

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号
特願2025-69135
(P2025-69135A)

(43)公開日 令和7年4月30日(2025.4.30)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 M	1/34 (2006.01)	C 1 2 M	1/34	Z
C 1 2 M	1/00 (2006.01)	C 1 2 M	1/00	A
G 0 1 N	35/00 (2006.01)	G 0 1 N	35/00	E
G 0 1 N	37/00 (2006.01)	G 0 1 N	37/00	1 0 1
審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全93頁)				
(21)出願番号	特願2025-1670(P2025-1670)	(71)出願人	515255456	
(22)出願日	令和7年1月6日(2025.1.6)		ナノバイオシム・インコーポレイテッド	
(62)分割の表示	特願2021-124115(P2021-124115)		アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0	
	)の分割		2 1 4 2、ケンブリッジ、ファースト・	
原出願日	平成26年3月14日(2014.3.14)		ストリート・2 4 5、エイティーンス・	
(31)優先権主張番号	61/951,084		フロア	
(32)優先日	平成26年3月11日(2014.3.11)	(74)代理人	110001173	
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士法人川口国際特許事務所	
	米国(US)	(72)発明者	アニータ・ゴエル	
(31)優先権主張番号	61/875,661		アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0	
(32)優先日	平成25年9月9日(2013.9.9)		2 1 1 1、ボストン、エイブリー・スト	
(33)優先権主張国・地域又は機関			リート・1、アパートメント・3 3・デ	
	米国(US)		イー	
(31)優先権主張番号	61/790,354			
(32)優先日	平成25年3月15日(2013.3.15)			
		最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 核酸及びタンパク質の移動式デバイス分析のためのシステム及び方法

(57)【要約】 (修正有)

【課題】核酸を検出、定量化及び特定するための、自動的、統合的、コンパクト、強靱、迅速、正確及び使いやすいデバイス及び方法を提供する。

【解決手段】コンパクト集積チップを検出信号分析用の携帯式システム又は移動式デバイスと一緒に用いて核酸又はタンパク質を抽出、任意で増幅、及び検出（及び任意で定量化）し、並びに、その結果を、無線ネットワークを介して比較及び供給するための携帯式若しくは移動式又はポイントオブケア（POC）システムを提供する。

【選択図】 図1

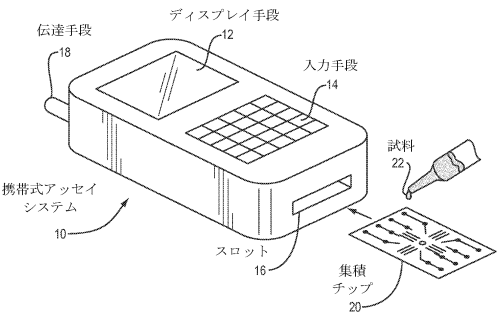


図 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって：

少なくとも 1 つの集積チップを受け取る移動式デバイスを備え；

前記移動式デバイスは集積チップを処理し、その上にロードした生体試料を分析し；

前記移動式デバイス及び前記集積チップは一緒に、前記集積チップ上の分子又は流体系の操作及び制御のうち少なくとも 1 つを実施するように構成され；

及び、ここで、前記移動式デバイス及び前記集積チップは一緒に、生体試料の分析の複数の工程の少なくとも 1 つを管理する少なくとも 1 つのパラメーターをプラス若しくはマイナス 10 %、プラス若しくはマイナス 1 %、プラス若しくはマイナス 0.1 %、プラス若しくはマイナス 0.01 %、プラス若しくはマイナス 0.001 % 又はプラス若しくはマイナス 0.0001 % 内まで精密制御するよう構成される、前記システム。

10

【請求項 2】

前記移動式デバイスが前記少なくとも 1 つのコンパクト集積チップを受け取る携帯式制御アセンブリを備え、前記集積チップは：

抽出モジュールを備え；

前記抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュールを備えてもよく；及び、

前記核酸増幅モジュール又は抽出モジュールに流体連通した生体試料検出モジュールを備え、

前記携帯式制御アセンブリは：

抽出制御モジュール；

前記抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；並びに

前記核酸増幅モジュール及び抽出モジュールに機能的に連結した生体試料検出制御モジュールを用いることで、前記集積チップを処理し、その上にロードした生体試料を分析する、請求項 1 に記載のシステム。

20

【請求項 3】

前記携帯式制御アセンブリが、前記集積チップ上に、生体試料をロードする、及び、1 つ以上の試薬をロードしてもよい、手段をさらに備える、請求項 1 又は 2 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記核酸抽出制御モジュールが前記集積チップ上にロードした生体試料で細胞の溶解を実行するための化学的溶解手段をさらに備える、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

30

【請求項 5】

前記抽出制御モジュールが、前記集積チップ上にロードした生体試料内に超音波を発生させるための超音波処理手段をさらに備え、前記超音波は生体試料の細胞の細胞膜を破壊するのに十分である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 6】

前記抽出制御モジュールが、前記集積チップ上に配置される微細加工突起物上で、前記集積チップ上にロードした生体試料の細胞を機械的にせん断するのに十分な流体圧を発生させるための流体圧発生手段をさらに含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のシステム。

40

【請求項 7】

前記抽出制御モジュールが、前記集積チップ上にロードした生体試料に様々な電圧を適用する電気穿孔手段をさらに含み、前記電圧は生体試料の細胞を破壊するのに十分である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8】

前記抽出制御モジュールが、前記集積チップ上にロードした生体試料に導入したシリカ粒子を捕捉するためのシリカ粒子捕捉手段をさらに備える、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のシステム。

50

【請求項 9】

前記核酸抽出制御モジュールが、前記集積チップ上にロードした生体試料に導入した磁性粒子を捕捉するための磁性粒子捕捉手段をさらに備える、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 10】

前記磁性粒子捕捉手段が磁石を含む、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 11】

前記核酸増幅モジュールがウェルベースの核酸増幅のための手段をさらに備える、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 12】

前記ウェルベースの核酸増幅のための手段が、前記集積チップの核酸増幅モジュールを加熱／冷却するための熱電性加熱手段を含む、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 13】

集積チップの核酸増幅モジュールを加熱／冷却するための前記熱電性加熱手段が、温度センサー、前記熱電性加熱手段を制御するための動力制御手段、並びに、核酸増幅のための命令を保管及び実行するための処理部を含む、請求項 1～12 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 14】

前記ウェルベースの核酸増幅のための手段が、前記集積チップの前記核酸増幅モジュールの赤外線加熱のための手段を含む、請求項 1～13 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 15】

前記ウェルベースの核酸増幅のための手段が、前記集積チップの前記核酸増幅モジュールのマイクロ波加熱のための手段を含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 16】

前記ウェルベースの核酸増幅のための手段が、前記集積チップの前記核酸増幅モジュール内で核酸鎖に制御した張力を適用するための手段を含む、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 17】

前記制御した張力が機械的な張力、流体力学的な張力又は電磁的張力である、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 18】

前記核酸鎖に制御した張力を適用するための手段が恒温的に操作するように構成される、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 19】

前記核酸増幅モジュールが、前記集積チップの前記核酸増幅モジュールを通る緩衝液の流れを発生させる流体流発生手段を備える流体ベースの核酸増幅手段をさらに備え、前記流体流発生手段は、前記集積チップの前記核酸増幅モジュールの温度を制御する温度制御手段と機能的に連結している、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 20】

前記核酸増幅モジュールが、核酸増幅を実行するためのリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）制御手段を備える、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 21】

前記生体試料検出制御モジュールが核酸を検出するための蛍光検出手段を備える、請求項 1～20 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 22】

前記蛍光検出手段が発光ダイオード及び／又はレーザーダイオード、データ獲得デバイス、並びに、獲得データを保管及び処理するための処理部を含む、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載のシステム。

10

20

30

40

50

【請求項 23】

前記核酸検出制御モジュールが核酸分離を実行するためのキャピラリー電気泳動（CE）制御手段をさらに備え、前記CE制御手段は前記蛍光検出手段に機能的に連結している、請求項22のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 24】

前記CE制御手段が、集積チップの核酸検出モジュール全域に電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含み、前記電圧は核酸の分離を実行するのに十分である、請求項1～23のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 25】

前記核酸検出制御モジュールがハイブリダイゼーションマイクロアレイをさらに備える請求項1～24のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 26】

前記核酸検出制御モジュールが核酸を検出するための電気化学手段を備える、請求項1～25のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 27】

前記核酸検出制御モジュールが核酸を検出するためのインピーダンス測定手段を備える、請求項1～26のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 28】

生体試料及び／又は核酸を、前記集積チップを通して動かすための流体圧発生手段をさらに含む、請求項1～27のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 29】

前記生体試料を分析して獲得したデータを保管、分類、定量化及び伝達するためのデータ処理手段をさらに含む、請求項1～28のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 30】

前記データ処理手段が無線データ伝達のための手段を含む、請求項1～29のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 31】

前記データ処理手段がウイルスロード量を算出するためのウイルスロード量算出手段をさらに含む、請求項1～30のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 32】

データを出力するためのデータディスプレイ手段をさらに備える、請求項1～31のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 33】

前記システムが移動式デバイスである、請求項1～32のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 34】

前記集積チップが使い捨てである、請求項1～33のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 35】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって：

少なくとも1つのコンパクト集積チップを受け取る携帯式制御アセンブリを備え、前記コンパクト集積チップは：

前記集積チップ上に生体試料をロードする、及び、1つ以上の試薬をロードしてもよいための注入ポート；

抽出モジュール；

前記抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；

前記核酸増幅モジュールに流体連通した検出モジュールを備え、

前記携帯式アセンブリは：

前記集積チップ上にロードした生体試料に導入した磁性粒子を捕捉するための磁性粒子捕捉手段を備える抽出制御モジュール；

前記抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュールであって、集積

10

20

30

40

50

チップの核酸増幅モジュールを加熱／冷却するための熱電性加熱手段を備える前記核酸増幅制御モジュール；並びに、

前記核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールと機能的に連結した検出制御モジュールであって：

核酸又はタンパク質を検出するための蛍光検出手段；及び

前記蛍光検出手段に機能的に連結したキャピラリー電気泳動（ＣＥ）制御手段であって、前記集積チップの前記核酸検出モジュール全域に、核酸又はタンパク質の分離を実行するのに十分な電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含む前記ＣＥ制御手段を備える前記検出制御モジュール；並びに、

前記集積チップを通して前記生体試料及び／又は核酸を動かすための流体圧発生手段を備える、前記システム。

10

【請求項３６】

前記磁性粒子捕捉手段が磁性ビーズを捕捉するための永久及び／又は電磁石を含む、請求項３５に記載のシステム。

【請求項３７】

前記蛍光検出手段が発光ダイオード及び／又はレーザーダイオード、データ獲得デバイス、並びに、獲得データを保管及び処理するための処理部を含む、請求項３５又は３６に記載のシステム。

【請求項３８】

データを保管、分類、定量化及び伝達するためのデータ処理手段をさらに含む、請求項３５～３７のいずれか１項に記載のシステム。

20

【請求項３９】

前記データ処理手段が無線データ伝達のための手段を含む、請求項３５～３８のいずれか１項に記載のシステム。

【請求項４０】

データを出力するためのデータディスプレイ手段をさらに備える、請求項３５～３９のいずれか１項に記載のシステム。

【請求項４１】

前記システムが手持ちである、請求項３５～４０のいずれか１項に記載のシステム。

【請求項４２】

前記集積チップが使い捨てである、請求項３５～４１のいずれか１項に記載のシステム。

30

【請求項４３】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

（１）少なくとも１つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備えること、

（２）少なくとも１つの生体試料を前記少なくとも１つの集積チップ上にロードすること；

40

（３）携帯式制御アセンブリを少なくとも１つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び、

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備えること；

並びに、

（４）前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行することを含む、前記方法。

【請求項４４】

50

ウイルスロード量を算出することをさらに含む、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記生体試料が血液、唾液、精液、尿、羊水、脳脊髄液、滑液、硝子体液、胃液、鼻咽頭吸引物又はリンパ液のうちいずれか 1 つ以上である、請求項 43 又は 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記試料が、組織試料、水試料、空気試料、食物試料又は作物試料である、請求項 43 ～ 45 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 47】

前記生体試料分析が水媒介病原体、空気媒介病原体、食物媒介病原体又は作物媒介病原体のうちいずれか 1 つ以上を検出する、請求項 43 ～ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 48】

生体試料の核酸の迅速な逐次抽出、増幅及び分離のための集積チップであって、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール、核酸増幅モジュール及び核酸分離モジュールに連続して流体連通したマイクロ流体チャネルをその中に統合したハウジング、

生体試料及び試薬を注入するための、前記核酸抽出モジュールに流体連通した少なくとも 1 つの試料入口ポートを備え；

ここで、前記核酸抽出モジュールは、生体試料から核酸を抽出するための少なくとも 1 つの抽出チャンバーを備え、前記抽出チャンバーは少なくとも 1 つの試料輸送チャネルによって前記試料入口ポートに連結しており；

ここで、前記核酸増幅モジュールは、核酸を増幅するための増幅チャンバーを少なくとも 1 つ備え、前記核酸増幅チャンバーは、少なくとも 1 つの核酸輸送チャネルによって前記抽出チャンバーに連結しており；並びに、

ここで、前記核酸分離モジュールは、核酸を分離及び検出するための検出チャネルを少なくとも 1 つ備え、前記検出チャネルは、少なくとも 1 つの増幅産物輸送チャネルによって核酸増幅チャンバーに連結している、前記集積チップ。

【請求項 49】

前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーが磁性ビーズを含む、請求項 48 に記載の集積チップ。

【請求項 50】

前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーが細胞溶解及び核酸抽出のための試薬を含む、請求項 48 又は 49 に記載の集積チップ。

【請求項 51】

前記核酸増幅モジュールが、前記少なくとも 1 つの核酸輸送チャネルに流体連通した少なくとも 1 つの試薬追加ポートをさらに含む、請求項 48 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の集積チップ。

【請求項 52】

前記核酸分離モジュールが、少なくとも 1 つの増幅産物輸送チャネルに流体連通した少なくとも 1 つの試料ウェルをさらに備える、請求項 48 ～ 51 のいずれか 1 項に記載の集積チップ。

【請求項 53】

前記核酸分離モジュールが：

少なくとも 1 つの検出チャネルに流体連通した少なくとも 1 つの試料廃棄ウェル；

少なくとも 1 つの検出チャネルに流体連通した緩衝液廃棄ウェル；

及び、

少なくとも 1 つの検出チャネルに流体連通した緩衝液ウェルをさらに備える、請求項 48 ～ 52 のいずれか 1 項に記載の集積チップ。

【請求項 54】

少なくとも 2 つの試料入口ポート；

10

20

30

40

50

少なくとも2つの核酸抽出チャンバーであって、それぞれが少なくとも2つの試料入口ポートのうち1つにそれぞれの試料輸送チャンネルによって連結している前記核酸抽出チャンバー；

少なくとも2つの核酸増幅チャンバーであって、それぞれが少なくとも2つの抽出チャンバーのうち1つにそれぞれの核酸輸送チャンネルによって連結している前記核酸増幅チャンバー；及び、

少なくとも2つの検出チャンネルであって、それぞれが各核酸増幅チャンバーにそれぞれの増幅産物輸送チャンネルによって連結している前記検出チャンネルを含む、請求項48～53のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項55】

前記少なくとも2つの検出チャンネルが交差する、請求項48～54のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項56】

少なくとも2つの試薬追加ポートをさらに含み、前記試薬追加ポートはそれぞれが各核酸輸送チャンネルに流体連通している、請求項48～55のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項57】

少なくとも2つの試料ウェルをさらに備え、前記試料ウェルはそれぞれが各増幅産物輸送チャンネルに流体連通している、請求項48～56のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項58】

前記少なくとも2つの試料ウェルが、さらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される、請求項48～57のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項59】

少なくとも1つの試料廃棄ウェルをさらに備え、前記少なくとも1つの試料廃棄ウェルはそれぞれが少なくとも2つの検出チャンネルに少なくとも2つの試料廃棄チャンネルによって連結している、請求項48～58のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項60】

前記少なくとも1つの試料廃棄ウェルが、さらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される、請求項48～59のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項61】

それぞれが少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル；及び、

少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した緩衝液ウェルをさらに含む、請求項48～60のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項62】

前記少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル及び前記緩衝液ウェルが、さらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される、請求項48～61のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項63】

前記緩衝液ウェルが少なくとも2つの検出チャンネルの交差する点に配置され、前記緩衝液ウェルが前記交差する検出チャンネルに流体連通している、請求項48～62のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項64】

少なくとも8つの試料入口ポート；

少なくとも8つの核酸抽出チャンバー；

少なくとも8つの核酸増幅チャンバー；

少なくとも8つの検出チャンネル；

少なくとも8つの試薬追加ポート；

少なくとも8つの試料ウェル；

少なくとも4つの試料廃棄ウェル；

10

20

30

40

50

少なくとも4つの緩衝液廃棄ウェル；及び

少なくとも1つの緩衝液ウェルを含む、請求項48～63のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項65】

前記少なくとも1つの核酸抽出チャンバー及び／又は少なくとも1つの試料輸送チャンネルに配置される微細加工突起物をさらに含む、請求項48～64のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項66】

前記少なくとも1つの検出チャンネル全域に電圧を適用するための少なくとも2つの電極をさらに含む、請求項48～65のいずれか1項に記載の集積チップ。

10

【請求項67】

前記少なくとも1つの核酸輸送チャンネルを通る流体の流れを制御するための核酸流制御弁を少なくとも1つさらに含む、請求項48～66のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項68】

前記少なくとも1つの増幅産物輸送チャンネルを通る流体の流れを制御する増幅産物制御弁を少なくとも1つさらに含む、請求項48～67のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項69】

各核酸輸送チャンネルを通る流体の流れを制御するための少なくとも2つの核酸流制御弁；及び

各増幅産物輸送チャンネルを通る流体の流れを制御するための少なくとも2つの増幅産物制御弁をさらに含む、請求項48～68のいずれか1項に記載の集積チップ。

20

【請求項70】

前記少なくとも2つの核酸流制御弁及び前記少なくとも2つの増幅産物制御弁が、各試薬追加ポート及び／又は各試料ウェルへの挿入のために構成される受動プラグである、請求項48～69のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項71】

前記少なくとも2つの核酸の流れ制御弁及び前記少なくとも2つの増幅産物制御弁が電磁的に制御可能な弁である、請求項48～70のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項72】

前記電磁的に制御可能な弁が磁性流体弁である、請求項48～71のいずれか1項に記載の集積チップ。

30

【請求項73】

前記少なくとも2つの試料入口ポート、前記少なくとも2つの試薬追加ポート、前記少なくとも2つの試料ウェル、前記少なくとも4つの試料廃棄ウェル、前記少なくとも4つの緩衝液廃棄ウェル、及び、前記少なくとも1つの緩衝液ウェルが受動プラグを受け取るように構成される、請求項48～72のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項74】

前記少なくとも1つの抽出チャンバーが少なくとも5 μ Lの容積を有する請求項48～73のいずれか1項に記載の集積チップ。

【請求項75】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって；

少なくとも1つの集積チップを受け取るハードウェアシステムを備え、前記集積チップは：

前記集積チップ上に生体試料をロードする、及び、1つ以上の試薬をロードしてもよいための注入ポート；

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸分離モジュールを備え、

前記ハードウェアシステムは：

前記集積チップ上にロードした生体試料に導入した磁性粒子を捕捉するための磁性粒

40

50

子捕捉手段を備える核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュールであって、集積チップの核酸増幅モジュールを加熱／冷却するための熱電性加熱手段を備える前記核酸増幅制御モジュール；並びに、

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールと機能的に連結した核酸検出制御モジュールであって：

核酸を検出するための蛍光検出手段；及び

前記蛍光検出手段に機能的に連結したキャピラリー電気泳動（ＣＥ）制御手段であって、前記集積チップの前記核酸分離モジュール全域に、核酸の分離を実行するのに十分な電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含む前記ＣＥ制御手段を備える前記核酸検出制御モジュール；並びに、

前記集積チップを通して前記生体試料及び／又は核酸を動かすための流体圧発生手段を備える、前記システム。

【請求項 7 6】

前記磁性粒子捕捉手段が磁性ビーズを捕捉するための永久及び／又は電磁石を含む、請求項 7 5 に記載のシステム。

【請求項 7 7】

前記蛍光検出手段が発光ダイオード及び／又はレーザーダイオード、データ獲得デバイス、並びに、獲得データを保管及び処理するための処理部を含む、請求項 7 5 又は 7 6 に記載のシステム。

【請求項 7 8】

データを保管、分類、定量化及び伝達するためのデータ処理手段をさらに含む、請求項 7 5 ～ 7 7 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 7 9】

データを出力するためのデータディスプレイ手段をさらに備える、請求項 7 5 ～ 7 8 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 0】

前記集積チップの核酸増幅モジュールを加熱／冷却するための熱電性加熱手段が、温度センサー、前記熱電性加熱手段を制御するための動力制御手段、並びに、核酸増幅のための命令を保管及び実行するための処理部を含む、請求項 7 5 ～ 7 9 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 1】

前記核酸増幅モジュールが、核酸増幅を実行するためのリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）制御手段を備える、請求項 7 5 ～ 8 0 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 2】

前記蛍光検出手段が発光ダイオード及び／又はレーザーダイオード、データ獲得デバイス、並びに、獲得データを保管及び処理するための処理部を含む、請求項 7 5 ～ 8 1 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 3】

前記核酸検出制御モジュールが核酸分離を実行するためのキャピラリー電気泳動（ＣＥ）制御手段をさらに備え、前記ＣＥ制御手段は前記蛍光検出手段に機能的に連結している、請求項 7 5 ～ 8 2 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 4】

前記ＣＥ制御手段が、前記集積チップの前記核酸分離モジュール全域に電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含み、前記電圧は核酸の分離を実行するのに十分である、請求項 7 5 ～ 8 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 5】

前記高電圧制御部が、前記集積チップの前記核酸分離モジュール全域に 1 0 V ～ 1 0 k V を適用する、請求項 7 5 ～ 8 4 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8 6】

10

20

30

40

50

前記核酸検出制御モジュールがハイブリダイゼーションマイクロアレイをさらに含む、請求項 75～85 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 87】

前記流体圧発生手段が陽圧又は陰圧のいずれかを供給するポンプモジュールを備える、請求項 75～86 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 88】

生体試料の迅速な分析の方法であって：

集積チップを提供する工程であって、前記集積チップは：

生体試料及び試薬を注入するための少なくとも 1 つの試料入口ポート；

前記生体試料から核酸を抽出するための抽出チャンバーを少なくとも 1 つ備える核酸抽出モジュールであって、前記抽出チャンバーが少なくとも 1 つの試料輸送チャンネルによって前記試料入口ポートに連結している、前記核酸抽出モジュール；

核酸を増幅するための増幅チャンバーを少なくとも 1 つ備える核酸増幅モジュールであって、前記核酸増幅チャンバーが少なくとも 1 つの核酸輸送チャンネルによって前記抽出チャンバーに連結している、前記核酸増幅モジュール；並びに、

核酸を分離及び検出するための検出チャンネルを少なくとも 1 つ備える核酸分離モジュールであって、前記検出チャンネルが少なくとも 1 つの増幅産物輸送チャンネルによって核酸増幅チャンバーに連結している、前記核酸分離モジュールを備える、工程；

少なくとも 1 つの試料注入ポートを介して、少なくとも 1 つの生体試料、及び、任意で試薬を少なくとも 1 つの抽出チャンバーに注入する工程；

分子プローブが付着した磁性ビーズに前記少なくとも 1 つの生体試料を添加することで、前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーの前記少なくとも 1 つの生体試料から核酸を抽出する工程；

前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーから前記少なくとも 1 つの核酸増幅チャンバーへ核酸を輸送する工程；

熱ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって前記少なくとも 1 つの核酸増幅チャンバーの核酸を増幅する工程；

前記核酸増幅チャンバーから前記少なくとも 1 つの検出チャンネル内へ核酸を輸送する工程；並びに、

核酸を大きさで分離し、前記少なくとも 1 つの検出チャンネルで核酸を検出する工程を含む、前記方法。

【請求項 89】

前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーの前記少なくとも 1 つの生体試料から核酸を抽出する前記工程が、少数～数千の細胞から核酸を抽出することを含む、請求項 88 に記載の方法。

【請求項 90】

少なくとも 1 つの生体試料から核酸を抽出する前記工程が、細胞を溶解すること、抽出した核酸を保持すること、及び、前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーで抽出した核酸を精製することを含む、請求項 88 又は 89 に記載の方法。

【請求項 91】

前記少なくとも 1 つの抽出チャンバーから細胞残屑を除去することをさらに含む、請求項 88～90 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 92】

前記 PCR がリアルタイム定量 PCR である、請求項 88～91 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 93】

少なくとも 1 つの検出チャンネルで核酸を検出する前記工程が：

少なくとも 1 つの検出チャンネル全域に電圧を適用すること；及び、

光源で前記少なくとも 1 つの検出チャンネルを照射すること；及び、

前記少なくとも 1 つの検出チャンネルから蛍光信号を検出することを含む、請求項 88～

10

20

30

40

50

92のいずれか1項に記載の方法。

【請求項94】

前記集積チップが：

少なくとも2つの試料入口ポート；

少なくとも2つの核酸抽出チャンバーであって、それぞれが前記少なくとも2つの試料入口ポートの1つに試料輸送チャンネルによって連結している前記核酸抽出チャンバー；

少なくとも2つの核酸増幅チャンバーであって、それぞれが前記少なくとも2つの抽出チャンバーの1つに、1つの核酸輸送チャンネルによって連結している、前記核酸増幅チャンバー；及び、

少なくとも2つの検出チャンネルであって、それぞれが前記少なくとも2つの核酸増幅チャンバーの1つに、1つの増幅産物輸送チャンネルによって連結している、前記検出チャンネルを含み、

ここで、前記少なくとも2つの検出チャンネルは交差する、請求項88～93のいずれか1項に記載の方法。

【請求項95】

少なくとも2つの生体試料及び任意で試薬を少なくとも2つの試料注入ポートを介して少なくとも2つの抽出チャンバーへ注入することをさらに含み、ここで、検出の工程が同時又は順次を実施され、前記少なくとも2つの生体試料をそれぞれ分析する、請求項88～94のいずれか1項に記載の方法。

【請求項96】

前記集積チップが：

前記少なくとも1つの核酸輸送チャンネルを通る流体の流れを制御するための少なくとも1つの核酸の流れ制御弁；及び、

前記少なくとも1つの増幅産物輸送チャンネルを通る流体の流れを制御するための少なくとも1つの増幅産物制御弁をさらに含む、請求項88～95のいずれか1項に記載の方法。

【請求項97】

前記集積チップが：

それぞれが少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル；及び、

少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した緩衝液ウェルをさらに含み、

ここで、前記少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル及び前記緩衝液ウェルがさらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される、請求項88～96のいずれか1項に記載の方法。

【請求項98】

前記緩衝液ウェルが少なくとも2つの検出チャンネルの交差する点に配置され、前記緩衝液ウェルが前記交差する検出チャンネルに流体連通している、請求項88～97のいずれか1項に記載の方法。

【請求項99】

前記少なくとも2つの検出チャンネルに核酸分離のためのふるい分けマトリックスをロードする工程をさらに含む、請求項88～98のいずれか1項に記載の方法。

【請求項100】

前記少なくとも1つの検出チャンネルで核酸を検出することが、0.5 µL以下のPCR増幅核酸を検出することを含む、請求項88～99のいずれか1項に記載の方法。

【請求項101】

核酸を大きさで分離し、核酸を検出する前記工程が2時間未満、1時間未満、30分間未満、1分間未満又は1秒間未満内で実施される、請求項88～100のいずれか1項に記載の方法。

【請求項102】

前記少なくとも1つの生体試料から核酸を抽出する前記工程が3～4分間；及び5～3

10

20

30

40

50

0 分間のうち少なくとも 1 つ内に実施される、請求項 88～101 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 103】

マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：
流体を輸送するためのマイクロ流体チャンネルであって、上面と下面との間に形成され、縦方向の軸を有する前記マイクロ流体チャンネル；
受動プラグを受け取るための前記上面における弁ポート；及び
前記弁ポートへの挿入のために構成される受動プラグを含み、
ここで、前記弁ポートの反対側の下面の部分は縦方向の軸に沿って均一の深さである、前記弁アセンブリ。

10

【請求項 104】

マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：
流体輸送用の輸送チャンネル；
前記輸送チャンネルに交差する磁性流体チャンネル；
双方が前記磁性流体チャンネルによって連結した第 1 の磁性流体貯蔵所及び第 2 の磁性流体貯蔵所；
磁性流体貯蔵所のいずれか 1 つ又は双方にある磁性流体；並びに、
磁性流体チャンネルを磁性流体で満たすための永久磁石又は電磁石を備える、前記弁アセンブリ。

【請求項 105】

マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：
貯蔵所；
前記貯蔵所に連結した出力末端を有する流体輸送用の流入輸送チャンネル；
それぞれが前記貯蔵所に連結した入力末端を有する流体輸送用の第 1 及び第 2 の流出チャンネル；
前記貯蔵所に配置される磁性流体；並びに、
前記貯蔵所の前記磁性流体の位置を制御する磁石を備え、
ここで、前記貯蔵所内の前記磁性流体は：
流入チャンネルの出力末端；
若しくは、第 2 の流出チャンネルの入力末端ではなく第 1 の流出チャンネルの入力末端；
若しくは、第 1 の流出チャンネルの入力末端ではなく第 2 のチャンネルの入力末端のいずれかを閉じ；
又は、流入チャンネルの出力末端も、第 1 及び第 2 の流出チャンネルの入力末端も閉じないように配置される、前記弁アセンブリ。

20

30

【請求項 106】

マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：
上面と下面との間に形成される、流体輸送用のマイクロ流体チャンネル；
膨張可能弾性膜を受け取るための前記上面の弁ポート；
前記弁ポートへの挿入のために構成される膨張可能弾性膜；及び
前記膨張可能弾性膜を膨張するための前記膨張可能弾性膜に連結した入口空気管であって、前記膨張可能弾性膜は、膨張していない時に流体がマイクロ流体チャンネルを通過して移動するのを可能にし、膨張している時に流体がマイクロ流体チャンネルを通過して移動するのを阻害する、前記入口空気管を備える、前記弁アセンブリ。

40

【請求項 107】

前記膨張可能弾性膜及び入口空気管が前記チップに埋め込まれる、請求項 106 に記載の弁アセンブリ。

【請求項 108】

前記膨張可能弾性膜が前記上面と下面との間に配置される、請求項 106 又は 107 に記載の弁アセンブリ。

【請求項 109】

50

マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：

流体を受け取るためのローディングウェル；

前記ローディングウェルに連結した第1の輸送チャンネル；

前記第1の輸送チャンネルを介して前記ローディングウェルに流体連通した閉じたチャンバー；

前記閉じたチャンバーに連結した第2の輸送チャンネル；

前記第2の輸送チャンネルを介して前記閉じたチャンバーに流体連通した開いたウェル；

膨張していない時に前記ローディングウェルと前記閉じたチャンバーとの間で流体連通を可能にし、膨張している時に前記ローディングウェルと前記閉じたチャンバーとの間で流体連通を阻害する、前記第1の輸送チャンネルの第1の膨張可能弾性膜；

膨張している時に流体を吐き出す、前記閉じたチャンバーの第2の膨張可能弾性膜；及び

膨張していない時に前記閉じたチャンバーと前記開いたウェルとの間で流体連通を可能にし、膨張している時には前記ローディングウェルと前記閉じたチャンバーとの間で流体連通を阻害する、前記第2の輸送チャンネルの第3の膨張可能弾性膜を備える、前記弁アセンブリ。

【請求項110】

前記第1、第2及び第3の膨張可能弾性膜にそれぞれ連結した第1、第2及び第3の気圧入力管をさらに含む、請求項109に記載の弁アセンブリ。

【請求項111】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備えること、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び、

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備えること；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした前記生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 前記生体試料からの前記核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて：

(i) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療用処置を実行する少なくとも1つの薬剤の投与量；

(ii) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する前記疾患状態の治療用処置を実行する複数の薬剤の組合せ；並びに、

(iii) 前記少なくとも1つの生体試料の源である人が前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態のための薬剤治療に対して反応するかどうかの決定のうち、少なくとも1つを決定することを含む、前記方法。

【請求項112】

前記少なくとも1つのバイオマーカーが特定の株の病原体又は疾患に特異性である、請求項111に記載の方法。

【請求項113】

(i) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療用処置を実行す

10

20

30

40

50

る少なくとも1つの薬剤の投与量；及び

(i i) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療用処置を実行する複数の薬剤の組合せ

のうち少なくとも1つ決定することを含む方法であって、前記方法は、特定の株に基づいて、前記少なくとも1つの薬剤の投与量及び前記複数の薬剤の組合せのうち少なくとも1つを独自に決定することを含む、請求項111又は112に記載の方法。

【請求項114】

特定の株に基づいて独自に決定した投与量又は組合せを送達することをさらに含む、請求項111～113のいずれか1項に記載の方法。

【請求項115】

前記特定の株がヒト免疫不全ウイルス(HIV)の株を含む、請求項111～114のいずれか1項に記載の方法。

【請求項116】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを含むこと、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを含むこと；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料で、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーの量を決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つの生体試料の前記少なくとも1つのバイオマーカーの量に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人において、前記少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の処置の進行の度合いを決定することを含む、前記方法。

【請求項117】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを含むこと、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを含むこと；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料

10

20

30

40

50

の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、(i) 前記少なくとも1つの生体試料の源である人のためのパーソナルケア製品の選択、(ii) 前記人のためのパーソナルケア製品の送達量、(iii) 前記人の美容上の皮膚のタイプ、及び(iv) 前記少なくとも1つの生体試料における、前記人の少なくとも1つの美容バイオマーカーの量のうち、少なくとも1つを決定することを含む、前記方法。

【請求項118】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを含むこと、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを含むこと；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料で、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つの美容バイオマーカーの量を決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つの生体試料の前記少なくとも1つのバイオマーカーの量に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人において、美容上の処置の進行の度合いを決定することを含む、前記方法。

【請求項119】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを含むこと、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを含むこと；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人の健康の度合い又は種類を決定することを含む、前記方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 0】

前記人の健康の度合い又は種類を決定することが、(i) 前記人の栄養上の健康の度合い又は(ii) 前記人の栄養上の必要性及び(iii) 前記人のアユルベーダ上の身体の種類のうち少なくとも1つを決定することを含む、請求項 1 1 9 に記載の方法。

【請求項 1 2 1】

前記人の健康の度合い又は種類を決定することが、前記人の糖尿病に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを定量化することを含む、請求項 1 1 9 又は 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 2】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

10

(a) 少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを含むこと、

(b) 前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

(c) 携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び

20

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを含むこと；

(d) 前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

(e) 生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、

(f) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人が、前記少なくとも1つのバイオマーカーに関してサブセット遺伝子群のメンバーであるかどうかを決定することを含む、前記方法。

【請求項 1 2 3】

30

前記生体試料の前記核酸の検出に基づいて、(i) 疾患状態の治療用処置を実行する少なくとも1つの薬剤の投与量；及び(ii) 前記疾患状態の治療用処置を実行する複数の薬剤の組合せのうち少なくとも1つ伝達することをさらに含む、請求項 1 ～ 1 2 2 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

前記生体試料から検出された核酸が次のもの：食品安全性病原体を示す核酸；農業上の疾患を示す核酸；獣医学上の疾患を示す核酸；考古学試料由来の核酸；法医学試料由来の核酸；水試料由来の核酸；環境状態を示す核酸；関税試料由来の核酸；安全性に関する核酸；生体防御に関する核酸；バイオ燃料に関する核酸；スポーツ参加者に関する核酸；及び人のウェルネスに関する核酸のうち少なくとも1つを含む、請求項 1 ～ 1 2 3 のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項 1 2 5】

前記携帯式制御アセンブリに連結した情報伝達モジュールを用いること、生体試料に関する調節したデータ信号を送信及び受信のうち少なくとも1つを実行することをさらに含む、請求項 1 ～ 1 2 4 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記送信及び受信のうち少なくとも1つを、有線ネットワークを含むネットワーク上で実行することを含む、請求項 1 ～ 1 2 5 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記送信及び受信のうち少なくとも1つを、無線ネットワークを含むネットワーク上で

50

実行することを含む、請求項 1～126 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 128】

前記ネットワークが Bluetooth 規格に従って操作されるよう構成される、請求項 1～127 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 129】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つをモデム上で実行することを含む、請求項 1～128 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 130】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つをクラウドネットワーク上で実行することを含む、請求項 1～129 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 131】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つを実行して前記携帯式制御アセンブリから離れて臨床ヘルスケアを提供することを含む、請求項 1～130 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 132】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つを実行して前記携帯式制御アセンブリを用いた医療ケア及び公衆衛生サービスのうち少なくとも 1 つを提供することを含む、請求項 1～131 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 133】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つを、移動式デバイスネットワークを含むネットワーク上で実行することを含む、請求項 1～132 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 134】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つを、テキストメッセージシステムを介して実行することを含む、請求項 1～133 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 135】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つを、ローカルエリアネットワーク、広域ネットワーク及びインターネットのうち少なくとも 1 つ上で実行することを含む、請求項 1～134 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 136】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つが、少なくとも 1 つのゲノムプロファイルを保管する遠隔ゲノムデータベースと接続することを含む、請求項 1～135 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 137】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つが、中央データセンターと前記情報伝達モジュールとの間で調節したデータ信号の二方向の情報交換に関与することを含む、請求項 1～136 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 138】

前記情報伝達モジュールを用いて、(i) 前記中央データセンターから病原体又は疾患マッピング情報を受信すること、及び (ii) 少なくとも 1 つのアッセイ結果を前記中央データセンターへ送信することを含む、請求項 1～137 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 139】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つが、中央データセンターに地理的位置情報を送信することを含む、請求項 1～138 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 140】

前記送信及び受信のうち少なくとも 1 つが、中央データセンターから、複数の情報伝達モジュールからの疾患大発生の検出パターンの検出の通知を受信することを含む、請求項 1～139 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 141】

前記携帯式制御アセンブリに連結した情報伝達モジュールを用いて、単一参照試料の信号プロファイルの保管、送信及び受信のうち少なくとも 1 つを実施することをさらに含む

10

20

30

40

50

請求項 1～140 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 142】

前記生体試料から検出した核酸に基づいて、ウイルスロード量、体積当たりの予測細胞計数、及び、薬剤投薬の滴定のうち少なくとも 1 つを決定することを含む、請求項 1～141 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 143】

前記システムが分子の位置又は配向を 100 nm 未満、10 nm 未満、又は 1 nm 未満の寸法内まで制御することを可能にするよう構成される、請求項 1～142 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 144】

前記システムが、10 mm 未満、1 mm 未満、100 ミクロン未満、10 ミクロン未満、1 ミクロン未満、100 nm 未満、10 nm 未満又は 1 nm 未満の最大寸法を含む少なくとも 1 つの反応チャンバーを含む、請求項 1～143 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 145】

前記システムが、生体試料を分析するために用いる反応を管理するパラメーターをプラス若しくはマイナス 10 %、プラス若しくはマイナス 1 %、プラス若しくはマイナス 0.1 %、プラス若しくはマイナス 0.01 %、プラス若しくはマイナス 0.001 % 又はプラス若しくはマイナス 0.0001 % 内まで制御するよう構成される、請求項 1～144 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 146】

前記抽出モジュールが核酸抽出モジュールである、請求項 1～145 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 147】

前記抽出モジュールがタンパク質抽出モジュールである、請求項 1～146 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 148】

前記核酸増幅モジュールが恒温核酸増幅モジュールを含む、請求項 1～147 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 149】

前記恒温核酸増幅モジュールが：ループ媒介性恒温増幅モジュール、ヘリカーゼ依存性増幅モジュール、鎖置換増幅モジュール、ブリッジ増幅モジュール、又はローリングサークル増幅モジュールのうち少なくとも 1 つを含む、請求項 1～148 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 150】

前記恒温核酸増幅モジュールが：

(a) 一本鎖核酸の 1 つ以上の鑄型鎖を、1 つ以上の鑄型鎖の一部と相補的である 1 つ以上のオリゴヌクレオチドプライマーに接触させること；

(b) 1 つ以上のプライマーの少なくとも 1 つのプライマーを、プライマーと相補的である 1 つ以上の鑄型鎖の前記部分にアニールすること；

(c) 1 つ以上の鑄型鎖を核酸ポリメラーゼ及び少なくとも 4 つの異なるクレオシド三リン酸と接触させること；

(d) 少なくとも 1 つのアニールしたプライマーを核酸ポリメラーゼによって伸長させ、それによって 1 つ以上の鑄型鎖に結合した 1 つ以上伸長産物を形成すること；

(e) 1 つ以上の鑄型鎖由来の 1 つ以上の伸長産物を分離すること；並びに、

(f) 工程 (a)、(b)、(c)、(d) 及び (e) を繰り返して核酸を増幅することを含む方法によって核酸を増幅するモジュールを含み、

ここで、工程 (e) の 1 つ以上の伸長産物のうち少なくとも 1 つを工程 (a)～(e) の次のサイクルで鑄型鎖として使用し、

ここで、最後のサイクルでは、工程 (e) はあってもなくてもよく、

10

20

30

40

50

工程（b）又は（d）のうち少なくとも1つは、前記核酸を前記1つ以上の鋳型鎖に伸長する傾向である張力を適用することを含む、請求項1～149のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項151】

前記システムが手持ちである、請求項1～150のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項152】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

（1）少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

タンパク質抽出モジュール；及び、

前記タンパク質抽出モジュールに流体連通したタンパク質検出モジュールを備えること、

（2）少なくとも1つの生体試料を少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

（3）携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

タンパク質抽出制御モジュール；及び

前記タンパク質抽出モジュールと機能的に連結したタンパク質検出制御モジュールを備えること；

並びに、

（4）携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料からのタンパク質の抽出及び検出を実行することを含む、前記方法。

【請求項153】

生体試料の迅速な分析のための方法であって：

（a）少なくとも1つの集積チップを準備し、前記集積チップは：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備えること、

（b）前記少なくとも1つの生体試料を前記少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；

（c）携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップに機能的に連結させ、前記携帯式制御アセンブリは：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び、

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備えること；

（d）前記携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした前記生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；

（e）前記生体試料からの前記核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、

（f）前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人の個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することを含む、前記方法。

【請求項154】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが前記人のウェルネスに関する核酸を検出することを含む、請求項153に記載の方法。

【請求項155】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが前記人のスポーツ栄養法に関する核酸を検出することを含む、請求項153に記載の方法。

【請求項156】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが前記人の食事に関する核酸を検出することを含む、請求項153に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 5 7】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが前記人の栄養法に関する核酸を検出することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 5 8】

前記人の栄養法に関する核酸が前記人の栄養上の素因に関する核酸を含む、請求項 1 5 7 に記載の方法。

【請求項 1 5 9】

前記素因が：前記人の栄養上のアレルギー、栄養上の感受性及び栄養上の不耐性のうち少なくとも 1 つを含む、請求項 1 5 8 に記載の方法。

【請求項 1 6 0】

前記人の栄養法に関する核酸が：グルテン感受性、グルテン不耐性及びラクトース不耐性のうち少なくとも 1 つに関する核酸を含む、請求項 1 5 9 に記載の方法。

【請求項 1 6 1】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが：栄養補助物の前記人に対する効果；前記人の栄養上のプロファイル；薬用化粧品の前記人に対する効果；医薬の前記人に対する効果、食物又は飲料の前記人に対する効果のうち少なくとも 1 つに関する核酸を検出することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 6 2】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが少なくとも 1 つの炎症マーカーを検出することを含む、請求項 1 5 3 ～ 1 6 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6 3】

前記少なくとも 1 つの炎症マーカーが外傷性損傷に関する少なくとも 1 つの炎症マーカーを含む、請求項 1 6 2 に記載の方法。

【請求項 1 6 4】

前記少なくとも 1 つの炎症マーカーが食事耐性に関する少なくとも 1 つの炎症マーカーを含む、請求項 1 6 2 に記載の方法。

【請求項 1 6 5】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが、少なくとも 1 種類の表現型発現に関する少なくとも 1 つの RNA マーカーを検出することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 6 6】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが、栄養障害に関する核酸を検出することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 6 7】

前記栄養障害が微量栄養素の欠乏を含む、請求項 1 6 6 に記載の方法。

【請求項 1 6 8】

前記微量栄養素がビタミンを含む、請求項 1 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 6 9】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが、人のマイクロビオームで欠乏又は変化した少なくとも 1 つのプロバイオティクス又はプレバイオティクスを決定することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 7 0】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが、糖尿病の型又は亜型を示す核酸を検出することを含む、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 7 1】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって：

(i) 少なくとも 1 つの集積チップであって：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び、

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備え

少なくとも1つの生体試料が少なくとも1つの集積チップ上にロードされている前記集積チップ；

(i i) 携帯式制御アセンブリであって：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；並びに

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備え、

前記集積チップ上にロードした前記生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行する前記携帯式制御アセンブリ；

(i i i) 前記生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定するように構成される遺伝子分析部；

(i v) 前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人の個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定するようにさらに構成される前記遺伝子分析部を備える前記システム。

【請求項 1 7 2】

前記個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分に少なくとも部分的に基づいて、分配する製品の少なくとも一部分を決定するよう構成される分配制御部をさらに備える、請求項 1 7 1 に記載のシステム。

【請求項 1 7 3】

前記分配制御部と連結しており、前記分配制御部の制御下で前記製品の少なくとも一部分を分配するよう構成される分配アクチベーターをさらに備える、請求項 1 7 2 に記載のシステム。

【請求項 1 7 4】

前記分配アクチベーターが：自動販売機；自動窓口機；及びキオスクの1つの少なくとも一部分を備える、請求項 1 7 3 に記載のシステム。

【請求項 1 7 5】

前記分配アクチベーターが、前記製品の少なくとも一部分をプリントするよう構成される三次元プリンターを備える、請求項 1 7 3 又は 1 7 4 に記載のシステム。

【請求項 1 7 6】

前記分配アクチベーターが事前包装された製品を分配するよう構成される、請求項 1 7 3 又は 1 7 4 に記載のシステム。

【請求項 1 7 7】

前記製品が：食物、飲料、薬用化粧品、栄養補助物、医薬、生薬、代替医薬及び化粧品の少なくとも1つである、請求項 1 7 2 ～ 1 7 6 のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 1 7 8】

前記分配制御部が、栄養上の素因、栄養障害、及び、マイクロビオームで欠乏又は変化した少なくとも1つのプロバイオティクス又はプレバイオティクスのうち少なくとも1つに少なくとも部分的に基づいて分配される前記製品の少なくとも一部分を決定するように構成される、請求項 1 7 2 ～ 1 7 7 のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 1 7 9】

前記生体試料の迅速な分析のためのシステムが、前記分配アクチベーターから前記製品を得る消費者の経験を増大するよう構成される、請求項 1 7 2 ～ 1 7 8 のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項 1 8 0】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって：

(i) 少なくとも1つの集積チップであって：

核酸抽出モジュール；

前記核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び、

10

20

30

40

50

前記核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備え

少なくとも1つの生体試料が少なくとも1つの集積チップ上にロードされている前記集積チップ；

(i i) 携帯式制御アセンブリであって：

核酸抽出制御モジュール；

前記核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；並びに

前記核酸増幅モジュール及び前記核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備え、

前記集積チップ上にロードした前記生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行する前記携帯式制御アセンブリ；

(i i i) 前記生体試料からの核酸の検出に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定するように構成される遺伝子分析部；

前記遺伝子分析部に連結し、前記少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて心拍動部を制御するよう構成される心拍動制御部を備える前記システム。

【請求項181】

前記少なくとも1つのバイオマーカーが、アテローム硬化プロセスに関係するバイオマーカーを含み、前記心拍動制御部が、アテローム硬化を逆行させるよう構成される、請求項180に記載のシステム。

【請求項182】

前記心拍動制御部が、強化体外式カウンターパルセーション（E E C P）治療機を備える、請求項180又は181に記載のシステム。

【請求項183】

核酸マーカーを介して慢性疾患を診断する、分類する又はモニターするうちの少なくとも1つを含む、請求項1～182のいずれか1項に記載の方法。

【請求項184】

前記慢性疾患が糖尿病を含む、請求項1～183のいずれか1項に記載の方法。

【請求項185】

前記核酸マーカーが炎症マーカーを含む、請求項1～184のいずれか1項に記載の方法。

【請求項186】

有機体の遺伝子型を同定し、それによって：遺伝子疾患への素因、疾患の株、及び、疾患状態の抗生物質耐性のうち少なくとも1つを決定することを含む、請求項1～185のいずれか1項に記載の方法。

【請求項187】

H I V 株のポイントオブケア検出、H I V ウイルスロード量決定及びH I V の遺伝子型同定のうち少なくとも1つを実行することを含む、請求項1～186のいずれか1項に記載の方法。

【請求項188】

ウイルス肝炎の種類を決定することを含む、請求項1～187のいずれか1項に記載の方法。

【請求項189】

がん遺伝子を特定することを含む、請求項1～188のいずれか1項に記載の方法。

【請求項190】

薬剤モニタリングを含む、請求項1～189のいずれか1項に記載の方法。

【請求項191】

移動式デバイスを用いてH I V の母子感染をモニターする、又は、H I V の母子感染を予防するうちの少なくとも1つを実行することを含む、請求項1～190のいずれか1項に記載の方法。

【請求項192】

患者に存在する病原体、及び、病原体の少なくとも1つの抗生物質又は他の処置に対する感受性及び耐性の少なくとも1つを決定することを含む、請求項1～191のいずれか1項に記載の方法。

【請求項193】

薬剤モニタリングの実施、疾患の予後指標としてのデバイスの使用、及び診断治療デバイスとしてのデバイスの使用のうち少なくとも1つを含む、請求項1～192のいずれか1項に記載の方法。

【請求項194】

前記システムが前記分子の位置又は配向を100nm未満、10nm未満、又は1nm未満の寸法内まで制御することを可能にするよう構成される、請求項1～193のいずれか1項に記載のシステム。

10

【請求項195】

前記流体系が、10mm未満、1mm未満、100ミクロン未満、10ミクロン未満、1ミクロン未満、100nm未満、10nm未満又は1nm未満の最大寸法を含む少なくとも1つの反応チャンバーを含む、請求項1～194のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項196】

1つ以上のモジュールが共通の反応チャンバーを共有する、請求項1～195のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項197】

注入可能デバイス、移植可能デバイス、着用可能デバイス又は摂取可能デバイスとして患者への送達のために構成される、請求項1～196のいずれか1項に記載のシステム。

20

【請求項198】

前記核酸増幅モジュールが増幅、複製又は配列決定の1つのみのサイクルを実施するよう構成される、請求項1～197のいずれか1項に記載のシステム。

【請求項199】

前記1つのみのサイクルが恒温的である、請求項198に記載のシステム。

【請求項200】

前記1つのみのサイクルが熱的である、請求項198に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

関連出願

本出願は、2014年3月11日出願の米国仮特許出願第61/951,084号の利益を主張し；及び、2013年9月9日出願の米国仮特許出願第61/875,661号の利益を主張し；及び、2013年3月15日出願の米国仮特許出願第61/790,354号の利益を主張する。上記仮特許出願の全体の教示が、参照により本明細書に組込まれる。

【背景技術】

【0002】

生物有機体の遺伝子材料の検出及び分析は、病原体の特定、遺伝子型同定、バイオマーカーの特定、個別化医療、個別化栄養法、個別化スキンケア、個別化薬用化粧品、個別化栄養補助物、コンパニオン診断、薬剤モニタリング、薬理遺伝子学及びニュートリゲノミクスのために用いられ得る。生体試料中の種の同一性は、試料に存在する核酸と公知の参照試料の核酸を比較することで確認され得る。しかし、この比較を行う前に、核酸を試料から抽出、増幅、次いで検出しなくてはならない。通常、抽出、増幅及び検出工程は、実験室又は病院で数時間、数日間又は数週間にわたって行われる。例えば、増幅は通常、米国特許第4,683,202号及び同第4,683,195号で説明される通り、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）に関連する。従来のPCRを用いて核酸を増幅するために、核酸は、酵素、ヌクレオチド、プライマー及び緩衝液の存在下で加熱と冷却を繰り返さなくてはならない。

40

50

【0003】

核酸の抽出、増幅及び検出のための従来の方法及びデバイスは一般的に、特別な実験施設の外の移動式又は野外環境で実施するほどに強靱ではない。抽出及び増幅単独でも、有機体の種類、核酸鎖の長さ及びサイクルの数によって、数日間ではないにしても数時間かかる。さらに、市販のデバイス及び方法は、熟練、流水及び電気を必要とする。さらに、温度、pH及び緩衝液の成分はしっかりと調節されていなければならない。混入物は、複製で用いる核酸ポリメラーゼ酵素を阻害、又は、核酸ポリメラーゼ酵素に干渉し、増幅プロセスの効率及び忠実度を低下し得る。同様の制限が、核酸を抽出及び検出する従来の技術に当てはまる。したがって、核酸を検出、定量化及び特定するための、自動的、統合的、コンパクト、強靱、迅速、正確及び使いやすいデバイス及び方法の必要性が存在する。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】米国特許第4,683,202号明細書

【特許文献2】米国特許第4,683,195号明細書

【発明の概要】

【0005】

本発明は、核酸又はタンパク質の迅速な分析、定量化及び特定のためのシステム及び方法に関連する。

【0006】

20

本発明は、コンパクト集積チップを検出信号分析用の携帯式システム又は移動式デバイスと一緒に用いて核酸又はタンパク質を抽出、任意で増幅、及び検出（及び任意で定量化）し、並びに、その結果を、無線ネットワークを介して比較及び供給するための携帯式若しくは移動式又はポイントオブケア（POC）システムを提供する。取り換え可能なモジュールが、抽出、増幅及び検出のうち1つ以上のために用いられ得る。

【0007】

本発明は、複数の利点を有する。本発明は、核酸又はいくつかの実施形態ではタンパク質を検出及び分析する既存の方法よりも、迅速で、安く、野外に配置可能、及び、正確である。大きな試料でも特徴づけ又は分析するのに数時間から数週間かかる従来の方法とは違い、本発明は通常、1時間以内、又は30分以内、例えば数分内に測定を製作する。本発明は、少数の細胞を含む試料から抽出した核酸を検出するのに十分な感受性を有する（例示を参照）。実験室又は診療所での卓上装置、熟練の技術者、電気、水、並びに、しばしば試料及び試薬の冷蔵を必要とする標準的な診断デバイス及び方法と違い、本発明は、使い捨てでもよいコンパクト集積チップを使用する携帯式又は移動式デバイスに実装され得る。結果は、無線ネットワーク及び／又はインターネットといった1つ以上の情報伝達ネットワークを介して供給され得る。本発明のシステムは、熟練又は精通した技術者を必要とせず、病院又は集中化した実験施設の外部でも機能し得る。本発明のシステムは、様々な環境的変数に強く、幅広い範囲のpH、温度、従来のオーバーヘッド設備で、及び、任意で冷蔵なしで機能し得る。

30

【0008】

40

本発明を用いて、単一生物有機体若しくは他の源、又は複数の有機体若しくは源由来の核酸分子又はタンパク質を検出及び区別し得る。本発明は未知の核酸を検出及び分析できるだけでなく、その方法は、ある属内の種を区別する、又は、点変異及び／若しくはバイオマーカー配列及び／若しくは疾患感受性対立遺伝子を区別するのに十分な感受性を有する。使い捨て集積チップを用いる本発明の実施形態では、既存の診断アッセイのコストと比較して、顕著なコストカット効果も存在する。

【0009】

さらに、米国特許第7,494,791号（開示全体が参照により本明細書に組込まれる）で開示される、非熱的核酸増幅プロセスを用いる本発明の実施形態では、塩基対1つ当たり約 1×10^{-7} 未満のエラー又はそれよりも良好（例えば、塩基対1つ当たり10

50

-10未満のエラー)のエラー率が達成され得る。「難配列(difficult sequence)」(ポリメラーゼ酵素がずれる、エラーを発生する、又は作動を停止する傾向にある配列; 難配列の例としては反復配列、ポリ-A配列、GCリッチ配列、トリヌクレオチド反復配列等が挙げられる)であっても、塩基対1つ当たり 1×10^{-3} 未満のエラー又はそれよりも良好(例えば、塩基対1つ当たり 10^{-6} 未満のエラー)のエラー率が達成され得る。100サイクル超の核酸の複製を生き延び得る試薬を利用して、開示された非熱的核酸増幅方法を用いて最大20,000の塩基対長の配列を増幅し得る。増幅の他の恒温方法が用いられ得、例えば、T. Notomi, et al., Nucleic Acids Research, 28, e63 (2000))に記載されるものといったLoop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)技術; Vincent M, Xu Y, Kong H. (2004), "Helicase-dependent isothermal DNA amplification," EMBO Rep 5 (8): 795-800に記載されるものといったHelicase-Dependent Amplification (HDA)技術; G. T. Walker, et. al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89, 392-396 (1992)に記載されるものといったStrand Displacement Amplification (SDA)技術が挙げられ;これらの教示は全てその全体が参照により本明細書に組込まれる。ブリッジ、ローリングサークル及びいずれかの他の増幅方法(熱的又は恒温)が用いられ得る。

10

20

30

40

50

【0010】

本発明に従った実施形態では、生体試料の迅速な分析のためのシステムが提供される。システムは、少なくとも1つの集積チップを受け取る移動式デバイスを備える。移動式デバイスは集積チップを処理し、その上にロードした生体試料を分析する。移動式デバイス及び集積チップは一緒に、集積チップ上の分子又は流体系の操作及び制御のうち少なくとも1つを実行するように構成される。移動式デバイス及び集積チップは一緒に、生体試料の分析の複数の工程の少なくとも1つを管理する少なくとも1つのパラメーターをプラス若しくはマイナス10%、プラス若しくはマイナス1%、プラス若しくはマイナス0.1%、プラス若しくはマイナス0.01%、プラス若しくはマイナス0.001%又はプラス若しくはマイナス0.0001%内まで精密制御するよう構成される。

【0011】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のためのシステムが提供される。システムは、少なくとも1つのコンパクト集積チップを受け取る携帯式制御アセンブリを備える。集積チップは、抽出モジュールを備え;抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュールを備えてもよく;及び、核酸増幅モジュール又は抽出モジュールに流体連通した生体試料検出モジュールを備える。携帯式制御アセンブリは:抽出制御モジュール;抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュール;並びに核酸増幅モジュール及び抽出モジュールに機能的に連結した生体試料検出制御モジュールを用いることで、集積チップを処理し、その上にロードした生体試料を分析する。

【0012】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のためのシステムが提供される。システムは、少なくとも1つのコンパクト集積チップを受け取る携帯式制御アセンブリを備える。集積チップは、集積チップ上に生体試料及び任意で1つ以上の試薬をロードするための注入ポート;抽出モジュール;抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール;核酸増幅モジュールに流体連通した検出モジュールを備える。携帯式アセンブリは、抽出制御モジュールを備え、いくつかの実施形態では、当該抽出制御モジュールは、例えば、集積チップ上にロードした生体試料に導入された磁性粒子を捕捉するための磁性粒子捕捉手段;抽出制御モジュールに機能的に連結した核酸増幅制御モジュールであって、前記核酸増幅手段はいくつかの実施形態で集積チップの核酸増幅モジュールを加熱/冷却するための例えば熱電、薄膜、赤外又は光学ベース又は機械的な加熱手段を備える前記核酸増幅制御モジュール;並びに、核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールと機能的に連結した検出制御モジュールを備える。いくつかの実施形態で、検出制御モジュールは、核酸及びタンパク質を検出するための蛍光検出手段;及びいくつかの実施形態では例えば蛍光検出手段に機能的に連結したキャピラリー電気泳動(CE)制御手段であって、集積

チップの核酸検出モジュールの全域に、核酸又はタンパク質の分離を実行するのに十分である電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含む前記CE制御手段；並びに、集積チップを通して生体試料及び／又は核酸を動かすための流体圧発生手段を備える。

【0013】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のための方法が提供される。方法には、（１）核酸抽出モジュール；核抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備える少なくとも１つの集積チップを準備すること、（２）少なくとも１つの生体試料を少なくとも１つの集積チップ上にロードすること；（３）核酸抽出制御モジュール；核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び、核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備える携帯式制御アセンブリを少なくとも１つの集積チップに機能的に連結させること；並びに、（４）携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行することが含まれる。

10

【0014】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のための方法が提供される。方法には、（１）タンパク質抽出モジュール；及び、タンパク質抽出モジュールに流体連通したタンパク質検出モジュールを備える少なくとも１つの集積チップを準備すること、（２）少なくとも１つの生体試料を少なくとも１つの集積チップ上にロードすること；（３）タンパク質抽出制御モジュール；及びタンパク質抽出モジュールと機能的に連結したタンパク質検出制御モジュールを備える携帯式制御アセンブリを少なくとも１つの集積チップに機能的に連結させること；並びに、（４）携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料からのタンパク質の抽出及び検出を実行することが含まれる。

20

【0015】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の核酸の迅速な逐次抽出、増幅及び分離のための集積チップが提供される。集積チップは、核抽出モジュール、核酸増幅モジュール及び核酸分離モジュールに連続して流体連通したマイクロ流体チャネルをその中に統合したハウジング；生体試料及び試薬を注入するための、核酸抽出モジュールに流体連通した少なくとも１つの試料入口ポートを備え；ここで、核酸抽出モジュールは、生体試料から核酸を抽出するための抽出チャンバーを少なくとも１つ備え、前記抽出チャンバーは少なくとも１つの試料輸送チャネルによって試料入口ポートに連結しており；ここで、核酸増幅モジュールは、核酸を増幅するための増幅チャンバーを少なくとも１つ備え、前記核酸増幅チャンバーは、少なくとも１つの核酸輸送チャネルによって抽出チャンバーに連結しており；並びに、ここで、核酸分離モジュールは、核酸を分離及び検出するための検出チャネルを少なくとも１つ備え、前記検出チャネルは、少なくとも１つの増幅産物輸送チャネルによって核酸増幅チャンバーに連結している。

30

【0016】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のための方法が提供される。方法には、少なくとも１つの集積チップを準備することが含まれ、前記集積チップは：核酸抽出モジュール；核抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備える。方法には、少なくとも１つの生体試料を少なくとも１つの集積チップ上にロードすること；及び、携帯式制御アセンブリを少なくとも１つの集積チップと機能的に連結させることがさらに含まれる。携帯式制御アセンブリは、核酸抽出制御モジュール；核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備える。方法には、携帯式制御アセンブリを作動させて前記集積チップ上にロードした生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行すること；並びに、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも１つの生体試料の源である人に関連する少なくとも１つのバイオマーカーを決定することがさらに含まれる。

40

50

【0017】

さらなる関連実施形態では、方法には、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて：
(i) 少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療用処置を実行する少なくとも1つの薬剤の投与量；(ii) 少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療用処置を実行する複数の薬剤の組合せ；並びに、(iii) 少なくとも1つの生体試料の源である人が少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態のための薬剤治療に対して反応するかどうかの決定のうち、少なくとも1つを決定することが含まれ得る。

【0018】

他の関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料において、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーの量を決定すること；及び、少なくとも1つの生体試料における少なくとも1つのバイオマーカーの量に基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人において、少なくとも1つのバイオマーカーに関連する疾患状態の治療の進行の度合いを決定することが含まれ得る。

10

【0019】

さらなる関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；並びに、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、(i) 少なくとも1つの生体試料の源である人のためのパーソナルケア製品の選択、(ii) その人のためのパーソナルケア製品の送達量、(iii) 例えばその人の美容上の皮膚のタイプ、及び(iv) 少なくとも1つの生体試料における、その人の少なくとも1つの美容バイオマーカーの量のうち、少なくとも1つを決定することが含まれ得る。

20

【0020】

他の関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料において、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つの美容バイオマーカーの量を決定すること；及び、少なくとも1つの生体試料の少なくとも1つのバイオマーカーの量に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人の美容上の処置の進行の度合いを決定することが含まれ得る。

【0021】

さらなる関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；及び、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人の健康の度合い又は種類を決定することが含まれ得る。

30

【0022】

他の関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；及び、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人が少なくとも1つのバイオマーカーに関してサブセット遺伝子群のメンバーであるかどうかを決定することが含まれ得る。

40

【0023】

さらなる関連実施形態では、方法には、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定すること；及び、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人の個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することが含まれ得る。

【0024】

さらなる関連実施形態では、個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定することには、その人のウェルネス、その人のスポーツ栄養法、その人の個別化された食事及びその人の栄養法又は個別化された栄養法に関する核酸を検出することが含まれ得る。

50

【0025】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のためのシステムが提供される。システムは、少なくとも1つの集積チップを備え、前記集積チップは：核酸抽出モジュール；核酸抽出モジュールと流体連通した核酸増幅モジュール；及び核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備え、少なくとも1つの生体試料が少なくとも1つの集積チップ上にロードされる。システムは：核酸抽出制御モジュール；核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；及び、核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備える携帯式制御アセンブリをさらに備え、携帯式制御アセンブリは、前記集積チップ上にロードした生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行する。システムは、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定するよう構成される遺伝子分析部をさらに備える。遺伝子分析部はさらに、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて、前記少なくとも1つの生体試料の源である人の個別化ゲノムプロファイルの少なくとも一部分を決定するように構成される。

10

【0026】

本発明に従った別の実施形態では、生体試料の迅速な分析のためのシステムが提供される。システムは、少なくとも1つの集積チップを備え、前記集積チップは：核酸抽出モジュール；核酸抽出モジュールに流体連通した核酸増幅モジュール；及び、核酸増幅モジュールに流体連通した核酸検出モジュールを備え、少なくとも1つの生体試料が少なくとも1つの集積チップ上にロードされる。システムは：核酸抽出制御モジュール；核酸抽出制御モジュールと機能的に連結した核酸増幅制御モジュール；並びに核酸増幅モジュール及び核酸抽出モジュールに機能的に連結した核酸検出制御モジュールを備える携帯式制御アセンブリをさらに備え、携帯式制御アセンブリは、前記集積チップ上にロードした生体試料からの核酸の抽出、増幅及び検出を実行する。システムは、生体試料からの核酸の検出に基づいて、少なくとも1つの生体試料の源である人に関連する少なくとも1つのバイオマーカーを決定するよう構成される遺伝子分析部；及び、遺伝子分析部に連結し、少なくとも1つのバイオマーカーに基づいて強化体外式カウンターパルセーション（EECP）又は他の心拍動部を制御するよう構成される心拍動制御部をさらに備える。

20

【0027】

実施形態は、電気泳動によるといった、タンパク質分離を実施し得る。

30

【0028】

さらなる関連システム及び方法が提供される。

【0029】

同様の参照符号が様々な見方を通して同一部分を指す付属の図面で見られる通り、前述したことは、次に記述する、本発明の例示的な実施形態のさらに具体的な説明から明らかになるであろう。図面は、必ずしも一定の尺度ではなく、その代わり、本発明の実施形態を示すことに重きを置いている。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】図1は、核酸を検出及び分析するためのコンパクト集積チップを有する携帯式アッセイ又は移動式システムの一実施形態を例示する。

40

【図1A】図1Aは、ゲノムデータベースと情報伝達している携帯式アッセイシステムのモジュールデザインの実施形態を例示する。

【図2】図2は、本発明のシステム及びデバイスのモジュールデザインの実施形態の図示である。

【図2A】図2Aは、抽出制御モジュールのモジュールデザインの実施形態を示す。

【図2B】図2Bは、増幅制御モジュールのモジュールデザインの実施形態を示す。

【図3】図3は、核酸を検出及び分析する方法のフローチャートの図示的な例である。

【図4】図4は、本発明のデバイス及び方法と一緒に用いられ得るコンパクト集積チップの実施形態の図示である。

50

【図 5】図 5 は、集積チップ上の流体の流れを制御する例示的な受動プラグを示す。

【図 6 A】図 6 A は、例示的な電磁的に制御可能な弁及び本発明で利用される集積チップを通る流体の流れを制御する方法を示す。

【図 6 B】図 6 B は、例示的な電磁的に制御可能な弁及び本発明で利用される集積チップを通る流体の流れを制御する方法を示す。

【図 7 A】図 7 A は、オンチップウェルを行き来する流体の流れを制御する例示的な方法を示す。

【図 7 B】図 7 B は、オンチップウェルを行き来する流体の流れを制御する例示的な方法を示す。

【図 8 A】図 8 A は、チャンネルの例示的な配置及び本発明の実施形態によるキャピラリー電気泳動のために使用するチャンネルへ試料を注入するための方法を示す。

【図 8 B】図 8 B は、チャンネルの例示的な配置及び本発明の実施形態によるキャピラリー電気泳動のために使用するチャンネルへ試料を注入するための方法を示す。

【図 8 C】図 8 C は、チャンネルの例示的な配置及び本発明の実施形態によるキャピラリー電気泳動のために使用するチャンネルへ試料を注入するための方法を示す。

【図 9 A】図 9 A は、蛍光検出制御モジュールのモジュールデザインの実施形態を示す。

【図 9 B】図 9 B は、集積チップの核酸検出モジュールで発生させた蛍光信号を検出するための例示的なシステム及び方法を示す。

【図 10】図 10 は、本発明の様々な適用での利用性を示すフローチャートである。

【図 11】図 11 は、本発明の実施形態に従ったコンパクト集積チップと使用するためのハードウェアモジュールを示す。

【図 12】図 12 は、図 11 のハードウェアモジュールと使用するためのペルティエ加熱デバイスを示す。

【図 13】図 13 は、コンパクト集積チップと使用するための検出システムを示す。

【図 14】図 14 は、本発明の実施形態に従ったコンパクト集積チップと使用するためのハードウェアシステムを示す。

【図 15 A】図 15 A は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁の異なる見方を示す。

【図 15 B】図 15 B は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁の異なる見方を示す。

【図 16 A】図 16 A は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 16 B】図 16 B は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 16 C】図 16 C は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 16 D】図 16 D は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 16 E】図 16 E は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 16 F】図 16 F は、膨張可能被包性弾性膜ベースのコンパクト集積チップのマイクロ流体弁アセンブリの異なる見方を示す。

【図 17 A】図 17 A は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 17 B】図 17 B は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 17 C】図 17 C は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 17 D】図 17 D は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 18】図 18 は、結果として得られた増幅産物のサイズを確認するアガロースゲルベースの電気泳動の描写である。

【図 19 A】図 19 A は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 19 B】図 19 B は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

10

20

30

40

50

【図 19 C】図 19 C は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 19 D】図 19 D は、オンチップ DNA 精製及び増幅の結果を示す。

【図 20】図 20 は、結果として得られた増幅産物のサイズを確認するアガロースジェルベースの電気泳動の描写である。

【図 21】図 21 は、着用可能デバイスを示す。(A) は皮膚パッチ又は真皮パッチであり；(B) は、本発明のデバイス及び手首、腕、足、指上にデバイスを保持するためのバンドを備えるブレスレットであり；並びに、(C) は、一面が身体の外部に接着して付着可能であり、同一又は反対の面が本発明のデバイスに接着して付着可能であるパッチである。

【図 22】図 22 は、本発明の移植可能デバイス、注入可能デバイス又は摂取可能デバイスとして構成されるデバイスを示す。

【図 23】図 23 は、本発明の実施形態に従った実験における、HIV 定量化のための希釈系列に関する標的標準曲線のグラフである。

【図 24】図 24 は、標的 HIV-1 を増幅する従来の PCR 機の一般的な動作範囲を示す曲線のグラフである。

【図 25 A】図 25 A は、本発明の実施形態に従ったシステムにおける、一般的な細菌病原体 E. Coli の試験を示す曲線のグラフである。

【図 25 B】図 25 B は、図 25 A の実験における、定量的なサイクルと DNA のコピー数との間に直線をあてはめたグラフである。

【図 26】図 26 は、本発明の実施形態に従ったデバイス図である。

【図 27】図 27 は、本発明の実施形態に従って決定、測定及び／又はモニターされ得る、選択された心血管炎症性バイオマーカーの表である。

【図 28】図 28 は、本発明の実施形態に従って決定、測定及び／又はモニターされ得る、選択された糖尿病炎症性バイオマーカーの表である。

【図 29】図 29 は、本発明の実施形態に従って決定、測定及び／又はモニターされ得る、肥満、糖尿病及び心血管疾患の進行に関して選択されたバイオマーカーの表である。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明の例示的な実施形態の説明が次に続く。

【0032】

本明細書で使用される「流体」という語句は、気体及び液体の双方を指す。

【0033】

本明細書で使用される「マイクロ流体」という語句は、0.1~100 μ L 及び好ましくは 1 と 10 μ L の間の流体の体積で動作する、又は、0.1~100 μ L 及び好ましくは 1 と 10 μ L の間の流体の体積に関して動作するデバイス及び／又は方法を指す。

【0034】

本明細書で使用される「流体システム」は、流体を流すシステム、例えば、少なくとも 1 つのチャネルで、少なくとも 1 つのチャンバーで、少なくとも 1 つのウェル及び／又は少なくとも 1 つのポートで流体を流すシステムを意味し、それぞれはマクロ流体であり得る。

【0035】

本明細書で使用される「核酸」は、単量体ヌクレオチドの鎖（ポリマー又はオリゴマー）から成る巨大分子を指す。最も一般的な核酸は、デオキシリボ核酸（DNA）及びリボ核酸（RNA）である。本発明を用いて、とりわけペプチド核酸（PNA）、モルフォリノ、ロックド核酸（LNA）、グリコール核酸（GNA）及びトレオース核酸（TNA）といった人工核酸を含む試料を検出及び特定し得ることがさらに理解される。本発明の様々な実施形態では、核酸は、細菌、ウイルス、ヒト及び動物といった様々な源、並びに、とりわけ植物及び真菌類といった源由来であり得る。源は病原体であり得る。又は、源は合成有機体であり得る。核酸は、ゲノム、染色体外又は合成であり得る。本明細書で「DNA」という語句が使用される場合、当業者であれば、本明細書に記載される方法及びデ

10

20

30

40

50

バイスは他の核酸、例えばRNA又は上記のものに適用され得ることを理解するであろう。さらに、「核酸」、「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」という語句は、あらゆる長さのヌクレオチドのポリマー形態を包含するように本明細書で使用され、限定はしないが、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドが挙げられる。これらの語句の間で、長さにおける区別は一切意図していない。さらに、これらの語句は、分子の一次構造のみを指す。したがって、特定の実施形態では、これらの語句には、三本鎖、二本鎖及び一本鎖DNA、PNA並びに三本鎖、二本鎖及び一本鎖RNAが包含され得る。これらにはまた、メチル化及び／又はキャッピングといったものによる修飾、並びに、ポリヌクレオチドの未修飾形態が包含される。さらに具体的には、「核酸」、「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」といった語句には、ポリデオキシリボヌクレオチド（2-デオキシ-D-リボースを含有）、ポリリボヌクレオチド（D-リボースを含有）、プリン又はピリミジン塩基のN又はCグリコシドであるいずれかの他の種類のポリヌクレオチド、及び、非ヌクレオチド主鎖を含む他のポリマー、例えば、ポリアミド（例えば、ペプチド核酸（PNA）及びポリモルホリノ（Anti-Virals, Inc., Corvallis, Ore., U.S.A., からNeugeneとして市販）ポリマー、並びに、DNA及びRNAで見つかるような塩基対形成及び塩基スタッキングを可能にする構成で核酸塩基を含むことを前提とした他の合成配列特異性核酸ポリマーが包含される。

10

【0036】

本明細書で使用される「タンパク質」は、1つ以上のアミノ酸の鎖から成る生体分子である。タンパク質は、コードする遺伝子のヌクレオチド配列が命令するアミノ酸の配列において主に互いに異なる。ペプチドは、隣接するアミノ酸残基のカルボキシルとアミノ基との間でペプチド結合によって結合する2つ以上のアミノ酸の単一の直鎖ポリマーであり；鎖に複数のペプチドがある場合はポリペプチドと呼ばれ得る。タンパク質は1つ以上のポリペプチドから成る。合成のすぐ後又は合成の間でも、タンパク質の残基はしばしば、翻訳後修飾によって化学的に修飾され、これは、タンパク質の物理的及び化学的特性、フォールディング、安定性、活性、並びに、最終的には機能を変える。タンパク質は時折、非ペプチド基が付着しており、これは補欠基又は補助因子と呼ばれ得る。

20

【0037】

本明細書で使用される「生体試料」としては、抽出、分析及び検出され得る核酸及び／又はタンパク質を含むあらゆる材料の試料が挙げられる。好ましくは、材料は、液体若しくは気体形態であり、若しくは、液体若しくは気体中に溶解若しくは懸濁し得、若しくは、液体化若しくは気体形態にし得、又は、そうでなければ、本発明のデバイス及び方法による分析のために調製される。糞便といった固体試料又は土壌試料は、例えば、水に入れてチップ上にロードし得る。エアロゾル生体試料が使用され得る。「生体試料」は、組織試料、生物流体試料、環境上の試料若しくは他の種類の試料であり得、又は、これらの一部であり得る。好ましくは、生体試料は、限定はしないが、血液、唾液、精液、尿、羊水、脳脊髄液、滑液、硝子体液、胃液、鼻咽頭吸引物及び／又はリンパ液といった生物流体由来である。生体試料はまた、核酸及び／又はタンパク質源が混入した材料又は流体であり得る。生体試料は、組織試料、水試料、空気試料、食物試料又は作物試料であり得る。好ましくは、生体試料分析によって、水媒介病原体、空気媒介病原体、食物媒介病原体又は作物媒介病原体のうちいずれか1つ以上が検出される。

30

40

【0038】

本明細書で使用される「生物学的分析」という語句は、細胞、核酸、タンパク質又は他の生体分子を出発材料として使用し、診断、種の特異性、点変異及び／又は疾患感受性対立遺伝子の区別、質的分析、量的分析（例えば、ウイルスロード量を確認すること）の目的及び本明細書で教示する他の目的のために、情報を抽出する生化学アッセイの実施を指す。この技術の適用の一例は、細胞から遺伝子情報を抽出する病原体検出である。本明細書で使用される「生物学的分析」の「工程」は、抽出、任意で増幅、及び検出の工程を指す。

【0039】

50

本明細書で使用される「バイオマーカー」は、ある生物学的状況又は状態の指標として使用され得る測定された特徴を指す。例えば、バイオマーカーを測定及び評価して、正常な生物プロセス、病原性プロセス、又は治療用処置に対する薬理反応を検査し得る。

【0040】

本明細書で使用される「治療用処置」は、健康上の問題の計画された治療である。

【0041】

本明細書で使用される「遺伝子分析部」は、ハードウェアコンピュータプロセッサ又は他の専用デジタル信号プロセッサといったプロセッサを指し、当該プロセッサは電気信号を受信し、電気信号を保管し、電気信号を出力し、及び、例えばコンピュータプログラムに基づいて電気信号を処理し、ここで、電気信号は遺伝子分析に関連する。例えば、遺伝子分析部は、検出される核酸に関連した入力信号を基にバイオマーカーを決定し、そのバイオマーカーをもとに個別化ゲノムプロファイルを決定及び出力するようにプログラムされ得る。

10

【0042】

本明細書で使用される「分配制御部」は、ハードウェアコンピュータプロセッサ又は他の専用デジタル信号プロセッサといったプロセッサを指し、当該プロセッサは電気信号を受信し、電気信号を保管し、電気信号を出力し、及び、例えばコンピュータプログラムに基づいて電気信号を処理し、ここで、電気信号は製品の少なくとも一部分を分配することに関連する。例えば、分配制御部は、少なくとも部分的に個別化ゲノムプロファイルをもとに、分配する製品の少なくとも一部分を決定するよう構成され得る。

20

【0043】

本明細書で使用される「分配アクチベーター」は、製品の少なくとも一部分を分配するよう構成されたデバイス又はシステムを指す。例えば、分配アクチベーターは：自動販売機；自動窓口機；及びキオスクのうち1つの少なくとも一部分を備え得；並びに、製品の少なくとも一部分をプリントする、又は、事前包装された製品を分配するよう構成された三次元プリンターを備え得る。

【0044】

本発明の実施形態の、遺伝子分析部といった部分は、1つ以上のコンピュータシステムを用いて実施され得、例えば、コンピュータプロセッサ上で機能し、プログラムコードの一部分であり得る。例えば、実施形態はハードウェア、ソフトウェア又はこれらの組合せを用いて実施され得る。ソフトウェアで実施される場合、ソフトウェアコードは、単一のコンピュータに提供されようと複数のコンピュータ間に供給されようと、いずれかの形式の非一時的コンピュータ読み取り可能媒体上に保管され、いずれかの適切なプロセッサ又はプロセッサの集合体上でロード及び実行され得る。

30

【0045】

一般的な説明

当業者が理解する通り、本発明には、ハードウェア部分、ソフトウェア部分並びに／又はソフトウェア及びハードウェア部分の組合せが含まれ得る。1つの実施形態では、本発明は、コンパクト集積チップとインターフェースで連結する携帯式処理手段であり、1つの実施形態では、コンピュータ読み取り可能媒体に統合されるコンピュータ使用可能命令に従って生体試料の核酸を抽出、増幅及び検出し、別の実施形態では、例えば電気泳動によってタンパク質を分離する。システムは、図2と関連してさらに以下で説明される通り、取り換え可能モジュールを使用し得る。

40

【0046】

本明細書で使用される「コンパクト」という語句は、以下で考察される通り、例えばマイクロ流体デバイスレイアウトによって達成されるといった、流体チャネル、チャンバー、ウェル及びポートが使用するスペースを最小化するマイクロ流体デバイスレイアウトの設計を指す。1つの実施形態では、交差する流体チャネル及び共有ウェルの使用がコンパクト設計の例となる。本明細書で使用される「統合」という語句は、様々な目的で使用される流体チャネル、チャンバー、ウェル及びポートが同一マイクロ流体デバイス上／内で

50

組み立てられるマイクロ流体デバイスレイアウトの設計を指す。例えば、図4に示すチップの実施形態は、核酸抽出のために使用される核酸抽出チャンバー、核酸増幅のために使用される核酸増幅チャンバー、並びに、核酸を分離及び検出するために使用される検出チャンネルを備える。前文で述べたチャンバー及びチャンネルが複数で明記されていても、「少なくとも1つ」のそのようなチャンバー又はチャンネルであり得ることを理解すべきである。さらに、本発明で使用される1つ以上の「モジュール」は、共通のチャンバーを共有し得、例えば、抽出、増幅及び検出モジュールのうち1つ以上が1つ以上の共通のチャンバーを共有し得ることが理解されるべきである。本明細書で使用される「携帯式」という語句は、人の手によって簡単に運ぶ又は運搬できるシステム又はデバイス若しくは移動式デバイスを指す。本明細書で使用される「移動式デバイス」という語句は、通常タッチ入力及び／又は小型キーボードと一緒にディスプレイスクリーンを有し、約10kg未満の重量である小さな携帯式デバイスを指し、例えば、スマートフォン、タブレット、ラップトップ又は他の携帯式医療用デバイスが挙げられる。

10

【0047】

システムは、コンピューター読み取り可能媒体又はクラウドに検出された核酸に関する指標を保管し、これらの指標をゲノム又はトランスクリプトームのデータベースに保管される記録と比較し得、当該ゲノム又はトランスクリプトームのデータベースはコンピューター読み取り可能媒体又は離れた場所に保管され得る。代替実施形態では、参照標準物に関する情報はシステム内に配置されるコンピューター読み取り可能メモリーに保管される。さらに別の実施形態では、核酸標準物は、本発明のシステムと一緒に使用され得る集積チップ内に含まれる。

20

【0048】

プロセッサ手段は、例えば、ミニコンピューター、マイクロコンピューター、UNIX機、インテルプロセッサ又は同様のデバイスを有するものといったパソコン、マイクロプロセッサ若しくは他の適切なコンピューター又はスマートフォンも備え得る。また、母板、中央処理装置(CPU)、ランダムアクセスメモリー(RAM)、ディスクドライブ並びにキーボード及びディスプレイといった末端機器といった従来のコンピューター要素(示されない)も通常備える。RAMは、Windows CEといったオペレーティングシステム又は他のオペレーティングシステム、及び、検出された核酸又はタンパク質に関する信号を処理するための適切なソフトウェアを保管する。

30

【0049】

本明細書で記載される本発明の実施形態の部分は、1つ以上のコンピューターシステムを用いて実施され得る。例えば、実施形態は、ハードウェア、ソフトウェア又はこれらの組合せを用いて実施され得る。ソフトウェアで実施される場合、ソフトウェアコードは、単一のコンピューターに提供されようと複数のコンピューター間に供給されようと、いずれかの形式の非一時的コンピューター読み取り可能媒体上に保管され、いずれかの適切なプロセッサ又はプロセッサの集合体上でロード及び実行され得る。

【0050】

さらに、コンピューターは、ラップトップコンピューター、タブレットコンピューター、又は、個人情報機器(PDA)、スマートフォン若しくは他のいずれかの適切な携帯式若しくは移動式電子デバイスが挙げられる、通常コンピューターと見なされないが適切な処理能力を有する、デバイスに統合されたコンピューターといった、複数の形式のいずれかに統合され得ることが理解されるべきである。

40

【0051】

また、コンピューターは1つ以上の入力及び出力デバイスを有し得る。これらのデバイスは、とりわけ、ユーザーインターフェースを示すように用いられ得る。ユーザーインターフェースを提供するために使用され得る出力デバイスの例としては、出力の視覚的な表示のためのプリンター又はディスプレイスクリーンが挙げられ、出力の聴覚的な表示のためのスピーカー又は他の音発生デバイスが挙げられる。ユーザーインターフェースのために使用され得る入力デバイスの例としては、キーボード、並びに、マウス、タッチパッド

50

及びデジタイジングタブレットといったポインティングデバイスが挙げられる。他の例としては、コンピューターはスピーチ認識を介して、又は別の視覚的な形式を介して、入力情報を受け取り得る。

【0052】

そのようなコンピューターはいずれかの適切な形式で1つ以上のネットワークによって相互接続され得、企業ネットワーク又はインターネットといったローカルエリアネットワーク又は広域ネットワークが挙げられる。そのようなネットワークはいずれかの適切な技術が基礎にあり得、いずれかの適切なプロトコルに従って機能し得、無線ネットワーク、有線ネットワーク、光ファイバーネットワークが挙げられ得る。

【0053】

また、本明細書で説明される様々な方法又はプロセスは、各種オペレーティングシステム又はプラットフォームのうちいずれか1つを使用する1つ以上のプロセッサ上で実行可能なソフトウェアとしてコードされ得る。さらに、そのようなソフトウェアは、複数の適切なプログラミング言語及び／又はプログラミング若しくはスクリプティングツールのいずれかをを用いて書かれ得、また、フレームワーク又は仮想機械上で実行される実行可能機械語コード及び／又は中間コードとしてコンパイルされ得る。

【0054】

この点で、本発明の少なくとも一部分は、1つ以上のコンピューター又は他のプロセッサ上で実行される場合に上記の本発明の様々な実施形態を実施する方法を実行する1つ以上のプログラムをコードした、コンピューター読み取り可能媒体（又は複数のコンピューター読み取り可能媒体）（例えば、コンピューターメモリー、1つ以上のフロッピーディスク、コンパクトディスク、光ディスク、磁気テープ、フラッシュメモリー、フィールド・プログラマブル・ゲートアレイの回路構成若しくは他の半導体デバイス又は他の有形コンピューター保管媒体）として具現化され得る。コンピューター読み取り可能媒体又は媒体（複数）は、その中に保管されるプログラム又はプログラム（複数）が1つ以上の異なるコンピューター又は他のプロセッサ上でロードされ、上記した本発明の様々な態様を実施し得るように、輸送可能である。

【0055】

この点で、上記実施形態の1つの実施には、プロセッサ上で実行された場合にこれら実施形態の上記の機能のいくつか又は全てを実施するコンピュータープログラム（例えば、複数の命令）をコードした、少なくとも1つのコンピューター読み取り可能媒体が含まれることが理解されるべきである。本明細書で使用される「コンピューター読み取り可能媒体」は、機械又は製造（すなわち、製造品）であると見なされ得る非一時的コンピューター読み取り可能媒体のみを包含する。コンピューター読み取り可能媒体は、例えば、コンピューター読み取り可能情報がコード又は保管され得る有形媒体、コンピューター読み取り可能情報がコード又は保管され得る保管媒体、及び／又は、コンピューター読み取り可能情報がコード又は保管され得る非一時的媒体であり得る。コンピューター読み取り可能媒体の他の非網羅的な例としては、コンピューターメモリー（例えば、ROM、RAM、フラッシュメモリー又は他の種類のコンピューターメモリー）、磁気ディスク若しくはテープ、光ディスク、及び／又は、機械又は製造として見なされ得る他の種類のコンピューター読み取り可能媒体が挙げられる。

【0056】

本明細書において、「プログラム」又は「ソフトウェア」という語句は一般的な意味で用いられ、コンピューター又は他のプロセッサが上記の本発明の様々な態様を実施するようにプログラムするために用いられ得る、いずれかの種類のコンピューターコード又はコンピューター実行可能な命令のセットを指す。さらに、この実施形態一態様に従うと、実行された場合に本発明の方法を実施する1つ以上のコンピュータープログラムは、単一のコンピューター又はプロセッサ上に存在する必要はないが、複数の異なるコンピューター又はプロセッサ間でモジュール式の方法で分配され、本発明の様々な態様を実施し得ることが理解されるべきである。

10

20

30

40

50

【0057】

コンピューター実行可能な命令は、1つ以上のコンピューター又は他のデバイスによって実行される、プログラムモジュールといった多くの形式であり得る。一般的に、プログラムモジュールは、特定のタスクを実行又は特定の抽象データ型を実施するルーチン、プログラム、オブジェクト、要素、データ構造を含む。通常、プログラムモジュールの機能性は様々な実施形態で所望される通り、組合せられ得るか、又は、分配され得る。

【0058】

1つの実施形態では、携帯式アッセイシステム10は、図1で示される通り、およそ移動式無線デバイスの大きさである。ディスプレイ手段12（例えば、液晶ディスプレイ）及び入力手段14（例えば、キーボード）を用いて、ユーザーは携帯式アッセイシステム10とインターフェースで連結する。携帯式アッセイシステム10を使うために、ユーザーは、試料22を集積チップ20（以下でより詳細に説明）上に載せ、集積チップ20をシステムそのもののスロット16に挿入する。

10

【0059】

ユーザーが集積チップ20をロードすると、携帯式アッセイシステム10は、以下で説明する方法を用いて、又は、電気泳動といった他の使用されるモジュール次第で、試料22の核酸を抽出、増幅及び検出する。マイクロプロセッサ（示されない）は検出した信号を処理し、これはディスプレイ手段12を介してユーザーに示され得、伝達手段18を介して他のユーザーに送信され得る。伝達手段18を用いて生体試料22に関する変調データ信号を送受信し得る。

20

【0060】

「変調データ信号」という語句は、設定又は変化した特徴を1つ以上有して信号内に情報をコードする、伝搬される信号を指す。変調データ信号の例としては、搬送波又は他の輸送機構が挙げられる。伝達媒体としては、いずれかの情報送達媒体が挙げられる。限定はしないが、例として、伝達媒体としては：有線ネットワーク又は有線直結接続といった有線媒体、並びに、アコースティック、赤外線、放射、マイクロ波、スペクトラム拡散及び他の無線媒体技術といった無線媒体が挙げられる。

【0061】

本発明は、複数のゲノム又はトランスクリプトームプロファイル又は標的バイオマーカー配列を保管するゲノム又はトランスクリプトームのデータベースを含み得る。1つの実施形態では、本発明は、単一の参照試料の信号プロファイルを含み得る。本発明のデバイスはまた、National Institutes of Health、Center for Disease Control等で保管されるものといった、遠方に存在するゲノム又はトランスクリプトームのデータベースに接続し得る。そのような接続によって、広く分散した分析地での疾患の大発生への反応を追跡して調節するのが容易になるだろう。分析地の例としては、病院、国境検問所、空港、難民キャンプ、農場、隔離区域、疾患地、ホームレス施設、老人ホーム、食肉包装工場及び食物処理センターが挙げられる。当業者であれば、本発明が適用可能である、さらに他の分析地を理解するだろう。

30

【0062】

本発明は、ゲノム又はトランスクリプトームのデータベースと直接接続する必要はないが、必要な場合は必要であり得る。他の実施形態では、デバイスは、ローカルエリアネットワーク（LAN）、広域ネットワーク（WAN）又はインターネットといった、公共又はプライベートの様々なネットワークを介してゲノム又はトランスクリプトームのデータベースと接続し得る。1つの実施形態では、ゲノムのデータベースにはインターネットといった公共ネットワークを通してアクセス可能である。データは、セキュアソケットレイヤー（SSL）又はセキュアコピーといった安全な手段で接続される。

40

【0063】

図1Aで示す実施形態では、携帯式アッセイシステム10は、インターネット接続1及びサーバー3を介してゲノムデータベース5と接続する。携帯式アッセイシステム10の処理手段15は、アンテナ、イーサネット接続又は情報伝達に適した他の手段であり得る

50

伝達手段 18 を用いて、ゲノムデータベース 5 に、及び、ゲノムデータベース 5 からメモリ 17 に保持されるデータを送受信する。処理手段 15 は、抽出、増幅及び検出モジュール 40、50、60 を用いて、DNA データの回収及び処理を制御する。処理手段 15 は、メモリ 17 に回収したデータを保管し、ディスプレイ手段 12 を介してユーザーに示し；入力手段 12 を介してユーザーからコマンド及びクエリーを受信する。

【0064】

本発明のいくつかのバージョンでは、デバイスは移動式又は POC であり、及び、手持ちであってもよい。

【0065】

抽出－増幅－検出モジュール

携帯式アッセイシステム 10（図 1）は、試料 22（図 1）から核酸を抽出、増幅及び検出するモジュールの組合せを用いる。検出された信号のいずれかのデータ処理 70 を包含する全体の処理にかかる時間は、図 3 に示す通り、通常 20 分未満であり、180 分未満、120 分未満、90 分未満、60 分未満、30 分未満、20 分未満、10 分未満、5 分未満又は 1 分未満であり得る。

【0066】

図 2 で示す通り、モジュールはそれぞれ、各種実施及び組合せの 1 つを含み得る。

【0067】

生体試料 22（図 1）を集積チップ 20（図 1 及び図 4）上にロードする。生体試料のローディングは、試料入口ポート 100（図 4）を介して、又は、携帯式システム 10 内の自動ローディング手段を介して、手動で達成され得る。例えば、入口ポート 100 は、ピペットといった手動又は自動操作のローディングデバイスでロードされ得る。又は、野外での使用が意図される実施形態では、入口ポート 100 は、綿棒で直接ロードされ得、又は、針で刺した指を入口ポート 100 に押し付けることで、針で刺した指によって直接ロードされ得る。毛管作用によって血液がその穴から入口ポート 100 内に流れることが引き起こされる。

【0068】

核酸は、核酸抽出制御モジュール 40（図 2 及び 3）の制御のもと、集積チップ 20 の核酸抽出モジュール 25（図 4）で抽出される。例えば、図 2 を参照すると、核酸抽出制御モジュール 40 は、以下に列挙する方法を実施するための適切な手段のいずれか又は生体試料から核酸を抽出するのに適切ないずれかの他の手段を備え得る：化学的抽出（WO 2005/05073691）、超音波処理（WO 1999/9933559）、集積チップ上の微細加工突起物を包含する機械せん断（米国特許第 5,635,358 号及び WO 2006/06029387）、細胞膜を破壊する熱手段（例えば WO 2005/05011967 を参照）、集積チップ上にロードした生体試料に様々な電圧を適用する手段を包含する電気穿孔であって、前記電圧は生体試料の細胞を破壊するのに十分である電気穿孔（米国特許出願公開第 2004/6783647 号）、共有結合でもよい結合で核酸プローブを有していてもよいシリカビーズ（WO 2005/05073691 及び WO 2003/03104774）、又は、共有結合でもよい結合で核酸プローブを有する磁性ビーズ（米国特許出願公開第 2002/6344326 号）。上記の参照は全て、その全体が参照によって組込まれる。好ましくは、磁性ビーズが使用される実施形態では、磁石といった磁性粒子捕捉手段が核酸抽出モジュール 40 に含まれる。

【0069】

1 つの実施形態では、磁性ビーズは、任意で共有結合的に、核酸プローブを付着して有し得る。この実施形態では、小さい電磁石又は磁石を用いて抽出モジュールで磁性ビーズを制御し得る。使用され得る磁性ビーズは、Agencourt Bioscience、Cosmo Bio Co., Ltd.、Invitex GmbH、Polysciences, Inc.、Roche Applied Science、B-Bridge International、Dynal Biotech、Novagen 又は Promega といった販売店から入手可能な市販の磁性ビーズ核酸精製キットのいずれかである。DNA 又は RNA 精製に関する磁性ビーズの使用は、例えば、Caldarelli-Stefano et al., "Use

10

20

30

40

50

of magnetic beads for tissue DNA extraction and IS6110 Mycobacterium tuberculosis PCR”, Mol Pathol. 1999 June; 52(3): 158-160で説明されている。

【0070】

図2Aで示す通り、抽出制御モジュール40は、制御部250、電源252及び電磁石254を含み得る。抽出制御モジュール40からの命令の際に、制御部250は電源252から動力を電磁石254に適用し、磁場（示されない）を抽出モジュール25に適用する。これによって、抽出モジュール25の磁性ビーズ（示されない）は抽出モジュール25の抽出チャンバー（示されない）の内壁に沿ってクラスター化する。制御部250は、電源252の作動を停止することで磁性ビーズを開放し、これによって、電磁石254は磁場の適用をやめる。

10

【0071】

抽出した核酸は、核酸増幅制御モジュール50（図2及び3）の制御のもと、集積チップ20の核酸増幅モジュール27（図4）内で増幅され得る。米国特許第4,683,202号及び同第4,683,195号に開示される従来のPCR技術を包含するいずれかの適切な増幅技術を用いて増幅は達成され得、前記特許の双方はその全体が参照によって本明細書に組込まれる。また、核酸は、米国特許第7,494,791号で教示される技術といった恒温技術を用いて増幅され得、当該特許はその全体が参照によって本明細書に組込まれる。

【0072】

いくつかの実施形態では、核酸増幅は、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を包含する。

20

【0073】

図2を参照すると、核酸増幅制御モジュール50は、核酸増幅（すなわち核酸鋳型のコピーの数を増やす）を実施するための適切な手段のいずれかを備え得る。増幅は、比例又は指数関数的であり得る。1つの実施形態では、モジュール50はウェルベースの核酸増幅のための手段を含む。図2Bで示す通り、そのような手段は、集積チップ20の核酸増幅モジュール27を加熱／冷却する手段201を含み得る。集積チップの核酸増幅モジュールの加熱／冷却のための加熱手段201の例としては、ペルティエデバイス（WO 1998/9850147、その全体が参照によって本明細書に組込まれる）及び薄膜ベースのデバイスが挙げられる。他の実施形態では、集積チップの核酸増幅モジュール（図4、要素25を参照）を加熱する手段は、赤外線加熱手段（WO 1996/9641864、その全体が参照によって本明細書に組込まれる）又はマイクロ波放射加熱手段を含み得る。

30

【0074】

図2Bで示す通り、加熱手段201は、加熱／冷却要素203、温度センサー205、処理部207、動力制御部209及び電源211を含み得る。増幅制御モジュール50からの命令の際に、処理部207は、動力制御部209に電源211からの動力を加熱／冷却要素203に供給するよう指示することで、加熱／冷却を開始する。処理部207は、温度センサー205の手段によって加熱／制御要素203の温度をモニターし、増幅モジュール27に関して所望する温度を維持する必要に応じて、動力制御部209への命令を調節する。

40

【0075】

他の実施形態では、モジュール50（図2及び3）は、流体ベースの核酸増幅（例えば、その全体が参照によって本明細書に組込まれる米国第7,041,481号を参照）の手段を含む。そのような手段は、集積チップの核酸増幅モジュールを通る緩衝液の流れを発生させる流体流発生手段を含み得、前記流体流発生手段は、集積チップの核酸増幅モジュールの温度を制御する温度制御手段と機能的に連結している。

【0076】

他の実施形態では、モジュール50（図2及び3を参照）は、核酸増幅を実行するリア

50

ルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）制御手段のための手段を含む（例えば米国特許第7,315,376号を参照、その全体が参照によって本明細書に組込まれる）。

【0077】

他の実施形態では、モジュール50（図2及び3を参照）は、集積チップの核酸増幅モジュールの内の核酸鎖に制御した張力を適用する手段を備える（図4、要素25を参照）。そのような手段の詳細が、米国特許第7,494,791号で提供され、当該特許はその全体が参照によって本明細書に組込まれる。

【0078】

本明細書で使用される「張力」という語句は、核酸増幅、処理及び／又は検出の文脈で使用される場合、二本鎖核酸の熱サイクル若しくは熱変性、又は、核酸増幅若しくは変性の非熱駆動処理、若しくは、アニーリング若しくはプライマー伸長に対する代替手段を指す。核酸への「張力」の適用は、単に熱エネルギー由来である以外の、物理的な力を核酸鎖に適用する結果である。張力は「精密制御」（本明細書の別の箇所で定義される通り）され得、及び／又は、調節可能なように制御され得、及び／又は、可変であり得る。

【0079】

精密制御した張力は機械的な張力、流体力学的な張力、電磁的な張力、又はこれらの組合せであり得る。さらに、いくつかの実施形態では、核酸鎖に精密制御した張力を適用する手段は、恒温で操作するように構成される。核酸増幅、処理及び検出の文脈において本明細書で使用される「恒温」という語句は、熱サイクルが一切必要でない核酸増幅の方法、及び、好ましくはその全工程が実質的に同一温度で実行され得る増幅の処理を指す。

【0080】

集積チップの核酸増幅モジュール（図4、要素25を参照）内の核酸鎖に対する制御した張力のための手段を使用する実施形態は、従来の（熱サイクル方法）核酸増幅のための手段に比べて重要な利点を有する。これらの利点としては、全体的により優れた正確性、並びに、特に「難」配列（例えば、GCリッチ配列）を増幅する場合、増幅される配列の長さ、反応収率及び反応速度（増幅反応の全体の時間）が挙げられる。他の重要な利点としては、例えば張力の利用を介して校正エキソヌクレアーゼを誘導することによる、より高い増幅効率及び増幅の忠実度を向上する能力が挙げられる（米国特許第7,494,791号、米国特許第8,632,973号及び米国特許出願第14/106,399号の教示を参照し、これら全ての教示全体が、参照によって本明細書に組込まれる）。

【0081】

核酸鎖に制御した張力を適用するための手段を用いる実施形態には、集積チップの核酸増幅モジュール（図4、要素25を参照）内に保持される核酸分子に可変及び制御した量の張力を適用するための機構が含まれる。そのような機構は、その上に核酸分子を固定するための手段を有する第1の表面及び第2の表面を備え得、ここで、前記第1及び第2の表面は互いに動くよう構成される。又は、そのような機構は、その上に核酸分子を固定するための手段を有する少なくとも1つの表面を備え得、デバイスはさらに、前記核酸分子上に制御及び可変の流体の流れを提供する機構をさらに備える。さらに別の実施形態では、そのような機構はその上に核酸分子を固定するための手段を有する少なくとも1つの表面を備え得、前記核酸分子を固定するための手段の間で配分される流体の流れの通路をさらに備える。他の実施形態では、そのような機構は、前記核酸分子上に、層流体の流れに速度勾配を作るように構成される制御された及び可変の流体の流れを提供する機構を備え得る。たまた、そのような機構は、層流体の流れに速度勾配を提供するように構成される流体の流れのチャネル、流体の流れ内のよどみ点、逆伝搬流体の流れ、又は、これらの組合せを備え得る。他の実施形態では、そのような機構は、核酸分子に結合した粒子を操作するよう構成される、一連の光、電気又は磁性マニピュレーター（例えば、光ピンセット、個別で制御可能な磁性ビーズ）を備え得る。集積チップの核酸増幅モジュール（図4、要素25参照）内の核酸の保持のための手段は、核酸増幅の際に得た伸長産物を固定するための複合化基を含む活性化可能プライマーを含み得る。又は、核酸ポリメラーゼは集積チップ20の表面上に固定、又は、そうでなければ保持され得る。

【0082】

増幅核酸は、核酸検出制御モジュール60（図2及び3）の制御のもと、集積チップ20の核酸検出モジュール29（図4）で検出される。

【0083】

様々な実施形態で、モジュール60は、図9Aに示される通り、核酸を検出するための蛍光又は電気光学検出手段950を備え得る。蛍光検出手段950は、発光ダイオード及び／又はレーザーダイオードといった発光体952、光検出器、光電子増倍管（PMT）又は荷電結合デバイス（CCD）といったデータ獲得デバイス954、アバランシェ発光ダイオード、並びに、獲得データを保管及び処理するための処理部956を含み得る。1つの実施形態では、発光体952は、放たれた放射線960で試料を励起し、データ獲得デバイス954が感知する蛍光信号962を生産する。図9Aが示す実施形態では、放たれた放射線960は、透過ジオメトリで検出モジュール29を照射するが、反射及び他のジオメトリも使用されることが理解されるべきである。データ獲得デバイス954は、蛍光信号962を、処理部956が検出及び記録する調節されたデータ信号958に変換する。

10

【0084】

増幅核酸は、その全体が参照によって本明細書に組込まれる米国特許第6,261,431号で開示されるキャピラリー電気泳動を用いて分離及び検出され得る。いくつかの実施形態では、モジュール60は、核酸の分離を実行するためのキャピラリー電気泳動（CE）制御手段を備え得、前記CE制御手段は、蛍光検出手段に機能的に連結される。CE制御手段は、集積チップ20の核酸検出モジュール60の全域に電圧を適用するための高電圧制御部をさらに含み得、前記電圧は、核酸の分離を実行するのに十分である。

20

【0085】

図4を参照すると、1つの実施形態では、CEは検出チャンネル112で実施され、当該チャンネルは適切な緩衝液で満たされ得、及び、中でもアガロース、ヒドロキシプロピルセルロース又はポリアクリルアミドといったふるい分けマトリックスで事前に満たしてもよい。特定の実施形態では、エンドユーザーは使用の際にふるい分けマトリックスで検出チャンネル112（図4）を満たし得る。

【0086】

代替実施形態では、核酸検出制御モジュール60は、Affimetrix, Santa Clara, CAから入手可能なGeneChip（登録商標）マイクロアレイをといったハイブリダイゼーションマイクロアレイをさらに備える。

30

【0087】

1つの実施形態では、核酸検出制御モジュール60は、核酸を検出するための電気化学手段を備える。核酸を検出するための電気化学手段の例は、米国特許出願公開第2008/0081329号で提供され、当該特許出願はその全体が参照によって本明細書に組込まれる。簡潔に、そのような手段は、試験試料の標的基質の存在又は不在を決定する方法を実施する。その手段には、伝導性の表面を有する電極、及び、伝導性の表面に結合され、標的基質に結合可能なプローブを含む。伝導性の表面に結合したプローブは、試験試料に接触し、表面に結合した標的複合体を形成する。表面に結合した標的複合体は、第1の酸化還元複合体をさらに含む。表面に結合したプローブ又は表面に結合した標的複合体は、存在する場合、第2の酸化還元複合体を含む流体培地に接触し、ここで、第1及び第2の酸化還元複合体の一方は、酸化還元反応を行うことが可能な酸化還元遷移金属複合体であり、第1及び第2の酸化還元複合体のもう一方は、前記還元遷移金属複合体の酸化還元反応を触媒可能な酸化還元触媒複合体である。酸化還元遷移金属複合体は、酸化還元触媒複合体の不在下ではいずれかの顕著な量の酸化還元反応を起こさない。酸化還元触媒複合体によって触媒される酸化還元遷移金属複体の酸化還元反応が検出される。

40

【0088】

別の実施形態では、核酸検出制御モジュール60は、核酸を検出するためのインピーダンス測定手段を備える。核酸を検出するためのインピーダンス測定手段の例は、例えば、

50

米国特許第 7, 169, 556 号で説明され、当該特許はその全体が参照によって本明細書に組込まれる。簡潔に、その方法は、第 1 の部分及び第 2 の部分を有する核酸を、オリゴヌクレオチドを付着して有する基質に接触させることを含み、電極の対の間に位置する当該オリゴヌクレオチドは前記核酸の配列の第 1 の部分に相補的な配列を有し、その接触は、基質上のオリゴヌクレオチドと前記核酸のハイブリダイゼーションを可能にするのに有効な条件下で起こる。核酸及びオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションが生じた後、基質に結合した核酸は第 1 の種類の伝導性粒子（例えば、金属ビーズ）と接触し、当該伝導性粒子は電気を伝導し得る材料から成り、1 種類以上のオリゴヌクレオチドを付着して有し、オリゴヌクレオチドの種類の少なくとも 1 つは前記核酸の配列の第 2 の部分に相補的な配列を有し、その接触は、基質上のオリゴヌクレオチドと前記核酸のハイブリダイゼーションを可能にし、伝導性粒子が複合体化した試験基質を形成するのに有効な条件下で起こる。第 2 のハイブリダイゼーションが生じた後、試験基質は、非特異的に結合した伝導性粒子を十分に脱ハイブリダイズ及び除去するのに有効な塩濃度の塩溶液に接触する。ハイブリダイゼーション／脱ハイブリダイゼーションは、特異的に結合した伝導性粒子の存在に起因する、電極間インピーダンスの検出可能な変化をもたらす。

10

20

30

40

50

【0089】

本発明の実施例に従って、抽出、増幅及び検出のための様々な多くの可能技術のいずれか 1 つが組合せて使用され得；又は、実際は、抽出、増幅及び検出のうち 1 つ以上が、抽出、増幅及び検出の組合せから一緒に省略され得る。例えば、図 2 のモジュールシステムでは、抽出モジュール 40 下に示される可能な種類のモジュールのいずれか 1 つが抽出のために使用され得、又は、他の種類の抽出モジュールが使用され得；そのような抽出モジュール（複数可）40 は、増幅モジュール 50 下に示される可能な種類のモジュールのいずれか 1 つ又は別の種類の増幅モジュールと組合せて使用され得；さらに、そのような抽出モジュール（複数可）40 及び増幅モジュール（複数可）50 は、検出モジュール 60 下に示される可能な種類のモジュールのいずれか 1 つ又は別の種類の検出モジュールと組合せて使用され得る。検出する標的によって、そのようなモジュールの異なる組合せが使用され得る。第 1 に、血液、唾液等といった生体試料が分析される生体試料として使用され得；又は、固体試料（例えば、糞便試料）若しくはエアロゾル試料が使用され得る。抽出モジュール 40 では、標的核酸又はタンパク質は残りの生体試料から分離される。次いで増幅が増幅モジュール 50 で起こり得る。別の例では、標的がタンパク質である場合、キャピラリー電気泳動モジュール若しくは図 2 に示される他の検出モジュールのいずれかといった検出モジュール 60、又は、例えば融解曲線分析モジュール、化学発光モジュール、量子ドットモジュール、金ナノ粒子といったナノ粒子を使用するモジュール若しくは放射線の使用に基づいた検出モジュールが挙げられる他の種類の検出モジュールに直接渡され得る。別の例では、分析される最初の生体試料が核酸である場合、抽出モジュール 40 を使用する必要はない可能性があり、試料を検出モジュール 60 に直接送り得る。増幅モジュール 50 に関しては、図 2 に示されるモジュールの種類に加えて、他の使用される可能なモジュールは、Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) モジュール、Helicase-Dependent Amplification (HDA) モジュール、SDA (Strand Displacement Amplification) モジュール又はブリッジ増幅モジュールである。T. Notomi, et al., Nucleic Acids Research, 28, e63 (2000) に記載されるものといった LAMP 技術が用いられ得；Vincent M, Xu Y, Kong H. (2004), "Helicase-dependent isothermal DNA amplification," EMBO Rep 5 (8): 795-800 で記載されるものといった HDA 技術が用いられ得；G. T. Walker, et. al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89, 392-396 (1992) に記載されるものといった SDA 技術が用いられ得；これら全参照の全体が、参照によって本明細書に組込まれる。システムのモジュールは、熱及び恒温増幅モジュール間で取り換え可能であり得；Helicase-Dependent Amplification (HDA)、Strand Displacement Amplification (SDA) といった本明細書で教示される増幅技術のいずれか並びに全て Nanobiosym, Inc. のものである米国特許第 7, 494, 791 号

、同第 8, 632, 973 号及び米国特許出願第 14 / 106, 399 号で教示される技術のいずれかを用い得、これら参照の全体の教示が参照によって本明細書に組込まれる。1つの具体的な実施形態では、携帯式アッセイシステム 10 は、核酸の抽出のために磁性ビーズを使用するよう構成される抽出制御モジュール 40、ペルティエデバイスを使用する熱サイクル方法を使用する増幅制御モジュール 50 及び、キャピラリー電気泳動及び蛍光信号検出を用いて核酸を分離及び検出する検出制御モジュール 60 を備える。

【0090】

本発明の実施形態に従うと、異なる集積チップは単一の移動式デバイスによって分析されることが可能であり得、可能な異なる集積チップはそれぞれ、単一の移動式デバイスが認識及び実行する異なる機能性を実施する。例えば、1つのチップは核酸の分析用に使用され得、別のチップはタンパク質の分析のために同一の移動式デバイスで使用され得る。

【0091】

図 2 で表すモジュールシステムといった、本発明のシステムを通る材料及びデータの一般的な流れの図が図 3 に示される。抽出、増幅及び検出モジュール 40、50、60 は通常、従来の技術を用いる場合の数時間から数週間に比べると、それぞれ約 4 分間で操作する。本発明に従った実施形態では、検出は、試料の分析開始から、2 時間未満、1 時間未満、30 分間未満、1 分間未満又は 1 秒未満で起こり得る。1つの実施形態では、抽出、増幅及び検出モジュール 40、50、60 を収容する集積チップ 20 は通常、約 35 g の重量であり、一方で、検出信号を処理するために使用される特定用途向け集積回路 (ASIC) は、約 25 g の重量であり、カートリッジ全体の重量は約 60 g になる。モジュールは集積チップ上に配置され、携帯式アッセイシステム 10 の対応する制御モジュール (示されない) によって制御される。

【0092】

同様に、いくつかの実施形態では、ペルティエデバイス若しくは薄膜加熱器又は他の温度制御手段を用いて核酸増幅チャンバー 108 (図 4) を加熱及び冷却し得る一方で、熱電対がチャンバー 108 の温度をモニターする。キャピラリー電気泳動処理は、キャピラリー電気泳動に使用されるチャンネル全域に適用される電場の強さ及び持続性を制御する検出制御モジュールによって制御され得る。

【0093】

いくつかの実施形態では、システム 10 (図 1) は、生体試料及び／又は核酸を、集積チップを通して動かすための流体圧発生手段を含み得る。流体圧を、蠕動ポンプ、ピストンポンプ、気圧ポンプ又は他のいずれかの適切な手段によって発生させ得る。あるいは、圧力は、適切な入口ポート、例えば、試料入口ポート 100、試薬追加ポート 108、試料ウェル 120、緩衝液ウェル 116 又は緩衝液廃棄ウェル 114 (図 4) に連結した手動ポンプ注射器を用いてチップ内のマイクロ流体チャンネルに適用され得る。

【0094】

弁 (図 7 並びに 8 A 及び 8 B で示し、以下で考察する弁といった) を制御するための手段がシステム 10 (図 1) 内に組込まれ得る。弁は、異なるモジュール間で、及び、様々な輸送チャンネルに沿って、流体の流れを制御する。あらゆる数の弁技術が用いられ得、受動プラグ弁、機械的に起動する弁、電磁的に起動する弁、磁性流体弁、気圧弁、又は他のいずれか適切な弁が挙げられる。

【0095】

いくつかの実施形態では、システム 10 (図 1) は、生体試料を分析して得たデータを保管、分類、定量化及び伝達のためのデータ処理手段を備える。データ処理手段は、無線データ伝達の手段を含み得る。

【0096】

特定の実施形態では、時間に対する信号強度を分析して生体試料 22 (図 1) に存在する核酸の種の種類及び量の指標を与え得る。例えば、検出された信号を参照試料が作製した信号に対してプロットすることで、同一の病原体は時間軸の同じ時点で信号ピークを作製する (同一分析条件を前提に) ので、ユーザーは、参照試料に存在する病原体が試験試

10

20

30

40

50

料に存在するかどうかを決定することが可能になる。データ処理手段は、ウイルスロード量を算出するためのウイルスロード量算出手段をさらに含む（例えば、曲線下の蛍光信号を示す面積を時間の関数として積分すること）。

【0097】

他の実施形態では、システム10はデータを出力するデータディスプレイ手段をさらに備える。

【0098】

携帯式アッセイシステム10は、電気、化学及び機械的インターフェースを介して、集積チップ20とインターフェースで連結する。クランプ及び／又は留め具がチップを定位位置に十分安定させて固定し、振動によって電極、検出器（光検出器といった）又は加熱器の場所がずれないようにする。増幅制御モジュール40の下、上部、又は上に配置される加熱器（任意でインクジェット冷却器のような冷却要素）（示されない）は、以下の通り、チップの特定の箇所を加熱及び／又は冷却する。同様に、検出制御モジュール60の近くに配置される電極を用いて、以下の通り、分離及びチップを通る流体の流れを制御し得る。チップ20は透明なので、加熱用の赤外線若しくは電磁ビームといった電磁ビーム、又は、蛍光タグ識別用の光学ビームを用いて、チップ20のウェル、チャンバー及びチャネルを探索し得る。

【0099】

集積チップ

以下の説明は集積チップ20（図1及び図4）の具体的な実施形態を指すが、一方で、他のチップの設計が本発明の携帯式アセンブリシステム10（図1）と一緒に使用され得ることが理解される。

【0100】

1つの実施形態では、本発明は、生体試料の迅速な分析のためのシステムと一緒に使用するコンパクト集積チップである。

【0101】

集積チップ20は、ガラス、限定はしないがポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（ウレタン-イミド）、ポリ（テトラフロオールエチレン）、ポリカーボネート、環状オレフィンコポリマー（COC）、ポリアミド、環状オレフィンポリマー（COP）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、PMMAが挙げられる良好な光学的性質を有するいずれかのプラスチック、又は、他のいずれかの適切な材料若しくは材料の組合せから形成され得る。

【0102】

集積チップは、生体試料及び試薬を注入するための少なくとも1つの試料入口ポート；生体試料から核酸を抽出するための抽出チャンバーを少なくとも1つ備える核酸抽出モジュールであって、前記抽出チャンバーが試料入口ポートに少なくとも1つの試料輸送チャネルによって連結している前記核酸抽出モジュール；核酸を増幅するための増幅チャンバーを少なくとも1つ備える核酸増幅モジュールであって、前記核酸増幅チャンバーが抽出チャンバーに少なくとも1つの核酸輸送チャンバーによって連結している前記核酸増幅モジュール；並びに、核酸を分離及び検出するための検出チャネルを少なくとも1つ備える核酸検出モジュールであって、前記検出チャネルが核酸増幅チャンバーに少なくとも1つの増幅産物輸送チャネルによって連結している前記核酸検出モジュールを備える。好ましくは、少なくとも1つの試料入口ポート、少なくとも1つの抽出チャンバー、少なくとも1つの増幅チャンバー及び少なくとも1つの検出チャネルは、スペースの使用を最小限にするように配置される。図2に関連して以上で考察した通り、取り換え可能モジュールが使用され得る。

【0103】

好ましくは、核酸増幅モジュールは、少なくとも1つの核酸輸送チャネルに流体連通した少なくとも1つの試薬追加ポートをさらに含む。特定の実施形態では、核酸検出モジュールは、少なくとも1つの増幅産物輸送チャネルに流体連通した少なくとも1つの試料ウ

エルをさらに備える。いくつかの実施形態では、核酸検出モジュールは、少なくとも1つの検出チャンネルに流体連通した少なくとも1つの試料廃棄ウェル；少なくとも1つの検出チャンネルに流体連通した緩衝液廃棄ウェル；及び、少なくとも1つの検出チャンネルに流体連通した緩衝液ウェルをさらに備える。好ましくは、本発明の集積チップは、少なくとも2つの試料入口ポート；それぞれが少なくとも2つの試料入口ポートのうち1つにそれぞれの試料輸送チャンネルによって連結している、少なくとも2つの核酸抽出チャンバー；それぞれが少なくとも2つの抽出チャンバーのうち1つにそれぞれの核酸輸送チャンネルによって連結している、少なくとも2つの核酸増幅チャンバー；及び、それぞれが各核酸増幅チャンバーにそれぞれの増幅産物輸送チャンネルによって連結している、少なくとも2つの検出チャンネルを含む。

10

【0104】

実施形態では、少なくとも2つの検出チャンネルが交差する。1つの実施形態では、図4で示される通り、検出チャンネル112は直角で交差する。交差の角度は、集積チップ20の通常の一般的な形状、検出チャンネルの数及び集積チップの所望するレイアウトによって、あらゆる角度が選択され得ることが理解される。レイアウトはコンパクトであるのが好ましい。図4を参照すると、検出チャンネル112の交差によって、試料廃棄ウェル118及び緩衝液ウェル116が複数（又は全て）の検出チャンネル112によって共有され得るというコンパクト設計の利点が提供される。さらに、ユーザーが検出チャンネル112に分子ふるい分けをロードし、緩衝液ウェル116で検出チャンネル112を交差させる実施形態は、全ての検出チャンネルを同時にロードする利点を提供する。

20

【0105】

集積チップは、それぞれが各核酸輸送チャンネルに流体連通した少なくとも2つの試薬追加ポート；それぞれが各増幅産物輸送チャンネルに流体連通した少なくとも2つの試料ウェルをさらに備え得る。好ましくは、少なくとも2つの試料ウェルは、さらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される。

【0106】

特定の実施形態では、集積チップは、それぞれが少なくとも2つの検出チャンネルに少なくとも2つの試料廃棄チャンネルによって連結した少なくとも1つの試料廃棄ウェルをさらに備える。好ましくは、少なくとも1つの試料廃棄ウェルは、さらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される。

30

【0107】

他の実施形態では、集積チップは、少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル；及び、少なくとも2つの検出チャンネルに流体連通した緩衝液ウェルをさらに含む。好ましくは、少なくとも1つの緩衝液廃棄ウェル及び緩衝液ウェルはさらなる試薬の追加及び／又は処分の使用のために構成される。

【0108】

1つの実施形態では、緩衝液ウェルは、少なくとも2つの検出チャンネルの交差する点に配置され、ここで、緩衝液ウェルは、前記交差する検出チャンネルに流体連通している。

【0109】

好ましくは、各試料廃棄チャンネルは、少なくとも1つの増幅産物輸送チャンネルの下流で検出チャンネルと連結し、それによって、少なくとも1つの増幅産物輸送チャンネル及び少なくとも1つの増幅産物輸送チャンネルの交差の断面が効果的に増大する（図8A～8C及び以下の説明を参照）。本明細書で使用される「下流」という語句は、核酸が分離の間に検出チャンネルを通過する方向として定義される。

40

【0110】

いくつかの実施形態では、集積チップは、少なくとも1つの核酸抽出チャンバー及び／又は少なくとも1つの試料輸送チャンネルに配置される微細加工突起物（ポスト）をさらに含む。上記の通り、集積チップ上に配置される微細加工突起物は、例えばその全体が参照により本明細書に組込まれる米国特許第5,635,358号及びWO 2006/06029387で説明される通り、生体試料の細胞の機械的せん断のために使用され得る。

50

【0111】

集積チップは、少なくとも1つの検出チャンネル全域で電圧を適用するための少なくとも2つの電極をさらに備え得る。他の実施形態では、集積チップは、動力及び／又は制御信号を、集積チップ内に配置され得る電気で起動する機構に提供するための追加的な電気接点を含み得る。

【0112】

1つの態様では、本発明は、図5並びに図6A及び6Bに示され、さらに詳細が以下で説明される、新規の弁アセンブリである。したがって、1つの実施形態では、本発明はマイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリである。

【0113】

1つの実施形態では、弁アセンブリは、上面と下面との間に形成され、縦方向の軸を有する、流体輸送用のマイクロ流体チャンネル；受動プラグを受け取るための上面にある弁ポート；及び、弁ポートへの挿入用に構成された受動プラグを備える。好ましくは、弁ポートの反対側の下面の部分は、縦方向の軸に沿って均一の深さである。この配置は、部品の配置のための厳密性を除去又は軽減することで、集積チップの製造プロセスを簡潔にする。

【0114】

別の実施形態では、弁アセンブリは、流体輸送用の輸送チャンネル；前記輸送チャンネルに交差する磁性流体チャンネル；双方が磁性流体チャンネルによって連結した第1の磁性流体貯蔵所及び第2の磁性流体貯蔵所；磁性流体貯蔵所のいずれか1つ又は双方にある磁性流体；並びに、磁性流体チャンネルを磁性流体で満たすための永久磁石又は電磁石を備える。磁性流体は通常、液体で懸濁した磁性粒子を含み、粒子と一緒に凝集するのを阻止するために液体に混合した洗剤／界面活性剤をさらに有するコロイド混合物である (Berger, et al. (July 1999). "Preparation and properties of an aqueous ferro fluid". Journal of Chemical Education 76 (7): pp. 943-948)を参照、その全体が参照によって本明細書に組込まれる)。例えば、Ferrotec Corporation, Bedford, NHから入手可能な磁性流体といった、いずれかの市販の磁性流体が使用され得る。

【0115】

さらに別の実施形態では、また、図7A及び7Bを参照すると、本発明は、マイクロ流体デバイスにおける弁アセンブリであって：貯蔵所；貯蔵所に連結した出力末端を有する流体輸送用の流入輸送チャンネル；それぞれが貯蔵所に連結した入力末端を有する流体輸送用の第1及び第2の流出チャンネル；貯蔵所に配置される磁性流体；並びに、貯蔵所の磁性流体の位置を制御する磁石を備える。図7A及び7Bの弁アセンブリの操作の間、貯蔵所内の磁性流体は、流入チャンネルの出力末端；若しくは、第2の流出チャンネルの入力末端ではなく第1の流出チャンネルの入力末端；若しくは、第1の流出チャンネルの入力末端ではなく第2のチャンネルの入力末端のいずれかを閉じ；又は、流入チャンネルの出力末端も、第1及び第2の流出チャンネルの入力末端も閉じないように配置される。

【0116】

図4で示す実施形態では、集積チップ20は、8つの試料領域130を備え、それぞれは核酸抽出モジュール25、核酸増幅モジュール27及び核酸検出モジュール29を備える。チップは、ガラス、アクリル又はいずれかの他の適切な材料から成り得る。通常、チップはおよそ分厚いクレジットカードの大きさである。1つの実施形態では、チップは1〜4インチの長さ、1〜4インチの幅を有し；好ましくは、集積チップ20はおよそ幅2インチ、長さ4インチである。

【0117】

核試料領域130は、1つの試料入口ポート100、1つの抽出チャンバー104、1つの増幅チャンバー108及び1つの検出チャンネル112を含む。各生体試料に関しては、各試料入口ポートから各抽出チャンバー、さらに各増幅チャンバー、そして次いで各検出チャンネルまで、別々の識別可能な経路があることが理解される。このように、試料の相

10

20

30

40

50

互混入が回避され、試料の完全性が確保される。しかし、複数の試料領域によって共有される共通のウェル（例えば、試料廃棄ウェル 118 及び緩衝液ウェル 112）がある。この共有は、集積チップレイアウトに必要なスペースを削減し、また、材料の無駄も削減する。

【0118】

試料領域 130 の大きさが核酸を抽出、増幅及び検出するのに十分であることを前提に、チップはあらゆる数の試料領域（例えば、1、12、24、256、386 又は 512）と一緒に構成され得ることが理解される。適切な参照が可能であることを踏まえ、試料領域 130 を用いて、同一の標的バイオマーカー配列又は病原対に関する複数の異なる試料、複数の異なる病原体又はバイオマーカーに関する 1 つの試料、又は、いずれかの適切な順序又は組合せの試料及び病原体若しくはバイオマーカーを分析し得る。

10

【0119】

生体試料 22（図 1 参照）、抽出、増幅及び検出のために使用される試薬は、図 4 で示す通り、マイクロ流体輸送チャンネル 102 を通って、異なるウェルと反応チャンバーとの間を移動する。具体的な実施形態では、輸送チャンネル 102 は $10 \sim 1000 \mu\text{m} \times 10 \sim 1000 \mu\text{m}$ の断面積、好ましくは $200 \times 100 \mu\text{m}$ の断面積を有し、抽出処理の実施形態で使用される磁性ビーズの流れを収容するのに十分な大きさである。1 つの実施形態では、試料入口ポート 100、試薬入口／出口ポート 108、緩衝液廃棄ウェル 114、緩衝液ウェル 116、試料廃棄ウェル 118 及び試料ウェル 120 といったポート及びウェルは、直径 $0.5 \sim 10.0 \text{ mm}$ 、好ましくは直径 $0.9 \sim 5.0 \text{ mm}$ であり、深さは集積チップ 20 の厚さによって決定される。核酸増幅チャンバー 108 は通常、直径 $0.1 \sim 30.0 \text{ mm}$ 、好ましくは直径 10.0 mm であり、深さ $10 \mu\text{m} \sim 19.0 \text{ mm}$ 、好ましくは深さ 0.5 mm である。核酸抽出チャンバー 104 は長さ $1 \sim 25 \text{ mm}$ 及び幅 $1 \sim 30 \text{ mm}$ 、好ましくは長さ 15 mm 及び幅 10 mm であり得る。キャピラリー電気泳動を使用する集積チップ 20 の核酸検出モジュール 29 は、 $10 \sim 200 \times 10 \sim 200 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $50 \times 10 \mu\text{m}$ の断面積を有する検出チャンネル 112 を有する。

20

【0120】

チャンネル、ポート、ウェル及びチャンバーを通る流体の流れは、弁及び推進手段の組合せによって制御され、これは、試料入口ポート 100 に連結した手動ポンプの注射器であり得る。蠕動ポンプ及びピストンポンプといった他の推進手段も使用され得る。推進手段は、閉じた弁が流体の流れを遮断しない限り、流体をチャンネル及びチャンバーを通るように押し進める。弁は複数の技術のいずれか 1 つを使用し得、手動で起動するプラグ、機械的に起動するプラグ、電磁的に起動するプラグ、磁性流体弁、気圧弁又は他のいずれかの適切な技術が挙げられる。

30

【0121】

例えば、図 5 は、受動プラグ弁 150、弁ポート 151 及び上面 160 及び下面 161 によって形成される輸送チャンネル 102 を備える弁アセンブリ 152 を示す。受動プラグ弁 150 は、弁ポート 151 に挿入されて輸送チャンネル 102 を介した核酸増幅チャンバー 108 内への流体の流れを制御し得る。弁 150 は、手動で挿入され得、又は、機械的に起動され得る。1 つの実施形態では、入口試料ウェル 100、試薬入口／出口ポート 106、試料廃棄ウェル 118、試料ウェル 120、緩衝液廃棄ウェル 114 及び緩衝液ウェル 116 は、受動プラグ弁 150 を受け取るための弁ポート 151 として作動し得る。

40

【0122】

図 6 A 及び 6 B は、磁性流体弁 600 を用いて流体の流れを制御する代替方法を示す。磁性流体は通常、液体で懸濁した磁性粒子を含み、粒子と一緒に凝集するのを阻止するために液体に混合した洗剤／界面活性剤をさらに有するコロイド混合物である（Berger, et al. (July 1999). "Preparation and properties of an aqueous ferrofluid". Journal of Chemical Education 76 (7): pp. 943-948 も参照、その全体が参照によって本明細書に組込まれる）。例えば、Ferrotec Corporation, Bedford, NH から入手可能な磁性流体といった、いずれかの市販の磁性流体が使

50

用され得る。インライン磁性流体弁 600 は、輸送チャンネル 102 を横切って配置される磁性流体チャンネル 601 を備える。磁性流体チャンネル 601 の一方の末端は、磁性流体 602 で満たされた磁性流体貯蔵所 604 で終わり、もう一方の末端は、ごみ貯蔵所 606 で終わる。「開」状態では、磁性流体 602 は磁性流体貯蔵所 604 内に残り、図 6A で示す通り、流体が流体の流れ方向 608 で輸送チャンネル 102 を流れるのを可能にする。磁石 610 をごみ貯蔵所 606 の近くに配置することによって、磁性流体 602 は磁性流体チャンネル 601 を介して引き付けられ、図 6B で示す通り輸送チャンネル 102 を遮断する。

【0123】

図 7A 及び 7B は、磁性流体弁 600 がどのように用いられてマルチポートのチャンバー及びウェル内への又はマルチポートのチャンバー及びウェルからの流体の流れを制御し得るのかを示す。7A 及び 7B が示す実施形態では、流体は入口 704 を介してウェル 702 に入る。少量の磁性流体 602 がウェル 702 内に残る。706a 及び 706b の双方の出口が開いた位置では、図 7A で示す通り、磁性流体 602 はウェル 702 の内部の安定した位置で静止する。図 7A 及び 7B で示すウェル 702 は、1つの入口ポート 702 及び 2つの出口ポート 706a、706b を有し；他の実施形態では、ウェル 702 は、複数の入口及び出口ポート 704、706 を有し得る。

【0124】

流体は入口 704 を介してウェル 702 に入る。流体は、磁性流体 602 の位置によって、出口ポート 706a 又は出口ポート 706b のいずれかを介してウェル 702 を出ることができる。図 7B で示す通り、磁性流体 602 は、磁石 610 を用いて出口 706a を遮断するように配置され得、別の出口 706b を、流体の放出のために開いた状態にする。同様に、出口 706b は、出口 706a が開いている一方で、遮断され得る。入口 704 も遮断され得ることも理解されたい。流体の流れの方向が逆向きになり得ることも理解されたい。1つの実施形態では、異なる流体が、出口 706a 及び 706b を介してウェル 702 に入り得、一方で、入口 704 は流体放出ポートとして役立ち得る。

【0125】

図 4 で示す実施形態をもう一度参照すると、本発明の 1つの実施形態では、ユーザーは、ストレプトアビジン（例えば、Applied Biosystems FMAT（登録商標）Streptavidin Beads、6～8 ミクロン）でコーティングした磁性ビーズを試料領域 130 内にロードする。磁性ビーズは、注射器ポンプ又は他の適切な流体圧発生手段の圧力下で、マイクロ流体輸送チャンネル 102 に沿って、核酸抽出チャンバー 104 へ移動し得る。又は、磁性ビーズは抽出チャンバー 104 内にすでにロードされ得る。次に、ユーザーは、試料入口ポート 100 を介して生体試料 22 を試料領域 130 内にロードする。生体試料 22 がロードされたら、生体試料 22 は同一の輸送チャンネル 102 を通って試料入口ポート 100 から抽出チャンバー 104 を移動する。磁性ビーズ（示されない）はストレプトアビジンコーティングによって生体試料 22 の核酸に付着する。付着プロセスが完全になれば、磁場を抽出チャンバーに適用することで、磁性ビーズ（及び付着した核酸）は磁場の方向に動くことが引き起こされ、生体試料 22 から核酸を抽出する。

【0126】

ユーザーは、試料入口ポートを通して注入される洗浄液（示されない）で抽出チャンバー 104 を流すことで、抽出プロセスを完了する。洗浄液は抽出チャンバー 104 を通って試薬入口／出口ポート 106 に流れ、ここからユーザーは洗浄産物を抽出する。ユーザーは、抽出された核酸が増幅及び検出するのに十分に混合物を含まないようになるまで、洗浄サイクルを繰り返し得る。

【0127】

抽出した核酸が混合物を含まなくなると、核酸増幅チャンバー 108 内まで下流方向で押し出され（例えば、圧力を注射器又はポンプによって適用することで）、ユーザーは次いで核酸増幅チャンバー 108 に、試料入口／出口ポート 106 を介して試薬をロードする。ユーザーは次いで、従来の増幅技術によって増幅を開始する前に、適切な弁を閉じる

ことで、増幅チャンバーを隔離する。熱電気加熱器（示されない）を用いて増幅チャンバー１０８の試薬を加熱及び冷却し得る。１つの実施形態では、試薬としては、プライマー、DNAポリメラーゼ（Taqポリメラーゼといった）、デオキシヌクレオチド三リン酸、緩衝溶液及び二価カチオンが挙げられる。

【０１２８】

核酸が十分に増幅されたら、増幅チャンバー１０８を隔離する弁を開いて、増幅した核酸を、図８Ａで示す通り、輸送チャンネル１０２を介して検出チャンネル１１２に連結した試料ウェル１２０に流す。

【０１２９】

１つの実施形態では、キャピラリー電気泳動を用いて生体試料２２に存在する核酸を検出及び特定する。キャピラリー電気泳動は、検出チャンネル１１２といった短い（約５０μmの長さ）チャンネル内で試験試料と混合した水性緩衝溶液といった、電解質に電流を流すことを含む。電流によって試料は検出チャンネルを下流に移動する；しかし、化合物の泳動速度は、他の変数の中でもとりわけ分子量、電流及びチャンネルの大きさに依存するため、化合物は泳動するにつれて分離する。

【０１３０】

１つの実施形態では、ユーザーは、緩衝液ウェル１１６（図４にも示される）を通して検出チャンネル１１２に電解液を添加し、及び、ふるい分けマトリックスを添加してもよい。緩衝液ウェル１１６が、図４に示される通り複数の検出チャンネル１１６に連結している実施形態では、全検出チャンネルの同時ローディングが達成される。緩衝液ウェル１１６が満たされたら、試料ウェル１２０及び試料廃棄ウェル１１８上又は付近に配置される電極に適用される電場１３０によって、図８Ｂに示される通り、増幅核酸２３が、検出チャンネル１１２を経由して、試料ウェル１２０から試料廃棄１１８へ泳動することが引き起こされる。通常、電場１３０は約４００Vである。抽出された核酸は、試料ウェル１２０及び試料廃棄ウェル１１８を検出チャンネル１１２に連結する輸送チャンネル１０２の交差する点の間で検出チャンネル１１２内に配置される蓄積領域１１３に蓄積する。試料ウェル１２０からの廃棄物は試料廃棄ウェル１１８へ進み続ける。

【０１３１】

図８Ｃは、検出チャンネル１１２全域で、緩衝液ウェル１１６から緩衝液廃棄ウェル１１４へ電場１３１を適用することが、どのように増幅核酸２３試料の分子量に従った種１４０への分離を引き起こすかを示す。通常、強電場１３１は約６kVである。異なる標的バイオマーカー配列又は異なる病原体の単位複製配列は異なる分子量を有するため、異なるバイオマーカー又は病原体は、異なる速度で検出チャンネル１１２を下流に移動する。未知の種は、その速度を同一の検出チャンネル１１４又は同じ強さの電場１３１下での同一検出１１２の既知の参照物（示されない）の速度と比較することで特定され得る。

【０１３２】

図９Ｂは、例示的なキャピラリー電気泳動検出制御モジュール６０を示す。上記の通り、電場１３１は、種１４０を、検出チャンネル１１２を下流に緩衝液廃棄ウェル１１４の方へ引き付ける。種１４０が検出チャンネル１１２を下流に移動する際、１つずつ測定領域１００５を通過し、ここで、種１４０は、レーザービーム１００４又はLED若しくは他の光源によって検査され、標的バイオマーカー配列又は病原体の種類の指標を示し、対応するロードを定量化するように解釈され得る信号を作製する。

【０１３３】

ある実施形態では、蛍光信号１０１０は、分離したロード１４０を、レーザービーム１００４又はLED若しくは他の適切な周波数の光源で照射することで作製される。レーザー１００２は、レーザービーム１００４を作製し、これはミラー１００６を用いて測定領域に方向付けられ得る。又は、レンズを用いて、レーザービーム１００４の焦点を試料に合わせ得る。ビームはまた、レーザーの代わりに発光ダイオード又は他の光源によって作成され得、光ファイバーケーブルを介して連結し得、又は、連結していなくてもよい。様々な光学的な配置が種１４０を検査するのに使用され得ることが理解されるだろう。

【0134】

レーザービーム1004は、分離したロード140を励起し、蛍光ビーム1010を作製し、これは、二色性ビームスプリッター1007でレーザービーム1004から分離される。ある実施形態では、検出器1012は、蛍光ビーム1010の強度に反応して光電流（示されない）を発生させる。光電流は、プロセッサ1014に送られ、これは、検出した蛍光ビーム1010を分析するために用いられ得る。例えば、分析には、検出信号を、出力信号グラフ1020の既知の参照試料の参照信号トレース1021と比較することを含み得、ここで、トレースの一致するピークは、同一のバイオマーカー配列又は病原体の存在を示す。ピーク下の面積を積分すると、各試料に存在するバイオマーカー又は病原体（すなわち、ウイルスのロード量）の相対量の指標を得る。実施形態では、ソフトウェアが標準相関技術を用いて、出力信号グラフ1020を参照信号トレース1021と相関させ、ユーザーによる解釈に適切な出力を出す。

10

【0135】

核酸又はタンパク質検出のためのラボオンチップ

本発明の実施形態は、上記の生物学的アッセイを単一のデバイスで実行することが可能な集積チップを含み、集積マイクロ流体チップ又はラボオンチップとも呼ばれる。集積チップは、次の3つの処理を順次実行するように設計される：（1）生体細胞からの抽出；（2）PCRによる配列特異性核酸増幅；及び（3）分離したDNAの蛍光検出と組合せたキャピラリー電気泳動による増幅DNAのサイズ分離。

【0136】

現在のセクションで考察されるものに類似した集積マイクロ流体チップ又はラボオンチップを、タンパク質検出の使用のために適切に修正した技術と一緒に、タンパク質検出のために用い得ることが理解されるだろう。例えば、タンパク質検出において、1つの実施形態では、増幅を用いない抽出モジュール及び検出モジュールのみが使用され得る。さらに、いくつかの実施形態では、検出モジュールのみが使用され得る。他の実施形態では、抽出及び核酸配列決定及び検出モジュールのみが、増幅モジュールなしで使用され得る。これらのモジュールのいずれか1つが、単独又はそれぞれ組合せて使用され得る。

20

【0137】

1つの実施形態では、本明細書に記載される発明は、生体試料の核酸の迅速な抽出、増幅及び分離のための集積チップである。本発明はさらに、少なくとも1つの集積チップを受け取るハードウェアシステムも含む。集積チップは、機能モジュールに連続して流体連通したマイクロ流体チャネル：核酸抽出モジュール、核酸増幅モジュール及び核酸分離モジュールを含むマイクロ流体デバイスである。

30

【0138】

1つの実施形態では、対象の生体試料を集積チップ上にロードし、核酸を抽出モジュール内で生体試料から抽出する。例えば、生体試料としては、細胞が挙げられ、細胞DNAは細胞から抽出される。抽出処理は、好ましくは、磁性ビーズを用いた核酸の沈殿を利用する。抽出した核酸を次いで流体圧によって核酸増幅モジュールへ輸送し、ここで、核酸を、ポリメラーゼ連鎖反応を用いて増幅する。いくつかの実施形態では、増幅には熱サイクルを利用する。他の実施形態では、増幅は、限定はしないが、全てNanobiosym, Inc.のである米国特許第7,494,791号、米国特許第8,632,973号及び米国特許出願第14/106,399号の教示を包含する増幅の恒温技術を利用し、当該参照の教示は全て、参照によって本明細書に組込まれる。増幅した核酸産物を次いで流体圧によって核酸分離モジュールへ輸送し、ここで、核酸を、キャピラリー電気泳動を利用して分離及び検出する。好ましくは、蛍光性の核酸プライマーを用いて、核酸産物を、蛍光検出を用いて検出する。上記の3つの順次処理は、同一の集積チップ上で起こる。

40

【0139】

抽出、増幅、分離／検出の順次処理は、核酸制御モジュール、核酸増幅制御モジュール及び核酸検出制御モジュールを含むハードウェアシステムによって制御される。好ましくは、モジュールはそれぞれ：（1）磁性ビーズが付着した核酸の沈殿のための磁石の適用

50

、（２）抽出した核酸の増幅の際の熱サイクル、及び、（３）核酸の蛍光補助検出を制御する。

【０１４０】

図１０を参照すると、本発明は、様々な実施形態で、ヘルスケア及び他の産業での進歩を可能にする。以下で詳細に説明される本発明の集積チップ及びハードウェアシステムは、生体防御、環境上の試験、食物媒介病原体の試験、医療サービス、臓器移植、ライフサイエンス調査、産業上の適用、農業、法医学試験、獣医学、及び、公衆緊急事態を包含する公衆衛生適用での生体医学試験における、生体試料の分析のために用いられ得る。

【０１４１】

コンパクト集積チップ設計

図４を再び参照すると、図４は、それぞれが抽出モジュール２５、増幅モジュール２７及び分離モジュール２９を有する試料領域１３０を８つ有する本発明の実施形態に従った集積マイクロ流体チップ２０を図示する。集積チップ２０上で、上記の処理は、閉じたチャンバー、開いたウェル及び相互連結するチャンネルで達成され、当該閉じたチャンバー、開いたウェル及び相互連結するチャンネルの組合せによってマイクロ流体チップが構成される。この集積チップ２０において、複数の試料の分析を収容する多重設計は、各試料が相互混入の可能性が一切ない状態で入力から最終の検出まで別々の試料領域１３０で独立した流体経路を有する構造によって達成される。各試料領域１３０は、１つの試料入口ポート１００、１つの抽出チャンバー１０４、１つの増幅チャンバー１０８及び１つの検出チャンネル１１２を含む。複数の試料領域１３０に共有される共通のウェル（例えば、試料廃棄ウェル１１８及び緩衝液ウェル１１６）がある。この共通のウェルの共有は、集積チップレイアウトに必要なスペースを削減し、また、キャピラリー電気泳動ランニング緩衝液といった材料及び試薬の無駄も削減する。

【０１４２】

図４に示す具体的な実施形態では、４つの試料入力ウェル１００（ローディングポート）がチップの各末端に配置し、したがって、８つの試料を収容する。これらウェル１００は次いで、それぞれ、チャンネル１０２によって、核酸抽出のために指定した閉じた抽出チャンバー１０４のセットに連結する。これら抽出チャンバー１０４は、次に、それぞれ別のセットの開いたウェル（試薬入口／出口ポート１０６）に連結し、抽出アッセイを実施するのに必要な通り、抽出チャンバー１０４を通る流体のフロースルーを可能にする。好ましい実施形態では、チャンネル、ポート、ウェル及びチャンバーを通る流体の流れは、以下の通り、弁及び推進手段の組合せによって制御される。適切な推進手段としては、試料入力ウェル１００に連結した手動のポンプ注射器、ぜん動ポンプ又はピストンポンプが挙げられる。

【０１４３】

試薬入口／出口ポート１０６は次に、増幅用に設計された、別のセットの閉じた増幅チャンバー１０８に連結する。増幅チャンバー１０８はまた、一方の側で試料ウェル１２０に連結し、もう一方の側で試薬入口／出口ポート１０６（それぞれ抽出チャンバー１０４と共有）に連結し、再度、増幅チャンバー１０８を通る流体のフロースルーを可能にする。

【０１４４】

最後に、流体の経路のそれぞれは、独立して個別の分離／検出チャンネル（ＣＥチャンネル）１１２のセットで終わり、ＣＥチャンネル１１２の終点に向かって、蛍光検出の前に電気泳動分離が達成される。電気泳動モジュールはもう一度、オンチップで抽出及び増幅処理に既に供した８つの試料全ての注入及び分離を多重化するように独自に設計される。

【０１４５】

増幅チャンバー１０８の電気泳動側上のウェル１２０は、開いており、ＣＥ試料ウェル１２０として使用される。このように、各試料（又は増幅産物）は、各増幅チャンバー１０８からつながっている別々のＣＥ試料ウェル１２０を有する。しかし、ＣＥアッセイに必要な緩衝液ウェル１１６は、図４で示す通り、試料間（全ての試料が２つの隣接する試

10

20

30

40

50

料経路間かのいずれか)で共有される。この多重設計はまた、高電圧配線の複雑性を軽減し：共通の緩衝液ウェル116に依存することで、1つの電極が複数のチャンネルによって共有され得るので、システムを操作するのに必要な電極がより少数になる。例えば、単一の高電圧(好ましくは、6 kV よりも大きい)の電極を、CE にかかる8つの試料の全てに関して使用され得る。チップ20のCE操作は、共有の緩衝液ウェル116が試料の相互混入の危険性を課さないことを確実にする。ウェル114、116、118及び120のローディング及びローディング除去を含むCE操作並びに電場の適用は、図4及び8A～8Cを参照しながら以下でさらに詳細に考察される。

【0146】

通常、チップ20はおおよそ厚いクレジットカードの大きさである。1つの実施形態では、チップ20は2.5 cm～25 cmの長さ、2.5 cm～15 cmの幅、及び0.1 mm～10 mmの厚さを有し；好ましくは、集積チップ20はおおよそ、幅5 cm、長さ10 cm、厚さ2 mmくらいである。当業者であれば、特定のチップの大きさ及び設計は設計の好みの問題であることを理解するだろう。

【0147】

好ましい実施形態では、チップ20の特徴寸法は、検出(CE)チャンネル112に関しては10～200 μm ×10～200 μm (例えば、50 μm ×20 μm)、及び、他の全チャンネルに関しては10～1000 μm ×10～1000 μm (例えば、200 μm ×100 μm)である。磁性ビーズが通って流れるチャンネルに関しては、チャンネルの寸法は、妨害のない磁性ビーズの流れが確実にできるように選択されることが理解されるだろう。検出(CE)チャンネル112は、長さ10～120 mm(例えば、80 mm)であり得る。より大きな検出CEチャンネル112のサイズはCE分析のためのより大きい電圧を必要とする。輸送チャンネル102、並びに、抽出チャンバー104及び試薬入口／出口ポート106、試薬入口／出口ポート106及び増幅チャンバー108、増幅チャンバー108及び試料ウェル120、試料ウェル120及び検出チャンネル112を連結するチャンネルといった他のチャンネルの大きさは、重要ではない。

【0148】

好ましい実施形態では、緩衝液ウェル116といった円形のウェル及びチャンバーは、直径5～15 mm(例えば、10 mm)、深さ0.05～1 mm(例えば、0.5 mm)である。抽出チャンバー104といった六角形チャンバーは、長さ5～25(例えば、15 mm)(細くなった両末端)、幅5～15 mm(例えば、10 mm)であり得る。この種類の六角形設計は、特にその処理が体積の大きい流体の流れを含むので、抽出チャンバー104において容易な流体の流れを助長する。他の実施形態は、直径0.1～30 mm、深さ0.01～19 mmの円形チャンバー、及び、長さ1～25 mm(細くなった両末端)、幅1～30 mmである六角形チャンバーを収容し得る。

【0149】

入口ウェル100といったアクセスウェル及び入口ポートの好ましい実施形態は、直径0.9～5 mmで、深さはチップ20を作るのに用いられるプラスチックの厚さによって決定される。代替実施形態は、直径0.5～10 mmのアクセスウェルを収容し得る。再度、ウェルの深さは、使用されるプラスチックの厚さによって決定され、通常0.5～2 mmである。

【0150】

コンパクト集積チップの作製

本明細書で記載する目的及び適用のために作製するマイクロ流体チップの実施形態は、プラスチック、ポリマー又は生分解性ポリマーから製造され；したがって、これらチップは、製造のコスト効率がよく、使い捨てデバイスとして使用され得る。使い捨ての態様は、このように、生物学的処理ツールの再利用に関して一般的な問題である、持ち越される混入といった問題が排除の程度まで最小化されることを確実にする。これらのチップはまた、ガラス、シリコン及び他の材料で製造され得る。

【0151】

10

20

30

40

50

これらのチップの製造に関連する製作処理は、シリコン（Si）若しくはガラス若しくはアルミニウム（Al）又はそのような他の材料での構造を微細加工し、所望するマイクロ流体構造を有するマスターを作製することを含む。これは、微細加工Si／ガラス製デバイス上に陰性のマイクロ流体構造を作る。このプロセスは次いで、微細加工Si／ガラス製デバイス上にゴム系の鑄型を成形し、陽性鑄型を形成することを含む。プラスチック製プラーク上のゴム鑄型のホットエンボス加工は、最初のSi／ガラス製微細加工デバイスと同一のマイクロ流体構造を形成する。この処理で、プラスチックプラークが加熱され、陽性ゴム鑄型上に押し出され、プラークが可鍛性になる。この可鍛性によって、プラークのプラスチックはゴム鑄型のパターンに従うようになり、最初のSi／ガラス製微細加工デバイスの陰性構造と同一の陰性構造をプラスチックプラークに作製する。その上に陰性構造がエンボス加工されたプラスチックプラークは最終的に穴を開けて別の未処理のプラスチックプラークに接着され、閉じた流体構造を作製する。

10

【0152】

エンボス加工及び接着に関しては、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（ウレタンイミド）、ポリ（テトラフルオロエチレン）、ポリカーボネート、ポリイミド、環状オレフィンコポリマー（COC）及び環状オレフィンポリマー（COP）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリアクリルアミド、ポリスチレンといったプラスチック材料又は他のそのような材料が、特定の適用が必要とするカスタマイズ次第で、用いられ得る。

【0153】

プラスチックマイクロ流体チップを製造するホットエンボス加工の上記処理によって、使い捨ての使用に適した低コストのデバイスの生産が可能になる。さらに、プラスチック製造は通常非線形コスト比で拡大及び縮小可能なので、これらマイクロ流体デバイスをバッチ処理することで、製造のコストを大きく削減するのも可能である。製造したプラスチックマイクロ流体チップを用いて以下の生物学的アッセイを実施し得る。

20

【0154】

モジュール設計

図4を参照すると、チップ20は、3つのモジュール、すなわち、DNA抽出モジュール25、PCR増幅モジュール27及び、生物学的分析又は診断アッセイに関わる電気泳動分離モジュール29を含む。通常、抽出、増幅及び分離の全体の処理は同一のチップ内で起こり、試料は1つのモジュールから次のモジュールへの流体の流れによって輸送される。

30

【0155】

この統合的なプロセスは、細胞の溶解、核酸への磁性ビーズの結合、核酸が付着したビーズの再懸濁／溶出、抽出した核酸の増幅、及び、増幅した核酸の検出を含む。抽出処理の間、試料はインキュベート及び洗浄されて、抽出チャンバー104で抽出されたDNAを作製する。増幅モジュール27で起こる増幅では、抽出したDNAを増幅マスターミックスと一緒に増幅チャンバー108内にロードする。DNA及び増幅マスターミックスは増幅チャンバー108に密閉され、これを適切な熱プロトコルに従って加熱及び冷却する。プロトコルが完全になると、増幅した試料を順次の分離及び検出のための試料ウェル120に移す。ふるい分けマトリックス／ゲル、緩衝液及び任意で分子の大きさ標準物を適切なCEウェル及び緩衝液ウェル（ウェル114、116、118及び120）内にロードし、第1の電場を適用し、試料が検出（CE）チャンネル112に入るようにする。第2の電場を検出チャンネル112に適用することで試料は種に分離し、当該種は検出領域を超えて伝播し、ここで種に付着した蛍光タグが刺激及び検出され得る。抽出、増幅及び検出はさらに詳細が以下で説明される。

40

【0156】

核酸又はタンパク質抽出モジュール

本セクションで以下の通り考察されるものに類似した抽出モジュールは、タンパク質抽出での使用のために適切に修正した以下の核酸技術と一緒に、タンパク質抽出のために使用され得ることが理解されるだろう。

50

【0157】

この集積チップに組込まれる核酸抽出方法は、磁性ビーズを利用し、ここで、化学的に溶解した細胞の核酸を磁性ビーズで捕捉する。磁性ビーズは、単離されている標的に結合するいずれかの適切なリガンドでコーティングされ得る。コーティングの例としては、ストレプトアビジン（ビオチン標識標的との使用のため）、所望する標的に対する抗体、タンパク質A、タンパク質G、オリゴ-dT（mRNAとの使用のため）が挙げられる。

【0158】

これらビーズは、任意で次に続く、DNAが付着したビーズからの直接的な増幅のためのチャンバー内で保持され得、又は、増幅前にビーズからDNAを溶出することによる。抽出アッセイを実施するために、はじめに、溶解緩衝液及びストレプトアビジンでコーティングした磁性ビーズ（例えば、DynaLink Direct（登録商標）から入手可能、Invitrogenから入手可能、又は、当該技術分野で良く知られるプロトコルに従ってエンドユーザーによって調製される）の組合せを、細胞試料と一緒に混合し、抽出プロセスを以下のプロトコルに従って実施する。抽出プロトコルで使用される緩衝液及びビーズの成分及び規格も以下のプロトコルで詳細に示す。

10

【0159】

図4で示すチャンバー20を包含する、コンパクト集積チップとの使用のための抽出手順のための例示的なプロトコルは：細胞の溶解、核酸への磁性ビーズの結合、核酸が結合したビーズの再懸濁／溶出、及び核酸の検出を含む。試料入力ウェル100（図4参照）を介してオンチップ抽出チャンバーに約0.01～10 µLの細胞試料をロードすることは、ピペット又は注射器を用いて実施され得る。

20

【0160】

次に、磁性ビーズ／溶解液を、その前に分配した細胞試料を含む抽出チャンバー内へ、ウェル100を介してロードする。ビーズ溶液を抽出チャンバーへ分配することで、流れる間に細胞とビーズ溶液の混合が引き起こされる。

【0161】

本明細書で使用される「溶解緩衝液」という語句は、細胞の化合物を分析する実験での使用のために細胞を溶解する目的で使用されるいずれかの緩衝液を指す。通常、溶解緩衝液としては、細胞膜の破壊を引き起こす界面活性剤が挙げられる。そのような界面活性剤の例としては、Triton X-100、NP40又はTween-20が挙げられる。溶解緩衝液の他の成分としては、プロテアーゼ阻害剤、DNA分解酵素；マグネシウム塩、リゾチーム、β-メルカプトエタノールといったジスフィルド還元剤、EDTAといったイオンキレート化剤、及び、アジ化ナトリウムといった保存剤が挙げられ得る。当業者であれば、使用される特定の緩衝液は、出発材料及び分析される標的をもとに決定されることを理解するだろう。

30

【0162】

抽出チャンバー104が満たされると、磁性ビーズのローディングが停止する。満たされた抽出チャンバーを室温で数分間インキュベートし、例えばDNAである標的が磁性ビーズにコーティングしたリガンドと結合するのを可能にする。

【0163】

いくつかの実施形態では、インキュベーションが完了すると、磁石を抽出チャンバー104の下チップ20の抽出チャンバー104（図4）の下に配置（電磁石を使用する場合は係合）する。磁石は磁性ビーズを沈殿させ、細胞残屑が洗い出される際に磁性ビーズが抽出チャンバー104内で保持されるのを可能にする。通常、使用される磁石は、抽出チャンバーで約12,000～13,000ガウスの場合を発揮する。磁石の強度は、ビーズの大きさ、試料の大きさ及び他の要因次第であり、それに従って調節され得ることが理解されるだろう。

40

【0164】

いくつかの実施形態では、磁石がまだ係合した状態で、粗抽出物を抽出チャンバーから洗い出す。洗浄液を前のローディングと同じオンチップのウェル内にロードする。洗浄液

50

の例としては、T r i s / E D T A (T E) 緩衝液、リン酸緩衝液 (N a H ₂ P O ₄ 、 N a C l 、 p H 8) 、又は、当該技術分野で公知の他の標準的な洗浄緩衝液が挙げられる。

【 0 1 6 5 】

いくつかの実施形態では、洗浄工程を、精製される標的（例えば、D N A ）が溶解溶液及び細胞残屑を含まないように十分な回数繰り返し得る。当業者であれば、これを達成するために必要な洗浄サイクルの数を簡単に確認できるだろう。捕捉した標的分子（例えばD N A ）は、当該技術分野では公知の通り、標準的な溶出緩衝液を用いて、抽出チャンバー 1 0 4 で溶出し得る。

【 0 1 6 6 】

抽出チャンバー 1 0 4 を通って流れる溶液は、抽出チャンバーのもう一方の末端上の試薬入口／出口ポート 1 0 6 を通って、ピペット、注射器、ポンプ、又はいずれかの他の適切な手段によって取り除かれる。この廃棄溶液は、試薬入口／出口ポート 1 0 6 を介して定期的に取り除かれる。

【 0 1 6 7 】

D N A / R N A 増幅は、複数の異なる方法で実施され得る。1つの方法は、増幅を阻害しないと知られている磁性ビーズを、ビーズに結合したD N A / R N A と一緒に、増幅マスターミックスに直接添加することを含む。他の実施形態では、D N A / R N A 検出は、例えば核酸配列を直接読み込むことで、増幅することなく直接なされ得る。

【 0 1 6 8 】

本明細書で使用される「マスターミックス」という語句は、ポリメラーゼ（例えば、T a q D N A ポリメラーゼ、逆転写酵素）、塩化マグネシウム、及び試薬緩衝液（例えば、(N H ₄) ₂ S O ₄ 、 T r i s H C l 、 T w e e n - 2 0 、 p H 8 . 8 の水溶液）中のデオキシリボヌクレオチド (d N T P) の混合物を含む溶液を指す。当業者であれば、特定のマスターミックスが、増幅する標的、試験条件及び好ましいポリメラーゼを基に選択されることを理解するだろう。

【 0 1 6 9 】

第2の方法は、ビーズからD N A 又はR N A を溶出し、次いで当該技術分野で公知の、増幅を阻害しない標準的ないずれかの緩衝液中でD N A を再懸濁することを含む。

【 0 1 7 0 】

核酸が結合したビーズを増幅で直接使用する場合、マスターミックスを増幅チャンバー 1 0 8 内にロードする。抽出チャンバー 1 0 4 の下の磁石を次いで脱係合し、磁性ビーズが抽出チャンバーで自由に浮遊できるようにする。磁性ビーズ（及びビーズに結合したD N A ）が抽出チャンバー 1 0 4 から流れ出るのを防ぐために、抽出チャンバー 1 0 4 のいずれかの側のポート 1 0 6 及びウェル 1 2 0 を密閉する。例えば、試薬入口／出口ポート 1 0 6 及びウェル 1 2 0 をプラグ弁で密閉し得、又は、入口／出口ポート 1 0 6 及びウェル 1 2 0 を抽出チャンバー 1 0 4 に連結させるチャンネル 1 0 2 を弾性又は磁性流体弁を用いて密閉し得る。こうして、ビーズは抽出チャンバー 1 0 4 内で自由に移動できるが、抽出チャンバー 1 0 4 から出るのを阻害される。抽出は完了し、チップを増幅にかける準備が整う。

【 0 1 7 1 】

違ったやり方で、D N A が結合したビーズを用いない場合、抽出チャンバーを再懸濁緩衝液で流す。再懸濁緩衝液を、抽出チャンバー 1 0 4 が再び完全に満たされるまで抽出チャンバー 1 0 4 内にロードし、抽出チャンバー 1 0 4 から洗浄緩衝液を移動及びアンロードする。次いで、抽出チャンバー 1 0 4 の下の磁石を脱係合し、ウェル 1 0 0 及び試薬入口／出口ポート 1 0 6 を適切な弁を用いて密閉する。

【 0 1 7 2 】

次に、ペルティエデバイス、又は、増幅のための温度制御方法といった、温度を制御又は調節する手段として通常使用される他の適切な熱源上で、チップを 5 0 ~ 9 0 ° C （例えば 7 0 ° C ）まで加熱する。これによって、磁性ビーズからD N A の溶出が引き起こされる。

。

10

20

30

40

50

【0173】

加熱後、輸送チャンネル102を介した抽出チャンバー104から増幅チャンバー108への流体の輸送を遮断する弁が開く。最後に、抽出されたDNA/RNA/タンパク質が抽出チャンバー104から増幅チャンバー108へ流される。

【0174】

DNA/RNA/タンパク質抽出処理が完了し、磁性ビーズに結合していようがしていないようが、抽出されたDNAは以下で詳細が説明されるオンチップ増幅の準備が整う。増幅又は検出に必要なDNA/RNA溶液の体積（すなわち、DNAの濃度）次第で、溶出したDNA/RNAの一部が抽出チャンバーからアンロードされ得、増幅マスターミックスが添加され得る。

10

【0175】

増幅モジュール

本発明の実施形態に従って、本明細書の他の箇所で考察される通り、増幅モジュールは恒温的であり得、又は、熱的であり得る。同様に、本発明の他の実施形態に従って、本明細書の他の箇所で考察される通り、増幅モジュールは、1サイクルのみの増幅又はDNA/RNA複製又はDNA/RNA配列決定によって置き換えられ得、この処理は恒温的であり得、又は、熱的であり得る。別の実施形態では、増幅は一切実施されない。

【0176】

1つの実施形態では、抽出モジュールからの抽出したDNA/RNA及び増幅マスターミックスを増幅モジュール108で混合する。増幅マスターミックスは、（後述する他の標準試薬を除いて）抽出したDNA/RNAで対象の遺伝子配列（通常その種独自の特徴）を増幅する配列特異性フォワード及びリバースプライマーのセットを含む。

20

【0177】

いくつかの実施形態では、所望する量の増幅マスターミックスを増幅チャンバー108にロードすると、熱サイクルが所望するDNA変性温度（70～100℃）及びプライマーアニーリング温度（40～70℃）で実施される。

【0178】

いくつかの実施形態では、増幅は、正確な温度制御及び例えばプログラムされた温度サイクルプロトコルの手段と一緒に集積チップを配置することで達成される（例えば、例示セクションで説明するE. coli DH10B細胞の特徴を示す700bpのDNA分画の増幅のためのプロトコルを参照）。当業者であれば、試料の出発濃度及び最終増幅産物の所望する濃度に基づいて、サイクルの数を簡単に確認できる。

30

【0179】

他の実施形態では、増幅は、集積チップを、DNA又はRNA分子の精密制御及び例えばプログラムされた張力サイクルプロトコルの手段と一緒に配置することで達成される。

【0180】

1つの実施形態では、増幅は以下で詳細が説明されるハードウェアモジュールを用いて実施される。

【0181】

特定の実施形態では、当業者は上記温度に10℃を足し、各インキュベーション時間にさらに1分間追加するだろう。

40

【0182】

熱又は張力サイクルの完了によって、プライマーで設計される通り、DNA/RNA配列の増幅につながり、次に説明する方法を用いた分析の準備が整う。

【0183】

キャピラリー電気泳動（CE）モジュール

特定の実施形態では、特定のDNA配列の増幅／複製の完了後、複製／増幅されたDNA分子を、図4に示すチップ20の分離モジュール29で、サイズ分離にかけて、次いで、蛍光検出にかける。電気泳動ベース検出は以下のように達成される。

【0184】

50

図 4 を再度参照すると、検出 (C E) チャンネル 1 1 2 にポリアクリルアミドのふり分けマトリックス (本明細書で「ゲル」とも呼ぶ) (例えば、Gene Scan ポリマー、ABI 又はキャピラリー電気泳動での使用に適した自家製ポリアクリルアミド溶液) をロードする。これは、ふり分けマトリックスを、集積チップ 2 0 上の中央の緩衝液ウェル 1 1 6 から 8 つの多重分離モジュール 2 9 全てに同時に分配することで達成される。次に、C E ランニング緩衝液 (キャピラリー電気泳動での使用に適した当業者には公知のいずれかの標準的な緩衝液) を、1 つを除いた C E ウェル全て (すなわち、緩衝液は C E 緩衝液ウェル 1 1 6、C E 緩衝液廃棄ウェル 1 1 4 及び C E 試料廃棄ウェル 1 1 8 にロードされるが、C E 試料ウェル 1 2 0 にはされない) にロードされる。試料を増幅チャンバー 1 0 8 から C E 試料ウェル 1 2 0 内へ圧力で押し出すことで、C E 試料ウェル 1 2 0 に最初

10

【0185】

当業者であれば、異なるゲル媒体が電気泳動分離に使用されることも理解するだろう。例えば、ポリアクリルアミド又はアガロースゲル (例えば、0.1%~20%の異なる濃度) を DNA 及び RNA 分離のために用いられ得る。ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) ポリアクリルアミドゲル又はアガロースゲルはタンパク質分離のために用いられ得る。タンパク質分析では、アクリルアミドの低濃度を用いて高分子量タンパク質を分離し得る (例えば、40~200 kDa に関しては 5%) 一方で、アクリルアミドの高濃度を用いて低分子量タンパク質を分離し得る (例えば、10~40 kDa に関しては 15%)。同様に、アガロースの低濃度は、高分子量核酸 (例えば、1~30 kbp に関しては 0.5%) 分離のために使用し得、及びアガロースの高濃度を用いて低分子量核酸 (例えば、0.1~2 kbp に関しては 1.5%) を分離し得る。

20

【0186】

キャピラリー電気泳動での使用に適した緩衝液の例としては、Tris/ボレート/EDTA (TBE) 緩衝液 (例えば、アガロースマトリックス上で分離される核酸に関して)、Tris/グリシン/SDS (例えば、ポリアクリルアミドゲル上で分離されるタンパク質に関して) が挙げられる。当業者であれば、ランニング緩衝液の選択は分析する標的次第であることを理解するだろう。

【0187】

又は、大きさの標準物も用いて増幅産物の大きさを確認する場合、大きさの標準物 (例えば、Gene Scan TAMRA orr ABI) を増幅産物に添加し得、ランニング緩衝液を一番上にロードし得る。ランニング緩衝液及び増幅した DNA を混合してウェル 1 2 0 内に均質の懸濁液を形成し得る。この場合、DNA の蛍光検出を可能にするために、大きさの標準物 (例えば、VIC、ABI) に類似したフルオロフォアで標識を付けたプライマーは、増幅処理によって予測され得る通り、増幅した DNA の標識付けにつながり得る。

30

【0188】

核酸分離に適したいずれかの分子量標準物が用いられ得る。例としては、QiaGen から入手可能な GelPilot (登録商標) 分子量マーカー、New England Biolabs から入手可能な Molecular Weight Ladder である。

40

【0189】

蛍光的に標識を付けた核酸プライマーは市販 (例えば、Sigma-Aldrich から) されており、又は、公知のプロトコルに従って当業者によって合成され得る (例えば、Prudnikov et. al. Nucleic Acids Res. 1996 November 15; 24(22): 4535-4542 又は http://info.med.yale.edu/genetics/ward/tavi/n_label.html の URL でオンラインで入手可能なプロトコルを参照。これら出版物双方の教示全体が、参照により本明細書に組込まれる)。蛍光標識の例としては、フルオレセイン、6-カルボキシフルオレセイン、5'-テトラクロロフルオレセイン、Texas Red (スルホローダミン 101 酸クロリド)、量子ドット及び蛍光的にタグを付けたナノ粒子が挙げられる。

【0190】

50

図 8 A ～ 8 C は、検出 (C E) チャンネル 1 1 2 で実施される C E 処理を例示する。試薬がウェル 1 1 4、1 1 6、1 1 8 及び 1 2 0 にロードされると、白金電極グリッド (示されない) がチップ 2 0 (図 4) 上まで下がり、電極の端を全ウェル 1 1 4、1 1 6、1 1 8 及び 1 2 0 内に浸す。図 8 B で示す通り、短時間で比較的低い注入電圧 (例えば、約 4 0 0 V) といった電場 1 3 0 を試料ウェル 1 2 0 と試料廃棄ウェル 1 1 8 との間に適用する。これによって、増幅産物 (増幅核酸 2 3) は、試料ウェル 1 2 0 及び試料廃棄ウェル 1 1 6 を連結する輸送チャンネル 1 0 2 及び検出 (C E) チャンネル 1 1 2 の部分に沿って移動する。次に、図 8 C で示す通り、約 6 k V の高電圧といった強電場 1 3 1 を緩衝液ウェル 1 1 6 と緩衝液廃棄ウェル 1 1 4 との間に適用する。これは、輸送チャンネル 1 0 2 及び検出 (C E) チャンネルチャンネル 1 1 2 に捕捉された増幅核酸 2 3 の、これらウェルを連結する経路に沿った移動につながる。

10

【0191】

強電場 1 3 1 の適用は、分子の大きさを基にした D N A 分子の分離を引き起こす。C E チャンネル 1 1 2 における D N A の最初の位置からさらに下流の検出チャンネル 1 1 2 (例えば、D N A 2 3 が緩衝液ウェル 1 1 6 と緩衝液廃棄ウェル 1 1 4 との間で捕捉された点から 7 5 mm のところ) で、蛍光は、レーザー源若しくは L E D 又は種 1 4 0 に付着したフルオロフォアの励起波長と合った波長を伴う他の光源で、適切に照射している分離した種 1 4 0 によって刺激され得る。当業者であれば容易に、選択したフルオロフォアをもとに使用される適切な波長を確認できる。

【0192】

図 1 1 を参照して以下で説明する通り、ハードウェアモジュール 4 0 0 の検出制御モジュール 4 0 6 は、増幅 D N A 又は大きさの標準物にタグ付けした励起したフルオロフォアの蛍光を感知する。

20

【0193】

チップ 2 0 (図 4) の分離モジュール 2 9 は、D N A、R N A 及びタンパク質分析を包含する複数の他の適用のための独立モジュールとして好都合に利用され得る。指定された適用に合わせてチップを作るために、所望するレベルの分析データ (すなわち、分離における高解像度) を取得するために、流れのパラメーターの組合せを操作する必要がある得る。

【0194】

本明細書に記載されるいずれかの実施形態で、検出チャンネル 1 1 2 の長さは数センチメートルから数メートルまで調節し、大きな数の独立分子の分離を収容し得る。これは、分離した分子を解像する能力を向上する。

30

【0195】

同様に、適用した電場 (例えば、電場 1 3 0 及び強電場 1 3 1) はミリボルトから数千ボルトまで変化し、所望するレベルの分画 (D N A / R N A / タンパク質) 分離を達成し得る。これは、分離した分子を解像する能力を向上する。当業者であれば、検出チャンネル 1 1 2 (図 4) の長さ、所望する解像度及び対象の分子をもとに、適用する電場を確認できる。

【0196】

当業者であれば、異なるゲル媒体が電気泳動分離に使用されることも理解するだろう。例えば、ポリアクリルアミド又はアガロースゲル (例えば、0.1% ～ 20% の異なる濃度) を D N A 及び R N A 分離のために用いられ得る。ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) ポリアクリルアミドゲル又はアガロースゲルはタンパク質分離のために用いられ得る。タンパク質分析では、アクリルアミドの低濃度を用いて高分子量タンパク質を分離し得る (例えば、40 ～ 200 k D a に関しては 5%) 一方で、アクリルアミドの高濃度を用いて低分子量タンパク質を分離し得る (例えば、10 ～ 40 k D a に関しては 15%)。同様に、アガロースの低濃度は、高分子量核酸 (例えば、1 ～ 30 k b p に関しては 0.5%) 分離のために使用し得、及びアガロースの高濃度を用いて低分子量核酸 (例えば、0.1 ～ 2 k b p に関しては 1.5%) を分離し得る。

40

50

【0197】

さらに、電気化学検出ストラテジーといった非光学的検出ストラテジーを用い得、分離によって検出される分子を蛍光的に標識付ける必要性を緩和する。

【0198】

キット及び前もってロードした集積チップ

例示的な実施形態では、異なる集積チップを、異なる病原体、疾患及び生物学的試料を分析するために調製し得る。

【0199】

本明細書に記載される集積チップのエンドユーザーは、図10を参照して以上で説明した通り、各箇所でチップ及びハードウェアシステム（後述する）を配置して様々な生体試料を分析し得る。この能力をさらに使用可能にするために、本発明の集積チップは、様々な上記の緩衝液を包含する試薬、分子マーカー、分子量標準物、磁性ビーズ、オリゴヌクレオチド、蛍光染料、CEふるい分けマトリックス等といった成分をさらに備えるキット内に含まれ得る。又は、これら成分の多くは集積チップ上に前もってロードされ得る。

【0200】

図4を参照すると、少なくとも1つの抽出チャンバー104を有する集積チップ20が作製され得、例えば、ストレプトアビジンでコーティングされ得る磁性ビーズを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抽出チャンバー104は、細胞溶解及び核酸抽出（例えば、上記の溶解緩衝液）のための試薬を含み得る。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの抽出チャンバー104は、少なくとも1つの輸送チャンネル102内及び／又は内に配置される微細加工突起物を含み得、当該微細加工突起物は、生体試料の細胞を機械的にせん断及び溶解するのに役立ち得る。少なくとも1つの増幅チャンバー108に、磁性ビーズ、蛍光的に標識付けされていてもよいオリゴヌクレオチド、増幅マスターミックス等を前もってロードし得る。少なくとも1つの検出チャンネル112に、CEふるい分けマトリックス及び／又はランニング緩衝液及び／又は分子量標準物を前もってロードし得る。別の実施形態では、少なくとも1つの検出チャンネル112は、増幅した核酸標的の特定のためのハイブリダイゼーションマイクロアレイを含む。

【0201】

他の実施形態では、本発明の集積チップは、少なくとも1つの検出チャンネル112全域に電圧を適用するための少なくとも2つの電極を含み得る。他の実施形態では、集積チップは、少なくともマイクロ流体チャンネルを通る流体の流れを制御する少なくとも1つの流体制御弁を含み得る。弁は、受動プラグであり得、以下で説明する弁システムのいずれかであり得る。

【0202】

精密制御

本発明に従った実施形態では、ナノスケールでの分子のナノ操作及び精密制御を利用する。分子又は流体システムを超高精度で精密制御することで、本発明に従った実施形態は、ナノ工学によるチップ又は精密工学によるチップ上で高度に制御され調整可能な条件のもと実施される化学及び生化学的反応が生み出す全体の質を劇的に向上し得る。したがって、ナノ技術を利用することで、本発明に従った実施形態は、統合される処理の少なくとも1つの工程を向上させるだけでなく、全体の信号対ノイズ比も劇的に向上し得、流体試料の病原性核酸、バイオマーカー配列又はタンパク質といった生物標的のトレース量を検出する能力を増大し得る。本発明の実施形態に従ったナノ工学によるチップ、及び、本発明の実施形態に従ったプラットフォームデバイスの精密制御要素は、オンチップ反応によって生産される産物内の全体的なガウスの広がりを引き締め、迅速性、正確性、展開性、順応性及び強靱性を包含する複数の重要な性能測定基準にわたって桁違いの向上が可能になる。

【0203】

本発明に従った実施形態は、核酸及びタンパク質の精密又はナノスケール制御を可能にする。ナノスケール又は精密リアクターは、従来より大きい規模のシステムと比較して

10

20

30

40

50

、生体試料の分析を実行するのに必要な時間、コスト、速さ及びインフラにおいて予期しない改善を可能にする。例えば、反応チャンバーで働く電磁場によってというように、張力が核酸に適用され得、これは、2 nmの幅のDNA分子といった核酸が所与の方向に延びることを引き起こし得る。これは、例えばDNAを開くことで、反応が起こる傾向の速度を高める。このように、小規模の分子制御が達成される。そのような小規模での制御は、より大きな信号対ノイズ比、向上した収率の達成を可能にし、反応チャンバーでの平衡化への時間を削減する。様々な力を用いてナノスケールで制御し得、例えば、機械的力、電磁力、及び／又は流体力学的な力、及び、米国特許第7,494,791号で教示される張力の種類の使用であり、当該特許の開示全体が参照により本明細書に組込まれる。

【0204】

本明細書で使用されるパラメーターの「精密制御」という語句は、変わっていない条件下でのパラメーターの繰り返した測定が、精密の範囲内で同じ結果を示すようにパラメーターを制御する能力を指し、さらに、パラメーターをそのような精密の範囲で新しい値のパラメーターに調節する能力を指す。例えば、本発明の実施形態に従うと、生体試料を分析するのに使用される反応の少なくとも1つの工程を管理するパラメーターを、プラス若しくはマイナス10%、プラス若しくはマイナス1%、プラス若しくはマイナス0.1%、プラス若しくはマイナス0.01%、プラス若しくはマイナス0.001%又はプラス若しくはマイナス0.0001%の範囲内になるよう精密制御し得、そのような精密範囲を伴って、新しい値のパラメーターに調節可能であり得る。そのような精密制御を、多数の方法で実施し得、例えば、制御された流体の流れを利用すること、又は、張力を適用することが挙げられ、また、タンパク質及び核酸の双方に関する精密制御が包含される。

【0205】

本明細書で使用される場合、核酸又はタンパク質に張力を適用することは、核酸又はタンパク質を伸ばす又は伸長する傾向である、核酸又はタンパク質へ力を直接的に又は間接的に適用することが含まれる。例として、張力は、核酸又はタンパク質分子そのものに作用していようと、及び／又は、核酸又はタンパク質に結合している表面、基質若しくは粒子等に作用していようと、機械的な張力の直接的な適用、流体の流れにおける流体力学的ストレス、又は、電磁場によって核酸又はタンパク質に適用され得る。

【0206】

本発明の実施形態に従うと、核酸を伸ばす傾向にある張力は、少なくとも1つのサイクルで適用され得る。さらに、核酸を伸ばす傾向にある張力は適用され得、及び、核酸増幅方法における次の工程(a)～(e)の各サイクルの間に変化してもよい：

- (a) 一本鎖核酸の1つ以上の鑄型鎖を、1つ以上の鑄型鎖の一部分と相補的である1つ以上のオリゴヌクレオチドプライマーに接触させること；
- (b) 1つ以上のプライマーの少なくとも1つのプライマーを、プライマーと相補的である1つ以上の鑄型鎖の前記部分にアニーリングすること；
- (c) 1つ以上の鑄型鎖を核酸ポリメラーゼ及び少なくとも4つの異なるクレオシド三リン酸と接触させること；
- (d) 少なくとも1つのアニールしたプライマーを核酸ポリメラーゼによって伸長させ、それによって1つ以上の鑄型鎖に結合した1つ以上伸長産物を形成すること；
- (e) 1つ以上の鑄型鎖由来の1つ以上の伸長産物を分離すること；並びに、
- (f) 工程(a)、(b)、(c)、(d)及び(e)を繰り返して核酸を増幅することであって、

ここで、工程(e)の1つ以上の伸長産物のうち少なくとも1つを工程(a)～(e)の次のサイクルで鑄型鎖として使用し、

ここで、最後のサイクルでは、工程(e)はあってもなくてもよい。

【0207】

さらに、工程(b)又は(d)の少なくとも1つのサイクルは、核酸を伸ばす傾向にある張力を1つ以上の鑄型鎖に適用することを含む。いくつかのバージョンでは、処理は恒温で実施され得る。

【0208】

本発明の実施形態に従うと、精密制御は、例えばWong et al., "Deformation of DNA molecules by hydrodynamic focusing," J. Fluid Mech., 2003, vol. 497, pp. 55-65, Cambridge University Pressで教示されるものといった流体力学的絞り込みを用いて；及び／又は、Liphardt et al., "Reversible Unfolding of Single RNA Molecules by Mechanical Force," Science, 2001, vol. 292, pp. 733-737, American Society for the Advancement of Scienceが教示する技術を用いるといった機械的力を用いて、達成され得；双方の参照の教示は全体が参照により本明細書に組込まれる。他の技術が使用される。

10

【0209】

精密制御のレベルは、例えばDNAが直径2 nmでタンパク質が直径10 nmであり得るならば、ナノメートルの規模であり得る。本発明の実施形態に従うと、分子の移動位置 (translational position) 又は回転方向の制御は、100 nm未満、10 nm未満、又は1 nm未満内に達成され得る。さらに、反応チャンバーそのもの、一番大きな寸法で、10 mm未満、1 mm未満、100 ミクロン未満、10 ミクロン未満、1 ミクロン未満、100 nm未満、10 nm未満又は1 nm未満といった小規模であり得る。さらに、温度、圧力、拡散率、張力、化学濃度、塩濃度、酵素濃度又は反応を調節又は管理する他のパラメーターが、しっかりと制御された範囲内で変化し得、例えば、プラス若しくはマイナス10%、プラス若しくはマイナス1%、プラス若しくはマイナス0.1%、プラス若しくはマイナス0.01%、プラス若しくはマイナス0.001%又はプラス若しくはマイナス0.0001%である。

20

【0210】

本明細書で使用される場合、システムがパラメーターの精密制御を実施するように「構成」されている場合、そのようなパラメーターの制御は、例えば、本発明の実施形態に従った移動式デバイスのコンピュータープロセッサの制御のもとで実行される1つ以上のソフトウェア又はハードウェアモジュールを用いて実施され得る。コンピュータープロセッサは、制御される1つ以上のパラメーターの値に対応するデジタルでコードされた信号を受け取り、制御されるこれらパラメーターの閉ループ制御を実施するよう特別にプログラムされた1つ以上制御モジュールを含み得る。例えば、制御モジュールは、パラメーターの値を受け取って、パラメーターの値をもとに、分析される分子に適用される1つ以上の力又は他の条件を調節し得る（例えば、張力の適用を用いること）。制御モジュールが実行する調節の結果、パラメーターは変化し、したがって閉じたフィードバックループが形成され得、その下で制御モジュールは制御される1つ以上のパラメーターの閉ループ制御を実施する。1つ以上の他のコンピューターモジュールからデジタルでコードされた信号を受け取るのに加え、制御モジュールは、制御されるパラメーターの値を感知する1つ以上のセンサーから、1つ以上のセンサー入力を受け取り得；例えば、温度又は圧力センサーが制御モジュールに温度又は圧力センサー入力を提供し得る。

30

【0211】

ハードウェアシステム

上記の通り、生物学的アッセイを有するコンパクト集積チップは使い捨てが意図される。本発明はまた、機械、電気及び電子デバイス並びにこれらデバイスを制御するためのコンピューター読み込み可能命令を備えるハードウェアシステムを含む。当業者は、そのようなハードウェアシステムが、上記生物学的処理モジュール（例えば、核酸抽出、熱又は恒温増幅、レーザーベース蛍光検出及びCE分離）を利用する、様々な設計のチップを収容するように構成され得ることを理解するだろう。

40

【0212】

図11は、本発明に含まれるハードウェアシステム400のブロック図である。ハードウェアシステム400の構成の詳細は、図14を参照しながら以下でさらに説明される。

【0213】

50

図 1 1 を参照すると、チップ 2 0 (使い捨てであり得る) は、通常、マイクロプロセッサ／コンピューターインターフェース 4 0 8 によって制御されるハードウェアモジュール 4 0 0 に挿入される。図 1 1 で示す通り、ハードウェアモジュール 4 0 0 は、抽出制御モジュール 4 0 2、増幅制御モジュール 4 0 4 及び検出制御モジュール 4 0 6 を有する。中央で制御されるハードウェアモジュール 4 0 0 は、チップ 2 0 上で順次続く処理に順応するように操作され得、又は、モジュール 4 0 2、4 0 4 及び 4 0 6 はそれぞれ、いずれか 1 つ又は 2 つのモジュールの組合せの操作を実行するように制御され得る。各ハードウェアモジュール 4 0 0 のそれぞれ特徴は、以下の通りである。

【 0 2 1 4 】

マイクロプロセッサ／コンピューターインターフェース 4 0 8 手段は、例えば、本明細書で教示されるいずれかといった適切なコンピューター、及び、本明細書で教示されるいずれかといった従来のコンピューター要素を備え得；並びに、本明細書で教示されるいずれかといったオペレーティングを保管する R A M 及び検出核酸に関わる信号処理に適切なソフトウェアを含み得る。

【 0 2 1 5 】

抽出制御モジュール

再度図 1 1 を参照すると、必要に応じて、抽出モジュール 4 0 2 において 1 2 , 0 0 0 ~ 1 3 , 0 0 0 ガウスの磁石又は電磁石が抽出チャンバー (図 4 で示すチャンバー 1 0 4) の下又は上に付加される。磁場の適用は、たった 1 秒から数十分の間で制御され、プロトコルが所望する通り磁性ビーズの凝集及び保持を可能にし得る。抽出プロトコルで説明する通り、所望する場合は、熱を用いてビーズから D N A を溶出し得る。したがって、磁場の適用に加え、増幅の間に、いずれかの適切な長さの時間の間約 5 0 ~ 9 0 ° C の熱を適用することは、次に説明される増幅モジュール 7 0 4 で用いる同一の熱モジュールを用いて、ハードウェアシステム 4 0 0 によって達成され得る。

【 0 2 1 6 】

増幅制御モジュール

図 1 1 では、増幅モジュール 4 0 4 の温度は、熱サイクルに関して、約 4 0 ~ 9 5 ° C の間で循環する。これは、ペルティエデバイス又は増幅のために使用され得るいずれかの他の適切な加熱／冷却デバイスを用いて達成される。所望する時間間隔及び繰り返すサイクルに関して、最大 3 つの熱サイクルの温度によって、D N A 変性 (7 0 ~ 1 0 0 ° C)、プライマーアニーリング (約 4 0 ~ 8 0 ° C) 及び伸長温度 (5 0 ~ 9 0 ° C) の処理を可能にし、指数関数的な D N A 増幅を作製する。チップ 2 0 上の指定された増幅チャンバーは、温度サイクルが可能なペルティエデバイスの上に配置される。

【 0 2 1 7 】

図 1 2 は、増幅制御モジュール 4 0 4 (図 1 1) で使用されるペルティエデバイス 5 5 0 の例示的な実施形態のブロック図を示す。コンピューターインターフェース 4 0 8 は、熱制御部 5 6 2 に対してデジタル比例／積分／微分 (P / I / D) フィードバック制御を実行するマイクロプロセッサ 5 5 6 を制御する。デジタル－アナログ (D / A) コンバーター 5 5 8 は、マイクロプロセッサ 5 5 6 からのデジタル値を、熱サイクル部 5 6 2 に連結した電源 5 6 0 に適用されるアナログの電圧又は電流に翻訳する。アナログの電圧又は電流の調節は、電源 5 6 0 の出力を変化させ、これは、次に、熱サイクル部 5 6 2 の温度を変化させる。チップ (示されない) は熱サイクル部 5 6 2 に連結しているため、熱サイクル部 5 6 2 での温度の変化は、それに応じてチップを加熱又は冷却する。温度センサー 5 5 4 は、チップ及び／又は熱サイクル部 5 6 2 の温度をモニターし、アナログの電圧といったアナログ信号パラメーターを、アナログ－デジタル (A / D) コンバーター 5 5 2 に提供する。A / D コンバーター 5 5 2 は、アナログ信号パラメーターを、マイクロプロセッサ 5 5 6 による使用に適したデジタル値の信号へ翻訳する。

【 0 2 1 8 】

検出制御モジュール

図 1 3 は、本発明のシステムに従った検出制御モジュール 4 0 6 のブロック図である。

増幅したDNA、又は、いくつかの実施形態では分離したタンパク質の検出のために、高電圧電気泳動と組合せたレーザー誘導蛍光を利用する。検出制御モジュール406は、プログラム可能な高電圧源620を用いて、チップ20上の指定したチャンネルに沿った電極622を介して必要な電圧信号(400V~10kV)を与える。電子機器及びチップを収容する囲い(示されない)が閉じず安定しない場合は高電圧源620をシャットダウンする安全性特徴が組込まれている。

【0219】

所望する波長及び適切なフィルター配置(示されない)を有するレーザー源602は、レンズ606を介してチップ20の選択した部分を照射する。照射によってDNA又はタンパク質に結合したフルオロフォアが励起され、発蛍光団がレーザー波とは異なる波長で放射線(示されない)を放つことが引き起こされる。フィルターはレーザー光を遮断し、放たれた放射線を伝達し、これは、レンズ607で回収される。レンズ607は光電子増倍管、アバランシェ発光ダイオード、荷電結合デバイス又は他の適切な検出器といった検出器608上にろ過された放射線の焦点を合わせる。検出器は、光電流といった、信号増幅回路610によって増幅された(及び必要に応じてろ過された)信号を放つ。コンピューター408は、増幅信号を記録及び処理し;また、コンピューター408を用いて、以下の通り、ソフトウェアインターフェースで、高電圧源620及びレーザー602を制御し得る。当業者は、光学的な要素の代替配置を用いてDNAに結合した蛍光マーカーを調べ得ることを理解するだろう。

【0220】

ハードウェアシステム400の詳細な構造

図14は、本発明の実施形態に従ったハードウェアシステム400のブロック図である。ホルダー752は、図4のチップ20といったコンパクト集積チップ(示されない)を溝758に収容する。チップは調節可能なクランプ又は他のいずれかの適切な支持手段を用いてホルダー752内に固定され得る。加熱器562(図12のペルティエアセンブリ562)及び磁石756は、ホルダー752で保持されるチップの適切な部分の隣になるように、ホルダー752の下に配置される。好ましい実施形態では、加熱器562及び磁石756を動かして異なる大きさ又は構成のチップを収容し得る。

【0221】

カバー754は、ホルダー752の溝758内に保持されるチップの上に、ヒンジ又は他の適切な機構で配置され得る。カバー754をチップの上に配置することによって、電極776がチップの適切なウェル(例えば、図4のチップ20のCEウェル114、116、118及び120)に挿入される。コンピューター408が制御する高電圧源620に連結している電極776は、異なる強度の電場(例えば、400~6000V)を、図4及び8A~8Cに示されるCEチャンネル112といった、チップの対応する部分全域に適用し得る。

【0222】

ハードウェアシステム400はまた、図13に示すものに類似した検出システムを含む。レーザー602は、ビームスプリッター766並びに2つの鏡781及び783に反射するレーザービーム760(実線)を生産し、図4及び8A~8Cに示す検出チャンネル112といった蛍光的にタグ付けした核酸を含むチップの部分を照射する。レーザービーム760によって照射されると、蛍光タグは蛍光放射線を放つ。この蛍光放射線の一部分は、レーザービーム760の経路に沿って伝播する蛍光ビーム762(点線)を形成するが、反対方向に形成する。蛍光ビーム762の一部分はビームスプリッター766を通して伝播し、蛍光波長と異なる波長の光をろ過するフィルター764を通して伝播する。ろ過された蛍光ビーム762は、光電流といった対応する信号を増幅器778に伝達する検出器608(例えば、光電子増倍管、アバランシェ発光ダイオード、荷電結合デバイス、直線アレイ又は他の適切な検出器)を照射する。増幅器778は検出器608からの信号を増幅し、蛍光測定に関連する結果を記録、処理及び表示できるコンピューター408に伝達する。

【0223】

ソフトウェアインターフェース

いくつかの本発明の実施形態は、それぞれグラフィカルユーザーインターフェース（GUI）を用いる3つの生物学的ハードウェアモジュール（すなわち、図11に示し、前述したハードウェアシステム400の抽出制御モジュール402、増幅制御モジュール404及び検出制御モジュール406）をそれぞれ制御するように構成されるソフトウェアモジュールを含む。

【0224】

GUIによって、ユーザーはユーザー入力又は前もってプログラムされた磁場の開始を通して抽出モジュールを制御するのが可能になる。いくつかの実施形態では、磁場は、上記のプロトコルが指示する通り、指定された時間間隔の間、非連続的に適用され得る。また、GUIによって、ユーザーは、指定された時間の間、温度適用を特定するのも可能になる。

【0225】

GUIによって、ユーザーはユーザー指定の温度（通常は、上記の通り、3つの異なる温度）及び各温度に関して滞在時間間隔を設定することが可能になる。ユーザーはまた、上記の入力温度及び時間パラメーターを繰り返し、所望する数の熱サイクルを指定することもできる。GUIによって、ユーザーはハードウェアセットアップからチップ／試料温度のマイクロプロセッサ／コンピューターデータ獲得を設定でき；結果として得られたデータは、リアルタイムで温度に対して時間を比べたグラフに表示され得る。

【0226】

さらに、GUIは、ユーザーに、（1）高電圧信号の適用のために構成するいずれかの電極の対を選択及び電力を付加する能力；（2）ユーザーが所望する通りに、所与の時間間隔の間、上記選択を順々に指定する能力；（3）電力が付加された電極の対のいずれかの全域に適用した電圧をモニターしたフィードバックを取得及びこのデータを時間の関数としてグラフで表す能力；（4）電力が付加された電極の対のいずれかの電流をモニターしたフィードバックを取得及びこのデータを時間の関数としてグラフで表す能力；（5）獲得した蛍光信号を時間の機能としてグラフで表す能力；及び、（6）蛍光信号（ピーク／強度）をサイズ標準信号から特定／識別する能力を与える。これらの特徴を用いて、増幅を確認し、DNAに配列の存在（又は不在）を特定し得る。

【0227】

本発明のハードウェアシステム及びコンピューター読み込み可能命令はまた、本明細書に記載される集積チップを用いて生体試料を分析することで取得されるデータと複数のゲノムプロファイルを保管するゲノムデータベースの比較を容易にする。

【0228】

マイクロ流体弁

マイクロ流体弁及びポンプは通常、制御された流れを達成するために、及び、流体及び蒸気をチップ内に保持するために、図5のチップ20（1つの実施形態では、図4のチップ20であり得る）といったチップ内で使用される。

【0229】

例えば、図4を参照すると、ゴム製プラグが本発明のいくつかの実施形態で弁として使用され得る。そのようなゴム製プラグは、核酸の抽出の間に、例えば、チップ20の試料入力ウェル100及び試薬入口／出口ポート106内に挿入され、抽出チャンバー104を密閉する。同様に、増幅の間、増幅チャンバー108は、ゴム製プラグを試薬入口／出口ポート106及び試料ウェル120内に挿入することで密閉され得る。

【0230】

他の実施形態では、様々な弁システムが用いられ得る。そのようなシステムは、本明細書の他の箇所で説明され、例えば、図5、6A～6B及び7A～7Bを参照のこと。

【0231】

集積マイクロ流体チップのさらに別の実施形態は、その例が図15A及び15Bに示さ

10

20

30

40

50

れる「弾性弁」と呼ばれる弁技術を含む。図15A及び15Bで示す通り、弾性弁1100は、医療の外科手術で使用されるカテーテルに類似した、膨張可能弾性被包性膜1110を使用する。流体経路は、上部チップ基板1104と下部基板1106との間に形成されるチャンネル1102を含む。膜1110の膨張又は作動は、図15A及び15Bで示す通り、膜1110に連結した入口空気管1112で達成され得る（すなわち、膜1110は、気圧で作動及び制御される）。収縮した膜1110を、図15Aで示すように開いたポート1108に配置する場合、チャンネル1102を横切る流体の流れ1114が可能である。しかし、図15Bに示す通り、弾性弁が空気1116によって膨張している場合、拡大して開いたポート1108を密閉し、したがって、チャンネル1102の開いたポート1108を横切る流体の流れ1114を制限する。集積チップでは、一連のそのような弁1100を使用し、必要に応じた流れの制御を達成し得る。

10

【0232】

別の操作の構成では、上記弾性弁を、挿入又は外部インターフェースで操作するよりも、チップ内に埋め込み、より高いレベルの自動化を達成し得る。そのような構成の例としては、弾性膜が、流体制御を必要とするいずれかのチャンネルに沿って、チップの2層の間に挟まれる製作処理を含むだろう。弾性膜弁を作動するよう使用される入口空気管もチップ内に埋め込み、外部の空気圧ライン接続のためにチップの外周に持ってくる。埋め込まれた、及び、外部の弁及びポンプシステムの双方を効果的に用いて、ナノリットルから数ミリリットルに及ぶ体積を弁／ポンプを使って調節し得る。

【0233】

図16A～16Fは、図15A及び15Bで示す弾性弁1100といった一連の弾性弁を含み、寄生ポンプ（parasitic pump）のものに類似したポンプ操作が可能のように構成された弾性弁アセンブリ1200を示す。弾性弁アセンブリ1200は、流体がロードされ、チャンネル1206aを介して閉じたチャンバー1208に連結している開いたウェル1202aを含む。閉じたチャンバー1208は、第2のチャンネル1206bを介して第2の開いたウェル1202bに連結している。弾性膜1204a及び1204bは、上記の原則に従って、それぞれチャンネル1206a及び1206bの流体の流れを制御する。閉じたチャンバー1208に配置される第3の弾性膜1204cは、流体が閉じたチャンバー1208に出入りするかどうかを制御する。弾性膜1204a～1204cにそれぞれ連結している気圧入口管1212a～1212cは、膜1204a～1204cが膨張及び収縮するのを可能にする。

20

【0234】

図16A～16Fに示す通り、3つの膜1204a～1204cを順次膨張及び収縮させることで、流体を開いたウェル1202aから閉じたチャンバー1208へ引き寄せ得る。第1に、図16Aに示す通り、流体を開いたウェル1202a内にロードする。弾性膜1204a～1204cを次いで、図16B～16Dに示す通り順々に膨張する。3つの膜1204a～1204cを全て膨張させたら、チャンネル1206aの膜1204aを収縮させ、流体を開いたウェル1202aからチャンネル1206aへ引き寄せる吸引力を作る。閉じたチャンバー1208で膜1204cを収縮させると、さらに吸引力を作り、チャンネル1206aから閉じたチャンバー1208内へ流体を引き寄せる。流体はまた、類似した膜1204a～cの順次操作によって、閉じたチャンバー1208から開いたウェル1202a及び1202bのいずれかへアンロードされ得る。

30

40

【0235】

システム及び集積チップを使用する方法

本発明に従った実施形態では、検出信号を分析し、その結果を無線ネットワークを介して比較及び供給する携帯式システムと組合せてコンパクト集積チップを用いる、核酸を抽出、任意で増幅及び検出する携帯式システムが提供される。携帯式のチップベースの診断デバイスは、生体試料のDNA／RNAシグナチャーの迅速及び正確な検出のために使用され得る。携帯式デバイスを、個別化及び授動ナノ医療又はコンパニオン診断のためのプラットフォームとして、又は、能率を改善、毒性を低下並びに臨床試験及び新規薬剤の規

50

制認可をはやめる手助けするためのツールとして使用され得る。

【0236】

1つの実施形態では、システムを、個別化医療を実施する方法で使用され得る。広義では、個別化医療では遺伝子学を用いて、理想の結果のために理想の用量の理想の薬剤を理想の患者に提供する。本発明に従った実施形態では、携帯式アッセイシステムを用いて試料の核酸を抽出、増幅及び検出し、特に、核酸を基にした個別化バイオマーカーを検出する。システムは次いで、検出した個別化バイオマーカーをもとに、カスタマイズした医薬の送達に適した投与量及び／又は薬剤の組合せを決定し得る。標的薬剤及びコンパニオン診断を提供し得る。さらに、システムを用いて、ある人が薬剤治療に反応するかどうかを決定し得る。また、システムを用いて、患者を階層化するのを促し、薬剤安全性及び能率を高め得、並びに、投薬及び治療レジメンを最適化するのを促し得る。さらに、システムを人のモニターのために用い得、例えば、異なる時間で取得した人のバイオ試料で見つかる核酸の量をモニターすることによってである。そのようなモニタリングを用いて、例えば、患者の治療の進行を追ったり、又は、人の疾患をモニターし得る。例えば、糖尿病及び他の慢性疾患を、例えば炎症マーカーといったDNA/RNAマーカーを介して診断、分類又はモニターし得る。例えば、個別化ゲノムプロファイルを決定することには、糖尿病の型又は亜型を示す核酸を検出することが含まれ得る。

10

【0237】

別の実施形態では、本発明の実施形態に従った携帯式システムを用いて、実験群を濃縮することで、規制の臨床試験を小さくし、コストを下げる手助けをし得る。サブセット遺伝子群で試験を個別化すると、治療効果を劇的に高め得、及び、承認処理を短くし得る。結果の薬剤及びコンパニオン診断の組合せは、標的遺伝子群にとってさらなる価値を有する。

20

【0238】

別の実施形態では、本発明に従った携帯式システムは、例えば化粧品、薬用化粧品の分野及びスキンケア適用の分野で、個別化ケアを提供するために使用され得る。例えば、携帯式アッセイシステムを用いて、試料の核酸の抽出、増幅及び検出し得；特に、核酸をもとに個別化したバイオマーカーを検出し得る。システムは次いで、個別化バイオマーカーをもとに、送達する個別ケア製品の種類、量又は組合せを決定し得る。例えば、システムは、個別化美容バイオマーカーをもとに、化粧品の選択及び送達のために使用され得る。1つの例では、皮膚のタイプは、個別化バイオマーカーをもとに決定し、次いでこれを用いて、人に送達する美容製品の種類、量又は組合せを決定し得る。移動式デバイスを用いて、リアルタイムで、キーバイオマーカー（例えば、DNA又はRNAベースであり得る）の存在を測定及び定量化し得る。配列バイオマーカー（例えば、年齢に関連した座、特定の老化遺伝子又は遺伝子発現パターン、皮膚の質といった美容バイオマーカー）を、皮膚製品に対して測定し得る。本発明の実施形態に従った携帯式システムを用いて、個人の遺伝子型をそのような配列バイオマーカーと相関させ得る。集積チップを美容バイオメトリックスのために標的遺伝子のライブラリーに従うようカスタマイズし得る。個人の美容バイオメトリックスは、本発明の実施形態に従った携帯式システムを介してリアルタイムで個人の美容バイオメトリックスを定量化することで測定され得る。次いで、これらのバイオマーカーが、時間の経過と共に、対応する美容製品の使用と一緒にどのように変化するかを見ることができる。実施形態はまた、ウェルネス上の適用のため、ニュートリゲノミックスのため、並びに、例えばヴァータ、カパ及びピッタの身体の種類に対応した遺伝子を介してアユルベータ診断を実施するアユルベータゲノム科学のために用いられ得る。

30

40

【0239】

別の実施形態では、本発明に従った携帯式システムを用い得、当該携帯式システムでは、集積チップの検出能力は、特定の独自で決定した医薬製品と一体である。例えば、携帯式アッセイシステムを用いて、試料の核酸の抽出、増幅及び検出し得；特に、核酸をもとに個別化したバイオマーカーを検出し得、ここで、個別化したバイオマーカーは疾患又は病原体の特定の株の存在を示し得る。システムは次いで、特定の株のバイオマーカーをも

50

とに、送達するカスタマイズした投与量及び／又は薬剤の組合せを独自に決定し得る。1つの例では、送達する薬剤の投与量及び／又は組合せは、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の特定の株に関して決定され得る。本発明に従った携帯式システムは、HIV株のポイントオブケアの検出、HIVウイルスロード量決定及びHIV遺伝子型同定のために、又は、HIVの母子感染をモニター及び予防する薬剤モニタリングデバイス若しくはツールとして使用され得る。

【0240】

より一般的には、本発明に従った実施形態を用いていずれかの有機体の遺伝子型を同定し得、それによって：遺伝子疾患への素因、疾患の株、及び、疾患状態の抗生物質耐性のうち少なくとも1つを決定し得る。例えば、ウイルス肝炎の種類を決定し得；又は、がん遺伝子を特定し得る。

10

【0241】

様々な実施形態で、本発明に従った携帯式システムを種々の異なる可能性のある産業で使用し得る。例えば、携帯式アッセイシステムを用いて試料の核酸を抽出、増幅及び検出し得る。次いで、検出した核酸を、（本明細書の他の箇所で考察した産業に加えて）種々の異なる可能性のあるいずれかの産業で使用し得る。例えば、検出核酸は、食物安全性、農業上の疾患、獣医学上の適用、考古学、法医学、栄養法、栄養補助物、ニュートリゲノミクス、水試験／衛星、食物及び飲料、環境上のモニタリング、関税、安全、防御、バイオ燃料、スポーツ及びウェルネスに関連し得；また、セラグノーシスのために使用され得る。

20

【0242】

本発明の実施形態に従ったシステムを用いて、生体試料の源である人の個別化ゲノムプロファイル決定し得る。次いで、個別化ゲノムプロファイルを用いて、個別化ゲノムプロファイルをもとにその人の栄養補助物、薬用化粧品、医薬品、食物若しくは飲料又は栄養法を個別化し得る。個別化ゲノムプロファイルは、例えば、その人用に個別化したウェルネス、個別化したスポーツ栄養法、個別化した食事又は個別化した栄養法のために使用され得る。スポーツの分野では、例えば、炎症マーカーを、接触スポーツでのアスリートの外傷性脳損傷といった、アスリートの損傷を検出、測定及び処置するために決定し得る。別の実施形態では、マーカーを決定してスポーツでの血液ドーピングを評価し得る。別の実施形態では、RNAマーカーの様々な種類の表現型発現を測定し得る。

30

【0243】

本発明の実施形態に従ったシステムは、個別化した栄養法のために用いられ得、当該システムでは、チップリーダー（核酸抽出制御モジュール、核酸増幅制御モジュール及び核酸検出制御モジュールといった）及びソフトウェアがある人のDNA/RNAプロファイルをもとに食物及び飲料並びに栄養法を個別化するのに役立つようカスタマイズされる。広義では、個別化した栄養法は、遺伝子学を用いて、理想の結果のために理想の栄養法をリアルタイムで理想の消費者に提供することを含む。本発明に従った実施形態では、コンパニオンに個別化した栄養添加剤を、DNA/RNAプロフィールに基づいて、人に提供し得る。標的栄養法及びコンパニオン診断を提供し得、健康及びウェルネスバイオマーカーのためのコンパニオン診断を開発し得る。健康及びウェルネスへの全体論的及び統合的アプローチが提供され得る。一般的に受け入れられる表現型マーカーだけでなく、頑丈で信頼性の高い進行測定を提供するDNA/RNAバイオマーカーによっても、進行を測定するフィードバックを消費者に提供し得る。ある人の遺伝子プロファイル又はDNA/RNAマーカーに基づいた素因を決定することで、その人の食事を個別化し得る。個別化ゲノムプロフィールを用いて、例えばグルテン感受性、グルテン不耐性又はラクトース不耐性である、遺伝子的な食物アレルギー、不耐性又は感受性といった人の栄養上の素因を決定し得、そのプロファイルをもとに食事を個別化し得る。炎症マーカーを、特定の食事に耐容性を示すか示さないかをモニターする方法として測定し得る。さらに、食物又は飲料に微量栄養素を添加することで、栄養障害を検出、測定次いで対処し得る。例えば、ビタミン欠乏、ミネラル欠乏及び他の欠乏（ビタミンB12欠乏、葉酸欠乏、鉄分欠乏といっ

40

50

た)を、本発明に従った実施形態によって測定されるバイオマーカーをもとに測定し得る。次いで、適切な微量栄養補助を食物又は飲料に提供することで、欠乏を対処し得る。さらに、人のマイクロビオームで欠乏する又は変化したプロバイオティクス又はプレバイオティクスを決定し得る。例えば、人の唾液、胃液又は尿からの生体試料を取得及び分析し、その人の口のマイクロビオーム又は胃のマイクロビオームといった、その人のマイクロビオームで何のプロバイオティクス又はプレバイオティクスが欠乏又は変化しているかを決定し得る。欠乏したプロバイオティクス又はプレバイオティクスを次いで、その人の食物又は飲料で補充し得、その人の正常なマイクロビオームを回復するのを助け得る。

【0244】

本発明に従った実施形態では、炎症のバイオマーカーの決定に基づいて個別化した栄養法を実施し得る。炎症は、様々な状態に関係があり、がん、循環器状態、アルツハイマー病、肺疾患、関節炎、自己免疫疾患、神経系疾患及び糖尿病が挙げられる。本発明に従った実施形態では、ある人の遺伝子プロファイル又はDNA/RNAマーカーに基づいた素因を決定することで、その人の食事を個別化し得る。例として、本発明の実施形態に従って決定、測定及び／又はモニターされ得る、選択された循環器系炎症性バイオマーカーを図27に列挙する。使用され得る選択された糖尿病炎症性バイオマーカーを図28に列挙する。個別化医療並びに個別化栄養法では、図29に示すバイオマーカーが、例えば肥満、糖尿病及び循環器系疾患の進行を決定するために使用され得る。図27～29のもの以外の他のバイオマーカーも使用され、そのようなバイオマーカーは、本明細書に記載する個別化栄養法、個別化医療及び他の技術のために使用され得ることが理解される。

【0245】

本発明に従った別の実施形態では、人の栄養ゲノムプロファイルをもとに食物又は飲料を分配することで、食物又は飲料の消費者経験を増大し得る。本明細書で教示するシステムを、自動販売機、自動窓口機又はキオスクの少なくとも一部分といった、本明細書で教示するシステムからの制御入力をもとに制御され得る分配アクチベーターの形状因子に埋め込まれ得る。例えば、ある人は、生体試料を、その人に関連するバイオマーカーを決定するよう構成された遺伝子分析部に提供し得る。バイオマーカーをもとに、少なくとも1つの生体試料の源である人の個別化したゲノムプロファイルを決定し得る。分配制御部は次いで、個別化したゲノムプロファイルをもとに、分配する製品又は製品の一部分を決定するように構成される。分配アクチベーターは、分配制御部と連結しており、分配制御部の制御下で製品の少なくとも一部分を分配するよう構成される。そのようなシステムを用いて、例えば、消費者は、唾液試料といった生体試料を、消費者の栄養ゲノムプロファイルに基づいてどの食物又は飲料が消費者にとって一番適切であるかを決定し得る自動販売機に挿入し得る。分配アクチベーターは、製品の少なくとも一部分をプリントするよう構成される3次元プリンターを備え得、又は、分配アクチベーターは、事前包装された製品を分配するよう構成され得る。例えば、製品は、食物、飲料、薬用化粧品、栄養補助物、医薬、生薬、代替医薬及び化粧品であり得る。分配制御部は、栄養上の素因、栄養障害、及び、マイクロビオームで欠乏又は変化した少なくとも1つのプロバイオティクス又はプレバイオティクスに基づいて分配する製品又は製品の一部分を決定するように構成され、これらのいずれかも、本明細書で教示する実施形態に基づいて核酸を検出することで決定され得る。例えば、3次元プリント機を用いて、消費者の遺伝子プロファイルをもとに、自動販売機又はキオスクで消費者の食物又は飲料をプリントし得る。キーボード、タッチパッド、スピーチ認識インターフェース、拡張現実インターフェース又は他のユーザーインターフェースといったユーザーインターフェースを用いて、消費者は追加の情報を入力し得る。消費者は、例えば、消費者のプロファイルに基づいて利点を有する代替成分に関する情報を多少与えられ得、次いで、ユーザーインターフェースを用いてその成分の1つ以上を選択し、食物又は飲料を注文して作ることが可能である。自動販売機といったシステムは、例えば、食物又は飲料の3次元プリントを用いて、使用時点でのコンパニオン診断及び栄養が強化された食物又は飲料の使用時点での生産を統合し得る。食物、飲料、薬用化粧品、栄養補助物及び化粧品は、この方法で、3次元でプリントされ得る。化粧品で

は、例えば、顧客は、キオスクの化粧品カウンターで、本明細書で教示するシステムを用いてカスタマイズしたプロファイルを提供され得、次いで、皮膚ケア溶液といった、顧客だけの化粧品をプリントできる。類似したシステムを、栄養補助物、薬草、代替医薬、ハーブティー、食物製品及び飲料に関しても提供され得る。例えば、ターメリック、シナモン、緑茶又は他の抗炎症性成分といったスパイス又は他の成分を、消費者の炎症レベルを軽減するためにジュースに提供し得る。特別仕様の用量は、次の実施形態で、顧客の遺伝子プロファイルをもとにした制御システムによって提供され得る。

【0246】

本発明に従った別の実施形態では、本明細書で教示するシステムを強化体外式カウンターパルセーション（E E C P）治療機と一緒に使用される。心臓マーカー、炎症マーカー及び心機能の向上に関連する他のマーカーの量を、本明細書で教示する核酸分析システムによってリアルタイムでモニターし、E E C P機への電子制御入力を提供するために用い、例えば、血流又は滴定投薬を増加又は低下する。例えば、炎症因子、V E G F、内皮増殖因子、他の遺伝子発現パターン、心臓マーカー、心臓の状態と相関するD N A / R N Aマーカー等を本明細書で教示するシステムでモニターし得る。本明細書で教示する核酸分析システムをE E C P治療機と連結させることで、流れ及び炎症因子の測定で内皮修復を刺激して生産される複合効果を伴ってアテローム硬化を逆行させるのに役立つツールが提供され得る。アテローム硬化プロセスに関係するバイオマーカーを核酸分析システムの複数のチャンネル上で同時にモニターし得、バイオマーカーの量をもとに、電子制御入力がE E C P機に提供され得る。

【0247】

様々な実施形態で、本発明に従った携帯式システムが提供する結果は、ウイルスのロード量（例えば、m l当たりのコピー数）、体積当たりの予測細胞計数（例えば、m m³当たりの細胞での予測C D 4計数）及び薬剤投薬の滴定を含み得る。

【0248】

本発明に従ったさらなる実施形態では、本発明に従った携帯式システムは、種々の異なる可能性のある方法で他のシステムと情報伝達し得る。携帯式システムは、生体試料に関連する調節されたデータ信号を送受信し得、有線媒体（例えば、有線ネットワーク又は有線直結接続）又は無線媒体（例えば、アコースティック、赤外線、放射、マイクロ波、スペクトラム拡散）を介して情報伝達し得る。携帯式システムは、例えば、World Wide Web及び／又はモバイルネットワーク及び／又はテキストメッセージ（S M Sメッセージといった）を介して情報伝達し得る。携帯式システムは、ゲノムプロファイル保管する遠隔ゲノムデータベースに接続し得る。携帯式システムは、単一の参照試料の信号プロファイルを保管又は送信若しくは受信し得る。

【0249】

本発明に従ったさらなる実施形態では、携帯式システム又は移動式デバイスは、使い捨てでもいいコンパクト集積チップを利用して、スマートフォン、個人情報機器（P D A）、携帯電話又は他の手持ち若しくはタブレットデバイスといった、広く利用できる種々の異なる可能性のある手持ち又はタブレットデバイスのいずれかの一部として実行され得、又は、スマートフォン、個人情報機器（P D A）、携帯電話又は他の手持ち若しくはタブレットデバイスといった、広く利用できる種々の異なる可能性のある手持ち又はタブレットデバイスのいずれかとインターフェースで連結し得る。さらに、類似したグラフィカルユーザーインターフェース及び外部設計を、そのような広く利用可能な手持ち又はタブレットデバイス上で使用するように、使用し得る。1つの実施例では、本発明に従った実施形態は、全てCupertino, California, U.S.A.のApple Inc.が販売するi P h o n e、i P a d若しくはi P o d、又は、Suwon, South KoreaのSamsung Electronics Co., Ltd.が販売するG a l a x yのものに類似したグラフィカルユーザーインターフェース又は外部インターフェースで実行され得、又は、当該グラフィカルユーザーインターフェース又は外部インターフェースとインターフェースで連結し得、又は、グラフィカルユーザーインターフェース又は外部インターフェースを使用し得る。

【0250】

本発明に従った実施形態では、携帯式システム又は分散した箇所での複数のそのような携帯式システムを用いて、広く分散した分析地での疾患の大発生を追跡し得る。携帯式システムは、1つ以上ネットワーク（例えば、ローカルエリアネットワーク、広域ネットワーク及び／又はインターネット）を介して接続し得；及び、中央データセンターとシステムエンドユーザーとの間で二方向の情報交換に参与し得る。データセンターは、生体試料分析に関して、エンドユーザー／発明システムに、既知の病原体／疾患マッピング情報を提供し得、続いて、発明システム／エンドユーザーはアッセイ結果をデータセンターへ送信し得る。データセンターは地理的位置情報を及び他のケース特定情報をエンドユーザー／発明システムから受け取り得る。データセンターは、複数の配備された部／発明システムから来るアッセイ結果をモニターし得、パターン検出プログラムを利用して、例えば、疾患の大発生を追跡する。データセンターは、閾値パターンを検出した際に、本発明に従った遠隔携帯式システムにプログラムで通知を作製する。

10

【0251】

システム及び集積チップのさらなる使用及び適用

様々な実施形態で、本発明のシステムを用いて、病原体を特定、遺伝子マーカーを有する疾患を診断、又は、個人の遺伝子型を同定し得る。本発明の方法は、通常、（1）少なくとも1つの集積チップを提供すること；（2）少なくとも1つの生体試料を少なくとも1つの集積チップ上にロードすること；（3）携帯式制御アセンブリを少なくとも1つの集積チップと機能的に連結させること；及び（4）携帯式制御アセンブリを作動化して前記集積チップ上にロードした生体試料の核酸の抽出、増幅及び検出を実行することを含む。

20

【0252】

本発明を用いて、核酸ベースの遺伝子材料及び／又は遺伝子成分を有する幅広い種類の病原体及び障害を診断及び検出し得る。HIV、HBV、HCV及び性感染症といった標的の検出に加え、本発明のシステム及び方法を用いて、腫瘍学、循環器、特定試験及び出生前スクリーニングの分野で生じている分子診断用標的を検出及び診断し得る。

【0253】

好ましくは、生体試料は、限定はしないが、血液、唾液、精液、尿、羊水、脳脊髄液、滑液、硝子体液、胃液、鼻咽頭吸引物及び／又はリンパ液といった生物流体由来である。

30

【0254】

生体試料は、組織試料、水試料、空気試料、食物試料又は作物試料であり得る。好ましくは、生体試料分析によって、水媒介病原体、空気媒介病原体、食物媒介病原体又は作物媒介病原体のうちいずれか1つ以上が検出される。

【0255】

本発明のシステム及び方法によって検出可能な病原体は、種々の宿主由来であり得る。宿主は、生物であろうと非生物であろうと、感染病原体が宿主内又は上で複製するのを可能にすることによって、感染病原体の複製を支えることが可能であるはずである。そのような宿主の例としては、液体又は固体のインビトロ培養培地、動物の細胞又は組織、植物又は単細胞有機体、ヒトといった哺乳動物を包含する全ての有機体が挙げられる。

40

【0256】

本発明のシステム及び方法は、より多くの次の領域のうち1つで利用され得る。1つの実施形態では、本発明のシステム及び方法を、生物兵器に対する防御の領域で利用され得る。例えば、本発明を発生時点及びリアルタイムでの病原体検出のために使用し得る。別の実施形態では、本発明のシステム及び方法をライフサイエンスの領域で利用し得る。例えば、本発明を携帯式分析器具として、及び、携帯式分析器具と一緒に用い得る。別の実施形態では、本発明のシステム及び方法を臨床診断の領域で利用し得る。例えば、本発明を用いて、医者、看護師又は病院、家若しくは野外の未訓練ユーザーは病原体を診断及び／又は特定し得る。本発明はまた、有機体の遺伝子型を同定するために使用され得、それによって、もしあれば遺伝子疾患への素因、又はもしあれば抗生物質耐性への素因を決定

50

し得る。また、本発明を用いて、患者に存在する病原体並びにそれら病原体の様々な抗生物質への感受性及び耐性プロファイルを決定し得る。本発明は、薬剤モニタリングデバイス、疾患の予後指標、及び診断治療デバイスとしても使用され得る。別の実施形態では、本発明のシステム及び方法を、産業及び農業モニタリングの領域で使用し得る。例えば、本発明を用いて食物、作物、家畜等が媒介する病原体をモニター及び／又は検出し得る。別の実施形態では、本発明のシステム及び方法は法医学の領域で使用され得る。例えば、本発明を用いて個人を遺伝子的に特定し得る。

【0257】

1つの実施形態では、遺伝子障害及び遺伝子成分を有する障害を、本発明のシステム及び方法を用いることで診断し得る。例えば、多くの発癌遺伝子が特定されており、乳癌、結腸直腸癌及び他のがんの進行に關与する *p53*；乳癌進行及び転移に關わる *c-erbB2*；全遺伝性乳癌の50%に關与し、前立腺癌及び他のがんのリスク増大にも關わる *BRCA1* が挙げられる。これら遺伝子マーカーのスクリーニングは、本明細書に記載されるシステム及び方法を用いて達成され得る。

【0258】

本発明のシステム及び方法を用いて診断され得る感染病原体としては、限定はしないが、細菌、ウイルス、真菌類、放線菌及び寄生虫が挙げられる。例としては、限定はしないが、*Escherichia*、*Shigella*、*Salmonella*、*Arizona* (*salmonella* subgenus *II*)、*Citrobacter*、*Klebsiella*、*Enterogacter*、*Serratia*、*Proteus*、*Providentia*、*Morganella*；*Vibrio* 及び *Campylobacter*；波状熱といった *Brucella*；*Yersinia*；*Pasteurella*；*Francisella*；*Actinocacillosis*；*Haemophilus*、*Bordetella*（例えば *Burdetella pertussis*）；*Pseudomonas* 及び *Legionella*；*Bacteroides*、*Fusobacterium*、*Streptobacillus* 及び *Calymmatobacterium*；*Bacillus*（孢子形成好気性菌）；*Clostridium*（孢子形成嫌気性菌）；*Lissteria* 及び *Erysipelotrix*；*Corynebacterium*；*Mycobacterium*；*Spirochetes*；*Rickettsias*；*Chlamydia*；*Mycoplasma*；ポックスウイルス；ヘルペスウイルス；パポバウイルス；アデノウイルス；オルソミクソウイルス、パラミキソウイルス；ラウドウイルス；サイトメガロウイルス；レトロウイルス；ピコルナウイルス；コルナウイルス (*Cornaviruses*)；ロタウイルス；肝炎ウイルス（例えばC型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス）；トガウイルス；ブニavirus；アレナウイルス；*Cryptococcus*；*Candida*（例えば、*Candida albicans*、*Candida glabrata*、*Candida parapsilosis*、*Candida tropicalis*)；*Sporothrix*；*Ileostoplasma*；*Coccidioides*；*Blastomyces*；*Aspergilli*；*Zygomycetes*；*Dematiaceae*；*Fusarium*；*Protozoa*；*Nemathelminthes*；及び、*Platyhelminthes* が挙げられる。

【0259】

他の実施形態では、*HIV-1*、*HIV-2*、*HIV-1* グループM、N、O若しくはPのいずれか、*HIV-1* グループMサブタイプA~Kのいずれか、又は、*HIV*、*HTLV-1* 及び *HTLV-2* のいずれかの他の公知の型若しくは亜型といったレトロウイルス、並びに、*HSV-1*、*HSV-2*、*VZV*、*EBV*、*CMV* 及び *HHV-6* といったヘルペスウイルスを、本発明のシステム及び方法を用いて検出し得る。

【0260】

他の実施形態では、本発明のシステム及び方法を用いて検出され得る障害及び疾患としては、：*Borellia*、ヒトT細胞リンパ腫／白血病ウイルス-I、ヒトT細胞-I-II／白血病ウイルス-I-II、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、*HSV*、*VZV*、*HPV*（属、6、11、16、18、31、33）、*Moraxella catarrhalis*、*Streptococcus pneumonia*、*Haemophilus influenza*、*Legionella spp.*；ヒトパルボウイルスB19、B群レンサ球菌 (*Group B streptococcus*) が挙げられる。

【0261】

他の実施形態では、本発明のシステム及び方法を用いて検出され得る障害及び疾患とし

ては、遺伝子素因がある遺伝子疾患及び障害が挙げられる。例としては、制限はしないが、嚢胞性繊維症、ゴーシェ病、中鎖アシルC o A脱水素酵素欠損症、筋強直性ジストロフィー、ナトリウムチャンネル病、塩素系チャンネル病、デュシェンヌ／ベッカー筋ジストロフィーが挙げられる。

【0262】

特定の実施形態では、次の病原体が診断され得る：ヒト免疫不全ウイルス、T B細菌、C型肝炎ウイルス、SARSウイルス、Chlamydia trachomatis、サイトメガロウイルス、Gardnerella vaginalis、A群レンサ球菌(Group A Streptococcus)、B群レンサ球菌、ヒトパピローマウイルス、Neisseria gonorrhoeae、Trichomonas vaginalis、Bordetella pertussis及びE. coli。

10

【0263】

1つの実施形態では、検出される感染病原体は、メチシリン耐性S. aureus (MRSA) である。Staphylococcus aureusは、院内及び市中感染を引き起こす最も顕著な病原体の1つである。ベータラクタム抗生物質が深刻なS. aureus感染の好ましい薬剤である。1961年にメチシリンを臨床現場での使用を導入して以来、メチシリン耐性S. aureus (MRSA) 株が着実に増えており、院内感染が深刻な世界規模の問題になっている。したがって、メチシリン耐性の検出は、患者の治療及び管理のために重要な意味を有する。臨床実験室では、S. aureusは、成長特徴並びにそれに続くカタラーゼ及びコアグラゼ活性又は特定の表面成分の検出によって特定される。DNA分解酵素及び耐熱性エンドヌクレアーゼ試験が、不確定又は陰性コアグラゼ試験のための確認試験として用いられている。S. aureusの従来感受性試験は、寒天希釈法又は寒天スクリーニング方法がNCCLS標準に従って使用される場合、メチシリン又はオキサシリンへの耐性を確実に検出する。メチシリン耐性は、mecA遺伝子によってコードされるペニシリン結合タンパク質の生産に関与し、又は、稀なケースでは、ベータラクタマーゼの過剰生産と関連する。

20

【0264】

MRSAを検出する従来方法では、ブロス及び寒天ベースの抗菌薬感受性試験を利用し、所与の微生物の一連の病原体への反応の遺伝子型プロファイルを提供する。これらの方法は、時間がかかり問題も多く、偽陽性及び偽陰性といったものがよくある。これらの欠陥は、staphylococciの耐性遺伝子の発現のためであり、これは、大変不均一な方法で発現し得、耐性の遺伝子型の特徴づけが難しくなる。耐性遺伝子mecAの検出を標的にした分子方法を用い得る。増幅産物での突然変異のスクリーニングは、本発明の実施で利用され得るAffimetrix (登録商標) Genechips (商標) といった高密度プローブアレイの使用によって助長され得る。

30

【0265】

同様に、特定の抗菌薬耐性遺伝子を検出する(耐性遺伝子型の同定)ことで薬剤耐性を検出することは、多くの有機体で達成され得る。例を次の表1で列挙する：

40

50

【表 1】

表 1. 抗菌薬耐性検出のための分子方法

有機体 (複数可)	抗菌薬 (複数可)	遺伝子	
Staphylococci	メチシリン オキサシリン	mec A	10
Enterococci	バンコマイシン	van A、B、C、D	
Enterobacteriaceae Haemophilus influenzae Neisseria gonorrhoeae	ベータ-ラクタム	bla _{TEM} 及び bla _{SHV}	
Enterobacteriaceae 及びグラム陰性球菌	キノロン	gyr A、gyr B、par C 及び par E での 点変異	20
Mycobacterium tuberuclosis	リファンピン イソニアジド エタンブトールストレ プトマイシン	rpo B での点変異 kat G、inh A 及び ahp C での点変異 emb B での点変異 rps L 及び rrs での点変異	
ヘルペスウイルス	アシクロビル及び関連TK 薬剤 ホスカルネット	遺伝子での変異又は欠失 DNA ポリメラーゼ遺伝子での点変異	30
HIV	ヌクレオシド系逆転写RT 酵素阻害剤 プロテアーゼ阻害剤	遺伝子での点変異 PROT 遺伝子での点変異	

【 0 2 6 6 】

他の実施形態では、本発明のシステム及び方法を用いて検出され得るウイルス及び微生物疾患は、表 2 で列挙するものである：

【表 2】

表 2. 核酸ベース試験で試験され得る臨床的に重要なウイルス及び細菌病原体		
有機体	検体の種類	臨床での表示
Epstein-Barr ウイルス (EBV)	脳脊髄液 (CSF)	EBV リンパ球増殖性疾患
単純ヘルペスウイルス (HSV) 1 及び 2 型	CSF 硝子体液	脳炎
水痘帯状疱疹ウイルス (VZV)	各種組織	VZV 再活性化
JC ウイルス	CSF	進行性多巣性白質脳症
エンテロウイルス	CSF	無菌性髄膜炎
パルボウイルス B19	羊水 血清	胎児水腫 貧血
アデノウイルス	尿 組織 血液	免疫不全患者、移植レシピエント
Ehrlichia	血液	ヒト顆粒球及び単球エーリキア症
Bordetella pertussis	鼻咽頭吸引物	百日咳
Legionella pneumophila	呼吸器	異型肺炎
Chlamydia pneumoniae	呼吸器	異型肺炎
Mycoplasma pneumoniae	呼吸器	異型肺炎
Helicobacter pylori	胃液 糞便	消化性潰瘍疾病

【0267】

さらなる実施形態では、表 3 に列挙する感染症が、本発明のシステム及び方法を利用することで試験され得る：

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3. 核酸ベース試験で試験され得る感染症

Chlamydia trachomatis 検出

Neisseria gonorrhoeae 検出

C. trachomatis/*N. gonorrhoeae*
スクリーニング／検出

Mycobacterium tuberculosis 検出

HPV スクリーニング

CMV

Grp A strep 検出

HIV 定量化

Gardnerella、*T. vaginalis* 及び
Candida

細菌及び真菌類に関する培養物の確認

10

20

【0268】

複数部門、産業全般にわたる使用

本発明の上記特徴及び効果を踏まえると、ヘルスケア（及び他の産業）、特に複数の部門にわたって多くの発展が可能になる。ヘルスケア産業の部門としては：

30

【0269】

政府部門（例えば、Centers for Disease Control、軍事操作、Department of Agriculture等）、

【0270】

商業部門（例えば、病院／医療機関、分析／診断研究所、製薬企業主体等）、及び

【0271】

プライベート部門（例えば、医師、農業家／大農場経営者、個人）が挙げられる。

【0272】

例示的な実施形態では、研究所又は製材会社は、上記の準備した各種集積チップの供給点として役立つ。異なるチップが、異なる病原体及び疾患を分析するために準備される。チップのエンドユーザーは、様々な部門由来であり、自宅での患者使用、野外（例えば作物及び獣医上のチェック点）、遠隔／地域地点並びに病院／医療センター、関税手続港等を包含するそれぞれの地点及び環境に携帯式システムを配置する。本発明の集積チップと携帯式システムとの間のプラグアンドプレイ構成（すなわち、迅速なリーダー応答時間、チップアッセイの多様性及びチップの使い捨て性）のために、本発明の所与の携帯式アッセイシステム／デバイスは、ある地点で異なる様々なチップ（異なる病原体／疾患を検出するため）を読み込み得、又は、1種類のチップ（特定の病原体／疾患を検出するため）の読み込みに徹底し得る。

40

【0273】

50

携帯式アッセイシステムの使用の際に、中央データセンター（作動データライブラリー及び生命情報科学データが存在又は維持されるところ）とシステムエンドユーザーとの間で二方向の情報交換が起こる。この二方向の交換では、データセンターは、生体試料分析に関して、エンドユーザー／発明システムに、既知の病原体／疾患マッピング情報を提供し得、続いて、発明システム／エンドユーザーはアッセイ結果をデータセンターへ送信し得る。アッセイ結果に加え、データセンターは地理的位置情報及び他のケース特定情報をエンドユーザー／発明システムから受け取り得る。データセンターは、複数の配備される部／発明システムから来るアッセイ結果をモニターし得、パターン検出プログラム（当該技術分野では一般的）を利用する。例えば、複数のエンドユーザーから受信したデータを基に、集中した地理的領域での所与の疾患の複数のケースでのパターンが検出され得、又は、所与の疾患の動き（広がり）のパターンが検出され得る。特定の状態又は病原体／疾患の発症（例えば、水供給、食作物、血液バンク等で）に関する他のパターン検出及びモニタリングが企図される。

10

【0274】

今度は、データセンターは、閾値パターンの検出の際にプログラムで通知を作製するように構成され得る。データセンターは、医療関係者（救急車、緊急治療室、医師）、軍事部隊、政府機関等に通知し得る。そのような通知は、受取先が購読料を支払ってデータセンターアラート及び通知に加わる購読基準であり得る。当事者／ユーザーがデータライブラリーへのアクセス権を有するためにあるレベルで支払い、及び、集めたアッセイ結果データへアクセスするために別のレベルで支払う、異なる購読レベルが存在し得る。別の購読レベルは、購読者が提供するコンタクト情報（どこ及び何の媒体／形態でアラートを送るか）を用いて、購読者へ自動アラート及び通知を提供し得る。

20

【0275】

本明細書で使用される場合、通知及びアラートは、Eメール、電話、アラーム又は他の可聴及び／若しくは視覚表示の形式であり得る。

【0276】

さらに、データセンターは、エンドユーザーからのアッセイ結果を受信及び処理した後にエンドユーザーへさらに応答するように構成され得る。与えられたアッセイ結果を伴い、データセンターは遺伝子型、効果的な治療／処置等といった他の公知の関連情報を相互参照する。データセンターはこの追加の情報を現場での使用のためにエンドユーザーへ送信する。

30

【0277】

したがって、本発明は、医療ケア及び処置、疾患制御、生体防御（発生時点及びリアルタイムでの病原体検出、及び、感染及び接触感染のリアルタイムの追跡）、並びに、他の複数部門、産業全般にわたる使用の強化された方法を提供する。

【0278】

例示的なデバイス構成

本明細書に記載される発明は、限定はしないが、手持ちデバイス、コンピュータタブレット、ノートブック型コンピューター、スマートフォン、移植可能デバイス（移植可能のもの）、摂取可能デバイス（摂取可能のもの）、着用可能デバイス（着用可能のもの）及び注入可能デバイス（注入可能のもの）が挙げられる製品又はデバイスで構成又は使用され得る。

40

【0279】

「着用可能デバイス」は、腕、足、皮膚、頬のパッチ、胴体といった身体の外部分上での使用を意図したデバイスである。着用可能デバイスは、限定はしないが、チップオン、ブレスレット、粘着性パッチ、皮膚パッチ、頬のパッチ、眼鏡、ヘッドバンド、足首バンド、（足の裏の）靴のアクセサリ等といった、身体上に保持されるように構成される。移植可能デバイスは、本明細書に記載するデバイスの操作を日常的に実施し得、無線情報伝達によってといった、デバイスの操作の出力をコンピューターとインターフェースで連結してもよい。本発明の実施形態に従った着用可能デバイスは、1つ以上の別々の要素を

50

備え得、当該要素は、一緒に付着若しくは機械的にインターフェースで連結し得、若しくは一緒に付着若しくは機械的にインターフェースで連結していなくてもよく、及び／又は、身体の1つ以上の異なる外部分に存在し得、並びに、無線及び／若しくは有線情報伝達を用いて互いに情報伝達し得る。本発明の実施形態に従った着用可能デバイスはまた、本明細書のそのようなデバイスの一部分のみを備え得、本明細書のそのようなデバイスの他の部分と無線及び／又は有線で情報伝達し得、そのような他の部分は、ヒトの身体の内
部及び／又は外部にある。例示的な着用可能デバイスを図21に示し、(A)皮膚パッチ又は真皮パッチ；(B)本明細書に従ったデバイス及びで首、腕、足、指上でデバイスを保持するためのバンドを備えるブレスレット；及び(C)一面が身体の外部に接着して付着可能であり、同一又は反対の面が本発明のデバイスに接着して付着可能であるパッチとして構成される。いくつかの実施形態では、デバイスの要素は全て着用可能デバイス上に含まれる。他の実施形態では、要素のいくつかは着用可能デバイス上に含まれ、他の場所に位置するレーザーへ送信される。本発明の実施形態に従った着用可能デバイスはまた、本明細書に記載されるデバイスの一部分のみを備え、本明細書のそのようなデバイスの他の部分と無線及び／又は有線で情報伝達し得、そのような他の部分は、ヒトの身体の内
部及び／又は外部にある。

10

20

30

40

50

【0280】

「移植可能デバイス」は、数日間、数ヶ月又はそれ以上その場所に残るよう意図される場合に、ヒトの身体の外科的に若しくは自然に形成された空洞へ配置するデバイスである。移植可能デバイスは、本明細書に記載するデバイスの操作を日常的に実施し得、無線情報伝達によってといった、デバイスの操作の出力をコンピューターとインターフェースで連結してもよい。本発明の実施形態に従った移植可能デバイスは、1つ以上の別々の要素を備え得、当該要素は、一緒に付着若しくは機械的にインターフェースで連結し得、若しくは一緒に付着若しくは機械的にインターフェースで連結していなくてもよく、及び／又は、ヒトの身体の1つ以上の異なる部分に存在し得、並びに、無線及び／若しくは有線情報伝達を用いて互いに情報伝達し得る。本発明の実施形態に従った移植可能デバイスはまた、本明細書のそのようなデバイスの一部分のみを備え得、本明細書のそのようなデバイスの他の部分と無線及び／又は有線で情報伝達し得、そのような他の部分は、ヒトの身体の内
部及び／又は外部にある。

【0281】

「摂取可能デバイス」は、個人的なモニタリングのために患者に経口で送達され得るデバイスである。例えば、デバイスは、本明細書に記載されるデバイスを用いて、時間を記し、患者がログしたイベントを記録するために使用される摂取可能なイベントマーカーであり得る。摂取可能要素は、摂取の日付及び時間並びに摂取可能デバイスの独自のシリアル番号を記録する外部レコーダーに、情報伝達を通して無線でつながる。

【0282】

「注入可能デバイス」は、ヒトの身体内の部位に注入され得、身体内の意図した部位での保持が可能なデバイスである。注入可能デバイスは、本明細書に記載するデバイスの操作を日常的に実施し得、無線情報伝達によってといった、デバイスの操作の出力をコンピューターとインターフェースで連結してもよい。

【0283】

移植可能、注入可能又は摂取可能なものに関する例示的なデバイスを図22に示す。本発明のデバイスは、キャリア基板に組込まれている。

【0284】

例示

DNA精製手順

【0285】

次の実施例は、図4で示す集積チップ及び図9Bで示す蛍光検出モジュールを参照しながら説明する。

【0286】

ユーザーは生体試料、磁性ビーズ及び溶解緩衝液を核酸抽出チャンバー104へ試料入口ポート100を介して注入し、次いで、集積チップ20を携帯式アッセイシステム（10、図1）内にロードする。システムは生体試料を7分間インキュベートし、その間、溶解が起こり、試料内のDNAは磁性ビーズに結合する。次いで、システムは磁石に係合し、これによって、磁性ビーズ（及び結合したDNA）は場の領域でクラスター化する。ビーズを2〜3分間、ユーザーが試料入口ポート100を介して抽出チャンバー104に注入した洗浄緩衝液で洗浄する。磁石を洗浄の間に脱係合する。ユーザーは、DNA/RNAを含まない水を、試料入口ポート100を通して注入する前に、このサイクルをもう一度繰り返す。次に、ユーザーは磁石を脱係合し、核酸抽出チャンバーの流体を70℃で8〜10分間加熱し、こうして、DNAを遊離させる。磁石は固定されたビーズに係合し、試薬追加ポート106を受動プラグで密閉し、注射器を使用して抽出DNAを核酸増幅チャンバー108へ押し込む。

10

【0287】

ユーザーは、好ましくは試薬追加ポート106及び試料ウェル120に挿入する受動プラグ弁を用いて、増幅チャンバー108を密閉する。チャンバーを密閉すると、ペルティエ冷却器が最大35回50℃と97℃との間で温度を循環して抽出DNAを増幅する前に、抽出したDNAはPCRマスターミックスと混合する。増幅が完了すると、ユーザーは増幅チャンバーの密閉を外し、次いで、試薬追加ポート106を介して集積チップに連結した手動ポンプ注射器を用いて、検出モジュールへ増幅した核酸を推進させる。

【0288】

20

ユーザーは緩衝液ウェル116を介して、ポリマーゲル／ふるい分けマトリックス及びCEランニング緩衝液を8つの検出チャンネル112内へロードする。次に、分子量標準物を試料ウェル120内へロードする。そして、ユーザーは試料ウェル120及び試料廃棄ウェル118上又は付近に位置する電極全域に400Vを適用し、増幅した核酸を検出チャンネル112に引き寄せる。十分な量の増幅核酸が検出チャンネルに入ると、ユーザーは400Vの場を切り、次いで、緩衝液廃棄ウェルから緩衝液ウェルまで6kVの場を適用する。これによって、分子量標準物が検出チャンネル112に沿って分離し、参照時間を提供する。検出チャンネル112を流してもよく、その後、ユーザーは、核酸増幅チャンバー108に適用された注射器の圧力によって試料ウェル120内に押し込まれてロードされた増幅核酸を用いて、そのプロセスを繰り返す。これによって、増幅核酸は種に分離し、検出チャンネル112を下流に移動する。

30

【0289】

移動しながら、分子量標準物又は増幅核酸の種は、測定領域1005を通過し、ここで、図9Bに示される通り、蛍光信号を検出するよう構成される検出制御モジュール60の制御下で調査される。種140は測定領域1005を通過して移動しながら、適切な波長のレーザービーム1004によって照射され、これによって、種140は異なる波長の蛍光ビーム1010を放つ。蛍光ビーム1010及びレーザービーム1004は、測定領域1005を出て、レーザービーム1004を反射して蛍光ビーム1010を送る二色性ビームスプリッター1007へ伝播する。ビームブロック1008は、レーザービーム1004を吸収し、検出器1012は蛍光ビーム1010を感知する。検出器1012は蛍光ビーム1010の強度に釣り合った光電流（示されない）を放つ。プロセッサ1014は、時間の関数として検出した光電流を検出、記録及び処理する。

40

【0290】

検出、処理した信号を、同一条件下で分析した既知の参照物からの信号に対して照合し、試料の病原体を特定する。システムは、出力信号グラフ1020でこの特定処理を表す。公知の参照物を分析することで、既知の量の既知の病原体に対応するピークを伴う参照信号トレース1021を得る。未知の試料の信号ピーク1022の時間軸を参照信号トレース1021と比較することで、ユーザーは病原体の種類の指標を得；システムは、信号ピーク1022下の面積を計算することでウイルスロード量を決定する。

【0291】

50

細胞培養物

【0292】

集積チップの性能を実証するために、E. coli細胞を実験的試験のために用いた。E. coli細胞 (DH-10B、Invitrogen) を200rpmの攪拌機上で、約37℃のLB培地 (Invitrogen) の5mLの試験管内で一晩培養した。保存培養物を次いで、実験のために直接使用するか、(RNA分解酵素を含まない水中で) 希釈して所望する細胞希釈／濃度を得るかのどちらかを行った。培養した細胞濃度は、分光光度計 (Ultraspec 10、Amersham Biosciences、UK) で培養物を測定することで得た。E. coliの種類の詳細は次の通りである：E. coli、DH10B細胞 (ElectroMAX (商標) DH10B (商標))、カタログ番号：12033-015、Invitrogen、US)；遺伝子型：F- mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara, leu)7697 galU galK λ - rpsL nupG tonA；全ゲノムDNAのおよその大きさは約4.6×10⁶bpである。

10

【0293】

これらの細胞を用いて、実験をオンチップで実施した。2セットの実験を以下に示す。第1のセットでは、保存培養物 (0.2～2μL) をチップ実験のために直接使用した。第2の実験のセットでは、1μLの保存培養物を最大無限希釈まで段階希釈した。これら実験のそれぞれで、細胞及びDNA濃度の双方に関して、生物学的アッセイ経過の間に測定を行い、したがって、分析に関して定量化したデータを可能にした。細胞を上記の通り定量化し、一方でDNA濃縮をNanovue (登録商標) (GE Health Sciences) 分光光度計上で実施した。しかし、使用した分光光度計双方の検出制限のために、低濃度の試料の定量化は、定量化が容易なDNA増幅を可能にする増幅に関わる生物学的アッセイの完了までは難しかった。上記したプロトコルを用いて、次の実験を集積チップ上で実施した。

20

【0294】

保存細胞培養物を用いた病原体の特定

【0295】

図17A～17D及び図18は、様々な量の保存培養物を磁性ビーズ溶液 (すなわち、溶解溶液及びストレプトアビジンでコートしたDynal (登録商標) 磁性ビーズ懸濁液) と一緒にチップの抽出チャンバー内にロードした実験の第1のセットの結果を示す。チップに入力した細胞計数 (cfu) は、測定した保存濃縮物由来であった。上記のプロトコルの通り、細胞溶解及びビーズによるDNA捕捉の後、DNAを2μLの水 (RNA分解酵素を含まない) 内で再懸濁した。抽出DNAの濃度を次いで測定し、マスターミックス (上で定義したアッセイ) を次いで添加した。

30

【0296】

次に、増幅をオンチップの増幅チャンバーで実施した。

【0297】

最後に、増幅の官僚の際に、DNA濃度を再度測定し、分子計数及び増幅因子を誘導した。図17A、17B、17C及び17Dは、オンチップDNA精製及び増幅の結果を示す。プロットが示すのは：図17A－開始DNA量の関数としての増幅因子、図17B－開始DNA量の関数としての最終DNA量、図17C 開始DNA濃度の関数としての最終DNA濃度、及び、図17D－入力細胞計数の関数としての抽出DNAの量である。

40

【0298】

従来のゲルベースの電気泳動は、図18に示す通り、結果として得られる増幅産物の大きさの確認が約700bpであることを可能にし、開始プライマー設計から予測した。図18で示す結果は次の通りである：

【0299】

レーン2：DNAラダー；

【0300】

レーン4：DH10B細胞増幅に関する陽性対照群 (約700bp)；

50

【0301】

レーン5：DH10B細胞増幅に関する陰性対照群；

【0302】

レーン6：DNAラダー；

【0303】

レーン8：DH10B細胞増幅に関する陽性対照群（約700bp）；

【0304】

レーン9：DH10B細胞増幅のための陰性対照群；レーン10：50bpラダー。

【0305】

細胞培養物の希釈を用いた病原体の特定

10

図19A～19D及び図20は、1μLの保存培養溶液を9μLの水で段階希釈し、最大細胞1つ未満に誘導した細胞希釈物を達成した第2の実験セットの結果を示す。チップベースのアプローチは非常に小さい体積しか収容できないため（通常、数マイクロリットル）、培養希釈物を次いで遠心沈殿させて希釈物内の細胞全ての使用を確実にした。これら遠心沈殿した細胞ペレットを次いで10μLのDyna1（登録商標）磁性ビーズ溶液に添加し、第1の実験セットに類似した抽出処理を実施した。

【0306】

既に実施した通り、抽出DNAを2μLの水中で再懸濁し、その後、約8μLの増幅マスターミックスを添加した。増幅を次いでオンチップで実施した。

【0307】

20

DNA濃度を増幅前後で測定した。次いでデータを用いて、使用した各培養希釈試料に関してDNA濃度及び増幅因子を誘導した。図19A、19B、19C及び19Dは、オンチップDNA精製及び増幅の結果を示す。プロットが示すのは：図19A－入力細胞数の関数としてのDNA分子の測定数、図19B－DNA分子の開始数の関数としての増幅後、増幅前のDNA分子の最終数、図19C－DNA分子の測定開始数の関数としての増幅因子、及び、図19D－DNA分子の理論上の開始数の関数としての増幅因子である。

【0308】

従来の実験室ベースのゲル電気泳動を用いて、図20に示す通り、結果として得られる増幅産物の大きさを約700bpとして確認した。図20で示す結果は次の通りである：

【0309】

30

レーン1：DNAラダー；

【0310】

レーン3：DH10B細胞増幅に関する陽性対照群（約700bp）；

【0311】

レーン5：DH10B細胞増幅に関する陰性対照群；

【0312】

レーン7：DNAラダー；

【0313】

レーン9：DH10B細胞増幅に関する陽性対照群（約700bp）。

【0314】

40

結果

【0315】

上記増幅実験のいずれかから明らかなように、開始試料の濃度が増大するにつれて、能率の低下がある（すなわち、増幅因子から示唆される）。理論上の制限因子が無視できる程度である理想のアッセイでは、指数関数的な増幅が期待されるはずである。しかし、（1）繰り返したサイクル後の酵素能率の損失、（2）十分なdNTP及びプライマーセットの欠如、（3）増幅DNAの回収を阻害、又は、増幅DNAの不十分な阻害を引き起こす吸着因子（オンチップの表面对体積比によって逆に強化される）といった因子での制限を踏まえると、理論上の増幅量は達成するのが難しい可能性がある。しかし、第2の実験セットで留意した通り、未混入入力試料で約12個のみの開始細胞で、検出可能な増幅を

50

達成する。

【0316】

H I V - 1 の増幅、定量化の実証

【0317】

ウイルスのロード研究のために現在市販される P C R 機と違って、本発明の実施形態に従ったシステムは、オフラインの試料準備を一切必要とせず、処理工程はカスタマイズしたナノチップ内に内蔵されている。生物流体は、デバイス内に含まれる名のチップに直接適用される。

【0318】

本発明の実施形態に従ったシステムは、非常に幅広い動作範囲にわたって、c D N A、D N A 又は R N A の量に関する。例えば、不活性化 H I V - 1 c D N A のアッセイにおいて、検体の H I V - 1 力値が高いほど、検出信号はベースラインの値を早く超える。試料の H I V - 1 力値が低いほど、検出可能な量の H I V - 1 材料を生産するためにより多くの数の増幅サイクルが必要となる。検出機信号の出現は、臨界閾値 (C t) として報告される。C t は、検出器信号が所与の閾値を超えて指数関数的な成長段階を開始する分数のサイクル数として定義される。より高い C t 値は、開始 H I V - 1 標的材料のより低い閾値を示す。

【0319】

図 2 3 は、本発明の実施形態に従った実験での、1 0 6 の H I V - 1 から 1 0 2 の H I V - 1 c D N A 分子に及ぶ希釈系列に関する標的標準曲線を示す。H I V - 1 材料の濃度が増大すると、標準曲線はより早いサイクルへの移行を示す。したがって、一番左の標準曲線は一番高いウイルス力値レベルに対応し、一方で、一番右の標準曲線は、一番低いウイルス力値レベルに対応する (図 2 3)。水平の青線は、この実験セットに関する C t 値である。本発明に従った実施形態でのパイロット実験は、出発 H I V - 1 c D N A 又は R N A 分子の 5 0 コピー以下から 2 0 0 万のコピーの H I V 検出の動作範囲、及び、他の病原体での概念実証を示し、別の病原体 (E. coli) で既に達成した検出の単分子量を複製する実験が進行中である。図 2 3 の左上の角には、本発明の実施形態に従ったプロトタイプのデバイスの絵であり、従来のラップトップコンピューターよりも小さい。そのデバイスを大きくした図が図 2 6 であり、ディスプレイスクリーン 2 6 0 1 及び分析用の生体試料を含むチップが挿入される仕切り 2 6 0 2 を示す。このデバイスのオペレーティングシステムは、ユーザーが直感的に使えるものであり、データ共有及び保管用の革新的な統合能力と一緒に、継ぎ目のない機能性を提供する。図 2 3 のデータは、1 時間内に作製された。

【0320】

本発明の実施形態に従ったデバイスは、正確に定量化したコピー数の H I V - 1 R N A ウイルス配列標的を含む、外装 (armored) H I V - 1 R N A ウイルス参照試料から出発する定量化のための標準曲線を作製することが示された。Armored R N A 制御は、多くの市販 H I V ウイルスロード試験を包含する幅広い範囲の診断試験で標準的な産業となっている。

【0321】

F D A 承認 Stratagene の P C R 機の直接比較

【0322】

プロトタイプを最も標準的な定量化 P C R 機、Stratagene MX4000 に対してベンチマークすることで、本発明の実施形態に従ったシステム上の実現可能性データをさらに示した。

【0323】

図 2 4 では、不活性化 H I V - 1 を 1 0 6 から 1 0 2 の H I V - 1 c D N A 分子に及ぶ出発量まで段階希釈した。S Y B R 蛍光によって作成された標準増幅曲線からの閾値サイクル (C t) を用いて、ウイルスロードを定量化した。既知の H I V - 1 ウイルスに基づいたこれら標準曲線を再現した。図 2 4 は、標的 H I V - 1 を増幅する従来の P C R 機

の動作範囲を示す。水平の青線はこの実験セットのCt値を反映する。図23(上)は、本発明の実施形態に従ったシステムでのHIV-1の既知の濃度を有する同一試料を示す。これらのデータは、本発明に従った実施形態由来の定量的なウィルスロードデータがCt、曲線あてはめ及び動作範囲に基づいたStratageneシステムと原則的に同等であるという概念の証拠を提供する。本発明の実施形態に従ったシステムと比較すると、最も標準的なFDA承認ウィルスロードStratagene機の大きさは約10倍大きい。

【0324】

精密定量化を伴う細菌ロードの検出

【0325】

一般的な細菌病原体E.Coliを本発明の実施形態に従ったシステムで試験し、1000のコピーから10,000,000のE. coliのDNA/uL(図25A、左)の検出の動作範囲を示した。ピアソン相関係数 $R^2 = 0.9886$ は、定量化サイクルとDNAコピー数との間の統計的に有意な直線あてはめを示し、技術の忠実度を示す(図25B、右)。

【0326】

本明細書で引用した特許、公開出願及び参照全ての教示は参照により本明細書に組込まれる。

【0327】

本発明は例示的な実施形態を参照しながら具体的に図示及び説明されたが、付属の特許請求の範囲に包含される発明の範囲を逸脱することなく、形式及び詳細に様々な変更がなされ得ることが当業者には理解されるだろう。

【図面】

【図1】

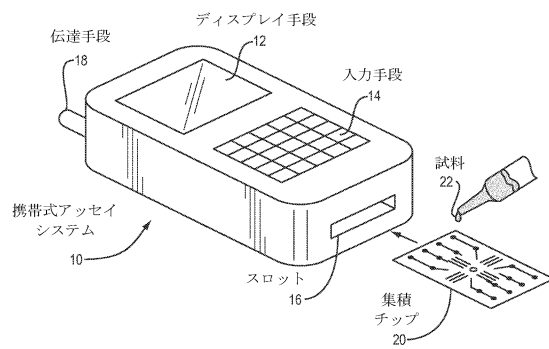


図1

【図1A】

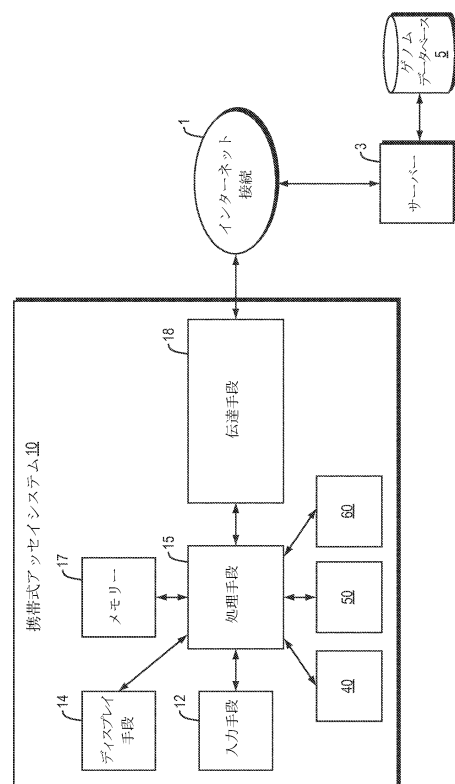


図1A

10

20

30

40

50

【図 2】

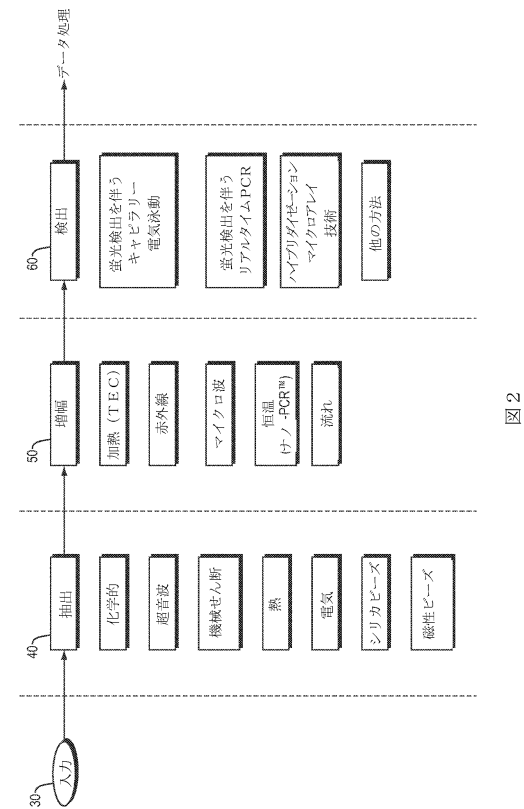


図 2

【図 2 A】

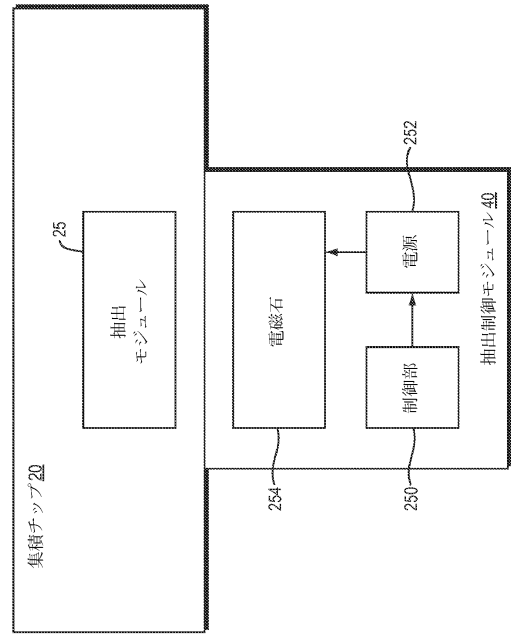


図 2 A

【図 2 B】

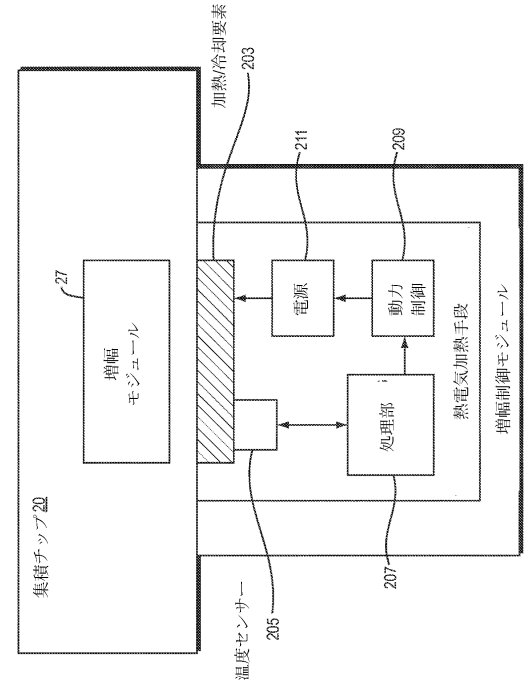


図 2 B

【図 3】

時間	35g 集積チップ				25g 特定用途向け集積回路		試験から結果
	抽出	増幅	検出	データ処理	25g 特定用途向け集積回路	試験から結果	
時間	4 分	4 分	4 分	5 分	25g 特定用途向け集積回路	< 20 分	
実装					25g 特定用途向け集積回路	~60g カートリッジ	

図 3

【図 4】

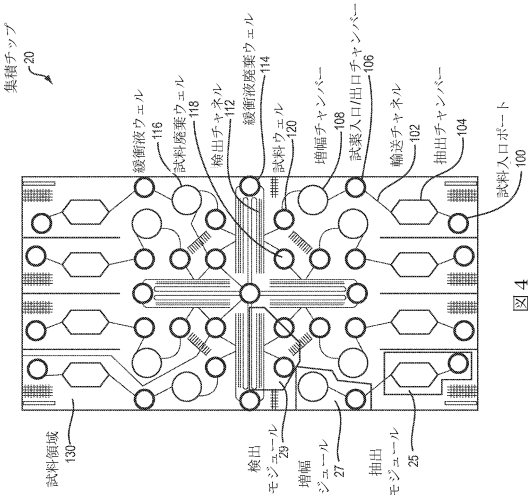


図 4

【図 5】

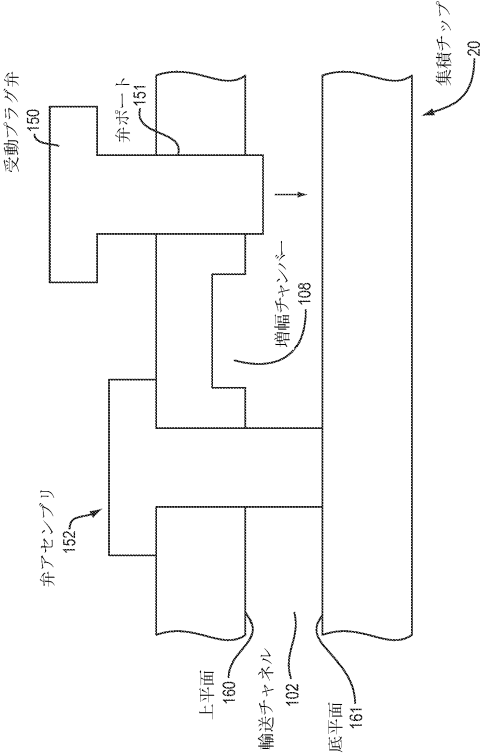


図 5

【図 6 A】

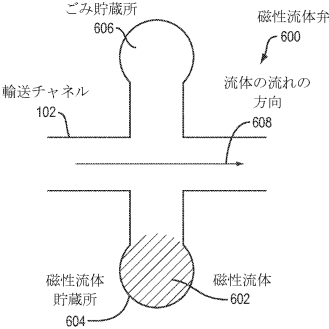


図 6 A

【図 6 B】

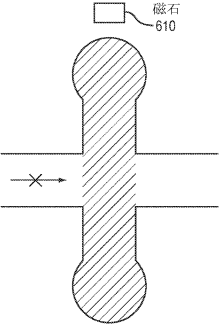


図 6 B

10

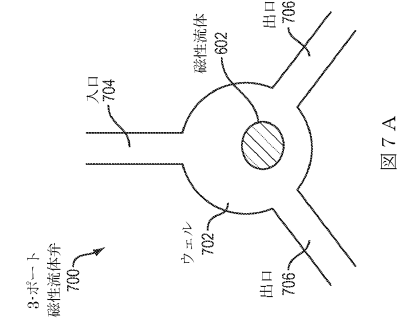
20

30

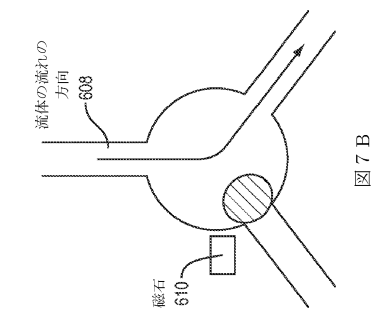
40

50

【図 7 A】

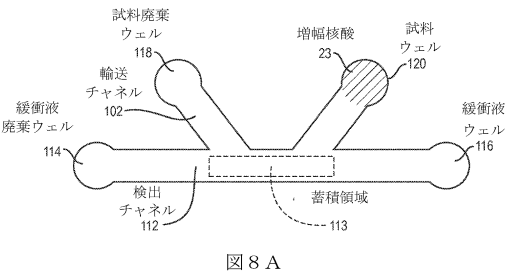


【図 7 B】

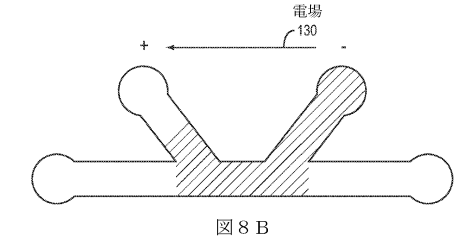


10

【図 8 A】



【図 8 B】



20

30

40

50

【図 1 5 A】

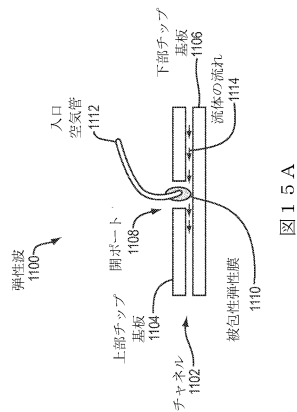


図 1 5 A

【図 1 5 B】

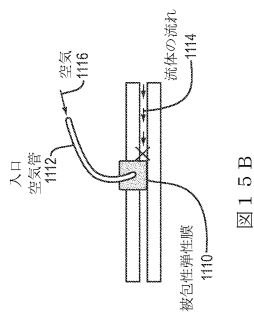


図 1 5 B

10

【図 1 6 A】

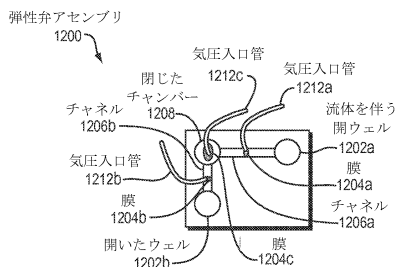


図 1 6 A

【図 1 6 B】

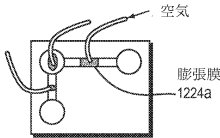


図 1 6 B

20

【図 1 6 C】

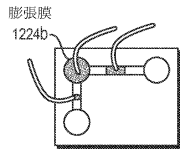


図 1 6 C

【図 1 6 D】

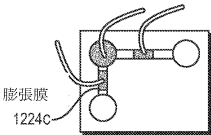


図 1 6 D

30

40

50

【図 1 6 E】

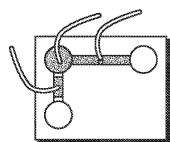


図 1 6 E

【図 1 6 F】

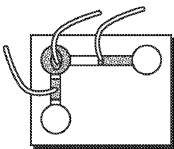


図 1 6 F

【図 1 7 A】

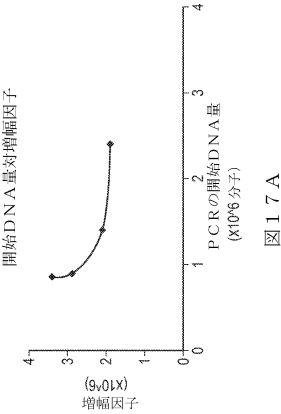


図 1 7 A

【図 1 7 B】

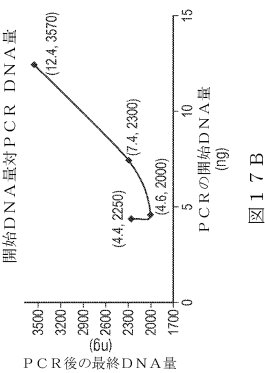


図 1 7 B

【図 1 7 C】

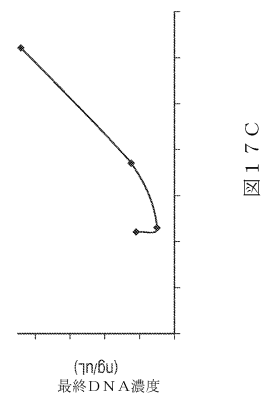


図 1 7 C

【図 1 7 D】

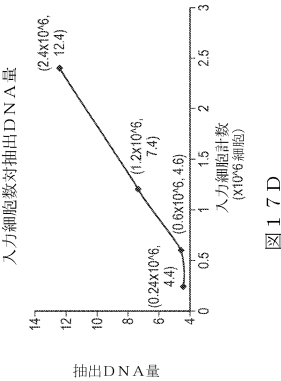


図 1 7 D

10

20

30

40

50

【図 1 8】

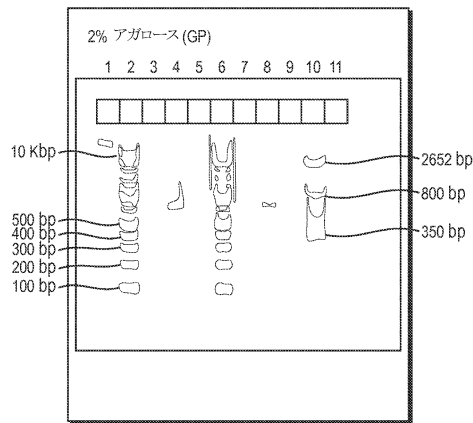


図 1 8

【図 1 9 A】

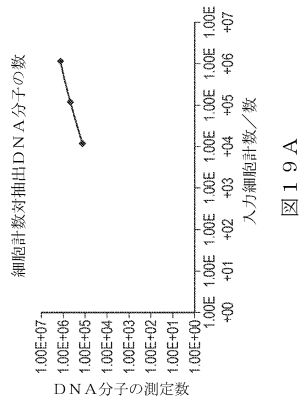


図 1 9 A

【図 1 9 B】

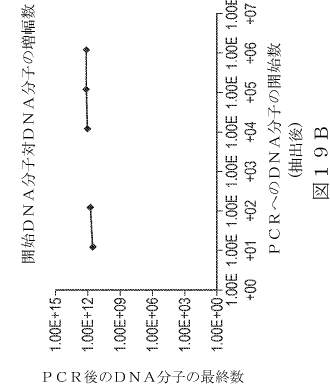


図 1 9 B

【図 1 9 C】

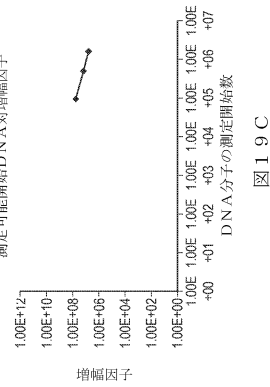


図 1 9 C

10

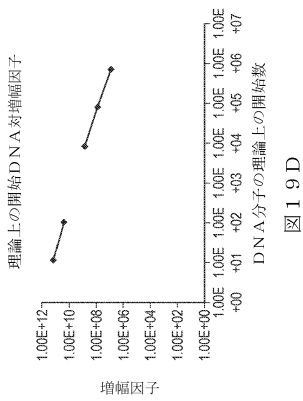
20

30

40

50

【図 19 D】



【図 20】

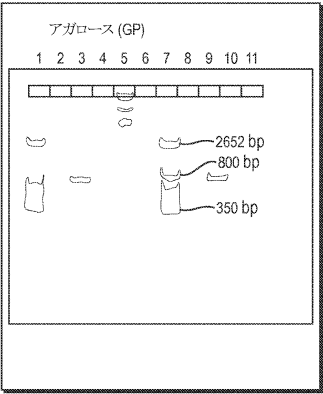


図 20

【図 21】

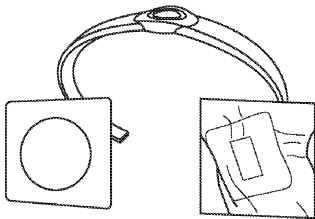
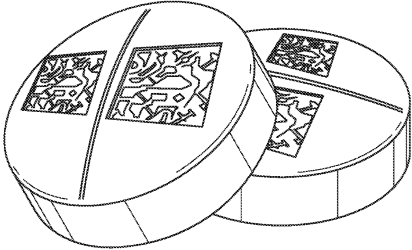


図 21

【図 22】



v4.0
摂取可能のもの
注入可能のもの
移植可能のもの

図 22

10

20

30

40

50

【図 2 3】

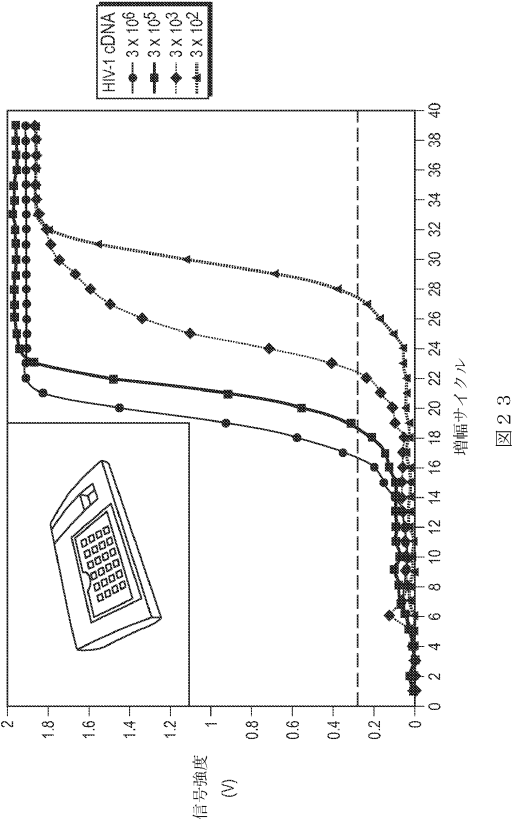


図 2 3

【図 2 4】

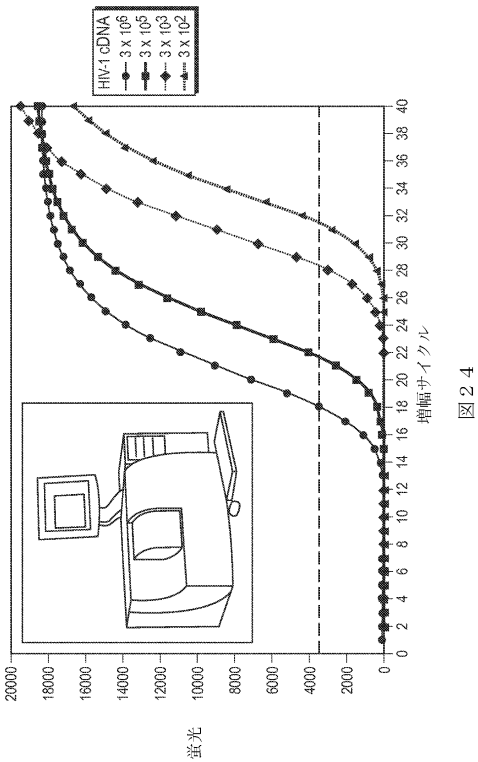


図 2 4

【図 2 5 A】

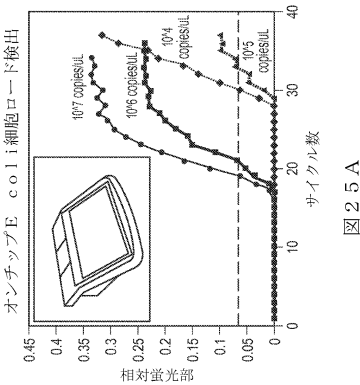


図 2 5 A

【図 2 5 B】

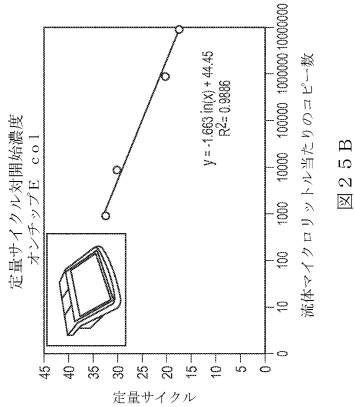


図 2 5 B

10

20

30

40

50

【図 2 6】

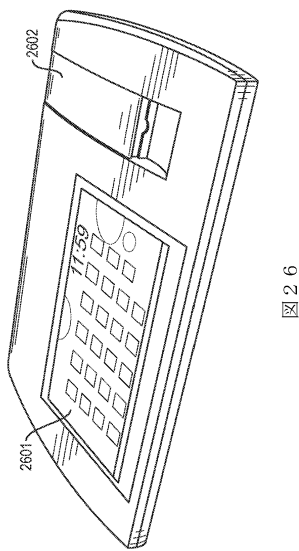


図 2 6

【図 2 7】

Hs-CRP	急性冠症候群
IL1b, IL-1Ra	急性冠症候群、 うっ血性心不全
IL6	うっ血性心不全、心房細動、心血管リスク
MCP-1, CCR1, CCR2	冠動脈疾患、急性冠症候群
THF-a	心筋骨折
MMP-9, MMP-11	急性冠症候群
E-selectin	急性冠症候群、 冠動脈疾患
VCAM-I, ICAM1	冠動脈疾患
sCD40L	急性冠症候群

図 2 7

10

【図 2 8】

Hs-CRP
THF-a
IL6, IL-8
PAI-1
IL2RA
MCP-1
アディポネクチン
インスリン
プロインスリン
レプチン

図 2 8

【図 2 9】

炎症	IL-6, CRP, フィブリノーゲン、 ミエロペルオキシダーゼ、ネオプテリン、 オステオポンチン、MCP-1, ST-2, MMP-9
組織損傷	Hs TROPONIN I/T, NT-proBNP
代謝性	インスリン、プロインスリン、NEDFAs, アディポネクチン、レプチン、HBA1c, グルコース
腎臓	eGFR, CYSTATIN-C
リポタンパク質	アポリポタンパク質 AⅠ, B, LpP LA2, sPLA2, パロオキシナーゼ、Lp(a)
栄養に関する	ホモシステイン、N-3 脂肪酸、 ビタミン
内皮	ADMA, t-PA, CAMS, VWF
血栓性	フィブリン D-DIMER, 血漿粘度
酸化	テロメア、oxLDL

図 2 9

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和7年2月4日(2025.2.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

生体試料の迅速な分析のためのシステムであって：

少なくとも1つの集積チップを受け取る移動式デバイスを備え；

前記移動式デバイスは集積チップを処理し、その上にロードした生体試料を分析し；

前記移動式デバイス及び前記集積チップは一緒に、前記集積チップ上の分子又は流体系の操作及び制御のうち少なくとも1つを実施するように構成され；

及び、ここで、前記移動式デバイス及び前記集積チップは一緒に、生体試料の分析の複数の工程の少なくとも1つを管理する少なくとも1つのパラメーターをプラス若しくはマイナス10%、プラス若しくはマイナス1%、プラス若しくはマイナス0.1%、プラス若しくはマイナス0.01%、プラス若しくはマイナス0.001%又はプラス若しくはマイナス0.0001%内まで精密制御するよう構成される、前記システム。

【外国語明細書】

2025069135000055.pdf

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. B L U E T O O T H
2. T R I T O N
3. T W E E N
4. U N I X
5. W I N D O W S