

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4486964号  
(P4486964)

(45) 発行日 平成22年6月23日(2010.6.23)

(24) 登録日 平成22年4月2日(2010.4.2)

(51) Int. Cl.	F I	
GO 1 N 35/00 (2006.01)	GO 1 N 35/00	E
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00	I O 2
GO 1 N 33/566 (2006.01)	GO 1 N 33/566	
GO 1 N 35/04 (2006.01)	GO 1 N 35/04	G
GO 1 N 35/10 (2006.01)	GO 1 N 35/06	A
請求項の数 43 (全 43 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2006-530299 (P2006-530299)  
 (86) (22) 出願日 平成16年5月28日(2004.5.28)  
 (65) 公表番号 特表2007-501405 (P2007-501405A)  
 (43) 公表日 平成19年1月25日(2007.1.25)  
 (86) 国際出願番号 PCT/ES2004/000244  
 (87) 国際公開番号 W02004/106922  
 (87) 国際公開日 平成16年12月9日(2004.12.9)  
 審査請求日 平成19年3月28日(2007.3.28)  
 (31) 優先権主張番号 P200301292  
 (32) 優先日 平成15年5月30日(2003.5.30)  
 (33) 優先権主張国 スペイン(ES)

(73) 特許権者 505441568  
 インスティトゥト ナシオナル デ テク  
 ニカ アエロエスパシアル “エステバン  
 テラーダス”  
 INSTITUTO NACIONAL  
 DE TECNICA AEROESPA  
 CIAL ” ESTEBAN TERRA  
 DAS”  
 スペイン国 イー-28850, マドリ  
 ッド, トレホン デ アルドス, カレテラ  
 デ アハルビル, ケーエム 4, 5  
 Ctra. de Ajalvir, K  
 m 4, 5, E-28850 Torr  
 ejon de Ardoz (Madr  
 id) (ES).

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 一以上の試料の分析から物質又は検体を検出するための方法及び装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一個又は数個の試料の分析から物質又は検体を検出するための装置であって、  
 一連の個別の容器を有し、それらのそれぞれは分析される前記試料のうち一個を受け入れ、  
 該試料を物理的処理、化学的処理、または生物学的処理にさらすための試料処理モジュール、

前記試料処理モジュールの容器内に収容される前記試料にそれらの均質化を形成するために作用可能である試料ホモジナイザーモジュール、

前記試料処理モジュール内に含まれる容器と同数である一連の反応チャンバーを有し、  
 それらのそれぞれは制御された通路導管を介して前述の容器のうち一個に接続され、物質  
 を検出するためのセンサーシステムを有する反応モジュール、

それぞれの処理ステップで必要とされる前記試薬及び溶液を保有及び分配する試薬及び  
 溶液管理モジュール、

前記反応チャンバーで発生する反応が検出され、検出された信号が処理されるデータ  
 読取モジュール、及び

前記処理及び前記発明の前記モジュールのそれぞれ及び全てを管理する全体コントロー  
 ラーを有することを特徴とする装置。

【請求項2】

前記試料を前記選択された処理モジュールの一個又は複数の容器に添加又は分配するこ  
 と、及び前記試料処理モジュールの位置を規定して前記選択された容器内に収容された前

記試料を前記試料ホモジナイザーモジュールに接触させることに関する試料分配モジュールをさらに有することを特徴とする請求項 1 に記載された装置。

【請求項 3】

前記試料分配モジュールは、分析される前記試料が注がれる固定位置にホッパー又はじょうごを有することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載された装置。

【請求項 4】

前記試料分配モジュールに、マルチウェルプレート内に保有される試料注入器によって試料が送り込まれる請求項 1 または 2 に記載された装置。

【請求項 5】

前記試料分配モジュールは、前記試料処理モジュール容器が組み付けられる回転ドラムを有し、

前記試料処理モジュールは、分析される前記試料を収納する前記容器を前述の試料の処理の間に閉じるための閉鎖手段をさらに有し、この閉鎖手段は前記回転ドラム上に配置されるラックに組み付けられるピストンを有し、

前記回転ドラムは前記ホッパー又はじょうごと連絡して、続けて前記試料処理モジュールのピストンと連絡して選択された容器を常に設置することが可能であることを特徴とする請求項 3 に記載された装置。

【請求項 6】

前記試料処理モジュールの容器が組み付けられる前記回転ドラムは、垂直シャフトについて回転することを特徴とする請求項 5 に記載された装置。

【請求項 7】

前記試料処理モジュールの容器が組み付けられた前記回転ドラムは、水平シャフトについて回転することを特徴とする請求項 5 に記載された装置。

【請求項 8】

前記反応モジュールチャンバーが前記試料分配モジュールの前記回転ドラムに組み付けられたことを特徴とする請求項 5 に記載された装置。

【請求項 9】

前記閉鎖手段の下に前記異なる容器が前述のドラムの回転によって位置可能であり、前記ラックはすぐ下に位置する前記容器の上部開位置と他の底部閉位置との間の縦方向に移動可能であることを特徴とする請求項 6 に記載された装置。

【請求項 10】

前記試料処理モジュールは、分析される前記試料を前述の試料の処理の間に収納する前記容器を閉じるための手段をさらに有し、この手段は前記回転ドラムの一方側に配置されるラックに組み付けられるピストンを有し、これの反対に前記異なる容器が、前述のドラムの回転の結果として前記ドラムの他方側に配置されて、配列可能であり、前記ラックは開位置と閉位置の間で移動可能であることを特徴とする請求項 7 に記載された装置。

【請求項 11】

前記試料処理モジュールの容器のそれぞれは、それらを閉じる手段をさらに有し、この手段はそれぞれの容器に組み付けられ、前記試料ホモジナイザーモジュール移動ラックの移動によって作動されるピストン又はバルブを有することを特徴とする請求項 1 に記載された装置。

【請求項 12】

前記試料処理モジュールの容器のそれぞれは、それらを閉じる手段をさらに有し、それぞれの試料処理モジュールの容器は、一以上のメイン均質化チャンバー及び前記メインチャンバーと相互接続可能であり前記試薬を收容するための一以上の独立した第 2 チャンバーを有し、前述のメインチャンバーは、分析される前記試料及び前記閉鎖手段を受け入れるために開いており、フィルター及びフローバルブを備えた底部ポートを有し、それを介して前記均質化試料が前記反応モジュール中に注入されることを特徴とする請求項 1 に記載された装置。

【請求項 13】

10

20

30

40

50

前記メインチャンバーの壁は、前記第2チャンバーとの前記相互接続ポートの上に配置される通気ポートを有し、前述のポートが前記ピストンのガスケットによって超されるときに前記ピストンによって前述のチャンバーの密閉のモーメントを決定し、前述のピストンは、前述のチャンバー内の圧力の増加を引き起こすように前記密閉位置から前記メインチャンバー内に移動可能であることを特徴とする請求項12に記載された装置。

【請求項14】

前記メインチャンバーへの前記試料導入は前記通気ポートを通じて実行されることを特徴とする請求項13に記載された装置。

【請求項15】

前記第2チャンバーは、キャップによって上部及び底部で閉じており、このキャップを通じて、試薬又は溶液を注入するための前記試薬管理モジュールに属し、もしくは圧力又は温度センサー、又は他の物理化学パラメーター用のセンサーを支える排管が導入可能であることを特徴とする請求項12に記載された装置。

10

【請求項16】

それぞれの試料処理モジュール容器の前記メインチャンバーと前記反応モジュールチャンバーとの間に配置される前記フローバルブは逆止めバルブを有し、その閉鎖は、過剰圧力が前記試料処理モジュールメインチャンバーに対して前記反応モジュールチャンバー内に引き起こされるときに生じること特徴とする請求項12に記載された装置。

【請求項17】

前記試料処理モジュールのラックは、前記試料分配モジュールの移動シャフトに、前述のモジュールの一方側で、回転能力はないがセンサーによって決定される端部位置の間でそれら上にスライドする能力を有して組み付けられることを特徴とする請求項9に記載された装置。

20

【請求項18】

前記ラックはガイドに組み付けられ、そのガイドに沿って、それは、線形電位差計を備えた線形アクチュエーターによって、前記回転ドラムの一方側で回転能力なしで、移動可能であることを特徴とする請求項10に記載された装置。

【請求項19】

前記縦移動のラックは、前記試料ホモジナイザーモジュールを有し、前記試料ホモジナイザーモジュールは熱的又は機械的な作用を備えたデバイス又は前記試料に作用可能な波発生器を有することを特徴とする請求項9に記載された装置。

30

【請求項20】

前述のピストンはチューブ状の構造を有し前記試料均質化デバイスはそれを介して作用することを特徴とする請求項9又は10に記載された装置。

【請求項21】

前記反応モジュールは、それぞれの試料処理モジュール容器のために、前記逆止めバルブを介して前述の容器の前記メインチャンバーに接続されるインレット、洗浄溶液が注入される前述の容器の前記第2チャンバーに接続されるインレット、及び廃棄物保管所への溶液アウトレットを有する内部の反応チャンバーを特定する本体を有し、前述のチャンバーの壁の一つは、前記チャンバー内に注入される前記均質化された溶液又は懸濁液内に存在する物質を検出することに関する前記センサーシステムを支えることを特徴とする請求項16に記載された装置。

40

【請求項22】

前記試薬及び溶液管理モジュールは、前記シリンジプランジャロッドを作動する線形アクチュエーターによって一緒にされる流体を保管及び分配することに関する少なくとも一つのモーター付きのシリンジ、前記プランジャの位置を得るための位置センサー、逆止めバルブ及び前記試料処理モジュール移動フレームに固定される注入排管を有することを特徴とする請求項1に記載された装置。

【請求項23】

異なる試薬及び溶液が必要とされるため同数の保管所がある一連の試薬及び溶液保管所

50

、及び前記異なる保管所から前記流体を吸引しそれらを前記均質化又は反応チャンパー中に分配可能である少なくとも一つのポンプデバイスを有することを特徴とする請求項 2 2 に記載された装置。

【請求項 2 4】

前記反応モジュールは、バイオセンサーを収納する容器で構成され、それは、前記試料処理モジュール容器からの前記試料用の少なくとも一つのインレットポート、追加液体溶液用の少なくとも一つのインレットポート、及び異なる溶液用の少なくとも一つのアウトレットポート、また必要ならばパイプ又は導管を有することを特徴とする請求項 1 に記載された装置。

【請求項 2 5】

前記インレット及びアウトレットポートは、ポンプシステムが配置され、前記バイオセンサー上で前記試料を再循環させることを許容する導管によって接続されることを特徴とする請求項 2 4 に記載された装置。

【請求項 2 6】

前記バイオセンサーが配置される前記容器は、前述のバイオセンサーの動作を改善するように、前記液体試料を攪拌又は移動するシステムを有することを特徴とする請求項 2 4 に記載された装置。

【請求項 2 7】

前記バイオセンサーは、フローチャンネル又はチャンパーに分配されるマイクロアレイ又はマイクロチップの形状である固体支持体に固定される物質を検出することで形成されることを特徴とする請求項 2 4 に記載された装置。

【請求項 2 8】

前記データ読取モジュールは、前記バイオセンサーにエネルギーを与えるための光源及び適当な放射検出システムを有する反応ディテクターを有することを特徴とする請求項 2 4 に記載された装置。

【請求項 2 9】

前述の光源は単色であり、前記検出システムは適切な放射のみを検出するフィルターと結合した CCD カメラであることを特徴とする請求項 2 8 に記載された装置。

【請求項 3 0】

前記単色光は、前記バイオセンサーが配置される導波管によってガイドされ、このバイオセンサーは前述のガイドの外表面に形成されるエバネセントモードの結果としてエネルギーが与えられることを特徴とする請求項 2 9 に記載された装置。

【請求項 3 1】

組み付けられたケージ状構造を有し、そこには中央垂直線柱があり、それは前記試料分配モジュール回転ドラムの前記回転シャフトを決定し、その柱に沿って前記試料処理モジュールはスライド可能であり、前記試料分配モジュールのホッパー又はじょうご、前記試薬管理モジュール及び前記データ読取モジュールは前述のケージ形状の構造に組み付けられることを特徴とする請求項 6 に記載された装置。

【請求項 3 2】

組み付けられたケージ形状の構造を有し、そこには、水平シャフトに従って、前記試料分配モジュール回転ドラムがあり、前記シャフトに平行にあり、前記試料処理モジュールラックがスライドするガイド、前記試料分配モジュールのホッパー又はじょうご、前記試薬管理モジュール、前記データ読取モジュール及び前記通信及び制御モジュールが前述のケージ形状の構造にともに組み付けられることを特徴とする請求項 7 に記載された装置。

【請求項 3 3】

請求項 2 4 に記載の装置を用いて一以上の試料の分析から物質又は検体を検出するための方法であって次のステップを有することを特徴とする：

- a) 前述の試料を適当な液体バッファと混同する；
- b) 均質化システムで均質化する；

10

20

30

40

50

- c) 前述の試料を修飾するために試薬を添加する；
- d) 前記試料にフィルターをかける；
- e) 反応チャンバー内に前述の試料を注入する；
- f) 前記試料をバイオセンサーと反応させる；
- g) 前記反応しない試料の過剰分を洗浄する；及び
- h) 前記バイオセンサー内に保有された前記試料を検出する。

【請求項 3 4】

前記適当な液体バッファは食塩水であることを特徴とする請求項 3 3 に記載された方法。

【請求項 3 5】

前記液体バッファは試料マーカ化合物を有することを特徴とする請求項 3 3 に記載された方法。

【請求項 3 6】

前記マーカ化合物の過剰分はブロッカー化合物でブロックされることを特徴とする請求項 3 3 に記載された方法。

【請求項 3 7】

前記バイオセンサーは他の物質に特異的に結合可能である少なくとも一つの物質を有することを特徴とする請求項 3 3 に記載された方法。

【請求項 3 8】

他の一つ又は複数の物質に特異的に結合可能な前記一つ又は複数の物質は、次のグループから選択されることを特徴とする請求項 3 7 に記載された方法：

- a) アミノ酸特性の物質；
- b) タンパク質特性の物質；
- c) ヌクレオチド特性の物質；
- d) 核酸；
- e) ペプチド - 核酸 ( P N A ) ；
- f) 脂質特性の物質；
- g) 単糖類特性の物質；
- h) 前述の中から少なくとも 2 つの組み合わせである物質；
- j) 生きている全細胞；
- j) 孢子形状の全細胞；
- k) 細胞抽出物又は溶解物；
- l) 細胞によって形成される組織；
- m) 全ウィルス又はその任意の成分；
- n) 合成高分子；及び
- o) 分子インプリンティングした高分子 ( M I P ) 。

【請求項 3 9】

他の物質に特異的に結合可能である前記タンパク質はモノクローナル及びポリクローナル抗体であることを特徴とする請求項 3 8 に記載された方法。

【請求項 4 0】

前述の試料修飾化合物は、前記試料内に存在する任意の前記抗体に結合可能である化学試薬、又は請求項 3 8 または 3 9 で述べられたものの中からの一以上の物質、又は両方の組合せから選択されることを特徴とする請求項 3 3 または 3 5 に記載された方法。

【請求項 4 1】

前記バイオセンサー内に保有された前記試料の前記信号は請求項 3 8 または 3 9 で述べられたもの一以上の物質を含む反応混液又は混合物によって増幅されることを特徴とする請求項 3 3 に記載された方法。

【請求項 4 2】

前述の反応混液は、蛍光物質、金属化合物又は酵素でマークされた一以上の抗体を有することを特徴とする請求項 3 3 または 4 1 に記載された方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 3】

前述の反応混液は、蛍光物質、金属化合物又は酵素でマークされた一以上の P N A 又は核酸を有することを特徴とする請求項 3 3 または 4 1 に記載された方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、多くの試料の分析を同時に行うことを許容し、さらにリモート制御によって操作可能である一以上の試料の分析から物質又は検体を検出するための装置に関する。また、本発明は、前述の物質又は検体を検出するための方法を含む。

## 【背景技術】

## 【0002】

近年、例えば生物の分子物性に基づいた検出システムなどのバイオセンサーの開発は、それによって培地中のある物質の存在を評価すること及びその特徴（これらの間のその可能な毒性又は病原性）を分析することを可能とするため、現実のバイオテクノロジー革命を構成してきた。

## 【0003】

環境バイオセンサーは、シグナル伝達物質と結合している生物学的認識システムの用途に基づいている。生体触媒、バイオアフィニティ (bioaffinity)、及び代謝という生物学的認識について 3 つの基本的なメカニズムがある。同様に、形質導入システムは、電気化学的、光エレクトロニクスの、視覚的又は聴覚的であるかもしれない。センサーで検出可能な方法又は前述の物質による酵素の抑止によって検出可能な方法での物質（例えば、汚染化合物）の触媒変化は、生体触媒に基づいたバイオセンサーの 2 つの基本的な操作メカニズムである。これらの第一の例としては、フェノールを検出するためのチロシナーゼの用途 (Chen W.J., 1995; Marko-Vargなど, 1995)、又は、有機リン農薬を検出するための有機リン加水分解酵素の用途 (Mulchandaniなど, 2000) である。

## 【0004】

これらのシステムに固有の制限には、よく知られた酵素の基質である汚染物質の減少、汚染物質を検出するために比較的高濃度の汚染物質の必要性、培地での抑止剤の存在、付加的な基質、コンファクター (confactor)、又は仲介物質を使用し、試薬を開発する必要性などがある。さらに、多くの酵素 - 基質の相互作用の不可逆的な性質は、バイオセンサーが再利用できないということである。

## 【0005】

抗原と一緒に抗体、又は相補的な核酸の間のハイブリダイゼーションという高い特異反応は、最も使われるバイオ親和性システムである。環境的な応用での第一のバイオ親和性のバイオセンサーは、大量の汚染物質に対するモノクローナル及びポリクローナル抗体の利用性のため、抗体の用途に基づいていた (Van Emon and Lopez-Avila, 1992; Marcoなど, 1995)。そのため、免疫センサーは環境的な目的のためバイオセンサーの最も使われるタイプを構成する。免疫センサーの間では、多機能性、形式の汎用性、試験時間、感知度、コスト、再現性、管理などと同じくらい重要に外観を取り扱うことが可能な市販の形式とキット（両方とも再利用及び 1 回の使用が可能である）の幅広い範囲がある。

## 【0006】

環境応用の核酸（特定のハイブリダイゼーション）の間の親和性の反応に基づいたバイオセンサーの開発は始まったばかりである。バイオセンサーのこのタイプの応用の例としては、化学薬品によって生成される D N A 損傷を検出し (Fojta及びPalecek, 1997)、又は種に特異的な D N A プローブを用いることで微生物を検出する (Chengなど, 1997)。P E バイオシステム社 (www.pebiosystems.com) は、遺伝子コードが 1 6 S リボソーム R N A である普遍的遺伝子の増幅及び配列に基づいてバクテリアを検出し特定するためのキットを市販している。

## 【0007】

病原性の微生物の検出及び定量化のために、抗原 - 抗体反応又は核酸の特有のハイブリ

10

20

30

40

50

ダイゼーションに基づいて、生体臨床医学の分野には、バイオセンサーの異なったタイプがまたある。免疫測定検出技術は異なる形式で、バクテリア性又はウイルス性の病原体を検出するために、開発された。これらの技術の最も精巧な変形は、アボット (Abbott (www.roche-diagnostics.com)) によって開発された定量的な LCx-RNA 技術のように、体液中に存在する病原体を定量化することさえ許容する。核酸ハイブリダイゼーションに基づいた方法学の例として、ロッシュ (Roche (www.roche-diagnostics.com)) によって市場されている ranced-DNA 技術のいくつかの変形が述べられ、血流中の病原性のウイルスの直接的な定量化を許容し、それらの間にヒト免疫不全ウイルス又は B 又は C 型肝炎ウイルスがある (Collins など、1997)。ニトロセルロース片 (アボットによって市販されている LiPA 技術) に動かないように固定される核酸プローブとの異なる微生物ゲノムハイブリダイゼーションは、ウイルス株又は種々の遺伝子型を処理することを許容する (Stuyver など、1997)。

10

## 【0008】

もう一つの生物学上の認識システムは、微生物代謝物の研究に基づいている。したがって、細胞呼吸にしたがって化合物の増加する濃度、又は前述の化合物による呼吸の抑制の測定、及び化合物の部分についての遺伝子発現プロモーター又はレギュレーターの特有の認識は、このタイプのバイオセンサーの例である (Karube、1990; Riedel、1998)。関心のある検体によって認識され、環境汚染物質の存在を認識し検出するレポーター遺伝子を運ぶプラスミドとの変換によって遺伝学的に変更された微生物は、開発されてきた。

## 【0009】

20

DNA マイクロアレイ技術の最近の開発は、DNA チップ又はマイクロチップ (Southern など、1994; 参照 Nature Genetics 21、補足、1999) と呼ばれ、共有結合している数千の分子プローブ (核酸、タンパク質、炭水化物など) が固体のキャリア (ガラス、ニトロセルロース、ナイロンなど) であることを許容し、このように、スクリーニング及びバイオ親和性のバイオセンサーを開発する可能性においてともにかなりの利点を構成する。

## 【0010】

DNA チップは主に遺伝子発現、ゲノムの再配列、及び遺伝子型研究を構成する。病変組織 (がん、ウイルスによる感染、バクテリア、菌類など) 及びそれ自体の感染物質 (Cheng など、1998) の試料から、数千の遺伝子の RNA レベルでの発現を分析することが可能である。これらの処理に関連する遺伝子の発見は、新しい薬剤、新しい診断方法などを見つけて作ることを許容する。再配列と遺伝子型の研究は、研究された有機体でヌクレオチド変異体及び多型 (SNPs) を発見することを許容する (Hacia など、1999)。

30

## 【0011】

DNA チップの応用のもう一つの分野としては微生物種の同定があり、主に同一種の変異又は株 (程度の差はあるが悪性である) であって (Gingeras など、1998)、臨床目的 (薬剤、毒性、病原体要因などへの耐性) 又は生態学的な目的 (生物学的多様性、多型分散など) のためである。Gingeras などは、M. tuberculosis の 63 臨床分離株のコレクションでリファンピシンへの耐性を授与する変異体の存在を分析するために、Mycobacterium tuberculosis rpoB 遺伝子の 75 bp DNA 断片の全ての位置 (両方の鎖で) に問合せるオリゴヌクレオチドを持った DNA チップを構築した。種の同定は、DNA マイクロチップで簡単に決定可能である種に特異的な多型の存在に基づいている。バクテリアを同定するための DNA チップの用途のもう一つの例としては、米国特許 5925522 であり、Wong など (1999) が特有のオリゴヌクレオチド配列を持った DNA チップによってサルモネラ菌を検出するための方法を説明している。

40

## 【0012】

培地中の物質の存在を分析するときの主な問題の一つには、これらの物質がほとんどの場合でとても薄められており、大きな開始量を使用することを必要とする。例えば、伝染性のグラム陰性のバクテリアが血液又は飲料水中に 10 コピー/ミリリットル (ml) 未満で存在可能であり、ヒト免疫不全ウイルスのようなウイルスが感染者の血液中に 5 コピー/ml 未満で存在可能であり、大腸菌及びサルモネラ菌が現れるような感染物質 (infe

50

ctious agent) は、食物の中に10コピー/グラム未満である。欧州特許EP 1 1 7 9 5 8 5, A 3 (公開日は2002年2月13日)は、検出及び処理チャンネル、チャンパー、容器又は範囲の任意の組合せを含む大きなカートリッジで、マイクロ流体チップ又は化合物の取り込みによってマイクロ流体に基づいて、システムを分析するために大量の量を用いるという問題の解決を提供している。前述の発明は、流体から検体を分離し、最初の量未満となる量でそれらを凝縮するための用具を記載している。前述の検体は、より好適な用途は核酸を検出するためのものであるが、有機体、細胞、タンパク質、核酸、炭水化物、ウイルス粒子、化学又は生化学の化合物由来でありうる。

#### 【0013】

前述したように、空気、水及び土壌中の汚染物質又は病原体を測定する能力は、ヒトの健康及び生態系で前述の検体の存在のリスクを理解し評価するために重大である。分析化学固有のコストはますますより高くなり、対応してかなりの向上が、サンプリング及び分析がin situでなされる実験室的な検出方法及び分析分野技術の両方でなされてきた。試料の移行は、例えばパッケージング、移行、保管、及び手入れなどを伴う全てで、現場の技術と意思決定の組合せが促進されて、減少される。一方、in situでの技術はサンプリングと分析の間でなされる時間でかなり削減され、(化学的、光化学的又は熱的な)それらの変質又は汚染のリスクがかなり削減される。それにもかかわらず、それらが比較的速く費用の掛からない方法であったとしても、化合物の狭い範囲を分析する能力及び典型的な実験室の技術よりも低い感知度と正確さである。しかしながら、それらは、汚染された部位中の試料のかなりの数を取ることを許容し、継続的なフォローアップが欠くことができな領域での不可欠な研究の計画に特に重要である。使用される方法は、かなり危険であるかもしれないととも低い濃度でさえ、予期しない汚染物質又は病原体の存在を予測しなければならない。

#### 【0014】

汚染領域の特徴づけは、分析的な実験室方式及びin situの治療及びトラッキング方式の組合せによって実行される。キーマーカーが特定されると、分野方式がその空間的で一時的な分配をマップすることを許容し、同様に、可能な修正を通して正確なフォローアップを実行する。バイオセンサーに基づいた実験室的な技術の幅広い種類は説明されてきてあり、これらの多くは、培地又は有機体中のバイオマーカーの濃度を検出又は測定するためにすでに市販された。かなりの数のこのような技術は、半自動及び自動化された方法の器具によって実行される。複雑さ、大きなサイズ及び高い経済的なコストを別として、そのような器具は、このような高い特有の生産物のタイプに共通する市場の障害の他に、免疫測定、化学テストキット、及び他の縮小化された実験室的技術のような他の分野の方式と競合する。in situの検体検出用の携帯用器具のいくつかの部品が現在あるが、それらを扱うには訓練された専門家を必要とする。したがって、よいバイオセンサー器具は、いくつかの要素を測定するために十分であって幅広い範囲の濃度で多目的に使用でき、小さなサイズであり、複雑な化学化合物を自動的に、継続してリモート制御によって検出可能である必要がある。これらの特徴の備品は、川、海、湖などの固定された状況での検体を継続してモニターするために示されるもの、又は、固体又は水中の培地の異なるポイントで試料を分析することを許容する移動システム(例えばロボット)で組み合わせられるために示されるものである。

#### 【0015】

汚染している(毒性がある又はない)物質(検体)の培地又は有機体における検出は、環境及び医療の両方の特性の決定をなす場合にかなり重要である。多くの場合では、単離分析で十分であるが、一又はいくつかの検体をたくさんの回数で継続してモニターすることが絶対に必要になる。そのためには、結果が前述の処理での統一性を欠くために妥協されるかもしれないという事実は置き、処理は、資源(経済、時間、十分に訓練されたスタッフ)での引き続くコストとともに、訓練されたオペレーターによって必要な何回も繰り返されなければならない。この問題は、通常、複雑で洗練された生物医学の器具又は複雑な環境フォローアップの位置で、全自動又は半自動のサンプリング及び分析によって解決

10

20

30

40

50

される。さらに、現在の方法によって同時に分析される物質の数はとても少なく、ほとんどの場合で一つの検体である。例えば、現在の最も広く使用されている水、土壌、建築物の微生物学的な分析の方法は、携帯用の備品又は実験室で、免疫学的な分析又はさらに最近ではPCR反応での典型的な培養技術に基づいており、しかし、いつも試料及び検体の数が制限される。一方で、in situのサンプリングと分析が特に難しい特別な状況がある。例えば、アクセスが困難な領域、又は毒性又は生物学的な生産物でひどく汚染されている部位である。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0016】

10

本発明は、リモート制御による操作及び複数の自然試料の分析と単一の装置で数十から数千の異なる検体を同時に検出及び同定することを許容する方法を受け入れ可能であるロボット化された装置の開発によって、上記説明された欠点を排除することを目的として有する。本発明は、分析能力及び検出感度を非常に増加させてきたタンパク質及びDNAマイクロアレイ技術の最近の開発から利益を受けて、生物学、生物医学及びバイオサニタリー問題の研究を許容している。現在までに開発されてきたマイクロアレイに基づいた技術（試料を処理するために特別なスタッフと複雑で長い手順を必要とする）とは異なって、本発明では、分析される試料の処理がかなり削減され、全体の処理が無人操縦で行われる。

【0017】

20

本発明は、液体試料（体液、水）又は懸濁液（土壌、土砂又はそれ以前の碎石のもの）のナノリットルからミリリットルまでの範囲の量を処理可能な装置、及び、単純な方法で前述の試料を精製又は濃縮を行わないで少なくとも一つの検体の検出を許容する方法を含む。

【0018】

本装置は、試料が取り扱われ、処理され分析される一連の動作モジュールと、この動作モジュールのために、前述の動作モジュールの動作を管理する一連の制御モジュールとを含む。全体のアセンブリの動作は全体制御モジュールによって管理される。さらに、本装置は通信モジュールを有する。

【0019】

30

より具体的には、本発明の装置は次を含む。

- 試料ホモジナイザーモジュール
- 試料処理モジュール
- 試薬及び溶液管理モジュール
- 反応モジュール
- データ読取モジュール

【0020】

さらに、本発明の装置は、試料取得モジュールと試料分配モジュールを有してもよい。

【0021】

40

通信及び制御モジュールに関連して、それらは次を有する。

- 通信モジュール
- 全体制御モジュール
- 試料取得制御モジュール
- 試料分配制御モジュール
- 試料ホモジナイザー制御モジュール
- 処理及び反応制御モジュール
- 試薬及び溶液管理制御モジュール
- データ読取制御モジュール

【0022】

本発明の装置及び方法で行われる処理のシーケンスを次に示す。

50

## 【 0 0 2 3 】

1 . 試料取得モジュールを介して分析される試料を抽出する。前述の試料としては液体又は固体状態中、又は懸濁液中にあることが可能である。

## 【 0 0 2 4 】

2 . 試料は、試料分配モジュールによって均質化及び処理位置に分配される。

## 【 0 0 2 5 】

3 . 均質化の前に、溶液又は懸濁液が前述の試料の中身で用意される。それによって、試料及び溶液管理モジュールが食塩水又は緩衝液の添加を制御し、前述の試料と混合する。

## 【 0 0 2 6 】

4 . 試料均質化は、最大限に粒子状物質を分解し存在する検体を溶解するために、前述の試料及び食塩水又は緩衝液を均質な混合物にすることを含む。この処理は、試料ホモジナイザーモジュールによって実行される。

## 【 0 0 2 7 】

5 . 均質化された試料は、試料処理モジュールで異なる処理に従うことも可能である。化学、生化学、又は生物学的（それは生細胞と相互作用する）な修飾や、フィルタリングや濃縮などのような物理的修飾である。この処理の結果としては、試料中に存在する検体の分子標識であるか否かでもよい。前述の標識は、引き続き修飾された検体の同定を許容する蛍光物質又は他の物質によって形成される。

## 【 0 0 2 8 】

6 . 処理された試料は、感知するデバイスに接触するようになる反応モジュールを通じて循環する。前述のセンサーは、試料中に存在する検体（修飾されたもの又はされていないもの）と相互作用可能である一以上の物質で構成され、前述の検体は反応モジュール中に保有され、さらに、試料の余剰分は廃棄物保管所に保管される。

## 【 0 0 2 9 】

7 . 試料全体が反応モジュールを通じて循環すると、前述のモジュールは、処理された試料の残留物を取り除くために、試薬及び溶液管理モジュールによって制御される溶液で洗浄されてもよい。この洗浄操作は省かれてもよく、新しい試薬が反応モジュールに加えられ、その後に必要なならば新たに洗浄を行ってもよい。

## 【 0 0 3 0 】

8 . 最後の目的は、反応モジュールセンサー中に保有された検体の検出である。そのために、データー読取モジュールは、これらの標識された検体（蛍光であるもの又は蛍光でないもの）を検出するデバイスを備える。前述の検体が蛍光物質（蛍光色素）で修飾されるならば、読取モジュールは、前述の蛍光色素を刺激する強い放射と蛍光検出器を備える。

## 【 0 0 3 1 】

9 . 検出されたデーターは、結果の最終的な表示に適したソフトウェアによって処理される。前述の表示は、データー読取モジュールソフトウェア又はリモートステーションによって、コンピューターで処理可能である画像を生成するビットマップを含むことができる。

## 【 0 0 3 2 】

1 0 . 処理の最終的な結果は、通信モジュールを介して、リモートステーションなどに送られる。

## 【 0 0 3 3 】

現在のシステムに対して、本発明によって提供される主な利点としては次になる。

1 . サンプリング、処理、及び分析からデーター転送まで、システム全体を自動化する可能性がある。

2 . 試料の処理に必要なステップ数をかなり簡略化する

3 . 小型化可能である

4 . 少数から数千までの物質を単一の実行で検出する能力があり、特に生体起源の化合物

10

20

30

40

50

に適する

- 5 . 低エネルギー消費である
- 6 . 独立性が高い
- 7 . リモート制御が可能である
- 8 . 惑星探査（例えば火星）への応用の可能性がある

【 0 0 3 4 】

以下、本発明を形成するモジュールのそれぞれについて詳細に説明する。

【 0 0 3 5 】

要約すると、物質又は検体を一以上の試料の分析から検出するための本発明の方法は、次のステップを含む： a ) 前述の試料を適切な液体バフファと混合し； b ) 均質化システムで均質化し； c ) 試薬を前述の試料を修飾するために添加し； d ) 試料をフィルターにかけ； e ) 反応チャンパー中に前述の試料を注入し； f ) 試料をバイオセンサーと反応させ； g ) 反応しない余剰の試料を洗浄し； h ) バイオセンサー中に保有された試料を検出する。別のステップでは、変更可能な次のコマンドを実行し、分析される試料のタイプに従う。

【 0 0 3 6 】

#### 1 . - 通信モジュール

通信モジュールは、ローカル又はリモートのユーザーとの機器のインターフェースである。ユーザーがローカルであれば、通信モジュールは次のプロトコルのいずれかに従って接続を確立することを許容する。

- 1 . ローカルユーザーの場合のコンソール。
- 2 . R S 2 3 2、R S 4 2 2 又は R S 4 8 5 シリーズに対するリンク。
- 3 . パラレルリンク。
- 4 . U S B (ユニバーサルシリアルバス) リンク。
- 5 . T C P、U D P、又は I P リンク、又はその他のコンピューター間のデータ転送のためのプロトコル。
- 6 . R a d i o、I R D A リンク...
- 7 . フィールドバス： P R O F I B U S、C A N、F e i l d B u s、I n t e r B U S - S、...
- 8 . テレフォンリンク： G S M、...

【 0 0 3 7 】

データリンクの確立の場合では、通信モジュールは、全てのコマンドの認証によって、データコーディング、カプセル化、媒体へのアクセス制御、データ/コマンドの送信/受信及び使用される安全なオプションを実行する。

【 0 0 3 8 】

#### 2 . - 全体コントローラー

これは、全ての機器の動作を制御、管理するモジュールであり、少なくとも次の機能を実行する。

- 1 . 通信モジュールからメッセージを受信し、受信したパラメーターとコマンドを認証し、ユーザーによって送られるそのようなコマンド（タスク）を解釈する。
- 2 . タスク実行システム：全体サブ処理がシーケンシングし、対応するローカルコントローラーにコマンドを送信する。
- 3 . 事前にプログラム化された自動タスクを実行する。
- 4 . それぞれのモジュールの動作を管理する：サブタスクと安全な検証を実行する（処理パラメーターをモニターし、対応する適切な動作範囲でそれらの取り込みをチェックする）。安全がこれを必要とするならば緊急停止制御。
- 5 . サブシステムの故障からの回復。
- 6 . 通信モジュールを介してモニターしている全般的な処理のためにオペレーターに動作パラメーター値を送信する。

【 0 0 3 9 】

10

20

30

40

50

さらに、このコントローラーは、装置のローカルとリモートの操作をともに許容する。

【0040】

3. - 試料取得モジュール

「試料取得モジュール」は、ロボット化された方法で分析される試料を抽出し、保管し、移送することを許容するモジュールとして定められ、これらの試料は固体、液体であり、又は懸濁液中にある。

【0041】

試料取得モジュールは、2つの部分からなる：試料を抽出するためのデバイスと、もう一方はフィードホッパーへのそれらの保管と移送のためのものである。

【0042】

次のように特定の実施の形態は特定される。

【0043】

1. 本発明の特定の実施の形態では、モジュールは、1 Hz から 1 KHz の間の周波数で動作する場合に、水圧、空圧又は機械的システムによって作動され、60 KHz 以下までの周波数の間で圧電アクチュエーターによって作動されるストライカーによって土壌又は岩のドリルを許容する遠心端に配置されるツールとともに前述の試料を少なくとも6度の自由度で抽出するためのロボットを有する。粉碎された土壌の移送は、圧縮空気の吸引及び移送システムによって実行される。

【0044】

2. 本発明の他の特定の実施の形態では、ホッパー中の液体試料を堆積する水圧ポンプシステムが液体試料を抽出するために使用される。

【0045】

3. 本発明の他の特定の実施の形態では、モジュールは、懸濁液中（空気中）の試料を抽出するための吸引フィルタリングシステムを有する。保有された粒子とともにフィルターは、試料分配モジュールに液体の部分を送る。

【0046】

4. 本発明の他の特定の実施の形態では、吸引システムは、空気を本発明の周囲の媒体から取り、得られたガスが溶液中にポンプされ、そして、ポンプが液体の部分を送る。

【0047】

4. - 試料取得コントローラー

試料取得コントローラーは、3欄に説明された機能を実行することに関して全てのメカニズムを制御することに関する。

【0048】

試料取得制御モジュールは、全体制御モジュールによって作動され、事前にプログラム化された機能を実行し、その機能が終了したときに、その実行でのエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全体制御モジュールに送信するものである。

【0049】

3欄のポイント1で特定された試料取得モジュールの特定の実施の形態では、試料取得制御モジュールは、土壌、岩、・・・中に穴を形成するために提供されるツールと粉碎された試料を集めるために使用されるデバイスと同様に、関節のあるアームの制御を実行するものである。

【0050】

3欄のポイント2で特定された試料取得モジュールの特定の実施の形態では、試料取得制御モジュールが液体試料を集めることに関してポンプを制御する。

【0051】

3欄のポイント3で特定された試料取得モジュールの特定の実施の形態では、試料取得制御モジュールは、空気吸引システムと、フィルターを送る試料分配モジュールに移送するメカニズムとを制御するものである。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 2 】

3 欄のポイント4で特定された試料取得モジュールの特定の実施の形態では、試料取得制御モジュールは、空気吸引システムと、空気がポンプされ、それを試料分配モジュール中に堆積する堆積物から液体試料を取るポンプとを制御する。

## 【 0 0 5 3 】

## 5 . - 試料分配モジュール

「試料分配モジュール」は、同じ試料取得モジュールで取られるいくつかの試料の独立した分析を許容するデバイスのグループとして定められ、フィードホッパーから別の試料処理モジュールの均質化容器まで試料を分配するためのメカニズムを必要とする。

## 【 0 0 5 4 】

特定の実施の形態では、試料分配モジュールは、例えば回転ドラム形状の移動デバイスを備え、それは一以上の均質化容器を収納可能であり、それは使用される容器を固体又は液体試料、又は懸濁液中の保有された粒子を有するフィルターを受け入れるためにフィードホッパーの下に配置させる。試料が均質化チャンパー中に導入されると、ドラムは、試料処理を開始するためにラックを移動する試料処理モジュールと直線上に容器を位置するまで再度回転する。

## 【 0 0 5 5 】

移動デバイス又は回転ドラムは、それらの回転能力を備えた垂直又は水平シャフトに組み付けてもよい。

## 【 0 0 5 6 】

## 6 . - 試料分配コントローラー

試料分配コントローラーは、試料分配モジュール中に導入される試料を適切に分配するために、メカニズム、センサー及び電気機械的なアクチュエーターを制御することに関する。

## 【 0 0 5 7 】

試料分配制御モジュールは、全体制御モジュールによって作動され、事前にプログラム化された機能を実行し、その機能が終了したときに、その実行中のエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全体制御モジュールに送信する。

## 【 0 0 5 8 】

5 欄に示された特定の実施の形態では、それは、ドラム位置を特定する対応するセンサーを用いて、回転ドラムを回転するモーターを制御することに関する。

## 【 0 0 5 9 】

## 7 . - 試料ホモジナイザーモジュール

試料ホモジナイザーモジュールは、均質化を生成するように試料に作用可能であるデバイスで構成されている。前述のデバイスは、グラインダー及び振動デバイスのような機械的な作用のもの、熱的な作用のもの（抵抗など）、又は波形発生デバイス（超音波など）が可能である。前述のデバイスは、緩やかな混和から、いくつかの微生物の孢子と同じくらい抵抗力がある細胞（溶解）の破碎を引き起こすまで、前述の試料の攪拌及び均質化の程度を規制することが可能である。

## 【 0 0 6 0 】

次のように試料均質化モジュールの特定の実施の形態は特定される。

## 【 0 0 6 1 】

1 . 本発明の特定の実施の形態では、試料ホモジナイザーモジュールは、ホモジナイザーコントローラーによって供給される高周波数の電力を縦振動に変換する超音波発生圧電デバイスによって形成される。そのような振動は、ホーンの自由端を介して増幅され、圧電デバイスにしっかりと取り付けられる。試料ホモジナイザーモジュールは、メイン試料処理モジュールチャンパーを閉じるラック内に収納され、前述のチャンパーを閉じる壁に接触してそれにしっかりと固定される。

## 【 0 0 6 2 】

ホーンからの振動は、粒子物質を分解し、試料中に存在する細胞を溶解し、そして前述

10

20

30

40

50

の試料を均質化して、次に前述の溶液又は懸濁液中のキャビテーションを引き起こす圧縮波を処理試料を含む溶液又は懸濁液中に発生する。溶解は、液体試料中にマイクロスフィアを導入することによって改善可能である。

【 0 0 6 3 】

超音波溶解は、液体中のホーンの直接的、又は米国特許 6 4 3 1 4 7 6 で実行されるような薄膜を介した作用によって実行可能である。

【 0 0 6 4 】

試料処理モジュール圧力及び温度センサーは、処理の適切な動作をモニターする。

【 0 0 6 5 】

2 . 本発明の他の特定の実施の形態では、試料ホモジナイザーモジュールは、機械的なブレード又はピストンホモジナイザーによって形成される。液体中のブレード又はピストンの機械的な作用及び壁との摩擦は、均質化さらに溶解さえ許容する。均質化の改善は研磨剤の添加によって可能である。

10

【 0 0 6 6 】

8 . - 試料ホモジナイザーコントローラー

試料ホモジナイザーコントローラーは、試料ホモジナイザーモジュール中に導入される試料を適切に均質化するために必要な電気機械的なメカニズム及びセンサーを制御することに関する。

【 0 0 6 7 】

試料ホモジナイザー制御モジュールは、全体制御モジュールによって作動され、事前にプログラム化された機能を実行し、その機能が終了したときに、その実行中のエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全体制御モジュールに送信するものである。

20

【 0 0 6 8 】

ポイント7の特定の実施の形態1では、試料ホモジナイザー制御モジュールは、供給システムからの電力を高周波数の電力に変換し、事前に確立された時間シーケンスにしたがって圧電デバイスにそれを送る。さらに、それは、振動での振幅を修正することによってアウトプット電圧を圧電デバイスに調整する。

【 0 0 6 9 】

試料ホモジナイザー制御モジュールの7欄の特定の実施の形態2では、ブレード又はピストンを操作する電気機械的なデバイスは、アクティブ/非アクティブでなければならない。

30

【 0 0 7 0 】

9 . - 試料処理モジュール

「試料処理モジュール」は、前述の試料を異なる物理的処理（均質化、溶解、加熱、放射など）、化学的処理（酵素反応のような化学又は生物化学試薬での修飾など）、又は生物学的処理（微生物との相互作用）にさらすことを目的とするデバイスのアセンブリとして定められる。

【 0 0 7 1 】

本発明の特定の実施の形態では、試料処理モジュールは、2つの明らかに区別されたサブアセンブリを提供する：試料を均質化チャンバー内に収納する均質化容器と前述のチャンバーを閉じる移動ラックである。

40

【 0 0 7 2 】

本発明の特定の実施の形態では、試料処理モジュールは、1からいくつかの均質化容器を含み、少なくとも容器あたり一つの試料の分析を許容する。それぞれの均質化容器は、異なるサイズの導管によってそれに接続されたいくつかの第二のチャンバーによって囲まれた一以上の主な均質化チャンバーを備える。メイン均質化チャンバーは、試料取得モジュールホッパーを介して固体又は液体状態の試料を受けると同時に開いている。試料の処理の間、この開口は試料処理モジュールを閉じるラックのピストンによって密閉される。均質化容器の第二チャンバーは、シリコンキャップで密閉され、各種区分サイズの導管によ

50

ってメインチャンバーと通じている。これらの第二チャンバーは、いくつかの試薬を均質化チャンバー中に導入するために使用され、試薬及び溶液管理モジュール排管によって注入される。これらの第二チャンバーハウスのいくつかは、メイン均質化チャンバー中で実行される処理の測定パラメーター（温度、圧力、pH、導電率、など）を調査する。

【0073】

メインチャンバーの壁は通気ポートを有し、前述のポートがピストンによって、例えば前述のピストンの漏れ止めリングジョイントによって超えられるように、ピストンによる前述のチャンバーの密閉のモーメントを決定する。さらに、このピストンは、チャンバー内の圧力の増加を引き起こすように、密閉された位置からメインチャンバー内に移動する。試料は、メインチャンバー中にこの通気ポートを介して導入可能である。

10

【0074】

第二チャンバーは、試薬管理モジュールに属する排管が介されるキャップによって一方側を閉じることができ、試薬管理モジュールによって発生される過剰の圧力によって、均質化モジュールラックの移動によって電氣的、機械的に操作される通常のクローズバルブで他方側を閉じることができる。

【0075】

本発明の特定の実施の形態では、それぞれの均質化容器はまたフィルターのシステムと試料アウトレット導管に配置されるバルブとを有する。フィルターは、所望のサイズを超えるサイズを有する固体が反応モジュールにアクセスすることを防止するために使用される。バルブは、均質化容器を反応モジュールと分離又は接続し、処理試料が反応モジュール中に注入される必要があるモーメントを制御することを許容する。

20

【0076】

本発明の特定の実施の形態では、試料処理モジュールは均質化チャンバーを閉じる移動ラックを有する第二サブアセンブリを備える。試料処理の間、このサブアセンブリはラックに固定されガasketに備えられたピストンによって均質化チャンバーの上部部分を密閉する。試料処理モジュール回転ドラムによってラックと直線上である全ての試料処理モジュール容器のために1つの移動ラックがある。ラックは、軸方向に案内され、スクリーナットギア減速とのステッピングモーターによって操作される。それによって、前述のラックは、前述のドラム又は移動デバイスの両端のうち一方側で試料分配モジュールシャフトに組み付けられる。このシステムは、ピストンの軸方向の進行の非常に正確な制御を許容する。次に、移動ラックは、試薬を注入し、試料のパラメーターを測定し、均質化を実行するための正確な位置決めを許容する試薬及び溶液管理モジュール排管及び試料ホモジナイザーモジュール圧電システムを収納する。密閉がなされると、均質化チャンバー内のピストンの進行は、取り扱われる溶液又は懸濁液中に過剰圧力を発生し、溶液又は懸濁液中にキャピテーションを発生させるために、圧電システムホーンとピストン壁の間の必要な接触を確保する。

30

【0077】

説明された実施の形態では、ピストンが容器を閉じるために組み立てられているラックが垂直軸の回転ドラム上に位置するが、回転ドラムが水平軸を有する場合は、前述のラックは回転ドラム的一方に位置することになり、異なる容器がそれらの他端に配置されてもよい。あらゆる場合では、試料処理モジュール容器のそれぞれは、それらを閉じるための手段を備えることが可能である。これらの手段は、それぞれの容器に組み立てられ均質化モジュール移動ラックの動作によって操作されるピストン又はバルブを有してもよい。

40

【0078】

10. - 試料反応及び処理コントローラー

試料反応及び処理コントローラーは、試料処理モジュール中に導入される試料を適切に処理し、処理の後にそれらを反応モジュール中に注入するために必要な電気機械的なメカニズムとセンサーを制御することに関する。

【0079】

反応処理コントローラーは、全体制御モジュールによって作動され、事前にプログラム

50

化された機能を実行し、その機能が終了するときに、その実行中のエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全単制御コントローラーへ送信するものである。

#### 【0080】

9欄に述べられた特定の実施の形態では、反応処理コントローラーは、ラックの位置を確認することに使用されるセンサー及び均質化チャンバーをモニターするものと同様に、均質化容器にラックを位置させる電気機械的な要素を制御することに関する。

#### 【0081】

##### 11. - 反応モジュール

「反応モジュール」は、そこに反応チャンバーがある支持体を備えるデバイスとして定められ、メイン導管によって試料処理モジュールと、他の導管によって試薬及び溶解管理モジュールとに接続される。反応チャンバーは、溶液又は懸濁液中に存在する物質（分子から完全な微生物になるもの）を検出することが可能なバイオセンサー又はセンサーシステムを収納する。前述のセンサーシステムは、DNA又はタンパク質マイクロアレイ（バイオチップ）、又はマイクロ流体に基づく他のシステムの形状である少なくとも一つの検出物質を有することが可能である。前述の検出物質は次によって形成されるグループから選択可能である：a) アミノ酸特性の物質；b) タンパク質に関する特性の物質；c) ヌクレオチド特性の物質；d) 核酸；e) ペプチド核酸（PNA）；f) 脂質特性の物質；g) 単糖類特性の物質；h) これらのうち少なくとも2つの組合せである物質；j) 生きている全細胞；j) 胞子の形である全細胞；k) 細胞抽出物又は溶解物；l) 細胞によって形成される組織；m) 全ウイルス又は任意のその成分；n) 合成ポリマー及びo) 分子インプリントポリマー（MIP）。他の物質と特に結合可能なタンパク質は、モノクローナル又はポリクローナル抗体である可能性がある。さらに、試料修飾化合物は、試料中に存在する検体の任意の一つ、又は前述したこれらの間からの一以上の物質、又はそれらの組合せと結合可能である化学試薬から選択可能である。前述のマイクロアレイは、説明した検出物質の単一のタイプ又は混合物で構成可能である（例えば単一のキャリア中にDNA及びタンパク質ポイントを含むマイクロアレイである）。反応チャンバーは、フローセルのように働くことが可能であり、試料処理モジュールから来る溶液又は懸濁液は、センサー中に存在する検出した物質又は物質群との溶液又は懸濁液中に存在する物質の相互作用を許容するように、前述の反応チャンバーを循環する。バイオセンサー中に保有された試料の信号は、上述したもののうち一以上の物質を含む反応混液又は試料によって増幅可能である。

#### 【0082】

本発明の特定の実施の形態では、溶液又は懸濁液は、試料処理モジュールから反応モジュールまでバルブ、フィルターシステム及びメイン導管を通過して循環する。試料が処理されると、反応チャンバーにこのメイン導管を介して入る。この同じチャンバーは、センサー中に存在する検出物質又は物質群と反応すると最終的に試料が落ち着く廃棄物保管所と接続するアウトレット導管を有する。一又はいくつかの付加的な導管が反応チャンバーに試料ホモジナイザーの第二チャンバーから直接的に達する。これらの導管は、反応の読取又は測定を実行する前に、試薬、又は簡単な洗浄溶液を反応チャンバー中に注入することを許容する。

#### 【0083】

特定の実施の形態では、溶液又は懸濁液が均質化されると、それは前述の溶液又は懸濁液中に存在する物質（分子から全微生物）に組み入れ（共有、イオン、疎水又はその他のタイプの結合によるもので）可能である蛍光試薬との反応をなす。前述の蛍光試薬が組み入れられると、反応に至らなかったその余剰分がその引き続く反応を防止する不活性物質によって不活性化される。前述の不活性物質は、蛍光試薬との反応性がある余剰の官能基（例えばアミノ基、カルボキシ基、スルフヒドリル基又はその他の基）に寄与する化学ブロック試薬でもよい。非活性の蛍光試薬の余剰が非活性化されると、試料はフィルターされ、反応チャンバー中に連続的又は不連続的に注入される。その反応チャンバーへの通

10

20

30

40

50

路は物質を検出するセンサーとの相互作用を許容する。反応が起こると、センサー中に保有されていないマークされた試料の余剰が反応チャンバーの引き続く洗浄によって除去される。洗浄液は廃棄物保管所中に保管される。

【 0 0 8 4 】

本発明の他の特定の実施の形態では、センサー中に保管された試料の信号は、蛍光物質、金属化合物又は酵素でマークされた一以上の物質（DNA、抗体、PNAなど）を含む反応混液によって増幅される。センサーと反応していない余剰の試料が洗浄されると、前述の反応混液は、反応チャンバー中に注入されるまで、試料処理モジュール第二チャンバーのうち一つに保管される。適切な培養時間の後に、保有されていない前述の反応混液の余剰は、洗浄溶液とともに除去される。

10

【 0 0 8 5 】

異なる反応モジュールチャンバーは、移動デバイス中、例えば分配モジュール移動ドラム中に組み込まれるものである。

【 0 0 8 6 】

#### 1 2 . - 試薬及び溶液管理モジュール

「試薬及び溶液管理モジュール」は、異なる試料処理ステップ：均質化、修飾、反応、洗浄などに関する異なる溶液及び試薬を必要時間で保管し正確に分配するためのデバイス群のアセンブリとして定められる。

【 0 0 8 7 】

本発明の特定の実施の形態では、試薬及び溶液管理モジュールのメイン要素は、流動体の保管を実行し、機能を分配するモーター付きのシリンジで構成される。モジュールは、異なる試薬の必要性に応じて同じ数の同一のモーター付きのシリンジのアセンブリを備える。それぞれのアセンブリは次の要素を組み入れる。

20

【 0 0 8 8 】

1 . モジュールラックに固定され、分析される試料の数に応じた能力があるシリンジ。

【 0 0 8 9 】

2 . シリンジプランジャロッドを作動するステッピングモーターを備えた線形アクチュエーター。アクチュエーターは、これらが機能的な処理によって定められる異なる圧力である場合に、対応するチャンバー中に流体を正確に注入可能であるように設計される。

【 0 0 9 0 】

3 . シリンジプランジャの位置を決定し、アセンブリの開ループ（「行程端」）又は閉ループ（「エンコーダー」）制御を許容する位置センサー。

30

【 0 0 9 1 】

4 . シリンジが作動されないときに流体回路中の圧力バリアを維持するパッシブ（逆止め）又はアクティブ（電動）バルブ。

【 0 0 9 2 】

5 . モジュールの最後の要素として、排管が均質化容器側のチャンバーのシールを通じて貫通する。排管は試料処理モジュール移動ラックに固定され、したがって、その貫通動作は前述のラックの前方移動と同調する。

【 0 0 9 3 】

6 . 流体回路を形成する異なる構成要素を接続するために必要な全ての導管とアクセサリ。

40

【 0 0 9 4 】

本発明の他の特定の実施の形態では、かなりの数の試薬及び/又は溶液によって特徴付けられ、試薬及び溶液管理モジュールは次によって形成される。

- ・使用される試薬及び/又は溶液と同じ数のいくつかの保管所。
- ・異なる保管所の流体を吸引しそれらを均質化又は反応チャンバーに分配することが可能である単一のポンプシステム。
- ・一又はいくつかの分配バルブ、これらの一つはいくつかのインレット通路と一つのアウトレット通路を備え、保管所から均質化又は反応チャンバーまで異なる導管を開く又は閉

50

じることが可能である。

【0095】

この試薬及び溶液管理モジュールの構成は、必要とされるアクチュエーターの数と注入通路の数を最大限に簡略化する。

【0096】

本発明の他の実施の形態では、かなりの数の試薬及び/又は溶液によって特徴付けられ、試薬及び溶液管理モジュールは次によって形成される。

- ・いくつかの漏れ止めシリンジ - 保管所、使用される試薬及び/又は溶液と同じ数であり、ロッドではなくプランジャを備え、シリンジ - 保管所を2つのシールされた区画に分ける：一つは試薬又は溶液用の逆止めバルブを備え、他は推進流体用のインレット通路を備える。

10

- ・前述の流体を保管所から吸引しシリンジ - 保管所の異なるシールされた区画にそれを分配可能でありこのようにしてそれらのプランジャを作動することが可能な単一のポンプシステムによって形成される閉推進流体回路。

- ・推進流体回路中の一又はいくつかの分配バルブ、これらの一つは作動されるシリンジ - 保管所を選択することを許容するいくつかのアウトレット通路と一つのインレット通路を備える。

- ・逆止めバルブ及び排管を備えたそれぞれのシリンジ - 保管所用の独立したアウトレット及び注入通路。

- ・前述のポイントの代わりとして、一又はいくつかの分配バルブを介してそれぞれのシリンジ - 保管所のアウトレット通路と接続される逆止めバルブ及び排管を備えた一般的な注入通路。

20

【0097】

この試薬及び溶液管理モジュールの構成は、アクチュエーターの必要な数を最大限に簡略化し、独立した通路を介して、又は選択的に流体の互換性がこれを許容するなら単一の通路を介して試薬/溶液の注入を許容する。

【0098】

13. - 試薬及び溶液管理コントローラー

試薬及び溶液管理コントローラーは、異なる試料処理ステップに関する異なる溶液及び試薬を必要な時間で保管し正確に分配するために必要な電気機械的なメカニズム及びセンサーを制御することに関する。

30

【0099】

試薬及び溶液管理モジュールコントローラーは全体制御モジュールによって作動され、事前にプログラム化された機能を実行し、その機能が終了したときに、その実行中のエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全体制御モジュールに送信するものである。

【0100】

12欄に示される第一の特定の実施の形態では、試薬及び溶液管理モジュールコントローラーは、シリンジを移動するアクチュエーターを制御することに関する。プランジャの位置を決定するセンサーを制御するとともに、圧力バリアを維持する電気バルブに作用するためである(12欄に示される実施の形態のポイント14を参照)。

40

【0101】

14. - データー読取モジュール

「データー読取モジュール」は、反応チャンパー中に発生する反応を検出し検出された信号を適切に処理することを許容するデバイス群のアセンブリとして定められる。

【0102】

本発明の特定の実施の形態では、反応ディテクターは、反応の結果として生成される電磁放射周波数のみを読み取るために必要な光学系とフィルターを備えた高解像度で高検出感度のCCDである。前述の電磁放射は、反応処理に関する反応性のある物質(蛍光分子)にエネルギーを与えることで生成される。前述の反応性のある物質のエネルギー化は、

50

レーザーダイオードからの単色光ビームで達成される。CCD読取は、反応チャンバーと反対であり、レーザー光ビームは反射がCCDリーダを照射することを防止するためにある角度で反応チャンバーを照射する。

【0103】

単一光は、導波管の外表面に形成されるエバネセントモードの結果としてエネルギー化されるバイオセンサーがある導波管によって案内可能である。

【0104】

15. - データ読取コントローラー

データ読取コントローラーは、反応チャンバー中に発生する反応を検出するために使用されるデバイスを制御することに関する。

【0105】

データ読取制御モジュールは、全体制御モジュールによって作動し、事前にプログラム化された機能を実行し、その機能が終了するときに、その実行中のエラーが検出されたときと同様に、電気、アナログ又はデジタル信号を全体制御モジュールに送信するものである。

【0106】

14欄に示される特定の実施の形態では、データ読取制御モジュールは、チャンバーから受け取る情報を読み出し、適切にそれを処理し（フィルタリング、活性化領域の同定、活性化領域の定量、など）、引き続いてそれを全体制御モジュールへ移送する間と同様に、事前に設定された時間の間も、レーザーを作動することに関する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0107】

本発明の装置及び方法の特徴及び利点は、図面を参照して以下のように説明されることで、理解されるものである。なお、以下の説明は実施の形態を限定するものではない。

【0108】

図面に示される装置は、土壌又は下層土（subsoil）中に存在するバイオマーカー（生体起源の有機分子及び巨大分子）の検出を許容するロボット化された機器を有する。そのようなバイオマーカーを検出し特徴付ける方法としては、固体支持体（チップ又はマイクロアレイと称する）の特定の位置に固定化される特定の抗体の配列とのそれらの相互作用に基づく。

【0109】

この装置は、実験を自動的に実行するために必要な全てのメカニズム、ディテクター及びエレクトロニクスを有する。使用される構成要素は、環境条件下の機能に対し、主に市販品であり、設計され、及び/又は選択される。

【0110】

本発明の装置を構成する異なるモジュールは、異なる構成要素及びそれらの動作の同定を簡単にすることを目的として、以下で説明される。

【0111】

図1から14に示される例では、装置は試料取得モジュールを欠いており、分析される試料は手動で導入される。これは、装置が対応する取得モジュールコントローラーを欠いているからである。

【0112】

装置はトップカバー1、ボトムカバー2及び一連の中間フレーム3で構成されるラックを有する。このラックは、異なるモジュール群の組み立て用の骨格として機能する。

【0113】

試料取得モジュールは円筒状ホッパー4（図4参照）を有し、この円筒状ホッパー4は、ラックのトップカバー1に固定され、円錐形の開口を備え、その開口を通じて、約250mgの塊で $< 0.5$ mmの粒子サイズの土壌試料が導入される。ホッパーの底部端は内側円錐部4'を備え、この機能としては容器の底部に試料を分配するものであり、後述するように、試料処理モジュールに属する。ホッパー4は、固定又は移動アダプターと置換

10

20

30

40

50

されてもよい。さらに、試料分配モジュールは、オペレーターによって、又はマルチウェルプレートに保有された試料の注入器によって手動で送り込まれてもよい。

【0114】

試料分配モジュールは、試料処理及び反応モジュールの構成要素を支持し、収納し及び位置を正し、そして、2つのフランジで構成される陽極酸化アルミニウムからなる回転ドラムによって主に形成される。トップフランジ5(図4参照)は12の試料処理モジュール容器6を収納し、ボトムフランジ7は反応モジュール要素を固定するためのデバイス群を有する。フランジは両方ともそれぞれのアンギュラコンタクトベアリング8上に組み付けられ、それらの付属ネジによってわずかに予圧されている。ベアリングは、ラックの中央シャフト9に組み付けられており、前述のシャフトについてドラムの回転を許容する。

10

【0115】

ドラムの回転はステッピングモーター10によって実行され、それはモーターシャフトに固定されたピニオン11、及びドラムの底部フランジ7にネジ締めされたホイール12で構成されるギア電動装置を介して、ラックのボトムカバー2にネジ締めされる。モーターは1.8°/ステップの分解能を有し、0.16Nmのトルクを供給することが可能である。ギア電動装置の比は、 $i = 5 : 1$ であり、回転ドラムの最終的な分解能は、0.36°/ステップであり、試料処理モジュール容器の軸の円周方向の変位量で0.45mm/ステップの解像度を許容する。

【0116】

ドラムに付属した表示器14がセンサーレーザービームと干渉するとき、回転ドラムの初期位置はラックのフレーム3に固定された光学センサー13によって決定される。

20

【0117】

試料ホモジナイザーモジュールは、市販のコンバーター15(図4参照)によって形成される超音波圧電デバイス及びコンバーターの端部に堅くネジ締めされるホーン16を有する。

【0118】

コンバーター15は円筒状形状(32mm、長さ=89mm)であり、40kHzの周波数で電圧が加えられる。

【0119】

ホーン(16mm、長さ=49mm)は、チタン(Ti-6Al-4V)からなり、円滑な移行によって取り付けられた円筒状部分によって形成される。ホーンの内端は、試料処理モジュールの均質化チャンバーを閉じる壁に接触する平面の円形のフランジ(12.2mm)で終端する。

30

【0120】

このアセンブリは、試料処理モジュールメインチャンバーを閉じる縦方向に移動するラック17内に収納され、コンバーター15の円筒状ケーシングを支えるクランプ17'によってそれに堅く固定される。

【0121】

コンバーターは、試料ホモジナイザー制御モジュールによって供給される高周波数の電力をホーンの内端によって増幅される縦方向の振動に変換する。ホーンの内端は、順に、処理試料溶液中に圧力波を発生させ、それは溶液中にキャビテーションを引き起こし、試料を均質化する。キャビテーションの強度、及びそれらに従って混合物の均質化の程度は、振動の振幅を選択することで調整可能であり、低振幅のための緩やかな均質化から高振幅レベルのための細胞の破碎までの範囲をカバー可能である。

40

【0122】

試料ホモジナイザー制御モジュールはコンバーターを制御し、ホーンの内端で生じる抵抗にしたがって、供給パワーを増加又は減少させることで、事前に選択される振幅を維持することに役立つ。デバイスは、130wの最大出力を供給するように設計される。

【0123】

試料処理モジュールは2つの明らかに区別されるサブアセンブリ(図4から6参照)を

50

備える：

- 均質化容器 6 及び均質化チャンバーを閉じる移動ラック 17。
- 均質化容器 6 は均質化処理の間に試料分配モジュールによってその中に堆積される試料を収容する。

【0124】

装置は、12の均質化容器まで収納するように設計され、容器あたり単一の試料の分析を許容する。

【0125】

容器は、均質化処理を視認することができるように透明なアクリル樹脂からなる。

【0126】

それぞれの容器は、異なるサイズの導管群 23 によってそれに接続される 4 つの第二チャンバー 19、20、21 及び 22 によって囲まれるメイン均質化チャンバー 18 を備える。

【0127】

円筒形状の均質化チャンバー 18 ( 19 mm、長さ 22 mm ) は、ホッパー 4 を介して供給される固体又は液体状態の試料を受け取るために、そのトップ部分が開いている。試料処理の間、この開口は移動ラック 17 のピストン 24 によって密閉される。チャンバーの底部は 10 mm のポート 25 を備え、このポート 25 を介して均質化混合物が反応モジュール中に注入される。チャンバーの円筒状壁は、チャンバーの底部の上に 9.3 mm の高さの位置にある不図示の 0.5 mm の通気ポートを備え、これはラックのピストンによって運ばれるガスケット 26 が前述のポートをシールするときにはチャンバーの密閉のモーメントを決める。

【0128】

第二チャンバー 19 から 22 は、これらの上部及び底部部分の両方において、シリコンキャップ 27 で密閉され、導管 23 によってメインチャンバーに通じる。容器は次の第二チャンバーを有する。

【0129】

蛍光マーカーチャンバー 22 : これは 1 mm の導管 23 を介してメインチャンバーに取り付けられる円筒状チャンバー ( サイズ = 4 × 7 mm ) である。それは、チャンバーの底部に付着した 1 mg の蛍光マーカー化合物を固体状態で収納する。このチャンバーは、1 ml の試料溶液を準備するために必要な試薬及び溶液管理モジュール排管 28 を介して食塩水を注入するために使用される。食塩水の注入の間、蛍光マーカーは溶解され、均質化チャンバー 18 中に導入され、試料溶液の部分を形成する。

【0130】

ブロッキング試薬チャンバー 21 : これは円筒状チャンバー ( サイズ = 4 × 4 mm ) であり、1 mm の導管 23 を介してメインチャンバーに取り付けられる。このチャンバーは、試料の分子と反応しなかった蛍光マーカーの余剰分をブロッキングするために必要な試薬及び溶解管理モジュール排管 29 を介して BSA ブロッカー溶液を注入するために使用される。このチャンバーのボトムキャップ 27 の下に配置される円錐形状ポートがあり、この円錐形状ポートには導管を洗浄する反応モジュールの Luer カップリング 28 ' が収納される。

【0131】

圧力センサーチャンバー 20 : これは円筒状チャンバー ( サイズ = 4 × 5 mm ) であり、その中への溶解の入口を簡単にするを目的として、4 mm の幅広い導管 23 を介してメインチャンバーに取り付けられる。均質化処理の間、このチャンバーは移動ラック 17 によって運ばれる排管 29 ' を収納する。この排管 29 ' は処理の異なる圧力をモニターすることに関する圧力センサーに接続される。

【0132】

温度センサーチャンバー 19 : これは圧力センサーチャンバーと同一であるチャンバーである。均質化処理の間、このチャンバーは、前述の処理の間に試料溶液温度をモニター

10

20

30

40

50

することに関して、温度センサープローブ 3 2 を順に収納する移動ラック 1 7 によって運ばれる排管 3 1 を収納する。

【 0 1 3 3 】

センサーチャンバー 1 9 及び 2 0 の底部と均質化チャンバー 1 8 の底部の表面は、溶液の前述の第二チャンバー中への侵入を簡単にするように界面活性剤で処理される。

【 0 1 3 4 】

それぞれの均質化容器は、1 2 mm のフィルター 3 3 を備え、所望のサイズを上回るサイズを有する固体が反応モジュールにアクセスすることを防止するために使用される 2 0  $\mu$ m の径の孔を備える。フィルターは、フィルターホルダー 3 4 に配置され、ネジ式のキャップ 3 5 内に収納される。このアセンブリは、均質化チャンバーのアウトレットポートの下で、容器の底面にネジ締めされる。ガスケット 3 6 はアセンブリの必要な漏れ止めを提供する。

【 0 1 3 5 】

ネジ式のキャップ 3 5 は、逆止めバルブ 3 7 が接続される雄 L u e r 円錐を備える。このバルブは均質化容器 1 8 を反応モジュールに接続する。バルブは、反応モジュールに存在する 1 . 3 バールの過剰圧力のために通常閉じ、両方のモジュールを隔離している。常時閉の電氣的に作動するバルブ、又は均質化モジュールラックの移動によって機械的に作動されるものが、逆止めバルブ 3 7 に変わって配置されてもよい。

【 0 1 3 6 】

図 4 の均質化チャンバーを閉じる移動ラック 1 7 は、試料処理の間、均質化チャンバー 1 8 のトップ部分の密閉を実行する。

【 0 1 3 7 】

試料分配モジュールの回転ドラムによってラックと直線上にある全てのモジュール容器のために一つの移動ラックがある。

【 0 1 3 8 】

サブアセンブリはアルミニウムからなるラック 1 7 を有し、異なるサブアセンブリ構成要素を収納する。それは、試料ホモジナイザーモジュールのコンバーター 1 5 を固定するためのトップフランジ 3 8 を備える。ボトムフランジ 3 9 は、順に、ピストン 2 4 と、試薬及び溶液管理モジュール排管 2 8 及び 2 9 と、圧力及び温度センサー排管 2 9 及び 3 1 をそれぞれ収納する。

【 0 1 3 9 】

ラックは 2 つのブッシング 3 9 によってシャフト 9 にそってスライドし、フレーム 4 0 の中央リブに沿って軸方向にガイドされる。

【 0 1 4 0 】

ラックの軸方向の移動は、モーターシャフトに固定されたネジ 4 2 及び移動ラック 1 7 の本体に収納されたナット 4 3 の伝達装置を介して、ラックのトップカバー 1 にネジ締めされたステップモーター 4 1 によって実行される。モーターは 1 . 8 ° / ステップの分解能であり、0 . 1 6 N m のトルクを供給することが可能である。ネジは M 6  $\times$  1 のネジ山を備え、ラック移動の最終的な分解能は 5  $\mu$ m / ステップであり、前述の移動のとても正確な制御を許容し、次に試薬の注入、試料パラメーターの測定及び超音波均質化の性能のために正確な位置になる。

【 0 1 4 1 】

ラックの底部フランジに組み付けられた表示器 4 5 がセンサー光ビームに干渉するときに、最終的な移動ラック位置がラックのフレーム 4 0 に固定された光学センサー 4 4 によって決定される。

【 0 1 4 2 】

図 5 のピストン 2 4 は、ステンレス鋼からなり、トップフランジを備える空洞回転部分であり、トップフランジとともにそれは移動ラックに固定される。底部端は円錐部で終端し、ガスケット 2 6 を備えるスレッドブッシング 4 6 をそれらに組み付ける。どちらの部分もともにネジ締めされ、ブッシング 4 6 の内側円錐部によって発生される圧力によって

10

20

30

40

50

膜をしっかりと固定する。膜 47 は P T F E からなり、0.1 mm の厚みである。ピストンの内側は、膜 47 に負担を掛ける試料ホモジナイザーモジュールホーン 16 を収納する。このアセンブリは、均質化チャンバーのトップ開口を密閉し、結果として漏れ止めがガスケット 26 と膜 47 によってなされる。均質化チャンバー内のピストン 24 の前方方向の移動は、それらの密閉が一度なされると、取り扱われる溶液中に過剰圧力を生成し、溶液中のキャピテーションを生成するために圧電システムホーン 16 とピストンの膜 47 の間の必要な接触を確実にする。

#### 【0143】

圧力センサー 30 は、均質化チャンバーの過剰圧力をモニターする。ホイートストーンブリッジに基づき、その主な特徴としては次のようになる。

- ・測定範囲：0 ÷ 207 kPa
- ・印加電圧：10 V
- ・総アウトプット信号：100 mV
- ・アウトプット信号感度：0.483 mV / kPa

#### 【0144】

チャンバー内の過剰圧力パラメーターは、ピストン - ホモジナイザーアセンブリの均質化位置を制御し定めるために使用される。チャンバー内の過剰圧力が 0.8 bar の値に達するときに、反応及び処理コントローラーは移動ラックのモーター 41 を抑制する。それは、均質化時間を制御し定めるためにも使用される。チャンバー内の過剰圧力が 1.0 bar の値を超えると、試料ホモジナイザー制御モジュールは、圧電システムコンバーター 15 を抑制する。

#### 【0145】

温度センサー 32 は、均質化処理の間、試料溶液の温度をモニターする。それは、0.5 mm 及び長さ 250 mm のステンレス鋼のさや内に収納される K - タイプの熱電対を備えるプローブに基づく。このプローブは、ネジ式の止め金具によって装置のトップカバー 1 に固定され、その自由端は排管 31 内に導入され、これはシリコンキャップ 27 を介してプローブの進入を簡単にする。

#### 【0146】

試料溶液温度パラメーターは、均質化時間を制御し定めるために使用される。溶液温度が所定の臨界値を超えると、試料ホモジナイザー制御モジュールは圧電システムコンバーター 15 を抑制する。

#### 【0147】

反応モジュール（図 5 から図 7 参照）は平行管の支持体 50（サイズ：76 × 26 × 6, 5 mm）を有し、この支持体 50 には、0.3 mm の深さで、左右対称の不規則な六角形の形状（全体の寸法：14 × 8 mm）を有する反応モジュールと呼ばれる開口した空洞 51 がある。このチャンバーは、次のアクセス通路を備える。

#### 【0148】

・均質化溶液又は懸濁液インレット通路 52。これはチャンバーのトップの角にあり、1 mm の導管によって形成され、試料処理モジュール 75 と逆止めバルブ 37 との漏れ止め接合のためにメス L u e r 円錐部で終端する。

#### 【0149】

・洗浄溶液インレット通路 53。チャンバーのトップの角に配置し、洗浄導管 28 ' の漏れ止め接続のために 2.5 mm の導管によって形成される。

#### 【0150】

・溶液アウトレット通路 54。チャンバーの底部の角に配置し、2 mm の導管によって形成され、廃棄物保管所 57 との漏れ止め接続のためにメス L u e r 円錐部で終端する。

#### 【0151】

・インレットポート 52 及び 53 とアウトレットポート 54 はポンプシステムを備える導管によって接続可能であり、詳述しないが、それはバイオセンサーの試料の再循環を許

10

20

30

40

50

容する。チャンバー 51 は、バイオセンサー操作を改善するために液体試料を攪拌又は移動するためのシステムをさらに有してよい。

【0152】

反応チャンバー 51 は、異なる流体の循環を改善することを目的として、疎水性の試薬 SIGMACOTE の薄いコーティングを有し、その表面に固体粒子及び分子が接着することを防止する。

【0153】

反応チャンバー 51 及びそのアクセス通路はガラススライド 55 (サイズ: 75 × 25 × 1 mm) によって閉じられ、その内側では、チャンバーとともに内側に収納されて、分子から全微生物まで、均質化溶液中に存在する物質を検出可能なバイオセンサー又はセンサーシステム 56 が保管される。このセンサーシステムは、マイクロアレイ形状で異なる検出物質で構成される。

10

【0154】

スライド 55 は 2 つのクリップ 50' によって支持体 50 に固定される。接着の漏れ止めは、長方形の CV-1152 シリコン縁によって確実にされ、このシリコン縁は、支持体 50 の反対側に配置される 2 つのポートを介して注入される。シリコンが一度固まると、それは、反応モジュールとそのアクセス通路の周囲の 1 × 1 mm の区分を有するシーリングガasket を形成する。

【0155】

洗浄導管 28' は内周直径 1.6 mm で長さ約 90 mm のプラスチックパイプによって形成される。それは金属結合でその開口端に備えられ、オス Luer 円錐体で終端し、ブロッキング試薬チャンバー下の均質化容器 18 のハウジング内に密閉されて接続される。それは、反応モジュール洗浄通路との漏れ止め接続のために底部端に結合した湾曲したプラスチックを有する。

20

【0156】

廃棄物保管所 57 は反応チャンバーアウトレット通路に接続される偏心オス Luer 円錐体を備える 5 ml の容量のプラスチックシリンジによって形成される。シリンジはプランジャを欠いており、そのトップ開口を密閉する代わりにシリコンキャップ 58 を有する。

【0157】

廃棄物保管所 57 は全ての反応モジュールに共通とし、スライドラックに組み付けられた排管によってそれらのアウトレットに接続されることが可能である。

30

【0158】

アセンブリは、流体回路を視認可能なように、透明な材料 (ガラス、アクリル、など) で作製される。

【0159】

チャンバー 18 が組み立てられ、試料処理モジュール均質化容器 6 にそのアクセス通路とともに接続されると、導管及び保管所が 1.3 bar の過剰圧力で食塩水であらかじめ満たされた漏れ止め回路を形成する。廃棄物保管所 57 内の溶液レベルは 1 ml であり、保管所の残りは前述の過剰圧力で加圧された空気で満たされる。

40

【0160】

装置は、12 の反応モジュールまで収納するように設計され、モジュールあたり 1 つの試料の分析を許容する。

【0161】

試薬及び溶液管理モジュールは、異なる試料処理ステップに関する異なる溶液及び試薬を、必要な時間で、保有し正確に分配するために必要な全ての構成要素を有する。

【0162】

試薬及び溶液管理モジュールメイン要素 (図 1 及び図 2 参照) は、流体の保有及び分配の機能を実行するモーター付きのシリンジ 60 で構成される。モジュールは、モーター付きのシリンジの 2 つの同じアセンブリを有し、一つは固体試料を溶解するために使用され

50

る食塩水を対象とし、もう一つは次に反応チャンバー洗浄溶液機能を実行するBSAプロッカー溶液を対象とする。流体が試薬管理モジュール中にある場合は、装置はそれらを反応チャンバー内へ注入する機器を有してもよい。

【0163】

それぞれのアセンブリは次の要素を組み込んでいる。

【0164】

1. 装置の構造のフレーム3にベースプレートを介して固定される市販のモーター付きのシリンジ60(サイズ: 203 x 56 x 94 mm)。その主な構成要素は次になる。

【0165】

・ロック閉鎖でオスLuer円錐体を備え10ml容量のシリンジ60。円錐体の端部は、アセンブリのベースプレート62に次いでネジ締めされる支持体61に固定される。プランジャロッドは線形アクチュエーターロッド63にネジ締めされる。

【0166】

・シリンジプランジャロッドを作動するステッピングモーター64を備える線形アクチュエーター。このアクチュエーターは89Nの最大の力を発するように設計される。過剰圧力なしで注入されるときに得られる解像度としては10µl/ステップである。

【0167】

・ベースプレートに収納され、シリンジプランジャの位置を決定し、アセンブリのオープンループコントロールを許容する不図示の光学センサー。

【0168】

2. シリンジが作動しないときに流体回路内に圧力バリアを維持する逆止めバルブ65。

【0169】

3. 不図示のネジ式排管(サイズ: 1 x 20 mm)、これは、アセンブリの最終的な要素として、均質化容器18の側面チャンバーのシリコンキャップを貫通する。排管は試料処理モジュール移動ラック17に固定され、したがってその貫通移動は前述のラックの前方移動と同調する。

【0170】

4. 流体回路を形成する異なる構成要素を接続するために必要な全ての導管及び付属品(サイズ: 1/16")。

【0171】

データ読取モジュールは、反応チャンバー内に発生する反応を検出することを許容する構成要素を有する。

【0172】

それは、レーザーダイオード66(図1及び図4参照)及びCCDカメラ67で主に構成され、両方とも市販品であり、装置の構造のフレーム40にネジ締めされるブラケット68に組み付けられる。

【0173】

レーザーダイオード66は、反応チャンバー51全体を放射するために、635nmの波長及び十分な幅の単色の光ビームを発射し、蛍光分子をエネルギー化する。それはブラケット68に組み付けられ、光ビームが45°で反応チャンバープレーンを放ち、反射がCCDカメラ軸の方向に発生することを防止する。円筒状のケーシング(サイズ: 38 x 158 mm)に収納されたレーザーダイオード66は、250mWの最大の力を有し、ダイオードの温度を調整することを許容する冷却システムを有する。

【0174】

CCDカメラ67は、蛍光分子がレーザー光ビームによってエネルギー化されるときに、蛍光分子によって放射される電磁放射を検出する。前述の放射は、マーカーとして使用される蛍光性のdye Cy5の最大放射に対応する670nm中央値のスペクトルバンドを備える。CCD内の他の波長の放射の進入を防止する目的で、カメラは、25mm直径の放射フィルター69である695AF55を備える。焦点しCCD内のイメージを増

10

20

30

40

50

幅することを許容するレンズ70及びセパレーター71は、デバイスを満たす。3つの構成要素、フィルター、レンズ及びセパレーターは市販品である。

【0175】

カメラは、デジタルで白黒で高解像度で高感度なカメラである。それは次のような特徴を有する。

- ・サイズ：146 × 76 × 64 mm
- ・センサー：1280 × 1024ピクセルのCCD
- ・ピクセルサイズ角：6.7 × 6.7
- ・センサーサイズ：2/3"
- ・ダイナミックレンジ：12ビット
- ・感度：4350 e / l u x / u m 2 / s
- ・冷蔵

10

【0176】

理解されるように、必要に応じて、装置の容量は採用され、必要ならば2以上の試料ホモジナイザー及び試料処理モジュールを、2以上の試料分配モジュールと同様に、有することも可能である。

【0177】

示されるように、装置はユーザーとの機器のインターフェースである通信モジュール（通信モジュール）を有し、この機器は適当な通信プロトコルを介してローカル又はリモートで操作可能である。

20

【0178】

通信モジュールはナショナルインスツルメンツ（登録商標）のLabView（登録商標）で開発されたソフトウェアに対応する。これはデバイス制御システムで実行され、その接続を介してそれが制御される接続に関わらず、通信リンクを確立するために必要なプロトコル機構を実行する。この接続は次のいずれかである。

- ローカルユーザーの場合のコンソール。
- RS232, RS422又はRS485シリーズに対するリンク。
- 並列リンク。
- USB（ユニバーサルシリアルバス）リンク。
- TCP, UDP, 又はIPリンク, 又はコンピューター間のデータ移送用のいずれかの他のプロトコル。
- ラジオ, IRDAリンク・・・
- フィールドバス：PROFIBUS, CAN, FieldBUS, InterBUS-S, ...
- テレフォンリンク：GSM, ...

30

【0179】

データリンクの確立の場合では、通信モジュールは、全てのコマンドの認証によって、データコーディング、カプセル化、媒体へのアクセス制御、データ/コマンドの送信/受信及び安全なオプションの実施を実行する。

【0180】

アセンブリの制御のために、1つの全体コントローラーと、モジュールあたりの1つのコントローラーがある。

40

【0181】

全体コントローラー（全体制御モジュール）は、本発明を構成する処理及びそれぞれのモジュールの全体システム管理を示す。さらに、それは、装置のローカル及びリモート操作を許容してもよい。

【0182】

ナショナルインスツルメンツ（登録商標）からのLabView（登録商標）で開発されたソフトウェアを実行するインプット/アウトプットカードとともにPCアーキテクチャーとして制御システムを考慮すると、全体制御モジュールは、全体処理及び分析を実行

50

する残ったコントローラーと情報をやり取りするメイン処理に対応する。それは次の機能を実行する。

【0183】

- 通信モジュールからメッセージを受信する；受信したパラメーター及びコマンドを認証する；ユーザーによって送られたそのようなコマンド（タスク）を解釈する。

- タスク実行システム：全体サブ処理シーケンス、対応するローカルコントローラーにコマンドを送信する。

- 事前にプログラム化された自動タスクを実行する。

- 各モジュールの動作を管理する：サブタスク及び安全な検証を実行する（処理パラメーターをモニターし、対応する適当な動作範囲内でそれらの取り込みをチェックする）。安全性がこれを必要とするなら緊急停止制御。

- サブシステムの故障からの回復。

- 通信モジュールを介してモニターする全般的な処理のため動作パラメーター値をオペレーターに送信する。

- コンピューターへのデータ読取モジュールによって受信されたデータを受信し、事前処理し送信する。

【0184】

試料分配モジュールコントローラーは、センサーを読み取るための他のデジタルインプット及びアウトプットと同様に、ステッピングモーターの制御のためにいくつかのカードに加えて制御システムで実行される処理である。

【0185】

それは、異なる試料処理モジュールの間で、試料取得モジュールによって集められた試料の分配に関するサブタスクを実行することに関する。

【0186】

試料分配制御モジュールは次のタスクを実行できる必要がある。

- 各試料処理モジュールの位置を常に認識する。

- 試料処理モジュールを適当に位置決めする。

- 試料分配モジュールに関してローカル管理を実行する。

- 全体コントローラーからコマンドを受信する。

- 全体コントローラーへ現状に関するデータを送信する。

【0187】

試料分配制御モジュールは、試料分配モジュールを構成するアクチュエーター全体の制御と同様に、移動位置と直線又は角度位置のエンコーダーの端部からの情報を有する。全体コントローラーからの適当な指示とともに、試料分配制御モジュールは試料取得モジュール下で適当な試料処理モジュールを位置決めするようにアクチュエーターで操作する。

【0188】

移動用のステッピングモーターと移動光学センサーの端部がそこに組み付けられる上述した回転ドラムを構成する試料分配モジュールを考慮すると、試料分配制御モジュールのタスクは、所望の位置にドラム回転を行うことによって全体コントローラーからコマンドを監視することを含む。

【0189】

第1全体動作段階は、試料分配モジュールのキャリブレーションを含み、その結果として分配モジュールコントローラーがドラムを移動光学センサーの端部がそこで作動され、既知の位置を含む位置にする。このように分配モジュールコントローラーは後述するようにドラムの絶対位置を認識する。

【0190】

全体制御モジュールからの対応するコマンドによって、分配モジュールコントローラーは試料処理モジュールをモーターの適当な数のステップを介して任意の所望の位置にし、その情報はこのコントローラーによって取り扱われる。

【0191】

10

20

30

40

50

試薬及び溶液管理制御モジュールは、生化学的な処理全体を実行するために必要な溶液を供給することを目的とするこれらのデバイスを制御する。

【0192】

前のコントローラーと同様に、試薬及び溶液管理制御モジュールは、ステッピングモーター及びセンサーの読み取り用のデジタルインプットの制御用のカードとともに、制御コンピュータで実行されるサブ処理を有する。

【0193】

試薬及び溶液管理制御モジュールは次のことを許容する。

- 試薬及び溶液管理モジュールを構成するそれぞれのデバイスのステータス及び操作を管理する。許容性、利便性、デバイスで生じるエラー/故障、・・・
- 正確で特有益量の溶液の反応チャンバーへの注入のための分配要素などを作動する。
- 全体コントローラーからコマンドを受信し、ステータスに関してそれらにデータを送信する。

10

【0194】

前述した試薬及び溶液管理モジュールの構成では、シリンジを制御するステッピングモーターの作動は、正確な量の溶液をシステム中に注入することを許容する。

【0195】

反応及び処理コントローラーは、移動ラックの位置を決めるセンサーと同様に、移動ラックを均質化容器に配置する電気機械的な要素を制御することに関する。

【0196】

反応及び処理コントローラーは、処理に関係するパラメーター（圧力及び温度）をモニターし管理することにも関する。

20

【0197】

処理をモニターする異なるセンサーからの情報は、許容範囲内で実行されたか否かを決定することを目的として常に分析される必要がある。

【0198】

この分析の結果は、全体的な処理内で適当な判断をする全体コントローラーに送信される。

【0199】

試料均質化処理モニターに関して、反応及び処理コントローラーは2つのセンサーである圧力センサーと温度センサーを有する。これは、これらの信号の調整のためのハードウェア要素と同様であり、これらの信号を介して、その状況下で反応が行われる物理パラメーターが測定可能である。これらのパラメーターの分析は、確立された温度への到達がそれを終了するための尺度となるならば所定のサブ処理がその間に実行される時間を決定することができる。

30

【0200】

データ読取制御モジュールはデータ読取モジュールと相互作用可能な手段である。それは次のことを許容する必要がある。

- データ読取モジュールによって提供される反応モジュールで実行される反応の後に得られた結果の分析のためのメカニズムを作動する。
- データ読取モジュールによって提供される反応結果を取得する。
- データ読取モジュールのステータスを管理する。
- 反応から得られる情報を処理する。
- 前述の全体コントローラーによって送信される特定のコマンドを介して全体コントローラーへ前述の情報を全て送信する。

40

【0201】

図15は説明した装置の動作図に対応する。

【0202】

分析される試料72は、分配モジュール中にそれらを有する取得モジュール72によって取られ、そこからそれらは、均質化モジュール76によって均質化される処理モジュール

50

ル 7 5 へと行く。最終的に、試料は試薬管理モジュール 7 7 と通信する反応モジュール 8 6 に行き、データは最終的にデータ読取モジュール 7 8 によって取られる。

【 0 2 0 3 】

これらのモジュールのそれぞれは、対応するコントローラー 7 9 から 8 3、及び通信モジュール 8 5 を介して管理される全体コントローラー 8 4 によるアセンブリによって管理される。

【 0 2 0 4 】

本発明の装置の機能的な説明は次の欄で詳述し、前述の装置の物質検出処理及びロボット化された操作上順序を考慮して 2 つの観点を取る。

【 0 2 0 5 】

1 . システム開始 ( 図 8 a 及び 8 b から 1 1 a 及び 1 1 b と図 1 5 参照 ) 。

【 0 2 0 6 】

操作ステップ :

a . 全体管理モジュール 8 4 を作動する。

【 0 2 0 7 】

b . 反応及び処理制御モジュール 8 1 を作動する。モーター 4 1 を作動し、移動ラック 1 7 の正確な初期位置 ( 機械的な停止に対しトップ位置 ) を検証する。モーター 4 1 のステップのカウントを初期化する。モーター 4 1 を停止し、試料均質化制御モジュールコントローラー 8 2 を解除する。

【 0 2 0 8 】

c . 試料分配制御モジュールコントローラー 8 0 を作動する。モーター 1 0 を作動し、回転ドラム 5 の正確な初期位置 ( 機械的な停止に対する ) を検証する。モーター 1 0 のステップのカウントを初期化する。

【 0 2 0 9 】

2 . 試料を均質化チャンバー 1 8 中へ導入する。

【 0 2 1 0 】

操作ステップ :

a ) 使用される均質化容器 6 がホッパー 4 と垂直線上になるまで回転ドラム 5 を回転する。

【 0 2 1 1 】

b ) 2 5 0 m g の固体試料を、 0 . 5 m m 未満の粒子サイズで、ホッパー 4 を通じて均質化チャンバー中に手動で導入する。

【 0 2 1 2 】

3 . 試料溶液を準備する。

【 0 2 1 3 】

操作ステップ :

試料を収容する均質化容器の軸が試料処理モジュール 7 5 のピストン 2 4 の軸と垂直線上になるまで回転ドラム 5 を回転する ( + 1 8 0 ° ) 。モーター 1 0 は回転ドラム 5 の位置を維持するように駆動したままである。

【 0 2 1 4 】

b . 処理及び反応制御モジュールコントローラー 8 1 を作動する。モーター 4 1 を作動する。

【 0 2 1 5 】

c . 得られた位置へ移動ラック 1 7 を低下させる ( 図 9 a - 9 b ) 。移動はステップ 0 からステップ 1 9 6 0 まで ( モーター 4 1 のステップカウンタの絶対値 ) 1 0 0 ステップ / s の速度で実行される。

【 0 2 1 6 】

この位置で、ピストン 2 4 と排管 2 9 , 3 1 , 2 8 及び 2 9 ' は、均質化容器 1 8 中に部分的に導入されるが、要素間で接触しない。ピストンと容器が干渉するからドラムの予想外の回転は不可能である。

10

20

30

40

50

## 【 0 2 1 7 】

d . モーター 1 0 を停止する。

## 【 0 2 1 8 】

この時点で、回転ドラム 5 はアンロックされるがその回転はピストン 2 4 によって防止される。

## 【 0 2 1 9 】

e . 食塩水注入位置へ移動ラック 1 7 を低下させる ( 図 1 0 a - 1 0 b 参照 ) 。移動はステップ 1 9 6 0 からステップ 4 4 8 0 まで ( モーター 4 1 のステップカウンタの絶対値 ) 5 0 ステップ / s の速度で実行される。移動ラックのモーター 4 1 の停止は行程の最後である。

10

## 【 0 2 2 0 】

この位置で、食塩水排管 2 8 は蛍光マーカークャンバーのトップキャップ 2 7 a を超え、すぐに溶液を分配できるようになる。1 m g の蛍光マーカークャンバー Cy 5 は、固体状態でチャンバーの底部及び壁に付着しており、このチャンバー内に沈殿する。

## 【 0 2 2 1 】

次にガスケット 2 6 は、均質化チャンバーの通気ポート上に配置され、チャンバーの密閉はまだなされない。

## 【 0 2 2 2 】

f . 試料及び溶液管理制御モジュールコントローラー 8 2 を作動する。食塩水シリンジのモーター 6 4 を 1 3 6 2  $\mu$  l 注入するまで作動する ( 5 ステップ / s でのモーターの 1 3 9 ステップ ) 。注入を終えたらモーター 6 4 を停止する。

20

## 【 0 2 2 3 】

食塩水 ( 0 . 1 M  $\text{NaCO}_3$  /  $\text{NaHCO}_3$  ) は、チャンバーを超えるときに蛍光マーカークャンバー Cy 5 を溶解し、試料があるときにそれを均質化チャンバー 1 8 に混入する。注入処理の間、食塩水は、センサーチャンバーと均質化チャンバーへの他のアクセス排管へ侵入する。終わりに、約 1 2 0 0  $\mu$  l の試料及びマーカークャンバー溶液はこのチャンバー内に得られる。その溶液はアミノ基 (  $\text{NH}_2$  ) を運ぶ分子に結合可能である。

## 【 0 2 2 4 】

g . 移動ラックのモーター 4 1 を動作し、均質化位置へそれらを低下する。モーター 4 1 を停止する。

30

## 【 0 2 2 5 】

おおよそステップ 4 7 4 0 をモーター 3 8 の絶対ステップカウンタがマークするときに、均質化チャンバーの密閉は、このピストン 2 4 の低下移動の間に実行される ( 図 1 1 a - 1 1 b 参照 ) 。この移動から、均質化チャンバー - 1 8 は、加圧されるように開始し、ピストン 2 4 が低下されるように過剰圧力が増加する。この位置では、圧力及び温度センサー 3 0 及び 3 2 のそれぞれの排管 2 9 ' 及び 3 1 は、それらのそれぞれのチャンバーのトップキャップを超えており、したがって、それらは、均質化チャンバーの状態をモニターし始める。センサー 3 0 によって示される過剰圧力が 0 . 8 b a r の値に達するときに低下は停止される。均質化位置がこの時点で達する ( 図 1 2 a - 1 2 b 参照 ) 。

## 【 0 2 2 6 】

この位置で、P T F E 膜 4 1 が試料溶液に接触し、均質化ホーン 1 6 によってエネルギー化されるように準備する。チャンバー内にある加圧空気は、ガスケット 2 6 に近接するピストン 2 4 のプッシング 4 6 によって形成される空洞内に保有される。

40

## 【 0 2 2 7 】

低下移動は 2 つの連続したものであるが異なるステップで実行される。第 1 ステップは、チャンバーの密閉のために、1 0 ステップ / s の速度で、モーター 4 1 の絶対ステップ 4 4 8 0 と 4 7 4 0 との間で実行され、第 2 ステップは、均質化位置のために、5 ステップ / s の速度でモーター 4 1 の絶対ステップ 4 7 4 0 と 5 0 8 0 ( 制御が圧力センサーで実行されるから最後のステップはおおよそである ) の間でゆっくりと実行される。

## 【 0 2 2 8 】

50

#### 4. 試料溶液均質化

##### 操作ステップ:

a. 試料ホモジナイザー制御モジュールコントローラー 82 を作動する。試料を均質化するために試料ホモジナイザーモジュール圧電システムを作動する。

##### 【0229】

試料均質化処理の間、コンバーター 49 は、試料均質化制御モジュール 82 によって供給される高周波電力 (40 kHz) をホーン 16 の自由端を介して増幅される縦振動に換える。次に、ホーン振動は処理された試料溶液中に圧力波を生成し、溶液内のキャビテーションを引き起こし、試料を均質化する。キャビテーションの強度、したがって混合物の均質化の程度は、振動の振幅を選択することによって調整可能であり、低振幅用の緩やかな均質化から高振幅レベル用の細胞の破砕までの範囲をカバーすることができる。

10

##### 【0230】

均質化処理の間、ホモジナイザーによってそれらに供給されるエネルギーの結果として、試料処理温度は上昇する。温度上昇はチャンバー内の過剰圧力内での上昇を生成する。処理が長引いて長時間であると、均質化チャンバー 18 内の過剰圧力は反応チャンバーの過剰圧力に一致し、前述のチャンバーへの試料溶液の自然発生の制御できない流れを引き起こす。他方、溶液の上昇温度は細胞に不可逆のダメージを引き起こす可能性がある。これらの潜在的なリスクは、次の 2 つのパラメーターによって均質化処理を制御することで防止される。

##### 【0231】

・溶液温度、温度センサー 32 によってモニターされ、その上限は事前に確立された臨界温度を超えない。

20

##### 【0232】

・均質化チャンバー内の過剰圧力、圧力センサー 30 によってモニターされ、均質化のためのその有効範囲は 0.8 ÷ 1.0 bar 間でなければならない。

##### 【0233】

パラメーターは両方とも次のように他のパラメーターと密接に関連する。

##### 【0234】

・ホモジナイザーのエネルギー化の強度、その値は、均質化の所望の程度に従って事前に決められ、超音波振動振幅に関連する。この振幅は、試料均質化制御モジュールコントローラー 82 内で事前に選択される。有効範囲は増幅の 10% と 100% の間で検討可能である。

30

##### 【0235】

・ホモジナイザーのエネルギー化時間、これは選択されたエネルギー化温度に関する。より大きい強度、より速い温度及び圧力の上昇である。したがって、エネルギー化間隔は圧力及び温度の上限を超えないように低減される必要がある。

##### 【0236】

・試料の特性、室温、など。

##### 【0237】

試料溶液内に存在する可能な細胞の破砕と溶解を引き起こすことが可能な均質化モードは、80% のエネルギー化された振幅での試料ホモジナイザーモジュール 76 の間欠的なエネルギー化、及び上述した圧力及び温度制限によって制限された 20 秒を超えないエネルギー化の間隔にある。間隔間の待ち時間は、試料の冷却によって生成される圧力降下によって決められ、過剰圧力が 0.8 bar の値に到達するときにエネルギー化を再開する。

40

##### 【0238】

b) 試料分子との Cy5 マーカーの反応を促進するために 30 分待つ。

##### 【0239】

#### 5. 蛍光マーカーブロッキング

##### 操作ステップ:

50

a. 移動ラックのモーター 4 1 を作動し、それをブロッカー注入位置に上げる（図 1 3 a - 1 3 b 参照）。モーター 4 1 を停止する。

【 0 2 4 0 】

この上昇移動は、20ステップ/秒の速度でモーター 4 1 の絶対ステップ 5 0 8 0（おおよそ）と 4 5 0 0 の間で連続的に実行される。均質化チャンバー内の過剰圧力はピストン 2 4 が上昇するように低下し、ガスケット 2 6 がチャンバーの通気ポートを越えるときに（モーター 3 8 の絶対ステップ 4 5 6 0）、0 bar まで低減される。このステップの最後に、排管 2 9 はブロッカーチャンバー 2 1 内に配置され、B S A 溶液を分配するように準備される。

【 0 2 4 1 】

試薬及び溶液管理制御モジュールコントローラー 7 7 を作動する。B S A ブロッカー溶液シリンジ 1 0 のモーター 6 4 を 3 4 3  $\mu$ l 注入するまで作動する（5ステップ/秒でモーターの 3 5 ステップ）。注入を終えたらモーター 6 4 を停止する。

【 0 2 4 2 】

ブロッカーシリンジは、B S A ブロッカーの 1 0 % 濃度で食塩水を収容する。したがって、排管 2 5 を介して注入される 3 4 3  $\mu$ l の食塩水に溶解した 3 4 mg の B S A ブロッカーが添加される。ブロッカーは、試料分子と反応していない過剰の蛍光マーカールと結合する。これは、抗体へのフリーマーカールの非特定の結合が防止されるため、最終的に得られる画像でのバックグラウンドを減少することを許容する。

【 0 2 4 3 】

c. 移動ラックのモーター 4 1 を作動し、それを試料溶液攪拌位置に下げる。モーター 4 1 を停止する。

【 0 2 4 4 】

操作ステップ 3 g ) でのように、モーター 4 1 の絶対ステップカウンタがおおよそステップ 4 7 4 0 をマークするときに、均質化チャンバーの密閉はピストン 2 4 の低下移動の間に実行される。この移動から、均質化チャンバーは加圧され始め、ピストン 2 4 が低下するように過剰圧力を増加する。センサー 3 0 によって示される過剰圧力が 0 . 8 bar の値（おおよそモーター 4 1 のステップ 4 9 8 0 における）に達するときに低下は停止する。低下移動は 2 つの連続したステップで実行される。第 1 のものでは、20ステップ/秒の速度で、モーター 4 1 の絶対ステップ 4 5 0 0 と 4 7 4 0 の間であり、第 2 のものでは 5 ステップ/秒の速度で 0 . 8 bar の過剰圧力に達するまでである。

【 0 2 4 5 】

d. 試料ホモジナイザー制御モジュールコントローラー 8 2 を作動する。試料ホモジナイザーモジュール 7 6 の圧電システムを試料をゆるやかに攪拌するように作動する。

【 0 2 4 6 】

この攪拌は、試料溶液プラス B S A ブロッカー混合物を均質化する目的を有する。それは、約 5 秒の短い間隔で、低エネルギーレベル（20%の振幅）で実行される。

【 0 2 4 7 】

e. 過剰のマーカールとのブロッカーの反応を促進するために 3 0 分待つ。

【 0 2 4 8 】

6. 反応チャンバー 1 8 内に試料を注入する

操作ステップ

a. 移動ラックのモーター 4 1 を作動し、それを逆止めバルブ 3 7 の開口位置に低下する。

【 0 2 4 9 】

均質化チャンバー内の過剰圧力が反応モジュール 8 6 の回路内の過剰圧力よりわずかに大きいとき、すなわちそれがおおよそ 1 . 3 bar の値に達するときに、逆止めバルブの開口は生じる。この状態はモーター 4 1 のステップ 5 0 4 0 近辺で生じる。

【 0 2 5 0 】

b. 移動ラックの低下によって、反応チャンバー内に第 1 試料注入を導入する。

10

20

30

40

50

## 【 0 2 5 1 】

第1の注入では、モーター41は5ステップ/秒の速度で210（相対的）ステップを低下させるため、試料は反応チャンバーに到達し、検出物質のマイクロアレイが配置されている反応チャンバー自体と同様に、フィルター33、フィルターホルダー34、逆止めバルブ37及び全てのアクセス導管を通過する。

## 【 0 2 5 2 】

均質化チャンバー18の下に位置するフィルター33は、20 $\mu$ mを超える粒子が反応モジュールに入らないようにする。反応チャンバーの量は約28 $\mu$ lである。有効な検出物質のマイクロアレイの寸法は8 $\times$ 8mmである。

## 【 0 2 5 3 】

b. モーター41を停止する。

## 【 0 2 5 4 】

c. 反応チャンバーで検出物質と均質化された試料の物質の反応を促進するために20分待つ。

## 【 0 2 5 5 】

e. 移動ラックの低下によって第2試料注入を反応チャンバー中に導入する。

## 【 0 2 5 6 】

試料のいくらかの量は、同じマイクロアレイ上を順次に通過するようになる。第2及び引き続く注入では、モーター41は5ステップ/秒の速度で20（相対的）ステップを低下させるため、反応チャンバーは新しい試料によって占められる。前述のステップで分析された試料は、それが保有される廃棄物保管所46へと移動する。

## 【 0 2 5 7 】

f. 最終的な位置に到達するまで、必要なだけの時間で、ステップc)、d)及びe)を繰り返す(図14a-14b参照)。これはモーター41のステップ5500近辺で生じる。

## 【 0 2 5 8 】

新しい試料の注入が反応チャンバー内に導入されるため、回路の過剰圧力は試料注入処理の最後でおおよそ1.7barの値に到達するまで上昇する。

## 【 0 2 5 9 】

g. モーター41を停止する。

## 【 0 2 6 0 】

7. 反応チャンバーを洗浄する

## 操作ステップ

a. 試薬及び溶液管理制御モジュールコントローラー82を作動する。BSAブロッカー溶液のシリンジ60のモーター64を1000 $\mu$ l注入するまで作動する(5ステップ/秒でモーターの160ステップ)。注入を終えるとモーター64を停止する。

## 【 0 2 6 1 】

図14a-14bに示す最終的な位置で、排管29は、ブロッカーチャンバー21の底部キャップ27を超え、導管53を洗浄する反応モジュールを貫通する。これは、溶液を洗浄する反応チャンバーとしても使用される10%のBSAブロッカー溶液を注入することを許容する。

## 【 0 2 6 2 】

洗浄は、反応チャンバーに存在する過剰のマーカ及び試料を移動することを許容する。洗浄溶液は、廃棄物保管所57内に最終的に保有され、反応モジュール内の過剰圧力を約2.5barまで上昇する。逆止めバルブ37が圧力バリアとして働くため、この過剰圧力はセンサー30によってモニターされない。

## 【 0 2 6 3 】

8. 蛍光マーカを活性化し蛍光を検出する。

## 【 0 2 6 4 】

## 操作ステップ

10

20

30

40

50

- a . データー読取制御モジュールコントローラ 8 3 を作動する。  
 【 0 2 6 5 】
- b . レーザーダイオードによって C y 5 蛍光マーカーにエネルギーを与え、同時に C C D センサーによって蛍光分子によって放射される電磁放射を検出する。  
 【 0 2 6 6 】  
 使用される C y 5 マーカーは 6 4 9 n m で最大吸収を有し、 6 7 0 n m で最大放出を有する。  
 【 0 2 6 7 】
- c . ディスク上の C C D センサー画像を読み取る。  
 【 0 2 6 8 】 10
- 9 . 装置を再開する。  
 【 0 2 6 9 】  
 操作ステップ
- a . 移動ラックのモーター 4 1 を作動させ、それを均質化容器の取得位置まで上げる ( 図 9 a - 9 b 参照 ) 。  
 【 0 2 7 0 】
- この上昇移動は、 5 0 ステップ / 秒の速度でモーター 4 1 のステップ 1 9 6 0 まで連続して実行される。  
 【 0 2 7 1 】 20
- b . 回転ドラムのモーター 1 0 を駆動する。  
 【 0 2 7 2 】
- c . 移動ラックのモーター 4 1 を作動させ、それを初期位置に上げる ( 図 8 a - 8 b 参照 ) 。モーター 4 1 を停止する。  
 【 0 2 7 3 】
- この上昇移動は、 5 0 ステップ / 秒の速度でモーター 4 1 のステップ 0 まで連続して実行される。  
 【 0 2 7 4 】
- d . 回転ドラムをその初期位置に回転する。  
 【 0 2 7 5 】 30
- この位置で装置は新しい試料を処理する準備をする。  
 【 0 2 7 6 】
- 図 1 6 及び 1 7 は、装置の実施の形態の変形例であり、同じ参照が一致又は同様の物を表すために使用される。  
 【 0 2 7 7 】
- この実施の形態では、試料処理モジュール容器 6 が、水平シャフトを備えた回転ドラムに組み付けられ、この水平シャフトは、前述した場合のように、角度電位差計 1 0 ' を備えたギアモーター 1 0 によって作動される。  
 【 0 2 7 8 】 40
- チャンバ 6 はホッパー 4 から送り込まれる試料を受けるための閉鎖手段を備える側面積み込み開口 9 0 を備える。  
 【 0 2 7 9 】
- 前述した実施の形態でのように、図 1 6 及び 1 7 の場合では、ホモジナイザーモジュールは、コンバーター 1 5 及びホーン 1 6 を含む圧電デバイスを有し、この全てはラック 1 7 に組み付けられ、その移動は閉鎖手段を移動し、それを介して、及び圧電デバイスの作動によって、試料均質化が生じる。ラック 1 7 はガイドに組み付けられ、このガイドにそって、それは、回転ドラムの一方で、回転能力なしに、線形電位差計 1 5 ' との線形アクチュエーター 9 3 によって移動可能である。  
 【 0 2 8 0 】 50
- 他の全ての点で、この実施の形態では、装置は図 4 から 1 4 を参照して説明された構成に対応し、レーザー 6 6 、データー読取カメラ 6 7 などを持つ。さらに、それは冷却モ

ジュール 9 4、溶液保管所 9 5 及び溶液ポンプ 9 6 を有してもよい。

【 0 2 8 1 】

図 1 6 及び 1 7 に示される全体のアセンブリはケージ構造内に組み付けられ、そこにはホッパー 4、試薬管理モジュール、データ読取モジュール及び通信及び制御モジュールもまた組み付けられている。

【図面の簡単な説明】

【 0 2 8 2 】

【図 1】図 1 は本発明の装置の正面等角図である。

【図 2】図 2 は本発明の装置の背面等角図である。

【図 3】図 3 は本発明の装置の上面図でありトップカバーが外されている図である。

10

【図 4】図 4 は図 3 の I V - I V 切断線に従う断面である。

【図 5】図 5 は図 3 の V - V 切断線に従う処理モジュール及び反応モジュールの縦断面である。

【図 6】図 6 は図 3 の V I - V I 切断線に従う処理モジュール及び反応モジュールの縦断面である。

【図 7】図 7 は反応モジュールの等角図である。

【図 8 a】図 8 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 8 b】図 8 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 9 a】図 9 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 9 b】図 9 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

20

【図 1 0 a】図 1 0 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 0 b】図 1 0 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 1 a】図 1 1 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 1 b】図 1 1 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 2 a】図 1 2 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 2 b】図 1 2 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

30

【図 1 3 a】図 1 3 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 3 b】図 1 3 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 4 a】図 1 4 a は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

【図 1 4 b】図 1 4 b は処理を通した試料処理及び均質化モジュールの異なる位置を示す。

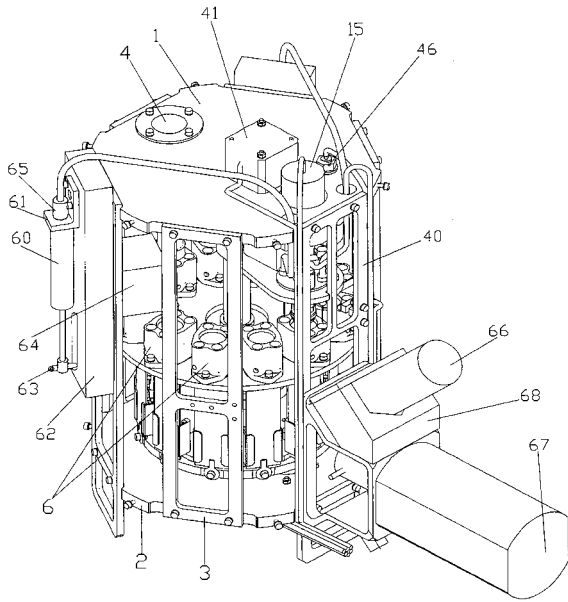
40

【図 1 5】図 1 5 は本発明の装置の動作図に対応する。

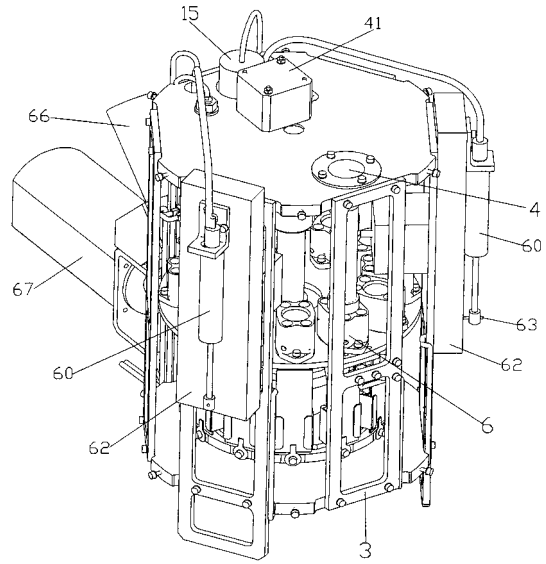
【図 1 6】図 1 6 は本発明の装置の実施の形態の変形例の正面斜視図である。

【図 1 7】図 1 7 は本発明の装置の実施の形態の変形例の背面斜視図である。

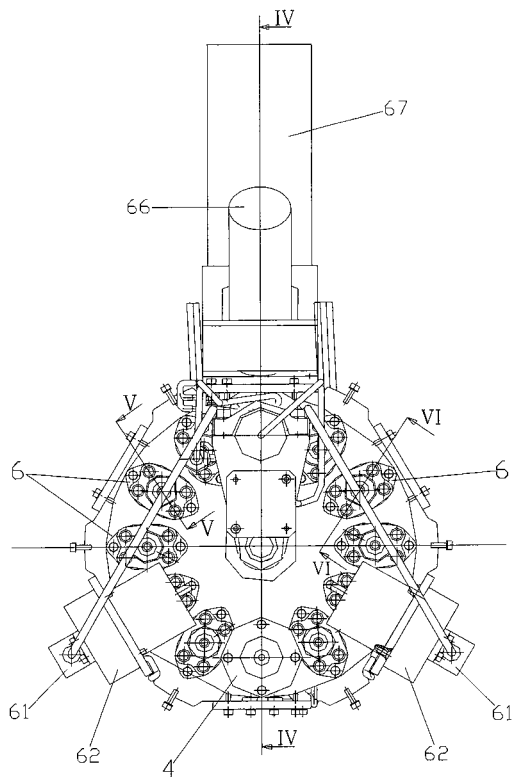
【図1】



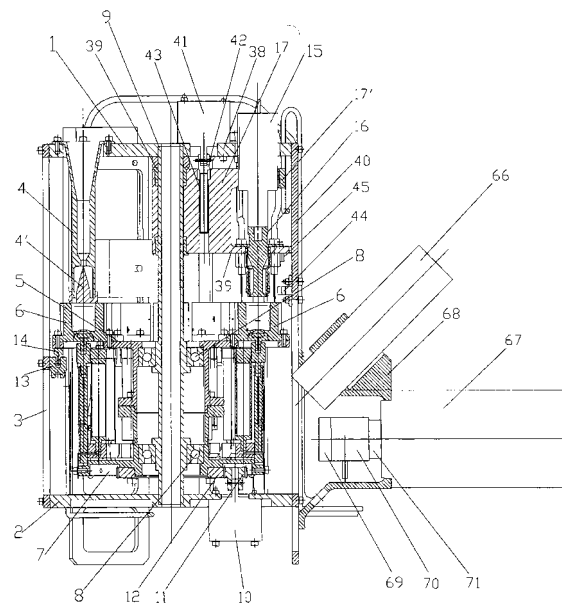
【図2】



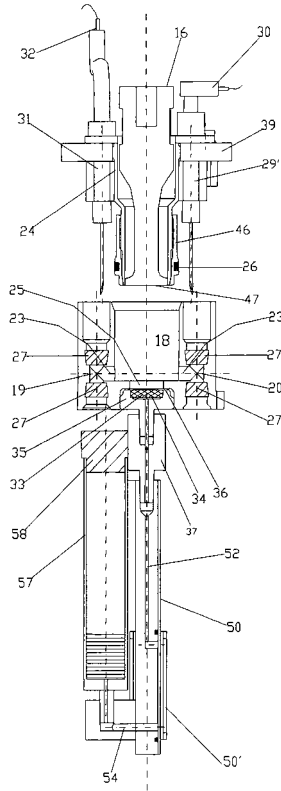
【図3】



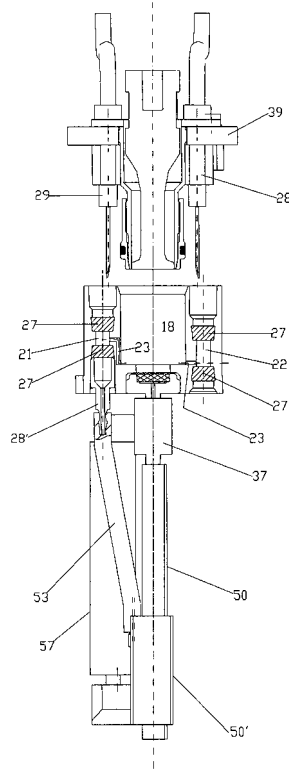
【図4】



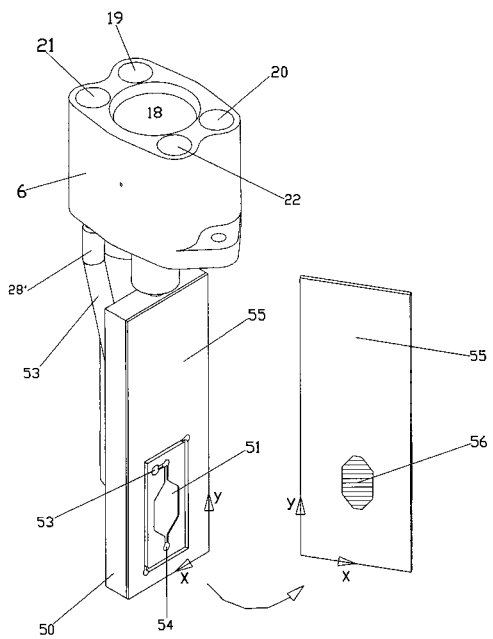
【図5】



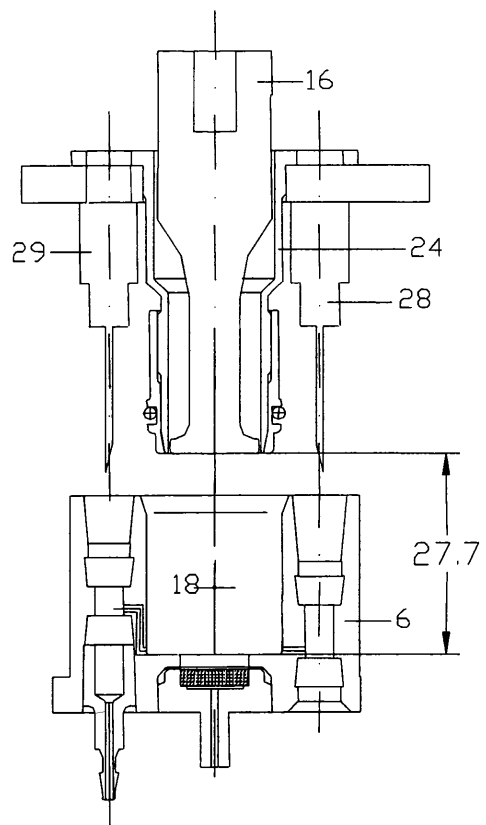
【図6】



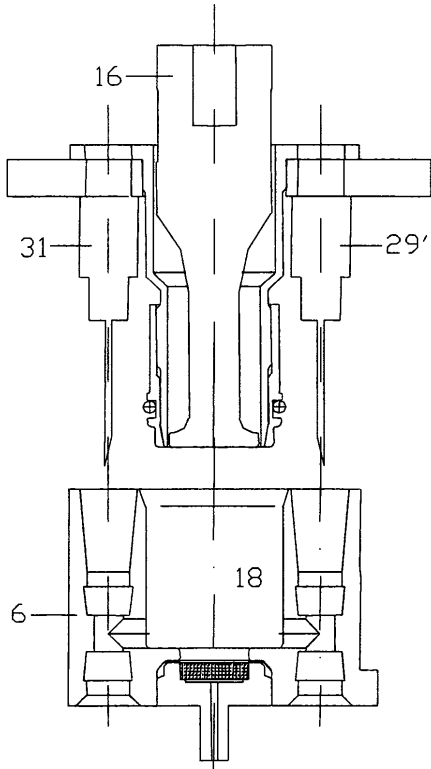
【図7】



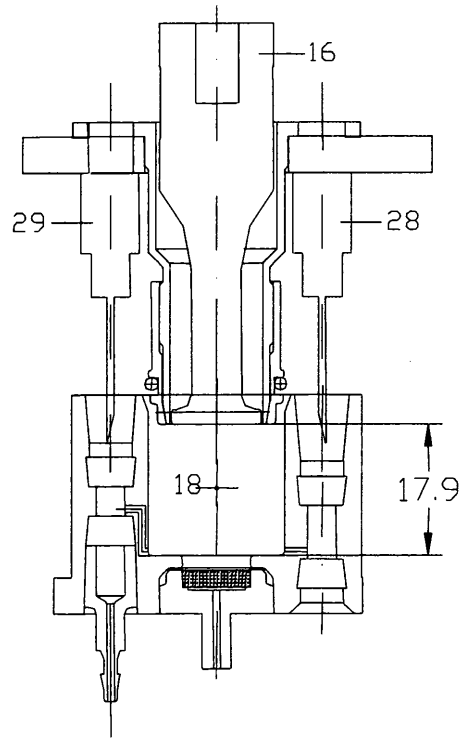
【図8 a】



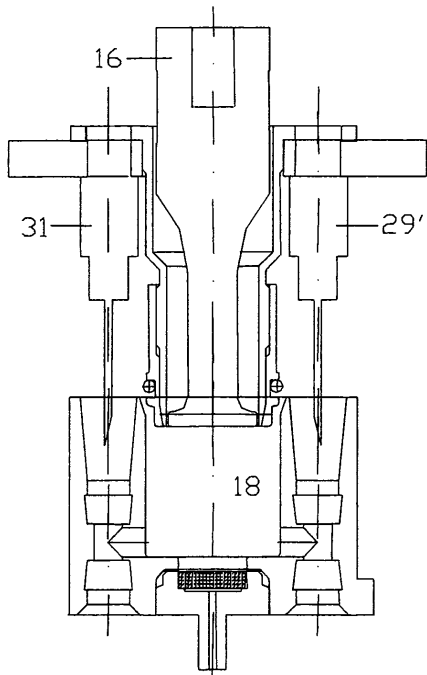
【図 8 b】



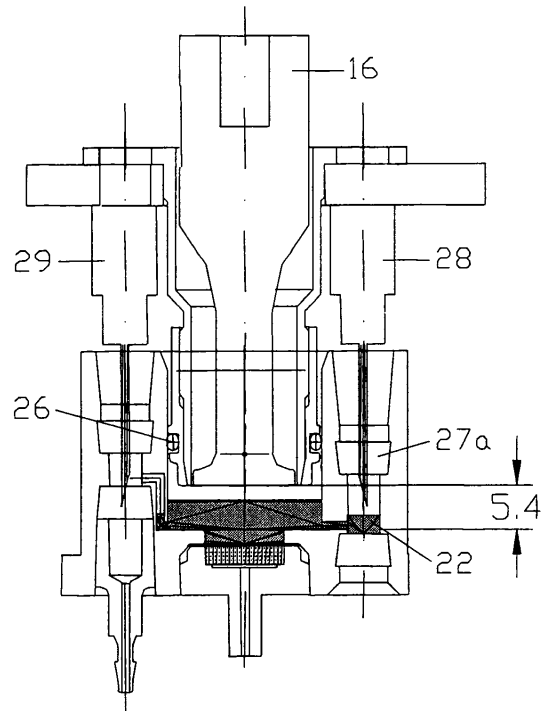
【図 9 a】



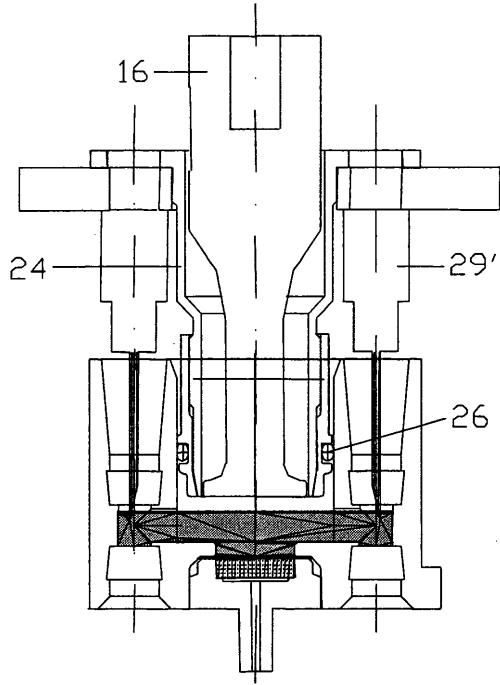
【図 9 b】



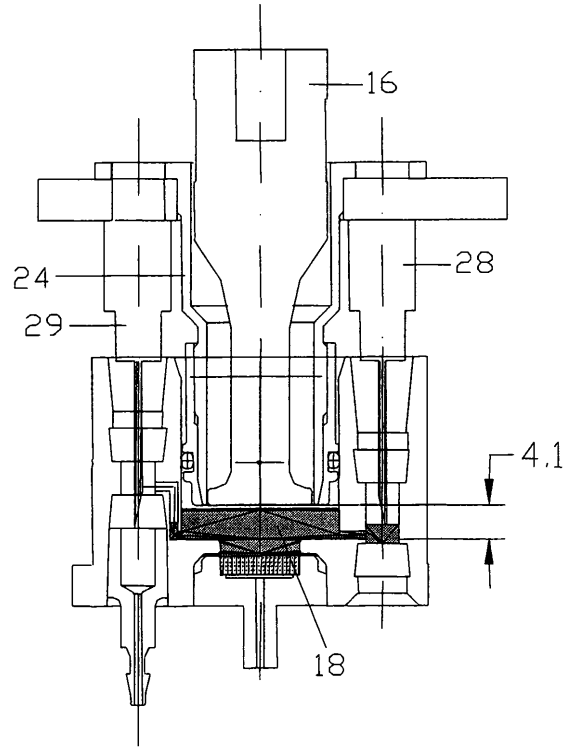
【図 10 a】



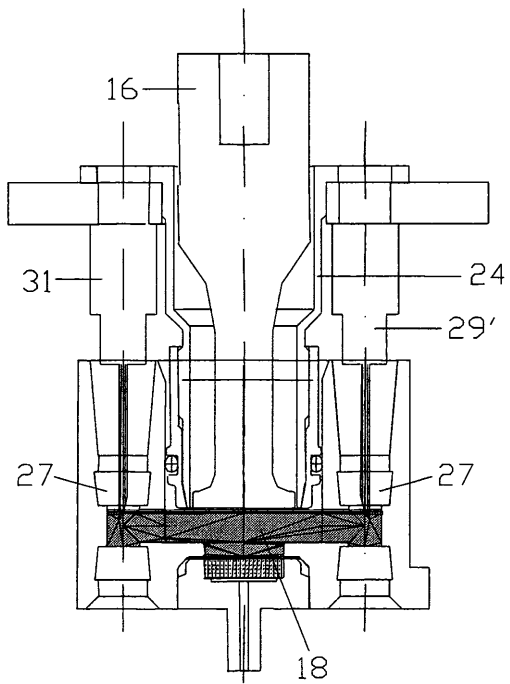
【図10b】



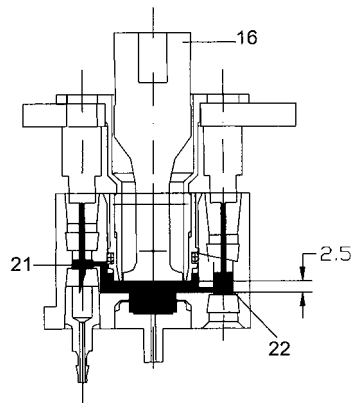
【図11a】



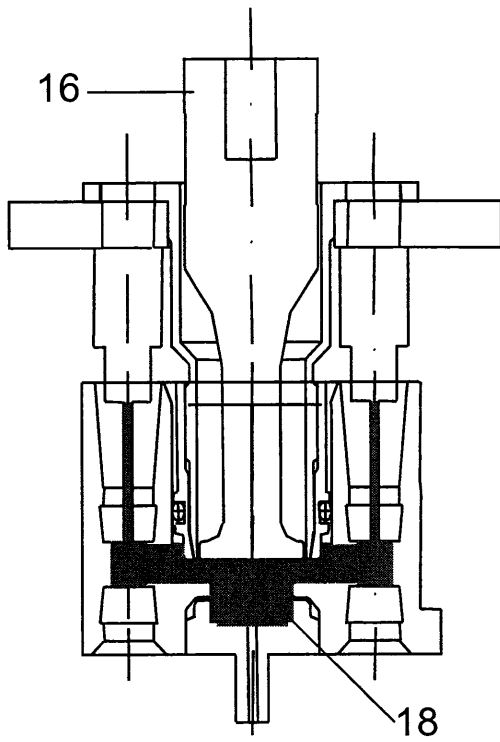
【図11b】



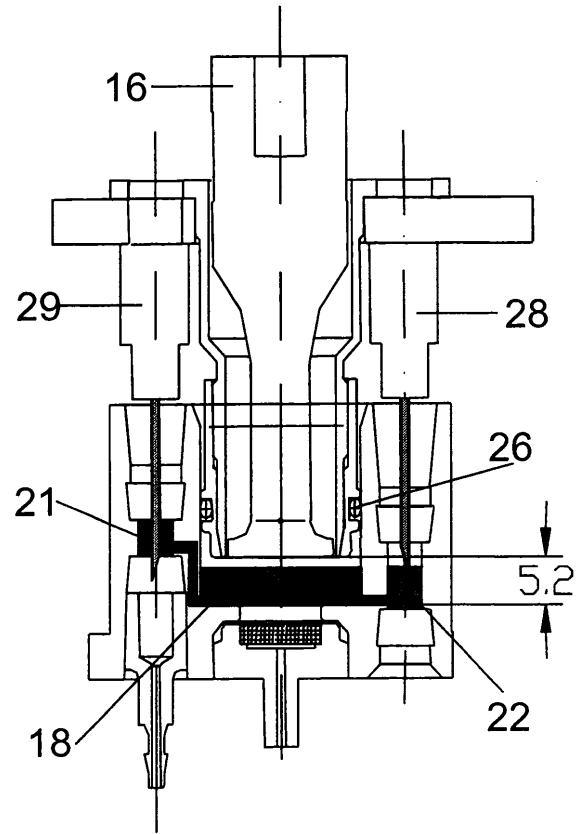
【図12a】



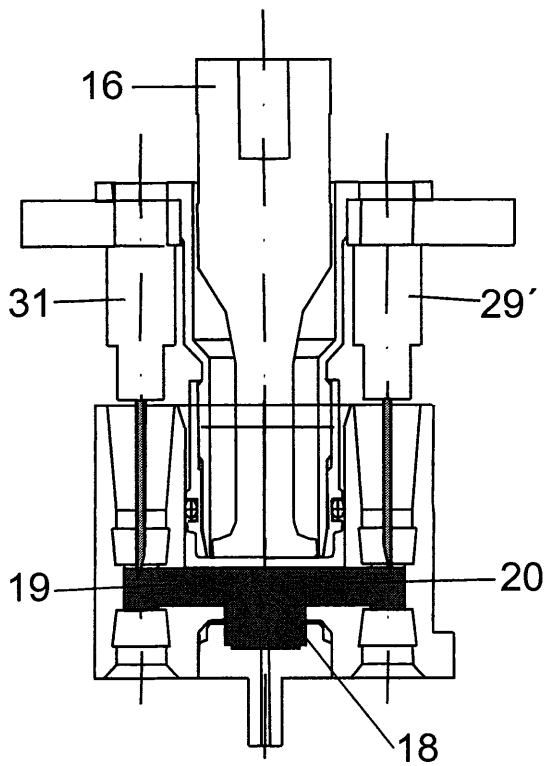
【図 12 b】



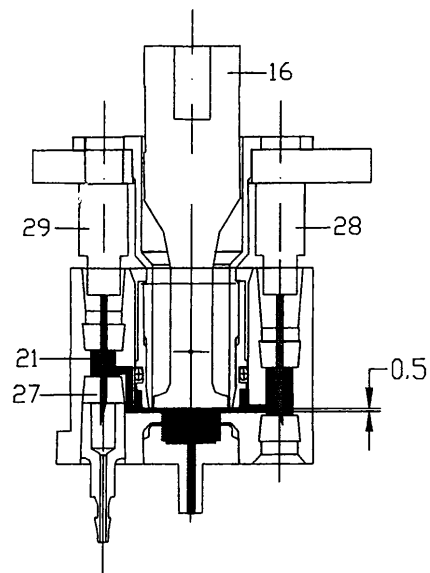
【図 13 a】



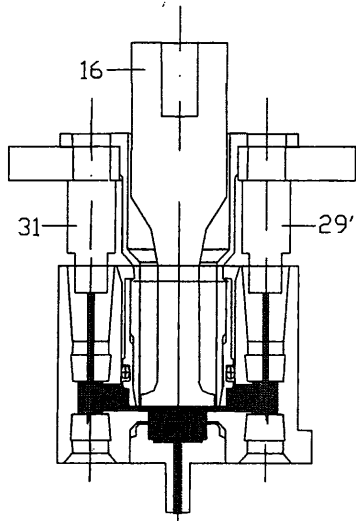
【図 13 b】



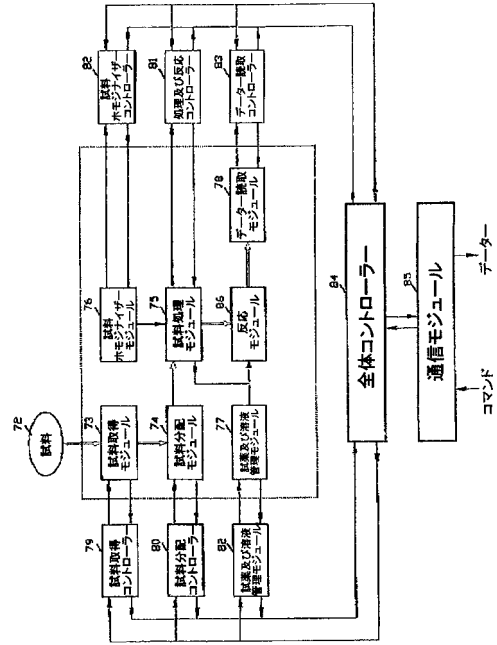
【図 14 a】



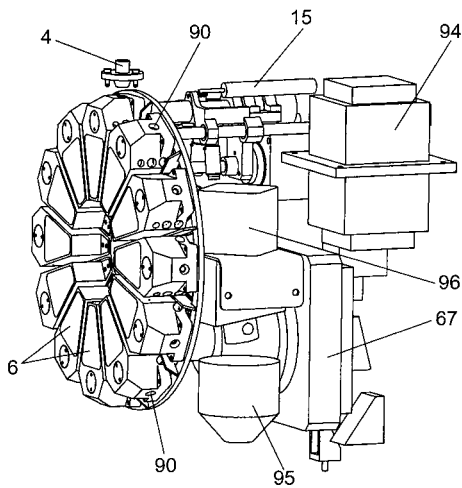
【図14b】



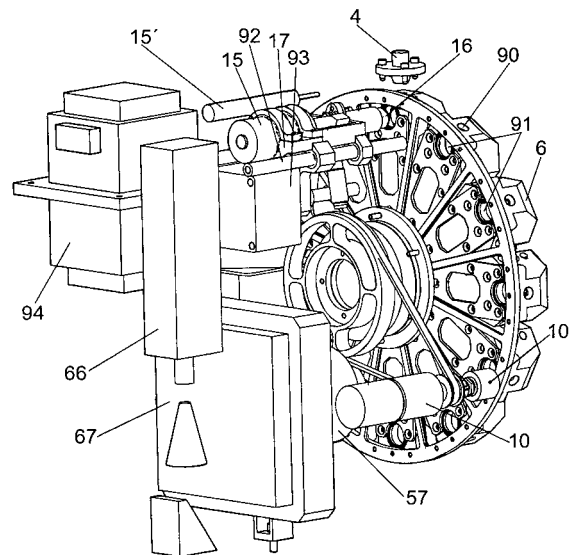
【図15】



【図16】



【図17】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
G 0 1 N 35/00 C

(73)特許権者 505441579

セネル, インヘニエリア イ システムス, エス.アー.  
SENER, INGENIERIA Y SISTEMAS, S.A.  
スペイン国 イー 48930 ビスカヤ, ゲチョ, ラス アレナス, アベニーダ デ スガサル  
テ, ヌメロ 56  
Avda. de Zugazarte, n° 56, E-48930 Las Arenas,  
Guecho (Vizcaya) (ES).

(73)特許権者 504035010

コンセホ・スペリオール・デ・インベスティガシオネス・シエンティフィカス  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS  
スペイン国、エ-28006 マドリッド、セ/セラノ 113

(74)代理人 100067541

弁理士 岸田 正行

(74)代理人 100087398

弁理士 水野 勝文

(74)代理人 100103506

弁理士 高野 弘晋

(74)代理人 100105072

弁理士 小川 英宣

(74)代理人 100126147

弁理士 川上 成年

(72)発明者 ゴメス エルヴィラ ロドリゲス, ハビエル

スペイン国 28045 マドリッド, カリエ トマス ボラース 3

(72)発明者 セバ스티アン マルティネス, エドゥアルド

スペイン国 28820 マドリッド, コスラダ, カリエ アラメダ 13

(72)発明者 プリオネス ヨレンテ, カルロス

スペイン国 28029 マドリッド, カリエ ギンソ デ リマ 52

(72)発明者 パロ ガルシア, ビクトル

スペイン国 28005 マドリッド, カリエ メイリヤ 29A

(72)発明者 ロドリゲス マンフレディ, ホセ, アントニオ

スペイン国 28814 マドリッド, ピントル ゴヤ 12

(72)発明者 コンボスティソ サニユード, カルロス

スペイン国 48992 ビスカヤ, カリエ アイボア 29, デル

(72)発明者 ヘレロ ゴンサロ, ペドロ, ルイス

スペイン国 48903 ビスカヤ, ブラサ デ クルセス 6, 4° A

(72)発明者 ペレス メルカデル, フアン

スペイン国 28001 マドリッド, カリエ ヌニェス デ バルボ 45

審査官 森 竜介

(56)参考文献 特表2002-528265(JP, A)

特開平08-313416(JP, A)

特表平09-509498(JP, A)

## (58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

G01N 35/00

G01N 33/566

G01N 35/04

G01N 35/10

G01N 37/00

G01N 35/00

G01N 33/566

G01N 35/04

G01N 35/10

G01N 37/00