

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6941443号
(P6941443)

(45) 発行日 令和3年9月29日 (2021.9.29)

(24) 登録日 令和3年9月8日 (2021.9.8)

(51) Int. Cl.	F I				
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34		B		
C 1 2 Q 1/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/00		Z		
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68				
C 1 2 Q 1/70 (2006.01)	C 1 2 Q 1/70				
G O 1 N 33/543 (2006.01)	G O 1 N 33/543	5 2 1			
請求項の数 54 (全 65 頁) 最終頁に続く					

(21) 出願番号	特願2016-553652 (P2016-553652)	(73) 特許権者	516250683
(86) (22) 出願日	平成28年6月10日 (2016.6.10)		ブレックスバイオ カンパニー, リミテッド
(65) 公表番号	特表2018-518146 (P2018-518146A)		台湾 1 1 4 9 1, タイペイ, ネイフー ディストリクト, ヤングアン ストリート, ナンバー 3 5 1, 6エフー 1
(43) 公表日	平成30年7月12日 (2018.7.12)	(74) 代理人	100078282
(86) 国際出願番号	PCT/IB2016/000937		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開番号	W02016/198954	(74) 代理人	100113413
(87) 国際公開日	平成28年12月15日 (2016.12.15)		弁理士 森下 夏樹
審査請求日	令和1年6月5日 (2019.6.5)	(74) 代理人	100181674
(31) 優先権主張番号	62/174,401		弁理士 飯田 貴敏
(32) 優先日	平成27年6月11日 (2015.6.11)	(74) 代理人	100181641
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 石川 大輔
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 画像差別化マルチブレックスアッセイ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コード化されたマイクロキャリアであって：

(a) 第一の表面および第二の表面を有する透明なポリマー層であって、
該第一および該第二の表面は互いに平行である、層；

(b) 不透明なポリマー層であって、該不透明なポリマー層は、該透明なポリマー層の
該第一の表面に貼り付けられており、該透明なポリマー層の中心部分を囲み、該不透明な
ポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに

(c) 分析物を捕捉するための捕捉剤であって、該捕捉剤は該透明なポリマー層の少な
くとも該中心部分において該透明なポリマー層の該第一の表面および該第二の表面のうち
の少なくとも1つに連結されている、捕捉剤
を含む、マイクロキャリア。

【請求項 2】

(d) 前記不透明なポリマー層と前記透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該透
明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の不透明な層であって、該磁性の不透明な層は
該透明なポリマー層の前記第一の表面または前記第二の表面に貼り付けられている、層
をさらに含む、請求項 1 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 3】

(e) 第一の透明なポリマー層に貼り付けられている第二の透明なポリマー層であって
、該第二の透明なポリマー層は中心部分を有し、該第二の透明なポリマー層は該第一の透

10

20

明なポリマー層の第二の表面に貼り付けられており、該第一の透明なポリマー層の二次元形状を超えて広がっていない、層；および

(f) 前記不透明なポリマー層と前記第一の透明なポリマー層および前記第二の透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該第一の透明なポリマー層および該第二の透明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の不透明な層であって、該磁性の不透明な層は該第一の透明なポリマー層と該第二の透明なポリマー層との間に貼り付けられている、層をさらに含む、請求項 1 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 4】

前記不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含む、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

10

【請求項 5】

請求項 2 または請求項 3 に記載のマイクロキャリアであって、前記不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含み、ここで、前記方向インジケータは前記磁性の不透明な層の外形の可視的な非対称を含む、マイクロキャリア。

【請求項 6】

前記磁性の不透明な層はニッケルを含む、請求項 2～5 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 7】

前記磁性の不透明な層は厚さが 50 nm と 10 μ m との間である、請求項 2～6 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

20

【請求項 8】

前記磁性の透明な層は厚さが 0.1 μ m である、請求項 7 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 9】

前記不透明なポリマー層の前記二次元形状が複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の 1 つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される 1 つまたはそれより多い性質によって表される、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 10】

30

(g) 前記第一の透明なポリマー層の前記第一の表面から突出している 1 つもしくはそれより多い柱であって、該 1 つもしくはそれより多い柱は該第一の透明なポリマー層の前記中心部分内にない、柱；および／または

(h) 該第一の透明なポリマー層の前記第二の表面もしくは該第一の透明なポリマー層に貼り付けられていない前記第二の透明なポリマー層の表面から突出している 1 つもしくはそれより多い柱であって、該 1 つもしくはそれより多い柱は該第一もしくは該第二の透明なポリマー層の該中心部分内にない、柱をさらに含む、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 11】

前記マイクロキャリアは円板である、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

40

【請求項 12】

前記第一の透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の透明なポリマー層の 5 % と 90 % との間の表面領域を占める、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 13】

前記第一の透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の透明なポリマー層の 25 % の表面領域を占める、請求項 12 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 14】

前記マイクロキャリアは直径が 200 μ m 未満である、請求項 1～13 のいずれか 1 項

50

に記載のマイクロキャリア。

【請求項 15】

前記マイクロキャリアは直径が 50 μm である、請求項 14 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 16】

前記マイクロキャリアは厚さが 50 μm 未満である、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 17】

前記マイクロキャリアは厚さが 10 μm である、請求項 16 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 18】

前記分析物は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 19】

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 20】

前記第一の透明なポリマー層または前記第二の透明なポリマー層の透明なポリマーはエポキシを基にしたポリマーを含む、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

【請求項 21】

前記エポキシを基にしたポリマーは SU-8 である、請求項 20 に記載のマイクロキャリア。

【請求項 22】

コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：

(a) 透明なポリマー層を基材上に堆積させる工程であって、該透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行である、工程；

(b) 該透明なポリマー層の該第一の表面上に磁性の不透明な層を堆積させる工程；

(c) 該磁性の不透明な層をエッチングして、該透明なポリマー層の中心部分上に堆積されている該磁性の不透明な層の一部を除去する工程；

(d) 該磁性の不透明な層上に第二の透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第二の透明なポリマー層は第一の表面および該第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該磁性の不透明な層に貼り付けられており、該第二の透明なポリマー層は、前記第一の透明なポリマー層に貼り付けられており、該透明なポリマー層の該中心部分に貼り付けられている中心部分を有する、工程；ならびに

(e) 該第二の透明なポリマー層の該第一の表面上に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該不透明なポリマー層は該第一の透明なポリマー層および該第二の透明なポリマー層の該中心部分を囲み、該不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、工程

を含む、方法。

【請求項 23】

前記磁性の不透明な層がウェットエッチングによってエッチングされている、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記磁性の不透明な層がニッケルを含む、請求項 2 2 または請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記磁性の不透明な層は厚さが 5 0 n m と 1 0 μ m との間である、請求項 2 2 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記磁性の不透明な層は厚さが 0 . 1 μ m 未満である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記磁性の不透明な層は前記不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための非対称を含む、請求項 2 2 ～ 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 2 8】

前記不透明なポリマー層の前記二次元形状がリソグラフィーによって生成される、請求項 2 2 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記不透明なポリマー層の前記二次元形状は、複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の 1 つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される 1 つまたはそれより多い性質によって表される、請求項 2 2 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 0】

20

(f) 工程 (a) の前に、前記基材上に犠牲層を堆積させる工程；

(g) リソグラフィーを使用して、該犠牲層に 1 つまたはそれより多い柱形状の穴を作製する工程；

(h) 該犠牲層の該 1 つまたはそれより多い柱形状の穴に第三の透明なポリマー層を堆積させる工程であって、前記第一の透明なポリマー層は、工程 (a) において、該第三の透明なポリマー層および該犠牲層の上部に堆積される、工程；

(i) 工程 (e) の後に、リソグラフィーを使用して、前記透明なポリマーを含む 1 つまたはそれより多い柱を、前記第二の透明なポリマー層の前記第一の表面上の前記不透明なポリマー層によって覆われていない部分に堆積させる工程；

(j) 溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；ならびに

30

(k) 該基材を除去する工程

をさらに含む、請求項 2 2 ～ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 1】

(f) 工程 (a) の前に、前記基材上に犠牲層を堆積させる工程；

(g) 工程 (a) の一環として、該犠牲層上に前記透明なポリマー層を堆積させる工程；

(h) 工程 (e) の後に、溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；および

(i) 該基材を除去する工程

をさらに含む、請求項 2 2 ～ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 2】

40

前記コード化されたマイクロキャリアは円板である、請求項 2 2 ～ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記第一の透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の透明なポリマー層の 5 % と 9 0 % との間の表面領域を占める、請求項 2 2 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記第一の透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の透明なポリマー層の 2 5 % の表面領域を占める、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記コード化されたマイクロキャリアは直径が 2 0 0 μ m 未満である、請求項 2 2 ～ 3

50

4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項36】

前記コード化されたマイクロキャリアは直径が50 μm である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが50 μm 未満である、請求項22～36のいずれか1項に記載の方法。

【請求項38】

前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが10 μm である、請求項37に記載の方法。

【請求項39】

(f) 分析物を捕捉するための捕捉剤を、前記第二の透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第一の透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つと、少なくとも前記中心部分において連結する工程をさらに含む、請求項22～38のいずれか1項に記載の方法。

【請求項40】

前記第一の透明なポリマー層または前記第二の透明なポリマー層の前記透明なポリマーがエポキシドを含み、前記捕捉剤を連結する工程は：

(i) 該第一の透明なポリマー層および／または該第二の透明なポリマー層の該透明なポリマーを光酸ジェネレータおよび光と反応させ、架橋されたポリマーを生成する工程であって、該光は該光酸ジェネレータを活性化する波長の光である、工程；

(ii) 該架橋されたポリマーの該エポキシドをアミンおよびカルボキシルを含む化合物と反応させる工程であって、該化合物の該アミンは該エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する、工程；ならびに

(iii) 該化合物が連結された、架橋されたポリマーの該カルボキシルを、該捕捉剤と反応させ、該捕捉剤を、該第二の透明なポリマー層の前記第一の表面および該第一の透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つに、少なくとも前記中心部分において連結する工程

を含む、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

前記化合物が連結された、架橋されたポリマーの前記カルボキシルが、前記捕捉剤の第一級アミンと反応する、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記第一の透明なポリマー層および／または前記第二の透明なポリマー層の前記透明なポリマーはSU-8を含む、請求項40または41に記載の方法。

【請求項43】

前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、請求項39～42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項44】

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、請求項39～43のいずれか1項に記載の方法。

【請求項45】

溶液中の2つまたはそれより多い分析物を検出するための方法であって：

(a) 第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させる工程であって、該複数のマイクロキャリアは：

(i) 該第一の分析物を特異的に捕捉する請求項1～21のいずれか1項に記載の第

10

20

30

40

50

一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに

(i i) 該第二の分析物を特異的に捕捉する請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；

を少なくとも含む、工程；

(b) 該第一のアナログコードおよび該第二のアナログコードを、アナログ形状認識を使用して解読し、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを識別する工程；ならびに

(c) 該第一のマイクロキャリアに結合した該第一の分析物の量および該第二のマイクロキャリアに結合した該第二の分析物の量を検出する工程を含む、方法。

【請求項 46】

工程 (b) が工程 (c) の前に起こるか、工程 (c) が工程 (b) の前に起こるか、または工程 (b) が工程 (c) と同時に起こる、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

前記第一のアナログコードおよび前記第二のアナログコードを解読する工程が：

(i) 前記第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを、該第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの透明な部分ならびに／または周囲の溶液に光を通過させることによって照射する工程であって、該光は、該第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの不透明な部分を通過して該第一のマイクロキャリアに対応する第一のアナログコード化光パターンおよび該第二のマイクロキャリアに対応する第二のアナログコード化光パターンを生成することができない、工程；

(i i) 該第一のアナログコード化光パターンをイメージングし、第一のアナログコード化画像を生成する工程および該第二のアナログコード化光パターンをイメージングし、第二のアナログコード化画像を生成する工程；ならびに

(i i i) アナログ形状認識を使用して、該第一のアナログコード化画像を該第一のアナログコードと一致させ、該第二のアナログコード化画像を該第二のアナログコードと一致させる工程

を含む、請求項 45 または 46 に記載の方法。

【請求項 48】

前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出する工程は：

(i) 工程 (a) の後に、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを検出剤とともにインキュベートする工程であって、該検出剤は、該第一のマイクロキャリアによって捕捉された該第一の分析物および該第二のマイクロキャリアによって捕捉された該第二の分析物に結合する、工程；ならびに

(i i) 該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量を測定する工程

を含む、請求項 45～47 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

(a) 前記検出剤は蛍光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は蛍光顕微鏡によって測定されるか、または (b) 前記検出剤は発光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は発光顕微鏡によって測定される、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

前記溶液は生物学的サンプルを含む、請求項 45～49 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 51】

10

20

30

40

50

前記生物学的サンプルは、血液、尿、痰、胆汁、脳脊髄液、皮膚または脂肪組織の間質液、唾液、涙、気管支肺胞洗浄、口腔咽頭分泌物、腸液、経膈部または子宮分泌物および精液からなる群から選択される、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

複数のマイクロキャリアを含む、マルチプレックスアッセイを実施するためのキットであって、該複数のマイクロキャリアは：

(a) 第一の分析物を特異的に捕捉する請求項 1 ～ 21 のいずれか 1 項に記載の第一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに

(b) 第二の分析物を特異的に捕捉する請求項 1 ～ 21 のいずれか 1 項に記載の第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；

を少なくとも含む、キット。

【請求項 53】

前記キットは、該キットを使用して前記第一の分析物および前記第二の分析物を検出するための説明書をさらに含む、請求項 52 に記載のキット。

【請求項 54】

前記キットは、前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出するための検出剤をさらに含む、請求項 52 または 53 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願に対する相互参照

本願は、2015 年 6 月 11 日に提出された米国仮出願第 62/174,401 号の優先権の利益を主張し、その全体は本明細書に参考として援用される。

【0002】

分野

マルチプレックスアッセイにおける分析物検出のためのコード化されたマイクロキャリア、ならびに同一のマイクロキャリアを作製および使用方法およびそれに関するキットが、本明細書において提供される。マイクロキャリアは、識別のためのアナログコードでコード化されており、そして分析物を捕捉するための捕捉剤を含有する。

【背景技術】

【0003】

免疫学および分子診断アッセイは、研究および臨床分野の両方において決定的な役割を果たす。しばしば、研究もしくは臨床の意思決定を促進するための有意義な結果、または結果の鳥瞰図を得るための複数の標的のパネルに関するアッセイを実施することが必要である。ゲノミクスおよびプロテオミクスの時代において、これは特に本当であり、ここでは、豊富な遺伝子マーカーおよび／またはバイオマーカーは、特定の疾患状態に影響を及ぼすか、またはその前兆となると考えられている。理論的には、複数標的のアッセイは、それぞれの標的を異なる反応容器において並行して別々に、または連続して試験することによって達成され得る（すなわち、複数のシングルプレックス (singleplexing)）。しかしながら、シングルプレックスストラテジーを取り入れるアッセイはしばしば扱いにくいだけでなく、特に分析されるべき標的の数が多いとき、それらは一般的に大きなサンプル体積もまた必要とする。

【0004】

マルチプレックスアッセイは、複数の分析物（2 つまたはそれより多い）を単一のアッセイで同時に測定する。マルチプレックスアッセイは、一般的にハイスループットスクリーニング環境において使用され、そこでは、多くの検体が一度に分析され得る。マルチプ

10

20

30

40

50

レックスアッセイの特質およびそのようなアッセイが薬物発見から臨床的診断に対する機能的なゲノミクスまでの範囲の分野において強力な手段になった理由は、多くの分析物を同時に分析し、多くの検体を並行して分析する能力である。シングルプレックスと対照的に、同一の反応容器内で全ての標的を組み合わせることによって、1サンプル当たり1つの反応容器を扱うだけであることにより、アッセイはより一層扱いにくさが少なくなり、より一層実施しやすくなる。したがって、必要とされる試験サンプルは、体積が劇的に減少され得、サンプル（例えば、腫瘍組織、脳脊髄液、または骨髄）を大量に回収することが困難および／または侵襲性である場合、それは特に重要である。同様に重要なことは、試薬費用は減少され得、アッセイスループットが劇的に増加されるという事実である。

【0005】

10

複雑な巨大分子サンプルの多くのアッセイは、2つの工程から構成される。第一の工程において、標的的巨大分子を特異的に捕捉できる試薬が、固相表面に付着される。これらの固定された分子は、（例えば、DNA、RNAを基にしたアッセイにおける）ハイブリダイゼーションまたは（イムノアッセイにおける）抗原抗体相互作用などの種々の方法によって、複雑なサンプルからの標的的巨大分子を捕捉するために使用され得る。第二の工程において、検出分子は、捕捉分子および標的の複合体と共にインキュベートされ、そして結合し、蛍光または他の電磁的シグナルなどのシグナルを放射する。標的の量は、次いでそれらのシグナルの強度によって定量される。

【0006】

20

マルチプレックスアッセイは、それぞれ異なる標的的巨大分子に特異的な複数の捕捉剤を利用することによって実行され得る。チップベースアレイ（chip-based array）マルチプレックスアッセイにおいて、それぞれのタイプの捕捉剤は、チップ上の所定の位置に付着される。複雑なサンプル中の多重標的の量は、捕捉剤のタイプと対応するそれぞれの位置における検出分子のシグナルを測定することによって決定される。サスペンションアレイマルチプレックスアッセイにおいて、マイクロ粒子またはマイクロキャリアはアッセイ溶液に懸濁される。これらのマイクロ粒子またはマイクロキャリアは、埋め込まれ、プリントされ、またはそうでなければマイクロ粒子／マイクロキャリアの1つまたはそれより多い要素によって生成され得る識別要素を含有する。それぞれのタイプの捕捉剤は、同一のIDを伴う粒子に固定され、特定のIDを伴う粒子の表面上の検出分子から放射されるシグナルは対応する標的の量を反映する。

30

【0007】

サスペンションアレイマルチプレックスアッセイに関して存在するシステムは、分解能が限定される。いくつかのマルチプレックスシステムは、標準的な半導体製造技術を使用して平坦なマイクロビーズ上に印刷されたデジタルバーコードを使用する。しかしながら、特定の数のディジットによって生成され得る識別子の数は、限定される。固有の識別子の数を増加させることは、バーコードのディジット数の増加を必要とし、したがってすでにとても小さいマイクロビーズ上に印刷するためにより大きな空間を必要とする。別のタイプのマルチプレックスシステムは、固有の蛍光色素でコード化された蛍光ビーズなどの色コーディングを使用する。しかしながら、そのような蛍光システムに利用可能な固有の識別子の数は、励起／放射スペクトルの重複により限定され、識別エラーが、例えば、蛍光色素におけるバッチ間変動から起こり得る。

40

【0008】

それゆえ、アナログコード化マルチプレックスシステム、例えば、デジタルバーコードの大きさまたはフルオロフォア分解能などの制限によって抑制されないものについての必要性が存在する。そのようなシステムは、ほとんど無制限の固有の識別子を可能にし、アナログコードの使用による（例えば、重複スペクトルまたはバッチ間蛍光変動からの）認識エラーを最小にする。

【0009】

本明細書に挙げられた全ての刊行物、特許、および特許出願は、全ての目的のためにその全体が参考として本明細書に援用される。

50

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

概要

この必要性を満たすために、特に、アナログコードでコード化された、分析物を捕捉するための捕捉剤を含有するマイクロキャリアが、本明細書において提供される。これらのマイクロキャリアは、例えば、それぞれのマイクロキャリアが特異的な分析物を捕捉するための捕捉剤および識別のためのアナログコードを含有するマルチプレックスアッセイにおいて使用され得る。そのようなマイクロキャリアの作製および使用方法ならびにそれに関するキットが、さらに提供される。

10

【0011】

したがって、一つの局面において、コード化されたマイクロキャリアであって：（a）第一の表面および第二の表面を有する実質的に透明なポリマー層であって、該第一および該第二の表面は互いに平行である、層；（b）実質的に不透明なポリマー層であって、該実質的に不透明なポリマー層は、該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面に貼り付けられており、該実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲み、該実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに（c）分析物を捕捉するための捕捉剤であって、該捕捉剤は該実質的に透明なポリマー層の少なくとも該中心部分において該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面および該第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含む、マイクロキャリアが本明細書において提供される。

20

【0012】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、（d）前記実質的に不透明なポリマー層と前記実質的に透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の実質的に不透明な層であって、該磁性の実質的に不透明な層は該実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面または前記第二の表面に貼り付けられている、層をさらに含む。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、（e）第一の実質的に透明なポリマー層と整列している第二の実質的に透明なポリマー層であって、該第二の実質的に透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層の中心部分と整列している中心部分を有し、該第二の実質的に透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層の第二の表面に貼り付けられており、該第一の実質的に透明なポリマー層の二次元形状を超えて広がっていない、層；および（f）前記実質的に不透明なポリマー層と前記実質的に透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該第一の実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の実質的に不透明な層であって、該磁性の実質的に不透明な層は該第一の実質的に透明なポリマー層と該第二の実質的に透明なポリマー層との間に貼り付けられている、層をさらに含む。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含む。いくつかの実施形態において、前記方向インジケータは前記磁性の実質的に不透明な層の非対称を含む。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層はニッケルを含む。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約50 nmと約10 μmとの間である。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約0.1 μmである。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状が複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が約1 μmと約10 μmとの間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が約1 μmと約10 μmとの間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、記複数の歯が、約1 μmと約10 μmとの

30

40

50

間の間隔だけ離れている2つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、(g) 前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面から突出している1つもしくはそれより多い柱であって、該1つもしくはそれより多い柱は該第一の実質的に透明なポリマーの前記中心部分内にない、柱；および／または(h) 該第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面もしくは該第一の実質的に透明なポリマー層に貼り付けられていない前記第二の実質的に透明なポリマー層の表面から突出している1つもしくはそれより多い柱であって、該1つもしくはそれより多い柱は該第一もしくは該第二の実質的に透明なポリマー層の該中心部分内にない、柱をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは実質的に円板である。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約5%と約90%との間の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約25%の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約200 μm 未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約50 μm である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約50 μm 未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約10 μm である。いくつかの実施形態において、前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記第一または前記第二の実質的に透明なポリマー層の実質的に透明なポリマーはエポキシを基にしたポリマーを含む。いくつかの実施形態において、前記エポキシを基にしたポリマーはSU-8である。

【0013】

別の局面において、コード化されたマイクロキャリアであって：(a) 第一の表面および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該実質的に不透明なポリマー層の外形はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに(b) 分析物を捕捉するための捕捉剤であって、該捕捉剤は該実質的に不透明なポリマー層の少なくとも中心部分において該実質的に不透明なポリマー層の該第一の表面および該第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含む、マイクロキャリアが本明細書において提供される。

【0014】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、(c) 前記実質的に不透明なポリマー層の前記第一の表面および／または前記第二の表面から突出している1つまたはそれより多い柱であって、該1つまたはそれより多い柱は磁性材料を含む、柱をさらに含む。

いくつかの実施形態において、前記1つまたはそれより多い柱は約1 μm と約10 μm との間の高さである。いくつかの実施形態において、前記1つまたはそれより多い柱は直径が約1 μm と約10 μm の間である。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、(d) 前記実質的に不透明なポリマー層の前記第二の表面に貼り付けられている磁性材料を含む磁性層であって、該磁性層は該実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分を超えて広がっておらず、前記捕捉剤は該実質的に不透明なポリマー層の少なくとも前記第一の表面に連結されている、磁性層をさらに含む。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、(e) 前記第一の実質的に不透明なポリマー層と整列している第二の実質的に不透明なポリマー層であって、該第二の実質的に不透明なポリマー層は前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面に貼り付けられており、該第一の実質的に透明なポリマー層の前記外形を超えて広がっておらず、前記磁性層は該第一の実質的に透明なポリマー層と前記第二の実質的に透明なポリマー層との間に貼り付けられている、層

をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記磁性材料はニッケルを含む。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含む。いくつかの実施形態において、前記方向インジケータは前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形の非対称を含む。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形は複数の歯を含む二次元ギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される。いくつかの実施形態において、前記複数の歯は、約1 μm と約10 μm との間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯は、約1 μm と約10 μm との間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が、約1 μm と約10 μm との間の間隔だけ離れている2つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは実質的に円板である。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に不透明なポリマー層の約5%と約90%との間の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に不透明なポリマー層の約25%の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約200 μm 未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約60 μm である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約50 μm 未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約10 μm である。いくつかの実施形態において、前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層はエポキシを基にしたポリマーを含む。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層はブラックマトリクス用レジストを含む。

【0015】

別の局面において、コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：(a) 実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該実質的に透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行である、工程；(b) 該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面上に磁性の実質的に不透明な層を堆積させる工程；(c) 該磁性の実質的に不透明な層をエッチングして、該実質的に透明なポリマー層の中心部分上に堆積されている該磁性の実質的に不透明な層の一部を除去する工程；(d) 該磁性の実質的に不透明な層上に第二の実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第二の実質的に透明なポリマー層は第一の表面および該第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該磁性の実質的に不透明な層に貼り付けられており、該第二の実質的に透明なポリマー層は、前記第一の実質的に透明なポリマー層と整列しており、該実質的に透明なポリマー層の該中心部分と整列している中心部分を有する、工程；ならびに(e) 該第二の実質的に透明なポリマー層の該第一の表面上に実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該実質的に不透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層および該第二の実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲み、該実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、工程を含む、方法が本明細書において提供される。

【0016】

いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層がウェットエッチングに

よってエッチングされている。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層がニッケルを含む。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層は、厚さが約50 nmと約10 μmとの間である。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層は、厚さが約0.1 μm未満である。いくつかの実施形態において、前記磁性の実質的に不透明な層は前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための非対称を含む。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状がリソグラフィーによって生成される。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状は、複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される。いくつかの実施形態において、前記複数の歯は、約1 μmと約10 μmとの間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯は、約1 μmと約10 μmとの間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が、約1 μmと約10 μmとの間の間隔だけ離れている2つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、方法は、(f) 工程(a)の前に、基材上に犠牲層を堆積させる工程；(g) リソグラフィーを使用して、該犠牲層に1つまたはそれより多い柱形状の穴を作製する工程；(h) 該犠牲層の該1つまたはそれより多い柱形状の穴に第三の実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、前記第一の実質的に透明なポリマー層は、工程(a)において、該第三の実質的に透明なポリマー層および該犠牲層の上部に堆積されている、工程；(i) 工程(e)の後に、リソグラフィーを使用して、前記実質的に透明なポリマーを含む1つまたはそれより多い柱を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面上の前記実質的に不透明なポリマー層によって覆われていない部分に堆積させる工程；(j) 溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；ならびに(k) 該基材を除去する工程をさらに含む。いくつかの実施形態において、方法は、(f) 工程(a)の前に、基材上に犠牲層を堆積させる工程；(g) 工程(a)の一環として、該犠牲層上に前記実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程；(h) 工程(e)の後に、溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；および(i) 該基材を除去する工程をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記コード化されたマイクロキャリアは実質的に円板である。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約5%と約90%との間の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約25%の表面領域を占める。いくつかの実施形態において、前記コード化されたマイクロキャリアは直径が約200 μm未満である。いくつかの実施形態において、前記コード化されたマイクロキャリアは直径が約50 μmである。いくつかの実施形態において、前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが約50 μm未満である。いくつかの実施形態において、前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが約10 μmである。いくつかの実施形態において、方法は、(f) 分析物を捕捉するための捕捉剤を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つと、少なくとも前記中心部分において連結する工程をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層または前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記実質的に透明なポリマーがエポキシドを含み、前記捕捉剤を連結する工程は：(i) 該第一の実質的に透明なポリマー層および/または該第二の実質的に透明なポリマー層の該実質的に透明なポリマーを光酸ジェネレータおよび光と反応させ、架橋されたポリマーを生成する工程であって、該光は該光酸ジェネレータを活性化する波長の光である、工程；(i i) 該架橋されたポリマーの該エポキシドをアミンおよびカルボキシルを含む化合物と反応させる工程であって、該化合物の該アミンは該エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する、工程；ならびに(i i i) 該化合物が連結された、架橋されたポリマーの該カルボキシ

10

20

30

40

50

ルを、該捕捉剤と反応させ、該捕捉剤を、該第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および該第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つに、少なくとも前記中心部分において連結する工程を含む。いくつかの実施形態において、前記化合物が連結された、架橋されたポリマーの前記カルボキシルが、前記捕捉剤の第一級アミンと反応する。いくつかの実施形態において、前記第一の実質的に透明なポリマー層および／または前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記実質的に透明なポリマーはSU-8を含む。いくつかの実施形態において、前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。

10

【0017】

別の局面において、上記の実施形態のいずれかの方法によって生成されたコード化されたマイクロキャリアが本明細書中に提供される。

【0018】

別の局面において、コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：(a) 基材上に犠牲層を堆積させる工程；(b) 該犠牲層上に、外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該犠牲層に貼り付けられる、工程；(c) リソグラフィーによって、該実質的に不透明なポリマー層の該外形を形成する工程であって、該外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；(d) 溶媒中で犠牲ポリマー層を溶解する工程；ならびに(e) 該基材を除去する工程を含む、方法が本明細書中に提供される。別の局面において、コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：(a) 基材上に犠牲層を堆積させる工程；(b) 該犠牲層上に磁性材料を含む磁性層を堆積させる工程；(c) 該磁性層上に、外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該磁性層に貼り付けられる、工程；(d) リソグラフィーによって、該実質的に不透明なポリマー層の該外形を形成する工程であって、該外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；(e) 溶媒中で犠牲ポリマー層を溶解する工程；ならびに(f) 該基材を除去する工程を含む、方法が本明細書中に提供される。

20

30

【0019】

いくつかの実施形態において、方法は、(g) 工程(b)の後かつ工程(c)の前に、リソグラフィーによって前記磁性層を形成する工程をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記磁性材料はニッケルを含む。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータを含む。いくつかの実施形態において、前記方向インジケータは前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形の非対称を含む。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状は、複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が、約1 μm と約10 μm との間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が、約1 μm と約10 μm との間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前記複数の歯が、約1 μm と約10 μm との間の間隔だけ離れている2つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、前

40

50

記マイクロキャリアは実質的に円板である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約200 μ m未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは直径が約60 μ mである。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約30 μ m未満である。いくつかの実施形態において、前記マイクロキャリアは厚さが約10 μ mである。いくつかの実施形態において、方法は、(h)分析物を捕捉するための捕捉剤を、前記実質的に不透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第二の表面のうちの少なくとも1つに連結する工程をさらに含む。いくつかの実施形態において、前記実質的に不透明なポリマー層の前記実質的に不透明なポリマーはエポキシドを含み、前記捕捉剤を連結する工程は：(i)該実質的に不透明なポリマー層の該実質的に不透明なポリマーを光酸ジェネレータおよび光と反応させ、架橋されたポリマーを生成する工程であって、該光は該光酸ジェネレータを活性化する波長の光である、工程；ならびに

(ii)該架橋されたポリマーの該エポキシドを、アミンおよびカルボキシルを含む化合物と反応させる工程であって、該化合物の該アミンは該エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する、工程；ならびに(iii)該化合物が連結された、架橋されたポリマーの該カルボキシルを該捕捉剤と反応させ、該捕捉剤を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つに、少なくとも前記中心部分において連結する工程を含む。いくつかの実施形態において、前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される。

【0020】

別の局面において、上記実施形態のいずれかの方法によって生成された、コード化されたマイクロキャリアが本明細書中に提供される。

【0021】

別の局面において、溶液中の2つまたはそれより多い分析物を検出するための方法であって：(a)第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させる工程であって、該複数のマイクロキャリアは：(i)該第一の分析物を特異的に捕捉する上記実施形態のいずれか1つの第一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに(ii)該第二の分析物を特異的に捕捉する上記実施形態のいずれか1つの第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；を少なくとも含む、工程；(b)該第一のアナログコードおよび該第二のアナログコードを、アナログ形状認識を使用して解読し、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを識別する工程；ならびに(c)該第一のマイクロキャリアに結合した該第一の分析物の量および該第二のマイクロキャリアに結合した該第二の分析物の量を検出する工程を含む、方法が本明細書中に提供される。

【0022】

いくつかの実施形態において、工程(b)が工程(c)の前に起こる。いくつかの実施形態において、工程(c)が工程(b)の前に起こる。いくつかの実施形態において、工程(b)が工程(c)と同時に起こる。いくつかの実施形態において、前記第一のアナログコードおよび前記第二のアナログコードを解読する工程が：(i)前記第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを、該第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの実質的に透明な部分ならびに／または周囲の溶液に光を通過させることによって照射する工程であって、該光は、該第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロ

キャリアの実質的に不透明な部分を通過し、該第一のマイクロキャリアに対応する第一のアナログコード化光パターンおよび該第二のマイクロキャリアに対応する第二のアナログコード化光パターンを生成できない、工程；（i i）該第一のアナログコード化光パターンをイメージングし、第一のアナログコード化画像を生成する工程および該第二のアナログコード化光パターンをイメージングし、第二のアナログコード化画像を生成する工程；ならびに（i i i）アナログ形状認識を使用して、該第一のアナログコード化画像を該第一のアナログコードと一致させ、該第二のアナログコード化画像を該第二のアナログコードと一致させる工程を含む。いくつかの実施形態において、前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出する工程は：（i）工程（a）の後に、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを検出剤とともにインキュベートする工程であって、該検出剤は、該第一のマイクロキャリアによって捕捉された該第一の分析物および該第二のマイクロキャリアによって捕捉された該第二の分析物に結合する、工程；ならびに（i i）該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量を測定する工程を含む。いくつかの実施形態において、前記検出剤は蛍光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は蛍光顕微鏡によって測定される。いくつかの実施形態において、前記検出剤は発光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は発光顕微鏡によって測定される。いくつかの実施形態において、前記溶液は生物学的サンプルを含む。いくつかの実施形態において、前記生物学的サンプルは、血液、尿、痰、胆汁、脳脊髄液、皮膚または脂肪組織の間質液、唾液、涙、気管支肺胞洗浄、口腔咽頭分泌物、腸液、経膣部または子宮分泌物および精液からなる群から選択される。

【0023】

別の局面において、複数のマイクロキャリアを含むキットまたは製造品であって、該複数のマイクロキャリアは：（a）第一の分析物を特異的に捕捉する上記実施形態のいずれか1つの第一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに（b）第二の分析物を特異的に捕捉する上記実施形態のいずれかの第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；を少なくとも含む、キットが本明細書中に提供される。

【0024】

いくつかの実施形態において、キットまたは製造品は、前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出するための検出剤をさらに含む。いくつかの実施形態において、キットまたは製造品は、前記キットを使用して、前記第一の分析物および前記第二の分析物を検出するための説明書をさらに含む。

【0025】

本明細書において記載された種々の実施形態の1つ、いくつか、または全ての特性は、本発明の他の実施形態を形成するために組み合わせられ得ることは理解されるべきである。本発明のこれらの局面および他の局面は、当業者に対して明らかになる。本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

（項目1）

コード化されたマイクロキャリアであって：

（a）第一の表面および第二の表面を有する実質的に透明なポリマー層であって、該第一および該第二の表面は互いに平行である、層；

（b）実質的に不透明なポリマー層であって、該実質的に不透明なポリマー層は、該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面に貼り付けられており、該実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲み、該実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに

(c) 分析物を捕捉するための捕捉剤であって、該捕捉剤は該実質的に透明なポリマー層の少なくとも該中心部分において該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面および該第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含む、マイクロキャリア。

(項目2)

(d) 前記実質的に不透明なポリマー層と前記実質的に透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の実質的に不透明な層であって、該磁性の実質的に不透明な層は該実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面または前記第二の表面に貼り付けられている、層をさらに含む、項目1に記載のマイクロキャリア。

10

(項目3)

(e) 第一の実質的に透明なポリマー層と整列している第二の実質的に透明なポリマー層であって、該第二の実質的に透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層の中心部分と整列している中心部分を有し、該第二の実質的に透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層の第二の表面に貼り付けられており、該第一の実質的に透明なポリマー層の二次元形状を超えて広がっていない、層；および

(f) 前記実質的に不透明なポリマー層と前記実質的に透明なポリマー層の前記中心部分との間の、該第一の実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲む、磁性の実質的に不透明な層であって、該磁性の実質的に不透明な層は該第一の実質的に透明なポリマー層と該第二の実質的に透明なポリマー層との間に貼り付けられている、層をさらに含む、項目1に記載のマイクロキャリア。

20

(項目4)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含む、項目1～3のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目5)

前記方向インジケータは前記磁性の実質的に不透明な層の非対称を含む、項目4に記載のマイクロキャリア。

(項目6)

前記磁性の実質的に不透明な層はニッケルを含む、項目2～5のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

30

(項目7)

前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約50nmと約10μmとの間である、項目2～6のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目8)

前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約0.1μmである、項目7に記載のマイクロキャリア。

(項目9)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状が複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される、項目1～8のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

40

(項目10)

前記複数の歯が約1μmと約10μmとの間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む、項目9に記載のマイクロキャリア。

(項目11)

前記複数の歯が約1μmと約10μmとの間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む、項目9または項目10に記載のマイクロキャリア。

(項目12)

前記複数の歯が約1μmと約10μmとの間の間隔だけ離れている2つまたはそれより

50

多い歯を含む、項目 9 ～ 11 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 13)

(g) 前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面から突出している 1 つもしくははそれより多い柱であって、該 1 つもしくははそれより多い柱は該第一の実質的に透明なポリマーの前記中心部分内にない、柱；および／または

(h) 該第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面もしくはは該第一の実質的に透明なポリマー層に貼り付けられていない前記第二の実質的に透明なポリマー層の表面から突出している 1 つもしくははそれより多い柱であって、該 1 つもしくははそれより多い柱は該第一もしくはは該第二の実質的に透明なポリマー層の該中心部分内にない、柱をさらに含む、項目 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

10

(項目 14)

前記マイクロキャリアは実質的に円板である、項目 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 15)

前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約 5 % と約 90 % との間の表面領域を占める、項目 1 ～ 14 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 16)

前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約 25 % の表面領域を占める、項目 15 に記載のマイクロキャリア。

20

(項目 17)

前記マイクロキャリアは直径が約 200 μm 未満である、項目 1 ～ 15 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 18)

前記マイクロキャリアは直径が約 50 μm である、項目 17 に記載のマイクロキャリア。

(項目 19)

前記マイクロキャリアは厚さが約 50 μm 未満である、項目 1 ～ 18 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 20)

前記マイクロキャリアは厚さが約 10 μm である、項目 19 に記載のマイクロキャリア。

30

(項目 21)

前記分析物は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目 1 ～ 20 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 22)

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目 1 ～ 21 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

40

(項目 23)

前記第一の実質的に透明なポリマー層または前記第二の実質的に透明なポリマー層の実質的に透明なポリマーはエポキシを基にしたポリマーを含む、項目 1 ～ 22 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 24)

前記エポキシを基にしたポリマーは SU-8 である、項目 23 に記載のマイクロキャリア。

(項目 25)

50

コード化されたマイクロキャリアであって：

(a) 第一の表面および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該実質的に不透明なポリマー層の外形はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに

(b) 分析物を捕捉するための捕捉剤であって、該捕捉剤は該実質的に不透明なポリマー層の少なくとも中心部分において該実質的に不透明なポリマー層の該第一の表面および該第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含む、マイクロキャリア。

(項目26)

(c) 前記実質的に不透明なポリマー層の前記第一の表面および／または前記第二の表面から突出している1つまたはそれより多い柱であって、該1つまたはそれより多い柱は磁性材料を含む、柱をさらに含む、項目25に記載のマイクロキャリア。

(項目27)

前記1つまたはそれより多い柱は約1 μm と約10 μm との間の高さである、項目26に記載のマイクロキャリア。

(項目28)

前記1つまたはそれより多い柱は直径が約1 μm と約10 μm との間である、項目26または項目27に記載のマイクロキャリア。

(項目29)

(d) 前記実質的に不透明なポリマー層の前記第二の表面に貼り付けられている磁性材料を含む磁性層であって、該磁性層は該実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分を超えて広がっておらず、前記捕捉剤は該実質的に不透明なポリマー層の少なくとも前記第一の表面に連結されている、磁性層をさらに含む、項目25～28のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目30)

(e) 前記第一の実質的に不透明なポリマー層と整列している第二の実質的に不透明なポリマー層であって、該第二の実質的に不透明なポリマー層は前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面に貼り付けられており、該第一の実質的に透明なポリマー層の前記外形を超えて広がっておらず、前記磁性層は該第一の実質的に透明なポリマー層と前記第二の実質的に透明なポリマー層との間に貼り付けられている、層をさらに含む、項目29に記載のマイクロキャリア。

(項目31)

前記磁性材料はニッケルを含む、項目26～30のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目32)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含む、項目25～30のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目33)

前記方向インジケータは前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形の非対称を含む、項目32に記載のマイクロキャリア。

(項目34)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形は複数の歯を含む二次元ギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される、項目25～33のいずれか1項に記載のマイクロキャリア。

(項目35)

前記複数の歯は、約1 μm と約10 μm との間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む、項目34に記載のマイクロキャリア。

(項目 3 6)

前記複数の歯が約 1 μm と約 10 μm との間の高さである 1 つまたはそれより多い歯を含む、項目 3 4 または項目 3 5 に記載のマイクロキャリア。

(項目 3 7)

前記複数の歯が約 1 μm と約 10 μm との間の間隔だけ離れている 2 つまたはそれより多い歯を含む、項目 3 4 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 3 8)

前記マイクロキャリアは実質的に円板である、項目 2 5 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 3 9)

前記第一の実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に不透明なポリマー層の約 5 % と約 90 % との間の表面領域を占める、項目 2 5 ～ 3 8 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 0)

前記第一の実質的に不透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に不透明なポリマー層の約 25 % の表面領域を占める、項目 3 9 に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 1)

前記マイクロキャリアは直径が約 200 μm 未満である、項目 2 5 ～ 4 0 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 2)

前記マイクロキャリアは直径が約 60 μm である、項目 4 1 に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 3)

前記マイクロキャリアは厚さが約 50 μm 未満である、項目 2 5 ～ 4 2 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 4)

前記マイクロキャリアは厚さが約 10 μm である、項目 4 3 に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 5)

前記分析物は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目 2 5 ～ 4 4 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 6)

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA 分子、DNA アナログ分子、RNA 分子、RNA アナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目 2 5 ～ 4 5 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 7)

前記実質的に不透明なポリマー層はエポキシを基にしたポリマーを含む、項目 2 5 ～ 4 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 8)

前記実質的に不透明なポリマー層はブラックマトリクス用レジストを含む、項目 2 5 ～ 4 6 のいずれか 1 項に記載のマイクロキャリア。

(項目 4 9)

コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：

(a) 実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該実質的に透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行である、工程；

10

20

30

40

50

(b) 該実質的に透明なポリマー層の該第一の表面上に磁性の実質的に不透明な層を堆積させる工程；

(c) 該磁性の実質的に不透明な層をエッチングして、該実質的に透明なポリマー層の中心部分上に堆積されている該磁性の実質的に不透明な層の一部を除去する工程；

(d) 該磁性の実質的に不透明な層上に第二の実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第二の実質的に透明なポリマー層は第一の表面および該第二の表面を有し、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該磁性の実質的に不透明な層に貼り付けられており、該第二の実質的に透明なポリマー層は、前記第一の実質的に透明なポリマー層と整列しており、該実質的に透明なポリマー層の該中心部分と整列している中心部分を有する、工程；ならびに

10

(e) 該第二の実質的に透明なポリマー層の該第一の表面上に実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該実質的に不透明なポリマー層は該第一の実質的に透明なポリマー層および該第二の実質的に透明なポリマー層の該中心部分を囲み、該実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、工程を含む、方法。

(項目50)

前記磁性の実質的に不透明な層がウェットエッチングによってエッチングされている、項目49に記載の方法。

(項目51)

前記磁性の実質的に不透明な層がニッケルを含む、項目49または項目50に記載の方法。

20

(項目52)

前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約50nmと約10μmとの間である、項目49～51のいずれか1項に記載の方法。

(項目53)

前記磁性の実質的に不透明な層は厚さが約0.1μm未満である、項目52に記載の方法。

(項目54)

前記磁性の実質的に不透明な層は前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための非対称を含む、項目49～53のいずれか1項に記載の方法。

30

(項目55)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状がリソグラフィーによって生成される、項目49～54のいずれか1項に記載の方法。

(項目56)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状は、複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される、項目49～55のいずれか1項に記載の方法。

(項目57)

前記複数の歯は、約1μmと約10μmとの間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む、項目56に記載の方法。

40

(項目58)

前記複数の歯は、約1μmと約10μmとの間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む、項目56または項目57に記載の方法。

(項目59)

前記複数の歯が約1μmと約10μmとの間の間隔だけ離れている2つまたはそれより多い歯を含む、項目56～58のいずれか1項に記載の方法。

(項目60)

(f) 工程(a)の前に、基材上に犠牲層を堆積させる工程；

50

(g) リソグラフィーを使用して、該犠牲層に1つまたはそれより多い柱形状の穴を製作する工程；

(h) 該犠牲層の該1つまたはそれより多い柱形状の穴に第三の実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、前記第一の実質的に透明なポリマー層は、工程(a)において、該第三の実質的に透明なポリマー層および該犠牲層の上部に堆積される、工程；

(i) 工程(e)の後に、リソグラフィーを使用して、前記実質的に透明なポリマーを含む1つまたはそれより多い柱を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面上の前記実質的に不透明なポリマー層によって覆われていない部分に堆積させる工程；

(j) 溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；ならびに

(k) 該基材を除去する工程

をさらに含む、項目49～59のいずれか1項に記載の方法。

(項目61)

(f) 工程(a)の前に、基材上に犠牲層を堆積させる工程；

(g) 工程(a)の一環として、該犠牲層上に前記実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程；

(h) 工程(e)の後に、溶媒中で該犠牲層を溶解する工程；および

(i) 該基材を除去する工程

をさらに含む、項目49～59のいずれか1項に記載の方法。

(項目62)

前記コード化されたマイクロキャリアは実質的に円板である、項目49～61のいずれか1項に記載の方法。

(項目63)

前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約5%と約90%との間の表面領域を占める、項目49～62のいずれか1項に記載の方法。

(項目64)

前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記中心部分は該第一の実質的に透明なポリマー層の約25%の表面領域を占める、項目63に記載の方法。

(項目65)

前記コード化されたマイクロキャリアは直径が約200 μm未満である、項目49～64のいずれか1項に記載の方法。

(項目66)

前記コード化されたマイクロキャリアは直径が約50 μmである、項目65に記載の方法。

(項目67)

前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが約50 μm未満である、項目49～66のいずれか1項に記載の方法。

(項目68)

前記コード化されたマイクロキャリアは厚さが約10 μmである、項目67に記載の方法。

(項目69)

(f) 分析物を捕捉するための捕捉剤を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つと、少なくとも前記中心部分において連結する工程
をさらに含む、項目49～68のいずれか1項に記載の方法。

(項目70)

前記第一の実質的に透明なポリマー層または前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記実質的に透明なポリマーがエポキシドを含み、前記捕捉剤を連結する工程は：

(i) 該第一の実質的に透明なポリマー層および／または該第二の実質的に透明なポリマー層の該実質的に透明なポリマーを光酸ジェネレータおよび光と反応させ、架橋された

10

20

30

40

50

ポリマーを生成する工程であって、該光は該光酸ジェネレータを活性化する波長の光である、工程；

(i i) 該架橋されたポリマーの該エポキシドをアミンおよびカルボキシルを含む化合物と反応させる工程であって、該化合物の該アミンは該エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する、工程；ならびに

(i i i) 該化合物が連結された、架橋されたポリマーの該カルボキシルを、該捕捉剤と反応させ、該捕捉剤を、該第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および該第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つに、少なくとも前記中心部分において連結する工程を含む、項目69に記載の方法。

10

(項目71)

前記化合物が連結された、架橋されたポリマーの前記カルボキシルが、前記捕捉剤の第一級アミンと反応する、項目70に記載の方法。

(項目72)

前記第一の実質的に透明なポリマー層および／または前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記実質的に透明なポリマーはSU-8を含む、項目70または項目71に記載の方法。

(項目73)

前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目49～72のいずれか1項に記載の方法。

20

(項目74)

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目49～73のいずれか1項に記載の方法。

(項目75)

項目49～74のいずれか1項に記載の方法によって生成されたコード化されたマイクロキャリア。

30

(項目76)

コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：

(a) 基材上に犠牲層を堆積させる工程；

(b) 該犠牲層上に、外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該犠牲層に貼り付けられる、工程；

(c) リソグラフィーによって、該実質的に不透明なポリマー層の該外形を形成する工程であって、該外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；

(d) 溶媒中で犠牲ポリマー層を溶解する工程；ならびに

(e) 該基材を除去する工程を含む、方法。

40

(項目77)

コード化されたマイクロキャリアを作製する方法であって：

(a) 基材上に犠牲層を堆積させる工程；

(b) 該犠牲層上に磁性材料を含む磁性層を堆積させる工程；

(c) 該磁性層上に、外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、該第一の表面および該第二の表面は互いに平行であり、該第二の表面は該磁性層に貼り付けられる、工程；

(d) リソグラフィーによって、該実質的に不透明なポリマー層の該外形を形成する工程であって、該外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；

50

(e) 溶媒中で犠牲ポリマー層を溶解する工程；ならびに
(f) 該基材を除去する工程
を含む、方法。

(項目 7 8)

(g) 工程 (b) の後かつ工程 (c) の前に、リソグラフィーによって前記磁性層を形成する工程
をさらに含む、項目 7 7 に記載の方法。

(項目 7 9)

前記磁性材料はニッケルを含む、項目 7 7 または 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記マイクロキャリアは前記実質的に不透明なポリマー層の前記アナログコードを方向付けるための方向インジケーターを含む、項目 7 6 ～ 7 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 1)

前記方向インジケーターは前記実質的に不透明なポリマー層の前記外形の非対称を含む、項目 8 0 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記二次元形状は、複数の歯を含むギア形状を含み、前記アナログコードは、該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の高さ、該複数の歯のうちの 1 つまたはそれより多い歯の幅、該複数の歯における歯の数、および該複数の歯内の 1 つまたはそれより多い歯の配置からなる群から選択される 1 つまたはそれより多い性質によって表される、項目 7 6 ～ 8 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 3)

前記複数の歯が約 1 μm と約 10 μm との間の幅である 1 つまたはそれより多い歯を含む、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記複数の歯が約 1 μm と約 10 μm との間の高さである 1 つまたはそれより多い歯を含む、項目 8 2 または項目 8 3 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記複数の歯が約 1 μm と約 10 μm との間の間隔だけ離れている 2 つまたはそれより多い歯を含む、項目 8 2 ～ 8 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 6)

前記マイクロキャリアは実質的に円板である、項目 7 6 ～ 8 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 7)

前記マイクロキャリアは直径が約 200 μm 未満である、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記マイクロキャリアは直径が約 60 μm である、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記マイクロキャリアは厚さが約 30 μm 未満である、項目 7 6 ～ 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 0)

前記マイクロキャリアは厚さが約 10 μm である、項目 8 9 に記載の方法。

(項目 9 1)

(h) 分析物を捕捉するための捕捉剤を、前記実質的に不透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第二の表面のうちの少なくとも 1 つに連結する工程
をさらに含む、項目 7 6 ～ 9 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 2)

前記実質的に不透明なポリマー層の前記実質的に不透明なポリマーはエポキシドを含み、前記捕捉剤を連結する工程は：

(i) 該実質的に不透明なポリマー層の該実質的に不透明なポリマーを光酸ジェネレー

10

20

30

40

50

タおよび光と反応させ、架橋されたポリマーを生成する工程であって、該光は該光酸ジェネレータを活性化する波長の光である、工程；ならびに

(i i) 該架橋されたポリマーの該エポキシドを、アミンおよびカルボキシルを含む化合物と反応させる工程であって、該化合物の該アミンは該エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する、工程；ならびに

(i i i) 該化合物が連結された、架橋されたポリマーの該カルボキシルを該捕捉剤と反応させ、該捕捉剤を、前記第二の実質的に透明なポリマー層の前記第一の表面および前記第一の実質的に透明なポリマー層の前記第二の表面のうちの少なくとも1つに、少なくとも前記中心部分において連結する工程を含む、項目91に記載の方法。

10

(項目93)

前記分析物は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目91または項目92に記載の方法。

(項目94)

前記分析物を捕捉するための前記捕捉剤は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片からなる群から選択される、項目91～93のいずれか1項に記載の方法。

20

(項目95)

項目76～94のいずれか1項に記載の方法によって生成された、コード化されたマイクロキャリア。

(項目96)

溶液中の2つまたはそれより多い分析物を検出するための方法であって：

(a) 第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させる工程であって、該複数のマイクロキャリアは：

(i) 該第一の分析物を特異的に捕捉する項目1～48、75および95のいずれか1項に記載の第一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに

30

(i i) 該第二の分析物を特異的に捕捉する項目1～48、75および95のいずれか1項に記載の第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；
を少なくとも含む、工程；

(b) 該第一のアナログコードおよび該第二のアナログコードを、アナログ形状認識を使用して解読し、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを識別する工程；ならびに

(c) 該第一のマイクロキャリアに結合した該第一の分析物の量および該第二のマイクロキャリアに結合した該第二の分析物の量を検出する工程を含む、方法。

40

(項目97)

工程(b)が工程(c)の前に起こる、項目96に記載の方法。

(項目98)

工程(c)が工程(b)の前に起こる、項目96に記載の方法。

(項目99)

工程(b)が工程(c)と同時に起こる、項目96に記載の方法。

(項目100)

前記第一のアナログコードおよび前記第二のアナログコードを解読する工程が：

(i) 前記第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを、該第一のマイク

50

ロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの実質的に透明な部分ならびに／または周囲の溶液に光を通過させることによって照射する工程であって、該光は、該第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの実質的に不透明な部分を通過し、該第一のマイクロキャリアに対応する第一のアナログコード化光パターンおよび該第二のマイクロキャリアに対応する第二のアナログコード化光パターンを生成できない、工程；

(i i) 該第一のアナログコード化光パターンをイメージングし、第一のアナログコード化画像を生成する工程および該第二のアナログコード化光パターンをイメージングし、第二のアナログコード化画像を生成する工程；ならびに

(i i i) アナログ形状認識を使用して、該第一のアナログコード化画像を該第一のアナログコードと一致させ、該第二のアナログコード化画像を該第二のアナログコードと一致させる工程

を含む、項目 9 6 ～ 9 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 1)

前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出する工程は：

(i) 工程 (a) の後に、該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアを検出剤とともにインキュベートする工程であって、該検出剤は、該第一のマイクロキャリアによって捕捉された該第一の分析物および該第二のマイクロキャリアによって捕捉された該第二の分析物に結合する、工程；ならびに

(i i) 該第一のマイクロキャリアおよび該第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量を測定する工程

を含む、項目 9 6 ～ 1 0 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 2)

前記検出剤は蛍光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は蛍光顕微鏡によって測定される、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 3)

前記検出剤は発光性検出剤であり、前記第一のマイクロキャリアおよび前記第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は発光顕微鏡によって測定される、項目 1 0 1 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記溶液は生物学的サンプルを含む、項目 9 6 ～ 1 0 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記生物学的サンプルは、血液、尿、痰、胆汁、脳脊髄液、皮膚または脂肪組織の間質液、唾液、涙、気管支肺胞洗浄、口腔咽頭分泌物、腸液、経膈部または子宮分泌物および精液からなる群から選択される、項目 1 0 4 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

複数のマイクロキャリアを含む、マルチプレックスアッセイを実施するためのキットであって、該複数のマイクロキャリアは：

(a) 第一の分析物を特異的に捕捉する項目 1 ～ 4 8、7 5 および 9 5 のいずれか 1 項に記載の第一のマイクロキャリアであって、該第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；ならびに

(b) 第二の分析物を特異的に捕捉する項目 1 ～ 4 8、7 5 および 9 5 のいずれか 1 項に記載の第二のマイクロキャリアであって、該第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、該第二のアナログコードは該第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；

を少なくとも含む、キット。

(項目 1 0 7)

前記第一のマイクロキャリアに結合した前記第一の分析物の量および前記第二のマイクロキャリアに結合した前記第二の分析物の量を検出するための検出剤をさらに含む、項目

10

20

30

40

50

106に記載のキット。

(項目108)

前記キットを使用して、前記第一の分析物および前記第二の分析物を検出するための説明書をさらに含む、項目106または項目107に記載のキット。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1AB】図1Aおよび1Bは、例示的マイクロキャリアの2つの視図を示す。

【0027】

【図1CD】図1Cおよび1Dは、例示的マイクロキャリアを使用する分析物検出のための例示的アッセイを示す。

10

【0028】

【図2】図2Aおよび2Bは、例示的マイクロキャリアの2つの視図を示す。

【0029】

【図3】図3は、固有のアナログコードを生成するための複数の形状変動点を含有する例示的なアナログコード化スキームを示す。

【0030】

【図4A】図4Aは、それぞれが固有のアナログコードを有するマイクロキャリアの3つの例を示す。

【0031】

【図4B】図4Bは、いくつかの実施形態と一致する、固有のアナログコードを伴うマイクロキャリアの例を示す。

20

【0032】

【図5】図5Aおよび5Bは、例示的マイクロキャリアの2つの視図を示す。

【0033】

【図6AB】図6Aおよび6Bは、例示的マイクロキャリアの2つの視図を示す。

【0034】

【図6C】図6Cは、例示的アナログコードの寸法を示す。寸法は μm 単位に基づく。

【0035】

【図7】図7は、例示的マイクロキャリアを示す。

【0036】

30

【図8A】図8Aは、方向インジケータとしての非対称開始位置を含有する例示的マイクロキャリアを示す。

【0037】

【図8B】図8Bは、固有のアナログコードを生成するための複数の形状変動点を含有する例示的なアナログコード化スキームを示す。

【0038】

【図9】図9A～9Cは、例示的マイクロキャリアの2つの視図（図9Aおよび図9B）に加えて必要に応じた特徴の描写（図9C）を示す。

【0039】

【図10】図10は、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

40

【0040】

【図11A】図11Aおよび11Bは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【図11B】図11Aおよび11Bは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【0041】

【図12A】図12A～12Eは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【図12B】図12A～12Eは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【図12C】図12A～12Eは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【0042】

【図13A】図13A～13Cは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【図13B】図13A～13Cは、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

50

【図 1 3 C】図 1 3 A～1 3 C は、例示的マイクロキャリアを生成する方法を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 4 3】

詳細な説明

一局面において、マルチプレックスアッセイにおける分析物検出のためのコード化されたマイクロキャリアが、本明細書において提供される。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、（a）第一の表面および第二の表面を有する実質的に透明なポリマー層であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行である、層；（b）実質的に不透明なポリマー層であって、そこで、実質的に不透明なポリマー層は実質的に透明なポリマー層の第一の表面に貼り付けられており、そして実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲み、そこで、実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに（c）分析物を捕捉するための捕捉剤であって、そこで、捕捉剤は実質的に透明なポリマー層の少なくとも中心部分において実質的に透明なポリマー層の第一の表面および第二の表面のうちの少なくとも 1 つに連結されている、捕捉剤を含有する。他の実施形態において、マイクロキャリアは、（a）第一の表面および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行であり、実質的に不透明なポリマー層の外形はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに（b）分析物を捕捉するための捕捉剤であって、捕捉剤は実質的に不透明なポリマー層の少なくとも中心部分において実質的に不透明なポリマー層の第一の表面および第二の表面のうちの少なくとも 1 つに連結されている、捕捉剤を含有する。

【0 0 4 4】

別の実施形態において、コード化されたマイクロキャリアを作製する方法が、本明細書において提供される。いくつかの実施形態において、方法は、（a）実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、実質的に透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、第一の表面および第二の表面は互いに平行である、工程；（b）実質的に透明なポリマー層の第一の表面上に磁性の実質的に不透明な層を堆積させる工程；（c）磁性の実質的に不透明な層をエッチングして、実質的に透明なポリマー層の中心部分上に堆積されている磁性の実質的に不透明な層の一部を除去する工程；（d）磁性の実質的に不透明な層上に第二の実質的に透明なポリマー層を堆積させる工程であって、そこで、第二の実質的に透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、第一の表面および第二の表面は互いに平行であり、そこで、第二の表面は磁性の実質的に不透明な層に貼り付けられ、そこで、第二の実質的に透明なポリマー層は、第一の実質的に透明なポリマー層と整列し、そして実質的に透明なポリマー層の中心部分と整列している中心部分を有する、工程；ならびに（e）第二の実質的に透明なポリマー層の第一の表面上に実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、そこで、実質的に不透明なポリマー層は第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲み、そこで、実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、工程を含有する。他の実施形態において、方法は、（a）基材上に犠牲層を堆積させる工程；（b）犠牲層上に外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行であり、そこで、第二の表面は犠牲層に貼り付けられる、工程；（c）リソグラフィーによって、実質的に不透明なポリマー層の外形を形成する工程であって、外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；（d）溶媒中で犠牲ポリマー層を溶解する工程；ならびに（e）基材を除去する工程を含有する。他の実施形態において、方法は、（a）基材上に犠牲層を堆積させる工程；（b）磁性材料を含む磁性層を犠牲層上に堆積させる工程；（c）磁性層上に外形、第一の表面、および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層を堆積させる工程であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行であり、第二の表面は磁性層に貼り付けられる、工程；（d）リソグラフィーによって、実質的に不透明なポリマー層の外形を形成する工程であって、そこで、外形はアナログコードを表す二次元形状に形成される、工程；（d）溶媒中で犠牲層を溶解する工程；ならびに（e）基材を

除去する工程を含有する。本明細書において開示される方法によって生成されたコード化されたマイクロキャリアが、さらに本明細書において提供される。

【0045】

さらに別の局面において、(a) 第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させる工程であって、そこで、複数のマイクロキャリアは：(i) 第一の分析物を特異的に捕捉する本開示の第一のマイクロキャリアであって、そこで、第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；および(ii) 第二の分析物を特異的に捕捉する本開示の第二のマイクロキャリアであって、そこで、第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、そこで、第二のアナログコードは第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリア；を少なくとも含有する、工程；(b) 第一のアナログコードおよび第二のアナログコードを、アナログ形状認識を使用して解読し、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを識別する工程；ならびに(c) 第一のマイクロキャリアに結合した第一の分析物の量および第二のマイクロキャリアに結合した第二の分析物の量を検出する工程によって溶液中の2つまたはそれより多い分析物を検出するための方法が、本明細書において提供される。

10

【0046】

さらに別の局面において、複数のマイクロキャリアを含有するマルチプレックスアッセイを実施するためのキットまたは製品が、本明細書において提供される。複数のマイクロキャリアは、(a) 第一の分析物を特異的に捕捉する本開示の第一のマイクロキャリアであって、そこで、第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；および(b) 第二の分析物を特異的に捕捉する本開示の第二のマイクロキャリアであって、そこで、第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されており、そこで、第二のアナログコードは第一のアナログコードと異なる、マイクロキャリアを少なくとも含有する。

20

【0047】

I. 一般技術

本明細書において記載された技術の実行は、別に指示されていない限り、ポリマー技術、微細作製、微小電気機械システム(MEMS)作製、フォトリソグラフィ、微少流体技術、有機化学、生化学、オリゴヌクレオチド合成および改変、バイオコンジュゲート(bioconjugate)化学、核酸ハイブリダイゼーション、分子生物学、微生物学、遺伝学、組み換えDNA、ならびに本分野の技術内の関連分野における慣習的な技術を使用する。その技術は、本明細書において挙げられた参考文献において記載されており、文献内で十分に説明されている。

30

【0048】

分子生物学および組み換えDNA技術に関して、例えば、Maniatis, T. et al. (1982), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor; Ausubel, F. M. (1987), Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Ausubel, F. M. (1989), Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Sambrook, J. et al. (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor; Innis, M. A. (1990), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press; Ausubel, F. M. (1992), Short Protocols in Molecular Biology: A

40

50

Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Ausubel, F. M. (1995), Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Innis, M. A. et al. (1995), PCR Strategies, Academic Press; Ausubel, F. M. (1999), Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wileyおよびその年次更新を参照されたい。

10

【0049】

DNA合成技術および核酸化学に関して、例えば、Gait, M. J. (1990), Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Eckstein, F. (1991), Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Adams, R. L. et al. (1992), The Biochemistry of the Nucleic Acids, Chapman & Hall; Shabarova, Z. et al. (1994), Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids, Weinheim; Blackburn, G. M. et al. (1996), Nucleic Acids in Chemistry and Biology, Oxford University Press; Hermanson, G. T. (1996), Bioconjugate Techniques, Academic Pressを参照されたい。

20

【0050】

微細作製に関して、例えば、Campbell, S. A. (1996), The Science and Engineering of Microelectronic Fabrication, Oxford University Press; Zaut, P. V. (1996), Microarray Fabrication: a Practical Guide to Semiconductor Processing, Semiconductor Services; Madou, M. J. (1997), Fundamentals of Microfabrication, CRC Press; Rai-Choudhury, P. (1997), Handbook of Microlithography, Micromachining, & Microfabrication: Microlithographyを参照されたい。

30

【0051】

II. 定義

本発明を詳細に記載する前に、本発明は、特定の組成物または生物学的システムに限定されず、当然変動し得ることは理解されるべきである。本明細書において使用される用語は、特定の実施形態を記載することのみを目的とし、限定的であることを意図しないこともまた理解されるべきである。

40

【0052】

本明細書において使用される場合、用語「マイクロキャリア」は、捕捉剤が連結され得る物理的な基材を指し得る。本開示のマイクロキャリアは、任意の適切な幾何学的な形または形状をとり得る。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、円盤形状であり得る。典型的には、マイクロキャリアの形または形状は、 $10^{-4} \sim 10^{-7}$ mのオーダーの少なくとも1つの寸法を含有し得る（したがって、接頭辞は「マイクロ」）。

【0053】

本明細書において使用された用語「ポリマー」は、繰り返されたモノマーを含む任意の

50

巨大分子構造をいい得る。ポリマーは、（例えば、自然界において見出される）天然ポリマーであっても、または合成ポリマー（例えば、人工ポリマー、例えば、非天然モノマーから構成されるポリマーおよび／もしくは自然界において見出されない構成または組み合わせでポリマー化されているポリマー）であってもよい。

【0054】

本明細書において使用された用語「実質的に透明な」および「実質的に不透明な」は、（例えば、赤外線、可視、UVなどの特定の波長の）光がポリマー層などの基材を通過できることをいい得る。実質的に透明なポリマーは、透明、半透明および／または光を通す（previous to light）ものをいい得、他方で、実質的に不透明なポリマーは、光を反射および／または吸収するものをいい得る。材料が実質的に透明であるか、または実質的に不透明であるかは、材料を照射する光の波長および／または強度、ならびに材料を通して移動する光（またはそれらの減少もしくは非存在）を検出する方法に依存し得ることは認識されるべきである。いくつかの実施形態において、実質的に不透明な材料は、例えば、光学顕微鏡（例えば、明視野、暗視野、位相差、微分干渉コントラスト（DIC）、ノルマスキー型干渉コントラスト（NIC）、ノルマスキー、ホフマンモジュレーションコントラスト（HMC）、または蛍光顕微鏡）によってイメージングされる場合の周囲の材料または画像領域と比較したときに、伝導された光の知覚できる減少を引き起こす。いくつかの実施形態において、実質的に透明な材料は、例えば、光学顕微鏡（例えば、明視野、暗視野、位相差、微分干渉コントラスト（DIC）、ノルマスキー型干渉コントラスト（NIC）、ノルマスキー、ホフマンモジュレーションコントラスト（HMC）、または蛍光顕微鏡）によってイメージングされる場合に知覚できる量の伝導された光が材料を通過することを可能にする。

【0055】

本明細書において使用された用語「アナログコード」は、コード化された情報が、例えば、デジタルコードと対照的に、非量子化および／または非不連続な方法で表される任意のコードをいい得る。例えば、デジタルコードは、限定された値（例えば、0／1タイプの値）のセットに関して離散位置でサンプリングされる一方で、アナログコードは、より大きな範囲の位置で（もしくは連続的な全体として）サンプリングされ得、かつ／またはより広い値のセット（例えば、形状）を含有し得る。いくつかの実施形態において、アナログコードは1またはそれより多いアナログ形状認識技術を使用して読まれ、または解読され得る。

【0056】

本明細書において使用された用語「捕捉剤」は、広義な用語であり、目的の分析物を特異的に認識できる任意の化合物または物質を言及するその通常の意味で使用されている。いくつかの実施形態において、特異的な認識は、特異的な結合をいい得る。捕捉剤の非限定的な例は、例えば、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片が挙げられる。

【0057】

本明細書において使用されている「分析物」は、広義な用語であり、その存在、非存在、または量が決定されるべき物質としてその通常の意味で使用され、例えば、分析され得る生物学的サンプルまたは細胞もしくは細胞集団などのサンプル中の物質または化学成分を指すが、それに限定されない。分析物は、天然起源の結合メンバーが存在する物質、または結合メンバーが調製され得る物質であり得る。分析物の非限定的な例は、例えば、抗体、抗体断片、抗原、（DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、またはRNAアナログ分子などの）ポリヌクレオチド、ポリペプチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、小分子、細胞内小器官、ホルモン、サイトカイン、成長因子、ステロイド、ビタミン、毒素、薬物、および上記物質の代謝物、ならびに細胞、細菌、ウイルス、菌類、藻類、菌類胞子などが挙げられる。

【0058】

用語「抗体」は、最も広い意味で使用されており、モノクローナル抗体（例えば、免疫グロブリンFc領域を有する全長の抗体）、ポリクローナル抗体、多重特異性（multi-specific）抗体（例えば、二重特異性抗体、二特異性抗体および単鎖分子）ならびに抗体断片（例えば、Fab、F(ab')₂およびFv）が挙げられる。

【0059】

本明細書において使用された場合、「サンプル」は、検出されるべき分子などの材料を含有する組成物をいう。一実施形態において、サンプルは、「生物学的サンプル」（すなわち、生命源（例えば、ヒト、動物、植物、細菌、菌類、原生生物、ウイルス）から得られた任意の材料）である。生物学的サンプルは、固形材料（例えば、組織、細胞ペレットおよび生検）ならびに生物学的流動体（例えば、尿、血液、唾液、リンパ液、涙、汗、前立腺液、精液（seminal fluid）、精液（semen）、胆汁、粘液、羊水および口腔洗浄物（頬の細胞を含有する））を含有する任意の形態であり得る。固形材料は、典型的には、流動体と混合されている。サンプルはまた、水、空気、土壌、または他の任意の環境源などの環境サンプルをいい得る。

【0060】

本明細書および添付された特許請求の範囲において使用された場合、単数形の「1つの（a）」、「1つの（an）」および「1つの（the）」は、内容が明らかに他を示さない限り、複数の指示物を含有する。したがって、例えば、「分子（molecule）」という言葉及は、必要に応じて、2つまたはそれより多いかかる分子の組み合わせなどを含有する。

【0061】

本明細書において使用される場合、用語「約（about）」は、当業者に容易に知られる、それぞれの値に関する通常の誤差範囲をいう。本明細書における「約」の値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする実施形態を含有（および記載）する。

【0062】

本明細書において記載されている本発明の局面および実施形態は、局面および実施形態を「含むこと」、「からなること」および「本質的にからなること」を含有することが理解される。

【0063】

III. コード化されたマイクロキャリア

分析物検出（例えば、多重分析物検出）に適切なコード化されたマイクロキャリアが、本明細書において提供される。コード化されたマイクロキャリアについての複数の構成が、本明細書において意図され、記載され、そして例示されている。

【0064】

いくつかの局面において、第一の表面および第二の表面を有する実質的に透明なポリマー層であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行である、層；実質的に不透明なポリマー層であって、実質的に不透明なポリマー層は実質的に透明なポリマー層の第一の表面に貼り付けられており、そして実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲み、実質的に不透明なポリマー層はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに分析物を捕捉するための捕捉剤であって、捕捉剤は、実質的に透明なポリマー層の少なくとも中心部分において実質的に透明なポリマー層の第一の表面および第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含むコード化されたマイクロキャリアが、本明細書において提供される。したがって、マイクロキャリアは、少なくとも2つの層を含有し、そのうちの1つは実質的に透明であり、他方はアナログコードを表す実質的に不透明な二次元形状である。好都合なことに、これらのマイクロキャリアは、種々の二次元形状を利用し得るが、均一な全体の形態（例えば、実質的に透明なポリマー層の外周の長さ）を依然として維持し、均一性の局面に関して、例えば、全体の寸法、物理的性質、および／または溶液中の挙動が挙げられる。このタイプのマイクロキャリアの例およびその局面は、図1A～5Bにおいて示される。

【0065】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲む、実質的に透明なポリマー層に貼り付けられている磁性の実質的に不透明な層をさらに含有する。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、実質的に不透明なポリマー層と、実質的に透明なポリマー層の中心部分との間にある。

【0066】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、第一の実質的に透明なポリマー層と整列しており、そして貼り付けられている第二の実質的に透明なポリマー層をさらに含有する。いくつかの実施形態において、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層は、それぞれ中心部分を有し、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の両方の中心部分は整列している。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の両方の中心部分を囲む磁性の実質的に不透明な層をさらに含有する。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、第一の実質的に透明なポリマー層と、第二の実質的に透明なポリマー層の間に貼り付けられている。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、実質的に不透明なポリマー層と、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の両方の中心部分との間にある。

【0067】

いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、厚さが約50 nmと約10 nmとの間である。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層の厚さは、およそ以下の厚さ (nm) : 10000、9500、9000、8500、8000、7500、7000、6500、6000、5500、5000、4500、4000、3500、3000、2500、2000、1500、1000、950、900、850、800、750、700、650、600、550、500、450、400、350、300、250、200、150または100のいずれか未満である。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層の厚さは、およそ以下の厚さ (nm) : 50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、または9500のいずれかより大きい。すなわち、磁性の実質的に不透明な層の厚さは、10000、9500、9000、8500、8000、7500、7000、6500、6000、5500、5000、4500、4000、3500、3000、2500、2000、1500、1000、950、900、850、800、750、700、650、600、550、500、450、400、350、300、250、200、150または100の上限および、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、または9500の独立して選択される下限を有し、下限は上限未満である、範囲の厚さ (nm) のいずれかであり得る。

【0068】

いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、厚さが約0.1 μmである。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、厚さが約50 nm、約100 nm、約150 nm、約200 nm、約250 nm、約300 nm、約350 nm、約400 nm、約450 nm、約500 nm、約550 nm、約600 nm、約650 nm、約700 nm、約750 nm、約800 nm、約850 nm、約900 nm、約950 nm、約1 μm、約1.5 μm、約2 μm、約2.5 μm、約3 μm、約3.5 μm、約4 μm、約4.5 μm、約5 μm、約5.5 μm、約6 μm、約6.5 μm、約7 μ

10

20

30

40

50

m、約7.5 μm 、約8 μm 、約8.5 μm 、約9 μm 、約9.5 μm 、または約10 μm である。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層の厚さは、約0.01 μm 、約0.02 μm 、約0.03 μm 、約0.04 μm 、約0.05 μm 、約0.06 μm 、約0.07 μm 、約0.08 μm 、約0.09 μm 、約0.1 μm 、約0.11 μm 、約0.12 μm 、約0.13 μm 、約0.14 μm 、約0.15 μm 、約0.16 μm 、約0.17 μm 、約0.18 μm 、約0.19 μm 、約0.20 μm 、約0.25 μm 、約0.30 μm 、約0.35 μm 、約0.40 μm 、約0.45 μm 、または約0.50 μm である。

【0069】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、実質的に不透明なポリマー層のアナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含有する。イメージング（例えば、本明細書において記載される顕微鏡もしくは他のイメージングの形態）によって、および／または画像認識ソフトウェアによって可視および／または検出可能なマイクロキャリアの任意の特徴は、方向インジケータとして役立ち得る。方向インジケータは、均一な方向にアナログコードの画像（すなわち、実質的に不透明なポリマー層の形状）を方向付けるための（例えば、画像認識アルゴリズムのための）参照点として役立ち得る。好都合なことに、アルゴリズムは、特定のアナログコードの画像を、全てのアナログコードを可能なすべての方向で含有するライブラリーと比較せず、同一方向のアナログコードのライブラリーと比較する必要があるだけであるため、これは、画像認識を単純化する。いくつかの実施形態において、方向インジケータは、実質的に不透明なポリマー層と独立であり得る。例えば、これは、磁性層および／または実質的に透明なポリマー層の一部として形成され得る。他の実施形態において、方向インジケータは、実質的に不透明なポリマー層の一部として形成され得る。いくつかの実施形態において、方向インジケータは、（例えば、図2Aにおいてギャップ210によって示されるような）磁性の実質的に不透明な層の非対称を含む。

【0070】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、マイクロキャリアの表面（例えば、マイクロキャリアの上面および／または下面）から突出している1つまたはそれより多い柱をさらに含有する。本明細書において使用されている場合、「柱」は、マイクロキャリアの表面から突出している任意の幾何学形状をいい得、必ずしも、寸法における何らかの規則性または何らかの円柱の性質を示すわけではない。例えば、柱の外側表面は、マイクロキャリアの表面と平行であっても、平行でなくてもよい。マイクロキャリアから突出し得る柱形状の例は、長方形の角柱、三角形、ピラミッド型、立方体、円柱、球または半球、円錐などを、それに限定することなく含有する。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、第一の実質的に透明なポリマー層および／または第二の実質的に透明なポリマー層の中心部分内にない。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の1つまたはそれより多くの外側に面する表面（例えば、他の層に貼り付けられていない表面）から突出し得る。本明細書内のマイクロキャリアの厚さの任意の記載は、1つまたはそれより多い柱を指定された寸法内に含有しないことは注意されるべきである。すなわち、本明細書において記載されているようなマイクロキャリアの厚さは、それらから突出している任意の必要に応じた柱から独立している。

【0071】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm と約10 μm との間の高さである。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm の高さ、約1.5 μm の高さ、約2 μm の高さ、約2.5 μm の高さ、約3 μm の高さ、約3.5 μm の高さ、約4 μm の高さ、約4.5 μm の高さ、約5 μm の高さ、約5.5 μm の高さ、約6 μm の高さ、約6.5 μm の高さ、約7 μm の高さ、約7.5 μm の高さ、約8 μm の高さ、約8.5 μm の高さ、約9 μm の高さ、約9.5 μm の高さ、または約10 μm の高さである。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱

は、およそ以下の高さ (μm) : 10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5のいずれか未満である。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の高さ (μm) : 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5のいずれかより大きい。すなわち、1つまたはそれより多い柱は、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5の上限および、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5の独立して選択される下限を有し、下限は上限未満である、範囲の高さのいずれかであり得る。

10

【0072】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、形状が円柱であり得る。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm と約10 μm との間の直径を有する。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm 、約1.5 μm 、約2 μm 、約2.5 μm 、約3 μm 、約3.5 μm 、約4 μm 、約4.5 μm 、約5 μm 、約5.5 μm 、約6 μm 、約6.5 μm 、約7 μm 、約7.5 μm 、約8 μm 、約8.5 μm 、約9 μm 、約9.5 μm 、または約10 μm の直径を有する。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の長さ (μm) : 10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5のいずれか未満の直径を有し得る。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の長さ (μm) : 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5のいずれかより大きい直径を有し得る。すなわち、1つまたはそれより多い柱は、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5の上限および、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5の独立して選択される下限を有し、下限は上限未満である、範囲の直径のいずれかを有し得る。他の実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、上記直径のいずれかとおおよそ同じ幅を有し得るか、または上記のいずれかの範囲の直径とおおよそ同じ範囲の幅を有し得るが、1つまたはそれより多い柱は、楕円形の円柱、放物線状の円柱、双曲線の円柱、または本明細書において記載されている、または本分野において公知の他の任意の円柱状形状もしくは多角体の形状をとり得る。

20

30

【0073】

他の局面において、第一の表面および第二の表面を有する実質的に不透明なポリマー層であって、第一の表面および第二の表面は互いに平行であり、実質的に不透明なポリマー層の外形はアナログコードを表す二次元形状を含む、層；ならびに分析物を捕捉するための捕捉剤であって、捕捉剤は実質的に不透明なポリマー層の少なくとも中心部分において、実質的に不透明なポリマー層の第一の表面および第二の表面のうちの少なくとも1つに連結されている、捕捉剤を含むコード化されたマイクロキャリアが、本明細書において提供される。したがって、マイクロキャリアは、マイクロキャリア自体の形状（例えば、外形）：アナログコードを表す二次元形状によってコード化されている。好都合なことに、これらのマイクロキャリアは、効率的かつ高い精度で製造され得、非常に正確な解読および省費用の生産を可能にする。このタイプのマイクロキャリアの例およびその局面は、図6A～9Cにおいて示される。

40

【0074】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、実質的に不透明なポリマー層の表面から突出している1つまたはそれより多い柱をさらに含有する。詳細に上記されているように、「柱」は、マイクロキャリアの表面から突出している任意の幾何学形状をいい得、必ずしも柱の寸法における何らかの規則性を示すわけではない。上記の例示的な柱の形状のいずれかが、使用され得る。

50

【0075】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm と約10 μm との間の高さである。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm の高さ、約1.5 μm の高さ、約2 μm の高さ、約2.5 μm の高さ、約3 μm の高さ、約3.5 μm の高さ、約4 μm の高さ、約4.5 μm の高さ、約5 μm の高さ、約5.5 μm の高さ、約6 μm の高さ、約6.5 μm の高さ、約7 μm の高さ、約7.5 μm の高さ、約8 μm の高さ、約8.5 μm の高さ、約9 μm の高さ、約9.5 μm の高さ、または約10 μm の高さである。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の高さ(μm): 10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5のいずれか未満である。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の高さ(μm): 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5のいずれかより大きい。すなわち、1つまたはそれより多い柱は、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5の上限および、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5の独立して選択される下限を有し、下限は上限未満である、範囲の高さのいずれかであり得る。

10

【0076】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、形状が円柱であり得る。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm と約10 μm との間の直径を有する。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、約1 μm 、約1.5 μm 、約2 μm 、約2.5 μm 、約3 μm 、約3.5 μm 、約4 μm 、約4.5 μm 、約5 μm 、約5.5 μm 、約6 μm 、約6.5 μm 、約7 μm 、約7.5 μm 、約8 μm 、約8.5 μm 、約9 μm 、約9.5 μm 、または約10 μm の直径を有する。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、およそ以下の長さ(μm): 10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5のいずれか未満の直径を有し得る。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱はおよそ以下の長さ(μm): 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5のいずれかより大きい直径を有し得る。すなわち、1つまたはそれより多い柱は、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、または1.5の上限および、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、または9.5の独立して選択される下限を有し、下限は上限未満である、範囲の直径のいずれかを有し得る。他の実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、上記直径のいずれかとおおよそ同じ幅を有し得るか、または上記のいずれかの範囲の直径とおおよそ同じ範囲の幅を有し得るが、1つまたはそれより多い柱は、楕円形の円柱、放物線状の円柱、双曲線の円柱、または本明細書において記載されている、または本分野において公知の他の任意の円柱形状もしくは多角体の形状をとり得る。

20

30

40

【0077】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、実質的に不透明なポリマー層の表面に貼り付けられている磁性材料を含む磁性層をさらに含有する。いくつかの実施形態において、磁性層は、実質的に不透明なポリマー層の二次元形状を超えて広がっていない。すなわち、実質的に不透明なポリマー層の外形がイメージングされる場合、生じる画像は、磁性層の存在または非存在によって変わらない。いくつかの実施形態において、磁性層は、上記の1つまたはそれより多い柱を含有し得る。すなわち、上記の1つまたはそれより多い柱は、本明細書において記載されている磁性材料で作製され得る。

【0078】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、実質的に不透明なポリマー層のア

50

ナログコードを方向付けるための方向インジケータをさらに含有する。イメージング（例えば、本明細書において記載されている顕微鏡または他のイメージングの形態）によって、および／または画像認識ソフトウェアによって可視および／または検出可能なマイクロキャリアの任意の特徴は、方向インジケータとして役立ち得る。方向インジケータは、均一な方向にアナログコードの画像（すなわち、実質的に不透明なポリマー層の形状）を方向付けるための、例えば、画像認識アルゴリズムのための参照点として役立ち得る。好都合なことに、アルゴリズムは、特定のアナログコードの画像を、全てのアナログコードを可能なすべての方向で含有するライブラリーと比較せず、同一方向のアナログコードのライブラリーと比較する必要があるだけであるため、これは、画像認識を単純化する。いくつかの実施形態において、方向インジケータは、実質的に不透明なポリマー層の外形の非対称を含む。例えば、方向インジケータは、マイクロキャリアの外形の可視的な特徴、例えば、非対称（例えば、図8Aおよび9Aにおける開始位置804および904によって示されているような）を含み得る。

10

【0079】

本明細書において記載されているマイクロキャリアのいずれも、1つまたはそれより多くの以下に記載されている特徴、要素または性質を含有し得る。さらに、1つまたはそれより多くの以下に記載されている特徴、要素または性質は、例えば、上記のようなマイクロキャリアの実施形態に依存して異なる特質を採用し得る。

【0080】

いくつかの実施形態において、本開示の実質的に透明なポリマー層は、エポキシを基にしたポリマーを含む。本明細書において記載されている組成物の作製のための適切なエポキシを基にしたポリマーとして、Hexion Specialty Chemicals, Inc. (Columbus, OH) によって提供されているEPON (商標) ファミリーのエポキシ樹脂およびThe Dow Chemical Company (Midland, MI) によって提供される任意の番号のエポキシ樹脂が挙げられるが、それに限定されない。適切なポリマーの多くの例は、本分野において一般的に公知であり、SU-8、EPON 1002F、EPON 165/154、およびポリ(メチルメタクリレート)/ポリ(アクリル酸)ブロック共重合体(PMMA-コ-PAA)を、それに限定することなく含有する。さらなるポリマーについて、例えば、Warad, IC Packaging: Package Construction Analysis in Ultra Small IC Packaging, LAP LAMBERT Academic Publishing (2010); The Electronic Packaging Handbook, CRC Press (Blackwell, ed.), (2000); およびPecht et al., Electronic Packaging Materials and Their Properties, CRC Press, 1st ed., (1998)を参照されたい。これらのタイプの材料は、水性環境において膨張しないという利点を有し、これは、マイクロキャリアの集団内で、均一なマイクロキャリアの大きさおよび形状が維持されることを確実にする。いくつかの実施形態において、実質的に透明なポリマーは、フォトレジストポリマーである。いくつかの実施形態において、エポキシを基にしたポリマーは、エポキシを基にした、ネガティブトーン(negative-tone)な、近紫外のフォトレジストである。いくつかの実施形態において、エポキシを基にしたポリマーは、SU-8である。

20

30

40

【0081】

いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマーは、1つまたはそれより多い不透明または着色された色素と混合された本明細書において記載されたポリマー（例えば、SU-8）である。他の実施形態において、実質的に不透明なポリマーは、ブラックマトリクス用レジストである。本分野において公知の任意のブラックマトリクス用レジストが使用され得る；例えば、例示的なブラックマトリクス用レジストおよびそれに関する方法について米国特許番号第8,610,848号を参照されたい。いくつかの実施形態において、ブラックマトリクス用レジストは、（例えば、ブラックマトリクス用の一部とし

50

てLCDのカラーフィルター上にパターンニングされているような) 黒色顔料で着色されたフォトレジストであり得る。ブラックマトリクス用レジストとして、Toppa Printing Co. (Tokyo)、Tokyo OHKA Kogyo (Kawasaki)、およびDaxin Materials Corp. (Taichung City, Taiwan) によって販売されているものが、それに限定することなく挙げられ得る。

【0082】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多いポリマー層の中心部分が、参照され得る。本開示の中心部分は、任意の形状を取り得る。いくつかの実施形態において、中心部分の形状は、対応するポリマー層の形状(例えば、外形)を反映、またはそれに対応し得る。他の実施形態において、中心部分の形状は、対応するポリマー層の形状(例えば、外形)から独立であり得る。例えば、円形のマイクロキャリアの表面の中心部分は、いくつかの実施形態において、円形であり得、他の実施形態において、正方形であり得る。正方形のマイクロキャリアの表面の中心部分は、いくつかの実施形態において、正方形であり得、他の実施形態において、円形であり得る。

10

【0083】

いくつかの実施形態において、本開示のポリマー層の中心部分は、ポリマー層の表面領域の約5%、約7%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、または約90%である。いくつかの実施形態において、本開示のポリマー層の中心部分は、実質的に透明なポリマー層のおよそ以下の割合(%) : 90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、または7のいずれか未満である。いくつかの実施形態において、本開示のポリマー層の中心部分は、実質的に透明なポリマー層のおよそ以下の割合(%) : 5、7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、または85のいずれかより大きい。すなわち、中心部分に含まれているポリマー層の表面領域の割合は、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、または7の上限および、5、7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、または85の独立して選択される下限を有し、下限が上限未満である、パーセントの範囲のいずれかであり得る。いくつかの実施形態において、ポリマー層の中心部分は、ポリマー層の表面領域の約25%を占める。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの表面の中心部分は、マイクロキャリアの外形部分を引いた全体の表面を含む。

20

30

【0084】

上記のように、本開示のマイクロキャリアは、本願明細書において記載されているような種々の形状をとり得る、磁性層をさらに含み得る。いくつかの実施形態において、磁性層は、実質的に不透明な層であり得る。いくつかの実施形態において、磁性層は、磁性材料を含み得る。本開示の磁性層は、常磁性、強磁性、またはフェリ磁性の性質を有する材料などの任意の適切な磁性材料で作製され得る。磁性材料の例は、鉄、ニッケル、コバルトおよびいくつかの希土類金属(例えば、ガドリニウム、ジスプロシウム、ネオジムなど)、ならびにその合金が挙げられるが、それに限定されない。いくつかの実施形態において、磁性材料は、ニッケル元素ならびにアルニコおよびパーマロイなどの磁性ニッケル合金が挙げられるが、それに限定されないニッケルを含む。本開示のマイクロキャリアにおける磁性層の含有は、例えば、1つまたはそれより多くのマイクロキャリアの洗浄、収集、および他の操作に有用であり得る、磁気分離の促進において好都合であり得る。

40

【0085】

上記のように、いくつかの実施形態において、磁性層は、実質的に透明なポリマー層の表面に貼り付けられていてもよいし、実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲んでもよい。他の実施形態において、上記のように、磁性層は、1つまたはそれより多い柱を含有し得；すなわち、上記の1つまたはそれより多い柱は、本明細書において記載されている

50

磁性材料で作製され得る。

【0086】

いくつかの実施形態において、本開示のマイクロキャリアは、二次元形状を構成する実質的に不透明な層でコード化され得る。例えば、上記のように、二次元形状は、マイクロキャリアの実質的に透明な層と対照的である実質的に不透明な層の形状を構成し得、またはそれはマイクロキャリア自体の形状（例えば、外周の長さ）を構成し得る。複数の分解できる、示差的な変化を包含し得る任意の二次元形状が、使用され得る。いくつかの実施形態において、二次元形状は、1つまたはそれより多い直線状の、円形の、楕円形の、長方形の、四辺形の、またはより辺の多い（higher）多角形の性質、要素および／または形状を含む。

10

【0087】

いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層の二次元形状は、ギア形状を含む。本明細書において使用されているギア形状は、実質的に球形の、楕円形のまたは円形の本体の外周上に整列している複数の形状（例えば、歯（gear teeth））をいい得、そこで、複数の形状のうちの少なくとも2つの形状は空間的に離れている。いくつかの実施形態において、ギア形状は、複数の歯を含む。いくつかの実施形態において、アナログコードは、複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の高さ、複数の歯のうちの1つまたはそれより多い歯の幅、複数の歯における歯の数、および複数の歯内の1つまたはそれより多い歯の配置から選択される1つまたはそれより多い性質によって表される。好都合なことに、ギア形状は、可能性のある固有の二次元形状の多くの多様性を生成するために変動され得る、歯の高さ、歯の幅、歯の数および歯の配置を含有する複数の性質を包含する。しかしながら、本開示のギア形状はコード化のために使用されており、他のギアと（例えば、トルクを伝導する機械ギアと）物理的に互いにかみ合うことを必要とされていないために、本開示の歯は、1つのギア形状内または複数のギア形状間のいずれかで、同一または互いにかみ合う形状に関する必要性によって制限されていないことは認識されるべきである。よって、本開示の歯として考慮され得る形状の多様性は、機械ギアより顕著に大きい。

20

【0088】

いくつかの実施形態において、複数の歯は、約1 μm と約10 μm との間の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、約1 μm の幅、約1.5 μm の幅、約2 μm の幅、約2.5 μm の幅、約3 μm の幅、約3.5 μm の幅、約4 μm の幅、約4.5 μm の幅、約5 μm の幅、約5.5 μm の幅、約6 μm の幅、約6.5 μm の幅、約7 μm の幅、約7.5 μm の幅、約8 μm の幅、約8.5 μm の幅、約9 μm の幅、約9.5 μm の幅または約10 μm の幅である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の幅（ μm ）：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2または1.5のいずれか未満である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の幅（ μm ）：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9または9.5のいずれかより大きい1つまたはそれより多い歯を含む。すなわち、複数の歯は、10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2または1.5の上限および、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9または9.5の独立して選択される下限を有し、下限が上限未満である範囲のいずれかの幅であり得る1つまたはそれより多い歯を含み得る。

30

40

【0089】

いくつかの実施形態において、複数の歯は、約1 μm と約10 μm との間の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、約1 μm の高さ、約1.5 μm の高さ、約2 μm の高さ、約2.5 μm の高さ、約3 μm の高さ、約3.5 μm の高さ、約4 μm の高さ、約4.5 μm の高さ、約5 μm の高さ、約5.5

50

μm の高さ、約 $6\mu\text{m}$ の高さ、約 $6.5\mu\text{m}$ の高さ、約 $7\mu\text{m}$ の高さ、約 $7.5\mu\text{m}$ の高さ、約 $8\mu\text{m}$ の高さ、約 $8.5\mu\text{m}$ の高さ、約 $9\mu\text{m}$ の高さ、約 $9.5\mu\text{m}$ の高さまたは約 $10\mu\text{m}$ の高さである1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の高さ(μm): 10 、 9.5 、 9 、 8.5 、 8 、 7.5 、 7 、 6.5 、 6 、 5.5 、 5 、 4.5 、 4 、 3.5 、 3 、 2.5 、 2 または 1.5 のいずれか未満である1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の高さ(μm): 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 5.5 、 6 、 6.5 、 7 、 7.5 、 8 、 8.5 、 9 または 9.5 のいずれかより大きい1つまたはそれより多い歯を含む。すなわち、複数の歯は、 10 、 9.5 、 9 、 8.5 、 8 、 7.5 、 7 、 6.5 、 6 、 5.5 、 5 、 4.5 、 4 、 3.5 、 3 、 2.5 、 2 または 1.5 の上限および、 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 5.5 、 6 、 6.5 、 7 、 7.5 、 8 、 8.5 、 9 または 9.5 の独立して選択される下限を有し、下限が上限未満である範囲のいずれかの高さであり得る1つまたはそれより多い歯を含み得る。隣接した外周の区画であって、該区画から歯が伸長する区画が一様でない場合、参照点に依存して、歯は、異なる測定可能な高さを有し得ることは認識されるべきである(例えば、参照点に依存して、 4 または $6.5\mu\text{m}$ の高さになり得る、図6Cにおける歯602を参照されたい)。

【0090】

いくつかの実施形態において、複数の歯は、約 $1\mu\text{m}$ と約 $10\mu\text{m}$ との間の間隔だけ離れている1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、約 $1\mu\text{m}$ の間隔、約 $1.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $2\mu\text{m}$ の間隔、約 $2.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $3\mu\text{m}$ の間隔、約 $3.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $4\mu\text{m}$ の間隔、約 $4.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $5\mu\text{m}$ の間隔、約 $5.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $6\mu\text{m}$ の間隔、約 $6.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $7\mu\text{m}$ の間隔、約 $7.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $8\mu\text{m}$ の間隔、約 $8.5\mu\text{m}$ の間隔、約 $9\mu\text{m}$ の間隔、約 $9.5\mu\text{m}$ の間隔または約 $10\mu\text{m}$ の間隔だけ離れている1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の幅の間隔(μm): 10 、 9.5 、 9 、 8.5 、 8 、 7.5 、 7 、 6.5 、 6 、 5.5 、 5 、 4.5 、 4 、 3.5 、 3 、 2.5 、 2 または 1.5 のいずれか未満だけ離れている1つまたはそれより多い歯を含む。いくつかの実施形態において、複数の歯は、およそ以下の幅の間隔(μm): 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 5.5 、 6 、 6.5 、 7 、 7.5 、 8 、 8.5 、 9 または 9.5 のいずれかより大きく離れている1つまたはそれより多い歯を含む。すなわち、複数の歯は、 10 、 9.5 、 9 、 8.5 、 8 、 7.5 、 7 、 6.5 、 6 、 5.5 、 5 、 4.5 、 4 、 3.5 、 3 、 2.5 、 2 または 1.5 の上限および、 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 5.5 、 6 、 6.5 、 7 、 7.5 、 8 、 8.5 、 9 または 9.5 の独立して選択される下限を有し、下限が上限未満である範囲のいずれかの幅だけ離れ得る1つまたはそれより多い歯を含み得る。

【0091】

いくつかの実施形態において、本開示のマイクロキャリアは、実質的に円板である。本明細書において使用された場合、実質的に円形の形状は、形状の外周の全ての点と、形状の幾何学的中心との間でおおよそ同一の距離を有する任意の形状をいい得る。いくつかの実施形態において、幾何学的中心と外周上の所定の点とを結ぶ可能性のある半径のいずれかの間の変動が、長さにおいて 10% またはそれ未満の変動を示す場合、形状は、実質的に円形であると考えられる。本明細書において使用された場合、実質的に円板は、任意の実質的に円形の形状であって、形状の厚さがその直径より顕著に小さい形状をいい得る。例えば、いくつかの実施形態において、実質的に円板の厚さは、その直径の約 50% 未満、約 40% 未満、約 30% 未満、約 20% 未満、約 15% 未満、約 10% 未満または約 5% 未満であり得る。ある実施形態において、実質的に円板の厚さは、その直径の約 20% であり得る。その外形がギア形状である本開示のマイクロキャリアはまた、実質的に円板と考えられ得ること: 例えば、1つまたは複数の歯を除外したマイクロキャリアの形状は実質的に円板を構成し得ることは、認識されるべきである。

【0092】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、直径が約200 μm 未満である。例えば、いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの直径は、約200 μm 未満、約180 μm 未満、約160 μm 未満、約140 μm 未満、約120 μm 未満、約100 μm 未満、約80 μm 未満、約60 μm 未満、約40 μm 未満または約20 μm 未満である。

【0093】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの直径は、約180 μm 、約160 μm 、約140 μm 、約120 μm 、約100 μm 、約90 μm 、約80 μm 、約70 μm 、約60 μm 、約50 μm 、約40 μm 、約30 μm 、約20 μm または約10 μm である。ある実施形態において、マイクロキャリアは、直径が約60 μm である。

10

【0094】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアは、厚さが約50 μm 未満である。例えば、いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの厚さは、約70 μm 未満、約60 μm 未満、約50 μm 未満、約40 μm 未満、約30 μm 未満、約25 μm 未満、約20 μm 未満、約15 μm 未満、約10 μm 未満または約5 μm 未満である。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの厚さは、およそ以下の厚さ(μm): 70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3または2のいずれか未満である。いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの厚さは、およそ以下の厚さ(μm): 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60または65のいずれかより大きい。すなわち、マイクロキャリアの厚さは、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3または2の上限および1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60または65の独立して選択される下限を有し、下限が上限未満である、厚さ(μm)の範囲のいずれかであり得る。

20

【0095】

いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの厚さは、約50 μm 、約45 μm 、約40 μm 、約35 μm 、約30 μm 、約25 μm 、約20 μm 、約19 μm 、約18 μm 、約17 μm 、約16 μm 、約15 μm 、約14 μm 、約13 μm 、約12 μm 、約11 μm 、約10 μm 、約9 μm 、約8 μm 、約7 μm 、約6 μm 、約5 μm 、約4 μm 、約3 μm 、約2 μm または約1 μm である。ある実施形態において、マイクロキャリアは、厚さが約10 μm である。

30

【0096】

いくつかの局面において、本開示のマイクロキャリアは、捕捉剤を含み得る。いくつかの実施形態において、特定のマイクロキャリア種に関する捕捉剤は、「固有の捕捉剤」であり得、例えば、捕捉剤は特定の識別子(例えば、アナログコード)を有する特定のマイクロキャリア種と結合されている。捕捉剤は、溶液中に存在する(生体分子または化学化合物などの)1つまたはそれより多い分析物に結合できる任意の生体分子または化学化合物であり得る。生体分子捕捉剤の例は、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片が挙げられるが、それに限定されない。化学化合物捕捉剤の例は、化学ライブラリーの個々の要素、小分子、または環境毒素(例えば、殺虫剤もしくは重金属)を含有するが、それに限定されない。

40

【0097】

いくつかの実施形態において、捕捉剤は、マイクロキャリアの表面(いくつかの実施形態において、マイクロキャリアの表面の少なくとも中心部分内)に連結されている。いくつかの実施形態において、捕捉剤は、マイクロキャリアに化学的に付着され得る。他の実施形態において、捕捉剤は、マイクロキャリアの表面に物理的に吸収され得る。いくつか

50

の実施形態において、捕捉剤とマイクロキャリアの表面との間の付着結合は、共有結合であり得る。他の実施形態において、捕捉剤とマイクロキャリアの表面との間の付着結合は、塩橋もしくは他のイオン結合、1つもしくはそれより多い水素結合、疎水性相互作用、ファンデルワールス力、ロンドン分散力、機械的結合、1つもしくはそれより多いハロゲン結合、金親和性、インタカレーションまたはスタッキングを含有するが、それに限定されない非共有結合であり得る。

【0098】

いくつかの局面において、同一の分析物に関する1つより多い（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10つ）捕捉剤は、本明細書において記載されているマイクロキャリアとそれぞれ結合され得る。この実施形態において、特定の分析物に関するそれぞれの捕捉剤は、分析物／捕捉剤結合の解離定数によって測定する場合に、異なる親和性で分析物と結合する。したがって、組成物中の複数のマイクロキャリア中に、同一の分析物に結合する捕捉剤を伴うマイクロキャリアの2つまたはそれより多い亜集団が存在し得るが、ここで、それぞれの亜集団と結合されている捕捉剤は異なる親和性で分析物に結合する。いくつかの実施形態において、捕捉剤のいずれかに関する分析物の解離定数は、 10^{-6} Mより大きくなく、例えば 10^{-7} Mまたは 10^{-8} Mである。他の実施形態において、捕捉剤のいずれかに関する分析物の解離定数は、約 10^{-10} Mから約 10^{-6} Mまで、約 10^{-10} Mから約 10^{-7} Mまで、約 10^{-10} Mから約 10^{-8} Mまで、約 10^{-10} Mから約 10^{-9} Mまで、約 10^{-9} Mから約 10^{-6} Mまで、約 10^{-9} Mから約 10^{-7} Mまで、約 10^{-9} Mから約 10^{-8} Mまで、約 10^{-8} Mから約 10^{-6} Mまで、または約 10^{-8} Mから約 10^{-7} Mまでである。いくつかの実施形態において、任意の2つの捕捉剤に関する分析物の解離定数は、約 $3 \log_{10}$ と同程度だけ、例えば、約 $2.5 \log_{10}$ 、 $2 \log_{10}$ 、 $1.5 \log_{10}$ 、または $1 \log_{10}$ と同程度だけ異なる。

【0099】

いくつかの実施形態において、本開示の分析物は、1つまたはそれより多い分析物の捕捉のためのマイクロキャリアに連結される。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い分析物は、本明細書において記載されている生物学的サンプルなどのサンプルから捕捉され得る。いくつかの実施形態において、分析物として、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および抗体断片が挙げられるが、それに限定されない。他の実施形態において、分析物は、化学ライブラリーの個々の要素、小分子、または環境毒素（例えば、殺虫剤もしくは重金属）などの捕捉剤と結合できる化学化合物（例えば、小分子化学化合物）である。

【0100】

いくつかの局面において、サンプル（例えば、生物学的サンプル）中の分析物は、捕捉剤と結合する際に検出可能なシグナルを放射できるシグナル放射実体で標識され得る。いくつかの実施形態において、シグナル放射実体は、比色を基にしたものであり得る。他の実施形態において、シグナル放射実体は、フィコエリスリン、青色蛍光タンパク質、緑色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質、シアン蛍光タンパク質、およびその誘導体が挙げられるが、それに限定されない、蛍光を基にしたものであり得る。他の実施形態において、シグナル放射実体は、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{22}Na 、 ^{36}Cl 、 ^2H 、 ^3H 、 ^{35}S 、および ^{123}I で標識されている分子が挙げられるが、それに限定されない、放射性同位体を基にしたものであり得る。他の実施形態において、シグナル放射実体は、ルシフェラーゼ（例えば、化学発光を基にしたもの）、西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびその誘導体が挙げられるが、それに限定されない、光を基にしたものである。いくつかの実施形態において、サンプル中に存在する生体分子または化学化合物は、マイクロキャリアと接触させる前にシグナル放射実体で標識され得る。他の実施形態において、サンプル中に存在する生体分子または化学化合物は、マイクロキャリアと接触さ

せた後にシグナル放射実体で標識され得る。

【0101】

I V. コード化されたマイクロキャリアの作製方法

本開示のある局面は、コード化されたマイクロキャリア、例えば、本明細書において記載されているマイクロキャリアの作製方法に関する。コード化されたマイクロキャリアの作製方法は、本明細書、例えば、上記の I I I 節および／または以下の実施例において記載されているマイクロキャリアの特徴または性質の 1 つまたはそれより多くを含有し得る。

【0102】

いくつかの実施形態において、方法は、実質的に透明なポリマー層を堆積させることを含有し、そこで、実質的に透明なポリマー層は第一の表面および第二の表面を有し、第一の表面および第二の表面は互いに平行である。いくつかの実施形態において、互いに平行である第一の表面および第二の表面は、単一層の上面および下面であり得る。本分野において公知の、または本明細書において記載されている任意の適切な実質的に透明なポリマー層が、使用され得る。いくつかの実施形態において、実質的に透明なポリマー層は、スピンコーティングを使用して堆積される。

10

【0103】

いくつかの実施形態において、実質的に透明なポリマー層は、基材上に堆積され得る。適切な基材は、標準的な半導体および／または微小電気機械システム (MEMS) 作製技術において使用されている基材を含有し得る。いくつかの実施形態において、基材は、ガラス、シリコン、石英、プラスチック、ポリエチレンテレフタレート (PET)、酸化インジウムスズ (ITO) コーティングなどを含み得る。

20

【0104】

いくつかの実施形態において、犠牲層が、基材、例えば上記の基材上に堆積され得る。いくつかの実施形態において、犠牲層は、ポリビニルアルコール (PVA) または Omni Coat (商標) (MicroChem; Newton, MA) を限定することなく含有するポリマーで作製され得る。犠牲層は、例えば、生産者の指示にしたがって、適用され、使用され、そして溶解され、または、はがされ得る。

【0105】

いくつかの実施形態において、本開示の実質的に透明なポリマー層は、犠牲層上に堆積される。実質的に透明なポリマー層を使用して平面のマイクロキャリアの表面を生成するために、実質的に透明なポリマー層は、平面の犠牲層上に堆積され得る。マイクロキャリアから突出している 1 つまたはそれより多い柱を伴うマイクロキャリアの表面を生成するために、犠牲層 (例えば、基材上に堆積されたもの) は、例えば、標準的なリソグラフィのプロセスを使用することによって、1 つまたはそれより多い柱形状の穴または何もない領域でパターニングされ得る。いくつかの実施形態において、実質的に透明なポリマー層は、犠牲層および必要に応じた基材上に堆積され得、その結果、層は 1 つまたはそれより多い柱形状の穴または何もない領域中に堆積される。いくつかの実施形態において、別の実質的に透明なポリマー層は、次いで、犠牲層と、第一の実質的に透明なポリマー層で充填された 1 つまたはそれより多い柱形状の穴または何もない領域との上に堆積され得る。

30

40

【0106】

いくつかの実施形態において、本開示の磁性の実質的に不透明な層は、実質的に透明なポリマー層の第一の表面上に堆積される。いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、スパッタリングによって堆積される。磁性の実質的に不透明な層は、例えば、本明細書に記載されている磁性材料のいずれかで作製され得る。例えば、いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、ニッケル (例えば、ニッケル元素、またはその合金) を含む。

【0107】

いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、エッチングされ、実質的

50

に透明なポリマー層の中心部分上に堆積されている磁性の実質的に不透明な層の一部を除去し得る。磁性の実質的に不透明な層は、本分野において公知の任意の方法によってエッチングされ得る。例えば、いくつかの実施形態において、磁性の実質的に不透明な層は、慣習的なウェットエッチングによってエッチングされている。磁性の実質的に不透明な層に関する例示的な寸法、形状、および必要に応じた非対称は、上で提供されている。

【0108】

いくつかの実施形態において、本開示の第二の実質的に透明なポリマー層は、磁性の実質的に不透明な層上に堆積されている。いくつかの実施形態において、第二の実質的に透明なポリマー層は、互いに平行な、第一の表面および第二の表面（例えば、単一層の上面および下面）を有する。いくつかの実施形態において、第二の表面は、磁性の実質的に不透明な層に貼り付けられておる。いくつかの実施形態において、第二の実質的に透明なポリマー層は、第一の実質的に透明なポリマー層と整列しており、実質的に透明なポリマー層の中心部分と整列している中心部分を有する。実質的に透明なポリマー層の中心部分に関する例示的な寸法は、上で提供されている。

10

【0109】

いくつかの実施形態において、本開示の実質的に不透明なポリマー層は、第二の実質的に透明なポリマー層の第一の表面上に堆積されている。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層は、第一の実質的に透明なポリマー層および第二の実質的に透明なポリマー層の中心部分を囲む。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層は、アナログコードを表す二次元形状を含む。本明細書において記載されている、または例示されている二次元形状のいずれか、例えば、本開示のギア形状が、使用され得る。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層は、第二の実質的に透明なポリマー層上に堆積されており、（例えば、標準的なリソグラフィーのプロセスを使用して）所望の二次元形状にエッチングされる。

20

【0110】

いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い柱は、実質的に透明なポリマー層上、例えば、第二の実質的に透明なポリマー層の第一の表面上の実質的に不透明なポリマー層によって覆われていない部分に堆積され得る。1つまたはそれより多い柱は、例えば、標準的なリソグラフィーのプロセスを使用して、本明細書において記載されているように堆積され得る。

30

【0111】

本開示の必要に応じた犠牲層および／または基材を利用するいくつかの実施形態において、溶媒を使用して、犠牲層が、溶解され、もしくははがされ、かつ／または基材が、除去され得る。（例えば、標準的な半導体またはMEMS作製プロセス、例えば、フォトレジスト除去における）作製に有用な種々の溶媒は、本分野において公知である。いくつかの実施形態において、溶媒は、DMSOまたは1-メチル-2-ピロリドン（NMP）を基にした溶媒などのフォトレジスト剥離溶媒である。いくつかの実施形態において、溶媒は、AZ（登録商標）300T（AZ Electronic Materials; Somerville, NJ）などのAZ（登録商標）フォトレジスト剥離剤である。

【0112】

いくつかの実施形態において、方法は、本開示の犠牲層を本開示の基材上に堆積させることを含有する。犠牲層、基材、および適切な堆積方法は、例えば、上に記載されている。

40

【0113】

いくつかの実施形態において、本開示の実質的に不透明なポリマー層は、犠牲層上に堆積されている。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層は、互いに平行である、第一の表面および第二の表面（例えば、単一層の上面および下面）を有する。いくつかの実施形態において、第二の表面は、犠牲層に貼り付けられている。

【0114】

いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層の外形は、例えば、本明細

50

書において記載されているようなアナログコードを表す二次元形状に形成される。実質的に不透明なポリマー層は、本分野において公知の、または本明細書において記載されている任意の方法によって、例えば、スピコーティング、ソフトベーク、UV曝露、エッチングおよびハードベークが挙げられるが、それに限定されない標準的なリソグラフィのプロセスを使用して、形成される。

【0115】

いくつかの実施形態において、例えば、上記のような溶媒を使用して、犠牲層が、溶解され、もしくははがされ得、かつ／または基材が、除去され得る。

【0116】

他の実施形態において、本開示の磁性材料を含む磁性層は、犠牲層上に堆積されている。例示的な磁性材料、磁性層の形状／寸法、およびそれに関する堆積方法は、上に提供されている。例えば、いくつかの実施形態において、磁性層は、例えば、柱906によって示されているような1つまたはそれより多い柱に形成され得る。他の実施形態において、磁性層は、2つの不透明なポリマー層の間にあり得、例えば、磁性層704によって示されるように埋め込まれている。磁性材料は、例えば、本明細書において記載されている磁性材料のいずれを含有してもよい。例えば、いくつかの実施形態において、磁性材料は、ニッケル（ニッケル元素またはその合金）を含む。

【0117】

いくつかの実施形態において、本開示の実質的に不透明なポリマー層は、磁性層上に堆積される。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層は、互いに平行な、第一の表面および第二の表面（例えば、単一層の上面および下面）を有する。いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層の表面（例えば、第二の表面）は、磁性層に貼り付けられている。

【0118】

いくつかの実施形態において、実質的に不透明なポリマー層の外形は、例えば、上記のようなアナログコードを表す二次元形状に形成される。

【0119】

いくつかの実施形態において、例えば、上記のような溶媒を使用して、犠牲層が、溶解され、もしくははがされ得、かつ／または基材が、除去され得る。

【0120】

例示的なマイクロキャリアの形状、寸法および上記方法に適した必要に応じた特徴は、本開示を通して提供されている。

【0121】

いくつかの実施形態において、捕捉剤は、本開示のマイクロキャリア、例えば、本明細書において記載されているマイクロキャリアおよび／または本明細書において記載されている方法のいずれかによって生成されたマイクロキャリアに連結され得る。本明細書において記載されている捕捉剤のいずれか、または本明細書において記載されている分析物の捕捉に適している本分野において公知の捕捉剤は、本開示の方法および／またはマイクロキャリアにおいて有用であり得る。

【0122】

いくつかの実施形態において、捕捉剤は、本開示のポリマー層、例えば、本明細書において記載されている実質的に透明なポリマー層または実質的に不透明なポリマー層に連結され得る。いくつかの実施形態において、捕捉剤は、ポリマー層の第一の表面または第二の表面の一方または両方に連結され得る。いくつかの実施形態において、捕捉剤は、ポリマー層の少なくとも中心部分（例えば、本明細書において記載されているような中心部分）に連結され得る。いくつかの実施形態において、ポリマーは、エポキシを基にしたポリマーを含むか、そうでなければエポキシド基を含有する。

【0123】

いくつかの実施形態において、捕捉剤を連結することは、ポリマーを光酸ジェネレータおよび光と反応させて、架橋されたポリマーを生成することを伴う。いくつかの実施形態

10

20

30

40

50

において、光は、光酸ジェネレータを活性化する波長の光、例えば、UVまたは近紫外光である。光酸ジェネレータは、Sigma-Aldrich (St. Louis) および BASF (Ludwigshafen) から市販されている。本分野において公知の任意の適切な光酸ジェネレータが、使用され得、トリフェニルもしくはトリアリールスルホニウムヘキサフルオロアンチモネート；トリアリールスルホニウムヘキサフルオロホスフェート；トリフェニルスルホニウムペルフルオロ-1-ブタンスルホネート；トリフェニルスルホニウムトリフレート；トリス(4-tert-ブチルフェニル)スルホニウムペルフルオロ-1-ブタンスルホネートもしくはトリフレート；ビス(4-tert-ブチルフェニル)ヨードニウムペルフルオロ-1-ブタンスルホネート、p-トルエンスルホネート、およびトリフレートなどのビス(4-tert-ブチルフェニル)ヨードニウム含有光酸ジェネレータ；Boc-メトキシフェニルジフェニルスルホニウムトリフレート；(tert-ブトキシカルボニルメトキシナフチル)-ジフェニルスルホニウムトリフレート；(4-tert-ブチルフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；ジフェニルヨードニウムヘキサフルオロホスフェート、ニトレート、ペルフルオロ-1-ブタンスルホネート、トリフレート、もしくはp-トルエンスルホネート；(4-フルオロフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；N-ヒドロキシナフタルイミドトリフレート；N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシイミドペルフルオロ-1-ブタンスルホネート；(4-ヨードフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；(4-メトキシフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；2-(4-メトキシシチリル)-4, 6-ビス(トリクロロメチル)-1, 3, 5-トリアジン；(4-メチルフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；(4-メチルチオフェニル)メチルフェニルスルホニウムトリフレート；(4-フェノキシフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；(4-フェニルチオフェニル)ジフェニルスルホニウムトリフレート；またはproduct-finder.basf.com/group/corporate/product-finder/de/literature-document:/Brand+Irgacure-Brochure-Photoacid+Generator+Selection+Guide-English.pdfにおいて記載されている光酸ジェネレータのいずれかが挙げられるが、それに限定されない。いくつかの実施形態において、光酸ジェネレータは、スルホニウム含有光酸ジェネレータである。

【0124】

いくつかの実施形態において、捕捉剤を連結することは、架橋されたポリマーのエポキシドを官能基、例えば、アミン、カルボキシル、チオールなどと反応させることを伴う。あるいは、表面上のエポキシ基は、ヒドロキシル基に酸化され得、それは後に水溶性ポリマー、例えば、ポリ(アクリル酸)のグラフト重合の開始位置として使用される。ポリ(アクリル酸)中のカルボキシル基は、次いで、捕捉剤中のアミノ基またはヒドロキシル基と共有結合を形成するために使用される。

【0125】

いくつかの実施形態において、捕捉剤を連結することは、架橋されたポリマーのエポキシドをアミンおよびカルボキシルを含有する化合物と反応させることを伴う。いくつかの実施形態において、化合物のアミンは、エポキシドと反応し、化合物が連結された、架橋されたポリマーを形成する。理論に拘束されることを望むことなく、ポリマーが架橋される前に、捕捉剤はポリマーに連結され得ると考えられるが、しかしながら、これは生じる表面の均一性を減少させ得る。第一級アミンおよびカルボキシル基を伴う任意の化合物が、使用され得る。化合物としては、グリシン、アミノウンデカン酸、アミノカプロン酸、アクリル酸、2-カルボキシエチルアクリル酸、4-ビニル安息香酸、3-アクリルアミド-3-メチル-1-ブタン酸、グリシジルメタクリレートなどが挙げられ得るが、それに限定されない。いくつかの実施形態において、化合物が連結された、架橋されたポリマーのカルボキシルは、捕捉剤のアミン(例えば、第一級アミン)と反応し、捕捉剤を実質的に透明なポリマーに連結する。

【0126】

上記の方法に適した種々の捕捉剤および分析物の記載は、本開示を通して、例えば、上記のⅠⅠⅠ節および／または以下の実施例において見出され得る。

【0127】

V. マルチプレックスアッセイ

本開示のある局面は、コード化されたマイクロキャリア、例えば、本明細書において記載されているマイクロキャリアを使用することによって溶液中の分析物を検出するための方法に関する。本明細書、例えば、上記のⅠⅠⅠ節およびⅠⅤ節ならびに／または以下の実施例において記載されているマイクロキャリアの特徴または性質のうちの1つまたはそれより多くを含有するコード化されたマイクロキャリアを使用する分析物検出のための方法である。好都合なことに、これらのコード化されたマイクロキャリアは、改善されたマルチプレックスアッセイであって、伝統的なマルチプレックスアッセイと比較して、多数の可能性のある固有のマイクロキャリアおよび減少した認識エラーを伴う、マルチプレックスアッセイにおける分析物検出を可能にする。本明細書において使用されている分析物検出方法は、本分野において公知の、任意の適切なアッセイ容器、例えば、マイクロプレート、ペトリ皿、または任意の数の、他の周知のアッセイ容器内で実施され得る。

10

【0128】

いくつかの実施形態において、溶液中の分析物の検出のための方法は、第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させることであって、そこで、複数のマイクロキャリアは、第一の分析物を特異的に捕捉し、第一のアナログコードでコード化されている本開示の第一のマイクロキャリアと、第二の分析物を特異的に捕捉し、第二のアナログコードでコード化されている本開示の第二のマイクロキャリアとを少なくとも含む、接触させること；第一のアナログコードおよび第二のアナログコードを、アナログ形状認識を使用して解読し、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを識別すること；ならびに第一のマイクロキャリアに結合した第一の分析物の量および第二のマイクロキャリアに結合した第二の分析物の量を検出することを含む。

20

【0129】

いくつかの実施形態において、方法は、第一の分析物および第二の分析物を含む溶液を複数のマイクロキャリアと接触させることを含有する。いくつかの実施形態において、複数のマイクロキャリアは、（例えば、マイクロキャリアに連結されている、第一の分析物に特異的な捕捉剤を使用して）第一の分析物を特異的に捕捉する本開示の第一のマイクロキャリアであって、そこで、第一のマイクロキャリアが第一のアナログコードでコード化されている、第一のマイクロキャリア；および（例えば、マイクロキャリアに連結されており、第二の分析物に特異的な、捕捉剤を使用して）第二の分析物を特異的に捕捉する本開示の第二のマイクロキャリアであって、そこで、第二のマイクロキャリアが第一のアナログコードと異なる第二のアナログコードでコード化されている、第二のマイクロキャリアを含有し得る。いくつかの実施形態において、第一の分析物および第二の分析物は、異なり得る。他の実施形態において、第一の分析物および第二の分析物は、同一であり得、例えば、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアは、同一の分析物を重複して認識してもよいし（これは、例えば、品質管理の目的のために有用であり得る）、またはそれらは同一の分析物の別の領域を認識してもよい（例えば、同一の抗原の異なるエ

30

40

【0130】

本開示の方法は、任意の適切な溶液中の分析物を検出するために使用され得る。いくつかの実施形態において、溶液は、生物学的サンプルを含む。生物学的サンプルの例としては、血液、尿、痰、胆汁、脳脊髄液、皮膚または脂肪組織の間質液、唾液、涙、気管支肺胞洗浄、口腔咽頭分泌物、腸液、経膈部または子宮分泌物および精液が挙げられるが、それに限定されない。いくつかの実施形態において、生物学的サンプルは、ヒト由来であり得る。他の実施形態において、溶液は、生物学的サンプルでないサンプル、例えば、環境サンプル、研究室で調製されたサンプル（例えば、調製、単離、精製および／または合成された1つまたはそれより多い分析物を含有するサンプル）、固定されたサンプル（例え

50

ば、ホルマリン固定パラフィン包埋（またはFFPE）サンプル）などを含む。

【0131】

いくつかの実施形態において、分析は、多重であり、すなわち、それぞれの溶液（例えば、サンプル）は分析され、その結果シグナル放射実体からのシグナルは、少なくとも2つの目的の分析物、少なくとも3つの目的の分析物、少なくとも4つの目的の分析物、少なくとも5つの目的の分析物、少なくとも10つの目的の分析物、少なくとも15つの目的の分析物、少なくとも20つの目的の分析物、少なくとも25つの目的の分析物、少なくとも30つの目的の分析物、少なくとも35つの目的の分析物、少なくとも40つの目的の分析物、少なくとも45つの目的の分析物もしくは少なくとも50つの目的の分析物、またはそれより多くについて反応検出システムによって検出される。

10

【0132】

いくつかの実施形態において、方法は、第一のアナログコードおよび第二のアナログコードをアナログ形状認識を使用して解読し、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを識別することを含有する。概念的には、この解読は、それぞれのマイクロキャリア（例えば、溶液またはサンプル中）のアナログコードをイメージングすること、それぞれの画像をアナログコードのライブラリーと比較すること、およびそれぞれの画像をライブラリーからの画像と一致させることを伴い得、そうすることで最終的にコードを識別する。本明細書において記載されている場合、必要に応じて、方向インジケータ（例えば、非対称）を含有するマイクロキャリアを使用するとき、解読は、それぞれの画像を回転させ、特定の方向に整列させる（部分的には、例えば、方向インジケータに基づいて）工程をさらに含有し得る。例えば、方向インジケータがギャップを含有する場合、画像は、ギャップが前もって決められた位置または方向（例えば、画像の0°の位置）に達するまで回転され得る。

20

【0133】

種々の形状認識ソフトウェア、ツールおよび方法が、本分野において公知である。そのようなAPIおよびツールの例としては、Microsoft（登録商標）Research Face SDK、OpenBR、Face and Scene Recognition from ReKognition、Betaface API、および種々のImageJのプラグインが挙げられるが、それに限定されない。いくつかの実施形態において、アナログ形状認識としては、画像プロセッシング工程、例えば、前景抽出、形状検出、二値化（例えば、自動または手動の画像二値化）などが挙げられ得るが、それに限定されない。

30

【0134】

本明細書において記載されている方法およびマイクロキャリアは、顕微鏡、プレートリーダーなどが挙げられるが、それに限定されない種々のイメージング装置に適応され得ることは、当業者によって認識される。いくつかの実施形態において、アナログコードを解読することは、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの実質的に透明な部分（例えば、実質的に透明なポリマー層）ならびに／または周囲の溶液に光を通すことによって第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアを照射することを含有し得る。次いで、光は、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアの実質的に不透明な部分（例えば、実質的に不透明なポリマー層）を通らなくてもよいし、またはより低い強度もしくは他の明らかな差を伴って通ってもよく、第一のマイクロキャリアに対応する第一のアナログコード化光パターンおよび第二のマイクロキャリアに対応する第二のアナログコード化光パターンを生成する。

40

【0135】

上記のように、任意のタイプの光学顕微鏡が、本開示の方法のために使用され得、当該光学顕微鏡は、明視野、暗視野、位相差、微分干渉コントラスト（DIC）、ノルマスキー型干渉コントラスト（NIC）、ノルマスキー、ホフマンモジュレーションコントラスト（HMC）、または蛍光顕微鏡のうちの1つまたはそれより多くを、それに限定することなく含有する。ある実施形態において、アナログコードは、明視野顕微鏡を使用するこ

50

とで解読され得、分析物は、蛍光顕微鏡を使用することで検出され得る。

【0136】

いくつかの実施形態において、アナログコードを解読することは、第一のアナログコード化光パターンをイメージングし、第一のアナログコード化画像を生成すること、および第二のアナログコード化光パターンをイメージングし、第二のアナログコード化画像を生成することをさらに含有し得る。すなわち、イメージングされた光のパターンは、マイクロキャリアの実質的に透明／実質的に不透明な領域のパターンに対応し得、そうすることでアナログコードの画像を生成する。このイメージングは、画像を捕捉すること、画像を二値化すること、およびアナログコードのより正確な、精密な、または左右されない（robust）イメージングを達成するために所望の他の任意の画像プロセッシング工程が挙げられるが、それに限定されない工程を含有し得る。

10

【0137】

いくつかの実施形態において、アナログコードを解読することは、アナログコード認識を使用して、第一のアナログコード化画像を第一のアナログコードと一致させることおよび第二のアナログコード化画像を第二のアナログコードと一致させることをさらに含有し得る。いくつかの実施形態において、画像は、前もって決められた閾値内、例えば、画像と見本のアナログコードの画像との間の偏差および mismatches の前もって決められた量を容認する、閾値内で、アナログコード（例えば、それぞれの画像ファイルが固有の二次元形状／アナログコードに対応する画像ファイルのライブラリーからの画像ファイル）と一致させられ得る。そのような閾値は、経験的に決定されてもよいし、当然ながら、アナログコードのために使用された特定のタイプの二次元形状および可能性のある二次元形状のセット間の変動の程度に基づいてもよい。

20

【0138】

いくつかの実施形態において、方法は、第一のマイクロキャリアに結合した第一の分析物の量および第二のマイクロキャリアに結合した第二の分析物の量を検出することを含有する。本分野において公知の、任意の適切な分析物検出技術が、使用され得る。例えば、いくつかの実施形態において、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアは、1つまたはそれより多い検出剤と共にインキュベートされ得る。いくつかの実施形態において、1つまたはそれより多い検出剤は、第一のマイクロキャリアによって捕捉された第一の分析物および第二のマイクロキャリアによって捕捉された第二の分析物に結合する。いくつかの実施形態において、方法は、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量を測定することをさらに含有する。

30

【0139】

いくつかの実施形態において、溶液（生物学的サンプルなど）中の分析物は、捕捉剤と結合する際に検出可能なシグナルを放射できる検出剤（例えば、シグナル放射実体）で標識され得る。いくつかの実施形態において、検出剤は、比色を基にしたものであり得る。他の実施形態において、検出剤は、フィコエリスリン、青色蛍光タンパク質、緑色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質、シアン蛍光タンパク質、およびその誘導体が挙げられるが、それに限定されない蛍光を基にしたものであり得る。他の実施形態において、検出剤は、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{22}Na 、 ^{36}Cl 、 ^2H 、 ^3H 、 ^{35}S 、および ^{123}I で標識された分子が挙げられるが、それに限定されない放射性同位体を基にしたものであり得る。他の実施形態において、検出剤は、ルシフェラーゼ（例えば、化学発光を基にしたもの）、西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびその誘導体が挙げられるが、それに限定されない光を基にしたものである。いくつかの実施形態において、溶液中に存在する生体分子または化学化合物は、マイクロキャリア組成物と接触させる前に検出剤で標識され得る。他の実施形態において、溶液中に存在する生体分子または化学化合物は、マイクロキャリア組成物と接触させた後に検出剤で標識され得る。さらに他の実施形態において、検出剤は、目的の分析物に特異的に結合する分子または巨大分子構造、例えば、DNA分子、DNAアナログ分子、RNA分子、RNAアナログ分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、酵素、脂質、リン脂質、糖鎖、多糖、抗原、ウイルス、細胞、抗

40

50

体、小分子、細菌細胞、細胞内小器官および／または抗体断片に連結され得る。

【0140】

いくつかの実施形態において、検出剤は、蛍光性の検出剤であり、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は、蛍光顕微鏡（例えば、蛍光性の顕微鏡またはプレートリーダー）によって測定される。他の実施形態において、検出剤は、発光性の検出剤であり、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアに結合した検出剤の量は、発光顕微鏡（例えば、発光性の顕微鏡またはプレートリーダー）によって測定される。

【0141】

いくつかの実施形態において、それぞれの分析物／捕捉剤は、特異的な検出剤と共に使用され得る。非限定的な例として、検出剤は、分析物に特異的に結合する抗体；または、分析物がリガンドー受容体ペアの同起源のリガンド／受容体である場合、リガンドー受容体ペアのリガンドもしくは受容体に連結された検出剤（例えば、蛍光、発光、酵素、もしくは他の検出剤）であり得る。この技術は、捕捉抗体および検出抗体を含有するサンドウィッチELISAまたはタンパク質マイクロアレイと概念的に類似する（この場合、この例における薬剤は厳密に抗体に限定されないことは注意されるべきであるが）。別の非限定的な例として、検出剤は、蛍光性の、または他の検出可能な、目的のタンパク質、例えば、標識された目的の分析物に連結されたプローブであり得る。例えば、目的の溶液（例えば、サンプル）において、検出剤を1つまたはそれより多いタンパク質に連結する反応が使用され得、それは、次いで、捕捉剤によって捕捉される（抗原捕捉タイプのタンパク質マイクロアレイと概念的に類似する）。

【0142】

他の実施形態において、複数の固有の分析物／捕捉剤が、普遍的な検出剤と共に使用され得る。非限定的な例として、検出剤は、分析物が抗体である場合、抗体のFc領域に結合する薬剤であり得；分析物がポリヌクレオチド、例えば、DNAまたはRNAである場合、オリゴヌクレオチドに連結された蛍光性の、または他の検出可能なプローブ（例えば、分析物とハイブリダイズする一本鎖オリゴヌクレオチド）であり得る。後者の概要は、マイクロアレイ技術と概念的に類似する。

【0143】

いくつかの実施形態において、検出工程は、1つまたはそれより多い洗浄工程、例えば、混入物を減少させるための洗浄工程、捕捉剤および／またはマイクロキャリアの表面に非特異的に結合した任意の物質を除去するための洗浄工程などを含有し得る。いくつかの実施形態において、本開示の磁性層または磁性材料を含有するマイクロキャリアを洗浄するために磁性分離工程が、使用され得る。他の実施形態において、本分野において公知の他の分離工程が、使用され得る。

【0144】

いくつかの実施形態において、解読工程は、検出工程の後に起こり得る。他の実施形態において、解読工程は、検出工程の前に起こり得る。さらに他の実施形態において、解読工程は、検出工程と同時に起こり得る。

【0145】

VI. キットまたは製品

本開示の複数のマイクロキャリアを含有するキットまたは製品が、本明細書においてさらに提供される。これらのキットまたは製品は、マルチプレックスアッセイ、例えば、本明細書において記載されている例示的なマルチプレックスアッセイの実施において、とりわけ有用であり得る（例えば、上部のV節を参照されたい）。

【0146】

いくつかの実施形態において、キットまたは製品は、（例えば、マイクロキャリアに連結された、第一の分析物に特異的な捕捉剤を使用して）第一の分析物を特異的に捕捉する本開示の第一のマイクロキャリアであって、そこで、第一のマイクロキャリアは第一のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリア；および（例えば、マイクロキャ

10

20

30

40

50

リアに連結された、第二の分析物に特異的な捕捉剤を使用することで）第二の分析物を特異的に捕捉する本開示の第二のマイクロキャリアであって、そこで、第二のマイクロキャリアは第二のアナログコードでコード化されている、マイクロキャリアを含有し得る。いくつかの実施形態において、第一の分析物および第二の分析物は、異なり得る。他の実施形態において、第一の分析物および第二の分析物は、同一であり得、例えば、第一のマイクロキャリアおよび第二のマイクロキャリアは、同一の分析物を重複して認識し得、（これは、例えば品質管理の目的のために有用であり得る）、またはそれらは同一の分析物の別の領域を認識し得る（例えば、同一の抗原の異なるエピトープを認識する抗体）。キットまたは製品は、本明細書において記載されているマイクロキャリア（例えば、上記の I I I 節および下部の実施例を参照されたい）または本明細書において記載されている方法を使用して生成されたマイクロキャリア（例えば、上記の I V 節および下部の実施例を参照されたい）のいずれかを含有し得る。

10

【0147】

いくつかの実施形態において、キットまたは製品は、第一のマイクロキャリアに結合した第一の分析物の量および第二のマイクロキャリアに結合した第二の分析物の量を検出するための本開示の1つまたはそれより多い検出剤をさらに含有し得る。いくつかの実施形態において、第一の分析物のための検出剤は、第二の分析物のための検出剤と同一であり得る。他の実施形態において、第一の分析物のための検出剤は、第二の分析物のための検出剤と異なり得る

【0148】

20

いくつかの実施形態において、キットまたは製品は、このキットまたは製品を使用して1つまたはそれより多い分析物、例えば、第一の分析物および第二の分析物を検出するための説明書をさらに含有し得る。これらの説明書は、例えば、本明細書において記載されている方法のいずれかにおいてキットまたは製品を使用するためであり得る。

【0149】

いくつかの実施形態において、キットまたは製品は、1つまたはそれより多い検出剤（例えば、上記のような）に加えて、任意の説明書あるいは検出剤を1つもしくはそれより多い分析物に連結させるため、または分析物を認識する1つまたはそれより多い大分子に検出剤を連結させるために適切な薬剤をさらに含有し得る。キットまたは製品は、アッセイ（例えば、マルチプレックスアッセイ）においてマイクロキャリアを使用するための任意の追加の成分であって、プレート（例えば、96ウェルもしくは他の類似のマイクロプレート）、ディッシュ、スライドガラス、もしくは他の適切なアッセイ容器；非一時的なコンピュータ可読貯蔵媒体（例えば、アナログ形状またはコード認識のためのソフトウェアおよび／または説明書を含有する）；洗浄剤；緩衝液；プレートシーラー；混合容器；希釈剤または貯蔵溶液などを含有するが、それに限定されない、成分をさらに含有し得る。

30

【実施例】**【0150】****実施例**

本発明は、以下の実施例を参照することによってより完全に理解される。しかしながら、それらは、本発明の範囲を限定すると解釈されるべきではない。本明細書に記載されている実施例および実施形態は、例示のみを目的とし、それに照らして種々の改変および変更が、当業者に示唆され、本出願の精神および範囲ならびに添付された特許請求の範囲の範囲内に含有されることが、理解される。

40

【0151】

ここで、マルチプレックスアッセイ（例えば、分析物検出）のためのマイクロキャリアおよびそれらの生成方法に、注意を向ける。以下の実施例は、特に、本明細書において記載されている方法、アッセイ、およびキットまたは製品において有用であり得る、分析物検出のためのアナログコード化マイクロキャリアの例示的な実施形態を示す。これらの例示的な実施形態は、決して限定することを意図せず、本明細書において記載される性質お

50

よび特徴のいくつかを示すために提供されることは、注意されるべきである。

【0152】

実施例1：二次元のアナログコードおよび均一な形状を有するコード化されたマイクロキャリア

上記のように、アナログコード化されたマイクロキャリアは、莫大な数の可能性のある固有の識別子および減少した認識エラーにより、マルチプレックスアッセイに非常に好都合である。この実施例は、二次元形状でコード化された種々のタイプのマイクロキャリアを記載し、それは識別のためのアナログコードとして使用し得る。本開示のコード化されたマイクロキャリアは、任意の組み合わせで以下に記載の必要に応じた特徴のいくつかまたは全てを含有し得ることは理解されるべきである。

10

【0153】

図1Aおよび1Bは、例示的なマイクロキャリア100の2つの視図を示す。マイクロキャリア100は、直径が約50 μ mかつ厚さが10 μ mの円板である。図1Aは、円板の円形表面を見る、マイクロキャリア100の視図を提供し、他方で、図1Bは、図1Aにおいて示される表面と直交するマイクロキャリア100の側面視図を示す。マイクロキャリア100の2つの構成要素が示される。第一に、実質的に透明なポリマー層102が、マイクロキャリアの本体を提供する。層102を、例えば、上記のように、ポリマー、例えば、SU-8を使用して生成し得る。

【0154】

実質的に不透明な層104を、層102の表面に貼り付ける。図1Bにおいて示されるマイクロキャリア100の断面図は、層104の不連続な視図を示す一方で、図1Aにおいて示される視図は、層104が、複数の歯を伴う円形のギアのように形成されていることを示す。これらの歯の形状、数、大きさ、および間隔が二次元形状を構成し、歯のこれらの性質のうちの1つまたはそれより多くを、アナログコード化のための複数の二次元形状を生成するために改変してもよい。好都合なことに、層104の歯の外縁は、層102の外周内にうまくはまる。これは、種々のアナログコードが、マイクロキャリアの1種についてある固有の識別子をそれぞれ表すことを可能にし、他方でマイクロキャリアの複数種にわたって、均一な全体形状を維持する。別の方法で言うと、複数種の集団内のそれぞれのマイクロキャリア種は、異なる二次元ギア形状（すなわち、アナログコード）を有し得るが、それぞれのマイクロキャリアは、同一の外周を有し、物理的性質（例えば、大きさ、形状、溶液中の挙動など）のより大きな均一性をもたらす。層104を、例えば、上記のように、ポリマー、例えば、色素と混合されたSU-8を使用して、またはブラックマトリクス用レジストを使用して、生成してもよい。

20

30

【0155】

層104は、層102の中心部分106を囲む。分析物を捕捉するための捕捉剤を、層102の一方または両方の表面（すなわち、上面／下面）上で、少なくとも中心部分106に連結する。好都合なことに、これは、層104に起因する干渉に関するいずれの可能性も伴わずに、中心部分106をイメージングすることを可能にする。

【0156】

図1Cおよび1Dは、分析物検出のためのマイクロキャリア100を使用する例示的なアッセイを示す。図1Cは、マイクロキャリア100が、少なくとも中心部分106において、1つまたはそれより多い表面に連結されている捕捉剤108を含有し得ることを示す。マイクロキャリア100を、捕捉剤108に捕捉されている分析物110を含有する溶液と接触させる。上記のように、種々の捕捉剤を、小分子、核酸およびタンパク質（例えば、抗体）から細胞内小器官、ウイルスおよび細胞までの範囲の異なるタイプの分析物を捕捉するために使用してもよい。図1Cは、分析物110を捕捉する単一のマイクロキャリア種（すなわち、マイクロキャリア100）を示すが、マルチプレックスアッセイにおいて複数のマイクロキャリア種が使用されており、それぞれの種は、特定の分析物を認識する特定の捕捉剤を有する。

40

【0157】

50

図1Dは、マイクロキャリア100を「読む」ための例示的なプロセスを示す。このプロセスは、同時にまたは別々に達成され得る2つの工程を含有する。第一に、捕捉剤108による分析物110の捕捉を検出する。図1Dにおいて示される実施例において、検出剤114は、分析物110に結合する。マイクロキャリア100に連結されている捕捉剤によって捕捉されていない分析物を、検出の前に洗い落としてもよく、その結果、マイクロキャリア100に結合した分析物だけが検出される。検出剤114はまた、検出のための試薬も含有する。一例として、検出剤114は、フルオロフォアの励起スペクトル内の波長の光116によって励起される場合、光118（例えば、光子）を放射するフルオロフォアを含有し得る。光118を、任意の適切な検出方法、例えば、蛍光顕微鏡、プレートリーダーなどによって検出してもよい。

10

【0158】

さらに、マイクロキャリア100を、その固有の識別子について読む。図1Dにおいて示される実施例において、光112を、マイクロキャリア100を含有する領域を照射するために使用する（いくつかの実施形態において、光112は、光116および光118と異なる波長を有し得る）。光112がマイクロキャリア100を含有する領域を照射する場合、図1Dにおいて示されるように、光は実質的に透明なポリマー層102を通過するが、実質的に不透明なポリマー層104によって妨げられる。これは、例えば、光学顕微鏡によって（例えば、微分干渉コントラスト、つまりDIC、顕微鏡を使用して）イメージングされ得る光パターンを生成する。この光パターンは、マイクロキャリア100の二次元形状（すなわち、アナログコード）に基づく。標準的な画像認識技術を、マイクロキャリア100の画像によって表されているアナログコードを解読するために使用してもよい。

20

【0159】

分析物検出および識別子イメージング工程は、任意の順番で、または同時に起こり得る。好都合なことに、図1Dにおいて示される両方の検出工程は、1つのイメージング装置上で達成され得る。一例として、蛍光顕微鏡および光学（例えば、明視野）顕微鏡の両方であり得る顕微鏡を、マイクロキャリア100に結合した分析物110の量を定量するために（例えば、検出剤114によって検出されるような）、および層102および層104によって創出されたアナログコードをイメージングするために使用してもよい。これは、より少ない設備要求でのより効率的なアッセイプロセスを可能にする。

30

【0160】

次に、図2Aおよび図2Bに注意を向けると、別の例示的なマイクロキャリア200が示される。マイクロキャリア100のように、マイクロキャリア200は、実質的に透明なポリマー層202および実質的に不透明なポリマー層204を含有する。さらに、マイクロキャリア200は、磁性層206を含有する。図2Aにおいて示されるように、磁性層206を、中心部分208と実質的に不透明な層204との間の輪のように形成してもよい。

【0161】

図2Bは、磁性層206を層202内に埋め込んでもよいことを示す。層202はまた、1つより多い層を含有し得、その結果、磁性層は2つの実質的に透明なポリマー層の間に挟まれる（例えば、図2Bのように）。あるいは、磁性層206を、層202の表面であって、層204と同一の表面に貼り付けてもよく、または磁性層206を、層202の表面であって、層204と反対の表面に貼り付けてもよい。いくつかの実施形態において、磁性層206は、ニッケルを含有し得る。

40

【0162】

磁性層206は、マイクロキャリア200に磁性の性質を与え、それは、好都合なことに、多くの適用のために使用し得る。例えば、マイクロキャリア200を、洗浄工程中に磁気引力によって表面に貼り付けてもよく、マイクロキャリアを失う、またはそうでなければ崩壊させることなく有効な洗浄を可能にする。

【0163】

50

磁性の性質に加えて、層 206 はまた、実質的に不透明でもある。図 1 D において示されるようにイメージングする場合（例えば、光 112 を使用して）、層 206 は、伝導された光を、一部または全部のいずれかで妨げ、それによって、イメージングに関するパターンを創出する。図 2 A において示されるように、層 206 はまた、非対称であり、本実施例において、ギャップ 210 を含有する。この非対称は、例えば、光 112 を使用して図 1 D において示されるようにイメージングされ得る方向インジケータを創出する。好都合なことに、方向インジケータは、層 204 をイメージングすることによって創出された二次元形状を、より容易なアナログコード認識のために均一な方向に方向付けるために画像認識中に利用され得る。これは、任意の方向でイメージングされるマイクロキャリアを、解読することを可能にする。

10

【0164】

図 3 は、図 1 A ～ 図 2 B において示されるギア形状を使用した膨大な数の可能な可能性のあるアナログコードを示す。図 3 は、例示的なコード化スキームを示し、スキームにおいて複数の形状変動点、例えば、例示的なマイクロキャリア 300 上の位置 302、304、306、308、310、312、314、316、318、320、322、324、326 および 328 が標識されている。たとえ単純な「充填されているか、または充填されていないか」のスキームを使用する場合であったとしても、 2^{14} 個までの固有のコードが、14 つの形状変動点の使用に基づいて可能である。このスキームは、画像認識分析で容易に区別できる二次元形状の製造および生成の両方で便利である。しかしながら、アナログコード化を使用するので、2 つより多い可能性（例えば、図 3 において標識されるようなそれぞれの形状変動点において）を使用する、より複雑なスキームが可能であり、それによって、固有の識別子の数を指数関数的に拡大させる。例えば、複数の歯の形状および／または歯の複数の大きさが可能である。図 1 A ～ 3 において示されるような二次元ギア形状は、広範囲の固有のアナログコードを容易にする一方で、分析物検出のための大きな中心部分（例えば、中心部分 106 および中心部分 208）を提供する。

20

【0165】

図 4 A は、図 3 において示されるコード化スキームの 3 つの例示的な実施形態：マイクロキャリア 400、マイクロキャリア 402 およびマイクロキャリア 404 を示す。マイクロキャリア 400、マイクロキャリア 402 およびマイクロキャリア 404 の固有のコードは、図 3 の単純な「充填されているか、または充填されていないか」のスキームを使用して生成する。図 4 B は、特に、形状の数（例えば、ZN__10 における 7 つの異なる形状と比較して、コード ZN__3 における 2 つの異なる形状）および／または形状の大きさ（例えば、コード ZN__2 における大きい、小さい、中間の大きさの形状）に関するコード（code）の 10 の例示的な実施形態を示す。重要なことは、上記のように、より複雑なコード化スキームが、アナログ画像認識を使用して利用可能であり、それによって、可能性のある固有のコードの数をおおいに拡大させる。

30

【0166】

次に、図 5 A および 5 B に注意を向けると、別の例示的なマイクロキャリア 500 が示される。マイクロキャリア 200 のように、マイクロキャリア 500 は、実質的に透明なポリマー層 502、実質的に不透明なポリマー層 504、磁性層 506 および中心部分 508 を含有する。さらに、マイクロキャリア 500 は、柱 510 を含有する 4 つの柱を有し、それは層 502 の表面から伸びる任意の形状の柱であり得る。図 5 A において示されるように、これらの柱は、磁性層 506 と整列して配置してもよく、中心部分 508 における分析物検出、または層 504 の二次元形状（すなわち、アナログコード）を読むことへの任意の可能性のある干渉を予防する。図 5 B は、これらの柱がマイクロキャリア 500 の上面および下面から伸び得ることを示す。柱 510 を、例えば、層 502 と同一な実質的に透明なポリマーを使用して作製してもよい（例示的な生成方法は下に記載される）。好都合なことに、1 つまたはそれより多い柱、例えば、柱 510 は、例えば、光学的接触結合を介して、マイクロキャリアが互いに、かつ／または容器（例えば、マルチウェルプレートのウェルの側面）にくっつくことを予防するために使用され得る。

40

50

【0167】

実施例2：マイクロキャリア形状中にコード化された二次元アナログコードを伴うマイクロキャリア

前の実施例は、アナログコードが透明なポリマー層に貼り付けられている不透明な層によって提供されるマイクロキャリアの複数の例示的な実施形態を示す。例えば、マイクロキャリアの異なる種間のより大きな均一性を可能にすることにおいて、これは好都合である（すなわち、それぞれが、透明なポリマー層によって提供されている同一の外周の形状を有する）。

【0168】

しかしながら、他の理由に関して、マイクロキャリア自体の外周をアナログコード化のための二次元形状として使用することは好都合であり得る。例えば、アナログコードがマイクロキャリア自体の形状によって提供されている場合、1つの層のみが必要とされ、それによって、製造プロセスを能率化する。さらに、マイクロキャリアの外周を形成することは、高い精度の製造技術によって達成され得、より正確な画像認識のための高い再現性のある形状を可能にする。

【0169】

図6Aおよび6Bは、このタイプの例示的なマイクロキャリア600を示す。マイクロキャリア600は、直径が約80 μ mかつ高さが15 μ mのギア形状の円板であり、必要に応じた柱要素（上記のような柱510と類似）を含有する。マイクロキャリア600は、別個の透明なポリマー層および不透明なポリマー層よりむしろ、単一の不透明なポリマー層602で作製されている。マイクロキャリア600を、図1Dにおいて示されるようにイメージングしてもよいが、そのアナログコードは、全体のマイクロキャリアの形状（例えば、不透明なポリマー層の外周）に基づいてイメージングする。マイクロキャリア600の一方または両方の表面を、上記のような捕捉剤の連結のために使用してもよく、かつ中心部分または全体の表面を、使用してもよい。

【0170】

図6Cは、マイクロキャリア600の歯604の寸法を示す。示されるように、この実施形態において、歯604は、4 μ mの幅であり、隣接する歯606から4 μ mだけ離れている。マイクロキャリア600の二次元形状はアナログコード化されているため、隣接する歯の間の外周の長さは変動し得、複数の歯の形状を可能にする。例えば、歯604は、それぞれ、すぐ左または右に隣接する外周区画と比較して、高さが4 μ mまたは6.5 μ m伸びている。

【0171】

図7は、このタイプのマイクロキャリアの別の実施形態、マイクロキャリア700を示す。マイクロキャリア600のように、マイクロキャリア700は不透明なポリマー層702から作製されている。さらに、マイクロキャリアは、磁性層704を含有する。磁性層704を、マイクロキャリア700の一方の表面に貼り付けてもよく、またはマイクロキャリア700内に埋め込んでもよい（例えば、2つの不透明なポリマー層の間）。磁性層704を、例えば、ニッケルを堆積することによって生成してもよい。上記のように、磁性層は、さらなる機能性、例えば、別の表面に磁気によって付着させながらマイクロキャリア700を洗浄することについての選択肢を可能にする。

【0172】

次に、図8Aに注目すると、別の例示的なマイクロキャリア800が示される。マイクロキャリア700のように、マイクロキャリア800は、不透明なポリマー層802（および必要に応じて、磁性層、例えば層704）を含有する。さらに、マイクロキャリア800は、開始位置804を含有し、それはマイクロキャリア800の残りの外周と異なる形状を有する。開始位置804を、図2Aにおいて示されているギャップ210への言及において上で記載されているように、画像認識のための方向インジケータとして使用してもよい。

【0173】

図 8 B は、使用され得るコード化スキームを示す。図 8 B は、マイクロキャリア 8 1 0 を示し、それは、マイクロキャリア 8 0 0 同様に、不透明なポリマー層 8 1 2 および開始位置 8 1 4（ならびに、必要に応じて磁性層、例えば層 7 0 4）を含有する。このスキームにおいて、ギア周囲の可能性のある形状変動点を、例えば、位置 8 2 0、8 2 2、8 2 4、8 2 6、8 2 8、8 3 0、8 3 2、8 3 4、8 3 6、8 3 8、8 4 0、8 4 2 および 8 4 4 において標識している。図 8 B において示されるように、たとえ 2 つの可能性のある形状のみが、位置 8 2 0、8 2 2、8 2 4、8 2 6、8 2 8、8 3 0、8 3 2、8 3 4、8 3 6、8 3 8、8 4 0、8 4 2 および 8 4 4 に関して使用され得るとしても、この実施形態は、 2^{13} 個までの固有のコードを可能にする。さらに、上記のように、アナログコード化の使用は、外周の周囲の指示した位置のいずれかまたは全てにおいて（例えば、図 8 B において標識されているようなそれぞれの形状変動点において）2 つより多い可能性のある形状の使用を可能にすることによって、この数をおおいに拡大させる。

【0174】

図 9 A ~ 9 C は、マイクロキャリア 9 0 0 におけるさらに別の可能性のある実施形態を示す。マイクロキャリア 8 0 0 のように、マイクロキャリア 9 0 0 は、不透明なポリマー層 9 0 2 および開始位置 9 0 4（ならびに、必要に応じて、磁性層、例えば層 7 0 4）を含有するギア形状のマイクロキャリアである。さらに、マイクロキャリア 9 0 0 は、マイクロキャリア 9 0 0 の一方または両方の表面に貼り付けられている 1 つまたはそれより多い柱（例えば、柱 9 0 6）を有し得る。図 9 B 中の断面図において示されるように、柱 9 0 6 は、層 9 0 2 の表面から伸びる。好都合なことに、柱 9 0 6 は、光学的接触結合の可能性の減少に役立つ（柱 5 1 0 への言及において上で記載されているように）。

【0175】

図 9 C は、柱 9 0 6 の寸法を示す。この実施例において、柱 9 0 6 は、高さが $3\text{ }\mu\text{m}$ かつ直径が $3\text{ }\mu\text{m}$ の円柱であるが、上記のように、かかる柱は円柱状の形状に決して限定されない。いくつかの実施形態において、柱 9 0 6 を、磁性材料、例えば、ニッケルで作製する。これは、柱 9 0 6 が、上記のように、マイクロキャリア 9 0 0 の磁性操作のための磁性要素としてさらに機能することを可能にする。

【0176】

実施例 3：マイクロキャリア形状中にコード化された二次元アナログコードを伴うマイクロキャリアの生成方法

前の実施例において複数のタイプのマイクロキャリアの例示的な実施形態を記載したため、次にマイクロキャリアを生成する方法に注目を向ける。上記のように、本開示のマイクロキャリアは、所望の形態および／または必要に応じた特徴に依存して、1 つ、2 つまたはそれより多い構成層で作製してもよい。

【0177】

図 1 0 において示されるプロセス 1 0 0 0 は、単一層のマイクロキャリア、例えば、上記実施例 2 において記載されている層の製造のための例示的なワークフローを示す。ブロック 1 0 0 2 において、犠牲層 1 0 0 6 を、基材 1 0 0 4 上に構築する。いくつかの実施形態において、基材 1 0 0 4 は、ガラス基材であり得る。ブロック 1 0 1 0 において、層 1 0 1 2 を、犠牲層 1 0 0 6 上に堆積させる。いくつかの実施形態において、層 1 0 1 2 は、不透明なポリマー層である。ブロック 1 0 2 0 において、層 1 0 1 2 の外周を、リソグラフィーを使用してギア形状（上記のような）に形成して、ギア形状の層 1 0 2 2 を生成する。ブロック 1 0 3 0 において、全体の構造（すなわち、層 1 0 2 2、犠牲層 1 0 0 6 および基材 1 0 0 4）を、溶媒中に浸す。この溶媒処理は、犠牲層 1 0 0 6 を溶解し、基材 1 0 0 4 からギア形状の層 1 0 2 2 を放出し、それによってマイクロキャリア 1 0 3 2 を生成する。いくつかの実施形態において、マイクロキャリア 1 0 3 2 を、例えば、捕捉剤を一方または両方の表面に連結することによってさらに改変してもよい。

【0178】

上記実施例 2 において記載されているように、ギア形状のマイクロキャリアは、必要に応じた要素、例えば、磁性成分（例えば、柱および／または磁性層）を含有し得る。図 1

1 Aおよび1 1 Bにおいて示されるプロセス1 1 0 0は、1つまたはそれより多い磁性成分を伴うギア形状のマイクロキャリアの製造のための例示的なワークフローを示す。

【0 1 7 9】

図1 1 Aにおいて示されるように、ブロック1 1 0 2において、犠牲層1 1 0 6を、基材1 1 0 4上に構築する。いくつかの実施形態において、基材1 1 0 4は、ガラス基材であり得る。ブロック1 1 1 0において、磁性層1 1 1 2を、犠牲層1 1 0 6上に堆積させる。いくつかの実施形態において、磁性層1 1 1 2は、ニッケルを含有する。ブロック1 1 2 0において、磁性層1 1 1 2を、リソグラフィーによって、形成された磁性層1 1 2 2に形成する。形成された磁性層1 1 2 2は、任意の所望の形状を取り得、例えば、図9 Aにおいて柱9 0 6で示されるような、1つまたはそれより多い柱に形成してもよい。

10

【0 1 8 0】

図1 1 Bにおいて示されるように、ブロック1 1 3 0において、実質的に不透明なポリマー層1 1 3 2を、形成された磁性層1 1 2 2および犠牲層1 1 0 6上に堆積させる。ブロック1 1 4 0において、層1 1 3 2の外周を、リソグラフィーによってギア形状の実質的に不透明な層1 1 4 2（例えば、図6 A～9 Aにおいて示されるギア形状のうちの1つ）に形成する。ブロック1 1 5 0において、全体の構造（すなわち、層1 1 4 2、形成された磁性層1 1 2 2、犠牲層1 1 0 6および基材1 1 0 4）を、溶媒中に浸す。この溶媒処理は、犠牲層1 1 0 6を溶解し、基材1 1 0 4からギア形状の層1 1 4 2および形成された磁性層1 1 2 2を放出して、それによってマイクロキャリア1 1 5 2を生成する。いくつかの実施形態において、マイクロキャリア1 1 5 2を、例えば、捕捉剤を一方または

20

【0 1 8 1】

実施例4：二次元アナログコードおよび均一な形状を伴うコード化されたマイクロキャリアを生成する方法

次に、1つまたはそれより多い実質的に透明なポリマー層および1つまたはそれより多い実質的に不透明なポリマー層を伴うコード化されたマイクロキャリア、例えば、実施例1において記載されているマイクロキャリアを生成する方法に注目を向ける。図1 2 A～1 2 Eは、プロセス1 2 0 0、実質的に透明なポリマー層、実質的に不透明なポリマー層（当該層の二次元形状がアナログコードを構成する）および1つまたはそれより多い柱を伴うマイクロキャリアの製造のための例示的なワークフローを示す。

30

【0 1 8 2】

図1 2 Aから始めて、ブロック1 2 0 2において、犠牲層1 2 0 6を、基材1 2 0 4上に堆積させる（例えば、スピンコーティングによって）。いくつかの実施形態において、基材1 2 0 4は、ガラス基材であり得る。ブロック1 2 0 8において、マスク1 2 1 0を適用し、犠牲層1 2 0 6をUV光に曝露する。UV光を、マスク1 2 1 0を介して適用し、UV光セグメント1 2 1 2およびUV光セグメント1 2 1 4が犠牲層1 2 0 6を通過し、そして犠牲層1 2 0 6を処理することを可能にする。ブロック1 2 1 6において、標準的なリソグラフィーの開発を介する構造の開発の後、犠牲層1 2 0 6を、UV処理のマスキングの結果として形成された犠牲層1 2 1 8に形成する。

【0 1 8 3】

40

プロセス1 2 0 0はブロック1 2 2 0（図1 2 B）において続き、そこで、形成された犠牲層1 2 1 8においてマスキングされた穴を、実質的に透明なポリマーで充填し、柱1 2 2 2および柱1 2 2 4を創出する。ブロック1 2 2 6において、実質的に透明なポリマー層1 2 2 8を、柱1 2 2 2および柱1 2 2 4ならびに形成された犠牲層1 2 1 8上に堆積させる。

【0 1 8 4】

プロセス1 2 0 0はブロック1 2 3 0（図1 2 C）において続き、そこで、磁性層1 2 3 2を、層1 2 2 8上に堆積させる。いくつかの実施形態において、磁性層1 2 3 2は、ニッケルを含有する。いくつかの実施形態において、磁性層1 2 3 2は、スパッタリングによって堆積させる。ブロック1 2 3 4において、エッチングブロック層を、エッチング

50

ブロック1236およびエッチングブロック1238によって表されているように、磁性層1232上に堆積させる。ブロック1240において、磁性層1232のブロックされていない区画をエッチングし、形成された磁性層1242を生成する。いくつかの実施形態において、形成された磁性層1242は、層1228の中心部分を囲む環状の形状（方向の指標のための必要に応じた非対称を伴う）に形成してもよい（例えば、図2Aにおける層206を参照されたい）。ブロック1244において、エッチングブロック層（エッチングブロック1236およびエッチングブロック1238によって表されているような）を除去する。

【0185】

プロセス1200はブロック1246（図12D）において続き、そこで、実質的に透明なポリマー層1248を、層1228および層1242上に堆積させる（エッチングブロックによって創出された層1242中のいずれの穴も充填する）。ブロック1250において、実質的に不透明な層1252を、層1248の上に堆積させ、リソグラフィーによって形成する。いくつかの実施形態において、層1252は、磁性層1242を囲む輪における1つまたはそれより多い歯をとまって形成される（例えば、図2Aの層202および層206ならびに中心部分208との関係において層204を参照されたい）。

【0186】

プロセス1200はブロック1254（図12E）において続き、そこで、柱1256および柱1258は、リソグラフィーによって層1248上に形成する。いくつかの実施形態において、柱1256および柱1258を、実質的に透明なポリマーで作製する。いくつかの実施形態において、柱は、図5Aおよび図5Bにおいて示されるように置く。ブロック1260において、基材1204を、同一形状の1つまたはそれより多いマイクロキャリアに切断する（すなわち、説明の平易さのために、ただ1つのマイクロキャリアが図12A～12Eにおいて記載されているが、プロセス1200において、1つより多いマイクロキャリアが基材1204上に構築され得る）。また、ブロック1260において、全体の構造（すなわち、1204、1218、1222、1224、1228、1242、1248、1252、1256および1258を含有する）を、溶媒に浸す。この溶媒処理は、犠牲層1218を溶解し、マイクロキャリア1262を基材1204から放出する。いくつかの実施形態において、マイクロキャリア1262を、例えば、捕捉剤を一方または両方の表面に連結することによってさらに改変してもよい。

【0187】

図13A～13Cは、プロセス1300、異なるタイプの複数層のマイクロキャリアの生成のための例示的なワークフローを示す。図13Aから始めて、ブロック1302において、犠牲層1306を、基材層1304上に堆積させる。いくつかの実施形態において、基材1304は、ガラス基材である。ブロック1308において、実質的に透明な層1310を、犠牲層1306上に堆積させる。ブロック1312において、磁性層1314を、層1310上に堆積させる。いくつかの実施形態において、磁性層1314は、ニッケルを含有する。

【0188】

プロセス1300はブロック1316（図13B）において続き、そこで、磁性層1314を、形成された磁性層1318に画定する。いくつかの実施形態において、形成された磁性層1318を、層1310の中心部分を囲む環状の形状（方向の指標のための必要に応じた非対称を伴う）に画定する（例えば、図2Aにおける層206を参照されたい）。ブロック1320において、実質的に透明な層1322を、層1318および層1310上に堆積させ、形成された層1318を画定することによって創出されたいずれの穴も充填する。ブロック1324において、実質的に不透明なポリマー層1326を、層1322上に堆積させる。

【0189】

プロセス1300はブロック1328（図13C）において続き、そこで、実質的に不透明なポリマー層1326を、リソグラフィーによってギア形状の実質的に不透明なポリ

10

20

30

40

50

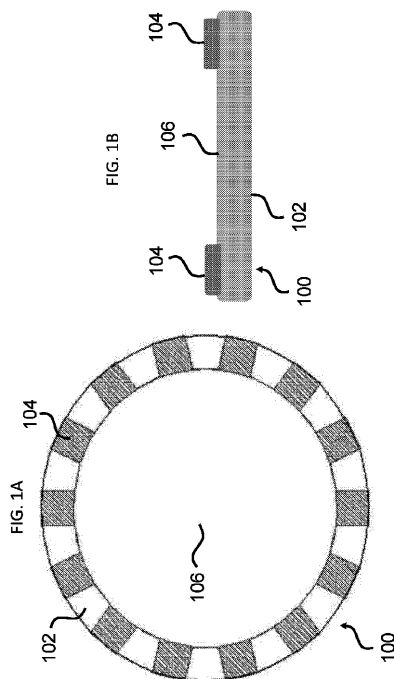
マー層 1330 に形成する。いくつかの実施形態において、層 1330 を、形成された磁性層 1318 を囲む輪における 1 つまたはそれより多い歯をともなって形成する（例えば、図 2 A の層 202 および層 206 ならびに中心部分 208 との関係において層 204 を参照されたい）。ブロック 1332 において、全体の構造（すなわち、1304、1306、1310、1318、1322 および 1330 を含有する）を、溶媒中に浸す。この溶媒処理は、犠牲層 1306 を溶解し、マイクロキャリア 1334 を基材 1304 から放出する。いくつかの実施形態において、マイクロキャリア 1334 を、例えば、捕捉剤を一方または両方の表面に連結することによってさらに改変してもよい。

【0190】

前記発明は、理解の明確性のために、例示および例によっていくらか詳細に記載されているが、当該記載および例は、発明の範囲を限定すると解釈されるべきではない。本明細書において言及される全ての特許文献および科学文献の開示は、その全体が参照によって明確に援用される。

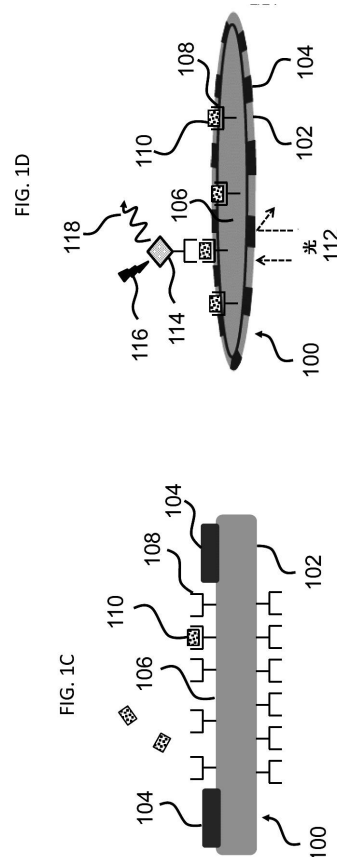
10

【図 1 A B】



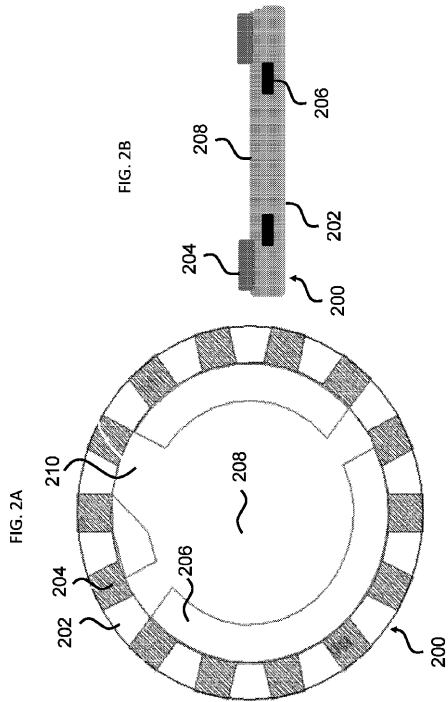
FIGS. 1A & 1B

【図 1 C D】



FIGS. 1C & 1D

【図 2 A B】



FIGS. 2A & 2B

【図 3】

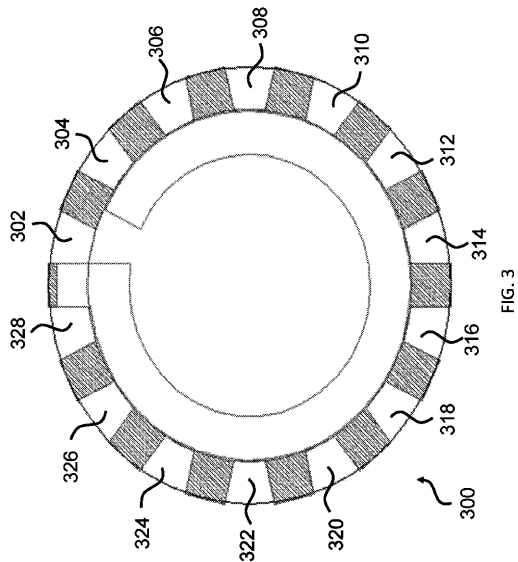


FIG. 3

【図 4 A】

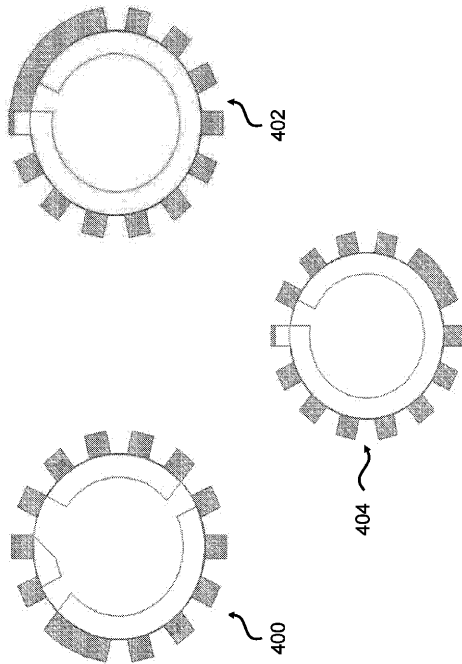


FIG. 4A

【図 4 B】

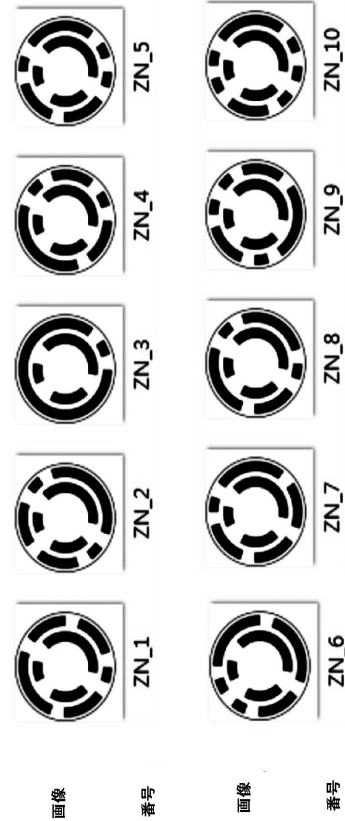
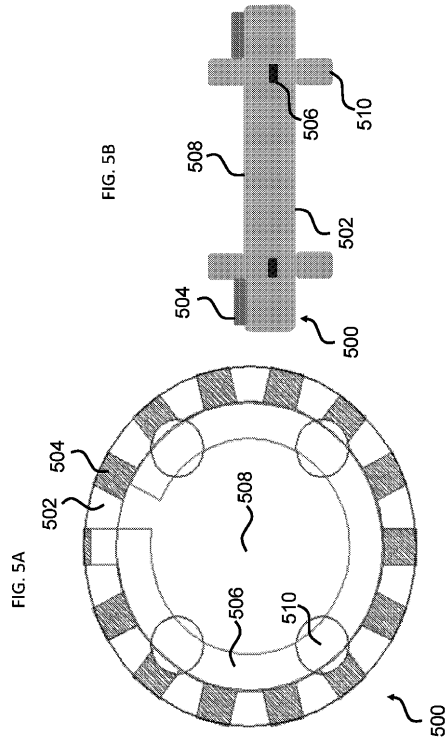
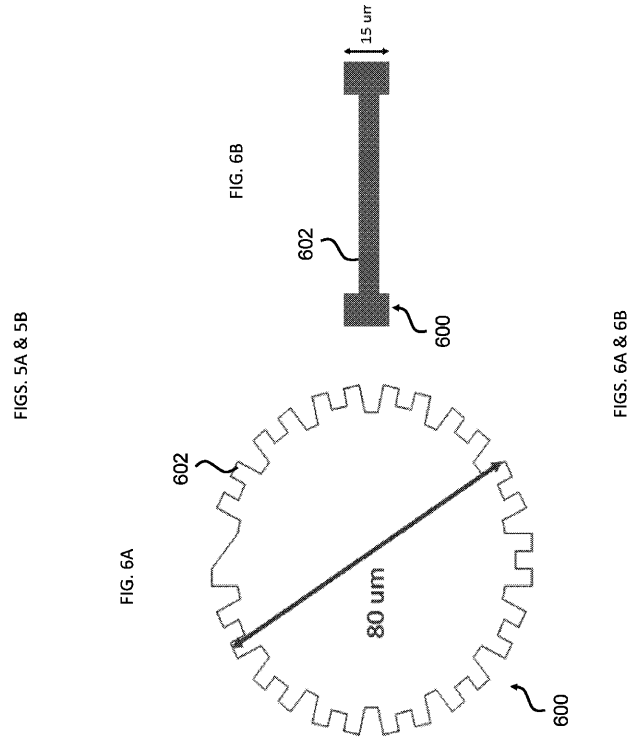


FIG. 4B

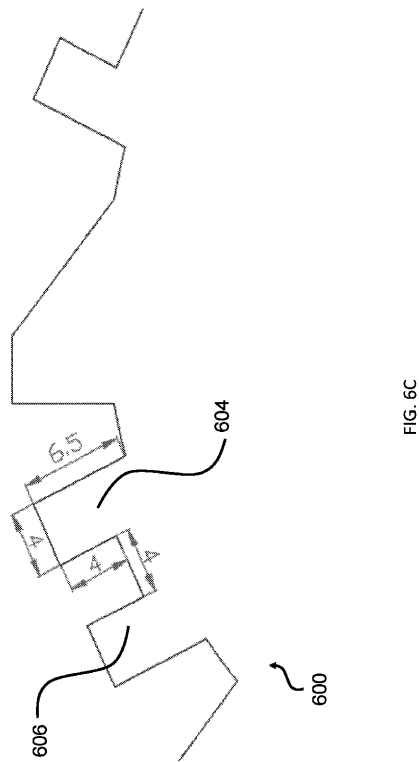
【図 5 A B】



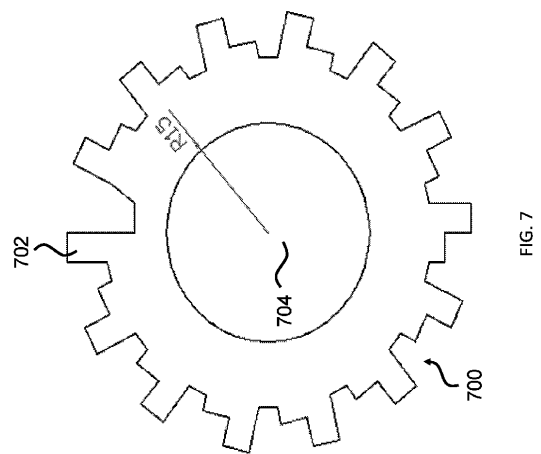
【図 6 A B】



【図 6 C】



【図 7】



【図 8 A】

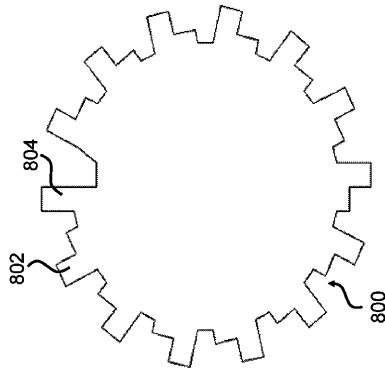


FIG. 8A

【図 8 B】

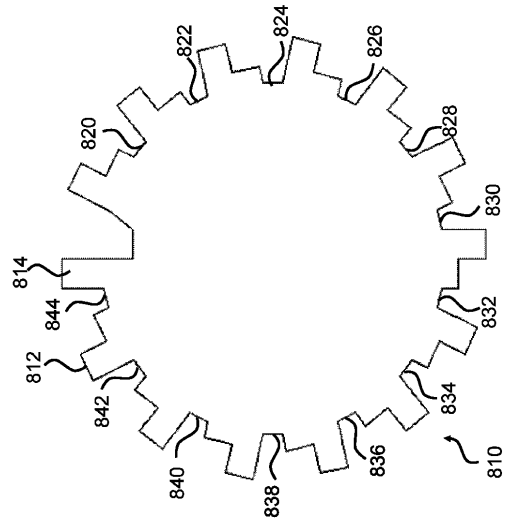
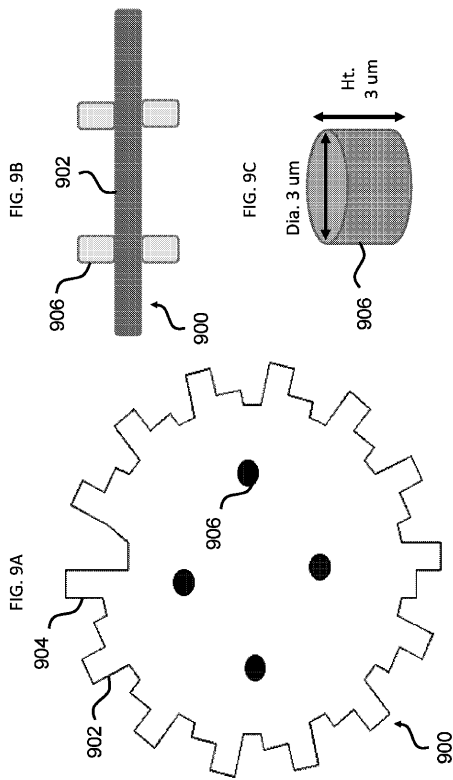


FIG. 8B

【図 9 A - 9 C】



FIGS. 9A-9C

【図 10】

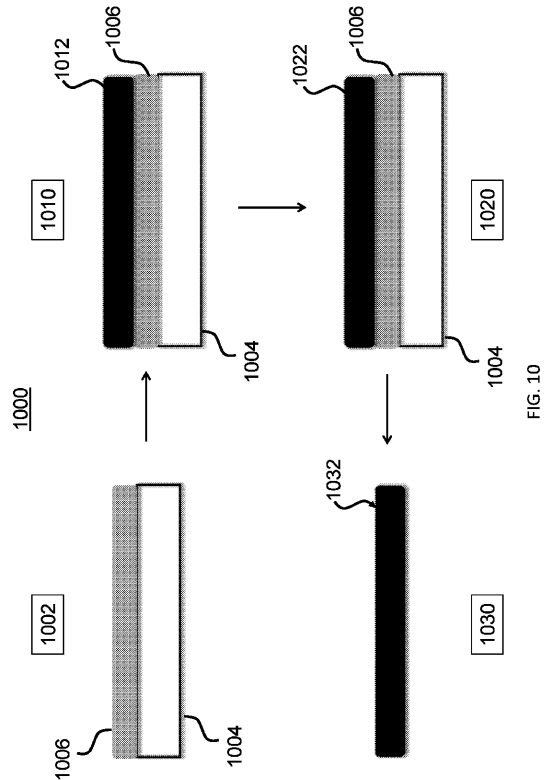
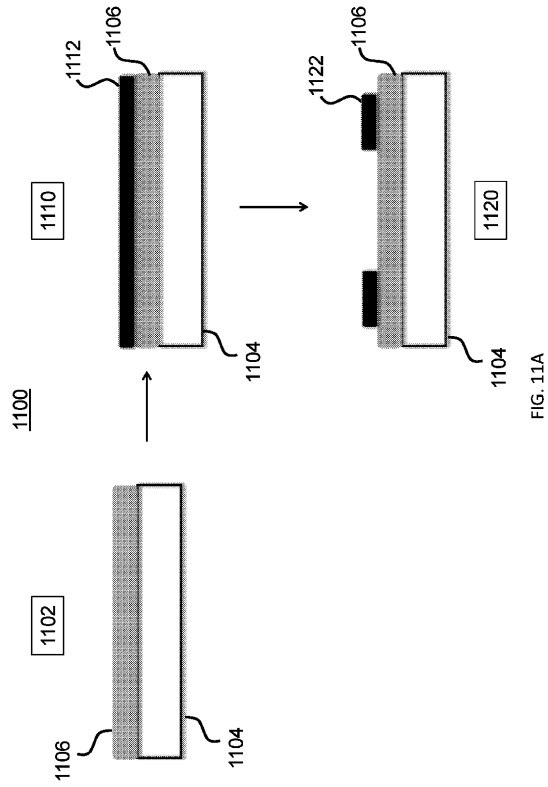
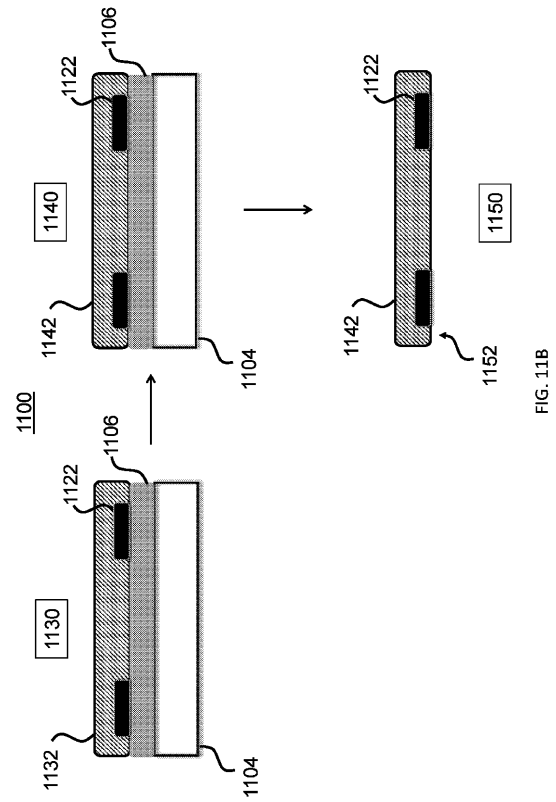


FIG. 10

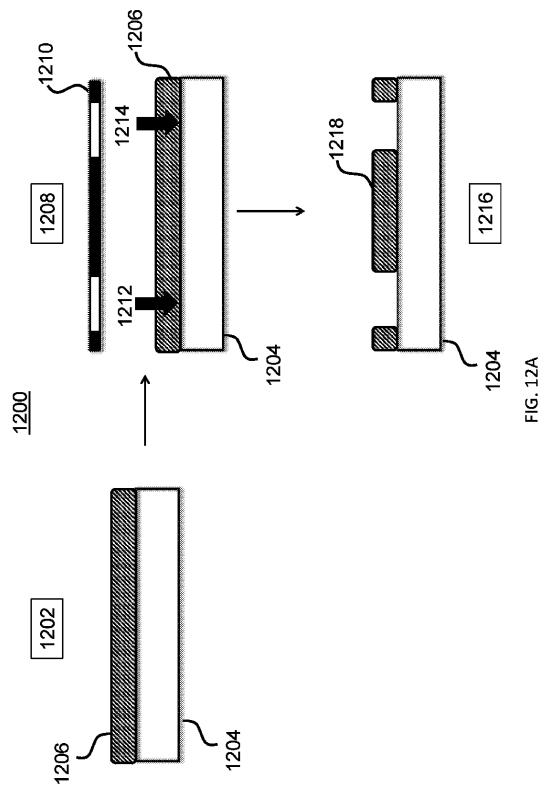
【図 1 1 A】



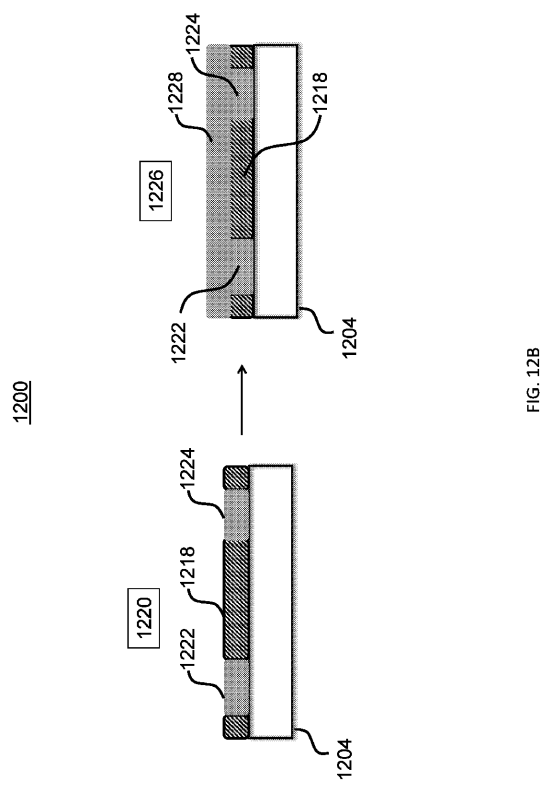
【図 1 1 B】



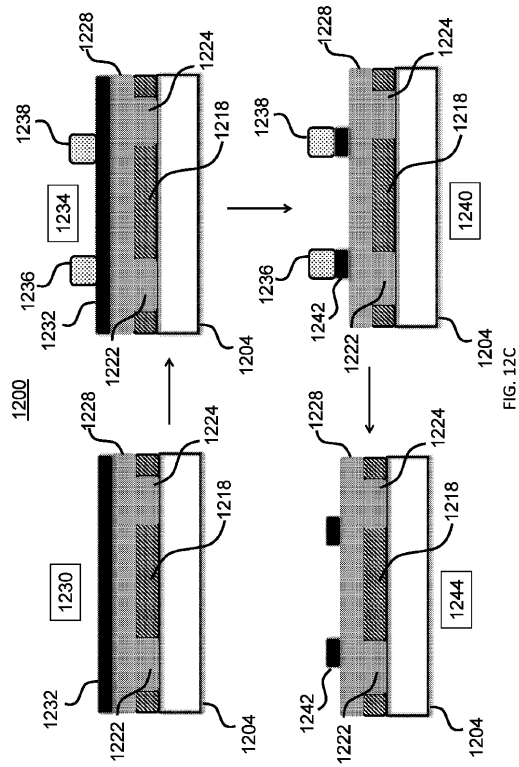
【図 1 2 A】



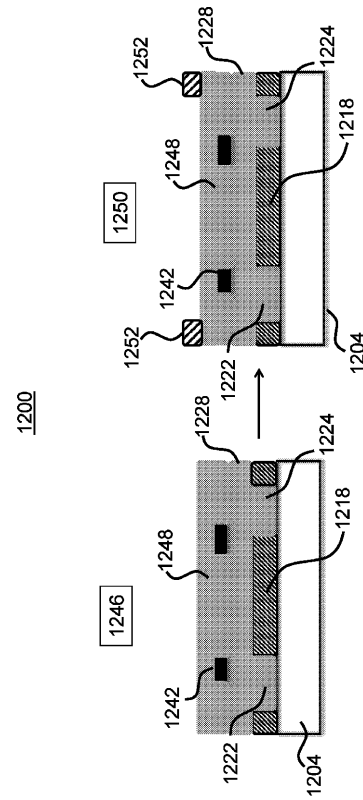
【図 1 2 B】



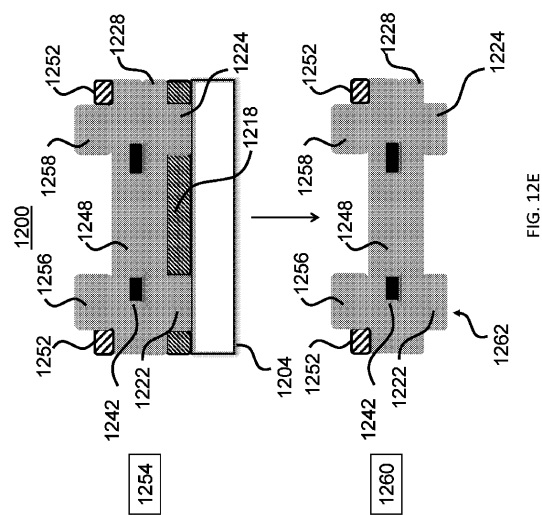
【図 1 2 C】



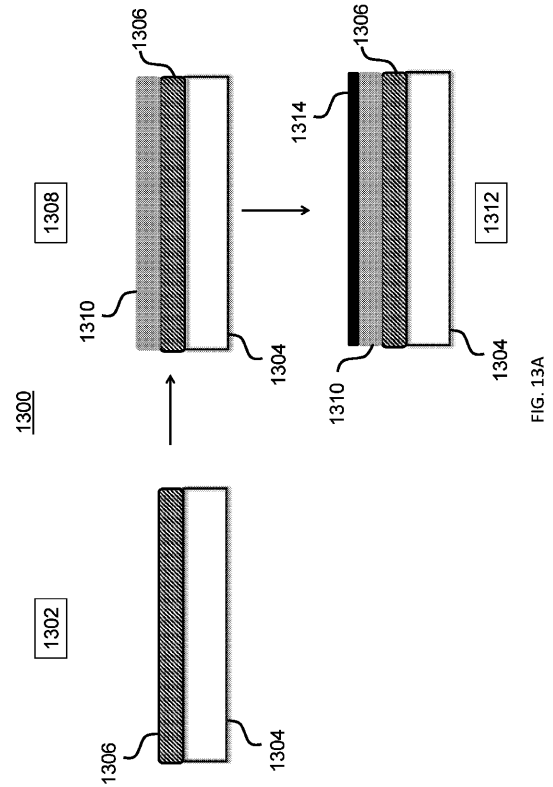
【図 1 2 D】



【図 1 2 E】



【図 1 3 A】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/53 (2006.01) G 0 1 N 33/53 D
G 0 1 N 33/53 M
G 0 1 N 33/53 N
G 0 1 N 33/53 Y
G 0 1 N 33/543 5 2 5 U

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ツァオ, ディーン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0, ヒルズボロー, パークサイド アベニュー
1 9 8 0

(72)発明者 フアン, チン-ショウ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 5 1, サンタ クララ, マウリカ アベニュー 2
7 8 0

(72)発明者 チャン, ヤオーカン

台湾 1 1 4 9 1 タイペイ, ネイフー ディストリクト, ヤングアン ストリート, ナン
バー 3 5 1, 6エフ-1

審査官 長谷川 強

(56)参考文献 特表2014-504733 (JP, A)

特表2010-504187 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 M 1 / 3 4

C 1 2 Q 1 / 0 0

C 1 2 Q 1 / 6 8

C 1 2 Q 1 / 7 0

G 0 1 N 3 3 / 5 3

G 0 1 N 3 3 / 5 4 3

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)