

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-534536

(P2018-534536A)

(43) 公表日 平成30年11月22日(2018.11.22)

| (51) Int.Cl.                        | F I                 | テーマコード (参考) |
|-------------------------------------|---------------------|-------------|
| <b>GO 1 N 33/569 (2006.01)</b>      | GO 1 N 33/569 B     | 4 B 0 2 9   |
| <b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>      | GO 1 N 33/543 5 2 1 | 4 B 0 6 3   |
| <b>GO 1 N 33/531 (2006.01)</b>      | GO 1 N 33/531 B     |             |
| <b>GO 1 N 33/545 (2006.01)</b>      | GO 1 N 33/569 C     |             |
| <b>GO 1 N 33/551 (2006.01)</b>      | GO 1 N 33/569 E     |             |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く |                     |             |

(21) 出願番号 特願2018-511707 (P2018-511707)  
 (86) (22) 出願日 平成28年9月2日 (2016.9.2)  
 (85) 翻訳文提出日 平成30年4月3日 (2018.4.3)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/050257  
 (87) 国際公開番号 W02017/041030  
 (87) 国際公開日 平成29年3月9日 (2017.3.9)  
 (31) 優先権主張番号 62/214, 801  
 (32) 優先日 平成27年9月4日 (2015.9.4)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 506115514  
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ  
 ティ オブ カリフォルニア  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94  
 607-5200, オークランド, フラン  
 クリン ストリート 1111, 12番  
 フロア  
 (74) 代理人 100108453  
 弁理士 村山 靖彦  
 (74) 代理人 100110364  
 弁理士 実広 信哉  
 (74) 代理人 100133400  
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 臨床上的用途のための、分析物の収集、抽出、濃縮、及び検出のための方法及び装置

## (57) 【要約】

様々な実施形態では、臨床関連する病原菌（たとえば、バクテリア、菌、ウイルスなど）の検出及び/または計量のためのデバイス及び方法が提供される。特定の実施形態では、デバイスは、約  $6 \times 10^6$  セル/mL 未満、約  $3 \times 10^6$  セル/mL 未満、約  $1 \times 10^6$  CFU/mL 未満、または約  $50 \mu\text{g/mL}$  未満の濃度で、バクテリアを検出する側方流アッセイを備えている。特定の実施形態では、デバイスは、第1の相溶液と第2の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系 (ATPS) と、側方流アッセイ (LFA) とを備えている。特定の実施形態では、デバイスは、第1の相溶液と第2の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系 (ATPS) を含む濃縮構成要素を含んでいるフロースルーシステムと、前述の濃縮構成要素の下に配置された検出構成要素と、を備えている。

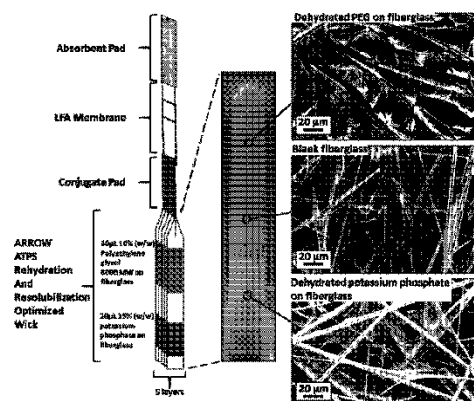


Fig. 11

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、約  $6 \times 10^6$  セル / mL 未満、約  $3 \times 10^6$  セル / mL 未満、約  $1 \times 10^6$  CFU / mL 未満、または約  $50 \mu\text{g}$  / mL 未満の濃度で、バクテリアを検出する側方流アッセイを備えている、デバイス。

## 【請求項 2】

サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、

第 1 の相溶液と第 2 の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系 (ATPS) と、

側方流アッセイ (LFA) と、を備えた、デバイス。

## 【請求項 3】

前記 LFA が、ATPS またはその構成要素を受領及び／または包含するように構成された多孔性マトリクスを備えている、請求項 2 に記載のデバイス。

## 【請求項 4】

前記 LFA が、活性パッドと、前記バクテリアと結合する抗体を含むテストラインと、二次抗体を含む制御ラインと、任意選択的には吸収性パッドと、任意選択的にはサンプルパッドと、を備えている、請求項 2 または請求項 3 に記載のデバイス。

## 【請求項 5】

サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、

フロースルーシステムであって、

第 1 の相溶液と第 2 の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系 (ATPS) を含む濃縮構成要素と、

前記濃縮構成要素の下に配置された検出構成要素と、

を含む前記フロースルーシステムを備えた、デバイス。

## 【請求項 6】

前記濃縮構成要素が、1 つまたは複数の紙の層を備えている、請求項 5 に記載のデバイス。

## 【請求項 7】

前記検出構成要素が、活性パッド、反応パッド、及び、任意選択的にはシンクを備えている、請求項 5 または請求項 6 に記載のデバイス。

## 【請求項 8】

前記 LFA または前記フロースルーシステムが、前記バクテリアを約 10 分未満で検出する、請求項 1 から請求項 7 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 9】

前記デバイスが、バクテリアの検出のために構成されている、請求項 1 から請求項 8 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 10】

前記バクテリアが、口腔バクテリア、尿に見られるバクテリア、腔液に見られるバクテリア、または、腔のスワブ上に見られるバクテリア若しくは子宮頸管内のスワブ上に見られるバクテリアである、請求項 9 に記載のデバイス。

## 【請求項 11】

前記バクテリアが、口腔バクテリアである、請求項 10 に記載のデバイス。

## 【請求項 12】

前記口腔バクテリアが、プレボテラ sp. (たとえば、Pr. Intermedia、Pr. Nigrescens など)、ポルフィロモナス sp. (たとえば、Porphy. Gingivalis など)、連鎖球菌 sp. (たとえば、ミュータンス菌など)、アクチノミセスピスコサス、ラクトバチルスカゼイ、黄色ブドウ球菌、カンジダアルビカン

10

20

30

40

50

ス、ラクトバチルスアシドフィルス、カブノシトファガギンギヴァリス、フゾバクテリウムヌクレアタム、またはバクテロイデスフォーサイスである、請求項 11 に記載のデバイス。

【請求項 13】

前記バクテリアが、膿液に見られるバクテリアである、請求項 10 に記載のデバイス。

【請求項 14】

前記バクテリアが、トリコモナス s p .、アクチノミセス s p .、ガルドネレラ s p .、ナイセリア s p .、クラミジア s p .、またはトレポネーマ s p . を含んでいる、請求項 13 に記載のデバイス。

【請求項 15】

前記バクテリアが、尿に見られるバクテリアである、請求項 10 に記載のデバイス。

【請求項 16】

前記バクテリアが、大腸菌、プロテウス s p .、トリコモナス s p .、アクチノミセス s p .、ガルドネレラ s p .、ナイセリア s p .、クラミジア s p .、またはトレポネーマ s p . を含んでいる、請求項 15 に記載のデバイス。

【請求項 17】

前記 L F A または検出構成要素が、ミュータンス菌を検出する抗体を含んでいる、請求項 11 または請求項 12 に記載のデバイス。

【請求項 18】

前記 A T P S が、前記デバイスへの適用の前に、前記サンプルと合わせられる、請求項 1 から請求項 17 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 19】

前記 A T P S が、前記デバイスが前記サンプルと接触する前に、前記側方流アッセイ上、または、前記フロースルーアッセイの前記濃縮構成要素内で脱水される、請求項 1 から請求項 17 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 20】

前記 A T P S が、前記デバイスが前記サンプルと接触した後に、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む、請求項 1 から請求項 19 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 21】

前記 A T P S が、ミセル / 表面活性剤溶液を含んでいる、請求項 1 から請求項 20 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 22】

前記第 1 の相溶液が表面活性剤内で濃縮され、前記第 2 の相溶液が、低濃度の表面活性剤を有している、請求項 21 に記載のデバイス。

【請求項 23】

前記第 1 の相溶液がポリマを含み、前記第 2 の相溶液が表面活性剤を含んでいる、請求項 1 から請求項 20 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 24】

前記ポリマがデキストランを含んでいる、請求項 23 に記載のデバイス。

【請求項 25】

前記表面活性剤が、非イオン性表面活性剤またはアルキルポリグリコールエーテル表面活性剤を含んでいる、請求項 23 または請求項 24 に記載のデバイス。

【請求項 26】

前記表面活性剤が、親水性ポリエチレンオキシド鎖、及び、芳香族炭化水素親油性または疎水性グループ（たとえば、T r i t o n - X 表面活性剤）を有する非イオン性表面活性剤を含んでいる、請求項 23 または請求項 24 に記載のデバイス。

【請求項 27】

前記第 1 の相溶液が第 1 のポリマを含み、前記第 2 の相溶液が第 2 のポリマを含んでいる、請求項 1 から請求項 20 のいずれか一項に記載のデバイス。

10

20

30

40

50

## 【請求項 28】

前記第 1 / 第 2 のポリマが、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、またはデキストランを含んでいる、請求項 27 に記載のデバイス。

## 【請求項 29】

前記第 1 の相溶液がポリマを含み、前記第 2 の相溶液が塩を含んでいる、請求項 1 から請求項 20 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 30】

前記第 1 の相溶液が、ポリエチレングリコールを含んでいる、請求項 29 に記載のデバイス。

## 【請求項 31】

前記第 1 の相溶液が、ポリプロピレングリコールを含んでいる、請求項 29 に記載のデバイス。

## 【請求項 32】

前記塩が、リン酸カリウム、硫酸ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸アンモニア、またはクエン酸ナトリウムを含んでいる、請求項 29 から請求項 31 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 33】

前記塩がリン酸カリウムである、請求項 29 から請求項 31 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 34】

前記第 1 の相溶液が表 1 の構成要素 1 を含み、前記第 2 の相溶液が表 1 の構成要素 2 を含んでいる、請求項 2 から請求項 20 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 35】

前記デバイスが、ターゲットとなるバクテリア、菌、またはウイルスと相互作用するプローブをさらに備えている、請求項 1 から請求項 34 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 36】

前記デバイスが、少なくとも 1 のターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 2 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 3 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 4 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 5 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 7 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 10 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 15 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 20 の異なるターゲットとなる、バクテリア、菌、若しくはウイルスと相互作用する、1 つまたは複数のプローブを含んでいる、請求項 35 に記載のデバイス。

## 【請求項 37】

前記デバイスが、少なくとも 2 の異なるプローブ、または少なくとも 3 の異なるプローブ、または少なくとも 4 の異なるプローブ、または少なくとも 5 の異なるプローブ、または少なくとも 7 の異なるプローブ、または少なくとも 10 の異なるプローブ、または少なくとも 15 の異なるプローブ、または少なくとも 20 の異なるプローブを含んでいる、請求項 35 または請求項 36 に記載のデバイス。

## 【請求項 38】

前記プローブが、合成ポリマ、金属、ミネラル、ガラス、石英、セラミック、生体ポリマ、またはプラスチックを含んでいる、請求項 35 から請求項 37 のいずれか一項に記載のデバイス。

## 【請求項 39】

前記プローブが、ポリエチレン、ポリプロピレン、セルロース、キチン質、ナイロン、ポリオキシメチレン、ポリテトラフルオロエチレン、またはポリ塩化ビニルを含んでいる

10

20

30

40

50

、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 40】

前記プローブが、デキストラン、ポリプロピレン、またはポリエチレングリコールを含む生体ポリマを含んでいる、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 41】

前記プローブが、金、銀、または白金を含んでいる、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 42】

前記プローブがナノ粒子を含んでいる、請求項 38 から請求項 41 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 43】

前記ナノ粒子が、金のナノ粒子である、請求項 42 に記載のデバイス。

【請求項 44】

前記プローブがコーティングを含んでいる、請求項 38 から請求項 43 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 45】

前記コーティングが、ポリプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールを含んでいる、請求項 44 に記載のデバイス。

【請求項 46】

前記コーティングが、デキストランを含んでいる、請求項 44 に記載のデバイス。

【請求項 47】

前記コーティングが、親水性タンパク質を含んでいる、請求項 44 に記載のデバイス。

【請求項 48】

前記コーティングが、血清アルブミンを含んでいる、請求項 44 に記載のデバイス。

【請求項 49】

前記コーティングが、第 1 の相溶液または第 2 の相溶液に関する親和性を有している、請求項 44 から請求項 48 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 50】

前記プローブが、前記ターゲットとなるバクテリア、菌、またはウイルスと結合する結合半体をさらに含んでいる、請求項 35 から請求項 49 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 51】

前記結合半体が、抗体、レクチン、タンパク質、糖タンパク質、核酸、小分子、ポリマ、または脂質を含んでいる、請求項 50 に記載のデバイス。

【請求項 52】

前記結合半体が、抗体または抗体の断片である、請求項 50 に記載のデバイス。

【請求項 53】

前記抗体が、前記バクテリア、菌、またはウイルスに特異的に結合する抗体である、請求項 52 に記載のデバイス。

【請求項 54】

前記デバイスが、信号強化反応物をさらに含んでいる、請求項 1 から請求項 53 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 55】

前記信号強化反応物が、強力な可視生成物を形成するように、プローブの表面上に装飾された酵素と反応する基板を含む、請求項 54 に記載のデバイス。

【請求項 56】

前記信号強化には、銀イオンが含まれている、請求項 55 に記載のデバイス。

【請求項 57】

前記デバイスが、競合アッセイを実施するように構成されている、請求項 1 から請求項 56 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 58】

10

20

30

40

50

前記デバイスが、挟み込みアッセイを実施するように構成されている、請求項 1 から請求項 5 6 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 5 9】

前記デバイスが、約  $6 \times 10^6$  セル / mL 未満、または約  $3 \times 10^6$  セル / mL 未満、または約  $1 \times 10^5$  セル / mL、または約  $1 \times 10^6$  CFU / mL 未満、または約 50  $\mu$ g / mL 未満の濃度で、分析物（たとえば、バクテリア）を検出する、請求項 1 から請求項 5 8 のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 6 0】

約 12 ng /  $\mu$ L 未満、または約 10 ng /  $\mu$ L 未満、または約 8 ng /  $\mu$ L 未満、または約 6 ng /  $\mu$ L 未満、または約 4 ng /  $\mu$ L 未満、または約 2 ng /  $\mu$ L 未満の分析物の濃度において、偽陽性が現れる、請求項 1 から請求項 5 9 のいずれか一項に記載のデバイス。

10

【請求項 6 1】

バクテリアの検出及び / または計量のためのキットであって、  
請求項 1 から請求項 6 0 のいずれか一項に記載のデバイスと、  
生物学的サンプルを収集するための収集デバイスと、を備えている、キット。

【請求項 6 2】

前記収集デバイスが、口腔液を収集するためのデバイスを含んでいる、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 3】

前記収集デバイスが、血液を収集するためのデバイスを含んでいる、請求項 6 1 に記載のキット。

20

【請求項 6 4】

前記収集デバイスが、尿収集デバイスを含んでいる、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 5】

前記収集デバイスが、腔液を収集するか、腔のスワブまたは子宮頸管内のスワブから収集するためのデバイスを含む、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 6】

前記収集デバイスが、環境サンプルを収集するためのデバイスを含んでいる、請求項 6 1 に記載のキット。

30

【請求項 6 7】

サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスを検出及び / または計量するための方法であって、

i) 請求項 1 から請求項 6 0 のいずれか一項に記載のデバイスにサンプルを適用することと、

i i) 前記フロースルーデバイスの前記 L F A または検出構成要素上で前記バクテリア、菌、またはウイルスの、有無の検出、及び / または、計量をすることと、を含む、方法。

【請求項 6 8】

サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスを検出及び / または計量するための方法であって、

40

i) 水性二相系 (A T P S) にサンプルを適用することと、

i i) 請求項 1 から請求項 6 0 のいずれか一項に記載のデバイスに、前記サンプルを含む前記 A T P S またはその構成要素を適用することと、

i i i) 前記フロースルーデバイスの前記 L F A または検出構成要素上で前記バクテリアの、有無の検出、及び / または、計量をすることと、を含む、方法。

【請求項 6 9】

前記サンプルが、環境サンプル、口腔サンプル、腔液サンプル、尿サンプル、腔のスワブからのサンプル、または、子宮頸管内のスワブからのサンプルである、請求項 6 7 または請求項 6 8 に記載の方法。

50

## 【請求項 70】

前記サンプルが、口辺のサンプルであるか、口腔液のサンプルである、請求項 69 に記載の方法。

## 【請求項 71】

約  $12 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $10 \text{ ng} / \mu\text{L}$ 、または約  $8 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $6 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $4 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $2 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満の分析物の濃度において、偽陽性が現れる、請求項 67 から請求項 70 のいずれか一項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

10

## 【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2015年9月4日に出願された、US N 62 / 214 , 801 の利益及び優先権を主張する。この文献は、参照することにより、その全体が、すべての目的に関し、本明細書に組み込まれる。

## 【0002】

政府によるサポートの申告

## [適用されず]

## 【背景技術】

## 【0003】

20

生物学的流体内の様々な物質または病原菌の、存在または濃度の検出のために、アッセイが使用されてきた。固相イノムアッセイでは、通常は、検出されるリガンドに特有の抗体であるレセプタが、固体のサポート上で固定される。検出される分析物を含み得るテスト流体は、固体のサポートと接触し、ターゲットとなる分析物が存在する場合、レセプタ - 分析物の対が形成される。レセプタ - リガンドの対を可視化するために、ラベルが付された抗体が使用される場合がある。この抗体は、レセプタ - リガンドの対に結合され、次いで、レセプタ - リガンドの対に結合された、ラベルが付された抗体が視覚的に検出される。

## 【0004】

いわゆるサンドイッチイムノアッセイでは、分析物が、通常は、ラベルが付された抗体と、固体のサポート上に固定された抗体との間に挟み込まれる。

30

## 【0005】

ニトロセルロース、ナイロン、酢酸セルロース、グラスファイバ、及び他の多孔性ポリマなどの多孔性材料が、固相イノムアッセイにおける固体のサポートとして採用されてきた。いわゆる側方流アッセイでは、分析物が検出される流体は、多孔性の膜の層の一方の端部に適用され、毛管力の作用下で、検出される分析物を結合することが可能である、固定された「レセプタ (receptor)」によって補角されるように、膜を通して側方方向に流れる。

## 【0006】

側方流イムノアッセイでの大まかな成果は、アッセイの感度と、それに伴う信号の強度である。

40

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0007】

様々な実施形態では、臨床上関連する病原菌（たとえば、バクテリア、菌、ウイルスなど）の検出及び/または計量のためのデバイス及び方法が提供される。特定の実施形態では、デバイスは、約  $6 \times 10^6$  セル / mL 未満、約  $3 \times 10^6$  セル / mL 未満、約  $1 \times 10^6$  CFU / mL 未満、または約  $50 \mu\text{g} / \text{mL}$  未満の濃度で、バクテリアを検出する側方流アッセイを備えている。特定の実施形態では、デバイスは、第1の相溶液と第2の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系 (ATPS) と、側方流アッセイ (

50

ＬＦＡ）とを備えている。特定の実施形態では、デバイスは、第１の相溶液と第２の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系（ＡＴＰＳ）を含む濃縮構成要素を含んでいるフロースルーシステムと、前述の濃縮構成要素の下に配置された検出構成要素と、を備えている。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

本明細書に意図される様々な実施形態は、限定される必要はないが、以下の１つまたは複数を含み得る。

【０００９】

実施形態１：サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、約  $6 \times 10^6$  セル／ｍＬ未満、約  $3 \times 10^6$  セル／ｍＬ未満、約  $1 \times 10^6$  CFU／ｍＬ未満、または約  $50 \mu\text{g}$ ／ｍＬ未満の濃度で、バクテリアを検出する側方流アッセイを備えている、デバイス。

10

【００１０】

実施形態２：サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、第１の相溶液と第２の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系（ＡＴＰＳ）と、側方流アッセイ（ＬＦＡ）と、を備えている、デバイス。

【００１１】

実施形態３：ＬＦＡが、ＡＴＰＳまたはその構成要素を受領及び／または包含するように構成された多孔性マトリクスを備えている、実施形態２に記載のデバイス。

20

【００１２】

実施形態４：前述のＬＦＡが、活性パッドと、バクテリアと結合する抗体を含むテストラインと、二次抗体を含む制御ラインと、任意選択的には吸収性パッドと、任意選択的にはサンプルパッドと、を備えている、実施形態２または実施形態３に記載のデバイス。

【００１３】

実施形態５：サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスの検出及び／または計量のためのデバイスであって、

第１の相溶液と第２の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む水性二相系（ＡＴＰＳ）を含む濃縮構成要素と、

30

前述の濃縮構成要素の下に配置された検出構成要素と、

を含むフロースルーシステムを備えた、デバイス。

【００１４】

実施形態６：前述の濃縮構成要素が、１つまたは複数の紙の層を備えている、実施形態５に記載のデバイス。

【００１５】

実施形態７：前述の検出構成要素が、活性パッド、反応パッド、及び、任意選択的にはシンクを備えている、実施形態５または実施形態６に記載のデバイス。

【００１６】

実施形態８：前述のＬＦＡまたはフロースルーシステムが、前述のバクテリアを約 10 分未満で検出する、実施形態１から実施形態７のいずれか１つに記載のデバイス。

40

【００１７】

実施形態９：前述のデバイスが、バクテリアの検出のために構成されている、実施形態１から実施形態８のいずれか１つに記載のデバイス。

【００１８】

実施形態１０：前述のバクテリアが、口腔バクテリア、尿に見られるバクテリア、膣液に見られるバクテリア、または、膣のスワブ上に見られるバクテリア若しくは子宮頸管内のスワブ上に見られるバクテリアである、実施形態９に記載のデバイス。

【００１９】

実施形態１１：前述のバクテリアが、口腔バクテリアである、実施形態１０に記載のデ

50



バイス。

【0020】

実施形態12：前述の口腔バクテリアが、プレボテラ *sp.*（たとえば、*Pr. Intermedia*、*Pr. Nigrescens* など）、ポルフィロモナス *sp.*（たとえば、*Porph. Gingivalis* など）、連鎖球菌 *sp.*（たとえば、ミュータンス菌など）、アクチノミセスビスコーサス、ラクトバチルスカゼイ、黄色ブドウ球菌、カンジダアルビカンス、ラクトバチルスアシドフィルス、カブノシトファガギンギヴァリス、フゾバクテリウムヌクレアタム、またはバクテロイデスフォーサイスである、実施形態11に記載のデバイス。

【0021】

実施形態13：前述のバクテリアが、膿液に見られるバクテリアである、実施形態10に記載のデバイス。

【0022】

実施形態14：前述のバクテリアが、トリコモナス *sp.*、アクチノミセス *sp.*、ガルドネレラ *sp.*、ナイセリア *sp.*、クラミジア *sp.*、またはトレポネーマ *sp.* を含んでいる、実施形態13に記載のデバイス。

【0023】

実施形態15：前述のバクテリアが、尿に見られるバクテリアである、実施形態10に記載のデバイス。

【0024】

実施形態16：前述のバクテリアが、大腸菌、プロテウス *sp.*、トリコモナス *sp.*、アクチノミセス *sp.*、ガルドネレラ *sp.*、ナイセリア *sp.*、クラミジア *sp.*、またはトレポネーマ *sp.* を含んでいる、実施形態15に記載のデバイス。

【0025】

実施形態17：LFAまたは検出構成要素が、ミュータンス菌を検出する抗体を含んでいる、実施形態11または実施形態12に記載のデバイス。

【0026】

実施形態18：前述のATPSが、前述のデバイスへの適用の前に、前述のサンプルと合わせられる、実施形態1から実施形態17のいずれか1つに記載のデバイス。

【0027】

実施形態19：前述のATPSが、デバイスがサンプルと接触する前に、側方流アッセイ上、または、フロースルーアッセイの濃縮構成要素内で脱水される、実施形態1から実施形態17のいずれか1つに記載のデバイス。

【0028】

実施形態20：ATPSが、デバイスがサンプルと接触した後に、第1の相溶液と第2の相溶液とに分離する、混合した相溶液を含む、実施形態1から実施形態19のいずれか1つに記載のデバイス。

【0029】

実施形態21：ATPSが、ミセル/表面活性剤溶液を含んでいる、実施形態1から実施形態20のいずれか1つに記載のデバイス。

【0030】

実施形態22：第1の相溶液が表面活性剤内で濃縮され、第2の相溶液が、低濃度の表面活性剤を有している、実施形態21に記載のデバイス。

【0031】

実施形態23：第1の相溶液がポリマを含み、第2の相溶液が表面活性剤を含んでいる、実施形態1から実施形態20のいずれか1つに記載のデバイス。

【0032】

実施形態24：前述のポリマがデキストランを含んでいる、実施形態23に記載のデバイス。

【0033】

10

20

30

40

50

実施形態 25 : 表面活性剤が、非イオン性表面活性剤またはアルキルポリグリコールエーテル表面活性剤を含んでいる、実施形態 23 または実施形態 24 に記載のデバイス。

【0034】

実施形態 26 : 表面活性剤が、親水性ポリエチレンオキシド鎖、及び、芳香族炭化水素親油性または疎水性グループ（たとえば、Triton-X 表面活性剤）を有する非イオン性表面活性剤を含んでいる、実施形態 23 または実施形態 24 に記載のデバイス。

【0035】

実施形態 27 : 第 1 の相溶液が第 1 のポリマを含み、第 2 の相溶液が第 2 のポリマを含んでいる、実施形態 1 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0036】

実施形態 28 : 第 1 / 第 2 のポリマが、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、またはデキストランを含んでいる、実施形態 27 に記載のデバイス。

【0037】

実施形態 29 : 第 1 の相溶液がポリマを含み、第 2 の相溶液が塩を含んでいる、実施形態 1 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0038】

実施形態 30 : 第 1 の相溶液が、ポリエチレングリコールを含んでいる、実施形態 29 に記載のデバイス。

【0039】

実施形態 31 : 第 1 の相溶液が、ポリプロピレングリコールを含んでいる、実施形態 29 に記載のデバイス。

【0040】

実施形態 32 : 前述の塩が、リン酸カリウム、硫酸ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸アンモニア、またはクエン酸ナトリウムを含んでいる、実施形態 29 から実施形態 31 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0041】

実施形態 33 : 前述の塩がリン酸カリウムである、実施形態 29 から実施形態 31 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0042】

実施形態 34 : 第 1 の相溶液が表 1 の構成要素 1 を含み、第 2 の相溶液が表 1 の構成要素 2 を含んでいる、実施形態 2 から実施形態 20 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0043】

実施形態 35 : 前述のデバイスが、ターゲットとなるバクテリア、菌、またはウイルスと相互作用するプローブをさらに備えている、実施形態 1 から実施形態 34 のいずれか 1 つに記載のデバイス。

【0044】

実施形態 36 : デバイスが、少なくとも 1 のターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 2 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 3 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 4 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 5 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 7 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 10 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 15 の異なる、ターゲットとなるバクテリア、菌、若しくはウイルス、または、少なくとも 20 の異なるターゲットとなる、バクテリア、菌、若しくはウイルスと相互作用する、1 つまたは複数のプローブを含んでいる、実施形態 35 に記載のデバイス。

【0045】

実施形態 37 : デバイスが、少なくとも 2 の異なるプローブ、または少なくとも 3 の異なるプローブ、または少なくとも 4 の異なるプローブ、または少なくとも 5 の異なるプロ

10

20

30

40

50

ープ、または少なくとも7の異なるプローブ、または少なくとも10の異なるプローブ、または少なくとも15の異なるプローブ、または少なくとも20の異なるプローブを含んでいる、実施形態35または実施形態36に記載のデバイス。

【0046】

実施形態38：プローブが、合成ポリマ、金属、ミネラル、ガラス、石英、セラミック、生体ポリマ、またはプラスチックを含んでいる、実施形態35から実施形態37のいずれか1つに記載のデバイス。

【0047】

実施形態39：プローブが、ポリエチレン、ポリプロピレン、セルロース、キチン質、ナイロン、ポリオキシメチレン、ポリテトラフルオロエチレン、またはポリ塩化ビニルを含んでいる、実施形態38に記載のデバイス。

10

【0048】

実施形態40：プローブが、デキストラン、ポリプロピレン、またはポリエチレングリコールを含む生体ポリマを含んでいる、実施形態38に記載のデバイス。

【0049】

実施形態41：プローブが、金、銀、または白金を含んでいる、実施形態38に記載のデバイス。

【0050】

実施形態42：プローブがナノ粒子を含んでいる、実施形態38から実施形態41のいずれか1つに記載のデバイス。

20

【0051】

実施形態43：ナノ粒子が、金のナノ粒子である、実施形態42に記載のデバイス。

【0052】

実施形態44：プローブがコーティングを含んでいる、実施形態38から実施形態43のいずれか1つに記載のデバイス。

【0053】

実施形態45：コーティングが、ポリプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールを含んでいる、実施形態44に記載のデバイス。

【0054】

実施形態46：コーティングが、デキストランを含んでいる、実施形態44に記載のデバイス。

30

【0055】

実施形態47：コーティングが、親水性タンパク質を含んでいる、実施形態44に記載のデバイス。

【0056】

実施形態48：コーティングが、血清アルブミンを含んでいる、実施形態44に記載のデバイス。

【0057】

実施形態49：コーティングが、第1の相溶液または第2の相溶液に関する親和性を有している、実施形態44から実施形態48のいずれか1つに記載のデバイス。

40

【0058】

実施形態50：プローブが、ターゲットとなるバクテリア、菌、またはウイルスと結合する結合半体をさらに含んでいる、実施形態35から実施形態49のいずれか1つに記載のデバイス。

【0059】

実施形態51：結合半体が、抗体、レクチン、タンパク質、糖タンパク質、核酸、小分子、ポリマ、または脂質を含んでいる、実施形態50に記載のデバイス。

【0060】

実施形態52：結合半体が、抗体または抗体の断片である、実施形態50に記載のデバイス。

50

## 【0061】

実施形態53：前述の抗体が、バクテリア、菌、またはウイルスに特異的に結合する抗体である、実施形態52に記載のデバイス。

## 【0062】

実施形態54：前述のデバイスが、信号強化反応物をさらに含んでいる、実施形態1から実施形態53のいずれか1つに記載のデバイス。

## 【0063】

実施形態55：前述の信号強化反応物が、強力な可視生成物を形成するように、プローブの表面上に装飾された酵素と反応する基板を含む、実施形態54に記載のデバイス。

## 【0064】

実施形態56：前述の信号強化には、銀イオンが含まれている、実施形態55に記載のデバイス。

## 【0065】

実施形態57：前述のデバイスが、競合アッセイを実施するように構成されている、実施形態1から実施形態56のいずれか1つに記載のデバイス。

## 【0066】

実施形態58：前述のデバイスが、挟み込みアッセイを実施するように構成されている、実施形態1から実施形態56のいずれか1つに記載のデバイス。

## 【0067】

実施形態59：前述のデバイスが、約 $6 \times 10^6$ セル/mL未満、または約 $3 \times 10^6$ セル/mL未満、または約 $1 \times 10^5$ セル/mL、または約 $1 \times 10^6$ CFU/mL未満、または約 $50 \mu\text{g/mL}$ 未満の濃度で、分析物（たとえば、バクテリア）を検出する、実施形態1から実施形態58のいずれか1つに記載のデバイス。

## 【0068】

実施形態60：約 $12 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満、または約 $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満、または約 $8 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満、または約 $6 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満、または約 $4 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満、または約 $2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 未満の分析物の濃度において、偽陽性が現れる、実施形態1から実施形態59のいずれか1つに記載のデバイス。

## 【0069】

実施形態61：バクテリアの検出及び/または計量のためのキットであって、実施形態1から実施形態60のいずれか1つに記載のデバイスと、生物学的サンプルを収集するための収集デバイスと、を備えている、キット。

## 【0070】

実施形態62：収集デバイスが、口腔液を収集するためのデバイスを含んでいる、実施形態61に記載のキット。

## 【0071】

実施形態63：収集デバイスが、血液を収集するためのデバイスを含んでいる、実施形態61に記載のキット。

## 【0072】

実施形態64：収集デバイスが、尿収集デバイスを含んでいる、実施形態61に記載のキット。

## 【0073】

実施形態65：収集デバイスが、腔液を収集するか、腔のスワブまたは子宮頸管内のスワブから収集するためのデバイスを含む、実施形態61に記載のキット。

## 【0074】

実施形態66：収集デバイスが、環境サンプルを収集するためのデバイスを含んでいる、実施形態61に記載のキット。

## 【0075】

実施形態67：サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスを検出及び/または計量するための方法であって、

10

20

30

40

50

i) 実施形態 1 から実施形態 60 のいずれか 1 つに記載のデバイスにサンプルを適用することと、

i i) フロースルーデバイスの L F A または検出構成要素上でバクテリア、菌、またはウイルスの、有無の検出、及び / または、計量をすることと、を含む、方法。

【0076】

実施形態 68 : サンプル内のバクテリア、菌、またはウイルスを検出及び / または計量するための方法であって、

i) 水性二相系 ( A T P S ) にサンプルを適用することと、

i i) 実施形態 1 から実施形態 60 のいずれか 1 つに記載のデバイスに、サンプルを含む A T P S またはその構成要素を適用することと、

i i i) フロースルーデバイスの L F A または検出構成要素上でバクテリアの、有無の検出、及び / または、計量をすることと、を含む、方法。

【0077】

実施形態 69 : サンプルが、環境サンプル、口腔サンプル、腔液サンプル、尿サンプル、腔のスワブからのサンプル、または、子宮頸管内のスワブからのサンプルである、実施形態 67 または実施形態 68 に記載の方法。

【0078】

実施形態 70 : サンプルが、口辺のサンプルであるか、口腔液のサンプルである、実施形態 69 に記載の方法。

【0079】

実施形態 72 : 約  $12 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $10 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $8 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $6 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $4 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満、または約  $2 \text{ ng} / \mu\text{L}$  未満の分析物の濃度において、偽陽性が現れる、実施形態 67 から実施形態 70 のいずれか 1 つに記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0080】

【図 1】注入器内における P P G / 塩の A T P S を使用した、迅速なターゲットの濃縮と、容易な抽出とを示す図である。ターゲットの生体分子を含むサンプル ( 紫 ) は、A T P S 溶液と混合される。室温で 5 分から 10 分培養した後に、ターゲットは、底相でかなり濃縮され、注入器のプランジャを押すことにより、容易に抽出し、後の検出ステップに適用することができる。

【図 2】サンプルを含む A T P S がアッセイ装置 ( たとえば、L F A ) に適用される、アッセイの図である。

【図 3】ミュータンス菌の検出のための、半定量の側方流アッセイのコンセプトを示す反応パッドの概略を示す図である。ミュータンス菌に関する特定の抗体が、様々な濃度でテストライン上に固定されている。現れるテストラインの数は、齲蝕を生じるリスクを予測するために使用され得る、サンプル内のミュータンス菌の濃度と相関している。

【図 4】ターゲットの生体分子の検出のための、オールインワンのスポットテストの概略を示す図である。A T P S 構成要素と比色インジケータとは、濃縮構成要素と活性パッドとの上にそれぞれ脱水される。ユーザは単に、サンプル溶液をデバイスに適用することができる。その後、ターゲットの生体分子の濃縮が、濃縮構成要素内で生じることになる。次いで、溶液に再び水が加えられ、活性パッド上の比色インジケータに結合され、結果として得られるインジケータ - ターゲット複合体は、可視スポットによって示されるように、反応パッド上に確保される。

【図 5】P P G / 塩の A T P S 及び L F A を使用したミュータンス菌の濃縮及び検出を示す図である。

【図 6】4 人の患者からのブラーク内のミュータンス菌の検出を示す図である。より高いテストラインの強度は、患者内のより高いミュータンス菌の濃縮を示している。

【図 7】歯磨きの前後のブラーク内のミュータンス菌の検出を示す図である。この結果により、歯磨きが、ミュータンス菌を除去することと、齲蝕の形成のリスクを低減すること

10

20

30

40

50

とにおいて有効であることが示された。

【図 8】L F A のみの使用、及び、L F A を伴う A T P S の使用での P B S 内のトラコーマ病原体の検出を示す図である。

【図 9】トラコーマ病原体の陽性の患者から収集された臨床上的尿のサンプル内の、F D A の認可がされ、商業利用可能であるクラミジア L F A と比較した、本明細書に記載のデバイスの性能を示す図である。我々のデバイスは、真に正の結果（テストラインの存在）を提供することができるが、市販のテストは、誤った負の結果（テストラインの欠如）を生じる。

【図 10】挟み込むフォーマットを使用した、本明細書に記載の側方流アッセイ（L F A）の 1 つの実施形態を示す図である。

10

【図 11】統合した A R R O W と L F A との診療上の設計を示す図である。（左）統合した A R R O W と L F A との設計のレイアウト。（中央）A R R O W のイメージ。（右）グラスファイバ上の脱水された P E G、ブランクのグラスファイバ、及び、グラスファイバ上の脱水されたリン酸カリウムの S E M イメージ。グラスファイバ・ペーパー・シートの頂端部及び底端部も、ブランクのグラスファイバである。

【図 12】A T P S 構成要素に再び水を加える順番の重要性を示す図である。P E G とリン酸カリウムとの、再び水を加える順番が切り替えられた際の、A R R O W の設計の単一のシート内における時間経過による相の分離の可視化である。相の分離が生じている、下流の領域のクローズアップされたイメージが示されており、したがって、第 1 のイメージは  $t = 0$  の代わりに、 $t = 6$  である。破線（...）は、明るい青色で示された、P E G が豊富な相を支配的に含んでいる紙の領域を囲んでいる。P E G が豊富な相、P E G が少ない相、及び、マクロ的に混合されたドメイン領域の可視化及び識別は、B S A - D G N P の懸濁液及びブリリアントブルー染料を流すことによって達成した。

20

【図 13】A R R O W を組み込むことによる、トラコーマ病原体 L F A の検出の限界の向上を示す図である。A R R O W が有るものと無いものとの、様々なトラコーマ病原体の濃度における L F A の結果の比較である。テストラインは、L F A ストリップの底部上に位置しており、一方、制御ラインは、L F A テストストリップの頂部上に位置している。負の制御の結果が、 $0 \text{ ng} / \mu \text{L}$  のトラコーマ病原体に関し、もっとも左のパネルに示されている。

【図 14】テストラインの強度の評価を示す図である。A R R O W 及び L F A のシステムと、L F A のみのシステムとに関する評価された L F A テストラインの強度のプロットである。

30

【図 15】Q u i c k V u e、相の L F A、及び相の L F A + A T P S の、ヘッドとヘッドとの比較の、代表的な結果（サンプル 4、表 2）を示す図である。テストライン（T）の存在は、真に正の結果を示している。我々の L F A + A T P S のみが、真に正の結果を示す可視的なテストラインを有している。

【発明を実施するための形態】

【0081】

様々な実施形態では、臨床上的用途のための、分析物の収集、抜粋、濃縮、及び検出のために、方法及び装置が提供される。特定の実施形態では、本デバイスにより、生物学的サンプル（たとえば、口腔、尿、及び腔のサンプル）内のバクテリア、菌、及びウイルスの迅速な検出及び／または計量が可能になる。

40

【0082】

特定の実施形態では、正確で、感度がよく、持ち運び可能で、使い捨て可能で、かつ、最低限の訓練または設備で、医療現場での使用に良好に適している、側方流アッセイ（L F A）デバイス（たとえば、図 10 を参照）及び／またはフロースルー（スポット）アッセイデバイス（たとえば、図 4 を参照）が提供される。

【0083】

特定の実施形態では、側方流アッセイデバイスまたはフロースルー・アッセイ・デバイスは、分析されるサンプルに直接使用することができる。特定の実施形態では、側方流ア

50

ッセイデバイスまたはフロースルー・アッセイ・デバイスは、ターゲット（たとえば、ターゲットの分子（複数の場合もある）、ターゲットの微生物（複数の場合もある）など）が、たとえば水性二相系（ＡＴＰＳ）を使用して、デバイスへの適用の前に濃縮される、サンプルに使用することができる。特定の実施形態では、ターゲット（たとえば、ターゲットの分子（複数の場合もある）、ターゲットの微生物（複数の場合もある）など）は、デバイス自体の上で、たとえばＡＴＰＳを使用して濃縮される。

#### 【００８４】

ターゲットの生体分子の濃縮

ＡＴＰＳを使用したターゲットの生体分子の濃縮は、バルクの液体で、または、たとえば紙の膜での、たとえば側方流アッセイ若しくはフロースルー（スポットアッセイ）におけるサンプル溶液の流れとして、実施され得る。

10

#### 【００８５】

液体ＡＴＰＳの濃縮

特定の例示的实施形態では、収集されたサンプル（たとえば、組織のサンプル、尿、唾液、及び血液などの生体液、喀痰、腔液、精液、髄液、リンパ液、腔のスワブ、子宮頸管内のスワブ、歯からのプラークなど）は、懸濁溶液（たとえば、バッファ）と合わせることができるか、ＡＴＰＳ溶液と直接合わせることができるか、紙に直接適用することができるか、または、紙上に予め乾燥されたＡＴＰＳ構成要素に再び水を加えるために、サンプルを含む懸濁溶液を紙に適用する。いくつかの場合では、ユーザによる混合は、良好に混合された、一様な溶液を得るのに必要とされる場合がある。様々な実施形態では、ポリマ／塩、ポリマ／ポリマ、ミセル／ポリマ、またはミセルのＡＴＰＳが使用され得る。以下に記載の実施例の１つでは、ポリプロピレングリコール（ＰＰＧ）：リン酸カリウム塩のＡＴＰＳを、１０分間に６０倍だけ、ストレプトコッカス・ミュータンス（ミュータンス菌）を濃縮するために使用した（たとえば、図１を参照）。バクテリア、菌、またはウイルスなど、ターゲットの分析物（たとえば、ターゲットの生体分子）が大きい場合、分析物は、ＡＴＰＳの２つの相の１つに、過度に仕切られるか、分配されることになる。このため、このことは、ＬＦＡまたはフロースルーアッセイにおける下流の検出構成要素に導入され得る。特定の実施形態では、タンパク質、代謝産物、ホルモンなど、ターゲットの分析物が小さい場合、特定の結合半体で装飾された大型のプロープを使用して、ターゲットを捕獲し、次いで、下流での検出のために、ＡＴＰＳにおける相の１つに濃縮することができる。特定の実施形態では、濃縮されたターゲットの分析物（複数の場合もある）（たとえば、生体分子（複数の場合もある））を含む相は、ピペットまたはドロップを使用した物理的抽出によって検出構成要素に導入することができるか、たとえば図１に示すように、注入器を介して導入することができる。

20

30

#### 【００８６】

流体が紙上を流れる際の濃縮

様々な実施形態では、濃縮ステップは、紙で加速することもある。たとえば、収集した標本は、ＡＴＰＳ構成要素の混合し、相の分離を促進、向上、及び加速することができる紙のデバイスに導入することができる。ターゲットの生体分子は、紙の膜上の流れの導入前部で濃縮することができ、また、後の検出構成要素にシームレスに導入することができる。

40

#### 【００８７】

代替的には、ＡＴＰＳ構成要素は、紙の膜上に予め脱水することができる。この場合、収集された標本は、ＡＴＰＳ構成要素と予め混合することなく、紙の膜に直接適用することができる。

#### 【００８８】

ターゲットの生体分子の検出

様々な実施形態では、本明細書に意図されているアッセイシステムの検出構成要素は、紙ベースの検出構成要素とすることができる。特定の実施形態では、紙ベースの検出構成要素は、側方流のテストストリップ（たとえば、図３及び図１０を参照）とすることがで

50

きるか、フロースルーデバイス（スポットテスト）（たとえば、図4を参照）とすることができる。様々な実施形態では、両方の形態の要素は、限定ではないが、以下の構成要素の1つまたは複数を含み得る。

#### 【0089】

##### サンプルパッド

特定の実施形態では、存在する場合、サンプルパッドは、濃縮構成要素を検出構成要素に接続することができる。サンプルパッドは、ゴミ、汚染物質、及び粘液を、収集された流体から除去することができるフィルタとして作用することができる。サンプルパッドは、乾燥した反応物をも貯蔵することができ、再び水が加えられる場合、これら反応物は、（i）最適な検出条件（pH、イオン強度など）に溶液を調整し、（ii）収集された標本内の粘液、糖タンパク質、及び他の粘性物質を分解することができる。この分解は、検出に影響する場合がある。サンプルパッドに関する例示の材料には、限定ではないが、セルロース、ニトロセルロース、グラスファイバ、綿、編み込まれたか編み込まれていない紙などを含んでいる。パッド上の反応物には、限定ではないが、Triton X-100、Tween 20、またはドデシル硫酸ナトリウムなどの表面活性剤、ポリエチレングリコール、ポロキサマ、ポリビニルピロリドン（PVP）などのポリマ、リン酸緩衝食塩水、4-（2-ヒドロキシエチル）-1-ピペラジニエタンスルホン酸（HEPES）、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）、ホウ酸ナトリウム、TRICINEなどのバッファ、アルブミンなどのタンパク質、プロテアーゼなどの酵素、塩化ナトリウム、リン酸ナトリウム、コール酸ナトリウム、リン酸カリウムなどの塩が含まれる。様々な実施形態では、これら反応物は、（i）反応物溶液内の紙材料のソーキング、または、（ii）毛管流を介して、膜を通して液体を吸い上げることにより、サンプルパッドに適用され得る。処理されたサンプルパッドは、（i）空気による乾燥（室温に置いておく）、（ii）焼くこと（オープンまたは加熱デバイスを使用して、高温に置く）、（iii）真空にする、または（iv）凍結乾燥によって乾燥させることができる。

#### 【0090】

##### 活性パッド

様々な実施形態では、活性パッドは、存在する場合、ターゲットとなる分析物（複数の場合もある）を結合する結合半体で装飾された、脱水された比色インジケータを含み得る。特定の実施形態では、結合半体は、ターゲットとなる分析物（複数の場合もある）（たとえば、バクテリア、菌、ウイルスなど）に対する高い親和性を有する特定の結合半体である。サンプル溶液が活性パッドに達すると、比色インジケータは、再び水が加えられる。比色インジケータ上の結合半体は、次いで、ターゲットとなる分析物（複数の場合もある）に結合され得、結果として得られる複合体は、反応パッドに流れることができる。特定の実施形態では、比色インジケータは、金、銀の粒子などの金属粒子、ラテックスビーズなどの重合体の粒子、及び、可視であるか蛍光性の染料を包含するポリスチレンの粒子を含むことができる。活性パッドに関する例示の材料には、限定ではないが、セルロース、ニトロセルロース、グラスファイバ、綿、編み込まれたか編み込まれていない紙などを含んでいる。特定の実施形態では、比色インジケータは、上述のように、パッド上に適用するとともに、脱水することができる。

#### 【0091】

##### 反応パッド

特定の実施形態では、反応パッドは、存在する場合、固定反応物を含むことができ、固定反応物がサンプル溶液と反応する場合、それら反応物は、ターゲットとなる分析物（複数の場合もある）の有無、または量を示すために、信号（たとえば、可視信号）を生成し得る。反応パッドに関する例示の材料には、限定ではないが、セルロース、ニトロセルロース、グラスファイバ、綿、編み込まれたか編み込まれていない紙などを含んでいる。

#### 【0092】

##### 側方流フォーマット

側方流のテストストリップに関する特定の実施形態では、反応パッド上の反応物は、す

10

20

30

40

50



すべてのサンプルが、固定反応物と相互作用できることを確実にするように、流れの方向に対して垂直なラインの形態で固定される。反応物の濃度は、信号の強度を制御し、ひいては、アッセイの感度を制御するために、最適化することができる。たとえば、半定量のアッセイは、様々な濃度の同じ反応物の複数のラインを固定することにより、設計することができる。したがって、各ラインは、ターゲットとなる生体分子が特定の濃度に達した場合にのみ、信号を生じることになる。このため、ターゲットとなる生体分子の濃度は、可視のラインの数をカウントすることによって読み取ることができる（たとえば、図3参照）。ミュータンス菌の検出のため、この半定量のアッセイは、ミュータンス菌の濃度が齲蝕の形成のリスクに高度に関連することから、齲蝕のより良好な予測を提供するために、特に有用である場合がある。

10

#### 【0093】

さらに、異なる反応物の複数のラインを同じストリップ上に固定して、複数のターゲットとなる分析物（複数の場合もある）を検出することができる。これにより、複合的なアッセイの形成が可能になる。

#### 【0094】

##### フロースルーフォーマット

特定の実施形態では、たとえば、フロースルーテストに関し、ラインの代わりに、反応物を反応パッド全体に固定することができる。ターゲットとなる分析物が存在する場合、この反応物は、活性パッド上の比色インジケータに結合され、インジケータ-ターゲットの複合体が、固定された反応物に結合することから、反応パッドにとらえられることになる。したがって、可視スポットは、ターゲットとなる生体分子が存在する場合に、現れることになる。このテストは、サンプルの量が、側方流のテストストリップで吸い上げるには少なすぎる場合に使用され得る。可視スポットの色の強度は、ターゲットとなる分析物（複数の場合もある）（たとえば、生体分子）の濃度と相関しており、スポットのサイズは、サンプルの量に相関している。特定の実施形態では、濃縮構成要素は、濃縮したサンプルを抽出し、検出構成要素に適用する必要性を除去するように、フロースルーテストの頂部上に直接置くことができる（たとえば、図4を参照）。

20

#### 【0095】

様々な実施形態では、固定反応物は、ターゲットとなる分析物に対する特定の抗体（一次抗体）、一次抗体に対する抗体（二次抗体）、アンチゲン、タンパク質、またはアンチゲン-タンパク質の共役を含み得る。反応パッドに関する例示の材料には、限定ではないが、セルロース、ニトロセルロース、グラスファイバ、綿、編み込まれた紙、及び編み込まれていない紙などを含んでいる。様々な実施形態では、反応物は、上述のように、パッド上に適用するとともに、脱水することができる。

30

#### 【0096】

##### シンク

特定の実施形態では、シンクは、存在する場合、過度な流体を収集し、テストの性能に影響し得る逆流を防止する、吸収性パッドを備え得る。シンクに関する例示の材料には、限定ではないが、セルロース、ニトロセルロース、グラスファイバ、綿、編み込まれた紙、及び編み込まれていない紙などを含んでいる。

40

#### 【0097】

##### 信号の強化

様々な実施形態では、可視の信号の強度は、検出アッセイの正確さを向上させるために、強化することができる。このことは、最初の検出アッセイの後に、反応パッドに追加の反応物を導入することによって実施することができる。特定の実施形態では、信号を強化する反応物には、強力な可視生成物を形成するように、たとえば比色インジケータの表面上に装飾された酵素と反応する基板が含まれ得る。例として、比色インジケータが金のプローブを備える場合、信号の向上は、銀の強化ラベルによって達成することができ、ここで、銀イオンを含む強化反応物は、金のプローブが、固定されたライン/スポットに結合された、反応パッドに適用することができる。このシナリオでは、金のプローブは、密集

50

場所として作用することができ、それにより、銀が粒子上に堆積され得、結果として、信号の強度が増大する。これら実施例では、信号を強化する反応物は、最初の検出アッセイの後に、別々に追加するか、自動/手動で放出するように、紙のデバイス上に貯蔵/脱水することができる。

#### 【0098】

上述の構成要素及びアッセイのフォーマットは、説明的のものであり、限定的ものではない。本明細書に提供される教示及び実施例を使用することで、複数の他のアッセイデバイス及び構成が、当業者には利用可能になる。いくつかのさらなる設計の考慮点及び構成要素は、以下に記載する。

#### 【0099】

10

側方流アッセイ (LFA) またはフロースルー (スポット) アッセイ

上述のように、特定の実施形態では、本明細書に記載のデバイス及びシステムは、サンプル内の、ターゲットとなる分析物の検出のために、側方流アッセイ (LFA) またはフロースルー (スポット) アッセイを提供するように構成されている。ここで、LFA またはスポットアッセイは、単独で、または水性二相系 (ATPS) と組み合わせて使用される。いくつかの実施形態では、LFA またはスポットアッセイには、ATPS またはその構成要素が内部に配された多孔性マトリクスが含まれている。ここで、多孔性マトリクスは、ATPS またはその構成要素が、ATPS またはその構成要素が液相である場合に、多孔性マトリクスを通流するのに十分であるように、多孔性に構成されるとともに、孔を有している。そのような多孔性のLFA またはスポット・アッセイ・デバイスは、紙または紙の流動性デバイス (paper fluidic device) と本明細書で呼ばれ、これら用語は、相互変更可能に使用される。

20

#### 【0100】

「紙 (paper)」との用語は、本明細書で使用される場合、木、または他の繊維性の植物の物質のパルプからの薄いシートには限定されないが、特定の実施形態では、本明細書に記載のデバイスにおけるそのような紙の使用は、意図されている。紙は、より一般的には、流体が通流することを可能にする、しばしばシートの形態の多孔性材料と呼ばれるが、それには限定されない。

#### 【0101】

いくつかの実施形態では、多孔性マトリクスは、混合された相溶液、ATPSの第1の相溶液及び/若しくは第2の相溶液、ならびに/または、ターゲットとなる分析物が、LFA またはフロースルーアッセイを通流することを可能にするのに十分に多孔性である。いくつかの実施形態では、多孔性マトリクスは、混合された相溶液、第1の相溶液及び/若しくは第2の相溶液、ならびに/または、ターゲットとなる分析物が、LFA またはフロースルー (スポット) アッセイデバイスを通して、垂直及び/または水平に流れるのに十分な長さ及び/または深さである。いくつかの実施形態では、第1の相溶液が第1の量で多孔性マトリクスを通流し、第2の相溶液が第2の量で多孔性マトリクスを通流する。ここで、第1の量と第2の量とは、異なっている。LFA またはスポットアッセイのいくつかの実施形態では、多孔性マトリクスは、とりわけ、焼結された (sintered) ガラスセラミック、ミネラル、セルローズ、グラスファイバ、ニトロセルローズ、ポリフッ化ビニリデン、ナイロン、電荷が変更された (charge modified) ナイロン、ポリエーテルスルホン樹脂、及びそれらの組合せなどの材料を含んでいる。

30

40

#### 【0102】

流れにともなう濃縮

ATPSは、溶液が多孔性基板 (たとえば、紙) を通って流れる際に、相が分離し得ることが発見された。このことを、われわれは「流れにともなう濃縮 (concentrate-as-it-flows)」と称した。さらに、紙を通る流れが、濃縮プロセスの速度を著しく上昇させることも発見した。この現象に基づき、本明細書に記載の側方流アッセイデバイス及びフロースルー・アッセイ・デバイスは、紙の流動性構成要素を備えることができる。これら構成要素は、LFA または通流検出と合わせられたATPS濃縮に

50

必要な構成要素を完全に組み込んでいる。混合された A T P S 溶液が特定の紙の材料に適用される場合、相の分離と分析物の濃縮が、溶液が流れるにつれて生じることが発見された。われわれは、この現象が、体積比、たとえば、底相の体積によって割られた頂部の相の体積が変化する A T P S を形成する場合でさえ、保持されることをも示した。

#### 【 0 1 0 3 】

いくつかの実施形態では、L F A またはスポットアッセイ（たとえば、スポットアッセイの濃縮構成要素）が、紙を含んでいる。いくつかの実施形態では、紙は、流体が内部を流れて流れることを許容する、多孔性材料のシートを含んでいる。いくつかの実施形態では、紙は、（たとえば、図 4 に示すように）流体が内部を流れて流れることを許容する、多孔性材料の複数のシートを含んでいる。いくつかの実施形態では、紙は、セルロース、グラスファイバ、ニトロセルロース、フッ化ポリビニリデン、電荷が変更されたナイロン、及びポリエーテルスルホンなどの、1 つまたは複数の材料を含んでいる。いくつかの実施形態では、紙は、H I - F L O W P L U S（登録商標）の膜である。

10

#### 【 0 1 0 4 】

いくつかの実施形態では、紙は、編み込まれた紙である。いくつかの実施形態では、紙は、ワットマン紙である。いくつかの実施形態では、ワットマン紙は、ワットマン S 1 7、ワットマン M F 1、ワットマン V F 1、ワットマン F u s i o n 5、ワットマン G F / D V A、ワットマン L F 1、ワットマン C F 1、及び / またはワットマン C F 4 を含んでいる。

20

#### 【 0 1 0 5 】

いくつかの実施形態では、紙は、ターゲットとなる分析物が L F A を通るか、フロースルーアッセイの濃縮構成要素（たとえば、「c o n c e n t r a t e - a s - i t - f l o w s」に基づくデバイス）を通して流れる際に、ターゲットとなる分析物を濃縮する。いくつかの実施形態では、紙は、ターゲットとなる分析物が L F A を通って水平に流れる際に、ターゲットとなる分析物を濃縮させる。いくつかの実施形態では、紙は、ターゲットとなる分析物が L F A またはフロースルーアッセイを通して垂直に流れる際に、ターゲットとなる分析物を濃縮させる。

#### 【 0 1 0 6 】

いくつかの実施形態では、紙は、どの相溶液が「導入流体」になるかに影響する特性を有している。非限定的例として、P E G - 塩の A T P S を使用する場合、グラスファイバの紙に溶液を加えることにより、塩の相を導入溶液にすることになり、一方、セルロースの紙を使用することにより、P E G 相を導入溶液にすることになる。いくつかの実施形態では、紙内の相の分離は、相の分離を加速する。やはり、非限定的例として、ミセルの A T P S は通常、流れのない A T P S における相の分離に数時間かかるが、紙のストリップに適用される場合、この相の分離は、数分の内に生じる。このことは、慣習的にはプロセスの遅速段階である A T P S を、我々の迅速な紙の診断アッセイのためにより実用的なオプションとすることにより、診断プロセスを高速化する。いくつかの実施形態では、「c o n c e n t r a t e - a s - i t - f l o w s」デバイスは、（たとえば、実施例に示すような）P E G - 塩の A T P S を備えている。いくつかの実施形態では、「c o n c e n t r a t e - a s - i t - f l o w s」デバイスは、ミセルの A T P S を備えている。いくつかの実施形態では、L F A デバイスまたはフロースルー・アッセイ・デバイスは、グラスファイバ紙またはニトロセルロース紙を備えている。

30

40

#### 【 0 1 0 7 】

特定の実施形態では、L F A またはフロースルー・アッセイ・デバイスは、ゴミ（たとえば、血球または他の微粒子）を除去するフィルタと、ターゲットとなる分析物を含むサンプルがデバイスに適用されるサンプルパッドと、ターゲットとなる分析物が結合され、検出される、検出ゾーン（たとえば、テストライン及び制御ライン）と、L F A またはフロースルーデバイスに適用された余分なサンプル及び / または溶液を吸収することができる吸収性パッド（たとえば、乾燥した受領紙）とを備えている（たとえば、図 1 0 を参照）。いくつかの実施形態では、制御ライン及び / またはテストラインは、それ自体がライ

50

ンではないが、領域またはスポットである。

#### 【0108】

いくつかの実施形態では、LFAは、LFAストリップを備えている。「LFA」及び「LFAストリップ(LFA strip)」との用語は、本明細書では相互変更可能に使用される。いくつかの実施形態では、LFAストリップは、その幅及び深さよりも大である長さを有している。いくつかの実施形態では、LFAは矩形である。いくつかの実施形態では、LFAは、丸いか、卵形か、正方形か、多角形か、または不規則形状の形状を有している。いくつかの実施形態では、LFAは、複数のルート及び/または結合部を備えている。いくつかの実施形態では、LFAストリップは、サンプルパッド、検出ゾーン、及び吸収性パッドを備えている。いくつかの実施形態では、検出ゾーンは、サンプルパッドと吸収性パッドとの間に位置し、吸収性パッドが、ターゲットとなる分析物を含むサンプルをサンプルパッドから検出ゾーンに向けて吸い出す。

10

#### 【0109】

##### 挟み込みアッセイ

いくつかの実施形態では、LFAまたはフロースルー(スポット)アッセイデバイスは、挟み込みアッセイを提供するか、実施するように構成されている(たとえば、2015年3月6日に出願された、同時継続中のPCT出願番号第PCT/US2015/019297号の図1の左下を参照。この文献は、その中に記載されるLFA構成に関して参照することにより、本明細書によって組み込まれる)。いくつかの実施形態では、挟み込みアッセイは、ターゲットとなる分析物と結合する捕獲半体を備えている。いくつかの実施形態では、デバイスはプローブを備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、検出可能な特性(比色定量、蛍光性、放射性など)を備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、ターゲットとなる分析物(たとえば、抗体)と相互作用する結合半体を備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、サンプルに付加され、ターゲットとなる分析物と結合して、プローブ-分析物の複合体を形成する。

20

#### 【0110】

##### 競合アッセイ

いくつかの実施形態では、LFAは、競合アッセイを備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、サンプルに付加され、ターゲットとなる分析物と結合して、プローブ-分析物の複合体を形成する。いくつかの実施形態では、LFAは、テストライン上に固定された、ターゲットとなる分析物を備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、サンプル内のターゲットとなる分析物によって飽和しており、プローブは、テストライン上に固定された、ターゲットとなる分析物に結合されない。いくつかの実施形態では、テストライン上の検出可能な信号の欠如により、正の結果が示される。いくつかの実施形態では、サンプル内にターゲットとなる分析物が存在せず、プローブがテストライン上のターゲットとなる分析物に結合され、負の結果を示す。いくつかの実施形態では、LFAは、制御ライン上に、直接プローブと相互作用するプローブ捕獲半体を備えており、サンプル内のターゲットとなる分析物の存在に関わらず、プローブは、プローブ捕獲半体に結合することができ、制御ライン上に集まることができる。いくつかの実施形態では、プローブは、制御ライン上に固定されるとともに検出されるようになり、妥当なテストを示す。いくつかの実施形態では、正の結果(たとえば、ターゲットとなる分析物がサンプル内に存在する)が、テストラインにおける検出可能な信号の欠如と、制御ラインにおける検出可能な信号の存在とにより、示される。いくつかの実施形態では、負の結果が、テストラインと制御ラインとの両方において、検出可能な信号によって示される。

30

40

#### 【0111】

挟み込むフォーマットのアッセイのいくつかの実施形態では、プローブ-分析物の複合体が、サンプルパッドに適用され、LFAを通るか、フロースルーデバイスを通して、吸収性パッドに向かって流れる。いくつかの実施形態では、プローブ-分析物の複合体のターゲットとなる分析物は、捕獲半体に結合する。いくつかの実施形態では、捕獲半体は、テストラインまたはテスト領域(たとえば、フロースルーデバイスのテスト層)に固定さ

50

れ、プローブ - 分析物の複合体は、テストライン上またはテスト領域内で固定されるようになる。いくつかの実施形態では、プローブは比色定量であり、テストラインまたはテスト領域は、プローブ - 分析物の複合体がテストラインまたはテスト領域内に集まるにつれて、強い色（たとえば、検出可能な信号）を示すことになり、正の結果を示す。いくつかの実施形態では、サンプル内にターゲットとなる分析物が存在せず、プローブ - 分析物の複合体のプローブは捕獲半体と相互作用せず、テストラインの欠如か、テスト領域内の信号が、負の結果を示す。いくつかの実施形態では、LFAは、制御ライン上（または、たとえばフロースルー・アッセイ・デバイスの、制御領域内）に、直接プローブ及び／または結合半体と相互作用するプローブ捕獲半体を備えており、このため、サンプル内のターゲットとなる分析物の存在に関わらず、プローブ／結合半体は、プローブ捕獲半体に結合し、制御ライン上または制御領域内に集まる。いくつかの実施形態では、プローブ捕獲半体は、結合半体に結合する二次抗体であり、ここで、結合半体は、ターゲットとなる分析物に結合する一次抗体である。いくつかの実施形態では、プローブは、制御ライン上または制御領域内に固定されるとともに検出されるようになり、妥当なテストを示す。いくつかの実施形態では、正の結果（たとえば、ターゲットとなる分析物がサンプル内に存在する）が、テストライン（またはテスト領域）及び制御ライン（または制御領域）における検出可能な信号によって示される。いくつかの実施形態では、負の結果が、制御ラインまたは制御領域内において、検出可能な信号によって示される。

10

#### 【0112】

水性二相系（ATPS）

20

特定の実施形態では、本明細書に記載のデバイスは、たとえば、注入器または他の管内で、水性二相系（ATPS）と合わせて作用するように構成されているか、水性二相系（ATPS）をサポートするように構成されている。いくつかの実施形態では、ATPSは、相溶液を含んでいる。「相溶液（phase solution）」との用語は、概して、ATPSの第1の相溶液または第2の相溶液に言及している。いくつかの実施形態では、相溶液は、（たとえば、第1／第2の相溶液とともに）混合された溶液内にある。いくつかの実施形態では、相溶液は、相溶液がATPSの混合溶液から分離された後の、第1／第2の相溶液である。いくつかの実施形態では、相溶液は、相溶液がLFAまたはフロースルーアッセイの混合溶液から分離された後の、第1／第2の相溶液である。特定の実施形態では、相溶液は、（たとえば、第1の相溶液との）混合状態にある際に、第2の相溶液と呼ばれ得る。いくつかの実施形態では、相溶液は、LFAまたはフロースルーアッセイにおける導入流体である。いくつかの実施形態では、相溶液は、LFAまたはフロースルーアッセイにおける遅れた流体である。

30

#### 【0113】

いくつかの実施形態では、ATPSは、2つの水溶液、すなわち、最初に混合される（たとえば、混合した相溶液）、第1の相溶液と第2の相溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、混合した相溶液は、一様な溶液であるが、特定の他の実施形態では、第1の相溶液と第2の相溶液とは、混和しない。いくつかの実施形態では、第1の相溶液と第2の相溶液とは、混和しないが、第1の相溶液のドメインは、第2の相溶液のドメインと混合する。いくつかの実施形態では、不混和性は、温度変化、及び／または、塩などの、異なる構成要素の濃度の変化によって動かされる。いくつかの実施形態では、第1／第2の相溶液は、ミセル、塩、及び／またはポリマなどの構成要素を含んでいる。いくつかの実施形態では、ATPSと接触したターゲットとなる分析物（たとえば、生体分子、バクテリア（若しくは、それらの断片）、菌（若しくは、それらの断片）、またはウイルスなど）は、サイズ、形状、疎水性、及び電荷などの、その物理的及び化学的特性に基づき、第2の相溶液に対して優先的に第1の相溶液に、またはその逆に、分配、分割、及び／または濃縮される。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物（たとえば、バクテリア、菌、ウイルスなど）は、大部分が（または過度に）ATPSの第1の相溶液または第2の相溶液に分割され、したがって、ATPS内で濃縮する。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物は、第1の相溶液と第2の相溶液との間の体積比を調整すること

40

50

によって濃縮される。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物は、分析物が分割されている相の体積を低減することによって濃縮される。例として、いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物は、たとえば、第1の相溶液の、第2の相溶液に対する1:9の体積比を使用することにより、第1の相溶液内で10倍だけ濃縮されるが、このことは、分析物が過度に分割される相の体積が、全体の体積の1/10であるためである。

#### 【0114】

いくつかの実施形態では、他の濃度が、他の比を使用することによって得られる。このため、いくつかの実施形態では、第2の相溶液に対する第1の相溶液の比には、約1:1、約1:2、約1:3、約1:4、約1:5、約1:6、約1:7、約1:8、約1:9、または約1:10の比が含まれる。いくつかの実施形態では、第2の相溶液に対する第1の相溶液の比には、約1:20、約1:30、約1:40、約1:50、約1:60、約1:70、約1:80、約1:90、または約1:100の比が含まれる。いくつかの実施形態では、第2の相溶液に対する第1の相溶液の比には、約1:200、約1:300、約1:400、約1:500、約1:600、約1:700、約1:800、約1:900、または約1:1000の比が含まれる。

10

#### 【0115】

いくつかの実施形態では、第1の相溶液に対する第2の相溶液の比には、約1:1、約1:2、約1:3、約1:4、約1:5、約1:6、約1:7、約1:8、約1:9、または約1:10の比が含まれる。いくつかの実施形態では、第1の相溶液に対する第2の相溶液の比には、約1:20、約1:30、約1:40、約1:50、約1:60、約1:70、約1:80、約1:90、または約1:100の比が含まれる。いくつかの実施形態では、第1の相溶液に対する第2の相溶液の比には、約1:200、約1:300、約1:400、約1:500、約1:600、約1:700、約1:800、約1:900、または約1:1000の比が含まれる。

20

#### 【0116】

いくつかの実施形態では、分析物は、第1の相溶液と第2の相溶液との間でほぼ等しく分割され、分析物の濃縮を防止する。そのようなシステムでは、ターゲットとなる分析物の濃縮は、ターゲットとなる分析物を捕獲するプローブなどの、追加の構成要素を導入することによって達成することができ、ここで、プローブは、大体は、1つの相に分割し、それにより、濃縮を可能にするように、ターゲットとなる分析物の分割作用を向上させる。いくつかの実施形態では、濃縮した分析物を含む第1/第2の相溶液は、収集されるとともに、LFAまたはフロースルー・アッセイ・デバイスに適用される。

30

#### 【0117】

いくつかの実施形態では、第1/第2の相溶液は、ミセル溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、非イオン性表面活性剤を含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、溶剤を含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、Triton-Xを含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、非限定的例として、Igepal CA-630及びNonidet P-40などの、Triton-Xに類似のポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、基本的にTriton-Xで構成されている。

40

#### 【0118】

いくつかの実施形態では、ミセル溶液は、室温(〜25℃まで)において、約0.01センチポアズから約5000センチポアズまで、約0.01センチポアズから約4500センチポアズまで、約0.01センチポアズから約4000センチポアズまで、約0.01センチポアズから約3500センチポアズまで、約0.01センチポアズから約3000センチポアズまで、約0.01センチポアズから約2500センチポアズまで、約0.01センチポアズから約2000センチポアズまで、約0.01センチポアズから約1500センチポアズまで、約0.01センチポアズから約1000センチポアズまで、約0.01センチポアズから約500センチポアズまでの粘度を有している。いくつかの実施

50

形態では、ミセル溶液は、室温において、約 0.01 センチポアズから約 450 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 400 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 350 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 300 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 250 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 200 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 150 センチポアズまで、約 0.01 センチポアズから約 100 センチポアズまでの粘度を有している。

#### 【0119】

いくつかの実施形態では、第 1 / 第 2 の相溶液は、ポリマ（たとえば、ポリマ溶液）を含んでいる。特定の実施形態では、ポリマは、ポリエチレングリコール（PEG）である。様々な実施形態では、PEG は、1000 から 100,000 までの間の分子量を有し得る。特定の実施形態では、PEG は、PEG-4600、PEG-8000、または PEG-20,000 を含んでいる。特定の実施形態では、ポリマは、ポリプロピレングリコール（PPG）である。様々な実施形態では、PPG は、100 から 10,000 までの間の分子量を有し得る。特定の実施形態では、PPG は、PPG 425 を含んでいる。特定の実施形態では、ポリマは、デキストランである。様々な実施形態では、デキストランは、1000 から 1,000,000 までの間の分子量を有し得る。特定の実施形態では、デキストランは、デキストラン 6000、デキストラン 9000、デキストラン-35,000、またはデキストラン-200,000 を含んでいる。

#### 【0120】

いくつかの実施形態では、ポリマ溶液は、約 0.01 % w/w のポリマ、または約 0.05 % w/w のポリマ、または約 0.1 % w/w のポリマ、または約 0.15 % w/w のポリマ、または約 0.2 % w/w のポリマ、または約 0.25 % w/w のポリマ、または約 0.3 % w/w のポリマ、または約 0.35 % w/w のポリマ、または約 0.4 % w/w のポリマ、または約 0.45 % w/w のポリマ、または約 0.5 % w/w のポリマ、または約 0.55 % w/w のポリマ、または約 0.6 % w/w のポリマ、または約 0.65 % w/w のポリマ、または約 0.7 % w/w のポリマ、または約 0.75 % w/w のポリマ、または約 0.8 % w/w のポリマ、または約 0.85 % w/w のポリマ、または約 0.9 % w/w のポリマ、または約 0.95 % w/w のポリマ、または約 1 % w/w のポリマであるポリマ溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、ポリマ溶液は、約 1 % w/w のポリマ、または約 2 % w/w のポリマ、または約 3 % w/w のポリマ、または約 4 % w/w のポリマ、または約 5 % w/w のポリマ、または約 6 % w/w のポリマ、または約 7 % w/w のポリマ、または約 8 % w/w のポリマ、または約 9 % w/w のポリマ、または約 10 % w/w のポリマ、または約 11 % w/w のポリマ、または約 12 % w/w のポリマ、または約 13 % w/w のポリマ、または約 14 % w/w のポリマ、または約 15 % w/w のポリマ、または約 16 % w/w のポリマ、または約 17 % w/w のポリマ、または約 18 % w/w のポリマ、または約 19 % w/w のポリマ、または約 20 % w/w のポリマ、または約 21 % w/w のポリマ、または約 22 % w/w のポリマ、または約 23 % w/w のポリマ、または約 24 % w/w のポリマ、または約 25 % w/w のポリマ、または約 26 % w/w のポリマ、または約 27 % w/w のポリマ、または約 28 % w/w のポリマ、または約 29 % w/w のポリマ、または約 30 % w/w のポリマ、または約 31 % w/w のポリマ、または約 32 % w/w のポリマ、または約 33 % w/w のポリマ、または約 34 % w/w のポリマ、または約 35 % w/w のポリマ、または約 36 % w/w のポリマ、または約 37 % w/w のポリマ、または約 38 % w/w のポリマ、または約 39 % w/w のポリマ、または約 40 % w/w のポリマ、または約 41 % w/w のポリマ、または約 42 % w/w のポリマ、または約 43 % w/w のポリマ、または約 44 % w/w のポリマ、または約 45 % w/w のポリマ、または約 46 % w/w のポリマ、または約 47 % w/w のポリマ、または約 48 % w/w のポリマ、または約 49 % w/w のポリマ、または約 50 % w/w であるポリマ溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、ポリマ溶液は、約 10 % w/w のポリマ、または約 20 % w/w のポリマ、または約 30 % w/w のポリマ、または約 40 % w/w のポリマ、または約 50 % w/w のポリマ、または約 60

10

20

30

40

50

% w / w のポリマ、または約 70 % w / w のポリマ、または約 80 % w / w のポリマ、または約 90 % w / w のポリマであるポリマ溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、ポリマ溶液は、約 10 % w / w のポリマから約 80 % w / w のポリマであるポリマ溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、ポリマ溶液は、約 10 % w / w から約 25 % w / w のポリマであるポリマ溶液を含んでいる。

#### 【0121】

いくつかの実施形態では、第 1 相溶液及び / または第 2 の相溶液は塩を含んでおり、それにより、塩の溶液を形成する。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物（たとえば、バクテリア、菌、ウイルスなど）及び / またはプローブ - 分析物の複合体が塩溶液に分割される。特定の実施形態では、塩溶液は、コスモトロピック塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、塩溶液は、カオトロピック塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、塩には、マグネシウム塩、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、セシウム塩、亜鉛塩、及びアルミニウム塩の、1 つまたは複数が含まれる。いくつかの実施形態では、塩には、臭化物塩、ヨウ化物塩、フッ化塩、炭酸塩、硫酸塩、クエン酸塩、カルボン酸塩、硼酸塩、またはリン酸塩が含まれる。いくつかの実施形態では、塩は、リン酸カリウムである。いくつかの実施形態では、塩は、硫酸アンモニアである。

10

#### 【0122】

いくつかの実施形態では、塩溶液は、約 0.01 % w / w の塩、または約 0.05 % w / w の塩、約 0.1 % w / w の塩、または約 0.15 % w / w の塩、または約 0.2 % w / w の塩、または約 0.25 % w / w の塩、または約 0.3 % w / w の塩、または約 0.35 % w / w の塩、または約 0.4 % w / w の塩、または約 0.45 % w / w の塩、または約 0.5 % w / w の塩、または約 0.55 % w / w の塩、または約 0.6 % w / w の塩、または約 0.65 % w / w の塩、または約 0.7 % w / w の塩、または約 0.75 % w / w の塩、または約 0.8 % w / w の塩、または約 0.85 % w / w の塩、または約 0.9 % w / w の塩、または約 0.95 % w / w の塩、または約 1 % w / w の塩を含む塩溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、塩溶液は、約 1 % w / w の塩、または約 2 % w / w の塩、または約 3 % w / w の塩、または約 4 % w / w の塩、または約 5 % w / w の塩、または約 6 % w / w の塩、または約 7 % w / w の塩、または約 8 % w / w の塩、または約 9 % w / w の塩、または約 10 % w / w の塩、または約 11 % w / w の塩、または約 12 % w / w の塩、または約 13 % w / w の塩、または約 14 % w / w の塩、または約 15 % w / w の塩、または約 16 % w / w の塩、または約 17 % w / w の塩、または約 18 % w / w の塩、または約 19 % w / w の塩、または約 20 % w / w の塩、または約 21 % w / w の塩、または約 22 % w / w の塩、または約 23 % w / w の塩、または約 24 % w / w の塩、または約 25 % w / w の塩、または約 26 % w / w の塩、または約 27 % w / w の塩、または約 28 % w / w の塩、または約 29 % w / w の塩、または約 30 % w / w の塩、または約 31 % w / w の塩、または約 32 % w / w の塩、または約 33 % w / w の塩、または約 34 % w / w の塩、または約 35 % w / w の塩、または約 36 % w / w の塩、または約 37 % w / w の塩、または約 38 % w / w の塩、または約 39 % w / w の塩、または約 40 % w / w の塩、または約 41 % w / w の塩、または約 42 % w / w の塩、または約 43 % w / w の塩、または約 44 % w / w の塩、または約 45 % w / w の塩、または約 46 % w / w の塩、または約 47 % w / w の塩、または約 48 % w / w の塩、または約 49 % w / w の塩、または約 50 % w / w である塩溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、塩溶液は、約 0.1 % w / w から約 10 % の塩溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、塩溶液は、約 1 % w / w から約 10 % である。

20

30

40

#### 【0123】

いくつかの実施形態では、第 1 / 第 2 の相溶液は、水と混和しない溶剤を含んでいる。いくつかの実施形態では、溶剤は、無極性の有機溶剤を含んでいる。いくつかの実施形態では、溶剤は、オイルを含んでいる。いくつかの実施形態では、溶剤には、ペンタン、シクロペンタン、ベンゼン、1,4 - ジオキサン、ジエチルエーテル、ジクロロメタン、クロロホルム、トルエン、またはヘキサンが含まれる。

50



## 【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液はミセル溶液を含み、第 2 の相溶液はポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液はミセル溶液を含み、第 1 の相溶液はポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液はミセル溶液を含み、第 2 の相溶液は塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液はミセル溶液を含み、第 1 の相溶液は塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、ミセル溶液は T r i t o n - X 溶液である。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液は第 1 のポリマを含み、第 2 の相溶液は第 2 のポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 / 第 2 のポリマは、ポリエチレングリコール及び / またはデキストランを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液はポリマを含み、第 2 の相溶液は塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液はポリマを含み、第 1 の相溶液は塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液はポリエチレングリコールを含み、第 2 の相溶液はリン酸カリウムを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液はポリエチレングリコールを含み、第 1 の相溶液はリン酸カリウムを含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液は塩を含み、第 2 の相溶液は塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液はコスモトロピック塩を含み、第 2 の相溶液はカオトロピック塩を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液はコスモトロピック塩を含み、第 1 の相溶液はカオトロピック塩を含んでいる。

10

## 【 0 1 2 5 】

いくつかの実施形態では、第 1 の相溶液は表 1 の構成要素 1 を含み、第 2 の相溶液は表 1 の構成要素 2 を含んでいる。いくつかの実施形態では、第 2 の相溶液は表 1 の構成要素 1 を含み、第 2 の相溶液は表 1 の構成要素 2 を含んでいる。

20

## 【 0 1 2 6 】

いくつかの実施形態では、表 1 の構成要素は、バッファ内で懸濁しているか、溶解している。いくつかの実施形態では、表 1 の構成要素は、サンプルを得た生物学的システムに適合するバッファ内で懸濁 / 溶解している。いくつかの実施形態では、表 1 の構成要素は、食塩水内で懸濁 / 溶解している。いくつかの実施形態では、表 1 の構成要素は、P B S 内で懸濁 / 溶解している。いくつかの実施形態では、表 1 の構成要素は、水内で懸濁 / 溶解している。

## 【 0 1 2 7 】

30

## 【表 1】

表 1 例示的な水性の 2 相の抽出／濃縮システム。

| 構成要素 1             | 構成要素 2   |
|--------------------|--|
| ポリマ／ポリマシステム        |  |
| ポリエチレングリコール        | デキストラン<br>フィコール<br>ポリビニルピロリドン<br>ポリビニルアルコール<br>ヒドロキシプロピルデンプン |
| ポリプロピレングリコール       | デキストラン<br>ヒドロキシプロピルデキストラン<br>ポリビニルピロリドン                      |
| ポリビニルアルコール         | デキストラン<br>ヒドロキシプロピルデキストラン                                    |
| ポリビニルピロリドン         | デキストラン<br>マルトデキストリン  |
| メチルセルロース           | デキストラン<br>ヒドロキシプロピルデキストラン                                    |
| エチルヒドロキシエチルセルロース   | デキストラン   |
| ポリマ／塩システム          |  |
| ポリエチレングリコール        | リン酸カリウム<br>硫酸ナトリウム<br>硫酸マグネシウム<br>硫酸アンモニア<br>クエン酸ナトリウム       |
| ポリプロピレングリコール (PPG) | リン酸カリウム  |
| メトキシポリエチレングリコール    | リン酸カリウム  |
| ポリビニルピロリドン         | リン酸カリウム  |

10

20

30

## 【0128】

各実施例に示すように、特定の実施形態では、ATPSは、ポリマ／塩のATPSを含んでいる。ポリエチレングリコール及び塩、または、ポリプロピレングリコール及び塩を含むATPSが、迅速で、感度がよく、かつ正確な分析物の検出／計量がされることが発見された。

## 【0129】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のデバイス（たとえば、LFAまたはフロースルー・アッセイ・デバイス）は、ATPSと接触して配置するように構成されたコレクタをさらに含み得、ターゲットとなる分析物は、コレクタと、第1の相溶液及び／または第2の相溶液との界面において仕切られる。いくつかの実施形態では、コレクタは、プラスチック、メソ多孔質材料、シリカ、ポリプロピレン、磁石、磁性粒子、常磁性粒子、孔を有する材料、溝を有する材料、及び／またはそれらの任意の組合せである、材料を含んでいる。いくつかの実施形態では、コレクタはポリプロピレンを含んでいる。いくつかの実施形態では、コレクタは、ターゲットとなる分析物の収集を向上させるのに最適化されている。いくつかの実施形態では、コレクタは、表面積を最大化するように、孔を含んでいる。いくつかの実施形態では、孔の幅は、約1 µm、約5 µm、約10 µm、約15 µm、約20 µm、約25 µm、約30 µm、約35 µm、約40 µm、約45 µm、約50 µm、約55 µm、約60 µm、約65 µm、約70 µm、約75 µm、約80 µm、

40

50

約 85  $\mu\text{m}$ 、約 90  $\mu\text{m}$ 、約 95  $\mu\text{m}$ 、または約 100  $\mu\text{m}$ である。いくつかの実施形態では、孔の幅は、約 100  $\mu\text{m}$ 、約 200  $\mu\text{m}$ 、約 300  $\mu\text{m}$ 、約 400  $\mu\text{m}$ 、約 500  $\mu\text{m}$ 、約 600  $\mu\text{m}$ 、約 700  $\mu\text{m}$ 、約 800  $\mu\text{m}$ 、約 900  $\mu\text{m}$ 、または約 1 mmである。いくつかの実施形態では、孔の深さは、約 1  $\mu\text{m}$ 、約 5  $\mu\text{m}$ 、約 10  $\mu\text{m}$ 、約 15  $\mu\text{m}$ 、約 20  $\mu\text{m}$ 、約 25  $\mu\text{m}$ 、約 30  $\mu\text{m}$ 、約 35  $\mu\text{m}$ 、約 40  $\mu\text{m}$ 、約 45  $\mu\text{m}$ 、約 50  $\mu\text{m}$ 、約 55  $\mu\text{m}$ 、約 60  $\mu\text{m}$ 、約 65  $\mu\text{m}$ 、約 70  $\mu\text{m}$ 、約 75  $\mu\text{m}$ 、約 80  $\mu\text{m}$ 、約 85  $\mu\text{m}$ 、約 90  $\mu\text{m}$ 、約 95  $\mu\text{m}$ 、または約 100  $\mu\text{m}$ である。いくつかの実施形態では、孔の深さは、約 100  $\mu\text{m}$ 、約 200  $\mu\text{m}$ 、約 300  $\mu\text{m}$ 、約 400  $\mu\text{m}$ 、約 500  $\mu\text{m}$ 、約 600  $\mu\text{m}$ 、約 700  $\mu\text{m}$ 、約 800  $\mu\text{m}$ 、約 900  $\mu\text{m}$ 、または約 1 mmである。

10

#### 【0130】

ＬＦＡまたはフロースルー（スポット）アッセイデバイスの脱水されたＡＴＰＳ

いくつかの実施形態では、ＡＴＰＳまたはその構成要素は、ＬＦＡを含む多孔性マトリクスの少なくとも第１の部分上、及び／または部分内か、フロースルー・アッセイ・デバイスの濃縮構成要素内で脱水される。いくつかの実施形態では、デバイスに対するサンプルの適用により、ＡＴＰＳを水和させ、それにより、ＡＴＰＳまたはその構成要素を液相に変換する。脱水は、ユーザが単にサンプル（たとえば、唾液、血液、尿、膿液、精液、喀痰、髄液、リンパ液、または同様の流体）をデバイスに加えることを必要とすることから、デバイスをよりユーザに優しくする場合がある。いくつかの実施形態では、ユーザは、ターゲットとなる分析物の存在／欠如を検出するか、分析物を計量するために、サンプルの溶液をストリップに適用することのみを必要とする。いくつかの実施形態では、サンプルの溶液は、ＬＦＡまたはフロースルーデバイスを通過し、ＡＴＰＳは、再び可溶化され、ＬＦＡまたはフロースルーデバイス内での相の分離と、後のターゲットとなる分析物の濃縮を引き起こす。

20

#### 【0131】

いくつかの実施形態では、所与のＡＴＰＳに必要な構成要素すべては、混合されて、混合溶液を形成し、デバイス（たとえば、ＬＦＡまたはフロースルー（スポット）アッセイ）を含む紙に適用され、次いで、脱水される。サンプル溶液が脱水された紙に加えられると、ＡＴＰＳ構成要素は、サンプルが流れる際に再び水が加えられ、相が分離する結果となる。濃縮した分析物を含む相の粘度が低いいくつかのＡＴＰＳでは、その相は、より速く流れ、濃縮された分析物は、導入流体に現れ、ＬＦＡまたはフロースルーアッセイの検出ゾーンに達して、検出が開始されることになる。さらに、脱水されたＡＴＰＳ構成要素のセグメントの長さ（または厚さ）及び濃度は、様々な用途のために調整され得る。

30

#### 【0132】

いくつかの実施形態では、ＡＴＰＳの両方（すべて）の構成要素は、ＬＦＡ上またはフロースルーアッセイ（たとえば、分離構成要素）内で脱水される。いくつかの実施形態では、第１のＡＴＰＳ構成要素は、ＬＦＡ上（若しくはその中）、または、フロースルーアッセイ内で脱水される。いくつかの実施形態では、第２のＡＴＰＳ構成要素は、ＬＦＡまたはフロースルーアッセイ内またはその上で脱水される。いくつかの実施形態では、第１の相溶液構成要素及び／または第１のＡＴＰＳ構成要素は、ＬＦＡの第１の部分上またはフロースルーアッセイ（分離構成要素）の第１の層内で脱水される。いくつかの実施形態では、第２の相溶液構成要素及び／または第２のＡＴＰＳ構成要素は、ＬＦＡの第２の部分上またはフロースルーアッセイ（分離構成要素）の第２の層内で脱水される。いくつかの実施形態では、第１の部分と第２の部分とは同じである。いくつかの実施形態では、第１の部分と第２の部分とは異なっている。非限定的例として、ＰＥＧ-塩のＡＴＰＳでは、ＰＥＧ溶液と塩溶液とは、異なる紙の部分またはセグメント内に別々に脱水することができる（たとえば、2015年3月6日に出願された、同時継続中のＰＣＴ出願番号第ＰＣＴ／ＵＳ２０１５／０１９２９７号の図１６を参照。この文献は、その中に記載されるＬＦＡ構成に関して参照することにより、本明細書によって組み込まれる）か、たとえばフロースルーアッセイの分離構成要素（たとえば、図４参照）を含む別々の層内で脱水す

40

50

ることができる。いくつかの実施形態では、L F Aの異なる部分上、または、フロースルーアッセイの異なる層内の、第1 / 第2の相溶液、及び / または、A T P S構成要素の脱水により、第1 / 第2の相溶液構成要素またはA T P S構成要素のより一様な濃縮が提供される。いくつかの実施形態では、異なる部分上の、第1 / 第2の相溶液構成要素及び / またはA T P S構成要素により、第1の相溶液またはA T P S構成要素が、水和の後に第1の方向に流れることを可能にし、第2の相溶液及び / またはA T P S構成要素が、加水の後に第2の方向に流れることを可能にする。ここで、第1の方向と第2の方向とは異なっている。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物は、第1の方向には濃縮しているが、第2の方向には濃縮していない。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物は、第2の方向には濃縮しているが、第1の方向には濃縮していない。いくつかの実施形態では、異なる部分上の、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素の脱水により、ターゲットとなる分析物が、サンプルが第1 / 第2の方向に流れる必要なしに、第1 / 第2の方向に流れることを可能にする。いくつかの実施形態では、異なる部分上の、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素の脱水により、ターゲットとなる分析物が速く流れることを可能にし、検出がより速くなる結果となる。いくつかの実施形態では、異なる部分上の、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素の脱水により、結果の信頼性が向上する。いくつかの実施形態では、異なる部分上の、第1 / 第2の層構成要素及び / またはA T P S構成要素の脱水により、第1 / 第2の相溶液構成要素及び / またはA T P S構成要素（たとえば、P E G - 塩A T P S）の凝集が防止される。いくつかの実施形態では、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素は、複数のセグメント内で脱水される。いくつかの実施形態では、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素は、複数のセグメント内で脱水され、ここで、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素は、塩溶液を含んでいる。いくつかの実施形態では、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素は、複数のセグメント内で脱水され、ここで、第1 / 第2の相構成要素及び / またはA T P S構成要素は、ポリマ（たとえば、P E G）を含んでいない。いくつかの実施形態では、脱水されたP E Gは、検出ゾーンの付近には位置していないが、この理由は、P E Gが豊富な相により、検出膜内の流れが遅くなり得るためである。いくつかの実施形態では、L F Aストリップまたはフロースルーアッセイは、P E Gまたは塩を含んでいない検出ゾーン近くにブランクのスペースを含み得る。

10

20

30

#### 【0133】

いくつかの実施形態では、プローブ（たとえば、分析物を結合する半体、及び、関連する検出反応物 / 材料）は、プローブバッファ内に提供される。いくつかの実施形態では、プローブバッファは、L F A上、または、フロースルーアッセイ内で脱水される。

#### 【0134】

いくつかの実施形態では、A T P S構成要素の脱水により、A T P S構成要素が液体の形態で加えられるデバイスに比べ、検出の限界が向上される。いくつかの実施形態では、液体の形態のA T P S構成要素の添加により、患者からのサンプル溶液が希釈される。いくつかの実施形態では、A T P S構成要素の脱水により、流れる間における別の第1の相溶液及び / または別の第2の相溶液の形成が可能になり、テストライン及び制御ライン、またはフロースルーアッセイの検出構成要素に達することになる導入流体の前におけるわずかな体積内のターゲットとなる分析物またはプローブ - 分析物の複合物を濃縮させる。いくつかの実施形態では、導入流体の前における、ターゲットとなる分析物及び / またはプローブ - 分析物の複合物の濃縮により、検出に必要な時間が低減される。

40

#### 【0135】

##### プローブ

特定の実施形態では、本明細書に記載のシステム及び / 若しくはデバイス、ならびに / または、本明細書に記載の方法は、プローブを利用し、このプローブは、ターゲットとなる分析物と結合して、プローブ - 分析物の複合物を形成する結合半体を備えている。

#### 【0136】

50

いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物単体では、優先的に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割される。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物単体では、過度に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割される。

【0137】

いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物単体では、優先的に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割されない。いくつかの実施形態では、ターゲットとなる分析物単体では、過度に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割されない。

【0138】

いくつかの実施形態では、プローブ - 分析物の複合物は、優先的に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との間の界面に分割され、それにより、(プローブ - 分析物の複合物の)ターゲットとなる分析物が、優先的に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割することになる。

【0139】

いくつかの実施形態では、プローブ - 分析物の複合物は、過度に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との間の界面に分割され、それにより、(プローブ - 分析物の複合物の)ターゲットとなる分析物が、過度に、第 1 の相溶液若しくは第 2 の相溶液、または、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割することになる。

【0140】

いくつかの実施形態では、「優先的に分割 (partitions preferentially)」とのフレーズは、ターゲットとなる分析物 (またはプローブ - 分析物の複合物) を、ATPS の第 1 / 第 2 の相溶液に分割することに関して使用される場合、ターゲットとなる分析物のより大である量が、ATPS の別の相溶液よりも好ましい相溶液に分配されるようになることを示している。

【0141】

いくつかの実施形態では、「過度に分割 (partitions extremely)」とのフレーズは、ターゲットとなる分析物 (またはプローブ - 分析物の複合物) を、ATPS の第 1 / 第 2 の相溶液に分割することに関して使用される場合、ターゲットとなる分析物の約 90 % 以上の量が、ATPS の別の相溶液よりも好ましい相溶液に分配されるようになることを示している。

【0142】

いくつかの実施形態では、より大量のターゲットとなる分析物が第 1 の相溶液に分割される。いくつかの実施形態では、約 50 % より大、または約 55 % より大、または約 60 % より大、または約 65 % より大、または約 70 % より大、または約 75 % より大、または約 80 % より大、または約 85 % より大、または約 90 % より大、または約 95 % より大、または約 98 % より大、または約 99 % より大のターゲットとなる分析物が、第 1 の相溶液に分割される。いくつかの実施形態では、約 99 % より大、または約 99.1 % より大、または約 99.2 % より大、または約 99.3 % より大、または約 99.4 % より大、または約 99.5 % より大、または約 99.6 % より大、または約 99.7 % より大、または約 99.8 % より大、または約 99.9 % より大のターゲットとなる分析物が、第 1 の相溶液に分割される。

【0143】

いくつかの実施形態では、より大量の分析物が第 2 の相溶液に分割される。いくつかの実施形態では、約 50 % より大、または約 55 % より大、または約 60 % より大、または約 65 % より大、または約 70 % より大、または約 75 % より大、または約 80 % より大、または約 85 % より大、または約 90 % より大、または約 95 % より大、または約 98 % より大、または約 99 % より大のターゲットとなる分析物が、第 2 の相溶液に分割され

10

20

30

40

50

る。いくつかの実施形態では、約 99 % より大、または約 99 . 1 % より大、または約 99 . 2 % より大、または約 99 . 3 % より大、または約 99 . 4 % より大、または約 99 . 5 % より大、または約 99 . 6 % より大、または約 99 . 7 % より大、または約 99 . 8 % より大、または約 99 . 9 % より大のターゲットとなる分析物が、第 2 の相溶液に分割される。

【 0 1 4 4 】

いくつかの実施形態では、より大量の分析物が、第 1 の相溶液と第 2 の相溶液との界面に分割される。いくつかの実施形態では、約 50 % より大、または約 55 % より大、または約 60 % より大、または約 65 % より大、または約 70 % より大、または約 75 % より大、または約 80 % より大、または約 85 % より大、または約 90 % より大、または約 95 % より大、または約 98 % より大、または約 99 % より大のターゲットとなる分析物が、界面に分割される。いくつかの実施形態では、約 99 % より大、または約 99 . 1 % より大、または約 99 . 2 % より大、または約 99 . 3 % より大、または約 99 . 4 % より大、または約 99 . 5 % より大、または約 99 . 6 % より大、または約 99 . 7 % より大、または約 99 . 8 % より大、または約 99 . 9 % より大のターゲットとなる分析物が、界面に分割される。

10

【 0 1 4 5 】

いくつかの実施形態では、デバイスは、1つのプローブを備えるか、利用するように構成されている。及び/または、デバイス上で実行されるアッセイが、1つのプローブを利用する。いくつかの実施形態では、少なくとも2の異なるプローブ、または少なくとも3の異なるプローブ、または少なくとも4の異なるプローブ、または少なくとも5の異なるプローブ、または少なくとも7の異なるプローブ、または少なくとも10の異なるプローブ、または少なくとも15の異なるプローブ、または少なくとも20の異なるプローブを、デバイスが備えるか、利用するように構成されている、及び/または、デバイス上で実行されるアッセイが利用する。

20

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態では、プローブは、合成ポリマ、金属、ミネラル、ガラス、石英、セラミック、生体ポリマ、プラスチック、及び/またはそれらの組合せの1つまたは複数を備えている。いくつかの実施形態では、プローブは、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン (DELRIN (登録商標))、ポリテトラフルオロエチレン (TEFLON (登録商標))、デキストラン、及びポリ塩化ビニルを備えたポリマを備えている。いくつかの実施形態では、ポリエチレンはポリエチレングリコールである。いくつかの実施形態では、ポリプロピレンはポリプロピレングリコールである。いくつかの実施形態では、プローブは、コラーゲン、セルロース、及び/またはキチン質の1つまたは複数を含む生体ポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、プローブは、金、銀、白金、チタン、ステンレス鋼、アルミニウム、またはそれらの合金の1つまたは複数を含む金属を含んでいる。いくつかの実施形態では、プローブは、ナノ粒子 (たとえば、金のナノ粒子、銀のナノ粒子など) を含んでいる。

30

【 0 1 4 7 】

いくつかの実施形態では、プローブは、コーティングをさらに含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、ポリエチレングリコールまたはポリプロピレングリコールを含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、ポリプロピレンを含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、ポリプロピレングリコールを含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、デキストランを含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、親水性タンパク質を含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、血清アルブミンを含んでいる。いくつかの実施形態では、コーティングは、第1の相溶液または第2の相溶液に関する親和性を有している。

40

【 0 1 4 8 】

いくつかの実施形態では、サンプル内のターゲットとなる分析物の量は極めて少なく、それにより、分析物が、LFAまたはフロースルーアッセイによる検出を可能にするよう

50

に、実質的に濃縮される必要があるようになっている。特定の実施形態では、実質的な濃縮は、界面で達成されるが、この理由は、分析物の濃縮の度合いが、分析物が分割されるか濃縮される相の体積に依存し、界面における「体積 ( volume )」がバルクの相に対して極めて小さいためである。

#### 【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態では、プローブは、ターゲットとなる分析物を界面に向けるために、優先的に ( たまは過度に )、界面に分割される。いくつかの実施形態では、プローブは、その表面の化学的性質に起因して、優先的に ( たまは過度に )、界面に分割され、表面の化学的性質は、プローブを界面に向けるために最適化されている。非限定的例として、プローブ - 分析物の複合物を、ポリエチレングリコール - リン酸カリウム ( PEG / 塩 ) システムなどの、ポリマ - 塩の ATPS システムの界面に向けるために、プローブは、PEG に結合され ( または PEG 化され ) て、PEG が豊富な相との PEG - PEG 相互作用を促進する、及び / または、親水性タンパク質で装飾されて、PEG が少ない相との親水性の相互作用を促進する。そのような、特定の抗体または他の分子で装飾された、最適化されたプローブは、ターゲットに結合することが可能であり、ターゲットとなる分析物は、界面において捕獲され、収集される。界面の体積が非常に小さいことから、分析物は、高度に濃縮され、その後の LFA または、フロースルーアッセイの検出領域に適用される。

10

#### 【 0 1 5 0 】

いくつかの実施形態では、金のナノプローブ ( GNP ) は、PEG / 塩の ATPS の界面に分割することが可能であるように、準備される。動作条件は、GNP / 分析物の極めて高いリカバリで、相分離時間を速くすることを可能にするように最適化されている。

20

#### 【 0 1 5 1 】

いくつかの実施形態では、プローブ - 分析物の複合物は、ATPS の固体 - 液体の界面に分割される。いくつかの実施形態では、固体は、ATPS を含むチャンバの壁である。いくつかの実施形態では、固体は、アッセイデバイスのコレクタである。いくつかの実施形態では、固体は、固体ポリマを含んでいる。いくつかの実施形態では、固体ポリマは、ポリエチレン、セルロース、キチン質、ナイロン、ポリオキシメチレン ( DELRIN ( 登録商標 ) )、ポリテトラフルオロエチレン ( TEFLOON ( 登録商標 ) )、ポリ塩化ビニル、またはそれらの組合せを含んでいる。いくつかの実施形態では、固体ポリマは、ポリプロピレンを含んでいる。いくつかの実施形態では、プローブ - 分析物の複合物は、固体に密着し、固体と液体との界面におけるわずかな体積内に存在していることから、高度に濃縮されており、バルク相の体積によっては希釈されていない。いくつかの実施形態では、バルク相は、LFA またはフロースルー・アッセイ・デバイスのための後のアプリケーションで、濃縮した分析物を乱すことなく、除去され、洗浄することによって収集される。いくつかの実施形態では、このアプローチは、分析物を著しく濃縮し、外部の力 ( たとえば、磁石 ) を使用することなく、収集することを可能にする。代替的には、プローブは、磁性材料を含み、このアプローチは、磁石を伴って使用される。いくつかの実施形態では、これらプローブは、極度な分析物の濃縮のために、界面において濃縮するように変化させられる。上述のように、このアプローチにより、磁石を使用することで、ターゲットとなる分析物を、ATPS によっては特別濃縮されていない他の汚染物質からさらに分離することができる。いくつかの実施形態では、ATPS の濃縮により、磁性プローブが最初に、特定の位置 ( 界面 ) において、非常に小さい体積内に濃縮されることから、磁性プローブがより有効に作用することが可能になる。したがって、より小さい磁石またはより弱い磁界が、濃縮された分析物を収集するのに必要とされることになる。いくつかの実施形態では、ATPS 界面の濃縮の、磁性プローブとの組合せにより、現在の最新技術に比べ、より効率的で、迅速で、より安価なデバイスの構築が可能になる。

30

40

#### 【 0 1 5 2 】

結合半体

いくつかの実施形態では、結合半体は、ターゲットとなる分析物 ( たとえば、バクテリ

50

ア、菌、ウイルスなど)に結合する分子である。いくつかの実施形態では、結合半体は、ターゲットとなる分析物を特に結合する分子である。いくつかの実施形態では、「特に結合する(specifically binds)」は、分子が優先的にターゲットとなる分析物に結合するか、他の分子よりも高い親和性でターゲットとなる分析物に結合することを示している。非限定的例として、抗体は、この抗体が反応したアンチゲンに選択的に結合することになる。やはり、非限定的例として、DNA分子は、実質的に相補的配列に結合することになり、ストリンジェントな条件下で、関係ない配列には結合しない。いくつかの実施形態では、「特異的結合(specific binding)」は、分子の異種集団(たとえば、タンパク質及び他の生物製剤)における、ターゲットとなる分析物の存在の決定因である結合反応に言及し得る。いくつかの実施形態では、結合半体は、その特定のターゲットとなる分析物に結合し、大部分では、サンプル内に存在する他の分子には結合しない。

10

#### 【0153】

いくつかの実施形態では、結合半体は、抗体、レクチン、タンパク質、糖タンパク質、核酸、モノマの核酸、ポリマの核酸、アプタマー、アプタザイム(aptazyme)、小分子、ポリマ、レクチン、炭水化物、多糖、糖質、脂質、またはそれらの任意の組合せを含んでいる。いくつかの実施形態では、結合半体は、ターゲットとなる分析物との結合対を形成することが可能である分子である。

#### 【0154】

いくつかの実施形態では、結合半体は、抗体または抗体の断片である。抗体の断片は、限定ではないが、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、Fv'、Fd、Fd'、scFv、hsFvの断片、cameloid抗体、二重特異性抗体、及び、以下に記載する他の断片を含んでいる。

20

#### 【0155】

いくつかの実施形態では、「抗体(antibody)」は、免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子の断片によって実質的にエンコードされた1つまたは複数のポリペプチドで構成されたタンパク質に言及している。本明細書で使用される場合、「抗体(antibody)」及び「免疫グロブリン(immunoglobulin)」との用語は、別様に特定されていない限り、相互交換可能に使用される。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子は、免疫グロブリン定常域遺伝子である。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子は、非限定的実施例により、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、またはミューの定常域遺伝子である。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子は、免疫グロブリン可変域遺伝子である。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子は、軽鎖を含んでいる。いくつかの実施形態では、軽鎖は、カッパ軽鎖、ラムダ軽鎖、またはそれらの組合せを含んでいる。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子は、重鎖を含んでいる。いくつかの実施形態では、重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロンに分類され、ひいては、それぞれIgG、IgM、IgA、IgD、及びIgEの免疫グロブリンの分類に対応する。

30

#### 【0156】

いくつかの実施形態では、免疫グロブリンは、テトラマーを含んでいる。いくつかの実施形態では、テトラマーは、2つの同一のポリペプチド鎖の対で構成されており、各対は、1つの「軽(light)」鎖(約25kDa)と1つの「重(heavy)」鎖(約50~70kDa)を有している。いくつかの実施形態では、各鎖のN末端は、主にアンチゲンの認識を担う、約100から110以上のアミノ酸の可変領域を規定する。可変軽鎖(V<sub>L</sub>)と可変重鎖(V<sub>H</sub>)とは、それぞれ、これら軽鎖と重鎖とに言及する。

40

#### 【0157】

いくつかの実施形態では、抗体は、完全な免疫グロブリンスを備えている。いくつかの実施形態では、抗体は、様々なペプチダーゼでの分解によって生じる、複数の良好に特徴付けられた断片を備えている。いくつかの実施形態では、ペプチダーゼはペプシンである。いくつかの実施形態では、ペプシンは、ヒンジ領域のジスルフィド結合を分解して、そ

50



れ自体が、ジスルフィド結合によって  $V_H - C_H 1$  に結合される軽鎖である  $Fab$  の二量体の  $F(ab)'_2$  を生成する。いくつかの実施形態では、 $F(ab)'_2$  は、穏やかな条件下では、低減されて、ヒンジ領域のジスルフィド結合を破断し、それにより、 $(Fab')_2$  二量体を  $Fab'$  のモノマに変換する。いくつかの実施形態では、 $Fab'$  のモノマは、基本的に、ヒンジ領域の一部とともに  $Fab$  で構成される。いくつかの実施形態では、 $Fab'$  の断片は、化学的に、または組換え DNA 手順を利用することにより、新規に合成される。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、抗体全体の変化によって生成される。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、組換え DNA 手順を使用することにより、新規に合成される。いくつかの実施形態では、抗体は、単鎖抗体（単一のポリペプチド鎖として存在する抗体）を含んでいる。いくつかの実施形態では、抗体には、単一鎖の  $Fv$  抗体（ $sFv$  または  $scFv$ ）が含まれ、その中で、可変重鎖と可変軽鎖とがともに（直接、またはペプチドリinkerを通して）結合して、連続したポリペプチドを形成する。いくつかの実施形態では、抗体は、単鎖の  $Fv$  抗体を含んでいる。いくつかの実施形態では、抗体は、直接結合されるか、ペプチドをコードするリンカーによって結合される、 $V_H$  - 及び  $V_L$  - をコードする配列を含む核酸から現れる場合がある、共有結合した  $V_H$  -  $V_L$  のヘテロダイマーを含んでいる。いくつかの実施形態では、 $V_H$  と  $V_L$  とは、単一のポリペプチド鎖として互いに接続されているか、 $V_H$  のドメインと  $V_L$  のドメインとが共有結合ではなく関連している。いくつかの実施形態では、 $Fab$  は、相上に表示され、ここで、1つの鎖（重鎖または軽鎖）が、 $g3$  キャプシドタンパク質に融合し、相補鎖が溶解性分子として周辺質に出される。いくつかの実施形態では、2つの鎖は、同じか異なるレプリコンをコードすることができる。いくつかの実施形態では、各  $Fab$  分子の2つの抗体鎖は、翻訳後に組み合わせられ二量体は、ファージ粒子に、各鎖の1つの結合を介して、たとえば  $g3p$  に、組み込まれる。いくつかの実施形態では、抗体は、ファージまたはイースト上に表示されている。

#### 【0158】

いくつかの実施形態では、抗体の断片は、完全な抗体のタンパク質消化を介して得られる。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、組み換えられた宿主細胞によって直接生成される。いくつかの実施形態では、 $Fab$ 、 $Fv$ 、または  $scFv$  の抗体の断片は、大腸菌に現れるとともに、大腸菌から分泌され、このため、これらを大量に、容易に生成することが可能になる。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、抗体のファージのライブラリから絶縁されている。いくつかの実施形態では、 $Fab' - SH$  の断片は、大腸菌から直接リカバーすることができ、また、 $F(ab')_2$  の断片を形成するように化学的に結合することができる。いくつかの実施形態では、 $F(ab')_2$  の断片は、組み換えられた宿主細胞の培養菌から直接絶縁される。いくつかの実施形態では、 $Fab$  及び  $F(ab')_2$  の断片は、生体内での半減期が増大している。いくつかの実施形態では、 $Fab$  及び  $F(ab')_2$  の断片は、サルベージレセプタ結合エピトープ残留物を含んでいる。抗体の断片の生成のための他の技術は、当業者には明らかとなるであろう。特定の実施形態では、選択された抗体は、単鎖の  $Fv$  断片である。いくつかの実施形態では、 $Fv$  または  $sFv$  は、定常領域を有していない、完全な結合場所を有している。このため、生体内での使用の間、低減された非特異的結合に適切である。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、「線形抗体 (linear antibody)」である。いくつかの実施形態では、抗体の断片は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、線形抗体の断片は、二重特異性である。

#### 【0159】

いくつかの実施形態では、抗体の断片は、二重特異性抗体である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、二価または二重特異性である場合がある、2つのアンチゲン結合場所を有する抗体の断片である。

#### 【0160】

いくつかの実施形態では、抗体の断片は、単一ドメインの抗体である。いくつかの実施形態では、単一ドメインの抗体は、抗体の、重鎖可変ドメインのすべて若しくは一部、ま

10

20

30

40

50

たは、軽鎖可変ドメインのすべて若しくは一部を含む抗体の断片である。特定の実施形態では、単ドメインの抗体は、人間の単ドメインの抗体である。

#### 【0161】

特定の実施形態では、結合半体は、アプタマーを含んでいる。いくつかの実施形態では、アプタマーは、核酸から形成された抗体アナログを含んでいる。いくつかの実施形態では、アプタマーは、ナノ-CH<sub>2</sub>EM-FETなどの、ラベルの結合をいくつかのアッセイで検出することを必要としない。ここでは、再構成が直接検出されることになる。いくつかの実施形態では、結合半体は、アプタザイム (aptazyme) を含んでいる。いくつかの実施形態では、アプタザイムは、核酸から形成された、酵素アナログを含んでいる。いくつかの実施形態では、アプタザイムは、第2の、特定の分析物が存在する場合にのみ、特定の分子を確保するように構成を変化させるように機能する。

10

#### 【0162】

いくつかの実施形態では、プローブは、検出可能なラベルを含んでいる。検出可能なラベルには、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的、または化学的手段によって検出可能な任意の組成が含まれる。例示的な、有用なラベルには、限定ではないが、蛍光性ナノ粒子（たとえば、量子ドット (Qdot)）、限定ではないが、金ナノ粒子、銀ナノ粒子、白金ナノ粒子を含む金属ナノ粒子、蛍光性染料（たとえば、フルオロセイン、テキサス赤色、ローダミン、緑色蛍光性タンパク質など。たとえば、Molecular Probes, Eugene, Oregon, USAを参照）、放射能ラベル（たとえば、<sup>3</sup>H、<sup>125</sup>I、<sup>35</sup>S、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>99</sup>Tc、<sup>203</sup>Pb、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>72</sup>As、<sup>111</sup>In、<sup>113m</sup>In、<sup>97</sup>Ru、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>LiCu、<sup>52</sup>Fe、<sup>52m</sup>Mn、<sup>51</sup>Cr、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>77</sup>As、<sup>90</sup>Y、<sup>67</sup>Cu、<sup>169</sup>Er、<sup>121</sup>Sn、<sup>127</sup>Te、<sup>142</sup>Pr、<sup>143</sup>Pr、<sup>198</sup>Au、<sup>199</sup>Au、<sup>161</sup>Tb、<sup>109</sup>Pd、<sup>165</sup>Dy、<sup>149</sup>Pm、<sup>151</sup>Pm、<sup>153</sup>Sm、<sup>157</sup>Gd、<sup>159</sup>Gd、<sup>166</sup>Ho、<sup>172</sup>Tm、<sup>169</sup>Yb、<sup>175</sup>Yb、<sup>177</sup>Lu、<sup>105</sup>Rh、<sup>111</sup>Agなど）、酵素（たとえば、ホース・ラディッシュ・ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、及び、ELISAで一般的に使用される他のもの）、様々な比色定量ラベル、磁性または常磁性ラベル（たとえば、磁性及び/または常磁性ナノ粒子）、スピンラベル、放射能不透過性ラベルなどが含まれる。

20

30

#### 【0163】

代替的または追加的に、プローブは、検出可能なラベルを含む別の粒子に結合することができる。いくつかの実施形態では、プローブは、検出ゾーン（たとえば、テストライン、制御ライン、テスト領域、制御領域）において検出可能な信号を提供する。いくつかの実施形態では、検出可能なラベル/特性には、比色定量のラベル/特性、蛍光性のラベル/特性、酵素のラベル/特性、熱発生のラベル/特性、及び/または放射性的のラベル/特性の1つまたは複数が含まれる。いくつかの実施形態では、プローブは、金ナノ粒子であり、検出可能な特性は色である。いくつかの実施形態では、色はオレンジ、赤、または紫である。

#### 【0164】

##### サンプルの収集

40

様々な実施形態では、本明細書に記載のデバイス及び方法を使用してアッセイされるサンプルには、生物学的サンプルが含まれる。例示的な生物学的サンプルは、限定ではないが、血液または血液画分、リンパ液、髄液、精液、尿、口腔液、腔液などの生体液、組織のサンプル、プラークのサンプル、腔のスワブのサンプル、子宮頸管内のスワブのサンプル、細胞のサンプル、組織または器官のバイオプシーまたは吸引、組織学的標本などが含まれる。

#### 【0165】

生物学的サンプルが組織を含む場合、特定の実施形態では、組織は、溶解されるか、一様にされるか、及び/またはつぶされ、また、任意選択的には、サンプル溶液内に懸濁される場合がある。生物学的サンプルが生物学的流体を含む場合、液体は、直接アッセイさ

50

れ得るか、アッセイの前にサンプル溶液内に懸濁され得る。特定の実施形態では、サンプル溶液は、生物学的サンプル若しくはその構成要素を保つか安定させるように作用する場合があります、及び／または、生物学的サンプル若しくはその構成要素を抽出するか濃縮するように作用する場合があります。特定の実施形態では、サンプル溶液は、任意選択的には保存料を含む、バッファ、及び／または酵素（プロテアーゼ、ヌクレアーゼなど）、及び／または表面活性剤、及び／または A T P S 構成要素を含み得る。

#### 【 0 1 6 6 】

特定の実施形態では、特定のポイントオブケアの実施形態では、サンプルは、すぐに、または適度な時間のインターバルの後に、アッセイデバイスに適用され得る。特定の実施形態では、サンプルは、アッセイが実行している遠位のテスト施設に搬送され得る。

10

#### 【 0 1 6 7 】

生物学的サンプルを収集するための方法及びデバイスは、たとえば以下に示すように、当業者にはよく知られている。

#### 【 0 1 6 8 】

##### 口腔液の収集

口腔液は、空のガラス瓶内への垂涎によって収集することができ、次いで、その液体をアッセイの濃縮構成要素に搬送する。

#### 【 0 1 6 9 】

口腔液は、スワブ及び／または収集パッドを使用して収集することもできる。たとえば、スワブまたは収集パッドは、ユーザの口の中に置いて、口腔液を吸い取ることができる。スワブまたは収集パッドは、口腔液の生成を刺激するように、ペパーミントの抽出物または酸っぱい抽出物などの合成物を含み得る。スワブまたは収集パッドは、下流の濃縮及び検出ステップに影響し得る、食物のゴミ、汚染物質、または粘液を除去するためのフィルタとしても作用し得る。特定の実施形態では、スワブまたは収集パッド内の口腔液は、濃縮のために、抽出されるとともに、水性の 2 相の構成要素（A T P S）の構成要素と混合され得る。収集デバイスからの口腔液の抽出は、たとえば、スワブ／パッドに物理的圧力を適用して液体を絞り出すこと、または、流体を濃縮構成要素に導入するための毛管作用によって達成することができる。別の構成は、スワブまたは収集パッドの下流で脱水される A T P S 構成要素に対応し、それにより、ユーザによるさらなる相互作用が不要になっている。

20

30

#### 【 0 1 7 0 】

##### プラークの収集

プラークは、歯の表面上、下の歯茎、または歯の間でのブラシ、スワブ、またはピックによって収集することができる。特定の実施形態では、収集されたプラークは、次いで、後の濃縮のために、バッファまたは A T P S 溶液内で混合され得る。

#### 【 0 1 7 1 】

##### 尿の収集

様々な実施形態では、尿は、収集カップで得ることができる。収集された尿は、次いで、後の濃縮のために A T P S 溶液内で混合されるか、A T P S 構成要素が濃縮構成要素内で脱水されている場合、デバイス上に直接適用される。カテーテルが挿入された患者では、尿は、カテーテルからか、カテーテル受領バッグから得ることができる。

40

#### 【 0 1 7 2 】

##### 膣／子宮頸管内のスワブ

膣若しくは頸部表面上、及び／または、膣液内のターゲットとなる分析物、市販のスワブによって収集することができる。収集したスワブは、ターゲットを放すように、バッファ内におかれるか、ターゲットの生体分子の直接の濃縮のために、A T P S 溶液内に置かれる。

#### 【 0 1 7 3 】

##### 血液の収集

血液は、ピン（ランセット）の針、毛細管内への収集、注入器などによって収集され得

50

る。

【0174】

例示的な分析物

基本的に任意の分析物が、本明細書に記載のアッセイデバイス及び方法を使用して検出及び／または評価されるが、特定の実施形態では、分析物は、診療上関連する分析物（たとえば、バクテリア、菌、単細胞動物、アメーバ、ウイルスなど）である。

【0175】

診療上関連するターゲットは、当業者にはよく知られている。

【0176】

腔液内の、診療上重要なバクテリア

10

腔液または組織サンプル内のトリコモナスバギナリス、細菌性腔症、及びアクチノミセス感染を見つけるために、塗抹試験により、他の診断テストを実施することなく、処置のための通知を考慮する場合がある。自覚症状のない感染の処置により、選択された患者の混乱を防止することができる。カンジダは、腔においては、共生的なバクテリアであり得、したがって、自覚症状のない患者は、処置を必要としない場合がある。子宮内避妊器具（IUD）のユーザの、トリコモナスバギナリス及びカンジダの感染症の高い確率での検出により、IUDが、腔感染症及び関連する合併症のリスクを増大し得ることが示されている。

【0177】

淋疾は、生物の淋菌によって生じるバクテリア感染症であり、臨床上、重大な病原菌である。同様に、トラコーマ病原体によって生じるクラミジア、及び、梅毒トレポネーマによって生じる梅毒は、重大な性感染症であり、迅速な診断が望ましい。

20

【0178】

尿内の、診療上重要なバクテリア

大腸菌及びプロテウスsp.は、尿内に見られた場合、通常は尿路感染症を示す、バクテリアによる病原菌である。

【0179】

口腔内の、診療上重要なバクテリア

グラム陰性の口腔嫌気菌は、しばしば、歯周疾患と関連付けられ、いくつかの種は、他の物より頻繁に関連付けられる。そのような嫌気菌には、限定ではないが、プレボテラ種（たとえば、Pr.intermedia、Pr.Nigrescens、Pr.Melaninogenica、Pr.Veroralis）、及び、ポルフィロモナス種（たとえば、Porphy.Gingivalis）が含まれる。

30

【0180】

さらなるストレプトコッカス・ミュータンスは、齲蝕の形成に関連している。この時点で開示されている、さらなる診療上重大なバクテリアには、限定ではないが、Actinomyces viscosus、Lactobacillus casei、Staphylococcus aureus、Candida albicans、Lactobacillus acidophilus、Capnocytophaga gingivalis、Fusobacterium nucleatum、またはBacterioides forsythusが含まれる。

40

【0181】

これら病原菌は、例示的なものであり、限定的ではないことを理解されたい。当業者は、本明細書に記載のアッセイデバイス及び方法は、複数の他の分析物の検出及び／または計量に使用することができることを理解するであろう。

【0182】

キット

特定の実施形態では、キットは、本明細書に記載のデバイスの使用及び／または方法の実施のために提供される。特定の実施形態では、分析物の検出及び／または計量のためのキットが提供され、ここでは、キットは、本明細書に記載のアッセイデバイスを含むコン

50

テナを備えている。特定の実施形態では、キットは、サンプルを収集するための収集デバイスをさらに含んでいる。特定の実施形態では、収集デバイスは、口腔液を収集するためのデバイス、血液を収集するためのデバイス、尿収集デバイス、腔液を収集するか、腔のスワブ若しくは子宮頸管内のスワブから収集するためのデバイス、または、環境サンプルを収集するためのデバイスを備えている。

#### 【0183】

特定の実施形態では、キットは、バッファ、溶剤、ATPSシステムの構成要素、検出反応物などの反応物をさらに含んでいる。

#### 【0184】

特定の実施形態では、キットは、その中に提供されるアッセイデバイスの使用方法（たとえば、プロトコル）を提供する、教示的材料をさらに含んでいる。しばしば、通常は、教示的材料は、記述された形態で提供され、キットの構成要素自体にプリントすることができる（たとえば、ボックス、コンテナのカバー上、または封筒上）か、インサート/教示頁またはブックレットとして提供され得る。教示的材料が通常は、記述されたかプリントされた材料を含んでいるが、そのような形態には限定されない。そのような教示を記録し、それらをエンドユーザに伝えることが可能である任意の媒体が考慮される。そのような媒体には、限定ではないが、電子記録媒体（たとえば、磁気ディスク、テープ、カートリッジ、チップ、フラッシュメモリ）、光媒体（たとえば、CD ROM）などが含まれる。そのような媒体には、そのような教示的材料を提供するインターネットサイトへのアドレスが含まれる場合がある。

10

20

#### 【0185】

##### 実施例

以下の実施例は、請求される発明を説明するために与えられるものであり、限定するものではない。

#### 【0186】

##### 実施例 1

##### ストレプトコッカス・ミュータンスの検出

##### 目的

我々は、ATPS及びLFAを、齧蝕（キャビティ）につながり得る支配的なバクテリアである、ストレプトコッカス・ミュータンス（ミュータンス菌）を検出するために使用される単一の紙ベースの診断デバイスに組み込んだ。予め、我々は、ミュータンス菌の10倍の濃縮を達成し、LFAの検出限界を10倍だけ向上させるために、ミセルのATPSを使用することが可能であった。これら研究では、このプロセスのために、他のシステムを試験した。具体的には、試験管溶液内で、ミセルのATPS及びポリエチレングリコール（PEG）/塩のATPSよりも、相がより迅速に分かれる、PPG/塩のATPSを調査した。PPG/塩のATPSは、やはり、相の分離を達成するのに、塩をほとんど必要とせず、これにより、生体分子がプローブに結合し、プローブがテストラインにおいて結合するのに、さらにより適切な環境が提供される。

30

#### 【0187】

##### 方法及び材料

##### 抗ミュータンス菌DGNPの準備

1 mLのデキストランでコートされた金ナノ粒子（DGNP）溶液のpHは、最初は、1.5 NのNaOHを使用して、pH 9に調整した。次いで、16 µgのマウスモノクローナルのミュータンス菌抗体を、金溶液に添加し、シェーカ上で30分混合した。他のタンパク質の、コロイド性の金のナノ粒子の表面への非特異的結合を防止するために、10% w/vのウシ血清アルブミン（BSA）溶液を200 µL、混合物に添加し、シェーカ上で20分混合した。フリーな、結合していない抗体を除去するために、混合物は、次いで、4、9000 rpmで、30分、遠心分離機にかけ、後に、DGNPのペレットを1% w/vのBSA溶液200 µL内に再び懸濁させた。遠心分離及び再懸濁のステップは、さらに2回繰り返した。3回目の遠心分離の後にDGNPのペレットを、pH 9.0

40

50

における 0.1 M のホウ酸ナトリウムバッファ 100  $\mu$ L に再懸濁させた。

#### 【0188】

LFA を使用した検出

挟み込んだアッセイのフォーマットを利用する LFA テストストリップは、2015 年 3 月 6 日に出願された、同時継続中の PCT 出願番号第 PCT/US2015/019297 に記載の、我々の以前の研究と同様の方式で組み立てた。この文献は、本明細書に記載のアッセイのフォーマット及び反応物に関して参照することにより、本明細書に組み込まれる。このフォーマットで、固定されたミュータンス菌の抗体により、テストラインが構成され、一次抗体に対して特異性の固定された二次抗体が、制御ラインを構成した。

#### 【0189】

LFA でのミュータンス菌の検出限界を評価するために、DGNP を、サンプル溶液に添加し、サンプル内に存在するミュータンス菌を結合させた。いくつかの唾液、DGNP、及び、既知の濃度のミュータンス菌を含むサンプルの懸濁液を、試験管内で混合した。LFA テストストリップを、各サンプル懸濁液内に垂直に挿入した。サンプル懸濁液は、毛細管作用を介して、ストリップを通して、吸収性パッドに向かって吸い上げられる。テストストリップのイメージは、制御された光環境で 10 分後に取得した。

#### 【0190】

ATPS を伴う、LFA を使用した検出

底の相に対する頂部の相の体積比が 60 : 1 である、PPG / リン酸カリウムの ATPS サンプル溶液を準備した。この溶液は、既知の濃度のミュータンス菌で構成されている。ATPS サンプル溶液は、室温で 10 分培養して、相の分離を生じさせた。濃縮したミュータンス菌を含んだ、底の PEG が少ない相を、抽出し、抗ミュータンス菌 DGNP で培養した。LFA テストストリップは、結果として得られた混合物内に垂直に挿入した。テストストリップのイメージは、制御された光環境で 10 分後に取得した (図 5)。

#### 【0191】

我々は首尾よく、新規の ATPS を使用してミュータンス菌を濃縮し、濃縮倍率を、10 倍から 60 倍にかなり向上させた。相の分離の時間も、(ミセルの ATPS を含む試験管の溶液における) 数時間から、(PPG / 塩の ATPS を含む試験管の溶液における) わずか 10 分に向上させた。次いで、我々は、この向上を後の検出ステップに適用し、LFA の検出限界を 60 倍向上させ (図 5)、 $1 \times 10^5$  セル / mL に達したことを示した。

#### 【0192】

実施例 2

ブラーク内のストレプトコッカス・ミュータンスの検出

目的

我々は、ブラーク内のミュータンス菌の検出の実現可能性を調査した。

#### 【0193】

方法及び材料

爪楊枝を、患者からブラークを抽出するために使用した。収集したブラークは次いで、リン酸緩衝食塩水 (PBS) に溶解させた。上述のように準備した LFA のテストストリップを、結果として得られた溶液に適用した。テストストリップのイメージは、制御された光環境で 10 分後に取得した。

#### 【0194】

結果

図 6 は、4 人の患者からのブラーク内のミュータンス菌の検出を示す図である。より高いテストラインの強度は、患者内のより高いミュータンス菌の濃縮を示している。

#### 【0195】

図 7 は、歯磨きの前後のブラーク内のミュータンス菌の検出を示す図である。この結果により、歯磨きが、ミュータンス菌を除去することと、齲蝕の形成のリスクを低減することにおいて有効であることが示された。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 9 6 】

## 実施例 3

## クラミジアの検出

## 目的

我々は、A T P S 及び L F A を、患者の尿または患者のスワブサンプル内の、トラコーマ病原体（トラコーマ病原体）を検出するために使用され得る、単一の紙ベースの診断デバイスに組み込んだ。

## 【 0 1 9 7 】

## 方法及び材料

## 抗トラコーマ病原体 D G N P の準備

1 m L のデキストランでコートされた金ナノ粒子（D G N P）溶液の p H は、最初は、1 . 5 N の N a O H を使用して、p H 9 に調整した。次いで、1 6 μ g のマウスモノクローナルのトラコーマ病原体の抗体を、コロイド性の金の懸濁液に添加し、シェーカ上で 3 0 分混合した。他のタンパク質の、コロイド性の金のナノ粒子の表面への非特異的結合を防止するために、1 0 % w / v のウシ血清アルブミン（B S A）溶液を 2 0 0 μ L、混合物に添加し、シェーカ上で 2 0 分混合した。フリーな、結合していない抗体を除去するために、混合物は、次いで、4 、9 0 0 0 r p m で、3 0 分、遠心分離機にかけ、後に、D G N P のペレットを 1 % w / v の B S A 溶液 2 0 0 μ L 内に再び懸濁させた。遠心分離及び再懸濁のステップは、さらに 2 回繰り返した。3 回目の遠心分離の後に D G N P のペレットを、p H 9 . 0 における 0 . 1 M のホウ酸ナトリウムバッファ 1 0 0 μ L に再懸濁させた。

10

20

## 【 0 1 9 8 】

## L F A を使用した検出

挟み込んだアッセイのフォーマットを利用する L F A テストストリップは、我々の以前の研究と同様の方式で組み立てた。このフォーマットで、固定されたトラコーマ病原体の抗体により、テストラインが構成され、一次のトラコーマ病原体の抗体に対して特異性の固定された二次抗体が、制御ラインを構成する。

## 【 0 1 9 9 】

L F A でのトラコーマ病原体の検出限界を評価するために、D G N P を、サンプル溶液に添加し、サンプル内に存在するトラコーマ病原体を結合させた。リン酸緩衝食塩水（P B S）内に D G N P を含む懸濁液と、P B S 内の既知の濃度のトラコーマ病原体を含む溶液とを試験管内で混合した。L F A テストストリップを、サンプル溶液内に垂直に挿入した。サンプル溶液は、毛細管作用を介して、ストリップを通過して上方に、吸収性パッドに向かって吸い上げられた。テストストリップのイメージは、制御された光環境で 1 0 分後に取得した。

30

## 【 0 2 0 0 】

## A T P S を伴う、L F A を使用した検出

底の相に対する頂部の相の体積比が 9 : 1 である、P E G / リン酸カリウムの A T P S サンプル溶液を準備した。この溶液は、既知の濃度のトラコーマ病原体で構成されている。A T P S サンプル溶液は、室温で 3 0 分培養して、相の分離を生じさせた。濃縮したトラコーマ病原体を含んだ、底の P E G が少ない相は、抽出し、抗トラコーマ病原体の D G N P で培養した。L F A テストストリップは、結果として得られた混合物内に垂直に挿入した。テストストリップのイメージは、制御された光環境で 1 0 分後に取得した。

40

## 【 0 2 0 1 】

## 結果

図 8 は、L F A のみの使用、及び、L F A を伴う A T P S の使用での P B S 内のトラコーマ病原体の検出を示す図である。図 9 は、トラコーマ病原体の陽性の患者から収集された臨床尿のサンプルの、F D A の認可がされ、商業利用可能であるクラミジア L F A と比較した、我々のデバイスの性能を示す図である。我々のデバイスは、真に正の結果（テストラインの存在）を提供することができるが、市販のテストは、誤った負の結果（テ

50

ストラインの欠如)を生じる。

#### 【0202】

##### 実施例4

脱水されたATPS構成要素を伴う、例示的診断デバイス

1つの例示の実施形態では、脱水されたATPSの診断デバイス(図11)は、2つの主要な構成要素で構成されている。ATPS再水和及び再可溶化に最適な吸い出し(ARROW)と標準的なLFAとである。例示的な実施形態では、5つのグラスファイバ・ペーパー・シートで構成されたARROWは、ともに積層した。ATPSの機能が、ターゲットとなる病原菌を濃縮することであることを考慮すると、ARROWが大量のサンプル溶液を吸い上げることが可能であることが重要であった。各シートは、最初に、サンプル溶液が流れる間に、トラコーマ病原体の非特異的結合を防止するために、BSAで予め処理している。予め処理した後に、15%(w/w)のリン酸カリウム20 $\mu$ Lを、各グラスファイバシートの上流部分で脱水した。一方、30 $\mu$ Lの10%(w/w)のPEG8000を各グラスファイバシートの下流部分で脱水した。このことは、脱水されたPEGと、シートの先端との間のブランク空間を残して、濃縮した病原菌を含む、PEGが少ない相の収集を可能にするには重要である。各シートの下流側の先端は、ポイントを形成するようにテーパが付され、これにより、液体の活性パッド内への適切な遷移が促進される。

10

#### 【0203】

比色インジケータを含む活性パッドで構成された診断器具のLFA部分は、一次抗体及び二次抗体がプリントされたニトロセルロース膜に接続し、次いで、吸収パッドに接続した。活性パッドのわずかな上流部分を、ARROW内でカットされたスリットに垂直にフィットさせることにより、LFA部分を、ARROWとつなぎ合わせた。

20

#### 【0204】

グラスファイバ紙のブランクのグラスファイバ領域のSEM画像(図11)は、多孔性のファイバベースのマトリクス構造を示している。脱水されたPEG及びリン酸カリウム領域により、ウェブ状の接続が追加された、同様の多孔性構造が示されている。この構造は、そのそれぞれのATPS構成要素の大部分を含むと考えられている。これら画像は、脱水のプロセスが、グラスファイバ紙の多孔性構造を著しく変形していないことを示している。この変形は、サンプル流体の適切な吸い上げに重要である。

30

#### 【0205】

PEG及びリン酸カリウムの再水和の順番の重要性

紙内の相の分離作用への、PEG及びリン酸カリウムの再水和の順番の影響を調査した。この調査を行うために、BSA-DGNP及びブリリアントブルー染料で構成された懸濁液を利用した。これにより、懸濁液が紙を通る際の相の分離プロセスの可視化が可能になった。簡単にいうと、BSA-DGNPが、赤紫色/明るい紫色によって示された、PEGが少ない相に分割される。一方、青い染料は、明るい青色によって示される、PEGが豊富な相に分割される。マクロ的に混合されたドメインの領域は、暗い青/暗い紫色によって示される、BSA-DGNPと青い染料との両方を含むものであった。グラスファイバ紙の準備の間、1つの状況により、脱水されたリン酸カリウムを、脱水されたPEGの上流に位置させ(「塩 PEG」と示した)、一方、他の状況により、脱水されたPEGを、脱水されたリン酸カリウムの上流に位置させ(「PEG 塩」と示した)るように、脱水されたATPS構成要素の位置を変更した。

40

#### 【0206】

これら結果(図12)から、我々は、2つの興味深い観測結果に注目している。第1に、導入の、PEGの少ない流体は、「PEG 塩」条件に比べ、「塩 PEG」条件では、著しく暗い赤紫色であり、「塩 PEG」条件が、導入流体内により多くのBSA-DGNPを含んでおり、したがって、大量の種を濃縮するのにより効果的であることを示している。第2に、図12に破線で示したエリアの、PEGが豊富な相は、「PEG 塩」条件のPEGが豊富な相に比べ、「塩 PEG」条件において、経時的に、著しく大きい

50



体積の増大を示した。このことは、「塩 PEG」条件において、新たに形成された PEG の少ないドメインが、混合されたドメインの領域を出ることが可能であり、より効率的に、後の PEG が豊富な相を通過し、導入の、PEG が少ない相に集まることを示唆している。このことは、PEG が豊富な相が、混合されたドメインの領域が小さくなるにつれて、より大きくなる結果となる。この現象に関する、1つの可能性のある理由は、導入の PEG が少ない相に接続された PEG が豊富な相内の、PEG の少ないチャンネルの形成である。多孔性媒体内における、複数相の流体の流れの調査により、粘性の小さい流体により、より粘度の高い流体を移動する際に、好ましいチャンネルを構築することになることがわかった。

#### 【0207】

統合された LFA と ARROW とを使用した、トラコーマ病原体の検出の向上した限界  
我々は、我々の ARROW の設計が、効果的にトラコーマ病原体のサンプル懸濁液を濃縮し、LFA に関する検出の限界を向上させる結果となったことを示した。これを行うために、我々は、ARROW 構成要素を伴うものと伴わないものに関し、トラコーマ病原体の様々な初期濃度のサンプル溶液を、LFA テストストリップに流した。LFA パネルの結果 (図 13) から、LFA のみのシステムが、約  $15.8 \text{ ng} / \mu\text{L}$  のトラコーマ病原体において、誤った負の結果を示し始め、一方、統合された LFA と ARROW とのシステムが、約  $1.58 \text{ ng} / \mu\text{L}$  のトラコーマ病原体において、誤った負の結果を示し始めたことがわかる。このことは、検出の限界が 10 倍向上したことを可視的に示している。

#### 【0208】

我々は、カスタマイズした MATLAB (プログラム) を使用して、LFA イメージ上のテストラインのピクセルのコントラストの評価も行った (図 14)。これにより、検出の限界の向上を定量的に評価することが可能になった。任意の所与の濃度のトラコーマ病原体に関し、LFA のみのシステムに比べ、統合された ARROW と LFA とのシステムに関し、テストラインの強度が著しく増大したことがわかる。たとえば、 $50 \text{ ng} / \mu\text{L}$  のトラコーマ病原体において、LFA のみの条件では、 $8.3 \pm 1.7$  のピクセルのコントラスト強度を有するが、統合された ARROW と LFA とは、 $37.6 \pm 0.6$  のピクセルのコントラスト強度を有していた。さらに、同じテストラインの強度  $8.3$  が、パネルに示された検出の限界 (LFA のみに関する  $50 \text{ ng} / \mu\text{L}$ 、及び、統合された ARROW と LFA とに関する  $5 \text{ ng} / \mu\text{L}$ ) において観測された、われわれのパネルの結果の確認も見られる。

#### 【0209】

我々は、これら量が実際、生理学的に関連することの証明を望んでいた。残りの臨床上の尿標本を使用して、(それ自体による)我々の尿ベースの LFA が、感度に乏しく、我々が、尿内のサンプルに関する QuickVue テストで得たものと合っている。しかし、尿ベースの LFA を ATPS と統合した場合、我々は、感度における著しい向上を示し、+の結果の、 $87.5\%$  ( $14/16$ ) CT+ の尿サンプルが認められる (表 2)。このヘッドとヘッドとの比較の実施例を、図 15 に示した。

#### 【0210】

【表 2】

表 2 残りの臨床上の尿サンプルにおける c t の検出における、F D A が適用された Q u i c k V u e の、相診断機器の L F A のみのテストと、相診断機器の L F A + A T P S のテストとの間の、性能の比較研究の概要。すべてのサンプルは、核酸増幅テスト (N A A T) により、c t + が確認された。冷凍サンプルとは対照的に、純粋な (n e a t) サンプルは、新しく集められたサンプルである。

| サンプル | タイプ | N A A T | Q u i c k V u e | 相の L F A | 相の L F A + A T P S |
|------|-----|---------|-----------------|----------|--------------------|
| 1    | 純粋  | +       | —               | +        | +                  |
| 2    | 純粋  | +       | —               | —        | +                  |
| 3    | 純粋  | +       | —               | —        | +                  |
| 4    | 純粋  | +       | —               | —        | +                  |
| 5    | 純粋  | +       | —               | —        | +                  |
| 6    | 純粋  | +       | —               | —        | +                  |
| 7    | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 8    | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 9    | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 10   | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 11   | 冷凍  | +       | —               | —        | —                  |
| 12   | 冷凍  | +       | —               | —        | —                  |
| 13   | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 14   | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 15   | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |
| 16   | 冷凍  | +       | —               | —        | +                  |

10

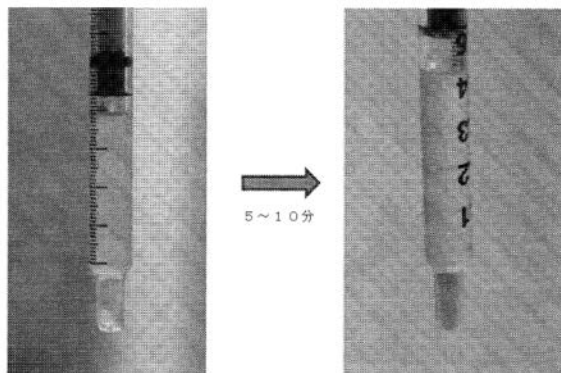
20

## 【0211】

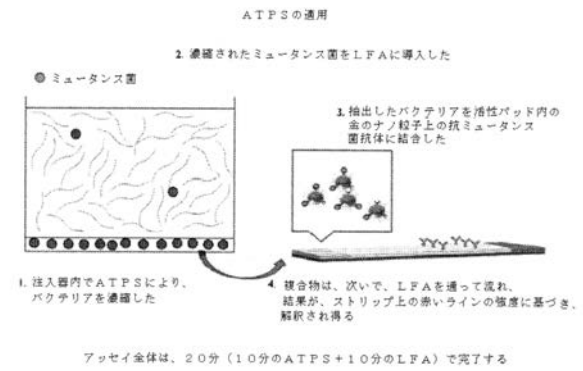
本明細書に記載の実施例及び実施形態は、もっぱら例示的目的のためのものであり、これら実施例及び実施形態に照らしてのその様々な変形及び変更が、当業者に提案されることになり、本出願の精神及び範囲、ならびに、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれることを理解されたい。本明細書に挙げられたすべての出版物、特許、及び特許出願は、すべての目的に関し、その全体を参照することにより、本明細書に組み込まれる。

30

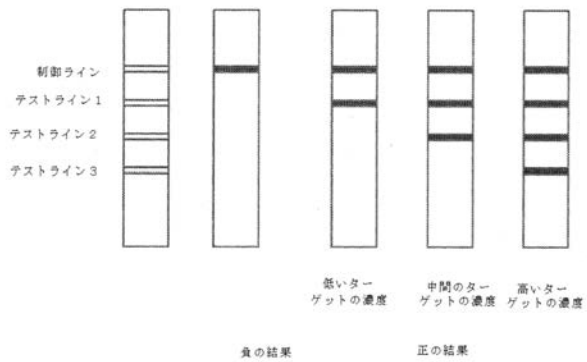
【図 1】



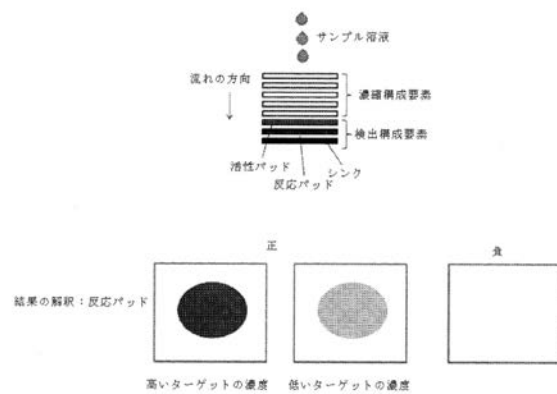
【図 2】



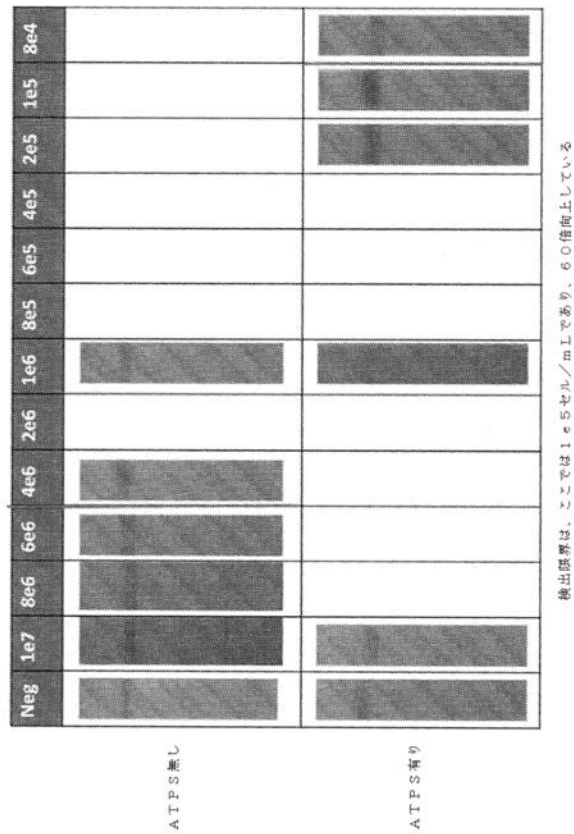
【図 3】



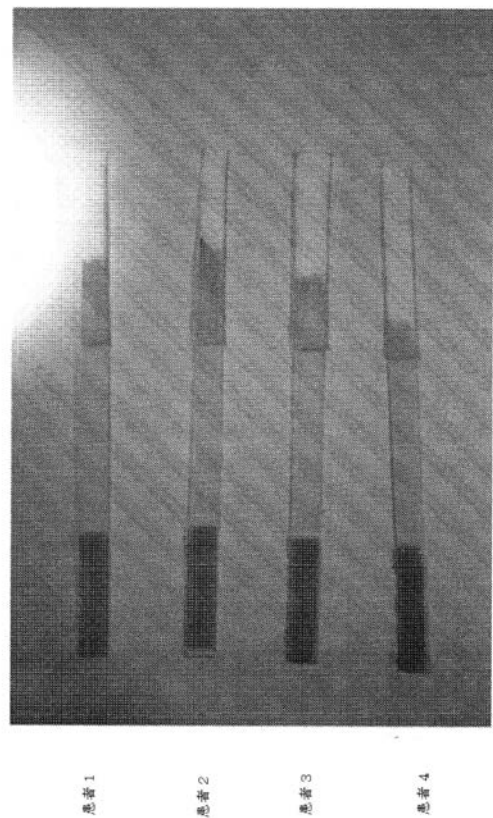
【図 4】



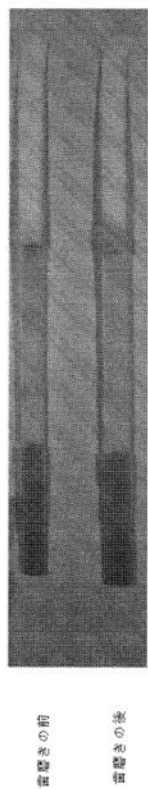
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

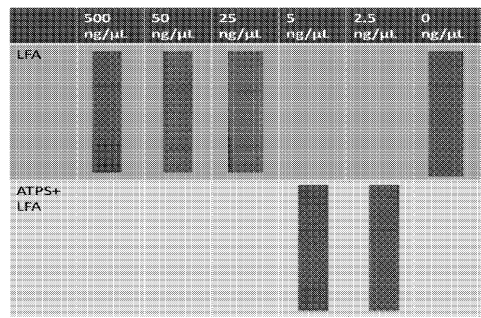


Fig. 8

【図 9】

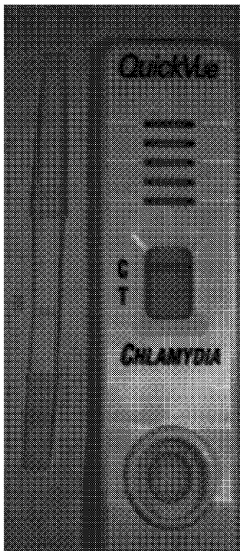
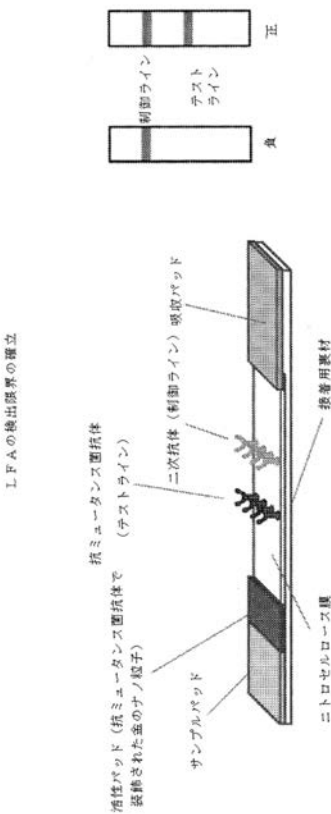
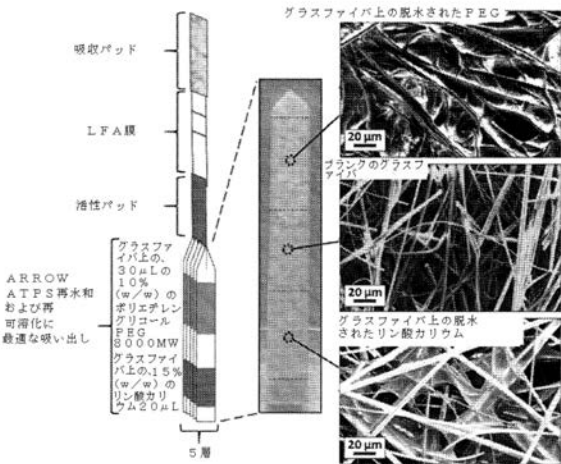


Fig. 9

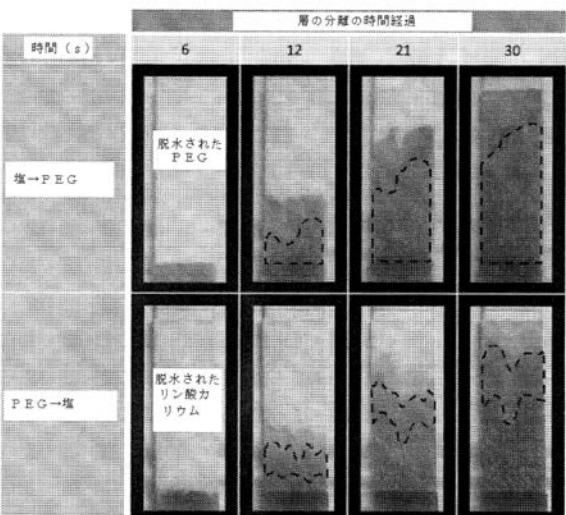
【図 10】



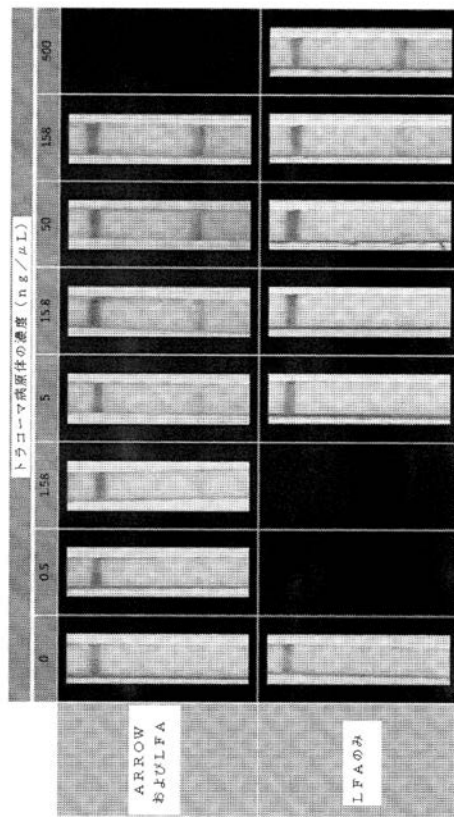
【図 11】



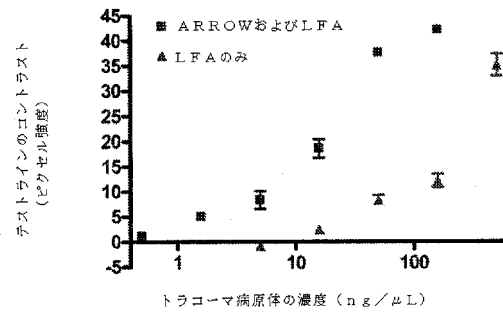
【図 12】



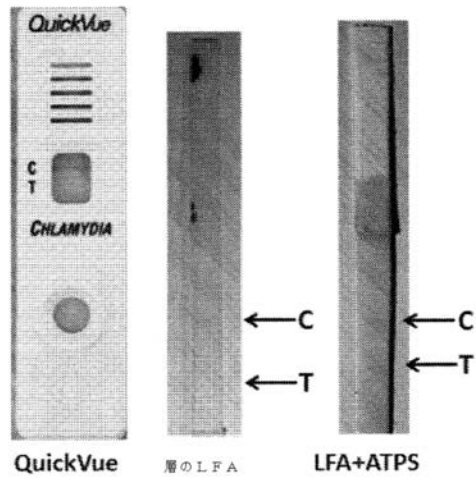
【図 13】





【図 14】



【図 15】



## 【 国際調査報告 】

|  |  |  |
|--|--|--|
| <b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>   |  | International application No.<br><b>PCT/US2016/050257</b>  |
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>   |  |  |
| <b>G01N 33/569(2006.01)i, G01N 33/558(2006.01)i, G01N 33/545(2006.01)i, G01N 33/543(2006.01)i</b>  |  |  |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |  |  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b>  |  |  |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>G01N 33/569; G01N 33/538; G01N 33/53; G01N 33/50; C12M 1/34; G01N 33/558; G01N 33/545; G01N 33/543  |  |  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched<br>Korean utility models and applications for utility models<br>Japanese utility models and applications for utility models  |  |  |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br><b>eKOMPASS(KIPO internal) &amp; keywords: lateral-flow assay, aqueous two-phase system, flow-through system, bacterium, fungus, virus</b>   |  |  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>  |  |  |
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No.  |
| X  | WO 2011-159537 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA)<br>22 December 2011<br>See p.3, lines 14-20; p.14, lines 24-26; p.20, lines 19-26;<br>claims 13, 15, 17, 19-20 and figure 6.   | 1-5,7  |
| A  |  | 6  |
| X  | MASHAYEKHI et al. "Enhancing the lateral-flow immunoassay for viral detection using an aqueous two-phase micellar system"<br>Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol.398, Issue 7, pp.2955-2961<br>(Epub. 24 September 2010)<br>See pp.2956-2957.  | 1-5,7  |
| A  | MASHAYEKHI et al. "Enhancing the lateral-flow immunoassay for detection of proteins using an aqueous two-phase micellar system"<br>Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol.404, Issue 6, pp.2057-2066<br>(Epub. 31 July 2012)<br>See pp.2058-2061. | 1-7  |
| A  | US 2012-0238008 A1 (HENRY et al.) 20 September 2012<br>See paragraphs [0034], [0083] and figure 2.   | 1-7  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.  |  |  |
| * Special categories of cited documents:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention<br>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone<br>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art<br>"&" document member of the same patent family |  |  |
| Date of the actual completion of the international search<br>21 December 2016 (21.12.2016)   |  | Date of mailing of the international search report<br><b>22 December 2016 (22.12.2016)</b>   |
| Name and mailing address of the ISA/KR<br> International Application Division<br>Korean Intellectual Property Office<br>189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea<br>Facsimile No. +82-42-481-8578   |  | Authorized officer<br>LEE, Dong Wook<br>Telephone No. +82-42-481-8163<br> |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/US2016/050257**

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |  |                       |
|---|--|-----------------------|
| Category*   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
| PX  | WO 2015-134938 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA)<br>11 September 2015 | 1-5, 7                |
| PA  | See paragraph [0011]; claims 1, 20 and figures 1-3.                                  | 6                     |



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
**PCT/US2016/050257**
**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☒ Claims Nos.: 10-16,22,24,28,30-31,36,39-41,43,45-48,51-53,55-56,62-66,70  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
Claims 10-16,22,24,28,30-31,36,39-41,43,45-48,51-53,55-56,62-66,70 are referring to the multiple dependent claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).
  
3. ☒ Claims Nos.: 8-9,17-21,23,25-27,29,32-35,37-38,42,44,49-50,54,57-61,67-69,71  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
  
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2016/050257**

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 2011-159537 A2                         | 22/12/2011          | WO 2011-159537 A3          | 31/05/2012          |
| US 2012-0238008 A1                        | 20/09/2012          | WO 2012-125781 A2          | 20/09/2012          |
|   |                     | WO 2012-125781 A3          | 06/12/2012          |
| WO 2015-134938 A1                         | 11/09/2015          | US 2015-0253320 A1         | 10/09/2015          |

## フロントページの続き

| (51) Int.Cl.   |             | F I              |                | テーマコード (参考) |
|----------------|-------------|------------------|----------------|-------------|
| <b>C 1 2 M</b> | <b>1/34</b> | <b>(2006.01)</b> | G 0 1 N 33/569 | F           |
| <b>C 1 2 Q</b> | <b>1/06</b> | <b>(2006.01)</b> | G 0 1 N 33/545 |             |
|                |             |                  | G 0 1 N 33/551 |             |
|                |             |                  | C 1 2 M 1/34   | B           |
|                |             |                  | C 1 2 Q 1/06   |             |

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(特許庁注：以下のものは登録商標)

- 1 . T r i t o n
- 2 . T W E E N
- 3 . M A T L A B

(72) 発明者 ダニエル・ティー・カメイ  
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 1 7 5 5・モンテレー・パーク・ルピン・プレイス・2 6 2

(72) 発明者 イン・ト・チュウ  
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 2 6 1 8・アーバイン・ツリー・クローバー・2 1

(72) 発明者 ベンジャミン・エム・ウ  
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 1 1 0 8・サン・マリノ・ロレイン・ロード・2 7 4 0

(72) 発明者 ギャレット・エル・モスリー  
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 2 6 6 3・ニューポート・ビーチ・シェリントン・プレイス  
・2 1 1 5・ディー 2 0 7

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB02 BB13 CC01 FA11  
4B063 QA01 QQ02 QQ03 QQ06 QR48 QR51 QR83 QS33 QS39