

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7168230号  
(P7168230)

(45)発行日 令和4年11月9日(2022.11.9)

(24)登録日 令和4年10月31日(2022.10.31)

(51)国際特許分類

G 0 1 N	1/34 (2006.01)	G 0 1 N	1/34
C 1 2 M	1/00 (2006.01)	C 1 2 M	1/00
G 0 1 N	1/28 (2006.01)	G 0 1 N	1/28

F I

A  
J

請求項の数 8 (全38頁)

(21)出願番号 特願2019-567253(P2019-567253)  
 (86)(22)出願日 平成30年6月6日(2018.6.6)  
 (65)公表番号 特表2020-523570(P2020-523570)  
 A)  
 (43)公表日 令和2年8月6日(2020.8.6)  
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/036348  
 (87)国際公開番号 WO2018/226891  
 (87)国際公開日 平成30年12月13日(2018.12.13)  
 審査請求日 令和3年6月7日(2021.6.7)  
 (31)優先権主張番号 62/515,876  
 (32)優先日 平成29年6月6日(2017.6.6)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)

(73)特許権者 513208191  
 ノースウェスタン ユニバーシティ  
 N O R T H W E S T E R N U N I V E  
 R S I T Y  
 アメリカ合衆国, 6 0 2 0 8 イリノイ  
 州, エヴァンストン, クラーク ストリ  
 ート 6 3 3  
 6 3 3 C l a r k S t r e e t , E v  
 a n s t o n , I l l i n o i s 6 0  
 2 0 8 , U n i t e d S t a t e s o  
 f A m e r i c a  
 110000338  
 特許業務法人 H A R A K E N Z O W O  
 R L D P A T E N T & T R A D E M  
 A R K

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 界面横断磁気分離

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

常磁性粒子を、液体／気体界面を横切って移動させる方法であつて、  
 (a) 常磁性粒子(PMP)を含有する液体サンプルを準備することと、  
 (b) 前記PMPのペレットを形成するよう、前記液体サンプル内に磁場を形成することと、  
 (c) 前記液体／気体界面に隣接した当該液体内に前記ペレットを位置させるよう、前記磁場を位置決めすることと、  
 (d) 前記PMPが遭遇した前記磁場を減少または除去することと、  
 (e) 前記液体／気体界面の当該気体側に磁場を形成することと、  
 (f) 前記PMPのペレットを、前記液体／気体界面を横切って当該気体内に流すこととを含み、前記(a)～(f)の工程はこの順序で実施される、  
 方法。

## 【請求項2】

前記PMPを、移送表面の近位側においてペレット化して流すために、移動可能な磁石を当該移送表面の遠位側に隣接して配置する、  
 請求項1に記載の方法。

## 【請求項3】

前記磁場を形成することには、

前記移送表面の遠位側の近傍、あるいは前記移送表面の遠位側に対して、前記磁石を位

置させることを含む、  
請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記 P M P が遭遇した前記磁場を減少または除去することには、  
前記移送表面から前記磁石を離すことを含む、  
請求項 3 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記 P M P は、表面に捕捉剤を提示している、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記捕捉剤は、核酸プローブ、抗体または抗体断片、または親和剤である、  
請求項 5 に記載の方法。

10

**【請求項 7】**

前記捕捉剤は、検体に結合する、  
請求項 5 に記載の方法。

**【請求項 8】**

( g ) 前記気体内にある前記ペレットを移動させて気体 / 液体界面に隣接させるように  
前記磁場を位置決めすること、

( h ) 前記 P M P が遭遇した前記磁場を減少または除去することと、

( i ) 前記気体 / 液体界面の当該液体側に磁場を形成することと、

( j ) 前記気体 / 液体界面を横切って当該液体内にペレット化した P M P を流すことと  
を更に含み、前記 ( a ) ~ ( j ) の工程はこの順序で実施される、

20

請求項 1 に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0001】**

関連出願の相互参照

本発明は、2017年6月6日に出願された米国仮特許出願第62/515,876号  
の優先権利益を主張し、その仮特許出願は、その全体が参照により組み込まれる。

**【0002】**

30

サンプルからの検体の磁気分離を促進する装置、及びその使用方法が本明細書で提供される。特定の実施形態において、サンプルからの検体の界面横断磁気分離 (Trans-Interface Magnetic Separation, TIMS) のための装置及び方法が提供される。

**【背景技術】**

**【0003】**

当該分野またはポイントオブケア施設における、生体及び環境サンプルからの標的検体の精製及び / または単離のための低コストで効率的な選択肢が利用できないことは、多くの潜在的診断及び環境試験溶液にかなりの制限をもたらす。

**【発明の概要】**

40

**【0004】**

サンプルからの検体の磁気分離を促進する装置、及びその使用方法が本明細書で提供される。特定の実施形態において、サンプルからの検体の界面横断磁気分離 (TIMS) のための装置及び方法が提供される。

**【0005】**

いくつかの実施形態において、( a ) それぞれが閉鎖底部と頂部開口とを備え、ある量の液体を含むことが可能であり、チャンバの頂部開口が平面状表面に沿って存在する、第1及び第2のチャンバと、( b ) 平面状表面の上方に配設され、平面状表面の方を向く近位側と平面状表面から離れる方を向く遠位側とを有し、平面状表面と移送表面の近位側との間にエアギャップを作成する、移送表面と、( c ) 第1のチャンバと第2のチャンバと

50

の間に平面状表面に沿って配設され、2つのチャンバの間で平面状表面に沿って経路を遮る、エアロックチャンバとを備え、装置は、第1及び第2のチャンバのいずれかを出る液体がエアロックを横切ることができず、エアロックの縁において平面状表面と移送表面の近位側との間に液体／気体界面を作成するように寸法が決められ、エアロックが、エアロックの両側で第1及び第2のチャンバからの液体によって作成される液体／気体界面との接触を防ぐのに十分な大きさである、検体精製装置が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、第1及び第2のチャンバとエアロックとは、平面状表面に沿って直線的に整列する。いくつかの実施形態において、移送表面の近位側は、薄い疎水性膜またはコーティングを備える。いくつかの実施形態において、装置は、移送表面の遠位側に隣接して位置付けられた磁石をさらに備える。いくつかの実施形態において、磁石は、移送表面の遠位側に沿って横方向に移動可能であり、第1及び第2のチャンバ、ならびに移送表面上のエアロックの上方に個別に位置付けることが可能である。いくつかの実施形態において、磁石によって発生する磁場は、磁石が近接位置にあるとき、第1または第2のチャンバに加えられるが、磁石が離間位置にあるとき、チャンバ内で減少する。

#### 【0006】

いくつかの実施形態において、本明細書（たとえば、本明細書の前節及び他の場所）で説明される装置（たとえば、カートリッジ）と、第1及び第2のチャンバ内のバッファ溶液とを備える検体精製システムが本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、第1のチャンバ内のバッファ溶液は、常磁性粒子（PMP）を備える。いくつかの実施形態において、PMPは、それらの表面上に捕捉剤を示す。いくつかの実施形態において、捕捉剤は、核酸、抗体もしくは抗体断片、または親和剤である。いくつかの実施形態において、捕捉剤は検体に結合される。いくつかの実施形態において、第1のチャンバのバッファは、捕捉剤への検体の結合を促進するハイブリダイゼーションバッファである。

#### 【0007】

いくつかの実施形態において、(a) 第1のチャンバの上方に本明細書（たとえば、本明細書の前節及び他の場所）で説明されるシステムの磁石を位置付け、それによって、第1のチャンバの上方の移送表面の近位側にPMPを収集することと、(b) 移送表面に沿って横方向に磁場を移動させ、それによって、エアギャップを通して移送表面の近位側に沿ってPMPを移動させて、第2のチャンバの上方にPMPを位置付けることと、(c) 第2のチャンバに含まれるバッファにPMPを放出することとを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、第2のバッファは洗浄バッファである。いくつかの実施形態において、移送表面に沿って横方向に磁場を移動させることは、(i) 第1のチャンバの液体とエアロックとの間の気体／液体界面の近くまたはそれに隣接する位置に収集されたPMPを運ぶために、第1のチャンバと第2のチャンバとの間の経路に沿って磁場を移動させることと、(ii) PMPが遭遇した磁場を減少または除去することと、(iii) エアギャップ内で磁場を再生成することと、(iv) 液体内でペレット化されたPMPが液体からエアギャップに流れ出ることを可能にすることとを含む。

#### 【0008】

いくつかの実施形態において、(a) それぞれが閉鎖底部と頂部開口とを備え、ある量の液体を含むことが可能である、第1及び第2のチャンバと、(b) 第1及び第2のチャンバを接続するチャネルであって、チャネルが第1のチャンバの底部の近くで第1のチャンバに接続し、チャネルが第2のチャンバの頂部の近くで第2のチャンバに接続し、それにより、装置が平面的な向きにあるとき、液体が第1のチャンバから第2のチャンバに移動するためにチャネルの中を上向きに流れなければならない、チャネルと、(c) 第1のチャンバを装置の外部に接続するベントであって、ベントが第1のチャンバの頂部の近くで第1のチャンバに接続する、ベントと、(d) 第1のチャンバの頂部開口に嵌合して、第1のチャンバの頂部開口を密封するが、第1のチャンバへのベントを密封せず、第1のチャンバにさらに手動で押し下げるとき、ベントも密封する、プランジャキャップとを備える検体精製装置が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、装置が非平面的な向きにあるとき、液体は、第1のチャンバから第2のチャンバに移動するために、上に

向かって流れることなくチャネルの中を流れることができる。

【0009】

いくつかの実施形態において、本明細書（たとえば、本明細書の前節及び他の場所）で説明される装置（たとえば、カートリッジ）と、第1のチャンバに隣接して位置付けられた第1のヒータとを備える検体精製システムが本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、第1のヒータは、第1のチャンバ内の材料を90℃を超える温度まで加熱するように構成されている。いくつかの実施形態において、システムは、第2のチャンバに隣接して位置付けられた第2のヒータをさらに備える。いくつかの実施形態において、第2のヒータは、第2のチャンバ内の材料を50～75℃の温度まで加熱するように構成されている。いくつかの実施形態において、システムは、第1のチャンバ内のサンプルをさらに備える。いくつかの実施形態において、サンプルは、細胞を含む生体サンプルである。いくつかの実施形態において、システムは、第1のチャンバ内の溶解バッファをさらに備える。いくつかの実施形態において、サンプルは、対象の検体を含む。いくつかの実施形態において、システムは、第2のチャンバ内に常磁性粒子（PMP）をさらに備える。いくつかの実施形態において、PMPは、第2のチャンバの壁及び/または底部で乾燥する。いくつかの実施形態において、PMPは、対象の検体に対する親和性を有する捕捉剤を示す。

10

【0010】

いくつかの実施形態において、(a)サンプルを本明細書（たとえば、本明細書の前節及び他の場所）で説明されるシステムの第1のチャンバに加えることであって、装置が平面的な向きにある、加えることと、(b)第1のチャンバの開口をプランジャキャップで密封することと、(c)第1のチャンバのサンプルをインキュベートすることと、(d)非平面的な向きに装置の向きを変えることと、(e)第1のチャンバから第2のチャンバにサンプルを移送するためにプランジャキャップを押し下げるのことと、(f)第2のチャンバのサンプルをインキュベートすることとを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、サンプルは、細胞と溶解バッファとを備える。いくつかの実施形態において、方法は、サンプルを加熱することをさらに含む。

20

【0011】

いくつかの実施形態において、(a)閉鎖底部と開放頂部とを備え、ある量の液体を含むことが可能である細胞溶解チャンバと、(b)閉鎖底部と開放頂部とを備え、ある量の液体を含むことが可能である検体捕捉チャンバと、(c)細胞溶解チャンバを検体捕捉チャンバに接続する移送チャネルであって、移送チャネルが細胞溶解チャンバの底部の近くで細胞溶解チャンバに接続し、移送チャネルが検体捕捉チャンバの頂部の近くで検体捕捉チャンバに接続し、それにより、装置が平面的な向きにあるとき、液体が細胞溶解チャンバから検体捕捉チャンバに移動するために移送チャネルの中を上向きに流れなければならず、装置が非平面的な向きにあるとき、液体が溶解チャンバから検体捕捉チャンバに移動するために上に向かって流れることなくチャネルの中を流れることができる、移送チャネルと、(d)細胞溶解チャンバを装置の外部に接続するベントであって、ベントが細胞溶解チャンバの頂部の近くで細胞溶解チャンバに接続する、ベントと、(e)第1の位置にあるとき、細胞溶解チャンバの頂部開口を密封するが、細胞溶解チャンバへのベントを密封せず、細胞溶解チャンバにさらに手動で押し下げる、ベントも密封する、プランジャキャップと、(f)閉鎖底部と開放頂部とを備え、ある量の液体を含むことが可能である洗浄チャンバであって、洗浄チャンバの底部が浅部と深部とを備え、装置が平面的な向きにあるとき、ある量の液体が洗浄チャンバの底部の深部に存在し、装置が非平面的な向きにあるとき、ある量の液体が洗浄チャンバの底部の浅部に存在する、洗浄チャンバと、(g)検体捕捉チャンバと洗浄チャンバとの間に平面状表面に沿って配設され、2つのチャンバの間で平面状表面に沿って移送経路を遮る、エアロックチャンバと、(h)平面状表面の上方に置かれ、検体捕捉チャンバ、エアロックチャンバ、及び洗浄チャンバの周辺に近づき、検体捕捉チャンバから洗浄チャンバへの移送経路の側部を画定する切抜きを備える、スペーサ層と、(i)スペーサ層の上方に配設され、平面状表面の方を向く近位側と

30

40

50

平面状表面から離れる方を向く遠位側とを有し、平面状表面と移送表面の近位側との間の、検体捕捉チャンバ、エアロックチャンバ、洗浄チャンバ、及び移送経路の上方にエアギャップを作成する、移送表面とを備える検体精製装置が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、平面状表面は、チャンバを備えるカートリッジ上に配置された膜（たとえば、ベース層）を備える。いくつかの実施形態において、装置は、チャンバの頂部開口を通って検体捕捉チャンバを出る液体が移送経路に沿って進むことができるが、エアロックを横切ることはできず、エアロックの縁において平面状表面と移送表面の近位側との間に第1の液体／気体界面を作成するように、寸法が決められ、チャンバの頂部開口を通って洗浄チャンバを出る液体は、移送経路に沿って進むことができるが、エアロックを横切ることはできず、エアロックの縁において平面状表面と移送表面の近位側との間に第2の液体／気体界面を作成する。いくつかの実施形態において、エアロックは、第1の液体／気体界面と第2の液体／気体界面との接触を防ぐのに十分な大きさである。いくつかの実施形態において、検体捕捉チャンバと、洗浄チャンバの浅底と、エアロックとは、移送経路に沿って直線的に整列する。

#### 【0012】

いくつかの実施形態において、本明細書（たとえば、前節及び他の場所）で説明される検体精製装置を備え、（i）溶解チャンバに隣接して位置付けられて、溶解チャンバ内の材料を90℃を超える温度まで加熱するように構成された第1のヒータと、（ii）検体捕捉チャンバに隣接して位置付けられて、検体捕捉チャンバ内の材料を50～75℃の温度まで加熱するように構成された第2のヒータと、（iii）移送表面の遠位側上に位置付けられた磁石であって、磁石が、移送表面の遠位側に沿って横方向に移動可能であり、検体捕捉チャンバ、エアロックチャンバ、及び洗浄チャンバの上方で移送経路に沿って個別に位置付けることが可能であり、磁石によって発生する磁場が、磁石が近接位置にあるとき、検体捕捉チャンバ、エアロックチャンバ、及び洗浄チャンバに加えられるが、磁石が離間位置にあるとき、減少する、磁石とをさらに備えるシステムが本明細書で提供される。

#### 【0013】

いくつかの実施形態において、（a）本明細書（たとえば、前節及び他の場所）で説明されるシステムを提供することであって、システムが、（i）洗浄チャンバ内の洗浄バッファと、（ii）検体捕捉チャンバの壁及び／または底部で乾燥した常磁性粒子（PMP）とをさらに備え、PMPがそれらの表面上に検体捕捉剤を示す、提供することと、（b）システムを平面的な向きに配置することと、（c）サンプルを溶解チャンバに加えることであって、サンプルが検体と溶解バッファとを備える、加えることと、（d）溶解チャンバの開口をプランジャキャップで密封することと、（e）サンプル内の細胞を溶解するために溶解チャンバ内のサンプルを第1の温度でインキュベートすることと、（f）非平面的な向きに装置の向きを変えることであって、それによって、装置の向きを変えることが、洗浄バッファが洗浄チャンバから移送経路に流れて、第2の液体／気体界面を形成することを可能にする、向きを変えることと、（g）溶解チャンバから検体捕捉チャンバにサンプルを移送するためにプランジャキャップを押し下げるこであって、装置の非平面的な向きが、液体が細胞溶解チャンバから移送経路に流れて、第1の液体／気体界面を形成することを可能にする、押し下げることと、（h）平面的な向きに装置の向きを変えることと、（i）PMPを再懸濁して、検体捕捉剤によって検体を捕捉するために、検体捕捉チャンバ内のサンプルを第2の温度でインキュベートすることと、（j）検体捕捉チャンバの上方に磁石を位置付けて、それによって、移送表面の近位側にPMPを収集することと、（k）検体溶解チャンバの液体とエアロックとの間の第1の液体／気体界面の近くまたはそれに隣接する位置に収集されたPMPを運ぶために、移送経路に沿って磁場を移動させることと、（l）PMPが遭遇した磁場を減少または除去することと、（m）エアギャップ内で磁場を再生成することと、（n）収集されたPMPが液体からエアギャップに流れ出ることを可能にすることと、（o）磁場を第2の液体／気体界面を横切って移動させ、それによって、PMPを洗浄バッファ液の液体に引きずり込むことと、（p）洗浄

10

20

30

40

50

チャンバに含まれるバッファに PMP を放出することとを含む方法が本明細書で提供される。他の実施形態において、PMP は、検体捕捉チャンバの壁及び / または底部で乾燥するのではなく、洗浄チャンバの壁 / 底部で乾燥し、洗浄試薬が洗浄チャンバに放出されるとき、PMP は、洗浄チャンバから検体捕捉チャンバに磁石によって移動することができる（たとえば、サンプルが溶解チャンバから検体捕捉チャンバに移送された後に）。

#### 【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態において、( a ) それぞれが（たとえば、恒久的に密封された、または、着脱自在のキャップ、唇部、もしくは他の閉鎖によって密封された）閉鎖底部と頂部開口とを備え、ある量の液体を含むことが可能であり、チャンバの頂部開口が平面状表面に沿って存在する、複数のチャンバ（たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個）と、( b ) 平面状表面上に置かれ、定義された形状及び大きさ（幅と高さ）を有する外縁及び頂面を有し、複数のチャンバのそれぞれの頂部開口の周囲を囲む、隆起したアトールと、( c ) 平面状表面の上方に配設され、平面状表面及びチャンバの方を向く近位側と、装置の外部の方を向く遠位側とを有し、アトールの頂部の上方に距離  $G_h$  のエアギャップを作成する移送表面とを備える装置が本明細書で提供され、装置の反転時、重力は、チャンバ内の液体をチャンバの頂部開口を通して外に引き出しが、表面張力及び毛管力により、液体が隆起したアトールの外縁を越えて流れることが妨げられ、それによって、各チャンバ開口のまわりに固定された液体プールを作成し、隣接するチャンバは、各チャンバ開口のまわりの固定された液体プール間の接触を防ぐだけ十分に間隔があけられており、それによって、固定された液体プール間の距離  $A_g$  のエアギャップが作成される。

#### 【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態において、隆起したアトールは、チャンバ開口の頂部を囲み、同じ形状であるが、より大きな幅または直径を有する。いくつかの実施形態において、チャンバ開口は円形であり、隆起したアトールはリング形状である。いくつかの実施形態において、隆起したアトール及びチャンバ開口は同じ形状ではない。いくつかの実施形態において、チャンバ開口及び / またはアトールは非対称形状である。いくつかの実施形態において、アトールは、長方形、卵形、砂時計形、または他の形状である。いくつかの実施形態において、アトールは、装置の表面に取り付けられている。いくつかの実施形態において、アトールは、装置の表面の一部である。いくつかの実施形態において、隆起したアトールは、丸い内縁を備える。いくつかの実施形態において、複数のチャンバは、平面状表面に沿って直線的に整列する。いくつかの実施形態において、チャンバが 0.5 ~ 1.5 センチポアズ（たとえば、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、またはその間の範囲）の粘性を有する液体を含むとき、装置の反転時に、各チャンバ開口のまわりに固定された液体プールが形成される。いくつかの実施形態において、移送表面の近位側は、（たとえば、疎水性コーティング（たとえば、模様のついた疎水性コーティング）を有する）薄膜を備える。いくつかの実施形態において、知られている粘性を有する特定の液体とともに使用するためのエアギャップを最適化する大きさが選択される。

#### 【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書の装置、システム、及び方法は、それぞれ、PMP をチャンバから引き出す、または、PMP をチャンバ内に配置するために、チャンバの上方または下方から発生する磁界を備える。いくつかの実施形態において、磁場は、望ましい位置に磁石を配置することによって発生する。

#### 【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態において、装置は、移送表面の遠位側に隣接して位置付けられた磁石をさらに備える。いくつかの実施形態において、磁石は、移送表面の遠位側に沿って横方向に（または、チャンバの配置に応じて、円弧上を、または、異なって定義された経路に沿って）移動可能であり、移送表面上でチャンバのそれぞれの上方に個別に位置付けることが可能である。いくつかの実施形態において、磁石は、複数のチャンバのうちの 1 つまたは複数の上方で昇降させることができる。いくつかの実施形態において、磁石に

10

20

30

40

50

よって発生する磁場は、磁石が下降位置にあるとき、チャンバに加えられるが、磁石が上昇位置にあるとき、チャンバ内で減少する。

【0018】

いくつかの実施形態において、装置は、チャンバのうちの1つまたは複数の下方に位置付けられた磁石をさらに備える。いくつかの実施形態において、チャンバの下方の磁石は、横方向に移動可能であり、チャンバのそれぞれの下方に個別に位置付けることが可能である。いくつかの実施形態において、チャンバの下方の磁石は、複数のチャンバのうちの1つまたは複数の下方で昇降させることが可能である。いくつかの実施形態において、チャンバの下方の磁石によって発生する磁場は、磁石が上昇位置にあるとき、チャンバに加えられるが、磁石が下降位置にあるとき、チャンバ内で減少する。

10

【0019】

いくつかの実施形態において、装置は、試薬の再懸濁、PMPからの検体の結合／放出などを促進するために、1つまたは複数の温度制御領域（たとえば、ヒータ及び／またはクーラ）をさらに備える。温度制御領域は、チャンバの長さ、移送表面の一部に沿るなどして存在してもよい。いくつかの実施形態において、装置は、1つまたは複数の温度調節要素（たとえば、ヒータ及び／またはクーラ）を備える。いくつかの実施形態において、装置は、サンプル混合チャンバに近接して、チャンバの内容物を加熱するように構成されたヒータを備える。いくつかの実施形態において、混合チャンバの内容物を加熱することは、混合を促進する。いくつかの実施形態において、ヒータは、円筒形である、及び／または、チャンバ（たとえば、混合チャンバ）壁の外側周囲にぴったりと合うように形づくられる。いくつかの実施形態において、装置は、チャンバ（たとえば、サンプル混合チャンバ）に近接してクーラを備え、クーラは、チャンバの内容物を冷却するように構成されている。いくつかの実施形態において、混合チャンバの内容物を冷却することは、検体のPMPへの結合を促進する。いくつかの実施形態において、装置は、（たとえば、溶出チャンバの近くまたは溶出チャンバに隣接する位置の）移送表面の遠位側上に置かれたヒータを備え、ヒータは、移送表面上にプールされた液体を加熱するように構成されている。いくつかの実施形態において、移送表面上にプールされた液体を加熱することは、検体のPMPからの放出を促進する。

20

【0020】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の試薬による本明細書に説明される装置を備えるシステムが本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、試薬は液体試薬である。いくつかの実施形態において、試薬は、乾燥試薬、固体試薬、または凍結乾燥試薬である。試薬は、チャンバ内に含まれてもよい。いくつかの実施形態において、試薬は、チャンバから隔離されている（たとえば、カプセル内で、または、カプセル内の膜の裏に）。いくつかの実施形態において、試薬は、チャンバの残りの部分から試薬を隔離する材料（たとえば、カプセル、シールド、膜など）の破壊または溶解時に放出される。いくつかの実施形態において、試薬は、コーティングされている、あるいは、チャンバの表面（たとえば、側部もしくは底部）またはチャンバの蓋に取り付けられている。

30

【0021】

いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置と、複数のチャンバのそれぞれの中のバッファ溶液とを備えるシステムが本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、バッファ溶液は、検体結合バッファ、1つまたは複数の洗浄バッファ、及び溶出バッファを備える。いくつかの実施形態において、システムは、各チャンバの頂部開口上に、輸送、貯蔵、及び／または操作中に、チャンバに含まれたバッファ溶液がこぼれることを防ぐカバーを備える。いくつかの実施形態において、単一のカバーは、アトールの頂面にわたって延在する。いくつかの実施形態において、カバーは、剥離可能な箔積層体である。

40

【0022】

いくつかの実施形態において、システムは、標的検体のために捕捉剤を示す常磁性粒子（PMP）をさらに備える。いくつかの実施形態において、PMPは、標的検体への捕捉

50

剤の結合を促進する検体結合バッファとともに、チャンバの1つに含まれる。

【0023】

いくつかの実施形態において、システムは、標的検体を含むサンプルをさらに備える。

【0024】

いくつかの実施形態において、システムは、チャンバ内に含まれる成分を混合するための装置をさらに備える。

【0025】

いくつかの実施形態において、(a) (i) サンプルと、(i i) 検体に対する親和性を有する捕捉剤を示す常磁性粒子 (PMP) と、(i i i) 本明細書で説明される装置の第1のチャンバ内の検体結合バッファとを組み合わせることであって、第2のバッファが第1のチャンバに隣接する第2のチャンバに含まれている、組み合わせることと、(b) 第1のチャンバでサンプルと、PMPと、検体結合バッファとを混合し、それによって、検体への捕捉剤の結合を可能にすることと、(c) 装置を反転し、それによって、それぞれ、第1のチャンバ及び第2のチャンバの上方に検体結合バッファ及び第2のバッファの固定されたプールを作成することと、(d) 第1のチャンバの上方に磁場を加え、それによって、第1のチャンバの上方の移送表面の近位側にPMPを収集することと、(e) 移送表面に沿って横方向に磁場を移動させ、それによって、エアギャップを通して、移送表面の近位側に沿ってPMPを移動させ、第2のチャンバの上方にPMPを位置付けることと、(f) 隣接するチャンバに含まれる第2のバッファにPMPを放出することとを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、第2のバッファは洗浄バッファである。いくつかの実施形態において、第1のチャンバの上方の磁場は、移送表面の遠位側に隣接して位置付けられた磁石によって加えられる。いくつかの実施形態において、PMPは、磁石を上昇させることによって、隣接するチャンバの下方に第2の磁場を加えることによって、または、その両方によって、隣接するチャンバに含まれる第2のバッファに放出される。

10

20

30

【0026】

いくつかの実施形態において、装置は、第2のチャンバに隣接して、第3のバッファを備える第3のチャンバを備える。いくつかの実施形態において、方法は、(g) 第2のチャンバでPMPと第2のバッファとを混合し、それによって、検体及び/またはPMPから汚染物質を洗い流すことと、(h) 第2のチャンバの上方に磁場を加え、それによって、第2のチャンバの上方の移送表面の近位側にPMPを収集することと、(i) 移送表面に沿って横方向に磁場を移動させ、それによって、エアギャップを通して、移送表面の近位側に沿ってPMPを移動させ、第3のチャンバの上方にPMPを位置付けることと、(j) 第3のチャンバに含まれる第3のバッファにPMPを放出することとを含む。いくつかの実施形態において、第3のバッファは、洗浄バッファまたは溶出バッファである。

30

【0027】

いくつかの実施形態において、装置は、第3のチャンバに隣接して、第4のバッファを含む第4のチャンバを備える。いくつかの実施形態において、方法は、(k) 第3のチャンバでPMPと第3のバッファとを混合し、それによって、検体及び/またはPMPから汚染物質を洗い流すことと、(l) 第3のチャンバの上方に磁場を加え、それによって、第3のチャンバの上方の移送表面の近位側にPMPを収集することと、(m) 移送表面に沿って横方向に磁場を移動させ、それによって、エアギャップを通して、移送表面の近位側に沿ってPMPを移動させ、第4のチャンバの上方にPMPを位置付けることと、(n) 第4のチャンバに含まれる第4のバッファにPMPを放出することとを含む。いくつかの実施形態において、第4のバッファは溶出バッファである。

40

【0028】

いくつかの実施形態において、サンプルからの検体の抽出、単離、及び/または精製のために、本明細書で説明される装置またはシステムの使用は、本明細書で提供される。

【0029】

いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置、1つもしくは複数の緩衝剤

50

、及び／または検体のための捕捉剤を示す常磁性粒子を備えるキットが本明細書で提供される。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】検体精製及び抽出のための例示的な界面横断磁気分離（T I M S）カートリッジの断面及び上面概略図。チャンバは、適切なバッファを含む。チャンバ1は、再懸濁された常磁性粒子（P M P）懸濁物を含む。剥離可能な箔積層体は、使用前に取りはずされる。

【図2】反転された位置における例示的なT I M Sカートリッジの断面及び底面概略図。T I M Sカートリッジを反転させると、上方の空気空洞の低圧は、静水圧と均衡する。アトールの外径（O D）縁及び疎水性表面は、各チャンバに固定された液体プールを生成し、各チャンバから液体の間にエアギャップ（A<sub>g</sub>）を有する。

【図3】薄い疎水性移送膜の遠位側上の磁石は、P M Pを硬いペレットに収集し、次のチャンバの上の位置にあるように、液体対空気対液体界面を通して、このペレットを移動させ、次に、P M Pはチャンバに放出され、プロセスは後続のチャンバに関して繰り返される。

【図4】例示的な4チャンバT I M Sカートリッジ。4つのネジ付きインサート及び2つの位置合わせ穴が組立のために外周に存在する。

【図5】ポリカーボネートプラスチックアトールは、レーザ切断され、4つのチャンバのそれぞれと同心円状に位置合わせされ、カートリッジ表面に接着接合される。

【図6】プラスチックフレームは、カートリッジ表面の頂部に置かれ、ここで、F<sub>h</sub>はA<sub>h</sub>よりわずかに大きい。

【図7】薄いポリカーボネート膜（たとえば、P M P移送膜）の片側は、疎水性コーティングで処理されて、レーザ切断されたアクリル剛性バッキングに接着接合される。アクリル片は、G<sub>h</sub>チャネルでP M Pを移動させるために、チャンバ開口に沿って永久磁石を摺動するためのスロットを有する。

【図8】適切な液体が4つのチャンバのそれぞれに供給される。再懸濁されたP M P懸濁物もチャンバ1に加えられる。最後に、アクリル+疎水処理されたポリカーボネート膜組立体が、機械ネジを使用してカートリッジ上に組み立てられる。

【図9】（上）組み立てられたT I M Sカートリッジ。（中及び下）フレームで作成されたG<sub>h</sub>、疎水処理されたポリカーボネート膜（すなわち、P M P移送膜）、及びアトールを示す、組み立てられたT I M Sカートリッジの断面図。

【図10】最初の3つのチャンバ（溶解、洗浄1、及び洗浄2）における3つのバッファの機能性テスト実験からのスクリーンショットであり、カートリッジが反転されている（重力ベクトルに注意）。（a）P M Pは、円筒磁石を使用して、疎水処理されたポリカーボネート移送膜の底部に収集される。（b～d）それらは、同じ磁石を使用して、チャンバ2に、最終的にはチャンバ3にゆっくりと移動される。

【図11】より厚く（式2による）、P M P収集及び移動中の移送を容易にするI D半径を有する、修正されたアトール。

【図12】（左）内側首部に90°コーナ角を有するカートリッジチャンバデザインであり、これは、収集中、P M Pを捕捉することがある。（右）図4のチャンバ4を模倣した修正されたデザインであり、射出成形に適用できる図案である。

【図13】（A）例示的カートリッジの上部斜視図。移送膜が装置の頂部を覆い、箔積層体が装置の一端から延在し、チャンバが下向きを延在している。（B）チャンバ内部を露出する断面斜視図。チャンバ1及び4の底部はそれぞれ、サンプルエントリキャップ及び溶出キャップでふさがれている。チャンバ2及び3の底部は密封されている。（C）例示的な装置の断面斜視図。移送膜及び箔積層体は取りはずされ、チャンバ開口及びアトールを露出している。

【図14】例示的な界面横断磁気分離（T I M S）カートリッジの断面及び上面図であり、検体精製及び抽出の例示的な方法のステップを示す。（A）カートリッジは、予めパッケージされたバッファ（チャンバ2～3）と、乾燥された溶解及び結合試薬（チャンバ1

10

20

30

40

50

)とを含む。結合試薬は、チャンバ1の残りの部分から分離して確実にパッケージされている。剥離可能な箔積層体はチャンバを密封する。サンプルキャップ及び溶出キャップは、チャンバ1及び4の底部を密封する。(B)ユーザはサンプルキャップを開けて、チャンバ1にサンプルを供給する。サンプル液体は乾燥溶解試薬を再水和する。(C)剥離可能な箔積層体は、すべてのチャンバを開くために取りはずされる。チャンバ1の内容物は混合され、同時に、チャンバ1は、サンプルを変性させるために、95まで加熱される。カートリッジの反転時、液体プールがエアギャップ(G<sub>h</sub>)に作成される。(D)チャンバ1は、ファン(または、熱電冷却機または他の冷却構成要素)を使用して、60まで冷却される。クールダウン中(または前、または後)、結合試薬タブレットがチャンバ1に放出されて、チャンバ1の内容物と混合される(結合試薬タブレットは、カートリッジの向きとは無関係に放出されてもよい)。(E)チャンバ1からチャンバ2にPMPを移送するための、及び、チャンバ2の懸濁した常磁性粒子(PMP)を洗浄するための代替的な技術(チャンバ3~4への移送及びチャンバ3~4での洗浄にも適用可能である)。(上)PMPは、磁石1を使用して、疎水性移送表面上の硬いペレットに収集される。ペレットは、エアギャップを通してチャンバ2に移送される。磁石1はカートリッジから離され、磁石2は移送表面からチャンバ2にPMPを流れ出させるように位置付けられる。このプロセスは、効率的な洗浄のために数回、事前に繰り返されてもよい。(下)あるいは、PMPが磁石1を使用して収集されて、チャンバ2の下の移送表面に移送されると、磁石の繰返しの運動によって、PMPは移送表面にわたってすじ状にされ、洗浄される。(F)PMPから孤立した検体を溶出するための代替的な技術。(上)PMPは、移送膜にわたってすじ状にされ、同時に、PMPからのDNAの溶出を促進するためにアトールプールを加熱する。(下)拡張された溶出セグメントを有する非対称のアトールを使用して、PMPは、拡張されたアトール上のプールに移送され、PMPからDNAを溶出するため熱が加えられる。(G)アトールプールの温度は下げられ、磁石が、溶出チャンバからPMPを収集するのに使用され、溶出チャンバから離れるようにPMPを移送する。(H)アトールから溶出液を吸い取るためにカートリッジの側部に(ウィッキングパッドホルダ上に取り付けられた)ウィッキングパッドを摺動することによる溶出液の抽出。

【図15】Aは、例示的なサンプル調製カートリッジの層ごとの概略図である。Bは、図15Aの例示的なカートリッジに組み込むための例示的カートリッジ本体の概略図である。Cは、図15Aの例示的なカートリッジに組み込むための例示的ベース層の概略図である。Dは、図15Aの例示的なカートリッジに組み込むための例示的スペーサ膜の概略図である。Eは、図15Aの例示的なカートリッジに組み込むための例示的ドラッグ膜の概略図である。Fは、図15Aの例示的なカートリッジに組み込むための例示的なPSAドラッグプレートの概略図である。

【図16】洗浄試薬がどのようにチャネルを満たして、固定レッジ2で留まるかを示す、例示的な組み立てられたカートリッジ消耗品の概略図である。赤色流体は、プランジャーを介して、(チャンバ1及び2を接続する)移送チャネルを通して、チャンバ1からチャンバ2に移送される。エアロックは、チャンバ2の流体を安定化して留め、エアギャップによって2つの流体を分離する。

【図17】平面的な向き(中央画像)での例示的な開始、及び、混合を促進し、乾燥試薬を再可溶化し、流体への均一な熱伝達を促進する例示的な左右への回転(たとえば、±10~45°)を示す概略図である。

【図18】Aは、平面的な向きにある例示的なカートリッジの上面図である。流体がチャンバ1またはチャンバ2のいずれかにあるとき、流体は、表面領域全体に広がり、急速かつ効率的な熱伝達を促進する液体の非常に薄い層である。Bは、約90°回転させたときの例示的なカートリッジの上面図である。チャンバ1の流体は、移送チャネルの方へ、チャンバ1の底部に落下し、チャンバ2への移送の準備が整う。Cは、約90°回転させたときの例示的なカートリッジの上面図である。(上画像)流体がチャンバ2に移送されたとき、流体は、チャンバ2に充填して、固定レッジ1を満たすのに適切なコンパクトなサイズを占める。(下画像)磁石は、流体容積上に直接、位置付けられ、より速く/効率的

10

20

30

40

50

な P M P の収集を促進する。

【発明を実施するための形態】

【0031】

定義

本明細書に記載の実施形態を実施または試験する際に、本明細書に記載の方法及び材料に類似または同等の任意の方法及び材料を使用してもよいが、本明細書でいくつかの好ましい方法、組成物、装置、及び材料について説明する。ただし、本発明の材料及び方法の説明に入る前に、本明細書に記載の特定の分子、組成物、方法論、またはプロトコルは、通例の実験及び最適化に応じて変動することがあるため、本発明がこれらの記載事項に限定されないということを理解されたい。また、説明で使用する用語は、特定のバージョンまたは実施形態を説明するためのものに過ぎず、こうした用語が本明細書に記載の実施形態の範囲を限定するようには意図されていないことも理解されたい。

10

【0032】

別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術的用語及び科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。ただし、矛盾が生じる場合は、定義を含めて本明細書が優先される。したがって、本明細書に記載の実施形態の文脈において、以下の定義が適用される。

【0033】

本明細書及び付属の特許請求の範囲で使用される単数形「a」、「a n」、及び「t h e」は、文脈による別段の明確な定めがない限り、複数の指示対象を含む。よって、たとえば、「磁性粒子」への言及は、1つまたは複数の磁性粒子、及び、当業者に知られているその等価物などへの言及である。

20

【0034】

本明細書で使用される「及び／または」という用語は、個々にリストされた品目のいずれかを含む、リストされた品目のあらゆる組合せを含む。たとえば、「A、B、及び／またはC」は、A、B、C、AB、AC、BC、及びABCを含み、そのそれぞれが、記述「A、B、及び／またはC」によって説明され、個別に考慮されるべきである。

【0035】

本明細書で使用される「含む」という用語及びその言語的変形形態は、列挙された特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などの存在を示し、追加的な特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などの存在は除外されない。これに対し、「～からなる」という用語及びその言語的変形形態は、列挙された特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などの存在を示し、列挙されていない任意の特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などは、通常付随する不純物を除いて除外される。「本質的に～からなる」という表現は、列挙された特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などに加えて、組成物、システム、または方法の基本的性質に実質的に影響を及ぼさない任意の特徴（複数可）、要素（複数可）、方法ステップ（複数可）などを示す。本明細書における多くの実施形態は、オープンな「含む」という語を用いて記載されている。このような実施形態は、このような語を用いて代替的に特許請求または説明することができる、実施形態の複数のクローズドな「～からなる」及び／または「本質的に～からなる」を含む。

30

【0036】

本明細書で使用される「略すべての」、「略完全な」という用語及び類似の用語は、99%より大きいことを表し、「実質的でない」、「実質的に含まない」という用語及び類似の用語は、1%未満を表す。

40

【0037】

「約」という用語は、値または範囲におけるある程度のばらつきを考慮に入れる。本明細書で使用される「約」という用語は、列挙された値または範囲の10%以内の値を表す（たとえば、約50は45～55の等価物である）。

【0038】

50

本明細書で使用される「システム」という用語は、望ましい目的のために集合的に集められた装置、組成物などの群を表す。

【0039】

本明細書で使用される場合、「アトール」という用語は、開口の縁を囲むかつ／またはそれに近い隆起部を表す。アトールは、任意の適切な形状とすることができますが、通常はリング形状であり、井戸またはチャンバの円形開口の縁に近い。

【0040】

本明細書で使用される「バッファ」という用語は、本明細書に記載の装置及び方法で使用するための、望ましい目的（たとえば、細胞溶解、検体への捕捉剤の結合、検体結合 P M P からの汚染物質の洗浄、P M P からの検体の溶出など）を実現するための適切な成分及び特性を含む液体または溶液を表す。「バッファ」は、本明細書で使用される場合、p H の安定をもたらす化合物を備えてもよく、または、備えなくてもよい。

10

【0041】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、抗体分子全体またはその断片（たとえば、F a b、F a b'、及びF ( a b' ) 2などの断片）を表し、それは、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体などであってもよい。

【0042】

本明細書で使用される「抗体断片」という用語は、全長抗体の一部を表し、抗原結合領域または可変領域の少なくとも一部を含む。抗体断片は、F a b、F a b'、F ( a b' ) 2、F v、s c F v、F d、ダイアボディ、及び、インタクトな抗体の可変領域の少なくとも一部を保持する他の抗体断片を含むが、これらに限定されるものではない。たとえば、本明細書に全体として参照により組み込まれる、H u d s o n e t a l . ( 2 0 0 3 ) N a t . M e d . 9 : 1 2 9 - 1 3 4 を参照のこと。ある実施形態において、抗体断片は、組み換えD N A技術または化学ポリペプチド合成によって生成されたインタクトな抗体の酵素または化学開裂（たとえば、抗体のパパイン消化及びペプシン消化）によって生成される。

20

【0043】

サンプルからの検体の磁気分離を促進する装置、及びその使用方法が本明細書で提供される。特定の実施形態において、サンプルからの検体の界面横断磁気分離（T I M S）のための装置及び方法が提供される。

30

【0044】

いくつかの実施形態において、T I M S 装置（たとえば、カートリッジ）は、複数（たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、もしくはそれ以上、または、その間の範囲（たとえば、2つ以上））の離散的なチャンバを備え、チャンバはそれぞれ、試薬液体を含むことが可能である。

【0045】

いくつかの実施形態において、装置の反転時、チャンバの液体は、チャンバ開口と移送表面（たとえば、疎水性移送膜）との間に固定されている。移送表面は、チャンバ開口の上方に位置付けられているが、チャンバ開口に接触はしていない。

【0046】

いくつかの実施形態において、常磁性粒子（P M P）及びそれに結合された任意の検体は、移送表面の上側に磁石を配置することによって、チャンバの1つから収集され、それによって、移送表面に対してP M Pを固定する。いくつかの実施形態において、移送表面に沿った磁石の横方向移動は、結果としてP M Pの移動になる。（磁石を引き戻す、または、移送表面を通り過ぎることによって）磁石からP M Pを解放することにより、P M P及びそれに結合された任意の検体が第2のチャンバに析出する。他の実施形態において、磁石は、液体／気体界面を越えて配置され、それによって、液体／気体界面を越えて、液体からP M Pを引き入れる。次に、P M Pは、付加的な処理のために次のチャンバに移送することができる。

40

【0047】

50

いくつかの実施形態において、PMPならびに液体サンプル及び試薬は、1つのチャンバから次へ移送される。いくつかの実施形態において、2つのチャンバを接続しているチャネルは、移送を促進する。いくつかの実施形態において、チャンバ及びチャネルは、装置が第1の向きで保持されるとき、PMP及び液体サンプル／試薬が最初のチャンバ（たとえば、溶解チャンバ）に保持されるような幾何学的形状である。静水圧重力、及び／または、液体のチャネルとの不整列により、液体の移送が防止される。いくつかの実施形態において、装置を第2の向き（たとえば、10～90°の回転）にすると、液体サンプル／試薬及びPMPは、チャネルを通じて後続のチャンバ（たとえば、混合チャンバ）へ流れることができる。

#### 【0048】

チャンバの開口のアトール、最適化されたチャンバ／アトールの大きさ、磁石位置、ヒータ／クーラの存在、密封された試薬、密封チャンバ対開けられるチャンバ、エアロック、固定レッジ、親水性及び疎水性コーティング、静水圧、カートリッジの回転、回転混合、独立した溶解及び混合チャンバなどの付加的な特徴が、サンプル処理、及び、液体／気体界面にわたるチャンバ液体または他の汚染物質の最小限の移送（たとえば、移送される材料の10%未満（たとえば、質量%、容積%など）がチャンバ液体である（たとえば、<10%、<9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1%、またはより少ない））によるチャンバ間の検体結合粒子の効率的な移動、ならびに、本明細書の装置によるサンプルからの検体の精製／単離を促進する。例示的な実施形態は図に示され、本明細書で説明される。

10

#### 【0049】

いくつかの実施形態において、TIMSカートリッジは、複数（たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上、またはその間の範囲（たとえば、2つ以上））の離散的なチャンバ（たとえば、同一のチャンバ、または、ある特定の使用（たとえば、試薬追加／混合、溶解、洗浄、溶出など）のために特別に向けられた、覆われた、配置された、寸法決めされた、形づくられるなどしたチャンバ）を備える。

20

#### 【0050】

いくつかの実施形態において、サンプル調製バッファはユーザによって加えられる、または、特定の用途のために（たとえば、特定の検体の精製／抽出／単離／調製のために）予備ロードされる。いくつかの実施形態において、試薬（たとえば、溶解試薬、結合試薬、溶出試薬、洗浄試薬など）は、チャンバに加えられる、または、予備ロードされる。捕捉試薬を示すPMP（たとえば、核酸ハイブリダイゼーションプローブ、抗体または抗体断片、親和剤（たとえば、ストレプトアビシン、二価ニッケルなど）など）が、望ましい検体（たとえば、DNAまたはRNA、エピトープを示す薬剤、親和性標的（たとえば、ビオチンにリンクされる、His<sub>6</sub>タグを示すなど）など）のために、ユーザによって加えられる、または、チャンバに予備ロードされる。いくつかの実施形態において、試薬及びバッファは、チャンバ内でアクセスできてもよく、または、主チャンバから可逆的に密封されてもよい（たとえば、カプセル、膜、ブリスタ、または他のカバーによって）。いくつかの実施形態において、試薬及びバッファは、チャンバに接続されたチャネルを介して加えられる。いくつかの実施形態において、試薬は、チャネルを介して、1つのチャンバから次へと流れる（たとえば、試薬がチャネルを通じてアクセスまたは進行することを可能とする装置回転またはプランジャ作動時）。いくつかの実施形態において、ペントは、チャネルを介した試薬の追加時の、圧力の放出を可能にする。

30

#### 【0051】

本明細書の装置は、複数のチャンバと、チャンバ間の（i）PMP及び流体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）または（ii）PMP単独の移送のために構成された装置の幾何学構造とを備える。本明細書のいくつかの実施形態は、2つのチャンバ間の（たとえば、1つまたは複数の液体／気体界面を備える）エアギャップを利用して、最初のチャンバから後続のチャンバへのPMP／結合薬剤及びそれに結合された検体の移送を促進し、同時に、液体（たとえば、サンプル、試薬、汚染物質、バッファなど）

40

50

の移送を最小化する。装置の反転（たとえば、特に、上部にアトールのあるチャンバと結合されたとき）、移送チャネル及び移送（たとえば、ドラッグ）表面の下のエアロックチャンバ（たとえば、固定レッジを有する）などの、さまざまな装置幾何学構造及び移送方法が、エアギャップ及び液体／気体界面（複数可）を確立するのに使用されてもよい。エアギャップの作成、ならびに、PMP及び結合された検体のエアギャップの通過の、例示的な幾何学構造／方法は、本明細書で説明される。他の本明細書の実施形態は、チャンバ間のPMP及び流体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）の移送を可能にする。このような実施形態は、装置が第1の向きに位置付けられたときは、材料（たとえば、PMP及び流体）の移送を妨げるが、装置が装置の軸を中心に（たとえば、10°～90°回転された）第2の向きに位置付けられたときは、材料（たとえば、PMP及び流体）の移送が可能になる、チャンバ間のチャネルを備えてよい。チャンバ間でPMP、液体試薬（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）、及び結合された検体を受け渡す例示的な幾何学構造／方法は、本明細書で説明される。本明細書の特定の装置は、チャンバ間で材料を移送するためのさまざまな要素を組み合わせてもよく、かつ／または、チャンバ間での材料の移送のためのさまざまな技術を組み合わせてもよい。

#### 【0052】

いくつかの実施形態において、ユーザは、特定の検体を含有する、または、含有するとみられるサンプル（たとえば、生体または環境サンプル）を第1のチャンバに供給する。いくつかの実施形態において、第1のチャンバのPMP、サンプル、バッファ、試薬などは、PMPを再懸濁するために、かつ／または、PMP上の捕捉試薬への検体の結合を可能とするために、（たとえば、手動で（たとえば、揺動、反転など）、または、機械的手段（たとえば、超音波処理、磁気的流動など）によって）混合される。いくつかの実施形態において、チャンバの温度は、サンプル混合、サンプル溶解、検体結合などを促進するために操作される（たとえば、加熱、冷却、またはその両方）。カートリッジは、チャンバの液体がチャンバ（及び／またはアトールの頂部）の縁と移送膜（たとえば、疎水性移送膜）との間のエアギャップで固定される（図2）ように操作（たとえば、反転）される。カートリッジの適切な大きさ（たとえば、G<sub>h</sub>）により、各チャンバの液体によって生成される固定された液体プールの間にエアギャップ（A<sub>g</sub>）が存在することが保証される。（たとえば、第1のチャンバに存在する捕捉検体を有する）PMPは、移送表面を通した第1のチャンバへの磁場の適用によって収集される（図3）。いくつかの実施形態において、磁石は、移送表面に対して検体結合PMPのペレットを形成するために、移送表面の遠位側に（たとえば、ユーザによって手動で、自動化された装置によって、など）配置される。移送表面にわたって横方向への磁場の移動により、収集されたPMPは、第1のチャンバの固定された液体を通って、第1のチャンバと第2のチャンバとの間のエアギャップに、そして、第2のチャンバの固定された液体に移動する。磁場を取り外すことにより、検体結合PMPを第2のチャンバのバッファに放出する。あるいは、移送表面にわたって磁石を（たとえば、繰り返し）横切らせることで、移送表面上を走らせることによって、検体結合PMPを放出させてもよい。いくつかの実施形態において、チャンバへのPMPの放出は、チャンバの反対側の端部（たとえば、底部、閉鎖端など）への磁場の一時的な適用によって促進される。（たとえば、PMP及び検体を洗浄するための）バッファの混合、PMPの磁気的な収集、エアギャップを通る次のチャンバの固定された液体（たとえば、洗浄バッファ）へのPMPの移動、ならびに、次のチャンバへのPMPの放出の各プロセスは、その後のチャンバについても繰り返される。いくつかの実施形態において、PMPは、PMPから検体を放出するために、最終チャンバの溶出バッファに移動される。いくつかの実施形態において、検体の放出は、溶出バッファでサンプルを加熱することによって促進される。PMPは、溶出バッファから取り除かれ、溶液中の抽出／単離／精製された検体になる。PMPは、任意の適切な技術（図14F～G参照）によって、溶出バッファから取り除かれてもよい。いくつかの実施形態において、PMPが検体及び／または溶出バッファから分離されると、検体及び／または溶出バッファは、装置から取り除かれる（たとえば、図14H）。いくつかの実施形態において、上記のプロセスは、單一

10

20

30

40

50

の装置内 / 上での、数分以内 (たとえば、20分、15分、10分、5分、4分、3分、2分、またはそれ以下、または、その間の範囲 (たとえば、<10分)) の望ましい検体の精製を提供する。いくつかの実施形態において、抽出 / 単離 / 精製された検体は、分析及び / またはその後の処理の準備ができている。

#### 【0053】

いくつかの実施形態において、(たとえば、処理された (たとえば、溶解、濾過、遠心分離など) または処理されていない) サンプルの1つまたは複数、PMP、溶解試薬、バッファ、及び他の試薬は、第1のチャンバ (たとえば、混合チャンバ) の中で組み合わされる。いくつかの実施形態において、(たとえば、サンプル内の (たとえば、処理された、または、処理されていない) ) 検体及びPMPは、第1のチャンバ (たとえば、混合チャンバ) に個別に加えられる。いくつかの実施形態において、(たとえば、サンプル内の (たとえば、処理された、または、処理されていない) ) 検体及びPMPは、第1のチャンバ (たとえば、混合チャンバ) の中で組み合わされる。

10

#### 【0054】

本明細書の装置の実施形態は、大きさ、形状、または関連する寸法によって限定されないが、いくつかの実施形態において、本明細書で説明される好ましい寸法 (たとえば、 $A_w$ 、 $A_h$ 、 $G_h$ 、 $F_h$ 、 $A_g$ など) は、効率的かつ有用な検体精製を提供する。

#### 【0055】

いくつかの実施形態において、チャンバの開口はアトールによって高くなっている。いくつかの実施形態において、アトールはチャンバの開口から上に伸びている。いくつかの実施形態において、隣接するチャンバのアトールは接続せず、隣接するアトール間にギャップを作成する。いくつかの実施形態において、アトールは、チャンバ開口間に不連続な表面を作成する。いくつかの実施形態において、アトールは、チャンバの開口に近く、チャンバ開口に類似の形状 (たとえば、円形) を有する。他の実施形態において、アトール及びチャンバ開口は、異なる形状である。たとえば、ある実施形態において、非対称のアトールは、移送表面に対してサンプルを収集する付加的な空間を可能にする (たとえば、溶出に関して (図14H))。いくつかの実施形態において、アトールは、定義された高さ ( $A_h$ ) 及び幅 ( $A_w$ ) を有する。アトール高さ ( $A_h$ ) は、移送表面とチャンバの頂部との間の距離 ( $F_h$ ) とともに、エアギャップの高さ ( $G_h$ ) を定義する (図1)。アトール幅 ( $A_w$ ) は、隣接するチャンバ間の距離とともに、エアギャップの幅 ( $A_g$ ) を定義する (図2)。エアギャップの高さ ( $G_h$ ) は、アトールの外縁の近くに、安定した液体プールを定義して、作成する。適切な寸法は、(たとえば、エアギャップを維持する間) 固定された液体間の接触がなく、さらに、第1のチャンバからの液体による、隣接するチャンバの液体の汚染がほとんどなく、第1のチャンバの固定された液体から隣接するチャンバの固定された液体へのPMPの移動を可能にするのに十分な寸法のエアギャップを作成するように選択される。アトールと移送表面との間の約 0.025 ~ 0.25 mm (たとえば、0.025 mm、0.03 mm、0.04 mm、0.05 mm、0.06 mm、0.07 mm、0.08 mm、0.09 mm、0.10 mm、0.11 mm、0.12 mm、0.13 mm、0.14 mm、0.15 mm、0.16 mm、0.17 mm、0.18 mm、0.19 mm、0.20 mm、0.21 mm、0.22 mm、0.23 mm、0.24 mm、0.25 mm、または、その間の範囲 (たとえば、0.10 ~ 0.15 m m) ) のオーダーの例示的なギャップ高さ ( $G_h$ ) は、カートリッジが反転されているとき (図2)、各チャンバ内の液体が、流れ出て、各それぞれのアトールの外径 (OD) で固定されたようになることを保証する。 $G_h$  が小さいので、図から分かるように、表面張力及び毛管力が支配し (結合数、 $B_0 << 1$ 、式1参照)、重力により液体の固定された縁を失うことはない。

20

#### 【式1】

#### 【0056】

$$\text{式1 } B_0 = \frac{\Delta \rho g (G_h)^2}{\sigma}$$

30

40

50

## 【0057】

ここで、

= 二相の密度差

$g$  = 重力加速度

$G_h$  = 液体プールが固定される、フレームとアトールとの間の薄いギャップ

= 表面張力

密封された液体チャンバは、液体が流れ出るとき、負の空気圧を引くことによって静水頭を最小化する。さらに、アトールは、静水圧を比較的大きな領域に広げる、大きな円形界面を提供する（図2）。エアギャップ（ $A_g$ ）によって分離された離散的な液体プールが各チャンバに作成され、それが液体相互汚染を防止する。これは、多くの他の技術で使用される、コストの高い不混和性のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）適合性油の必要性を排除する。いくつかの実施形態において、アトールの内径は、アトール上の液体及びPMPの流れを促進するために、丸み付き縁部またはコーナーを有する。

10

## 【0058】

いくつかの実施形態において、 $A_g$ は、TIMS（チャンバからチャンバへのPMPペレットの移動）の間、液体架橋がないことを保証するだけ十分に大きい。さらに、固定された液体縁は乱されない。いくつかの実施形態において、 $G_h$ は、狭いチャネルに沿った移動の間、硬いPMPペレットの剪断を防ぐだけ十分に大きい（たとえば、ペレット高さ）が、アトール外縁で表面張力及び液体固定に影響を及ぼすだけ十分小さい。高い磁場強度は、薄い移送表面を使用することによって影響を及ぼされる。たとえば、疎水性膜は、移動中のPMP損失を減少させる（PMPは表面に固着しない）。PMPは、液体対空気対液体界面を横切る。1つのチャンバから次のチャンバへの液体のキャリーオーバ（たとえば、望ましくない汚染）は最小化される。

20

## 【0059】

いくつかの実施形態において、本明細書の装置は、複数のチャンバ（たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、32、またはそれ以上、またはその中の範囲）を備える。いくつかの実施形態において、チャンバ開口は、装置の表面と（たとえば、表面にそびえるアトールと）同一平面にある。いくつかの実施形態において、いくつかのチャンバは、装置に沿って直線的に配設される。いくつかの実施形態において、チャンバは、装置の表面上に複数の行及び/または列で配設される。いくつかの実施形態において、装置のすべてのチャンバは、同一の大きさ、形状などである。いくつかの実施形態において、複数の異なるチャンバが（たとえば、異なる機能（たとえば、サンプル混合、サンプル溶解、PMP結合、洗浄、溶出など）のために）装置上に設けられる。いくつかの実施形態において、装置が運転中であるとき、チャンバは開放頂部と閉鎖底部とを備える。いくつかの実施形態において、チャンバの開放頂部は、単一の着脱可能な閉鎖（たとえば、剥離可能な膜または積層）によって密封される（使用前）。いくつかの実施形態において、チャンバの開放頂部は、個別の閉鎖（たとえば、剥離可能な膜または積層、キャップ、ネジ蓋など）によって個々に密封される（使用前）。いくつかの実施形態において、閉鎖底部は、不可逆的に閉じられる（たとえば、底部は側部に結合される）。いくつかの実施形態において、チャンバの底部は、再封可能な蓋またはキャップを備える。

30

## 【0060】

いくつかの実施形態において、チャンバ容積は、 $25\mu l \sim 2ml$ （たとえば、 $25\mu l$ 、 $50\mu l$ 、 $100\mu l$ 、 $150\mu l$ 、 $200\mu l$ 、 $300\mu l$ 、 $400\mu l$ 、 $500\mu l$ 、 $600\mu l$ 、 $700\mu l$ 、 $800\mu l$ 、 $900\mu l$ 、 $1ml$ 、 $1.5ml$ 、 $2ml$ 、または、その間の範囲（たとえば、 $50\mu l \sim 1ml$ ））である。いくつかの実施形態において、チャンバ開口は、直径が $1 \sim 15mm$ （たとえば、 $1mm$ 、 $2mm$ 、 $3mm$ 、 $4mm$ 、 $5mm$ 、 $6mm$ 、 $7mm$ 、 $8mm$ 、 $9mm$ 、 $10mm$ 、 $11mm$ 、 $12mm$ 、 $13mm$ 、 $14mm$ 、 $15mm$ 、または、その間の範囲（たとえば、 $2 \sim 10mm$ ））である。いくつかの実施形態において、アトール幅（ $A_w$ ）は、 $1 \sim 20mm$ （たとえば、 $1$

40

50

mm、2 mm、3 mm、4 mm、5 mm、6 mm、7 mm、8 mm、9 mm、10 mm、11 mm、12 mm、13 mm、14 mm、15 mm、16 mm、17 mm、18 mm、19 mm、20 mm、または、その間の範囲(たとえば、1~10 mm)である。いくつかの実施形態において、アトール高さ( $A_h$ )は、0.1~5 mm(たとえば、0.1 mm、0.2 mm、0.3 mm、0.4 mm、0.5 mm、0.6 mm、0.7 mm、0.8 mm、0.9 mm、1.0 mm、1.1 mm、1.2 mm、1.3 mm、1.4 mm、1.5 mm、1.6 mm、1.7 mm、1.8 mm、1.9 mm、2.0 mm)または、その間の範囲(たとえば、0.1~3 mm)である。いくつかの実施形態において、フレーム高さ( $F_h$ )は、 $A_h + 0.025 \text{ mm} \sim A_h + 0.5 \text{ mm}$ (たとえば、 $A_h + 0.025 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.050 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.1 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.125 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.15 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.175 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.2 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.225 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.25 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.275 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.3 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.325 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.35 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.375 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.4 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.425 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.45 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.475 \text{ mm}$ 、 $A_h + 0.5 \text{ mm}$ 、または、その間の範囲(たとえば、 $A_h + 0.025 \text{ mm}$ 及び $A_h + 0.25 \text{ mm}$ )である。いくつかの実施形態において、狭いギャップ高さ( $G_h$ 、 $F_h - A_h$ と定義される)は、0.025 mm~0.5 mm(たとえば、0.025 mm、0.050 mm、0.15 mm、0.175 mm、0.2 mm、0.225 mm、0.25 mm、0.275 mm、0.3 mm、0.325 mm、0.35 mm、0.375 mm、0.4 mm、0.425 mm、0.45 mm、0.475 mm、0.5 mm)または、その間の範囲(たとえば、0.025 mm~0.25 mm)である。いくつかの実施形態において、アトール( $A_g$ )間のエアギャップは、0.5~8 mm(たとえば、0.5 mm、0.6 mm、0.7 mm、0.8 mm、0.9 mm、1.0 mm、1.5 mm、2.0 mm、2.5 mm、3.0 mm、3.5 mm、4.0 mm、4.5 mm、5.0 mm、5.5 mm、6.0 mm、6.5 mm、7.0 mm、7.5 mm、8.0 mm)または、その間の範囲(たとえば、1~5 mm)である。

#### 【0061】

いくつかの実施形態において、チャンバは、チャンバ全体にわたって平坦な底部及び一定の深さを備える。しかしながら、他の実施形態において、チャンバは、深部と浅部とを備える。異なる深さを備えるチャンバは、装置の向きに応じて、異なる有効容積を有する。たとえば、装置が平面的な向きにあるとき、このようなチャンバの中の液体は、チャンバの深部に存在する。しかしながら、非平面的な向きへ装置が回転すると、液体は、チャンバの浅部に流れ込む。いくつかの実施形態において、液体をチャンバの異なる深さに入れることにより、液体がチャネルに流れ込んでもよく、かつ/または、エアロックに対して固定されたようになってもよい(たとえば、図16参照)。

#### 【0062】

いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置は、反転したチャンバからの液体が移送表面に対して固定され、エアギャップが隣接するチャンバの固定された液体の間に形成される限り、チャンバ及びチャンバ開口の形状の寸法によって限定されない。本明細書に示される実施形態は、円形チャンバ及びチャンバ開口(したがって、リング形状のアトール)を示す。いくつかの実施形態において、装置は、円形横断及び/または円形開口横断を有するチャンバを備える。他の実施形態において、他の形状(たとえば、卵形、三角形、正方形、五角形、六角形など)のチャンバ及び/またはチャンバ開口が利用される。いくつかの実施形態において、チャンバは首部を有し、それにより、チャンバの開口は、チャンバ自体より小さい(たとえば、直径が小さい)(図4)。他の実施形態において、チャンバの開口は、チャンバ自体と同じ大きさ(たとえば、同じ直径)である(図4)。いくつかの実施形態において、チャンバの壁は、互いに平行であり、かつ/または、チャンバ開口に垂直である(図12、左)。他の実施形態において、チャンバ壁は、チャンバの平均的な幅(たとえば、直径)より大きいチャンバ開口を作成するために傾斜する。いくつかの実施形態において、チャンバ開口は、チャンバからPMPを取り除くのに

10

20

30

40

50

使用される磁石と略同じ大きさである（たとえば、+/-20%、+/-15%、+/-10%、+/-50%、+/-2%、+/-1%、または、その間の範囲）。いくつかの実施形態において、チャンバの底部は、任意の適切な形状（たとえば、丸い形状、四角に区切られた形状、平坦な形状など）であってもよい。

#### 【0063】

いくつかの実施形態において、チャンバの内部は、単一の制限のない空間である。他の実施形態において、チャンバは、1つまたは複数の密封可能（かつ、開封可能）な区画を備える。いくつかの実施形態において、試薬は、区画内に含まれ、望ましい状況下でチャンバの残りの部分に放出される（たとえば、液体または特定の試薬の追加によって溶解される、シールが壊される、熱の下で溶解されるなど）。

10

#### 【0064】

いくつかの実施形態において、装置は、チャンバ開口の上にアトールを備える。いくつかの実施形態において、アトールは、アトールと移送表面との間でのチャンバ内の液体の固定を容易にする。いくつかの実施形態において、アトールはチャンバ開口を囲む。いくつかの実施形態において、アトールは開口の頂面に近い。いくつかの実施形態において、アトールは、チャンバ開口の外縁と同じ形状（たとえば、円形）である。いくつかの実施形態において、アトールは、チャンバ開口の直径または幅と等しい内側の幅または直径を有する。いくつかの実施形態において、アトールは、チャンバ開口の直径または幅より大きい外側の幅または直径を有する。いくつかの実施形態において、アトール形状は、チャンバ開口の形状に限定されない。アトールは、たとえば、アトール上に固定される液体の容積を変更するために、より広いまたはより狭い領域を備えてよい。

20

#### 【0065】

装置が反転されたとき（または、他の実施形態では、回転されたとき）、重力はチャンバから液体を引き出し、各チャンバからの液体の「プール」は、アトールと移送表面との間に固定される。装置の寸法は、プール前面が、アトールの外縁（外径（OD））と同じ（略同じ）だけ進むことを保証する。移送表面は、チャンバからの液体の流れを制限し、チャンバ間の漏出または汚染を防止する。移送表面は、PMPが隣接する固定された液体プールにエアギャップを通して移送されるプラットフォームも提供する。いくつかの実施形態において、移送表面は、平滑な、平坦な、及び／または剛性の材料を備える。いくつかの実施形態において、移送表面は、ポリカーボネートなどの、平滑な硬質プラスチックを備える。移送表面及び他の装置構成要素のための他の例示的な材料は、本明細書で説明されて、いくつかの実施形態で使用される。いくつかの実施形態において、移送表面は、酸化マンガンポリスチレン（MnO<sub>2</sub>/PS）ナノコンポジット、亜鉛華ポリスチレン（ZnO/PS）ナノコンポジット、沈降炭酸カルシウム、カーボンナノチューブベースのコーティング、シリカナノコーティングなどの疎水性コーティング（たとえば、超疎水性コーティング）を備える、または、それらで完全にもしくは部分的に覆われる。液体と移送表面との間に大きな接触角をもたらす任意のコーティング、膜、薄膜などは、本明細書の実施形態で使用してもよい。いくつかの実施形態において、移送表面（たとえば、ドラッグ膜）またはPMPが接触する他の表面上の疎水性コーティングは、固定された液体空気界面の安定化、及び、特に、液体がペレットの潤滑として使用されないエアロック領域での流動／移動中のPMPの静止摩擦の防止の両方に役立つ。

30

#### 【0066】

いくつかの実施形態において、エアギャップは、チャンバ間に（たとえば、移送チャネルに沿って）作成される。いくつかの実施形態において、2つのチャンバは、エアトラップ（たとえば、2つのチャンバ間の移送チャネルの下に配置される小さいチャンバ）によって分離される。いくつかの実施形態において、エアトラップは、（たとえば、ベース層及び／またはドラッグ（または、移送）層によるエアトラップの両側の液体間の表面張力によって）エアギャップを誘起する。いくつかの実施形態において、エアギャップは、エアロック上を延在するが、エアロックを横切らないベース層に存在する固定レッジ（たとえば、突出部分）の存在によって、さらに誘起される。いくつかの実施形態において、エ

40

50

アロックの一方側の液体は、固定レッジの末端から移送（または、ドラッグ）層まで延在する液体／気体界面を形成する。いくつかの実施形態において、移送層の背後（または、上方）からの磁場の適用により、PMPを、エアギャップを通して、移送層にわたって移送することができ、一方、液体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）は、エアロックを通ることができない。いくつかの実施形態において、移送層の上方（または、背後）から適用される、エアギャップ内の磁場は、液体材料（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）の大きな移送なしに、液体／気体界面を通してPMPを引く。このような実施形態において、磁場の移動により、後続の液体層へのPMPの移送が可能になる。

#### 【0067】

10

いくつかの実施形態において、表面張力能力に影響を及ぼすことに加えて、密封エアロックチャンバは、たとえば、チャンバ2（たとえば、混合チャンバ）とチャンバ3（たとえば、洗浄チャンバ）との間の安定した液体空気界面の作成にさらに役立つ。いくつかの実施形態において、エアロックは、たとえば、チャンバ2とチャンバ3との間にエアギャップを作成し、そのエアギャップを通して、PMPは移送されるが、液体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）及び汚染物質は移送されない。

#### 【0068】

いくつかの実施形態において、エアロックチャンバは、（たとえば、（たとえば、移送チャネルに沿った）長さ、（たとえば、移送チャネルに垂直な）幅、及び、2～15mmの深さ（たとえば、2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、0.9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm、または、その間の範囲の）寸法を備える。いくつかの実施形態において、固定レッジは、エアギャップ内に、かつ、エアロックチャンバ上に、0.5～2mm（たとえば、0.5mm、0.75mm、1mm、1.25mm、1.5mm、1.75mm、2mm、または、その間の範囲）広がる。いくつかの実施形態において、固定レッジは存在しない（たとえば、エアロックチャンバ上にベース層が延在しない）。いくつかの実施形態において、エアロックチャンバにわたるエアギャップは、3～8mm（たとえば、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、または、その間の範囲（たとえば、4～6mm））である。いくつかの実施形態において、固定レッジ間の最小距離は、3～8mm（たとえば、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、または、その間の範囲（たとえば、4～6mm））である。

20

#### 【0069】

30

いくつかの実施形態において、PMPを「流す」（たとえば、液体空気界面から離れた距離（たとえば、0.5mm、1mm、1.5mm、2mm、2.5mm、3mm、3.5mm、4mm、4.5mm、5mm、または、その間の範囲）に（たとえば、エアギャップ上に）磁場を位置付け、磁気力を使用して、エアギャップ内にPMPを引き出す）ことにより、PMPペレット内の望ましくない液体のキャリーオーバがほとんどなしに、クリーンな試料移送が提供される。（たとえば、PMPの磁気誘導されたペレット上に連続的に位置付けられた磁石によって）引きずるのではなく、液体／気体界面を横切ってPMPを流れさせることは、液体／気体界面の伸びを減少させ、PMPとのエアギャップへの望ましくない液体のキャリーオーバの量を減少させる。いくつかの実施形態において、流すことは、以下によって実現される。（i）チャンバ内のPMPを移送表面上のペレットに引き入れるために、（たとえば、移送表面（たとえば、ドラッグ膜）の反対側の近く／に対して磁石を配置することによって）チャンバの上方に磁場を作成すること、（ii）気体／液体界面の近くまたはそれに隣接する位置にPMPのペレットを運ぶために、移送チャネルに沿って磁場を移動させること、（iii）（たとえば、移送表面（たとえば、ドラッグ膜）から離れるように磁石を持ち上げることによって）PMPが遭遇した磁場を減少または除去すること、（iv）（たとえば、移送表面の反対側の近く／に対して磁石を配置することによって）エアギャップ内で磁場を再生成すること、及び、（v）液体内でペレット化されたPMPが液体からエアギャップに流れ出ることを可能にすること。ペ

40

50

レット全体を引きずるのではなく、界面を横切って PMP を流すことによって、液体は PMP とともにほとんどキャリーオーバしない。PMP をエアギャップに流した後、PMP は、第 2 の液体 / 気体界面を横切って、次のチャンバに引きずられてもまたは流されてもよい。

#### 【0070】

いくつかの実施形態において、チャンバ、及びそれに接続されるチャネル、ベント、ポートなどは、チャンバ / チャネル間の流れ及び / または静水圧が、装置の位置を新しい方向に向ける（たとえば、軸を中心に装置を回転させる）ことによって誘導可能であるよう構成される。たとえば、装置は、サンプルを加熱するとき、平面的な（約 0° の回転）向きで存在してもよく、磁気力などによって移送チャネルに沿って PMP を移送する。いくつかの実施形態において、平面的な向きで存在することは、固定された液体 / 気体界面に対する応力を減少させる。しかしながら、長手方向軸（図 15B 参照）を中心とした、たとえば、10 ~ 90°（たとえば、10°、20°、30°、40°、50°、60°、70°、80°、90°、または、その間の範囲（たとえば、30 ~ 60° など））までの装置の回転により、流体及びチャネルを満たすことが可能であり、PMP 収集のためのチャンバ内への液体の圧縮、チャネルを通しての材料の移送などを行う。いくつかの実施形態において、平面的な向きと回転した向きとの間で（たとえば、1 回または複数回（たとえば、1、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上、または、その間の範囲））装置を切り換えることによって、本明細書で説明されるさまざまなステップ（たとえば、流体移送、チャネルブライミング、流体圧縮、PMP 圧縮、PMP 移送、PMP 収集、混合など）が実行される。いくつかの実施形態において、重力が装置の幅方向に加えられるように、カートリッジの向きがほとんど垂直（たとえば、垂直からのずれが < 30°、< 25°、< 20°、< 15°、< 10°、または < 5°）であるとき、静水頭はチャネルを満たすのを助けるように発生する。これは、空気 / 水界面全体の圧力低下にも影響を与える。カートリッジの平面がほとんど水平（「平面状」とも言う）（たとえば、水平からのずれが < 30°、< 25°、< 20°、< 15°、< 10°、または < 5°）であるとき、圧力低下は減少して、気体 / 液体界面をより安定させ、粒子がその界面を横切って引かれるとき破壊されることは少ない。装置の回転は、充填のための 1 つの界面の圧力低下及び粒子流動のための別の界面の圧力低下を有する能力を提供する。

#### 【0071】

いくつかの実施形態において、2 つのチャンバ間のチャネルは、装置が第 1 の向き（たとえば、平面的な向き）にあるとき、第 1 のチャンバ（たとえば、溶解チャンバ）の底部に、及び、第 2 のチャンバ（たとえば、ハイブリダイゼーションチャンバ）の頂部に結合されている。これは、装置が第 1 の向きにあるとき、チャネルを通る液体の流れを妨げる。しかしながら、装置を第 2 の向きに配置（たとえば、長手方向軸に沿って回転）することにより、流体は重力下で（たとえば、重量単独で、または、加えられる二次圧力とともに）チャネルを通って流れることができる。

#### 【0072】

いくつかの実施形態において、サンプル及び / または試薬は、開放頂部を備えるチャンバに加えられる。いくつかの実施形態において、キャップまたはプラグは、チャンバの頂部開口に固定される。いくつかの実施形態において、キャップ / プラグは、2 つ以上の閉構造を採用できるようなプランジャ機能を備える（たとえば、隆起（それでも、閉）構造、押下構造など）。いくつかの実施形態において、プランジャキャップが隆起 / 閉構造であるとき、チャンバの頂部は密封されるが、チャンバの頂部の近くのベントは大気開放している。いくつかの実施形態において、チャンバの頂部近くにベントを配置することによって（ベントの小型の端部）、装置のかなりの回転及び / または揺動により、液体がベントを通してチャンバを出ることはない。いくつかの実施形態において、プランジャキャップが押し下げられたとき、ベントは密封され（チャンバの開放頂部に加えて）、したがって、圧力がチャンバの内容物に加えられる。この圧力により、（たとえば、サンプル、試薬、バッファなどを備える）チャンバ内の液体は、プランジャキャップによって密封された

10

20

30

40

50

チャンバに接続するチャネルを通って、その後のチャンバに流れる。

【0073】

いくつかの実施形態において、本明細書の装置のチャンバの1つまたは複数（たとえば、溶解チャンバ、ハイブリダイゼーションチャンバ、洗浄チャンバなど）は、液体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）の容積と比較してかなり大きい。いくつかの実施形態において、チャンバの容積は、その中に含まれる液体（たとえば、サンプル、バッファ（複数可）、試薬など）の意図された（または、実際の）容積より大きい（たとえば、1.2X、1.4X、1.6X、1.8X、2.0X、2.2X、2.4X、2.6X、2.8X、3.0X、3.5X、4.0X、またはそれ以上、またはその間の範囲（たとえば、1.6X～2.6X））。いくつかの実施形態において、かなり大きいチャンバは、（たとえば、長手方向軸（図15B参照）を中心とした、別の軸を中心とした）装置の回転、または、揺動による（試薬、サンプル、PMPなどの）混合または再可溶化の促進を可能にする。いくつかの実施形態において、かなり大きいチャンバ容積及び寸法により、チャンバ内の液体の表面積対体積比が大きくなり（たとえば、特に装置が平面的な向きにあるとき）、それによって、チャンバ内の液体の温度変化（たとえば、加熱）の速度を上げる。

【0074】

いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置またはその構成要素は使い捨てである。いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置またはその構成要素は、1回限りの消耗品としての使用が意図される。いくつかの実施形態において、装置全体が使い捨てである。いくつかの実施形態において、装置のための材料は、装置の使い捨ての性質のためにコストを低下させるように選択される。いくつかの実施形態において、装置の一部または構成要素は使い捨てである（たとえば、チャンバ及び／またはチャンバを備えるプレート、移送表面など）、一方、装置の他の部分または構成要素は複数可使用される（たとえば、フレーム、磁石組立体など）。いくつかの実施形態において、（たとえば、チャンバ、移送表面、アトールなどを備える）1回限りのカートリッジは、（たとえば、フレーム、磁石、混合装置などを備える）複数回使用の装置に挿入される。いくつかの実施形態において、装置全体について複数回使用が意図される。

【0075】

特に、装置（または、少なくとも装置のチャンバ部）が消耗品である実施形態において、装置またはその一部には、チャンバに予備ロードされた適切なバッファ及び／または試薬（たとえば、捕捉PMP）が提供されてもよい（たとえば、購入されて、ユーザに提供される、など）。いくつかの実施形態において、試薬は、乾燥（たとえば、凍結乾燥された）形態で提供されてもよい。いくつかの実施形態において、輸送、貯蔵、取扱いなどの間の漏出は、アトールの頂部の間で延在するカバーで防止される。いくつかの実施形態において、このカバーは着脱可能である。いくつかの実施形態において、カバーは、剥離可能な箔積層体である。他の実施形態、特に、装置（または、装置の少なくともチャンバ部）が再使用可能である実施形態において、ユーザは、チャンバを適切なバッファ及び／または試薬（たとえば、捕捉PMP）で満たす。いくつかの実施形態において、ユーザは、1回限りの装置のチャンバ（複数可）に、1つまたは複数のバッファまたは試薬（たとえば、捕捉PMP）を加える。

【0076】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の乾燥試薬がチャンバ内に提供される。いくつかの実施形態において、乾燥試薬は、チャンバの主要なキャビティに提供され、それにより、チャンバへの液体の追加により、可能であれば、液体中で乾燥試薬が懸濁する。他の実施形態において、試薬（液体、または、乾燥）は、主キャビティから密封されたチャンバの二次空間内に含まれる。このような実施形態において、二次空間は、必要に応じて、任意の適切な方法（たとえば、シールの溶解、シールの破壊など）によって、チャンバの主キャビティの材料と試薬との混合を可能とするように開かれてよい。いくつかの実施形態において、バッファ試薬、溶解試薬、結合試薬、PMPなどは、チャンバの主

10

20

30

40

50

キャビティに、または、チャンバの開封可能な区画に提供されてもよい。

【0077】

いくつかの実施形態において、本明細書の装置 / 方法による検体の抽出 / 単離 / 精製は、（たとえば、チャンバの開口に隣接して配置された、移送表面の遠位側上の、チャンバの底部の下に配置された、などの）磁石と、チャンバのバッファ内の PMP との間の引力に依存する。いくつかの実施形態において、PMP はナノ粒子または微粒子である。移送表面の遠位側上での磁場の適用によって、移送表面に対してすぐに収集（たとえば、ペレット化）できる任意の適切な PMP は、本明細書の実施形態で使用してもよい。いくつかの実施形態において、PMP は、標的検体への（たとえば、非共有結合的、共有結合的）結合のための適切な捕捉剤を示す。捕捉剤は、検体のためのリガンド（たとえば、小分子またはペプチドリガンドなど）、抗体、抗体断片、抗原（たとえば、検体が抗体であるとき）、核酸（たとえば、NA 結合タンパク質の捕捉のため、相補的核酸の捕捉のため）、親和性分子（たとえば、ビオチンまたはストレプトアビジン（たとえば、ストレプトアビジンまたはビオチン標識検体の捕捉のため）、GST またはグルタチオン（たとえば、グルタチオンまたは GST 標識検体の捕捉のため）など）などであってもよい。本明細書の実施形態は、明示的に指定しない限り、捕捉剤の同一性によって限定されず、当該分野において知られているまたは理解されている任意の検体 / 捕捉剤対は、本明細書で使用してもよい。

10

【0078】

いくつかの実施形態において、PMP は、各チャンバで混合及び / または再懸濁される。いくつかの実施形態において、混合は手動で実行される（たとえば、手での揺動）。いくつかの実施形態において、混合は、機械的手段（たとえば、超音波処理、磁気的流動、機械的振盪機など）を介して実行される。いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置の外部の自動化装置が、混合を促進するために利用される。

20

【0079】

いくつかの実施形態において、PMP は、1つまたは複数の磁石の使用によって、チャンバ間を移送される。いくつかの実施形態において、磁石は、チャンバから PMP を引き出して、移送表面に対してそれらを収集するために、移送表面の遠位側に配置される。適切な大きさ、形状、及び強さの任意の磁石が採用されてもよい。いくつかの実施形態において、ユーザは、磁石を装置に手動で加える。いくつかの実施形態において、磁石は装置の一部である。いくつかの実施形態において、本明細書で説明されるカートリッジは、磁石を備える装置内に配置される。いくつかの実施形態において、磁石は、ユーザによって手動で移動される。いくつかの実施形態において、移送表面への磁石の適用、及び、チャンバ間の磁石の移動は、自動化される。いくつかの実施形態において、収集磁石は、PMP が下に整列したチャンバに PMP が入ることができるよう、移送表面から引き離される。いくつかの実施形態において、第 2 の磁石は、PMP を移送表面からチャンバに戻すために使用される。いくつかの実施形態において、第 2 の磁石はチャンバの底部に配置されて、PMP を移送表面からチャンバに引き入れる。

30

【0080】

いくつかの実施形態において、装置の中で実行されるさまざまな方法ステップは、装置の領域の温度の変化によって促進される。いくつかの実施形態において、チャンバ（もしくは、その一部）またはその中のサンプルは、たとえば、混合、試薬の溶解、検体と PMP との分離などを促進するために、（たとえば、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または、その間の範囲まで）加熱されてもよい。いくつかの実施形態において、チャンバ（もしくは、その一部）またはその中のサンプルは、たとえば、PMP への検体の結合の促進する、検体分解の防止する、などのために、（たとえば、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、または、その間の範囲まで）冷却されてもよい。任意の適切な加熱または冷却機構は、本明細書の範囲内である。いくつかの実施形態において、装置は、加熱機構のみ利用し、

40

50

冷却機構は利用しない。いくつかの実施形態において、能動的な冷却をなくすことで、装置のハードウェアは簡略化される。いくつかの実施形態において、ヒータは、処理を促進するために予熱される（たとえば、サンプルまたは液体試薬の導入の前の温度に至らせる）。

#### 【0081】

いくつかの実施形態において、異なるチャンバは、異なる温度で維持される。たとえば、溶解チャンバ（たとえば、サンプル内の細胞を溶解するための）は、70 を上回る温度（たとえば、70 、75 、80 、85 、90 、95 、または、その間の範囲）で維持されてもよく、一方、ハイブリダイゼーションチャンバ（たとえば、PMP 上の検体と捕捉剤との間の複合体の形成のための）は、50 ~ 70 の温度（たとえば、50 、55 、60 、65 、70 、または、その間の範囲）で維持される。いくつかの実施形態において、異なるチャンバの異なる温度での保守管理、及び、異なるチャンバでの異なるステップの実行により、温度感受性試薬を、それらが高温にさらされる懸念なしに、適切なチャンバに（液体としてまたは乾燥されて）保管できる。たとえば、ハイブリダイゼーションのための温度感受性試薬は、チャンバ1（または、任意の溶解チャンバ）の高い（たとえば、95 ）温度にそれらの試薬がさらされる懸念なしに、チャンバ2（または、任意のハイブリダイゼーションチャンバ）に（たとえば、乾燥されて、または、液体として）保管される。

#### 【0082】

いくつかの実施形態において、サンプルはユーザによって提供され、そこから、検体は抽出 / 単離 / 精製される。サンプルは、生体由来、環境由来、またはその他の由来であってもよい。いくつかの実施形態において、未処理のサンプルが装置に加えられる。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の前処理ステップ（たとえば、遠心分離、細胞溶解、濾過など）は、装置へのサンプルの適用前に実行される。

#### 【0083】

いくつかの実施形態において、本明細書の装置及び方法は、サンプルからの検体の抽出 / 単離 / 精製のために、1つまたは複数のバッファを使用する。本明細書の実施形態で使用されるバッファは、溶解バッファ、検体結合バッファ、ヌクレアーゼバッファ、プロテアーゼバッファ、洗浄バッファ、溶出バッファなどを含んでもよい。これらの目的のためのバッファ及び溶液は理解されている。いくつかの実施形態において、バッファの特定の組は、検体の同一性及びサンプルの種類に応じて提供される。

#### 【0084】

いくつかの実施形態において、本明細書で説明される装置を、（たとえば、別個の容器に予備ロードされた）適切なバッファ及びPMPとともに備えるキットが提供される。

#### 【0085】

本明細書で説明される装置の構築のための材料は、装置の各構成要素の特定の特徴（たとえば、軽量、安価、剛性、平滑、非反応性、疎水性、薄いなど）を最適化するように選択される。適切な材料は、プラスチック、金属、膜、薄膜などを含む。いくつかの実施形態において、本明細書の装置 / システムの構成要素は、Bakelite、COP、COC、ネオブレン、ナイロン、PVC、ポリスチレン、ポリアクリロニトリル、PVB、シリコーン、ゴム、ポリアミド、合成ゴム、加硫ゴム、アクリル、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリ四フッ化エチレン、ゴアテックス、ポリカーボネートなどを含むがこれに限定されない1つまたは複数のプラスチック、（たとえば、動物、植物、鉱物、及び / または合成源からの）ガラス、織物などの非プラスチック構成要素、テフロン（登録商標）、HDPE、ナイロン、PEEK、PTFE、及び / もしくはPEBA X、または、他の適切な材料を備える。いくつかの実施形態において、本明細書の装置 / システムの構成要素は、アルミニウム、アンチモン、ホウ素、カドミウム、セシウム、クロム、コバルト、銅、金、鉄、鉛、リチウム、マンガン、水銀、モリブデン、ニッケル、プラチナ、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、チタン、タンゲステン、バナジウム、亜鉛、及びそれらの合金を含むがこれらに限定されない1つまたは複数の金属を備

10

20

30

40

50

える。

【実施例】

【0086】

実施例 1

例示的な装置の製作及び組立

例示的な装置は、3Dプリントプラスチック (Protocolabs、Maple Plain、MN)、レーザ切断プラスチック部品、転写粘着テープ (たとえば、3M 9472LE)、及び、疎水性コーティング (たとえば、Acculon NanoProof 5.0、San Diego、CA) の組合せを使用して製作された。4つのチャンバカートリッジは、プラスチック樹脂から3Dプリントされた。チャンバは一端で密封され、開放端を通してのバッファの追加を可能にする (図4)。

10

【0087】

ネジ付きインサートは、組立を容易にするために、周囲の穴に熱プレスされた。ポリカーボネート膜 (McMaster-Carr 85585K103) は、3M 9472LE接着剤転写テープに片面で接着接合され、円形アトールにレーザ切断された。アトールは、4つのチャンバのそれぞれと同心円状に整列し、カートリッジ表面に接合される。

【0088】

プラスチックフレームはレーザ切断され、カートリッジ表面の頂部に配置された (図6)。第2の薄いポリカーボネート膜は、スワブを使用してAcculonのNanoProof 5.0で一方の面上にコーティングされ、最低30分間乾燥された。厚さ0.125インチの一切れの透明なアクリル (McMaster-Carr 8560K239) が、3M 9472LE接着剤転写テープに片面で接着接合され、レーザ切断された。アクリルは、PMPペレットを移動させる永久円筒磁石 (磁石直径よりわずかに大きいスロット幅) の移動を案内する、4つのチャンバの長さに沿った中央スロットを有する。アクリルは、G<sub>h</sub>を維持するために、構造的剛性及び支持を提供する (図7)。

20

【0089】

最終的な組立の前に、チャンバは、正確なピペッタを使用して、適切なバッファ及び再懸濁されたPMP懸濁物で満たされた。アクリル+ポリカーボネート疎水処理PMP移送膜及びアクリルフレームは、機械ネジを使用してカートリッジに組み付けられた (図8)。

【0090】

30

最終的に組み立てられた消耗品カートリッジが図9に示されている。

【0091】

実施例 2

例示的な装置の操作及びテスト

実施例1で説明された例示的なTIMSカートリッジの機能は、最初の3つのチャンバの3つの液体 (溶解バッファ、洗浄1 (洗浄剤及びアルコールの混合物)、ならびに、洗浄2 (アルコール及び水溶液)) でテストされた。これらの流体は、ほとんどの表面上において、非常に低い接触角で非常に濡れる。再懸濁されたPMP懸濁物は、チャンバ1に加えられた。小さい円筒形ネオジム磁石 (K&J Magnetics、Pipersville、PA) は、疎水処理されたポリカーボネート膜上にチャンバ1のPMPを収集するのに使用された。PMPペレットは、G<sub>h</sub>を通して、チャンバ2にゆっくりと移送された。しばらくした後、PMPは、再収集されて、チャンバ3に移送された (図10)。テストは、液体がそれぞれのアトールの外縁に固定されたままでいることを実証した。さらに、PMPの移動中、液体架橋はない。液体キャリーオーバ (汚染) は、チャンバ間で最小化される。

40

【0092】

実施例 3

付加的なデザイン要素

実施例1で説明された例示的な装置を使用して行われる実験は、本明細書に範囲内の実施形態に組み込まれてもよい代替的なデザイン、次のプロトタイプに統合されてもよい改

50

善を明らかにした。たとえば、アトール高さの増加（たとえば、より高いフレーム）は液体プールがアトールを過ぎて離れることを防ぐ、アトール上の丸いID縁はPMPの移送を容易にする、内部チャンバ首部からの90°コーナ角の除去は収集中のPMP損失を減少させる、などである。PMPは1つの液体チャンバから次のチャンバに移送されているが、液滴がエアバリアを横切って引かれる場合、Ahは、疎水性移送表面上で、液体プール高さ（LP<sub>h</sub>）より大きくなければならない（最悪のシナリオとして、180°の接触角を有する液体のために）。これは、それは起きた場合に、液体がカートリッジ表面にさらに接触することを防ぐ。

#### 【式2】

#### 【0093】

$$\text{式2 : } LP_h \approx 2 \sqrt{\left(\frac{\sigma}{g\rho}\right)}$$

#### 【0094】

ここで、

LP<sub>h</sub> = 疎水性移送表面上の液体プール高さ

= 液体表面張力

g = 重力

= 液体密度

アトールのID上の鋭い90°の縁は、PMP収集及びG<sub>h</sub>に沿った横方向移動の間の、抵抗及び/または剪断の増加をもたらすことがある。抵抗を減少させるために、コーナ半径（たとえば、フィレット、面取りなど）が、ある実施形態において、アトールのIDに加えられ、同時に、箔積層体膜を密封するための十分な幅（Aw）を維持する。たとえば、G<sub>h</sub>が約0.005インチ（0.125mm）であるとき、抵抗を減少させるために必要なコーナ半径は重要ではない（図11）。

#### 【0095】

いくつかの実施形態において、装置は、以下のうちの1つまたは複数を備える。（1）チャンバのうちの1つまたは複数の上の着脱自在のキャップ、蓋、または他のクロージャ、（2）1つまたは複数のチャンバ内に格納された液体試薬または乾燥試薬（たとえば、溶解試薬、バッファ、結合試薬など）（たとえば、チャンバへの液体の追加が試薬の再懸濁をもたらすような、または、チャンバ内のエンクロージャ内で、試薬を再懸濁するためにエンクロージャを開けなければならない、もしくは、壊されなければならないような）、（3）たとえば、PMPからの検体の結合及び/または放出を促進する、調整された温度帯（たとえば、ヒータ、クーラなど）、（4）たとえば、検体の収集及び/またはPMP収集を促進する、非対称のアトール形状、（5）たとえば、装置からの検体の除去を容易にする、ウィッキングパッド、など。このような特徴を備える装置、及びその使用方法を示す例示的な実施形態は、図13及び14に示されている。しかしながら、これらの特徴はまた、個別に、かつ/または、本明細書で説明された他の要素と組み合わせて、使用してもよい。

#### 【0096】

#### 実施例4

#### 例示的なカートリッジ

例示的な界面横断磁気分離（TIMS）装置構築の要素が図15A～Fに示される。代替的な構成ならびに図15に示された要素と本明細書の他の実施形態との組合せが意図されている。例示的なTIMS装置の層及びさまざまな特徴は以下で説明される。

#### 【0097】

#### 底カバー

チャンバ1及び2で生じる溶解及びハイブリダイゼーションステップの間、数分間の高温（たとえば、120°）に耐えることができる薄い硬質プラスチック膜（たとえば、ポリカーボネート、厚さ0.010インチ）。膜の種類及び厚さは、チャンバへの高速熱伝

10

20

30

40

50

達（たとえば、薄いほど熱伝達は速くなる）、及び、その固有の剛性（たとえば、膜とヒータとの間の接触抵抗）の両方に影響を与える。

#### 【0098】

##### 感圧接着剤（P S A）底カバー

両面の感圧接着剤（たとえば、3 M 9471、A R C a r e 7876）は、射出成形カートリッジ本体に底カバーを接合するのに使用される。接着剤は、短時間（数分）の間、高温（たとえば、120<sup>o</sup>C）で使用可能である。接着剤の代わりに、材料が適合する場合、底カバーはカートリッジ本体に溶接されてもよい。

#### 【0099】

##### カートリッジ

1回限りのプラスチックカートリッジは、ポリプロピレン、ポリカーボネートなどのいくつかのプラスチックから射出成形することができる。それは、数分間の高温（約120<sup>o</sup>C）への曝露に耐える。それは、たとえば、流体、エアロックチャンバ、及び流体移送チャネルのための3つのチャンバを特徴とする（図15B）。洗浄試薬のバルクは、チャンバ3に予めパッケージされる（いくつかの実施形態において、試薬は、器具の内部のあるときに穴をあけられる箔プリスタ内に含まれ、試薬は流れ出て、チャンバに流れ込む）。ユーザは、チャンバ1に患者サンプルを導入する（約300uL）。チャンバ1及び2は、以下のいくつかの理由のために、かなり大きい（たとえば、2~4X必要な容積）。（a）カートリッジが比較的平面状に維持されるとき、高速熱伝達のために流体の表面積を最大化する。（b）乾燥試薬の再可溶化及び均一な熱伝達を支援する、示される軸に沿ってカートリッジを回転させることによって混合する能力に影響を及ぼす（参照エラー！参照元なし）。チャンバ2は、300uLの流体が移送チャネルの出口にぎりぎり到達するように設計されている（参照エラー！参照元なし）。（c）平面の外で本体を回転させることによって、コンパクトな流体容積を実現する。

10

20

20

#### 【0100】

##### ベース層

この薄膜（たとえば、プラスチック膜（たとえば、P S A（たとえば、3 M 9471）とポリカーボネートなどの硬質プラスチックとの積層（たとえば、厚さ0.010インチ））は、カートリッジ本体に取り付けられ（たとえば、接着接合され）、2つの固定レッジを作成する（図15C参照）。固定レッジ1はチャンバ2に流体に固定し、一方、固定レッジ2はチャンバ3に洗浄試薬を固定する。ベース層は、流体チャネルの底部の表面特性（たとえば、それはカートリッジ本体プラスチックによって限定されない）、及び、チャネルの底部を親水性または疎水性にする界面活性剤コーティングを加える機能を選択する際に、柔軟性を与える。

30

#### 【0101】

##### スペーサ膜

スペーサ膜（たとえば、P S A（たとえば、3 M 9471、A R C a r e 7876）、プラスチック（たとえば、P E Tプラスチック、厚さ0.0075インチ）、及びP S Aの積層）は、流体チャネルの高さ（たとえば、約0.0115インチ）を定義し、ベース層に取り付けられる（たとえば、接着接合される）（図15D参照）。ベントは、溶解（加熱）ステップ中のチャンバ1のために設けられる。常磁性粒子（P M P）移送チャネルは、収集、洗浄、及びチャンバ2からチャンバ3へのP M Pの移動に利用可能である。

40

#### 【0102】

##### ドラッグ膜

例示的なドラッグ膜（たとえば、C O P / C O Cプラスチック膜と、P S A（たとえば、3 M 9471、A R C a r e 7876）と、硬質プラスチック支持膜（たとえば、厚さ0.010インチのポリカーボネート）との積層）が、図15Eに示されている。いくつかの実施形態において、C O P / C O Cプラスチック膜は、流体チャネルの内側を向き、チャネルの上面として働く。それは、スペーサ膜の第2の粘着面に接合される。2つの小さいベントは、チャンバ2（ベント2。チャンバ1からチャンバ2への流体の移送中

50

に空気が逃げる)、及び、チャンバ3(ベント3a。洗浄試薬が棚の上に流れ出て、側方チャネルに流れ込むときに空気が入れ替えられる)のためのものである。COP/COC膜は、Acculon NanoProof 5.0xなどの超疎水性コーティングで被覆され、PMPの効率的な磁気的移動を支援する。プラスチック支持膜は剛性でなければならないが、一方側の上の磁石と他方側のPMPの収集との間の距離を最小化するだけ比較的薄くもしなければならない。

#### 【0103】

##### PSA ドラッグプレート

これは、ドラッグ膜をドラッグプレートに接着接合する両面PSA(たとえば、3M 9471、AR Care 7876)である。それは、ベント3a及び磁石アクセスチャネルと重なる単一のベント(3b)を有する(図15F参照)。

10

#### 【0104】

##### ドラッグプレート

このプレートは、カートリッジ本体と一体化されてもよい。それは、たとえば、3/3 2インチプラスチックシートから組み立てられ、カートリッジ本体が器具とかみ合うのを支援する。ドラッグプレートは器具のレール上で摺動する。それは、PSA ドラッグプレートと同じ特徴を有する(図15F参照)。

#### 【0105】

##### PSA引込穴

これは、引込穴をドラッグプレートに接着接合する両面PSA(たとえば、3M 9471、AR Care 7876)である。

20

#### 【0106】

##### 引込穴

この機能は、カートリッジ本体と一体化されてもよい。いくつかの実施形態において、それは、3/3 2インチプラスチックシートから組み立てられ、チャンバ1への開口及びプランジャーのための引込部の両方として働き、プランジャーは、チャンバ1を閉じ、その後、チャンバ1からチャンバ2に流体を押すのに使用される。

#### 【0107】

##### プランジャー

プランジャーは、たとえば、チャンバ1の閉鎖及び密封の両方のためのキャップとして働く柔軟なゴム(たとえば、注射器本体のプランジャー)であり、その後、チャンバ1に押し込み、移送チャネルを介してチャンバ1からチャンバ2に患者サンプルを押すことができる。

30

#### 【0108】

##### 独立したヒータを有する2つのチャンバ前部

図15Bに示されるように、カートリッジ本体は、前面に2つのチャンバを有し、それは、(a)たとえば、(たとえば、95で)溶解が発生するチャンバ1、及び、(b)たとえば、(たとえば、60で)ハイブリダイゼーションが発生するチャンバ2である。2つのチャンバの分離はいくつかの利点を提示する。(a)予熱することができて、固定された設定値で安定させることができる、底カバー(図15A)を介した流体への高速熱伝達に役立つ独立したヒータ。したがって、加熱のみの装置が必要である。エンジニアリングハードウェアを簡略化して、所要時間を早める能動的な冷却は必要とされない。(b)チャンバ1で遭遇する高温に敏感である乾燥試薬は、ハイブリダイゼーションステップで使用するためにチャンバ2に個別に格納されてもよい。

40

#### 【0109】

##### エアロック

小さい取り囲まれたチャンバ(エアロック)は、2つの固定レッジ1と2との間に位置付けられる(図15C参照)。使用するとき、最初に、洗浄試薬は深い穴から流れ出て、棚の上に流れる。それは固定レッジ2の方へ流れ、(ベース層と超疎水コーティングされたドラッグ膜との間に作成された)表面張力のためにそこで固定されたままになる。患

50

者サンプルがプランジャを介してチャンバ1からチャンバ2に移送されるとき、ベント1がプランジャによって密封されるので、空気はベント2介してのみ逃れることができる。流体レベルがチャンバ2において上がると、それは、毛管作用のために固定レッジ1にすぐに流れ込む。しかしながら、それは、エアロックチャンバのために固定レッジ1を越えて進まず（たとえば、空気はその方向に出ることができない）、安定した液体空気界面を作成する。流体は、チャンバ2を上向きに充填し続け、移送チャネルに到達することなく停止する。チャンバ2の流体とチャンバ3の洗浄試薬との間にエアギャップができる。PMPは、この液体空気界面を横切って移送される。図16を参照のこと。

#### 【0110】

##### 実施例5

##### HIV p24 イムノアッセイ

実験は、血漿サンプルを0または50IU/mlでテストするHIV p24 ELISAによるイムノアッセイに関して[National Institute for Biological Standards and Controls (NIBSC) code 90/636, Potters Bar Hertfordshire, UK]、手動アッセイと比較して、（実施例4で説明されて、図15～18に示された）例示的なTIMSカートリッジの使用を実証するために、本明細書の実施形態の開発中に行われた。

#### 【0111】

##### 試薬

捕捉抗体(115B-151)：Chromalink（商標）Biotin Antibody Labeling Kit (TriLink Biotechnologies B-9007-105, San Diego, CA)を使用した標識

検出抗体(108-394)：Thermo Fisher Fluoromax 0.328 μM粒子(cat#93470720011150) (Waltham, MA)による標識。最初に、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル生成を使用するBSA、その後、減少したmAbとBSAとの間のGMB S結合により粒子は被覆された。

#### 【0112】

Dynal M270 Streptavidin被覆常磁性粒子(PMP) (Thermo Fisher Scientific 65305)

##### 抗体希釈及びアッセイ&洗浄バッファ

1% BSA

50 mM Tris、pH 7.5

0.5% Triton x100

200 mM NaCl

0.02% NaN<sub>3</sub>

##### 溶出バッファ

100 mM グリシンHCl、pH 2.74

0.01% Tween 20。

#### 【0113】

##### 反応条件

mAb：反応あたり50ngビオチン化捕捉抗体及び7.0×10<sup>7</sup>Eu複合化検出抗体。0または50IU/ml p24 (NIBSC 90/636)を含有する25 μl血漿サンプルを190 μl結合バッファに添加し、25 μl抗体カクテルさらに25 μlのプレウォッシュされたDynal M270 Streptavidin被覆PMPを添加し、回転混合しながら30分間インキュベートした。

#### 【0114】

##### 手動洗浄

250 μlの洗浄バッファで2回洗浄した。磁気スタンド上で収集し、上澄みを廃棄した。

#### 【0115】

10

20

30

40

50

## T I M S 洗浄

1. サンプルを T I M S カートリッジのチャンバ 2 に配置。

## 【0 1 1 6】

2. P M P を収集し、チャンバ 2 からエアロックを通して洗浄チャンバに運搬。

## 【0 1 1 7】

3. 磁石を移動させ、P M P が（流動飛行物を）2 回捕捉することを可能にすることによる洗浄

4. 洗浄で P M P を収集して、洗浄チャンバから移動

5. 約  $10 \mu l$  の洗浄バッファで P M P を再懸濁して、液体を新規のチューブに移動

6. 磁気スタンド上で P M P を磁気的に収集

7. 上澄みを除去した。

10

## 【0 1 1 8】

T I M S 及び手動両方のための溶出

1.  $125 \mu l$  の溶出バッファを添加；ピペット混合

2. 5 分インキュベート

3. 磁気スタン上の P M P をペレット化して、溶出タンパク質を含有する上澄みを除去

4. 蛍光を読み取る（B i o t e k S y n e r g y 4 M i c r o p l a t e R e a d e r 上での励起@ $333 \text{ nm}$  及び発光@ $613 \text{ nm}$ ）

## 【0 1 1 9】

## 【表 1】

20

処理方法	0 IU/ml p24	50 IU/ml p24	シグナル／ノイズ*
手動	2331	7741	3.3
TIMS	261	1601	6.1

## 【0 1 2 0】

\* $50 \text{ IU}/0 \text{ IU}$

T I M 洗浄は、かなり多くの非結合ビーズを除去し、T I M S の 0 I U / m l 及び 5 0 I U / m l の両方のサンプルで、手動アッセイと比較してより低いシグナルになったが、T I M S のシグナルノイズ比は手動のため 2 倍近くになった。

30

## 【0 1 2 1】

## 実施例 6

## 親和性タンパク質精製

実験は、親和性タンパク質精製における、（実施例 4 で説明されて、図 1 5 ~ 1 8 に示された）例示的な T I M S カートリッジの使用を実証するために、本明細書の実施形態の開発中に行われた。H I S タグタンパク質は、M a g n e H i s (商標) 常磁性粒子に結合された。サンプルは分割され、手動で、または、T I M S 機器上で処理する（P M P は 3 回洗浄された）。

40

## 【0 1 2 2】

H S C 7 0 は、磁気スタンドを使用するベンチ上で、または、T I M S プロトタイプにおいて、M a g n e H i s (商標) キット (P r o m e g a) による A l e x a F l u o r (登録商標) 6 3 3 (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c # A 2 0 3 4 2 ) P u r i f y へのマレイミド結合を介して、N 末端 H i s タグ及び C 末端で標識された。

## 【0 1 2 3】

1.  $20 \mu l$  の標識 H S C 7 0 を、 $280 \mu l$  の M a g n e H i s 結合 / 洗浄バッファへ添加。

## 【0 1 2 4】

2. 上下にピペットで加えることによる混合。

50

## 【0125】

3. 10  $\mu$ l の MagneHis Ni 粒子を溶液へ添加。

## 【0126】

4. 結合するために 2 分インキュベート。

## 【0127】

5a. 手動プロセスの場合：

30 秒間、磁気スタンド上で PMP を収集。

## 【0128】

上澄みを除去して破棄。

## 【0129】

30 秒の PMP 収集による 150  $\mu$ l の洗浄バッファで 3 回洗浄。

10

## 【0130】

20  $\mu$ l の溶出バッファの添加；ピペット混合。

## 【0131】

2 分間インキュベート。

## 【0132】

磁気スタンド上で PMP をペレット化して、溶出タンパク質を含有する上澄みを除去。

## 【0133】

Rotor-Gene Q 5 Plex の赤色チャネルで読み取る（励起@625  $\pm$  、及び、検出@660  $\pm$  10）Gain = 5.33。

20

## 【0134】

5b. TIMS の場合：

PMP を含有するタンパク質混合物を TIMS カートリッジに添加。

## 【0135】

PMP を磁気的に収集。

## 【0136】

エアロックを横切って洗浄チャンバに移動。

## 【0137】

磁石を移動させ、PMP が（流動飛行物を）2 回捕捉することを可能にすることによる洗浄。

30

## 【0138】

洗浄で PMP を収集して、洗浄チャンバから移動。

## 【0139】

約 10  $\mu$ l の洗浄バッファで再懸濁して、液体を新規のチューブに移動。

## 【0140】

磁気スタンド上で PMP を磁気的に収集。

## 【0141】

上澄みを廃棄。

## 【0142】

20  $\mu$ l の溶出バッファを添加；ピペット混合。

40

## 【0143】

2 分インキュベート。

## 【0144】

磁気スタンド上で PMP をペレット化して、溶出タンパク質を含有する上澄みを除去。

## 【0145】

Rotor-Gene Q 5 Plex の赤色チャネルで 5 回読み取る（励起@625  $\pm$  、及び、検出@660  $\pm$  10）、平均を読み取る。Gain = 5.33

## 【0146】

50

## 【表2】

サンプル	Alexa 633 (RFU)
ブランク	0.189±0.004
手動	8.863±0.192
TIMS	12.720±0.056

## 【0147】

10

TIMSは、手動プロセスに対して、蛍光標識HSC70をより多く生み出した。

## 【0148】

下記の及び／または本明細書で提供されたすべての出版物及び特許は、その全体が参照により組み込まれる。本発明の説明された組成物及び方法のさまざまな修正及び変更は、本発明の範囲及び趣旨を逸脱しない範囲で当業者にとって明らかである。本発明が特定の好ましい実施形態に関して説明されたが、請求される本発明が、かかる特定の実施態様に過度に限定されるものではないと解すべきである。実際、当業者にとって明らかである本発明を実行するための説明されたモードのさまざまな修正は、本発明の範囲内であることが意図される。

20

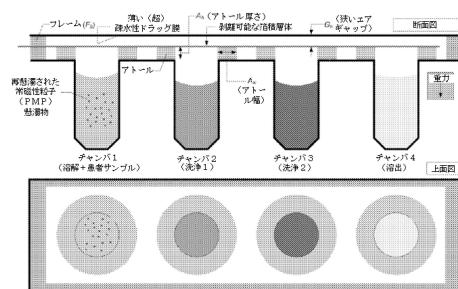
30

40

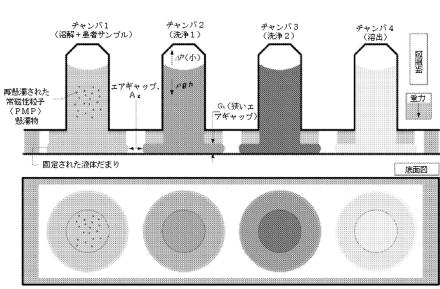
50

【四面】

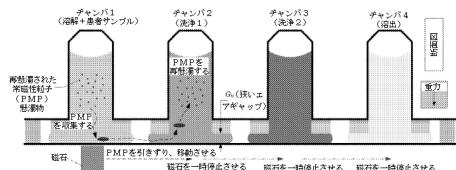
【 四 1 】



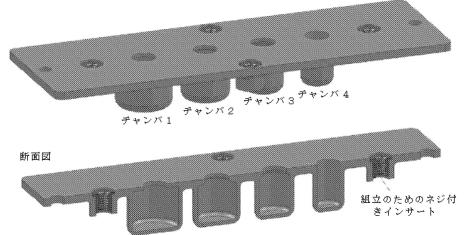
【 図 2 】



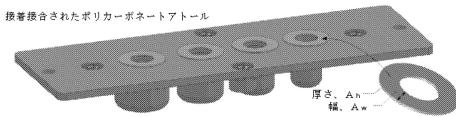
【 図 3 】



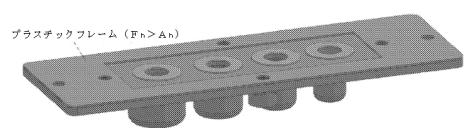
【 図 4 】



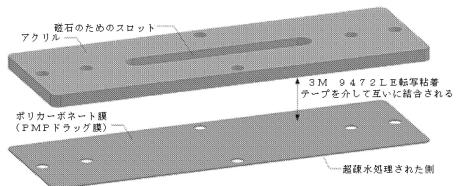
【 四 5 】



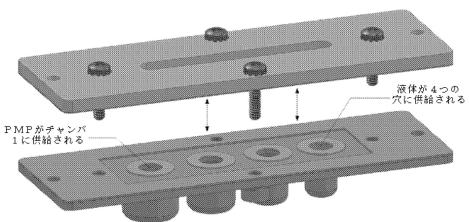
【 四 6 】



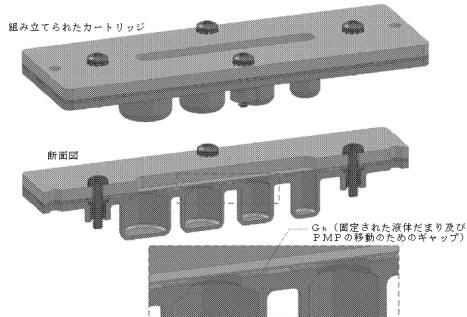
【図7】



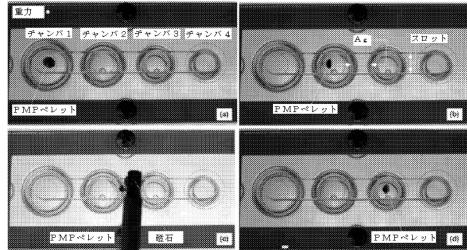
【 四 8 】



【図9】



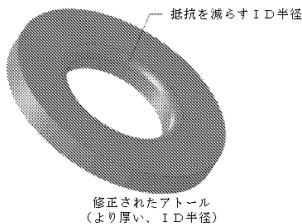
【図10】



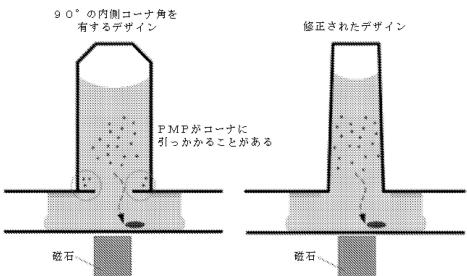
10

20

### 【図 1 1】



## 【図12】



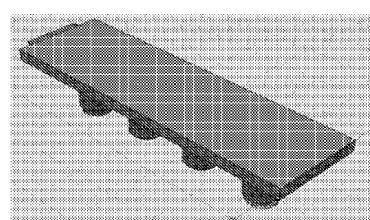
30

40

50

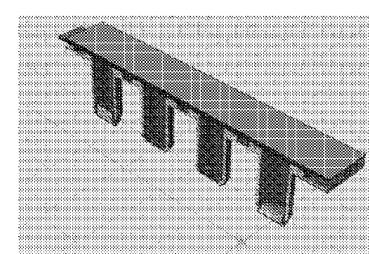
【図13(A)】

(A)



【図13(B)】

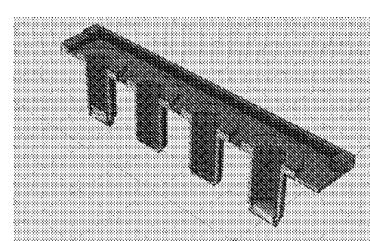
(B)



10

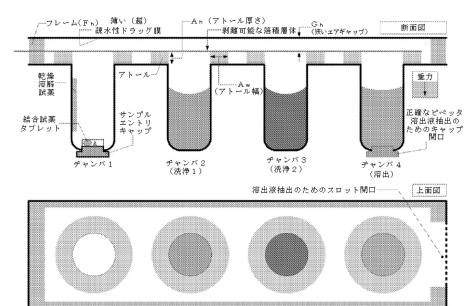
【図13(C)】

(C)

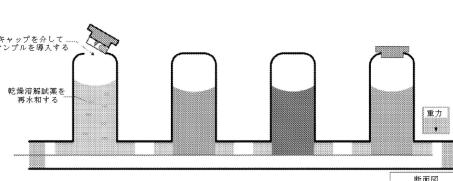


【図14-1】

A



20

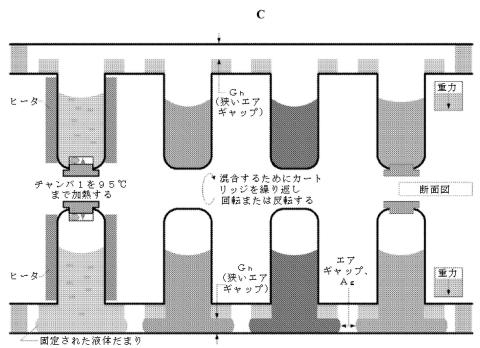


30

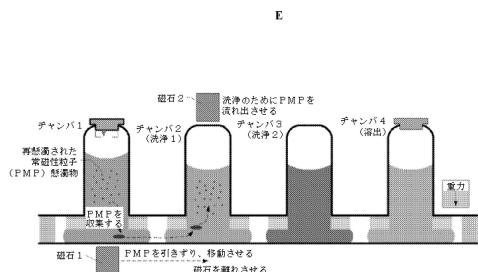
40

50

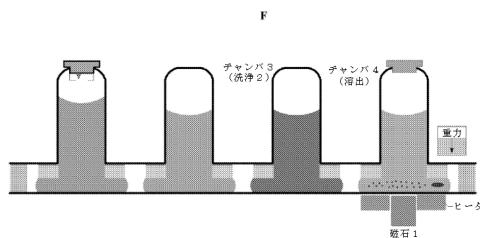
【 図 1-4-2 】



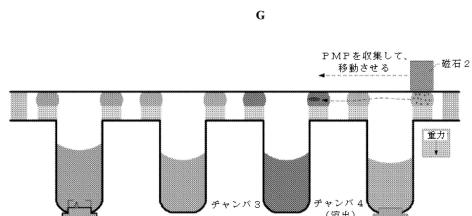
【図 1-4-3】



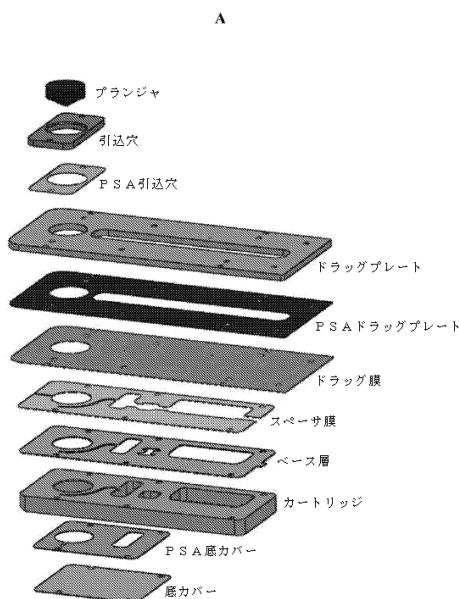
【図 1-4】



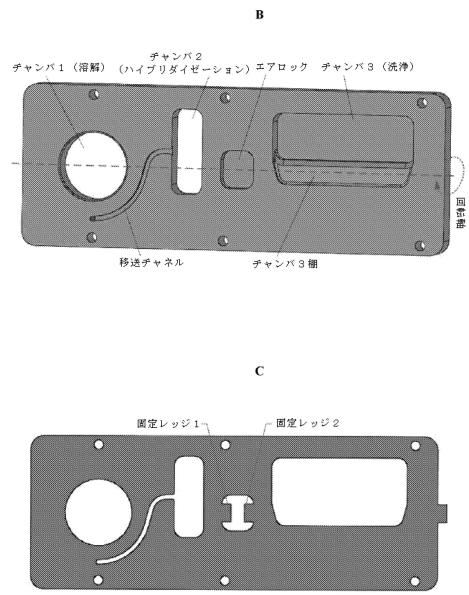
【図 1-4-5】



【図15-1】



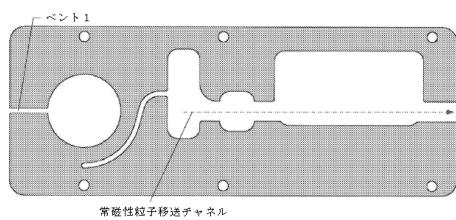
【図15-2】



10

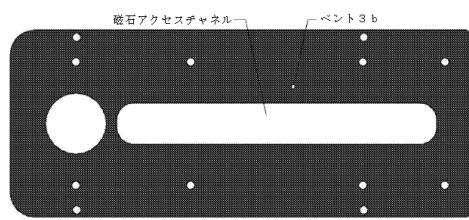
【図15-3】

D



【図15-4】

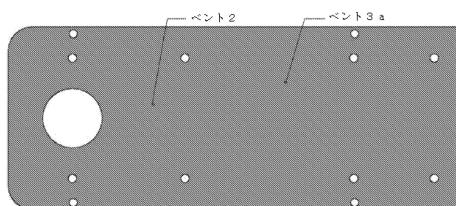
F



20

30

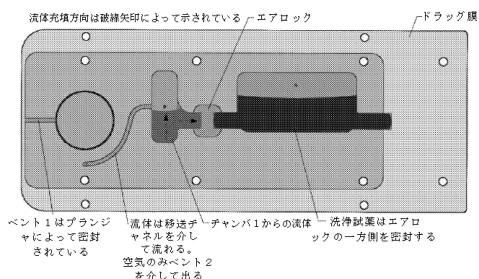
E



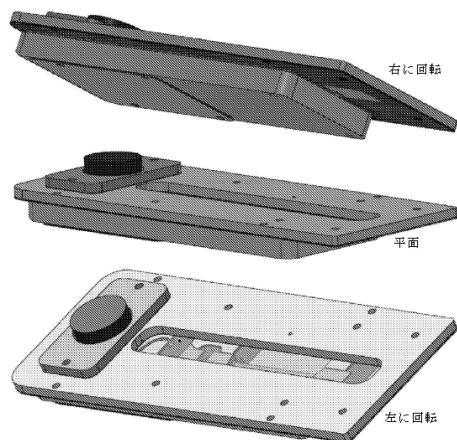
40

50

【図16】



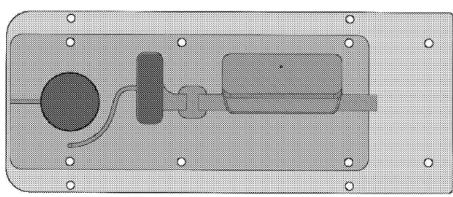
【図17】



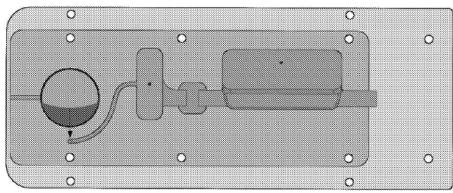
10

【図18-1】

A

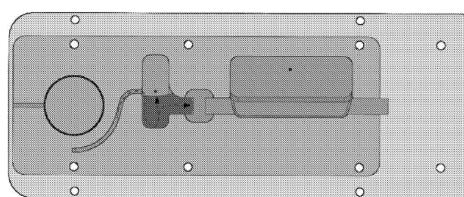


B



【図18-2】

C



20

30

40

50

---

フロントページの続き

- (72)発明者 ケルソ , デイヴィッド エム .  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- (72)発明者 アガーワル , アビシェーク ケイ .  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- (72)発明者 マクフォール , サリー エム .  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- (72)発明者 ウエストバーグ , トム  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- (72)発明者 バツラー , マシュー オースティン  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- (72)発明者 リード , ジェニファー エル .  
アメリカ合衆国 , 6 0 2 0 8 イリノイ州 , エヴァンストン , クラーク ストリート 6 3 3 , シー / オー ノースウエスタン ユニバーシティ
- 審査官 北条 弥作子
- (56)参考文献  
特表2016-509475 (JP, A)  
特表2009-505090 (JP, A)  
特表2003-526523 (JP, A)  
米国特許出願公開第2013/0183678 (US, A1)  
米国特許出願公開第2013/0206701 (US, A1)  
米国特許出願公開第2012/0295366 (US, A1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B名)  
G 0 1 N 1 / 0 0 - 1 / 4 4  
G 0 1 N 3 5 / 0 0 - 3 5 / 1 0  
G 0 1 N 3 7 / 0 0  
C 1 2 M 1 / 0 0  
B 0 3 C 1 / 0 0  
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8