

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成29年8月10日(2017.8.10)

【公表番号】特表2015-510111(P2015-510111A)

【公表日】平成27年4月2日(2015.4.2)

【年通号数】公開・登録公報2015-022

【出願番号】特願2014-551425(P2014-551425)

【国際特許分類】

G 0 1 N	35/10	(2006.01)
G 0 1 N	37/00	(2006.01)
B 0 1 J	19/00	(2006.01)
C 1 2 M	1/34	(2006.01)
C 1 2 M	1/00	(2006.01)
F 0 4 B	43/06	(2006.01)

【F I】

G 0 1 N	35/10	A
G 0 1 N	37/00	1 0 1
B 0 1 J	19/00	3 2 1
C 1 2 M	1/34	F
C 1 2 M	1/00	A
F 0 4 B	43/06	B

【誤訳訂正書】

【提出日】平成29年6月16日(2017.6.16)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

反応チャンバに基板の第1側を密閉封入するための装置であって、前記装置は、

a) 第1の表面を有するベースプレートであって、前記第1の表面は、その上に中央に配置されたプラットフォームを備え、前記プラットフォームは、頂面を有し、前記頂面は、前記頂面と並置している前記基板の前記第1側を接触して受け取るように定寸されており、前記プラットフォームは、さらに、その周囲の外側縁および外側側面を有し、5~100マイクロメートルに及ぶ高さを有する内壁によって画定される陥凹が前記頂面に形成されており、陥凹スラブが、前記内壁の底縁を接続し、平坦なレッジが、前記内壁の上縁および前記プラットフォームの前記外側縁を接続し、前記平坦なレッジは、その上に前記基板の前記第1側を支持するためのものであり、それにより、前記第1側が前記平坦なレッジに密着されたときに、ヘッドスペース体積を有する反応チャンバが、前記陥凹スラブと前記基板の前記第1側との間に形成される、ベースプレートと、

b) 前記プラットフォームの前記外側縁に適合されたガスケットであって、前記基板は、前記ガスケットを使用して前記プラットフォーム上に形成された外側穴縁に密閉して締め付け可能である、ガスケットと、

c) 第1のダイヤフラムポンプおよび第2のダイヤフラムポンプであって、前記第1のダイヤフラムポンプは、前記反応チャンバへの第1の流体接続を有し、前記第2のダイヤフラムポンプは、前記反応チャンバへの第2の流体接続を有し、前記第1のダイヤフラムポンプおよび第2のダイヤフラムポンプのうちの少なくとも1つは、前記反応チャンバの

外側に配置された 1 つ以上の試薬貯留部または排出口への 1 つ以上の流体接続を有する、第 1 の ダイヤフラムポンプ および第 2 の ダイヤフラムポンプ を備え、

前記第 1 側は、前記基板の平面であり、前記基板は、前記平面に結合されている有機物を有する、装置。

【請求項 2】

前記 ダイヤフラムポンプ は、気圧で駆動され、正のストロークと、負の吸引ストロークとを有する、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記第 1 の流体接続と前記第 2 の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、陽圧パルスを各 ダイヤフラムポンプ に交互に印加することによって、前記第 1 の ダイヤフラムポンプ および第 2 の ダイヤフラムポンプ を繰り返し作動させることによって駆動される、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 4】

前記第 1 の流体接続と前記第 2 の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、陽圧パルスを前記第 1 の ダイヤフラムポンプ に印加し、吸引圧力パルスを前記第 2 の ダイヤフラムポンプ に印加し、次いで、各 ダイヤフラムポンプ に印加される前記パルスの圧力を逆転させることによって、前記第 1 の ダイヤフラムポンプ および第 2 の ダイヤフラムポンプ を作動させることによって駆動される、請求項 3 に記載の装置。

【請求項 5】

前記 ダイヤフラムポンプ は、磁気的に駆動され、正のポンプストロークと、負のポンプストロークとを有し、さらに、前記第 1 の流体接続と前記第 2 の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、前記第 1 の ダイヤフラムポンプ の第 1 のポンプストロークおよび前記第 2 の ダイヤフラムポンプ の第 2 のポンプストロークの極性を交互に反転させることによって可能にされる、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

複数対の ダイヤフラムポンプ を備え、前記複数対の ダイヤフラムポンプ の各々は、前記反応チャンバへの流体接続を有し、前記複数対は、前記反応チャンバを横断して、前記反応チャンバを通して、流体流を駆動するように配置されている、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記装置は、前記基板上の視認領域にアクセスするための観察窓を備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 8】

前記基板上の視認領域にアクセスするための前記観察窓は、前記ガスケットに形成されている、請求項 7 に記載の装置。

【請求項 9】

前記観察窓は、バーコードラベルが前記視認領域の外側で前記基板に適用されることを可能にするように寸法比がとられている、請求項 7 に記載の装置。

【請求項 10】

前記基板上の視認領域にアクセスするための観察窓は、前記ベースプレートに形成され、隆起した前記プラットフォームを通って延在する、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

前記 ダイヤフラムポンプ のうちの少なくとも 1 つと流体連絡している廃棄物出口をさらに備える、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 12】

前記基板は、スライドガラスである、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 13】

前記第 1 の ダイヤフラムポンプ および第 2 の ダイヤフラムポンプ は、前記プラットフォームに近接して配置されている、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 14】

前記プラットフォームは、隆起している、請求項1に記載の装置。

【請求項15】

前記ガスケットは、エラストマー、ビニルゴム、またはシリコーンから形成されている、請求項1に記載の装置。

【請求項16】

前記ガスケットは、前記平坦なレッジの上に前記基板を覆って密閉封入するための伸張可能なウェブと、その周囲で前記外側縁および外側側壁面に密閉結合するための周辺スケートとを備える、請求項1に記載の装置。

【請求項17】

切り込みが、前記ガスケットの側面上に形成され、前記切り込みは、前記反応チャンバの内側の前記基板の前記第1側、および前記反応チャンバの外側の前記基板の突出区画を密閉封入するためのものである、請求項1に記載の装置。

【請求項18】

前記切り込みは、基板またはスライドガラスを受け取るために適合され、電気接合部が、前記基板の前記突出区画または前記スライドガラス上に載置され、前記電気接合部は、前記反応チャンバ内の回路に接続している、請求項17に記載の装置。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】マイクロ流体リアクタシステム

【技術分野】

【0001】

(技術分野)

本発明は、生物学的検定の一般分野に関し、より具体的には、固体基板、概して、スライドガラス上で、細胞、酵素、化学、および分子生物学的プロセスを行うためのマイクロ流体装置に関する。

【背景技術】

【0002】

(関連技術の説明)

診療地点(例えば、野外、遠隔領域、医師の診療室、および病院内のベッドの傍ら等)におけるバイオマーカーの検出は、リアルタイム診断情報を提供し、患者治療成果を向上させ、サンプル量を減少させ、多くが比較的非侵襲的に取得され得る、広範囲の生物学的サンプルから分析情報をもたらすという潜在性を有する。

【0003】

マイクロ流体デバイス試験形式での臨床検定の開発に関連する、共同譲渡された特許および特許出願は、PCT公開第WO200201184号(「Fluid Mixing in Microfluidic Structures」)、米国特許第6,743,399号(「Pumpless Microfluidics」)、米国特許第6,488,896号(「Microfluidic Analysis Cartridge」)、米国特許出願公開第20050106066号(「Microfluidic Devices for Fluid Manipulation and Analysis」)、米国特許出願公開第20020160518号(「Microfluidic Sedimentation」)、米国特許出願公開第20030124619号(「Microscale Diffusion Immunoassay」)、米国特許出願公開第20030175990号(「Microfluidic Channel Network Device」)、米国特許出願公開第20050013732号(「M

ethod and System for Microfluidic Manipulation, Amplification and Analysis of Fluids, For Example, Bacteria Assays and Antiglobulin Testing」)、米国特許第6,581,899号(「Valve for Use in Microfluidic Structures」)、およびPCT公開第WO2007/064635号(「Microfluidic Cell Capture and Mixing Circuit」)を含み、その全ては、それらの全体で参照することにより本明細書に組み込まれる。また、マイクロ流体弁構造に関する米国特許第6,729,352号も、参照することにより本明細書に組み込まれる。

【0004】

毛管作用が、例えば、米国特許第5,415,994号、米国特許第5,658,723号、およびPCT公開第WO199633399号で議論されているように、小型の使い捨て診断デバイスを設計する際に有用であることが証明されている。しかしながら、感度を向上させるために、親和性捕捉中の混合が役立つ可能性が高い。しかしながら、少量を混合することは、独特の問題がないわけではない。マイクロ量で混合することの問題は、例えば、米国特許第6,468,807号、第6,916,113号、第6,872,566号、および第6729352号(「スリットミキサ」を説明する)で、また、Hardt, S. et al.("Passive Micromixers for Applications in the Microreactor and μTAS Fields", Microfluid Nanofluid, vol. 1: 108-118, 2005)で、様々に対処されている。

【0005】

さらなる関連技術は、BioMicro Systemsによって販売され、PCT公開第WO2003015923号、米国特許出願公開第20050019898号、および米国特許第7,223,363号で説明されている、Maui(登録商標) Mixerを含む。これらの開示の教示は、具体的には、直線マイクロ流体チャンバの各端部に載置される一対の可撓性プラダ、およびチャンバをスライドガラスに密閉するためのガスケット付きアセンブリの使用に関する。好ましい寸法が挙げられ、請求項は、概して、平行側面を伴う直線チャンバを対象とする。具体的には、チャンバの高さは、概して、10~500μmであり、高さは、長さおよび幅に対して小さい。チャンバの壁は、気泡の閉じ込めおよび混合効率の低減を回避するよう、平滑であるように、および流動軸と平行に及ぶように選択される。米国特許第5,100,626号および第6,303,389号はまた、平行チャネル壁も教示する。

【0006】

混合は、米国特許第6,326,211号では超音波処理で、米国特許第6,309,875号では攪拌で達成される。また、PCT公開第WO200201184号および第WO200170381号、ならびに米国特許第6,287,850号、第6,272,939号、第6,158,712号、第5,922,591号、および第5,639,428号も参照されたい。しかしながら、これらの方は、診療地点に容易に適合されない、比較的大きいサンプル量、大型混成チャンバ、および不便または複雑な機器に依存する。また、関連するものとして、米国特許第5,718,567号は、逆止弁およびチタンダイヤフラムを伴うマイクロスケールダイヤフラムポンプを説明し、Pelrineに対する米国特許第7,052,594号は、マイクロ流体ポンプで使用するための電気的活性ダイヤフラムを説明し、Kohに対する米国特許第6,843,263号は、弾性薄膜カバーおよび機械アクチュエータを有し、膜が本体を密閉する働きをし、機械アクチュエータが膜を変形させ、本体の流体のプラグを移動させる働きをし、流体プラグの往復流を生成するように膜および開放排出の弹性に依存する、「変形可能なチャンバ」を伴うマイクロ流体力学カードを説明する。有害なサンプルを含有する開放排出システムの加圧は、米国特許第5,718,567号の教示の重大な不利点である。

【0007】

しかしながら、臨床標本の使い捨てマイクロ流体デバイスベースの検定の使用を考慮すると、完全に閉鎖した「単回進入」システムの設計は、十分に対処されていない。感染の可能性があるヒト標本を用いて作業することと関連付けられる汚染の危険を考慮すると、ガスケット付き密閉手段を用いたデバイスの中への再密閉可能な入口は、多くの場合、容認可能ではない。また、検定形式は、診療地点での自動および手動検定の両方において、ロバストであり、広範囲のバイオマーカーとともに使用するために容易に適合されなければならない。これらの目的を達成するために、マイクロ量のための混合技術分野でのさらなる改良が必要とされる。

【0008】

また、マイクロ流体寸法を有し得る標本を覆う薄い流体層内の混合を助長する必要性がある、それらに限定されないが、組織標本、細胞標本を載置、染色、および検査するため、ならびにDNAおよびタンパク質検定を選別するために頻繁に使用される、スライドガラス等の固体平面基板と互換性がある、デバイスも必要とされる。

【0009】

したがって、当分野での進歩があったが、当技術分野では前述の基準を満たすマイクロ流体デバイスの必要性が残っている。本発明は、これらの必要性に対処し、さらなる関連利点を提供する。

【先行技術文献】**【特許文献】****【0010】**

【特許文献1】国際公開第200201184号

【特許文献2】米国特許第6,743,399号明細書

【特許文献3】米国特許第6,488,896号明細書

【特許文献4】米国特許出願公開第20050106066号明細書

【特許文献5】米国特許出願公開第20020160518号明細書

【特許文献6】米国特許出願公開第20030124619号明細書

【特許文献7】米国特許出願公開第20030175990号明細書

【特許文献8】米国特許出願公開第20050013732号明細書

【特許文献9】米国特許第6,581,899号明細書

【特許文献10】国際公開第2007/064635号

【特許文献11】米国特許第6,729,352号明細書

【特許文献12】米国特許第5,415,994号明細書

【特許文献13】米国特許第5,658,723号明細書

【特許文献14】国際公開第199633399号

【特許文献15】米国特許第6,468,807号明細書

【特許文献16】米国特許第6,916,113号明細書

【特許文献17】米国特許第6,872,566号明細書

【特許文献18】国際公開第2003015923号

【特許文献19】米国特許出願公開第20050019898号明細書

【特許文献20】米国特許第7,223,363号明細書

【特許文献21】米国特許第5,100,626号明細書

【特許文献22】米国特許第6,303,389号明細書

【特許文献23】米国特許第6,326,211号明細書

【特許文献24】米国特許第6,309,875号明細書

【特許文献25】国際公開第200170381号

【特許文献26】米国特許第6,287,850号明細書

【特許文献27】米国特許第6,272,939号明細書

【特許文献28】米国特許第6,158,712号明細書

【特許文献29】米国特許第5,922,591号明細書

【特許文献 30】米国特許第 5 6 3 9 4 2 8 号明細書

【特許文献 31】米国特許第 5 , 7 1 8 , 5 6 7 号明細書

【特許文献 32】米国特許第 7 , 0 5 2 , 5 9 4 号明細書

【特許文献 33】米国特許第 6 , 8 4 3 , 2 6 3 号明細書

【特許文献 34】米国特許第 5 , 7 1 8 , 5 6 7 号明細書

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献 1】Hardt, S. et al. "Passive Micromixers for Applications in the Microreactor and μTAS Fields", Microfluid Nanofluid, vol. 1: 108 - 118, 2005

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0012】

現在、材料および小型化の進歩が、マイクロ流体に基づく生物検定用の新世代のデバイスへのこれらの検定の適合を可能にしている。これらは、手持ち式カートリッジ（「カード」とも称される）として、または自動あるいは半自動機械支援検査用のカートリッジとしてのいずれかで規格化することができる。マイクロ流体デバイスベースの検定は、リアルタイムでの多種多様の生物学的流体およびサンプルからの診療地点結果、随意に、単回使用試薬パックと連動するか、または完全内蔵型であり、完全に手動で動作可能である、検定カートリッジとともに、少量サンプリングを可能にする。

【0013】

マイクロ流体デバイス形式での完全酵素結合免疫吸着検定（ELISA）システムが、広範囲のバイオマーカー分子の検出のために提供される。そのようなデバイスは、概して、使い捨てで低費用である。ロバストなマイクロ流体デバイス形式に適合される生物検定は、標的：親和性捕捉ペアとして、抗体 / 抗原、抗原 / 抗体、抗体 / タンパク質 A、グリコマー / レクチン、および概してシグナル分子 / 受容体に基づくもの等の固相親和性捕捉検定を含む。ELISA用の好ましい固相親和性捕捉検定システムは、抗体 / 抗原、抗原 / 抗体、抗体 / タンパク質 A、 streptotavidin / avidin、およびヒスチジン / NT A 標的：親和性捕捉ペアを含む。酵素結合抗体、抗原、streptotavidin、およびヒスチジンに富むタンパク質が、概して、利用可能であるか、または当技術分野で周知の技法によって合成されてもよい。免疫親和性捕捉および標的バイオマーカー信号のタギングまたは增幅のための検出システムは、例えば、酵素結合共役および発色基質（免疫発色性およびELISA型検出）、streptotavidin酵素共役（再度、ELISA型または免疫発色性検出を用いる）、抗体連結ビーズ、抗原連結ビーズ（免疫沈降または凝集型検出を用いる）、タンパク質 A 連結ビーズ、streptotavidin連結ビーズ、および酵素またはビーズ共役タンパク質ヒスチジンニッケルキレートを含む。タギング用のビーズは、結合または凝集を容易に検出することができるよう、色付き、蛍光性、発光性であり得、高周波伝送機でタグ付けし、または別様に標識することができる。滴定および結合中和検定もまた、検出可能な終点を提供する。本明細書で開示されるマイクロ流体デバイスベースの免疫学的検定はまた、親和性濃縮ステップまたは混合での磁気ビーズの使用も予測する。

【0014】

標的被分析物を固相親和性捕捉剤と、かつ試薬と、接触させるために必要とされるような少量の混合は、一対のそのようなポンプの間に配置される親和性捕捉部位を横断して往復流を生成するのに有用である、本明細書では「ベローズポンプ」と称されるダイヤフラムポンプを用いて達成される。停滞した液体は、インペラの必要性を排除し、インキュベーション時間を短縮する、ポンプと 1 つまたは複数の親和性捕捉部位を含有する中心チャンバとの間に位置付けられる、「流動抑制」または「流動集束」開口の使用によって分解される。平均流速は、マイクロスケールへの Penberthy 排出装置の発明的適合で

ある、混合を補助する乱流または近乱流の特徴を示すプルームマイクロ渦を引き起こす、集束開口によって増加させられる。この混合方法は、本明細書では「マイクロ導出型混合」または「導出型混合」と称される。マイクロ流体デバイスの本体の内側でベローズポンプを対向することによって、本システムは、動作中に（排出することなく）完全に閉鎖することができ、デバイスの内容物へのオペレータの暴露に対する有用な予防策である。

【0015】

デバイスまたは装置として、本明細書では、第1の流動抑制開口によって検定チャンバに流体的に接続される第1のベローズポンプ、および第2の流動抑制開口によって検定チャンバに流体的に接続される第2の対向ベローズポンプの組み合わせが開示され、ベローズポンプは、タンデム動作のための気圧アクチュエータを伴って構成され、それによって、排出することなく、流体が検定チャンバを通して前後に送出され、さらに、第1および第2の流動抑制開口は、マイクロ導出型混合のために構成され、検定チャンバはさらに、異種結合検定のための親和性捕捉部位を備える。

【0016】

動作プロセスとして、本明細書では、排出することなく、親和性捕捉部位を横断して標的被分析物を含有する流動サンプルを前後に送出するステップであって、タンデムベローズポンプを用いたマイクロ導出型混合をさらに含む、送出するステップと、結合した標的被分析物を検出するステップとを含む、マイクロ流体デバイスでの異種結合検定のための方法が開示される。

【0017】

例えば、一実施形態では、a) 第1の流動抑制開口によって検定チャンバに流体的に接続される第1のベローズポンプと、b) 第2の流動抑制開口によって該検定チャンバに流体的に接続される第2のベローズポンプと備え、i) 該第1および第2のベローズポンプは、タンデム動作のための気圧アクチュエータを備え、それによって、排出することなく、流体が該検定チャンバを通して前後に送出され、ii) 該第1および第2の流動抑制開口は、マイクロ導出型混合のために構成され、iii) 該検定チャンバはさらに、異種結合検定のための親和性捕捉部位を備える、異種結合検定を行うためのマイクロ流体カードが開示される。

【0018】

さらなる実施形態では、該カードはさらに、a) 外面を伴うプラスチックカード本体であって、i) 該第1のベローズポンプであって、該第1のベローズポンプは、第1の可撓性ダイヤフラムによって冠状面内で等分される第1のポンプ空洞を備え、該第1の可撓性ダイヤフラムは、該第1のポンプ空洞を上半分のチャンバおよび下半分のチャンバに分割する、該第1のベローズポンプ、ii) 該第2のベローズポンプであって、該第2のベローズポンプは、第2の可撓性ダイヤフラムによって冠状面内で等分される第2のポンプ空洞を備え、該第2の可撓性ダイヤフラムは、該第2のポンプ空洞を上半分のチャンバおよび下半分のチャンバに分割する、該第2のベローズポンプ、およびiii) 該検定チャンバであって、該検定チャンバは、体積V2を有し、さらに、固定化親和性剤を伴う試験野と、透明カバーとを備え、該第1および第2のベローズポンプの該下半分のチャンバの両方は、流体を受容するために適合され、該第1および第2のベローズポンプの該下半分のチャンバの両方は、体積V1および直径D1を有する、該検定チャンバを収容する、プラスチックカード本体と、b) 該第1のベローズポンプの該上半分のチャンバに気圧で接続される第1のアクチュエータチャネル、および該第2のベローズポンプの該上半分のチャンバに気圧で接続される第2のアクチュエータチャネルであって、該第1および第2のアクチュエータチャネルは、第1および第2の可撓性ダイヤフラムが交互に気圧で作動せられ、それによって、該第1および第2のベローズポンプの下半分のチャンバの間で、該第1および第2の流動抑制開口ならびに該検定チャンバを通る流体の往復流を生成するように、カード外気圧源への接続のために適合される、アクチュエータチャネルとを備え、x) 該第1の流動抑制開口は、最大幅Y1、最大深度Z1、および長さL1を有し、該第1のベローズポンプの該下半分のチャンバを該検定チャンバに流体的に接続し、y) 該第

2の流動抑制開口もまた、最大幅Y1、最大深度Z1、および長さL1を有し、該第2のベローズポンプの該下半分のチャンバを該検定チャンバに流体的に接続し、z) Z1/D1およびY1/D1の比は、0.5未満である。

【0019】

その上さらなる実施形態では、該第1および第2の可撓性ダイヤフラムのそれぞれは、該プラスチックカード本体内の流体を該外面から単離するよう、該プラスチックカード本体に密閉添着される弾性膜から成る。

【0020】

その上さらなる実施形態では、マイクロ流体カードはさらに、a)流体ポーティングのための衛生手段、b)空気排出のための衛生手段、c)弁調節のための衛生手段、およびd)廃棄物を捕捉するための衛生手段から成る群から選択される、衛生手段を備えることができる。

【0021】

その上さらなる実施形態では、流体ポーティングのための該衛生手段は、該外面を汚染することなく、サンプル流体の単回進入のために適合される、サンプル入口ポートを備える。

【0022】

その上さらなる実施形態では、空気排出のための該衛生手段は、マイクロ流体カードからの流体の漏出を防止するように構成される、ガス透過性・水不透過性フィルタ障壁を備える。

【0023】

その上さらなる実施形態では、弁調節のための該衛生手段は、a)該プラスチックカード本体内のマイクロ空洞であって、上壁、下周縁、および底プレートを有する、マイクロ空洞と、b)第1のビアで該底プレートを通って該マイクロ空洞に進入する第1のマイクロ流体チャネルと、c)第2のビアで該底プレートを通って該マイクロ空洞に進入する第2のマイクロ流体チャネルであって、該第1および第2のビアは、弁台によって分離される、第2のマイクロ流体と、d)該マイクロ空洞の全円周の周囲で該下周縁に取り付けられる可撓性膜であって、該膜は、該底プレートに対面する第1の表面、および該上壁に対面する第2の表面を有し、該膜の該第1の表面が該第1および第2のビアならびに該弁台の両方に対して密閉着座される、第1の位置と、該膜の該第2の表面が該上壁に接触している、第2の位置との間で交代するように構成される、可撓性膜と、e)該上壁を通って該マイクロ空洞に進入し、陽圧および陰圧を該マイクロ空洞に供給し、それによって、該プラスチックカード本体内の流体を該外面から単離しながら、該第1の位置と該第2の位置との間で該可撓性膜を移動させることによって弁調節のための該衛生手段を作動させるように構成される、マイクロ流体気圧制御チャネルとを備える。

【0024】

その上さらなる実施形態では、廃棄物を捕捉するための該衛生手段は、a)廃液チャネル端部および排出口端部を有する、廃棄物受容貯留部と、b)該廃棄物受容貯留部内に配置され、該廃液チャネル端部に接触する、吸収性パットと、c)該廃棄物受容貯留部内に配置され、該吸収性パットに対面する第1の側面、および該排出口端部に対面する第2の側面を有する、可撓性膜とを備え、該可撓性膜が該排出口端部および該廃液チャネル端部を分離するように、該可撓性膜は、該プラスチック本体に密閉され、該排出口端部は、該プラスチック本体の該外面から退出する排出口を備える。

【0025】

その上さらなる実施形態では、該排出口はさらに、ガス透過性・水不透過性フィルタ障壁を備える。

【0026】

その上さらなる実施形態では、該体積V1、直径D1、ならびに該開口寸法Y1、Z1、およびL1は、マイクロ導出型混合のために構成される。

【0027】

第2の実施形態では、内蔵廃液単離装置を備える、マイクロ流体カードが開示され、該内蔵廃液単離装置は、a)外面を有し、廃液チャネル端部および排出口端部を有する廃棄物受容貯留部を収容する、プラスチック本体と、b)該廃棄物受容貯留部内に配置され、該廃液チャネル端部に接触する、吸収性バットと、c)該廃棄物受容貯留部内に分離して配置され、該吸収性バットに対面する第1の側面、および該排出口端部に対面する第2の側面を有する、可撓性膜とを備え、該可撓性膜が該廃液チャネル端部および該排出口端部を単離して分離するように、該可撓性膜は、該プラスチック本体に密閉され、該排出口端部はさらに、該プラスチック本体の該外面から退出する排出口を備える。

【0028】

さらなる実施形態では、該排出口はさらに、ガス透過性・水不透過性フィルタ障壁を備える。

【0029】

第3の実施形態では、前述の実施形態のマイクロ流体カードを備える、臨床サンプルに異種結合検定を行うためのキットが開示される。

【0030】

第4の実施形態では、前述の実施形態のマイクロ流体カードを備える、臨床サンプルに異種結合検定を行うためのキットが開示される。

【0031】

第5の実施形態では、a)排出することなく、タンデムベローズポンプの間で親和性捕捉部位を横断して標的被分析物を含む流動サンプルを前後に送出するステップと、b)該親和性捕捉部位上で結合される標的被分析物を検出するステップとを含み、該送出するステップはさらに、開口を通して該流動サンプルを送出するステップと、該流動サンプルをマイクロ導出型混合するステップとを含む、マイクロ流体デバイスにおいて異種結合検定を行うための方法が開示される。

【0032】

さらなる実施形態では、該親和性捕捉部位上に結合される標的被分析物を検出するための該ステップは、結合した発色または蛍光タグを検出するステップを含む。

【0033】

別のさらなる実施形態では、該親和性捕捉部位上に結合される標的被分析物を検出するための該ステップは、直接または間接的ELISAによる検出を含む。

【0034】

第6の実施形態では、蛇行性チャネルと、ビーズまたはセルを含む親和性捕捉剤と、内蔵廃液単離装置から上流で凝集反応を検出するための光学窓とを備える、凝集検出を行うためのマイクロ流体カードが開示される。

【0035】

さらなる実施形態では、該内蔵廃液単離装置は、a)外面を有し、廃液チャネル端部および排出口端部を有する廃棄物受容貯留部を収容する、プラスチック本体と、b)該廃棄物受容貯留部内に配置され、該廃液チャネル端部に接触する、吸収性バットと、c)該廃棄物受容貯留部内に分離して配置され、該吸収性バットに対面する第1の側面、および該排出口端部に対面する第2の側面を有する、可撓性膜とを備え、該可撓性膜が該廃液チャネル端部および該排出口端部を単離して分離するように、該可撓性膜は、該プラスチック本体に密閉され、該排出口端部はさらに、該プラスチック本体の該外面から退出する排出口を備える。その上さらなる実施形態では、該排出口はさらに、ガス透過性・水不透過性フィルタ障壁を備える。

【0036】

代替実施形態も提示される。第1の代替実施形態では、反応チャンバに基板部材の第1の側面を密閉封入し、その上に結合された有機物を反応させるための装置が開示され、本装置は、a)第1の表面を有するベースプレート部材であって、第1の表面は、その上に中央に配置されたプラットフォームを備え、プラットフォームは、その頂面と並置している基板部材の第1の側面を接触受容するために定寸される頂面と、その周囲の外側縁およ

び外側側壁面とを有し、頂面は、5～100マイクロメートルに及ぶ高さを有する内壁によって画定される陥凹、内壁の底縁を接続する陥凹スラブ、および内壁の上縁およびプラットフォームの外側縁を接続する平坦な境界レッジによって分断され、平坦なレッジは、その上で基板部材の第1の側面を支持するためのものであり、平坦なレッジに密閉されたときに、ヘッドスペース体積を伴う反応チャンバが、陥凹スラブと基板部材の第1の側面との間に形成される、ベースプレート部材と、b) プラットフォームの外側縁に適合されたガスケット部材と、c) 第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプを備える、一対のベローズポンプであって、第1のベローズポンプは、反応チャンバへの第1の流体接続を有し、第2のベローズポンプは、反応チャンバへの第2の流体接続を有し、第1および第2のベローズポンプのうちの少なくとも1つは、反応チャンバの外側に配置された1つ以上の試薬貯留部または排出口への1つ以上の流体接続を有し、複数対は、該反応チャンバの中へ、それを横断し、およびそれを通して、流体流を駆動し、それによって、チャンバ内の流体を注入、交換、および混合するように配置される、ベローズポンプとを備える。

【0037】

基板部材の第1の側面は、概して、スライドガラスまたはシリコンチップ等のプレート様固体の平面である。1つの観点では、基板の平面は、反応チャンバを覆って蓋を形成することができ、別の観点では、反応チャンバは、平面を覆って蓋を形成することができ、したがって、反応チャンバは、2つの並置表面の間の体積を封入する浅いトレイである。反応チャンバは、長さおよび幅が可変であるが、深度が略マイクロ流体寸法である、その体積を通過させられる液体試薬によって湿润させられるように、密閉されたチャンバに暴露された平面基板の面に結合された有機物を封入する。

【0038】

概して、第1のベローズポンプは、該ヘッドスペース体積の第1の体積に流体的に接続され、該第2のベローズポンプは、該ヘッドスペース体積の第2の体積に流体的に接続されるであろう。したがって、ベローズポンプは、一対を形成し、複数対のベローズポンプが使用されてもよい。ベローズポンプは、気圧で駆動されてもよい。気圧作動は、正のストロークと、負の吸引ストロークとを含んでもよい。一実施形態では、基板部材の面を横断する往復流が、陽圧パルスを各該ベローズポンプに交互に印加することによって、第1および第2のベローズポンプを繰り返し作動させることによって駆動される。好ましい実施形態では、往復流はまた、陽圧パルスを第1のベローズポンプに、吸引圧力パルスを第2のベローズポンプに印加し、次いで、各ベローズポンプに印加される圧力パルスを逆転させることによって、駆動されてもよい。代替として、ベローズポンプは、電磁石によって電力供給されるときのように、磁気的に駆動されてもよい。

【0039】

1つのオプションでは、本装置は、複数対のベローズポンプを備え、該一対の各ベローズポンプは、反応チャンバへの流体接続を有し、複数対のベローズポンプは、反応チャンバを横断し、それを通して流体流を前後に駆動するように配置される。

【0040】

反応チャンバには、ガスケットの中、またはベースプレートの中、あるいは両方に形成される、観察窓が提供されてもよく、したがって、例えば、落射蛍光および/または透過顕微鏡法を可能にする。ベローズポンプは、その外側に、あるいはベースプレートに対してプラットフォームの上または下等、プラットフォームに近接して配置されてもよい。プラットフォームは、概して、ガスケットを用いた反応チャンバの密閉を促進するように、ベースプレートの上方に隆起している。

【0041】

一実施形態では、ガスケット部材は、境界レッジの上に基板部材またはスライドガラスの第1の側面または区画を覆って密閉封入するためのウェブ部材と、プラットフォームの外側縁および外側側壁面に密閉係合するための周辺スカート部材とを備える。ガスケットは、好ましくは、シリコーンまたはビニルゴム等のエラストマーで成形され、観察窓は、

概して、ウェブの中に形成される。

【0042】

選択された用途では、切り込みが、反応チャンバ内の基板部材の第1の側面、および反応チャンバの外側の基板部材の突出区画を密閉封入し、それによって、密閉された反応チャンバの外側に突出区画を露出するためにガスケットの外側面上に形成される。切り込みは、スライドガラスの露出した第2の区画上に載置される電極アレイ接合部およびワイヤハーネスを有する、スライドガラスを受容するために適合される。

【0043】

別の代替実施形態では、a) 内部トレイ、ガスケット付き周辺レール、および嵌合された基板部材を密閉受容し、それによって、密閉された反応チャンバを形成する端部載置締め付け部材を伴う筐体本体を有する、スライドミニカセットであって、さらに、トレイには、第1の流体接続アダプタおよび第2の流体接続アダプタが提供され、アダプタは、該密閉された反応チャンバの間の流体チャネル、および該スライドミニカセットを可逆的に挿入するドッキングベイを有するベースプレートモジュール内の流体回路を確立する、スライドミニカセットと、b) 第1の表面を有する、ベースプレートモジュールであって、ドッキングベイが、その上に中央に配置され、ドッキングベイは、スライドミニカセットを受容するために定寸される陥凹表面を有し、ドッキングベイには、密閉部材を伴う第1の流体接続チャネルおよび密閉部材を伴う第2の流体接続チャネルが提供され、第1および第2のチャネルは、スライドミニカセットの第1および第2のアダプタと密閉係合されたときに、反応チャンバを通る流体経路を形成するためのものである、ベースプレートモジュールと、c) 第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプであって、第1のベローズポンプは、反応チャンバへの第1の流体接続を有し、第2のベローズポンプは、反応チャンバへの第2の流体接続を有し、該第1および第2のベローズポンプのうちの少なくとも1つは、反応チャンバの外側に配置された1つ以上の試薬貯留部または排出口への1つ以上の流体接続を有する、ベローズポンプとを備える、密閉された反応チャンバに基板部材の面または側面を封入し、その上に結合された有機物を反応させるための装置が開示される。有利には、スライドミニカセットは、複数の同一のベースプレートモジュールに交換可能にドッキング可能であるように構成されてもよい。同様に、試薬貯留部または複数の貯留部は、その内でベースプレートおよび流体回路に除去可能に係合するためのアダプタを有し、交換可能である。試薬貯留部は、利便的に、キットの中に包装されてもよく、各試薬貯留部は、その中に密閉された流体を有する。試薬貯留部に着脱可能に取り付けるためのアダプタは、ベースプレート内の雌型レセプタクルに密閉係合するためのネジ山付きニップルであり、雌型レセプタクルは、ベースプレート内で流体回路に流体接続している。ベローズポンプのポンプ作用によって、流体が流体貯留部から引き出される。

【0044】

基板部材の第1の側面は、概して、スライドガラスまたはシリコンチップ等のプレート様固体の平面である。1つの観点では、基板の平面は、筐体本体を覆って蓋を形成することができ、別の観点では、筐体本体は、基板の平面を覆って蓋を形成することができ、したがって、反応チャンバは、2つの並置表面の間の体積を封入する浅いトレイである。ミニカセットは、長さおよび幅が可変であるが、深度が略マイクロ流体寸法である、その体積を通過させられる液体試薬によって湿潤させられるように、密閉されたチャンバに暴露された平面基板の面に結合された有機物を封入する。

【0045】

概して、第1のベローズポンプは、該ヘッドスペース体積の第1の体積に流体的に接続され、該第2のベローズポンプは、該ヘッドスペース体積の第2の体積に流体的に接続されるであろう。したがって、ベローズポンプは、一対を形成し、複数対のベローズポンプが使用されてもよい。ベローズポンプは、気圧で駆動されてもよい。気圧作動は、正のストロークと、負の吸引ストロークとを含んでもよい。一実施形態では、基板部材の面を横断する往復流が、陽圧パルスを各該ベローズポンプに交互に印加することによって、第1および第2のベローズポンプを繰り返し作動させることによって駆動される。好みの実

施形態では、往復流はまた、陽圧パルスを第1のベローズポンプに、吸引圧力パルスを第2のベローズポンプに印加し、次いで、各ベローズポンプに印加される圧力パルスを逆転させることによって、駆動されてもよい。代替として、ベローズポンプは、電磁石によって電力供給されるときのように、磁気的に駆動されてもよい。反応チャンバには、ガスケットの中、またはベースプレートの中、あるいは両方に形成される、観察窓が提供されてもよく、したがって、例えば、落射蛍光および／または透過顕微鏡法を可能にする。

【0046】

1つのオプションでは、本装置は、複数対のベローズポンプを備え、該一対の各ベローズポンプは、反応チャンバへの流体接続を有し、複数対のベローズポンプは、反応チャンバを横断し、それを通して流体流を前後に駆動するように配置される。

【0047】

ベースプレートモジュールおよびスライドミニカセットは、垂直配向、水平配向、または反転配向で操作されるように構成され、複数の基板部材ベースの反応を並行して行うための自動装置とインターフェース接続するように構成されてもよい。

本明細書は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目1)

反応チャンバに基板部材の第1の側面を密閉封入するための装置であって、前記装置は、

a) 第1の表面を有するベースプレート部材であって、前記第1の表面は、その上に中央に配置されたプラットフォームを備え、前記プラットフォームは、頂面であって、前記頂面と並置している前記基板部材の前記第1の側面を接触して受け取るように定寸された頂面と、前記プラットフォームの周囲の外側縁および外側側壁面とを有し、前記頂面は、5～100マイクロメートルに及ぶ高さを有する内壁によって画定される陥凹と、前記内壁の底縁を接続する陥凹スラブと、前記内壁の上縁および前記プラットフォームの前記外側縁を接続する境界レッジとによって分断され、前記レッジは、その上に前記基板部材の前記第1の側面を支持するためのものであり、前記平坦なレッジに密着されたときに、ヘッドスペース体積を有する反応チャンバが、前記陥凹スラブと前記部材の前記第1の側面との間に形成される、ベースプレート部材と、

b) 前記プラットフォームの前記外側縁に適合されたガスケット部材と、

c) 第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプであって、前記第1のベローズポンプは、前記反応チャンバへの第1の流体接続を有し、前記第2のベローズポンプは、前記反応チャンバへの第2の流体接続を有し、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプのうちの少なくとも1つは、前記反応チャンバの外側に配置された1つ以上の試薬貯留部または排出口への1つ以上の流体接続を有する、第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプと

を備える、装置。

(項目2)

前記ベローズポンプは、気圧で駆動され、正のストロークと、負の吸引ストロークとを有する、項目1に記載の装置。

(項目3)

前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、陽圧パルスを各ベローズポンプに交互に印加することによって、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプを繰り返し作動させることによって駆動される、項目1に記載の装置。

(項目4)

前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、陽圧パルスを前記第1のベローズポンプに印加し、吸引圧力パルスを前記第2のベローズポンプに印加し、次いで、各ベローズポンプに印加される前記パルスの前記圧力を逆転させることによって、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプを作動させることによって駆動される、項目3に記載の装置。

(項目5)

前記ベローズポンプは、磁気的に駆動され、正のポンプストロークと、負のポンプストロークとを有し、さらに、前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、前記第1のベローズポンプの第1のポンプストロークおよび前記第2のベローズポンプの第2のポンプストロークの極性を交互に反転させることによって可能にされる、項目1に記載の装置。

(項目6)

複数対のベローズポンプを備え、各対のベローズポンプは、前記反応チャンバへの流体接続を有し、前記複数対は、前記反応チャンバを横断して、前記反応チャンバを通して、流体流を駆動するように配置されている、項目1に記載の装置。

(項目7)

前記装置は、前記基板部材上の視認領域にアクセスするための観察窓を備える、項目1に記載の装置。

(項目8)

前記基板部材上の視認領域にアクセスするための前記観察窓は、前記ガスケットに形成されている、項目7に記載の装置。

(項目9)

前記観察窓は、バーコードラベルが前記視認領域の外側で前記基板部材に適用されることを可能にするように寸法比がとられている、項目7に記載の装置。

(項目10)

前記基板部材上の視認領域にアクセスするための前記観察窓は、前記ベースプレートに形成され、隆起した前記プラットフォームを通って延在する、項目1に記載の装置。

(項目11)

前記ベローズポンプのうちの少なくとも1つと流体連絡している廃棄物出口をさらに備える、項目1に記載の装置。

(項目12)

前記基板部材は、有機物が結合される第1の面を有するスライドガラスである、項目1に記載の装置。

(項目13)

前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプは、前記プラットフォームに近接して配置されている、項目1に記載の装置。

(項目14)

前記プラットフォームは、隆起している、項目1に記載の装置。

(項目15)

前記ガスケット部材は、エラストマー、ビニルゴム、またはシリコーンから形成されている、項目1に記載の装置。

(項目16)

前記ガスケット部材は、前記境界レッジの上に前記基板部材を覆って密閉封入するための伸張可能なウェブ部材と、前記ガスケット部材の周囲で前記外側縁および外側側壁面に密閉係合するための周辺スカート部材とを備える、項目1に記載の装置。

(項目17)

切り込みが、前記ガスケット部材の側面上に形成され、前記切り込みは、前記反応チャンバの内側の前記基板部材の前記第1の側面、および前記反応チャンバの外側の前記基板部材の突出区画を密閉封入するためのものである、項目1に記載の装置。

(項目18)

前記切り込みは、前記基板部材またはスライドガラスを受け取るために適合され、電気接合部が、前記基板部材の前記突出区画または前記スライドガラス上に載置され、前記電気接合部は、前記反応チャンバ内の回路に接続している、項目17に記載の装置。

(項目19)

密閉された反応チャンバに基板部材を封入するための装置であって、

a) 嵌合された基板部材を密閉して受け取り、それによって、密閉された反応チャンバを形成するために、内部トレイと、ガスケット付き周辺レールと、端部載置締め付け部材とを有する筐体本体を有するスライドミニカセットであって、さらに、前記トレイは、第1の流体接続アダプタおよび第2の流体接続アダプタを提供され、前記アダプタは、前記密閉された反応チャンバと、前記スライドミニカセットが可逆的に挿入されるドッキングベイを有するベースプレートモジュール内の流体回路との間の流体チャネルを確立するためのものである、スライドミニカセットと、

b) 第1の表面を有する前記ベースプレートモジュールであって、前記第1の表面は、その上に中央に配置された前記ドッキングベイを備え、前記ドッキングベイは、前記スライドミニカセットを受け取るように定寸された陥凹表面を有し、前記ドッキングベイは、密閉部材によって第1の流体接続チャネルを提供され、密閉部材によって第2の流体接続チャネルを提供され、前記第1のチャネルおよび第2のチャネルは、前記スライドミニカセットの前記第1のアダプタおよび第2のアダプタと密閉係合されたときに、前記密閉された反応チャンバを通る流体経路を形成するためのものである、ベースプレートモジュールと、

c) 第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプであって、前記第1のベローズポンプは、前記反応チャンバへの第1の流体接続を有し、前記第2のベローズポンプは、前記反応チャンバへの第2の流体接続を有し、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプのうちの少なくとも1つは、前記反応チャンバの外側に配置された1つ以上の試薬貯留部または排出口への1つ以上の流体接続を有する、第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプと

を備える、装置。

(項目20)

前記スライドミニカセットは、複数の同一のベースプレートモジュールに交換可能にドッキングするように構成されている、項目19に記載の装置。

(項目21)

前記試薬貯留部または複数の貯留部は、交換可能であり、前記ベースプレートおよび流体回路に取り外し可能に係合するためのアダプタを中に有している、項目19に記載の装置。

(項目22)

前記試薬貯留部は、キットとして包装され、各試薬貯留部は、中に密閉された流体を有する、項目21に記載の装置。

(項目23)

前記アダプタは、前記ベースプレート内の雌型レセプタクルに係合するためのネジ山付きニップルであり、前記雌型レセプタクルは、前記流体回路への密閉可能な流体接続を形成するためのものである、項目21に記載の装置。

(項目24)

前記ベローズポンプは、気圧で駆動され、正のストロークと、吸引ストロークとを有する、項目19に記載の装置。

(項目25)

前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、1つの陽圧パルスを各ベローズポンプに交互に印加することによって、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプを作動させることによって駆動される、項目24に記載の装置。

(項目26)

前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、陽圧パルスを前記第1のベローズポンプに印加し、吸引圧力パルスを前記第2のベローズポンプに印加し、次いで、前記パルスの極性を逆転させることによって、前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプを作動させることによって駆動される、項目24に記載の装置。

(項目 27)

前記ベローズポンプは、磁気的に駆動され、正のポンプストロークと、負のポンプストロークとを有し、さらに、前記第1の流体接続と前記第2の流体接続との間の前記反応チャンバへの往復流は、前記第1のベローズポンプの第1のポンプストロークおよび前記第2のベローズポンプの第2のポンプストロークの極性を交互に反転させることによって可能にされる、項目19に記載の装置。

(項目 28)

複数対のベローズポンプを備え、各対のベローズポンプは、前記反応チャンバへの流体接続を有し、前記複数対は、前記反応チャンバを横断して、前記反応チャンバを通して、流体流を駆動するように配置されている、項目19に記載の装置。

(項目 29)

前記ベースプレートモジュールおよびスライドミニカセットは、垂直配向、水平配向、または反転配向で動作させられるように構成されている、項目19に記載の装置。

(項目 30)

前記ベースプレートモジュールおよびスライドミニカセットは、複数の基板部材に基づいた反応を並行して行うために、自動装置とインターフェース接続するように構成されている、項目19に記載の装置。

(項目 31)

前記基板部材は、有機物が結合される第1の面を有するスライドガラスである、項目19に記載の装置。

(項目 32)

前記第1のベローズポンプおよび第2のベローズポンプは、前記ドッキングペイに近接して配置されている、項目19に記載の装置。

(項目 33)

前記ベローズポンプのうちの少なくとも1つに流体的に接続された廃棄物出口をさらに備える、項目19に記載の装置。

【0048】

本発明のこれらおよび他の側面は、以下の発明を実施するための形態および添付図面を参照すると明白となるであろう。

【0049】

図面では、同一の参照数字が、類似要素または行為を識別する。図面中の要素のサイズおよび相対位置は、必ずしも一定の縮尺で描かれていない。例えば、種々の要素の形状および角度は、一定の縮尺で描かれておらず、これらの要素のうちのいくつかは、図面の読み易さを向上させるように恣意的に拡大および位置付けされる。さらに、描かれるような要素の特定の形状は、特定の要素の実際の形状に関して、いかなる情報も伝えることも目的としておらず、図面での認識のしやすさのために選択されているにすぎない。

【図面の簡単な説明】**【0050】**

【図1】図1は、手動、自動、半自動形式での免疫学的検定用の単純なマイクロ流体カードの実施形態を図示する。

【図2】図2は、単一のサンプルからの複数の被分析物の免疫学的検定用の単純なマイクロ流体カードの中に載置された「試験紙」を図示する。

【図3】図3は、自動または半自動使用のために適合された弁を伴うマイクロ流体免疫学的検定デバイスの概略図である。

【図4】図4は、マイクロ流体気圧遮断弁の平面図である。

【図5】図5Aおよび5Bは、開放および閉鎖位置が示されている、マイクロ流体気圧遮断弁の断面図である。

【図6】図6は、流体送出および混合のためのマイクロ流体「ベローズポンプ」の平面図である。

【図7】図7Aおよび7Bは、流体送出および混合のためのマイクロ流体「ベローズポン

プ」の断面図である。

【図 8】図 8 A および 8 B は、弹性内側衛生単離層を伴うマイクロ流体「廃棄物パック」の断面図である。

【図 9】図 9 は、代表的な寸法および設計考慮による、混合開口およびベローズポンプの概念的モデルである。

【図 10】図 10 は、凝集検定用のマイクロ流体デバイスの実施形態である。

【図 11】図 11 は、実施例 2 の検定の結果を示す、本発明の検定チャンバの顕微鏡写真である。陽性検定が、IgG と標識された試験ゾーン（上側のバー）内の TMB 沈殿の特徴を示す濃い色によって示される。

【図 12】図 12 は、実施例 7 の凝集反応の結果を示す、顕微鏡写真である。

【図 13 A】図 13 A - B は、スライドガラスを染色するための第 1 の装置であって、スライドガラスの面上に形成される密閉された反応チャンバを通して往復流を生成するように、連動して作用する二重ベローズポンプを有する、装置の平面図および断面図である。

【図 13 B】図 13 A - B は、スライドガラスを染色するための第 1 の装置であって、スライドガラスの面上に形成される密閉された反応チャンバを通して往復流を生成するように、連動して作用する二重ベローズポンプを有する、装置の平面図および断面図である。

【図 13 C】図 13 C は、縁密閉部材の配置を示す詳細である。当業者に公知であり、または本明細書で引用される文書から参照することによって組み込まれ得るような、流体回路の弁および従来の特徴は、明確にするために示されていない。

【図 14】図 14 は、図 13 の装置の分解図である。

【図 15】図 15 は、二重ベローズポンプおよび封入されたチャンバ内の流体流を示す、概略図である。

【図 16】図 16 は、ベローズポンプダイヤフラムのストロークの交互極性を示すプロットである。

【図 17】図 17 A - C は、異なる構成、および密閉された反応チャンバを通って前進する流体への効果を図式的に示す。

【図 18】図 18 A - B は、対合ベローズポンプの異なる構成、および密閉された反応チャンバ内の流動パターンを図式的に表す。

【図 19】図 19 は、協調的複雑混合パターンを達成するための対合ベローズポンプのさらに別の構成を描寫する。

【図 20 A】図 20 A は、密閉された反応チャンバ内の複数の流動の概略図である。

【図 20 B】図 20 B は、ベローズポンプに取り付けるための造管部が供給され得るような注入器ポートの代替形態である。

【図 21】図 21 A - 21 F は、締め付けるための手段、密閉するための手段、およびそれが添着される実質的に平面的な基板から密閉された反応チャンバのカバーブレートを解放するための手段を描寫する。

【図 22】図 22 A および 22 B は、密閉された反応チャンバを密閉形成するためのマイクロ成形穴縁密閉手段を描寫する。

【図 23】図 23 A および 23 B は、着脱可能に挿入可能なスライドチャンバミニカセットと、廃棄物貯蔵容量が内蔵されている複数の試薬貯留部とを有する、本発明の代表的な実施形態を示す。

【図 24】図 24 は、図 23 の実施形態の断面図である。

【図 25】図 25 は、回転式コンベヤまたは他の自動システムで使用するための複数の装置モジュールを図示する。有利には、モジュールは、気泡を一掃するのに役立つように垂直位置に載置される。

【発明を実施するための形態】

【0051】

（発明の詳細な説明）

以下の定義は、本明細書の請求項および明細書を解釈することの補助として提供される。本明細書で参照され、および / または出願データシートに記載される、米国特許、米国

特許出願公報、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、および非特許出版物の全ては、それらの全体で参照することにより本明細書に組み込まれる。参照することにより本明細書に組み込まれる、そのような研究、およびその中に含有される定義が、部分的、または全体的に、本明細書で供給されるものと矛盾している場合、その中で使用される定義は、本明細書で提供される定義を補完し得るが、優先するべきではない。

【0052】

「マイクロ導出型混合」とは、マイクロスケールで混合する独特の方法を指し、ダイヤフラム作動型ポンプチャンバの排出物は、「集束」または「流動抑制」開口を通して隣接チャネルまたはチャンバの中へ導かれ、したがって、周辺バルク流体を混入または「導出する」、マイクロスケールブルームを形成する。理論によって拘束されないが、平均流速、したがって、剪断速度は、受容チャンバ内の乱流または近乱流の特徴を示すブルームマイクロ渦を引き起こす、集束開口によって増加させられる。この混合方法は、本明細書では、「マイクロ導出型または導出型混合」と称される。停滞した液体は、分解されて、インペラおよび静的ミキサの必要性を排除する。ベローズポンプを対合することによって、二重ポンプ／二重開口導出型混合装置を動作中に（排出することなく）完全に閉鎖することができ、デバイスの内容物へのオペレータの暴露に対する有用な予防策であり、双方向であり、効率を向上させることが本明細書で示されている。

【0053】

換言すると、「導出型混合」または「マイクロ導出型混合」は、液体がマイクロスケール開口を通して押勢され、停滞または低速移動バルク流体の中へブルームとして退出し、バルク流体が高速移動ブルームの中へ混入または導出され、ブルームがさらに、導出された流体と混合する渦を噴出させる、プロセスステップである。プロセスステップは、機能において「Penberthyタンク内ミキサ」と関係するが、ここでは、構造的にマイクロスケールまたはマイクロ流体デバイススケールおよび形式に適合される。

【0054】

「バイオマーカー」は、脊椎動物における健康または病理の生理学的状態と関連付けられる、1つまたは複数の分子を意味する。バイオマーカーは、脊椎動物宿主のプロテオーム、ゲノム、およびメタボロームだけでなく、細菌、原生動物、およびウイルス病原体を含む、脊椎動物体の正常細菌叢または病原性感染体のプロテオーム、ゲノム、およびメタボロームを含んでもよい。好ましいバイオマーカーは、抗原および抗体を含む。

【0055】

「試験サンプル」は、血液、血清、血漿、軟膜、創傷滲出液、膿、肺および他の呼吸器吸引物、鼻吸引物、気管支洗浄液、唾液、痰、内耳吸引物、囊胞吸引物、脳脊髄液、糞便、尿、涙、乳腺分泌物、卵巣内容物、腹水、粘液、胃液、胃腸内容物、尿道分泌物、滑液、腹膜液、膣液または分泌物、羊水、精液、または同等物を含むが、それらに限定されない、代表的な生物サンプルを意味する。粘膜分泌物および上皮を標本化する、綿棒または洗浄液、例えば、あらゆる種類の組織標本のホモジネート、溶解物、および消化物であるような、喉、扁桃腺、歯肉、鼻道、膣、尿道、肛門、および眼の粘膜綿棒からの検定も予測される。生理学的流体のほかに、水、食品、空気濾過物等のサンプルもまた、試験標本であってもよい。

【0056】

「固相捕捉」とは、固相粒子、ビーズ、表面、または多孔質吸着材料上の被分析物または被分析物検出システム複合体の親和性結合および濃縮を指す。固相捕捉は、固定化抗原、抗体、アビシン、ニッケル-NTA、レクチン、または他のリガンド／受容体システムを用いて達成されてもよい。

【0057】

「標的被分析物または抗体」：被分析物は、検定によって検出されるバイオマーカーを示すために広く使用されているが、抗体は、検定の試薬およびまた被分析物の両方であってもよいことを理解されたい。定義上、標的被分析物は、試薬ではない。例えば、血液、粘液性分泌物、および組織試験サンプルで見出される抗体は、臨床状態の診断であっても

よい。検出タグとして使用される抗体は、試薬である。病原体の血清診断は、病原体に対する抗体の検出によって起こることができる。同様に、検定は、標的病原体を直接検出するように設計されてもよい。

【0058】

「捕捉分子または抗体」とは、試薬を指す。捕捉分子による標的被分析物の親和性捕捉は、マイクロ流体デバイスベースの検定における有用な濃縮および検出手段である。標的は、被分析物、リガンド、または抗体を含む。捕捉分子およびそれぞれの標的被分析物対は、抗体／抗原、抗原／抗体、抗体／タンパク質A、グリコマー／レクチン、シグナル分子／受容体、およびヒスチジン：ニッケルキレートを含む。これらは、「標的：親和性捕捉ペア」と称される。

【0059】

「免疫吸着剤」とは、固相捕捉表面として免疫学的検定で使用するための被分析物・吸着剤複合体または抗体・吸着剤複合体との関連で理解される。好ましい吸着材料は、比較的広い表面積を有し、検定条件下で湿潤可能である。捕捉剤または抗体で「修飾」が成功している吸着材料は、Sephadex等のビーズ形態のアガロース、デキストラン、セルロース、およびニトロセルロース等の他の炭水化物、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリプロピレン、およびポリアミド等のプラスチック、ガラス、シリカゲル、および酸化アルミニウム等の無機基質、および高分子量架橋タンパク質を含む。プラスチックは、随意に、結合を向上させるようにプラズマ処理されてもよく、試験野内で結合部位を限局するようにプラズマ処理中にマスキングされてもよい。免疫吸着材料は、粒子、ビーズ、マット、スポンジ、フィルタ、繊維、プレート、および同等物の形態で加工および使用されてもよい。

【0060】

「固定化する」：検定は、可溶性であるか、あるいは試験サンプル、希釈剤、または別の試薬中での再水和時に可溶化される試薬から、およびデバイス内の定義された場所または表面で被分析物を捕捉および濃縮する働きをする試薬から、蓄積される。本明細書で使用されるような「固定化する」または「固定化された」という用語は、試験被分析物および親和性捕捉試薬結合が、事実上、検定の条件下で不可逆的であることを示す。

【0061】

「凝集」とは、コロイドフロックまたは巨視的凝集体の形成によって特徴付けられる、一種の被分析物：親和性捕捉分子結合相互作用を指す。抗体が捕捉分子であるとき、そのような抗体は、凝集素と称される。沈降素もまた、粒子との凝集様反応を生成する。

【0062】

「終点」は、定性的または定量的検定のいずれか一方からの「結果」の省略表現として本明細書で使用され、一定の活性またはレベルが獲得される安定した終点、および時間の関数としての反応物または生成物濃度の傾斜が連続的に監視される速度反応の両方を指してもよい。

【0063】

「マイクロ流体デバイス」は、サンプルが粒子を含有する、またはビーズ試薬が使用されるときのように、500ミクロンより小さいが、場合によっては、それの2倍である、少なくとも1つの寸法を有する、少なくとも1つの内部チャネル、空隙、または他の構造を伴う油圧デバイス、カートリッジ、またはカードである。本明細書で説明されるデバイスは、マイクロ流体およびマイクロスケール流体構造のハイブリッドであってもよいが、概して、1mL未満、より好ましくは200uL未満、最も好ましくは50uL未満の少ないサンプル体積を必要とする。マイクロスケールは、5mm未満であるが、大部分の場合は約2mm未満の内部寸法を示すように得られる。当技術分野で公知であるような、送出、希釈、濃縮、融解、分散、混合、反応、沈殿、吸着、濾過、溶解、分離、計測、加熱、冷却、および凝縮という流体動作のための内蔵処理手段が、デバイスに組み込まれてもよい。マイクロ流体デバイスは、レーザステンシリング、型押し、スタンピング、射出成形、マスキング、エッティング、および3次元ソフトソーグラフィ等の技法を使用して、種

々の材料から加工されてもよい。積層マイクロ流体デバイスがさらに、接着中間層を用いて、または配向ポリプロピレンの圧力処理によって等、熱的無熱接着結合技法によって加工される。射出成形されたマイクロ流体デバイスの加工は、部品を組み立てるために超音波溶接または紫外線硬化接着剤を含んでもよい。

【0064】

「マイクロチャネル」とも称される「マイクロ流体チャネル」は、サンプルが粒子を含有する、またはビーズ試薬が使用されるときのように、可変長を有するが、多くの場合、 $500\text{ }\mu\text{m}$ 未満、場合によっては、その2倍の断面積を有する、流体チャネルを意味する。マイクロ流体の流体流動は、ポアズイユ流のように、極めて非理想的かつ層流であり、圧力降下よりも壁湿潤性質および直径に依存し得る。ハイブリッドマイクロスケールおよびマイクロ流体デバイスがここで包含される。マイクロ流体チャネル表面は、所望であれば不動態化されてもよい。

【0065】

「マイクロ流体弁」は、サンプルが粒子を含有する、またはビーズ試薬が使用されるときのように、約 $500\text{ }\mu\text{m}$ より小さく、場合によってはその2倍である、少なくとも1つの寸法を伴う、油圧、機械、気圧、磁気、および静電気アクチュエータ手段を含む。該部類の代表的なフラップ弁が、米国特許第6,431,212号で説明されている。一方、逆止弁もまた、当技術分野で公知であり、マイクロ流体デバイスベースの検定用の可溶化試薬およびサンプル流を指向するために使用することができる。米国特許第5,718,567号で説明されるようなボールピンチ弁もまた、米国特許第6,729,352号の弁の場合のように、本発明のデバイスで有用である。

【0066】

「マイクロ流体ポンプ」は、「マイクロスケールポンプ」を含み、例えば、ポンプの構造がマイクロ流体チャネルと流体接続している、流体の移動を押勢することを目的としている、バルブ、ベローズ、ダイヤフラム、および気泡マイクロアクチュエータを含む。そのような構造は、米国特許第6,743,399号および米国特許出願公開第20050106066号で説明される機械作動型往復ポンプを含む。そのようなポンプは、ロボット操作されるか、または手動で操作されてもよい。電気浸透ポンプも提供される。そのようなポンプは、マイクロ流体デバイスベースの検定において可溶化試薬およびサンプル流を推進させるために、外部駆動の代わりに使用することができる。

【0067】

気圧の実施形態での「ベローズポンプ」は、流体的に接続されていない「上」（または第1の）および「下」（または第2の）半分のチャンバを形成するように、弾性ダイヤフラムによる冠状断面で等分される、多くの場合は形状が円筒形である、空洞として形成されるデバイスである。ダイヤフラムは、概して、上半分のチャンバに接続される、気圧パルス発生器によって制御される。ダイヤフラムの上方の陽圧が、それを膨張させ、第2の半分のチャンバの内容物を変位させ、負のゲージ圧力（吸引）が、それを後退させ、第2の半分のチャンバを拡張し、流体を引き込む。半分のチャンバにより、上下の半分のチャンバは、ダイヤフラムの上方および下方で体積がほぼ対称または平等であることを理解されたい。下半分のチャンバは、流体流入ポートおよび流出ポートに接続される。流体流入ポートおよび流出ポートは、別個のポートまたは単一のポートであってもよい。上記で説明されるように、気圧パルス発生器は、概して、弁調節されるマイクロチャネルによって、上半分のチャンバに気圧で接続される。完全な装置では、気圧作動はプログラム可能である。したがって、パルス発生器によって使用されるプログラム可能な気圧論理が、信号でダイヤフラムを作動させ、信号で弁を開閉するであろう。パルス発生器がカートリッジ、ニップル、または入口から外れているとき、気圧マニホールドまたはソレノイド弁が、カードをコントローラと接続するように提供される。

【0068】

使用中に、陰圧がダイヤフラムに印加されるときに（または受動的に、流体が第2のベローズポンプによって押し込まれるときに）、流体が入口を通ってベローズポンプの下半

分のチャンバに進入する。次いで、下方ストローク中に陽圧がダイヤフラムに印加されるとき、チャンバの流体内容物は、出口を通して外へ変位させられる。一連の陽圧および陰圧パルスをダイヤフラムに供給することによって、ベローズポンプチャンバの内外に流体を移動させることができる。この流体運動は、同期弁論理の適用によって指向性になる。

【0069】

複数対のベローズポンプ、すなわち、「二重ベローズポンプ」は、2つのベローズチャンバの間で往復流を押勢するよう、圧力作動型である第1のダイヤフラムおよび受動的である第2のダイヤフラムを伴って構成されるときに、流体または懸濁液を混合することができる。往復流はまた、交互または反転気圧パルスを用いて両方のダイヤフラムを同期して作動させることによって得ることもできる。同様に、混合機能を果たすように、多数のベローズポンプを直列に流体的に接続することができる。ベローズチャンバから流体を放出するために、親指または指で可撓性カバーを単純に押すことができるように、ならびに本明細書で説明および具現化されるような導出型混合とともに、中央チャンバまたはチャネルを通して流体を前後に送出るために、説明されるように手動で操作される複数対のベローズポンプを使用することができるよう、ベローズポンプチャンバを覆うカバーに可撓性膜を接合することによって、手動の実施形態が得られることに留意されたい。

【0070】

「自己プライミング」は、チャネルが湿潤可能であり、概して、チャネルに呼び水を入れる必要なく、毛管流が始まるように、材料から加工されるか、または処理される、マイクロ流体チャネルを含意する。

【0071】

「ビア」とは、シートまたはロールから構築される積層デバイスの特徴を最も示す、層を通るマイクロ流体チャネルでのステップを指すが、複数の層を伴う成形デバイスでも見出され得る。

【0072】

「単離」または「単離される」とは、感染体、毒素、または未知の生物学的有害物質で潜在的に汚染される臨床材料への暴露からユーザを保護する、シールおよびエンクロージャのシステムを指す。例えば、単回進入デバイスは、随意に、サンプル分注デバイスの引き出しに続いて自己密閉する、可撓性の栓を含んでもよい。単離マイクロ流体デバイスはまた、排出口フィルタと、デバイス内に密閉封入される任意の内蔵「試薬」、「廃棄物」、または「洗浄パック」とを含んでもよい。医学的単離は、一般的に、当業者に公知となるように、「逆方向単離」または「順方向単離」としてさらに特徴付けられる。デバイスのオペレータがサンプルによって接触された場合に、暴露が起こり得る。サンプルがオペレータによって、または媒介物によって、または別のサンプルによって接触された場合に、サンプルの汚染が起こり得る。

【0073】

「単回進入」デバイスは、使い捨てであり、単回使用のために意図されている。概して、デバイスにつき1つのサンプルが適用され、次いで、デバイスが密閉され、検定が行われる。綿棒捕捉デバイスは、分析される綿棒がデバイスに挿入され、綿棒がデバイスの内側に密閉されるようにハンドルが折り取られる、衛生サンプル捕捉のための手段である。ピペット操作によって、吸引によって、または毛管作用によって、血液、血漿、または他の体液、あるいは洗浄液が、デバイスに取り込まれ、次いで、開口部が密閉される、閉鎖もまた、単回進入手段として本明細書で認識される。

【0074】

「廃棄物パック」は、排出されたサンプル、洗浄液、および廃棄試薬用の容器としての機能を果たす空洞または貯留部である。典型的には、廃棄物パックはまた、例えば、疎水性ポリマーを伴う、または伴わない、纖維状バットから成る、吸収性パッドも含み、かつ吸収性発泡体、吸収性スポンジ、超吸収性ポリマー、または吸収性ゲル化材料を含む。吸収性パッドは、一般的に、吸湿性材料であり、また、マイクロ流体ポンプの代わりに、またはそれと協調して、毛管湿潤によって流体流を推進するために使用することもできる

。他の材料は、例えば、紙、スポンジ、おむつの材料、Contec-WipeTM(Contec, Spartanburg S.C., U.S.A.)を含む。

【0075】

好みの実施形態では、マイクロ流体デバイスの本体に密閉して取り付けられる可撓性または弾性膜または膜を組み込み、デバイス本体の内側の廃棄物チャンバに、吸湿性パットを含有する廃棄物パックを封入することによって、生体有害物質を含有するために、廃棄物パックが使用されてもよい。膜は、吸湿性材料が拡張するにつれて伸張する。単離層の外側の空洞は、大気に放出されるが、膜は、廃棄物が含有および単離されていることを確実にする。吸湿性材料は、追加予防策として消毒剤を含むように事前処理されてもよい。

【0076】

「排出口」とは、内部空洞と大気との間で相互連絡する細孔を指す。単離排出口はさらに、流体の輸送を防止するように選択されるが、ガスに対して透過性であり、したがって、液体障壁を形成する、膜組成物を含有する筐体で加工される。実施例は、Porex Porous Products Group(Fairburn Ga., U.S.A.)から入手可能なMuporTM多孔質PTFE組成物である。

【0077】

「試験野」とは、検定終点が観察または測定される、マイクロ流体デバイスベースの検定における部位またはゾーンを指す。好みの試験野は、例えば、随意に、拡大レンズを装備している、デバイスのカバープレート内の光学窓である。

【0078】

「単離のための手段」は、とりわけ、不透過性カートリッジ本体、ガス透過性疎水性排出口、廃棄物チャンバ内の吸湿性詰め物、廃棄物チャンバ内の消毒剤、プリスター・パックから気圧アクチュエータを分離する弾性膜、排出口から吸湿性詰め物を分離する可撓性膜、吸引圧力によって作動させられる弾性膜を伴う弁、該サンプル進入ポート内の吸引圧力、内蔵試薬パック、単回進入サンプルポート、および使い捨てデバイスを含む。

【0079】

本明細書で使用されるような「検出するための手段」とは、終点、すなわち、検定の結果を査定および表示するためのデバイスを指し、検出チャネルと、試験パッドとを含んでもよい。検出終点は、観察者によって試験野内で視覚的に、または分光光度計、蛍光光度計、照度計、光電子増倍管、フォトダイオード、比濁計、光子計数器、電圧計、電流計、pH計、容量センサ、高周波伝送機、磁気抵抗計、またはホール効果デバイスを装備した機械によって、評価される。顔料で含浸されるか、またはより高い回折率を有する、粒子、ビーズ、またはミクロスフェアが、検定終点の視覚または機械強化検出を促進するために使用されてもよい。カバープレート内の拡大レンズ、光学フィルタ、着色流体、および標識化が、検定結果の検出および解釈を向上させるために使用されてもよい。粒子、ビーズ、またはミクロスフェアの検出のための手段は、限定されないが、従来技術で公知であるように、発色団および蛍光体、FRETプローブ(「分子ビーコン」として知られているものを含む)、酵素結合抗体およびそれらの発色基質等の染料、高周波タグ、プラズモン共鳴、または磁気モーメント等の「標識」または「タグ」を含んでもよい。それらの自己会合に応じた独特の発色特徴を伴うコロイド粒子もまた、検出可能な終点を提供することが予測される。

【0080】

磁気ビーズ上で修飾される、ZnSでコーティングされたCdSe等のQDot、または隨意に、ゾルゲル微粒子状マトリクス中にあるか、あるいは逆相エマルション中で調製されるQDotおよび常磁性Fe₃O₄微粒子の融合が、本発明の検定の感度を向上させ、それによって、より小型の試験パッドおよびより大型のアレイを可能にする便利な方法である。蛍光急冷検定が予測される。酵素結合免疫学的検定と関連付けられる、種々の基質および生成物発色団もまた、当技術分野で周知であり、検定の感度を向上させるよう、検出信号を增幅するための手段を提供する。検出システムは、随意に、定性的、定量的、

または半定量的である。

【0081】

「標的バイオマーカー」：免疫学の当業者は、ELISAおよび凝集検定に精通している。マイクロ流体検出検定のための標的は、内科医学の実践で有用な診断バイオマーカーを含む。ELISAに効果的なバイオマーカーの部類は、当技術分野で周知であり、病理と関連付けられるタンパク質およびペプチド、ホルモン、組織および凝固因子、ならびに小分子等を含む。これらは、例えば、膀胱、前立腺、乳、または肺癌と関連付けられる癌マーカー、また、交差適合性を検査するために有用な血液型抗原および抗体を含むであろう。

【0082】

標的はまた、感染および寄生体も含む。感染の早期および急性段階では、研究室診断は、侵入病原体の直接検出に依存する傾向がある。これは、試験標本の試験管内培養または顕微鏡検査に關与し得る。試験管およびマイクロタイタープレート形式の血清学的方法も有用である。寒冷凝集素または全血の沈降速度等の非特異的検定もまた、臨床的印象を支持するために使用される。決定的な研究室検査は、生体培養に広範に依存する。しかし、いくつかの理由により、これは、完全には満足のゆくものではない。培養方法は、遅延、サンプル汚染、偽陰性に、および新興感染症の場合は、生菌の培養のための確実な成長基質およびプロトコルの欠如に悩まされる。いくつかの周知であるが非常に偏好性の病原体もまた、日常的に培養されていない。

【0083】

具体的には、培養する時間が不満足である。血液培養物は、典型的には、例えば、14～20時間は読み取れず、培養液の濁度によって示される陽性培養の後に、固体培地上の原因微生物の単離、生化学検査による同定が続かなければならず、後続の抗生素感受性試験を伴う。結核の培養物は、典型的には、植菌の3～6週間後に読み取られる。細胞および組織培養、または卵の絨毛尿膜の植菌に依存する、ウイルス培養は、1日から14日かかり、最良の状態下でも困難である。寄生原生動物の検出は、概して、特殊臨床研究室外では概して利用可能ではない検査である、顕微鏡観察または血清診断に依存する。試験管内試験およびサンプル取扱もまた、本質的に安全ではなく、医原性感染に寄与し得る。

【0084】

したがって、既知および新興病原体のゲノム、プロテオーム、またはメタボロームから開発されるバイオマーカーに基づく研究室診断検査、具体的には、サンプル取扱を最小限化し、診療地点においてリアルタイムまたは近リアルタイムで結果を提供する検査を開発することに、多大な関心があった。

【0085】

必要な検定の範囲は、密接に関係する正常微生物叢および環境汚染物質と区別されなければならない、既知の病原体の以下の部分的リストから把握することができる。

【0086】

空中浮遊呼吸器病原体は、例えば、とりわけ、血清診断が実行可能である、肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、肺炎マイコプラズマ、肺炎桿菌、ヒト結核菌、百日咳菌、レジオネラ菌、コリネバクテリウム、インフルエンザ菌、クラミジア肺炎菌、水痘ウイルス、麻疹ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、コロナウイルス、風疹ウイルス、血球凝集素群H1～5を含むインフルエンザウイルス、アデノウイルス、およびカリニ肺炎菌を含む。

【0087】

食品および水中腸内病原体は、例えば、腸チフス菌、腸炎菌、ブタコレラ菌、ネズミチフス菌、赤痢菌、カンピロバクター菌、コレラ菌、ピロリ菌、大腸菌（血清型O157:H7等の耐熱性または易熱性エンテロトキシンを産生する株）、毒素源としてのボツリヌス菌、ウェルシュ菌、リステリア菌、ポリウイルス、AおよびB型肝炎ウイルス、例えば、赤痢アメーバ、マンソン住血吸虫、肝吸虫、旋毛虫を含む。

【0088】

血液由来病原体は、例えば、いくつか例を挙げると、腸チフス菌、パラチフス菌、炭疽菌、ウシ流産菌、ブタ流産菌、マルタ熱菌、ペスト菌（パストレラ菌）、パストレラ・ムルトシダ、野兎病菌、らせん菌、鼻疽菌、レプトスピラ菌、コクシエラ菌、発疹熱リケッチア、ハンタウイルス、 Dengue 熱ウイルス、黄熱病ウイルス（およびフラビウイルス群の他のウイルス）、西ナイルウイルス、日本脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、1 および 2 型人免疫不全ウイルス、1 および 2 型ヒト T 細胞白血病ウイルス、イヌの犬糸状虫、三日熱マラリア原虫、卵形およびネズミマラリアを含む。

【0089】

性感染症は、例えば、梅毒（梅毒トレポネーマ）、淋菌、クラミジア・トラコマチス、ヒト免疫不全ウイルス、パピローマウイルス、単純ヘルペス、およびまた、カンジダ・アルビカンス、子囊菌を含む。

【0090】

創傷および咬傷病原体は、例えば、黄色ブドウ球菌、壞疽性筋膜炎に関する化膿連鎖球菌、綠膿菌、ウェルシュ菌、破傷風菌、ペスト菌、炭疽菌、およびバクテロイデスフラジリスを含む。蚊、ダニ、ノミ、および他の節足動物による咬傷に起因する感染症は、概して、血液感染症として分類される。

【0091】

中枢神経系およびCSF 病原体は、例えば、髄膜炎菌、肺炎連鎖球菌、リストリア・モノサイトゲネス、梅毒、インフルエンザ菌血清型 B、アシнетバクター属、エンテロバクター属、綠膿菌、黄色ブドウ球菌、日本脳炎ウイルス等のウイルス性脳炎、流行性耳下腺炎ウイルス、ポリオウイルス、ヘルペスウイルス（HSV-1、HSV-2）、水痘帶状疱疹ウイルス、および狂犬病ウイルスを含む。

【0092】

代表的な泌尿器病原体は、グラム陰性桿菌が多数を占め、例えば、ミラビリス変形菌、ブルガリス変形菌、大腸菌、肺炎桿菌、エンテロバクター・クロアカエ、および時折のシードモナス感染症を含む。

【0093】

気道の正常細菌叢は、例えば、潜在的な病原体と区別されなければならない、連鎖球菌種、コリネバクテリウム、およびナイセリアを含む。胃腸管の正常細菌叢は、例えば、メタノブレウイバクテル・スマシ、ビフィオバクテリアム・ロンガム、大便連鎖球菌、クロストリジウムおよびフィーカリバクテリウムを含むフィルミクテス、乳酸桿菌、アシネットバクテリウム、プロピオニバクテリウム、バクテロイデス、および腸内細菌、ならびに未確認古細菌群および種を含む。

【0094】

いくつかの有機体は、ある試験標本で見出されたときに、決定的に病原性であるが、病原性は、全体的に黒または白ではない。例えば、大腸菌は、広く非病原体と見なされ、人間の結腸内容物に遍在する。しかしながら、ある株は、高度に障害を引き起こす赤痢をもたらし得る、シゲラ様エンテロトキシンを取得する。したがって、单なる分離株の種分化は、誤解を招く恐れがあり得、任意の分離株のより完全な査定は、その能力の全内容が侵襲性であり、毒素を生じ、宿主防衛に抵抗することを要求する。重要なことには、大規模な臨床経験は、ある有機体が、典型的には、疾患と関連付けられ、強毒性有機体が、一般的に、免疫応答を生じることを実証している。これは、ワクチン接種、また、血清診断の基礎である。したがって、診療地点での免疫診断の必要性がある。

【0095】

マイクロ流体デバイスベースの検定用の免疫学的検定型固相親和性捕捉部位は、随意に、パッド、ゾーン、または部位の形態で試験野の面上に診断カードの中に限局される。検定に選択される捕捉分子は、当技術分野で公知である方法によって、吸着されるか、または固体支持マトリクスに架橋される。支持基板は、フィルタパッド、スポンジ、ビーズ、膜、プラスチック、および他の固体を含む。場合によっては、被分析物は、固相に化学または非共有結合されてもよく、他の場合においては、これは、固体表面上にコーティング

される材料に組み込まれてもよい。この種類の固体基板は、類似技術である、オイルゲージ技術と同様に使用される。手動用途のためのマイクロ流体カードでは、光学窓には、典型的には、試験部位の視界が提供される。

【0096】

固体支持体は、時として、0.1ミクロンから約250ミクロンまでの利用可能な範囲の細孔サイズを伴う多孔質材料から成り、細孔サイズが材料内の深度とともに変化する、深度フィルタを含んでもよい。そのような固体支持体は、湿潤性を確保するように略親水性であるか、親水性であるように処理される。吸湿性材料、すなわち、毛管作用によって水溶液を吸収する材料が、当技術分野で周知である。そのような材料は、セルロース材料（例えば、綿、濾紙、クロマトグラフィ紙、ニトロセルロース、および酢酸セルロース）、アガロース、および架橋デキストラン等の天然ポリマー材料を含むが、また、ガラス、シリカゲル、誘導体化シリカ、珪藻土、酸化アルミニウム等の無機粉末または纖維、供給されたままで、または他の材料との複合材料でのいずれかで使用される、ポリエーテルスルホン、ポリエステル、ポリ（塩化ビニル）、塩化ビニル・プロピレン共重合体、塩化ビニル・酢酸ビニル共重合体、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート、ポリアミド、ナイロン、例えば、湿潤性ポリフッ化ビニリデン（P V D F）等の合成ポリマー、およびセラミック材料または分解金属も含む。しかしながら、固体支持体は、検出信号に干渉するべきではない。多孔質材料は、典型的には、剛性または半剛性バッキングに取り付けられる。

【0097】

多孔質材料は、例えば、アルデヒドと、または四酸化オスミウムとの捕捉分子の共有結合を可能にするように、多官能性であり得るか、または多官能化されることが可能であり得る。捕捉分子はまた、非共有結合力によって固定化されてもよい。乾燥が、多くの場合、生体分子を界面活性固体支持体に「固定する」手段として使用される。

【0098】

固相基板は、プラスチック表面から選択されてもよい。ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート（P E T）、およびポリアミド等のプラスチック表面は、天然表面活性を有し、生体分子を緊密に吸着するであろうが、随意に、ガスプラズマ処理、典型的には、プラズマ形態の窒素、酸素、または空気（コロナ処理）等のエッティングガスによって、捕捉分子の吸着の密度および緊密性を増加させるよう活性化されてもよい。これらのガスは、固体支持体のポリマー骨格を誘導体化する働きをし、それぞれ、イオン性および反応性アミン、ならびにニトロ基またはヒドロキシルおよびカルボキシル基を作成する。そのような活性化表面は、捕捉分子の付着に役立つよう、ヘテロ二機能性結合剤で誘導体化されてもよい。プラスチック表面のグルタルアルデヒド前処理も使用されている。一般に、使用可能な固相親和性捕捉複合体をもたらす、捕捉分子を免疫吸着剤に付着させるための当技術分野で公知である任意の方法が使用されてもよい。

【0099】

その内側で捕捉分子がプラスチック表面に固定されるであろう、境界線を画定するために、マスキングが一般的に使用されている。試験部位を区切るためのマスキングは、陽性検定の視覚的認識、また、自動試験結果の機械支援画像分析に役立つ。プラスチック表面は、マスクの画定された境界線の外側で不動態化されてもよく、またはネガ型マスキング技法では、マスキングされない、低圧ガスプラズマ処理によって等、プラスチック表面が活性化されるであろう。

【0100】

上記に記載された固相親和性捕捉材料は、ミクロスフェア、ビーズ、プレートレット、および他の粒子形状として形成されてもよい。当技術分野で周知である免疫吸着ビーズは、ラテックスビーズ、（S e p h a r o s e 4 B - P h a r m a c i a 等の）ビーズ形態のアガロース、デキストランビーズ、ミクロスフェアとして調製される架橋タンパク質、フェライト磁心を含有する磁気ミクロスフェア、および蛍光体、量子ドット、または高

周波タグさえも含有し、架橋を可能にするように表面上で修飾されるケイ酸塩ミクロスニアを含む。多数の形態のラテックスが、乳化技法によって調製され、蛍光および着色の両方の量子ドットである、染料でタグ付けされて利用可能である。抗原は、2段階カルボジイミドプロセスによって、Luminex Corporation (Austin Tex., USA) によって提供されるもの等の二蛍光性ビーズに結合されてもよい。マイクロ流体デバイスベース検定におけるビーズの沈降が説明されており、サイズは、典型的には、用途のために最適化される。したがって、ビーズは、親和性捕捉のための固相支持体としてだけでなく、インジケータまたは標識剤としての機能も果たすことができる。

【0101】

最先端技術の最近の実施例として、フラビウイルス、この場合は、デングウイルスの非構造タンパク質1のエピトープ部位から成るペプチドとプラスチックモノマーを共重合することによって、ELISAに好適な合成マトリクスが作成された。次いで、これらの分子インプリントポリマーは、固体下層上に堆積させられた (Dar-Fu Tai et al. "Artificial Receptors in Serologic Tests for the Early Diagnosis of Dengue Virus Infection" Clinical Chemistry 10:1373 (2006))。この固相親和性捕捉材料は、CDCによって供給される血清反応陽性血清を検出することにおいて非常に良好に機能した。

【0102】

遮断薬、具体的には、ある洗浄剤およびタンパク質は、ELISAにおいて高背景信号に寄与する、非特異的相互作用力を弱める。遮断薬は、随意に、メチル化またはコハク化される、ウシ血清アルブミン、ウマ血清またはウシ胎仔血清等の全正常血清、ならびにカゼイン、ゼラチン、および脱脂粉乳等の他の市販のタンパク質を含む。

【0103】

洗浄剤系遮断薬も使用することができる。適切である洗浄剤の種類は、非イオン性、両性、陽イオン性、または陰イオン性形態から選択され、選択は、遮断されている固体表面の性質に基づく。適切な洗浄剤遮断薬の選択を管理する考慮事項は、当技術分野で良く理解されている。タンパク質系遮断薬と組み合わせて洗剤を使用することが好ましい。単独、またはタンパク質遮断薬との混合のいずれかで使用することができる、好適な洗浄剤は、ポリオキシエチレンソルビタンアルコール洗浄剤（すなわち、Tween系列）、Nonidet P450等のポリオキシエチレンアルコール、またはTriton X-100等のポリオキシエチレンエーテルを含む。

【0104】

ここで図を参照すると、図1は、ELISA免疫学的検定用のマイクロ流体デバイスを示す。この第1の実施形態では、本デバイスは、接着剤の介在層によって接合される、ポリエチレンテレフタレート(PET)、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリアクリルレート、またはポリエステル全般等の透明プラスチックの層から、積層プロセスによって構築される。マイクロ流体ネットワークが形成されるように、マイクロチャネル、空隙、および穴が、組立の前に、プラスチック層および接着剤から最初に機械加工される。代替として、本デバイスは、随意に、複雑性が増加する介在プラスチック層を伴って、カバーおよび基層の射出成形によって構築されてもよく、層は、接着剤でともに保持されるか、あるいは熱または溶媒を用いて圧力下で融合される。

【0105】

図1には、免疫学的検定開発のための単純なカード1が示されている。カード本体は、プラスチックであり、カバープレート14と、ベースプレート(図示せず)とを有する。デバイスポート、ならびに下層のマイクロ流体チャネル、貯留部、および構造の概略図が示されている。可撓性層12および13は、ベローズポンプ4および8の流体チャンバを被覆し、一方の貯留部から他方の貯留部へ流体を推進させ、往復運動で戻すよう、弾性的に変形させられてもよい。本デバイスは、全ての内部空洞が密閉されるように、材料の剛

性シート（図示せず）によって裏張りされる。

【0106】

動作中に、左ベローズポンプ4の貯留部に試験サンプルを導入するために、マイクロチャネル3を介してサンプルポート2が使用される。同様に、右ベローズポンプ8の流体チャンバに試薬溶液を導入し、そこから外へ廃棄するために、マイクロチャネル10を介して「廃棄物」ポート9が使用される。ポート2および9は、デバイスカバー14を通って延在し、ベローズポンプ4および8の流体チャンバと連続的である。マイクロチャネル3および10は、弁（図示せず）を含むように修正されてもよい。

【0107】

左右の貯留部の間の流体の活発な往復流は、集束開口6および7を介して、検定チャンバ5を通して伝導される。ポンプ下方ストローク中の一方のチャンバからの流体の変位が、他方のチャンバの中への流体の変位によって平衡を保たれ、可撓性膜は、上下両方の方向に柔軟であるため、排出口が二重ポンプデバイスの実際の動作に必要とされないことに留意されたい。検定チャンバ5は、完全に密閉され、試験野11を含有する。試験野11は、固定化された親和性捕捉分子でコーティングされる。

【0108】

組立に先立って、種々の方法で、試薬をマイクロ流体チャネルおよび試験野の中または上で適用することができる。種々の「印刷」技法、例えば、マイクロシリジン、定量ポンプを使用するペン、直接印刷、インクジェット印刷、エアブラシ、および接触（またはフィラメント）方法が、デバイスの層に液体試薬を適用するために好適であり、次いで、層またはシートは、完成したデバイスに組み込まれる。完全に組み立てられたカードの動作のために、サンプルは、自己密閉栓を通して注入し、ピペットで採取し、または別様にデバイスの中へ堆積させ、キャップ、ストッパー、蓋、またはテープ等の衛生閉鎖で密閉することができる。サンプル入口ポート内のピンチ、ボール、フラップ、またはピーナツ弁が、システムをさらに密閉する。全てのそのようなマイクロ流体カードは、概して、その後に処分が続く、単回使用のために意図されている。

【0109】

代替として、試験サンプルは、最初に検出抗体と混合されてもよく、次いで、混合物は、固相マトリクスまたは試験ゾーン上で捕捉抗体を通り越えさせられる。遊離検出抗体が洗い流された後、色の発現が、結合した被分析物・検出抗体複合体の存在を示す。米国特許出願公開第20060127886号は、試験サンプルを検出抗体に直接添加を排除するように教示している。当業者であれば、検定プロトコルにおけるステップの順番が変化させられ得る方法に精通している。

【0110】

「間接的」ELISAが、感度を増加させるために使用される。最初に米国特許第4,235,960号で紹介された、間接的ELISAは、固相捕捉マトリクス上の結合した標的被分析物を結合するのに適用される、架橋リガンドを採用し、標的被分析物を認識する。固定化抗原に対する抗体等の架橋リガンドは、被分析物結合の部位で免疫沈降格子を構築する。さらなる洗浄後に、次いで、検出試薬が適用される。典型的には「間接的」ELISA試験形式では、検出抗体は、被分析物ではなく、架橋抗体の免疫グロブリン尾部を対象とする。結合した検出抗体の数量の5倍以上の増加を達成することができる。一連の最終洗浄後に、色試薬の添加は、比較的低い濃度の被分析物の存在下でさえも強い信号をもたらす。

【0111】

「間接的」ELISA形式には、別の利点がある。それぞれ、物理的に別個の試験ゾーン上に架橋抗体との複合体を形成する、任意の数の標的被分析物を、共通または普遍的検出抗体を用いて検出することができる。

【0112】

図2では、親和性捕捉固相マトリクスをより小さいゾーンに細分し、複数の被分析物の捕捉および分析のために別個の親和性捕捉分子で前処理できることを示す。例えば、それ

ぞれ独特の試薬を具現化する、バンド、細片、またはスポットとして、5つの試験野ゾーンの列から成る、試験紙が、5つの被分析物の同時検定用の複数の親和性捕捉マトリクスを提供する。親和性捕捉分子を適用する手段は、例えば、ドットマトリクスプリントまたは他のディスペンサ (BioDot) を用いた、バンド、細片、またはスポットの印刷を含む。試験野が、随意に、検定の制御および検証のために提供されてもよい。ゾーンは、それらの有意性を示すように、独特的の形状、例えば、「プラス」記号、「マイナス」記号、または「チェックマーク」に敷設されてもよく、典型的には、デバイスのカバーブレートに適用されるカバー上の指示で標識されるか、または光学スキャナ等の器具によって読み取ることができる。

【0113】

図2は、カバーブレート21およびベースプレート(図示せず)を伴うマイクロ流体デバイス20、ならびにデバイスピート、チャンバ、および接続マイクロ流体チャネル、貯留部、および構造の概略図が示されている。可撓性層22および23は、ベローズポンプ24および25の貯留部を被覆し、一方の貯留部から他方の貯留部へ流体を推進させ、往復運動で戻すよう、弾性的に変形させられてもよい。

【0114】

動作中に、左ベローズポンプ24の流体チャンバに試験サンプルを導入するために、マイクロチャネル27を介してサンプルポート26が使用される。同様に、右ベローズポンプ25の流体チャンバに試薬溶液を導入し、そこから外へ廃棄するために、マイクロチャネル29を介して「廃棄物」ポート28が使用される。ポート26および28は、デバイスカバー21を通って延在し、ベローズポンプ24および25の流体チャンバと流体的に連続的である。マイクロチャネル27および29は、衛生用途で有用であり得るように、弁(図示せず)を導入するように修正されてもよい。本明細書で示される混合実施形態は、全ての外部排出口が閉鎖されたときに動作可能なままである。

【0115】

左右のポンプチャンバの間の流体の活発な往復流は、集束開口31および32を介して、検定チャンバ30を通して伝導される。検定チャンバ30は、完全に密閉され、試験紙33を含有する。この実施形態で図示されるように、試験紙33は、それぞれ、34、35、および36と印付けられたゾーン内において、3種の固定化親和性捕捉分子でコーティングされる。検定チャンバ体積V2は、典型的には、ポンプベローズチャンバ体積V1と同等であり、それよりも大きく、またはそれよりも小さい。光学窓が、典型的には、これらのデバイス内の検定チャンバの上に位置する。

【0116】

この構造体では、試験紙33、ならびにゾーン34、35、および36が、P E T プラスチックで調製され、接着剤保護層で陰性にマスキングされた。次いで、露出したプラスチックは、プラスチックの湿潤および表面吸着性を増加させる、ポリマー骨格を誘導体化するために、二酸化炭素(またはアルゴン)ガス下でプラズマエッティングを受ける。コーティング緩衝液中の捕捉分子の適用および乾燥後に、次いで、マスクが除去され、分子をプラスチックに固定するように、随意に真空または不活性ガス下で、プラスチックが数分間50~60まで加熱される。次いで、試験紙が、被分析物または試薬の非特異的吸收を排除するように、遮断溶液で遮断され、図2のマイクロ流体デバイスの試験空洞に組み込む前に乾燥させられる。

【0117】

デバイスはまた、例えば、図2の廃棄物貯留部37に位置する、吸収性パッドまたはバット38を含有してもよい。吸収性パッドまたはバットは、廃棄されたサンプルおよび試薬を保持するために使用され、当技術分野で周知であるように、吸収剤はまた、指向性毛管作用を推進することに役立ち得る。使用され得る物質の実施例は、セルロース、消散セルロース、酢酸セルロース、ガラス纖維、ナイロン、高分子電解質イオン交換膜、アクリル共重合体/ナイロン、Whatman 3M、ポリエーテルスルホン、Schleicher and Schuell (Keen, N.H. USA)からの470および

740-E、またはWhatman (Fairfield, N.J. USA) からのD28を含み、それらの高流体吸収および吸い上げ速度について選択することができる。廃棄物容器37はまた、排出口39も含む。該排出口は、水性流体の輸送を防止するが、ガスに対して透過性である、分離物フィルタまたは膜を含有する筐体から形成されてもよく、有用な衛生対策である。

【0118】

図3は、ELISA検定の自動化または半自動化、あるいはマイクロ流体形式での異種結合免疫学的検定に好適である、デバイス40の概略図を表す。図1および2と同様に、適切な捕捉分子が固定化されている、2つの試験野（陽性44および陰性45、図10も参照）を含有するものとして本明細書で示される、検定チャンバ43を横断する往復流体流に動力供給するために、左右のベローズポンプ41、42が使用される。また、サンプルおよび試薬の添加、混合、洗浄、およびサンプル装填中の換気で使用される、マイクロ流体チャネル48、49、52、および53を制御する、左右の弁46、47も示されている。集束開口50、51は、本明細書で示されるように、相互に対向するが、中心軸から外れた角度で検定チャンバ43に進入してもよい。流体ポート54は、サンプル入口ポートであり、ポート55は、サンプル入口と流体的に接続された換気口であり、サンプル装填中にシステムから空気を一掃するために使用されるが、必要ではなく、マイクロ導出型混合プロセスの間に閉鎖することができる。ポート55は、廃棄物収集貯留部に置換されてもよい。したがって、流体回路は、ポート54および55、チャネル48、49、50、51、52、53、ベローズポンプ41、42の流体チャンバ、および検定チャンバ43から成る。気圧チャネルおよびカード外の気圧ポート（図示せず）が、ベローズポンプ42のダイヤフラム57およびベローズポンプ41のダイヤフラム58を駆動するため使用される。換気口56、59は、ベローズポンプ41、42のダイヤフラムの上方の圧力を保たせる。廃棄物貯留部は示されていない。代表的なマイクロ流体デバイス1、20、および40の気圧弁46、47、ポンプ41、42、気圧アクチュエータ、および廃棄物構造が、以下の図でさらに詳細に説明される。

【0119】

図4は、気圧「ピーナツ」弁70を概略的に示し、その作用は、図5Aおよび5Bにおいて漫画形態で示されている（上パネルでは弁が開いており、下パネルでは弁が閉じている）。図4、ならびに5Aおよび5Bでは、右および左上から進入するマイクロ流体チャネル71、72は、弁のプラスチック本体77にレーザ溶接される可撓性ポリウレタンまたはPETダイヤフラム層76によって冠着される、2つのビア74、75において、マイクロ空洞73（直径100～500ミクロン）に進入する。エラストマーがダイヤフラムに好ましい。可撓性層に並置するが、流体経路の上方の弁本体の層内に位置する、第3の空洞78が、気圧アクチュエータとしての機能を果たす。制御気圧アクチュエータチャネル79を介した陰圧（図5Aおよび5Bを参照）が、流体経路内のステップビア74、75から離して、可撓性層を引き上げ、示されるように、流体が左から右にマイクロチャネル71、72を流動するための経路を開放する。同様に、陽性気圧が気圧アクチュエータまたは制御回路に印加されたときに、弁が閉鎖され、流体流を遮断する。気圧アクチュエータ回路はまた、マイクロ流体構造であり、カードに組み込まれる。弁70は、カード外の陽性および陰性気圧とは独立して、グループにまとめるか、または操作することができる。概して、これは、コンピュータによって取り扱われるが、手動起動も使用されてもよい。この弁構造は、Microflowマイクロ流体検定器具（Microfluidics, Redmond Wash. USA）におけるストップフローに使用される。弁本体の中へのサンプルの進入に統一して、試験流体とのユーザ接触が可能ではないように、および弾性ダイヤフラムを伴う弁のデフォルト位置が「閉鎖」であるように、流体経路が単離されることに留意されたい。

【0120】

図6は、マイクロ流体ベローズポンプ90の平面図である。ポンプは、図7Aおよび7Bから分かるように、ダイヤフラムポンプと同様に稼働する。例えば、ポンプ空洞は、「

下」半分のチャンバ97および「上」半分のチャンバ98であって、流体を含有するための下半分のチャンバ97および気圧作動用の上半分のチャンバ98の2つのほぼ同等の体積のチャンバに分割される。当然ながら、「上」および「下」チャンバは、限定ではないが、反転させるか、または上下逆にすることができる。静止時に、ベローズポンプ可撓性ダイヤフラム93は、冠状面でポンプ空洞を等分する。可撓性ダイヤフラム93は、隨意に、エラストマーである。流体は、可撓性ダイヤフラム93が真空によって引き上げられたときに（または受動的に、圧力下で流体を呼び水に入れられたときに）、プラスチック本体92内のマイクロ流体入口チャネル91を通ってポンプ空洞の下半分のチャンバ97に進入し、可撓性ダイヤフラム93が上半分のチャンバ98内の気圧によって下に押されたときに退出する。ここで、上半分のチャンバ98、弁95、および気圧源96と接続する気圧アクチュエータチャネル94が、ポンプを制御するために使用される。同様に、手動の実施形態では、封入可撓性層（カードの最上部、底部、または最上部および底部）が（手によって、または機械によってのいずれかで）押下されたときに、流体がベローズ貯留部から変位させられ、流体的に接続されたマイクロチャネルを通して漏出する。二重ベローズポンプが図1-3に示されるように縦一列に配置されるとき、一方のポンプから他方のポンプへの親指の圧力が、往復流をもたらすであろう。指向性流を押勢するように、逆止弁をベローズポンプの両側でマイクロチャネル内に位置付けることができる。代替として、導出型混合中に二重ポンプサブアセンブリを完全に密閉するために、逆止弁が使用されてもよい。導出型混合において、上半分のチャンバ98のアクチュエータチャネル94内の気圧は、パルス状であり、可撓性ダイヤフラム93を駆動し、順に、下半分のチャンバ97内の流体を駆動する。動作の数学は、図9の簡略図でさらに詳細に説明される。

【0121】

ベローズポンプ材料は、必要剛性および弾性を選択するように変化させられてもよい。弾性層は、ポンプ表面が押下されたときに陽圧を生成し、表面が解放されたときに陰圧を生成する。我々は、それぞれ、ベローズポンプから離れた、またはベローズポンプに向かった、陽圧および陰圧誘導流の両方を、マイクロ流体デバイスベースの検定の動作で有利に使用できることを見出した。再度、ユーザは、サンプルおよび試薬流体との接触から単離されることに留意されたい。

【0122】

一実施形態では、マイクロ流体デバイスは、キットの形態で包装され、单一の臨床試験標本の分析に十分な内蔵試薬を含有する。最も好ましくは、これらのキット包装カードは、単回進入式（すなわち、サンプルを導入するために単回進入が行われる）であり、カードは、別様に密閉および内蔵型である。

【0123】

図8Aおよび8Bは、マイクロ流体検定カードからの汚染サンプルおよび試薬の流出を防止するように設計されている、廃棄物受容貯留部または装置100を通る断面図を示す。廃液チャネル104を通って進入する廃棄物は、カード102のプラスチック本体内の廃棄物受容貯留部の中に位置付けられる吸湿性材料（吸収性パッドまたはパット101）に吸収される。パット101は、図8Bで描写されるように、液体が吸収されるにつれて膨張する。廃棄物受容貯留部は、廃液チャネル側面（ここでは下側）と、排出口側面（ここでは下側）とを有する。可撓性または弾性膜層103は、廃棄物受容貯留部の排出口側面から廃液チャネル側面を分離する。内側膜が拡張するにつれて、気圧が貯留部内で均等化されるように、排出口105が廃棄物貯留部内に提供される。付加的な安全対策として、流体の流出を防止するように、排出口に液体障壁フィルタまたは膜106が供給されてもよいことに留意されたい。廃棄物受容貯留部を覆う可撓性層は、貯留部がベローズポンプとしての機能を果たすことを可能にする。

【0124】

同様に、閉鎖システムでの試薬投与のために、試薬が、カード上の密閉空洞内のプリスター・パウチの中へ前処理される。一実施形態では、必要とされるときに試薬を放出するために、指または機械的圧力が対向膜に印加されたときに、プリスター・パウチの下に位置付

けられる銳利物が、パウチと接触させられ、パウチを破裂させ、内容物を放出する。チャンバは、同時に、試薬が放出され、圧力によって必要な方向にデバイスを通して押勢されるように、マイクロ流体チャネルと流体的に接合される。

【0125】

例えば、色発現試薬または抗体試薬が、検定で使用するために内蔵プリスター・パウチの中に安全に貯蔵され、または試薬ポートを通して添加されてもよい。内蔵プリスター・パウチの使用によって、ユーザは、検定で使用される生物製剤または化学物質との接触から単離される。

【0126】

図9は、導出型混合のための「第1の切り込み」設計計算を実証する。図9は、図7、ならびに図1、2、および3とともに読まれることを目的としている。図9は、ポンプの「下半分のチャンバ」または流体側を説明して、下ベローズポンプ空洞140を示す。図7は、ダイヤフラム93および上下両方の半分のチャンバ97、98を伴うベローズポンプの完全断面図を示す。図1-3は、どのようにしてそのようなベローズポンプ4、8、24、25、41、42がペアで使用されるかを示す。

【0127】

ここで図9を参照すると、ベローズポンプ空洞の下半分のチャンバ140は、可撓性カバーダイヤフラム141を伴い、かつ基部および壁を伴う円筒としてモデル化されている。内部流体空隙がより明確に表されるように、カード本体20のベースプレートおよびカバープレート21は、ここでは示されていない。ベローズポンプ空洞の上半分（図7A、7B、要素98を参照）および気圧アクチュエータ回路94もまた、明確にするために示されていない。可撓性カバーダイヤフラム141は、図7で図示されるように、柔軟でなければならず、好ましくは、弾性で耐久性がある。円筒は、高さH1、直径D1、および公称体積V1 142を有する。ベローズダイヤフラムの作業直径は、カバー膜の柔軟性および気圧に基づく「有効直径」であり、したがって、その静止位置から、その完全圧縮および拡張位置（下向きの凸状変形）への可撓性膜の実際の変位または「ストローク」体積Vsは、典型的には、不完全な柔軟性および死体積により、半分のチャンバの公称体積V1 142よりも小さい。機械的作動の代わりに気圧が使用されるため、ストローク体積は、死体積の縮小により向上させられる。気圧作動型ベローズポンプの分数有効流体ストローク体積（Vs/V1）は、0.5より大きく、好ましくは、0.8より大きい。これらのポンプが図1-3で示されるように常にペアで使用されることを念頭に置いて、ストロークが、典型的には、コンパニオンまたはタンデムベローズポンプの動力ストロークでの流体による呼び水により、可撓性カバーが膨張された状態（上向きの凹状変形）で始まるため、我々はまた、実際には変位体積Vsよりも大きくなり得る、能動下方ストローク体積Vxにも注目する。1つのダイヤフラムの能動動力ストロークでは、他方のチャンバ内のタンデムダイヤフラムは、その受動充填半サイクル中に膨張させられ、次いで、その動力下方ストローク半サイクルでは、より大きい能動ストローク体積Vxを実現することができる。有利には、VxはVsの倍になってもよい。使用方法は、二重ポンプチャンバを分離する中央チャンバを通して前後に往復流を引き起こすよう、一方のポンプ、次いで、他方のポンプの可撓性膜を交互に押下することを伴う。交換される全体積は、両方のポンプチャンバの能動体積の合計であってもよい。使用中、典型的には、各半サイクル中に、一方のポンプが能動、もう一方が受動であり、連動して交代し、したがって、該機構を一対の直列ポンプチャンバとさらに区別する。したがって、気圧アクチュエータは、2つのダイヤフラムのうちの一方に指向されてもよく、他方のダイヤフラムは、受動的に、大気に放出されるその上半分のチャンバに従うように構成することができる。有利には、混合動作中に（すなわち、流体側で排出することなく）流体システムを完全に閉鎖することができ、デバイスの内容物への偶発的なオペレータの暴露に対する、およびエアロゾルの形成に対する有用な予防策である。

【0128】

「流動抑制」または「流動集束」開口143は、幅Y1、深度Z1、および長さL1を

有する。示されるように、Y 1 は、Z 1 より小さいが、これは必要ではない。流動抑制の目的は、このデバイスのスケールの特徴を示すポアズイユ流または放物線状流体制が乱され、マイクロ渦、乱流、および流体噴流が形成し、マイクロスケールで Penberthy 排出装置の作用を模倣するように、開口の断面積内の流体を加速することである。10 ~ 500 mm / 秒の平均速度が、本明細書で説明されるような免疫学的検定開発のために模索され、可撓性層上の開口寸法、能動下方ストローク体積、および圧力パルス P 1 は、10 ~ 500 mm / 秒、より好ましくは 20 ~ 200 mm / 秒、最も好ましくは 25 ~ 100 mm / 秒の範囲内の公称平均速度を生じるように構成され、ブルームフリンジでの見掛けのレイノルズ数を増加させる。

【0129】

これらの開口寸法およびミキサ条件は、5 秒⁻¹から 500 秒⁻¹の範囲内の剪断速度（寸法または直径上の直線流速）に対応するように構成される。最大 3000 秒⁻¹の剪断速度が考慮される。剪断速度は、臨界寸法としての Y または臨界寸法としての Z に対して計算されてもよく、臨界寸法は、概して、流体の通路の最も狭い点であり、流速は、ポンプチャンバ体積、ダイヤフラム直径 D 1 、およびストローク速度によって判定されることに留意されたい。開口は、断面が略長方形、直径 Y を伴う断面が略円形、または任意の便利な形状であってもよい。Y は、随意に、Z に等しくてもよく、Z は、随意に、ポンプチャンバの高さ H 1 に等しくてもよい。開口寸法 L 1 は、概して、流動を集束するように選択され、数マイクロメートルから数ミリメートルの範囲内である。Z 1 / D 1 および Y 1 / D 1 の比は、概して、0.5 未満、より好ましくは 0.25 未満、好ましくは 0.1 未満であるように定寸される。設計最適化は、ストローク体積を増加させながら、Y および Z の両方を縮小することを伴う。したがって、開口およびダイヤフラム構成の両方を最適化することによって、向上した混合特性が得られる。より複雑な設計計算、また、粘度、密度、および局在的乱流のモデル化も行われてもよく、または設計は、実験的に最適化されてもよい。実験的に最良判定されるように、壁剪断が検定標的または試薬の破壊をもたらすときに、開口寸法の臨界下限が越えられることに留意されたい。概して、検定開発中に最適化される、二次設計考慮事項は、サイクル時間および循環の持続時間、インキュベーション温度、圧力パルス間隔および波形、ならびに圧力振幅 P 1 を含む。各半分のストロークで受動的にタンデムダイヤフラムが操作された、アクチュエータチャネル（チャネル 94、上半分のチャンバ 98、図 7B）内の 10 psig の圧力パルスが、ここで提示される実施例で使用されたが、稼働実施形態では、他の圧力もまた、例えば、陰圧が他方のダイヤフラムに印加されている間に一方のダイヤフラムに印加される陽圧の組み合わせもたらす。約 0.1 Atm から約 5 Atm 以上の範囲内のパルス圧力が有用である。

【0130】

図 10 を参照すると、凝集検定で使用するためのマイクロ流体力カード 150 が示されている。サンプル貯留部 151 から、3 つの合致マイクロ流体チャネルが、制御された速度で検定 152、153、154 の 3 つのチャネルの中へサンプル流体を分配する。カード 155、156、157 の上の試薬貯留部から、最大 3 つの試薬が別個の分析チャネルに導入されてもよい。より多いまたは少ないチャネルが使用されてもよい。蛇行性マイクロチャネル 158、159、160 は、図 8 に示されるように、密閉された廃棄物貯留部 161 でもあり得る、カードの底部付近に示されるベローズポンプを用いて手動で、または自動的に呼び水を入れられる。排出口 163 は、廃棄物貯留部内の圧力の均衡を保つ。排出口 163 は、水不透過性・ガス透過性フィルタ障壁を含有してもよい。排出口はまた、カバープレート内の弹性カバー層と適合されるベローズポンプ 161 を用いて呼び水を入れることに役立つ弁（図示せず）を含有してもよい。凝集の結果は、試験野 162 の窓で読み取られる（図 12 の結果を参照）。親和性捕捉剤でコーティングされたビーズまたはセルを伴う試薬が、凝集を検出することに役立つために使用されてもよい。同一のカードでの検定の代替的構成では、単一の試薬を「サンプル」貯留部に導入することができ、複数のサンプルをカードの上の「試薬」貯留部に導入することができると留意されたい。サンプルおよび試薬添加の手段および順番の種々の順列が、容易に考慮される。これらの凝

集検定は、感染症を診断するため、または交差適合を行うため、または薬剤を検出するために使用されてもよい。

【0131】

図11および12は、以下で議論される実施例で説明されるように行われた検定の終点データである。

【0132】

層状シート構造によって構築されるマイクロ流体チャネルは、典型的には、正方形の断面外形を有する。凝集反応でビーズを採用する試薬については、チャネル直径は、個々のビーズおよびビーズ凝集体の通過を可能にするように調整される。ビーズ直径は、典型的には、1～100ミクロン、より好ましくは2～15ミクロン（平均サイズ）の範囲内であり、チャネル直径は、それに従って定寸されなければならない。

【0133】

押出成形によって形成された層で構築されるマイクロチャネルは、より丸みを帯びたチャネル外形と、各「ピア」上の半径とを有してもよい。射出成形された部品の内部チャネル表面もまた、いくぶん平滑である。チャネルの流動特性は、マイクロ流体制での強い表面効果により有意である。表面張力および粘度が、表面粗度効果を構成する。チャネル表面は、必要に応じて不動態化されてもよい。チャネルの最も狭い寸法が、流動に最も強い影響を及ぼす。正方形または円形の断面外形に基づくチャネル内の流動は、直径または対角幅によって制御され、設計は、典型的には、この挙動を利用するように変化させられるということになる。流動方向への先細の縮小は、200ミクロン以下の直径の毛管作用につながる。逆に、バルブを形成するようにチャネルを広くすることは、圧力が印加されない限り流動を停止させる。チャネル内のピアは、指向性流を助長するように設計することができ、ソリッドステート逆止弁の一種である。

【0134】

凝集は、抗原・抗体反応を検出する周知の方法である。可視検査によって検出可能である凝集が好ましい。これらの可視手段のうち、着色微粒子、具体的には、当技術分野で「ビーズ」としてしられているものが、より好ましい。

【0135】

着色可能なビーズまたは粒子および着色可能なラテックスビーズもまた、当技術分野で公知であり、免疫学的検定のための検出手段として有用である（例えば、両方とも参照することにより本明細書に組み込まれる、米国特許第4,373,932号および第4,837,168号を参照）。着色試薬溶液もまた、凝集の視覚特性を強化し、解釈を補助するために使用されてもよい。非常に小さい粒子の凝集の可視化のために、拡大レンズ窓が、デバイスのカバーブレートまたはフェースプレートの中に形成されてもよい。

【0136】

随意に、ビーズは、検出の感度を向上させるように標識で「タグ付け」されてもよい。単独で、または消光分子とともに採用される、ローダミン、フルオレセイン、またはウンベリフェロン系列等の蛍光分子が使用されてもよい（例えば、両方とも参照することにより本明細書に組み込まれる、米国特許第3,996,345号および第4,366,241号を参照）。ルミノール、ルシフェリン、ルシジエニン、または塩化オキサリル等の化学発光分子を、信号手段として使用することができる（例えば、参照することにより本明細書に組み込まれる、米国特許第4,104,029号を参照）。基質としてアミノエチルカルバゾールおよび過酸化水素を伴う共役西洋ワサビペルオキシダーゼ等の沈殿した着色生成物を生じるように、無色の基質と反応する、酵素系もまた、信号手段として有用である。单一および二重標識が、单一のビーズ種で使用されてもよく、または随意に、それぞれ、発色団または蛍光体の組み合わせの個別に認識可能な特徴を含有する、複数のビーズ種が使用されてもよい。

【0137】

典型的には、被分析物により容易に結合することができるように、何らかの様式で粒子の表面を修飾することが所望される。そのような場合において、粒子は、共役粒子を形成

するように、ある特定の親和性結合分子で修飾されてもよい。免疫反応性親和性結合分子は、組み換えDNA方法によって、ハイブリドーマにおいて、またはペプチド合成によって形成されるものを含む、抗原、ハプタノン、アプタマー、抗体(一次または二次)、およびそれらの複合体を含む。親和性捕捉に基づく他の一般的な凝集検出システムは、ビオチンおよびアビジン(またはそれらの誘導体)、ビオチンおよびストレプトアビジン、炭水化物およびレクチン、エフェクタおよび受容体分子全般、およびニッケル・ヒスチジンシステムを含むが、それらに限定されない。

【0138】

親和性捕捉分子、例えば、抗原または凝集素抗体は、概して、種々の周知の技法のうちのいずれかを使用して、ビーズに付着されてもよい。例えば、検出プローブ(例えば、粒子)への特定の結合部材の共有結合は、カルボン酸、アミノ、アルデヒド、ブロムアセチル、ヨードアセチル、チオール、エポキシ、および他の反応性または結合官能基、ならびにそれを通してタンパク質結合反応が達成され得る、残留フリーラジカルおよびラジカルカチオンを使用して、達成されてもよい。

【0139】

酵素を本第1の部材に結合するための手順は、当技術分野で周知であり、例えば、J. H. Kennedy et al., Clin. Chim Acta 70:1 (1976)で説明されている。この手順に使用される試薬は、グルタルアルデヒド、p-トルエンジイソシアネート、種々のカルボジイミド試薬、p-ベンゾキノンm-過ヨウ素酸塩、N,N-o-ヘキシレンジマレイミド、ヘテロ二機能性架橋剤、および同等物を含む。

【0140】

上記の混合技術の代替実施形態も想起される。図13A-Bは、スライドガラスを染色するための第1の装置であって、スライドガラスの面上に形成される密閉された反応チャンバを通して往復流を生成するように、連動して作用する二重ベローズポンプを有する、装置の平面図および断面図である。図13Cは、縁密閉部材の配置を示す詳細である。

【0141】

スライドガラスにより、限定ではないが、組織病理学、腫瘍学、および細胞学を含む、顕微鏡検査、アレイハイブリダイゼーション、プロテオミクス、および高スループットスクリーニング等に一般的に使用されているような、略平面的な基板部材のうちのいずれかが示される。

【0142】

本例証的実施例では、本発明の装置200は、流体回路を封入するように層から構築され得る、または1つ以上の部品で射出成形され得る、ベースプレート201上に形成される。概して、ベースプレートは、プラスチックで作製されるが、所望であれば、例えば、ステンレス鋼から機械加工されてもよい。図13Bおよび13Cでさらに詳細に示されるように、縁ガスケット203を使用して、その上に標本が載置されたスライドガラス202が、ベースプレートに添着される。この説明図での標本204は、ガラス表面の裏面上にある。縁ガスケットの最上ウェブ上の開口は、写真撮影または顕微鏡検査に有用であり得るように、スライドガラスの上面を通して視認領域206を伴う観察窓205を画定する。スライドガラスの下の陥凹は、密閉反応チャンバ207を形成する。観察窓もまた、反応チャンバを通して光を透過させるためにベースプレート部材の中に形成されてもよい。

【0143】

第1のベローズポンプ212および第2のベローズポンプ214が、以下でさらに詳細に説明されるように、密閉された反応チャンバを通して流体を前後に推進させるために使用される。

【0144】

図13Bを参照すると、ガラス側面202が、スライドガラスの下の陥凹として形成される密閉された反応チャンバ207の上に位置して示されている。ガラス側面は、ベース

プレート 201 に接合する外側側壁 209 によって画定される隆起したプラットフォーム 208 と並置して静置する。

【0145】

陥凹は、内側の側壁 210、および陥凹の底を形成するスラブ 211 によって画定される。スラブは、随意に、傾斜または起伏してもよく、密閉された反応チャンバ 207 から流体を排出するための排出管が提供されてもよい。密閉された反応チャンバは、その上に載置された標本を有するスライドガラスの領域を横断して延在する、浅いトレイであり、トレイの深度は、典型的には、5 ~ 100 マイクロメートルの範囲内である。

【0146】

試薬流体は、ダイヤフラム 212a の下向きストロークによって、ベローズポンプ 212 から流体接続を通して反応チャンバまで押勢される。いったん空気が内部水力から一掃されると、流体充填ベローズポンプ 214 は、ダイヤフラム 214a の下向きストロークによってベローズポンプ 212 に戻されてもよい。弁調節は明確にするために示されていない。ダイヤフラム 212a および 214a のこの連続作動のプロセスは、反応チャンバを通してタンデムベローズポンプ(212、214)の間で往復流を生成するように繰り返されてもよく、したがって、標本が試薬流体と完全に接触させられていることを確実にする。

【0147】

反応チャンバの寸法は、深度がマイクロ流体であるため、z 方向への混合は、主に拡散によるものであり、5 ~ 100 マイクロメートルの深度で比較的急速となる。ポンプ作用は、チャンバ内の流体が局的に反応物を枯渇させず、標本との試薬の反応を完了するために、必要に応じて、未使用的流体が周期的にチャンバを通して洗い流されることを確実にする。チャンバにおける「x」および「y」寸法は、必要に応じて、高スループットスクリーニングまたはより小規模の実験を支援するように構成されてもよい。所望であれば、手動で、または自動ワークステーションを使用してのいずれかで、装置 200 の所望の複数の複製が連動して操作されてもよい。

【0148】

例えば、標本 204 がマイクロアレイである場合、アレイと選択的に結合し、次いで、アレイの中の標的分子を照らすように、プローブがチャンバに導入されてもよい。他の用途では、標本 204 が組織切片である場合、ある細胞に選択的に結合するように、染色または抗体がチャンバに導入されてもよく、次いで、これらの細胞は、可視化されてもよい。他の場合においては、FISH(蛍光原位置ハイブリダイゼーション)のように、蛍光プローブが使用され、研究者が原位置で生物学的活性を追跡することを可能にする。同様に、ポロニーシーケンシング等のシーケンシング反応が、この種類のチャンバで行われてもよい。視認窓の厚さは、光学パッケージと連動するように必要に応じて選択されてもよく、視認領域のデジタル写真を使用して、画像分析が容易に達成される。

【0149】

この説明図では、隆起したプラットフォーム 206 上に形成された穴縁 215 を封入するように、縁ガスケット 203 が形成される。これは、図 13C でさらに詳細に示されている。スライド 202 は、ガスケット 203 を使用して、穴縁 215 に密閉して締め付けられる。密閉された反応チャンバ 207 を形成する、隆起したプラットフォームの外側側壁 209、および内部陥凹の内側の側壁 210 が示されている。外側側壁 209 と内側の側壁 210 との間に形成される流体チャネル 216 は、図 13B で描写されるベローズポンプおよび流体試薬貯留部と、密閉された反応チャンバ 207 との間で流体的に連絡する。217(図 14)で反応チャンバに進入する流体は、出口または排出口が提供されない限り漏出することができない。

【0150】

縁ガスケット部材は、概して、シリコーンゴムまたはビニルゴム、あるいは他のエラストマー等の軟質かつ柔軟であるが丈夫な材料である、定形部品である。このガスケットでは、ガスケットの全内縁に延在する「U字形」トラフが、密閉を作製するようにスライド

および穴縁 215 を覆って滑動される。これは、水力を単純化し、他の締め付けシステムで観察されているようなスライドの屈曲を緩和するが、反応チャンバの中へ標本を下向きにすることを必要とする。

【0151】

所望であれば、本明細書で図示される縁ガスケット 203 を補強するように、剛性クランプを添着することができる。剛性クランプは、概して、縁ガスケットの形状に従うが、圧力下で反応チャンバの漏出を防止するように、必要であれば、それを覆おって軟質クランプが締められるであろう。所望であれば、他の締め付けシステムが使用されてもよい。

【0152】

従来、加熱デバイスまたはペルチェチップが、隆起したプラットフォームの中に配置され、温度が反応チャンバ内で制御されてもよい。加熱デバイスの効果は、液体の温度を制御することであり、有利には、スライドガラスは、熱がチャンバに伝えられる導管ではなく、したがって、過熱または凍結による標本への損傷の危険性を最小限化する。

【0153】

この構成の変形例では、密閉された反応チャンバは、ガスケットの一方の端部（または両方の端部）上のスリットまたは切り込みを通してスライドを挿入することによって、スライドガラスの区画の周囲に形成することができる。これは、例えば、スライドの一方の端部におけるタブ上の標識が保護されるものであるとき、またはワイヤハーネスをスライドの一方の端に載置するために電気接合部が必要とされるときに有用である。結果として生じる電気接続は、反応チャンバ内の電極アレイに電力供給するため、またはサーミスタを操作するために有用であり得るが、それらに限定されない。

【0154】

反応チャンバ内の表面張力は、概して、湿潤を促進するように、および気泡閉塞を防止するように、不動態化または界面活性剤によって制御される。ポンプ作用がロバストであるため、垂直配向もまた、呼び水を入れている間に気泡を除去するために有利に使用され得る。CO₂洗浄もまた、ウェットアウト中の気泡の閉じ込めを最小限化するように提案されている。

【0155】

図14は、図13の装置の分解図である。ベースプレート 201 は、反応チャンバの底部を形成する陥凹トレイが容易に観察されるように、ここでは露出して示される、反応チャンバ 207 を通して流体を送出するための一対のペローズポンプ 212、214 を支持する。流体ポート 217 は、ベースプレートに組み込まれた流体回路への接続を表す。陥凹トレイは、洗浄サイクル中に試薬流体の排出を促すように傾斜するか、または段階的であってもよい。陥凹トレイはまた、所望であれば、加熱または冷却要素を含有してもよい。

【0156】

組立中に、スライド 202 は、陥凹トレイを包囲する隆起した平坦なレッジ 218 上で支持され、縁壁は、概して、良好な適合のために寸法的に一致させられる。スライドがプラットフォーム頂面上で容易に位置合わせされるように、必要であれば、ガイド穴縁が使用されてもよい。縁ガスケット 203 は、陥凹トレイに対してスライドを密閉するよう、スライドの縁の周囲および外側穴縁 215 の下で適合され、それによって、密閉された反応チャンバ 207 を形成する。

【0157】

スライド部材 202 用の硬質支持体 218 を形成するために、反応チャンバの寸法完全性が確保される。従来技術の軟質密閉ガスケットは、典型的には、カバー筐体の下に配置され、定位置で圧縮されるが、反応チャンバにおける「z」寸法およびヘッドスペース体積を正確に制御することができないため、不利な実践であり、したがって、試薬の消耗に寄与し、また、必要拡散経路長を必要に増加させることによって反応速度の拡散成分を減速させる、ガスケットが過剰に圧縮される、またはヘッドスペースが大きすぎる問題を引き起こす。

【 0 1 5 8 】

反応チャンバは、例えば、後続の検査またはアーカイビングのためにスライドを除去することが所望されるときに、これらのステップを逆転させることによって分解可能である。代替として、アセンブリ全体を単一のユニットとしてアーカイブに保管することができる。ダイヤフラムポンプの円筒形筐体は、ベースプレートの底部内の嵌合陥凹の中に適合し、装置のスタックが棚状にされることを可能にするように作製することができる。

【 0 1 5 9 】

スライドは、一般的に、エンドユーザによって供給され、リアクタ装置の一部として供給されてもよく、またはされなくてもよい。

【 0 1 6 0 】

図15は、二重ベローズポンプおよび封入されたチャンバ内の流体流を示す、概略図である。矢印は、往復双方向流を示す。ベローズポンプ212のダイヤフラムの下向きストロークは、ベローズポンプ214に向かった流動をもたらす。ベローズポンプ214のダイヤフラムの下向きストロークが引き起こされたとき、流動はベローズポンプ212の方向に戻る。

【 0 1 6 1 】

一方のベローズポンプの下向きストロークは、対向ベローズポンプの上向きストロークを伴ってもよく、ポンプ作用のエネルギーを倍にする。代替として、単一のポンプが、一度に作動させられてもよく、他方のポンプが、能動ポンプの作用に従わせられてもよい。

【 0 1 6 2 】

典型的には、マイクロプロセッサ支援装置の制御下で実行される、一般的なルーチンでは、各ベローズポンプにおけるポンプストロークは、正の極性から負の極性に交代せられる。図16は、ベローズポンプダイヤフラムのストロークの交互極性を示すプロットである。第2のベローズポンプは、同期反転信号の印加によって連動して操作される。

【 0 1 6 3 】

信号は、気圧または電気であってもよい。気圧制御システムの動作が、上記で説明されている。磁気的に制御可能または静電的に制御可能なダイヤフラムの電気作動もまた、当技術分野で公知であり、本発明のダイヤフラム作動システムで用途を見出す。

【 0 1 6 4 】

図15に示されるように、ダイヤフラムポンプはまた、流体貯留部から反応チャンバの中へ試薬を送出するため等、外部流体回路に流体的に接続されてもよい。ポート219が、外部回路または試薬貯留部に接続してもよい。

【 0 1 6 5 】

図17A-Cは、異なる構成、および密閉された反応チャンバを通って前進する流体への効果を示す、略図である。マイクロ流体システムでの課題は、ウェットアウト中のメニスカス制御である。これらのシステムにおける流動の平衡は、典型的には、共同譲渡された米国特許公開第U.S.2010/0112723号で分析されるように、毛管構成要素および抵抗構成要素によって説明される。表面活性剤、表面修飾、幾何学形状、および表面特徴が、湿潤を制御するために有用である。反応チャンバが下方から呼び水を入れられるような装置の垂直配向もまた、不均等なウェットアウトおよび閉じ込められた残留気泡を回避するのに有用である。有利には、本発明のデバイス、システム、および装置は、いくつかの従来技術のデバイスとは異なって、水平、垂直、または反転位置のいずれかで操作されてもよい。

【 0 1 6 6 】

図18A-Bは、対合ベローズポンプの異なる構成、および密閉された反応チャンバ内の流動パターンを図式的に表す。したがって、独立して制御可能な複数対のベローズポンプの使用は、マイクロ流体特性寸法を有する、薄い流体層を混合するためのロバストな可撓性プラットフォームを提供する。

【 0 1 6 7 】

図18Aでは、ガラス基板上に配置されたサンプル204を有する、密閉された反応チ

チャンバ 207 に流体的に接続された、8つの独立して制御可能なベローズポンプユニット 221 を伴うシステム 220 が、統合ベースプレート部材 201 の中に載置されて示されている。

【0168】

図 19 は、標本 204 をプロセスの流体試薬と完全に接触させるよう、協調的複雑混合パターンを達成するための 10 個の対合ベローズポンプを伴って構成されるさらに別のシステム 230 を描写する。

【0169】

図 20A は、密閉された反応チャンバ内の複数の流動の概略図である。流動は、密閉された反応チャンバ 207 内で左から右へバルク流と合体する、層流の重複野を生成するよう指向される。

【0170】

図 20B は、ベローズポンプに取り付けるための造管部が供給され得るような注入器ポート 240 の代替形態である。チャンバ 207 に進入する流体のパルスは、図 20A の流体流をもたらす。また、チャンバを覆ってスライド 202 を密閉する際に使用するための代替的な鉤クランプシステムも示されている。この場合、スライドは、標本が流体充填チャンバ 207 の中に浸されるように、チャンバの中で直立している。

【0171】

図 21A - 21F は、締め付けるための手段、密閉するための手段、およびそれが添着される実質的に平面的なから密閉された反応チャンバのカバープレートを解放するための手段を描写する。

【0172】

図 21A は、密閉された反応チャンバ 207 を形成するためにスライドガラス 202 とカバープレートとの間に挿入された O リング 251 を図示する。当技術分野で公知である種々の柔軟なガスケットが、内部密閉に使用されてもよい。

【0173】

図 21B は、密閉された反応チャンバ 207 およびスライド 202 の周囲にシールを形成するための接着シールストリップ 252a を描写する。ここで示されるように、チャンバは、外部ポートからの流体 207a で充填している。

【0174】

図 21C は、密閉された反応チャンバ 207 の寸法幾何学形状が、スライドガラス 202 に接触する硬質穴縁によって確保される、第 2 の接着シールストリップを描写する。

【0175】

図 21D は、柔軟ガスケット材料で形成された端部シール 253 を描写する。

【0176】

図 21E は、解放部 255 を伴う締め付け特徴 254 を示す。

【0177】

図 21F は、スライドガラス 202 を受容するための完全封入チャンバを示す。スペース 256a および 256b は、スライドの最上部および底部の両方に接触する、ヘッドスペース体積 258 を画定する。

【0178】

図 22A および 22B は、熱可塑性物質をマイクロ成形することによって形成された穴縁シールを描写する。プラスチック穴縁は、スライドガラス 202 と接触シールを形成するように圧力下で座屈し、それによって、反応チャンバ 207 を密閉封入する。

【0179】

参照することにより本明細書に組み込まれる、概して公知であるような当技術分野を例証する技術は、例えば、Brown に対する米国特許第 6037168 号、McGarry に対する第 6569674 号、Thornton に対する第 6773677 号、McNeeley に対する第 7223363 号、Adney に対する第 7235400 号、Loeffler に対する第 7318913 号、および Lee に対する第 7906317 号を含む。

【 0 1 8 0 】

ここで図23Aおよび23Bを参照すると、着脱可能に挿入可能なスライドチャンバミニカセットと、廃棄物貯蔵容量が内蔵されている複数の試薬貯留部とを有する、本発明の代表的な実施形態300が示されている。

【 0 1 8 1 】

第1の斜視図では、本装置は、ベースプレート301モジュール（マイクロ流体カードとも称される）と、可逆的に係合可能なスライドチャンバミニカセット302とを備えることが見られる。スライドガラス303は、ミニカセットサブアセンブリ302の中に部分的に載置されて示されている。

【 0 1 8 2 】

断面図（図23B）では、スライドガラス303が、カセット筐体317のラッチング鉤機構312に挿入するために角度を成して位置付けられることが示されている。柔軟内部ガスケット311は、スライドが定位置でクリックロックされたときに密閉された反応チャンバ310の周囲にシールを形成する。試薬流体は、以下で説明されるように、ニップル316aおよび316bを通して入れられる。例えば、図21および22で説明されるような、密閉および締め付けるための他の手段もまた、使用されてもよい。

【 0 1 8 3 】

ベースプレートモジュール301は、二重ベローズポンプ（322、324）、試薬貯留部またはポート307a-c、および排出口308を伴う廃液貯留部304から成る。スライドミニカセットは、ベースプレート上のドッキングベイ305に交換可能に差し込まれ、例えば、複雑な反応プロトコルが実行される場合に、所望であれば、1つのベースプレートから別のベースプレートへ移動させられてもよい。ベースプレートは、カセットが挿入されたときにドッキングベイのポート306aおよび306bに密閉係合する、ベローズポンプならびにスライドカセット上のニップル316aおよび316bを介して、スライドカセットと流体的に相互接続される、試薬ポート307aから307cを通して試薬を装填される。

【 0 1 8 4 】

以前に説明されたようなベローズポンプが、試薬を装填するため、および密閉された反応チャンバ310を通して流体を循環させるための流体原動力を提供するために使用される。ベローズポンプダイヤフラム322aおよび324aは、気圧で作動させられ、またはソレノイドを使用して、あるいは当技術分野で公知である静電技術を使用して作動させられてもよい。

【 0 1 8 5 】

ベースプレート内に示されるマイクロ流体回路は、説明を容易にするために比較的単純に作製されているが、層を積層するプロセスによって、または複雑な微細特徴を伴う成形部品を形成することによって、および当技術分野で公知であるような溶媒溶接、超音波溶接、またはレーザ溶接から選択される融合プロセスによって、より複雑な回路が形成されてもよい。

【 0 1 8 6 】

試薬貯留部の数は、例えば、染色ステップ、洗浄ステップ、および対比染色ステップを伴う、3ステップ染色プロトコルのために十分である。付加的な試薬貯留部を用いて、またはカード外試薬を用いて、より複雑なプロトコルを行うことができる。試薬貯留部はまた、随意に、可撤性であり、自由に交換され得るように、ベースプレート内の接続流体チャネルに挿入するためのネジ山付きニップルが提供されてもよい。一実施形態では、ベースプレートモジュールおよび事前充填された試薬貯留部は、別々に、またはキットで販売される。

【 0 1 8 7 】

図24は、図23の実施形態の断面図である。スライドミニカセットサブアセンブリ302が、部分開放図で示されている。スライド303が、クリックロッククランプ特徴312によって筐体317に対して密閉する。内部反応チャンバ310が完全に密閉されて

いることを確実にするように、軟質ガスケット 311 が提供される。このユニットは、使い捨てであるか、またはいったん処理されるとアーカイブに保管するために貯蔵されてもよい。スライドの内面上に載置される標本材料は、概して、ポート 316a および 316b を通して導入される流体試薬と接触させられることによって、反応チャンバ 310 内で反応を受ける。

【0188】

スライドミニカセット 302 は、ベースプレートモジュール 301 のドッキングベイ 305 に除去可能に挿入するように構成され、ポート 316a および 316b は、流体チャネル 306b および 306b と密閉嵌合する。各流体チャネルは、ダイヤフラム部材と、試薬貯留部 307 から反応チャンバ 310 の中へ流体を引き込むための作動手段とを含む、ベローズポンプアセンブリ 322 と連絡している。概して、ベローズポンプ 322 および 324 は、他方のベローズポンプが上方ストロークにあるときに、一方のベローズポンプが下方ストロークにあるか、または 2 つのポンプが交互に操作されるように、同期して反転作動信号を受信することによってのいずれか一方で連動して動作する。一方のポンプがスレーブであり、他方のポンプがマスターである、2 つのポンプもまた、操作されてもよい。スレーブポンプがダイヤフラムの伸張の形態でストロークエネルギーを貯蔵し、それを反対ストロークで放出するため、この構成は、弾性ダイヤフラムに特に有用である。概して、モジュールが一部である、装置または器具システム内のメモリ媒体に記憶される、プログラム可能な命令セットを実行するマイクロプロセッサの制御下で、これらの協調的作動を使用して、密閉された反応チャンバを通して往復流体制を確立することができる。チャンバは、典型的には、拡散輸送が優勢である、マイクロ流体「z」寸法を有するが、ベローズポンプは、攪拌されていない層の上方で境界層濃度を新たにし、急速完了まで拡散律速反応を駆動することに有効であることが示されている。これらのシステムはまた、容易に自動化される。

【0189】

図 25 は、回転式コンベヤまたは他の自動システムで使用するための複数の装置モジュール 300 を図示する。有利には、モジュールは、気泡を一掃するのに役立つように垂直位置に載置される。これは、複数の標本を並行して処理するための自動システムの動作中にモジュールの使用の好適性を実証する。

【実施例】

【0190】

(実施例 1)

マイクロ流体検定デバイスの調製および組立

ELISA 免疫学的検定用のマイクロ流体デバイスを以下のように調製した。

【0191】

1. ヒト IgG (pH 9 の重炭酸塩結合緩衝液中で 0.5 μg) を、PET シートのプラズマ処理された試験野上に堆積した。ヒト IgM が、陰性対照として第 2 の試験野に適用された。次いで、60° で 5 分間乾燥させることによって、タンパク質をプラスチックに固定した。

【0192】

2. 固定後、試験野をカゼイン緩衝液（ビオチンを含まない）で 30 分間遮断し、PBS (0.1% Tween 20 を伴うリン酸緩衝生理食塩水) で 2 回洗浄した。

【0193】

3. 乾燥後、次いで、ベローズポンプを加圧し、衛生弁を開閉するための統合気圧回路とともに、処理された PET シートを、図 3 のマイクロ流体デバイス内の接着剤層の間に組み立てた。

【0194】

(実施例 2)

マイクロ流体デバイスにおける ELISA 免疫学的検定の実施

方法の開発におけるベンチマークとして有用である、ELISA の標準検定は、固体基

板上の固定化ヒト Ig G の検出を伴い、その後に、ビオチン標識抗ヒト抗体を用いた Ig G の遮断および検出が続く。順に、ビオチンは、酵素標識ストレプトアビジンを用いて検出される。

【0195】

手順：

1. 実施例 1 で説明されるように調製されたマイクロ流体デバイスを参照して、サンプルポートを通して抗ヒト Ig G ビオチン (Pierce, 180 uL、カゼイン緩衝液中で 1 : 10, 000) を添加し、低速混合とともにデバイスを 1 分間インキュベートした。次いで、試験野を PBS T で洗い流し、洗い流した液を除去する前に 1 分間の低速混合を伴った。Microflow マイクロ流体検定器具 (Micronics, Redmond Wash. USA) が、混合および洗浄を行うために使用された。

【0196】

2. 検出試薬 (Poly SA - HRP) を、低速混合とともに 1 分間のインキュベーションで添加した。Poly SA - HRP は、西洋ワサビペルオキシダーゼで標識されたストレプトアビジンである。再度、試験野を洗浄した。

【0197】

3. TMB (Sigma, TMB 高感度現像液、180 uL、カゼイン緩衝液中で 1 : 500) を添加した。色を発現させるための 2 分間のインキュベーション、および PBS T による 1 分間の洗浄に続いて、結果を探点した。

【0198】

4. Ig G 試験野に対する陽性反応が、ジイミンの濃い青色の沈殿物によって示された。

【0199】

この実施例では、クエン酸塩 / 酢酸塩緩衝液中の TMB (3, 3', 5, 5' - テトラメチルベンジジン) が、色原体として使用された。結果は、図 11 の接近写真挿入図に示されている。チャンバは、図 3 および図 9 で説明されている。Ig G (上) と標識された試験ゾーン内の TMB 沈殿の特徴を示す、濃い青色に留意されたい。Ig M (下) は、陰性対照として使用された。

【0200】

(実施例 3)

化膿連鎖球菌の莢膜多糖類に対する抗体の免疫学的検定用のマイクロ流体デバイスの組立

試験カードの組立：

1. A 群化膿連鎖球菌から精製される莢膜多糖類抗原が、アクリルアミドモノマーとの共重合によって、N₂ プラズマ活性化ポリエチルシート上で固定化される。シートは、試験野領域を画定するように事前にマスキングされている。

【0201】

2. 次いで、プラズマ処理された試験野および周辺領域が、カゼイン緩衝液で 30 分間遮断され、PBS T (0.1% Tween 20 を伴うリン酸緩衝生理食塩水) で 2 回洗浄される。

【0202】

3. 乾燥後、抗原処理されたポリエチルシートを含む、ラミネート層のスタックが、概して、図 9 で説明されるように定寸される、マイクロ流体デバイスに組み込まれ、図 1 のパターンによって流体回路とともに組み立てられる。

【0203】

(実施例 4)

マイクロ流体デバイス形式の免疫診断検定の実施

手順：

1. 実施例 3 で説明されるように調製されたマイクロ流体デバイスを参照して、サンプルポートを通して、カゼイン緩衝液中の 200 μl の西洋ワサビペルオキシダーゼ共役 A

群化膿連鎖球菌抗莢膜抗体が添加され、約1分間のマイクロ導出型混合とともに、溶液が試験層と接触させられる。次いで、試験層がP B S Tで3回洗い流される。

【0204】

2. pH 3.3のクエン酸緩衝液中の200 μl A B T Sおよび過酸化水素で現像する。2分間混合およびインキュベートし、その後に、P B S Tで1分間洗浄する。

【0205】

3. 陽性反応が、固相親和性捕捉マトリクス上に集合するジイミンの濃い青色の沈殿物によって示される。

【0206】

この実施例では、pH 4.2の0.1Mクエン酸塩緩衝液中の2,2'-アジノ-ジ(3-エチルベンズチアゾリンスルホン酸)および0.03% H₂O₂が、現像液として使用される。検定の感度は、H R Pおよびo-ジアニシジンの分解を遅らせて色の発現を強化するように、洗浄液(米国特許第4,810,630号参照)および現像液中の0.1%T w e e n - 80の使用によって向上させられる。

【0207】

(実施例5)

呼吸器病原体の一群に対する抗体の検出用の試験紙

3つの試験領域が、マイクロ流体デバイス内の窓に対応するポリスチレンのシート上で陰性にマスキングされ、プラスチックがプラズマ活性化される。次いで、2~5 μg / m Lまで希釈される、以下の抗原が、試験パッドのそれぞれ1つの上で固定化される。

1. 肺炎連鎖球菌、混合O血清型莢膜多糖類抗原。

2. 化膿連鎖球菌、A群莢膜抗原。

3. インフルエンザウイルス、A型、混合血球凝集素H1-H5。

【0208】

次いで、試験紙が遮断され、図2の密閉されたマイクロ流体検定デバイスに組み込まれる。デバイスの調製に続いて、患者の血清(pH 7.4、P B S、1% B S A、0.02%アジ化ナトリウムから成る、180 uL P A A B S 緩衝液中で1:10希釈)が、サンプルポートを通して完成したマイクロ流体デバイスの中へピペットで採取される。血清が、試験パッド上で湿潤させられ、デバイスが、低速混合で5分間インキュベートされる。次いで、試験紙がP A A B Sで1回洗い流される。P A A B S(200 uL)中の適切な希釈でのヤギ抗ヒトIgGおよびヤギ抗ヒトIgM(2:1)の溶液が、サンプルポートを通して添加され、室温で20分間、試験紙上でインキュベートさせられる。インキュベーションに続いて、試験紙が1回洗い流され、水気を切る。次いで、グルコースオキシダーゼと共に役した抗ヤギIgGの溶液である、検出抗体が、適用され、室温で10分間インキュベートされる。インキュベーションに続いて、再度、試験紙が洗い流され、水気を切る。pH 9.5のT R I S 緩衝液中のニトロブルーテトラゾリウム染料(N B T)の溶液を用いて、現像が行われる。陽性血清抗体試験が、抗原パッドのうちの1つの場所で試験紙上の青から紫の色の発現によって示され、新しいまたは最近の感染を診断する。

【0209】

(実施例6)

鼻洗浄液におけるインフルエンザ抗原

インフルエンザは、急速な臨床経過を辿る。初期に、呼吸器上皮洗浄液は、感染体、非感染性ヌクレオカプシドおよびエンベロープ破片、およびインフルエンザ抗原:IgA複合体を含有する。ここでとられる診断アプローチは、インフルエンザウイルスに特異的なIgAの検出を伴う。ここでは抗体の検出が説明される。

【0210】

西洋ワサビペルオキシダーゼ標識インフルエンザウイルス(H P L I V)を調製するために、N i e l s e nによって引用される方法に従う(N i e l s e n, S L e t a l. 1986. D e t e c t i o n o f I m m u n o g l o b u l i n G A n t i b o d i e s t o C y t o m e g a l o v i r u s A n t i g e n s

by Antibody Capture Enzyme-Linked Immuno sorbent Assay. J Clin Microbiol, December 1986, p. 998-1003)が、Fitzgerald Industries (Concord Mass., USA)から購入されたインフルエンザウイルス粒子を用いる。マイクロ流体デバイスは、最初に、試験紙の表面上にモノクローナルマウス抗ヒト Ig A を固定化し、カゼイン Tween 遮断溶液を用いて遮断することによって調製される。試験紙は、最終組立前にデバイスの空洞の中に載置される。組立中に、サンプル貯留部(すなわち、ベローズポンプチャンバ内の)が、50 uL TBS 1%ウシ血清アルブミン 0.1% Tween 80 (TBSBT) 中の 10 ug の HMLIV 試薬で湿潤させられ、定位置にて真空下で乾燥させられる。2 mL の粗く濾過された生理食塩水鼻洗浄液が、0.2 mL TRISS で pH 7.4 まで緩衝され、全量が、マイクロ流体デバイスのサンプル貯留部へ移送される。材料は、抗原共役を完全に溶解させるように、定位置で 2 分間インキュベートされる。次いで、サンプル溶液は、2 分間にわたって、低速往復流を生成するように二重ベローズシステムを使用して、試験野捕捉部位を横断して前後に通過させられる。このプロセス中に、HRP 標識ウイルス粒子は、サンプル中の任意の Ig A 抗体でコーティングされ、サンプル中の任意の Ig A は、試験紙上で固定化された過剰な抗 Ig A によって捕捉される。インキュベーション後に、デバイスが TBSBT 緩衝液で 3 回洗浄され、洗い流した液が廃棄物貯留部の中へ排出される。試験チャンバに流体的に接続された隣接プリスター パウチ (CDRP) は、色発現試薬を含有する。CDRP の上に位置するダイヤフラムを圧迫することにより、パウチを破裂させ、色発現試薬を試験空洞の中へ放出する。試験紙上の青色沈殿物の発現は、免疫反応を示し、HRP 複合インフルエンザ抗原を伴う固定化 Ig A 複合体の存在を確認する。全ての混合および洗浄ステップは、導出型混合を使用する。

【0211】

(実施例7)

凝集免疫学的検定の開発

この検定で使用されるマイクロ流体デバイスは、図 7 に示されるものである。このカードは、共通液体ビーズ試薬に対して 2 つまたは 3 つの試薬を試験するために使用することができる。陽性試験として、抗ヒト Ig G Fc 断片特異的ビオチン共役抗体 (Pierce) を 24 ug / mL の濃度で PBS に溶解させた。PBS を陰性対照として使用した。3 uL の再懸濁ビーズを 50 uL PBS に添加することによって、青色ストレプトアビジンコーティングビーズ (Seradyne、1% 固体) 懸濁液を希釈した。ビーズ溶液を、試験チャネルのそれぞれと連絡しているウェルの中に配置した。抗体溶液および PBS を、カードの上の試験ウェルの中に配置した。PBS を左右のチャネルの上方に配置し、抗体溶液を中心チャネルの上方に配置した。ベローズポンプによって生成された吸引圧力を使用して、試験溶液および試薬ビーズを、カード内の下降蛇行性チャネルの中に運び込み、流動が継続するにつれて反応させた。ストレプトアビジンコーティングビーズおよび抗体ビオチン共役を含有するチャネル内に、即時の強い凝集反応があった。PBS チャネルは、凝集について陰性であった。検定窓内の結果の接近写真が、図 12 に示されている。

【0212】

(実施例8)

尿中の膀胱腫瘍抗原 (BTA) の凝集試験

中間採取尿が、診療地点での試験のために収集される。1.020 より大きい比重を伴う標本が、試験に容認可能である。図 10 のマイクロ流体カードは、試験のために容易に適合可能である。尿が、上側の中心ウェルの中に配置される。陽性および陰性試験流体が、側面ウェルの中に配置される。ラテックスビーズと共に配置した抗ヒト BTA IgG が、下側の試薬ウェルの中に配置される。ベローズポンプが、サンプルおよび試薬流の流動および混合を開始するために使用される。各流体が蛇行性チャネル内で混合してインキュベートするにつれて、中心チャネルを経由して光学窓を通して観察されるラテックスビーズ

の凝集は、腫瘍抗原の存在の陽性免疫診断を示す。ビーズ試薬流体は、随意に、検定の進行を辿ることにおいてユーザを補助するよう着色される。

【0213】

(実施例9)

腸内病原体の凝集試験

いくらかの粘液を伴って大部分が電解質である、20mLの下痢流体が、滅菌技術で収集され、50mLポリプロピレン遠心分離管へ移送される。0.01%チメロサールを含有する、pH7.0、20mLのTRIS緩衝液0.1Mが添加される。肉眼で可視的な残骸および粘液鎖を除去するように、5000rpmで10分間の卓上遠心分離機内の軽い遠心分離後に、上澄みが試験のために清潔なサンプルコンテナの中へ移される。この溶液は、潜在的に感染体を含有しており、適切な予防策で取り扱われる。前処理されたサンプルは、本発明の診断カードの中で分析される。カードの調製は、以下の通りである。PETの薄い層上の切り込みが、レーザリソグラフィによって調製される。目的とする感染体に対する抗体を伴うラテックスビーズ(Seradyne blue)が得られ、クエン酸塩1%、BSA0.1%、Triton-X 100のpH7凍結乾燥緩衝液中に再懸濁させられる。ビーズ懸濁液は、検定に十分な濃度で、カードの蛇行性チャネルの中に散在または別様に適用され、次いで、定位置で凍結乾燥させられる。試験は、このプロトコルがサンプル流体によって容易に可溶化される乾燥ビーズ層をもたらすことを示す。

【0214】

この実施例では、以下の腸内病原体に対する抗体と共に乾燥ビーズが使用される。

1. 赤痢菌
2. 大腸菌、血清型O157:H7
3. サルモネラ菌、多価抗莢膜および鞭毛抗体。

【0215】

300uLの処理されたサンプルが、カードのサンプル貯留部に導入される。カードが、流動を開始するように傾けられ、軽く叩かれ、次いで、平たく広げられるか、または表面上に立て置かれる。流体は、1つ以上のマイクロ流体チャネルを通じてサンプルウェルから退出し、ビーズ凍結乾燥物を含有する、より大きい直径のチャネルまで前進する。適切な抗原・抗体ペアの存在下での凝集は、ビーズが流動中で可溶化されると、ほぼ即時に始まる。流動は、下降蛇行性チャネルのそれぞれを通じて、結果を読み取って解釈することができるカード内の窓の下の試験野まで継続する。廃棄物貯留部に到達する流体は、弹性内側単離層によってユーザから単離され、貯留部は、さらなる安全特徴として、排出口内の液体障壁膜でさらに単離される。廃棄物貯留部内の吸収性パッドは、毛管作用によって充填し、廃棄物を保持する。適切に設計されたサンプルポートの使用、および液体障壁排出口を伴う密閉された廃棄物容器の組み込みによって、いかなる潜在的生体有害物質も検定中に放出されない。カードは、単回進入閉鎖システムであり、病原微生物および寄生虫の検査を伴う用途のために適合される。カードは、診療地点での使用に好適である。

【0216】

文脈が別様に要求しない限り、本明細書および以下に続く請求項の全体を通して、「備える(comprise)」という言葉、ならびに「備える(comprises)」および「～を備える(comprising)」等のその変形例は、限定されていない包含的な意味で、つまり、「～を含むが、それらに限定されない」として解釈されるものである。

【0217】

本明細書の全体を通して「一実施形態」または「実施形態」という言及は、実施形態と関連して説明される特定の特徴、構造、または特性が、本発明の少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、本明細書の全体を通じた種々の場所での「一実施形態では」または「実施形態では」という語句の出現は、必ずしも全て同一の実施形態を指しているわけではない。さらに、特定の特徴、構造、または特性は、1つ以上の実施形態において任意の好適な様式で組み合わせられてもよい。

【 0 2 1 8 】

上記の説明は特異性を含有するが、これらの特異性は、本発明の範囲への制限としてではなく、むしろ本発明の実施形態の例示として解釈されるべきである。つまり、本発明の先述の説明は、例証および説明の目的で例示的である。本発明の精神および範囲から逸脱することなく、当業者であれば、本発明に種々の変更および修正を行い、進歩性を伴わずにそれを種々の使用法および条件に適合させることができる。したがって、これらの変更および修正は、適正かつ公平に、以下の請求項の同等物の全範囲内にあることを目的としている。したがって、本発明の範囲は、挙げられる実施形態よりもむしろ、添付の請求項およびそれらの法的同等物によって判定されるべきである。

【 0 2 1 9 】**(参照による組み込み)**

本明細書および関連出願で参照される、米国特許、米国特許出願公報、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、および非特許出版物の全ては、それらの全体で参照することにより本明細書に組み込まれる。