニホールドは、一部にはガスケットまたはＯ－リングあるいは他の好適な封止機構を使用することによって、バイオプロセッシングカートリッジに接続されるか、または、バイオプロセッシングカートリッジに対して封止される。制御流体マニホールドは、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタのそれぞれと相互作用するための個々の供給コネクタを含むことができる。いくつかの実施形態において、制御流体マニホールドは、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタの代替形態を備えるために再構成可能であり、および／または、取り外し可能であり、および／または、取り換え可能である。いくつかの実施形態において、制御流体マニホールドは、膨張したとき、供給コネクタがバイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタに向かって移動し、その制御流体コネクタに接続される（例えば、封止可能に接続される）ことを生じさせる加圧可能な膨張し得る柔軟な容器（例えば、サックまたは袋状物など）を使用して、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタにまで進まされ得るか、または、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタに接続され得る。いくつかの実施形態において、様々な機械的機構を使用して、例えば、バネ式機構、あるいは、自動的ロック機構または手動式ロック機構などを使用して、制御流体マニホールドを制御流体コネクタに接続することができる。

【 0 0 3 0 】

いくつかの実施形態において、制御流体マニホールドが、制御流体（例えば、空気圧、真空、または、加圧された液体など）を、個々の供給コネクタとの併用で制御流体コネクタを介してバイオプロセッシングカートリッジにおける様々な制御通路に供給するために使用される。いくつかの実施形態において、制御流体が、バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプメンブランまたはバルブメンブランの非接触面（すなわち、プロセス流体と接触しないメンブラン面）に対する圧力および／または真空を提供して、ポンプまたはバルブを作動させるために使用される。この作動は、バルブを開閉させるために、および／または、ポンプに、バイオプロセッシングカートリッジにおけるプロセス流体通路を通して流体を送出させるために役立ち得る。自動化された制御システムに含まれる特定の規定されたプロトコルを使用することによって、ポンプおよびバルブは、様々なバルブまたはポンプの作動を特定の順序で、あるいは、１つまたは複数のバイオプロセスをバイオプロセッシングカートリッジに対して行うための特定の命令に従って制御するために、圧力および／または真空をポンプおよびバルブに供給することによって制御され得る。

【 0 0 3 1 】

本適用の残り全体を通して、供給される制御流体は具体的には、空気圧および真空として示され得るが、他の制御流体が、他のガス状制御流体（例えば、窒素または酸素または濃縮空気など）および他の液体制御流体の両方を含めて、個々の制御工程を行うために使用され得ることを理解しなければならない。加えて、いくつかの実施形態において、制御流体の１つまたは複数を、バイオプロセッシングカートリッジおよび／または制御流体マニホールドに入る前に処理することができる。そのような処理には、効率的なプロセス処理を助けるための精製（例えば、ろ過を介する精製など）、濃縮、圧力調節、除湿および加

10

20

30

40

50

湿などが含まれ得る。

【0032】

個々の供給コネクタのそれぞれが、圧力源および／または真空源と流体連結していることができる。圧力源および／または真空源は外部の圧力源または真空源を含むことができる（例えば、「施設の」空気圧供給および／または「施設の」真空供給など）。いくつかの実施形態において、デバイスは真空ポンプおよび／またはコンプレッサーを含み、真空および空気圧の一方または両方を、外部供給を使用することなく、バイオプロセッシングカートリッジに供給することができる。デバイスはまた、供給コネクタのそれぞれに供給される圧力の量を制御することを助けるために、従って、通路、ならびに、バルブおよびポンプを制御するために、適切な圧力計および圧力調節器を含むことができ、また、いくつかの実施形態では、デバイスは、カートリッジに供給されるべき圧力および真空を貯蔵するために、また、圧力または真空の供給における遅れ（例えば、コンプレッサーおよび／または真空ポンプの応答時間によって引き起こされる遅れなど）によって引き起こされる圧力または真空の不足または遅延を制限または回避するためにリザーバーを含む。

10

【0033】

代替として、制御流体マニホールドの代わりに、いくつかの実施形態では、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタの一部またはすべてを真空源および圧力源に個々に接続することができる。

【0034】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスにおけるスロットは、バイオプロセッシングカートリッジの種々の形態、サイズまたはタイプに備えるために、再構成可能、取り外し可能および／または取り換え可能であり得る。スロットは、バイオプロセッシングカートリッジが、所望されるバイオプロセスを行うための正しい高さおよび配向でスロットに保持され得ることを保証するために、様々なガイド、穴、ホルダーまたはそれらの任意の組合せを含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジは、プロセス流体が一般には上向き方向でカートリッジの中に引き寄せられ、そして、一般には下向き方向でカートリッジから出るように垂直に配向にすることができる。この垂直配向は、空間を保つために役立つことができ、また、バイオプロセッシングチャンバーの1つまたは複数からの効率的な流体除去を助けることができる。いくつかの実施形態において、カートリッジは、一般には垂直配向でバイオプロセッシングカートリッジに入らない、および／または、一般には垂直配向でバイオプロセッシングカートリッジから出ない1つまたは複数のプロセス流体供給を有することができる。いくつかの実施形態において、カートリッジは、流体がポンプ送出されて、水平方向でカートリッジに入り、そして、カートリッジから出ることができるように水平に配向にすることができる。流体は、流体の喪失またはこぼれが、例えば、流体を容器から噴出するために、または、容器内に入る流体を受け取るために変形することが可能であり得る閉じた体積容器に流体を含有することによって防止されるように含有され得る。流体はポンプによりカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に入れることができ、その後、吸引または真空圧力を使用してカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーから吸引することができる。流体は、カートリッジ面と同じ水平面に、または、カートリッジ（1つまたは複数）の面に平行な水平面に置くことができる。いくつかの実施形態において、流体および流体容器をカートリッジ（1つまたは複数）に関して垂直配向で配向させることができ、この場合、カートリッジ（1つまたは複数）は、垂直の流体容器を水平のカートリッジ（1つまたは複数）と接続する配管を介して流体容器と流体連結している。

20

30

40

【0035】

いくつかの実施形態において、デバイスは、流体容器をバイオプロセッシング期間中における使用のために保持することができる1組または多数組の流体容器ホルダーを含む取り外し可能な流体容器トレイを含むことができる。流体容器ホルダーの組の数は、そのための容器が使用されているプロトコルに従って任意の好適な数であり得る。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーの組の数はデバイス内のスロットの数と同数以下であり

50

得る。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーの組の数はデバイス内のスロットの数よりも多くすることができる。いくつかの実施形態において、例えば、装置におけるスロットの数よりも少ないバイオプロセッシングカートリッジが使用されている実施形態などでは、空の流体容器ホルダーを、空いているスロットの下に提供することができる。

【0036】

流体容器ホルダーは、廃液容器、試薬容器および/またはサンプル容器を、行われることになるバイオプロセスに従って、適切なサイズおよび数で収容するために構成され得る。例えば、いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーが、少なくとも1つのサンプル容器、少なくとも1つの試薬容器および/または少なくとも1つの廃液容器を含む1組の流体容器を収容するために提供される。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーが、それぞれがそれらの機能に従う異なるサイズの容器を収容するために構成され得る。例えば、いくつかの実施形態において、サンプル容器は、試薬容器の1つまたは複数と異なるサイズであり、廃液容器はまた、試薬容器およびサンプル容器のどちらかまたは両方と異なるサイズにすることができ、試薬容器はそれぞれが同じサイズを有することができる。このようにして、1組の流体容器ホルダーが、異なるサイズの多数のホルダーを異なるサイズの容器のために含み得ることを理解しなければならない。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーの組は個々に、空の試薬容器または事前に充填された試薬容器のどちらか、および、利用可能な廃液容器が事前に詰められ、そして、流体容器ホルダーのそのような組を、所定のプロトコルに従って操作者によって適切な利用可能な流体容器ホルダーに加えられるサンプル容器とともに、取り外し可能な流体容器トレイに置くことができる。いくつかの実施形態において、多数組の流体容器ホルダーには、取り外し可能な流体容器トレイ全体に合わせるために、空の試薬容器または事前に充填された試薬容器のどちらか、および、利用可能な廃液容器と一緒に事前に詰めることができ、あるいは、多数組の流体容器ホルダーは、取り外し可能な流体容器トレイとともに供給することができる。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーは、1つまたは複数の容器を共有するために構成される。例えば、流体容器ホルダーが、廃液容器または試薬容器を共有するために構成され得る。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダーおよび/または取り外し可能な流体容器トレイは多回使用または単回使用である。

【0037】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスはまた、バイオプロセッシング手順またはバイオプロセッシングプロトコルに関連する少なくとも1つのパラメーターを制御するために構成されるコンピューター制御システムを含む自動化された制御システムを含む。いくつかの実施形態において、コンピューター制御システムは、パラメーターの下記の限定されない例の1つまたは複数に制御するために構成され得る：バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のアクセスバルブの作動；バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のポンプの作動；1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジに供給される1つまたは複数のプロセス流体の量；1つまたは複数のプロセス流体の混合；1つまたは複数のプロセス流体に対する1つまたは複数の固体支持体の暴露時間、1つまたは複数のプロセス流体のポンプ送出および流路、1つまたは複数のプロセス流体の循環；ポンプ送出速度、ポンプ作動シーケンス、ポンプ作動遅延、そして、プロセス流体添加の体積、および/あるいは、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジからのパージ処理体積、ならびに、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジに供給される圧力および/または真空、例えば、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数の制御流体通路などに供給される圧力および/または真空。

【0038】

いくつかの実施形態において、自動化された制御システムは下記に1つまたは複数を含む：中央処理ユニットを含むコンピューター制御システム、グラフィカル・ユーザー・インターフェース(「GUI」)、および、操作者入力システム。中央処理ユニットはメモリおよび1つまたは複数のマイクロコントローラーを含むことができる。操作において、使用者は、1つまたは複数の保管されたプロトコルを選択するために、あるいは、デバ

イスの1つまたは複数のスロットにおける1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジに対する一連のバルブおよびポンプの作動を開始することを1つまたは複数のマイクロコントローラーに命令する1つまたは複数の使用者作製プロトコルを入力するためにそのどちらかで、操作者入力システムを、GUIおよびコンピューター制御システムに搭載されるソフトウェアまたはファームウェアと併せて使用することができる。バルブおよびポンプの作動を、圧力供給および真空供給を使用して制御することができる。バルブおよびポンプのこれらの作動は、流体容器ホルダーにおける容器からの試薬およびサンプルを含めて、プロセス流体をバイオプロセッシングカートリッジのプロセス流体通路およびバイオプロセッシングチャンパーの中に、そして、バイオプロセッシングカートリッジから1つまたは複数の流体容器の中にポンプ送出するために、また、サンプルを、選択されたプロトコルに従って処理するために役立ち得る。いくつかの実施形態において、自動化された制御システムは、同じタイプまたは異なるタイプの複数組の流体容器ホルダー、容器、試薬およびサンプルをそれぞれのプロトコルのために使用して、同じプロトコルまたは異なるプロトコルをデバイスにおける多数のバイオプロセッシングカートリッジに対して行うことができる。プロセス処理の期間中、GUIは、使用者が、バイオプロセッシングカートリッジに対して行われている1つまたは複数のプロトコルの進捗を観察することを提供することができる。また、コンピューター制御システムは、プロセス処理の完了、あるいは、プロセス処理の期間中に生じ得るエラーまたは他の問題を示すためのアラームを備えることができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスおよび/またはコンピューター制御システムはまた、デバイスが1つまたは複数の非安全状態または不意の状態にあるならば、例えば、限定されない例として、容器トレイがデバイスの中に完全に挿入されない場合、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジがスロットの中に正しく挿入されないか、あるいは、空気供給および/または真空供給に正しく接続されない場合、空気供給または真空供給が不十分である場合、空気供給または真空供給が安全限界を超える場合、ならびに/あるいは、電気供給が不十分であるか、または、安全限界を超える場合には、デバイスがプロトコルを作動することを防止する安全保護装置を含むことができる。

【0039】

操作者入力システムは、任意の適切な入力システムを含むことができる（例えば、コンピューターシステムと対話するために、また、ソフトウェアまたはファームウェアを動かすために使用者によって使用されるキーボード、キーパッド、マウス、タッチスクリーンまたは任意の他の好適なデバイスなど）。バイオプロセッシングデバイスにおいて使用されるソフトウェアまたはファームウェアは用途特異的であり得るか、または、市販されている既製のソフトウェアであり得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスは、デバイスに対して作動している1つまたは複数のプロトコルの進捗をモニターするためのセンサーを含むことができる。例えば、デバイスは、プロトコルの様々な工程の期間中に供給される圧力および真空を測定するための圧力センサーおよび真空センサー、流速センサー、温度センサー、時間経過センサー、デバイスに対して行われるプロセスの1つまたは複数の工程に関連する何らかのパラメーターを測定するためのセンサーを含むことができる。これらのセンサーは、制御システムにおいて記録され得る様々なパラメーターの受動的な測定を提供することができ、または、プロセスの進捗および実行の制御のために使用され得る能動的な測定を提供することができる。そのような制御は、比例制御、積分制御、比例・積分制御または比例・積分・微分制御（これらに限定されない）を含めて、任意の好適な制御手順を使用して行うことができる。

【0040】

いくつかの実施形態において、コンピューター制御システムはさらに、デバイスの遠隔制御のためのデバイスおよび/または機構、ならびに/あるいは、情報をコンピューター制御システムにアップロードするためのデバイスおよび/または機構（例えば、ソフトウェアまたはファームウェアの更新などのために）、ならびに、デバイスに対して行われる1回またはそれ以上の運転に関連する情報をダウンロードおよび/または保管するための

デバイスおよび／または機構を含む。例えば、デバイスは、直接の接続（例えば、イーサネットポート、パーソナル・コンピュータ・メモリー・カード国際協会（PCMCIA）スロットまたはユニバーサル・シリアル・バス（USB）ポートなど）を介して、無線接続を介して、携帯可能な記憶媒体（例えば、フラッシュドライブもしくはサムドライブ、書き込み可能なCD-ROMまたはDVDなど）を介して、デバイスへの情報のアップロード、または、直接的にコンピュータに対する何らかの運転のために使用されるプロセスパラメータのダウンロードを備えることができ、あるいは、デバイスは、ネットワーク（例えば、LANまたはWANなど）に接続することができ、または、インターネットに基づくアプリケーションに接続することができる。加えて、デバイスはプロセスパラメータの確実な記録を備えることができ、これにより、運転が行われた後での実際の運転パラメータの変更がないことを防止または保証することができ、また、運転の日時の検証を提供することができる。いくつかの実施形態において、ソフトウェアまたはファームウェアは、電子手帳プログラム（例えば、プロセスパラメータおよび運転データを直接にプログラムにダウンロードするための、安全を保証する電子手帳プログラムなど）とインターフェース接続するために構成される。

10

【0041】

いくつかの実施形態において、デバイスは、典型的な実験台の上での使用または化学フード内での使用を可能にするサイズであり、また、様々な温度（例えば、室温など）で、または、低温室において使用することができる。

20

【0042】

使用において、自動化された制御システムは、バイオプロセッシングカートリッジがデバイスの中に正しく挿入されることを確認し、その後、使用者が選択したプロトコル（事前に搭載されたプロトコルまたは使用者が作製したプロトコルのどちらか）を受け入れることができる。バイオプロセッシングデバイスは、所定のプロトコル（例えば、ウエスタンブプロトコルまたは核酸精製プロトコルまたはサザンブプロトコルなど）により事前にプログラムすることができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスは、さらなるプロトコルを保管することができる。デバイスは、使用者が、存在するプロトコルのリストから選択することを可能にし得るか、または、使用者が定義したプロトコル（例えば、使用者が定義したウエスタンブプロトコルまたは拡散精製プロトコルなど）を作製および保存することができる。いくつかの実施形態において、デバイスはさらに、より一貫的かつ再現性のある運転間の実験を可能にし得る。デバイスはまた、再度の最適化を運転の間において必要とすることなく、所定のプロトコルによりプログラムすることができる。プロトコルが選択された後、自動化された制御システムは、所望されるバイオプロセッシングをカートリッジに対して行うために、バルブおよびポンプを選択されたプロトコルに従って作動させて、流体を流体容器からバイオプロセッシングカートリッジおよびその中のバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出手する。

30

【0043】

II. バイオプロセッシングカートリッジ

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、1つまたは複数の基体層から形成されているメソ流体回路またはマイクロ流体回路を含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは1つまたは複数のさらなる層または要素を1つまたは複数の基体層の間に含むことができる。1つまたは複数のさらなる層または要素を含むいくつかの実施形態において、さらなる層または要素の少なくとも1つが、基体と併せて使用され得る1つまたは複数のメンブランまたはメンブラン層、および、少なくとも1つのバルブまたはポンプとしての圧力源または真空源を含むことができる。

40

【0044】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、固体支持体を含有するために構成される少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、ならびに、少なくとも1つのポンプ（例えば、カートリッジ、または、カートリッジが構築される1つも

50

しくは複数の層に、または、その内部に、または、その表面に一体化されているか、あるいは、含まれるポンプなど)を介してバイオプロセッシングチャンバーと直接的または間接的に流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの流体流れ通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、流体流れ通路はプロセス流体通路および/または制御流体通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは2つ以上の流体層を含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジはプロセス流体層および制御流体層を少なくとも含むことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体層と、制御流体層との間における連絡が、直接的または間接的のどちらかで存在し得る。いくつかの実施形態において、プロセス流体層は、プロセス流体通路の大部分が存在する層を含むことができ、一方で、制御流体層は、制御流体通路の大部分が存在する層を含むことができる。

10

【0045】

本明細書中で使用される場合、用語「ミクロスケール」は、少なくとも1つの断面大きさが約0.1 μm ~ 約1000 μm 未満の程度(例えば、約0.1 μm ~ 約500 μm 、約10 μm ~ 約250 μm 、または、約100 μm ~ 約250 μm など)である流れ通路または他の構造的要素を示し、用語「メソスケール」は、少なくとも1つの断面大きさが約1000 μm ~ 約4 mmの程度(例えば、約1000 μm ~ 約3.5 mm、約1000 μm ~ 約2.5 mm、約1000 μm ~ 約1.5 mm など)であるか、あるいは、約1000 μm を越える、または、約1100 μm を越える、または、約1250 μm を越える、または、約1500 μm を越える流れ通路または他の構造的要素を示す。

20

【0046】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールのプロセス流体流れ通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体流れ通路は、流体接続を、バイオプロセッシングカートリッジにおけるプロセス流体コネクタート、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のポンプ、アクセスバルブおよび/またはプロセスバルブとの間において提供することができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体流れ通路は、プロセス流体(例えば、試薬および/またはサンプルなど)を、バイオプロセッシングカートリッジにおける様々なバルブおよびポンプを介して、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のバイオプロセッシングチャンバーのいずれかの中に供給するために使用することができる。一般に、プロセス流体通路は、プロセス流体のいずれかを、例えば、バイオプロセッシングカートリッジに対して行われる実際のプロセスで使用される試薬および/またはサンプルなどを、適切な時間で、適切な場所に導くことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体流れ通路の1つまたは複数、制御流体流れ通路と異なる流体層に提供することができる。

30

【0047】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの制御流体流れ通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路はミクロスケールである。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路はメソスケールである。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路は、流体連結を、バイオプロセッシングカートリッジにおける制御流体コネクタート、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のポンプ、アクセスバルブおよび/またはプロセスバルブとの間において提供することができる。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路は、圧力または真空をバイオプロセッシングカートリッジにおけるバルブおよびポンプのメンブランに個々に供給して、ポンプを作動させるために、または、バルブを開閉するために使用することができる。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路は、プロセス流体通路と異なるバイオプロセッシングカートリッジの流体層に存在させることができる。

40

【0048】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは使い捨て型カートリ

50

ッジであり得る。使い捨て型カートリッジは運転間の相互汚染の危険性を低下させることができる。カートリッジは、一貫した量の溶液または試薬が、再現性を増大させるためにカートリッジに送達され得るように構成され得る。

【0049】

いくつかの実施形態において、制御流体コネクタは、複数の制御流体流れ通路を自動化された制御システムに接続するために構成され得る。いくつかの実施形態において、制御流体流れ通路のそれぞれが、独立した制御流体コネクタと流体連結していることができる。いくつかの実施形態において、制御流体コネクタは、制御流体マニホールドを介して、自動化された制御システムと連絡しているために構成され得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、制御流体マニホールドと流体連結しているバイオプロセッシングデバイスにおける供給コネクタとの流体連結を制御流体コネクタに促すバイオプロセッシングデバイスのカートリッジホルダーに保持されるために構成され得る。いくつかの実施形態において、促すことが、供給コネクタとの流体連結を制御流体コネクタに促すための膨張する袋状物もしくはサック、機械的もしくは手動式の掛け金機構、または、電子的な掛け金機構もしくは接続機構、あるいは、任意の他の好適な機構を使用して達成される。

10

【0050】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、1つのバイオプロセッシングチャンバー、2つのバイオプロセッシングチャンバー、2つ以上のバイオプロセッシングチャンバー、3つのバイオプロセッシングチャンバー、3つ以上のバイオプロセッシングチャンバー、4つのバイオプロセッシングチャンバー、4つ以上のバイオプロセッシングチャンバー、5つのバイオプロセッシングチャンバーまたは5つ以上のバイオプロセッシングチャンバー、あるいは、任意の好適な数のバイオプロセッシングチャンバー（これらに限定されない）を含めて、1つまたは多数のバイオプロセッシングチャンバーを含むことができる。バイオプロセッシングチャンバーは、例えば、ガasket、O-リング、溶着およびクランプなどの使用を含めて、いずれかの好適な封止手段によるなどして閉じることができ、または、封止することができ、あるいは、いくつかの実施形態において、1つまたは複数のバイオプロセッシングチャンバーが操作者または使用者によって利用可能であり得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは入口および出口をバイオプロセッシングカートリッジの異なる流体層に有することができ、一方で、他の実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは入口および出口を同じ流体層に有することができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーの体積は、流体がその中の固体支持体を通り抜けて自由に流れることを可能にするために、または、その中の固体支持体の表面を通り抜けて自由に流れることを可能にするために好適でなければならない。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは、固体支持体が存在する場合、または、固体支持体が存在しない場合、約1 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積を有することができ、例えば、約10 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約20 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約50 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約100 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約150 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約200 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約250 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約300 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約500 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約750 μ l ~ 約100 mlの間の流体体積、約1 ml ~ 約100 mlの間の流体体積、約2 ml ~ 約75 mlの間の流体体積、約3 ml μ l ~ 約60 mlの間の流体体積、約4 ml ~ 約50 mlの間の流体体積、約4 ml ~ 約45 mlの間の流体体積、約4 ml ~ 約40 mlの間の流体体積、約4 ml ~ 約35 mlの間の流体体積、約5 ml ~ 約30 mlの間の流体体積、約10 ml ~ 約25 mlの間の流体体積、または、約15 ml ~ 約20 mlの間の流体体積などを有することができる。

20

30

40

【0051】

バイオプロセッシングチャンバーは流体混合チャンバーを含むことができ、および/あるいは、1つまたは複数のサンプルを処理するための固体支持体を含有することができる。

50

固体支持体は、ろ過すること、洗浄すること、染色すること、溶出すること、回収すること、処理すること、または、化学反応もしくはバイオプロセッシングを行うことのための任意の支持体が可能である。いくつかの実施形態において、固体支持体を下記の1つまたは複数から選択することができる：フィルターカセット、ろ紙、沈殿化メンブラン、沈殿化フィルター、固相抽出カラム、固相抽出カセット、固相抽出ディスク、樹脂、メンブラン（例えば、プロッティングメンブラン、フィルターメンブラン、P V D Fメンブラン、ナイロンメンブラン、正荷電ナイロンメンブランおよびニトロセルロースメンブランなど）、反応ビーズ（例えば、ガラスビーズおよび磁気ビーズなど）、生体分子のアレイ（例えば、核酸マイクロアレイ、タンパク質アレイおよび組織アレイなど）を含有する堅い平面状固体支持体、顕微鏡スライドガラス、および、それらの組合せ。

10

【0052】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数のバイオプロセッシングチャンバーにおける固体支持体は、ろ紙、フィルターまたはフィルターカセットを含むことができる。ろ紙、フィルターまたはフィルターカセットは、意図された使用のための適切な化学的性質、細孔サイズ、形状および三次元形態（例えば、「V字型」またはロート形状の細孔形態を含めて、対称的または非対称的な三次元形態など）ならびに表面積を有する任意の好適なタイプのフィルターを含むことができ、また、フロースルー、クロスフロー、タンジェンシャルフローまたはそれらの任意の組合せのために構築することができる。ろ紙、フィルターまたはカセットは任意の好適な材料を含むことができる（例えば、ポリエーテルスルホン、ポリエチレン、超高分子量ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、セルロース、セルローストリアセタート、ポリアクリロニトリル、ポリアミド、ガラス繊維、シリカ、ポリスルホンおよびP V D Fなど）。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の処理チャンバーにおける固体支持体は沈殿化メンブランまたは沈殿化フィルターを含むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の処理チャンバーにおける固体支持体は、固相抽出カラム、固相抽出カセットまたは固相抽出ディスクを含むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の処理チャンバーにおける固体支持体はプロッティングメンブランを含むことができる。フィルター、ろ紙またはフィルターカセットは単層フィルターまたは多層フィルターであり得る。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のバイオプロセッシングチャンバーにおける固体支持体は複数のビーズ（例えば、被覆ビーズ、被覆ガラスビーズ、ガラスビーズ、磁気ビーズまたは被覆磁気ビーズなど）を含むことができる。

20

30

【0053】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは開いており、使用者へのアクセスを固体支持体の挿入のために提供する。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは開いており、プロットメンブランを、プロットメンブランホルダーを伴って、または、プロットメンブランホルダーを伴うことなく収容するために構成される。プロットメンブランホルダーは、プロットメンブランがバイオプロセッシングチャンバーの表面の1つに接触または付着することを防止するために使用することができ、また、様々なプロセス流体の流れをプロットメンブランの表面の周りで、また、プロットメンブランの表面の至るところで容易にするために使用することができる。加えて、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは、サンプルの処理期間中における泡立ちに順応するためのさらなる空間を含むことができる。例えば、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーが開いており、プロットメンブランが、プロットメンブランホルダーを伴って、または、プロットメンブランホルダーを伴うことなく、使用者によって挿入される場合、バイオプロセッシングチャンバーは、バイオプロセッシングの期間中に形成され得る泡の流出を防止するために、さらなる空間をチャンバーの上部に提供するためのサイズを有することができる。加えて、バイオプロセッシングチャンバーは、チャンバーが底部よりも上部で広くなるように上部が構成され得る。上部におけるこの増大した幅は、泡形成が存在するならば、泡形成に順応するためのさらなる体積を提供する。

40

50

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは1つまたは複数の流れ制御要素を含むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の流れ制御要素を、ポンプ、プロセスバルブ、チェックバルブ、アクセスバルブ、層パススルーおよび/またはパススルーバルブから選択することができる。いくつかの実施形態において、流れ制御要素の1つまたは複数、バイオプロセッシングカートリッジにおける複数の流体流れ通路の1つまたは複数によって規定される流路の内部に置くことができる。

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは約1個～約10個のポンプを含むことができる（例えば、約1個～約8個のポンプ、約1個～約6個のポンプ、約1個～約5個のポンプ、または、約1個～約4個のポンプなど）。ポンプを、バイオプロセッシングカートリッジまたはバイオプロセッシングカートリッジの少なくとも1つの層に、また、その内部に、または、その表面に含むことができ、あるいは、バイオプロセッシングカートリッジまたはバイオプロセッシングカートリッジの少なくとも1つの層に一体化することができる。ポンプを、プロセス流体をポンプにより、カートリッジにおける複数のプロセス流体通路を介して、プロセス流体容器からカートリッジの中に入れるために、または、カートリッジから出すために使用することができる。いくつかの実施形態において、圧力および/または真空を、ポンプに関連するプロセス流体通路と異なる流体層におけるポンプに関連する制御流体通路を使用してポンプのメンブランに提供することによって、ポンプを作動させることができる。この様式では、ポンプは、ダイアフラムポンプと類似するメンブランポンプを含むことができる。いくつかの実施形態において、ポンプは、作動時、プロセス通路における流体流れが乱流であることを生じさせることができ、一方で、他の実施形態において、通路における流体流れは層流または遷移流であり得る。

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは約1個～約20個のアクセスバルブを含むことができる（例えば、約2個～約18個のアクセスバルブ、約3個～約16個のアクセスバルブ、約4個～約14個のアクセスバルブ、約5個～約13個のアクセスバルブ、約6個～約12個のアクセスバルブ、または、約7個～約10個のアクセスバルブなど）。いくつかの実施形態において、アクセスバルブは、バイオプロセッシングカートリッジへのプロセス流体およびバイオプロセッシングカートリッジからのプロセス流体の出入りを制御し、一般には、バイオプロセッシングカートリッジにおける1つまたは複数のプロセス流体コネクタと直接に流体連結している。いくつかの実施形態において、圧力または真空を、バルブに関連するプロセス流体通路と異なる流体層におけるアクセスバルブに関連する制御流体通路を使用してアクセスバルブのメンブランに提供することによって開閉するために、アクセスバルブを作動させることができ、それにより、バイオプロセッシングカートリッジにおける少なくとも1つのプロセス流体通路と、バイオプロセッシングカートリッジにおけるプロセス流体コネクタとの間における流体連結を開閉することができる。閉じられるとき、アクセスバルブは、プロセス流体がバイオプロセッシングカートリッジの中に流れること、または、プロセス流体がバイオプロセッシングカートリッジから出ることを防止することができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、アクセスバルブを、プロセス流体コネクタと、複数の流体流れ通路のそれぞれとの間における流路のそれぞれの内部に含むことができる。いくつかの実施形態において、複数のプロセス流体コネクタの少なくとも2つがアクセスバルブを共有する。

【 0 0 5 7 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは約1個～約25個のプロセスバルブを含むことができる（例えば、約1個～約22個のプロセスバルブ、約1個～約20個のプロセスバルブ、約1個～約18個のプロセスバルブ、約2個～約16個のプロセスバルブ、約2個～約14個のプロセスバルブ、約3個～約12個のプロセスバルブ、約3個～約10個のプロセスバルブ、または、約3個～約8個のプロセスバルブな

ど)。プロセスバルブは、個々のプロセスに依存して、開けるために作動させることができるか、または、閉じるために作動させることができるかのどちらかである。いくつかの実施形態において、供給されている圧力または真空を、プロセスバルブに関連するプロセス流体通路と異なる流体層における制御流体通路を介してプロセスバルブのメンブランに提供することによって、プロセスバルブを作動させることができる。プロセスバルブは、流体が1つまたは複数のアクセスバルブを介してバイオプロセッシングカートリッジに入った後の適切な時間でプロトコルに従って、バイオプロセッシングカートリッジにおける適切なところに流体を送るために使用することができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、少なくとも1つのプロセスバルブを、ポンプと、バイオプロセッシングチャンバーとの間における流路に含む。

10

【0058】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジはチェックバルブを含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは少なくとも1つのチェックバルブを含むことができる。いくつかの実施形態において、チェックバルブ(1つまたは複数)は、層間における流れを含めて、一方向でバルブを通過する流れを可能にし得るだけであり、また、制御流体通路を経由してバルブメンブランに供給される圧力を介して、または、流れ通路において正しい方向で流れるプロセス流体に関連する圧力を介してその方向での流れのために開くために作動させることができる。いくつかの実施形態において、チェックバルブを、制御流体をバイオプロセッシングカートリッジの2つの異なる層の間において供給するために提供することができる。いくつかの実施形態において、制御流体を、プロセス流体として働かせるために供給することができ、例えば、フィルターまたはメンブランを乾燥させるための空気圧を提供するために、あるいは、ポンプ、通路またはバイオプロセッシングチャンバーにおける残留流体を排出するために供給することができる。いくつかの実施形態において、チェックバルブは、流体がチェックバルブを越えて一方向で流れること、および、流体が層間におけるチェックバルブを越えて一方向で流れることを可能にし得る。いくつかの実施形態において、チェックバルブを越えて両方向で流れることを可能にするが、チェックバルブを越えて、一方向のみで、例えば、バイオプロセッシングカートリッジにおけるプロセス流体層から制御流体層へ、または、制御流体層からプロセス流体層へのどちらかで一方向で流れることを可能にするチェックバルブが提供される。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、プロセスバルブまたはアクセスバルブである少なくとも1つのチェックバルブを含む。

20

30

【0059】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは少なくとも1つの層パススルーまたはパススルーバルブを含むことができる。層パススルーまたはパススルーバルブは、バイオプロセッシングカートリッジにおける異なる流体層の間でのプロセス流体の流れを提供することができる。例えば、バイオプロセッシングチャンバーへの入口が、チャンバーのために意図される流体に関連する所与の流れ通路と異なる流体層にある場合、流れ通路は流体を層パススルーまたはパススルーバルブに向けることができ、この場合、層パススルーまたはパススルーバルブにおいて、流体が、一方の流体層から、プロセッシングチャンバーへの入口に関連する流体層に移され、その後、流体は、他方の流体層におけるプロセス流体通路を介してプロセッシングチャンバーの中に進むことができる。層パススルーは一般に、流体層の間における能動的な流体接続であり、一方で、パススルーバルブは、流体通路自体における圧力によるか、または、制御流体を使用する作動によるかのどちらかで開放または閉鎖のどちらかを行うために作動を要求することによって、1つの層から別の層への流体の流れを制御することができる。

40

【0060】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは1つまたは複数のプロセス流体コネクタを含む。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタは、カートリッジを1つまたは複数の外部の(すなわち、バイオプロセッシングカートリッジ

50

上にない) 流体容器に流体接続するために構成されるチューブまたはチューブ様構造体を含むことができる。流体を、プロセス流体コネクタを介してカートリッジの中に導入することができ、または、カートリッジから取り出すことができ、また、1つまたは複数の流体容器から取り出すことができ、あるいは、1つまたは複数の流体容器の中に取り出すことができ、その後、流体流れ通路を介してバイオプロセッシングカートリッジの様々な部分に輸送することができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは約3個~約30個の間のプロセス流体コネクタを含むことができ、例えば、約4個~約18個のプロセス流体コネクタ、約5個~約16個のプロセス流体コネクタ、約6個~約14個のプロセス流体コネクタ、または、約8個~約12個のプロセス流体コネクタ、あるいは、約3個以上のプロセス流体コネクタ、約4個以上のプロセス流体コネクタ、約5個以上のプロセス流体コネクタ、または、約6個以上のプロセス流体コネクタを含むことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタはバイオプロセッシングデバイスにおけるプロセス流体マニホールドに接続され、このプロセス流体マニホールドを介して、様々なプロセス流体を、複数の流れ通路の1つまたは複数を経由してバイオプロセッシングカートリッジに供給することができ、または、バイオプロセッシングカートリッジから除くことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタのそれぞれが流体を独立した流体容器から受け取る。この場合、それぞれの容器が、別の容器と同じ流体または異なる流体を含有することができる。

10

【0061】

いくつかの実施形態において、プロセス流体コネクタは、プロセス流体コネクタと流体連結していることができる吸引/吐出チューブを介してプロセス流体リザーバーを流体連結していることができ、または、プロセス流体コネクタは吸引/吐出チューブであり得る。バイオプロセッシングデバイスのスロットに置かれるとき、吸引/吐出チューブはカートリッジから流体リザーバーの中に延びることができる。1つの実施形態において、吸引/吐出チューブは、カートリッジがカートリッジスロットの中に挿入されるとき、カートリッジスロットの下方に配置されるリザーバーの中に延びることができる。リザーバーは、流体を保持することができる任意のチューブ、ピン、バイアルまたは類似するリザーバーであり得る。いくつかの実施形態において、リザーバーは、吸引/吐出チューブの先端がリザーバーの中に進入することを可能にし得るが、リザーバーに入るからの外部物質の危険性を低下させることができるか、あるいは、リザーバーからの試薬または流体の喪失を低下させることができる封止層を含むことができる。吸引/吐出チューブは、リザーバー(1つまたは複数)のサイズおよび/または形状に依存して、互いに関して同じ長さまたは異なる長さを有することができる。吸引/吐出チューブを、プロセス流体をリザーバーからカートリッジの中に輸送するために使用することができるが、吸引/吐出チューブはまた、廃液としての流体をカートリッジからリザーバーの1つまたは複数の中に排出するために使用することができる。

20

30

【0062】

加えて、いくつかの実施形態において、吸引/吐出チューブおよびバイオプロセッシングカートリッジ(1つまたは複数)との併用での容器は、バイオプロセッシング期間中におけるプロセス流体のための1つまたは複数の容器または混合容器を収容するために使用することができる。例えば、いくつかの実施形態において、流体を1つのプロセス流体容器から取り出してバイオプロセッシングカートリッジの中に入れることができ、その後、バイオプロセッシングカートリッジから出して異なる容器の中に入れることができる。この様式において、流体はポンプにより、流体の混合を提供するためにバイオプロセッシングカートリッジを使用して、容器の間を行ったり戻ったりすることができる。代替として、いくつかの実施形態において、流体の混合を、何らかの他の流体と一緒にすることなく提供するために、流体を同じ容器から取り出し、同じ容器に戻すことができる。さらに、いくつかの実施形態において、容器の1つまたは複数および容器ホルダー(1つまたは複数)、容器トレイ、ならびに、バイオプロセッシングデバイスは、容器における流体の攪拌を提供するために、例えば、流体を容器において攪拌またはかき混ぜするための磁石攪拌ロッドまた

40

50

は任意の他の好適な攪拌機構などを提供するために構成され得る。

【 0 0 6 3 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、事前に搭載されたか、または、内蔵された 1 つまたは複数のプロセス流体またはプロセス試薬を含むことができる。そのような実施形態において、プロセス流体またはプロセス試薬はカートリッジにおける別個のリザーバーまたはチャンバーに含まれ得るか、あるいは、カートリッジにおける 1 つまたは複数のポンプまたは通路に含まれ得る。いくつかの実施形態において、事前に搭載されたか、または、内蔵されたプロセス流体またはプロセス試薬は、プロセス流体またはプロセス流体の成分を含むことができる。いくつかの実施形態において、事前に搭載されたか、または、内蔵されたプロセス流体またはプロセス試薬は、プロセス流体にさらされた後でプロセス流体に溶解されるプロセス試薬を含むことができる。

10

【 0 0 6 4 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは多回使用のために設計され得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは使い捨て型であってもよく、および / もしくは、特定の使用回数または限定された使用回数のために、例えば、約 20 回以下の使用、約 15 回以下の使用、約 10 回以下の使用、約 9 回以下の使用、約 7 回以下の使用、約 5 回以下の使用、または、約 3 回以下の使用のために設計され得る。いくつかの実施形態において、プロトコルが、多回使用カートリッジの清浄化を再使用の前に備えるために、自動化された制御システムにおいて提供され得る。従って、いくつかの実施形態において、カートリッジは消耗製品であり得る。

20

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは単回使用カートリッジであり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、カートリッジが使用済みおよび / もしくは未使用であるときにシグナルにより知らせるために構成されるインジケータを含むことができる。いくつかの実施形態において、インジケータは、カートリッジが使用済みおよび / もしくは未使用であることを示すための任意の好適なインジケータであり得る。いくつかの実施形態において、インジケータは、好適な場所においてカードに位置するカラーインジケータ（例えば、カラーインジケータチャンバーなどにおけるカラーインジケータ）であり得る。そのようなカラーインジケータは、カートリッジが使用済みであることを示すために、バイオプロセッシング期間中において色を永続的に変化させることができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスの自動化された制御システムは、色の変化を検出し、かつ、使用されたカードがスロットに置かれるときの操作を防止するために構成され得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスの自動化された制御システムは、インジケータの色を、色が変化する前と、色が変化した後との両方で検出するために構成されてもよく、また、これらの色の一方または両方が異なる時間で観測されないときには操作を防止または停止することができる。

30

【 0 0 6 6 】

いくつかの実施形態において、インジケータは吸湿性マトリックスを含むことができる（例えば、白色の吸湿性マトリックスなど、例えば、片側が赤色の色素により含浸され、一方で、反対側が白色であり、その結果、マトリックスが濡れたとき、色素がマトリックス全体に拡散し、白色であった面を赤色の色に変えるようにする紙テープなど）。いくつかの実施形態において、白色面が最初、デバイスの検出器に表示される。その後、検出器は、カートリッジが使用されたときには白色から赤色へのインジケータにおける変化を見ることができる。いくつかの実施形態において、色の変化が、バイオプロセッシングデバイスで使用する液体の一部を、1 片のカラーインジケータテープを含有する別個のチャンバーに向けることによって生じ得る。テープは、テープチャンバー内への流体の流れを可能にするが、流体が色素と相互作用した後では、流体がプロセス流体通路に戻ることを防止するチェックバルブを含むことによって湿ったままであり得る。加えて、インジケータ材料が湿らされ、色素がマトリックス全体に再分布し、それにより、白色面を赤

40

50

色にすると、マトリックスが乾燥した後でさえ、色がマトリックスに留まっている。好適なカラーインジケータータープの一例が米国特許第7,105,225号に記載される(その内容全体が本明細書により参照によって組み込まれる)。加えて、好適なインジケータータープは水接触インジケータ(例えば、3M(登録商標)Water Contact Indicator Tape 5557、同5558または同5559など)を含むことができる。

【0067】

いくつかの実施形態において、水感受性の紙またはテープは、バイオプロセッシングカートリッジの2つの層の間において、かつ、カードが装置から出されるときには顧客によって、また、カートリッジが装置内に挿入されている間は電子的な色センサーによって明瞭に見られることを可能にするチャンバーの中に配置される小さい丸い1片の紙またはテープ(およそ5mm~15mm、例えば、直径が8mm)を含むことができる。カートリッジが運転期間中に使用されるとき、カートリッジに入る第1の液体の少量部分が、そのような紙またはテープを含有するチャンバーに入り、これにより、色の変化を生じさせる。この変化が、運転時間の約20秒未満の後で生じ得る。電子的な色センサー(例えば、組み込まれたLED照明を伴う色センサーなど)をバイオプロセッシングデバイスに埋め込むことができ、例えば、カートリッジスロットに埋め込むことができる。プロトコルを行っているとき、「Run(運転)」ボタンが使用者によって押された後で、色センサーはそのような紙またはテープの色を検出し、そして、正しくない色が検出されるならば、入力を、新しいカードを挿入することを使用者に指示するGUIに送ることができる。いくつかの実施形態において、システムはまた、第2の色検出を運転期間中に可能にし得る。いくつかの実施形態において、第2の色検出を下記のように行うことができる:紙またはテープが変色しているかを明らかにするために、設定された長さの運転時間が行われた後で再び、例えば、約1分~約10分の間(例えば、約2分以上、約3分以上、約4分以上または約5分以上など)で再び、GUIがセンサーに質問する。紙またはテープが変色していないならば、エラーメッセージが表示され、プロトコルが停止される。

【0068】

いくつかの実施形態において、色センサーは色の変化を下記のように決定することができる。校正時、それぞれのセンサーは、標準的な赤色カードおよび標準的な白色カードに応答してシグナルを出力することができる。それらのシグナル(kHz)の間における中間点が、赤色(使用済み)と見なされることと、白色(未使用)と見なされることとの間の分割点であると決定される。この情報が装置のメモリーに永続的に保存され得る。使用者による操作において、この情報が、上記に記載されるような第1の色検出のために使用される。第2の試験のために、別の照合が、設定された期間の後で、例えば、運転に入ってから2分後などで行われ、戻された値が最初の値と比較される。1kHz以上の変化があるならば、カードは、不正な操作が行われていないことが明らかにされ、運転が継続する。この変化が検出されないならば、運転を停止させることができ、使用者には、新しいカートリッジ(1つまたは複数)を挿入することが指示される。

【0069】

いくつかの実施形態において、色センサーは色の変化を下記のように決定することができる。校正期間の期間中、一連の測定が、ベースラインの色レベルを確定するために、設定された時間間隔で行われる。校正期間の後、色の測定が、設定された時点で行われる。それぞれの測定がベースラインレベルに対して比較される。ベースラインの色レベルから約2標準偏差を越える色レベル、ベースラインの色レベルから約3標準偏差を越える色レベル、ベースラインの色レベルから約4標準偏差を越える色レベル、または、ベースラインの色レベルから約5標準偏差を越える色レベルが検出されると、色の変化が起こっていると見なされ、カードは、不正な操作が行われていないと見なされ、運転が継続する。標準偏差の適切な数字によって決定されるような色の変化が起こっていないならば、運転を停止させることができ、使用者には、新しいカートリッジ(1つまたは複数)を挿入することが指示される。

【0070】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、カートリッジに一体化されている1つまたは複数のポンプ、バルブ、プロセス流体通路および/または制御流体通路を含むことができ、例えば、カートリッジの1つまたは複数の層に含まれる1つまたは複数のポンプ、バルブ、プロセス流体通路および/または制御流体通路を含むことができる。いくつかの実施形態において、プロセス流体通路および/または制御流体通路は、堅い流れ通路であり、あるいは、1つまたは複数の堅い壁を有する。通路は任意の好適な断面形状であり得る。そのような断面形状には、円形、楕円形、正方形、長方形、D形状および任意の他の好適な多角形断面が含まれる。いくつかの実施形態において、通路の1つまたは複数は、D形状の断面、あるいは、正方形または長方形の断面を有することができ、この場合、(D形状の断面については)通路の実質的に半円形部分、または、(正方形または長方形の断面については)通路の3つの面が、堅い壁を有し、そして、通路の平坦部分(D形状)または通路の第4の面が、堅い壁と同じ材料または異なる材料であってもよいフィルムで、柔軟であってもよく、または、堅い壁のために使用される材料よりも堅くなくてもよく、または、堅い壁のために使用される材料よりも堅くてもよいフィルムから形成される。いくつかの実施形態において、柔軟な材料、または、それほど堅くない材料は、柔軟な材料、または、それほど堅くない材料の固有的な材料特性の結果としてではなく、むしろ、その厚さの結果として、柔軟であり、または、それほど堅くない。例えば、いくつかの実施形態において、プロセス流体通路または制御流体通路の1つまたは複数は、D形状または正方形または長方形の断面を有することができ、この場合、通路の1つまたは複数の平坦な面(D形状の断面)または面の1つ(正方形または長方形の断面)が金属またはプラスチックのフィルムまたはホイルを含み、1つまたは複数の通路の他の面がプラスチックを含む。いくつかの実施形態において、プロセス流体通路および/または制御流体通路は柔軟な配管でない。

10

20

【0071】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、規則的な形状(例えば、長方形、正方形、あるいは、一般には長方形、または、一般には正方形)を有することができ、一方で、他の実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、より複雑な多角形形状を有することができ、または、形状が一般に多角形であり得るか、または、不規則な形状であり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、突出部(これには、プロセス流体コネクタ、制御流体コネクタおよび吸引/吐出チューブなどの突出部が含まれるが、これらに限定されない)の結果としての、バイオプロセッシングカートリッジの大きさに対する何らかの増加を除いて、約5cmよりも長い少なくとも1つの大きさを有することができ、例えば、約6cm~約40cmの間である少なくとも1つの大きさ、例えば、約7cm~約37cmの間、約8cm~約35cmの間、約9cm~約30cmの間、約10cm~約25cmの間、約11cm~約22cmの間、約12cm~約21.5cmの間、約12cm~約20cmの間、約12cm~約18.5cmの間、約14cm~約18.5cmの間などである少なくとも1つの大きさを有することができ。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは一般に平坦であってもよく、この場合、他の大きさの1つまたは両方よりも実質的に短い少なくとも1つの大きさ(「深さ」)を有する。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、上記で測定されるような最長大きさの約50%未満である深さを有し、例えば、最長大きさの約40%未満、最長大きさの約30%未満、最長大きさの約25%未満、最長大きさの約20%未満、最長大きさの約15%未満、最長大きさの約10%未満、または、最長大きさの約7.5%未満などである深さを有する。

30

40

【0072】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、カートリッジが正しい配向でカートリッジスロットの中に挿入されることを保証するための1つまたは複数のカートリッジアラインメントガイドを含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジアラインメントガイドは、カートリッジがカートリッジスロットの中に挿

50

入される際にカートリッジスロットにおける対応する開口部の中に嵌るタブ（１つまたは複数）または突出（１つまたは複数）あるいは溝（１つまたは複数）であり得る。

【００７３】

III. バイオプロセシングの方法

いくつかの実施形態において、バイオプロセシングの方法は、固体支持体を含有する少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバー、および、バイオプロセシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび／またはミクロスケールの流体流れ通路を含むバイオプロセシングカートリッジを提供すること、そして、少なくとも１つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも１つを介して少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバーの中にポンプ送出的ことを含む。いくつかの実施形態において、ポンプ送出的ことは、１つまたは複数のプロセス流体および／またはサンプルを前記プロセシングチャンバーの中にポンプ送出し、固体支持体と接触させることを含む。カートリッジにおいて固体支持体に送達されるプロセス流体は、化学反応のために使用される液体試薬、洗浄のために使用される溶媒または溶液、抗体溶液、緩衝剤溶液、ブロッキング緩衝剤溶液、および、蛍光性の標識化試薬を含有する溶液（これらに限定されない）を含めて、所望されるバイオプロセスにおける使用のための任意の好適な溶媒、溶液または試薬であり得る。プロセス流体はまた、処理されるべきサンプル（例えば、タンパク質、核酸および他の高分子、細胞、細胞溶解物、ならびに、これらの組合せなど）を含むことができる。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの処理用流体は少なくとも１つのブロッキング緩衝剤を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの処理用流体は少なくとも１つの抗体を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの処理用流体は少なくとも１つの洗浄流体を含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセシングの方法は、細胞をポンプ送出的の前に前処理することを含むことができる。いくつかの実施形態において、細胞を前処理することは、塩を細胞に加えることを含むことができる（例えば、 NaCl 、 MgCl_2 、 CaCl_2 および NH_4Cl など）。細胞を、プラスミド収量を増大させるために細胞を前処理するための任意の好適な方法を使用して前処理することができる。いくつかの実施形態において、塩溶液の濃度は、収量を改善するための任意の好適な濃度であり得る（例えば、約 0.1 M ~ 約 0.5 M の間の濃度、約 0.2 M ~ 約 0.5 M の間の濃度）。いくつかの実施形態において、塩濃度は、プラスミド収量を少なくとも 20 % 増大させるための、プラスミド収量を少なくとも 30 % 増大させるための、プラスミド収量を少なくとも 40 % 増大させるための、プラスミド収量を少なくとも 50 % 増大させるための、プラスミド収量を少なくとも 55 % 増大させるための、プラスミド収量を少なくとも 65 % 増大させるための任意の好適な濃度であり得る。

【００７４】

いくつかの実施形態において、少なくとも１つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも１つを介して少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバーの中にポンプ送出的ことは、少なくとも１つのプロセス流体を、チャンバーの底部部分につながる流れ通路を介してポンプ送出的することを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも１つを介して少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバーの中にポンプ送出的ことは、少なくとも１つのプロセス流体を、チャンバーの上部部分につながる流れ通路を介してポンプ送出的することを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも１つを介して少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバーの中にポンプ送出的ことは、チャンバーの側面部分につながる流れ通路を介してポンプ送出的することを含む。

【００７５】

いくつかの実施形態において、少なくとも１つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも１つを介して少なくとも１つのバイオプロセシングチャンバーの中にポンプ送出的ことは、少なくとも１つのプロセス流体を、チャンバーの底部部分につながる流れ通路を介してバイオプロセシングチャンバーから、チャンバーの上部部分につながる流れ通路を介してチャンバーの中に戻して循環することを含む。

【0076】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送することは、少なくとも1つのプロセス流体を、チャンバーの上部部分につながる流体流れ通路を介してバイオプロセッシングチャンバーから、チャンバーの底部部分につながる流体流れ通路を介してチャンバーの中に戻して循環することを含む。

【0077】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送することは、少なくとも1つのプロセス流体を、チャンバーの側面部分につながる流体流れ通路を介してバイオプロセッシングチャンバーから、チャンバーの底部部分につながる流体流れ通路を介してチャンバーの中に戻して循環することを含む。

【0078】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送することは、少なくとも1つのプロセス流体をポンプ送して、少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーにおいてフィルターまたはフィルターメンブランに通すことを含む。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランはプロットメンブランを含む。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランはウエスタンプロットメンブランを含む。いくつかの実施形態において、フィルターは細胞分離メンブランまたは細胞捕獲メンブランを含む。いくつかの実施形態において、フィルターは溶解物清澄化フィルターを含む。いくつかの実施形態において、フィルターは核酸沈殿化フィルターを含む。いくつかの実施形態において、フィルターは核酸精製フィルターを含む。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランの1つまたは複数、あるいは、フィルターメンブランの1つまたは複数の層は、約0.2 μm ~ 約3 μm の間、約0.45 μm ~ 約2.5 μm の間、約0.5 μm ~ 約2.4 μm の間、約0.65 μm ~ 約2.2 μm の間、約0.8 μm ~ 約2.0 μm の間、約1.0 μm ~ 約1.5 μm の間、または、約1.2 μm ~ 約1.5 μm の間である少なくとも1つの細孔サイズを有する。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランは、2つの層を有する細胞分離フィルターまたは細胞捕獲フィルターを含み、この場合、1つの層が約1.0 μm ~ 約1.5 μm の間（例えば、約1.2 μm など）の細孔サイズを有し、1つの層が約0.5 μm ~ 約0.8 μm の間（例えば、約0.65 μm など）の細孔サイズを有する。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランは、2つの層を有する核酸沈殿化フィルターを含むことができ、この場合、1つの層が約1.0 μm ~ 約1.5 μm の間（例えば、約1.2 μm など）の細孔サイズを有し、1つの層が約0.5 μm ~ 約0.8 μm の間（例えば、約0.65 μm など）の細孔サイズを有する。いくつかの実施形態において、フィルターメンブランは、約0.65 μm から約2 μm にまで及ぶ細孔サイズを有する非対称的なフィルターを含むことができる細胞分離フィルターまたは細胞捕獲フィルターあるいは核酸沈殿化フィルターを含むことができる。いくつかの実施形態において、フィルターは、約0.8 μm ~ 約1.5 μm の間（例えば、約1.0 μm など）の細孔サイズを有するガラス繊維の溶解物清澄化フィルターを含むことができる。

【0079】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送することは、ブロッキング緩衝液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、前記ブロッキング緩衝液を、プロットメンブランの表面を横切って再循環して、ブロッキング処理されたプロットメンブランを形成すること、少なくとも1つの抗体溶液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、および、前記少なくとも1つの抗体溶液を、前記ブロッキング処理されたプロットメンブランの表面を横切って再循環することを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの抗体溶液を、前記ブロッキング処理されたプロットメ

10

20

30

40

50

ンブランの表面を横切って再循環することは、一次抗体溶液を、前記ブロッキング処理されたプロットメンブランの表面を横切って再循環すること、プロットメンブランを洗浄すること、二次抗体溶液をバイオプロセッシングチャンバーに加えること、および、前記二次抗体溶液を、前記洗浄されたプロットメンブランの表面を横切って再循環することを含むことができる。

【0080】

いくつかの実施形態において、ポンプ送出するという作用は、バイオプロセッシングチャンバーの内部におけるさらなる混合を提供することができる。例えば、いくつかの実施形態において、プロセス流体が、チャンバーの上部部分または側面部分につながる流体流れ通路を介して循環または再循環され、チャンバーの底部部分につながる流体流れ通路を介してチャンバーの中に戻される場合、チャンバーに入るか、または、チャンバーの中に戻るポンプ作動作用に伴う圧力が、バイオプロセッシングチャンバーを通り抜けるプロセス流体の流れおよびチャンバーの内部におけるプロセス流体の混合を促進させる局所的な渦形成または乱流領域の形成を生じさせることができる。いくつかの実施形態において、そのようなポンプ作動方法が、プロットメンブランホルダーを伴って、または、プロットメンブランホルダーを伴うことなく、プロットメンブランの存在下で使用されるとき、ポンプ作動作用は、プロットメンブランをそれぞれのポンプ作動サイクルによりバイオプロセッシングチャンバーの内部においてわずかに移動させるために役立ち得る。このことは、プロットメンブランが実質的に均一な様式でプロセス流体にすべての面でさらされることを保証するために、また、プロットメンブランがバイオプロセッシングチャンバーまたはプロットメンブランホルダーの表面に付着することを防止するために役立つ。

10

20

【0081】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することは、少なくとも1つの処理用流体をポンプ送出して、少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーにおいて、少なくとも1つの固相抽出カラム、少なくとも1つの固相抽出メンブラン、少なくとも1つの固相抽出カセットまたは少なくとも1つの固相抽出ディスクに通すことを含む。いくつかの実施形態において、固相抽出カラム、固相抽出メンブラン、固相抽出カセットまたは固相抽出ディスクは、可逆的なシリカ結合性リガンド、または、電荷交換 (charge-switch) 結合性リガンドを含む。

30

【0082】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つのプロセス流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することは、細胞培養培地、または、溶液に懸濁される細胞を、細胞分離フィルターを通り抜けるようにポンプ送出して、細胞を細胞培養培地から分離することを含み、この場合、細胞がフィルターに捕獲される。いくつかの実施形態において、ポンプ送出することはさらに、捕獲された細胞を溶解溶液に再懸濁して、溶解物を形成すること、溶解物を中和すること、および、溶解物を清澄化することを含むことができる。細胞を溶解溶液に再懸濁し、チャンバーにおいて溶解することができ、あるいは、溶解溶液または別の溶液を使用して、細胞を再懸濁し、細胞をポンプにより、細胞が溶解され得る容器 (例えば、溶解溶液を含有する試薬容器など) の中に入れることができる。いくつかの実施形態において、溶解物は、望まれない細胞分子および細胞破片を除くために、溶解物をポンプによりフィルターメンブランに通すことによって清澄化することができる。

40

【0083】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つの処理用流体を、複数の通路の少なくとも1つを介して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することはさらに、少なくとも1つの生体分子をバイオプロセッシングチャンバーにおいて固相抽出用のメンブランまたはディスクまたはカセットに抽出すること、固相に結合する物質を洗浄すること、および、生体分子を固相から溶出することを含むことができる。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの処理用流体を、複数の通路の少なくとも1つを介

50

して少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出することはさらに、生体分子を、沈殿化フィルターを含有するバイオプロセッシングチャンバーにおいて沈殿させ、回収することを含む。

【0084】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングの方法は、a) 少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジをバイオプロセッシングデバイスの中に挿入すること（ただし、バイオプロセッシングカートリッジは、i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、および、ii) バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、b) バイオプロセッシングプロトコルをバイオプロセッシングデバイスに対して開始すること（ただし、プロトコルは下記の1つまたは複数を含む：i) バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを1つまたは複数の容器から少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーに供給するために制御すること、ii) バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーを通り抜けるように再循環するために制御すること、ならびに/あるいは、iii) バイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを、試薬および/またはサンプルを少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジのそれぞれの少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーから除くために制御すること）を含むことができる。

10

20

【0085】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法は、a) 少なくとも1つのバイオプロセッシングカートリッジをバイオプロセッシングデバイスの中に挿入すること（ただし、バイオプロセッシングカートリッジは、i) 固体支持体をその中に含有する少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバー、および、ii) 前記バイオプロセッシングチャンバーと流体連結している複数のメソスケールおよび/またはミクロスケールの通路を含む）、および、b) ポンプ作動シーケンスをカートリッジに対して行うこと（ただし、ポンプ作動シーケンスは、流体がバイオプロセッシングデバイス内の1つまたは複数の容器から流体流れ通路の1つを介してチャンバーの中にポンプ送出される1回または複数回の流体添加サイクルに入ることを含む）を含むことができる。

30

【0086】

いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスはさらに、バイオプロセッシングチャンバー内の流体を指定された廃液容器の中にポンプ送出することを含む、それぞれの流体添加サイクルの後でのパージ処理サイクルに入ることを含むことができる。いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスはさらに、流体添加サイクルのいずれかの後での循環サイクルに入ることを含むことができ、この場合、循環サイクルは、バイオプロセッシングチャンバーの底部に接続される流体流れ通路におけるバルブを開けること、および、流体をポンプにより、チャンバーの底部部分から、1つまたは複数の流体流れ通路に通し、チャンバーの上部部分の中に入れることを含む。いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスを、プログラム可能なコントローラーを使用して開始および停止させることができる。

40

【0087】

いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスが、1回または複数回の流体添加サイクルに入ることを含めて行われ、この場合、流体が、プロセス流体コネクタの1つと流体連結している容器からチャンバーの中にポンプ送出される。容器のいずれかにおける流体、または、流体添加サイクルのいずれかの期間中に添加される流体は、それ以外の容器のいずれかにおける流体、または、流体添加サイクルのいずれかの他の期間中に添加される流体と同じまたは異なることが可能である。ポンプ作動シーケンスはさらに、流体添加サイクルのいずれかの後でのパージ処理サイクルを行うことを含むことができ、この

50

場合、チャンバー内の流体がポンプにより、チャンバーから出され、廃液容器の中に、または、廃液流体を集めるために指定される容器の中に入れられる。いくつかの実施形態において、多数のリザーバーからの流体を同じ流体添加サイクルの期間中に加えることができ、または、その後の流体添加サイクルが、パージ処理サイクルを行うことなく行われ、その結果、2つ以上の流体を同時にチャンバーに対して導入することができる（だが、添加された流体の総体積はチャンバー内の利用可能な体積を越えることができない）。ポンプ作動シーケンスはさらに、流体添加サイクルのいずれかの後での循環サイクルに入ることを含むことができ、この場合、チャンバー内の流体がポンプにより、チャンバーから、カートリッジの1つまたは複数のプロセス流体通路を通り、チャンバーの中に戻される。

【0088】

10

いくつかの実施形態において、流体添加サイクルを、事前に決定された量の時間経過の後で、または、事前に決定された体積の流体が添加された後で停止させることができる。同様に、パージ処理サイクルおよび循環サイクルを、事前に決定された時間経過の後で停止させることができる。経過した時間の量、および/または、添加された流体の量は、バイオプロセッシングの選択されたプロトコルまたはタイプに依存して変化し得る。いくつかの実施形態において、プロトコルは少なくとも1つの循環サイクルまたはインキュベーションサイクルを含むことができ、この場合、固体支持体が、流体を循環することを伴う選択された期間にわたって、または、流体を循環することを伴わない保持期間にわたってそのどちらかで1つまたは複数のプロセス流体にさらされる。

【0089】

20

いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスが、ウエスタンブロット分析のための免疫標識化、リンス洗浄およびインキュベーションのために設計され得る。そのような実施形態において、分離されたタンパク質を含有するプロットメンブラン（例えば、例として、ニトロセルロースメンブランまたはポリビニリデンフルオリド（PVDF）メンブランなど）が、メンブランをチャンバーの壁のいずれにも付着させることなく、チャンバーおよびメンブランを通り抜ける流体の流れを提供するメンブランホルダーを使用してカートリッジチャンバーに置かれ、カートリッジがバイオプロセッシングデバイスに置かれる。抗体溶液を、適切なブロッキング溶液および洗浄溶液と同様に、バイオプロセッシングデバイスにおける流体容器から、カートリッジ、および、メンブランを含有するチャンバーに加えることができる。ポンプ作動シーケンス、継続期間、および、使用される溶液が、具体的な分析および関与するタンパク質に依存して選択され、また、それらは使用者によって変更することができる。

【0090】

30

いくつかの実施形態において、ポンプ作動シーケンスが、分子を、標識またはタグ（例えば、蛍光性タグ、例えば、量子ドットまたは蛍光色素（例えば、Alexa Fluor（登録商標）色素など）など）を使用してウエスタンブロット分析のために標識することのために設計され得る。標識を含有する溶液をバイオプロセッシングデバイスにおける流体容器からカートリッジに加えることができる。ポンプ作動シーケンス、継続期間、および、使用される溶液が、具体的な分析および関与するタンパク質に依存して選択され、また、それらは使用者によって変更することができる。

【0091】

40

別の実施形態において、ポンプ作動シーケンスが、トランスフェクション品位のプラスミド調製のために設計され得る。溶液または細胞培養培地における細菌細胞が、適切なバイオプロセッシングカートリッジを含有するバイオプロセッシングデバイスにおいてサンプル容器に置かれる。細胞が、デバイスを使用して、細胞をポンプにより、カートリッジチャンバーにおいてフィルターを通過することによってフィルターに捕獲される。細胞が再懸濁され、溶解溶液（例えば、1つまたは複数のアルカリ溶液など）を使用して溶解され、溶解物が、溶解物をポンプにより、異なるカートリッジチャンバーにおいて別のフィルターに通すことによって清澄化される。清澄化された溶解物が固相抽出ディスクに通され、その後、廃液容器に至る。固相抽出ディスクは少なくとも1回洗浄され、その後、結合し

50

た生体分子が固相抽出ディスクから溶出される。溶出された生体分子が沈殿化フィルターに捕獲され、少なくとも1回洗浄され、その時点で、沈殿した生体分子が、適切な緩衝液に溶解され、バイオプロセッシングデバイスにおける最終的な生成物容器の中にポンプ送出される。

【0092】

別の実施形態において、ポンプ作動シーケンスが、食品の安全性分析のために設計され得る。サンプルを、適切なバイオプロセッシングカートリッジを含有するバイオプロセッシングデバイスにおいてサンプル容器に置くことができる。細菌細胞をより大きな破片から分離することができ、細菌細胞が、デバイスを使用して、ポンプにより、カートリッジチャンバーにおいてフィルターに通すことによってフィルターに捕獲される。細菌を、溶解溶液を使用して溶解することができ、溶解物を、溶解物をポンプにより、異なるカートリッジチャンバーにおいて別のフィルターに通すことによって清澄化することができる。清澄化された溶解物を固相抽出ディスクに通すことができ、その後、廃液容器に送ることができる。固相抽出ディスクは少なくとも1回洗浄することができ、その後、結合したDNAが固相抽出ディスクから溶出され、バイオプロセッシングデバイスにおける最終的な生成物容器の中にポンプ送出される。

10

【0093】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法はさらに、流体流れ通路に入る流体の量、または、流体流れ通路から出る流体の量を選択的に制御するために、プロセス流体コネクタにつながるアクセスバルブを独立して開閉することを含むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の流体を固体支持体に適用する方法はさらに、多数のカートリッジをカートリッジスロットの中に挿入すること、および、ポンプ作動シーケンスをカートリッジのそれぞれに対して行うことを含み、この場合、それぞれのカートリッジに対して行われるポンプ作動シーケンスは、いずれか他のカートリッジに対して行われるポンプ作動シーケンスと同じまたは異なる。いくつかの実施形態において、カートリッジのそれぞれに対して行われるポンプ作動シーケンスが同時に行われる。

20

【0094】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングの方法のいずれかを、バイオプロセッシングデバイスに対する完全なバイオプロセッシングプロトコルの一部として、または、バイオプロセッシングデバイスに対する完全なバイオプロセッシングプロトコルとして保管することができる。いくつかの実施形態において、保管されたプロトコルはさらに、バイオプロセッシングカートリッジに対する各工程ならびにバルブの開閉シーケンスおよびポンプのポンプ作動シーケンスのための時間設定を表す詳細を含むことができる。

30

【0095】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイスおよびバイオプロセッシングカートリッジは下記のように使用することができる：バイオプロセッシングデバイスを作動させ、そして、圧力および真空の様々な接続および供給を調べることができ、分析またはバイオプロセッシングされるための1つまたは複数のサンプルが、必要に応じて試薬容器および廃液容器における試薬と一緒に、1つまたは複数の流体容器ホルダーの中に挿入される。1つまたは複数の流体容器ホルダーは、取り外し可能な流体容器トレーに置かれ、トレーがバイオプロセッシングデバイスの中に押し込まれる。1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジがバイオプロセッシングデバイスのスロットの中に挿入され、流体容器ホルダーにおける流体容器との流体連結の状態に置かれる。この流体連結は、それぞれのスロットにおける流体マニホールドを介して達成することができ、または、それぞれのバイオプロセッシングカートリッジに接続される吸引/吐出チューブを流体容器の中に挿入することによって達成することができる。スロットはカートリッジを所定位置に保持し、そして、制御流体マニホールドが、カートリッジにおける制御流体コネクタをかみ合わせ、これをマニホールドにおける供給コネクタに促すスロット内の袋状物を膨張させるこ

40

50

とによってカートリッジに接続される。デバイスは、安全性の問題または接続エラーが全くないことを確認するためにシステムチェックを行う。G U I および入力システムを使用して、操作者はバイオプロセッシングプロトコルを保管されているプロトコルのメニューから選択し、または、プロトコルをデバイスの自動化された制御システムに入力することができる。選択または入力されたプロトコルは、1つまたは複数のバイオプロセッシング手順の工程を行うためにバイオプロセッシングカートリッジにおけるポンプおよびバルブを制御するための命令を含む。手順が完了した後、デバイスは、手順が完了していることを操作者に知らせるためのアラームまたはシグナルを提供することができる。カートリッジをデバイスから取り出し、廃棄することができ、そして、流体容器および流体容器ホルダーを取り外し可能な流体トレイとともに取り出し、必要に応じて、清浄化および/または廃棄することができる。

10

【0096】

上記プロセスは、本明細書中に記載される方法の範囲から逸脱することなく、1つまたは複数の工程が除かれ、または、加えられること、あるいは、1つまたは複数の工程の順序が変えられることを含めて、改変され得ることを理解しなければならない。

【0097】

図1Aを参照して、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイス100は、任意の好適な材料（例えば、プラスチック、金属、複合材料またはそれらの任意の組合せなど）から組み立てることができる筐体10を有しており、筐体10は、デバイスの様々な構成成分を収容するために設計される。いくつかの実施形態において、筐体10は、プラスチック被覆により覆われるシート金属シャシを含むことができる。シート金属シャシは、構造的一体性を装置に提供することができ、かつ、E M I 放射を制限することができ、そして、電源のためのヒートシンクとして働くことができる任意の好適なシート金属であり得る（例えば、アルミニウムシートシャシなど）。プラスチック被覆を任意の好適なプラスチック（例えば、ウレタンなど）から組み立てることができ、プラスチック被覆は、内部の構成成分のための基礎的保護、および、掃除が容易な表面を提供することができる。筐体10は開口部17をデバイス内のスロット13へのアクセスのために含む。

20

【0098】

図1Aに示されるように、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングデバイス100は、カートリッジ12がそれぞれのスロット13の中に挿入されている2つのスロット13を有する。一般に、バイオプロセッシングデバイスは任意の好適な数のスロットを有することができ、例えば、約1個～約20個のスロット、例えば、約2個～約15個のスロット、約3個～約12個のスロット、約4個～約10個のスロット、約6個～約8個のスロットを有することができる。いくつかの実施形態において、1つのカード12および1つのスロット13のみを運転の期間中に使用することができる。いくつかの実施形態において、どのスロット13も、運転期間中、カートリッジ12とともに使用することができる。一般に、操作者は、キーパッド18を使用して、デバイスを作動させることができ、また、デバイスと対話して、例えば、デバイスに含まれるコンピューター制御システムまたは中央処理ユニットなどとの対話して、状態情報、指示情報、プロトコル選択情報、プロトコル作製情報、プロトコル保管情報および任意の他の好適な情報を操作者に提供することができるグラフィカル・ユーザー・インターフェース（G U I ）15との併用で、様々な選択肢を選択し、かつ、様々な機能を行い、あるいは、命令もしくは質問を提供し、および/または、命令もしくは質問に回答することができる。加えて、G U I は、必要とされるならば、プロトコルを運転前または運転期間中に無効にするために使用することができる。G U I 15は任意の好適な表示デバイスであり得る（例えば、液晶ディスプレイ（L C D ）タッチスクリーン、発光ダイオード（L E D ）またはブラウン管（C R T ）など）。

30

40

【0099】

図1Bは、正面から見たときの、バイオプロセッシングデバイス100の代替実施形態を示す。バイオプロセッシングデバイス100は、スロット112の中に挿入されるバイオブ

50

ロセシングカートリッジ 102 を有する。図 1 B に示されるように、バイオプロセシングデバイス 100 はまた、GUI 104、キーパッド 106、取っ手 108 を有する引出し 114 を含み、これらのそれぞれがシャシ 110 に組み込まれ得るか、または、シャシ 110 によって囲まれ得る。

【0100】

図 1 C は、使用者への情報（例えば、プロトコル情報または状態、運転情報、プロトコル詳細、プロトコル選択および他の選択肢など）を表示するための GUI 104 を含むバイオプロセシングデバイス 100 の代替実施形態を示す。いくつかの実施形態において、デバイス 100 は、1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つ以上のスロット 112（これらにはすべて、装着することができ、および / または、これらはすべて、同じときに、すなわち、同時に使用することができる）を伴って構成され得る。バイオプロセシングデバイス 100 はまた、デバイスに対する選択肢を入力および選択するための GUI 104 におけるキーパッド 106 と、取っ手 108 を有する引出し 114 とを含むことができ、これらのそれぞれがシャシ 110 に組み込まれ得るか、または、シャシ 110 によって囲まれ得る。図 1 D は、キーパッド 106 を伴う GUI 104、引出し 114、取っ手 108、および、取り囲むシャシ 110 を有する、正面から見たときの図 1 C のバイオプロセシングデバイス 100 を示す。

【0101】

図 2 A は、カートリッジ 210 がその中に挿入されているバイオプロセシングデバイス 200 の 1 つの実施形態の背面図を示す。バイオプロセシングデバイス 200 は、デバイスからの情報（例えば、プロトコルの運転情報、あるいは、デバイスにインストールされ得る自己診断用のソフトウェアまたはファームウェアからのデバイスサービス情報など）を適合し得る記憶デバイスにダウンロードするために操作者または技術者によって使用され得るユニバーサル・サービス・バス（USB）ポート 220 を有する。代替として、USB ポート 220 は、ソフトウェアまたはファームウェアの更新およびパッチ、あるいは、さらなるプロトコルをデバイス内のコンピューター制御システムに対してアップロードするために使用することができる。バイオプロセシングデバイス 200 はまた、デバイスを外部の空気供給に接続するための屋内空気コネクタまたは補助空気コネクタ 225、および、デバイスを電力源（例えば、DC 電源または AC 電源）に接続するための電力接続部 230 を含むことができる。デバイス 200 のいくつかの実施形態において、コンプレッサおよび真空ポンプをデバイス内に含むのではなく、屋内空気および / または屋内真空を使用することができる。

【0102】

カートリッジ 210 がスロット 212 の中に挿入されるデバイスの代替実施形態の背面透視図が図 2 B に示される。図 2 B に示されるデバイスはまた、電源スイッチ 218、電源コードスロット 235、ならびに、空気、真空および / または他のユーティリティーをバイオプロセシングデバイス 200 に供給するために使用され得るユーティリティー接続部 216 を示す。図 2 C は、USB ポート 216、電源コードスロット 235、および、必要に応じて使用されるリザーバー排液接続部 212 を有するバイオプロセシングデバイス 200 の代替背面図を示す。

【0103】

図 3 A は、プロセスのプロトコル選択工程 330 におけるバイオプロセシングデバイスの 1 つの実施形態のキーパッド 310 および GUI 320 の 1 つの実施形態の図を示す。示されるように、使用者は、システムに事前に搭載された多数のプロトコルの 1 つを選択することを選ぶことができる。1 つまたはそれ以上のプロトコル、2 つ以上のプロトコル、3 つ以上のプロトコル、5 つ以上のプロトコル、10 以上のプロトコル、あるいは、GUI 320 のメモリーに搭載され得る任意の他の好適な数のプロトコルを含めて、任意の数の事前に搭載されたプロトコルをデバイスとともに含むことができ、GUI 320 に表示することができる。いくつかの実施形態において、事前に搭載されたプロトコルが使用者によって編集または変更され得る。加えて、使用者が定義するパラメーターを有するプ

10

20

30

40

50

ロトコルをGUI 320に入力することができる。システムはまた、タイムスタンプ325を含むことができる。キーパッド310は、GUI 320において指図するための、また、GUI 320における異なるウィンドウに指図するための方向ボタン335、ならびに、利用可能なウィンドウおよび命令/機能に依存する様々な選択肢を選択するための選択ボタン340を提供する。

【0104】

図3Bは、バイオプロセッシングプロトコルの運転が進行中である間におけるバイオプロセッシングデバイスの1つの実施形態のキーパッド310およびGUI 320の1つの実施形態の図を示す。示されるように、Western Breezeプロトコル335が選択されており、ブロッキング工程337が完了し、30分の一次抗体工程338が進行中である。行われる予定であるさらなる工程341が、それぞれのさらなる工程について設定される運転時間343とともに表示され得る。また、このスクリーンにおいて作動中であるものが、プロセスの一時停止または停止をそれぞれ行うための選択ボタン342および選択ボタン344である。さらなる選択ボタン343を、図3Bに示されるように提供することができる。これらは、工程のパラメーターを変更するために、または、現在の工程のための運転時間が完了する前に次の工程に進めるために、または、工程を取り消すために、または、運転を取り消すために使用することができる。あるいは、任意の他の好適な機能のために使用することができる。プロトコル全体のための継続時間350、プロトコルにおける工程の数360、および、現在のプロトコルに対する残り時間または経過時間355もまた、GUI 320のスクリーンに示すことができる。自動化された制御システムは、バイオプロセッシングデバイスおよびそれに挿入されるカートリッジに対する任意の好適なプロトコルを入力し、運転させ、制御し、かつ、記録するために、工程継続期間、工程のシーケンス、工程のタイプ、工程の数、表示選択肢、アラーム選択肢および任意の他の好適なパラメーターのいずれかを変更することを備えることができる。

【0105】

図4は、バイオプロセッシングデバイス400の1つの実施形態および関連する構成成分の部分分解図を例示する。2つのスロット412を有し、2つのカートリッジ414が、デバイスのスロット412の中に配置される状態にあるデバイス400が示される。2つのカートリッジは、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つまたは少なくとも4つの処理チャンバー440を、プロトコル運転の様々な工程を行うために含むことができる。カートリッジ412はさらに、デバイス400の流体リザーバー444と連絡（好ましくは、流体連結）しているシッパー（sipper）442を含むことができる。デバイス400の引出し418は取っ手416を含むことができ、開けられた位置で示される。引出しスライド456を、引出し418の開閉を容易にするために使用することができる。いくつかの実施形態において、スライド456を引出しの底部に沿って置くことができ、または、代替として、引出しの側面に沿って置くことができる。引出しは、カートリッジ414におけるシッパー442による正しいアラインメントのために、装置において流体リザーバートレー446および廃液容器448をアラインメントするための支持体454を有することができる。引出しは、いくつかの実施形態では、少なくとも1つの流体リザーバートレー446および廃液容器448を収容することができる。サンプル容器450を廃液容器448の中に挿入することができる。流体リザーバートレー446はまた、廃液容器448において配置することができ、また、少なくとも1つの試薬を含有し、閉じ込めるための少なくとも1つの試薬リザーバー447を含むことができる。流体リザーバートレー446はさらに、精製されたサンプルがその中に回収され得る回収チューブ452を保持するために構成され得る。

【0106】

図5は、外側の筐体を取り外されたバイオプロセッシングデバイス500の1つの実施形態を示す。バイオプロセッシングデバイス500は、処理期間中に必要とされるような真空または吸引を、吸引/吐出チューブ517をスロット520およびカートリッジホルダー525に有するバイオプロセッシングカートリッジ515に供給するために、少なくとも1

10

20

30

40

50

つの真空リザーバー 5 0 5 および / または少なくとも 1 つの真空ポンプ 5 1 0 を含むことができる。同様に、バイオプロセッシングデバイス 5 0 0 は、空気圧を処理期間中にバイオプロセッシングカートリッジ 5 1 5 に供給するために、少なくとも 1 つの圧力リザーバー 5 3 0 および / または少なくとも 1 つのコンプレッサー 5 3 5 を含む。いくつかの実施形態において、真空リザーバー 5 0 5、真空ポンプ 5 1 0、圧力リザーバー 5 5 0 およびコンプレッサー 5 3 5 のうちの少なくとも 1 つが、配管あるいは他の好適な真空コネクタまたは圧力コネクタを使用してカートリッジ 5 1 5 と流体連結している。いくつかの実施形態において、ディフューザーが、カートリッジに送達されている圧力 / 吸引のレベルを自己調節するために、真空コネクタまたは圧力コネクタと連絡していることができる。カートリッジに供給される圧力または真空は、バイオプロセッシングカートリッジの構成に従って制御することができ、または、一定の事前に設定された圧力 (5 0 p s i に至るまでの圧力) および真空 (H g において 2 0 に至るまでの真空) であり得る。具体的な一例において、バイオプロセッシングデバイスのポンプ作動機構は、2 0 m s の空気圧バルブ応答時間、3 7 . 7 i n ³ の空気リザーバー容量 (真空および圧力の両方)、5 0 % 負荷のエアーコンプレッサーポンプ負荷サイクル (真空および圧力の両方)、および、8 0 P S I のエアーコンプレッサーポンプ圧力を有する。

【 0 1 0 7 】

示されるように、取り外し可能な流体容器トレイ 5 4 0 は、トレイ 5 4 0 がバイオプロセッシングデバイス 5 0 0 の中に入れられる際、および、トレイ 5 4 0 がバイオプロセッシングデバイス 5 0 0 から出される際にトレイ 5 4 0 を誘導することを助けることができるトレースライド 5 4 5 と可動的にかみ合うことができる。トレイ 5 4 0 は流体容器ホルダー 5 5 0 を収容することができ、この場合、流体容器ホルダー 5 5 0 は、示される実施形態では、廃液リザーバー 5 5 5、容器置場 5 6 0 および容器保持プレート 5 6 2 を含むことができる。示されるように、例えば、過剰な試薬または廃液を流体容器ホルダー 5 5 0 から抜き出すときには、容器 5 6 5 を容器置場 5 6 0 における適切なサイズの容器スロット 5 7 0 の中に挿入することができ、また、容器保持プレート 5 6 2 を、容器 5 6 5 を所定位置において固定するために容器 5 6 5 の一部またはすべての上に置くことができる。容器置場 5 6 0 はまた、廃液リザーバーアクセス貫通部 5 7 5 を含み、これは、容器保持プレート 5 6 2 における廃液吸引 / 吐出チューブ貫通部 5 8 0 とともにアラインメントされたとき、デバイスの中に挿入されている 1 つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジ 5 1 5 における吸引 / 吐出チューブに対する廃液リザーバー 5 5 5 へのアクセスを提供する。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー 5 5 0 は、所望されるバイオプロセッシングプロトコルを運転することを可能にするために、1 つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおける吸引 / 吐出チューブが流体容器ホルダー 5 5 0 における適切な容器または置場に関してアラインメントするように構成される。代替として、いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー 5 5 0 は、所望されるバイオプロセッシングプロトコルを運転することを可能にするために、バイオプロセッシングデバイス 5 0 0 における流体マニホールドが流体容器ホルダー 5 5 0 における適切な容器または置場とアクセスし得るように構成される。

【 0 1 0 8 】

特定の形態を有することが示されるが、流体容器ホルダーは任意の好適な形態を有し得ること、そして、容器 5 6 5 の多数の異なるタイプ、サイズおよび形状、ならびに、容器置場 5 6 0 の多数の異なる形態が、バイオプロセッシングデバイスを使用して行われるプロトコルの個々の工程のために要求される流体のタイプおよび体積に依存して使用され得ることを理解しなければならない。例えば、試薬およびサンプルを収容するためのスロットを提供するだけ 1 つだけの一体化された流体容器ホルダーを含むことの代わりに、多数の個々の流体容器ホルダーを使用し、取り外し可能な流体容器トレイに置くことができ、または、ただ 1 つだけのスロットのための流体容器のすべてについてのサイズを有する流体容器ホルダーを使用することができる。同様に、流体容器ホルダーを、流体容器を伴って、または、流体容器を伴うことなく供給することができ、流体容器を伴って供給されると

10

20

30

40

50

き、流体容器の1つまたは複数あるいはすべてを、空で、無菌で、清浄で、事前に充填されて、および/または、エンドトキシン非含有で供給することができる。加えて、いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー、ならびに、試薬容器および廃液容器の一部またはすべてを、事前に充填されたキットの一部として供給することができ、この場合、使用者は、サンプルがプロトコルにおいて備えられる場合にはサンプルを供給するか、あるいは、必要に応じて試薬の1つまたは複数を提供することが必要とされ得るだけである。

【0109】

流体容器ホルダー600および取り外し可能な流体容器引出し612および流体容器トレイ610の1つの実施形態の分解図を示す図6を参照して、いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー600は、廃液リザーバー615と、容器ホルダー底部620および容器ホルダー上部625を含み、かつ、容器635がその中に挿入され得る容器スロット630を有する容器置場617とを含むことができる。廃液リザーバー615は、バイオプロセッシングデバイス内の自動化された制御システムにフィードバックを提供し得る廃液レベルセンサー616を含むことができ、自動化された制御システムは通知をGUIに表示することができる、および/または、音響アラームを備えることができる。廃液リザーバー615はまた、バイオプロセッシングデバイスの筐体における貫通部を介して嵌ることができる、かつ、適切な排出置場または他の廃液流体置場に接続することができる流体排出ノズルを含むことができる。容器置場617は、廃液リザーバー615と流体連結しているバイオプロセッシングカートリッジおよび/または流体マニホールドからの1つまたは複数の廃液ラインを設置するための廃液リザーバーアクセス貫通部618を含むことができる。流体容器ホルダー600はまた、容器保持プレート640を含むことができる。示されるように、流体容器ホルダー600は、所望されるバイオプロセッシングプロトコルのために必要となるような適切な容器ならびに試薬およびサンプルとともに組み立てられたとき、引出しのように動かしてバイオプロセッシングデバイスの中に入れることができ、また、バイオプロセッシングデバイスから出すことができる取り外し可能な流体容器トレイ610に置くことができる。

【0110】

図7を参照して、いくつかの実施形態において、廃液リザーバーとしてもまた役立ち得る容器置場700と、サンプル容器ふた720を含み得るサンプル容器713と、事前に充填されたキットの一部として試薬を含有するための多数の試薬リザーバー730を含み得るか、あるいは、試薬を含有するための1つまたは複数の空の試薬容器または空の試薬置場を含み得る試薬容器トレイ725とを含む流体容器ホルダー700を提供することができる。いくつかの実施形態において、試薬リザーバーの一部またはすべてが事前に充填される場合、試薬トレイは全体または一部が、アルミニウム、プラスチックまたは任意の他の好適なフィルムにより覆われ得る。そのような場合、これらは、トレイがデバイスの中に挿入される前、または、トレイがデバイスにおいて配置された後のどちらかで使用前に破ることができる。試薬(1つまたは複数)は、緩衝液(洗浄緩衝液、溶解緩衝液、中和緩衝液、再懸濁緩衝液、沈殿化緩衝液または任意の他の好適な緩衝液(これらに限定されない)を含む)、または、他の好適な試薬(例えば、抗体、標準物、ブロッキング溶液、脱イオン水など)であり得る。いくつかの実施形態において、試薬は、ETOH(例えば、70% ETOH(30% NanoPure水を含む70% ETOH))、イソプロパノール、Genomed洗浄溶液、Genomed溶出溶液、Rnaseまたは任意の他の好適な試薬、ウサギ抗体、ウシ血清アルブミン(BSA)、標準物(例えば、Magnetic Mark(商標)標準物など)、ならびに、化学発光性の抗抗体(例えば、Western Breeze(登録商標)化学発光キット-抗ウサギなど)であり得る。システムは、発色免疫検出、化学発光免疫検出および蛍光免疫検出のすべての試薬およびプロトコルとの使用のためのために好適であり得る。いくつかの実施形態において、試薬が、適切なサイズの試薬バイアルおよび試薬ビンにおける事前に充填された試薬として供給され得る。いくつかの実施形態において、試薬を、デバイスの試薬トレイに置かれる供給された試薬ビンおよび/または試薬バイアルに加えることができる。流体容器ふた720は、

10

20

30

40

50

サンプルをサンプル容器 715 の中に置くこと、および、サンプルをバイオプロセッシングカートリッジで処理することを可能にするためのアクセス貫通部を含むことができる。いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー 700 は、所望されるバイオプロセッシングプロトコルを運転することを可能にするために、1つまたは複数のバイオプロセッシングカートリッジにおける吸引/吐出チューブが流体容器ホルダー 700 における適切な容器または置場に関してアラインメントするように構成される。代替として、いくつかの実施形態において、流体容器ホルダー 700 は、所望されるバイオプロセッシングプロトコルを運転することを可能にするために、バイオプロセッシングカートリッジにおける流体マニホールドが流体容器ホルダー 700 における適切な容器または置場とアクセスし得るように構成される。

10

【0111】

図 8A は、試薬リザーバートレー 825 の 1 つの実施形態を示す。試薬リザーバートレー 825 は、約 1 個 ~ 約 15 個の間、約 1 個 ~ 約 10 個の間、約 1 個 ~ 約 7 個の間、約 1 個 ~ 約 5 個の間、約 1 個 ~ 約 3 個の間の試薬リザーバー 830 を有することができる。いくつかの実施形態において、試薬リザーバートレー 825 は、少なくとも 1 個の試薬リザーバー、少なくとも 2 個の試薬リザーバー、少なくとも 5 個の試薬リザーバー、または、少なくとも 12 個の試薬リザーバーを含むことができる。試薬リザーバー 830 の形状は、所望される量の試薬を含有するために、好適な体積の試薬を含有するための円形、正方形、多角形または任意の他の好適な形状であり得る。いくつかの実施形態において、試薬リザーバートレー 825 はさらに、精製されたサンプルを回収するための回収チューブまたは回収容器がその中に挿入され得る少なくとも 1 つのチューブホルダー 835 を含むことができる。チューブホルダー 835 は、回収チューブが挿入され得る穴であり得るか、または、その中に挿入される回収チューブを収容および支持するための構造物であり得る。いくつかの実施形態において、試薬リザーバートレーは 2 つ以上のチューブホルダーを含むことができる。いくつかの実施形態において、チューブホルダー 835 は、約 100 μ L、約 1 mL、約 2 mL、約 5 mL または約 10 mL のチューブの体積を有する回収チューブを保持するために構成され得る。試薬リザーバー 830 はさらに、バイオプロセッシングカートリッジの一部分と好ましくは流体連結している試薬リザーバーにおける少なくとも 1 つのシッパ 840 を含むことができる。シッパ 840 は、試薬リザーバーにおける試薬がシッパ 840 に集まることを可能にし、それにより、試薬の実質的な一部分がバイオプロセッシングカートリッジの中に導入されることを可能にし、同時に、バイオプロセッシングカートリッジに入ることから生じる気泡を減らすための任意の好適な形態で構成され得る。いくつかの実施形態において、試薬リザーバートレー 825 は、廃液トレイに対する流体連結を提供するための開口部 831 を含むことができる。

20

30

【0112】

試薬リザーバー 830 の代替実施形態 / 形態を有する試薬リザーバートレー 825 の代替実施形態の透視図が図 8B に示される。いくつかの実施形態において、試薬リザーバートレー 825 は、試薬リザーバートレー 825 を引出しおよび / または廃液トレイにおいて支持および / または配置するための柱 827 を含むことができる。試薬リザーバートレー 825 は、図 8C に示されるように、試薬を含有し、閉じ込めるための少なくとも 1 つの試薬リザーバー 830 と、少なくとも 1 つのチューブホルダー 835 と、廃棄するための少なくとも 1 つの開口部 831 とを含むことができる。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 つの試薬リザーバー 830 はさらに、バイオプロセッシングカートリッジと、試薬リザーバートレー 825 の個々の試薬リザーバー 830 との間における試薬の移動を容易にするために構成されるシッパ 840 を含むことができる。図 8D は、試薬リザーバー 830、チューブホルダー 835 およびシッパ 840 を示す試薬リザーバートレー 825 の側面図である。試薬リザーバー 830 は互いに関して実質的に同じ深さであり得るか、または、互いに関して異なり得る。いくつかの実施形態において、個々の試薬リザーバー 830 の深さはカートリッジの吸引/吐出チューブの長さに依存し得る。図 8E は、チューブホルダー 835、試薬リザーバー 830、および、それぞれのリザーバー 83

40

50

0の底部に位置するシッパ－840を示す試薬リザーバートレー825の断面図である。図8Fは、2つの異なる試薬容器830の底部に位置するシッパ－845の拡大図である。図8Gは、トレーの底から見たときの試薬リザーバートレーの1つの実施形態(シッパ－840がそれぞれの試薬リザーバ－830の底部から延びる)を例示し、また、廃棄するための開口部831を例示する。試薬リザーバートレーは、好適な数および/または量の試薬を保持するために構成され得る。例えば、例示目的のためだけであるが、試薬リザーバートレー825は、1つの回収チューブスロットまたはチューブホルダー、TE緩衝液リザーバ－、ならびに、70%エタノールリザーバ－、イソプロピルリザーバ－、溶出緩衝液リザーバ－、再懸濁緩衝液リザーバ－および洗浄緩衝液リザーバ－のうちの少なくとも1つを含むことができる。

10

【0113】

図9Aおよび図9Bは、バイオプロセッシングカートリッジ905がその中に挿入されているカートリッジホルダー900の1つの実施形態の向かい合った側面透視図を示す。示されるように、カートリッジホルダー900は、支持プレート(925および930)との相互作用を介する向かい合うホルダー面(915および920)の接続を備えるバネ式の筐体ボルト910を含む。支持プレート930は、(図9Bに示されるような)個々の供給コネクタ－932を、制御流体をバイオプロセッシングカートリッジに供給するためのマニホールドの一部として含むことができる。個々の供給コネクタ－932は、バイオプロセッシングカートリッジ905における制御流体コネクタ－への制御流体マニホールドの接続を提供することができる。カートリッジホルダー900はまた、袋状物の膨張/収縮ライン950を介して圧力源に接続され得る膨張可能な袋状物またはサック945を含むことができる。カートリッジホルダー900はまた、バイオプロセッシングデバイスのスロットにおけるホルダー900の取り付けを備え得る取り付けスロット955を含むことができる。

20

【0114】

図10Aおよび図10Bは、バイオプロセッシングデバイスのカートリッジホルダー1000の側面図を示す。示されるように、カートリッジホルダー1000は、支持プレート1030を支持プレート1025から離れさせ、一方で、向かい合うホルダー面(1015および1020)を一体化させるためのバネ1012を含むバネ式の筐体ボルト1010を含む。図10Aにおいてまた示されるものが、膨張した状態にある膨張可能な袋状物またはサック1045である。袋状物1045が膨張すると、カートリッジホルダーが、図10Bに示されるように現れる、図10Bは、膨張した袋状物1050が、2つの向かい合うホルダー面(1015および1020)にユニットとして支持プレート1030に向かうことを促し、それにより、バネ1012を押しつけていることを示す。この様式において、支持プレート1025を動かないように保持することによって、向かい合うホルダー面(1015および1020)の筐体およびその中に保持されるバイオプロセッシングカートリッジが支持プレート1030に向かって動かされ得る。この様式において(また、より良好な詳細では図11Aおよび図11Bに示されるように)、バイオプロセッシングカートリッジの制御流体コネクタ－には、支持プレート1030における供給コネクタ－と流体連結することを促すことができ、また、供給コネクタ－を制御流体コネクタ－に接続することができる。いくつかの実施形態において、圧力および真空をバイオプロセッシングカートリッジに提供して、パルプの開閉を制御し、かつ、ポンプの作動を制御し、それにより、バイオプロセッシングカートリッジにおける通路全体にわたる流体の流れを制御することができる。制御流体コネクタ－と、供給コネクタ－との間における接続を達成する他の機構が、手動式掛け金、鍵掛け掛け金、および、機械的または電氣的に駆動する接続などを含めて、使用され得ることを理解しなければならない。

30

40

【0115】

図11Aおよび図11Bは、図10Aおよび図10Bに示されるカートリッジホルダー1000の実施形態の断面図を示す。図11Aおよび図11Bに示されるように、袋状物1145が、図11Aに示されるように、膨張した状態にあるとき、バイオプロセッシング

50

カートリッジ 1 0 1 5 における制御流体コネクタ 1 1 6 0 は支持プレート 1 1 3 0 における供給コネクタ 1 1 3 2 とかみ合っていない。袋状物 1 1 4 5 が膨張して、膨張した袋状物 1 1 5 0 を形成すると、向かい合うホルダー面 (1 1 1 5 および 1 1 2 0) と、その中に保持されるバイオプロセッシングカートリッジ 1 0 1 5 とが、支持プレート 1 1 3 0 および供給コネクタ 1 1 3 2 に向かって動かされ、これにより、ガasket 1 1 7 0 を押しつけ、供給コネクタ 1 1 3 2、ガasket 1 1 7 0 および制御流体コネクタ 1 1 6 0 の間におけるシール 1 1 7 5 を形成し、供給コネクタ 1 1 3 2 を制御流体コネクタ 1 1 6 0 との流体接続状態に置く。

【 0 1 1 6 】

図 1 2 は、バイオプロセッシングカートリッジ 1 2 0 0 の 1 つの実施形態の分解図を示す。カートリッジ 1 2 0 0 は、カートリッジ 1 2 0 0 のプロセス流体層 1 2 0 6 の外側面および制御層 1 2 0 8 の外側面に対して封止され得る (例えば、ヒートシールされ得る) 2 つのフィルム層またはホイル層 (1 2 0 2 および 1 2 0 4) を有する。フィルム層 (1 2 0 2、 1 2 0 4) は、任意の好適なプラスチックフィルム (例えば、被覆されたプラスチックフィルムなど) または好適な金属フィルム (例えば、アルミニウムホイルを含めて、金属ホイルまたは被覆された金属ホイルなど) を含むことができ、また、フィルムには、任意の適切な被覆物および / または接着剤 (例えば、ヒートシール接着剤など) を被覆することができる。いくつかの実施形態において、フィルムは、プロセス流体層 1 2 0 6 または制御層 1 2 0 8 と接触している面でヒートシール接着剤により被覆される P E タイ (t i e) 層を伴う P E T フィルムであり得る。他の実施形態において、フィルム層は、プロセス流体層 1 2 0 6 または制御層 1 2 0 8 と接触している面でヒートシール接着剤により被覆されるアルミニウムホイルを含むことができる。フィルム層は、制御流体コネクタのための貫通部 1 2 1 0、プロセス流体層 1 2 0 6 および制御層 1 2 0 8 をアラインメントするためのアラインメントガイド 1 2 1 4 のための貫通部 1 2 1 2 を含むことができる。いくつかの実施形態において、カードは、カラーインジケータチャンバーへの目視アクセスを提供するための貫通部を含むことができる。カートリッジ 1 2 0 0 の関連する表面に対して封止されるとき、フィルム層 (1 2 0 2 および 1 2 0 4) は、流体層 1 2 0 6 におけるプロセス流体通路 1 2 2 0 および制御層 1 2 0 8 における制御流体通路 1 2 2 0 のための最終的な壁を形成することができる。

【 0 1 1 7 】

カートリッジ 1 2 0 0 は、多数のプロセス流体通路 1 2 2 0 と、制御流体コネクタがそれを通して設置され得る多数の貫通部 1 2 2 2 とを有するプロセス流体層 1 2 0 6、および、アラインメントガイドのための多数の貫通部 1 2 2 4 を含むことができる。プロセス流体通路 1 2 2 0 はプロセス流体層 1 2 0 6 の全体に及ぶことができる。代替として、プロセス流体通路は、層の後表面または内側表面においてではなく、層の前表面または外側表面において開いていてもよい。この様式において、プロセス流体通路 1 2 2 0 は、層パススルーまたはパススルーバルブが提供される場合、および、プロセス流体層 1 2 0 6 に加えられるとき、フィルム層 1 2 0 2 がプロセス流体通路 1 2 2 0 の壁を完成し得る場合を除いて、制御流体層 1 2 0 8 から隔てられ得る。加えて、プロセス流体層 1 2 0 6 は、アクセスバルブ区画 1 2 2 6、プロセスバルブ区画 1 2 2 7、ポンプ区画 2 2 8、支持リブ 1 2 3 1 を有するバイオプロセッシング区画 1 2 3 0、カラーインジケータ区画 1 2 3 2、チェックバルブ区画 1 2 3 3、プロセス流体コネクタ 1 2 3 4 および把持部 1 2 3 6 を含むことができる。

【 0 1 1 8 】

カートリッジ 1 2 0 0 はまた、制御流体通路 1 2 4 0 および制御流体コネクタ 1 2 4 2 を有する制御流体層 1 2 0 8 を含むことができる。制御流体通路 1 2 4 0 は制御流体層 1 2 0 8 の全体に及ぶことができ、あるいは、代替として、代わりに、層の前表面または内側表面においてではなく、層の後表面または外側表面において開いていてもよい。この様式において、制御流体通路 1 2 4 0 は、層パススルーまたはパススルーバルブが提供される場合、および、いくつかの実施形態では、制御流体層 1 2 0 8 に加えられるとき、フ

フィルム層 1204 が制御流体通路 1240 の壁を完成し得る場合を除いて、プロセス流体層 1206 から隔てられ得る。加えて、制御流体層は、アクセスバルブ区画 1246、プロセスバルブ区画 1247、ポンプ区画 1248、バイオプロセッシング区画 1250、カラーインジケータ区画 1252、チェックバルブ区画 1253 および把持部 1256 のうちの少なくとも 1 つを含むことができる。

【0119】

カートリッジ 1200 はまた、アクセスバルブメンブラン 1260、プロセスバルブメンブラン 1261、ポンプメンブラン 1262、ならびに、プロセス流体層 1206 および制御流体層 1208 の内側面の間におけるガスケット 1264 を含むことができる。いくつかの実施形態において、カートリッジ 1200 は少なくとも 1 つのチェックバルブメンブラン 1263 を含むことができる。示された実施形態において、吸引 / 吐出チューブ 1266 もまた、カートリッジ 1200 の一部として含まれる。組み立てられるとき、アクセスバルブメンブラン 1260 が、プロセス流体層 1206 および制御流体層 1208 におけるアクセスバルブ区画 (1226 および 1246) によって形成される区画の中にかみ合っ、これら 2 つの層の間のメンブランを挟むことによって封止されるアクセスバルブを形成する。流体が、バルブメンブランのプロセス流体側に接続されるプロセス流体通路 1220 を介してバルブの中に流入することができ、また、バルブが、バルブメンブランの制御流体側の制御流体通路 1240 を使用して供給される圧力または真空を使用して開閉され得る。この様式において、プロセスバルブが、プロセスバルブメンブラン 1261 を、プロセスバルブ区画 (1227 および 1247) により形成される区画の中にはめ込むことによって形成され得る；ポンプが、ポンプメンブラン 1262 をポンプ区画 (1228 および 1248) の中にはめ込むことによって形成され得る；バイオプロセッシングチャンバーが、バイオプロセッシング区画 (1230 および 1250) をアラインメントすることによって形成され得る；カラーインジケータチャンバーが、カラーインジケータ区画 (1232 および 1252) をアラインメントすることによって形成され得る；チェックバルブが存在するならば、チェックバルブが、チェックバルブメンブラン 1263 をチェックバルブ区画 (1233 および 1253) の中にはめ込むことによって形成され得る；また、制御流体コネクタ 1242 には、封止用ガスケットが、ガスケットを制御流体コネクタ 1242 の上に置き、制御流体層 1206 における制御流体コネクタ貫通部 1222 のより小さい開口部がガスケットを所定位置に保持することを可能にすることによって提供され得る。示されるように、この実施形態では、バイオプロセッシング区画 (1230 および 1250) によって形成されるバイオプロセッシングチャンバーは、使用者によるアクセスのために上部が開いていてもよい。加えて、フィルム (1204 および 1204) が、流体通路 (1220 および 1240) を封止し、かつ、通路のための 1 つの壁を形成する、プロセス流体層 1206 および制御層 1208 の外側表面に対して封止され得る。

【0120】

組み立てられるとき、図 13 のバイオプロセッシングカートリッジが、示されるように現れ得る。正面図および背面図が図 13 A および図 13 B にそれぞれ示される。示されるように、カートリッジ 1300 の見える部分は、組み立てられるとき、把持部 1305、支持リブ 1312 を有するバイオプロセッシングチャンバー 1310、フィルム層 (1315 および 1320)、カラーインジケータチャンバー 1325、プロセス流体コネクタ 1327、制御流体コネクタ 1330、吸引 / 吐出チューブ 1335 およびスロットアラインメントガイド 1340 を含むことができる。

【0121】

加えて、図 13 の組み立てられたバイオプロセッシングカートリッジの透視図が図 14 に示される。示されるように、バイオプロセッシングカートリッジ 1400 が、プロセス流体層の表面におけるフィルム層 1405 から眺められる。この図は正面から層のそれぞれを通過して広がる。図 14 は、プロセス流体層におけるプロセス流体通路 1410、アクセスバルブ 1415、制御流体コネクタ 1420、チェックバルブ 1430、カラーインジ

ケーターチャンバー 1 4 3 5、プロセスバルブ 1 4 4 0、ポンプ 1 4 4 5、アラインメントガイド 1 4 5 0、スロットアラインメントガイド 1 4 5 5、支持リブ 1 4 6 2 を有するバイオプロセッシングチャンバー 1 4 6 0、把持部 1 4 6 5、制御流体層における制御流体通路 1 4 7 0、および、吸引 / 吐出チューブ 1 4 7 5 を示す。

【 0 1 2 2 】

図 1 5 は、吸引 / 吐出チューブ 1 5 0 5 と、バイオプロセッシングカートリッジ 1 5 1 5 におけるプロセス流体コネクタ 1 5 1 0 との間における接続 1 5 0 0 の 1 つの実施形態の詳細図を示す。示されるように、プロセス流体コネクタ 1 5 1 0 には、吸引 / 吐出チューブ 1 5 0 5 の内側壁における対応する保持溝 1 5 2 5 とのすきまばめを提供し得る 1 つまたは複数の保持リング 1 5 2 0 が提供され得る。プロセス流体コネクタ 1 5 1 0 は、吸引 / 吐出チューブ 1 5 0 5 の内側壁における封止用リング 1 5 3 5 とのしまりばめを提供し得る 1 つまたは複数の封止用の溝 1 5 3 0 を含む。この様式において、保持リング 1 5 2 0 は吸引 / 吐出チューブ 1 5 0 5 をプロセス流体コネクタ 1 5 1 0 に対して固定することができ、一方で、封止用リング 1 5 3 5 はプロセス流体コネクタ 1 5 1 0 に対する吸引 / 吐出チューブ 1 5 0 5 の封止を備えることができる。多くの代替接続が、カートリッジに接続される吸引 / 吐出チューブを提供するために使用され得ること、そして、チューブはまた、カートリッジと一体的に形成され得ることを理解しなければならない。

10

【 0 1 2 3 】

図 1 6 A は、バイオプロセッシングカートリッジ 1 6 0 0 の 1 つの実施形態の分解図を示す。カートリッジ 1 6 0 0 は、カートリッジ 1 6 0 0 のプロセス流体層 1 6 0 6 の外側面および制御層または空気圧層 1 6 0 8 の外側面に対して封止され得る（例えば、ヒートシールまたは接着剤シールされ得る）2 つのフィルム層またはホイル層（1 6 0 2 および 1 6 0 4）を有する。フィルム層（1 6 0 2、1 6 0 4）は、任意の好適なプラスチックフィルム（例えば、被覆されたプラスチックフィルムなど）または好適な金属フィルム（例えば、アルミニウムホイルを含めて、金属ホイルまたは被覆された金属ホイルなど）を含むことができ、また、フィルムは、任意の適切な被覆物および / または接着剤（例えば、ヒートシール接着剤など）により被覆され得る。いくつかの実施形態において、フィルムは、プロセス流体層 1 6 0 6 または空気圧層 1 6 0 8 と接触している面でヒートシール接着剤により被覆される P E タイ層を伴う P E T フィルムであり得る。他の実施形態において、フィルム層は、プロセス流体層 1 6 0 6 または空気圧層 1 6 0 8 と接触している面でヒートシール接着剤により被覆されるアルミニウムホイルを含むことができる。フィルム層は、制御流体コネクタ 1 6 4 2 のための貫通部 1 6 0 3、アラインメントガイド 1 6 1 1 のための貫通部 1 6 0 5、および、いくつかの実施形態では、存在するならば、カラーインジケータチャンバーへの目視アクセスを提供するための貫通部を含むことができる。カートリッジ 1 6 0 0 の関連する表面に対して封止されるとき、フィルム層（1 6 0 2 および 1 6 0 4）は、流体層 1 6 0 6 におけるプロセス流体通路 1 6 2 0 および空気圧層 1 6 0 8 における空気圧通路 1 6 4 0 のための最終的な壁を形成することができる。

20

30

【 0 1 2 4 】

カートリッジ 1 6 0 0 は、多数のプロセス流体通路 1 6 2 0 を有するプロセス流体層 1 6 0 6 を含むことができる。プロセス流体通路 1 6 2 0 はプロセス流体層 1 6 0 6 の全体に及ぶことができ、あるいは、代替として、層の後表面または内側表面においてではなく、層の前表面または外側表面において開いていてもよい。この様式において、プロセス流体通路 1 6 2 0 は、層パススルーまたはパススルーバルブが提供される場合、および、プロセス流体層 1 6 0 6 に加えられるとき、フィルム層 1 6 0 2 がプロセス流体通路 1 6 2 0 の壁を完成し得る場合を除いて、制御流体層 1 6 0 8 から隔てられ得る。

40

【 0 1 2 5 】

カートリッジ 1 6 0 0 はまた、空気圧通路 1 6 4 0 および空気圧コネクタ 1 6 4 2 を有する空気圧層 1 6 0 8 を含むことができる。空気圧通路 1 6 4 0 は空気圧層 1 6 0 8 の全体に及ぶことができ、あるいは、代替として、代わりに、層の前表面または内側表面においてではなく、層の後表面または外側表面において開いていてもよい。この様式におい

50

て、空気圧通路 1 6 4 0 は、層パススルーまたはパススルーバルブが提供される場合、および、いくつかの実施形態では、空気圧層 1 6 0 8 に加えられるとき、フィルム層 1 6 0 4 が空気圧通路 1 6 4 0 の壁を完成し得る場合を除いて、プロセス流体層 1 6 0 6 から隔てられ得る。

【 0 1 2 6 】

示されるように、空気圧層または制御層 1 6 0 8 およびプロセス流体層 1 6 1 0 のそれぞれが、バイオプロセッシングチャンバー区画 (1 6 0 3、1 6 0 5、1 6 0 7 および 1 6 0 9)、ポンプ区画 1 6 1 0 およびバルブ 1 6 5 4、ならびに、アクセスバルブ区画 1 6 1 8 およびアクセスバルブ 1 6 5 0、プロセスバルブ区画 1 6 4 4 およびプロセスバルブ 1 6 5 2、ならびに、いくつかの実施形態では、チェックバルブ区画 1 6 4 6 およびチェックバルブ 1 6 5 6 を含む。いくつかの実施形態において、カートリッジ 1 6 0 0 はパススルー貫通部 1 6 7 3 を含むことができる。制御層 1 6 0 8 はまた、ガスケットとともに含み得る制御流体コネクタ 1 6 4 2 を含むことができる。

【 0 1 2 7 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーは、バイオプロセッシングカートリッジ 1 6 0 0 の分解図において示されるように、フィルター (1 6 6 2、1 6 6 4、1 6 6 6 および 1 6 6 8)、O - リング 1 6 8 4 およびガスケット (1 6 8 5、1 6 8 7) を含むことができる。いくつかの実施形態において、フィルターは、B l a o 6 5 メンブラン、ニトロセルロースメンブラン、ガラス繊維メンブラン、X t h i c k メンブラン、P P T R メンブラン、アニオン交換メンブランまたは任意の他の好適なフィルターであり得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーのフィルターは、固体支持体またはフリット (1 6 8 6、1 6 8 8) によって支持され得る。フィルターは単層フィルターまたは多層フィルターであってもよく、また、例えば、バイオプロセッシングチャンバー 1 6 0 7 において示されるように、1 つまたは 2 つ以上の固体支持体によって支持され得る。カートリッジのこれら 2 つの層、および、間に見出される構成成分は、例えば、超音波溶着または他の溶着によって、あるいは、これら 2 つのプラスチック層を、バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態を形成するために接合するための接着剤、掛け金、留め金または任意の他の機構を使用して、封止可能に接合され得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシング区画の 1 つまたは複数が、1 つまたは複数の O - リング、ならびに / または、封止を助けるためのトンゲ区画および溝区画を含む。加えて、いくつかの実施形態において、制御層 1 6 0 8 およびプロセス流体層 1 6 0 6 の一方または両方におけるバイオプロセッシングチャンバー区画の 1 つまたは複数が、フィルターまたは固体支持体と、バイオプロセッシングチャンバーの壁との相互作用を防止または制限するために、それらの内壁の一方または両方に沿って、あるいは、それらの内壁の一方または両方において構造物 (例えば、突出部など) を含む。いくつかの実施形態において、リベット 1 6 9 2 が、メンブランをさらに支持するために、また、バイオプロセッシングチャンバーを封止するために使用され得る。

【 0 1 2 8 】

図 1 6 B は、空気圧層 1 6 0 8 に位置する制御流体コネクタ 1 6 4 2 の拡大図である。いくつかの実施形態において、制御流体コネクタ 1 6 4 2 はさらに、制御流体コネクタに対するさらなる支持をカードへの供給チューブの取り付け期間中に提供する支持体 1 6 9 3 を含む。図 1 6 C は、ガスケット 1 6 8 5、O - リング (1 6 8 4、1 6 8 6) およびリベット (1 6 9 2、1 6 9 4、1 6 9 4) を示すバイオプロセッシングチャンバー 1 6 0 3 の一方の半分の横断面図である。図 1 6 D は、空気圧層 1 6 0 8 および流体層 1 6 0 6 の側面図を示し、フィルター 1 6 8 3、O - リング 1 6 8 4 およびリベット 1 6 9 2 により、さらなる支持がもたらされ、ならびに / または、空気圧層 1 6 0 8 および流体層 1 6 0 6 が一緒に接続される。

【 0 1 2 9 】

図 1 7 A および図 1 7 B は、バイオプロセッシングカートリッジ 1 7 0 0 の 1 つの実施形態の制御層 1 7 0 1 およびプロセス流体層 1 7 0 2 の内側の図を示す。示されるように、

図 17 A の制御層 1701 および図 17 B のプロセス流体層 1702 のそれぞれが、バイオプロセッシングチャンバー区画 (1703、1704、1706 および 1708)、ポンプ区画 (1710、1712、1714 および 1716)、アクセスバルブ区画 (1718、1720、1722、1724、1726、1728、1730、1732、1734、1736、1738 および 1739)、プロセスバルブ区画 (1740、1742、1744、1746、1748、1750、1752、1754、1756、1758、1760 および 1762)、チェックバルブ区画 (1764、1766、1768)、パススルーチェックバルブ区画 1770 およびパススルー貫通部 (1772、1773 および 1774) を含む。制御層 1701 はまた、制御流体コネクタ 1776、制御流体通路 1794 およびスロットアラインメントガイド 1796 を含むことができる。プロセス流体層 1702 はまた、制御流体コネクタ貫通部 1777、プロセス流体コネクタ (1778、1779、1780、1781、1782、1783、1784、1785、1786、1787、1788 および 1789) およびプロセス流体通路 1792 を含む。

10

20

30

40

50

【0130】

制御層 1701 および / または プロセス流体層 1702 は、ポンプメンブラン、バルブメンブラン、O - リング、および、関連する区画の内部に置かれる固体支持体を有することができ、その場合、2 つの層が、例えば、超音波溶着または他の溶着によって、あるいは、これら 2 つのプラスチック層を、バイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態を形成するために接合するための接着剤、掛け金、留め金、クランプまたは任意の他の機構を使用して、封止可能に接合され得る。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシング区画の 1 つまたは複数、1 つまたは複数の O - リング、ならびに / または、封止を助けるためのトンゲ区画および溝区画を含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバー区画 (1703、1704 および 1708) のそれぞれが O - リングを含む。加えて、いくつかの実施形態において、制御層 1701 およびプロセス流体層 1702 の一方または両方におけるバイオプロセッシングチャンバー区画の 1 つまたは複数、フィルターまたは固体支持体と、バイオプロセッシングチャンバーの壁との相互作用を防止または制限するために、それらの内壁の一方または両方に沿って、あるいは、それらの内壁の一方または両方において構造物 (例えば、突出部など) を含む。

【0131】

図 18 A および図 18 B は、組み立てられたバイオプロセッシングカートリッジの 1 つの実施形態の正面図および背面図 (1801 および 1802) をそれぞれ示す。示されるように、バイオプロセッシングカートリッジは、バイオプロセッシングチャンバー (1803、1804、1806 および 1808)、ポンプ (1810、1812、1814 および 1816)、アクセスバルブ (1818、1820、1822、1824、1826、1828、1830、1832、1834、1836、1838 および 1839)、プロセスバルブ (1840、1842、1844、1846、1848、1850、1852、1854、1856、1858、1860 および 1862)、チェックバルブ (1864、1866、1868)、パススルーチェックバルブ 1770、パススルー (1872、1873 および 1874)、制御流体コネクタ 1876、プロセス流体コネクタ (1878、1879、1880、1881、1882、1883、1884、1885、1886、1887、1888 および 1889)、制御流体ガスケット (1890 および 1891)、プロセス流体通路 1892、制御流体通路 1894 およびスロットアラインメントガイド 1896 を含む。

【0132】

バイオプロセッシングチャンバー (1803、1804、1806 および 1808) のそれぞれが固体支持体を含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジが核酸 (例えば、DNA (全細胞からのプラスミドまたはプラスミド DNA を含む) など) の精製および回収のために使用される場合、バイオプロセッシングチャンバー 1803 は、全細胞を細胞培養培地から分離するための細胞分離フィルターを含む

ことができ、バイオプロセッシングチャンバー 1804 は、溶解物内の細胞破片および他の破片をろ過して除くことによって溶解物を清澄化するための細胞溶解物清澄化フィルターを含むことができ、バイオプロセッシングチャンバー 1806 は、細胞溶解物から核酸と可逆的に結合するための固相抽出ディスク、固相抽出カセットまたは固相抽出フィルターを含むことができ、バイオプロセッシングチャンバー 1808 は、固相抽出ディスク、固相抽出カセットまたは固相抽出フィルターから溶出された DNA を捕獲するための沈殿化フィルターを含むことができる。いくつかの実施形態において、これらのバイオプロセッシングチャンバーの 1 つまたは複数が 1 つまたは複数の O - リングならびに / あるいはトングシールおよび溝シールを含む。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバー (1803、1804 および 1808) のそれぞれが O - リングまたはガスケットを含むことができる。加えて、いくつかの実施形態において、これらのバイオプロセッシングチャンバーの 1 つまたは複数が、フィルターまたは固体支持体と、バイオプロセッシングチャンバーの壁との相互作用を防止または制限するために、それらの内壁の一方または両方に沿って、あるいは、それらの内壁の一方または両方において構造物 (例えば、突出部など) を含む。

【 0133 】

アクセスバルブ (1818 ~ 1839)、プロセスバルブ (1840 ~ 1862) およびチェックバルブ (1864 ~ 1868) のそれぞれが、挟まれたメンブランを、他のバイオプロセッシングカートリッジに対して本明細書中のどこか他のところで記載されるような接合された区画の内部に有することができ、また、プロセス流体通路 1892 および制御流体通路 1894 が、そのような通路に対して本明細書中のどこか他のところで記載されるような流体通路であってもよく、また、プロセス流体コネクタ (1878 ~ 1889) が、本明細書中のどこか他のところで記載されるようなプロセス流体コネクタであってもよい。制御流体コネクタ 1876 は、本明細書中のどこか他のところで記載される通りであってもよく、ただし、いくつかの実施形態では、ただ 1 つだけの制御流体ガスケット (1890 および / または 1891) が複数の制御流体コネクタを覆って提供され、また、制御流体ガスケット (1890 および 1891) が、バイオプロセッシングカートリッジに対して、内部ではなく、むしろ、外部に提供され得る。パススルーチェックバルブ 1870 は、層間における一方向のみでの流れを可能にすることによって、バイオプロセッシングカートリッジ 1800 におけるプロセス流体層と、制御流体層との間における能動的に制御された流体流れを提供することができる。いくつかの実施形態において、パススルーチェックバルブ 1870 はプロセス流体層から制御流体層への流れを提供することができ、一方で、他の実施形態において、パススルーチェックバルブ 1870 はバイオプロセッシングカートリッジ 1800 の制御流体層からプロセス流体層への流れを提供することができる。パススルーは、バイオプロセッシングカートリッジ 1800 におけるプロセス流体層と、制御流体層との間における流体連結を両方向で提供することができる。

【 0134 】

バイオプロセッシングカートリッジのプロセス流体層および制御流体層および吸引 / 吐出チューブは任意の好適な材料から作製することができ、例えば、プラスチック (例えば、ABS、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネートなど) などから作製することができ、また、射出成形することができ、または、そうでない場合には、例えば、エッチングなどによって形成することができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは射出成形することができ、メソスケールの流体通路を有することができる。他の実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジはミクロスケールの通路を有することができる。バルブメンブランおよびポンプメンブランを同じ材料または異なる材料から作製することができ、また、バイオプロセッシング期間中の圧力および真空の適用に耐えるために十分に柔軟な任意の材料から作製することができる。いくつかの好適な材料の例には、熱可塑性プラスチックおよび熱可塑性エラストマー (例えば、SANTOPRENE (商標) など)、ならびに、シリコンが含まれる。加えて、メンブランは、メンブランが、材料の相対的な一般的剛性にもかかわらず、柔軟であるために好適に薄い

10

20

30

40

50

ときには、従来の硬質材料から作製することができる。

【 0 1 3 5 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーの内側表面の 1 つまたは複数突出部を含むことができ、あるいは、チャンバー内の固体支持体と、内側表面の 1 つまたは複数との間における望ましくない相互作用を制限または防止するために艶消しすることができ、または、そうでない場合には表面改変することができる。加えて、カートリッジを組み立てるとき、さらなる封止用の表面または成分が、カートリッジの個々の部分またはカートリッジの周辺部を封止することを助けるために、層表面または層間のどちらかで提供され得る。例えば、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、1 つまたは複数の O - リングシールおよび / または Tongue を溝において含むことができ、あるいは、他の封止機構を、カートリッジの周辺部のすべてまたは一部分の周りにおいて、あるいは、1 つまたは複数のバイオプロセッシングチャンバーの周辺部のすべてまたは一部分の周りにおいて、あるいは、1 つまたは複数のバルブまたはポンプの周辺部のすべてまたは一部分の周りにおいて層に含むことができる。カートリッジの層のさらなる封止を、層を接着剤により一緒に封止することによって、あるいは、層と一緒に封止するための超音波溶着もしくは溶媒溶着または他の好適な機構を使用することによって達成することができる。加えて、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングカートリッジは、2 つの層を有するとして記載されているが、バイオプロセッシングカートリッジは、使用されるバイオプロセッシングプロトコルに依存して、任意の好適な数の層を有し得ることを理解しなければならない。例えば、バイオプロセッシングカートリッジは、多数のプロセス流体層、多数の制御流体層、または、カートリッジの一部分の温度が制御されるか、もしくは、カートリッジの全体が制御される温度制御層を含むことができる。その上、ポンプおよびバルブのための個々のメンブランを提供することの代わりに、いくつかの実施形態では、様々な区画のそれぞれにわたって広がり、それにより、カートリッジにおけるただ 1 つだけの層として区画のための個々のメンブランを提供するただ 1 つだけのメンブラン層が提供され得る。

【 0 1 3 6 】

図 19 A および図 19 B は、バイオプロセッシングカートリッジの代替実施形態を示す。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングカートリッジは、バイオプロセッシングチャンバーのためのフィルターカバーを含み得る少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバーを含むことができる。例えば、例示目的のためだけであるが、図 19 A に示されるように、バイオプロセッシングチャンバーの少なくともいくつか (1903 および 1904) がさらに、フィルターカバー (1905、1906) をそれぞれ含むことができる。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバー (1903、1904、1907、1908) のすべてがフィルターカバーを含むことができる。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 つのバイオプロセッシングチャンバー、または、少なくとも 2 つのバイオプロセッシングチャンバー、少なくとも 3 つのバイオプロセッシングチャンバー、あるいは、4 つ以上のバイオプロセッシングチャンバーがフィルターカバーを含む。フィルターまたはメンブランを、図 19 A に示されるように、バイオプロセッシングカートリッジの流体側 1901 において配置することができ、これらは、バイオプロセッシングチャンバーを封止するために役立ち得る。いくつかの実施形態において、フィルターをカードの空気圧側に配置することができ、フィルターカバーを個々のバイオプロセッシングチャンバーを覆って配置することができる。その後、空気圧側 1901 および流体側 1902 が、図 19 B に示されるように、アラインメントされ、一緒に組み立てられ得る。その後、流体側 1902 および空気圧側 1901 が任意の好適な機構によって一緒に組み立てられ得る。

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバーの少なくとも 1 つが、図 20 A および図 20 B に示されるようにモジュラー式であり得る。図 20 A は、2 つのバイオプロセッシングチャンバー (2003 および 2004) がカートリッジ 2000 の本体 2001 に取り付けられ得るバイオプロセッシングカートリッジ 2000 を示す。このバイ

オプロセッシングカートリッジのいくつかの実施形態において、少なくとも1つのバイオプロセッシングチャンバーがモジュラー式であり、バイオプロセッシングカートリッジに取り付けることができる。図20Aは、細胞分離フィルターを含むモジュラー式バイオプロセッシングチャンバー2003と、細胞溶解物清澄化フィルターを含むモジュラー式バイオプロセッシングチャンバー2004とを有するバイオプロセッシングカートリッジ2000を示す。いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバー(2003および20204)が、図20Aに示されるように、バイオプロセッシングカートリッジ2000の相対する側に、例えば、例示目的のためであるが、固相抽出ディスク2006の相対する側に位置し得る。いくつかの実施形態において、モジュラー式バイオプロセッシングチャンバー(2003、2004)は、モジュラー式バイオプロセッシングチャンバー(2003、2004)が互いに連続して接続され、その結果、第1のモジュラー式バイオプロセッシングチャンバーがカートリッジの本体に接続され、その後、第2のモジュラー式バイオプロセッシングチャンバーが第1のモジュラー式バイオプロセッシングチャンバーに接続されるようにバイオプロセッシングカートリッジ2000に接続することができる。いくつかの実施形態において、カートリッジの少なくとも1つの構成成分が、または、カートリッジの少なくとも2つの構成成分が、または、カートリッジの少なくとも3つの構成成分が、または、カートリッジの4つ以上の構成成分がモジュラー式であり得る。モジュラー式構成成分は、コネクタ(2011、2013、2015および2117)、例えば、カートリッジの本体2001に位置するコネクタとインターフェース接続する図20Aに示されるようなM型末端コネクタを含むことができる。図20Bは、バイオプロセッシングカードに接続される1つのバイオプロセッシングチャンバー2003の拡大図を示す。図20Bは、カートリッジの本体2001に接続されるバイオプロセッシングチャンバー2003を示す。図20Bに示されるように、いくつかの実施形態において、バイオプロセッシングチャンバー2003は、バイオプロセッシングカートリッジの本体2001に位置するF型コネクタ(2019、2021)と相互作用するモジュラー式バイオプロセッシングチャンバー2003のM型コネクタ(2011、2013)を含むことができる。いくつかの実施形態において、M型コネクタがバイオプロセッシングカートリッジの本体に位置し、F型コネクタがバイオプロセッシングチャンバーモジュールに位置する。

【0138】

図21Aおよび図21Bは、バイオプロセッシングカートリッジのいくつかの実施形態に挿入され得るメンブランホルダー(例えば、プロットメンブランホルダーなど)の詳細図を示す。図21Aに示されるように、メンブランホルダー2100は、メンブランホルダー2100の半分部分(2112および2114)をつなぐヒンジ2110を含むことができ、このヒンジ2110は、半分部分(2112および2114)が開閉されることを可能にし、その結果、メンブラン2116がホルダーの中に挿入され得るようにする。半分部分(2112および2114)は、ホルダーの構造を支え、一方で、メンブラン2116の両側の周りでのプロセス流体の自由な流れを可能し、かつ、メンブラン2116と、バイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングチャンバーの壁との間での相互作用を防止または制限するためにリブ(例えば、対角リブ2118)を含むことができる。図21Bは代替メンブランホルダー2120を示す。いくつかの実施形態において、ヒンジの代わりに、ホルダーは、ホルダーの2つの部分(2121および2123)を形成するために折り目2122に沿って折り畳むことができる。メンブランホルダー2120は、バイオプロセッシングカートリッジにおける流れ通路からのホルダー2120におけるメンブランに対する非干渉接近を提供するための流体流れ切欠き2124を含む。メンブランホルダー2120は、例えば、ホルダーに対する支持を提供し、一方で、メンブランの両側の周りでのプロセス流体の自由な流れを可能にし、また、一方で、バイオプロセッシングチャンバーの壁と、ホルダー2120内のメンブランとの間での相互作用を制限または防止するために垂直配向で配向する支持リブ2128を含むことができる。メンブランホルダーは、プラスチック(例えば、PVC、HDPE、ポリエステルおよびAPETなど)を含めて、任意の好適な材料から構築することができ、また、射出成形するこ

10

20

30

40

50

とができ、または、射出成形品から組み立てることができ、または、打ち抜くことができる。いくつかの実施形態において、メンブランホルダーは、バイオプロセッシングチャンバーにおけるメンブランの両側の周りでのプロセス流体の層流を提供すること、および、メンブランがバイオプロセッシングチャンバーの1つまたは複数の壁に付着しないこと、あるいは、メンブランがバイオプロセッシングチャンバーの1つまたは複数の壁と接触しないことを助ける。

【0139】

図22Aは、図21Bに示されるプロットメンブランホルダー2120に類似するプロットメンブランホルダー2200の代替実施形態を示す。プロットメンブランホルダー2200は、ホルダー2200が、プロットメンブランをその間に置くことができるホルダー2200の2つの部分（部分2221および部分2223）を形成するために折り目2222に沿って折り畳まれるという点で、プロットメンブランホルダー2120に類似して折り畳まれる。ホルダー2120とは異なり、ホルダー2200は、側面の流体流れ切欠き2224に加えて、折り目2222に沿った底部の流体流れ切欠き2227を、ホルダー2200におけるプロットメンブランの周り、および、バイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングチャンバーと、流体流れ通路との間における流体流れを容易にするために含む。プロットメンブランホルダー2120と同様に、ホルダー2200は、ホルダーに対する支持を提供し、一方で、メンブランの両側の周りでのプロセス流体の自由な流れを可能し、また、一方で、バイオプロセッシングチャンバーの壁と、ホルダー2200内のメンブラン2116との間での相互作用を防止または制限するために、図において垂直配向で示される支持リブ2228を含む。プロットメンブランホルダー2200は、本明細書中に記載される他のプロットメンブランホルダーが構築される同じ材料または類似する材料から構築することができる。

【0140】

図22Bは、図22Aに示されるプロットメンブランホルダー2200に類似するプロットメンブランホルダー2250の代替実施形態を示す。プロットメンブランホルダー2250は、ホルダー2250が、プロットメンブランをその間に置くことができるホルダー2250の2つの部分（第1の部分2251および第2の部分2253）を形成するために折り目2252に沿って折り畳まれるという点で、プロットメンブランホルダー2200に類似して折り畳まれる。加えて、ホルダー2200と同様に、ホルダー2250は、側面の流体流れ切欠き2254に加えて、折り目2252に沿った底部の流体流れ切欠き2257を、ホルダー2250におけるプロットメンブランの周り、および、バイオプロセッシングカートリッジにおけるバイオプロセッシングチャンバーと、流体流れ通路との間における流体流れを容易にするために含む。ホルダー2200とは異なり、プロットメンブランホルダー2250は側面の流体流れ切欠きを部分2251にだけ含み、部分2253には含まず、また、プロットメンブランホルダー2250はまた、2つの部分（2251および2253）の分離を容易にし、かつ、プロットメンブランを処理するためのより一致した面積を提供する隆起部または尖端2260を含む。プロットメンブランホルダー2200と類似して、ホルダー2250は、ホルダーに対する支持を提供し、一方で、メンブランの両側の周りでのプロセス流体の自由な流れを可能し、また、一方で、バイオプロセッシングチャンバーの壁と、ホルダー2250内のメンブラン2116との間での相互作用を制限または防止するために、図において垂直配向で示される支持リブ2258を含む。プロットメンブランホルダー2250は、本明細書中に記載される他のプロットメンブランホルダーが構築される同じ材料または類似する材料から構築することができる。

【0141】

図23は、本明細書中に提供されるバイオプロセッシングデバイスのいくつかの実施形態に対する自動化された制御システムを使用してバイオプロセッシングプロトコルを行う際に含まれ得る工程の一部を行うために方法の1つの実施形態の基本的フローチャート2300を示す。これらの工程は、例としてであることが意図されるだけであり、いくつかの実施形態では、さらなる工程、工程の異なる順序を含むことができ、また、示される工程の

一部を省略することができる。示されるように、デバイスは初期化することができ(2310)、デバイスのカートリッジスロットの中に挿入されるカートリッジのタイプおよび/または数を確認することができ(2320)、バイオプロセッシングプロトコルを、利用可能な1組の事前に搭載されたプロトコルから選択することができ(2330)、あるいは、既存のプロトコルを編集することによるか、または、新しいプロトコルをデバイスに入力することによるか、または、プロトコルをデバイスにアップロードすることによるかのいずれかによってデバイスに対して使用者により作製することができる。プロトコルの選択(2330)の後、デバイスは、プロトコル2335に関連する個々のパラメーターの承認および訂正を確認することを使用者に促すことができ、その後、プロトコルが、所望されるカートリッジに対してデバイスによって実行され得る(2340)。いくつかの実施形態において、多数のプロトコル、プロトコルの多数のタイプ、および/または、カートリッジの多数のタイプが、同時に、または、様々なシーケンスで、デバイスに対して使用され得る。

【0142】

例として、図12～図14に関して開示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態を、タンパク質がプロットメンブランに転写された後のウエスタンブロットのブロッキング工程、洗浄工程、抗体結合工程および/または検出工程のいずれかまたはすべてを行うために、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングデバイスと併せて使用することができる。そのようなプロセスがどのように実行されるかの1つの実施形態の一例を下記に示す。下記の手順は例として提供されるだけであること、そして、工程の1つまたは複数が改変および/または省略され得ること、そして、他のタイプのバイオプロセッシングが、本発明のバイオプロセッシングデバイスおよびバイオプロセッシングカートリッジおよび他のプロトコル、ならびに、同じまたは異なるバイオプロセッシングカートリッジ形態を使用して行われ得ることを理解しなければならない。

【0143】

1) バイオプロセッシングデバイスが、流体容器ホルダーを取り外し可能な流体ホルダートレイの中に挿入し、スライドさせてバイオプロセッシングデバイスの中に入れることによって処理のために準備される。流体容器ホルダーは、処理されるそれぞれのプロットメンブランのために、適量のブロッキング緩衝液を含有する容器、適量の洗浄緩衝液を含有する容器、適量の一次抗体を含有する容器、適量の二次抗体を含有する容器、および、適量の水を含有する容器を含む。流体容器ホルダーが、これらの容器の1つまたは複数(これらは、事前に充填されて供給され得るか、または、使用によって充填され得る)とともに使用者に供給され得ることを理解しなければならない。いくつかの実施形態において、これらの容器の少なくとも1つが事前に充填され、一方で、他の実施形態において、これらの容器のすべてが事前に充填され、または、これらの容器はどれも事前に充填されない。

【0144】

2) 検出されるタンパク質が転写されているプロットメンブランがプロットメンブランホルダーの中に挿入され、そして、図12～図14に記載されるように構成されるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に、バイオプロセッシングチャンバーの開いている上部から挿入される。多数のカートリッジを使用することができ、この場合、それぞれが、それ自身のプロットメンブラン、プロットメンブランホルダー、および、流体容器ホルダーにおける流体容器を有する。

【0145】

3) バイオプロセッシングカートリッジがバイオプロセッシングデバイスのスロットの中に挿入され、カートリッジホルダーに固定される。それぞれのカートリッジのための流体マニホールドが、それぞれのカートリッジホルダーに関連する袋状物を膨張させることによってカートリッジの制御流体コネクタに取り付けられる。操作者は、吸引/吐出チューブが流体容器ホルダーにおける適切な容器の内部に置かれることを確実にする。

【0146】

4) バイオプロセッシングデバイスは、トレイおよびカートリッジが正しく挿入されてい

ること、また、カートリッジが以前に使用されていないことを確認することができる。

【0147】

5) 操作者が、自動化された制御システムにおける所望されるプロトコルをカートリッジのために選択し、プロトコルを開始させる。アクセスバルブのすべてが、それらの作動状態を確認することによってこの時点では閉じていることが確保される。

【0148】

この例示的手順の残りが、ただ1つだけのカートリッジに関して記載される。この例示的手順の残りは、プロトコルが選択されると、自動的に、また、手作業を伴うことなく行われる。

【0149】

6) 自動化された制御システムは、適切な制御流体通路からの圧力および/または真空を使用することにより、ブロッキング緩衝液容器に関連するアクセスバルブのメンブランを作動させて開き、また、カートリッジにおけるバイオプロセッシングチャンバーの下側中心部分に接続する流れ通路に関連するポンプおよびプロセス流体バルブ(「中心バルブ」)を作動させ、ブロッキング緩衝液をブロッキング緩衝液容器からバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出する。ブロッキング緩衝液がバイオプロセッシングチャンバーの中にポンプ送出された後、ブロッキング緩衝液アクセスバルブが閉鎖位置に作動させられる。

【0150】

7) ブロッキング緩衝液が、緩衝液を、ポンプを作動させることにより、バイオプロセッシングチャンバーの側面に入る流れ通路に関連するプロセス流体バルブの1つ(「側方バルブ」)を介して引き抜き、その後、引き抜かれた流体を、ポンプにより、中心バルブを介してバイオプロセッシングチャンバーの中に戻すことによってバイオプロセッシングチャンバーおよびプロットメンブランを通して再循環させられる。どちらかの側方バルブが、プロットメンブランのサイズに依存して使用され得る。再循環を下記のように行うことができる。側方バルブが開けられ、緩衝液がポンプにより、側方バルブおよび関連する流れ通路を介してポンプの中に入れられる。側方バルブが閉じられ、中心バルブが開けられる。ポンプを作動させて、ブロッキング緩衝液がポンプにより、ポンプから、中心バルブを介してバイオプロセッシングチャンバーの中に入れられ、中心バルブが閉じられる。この手順が、プロトコルにおける選択された回数について繰り返される。バイオプロセッシングチャンバーへの流体のそれぞれの戻りは、プロットメンブランがわずかに動くことを生じさせることができ、また、ブロッキング緩衝液に対するプロットメンブランの表面の良好な暴露または実質的に均一な暴露を確実にする局所的な渦形成または乱流の形成を生じさせることができる。

【0151】

8) ブロッキングが完了すると、交互に、中心バルブを開け、流体をポンプによりポンプに入れ、中心バルブを閉じ、廃液容器アクセスバルブを開け、流体をポンプにより廃液容器の中に入れることによって、緩衝液がポンプにより、チャンバーから、中心バルブを介して、流体容器ホルダーにおける廃液容器の中に入れられる。

【0152】

9) この様式において、プロットメンブランを洗浄することができ、一次抗体をメンブランとインキュベーションすることができ、メンブランを再び洗浄することができ、二次抗体をメンブランとインキュベーションすることができ、メンブランをさらに洗浄し、すすぎ洗浄することができ、これらはすべてが、使用者との対話を何ら必要とすることなく、自動化されたプロトコルに従って行われる。上記工程のいずれかまたはすべてが、上記で記載されるプロセス流体の再循環を含むことができる。最後のすすぎ洗浄の後、デバイスは、完了したことをシグナルにより知らせるためのアラームを提供することができ、そして、カートリッジをデバイスから取り出すことができ、プロットメンブランを、さらなる処理(例えば、タンパク質の検出および分析など)のためにカートリッジから取り出すことができる。

10

20

30

40

50

【0153】

抗体、ブロッッキング緩衝液、洗浄緩衝液および発色/検出溶液は、制限されることなく、免疫ブロッキング手順における使用のための任意の好適な組成を含むことができる。抗体、ブロッッキング緩衝液および洗浄緩衝液が、単独で、または、キットの成分として、そのどちらかで商業的に供給され得るか、あるいは、最終使用者によって調製され得る。限定されない例として、現時点で記載される実施形態に従って使用される抗体には、1つまたは複数の一次抗体、1つまたは複数の二次抗体、あるいは、1つまたは複数の二次抗体との組合せでの1つまたは複数の一次抗体が含まれ得る。

【0154】

好適な一次抗体には、現時点で記載されるシステムとの使用のために使用者によって選択される任意の抗体が含まれ得る。いくつかの実施形態において、一次抗体は、使用者が規定する抗原に対するものであり得る。いくつかの実施形態において、一次抗体は、複数の抗原を認識する抗体の完全な混合物であり得る。一次抗体を商業的に購入することができ、または、使用者が作製することができる。

10

【0155】

一次抗体はポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体をマウスまたはラットにおいて惹起させることができる。モノクローナル抗体は、IgG (IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3)、IgM、IgA、IgDおよびIgEの各サブクラスであり得る。ポリクローナル抗体を、ウサギ、マウス、ラット、ハムスター、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ロバまたはニワトリにおいて惹起させることができる。1つの実施形態において、抗体がヒト血清に由来し得る。ヒト抗体は少なくとも部分精製され得るか、または、完全精製され得る。抗体の調製方法および精製方法がこの分野では広く知られている。様々な抗体調製物の製造、精製および使用の一般的な指針が、例えば、下記の参考書籍において見出され得る：Harlow他、1989、Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor、New York；Harlow他、1999、Using Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、New York；および、Harlow他、1989、Antibodies、A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor、NY（これらのすべてが、本明細書により、それらの全体において参照によって特に組み込まれる）。

20

30

【0156】

いくつかの実施形態において、一次抗体は「負荷用コントロール抗体」であり得る。負荷用コントロール抗体が使用者によって提供され得るか、または、現時点で記載されるシステムの一部として商業的に提供され得る。現時点で記載されるシステムおよび方法とともに使用または供給され得る、例示的な、だが、限定されない負荷用コントロール抗体には、アクチン、チューブリン、ヒストン、ビメンチン、ラミン、GAPDH、VDAC1、COXIV、hsp-70、hsp-90またはTBPに対する抗体が含まれ得る。

【0157】

免疫ブロッキング緩衝液における一次抗体の濃度は、当然のことではあるが、使用されている具体的な一次抗体、抗体が使用されている状況、および、抗体において固有的な様々な他の特性に依存して変化する。いずれかの所与の実験状況で使用するための適切な一次抗体濃度の決定は、十分に当業者の技術レベルの範囲内である。典型的には、一次抗体の濃度は、1:10~1:20,000、1:100~1:15,000、1:1,000~1:10,000、または、1:1,500~1:5,000である。

40

【0158】

現時点で記載されるシステムおよび方法に従った使用のための好適な二次抗体には、一次抗体を認識し、かつ、それに結合することができる任意の抗体が含まれる。二次抗体は必要な場合には、1つまたは複数の検出手段にカップリングすることができる。好適な二次抗体を構成するものが、当然のことではあるが、二次抗体と併せて使用される1つまた

50

は複数の一次抗体の正体に依存して変化することが、当業者には容易に明らかである。一般に、二次抗体は、使用されている一次抗体の少なくとも一部分に結合するように選択される。適切な二次抗体の選択はさらに、シグナルを後の工程で検出するために使用される方法に依存する。最終使用者が、分析物を検出するために化学発光技術を使用しているならば、好適な二次抗体は、例えば、ペルオキシダーゼ酵素にカップリングされ得る。研究者が、分析物を検出するために比色法技術を使用しているならば、好適な二次抗体は、例えば、アルカリホスファターゼ酵素にカップリングされ得る。研究者が、分析物を検出するために蛍光測定法技術を使用しているならば、好適な二次抗体は、蛍光団（F I T C 試薬、T R I T C 試薬、T e x a s - R e d 試薬、A l e x a - F l u o r 試薬、量子ドット、半導体ナノ結晶など（これらに限定されない）を含む）にカップリングされ得る。必要な場合には、二次抗体は1つまたは複数のビオチン成分にカップリングすることができ、検出分子（例えば、ペルオキシダーゼ、ホスファート、蛍光団など）をアビジンまたはストレプトアビジンにカップリングすることができる。そのようなビオチン/アビジン系を使用することにより、一部の場合には、弱いシグナルが増幅され得る。典型的には、二次抗体の濃度は、1 : 10 ~ 1 : 20, 000、1 : 100 ~ 1 : 15, 000、1 : 1, 000 ~ 1 : 10, 000、または、1 : 1, 500 ~ 1 : 5, 000である。

10

【0159】

現時点で記載されるシステムおよび方法との使用のための好適な二次抗体を、例えば、ウサギ、マウス、ラット、ハムスター、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ロバ、七面鳥またはニワトリにおいて惹起させることができる。二次抗体は典型的には、一次抗体が惹起された生物種とは異なる生物種において惹起される。二次抗体は、二次抗体が一次抗体の一部分を認識し、かつ、それに結合するように作製される。二次抗体は、少なくとも部分的にアフィニティー精製され得る。二次抗体は、マウス I g G、マウス I g A、マウス I g M、ラット I g G、ラット I g A、ラット I g M、ウサギ I g G、ウサギ I g A、ウサギ I g M、ハムスター I g G、ハムスター I g A、ハムスター I g M、ヤギ I g G、ヤギ I g A、ヤギ I g M、ウマ I g G、ウマ I g A、ウマ I g M、ヒツジ I g G、ヒツジ I g A、ヒツジ I g M、ロバ I g G、ロバ I g A、ロバ I g M、ニワトリ I g G、ニワトリ I g A、ニワトリ I g M、ニワトリ I g Y、ヒト I g G、ヒト I g Aまたはヒト I g M に対するものであり得る。二次抗体は1つまたは複数の検出分子にカップリングすることができ、例えば、例として、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、ビオチン、蛍光団または量子ドットまたは半導体ナノ結晶などにカップリングすることができる。

20

30

【0160】

ブロッキング緩衝液は、希釈剤に溶解または分散される適切なブロッキング試薬を含むことができる。好適なブロッキング試薬には、限定されない例として、全血清、分画化血清、ウシ血清アルブミン、カゼイン、ダイズタンパク質、脱脂乳、ゼラチン、魚類血清、ヤギ免疫グロブリン、ウサギ免疫グロブリン、マウス免疫グロブリン、ラット免疫グロブリン、ウマ免疫グロブリン、ヒト免疫グロブリン、ブタ免疫グロブリン、ニワトリ免疫グロブリン、または、合成ブロッキング試薬（例えば、B i o F X L a b o r a t o r i e s、K e m - E n - T e c D i a g n o s t i c sまたはG e n e W a y B i o t e c hから商業的に得ることができる合成ブロッキング試薬など）が含まれ得る。様々な市販されている事前に調製されたブロッキング試薬が利用可能であり、それらのすべてが、本明細書中に記載されるようなキットとともに供給され得る。そのような市販されているブロッキング試薬には、例えば、W e s t e r n B r e e z e、I - B L O C K、B l o c k I t、P e r f e c t B l o c k、合成ブロッキング緩衝液（B i o F X L a b s）、G e l a n t i s B e t t e r B l o c k、S e a B l o c k、S t a r t i n g B l o c kおよびタンパク質非含有ブロッキング緩衝液（P i e r c e）が含まれるが、これらに限定されない。ブロッキング試薬が、希釈剤に溶解または分散されて供給される実施形態において、存在するブロッキング試薬の量は、約0.1wt.% ~ 約50wt.%、約1wt.% ~ 約40wt.%、約2.5wt.% ~ 約25wt.%、約5wt.% ~ 約15wt.%または約10wt.%の範囲であり得る。1つの実施形態において

40

50

、免疫ブロッキング緩衝液に存在するブロッキング試薬の量は、約 75 mg / ml まで、約 50 mg / ml まで、約 40 mg / ml まで、約 30 mg / ml まで、約 20 mg / ml まで、約 15 mg / ml まで、約 10 mg / ml まで、約 5 mg / ml まで、約 2.5 mg / ml まで、約 1 mg / ml まで、約 0.5 mg / ml まで、約 0.25 mg / ml まで、または、約 0.1 mg / ml までであり得る。ブロッキング試薬のためのキャリア媒体として使用され得る好適な希釈剤には、実質的に生理学的な pH およびイオン強度を有する任意の水性緩衝液が含まれる。例示的な、だが、限定されない希釈剤には、リン酸塩イオン、重炭酸塩、TAPS、Bicine、Tris、Bis-Tris、Tricine、HEPES、TES、MOPS、PIPES、カコジル酸塩、MES、酢酸塩、ADA、ACES、コラミン、BES、アセトアミドグリシンまたはそれに存在するグリシナイド (glycinamide) を含有する任意の緩衝液が含まれ得る。希釈剤としての使用のために好適である例示的な緩衝液には、例えば、PBS、ハンクス溶液、TBS、TE または TEN などが含まれるが、これらに限定されない。必要な場合には、希釈剤は界面活性剤を含むことができる。好適な界面活性剤には、非イオン性の、変性作用のない界面活性剤、例えば、Triton X-100、Triton X-144、NP-40、Brj-35、Brj58、Tween-20、Tween-80、オクチルグルコシドおよびオクチルチオグルコシドなど、ならびに、スルファベタインなどの界面活性剤 (これには、SB-12、SB-14 および SB-16 が含まれる) が含まれ得る。希釈剤は、約 0.01 vol. % ~ 約 5 vol. % の界面活性剤、約 0.05 vol. % ~ 約 2 vol. % の界面活性剤、約 0.1 vol. % ~ 約 1.5 vol. % の界面活性剤、または、約 0.5 vol. % ~ 約 1 vol. % の界面活性剤を含有することができる。

【0161】

いくつかの実施形態において、好適な洗浄緩衝液は、上記で記載されるように、ブロッキング試薬が分散される希釈剤と同じであり得る。いくつかの実施形態において、洗浄緩衝液は、ブロッキング試薬を含まない希釈剤であり得る。

【0162】

いくつかの実施形態において、洗浄緩衝液または希釈剤は完全強度 (すなわち、1X 強度) で供給され得るか、あるいは、その貯蔵および輸送を容易にする高濃度溶液として供給され得る。高濃度の洗浄緩衝液または希釈剤は、例えば、脱イオン水、無菌水または任意の他の好適な希釈剤を使用して、使用者によって希釈され得る。高濃度の洗浄緩衝液 / 希釈剤は、約 50X 強度までとして、または、約 25X 強度までとして、または、約 20X 強度までとして、または、約 10X 強度までとして、または、約 5X 強度までとして、または、約 2X 強度までとして供給され得る。

【0163】

いくつかの実施形態において、洗浄緩衝液 / 希釈剤は、キットとともに供給される 1 つまたは複数のプラスチックピンまたはガラスピンで使用者に供給され得る。それぞれのキットが、洗浄緩衝液の 1 本 ~ 10 本の間のピン、洗浄緩衝液の 1 本 ~ 5 本の間のピン、または、洗浄緩衝液の 1 本 ~ 2 本の間のピンを含むことができる。希釈剤のそれぞれのピンが、5 L までの希釈剤、4 L までの希釈剤、3 L までの希釈剤、2 L までの希釈剤、1 L までの希釈剤、500 mL までの希釈剤、または、100 mL までの希釈剤を含有することができる。

【0164】

例として、図 16 ~ 図 18 に関して記載されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態が、核酸 (例えば、プラスミド DNA、ゲノム DNA、ウイルス DNA および細菌 DNA または上記のいずれかのフラグメントを含めて、DNA またはそのフラグメントなど) の回収のための処理を含めて、核酸処理の細胞分離工程、溶解工程、清澄化工程、結合工程、洗浄工程、溶出工程、沈殿化工程および / または回収工程を行うために、本明細書中に記載されるバイオプロセッシングデバイスと併せて使用され得る。そのようなプロセスがどのように実行され得るかの 1 つの実施形態の一例を下記に示す。下記の手順は

例として提供されるだけであること、そして、工程の１つまたは複数が改変および／または省略され得ること、そして、他のタイプのバイオプロセッシングが、本発明のバイオプロセッシングデバイスおよびバイオプロセッシングカートリッジおよび他のプロトコル、ならびに、同じまたは異なるバイオプロセッシングカートリッジ形態を使用して行われ得ることを理解しなければならない。

【 0 1 6 5 】

１）バイオプロセッシングデバイスが、処理されるべきそれぞれのサンプルのための流体リザーバーホルダーを取り外し可能な流体ホルダートレーの中に挿入し、スライドさせてバイオプロセッシングデバイスの中に入れることによって処理のために準備される。それぞれの流体リザーバーホルダーは、サンプルが挿入されるサンプル容器、廃液容器、R N a s s eリザーバー、再懸濁緩衝液リザーバー、溶解緩衝液リザーバー、中和緩衝液リザーバー、洗浄溶液リザーバー、溶出溶液リザーバー、イソプロパノールリザーバー、エタノールリザーバー、回収緩衝液リザーバーおよび回収リザーバーを含み、それぞれのリザーバーが適量の関連する溶液を含有する（または、例えば、廃液容器および回収容器などについては空である）。流体リザーバーホルダーは、空のリザーバーとともに、または、事前に充填されたリザーバーとともに供給することができ、サンプルを加えることのみが必要とされる。いくつかの実施形態において、これらのリザーバーの１つまたは複数が事前に充填されることがあり、一方で、これらのリザーバーの１つまたは複数が使用者によって充填されることがある。いくつかの実施形態において、流体リザーバーホルダーが、事前に充填された少なくとも１つのリザーバーとともに供給され、一方で、他の実施形態において、流体リザーバーホルダーが、リザーバーを何ら伴うことなく供給され、および／または、１つまたは複数のリザーバーが空で供給される。

【 0 1 6 6 】

２）それぞれのサンプルが処理されるために、バイオプロセッシングカートリッジがバイオプロセッシングデバイスのスロットの中に挿入され、カートリッジホルダーに固定される。それぞれのカートリッジのための流体マニホールドが、カートリッジホルダーに関連する袋状物を膨張させることによってカートリッジの制御流体コネクタに取り付けられる。操作者は、カートリッジをスロットおよびカートリッジホルダーの中に挿入するとき、吸引／吐出チューブが流体容器ホルダーにおける適切な容器の内部に置かれることを確実にする。

【 0 1 6 7 】

３）バイオプロセッシングデバイスは、トレイおよびカートリッジが正しく挿入されていることを確認することができる。

【 0 1 6 8 】

４）操作者が、デバイスに事前にプログラムされ得る所望のプロトコル、または、自動化された制御システムに使用者により定義され得る所望のプロトコルをカートリッジのために選択し、プロトコルを開始させる。アクセスバルブのすべてが、それらの作動状態を確認することによってこの時点では閉じていることが確保される。

【 0 1 6 9 】

この例示的手順の残りが、図 1 8 A ~ 図 1 8 B における参照数字を参照してただ１つだけのカートリッジに関して記載される。この例示的手順の残りは、プロトコルが選択されると、自動的に、また、手作業を伴うことなく行われる。

【 0 1 7 0 】

６）自動化された制御システムは、適切な制御流体通路からの圧力および／または真空を使用することにより、サンプルに関連するメンブランアクセスバルブ 1 8 1 8 を開け、ポンプ 1 8 1 0 を作動させ、サンプルをポンプにより、カートリッジにおける細胞分離バイオプロセッシングチャンバー 1 8 0 3 の上部側中心部分で入口に接続するプロセス流体通路に関連するプロセス流体バルブ（1 8 4 6 および 1 8 5 2）に通し、チャンバー 1 8 0 3 におけるフィルターメンブランに通し、背後におけるチャンバーの底部側中心部分でのチャンバー 1 8 0 3 の出口またはカートリッジの制御流体層を介してチャンバーから出し

、パススルー 1872 に通して、カートリッジのプロセス流体層に戻し、アクセスバルブ 1820 を介して出し、流体容器ホルダーにおける廃液容器の中に入れる。この際、適切なポンプが、流体が正しい流体通路を通して流れることを可能にするために、また、流体が、誤った時間に誤った流体通路を流れることを防止するために必要とされるように開閉されるように作動させられる。サンプルにおける細胞がチャンバー 1802 においてフィルターに捕獲される。

【0171】

7) チャンバー 1803、および、チャンバー 1803 に至るプロセス流体通路、および、ポンプ 1810 に残留する媒体が、制御流体層からのおよそ 30 p s i ~ 40 p s i での空気（例えば、空気のパルスまたは空気の連続流など）を、プロセス流体層へのチェックバルブ 1868 に通し、ポンプ 1810、プロセスバルブ（1846 および 1852）に通し、バイオプロセッシングチャンバー 1803 におけるフィルターを通り抜け、背後におけるチャンバー 1803 の底部側中心部分でのチャンバー 1803 の出口またはカートリッジの制御流体層を介してチャンバー 1803 から出し、パススルー 1872 に通して、カートリッジのプロセス流体層に戻し、アクセスバルブ 1820 を介して出し、流体容器ホルダーにおける廃液容器の中に入れることによって除かれる。

10

【0172】

8) ポンプ 1810 を使用して、R N a s e がポンプにより、R N a s e リザーバーから、アクセスバルブ 1822 を通ってポンプ 1810 の中に、そして、アクセスバルブ 1824 を通り、再懸濁緩衝液リザーバーの中に入れられる。

20

【0173】

9) チャンバー 1803 におけるフィルターメンブラン上の細胞が、ポンプ 1810 を使用することにより、再懸濁緩衝液（R N a s e を含む）をポンプにより、アクセスバルブ 1824 に通し、ポンプ 1810 に通し、（再懸濁緩衝液が制御流体層に移動させられる場合は）プロセスバルブ 1840 およびパルスルー 1872 に通し、背後におけるチャンバー 1803 の底部側中心部分での（今回は入口として使用される）出口またはカートリッジの制御流体層に通し、チャンバー 1803 の中に入れ、そして、（工程 6 ~ 工程 7 における細胞分離とは逆方向で）フィルターを通り抜け、チャンバー 1802 から出し、細胞分離バイプロセッシングチャンバー 1803 の上部側中心部分での（今回は出口として使用される）入口に通し、プロセスバルブ 1852 およびアクセスバルブ 1826 に通し、溶解緩衝液リザーバーの中に入れることによって再懸濁される。

30

【0174】

10) チャンバー 1803、および、チャンバー 1803 から溶解リザーバーに至るプロセス流体通路における何らかの残留する細胞が、制御流体層からのおよそ 30 p s i ~ 40 p s i での空気（例えば、空気のパルスまたは空気の連続流など）を、プロセス流体層へのチェックバルブ 1868 に通し、空気が制御流体層に移動させられる場合はプロセスバルブ 1840 およびパルスルー 1872 に通し、背後におけるチャンバー 1803 の底部側中心部分での（今回は入口として使用される）出口またはカートリッジの制御流体層に通し、チャンバー 1803 の中に入れ、そして、（工程 6 ~ 工程 7 における細胞分離とは逆方向で）フィルターを通り抜け、チャンバー 1803 から出し、細胞分離バイプロセッシングチャンバー 1803 の上部側中心部分での（今回は出口として使用される）入口に通し、プロセスバルブ 1852 およびアクセスバルブ 1826 に通し、溶解緩衝液リザーバーの中に入れることによって除かれる。

40

【0175】

11) 細胞が、溶液を、ポンプ 1810 を使用して、溶解緩衝液リザーバーから、アクセスバルブ 1826 に通し、プロセスバルブ 1846 に通し、ポンプ 1810 に通し、アクセスバルブ 1824 に通し、再懸濁緩衝液リザーバーの中に入れ、そして、再び戻すことにより、溶液を、溶解緩衝液リザーバーと、再懸濁リザーバーとの間で往復させて溶解緩衝液リザーバーにおいて穏やかに混合することによって溶解される。この往復を、細胞を溶解するために必要なほど行うことができる。溶液は最終的にはこれらのリザーバーの

50

どちらかに達し得る。

【0176】

12) 溶解された細胞が再懸濁緩衝液リザーバーにあると仮定した場合、中和緩衝液が、ポンプ1810を使用して、中和緩衝液リザーバーから、アクセスバルブ1828に通し、プロセスバルブ1846に通し、ポンプ1810に通し、アクセスバルブ1824に通し、再懸濁緩衝液リザーバーの中に入れられる。溶液は、ポンプによりこの経路を介して往復させることによって混合することができ、最終的には、形成される層を分離することができるどちらかのリザーバーに達し得る。

【0177】

13) 溶解および中和された細胞が再懸濁緩衝液にあると仮定した場合、溶解物が、ポンプ1810を使用して、溶解物を、アクセスバルブ1824に通し、ポンプ1810に通し、プロセスバルブ1848に通し、チャンバーの上部側中心部分での入口を介してバイオプロセッシングチャンバー1804の中に入れ、細胞破片および他の破片が除かれるチャンバー1804内の清澄化フィルターに通し、制御流体層におけるチャンバーの底部側中心部分での出口を介してチャンバー1804から出し、プロセス流体層へのパススルーチェックバルブ1870に通し、制御流体層にまで通過することがバルブによって防止されている間はアクセスチェックバルブ1866を通り抜け、制御流体層に戻るパススルー1874に通し、底部側中心部分を介してバイオプロセッシングチャンバー1806の中に入れ、DNA結合性の固相抽出用のフィルター、メンブラン、ディスクまたはカセットを通り抜け、プロセス流体層におけるチャンバー1806の上部側中心部分での出口を介してバイオプロセッシングチャンバー1806から出し、プロセスバルブ1858およびアクセスバルブ1818に通し、サンプル容器（これは今回、廃液容器として働く）の中にポンプに入れることによって清澄化され得る。

【0178】

14) 固相抽出用のフィルター、メンブラン、ディスクまたはカセットが、洗浄溶液容器からの洗浄溶液を、ポンプ1812を使用して、アクセスバルブ1830に通し、ポンプ1812に通し、プロセスバルブ1850に通し、それらを通過することが防止されている間はチェックバルブ（1870および1866）を通り抜け、制御流体層へのパススルー1874に通し、底部中心入口を介してバイオプロセッシングチャンバー1806の中に入れ、DNA結合性の固相抽出用のフィルター、メンブラン、ディスクまたはカセットを通り抜け、プロセス流体層におけるチャンバー1806の上部側中心部分での出口を介してバイオプロセッシングチャンバー1806から出し、プロセスバルブ1858およびアクセスバルブ1818に通し、サンプル（廃液）容器の中に入れることによって洗浄される。

【0179】

15) 洗浄工程の後、何らかの残留する洗浄溶液が、制御流体層からのおよそ30PSI~40PSIでの空気（例えば、空気のパルスまたは空気の連続流など）を、プロセス流体層へのチェックバルブ1866に通し、空気が制御流体層に移動させられる場合はバルスルー1874に通し、チャンバー1806の底部側中心部分での入口に通し、フィルターを通り抜け、バイオプロセッシングチャンバー1806の上部側中心部分での出口を介してチャンバー1806から出し、プロセスバルブ1858に通し、アクセスバルブ1818に通し、サンプル（廃液）容器の中に入れることによって、バイオプロセッシングチャンバー1806から除かれる。

【0180】

16) 結合したDNAが、ポンプ1812を使用して、溶出溶液リザーバーからの溶出溶液を、アクセスバルブ1832に通し、ポンプ1812に通し、アクセスバルブ1850に通し、それらを通過することが防止されている間はチェックバルブ（1870および1866）を通り抜け、制御流体層へのパススルー1874に通し、底部中心入口を介してバイオプロセッシングチャンバー1806の中に入れ、DNA結合性の固相抽出用のフィルター、メンブラン、ディスクまたはカセットを通り抜け、プロセス流体層におけるチャ

ンバー 1806 の上部側中心部分での出口を介してバイオプロセッシングチャンバー 1806 から出し、アクセスバルブ 1860 に通し、ポンプ 1814 に通し、アクセスバルブ 1834 に通し、イソプロパノールレザーバーの中に入れることによって、固相抽出用のフィルター、メンブラン、ディスクまたはカセットから溶出される。

【0181】

17) イソプロパノール容器における溶液が、溶液を、ポンプ (1814 および 1812) を使用して、イソプロパノール容器から、アクセスバルブ 1834 に通し、ポンプ 1814 に通し、プロセスバルブ 1854 に通し、ポンプ 1812 に通し、アクセスバルブ 1832 に通し、溶出溶液容器の中に入れ、そして、再び戻すことにより、溶液を、イソプロパノール容器と、溶出溶液容器との間で往復させてイソプロパノール容器において穏やかに混合することによって混合される。この往復を、これらの溶液を混合するために必要なほど行うことができる。溶液は最終的にはイソプロパノール容器に達するにちがいない。

10

【0182】

18) DNA が、ポンプ 1814 を使用して、イソプロパノール容器における溶液を、アクセスバルブ 1834 に通し、ポンプ 1814 に通し、アクセスバルブ 1856 に通し、バイオプロセッシングチャンバー 1808 の上部部分での入口に通し、チャンバー 1808 の中に入れ、チャンバー 1808 内の沈降分離器フィルターを通り抜け、制御流体層におけるチャンバー 1808 の底部部分での出口から出し、パススルー 1873 に通し、プロセスバルブ 1863 およびアクセスバルブ 1818 に通し、サンプル (廃液) 容器の中に入れることによって、バイオプロセッシングチャンバー 1808 において沈降分離器で捕獲される。

20

【0183】

19) 沈降分離器が、エタノール容器からのエタノールを、ポンプ 1814 を使用して、アクセスバルブ 1836 に通し、ポンプ 1814 に通し、アクセスバルブ 1856 に通し、バイオプロセッシングチャンバー 1808 の上部部分での入口に通し、チャンバー 1808 の中に入れ、チャンバー 1808 内の沈降分離器フィルターを通り抜け、制御流体層におけるチャンバー 1808 の底部部分での出口から出し、パススルー 1873 に通し、プロセスバルブ 1863 およびアクセスバルブ 1818 に通し、サンプル (廃液) 容器の中にポンプに入れることによって、エタノールにより洗浄される。

30

【0184】

20) 沈降分離器が、制御流体層からのおよそ 30 PSI ~ 40 PSI での空気 (例えば、空気のパルスまたは空気の連続流など) を、プロセス流体層へのチェックバルブ 1864 に通して、プロセスバルブ 1862 に通し、バイオプロセッシングチャンバー 1808 の上部部分での入口に通し、チャンバー 1808 の中に入れ、チャンバー 1808 内の沈降分離器フィルターを通り抜け、制御流体層におけるチャンバー 1808 の底部部分での出口から出し、パススルー 1873 に通し、プロセスバルブ 1863 およびアクセスバルブ 1818 に通し、サンプル (廃液) 容器の中に入れることによって乾燥される。

【0185】

21) 沈降分離器における DNA が、回収緩衝液容器からの回収緩衝液を、ポンプ 1816 を使用して、アクセスバルブ 1838 に通し、ポンプ 1816 に通し、それを通過することが防止されている間はチェックバルブ 1864 を通り抜け、プロセスバルブ 1862 に通し、バイオプロセッシングチャンバー 1808 の上部部分での入口に通し、チャンバー 1808 の中に入れ、チャンバー 1808 内の沈降分離器フィルターを通り抜け、制御流体層におけるチャンバー 1808 の底部部分での出口から出し、パススルー 1873 に通し、アクセスバルブ 1838 に通し、回収容器の中に入れることによって、回収容器の中に溶出される。

40

【0186】

この手順は例としてであるだけであり、いかなる点でも限定であると見なしてはならないことを理解しなければならない。多くの異なる手順を、図 18A ~ 図 18B のカートリ

50

ッジとともに使用することができ、また、カートリッジは、さらなるバイオプロセッシングチャンバーまたはより少ないバイオプロセッシングチャンバー、バイオプロセッシングチャンバーのいずれかの異なる空間配向、バイオプロセッシングチャンバーへの入口および出口、異なる流れ通路形態、ポンプおよびバルブの異なる数、タイプおよび空間的配向、容器およびプロセス溶液の異なる数およびタイプ、ならびに、処理のためのサンプルの異なるタイプを有することを含めて、異なるプロトコルに従って異なる様式で構成され得る。

【0187】

任意の好適な緩衝液、洗浄溶液、再懸濁緩衝液、溶解緩衝液、中和緩衝液、RNase、溶出/回収緩衝液または沈殿化緩衝液を、行われているプロトコルに依存して、何らかのさらなる好適な試薬を伴って、または、さらなる試薬を伴うことなく使用することができ。好適な緩衝液、ならびに、それらの組成および使用方法が、下記の米国特許参考文献において開示される：米国特許第6,914,137号、米国特許出願公開第2006/0154247号、米国特許出願公開第2007/0117972号、米国特許第6,242,220号、米国特許第5,990,301号、米国特許第7,214,508号、米国特許第7,109,322号および米国特許第6,297,371号（これらのすべてが、全体が本明細書中に示されるかのように、本明細書により参照によって組み込まれる）。

【0188】

約3.5~約9の間のpH、約5~約8の間のpH、約6.5~約7.5の間のpHを有する任意の好適な生物学的に許容され得る緩衝液（例えば、Tris、TAPS、Bicine、Tricine、HEPES、TES、MOPS、PIPES、カコジル酸塩、MESまたは酢酸塩など）が、現時点で記載されるシステムおよび方法に従った再懸濁緩衝液の調製における使用のために好適である。いくつかの実施形態において、再懸濁緩衝液は、1mM~100mMの間、5mM~50mMの間、または、10mM~20mMの間のキレート化剤（例えば、EDTA、EGTA、ALA、BAPTA、デファラシロクス（defarasirox）、デフェリブロン（deferiprone）、デフェロキサミン（deferioxamine）、DTPA、ジメルカプロール、DMPSまたはDMSAなど）を含むことができる。いくつかの実施形態において、再懸濁緩衝液は必要な場合には、RNase（例えば、エンドリボヌクレアーゼおよびエキソリボヌクレアーゼなど）を含むことができ、これらには、RNase A、RNase H、RNase I、RNase III、RNase L、RNase P、RNase Phym、RNase T1、RNase T2、RNase U2、RNase V1、RNase V、PNPase、RNase PH、RNase II、RNase R、RNase D、RNase T、エキソリボヌクレアーゼIおよびエキソリボヌクレアーゼIIなどが含まれる。いくつかの実施形態において、RNase Aの配合物は、2.4mg/mlのRNase A、50mMのTris-HCl（pH8.0）、および、10mMのEDTAを含むことができる。いくつかの実施形態において、再懸濁緩衝液は必要な場合には、リゾチームを含むことができる。いくつかの実施形態において、再懸濁緩衝液は必要な場合には、約1mM~約500mMの間、約10mM~約200mMの間、約20mM~約100mMの間、約30mM~約75mMの間の炭水化物（例えば、糖など）を含むことができる。例示的な糖には、グルコース、フルクトース、ガラクトース、マンノース、マルトースおよびラクトースなどが含まれる。例示的な再懸濁緩衝液には、50mMのTris（pH7.4）、100μg/mlのRNase A1、10mMのEDTAおよび5mMのグルコースを含有する水溶液が含まれ得る。いくつかの実施形態において、再懸濁緩衝液には、50mMのTris（pH8.0）および10mMのEDTAを含有する水溶液が含まれ得る。

【0189】

好適な溶解溶液または溶解緩衝液は、水性キャリア媒体において、1つまたは複数の変性剤を1つまたは複数の脂質破壊剤との組合せで含むことができる。変性剤は核酸変性剤（例えば、アルカリ塩など）であり得る。好適なアルカリ塩には、水酸化ナトリウム、水

10

20

30

40

50

酸化カリウムおよび水酸化カルシウムなどが含まれ得る。好適な脂質破壊剤には、イオン性界面活性剤が含まれ得る。例示的なイオン性界面活性剤には、コール酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、デオキシコール酸ナトリウム (DOC)、N-ラウロイルサルコシン塩、セチルトリメチルアンモニウム臭化物 (CTAB) およびビス (2-エチルヘキシル) スルホスクシナート塩などが含まれる。いくつかの実施形態において、溶解緩衝液は、1%のSDSおよび200mMの水酸化ナトリウムを含む配合物であり得る。

【0190】

例示的な溶解溶液には、約10mM~約500mMの間、約50mM~約250mMの間、または、約100mM~約200mMの間のNaOHを、約10%までのSDS、約5%までのSDS、または、約1%までのSDSとの組合せで含有する水溶液が含まれ得る。さらなる薬剤を、当業者には容易に明らかであるように、溶解緩衝液に存在させることができる。

10

【0191】

好適な中和溶液は、適切な水性キャリア媒体において、溶解溶液に存在する界面活性剤/アルカリ溶液を中和することができる1つまたは複数の薬剤を含むことができる。いくつかの実施形態において、中和溶液は、pHが4を越える約0.5M~約5Mの間の適切な酢酸塩を含むことができる。例示的な中和溶液には、約3Mカリウムの水溶液 (pH 5) が含まれ得る。

20

【0192】

好適な洗浄緩衝液は、適切な水性キャリア媒体において、0.1mM~約100mMの間の塩、洗浄緩衝液のpHが少なくとも約6.0またはそれ以上であるような約0.5mM~約500mMの間の適切な生物学的緩衝液、および、少なくとも5vol. %、少なくとも10vol. %または少なくとも15vol. %の適切なアルコール (例えば、エタノールまたはイソプロピルアルコールなど) を含むことができる。必要な場合には、洗浄緩衝液は、約0.01vol. %から約10vol. %に至るまでの間の好適な非イオン性界面活性剤 (例えば、TRITON (登録商標) X-100、CHAPSまたはNP-40など) を含むことができる。そのような界面活性剤の添加は、いくつかの実施形態において、調製物からの望まれないエンドトキシンの除去を高めることができる。例示的な洗浄緩衝液は、1MのNaCl、50mMのMOPS (pH > 8.0)、15vol. %のイソプロピルアルコールおよび0.5vol. %のTRITON (登録商標) X-100を含むことができる。いくつかの実施形態において、洗浄緩衝液には、800mMのNaClおよび100mMの酢酸ナトリウム三水和物を含む水溶液で、pHが5.0である水溶液が含まれ得る。いくつかの実施形態において、洗浄緩衝液は、例えば、1.5N NaCl、100mmの酢酸ナトリウム三水和物を5.0のpHで含む配合物であり得る。

30

【0193】

好適な回収/溶出緩衝液は、適切な水性キャリア媒体において、 $5.0 < \text{pH} < 9.0$ を有する約50mMまでの適切な生物学的緩衝液と、約10mMまでの適切なキレート化剤とを含むことができる。例示的な回収/溶出緩衝液は、pHが8.0である10mMのTris HClを1mMのEDTAとの組合せで含むことができる。

40

【0194】

いくつかの実施形態において、平衡化緩衝液を、必要な場合には、固相抽出マトリックスにその使用の前に通すことができる。平衡化緩衝液は、1Mまでの塩、 $5.0 < \text{pH} < 9.0$ を有する500mMまでの適切な生物学的緩衝液、約10vol. %までの適切な非イオン性界面活性剤、および、約20vol. %までのアルコールを含むことができる。例示的な平衡化緩衝液は、例えば、750mMのNaCl、50mMのMOPS (pH 7.0)、15vol. %のイソプロピルアルコールおよび約0.15vol. %のTRITON (登録商標) X-100を含むことができる。

【0195】

いくつかの実施形態において、沈殿化緩衝液を、必要な場合には、固相抽出マトリックス

50

スにその使用の前に通すことができる。沈殿化緩衝液は、5 Mまでの酢酸カリウム、 $5.0 < \text{pH} < 9.0$ を有する500 mMまでの適切な生物学的緩衝液を含むことができる。例示的な沈殿化緩衝液は、例えば、pHが5.5である3.1 Mの酢酸カリウムを含むことができる。

【0196】

本明細書中においてさらに提供されるものが、下記の1つまたは複数を含むバイオプロセシングデバイスの1つの実施形態を使用して核酸を精製する代替方法である：使用されるカートリッジの数を選択すること；カートリッジをバイオプロセシングデバイスの中に挿入すること；カートリッジをさらに安定化するために袋状物を膨張させること；サンプル容器からの細胞をポンプにより、細胞を捕捉するためにポンプ間の700 msのポンプ遅延を用いて2100秒間、バイオプロセシングチャンバーに通して廃液容器の中に入れること；カートリッジ内の圧力を1秒間放出すること；Rnaseを、ポンプをポンプ拍動の間における800 msの遅延とともに使用して4秒間、カートリッジの中に吸引すること；再懸濁緩衝液を、再懸濁緩衝液をポンプにより、ポンプ拍動の間における800 msの遅延を使用して50秒間、溶解緩衝液リザーバーの中に入れることによって溶解緩衝液と混合すること；再懸濁緩衝液/溶解緩衝液の混合物をポンプにより、ポンプをポンプ拍動の間における800 msの遅延とともに使用して80間、再懸濁緩衝液リザーバーに戻すこと；再懸濁緩衝液/溶解緩衝液の混合物をポンプにより、ポンプをポンプ拍動の間における800 msの遅延とともに使用して150秒間、捕獲細胞を有するバイオプロセシングチャンバーに通して、細胞を再懸濁すること；バルブを1秒間プリセットする；溶解/再懸濁緩衝液溶液を、ポンプ拍動の間における1200 msのポンプ遅延を使用して100秒間、細胞と混合すること；中和混合物をポンプにより、ポンプ拍動の間における1200 msのポンプ遅延を使用して60秒間、再懸濁された細胞および溶解/再懸濁緩衝液溶液を含有するリザーバーの中に入れること；中和混合物を、ポンプ拍動の間における2500 msのポンプ遅延を使用して270秒間、再懸濁/溶解緩衝液の混合物と混合する；Genomed廃液を1秒間、システムからバージする；制御流体コネクタの1つを3秒間開ける；細胞を有する溶解/再懸濁/中和緩衝液をポンプにより、2500 msのポンプ遅延を使用して400秒間、第2のバイオプロセシングチャンバーに通して、DNAを細胞破片から清澄化し、DNAを別のバイオプロセシングチャンバーにおいて結合させる；その後、Genomedフィルターが、800 msのポンプ遅延を使用して10秒間洗浄される；その後、バルブが1秒間プリセットされ、Genomedフィルターが、2秒間、風乾させられる；その後、溶出緩衝液がポンプにより、20秒間、1100 msのポンプ遅延を使用してメンブランに通され、その後、溶出された溶液が、800 msのポンプ遅延を使用して20秒間、2回、イソプロピルアルコールと混合される；その後、ラインが、廃液するために1秒間バージされる；その後、プロセスバルブが3秒間開けられる；その後、カートリッジにおける圧力が1秒間放出される；沈殿したDNA混合物がポンプにより、1100 msのポンプ遅延を使用して60秒間、PPTRメンブランを有する別のバイオプロセシングチャンバーに通されて、DNAを捕獲する；その後、70% ETOHがポンプにより、1100 msのポンプ遅延を使用して20秒間、バイオプロセシングチャンバーに通される；その後、残留するETOHが、廃液するために1秒間バージされる；その後、PPTRメンブランが90秒間乾燥される；その後、圧力が、1秒間、バイオプロセシングチャンバーから放出される；その後、最終的な溶出溶液がポンプにより、3000のポンプ遅延を使用して120秒間、PPTRメンブランに通されて、回収チューブの中に入れられる；運転が完了すると、袋状物が20秒間収縮させられ、その結果、カートリッジが取り出され得る。プロトコル全体が、運転するために約3690秒を要する。

【0197】

さらなる実施形態、装置、方法およびカートリッジが下記に記載される。下記のカートリッジについて提供される大きさにおいて、高さが上下でのY軸であり、幅が左から右までのX軸であり、深さが、図13Aに示されるように見たときのバイオプロセシングカー

トリッジの1つの実施形態の頁に入るZ軸（または最小寸法）である。

【実施例】

【0198】

実施例において別途言及されない限り、ウエスタンブロットの自動化された処理が、バイオプロセッシングカードにおける上部プロセス通路およびバルブを使用して行われた。この通路は一般に、図12においてプロセスバルブ1227に関連する通路である。

【0199】

A．実施例1および実施例2

ウエスタンブロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、その結果（図24A）を手作業方法（図24B）と比較した。

【0200】

試薬および設備

NuPAGE（登録商標）LDSサンプル緩衝液（Invitrogenカタログ番号NP0007）

NuPAGE（登録商標）MES SDS泳動緩衝液（Invitrogenカタログ番号NP0002）

NuPAGE（登録商標）還元剤（Invitrogenカタログ番号NP0004）

SeeBlue（登録商標）Plus 2 事前染色標準物（Invitrogenカタログ番号LC5925）

NuPAGE（登録商標）酸化防止剤（Invitrogenカタログ番号NP0005）

ゲル = NuPAGE（登録商標）4 - 12% BT IPGウエル（Invitrogenカタログ番号NP0330BOX）

iBlotゲル転写デバイス（Invitrogenカタログ番号IB1001）

iBlot Regular Transfer Stack - Mini（ニトロセルコース）（Invitrogenカタログ番号IB3010-02）

WesternBreeze（登録商標）発色キット - 抗ウサギ（Invitrogenカタログ番号WB7105）

ウサギ抗大腸菌抗体（Dakoカタログ番号B0357）

プロトコル

1. ウエスタンブロット調製：4 μ gの大腸菌溶解物を、NuPAGE LDSサンプル緩衝液において調製し、5 μ lのSeeBlue（登録商標）Plus 2 標準物を、NuPAGE 4 - 12% BT IPGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、ゲル上のタンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってiBlotゲル転写デバイスを使用してニトロセルコースメンブラン（iBlot Regular Transfer Stack）に転写した。

【0201】

2. 免疫検出試薬調製：ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キットとともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、WesternBreeze（登録商標）発色キットに含有される試薬を使用して調製した。Dako抗大腸菌一次抗体を一次抗体希釈剤において1：1000で希釈した。使用された二次抗体は、WesternBreeze（登録商標）発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、自動化された装置により処理されるブロットと、手作業方法を使用して処理されるブロットとの両方を処理するために一括して調製した（下記参照）。

【0202】

3. ブロット処理：本プロトコルのセクション1に記載されるニトロセルコースメンブラン（転写後）を2つに切断し、一方の半分を、自動化された装置で行われる免疫検出の

10

20

30

40

50

ために使用し、もう一方の半分を、キットとともに提供される F a l c o n ディッシュにおいて、W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 発色キットの使用者マニュアルに記載されるような標準的な手作業手順を使用して処理した。

【0203】

4. 自動化された装置: 下記の試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した: ブロッキング剤、すすぎ洗浄液(水)、一次抗体、洗浄液(W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 洗浄緩衝液)、二次抗体、洗浄液(W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 洗浄緩衝液 - 第2のアリコート)、すすぎ洗浄液(水 - 第2のアリコート)。バイオプロセッシングカートリッジを装置のスロットの中に挿入し、プロットメンブランの半分を、(打ち抜かれたPVCフィルムから作製される)図21Aに示されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

10

【0204】

5. 自動化されたプロトコル: プロットをバイオプロセッシングカートリッジの中に挿入した後、プロトコルを装置に対して開始した。この場合、プロトコルは下記の工程からなり、それぞれの反復/工程が、ヒトとのさらなる対話を何ら必要とすることなく自動的に行われた。だが、各工程の進捗およびプロトコルの進捗がG U I に示された。

【0205】

- a. ブロック: 1 × 30分 - W e s t e r n B r e e z e (登録商標) ブロッキング剤
- b. すすぎ洗浄: 2 × 5分 - 水
- c. 一次抗体: 1 × 60分 - 抗体希釈剤における1:1000のウサギ抗大腸菌抗体
- d. 洗浄: 4 × 5分 - W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 洗浄緩衝液
- e. 二次抗体: 1 × 30分 - W e s t e r n B r e e z e (登録商標) ヤギ抗ウサギA P コンジュゲート
- f. 洗浄: 4 × 5分 - W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 洗浄緩衝液
- g. すすぎ洗浄: 3 × 2分 - 水

20

上記工程のそれぞれの反復について、示される時間は、関連する試薬によるチャンバーの充填時間を含まなかった。示される時間は、チャンバーを通過する試薬の再循環時間を表すだけである。これらの工程のそれぞれの各反復が終了したとき、チャンバーを、その次の反復/工程を開始する前に排液した。排出時間もまた、示されている時間に含まれない。この充填/排出時間は比較的短く、これらの工程または反復のすべてについて約1程度であった。本明細書中および実施例全体を通して使用される場合、時間が続く「×」に従える数字は、示された時間にわたって行われるその工程の反復回数を表すことが意図される。したがって、上記で示されるように、「すすぎ洗浄: 2 × 5分」は、水によるチャンバーの充填、水の5分間の再循環および水の排出からなる2回の反復、または、言い換えれば、水によるチャンバーの充填、水の5分間の再循環および水の排出(1回目の反復)、その後、水によるチャンバーの充填、水の5分間の再循環および水の排出(2回目の反復)を意味する。

30

【0206】

手作業方法では、それぞれの工程について、自動化された方法と同じ長さの時間および回数の反復が使用されたが、それぞれの反復/工程が手作業によって行われた。手作業方法の概要は下記の通りである: 手作業処理のためのプロットの半分を最初、W e s t e r n B r e e z e (登録商標) 発色キットとともに供給される F a l c o n ディッシュに置き、ブロッキング剤をディッシュに注ぎ、ディッシュを回転器の台に30分間置いた。30分後、ブロッキング剤を手によって捨て、すすぎ洗浄水を手によって加えた。試薬を手作業により加えること、設定された時間にわたる回転/インキュベーション、排水、その後、次の試薬を加えることからなるこの方法を、手作業により行われた場合を除き、自動化された装置について上記で列挙されたそれぞれの工程のそれぞれの反復のために繰り返した。

40

【0207】

50

6. 可視化：上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロット半分を水によりすすぎ洗浄し、発色基質（Western Breeze（登録商標）発色キットから得られる）において20分間インキュベーションした。結果が図24Aおよび図24Bに示される。

【0208】

B. 実施例3および実施例4

ウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、その結果（図25A）を手作業方法（図25B）と比較した。

10

【0209】

試薬および設備

NuPAGE（登録商標）LDSサンプル緩衝液（Invitrogenカタログ番号NP0007）

NuPAGE（登録商標）MES SDS泳動緩衝液（Invitrogenカタログ番号NP0002）

NuPAGE（登録商標）還元剤（Invitrogenカタログ番号NP0004）

SeeBlue（登録商標）Plus 2 事前染色標準物（Invitrogenカタログ番号LC5925）

NuPAGE（登録商標）酸化防止剤（Invitrogenカタログ番号NP0005）

20

ゲル = NuPAGE（登録商標）4 - 12% BT IPG ウエル（Invitrogenカタログ番号NP0330BOX）

iBlot ゲル転写デバイス（Invitrogenカタログ番号IB1001）

iBlot Regular Transfer Stack - Mini（PVDF）（Invitrogenカタログ番号IB4010-02）

BupH（商標）リン酸塩緩衝化生理的食塩水（Pierceカタログ番号28372）

Surfact - AMPs（登録商標）20（Pierceカタログ番号28320）

脱脂乾燥乳（Carnation）

30

ヤギ抗ウサギIgG HRPコンジュゲート（Jacksonカタログ番号111-035-003）

ウサギ抗大腸菌抗体（Dakoカタログ番号B0357）

ECL HRPウエスタンプロットティング基質（Pierceカタログ番号32209）

コピー機用の透明フィルム（3M PP2500）

Fujiルミノメーター（Fuji LAS-1000）

プロトコル

1. ウエスタンプロット調製：4 μ gの大腸菌溶解物をNuPAGE（登録商標）LDSサンプル緩衝液において調製し、5 μ lのSeeBlue（登録商標）Plus 2 標準物を、NuPAGE（登録商標）4 - 12% BT IPG ウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、ゲル上のタンパク質を、iBlot ゲル転写デバイスを使用してPDVFメンブラン（iBlot Regular Transfer Stack）に転写した。

40

【0210】

2. 免疫検出試薬調製：

a. PBST = 2袋のBupH Tris緩衝化生理的食塩水 + 10mlのTween 20（1バイアルのSurfact - Amps 20）を一緒にし、脱イオン水により1Lに希釈した。

【0211】

50

b. ブロッキング剤 = 1.25 g の脱脂乾燥乳 (NFDM) を PBST により 25 ml に溶解 / 希釈した。

【0212】

c. 洗浄緩衝液 = PBST

d. 一次抗体溶液 = 25 ml の PBST を 25 μ l の Dako 抗大腸菌一次抗体と一緒にした。

【0213】

e. 二次 2° Ab 溶液 = 25 ml の PBST を、5 μ l の Jackson HRP コンジュゲート化ヤギ抗ウサギ IgG 抗体と一緒にした。

【0214】

3. プロット処理 : 本プロトコルのセクション 1 に記載される PDVF メンブラン (転写後) を 2 つに切断し、一方の半分を、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用し、もう一方の半分を、Falco n ディッシュ (例えば、Western Breeze 免疫検出キットにおいて提供される Falco n ディッシュなど) において、記載されるような標準的な手作業手順を使用して処理した。

【0215】

4. 自動化された装置 : 試薬を、図 6 に示されるような装置トレイの実施形態に搭載し、バイオプロセッシングカートリッジを装置の中に挿入し、PDVF メンブランの半分を、図 21A に示されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

【0216】

5. 自動化されたプロトコル : 下記の工程を、自動化された装置を使用して、また、実質的には、より詳しくは上記の実施例 1 ~ 実施例 2 に記載されるように手作業によって行った :

a. ブロック : 1 × 30 分 - PBST における 5 % NFDM

b. すすぎ洗浄 : 2 × 5 分 - 水

c. 一次抗体 : 1 × 60 分 - PBST における 1 : 1000 のウサギ抗大腸菌抗体

d. 洗浄 : 4 × 5 分 - PBST

e. 二次抗体 : 1 × 30 分 - PBST における 1 : 5000 のヤギ抗ウサギ HRP コンジュゲート

f. 洗浄 : 4 × 5 分 - PBST

g. すすぎ洗浄 : 3 × 2 分 - 水

6. 可視化 : 上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のメンブラン半分を水によりすすぎ洗浄し、1 枚のプラスチック製のコピー機用透明フィルムに並べて置いた。ECL HRP 基質を両方の半分にピペットで加え、放置し、1 分間インキュベーションした。過剰な基質を捨て、もう 1 枚の透明フィルムをメンブランの上に置き、取り扱いが容易であり、かつ、プロットを画像化期間中に湿ったままで保つサンドイッチを作製した。このプロットサンドイッチを、3 分間、Fuji LAS-1000 ルミノメーターにより画像化した。結果が図 25A および図 25B に示される。

【0217】

C. 実施例 5 ~ 実施例 9

4 つのウエスタンプロットを、図 1C および図 1D に示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図 12、図 13A ~ 図 13B および図 14 に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、結果 (図 26B ~ 図 26E) を手作業方法 (図 26A) と比較した。

【0218】

試薬および設備

NuPAGE (登録商標) LDS サンプル緩衝液 (Invitrogen カタログ番号 NP0007)

NuPAGE (登録商標) MES SDS 泳動緩衝液 (Invitrogen カタログ

10

20

30

40

50

番号NP0002)

NuPAGE (登録商標)還元剤 (Invitrogenカタログ番号NP0004)

SeeBlue (登録商標) Plus 2 事前染色標準物 (Invitrogenカタログ番号LC5925)

NuPAGE (登録商標)酸化防止剤 (Invitrogenカタログ番号NP0005)

ゲル = NuPAGE (登録商標) 4 - 12 % BT IPGウエル (Invitrogenカタログ番号NP0330BOX)

iBlotゲル転写デバイス (Invitrogenカタログ番号IB1001)

iBlot Regular Transfer Stack - Mini (ニトロセルロース) (Invitrogenカタログ番号IB3010-02) 10

WesternBreeze (登録商標) 発色キット - 抗ウサギ (Invitrogenカタログ番号WB7105)

ウサギ抗大腸菌抗体 (Dakoカタログ番号B0357)

プロトコル

1. ウエスタンブロット調製: 5つのブロットを下記のように調製した: 4 μ gの大腸菌溶解物をNuPAGE (登録商標) LDSサンプル緩衝液において調製し、5 μ lのSeeBlue (登録商標) Plus 2 標準物を、NuPAGE (登録商標) 4 - 12 % BT IPGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、ゲル上のタンパク質を、iBlotゲル転写デバイスを使用してニトロセルロースメンブラン (iBlot Regular Transfer Stack) に転写した。 20

【0219】

2. 免疫検出試薬調製: ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キットとともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、WesternBreeze (登録商標) 発色キットに含有される試薬を使用して調製した。Dako抗大腸菌一次抗体を一次抗体希釈剤において1:1000で希釈した。使用された二次抗体は、WesternBreeze (登録商標) 発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、5つのブロット、すなわち、自動化された装置を使用する4つのブロットと、手作業方法を使用する1つのブロットとを処理するために一括して調製した。 30

【0220】

3. 自動化された装置: 4組の下記試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した: ブロッキング剤、すすぎ洗浄液 (水)、一次抗体、洗浄液 (WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液)、二次抗体、洗浄液 (WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液 - 第2のアリコート)、すすぎ洗浄液 (水 - 第2のアリコート)。4つのバイオプロセッシングカートリッジを装置における個々のスロットの中に挿入した。上記の工程1から得られた4つのブロットを個々に、図21Aに示されるようなブロットホルダーの実施形態に従う別個のブロットホルダーに装着し、装置内のバイオプロセッシングカートリッジの中に挿入した。装置に事前にプログラムされるWesternBreeze (登録商標) インキュベーションプロトコルをこれらのブロットの処理のために使用した。装置における4つすべてのブロットを、事前にプログラムされたWesternBreeze (登録商標) プロトコルを使用して同時に装置によって処理した。 40

【0221】

4. 自動化されたプロトコル: 下記の工程を、自動化された装置を使用して、また、実質的には、より詳しくは上記の実施例1～実施例2に記載されるように手作業によって行った:

a. ブロック: 1 × 30分 - WesternBreeze (登録商標) ブロッキング剤

b. すすぎ洗浄: 2 × 5分 - 水

c. 一次抗体: 1 × 60分 - 一次抗体希釈剤における1:1000のウサギ抗大腸菌抗体 50

- d . 洗浄 : 4 × 5 分 - WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液
 e . 二次抗体 : 1 × 30 分 - WesternBreeze (登録商標) ヤギ抗ウサギAP
 コンジュゲート
 f . 洗浄 : 4 × 5 分 - WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液
 g . すすぎ洗浄 : 3 × 2 分 - 水

5 . 可視化 : 上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロット半分を水によりすすぎ洗浄し、発色基質 (WesternBreezeキットから得られる) において20分間インキュベーションし、Fujilmilノメーターにおいて画像化した (3分間の露光)。結果が図26A ~ 図26Bに示される。

【0222】

10

D . 実施例10A ~ 実施例10Bおよび実施例11A ~ 実施例11B

ウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A ~ 図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、その結果 (図27Aおよび図27C) を手作業方法 (図27Bおよび図27D) と比較した。

【0223】

試薬および設備

NuPAGE (登録商標) LDSサンプル緩衝液 (Invitrogenカタログ番号NP0007)

NuPAGE (登録商標) MES SDS泳動緩衝液 (Invitrogenカタログ番号NP0002)

NuPAGE (登録商標) 還元剤 (Invitrogenカタログ番号NP0004)

SeeBlue (登録商標) Plus 2 事前染色標準物 (Invitrogenカタログ番号LC5925)

NuPAGE (登録商標) 酸化防止剤 (Invitrogenカタログ番号NP0005)

ゲル = NuPAGE (登録商標) 4 - 12 % BT IPGウエル (Invitrogenカタログ番号NP0330BOX)

iBlot転写デバイス (Invitrogenカタログ番号IB1001)

iBlot Transfer Stack - Mini (ニトロセルローズ) (Invitrogenカタログ番号IB3010-02)

Novex (登録商標) ECL化学発光基質試薬キット (Invitrogenカタログ番号WP200005)

ウサギ抗大腸菌抗体 (Dakoカタログ番号B0357)

ヤギ抗ウサギIgG - HRPコンジュゲート (Jackson Labsカタログ番号111-035-003)

Pierce ECL (Thermo 32109)

プロトコル

1 . ウエスタンプロット調製 : 4 μg の大腸菌溶解物を、NuPAGE LDSサンプル緩衝液において調製し、3 μl のSeeBlue (登録商標) Plus 2 標準物を、NuPAGE 4 - 12 % BT ZOOM IPGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってiBlotゲル転写デバイスを使用して、iBlot Regular Transfer Stackから、0.2 μmのニトロセルローズメンブラン (図27Aおよび図27B) または0.2 μmのPVDFメンブラン (図27Cおよび図27D) に転写した。

40

【0224】

2 . 免疫検出試薬調製 : 下記の試薬を使用した :

a . ブロッキング剤 = 0.1 % のTween 20を含むリン酸塩緩衝化生理的食塩水 (PBST) における5 % 脱脂乾燥乳 (NFDM) 。

50

【0225】

b. 洗浄緩衝液 = P B S T

c. 一次抗体溶液 = P B S Tにおける1 : 1000希釈のD a k o抗大腸菌一次抗体

d. 二次2° A b溶液 = P B S Tにおける1 : 5000希釈の、J a c k s o n H R P
コンジュゲート化ヤギ抗ウサギI g G抗体

3. プロット処理 : 上記のセクション1に記載されるメンブラン(転写後)を2つに切断し、それぞれの一方の半分を、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用し、それぞれのもう一方の半分を、キットとともに提供されるF a l c o nディッシュにおいて、W e s t e r n B r e e z e (登録商標)発色キットに記載されるような標準的な手作業手順を使用して処理した。

10

【0226】

4. 自動化された装置 : 下記の試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した : ブロッキング剤、すすぎ洗浄液(水)、一次抗体、洗浄液(洗浄緩衝液)、二次抗体、洗浄液(洗浄緩衝液 - 第2のアリコート)、すすぎ洗浄液(水 - 第2のアリコート)。メンブランの個々の半分を下記のように別々に処理した : バイオプロセッシングカートリッジを装置のスロットの中に挿入し、プロットメンブランの半分を、(打ち抜かれたP V Cフィルムから作製される)図21Bに示されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

20

【0227】

5. 自動化されたプロトコル : 下記の工程を、自動化された装置(図27Aおよび図27C)を使用して、また、実質的には、より詳しくは上記の実施例1~実施例2に記載されるように手作業(図27Bおよび図27D)によって行った :

a. ブロック : 1 × 30分

b. すすぎ洗浄 : 2 × 5分

c. 一次抗体 : 1 × 60分

d. 洗浄 : 4 × 5分

e. 二次抗体 : 1 × 30分

f. 洗浄 : 4 × 5分

g. すすぎ洗浄 : 3 × 2分

30

6. 可視化 : 可視化を、実質的には、上記の実施例3~実施例4に記載されるように行った。結果が図27A~図27Dに示される。

【0228】

E. 実施例12Aおよび実施例12B

2つのウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A~図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して行った。

【0229】

1. ウエスタンプロット調製 : 2つのプロットを下記のように調製した : 4 μ gの大腸菌溶解物を、N u P A G E L D Sサンプル緩衝液において調製し、3 μ lのS e e B l u e (登録商標) P l u s 2標準物を、N u P A G E 4 - 12 % B T Z O O M I P Gウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってi B l o tゲル転写デバイスを使用して、i B l o t R e g u l a r T r a n s f e r S t a c kから、0.2 μ mのP V D Fメンブランに転写した。

40

【0230】

2. 免疫検出試薬調製 : ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キットとともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、W e s t e r n B r e e z e (登録商標)発色キットに含有される試薬を使用して調製した。D a k o抗大腸菌一次抗体を一次抗体希釈剤において1 : 1000で希釈した。使用された二次抗体は、W e s t

50

ernBreeze (登録商標) 発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、両方のプロットを処理するために一括して調製した。

【0231】

3. 自動化された装置：2組の下記試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した：ブロッキング剤、すすぎ洗浄液（水）、一次抗体、洗浄液（WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液）、二次抗体、洗浄液（WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液 - 第2のアリコート）、すすぎ洗浄液（水 - 第2のアリコート）。2つのプロットメンブランを、図22Bに示されるようなプロットホルダーの実施形態に従う別々のプロットホルダーに挿入し、装置におけるバイオプロセシングカートリッジのバイオプロセシングチャンバーの中に挿入した。

10

【0232】

4. 両方のプロットを、下記のプロトコルを使用して、実質的には、より詳しくは上記の実施例1～実施例2に記載されるように、自動化された装置を使用して処理した：

- a. ブロック：1×10分 - WesternBreeze (登録商標) ブロッキング剤
- b. 一次抗体：1×30分 - 抗体希釈剤における1：1000のウサギ抗大腸菌抗体
- c. 洗浄：2×1分および2×5分 - WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液
- d. 二次抗体：1×30分 - WesternBreeze (登録商標) ヤギ抗ウサギAPコンジュゲート
- e. 洗浄：2×5分 - WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液
- f. すすぎ洗浄：3×1分 - 水

20

5. 可視化：上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロットを水によりすすぎ洗浄し、化学発光基質においてインキュベーションし、Fujilミノメーターにおいて画像化した（3分間の露光）。結果が図28A～図28Dに示される。

【0233】

F. 実施例13Aおよび実施例13B

2つのウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセシングカートリッジの実施形態とを使用して行った。

30

【0234】

1. ウエスタンプロット調製：2つのプロットを下記のように調製した：4μgの大腸菌溶解物を、NuPAGE LDSサンプル緩衝液において調製し、3μlのSeeBlue (登録商標) Plus 2標準物を、NuPAGE 4-12% BT ZOOM IPGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、タンパク質を、10%のメタノールおよび1：1000希釈の酸化防止剤を使用する、NuPAGE Bis-Trisゲル取扱説明書に記載される方法を使用して、0.45μmのニトロセルロースメンブラン（実施例13A）または0.45μmのPVDFメンブラン（実施例13B）に転写した。

40

【0235】

2. 免疫検出試薬調製：下記を試薬を使用した：

- a. ブロッキング剤 = 0.1%のTween 20を含むTris緩衝化生理的食塩水（Thermo Scientific）（TBST）における5%脱脂乾燥乳（NFDM）
- b. 洗浄緩衝液 = TBST
- c. 一次抗体溶液 = TBSTにおける1：1000希釈のDako抗大腸菌一次抗体
- d. 二次2°Ab溶液 = TBSTにおける1：5000希釈の、Jackson HRPコンジュゲート化ヤギ抗ウサギIgG抗体

3. 自動化された装置：2組の試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した。2つのプロットメンブランカートリッジを、図22Bに示されるようなプロットホルダーの実施形態に従う別々のプロットホルダーに装着し、装置にお

50

けるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

【0236】

4. 自動化されたプロトコル：両方のプロットを、下記のプロトコルを使用して、実質的には、より詳しくは上記の実施例1～実施例2に記載されるように、自動化された装置を使用して処理した：

- a. ブロック：1×60分
- b. 洗浄：2×1分
- c. 一次抗体：1×60分
- d. 洗浄：2×1分、1×15分および2×5分
- e. 二次抗体：1×60分
- f. 洗浄：2×1分、1×15分および2×5分

10

5. 可視化：可視化を、実質的には、上記の実施例3～実施例4に記載されるように行った。結果が図29Aおよび図29Dに示される。

【0237】

G. 実施例14Aおよび実施例14B

2つのウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して行った。

【0238】

1. ウエスタンプロット調製：2つのプロットを下記のように調製した：4μgの大腸菌溶解物を、NuPAGE LDSサンプル緩衝液において調製し、3μlのSeeBlue（登録商標）Plus2標準物を、NuPAGE 4-12% BT ZOOM I-PGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってiBlotゲル転写デバイスを使用して、iBlot Regular Transfer Stackから、0.2μmのニトロセルロースメンブラン（実施例14A）および0.2μmのPVDFメンブラン（実施例14B）に転写した。

20

【0239】

2. 免疫検出試薬調製：ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キットとともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、WesternBreeze（登録商標）発色キットに含有される試薬を使用して調製した。Dako抗大腸菌一次抗体を一次抗体希釈剤において1：1000で希釈した。使用された二次抗体は、WesternBreeze（登録商標）発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、両方のプロットを処理するために一括して調製した。

30

【0240】

3. 自動化された装置：2組の下記試薬を、図6に示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した：ブロッキング剤、すすぎ洗浄液（水）、一次抗体、洗浄液（WesternBreeze（登録商標）洗浄緩衝液）、二次抗体、洗浄液（WesternBreeze（登録商標）洗浄緩衝液 - 第2のアリコート）、すすぎ洗浄液（水 - 第2のアリコート）。2つのプロットメンブランを、図22Bに示されるようなプロットホルダーの実施形態に従う別々のプロットホルダーに挿入し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

40

【0241】

4. 自動化されたプロトコル：両方のプロットを、下記のプロトコルを使用して、実質的には、より詳しくは上記の実施例1～実施例2に記載されるように、自動化された装置を使用して処理した：

- a. ブロック：1×10分 - WesternBreeze（登録商標）ブロッキング剤
- b. 一次抗体：1×30分 - 抗体希釈剤における1：1000のウサギ抗大腸菌抗体
- c. 洗浄：2×1分および2×5分 - WesternBreeze（登録商標）洗浄緩衝

50

液

d. 二次抗体：1 × 30分 - Western Breeze（登録商標）ヤギ抗ウサギAP
コンジュゲート

e. 洗浄：2 × 5分 - Western Breeze（登録商標）洗浄緩衝液

f. すすぎ洗浄：3 × 1分 - 水

5. 可視化：上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロットを水により
すすぎ洗浄し、化学発光基質において5分間インキュベーションし、Fujilミノメ
ーターにおいて画像化した（3分間の露光）。結果が図30Aおよび図30B示される。

【0242】

H. 実施例15A～実施例15Bおよび実施例16A～実施例16B

ウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイ
スの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロ
セシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、その結果（図31Aお
よび図31C）を下記のように手作業方法（図31Bおよび図31D）と比較した。

【0243】

1. ウエスタンプロット調製：2つのプロットを下記のように調製した：4 μgの大腸
菌溶解物を、NuPAGE LDSサンプル緩衝液において調製し、3 μlのSeeBlue（登録商標）Plus 2標準物を、NuPAGE 4-12% BT ZOOM I
PGウエル形式のゲルに負荷し、200Vで34分間泳動した。その後、タンパク質を、
デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってiBlotゲル転写
デバイスを使用して、iBlot Regular Transfer Stackから
、0.2 μmのニトロセルロースメンブラン（実施例31Cおよび実施例31Dまたは0
、2 μmのPVDFメンブラン（実施例31Aおよび実施例31B）に転写した。

【0244】

2. 免疫検出試薬調製：ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キット
とともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、Western Breeze
（登録商標）発色キットに含有される試薬を使用して調製した。Dako抗大腸菌一次抗
体を一次抗体希釈剤において1：1000で希釈した。使用された二次抗体は、West
ern Breeze（登録商標）発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホス
ファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、自動化された装
置により処理されるプロットと、手作業方法（下記参照）を使用して処理されるプロット
との両方を処理するために一括して調製した。

【0245】

3. プロット処理：本実施例のセクション1に記載されるメンブラン（転写後）を2つ
に切断し、それぞれの一方の半分を、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用
し、それぞれのもう一方の半分を、キットとともに提供されるFalconディッシュに
おいて、Western Breeze（登録商標）発色キットの使用者マニュアルに記載
されるような標準的な手作業手順を使用して処理した。

【0246】

4. 自動化された装置：それぞれの自動化された処理のために、下記の試薬を、図6に
示されるような自動化された装置のトレイの実施形態に搭載した：ブロッキング剤、す
すぎ洗浄液（水）、一次抗体、洗浄液（Western Breeze（登録商標）洗浄緩衝
液）、二次抗体、洗浄液（Western Breeze（登録商標）洗浄緩衝液 - 第2の
アリコート）、すすぎ洗浄液（水 - 第2のアリコート）。バイオプロセシングカートリッ
ジを装置のスロットの中に挿入し、関連するプロットメンブランの半分を、図22Bに示
されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセシングカ
ートリッジのバイオプロセシングチャンバーの中に挿入した。

【0247】

5. 自動化されたプロトコル：下記の工程を、自動化された装置を使用して行い（その
結果が図31Aおよび図31Cに示される）、また、手作業によって行った（その結果が

10

20

30

40

50

図 3 1 B および図 3 1 D に示される)。自動化された処理のために、試薬を、下記のプロトコルを使用して、図 1 4 におけるプロセスバルブ 1 4 4 0 に関連する通路を使用するバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーにおいて再循環した：

- a . ブロック : 1 × 3 0 分
- b . すすぎ洗浄 : 2 × 5 分
- c . 一次抗体 : 1 × 6 0 分
- d . 洗浄 : 4 × 5 分
- e . 二次抗体 : 1 × 3 0 分
- f . 洗浄 : 4 × 5 分
- g . すすぎ洗浄 : 3 × 2 分

10

6 . 可視化 : 上記のインキュベーション工程が完了した後、プロットを水によりすすぎ洗浄し、化学発光基質において 5 分間インキュベーションし、F u j i ルミノメーターにおいて画像化した (3 分間の露光) 。結果が図 3 1 A ~ 図 3 1 D に示される。

【 0 2 4 8 】

I . 実施例 1 7 A ~ 実施例 1 7 B および実施例 1 8 A ~ 実施例 1 8 B

ウエスタンブロットを、図 1 C および図 1 D に示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図 1 2 、図 1 3 A ~ 図 1 3 B および図 1 4 に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行った。

【 0 2 4 9 】

1 . ウエスタンブロット調製 : 2 つのプロットを下記のように調製した : 4 μ g の大腸菌溶解物を、NuPAGE LDS サンプル緩衝液において調製し、3 μ l の See Blue (登録商標) Plus 2 標準物を、NuPAGE 4 - 12 % BT ZOOM IPG ウェル形式のゲルに負荷し、200 V で 34 分間泳動した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従って i B l o t ゲル転写デバイスを使用して、i B l o t Regular Transfer Stack から、0 . 2 μ m の P V D F メンブランに転写した。

20

【 0 2 5 0 】

2 . プロット処理 : 本実施例のセクション 1 に記載されるメンブラン (転写後) を 2 つに切断し、それぞれの一方の半分を、実施例 1 3 A ~ 実施例 1 3 B に記載される N F D M / T B S T 試薬 (図 3 2 C および図 3 2 D) 、または、実施例 1 0 A ~ 実施例 1 0 B および実施例 1 1 A ~ 実施例 1 1 B に記載される N F D M / P B S T 試薬 (図 3 2 A および図 3 2 B) を使用して、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用し (その結果が図 3 2 A および図 3 2 C に示される) 、また、手作業により行われる免疫検出のために使用した (その結果が図 3 2 B および図 3 2 D に示される) 。

30

【 0 2 5 1 】

3 . 自動化された装置 : それぞれの自動化された処理のために、試薬を、図 6 に示されるような自動化された装置のトレーの実施形態に搭載した。バイオプロセッシングカートリッジを装置のスロットの中に挿入し、関連するプロットメンブランの半分を、図 2 2 B に示されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

40

【 0 2 5 2 】

4 . 自動化されたプロトコル : 下記の工程を、自動化された装置を使用して行い (その結果が図 3 2 C および図 3 2 D に示される) 、また、手作業によって行った (その結果が図 3 2 A および図 3 2 B に示される) 。自動化された処理のために、試薬を、下記のプロトコルを使用して、図 1 4 におけるプロセスバルブ 1 4 4 0 に関連する通路を使用するバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーにおいて再循環した：

- a . ブロック : 1 × 3 0 分
- b . すすぎ洗浄 : 2 × 5 分
- c . 一次抗体 : 1 × 6 0 分
- d . 洗浄 : 4 × 5 分

50

- e . 二次抗体 : 1 × 3 0 分
- f . 洗浄 : 4 × 5 分
- g . すすぎ洗浄 : 3 × 2 分

5 . 可視化 : 可視化を、実質的には、実施例 3 ~ 実施例 4 に記載されるように行った。
結果が図 3 2 A ~ 図 3 2 D に示される。

【 0 2 5 3 】

実施例 J ~ 実施例 M のそれぞれについて、下記のウシ血清アルブミン (B S A) サンプルを (それぞれの実施例について別々に) 調製し、NuPage 4 - 12 % B T 10 ミニウエルミニゲルに B S A プロットのために負荷し、200 V でおおよそ 3 4 分間泳動した :

- 5 μ l の S h a r p 事前染色標準物 (I n v i t r o g e n カタログ番号 L C 5 8 0 0)
- 8 μ l の M a g i c マーカー X P ウエスタンタンパク質標準物 (I n v i t r o g e n カタログ番号 L C 5 6 0 2)
- 5 0 n g の B S A (1 0 n g / μ l の B S A の 5 μ l) (B S A - S i g m a カタログ番号 A - 3 0 5 9)
- 2 5 n g の B S A (5 n g / μ l の B S A の 5 μ l)
- 1 0 n g の B S A (2 n g / μ l の B S A の 5 μ l)

J . 実施例 1 9 A および実施例 1 9 B

2 つのウエスタンブロットを、図 1 C および図 1 D に示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図 1 2、図 1 3 A ~ 図 1 3 B および図 1 4 に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して下記のように行い、その結果 (図 3 3 B) を手作業方法の結果 (図 3 3 A) と比較した。

【 0 2 5 4 】

1 . ウエスタンブロット調製 : 上記に記載されるような 1 組の B S A サンプルを、上記に記載されるように負荷し、調製した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従って i B l o t ゲル転写デバイスを使用して、i B l o t R e g u l a r T r a n s f e r S t a c k から、0 . 2 μ m のニトロセルロースメンブランに転写した。

【 0 2 5 5 】

2 . 免疫検出試薬調製 : ブロッキング剤、洗浄緩衝液および一次抗体希釈剤を、キットとともに提供される使用者マニュアルに記載されるように、WesternBreeze (登録商標) 発色キットに含有される試薬を使用して調製した。D a k o 抗大腸菌一次抗体を一次抗体希釈剤において 1 : 1 0 0 0 で希釈した。使用された二次抗体は、WesternBreeze (登録商標) 発色キットに含有される直ちに使用できるアルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ウサギ抗体であった。十分な試薬を、両方のブロットを処理するために一括して調製した。

【 0 2 5 6 】

3 . ブロット処理 : 上記のセクション 1 に記載されるメンブラン (転写後) を 2 つに切断し、それぞれの一方の半分を、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用し (これは、図 3 3 B に示される通りである)、それぞれのもう一方の半分を、キットとともに提供される F a l c o n ディッシュにおいて、WesternBreeze (登録商標) 発色キットの使用者マニュアルに記載されるような標準的な手作業手順を使用して処理した (これは、図 3 3 A に示される通りである)。

【 0 2 5 7 】

4 . 自動化された装置 : 自動化された処理のために、下記の試薬を、図 6 に示されるような自動化された装置のトレーの実施形態に搭載した : ブロッキング剤、すすぎ洗浄液 (水)、一次抗体、洗浄液 (WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液)、二次抗体、洗浄液 (WesternBreeze (登録商標) 洗浄緩衝液 - 第 2 のアリコート)、すすぎ洗浄液 (水 - 第 2 のアリコート)。バイオプロセッシングカートリッジを装置のスロットの中に挿入し、ブロットメンブランの半分を、図 2 2 B に示されるようなブロッ

10

20

30

40

50

トホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

【0258】

5. 自動化されたプロトコル：下記の工程を、下記のプロトコルを使用して、自動化された装置を使用して行った（その結果が図33Bに示される）：

- a. ブロック：1 × 30分
- b. すすぎ洗浄：2 × 5分
- c. 一次抗体：1 × 60分
- d. 洗浄：4 × 5分
- e. 二次抗体：1 × 30分
- f. 洗浄：4 × 5分
- g. すすぎ洗浄：3 × 2分

10

6. 可視化：上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロットを水によりすすぎ洗浄し、化学発光基質においてインキュベーションし、Fujilミノメーターにおいて画像化した（3分間の露光）。その後、プロットをすすぎ洗浄し、その後、発色基質と20分間インキュベーションし、すすぎ洗浄し、少し乾燥させ、その後、Epson 4990スキャナーを使用して画像化した。発色画像化についての結果が図33Aおよび図33Bに示される。負荷物が、左から右に、5 μlのSharp事前染色マーカー、8 μlの1：10希釈のMagic Mark、BSA（50 ng、25 ng、10 ng）である。

20

【0259】

K. 実施例20Aおよび実施例20B

2つのウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して行い（その結果が図34Bに示される）、また、手作業により行った（その結果が図34Aに示される）。これらは、タンパク質が0.2 μmのPVDFメンブランに転写されたことを除いて、実施例19A～実施例19Bの場合と実質的に同じであった。発色画像化についての結果が図34Aおよび図34Bに示される。負荷物が、左から右に、5 μlのSharp事前染色マーカー、8 μlの1：10希釈のMagic Mark、BSA（50 ng、25 ng、10 ng）である。

30

【0260】

L. 実施例21Aおよび実施例21B

2つのウエスタンプロットを、図1Cおよび図1Dに示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図12、図13A～図13Bおよび図14に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して行い、その結果（図35A）を、手作業方法を使用して得られた結果（図35B）と比較した。

【0261】

1. ウエスタンプロット調製：上記で記載されるような1組のBSAサンプルを、上記で記載されるように負荷し、調製した。その後、タンパク質を、デバイスとともに提供される使用者マニュアルにおける指示に従ってiBlotゲル転写デバイスを使用して、iBlot Regular Transfer Stackから、0.2 μmのニトロセルロースメンブランに転写した。

40

【0262】

2. プロット処理：本実施例のセクション1に記載されるメンブラン（転写後）を2つに切断し、プロットの方の半分を、実施例13A～実施例13Bに記載されるNFD M / TBS T試薬を使用して、自動化された装置で行われる免疫検出のために使用し（図35Aに示されようように使用された）、手作業により処理した（図35Bに示されようように使用された）。

【0263】

50

3. 自動化された装置：自動化された処理のために、試薬を、図 6 に示されるような自動化された装置のトレーの実施形態に搭載した。バイオプロセッシングカートリッジを装置のスロットの中に挿入し、プロットメンブランの半分を、図 2 2 B に示されるようなプロットホルダーの実施形態に装着し、装置におけるバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの中に挿入した。

【0264】

4. 自動化されたプロトコル：下記の工程を、自動化された装置を使用して行い（結果が図 3 5 B に示される）、また、手作業により行った（結果が図 3 5 A に示される）：

- a. ブロック：1 × 60 分
- b. すすぎ洗浄：2 × 1 分
- c. 一次抗体：1 × 60 分
- d. 洗浄：2 × 1 分、1 × 15 分および 2 × 5 分
- e. 二次抗体：1 × 60 分
- f. 洗浄：2 × 1 分、1 × 15 分および 2 × 5 分

5. 可視化：上記のインキュベーション工程が完了した後、両方のプロットを水によりすすぎ洗浄し、HRP 化学発光基質においてインキュベーションし、Fujilミノメーターにおいて画像化した（3 分間の露光）。その後、プロットをすすぎ洗浄し、その後、TMB HRP 発色基質と 20 分間インキュベーションし、すすぎ洗浄し、少し乾燥させ、その後、Epson 4990 スキャナーを使用して画像化した。発色画像化についての結果が図 33 に示される。負荷物が、左から右に、5 μl の Sharp 事前染色マーカー、8 μl の 1：10 希釈の Magic Mark、BSA (50 ng、25 ng、10 ng) である。

【0265】

M. 実施例 2 2 A および実施例 2 2 B

2 つのウエスタンプロットを、図 1 C および図 1 D に示されるような自動化された処理デバイスの実施形態と、図 1 2、図 1 3 A ~ 図 1 3 B および図 1 4 に示されるようなバイオプロセッシングカートリッジの実施形態とを使用して行い、その結果（図 3 6 A）を、手作業方法を使用して得られた結果（図 3 6 B）と比較した。これらは、自動化された処理のために、試薬が、図 1 4 におけるプロセスバルブ 1 4 4 0 に関連する通路を使用してバイオプロセッシングカートリッジのバイオプロセッシングチャンバーにおいて再循環されたことを除いて、実施例 1 9 A ~ 実施例 1 9 B の場合と実質的に同じであった。発色画像化についての結果が図 3 4 に示される。負荷物が、左から右に、5 μl の Sharp 事前染色マーカー、8 μl の 1：10 希釈の Magic Mark、BSA (50 ng、25 ng、10 ng) である。

【0266】

実施例において明示的に記されない限り、実施例 N ~ 実施例 W については、実施例の流体、溶液、試薬、混合物、廃液または任意の他の流体産物が、流体を、カードに置かれる吸引 / 吐出チューブ、アクセスバルブおよびポンプを使用してカートリッジに引き込むことによって、カートリッジを使用してポンプ送出 / 移動された。加えて、実施例のいくつかの工程の期間中において、流体は、カートリッジに引き込まれた後、カートリッジから排出される前に、カートリッジに置かれるメンブラン / バイオプロセッシングチャンバーに通すことができる。

【0267】

N. 実施例 2 3

核酸精製を、図 1 A および図 1 B に示される自動化された処理デバイス、および、図 1 6 ~ 図 1 7 に示されるカートリッジを使用して行った。その結果が図 3 7 に示される。記載されたプロトコルを使用して回収されるゲノム DNA の量が、流れディフューザーがデバイスに組み込まれたかどうかによって依存して変化した。ゲノム DNA の量が、溶解された細胞混合物を細胞の再懸濁および溶解の期間中に溶解緩衝液リザーバーから再懸濁緩衝液 / Rnase A 緩衝液混合物リザーバーにポンプ送出している間に流れディフューザーを使

用することによって低下した。流れディフューザーを組み込むシステムを使用して検出されるゲノムDNA 3710の量が、流れディフューザーを有しないシステムを使用して検出されるゲノムDNA 3720の量よりも少なかった。しかしながら、両方のデバイスを使用して検出されるプラスミドDNA (3730、3740)の量は、同程度の量のままであった。

【0268】

1. 細胞捕獲: 250 mLの大腸菌含有培地を、バイオプロセッシングカートリッジの中に、バイオプロセッシングカートリッジの外側に位置するサンプルリザーバーから吸引し、Bla065メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーに通した。細胞を培地からろ過し、清澄化された培地をカートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れた。その後、20 PSIの空気圧をBla065細胞捕獲メンブランの入口側に加えて、残留培地をメンブランから除き、カートリッジから出して廃液リザーバーの中に入れた。

10

【0269】

2. 細胞の再懸濁および溶解: Rnase A溶液を外側の試薬リザーバーからカートリッジの中に吸引し、ポンプによりカートリッジから出し、再懸濁緩衝液を含有する試薬リザーバーの中に入れ、Rnase Aおよび再懸濁緩衝液をカートリッジによって一緒に混合した。その後、再懸濁緩衝液/Rnase Aの混合物を、捕獲メンブランによって捕獲された細胞を除くために、メンブランを介してカートリッジの中に吸引した。細胞を捕獲メンブランから除き、カートリッジから出し、溶解緩衝液を含有する試薬リザーバーの中に入れた。その後、溶解された細胞混合物のおよそ1/3の量をポンプにより、溶解緩衝液リザーバーから再懸濁/Rnase A緩衝液混合物リザーバーに戻した。その後、32 PSIの空気圧を、細胞捕獲メンブランの出口側を介して、残留する捕捉された細胞を溶解緩衝液リザーバーに除いた。その後、残留する捕捉された細胞をポンプにより、溶解緩衝液リザーバーから再懸濁/Rnase A緩衝液リザーバーに送った。

20

【0270】

3. 中和 - その後、中和緩衝液をポンプにより、中和緩衝液リザーバーから、溶解された細胞を含有するリザーバーに送った。その後、溶解細胞/中和緩衝液溶液をポンプにより、溶解緩衝液リザーバーの中に戻した。その後、デバイスを3分間中断させて、細胞破片層および透明な溶解物相の層を分離させた。

【0271】

30

4. 清澄化/結合 - その後、細胞破片を、細胞破片層をポンプにより、リザーバーからカートリッジの中に入れ、Extra-Thick (Xthick) ガラス繊維清澄化メンブランおよびアニオン交換DNA結合性メンブランに通して、カートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れることによって清澄化した。その後、アニオン交換洗浄緩衝液をポンプにより、アニオン交換洗浄緩衝液リザーバーからカートリッジの中に入れ、メンブランに通して、廃液リザーバーに出した。その後、32 PSIの空気圧を、アニオン交換メンブランを介して加えて、すべての廃液がメンブランから廃液リザーバーの中に集められたことを確保した。その後、アニオン交換溶出緩衝液をポンプにより、アニオン交換溶出緩衝液からカートリッジの中に入れ、メンブランに通して、バイオプロセッシングカートリッジから出し、イソプロピルアルコールを含有する試薬リザーバーの中に入れて、pDNAを沈殿させた。その後、溶出緩衝液/イソプロピルアルコール緩衝液溶液を、混合物をポンプにより、アニオン交換溶出緩衝液リザーバーの中に戻すことによって混合した。その後、溶出緩衝液/イソプロピルアルコール緩衝液溶液を、混合物をポンプによりアニオン交換溶出緩衝液リザーバーからイソプロピルアルコールリザーバーの中に戻すことによってもう一度混合した。その後、溶出緩衝液/イソプロピルアルコール混合物をPPTRメンブラン(Bla065)に通して、沈殿したpDNAを捕獲した。その後、混合物の残りをカートリッジから出して、廃液リザーバーの中に入れた。その後、70% ETOHをポンプにより、ETOH試薬リザーバーからカートリッジの中に入れ、PPTRメンブランに通して、廃液リザーバーに出した。その後、メンブランを、32 PSIの空気を1.5分間メンブランに通すことによって風乾し、メンブランから出てきた何らかの

40

50

廃液を廃液リザーバーによって集めた。その後、最後の T E 溶出緩衝液をポンプにより、T E 溶出緩衝液リザーバーから P P R T メンブランに通し、回収チューブに出した。ディフューザーを有するデバイスを使用して検出されるゲノム D N A の量が、図 3 7 に示されるように、ディフューザーを使用しないデバイスに対して比較される。

【 0 2 7 2 】

○ . 実施例 2 4

核酸を、図 1 A および図 1 B に記載されるバイオプロセッシングシステムおよび下記のプロトコルを使用して精製および捕獲することができる。実施例 2 3 とは対照的に、実施例 2 4 は、部分流れ拡散のポンプ作用システムと、溶解緩衝液および再懸濁緩衝液を細胞再懸濁の前に予備混合することを含む。

【 0 2 7 3 】

1 . 細胞捕獲 - 2 5 0 m L の大腸菌含有培地を、バイオプロセッシングカートリッジの中に、バイオプロセッシングカートリッジの外側に位置する使い捨て型の細胞ライナーリザーバーから吸引し、B 1 a 0 6 5 メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーに通した。細胞を培地からろ過し、清澄化された培地をカートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れた。

【 0 2 7 4 】

2 . 細胞の再懸濁および溶解 - R n a s e A 溶液を試薬リザーバーからカートリッジの中に吸引し、カートリッジから出し、再懸濁緩衝液を含有する試薬リザーバーの中に入れた。その後、溶解緩衝液をポンプにより、溶解緩衝液リザーバーから、再懸濁緩衝液および R n a s e A を含有するリザーバーの中に入れた。その後、溶解 / 再懸濁 / R n a s e A 混合物を、メンブランを介してカートリッジの中に吸引して、細胞を、外部のリザーバーの中に回収される前に細胞捕獲メンブランから除き、溶解した。その後、残留する細胞をポンプにより、外部から、第 2 のリザーバーの中に入れる。

【 0 2 7 5 】

3 . 中和 - 中和緩衝液をポンプにより中和緩衝液リザーバーから別個のリザーバーに送った。その後、上記で記載される第 2 のリザーバーからの細胞をポンプにより、中和緩衝液を含有するリザーバーの中に入れる。自動化されたシステムを 3 分間中断させて、細胞破片相および透明な溶解物相を分離させた。

【 0 2 7 6 】

4 . 清澄化 / 結合 - その後、細胞破片を、ディフューザーポンプを使用して、中和された細胞物をポンプにより、リザーバーから、E x t r a - T h i c k ガラス繊維清澄化メンブランおよびアニオン交換 D N A 結合性メンブランに通して、廃液リザーバーに出すことによって清澄化した。その後、アニオン交換洗浄緩衝液をポンプにより、アニオン交換洗浄緩衝液リザーバーからメンブランに通して、廃液リザーバーに出した。その後、3 2 P S I の空気を、アニオン交換メンブランを介して加え、廃液リザーバーに出した。その後、アニオン交換溶出緩衝液をポンプにより、アニオン交換溶出緩衝液リザーバーからメンブランに通して、イソプロピルアルコールを含有するリザーバーに出す。このリザーバーにおいて、p D N A が沈殿させられる。その後、溶出緩衝液およびイソプロピルアルコールが、混合物をイソプロピルアルコールリザーバーから第 2 のリザーバーに移し、その後、イソプロピルアルコールリザーバーに戻して、カートリッジによって混合された。その後、沈殿した p D N A を含有する溶出緩衝液 / イソプロピルアルコール混合物をポンプにより、P P T R メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーに通して、D N A を捕獲した。培地の残りが廃液に移される。その後、7 0 % E T O H をポンプにより、E T O H リザーバーから P P T R メンブランに通して、廃液リザーバーに出した。その後、メンブランを、3 2 P S I の空気により 1 . 5 にわたって風乾し、P P T R メンブランからの何らかの流出物を廃液リザーバーに集めた。その後、最後の T E 溶出緩衝液をポンプにより、T E 溶出緩衝液リザーバーから P P R T メンブランに通して、回収チューブにおいて集めた。回収された D N A が図 3 8 に示される。検出されたゲノム D N A 3 8 1 0 およびプラスミド D N A 3 8 2 0 の量が示される。

10

20

30

40

50

【0277】

P．実施例25

核酸を、図1Aおよび図1Bに記載されるバイオプロセッシングシステムと、図16～図18に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して精製および捕獲することができ、この場合、自動化されたシステムは、様々なポンプ速度および工程時間設定を伴って構成される。

【0278】

1．細胞捕獲 - 250 mLの大腸菌含有培地を、バイオプロセッシングカートリッジの中に、バイオプロセッシングカートリッジの外側に位置する使い捨て型の細胞ライナーリザーバーから吸引し、Blao65メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーに通した。細胞を培地からろ過し、清澄化された培地をカートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れた。システムが、21分の捕獲時間のためにポンプのそれぞれの拍動の間における800 msのポンプ遅延により作動する。

10

【0279】

2．細胞の再懸濁および溶解 - Rnase A溶液をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における800 msのポンプ遅延を5秒間使用して、Rnase A溶液リザーバーから再懸濁緩衝液リザーバーの中に入れる。その後、再懸濁緩衝液およびRnase Aをポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における800 msのポンプ遅延を2秒間使用してRnase A溶液リザーバーの中に戻し、その後、再懸濁緩衝液リザーバーに戻す。その後、再懸濁/Rnase A緩衝液をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における800 msのポンプ遅延を1分間使用してカートリッジに通し、溶解緩衝液リザーバーの中に入れる。その後、Rnase A/再懸濁/溶解緩衝液を、溶液を、それぞれのポンプ拍動の間における800 msのポンプ遅延を1分間使用してカードに通し、溶解緩衝液リザーバーから再懸濁/Rnase A緩衝液リザーバーの中に輸送することによって混合する。その後、溶解/再懸濁/Rnase A混合物をポンプによりメンブランに通す。この場合、細胞捕獲メンブランに捕獲された細胞がメンブランから除かれ、溶解され、その後、溶解/再懸濁/Rnase A試薬リザーバーに輸送される。ポンプ作動が、それぞれのポンプ拍動の間における800 msのポンプ遅延を1分間45秒間使用して行われる。その後、溶解された細胞を伴う溶解混合物をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における1100 msのポンプ遅延を1分45秒間使用して溶解緩衝液試薬リザーバーに送る。

20

30

【0280】

3．中和 - その後、溶解された細胞をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における1100 msのポンプ遅延を1分45秒間使用して溶解緩衝液試薬リザーバーから中和緩衝液試薬リザーバーに送る。その後、溶液をポンプにより、ディフューザーを使用して、それぞれのポンプ拍動の間における2500 msのポンプ遅延を4分半使用して中和リザーバーから溶解混合物リザーバーに送る。その後、デバイスを4分間中断させて、細胞破片相および透明な溶解物相を分離させる。

【0281】

4．清澄化/結合 - その後、細胞破片を、ディフューザーポンプを使用して、細胞破片相および透明な溶解物相をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における2500 msの遅延を5分30秒間使用してExtra-Thickガラス繊維清澄化メンブランに通し、その後、アニオン交換DNA結合性メンブランに通し、その後、廃液リザーバーに送った。その後、アニオン交換洗浄緩衝液溶液をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における1100 msの遅延を30秒間使用してアニオン交換洗浄緩衝液リザーバーからアニオン交換メンブランに通し、廃液リザーバーに出した。その後、32 PSIの空気圧を、アニオン交換メンブランを介して加えて、破片をメンブランから廃液リザーバーの中に入れた。空気圧の適用を止めた2秒後、その後、アニオン交換溶出緩衝液をポンプにより、ポンプをそれぞれのポンプ拍動の間において1100 msの遅延により30秒間使用してメンブランに通し、イソプロピルアルコール試薬リザーバーに出した。その後、溶

40

50

出緩衝液およびイソプロピルアルコール緩衝液を、混合物を、それぞれのポンプ拍動の間における 1100ms の遅延を 45 秒間使用して第 2 のリザーバーに移し、その後、イソプロピルアルコール緩衝液リザーバーに戻すことによって混合した。その後、廃液ラインを、32PSI の空気圧を使用してパージし、廃液ラインにおける何らかの廃液を廃液リザーバーに出した。空気圧の適用を止めた 2 秒後、バルブを開けて、圧力を放出した。その後、システムを 1 分間中断させて、沈殿化を行った。その後、沈殿した pDNA を含有する溶出緩衝液 / イソプロピルアルコール混合物を、それぞれのポンプ拍動の間における 1100ms の遅延を 1 分間使用して PPTR メンブラン (b1a065) に通して、pDNA を捕獲し、混合物の残りを廃液リザーバーに出した。その後、70% ETOH を、ポンプをそれぞれのポンプ拍動の間における 1100ms の遅延により 25 秒間使用して ETOH 試薬リザーバーからカートリッジの中に吸引し、PPTR メンブランに通し、その後、廃液に出した。残留 ETOH を、32PSI の空気圧をメンブランに加えることによってラインから除いた。システムを 1 秒間中断させた。その後、メンブランを、32PSI の空気圧を、1.5 分間、チェックバルブを介して、廃液に出すことによって風乾した。その後、TE 溶出緩衝液を、それぞれのポンプ拍動の間における 2000ms の遅延を 5 分間使用して、PPTR に通して加えて、pDNA を回収チューブの中に溶出した。検出されたゲノム DNA (gDNA) (3910、3920) の量、および、検出されたプラスミド DNA (pDNA) (3930、3940) の量が、図 39 に示される。

【0282】

Q. 実施例 26

核酸を、図 1A および図 1B に記載されるバイオプロセッシングシステムと、図 16 ~ 図 18 に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して精製および捕獲することができ、この場合、自動化されたシステムは、様々なポンプ速度および工程時間設定を伴って構成される。核酸精製では、部分流れ拡散のポンプ作動工程が使用され、この場合、空気圧の適用、溶解と、再懸濁緩衝液との予備混合が除かれている。本実施例ではまた、図 8B ~ 図 8F に示されるような試薬リザーバートレーが使用された。プロトコルのこの変更により、ゲノム DNA (gDNA) 混入の除去が完成した。

【0283】

1. 細胞捕獲 - 125mL の大腸含有培地をカートリッジの中に使い捨て型の細胞ライナーリザーバーから吸引し、カートリッジのバイオプロセッシングチャンバーの 1 つの B1a065 メンブランに通して、細胞を培地からろ過した。清澄化された培地をポンプにより、15 分の捕獲時間によりポンプ拍動の間における 700ms のポンプ遅延を使用してカートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れた。その後、圧力を放出し、システムを 1 秒間中断させた。

【0284】

2. 細胞の再懸濁および溶解 - Rnase A 溶液をポンプにより、ポンプ拍動の間における 800ms のポンプ遅延を 4 秒間使用してカートリッジに通し、Rnase A 試薬リザーバーから再懸濁緩衝液リザーバーに送った。その後、再懸濁緩衝液 / Rnase A 緩衝液混合物をポンプにより、ポンプ拍動の間における 800ms のポンプ遅延を 45 秒間使用して溶解緩衝液リザーバーに送った。その後、溶解 / 再懸濁 / Rnase A 混合物をカートリッジの中に吸引し、細胞捕獲メンブランに通した。その後、捕獲された細胞をメンブランから除き、溶解し、溶解された細胞をポンプにより、ポンプ拍動の間における 800ms のポンプ遅延を 1 分 20 秒間使用して再懸濁 / Rnase A 緩衝液混合物リザーバーの中に入れた。

【0285】

3. 中和 - 溶解された細胞混合物をポンプにより、ディフューザーを使用して、ポンプ拍動の間における 2500ms のポンプ遅延を 3 分半使用して第 2 のリザーバーに送り、そして、最初のリザーバーに戻した。その後、廃液ラインを、カートリッジにおいて 32PSI 未満の空気圧にチェックバルブを 2 秒間使用してパージした。その後、システムを 30 秒間中断させて、細胞破片相および透明な溶解物相を分離させた。

【0286】

4. 清澄化 / 結合 - 細胞破片を、ディフューザーポンプを使用して、細胞破片をポンプにより、ポンプ拍動の間における2500msの遅延を8分半使用して、1つのバイオプロセッシングチャンバーにおいてExtra-Thickガラス繊維清澄化メンブランに通し、その後、ポンプにより、別のバイオプロセッシングチャンバーにおいてアニオン交換DNA結合性メンブランに通し、その後、最終的にはポンプにより、廃液リザーバーの中に入れた。その後、残留する破片および緩衝液溶液をポンプにより、ポンプ拍動の間における2500msの遅延を30秒間使用して廃液容器に送る。その後、溶解緩衝液リザーバーにおける何らかの残留する混合物をポンプにより、ポンプ拍動の間における2500msの遅延を30秒間使用して廃液容器に送る。アニオン交換洗浄緩衝液をポンプにより、ポンプ拍動の間における800msの遅延を15秒間使用してアニオン交換洗浄緩衝液試薬リザーバーからアニオン交換メンブランに通して、望まれない物質を除いて、廃液リザーバーに出す。その後、アニオン交換溶出緩衝液をポンプにより、ポンプ拍動の間における1100msの遅延を30秒間使用してメンブランに通して、捕獲されたDNA物質を溶出して、イソプロピルアルコール試薬リザーバーに出した。その後、溶出緩衝液およびイソプロピルアルコール緩衝液を、混合物を、ポンプ拍動の間における800msの遅延を30秒間使用して第2の試薬リザーバーに移し、その後、イソプロピルアルコール試薬リザーバーに戻すことによって混合する。その後、廃液ラインを、32PSIの空気圧力を使用してバージし、これにより、廃液を廃液リザーバーに1秒間バージした。その後、圧力を、廃液ラインに沿って位置するいくつかのバルブを開けることによって放出した。その後、システムを2分間中断させて、混合物中のpDNAを沈殿させた。その後、沈殿したDNAを有する溶出緩衝液 / イソプロピルアルコール緩衝液混合物をポンプにより、ポンプ拍動の間における1100msの遅延を1分間使用してPPTRメンブラン(bla065)に通して、沈殿したDNAを捕獲した。その間、混合物の残りが廃液に流れ出る。その後、70%ETOHをポンプにより、ETOH試薬リザーバーからPPTRメンブランに通し、廃液に出した。その後、残留ETOHを、32PSIを、ラインを介して1秒間加えることによってラインから除いて、廃液に出した。その後、メンブランを、32PSIの空気を、チェックバルブを介してメンブランに通し、廃液リザーバーの中に入れることによって風乾した。最後のTE溶出緩衝液を、3000msの遅延を1分20秒間使用して、PPTRメンブランを介して加えて、沈殿したDNAを溶出した。検出されたプラスミドDNA4010の量が図40に示される。

【0287】

R. 実施例27

タンパク質発現を、図1Cおよび図1Dに示されるバイオプロセッシングシステムと、図12~図14に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して確認することができる。いくつかの実施形態において、ニトロセルロースメンブランを本システムとともに使用することができる(例えば、Hybondニトロセルロースメンブランなど)。だが、任意の好適なメンブランを本システムとともに使用することができる。

【0288】

1. サンプル: 3T3-L1始原細胞株を脂肪細胞に分化させた。その後、インスリンを、pAKT発現を刺激するためにサンプルの一部に加えた。それぞれのサンプルが10ugの分化した3T3-L1脂肪細胞溶解物を含有した。

【0289】

2. プロトコル: サンプルをブロッキング剤(例えば、SeaBlock/TBS/0.5%Tween20)において60分間ブロッキング処理した。任意の好適なブロッキング剤を使用することができ、これには、MILK、BSA、他の血清、IVGなどが含まれる。その後、サンプルを、洗浄緩衝液(例えば、TBS/0.05%Tween20)を使用して1分間、2回洗浄した。任意の好適な洗浄緩衝液を使用することができ、これには、PBSが含まれる。加えて、洗浄緩衝液における成分の割合を変化させることができる。その後、サンプルを、少なくとも900分間または一晩、SeaBlock/T

B S / 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 ブロッキング剤において、1 / 1 0 0 0 の A K T (ウサギ) および p A K T (マウス) の各一次抗体、または、G l u t - 4 (ウサギ) および G A D P H (マウス) の各一次抗体のどれかにおいて共インキュベーションした。その後、サンプルを、T B S / 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 洗浄緩衝液において5分間、3回洗浄した。その後、サンプルを、0 . 0 1 % の S D S を含有するブロッキング剤において、1 n M の G A R - Q D o t 6 2 5 および G A M - Q d o t 8 0 0 の各二次コンジュゲート、または、1 u g / m L の G A R - A l e x a F l u o r 7 9 0 (A F 7 9 0) および G A M - A l e x a F l u o r 6 8 0 (A F 6 8 0) の各二次コンジュゲートのどちらかにおいて60分間共インキュベーションした。任意の好適な標識を使用することができ、これには、量子ドット (Q d o t) ナノ結晶 (Q D o t 6 2 5 、同 6 0 5 、同 6 5 5 、同 5 6 5 、同 5 8 5 、同 7 0 5 、同 8 0 0 および同 5 2 5 を含む) およびマイクロスフェアが含まれる。いくつかの実施形態において、一次コンジュゲートはヤギ抗マウス I g G (G A M) 、ヤギ抗ウサギ I g G (G A R) またはストレプトアビジンであり得る。いくつかの実施形態において、サンプルは C l i c k - i T (登録商標) 標識 / 画像化キットにコンジュゲート化することができる。いくつかの実施形態において、二次抗体は、G A M 、G A R またはストレプトアビジンであり得る。その後、サンプルを、T B S / 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 洗浄緩衝液において5分間、3回洗浄した。その後、サンプルを、5分間、2回、水においてすすぎ洗浄した。

10

【0290】

3 . 結果 : Q - D o t (登録商標) ナノ結晶を、本明細書中に記載されるデバイスとともに使用することの結果が、図 4 1 A ~ 図 4 1 F 、図 4 2 A ~ 図 4 2 C 、および、図 4 3 A ~ 図 4 3 F に示される。図 4 1 A ~ 図 4 1 F は、図 1 C および図 1 D に記載されるデバイスを使用して得られる結果を示す。図 4 1 A ~ 図 4 1 C は、ゲルが実験台で処理された場合に得られる結果を例示し、これに対して、図 4 1 D ~ 図 4 1 F は、本明細書中に記載されるデバイスを使用して得られた結果を示す。図 4 1 A および図 4 1 D は、G A R - Q d o t 6 2 5 により標識される A K T (ウサギ) の存在を確認する処理された2つのゲルを例示し、図 4 1 B および図 4 1 E は、p A K T (マウス) + G A M - Q d o t 8 0 0 の存在する検出する処理された2つのゲルを例示し、図 4 1 C および図 4 1 F は、図 4 1 A および図 4 1 B および図 4 1 D および図 4 1 E に示されるゲルを一緒にした結果をそれぞれ例示する。矢印は、A K T および p A K T の両方が検出されたレーンを示した。

20

30

【0291】

図 4 2 A ~ 図 4 2 C は、図 1 C および図 1 D に記載されるデバイスを使用して得られる結果を示す。図 4 2 A は A K T (ウサギ) の存在を示し、この場合、A K T が G A R - A l e x a F l u o r 7 9 0 により標識されている。図 4 2 B は p A K T (マウス) の存在を示し、この場合、p A K T が G A M - A F 6 8 0 により標識されている。図 4 2 C は、図 4 2 A および図 4 2 B に示されるゲルの画像を示す。矢印は、A K T および p A K T の両方が検出されたレーンを示した。

【0292】

図 4 3 A ~ 図 4 3 F は、脂肪細胞における種々のタンパク質の存在を示し、より具体的には、ゲル全体における同じ量のタンパク質の存在を示す。図 4 3 A ~ 図 4 3 F の結果を使用して、どのくらいのサンプルが、Q d o t 色素または A l e x a F l u o r 色素のどちらかを使用してゲルにおいてそれぞれのウェルに負荷されたかを比較することができる。図 4 3 A は、G A R - Q d o t 6 2 5 により標識される G l u t - 4 (ウサギ) の存在を示す。図 4 3 B は、G A M - Q d o t 8 0 0 により標識される G A D P H (マウス) の存在を示す。図 4 3 C は、図 4 3 A および図 4 3 B を一緒にした画像を示す。図 4 3 D は、G A R - A F 7 9 0 により標識される G l u t - 4 (ウサギ) の存在を示す。図 4 3 E は、G A M - A F 6 8 0 により標識される G A D P H (マウス) の存在を示す。図 4 3 F は、図 4 3 D および図 4 3 E を一緒にした画像を示す

40

S . 実施例 2 8

食品安全性分析を、実施例 1 6 ~ 実施例 1 8 に記載されるバイオプロセッシングシステム

50

を使用して行うことができる。病原性微生物による食品の汚染は食品産業における重要な関心事の1つである。食品安全性の病原体検出のための従来の培養法は時間がかかり、また、開始から終了まで、行うために24時間以上を要し得る。食品安全性試験における現在の要求では、8時間未満での少ない数の細菌（典型的には、25グラムの食品サンプルあたり1立方フィート）の迅速な検出が指定される。これらの要求は、成長が遅い細菌の迅速な検出を困難なものにしている。これは、短い（6時間までの）事前の増菌工程の後で培養物に存在し得る細菌の数が少ないからである。食品における細菌病原体の検出および同定をDNA分析により行うことができる。しかしながら、大きいサンプル体積からの細菌DNAの十分な量の抽出、精製および回収は、これらのアッセイにおける非常に重要な要因であり得る。8時間の増菌の後でさえ、培養物における病原性細菌の数が比較的に少ないこと（典型的には0.1 cfu/mL ~ 10 cfu/mL）のために、下流のPCRを成功させるための十分な量の細菌DNAを回収することが不可欠である。PCR反応におけるDNA標的の不十分な数は、高いCt値または陽性シグナルの非存在を引き起こし得る。従来の濃縮技術には、培養物に典型的に存在する細菌、食品サンプル微粒子および他の阻害剤を共沈させる技術（例えば、大きいサンプル体積（1 mL以上）の遠心分離など）が含まれる。従って、PCRまたは他の分子技術が使用され得る前にロバストなDNA抽出プロトコルを使用しなければならない。しかしながら、病原性細菌が増やされた大量の培養物の遠心分離には、容器を損なう危険性、ならびに、結果として、設備および作業領域の重大な汚染が伴う。本明細書中において図1Aおよび図1Bに提供されるデバイス、および、図16 ~ 図18に示されるバイオプロセッシングカートリッジを使用する場合、DNAを、自動化された方法およびデバイスを使用して、大きいサンプル体積から調製および抽出することができる。

10

20

30

40

50

【0293】

1. サンプル調製：食品マトリックス培養物（10 mL ~ 50 mL）がプレフィルター（P）に加えられる。プレフィルターは、大きいサイズの微粒子を保持し、細菌がフィルターを素通りすることを可能にする。その後、細菌をほとんど含有する素通りが第2のフィルターに導かれ、その場合、細菌がフィルターによって捕獲され、素通りが廃液に捨てられる。その後、第2のフィルターによって捕獲された細菌が、溶解溶液（例えば、PrepSeq溶解溶液）を使用して第2のフィルターの上で溶解され、溶解物がシリカメンブランに導かれる。溶解された細菌からのDNAがシリカメンブランによって捕獲され、素通りが廃液リザーバーに捨てられる。その後、シリカメンブランが、PCR阻害剤を除くためにPrepSeq洗浄溶液により洗浄される。

【0294】

2. DNA回収：その後、溶出緩衝液（例えば、PrepSeq溶出緩衝液）がポンプにより、シリカメンブランに通されて、DNAをシリカメンブランから溶出させる。メンブランから溶出されるDNAの量が40 uL ~ 115 uLの間であり得る。

【0295】

3. 結果：本明細書中のバイオプロセッシングデバイスを使用することにより、非常に大きい体積（> 10 mL）の複雑な食品サンプル培養物を比較的短い時間量で処理することが可能になる。自動化されたサンプル処理工程は、食品微粒子をサンプルマトリックスから除去すること、および、細菌DNA抽出物を、シリカメンブランを使用して捕獲することを可能にする。

【0296】

T. 実施例29

核酸を、図1Aおよび図1Bに記載されるバイオプロセッシングシステムと、図16 ~ 図18に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して精製および捕獲することができ、この場合、自動化されたシステムは、様々なポンプ速度および工程時間設定を伴って構成される。核酸精製では、部分流れ拡散のポンプ作動工程が使用され、この場合、空気圧の適用、溶解と、再懸濁緩衝液との予備混合が除かれている。本実施例ではまた、図8B ~ 図8Fに示されるような試薬リザーバートレーが使用された。プロトコルのこの変

更により、ゲノムDNA (gDNA) 混入の除去が最適化された。

【0297】

1. 細胞捕獲：125 mLの大腸菌含有培地を、バイオプロセッシングカートリッジの中に、バイオプロセッシングカートリッジの外部に置かれるサンプルリザーバー（使い捨て型の細胞ライナーリザーバー）から吸引し、Bl065メンブランを含有するバイオプロセッシングチャンバーに通して、細胞を培地からろ過した。細胞から分離された清澄化培地をポンプにより、カートリッジから出し、廃液リザーバーの中に入れた。その後、サンプルをポンプにより、700 msのポンプ遅延を15分の捕獲時間にわたって使用してバイオプロセッシングチャンバーに通した。カートリッジに残留する圧力を1秒間放出した。

【0298】

2. 細胞の再懸濁および溶解：Rnase A溶液を外部の試薬リザーバーからカートリッジの中に吸引し、その後、ポンプにより、カートリッジから出し、再懸濁緩衝液を含有する試薬リザーバーの中に入れた。Rnase A溶液を、800 msのポンプ遅延を4秒間使用してポンプ送出した。その後、再懸濁/Rnase A緩衝液混合物を一緒に混合した。その後、再懸濁/Rnase A緩衝液混合物をポンプにより緩衝液リザーバーから溶解緩衝液リザーバーに送った。混合物を、800 msのポンプ遅延を45秒間使用してポンプ送出した。その後、溶解緩衝液/再懸濁/Rnase A混合物をポンプにより、溶解緩衝液リザーバーからメンブランの出口側に通して、同時に細胞を細胞捕獲メンブランから除き、溶解した。混合物をポンプによりメンブランの出口側に通すことにより、残留する捕獲された細胞を除くために空気を使用する必要性がなくなった。混合物を、800 msのポンプ遅延を1分20秒間使用してポンプ送出した。拡散された溶解緩衝液/再懸濁/Rnase A混合物をポンプにより、2500 msのポンプ遅延を3分30秒間使用して再懸濁/Rnase A緩衝液混合物リザーバーに送った。

【0299】

3. 中和：溶解された細胞をポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における2500 msのポンプ遅延を3分30秒間使用して第1のリザーバーから第2のリザーバーに送った。その後、混合物をディフューザーポンプにより、それぞれのポンプ拍動の間における2500 msのポンプ遅延を6分40秒間使用して第2のリザーバーから第3のリザーバーに送った。その後、混合物をディフューザーポンプにより、2500 msのポンプ遅延を5分間使用して第3のリザーバーから第2のリザーバーに戻した。その後、第3のリザーバーにおける混合物の残りをディフューザーポンプにより、2500 msのポンプ遅延を5分間使用して第3のリザーバーから第2のリザーバーに戻した。その後、廃液ラインを、32 PSIの空気を加えるためにチェックバルブを使用して2秒間バージした。その後、デバイスを5分間中断させて、細胞破片相および透明な溶解物相を分離させた。

【0300】

4. 清澄化/アニオン交換結合：その後、細胞破片を、ディフューザーポンプを使用して、細胞破片相および透明な溶解物相をポンプにより、2500 msの遅延を10分30秒間使用してExtra-Thickガラス繊維清澄化メンブランに通し、その後、アニオン交換DNA結合性メンブランに通し、その後、廃液リザーバーに送った。その後、残留する破片および緩衝液を、2500 msの遅延を1分間使用して除いた。その後、アニオン交換洗浄緩衝液をポンプにより、2500 msの遅延を40秒間使用してアニオン交換メンブランに通して、廃液リザーバーに出した。

【0301】

5. アニオン交換溶出および沈殿化：アニオン交換溶出緩衝液をポンプにより、1100 msのポンプ遅延を1分30秒間使用して緩衝液リザーバーからアニオン交換メンブランに通し、イソプロピルアルコールを含有するリザーバーに出した。その後、溶出緩衝液およびイソプロピルアルコールの緩衝液混合物を、混合物をポンプにより、800 msの遅延を20秒間使用してイソプロピルリザーバーから溶出緩衝液リザーバーに送り、その後、800 msのポンプ遅延を30秒間使用してイソプロピルアルコールリザーバーに戻すことによって混合した。その後、廃液ラインを、32 PSIの空気圧を1秒間使用して

10

20

30

40

50

廃液にパージした。その後、圧力を、バルブを開けることによって放出した。その後、システムを2分間中断させて、沈殿化を行わせた。

【0302】

6. 沈殿分離器メンブランにおける pDNA の捕獲：沈殿した pDNA を含有する溶出緩衝液 / IPA 混合物をディフューザーポンプにより、PPTRメンブラン (b1a065) に通して、DNA を捕獲した。ろ過された緩衝液をポンプにより、2500ms のポンプ遅延を4分間使用して廃液に出した。その後、70% ETOH をディフューザーポンプにより、ポンプをポンプ拍動の間における2500ms の遅延により30秒間使用して ETOH リザーバーから PPTRメンブランに通し、廃液に出した。残留 ETOH を、32PSI の空気圧を、バルブを介して1秒間加えることによってラインから除いて、廃液に出した。その後、メンブランを、1.5分間、32PSI の空気を、チェックバルブを介して加え、廃液に出すことによって風乾した。

10

【0303】

7. 回収チューブ内への最終溶出：その後、TE 溶出緩衝液を、ポンプ拍動の間における3000ms の遅延を5分間使用して、PPTRメンブランを介して加えて、pDNA を回収チューブの中に溶出した。

【0304】

U. 実施例 30

細胞凝集、および、細胞凝集を軽減するために NaCl を加えることの影響を、上記の実施例 29 に記載されるプロトコルを使用して調べた。プロトコルを、図 1A および図 1B に記載されるバイオプロセッシングシステムと、図 16 ~ 図 18 に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して行った。

20

【0305】

上記の実施例 29 に記載されるプロトコルを使用して、250mM の NaCl を、試薬トレーに置かれる 125mL の細胞に加えた。一晚培養物を、100ug/mL のアンピシリンを含有する 1L の新鮮な LB 培地への 50uL の TOP10 / DH10B - T1R グリセロールストック溶液の添加によって調製した。125mL の細菌培養物を試薬リザーバーの中に注いだ。NaCl (5M) を、所望される NaCl 濃度を達成するためにデバイスを使用して、運転を開始する前にリザーバーに加えた。

【0306】

30

DH10B - T1R 細胞の捕獲の前において、0.5M の NaCl 溶液に対して 0.2M の NaCl 溶液を使用して細胞を処理することの影響を比較した。比較の結果が図 44A に示される。図 44A に示されるように、プラスミド収量における小さい増大が、コントロールと比較した場合、0.2M の NaCl 溶液を使用したときに認められ、一方で、0.5M の NaCl 溶液は、プラスミド収量に対する有害な影響を有するようであった。

【0307】

Top10 細胞の捕獲の前において、300mM の NaCl 溶液を使用することに対して 250mM の NaCl 溶液を使用して細胞を処理することの影響を比較した。比較の結果が図 44B に示される。図 44B に示されるように、両方の濃度の NaCl は、コントロールと比較した場合、Top10 細胞から得られるプラスミド収量を増大させ、250mM の NaCl 濃度を使用したときに捕獲されるプラスミド収量が 55% 増大し、300mM の NaCl 濃度を使用したときに捕獲されるプラスミド収量が 40% 増大した。

40

【0308】

V. 実施例 31

細胞凝集、および、細胞凝集を軽減するために NaCl を加えることの影響を、上記の実施例 29 に記載されるプロトコルを使用して調べた。プロトコルを、図 1C および図 1D に記載されるバイオプロセッシングシステムと、図 16 ~ 図 18 に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して行った。

【0309】

細胞の NaCl 前処理：6.5mL の 5M NaCl を、試薬トレーに置かれる 125

50

m L の細菌培養物に加えた。塩の前処理を伴わない細胞（コントロール）からのプラスミド収量を、250 mM の NaCl で前処理された細胞から得られるプラスミド収量と比較した。

【0310】

図45Aは、低い光学密度（OD）のTOP10細胞（平均密度が1.85である細胞）および大きい光学密度のTOP10細胞（平均密度が2.4～2.5である細胞）から得られるプラスミド収量を、TOP10コントロール（塩処理なし）から得られるプラスミド収量と比較して示す。図45Aに示されるように、すべてのTOP10細胞についての回収されたプラスミド収量が、コントロールと比較した場合、250 mM の NaCl の処理により増大した。実験後に回収された最終サンプルの体積は、図45Bに示されるように、塩の前処理によって影響されないままであった。

10

【0311】

W．実施例32

細胞凝集、および、細胞凝集を軽減するためにNaClを加えることの影響を、上記の実施例29に記載されるプロトコルを使用して調べた。プロトコルを、図1Cおよび図1Dに記載されるバイオプロセッシングシステムと、図16～図18に示されるバイオプロセッシングカートリッジとを使用して行った。

【0312】

細胞のNaCl前処理：6.5 mL の 5 M NaCl を、試薬トレーに置かれる125 mL の細菌培養物に加えた。塩の前処理を伴わない細胞（コントロール）からのプラスミド収量を、250 mM の NaCl で前処理された細胞から得られるプラスミド収量と比較した。

20

【0313】

図46は、250 mM の NaCl で前処理されたDH10B-T1R細胞から得られるプラスミド収量を、塩の前処理を伴わない細胞と比較して示す。図46に示されるように、DH10B-T1R細胞から得られるプラスミド収量が、コントロール細胞に対して、250 mM の NaCl で前処理された細胞については増大した。

【0314】

本明細書中で用いられている用語および表現は、限定の用語としてではなく、説明の用語として使用され、また、そのような用語および表現の使用においては、示される特徴および記載される特徴またはそれらの一部の何らかの均等物を除外することが何ら意図されず、しかし、様々な改変が、主張される発明の範囲の範囲内において可能であることが認識される。従って、本発明が、一部は好ましい実施形態、例示的な実施形態および選択可能な特徴によって、具体的に開示されているが、本明細書中に開示される概念の改変および変化が当業者によって用いられ得ること、また、そのような改変および変化は、添付されている請求項によって定義されるような本発明の範囲の範囲内であると見なされることを理解しなければならない。本明細書中に提供される具体的な実施形態は本発明の有用な実施形態の例であり、したがって、本発明が、本説明において示されるデバイス、デバイス構成成分および方法工程の非常に多数の変化を使用して実施され得ることが当業者には明らかである。

30

40

【0315】

本出願において引用されるすべての参考文献は、それらが本出願における開示と矛盾していないという範囲で、本明細書により参照によってそれらの全体において組み込まれる。本明細書中に具体的に記載されるものと異なる方法、デバイス、デバイス構成要素、材料、手順および技術が、過度な実験に頼ることなく、本明細書中に広く開示されるような本発明の実施に適用され得ることが当業者には明らかである。本明細書中に具体的に記載される方法、デバイス、デバイス構成要素、材料、手順および技術の、当分野で公知である機能的なすべての均等物が、本発明によって包含されることが意図される。

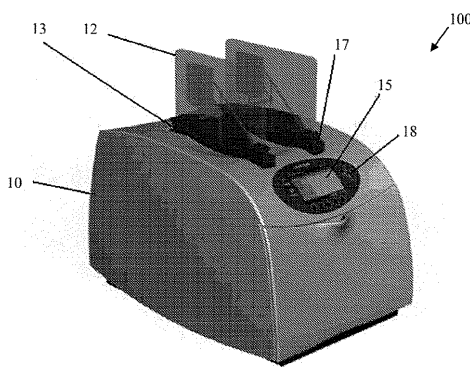
【0316】

一群の材料、組成物、成分または化合物が本明細書中に開示されるとき、それらの群お

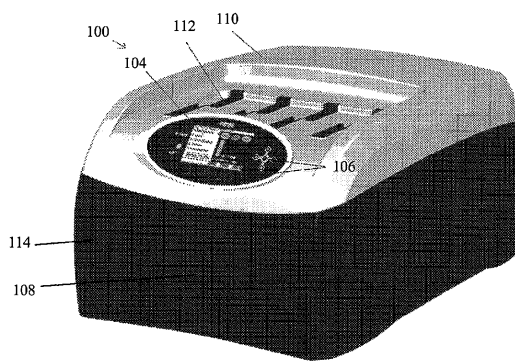
50

よびそれらのすべての部分群のすべての個々の群構成要素が別個に開示されることが理解される。マーカッシュ群または他のグループ分けが本明細書中で使用されるとき、その群のすべての個々の群構成要素、ならびに、その群の可能なすべての組合せおよび部分組合せが、本開示において個々に含まれることが意図される。本明細書中に記載または例示される構成成分の定型化または組合せはどれも、別途述べられない限り、本発明を実施するために使用することができる。範囲（例えば、温度範囲、時間範囲または組成範囲）が本明細書において与えられるときは常に、与えられた範囲に含まれるすべての中間範囲および部分範囲、同様にまた、与えられた範囲に含まれるすべての個々の値が、本開示において含まれることが意図される。

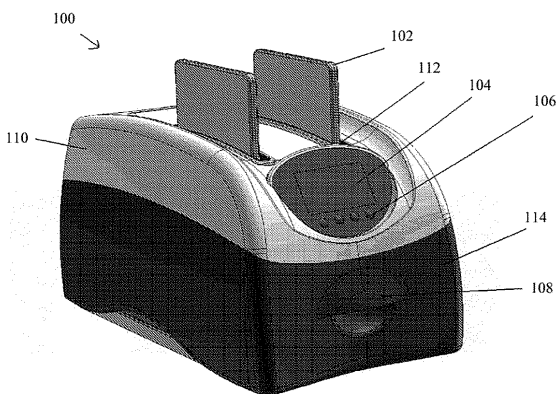
【図 1 A】



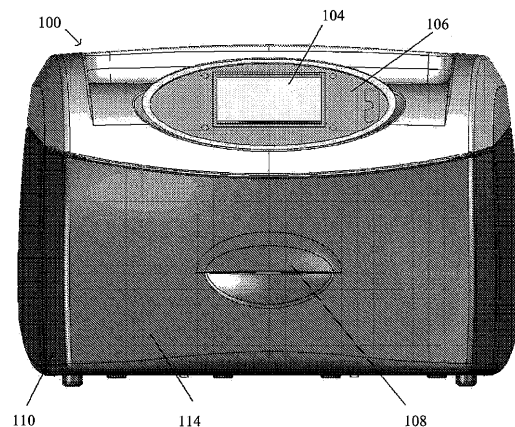
【図 1 C】



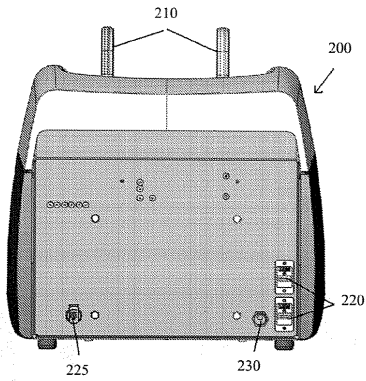
【図 1 B】



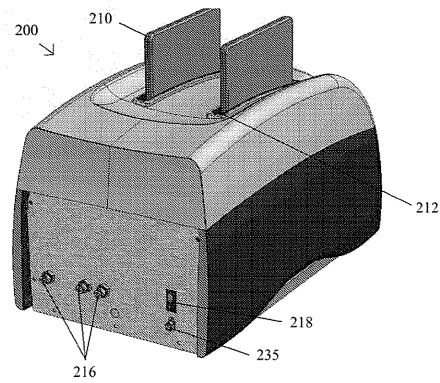
【図 1 D】



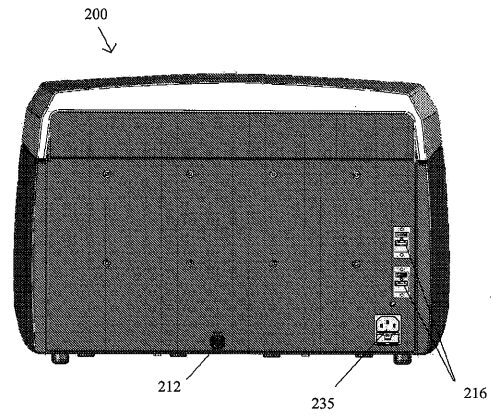
【図 2 A】



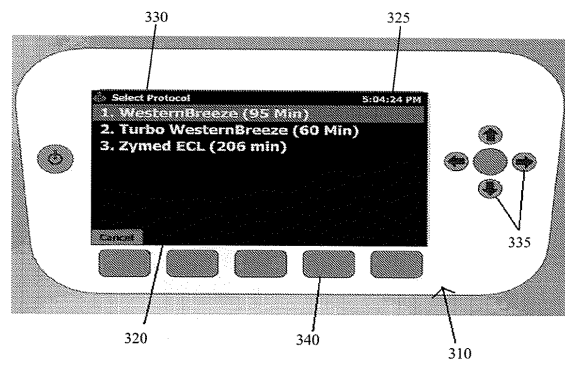
【図 2 B】



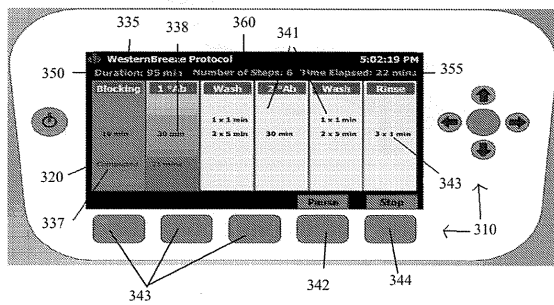
【図 2 C】



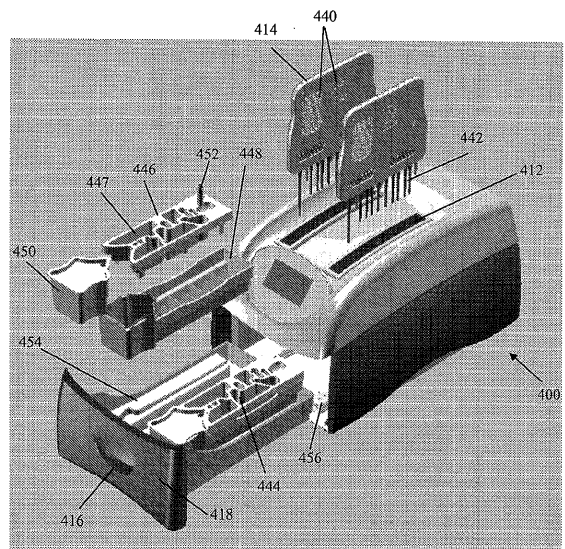
【図 3 A】



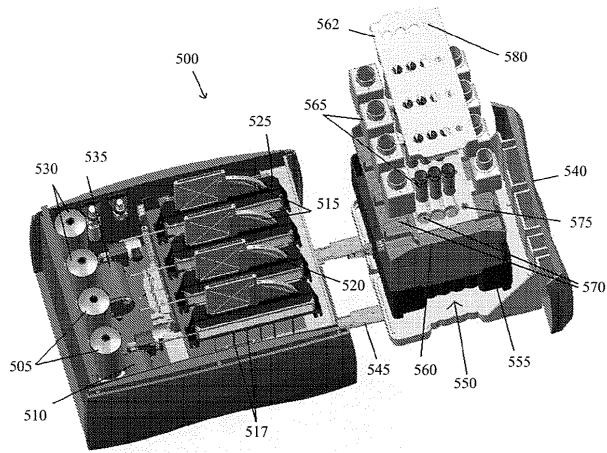
【図 3 B】



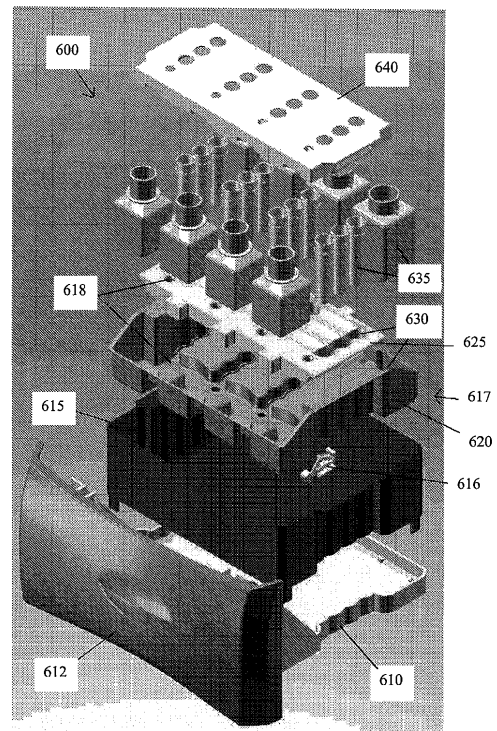
【図 4】



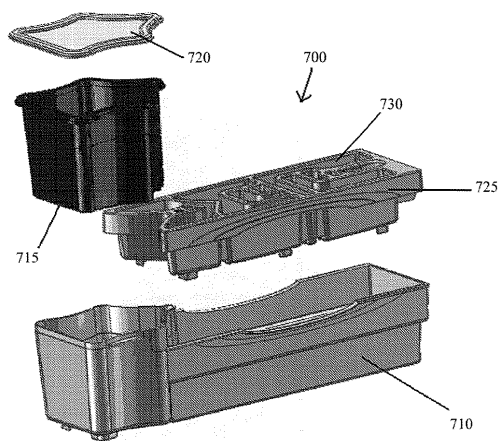
【図 5】



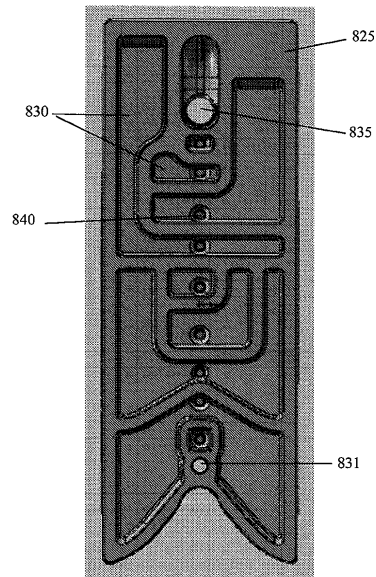
【図 6】



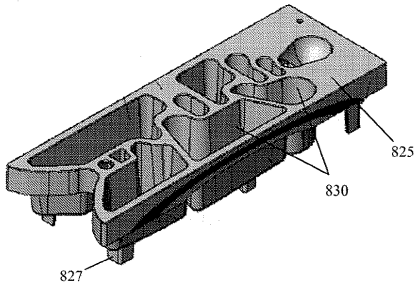
【図 7】



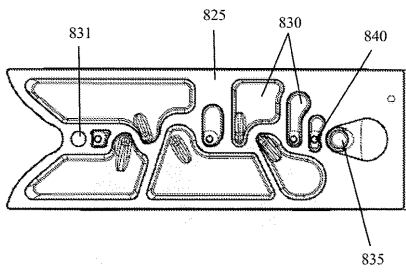
【図 8 A】



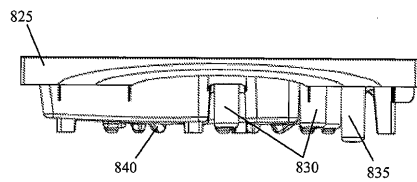
【図 8 B】



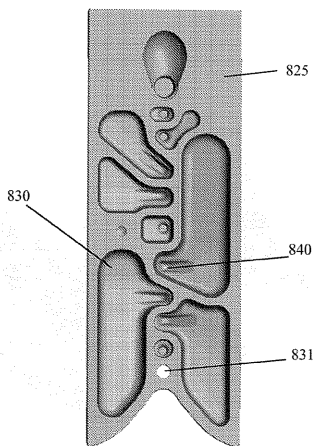
【図 8 C】



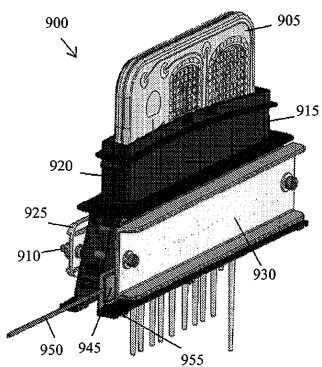
【図 8 D】



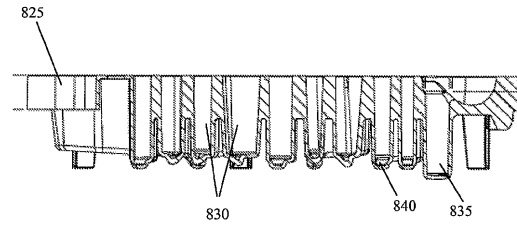
【図 8 G】



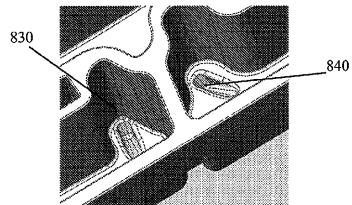
【図 9 A】



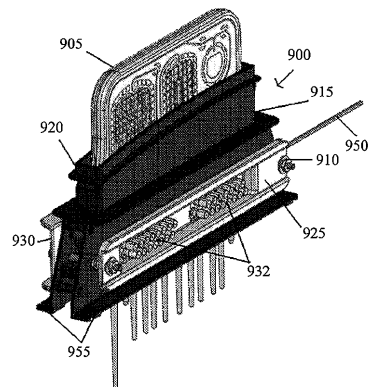
【図 8 E】



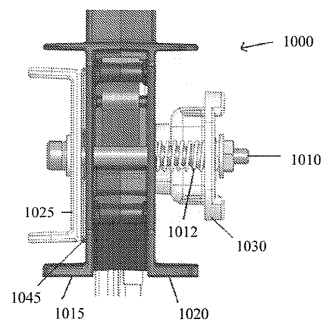
【図 8 F】



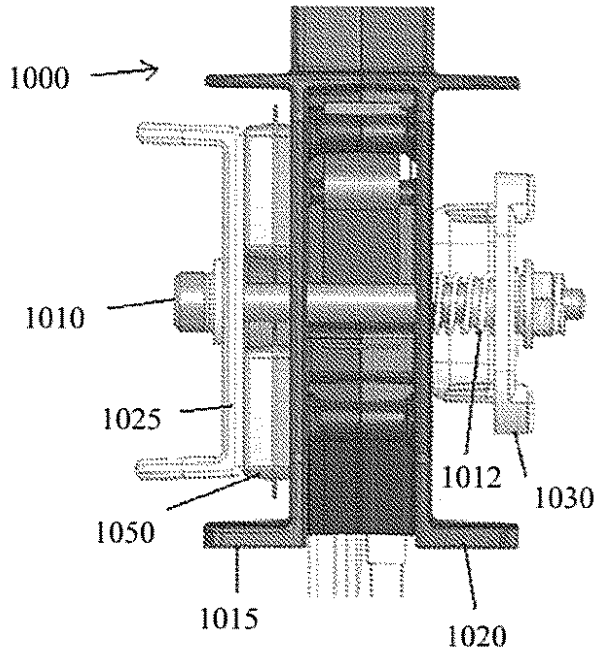
【図 9 B】



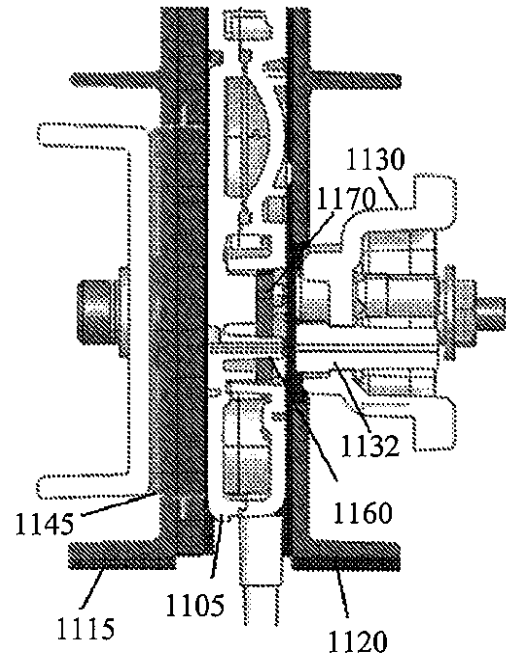
【図 10 A】



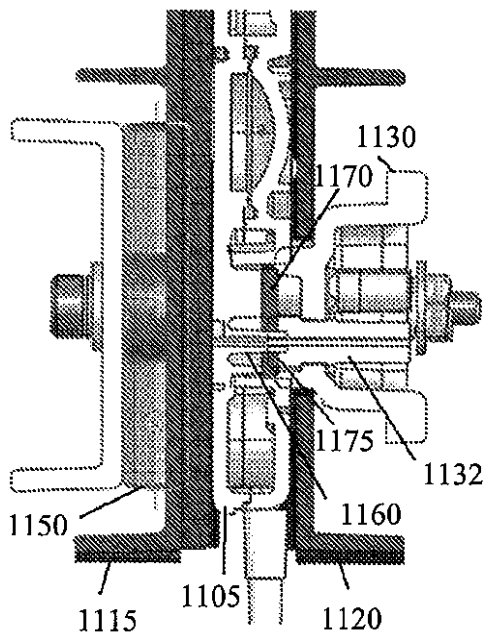
【図 10 B】



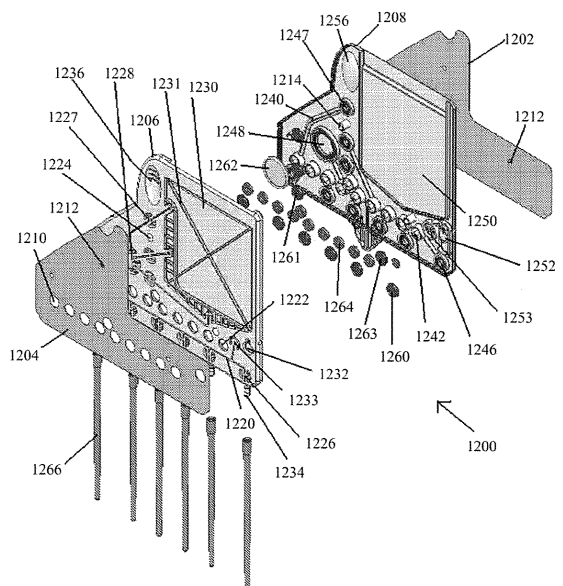
【図 11 A】



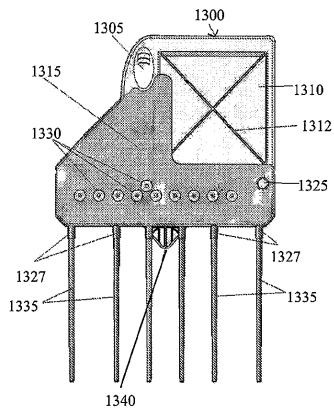
【図 11 B】



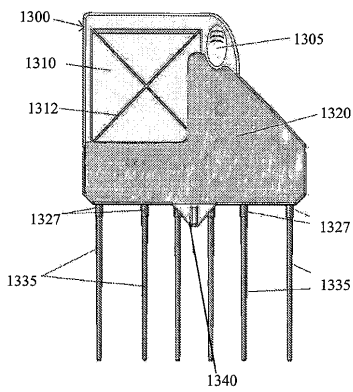
【図 12】



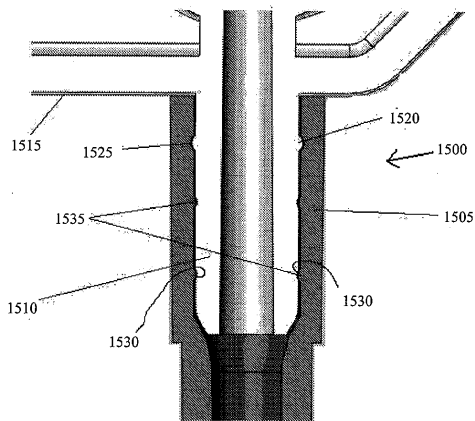
【図 13 A】



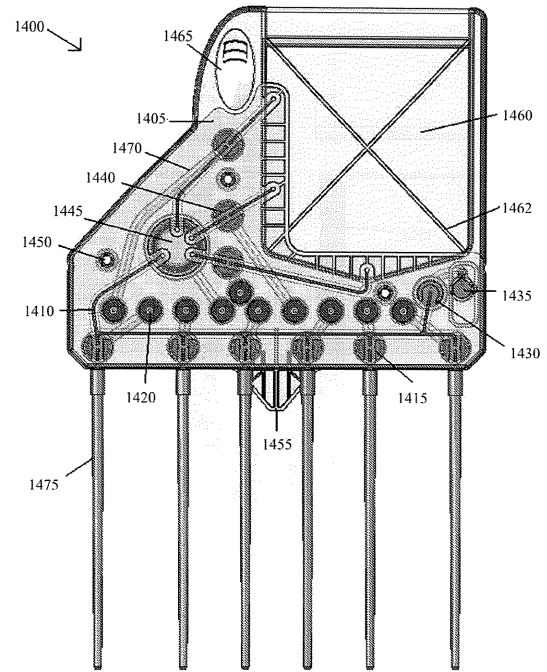
【図 13 B】



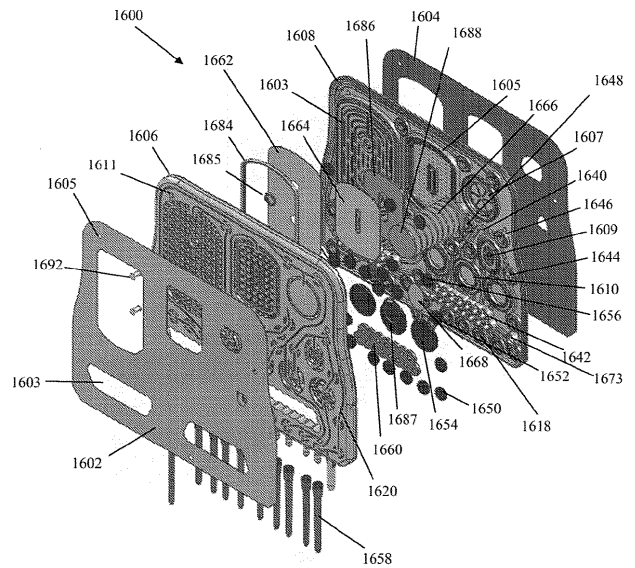
【図 15】



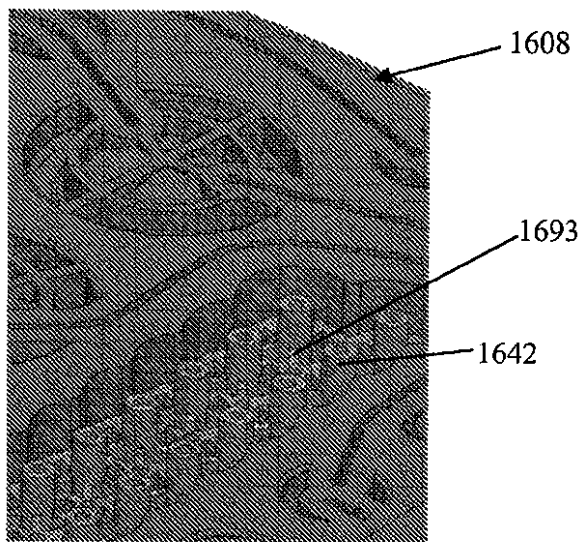
【図 14】



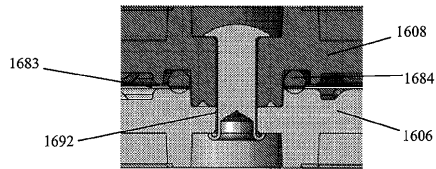
【図 16 A】



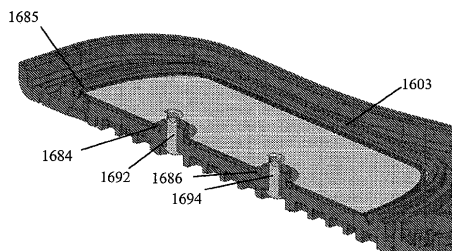
【図 16 B】



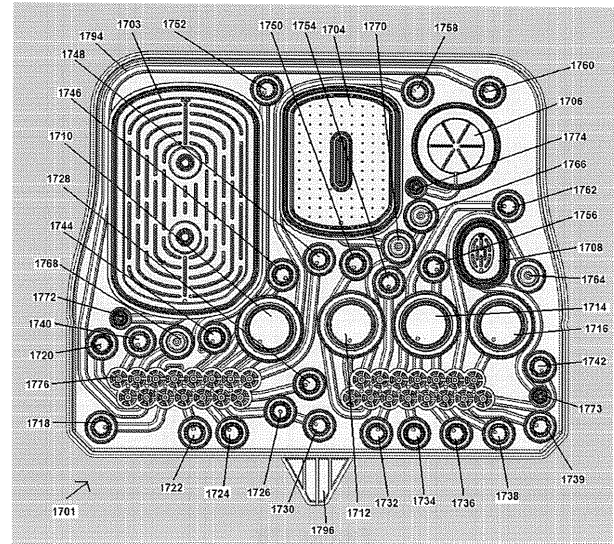
【図 16 D】



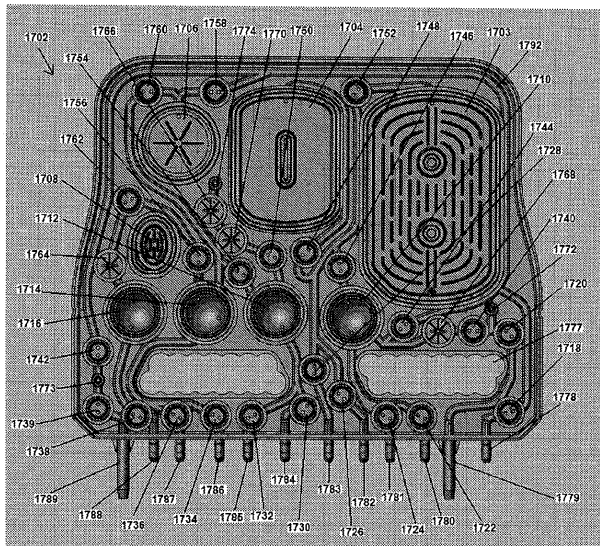
【図 16 C】



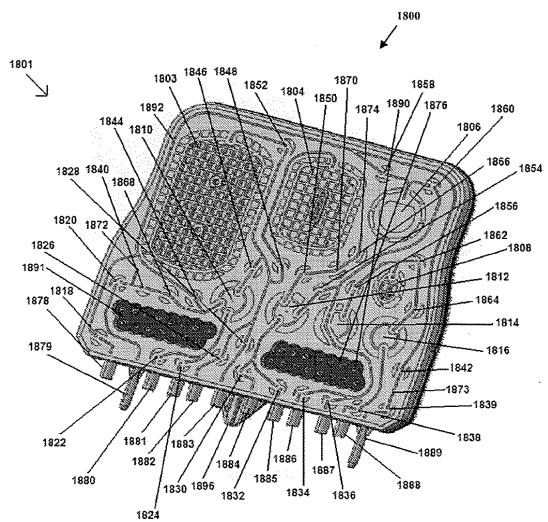
【図 17 A】



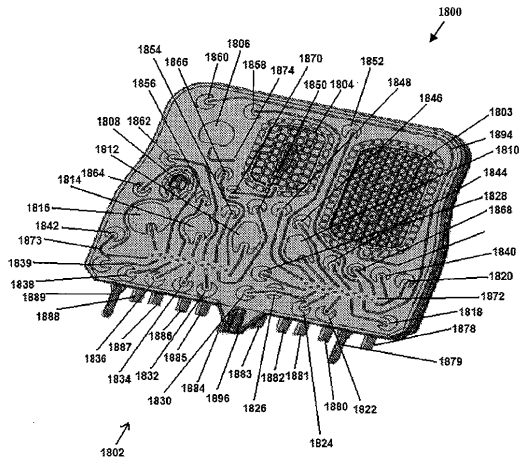
【図 17 B】



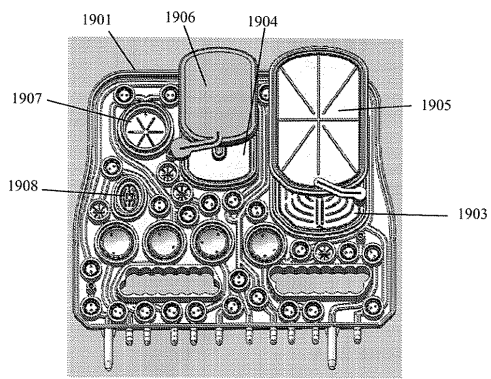
【図 18 A】



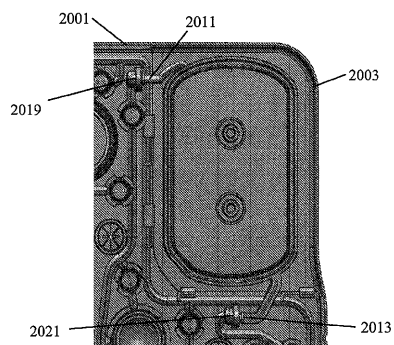
【図 18 B】



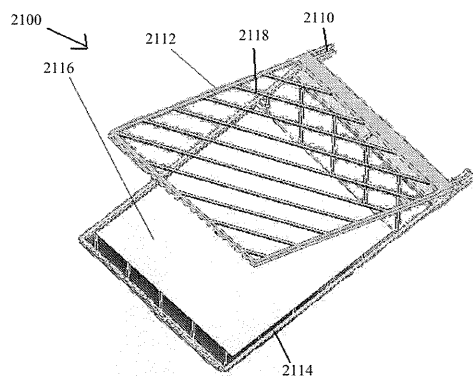
【図 19 A】



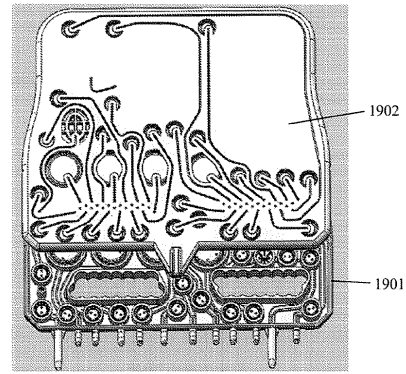
【図 20 B】



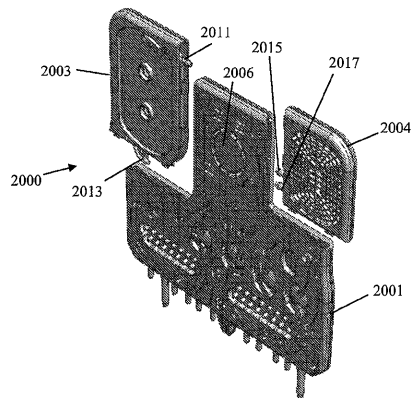
【図 21 A】



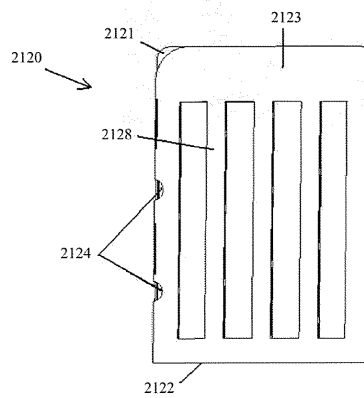
【図 19 B】



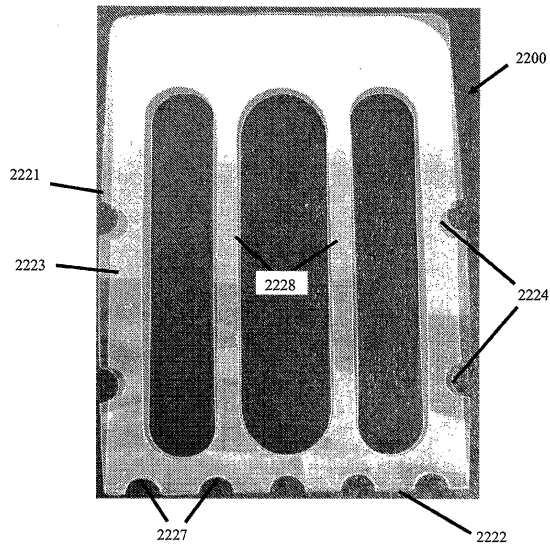
【図 20 A】



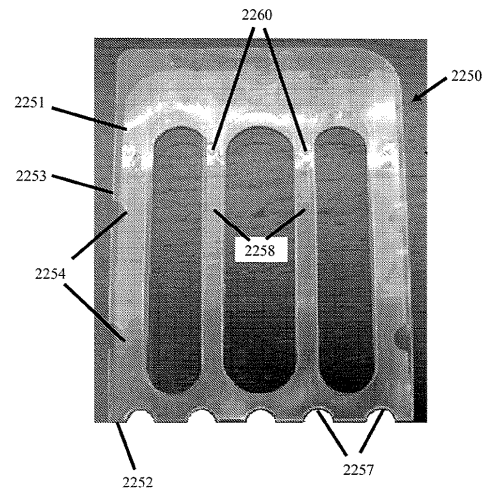
【図 21 B】



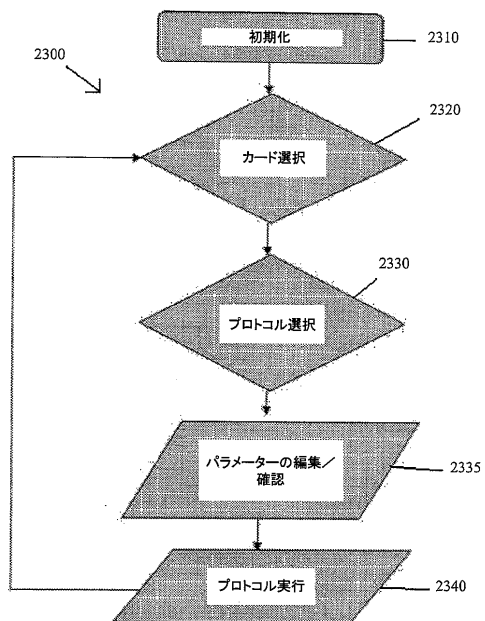
【図 2 2 A】



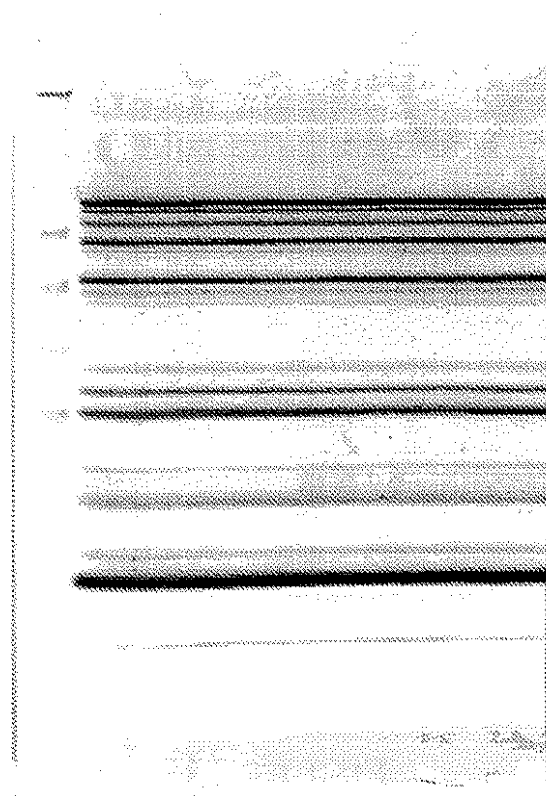
【図 2 2 B】



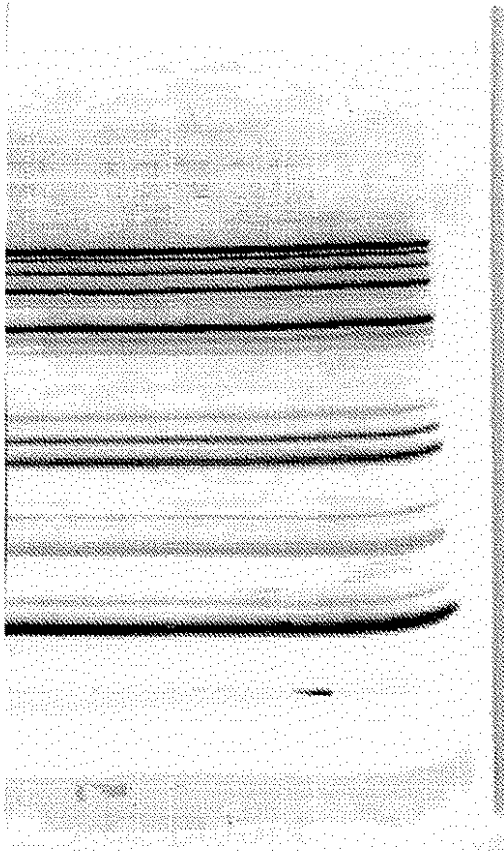
【図 2 3】



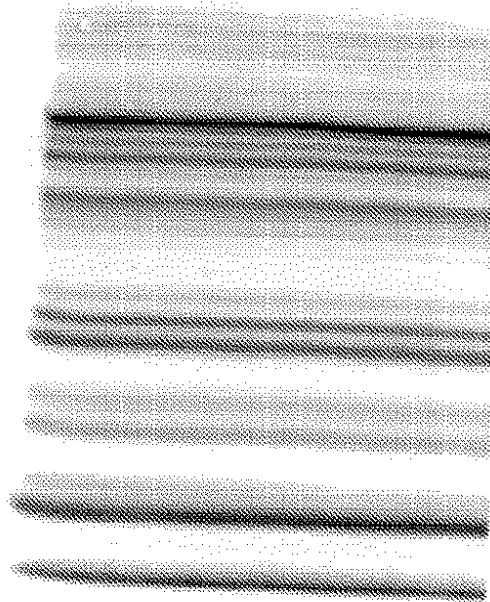
【図 2 4 A】



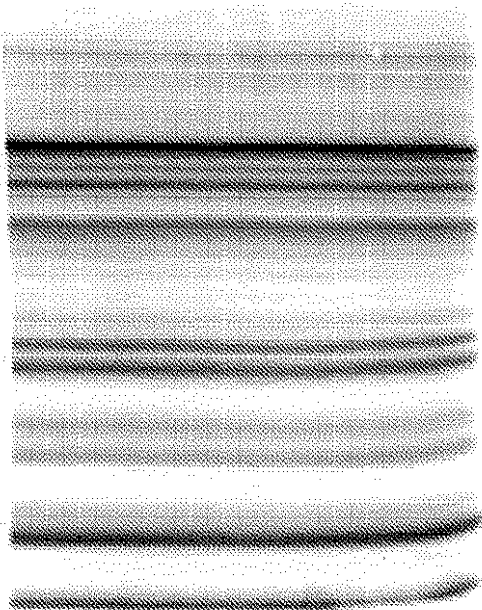
【図 2 4 B】



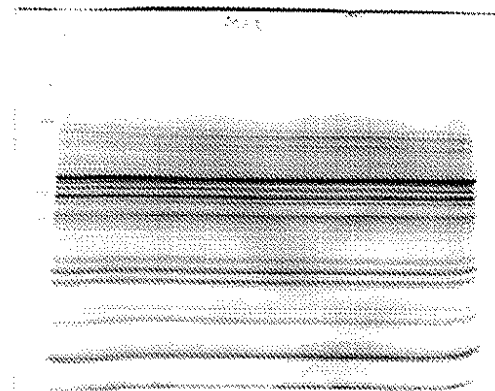
【図 2 5 A】



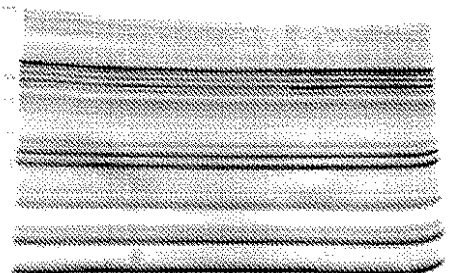
【図 2 5 B】



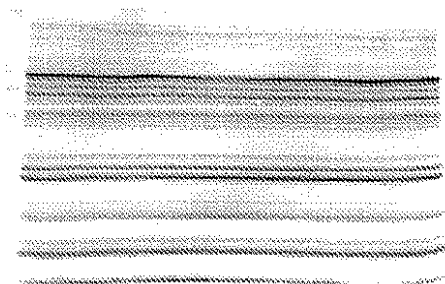
【図 2 6 A】



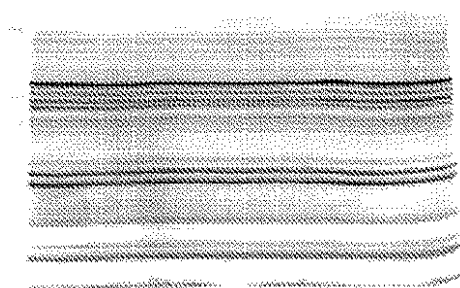
【図 2 6 B】



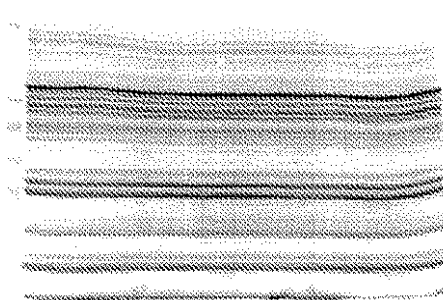
【図 26 C】



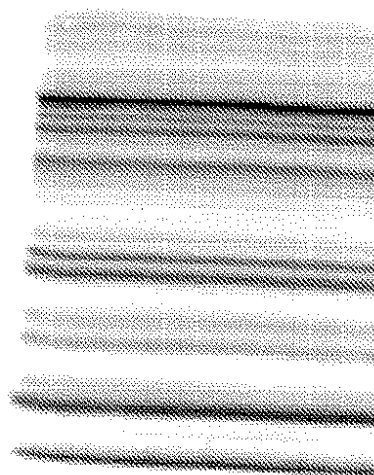
【図 26 D】



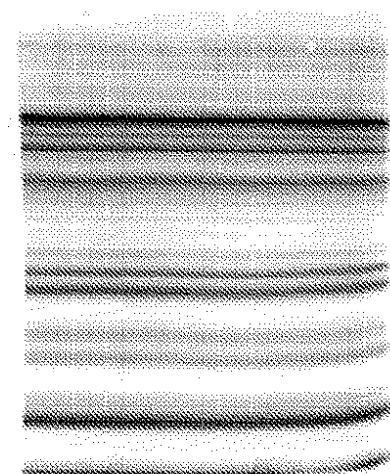
【図 26 E】



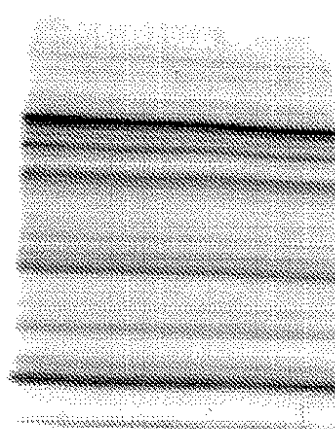
【図 27 A】



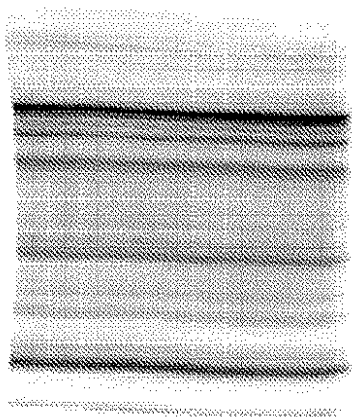
【図 27 B】



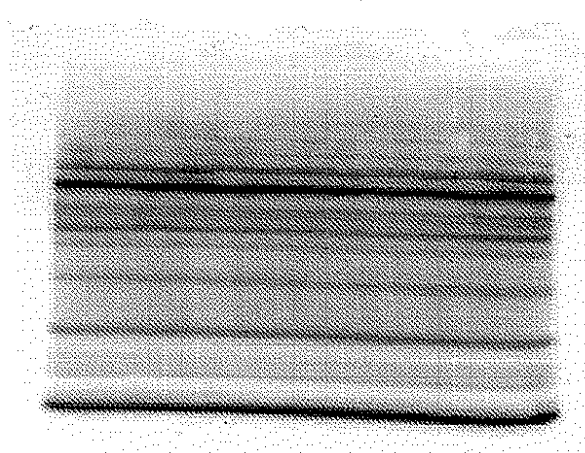
【図 27 C】



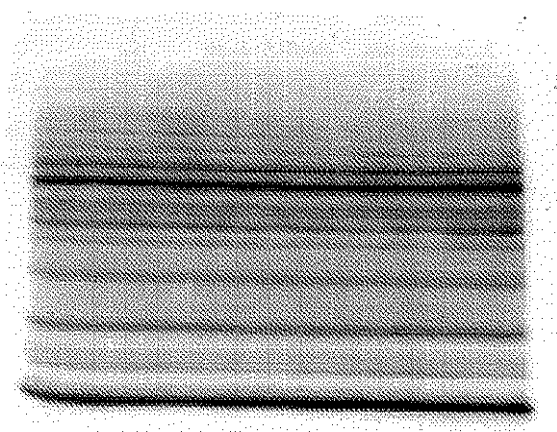
【図 27 D】



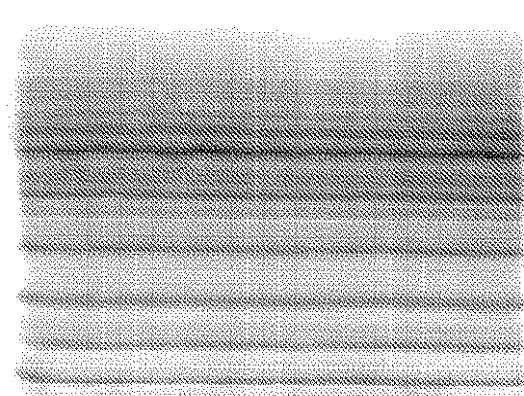
【図 28 A】



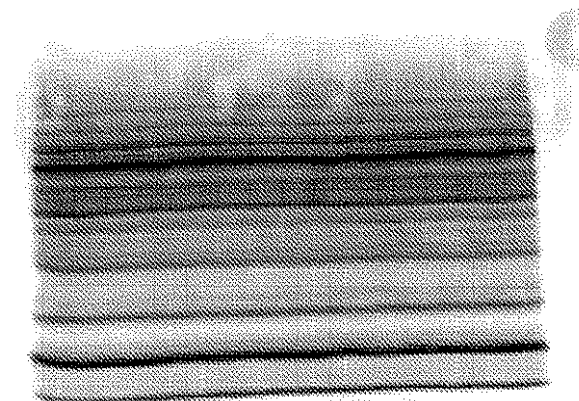
【図 28 B】



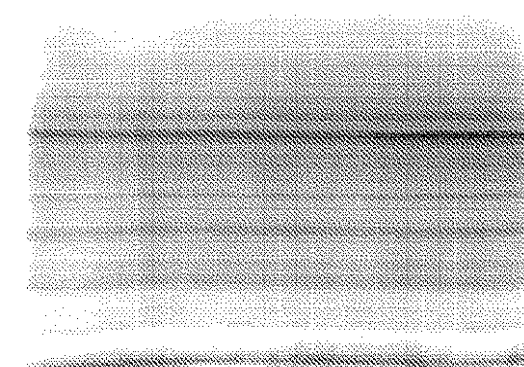
【図 29 B】



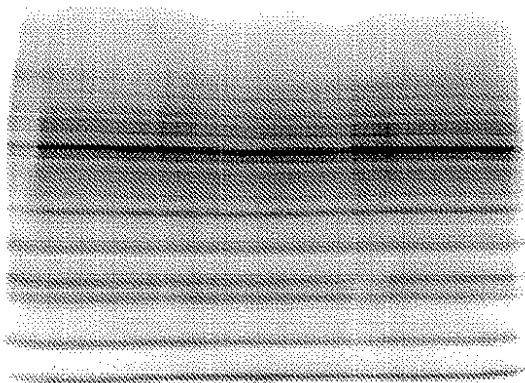
【図 29 A】



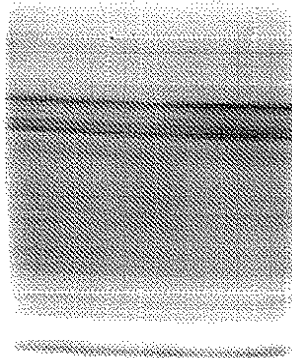
【図 30 A】



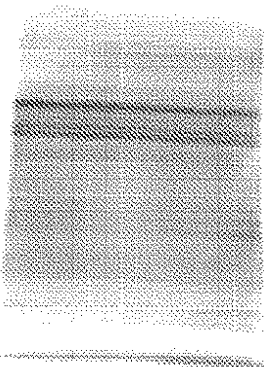
【図 3 0 B】



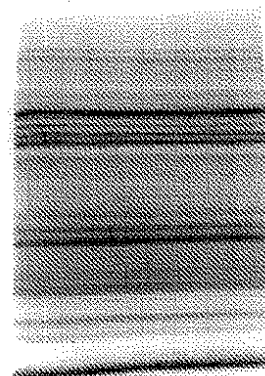
【図 3 1 B】



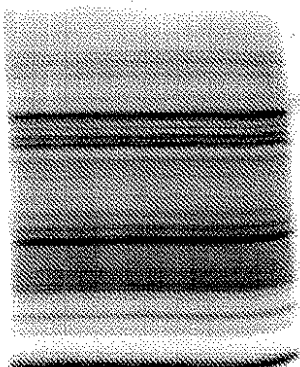
【図 3 1 A】



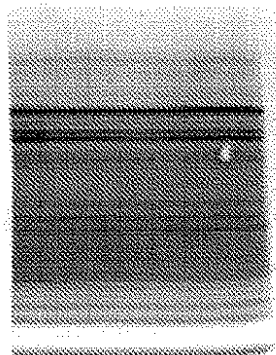
【図 3 1 C】



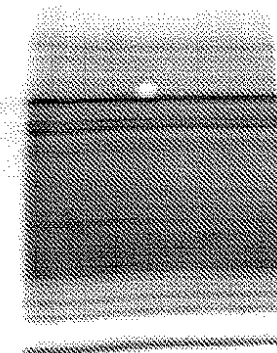
【図 3 1 D】



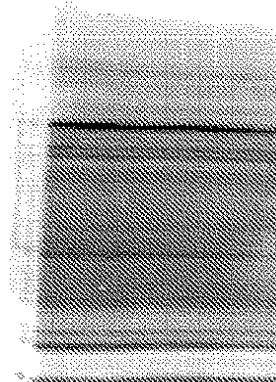
【図 3 2 B】



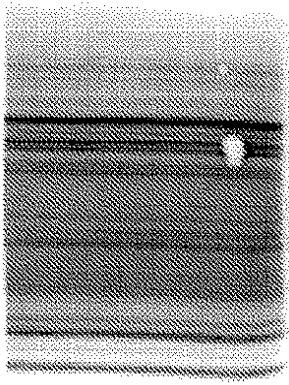
【図 3 2 A】



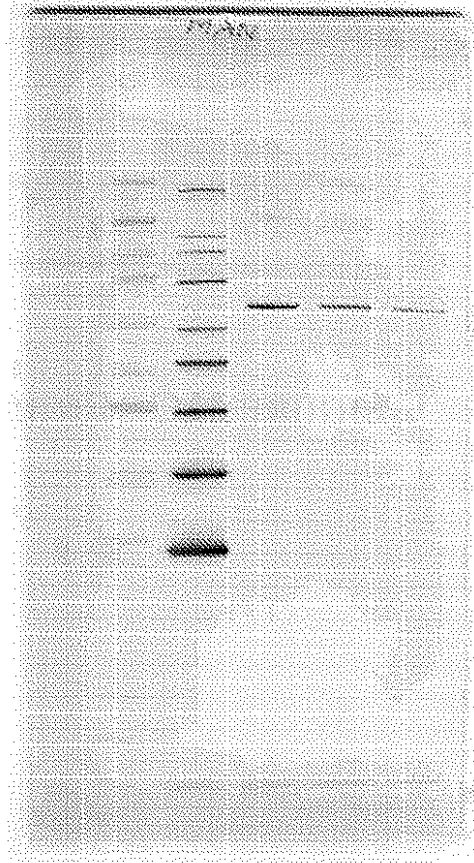
【図 3 2 C】



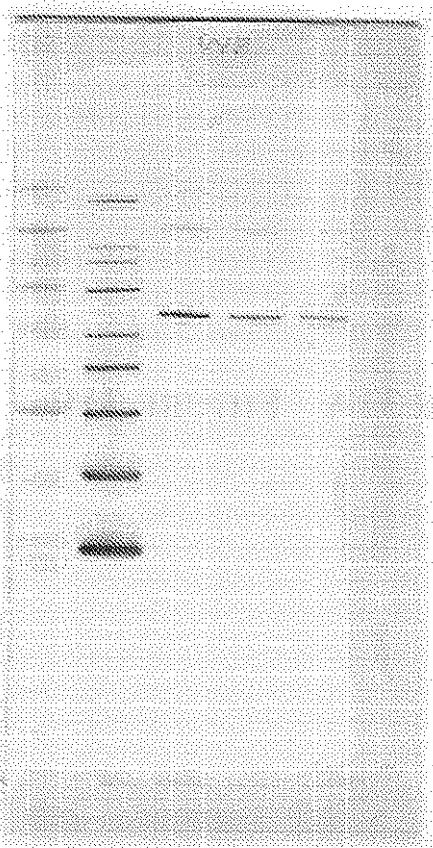
【図 3 2 D】



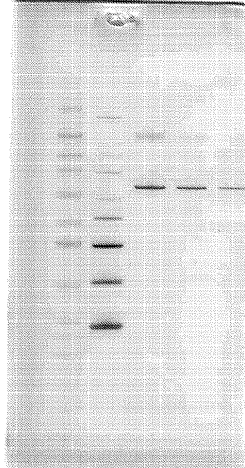
【図 3 3 A】



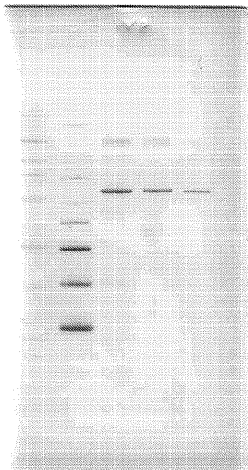
【図 3 3 B】



【図 3 4 A】



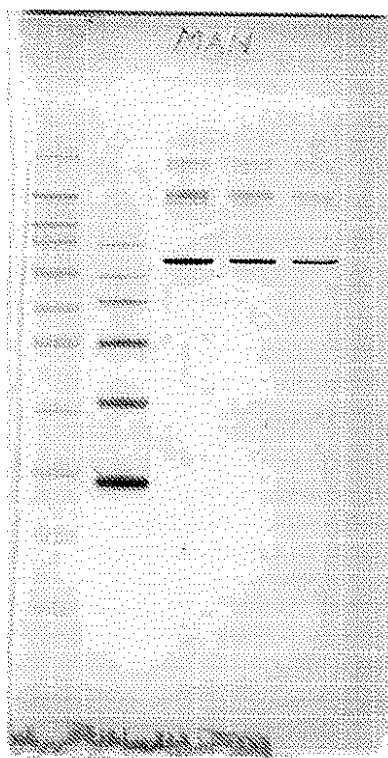
【図 3 4 B】



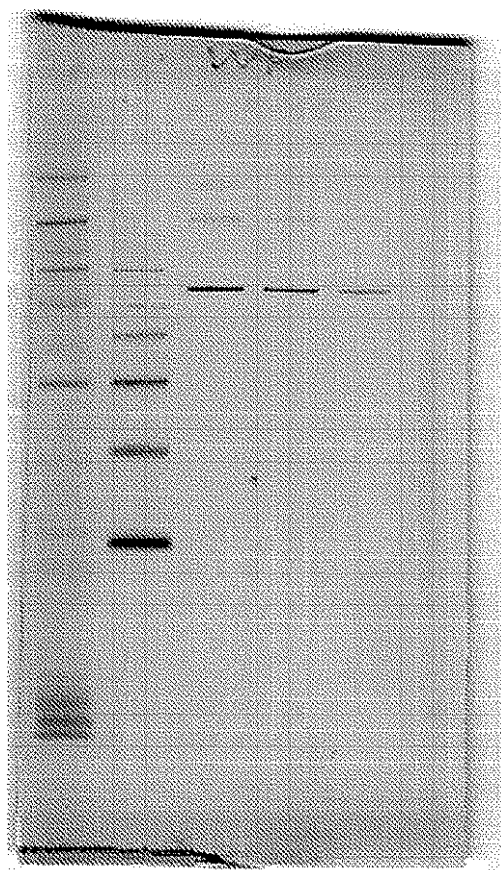
【図 3 5 A】



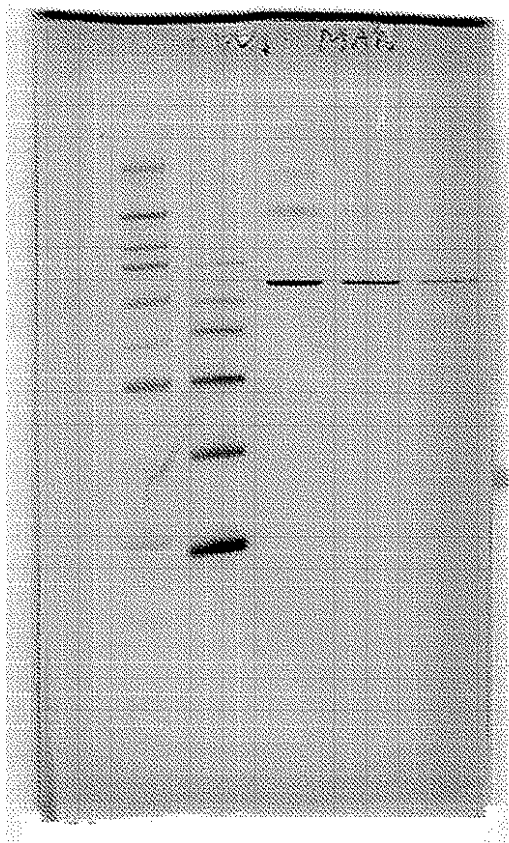
【図 3 5 B】



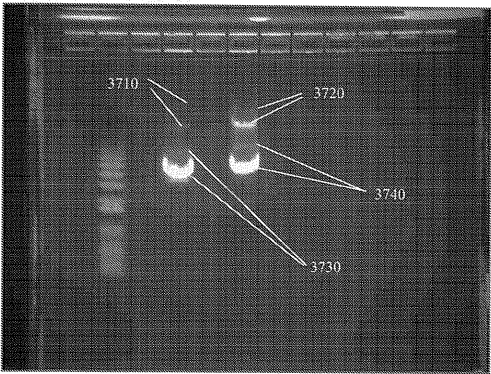
【図 3 6 A】



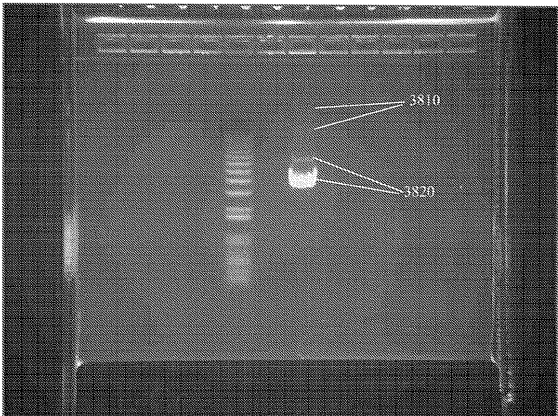
【図 3 6 B】



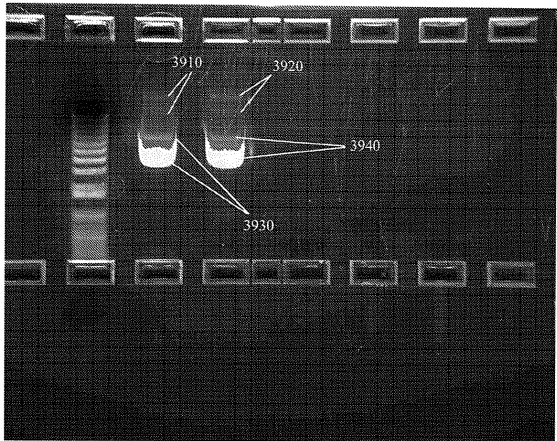
【図 3 7】



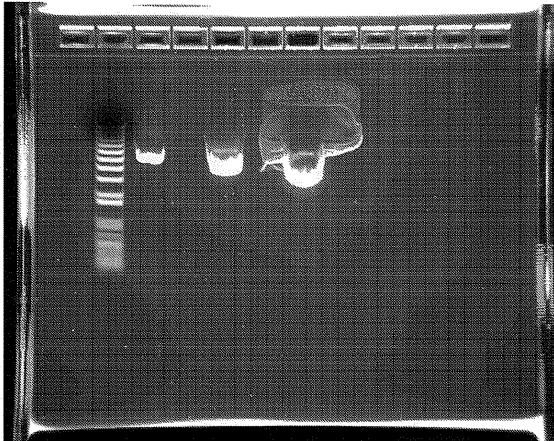
【図 3 8】



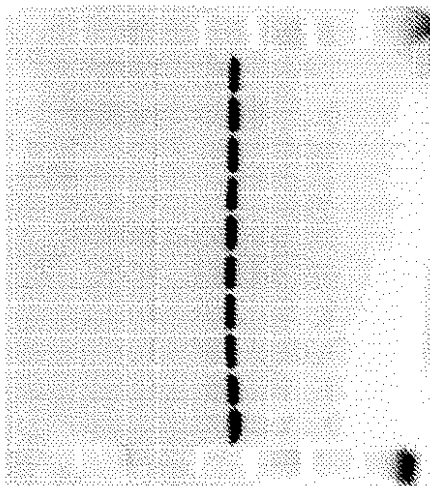
【図 3 9】



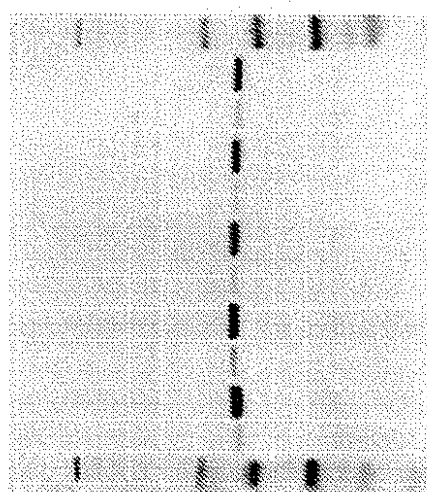
【図 4 0】



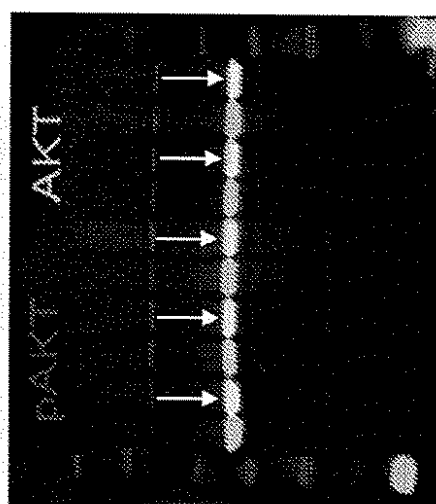
【図 4 1 A】



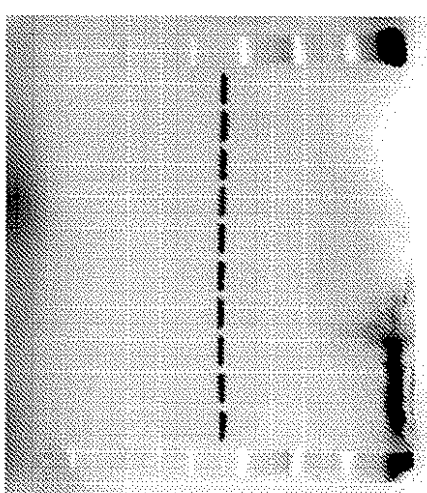
【図 4 1 B】



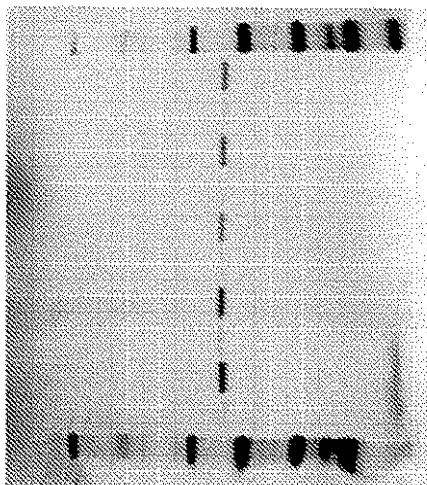
【図 4 1 C】



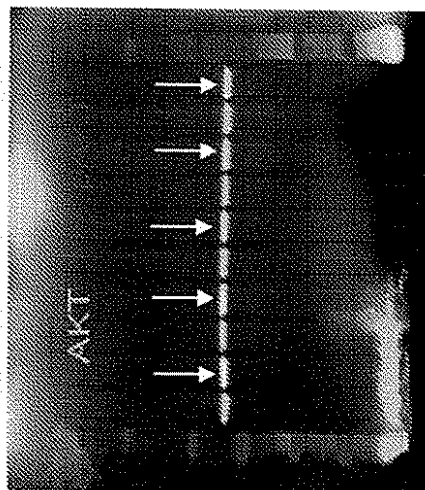
【図 4 1 D】



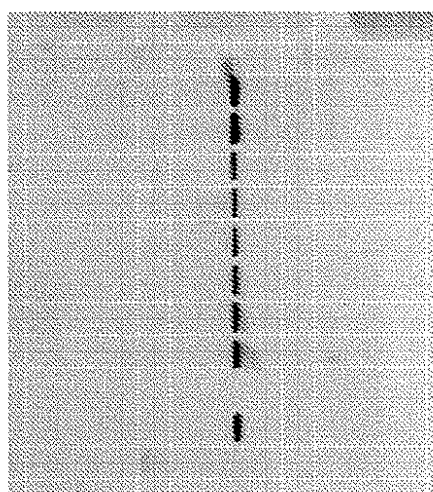
【図 4 1 E】



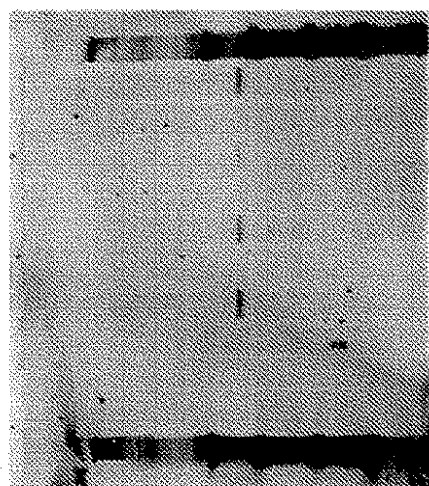
【図 4 1 F】



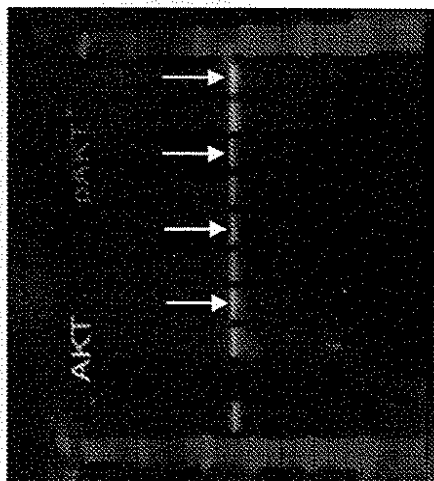
【図 4 2 A】



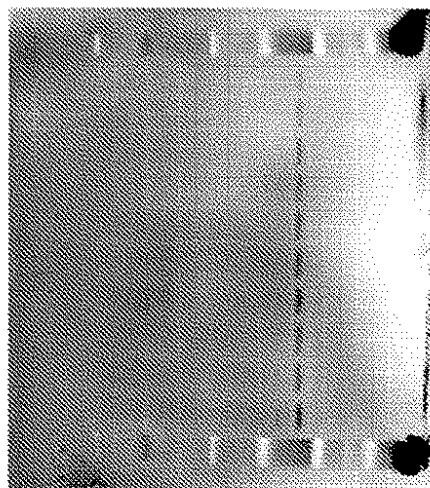
【図 4 2 B】



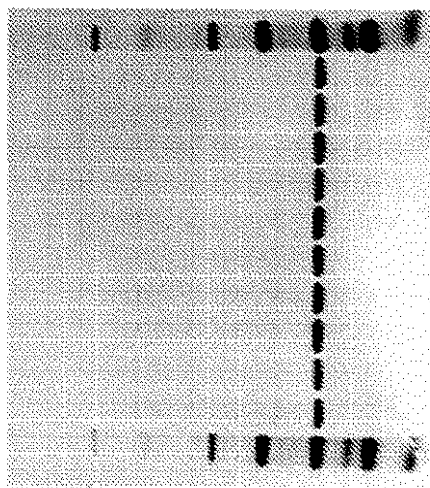
【図 4 2 C】



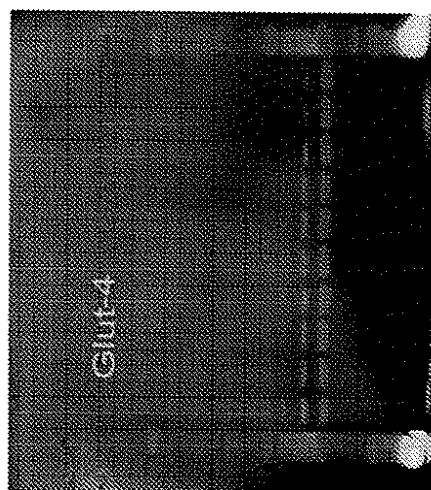
【図 4 3 A】



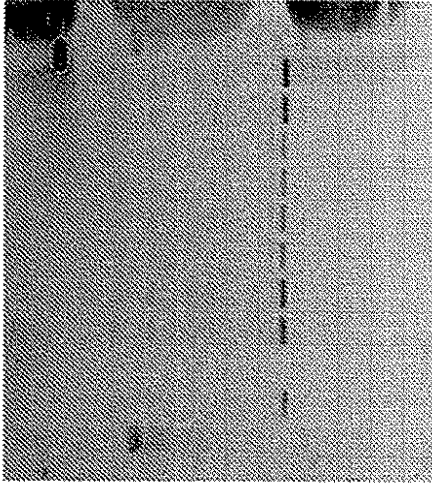
【図 4 3 B】



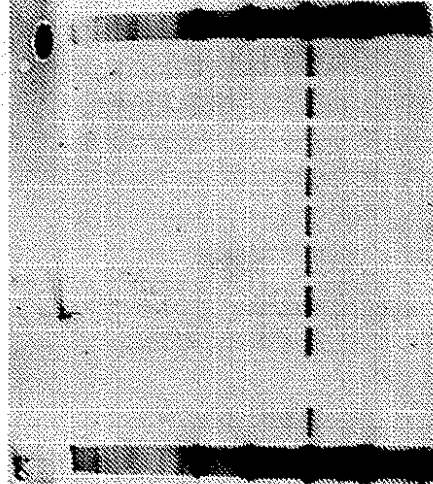
【図 4 3 C】



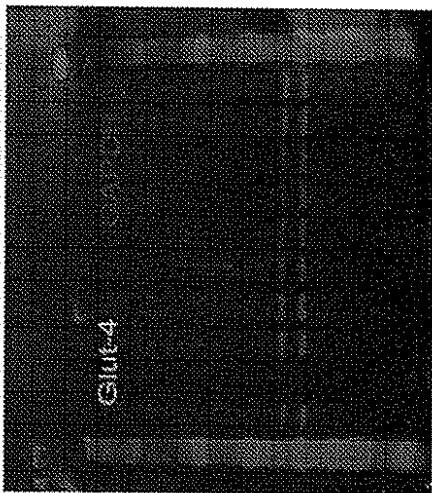
【図 4 3 D】



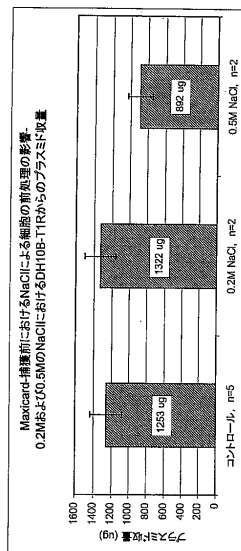
【図 4 3 E】



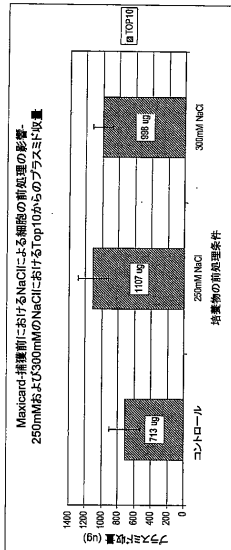
【図 4 3 F】



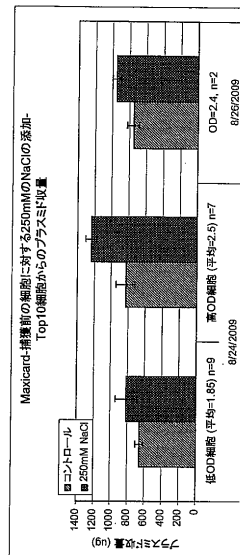
【図 4 4 A】



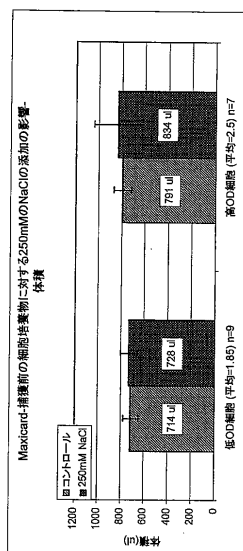
【図 4 4 B】



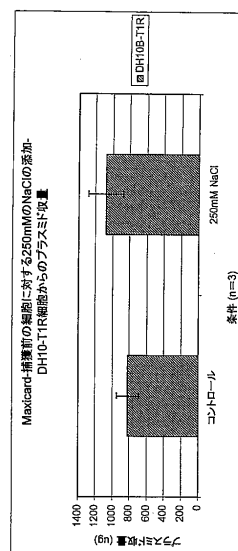
【図 4 5 A】



【図 4 5 B】



【図 4 6】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/055255
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/48(2006.01)i, G01N 35/00(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i</i>		
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 33/48; B01L 3/00; G01N 21/25; G01N 27/26; G01N 33/493; G01N 35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models (Chinese Patents and application for patent)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: bioprocessing, cartridge, analyzer, and similar terms		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-0710122 B1 (AXIS-SHIELD ASA) 20 April 2007 See pages 9-11; figures 1-5, 9-22.	1-30
A	US 2003-0224523 A1 (JOHN HERBERT THORNBERG et al.) 04 December 2003 See pages 1-4; figures 1-4.	1-30
A	WO 00-76663 A1 (PROVALIS DIAGNOSTICS LTD.) 21 December 2000 See pages 6-10; figures 1-7.	1-30
A	US 6066243 A (CARTER R. ANDERSON et al.) 23 May 2000 See columns 5-7, 9; figures 1-4, 10.	1-30
A	KR 20-2008-0000828 U (AP MEDICAL CO., LTD.) 06 May 2008 See pages 5, 6; figures 1, 2.	1-30
☐ 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 application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of 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 21 APRIL 2010 (21.04.2010)		Date of mailing of the international search report 22 APRIL 2010 (22.04.2010)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer YUN Gi Woong Telephone No. 82-42-481-5026 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2009/055255

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
KR 10-0710122 B1	20.04.2007	AU 2002-253388 B2	28.09.2006
		CA 2445914-A1	14.11.2002
		CN 1526074 A	01.09.2004
		CN 1526074 C0	04.06.2008
		EP 1390760 A2	25.02.2004
		EP 1390760 B1	18.06.2008
		EP 1906186 A2	02.04.2008
		EP 1906186 A3	06.01.2010
		JP 03-996853 B2	24.10.2007
		JP 2004-531725 A	14.10.2004
		US 2004-0161368 A1	19.08.2004
		US 7632462 B2	15.12.2009
		WO 02-090995 A2	14.11.2002
		WO 02-090995 A3	14.11.2002
US 2003-0224523 A1	04.12.2003	AU 2003-240941 A1	19.12.2003
		CA 2487350-A1	11.12.2003
		EP 1508040 A1	23.02.2005
		JP 2005-528610 A	22.09.2005
		JP 2005-528610 T	22.09.2005
		WO 03-102577 A1	11.12.2003
WO 00-76663 A1	21.12.2000	AT 278469 T	15.10.2004
		AU 2000-52388 A1	02.01.2001
		BR 0011460 A	19.03.2002
		CA 2374228-A1	21.12.2000
		CN 1224460 C0	26.10.2005
		CN 1354692 A0	19.06.2002
		DE 60014636 D1	11.11.2004
		DE 60014636 T2	13.10.2005
		EP 1187676 A1	20.03.2002
		EP 1187676 B1	06.10.2004
		ES 2225153 T3	16.03.2005
		GB 9913561 D0	11.08.1999
		IL 147007D0	14.08.2002
		JP 2003-501673 A	14.01.2003
		JP 2003-501673 T	14.01.2003
		KR 10-2002-0019072 A	09.03.2002
		MXPA01012564A	14.07.2003
		NZ516056A	28.11.2003
		RU2001133018A	27.08.2003
US 6066243 A	23.05.2000	CA 2338259-A1	03.02.2000
		EP 1099114 A1	16.05.2001
		EP 1099114 B1	24.11.2004
		JP 2002-521665 A	16.07.2002
		WO 00-05581 A1	03.02.2000
KR 20-2008-0000828 U	06.05.2008	None	

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/092,338

(32)優先日 平成20年8月27日(2008.8.27)

(33)優先権主張国 米国(US)

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

(72)発明者 カハット, エスビル

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92009, カールスバッド, ラ ヴァンコ コート 6430

(72)発明者 サッカー, マイケル

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92128, サン ディエゴ, ウィンドクレスト レーン 11584 ナンバー 1924

(72)発明者 アップダイク, ティモシー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92592, テメクラ, アベニダ チャパラ 37349

(72)発明者 ゾンク, コーネリア

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92011, カールスバッド, ブルー オーキッド レーン 6968

F ターム(参考) 2G058 CC01 DA07 EA14 GE03

【要約の続き】

バイス、自動化されたカートリッジおよび自動化された方法が含まれる。

【選択図】図1B