

(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2021-536563

(P2021-536563A)

(43) 公表日 令和3年12月27日(2021.12.27)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 1 Z	2 G 0 5 2
GO 1 N 15/00 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 1 A	2 G 0 5 9
GO 1 N 1/28 (2006.01)	GO 1 N 15/00 B	4 B 0 2 9
GO 1 N 21/01 (2006.01)	GO 1 N 1/28 U	
GO 1 N 21/17 (2006.01)	GO 1 N 1/28 F	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2021-507993 (P2021-507993)  
 (86) (22) 出願日 令和1年8月16日 (2019.8.16)  
 (85) 翻訳文提出日 令和3年4月9日 (2021.4.9)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/046949  
 (87) 国際公開番号 W02020/037289  
 (87) 国際公開日 令和2年2月20日 (2020.2.20)  
 (31) 優先権主張番号 62/719,062  
 (32) 優先日 平成30年8月16日 (2018.8.16)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 518048123  
 エッセンリックス コーポレーション  
 アメリカ合衆国 08852 ニュージャ  
 ージー州 モンマス ジャンクション デ  
 ィアパーク ドライブ 1 スイート ア  
 ール  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 粒子の凝集または脱凝集を伴う均一アッセイ方法

(57) 【要約】

開示されるのは、免疫アッセイ及び核酸アッセイなどの生物学アッセイ及び化学アッセイ、より詳細には、マイクロ粒子またはナノ粒子の凝集及び脱凝集プロセスを利用することにより、洗浄工程を使用しない均一アッセイを行う、装置ならびに方法である。

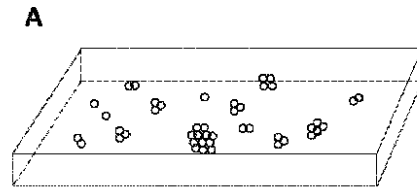
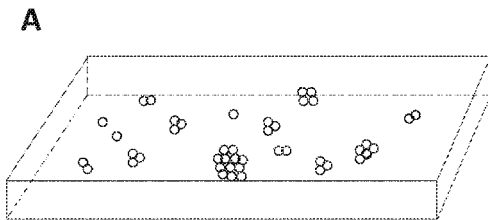


Fig. 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

粒子凝集を伴う均一アッセイ用の装置であって、  
第一プレート、第二プレート、及びスペーサを備え、  
前記プレートが、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり；

前記プレートがそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、分析物を含有するまたは分析物を含有することが疑われる試料と接触するための試料接触領域を有し；

前記プレート的一方または両方が、前記試料接触領域の内側に、予め確定した実質的に均一な高さのスペーサを1つまたは複数備え；かつ

前記プレート的一方または両方が、前記それぞれの内側表面に、複数の分離粒子を備え、

前記粒子は前記粒子の表面に固定された捕捉剤を有しており、

前記捕捉剤は、前記分析物と結合してそれを固定し、前記分析物と結合した後、前記分離粒子の凝集を引き起こすことができ；

前記開放構成において、前記2枚のプレートが、部分的または完全に分離して離れており、前記プレート間の間隔が、前記スペーサによる調節を受けず、かつ前記試料が前記プレート的一方または両方に付着しており；かつ

前記閉鎖構成が、前記開放構成で前記試料が付着した後に取られる構成であり、この構成において、前記試料の少なくとも一部分が、前記2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、前記層の前記均一な厚みが、前記プレートの前記内側表面により限定されており、かつ前記プレート及び前記スペーサにより調節されている、  
前記装置。

## 【請求項 2】

粒子凝集を伴う均一アッセイ用の装置であって、  
第一プレート、第二プレート、及びスペーサを備え、  
前記プレートが、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり；

前記プレートはそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、分析物を含有するまたは分析物を含有することが疑われる試料と接触するための試料接触領域を有し；

前記プレート的一方または両方が、前記試料接触領域の内側に、予め確定した実質的に均一な高さのスペーサを1つまたは複数備え；

前記プレート的一方または両方が、前記それぞれの内側表面に、複数の凝集粒子を備え、

前記粒子が前記粒子の表面に接続された結合剤を有しており；

前記分析物が、前記粒子と接触したときに、前記凝集粒子を脱凝集させ；

前記開放構成において、前記2枚のプレートが、部分的または完全に分離して離れており、前記プレート間の間隔が、前記スペーサによる調節を受けず、かつ前記試料が前記プレート的一方または両方に付着しており；かつ

前記閉鎖構成は、前記開放構成で前記試料が付着した後に取られる構成であり、この構成において、前記試料の少なくとも一部分が、前記2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、前記層の前記均一な厚みが、前記プレートの前記内側表面により限定されており、かつ前記プレート及び前記スペーサにより調節されている、  
前記装置。

## 【請求項 3】

分析物により引き起こされる凝集粒子または脱凝集粒子の測定用システムであって、

先行請求項に記載の装置のいずれか、光を発する光源、及び撮影装置を備え、

前記撮影装置が、前記凝集粒子、前記脱凝集粒子、もしくはそれらの任意の組み合わせを通過した、それらで散乱した、もしくはそれらから反射した、光を測定するように構成されている、

10

20

30

40

50

前記システム。

【請求項 4】

粒子凝集を伴う均一アッセイの実施方法であって、以下の工程：

(a) 分析物を含有するまたは含有することが疑われる試料を取得する工程；

(b) 第一プレート及び第二プレートを取得する工程であって、

i . 前記プレートが、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり、

ii . 前記プレートがそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、前記試料と接触するための試料接触領域を有し、

iii . 前記プレートの一方または両方が、スペーサを備え、前記スペーサの少なくとも1つは前記試料接触領域の内側にあり、かつ前記スペーサが、予め確定した実質的に均一な高さを有し、

iv . 前記プレートの一方または両方が、前記それぞれの内側表面に、複数の分離粒子を備える、工程；

(c) 前記試料を、前記プレートが前記開放構成にある状態で、前記プレートの一方または両方に付着させる工程であって、前記開放構成において、前記2枚のプレートが部分的または完全に分離して離れており、前記プレート間の間隔が、前記スペーサによる調節を受けない、工程；

(d) 工程(c)後、前記2枚のプレートをひとまとめにし、プレスして前記閉鎖構成にする工程であって、前記閉鎖構成において、前記試料の少なくとも一部分が、前記2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、前記層の前記均一な厚みが、前記2枚のプレートの前記内側表面により限定されており、かつ前記スペーサ及び前記プレートにより調節されている、工程；ならびに

(e) 前記プレートを前記閉鎖構成にしたままで、画像または一括光学シグナルにより、均一な厚みの前記層中の前記凝集粒子を検出及び分析する工程を含む、前記方法。

【請求項 5】

粒子脱凝集を伴う均一アッセイの実施方法であって、以下の工程：

(a) 分析物を含有するまたは含有することが疑われる試料を取得する工程；

(b) 第一プレート及び第二プレートを取得する工程であって、

i . 前記プレートが、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり、

ii . 前記プレートがそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、前記試料と接触するための試料接触領域を有し、

iii . 前記プレートの一方または両方が、スペーサを備え、前記スペーサの少なくとも1つが前記試料接触領域の内側にあり、かつ前記スペーサが、予め確定した実質的に均一な高さを有し、

iv . 前記プレートの一方または両方が、前記それぞれの内側表面に、複数の凝集粒子を備える、工程；

(c) 前記試料を、前記プレートが前記開放構成にある状態で、前記プレートの一方または両方に付着させる工程であって、前記開放構成において、前記2枚のプレートが部分的または完全に分離して離れており、前記プレート間の間隔が、前記スペーサによる調節を受けない、工程；

(d) 工程(c)後、前記2枚のプレートをひとまとめにし、プレスして前記閉鎖構成にする工程であって、前記閉鎖構成において、前記試料の少なくとも一部分が、前記2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、前記層の前記均一な厚みが、前記2枚のプレートの前記内側表面により限定されており、かつ前記スペーサ及び前記プレートにより調節されている、工程；ならびに

(e) 前記プレートを前記閉鎖構成にしたままで、画像または一括光学シグナルにより、均一な厚みの前記層中の前記脱凝集粒子を検出及び分析する工程

10

20

30

40

50

を含む、前記方法。

【請求項 6】

前記粒子が、光ルミネセンス、電気ルミネセンス、及び電気化学ルミネセンス、光吸収、反射、透過、回折、散乱、拡散、表面ラマン散乱、ならびにそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される光学特性において異なっている、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 7】

前記粒子が、生体 / 非生体、有機物 / 非有機物、磁性 / 非磁性、金属性 / 非金属性、発光性 / 非発光性、またはそれらの組み合わせである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

10

【請求項 8】

前記粒子が、天然、人造、またはそれらの組み合わせである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 9】

前記粒子が、細胞、細胞断片、巨大分子、多糖類、タンパク質、核酸、細胞集合体、組織、ウイルス粒子、またはそれらの混合物から選択される天然の生物学的実体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 10】

前記粒子が、重合体粒子、金属粒子、磁性粒子、半導体粒子、あるいはそれらの組み合わせまたは混合物から選択される、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

20

【請求項 11】

前記粒子が、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、ラテックス、またはそれらの任意の組み合わせから選択される重合体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 12】

前記粒子が、銀、銅、白金、またはそれらの混合物から選択される金属粒子である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 13】

前記粒子が、金ナノ粒子、金ナノシェル粒子、金ナノチューブ粒子、またはそれらの混合物である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

30

【請求項 14】

前記粒子が、CdSe、CdS、ZnS でコーティングされた CdS、ZnS でコーティングされた CdSe、またはそれらの混合物から選択される半導体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 15】

前記粒子が、磁鉄鉱、磁化 ZnS、ZnO、TiO<sub>2</sub>、AgI、AgBr、HgI<sub>2</sub>、PbS、PbSe、ZnTe、CdTe、In<sub>2</sub>S<sub>3</sub>、In<sub>2</sub>Se<sub>3</sub>、Cd<sub>3</sub>P<sub>2</sub>、Cd<sub>3</sub>As<sub>2</sub>、InAs、GaAs、またはそれらの混合物から選択される磁性体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

40

【請求項 16】

前記粒子が、球体、ビーズ、ロッド、不規則形状、またはそれらの組み合わせから選択される形状を有する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 17】

前記粒子の集団が、同一の寸法または形状を有する粒子、様々な形状または寸法を有する粒子、あるいはそれらの混合物を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 18】

前記粒子が、ナノメートル範囲の寸法を有するナノ粒子、マイクロメートルレベルの寸法を有するマイクロ粒子、またはそれらの混合物である、先行請求項のいずれか 1 項に記

50

載の装置、システム、及び方法。

【請求項 19】

前記粒子が、ビーズの集団の中のビーズであり、均一な直径、異なる直径、またはそれらの混合物を有する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 20】

前記粒子の寸法が、約 5 nm ~ 約 10 μm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 21】

前記粒子の寸法が、2 nm、5 nm、10 nm、20 nm、50 nm、100 nm、200 nm、500 nm、1 μm、2 μm、5 μm、10 μm、20 μm、50 μm、100 μm、200 μm、500 μm、1 mm、2 mm、5 mm、10 mm、20 mm、50 mm、または 100 mm 未満、あるいは前記任意の 2 つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

10

【請求項 22】

前記粒子が、ビーズであり、寸法が 100 nm、500 nm、1 μm、5 μm、50 μm、500 μm、1 mm、あるいは前記任意の 2 つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 23】

前記粒子が、ビーズであり、寸法が 1 μm ~ 10 μm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

20

【請求項 24】

前記粒子寸法が、約 5 nm ~ 約 10 nm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 25】

前記粒子寸法が、約 10 nm ~ 約 50 nm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 26】

前記粒子寸法が、約 50 nm ~ 約 100 nm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 27】

前記粒子寸法が、約 100 nm ~ 約 500 nm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

30

【請求項 28】

前記粒子寸法が、約 500 nm ~ 約 1000 nm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 29】

前記粒子寸法が、約 1 μm ~ 約 5 μm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 30】

前記粒子寸法が、約 5 μm ~ 約 10 μm である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

40

【請求項 31】

前記粒子の寸法が、2 nm、5 nm、10 nm、20 nm、50 nm、100 nm、200 nm、500 nm、1 μm、2 μm、5 μm、10 μm、20 μm、50 μm、100 μm、200 μm、500 μm、1 mm、2 mm、5 mm、10 mm、20 mm、50 mm、または 100 mm 未満、あるいは前記任意の 2 つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。実施形態によっては、ビーズは、100 nm、500 nm、1 μm、5 μm、50 μm、500 μm、1 mm、または前記任意の 2 つの値の間の範囲、及び好ましくは 1 μm ~ 10 μm の範囲にある寸法を有することができる。

50

**【請求項 3 2】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $1.5\text{ }\mu\text{m} \sim 2.5\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 3 3】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $2.5\text{ }\mu\text{m} \sim 4\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 3 4】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $4\text{ }\mu\text{m} \sim 6\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

10

**【請求項 3 5】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $6\text{ }\mu\text{m} \sim 10\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 3 6】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $10\text{ }\mu\text{m} \sim 15\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

20

**【請求項 3 7】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $15\text{ }\mu\text{m} \sim 25\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 3 8】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $25\text{ }\mu\text{m} \sim 35\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 3 9】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $35\text{ }\mu\text{m} \sim 50\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

30

**【請求項 4 0】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $50\text{ }\mu\text{m} \sim 100\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 4 1】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $100\text{ }\mu\text{m} \sim 150\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

40

**【請求項 4 2】**

前記スペース高さ、前記プレート間の前記間隔、前記試料厚さ、またはそれらの任意の組み合わせが、 $150\text{ }\mu\text{m} \sim 200\text{ }\mu\text{m}$ である、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 4 3】**

前記結合剤及び前記粒子が、選択された分析物の結合を向上させるための作用剤でコーティングまたは表面修飾されている、先行請求項のいずれか1項に記載の装置、システム、及び方法。

**【請求項 4 4】**

前記粒子の表面に、シリカコーティング、ストレプトアビジン、またはそれらの組み合

50

わせをさらに含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 4 5】

前記粒子の前記凝集が、前記粒子間または前記粒子の表面に位置する作用剤間の結合により誘導される、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 4 6】

前記作用剤の前記結合が、生物学的、生化学的、化学的、物理的、または磁気的作用の結果である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 4 7】

前記作用剤間の前記結合が、抗体抗原結合、核酸の相補的結合、触媒とその基質の間の結合、アダマーとその標的の結合、RNA 干渉配列とその標的の結合、リガンド受容体結合、または作用剤とそのアゴニストもしくはアンタゴニストの結合から選択される、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

10

【請求項 4 8】

粒子凝集が、結合剤が前記粒子に結合するとともに起こり、自然に起こる、または誘導されるものである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 4 9】

前記分析物との接触前、前記試料中の前記粒子の 100% 近くが、凝集している、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 5 0】

前記分析物との接触前、凝集している粒子のパーセンテージが、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいは前記任意の2つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

20

【請求項 5 1】

前記分析物との接触前、凝集している粒子のパーセンテージが、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいは前記任意の2つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 5 2】

前記分析物との接触後、前記試料中の前記粒子の 100% 近くが、凝集している、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

30

【請求項 5 3】

前記分析物との接触後、凝集している粒子のパーセンテージが、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいは前記任意の2つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【請求項 5 4】

前記分析物との接触後、凝集している粒子のパーセンテージが、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいは前記任意の2つの値の間の範囲にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の装置、システム、及び方法。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年8月16日出願の米国仮出願番号第62/719,062号の優先権を主張し、その内容に依拠するとともに、その内容はそのまま全体が本明細書中参照として援用される。本明細書中言及される刊行物及び特許文書はどれでも、その全開示が参照として全て援用される。

【0002】

分野

本開示は、免疫アッセイ及び核酸アッセイなどの生物学アッセイ及び化学アッセイを行

50

う装置ならびに方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

生物学アッセイ及び化学アッセイ（例えば、診断検査）では、洗浄を必要としない均一アッセイが好適であることが多い。本開示は、このような目的を達成する装置及び方法を提供する。

【発明の概要】

【0004】

概要

1つまたは複数の実施形態において、本開示は、分析物により引き起こされる粒子凝集を伴う均一アッセイ用の装置及び方法、分析物により引き起こされる粒子脱凝集を伴う均一アッセイ用の装置及び方法、ならびに分析物により引き起こされる粒子の凝集または脱凝集を伴う均一アッセイ用の装置及び方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0005】

図面は例示のみを目的とする。図面は縮尺どおりの場合もそうでない場合もある。

【0006】

【図1】液体試料中の一部の粒子が凝集している実施形態の例を示す。

【図2】最適な結果を得るために試料をどのように撮影及び分析するかの実施形態の例を複数示す。

【図3】フローチャートの例を示し、開示される凝集粒子アッセイを解説する。

【図4】凝集粒子アッセイのための開放プレート構成及び閉鎖プレート構成を示す。

【図5】凝集粒子アッセイの生化学反応を示す。

【図6】CRP凝集粒子アッセイの画像を示す。

【発明を実施するための形態】

【0007】

例示的な実施形態の詳細な説明

以下の詳細な説明は、本発明のいくつかの実施形態を、例として解説するものであり、限定するものではない。本明細書中使用される節の見出し及びあらゆる副題は、構成を目的とするにすぎず、いかなるやり方でも発明の対象を限定するとみなされるべきではない。ある節の見出し及び/または副題の下にある内容は、その節の見出し及び/または副題に限定されず、本開示の説明全体に当てはまる。

【0008】

本開示の1つの目的は、均一アッセイを「ワンステップ」で行うことである。「ワンステップ」アッセイとは、アッセイにおいて、そのアッセイを行う者が試料を滴下してシグナルを読み、その間には他の工程がない（例えば、工程間に洗浄を行わない）ことを意味する。そのようなアッセイとして、例えば、タンパク質アッセイ及び核酸アッセイが挙げられる。

【0009】

本開示の1つの態様は、均一アッセイを、どのような洗浄も行うことなく「ワンステップ」で行うことを可能にすることである。「ワンステップ」アッセイでは、互いに対して相対的に可動性である2枚のプレートを使用し、分析物を含む試料をプレートの一方または両方に滴下し、2枚のプレートを互いに対してプレスして、試料の少なくとも一部分を圧縮して薄層にし、続いてどのような洗浄も行わずにプレートからシグナルを読む。

【0010】

別の顕著な特長として言えるのは、例えば、ある特定の実施形態において、アッセイの2枚のプレートのプレスが、ヒトの手によること、及び、本明細書中指定されるとおり、プレート及びスペーサの特定のセットを使用することによることであり、試料の少なくとも一部分は均一な厚さを有することである。

10

20

30

40

50

## 【0011】

試料中の分析物を検出するワンステップアッセイを達成するための、本開示の重要なアプローチは、分析物を添加した後に溶液中の粒子を凝集及び/または脱凝集させ、次いで画像または一括光学シグナルを用いてアッセイの分析物を分析することである。

## 【0012】

ある実施形態において、本開示は、粒子凝集を伴う均一アッセイ用の装置を提供し、本装置は以下：

第一プレート、第二プレート、及びスペーサを備え、ここで：

i . プレートは、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり；

ii . プレートはそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、分析物を含有するまたは分析物を含有することが疑われる試料と接触するための試料接触領域を有し；

iii . プレート的一方または両方は、試料接触領域の内側に、予め確定した実質的に均一な高さのスペーサを1つまたは複数備え；ならびに

iv . プレート的一方または両方は、そのそれぞれの内側表面に、複数の分離粒子を備え、ここで、粒子はそれ自身に固定された捕捉剤を有しており、ここで、捕捉剤は、分析物と結合してそれを固定し、分析物と結合した後、分離粒子の凝集を引き起こすことができ；

ここで、開放構成において、2枚のプレートは、部分的または完全に分離して離れており、プレート間の間隔は、スペーサによる調節を受けず、ならびに試料はプレート的一方または両方に付着しており；ならびに

ここで、閉鎖構成は、開放構成で試料が付着した後に取られる構成であり、この構成において、試料の少なくとも一部分は、2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、層の均一な厚みは、プレートの内側表面により限定されており、プレート及びスペーサにより調節されている。

## 【0013】

ある実施形態において、本開示は、粒子凝集を伴う均一アッセイ用の装置を提供し、本装置は以下：

第一プレート、第二プレート、及びスペーサを備え、ここで：

i . プレートは、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり；

ii . プレートはそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、分析物を含有するまたは分析物を含有することが疑われる試料と接触するための試料接触領域を有し；

iii . プレート的一方または両方は、試料接触領域の内側に、予め確定した実質的に均一な高さのスペーサを1つまたは複数備え；ならびに

iv . プレート的一方または両方は、それぞれの内側表面に、複数の凝集粒子を備え、ここで、粒子は互いを連結する結合剤を有しており、ここで、分析物は、粒子と接触したときに、凝集粒子を脱凝集させることができ；

ここで、開放構成において、2枚のプレートは、部分的または完全に分離して離れており、プレート間の間隔は、スペーサによる調節を受けず、ならびに試料はプレート的一方または両方に付着しており；ならびに

ここで、閉鎖構成は、開放構成で試料が付着した後に取られる構成であり、この構成において、試料の少なくとも一部分は、2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、層の均一な厚みは、プレートの内側表面により限定されており、プレート及びスペーサにより調節されている。

## 【0014】

ある実施形態において、本開示は、分析物により引き起こされる凝集粒子または脱凝集粒子の測定用システムを提供し、本システムは、上記装置のいずれか、光を発する光源、及び撮像装置を備え、ここで、撮像装置は、凝集体を通過した、凝集体で散乱した、もしくは凝集体から反射した、またはそれらの任意の組み合わせである光を測定するように構

10

20

30

40

50

成されている。

【0015】

ある実施形態において、本開示は、粒子凝集を伴う均一アッセイを行う方法を提供し、本方法は、以下の工程を含む：

- (a) 分析物を含有することが疑われる試料を取得すること；
- (b) 第一プレート及び第二プレートを取得すること、ここで：
  - i . プレートは、開放構成及び閉鎖構成を含む異なる構成へと、互いに対して相対的に可動性であり；
  - ii . プレートはそれぞれ、そのそれぞれの内側表面に、試料と接触するための試料接触領域を有し；
  - iii . プレート的一方または両方は、スペーサを備え、スペーサの少なくとも1つは試料接触領域の内側にあり、スペーサは、予め確定した実質的に均一な高さを有し；ならびに
  - iv . プレート的一方または両方は、そのそれぞれの内側表面に、複数の分離粒子または凝集粒子を備える；
- (c) 試料を、プレートが開放構成にある状態で、プレート的一方または両方に付着させること、ここで、2枚のプレートは部分的または完全に分離して離れており、プレート間の間隔は、スペーサによる調節を受けない；
- (d) 工程(c)後、2枚のプレートをひとまとめにし、プレスして閉鎖構成にすること、ここで、試料の少なくとも一部分は、2枚のプレートにより圧縮されて厚みの均一性が高い層になり、層の均一な厚みは、プレートの内側表面により限定されており、プレート及びスペーサにより調節されている；ならびに
- (e) プレートを閉鎖構成にしたままで、画像または一括光学シグナルにより、均一な厚みの層中の粒子を検出及び分析すること。

10

20

【0016】

上記実施形態のどれでもその装置及び方法において、粒子は以下からなる群より選択される光学特性において異なっている：光ルミネセンス、電気ルミネセンス、及び電気化学ルミネセンス、光吸収、反射、透過、回折、散乱、拡散、表面ラマン散乱、ならびにそれらの任意の組み合わせ。

【0017】

上記実施形態のどれでもその装置及び方法において、本開示の粒子は、例えば、生体/非生体、有機物/非有機物、磁性/非磁性、金属性/非金属性、または発光性/非発光性粒子であることが可能である。

30

【0018】

実施形態によっては、粒子は、天然粒子または人造粒子、あるいはそれらの組み合わせまたは混合物を含む。例えば、粒子は、天然の生物学的実体を含み、例えば、細胞、細胞断片、巨大分子(例えば、多糖類、タンパク質、または核酸)、細胞集合体、組織、またはウイルス粒子などがあるが、これらに限定されない。実施形態によっては、粒子は、人造物を含み、例えば、重合体粒子、金属粒子、磁性粒子、または半導体粒子、あるいはそれらの組み合わせまたは混合物などがあるが、これらに限定されない。

40

【0019】

実施形態によっては、本開示の粒子(例えば、ビーズ)は、重合体を含むことができ、例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、ラテックス、またはそれらの任意の組み合わせなどがあるが、これらに限定されない。

【0020】

実施形態によっては、本開示の粒子(例えば、ビーズ)は、金属を含み、例えば、金、銀、銅、及び白金などがあるが、これらに限定されない。

【0021】

実施形態によっては、本開示の粒子(例えば、ビーズ)は、金ナノ粒子、金ナノシェル、金ナノチューブなどを含む。

50

## 【0022】

実施形態によっては、本開示の粒子（例えば、ビーズ）は、半導体を含み、例えば、CdSe、CdS、及びZnSでコーティングされたCdSまたはCdSeなどがあるが、これらに限定されない。

## 【0023】

実施形態によっては、本開示の粒子（例えば、ビーズ）は、磁性材料を含むことができ、例えば、フェロマグネタイト（ferromagnetite）、ならびに磁化ZnS、ZnO、TiO<sub>2</sub>、AgI、AgBr、HgI<sub>2</sub>、PbS、PbSe、ZnTe、CdTe、In<sub>2</sub>S<sub>3</sub>、In<sub>2</sub>Se<sub>3</sub>、Cd<sub>3</sub>P<sub>2</sub>、Cd<sub>3</sub>As<sub>2</sub>、InAs、及びGaAsなどがあるが、これらに限定されない。

10

## 【0024】

実施形態によっては、粒子は、任意の形状、例えば、球体（一般的にビーズと称する）もしくはロッド、または不規則形状などを取ることができ、粒子の集団は、同一形状及び寸法を有する粒子を有する、または様々な形状及び寸法を有する粒子を有することができる。粒子は、ナノメートルレベルの寸法（ロッドまたは球体の場合は平均直径）を有するナノ粒子であることが可能である。粒子は、マイクロメートルレベルの寸法を有するマイクロ粒子であることが可能である。実施形態によっては、ビーズ集団中のビーズは、均一な直径または異なる直径を有することができる。

## 【0025】

実施形態によっては、粒子の寸法は、約5nm～約10μmが可能である。実施形態によっては、粒子の寸法は、2nm、5nm、10nm、20nm、50nm、100nm、200nm、500nm、1μm、2μm、5μm、10μm、20μm、50μm、100μm、200μm、500μm、1mm、2mm、5mm、10mm、20mm、50mm、または100mm未満、あるいはこれらの任意の2つの値の間の範囲にある。実施形態によっては、ビーズは、100nm、500nm、1μm、5μm、50μm、500μm、1mm、またはこれらの任意の2つの値の間の範囲の寸法を有することができ、好適な範囲は1μm～10μmである。

20

## 【0026】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約5nm～約10nmである。

## 【0027】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約10nm～約50nmである。

30

## 【0028】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約50nm～約100nmである。

## 【0029】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約100nm～約500nmである。

## 【0030】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約500nm～約1000nmである。

## 【0031】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約1μm～約5μmである。

## 【0032】

実施形態によっては、粒子の好適な寸法は、約5μm～約10μmである。

40

## 【0033】

実施形態によっては、粒子の寸法は、2nm、5nm、10nm、20nm、50nm、100nm、200nm、500nm、1μm、2μm、5μm、10μm、20μm、50μm、100μm、200μm、500μm、1mm、2mm、5mm、10mm、20mm、50mm、または100mm未満、あるいはこれらの任意の2つの値の間の範囲にある。実施形態によっては、ビーズは、100nm、500nm、1μm、5μm、50μm、500μm、1mm、またはこれらの任意の2つの値の間の範囲の寸法を有することができ、好適な範囲は1μm～10μmである。

## 【0034】

50

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、1.5  $\mu\text{m}$  ~ 2.5  $\mu\text{m}$  である。

【0035】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、2.5  $\mu\text{m}$  ~ 4  $\mu\text{m}$  である。

【0036】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、4  $\mu\text{m}$  ~ 6  $\mu\text{m}$  である。

【0037】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、6  $\mu\text{m}$  ~ 10  $\mu\text{m}$  である。

10

【0038】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、10  $\mu\text{m}$  ~ 15  $\mu\text{m}$  である。

【0039】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、15  $\mu\text{m}$  ~ 25  $\mu\text{m}$  である。

【0040】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、25  $\mu\text{m}$  ~ 35  $\mu\text{m}$  である。

20

【0041】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、35  $\mu\text{m}$  ~ 50  $\mu\text{m}$  である。

【0042】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、50  $\mu\text{m}$  ~ 100  $\mu\text{m}$  である。

【0043】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、100  $\mu\text{m}$  ~ 150  $\mu\text{m}$  である。

【0044】

スペーサ高さ、プレートの間隔、及び/または試料厚さは、1つの好適な実施形態において、150  $\mu\text{m}$  ~ 200  $\mu\text{m}$  である。

30

【0045】

実施形態によっては、結合剤の他に、粒子は、選択された分析物の結合を向上させる作用剤でコーティングまたは誘導体化されている。例えば、粒子は、シリカコーティングを含むまたはストレプトアビジンで誘導体化されていることができる。

【0046】

実施形態によっては、本開示の粒子の凝集は、粒子間の結合または粒子表面に位置する作用剤間の結合により誘導される可能性がある。

【0047】

実施形態によっては、作用剤の結合は、生物学的、生化学的、化学的、または物理的（例えば、磁氣的）作用の結果である。例えば、作用剤間の結合は、抗体抗原結合、核酸の相補的結合（例えば、DNA、RNA、または他の核酸の相補性鎖）、触媒とその基質の間の結合、アプタマーとその標的の結合、RNA干渉配列とその標的の結合、リガンド受容体結合、または作用剤とそのアゴニストもしくはアンタゴニストの結合であることが可能である。

40

【0048】

実施形態によっては、凝集は、自然に起こる、または例えば、粒子に結合剤を結合することで、誘導される。

【0049】

50

実施形態によっては、分析物を接触させる前に、試料中の粒子の100%近くが凝集している。実施形態によっては、分析物を接触させる前に、凝集している粒子のパーセンテージは、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%超、またはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある。ある特定の実施形態において、分析物を接触させる前に、凝集している粒子のパーセンテージは、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある。

【0050】

実施形態によっては、分析物を接触させた後、試料中の粒子の100%近くが凝集している。実施形態によっては、分析物を接触させた後、凝集している粒子のパーセンテージは、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある。ある特定の実施形態において、分析物を接触させた後、凝集している粒子のパーセンテージは、60%、70%、80%、90%、95%、または99%超、あるいはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある。

10

【0051】

図面を参照すると、図1は、本発明の例示の実施形態を示し、図中、一部の粒子が、液体試料中で凝集している。図1のパネル(A)は、液体試料の斜視図を示し、パネル(B)は上面図を示す。図1に示すとおり、粒子は、異なるレベルで凝集することができ、その結果、凝集体寸法も異なれば凝集体からのシグナル強度も異なる。

20

【0052】

実施形態によっては、試料を撮影し、画像を分析することで、標的分析物の濃度を測定する。

【0053】

実施形態によっては、試料を撮影し、画像中の粒子凝集を、計数、採寸、及び分析することで、標的分析物の濃度を測定する。

【0054】

実施形態によっては、試料を撮影し、画像中の単一粒子及び粒子凝集を、計数、採寸、及び分析することで、標的分析物の濃度を測定する。

【0055】

実施形態によっては、試料を撮影するのではなく、装置を通る一括光学シグナル、例えば透過率、吸収率、吸収波長シフト、呈色を分析することで、標的分析物の濃度を測定する。

30

【0056】

ある特定の実施形態において、凝集は、分析物濃度の上昇に合わせて増加する。

【0057】

ある特定の実施形態において、凝集は、分析物濃度の上昇に合わせて減少する。

【0058】

実施形態によっては、分析物の濃度が高いほど、結果として凝集体の寸法が大きくなる可能性がある。例えば、分析物が低濃度である場合、より多くの粒子が凝集しない(結果として凝集体は1つの粒子しか含まない)またはやや凝集しているにすぎない(結果として凝集体は少数の粒子、例えば2つまたは3つしか含まない)ものの、分析物の濃度が高くなると、より多くの凝集が誘導され、例えば、結果として凝集体がより大きくなり、各凝集体中の平均粒子数がより多くなる。

40

【0059】

図2は、最適な結果を得るためにどのように試料を撮影し分析するかについての複数の例示の実施形態を示す。図2のパネル(A)では、試料は薄層になっているが、どのプレートにも付着していない;図2のパネル(B)では、試料は薄層になっており、1枚のプレート上にある;図2のパネル(C)では、試料は薄層になっており、2枚のプレート(例えば、QMAX装置の第一プレートと第二プレート)間で圧縮されている。

50

## 【0060】

図2は、試料調製及び撮影法を示す：(A)試料は薄層になっているが、どのプレートにも付着していない；(B)試料は薄層になっており、1枚のプレート上にある；(C)試料は薄層になっており、2枚のプレート間で圧縮されている；(D)撮影装置は、試料の層の画像を1枚または複数撮影することができる(矢印は、撮影装置位置を示す；装置は図示せず)；及び(E)試料は、試料の厚さ全体での凝集体全てを捉える三次元(3D)スキャン技術により撮影することができる(矢印は、撮影装置位置を示す；装置は図示せず)。

## 【0061】

図3は、フローチャートの例を示し、開示される凝集粒子アッセイを解説する。

10

## 【0062】

図4は、凝集粒子アッセイの開放プレート構成及び閉鎖プレート構成を示す：A)は、開放構成にあるもので、ここでは第一プレートが、抗体結合ビーズでコーティングされている；及びB)は、閉鎖構成にある。試料が添加されると、2枚のプレートは閉じられる。試料由来の分析物の存在下、ビーズは凝集体を形成する。

## 【0063】

図5は、凝集粒子アッセイの生化学反応を示す。ビーズは、ポリクローナル抗体でコーティングされている。分析物の存在下、分析物上の複数のエピトープが、ポリクローナル抗体と結合することができ、その結果、単純な単一凝集または複雑凝集を形成する。

## 【0064】

実施形態によっては、粒子にコーティングされた抗体は、例えば、ポリクローナル抗体の1種、ポリクローナル抗体の混合物、またはモノクローナル抗体の混合物、あるいはモノクローナル抗体とポリクローナル抗体の混合物が可能である。

20

## 【0065】

実施形態によっては、アッセイにおける作用剤間の結合は、例えば、抗体抗原結合、核酸の相補的結合(例えば、DNA、RNA、または他の核酸の相補性鎖)、触媒とその基質の間の結合、アプタマーとその標的の結合、RNA干渉配列とその標的の結合、リガンド受容体結合、あるいは作用剤とそのアゴニストまたはアンタゴニストの間の結合が可能である。

## 【0066】

実施形態によっては、粒子の凝集は、例えば、アゴニストの添加により誘導可能である。

30

## 【0067】

実施形態によっては、粒子の凝集は、例えば、アンタゴニストの添加により反転可能である。

## 【0068】

実施形態によっては、撮影範囲は、例えば、単一層、複数層、または液体試料の3D空間全体であることが可能である。

## 【0069】

実施形態によっては、撮影は、例えば、明視野での凝集またはプラズモン共鳴シフトで達成することができる。

40

## 【0070】

実施形態によっては、試料の厚さが予め確定した値(例えば、0.5 $\mu$ m、1 $\mu$ m、2 $\mu$ m、5 $\mu$ m、または10 $\mu$ m)未満である場合、または試料の厚さと粒子径の間の比が予め確定した値(例えば、50、20、10、5、または2ミクロン)未満である場合、試料を直接撮影することができる。その理由は、試料中の凝集体にどのような顕著な重なり合いの可能性も低いからである。そのような重なり合いは、試料の厚さ及び試料の厚さと粒子径の間の比に依存する。厚さが薄い場合及び/または比が低い場合、重なり合いの可能性も同じく低い。実施形態によっては、比は、例えば、1000、500、200、100、50、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1.5、または1.2未

50

満、あるいはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある可能性がある。

【0071】

実施形態によっては、結果の正確性を改善するため、試料の側面積のある一定パーセンテージを撮影する必要がある。

【0072】

例えば、実施形態によっては、撮影面積対合計試料面積の比は、例えば、1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または50%超、あるいはこれらのうち任意の2つの値の間の範囲にある可能性がある。ある特定の実施形態において、撮影面積対合計試料面積の比は、例えば、約1%~約10%の範囲にある可能性がある。

10

【0073】

図2のパネル(D)及び(E)では、試料は、予め確定した値(例えば、10 $\mu\text{m}$ 、20 $\mu\text{m}$ 、50 $\mu\text{m}$ 、または100 $\mu\text{m}$ )より高い厚さを有する。実施形態によっては、試料の厚さが予め確定した値より高い場合、または試料の厚さと粒子径の間の比が予め確定した値(例えば10、20、50、または100)より高い場合、試料の撮影及び分析物の測定は、代替アプローチを取る可能性がある。例えば、図2のパネル(D)に示すとおり、撮影装置は、試料の層の画像を1枚または複数撮影することができ、画像を用いて、試料中の分析物の全体濃度を評価することができる。ある特定の実施形態において、図2のパネル(E)に示すとおり、試料は、試料の厚さ全体でどのような重なり合いの見逃しもなく全ての凝集体を捉える三次元(3D)スキャン技術により、撮影することができる。本発明で使用される3Dスキャン技術は、試料の全体スキャン結果をもたらす任意の接触または非接触3D技術が可能である。例えば、3Dスキャン技術は、飛行時間型スキャンまたは三角測量スキャン、あるいはそれらの任意の変異型または改良型が可能である。

20

【0074】

他の原理及び方法：

実施形態によっては、凝集アッセイは、例えば、金ナノ粒子または金マイクロ粒子を使用して、分析物との結合を介して凝集体を形成させることができる。

【0075】

実施形態によっては、金粒子は、標的分析物に対して結合親和性を有する作用剤でコーティングされている。粒子の寸法は、例えば、約5nm~約10 $\mu\text{m}$ が可能である。形状は、例えば、球体(一般にビーズと称する)またはロッド、あるいは不規則形状が可能であり、粒子の集団は、同一形状及び寸法を有する粒子、または様々な形状及び寸法を有する粒子を有することができる。

30

【0076】

実施形態によっては、コーティングは、例えば、共有結合または受動吸収により達成可能である。金粒子は、例えば、純金製、またはラテックスもしくはシリカなど他の材料の粒子核を包囲する金の殻を有するものが可能である。金の殻の厚さは、約1nm~約10 $\mu\text{m}$ が可能である。

【0077】

実施形態によっては、コーティングされた金粒子を、QMAXカード上に印刷または噴霧して乾燥させることができる。

40

【0078】

実施形態によっては、凝集は、以下のとおり形成させることができる：QMAXカードに液体試料を加え、カードを閉じる。付着した金粒子をQMAXカードから液中に放出させる。試料が標的分析物含有している場合、コーティングされた金粒子は、標的の表面の複数箇所と結合して凝集体を形成することができる。凝集は、複数の金粒子が単一分析物と結合する単純凝集であることも、複数の金粒子と複数の分析物との間で「ネットワーク」が形成される複雑凝集であることも可能である。

【0079】

実施形態によっては、形成された粒子凝集は、例えば、可視波長または指定の波長範囲

50

で撮影可能である。

【0080】

実施形態によっては、分析物濃度及び粒子凝集は、例えば、粒子からの波長シフトで分析可能である。

【0081】

実施形態によっては、分析物濃度及び粒子凝集は、例えば、凝集した粒子の寸法で分析可能である。

【0082】

実施形態によっては、分析物濃度及び粒子凝集は、例えば、脱凝集した粒子の寸法で分析可能である。

【0083】

実施形態によっては、呈色（吸収波長範囲、蛍光波長範囲）、凝集体の寸法及び数が、画像分析により特定可能である。

【0084】

実施形態によっては、代替的に、凝集体の寸法が、例えば、金粒子凝集のプラズモン共鳴のシフトにより特定可能である。

【0085】

実施形態によっては、脱凝集アッセイにおいて、既存の粒子凝集は、分析物の存在下で解離する。

【0086】

実施形態によっては、粒子は、特定試薬に対する結合親和性を有する作用剤でコーティングされている。コーティングされた金粒子は、アッセイ前に凝集がすでに形成されているように、特定試薬と予め混合される。

【0087】

実施形態によっては、標的分析物による凝集の解離の性質は、予め結合した試薬の切断（例えば、核酸の酵素切断）、前結合剤の脱離または破壊（例えば、予め結合したタンパク質の変性）、または予め結合した試薬との競合であることが可能である。そのような分析物が試料中に存在する場合、予め形成された凝集は、解離することになる。

【0088】

実施形態によっては、凝集の解離は、例えば、前結合剤の脱離または破壊（例えば、予め結合したタンパク質の変性）により達成可能である。

【0089】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、スマートフォンシステム、及び方法において、粒子は、以下からなる群より選択される材料製である：ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、PMMG、PC、COC、COP、ガラス、樹脂、アルミニウム、金もしくは他の金属、または捕捉剤と会合するように修飾可能な表面を持つ任意の他の材料。

【0090】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、スマートフォンシステム、及び方法において、ビーズは、タンパク質安定剤で処理される。

【0091】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、スマートフォンシステム、及び方法において、捕捉剤は、ビーズと結合している。

【0092】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、スマートフォンシステム、及び方法において、ビーズは、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）で活性化すること；BSA溶液でブロッキングすること；及び捕捉剤溶液とともにインキュベートすること、により調製される。

【0093】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、及び方法において、液

10

20

30

40

50

体試料は、以下からなる群より選択される生体試料から作製される：羊水、眼房水、硝子体液、血液（例えば、全血、分画血液、血漿、または血清）、母乳、脳脊髄液（CSF）、耳垢（イヤークワックス）、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、呼気、胃酸、胃液、リンパ液、粘液（鼻漏及び痰を含む）、心膜液、腹水、胸水、膿、粘膜分泌物、唾液、呼気凝縮液、皮脂、精液、痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、及びこれらの任意の組み合わせ。

#### 【0094】

上記の実施形態のどれであってもその装置、キット、システム、スマートフォンシステム、及び方法において、試料は、以下からなる群より選択される試料源に由来する液状環境試料である：川、湖、池、海、氷河、冰山、雨、雪、下水、貯水池、水道水、または飲料水、あるいは、土壌、コンポスト、砂、岩、コンクリート、木材、れんが、汚泥に由来する固形試料、及びこれらの任意の組み合わせ。

10

#### 【実施例】

#### 【0095】

均一粒子凝集 - ヒトCRP（C反応性タンパク質）について

ここで、本開示の1つの実施形態によるヒトCRPについての均一QMAX免疫アッセイ実験について説明する。

#### 【0096】

この実験では、免疫アッセイ用の装置は、第一プレート及び第二プレートを備える。図4に示すとおり、従来のスライドガラスを第一プレートとして用い、10 $\mu$ mのスペーサを備えたXプレートを第二プレートとして使用した。明視野アダプタを備えたiPhoneを検出器として使用した。

20

#### 【0097】

実験は、以下の手順に従って行なった：

1. 抗体結合。取扱説明書に従って、ウサギポリクローナル抗CRP（Abcam）を2 $\mu$ mプロテインAポリスチレンビーズ（Invitrogen）と結合させた。次いで、結合したビーズを、4 $\mu$ mで一晩、4%BSA含有PBSによりブロックした。
2. プレートのコーティング。Qカードの基板カードに、結合したビーズ1 $\mu$ Lを滴下し空気乾燥させた。
3. 試料の添加。基板カードに、濃度の異なるCRP溶液3 $\mu$ L（PBS中）を加え、次いでXプレート（2 $\mu$ mのピラー高さ）で覆った。
4. 撮影。1分後、Qカードの明視野をiPhone 6s及び明視野アダプタで撮影した。

30

#### 【0098】

図6は、CRP凝集粒子アッセイの画像を示す。様々な濃度のCRPを試験し、1分後に明視野画像を撮影した。なお、凝集寸法は明らかに分析物濃度と相関する。

#### 【0099】

圧縮調節開放流（CROF）

アッセイでは、試料または試薬の操作が、アッセイの改善を招く可能性がある。操作として、試料及び/または試薬の幾何学形状及び位置の操作、試料及び試薬の混合または結合、ならびに試料または試薬とプレートの接触領域が挙げられるが、これらに限定されない。

40

#### 【0100】

本発明の多くの実施形態で、試料及び/または試薬の幾何学寸法、位置、接触領域、及び混合が、「圧縮調節開放流（CROF）」と呼ばれる方法、及びCROFを行う装置を用いて操作される。

#### 【0101】

「圧縮開放流（COF）」という用語は、(i)他のプレートを、試料の少なくとも一部の上部に置くこと、及び(ii)次いで2枚のプレートを互いに向かって押し合うことにより2枚のプレート間の試料を圧縮すること；ここで、圧縮は、試料の少なくとも一部

50

の厚さを減少させ、かつ試料をプレート間の空いた空間へと流れさせる、によりプレートに付着した流動性試料の形状を変化させる方法を示す。

【0102】

「圧縮調節開放流」または「CROF」（あるいは「自己較正圧縮開放流」または「SCOF」または「SCCOF」）という用語は、COFのある特定の種類を示し、ここで、圧縮後の試料の一部または全部の最終厚さが、スペーサにより「調節」され、ここで、スペーサは、2枚のプレートの間に配置されている。

【0103】

CROFにおける「試料の一部または全部の最終厚さが、スペーサにより調節される」という用語は、CROF中、いったん特定の試料厚さに到達したら、2枚のプレートの相対的動き、したがって試料の厚さの変化が、停止し、ここで、その特定の厚さはスペーサにより決定されるということの意味する。

【0104】

CROF法の1つの実施形態は、以下を含む：

(a) 流動性である試料を取得すること；

(b) 互いに対して相対的に可動性であり異なる構成へと動くことができる第一プレート及び第二プレートを取得すること、ここで、各プレートは、実質的に平面である試料接触領域を有し、ここで、プレートの一方または両方はスペーサを備え、スペーサは予め確定した高さを有し、スペーサはそれぞれの試料接触面上にある；

(c) 試料を、プレートが開放構成にある状態で、プレートの一方または両方に付着させること、ここで、開放構成とは、2枚のプレートが部分的または完全に分離して離れており、プレート間の間隔は、スペーサによる調節を受けない構成である；ならびに

(d) 工程(c)後、2枚のプレートを閉鎖構成にすることにより、試料を延展すること、ここで、閉鎖構成において、プレートは互いに面しており、スペーサ及び関連する試料体積はプレート間にあり、関連する試料体積の厚さは、プレート及びスペーサにより調節されており、ここで、関連する体積は、試料の全体積の少なくとも一部分であり、かつここで試料延展中、試料は2枚のプレート間で横方向に流れる。

【0105】

「プレート」という用語は、特に指定がない限り、CROFプロセスで使用されるプレートを示し、このプレートは、別のプレートと一緒に使用して、2枚のプレート間にある試料を圧縮して試料の厚さを低下させることが可能な、中実体である。

【0106】

「プレート (the plates)」または「プレートの対」という用語は、CROFプロセスの2枚のプレートを示す。

【0107】

「第一プレート」または「第二プレート」という用語は、CROFプロセスで使用されるプレートを示す。

【0108】

「プレートは互いに面している」という用語は、プレートの対が、少なくとも部分的に互いに面している状況を示す。

【0109】

「スペーサ」または「ストッパー」という用語は、特に記載がない限り、2枚のプレート間に配置されている場合に、2枚のプレートと一緒に圧縮されたときに到達可能な2枚のプレートの最小間隔の限界を設定する機械的物体を示す。言うなれば、圧縮において、スペーサは、2枚のプレートの相対的動きを止めて、プレートの間隔が所定の（すなわち予め確定した）値より小さくなることを防ぐ。スペーサには2種類、「開放スペーサ」及び「封入スペーサ」が存在する。

【0110】

「開放スペーサ」という用語は、液体が、スペーサの全外周の周囲に流れること及びスペーサを流れて通過することを可能にする形状を有するスペーサを意味する。例えば、ピ

10

20

30

40

50

ラーは開放スペーサである。

【0111】

「封入スペーサ」という用語は、液体が、スペーサの全外周の周囲に流れること及びスペーサを流れて通過することができない形状を有するスペーサを意味する。例えば、リング形状のスペーサは、リング内側にある液体に関して封入スペーサであり、この場合、リングスペーサ内側の液体は、リング内側にあり続け、外側（外周の外側）に出ることができない。

【0112】

「スペーサは予め確定した高さを有する」及び「スペーサは予め確定したスペーサ間距離を有する」という用語は、それぞれ、スペーサ高さ及びスペーサ間距離の値が、CROFプロセスの前に既知であることを意味する。スペーサ高さ及びスペーサ間距離の値が、CROFプロセスの前に不明である場合、それは予め定められてはいない。例えば、スペーサとしてビーズをプレート上に散在させる場合、ビーズはプレートの無作為な位置に配置されており、スペーサ間距離は予め定められてはいない。予め定められてはいないスペーサ間距離の別の例は、スペーサがCROFプロセス中に動く場合である。

【0113】

CROFプロセスにおいて「スペーサがそのそれぞれのプレートに固定されている」という用語は、スペーサがプレートのある位置に固着しており、その位置への固着はCROF中維持される（すなわち、スペーサの、それぞれのプレート上の位置は変化しない）ことを意味する。「スペーサがそのそれぞれのプレートに固定されている」例は、スペーサがプレートの材料の1つの部品から一体化して作製されており、プレート表面に対する相対的なスペーサ位置がCROF中に変化しない場合である。「スペーサがそのそれぞれのプレートに固定されていない」例は、スペーサが接着剤によりプレートに糊付けされており、CROF中、プレートを使用している間に、接着剤がスペーサをその元来の位置に維持することができず、スペーサが動いてプレート表面のその元来の位置から離れてしまう場合である。

【0114】

「スペーサが一体化してプレートに固定されている」という用語は、スペーサ及びプレートの挙動が、ある物体の単一部品のようにあり、使用中、スペーサはプレートのその元来の位置から動かないまたは離れない場合を意味する。

【0115】

CROFプロセスにおける2枚のプレートの「開放構成」という用語は、2枚のプレートが部分的または完全にのいずれかで分離して離れており、プレート間隔がスペーサによる調節を受けない構成を意味する。

【0116】

CROFプロセスにおける2枚のプレートの「閉鎖構成」という用語は、プレートが互いに面しており、スペーサ及び試料の関連体積がプレート間にあり、試料の関連体積の厚さがプレート及びスペーサにより調節され、ここで、関連体積は、試料の全体積の少なくとも一部分である構成を意味する。

【0117】

CROFプロセスにおいて「試料厚さがプレート及びスペーサにより調節される」という用語は、プレート、試料、スペーサ、及びプレート圧縮法の所定条件下で、プレートの閉鎖構成での試料の少なくとも一部の厚さが、スペーサ及びプレートの特性から予め決定可能であることを意味する。

【0118】

CROF装置のプレートの「内側表面」または「試料表面」という用語は、試料と接触するプレート表面を示し、これに対してプレートの他方の表面（試料と接触しない）は、「外側表面」と呼ばれる。

【0119】

CROF装置の「Xプレート」という用語は、プレートの試料表面にスペーサを備える

10

20

30

40

50

プレートを示し、ただし、スペーサは、予め確定したスペーサ間距離及びスペーサ高さを有し、ただし、スペーサの少なくとも1つは試料接触領域の内側にある。

【0120】

「CROF装置」という用語は、CROFプロセスを行う装置を示す。「CROFされる(CROFed)」という用語は、CROFプロセスが使用されることを意味する。例えば、「試料がCROFされた」という用語は、試料が、CROF装置の内側に入れられ、CROFプロセスが行われ、そして特に記載がない限り、試料がCROFの最終構成に置かれたことを意味する。

【0121】

「CROFプレート」という用語は、CROFプロセスを行う際に使用される2枚のプレートを示す。

10

【0122】

平面状の表面の「表面平滑性」または「表面平滑性変動度」という用語は、約数マイクロメートルまたはそれ未満の短い距離にわたっての、平面状の表面の、完全平坦面からの偏差の平均を示す。表面平滑性は、表面平坦性変動度とは異なる。平面状の表面は、良好な表面平坦性を有していても、表面平滑性が良くない可能性もある。

【0123】

平面状の表面の「表面平坦性」または「表面平坦性変動度」という用語は、約10 $\mu$ mまたはそれより長い距離にわたっての、平面状の表面の、完全平坦面からの偏差の平均を示す。表面平坦性変動度は、表面平滑性とは異なる。平面状の表面は、良好な表面平滑性を有していても、表面平坦性が良くない可能性もある(すなわち、表面平坦性変動度が大きい)。

20

【0124】

プレートまたは試料の「相対表面平坦性」という用語は、プレート表面平坦性変動度対最終試料厚さの比である。

【0125】

CROFプロセスにおける「最終試料厚さ」という用語は、特に指定がない限り、CORFプロセスにおけるプレートの閉鎖構成での試料の厚さを示す。

【0126】

CROFにおける「圧縮法」という用語は、2枚のプレートを開放構成から閉鎖構成にする方法を示す。

30

【0127】

プレートの「関心対象領域」または「関心対象の領域」という用語は、プレートが行う機能に関連する、プレートの領域を示す。

【0128】

「最大で」という用語は、「～以下」を意味する。例えば、スペーサ高さが最大で1 $\mu$ mであるとは、スペーサ高さが1 $\mu$ m以下であることを意味する。

【0129】

「試料領域」という用語は、近似的にプレート間の空間と平行かつ試料厚さと垂直である方向での試料の領域を意味する。

40

【0130】

「試料厚さ」という用語は、互いに面するプレートの表面に対して垂直方向(例えば、プレート間の間隔の方向)での試料寸法を示す。

【0131】

「プレート間隔」という用語は、2枚のプレートの内側表面間の距離を示す。

【0132】

CROFにおいて「最終試料厚さの偏差」という用語は、予め確定したスペーサ高さ(スペーサの製造から決定される)と最終試料厚さの平均の間の差異を意味し、ただし、平均最終試料厚さは、所定の面積にわたり平均をとったものである(例えば、1.6cm $\times$ 1.6cmの面積にわたり25の異なる点(4mm間隔)の平均)。

50

## 【0133】

CROFプロセスにおける「測定された最終試料厚さの均一性」という用語は、所定の試料面積にわたり測定された最終試料厚さの標準偏差（例えば、平均に対する標準偏差）を意味する。

## 【0134】

CROFプロセスにおける「試料の関連体積」及び「試料の関連面積」という用語は、それぞれ、CROFプロセス中にプレートに付着した試料の一部または全部の体積及び面積で、それぞれの方法または装置により行われる機能に関連するものを示し、機能として、分析物もしくは実体の結合時間の減少、分析物の検出、体積の定量、濃度の定量、試薬の混合、または濃度（分析物、実体、または試薬）の制御が挙げられるが、これらに限定

10

## 【0135】

「一部の実施形態」、「実施形態によっては」、「本発明において、実施形態によっては」、「実施形態」、「1つの実施形態」、「別の実施形態」、「ある特定の実施形態」、「多くの実施形態」などの用語は、特に具体的な記載がない限り、本開示全体（すなわち、本発明全体）に当てはまる実施形態（複数可）を示す。

## 【0136】

CROFプロセスにおける物体の「高さ」または「厚さ」という用語は、具体的な記載がない限り、プレートの表面に対して垂直方向での、その物体の寸法を示す。例えば、スペーサ高さとは、プレートの表面に対して垂直方向でのスペーサの寸法であり、スペーサ

20

## 【0137】

CROFプロセスにおける物体の「領域」という用語は、具体的な記載がない限り、プレートの表面と平行である、その物体の領域を示す。例えば、スペーサ領域とは、プレートの表面と平行であるスペーサの領域である。

## 【0138】

CROFプロセスにおける「横方向の」または「横方向で」という用語は、具体的な記載がない限り、プレートの表面と平行な方向を示す。

## 【0139】

CROFプロセスにおけるスペーサの「幅」という用語は、具体的な記載がない限り、

30

## 【0140】

「試料内側のスペーサ」という用語は、スペーサが試料により取り囲まれていることを意味する（例えば、試料内側のピラスペーサ）。

## 【0141】

CROFプロセスにおけるプレートの「臨界曲げスパン」という用語は、2つの支持体の間のプレートのスパン（すなわち、距離）を示し、所定の柔軟性プレート、試料、及び圧縮力に関して、そのスパンでは、プレートの曲げが、許容される曲げに等しい。例えば、所定の柔軟性プレート、試料、及び圧縮力に関して、許容される曲げが50 nmであり、臨界曲げスパンが40 μmである場合、40 μm離れた2つの隣接するスペーサ間のプレートの曲げは、50 nmとなり、2つの隣接するスペーサが40 μm未満しか離れていない場合、曲げは50 nm未満となる。

40

## 【0142】

試料に関して「流動性の」という用語は、試料の厚さが低下したときに、横方向の寸法が増大することを意味する。例えば、糞便試料は、流動性とみなされる。

## 【0143】

本発明の実施形態によっては、CROFプロセス下にある試料は、試料厚さがCROFプロセス下で減少可能である限り、プロセスの恩恵を受けるために流動性でなくなる。例えば、CROFプレートの表面に色素を置いて組織を染色するために、CROFプロセスは、組織厚さを減少させて、その結果、色素による染色のための飽和インキュベーション

50

時間を速めることができる。

【0144】

「CROFカード(またはカード)」、「COFカード」、「QMAXカード」、「Qカード」、「CROF装置」、「COF装置」、「QMAX装置」、「CROFプレート」、「COFプレート」、及び「QMAXプレート」という用語は、同義であるが、ただし、実施形態によっては、COFカードはスペーサを備えず；これらの用語は、異なる構成(開放構成及び閉鎖構成を含む)へと互いに対して相対的に可動性である第一プレート及び第二プレートを備えかつプレート間の間隔を調節するスペーサ(COFの一部の実施形態を除く)を備える装置、を示す。「Xプレート」という用語は、CROFカードの2枚のプレートの片方を示し、ここで、スペーサは、このプレートに固定されている。COFカード、CROFカード、及びXプレートについてのさらなる説明は、2017年2月7日出願の仮出願番号第62/456065号に記載されており、この出願は、本明細書中そのまま全体があらゆる目的で援用される。

10

【0145】

本開示のさらなる態様は、それぞれが、試料中の複数の分析物と結合する複数の捕捉剤を備えたCROF装置、すなわち、多重CROF装置を包含する。そのような場合、複数の捕捉剤を備えたCROF装置は、異なる種類の分析物(タンパク質、核酸、抗体、病原など)を検出するように構成することができる。異なる分析物は、アレイ内の場所、異なる分析物に結合する検出可能な標識の放出波長、またはそれらの組み合わせに基づいてアレイ上でそれぞれを識別することができる。

20

【0146】

本発明の方法、装置、及びシステムにより診断または測定可能な健康状態として、例えば、以下が挙げられる：化学的バランス；栄養状態；運動；疲労；睡眠；ストレス；前糖尿病；アレルギー；加齢；環境毒、殺虫剤、除草剤、合成ホルモン類似体への曝露；妊娠；閉経；及び男性更年期。

【0147】

ある特定の実施形態において、2つ以上の異なる核酸試料中の相対核酸レベルを、上記の方法を用いて取得することができ、そして比較することができる。そうした実施形態において、上記の方法で得られた結果は、通常、試料中の合計核酸量(例えば、構成的RNA)に対して正規化され、比較される。これは、比を比較することにより、または任意の他の手段により行うことができる。特定の実施形態において、2つ以上の異なる試料の核酸プロファイルを比較して、特定疾患または症状に関連する核酸を同定することができる。

30

【0148】

いくつかの例において、異なる試料は、「実験」試料からなる、すなわち、目的の試料及び実験試料との比較が可能な「対照」試料からなることが可能である。多くの実施形態において、異なる試料は、細胞型またはその画分の対であり、一方の細胞型は、目的の細胞型、例えば異常細胞であり、他方は、対照、例えば、正常な、細胞である。2つの細胞画分を比較する場合、画分は、通常、2つの細胞のそれぞれからの同じ画分である。しかしながら、ある特定の実施形態において、同一細胞の2つの画分を比較することができる。細胞型の対の例として、例えば、組織生検(例えば、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、皮膚癌などの疾患を有する、または病原に感染した組織から)から単離された細胞と、同一組織由来の正常細胞、通常は同一患者に由来する；不死である(例えば、増殖性変異または不死化導入遺伝子を持つ細胞)、病原に感染した、または処理された(例えば、ペプチド、ホルモンなどの環境もしくは化学作用剤、温度変化、成長条件、物理ストレス、細胞形質転換などで)組織培養で成長した細胞と、正常細胞(例えば、不死ではない、感染していない、処理されていないなどの点以外は、実験細胞と同一である細胞)；癌もしくは疾患を有する哺乳類、老齢期哺乳類、またはある条件に曝露した哺乳類から単離された細胞と、同一種、好ましくは同一家族の、健康なまたは若い哺乳類由来の細胞；ならびに、同一哺乳類に由来する分化細胞と非分化細胞(例えば、哺乳類において一方の細胞は、

40

50

他方の前駆細胞である)が挙げられる。1つの実施形態において、異なる型の細胞、例えば、神経細胞と非神経細胞、または異なる段階の細胞(例えば、細胞を刺激する前後)を採用することができる。本発明の別の実施形態において、実験材料は、ウイルスなどの病原、例えば、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)などに感染していることが疑われる細胞であり、対照材料は、病原による感染に耐性がある細胞である。本発明の別の実施形態において、試料対は、未分化細胞、例えば、幹細胞と分化細胞により表される。

#### 【0149】

スペーサを使用しない試料厚さの制御及び測定

本発明の実施形態によっては、試料または試料の関連体積を調節するのに使用されるスペーサは、(a)プレート内側間隔を測定することができる位置センサー、及び(b)センサーが提供する情報に基づき、プレート位置を制御し、及びプレートを所望のプレート内側間隔に動かすことが可能な装置で置き換えられる。実施形態によっては、全てのスペーサが、平行移動ステージ、監視センサー、及びフィードバックシステムで置き換えられる。

10

#### 【0150】

光学方法を用いた間隔及び/または試料厚さの測定。実施形態によっては、内側表面間の間隔の測定(f)は、光学干渉の利用を含む。光学干渉は、複数の波長を利用することができる。例えば、第一プレート及び第二プレートの内側表面で反射された光の干渉による光シグナルは、光の波長に合わせて振動する。振動から、内側表面間の間隔を特定することができる。干渉シグナルを増強するため、内側表面の一方または両方を、光反射材料でコーティングすることができる。

20

#### 【0151】

実施形態によっては、内側表面間の間隔の測定(f)は、光学像を撮影すること(例えば、試料の2D(二次元)/3D(三次元)画像を撮影すること、及び撮影は、異なる視点角度、異なる波長、異なる位相、及び/または異なる偏光で複数回行うことができる)及び画像処理することを含む。

#### 【0152】

光学方法を用いた全試料面積または体積の測定。実施形態によっては、全試料面積または体積の測定(f)は、光学像を撮影すること(例えば、試料の2D(二次元)/3D(三次元)画像を撮影すること、及び撮影は、異なる視点角度、異なる波長、異なる位相、及び/または異なる偏光で複数回行うことができる)及び画像処理することを含む。試料面積は、第一プレート及び第二プレートに対して近似的に平行な方向での面積を意味する。3D撮影は、干渉縞投影プロフィロメトリー(FPP)法を使用することができる。FPP法は、物体の三次元(3D)画像を得るための方法として最も普及しているものの1つである。

30

#### 【0153】

アッセイ速度。実施形態によっては、放出時間制御材料を、プレート上の試薬にコーティングする、またはその試薬と混合するが、ここで、放出時間制御材料は、試薬が試料に放出される時間を遅らせるものである。実施形態によっては、放出時間制御材料は、乾燥試薬が血液試料中に放出される時間を、少なくとも3秒、例えば、少なくとも5秒、または少なくとも10秒、または少なくとも20秒、または少なくとも60秒、または少なくとも90秒、あるいはこれらのうち2つの間の範囲にある値で遅らせる。

40

#### 【0154】

実施形態によっては、装置は、試料を、60秒以下、90秒以下、120秒以下、240秒以下、300秒以下、またはこれらのうち2つの間の範囲にある値で分析するように構成される。

#### 【0155】

実施形態によっては、閉鎖構成で、最終試料厚さの装置は、試料を、60秒以下で分析するように構成される。

#### 【0156】

50

実施形態によっては、閉鎖構成で、最終試料厚さの装置は、試薬が試料で飽和する時間が10秒以下、30秒以下、60秒以下、90秒以下、120秒以下、240秒以下、300秒以下、またはこれらのうち2つの間の範囲にある値であるように構成される。

【0157】

QMAXカードのさらなる例。上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサは、ピラー形状を有し、断面がほぼ均一である。

【0158】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離(SD)は、約120 $\mu\text{m}$ (マイクロメートル)以下である。

【0159】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離(SD)は、約100 $\mu\text{m}$ (マイクロメートル)以下である。

【0160】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離(ISD)の4乗を柔軟性プレートの厚さ(h)及びヤング率(E)で除した値( $ISD^4 / (hE)$ )は、 $5 \times 10^6 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。

【0161】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離(ISD)の4乗を柔軟性プレートの厚さ(h)及びヤング率(E)で除した値( $ISD^4 / (hE)$ )は、 $5 \times 10^5 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。

【0162】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサは、ピラー形状、実質的に平坦な頂部表面、予め確定した実質的に均一な高さ、及び予め確定した一定のスペーサ間距離を有し、予め確定した一定のスペーサ間距離は、分析物の寸法の少なくとも約2倍の大きさがあり、ここで、スペーサのヤング率 $\times$ スペーサの充填率は、2MPa以上であり、ここで、充填率は、スペーサ接触面積対合計プレート面積の比であり、かつここで、各スペーサについて、スペーサの横方向寸法対その高さの比は、少なくとも1(いち)である。

【0163】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサー(例えば、ピラー)は、周期的または非周期的である。

【0164】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサは、ピラー形状、実質的に平坦な頂部表面、予め確定した実質的に均一な高さ、及び予め確定した一定のスペーサ間距離を有し、予め確定した一定のスペーサ間距離は、分析物の寸法の少なくとも約2倍の大きさがあり、ここで、スペーサのヤング率 $\times$ スペーサの充填率は、2MPa以上であり、ここで、充填率は、スペーサ接触面積対合計プレート面積の比であり、かつここで、各スペーサについて、スペーサの横方向寸法対その高さの比は、少なくとも1(いち)であり、ここで、スペーサ間距離(ISD)の4乗を柔軟性プレートの厚さ(h)及びヤング率(E)で除した値( $ISD^4 / (hE)$ )は、 $5 \times 10^6 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。

【0165】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサのスペーサ間距離対スペーサの平均幅の比は、2以上であり、スペーサの充填率 $\times$ スペーサのヤング率は、2MPa以上である。

【0166】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、分析物は、タンパク質、ペプチド、核酸、合成化合物、または無機化合物である。

【0167】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、羊水、眼房水

10

20

30

40

50

、硝子体液、血液（例えば、全血、分画血液、血漿、または血清）、母乳、脳脊髄液（CSF）、耳垢（イヤークラックス）、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、呼気、胃酸、胃液、リンパ液、粘液（鼻漏及び痰を含む）、心膜液、腹水、胸水、膿、粘膜分泌物、唾液、呼気凝縮液、皮脂、精液、痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、及び尿から選択される生体試料である。

【0168】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサは、ピラー形状を有し、ピラーの幅対高さの比は、1以上である。

【0169】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、プレートの一方または両方に付着した試料は、体積不明である。

10

【0170】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサは、ピラー形状を有し、ピラーは、実質的に均一な断面を有する。

【0171】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、ある特定の疾患の段階と相関する化合物または生体分子を検出、精製、及び定量するためのものである。

【0172】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、感染症及び寄生虫症、外傷、循環器疾患、癌、精神疾患、精神神経障害、肺疾患、腎疾患、ならびに他の及び器質的疾患に関連する。

20

【0173】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、微生物の検出、精製、及び定量に関連する。

【0174】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、環境、例えば、水、土壌、または生体試料などに由来するウイルス、真菌、及び細菌に関連する。

【0175】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、食の安全または国家安全に危害を及ぼす化合物または生体試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽菌などの検出、定量に関連する。

30

【0176】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、医療または生理的モニタリングにおけるバイタルパラメーターの定量に関する。

【0177】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、グルコース、血液、酸素濃度、総血球数に関連する。

【0178】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、生体試料からの特定DNAまたはRNAの検出及び定量に関する。

40

【0179】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、ゲノム分析のための染色体及びミトコンドリア中のDNAの遺伝子配列の配列決定及び比較に関連する。

【0180】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、例えば、医薬品の合成または精製中の反応生成物の検出に関する。

【0181】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、細胞、組織、

50

体液、及び糞便である。

【0182】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、ヒト、獣医学、農学、食品、環境、及び薬物検査の分野における試料である。

【0183】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、試料は、毛髪、指の爪、耳垢、呼気、結合組織、筋肉組織、神経組織、上皮組織、軟骨、癌性試料、または骨から選択される生体試料である。

【0184】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離は、5  $\mu\text{m}$  ~ 120  $\mu\text{m}$  の範囲にある。

10

【0185】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、スペーサ間距離は、120  $\mu\text{m}$  ~ 200  $\mu\text{m}$  の範囲にある。

【0186】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、柔軟性プレートは、20  $\mu\text{m}$  ~ 250  $\mu\text{m}$  の範囲の厚さ及び0.1 ~ 5 GPa の範囲のヤング率を有する。

【0187】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、柔軟性プレートについて、柔軟性プレートの厚さ×柔軟性プレートのヤング率は、60 ~ 750 GPa -  $\mu\text{m}$  の範囲にある。

20

【0188】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、均一厚さの試料の層は、少なくとも1  $\text{mm}^2$  である側面積にわたり均一である。

【0189】

上記の実施形態のどれであってもその方法または装置において、均一厚さの試料の層は、少なくとも3  $\text{mm}^2$  である側面積にわたり均一である。

【0190】

実施形態によっては、撮影による試料面積または体積の測定は、(a) 面積または体積が既知の試料を用いることにより、画像縮尺を較正すること(例えば、撮影装置はスマートフォンであり、スマートフォンにより撮影された画像の寸法を、同じスマートフォンにより撮影された寸法既知の試料の画像と比較することにより、較正することができる)；(b) 画像を、第一プレート及び第二プレートの上または近くに置かれた尺度目盛り(定規)と比較すること(本明細書中、さらに説明する)、及び(c) それらの組み合わせ、を含む。

30

【0191】

本明細書中使用される場合、光は、可視光、紫外光、赤外光、及び/または近赤外光を含むことができる。光は、20  $\text{nm}$  ~ 20,000  $\text{nm}$  の範囲の波長を含むことができる。

【0192】

なお、本明細書及び添付の特許請求の範囲中使用される場合、単数形の「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、文脈から明白に決まるのではない限り、例えば、「単一の」という単語が使用されるなどではない限り、複数形の記述を含む。例えば、「分析物(analyte)」という記述は、単一の分析物及び複数の分析物を含み、「捕捉剤(capture agent)」という記述は、単一の捕捉剤及び複数の捕捉剤を含み、「検出剤(detection agent)」という記述は、単一の検出剤及び複数の検出剤を含み、「作用剤(agent)」という記述は、単一の作用剤及び複数の作用剤を含み、ならびに「カメラ(camera)」という記述は、単一のカメラ及び複数のカメラを含む。

40

【0193】

50

本明細書中使用される場合、「適合している」及び「構成されている」という用語は、要素、構成要素、または他の対象物が、所定の機能を行うように設計されている及び／または意図されていることを意味する。したがって、「適合している」及び「構成されている」という用語の使用は、所定の要素、構成要素、または他の対象物が、単に、所定の機能を行う「ことができる」ことを意味すると解釈されるべきではない。同様に、特有的機能を行うように構成されているとして列挙される対象物は、その機能を行うように作動すると記載することが、追加でまたは代替で可能である。

**【0194】**

本明細書中使用される場合、「例えば」という語句、「例として」という語句、及び／または単に「例」及び「例示」という用語は、本開示に従う1つまたは複数の構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法に関して使用される場合、記載される構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法が、本開示に従う構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法の模範的、非排除的例であることを伝えることを意図する。したがって、記載される構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法は、制限を課す、必要条件となる、または排他的／徹底的であることを意図せず；構造的及び／または機能的に類似する及び／または等価な構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法も含めて、他の構成要素、特長、細部、構造、実施形態、及び／または方法が、同じく本開示の範囲に含まれる。

10

**【0195】**

本明細書中使用される場合、1つより多い実体の列挙に関する「少なくとも1つの」及び「1つまたは複数の」という語句は、実体の列挙中の任意の1つまたは複数の実体を意味し、実体の列挙に具体的に列挙される1つ1つの実体のうちの少なくとも1つに限定されない。例えば、「A及びBのうち少なくとも1つ」（または、同等に、「AまたはBの少なくとも1つ」、または、同等に「A及び／またはBの少なくとも1つ」）は、A単独、B単独、またはAとBの組み合わせを示す場合がある。

20

**【0196】**

本明細書中使用される場合、第一実体と第二実体の間に置かれる「及び／または」という用語は、(1)第一実体、(2)第二実体、及び(3)第一実体及び第二実体、のうちの1つを意味する。複数の実体が「及び／または」を用いて列挙される場合も、同様に解釈されるべきであり、すなわち、実体の「1つまたは複数」がそのように連結されている。具体的に同定される実体以外に、他の実体も、具体的に同定される実体に関連するか否かに関わらず、「及び／または」条項により任意選択で存在することができる。したがって、制限をかけない例として、「A及び／またはB」という言及は、「含む (comprising)」などの非限定語と合わせて使用される場合、実施形態によっては、Aのみを示す（任意選択で、B以外の実体を含む）場合があり；ある特定の実施形態においては、Bのみを示す（任意選択で、A以外の実体を含む）場合があり；さらにある特定の実施形態においては、AとBの両方を示す（任意選択で、他の実体を含む）場合がある。これらの実体は、要素、動作、構造、工程、操作、値などを示す場合がある。

30

**【0197】**

任意の特許、特許出願、または他の参照が、本明細書中参照として援用され、さらに本開示に援用されない箇所または他の援用される参照のいずれかに対して(1)一致しない様式で用語を定義している、及び／または(2)いずれにせよ一致しない、という事象では、本開示に援用されない箇所が優先され、その中の用語または援用される開示は、その用語が定義されている参照及び／または援用される開示が最初に存在した参照に関してのみ優先されるべきである。

40

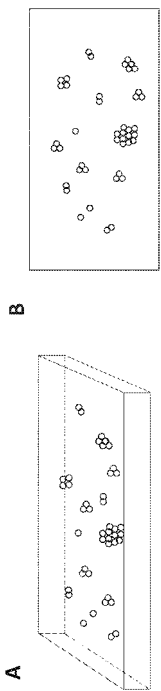
**【0198】**

以下の特許請求の範囲は、開示される本発明のうちの1つであって新規でありかつ自明ではないものに関するある特定の組み合わせ及び部分的組み合わせを特に指摘すると思われる。特長、機能、要素、及び／または特性の他の組み合わせ及び部分的組み合わせにおいて具体化される発明は、本特許請求の範囲の補正を通じて、または本出願もしくは関連

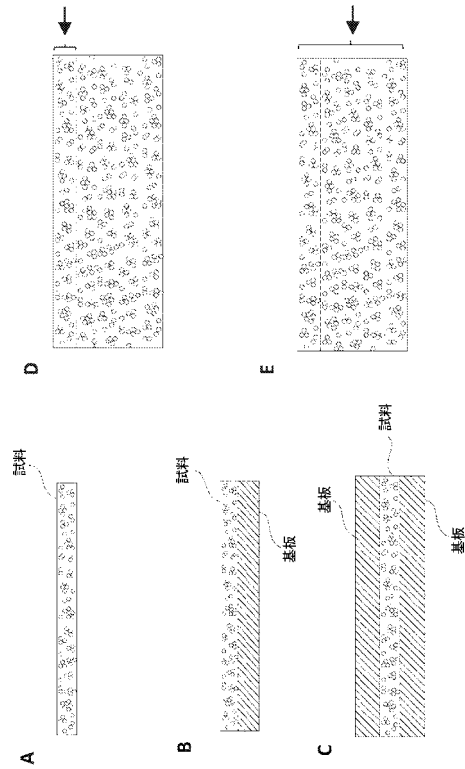
50

出願における新規請求項の提示を通じて請求される場合がある。そのような補正または新規請求項は、それらが異なる発明に関するのか同一発明に関するののかに関わらず、当初の請求項と異なる、より広義である、より狭義である、または等価であるかどうかに関わらず、同じく本開示の本発明の対象の範囲内に含まれるとみなされる。

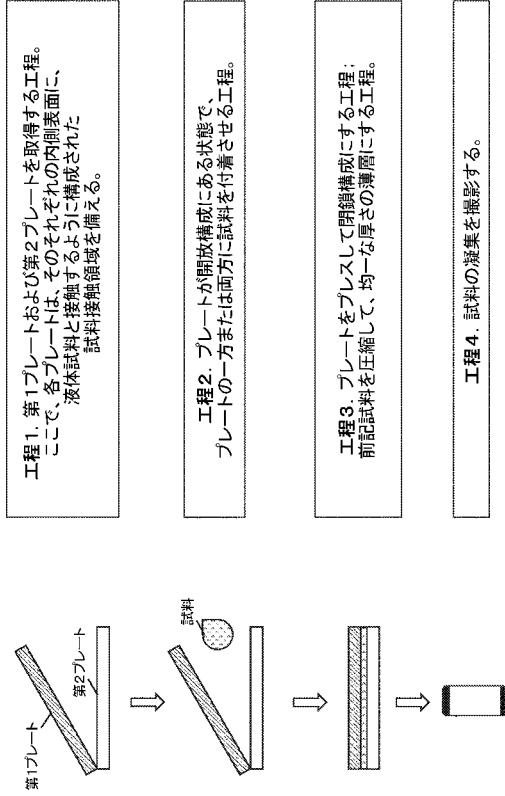
【図 1】



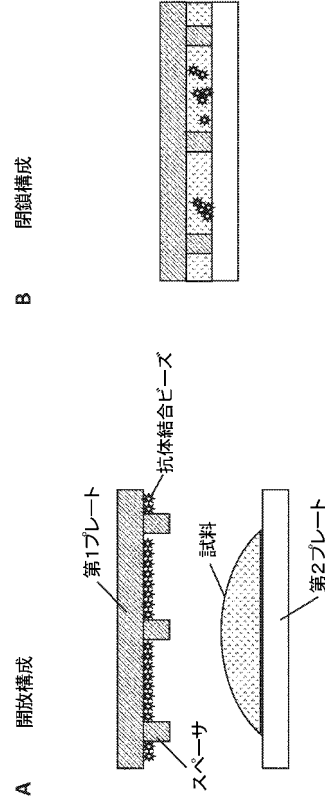
【図 2】



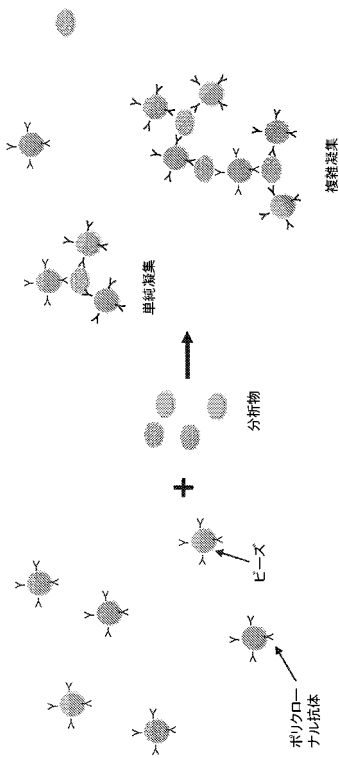
【 図 3 】



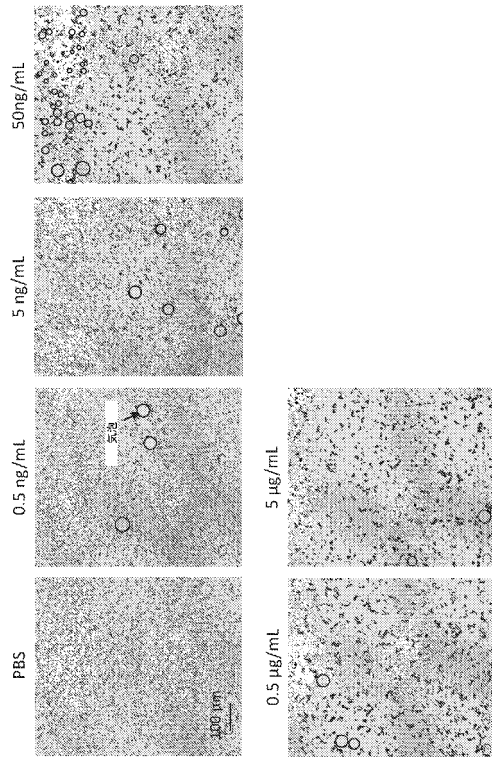
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2019/046949
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(B) - G01N 33/543; G01N 1/28; G01N 21/63; G01N 33/49 (2019.01) CPC - G01N 33/543; B01L 3/5055; B01L 3/50853; G01N 1/2813; G01N 21/6452; G01N 33/49 (2019.08)		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 422/63; 422/82.05; 435/7.1; 436/518 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
<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 2002/023154 A2 (BIOMETRIC IMAGING INC) 21 March 2002 (21.03.2002) entire document	3
---		1, 4, 6
Y	WO 2017/048871 A1 (ESSENIX CORP) 23 March 2017 (23.03.2017) entire document	1, 2, 4-6
Y	US 2003/0215810 A1 (LU et al) 20 November 2003 (20.11.2003) entire document	2, 5
P, X	WO 2019/027963 A1 (ESSENIX CORPORATION) 07 February 2019 (07.02.2019) entire document	1-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 03 October 2019		Date of mailing of the international search report <b>28 OCT 2019</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/046949

**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.:  
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:
  
3.  Claims Nos.: 7-54  
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 additional fees, this Authority did not invite payment of 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.

## 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 1/00 (2006.01)</b>	G 0 1 N 1/28	J
	G 0 1 N 21/01	B
	G 0 1 N 21/17	A
	C 1 2 M 1/00	A

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . i P h o n e

(74) 代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74) 代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 チョウ スティーブン ワイ .

アメリカ合衆国 0 8 5 4 0 ニュージャージー州 プリンストン フォーレット ドライブ 7

(72) 発明者 ディン ウェイ

アメリカ合衆国 0 8 5 1 2 ニュージャージー州 イースト ウィンザー バーンズデール ドライブ 2

(72) 発明者 リ ジ

アメリカ合衆国 0 8 5 4 0 ニュージャージー州 プリンストン レッド ヒル ロード 5 1

F ターム (参考) 2G052 AA29 AD29 AD49 DA07 DA08 GA30 GA32

2G059 AA05 BB06 BB12 DD13 EE01 EE02 FF01 FF02

4B029 AA07 BB13 BB20 CC01 FA11 FA12