

【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23年9月1日(2011.9.1)

【公表番号】特表2010-533869(P2010-533869A)

【公表日】平成22年10月28日(2010.10.28)

【年通号数】公開・登録公報2010-043

【出願番号】特願2010-517146(P2010-517146)

【国際特許分類】

G 01 N 35/08 (2006.01)

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 37/00 (2006.01)

【F I】

G 01 N 35/08 A

G 01 N 33/53 M

G 01 N 37/00 1 0 1

【手続補正書】

【提出日】平成23年7月14日(2011.7.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液サンプルをマイクロ流体デバイスに導入するための注入口；

該注入口に連通した、該注入口の下流にある流動チャンネル；

該流動チャンネルに連通した、分該注入口の下流にある複数の血漿分離分析チャンネル；及び

各血漿分離分析チャンネルに付着した複数の捕捉剤；

を含むマイクロ流体デバイス。

【請求項2】

前記流動チャンネル及び前記血漿分離分析チャンネルは、該流動チャンネルと該血漿分離分析チャンネルとの間において20:1の又はそれよりも大きい流速比を生成するように寸法が取られている、請求項1に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項3】

前記流速比が、100:1、約60:1から約100:1まで、約35:1から約60:1まで、及び20:1から35:1までで構成されるグループから選択される、請求項2に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項4】

前記複数の血漿分離分析チャンネルの下流にあり、該血漿分離分析チャンネルと連通している第2分析チャンネル、及び該第2分析チャンネルに付着した複数の捕捉剤を含む、請求項1に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項5】

前記第2分析チャンネルが、前記複数の血漿分離分析チャンネルの組み合わせた幅よりも少なくとも10倍大きい幅を有する、請求項4に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項6】

前記第2分析チャンネルが、前記複数の血漿分離分析チャンネルの組み合わせた幅よりも約10~100倍大きい幅を有する、請求項4に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 7】

各血漿分離分析チャンネルに付着した前記複数の捕捉剤は、同一であり且つ同一の標的分子を結合させる、請求項1に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 8】

前記捕捉剤は、さらに、複数のポリヌクレオチドを含む、請求項1に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 9】

前記捕捉剤は、さらに、ポリヌクレオチドでコードされたたんぱく質を含む、請求項1に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 10】

前記捕捉剤は、前記サンプルにおける標的の第1セットを結合させる第1セットの捕捉剤、及び前記サンプルにおける標的の第2セットを結合させる第2セットの捕捉剤をさらに含む、マイクロ流体デバイス。

【請求項 11】

前記第1セット及び前記第2セットの捕捉剤は、異なる血漿分離分析チャンネルに付着している、請求項10に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 12】

前記血漿分離分析チャンネルにおける捕捉剤の配置は、バーコードのパターンを形成する、請求項10に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 13】

血液サンプルにおいて少なくとも1つの標的分子を検出する方法であり：
該血液サンプルを流動マイクロ流体チャンネルの中へ挿入する段階；
前記流動マイクロ流体チャンネルからの複数の標的分子を有する血漿を、複数の捕捉剤が各々に付着した複数の血漿分離分析マイクロ流体チャンネルの中へ流す段階；
前記血漿分離分析マイクロ流体チャンネルにおける血液からの血漿を分離する段階；
前記血漿分離分析マイクロ流体チャンネルにおいて、捕捉剤 標的分子複合体を形成する段階；及び
前記血漿分離分析マイクロ流体チャンネルにおいて、前記捕捉剤 標的分子複合体を検出する段階；
を含む、方法。

【請求項 14】

血液サンプルをマイクロ流体デバイスに導入するための注入口、
流動チャンネル及び複数の血漿分離チャンネルを含む前記注入口に連通し、該注入口の下流にある流動チャンネル、

該流動チャンネルに連通した、該流動チャンネルの下流にある分析チャンネル、及び
該分析チャンネルに付着した複数の捕捉剤、を含むマイクロ流体デバイスであり、
前記流動チャンネル及び血漿分離チャンネルは、該流動チャンネルと該複数の血漿分離チャンネルとの間において20：1の又はそれよりも大きい流速比を生成するように寸法が取られている、マイクロ流体デバイス。

【請求項 15】

前記流速比は、100：1、約60：1から約100：1まで、約35：1から約60：1まで、及び20：1から35：1までで構成されるグループから選択される、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 16】

前記分析チャンネルは、前記複数の血漿分離チャンネルの組み合わせた幅よりも約100倍幅広い、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 17】

前記複数の捕捉剤は、同じ標的分子を結合させる、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項 18】

前記捕捉剤は、基板ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項19】

前記捕捉剤は、ポリヌクレオチドでコードされたたんぱく質をさらに含む、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【請求項20】

前記捕捉剤は、前記サンプルにおける第1セットの標的分子を結合させる第1セットの捕捉剤及び前記サンプルにおける第2セットの標的分子を結合させる第2セットの捕捉剤をさらに含む、請求項14に記載されたマイクロ流体デバイス。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の名称

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】標的分子を検出するためのマイクロ流体デバイス、方法及びシステム

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

第1態様に従って、流体サンプルの流体成分において少なくとも1つの標的を検出するためのマイクロ流体デバイスが開示されている。そのマイクロ流体デバイスは：マイクロ流体デバイスにおいて流体サンプルを導入するための注入口、その注入口と流体的に連通している流動チャンネル、及びその流動チャンネルに流体的に連通している分析チャンネル、を含む。マイクロ流体デバイスにおいて、流動チャンネルは、流動チャンネル抵抗を有し、分析チャンネルは、分析チャンネル抵抗を有し、該流動チャンネル抵抗及び分析チャンネル抵抗は、流動チャンネルから分析チャンネルへの流体成分の流れを制御するようになっている。マイクロ流体デバイスにおいて、分析チャンネルは、少なくとも1つの捕捉剤又はそのチャンネルに付着された成分を有し、捕捉剤は、標的分子に対して結合親和性を有する。分析チャンネル抵抗は、また、捕捉剤に標的分子を結合させることを可能にし、その結合が、該結合親和性と該流体成分における標的分子の拡散とのうち少なくとも1つによって制御されるように、検出可能な標的捕捉剤結合複合体を形成する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

第3態様に従って、流体サンプルの流体成分における少なくとも1つの標的を検出するためのシステムが開示されている。そのシステムは、ここで開示されているマイクロ流体デバイスを含み、少なくとも1つの捕捉剤又はその成分は、分析チャンネルに付着された少なくとも1つの基質ポリヌクレオチドを含む。そのシステムはさらに、たんぱく質及びそのたんぱく質に付着されたコード・ポリヌクレオチドを含む少なくとも1つのポリヌクレオチドでコードされたたんぱく質を含む。そのたんぱく質は、標的に特異結合し、そのコード・ポリヌクレオチドは、基質ポリヌクレオチドに特異結合する。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】**【0016】**

第4態様に従って、マイクロ流体デバイスが、流体サンプルの流体成分における少なくとも1つの標的を検出するために開示されている。そのマイクロ流体デバイスは：マイクロ流体デバイスにおける流体サンプルを導入するための注入口、該注入口に流体的に連通し、流動チャンネル抵抗を有する流動チャンネル、該流動チャンネルと流体的に連通し、分析チャンネル抵抗を有する分析チャンネル、を含む。マイクロ流体デバイスにおいて、その流動チャンネル抵抗及び分析チャンネル抵抗は、流動チャンネルから分析チャンネルまでの流体成分の流れを制御するように構成されており、分析チャンネル抵抗はさらに、該分析チャンネルの表面上における標的の付着を可能にするように構成されている。その付着された標的は、その標的に特異結合するラベル付きの分子を通して検出が可能である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】**【0025】**

【図1】本開示の実施形態に従って装置を説明する概略図である。

【図2】本開示の実施形態に従って、図1の装置の流体分離領域を説明する概略図である。

【図3】本開示の実施形態に従って、マイクロ流体デバイスを説明する概略図である。

【図4】本開示の実施形態に従って、マイクロ流体デバイスを説明する概略図である。

【図5】本開示の実施形態に従って、マイクロ流体デバイスを説明する概略図である。

【図6】本開示の実施形態に従って、マイクロ流体デバイスを説明する概略図である。

【図7】本開示の実施形態に従って、マイクロ流体デバイスを説明する概略図である。制御層は薄灰色で示され、サンプル層は濃い灰色で示されている。

【図8】本開示の装置の製造過程の様々な段階を説明する模範的な概略図である。

【図9】本開示の実施形態に従って、DEAL技術に統合された装置の製造過程及び使用を説明する模範的な概略図である。

【図10】本開示の装置の製造過程及び使用を説明する模範的な概略図である。

【図11】本開示に従って、希釈された羊血液で形成された模範的な流体の分離の間の装置を示す写真である。

【図12】本開示の方法及び装置で実施された2つの分析レーンを示す明視野像である。

【図13】図9において説明された分析の暗視野像である。

【図14】本開示の実施形態に従って（上）、装置の分析チャンネル領域及びその装置で実施される分析を示す画像である。

【図15】指先の全血から得られた血液バイオマーカーのパネルの模範的な測定を示す図である。パネル(a)は、新鮮な全血からの血漿の分離を実施する間の本開示の装置の光学顕微鏡写真である。パネル(b)は、本開示の装置の2つの隣り合ったマイクロ・チャンネルにおける血液バーコードの蛍光画像を示し、健康なボランティアから採血された新鮮な全血のスパイクが見られる方及び見られない方の両方が個別に分析されている。全てのバーは、幅20 μmである。パネル(c)は、パネル(b)において説明されたスパイクが見られる全血及び見られない全血のサンプルのバーコードの蛍光輪郭線を表わした図である。距離は、パネル(b)に示された長さ全体に対応する。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0043

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0043】

マイクロ流体デバイスの、望まれる流速比を得るためにチャンネルの適切な寸法は、チャンネル抵抗とチャンネル寸法との間の関係を考慮に入れる当業者によって識別されることが可能である。例えば、低いアスペクト比 ($w \sim h$) を持つ長方形のマイクロ・チャンネルに対して、以下の数式が考慮されてもよい：

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0153

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0153】

いくつかの実施形態において、非DEAL捕捉剤（例えば捕捉剤溶液において）が、血液分離マイクロ流体デバイスを支柱に結合させる前にその支柱にパターン形成されることができる。データ裏づけの無い実施例において、少なくとも2つのはっきりと異なる抗体又は他のたんぱく質捕捉剤が（例えば抗原）、図5の基盤層(20)などのスライドの上に、空間的に別個又は非空間的に別個の様式でパターン形成されている場合、PDMS装置は熱処理無しでパターン形成されたスライドの上に場合によっては置かれることが期待される。その装置は、まだ機能的であるが、非常に低圧（例えば1-2psi）でのみ操作されることが期待され、それは迅速な分析時間に影響することが期待される。もう1つのデータ裏づけの無い実施例において、ペプチド又はアプタマーは、スライド上にあらかじめパターン形成され、PDMS装置のスライドへの強い結合に関連したさらに高熱の処理に耐えることが期待される。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0189

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0189】

e. 検出抗体の適用：ビオチンラベル付きの検出抗体の混合物が、マイクロ流体デバイスの中へ30分間流され、DEAL分析が完了した。検出抗体溶液は、1%BSA/PBSにおいて備えられている~5uMのビオチン化検出抗体を含む。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0209

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0209】

要約において、本開示のいくつかの実施形態に従って、サンプルの流体成分における標的を検出するためのマイクロ流体デバイス、方法及びシステムが示されている。そのような装置、方法及びシステムにおいて、サンプルが導入される様々なチャンネルの流れ抵抗が調整され、そのサンプルからの流体成分の分離及び／又は流体環境における標的の検出のための分析の性能を制御する様式において制御する。そのような性能は、捕捉剤を持つ標的の親和性又は流体環境における標的の拡散によって制御される。