

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-505619
(P2025-505619A)

(43)公表日 令和7年2月28日(2025.2.28)

(51)国際特許分類
C 1 2 M 1/34 (2006.01)

F I
C 1 2 M 1/34

Z

テーマコード (参考)
4 B 0 2 9

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全152頁)			
(21)出願番号	特願2024-546211(P2024-546211)	(71)出願人	399117121 アジレント・テクノロジーズ・インク AGILENT TECHNOLOGIES, INC. アメリカ合衆国カリフォルニア州サンタ クララ スティーブンス・クリーク・ブ ールバード 5 3 0 1
(86)(22)出願日	令和5年2月3日(2023.2.3)	(74)代理人	100099623 弁理士 奥山 尚一
(85)翻訳文提出日	令和6年10月1日(2024.10.1)	(74)代理人	100125380 弁理士 中村 綾子
(86)国際出願番号	PCT/US2023/061989	(74)代理人	100142996 弁理士 森本 聡二
(87)国際公開番号	WO2023/150717	(74)代理人	100166268 弁理士 田中 祐
(87)国際公開日	令和5年8月10日(2023.8.10)		
(31)優先権主張番号	63/306,142		
(32)優先日	令和4年2月3日(2022.2.3)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/311,838		
(32)優先日	令和4年2月18日(2022.2.18)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 生細胞を分析する装置及び方法

(57)【要約】

感知システムと、試料キャリアを受容するように適合されたステージと、感知システム及び／又はステージを位置決めする動きアクチュエータアセンブリと、温度制御要素と、信号処理モジュールとを有する分析機器が開示されている。本分析機器を用いて細胞試料を分析する方法もまた開示されている。

【選択図】 図 1

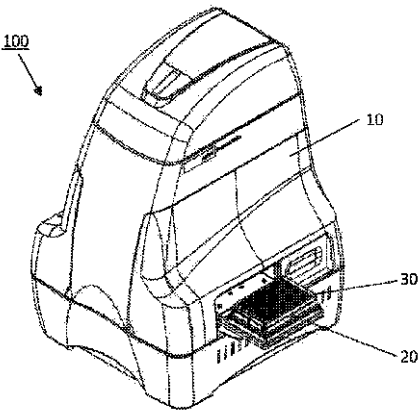


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 の被検成分、例えば O_2 含有量に比例する少なくとも 1 つの被検成分に応じて、第 1 の信号を生成し、第 2 の被検成分、例えば pH 値に比例する少なくとも 1 つの被検成分に応じて、第 2 の信号を生成するように構成されたセンサユニットのアレイを含む感知システムであって、前記センサのアレイの各センサユニットは、ウェルのアレイを含む試料キャリア上の対応するウェルに対応するように位置決めされている、感知システムと、

前記試料キャリアを受容するように構成されたステージと、

x 軸、z 軸及び y 軸のうちの 1 つ以上において、前記ステージ及び／又は前記感知システムを互いに対して位置決めするように構成された動きアクチュエータアセンブリと、

前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、前記試料キャリアの別のウェル内の試料の所定量内となるように制御するように構成された試料温度制御要素、例えば加熱要素と、

前記感知システムに動作可能に接続された信号処理モジュールであって、例えば前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号を受信及び／又は増幅するように構成された、信号処理モジュールと

を備える分析機器。

【請求項 2】

前記感知システム、前記ステージ、前記動きアクチュエータアセンブリ、前記試料制御要素、及び前記信号処理モジュールは、ハウジング内に収納されている、請求項 1 に記載の機器。

【請求項 3】

前記ハウジングは、前記ステージ及び前記試料キャリアの通過を可能にする寸法とされた側壁における開口部を含む、請求項 2 に記載の機器。

【請求項 4】

前記試料キャリアを更に含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 5】

前記試料キャリアは、前記ステージ上に配置される、請求項 4 に記載の機器。

【請求項 6】

前記動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの軸アクチュエータアセンブリ、例えば少なくとも 1 つの x 軸アクチュエータアセンブリを含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの軸アクチュエータアセンブリ、例えば x 軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの軸、例えば前記 x 軸上で、前記感知システムに対して前記ステージを位置決めするように構成され、例えば、前記ステージ上に配置された前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）を、前記 x 軸上で対応するセンサユニットと位置合わせするように構成されている、請求項 6 に記載の機器。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つの軸アクチュエータアセンブリ、例えば x 軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの軸、例えば前記 x 軸上で、例えば前記ハウジング内で又は前記開口部を通して前記ハウジングの外部で、前記ステージを前記ハウジングに対して位置決めするように構成されている、請求項 6 又は 7 に記載の機器。

【請求項 9】

前記動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの y 軸アクチュエータアセンブリを含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 10】

前記少なくとも 1 つの軸アクチュエータアセンブリ、例えば y 軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの軸、例えば前記 y 軸上で、前記感知システムに対して前記ステージを位置決めするように構成され、例えば、前記ステージ上に配置された前記試料キャ

10

20

30

40

50

リアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）を、前記y軸上で対応するセンサユニットと位置合わせするように構成されている、請求項9に記載の機器。

【請求項11】

前記動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも1つのz軸アクチュエータアセンブリを含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の機器。

【請求項12】

前記少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばz軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、前記z軸上で、前記ステージに対して前記感知システムを位置決めするように構成され、例えば各センサユニットを前記対応するウェルと流体連通するように位置決めするように構成されている、請求項11に記載の機器。

10

【請求項13】

前記感知システムは、カートリッジ中に又はカートリッジ上に組み込まれている、請求項1～12のいずれか一項に記載の機器。

【請求項14】

前記試料キャリアの1つ以上のウェルに少なくとも1つの標的薬剤を分注するように構成された少なくとも1つの注入器を含む分注システムを更に備える、請求項1～13のいずれか一項に記載の器具。

【請求項15】

前記試料キャリアの複数のウェルにわたって前記少なくとも1つの標的薬剤を分注するように、前記少なくとも1つの注入器を駆動するように位置決めされた注入器動きアクチュエータアセンブリを更に備える、請求項14に記載の機器。

20

【請求項16】

前記分注システムは、少なくとも1つの標的薬剤を分注するように構成された注入器のアレイを含み、各注入器が、前記試料キャリア上の対応するウェルに対応するように位置決めされている、請求項1～15のいずれか一項に記載の機器。

【請求項17】

前記注入器のアレイは、前記試料キャリア上の少なくとも2つのウェル（例えば各ウェル）に対応するように位置決めされた、2つ以上の注入器、例えば前記試料キャリア上の少なくとも2つのウェル（例えば各ウェル）に対応するように位置決めされた、少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、又は10個の注入器を含む、請求項16に記載の機器。

30

【請求項18】

前記分注システム、例えば標的薬剤、感知システム、及び／又はカートリッジの温度を制御するように構成された、マニホールド温度制御要素、例えば加熱要素を更に備える、請求項14～17のいずれか一項に記載の機器。

【請求項19】

前記マニホールド温度制御要素と前記試料温度制御要素とは、独立して温度を制御するように構成されている、請求項18に記載の機器。

【請求項20】

前記マニホールド温度制御要素は、前記標的薬剤及び／又は前記感知システム及び／又は前記カートリッジの温度を制御するように構成され、前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアの前記ウェルのアレイ内の前記試料の温度を、対応する標的薬剤及び／又は対応するセンサユニットの温度の3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている、請求項18又は19に記載の機器。

40

【請求項21】

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、前記ウェルのアレイ内の前記試料の蒸発を、25%未満、例えば20%未満、15%未満、12%未満、10%未満、9%未満、8%未満、7%未満、6%未満、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、又は1%未満となるように制御するように構成されている、請求項1～20の

50

いずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 2】

前記少なくとも 1 つの軸アクチュエータアセンブリ、例えば少なくとも 1 つの z 軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも 1 つの軸、例えば前記 z 軸上で、前記ステージに対して前記分注システムを位置決めするように構成され、例えば、各注入器を、前記対応するウェルと連通するように、例えば流体連通するように位置決めするように構成され、前記標的薬剤の前記試料への送達を可能にする、請求項 1 4～2 1 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 3】

前記少なくとも 1 つの注入器又は前記注入器のアレイの各注入器は、同じ標的薬剤を分注するように構成されている、請求項 1 4～2 2 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 4】

各注入器は、選択された標的薬剤を独立して分注するように構成され、例えば、第 1 の注入器が、第 1 の標的薬剤を分注するように構成され、第 2 の注入器が、第 2 の標的薬剤を分注するように構成され、任意選択的に、第 3 の注入器が、第 3 の標的薬剤を分注するように構成され、第 4 の注入器が、第 4 の標的薬剤を分注するように構成され、第 n の注入器が、第 n の標的薬剤を分注するように構成されている、請求項 1 4～2 2 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 5】

複数の注入器又は前記注入器のアレイが、2 種以上の標的薬剤を前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェルに独立して分注するように構成されている、請求項 2 4 に記載の機器。

【請求項 2 6】

前記感知システム及び前記分注システムは、前記カートリッジ中又は前記カートリッジ上に組み込まれている、請求項 1 4～2 5 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 7】

前記分注システムに装填された少なくとも 1 つの標的薬剤を更に含む、請求項 1 4～2 6 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 8】

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、温度伝導性材料で形成されている、請求項 1～2 7 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 2 9】

前記試料温度制御要素は、前記ステージに固定されている、請求項 2 8 に記載の機器。

【請求項 3 0】

前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアと近接する又は直接的に接触するように構成されている、請求項 2 8 又は 2 9 に記載の機器。

【請求項 3 1】

前記マニホールド温度制御要素は、前記分注システムと近接する又は直接的に接触するように構成されている、請求項 2 8～3 0 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 3 2】

前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、周囲温度よりも 0℃～70℃高く、例えば周囲温度よりも 8℃～20℃高く、例えば周囲温度よりも 0℃、1℃、2℃、3℃、4℃、5℃、6℃、7℃、8℃、9℃、10℃、11℃、12℃、13℃、14℃、15℃、16℃、17℃、18℃、19℃、20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、又は 70℃高くなるように制御するように構成されている、請求項 1～3 1 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 3 3】

前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、所定の範囲内となるように維持するように構成されている、請求項 1～3 2 のいずれか一項に記載の機器。

10

20

30

40

50

【請求項 3 4】

前記試料温度制御要素は、標的被検成分、例えば前記第 1 の被検成分又は前記第 2 の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2 つの同一の又は実質的に同一の試料の間で所定量よりも大きく異ならないように、例えば 2 つの同一の又は実質的に同一の試料の間で大幅に異ならないように、前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 3 5】

前記標的被検成分は、 O_2 であり、前記試料温度制御要素は、前記標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じた前記センサ信号が、2 つの同一の又は実質的に同一の試料の間で 10 % よりも大きく異ならないように、例えば 5 %、3 %、1 %、又は 0.1 % よりも大きく異ならないように、少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている、請求項 3 4 記載の機器。

10

【請求項 3 6】

前記標的被検成分は、pH 値に比例する被検成分であり、前記試料温度制御要素は、前記標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じた前記センサ信号が、2 つの同一の又は実質的に同一の試料の間で 10 % よりも大きく異ならないように、例えば 5 %、3 %、1 %、又は 0.1 % よりも大きく異ならないように、少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の機器。

20

【請求項 3 7】

前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、前記試料キャリアの別のウェル内の前記試料の 3℃ 以内、例えば 2℃ 以内、1℃ 以内、0.6℃ 以内、0.5℃ 以内、0.4℃ 以内、0.3℃ 以内、0.2℃ 以内、又は 0.1℃ 以内となるように制御するように構成されている、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 3 8】

前記マニホールド温度制御要素は、センサの温度を別のセンサの 3℃ 以内、例えば 2℃ 以内、1℃ 以内、0.6℃ 以内、0.5℃ 以内、0.4℃ 以内、0.3℃ 以内、0.2℃ 以内、又は 0.1℃ 以内となるように制御するように構成されている、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか一項に記載の機器。

30

【請求項 3 9】

前記試料温度制御要素及び前記マニホールド温度制御要素は、前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、対応するセンサの 3℃ 以内、例えば 2℃ 以内、1℃ 以内、0.6℃ 以内、0.5℃ 以内、0.4℃ 以内、0.3℃ 以内、0.2℃ 以内、又は 0.1℃ 以内となるように制御するように構成されている、請求項 1 ～ 3 8 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 4 0】

前記試料温度制御要素は、第 1 のウェル内の試料の温度を、第 2 のウェル内の試料の所定量内となるように制御するように構成され、前記第 1 のウェルは、境界ウェルであり、前記第 2 のウェルは、前記試料キャリアの内部ウェルであり、前記境界ウェルは、前記境界ウェルと前記試料キャリアの端又は境界との間に他のウェルが配置されていないウェルである、請求項 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の機器。

40

【請求項 4 1】

前記マニホールド温度制御要素は、第 1 のウェルに対応するセンサの温度を、第 2 のウェルに対応するセンサの所定量内となるように制御するように構成され、前記第 1 のウェルは、境界ウェルであり、前記第 2 のウェルは、前記試料キャリアの内部ウェルであり、前記境界ウェルは、前記境界ウェルと前記試料キャリアの端又は境界との間に他のウェルが配置されていないウェルである、請求項 1 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 4 2】

50

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、前記第１のウェル及び前記第２のウェル内の試料及び／又は前記第１のウェル及び前記第２のウェルに対応するセンサの温度を、所定の範囲内となるように維持するように構成されている、請求項４０又は４１に記載の機器。

【請求項４３】

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、例えば前記試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析された場合に、標的被検成分、例えば前記第１の被検成分又は前記第２の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、各試料の間で所定の量よりも大きく異ならないように、例えば各試料の間で大幅に異ならないように、前記第１のウェル及び前記第２のウェル内の試料（例えば２つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は前記第１のウェル及び前記第２のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている、請求項４０～４２のいずれか一項に記載の機器

10

【請求項４４】

前記標的被検成分は、 O_2 及び／又は pH 値に比例する前記被検成分であり、前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、例えば、前記試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析される場合に、前記標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じた前記センサ信号が、各試料の間で１０％よりも大きく異ならないように、例えば５％、３％、１％、又は０．１％よりも大きく異ならないように、前記第１のウェル及び前記第２のウェル内の試料（例えば２つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は前記第１のウェル及び前記第２のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている、請求項４３に記載の機器。

20

【請求項４５】

前記試料温度制御要素は、前記第１のウェル内の試料の温度を、前記第２のウェル内の前記試料の３℃以内、例えば２℃以内、１℃以内、０．６℃以内、０．５℃以内、０．４℃以内、０．３℃以内、０．２℃以内、又は０．１℃以内となるように制御するように構成され、及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、前記第１のウェルに対応するセンサの温度を、前記第２のウェルに対応するセンサの３℃以内、例えば２℃以内、１℃以内、０．６℃以内、０．５℃以内、０．４℃以内、０．３℃以内、０．２℃以内、又は０．１℃以内となるように制御するように構成されている、請求項１～４４のいずれか一項に記載の機器。

30

【請求項４６】

前記第１のウェルは、境界ウェルであり、前記第２のウェルは、１つ以上のウェル、例えば６つ、８つ、１２個、２４個、３６個、４８個、６４個、７２個、９６個、１９２個、３８４個又はそれよりも多いウェルを有する試料キャリアの内部ウェルである、請求項４２～４５のいずれか一項に記載の機器。

【請求項４７】

前記試料温度制御要素は、加熱要素を含む、請求項１～４６のいずれか一項に記載の機器。

【請求項４８】

前記試料温度制御要素は、前記試料キャリアの前記ウェルのアレイを含む、制御された温度ゾーンを形成する、請求項１～４７のいずれか一項に記載の機器。

40

【請求項４９】

前記制御された温度ゾーンは、前記ハウジングのヘッドスペースを含まない、請求項４８に記載の機器。

【請求項５０】

前記制御された温度ゾーンの体積は、前記試料キャリアの体積を１倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、又は１０倍よりも大きく超えない、請求項４８又は４９に記載の機器。

【請求項５１】

50

前記制御された温度ゾーンの体積は、前記ハウジングの体積の10%を超えない、例えば9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、又は1%を超えない、請求項48～50のいずれか一項に記載の機器。

【請求項52】

前記制御された温度ゾーンの外側のコンポーネントの温度は、前記試料温度制御要素の作動によって実質的に変化しない、例えば上昇又は低下しない、請求項48～51のいずれか一項に記載の機器。

【請求項53】

前記試料温度制御要素は、前記試料温度制御要素の作動及び／又は前記制御された温度ゾーンへの前記試料キャリアの導入から約5時間以内、3時間以内、1時間以内、45分以内、30分以内、15分以内、10分以内、5分以内、3分以内、又は1分以内に、前記試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、目標温度の所定の範囲内とするように構成されている、請求項1～52のいずれか一項に記載の機器。

【請求項54】

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、前記制御された温度ゾーン中の気体の拡散を制御する、例えば低減させる、制限する、又は抑制するように、温度を制御するように構成されている、請求項1～53のいずれか一項に記載の機器。

【請求項55】

前記試料温度制御要素及び／又は前記マニホールド温度制御要素は、前記制御された温度ゾーン中の気体の組成が著しく変化しないように、例えば1%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、又は20%よりも大きく変化しないように、前記制御された温度ゾーン中の気体の拡散を低減させる、制限する、又は抑制するように、温度を制御するように構成されている、請求項54に記載の機器。

【請求項56】

前記信号処理モジュールは、上昇した相対湿度（RH）で、例えば少なくとも75% RH、85% RH、95% RH、又は99% RHで動作することが可能である、請求項1～55のいずれか一項に記載の機器。

【請求項57】

前記信号処理モジュールは、前記第1の信号及び前記第2の信号を同時に受信及び増幅するように構成されている、請求項1～56のいずれか一項に記載の機器。

【請求項58】

前記信号処理モジュールは、前記第1の信号及び前記第2の信号を個別に、例えば順次に、受信及び増幅するように構成されている、請求項1～57のいずれか一項に記載の機器。

【請求項59】

前記信号処理モジュールは、時間ベースの検出、例えば減衰率、位相シフト、又は異方性検出を使用して、前記第1の信号及び前記第2の信号のうちの1つ以上を検出するように構成されている、請求項1～58のいずれか一項に記載の機器。

【請求項60】

前記信号処理モジュールは、任意にレシオメトリック測定を含む、強度ベースの検出を使用して、前記第1の信号及び前記第2の信号のうちの1つ以上を検出するように構成されている、請求項1～59のいずれか一項に記載の機器。

【請求項61】

前記信号処理モジュールは、高誘電率を有する絶縁材料で形成されたプリント回路アセンブリを含む、請求項1～60のいずれか一項に記載の機器。

【請求項62】

前記信号処理モジュールは、接地されたガードトレースを含むトランスインピーダンス増幅器を有するプリント回路アセンブリを含む、請求項1～61のいずれか一項に記載の機器。

10

20

30

40

50

【請求項 6 3】

前記信号処理モジュールは、表面実装コンポーネントで形成されたプリント回路アセンブリを含み、例えば二次的な手はんだ付け高利得コンポーネントを実質的に含まない、請求項 1 ～ 6 2 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 6 4】

前記信号処理モジュールは、熱伝導性励起源を含むプリント回路アセンブリを含み、任意選択的に、前記熱伝導性励起源は、熱シンクと熱的に連通し、例えば熱的に接触している、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 6 5】

前記感知システムは、基準信号検出器を含まない、請求項 6 4 に記載の機器。

10

【請求項 6 6】

前記信号処理モジュールは、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号の少なくとも一方の検出及び／又は増幅に関連する、低減された寄生電流で、例えば低減された干渉、暗電流、又はノイズで動作するように構成されている、請求項 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 6 7】

前記動きアクチュエータアセンブリが、各センサユニットを対応するウェル内の前記試料と流体連通するように位置決めするように展開されたときに、前記感知システムは、各センサユニットの試料に面する表面と少なくとも 1 つのウェル（例えば各ウェル）のセンサに面する表面との間に測定チャンバを形成するように構築及び構成され、

20

前記試料の蒸発、前記試料の流れ、又は前記測定チャンバから出る前記試料の成分、例えば被検成分の拡散が減少させられる、

請求項 1 ～ 6 6 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 6 8】

前記試料温度制御要素は、各測定チャンバ内の試料の温度を制御するように構成されている、請求項 6 7 に記載の機器。

【請求項 6 9】

前記感知システムは、1 つ以上の光学センサ、例えば光ルミネセンスセンサを含む、請求項 1 ～ 6 8 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 7 0】

前記感知システムは、1 つ以上の電気化学センサを含む、請求項 1 ～ 6 9 のいずれか一項に記載の機器。

30

【請求項 7 1】

前記感知システムは、前記試料中の O_2 含有量に比例する被検成分の変化率に応じて信号を生成するように構成され、例えば前記試料の酸素消費速度（OCR）に比例する信号を生成する、請求項 1 ～ 7 0 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 7 2】

前記感知システムは、前記試料の pH 値に比例する被検成分の変化率に応じて信号を生成するように構成され、例えば前記試料の細胞外酸性化速度（ECAR）及び／又はプロトン流出速度（PER）に比例する信号を生成する、請求項 1 ～ 7 1 のいずれか一項に記載の機器。

40

【請求項 7 3】

前記感知システムは、前記試料の 1 つ以上の電気化学的特性、例えばインピーダンスに応じて信号を生成するように構成されている、請求項 1 ～ 7 2 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 7 4】

前記信号処理モジュールは、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号のうちの 1 つ以上に依拠して、前記試料のミトコンドリア呼吸、解糖、アデノシン三リン酸（ATP）産生速度、及びミトコンドリア毒性（mitotox）指数値のうちの 1 つ以上を算出するようにプログラムされたコンピューティングネットワーク又はコンピュータデバイスに動作可能に

50

接続されている、請求項 1～73 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 75】

前記信号処理モジュールは、クラウドベースのコンピューティングネットワークに動作可能に接続されている、請求項 74 に記載の機器。

【請求項 76】

前記信号処理モジュールは、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号の履歴値を記憶するデータ記憶モジュールに動作可能に接続されている、請求項 74 又は 75 に記載の機器。

【請求項 77】

前記データ記憶モジュールは、ローカルメモリ記憶デバイスである、請求項 76 に記載の機器。

【請求項 78】

前記データ記憶モジュールは、クラウドベースのメモリ記憶デバイスである、請求項 76 に記載の機器。

【請求項 79】

前記センサユニットのアレイは、 X_{s1} 個のセンサユニットを含み、 X_{s1} は、1、6、8、12、24、36、48、64、72、96、192、又は 384 に等しいか又はそれよりも大きい、請求項 1～78 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 80】

前記注入器のアレイは、 X_{s2} 個の注入器を含み、 X_{s2} は、1、6、8、12、24、36、48、64、72、96、192、384、768、又は 1536 に等しいか又はそれよりも大きい、請求項 1～79 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 81】

センサユニットの X_{s1} と注入器の X_{s2} との比率は、1：1～1：384 であり、例えば 1：1、1：2、1：3、1：4、1：8、1：12、1：24、1：36、1：48、1：64、1：72、1：96、1：192、又は 1：384 である、請求項 1～80 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 82】

注入器の X_{s2} とセンサユニットの X_{s1} との比率は、1：1～1：384 であり、例えば 1：1、1：2、1：3、1：4、1：8、1：12、1：24、1：36、1：48、1：64、1：72、1：96、1：192、又は 1：384 である、請求項 1～80 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 83】

前記センサユニットのアレイの各センサユニットは、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号のうちの 1 つ以上を独立して生成するように構成されている、請求項 1～82 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 84】

前記センサユニットのアレイの各センサユニットは、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号を同時に生成するように構成されている、請求項 1～83 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 85】

前記センサユニットのセンサを励起して、前記第 1 の信号及び前記第 2 の信号のうちの 1 つ以上を生成するように構成された光源、例えば蛍光灯、発光ダイオード（LED）、又はレーザを更に備える、請求項 1～84 のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 86】

前記光源は、基準信号を生成するように構成され、前記光源からの強度の変動は、前記光源によって生成された前記基準信号をモニタリングすることによって、ドリフトに比例して補正される、請求項 85 に記載の機器。

【請求項 87】

前記光源は、前記光源からのドリフトを最小化するように構成された熱伝導性プリント回路アセンブリ上に位置決めされ、任意選択的に、前記熱伝導性プリント回路アセンブリ

10

20

30

40

50

は、前記光源からの熱誘発変動によって発生するドリフトを、少なくとも20%、例えば少なくとも15%、10%、5%、又は1%だけ最小化するように構成された材料で形成される、請求項85に記載の機器。

【請求項88】

前記動きアクチュエータアセンブリ、例えば前記x軸アクチュエータアセンブリ、前記z軸アクチュエータアセンブリ、及び前記y軸アクチュエータアセンブリのうちの1つ以上を作動させるように構成された電気モータを更に備える、請求項1～87のいずれか一項に記載の機器。

【請求項89】

所定のプロトコルステップが、所定の時間間隔内に完了しなかった場合、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止し、例えばモータの動きを停止するようにプログラムされた、ストール感知モジュールを更に備える、請求項1～88のいずれか一項に記載の機器。

【請求項90】

或るコンポーネントが別のコンポーネントから所定距離内に位置決めされた場合、例えばセンサユニットが前記試料キャリアの対応するウェルから所定距離内に位置決めされた場合、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止するように構成された、近接センサを更に備える、請求項1～89のいずれか一項に記載の機器。

【請求項91】

前記ハウジングの前記側壁の前記開口部が半開きである場合、及び／又は外部光が前記ハウジング内で検出された場合、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止するように構成された、近接センサを更に備える、請求項1～90のいずれか一項に記載の機器。

【請求項92】

2000 pmol/分～0.01 pmol/分、例えば700 pmol/分～0.01 pmol/分、例えば50 pmol/分～0.01 pmol/分のOCR検出範囲を有する、請求項1～91のいずれか一項に記載の機器。

【請求項93】

50 pmol/分未満、例えば40 pmol/分未満、30 pmol/分未満、20 pmol/分未満、10 pmol/分未満、5 pmol/分未満、3 pmol/分未満、1 pmol/分未満、0.1 pmol/分未満、又は0.01 pmol/分未満のOCR検出下限値を有する、請求項1～92のいずれか一項に記載の機器。

【請求項94】

前記試料キャリアの前記ウェルのアレイ内の1つ以上の試料を撮像又はスキャンするように位置決めされた光学モジュールを更に備える、請求項1～93のいずれか一項に記載の機器。

【請求項95】

前記光学モジュールは、前記コンピュータに動作可能に接続され、任意選択的に、前記コンピュータは、前記試料の画像又はスキャンをリアルタイムで表示及び／又は記録するように構成されている、請求項94に記載の機器。

【請求項96】

前記センサユニットのアレイから前記信号処理モジュールに光信号を転送するように構成された、多重化された光ファイバ材料で形成された、転送モジュールを更に備える、請求項1～95のいずれか一項に記載の機器。

【請求項97】

前記転送モジュールは、励起光信号、基準光信号、及び発光光信号のうちの1つ以上を転送するように構成されている、請求項96に記載の機器。

【請求項98】

前記転送モジュールは、1つ以上のセンサユニットと直接的にインタフェースするように構成されている、請求項96又は97に記載の機器。

10

20

30

40

50

【請求項 99】

前記感知システムは、前記転送モジュールに光学的に接続された、均質化された光ファイバ導波路を含み、任意選択的に、前記均質化された光ファイバ導波路は、1つ以上のセンサユニットに光を均一に分配するように構成されている、請求項96又は97に記載の機器。

【請求項 100】

前記試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の環境を制御するように構成された、例えば環境気体及び／又は相対湿度（RH）を制御するように構成された、環境制御モジュールを更に備える、請求項1～99のいずれか一項に記載の機器。

10

【請求項 101】

前記環境制御モジュールは、前記試料を取り囲む前記気体のN₂濃度、O₂濃度、及びCO₂濃度のうちの1つ以上を制御するように構成されている、請求項100に記載の機器。

【請求項 102】

前記環境制御モジュールは、前記試料キャリアに流体接続された、気体、例えばN₂、O₂、及びCO₂のうちの1つ以上の供給源を含む、請求項101に記載の機器。

【請求項 103】

前記環境制御モジュールは、前記試料キャリアの前記ウェルのアレイを含む制御された環境ゾーンを形成する、請求項100～102のいずれか一項に記載の機器。

20

【請求項 104】

前記制御された環境ゾーンは、封止された容器、例えば密閉された容器の中に形成される、請求項103に記載の機器。

【請求項 105】

気体制御された環境内での使用のために構成されている、請求項1～104のいずれか一項に記載の機器。

【請求項 106】

請求項1～105のいずれか一項に記載の分析機器を使用する方法であって、1つ以上の細胞試料を含む試料キャリアであって、各試料が該試料キャリアの対応するウェル内に配置されている試料キャリアを、前記分析機器の中に装填することを含む、方法。

30

【請求項 107】

前記細胞試料は、生細胞を含む、請求項106に記載の方法。

【請求項 108】

前記試料キャリアを装填することは、前記試料キャリアを前記ステージ上に固定することを含む、請求項106に記載の方法。

【請求項 109】

請求項1～108のいずれか一項に記載の分析機器を備えることと、1つ以上の細胞試料を含む試料キャリアであって、各試料が該試料キャリアの対応するウェル内に配置されている試料キャリアを、前記分析機器の中に装填することと、前記第1の被検成分、例えばO₂含有量に比例する少なくとも1つの被検成分に応じた信号から、第1の複数の値を取得することであって、各信号は、前記感知システムの対応するセンサユニットによって生成されることと、

40

任意選択的に、前記第2の被検成分、例えばpH値に比例する少なくとも1つの被検成分に応じた信号から、第2の複数の値を取得することであって、各信号は、前記感知システムの前記対応するセンサユニットによって生成されることと、

前記第1の複数の値を処理することと、

任意選択的に、前記第2の複数の値を処理することとを含む、これにより細胞試料を分析する方法。

【請求項 110】

50

前記試料キャリアの少なくとも１つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、前記試料キャリアの別のウェル内の前記試料の所定量内となるように制御することを更に含む、請求項１０９に記載の方法。

【請求項１１１】

前記試料キャリアは、前記制御された温度ゾーンに装填され、及び／又は、前記試料の温度を制御することは、前記制御された温度ゾーンを形成することを含む、請求項１０９又は１１０に記載の方法。

【請求項１１２】

前記感知システムの温度を制御することを更に含む、請求項１０９～１１１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１１３】

前記試料キャリアの前記ウェルのアレイ内の各試料に標的薬剤を分注することを更に含む、請求項１０９～１１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１１４】

前記標的薬剤を前記分析機器の前記分注システムに装填することを更に含む、請求項１１３に記載の方法。

【請求項１１５】

前記標的薬剤の温度を制御することを更に含む、請求項１１３又は１１４に記載の方法。

【請求項１１６】

前記試料キャリアの前記ウェルのアレイの少なくとも１つのウェル（例えば各ウェル）内に、同じ試料が存在する、請求項１０９～１１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１１７】

第１の試料が、前記試料キャリアの前記ウェルのアレイの第１のウェル内に存在し、第２の試料が、前記試料キャリアの前記ウェルのアレイの第２のウェル内に存在する、請求項１０９～１１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１１８】

前記第１の試料は試験試料であり、前記第２の試料は対照である、請求項１１７に記載の方法。

【請求項１１９】

前記試料は生細胞を含む、請求項１０９～１１８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２０】

前記試料は、遊離細胞、細胞構築物、遊離組織、組織構築物、細胞小器官、酵素、細胞産物又は副産物、及び条件培地のうちの１つ以上を含む、請求項１０９～１１９のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２１】

前記試料は、哺乳動物の細胞又は組織を含む、請求項１０９～１２０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２２】

前記試料は、非哺乳動物の細胞又は組織を含む、請求項１０９～１２０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２３】

前記試料は、単細胞生物、例えば微生物を含む、請求項１０９～１２０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２４】

前記試料は、動物モデル組織全体、例えばゼブラフィッシュ、Ｃ．エレガンス、ショウジョウバエを含む、請求項１０９～１２０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２５】

前記試料は、植物モデル組織全体又は植物モデル細胞全体を含む、請求項１０９～１２０のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 6】

前記第 1 の被検成分は、 O_2 含有量に比例する、請求項 1 0 9 ～ 1 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記第 2 の被検成分は、pH 値に比例する、請求項 1 0 9 ～ 1 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

前記第 1 の値と前記第 2 の値とは、独立して取得される、請求項 1 0 9 ～ 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記第 1 の値と前記第 2 の値とは、同時に取得される、請求項 1 0 9 ～ 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記分析の間又は前記分析の後に、前記試料の画像又はスキャンを取得することを更に含む、請求項 1 0 9 ～ 1 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記分析の間又は前記分析の後に、前記試料の 1 つ以上の電気化学的特性、例えばインピーダンスを測定することを更に含む、請求項 1 0 9 ～ 1 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

前記分析の間又は前記分析の後に、前記試料のミトコンドリア毒性 (mitotox) 指数値を取得又は算出することを更に含む、請求項 1 0 9 ～ 1 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記試料キャリアの少なくとも 1 つのウェル (例えば各ウェル) 内の試料の環境を制御すること、例えば環境気体及び／又は相対湿度 (RH) を制御することを更に含む、請求項 1 0 9 ～ 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

環境を制御することは、前記試料を取り囲む前記気体の N_2 濃度、 O_2 濃度、及び CO_2 濃度のうちの 1 つ以上を制御することを含む、請求項 1 3 3 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書に開示される態様及び実施形態は、概して、生細胞を取り囲む細胞外培地 (extracellular medium) の構成成分 (constituent) (被検成分 (analyte)) の測定に関する。

【0002】

【関連出願の相互参照】

本出願は、2022 年 2 月 3 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 306, 142 号、及び 2022 年 2 月 18 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 311, 838 号の利益を主張するものである。前述した出願の内容は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなすものとする。

【背景技術】

【0003】

酸素消費速度 (OCR: oxygen consumption rate) 及び細胞外酸性化速度 (ECAR: extracellular acidification rate) といった速度は、ミトコンドリア呼吸及び解糖の重要な指標であり、これらの測定値は、培養細胞及び ex vivo 試料 (ex vivo sample) における細胞代謝機能の系レベルの概観を提供する。

【0004】

この分野における技術の進歩にもかかわらず、生細胞を分析するための新たな装置及び

10

20

30

40

50

方法を開発するニーズが存在する。

【発明の概要】

【0005】

一態様によれば、分析機器が提供される。本分析機器は、第1の被検成分、例えばO₂含有量に比例する少なくとも1つの被検成分に応じて、第1の信号を生成し、第2の被検成分、例えばpH値に比例する少なくとも1つの被検成分に応じて、第2の信号を生成するように構成されたセンサユニットのアレイを含む感知システムであって、センサのアレイの各センサユニットは、ウェル（well）のアレイを含む試料キャリア上の対応するウェルに対応するように位置決めされている感知システムと、試料キャリアを受容するように構成されたステージと、x軸、z軸、及びy軸のうちの1つ以上において、ステージ及び／又は感知システム（つまり、ステージ又は感知システムあるいはそれらの両方）を互いに対して位置決めするように構成された動きアクチュエータアセンブリ（motion actuator assembly）と、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、試料キャリアの別のウェル内の試料の所定量内となるように制御するように構成された例えば加熱要素である試料温度制御要素と、感知システムに動作可能に接続された信号処理モジュールであって、例えば第1の信号及び第2の信号を受信及び／又は増幅する（つまり、受信する又は増幅するあるいはそれらの両方をする）ように構成された信号処理モジュールとを備えることができる。

10

【0006】

いくつかの実施の形態においては、感知システム、ステージ、動きアクチュエータアセンブリ、試料制御要素（sample control element）、及び信号処理モジュールは、ハウジング内に収納されている。いくつかの実施の形態においては、ハウジングは、ステージ及び試料キャリアの通過を可能にする寸法とされた側壁における開口部を含む。

20

【0007】

いくつかの実施の形態においては、本機器は、試料キャリア（sample carrier）を更に含む。いくつかの実施の形態においては、試料キャリアは、ステージ上に配置される。

【0008】

いくつかの実施の形態においては、動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸のアクチュエータアセンブリ（axis actuator assembly）、例えば少なくとも1つのx軸アクチュエータアセンブリを含む。

30

【0009】

いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばx軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばx軸上で、感知システムに対してステージを位置決め（position）するように構成され、例えば、ステージ上に配置（dispose）された試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）を、x軸上で対応するセンサユニットと位置合わせ（align）するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばx軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばx軸上で、例えばハウジング内で又は開口部を通してハウジングの外部で、ステージをハウジングに対して位置決めするように構成されている。

40

【0010】

いくつかの実施の形態においては、動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも1つのy軸アクチュエータアセンブリを含む。いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばy軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばy軸上で、感知システムに対してステージを位置決めするように構成され、例えば、ステージ上に配置された試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）を、y軸上で対応するセンサユニットと位置合わせするように構成されている。

【0011】

50

いくつかの実施の形態においては、動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも1つのz軸アクチュエータアセンブリを含む。いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばz軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばz軸上で、ステージに対して感知システムを位置決めするように構成され、各センサユニットを対応するウェルと流体連通するように位置決めするように構成されている。

【0012】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、カートリッジ中に又はカートリッジ上に組み込まれている。

【0013】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、試料キャリアの1つ以上のウェルに少なくとも1つの標的薬剤 (target agent) を分注するように構成された少なくとも1つの注入器を含む、分注システムを更に備える。いくつかの実施の形態においては、本機器は、試料キャリアの複数のウェルにわたって少なくとも1つの標的薬剤を分注するように、少なくとも1つの注入器を駆動するように位置決めされた、注入器動きアクチュエータアセンブリを更に備えることができる。

【0014】

いくつかの実施の形態においては、分注システムは、少なくとも1つの標的薬剤を分注するように構成された注入器のアレイを含むことができ、各注入器が、試料キャリア上の対応するウェルに対応するように位置決めされている。

【0015】

いくつかの実施の形態においては、注入器のアレイは、試料キャリア上の少なくとも2つのウェル (例えば各ウェル) に対応するように位置決めされた、2つ以上の注入器、例えば試料キャリア上の少なくとも2つのウェル (例えば各ウェル) に対応するように位置決めされた、少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、又は10個の注入器を含む。

【0016】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、分注システム、例えば標的薬剤、感知システム、及び／又はカートリッジ (つまり、分注システム又はカートリッジあるいはそれらの両方) の温度を制御するように構成された、マニホールド温度制御要素 (manifold temperature control element)、例えば加熱要素を更に備える。いくつかの実施の形態においては、マニホールド温度制御要素と試料温度制御要素とは、独立して温度を制御するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、マニホールド温度制御要素は、標的薬剤及び／又は感知システム及び／又はカートリッジの温度を制御するように構成され、試料温度制御要素は、試料キャリアのウェルのアレイ内の試料の温度を、対応する標的薬剤及び／又は対応するセンサユニットの温度の3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている。

【0017】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、ウェルのアレイ内の試料の蒸発を、25%未満、例えば20%未満、15%未満、12%未満、10%未満、9%未満、8%未満、7%未満、6%未満、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、又は1%未満となるように制御するように構成されている。

【0018】

いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばz軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばz軸上で、ステージに対して分注システムを位置決めするように構成され、例えば、各注入器を、対応するウェルと連通するように、例えば流体連通するように位置決めするように構成され、標的薬剤の試料への送達を可能にする。

【0019】

10

20

30

40

50

いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリ、例えばz軸アクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸、例えばz軸上で、ステージに対して分注システムを位置決めするように構成され、例えば感知システムの対応するセンサユニットと連通するように各注入器を位置決めするように構成されている。

【0020】

いくつかの実施の形態においては、少なくとも1つの注入器又は注入器のアレイでの各注入器は、同じ標的薬剤を分注するように構成されている。

【0021】

いくつかの実施の形態においては、各注入器は、選択された標的薬剤を独立して分注するように構成され、例えば、第1の注入器が、第1の標的薬剤を分注するように構成され、第2の注入器が、第2の標的薬剤を分注するように構成され、任意選択的に、第3の注入器が、第3の標的薬剤を分注するように構成され、第4の注入器が、第4の標的薬剤を分注するように構成され、第nの注入器が、第nの標的薬剤を分注するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、複数の注入器又は注入器のアレイが、2種以上の標的薬剤を試料キャリアの少なくとも1つのウェルに独立して分注するように構成されている。

10

【0022】

いくつかの実施の形態においては、感知システム及び分注システムは、カートリッジ中又はカートリッジ上に組み込まれている。

【0023】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、分注システムに装填された少なくとも1つの標的薬剤を更に含む。

20

【0024】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素（つまり、試料温度制御要素又はマニホールド温度制御要素あるいはそれらの両方）は、温度伝導性材料で形成されている。いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、ステージに固定されている。いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアと近接する又は直接に接触するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、マニホールド温度制御要素は、分注システムと近接する又は直接に接触するように構成されている。

30

【0025】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、周囲温度よりも0℃～70℃高く、例えば周囲温度よりも8℃～20℃高く、例えば周囲温度よりも0℃、1℃、2℃、3℃、4℃、5℃、6℃、7℃、8℃、9℃、10℃、11℃、12℃、13℃、14℃、15℃、16℃、17℃、18℃、19℃、20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、又は70℃高くなるように制御するように構成されている。

【0026】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、所定の範囲内となるように維持するように構成されている。

40

【0027】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、標的被検成分、例えば第1の被検成分又は第2の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2つの同一の又は実質的に同一の試料の間で所定量よりも大きく異ならないように、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている。

【0028】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、標的被検成分、例えば第1の被検成分又は第2の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2つ

50

の同一の又は実質的に同一の試料の間で大幅に異ならないように、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている。

【0029】

いくつかの実施の形態においては、標的被検成分は、 O_2 であり、試料温度制御要素は、標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2つの同一の又は実質的に同一の試料の間で10%よりも大きく異ならないように、例えば5%、3%、1%、又は0.1%よりも大きく異ならないように、少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている。

【0030】

いくつかの実施の形態においては、標的被検成分は、pH値に比例する被検成分であり、試料温度制御要素は、標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2つの同一の又は実質的に同一の試料の間で10%よりも大きく異ならないように、例えば5%、3%、1%、又は0.1%よりも大きく異ならないように、少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を制御するように構成されている。

【0031】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、試料キャリアの別のウェル内の試料の3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている。

【0032】

いくつかの実施の形態においては、マニホールド温度制御要素は、センサの温度を別のセンサの3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている。

【0033】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及びマニホールド温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、対応するセンサの3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている。

【0034】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、第1のウェル内の試料の温度を、第2のウェル内の試料の所定量内となるように制御するように構成され、第1のウェルは、境界ウェル（border well）であり、第2のウェルは、試料キャリアの内部ウェル（internal well）であり、境界ウェルは、境界ウェルと試料キャリアの端又は境界との間に他のウェルが配置されていないウェルである。

【0035】

いくつかの実施の形態においては、マニホールド温度制御要素は、第1のウェルに対応するセンサの温度を、第2のウェルに対応するセンサの所定量内となるように制御するように構成され、第1のウェルは、境界ウェルであり、第2のウェルは、試料キャリアの内部ウェルであり、境界ウェルは、境界ウェルと試料キャリアの端又は境界との間に他のウェルが配置されていないウェルである。

【0036】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、第1のウェル及び第2のウェル内の試料及び／又は第1のウェル及び第2のウェルに対応するセンサの温度を、所定の範囲内となるように維持するように構成されている。

【0037】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御

10

20

30

40

50

要素は、例えば試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析された場合に、標的被検成分、例えば第1の被検成分又は第2の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、各試料の間で所定の量よりも大きく異ならないように、例えば各試料の間で大幅に異ならないように、第1のウェル及び第2のウェル内の試料（例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は第1のウェル及び第2のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている。

【0038】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、例えば試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析された場合に、標的被検成分、例えば第1の被検成分又は第2の被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、各試料の間で大幅に異ならないように、第1のウェル及び第2のウェル内の試料（例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は第1のウェル及び第2のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている。

10

【0039】

いくつかの実施の形態においては、標的被検成分は、 O_2 であり、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、例えば、試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析される場合に、標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、各試料の間で10%よりも大きく異ならないように、例えば5%、3%、1%、又は0.1%よりも大きく異ならないように、第1のウェル及び第2のウェル内の試料（例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は第1のウェル及び第2のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている。

20

【0040】

いくつかの実施の形態においては、標的被検成分は、pH値に比例する被検成分であり、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、例えば、試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析される場合に、標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、各試料の間で10%よりも大きく異ならないように、例えば5%、3%、1%、又は0.1%よりも大きく異ならないように、第1のウェル及び第2のウェル内の試料（例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料）、及び／又は第1のウェル及び第2のウェルに対応するセンサの温度を制御するように構成されている。

【0041】

30

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、第1のウェル内の試料の温度を、第2のウェル内の試料の3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成され、及び／又はマニホールド温度制御要素は、第1のウェルに対応するセンサの温度を、第2のウェルに対応するセンサの3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成されている。

【0042】

いくつかの実施の形態においては、第1のウェルは、境界ウェルであり、第2のウェルは、1つ以上のウェル、例えば6つ、8つ、12個、24個、36個、48個、64個、72個、96個、192個、384個又はそれよりも多いウェルを有する試料キャリアの内部ウェルである。

40

【0043】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、加熱要素を含む。

【0044】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアのウェルのアレイを含む、制御された温度ゾーンを形成する。いくつかの実施の形態においては、制御された温度ゾーンは、ハウジングのヘッドスペースを含まない。いくつかの実施の形態においては、制御された温度ゾーンの体積は、試料キャリアの体積を1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、又は10倍よりも大きく超えない。いくつかの実施の

50

形態においては、制御された温度ゾーンの体積は、ハウジングの体積の10%を超えない、例えば9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、又は1%を超えない。いくつかの実施の形態においては、制御された温度ゾーンの外側のコンポーネントの温度は、試料温度制御要素の作動によって実質的に変化せず、例えば上昇又は低下しない。

【0045】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、試料温度制御要素の作動及び／又は制御された温度ゾーンへの試料キャリアの導入から約5時間以内、3時間以内、1時間以内、45分以内、30分以内、15分以内、10分以内、5分以内、3分以内、又は1分以内に、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、目標温度の所定の範囲内とするように構成されている。

10

【0046】

いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、制御された温度ゾーン中の気体の拡散を制御する、例えば低減させる、制限する、又は抑制するように、温度を制御するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素は、制御された温度ゾーン中の気体の組成が著しく変化しないように、例えば1%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、又は20%よりも大きく変化しないように、制御された温度ゾーン中の気体の拡散を低減させる、制限する、又は抑制するように、温度を制御するように構成されている。

【0047】

20

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、上昇した相対湿度（RH：relative humidity）で、例えば少なくとも75%RH、85%RH、95%RH、又は99%RHで動作することが可能である。

【0048】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、第1の信号及び第2の信号を同時に受信及び増幅するように構成されている。

【0049】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、第1の信号及び第2の信号を個別に、例えば順次に、受信及び増幅するように構成されている。

【0050】

30

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、時間ベースの検出、例えば減衰率、位相シフト、又は異方性検出（anisotropy detection）を使用して、第1の信号及び第2の信号のうちの1つ以上を検出するように構成されている。

【0051】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、任意にレシオメトリック測定（ratiometric measurement）を含む、強度ベースの検出を使用して、第1の信号及び第2の信号のうちの1つ以上を検出するように構成されている。

【0052】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、高誘電率を有する絶縁材料で形成されたプリント回路アセンブリを含む。

40

【0053】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、接地されたガードトレース（grounded guard trace）を含むトランスインピーダンス増幅器（transimpedance amplifier）を有するプリント回路アセンブリを含む。

【0054】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、面実装コンポーネントで形成されたプリント回路アセンブリを含み、例えば二次的な手はんだ付けされた（hand soldered）高利得コンポーネントを実質的に含まない。

【0055】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、熱伝導性励起源（therma

50

lly conductive excitation source) を含むプリント回路アセンブリを含み、任意に、熱伝導性励起源は、熱シンクと熱的に連通し、例えば熱的に接触している。いくつかの実施の形態においては、感知システムは、基準信号検出器を含まない。

【0056】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、第1の信号及び第2の信号の少なくとも一方の検出及び／又は増幅に関連する、低減された寄生電流 (parasitic current) で、例えば低減された干渉、暗電流、又はノイズ (noise: 雑音) で動作するように構成されている。

【0057】

いくつかの実施の形態においては、動きアクチュエータアセンブリが、各センサユニットを対応するウェル内の試料と流体連通するように位置決めするように展開されたときに、感知システムは、各センサユニットの試料に面する表面と少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) のセンサに面する表面との間に測定チャンバを形成するように構築及び構成され、試料の蒸発、試料の流出、又は測定チャンバから出る試料の成分の拡散、例えば被検成分の拡散が減少させられる。いくつかの実施の形態においては、試料温度制御要素は、各測定チャンバ内の試料の温度を制御するように構成されている。

【0058】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、1つ以上の光学センサ、例えば光ルミネセンスセンサ (photoluminescence sensor) を含む。

【0059】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、1つ以上の電気化学センサ (electrochemical sensor) を含む。

【0060】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、試料中の O_2 含有量に比例する被検成分の変化率に応じて信号を生成するように構成され、例えば試料の酸素消費速度 (OCR) に比例する信号を生成する。

【0061】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、試料の pH 値に比例する被検成分の変化率に応じて信号を生成するように構成され、例えば試料の細胞外酸性化速度 (ECAR) 及び／又はプロトン流出速度 (PER) に比例する信号を生成する。

【0062】

いくつかの実施の形態においては、感知システムは、試料の1つ以上の電気化学的特性、例えばインピーダンスに応じて信号を生成するように構成されている。

【0063】

いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、第1の信号及び第2の信号のうちの1つ以上に応じて、試料のミトコンドリア呼吸、解糖、アデノシン三リン酸 (ATP: adenosine triphosphate) 産生速度、及びミトコンドリア毒性 (mitotox: mitochondrial toxicity) 指数値のうちの1つ以上を算出するようにプログラムされたコンピューティングネットワーク又はコンピュータデバイスに動作可能に接続されている。いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、クラウドベースのコンピューティングネットワークに動作可能に接続されている。いくつかの実施の形態においては、信号処理モジュールは、第1の信号及び第2の信号の履歴値を記憶するデータ記憶モジュールに動作可能に接続されている。いくつかの実施の形態においては、データ記憶モジュールは、ローカルメモリ記憶デバイスである。いくつかの実施の形態においては、データ記憶モジュールは、クラウドベースのメモリ記憶デバイスである。

【0064】

いくつかの実施の形態においては、センサユニットのアレイは、 X_{s1} 個のセンサユニットを含み、 X_{s1} は、1、6、8、12、24、36、48、64、72、96、192、又は384に等しいか又はそれよりも大きい。

【0065】

いくつかの実施の形態においては、注入器のアレイは、 X_{s2} 個の注入器を含み、 X_{s2} は、1、6、8、12、24、36、48、64、72、96、192、384、768、又は1536に等しいか又はそれよりも大きい。

【0066】

いくつかの実施の形態においては、本機器は、1:1~1:384であり、例えば1:1、1:2、1:3、1:4、1:8、1:12、1:24、1:36、1:48、1:64、1:72、1:96、1:192、又は1:384のセンサユニットの X_{s1} と注入器の X_{s2} との比率を有する。

【0067】

いくつかの実施の形態においては、本機器は、1:1~1:384であり、例えば1:1、1:2、1:3、1:4、1:8、1:12、1:24、1:36、1:48、1:64、1:72、1:96、1:192、又は1:384の注入器の X_{s2} とセンサユニットの X_{s1} との比率を有する。

【0068】

いくつかの実施の形態においては、センサユニットのアレイの各センサユニットは、第1の信号及び第2の信号のうちの1つ以上を独立して生成するように構成されている。

【0069】

いくつかの実施の形態においては、センサユニットのアレイの各センサユニットは、第1の信号及び第2の信号を同時に生成するように構成されている。

【0070】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、センサユニットのセンサを励起して、第1の信号及び第2の信号のうちの1つ以上を生成するように構成された光源、例えば蛍光灯、発光ダイオード（LED: light emitting diode）、又はレーザを更に備える。いくつかの実施の形態においては、光源は、基準信号を生成するように構成され、光源からの強度の変動は、光源によって生成された基準信号をモニタリングすることによって、ドリフトに比例して補正される。いくつかの実施の形態においては、光源は、光源からのドリフトを最小化するように構成された熱伝導性プリント回路アセンブリ上に位置決めされ、任意に、熱伝導性プリント回路アセンブリは、光源からの熱誘発変動によって発生するドリフトを、少なくとも20%、例えば少なくとも15%、10%、5%、又は1%だけ最小化するように構成された材料で形成される。

【0071】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、動きアクチュエータアセンブリ、例えばx軸アクチュエータアセンブリ、z軸アクチュエータアセンブリ、及びy軸アクチュエータアセンブリのうちの1つ以上を作動させるように構成された電気モータを更に備える。

【0072】

いくつかの実施の形態においては、分析機器は、所定のプロトコルステップが、所定の時間間隔内に完了しなかった場合には、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止し、例えばモータの動きを停止するようにプログラムされたストール感知モジュールを更に備える。

【0073】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、コンポーネントが別のコンポーネントから所定距離内に位置決めされた場合、例えばセンサユニットが試料キャリアの対応するウェルから所定距離内に位置決めされた場合に、通知信号を生成し、任意にプロトコルを一時停止するように構成された近接センサを更に備える。

【0074】

いくつかの実施の形態においては、分析機器は、ハウジングの側壁の開口部が半開きである場合、及び／又は外部光がハウジング内で検出された場合に、通知信号を生成し、任意にプロトコルを一時停止するように構成された、近接センサを更に備える。

【0075】

10

20

30

40

50

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、 $2000\text{ pmol/分} \sim 0.01\text{ pmol/分}$ 、例えば $700\text{ pmol/分} \sim 0.01\text{ pmol/分}$ 、例えば $50\text{ pmol/分} \sim 0.01\text{ pmol/分}$ のOCR検出範囲を有する。

【0076】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、 50 pmol/分 未満、例えば 40 pmol/分 未満、 30 pmol/分 未満、 20 pmol/分 未満、 10 pmol/分 未満、 5 pmol/分 未満、 3 pmol/分 未満、 1 pmol/分 未満、 0.1 pmol/分 未満、又は 0.01 pmol/分 未満のOCR検出下限値を有する。

【0077】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、試料キャリアのウェルのアレイ内の1つ以上の試料を撮像又はスキャンするように位置決めされた、光学モジュールを更に備える。いくつかの実施の形態においては、光学モジュールは、コンピュータに動作可能に接続され、任意に、コンピュータは、試料の画像又はスキャンをリアルタイムで表示及び／又は記録するように構成されている。

【0078】

いくつかの実施の形態においては、本分析機器は、センサユニットのアレイから信号処理モジュールに光信号を転送するように構成された、多重化された光ファイバ材料で形成された転送モジュールを更に備える。いくつかの実施の形態においては、転送モジュールは、励起光信号、基準光信号、及び発光光信号のうちの1つ以上を転送するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、転送モジュールは、1つ以上のセンサユニットと直接的にインタフェースするように構成されている。いくつかの実施の形態においては、感知システムは、転送モジュールに光学的に接続された、均質化された光ファイバ導波路を含み、任意選択的に、均質化された光ファイバ導波路は、1つ以上のセンサユニットに光を均一に分配するように構成されている。

【0079】

いくつかの実施の形態においては、本機器は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の環境を制御するように構成された、例えば環境気体及び／又は相対湿度（RH）を制御するように構成された、環境制御モジュールを更に備える。いくつかの実施の形態においては、環境制御モジュールは、試料を取り囲む気体の N_2 濃度、 O_2 濃度、及び CO_2 濃度のうちの1つ以上を制御するように構成されている。いくつかの実施の形態においては、環境制御モジュールは、試料キャリアに流体接続された、気体、例えば N_2 、 O_2 、及び CO_2 のうちの1つ以上の供給源を含む。いくつかの実施の形態においては、環境制御モジュールは、試料キャリアのウェルのアレイを含む制御された環境ゾーン（environmental zone）を形成する。いくつかの実施の形態においては、制御された環境ゾーンは、封止された容器、例えば密閉された容器の中に形成される。

【0080】

いくつかの実施の形態においては、本機器は、気体制御された環境内での使用のために構成されている。

【0081】

別の態様によれば、分析機器を使用する方法であって、1つ以上の細胞試料（cell sample）を含む試料キャリアであって、各試料が該試料キャリアの対応するウェル内に配置されている、試料キャリアを、分析機器の中に装填することを含む方法が提供される。

【0082】

いくつかの実施の形態においては、細胞試料は、生細胞を含む。いくつかの実施の形態においては、試料キャリアを装填することは、試料キャリアをステージ上に固定することを含む。

【0083】

更に別の態様によれば、細胞試料を分析する方法が提供される。本方法は、分析機器を備えることと、1つ以上の細胞試料を含む試料キャリアであって、各試料が該試料キャリ

10

20

30

40

50

アの対応するウェル内に配置されているものである試料キャリアを分析機器の中に装填することと、第1の被検成分、例えばO₂含有量に比例する少なくとも1つの被検成分に応じた信号から、第1の複数の値を取得することであって、各信号は、感知システムの対応するセンサユニットによって生成されることと、任意選択的に、第2の被検成分、例えばpH値に比例する少なくとも1つの被検成分に応じた信号から、第2の複数の値を取得することであって、各信号は、感知システムの対応するセンサユニットによって生成されることと、第1の複数の値を処理することと、任意選択的に、第2の複数の値を処理することを含む。

【0084】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、試料キャリアの別のウェル内の試料の所定量内となるように制御することを更に含む。

【0085】

いくつかの実施の形態においては、試料キャリアは、制御された温度ゾーンに装填され、及び／又は、試料の温度を制御することは、制御された温度ゾーンを形成することを含む。

【0086】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、感知システムの温度を制御することを更に含む。

【0087】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、試料キャリアのウェルのアレイ内の各試料に標的薬剤を分注することを更に含む。いくつかの実施の形態においては、本方法は、標的薬剤を分析機器の分注システムに装填することを更に含む。いくつかの実施の形態においては、本方法は、標的薬剤の温度を制御することを更に含む。

【0088】

いくつかの実施の形態においては、試料キャリアのウェルのアレイの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内に、同じ試料が存在する。

【0089】

いくつかの実施の形態においては、第1の試料が、試料キャリアのウェルのアレイの第1のウェル内に存在し、第2の試料が、試料キャリアのウェルのアレイの第2のウェル内に存在する。いくつかの実施の形態においては、第1の試料は、試験試料であり、第2の試料は、対照である。

【0090】

いくつかの実施の形態においては、試料は、生細胞を含む。

【0091】

いくつかの実施の形態においては、試料は、遊離細胞、細胞構築物、遊離組織、組織構築物、細胞小器官、酵素、細胞産物又は副産物、及び条件培地のうちの1つ以上を含む。

【0092】

いくつかの実施の形態においては、試料は、哺乳動物の細胞又は組織を含む。いくつかの実施の形態においては、試料は、非哺乳動物の細胞又は組織を含む。いくつかの実施の形態においては、試料は、単細胞生物、例えば微生物を含む。いくつかの実施の形態においては、試料は、動物モデル組織全体、例えばゼブラフィッシュ、C. エレガンス（C. elegans）、ショウジョウバエを含む。いくつかの実施の形態においては、試料は、植物モデル組織全体又は植物モデル細胞全体を含む。

【0093】

いくつかの実施の形態においては、第1の被検成分は、O₂含有量に比例する。

【0094】

いくつかの実施の形態においては、第2の被検成分は、pH値に比例する。

【0095】

いくつかの実施の形態においては、第1の値と第2の値とは、独立して取得される。

10

20

30

40

50

【0096】

いくつかの実施の形態においては、第1の値と第2の値とは、同時に取得される。

【0097】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、分析の間又は分析の後に、試料の画像又はスキャンを取得することを更に含む。

【0098】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、分析の間又は分析の後に、試料の1つ以上の電気化学的特性、例えばインピーダンスを測定することを更に含む。

【0099】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、分析の間又は分析の後に、試料のミトコンドリア毒性 (mitotox) 指数値を取得又は算出することを更に含む。 10

【0100】

いくつかの実施の形態においては、本方法は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) 内の試料の環境を制御すること、例えば環境気体及び／又は相対湿度 (RH) を制御することを更に含む。いくつかの実施の形態においては、環境を制御することは、試料を取り囲む気体の N₂ 濃度、O₂ 濃度、及び CO₂ 濃度のうちの1つ以上を制御することを含む。

【0101】

添付図面は、縮尺どおりに描かれることを意図されていない。図面では、種々の図に示されている同一又は略同一の各構成部材は同様の符号によって表される。明確であるために、全ての図面において全ての構成部材が符号を付けられていない場合がある。 20

【図面の簡単な説明】

【0102】

【図1】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の正面斜視図である。

【図2】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の背面斜視図である。

【図3】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の側面図である。

【図4】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の上面図である。

【図5】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の選択されたコンポーネントの側面図である。

【図6】一実施形態による、生細胞を分析するためのシステムの概略図である。 30

【図7】一実施形態による、生細胞を分析するためのシステムの概略図である。

【図8】一実施形態による、生細胞を分析するためのシステムの選択されたコンポーネントの概略図である。

【図9】一実施形態による、生細胞を分析するための装置の選択されたコンポーネントの概略図である。

【図10A】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度 (OCR) 又は細胞外酸性化速度 (ECAR) を示すグラフであり、特に、図10Aは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのOCR示度 (reading) であり、比較機器と比較した、本分析機器による0分～15分における改善された安定した性能を示す。 40

【図10B】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度 (OCR) 又は細胞外酸性化速度 (ECAR) を示すグラフであり、特に、図10Bは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのOCR示度 (reading) であり、比較機器と比較した、本分析機器による0分～15分における改善された安定した性能を示す。

【図10C】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度 (OCR) 又は細胞外酸性化速度 (ECAR) を示すグラフであり、特に、図10Cは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのECAR示度である。

【図10D】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の 50

酸素消費速度（OCR）又は細胞外酸性化速度（ECAR）を示すグラフであり、特に、図10Dは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのECAR示度である。

【図11A】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度（OCR）を示すグラフであり、特に、図11Aは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのOCR示度であり、特にメトホルミン処理された細胞（下の線）を用いた、著しく低い変動を有する結果を例示する。

【図11B】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度（OCR）を示すグラフであり、特に、図11Bは、本明細書に開示される分析機器及び比較分析機器からのOCR示度であり、特にメトホルミン処理された細胞（下の線）を用いた、著しく低い変動を有する結果を例示する。

【図12】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された試料キャリア中に含まれる物質（例えば培地）の平均蒸発量を示す表である。

【図13A】スフェロイド（spheroid）の比較図である。

【図13B】スフェロイドの比較図である。

【図14】実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【図15】実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【図16】実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【図17】実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【図18】実施形態によるスピンドиск（spinning disk）を示す図である。

【図19】実施形態による共焦点ディスク撮像モジュールを示す図である。

【図20】実施形態によるディスク交換機構及びディスク合焦機構を示す図である。

【図21】実施形態による非撮像分析サブシステムの図である。

【図22】実施形態による注入サブシステムを示す図である。

【図23】実施形態による多検出システムを示す図である。

【図24A】実施形態による環境制御サブシステムを示す斜視図である。

【図24B】実施形態による環境制御サブシステムを示す背面図である。

【図24C】実施形態による環境制御サブシステムを示す正面図である。

【図25】実施形態による機器のモダリティ（modality）の制御を示す機能ブロック図である。

【図26】例示的な実施形態による多検出システムの制御方法のフロー図である。

【図27A】実施形態による液浸対物レンズを示す第1の図である。

【図27B】実施形態による液浸対物レンズを示す第2の図である。

【図28】実施形態による流体ポンプシステムを示す図である。

【図29】実施形態による対物レンズ結合部を示す図である。

【図30A】第1の実施形態による液浸対物レンズを示す斜視図である。

【図30B】第1の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図である。

【図30C】図30Bにおける線A-Aに沿ってとられた第1の断面図であり、球状液体（liquid bulb）が備えられた状態の、第1の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図30D】図30Bにおける線A-Aに沿ってとられた第2の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第1の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図31A】第2の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図である。

【図31B】図31Aにおける線B-Bに沿ってとられた第1の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第2の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図31C】図31Aにおける線B-Bに沿ってとられた第2の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第2の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図32A】第3の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図である。

【図 3 2 B】図 3 2 A における線 C - C に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 3 の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図 3 2 C】図 3 2 A における線 C - C に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 3 の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図 3 3 A】第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図である。

【図 3 3 B】図 3 3 A における線 D - D に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図 3 3 C】図 3 3 A における線 D - D に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【図 3 4 A】実施形態によるレーザ点スキャン共焦点モダリティの多検出システムの第 1 の図である。

【図 3 4 B】実施形態による広視野又はスピンドиск共焦点モダリティの多検出システムの第 2 の図である。

【図 3 5】実施形態による例示的なユーザインタフェースの図である。

【図 3 6】一実施形態による、転送モジュールの断面図を示す概略図である。

【図 3 7】一実施形態による、転送モジュールの側面図の図面である。

【図 3 8】一実施形態による、熱伝導性励起源を有する機器で行われた測定の精度を示すグラフを含む。

【図 3 9 A】負の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 3 9 B】負の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 3 9 C】負の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 4 0 A】正の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 4 0 B】正の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 4 0 C】正の M T I 値を示す M i t o 毒性の結果を示す図である。

【図 4 1】例示的な M T I 検出グラフである。

【図 4 2】3 つの試験化合物についての動的用量応答 O C R データを示すグラフである。

【図 4 3】一実施形態による、M i t o T o x アッセイ及び M T I ベースの分析を使用して達成された Z ' 値を示すグラフである。

【図 4 4】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度の測定における使用のために、どのウェルが各細胞密度でプレーティングされたかを影付きの円が示す、96 ウェルプレートの概略図である。

【図 4 5 A】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度（O C R）を示すグラフであり、特に、図 4 5 A は、本明細書に開示される分析機器（左）及び比較分析機器（右）からの O C R 示度の 3 回の実験的反復であり、特に、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、細胞がより低い密度でプレーティングされたとき、又は細胞が呼吸阻害剤（オリゴマイシン又はロテノン+アンチマイシン A）で処理された後の、より低い O C R 率において、著しく低い変動を有する結果を示している。

【図 4 5 B】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度（O C R）を示すグラフであり、特に、図 4 5 B は、本明細書に開示される分析機器（左）及び比較分析機器（右）からの O C R 示度の 3 回の実験的反復であり、特に、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、細胞がより低い密度でプレーティングされたとき、又は細胞が呼吸阻害剤（オリゴマイシン又はロテノン+アンチマイシン A）で処理された後の、より低い O C R 率において、著しく低い変動を有する結果を示している。

【図 4 5 C】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の酸素消費速度（O C R）を示すグラフであり、特に、図 4 C A は、本明細書に開示される分析機器（左）及び比較分析機器（右）からの O C R 示度の 3 回の実験的反復であり、特

に、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、細胞がより低い密度でプレーティングされたとき、又は細胞が呼吸阻害剤（オリゴマイシン又はロテノン+アンチマイシンA）で処理された後の、より低いOCR率において、著しく低い変動を有する結果を示している。

【図46A】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の基礎酸素消費速度（OCR）を示す同じデータのグラフであり、特に、図46Aは、本明細書に開示される分析機器（左）及び比較分析機器（右）からの基礎OCR示度であり、特に、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、細胞が低密度でプレーティングされたとき、より低いOCR率において、著しく低い変動を有する結果を示している。

【図46B】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の基礎酸素消費速度（OCR）を示す同じデータのグラフであり、特に、図46Bは、本明細書に開示される分析機器（左）及び比較分析機器（右）からの基礎OCR示度であり、特に、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、細胞が低密度でプレーティングされたとき、より低いOCR率において、著しく低い変動を有する結果を示している。

【図47】一実施形態による、本明細書に開示される方法によって分析された生細胞の基礎酸素消費速度（OCR）の標準偏差を、3回の実験的反復にわたって示すグラフであり、特に、図46は、本明細書に開示される分析機器（灰色）及び比較分析機器（黒色）からの基礎OCR示度の標準偏差であり、比較機器と比較して、本分析機器によるものは、著しく低い変動を有する結果を示している。

【発明を実施するための形態】

【0103】

生体エネルギー能（bioenergetic capacity）は、細胞の生物学的プロセスの原動力であり、細胞代謝は、生物学的機能及び細胞の健康状態の中心的指標である。本明細書に開示されるデバイス及び方法は、高スループットのスクリーニング技法を用いて細胞の代謝経路（metabolic pathway）を測定するために使用することができる。したがって、本明細書に開示されるデバイス及び方法は、疾患状態をより好適に理解し、疾患状態、健康な表現型を変化させるための、及び／又は細胞性能を最適化及び増強するための、適切な治療法に対する洞察を可能にすることを目的として、代謝標的、信号伝達、及び基質のモジュレーション（modulation）を通して、健康な細胞機能の主要な指標、*in vitro*疾患モデル（*in vitro* disease model）における細胞性能の予測、薬物／化合物／物質の探索を、決定及び／又は定量化するために採用することができる。

【0104】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、生細胞について、2つの主要な代謝経路である、ミトコンドリア呼吸及び解糖を、リアルタイムで測定して、細胞の生体エネルギー能の機能的動的測定（functional kinetic measurement）を提供するために採用することができる。

【0105】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、活性化、増殖、分化、細胞死、細胞恒常性、及び／又は疾患進行を含む、疾患モデル及び重要な細胞プロセスの試験、潜在的な治療薬／化合物／物質の標的を明らかにし検証することによる治療法の発見を容易化するために、また、細胞療法のエンジニアリング及び製造を最適化するために、提供することができる。

【0106】

一実施形態においては、ミトコンドリア呼吸、グリコール活性及び／又は代謝平衡（metabolic poise）は、細胞を取り囲む培地／緩衝液とは独立した、細胞の活性の時間的測定値である。マイクロチャンバを作成することが、細胞活性の高感度測定値が検出されることを可能にする。細胞のミトコンドリア呼吸及び／又は解糖活性の変化は、細胞を取り囲むすぐ近くの環境における O_2 、 CO_2 、乳酸の微小変化にリアルタイムで帰着し、すぐ近くの環境におけるこの変化は、OCR、ECAR、及び／又はPER測定によってデバイスによって検出される。

【0107】

別の実施形態においては、ミトコンドリア呼吸及び／又は解糖活性は、細胞に影響を与える培地への、ATP合成酵素阻害剤（ATP synthase inhibitor）、ミトコンドリア脱共役剤（mitochondrial uncoupling agent）、若しくはETC阻害剤（ETC inhibitor）等の細胞活性に影響を与える気体、治療薬の標的、又は薬剤を添加することによって、細胞を取り囲む培地／緩衝液によって影響を受ける、細胞活性の時間的測定値である。

【0108】

特に、本明細書に開示されるデバイス及び方法は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）中の複数の細胞試料の酸素消費速度（OCR）、細胞外酸性化速度（ECAR）、プロトン流出速度（PER：proton efflux rate）、アデノシン三リン酸（ATP；adenosine triphosphate）産生速度、及び他のパラメータを測定するために採用することができる。OCR及びECAR又はPERは、ミトコンドリア呼吸及び解糖並びにATP産生速度を決定するために使用することができる。本明細書に開示されるデバイス及び方法によって取得可能な測定値は、培養細胞試料及びex vivo試料（ex vivo sample）における細胞代謝機能の包括的な概観を提供することができる。

10

【0109】

本明細書に説明される細胞試料は、遊離細胞、細胞構築物、遊離組織、組織構築物試料を含むことができることは、留意されるべきである。細胞試料は、細胞小器官、酵素、細胞産物又は副産物、及び／又は条件培地とすることができ、又はこれらを含むことができる。各細胞試料（各ウェル）についてのパラメータは、独立して選択的に測定することができる。特定の実施形態においては、生細胞試料は、例えば細胞生存率の著しい低下を伴わずに試験することができる。本明細書に説明されるデバイス及び方法は、従来のデバイス及び方法に比べて、より低い溶存酸素又はOCR検出限界、より高い精度の一貫性、改善された温度制御、及び改善された自動化を提供することができる。

20

【0110】

従来のシステムは、検査室の環境、保管、及び製造プロセス等の要因によって引き起こされる湿気及び汚染の影響を受けやすく、デブリの動き／蓄積の非一貫性を含む経時的な動きの誤差を経験する傾向があり、環境加熱手法によって引き起こされる蒸発、端部ウェル温度勾配、及び長いウォームアップ時間の影響を受けやすい。本明細書に開示されるデバイス及び方法は、従来のシステムのこれらの欠点を克服するコンポーネントを含んでおり、改善された測定性能に帰着し、驚くべきことに、より低いO₂の検出限界及び改善された測定の精度を提供する。

30

【0111】

本明細書に開示される機器において提供されるハードウェアと分析ソフトウェアとの組み合わせは、免疫学及び疾患等の分野において、希少細胞、ex vivo細胞、及び遺伝子操作細胞を使用した、生細胞のリアルタイムのモニタリングを可能にし、より好適な疾患モデルを構築する。本明細書に開示される増強は、測定性能を改善する。これらの増強は一般的に、新規な薬物／化合物／物質の標的を同定すること、細胞機能に対する標的効果を検証すること、疾患モデルを最適化すること、及び検査室から医薬品の治療開発及び毒性プログラムへ移行するT細胞療法の薬物／化合物／物質の安全性及び抗腫瘍能を決定することを容易にする。

40

【0112】

本明細書に開示される機器は、低い酸素消費速度（OCR）でより好適な精度をもたらすことが可能であり、分析者が、より多くの免疫細胞タイプ、更には生体エネルギーが低下している細胞タイプを、確信を持って調べることを可能にする。

【0113】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、拡張された温度範囲において生細胞を分析する能力を提供する。例えば、温度制御要素及びハウジングのヘッドスペースよりも小さい制御された温度ゾーンが、従来のデバイスに対する改善に寄与する。

50

【0114】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、温度制御要素の加熱において、更なる均一性を提供し、このことは、一貫した温度での細胞生物学的特徴、及び機器センサを用いた感知を改善し、全身のエッジ効果を低減させることができる。

【0115】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、従来のデバイスよりも速い起動時間 (faster start up time) で温度制御を提供しうる。

【0116】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、95%もの高い湿度レベルで機能することが可能な電子光学基板を含む。以前の機器の性能は、70%~80%の湿度では最適には及ばないことが多い。したがって、本機器は、高湿度の地域において、輸送、保管、又は使用することができる。

10

【0117】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、以前はノイズとして現れていたOCRの低レベルでの性能及び検出の改善を提供し、このことは、損傷した又は悪化した免疫細胞の分析を可能にし、それにより本機器によって分析されうる細胞のタイプを広げる。

【0118】

いくつかの実施形態においては、本明細書に説明されるデバイスは、96ウェルのフォーマット (format: 形式) で生細胞のOCR及びECAR/PERを測定する。理論に束縛されることを望むものではないが、いくつかの実施形態においては、本明細書に説明されるデバイスは、低レートでより好適なOCR精度、検証された機能性能及び再現性の仕様、最適化された温度制御を特徴とし、自動化が可能なものであると考えられる。

20

【0119】

[定義]

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野における当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0120】

本明細書で使用される冠詞「a」及び「an」は、冠詞の文法的対象の1つ又は1つよりも多いもの (例えば少なくとも1つ) を指す。

【0121】

本明細書で使用される用語としての「約 (about)」及び「およそ (approximately)」は一般的に、所与の測定の性質又は精度での、測定された量について許容可能な程度の誤差を意味するものである。例示的な誤差の程度は、所与の値又は値の範囲の20パーセント (%) 以内、典型的には10%以内、より典型的には5%以内である。

30

【0122】

本明細書で使用される用語としての「獲得する (acquire)」又は「獲得」とは、物理的な実体又は値、例えば数値の所有を、その物理的な実体又は値を「直接的に獲得する」又は「間接的に獲得する」ことによって、取得することを指す。「直接的に獲得する」とは、物理的な実体又は値を取得するためのプロセスを実行する (例えば合成法又は分析法を実行する) ことを意味する。「間接的に獲得する」とは、物理的な実体又は値を、他者又は他の供給源 (例えばその物理的な実体又は値を直接的に獲得した第三者の検査室) から受け取ることを指す。物理的な実体を直接的に獲得することは、物理的物質、例えば出発物質の、物理的変化を含むプロセスを実行することを含む。例示的な変化は、2つ以上の出発物質から物理的な実体を作ること、物質を剪断又は断片化すること、物質を分離又は精製すること、2つ以上の別個の実体を結合して混合物とすること、共有結合又は非共有結合を切断又は形成することを含む化学反応を実行することを含む。値を直接的に獲得することは、試料又は別の物質の物理的変化を含むプロセスを実行することを含み、例えば、物質、例えば試料、被検成分又は試薬の物理的変化を含む分析プロセス (本明細書では「物理的分析」とも呼ばれる) を実行することを含み、また、分析方法、例えば、物質、例えば被検成分、若しくはその断片若しくは他の誘導体を、他の物質から分離若しく

40

50

は精製すること、被検成分、若しくはその断片若しくは他の誘導体を、他の物質、例えば緩衝液、溶媒若しくは反応物と結合させること、又は、被検成分、若しくはその断片若しくは他の誘導体の構造を、例えば被検成分の第1の原子と第2の原子との間の共有結合若しくは非共有結合を切断若しくは形成することによって、変化させること、又は、試薬、若しくはその断片若しくは他の誘導体の構造を、例えば試薬の第1の原子と第2の原子との間の共有結合若しくは非共有結合を切断若しくは形成することによって、変化させることのうちの1つ以上を含む方法を実行することを含む。実施形態においては、直接的に獲得することは、直接の測定を包含する。実施形態においては、間接的に獲得することは、推論を包含する。

【0123】

本明細書で使用される用語としての「試料を獲得する」とは、試料、例えば本明細書に説明される試料の所有を、該試料を「直接的に獲得する」又は「間接的に取得する」ことによって、取得することを指す。「試料を直接的に獲得する」とは、試料を取得するためのプロセスを実行する（例えば手術又は抽出等の物理的方法を実行する）ことを意味する。「試料を間接的に取得する」とは、他者又は他の供給源（例えばその試料を直接的に獲得した第三者の検査室）から試料を受け取ることを指す。試料を直接的に獲得することは、物理的な物質、例えば組織、例えばヒト患者の組織又は患者から以前に単離された組織等の出発物質における物理的变化を含むプロセスを実行することを含む。例示的な変化は、出発物質から物理的な実体を作ること、組織を切り分ける又は削り取ること、物質を分離又は精製すること、2つ以上の別個の実体を結合して混合物とすること、共有結合又は非共有結合を切断又は形成することを含む化学反応を実行することを含む。

【0124】

本明細書で使用される用語としての「周囲温度」とは、環境又はすぐ近くの周囲の気温を指す。周囲温度はまた、ベースライン温度、又は温度制御が作動させられる前のデバイス又は物体の温度とも呼ぶことができる。或る特定の実施形態においては、周囲温度は、 1°C ～ 60°C とすることができる。或る特定の実施形態においては、周囲温度は、 18°C ～ 25°C とすることができる。或る特定の実施形態においては、周囲温度は、 1°C ～ 5°C とすることができる。或る特定の実施形態においては、周囲温度は、 32°C ～ 60°C とすることができる。

【0125】

本明細書で使用される用語としての「基礎ミトコンドリアATP産生速度 (basal mitochondrial ATP production rate)」とは、細胞試料がATP合成酵素阻害剤 (ATP synthase inhibitor)、ミトコンドリア脱共役剤、及び電子輸送鎖 (ETC) 阻害剤と接触させられて反応混合物を形成する前の、細胞試料中のミトコンドリアによるATP産生速度を指す。実施形態においては、基礎ミトコンドリアATP産生速度は、ATP合成酵素阻害剤、ミトコンドリア脱共役剤、又はETC阻害剤 (基底OCR (basal OCR)) のいずれかとの、細胞試料の最初の接触の前の、酸素消費速度の測定値 (例えば最後の測定値、若しくはいくつかの測定値の平均値) に対して、最小酸素消費速度 (オリゴOCR (oligo OCR)) を減算し、 $2.45 \sim 2.86$ の定数 (P/O 比と呼ばれる) $\times 2$ (酸素原子を酸素分子に変換するため) を乗算することによって算出される。実施形態においては、定数は 2.75 である。

【0126】

本明細書で使用される用語としての「生体エネルギー能」とは、細胞が影響を与え、利用し、及び／又は誘導しうる、解糖及び／又はミトコンドリア活性の増大のレベルを指す。実施形態においては、生体エネルギー能は、増大したエネルギー需要に応じて、及び／又はエネルギー生成の阻害／摂動に応じて、決定される。実施形態においては、生体エネルギー能は、酸素消費についての値 (例えば酸素消費速度 (OCR)) 及びプロトン流出についての値 (例えばプロトン流出速度 (PER)) を含む。実施形態においては、酸素消費の値 (例えばOCR) は、ミトコンドリアの脱共役に応じたものである。実施形態においては、プロトン流出についての値 (例えばPER) は、ATPアーゼ阻害 (ATPase

10

20

30

40

50

inhibition) に応じたものである。実施形態においては、P E Rは、解糖P E R (glyc oPER) であり、これは数学的にC O₂の寄与を除去する。

【0127】

本明細書で使用される用語としての「生体エネルギー平衡」とは、好氣的エネルギー産生と解糖的エネルギー産生とのバランスを指す。実施形態においては、生体エネルギー平衡は、酸化リン酸化反応の解糖によって生成されるA T Pの割合を記述する。実施形態においては、生体エネルギー平衡は、ミトコンドリアによって作られるA T Pと解糖によって作られるA T Pとの間、ミトコンドリアによって作られるA T Pと総A T P産生との間、解糖によって作られるA T Pと総A T P産生 (toal ATP production) との間、又はそれらの任意の組み合わせの関係、例えば比率を含む。

10

【0128】

本明細書で使用される用語としての「生体エネルギーの仕事 (bioenergetic work)」とは、細胞によって生成されるA T Pの量を指す。

【0129】

本明細書で使用される用語としての「細胞試料」とは、細胞又は細胞産物若しくは副産物を含む試料を指す。実施形態においては、細胞試料は、複数の細胞を含む。実施形態においては、細胞は、培地中に配置される。細胞試料は、細胞、組織、細胞構築物又は組織構築物、細胞小器官、酵素、及び／又は条件培地のうちの1つ以上とすることができ、又はこれらを含むことができる。

【0130】

本明細書で使用される用語としての「細胞代謝機能」とは、生命を維持するために必要な化学反応を実行する生体の能力を指す。実施形態においては、細胞試料の細胞代謝機能は、O C R及びE C A Rを測定することによってモニタリングすることができる。

20

【0131】

本明細書で使用される用語としての「細胞外酸性化速度 (E C A R : extracellular acidification rate)」とは、経時的な細胞外培地中のプロトン押し出しの測定値を指す。E C A Rは、アッセイ実行時間 (assay run time) にわたるp H単位の変化率、例えばミリp H / 分 (m p H / 分) として報告することができる。

【0132】

本明細書で使用される用語としての「解糖」又は「解糖活性」とは、グルコースを乳酸に変換する細胞代謝機能を指す。

30

【0133】

本明細書で使用される用語としての「ミトコンドリア呼吸」とは、主要栄養素に貯蔵されたエネルギーをA T Pに変換するためにミトコンドリアで起こる、酸素を必要とする代謝反応及びプロセスを指す。

【0134】

本明細書で使用される用語としての「ミトコンドリア毒性指数 (mitochondrial toxicity index) 」 (「m i t o t o x 指数 (mitotox index) 」又は「M T I」とも呼ばれる) は、O C R測定値から導出される指数値を指す。M T Iは、ミトコンドリア毒性のタイプ及び大きさの両方についての情報を提供するパラメータである。正のM T I値 (典型的には0 ~ 1) は、脱共役によるミトコンドリア毒性を識別し、逆に負のM T I値 (典型的には0 ~ -1) は、阻害によるミトコンドリア毒性を識別する。

40

【0135】

本明細書において「又は」とは、文脈が別段に明示しない限り、用語「及び／又は」を意味するものとして使用され、用語「及び／又は」と交換可能に使用される。本明細書のいくつかの箇所における用語「及び／又は」の使用は、文脈が別段に明示しない限り、用語「又は」の使用が用語「及び／又は」と交換可能ではないことを意味するものではない。

【0136】

本明細書で使用される用語としての「酸素消費速度 (O C R)」は、経時的な試料によ

50

る酸素消費の定量的な測定値を指す。したがって、OCRは、経時的な細胞呼吸及びミトコンドリア呼吸の測定値を提供することができる。OCR値は、アッセイ実行時間にわたる O_2 含有量の変化率、例えばピコモル／分（ $pmol / 分$ ）で報告することができる。

【0137】

一実施形態においては、OCRは、酸素消費量が完全に封止された系において決定されないシナリオ、例えば、系が試料への酸素逆拡散（oxygen back diffusion）若しくは実質的な酸素逆拡散を許容するシナリオ、若しくは酸素消費量が試料への酸素逆拡散に対して補正された試料中の酸素枯渇量（oxygen depletion）であるか、若しくは酸素消費量が試料への酸素逆拡散に対して補正されていない酸素枯渇量であるシナリオ、又は、酸素消費量が封止された系において決定されるシナリオ、例えば試料への酸素逆拡散若しくは実質的な酸素逆拡散を許容しない系、若しくは酸素消費量が試料中の酸素枯渇量に等しい、若しくは実質的に等しいシナリオを含む。

10

【0138】

一実施形態においては、酸素消費量は、直接的に又は間接的に、例えば試験ウェル内又は毛細管にわたって、例えば測定された酸素勾配から推測して、又は予め選択された時点において酸素を測定することによって決定される。

【0139】

一実施形態においては、酸素消費量は、 O_2 含有量の変化率以外の単位、例えば単位時間当たりのセンサ応答（マイクロ秒／分、相対蛍光単位／分等）で報告される。

【0140】

本明細書で使用される用語としての「初代細胞（primary cell）」は、対象、臓器、又は組織から直接的に単離又は採取された細胞を指す。例えば、初代細胞は、生きている対象から取得された血液から単離されてもよい。初代細胞は、酵素的な方法又は機械的方法を使用して単離又は採取されてもよい。一旦単離又は採取された初代細胞は、増殖を支援するために、必須栄養素及び増加因子を含む培地中で培養されてもよい。初代細胞は、増加のために付着を必要としない浮遊細胞（suspension cell）（例えば固定非依存性細胞）であってもよいし、又は増加のために付着を必要とする接着細胞（adherent cell）（例えば固定依存性細胞）であってもよい。

20

【0141】

本明細書で使用される用語としての「プロトン流出速度（PER）」とは、培地緩衝能（media buffering capacity）及びプレート形状を考慮した細胞外酸性化の定量的な尺度を指す。PER値は、アッセイ実行時間にわたる H^+ の変化率、例えばピコモル／分（ $pmol / 分$ ）で報告することができる。 H^+ は、pH値に比例する定量化可能な被検成分である。

30

【0142】

本明細書で使用される用語としての「試料」とは、対象となる供給源から取得された又は導出された生物学的試料を指す。実施形態においては、対象となる供給源は、動物又はヒト等の生物を含む。試料の供給源は、血液若しくは血液構成成分、体液、新鮮な、凍結された及び／又は保存された臓器、組織、生検材料、切除物、塗抹、若しくは吸引液からのものような固形組織、又は対象の妊娠若しくは発育の任意の時期からの細胞であってもよい。実施形態においては、試料の供給源は、血液又は血液構成成分である。実施形態においては、試料は、例えば任意の適切な手段によって対象となる供給源から直接的に取得された、一次試料（primary sample）である。実施形態においては、試料は、一次試料を処理することによって（例えば一次試料の1つ以上の成分を除去することによって、及び／又は一次試料に1種以上の薬剤を添加することによって）取得される調製物（preparation）である。

40

【0143】

本明細書で使用される用語としての「試料キャリア」とは、試料が担持されうる基材を指す。実施形態においては、試料キャリアは、1つ以上のウェルを含むことができる。例示的な試料キャリアは、限定するものではないが、マイクロプレート、マイクロ滴定プレ

50

ート、マルチウェルプレート、単一ウェルプレート、マイクロウェルプレート、マイクロ流体チップ、マイクロ流体デバイス、皿、スライド、フラスコ、及びチューブを含む。試料キャリアは、限定するものではないが、細胞、組織、小生物、動物モデル、多細胞構造体、及び3D試料を含む、様々なタイプの試料を保持するために使用されうる。本明細書で使用される場合、試料キャリアの少なくとも1つのウェルとは、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、12個、18個、24個、30個、36個、42個、48個、54個、60個、66個、72個、78個、84個、90個、96個、192個、288個、384個、又は1536個のウェル、又はその間の任意の数の若しくはそれよりも多いウェルを意味しうる。本明細書で使用される場合、試料キャリアの少なくとも2つのウェルとは、少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、12個、18個、24個、30個、36個、42個、48個、54個、60個、66個、72個、78個、84個、90個、96個、192個、288個、384個、又は1536個のウェル、又はその間の任意の数の若しくはそれよりも多いウェルを意味しうる。

10

20

30

40

50

【0144】

〔生体エネルギー測定〕

エネルギーを産生する2つの主要な経路、すなわちミトコンドリア呼吸及び解糖は、それぞれ酸素の細胞内消費及びプロトンの流出を伴う。本明細書に開示されるデバイス及び方法は、被検成分における細胞外変化を検出し、細胞呼吸、解糖及びATP産生の率を測定するためのセンサ、例えば無標識センサ (label-free sensor) を含む。本明細書に説明される装置は、細胞外、細胞内、及び細胞周囲の被検成分を決定するために採用することができる。

【0145】

或る特定の実施形態によれば、本明細書に開示されるものは、本明細書では装置とも呼ばれる分析機器である。本装置は、本明細書において試料キャリア又は試料キャリアカートリッジとも呼ばれる、試料キャリア (例えばマルチウェルプレート) を支持するように適合されたステージを含むことができる。本装置は、試料キャリア (例えばマルチウェルプレート) のウェル中の細胞試料に関連する細胞構成成分を感知するように適合されたセンサを含むことができる。本装置は、ウェルの中に流体を導入するように適合された分注システムを含むことができる。本装置は、細胞の少なくとも一部を含むウェル内に低減させられた体積の培地を作成するための障壁を受容するように適合されたプランジャを含むことができ、障壁は、ステージとプランジャとの相対的な動きによるウェルへの挿入のために適合されている。

【0146】

特に、本装置は、複数のセンサを含むことができ、各センサは、試料キャリア (例えばマルチウェルプレート) の対応するウェルの細胞構成成分を感知するように適合されている。したがって、本装置は、センサのアレイを含むことができる。センサは、少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) の細胞構成成分を独立して選択的に感知することができる。分注システムは、1つ以上の注入器を含むことができる。分注システムは、流体又は薬剤を、少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) に独立して選択的に導入するように構成することができる。プランジャは、少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) に独立して選択的に挿入されるように適合させることができる。

【0147】

本装置は、少なくとも1つの座標軸に沿って、1つ以上のコンポーネントを位置決めする又は方向付けるように構築及び構成された、本明細書では昇降器機構 (elevator mechanism) とも呼ばれる、動きアクチュエータアセンブリを含むことができる。動きアクチュエータアセンブリは、システムのコンポーネントを駆動するように構成された、1つ以上の高トルクモータを含むことができる。

【0148】

動きアクチュエータアセンブリは、少なくとも1つの軸アクチュエータアセンブリを含むことができる。いくつかの実施形態においては、動きアクチュエータアセンブリは、セ

ンサに対してステージを位置決めするように構成された、少なくとも1つのx軸アクチュエータアセンブリを含むことができる。x軸アクチュエータアセンブリは、追加的に又は代替として、ステージに対してセンサを位置決めするように構成することができる。x軸アクチュエータアセンブリは、追加的に又は代替として、ハウジングに対してステージを位置決めするように構成することができる。動きアクチュエータアセンブリは、ステージに対してセンサ及び／又は分注システムを位置決めするように構成された、少なくとも1つのz軸アクチュエータアセンブリを含むことができる。z軸アクチュエータアセンブリは、追加的に又は代替として、センサ及び／又は分注システムに対してステージを位置決めするように構成することができる。動きアクチュエータアセンブリは、センサに対してステージを位置決めするように構成された、少なくとも1つのy軸アクチュエータアセンブリを含むことができる。y軸アクチュエータアセンブリは、追加的に又は代替として、ステージに対してセンサを位置決めするように構成することができる。

10

【0149】

使用時には、動きアクチュエータアセンブリは、センサユニット及び／又は注入器のアレイを、ステージ上に位置決めされた試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）の対応するウェルと位置合わせする、又は実質的に位置合わせするように構成することができる。使用時には、動きアクチュエータアセンブリは、1つ以上のコンポーネント間の、例えば分注システムのセンサユニット又は注入器と、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）のウェル内の試料との間の流体連通を実現するように構成することができる。

20

【0150】

例示的な実施形態においては、1つ以上のセンサは、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）のウェル中の細胞試料の代謝活性に関連する細胞培地の酸素レベル及びpH（プロトン濃度）の変化を感知するように適合させることができる。ステージ、センサ、及び分注システムは、センサを使用して細胞試料の基礎酸素消費速度と基礎細胞外酸性化速度とを同時に測定するように協働することができる。その後、分注システムは、細胞試料に1種以上の薬剤を順次投与するために使用することができる。例示的な実施形態においては、1種以上の薬剤は、ミトコンドリアATP合成酵素阻害剤（オリゴマイシンA（Oligomycin A））、ミトコンドリア脱共役剤BAM15、及び／又はミトコンドリア複合体I及び複合体III阻害剤（それぞれロテノン（rotenone）及びアンチマイシンA（antimycin A））の混合物を含むことができる。センサは、1種以上の薬剤の各分注の後に、酸素消費速度及び細胞外酸性化速度を、任意選択的に実質的に同時に、測定することができる。追加的な薬剤、例えばモジュレータ試薬が、説明される試薬の分注の前に任意選択的に分注されてもよいし、又は、細胞膜外イオノフォア（extracellular membrane ionophore）であるモネンシン（monensin）が、細胞へのロテノン／アンチマイシンAの注入の後に注入されてもよい。酸素消費速度及び細胞外酸性化速度の同じ測定は、各分注の前後に実行することができる。

30

【0151】

本装置のコンポーネントは、例えば「Method and device for measuring multiple physiological properties of cells」と題された米国特許第7,276,351号及び「Cell analysis apparatus and method」と題された米国特許第8,658,349号に更に記載されており、これらの各特許は、引用することにより、全ての目的について、その全体が本明細書の一部をなすものとする。

40

【0152】

以下の特徴のうちの1つ以上が含まれるものとすることができる。センサは、細胞を妨害することなく構成成分を分析するように構成することができる。ウェルは、センサユニットのアレイから対応するセンサユニットプランジャがウェル中の定義された位置を動かしてマイクロチャンバを作成することを可能にする任意の特徴、例えばステップ、リングパンプ、リップを含むことができる。センサユニットプランジャ又は障壁は、構成成分の分析に先立ち及び／又は分析の後に、培地を攪拌するように適合させることができる。センサは、光ルミネセントベースのセンサとすることができる。センサは、例えば蛍光セン

50

サ、ルミネセントセンサ、I S F E Tセンサ、表面プラズモン共鳴センサ、光回折原理に基づくセンサ、ウッド異常 (Wood's anomaly) の原理に基づくセンサ、音響センサ、又はマイクロ波センサとすることができる。ウェルの少なくとも一部は、センサを受容するように適合させることができる。プランジャによって実現される培地の減少させられた体積は、センサを含むことができ、及び／又は、障壁の少なくとも一部は、センサを含むことができる。

【0153】

本機器は、センサユニットのセンサを励起して、測定される標的被検成分又は特性に応じた信号を生成するように構成された光源、例えば蛍光灯、発光ダイオード (LED)、又はレーザを含むことができる。いくつかの実施形態においては、光源は、基準信号を生成するように構成することができる。光源からの強度の変動は、光源によって生成される基準信号をモニタリングすることによって、ドリフトに比例して補正することができる。光源は、光源からのドリフトを最小化するように構成された熱伝導性プリント回路アセンブリ上に位置決めすることができる。いくつかの実施形態においては、熱伝導性プリント回路アセンブリは、光源からの熱誘発変動によって発生するドリフトを、少なくとも20%、例えば少なくとも15%、10%、又は5%だけ最小化するように構成された材料で形成することができる。いくつかの実施形態においては、熱伝導性プリント回路アセンブリは、ドリフトを約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、及び99%だけ低減させる。図38は、10%のドリフト補正から1%未満にまで低減させられた補正係数を示す。いくつかの実施形態においては、熱伝導性プリント回路アセンブリは、基準信号が不要となるようにドリフトを実質的に最小化するように構成された材料で形成され、それによってシステムのコストを低減させる。

10

20

【0154】

或る特定の実施形態においては、1つ以上のセンサは、 CO_2 、 O_2 、 Ca^{++} 、 H^+ 、又は消費若しくは分泌された細胞代謝産物等の、ウェル内の細胞外構成成分を分析する (存在又は濃度を決定する) ように適合させることができる。 O_2 含有量に比例する被検成分は、例えば CO_2 、 O_2 を含む。試料のpHに比例する被検成分は、例えば Ca^{++} 、 H^+ を含む。1種よりも多い被検成分、例えば少なくとも1種の被検成分を測定して、細胞外成分を分析することができる。

30

【0155】

1つ以上のセンサは、第1の細胞外構成成分を分析するように適合させることができる。いくつかの実施形態においては、1つ以上のセンサは、複数の細胞外構成成分、例えば1種よりも多い、2種よりも多い、3種よりも多い、4種よりも多い、又はそれよりも多い構成成分を分析するように適合させることができる。各センサは、複数の構成成分を同時に分析することができる。各センサは、複数の構成成分を個別に、例えば順次に分析することができる。本開示は一般的に、第1の標的被検成分、例えば O_2 含有量に比例する少なくとも1種の被検成分、及び第2の標的被検成分、例えばpH値に比例する少なくとも1種の被検成分を分析するように構成されたセンサユニットを説明する。しかしながら、センサユニットは、追加的な又は代替の標的被検成分を分析するように構成することができることは、理解されるべきである。

40

【0156】

或る特定の実施形態においては、センサは光学センサである。光学センサは、蛍光又は燐光ベースのセンサとすることができる。センサは、代替的に、固体センサ、ナノ粒子センサ、マイクロ粒子センサ、及び／又は磁気センサ等を利用することができる。例えば固体センサは、蓋、基部、突起、又はそれらの組み合わせ上に1つ以上のスポット又はフィルムを含むことができ、粒子ベースのセンサは一般的に、溶液中又は懸濁液中にあるものとすることができる。代替として、一態様においては、粒子ベースのセンサは、細胞の中に装填されるか、表面上にコーティングされうる。それにもかかわらず、かかるセンサは、光学、 O_2 、pH、温度、 CO_2 、又はそれらの組み合わせを含んでもよい。

50

【0157】

さらに、一態様においては、センサは、電気化学センサ、又は電位差センサ (potentiometric sensor) であってもよい。これに加えて又は代替として、インピーダンスを含む電気的特性を測定するために、電極をウェルの中に含めることもできる。選択されたセンサにかかわらず、一態様においては、以上に議論されたように、ウェル又はチャンバは、以上に議論されたセンサのうちのいずれかの形をとる、機器校正のための既知の値の信号を生成する1つ以上の基準プローブを含むこともできることは、理解されるべきである。

【0158】

1つの例示的なセンサユニットは、酸素感応性光ルミネセント色素である。光ルミネセント色素は、任意の酸素感応性光ルミネセント色素から選択することができる。好適な色素は、意図されるプローブの用途に基づいて選択することができる。好適な酸素感応性光ルミネセント色素の非網羅的なリストは、特に、限定するものではないが、ルテニウム (II) - ビピリジル及びルテニウム (II) - ジフェニルフェナントロリン錯体、白金 (II) - オクタエチルポルフィン-ケトン等のポルフィリン-ケトン、白金 (II) - テトラキス (ペンタフルオロフェニル) ポルフィン等の白金 (II) - ポルフィリン、パラジウム (II) - テトラキス (ペンタフルオロフェニル) ポルフィン等のパラジウム (II) - ポルフィリン、テトラベンゾポルフィリン、クロリン、アザポルフィリンの熾光性金属錯体、並びにイリジウム (III) 又はオスミウム (II) の長減衰ルミネセント錯体を含む。

【0159】

典型的には、かかる実施形態においては、疎水性酸素感応性光ルミネセント色素は、好適な酸素透過性かつ疎水性の担体マトリックスと配合することができる。好適な酸素透過性疎水性担体マトリックスは、試験されるべき意図された生物学的試料及び選択された色素の性質に基づいて選択することができる。酸素透過性疎水性担体マトリックスとしての使用に適したポリマーの非網羅的なリストは、特に、限定するものではないが、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリスルホン、ポリ塩化ビニル及びいくつかの共重合体を含む。代替例は、酸素透過性マイクロビーズを酸素感応性光ルミネセント色素で染色し、染色されたビーズをシリコン又はポリウレタンと混合し、混合物をポリマーコーティングとして塗布することである。

【0160】

選択された固体センサのタイプにかかわらず、単に例として一態様においては、センサは、ヒドロゲル、シリコン、及びマトリゲルから選択される透過性培地等の透過性培地に埋め込むことができる。いくつかの態様においては、センサは、培地を固化又は除去することによって (乾燥、硬化、冷却、蒸発又は他の技法等によって)、突起のうちの少なくとも1つに取り付けられる。固体センサは、培地中の熾光指示薬の混合物に突起のうちの少なくとも1つの遠位端を浸漬させるかスポッティングすることによって適用されてもよい。

【0161】

しかしながら、或る特定の態様においては、センサが、突起のうちの1つ以上の全体又は一部にスポッティング又は浸漬させられてもよいことは、理解されるべきである。さらに、或る特定の態様においては、センサが、アセンブリの1つ以上の突起の本体に取り外し可能に接続可能であってもよいことは、理解されるべきである。さらに、或る特定の態様においては、センサが、1つ以上の突起と一体的に形成されてもよいことは、理解されるべきである。センサを1つの又は複数の突起に一体的に形成することは、蒸着、化学コーティング、スピンコーティング、浸漬、ロボットスポッティング等の1つ以上の技法によって達成されうる。

【0162】

分注システムは、流体又は薬剤を少なくとも1つのウェル (例えば各ウェル) に独立して選択的に導入するように構成された、1つ以上の注入器を含むことができる。いくつか

10

20

30

40

50

の実施形態においては、分注システムは、注入器のアレイ、例えばウェルプレートの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）に対応するように位置決めされた少なくとも1つの注入器を含むことができる。いくつかの実施形態においては、分注システムは、それぞれがウェルプレートの複数のウェルに流体又は薬剤を導入するように構成された、1つ以上の可動注入器を含むことができる。

【0163】

或る特定の実施形態においては、例えば複数のウェルにわたって、1つ以上の注入器の動きを作動させるために、本機器は、少なくとも1つの注入器を駆動するように位置決めされた注入器動きアクチュエータアセンブリを含むことができる。注入器動きアクチュエータアセンブリは、ウェルの行にわたって、ウェルの列にわたって、又はウェルの任意の構成にわたる予め選択されたパターンで、1つ以上の注入器を駆動することができる。

10

【0164】

したがって、本機器は、複数のウェル、ウェルの列、又はウェルの列にわたって駆動されるように位置決めされた1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、又は10個の可動注入器を有することができる。代替的に、分注システムは、少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）に対応するように固定的に位置決めされた1つ以上の注入器、例えば1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、又は10個の注入器のアレイを有することができる。本機器は、1:1~1:384、例えば1:1、1:2、1:3、1:4、1:8、1:12、1:24、1:36、1:48、1:64、1:72、1:96、1:192、又は1:384である、ウェルと注入器との比率を有することができる。本機器は、1:1~1:384、例えば1:1、1:2、1:3、1:4、1:8、1:12、1:24、1:36、1:48、1:64、1:72、1:96、1:192、又は1:384である、注入器とウェルとの比率を有することができる。

20

【0165】

本開示の例示的な態様によるアセンブリ及びプロセスは、生物学的試料等のあらゆる種々のタイプの試料中の構成成分を測定するのに適したものとなりうる。一態様においては、例えば、本開示の例示的な態様によるシステム及びプロセスは、細胞物質中の1つ以上の構成成分又は構成成分に関連するパラメータを測定するために使用されうる。1つ以上の構成成分は、細胞を取り囲む培地に含まれるものであってもよく、又は細胞自体に含まれるものであってもよい。いくつかの実施形態においては、試験される生物学的試料は、細胞小器官、ミトコンドリア、細胞抽出物、細胞産物若しくは副産物、又は条件培地等の細胞に由来する細胞物質を含むことができる。測定は、無標識の態様で完了されうる。

30

【0166】

例示的な分析機器が、図1~図4に示されている。図1~図4に示されるように、機器又は装置100は、ハウジング10を含み、ハウジング10の側壁には開口部が形成されている。開口部は任意選択的に、扉12によって閉鎖可能とすることができる。ハウジング10内には、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）30を受容するように適合されたステージ20が備えられている。ステージ20は、x軸アクチュエータアセンブリによって、開口部を通してハウジング10内に又はハウジング10の外部に位置決めされるように可動のものとすることができる。扉12は、ステージ20が試験のためにハウジング10内に位置決めされたときに閉じることができる。ハウジングは、コンピュータ及び／又は電源に接続可能な1つ以上の電子ポート14を含むことができる。

40

【0167】

電子ポート14は、USB、ミニUSB、HDMI（登録商標）、DVI、デュアルDVI、ミニDVI、マイクロDVI、ディスプレイポート、ミニディスプレイポート、VGA、ミニVGA、RS-232、Ethernet（登録商標）／LAN、又はデータを伝送することが可能な任意の他の電子ポートのうちの1つ以上と互換性があるものとすることができる。図1~図4に示される装置は、電子ポート14を含むが、本装置は、当該技術分野において知られた任意の手段、例えば無線忠実度ネットワーク（WiFi（登録商標））、超高周波無線波（Bluetooth（登録商標））としても知られる）、又

50

は任意の他のデータ伝送接続によって、外部コンピュータに接続可能とすることができることは、留意されるべきである。実施形態においては、本装置は、クラウドを通して外部コンピュータに接続可能とすることができる。

【0168】

例示的なアセンブリ110が、図5に示されている。アセンブリ110は、図1～図4に示されるハウジング10内に収容することができる。アセンブリ110は、センサユニットのアレイを含む感知システム（例えば光ファイバ）40と、マニホールド上に配置された注入器のアレイを含む分注システム50とのコンポーネントを含む。いくつかの実施形態においては、マニホールドは穴を含み、加圧された空気が、マニホールドの穴に対応する物質を含む薬物／化合物／物質ポートを含むセンサカートリッジを通して押し込まれ、マニホールドの穴はガスケットによって「封止」される。マニホールドに力が加えられ、物質が試料に送達されることを可能とする。マニホールドの1つ以上のコンポーネントは、動きアクチュエータアセンブリのz軸アクチュエータアセンブリ54によって方向付けられてz軸上で独立して移動可能とすることができる。マニホールド及び／又はカートリッジの温度は、マニホールド温度コントローラ52によって制御することができる。アセンブリ110は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）30を受容するように適合されたステージ20を含む（その上にカートリッジが図示されている）。試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）30内の試料の温度は、試料温度制御要素22によって制御される。ステージ20は、動きアクチュエータアセンブリのx軸アクチュエータアセンブリ24によって方向付けられてx軸に沿って移動可能である。動きアクチュエータアセンブリはまた、ステージ20をy軸に沿って移動させるように構成された、y軸アクチュエータアセンブリ26を含む。

10

20

【0169】

本装置は、自動測定システムを含むことができる。本装置はまた、コンピュータを含むことができ、又はコンピュータに接続可能とすることができる。自動測定システムがコンピュータと電氣的に通信する。或る特定の実施形態においては、本装置はまた、試料キャリア（例えばマイクロプレート）のウェルのうちの1つ以上への、1種以上の流体又は薬剤の追加を実行するためのコントローラを含むことができる。コントローラは、試料キャリア（例えばマイクロプレート）の1つ以上のウェル中の1つ以上の構成成分の感知を実行するようにセンサを動作させることができる。本システムは、コンピュータ上に存在するグラフィカルユーザインタフェースを介して、コントローラ及びセンサと通信することができる。グラフィカルユーザインタフェースは、本明細書に開示される方法に従ってマルチウェル実験、すなわち、マルチウェルの実験の設計のための指示を受信し、マルチウェル実験を実行するようにコントローラに指示し、マルチウェル実験の実行に応じてセンサによって獲得されたデータを受信するように構成することができる。

30

【0170】

或る特定の実施形態においては、グラフィカルユーザインタフェースは、複数の表示エリアを含むことができ、各エリアは、ウェルのうちの1つに帰属する。グラフィカルユーザインタフェースは、マルチウェル実験の設計のためのウェルのうちの1つに帰属するそれぞれのエリアに書き込まれた指示を受け取り、ウェルのうちの1つに帰属するそれぞれのエリアにおける表示のために、マルチウェル実験の実行に応じてセンサによって獲得されたデータを受け取るように構成することができる。かくして、コントローラによって実行可能な方法は、グラフィックユーザインタフェースからの指示を通して、1つ以上のウェルに独立して選択的に適用することができる。

40

【0171】

図6は、クラウドベースのコンピューティングネットワークに接続可能な分析機器（検査室機器）と、クラウドベースのネットワークを通じたコンピュータとを含む例示的なシステムを示す。分析機器は、検出器又はセンサユニットと、信号処理モジュール及び動きアクチュエータ等の他の電子機器とを含む。検出器及び電子機器は、動きアクチュエータアセンブリに動作可能に接続された運動コントローラ等の1つ以上のコントローラ、及び

50

感知システム及び／又は分注システムに動作可能に接続された制御システムによって制御可能である。分析機器のコンポーネントのためのプロトコルは、コンピューティングデバイス又はクラウドベースのコンピューティングネットワーク上でアクセス可能なユーザインタフェースを通して提供することができる。ユーザインタフェースは、ウェブブラウザのソフトウェアプラットフォーム上で、及び／又はデスクトップのソフトウェアプラットフォーム上で提供することができる。デスクトップのソフトウェアプラットフォームは、デスクトップコンピュータ、ラップトップコンピュータ、及び／又はタブレット又は他のモバイルデバイス上で提供することができることは、留意されるべきである。ウェブブラウザのソフトウェアプラットフォームは、クラウドベースのデータ処理、クラウドベースのデータ記憶、及び／又はコンピュータと分析機器との間のクラウドベースの接続を提供することができる。クラウドに接続するための他の機構、例えばデスクトップソフトウェア又はドライバソフトウェアを使用することもできる。また、データ記憶モジュール、例えば、ローカルメモリ記憶デバイス、例えばサーバ、外部ドライブ、携帯型ドライブ、及び／又はクラウドベースのメモリ記憶デバイスは、システムに含まれるものとして行うことができる。データ記憶モジュールは、履歴データ、プロトコル、データ処理アルゴリズム、及び／又はコントローラ実行可能な指示を記憶することができる。

10

【0172】

図7及び図8は、本明細書に開示されるシステムの概略図であり、電子コンポーネントがより詳細に示されている。図7は、中央制御コンピュータに動作可能に接続された分析機器の図である。基板（baseboard）は、マニホールド及びトレイのための温度制御要素（すなわち試料温度制御要素）と分注システム又は注入ユニットとに動作可能に接続された、マイクロコントローラ又はシステムコントローラを含む。本明細書では「動きコントローラ」とも呼ばれる更なるマイクロコントローラが、コントローラと、z軸アクチュエータアセンブリを動作させるzモータ並びにx軸及び任意にy軸アクチュエータアセンブリを動作させるxモータを含む動きアクチュエータアセンブリとを動作可能に接続して図示されている。本明細書に説明される装置は、機器の寿命にわたって測定精度を向上させ、保守を提供する必要性及び／又はモータコンポーネントを交換する必要性を低減させる、より高いトルクを有するステッピングモータ（stepper motor）を含むことができる。

20

【0173】

また、近接センサが、ステージ又は試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）と、センサユニット及び分注システムの注入器等の他の機器のコンポーネントとの、相対的な位置決めを感知するように構成された、動きアクチュエータアセンブリの一部として備えられる。近接センサは、コンポーネントが別のコンポーネントから所定の距離内に位置決めされた場合、例えばセンサユニットが試料キャリアの対応するウェルから所定の距離内に位置決めされた場合に、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止するように構成することができる。これに加えて又は代替として、近接センサは、ハウジングの側壁における開口部が半開きである場合、及び／又は外部光がハウジング内で検出された場合に、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止するように構成することができる。

30

40

【0174】

本システムはまた、所定のプロトコルステップが所定の時間間隔内に完了しない場合、通知信号を生成し、任意選択的にプロトコルを一時停止し、例えばモータの動きを停止するようにプログラムされた、ストール（stall）感知モジュールを含むことができる。ストール感知モジュールは、エンコーダの使用を通してストールを検出するように構成することができる。例えば、エンコーダは、エンコーダの移動におけるタイミング関連の遅延を探すことによって動作し、ストールのフラグを立てることができる。

【0175】

図7の図はまた、センサユニットからの信号を受信及び増幅するように構成された増幅器及びマイクロコントローラを含む信号処理モジュールに動作可能に接続された、O₂被

50

検成分及び pH 被検成分のための感知ユニットを含む。信号処理モジュールは更に、システムコントローラ及び中央制御コンピュータに動作可能に接続されている。本システムは更に、中央制御コンピュータに動作可能に送信可能な情報をエンコードするバーコードをスキャンするように構成された、バーコードスキャナを含む。

【0176】

図 8 は、システム制御ボード又はシステムコントローラ及びバーコードスキャナに動作可能に接続可能なコンピュータを示す、本システムの概略図である。バーコードスキャナは、バーコードからの情報をデコードしてコンピュータに送信するように構成されている。システムコントローラは、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）内の消耗品又は試料の温度を制御するように構成されたトレイ加熱器又は試料温度制御要素に、動作可能に接続されている。システムコントローラはまた、発光増幅器又は信号処理モジュールに動作可能に接続されている。信号処理モジュールは、光ファイバ又はセンサユニットに動作可能に接続されている。いくつかの実施形態においては、システムコントローラはまた、注入マニホールド又は分注システムの温度を制御するように構成された、マニホールド加熱器又はマニホールド温度制御要素に、動作可能に接続されている。任意選択的に、マニホールド加熱器又はマニホールド温度制御要素に動作可能に接続された、別個のシステムコントローラを備えることができる。

10

【0177】

図 9 は、ウェル 31 内に展開された例示的なセンサユニット 41 を示す。例示的なセンサユニット 31 は、蛍光センサである。ウェル 31 の表面上には、ウェル 31 中の構成成分の存在及び濃度のうちの少なくとも一方に依存する蛍光特性を有する、蛍光体が配置されるものとすることができる。センサユニット 41 は、蛍光体を刺激すること及び蛍光体からの蛍光の発光を受けることのうちの少なくとも一方のための導波路を受容するためのハウジングを含むことができる。

20

【0178】

本開示は、ウェルに試験化合物を追加し、センサを用いてウェルの構成成分を測定するための方法、装置、及び測定システムを提供する。本方法は、1つ以上のウェルにそれぞれ1つ以上の試験化合物を追加することによって、又は試料キャリア（例えばマイクロプレート）の複数のウェルに同じ若しくは異なる複数の試験化合物を追加することによって、高スループットのアッセイとして実行することができる。或る特定の実施形態においては、センサプローブが少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内に含まれる液体と平衡状態に留まっている間、例えばその内部に沈んだままである間に、試験化合物が導入される。かかる実施形態においては、化合物送達の間もセンサプローブが沈んだままであるため、平衡化時間を短縮することができる。かくして、単一の予め選択された試験化合物、又はウェル毎に予め選択された濃度の化合物を、保存及び分注するためのシステム及び方法が提供される。

30

【0179】

或る特定の実施形態においては、本装置及び方法は、ウェル毎に1つ以上の試験化合物又は標的薬剤を保存し送達する。試験化合物は、化合物の送達を作動させるために、遠隔の供給源からの圧縮気体の供給を使用して送達することができる。或る特定の実施形態においては、センサプローブ及び試験化合物送達構造の両方が、単一の使い捨てカートリッジ内に組み込まれる。また、カートリッジに一時的に取り付けられたときに、単一のアクチュエータが、遠隔の供給源からの圧縮気体の供給を使用して、複数のポートから試験化合物の送達を開始することを可能にする、空気圧マルチプレクサも記載される。

40

【0180】

一態様においては、複数のウェルを有する試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）と嵌合するように適合されたカートリッジが備えられる。カートリッジは、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）中のウェルの、共通する数のそれぞれの開口部に対応する複数の領域を有する、実質的に平面状の要素を含むことができる。少なくとも1つのポートを、少なくとも1つの領域においてカートリッジに形成することができ、ポートは

50

、試験流体、例えば候補の薬物／化合物／物質又は他の薬剤の水溶液を、それぞれのウェルに送達するように適合される。カートリッジはまた、a) ウェル中の構成成分を分析するように適合されたセンサ又はその一部、及びb) カートリッジの少なくとも1つの領域のサブ領域中に配置されたセンサを受容するように適合された開口部のうちの、少なくとも一方を含むことができる。

【0181】

カートリッジのコンポーネント及び特徴は、例えば「Cell analysis apparatus and method」と題された米国特許第9, 170, 255号に更に説明されており、この特許文献は、引用することにより、全ての目的について、その全体が本明細書の一部をなすものとする。

【0182】

本装置は、カートリッジをステージ又はプレートに対して動かして、ウェル中にセンサを配置するように適合され、典型的には複数のウェル中に複数のセンサを同時に配置するように適合された、昇降器機構を含むことができる。カートリッジ中のポートからウェルに試験流体を送達するために、カートリッジと流体的に嵌合させられるように適合された圧力源を備えることができる。本装置はまた、圧力源とカートリッジとの間に配置されたマルチプレクサを含むことができ、マルチプレクサは、カートリッジ中に形成された複数のポートと流体連通するように適合されている。マルチプレクサは、カートリッジ中に形成されたポートの排他的なセットと選択的に流体連通することができる。関連するセンサがウェル中に配置されているときに、所与のポート又はポートのセットから対応するウェル又はウェルのセットへの試験流体の送達を可能とするように、昇降器機構、マルチプレクサ、及び／又は圧力源を制御するための、コントローラを備えることができる。コントローラは、以上に説明されたように、コンピュータ又はグラフィカルインタフェースと通信することができる。

【0183】

或る特定の例示的な実施形態においては、センサを受容するように適合されたカートリッジの開口は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）のウェルに近接する表面を有するセンサスリーブ構造（sensor sleeve structure）を含むことができる。表面上に配置されるものは、ウェル中の構成成分の存在及び濃度のうちの少なくとも一方に依存する蛍光特性を有する蛍光体とすることができる。センサスリーブは、蛍光体を刺激すること及び蛍光体からの蛍光の発光を受けることのうちの少なくとも一方のための導波路を受容するための、細長いウジングを含むことができる。

【0184】

ウェルのアレイに対応するセンサのアレイは、カートリッジと一体のものとすることができるが、カートリッジ中に形成された開口に嵌合し該開口内に配置される別個の要素とすることもできる。センサのアレイは、ウェルプレートに対して適合して装着することができる。

【0185】

本明細書に開示される装置を用いて細胞を分析する方法が提供される。本方法は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）中の培地中に配置された細胞を測定するために採用することができる。本方法は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）中のウェル中の培地中にセンサの少なくとも一部を配置することと、ウェル中の培地内の細胞に関する構成成分を分析することと、ウェル中の培地中にセンサが配置されたままでウェルに試験流体を送達することと、構成成分を更に分析してその中の何らかの変化を決定することとのうちの1つ以上を含むことができる。或る特定の実施形態においては、1つ以上の構成成分を実質的に同時に分析することができる。特に、例えば細胞試料の代謝活性又は他の活性を決定するために、アッセイ時間にわたって、1つ以上の構成成分の率の変化を測定することができる。

【0186】

分析ステップは、それぞれのウェル中の培地内のそれぞれの細胞に関するそれぞれの構

10

20

30

40

50

成分を分析することを含むことができる。それぞれの構成成分は、同じ構成成分とすることができる。送達ステップは、それぞれのウェル中の培地内にそれぞれのセンサが配置されたままで、それぞれのウェルにそれぞれの試験流体又は標的薬剤を送達することを含むことができる。それぞれの試験流体又は薬剤は、同じ試験流体又は薬剤を含むことができる。

【0187】

分析するステップは、それぞれのウェル中の培地内のそれぞれの細胞に関するそれぞれの構成成分を分析して、その中の何らかのそれぞれの変化を決定することを含むことができる。送達ステップ及び更なる分析ステップは、繰り返すことができる。異なる試験流体若しくは薬剤、又は同じ試験流体若しくは薬剤の追加的なアリコート (aliquot) を、測定の間送達することができる。本方法は、送達ステップの間にセンサと培地との間の平衡を実質的に維持すること、又は送達ステップの間に試験流体と培地との間の熱平衡を維持することを含むことができる。

10

【0188】

本方法は、分析ステップの前、分析ステップの間、及び／又は分析ステップの後に、細胞試料の温度及び／又は環境を制御することを含むことができる。或る特定の実施形態においては、本方法は、分析方法の実行の間中、細胞試料の温度及び／又は環境を制御することを含むことができる。環境を制御することは、例えば、相対湿度 (RH) 及び／又は N_2 、 O_2 、及び／又は CO_2 の濃度等の環境気体の組成を制御することを含むことができる。例えば、或る特定の実施形態においては、環境を制御することは、空気を N_2 気体でパージ (purge) することによって低酸素環境を生じさせることを含むことができる。

20

【0189】

本方法は、分析ステップの間、送達ステップの間、及び／又は分析ステップ及び／又は送達ステップに続いて、試料を撮像又はスキャンすることを更に含むことができる。

【0190】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、本明細書では細胞試料とも呼ばれる、生物学的試料を分析するために使用することができる。特に、本明細書に開示されるデバイス及び方法は、生細胞試料を分析するために使用することができる。試料は、遊離細胞、細胞構築物、遊離組織、組織構築物、細胞小器官、酵素、細胞産物又は副産物、及び条件培地のうちの1つ以上を含むことができ、又はそれらの形をとることができる。細胞試料は、哺乳動物の細胞又は組織を含むことができる。細胞試料は、非哺乳動物の細胞又は組織を含むことができる。試料は、動物の細胞又は組織を含むことができる。試料は、昆虫の細胞又は組織を含むことができる。試料は、植物の細胞又は組織、例えば種子、さや、又は他の植物材料を含むことができる。試料は、単細胞生物、例えば微生物を含むことができる。或る特定の例示的な実施形態においては、試料は、植物又は動物モデル組織全体、例えばゼブラフィッシュ、C. エレガンス、ショウジョウバエを含むことができる。

30

【0191】

分析される生物学的材料は、細胞材料を含むことができる。生物学的材料は、細菌細胞、真菌細胞、酵母細胞、原核細胞、真核細胞、又は昆虫細胞等を含む生細胞を含むことができる。細胞は、動物細胞、ヒト細胞、免疫細胞、又は不死細胞であってもよい。

40

【0192】

例示的な細胞は、ヒトT細胞 (CD4+、PanCD3+、CD8+、PBMC、例えばナイーブ、活性化、エフェクタ及びメモリ)、マウスT細胞 (脾臓由来CD8ナイーブ及び活性化)、不死化マウス筋芽細胞 (例えばC2C12)、ジャーカット細胞 (Jurkat cells)、肺癌細胞モデル (A549、PC9、H1373)、白血病細胞モデル (THP-1)、ヒト肝癌細胞 (例えばHepG2)、ヒト類表皮癌細胞 (例えばA431)、並びにゼブラフィッシュ、C. エレガンス、及びショウジョウバエ等の生物全体の分析を含む。本明細書に開示されるデバイス及び方法の或る特定の態様は、温度制御された部屋の中に本機器を配設する必要なく、28℃～40℃の温度を必要とする生細胞の分析を可能とする。

50

【0193】

本明細書に開示されるデバイス及び方法は、数ある中でも、癌、免疫学、毒物学、薬物／化合物／物質の発見、及び免疫療法の分野における研究を容易化するために採用することができる。

【0194】

一態様においては、細胞試料は、ヒト又はヒト以外の動物等の対象から取得又は導出される。一態様においては、対象は、一態様においては障害を有するか又は有するリスクを有するマウスである。それにもかかわらず、一態様においては、細胞試料は、初代細胞、生体の組織又は臓器から直接的に単離又は採取された細胞、培養細胞、及び／又は不死化細胞を含んでもよい。例えば、細胞試料は、初代細胞、又は生体の組織若しくは臓器から直接的に単離若しくは採取され次いで *ex vivo* で培養された細胞を含んでもよい。一態様においては、細胞試料は、例えば、ノックアウトマウス又は *CRISPR KO* ライブラリからの細胞等の、対象となる遺伝子の異種発現のために遺伝子操作された、及び／又は遺伝子の発現阻害のために遺伝子操作された改変された細胞を含む。それにもかかわらず、一態様においては、細胞試料は、幹細胞又は幹細胞由来の細胞を含む。それにもかかわらず、使用される細胞にかかわらず、一態様においては、細胞試料は培地、例えば培養培地又は増加培地を含み、細胞は培地中に配置されてもよい。さらに、理解されるように、一態様においては、細胞試料は、複数の細胞、例えば本明細書に説明される複数の細胞を含む。

【0195】

試験される細胞は、限定するものではないが、培養細胞、初代細胞、ヒト細胞、ニューロン、T細胞、B細胞、上皮細胞、筋肉細胞、幹細胞、人工多能性幹細胞、不死化細胞、病原体感染細胞、細菌細胞、真菌細胞、植物細胞、古細菌細胞、哺乳類細胞、鳥類細胞、昆虫細胞、爬虫類細胞、及び両生類細胞等を含む、任意の好適な細胞試料を含んでもよい。試験される細胞はまた、組織試料、細胞スフェロイド、オルガノイド、生検試料、細胞足場、及び臓器チップ (*organs-on-a-chip*) 等の、単層細胞、二次元細胞試料、三次元細胞試料を含むことができる。測定することができるとともに、以上の細胞機能に関するパラメータの例は、二酸化炭素濃度、酸素濃度又は酸素分圧、カルシウムイオン、及び水素イオン等を含む。しかしながら、一態様においては、測定されるパラメータは、酸素消費量等の酸素濃度である。これらの試験を通して、何が細胞の表現型及び機能を駆動しているのかについての理解、及び／又は細胞環境又は微小環境の正確な描像をえることができる。

【0196】

本開示の例示的な態様によるアセンブリ及びプロセスは、生細胞の代謝データ、又は任意の生存細胞の（微小）環境条件を測定するために使用されうる。試験される細胞材料は例えば、細菌細胞、真菌細胞、酵母細胞、原核細胞、及び真核細胞等を含みうる。試験されうる細胞は、動物細胞及びヒト細胞を含む哺乳動物細胞を含む。試験されうる特定の細胞は、癌細胞、免疫細胞、不死細胞、初代細胞、人工多能性幹細胞、及びウイルス又は細菌病原体に感染した細胞等を含む。

【0197】

例えば、一態様において、本開示の例示的な態様によるアセンブリ及びプロセスは、免疫療法を補助するために使用されうる。免疫療法は、癌、感染症、及び他の疾患と闘うために患者の免疫系を強化する処置の一種である。免疫療法プロセスは、例えば、T細胞、ナチュラルキラー（NK：Natural Killer）細胞、単球、マクロファージ、及びそれらの組み合わせ等の産生等の、養子細胞ベースの療法を含みうる。T細胞療法の間、例えば患者の血液からT細胞が取り出される。T細胞は次いでバイオリアクタに送られ、拡大又は培養される。これに加えて、T細胞は受容体と呼ばれる特定のタンパク質を有するように変化させられてもよい。T細胞上の受容体は、癌細胞等の体内の望ましくない細胞を認識し標的とするように設計されている。改変されたT細胞は、或る特定の細胞密度を達成するようにバイオリアクタ中で培養され、次いで癌又は他の病気と闘うために患者の体内に

供給される。T細胞療法は、養子T細胞療法又はT細胞移入療法とも呼ばれる場合があり、その一例がキメラ抗原受容体（CAR：chimeric antigen receptor）T細胞療法と呼ばれるものである。養子T細胞療法又はT細胞移入療法のためのT細胞の使用は、血液疾患との闘いにおける大きな成功により、近年急増している。いくつかの実施形態においては、本発明の態様は、養子T細胞療法又はT細胞移入療法において使用されるT細胞の健康状態をモニタリングするために使用することができる。いくつかの実施形態においては、本発明の態様は、T細胞の活性化、T細胞の消耗、並びに出発物質及び改変産物のものを含むT細胞の代謝等をモニタリングするために使用することができる。

【0198】

NK細胞は、体内の感染細胞を探し出して破壊することができる、細胞毒性リンパ球の一種である。NK細胞は、非常に高速な免疫反応応答を示しうる。そのため、抗癌剤療法におけるNK細胞の使用は、非常に大きな関心及び人気を集めている。しかしながら、哺乳類の血液中には限られた数のNK細胞しかなく、NK細胞がバイオリアクタ内で比較的高い細胞密度にまで増加させられることを必要とする。

【0199】

T細胞、NK細胞、又は他の哺乳動物細胞等の細胞の培養は典型的には、接種から患者への使用まで、幾分複雑なプロセスを必要とする。本開示のアセンブリ及びプロセスは、細胞が健康であること、及び／又は所望の代謝表現型を有すること、及び細胞が増加している培地が最適化されたレベルの栄養素を含むことを確実にするために、培養プロセス中の任意の時点の間の細胞の代謝をモニタリングするために使用されうる。本システム及びプロセスは、例えば、細胞が増加しているときの細胞の代謝適性を保証するための調節を行うために使用されうる。

【0200】

免疫細胞に加えて、癌細胞の代謝もまた、どの栄養素が癌細胞に栄養を与えているかの理解を提供するためにモニタリングされうる。例えば、本開示の例示的な態様によるアセンブリ及びプロセスは、増加を阻害するために癌細胞の代謝に影響を及ぼす機構又はコンポーネントを明らかにしうる。本開示の例示的な態様によるアセンブリ及びプロセスはまた、癌細胞が増殖することができる速度を決定するために使用されうる。本開示のシステム及びプロセスはまた、毒物学における使用にも適している。例えば、本開示のプロセス及びアセンブリは、潜在的な治療法のうちのミトコンドリア易罹病性（liability）を検出するために使用されうる。ミトコンドリア毒性のリスクは例えば、高い特異性及び感度で評価されうる。このようにして、いくつかのミトコンドリア毒性物質の作用機序が決定されうる。

【0201】

〔温度制御〕

本明細書に説明される装置は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）の外側（例えば境界）のウェルと内側のウェルとの間の温度勾配を低減させるように設計された、1つ以上の温度制御要素を含む。本明細書においては、試料温度制御要素及びマニホールド温度制御要素が説明される。温度制御要素は、互いとは独立して温度を制御するように設計することができる。温度制御要素は一般的に、温度伝導性材料で形成され、任意選択的に、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）、センサユニット、及び／又は注入器等の1つ以上のコンポーネントに近接して又は直接的に接触して位置決めされる。例えば試料温度制御要素は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）にフィットするような寸法とすることができる。マニホールド温度制御要素は、センサ、注入器、及び／又はカートリッジにフィットするような寸法とすることができ、任意選択的に、カートリッジが試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）と嵌合するように位置決めされたとき、例えばセンサユニット及び／又は注入器が試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）のウェルと流体連通するとき、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）を覆うような寸法とすることができる。いくつかの実施形態においては、マニホールド及び加熱器と、センサカートリッジを取り囲む加熱されるコンポーネントと、試料キャリアと直接的

に接触するトレイ加熱器とを含む微小環境が形成され、長い期間にわたって温度を維持することを可能にする。マニホールド温度制御要素は、試料温度制御要素と嵌合して、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）を覆うように構成することができる。

【0202】

温度制御要素の設計は、機器内に制御された温度ゾーン又は微小環境を形成する。制御された温度ゾーンは一般的に、試料キャリアのウェルのアレイを含む。特に、制御された温度ゾーンは、ハウジングのヘッドスペース、又はヘッドスペースのかなりの大部分を含まず、例えば、温度制御は、制御された温度ゾーンの外側のコンポーネントの温度が、温度制御要素の作動によっては、実質的に変化させられず、例えば上昇又は低下させられないように、機器の内部チャンバ全体には及ばない。いくつかの実施形態においては、制御された温度ゾーンの体積は、試料キャリアの体積を1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、又は10倍よりも大きく超えない。いくつかの実施形態においては、制御された温度ゾーンの体積は、ハウジングの体積の10%を超えないものであり、例えば9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、又は1%を超えない。

【0203】

驚くべきことに、温度制御要素の設計が、12℃という典型的な動作下限温度と比較して、予想よりも低い温度、例えば8℃以下の温度での本機器の動作を可能にすることが発見された。動作温度の下限は、モータ又はモータ制御コンポーネント、電源、回路基板、及び光源等の、システムのコンポーネントによって生成される熱によって制限されることがある。低い動作温度は、以前であればかかるデバイスを用いては検査されえなかった試料タイプ、例えばゼブラフィッシュ、全細胞生物、又は非哺乳類の細胞を検査するために本機器が使用されることを可能にする。かくして、いくつかの実施形態においては、温度制御要素は、少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、12℃未満、例えば10℃未満、9℃未満、8℃未満、7℃未満、6℃未満、5℃未満、4℃未満、3℃未満、2℃未満、又は1℃未満となるように制御することができる。

【0204】

制御された温度ゾーン又は微小環境の作成は一般的に、本機器が、温度制御要素の作動及び／又は制御された温度ゾーンへの試料キャリアの導入から、約5時間、3時間、1時間、45分、30分、15分、10分、5分、3分、又は1分以内に、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、目標温度の所定の範囲内とすることを可能にする。

【0205】

さらに、温度制御要素の設計は、本機器が、温度均一性及び以前の設計よりも広い動作温度の範囲を達成することを可能とする。より広い動作温度範囲は、本機器が、以前から達成可能であったよりも低い又は高い温度を必要とする非哺乳動物細胞等の、より多様な細胞タイプで使用されることを可能にし、アッセイの間の生存率を向上させる。より大きな動作温度及びより優れた温度制御要素は、感知ユニットの感度を改善することができる。例えば、デバイスが以前の機器よりも低いOCR検出限界を有することを可能にする。いくつかの実施形態においては、測定の一貫性及び／又は精度が改善される。

【0206】

マニホールド温度制御要素は、標的薬剤及び／又はセンサユニットの温度を、別の注入器及び／又はセンサユニットの3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成することができる。或る特定の実施形態においては、マニホールド温度制御要素は、標的薬剤及び／又はセンサユニットの温度を制御するように構成することができ、試料温度制御要素は、試料キャリアのウェルのアレイ内の試料の温度を、互いの3℃以内、例えば2℃以内、1℃以内、0.6℃以内、0.5℃以内、0.4℃以内、0.3℃以内、0.2℃以内、又は0.1℃以内となるように制御するように構成される。かくして、本明細書に開示される温度制御要素は一般的に、ウェルプレート中の異なる試料間、例えばウェルプレートの内部の試料と境界の試料との間、及び／又はカートリッ

ジコンポーネントとウェルプレート中の対応する試料との間の、温度の均一性を維持することができる。

【0207】

いくつかの実施形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料の温度を、所定の範囲内となるように制御するように構成される。例示的な所定の範囲は、周囲温度よりも0℃～70℃高い温度、例えば周囲温度よりも8℃～20℃高い温度、例えば周囲温度よりも0℃、1℃、2℃、3℃、4℃、5℃、6℃、7℃、8℃、9℃、10℃、11℃、12℃、13℃、14℃、15℃、16℃、17℃、18℃、19℃、20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、又は70℃高い温度を含む。いくつかの実施形態においては、試料温度制御要素は、試料キャリアの少なくとも1つのウェル（例えば各ウェル）内の試料、例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料の温度を制御するように構成され、例えば、試料が同じ又は実質的に同じ条件下で分析されるときに、標的被検成分のレベル、生成量、又は消費量に応じたセンサ信号が、2つの同一の又は実質的に同一の試料間で所定量よりも大きく異ならないように、例えば2つの同一の又は実質的に同一の試料間で10%よりも大きく異ならないように、例えば5%、3%、1%、又は0.1%よりも大きく異ならないようにされる。特に、温度制御要素は、温度差の結果として生じるセンサの示度、例えば光ルミネセンスセンサの示度（reading）、細胞代謝及び他の機能、及び／又は被検成分濃度の変動を、低減させる又は抑制するように構成することができる。

10

【0208】

温度制御要素の設計は、プロトコルの実行の間の試料の蒸発を低減させる。蒸発は、培地中の被検成分の濃度を变化させるほど激しい場合には、細胞機能に影響を与えうる。試料温度制御要素及び／又はマニホールド温度制御要素によって達成される温度の均一性は、従来のデバイスと比較して、試料の低減された蒸発を呈した。いくつかの実施形態においては、温度制御要素は、ウェルのアレイ内の試料の蒸発を25%未満、例えば20%未満、15%未満、12%未満、10%未満、9%未満、8%未満、7%未満、6%未満、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、又は1%未満に制御するように構成することができる。蒸発は、6時間アッセイ、8時間アッセイ、10時間アッセイ、又はそれより長いもの等の、長い継続時間のアッセイについては、かかるパーセンテージによって制御することができる。さらに、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）は、細胞培養及びインキュベーションプロセスの間の蒸発を低減させるように設計することができる。

20

30

【0209】

驚くべきことに、温度制御要素の設計は、低いO₂の検出限界、及び向上した測定の精度を提供することが見出された。例えば、本明細書に開示される分析機器は、2000 pmol/分～0.01 pmol/分、例えば700 pmol/分～0.01 pmol/分、例えば50 pmol/分～0.01 pmol/分のOCR検出範囲を有することができる。いくつかの実施形態においては、本分析機器は、50 pmol/分未満、例えば40 pmol/分未満、30 pmol/分未満、20 pmol/分未満、10 pmol/分未満、5 pmol/分未満、3 pmol/分未満、1 pmol/分未満、0.1 pmol/分未満、又は0.01 pmol/分未満の、改善されたOCR検出下限を有することができる。

40

【0210】

これに加えて、温度制御要素の設計は、試料キャリア、カートリッジ、及び／又は試料キャリア又は制御された温度ゾーンの近くの内部環境中の気体の差分（勾配）拡散を低減させる、制限する、又は抑制することができる。温度制御要素は、環境中の気体の組成がアッセイの間に著しく変化しないように、例えばアッセイの間に1%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、又は20%よりも大きく変化しないように、制御された温度ゾーン、カートリッジ、ウェルプレートの内部の気体の拡散を制御するように、例えば低減させる、制限する、又は抑制するように、構成することができる。

50

【0211】

[環境制御]

本明細書に説明される装置は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）を取り囲む環境を制御するように設計された1つ以上の環境制御モジュールを含むか、又はかかる環境制御モジュールに関連付けることができる。環境制御モジュールは、試料を取り囲む環境の環境気体及び／又は相対湿度（RH）を制御するように設計することができる。例えば、環境制御モジュールは、試料を取り囲む気体のN₂濃度、O₂濃度、及びCO₂濃度のうちの1つ以上を制御するように構成することができる。RHは、環境制御モジュールによって上昇又は低下させることができる。例えば、RHは、75%未満、65%未満、55%未満、45%未満、又は35%未満に低下させることができ、又は、RHは、65%超、75%超、85%超、又は95%超に上昇させることができる。環境制御モジュールは、虚血／再灌流モデリング及び他の制御された気体実験のための本機器の使用を可能とすることができる。

10

【0212】

環境制御モジュールは、試料キャリアに流体接続された、気体の、例えばN₂、O₂、及びCO₂のうちの1つ以上の供給源を含むことができる。環境制御モジュールは、試料キャリアのウェルのアレイを含む制御された環境ゾーンを形成することができる。制御された環境ゾーンは、周囲環境に対して開いたものとすることもできるし、又は閉じたものとすることもできる。環境制御モジュールは、気体をウェルプレートに導く、又はウェルプレートから気体を除去するように構成された、ポンプ又はファンを含むことができる。

20

【0213】

或る特定の実施形態においては、環境制御モジュールは、本機器に組み込まれている。環境は、加熱される試料キャリアを取り囲む又は覆う若しくは包囲するように加熱されるコンポーネントを動かすことによって形成することができる。この加熱されるコンポーネントは、熱伝導性材料、例えば金属、アルミニウム、鋼等で作られたものとすることができる。これらの熱伝導性材料は、電気伝導性を低減／消去するために陽極酸化（anodize）することができる。熱伝導性の加熱されるコンポーネントは、迷光（周囲光）を遮断することもできる。いくつかの実施形態においては、容器は、最小限の空気の流れしかないこととなるように、実質的に囲まれている。封止された容器は、ウェルプレートを収容することができ、例えばウェルプレートを保持するステージを収容することができる。いくつかの実施形態においては、容器は、ウェルプレートと共にカートリッジを収容することができる。制御された環境ゾーンを形成するために、封止された容器は、気体の供給源に流体接続され、1種以上の選択された気体で適宜パージされうる。

30

【0214】

或る特定の実施形態においては、環境制御モジュールが、本機器と関連付けられる。例えばいくつかの実施形態においては、本機器は、気体制御されたインキュベータ（incubator）又は低酸素チャンバ中に配設することができる。かくして、本機器は、気体制御された環境内での使用のために構成することができ、例えば低い気体溶解度を有する材料等の、気体制御された環境内での使用に適した材料で形成することができる。

【0215】

環境制御モジュールは、システムソフトウェアと統合することができ、例えばコントローラ及び／又はシステムプロセッサに動作可能に接続することができる。ソフトウェアは、選択されたプロトコルに従って環境制御モジュールを循環させるようにプログラムすることができる。

40

【0216】

環境制御モジュールは、例えばコントローラ及び／又はシステムプロセッサに動作可能に接続され、細胞微小環境の測定値（例えば細胞内O₂、細胞周囲O₂、又は細胞試料に近接したO₂測定値）から入力を与えるシステムソフトウェアと統合することができ、それによって環境制御が標的細胞微小環境を提供することを可能にする。ソフトウェアは、選択されたプロトコルに従って、環境制御モジュールを循環させて標的微小環境を提供する

50

ようにプログラムさせられてもよい。

【0217】

[信号処理モジュール]

高インピーダンスのトランスインピーダンス増幅器は、寄生電流経路の影響を受けやすい。かかる寄生電流経路は、はんだ付け及び製造によるフラックス残渣又は表面クリーナによる表面の汚染によって引き起こされうる。寄生電流経路はまた、高湿度環境、及び導電経路を絶縁するために使用される誘電体材料における水分の吸収によっても悪化させられうる。

【0218】

本明細書に開示される装置は、高い相対湿度、例えば75%、85%、又は95%もの相対湿度で動作することが可能な信号処理モジュールを含むことによって、寄生電流経路を低減させるように設計されている。高い相対湿度での信号処理モジュールの性能は、アッセイ及び実験が、より長い継続時間の間、本機器上で実行されることを可能にすることが、予想外に発見された。いくつかの実施形態においては、より長い継続時間の間アッセイを実行することは、より高い湿度及び／又はより長い湿潤時間(humidity time)を必要とし、このことは、より高い湿度及び／又はより長い湿潤時間での動作に対してより堅固な装置中の電子回路を必要とする。かくして、センサユニットの感度に悪影響を及ぼすことなく、リアルタイムの細胞データを細胞試料から収集することができ、アッセイを1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間よりも長く実施することができる。

【0219】

信号処理モジュールは、センサユニットからの信号を受信及び増幅するように構成された、センサユニットのアレイに動作可能に接続されたプロセッサである。信号処理モジュールは、センサユニットのアレイから複数の信号を、同時に、又は個別に、例えば順次に、受信及び増幅することができる。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、より速い率(rate:レート)又はより遅い率でデータを獲得するように信号の増幅を調節すること、例えば獲得速度を増大させるよう増幅を低減させることが可能であるものとして行うことができる。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、センサユニットからの信号の検出及び／又は増幅に関連する寄生電流、例えば干渉、暗電流、又はノイズを低減させて動作するように構成されている。

【0220】

信号処理モジュールは、時間ベースの検出又は強度ベースの検出を使用して信号を検出するように構成することができる。手短に言えば、励起されたプローブによって発せられる放射が、強度単位及び／又は寿命/時間ドメイン(例えば減衰率、位相シフト、又は異方性検出を含む)で測定されうる。強度ベースの検出は、レシオメトリック測定(ratiometric measurement)の検出及び／又は処理を含むことができる。手短に言えば、測定は、被検成分感受性の信号測定と被検成分非感受性の又は大部分が被検成分非感受性の基準測定と、を含むことができる。被検成分フラックス又は濃度のレシオメトリック評価を容易化するために、基準間の比(ratio)を組み込むことができる。

【0221】

いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、高誘電率を有する絶縁材料で形成されたプリント回路アセンブリを含む。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、半導体ダイオード、光電子増倍管、アバランシェフォトダイオード、CMOSセンサ、CCD等の1つ以上の感光性コンポーネントを含むことができる。いくつかの実施形態においては、1つ以上の感光性コンポーネントは、トランスインピーダンス増幅器に接続することができる。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、接地されたガードトレース(grounded guard trace)を含むトランスインピーダンス増幅器を有するプリント回路アセンブリを含む。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、積分器設計を有するプリント回路アセンブリを含む。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、オペアンプ設計を有するプリント回路アセンブリを

含む。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、表面実装コンポーネントで形成されたプリント回路アセンブリを含み、例えば二次的に手はんだ付けされた高利得コンポーネントを実質的に含まない。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、熱伝導性励起源を含むプリント回路アセンブリを含み、任意に、熱伝導性励起源は、熱シンクと熱的に連通し、例えば熱的に接触している。熱伝導性励起源は、温度に対して強度を変化させる任意の励起源、例えばレーザダイオード又は発光ダイオード（LED）とすることができる。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、積分器設計を有するプリント回路アセンブリを含む。いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールは、オペアンプ設計を有するプリント回路アセンブリを含む。

【0222】

驚くべきことに、一般的に基準補正があまり必要ではなくなるほど、熱伝導性励起源の設計が熱ドリフトを著しく低減させ、そのことが補正誤差を低減させ、それによって測定の精度を向上させることができることが発見された（図38）。図38のグラフに示されたデータは、熱伝導性励起源を含めた後の熱ドリフトの低下を示している。いくつかの実施形態においては、熱伝導性励起源の改善された設計が、基準信号検出器を含める必要性を軽減（又は除去）し、同様の及び／又は改良された性能を達成しながら、光ファイバのルーティングの複雑さ及び本機器のコストを低減させることができる。かくして、いくつかの実施形態においては、信号処理モジュールの設計は、基準信号検出器及び／又は基準信号を生成するように構成された光源の必要性を除去する。本機器は、基準信号検出器がないものとすることができる。

【0223】

信号処理モジュールのコンポーネント及び特徴は、Kesterらによる「Section 5: High Impedance Sensors」（付録）に更に説明されており、この文献は、引用することにより、全ての目的について、その全体が本明細書の一部をなすものとする。

【0224】

【光学モジュール】

本装置は、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）内の試料を撮像又はスキャンするように位置決めされた光学モジュールを更に含むことができる。光学モジュールは、ハウジング内に位置決めすることができる。光学モジュールは、コントローラに動作可能に接続することができる。光学モジュールは、グラフィカルユーザインタフェースを介して制御又は操作することができる。さらに、光学モジュールによって取得された画像又はスキャンは、グラフィカルユーザインタフェースを介して、任意選択的にリアルタイムで、閲覧及び／又は記録することができる。かくして、いくつかの実施形態においては、光学モジュールは、コンピュータに動作可能に接続され、コンピュータは、試料の画像又はスキャンをリアルタイムで表示及び／又は記録するように構成されている。

【0225】

細胞ベースのアッセイ、特に生細胞アッセイは、生命科学研究の分野において、より一般的になってきている。試料キャリア（例えばマイクロプレート）は、定性的及び定量的な手段による細胞増加過程の調査のための器として、ますます使用されるようになっていく。多くの場合、細胞を用いた作業は、研究者が複数の専用機器を利用することによって実行される。

【0226】

ウェル全体の蛍光の代表的な測定値を取得するのに十分大きな光ビーム径を有する、又はウェルにわたる信号のエリアスキャン及びマッピングを実行するためのビーム径の機器を用いた、光ルミネセンス（photoluminescence）、例えば蛍光及び／又は燐光の読み取りは、専用の従来の蛍光読み取り器又は多検出読み取り器を用いて達成されうる。ほとんどの機器は、プレートのインキュベーション、流体注入を提供し、組織培養インキュベータと同様の気体制御（CO₂及び／又はO₂）の選択肢も可能にする。

【0227】

広視野撮像モダリティ（wide-field imaging modality）を用いると、ウェルの蛍

10

20

30

40

50

光信号レベルだけではない、より多くの情報が細胞から取得されうる。非染色細胞のための明視野及び位相コントラスト、並びに染色細胞のための蛍光撮像を用いる、検査室用顕微鏡が一般的に使用されている。いくつかの機器は、インキュベーションチャンバ及び環境制御を可能にする。スフェロイドのような3D細胞クラスタのより鮮明な撮像又は切片化のために、共焦点顕微鏡法が第3の機器の選択肢として使用されている。

【0228】

典型的には、これらの機器は、様々な販売者から購入され、ユーザは、必要に応じて例えば試料キャリア（例えばマイクロプレート）の器、或る機器から別の機器へ物理的に移すことを強いられ、さらには、試料分析プロセス全体を追跡し、細胞試料の完全な総合的分析をえるためにいくつかの機器からのデータを照合すること、及び組み合わせることを強いられうる。ロボット工学なしでは、長期にわたる複雑な実験又はアッセイを適切に実施することは、ほとんど不可能となりうる。ロボット工学の使用は、分析コスト及び複雑さの両方を更に増大させる。非撮像分析モダリティ（蛍光、吸光、化学発光）、細胞レベルの広視野蛍光撮像、共焦点蛍光撮像、環境制御、及び試薬注入の、単一の機器における組み合わせが、完全な総合的分析手法を提供し、ユーザを面倒な試料キャリア（例えばマイクロプレート）の取り扱い、試料キャリア（例えばマイクロプレート）の追跡、及びデータ転送から解放しうる。個々の機器から取得されたデータを記憶、照合、分析することができる複合システムについての手法が、本明細書に説明される。

【0229】

〔クラウドベースのシステムにおける多モード測定〕

或る特定の態様においては、本明細書に開示されるデバイス及び方法は、同じ細胞試料の種々のパラメータを定性的及び定量的に測定することによって、細胞試料の完全な分析を実行するために使用することができる。本方法は、細胞の代謝機能、生体エネルギー平衡、生体エネルギー能、生体エネルギーの仕事測定すること、例えば感知サブシステムを用いて O_2 、 CO_2 、pHを測定することを含むことができる。本方法は、例えば、米国特許第10,072,982号（引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする）に開示されているような、Cytation（登録商標）5又はCytation（登録商標）7等の、自動細胞撮像読み取り器によって、光学モジュールを使用して、試料の特性、例えば細胞の増加、細胞の健康状態、細胞の微小環境、形態学的変化、超微細構造の変化、マーカの発現を、視覚的に観察することを含むことができる。本方法は、米国特許第10,551,371号、第10,539,523号、第10,215,748号、第10,067,121号、第9,709,548号、第9,612,234号、第8,263,375号、第8,041,515号、第8,026,080号、第7,470,533号、第7,468,255号、第7,560,269号、第7,732,127号、又は米国特許出願公開第2018/0246019号、及び国際出願公開第2021/202264号（引用することにより、それぞれが全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする）に説明されているような感知システム又はデバイスを使用したインピーダンス測定によって、付着、超微細構造の変化、増加、形態学的変化、細胞-細胞相互作用を検出することを含むことができる。

【0230】

細胞-基板インピーダンスモニタリングは一般的に、細胞の連続的なリアルタイムのモニタリングを可能にする。細胞-基板インピーダンスモニタリングは、細胞と電極との間の相互作用を評価するために使用することができ、電極上での細胞の付着、増加、形態、運動性の変化が、検出可能な変化に帰着する。この目的のために、細胞-基板インピーダンスモニタリングは、細胞増殖及び細胞溶解を評価するために採用することができる有用なツールである。インピーダンスによるリアルタイムの細胞分析と組み合わせ、米国特許出願公開第2021/0301245号（引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする）に説明されているように、xCeLLigence（登録商標）eSightの明視野及び蛍光検出光学モジュールは、インピーダンス測定の間に生細胞撮像を提供する例示的な光学モジュールである。

【0231】

連続的分析は、同じサンプルの種々の測定、例えば質量分析、分光法、2光子励起撮像を含む燐光寿命撮像顕微鏡法（PLIM：phosphorescence lifetime imaging microscopy）及び／又は蛍光寿命撮像顕微鏡法（FLIM：fluorescence lifetime imaging microscopy）を行う更なる機器によって実行することができることは、理解されるであろう。

【0232】

[機器の組み合わせ]

或る特定の実施形態においては、同じ細胞試料の連続的な測定を行うことによって、細胞を連続して分析することができる。順不同に、試料を分析して、 O_2 、 CO_2 、pH等の細胞の生体エネルギーの仕事を測定することができる。データは、クラウドベースの記憶部に記憶することができ、任意選択的にクラウドベースのデータ処理可視化システム上で分析することができる。同じ細胞試料、異なる試料、又は同じ細胞株からの試料を、電気化学的測定、例えばインピーダンス測定を使用して、分析することができる。データは、クラウドベースのシステムに記憶することができる。同じ試料、異なる試料、又は同じ細胞株からの試料を、細胞の増加及び形態について視覚的に観察することができる。データは、クラウドベースのシステムに記憶することができる。独立した測定から取得されたデータは、例えばバーコード又は他のデジタル識別システムによって試料にラベル付けすることによって、対応する試料／測定と関連付けることができる。データは、クラウドベースの記憶部において収集及び照合することができ、任意にクラウドベースのデータ処理可視化システムにおいて処理することができる。同じ細胞試料を分析することによる照合されたデータは、パターン及び情報について照会することができる。

【0233】

測定のそれぞれは、本明細書に説明される機器内で、又はそれぞれがデータ記憶処理システム、例えばクラウドベースのシステム若しくはコンピュータに動作可能に接続された機器の組み合わせで、実行することができる。

【0234】

或る特定の実施形態においては、行われるべき各測定について複数の実質的に同一の細胞試料を生成するために、例えば3つ以上の対応する実質的に同一の試料を生成するために、元の細胞試料又は同じ細胞株からの試料の1つ以上のアリコートをとることによって、試料を並行して分析することができる。各試料は、以上に説明されたように別個の機器において分析することができる。試料は、同時に又は実質的に同時に分析することができる。データは、以上に説明されたように、クラウドベースの記憶システムにおいて収集及び照合することができる。照合されたデータは、以上に説明されたように、パターン及び情報について照会することができる。

【0235】

或る特定の実施形態においては、試料又は試料のアリコートは、 O_2 、 CO_2 、pH、又は他の代謝関連パラメータ等のパラメータを測定することによって、細胞の生体エネルギーの仕事を測定するために分析することができ、それと共に、例えば同時に又は実質的に同時に、細胞の増加及び形態について視覚的に観察することができる。いくつかの実施形態においては、試料又は試料のアリコートは、 O_2 、 CO_2 、pH、又は他の代謝関連パラメータ等のパラメータを測定することによって、細胞の生体エネルギーの仕事を測定するために分析することができ、それと共に、すなわち同時に又は実質的に同時に、電気化学的測定、例えばインピーダンス測定について分析することができる。いくつかの実施形態においては、試料又は試料のアリコートは、細胞の増加及び形態について視覚的に観察することができ、それと共に、例えば同時に又は実質的に同時に、電気化学的測定、例えばインピーダンス測定について分析することができる。

【0236】

本開示は、一般的に代謝を測定することに言及しているが、同様の方法は、試料によって経験される環境条件等の細胞微小環境特徴を測定又は検出するために使用することでも

きることは、留意されるべきである。この条件は、ことによると環境制御を介して、所望の微小環境条件へ向かうように操作することができる。この条件は、細胞応答に関係するように操作することができる。例示的な実施形態として、インピーダンス、特定の撮像された細胞パラメータ、細胞の酸素化、酸素又はpHの関数として変化する蛍光測定パラメータ（例えば細胞代謝）を制御して、細胞機能に対する腫瘍の微小環境条件の影響を描出するためのモデルを実現することができる。更なる例として、かかる特性は、低減した酸素及び／又は栄養の利用可能性に応じて、心筋細胞の拍動数及び／又は代謝を分析するために制御することができ、ここで拍動速度は、薬理学的に、又はデバイスを介した電氣的ペーシングを使用して制御される。

【0237】

本明細書に説明される実施形態は、以上の欠点及び以上に説明されていない他の欠点を克服する。また、実施形態は、以上に説明された欠点を克服することを必要とされるものではなく、一例示的な実施形態は、以上に説明された問題のいずれも克服しない場合がある。

【0238】

例示的な実施形態の一態様によれば、1つ以上の試料を分析するデバイスであって、本デバイスは、試料を保持するレセプタクルのための支持体と、試料を撮像する撮像サブシステムと、試料を分析する分析サブシステムとを含むデバイスが提供される。

【0239】

例示的な実施形態の一態様によれば、試料分析方法であって、試料分析デバイスの複数のサブシステムの中から、1つ以上の試料を検査する少なくとも1つのサブシステムを選択することであって、複数のサブシステムは、1つ以上の試料を撮像する撮像サブシステムと、1つ以上の試料を分析する分析サブシステムとを含む選択することと、1つ以上の試料に対して検査を実行するように選択された少なくとも1つのサブシステムを制御することであって、この検査は、1つ以上の試料を撮像する撮像サブシステムの撮像動作と、1つ以上の試料を分析する分析サブシステムの分析動作とを含む制御することとを含む方法が提供される。

【0240】

例示的な実施形態の一態様によれば、コンピュータによって実行されたときに、コンピュータに試料検査方法を実行させるプログラムを具現化した非一時的なコンピュータ可読媒体であって、該方法は、試料分析デバイスの複数のサブシステムの中から、1つ以上の試料を検査する少なくとも1つのサブシステムを選択することであって、複数のサブシステムは、1つ以上の試料を撮像する撮像サブシステムと、1つ以上の試料を分析する分析サブシステムとを含む選択することと、1つ以上の試料に対して検査を実行するように選択された少なくとも1つのサブシステムを制御することであって、検査は、1つ以上の試料を撮像する撮像サブシステムの撮像動作と、1つ以上の試料を分析する分析サブシステムの分析動作とを含む制御することとを含む、非一時的なコンピュータ可読媒体が提供される。

【0241】

例示的な実施形態の一態様によれば、試料を分析するためのデバイスが提供される。本デバイスは、試料を保持するように構成された試料キャリア（例えばマイクロプレート）ウェルを含む試料キャリア（例えばマイクロプレート）を支持するように構成されたレセプタクル支持体を含むことができ、これは本明細書においては、試料キャリア、例えばマルチウェルプレート、プレート、又は試料キャリアとも呼ばれる。一実施形態においては、試料の撮像は、米国特許第10,072,982号（引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする）に開示されるような自動化された細胞撮像読み取り器、例えばCytation（登録商標）5、Cytation（登録商標）7等の機器を使用して実施される。一実施形態においては、試料の撮像は、共焦点撮像デバイスを使用して実施され、該デバイスは、試料を保持するように構成された試料キャリア（例えばマイクロプレート）ウェルを含む試料キャリア（例えばマイクロプレー

10

20

30

40

50

ト)を支持するように構成された、レセプタクル支持体と、試料を撮像するように構成された、対物レンズと、対物レンズを介して試料を撮像するように構成された、レーザ点スキャン共焦点システムと、対物レンズを介して試料を撮像するように構成されたスピンドィスク及び／又は広視野撮像システムとを含み、レーザ点スキャン共焦点システム及びスピンドィスク及び／又は広視野撮像システムの両方の少なくとも一部は、レーザ点スキャン共焦点システム及びスピンドィスク及び／又は広視野撮像システムが、試料を撮像するために対物レンズと選択的に位置合わせされるように構成されているように移動可能に備えられる。

【0242】

細胞試料は、細胞を視覚的に検査しうる任意のタイプの撮像モダリティを使用して観察することができることは、理解されるであろう。

【0243】

或る特定の実施形態においては、細胞試料は、2光子励起撮像を含む熾光寿命撮像顕微鏡法(PLIM)及び／又は蛍光寿命撮像顕微鏡法(FLIM)を使用して観察することができる。

【0244】

或る特定の実施形態においては、共焦点撮像として知られる撮像モダリティが、細胞試料、例えばスフェロイド(spheroid)等の3D細胞構造を撮像するのに適したものとすることができる。共焦点撮像においては、一度に試料の一点又は一部を照射することができる。例えば光学的に共役な平面に位置決めされたピンホール等の小さな開口に光を通過させることができる。点照明は、焦点のずれた光及び背景光を大幅に除去し、それによって画像の光学的解像度及びコントラストを向上させる。スキャン機能を介して点毎に構築され又はつなぎ合わせられた完全な画像は、非常に鮮明であり、明確な特徴を有する。スキャン機能は、スキャンディスク又はニプコー円板(Nipkow disc)としても知られるスピンドィスク(spinning disk)を用いて実行することができる。

【0245】

共焦点撮像は、スフェロイドを用いて使用されるのに特に適した撮像モダリティである。共焦点撮像を用いると、正確な細胞の計数、及び様々な角度からスフェロイドを観察するための3D画像操作の両方のために、スフェロイドが層毎に切片化することができ、3Dモデルをコンピュータ中で作成することができる。

【0246】

図13A及び図13Bは、スフェロイドの比較図である。図13Aは、広視野撮像を用いて20倍(20X)の倍率で撮影されたスフェロイドを示す。図13Bは、共焦点撮像を用いて20倍(20X)の倍率で撮影されたスフェロイドを示す。スフェロイドのサイズは、図13Aの画像を使用して評価することができるが、個々の細胞及びスフェロイド構造は、図13Bにおける共焦点撮像でのみ見えるようになる。

【0247】

図13Bの共焦点撮像に起因する解像度の利点は、共焦点開口により引き起こされる低下した光強度を犠牲にして提供されるため、図13Aの広視野撮像と比較して、より長い露光時間が必要とされることが多い。

【0248】

制御された生細胞環境と組み合わせた、非撮像分析モダリティ(蛍光、吸光、化学発光等)及び細胞レベルでの広視野蛍光撮像も含む機器への、共焦点蛍光撮像の追加は、現代の研究者に対して、3D細胞スフェロイド研究を目的としたものを含む、試料キャリア(例えばマイクロプレート)ベースのアッセイのフォーマットを分析するための最も汎用性の高い単一の機器を提供しうる。

【0249】

一例においては、より高速なスクリーニングのために広視野撮像が実行され、一方で、試料から取得されたO₂、CO₂、pH測定値に関する公開画像のために共焦点撮像が実行されるワークフローがあるものとすることができる。

10

20

30

40

50

【0250】

広視野撮像は、HCSタイプのアッセイに対して実行することができ、広視野撮像の方がスループットは速く、その結果の画像分析は依然として統計的に頑健である。次いで、公開又は発表の目的のために「対照 (control)」と比較した「ヒット (hit)」の代表的なウェルを獲得するために、共焦点撮像を採用することができる。

【0251】

一例においては、サイズに基づくスフェロイドの迅速な一次スクリーニングのために広視野撮像が実行されるワークフローがあるものとすることができる。次いで、共焦点撮像を使用した場合により正確となる核数 (nuclear count) に基づいて、各「ヒット」のウェルのサイズの、より深い評価のために、共焦点撮像が使用される。

10

【0252】

典型的には、広視野撮像は、個々の核を信頼性高く計数するのに十分なほど3Dスフェロイドの中を「見る」ことはできないが、広視野は依然としてスフェロイドサイズ全体に基づいて「ヒット」を決定しうる。広視野撮像を用いて「ヒット」のウェルが識別されると、識別されたウェルは次いで共焦点撮像で撮像され、広視野撮像だけでは実行できなかった、スフェロイド中の全核を計数するための改善された画像分析をえてもよい。

【0253】

一例においては、創傷治癒薬／化合物／物質の候補を決定するための増殖アッセイ (3D内皮細胞スフェロイドアッセイ (3D Endothelial Cell Spheroid Assay)) があるものとすることができる。一次的な薬物／化合物／物質のスクリーニングは、試料キャリア (例えばマイクロプレート) 中で実行することができ、小さな内皮スフェロイドが未知の化合物ライブラリで処理されて、どの化合物が増大した細胞の増加／増殖を誘引するかを決定する。更なる増加を引き起こす化合物は、更なる創傷治癒研究の候補 (contender) とすることができる。

20

【0254】

分析ワークフローにおいては、プレート読み取り器を使用して、GFP蛍光強度を使用して試料キャリア (例えばマイクロプレート) を迅速にスクリーニングして、増大したサイズのスフェロイドを有するウェルを決定することができる。GFP強度の閾値 (閾値はアッセイ開発の間に統計的に決定される) を満たすウェルは「ヒット」とみなされ、更に撮像されるよう選択される。対照ウェル (control well) もまた、ヒットのウェルとの比較のための基準ウェルとして、常に更に撮像される。3Dスフェロイドの共焦点撮像が、スフェロイド試料全体の2チャンネルzスタック画像セット (Hoescht 33342核マーカ及びGFPマーカ) を獲得するために実行することができる。Zスタックの最大投影の画像処理及び分析において、スフェロイドの細胞計数が決定されて、スフェロイドのサイズを定量化する。スフェロイド内の細胞死の有無を決定するために、画像中の核マスクの分布の目視検査が実行される。そして、ヒットのウェルの画像分析からの結果が対照と比較されて、対照に対する増加のパーセンテージを決定する。

30

【0255】

例示的なワークフローにおいては、3D腫瘍様体細胞毒性免疫応答アッセイ (免疫及び細胞毒性治療応答を決定するための手術試料からの3D腫瘍様体アッセイ) が実行される。このアッセイは、動物モデル又は患者由来の手術試料から取得された腫瘍様体を培養することを含む。これらの腫瘍様体は動物／患者由来であるため、in vitroで腫瘍由来の免疫細胞応答が評価されて、様々な治療に対する腫瘍応答の分析を可能としうる。このアッセイは、異種多細胞性腫瘍モデルを使用して、試料キャリア (例えばマイクロプレート) ベースのフォーマットで新規な治療の有効性を評価しうる。

40

【0256】

例えば腫瘍様体は、核の計数のために染色することができ (例えば青色)、免疫細胞マーカのために染色することができ (例えば赤色)。試料キャリア (例えばマイクロプレート) 読み取り器は、低い青色信号として示される高い細胞毒性を有するウェル、高い赤色信号として示される高い免疫応答を有するウェルを評価するために使用することができ

50

る。細胞毒性又は免疫応答についての一方又は両方の閾値基準（閾値はアッセイ開発の間に統計的に決定される）を満たすウェルは「ヒット」とみなされ、更に撮像されるよう選択される。対照ウェルもまた、ヒットのウェルと比較するために、常に更に撮像される。3D腫瘍様体の共焦点撮像が、腫瘍様体試料全体の2チャンネルZスタック画像セット（Hoescht 33342核マーケット及びCY5マーカ）を獲得するために実行される。Zスタックの最大投影に対して画像処理及び分析が実行され、腫瘍様体の細胞計数が実行されて細胞計数を定量化する。免疫応答については、赤色の陽性細胞の計数が決定される。ヒットのウェルの画像分析からの結果が対照と比較されて、対照に対する細胞毒性又は免疫応答のパーセンテージを決定する。

【0257】

以上の例のうちのいくつかは、「ヒットのピックアップ（hit picking）」としてアッセイを実行する単一の機器の能力を利用する。最初の迅速読み取りは、典型的には蛍光非撮像読み取り又は低倍率で実行される蛍光若しくは明視野の広視野撮像読み取りであってもよい高速読み取り方法を使用して、特に対象となる試料を識別する。ヒットと呼ばれる、対象となるウェルが識別されると、第2の、より時間のかかるモダリティが、特に対象となる結果を決定するために展開される。この処理は、最終的な結果が高解像度の共焦点撮像である場合に特に重要となり、この場合には、大容量のデータ記憶部が必要とされ、対象となるわずかな試料についてのみ膨大な量の情報を集めることがデータ記憶部のスペースの著しい節約を提供する。また、ほとんどの試料は「ヒット」ではなく、最初のアッセイステップの間に棄却されるため、この処理は、データ獲得及びデータ閲覧の間の処理時間も節約する。様々な異種の処理ステップを実行するための単一の統一されたデバイスが、分析を合理化しうる。

【0258】

スフェロイドの研究に対する、多様な機能を有する単一の機器の能力の他の応用も可能である。スフェロイドは典型的には、丸底ウェル中で増加させられる。多くの場合、最終的な撮像ステップについては、丸いウェル底が撮像の間にレンズのように機能し、これにより、不必要に光学収差を誘発し、その結果の画質に悪影響を及ぼすことを防ぐ目的のために、スフェロイドは平底プレートに移される。高品質の顕微鏡の対物レンズは、光路中のかかる「丸いウェル」の底のレンズのためには設計されていない。最良の画質のために、別のウェル、皿、又はプレートに移した後は、ウェル中のスフェロイドの正確な位置はもはや分からなくなる。好ましい実施形態においては、スフェロイド（対象となる領域）を位置特定し、見出されたスフェロイドの場所（対象となる領域）を光軸と一致させるようにウェルを位置決めするために、ウェルを撮像するための倍率は低いが視野が広い広視野撮像が実施されてもよく、次いで、より小さな視野を有する高い倍率の対物レンズを使用して、共焦点モダリティでスフェロイドを撮像し、対物レンズがウェル底面に垂直な対物レンズのフォーカス軸に沿って移動する間に複数の画像を収集することによって、Zスタックを実行する。スフェロイド（対象となる領域）は、蛍光読み取りエリアスキャンを実行し、最大蛍光信号ファースト撮像の領域を選択することによって、本機器の非撮像分析モダリティを使用することによって識別することができる。

【0259】

図14は、実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【0260】

図14に示されるように、多検出システムは、コントローラ1000、流体注入サブシステム1100、広視野撮像コンポーネント1200及び共焦点撮像コンポーネント1500を含む撮像サブシステム、非撮像分析サブシステム1300、広視野撮像のための撮像照明サブシステム1600、ハウジング1900、試料キャリア（マイクロプレート）300、試料キャリアのための搬送部（例えばマイクロプレート搬送部）310、ウェル200中の試料をインキュベートするためのインキュベーションチャンバ320、環境制御サブシステム2000、並びに共焦点撮像サブシステムを含む。多検出システムは、外部サブシステム2100も含むことができる。

【0261】

試料は、試料キャリア（例えばマイクロプレート）300のウェル200（例えばマイクロウェル）に入れられる。試料キャリア（例えばマイクロプレート）300は、試料キャリア（例えばマイクロプレート）搬送部310によって、測定インキュベーションチャンバ320の内外に移送される。多検出システムの外部環境に曝されるように配置されると、試料キャリア（例えばマイクロプレート）300は、技術者又はロボットアームによるアクセスのために、インキュベーションチャンバ320及び／又はハウジング1900の外側でアクセス可能となることができる。試料キャリア（例えばマイクロプレート）300がチャンバ内に配置されると、様々なサポートされている撮像及び非撮像分析モダリティを実行することができる。

10

【0262】

試料キャリア（例えばマイクロプレート）搬送部310は、試料キャリア（例えばマイクロプレート）300の位置操作のための試料キャリア（例えばマイクロプレート）移送サブシステムの一部であり、ベルト、プラットフォーム、試料キャリア（例えばマイクロプレート）ホルダ、モータ、及び位置操作のためのハードウェア制御下で実行される位置決めソフトウェアの任意の適切な組み合わせを含むことができる。試料キャリア（例えばマイクロプレート）300がインキュベーションチャンバ320内に配置されると、試料キャリア（例えばマイクロプレート）300全体がインキュベートされたままになる。インキュベーションシステム及びインキュベーションチャンバ320は、後に詳細に説明される。

20

【0263】

非撮像分析サブシステム1300は、フラッシュバルブ、二重励起モノクロメータ、及び二重発光モノクロメータ、光電子増倍管（PMT: photomultiplier tube）、並びにシリコン検出器を介した照明に基づくものとして行うことができる。非撮像分析サブシステム1300は、ウェル200中の試料の対応する特性の検出のための吸光、蛍光及び化学発光の分析モダリティをサポートする。非撮像分析サブシステム1300は、フィルタベースのサブシステムとして、又は以上のうちのいずれか又は全てのハイブリッドとして、実施することができる。

【0264】

撮像サブシステムは、対物レンズ、レンズ、LED、フィルタキューブ、スピンドиск、カメラ及び他のコンポーネント等の、広視野撮像コンポーネント1200及び共焦点撮像コンポーネント1500を含む。撮像照明サブシステム1600は、広視野撮像のための照明コンポーネントを含み、明視野、カラー明視野、及び位相コントラスト撮像モダリティのための照明を提供することが可能である。

30

【0265】

外部サブシステム2100は、本機器に対する外部サブシステム2100の物理的な配設に柔軟性を加えるために、光ファイバを介してハウジング1900内の撮像サブシステムにモジュール式に接続されうる、またかかる撮像システムからモジュール式に接続解除されうる、共焦点撮像のための外部共焦点照明サブシステムとすることができる。代替として、共焦点撮像照明サブシステムは、ハウジング1900内に一体化されるように配置することができる。

40

【0266】

流体注入サブシステム1100は、アッセイによって必要とされる場合、試薬をウェル200に注入する。流体注入サブシステム1100は、ポンプ、リザーバ、ライン又はチューブ、ピペット及びチップ、並びに、ウェルへと及びウェルから流体を送達、及び必要であれば吸引するためのハードウェア制御下で実行されるソフトウェアの、任意の組み合わせを含むことができる。

【0267】

ハウジング1900に対して外部に配設されて図示される環境制御サブシステム2000は、ハウジング1900の内部の大気条件の制御を提供する気体制御モジュールを含む

50

ことができる。他の制御モジュールは、環境制御サブシステム2000の制御下で、ハウジング1900内で制御することができる温度、湿度、及び他の条件の制御のためのモジュールを含むことができる。環境制御サブシステムは、ハウジング1900内の全ての条件を制御するためのポンプ、リザーバ、ライン又はチューブ、ファン、並びに加熱要素及び冷却要素等の、任意の組み合わせを含むことができる。ハウジング1900は、サブシステムの大部分を収容し、生細胞の助けとなる気体雰囲気環境制御サブシステム2000によって効果的に維持及び制御されうる物理的空間を画定する。

【0268】

コントローラ1000は、多検出システムの全ての動作を制御することができる。コントローラ1000は、多検出サブシステム中の様々なサブシステムのそれぞれと有線で又は無線で通信することができる。コントローラ1000は、多検出システムの動作を制御するためのハードウェア（例えばCPU、メモリ、ケーブル、コネクタ等）とハードウェアによる実行のためのソフトウェアとの任意の組み合わせを含むことができる。

【0269】

図15は、実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【0270】

多検出システムによって、いくつかの撮像モダリティが可能とされる。共焦点撮像モダリティに加えて、蛍光、明視野、及び位相コントラストにおける広視野撮像を実行することができる。共焦点撮像システム及び広視野撮像システムの両方の光学素子が、図15に示されている。

【0271】

対物レンズ1230の撮像光軸と一直線上に対象となるウェル200を位置決めする試料キャリア（例えばマイクロプレート搬送部）のための搬送部310上に、試料キャリア（例えばマイクロプレート）300を配設することができる。対物レンズは、対物レンズタレット1232上に配設された様々な倍率のいくつかの対物レンズの中から選択することができる。撮像照明サブシステム1600の相対的な位置が、図15に示されており、撮像照明サブシステム1600は、試料に対する明視野、カラー明視野、及び位相コントラスト撮像のために使用することができる。多くの光学素子が、広視野システムと共焦点システムとの間で共有され、かかる部分の更に詳細な説明は、明瞭さのために図15のいくつかの要素が省略された図16及び図17において以下に提供される。

【0272】

図16は、実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

【0273】

図16に示されるように展開された共焦点撮像。広視野撮像サブシステム要素（例えばLEDキューブ1201及びフィルタキューブ1210）は、試料への光路から自動的に除去され、図15に示されるシステムは、共焦点光路の理解のために、図16に示される共焦点光学系に変形される。

【0274】

スピンドиск共焦点システムは、共焦点撮像システムの例示的な実施形態として展開される。本システムは、スピンドиск（図18）、光路を利用することに基づいている。ディスクは、試料及び検出面と共役な中間像面に配設される。かくして、ディスクは励起光路及び発光光路の両方にある。ディスクは、一例示的な実施形態においては、典型的には約2mmの厚さであり、ガラス又は石英から作られている。ディスクは、ピンホール又はスリットのパターンとして残された透明なエリアを除いて、不透明となるように、又は所与の透明度若しくは不透明度を有するように、コーティングされたものとしてすることができる。理想的には、ディスク表面は、入射光を反射しないようにされる。撮像されるべき試料は、ピンホールを介して透過させられた励起光によって照明される。試料上のこれらの照明されたスポットから発生する、試料によって発せられる放射のみが、ディスクのピンホールを介して検出器に到達する。ピンホール又はスリットは多数あるが、光学的に独立して作用するように、互いから離隔されている。隣接するピンホールからのエネルギー

ーは、理想的には、所与のピンホールによって照明される試料スポットに影響を与えない。ディスクスポットパターンは、図18に示されるように、典型的にはいくつかの螺旋で配置される。ディスクは、連続的にスピンするように制御され、かくして試料をスキャンすることができる。ディスクが回転すると、試料は一度に1つのスポットを照明され、試料の完全な画像としての再構築のために、完全な試料画像が検出器上で検出される。

【0275】

図16に戻ると、共焦点光源1540は、共焦点顕微鏡法に適した任意の光源とすることができる。例えば、共焦点光源1540は、発光ダイオード(LED)又は固体レーザ若しくは半導体ベースのレーザ(レーザダイオード)等の、固体光源とすることができる。例示的な実施形態においては、光ファイバの出力側先端は、光(放射)源とすることができる。励起スペクトルが一般に光と呼ばれる380nm~630nmの範囲の外となるため、放射が実施形態としてとられる。しかしながら、「光源」という用語は、撮像においてより一般に使用され、本明細書では光という用語は放射と交換可能に使用される。ファイバの入力側先端は、本機器の外部にある光源モジュールから照明、すなわち、光を当てられてもよく、試料撮像ニーズに最良の光源マッチングを選択する際の柔軟性を実現する。ファイバはまた、複数の外部光源からの入射を分岐させる柔軟性を実現する。ファイバの出力側先端は、コンデンサ1522によって、スピンドиск1504が位置する中間試料画像面上又はその近くに結像される。ファイバからの光は、励起フィルタ1531を通して送られ、次いでダイクロイックミラー(dichroic mirror)1533から反射され、チューブレンズ1520によってスピンドиск1504上に合焦させられるものとしてすることができる。ここで及び本明細書全体を通して、「レンズ」という用語は、当業者によって理解されるように、実施形態及び機能に依存して、単一のレンズ又はレンズの群を指すことができる。議論されたように、ディスクは、螺旋パターンのスリットの穴を有する。フィールドレンズ1519は、光の損失を最小化し、ディスクを出た光をチューブレンズ1250によって集められるように導く。チューブレンズ1250は、励起放射をミラー1220を介して対物レンズ1230へと導く。対物レンズ1230は、ウェルの底部の近くの試料上の小さなスポットを照明する。試料成分は、励起波長に対応する色素で染色されている。これらの成分は、入射する放射で励起され、典型的にはより長い波長を有する放射を発する。この発せられる光は、以下のように検出器に導かれる。

【0276】

試料によって発せられた光は、対物レンズ1230によってコリメートされ、ミラー1220によって反射させられ、チューブレンズ1250及びフィールドレンズ1519によってスピンドиск1504上に集められる。発せられた光における試料の中間像が、スピンドиск1504の表面に形成される。チューブレンズ1520及びレンズ1521はその像を反転させ、検出器1560において試料画像を形成する。検出器1560は典型的には、荷電結合素子(CCD: charge couple device)カメラ又は相補型金属酸化膜半導体(CMOS: complimentary metal-oxide semi-conductor)カメラ等の、画素化されたデジタルカメラである。試料画像は、カメラによって捕捉され、多検出システムのメモリ又は外部コンピューティングシステムに記憶することができ、様々な特性について増強及び分析されてもよく、及び／又は視覚ディスプレイ上でユーザに対して提示されてもよい。

【0277】

チューブレンズ1520とレンズ1521との間に共焦点キューブ1530(例えば共焦点励起／ダイクロイックミラー／発光キューブ)が図示されており、これは蛍光顕微鏡法のための構成である。フィルタ及びダイクロイックは、ガラス上の薄膜コーティングとすることができる。励起フィルタ1531は、励起のためのバンドパスを形成し、発光フィルタ1532は、発光のためのバンドパスを形成し、ダイクロイックミラー1533は、利用可能なエネルギーを完全に使用するために励起と発光とを分離し、励起光がディスク表面を含む試料に向かって進む際に、検出器に到達する、複数の光学表面から反射させられる励起光の大きさを抑制する。レンズ1521(例えば発光フィルタ)は、励起光抑

制の大部分を提供するが、ダイクロイックミラー1533もまた、抑制の役割を果たす。説明されたキューブの代替的な構成は、励起フィルタ、発光フィルタ及びダイクロイックを担持するいくつかのフィルタホイールでありえる。例示される実施形態においては、キューブは、撮像ニーズが変化したときにユーザによる非常に容易な交換を可能にする、説明された要素を配置する一方法である。いくつかのフィルタキューブ（例えば共焦点キューブ1530）は、電動スライダ上に配置されてもよく、ユーザによって実行されるソフトウェアにおける設定によって識別されるか、又はバーコード若しくは何らかの他の自動的な利用可能な方法を介して自動的に読み取られるコードを用いて電子的に又は光学的にラベル付けされてもよい。

【0278】

スピンドディスクの表面は、試料と共に検出器に結像される。したがって、ディスク表面に付着した埃粒子が、ディスクの回転による明るい光の筋のような、画像におけるアーティファクトとして現れうる。小さな粒子は、遠心力に抗する十分な力でディスク表面に容易に付着しうる。スピンドディスク1504及びディスク駆動モータ1509は、ディスクモジュール1553の一部である。モジュール中のディスクは典型的には、クリーンルームのようなクリーンな環境で組み立てられ、ディスク上に埃粒子が積もるのを防止するために周囲環境から封止されている。モジュール中の窓1551と1550は、光が通過することを可能にするが、埃は通さない。理想的には、これらの埃防止窓は、窓ガラス上に積もりうる埃が画像におけるアーティファクトに帰着しないように、中間像面から可能な限り遠くに配設されるべきである。ディスクは、ディスクモジュール1502及び1553内に完全に収容されている。したがって、ユーザは、ディスクに埃の粒子を導入すること避けるために、モジュールを開けるべきではない。

【0279】

図16は、多検出機器に搭載された2つのディスクモジュール1553及び1502を示す。ディスクは、一方のディスク又は別のディスクを光路中へと位置決めするように移動させられうる。代替として、両方のディスクが、光路及び光軸に沿って配設された空間1501の外に移動させられてもよい。このことは、蛍光撮像、明視野撮像、又は位相コントラスト撮像等の広視野撮像モダリティが実行されることを可能にする。

【0280】

同じ機器において共焦点及び広視野の両方の撮像選択肢をユーザに可能にするものの大きな利点は、例えば広視野画像及び共焦点撮像モダリティでの同じ画像等の、様々な撮像モダリティの画像を重ね合わせることができることである。代替として、明視野画像を利用して対象となる領域を位置特定し、次いで共焦点撮像することもできる。この構成が適切に画像を取得するためには、両方のモダリティの倍率が正確に一致するべきであり、そうでなければ画像が適切に重ね合わせされない。チューブレンズ1520とチューブレンズ1250との間の部分における光は、平行ではない。共焦点モダリティにおいては、この部分における光路において、共焦点ディスク及び埃防止窓といったいくつかの平坦な窓が存在する。広視野モダリティにおいては、これらの窓の必要性はない。しかしながら、非平行光路の光路長を一致させるために、広視野撮像が行われる共焦点ディスク間の空間1501に、ガラス1505が追加される。このことは、画像モダリティが変更されても、固定された対物レンズの位置に対して試料のフォーカスが合ったままであることを保証する。このことは、共焦点撮像モードと広視野撮像モードとで倍率が一致することを保証する。ガラス1505の厚さは、共焦点撮像において使用されるディスクの平坦な窓（窓1551、スピンドディスク1504、及び窓1550）の合計に一致するべきである。ガラス1505は、ガラス上に積もりうる埃が画像におけるアーティファクトに帰着しないように、中間像面から可能な限り遠くに配設されるべきである。

【0281】

共焦点ディスク上のピンホールのサイズは理想的には、撮像対物レンズ1230のパラメータに基づいて選択される。実施形態においては、試料上に作られるディスクのピンホールの像のサイズは、対物レンズのエアリー回折パターン（Airy diffraction patter

10

20

30

40

50

n) の最初の 2 つの極小の間の距離に一致させることができる。Zeiss 社による「Introduction to Spinning disk microscopy」において与えられているディスクのピンホールのサイズについての式は、以下の通りである。

ディスクのピンホールの直径 = $1.2 \times \text{対物レンズの倍率} \times \text{発光波長} / \text{対物レンズの開口数}$

【0282】

対物レンズの開口数 (NA: numerical aperture) 及び倍率の両方が、この式の一部となっている。ピンホールが小さすぎる場合、過度の光が失われ、画像を撮影するための時間が長くなる。ピンホールが大きすぎる場合には、共焦点効果が低減させられるか又は完全に失われうる。ほとんどの市販のスピンディスク顕微鏡は、 $50\text{ }\mu\text{m} \sim 70\text{ }\mu\text{m}$ の範囲内のピンホールを有する交換不可能なスピンディスクを採用している。このことは、共焦点顕微鏡法で典型的に展開される高倍率対物レンズとの妥協点として、十分に良好に機能する。しかしながら、適切なピンホールを有するディスクが、使用される対物レンズに合致させられうるのが好ましい。

【0283】

いくつかのスピンディスクは、螺旋パターンの丸い穴を持たず、代わりにスリット開口を採用している。スリット開口は、試料の比較的明るい照明、及びより強い発光信号を提供することができ、一方、ピンホール開口は、比較的良好的な軸方向の解像度を提供することができる。それゆえ、生物学的蛍光用途を含むいくつかの撮像用途については、画像獲得時間を短縮することが可能となるようにスリットが好ましいものとなりえて、このことが固定対物レンズであってもディスクを変更する別の理由である。

【0284】

複数のディスクが撮像機器に展開されるものとしてすることができ、ディスクの中からの選択を、ユーザによって又は自動的に多検出システムによって、実行することができる。

【0285】

図 16 は、多検出機器において使用される 2 つのディスクモジュール 1502、1553 の例を示す。全てのディスクモジュールは、ユーザによって交換されるように構成されてもよい。モジュールは、多検出システムによる自動的な構成を可能とするために、ユーザによって制御されるソフトウェアにおける設定によって識別されてもよいし、又はバーコード又は何らかの他の利用可能な方法を介して自動的に読み取られるコードを用いて電子的に若しくは光学的にラベル付されてもよい。

【0286】

モジュール式ディスクモジュールによる更なる利点の 1 つは、ディスクモジュールが本機器から取り外され、両方の窓が容易にアクセス可能であるときに、ユーザが窓 1551 及び 1550 を清掃することができることであり、このことは埃の防止を提供することができる。

【0287】

モジュールの識別は、自動化されたソフトウェアの設定、並びに光路中のモジュールの軸方向位置の自動的なリセット及び較正を可能とする。スピンディスク共焦点撮像器においては、ディスク表面の面、検出器感知素子面、及び試料面は、互いに共役であるべきである。このことは、試料からの放出光線を追跡する場合、試料面の画像がディスク面と一致し、ディスク面及び試料面の画像が検出器面と一致することを意味する。検出器 1560 の感応チップ面は、カメラの設計によって固定されている。対物レンズ 1230 は、検出器上の試料画像を鮮明化するために、焦点軸に沿って移動させられうる。このとき、ディスクは理想的には、3 つの平面全てが共役となるように、検出器面及び中間試料画像面の両方と共役な中間面に配設されるべきである。提案される実施形態においては、ディスクモジュール設計によって、ディスクの軸方向位置は理想的な共役位置に非常に近い位置に保持されるが、ディスク表面の最終的な位置は、検出器上のディスクパターンを観察し、このパターンを検出器上で鮮明に合焦させることによって、自動的に調節されてもよい。複数の画像ベースの合焦方法が利用可能であり、本業界においてよく知られている。最

適なディスク表面の位置が見出されると、この位置がソフトウェア及びメモリに記憶され、ディスクモジュールと関連付けられてもよい。ディスクモジュールが取り外されて再搭載された場合、正しいディスク位置がソフトウェアによって自動的に復元されてもよい。新たなディスクモジュールが導入された場合、代替としてシステムがディスク合焦ルーチンを実行し、新たなディスクモジュールのための最適な軸方向位置を選択することとなる。ユーザはかくして、どのディスクモジュールが本機器中に展開されているのか、及びその様々な位置決めを追跡し続けることから解放されうる。

【0288】

代替として、ディスクモジュールを数個のみ利用することが想定されている場合には、ユーザは、多検出システムに含まれるソフトウェアのユーザインタフェースの較正部分における設定画面を介して、ディスクモジュールを設定してもよい。

10

【0289】

ユーザによる交換が可能なディスクモジュール及び自動化された軸方向ディスク位置決めという2つの概念は、連動して機能するのが最良であるが、別々に実施することもできる。自動化された軸方向ディスク位置決めが利用可能でない場合、ディスクモジュールは、ディスク位置、及び本機器中での適切な配設を保証するモジュール上の何らかの基準に対して、交換可能となるように構成することができる。ユーザが開ける必要がなく、したがって環境にさらされない、容易に交換可能なディスクモジュールの概念は、依然として適用可能であり、展開された撮像対物レンズ及び試料に最適な複数のディスクの柔軟性を望むユーザに利益をもたらさう。

20

【0290】

ディスクモジュールが本機器中で1つ又は2つに制限されている場合であっても、検出器1560（カメラ等）における検出器イメージセンサ感応表面の場所を厳密に制御する必要性を緩和するために、自動的な軸方向調節が使用されてもよい。この場合、カメラの選択においてユーザに最大限の柔軟性を可能にし、また多検出システム内のカメラのアップグレードを可能にする。カメラ交換後にセンサ表面が動かされた場合、ディスク表面は画像ベースのオートフォーカスルーチンを介してセンサ表面と共役となるように自動的に再び位置付けされてもよい。

【0291】

図17は、実施形態による多検出システムを示すブロック図である。

30

【0292】

図17においては、例示的な実施形態において展開されている広視野撮像が示されている。以上に説明されたように、光学部分（15xxとラベル付けされた要素を有する）は、共焦点撮像（光路中にスピンディスク1504又は1503を有する）及び広視野撮像（ディスク間の空間1501を介する）の両方を可能にする。しかしながら、研究者が単一の汎用的な機器において展開したいと欲しうる広視野モダリティに対しては、この光学系及び共焦点光源1540並びに共焦点キューブ1530を使用することには欠点がありえる。共焦点撮像については、励起放射は、ディスク表面に先立ち位置決めされた複数の光学素子（例えばダイクロイックミラー1533、チューブレンズ1520、窓1551）を介して、ディスク上へと向けられるべきである。ディスクの後、励起放射は、より多くの光学素子（例えば窓1550、フィールドレンズ1519、チューブレンズ1250、ミラー1220、対物レンズ1230）を介して試料に導かれる。共焦点撮像については、この方式に選択の余地はない。しかしながら、遭遇されるいずれの表面上でも、励起光の一部は反射される。このとき好適な設計は、反射光が可能な限り検出器から離れたままとされることを確実にするための注意深い光線追跡（ray tracing）と、望ましくない反射光を抑制するための発光フィルタ1532とに依存する。チューブレンズ1520及び窓1551のようなディスク表面に先立つ光学素子、及びスピンディスク1504表面は、部分的に反射させられる非常に強いレベルの励起放射にさらされる。また、いずれかの埃粒子が励起されて、蛍光を発することともなりうる。設計者の最善の意図にもかかわらず、光の一部は検出器に入射し、信号対ノイズ比を低下させる。したがって、画像上

40

50

では非常に暗く見えるはずの蛍光を発しない試料が、あまり暗く見えないこととなりうる。このことは、反射光による目立つ背景信号によるものでありえて、その影響は画像全体にわたって一様になる傾向がある。図 16 において以上に説明された共焦点部分励起素子を使用する広視野顕微鏡法については、画質とシステム能力とに著しい妥協が伴うこととなりうる。

【0293】

例示的な実施形態においては、広視野蛍光撮像のために使用されうる代替のサブシステムが、同じ機器中に備えられる。共焦点サブシステムの共焦点キューブ 1530 が経路外に位置決めされ、スピンドISKモジュールが広視野撮像のための空間 1501 に位置決めされる。このことは、図 15 の構成を図 17 の構成に変形させる。専用の広視野部分要素は、LED キューブ 1201、及び広視野励起／発光／ダイクロイック撮像フィルタキューブ 1210 である。励起フィルタ 1211、ダイクロイックミラー 1212、及び発光フィルタ 1213 は、最良の信号対ノイズ性能のために、典型的には LED キューブ 1201 と合致させられることとなるフィルタキューブ中に装着される。調査される特定の化学的性質に対応するこれらのキューブの対のうちのいくつかは、スライダ上に備えられてもよい。

10

【0294】

この設計にはいくつかの利点がある。

【0295】

第 1 に、LED 励起光学系が試料に非常に近くなり、したがって励起光が試料に到達するまでに遭遇する光学表面が少なくなることである。かくして、検出器に到達しうるこれらの表面からの反射が大幅に低減させられ、画像中の信号対ノイズ比が改善される。

20

【0296】

第 2 に、共焦点光学路中で使用されるのに十分に強力ではないものでありえるが、図 17 に示されるように試料の近くに配設された場合には十分な励起を提供しうる、市販されている広範な LED が LED キューブ 1201 中に使用されることである。

【0297】

第 3 に、試料が UV 範囲で励起される必要がある場合に特に重要なことに、対物レンズの中には UV 対物レンズとしてレーティングされ、紫外光を透過し、UV によって励起されたときに非常に低い蛍光を呈するものがあることである。しかしながら、チューブレンズ等の、光学路の残りの部分についての、一般的に市販されている光学素子においては、UV 外光によって照射されたときに蛍光を発しないという保証はない。一般的な DAPI 核染色で染色された試料の広視野画像が必要とされる場合、共焦点光学路における一般的な手法は、約 400 nm の波長を使用して、かくして試料に加えて光学素子を強く励起することを回避することである。しかしながら、DAPI 染色励起のために理想的な波長である 360 nm から 400 nm に向けて励起を移すことは、発せられる光を大幅に低減させる。研究者は、より高い濃度の色素を試料に入れるか、又は検出器の利得を上げて、かくして撮像の信号対ノイズ比を低減させる必要があることとなる。理想的には、DAPI 染色された試料の励起は 360 nm で行われることとなるが、UV 励起光は蛍光を発することができる光学素子を通過しないこととなる。LED キューブ 1201 及びフィルタキューブ 1210 は、例示的な実施形態において、まさにかかる最適な選択肢を可能にする。UV 励起光は、蛍光を発しないように選択されうる対物レンズ 1230 のみに入射する。発せられた光は、共焦点路及び広視野路に共通する複数の光学素子を通して検出器に戻るが、発せられた光は可視スペクトル範囲内にあるため、光が遭遇する光学素子は、典型的には UV 光におけるレベルでは蛍光を発しない。

30

40

【0298】

図 17 は、非蛍光モダリティにおける広視野撮像のための撮像照明サブシステム 1600 の相対的な場所を示す。このシステムは、明視野、一度に 1 つずつ切り替え可能な 3 色 LED を有するカラー明視野、又は位相コントラスト対物レンズに合致させられうるリング開口を有する位相コントラスト照明システムであってもよい。

50

【0299】

撮像システムの追加的な実施形態及びコンポーネントは、PCT特許出願公開第2022120047号「Universal multi-detection system for microplates with confocal imaging」に更に説明されており、この特許文献は、引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする。かかるコンポーネントは、例えばレーザ点スキャン共焦点(LSC:laser point scanning confocal)モダリティ、レーザ点スキャン共焦点(LSC)システム、スピンドиск共焦点システム、及び広視野機能等を、単一のデバイスの中に含む。

【0300】

広視野撮像システムのコンポーネントは、例えば「Universal multidetection system for microplates」と題された米国特許第10,072,982号に更に説明されており、この特許文献は、引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする。

【0301】

本開示の実施形態による構成はまた、レーザ点スキャン共焦点システム、スピンドиск共焦点システム、及び広視野機能を、単一のデバイスに組み込むか又は含めることができ、以下に説明される。しかしながら、本開示の実施形態は、以上のシステム及び機能の任意の組み合わせを含むことができる。

【0302】

図19は、実施形態による共焦点ディスク撮像モジュールを示す図である。

【0303】

等速で数千RPMの高速回転が可能な、例示的な実施形態におけるDCブラシレスモータであるディスク駆動モータ1509が、ハウジング基部1800に装着される。スピンドиск1504は、ハブ部品1820及び1830によってモータシャフト上に固定される。カバー1810は、ディスクのための埃のない環境を完成させるように、ハウジング基部1800に装着される。ユーザがディスクにアクセスすることはできない。光学窓1550及び1551は、そこを光が通過することを可能にしつつ、モジュールの内部を埃のない状態に保つ。窓上の埃が画像に影響を与えることを回避するために、全体の空間の制約の範囲内で、両方の窓をディスク面から可能な限り離しておくことは、撮像の観点から有利である。ディスクモジュールは、バーコードラベル、単純なバイナリコードラベル、又は何らかの他の機器読み取り可能な手段を介して識別されうるため、多検出システムは、或る時点においてどのディスクモジュールが存在し利用可能であるかを自動的に識別しうる。

【0304】

図18を参照すると、ディスク速度と共焦点画像の露光時間とを密接に相関させる必要がある。図10に見られるように、ディスクには複数の螺旋が備えられており、ディスクが回転すると、試料はピンホールのパターンによって掃引される。試料を順次、しかし完全に、一度照明するために必要とされる、ディスク回転の最低限の角度がある。多くの市販のディスク、及び例示的な実施形態のディスクについては、この角度は30度である。露光時間が、ディスクを30度動かすための時間の倍数でない場合、縞状の何らかのアーティファクトが画像に見られるようになる。このことは、本業界でよく知られた問題である。例示的な実施形態においては、ディスクの回転速度は2400rpmに設定され、露光時間は1回の全回転の倍数(例えば25ms、50ms、75ms等)に設定される。この手法は、画質と画像を撮影するための最短時間との好適な妥協点に帰着する。また、全回転時間露光増分を使用するこの手法は、ディスクの螺旋パターンとディスクの回転軸との間の潜在的な非同心性によって引き起こされる画像アーティファクトを最小化することに帰着した。

【0305】

図20は、実施形態によるディスク交換機構及びディスク合焦機構を示す。

【0306】

図 20 を参照すると、ディスク交換機構及びディスク合焦機構は、例示的な実施形態において実施することができる。しかしながら、ディスク交換機構及びディスク合焦機構の構成は、これに限定されるものではない。

【0307】

基部 1701 は、本機構の全ての要素を支持する。I K O 又は H T K ガイドシステムの一部のような直線路レール 1705 が、基部 1701 に取り付けられている。直線路の台車 1706 は、ブラケット 1710 を支持する。ブラケット 1710 は、光軸に垂直な方向に、タイミングベルト 1717 を介してモータ 1715 によって平行移動させられる。この動きは、ディスクモジュール 1502 若しくはディスクモジュール 1553 又は空間 1501 のいずれかが、撮像光軸と位置合わせされて位置決めされることを可能にする。他の機械的実装も可能であるが、タイミングベルトの主な利点は、この特定の方法で達成可能な交換の速度である。軸ホーミングセンサ及び／又はとりうるエンコードは、明確さのために図示されていない。

10

【0308】

また、ブラケット 1710 は、直線路レール 1720 及びモータ 1725 を担持する。例示的な実施形態においては、モータシャフトは、リードスクリュウの形状をしている。リードナット 1727 を介したモータは、直線路台車 1721 に取り付けられた支持体 1730 を光軸方向に平行移動させて、共焦点ディスクのための軸方向の合焦を提供する。軸ホーミングセンサ及び／又は考えられるエンコード化は、明確さのために図示されていない。

20

【0309】

ディスクモジュールは、支持体 1730 に直接的に取り付けられてもよく、ユーザによってアクセスされてもよい。この取り付けは、締結具を介したものであってもよいし、又は容易な取り外しのために磁石を介したものであってもよい。代替として、ディスクモジュールは、ガイド 1732 に取り付けられてもよく、また、ガイド 1732 は、ユーザによる本機器からの容易な取り外しのために、滑り嵌め (slip fit) して支持体 1730 に固定されてもよい。

【0310】

当業者には理解されるように、ディスクモジュールへのアクセス、位置決め、及びディスクの合焦の機能を達成するために、他の機構が展開されてもよい。

30

【0311】

図 21 は、実施形態による非撮像分析サブシステムの図である。

【0312】

図 21 を参照すると、多検出システムの非撮像分析サブシステム 1300 が提供されている。

【0313】

非撮像分析サブシステム 1300 の分析モダリティは、吸光度、上下からの蛍光性、及び化学発光とすることができる。X e フラッシュバルブ 13001 は、200 nm ~ 1000 nm の範囲内の放射を発する。蛍光励起／吸光デュアルモノクロメータの 2 つのステージ 13002 及び 13003 は、放射の狭いバンドパスを選択する。放射は、光ファイバケーブルによって、ファイバ 13030 を介した吸光チャンネル、13005 を介した上部蛍光、又は 13033 を介した下部蛍光のいずれかへと、試料に向けて導かれる。1 本のファイバのみが一度に作用するので、様々な分析モードの間での光のクロストークはない。吸光度は、レンズ 13040 及び 13050 を介してシリコン検出器 13060 によって測定される。

40

【0314】

上部の蛍光励起及び発光のピックアップは、レンズ 13020 を介して行われ、レンズ 13020 は、様々な試料キャリア (例えばマイクロプレート) 及び流体レベルに対応するために上下に動くことができる。下部の蛍光は、レンズ 13055 で同様に行われる。上部及び下部の発光の両方が、光ファイバケーブルによって、発光デュアルモノクロメー

50

タ 1 3 0 1 0 及び 1 3 0 1 1 の第 1 のステージに導かれ、次いで光電子増倍管 1 3 0 1 2 に導かれる。化学発光ファイバ (chemiluminescence fiber) 1 3 0 2 1 は、モノクロメータをバイパスすることを介して非常に微弱な光に対する測定を提供するために、光電子増倍管に直接的に接続されてもよい。

【 0 3 1 5 】

流体注入サブシステム 1 1 0 0 は、流体ライン 1 1 1 2 及び 1 1 1 1 を介して試薬を注入し、分析サブシステムによって注入の結果を迅速に測定する能力を研究者に提供し、本機器において実行されうる試験の範囲を更に拡大しうる。

【 0 3 1 6 】

図 2 2 は、実施形態による注入サブシステムを示す図である。

10

【 0 3 1 7 】

図 2 2 を参照すると、任意選択の注入サブシステムが提供されている。注入サブシステム 1 1 0 0 は、図 2 3 に示されるように、多検出機器の上部に配設されてもよく、流体ライン 1 1 1 2 及び 1 1 1 1 は、ハウジングの上部における隔壁アクセスを通して供給される。試薬は、図 2 2 に示されるように、PTFE ラインであってもよい流体ライン 1 1 1 1 及び 1 1 1 2 を介して、流体注入サブシステム 1 1 0 0 中のポンプによってマイクロウェルに送達され、注入針 1 1 0 2 及び 1 1 0 1 を介してウェルに送達される。

【 0 3 1 8 】

図 2 1 を参照すると、環境制御を多検出システムに展開することができる。

【 0 3 1 9 】

20

図 2 1 に示されるように、試料キャリアのための搬送部 3 1 0 (例えばマイクロプレート搬送部) は、試料キャリア (例えばマイクロプレート) 3 0 0 を支持し、インキュベーションチャンバ 3 2 0 の中に位置している。このことは、試料キャリア (例えばマイクロプレート) 3 0 0 が、インキュベーションチャンバ 3 2 0 中の試料キャリア (例えばマイクロプレート搬送部) 3 1 0 の全ての位置において、所望の温度に維持されることを保証する。インキュベーションチャンバ 3 2 0 は、小さな開口部を介して光学素子へのアクセスを依然として提供しながらも、連続アルミニウムシートのような、一定の温度を維持するのに適した材料で構築されてもよい。インキュベーションチャンバ 3 2 0 は、典型的には断熱されている。かかるチャンバの設計は、当業者に対しては、多くの多検出機器から知られたものであろう。一般の制御される温度範囲は、室温 ~ 6 5 C までとすることができる。

30

【 0 3 2 0 】

図 2 3 は、実施形態による多検出システムを示す図である。

【 0 3 2 1 】

生細胞については、温度は典型的には 3 7 C であるが、これに加えて試料の周りの気体の制御が必要とされる。この制御は、図 2 3 の機器のハウジング 1 9 1 0 全体を適切な気体混合物で満たすことによって達成される。この設計は、気体制御された環境を測定チャンバ又は分離パーティションのみに封じ込めようと試みることを回避する。この設計の目的は、ハウジング 1 9 1 0 内の雰囲気均等化することを可能にすることである。したがって、ハウジング 1 9 1 0 の設計は、ハウジング中の間隙を回避し、ユーザアクセス扉の周りに軟質のガスケット材料を使用することによって、可能な限り気密性の高いものとされる。

40

【 0 3 2 2 】

図 2 4 A ~ 図 2 4 C は、実施形態による気体制御サブシステムを示す図である。

【 0 3 2 3 】

図 2 4 A ~ 図 2 4 C を参照すると、環境制御サブシステム 2 0 0 0 (例えば気体制御サブシステム) は、本機器の外部に配置することができる。環境制御サブシステム 2 0 0 0 は、ユーザが、チャンバ内の CO₂ 及び / 又は O₂ 濃度レベルを、通常の雰囲気とは異なる、より高い CO₂ 及びより低い O₂ に設定することを可能にする。気体のサンプリングラインは、環境制御サブシステム 2 0 0 0 を、本機器のハウジングの内部に接続している

50

。サンプリングラインを介して本機器からサンプリング又は抽出された気体の組成に基づいて、制御システムは、例えば小型ファンを用いて分散させられる流入気体によって、本機器に供給されるCO₂又はN₂気体の流量を調節することができる。このことは、全ての気体センサ及び弁の、主機器の外部での配設を可能にし、外部の気体コントローラ内の気体制御の複雑さ及び信頼性を保つ。

【0324】

XY搬送部移動ゾーンの周りのインキュベーションチャンバと、ハウジングの内部の、したがって試料キャリア（例えばマイクロプレート）の周りの雰囲気の気体制御との組み合わせは、ユーザに長期の生細胞実験を実行する能力を提供する。

【0325】

図23を参照すると、例示的な実施形態において実施される機器全体及び本機器とのユーザインタラクションの対象となる要素の外観図が示されている。試料キャリアのための搬送部（例えばマイクロプレート搬送部）310は、それ自体をユーザに呈し（右側に図示されている）、マイクロプレート300は、例えばユーザ又はロボットアームによって試料キャリアのための搬送部（例えばマイクロプレート搬送部）310の上に置かれ、次いで、多検出システム内に位置決めされる。共焦点キューブ1530、広視野LEDキューブ1201、並びに広視野フィルタキューブ1210、共焦点ディスクモジュール及び対物レンズ1230へのアクセスは、扉1905を介して、本機器の前面を介する。かくして、ユーザがほとんどのユーザ交換可能な要素に一度にアクセスすることを容易化する。

【0326】

或る特定の実施形態によれば、本開示の対物レンズ（例えば対物レンズ1230又は対物レンズ2210）は、流体浸漬対物レンズ（fluid immersion objective）とすることができる。

【0327】

顕微鏡法における光学性能を向上させる一方法は、流体浸漬対物レンズを使用することである。光学顕微鏡法において、流体浸漬対物レンズは、顕微鏡の解像度を高めるために使用される、特別に設計された対物レンズである。本開示の実施形態によれば、光学系は倒立顕微鏡であり、対物レンズが試料の下に位置し、試料を下から見ることを意味する。本開示の倒立顕微鏡構成においては、流体浸漬を実行する場合、流体（例えば水又は他の流体）の滴が対物レンズ上に置かれ、流体の表面張力によって適所に保持される。次いで、対物レンズが試料に近づけられ、小滴が試料と対物レンズとの間に挟まれる。このようにして、試料へと及び試料から対物レンズまでを通過する光は、空気を通らない。空気よりも高い流体の屈折率は、増大した開口数に帰着する。このことは、解像度を高め、信号レベルを高める。実施形態によれば、対物レンズを試料に近づけることができ、次いで対物レンズ上に流体の滴を置く。

【0328】

水浸対物レンズに加えて、本開示の対物レンズに、開口数を高めるための他のタイプの流体を提供することもできる。流体のいくつかの例は、例えば油及びグリセロール（glycerol）を含む。本開示の実施形態においては、流体は、水、油、グリセロール、又は屈折率を増大させる何らかの他のタイプの流体とすることができる。

【0329】

図27A及び図27Bを参照しながら、本開示の実施形態による液浸対物レンズが以下に説明される。実施形態によれば、対物レンズ1330には、対物レンズ1330上にフィットするスリーブ（sleeve）1332を備えることができる。スリーブ1332は、スリーブ1332に入る及びスリーブ1332から出る流体経路を提供するように構成することができる。これに加えて、スリーブ1332は、流体の小滴33を適所に保持することを支援する。実施形態によれば、スリーブ1332は、流体をポンピングして送り込むためのポートと、流体をポンピングして送り出すためのポートとを有する。実施形態によれば、図27A及び図27Bに示されるように、入口ポートと出口ポートとは同じポー

10

20

30

40

50

ト 3 1 とすることができる。図 2 7 B を参照すると、液体の小滴の過剰部分 3 4 は、ポート 3 1 を通ってスリーブ 1 3 3 2 から出ることができる。例示的な実施形態においては、スリーブ 1 3 3 2 は、例えば陽極酸化アルミニウム、プラスチック、又は他の材料で形成されたものとするができる。

【0 3 3 0】

実施形態によれば、図 2 8 を参照すると、流体ポンプシステムを提供することができる。流体ポンプシステムは、第 1 のポンプ 1 3 3 6、第 2 のポンプ 1 3 3 7、第 1 のリザーバ 1 3 3 8（供給源リザーバ）、及び第 2 のリザーバ 1 3 3 9（廃棄物リザーバ）を含むことができ、流体は、第 1 のポンプ 1 3 3 6 によって、第 1 のリザーバ 1 3 3 8 から対物レンズ 1 3 3 0 のヘッドにポンピングすることができる。図 2 8 に示されるように、第 1 のポンプ 1 3 3 6 は、シリンジポンプとすることができる。流体は次いで、流体を第 2 のリザーバ 1 3 3 9 にポンピングする第 2 のポンプ 1 3 3 7 を介して、対物レンズ 1 3 3 0 から除去される。第 2 のポンプ 1 3 3 7 は、図 2 8 に示されるように、廃棄物ポンプと呼ぶこともでき、シリンジポンプ（syringe pump）とすることもできる。第 1 のポンプ 1 3 3 6 と第 2 のポンプ 1 3 3 7 とは、同じ又は類似する機能を達成する他のタイプのポンプとすることができる。スリーブ 1 3 3 2 は、対物レンズ 1 3 3 0 にフィットし、流体を対物レンズ 1 3 3 0 の上部に導き、流体の小滴を適所に保持することを支援することができる。スリーブ 1 3 3 2 はまた、流体がスリーブ 1 3 3 2 から除去されるように構成することができる廃棄物ポートを有することができる。対物レンズ 1 3 3 0 は、流体（例えば水）浸漬用途のために最適化された、特別に設計された対物レンズとすることができる。図 2 8 においては、第 1 のリザーバ 1 3 3 8 及び第 2 のリザーバ 1 3 3 9 は、それぞれ別個の供給源リザーバ及び廃棄物リザーバとして示されている。しかしながら、実施形態によれば、2 つの別個のリザーバの代わりに、単一のリザーバを備えることができ、流体が再利用されうる。これに加えて、ポンプは多目的のものとするができる。例えば BioTek C10 は、試薬を試料に分注するために使用することができる流体分注モジュールを有する。この同じ分注モジュールは、コストを低減させるように、追加的な目的（第 1 のポンプ 1 3 3 6 及び／又は第 2 のポンプ 1 3 3 7 の目的を含む）を有するように構成されてもよい。

【0 3 3 1】

図 2 8 を更に参照すると、対物レンズ 1 3 3 0 は、対物レンズ結合部 1 3 3 4 によって対物レンズタレット 1 2 3 2 に取り付けることができる。対物レンズ結合部 1 3 3 4 の説明は、図 2 9 を参照しながら以下に提供される。

【0 3 3 2】

図 2 9 に示されるように、対物レンズ結合部 1 3 3 4 は、対物レンズ 1 3 3 0 と対物レンズタレット 1 2 3 2 とを合わせて結合するように構成された運動学的接続部（kinematic connection）1 3 3 4 A 及び磁石 1 3 3 4 B を含むことができる。例えば、対物レンズ 1 3 3 0 は、運動学的接続部 1 3 3 4 A の第 1 の部分として、凸部又は凹部のうちの一方の少なくとも 1 つを備えることができ、対物レンズタレット 1 2 3 2 は、第 1 の部分に対応する運動学的接続部 1 3 3 4 A の第 2 の部分として、凸部又は凹部のうちの他方の少なくとも 1 つを含むことができる。磁石 1 3 3 4 B は、対物レンズ 1 3 3 0 及び対物レンズタレット 1 2 3 2 のうちの 1 つ以上を備えることができる。実施形態によれば、対物レンズ 1 3 3 0 及び対物レンズタレット 1 2 3 2 の両方に、互いに対応し、磁力を介して互いに接続するように構成された、磁石 1 3 3 4 B を備えることができる。他の実施形態においては、対物レンズ 1 3 3 0 及び対物レンズタレット 1 2 3 2 のうちの一方のみが、磁石 1 3 3 4 B を備えることができ、磁石 1 3 3 4 B は、対物レンズ 1 3 3 0 及び対物レンズタレット 1 2 3 2 のうちの他方に備えられた磁性材料（例えば金属）に接続するように構成することができる。

【0 3 3 3】

比較実施形態によれば、対物レンズは、対物レンズタレット（objective turret）に螺合することができる。しかしながら、対物レンズと共にスリーブ及びチューブを使用す

ることは、少なくともいくつかの実施形態においては、対物レンズを対物レンズタレットに螺合させることを困難にしえる。本開示の実施形態によれば、運動学的接続部 1 3 3 4 A 及び磁石 1 3 3 4 B を含む対物レンズ結合部 1 3 3 4 の使用が、スリーブ及びチューブを有する対物レンズが容易に設置されることを可能とする。

【0 3 3 4】

実施形態によれば、図 3 0 A ~ 図 3 3 C を参照すると、対物レンズ 1 3 3 0 及びスリーブ 1 3 3 2 は、様々な構成を有することができる。実施形態によれば、スリーブ 1 3 3 2 は、キャップとも呼ぶことができる。

【0 3 3 5】

図 2 9 は、実施形態による対物レンズ結合部を示す図であり、図 3 0 A は、第 1 の実施形態による液浸対物レンズを示す斜視図であり、図 3 0 B は、第 1 の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図であり、図 3 0 C は、図 3 0 B における線 A - A に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 1 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 0 D は、図 3 0 B における線 A - A に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 1 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 1 A は、第 2 の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図であり、図 3 1 B は、図 3 1 A における線 B - B に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 2 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 1 C は、図 3 1 A における線 B - B に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 2 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 2 A は、第 3 の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図であり、図 3 2 B は、図 3 2 A における線 C - C に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 3 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 2 C は、図 3 2 A における線 C - C に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 3 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 3 A は、第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示す上面図であり、図 3 3 B は、図 3 3 A における線 D - D に沿ってとられた第 1 の断面図であり、球状液体が備えられた状態の、第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示しており、図 3 3 C は、図 3 3 A における線 D - D に沿ってとられた第 2 の断面図であり、その上に試料キャリア（例えばマイクロプレート）が備えられた、第 4 の実施形態による液浸対物レンズを示している。

【0 3 3 6】

図 3 0 A ~ 図 3 3 C の以下の説明において、同じ又は類似する特徴は、同じ又は類似する参照符号が付与されている。明確さの目的のために、同じ又は類似する特徴の重複する説明は省略されうる。

【0 3 3 7】

図 3 0 A ~ 図 3 0 D を参照すると、スリーブ 1 3 3 2 A の上面（top surface）1 0 A は、対物レンズ 1 3 3 0 A のレンズの上面 1 1 A 同一平面をなすことができ、スリーブ 1 3 3 2 A は、対物レンズ 1 3 3 0 A にクランプするように構成することができる。

【0 3 3 8】

スリーブ 1 3 3 2 A は、例えば上部（upper portion）5 0 A、中間部 6 0 A、及び下部（lower portion）7 0 A を含むことができる。実施形態によれば、上部 5 0 A、中間部 6 0 A、及び下部 7 0 A は、単一の本体又は複数の本体を構成するように、互いと別個に又は一体的に備えることができる。実施形態によれば、上部 5 0 A、中間部 6 0 A、及び下部 7 0 A のうちの 2 つを、単一の本体を構成するように一体的に備えることができ、上部 5 0 A、中間部 6 0 A、及び下部 7 0 A のうちの他の 1 つを、他の 2 つに取り付けられるように構成された別個の本体として備えることができる。実施形態によれば、上部 5 0 A、中間部 6 0 A、及び／又は下部 7 0 A は、別個の本体に細分化することができ、及び／又は追加的な本体を備えることができる。実施形態によれば、上部 5 0 A、中間部 6 0 A、及び下部 7 0 A のうちの任意の数のものは、アルミニウムで形成することがで

きる。

【0339】

実施形態によれば、上部50A、中間部60A、及び下部70Aのうちの任意の数のは、対物レンズ1330Aの中心軸の周りに実質的に回転対称性を呈するように形成することができる。中心軸は例えば、対物レンズ1330Aの光軸とすることができる。

【0340】

中間部60Aは、下部70Aの上方に備えることができる。中間部60Aは、入口ポート62及び出口ポート63を含むことができる。流体は、流体ポンプシステム（例えば図28を参照）によって、入口ポート62を介してスリーブ1332Aにポンピングされ、出口ポート63を介してスリーブ1332Aからポンピングされてもよい。入口ポート62と出口ポート63とは、スリーブ1332Aの両側に、互いから離れて備えることができる。しかしながら、入口ポート62及び出口ポート63の位置は、かかる構成に限定されず、様々に変更することができる。実施形態によれば、入口ポート62及び出口ポート63は、単一のポートによって構成することができる。

【0341】

中間部60Aは、対物レンズ1330Aの輪郭に追従する先細部分（tapered portion）64Aを更に含むことができる。例えば先細部分64Aは、中間部60Aの外側部分から上向きかつ径方向内向きに延在するものとすることができる。先細部分64Aは、対物レンズ1330Aの中心軸の周りに実質的に回転対称性を呈するように形成することができる。実施形態によれば、先細部分64Aは、形状が対物レンズ1330Aの輪郭に追従する限り、先細以外の形状を有するものとすることができる。先細部分64Aの形状（例えば対物レンズ1330Aの輪郭に追従する逆「V」字型形状）は、液体の小滴90が液浸のために対物レンズ1330A上で所望の形状を有することを可能とする。実施形態によれば、先細部分64Aは、代替的に、突出部分と呼ぶこともできる。

【0342】

実施形態によれば、入口ポート62は、液体の小滴90のための液体を対物レンズ1330Aと先細部分64Aとの間の空間に供給するように構成等されるように、先細部分64Aを通して先細部分64Aの内側にまで延在する通路を含むことができる。

【0343】

上部50Aは、本体を含むことができる。例えば本体は、中間部60Aから上向きに延在する側壁（side wall）52Aと、側壁52Aから径方向内向きに延在する上壁（top wall）53Aとを含むことができる。側壁52Aと上壁53Aとは、実質的に互いから90度で延在することができる。しかしながら、角度はこれに限定されず、実施形態に従って様々に変更することができる。側壁52A及び上壁53Aを含む本体は、対物レンズ1330Aの中心軸の周りに実質的に回転対称性を呈するように形成することができる。

【0344】

溝84は、上部50A及び中間部60Aによって、これらの間に形成することができる。例えば、溝84は、上壁52の内部表面（inner surface）、側壁53の内部表面、及び先細部分64Aの外部表面（outer surface）によって画定することができる。実施形態によれば、溝84は、対物レンズ1330Aの中心軸の周りに実質的に回転対称性を呈するように形成することができる。溝84は、過剰量の液体を受容及び収容するように構成することができる。実施形態によれば、溝84は、溝84の中の過剰量の液体が、溝84と連通する出口ポート63の通路を介して、スリーブ1332Aから出るように、出口ポート63と連通することができる。

【0345】

図30C及び図30Dを参照すると、上壁53Aの少なくとも上方面（upper surface）は、対物レンズ1330Aのレンズの上面11Aと同一平面をなすスリーブ1332Aの上面10Aを構成するものとすることができる。実施形態によれば、先細部分64の上方面もまた、対物レンズ1330Aのレンズの上面11Aと同一平面をなすことができる。

10

20

30

40

50

【0346】

実施形態によれば、1つ以上のリング32を、スリーブ1332Aと対物レンズ1330Aとの間に備えることができる。例えば、リング32は、中間部60Aと対物レンズ1330Aとの間に備えることができる。リング32は、対物レンズ1330Aと先細部分64Aとの間で液体が受容される空間の底側を封止するように構成することができる。

【0347】

図30Dを参照すると、少なくとも1つのウェル82中に試料を保持する試料キャリア（例えばマイクロプレート）80を、スリーブ1332A及び対物レンズ1330Aの直上に備えることができる。対物レンズのレンズ上の液体の小滴90は、ウェル82の直下の位置において、試料キャリア（例えばマイクロプレート）80の底面（bottom surface）と接触することができる。試料キャリア（例えばマイクロプレート）80は、例えば本開示に説明される試料キャリア（例えばマイクロプレート）300、又は他の試料キャリア（例えばマイクロプレート）に対応するものとしてすることができる。

10

【0348】

図31A～図31Cを参照すると、スリーブ1332Bの上面10Bは、対物レンズ1330Bのレンズの上面11Bの上方にあるものとしてことができ、スリーブ1332Bは、対物レンズ1330Bにクランプするように構成することができる。

【0349】

スリーブ1332Bは、例えば上部50B、中間部60B、及び下部70Bを含むことができる。

20

【0350】

中間部60Bは、先細部分64Bを含むことができ、上部50Bは、側壁52B及び上壁53Bを含む本体を含むことができる。上壁53Bの少なくとも上方面は、対物レンズ1330Bのレンズの上面11Bの上方にあるスリーブ1332Bの上面10Bを構成するものとしてすることができる。実施形態によれば、先細部分64Bの上面もまた、対物レンズ1330Bのレンズの上面11Bの上方にあり、上壁53Bの上面と同一平面をなすことができる。

【0351】

図32A～図32Cを参照すると、スリーブ1332Cの上面10Cは、対物レンズ1330Cのレンズの上面11Cの下方にあるものとしてことができ、スリーブ1332Cは、対物レンズ1330Cにクランプするように構成することができる。

30

【0352】

スリーブ1332Cは、例えば上部50C、中間部60C、及び下部70Cを含むことができる。

【0353】

中間部60Cは、先細部分64Cを含むことができ、上部50Cは、側壁52C及び上壁53Cを含む本体を含むことができる。上壁53Cの少なくとも上方面は、対物レンズ1330Cのレンズの上面11Cの下方にあるスリーブ1332Cの上面10Cを構成するものとしてすることができる。実施形態によれば、先細部分64Cの上面もまた、対物レンズ1330Cのレンズの上面11Cの下方にあり、上壁53Cの上面と同一平面をなすことができる。

40

【0354】

図33A～図33Cを参照すると、スリーブ1332Dの上面10Dは、対物レンズ1330Dのレンズの上面11Dと面一としてことができ、スリーブ1332Dは、対物レンズ1330Dに螺合するように構成することができる。

【0355】

実施形態によれば、スリーブ1332Dの内部表面及び対物レンズ1330Dの外部表面は、スリーブ1332D及び対物レンズ1330Dのうちの少なくとも一方の回転運動によって、スリーブ1332D及び対物レンズ1330Dがそれぞれに取り付けられ、そ

50

れぞれから取り外されうるように、互いに対応して係合するねじ山を含むことができる。

【0356】

スリーブ1332Dは、例えば第1の部分60D及び第2の部分50Dを含むことができる。

【0357】

第1の部分60Dは、先細部分64Dを含むことができ、第2の部分50Dは、側壁52C及び上壁53Cを含む本体を含むことができる。上壁53Dの少なくとも上方面は、対物レンズ1330Dのレンズの上面11Dと同一平面をなすスリーブ1332Dの上面10Dを構成するものとすることができる。実施形態によれば、先細部分64Dの上面もまた、対物レンズ1330Dのレンズの上面11Dと同一平面をなすことができる。

10

【0358】

実施形態によれば、第1の部分60Dの内部表面は、ねじ山を含むことができる。

【0359】

実施形態によれば、スリーブ1332Dの上面10Dは、対物レンズ1330Dのレンズの上面11Dの上方又は下方にあるものとすることができる。例えば、上壁53Dの上面は、対物レンズ1330Dのレンズの上面11Dの上方又は下方にあるものとすることができ、先細部分64Dの上面は、上壁53Dの上面と同一平面をなすことができる。

【0360】

本開示の実施形態によれば、共焦点顕微鏡法の様々な実施形態を、代替として又は追加的に提供することができる。例えば、レーザ点スキャン共焦点システムを提供することができる。レーザ点スキャン共焦点顕微鏡法は、小さな開口（ピンホール（pinhole））を通してレーザ光の単一の点を合焦させ、ジグザグパターンで点毎に試料を順次スキャンすることを含むことができる。試料は蛍光を発し、光が光学系を通して送り戻される。この光は次いで、光電子増倍管（PMT）とすることができる検出器によって点毎に読み取ることができるが、他の光測定センサを使用して検出されてもよい。センサからの信号は点毎に記録することができ、各点が画像中の単一の画素を構成するものとすることができる。レーザ点スキャンシステムには、スピンドISK共焦点システムに比した利点及び欠点がある。レーザ点スキャンシステムは、典型的にはスピンドISK共焦点よりも低速であり、したがって多くの場合、高スループット用途又は生細胞画像には適していなかった。他方、レーザ点スキャン共焦点システムは、試料の深くまで進入し、より優れた軸方向及び横方向の解像度を提供する。近年、レーザ点スキャンシステムに速度を増大させる改善が加えられており、依然として向上した深さ方向の進入を提供しつつ、スピンドISKの速度に匹敵するようになりつつある。レーザ点スキャン共焦点システムの速度は、システムのスキャンミラーを駆動するモータのスキャン速度によって制限される。

20

30

【0361】

実施形態によれば、本開示の共焦点サブシステムは、レーザ点スキャン共焦点とスピンドISK共焦点の両方を含むことができる。スピンドISK共焦点システムは、生体試料撮像及び高スループット用途のために使用することができ、一方、レーザ点スキャン共焦点システムは、向上した解像度で試料により深く進入するために使用することができる。広視野撮像又は他の測定モダリティを使用して「ヒット」を提供するやり方と同様に、本開示の実施形態は、3D試料を迅速にスキャンし、いくつかの対象となる点の場所を特定するために、スピンドISK共焦点を実装することができる。次いで、レーザ点スキャンシステムを、対象となるエリアのより詳細な画像を撮影するために使用することができる。レーザ点スキャン共焦点システム及びスピンドISKシステムはいずれも、2つの別個の機器として市販されている。しかしながら、かかる態様で2つの別個の機器を使用することには、いくつかの問題がある。ひとつは、スピンドISK及びレーザ共焦点顕微鏡の両方のコストが、以上に説明されたようなワークフローを導入することを非現実的なものとする。これに加えて、対象となる領域をもう一方の顕微鏡に再度位置付ける技術的問題もある。レーザ点スキャン共焦点システム及びスピンドISKシステムの両方が同じ機器に実装されることにより、「ヒット」が見出され、ステージを動かすことなく光学系を

40

50

切り替えて対象となる領域をスキャンしうる。最後に、生細胞を研究することには、試料が時間と共に変化するという問題もある。試料を別の機器に移動させることは、変化する生物学的特徴の速度に比べて時間がかかりすぎる。試料を別の機器に移動させると、「ヒット」した対象となる領域が変化し、もはや重要でなくなってしまうこととなりうる。

【0362】

レーザ点スキャン共焦点及びスピンドиск共焦点の両方を同じ機器に有するもう1つの利点は、レーザ点スキャン共焦点システムを、撮像のためにではなく、試料の特定のエリアを標的にして光退色させるために活用しうることである。レーザ点スキャン共焦点システム、及びそこで提供されるX-Yスキャンミラーに対する特定の制御は、試料の非常に小さな特定の領域をレーザを用いて標的にすることを可能にする。これは1つのスポットとすることもできるし、又はジグザグスキャンで画定されるブロックとすることもできる。次いで、光退色が起こると、本機器はスピンドиск共焦点に迅速に切り替わり、光退色後蛍光回復(FRAP: Fluorescence Recovery after PhotoBleaching)をモニタリングすることができる。いくつかの具体的な用途は、(a)細胞内の分子拡散の分析(例えば対象となる領域が光退色させられた後の初代樹状細胞におけるF-アクチン(F-Actin)の拡散を調べること)、(b)生体膜の流動性(例えばC.エレガンスにおける膜の流動性)を定量化すること、及び(c)タンパク質結合の分析(例えば*in vivo*でのクロマチンタンパク質の動的結合をモニタリングすること)を含む。

10

【0363】

本開示の実施形態によれば、スピンドискシステムの撮像の速度と組み合わせられた、レーザ点スキャン共焦点システムのピンポイントな精度は、FRAPアッセイにおける満たされていない市場ニーズを解決する。

20

【0364】

図30A及び図30Bを参照しながら、レーザ点スキャン共焦点システム、スピンドиск共焦点システム、及び広視野機能を単一の機器の中に含む、本開示の実施形態による構成が、以下に説明される。しかしながら、本開示の実施形態は、以上のシステム及び機能の任意の組み合わせを含むことができる。

【0365】

図30Aは、本機器がレーザ点スキャン共焦点(LSC)モダリティに設定されている場合を示す。図30Bは、指示が広視野又はスピンドиск共焦点モダリティに設定されている場合を示す。実施形態によれば、LSCシステムと広視野又はスピンドиск共焦点システムとの間を切り替える機構を備えることができる。図30A及び図30Bに示されるように、ブロック2220中の要素は可動であり、レーザ点スキャン光学系とスピンドиск／共焦点との間の切り替えを可能とする。例えばブロック2220は、本開示に説明されるように、ディスク間(それゆえモダリティ間)の選択のために移動させることができる複数のディスクモジュールとすることができる。

30

【0366】

図30Aを参照すると、本開示の実施形態は、レーザ点スキャン共焦点システムを含むことができる。光は、典型的にはレーザ光源からのものであり、光入力デバイス2201においてかかるシステムに入射する。光入力デバイス2201は、例えばファイバ結合された入力とすることもできるし、又はファイバを有さない直接に結合されたレーザとすることもできる。光は次いで、レンズ2202を通過する際にコリメートされる。光は次いで、ロングパスダイクロイック(long pass dichroic)2203に当たる。ロングパスダイクロイック2203は、入力光を反射させ、高波長の発せられた光の通過を可能にするように設計されている。光源が複数の入力波長を有することが典型的である。

40

【0367】

本開示の実施形態は、入力波長に対応するようにロングパスダイクロイック2203を切り替える自動化された手段をサポートすることができる。光は次いで、スキャンミラー2204で反射させられる。スキャンミラー2204は、2軸モータ2205及び2206を用いて制御することができる。いくつかの実施形態においては、モータは両方ともガ

50

ルボ型モータ（Galvo type motor）であり、他の実施形態においては、一方のモータはガルボにより駆動され、他方のモータは共振スキャナである。共振スキャナは、ガルボモータよりもかなり高速であるが、位置決めに対する制御が効きにくい。いずれのタイプのモータも、当業者には知られている。実施形態によれば、スキャンミラー２２０４は、複数（例えば２つ）の別個のスキャンミラーとして構成することができる。例えば、複数の別個のスキャンミラーは、x スキャンのために構成された第１のミラーと、y スキャンのために構成された第２のミラーとを含むことができ、別個のスキャンミラーのそれぞれの位置決めは、例えばそれぞれのモータによって制御することができる。

【０３６８】

光がスキャンミラー２２０４から反射させられた後、光はフォーカスレンズ２２０７を
通って進み、次いでチューブレレンズ２２０８を通して進む。光は次いで、反射ミラー２２
０９、対物レンズ２２１０、及び最終的に試料２２１１へと進み、ここで試料に照射され
るスポットを小さくすることができる。次いで、試料が蛍光性であると仮定すると、光は
レーザ点スキャンシステムを通して戻り、ロングパスダイクロイック２２０３に進む。発
せられた光がロングパスダイクロイック２２０３の通過帯域の中にあれば、光はフォーカ
スレンズ２２１３へと通過し、ピンホール２２１４を通過することとなる。ピンホール２
２１４は、単一サイズのピンホールとすることもできるし、又はサイズが可変のものとし
ることもできる。サイズの変化は、セレクトアホイール又は可変絞り上に複数のピンホール
を有することによって達成することができる。光は次いで、レンズ２２１５を通して進み
、次いでダイクロイック２２１６へと進む。

【０３６９】

図３０Ａに示される構成は、複数の発光波長の測定を同時に可能とする、デュアルPM
T ２２１８設定を含む。本構成は、追加的な数のPMT ２２１８となるように拡張されう
る。これはまた、発光波長が、切り替え機構を含むダイクロイック２２１６及びEM フィ
ルタ２２１９のバージョンを介して選択される、単一のPMT ２２１８構成であってもよい。
切り替え機構は、キューブ及びスライダ又は複数のホイールであってもよく、これら
はいずれも当業者には理解されるであろう。

【０３７０】

レーザ点スキャンシステムにおいては、光入力デバイス２２０１の場所は、ピンホール
２２１４との正確な位置合わせを必要としうる。このことは、レーザ点スキャンシステム
の実施、設置、及び保守を困難なものとする。出荷又は保守の後に、ピンホール２２１４
をファイバの場所に再位置合わせするための調節が必要とされることが典型的である。こ
の問題に対する解決策は、光入力デバイス２２０１（例えば光ファイバ入力）及びピンホ
ール２２１４の両方が電動軸上にあり、本機器（例えばそのコントローラ）が、対応する
モータを制御することによって、光入力デバイス２２０１とピンホール２２１４とを自動
的に位置合わせすることができるようにすることである。かかる態様は、出荷の後、保守
の後、又は本機器の熱変化の際に、利益をもたらすことができる。これに加えて、ファイ
バ入力の場所は、設計において幾分かのマージンがあるように、ピンホールサイズよりも
小さくすることができる。自動化された位置合わせを用いると、ピンホールサイズが縮小
され、したがってシステムの共焦点性を向上させ、それにより解像度及び試料の進入度を
向上させうる。

【０３７１】

図２５は、実施形態による機器のモダリティの制御を示す機能ブロック図である。

【０３７２】

モダリティの動作は、中央制御ユニット（例えばプロセッサ、CPU、マイクロプロセ
ッサ等）によって制御することができる。実施形態によれば、中央制御ユニットは、コン
トローラ（例えばコントローラ１０００）とも呼ぶことができる。

【０３７３】

中央制御ユニット９００は、本開示の実施形態の要素と通信し、かかる要素を制御する
ように接続することができる。例えば、中央制御ユニット９００は、試料環境の要素９０

A、試料選択及び位置決め要素 90B、モノクロメータモジュールの要素 90C、撮像器モジュール 90D の要素、外部光源モジュール 932、及び注入モジュール 934 と通信し、これらを制御するように接続することができる。

【0374】

制御下にある試料環境の要素 90A は、以上に説明されたように、温度制御 902 及び気体制御 904 を提供することができる。

【0375】

試料の選択及び位置決め 90B は、任意の X 方向 906 及び Y 方向 908 に試料を位置決めするためのモータの使用を通して制御することができる。

【0376】

制御下にあるモノクロメータモジュールの要素 90C は、モノクロメータ励起 910、モノクロメータ発光 912、モノクロメータ P M T 916、光ファイバ選択 918、及びフラッシュランプ 914 等の光源を含むことができる。

【0377】

制御下にある撮像器モジュールの要素 90D は、対物レンズセクタ 930、カメラ 920 等の画像捕捉デバイス、対物レンズのためのフォーカスドライブ 924、広視野撮像のための L E D 及びフィルタキューブセクタ 922、共焦点キューブセクタ 928、並びにスピンドISKモジュール及び制御 926（例えば選択及び合焦）、及びレーザスキャン共焦点モジュール制御 927 を含むことができる。

【0378】

図 26 は、例示的な実施形態による多検出システムの制御方法のフロー図である。

【0379】

本機器の制御は、例えば図 25 及び／又は図 34A 乃至図 34B に関して以上に議論されたように、コントローラの使用を通して調整することができる。本機器への入力（ステップ S 1805）は、タッチパッド若しくはグラフィカルディスプレイ等の、本機器のローカルユーザインタフェースを通して、又はネットワーク等を介した有線接続若しくは無線接続を通じた本機器との通信を通して、達成することができる。

【0380】

本機器への入力の場合には、入力は、制御アプリケーションを実行するコンピュータ又は他の端末上に表示されるユーザインタフェース又はグラフィカルユーザインタフェースの使用を通して実行することができる。

【0381】

入力は、本機器の制御を実行するための設定及びパラメータ等のユーザ入力とすることができる。

【0382】

入力を受けることに応答して、本機器の制御は、例えば図 25 及び／又は図 34A 乃至図 34B に関して以上に議論されたような、本機器の様々な要素を通して実施することができる。例えばユーザ入力を受けることに応答して、本機器は、気体モジュールの気体制御手順（ステップ S 1810）、試料の位置決めを制御するための試料位置決め制御手順（ステップ S 1820）、モノクロメータの動作を制御するためのモノクロメータ制御手順（ステップ S 1830）、撮像器を制御するための撮像器制御手順（ステップ S 1840）、及び本機器の要素の制御の結果を出力すること（ステップ S 1850）を実行するように制御することができる。

【0383】

図 26 に示されるように制御が提示されているが、要素は任意の順序で個々に制御することができ、全ての要素の制御が必要とされるわけではない。したがって、本機器の複数のモダリティを、単一のアッセイ中で制御することができる。

【0384】

図 26 に示される制御方法、及びコントローラによって実行することができる本明細書に説明される他の機能は、1つ以上の制御プログラムを実行することによって本機器の要

10

20

30

40

50

素を制御する処理ユニット（例えばCPU）の実行を通して実施することができる。プログラムは、メモリ（すなわちRAM、ROM、フラッシュ等）、又は他のコンピュータ可読媒体（すなわちCD-ROM、ディスク等）に記憶することができる。プログラムは、本機器によってローカルに、又は本機器によって実行されるべきコマンドを送信するコンピュータ等の制御装置によって、実行することができる。

【0385】

図35を参照すると、本開示の実施形態は、ディスプレイを含むことができ、コントローラは、ディスプレイにユーザインタフェースを表示させるように更に構成することができる。図35は、本機器が様々な光学モードの組み合わせを有する場合における、ユーザインタフェースの例を示す。要素2300は、試料の画像である。要素2301は、倍率を選択するためのドロップダウンメニューである。要素2302は、水浸（water immersion）を有効化／無効化するための選択ボックスである。選択され、対物レンズが水浸のために構成されている場合には、コントローラは、水を対物レンズに自動的にポンピングさせることができ、撮像が完了するか又は要素2302のチェックボックスの選択が解除されたときに、水を自動的に除去することができる。要素2303は、EM波長選択のためのドロップダウンリストである。図35は、4つの異なるEM波長間の選択を提供することができることを示しているが、任意の数のEM波長選択を提供することができる。要素2304は、EX波長選択のためのドロップダウンリストである。図35は、4つの異なるEX波長間の選択を提供することができることを示しているが、任意の数のEX波長選択を提供することができる。要素2305は、指示の様々なモード間で選択することを可能にするドロップダウンメニューである。図35は、モダリティ間の選択を示し、本システムは、スピンドиск、レーザスキャン、及び広視野モダリティを含む。実施形態によれば、要素2305にリストされるモダリティは、本システムに存在するモダリティに依存するものとする。本システムは例えば、上述したモダリティ（及び／又は追加的なモダリティ）の任意の組み合わせを有することもできるし、又は単一のモダリティのみを有することもできる。単一のモダリティのみが備えられている場合、要素2305は備えられないものとする。実施形態によれば、要素2301、2302、2303、2304及び2305は、ドロップダウンメニュー及び選択ボックスであることに限定されず、当業者に知られた任意の態様で選択のための選択肢を示すことができる。

【0386】

実施形態によれば、インタフェースは、ユーザが複数のモダリティを順番に自動的に実行されるように選択することを可能とする表示要素を含むことができる。例えば、インタフェースに関するユーザからの1つ以上の入力に基づいて、コントローラがシーケンスを自動的に実行されるように制御するように構成することができる。シーケンスは、本開示において説明される順序のモダリティ動作を含む、任意の順序のモダリティ動作を含むことができる。例えば、スピンドиск又は広視野撮像システムを使用する動作の後に、レーザ点スキャン共焦点システムを使用する動作を実行することができる。

【0387】

光学モジュールのコンポーネント及び特徴は、「Universal multidetection system for microplates」と題された米国特許第7,782,454号に更に説明されており、この特許文献は、引用することにより、全ての目的についてその全体が本明細書の一部をなすものとする。

【0388】

例えば、一態様によれば、光の狭波長帯域を透過させる第1の光学デバイスであって、光の狭波長帯域に対して異なる経路を提供する第1のフィルタ及び第1のモノクロメータを含む、第1の光学デバイスを含む、光学モジュールが備えられる。光学モジュールはまた、広帯域励起光として光を生成する光源であって、第1の光学デバイスは、広帯域励起光の狭波長帯域を透過させ、第1のフィルタ又は第1のモノクロメータを通して広帯域励起光の他の波長帯域を遮断する光源と、広帯域励起光の狭波長帯域を試料に向け、試料か

らの発せられた光を受光する第2の光学デバイスと、発光の狭波長帯域を透過させる第3の光学デバイスと、発光の狭波長帯域を電気信号に変換する検出器とを含むことができ、ここで第3の光学デバイスは、発光の狭波長帯域のために代替経路を提供する第2のフィルタ及び第2のモノクロメータを含む。

【0389】

〔転送モジュール〕

或る特定の実施形態によれば、分析機器は、センサユニットのアレイから信号処理モジュールに光学信号を転送するように構成された転送モジュールを更に備える。例えば転送モジュールは、励起光学信号、基準光学信号、及び発光光学信号のうちの1つ以上を転送することができる。

【0390】

転送モジュールは、多重化された光ファイバ材料で形成することができる。図36及び図37は、転送モジュール60の側面図（図37）及び断面図（図36）を含む、例示的な転送モジュール60のいくつかの図を示す図である。実施形態においては、転送モジュール60は、光ファイバ束のアレイを含むことができ、各光ファイバ束は、センサユニットのアレイの対応するセンサユニットと通信する。光ファイバ束は、1つ以上のセンサユニットと直接的にインタフェースするように位置決め及び構成することができる。各光ファイバ束は、図36の断面図に示されるように、ファイバ及び／又はプラスチックプローブのハウジング、例えば金属のファイバプローブのハウジング又はプラスチックのハウジング内に収容された、光ファイバケーブルのアレイで形成することができる。

【0391】

或る特定の実施形態においては、転送モジュールは、センサユニットを転送モジュールに光学的に接続する、例えば各センサユニットを転送モジュールの対応する光ファイバ束に光学的に接続する、均質化された光ファイバ導波路の形をとることができる。均質化された光ファイバ導波路は、1つ以上のセンサユニットに光を均一に分配するように構成することができる。均質化器（homogenizer）は、機械的及び光学的なシャッフリングを改善することができる。

【実施例】

【0392】

実施形態は、以下の実施例を参照して更に理解することができる。これらの実施例は、説明として機能することを意図されたものであり、限定するものではない。

【0393】

〔実施例1：例示的なプロトコル〕

細胞が、マルチウェル試料キャリア（例えばマイクロプレート）のアッセイウェルに50%～90%コンフルエンス（confluency：密集度）で播種される。感度を最大化するために、ウェルの底に懸濁細胞が付着させられる。この例示的なプロトコルについては、本装置に嵌合するように構築及び構成された96ウェルプレートが使用される。しかしながら、試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）は、本装置と対応する任意の数のウェル、例えば1つ、6つ、8つ、12個、24個、36個、48個、64個、72個、96個、192個、384個、又はその他の数のウェルを有することができる。細胞懸濁液の温度は制御される。

【0394】

本装置は、センサプローブをアッセイウェルの中へと下降させる。センサは、ウェル底から200ミクロンの高さに位置決めされ、およそ2マイクロリットルの過渡的マイクロチャンバ（本明細書では「測定チャンバ」とも呼ばれる）を形成する。酸素レベル及びpHレベルが変化すると、その変化がセンサによって測定される。測定は典型的には、1分～5分の所定の時間、例えば3分間行われる。変化率は、コンピュータデバイスによって自動的に算出される。この測定期間の終了時に、センサプローブが上昇させられ、細胞外培地がベースライン条件に戻ることを可能にする。

【0395】

10

20

30

40

50

センサカートリッジはまた、アッセイの間に細胞ウェルへのモジュレータ（標的被検成分）の注入を可能とするポート（1ウェル当たり4個）を含む。例えばグラフィカルユーザインタフェースを介して提供された、本機器のプロトコルによって指定された場合には、コントローラは、分注システムに、試験化合物をアッセイウェルに注入し、アッセイ培地全体への化合物の分散を確実にするための穏やかな混合ステップを実行するように指示する。全てのウェルが、この態様で同時に処理される。後続する測定サイクル、プロトコルによって指定された追加的な注入、及び割合の算出は、自動的に実行される。

【0396】

例示的なプロトコルは、試験の目的のためにTHP-1細胞（急性単球性白血病患者由来のヒト単球）を用いて実行された。OCR及びECARデータは、本明細書に説明される分析機器を使用して測定及び報告された。この試験は、従来の温度制御、信号処理、及び動きアクチュエータモータコンポーネントを有する、比較分析機器においても実施された。結果は、図10A～図10Dのグラフに表されている。

【0397】

図10Aのグラフは、本明細書に開示される分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるOCR測定値を示す。図10Bのグラフは、比較分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるOCR測定値を示す。図10Cのグラフは、本明細書に開示される分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるECAR測定値を示す。図10Dのグラフは、比較分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるECAR測定値を示す。

【0398】

例示的なプロトコルはまた、A549細胞（ヒト肺癌細胞）及び標的薬剤としての5 mMメトホルミン（Metformin）の投与を用いて実施された。OCRデータが、本明細書に説明される分析機器及び比較分析機器を使用して測定された。結果は、図11A及び図11Bのグラフに表されている。

【0399】

図11Aのグラフは、本明細書に開示されるような分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるOCR測定値を示す。図11Bのグラフは、比較分析機器を用いて測定された、アッセイ時間にわたるOCR測定値を示す。

【0400】

したがって、本明細書に記載される温度制御要素、信号処理モジュール、及び動きアクチュエータアセンブリモータを有する分析機器は、ECARを同時に検出しながら、比較分析機器よりも下限OCR検出精度及び可読性において著しい改善を示した。理論に束縛されることを望むものではないが、制御された温度ゾーン内の試料にわたる温度の均一性の改善が、標的被検成分の感知における分析機器の性能及び細胞の生物学的特徴の性能の両方を改善することができると考えられる。

【0401】

〔実施例2：水試料を用いた蒸発試験プロトコル〕

試料キャリア（例えばマルチウェルプレート）中の既知体積の水を使用し、1時間当たり4回の測定を行うように構成された修正プロトコルで6時間、本明細書に開示される分析機器において6回のアッセイが実施された。水試料からの蒸発は、プレート読み取り器を使用して測定された。既知体積の水の吸光度を測定することによって、標準曲線が作成された。各アッセイの直後に、試験プレートの吸光度測定値が集められた。標準曲線を使用して、試験プレートの各ウェル中の水の体積を算出し、6時間のアッセイの間に蒸発によって失われた水の体積の量を評価した。結果は、失われた総体積に対するパーセンテージとして算出された。各アッセイについての平均蒸発量が、図12の表に表されている。

【0402】

図12の表に示されるように、6時間のアッセイの間に蒸発により失われた水の体積の最大平均パーセンテージは、10.04%であった。したがって、蒸発によって失われた試料流体の体積は少なかった。

【0403】

理論に束縛されることを望むものではないが、制御された温度ゾーン内の試料にわたる温度の均一性の改善が、試料流体の蒸発を低減させ、標的被検成分を感知する分析機器の性能及び細胞の生物学的特徴の性能の両方を改善することができると考えられる。

【0404】

【実施例3：ミトコンドリア酸素消費速度から導出される新規な指数を使用したミトコンドリア毒性の直接的な識別】

ミトコンドリア毒性 (M i t o T o x) は、治療開発における一般の問題であり、薬物／化合物／物質候補の減少及び市販後の薬物／化合物／物質の回収の一因となっている (Wallace, K.B., 2008年、「Mitochondrial off targets of drug therapy」、Trends Pharmacol.Sci.29、361-366)。薬物／化合物／物質の発見及び前臨床安全性において、薬物／化合物／物質誘発性のミトコンドリア毒性を評価するために使用される方法の中でも、Agilent社の Seahorse XF 技術を使用したミトコンドリア酸素消費量の直接測定が、特異的かつ高感度なマーカー／指標としてよく報告されている (Yvonne Will及びJames Dykens (2014年)、「Mitochondrial toxicity assessment in industry - a decade of technology development and insight」、Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology、10:8、1061-1067、DOI: 10.1517/17425255.2014.939628) (Tilmant K.a、*、Gerets H.a、De Ron P.a、Hanon E.a、Bento-Pereira C.a,b,1、Atienzar F.A、「In vitro screening of cell bioenergetics to assess mitochondrial dysfunction in drug development」、Toxicology in Vitro 52 (2018年) 374-383)。

【0405】

したがって、本明細書に開示されるものは、ミトコンドリア毒性を呈する化合物の評価を可能にする、標準化された XF 溶液である。本明細書に説明されるように、XF Pro 分析器は、向上した感度、精度、及び一貫性を提供するいくつかの新規な設計機能を有する。ここでは、OCR測定を使用して薬物／化合物／物質誘発性ミトコンドリア機能障害を検出するために、これらの改良を利用する。

【0406】

Agilent社の Seahorse XF M i t o T o x アッセイワークフローは、オリゴマイシン及び FCCP の連続した注入を含むが、アッセイに先立ちロテノン／アンチマイシン A (rotenone/antimycin A) を提供される別の対照群を含む。ミトコンドリア毒性を評価されるべき化合物は、アッセイに先立ち指定された時間に細胞に提供される。

【0407】

適切な対照と比較した、試験化合物の基礎的なオリゴマイシン及び／又は FCCP の OCR における応答に基づいて、XF M i t o T o x アッセイは、3つの異なるタイプのミトコンドリア毒性、すなわち、ETC又は他のミトコンドリアプロセスの直接的／間接的な阻害、OxPhosからのETCの脱共役、及びOxPhos機構 (CV、ANT、PiT) の (潜在的な) 特異的阻害を識別しうる。

【0408】

本明細書に開示される分析機器 (Agilent社の Seahorse XF Analyzer) によって測定された酸素消費速度 (OCR) から導出される、新規なパラメータである M i t o T o x 指数 (MTI: Mito Tox Index) の抽出を通して、著しい改善がもたらされる。

【0409】

容易に解釈可能なミトコンドリア毒性メトリックを導出するこの手法は、驚くべきことに、本明細書に開示される機器及び方法の実施を通して達成される感知精度の向上によって可能とされ、in vitro で毒性をスクリーニング及び検証するための容易で堅固な方法を提供する。このワークフローは、ミトコンドリア毒性指数 (MTI) メトリックへの複雑な呼吸計測応答の低減を可能とし、電子伝達系 (ETC: electron transport

chain) に対する阻害剤効果及び脱共役剤効果を、それぞれ負のスケール及び正のスケールでスコアリングする、2つのタイプのMTIを提供する。阻害剤MTIは、ETC阻害剤の対照であるロテノン／アンチマイシンA混合物の効果に対し、最大OCRに対する相対的な阻害効果を算出するように設計されている。対照的に、脱共役剤MTIは、ビヒクルの対照群におけるFCCP効果に対する、オリゴマイシン注入後に測定された最小OCRの相対的上昇を算出するものである。ATP合成酵素阻害剤は最大OCRに影響を与えないので、基礎OCR特異的抑制をモニタリングすることによって、いずれのMTIにおいても著しいスコアを示さなかった化合物の中で、潜在的なATP合成酵素阻害剤が識別されうる。定義されたメトリックを導出する能力は、用量応答関係の簡便な生成又は「ヒット」識別のための簡便な閾値設定等の、追加的な機能を可能とする。

10

【0410】

〔ミトコンドリア毒性指数 (MTI) を定義する〕

以上に説明されたミトコンドリア毒性の3つのモードを区別し、毒性の大きさを定量化するために、本明細書に開示される機器によって可能とされる向上させられた測定精度を活用して、Mitotox指数 (MTI) 値が導出された。阻害によるMitotox毒性は、阻害がビヒクル群 (Vehicle group) の最大のFCCPのOCRと比較した試験化合物のFCCPのOCRの減少として定義され検出される場合、負のMTI値 (典型的には0～-1) に帰着し、図39A～図39Cに図示及び説明されている。

【0411】

図39Aは、試験化合物が、ビヒクル (陰性) 対照 (MTI=0) と比較して、FCCP誘導OCRの減少に帰着するシナリオを示し、このときこの化合物は、負のMTI値 (例えばMTI=-0.8) を有する阻害剤として分類される。ロテノン／AAのOCRは、阻害 (MTI=-1) に対する陽性 (+) 対照として機能することに留意されたい。図39B及び図39Cは、阻害の対照に使用された測定値及び群の要約を提供する。

20

【0412】

脱共役によるMitotox毒性は、脱共役がビヒクル群の最小のオリゴOCRと比較した試験化合物のオリゴOCRの増大として定義され検出される場合、正のMTI値 (典型的には0～1) に帰着し、図40A～図40Cに図示及び説明されている。

【0413】

図40Aは、試験化合物が、ビヒクル (陰性) 対照 (MTI=0) と比較して、オリゴ誘導OCRの増大に帰着するシナリオを示し、このときこの化合物は、正のMTI値 (例えばMTI=0.6) を有する脱共役剤として分類される。ビヒクルFCCPのOCRは、脱共役 (MTI=1) に対する陽性 (+) 対照として機能することに留意されたい。図40B及び図40Cは、脱共役の対照に使用された測定値及び群の要約を提供する。

30

【0414】

要約すると、MTIは、脱共役及び／又は阻害のいずれかについて、それぞれの対照と比較した試験化合物の効果の割合 (fraction) の値である。脱共役剤のMTIは、正の指数として算出され、最大の脱共役 (陽性対照であるビヒクル群のFCCPのOCR) と比較した、試験化合物によって誘発された脱共役の割合として定義される。ビヒクル群のオリゴOCRは、脱共役についての陰性対照として機能することに留意されたい。逆に、阻害剤MTIは、負の指数として算出され、最大の阻害 (陽性対照であるロテノン／AA群のFCCPのOCR) と比較した試験化合物によって誘発された阻害の割合として定義される。この場合には、ビヒクル群のFCCPのOCRが陰性対照として機能することに留意されたい。形質転換の際、各ウェルについて脱共役剤及び阻害剤の両方のMTIが生成されうる。例示的なMTI検出グラフが、図41に示されている。

40

【0415】

mito機能の低下によるmitotoxの具体的な事例は、ATP合成酵素 (CV)、又はOxPhos機構の他のコンポーネント (例えばANT、ピトランスポータ) の直接的な阻害である。このタイプの阻害は、しばしば基礎OCRの減少を示すが、オリゴOCR及びFCCPのOCRは著しく小さい影響しか受けない (図42A～図42D)

50

。試験化合物の処理が、ビヒクル（陰性）対照（MTI = 0）と比較して、基礎OCRの減少に帰着するが、最大／FCCP誘発OCRの著しい減少に帰着しない場合、その化合物はOPIとして分類される。

【0416】

[XF Mitox Assayの性能メトリック]

Assayの品質又はAssay性能の尺度として、Z値（Z-factor）が使用されている（Zhang）。Z'値は、典型的には0～1.0であり、以下のように解釈することができる。Z' = 1.0は、理想的なAssay性能とみなされる。0.5 < Z' < 1.0である場合、優れたAssayとみなされ、偽陽性又は偽陰性を報告する可能性がかなり低下することを意味する。0.0 < Z' < 0.5である場合には、これは最低限のAssay性能とみなされ、偽陽性又は偽陰性を報告する可能性が高まる。Z'が0よりも小さい場合には、Assayが有用となるには、陽性対照と陰性対照との間に重なりがありすぎる。

10

【0417】

それゆえZ値は、スクリーニングAssayの品質又は能力の尺度として使用されうる（Z'はzスコア（z-score）と同じではないことに留意されたい）。スクリーニング活動においては、典型的には、十分に確立された陽性対照試料及び陰性対照試料に対する、未知の試料の大量の単一測定値の比較がある。Assayの目的は、単一測定値のうち、もしあるとすればどれが、対照と著しく異なるかを決定することである。この目的のために、陽性対照、陰性対照、及び他の単一測定値からの測定値の分布が、各測定値が偶然に生じた確率を決定するために、考慮されなければならない。さらに、これらの分布は先験的に決定することはできず、スクリーニング（又はユーザ定義）設定においてAssayが有用となることを示す／予測するためには、Assay後に性能が評価されなければならない。Z'値が大きいほど、そのAssayが偽陽性及び／又は偽陰性を報告する可能性が低くなる。

20

【0418】

XF Mitox Assayにおいては、脱共役及び阻害の両方に対してZ'値（Z' Factor）が提供され、それぞれがそれぞれの陽性対照及び陰性対照を有するため、Assay性能の評価を可能にする。Z'値は、以下のように算出される：

$$Z' = 1 - [3 \text{ (陽性対照の平均値} + \text{陰性対照の平均値)} / \text{(陽性対照の標準偏差} - \text{陰性対照の標準偏差)}]$$

30

【0419】

驚くべきことに、本明細書に説明された機器の精度向上が、細胞の正規化（試料キャリア（例えばマイクロプレート）にわたる細胞増加のばらつきを考慮してデータが補正される）がない場合であっても、優れたZ'値（Z' value）（> 0.5）を達成することが可能な簡略化Mitox Metrix（MTI）を可能とする（図43）。

【0420】

[使用の例]

この性能は、XF Mitox Assayが、化合物スクリーニング（例えば1プレート当たり単一用量で最大80種の個々の化合物）として実行することができること、又は用量応答Assay（例えば1プレート当たり8種の化合物、10種の濃度／化合物）を実行するために使用することができることを意味する。それぞれのソフトウェアツールと共に使用されると、その結果の動的OCRデータは各試験化合物についてのMTI値に自動的に変換される。

40

【0421】

XF Mitox Assayを使用して検出及び測定されたMitoxのモードが算出された。トランスポート、TCA、FAO、ETC（FCCP誘導の減少に帰着する薬物／化合物／物質）のOCRに影響を及ぼす薬物／化合物／物質は、阻害剤として分類される。オリゴOCRの増大に帰着するOxPhosからのETCを脱共役するプロトノフォアとして作用する薬物／化合物／物質は、脱共役剤として分類される。OxPhos機構（ATP合成酵素、ANT、Piトランスポータ）の阻害を引き起こし、基礎

50

OCRのみの減少に帰着する薬物／化合物／物質は、「OPI」として分類される。

【0422】

mito tox調査の文脈／目的に依存して、試験化合物は更に、用量応答曲線及びIC50／EC50値を含む用量応答アッセイに供することができる。図42は、3種の化合物についての動的用量応答OCRデータ(kinetic dose response)を示し、これらは次いで、各用量についてのMTI値に変換され、化合物濃度に対してプロットされた(図42)。IC50(又はEC50)値が、各試料について算出された。

【0423】

[実験方法]

全ての細胞株は、製造業者の推奨に従って維持された。HepG2細胞が、1ウェル当たり 2.0×10^4 細胞の密度でXF Pro Moat細胞培養試料キャリア(例えばマイクロプレート)に播種され、2mMのGlutamax及び10%血清を追加されたDMEM低グルコース(Gibco11885)中で培養された。全ての細胞が、37℃、5%CO₂で一晩インキュベートされた。翌日、細胞はMito Toxアッセイ培地(XF DMEM pH7.4+10mMのXFグルコース、1mMのXFピルビン酸、2mMのXFグルタミン)で2回洗浄され、37℃、CO₂無添加で60分間インキュベートされた。前処理溶液が、細胞洗浄時に添加された。次いで、オリゴマイシン(1.5μM)、FCCP(1.5μM)、ロテノン／アンチマイシンA(各0.5μM)(最終濃度)の順次の注入を使用して、細胞プレートがアッセイ性能についてのXF Pro分析器に移された。評価されるところで、細胞は次いで、Cytation5機器を使用して計数された。

10

20

【0424】

全てのXFアッセイは、化合物の希釈及びセンサカートリッジの準備を含め、XF Mito Toxキットのユーザガイドに説明されているとおりに実行された。Agilent社のSeahorse Analyticsは、XF Mito Toxアッセイのための簡単で合理化されたデータ分析ワークフローを提供する、ウェブベースのソフトウェアプラットフォームである。Seahorse Analyticsは、XF Mito Toxアッセイの主要パラメータであるMito Tox指数(MTI値)及び／又はIC50／EC50値を算出するために使用された。Seahorse Analyticsのユーザガイドを使用したデータ分析を実行するための指示。

30

【0425】

[実施例4：本開示の分析器は、比較分析機器に対して改善された測定精度を示す]

THP-1細胞が、RPMI細胞培養培地(10%のFBS、10mMのグルコース、2mMのグルタミン、1mMのピルビン酸を追加されたもの)中で、37℃、5%CO₂で培養された。細胞密度は 10^6 細胞/mLよりも低く維持され、培養培地は48時間～72時間毎に更新された。

【0426】

細胞懸濁液が遠心チューブに移され、細胞が $1000 \times g$ で10分間遠心分離された。細胞は、1mMのHEPES緩衝液(炭酸水素ナトリウムが浸透圧当量濃度のNaClで置換されたもの)pH7.4、10mMのグルコース、2mMのグルタミン、及び1mMのピルビン酸を追加されたRPMIからなるアッセイ培地中で再懸濁された。再懸濁された細胞は、別々のチューブ中で 2×10^4 細胞／ウェル、 5×10^4 細胞／ウェル、 1×10^5 細胞／ウェル、 1.5×10^5 細胞／ウェル、 2×10^5 細胞／ウェル、 3×10^5 細胞／ウェル、及び 4×10^5 細胞／ウェルの濃度に希釈された。ポリーD-リジンで予めコーティングされ、37℃で一晩予め加温された2枚の96ウェルプレートのそれぞれに、各濃度について6つの複製ウェルが播種された。図44に示されるように、各ウェル中の最終濃度が 1×10^3 細胞／ウェル、 2.5×10^3 細胞／ウェル、 5×10^3 細胞／ウェル、 7.5×10^3 細胞／ウェル、 1×10^4 細胞／ウェル、 1.5×10^4 細胞／ウェル、又は 2×10^4 細胞／ウェルとなるように、50μLの再懸濁された細胞が各ウェルに加えられた。96ウェルプレートが $200 \times g$ で1分間遠心分離され、各ウェ

40

50

ルが180 μ Lの最終容量を有するようにアッセイ培地が加えられた。96ウェルプレートが、非CO₂インキュベータ中で、37℃で30分間インキュベートされた。

【0427】

96ウェルプレートのうちの一方が、本明細書に説明される分析機器中に置かれた。他方のプレートは、従来の温度制御、信号処理、及び動きアクチュエータモータのコンポーネントを有する比較分析機器中に置かれた。各機器は、コマンド指示を用いてプログラムされた。この場合、本機器は、3回の測定を行い、ウェル中の細胞試料の上方に配置されたカートリッジからのポートAから20 μ Lの溶液を各ウェルに注入し、3回の測定を実施し、ウェル中の細胞試料の上方に配置されたカートリッジからのポートBから22 μ Lの溶液を各ウェルに注入し、最後の3回の測定を行うようにプログラムされた。本機器は、6分毎に測定を行うようにプログラムされ、各6分の間隔は、3分間の混合ステップ及び3分間の測定ステップを含むものであった。

10

【0428】

オリゴマイシン溶液が、アッセイ培地中で15 μ Mに調製された。5 μ Mのロテノン及び5 μ MのアンチマイシンAの混合溶液が、アッセイ培地中で調製された。各ウェルについて予め水和されたカートリッジのポートに、15 μ Mのオリゴマイシン溶液（ポートA）及び5 μ Mのロテノン+5 μ MのアンチマイシンA溶液（ポートB）が装填された。指示された試薬を含む水和されたアッセイカートリッジが本機器に装填され、本機器のプロトコルに従って実験が実行された。本機器は、実施例1の例示的なプロトコルにおいて説明されたようにOCRを測定した。基礎OCRは、3回目の測定の各プレート中の6つの複製ウェルの平均として算出された。

20

【0429】

この実験は3回実行され、各試行からの結果が図45A～図45Cに個別に示されている。全ての試行からの基礎OCRが図46A及び図46Bに要約されており、これらの試行にわたる標準偏差が図47に示されている。これらのデータは集合的に、低い酸素消費速度（OCR）において、本明細書に説明される機器の、比較分析機器に対して向上した測定性能を示した。具体的には、本明細書に説明される機器において収集されたデータは、低濃度における又はロテノン+アンチマイシンA注入後における低減した陰性率の発生、より低い標準偏差、低減させられたプレート間及びプレート内の変動性、及び低OCRにおけるより一貫した測定に帰着した。このことは、滴定された播種密度とミトコンドリア阻害化合物の注入との組み合わせを使用して実証された。これらの改善は、アッセイ群間の再現性及び優れた解像度により、より確信の持てる細胞データの解釈を可能とした。

30

【0430】

[参照による援用]

本明細書において言及される全ての刊行物、特許及びアクセッション番号は、各個別の刊行物又は特許が具体的にかつ個別に引用することにより本明細書の一部をなすことが示されているかのように、その全体が引用することにより本明細書の一部をなすものとする。

【0431】

[均等物]

40

本発明の具体的実施形態を説明したが、上記明細書は例証であって制限ではない。本明細書及び添付の特許請求の範囲を検討することにより、本発明の多くの変形形態が当業者に明白となるであろう。本発明の全範囲は、特許請求の範囲と共にそれらの均等物の全範囲、及び明細書と共にそのような変形形態を参照して決定されるべきである。

【0432】

[付録]

[セクション5]

[高インピーダンスセンサ]

Walt Kester、Scott Wurcer、Chuck Kitchen

多くの一般的なセンサは、数M Ω よりも高い出力インピーダンスを有し、関連する信号

50

調整回路は、低バイアス電流、低ノイズ、及び高利得という課題を満たすように注意深く設計されなければならない。このセクションの大部分は、フォトダイオードプリアンプの分析に向けられている。この応用は、高インピーダンスセンサの信号調整回路に関連する多くの問題を指摘し、かかるセンサのほとんど全てに適用されうる実用的な解決策を提供する。議論される高インピーダンスセンサの他の例は、圧電センサ、電荷出力センサ、及び電荷結合素子（CCD：charge coupled device）である。

【0433】

【表1】

高インピーダンスセンサ

10

■ フォトダイオードプリアンプ

■ 圧電センサ

◆ 加速度計

◆ ハイドロホン

20

■ 湿度モニタ

■ pHモニタ

■ 化学センサ化学センサ化学センサ

■ 煙検出器

■ 電荷結合素子及び撮像用接触型画像センサ

30

図5. 1

【0434】

【フォトダイオードプリアンプ設計】

40

フォトダイオードは、照明のレベルに比例する小さな電流を発生させる。精密光度計から高速光ファイバの受光器まで、多くの用途を有する。

【0435】

フォトダイオードのための等価回路が、図5. 3に示される。フォトダイオードの感度を規定するための標準的な方法の1つは、明確に定義された光源からの所与の光レベルにおける短絡光電流（ I_{sc} ）を提示することである。最も一般的に使用される光源は、2850 Kの色温度で動作する白熱タングステンランプ（incandescent tungsten lamp）である。100 fc（フットキャンドル（foot-candle））の照度（およそ曇りの日の光量レベル）においては、小面積（ 1 mm^2 よりも小さい）のダイオードについては、短絡電流は通常、ピコアンペア～数百マイクロアンペアの範囲内となる。

50

【 0 4 3 6 】
【 表 2 】

フ ォ ト ダ イ オ ー ド の 用 途

- 光学：光量計、オートフォーカス、フラッシュ制御
- 医療：CATスキャナ（X線検出）、血液粒子分析器
- 自動車：ヘッドライト減光器、薄明検出器
- 通信：光ファイバの受光器
- 産業：バーコードスキャナ、位置センサ、レーザプリンタ

10

図 5 . 2

20

【 0 4 3 7 】

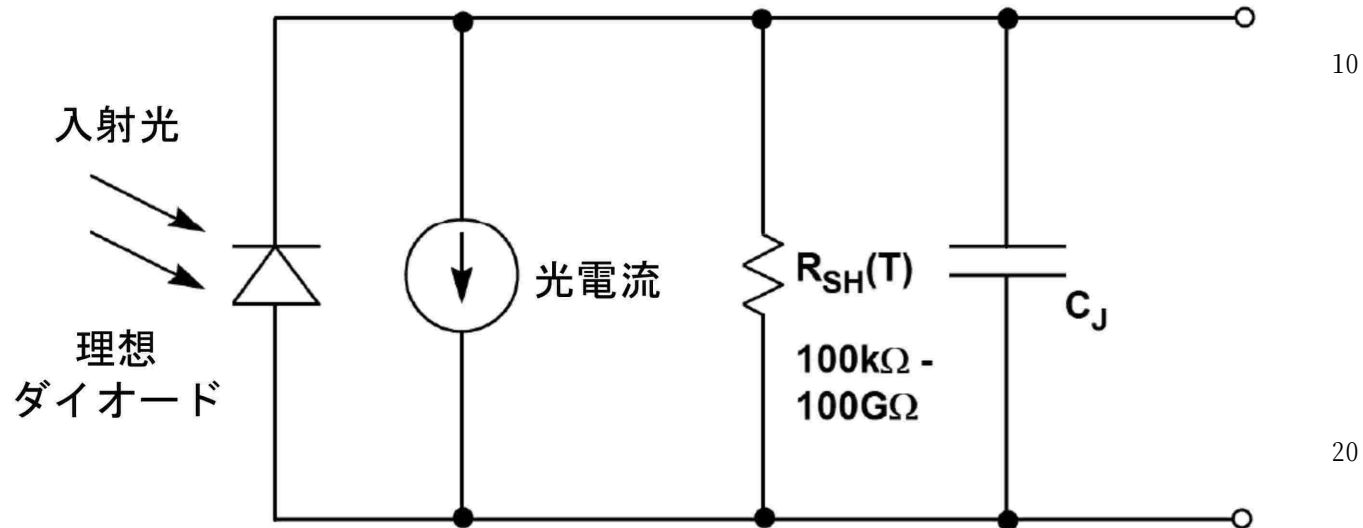
30

40

50

【表 3】

フォトダイオード等価回路



注： R_{SH} は温度が 10℃上昇する毎に半分になる

図 5. 3

【0438】

短絡電流は、60倍～90倍の光強度にわたって非常に線形であり、それゆえ絶対光レベルの尺度としてよく使用される。フォトダイオードの両端の開回路順方向電圧降下は、光レベルに応じて対数的に変化するが、その大きな温度係数のため、ダイオード電圧は、光強度の正確な尺度としてはほとんど使用されない。

【0439】

シャント抵抗 R_{SH} は通常、室温で1000M Ω のオーダーであり、温度が10℃上昇する毎に2分の1に低下する。ダイオードの静電容量 C_J は、接合面積及びダイオードのバイアス電圧の関数である。小面積のダイオードについては、ゼロバイアスで50pFの値が典型的である。

【0440】

フォトダイオードは、図5.4に示されるように、ゼロバイアス（光起電モード、左図）又は逆バイアス（光伝導モード、右図）のいずれかで動作させることができる。最も正確な線形の動作は光起電モードでえられるが、ダイオードが光伝導モードで動作させられる場合には、線形性は犠牲にして、より高いスイッチング速度が実現可能である。これらの逆バイアス条件下においては、照明がない場合であっても、暗電流と呼ばれる少量の電流が流れることとなる。光起電モードにおいては、暗電流はない。光起電モードにおいては、ダイオードのノイズは基本的に、シャント抵抗によって発生させられる熱ノイズである。光伝導モードにおいては、伝導によるショットノイズが、追加的なノイズ源である。フォトダイオードは通常、光起電モードか又は光伝導モードの、両方ではなくどちらかで

の使用のために、設計プロセスの間に最適化される。図 5. 5 は、小型のフォトダイオード（シリコン検出器、パーツ番号 SD-020-12-001）の感光度を示し、ダイオードについての仕様が図 5. 6 に要約されている。このダイオードは、以下の設計例のために選ばれたものである。

【 0 4 4 1 】

【 表 4 】

フ ォ ト ダ イ オ ー ド の 動 作 モ ー ド

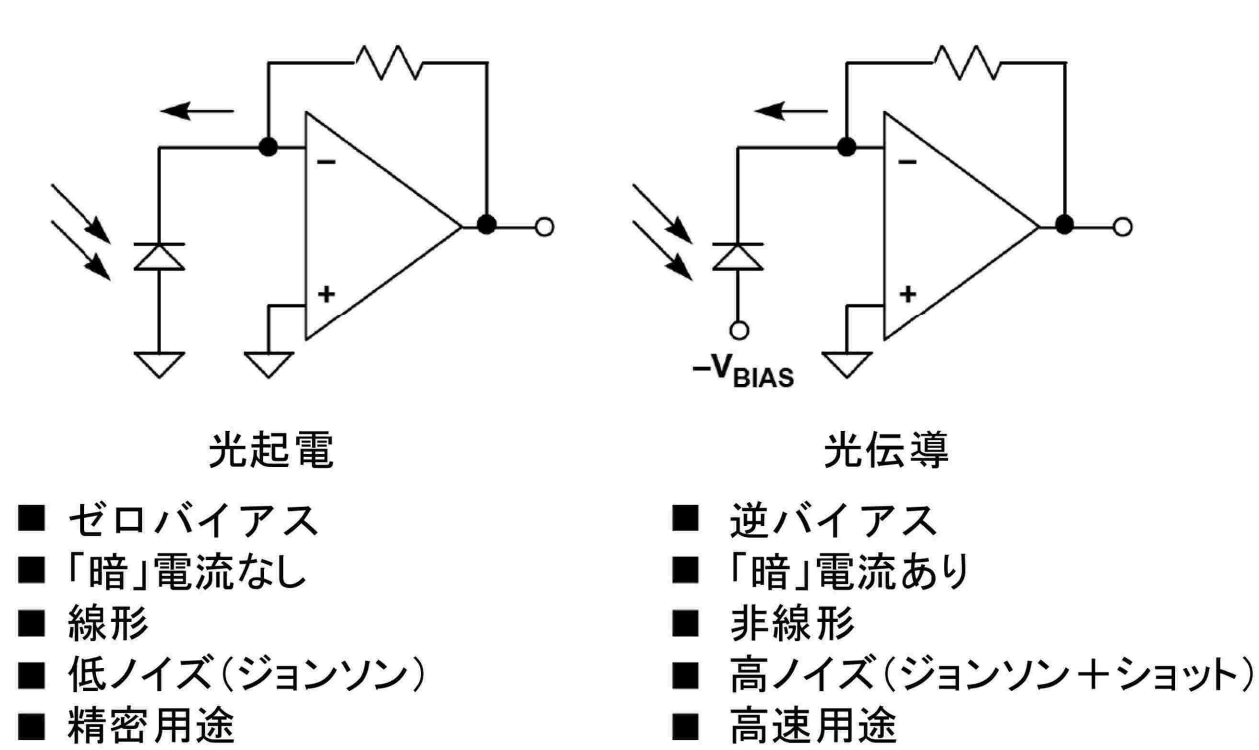


図 5. 4

【 0 4 4 2 】

【表 5】

フォトダイオードの仕様
シリコン検出器、品番SD-020-12-001

- 面積：0.2 mm²
- 静電容量：50 pF
- 25℃におけるシャント抵抗：1000 MΩ
- 最大線形出力電流：40 μA
- 応答時間：12 ns
- 感光度：0.03 μA／フートキャンドル(fc)

図 5. 5

【0443】

【表 6】

フォトダイオードについての
光強度に対する短絡電流
(光起電モード)

環境	照度 (f c)	短絡電流
直射日光	1000	30 μ A
曇りの日	100	3 μ A
薄明	1	0.03 μ A
満月の夜	0.1	3000pA
晴れた夜／月なし	0.001	30pA

図 5. 6

【0 4 4 4】

フォトダイオードの電流を使用可能な電圧に変換するための便利な方法の1つは、図 5. 7 に示されるように、オペアンプを電流－電圧変換器として使用することである。ダイオードのバイアスは、オペアンプの仮想接地によってゼロボルトに維持され、短絡電流は、電圧に変換される。最大感度において、アンプは 30 p A のダイオード電流を検出することが可能でなければならない。このことは、フィードバック抵抗が非常に大きく、アンプのバイアス電流が非常に小さくなければならないことを意味する。例えば、1 0 0 0 M Ω は、この電流の量に対して、対応する電圧を 30 m V とする。より大きな抵抗値は現実的ではなく、そのため最も感度の高い範囲について 1 0 0 0 M Ω を使用することとなる。このことは、10 p A のダイオード電流に対して 10 m V、10 n A のダイオード電流に対して 10 V の、出力電圧範囲を与えることとなる。このことは、60 d B の範囲をもたらす。より高い値の光強度については、より小さなフィードバック抵抗を使用することによって、回路の利得が低減させられなければならない。この最大感度の範囲については、月のない晴れた夜の光強度 (0.001 f c) と満月の光強度 (0.1 f c) とを簡単に区別することが可能となる！。

【0 4 4 5】

【表 7】

電流－電圧変換器 (簡略図)

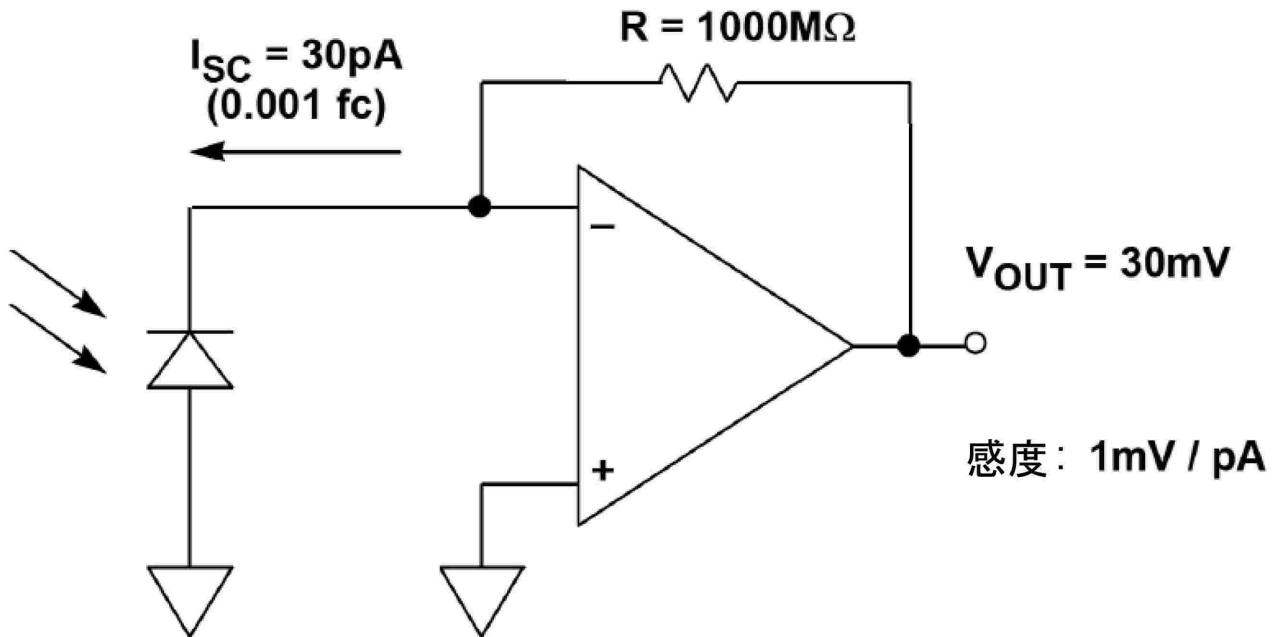


図 5. 7

【0446】

2つの段をカスケード接続するのではなく、1つの段から可能な限りの利得をえることを選んだことに留意されたい。これは、信号対ノイズ比（S N R）を最大化するためである。フィードバック抵抗の値を半分にすると、信号レベルは2分の1に低下するが、フィードバック抵抗（ $\sqrt{4 k T R \cdot \text{帯域幅}}$ ）によるノイズは $\sqrt{2}$ だけしか低下しない。このことは、閉ループ帯域幅が一定であると仮定すると、S N Rを3 d Bだけ低減させる。分析の後段において、抵抗が出力ノイズ全体に対する最大の要因の1つであることが分かることとなる。

【0447】

数十ピコアンペア範囲におけるフォトダイオード電流を正確に測定するためには、オペアンプのバイアス電流は数ピコアンペア以下であるべきである。このことは、選択肢をかなり狭める。業界標準のOP07は、超低オフセット電圧（ $10 \mu\text{V}$ ）のバイポーラオペアンプであるが、そのバイアス電流は、 4 nA （ 4000 pA ！）である。バイアス電流補償を有するスーパーベータバイポーラオペアンプ（OP97等）でさえ、室温で 100 pA のオーダーのバイアス電流を有するが、これらの電流はFETのように 10°C の上昇毎に2倍になるわけではないので、超高温用途には適するものとなりうる。フォトダイオードプリアンプには、限られた温度範囲でしか動作する必要がないため、FET入力電位計グレードのオペアンプが選ばれている。図5.8は、いくつかの一般的な「電位計グレード」のFET入力オペアンプの性能を要約したものである。これらのデバイスは、BiFETプロセスで製造され、入力段としてPチャンネルJFETを使用している（図5.9参照）。オペアンプ回路の残りの部分は、バイポーラデバイスを使用して設計されている。BiFETオペアンプは、オフセット電圧及びオフセット電圧のドリフトを最小化するために、ウェハレベルでレーザトリミングされている。オフセット電圧のドリフトは、最初に差動対を構成する2つのJFET中の電流が等しくなるように入力段をトリミング

することによって最小化される。J F E Tソース抵抗の2番目のトリミングが、入力オフセット電圧を最小化する。フォトダイオードプリアンプにはA D 7 9 5が選択され、その主な仕様は図5. 10に要約されている。

【0448】

【表8】

低バイアス電流精度B i F E Tオペアンプ
(電位計グレード)

パーツ番号	$V_{OS},$ MAX*	TC $V_{OS},$ MAX	$I_B,$ MAX*	0. 1 H z ~ 1 0 H z ノイズ	パッケージ
AD549	250μV	5μV/°C	100fA	4μV p-p	TO-99
AD645	250μV	1μV/°C	1.5pA	2μV p-p	TO-99, DIP
AD795	250μV	3μV/°C	1pA	2.5μV p-p	SOIC, DIP

* 2 5 °Cでの仕様

図5. 8

【0449】

【表 9】

B i F E T オペアンプ入力段

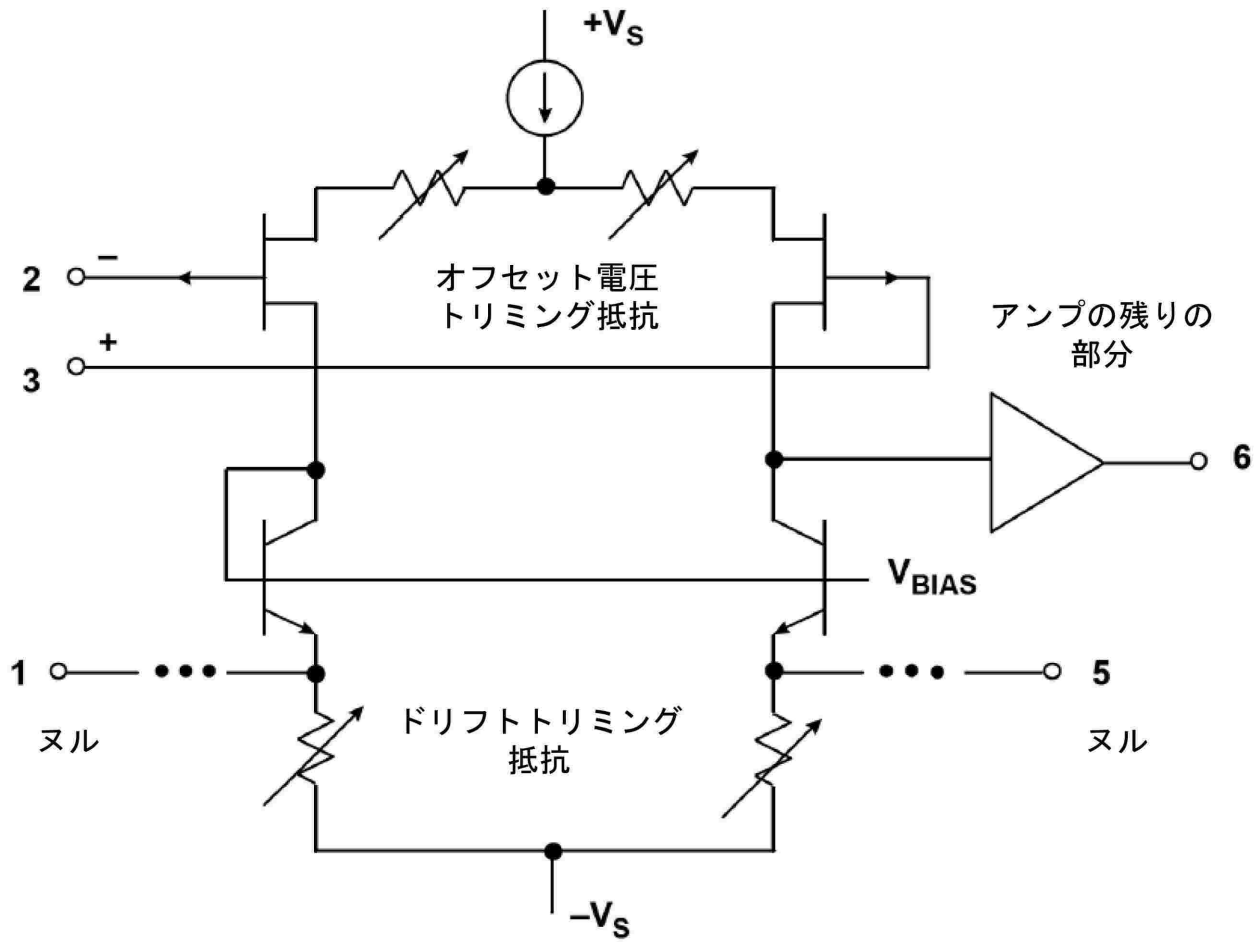


図 5. 9

【 0 4 5 0 】

【表 10】

AD795BiFETオペアンプの主要仕様

- オフセット電圧：25℃で最大250 μV (Kグレード)
- オフセット電圧ドリフト：最大3 $\mu\text{V}/^{\circ}\text{C}$ (Kグレード)
- 入力バイアス電流：25℃で最大1pA (Kグレード)
- 0.1Hz～10Hz電圧ノイズ：2.51 $\mu\text{V}_{\text{p-p}}$
- 1/fコーナ周波数：12Hz
- 電圧ノイズ：100Hzで10nV/ $\sqrt{\text{Hz}}$
- 電流ノイズ：100Hzで0.6fA/ $\sqrt{\text{Hz}}$
- $\pm 15\text{V}$ で40mWの電力損失
- 1MHzの利得帯域幅積

10

20

図 5. 10

30

【0451】

ダイオードの電流はピコアンペアで測定されるため、実際の回路における潜在的なリーク経路に細心の注意が払われなければならない。よく洗浄された高品質エポキシガラスPC基板上で、0.05インチ離れて1インチ平行に延びている、2本の平行な導体ストライプは、+125℃でおよそ 10^{11} オームのリーク抵抗を有する。これらの間に15ボルトがかけられた場合、150 μA の電流が生じることとなる。

【0452】

フォトダイオード回路についての重要なリーク経路は、図 5. 11において点線によって囲まれている。フィードバック抵抗は、ガラス絶縁を有するセラミック又はガラス上の薄膜であるべきである。フィードバック抵抗にまたがる補償コンデンサは、ポリプロピレン又はポリスチレンの誘電体を有するべきである。加算接合部への全ての接続は、短く保たれるべきである。フォトダイオードをプリアンプに接続するためにケーブルが使用される場合、ケーブルは可能な限り短く保たれ、テフロン（登録商標）絶縁を有するべきである。

40

【0453】

PC基板にわたる大きな電圧勾配からアンプの入力を隔離することによって、寄生リーク電流を低減させるために、ガード技法が使用されうる。物理的には、ガードは、入力ラインを取り囲む低インピーダンスの導体であり、ラインの電圧まで上昇させられる。感度の高いノードからそらすことによって、リークを緩衝するよう機能する。

【0454】

50

【表 1 1】

リーク電流経路

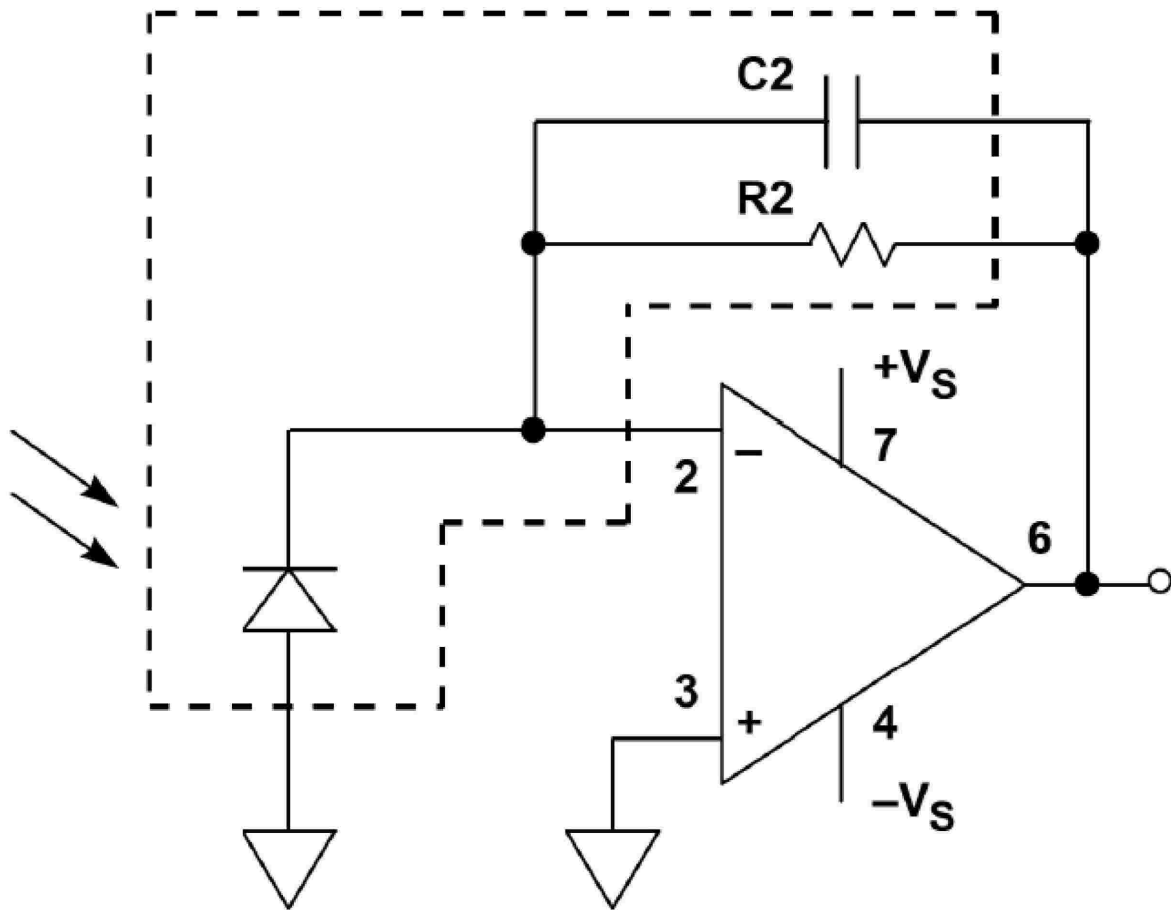


図 5. 1 1

【0 4 5 5】

ガードのための技法は、動作のモードに依存し、すなわち反転であるか非反転であるかに依存する。図 5. 1 2 は、DIP (「N」) パッケージにおける AD 795 オペアンプの入力をガードするための PC 基板のレイアウトを示している。ピンの離隔は、このパッケージのピン間をトレースが通過することを可能にすることに留意されたい。反転モードにおいては、ガードトレースは、反転入力 (ピン 2) を取り囲み、入力トレースと平行に延びる。フォロワモードにおいては、ガード電圧は、反転入力であるピン 2 へのフィードバック電圧である。いずれのモードにおいても、ガードトレースは可能であれば PC 基板の両側に位置させられ、一緒に接続されるべきである。

【0 4 5 6】

SOIC 面実装 (「R」) パッケージを用いてガード技法を使用する場合、ピン間隔がピン間の PC 基板トレースを可能にしないため、少し複雑になる。図 5. 1 3 は、好ましい方法を示す。SOIC 「R」 パッケージにおいては、ピン 1、5 及び 8 は「非接続」ピンであり、図示されるように信号トレースをルーティングするために使用されうる。フォロワの場合においては、ガードトレースは、 $-V_S$ ピンの周りにルーティングされなければならない。

【0 4 5 7】

極端に低いバイアス電流の用途 (100 fA の入力バイアス電流を有する AD 549 を

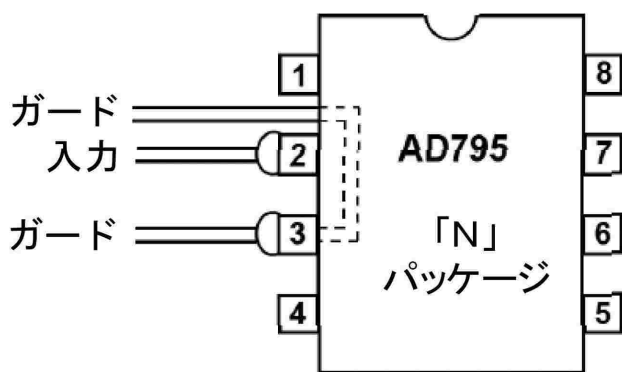
使用する等) については、オペアンプの入力への全ての接続が、全てバージンテフロン (Teflon (登録商標)) のスタンドオフ絶縁体になされるべきである (「バージン」テフロンとは、新たなテフロン材料の固体のピースであり、形状に合わせて機械加工されたものであり、粉末又は粒から合わせて溶接されていないものである)。機械的及び製造上の考慮が許せば、オペアンプの反転入力ピンは、P C 基板における穴を通るのではなく、テフロンのスタンドオフに直接はんだ付けされるべきである (図 5. 1 4 参照)。P C 基板自体は、注意深く洗浄され、高品質の適合するコーティング材料を使用して湿気及び埃に対して封止されなければならない。

【 0 4 5 8 】

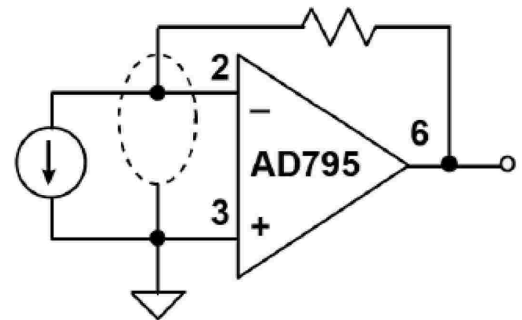
【表 1 2】

10

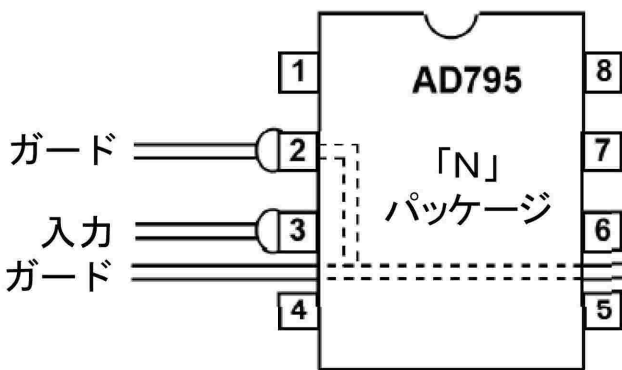
ガード D I P パッケージのための P C B レイアウト



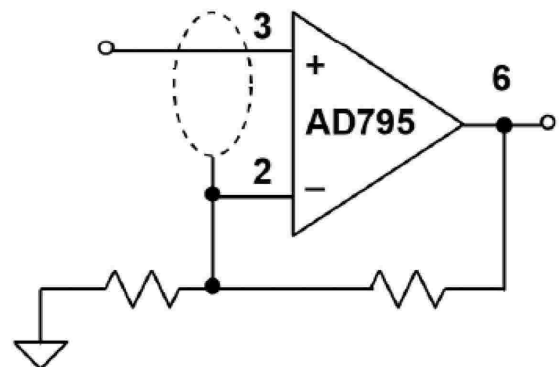
インバータ



20



フォロワ



30

図 5. 1 2

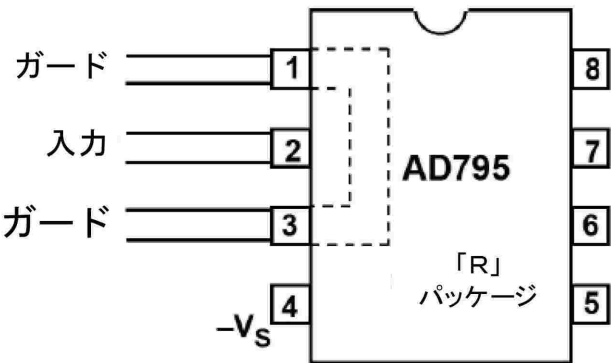
40

【 0 4 5 9 】

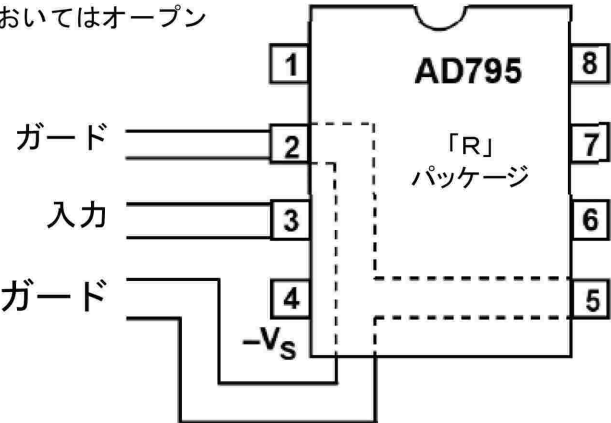
50

【表 1 3】

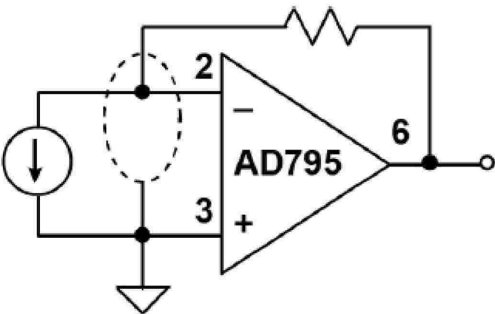
ガードSOICパッケージのためのPCBレイアウト



ピン 1、5、8は「R」パッケージにおいてはオープン

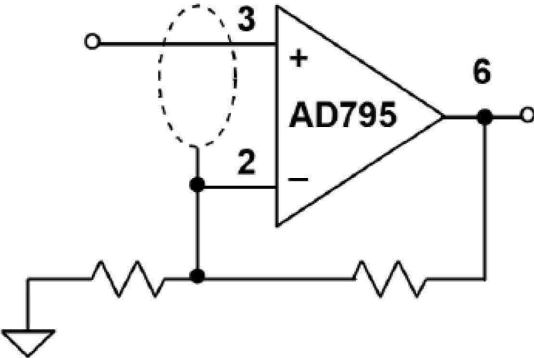


インバータ



10

フォロワ



20

図 5. 1 3

30

【 0 4 6 0】

40

50

【表 1 4】

「バージン」テフロン絶縁スタンドオフに 接続された入力ピン

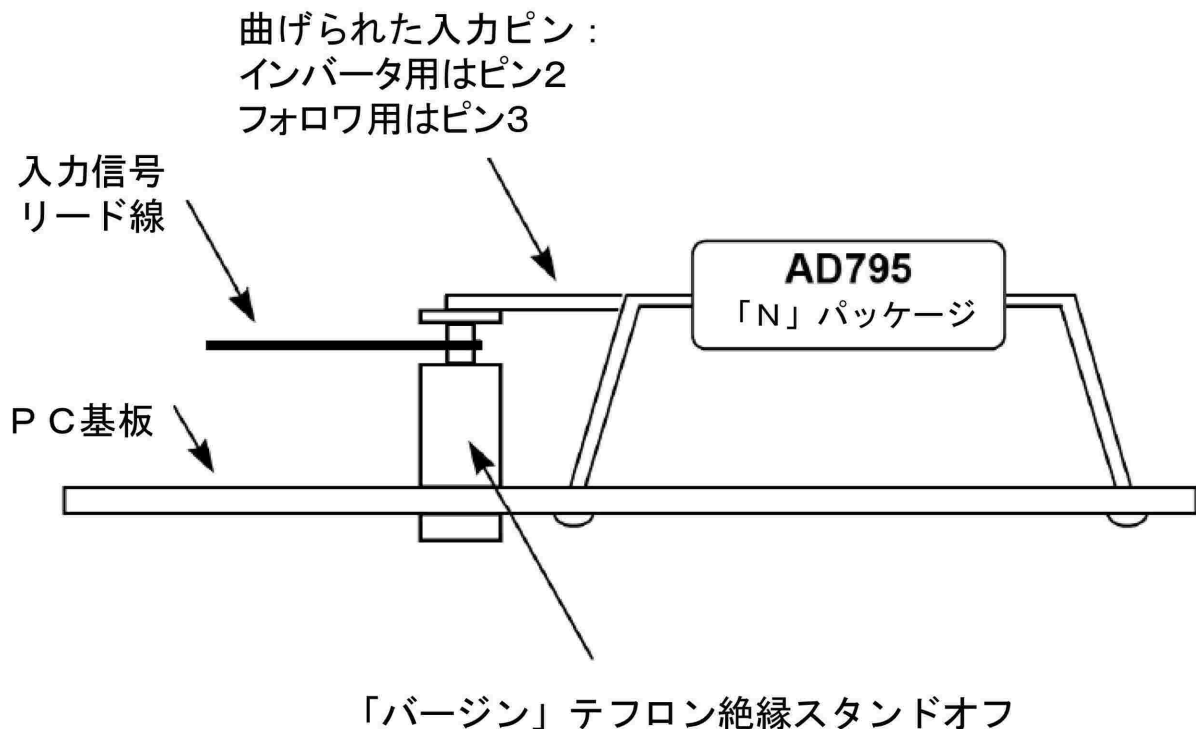


図 5. 1 4

【0 4 6 1】

リーク電流を最小化することに加えて、迷走信号のピックアップを防止するために、回路全体が接地された金属遮蔽を用いて十分に遮蔽されるべきである。

【0 4 6 2】

[プリアンプのオフセット電圧及びドリフト分析]

フォトダイオードプリアンプについてのオフセット電圧及びバイアス電流のモデルが、図 5. 1 5 に示されている。この回路においては、2つの重要な考慮事項がある。まず、ダイオードのシャント抵抗 (R_1) は温度の関数であり、温度が 10°C 上昇するたびに半分になる。室温 ($+25^\circ\text{C}$) では $R_1 = 1000\text{ M}\Omega$ であるが、 $+70^\circ\text{C}$ では $43\text{ M}\Omega$ に低下する。このことは、回路の DC ノイズ利得に、それゆえ出力オフセット電圧に、劇的な影響を及ぼす。この例においては、 $+25^\circ\text{C}$ では DC ノイズ利得は 2 であるが、 $+70^\circ\text{C}$ では 2.4 に増大する。

【0 4 6 3】

この回路の 2 つ目の難点は、温度が 10°C 上昇する毎に入力バイアス電流が 2 倍になることである。バイアス電流は、 $I_B R_2$ に等しい出力オフセット誤差をもたらす。 $+70^\circ\text{C}$ においては、バイアス電流は、室温での値である 1 pA から、 24 pA にまで増大する。通常、オペアンプの非反転入力と接地との間への $R_1 \parallel R_2$ の値を有する抵抗 (R_3) の追加が、この効果の 1 次の相殺をもたらさう。しかしながら、 R_1 は温度によって変化するため、この方法は有効ではない。これに加えて、バイアス電流は R_3 相殺抵抗の両端に電圧を発生させ、その電圧がフォトダイオードに印加されるため、ダイオードの応

答を非線形にさせる。

【0464】

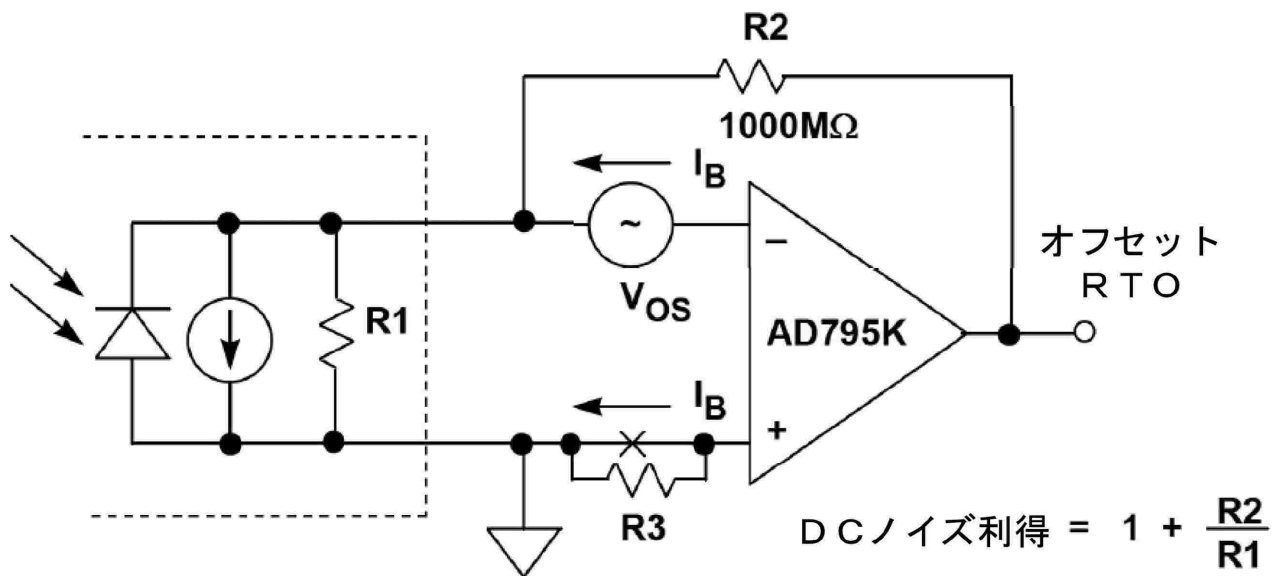
出力換算 (RTO: referred to output) オフセット電圧誤差の合計が、図5.16に要約されている。+70℃では、総誤差は33.24mVであることに留意されたい。この誤差は、検討中の設計については許容可能である。高温での誤差の主な要因は、もちろんバイアス電流である。低下させられた供給電圧でアンプを動作させること、出力駆動要件を最小化すること、及びヒートシンクが、この誤差の原因を低減させるいくつかの方法である。外部のオフセットヌル回路の追加が、初期入力オフセット電圧による誤差を最小化しうる。

【0465】

【表15】

10

AD795プリアンプのDCオフセット誤差



20

- I_B は10℃の温度上昇毎に2倍になる
- 25℃で $R1 = 1000m\Omega$ (ダイオードのシャント抵抗)
- $R1$ は10℃の温度上昇毎に半分になる
- $R3$ 相殺抵抗は無効

30

図5.15

40

【0466】

50

【表 1 6】

A D 7 9 5 K プリアンプ 総出力オフセット誤差

	0°C	25°C	50°C	70°C
V_{OS}	0.325mV	0.250mV	0.325mV	0.385mV
ノイズ利得	1.1	2	7	24
V_{OS} 誤差 RTO	0.358mV	0.500mV	2.28mV	9.24mV
I_B	0.2pA	1.0pA	6.0pA	24pA
I_B 誤差 RTO	0.2mV	1mV	6.0mV	24mV
総誤差 RTO	0.558mV	1.50mV	8.28mV	33.24mV

図 5. 1 6

【0 4 6 7】

〔入力オフセット電圧の供給源としての熱電電圧〕

熱電電位は、異なる温度で異なる金属間になされる電気的な接続によって発生させられる。例えば T O - 9 9 I C パッケージのコバール (kovar) の入力ピンに対する銅 P C 基板の電気的な接触は、この 2 つの金属が異なる温度となると $40 \mu V / ^\circ C$ のオフセット電圧を生成しうる。一般の鉛錫はんだは、銅と共に使用されたとき、 $1 \mu V / ^\circ C \sim 3 \mu V / ^\circ C$ の熱起電電圧を生成する。これを $0.3 \mu V / ^\circ C$ まで低下させる特殊なカドミウム錫はんだが利用可能である (参考文献 8、p. 127)。この問題に対する解決策は、I C の反転入力ピン及び非反転入力ピンへの接続が同じ材料を用いて行われること、及びこれら 2 つのピンが同じ温度のままとなるような P C 基板の熱レイアウトとすることを確実にすることである。(フォトダイオードプリアンプの場合におけるように) 反転入力のための絶縁された接続点としてテフロンスタンドオフが使用される場合においては、起こりえる熱電効果を最小化するために、非反転入力への接続も同様の態様で行われることが賢明である。

【0 4 6 8】

〔プリアンプ A C 設計、帯域幅、及び安定性〕

プリアンプ A C 設計に重要なことは、回路のノイズ利得を周波数の関数として理解することである。利得対周波数を対数-対数スケール上でプロットすることは、分析を比較的単純なものとする (図 5. 17 参照)。このタイプのプロットは、ボード線図とも呼ばれる。ノイズ利得は、オペアンプ入力端子と直列の小さな電圧源によって見られる利得である。これはまた、非反転信号利得 (「A」から出力への利得) と同じである。フォトダイオードプリアンプにおいては、フォトダイオードからの信号電流が、 $C2 / R2$ ネットワークを通過する。実際の信号がどこに印加されるかにかかわらず、安定性を決定するものはノイズ利得特性であるので、信号利得とノイズ利得とを区別することが重要である。

【0 4 6 9】

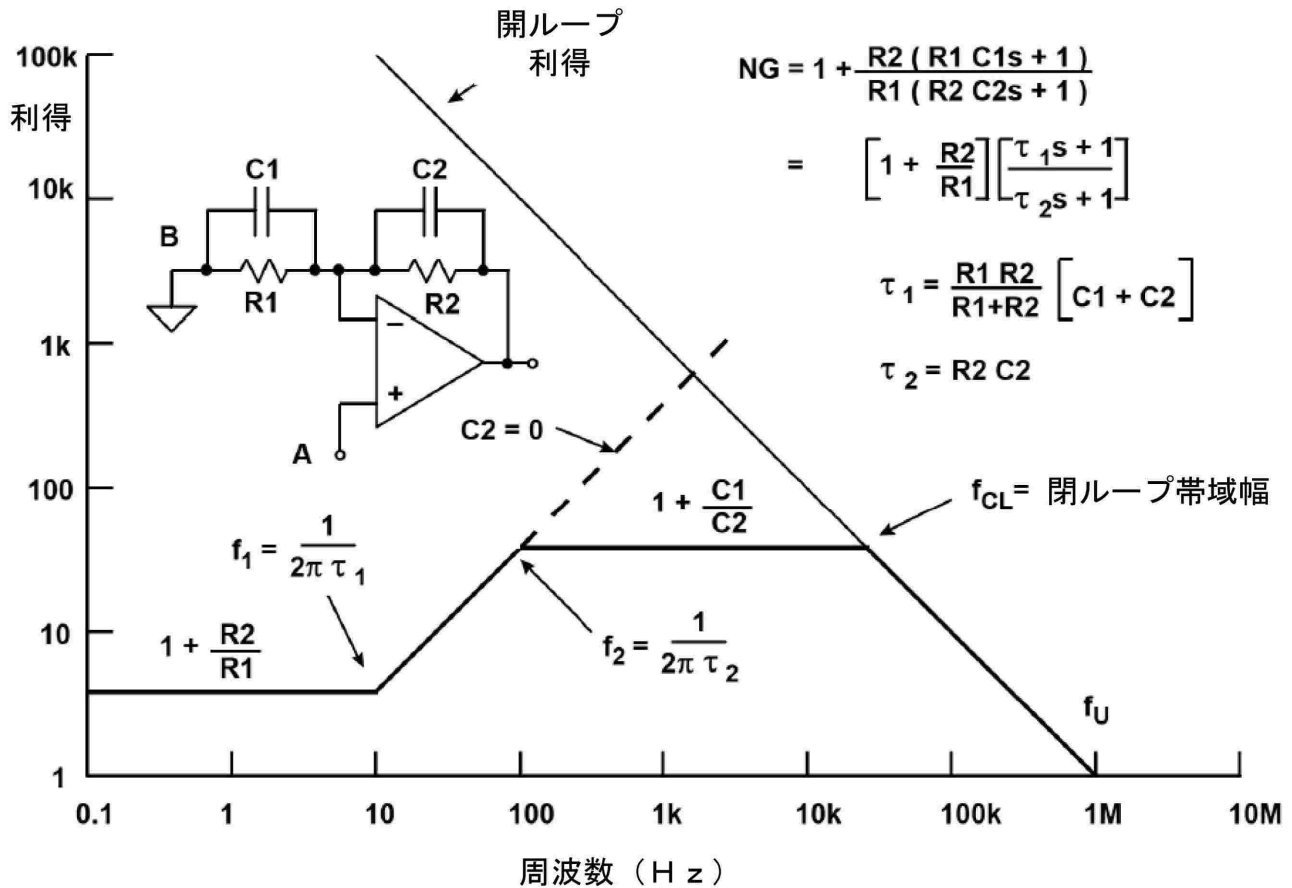
システムの安定性は、ノイズ利得及び開ループ利得の、これらが交差する部分における正味の傾きによって決定される。無条件の安定性のためには、ノイズ利得曲線は、12 dB / オクターブ（10 倍毎に 20 dB）未満の正味の傾きで開ループ応答と交差しなければならない。点線は、12 dB / オクターブの正味の傾きで開ループ利得と交差するノイズ利得を示しており、不安定な状態を示している。この状態は、フィードバックコンデンサがないとした場合（すなわち $C_2 = 0$ ）に、我々のフォトダイオード回路中で生じるものである。

【0470】

【表17】

一般化されたノイズ利得（NG）ボード線図

10



20

30

図5. 17

【0471】

ボード線図におけるブレイクポイント及び利得値を決定するための一般的な式も、図5. 17に示されている。ノイズ利得伝達関数におけるゼロは、 $1 / 2\pi\tau_1$ の周波数で発生し、ここで $\tau_1 = R_1 \parallel R_2 (C_1 + C_2)$ である。伝達関数の極は、 $1 / 2\pi\tau_2$ のコーナ周波数で発生し、ここで $\tau_2 = R_2 C_2$ であり、点「B」において信号が印加された場合の信号帯域幅にも等しい。低周波数においては、ノイズ利得は $1 + R_2 / R_1$ である。高周波数においては、 $1 + C_1 / C_2$ である。この曲線将对数-対数グラフにプロットすることは、ブレイクポイントを45度の傾きを有する直線で結ぶという単純なものである。ノイズ利得がオペアンプの開ループ利得と交差する点は、閉ループ帯域幅と呼ばれる。点「B」において印加される信号についての信号帯域幅はかなり小さく、 $1 / 2\pi R_2 C_2$ であることに留意されたい。

【0472】

40

50

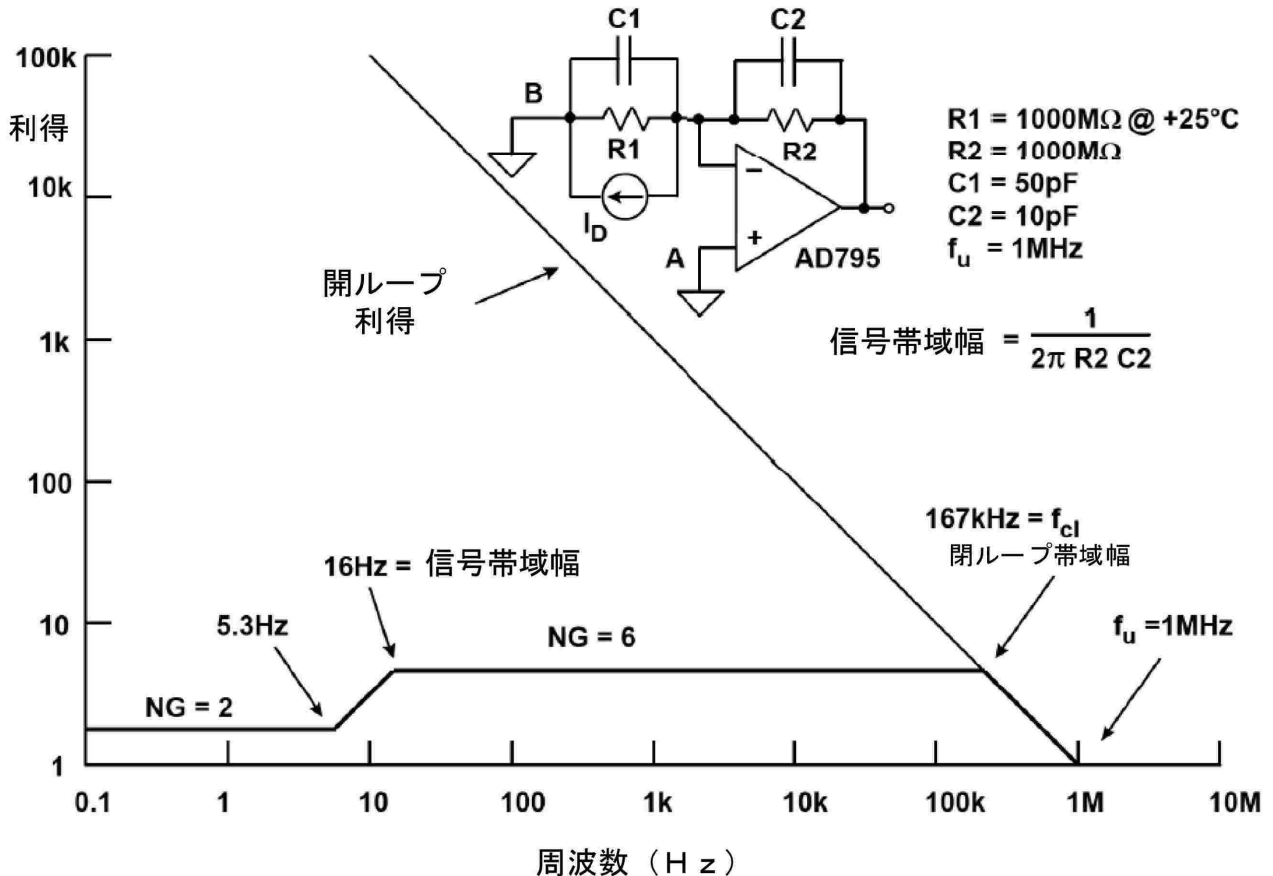
図 5. 18 は、実際の回路値を使用したフォトダイオードプリアンプについてのノイズ利得プロットを示す。C2 の選択は、実際の信号帯域幅及び位相マージンを決定付ける。この例においては、16 Hz の信号帯域幅が選ばれた。より小さい C2 の値は、より高い信号帯域幅、及び対応して位相マージンの低減に帰着しうることに留意されたい。また、信号帯域幅が 16 Hz しかないにもかかわらず、閉ループ帯域幅は 167 kHz であることも興味深い点である。このことは、後続する出力ノイズ電圧分析に関して重要な意味を持つこととなる。

【0473】

【表 18】

25°CにおけるAD795プリアンプのノイズ利得

10



20

30

図 5. 18

【0474】

温度変化は回路の安定性に著しい影響を与えないことに留意することが重要である。R1 (フォトダイオードのシャント抵抗) の変化は、低周波ノイズ利得、及びノイズ利得応答のゼロが発生する周波数にのみ影響を与える。高周波ノイズ利得は、C1 / C2 比によって決定付けられる。

40

【0475】

【フォトダイオードプリアンプのノイズ分析】

分析を始めるに当たり、図 5. 19 に示される AD795 の入力電圧及び電流ノイズのスペクトル密度を考える。AD795 の性能は、JFET 入力オペアンプとしては優れたものであり、0.1 Hz ~ 10 Hz ノイズが 2.5 μV p-p であり、1 / f コーナ周波数は 12 Hz で、最良のバイポーラオペアンプを除く全てのオペアンプと比較しても遜色ないものである。図に示されるように、電流ノイズはバイポーラオペアンプよりも

50

はるかに低く、高インピーダンス用途に理想的な選択肢となる。

【0476】

オペアンプの完全なノイズモデルが、図5.20に示されている。このモデルは、反応性の要素C1及びC2を含む。各個別の出力ノイズの寄与は、適切な周波数帯域幅でスペクトル密度の2乗を積分し、次いで平方根をとることによって算出される：

$$V_1 \text{ による RMS 出力ノイズ} = \sqrt{\int V_1(f)^2 df}$$

【0477】

ほとんどの場合、この積分は、ノイズ利得のグラフに重ね合わせられた個々のスペクトル密度のグラフの検査によって行われ得る。次に、個々の成分を根二乗和の態様で結合することによって、総出力ノイズがえられる。図5.20における図の下の表は、個々の源がどのように出力に反映されるか、及び対応する積分のための帯域幅を示している。単極の帯域幅を等価ノイズ帯域幅に変換するために、 $1.57 (\pi/2)$ の係数が必要とされる。抵抗ジョンソンノイズのスペクトル密度は、次式により与えられる：

$$V_R = \sqrt{4kTR}$$

ここで、 k はボルツマン定数 ($1.38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$) であり、 T はKで表した絶対温度である。これを計算する簡単な方法は、 $1 \text{ k}\Omega$ 抵抗器のノイズのスペクトル密度が $+25^\circ\text{C}$ で $4 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$ であることを思い出すことである。別の抵抗値のジョンソンノイズは、抵抗値の 1000Ω に対する比の平方根を乗算することによって求めることができる。ジョンソンノイズは広帯域であり、そのスペクトル密度は周波数に対して一定である。

【0478】

【表19】

AD795の電圧ノイズ及び電流ノイズ

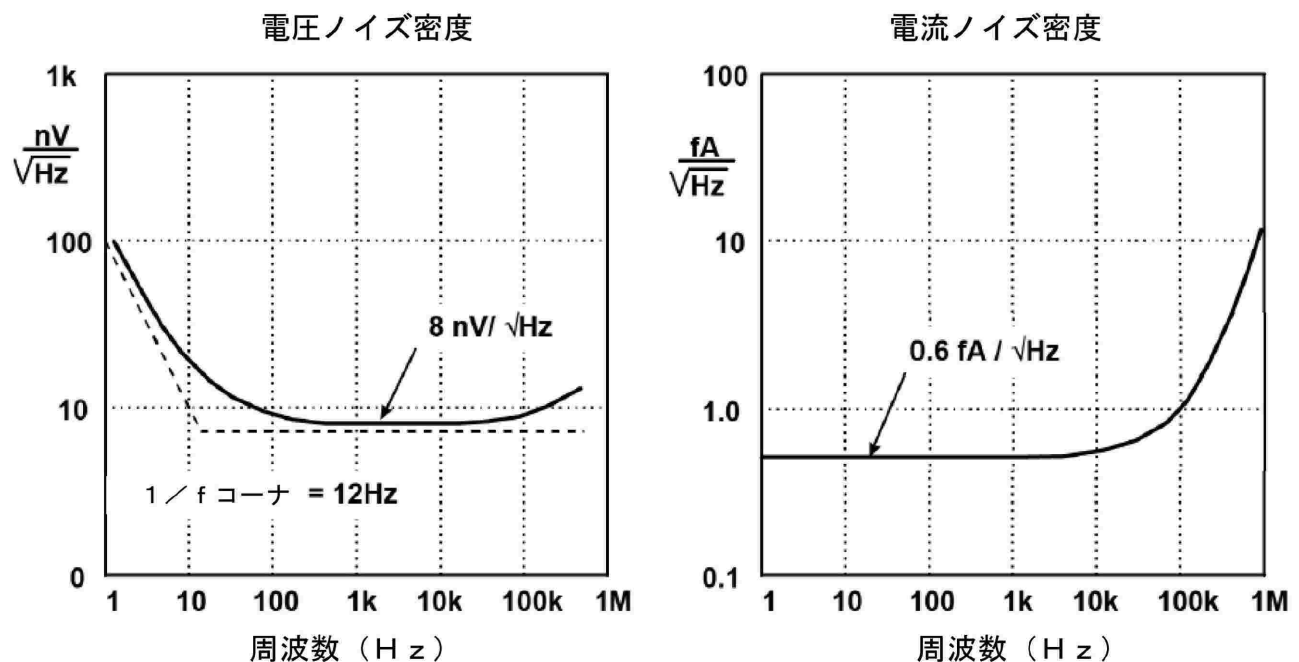


図5.19

【0479】

10

20

30

40

50

【表 2 0】

増幅器ノイズモデル

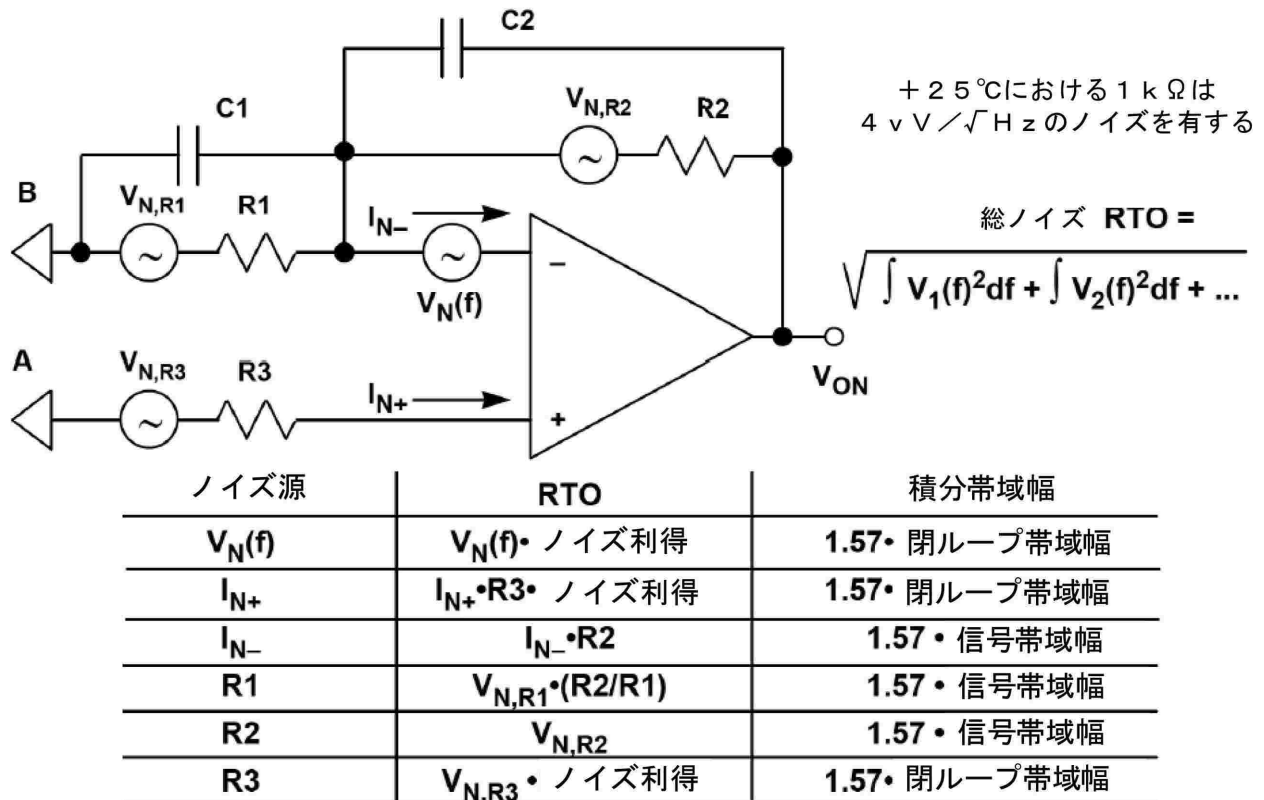


図 5. 2 0

【0480】

【入力電圧ノイズ】

入力電圧ノイズによる出力電圧ノイズのスペクトル密度プロットをえるために、入力電圧ノイズのスペクトル密度プロットが、ノイズ利得プロットによって乗算される。このことは、対数-対数スケールのボード線図を使用して容易に達成される。次いで、入力電圧ノイズによる総 RMS 出力電圧ノイズが、出力電圧ノイズのスペクトル密度プロットの 2 乗を積分し、次いで平方根をとることによってえられる。ほとんどの場合、この積分は近似することができる。通常は、 $1/f$ 領域における 0.01 Hz の下限周波数が使用される。入力電圧ノイズについての積分の帯域幅が数百 Hz よりも大きい場合、入力電圧ノイズのスペクトル密度は一定であると仮定することができる。通常、1 kHz における入力電圧ノイズのスペクトル密度の値が、十分な精度をもたらすこととなる。

【0481】

入力電圧ノイズの寄与は、回路の閉ループ帯域幅全体にわたって積分されなければならないことに留意することが重要である（閉ループ帯域幅 f_{cl} は、ノイズ利得がオペアンプの開ループ応答と交差する周波数である）。このことは、ノイズ利得によって出力に反映される他のノイズ要因（すなわち非反転入力電流ノイズ及び非反転入力抵抗ノイズ）についても同様である。

【0482】

反転入力ノイズ電流は、フィードバックネットワークを通して流れて、出力にノイズ電圧寄与をもたらす。入力ノイズ電流は周波数に対してほぼ一定であり、それゆえ、信号帯域幅の 1.57 倍（ $1/2\pi R_2 C_2$ ）であるノイズ帯域幅によって、（1 kHz で測定された）ノイズ電流スペクトル密度を乗算することによって、積分が達成される。1.57（ $\pi/2$ ）の係数は、単極の 3 dB 帯域幅が等価ノイズ帯域幅に変換されたときに生じ

る。

【0483】

〔フィードフォワード抵抗 R_1 によるジョンソンノイズ〕

フィードフォワード抵抗 R_1 によって生成されたノイズ電流は、フィードバックネットワークも通って流れて、出力における寄与をもたらす。積分のためのノイズ帯域幅もまた、信号帯域幅の1.57倍である。

【0484】

〔非反転入力電流ノイズ〕

非反転入力電流ノイズ I_{N+} は、 R_3 の両端に電圧ノイズを発生させ、これが回路のノイズ利得によって出力に反映される。それゆえ、積分のための帯域幅は、回路の閉ループ帯域幅となる。しかしながら、 $R_3 = 0$ である場合、又はオペアンプを反転モードで動作させるときに通常望ましい大容量コンデンサを用いて R_3 がバイパスされる場合は、出力における寄与はない。

10

【0485】

〔非反転入力における抵抗によるジョンソンノイズ〕

R_3 によるジョンソン電圧ノイズもまた、回路のノイズ利得によって出力に反映される。 R_3 が十分にバイパスされている場合、出力ノイズへの著しい寄与をもたらさない。

【0486】

〔フォトダイオード回路のノイズ性能の要約〕

図5.21は、 $+25^\circ\text{C}$ における要因のそれぞれについての出力ノイズのスペクトル密度を示している。オペアンプの非反転入力は接地されているので、 I_{N+} 又は R_3 による寄与はないことに留意されたい。

20

【0487】

30

40

50

【表 2 1】

出力電圧ノイズ成分 +25℃におけるスペクトル密度($\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$)

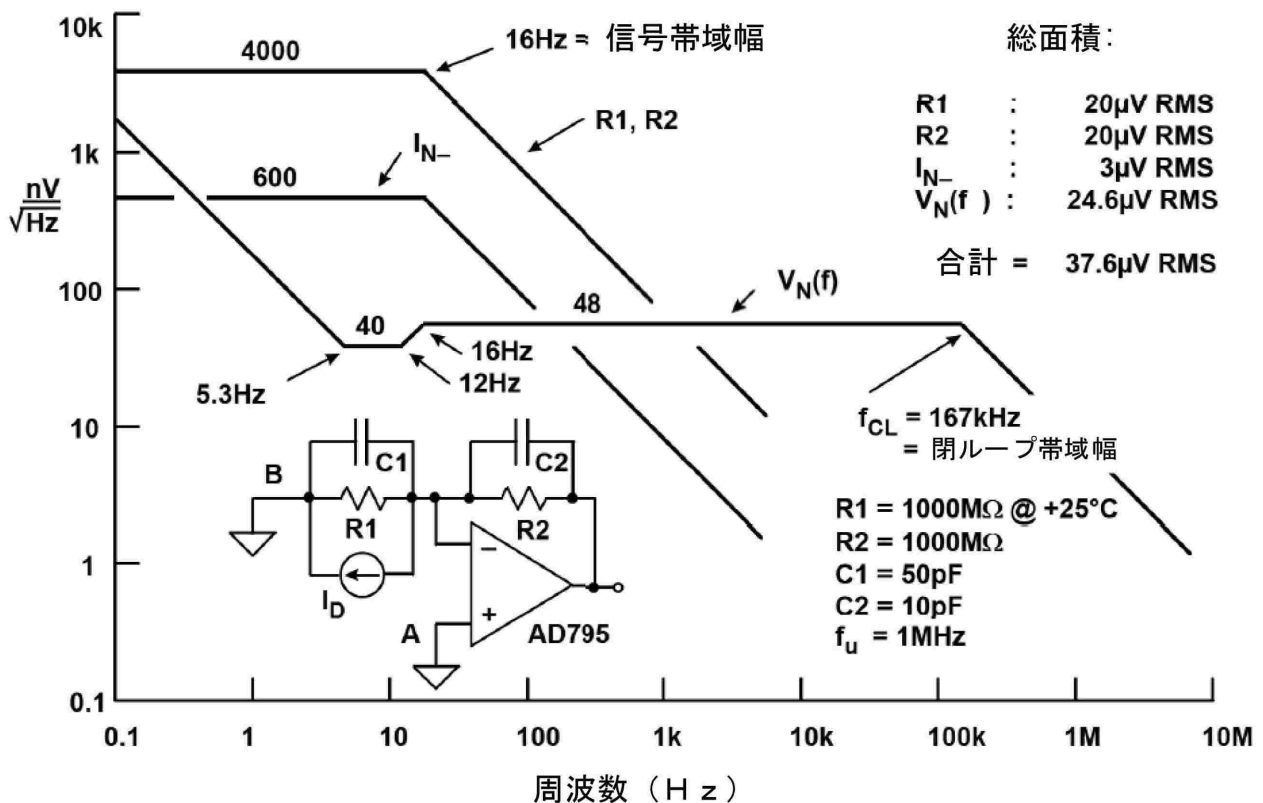


図 5. 2 1

【0 4 8 8】

【出力フィルタリングを使用したノイズ低減】

以上の分析から、+25℃における出力ノイズ電圧に対する最大の要因は、ノイズ利得によって出力に反映されるオペアンプの入力電圧ノイズである。この要因は主に、積分が実行されるノイズ利得が167kHzの帯域幅（ノイズ利得曲線とオペアンプの開ループ応答との交点）まで及ぶために、大きいものとなる。オペアンプ出力が20Hzのカットオフ周波数を有する単極フィルタ（図5.22に示される）によってフィルタリングされると（ $R = 80\text{M}\Omega$ 、 $C = 0.1\mu\text{F}$ ）、この寄与は1 $\mu\text{V rms}$ 未満に低減させられる。単にフィードバックコンデンサC2を増大させることだけでは、同じ結果は達成されないことに留意されたい。C2を増大させることは、高周波ノイズ利得を低下させるが、積分帯域幅はそれに比例して高くなる。また、より大きなC2の値は、信号帯域幅を許容できないレベルにまで低下させうる。単純なフィルタの追加が出力ノイズを28.5 $\mu\text{V rms}$ にまで低減させ、これは低減前の値のおよそ75%である。フィルタを挿入した後は、抵抗ノイズ及び電流ノイズが、出力ノイズに対する最大の要因となる。

【0 4 8 9】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

オフセットヌル調節を有するAD795 フォトダイオードプリアンプ

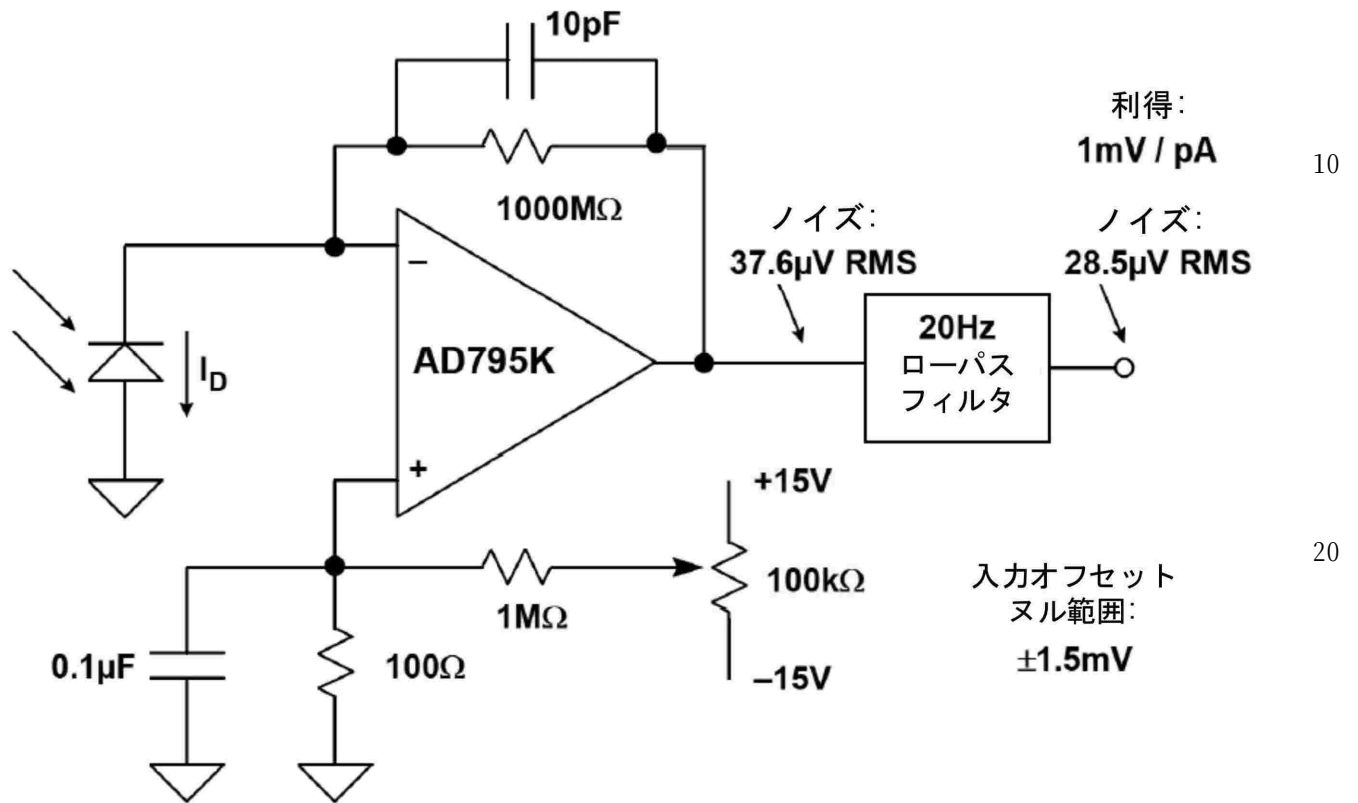


図 5. 2 2

【0 4 9 0】

[回路性能の要約]

フォトダイオード回路の最終的な最適化された設計についての図が、図 5. 2 2 に示されている。性能特性は、図 5. 2 3 に要約されている。0℃～+70℃にわたる出力電圧ドリフトの合計は、33mVである。これは、33pAのダイオード電流、又はおよそ0.001フットキャンドル（月のない晴れた夜の照度のレベル）に相当する。非反転入力に示されているオフセットヌル回路は、室温オフセットをヌルアウトするために使用される。オフセットヌルピンを使用することは、オフセット電圧TCを、ヌル化された1ミリボルト毎に約 $3\mu\text{V} / ^\circ\text{C}$ だけ増大させるため、この方法はオフセットヌルピンを使用することよりも優れていることに留意されたい。これに加えて、AD795SOICパッケージは、オフセットヌルピンを有さない。

【0 4 9 1】

$44\mu\text{V}$ の総出力電圧ノイズに基づく入力感度は、出力電圧ノイズをフィードバック抵抗R2の値によって除算することによってえられる。このことは、 44fA の最小検出可能ダイオード電流をもたらす。10Vフルスケール出力をデジタル化するために12ビットADCが使用される場合、最下位ビット（LSB）の重みは2.5mVである。出力ノイズレベルは、これよりもはるかに小さい。

【0 4 9 2】

【表 2 3】

A D 7 9 5 フォトダイオード回路の 性能要約

- 出力オフセット誤差 ($0^{\circ}\text{C} \sim +70^{\circ}\text{C}$) : 33 mV
- 出力感度 : $1\text{ mV} / \text{pA}$ 10
- 出力感光度 : $30\text{ V} / \text{フートキャンドル}$
- $+25^{\circ}\text{C}$ における総出力ノイズ : $28.5\text{ }\mu\text{V RMS}$
- $+25^{\circ}\text{C}$ における総ノイズ RTI : 44 fA RMS 、又は 26.4 pA p-p
- $R2 = 1000\text{ M}\Omega$ の範囲 : $0.001 \sim 0.33\text{ フートキャンドル}$ 20
- 帯域幅 : 16 Hz

図 5. 2 3

【0 4 9 3】

【フォトダイオード回路のトレードオフ】

これまで説明してきた基本的なフォトダイオード回路設計には、生じうる多くのトレードオフがある。大きな出力ノイズレベルと引き換えに、より多くの信号帯域幅が達成される。フィードバックコンデンサ $C2$ を 1 pF に低減させることは、信号帯域幅をおよそ 160 Hz に増大させる。寄生容量はおそらく $1\text{ pF} \sim 2\text{ pF}$ のオーダーであるので、 $C2$ の更なる低減は現実的ではない。また、安定性を維持するためには、少量のフィードバック容量が必要とされる。

30

【0 4 9 4】

回路がより高いレベルの照度（およそ 0.3 fc よりも高い）で動作させられる場合には、フィードバック抵抗の値が低減させられてもよく、それにより回路の帯域幅の更なる増大及びより小さい抵抗ノイズに帰着する。より高い光レベルを測定するために利得レンジングが使用される場合には、リーク経路を最小化するために、追加的なスイッチングネットワークの設計及びレイアウトに細心の注意が払われなければならない。

40

【0 4 9 5】

【高速フォトダイオード I/V 変換器の補償】

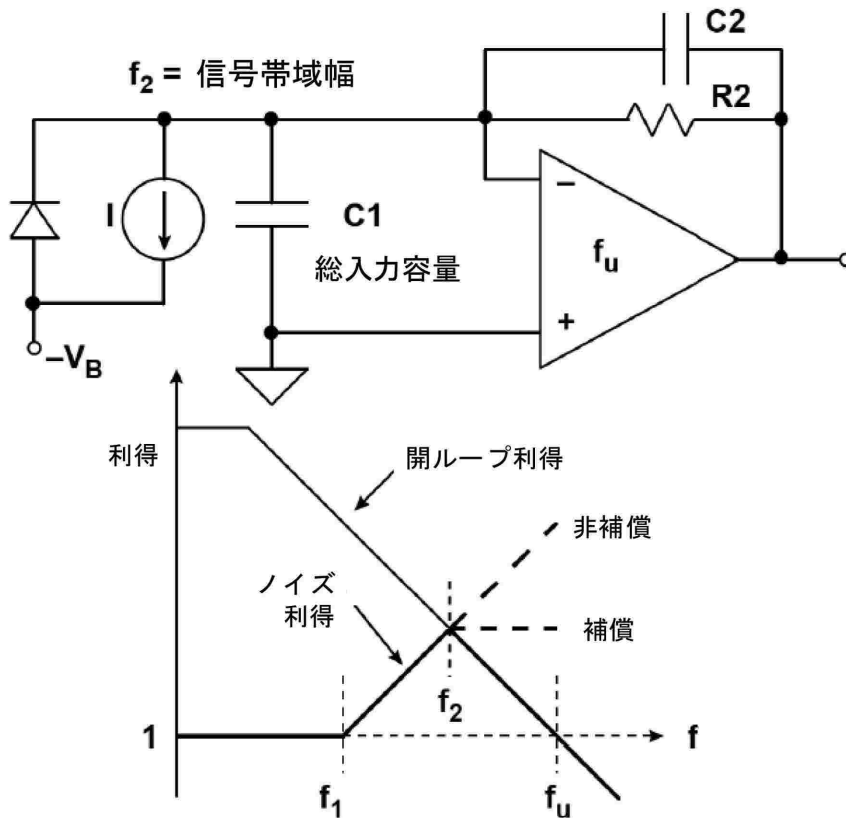
古典的な I/V 変換器が、図 5. 2 4 に示されている。 $R1 \gg R2$ であると仮定すると、フォトダイオードプリアンプと同じとなることに留意されたい。総入力容量 $C1$ は、ダイオード容量とオペアンプ入力容量との和である。これは古典的な 2 次システムであり、適切な補償を決定するために以下のガイドラインが適用されてもよい。

【0 4 9 6】

50

【表 2 4】

電流—電圧変換器における入力容量の補償



f_u = オペアンプ単一利得帯域幅積

$$f_1 = \frac{1}{2\pi R_2 C_1}$$

$$f_2 = \frac{1}{2\pi R_2 C_2}$$

$$f_2 = \sqrt{f_1 \cdot f_u}$$

$$C_2 = \sqrt{\frac{C_1}{2\pi R_2 f_u}}$$

45度の位相マージンについて

$$f_2 = \sqrt{\frac{f_u}{2\pi R_2 C_1}}$$

図 5. 2 4

【0 4 9 7】

正味の入力容量 C_1 は、ボード線図に示されるように、ノイズ利得伝達関数における周波数 f_1 においてゼロを形成する。

$$f_1 = 1 / (2\pi R_2 C_1)$$

ここで、補償コンデンサ C_2 の影響を無視し、 C_1 に対して小さく、回路に追加されてもゼロ周波数 f_1 に大きな影響を与えないと仮定していることに留意されたい。ほとんどの場合において、回路中の他の変数を考慮すると、この近似は十分に近い結果をもたらす。

【0 4 9 8】

補償されないままとされた場合、交差の周波数 f_2 における位相シフトが、不安定性及び発振の原因となる。フィードバックコンデンサ C_2 を追加することによって f_2 において極を導入することが、回路を安定化させ、約 45 度の位相マージンをもたらす。

$$f_2 = 1 / (2\pi R_2 C_2)$$

f_2 は、 f_1 とオペアンプの単一利得帯域幅周波数 f_u との幾何平均であるため、

$$f_2 = \sqrt{f_1 \cdot f_u}$$

となる。これらの方程式は組み合わせられて、 C_2 について解くことができる：

$$C_2 = \sqrt{C_1 / (2\pi R_2 \cdot f_u)}$$

この C_2 の値は、約 45 度の位相マージンをもたらすこととなる。コンデンサを 2 倍だけ増大させることは、位相マージンを約 65 度まで増大させる。

【0 4 9 9】

実用的には、 C_2 の最適値は、出力パルス応答を最適化するためにわずかに変化させることによって、実験的に決定されるべきである。

【0500】

[広帯域フォトダイオード I / V 変換器のためのオペアンプの選択]

高速フォトダイオード I / V 変換器中のオペアンプは、入力バイアス電流の影響を最小化し、低い値の光電流が検出されることを可能にするために、広帯域 FET 入力のものであるべきである。これに加えて、3 dB の帯域幅 f_2 についての式が、 f_u 、 R_2 及び C_1 で再整理されると、

$$f_2 = \sqrt{f_u / (2\pi R_2 C_1)}$$

となる。ここで C_1 は、ダイオードの容量 C_D とオペアンプの入力容量 C_{IN} との和である。高速用途においては、ダイオードの容量は、以上に議論された低周波数プリアンプの設計のものよりもはるかに小さくなり、ことによると数 pF まで小さくなる。

10

【0501】

この式の検討によって、 f_2 を最大化するためには、FET 入力オペアンプが高いユニティゲイン (unity gain) 帯域幅積 f_u 及び低い入力容量 C_{IN} の両方を有するべきであることが明らかである。実際、この用途のために様々なオペアンプを評価する場合、 C_{IN} に対する f_u の比は好適な性能指数である。

【0502】

図 5.25 は、フォトダイオードプリアンプに好適ないくつかの FET 入力オペアンプを比較したものである。検討によれば、AD823 オペアンプが、比較的低い入力バイアス電流に加えて、入力容量に対する単一利得帯域幅積の最も高い比を有する。これらの理由のため、これが広帯域フォトダイオードプリアンプの設計に選ばれた。

20

【0503】

30

40

50

【表 2 5】

広帯域フォトダイオードプリアンプのための F E T 入力オペアンプの比較表

	単一利得帯域 幅積 f_u (MHz)	入力容量 C_{IN} (pF)	f_u/C_{IN} (MHz/pF)	入力バイアス 電流 I_B (pA)	10 kHzにお ける電圧ノイズ (nV/ $\sqrt{\text{Hz}}$)
AD823	16	1.8	8.9	3	16
AD843	34	6	5.7	600	19
AD744	13	5.5	2.4	100	16
AD845	16	8	2	500	18
OP42	10	6	1.6	100	12
AD745*	20	20	1	250	2.9
AD795	1	1	1	1	8
AD820	1.9	2.8	0.7	2	13
AD743	4.5	20	0.2	250	2.9

* 高周波ノイズ利得 = $1 + C_1 / C_2$ であり通常は $C_1 \geq 4 C_2$ であるので、通常はノイズ利得 ≥ 5 で安定

図 5. 2 5

【0504】

[高速フォトダイオードプリアンプ設計]

HP5082-4204 PIN フォトダイオードが、議論のための例として使用される。その特性が、図 5. 2 6 に示されている。これは、市販されている多くの PIN フォトダイオードの典型的なものである。ほとんどの高速フォトダイオード用途と同様に、ダイオードは逆バイアスモード又は光伝導モードで動作させられる。このことは、ダイオードの接合容量を大幅に低下させるが、ダイオードが点灯していないときであっても少量の暗電流を流す（この暗電流誤差を補償する回路を、本セクションにおいて後に示す）。

【0505】

このフォトダイオードは、およそ $50 \mu\text{A} \sim 100 \mu\text{A}$ に上る出力電流までは照度に対して線形である。ダイナミックレンジは、総回路ノイズ及びダイオードの暗電流（暗電流補償がないと仮定する）によって制限される。

【0506】

10

20

30

40

50

【表 2 6】

HP 5 0 8 2 - 4 2 0 4 フォトダイオード

■ 感度 : 1 mW 、 900 nm において $350 \mu \text{ A}$ ■ 最大線形出力電流 : $100 \mu \text{ A}$

10

■ 面積 : 0.002 cm^2 (0.2 mm^2)■ 静電容量 : 10 V 逆バイアスにおいて 4 pF ■ ショット抵抗 : $10^{11} \Omega$

20

■ 立ち上がり時間 : 10 ns ■ 暗電流 : 10 V 逆バイアスにおいて 600 pA

図 5. 2 6

30

【0 5 0 7】

図 5. 2 7 に示される回路を使用して、 $100 \mu \text{ A}$ のダイオード電流に対して 10 V のフルスケール出力をえたいと仮定する。このことは、フィードバック抵抗 R_2 の値を、 $10 \text{ V} / 100 \mu \text{ A} = 100 \text{ k} \Omega$ と決定付ける。

【0 5 0 8】

ダイオードの容量 $C_D = 4 \text{ pF}$ 及び AD 8 2 3 の入力容量 $C_{IN} = 1.8 \text{ pF}$ を使用すると、 C_1 の値は $C_1 = C_D + C_{IN} = 5.8 \text{ pF}$ となる。 $C_1 = 5.8 \text{ pF}$ 、 $R_2 = 100 \text{ k} \Omega$ 、 $f_u = 16 \text{ MHz}$ を使用して以上の式を解くと、以下が見出される：

$$f_1 = 274 \text{ kHz}$$

$$C_2 = 0.76 \text{ pF}$$

$$f_2 = 2.1 \text{ MHz}$$

40

【0 5 0 9】

最終的な設計 (図 5. 2 7) においては、浮遊容量を最小化するために、 $100 \text{ k} \Omega$ 抵抗が、3つの $33.2 \text{ k} \Omega$ フィルム抵抗に置き換えられることに留意されたい。フィードバックコンデンサ C_2 は、可変の 1.5 pF セラミックであり、最終的な回路中で最良の帯域幅／パルス応答のために調節される。回路全体の帯域幅は、およそ 2 MHz である。

【0 5 1 0】

$100 \mu \text{ A}$ のダイオード電流に対するプリアンプのフルスケール出力電圧は 10 V であり、 600 pA のフォトダイオード暗電流による誤差 (RTO) は 60 mV である。暗電

50

流誤差は、図 5. 27 に示されるように、オペアンプの非反転入力において同じタイプの第 2 のフォトダイオードを使用して相殺されうる。

【 0 5 1 1 】

【 表 2 7 】

暗電流補償を有する 2 MHz 帯域幅フォトダイオードプリアンプ

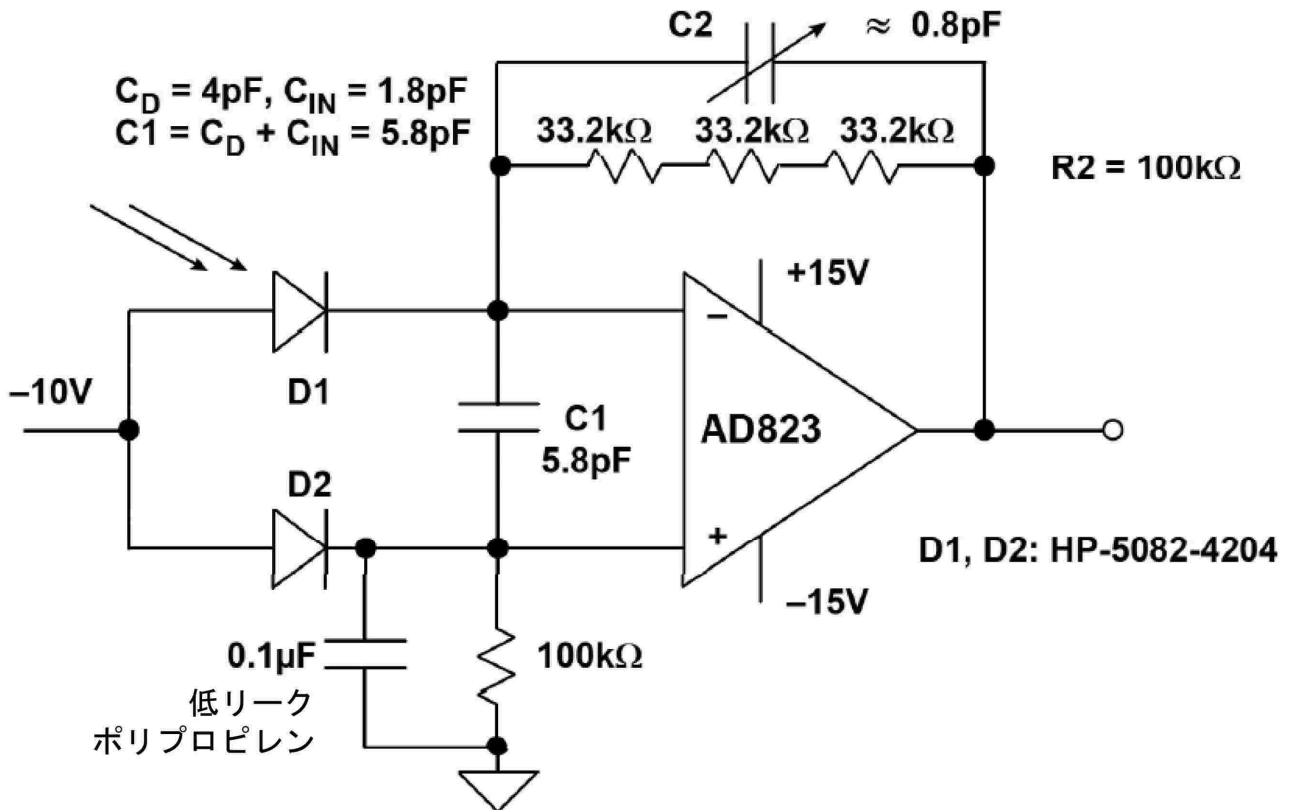


図 5. 27

【 0 5 1 2 】

【高速フォトダイオードプリアンプノイズ分析】

ほとんどのノイズ分析と同様に、主要な要因だけが特定される必要がある。ノイズ源は R S S の態様で組み合わせられるため、他のもののうちのいずれかの少なくとも 3 倍又は 4 倍大きい単一のノイズ源が支配的となる。

【 0 5 1 3 】

広帯域フォトダイオードプリアンプの場合には、出力ノイズの支配的な源は、オペアンプの入力電圧ノイズ V_N 及び R_2 による抵抗ノイズ V_{N, R_2} である（図 5. 28 参照）。FET 入力オペアンプの入力電流ノイズは、無視できる。フォトダイオードの（逆バイアスによって引き起こされる）ショットノイズは、シャント容量 C_1 のフィルタリング効果により無視できる。抵抗ノイズは、 $1\text{ k}\Omega$ の抵抗が約 $4\text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$ を発生させ、それゆえ $100\text{ k}\Omega$ の抵抗が $40\text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$ を発生させることから、容易に算出される。積分のための帯域幅は、信号の帯域幅すなわち 2.1 MHz であり、総出力 rms ノイズは、以下のとおりとなる：

$$V_{N, R_2 \text{ RTO ノイズ}} = 40 \sqrt{(1.57 \cdot 2.1 \cdot 10^6)} = 73 \mu\text{V rms}$$

【 0 5 1 4 】

1.57 の係数は、 2.1 MHz のおよその単極帯域幅を、等価ノイズ帯域幅に変換

する。

【0515】

入力電圧ノイズによる出力ノイズは、電圧ノイズによってノイズ利得を乗算し、関数全体を周波数で積分することによってえられる。これを厳密に行うと面倒となるが、計算を大幅に簡略化するいくつかの適当な近似がなされうる。明らかに、広帯域回路の場合には、低周波の $1/f$ ノイズは無視されうる。出力ノイズの主な源は、 f_1 と f_u との間で生じる高周波ノイズ利得ピーキングによるものである。出力ノイズが周波数の範囲全体にわたって一定であると単純に仮定し、ACノイズ利得についての最大値 $[1 + (C1/C2)]$ を使用すると、次のようになる：

$$V_{NRTONoise} = V_N (1 + C1/C2) \sqrt{(1.57 f_2)} = 250 \mu V_{rms}$$

10

【0516】

このとき、出力に関連する総rmsノイズは、2つの成分のRSS値となる：

$$\text{総RTOノイズ} = \sqrt{(73)^2 + (250)^2} = 260 \mu V_{rms}$$

【0517】

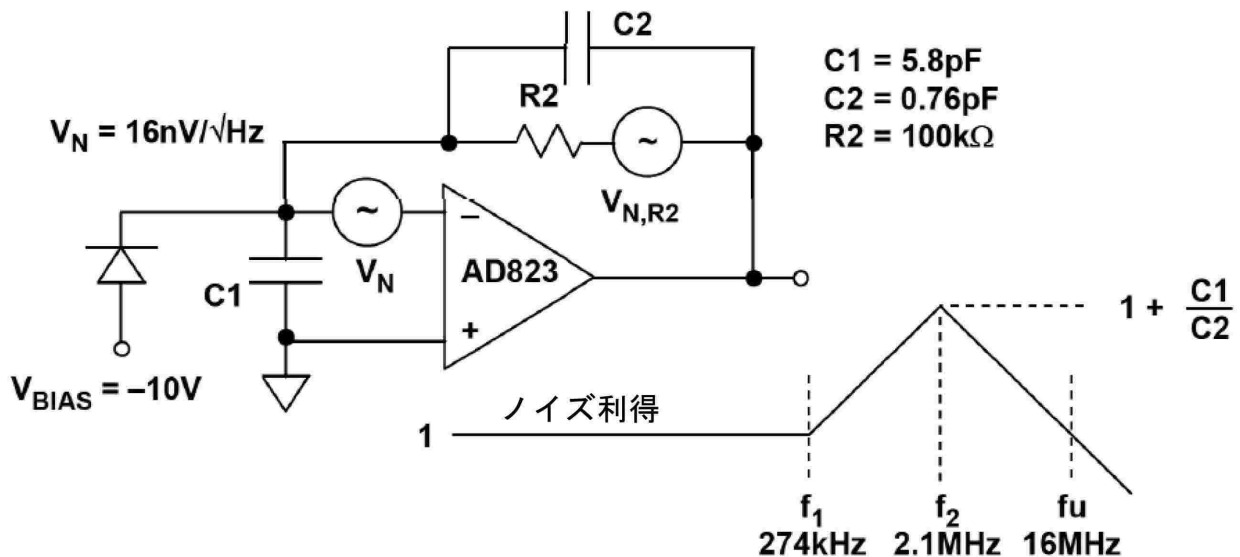
総出力ダイナミックレンジは、フルスケール出力信号 (10V) をトータル出力rmsノイズ $260 \mu V_{rms}$ によって除算してdBに変換することによって算出されえて、およそ92dBとなる。

【0518】

【表28】

出力ノイズ分析のための等価回路

20



30

$$\blacksquare V_{NRTONoise} \approx V_N \left[1 + \frac{C1}{C2} \right] \sqrt{1.57 f_2} = 250 \mu V_{RMS}$$

$$\blacksquare V_{N, R2} RTO \text{ノイズ} \approx \sqrt{4kTR2 \cdot 1.57 f_2} = 73 \mu V_{RMS}$$

40

$$\blacksquare \text{総RTOノイズ} = \sqrt{250^2 + 73^2} = 260 \mu V_{RMS}$$

$$\blacksquare \text{ダイナミックレンジ} = 20 \log \left[\frac{10V}{260 \mu V} \right] = 92dB$$

図 5. 28

【0519】

【高インピーダンス電荷出力センサ】

50

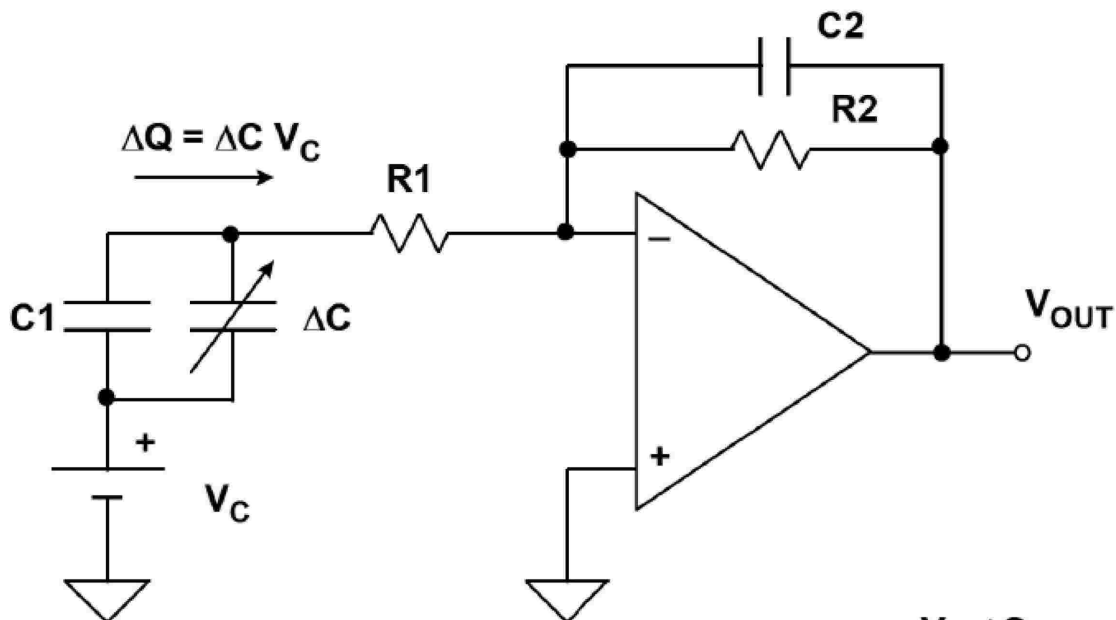
圧電センサ、ハイドロホン、及びいくつかの加速度センサ等の、高インピーダンストランスデューサは、電荷の移動を電圧の変化に変換する増幅器を必要とする。これらのデバイスの高いDC出力インピーダンスのため、適切な緩衝器が必要とされる。反転電荷感応増幅器についての基本回路が、図5.29に示されている。基本的に、容量性及び電荷放出性の2つのタイプの電荷トランスデューサがある。容量性トランスデューサにおいては、コンデンサの両端電圧 (V_C) は一定に保たれる。容量の変化 ΔC は、電荷の変化 $\Delta Q = \Delta C V_C$ をもたらす。この電荷は、電圧 $\Delta V_{OUT} = -\Delta Q / C_2 = -\Delta C V_C / C_2$ として、オペアンプ出力に伝達される。

【0520】

【表29】

10

容量性センサのための電荷増幅器



20

■ 容量性センサについて：

$$\Delta V_{OUT} = \frac{-V_C \Delta C}{C_2}$$

30

■ 電荷放出性センサについて：

$$\Delta V_{OUT} = \frac{-\Delta Q}{C_2}$$

■ 上限カットオフ周波数

$$= f_2 = \frac{1}{2\pi R_2 C_2}$$

■ 下限カットオフ周波数

$$= f_1 = \frac{1}{2\pi R_1 C_1}$$

40

図5.29

【0521】

電荷放出型トランスデューサは出力電荷 ΔQ を生成し、その出力容量は一定のままである。この電荷は通常は、 $\Delta Q / C$ に等しい開回路出力電圧をトランスデューサの出力において生成する。しかしながら、トランスデューサの両端電圧はオペアンプの仮想接地によって一定に保たれているので (R_1 は通常小さい)、電荷はコンデンサ C_2 に移動させられ、出力電圧 $\Delta V_{OUT} = -\Delta Q / C_2$ を生成する。

【0522】

実際の適用時には、電荷増幅器はAC入力にのみ応答する。上限カットオフ周波数は f

50

$2 = 1 / 2 \pi R_2 C_2$ によって、下限は $f_1 = 1 / 2 \pi R_1 C_1$ によって与えられる。

【0523】

〔低ノイズ電荷増幅器の回路構成〕

図5.30は、電荷出力トランスデューサの出力を緩衝及び増幅する2つの方法を示す。いずれも、AD745等の非常に高い入力インピーダンスを有する増幅器を使用することを必要とする。AD745は、低電圧と低電流ノイズの両方を提供する。この組み合わせは、このデバイスを、容量性加速度計及びハイドロホン等の非常に高い電荷感度を必要とする用途に特に好適なものとする。

【0524】

〔表30〕

10

ソースインピーダンスのバランスをとることが、
バイアス電流の影響を最小化し、入力ノイズを低減させる

20

30

40

50

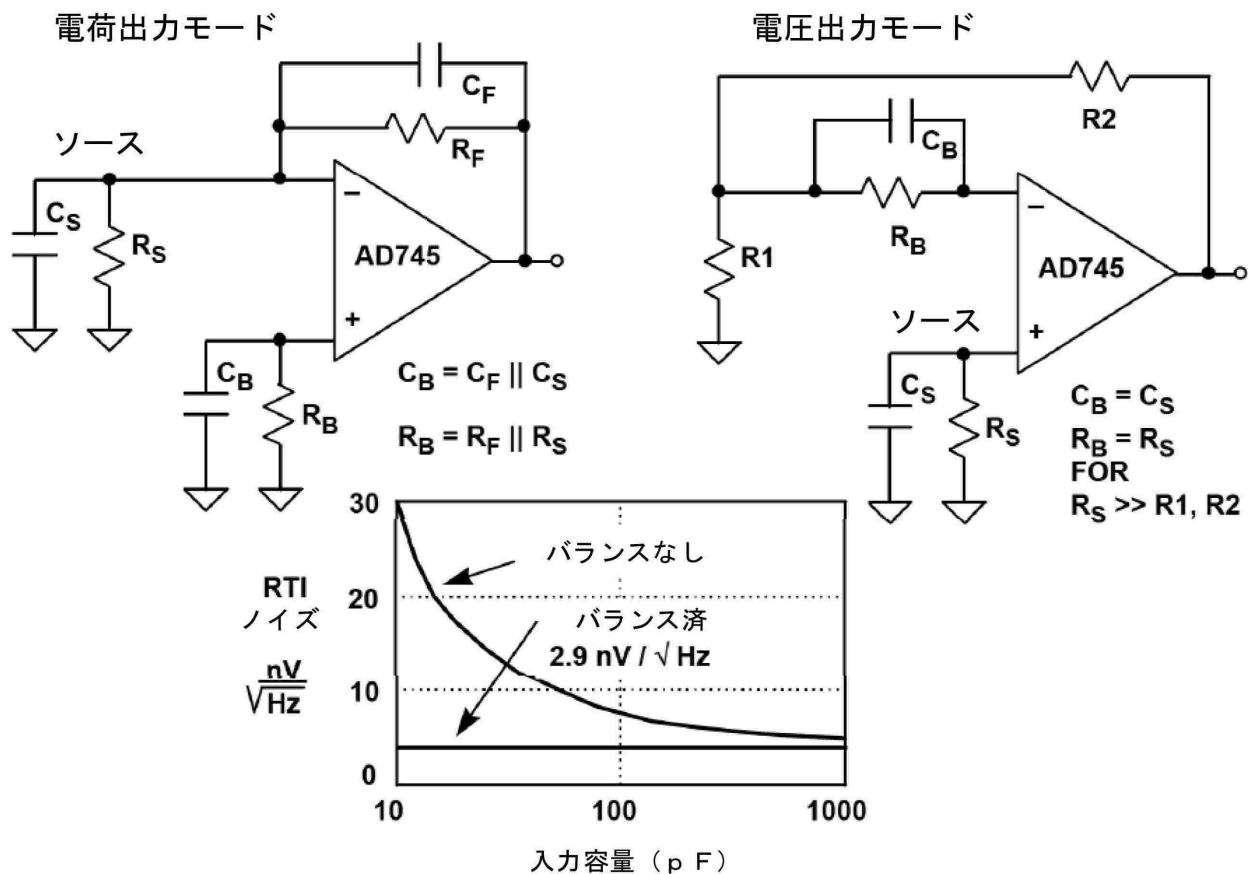


図5.30

【0525】

図5.30における第1の回路(左)は、オペアンプを反転モードで使用する。増幅は、増幅器の反転入力における電荷保存の原理に依存する。コンデンサ C_S における電荷はコンデンサ C_F に移動させられ、したがって $\Delta Q / C_F$ の出力電圧をもたらす。増幅器の入力電圧ノイズは、回路のACノイズ利得、 $1 + C_S / C_F$ によって増幅されて出力に現れることとなる。

【0526】

図5.30に示される第2の回路(右)は、単純に利得を有する高インピーダンスフォロワである。ここでノイズ利得 ($1 + R_2 / R_1$) は、トランスデューサから出力への利得と同じである。いずれの回路においても、抵抗 R_B はDCバイアス電流の戻りとして必

要とされる。

【0527】

温度に対するDC性能を最大にするために、増幅器の各入力においてソース抵抗がバランスをとられるべきである。このことは、図5.30に示される抵抗 R_B によって表される。最良のノイズ性能のためには、ソース容量もまたコンデンサ C_B とバランスをとられるべきである。一般的に、AD743／AD745等の高精度低ノイズBiFET増幅器の入力によって見られるように、ソースインピーダンス（抵抗性及び反応性の両方）のバランスをとることが良い方法である。抵抗成分のバランスをとることは、バイアス電流誤差の影響を軽減することとなるので、温度に対するDC性能を最適化することとなる。入力容量のバランスをとることは、増幅器の非線形コモンモード入力容量によるAC応答誤差を最小化することとなり、また図5.30に示されるように、ノイズ性能も最適化されることとなる。いずれのFET入力増幅器においても、内部バイアス回路の電流ノイズは、ゲートソース間容量（AD743及びAD745については20pF）を介して入力に結合され、過剰入力電圧ノイズとして現れる。このノイズ成分は入力において相関付けられ、そのためソースインピーダンスマッチングがその影響を相殺する傾向があることとなる。図5.30は、反転構成と非反転構成の両方について、必要とされる外部コンポーネントを示す。300pFよりも大きな C_B の値については、ノイズに対する減少する影響があり、 C_B は単純に0.01μF以上の大容量マイラバイパスコンデンサであってもよい。

10

【0528】

20

〔40dBの利得の圧電トランスデューサ増幅器は、低バイアス電流について、低減させられた供給電圧で動作する〕

図5.31は、電圧出力モードで接続された圧電トランスデューサ増幅器を示す。電源を+5Vに低減させることは、バイアス電流の影響を、2つの態様、すなわち、第1には総電力損失を低下させることによって、及び第2には基本ゲート接合部リーク電流を低減させることによって、低減させる。Aavid#5801等のクリップオンヒートシンクの追加が、内部接合部の温度上昇を更に制限することとなる。

【0529】

AC結合コンデンサ C_1 がない場合、増幅器は0℃～+85℃の範囲にわたって動作することとなる。任意のAC結合コンデンサ C_1 が使用される場合、回路は-55℃～+125℃の温度範囲全体にわたって動作することとなるが、DC情報は失われる。

30

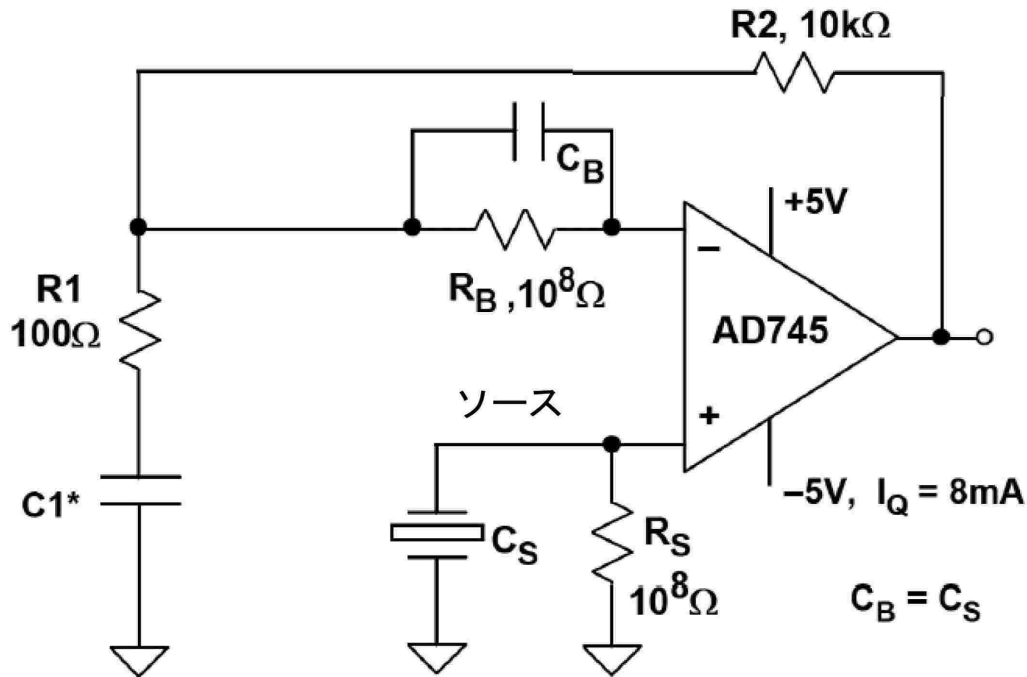
【0530】

40

50

【表 3 1】

利得 100 の圧電センサ増幅器



■ $\pm 5\text{ V}$ 電源が $0^\circ\text{C} \sim +85^\circ\text{C}$ の動作のための I_B を低減、 $P_D = 80\text{ mW}$

■ C_1 が $-55^\circ\text{C} \sim +125^\circ\text{C}$ の動作を可能にする

図 5. 3 1

【0531】

【ハイドロホン】

ハイドロホン、いくつかの加速度計、及びコンデンサマイクロホン等の、高容量性トランスデューサの出力を外界にインタフェースすることは、多くの設計上の課題を呈する。以前は、設計者は、これらの用途によって必要とされる低レベルの電圧ノイズ及び電流ノイズを達成するために、従来のオペアンプの前に離散的な低ノイズ JFET からなる高価なハイブリッド増幅器を使用する必要があった。現在は、AD743 及び AD745 を使用して、設計者は、モノリシックな解決方法で、ハイブリッド手法とほぼ同じレベルの性能を達成しうる。

【0532】

ソナー用途においては、ハイドロホンの能動素子として、圧電セラミックシリンダが一般に使用される。典型的なシリンダは約 6000 pF の公称静電容量を有し、 $10\ \Omega$ の直列抵抗を有する。出力インピーダンスは、典型的には $10^8\ \Omega$ すなわち $100\text{ M}\Omega$ である。

【0533】

対象となるハイドロホン信号は、本質的に広いダイナミックレンジを有する AC であるので、ソナーシステムの設計者の間ではノイズが最大の関心事となっている。ハイドロホンのノイズフロアとハイドロホンプリアンプとは合わせて、システムの感度を制限し、それゆえハイドロホンの全体的な有用性を制限する。典型的なハイドロホンの帯域幅は、1

k H z ~ 1 0 k H z の範囲内である。A D 7 4 3 及び A D 7 4 5 のオペアンプは、 $2.9 \text{ nV} / \sqrt{\text{Hz}}$ という低いノイズの値及び $10^{10} \Omega$ (すなわち $10 \text{ G}\Omega$) という高い入力インピーダンスを有し、ハイドロホン増幅器としての使用に理想的である。

【0534】

A D 7 4 3 と A D 7 4 5 とは、異なるレベルの内部補償を有する対となる増幅器である。A D 7 4 3 は、単一利得の安定性のために内部的に補償される。A D 7 4 5 は、5 以上のノイズ利得に対して安定であり、かなり高い帯域幅及びスルーレートを有する。このことは、A D 7 4 5 を、高い利得及び広い帯域幅の両方を提供する高利得プリアンプとして特に有用なものとする。また、A D 7 4 3 及び A D 7 4 5 は、それぞれ 0.0003% 未満及び 0.0002% 未満 (1 k H z において) という極めて低いレベルの歪みで動作する。

10

【0535】

[オペアンプの性能：J F E T 対バイポーラ]

A D 7 4 3 及び A D 7 4 5 のオペアンプは、バイポーラオペアンプに典型的に関連する高い入力バイアス電流を伴わずに、バイポーラオペアンプに匹敵する低い入力電圧ノイズを提供する、最初のモノリシック J F E T デバイスである。図 5. 3 2 は、バイアス電流補償型 O P 2 7 及び J F E T 入力型 A D 7 4 5 オペアンプの入力ソース抵抗に対する入力電圧ノイズを示す。A D 7 4 3 と A D 7 4 5 とのノイズレベルは同一であることに留意されたい。この図から、高いソースインピーダンスにおいては、A D 7 4 5 の低電流ノイズは、高性能バイポーラオペアンプよりも低い全体的なノイズをもたらすことが明らかである。また、A D 7 4 5 の場合、このノイズの低減は低いソースインピーダンスにまで及ぶことも留意することが重要である。図 5. 3 2 に示されるように、高いソースインピーダンスにおいては、A D 7 4 5 の低い D C 電流誤差は、オフセット及びドリフトによる誤差も低減させる。

20

【0536】

30

40

50

【表 3 2】

OP27（バイポーラ）及びAD745（BiFET） オペアンプについてのノイズ及びオフセット電圧に対する ソース抵抗の影響

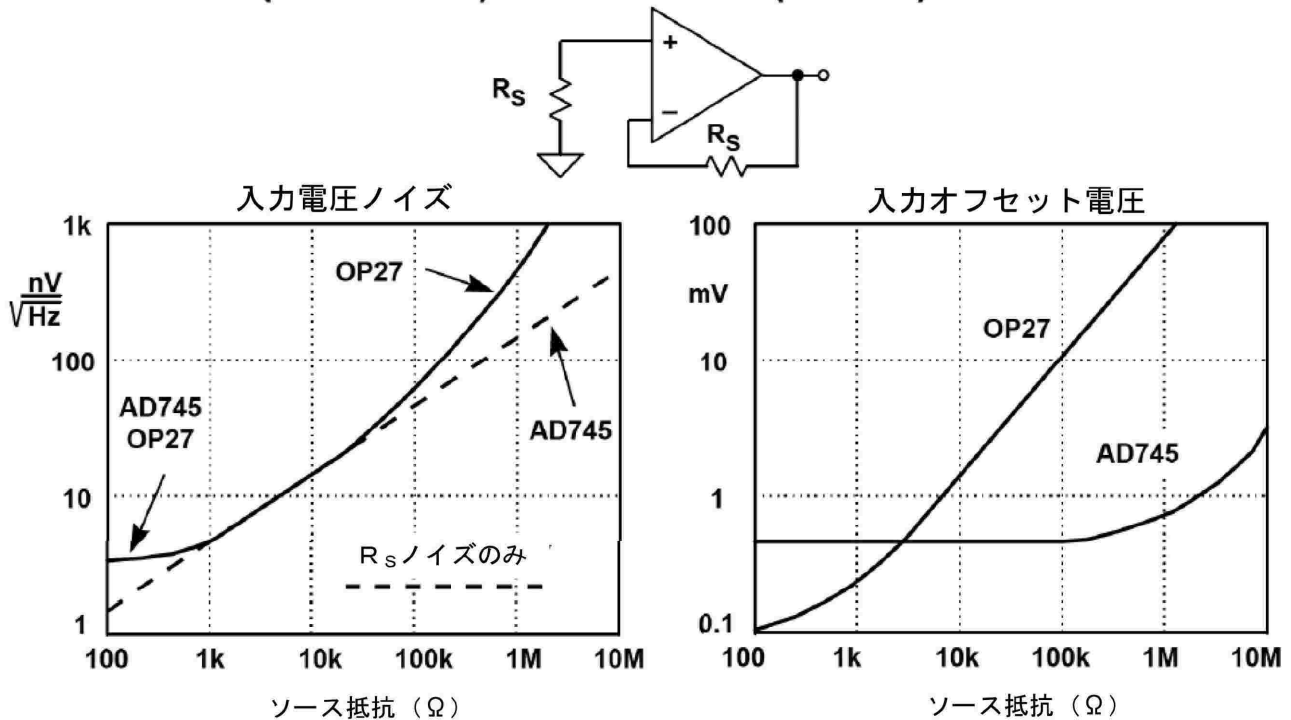


図 5. 3 2

【0537】

【pHプロブの緩衝増幅器】

典型的なpHプロブは、 $10^6 \Omega \sim 10^9 \Omega$ のソース抵抗を外部の回路から隔離するために、緩衝増幅器を必要とする。かかる増幅器が、図5.33に示されている。AD795の低い入力電流は、バイアス電流及び電極抵抗によって生じる電圧誤差が最小になることを可能にする。ガード、遮蔽、高絶縁抵抗スタンドオフ、及びリークを最小化するために使用される他のかかる標準的なピコアンプの方法の使用はいずれも、この回路の精度を維持するために必要とされる。

【0538】

pHプロブの伝達関数の勾配は、室温でpH単位当たり50mVであり、およそ+3500ppm/°Cの温度係数を有する。図5.33に示される緩衝器は、20の利得を提供し、1ボルト/pH単位に等しい出力電圧をもたらす。温度補償は、Precision Resistor Co., Inc.社から入手可能な、特殊な温度補償抵抗（1k Ω 、1%、+3500ppm/°C、#PT146）である（参考文献18）、抵抗 R_T によって提供される。

【0539】

10

20

30

40

50

【表 3 3】

AD795精密BiFETオペアンプを使用した 20の利得を有するpHプローブ緩衝増幅器

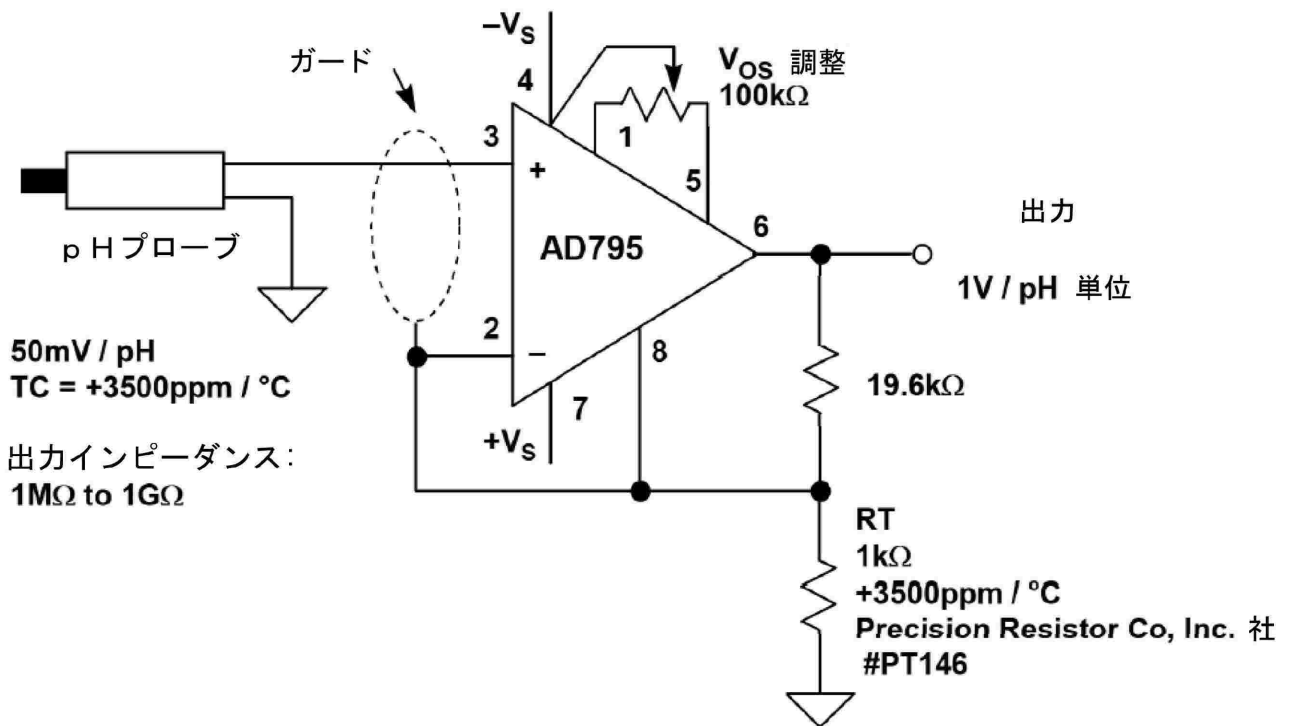


図 5. 3 3

【0540】

【CCD／CIS画像処理】

電荷結合素子（CCD）と接触型画像センサ（CIS）は、スキャナ及びデジタルカメラ等の消費者向け撮像システムにおいて広く使用されている。撮像システムの一般的なブロック図が、図 5. 3 4 に示されている。撮像センサ（CCD、CMOS、又はCIS）は、カメラにおいてフィルムが露光されるのと同じように、画像又は写真に露光される。露光の後、センサの出力はいくつかのアナログ信号処理を経て、次いでADCによってデジタル化される。実際の画像処理の大部分は、高速デジタル信号プロセッサを使用して実行される。この時点において、コントラスト又は色の強調／補正等の機能を実行するために、画像がデジタル領域で操作されてもよい。

【0541】

CCDの構成ブロックは、画素と呼ばれる個々の光感知素子である（図 5. 3 5 参照）。単一の画素は、曝された光（光子）に比例した電荷（電子）を出力する、フォトダイオード又はフォトキャパシタ等の感光素子からなる。電荷は、露光時間又は積分時間の間蓄積され、その後、電荷は、CCDシフトレジスタに転送されて、デバイスの出力に送られる。蓄積される電荷の量は、光レベル、積分時間、及び感光素子の量子効率に依存することとなる。光が存在しないときであっても少量の電荷が蓄積されることとなり、これは暗信号又は暗電流と呼ばれ、信号処理の間に補償されなければならない。

【0542】

画素は、図 5. 3 6 に示されるように、線型構成又は面型構成で配置されうる。クロック信号が、画素からの電荷をアナログシフトレジスタに転送し、次いで更なるクロックが印加されて、個々の画素の電荷をCCDの出力段に移動させる。スキャナは一般的に線型

構成を使用し、デジタルカメラは面型構成を使用する。アナログシフトレジスタは典型的には、線型センサについては $1\text{ MHz} \sim 10\text{ MHz}$ 、面型センサについては $5\text{ MHz} \sim 25\text{ MHz}$ の周波数で動作する。

【 0 5 4 3 】

【表 3 4】

スキャナ又はデジタルカメラのための 一般的な撮像システム

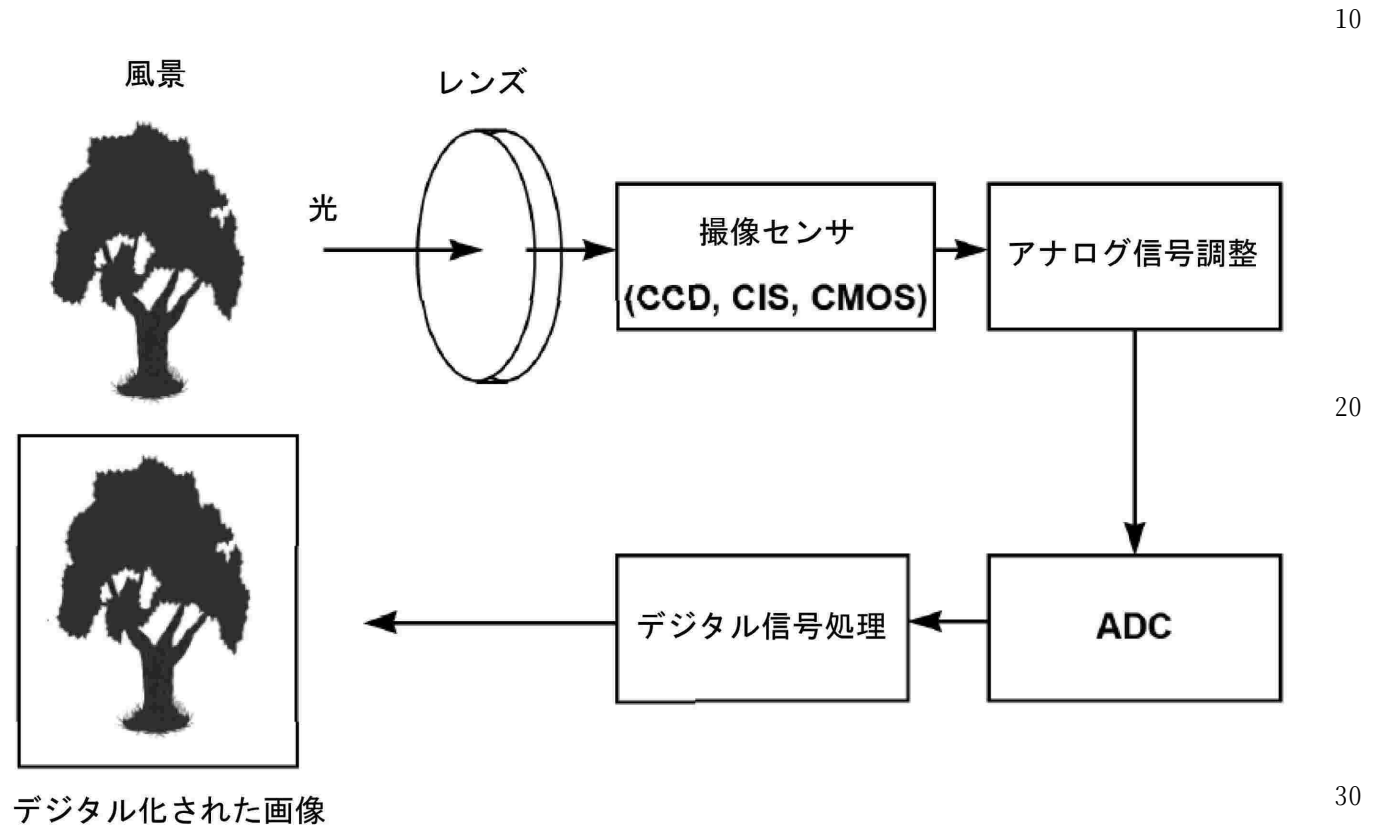


図 5. 3 4

【 0 5 4 4 】

10

20

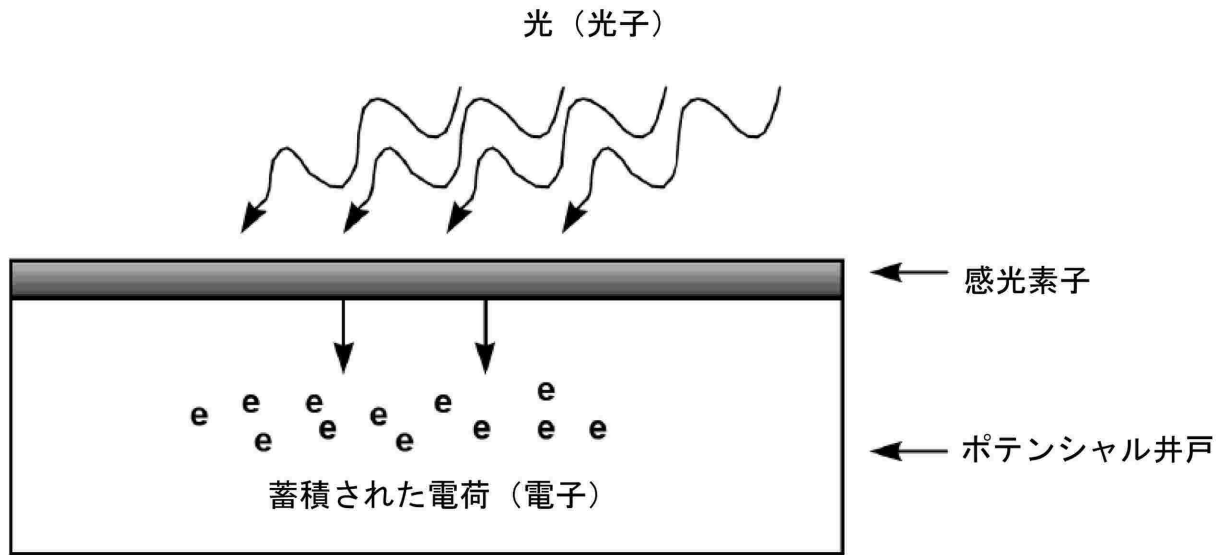
30

40

50

【表 3 5】

光感知素子



1つのフォトサイトすなわち「画素」

図 5 . 3 5

【 0 5 4 5 】

30

40

50

【表 3 6】

線型及び面型 CCD アレイ

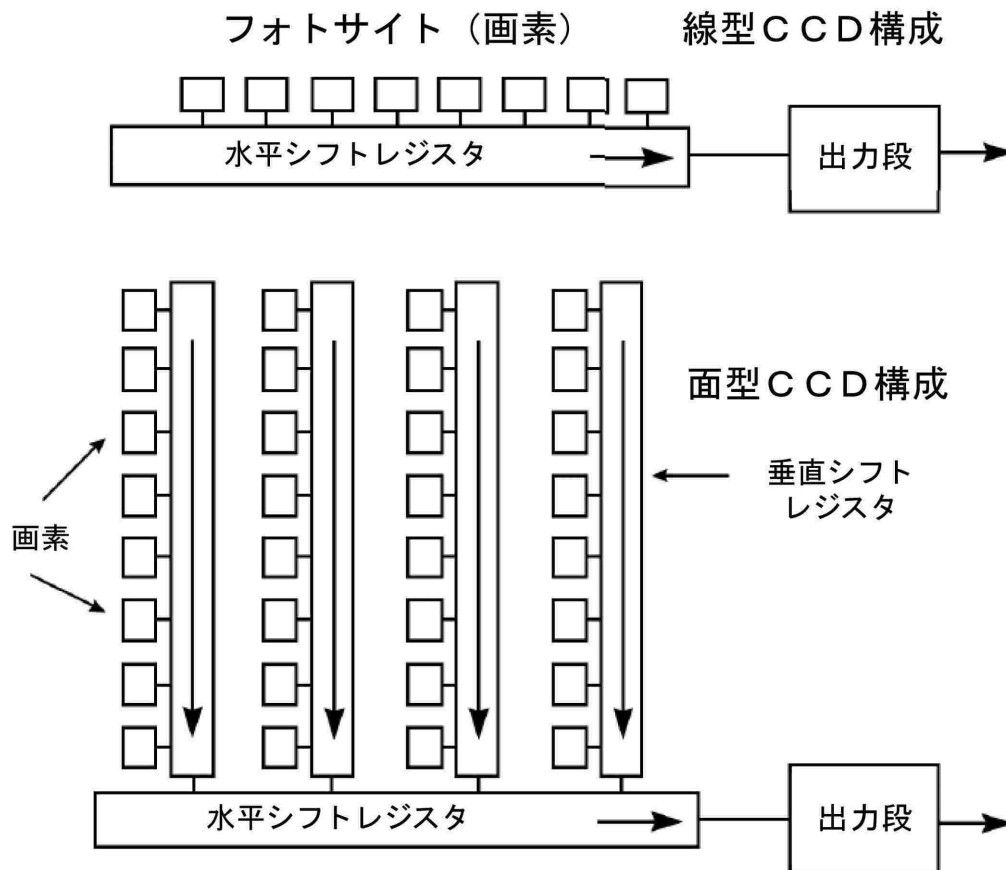


図 5. 36

【0546】

典型的な CCD 出力段が、関連する電圧波形と共に図 5. 37 に示されている。CCD の出力段は、感知コンデンサ C_s を介して、各画素の電荷を電圧に変換する。各画素の期間の開始時に、 C_s における電圧が基準レベル V_{REF} にリセットされ、リセットグリッチを発生させる。各画素によって感知された光の量は、基準レベルとビデオレベルとの差 ΔV によって測定される。CCD の電荷は電子 10 個ほどの低さでありえて、典型的な CCD 出力は $0.6 \mu V / \text{電子}$ の感度を有する。ほとんどの CCD は、面型センサについては約 $500 mV \sim 1 V$ 、線型センサについては $2 V \sim 4 V$ の飽和出力電圧を有する。波形の DC レベルは、 $3 V \sim 7 V$ である。

【0547】

CCD は一般的に CMOS プロセスで製造されるので、オンチップでの信号調整を実行するには限られた能力しか有さない。それゆえ、CCD 出力は一般的に、外部の調整回路によって処理される。CCD 出力の性質は、ADC によってデジタル化される前にクランプされることを要求する。これに加えて、オフセット及び利得の関数は、一般的にアナログ信号処理の一部である。

【0548】

CCD の出力電圧は小さく、ノイズに埋もれることが非常に多い。最大のノイズ源は、FET リセットスイッチの抵抗における熱ノイズである。このノイズは、 $100 \text{ 電子 rms} \sim 300 \text{ 電子 rms}$ （およそ $60 mV rms \sim 180 mV rms$ ）という典型的な値を

有しうる。このノイズは「 kT/C 」ノイズと呼ばれ、図 5.38 に示されている。リセット間隔の間、蓄積コンデンサ C_S は、CMOS スイッチを介して V_{REF} に接続される。スイッチのオン抵抗 (R_{ON}) は、以下の既知の式によって与えられる熱ノイズを生成する：

$$\text{熱ノイズ} = \sqrt{(4kT \cdot \text{帯域幅} \cdot R_{ON})}$$

【0549】

このノイズは、 $R_{ON}C_S$ の時定数によって決定される有限の帯域幅にわたって生じる。この帯域幅は次いで、単極の帯域幅を $\pi/2$ (1.57) によって乗算することによって、等価ノイズ帯域幅に変換される：

$$\text{ノイズ帯域幅} = (\pi/2) [1 / (2\pi R_{ON}C_S)] = 1 / (4R_{ON}C_S)$$

10

【0550】

熱ノイズについての式に代入すると、 R_{ON} 因子が相殺され、熱ノイズについての最終的な表現は以下のとおりとなることに留意されたい：

$$\text{熱ノイズ} = \sqrt{(kT/C)}$$

【0551】

R_{ON} の値が小さくなると熱ノイズを減少させるがノイズの帯域幅は増大させ、そのためコンデンサの値のみがノイズを決定付けるため、これは幾分直感的である。

【0552】

リセットスイッチが開くと、 kT/C ノイズは C_S に保存され、次のリセットの間隔まで一定のままであることに留意されたい。それゆえ、このノイズは、CCD 出力レベルの試料間の変動として生じ、所与の画素周期の間、リセットレベル及びビデオレベルの両方に共通する。

20

【0553】

30

40

50

【表 3 7】

出力段及び波形

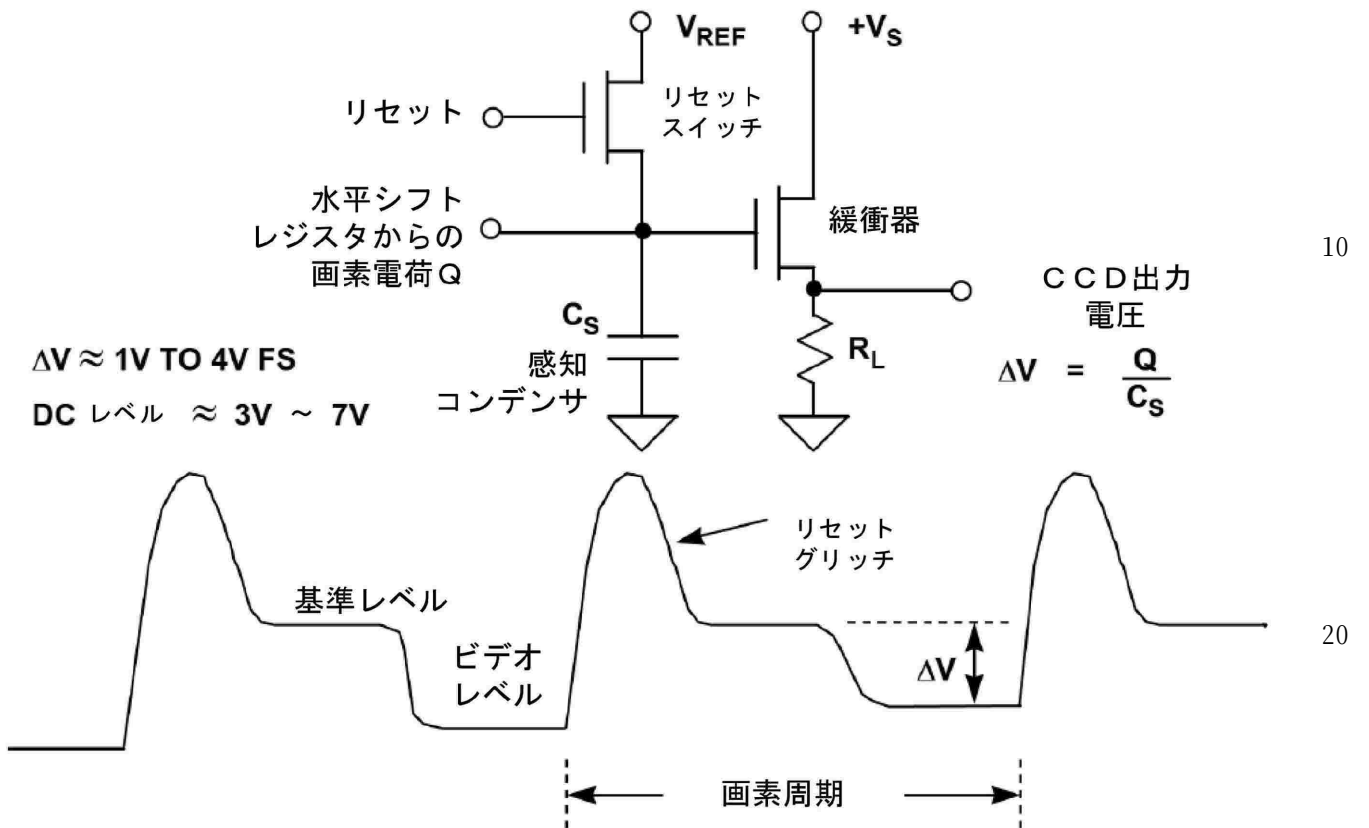
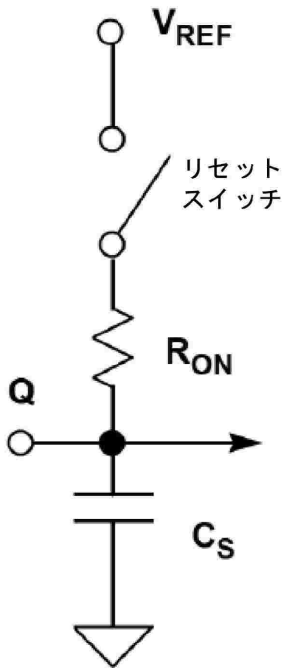


図 5. 3 7

【0 5 5 4】

【表 3 8】

k T / C ノイズ



$$\text{熱ノイズ} = \sqrt{4kT \cdot BW \cdot R_{ON}}$$

$$\text{ノイズ帯域幅} = \frac{\pi}{2} \left[\frac{1}{2\pi R_{ON} C_S} \right] = \frac{1}{4 R_{ON} C_S}$$

$$\text{熱ノイズ} = \sqrt{\frac{kT}{C_S}}$$

リセットスイッチが開いている間は
基準レベル及びビデオレベルの間に
同じ値が存在する

図 5. 3 8

【0 5 5 5】

このノイズの影響を低減させるために、相関二重サンプリング（CDS：correlated double sampling）と呼ばれる技法がよく使用される。図 5. 3 9 は、CDS 方式の回路実装の 1 つを示しているが、多くの他の実装も存在する。CCD 出力は、両方の SHA を駆動する。リセット間隔の終了時には、SHA 1 はリセット電圧レベルに kT/C ノイズを加えたものを保持している。ビデオ間隔の終了時には、SHA 2 はビデオレベルに kT/C ノイズを加えたものを保持している。SHA 出力は差動増幅器に印加され、該差動増幅器が一方から他方を減算する。この方式においては、両方の SHA 出力（その差が ΔV を表す）が安定している間隔が短いため、差動増幅器は迅速に落ち着かなければならない。最終的な出力は単純に基準レベルとビデオレベルとの差 ΔV であり、 kT/C ノイズが除去されていることに留意されたい。

【0 5 5 6】

接触型画像センサ（CIS：Contact Image Sensor）は、CCD の代わりにファクシミリ機及びローエンドの文書スキャナにおいてよく使用されている線型センサである。CIS は CCD と同じ潜在的な画質を提供するものではないが、より低いコスト及びより簡略化された光路を提供する。CIS の出力は、CCD の出力と類似するが、接地レベル又はその近くを基準とするため（図 5. 4 0 参照）、クランプ機能の必要性を排除する。さらに、CIS 出力は各画素周期内の相関したリセットノイズを含まず、CDS 機能の必要性を排除する。典型的な CIS 出力電圧は、数百 mV ～ 約 1 V のフルスケールの範囲にわたる。クランプ及び CDS は必要とされないが、CIS 波形はデジタル化の前にサンプルアンドホールドによってサンプリングされなければならないことに留意されたい。

【0 5 5 7】

10

20

30

40

50

【表 3 9】

相関二重サンプリング（CDS）

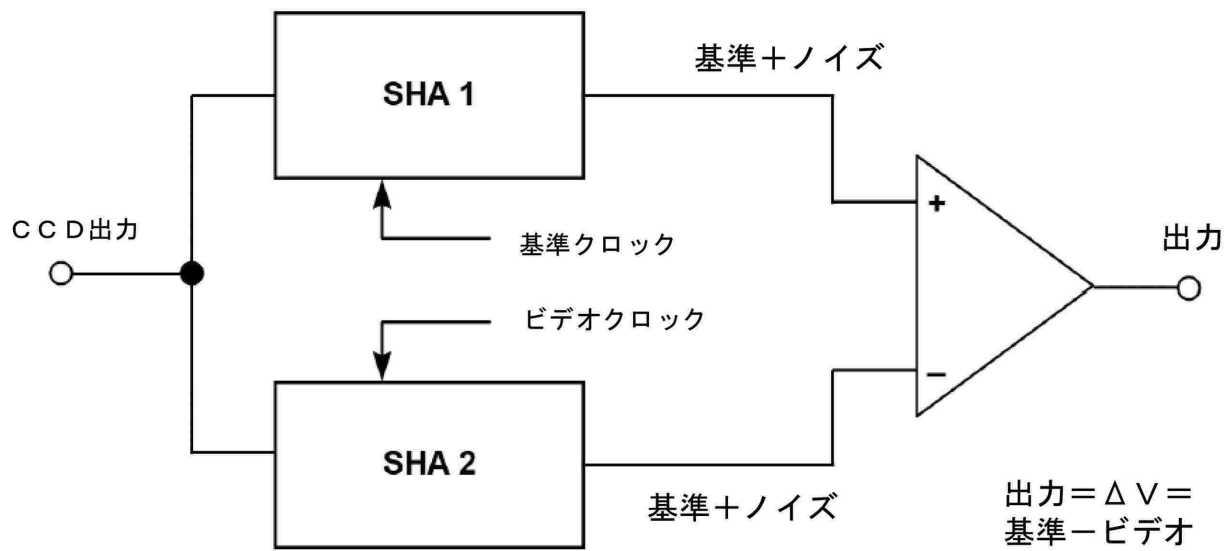


図 5. 3 9

【 0 5 5 8】

【表 4 0】

接触型画像センサ（CIS）の波形

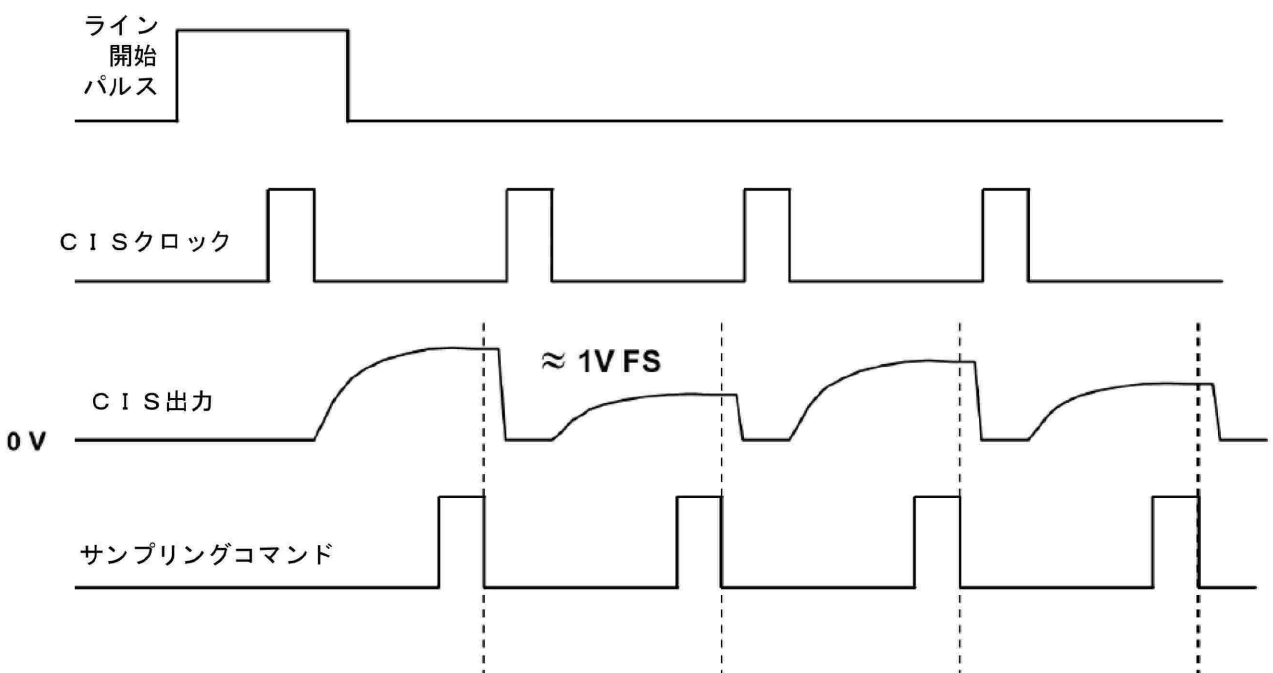


図 5. 4 0

10

20

30

40

50

【0559】

Analog Devices社は、スキャナ、デジタルカメラ、及びカムコーダ市場向けに、いくつかのアナログフロントエンド（AFE：analog-front-end）統合ソリューションを提供している。これらはいずれも、以上に説明された信号処理ステップを含む。プロセス技術及び回路トポロジにおける進歩が、ファウンドリCMOSにおいて、性能を犠牲にすることなく、このレベルの集積を可能とした。成功したADCアーキテクチャを高性能CMOSアナログ回路と組み合わせることによって、完全な低コストCCD／CIS信号処理ICを設計することが可能となる。

【0560】

AD9816は、12ビット、6MSPSのADCを3チャンネル（RGB）画像処理及びサンプリングに必要とされるアナログ回路と統合する、アナログフロントエンド（AFE）を内蔵する（図5.41を参照）。AD9816は、シリアルインタフェースを通してプログラムされてもよく、オフセット及び利得調節を含み、ミッドエンドからハイエンドのデスクトップスキャナ、デジタルスチルカメラ、医療X線、セキュリティカメラ、及びCIS又はCCDセンサから画像を「読み取る」必要がある任意の計測器用途等の用途に必要な全ての信号処理を実行するための柔軟性をユーザに与える。AD9816の信号のチェーン（chain：鎖）は、入力クランプ、相関二重サンブラ（CDS）、オフセット調節DAC、プログラマブル利得増幅器（PGA：programmable gain amplifier）、及び外部のDSPへのシリアルインタフェースを有する12ビットADCコアからなる。CIS用途については、CDS及びクランプ機能が無効にされてもよい。

【0561】

Analog Devices社の最新のAFE製品であるAD9814は、性能のレベルを一段と高めている。最も要求の厳しい用途のために、AD9814は、AD9816と同じ基本的な機能を、14ビット性能で提供する。AD9816と同様に、信号経路は3つの入力チャンネルを含み、それぞれが入力クランピング、CDS、オフセット調節、及びプログラマブル利得を有している。この3つのチャンネルは、高性能な14ビット、6MSPSのADCに多重化される。ハイエンドの文書スキャナ及びフィルムスキャナは、AD9814の性能と統合性との組み合わせから利益を受けうる。

【0562】

10

20

30

40

50

【表 4 1】

AD9816アナログフロントエンドCDD／CISプロセッサ

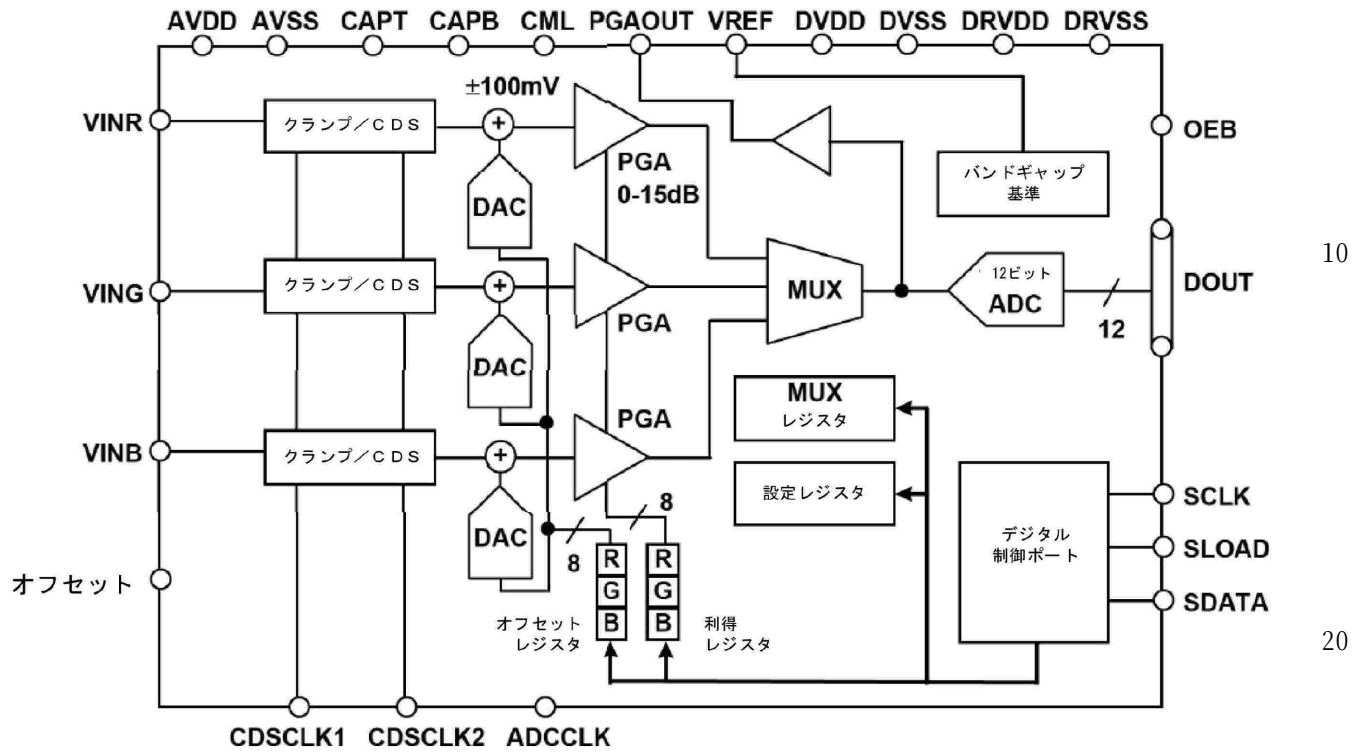


図 5. 4 1

【0 5 6 3】

【表 4 2】

A D 9 8 1 6 の主な仕様

■ 完全な 12 ビットで 6 M S P S の C C D / C I S 信号プロセッサ	
■ 3 チャンネル又は 1 チャンネル動作	
■ オンチップ相関二重サンプリング (C D S)	
■ 8 ビットのプログラマブル利得及び 8 ビットのオフセット調節	10
■ 内部電圧基準	
■ 優れた線形性: $D N L = \pm 0.4 \text{ LSB}$ (標準)、 $I N L = \pm 1.5 \text{ LSB}$ (標準)	
■ 低出力ノイズ: 0.5 LSB RMS	
■ C I S 用途のための粗いオフセット除去	
■ 3 線シリアルインタフェース	20
■ 単一の +5 V 電源、420 mW の電力散逸	
■ 44 ピン M Q F P パッケージ	

図 5. 4 2

【0 5 6 4】 30

[参考文献]

1. Ramon Pallas-Areny and John G. Webster, *Sensors and Signal Conditioning*, John Wiley, New York, 1991.
2. Dan Sheingold, Editor, *Transducer Interfacing Handbook*, Analog Devices, Inc., 1980.
3. Walt Kester, Editor, *1992 Amplifier Applications Guide*, Section 3, Analog Devices, Inc., 1992.
4. Walt Kester, Editor, *System Applications Guide*, Analog Devices, Inc., 1993.
5. Walt Kester, Editor, *Linear Design Seminar*, Analog Devices, 1994. 40
6. Walt Kester, Editor, *Practical Analog Design Techniques*, Analog Devices, 1994.
7. Walt Kester, Editor, *High Speed Design Techniques*, Analog Devices, 1996.
8. Thomas M. Fredrickson, *Intuitive Operational Amplifiers*, McGraw-Hill, 1988.
9. *Optoelectronics Data Book*, EG&G Vactec, St. Louis, MO, 1990.
10. Silicon Detector Corporation, Camarillo, CA, Part Number SD-020-12-001 Data Sheet.
11. *Photodiode 1991 Catalog*, Hamamatsu Photonics, Bridgewater, NJ 50

12. An Introduction to the Imaging CCD Array, Technical Note 82W-402 2, Tektronix, Inc., Beaverton, OR., 1987.
13. Lewis Smith and Dan Sheingold, Noise and Operational Amplifier Circuits, Analog Dialogue 25th Anniversary Issue, pp. 19-31, Analog Devices, 1991.
14. James L. Melsa and Donald G. Schultz, Linear Control Systems, pp. 196-220, McGraw-Hill, 1969.
15. Jerald G. Graeme, Photodiode Amplifiers: Op Amp Solutions, McGraw-Hill, 1995.
16. Erik Barnes, High Integration Simplifies Signal Processing for CCDs, Electronic Design, February 23, 1998, pp. 81-88.
17. Eric Barnes, Integrated for CCD Signal Processing, Analog Dialogue 32-1, Analog Devices, 1998.
18. Precision Resistor Co., Inc., 10601 75th St. N., Largo, FLA, 33777-1427, 727-541-5771, <http://www.precisionresistor.com>.

10

【図面】

【図 1】

【図 2】

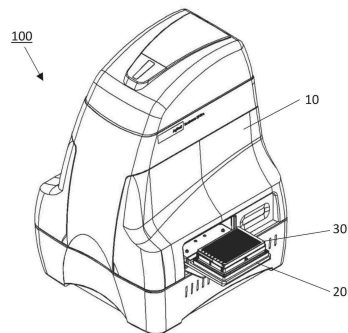


FIG. 1

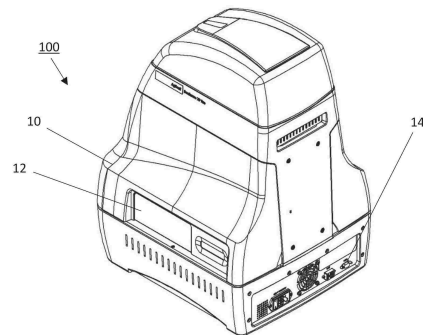


FIG. 2

20

30

40

50

【図 3】

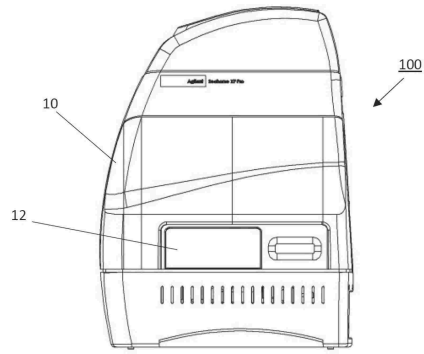


FIG. 3

【図 4】

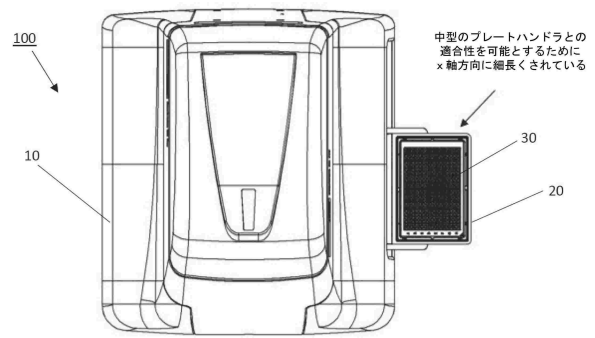


FIG. 4

【図 5】

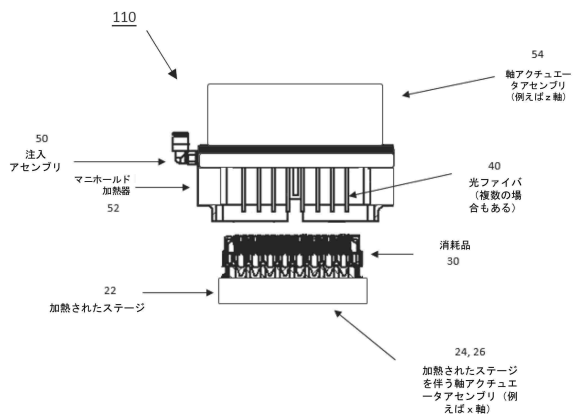


FIG. 5

【図 6】

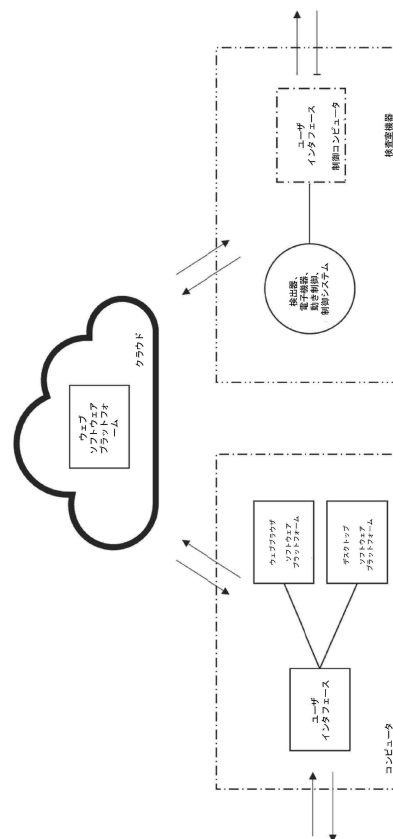


FIG. 6

10

20

30

40

50

【図 7】

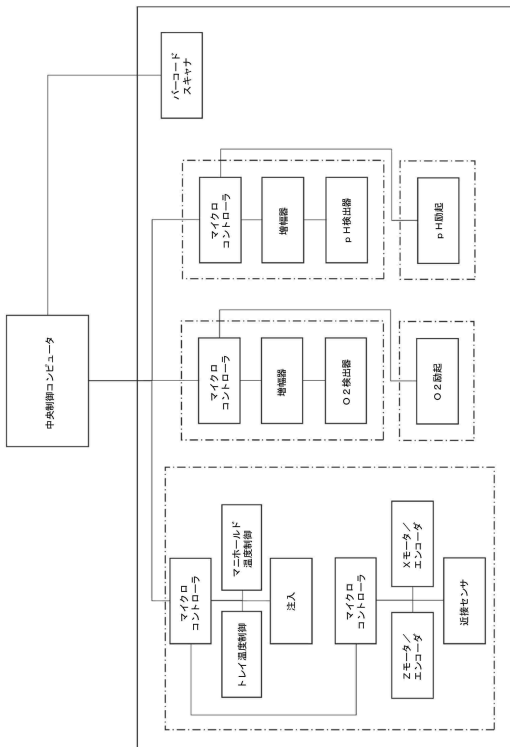


FIG. 7

【図 8】

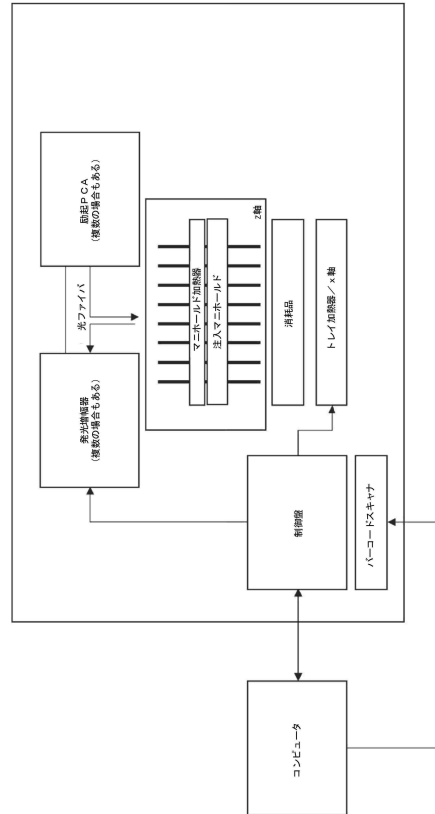


FIG. 8

【図 9】

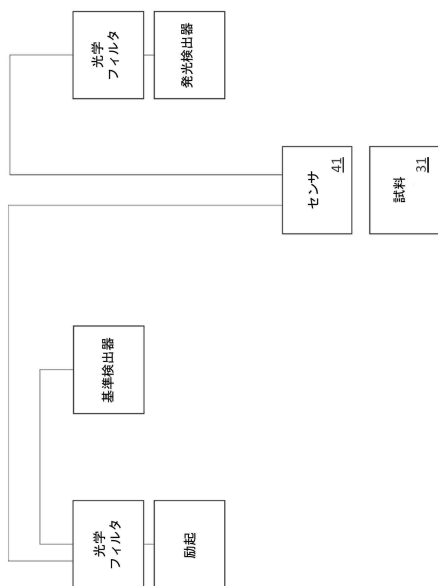


FIG. 9

【図 10 A】

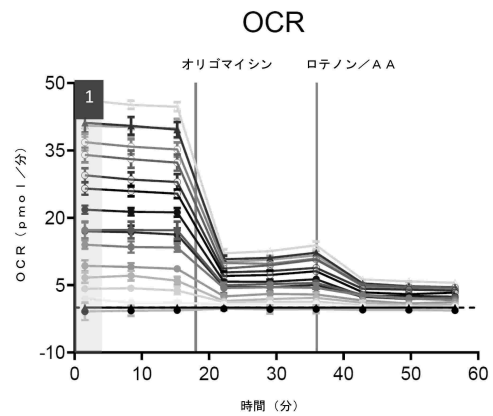


FIG. 10A

10

20

30

40

50

【図 10 B】

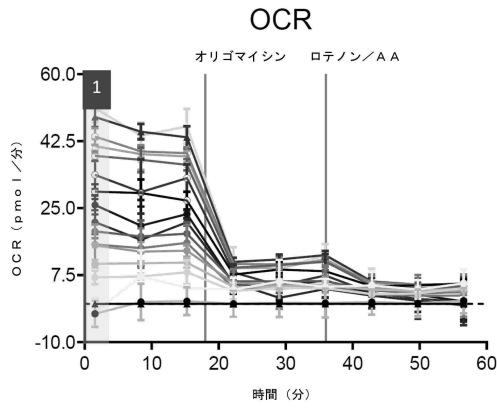


FIG. 10B

【図 10 C】

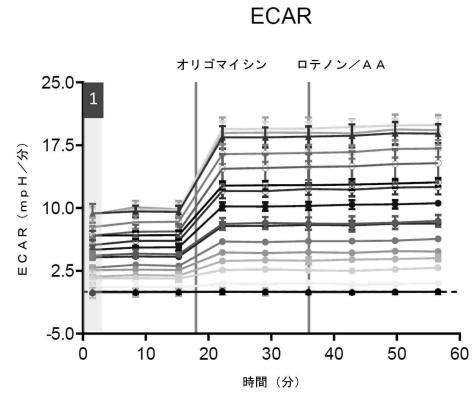


FIG. 10C

【図 10 D】

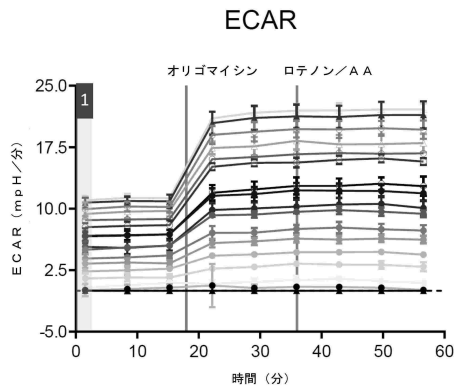


FIG. 10D

【図 11 A】

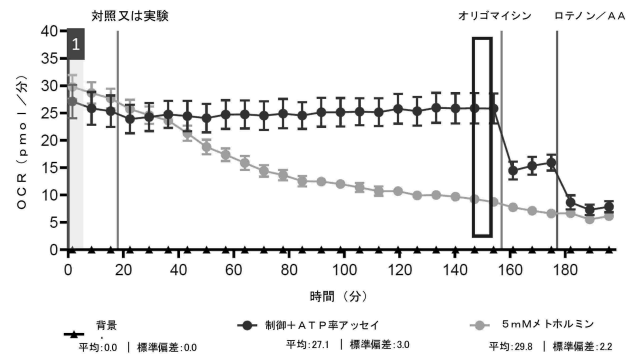


FIG. 11A

10

20

30

40

50

【図 1 1 B】

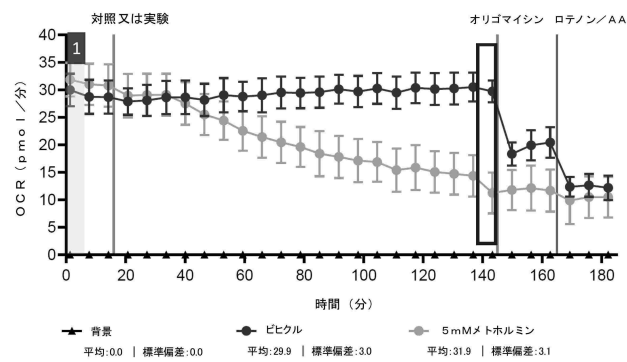


FIG. 11B

【図 1 2】

複製	平均蒸発
01	7.42%
02	8.46%
03	10.04%
04	10.00%
05	4.01%
06	8.32%

FIG. 12

【図 1 3 A】

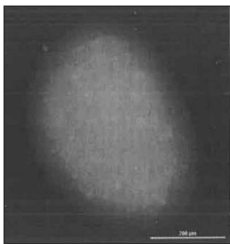


FIG. 13A

【図 1 3 B】

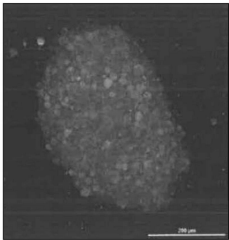


FIG. 13B

【図 1 4】

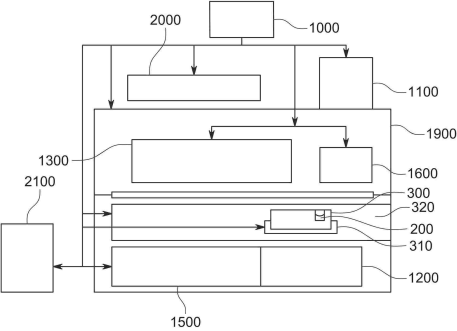


FIG. 14

【図 1 5】

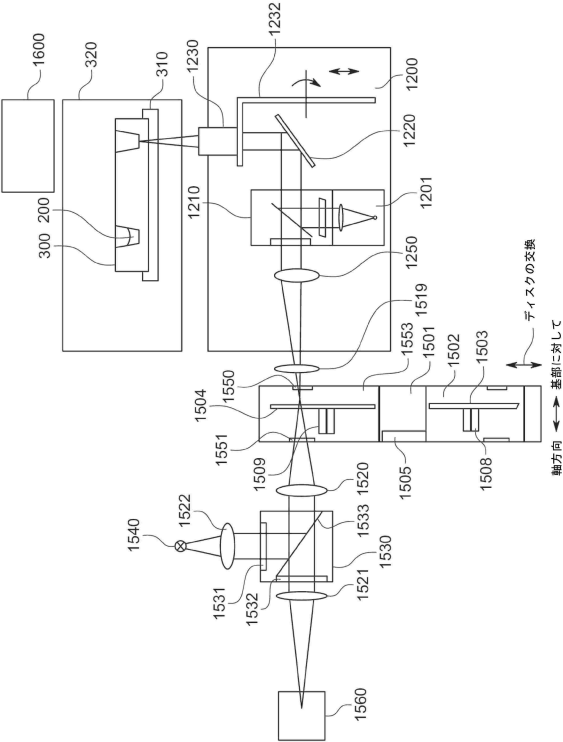


FIG. 15

【図 1 6】

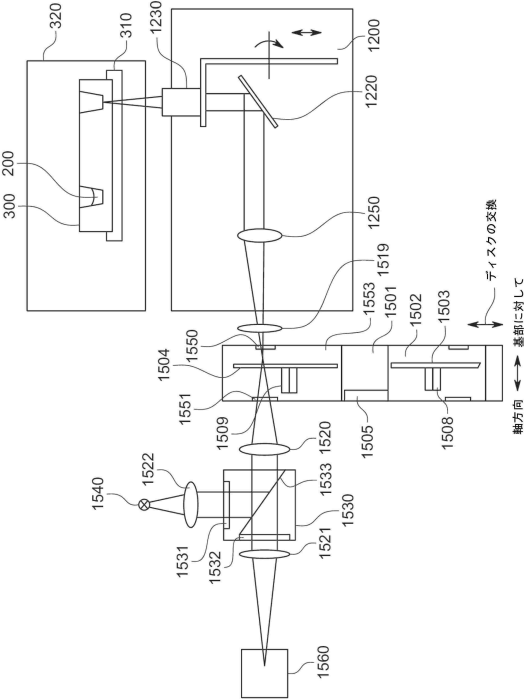


FIG. 16

【図 1 7】

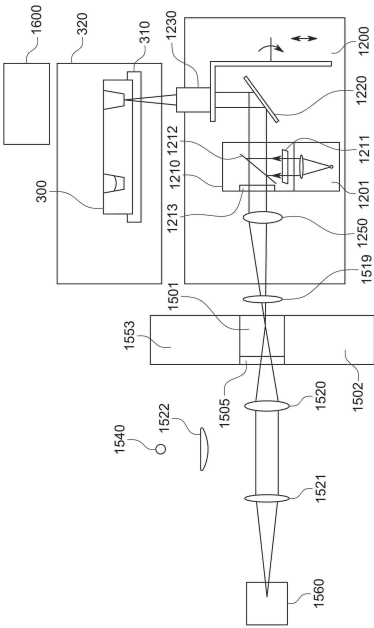


FIG. 17

10

20

30

40

50

【図 18】

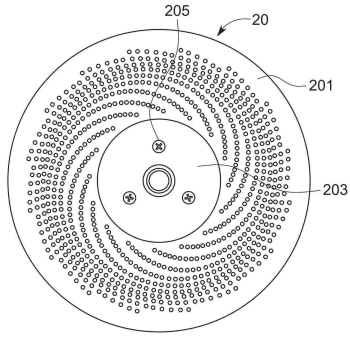


FIG. 18

【図 19】

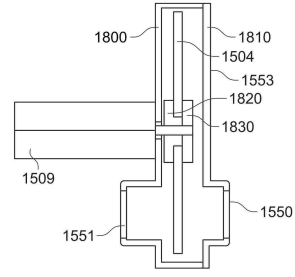


FIG. 19

10

【図 20】

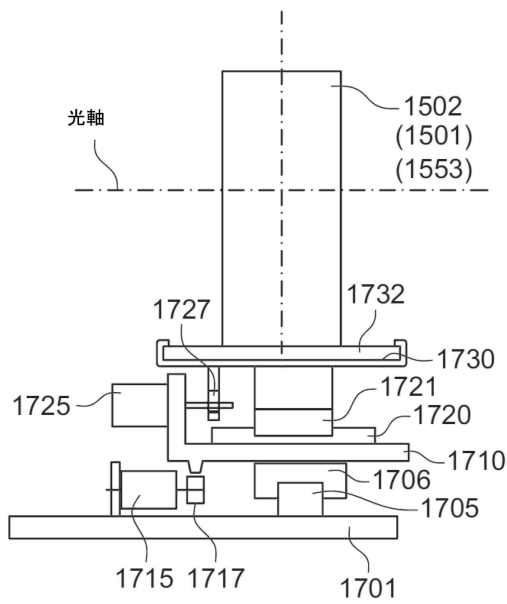


FIG. 20

【図 21】

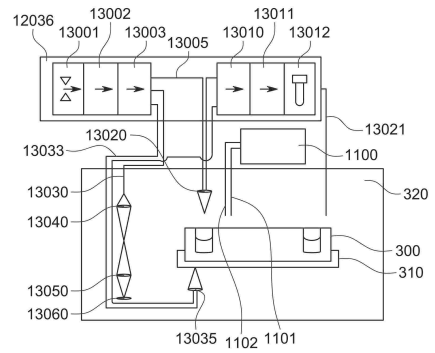


FIG. 21

20

30

40

50

【図 2 2】

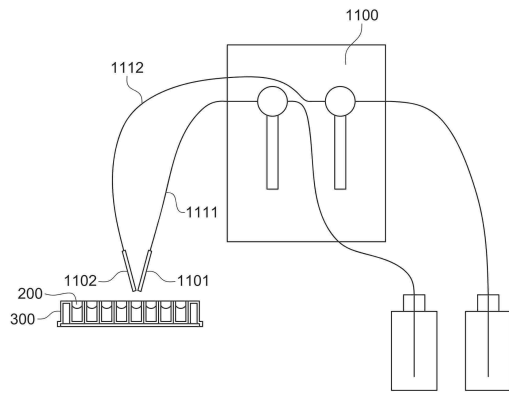


FIG. 22

【図 2 3】

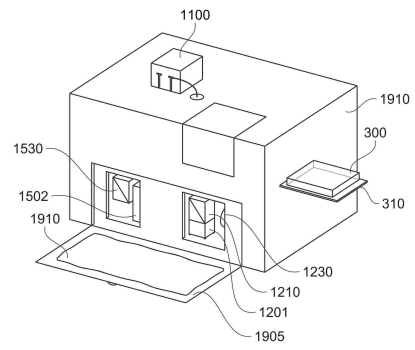


FIG. 23

10

20

【図 2 4 A】

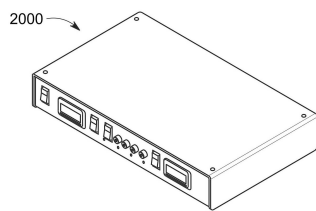


FIG.24A

【図 2 4 B】

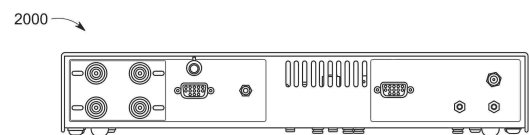


FIG. 24B

30

40

50

【図 24C】

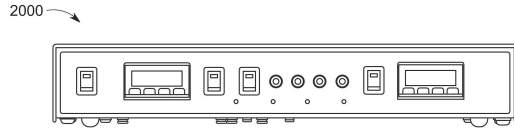


FIG. 24C

【図 25】

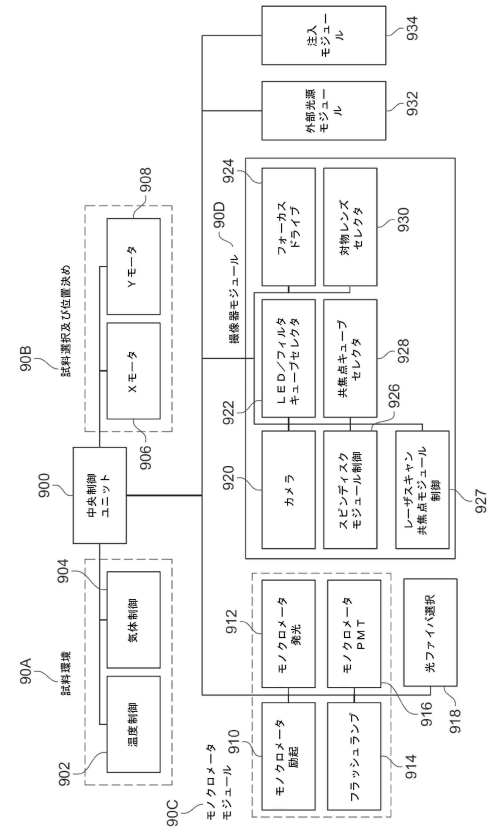


FIG. 25

【図 26】

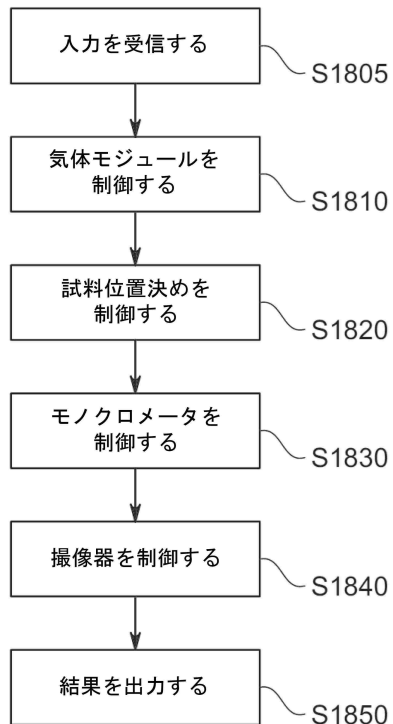


FIG. 26

【図 27A】

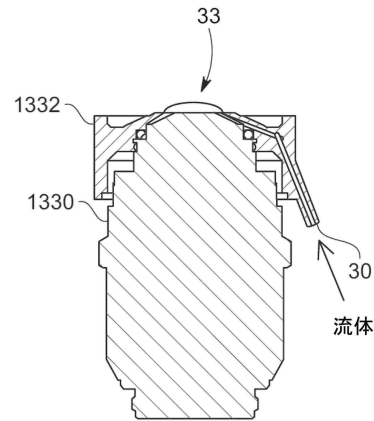


FIG. 27A

10

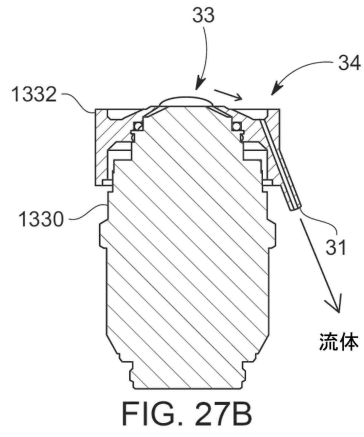
20

30

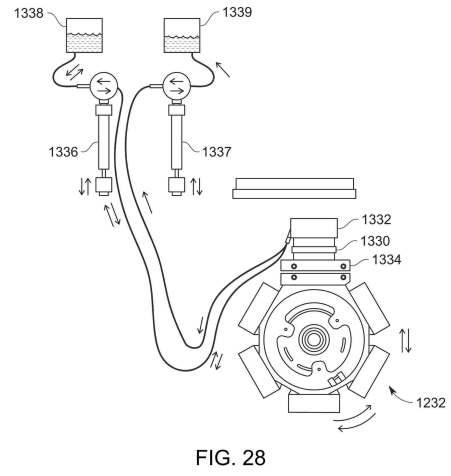
40

50

【図 2 7 B】



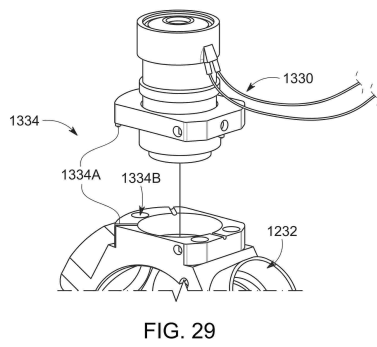
【図 2 8】



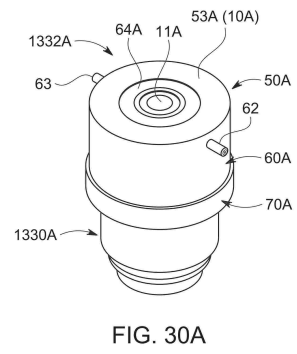
10

20

【図 2 9】



【図 3 0 A】



30

40

50

【図 30 B】

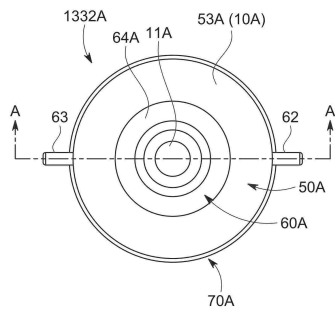


FIG. 30B

【図 30 C】

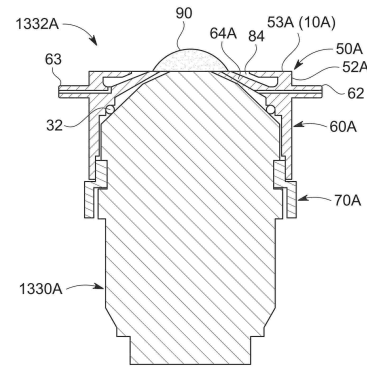


FIG. 30C

10

【図 30 D】

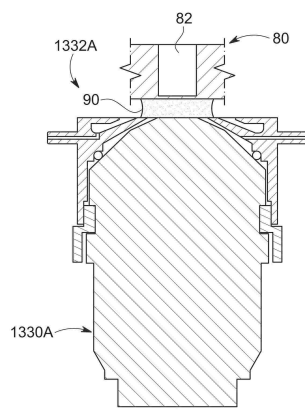


FIG. 30D

【図 31 A】

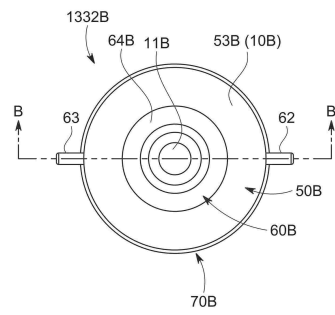


FIG. 31A

20

30

40

50

【図 3 1 B】

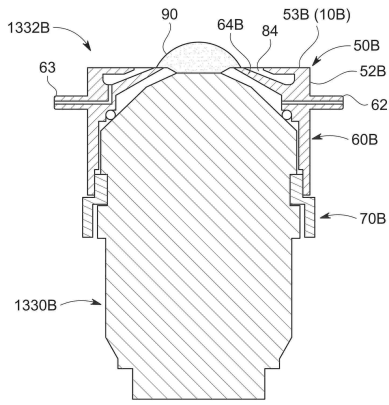


FIG. 31B

【図 3 1 C】

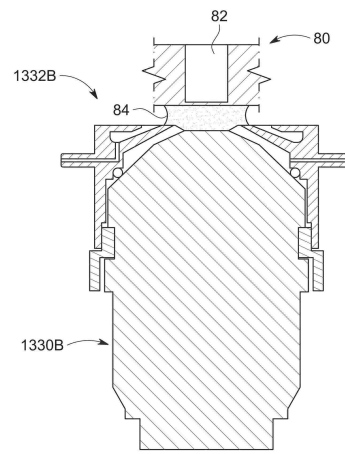


FIG. 31C

【図 3 2 A】

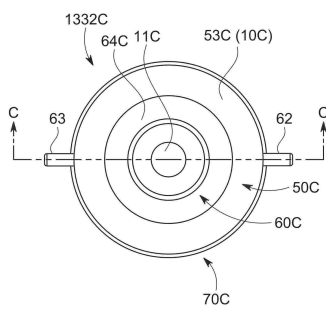


FIG. 32A

【図 3 2 B】

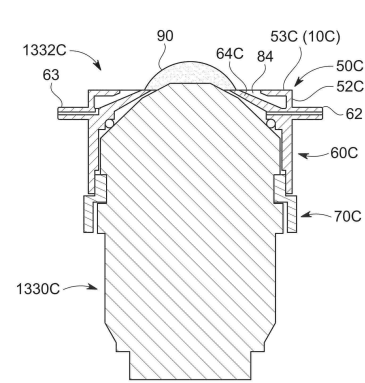


FIG. 32B

10

20

30

40

50

【図 3 2 C】

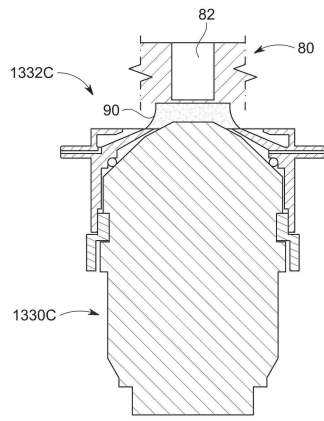


FIG. 32C

【図 3 3 A】

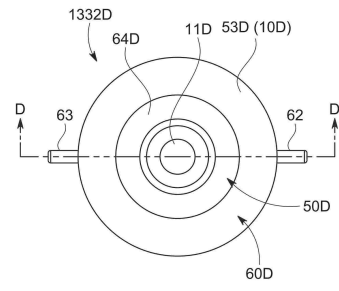


FIG. 33A

10

【図 3 3 B】

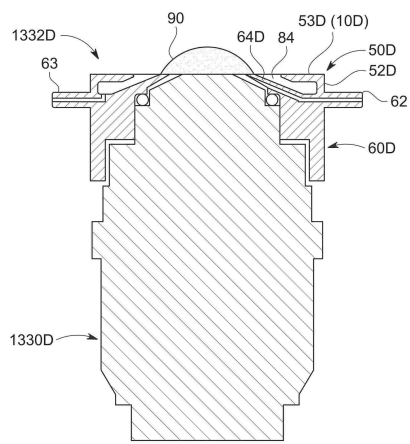


FIG. 33B

【図 3 3 C】

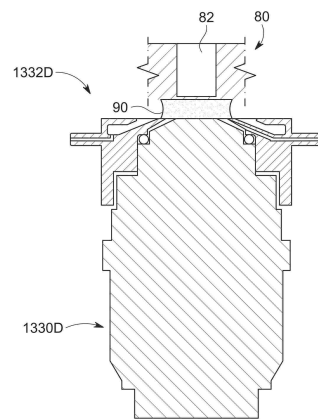


FIG. 33C

20

30

40

50

【図 3 4 A】

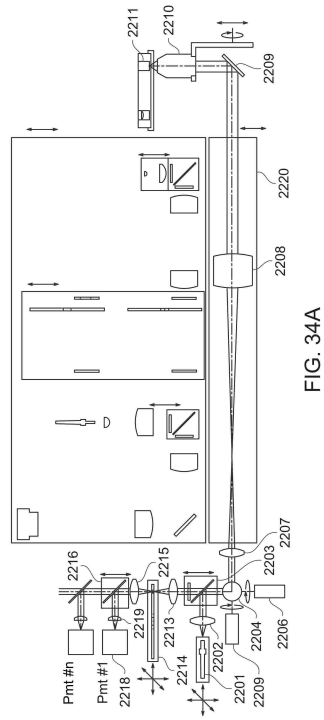


FIG. 34A

【図 3 4 B】

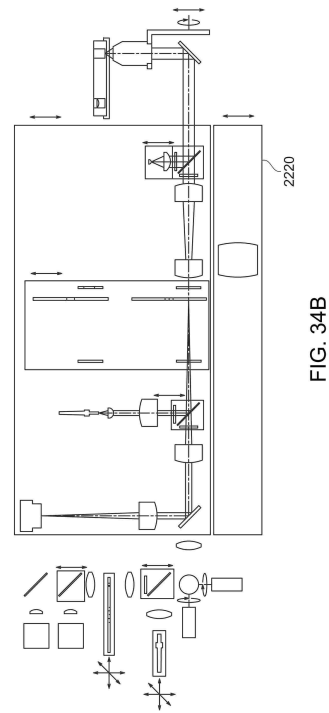


FIG. 34B

【図 3 5】

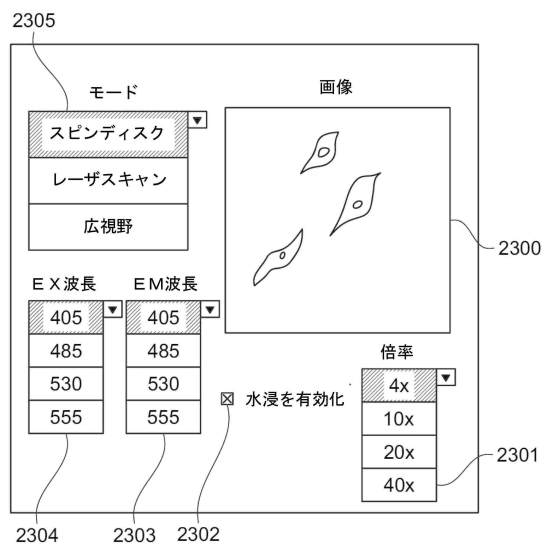


FIG. 35

【図 3 6】

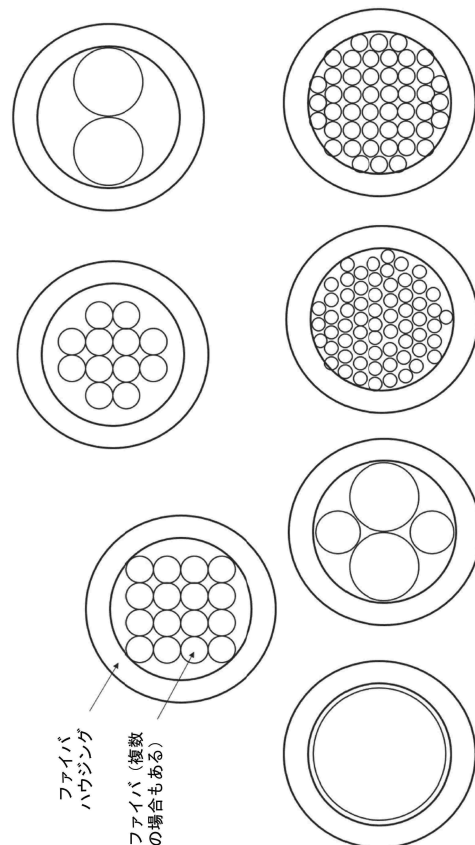


FIG. 36

10

20

30

40

50

【圖 3 7】

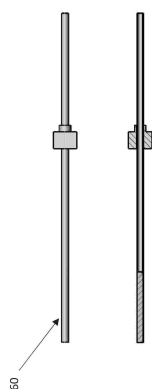


FIG. 37

【圖 38】

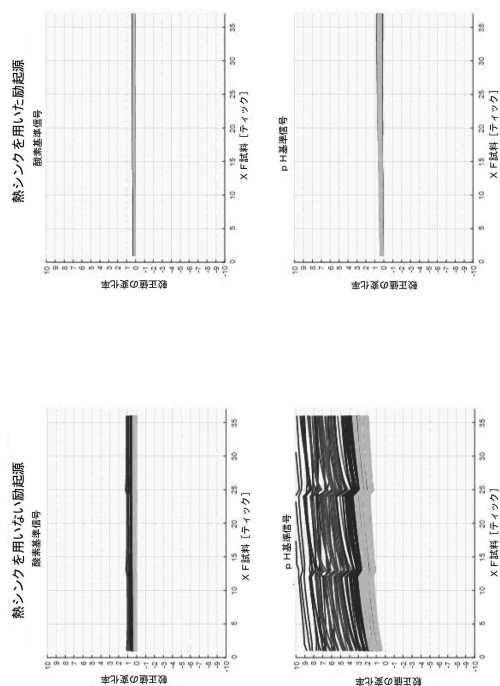


FIG. 38

10

20

【図 39 A】

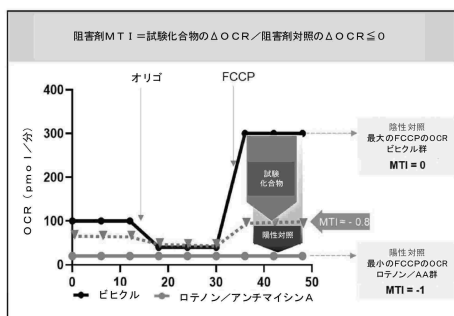


FIG. 39A

【図 39 B】

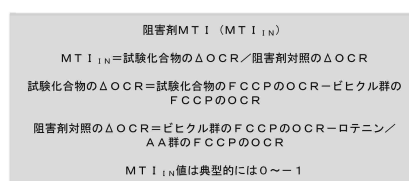


FIG. 39B

30

40

50

【図 3 9 C】

	阻害	
	測定値	群
陰性（－）対照	最大の FCCP の OCR	ビヒクル
陽性（＋）対照	最小の FCCP の OCR	R/AA

FIG. 39C

【図 4 0 A】

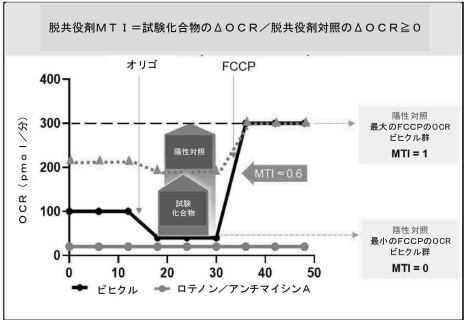


FIG. 40A

【図 4 0 B】

脱共役MTI (MTI _{UC})
MTI _{UC} = 試験化合物の ΔOCR / 脱共役対照の ΔOCR
試験化合物の ΔOCR = 試験化合物のオリゴのOCR - ビヒクル群のオリゴのOCR
脱共役対照の ΔOCR = ビヒクル群の FCCP のOCR - ビヒクル群のオリゴのOCR
MTI _{UC} 値は典型的には0~1

FIG. 40B

【図 4 0 C】

	脱共役	
	測定値	群
陰性（－）対照	最小のオリゴのOCR	ビヒクル
陽性（＋）対照	最大の FCCP の OCR	ビヒクル

FIG. 40C

10

20

30

40

50

【図 4 1】

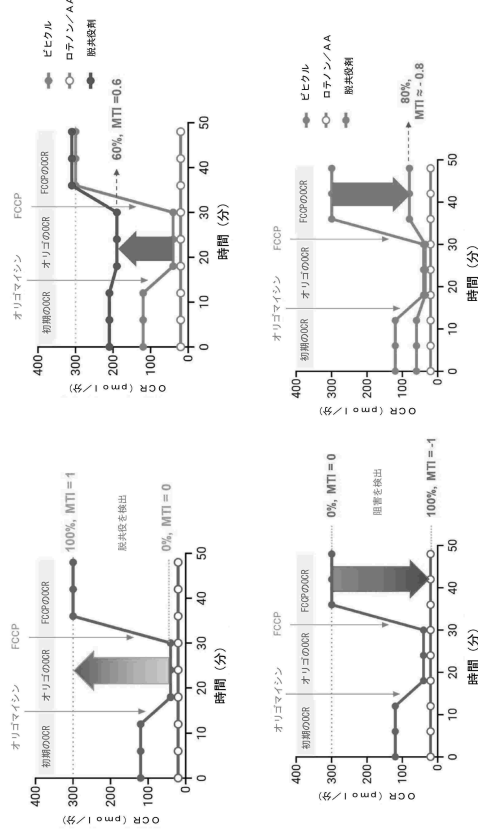


FIG. 41

【図 4 2】

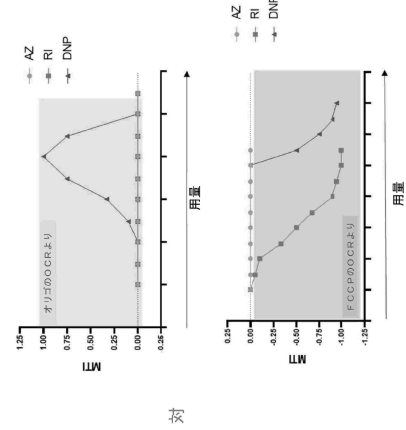


FIG. 42

【図 4 3】

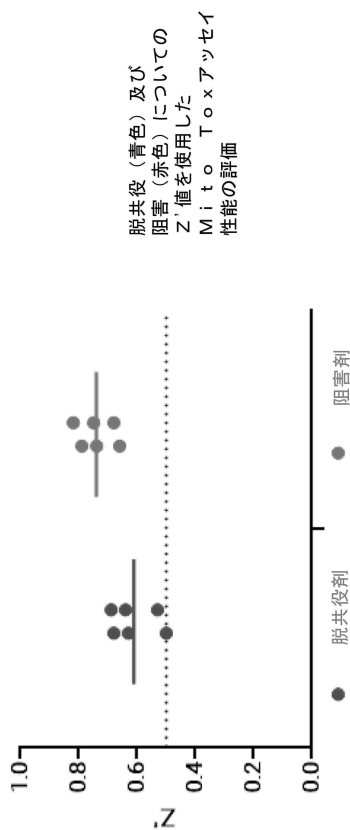


FIG. 43

【図 4 4】

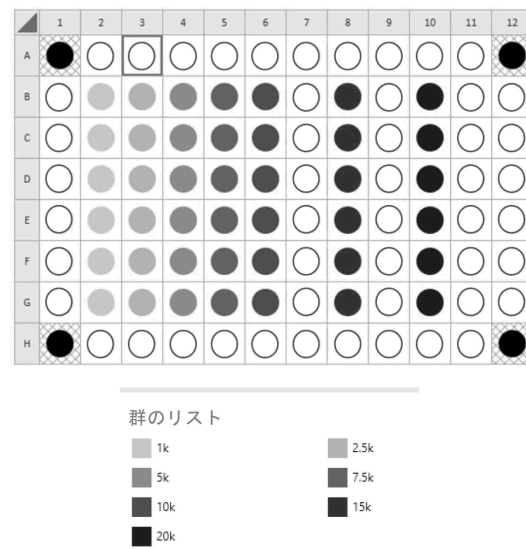


FIG. 44

10

20

30

40

50

【図 4 5 A】

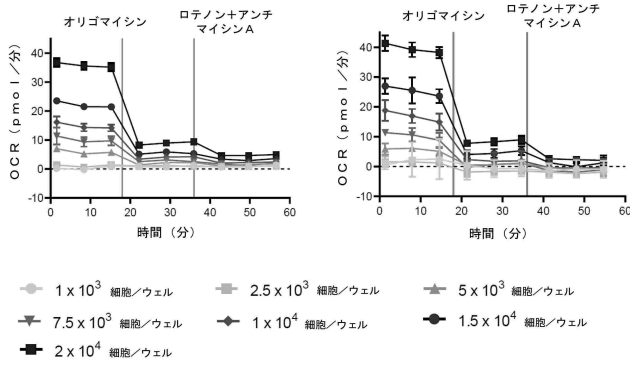


FIG. 45A

【図 4 5 B】

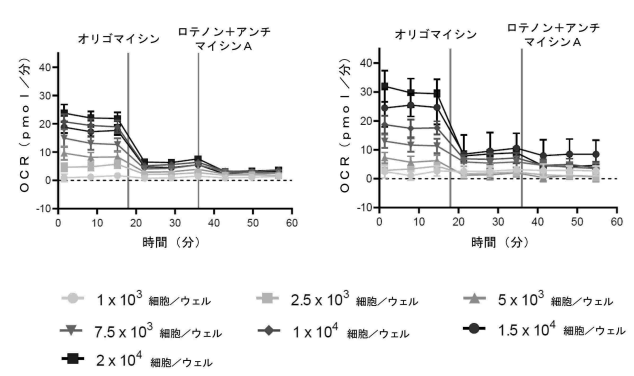


FIG. 45B

10

【図 4 5 C】

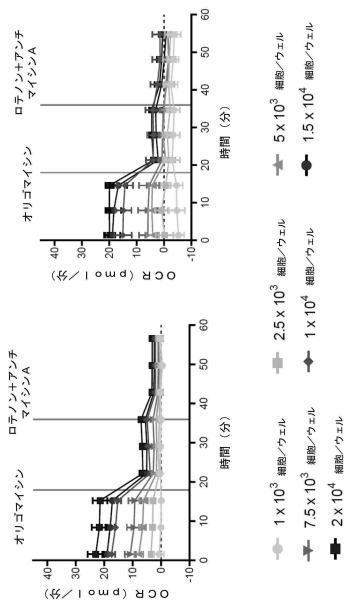


FIG. 45C

【図 4 6 A】

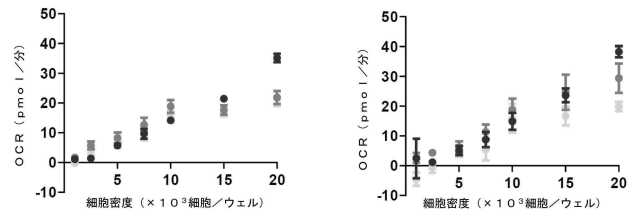


FIG. 46A

20

30

40

50

【図 4 6 B】

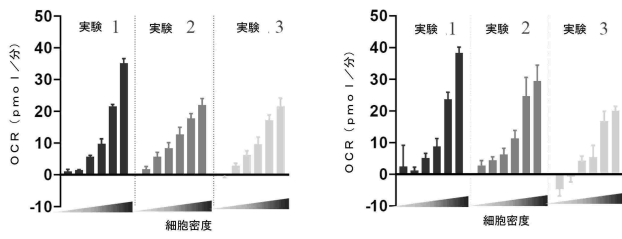


FIG. 46B

【図 4 7】

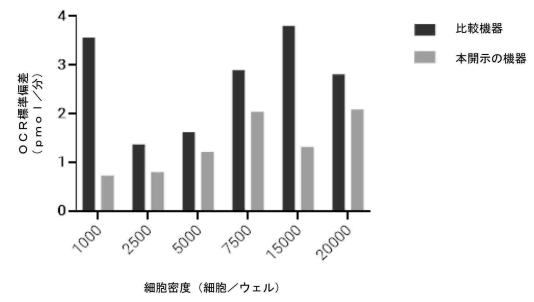


FIG. 47

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/061989

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12M1/32 C12M1/34 C12M1/36 ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/369222 A1 (CHO KYUNG JIN [KR]) 22 December 2016 (2016-12-22) paragraphs [0007], [0008] paragraph [0031] - paragraph [0056] paragraph [0061] figures 1-7 ----- -/--	1-134
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 16 May 2023		Date of mailing of the international search report 31/05/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Cubas Alcaraz, Jose

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/061989

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2007/238165 A1 (TEICH JAY S [US] ET AL) 11 October 2007 (2007-10-11) cited in the application paragraph [0024] paragraph [0090] - paragraph [0098] paragraph [0100] - paragraph [0110] paragraph [0116] - paragraph [0118] paragraphs [0125], [0130] figures 1-3 -----	1, 4-18, 20-23, 32-46, 48, 54-59, 66-74, 76-82, 84, 85, 88, 92-102, 106-131, 133, 134
A	US 2007/087401 A1 (NEILSON ANDY [US] ET AL) 19 April 2007 (2007-04-19) paragraphs [0017], [0020], [0022], [0023] paragraph [0065] - paragraph [0067] paragraph [0070] - paragraph [0077] paragraph [0085] - paragraph [0087] paragraphs [0095], [0100], [0117] figures 1, 2B -----	1-134

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/061989

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2016369222 A1	22-12-2016	CN 106257270 A KR 20160149109 A US 2016369222 A1	28-12-2016 27-12-2016 22-12-2016
US 2007238165 A1	11-10-2007	EP 1664740 A2 EP 2322913 A2 JP 2007505316 A US 2005054028 A1 US 2007238165 A1 US 2010105578 A1 US 2010227385 A1 US 2014248650 A1 US 2016096173 A1 WO 2005026701 A2	07-06-2006 18-05-2011 08-03-2007 10-03-2005 11-10-2007 29-04-2010 09-09-2010 04-09-2014 07-04-2016 24-03-2005
US 2007087401 A1	19-04-2007	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

,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,D
E,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,S
M,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,
ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,L
A,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,V
N,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ニールソン, アンドリュー・シー.

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

(72)発明者 デッル・アルチプレーテ, ジェイソン

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

(72)発明者 シュルツ, エリック・ジョン

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

(72)発明者 パラディス, ブレイディ・ロバート

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

(72)発明者 ロジャース, ジョージ・ダブリュー.

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

(72)発明者 カム, ユンソク

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州, レキシントン, ハートウェル・アベニュー 1 2 1

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB01 CC01 CC02 FA12