

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6567549号
(P6567549)

(45) 発行日 令和1年8月28日 (2019.8.28)

(24) 登録日 令和1年8月9日 (2019.8.9)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z
GO 1 N 33/86 (2006.01)	GO 1 N 33/86
GO 1 N 21/27 (2006.01)	GO 1 N 21/27 F
GO 1 N 21/59 (2006.01)	GO 1 N 21/59

請求項の数 24 (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2016-564011 (P2016-564011)	(73) 特許権者	506391864
(86) (22) 出願日	平成27年4月27日 (2015.4.27)		インストゥルメンテーション ラボラトリ
(65) 公表番号	特表2017-519189 (P2017-519189A)		ー カンパニー
(43) 公表日	平成29年7月13日 (2017.7.13)		アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 O
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/027715		1730, ベッドフォード, ハートウェル
(87) 国際公開番号	W02015/167983		ロード 180
(87) 国際公開日	平成27年11月5日 (2015.11.5)	(74) 代理人	100079108
審査請求日	平成30年1月22日 (2018.1.22)		弁理士 稲葉 良幸
(31) 優先権主張番号	61/986,475	(74) 代理人	100109346
(32) 優先日	平成26年4月30日 (2014.4.30)		弁理士 大貫 敏史
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100117189
			弁理士 江口 昭彦
		(74) 代理人	100134120
			弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学検出によるポイントオブケア凝固アッセイのための方法及びシステム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料を保持するための反応チャンバと、

励起光を前記反応チャンバを介して光学基準に向けるための励起光源であって、前記光学基準が、前記反応チャンバを通過した前記励起光を吸収し、前記励起光の前記吸収に
 応答して放出光を放出し、前記放出光が前記反応チャンバに導かれる、励起光源と、

前記光学基準からの光信号を検出するための光検出器であり、前記光信号が、前記反応
 チャンバを通過し当該光検出器に向かう前記放出光を介して運ばれる、光検出器と、

を含み、

前記光学基準が蛍光要素を備え、

前記蛍光要素及び前記試料が、前記試料の凝固過程の動態に応じて、前記光学基準に達
 する又は前記光学基準を出る光エネルギーを変更するように配置され、前記光信号が、前記
 凝固過程の動態を示す蛍光信号の変動を含む、

アッセイシステム。

【請求項 2】

前記反応チャンバが、前記光学基準から発生され前記光検出器によって検出される前記
 光信号を抑制するか又は増強するように配置される、請求項 1 に記載のアッセイシステム
 。

【請求項 3】

前記反応チャンバが、比色試薬がない状態で前記試料を保持する、請求項 1 に記載のア

ッセイシステム。

【請求項 4】

前記励起光源が、20 nm から 5000 nm までにわたる特定の波長を備える、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 5】

前記光学基準が、プラスチック、ガラス、又はシリコン材料基板に埋め込まれた光学剤を含む、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 6】

前記反応チャンバが、ルーメンと、平坦な第 1 の壁と、前記平坦な第 1 の壁の反対側にあり、前記平坦な第 1 の壁に平行である平坦な第 2 の壁とを含む、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

10

【請求項 7】

前記平坦な第 1 の壁及び前記平坦な第 2 の壁が、各々、約 20 nm から約 5000 nm までの波長範囲の前記励起光に対して光学的に透明である、請求項 6 に記載のアクセシシステム。

【請求項 8】

前記励起光が、約 20 nm から約 2000 nm までの波長範囲にある、請求項 7 に記載のアクセシシステム。

【請求項 9】

前記反応チャンバが、前記光学基準と前記光検出器及び前記励起光源との間に配置される、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

20

【請求項 10】

前記光検出器と前記励起光源とが一体化される、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 11】

前記光検出器が、前記光学基準から放出された放出光を検出するための光検出器を含む、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 12】

前記反応チャンバの前記平坦な第 1 の壁及び第 2 の平坦な壁の各々が、ルーメン表面を含み、前記第 1 の平坦なルーメン表面が、1 つ又は複数の反応物で被覆される、請求項 6 に記載のアクセシシステム。

30

【請求項 13】

前記反応チャンバが、試料入口ポートと反応流体出口ポートとをさらに含む、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 14】

前記試料入口ポートが、v 形状にされる、請求項 13 に記載のアクセシシステム。

【請求項 15】

(i) 光信号を発生するための光学基準を含む光学構成システムを用意するステップと、

(i i) 流体を保持するための反応チャンバを用意するステップと、

(i i i) 光源からの励起光を、前記反応チャンバ中の前記流体を通して、前記励起光を吸収し、放出光を送る前記光学基準まで送るステップと、

40

(i v) ステップ (i i i) における前記放出光を、前記反応チャンバ中の前記流体を通して送るステップと、

(v) 前記光学基準からの光信号を検出するための光検出器を用意するステップであり、前記光信号が、前記反応チャンバ中の前記流体を通過した前記放出光を介して運ばれる、用意するステップと、

(v i) 測定された前記光信号を前記システムにおいて凝固時間を決定するための所定の標準と比較するステップと、

を含む凝固を検出する方法。

【請求項 16】

50

前記光検出器が、前記光学基準からの前記放出光、又は前記反応チャンバを通過した二次光を検出するための光検出器を含む請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 17】

前記試料が、血漿及び血液からなる群から選択される、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 18】

前記光学基準が、光度計測、蛍光、ラマン分光時間分解蛍光、及び表面増感ラマン分光からなる群から選択された光学技術を用いて実現されることができる、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 19】

前記光学剤が、前記光学基準の 1 つ又は複数の壁に埋め込まれる、請求項 5 に記載のアクセシシステム。

【請求項 20】

前記光学剤が、基板の表面に化学的に又は物理的に被覆される、請求項 5 に記載のアクセシシステム。

【請求項 21】

前記光学基準が、蛍光ドープガラス、蛍光ステンドガラス、蛍光着色ガラス、及びラマン効果を示す蛍光材料からなる群から選択される、請求項 1 に記載のアクセシシステム。

【請求項 22】

試料を保持するための反応チャンバと、

光学基準を介して前記反応チャンバに励起光を導くための励起光源であり、前記光学基準が、前記反応チャンバを通過した前記励起光を吸収し、前記励起光の吸収に応じて放出光を放出する、励起光源と、

前記光学基準からの光信号を検出するための光検出器であり、前記光信号が、前記放出光を介して運ばれ、前記光信号の増加が凝固を示す、光検出器と、

を含むアクセシシステム。

【請求項 23】

前記光学基準が、前記反応チャンバと前記光検出器及び前記励起光源との間に配置される、請求項 22 に記載のアクセシシステム。

【請求項 24】

試料を保持するための反応チャンバと、

励起光を導くための励起光源と、

光学基準であり、当該光学基準を通過した前記励起光を吸収し、前記反応チャンバの方に導かれ前記反応チャンバを通過する二次光を放出するための光学基準と、

前記光学基準からの前記二次光を検出するための光検出器であり、信号が、前記反応チャンバを通過する前記二次光を介して運ばれる、光検出器と、

を含むアクセシシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、標準光学基準、試料処理構造、光源、及び光学検出ユニットを含む、血漿又は血液の凝固を検出するための光学システム及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

凝固アッセイは、患者の出血又は血栓症の危険性をモニタするための重要な器具であり、出血及び血栓症は共に、直ちに適切に介入が行われなければ致命的な結果をもたらすことがある。これは、適切な血液療法が施される前に患者の止血健康状態を理解する必要があるため救急処置室及び手術室では特に重大である。すべての凝固アッセイの中で、プロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) アッセイは、現在

10

20

30

40

50

、クリニック及び病院で使用されている最も一般的な凝固試験である。

【 0 0 0 3 】

P T 及び A P T T アッセイを実行する機器は、通常、凝固試薬などの血液試料調製機構と、光学分光測定ユニットとを含む。高いスループット及び良好な精度などの利点にもかかわらず、これらのアッセイには、それをポイントオブケア試験に適用するのを妨げるいくつかの欠点がある。第 1 に、(1) 複雑な試料調製及び測定過程に起因して、サンプリングから結果を得るまで (sampling-to-result) の時間が数日から数週間にわたる。そのような遅い所要時間は、救急処置室又は他のベッドサイド使用 (near-patient use) における準リアルタイムな要件を満たすことができない。第 2 に、(2) 大量の血液、すなわち、1 ミリリットルを超える血液が、適切な試料処理及び正確な測定のためにこれらの機器で必要とされる。

10

【 0 0 0 4 】

ラボオンチップイムノアッセイなどの最先端技術の微小流体試料調製による蛍光に基づく技術が、上述の欠点を解決するために開発された。認められている技術の一般的な方法は、免疫反応性断片を含むトロンビン又はプラスミン (両方の因子は凝固反応経路中に発生される) の特定の基質を使用することである。トロンビン又はプラスミンへの暴露の際、基質が開裂され、免疫反応性断片が基質から解放され、それは、凝固過程の動態の指標としての蛍光信号を発生する。これらの技術は、化学反応の低い効率及び免疫反応性断片の安定性に起因して信頼性が不十分であるという欠点がある。追加として、化学製品生産、機器製造、及び最終使用における品質管理のための産業界による要件のため、これらの先行技術の凝固アッセイのコストが増加する。

20

【 0 0 0 5 】

本明細書で開示される本発明は、先行技術の凝固アッセイにおける遅い所要時間、大きい試料サイズ要件、過剰な生産コスト、試薬安定性の欠如、及び無力という先行技術の凝固アッセイで確認された問題を首尾よく解決して、早急な凝固アッセイ結果に対する救急処置室又はベッドサイド使用の準リアルタイムな要件を満たすために開発された。

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

以下で説明する本発明による蛍光に基づく凝固アッセイ及び他の凝固アッセイは、様々な臨床状況で広く使用することができる。集中化された大きい機器又はポイントオブケア機器が、高スループット凝固アッセイを達成するためにこれらの方法を中心にして開発され得る。例えば凝固カスケードに含まれるいくつかの因子に固有の様々なアッセイは、この技術で実現することができる。

30

【 0 0 0 7 】

より重要なことには、本明細書で説明する本発明によるコンパクトなポイントオブケアデバイスは、救急処置室、手術室、集中治療室、又は診察室のために開発することができる。開示する本発明の迅速な応答及び小さい試料サイズの要件により、この技術は、例えば血液療法が必要とされるとき、凝固動態の連続モニタリングのために使用できるようになる。一方、本発明は、大規模な新しい機器開発の必要なしに、患者の心臓病及び癌の診断のために現在使用されている既存のイムノアッセイシステム及び / 又は微小流体システムでを使用することができる。

40

【 0 0 0 8 】

1 つの態様では、本発明は、試料を保持するための反応チャンバと、励起光源と、光信号を供給するための光学基準と、光受信機とを含むアッセイシステムを対象とする。光学基準は、励起光を吸収するように配置され、光受信機への光信号を発生する。

【 0 0 0 9 】

本発明による反応チャンバは、光学基準から発生され光受信機によって検出される信号を抑制するか又は増強するように配置される。1 つの実施形態では、反応チャンバは比色試薬がない状態で試料を保持する。

50

【 0 0 1 0 】

励起光源は、例えば、限定はしないが、20 nmから5000 nmまで、50 nmから2000 nmまで、又は100 nmから1000 nmまでにわたる特定の波長を備える。

【 0 0 1 1 】

アッセイシステムによる光学基準は、例えば、蛍光ドープガラス、ステンドガラス、着色ガラス、及びラマン効果を示す材料からなる群から選択される。反応チャンバは、ルーメンと、平坦な第1の壁と、平坦な第2の壁とを含む。反応チャンバの1つの実施形態では、平坦な第2の壁は、平坦な第1の壁の反対側にあり、平坦な第1の壁に平行である。

【 0 0 1 2 】

本発明の1つの実施形態では、平坦な第1の壁及び平坦な第2の壁は、各々、例えば、約20 nmから約5000 nmまで、又は代替として約20 nmから約2000 nmまでの波長範囲の光に対して光学的に透明である。

10

【 0 0 1 3 】

本発明の様々な実施形態では、反応チャンバは、光学基準と光受信機及び励起光源との間に配置され、又は光学基準は、反応チャンバと光受信機及び励起光源との間に配置され、代替として、光学基準は、励起光源と反応チャンバとの間に配置され、反応チャンバは、光学基準と光受信機との間に配置される。

【 0 0 1 4 】

アッセイシステムは、光源又は光学基準から放出された放出光を検出するための光検出器、又は反射光もしくは二次光を検出するための光検出器を含む光受信機をさらに含む。1つの実施形態では、光受信機モジュールと光源モジュールとは一体化される。

20

【 0 0 1 5 】

1つの実施形態では、反応チャンバの第1の平坦な壁及び第2の平坦な壁の各々は、ルーメン表面を含み、第1の平坦なルーメンの表面は、1つ又は複数の反応物で被覆される。反応チャンバは、試料入口ポートと反応流体出口ポートとをさらに含むことができる。第1の入口ポートは、V形状を特徴とすることができる。

【 0 0 1 6 】

別の態様では、本発明は、凝固を検出する方法を対象とする。本発明のこの態様の1つの実施形態では、この方法は、

(i) 較正された光信号を発生するためのデバイスからなる光学基準を含むシステムを用意するステップと、

30

(ii) 流体を保持するためのチャンバであり、チャンバが、平坦な第1の壁、及び平坦な第1の壁の反対側にあり平坦な第1の壁に平行である平坦な第2の壁と、流体を保持するためのルーメンとを含み、反応チャンバの第1の平坦な壁及び第2の平坦な壁がルーメン表面を含み、第1の平坦なルーメン表面が1つ又は複数の反応物で被覆される、チャンバと、反応チャンバに体液試料を導入するための入口、例えばV字形入口とを含む反応チャンバを用意するステップと、

(iii) 光源からの励起光を反応チャンバ中の流体を通して光学基準まで透過させるステップと、

(iv) 反応チャンバ中の流体を通して光検出器まで透過された光学基準からの放出光を測定するステップと、

40

(v) 測定された放出光をシステムにおいて凝固時間を決定するための所定の標準と比較するステップと
を必要とする。

【 0 0 1 7 】

別の実施形態では、この方法は、

(i) 較正された光信号を発生するためのデバイスからなる光学基準を含むシステムを用意するステップと、

(ii) 流体を保持するためのチャンバであり、チャンバが、平坦な第1の壁、及び平坦な第1の壁の反対側にあり平坦な第1の壁に平行である平坦な第2の壁と、流体を保持

50

するためのルーメンとを含み、反応チャンバの第1の平坦な壁及び第2の平坦な壁がルーメン表面を含み、第1の平坦なルーメン表面が1つ又は複数の反応物で被覆される、チャンバと、反応チャンバに体液試料を導入するための入口、例えばV字形入口とを含む反応チャンバを用意するステップと、

(iii) 光源からの励起光を光学基準を通して反応チャンバ中の流体まで透過させるステップと、

(iv) 光検出器まで透過された光学基準からの反射放出光を測定するステップと、

(v) 測定された放出光をシステムにおいて凝固時間を決定するための所定の標準と比較するステップと
を必要とする。

10

【0018】

さらなる別の実施形態では、この方法は、

(i) 較正された光信号を発生するためのデバイスからなる光学基準を含むシステムを用意するステップと、

(ii) 流体を保持するためのチャンバであり、チャンバが、平坦な第1の壁、及び平坦な第1の壁の反対側にあり平坦な第1の壁に平行である平坦な第2の壁と、流体を保持するためのルーメンとを含み、反応チャンバの第1の平坦な壁及び第2の平坦な壁がルーメン表面を含み、第1の平坦なルーメン表面が1つ又は複数の反応物で被覆される、チャンバと、反応チャンバに体液試料を導入する入口、例えばV字形入口とを含む反応チャンバを用意するステップと、

20

(iii) 光源からの励起光を光学基準を通して透過させるステップと、

(iv) 光学基準が、反応チャンバを通過する二次光を発生するステップと、

(v) 二次光を光検出器で測定するステップと、

(vi) 測定された二次光をシステムにおいて凝固時間を決定のための所定の標準と比較するステップと
を必要とする。

【0019】

本発明の前述の及び他の目的、特徴、及び利点は、本発明の好ましい実施形態の以下のより詳細な説明から明らかになるであろう。

【0020】

30

本発明は、添付の特許請求の範囲において詳細に説明される。本明細書で説明する本発明のさらなる利点は、添付図面に関連して行われる以下の説明を参照することによって一層よく理解することができる。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】本発明の1つの実施形態による、血漿又は血液試料の凝固中に光源からの励起光及び光学基準からの戻り光の両方を吸収するための凝固システムの二重吸光度光学構成(double absorbance optical configuration)を示す図である。

【図2】本発明の別の実施形態による、血漿又は血液試料の凝固中に試料と光学基準との間の境界に励起光を閉じ込めて、光学基準で発生される光信号を増強させるための凝固システムの反射光学構成を示す図である。

40

【図3】本発明の別の実施形態による、血漿又は血液試料の凝固中に光源によって励起された光学基準から放出された光を吸収するための凝固システムの送出構成を示す図である。

【図4】光学基準と試料流体との間の距離(d)が、図1、図2、及び図3に関して説明したすべての構成に対して0から大きい値まで、典型的には0mmから200mmまで変動し得ることを示す図である。

【図5】様々な組成をもつ光学基準を製作する方法を示す図であり、(A)限定はしないがプラスチック、ガラス、及びシリコンなどの基板材料の内部に、限定はしないが蛍光分子、粒子、色素などの光学剤をドーピングすること、(B)基板の第1の表面に光学剤の層を

50

化学的に取り付けること、(C)基板の反対側の表面に光学剤の層を化学的に取り付けること、(D)物理的方法又は化学的方法のいずれかによって基板の第1の表面に光学剤の層を被覆すること、(E)物理的方法又は化学的方法のいずれかによって基板の反対側の表面に光学剤の層を被覆することを含む。

【図6】試料処理デバイスの反応チャンバに光学基準を一体化するための例示的な構成を示す図であり、(A)一体化反応チャンバの第1の壁に光学基準を埋め込むこと、(B)底部部分に反応チャンバの空洞をもつ反応チャンバの第1の壁を形成するために平坦な光学基準を接合すること、(C)底部部分以外の図6Bに示した反応チャンバの残りの部分に光学基準を接合すること、(D)密閉された反応チャンバの外側に別個の部分として光学基準を配置すること、(E)一体化反応チャンバの第1の壁の反対側の壁の内に光学基準を埋め込むこと、(F)残りの部分に反応チャンバの空洞をもつ反応チャンバの反対側の壁を形成するために平坦な光学基準を接合すること、(G)第1の壁以外の図6Fに示された反応チャンバの残りの部分に光学基準を接合することを示す。

10

【図7A】反応チャンバをもつ微小流体プレートの底面の図であり、試料のための流体入口及び出口と、チャンバに前もって格納された乾燥試薬とを有する反応チャンバの1つの例示的な構成を示す。

【図7B】図7Aの側面図である。

【図8】2つの流体入口、すなわち、別々に試料のためのものと及び試薬のためものと、流体出口とをもつ反応チャンバの例示的な構成を含む液体処理デバイスを示す図である。(A)は反応チャンバの斜視図である。(B)は反応チャンバの上面図である。(C)は図8Bの断面図である。(D)は図8Bの別の断面図である。(E)から(H)は、時間=0から時間=3まで試薬で反応チャンバを連続充填することを示す図である。(I)から(L)は、時間=4から時間=7まで試料流体で反応チャンバを連続充填することを示す図である。

20

【図9】試薬と試料流体とで充填された反応チャンバの断面図である。

【図10】それぞれ、本発明による複数の反応チャンバを含む例示的な微小流体デバイスの上面図及び底面図である。

【図11】図1に示した光学構成に基づく本発明の一実施形態と、例示的なアッセイ結果とを示す図である。(A)この特定の実施形態では、LEDが光源として使用され、蛍光ドープガラスが光学基準として使用され、定量的蛍光検出器が光学検出ユニットとして使用される。(B)は、(A)で示された本発明による凝固システムの二重吸光度構成の1つの実施形態による、異常な血漿を有するアッセイ群(b)と、正常な血漿を有する対照群(a)とからの蛍光信号を示す。異常なアッセイ群結果は、正常な対照アッセイ群からの結果と比較して、遅延した信号変化を示している。

30

【図12】図2の光学構成に基づく本発明の一実施形態と、例示的なアッセイ結果とを示す図である。(A)この特定の実施形態では、LEDが光源として使用され、蛍光ドープガラスが光学基準として使用され、定量的蛍光検出器が光学検出ユニットとして使用される。(B)は、(A)で示した本発明による凝固システムの二重吸光度構成の1つの実施形態による、凝固した血漿を有するアッセイ群(a)と、凝固していない血漿を有する対照群(b)とからの蛍光信号を示す。アッセイ結果は、凝固のない血漿からの信号変化(b)と比較して、凝固した血漿からの増大した信号変化(a)を示している。

40

【図13】光学データを処理して定量的凝固時間を得るための例示的な数学的方法を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0022】

1つの態様では、本発明は、反応チャンバ、例えば、微小流体デバイスのチャンバ中の患者の血漿又は血液試料の凝固を検出するためのシステムに関する。システムは、限定はしないが標準蛍光要素などの光学基準部分を含み、標準蛍光要素は、限定はしないが、蛍光体ドープガラス、蛍光基準信号を発生させるために使用される自家蛍光を含むポリマー薄膜又はシートなどである。蛍光要素及び凝固血液/血漿試料の位置決めは、光学基準に

50

達する及び／又は光学基準を出る光エネルギーを変更するように構成される。そのような構成により、本発明によるシステムは、蛍光信号を化学反応から分離する。蛍光信号の変動は、血漿／血液試料凝固過程の動態を示す。

【 0 0 2 3 】

本発明による凝固検出システムは、例えば蛍光検出を用いて凝固アッセイを実行するために使用される。ポイントオブケア（POC）凝固イムノアッセイシステムとして、試料調製は、微小流体カートリッジで実施することができ、それは、小さい試料容積、すなわち、1ミリリットル未満、好ましくは100マイクロリットル未満と、低い製造コストとを可能にする。本発明は、湿式化学アッセイのタイプで使用することができ、アッセイ中の吸着、濁度の変化が、試料中の分析物の検出及び定量化のために使用される。典型的な湿式化学アッセイは、免疫化学、酵素、凝血アッセイ、親和力ベース及び核酸ベースアッセイである。異なる光学検出方法が、限定はしないが、濁度、吸収、反射率、蛍光強度、時間分解蛍光、N I Rなどのような様々な実施形態において使用され得る。光学分光又はラボ

10

オンチップアッセイシステムなどの従来の凝固アッセイツールと比較して、本発明による凝固システムは、少なくとも、以下の利点を有する。

（１）ポイントオブケア適用を可能にするシステムの向上した携帯性及び高速な所要時間。

（２）システムの試料の処理が、少量、すなわち、1ミリリットル未満の患者の血液又は血漿、好ましくは100マイクロリットル未満しか必要としない。

（３）蛍光体試薬又は比色試薬などの最新の蛍光アッセイで一般に必要とされるもののような指示薬がアッセイに加えられる必要がない。これは、普通なら免疫反応性試薬、イントラアッセイ化学物質、及び化学反応を必要とすることになるアッセイ処理工程を減少させることによってアッセイプロトコルを簡単にする。本発明により発生される蛍光信号は、単に凝固反応の関数であり、試料に加えられる蛍光体を必要とせず、それは、より低いコストと、より低いバックグラウンド干渉をもたらす。

20

（４）標準蛍光要素を使用することとともに、蛍光信号と化学反応とを分離することにより、容易で信頼できる品質管理を可能にする。

（５）本明細書で説明する本発明によるシステムは、迅速で費用効率の高い採用、かつ限定はしないが、トロポニンIのような心臓マーカー又はD - ダイマーなどの凝血パラメータに追加情報を与えるマーカーなどの血液中の他の分析物の定量化のための固相イムノアッセイなどの他のバイオマーカー検出システムとの迅速で費用効率の高い統合化を可能にする微小流体、ロボット、及びマニピュアル液体輸送システムを含む任意の蛍光システム、様々な液体処理システムで実現することができる。D - ダイマー試験は、他の臨床検査及び画像診断走査と一緒に、血栓の存在を除外するのを支援するために注文される。

30

（６）本発明による光学システムの様々な実施形態を含むカートリッジのコストは十分低くて使い捨てにでき、それは、クロス汚染の危険性を減少させる。カートリッジは、好ましくはポリスチレン又はシクロオレフィンなどのポリマーで、製造方法、好ましくは、射出成形又はホットエンボシングによって製造することができる。

（７）光源及び信号検出のために異なる波長を使用し、それによって、バックグラウンド干渉を減少させることができる。光源は、限定はしないが、レーザ、水銀アークランプ、及びLEDからなる群から選択することができる。波長は、例えば、約20nmから約5000nmまで、約50nmから約2000nmまで、約100nmから約1000nmまでにわたる。

40

【 0 0 2 4 】

光学構成

光学基準と試料反応チャンバとの異なる構成配置をもつ様々な光学構成が、様々な濁度アッセイ、例えば、血液凝固アッセイに関して開示される。本発明の実施形態による各構成の概略図が図1、図2、及び図3に示され、動作原理が以下で説明される。

【 0 0 2 5 】

二重吸光度光学構成

50

図 1 に示すように、本発明の 1 つの実施形態によれば、二重吸光度光学構成システム 100 は、蛍光モジュール 98 と、反応チャンバ 88 と、蛍光基準 78 とを有する。1 つの実施形態では、蛍光モジュール 98 は、光源 96 と、蛍光検出ユニット 94、例えば、限定はしないが、励起のための例えば LED (360 nm)、及び蛍光放出を定量化するためのフォトダイオード又はマルチピクセルフォトンカウンタ (MPPC) などの光検出器とを使用して時間分解蛍光 (TRF) を測定するための検出システムとを共に一体化する。

【0026】

引き続き図 1 を参照すると、本発明の 1 つの実施形態によれば、二重吸光度光学構成システム 100 は、光源 96 と、光学検出ユニット 94 と、光学基準 78 と、反応チャンバ 88 とを有する。稼働時に、光源 96 からの光 95 と、光学基準 78 からの戻り光 93 とは両方とも反応チャンバ 88 中の試料を透過し、例えば、試料、血漿、又は血液の濁度変化に起因して吸収される。光源又は励起光 95 と戻り又は放出光 93 とは、同じ波長又は異なる波長を有することができる。光学基準 78 は、限定はしないが汎用の光度計測、蛍光、ラマン分光時間分解蛍光、及び表面増感ラマン分光などの様々な光学技術により実現することができる。1 つの実施形態では、蛍光に基づく方法は、光源が LED であり、光学基準が蛍光ガラスであり、戻り光が蛍光要素からの放出であり、試料が血漿であり、光学検出ユニットが蛍光検出器である状態で、血液凝固時間測定のために使用される。この実施形態では、血漿が反応チャンバ中で凝固するとき、光学検出ユニットで読み取られる蛍光信号は、凝固した血漿による光学吸収度の増加に起因して減少する。

【0027】

引き続き図 1 を参照すると、反応チャンバ 88 は、血漿又は血液試料と、特別のターゲット凝固アッセイのための試薬とを密閉する。反応チャンバ 88 は、第 1 の壁 86 と、第 1 の壁の反対側の第 2 の壁 84 とを含み、光学基準 78 と光源 96 及び検出器 94 との間に配置される。第 1 の壁 86 は、特定の波長の光に対して光学的に透明であり、第 2 の壁 84 よりも蛍光モジュール 98 の近くにある。第 2 の壁 84 は、特定の波長をもつ光に対して光学的に透明であり、第 1 の壁 86 の反対側に、第 1 の壁 86 に平行に、第 1 の壁 86 よりも蛍光基準 78 の近くに配置される。反応チャンバ 88 中の血漿又は血液試料に加えられる試薬は、反応チャンバ 88 中の凝固反応を可能にする。

【0028】

光学基準 78 は、例えば、限定はしないが、蛍光ドープガラス、又は反応チャンバ 88 の第 2 の反対側の壁 84 の表面に固定化された蛍光体である。二重吸光度光学構成の実施形態では、蛍光基準 78 は、図 1 に示すように蛍光モジュール 98 の反対側の反応チャンバ 88 の側に配置される。光学基準 78 の目的は、特定の波長の校正光信号を供給することである。

【0029】

稼働時に、ひとたび血漿又は血液試料凝固過程が開始すれば、ますます多くのフィブリンが形成され、それによって、反応チャンバ 88 中の血漿又は血液試料の濁度が増加する。その結果として、試料を通る励起光 95 の透過が減少し、光学基準 78 の蛍光分子の励起が抑制される。加えて、光学基準 78 からの減少した放出光 93 は、反応チャンバ 88 中の試料を通して蛍光モジュール 98 に進むときにさらに吸収され、それが蛍光検出器 94 によって検出され測定される。2 つの吸光度過程、すなわち、励起光 95 が反応チャンバ 88 を通って蛍光基準 78 に進むときの第 1 の吸光度と、放出光 93 が光学基準 78 から反応チャンバ 88 を通って進むときの第 2 の吸光度との組合せ効果が、光検出器 94 によって検出される信号変化を生成すると予想される。信号変化は、反応チャンバ 88 中の試料の凝固過程を示す。その結果として、この二重吸光度光学構成の光検出器 94 によって検出される蛍光信号の減少は、凝固過程が始まったことを示す。時間による信号の相対的变化は、凝固過程 (動態、傾き) に関する情報を与える。PT、APTT などの異なる凝固パラメータを適切に計算するために、最大信号及び最小信号が決定される。

【0030】

反射光信号

図 2 は、本発明の別の実施形態による濁度システム 100' の反射光学構成を示し、蛍光基準 78 は、反応チャンバ 88 と蛍光モジュール 98 との間に配置される。

【0031】

引き続き図 2 を参照すると、上述した二重吸光度光学構成システム 100' のような反射光学構成システム 100' は、蛍光モジュール 98 と、反応チャンバ 88 と、蛍光基準 78 とを含む。反射光学構成の 1 つの実施形態では、蛍光モジュール 98 は、光源 96 と蛍光検出ユニット 94 との両方を一体化しており、例えば、限定はしないが、LED (360 nm) 光源と MP PC (マルチピクセルフォトンカウンタ) 検出器とを有する株式会社堀場製作所 (日本、京都) からの蛍光リーダーである。

【0032】

反応チャンバ 88 は、血漿又は血液試料と、特定のターゲット凝固アッセイのための試薬とを密閉し、一般に、複数の平坦な壁を有し、それらのうちの少なくとも 2 つは平行であり、反対側にある。光学基準 78 は、反応チャンバ 88 と、励起光源 96 及び光受信機 94 との間に配置される。例えば、反応チャンバ 88 は、第 1 の壁 86 と、第 1 の壁 86 の反対側の第 2 の壁 84 とを含む。好ましい実施形態では、第 1 の壁 86 と第 2 の壁 84 とは互いに平行である。代替として、第 1 の壁と第 2 の壁とは、互いにある角度で、例えば、45° の角度で配置されることある。反射光学構成では、第 1 の壁 86 は、特定の波長の光に対して光学的に透明であり、第 2 の壁 84 よりも蛍光基準 78 の近くに配置される。第 2 の壁 84 は、第 1 の壁 86 の反対側に、及び第 1 の壁 86 に平行に、及び第 1 の壁 86 よりも蛍光基準 78 からさらに離れたところに配置される。第 2 の壁 84 は、光学的に透明であってもなくてもよい。反応チャンバ 88 中の血漿又は血液試料に加えられる試薬は、反応チャンバ 88 中の凝固反応を可能にする。

【0033】

光学基準 78 は、例えば、限定はしないが、蛍光ドープガラス、又は反応チャンバ 88 の第 1 の壁 86 の表面に固定化された蛍光体である。この実施形態では、蛍光基準 78 は、図 2 に示すように、反応チャンバ 88 と蛍光モジュール 98 との間に配置される。蛍光基準 78 の目的は、較正された蛍光信号を供給することである。

【0034】

稼働時に、ひとたび血漿又は血液試料の凝固過程が開始すれば、ますます多くのフィブリンが形成され、それによって、反応チャンバ 88 中の血漿又は血液試料の濁度が増加する。

【0035】

図 2 に示すように、反射光学構成では、励起光 95 は最初に光学基準 78 に達し、次に、反応チャンバ 88 中の試料を透過する。言い換えれば、励起光 95 の一部分は、反応チャンバ 88 を透過する前に光学基準 78 の蛍光を励起し、一方、励起光 95 の残りの部分は、反応チャンバ 88 中の試料を透過する。反応チャンバ 88 中の血漿又は血液試料の凝固が開始し広がり、フィブリンの量が試料中で増加するとき、2 つの光部分の、すなわち、透過光及び反射光のエネルギー分布は、試料の透過特性の変化に起因して変動する。すなわち、励起光 95 の透過が抑制され、より多くの光が、蛍光基準 78 と反応チャンバ 88 の第 1 の壁 86 との境界に捕捉されて、より多くの蛍光体を励起する。その結果として、この構成で光検出器 94 によって検出される蛍光信号の増加は、凝固過程が始まったことを示す。凝血時間は、図 12 に示すように、例えば、凝血曲線の一次導関数によって計算される凝血曲線の傾きによって決定することができる (一次導関数の最大値は、凝固の開始時刻を与えている)。最大信号 (反応の開始、時点 0) 及び最小信号 (凝固完了) が、凝血時間を決定するために必要である。

【0036】

透過光学構成

図 3 は、システムのさらなる別の光学構成 100'' を示す。光学基準 78 は、光源 96 と試料反応チャンバ 88 との間に配列され、反応チャンバ 88 は、光学基準 78 と光学検出ユニット 94 との間に配置される。稼働時に、光学基準 78 は、光源光 96 によって励

10

20

30

40

50

起され、蛍光信号などの二次光 9 3 を放出する。二次光 9 3 は反応チャンバ 8 8 を通過し、試料の濁度変化に起因して吸収される。光検出器 9 4 は、光学基準 7 8 からの二次光 9 3 の信号を読み取る。信号の定量値は、凝固反応の動態を表す。

【 0 0 3 7 】

図 4 は、図 1、図 2、及び図 3 に関して上述した各構成について光学基準 7 8 と反応チャンバ 8 8 のルーメン 8 3 中の試料との間の距離 (d) が約 0 mm から約 2 0 0 mm まで変動できることを示している。

【 0 0 3 8 】

図 5 は、光学基準 7 8 の例示的な構成を示す。非限定例として蛍光特性をもつ光学基準を使用して、光学剤 6 1 は、蛍光分子、粒子、又は他の担体をプラスチック、ガラス、又はシリコン材料基板 7 8 に埋め込むことによって製作することができる (図 5 A)。代替として、光学蛍光剤は、基板の表面に、上部 6 0 もしくは底部 6 2 の表面、すなわち、第 1 の表面 6 0 もしくは第 1 の表面の反対側の第 2 の表面 6 2 のいずれか、又は両方に化学的に又は物理的に被覆することができる。例えば、図 5 (B) に示すように、光学剤 6 1 の層は、物理的手段又は化学的手段によって基板の第 1 の表面 6 0 に化学的に組み立てることができ、図 5 (C) では、光学剤 6 1 の層は、物理的手段又は化学的手段によって基板の第 2 の表面 6 2 に化学的に組み立てることができ、図 5 (D) では、光学剤 6 1 の層は、化学的手段又は物理的手段によって基板の第 1 の表面 6 0 に被覆することができ、又は図 5 (e) では、光学剤 6 1 の層は、化学的手段又は物理的手段によって基板の第 2 の表面 6 2 に被覆することができる。

【 0 0 3 9 】

図 6 は、反応チャンバ 8 8 と光学基準 7 8 との様々な例示的な構成を示す。本発明による好適な光学構成を形成するために、光学基準 7 8 は、例えば、反応チャンバ 8 8 の密閉壁 6 4 の上部部分又は底部部分に埋め込まれることによって反応チャンバ 8 8 の一体化部分とすることができ、又は、代替として、光学基準は、反応チャンバ 8 8 の上方の外側又は下方の外側に配置された別個の部分とすることができ、本発明による適切な光学構成を形成する。光学基準 7 8 の長軸は励起光に対して垂直であることが好ましい。代替として、励起光は、光学基準 7 8 の長軸に対してある角度をなすことができる。

【 0 0 4 0 】

図 6 A は、1つの実施形態による、反応チャンバ 8 8 の囲い壁 6 4 の第 1 の壁 6 5 に埋め込まれた例示的な平坦な光学基準 7 8 を示す。代替として、図 6 B は、反応チャンバ 8 8 の第 1 の壁 6 5 に接合され、反応チャンバ 8 8 の第 1 の壁 6 5 を形成する平坦な光学基準 7 8 を示し、反応チャンバ 8 8 のルーメン 8 3 は反応チャンバ 8 8 の第 1 の壁 6 5 の内側にある。好ましい実施形態では、光学基準 7 8 の長軸は、光源に対して垂直であるか、又は代替として約 4 5 ° までの角度をなす。

【 0 0 4 1 】

図 6 C に示される別の実施形態では、光学基準 7 8 は、反応チャンバ 8 8 の 3 つの壁、6 5、6 5'、6 5'' を形成するが、壁 6 5 の反対側の第 2 の壁 6 5' のみが光学基準 7 8 の部分ではない。

【 0 0 4 2 】

図 6 D に示されるさらなる別の実施形態では、光学基準 7 8 は、反応チャンバ 8 8 のいずれの壁からも離れている要素として配置され、光学基準 7 8 の長軸は反応チャンバ 8 8 の少なくとも 1 つの壁に平行であり、図 6 E に示されるさらなる別の実施形態では、光学基準 7 8 は、反応チャンバ 8 8 の第 2 の壁 6 5' に埋め込まれており、図 6 F に示されるさらなる別の実施形態では、光学基準 7 8 は、平坦であり、反応チャンバ 8 8 の第 2 の壁 6 5' に接合されており、図 6 G に示されるさらなる別の実施形態では、光学基準 7 8 は、3 つの壁及び 6 5'、6 5''、6 5''' を形成し、壁 6 5' の反対側の第 1 の壁 6 5 のみが光学基準 7 8 の部分ではない。

【 0 0 4 3 】

試料調製カートリッジ

図 1、図 2、及び図 3 に示した凝固システム 100、100'、及び 100" の実施形態によれば、本発明における試料調製は、マニュアルピペティングから自動流体制御システムまで様々な方法で達成することができる。上述の凝固アッセイシステムに適用可能な微小流体デバイス及び方法の非限定の例が、以下で与えられる。これらのデバイス及び方法は凝固のためのアッセイに限定されず、アッセイ反応生成物の計量、試薬追加、混合、培養、及び定量化が必要とされる様々な湿式化学アッセイで使用することができる。典型的なアッセイは、乳酸塩又はクレアチニン又は比濁アッセイなどの代謝物質を測定するための酵素反応を使用している。そのような比濁アッセイの例は、濁度の変化によってモニタされ得る分析物の存在下で単分散免疫粒子が錯化しているラテックス凝集反応などの凝集反応アッセイである。

10

【0044】

乾燥試薬を有する流れチャンバ

次に、図 7A 及び 7B を参照すると、1つの実施形態では、確定した容積をもつ液体処理デバイス 120 の反応チャンバ 88 が、リッド 91 で覆われたマイクロチャネルプレート 90 によって形成される。反応チャンバは、試料容積を計量するために使用され、1つの流体入口 68 が、反応チャンバ 88 の底部 60b から試料、例えば、血漿を導入するために使用され、反応チャンバ 88 の底部 60b の 1つの流体出口 66 が、反応チャンバ 88 のルーメン 83 からの過度の液体を放出するために使用される。凍結乾燥 PT/APTT 試薬、ピオチンなどのような乾燥試薬が、例えば、反応チャンバ 88 に前もって格納され、第 1 の壁 86 のルーメン表面に均一に被覆される。血漿が反応チャンバ 88 に充填すると、乾燥試薬が溶け始め、次に、垂直方向に沿って、すなわち、チャンバ 88 の底部 60b からチャンバの上部 60a に向かって試料中に拡散する。乾燥試薬は、液体試料との比較的大きい接触面積を有し、垂直方向に沿った拡散距離は比較的短い。この構成は、反応チャンバ 88 の横方向の面にわたる均質の凝固過程を実現する。稼働時に、ひとたびチャンバ 88 が試料で充填されれば、アッセイ過程が開始し、蛍光信号取得が反応動態に従って始まる。

20

【0045】

液体試薬を有する流れチャンバ

図 8A ~ 図 8D は、試料流体の調査のための液体処理デバイス 120 を示す本発明の 1つの実施形態を示す。液体処理デバイス 120 は、反応チャンバ 88 と、それぞれ試料流体及び試薬流体を反応チャンバのルーメン 83 に送出するための 2つの入口ポート及びチャネル 66 及び 68 と、充填中の反応チャンバ 88 のガス抜きのための出口チャネル 64 とを含む。デバイス 120 は、例えば反応チャンバルーメン 83 の制御された及び泡のない充填を行うために、1つ又は複数の流体構造 68a 及び 64a を含むことができる。

30

【0046】

図 8A ~ 図 8D に示した液体処理デバイス 120 の 1つの実施形態によれば、デバイス 120 の反応チャンバ 88 は、最初に、第 1 の入口 66 を介して、計量された量の液体試薬で充填される。泡のない液体充填は、出口 64 のすぐ隣のキャピラリストップフィーチャ 64a によって達成することができる。図 8A において、例えば、円筒形溝が、キャピラリストップ 64A として働いている。キャピラリストップは、急なチャネル開口によって、及びフィーチャ 64a の曲率によって、又は出口区域 64 を疎水性にすることのいずれかによって規定される。図 8E から図 8H は、時間 = 0 から時間 = 3 までの異なる時点での反応チャンバ 88 への試薬の連続充填を示す。計量された量の試薬が反応チャンバ 88 のルーメン 83 に充填した後、計量された量の試料流体（血漿及び全血など）が、図 8I から図 8L に示されるように第 2 の入口 68 を介してチャンバルーメン 83 に充填される。

40

【0047】

図 8A ~ 図 8D に示した実施形態の追加の特徴は次の通りである。液体処理デバイス 120 は水平方向に配向される、すなわち、液体処理デバイス 120 の上面図は図 8B に示された通りである。入口チャネル 68 の v 形状 68a は、例えば、30° の開口角を有す

50

る。この v 形状68aは、 0° から 180° まで、典型的には、 15° から 120° までにわたる角度を有することができる。液体処理デバイス120のこの実施形態によれば、第2の入口68と出口64とは、液体処理デバイス120の上部側60aに配置され、一方、第1の入口66は液体処理デバイス120の底部側60bに配置されることにも留意されたい。液体処理構造の上部側及び底部側の入口及び出口の他の配置も可能であり、図示の実施形態によって限定されない。試料及び試薬の流量は、約 $0.5\mu\text{l}/\text{s}$ から $200\mu\text{l}/\text{s}$ まで、典型的には、 $2\mu\text{l}/\text{s}$ から $100\mu\text{l}/\text{s}$ までにわたることができる。

【0048】

図9は、試薬及び試料の充填が完了した後の反応チャンバ88を説明的に例示している。2つの層、すなわち、試薬の層と試料流体の層とが示されている。試料層は、反応チャンバ88のルーメン83において流体の表面全体にわたって試薬層の上に広がっている。それゆえに、それは、2つの液体の間、すなわち、試薬と試料との間に大きい接触面積を発生する。この大きい接触面積により、試薬と試料液体との混合、及びそれによって反応が、非常に効率的となる。

【0049】

図8の図示の実施形態では、入口構造68の v 形幾何形状を使用して、反応チャンバ中への試料流体の均一分布をサポートしている。図8c及び図8dに示すように、試料入口68は、反応チャンバ88の上部60aに接続されるが、試薬入口66は、反応チャンバ88の底部60bの反対側に配置される。

【0050】

図10Aを参照すると、4つの反応チャンバ88a~88dを有する微小流体デバイス50の一実施形態の上面図が示される。図示の実施形態では、反応チャンバ88a~88dは、微小流体デバイス50の1つの側の方に配置されているが、微小流体カードにおいて他の位置に配置され得る。

【0051】

図10Bは、反応チャンバ88と流体連通する複数のチャンネル67を含む微小流体カード50の底面図を示す。

【0052】

原理の例証 / 証明

血液又は血漿試料の凝固を検出するための上述で論じた凝固システム100、100'、100"と、関連するアッセイ方法との実施形態が、PT及びAPTTアッセイのための制御された血漿試料及び試薬を用いて評価された。図1に関して上述した及び図11Aに示した二重吸光度構成の例では、この方法に適用された蛍光モジュールはPMTベース時間分解蛍光(TRF)ユニットであり、蛍光基準78は、正確に制御された量のユウロピウムを含んでおり励起中に光退色がないユウロピウムドープガラスであり、LED96が光源として使用された。フィルタ95Aが、LED96と2色性ミラー97との間に配置された。第2のフィルタ95Bが、検出器94と2色性ミラー97との間に配置された。血漿試料は、Instrumentation Laboratory Company(オレンジバーク、NY)からの正常対照血漿(a)及び高異常対照血漿(b)を含んでいた。凝固は、凝固開始剤の導入によって開始された。

【0053】

図11Bを参照すると、図1及び図11Aに関して上述した二重吸光度凝固システムにおいて、蛍光基準から発出し、蛍光検出器に透過された蛍光信号の強度が、正常対照血漿の曲線(a)及び異常対照血漿の曲線(b)によって表され、正常血漿試料及び異常血漿試料の両方において、蛍光信号は、凝固が開始し広がるにつれて減少し、凝固が完了したときに安定した値に達した。異常血漿は、凝固過程を開始し終了する時間が正常血漿よりも長くかかっている。

【0054】

図12Aを参照すると、図2に関して上述した反射構成を使用する本発明の一実施形態

が実現されている。図 1 2 A に示すように、LED 9 6 が光源として使用され、蛍光ドープガラスが光学基準 7 8 として使用され、定量的蛍光検出器が光検出器ユニット 9 4 として使用された。フィルタ 9 5 A が、LED 9 6 と 2 色性ミラー 9 7 との間に配置された。第 2 のフィルタ 9 5 B が、検出器 9 4 と 2 色性ミラー 9 7 との間に配置された。血漿試料は、凝固試薬が導入された正常血漿試料 (a) と水 (凝固試薬ではない) が導入された対照正常試料 (b) とを含んでいた。凝固ありの血漿 (a) 及び凝固なしの血漿 (b) から得られた光信号が、図 1 2 B に示されている。蛍光信号は、試料 (a) では、凝固が開始し広がるにつれて増加し、安定した値に達し、凝固が完了したときに安定した値に達した。対照 (b) は、同じ血漿試料を、しかし脱イオン水を添加して用いた (凝固は生じなかった)。

10

【 0 0 5 5 】

図 1 3 は、光学データを処理して定量的凝固時間を得るための例示的な方法を示している。4 つの工程でオリジナルデータは、最初に、正規化され (図 1 3 A)、冗長なデータ及び雑音を除去するためにフィルタ処理される (図 1 3 B)。オリジナルデータの一次導関数 (図 1 3 C) が、光信号の最速変化が位置する時間スポットを識別するために実装される。一次導関数のピーク位置 (図 1 3 D) が凝固開始時間として使用される。他の方法を使用して、凝固過程を同様に定量的に調査することができる。

【 0 0 5 6 】

説明され例示された内容の様々な変更及び他の実装態様が、本発明の範囲及び趣旨から逸脱することなしに当業者には思い浮かぶであろう。本発明は、前の例示的な説明又は図面によってのみ定義されるべきでない。

20

【 図 1 】

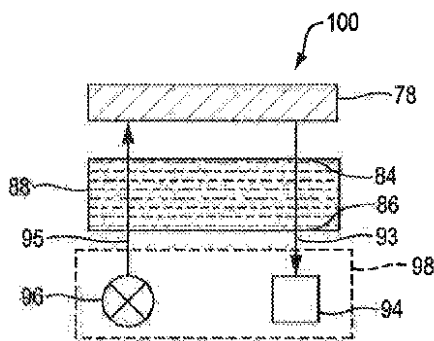


FIG. 1

【 図 2 】

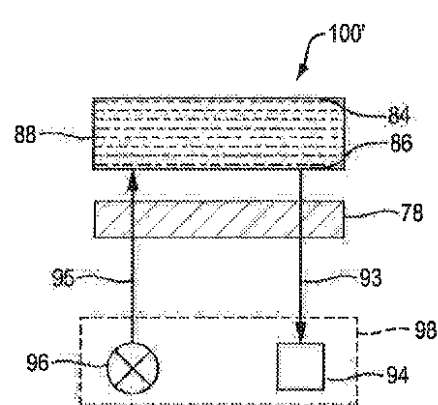


FIG. 2

【図 3】

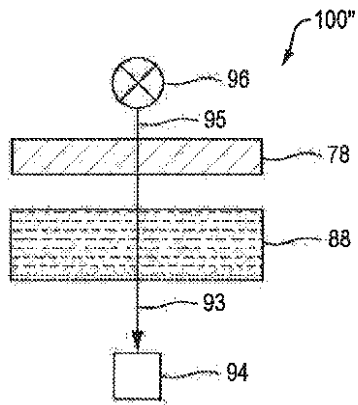


FIG. 3

【図 4】

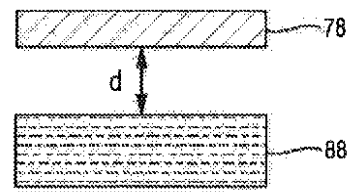


FIG. 4

【図 5 A】

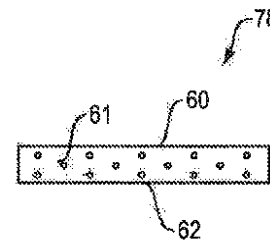


FIG. 5A

【図 5 B】

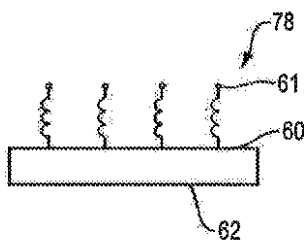


FIG. 5B

【図 5 D】

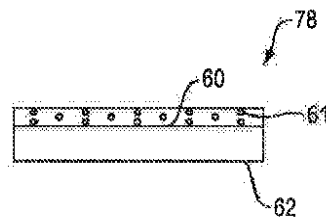


FIG. 5D

【図 5 C】

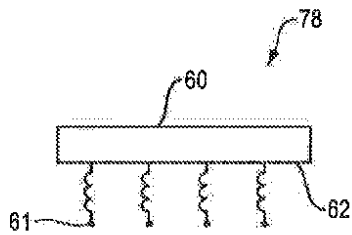


FIG. 5C

【図 5 E】

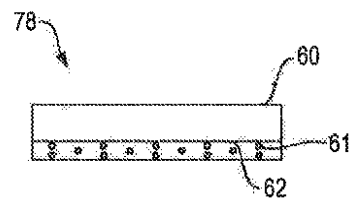


FIG. 5E

【図 6 A】

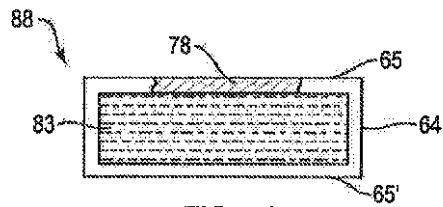


FIG. 6A

【図 6 C】

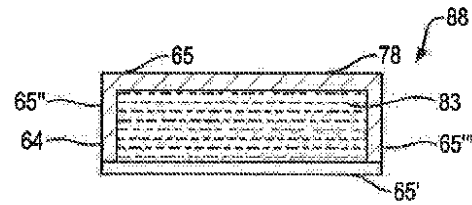


FIG. 6C

【図 6 B】

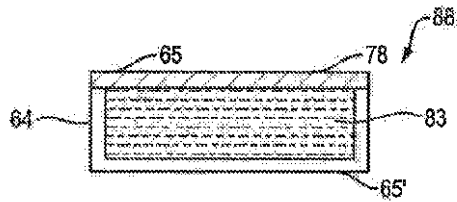


FIG. 6B

【図 6 D】

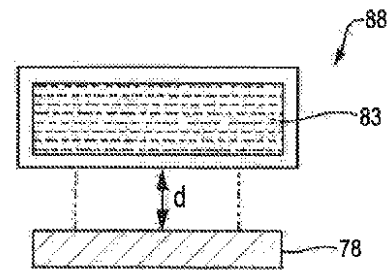


FIG. 6D

【図 6 E】

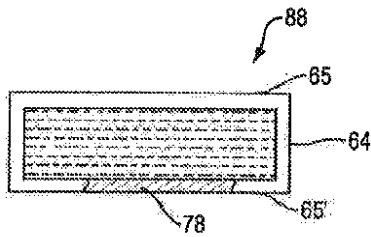


FIG. 6E

【図 6 G】

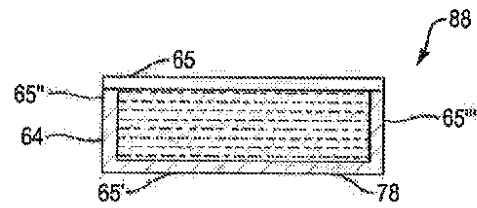


FIG. 6G

【図 6 F】

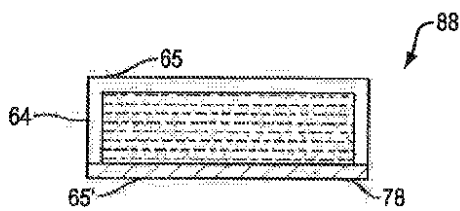


FIG. 6F

【図 7 A】

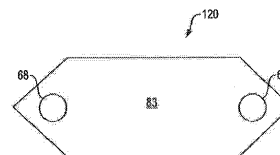
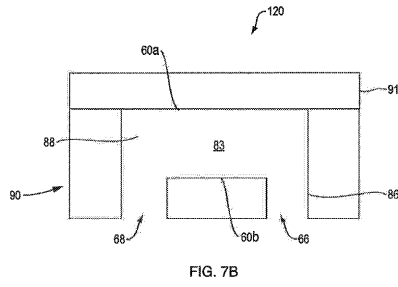
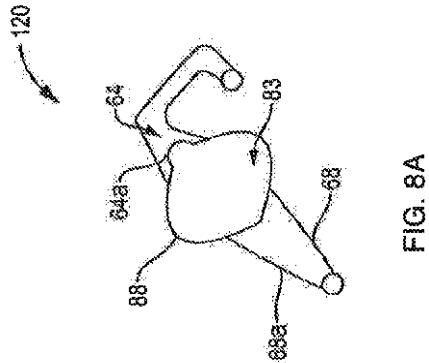


FIG. 7A

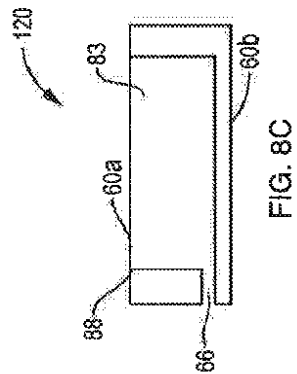
【図 7 B】



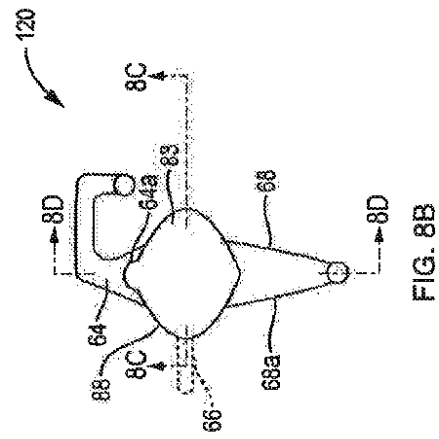
【図 8 A】



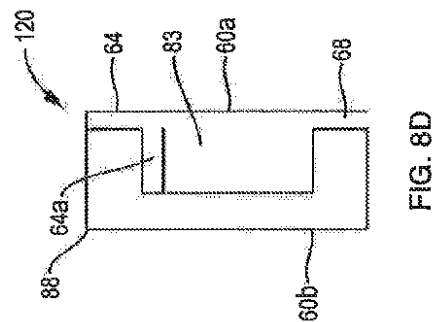
【図 8 C】



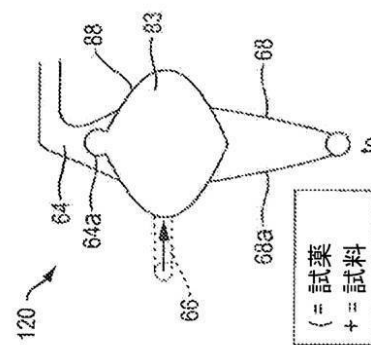
【図 8 B】



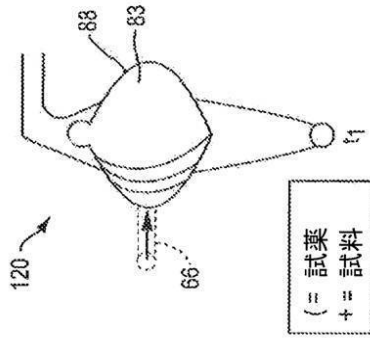
【図 8 D】



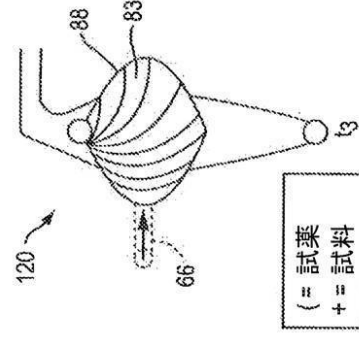
【図 8 E】



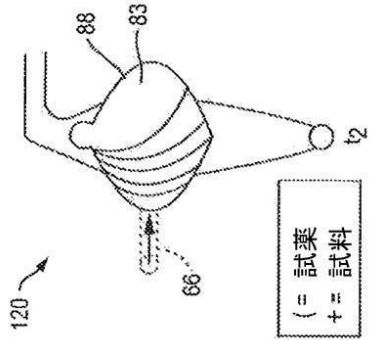
【図 8 F】



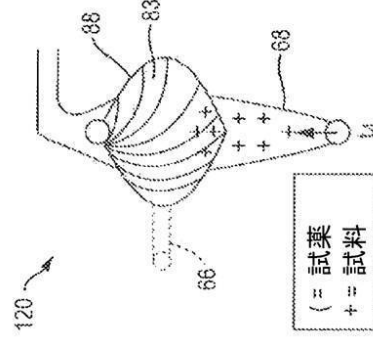
【図 8 H】



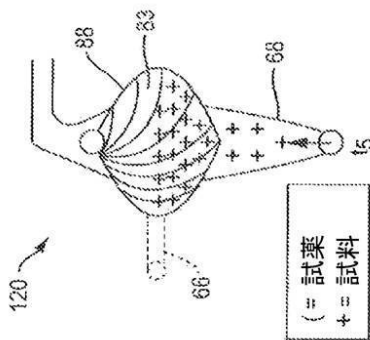
【図 8 G】



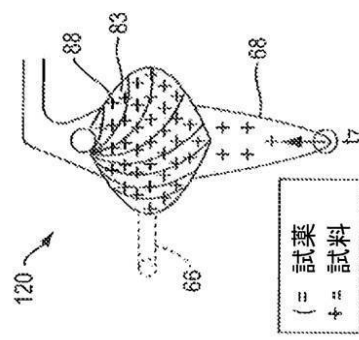
【図 8 I】



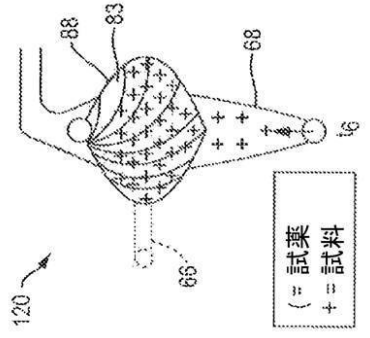
【図 8 J】



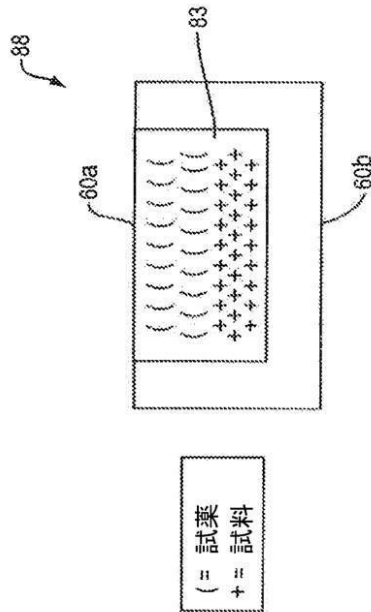
【図 8 L】



【図 8 K】



【図 9】



【図 10 A】

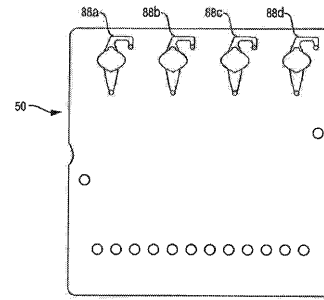


FIG. 10A

【図 10 B】

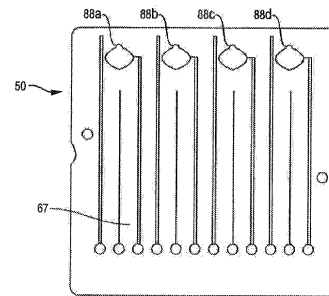


FIG. 10B

【図 11 A】

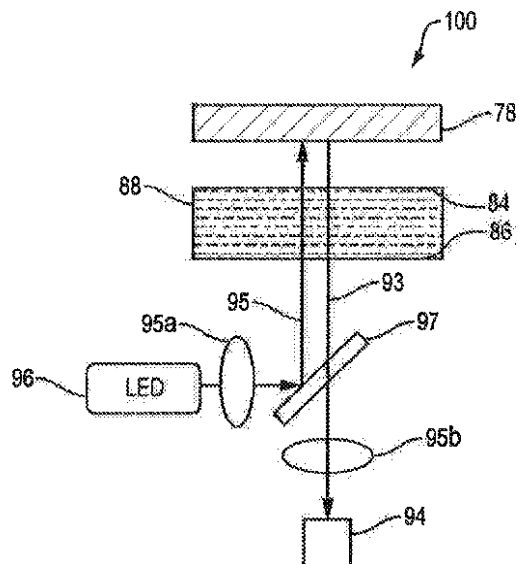
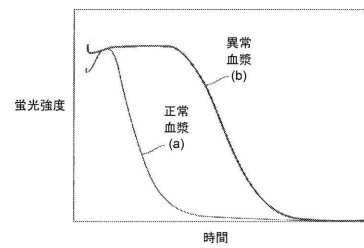


FIG. 11A

【図 11 B】



【図 12 A】

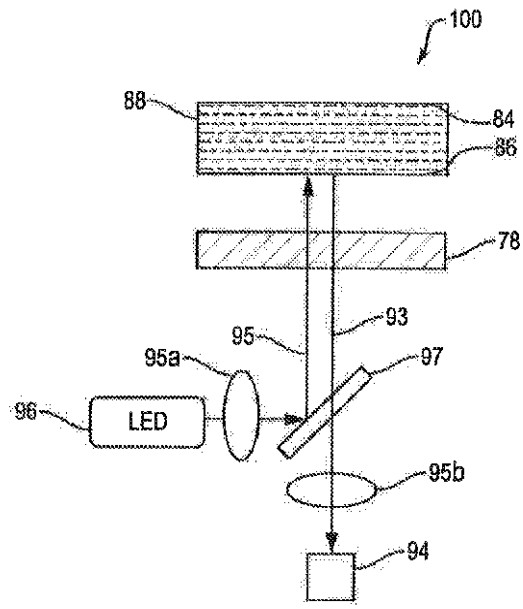
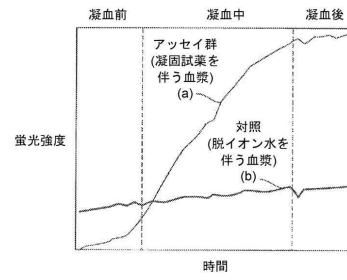
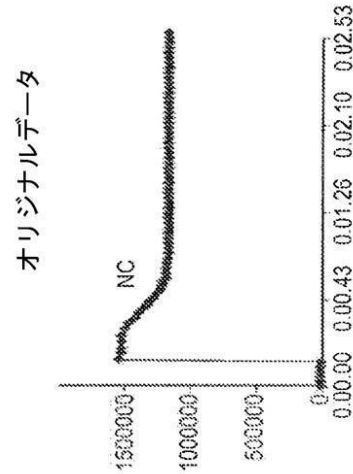


FIG. 12A

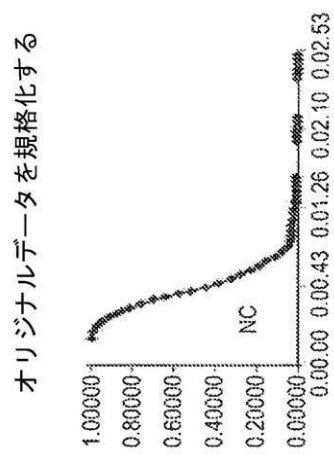
【図 12 B】



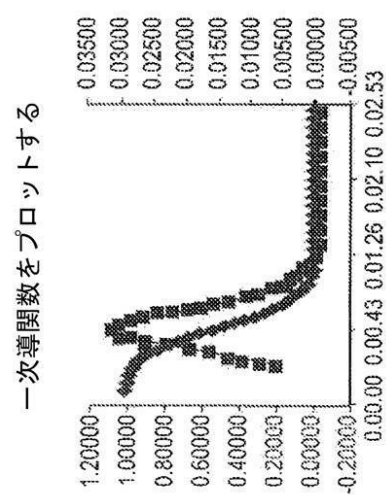
【図 13 A】



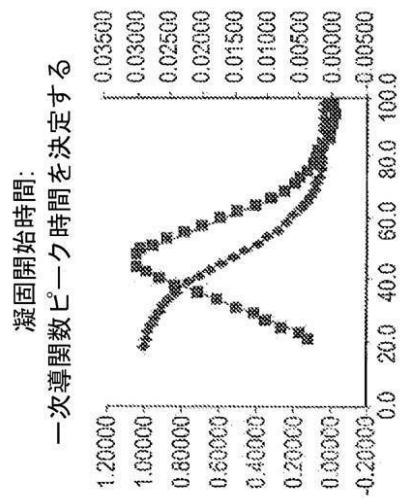
【図 13 B】



【図 13 C】



【図 1 3 D】



フロントページの続き

- (72)発明者 ケリモ, ジョゼフ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 01730, ベッドフォード, ハートウェル ロード 1
80, インストゥルメンテーション ラボラトリー カンパニー 内
- (72)発明者 ツェン, ハンソン
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 01730, ベッドフォード, ハートウェル ロード 1
80, インストゥルメンテーション ラボラトリー カンパニー 内
- (72)発明者 シャルラック, ロン
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 01730, ベッドフォード, ハートウェル ロード 1
80, インストゥルメンテーション ラボラトリー カンパニー 内
- (72)発明者 ブランケンスタイン, ゲルト
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 01730, ベッドフォード, ハートウェル ロード 1
80, インストゥルメンテーション ラボラトリー カンパニー 内

審査官 伊藤 裕美

- (56)参考文献 国際公開第2015/118843(WO, A1)
特開2010-101835(JP, A)
特開2011-048677(JP, A)
国際公開第2012/137506(WO, A1)
国際公開第2013/161543(WO, A1)
米国特許出願公開第2003/0180191(US, A1)
特開2002-345787(JP, A)
米国特許第05114860(US, A)
米国特許出願公開第2013/0301051(US, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 21/00 - 21/83
G01N 33/48 - 33/98
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)