

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6263529号
(P6263529)

(45) 発行日 平成30年1月17日(2018.1.17)

(24) 登録日 平成29年12月22日(2017.12.22)

(51) Int.Cl.

F 1

GO2B 21/34	(2006.01)	GO2B 21/34
GO1N 1/30	(2006.01)	GO1N 1/30
GO1N 1/28	(2006.01)	GO1N 1/28
GO1N 33/48	(2006.01)	GO1N 33/48
GO1N 33/483	(2006.01)	GO1N 33/483

U
P
C

請求項の数 15 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-520427 (P2015-520427)
(86) (22) 出願日	平成25年6月26日 (2013.6.26)
(65) 公表番号	特表2015-522853 (P2015-522853A)
(43) 公表日	平成27年8月6日 (2015.8.6)
(86) 國際出願番号	PCT/US2013/047814
(87) 國際公開番号	W02014/004622
(87) 國際公開日	平成26年1月3日 (2014.1.3)
審査請求日	平成28年6月21日 (2016.6.21)
(31) 優先権主張番号	13/538,898
(32) 優先日	平成24年6月29日 (2012.6.29)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	390041542 ゼネラル・エレクトリック・カンパニイ アメリカ合衆国、ニューヨーク州 123 45、スケネクタディ、リバーロード、1 番
(74) 代理人	100137545 弁理士 荒川 智志
(74) 代理人	100105588 弁理士 小倉 博
(74) 代理人	100129779 弁理士 黒川 俊久
(74) 代理人	100113974 弁理士 田中 拓人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】生体試料の処理・イメージング用システム及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

第1及び第2の複数の試料を処理及びイメージングするための自動化方法であって、
第1の複数の試料からの1以上の試料を処理する段階と、
第1の複数の試料からの1以上の試料をイメージングすると同時に、第2の複数の試料
からの1以上の試料を処理することができる段階と、
第2の複数の試料からの1以上の処理試料をイメージングする段階と、
各試料の走査領域に関して各試料の低倍率画像を取得する段階と、
少なくとも各試料の走査領域に基づいて、試料を第1及び第2の複数の試料に群分けす
る段階と、

を含む方法。

【請求項2】

第1又は第2の複数の試料を処理する段階が、洗浄、染色、脱色、イメージング媒質の
適用、任意にはカバーグラスの適用、任意にはカバーグラスの除去又はこれらの組合せを
含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

第1及び第2の複数の試料が試料ステージ上の2箇所の異なる位置に配置される、請求
項1記載の方法。

【請求項4】

第1の複数の試料からの1以上の試料を処理する段階が、第1の複数の試料を同時に処

理することを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

第 1 の複数の試料からの 1 以上の試料をイメージングする段階が、第 1 の複数の試料からの試料を逐次イメージングすることを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

第 2 の複数の試料からの 1 以上の試料を処理する段階が、第 2 の複数の試料を同時に処理することを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

第 2 の複数の試料からの 1 以上の試料をイメージングする段階が、第 2 の複数の試料からの試料を逐次イメージングすることを含む、請求項 1 記載の方法。 10

【請求項 8】

試料ステージが撮像装置のステージである、請求項 3 記載の方法。

【請求項 9】

第 1 の複数の試料からの 1 以上の試料を処理しながら、第 2 の複数の試料からの処理試料をイメージングすることをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

試料ステージを並進運動、回転運動又はそれらの組合せで移動させることによって第 1 の及び第 2 の複数の試料を試料処理ユニット又は撮像ユニットに搬送することをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 11】

複数の試料を処理及びイメージングするためのシステムであって、
複数の試料の 1 以上を処理するように構成された試料処理ユニットと、
試料処理ユニットと動作可能に結合した画像取得ユニットと、
複数の試料の 1 以上を試料処理ユニット、画像取得ユニット又はその両方に移送するよ
うに構成された試料搬送ユニットと
を備え、
前記システムは、

複数の試料からの 1 以上の試料を処理すると同時に、複数の試料からの別の試料をイメ
ージングし、

前記システムは、更に、
各試料の走査領域に関して各試料の低倍率画像を取得し、少なくとも各試料の走査領域
に基づいて、試料を第 1 及び第 2 の複数の試料に群分けするように構成されているシス
テム。 30

【請求項 12】

試料搬送ユニットが、複数の試料を受けるように構成されている試料ステージと、試料
ステージに並進運動、回転運動又はそれらの組合せをもたらすように構成された駆動部材
とを備える、請求項 11 記載のシステム。

【請求項 13】

試料について処理する前に、背景画像を得るために第 1 及び第 2 の複数の試料をイメ
ージングする段階をさらに含む、請求項 1 記載の方法。 40

【請求項 14】

第 1 又は第 2 の複数の試料の一方を処理しながら、もう一方を、処理前にイメージング
して背景画像を得る段階をさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 15】

各試料の走査領域だけでなく、処理に関する情報にも基づいて、試料を第 1 及び第 2 の
複数の試料に群分けする、請求項 1 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、分子病理学に関し、さらに詳細には、生体試料を処理及びイメージングするためのシステム及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

患部組織の分子レベルでの診断のような分析及び診断に生体試料が使用されている。組織切片又は組織マイクロアレイ（TMA）のような生体試料は、通常、形態学的染色又はバイオマーカーで染色され、顕微鏡で手動で分析される。或いは、後段での分析又は比較のため、組織の画像が取得される。第1の染色を適用してイメージングした後、1以上の連続的又は逐次的な染色又はバイオマーカーを行って、組織を再び分析することもある。しかし後、2以上の逐次画像を比較してもよい。1回の染色サイクルは、組織に染色剤（抗体）を適用する段階と、染色剤を適当な時間インキュベートする段階と、バックグラウンド蛍光を減少させるために染色剤を洗浄する段階と、スライドを撮像する段階と、染色を脱色する段階とを含む。1以上の試料を複数の染色剤で染色する多重用途では、染色、洗浄及び脱色サイクルを順次行う必要がある。例えば、多重用途では、タンパク質発現又は空間的分布を定量的又は定性的に調べるため、複数の分子プローブで組織を染色しなければならないことがある。そのため、全作業時間は、概して、これらの段階の各々に要する時間に染色の総数を乗じたものの合計である。

10

【0003】

染色プロセスは、通常、時間のかかる手作業で行われ、誤差を生じやすい。さらに、顕微鏡のような画像取得ユニットは、イメージングのために試料を処理している間はアイドル状態にある。同様に、試料を撮像している間は、染色デバイスのような試料処理デバイスがアイドル状態に置かれることもある。試料が別のユニットにある間、画像取得ユニット又は試料処理ユニットがアイドル状態に置かれると、プロセス全体の時間が大幅に増大しかねない。

20

【0004】

そこで、生体試料の処理及びイメージングのためのシステム及び方法であって、スループットが向上し、アイドル時間が低減したものを提供することが望まれる。システムの部品のアイドル時間に付随する手作業及び全体的コストが低減した自動化プロセスを提供することも望まれている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】米国特許出願公開第2012/149050号明細書

【発明の概要】

【0006】

第1及び第2の複数の試料を処理及びイメージングする方法は、第1の複数の試料からの1以上の試料を処理する段階と、第1の複数の試料からの1以上の試料をイメージングすると同時に、第2の複数の試料からの1以上の試料を処理することができる段階と、第2の複数の試料からの1以上の処理試料をイメージングする段階とを含む。

【0007】

40

複数の試料を処理及びイメージングするための自動化方法は、1以上の試料を処理すると同時に、別の1種以上の試料をイメージングする段階であって、処理が、染色、洗浄、脱色、イメージング液の適用、任意にはカバーガラスの適用、任意にはカバーガラスの除去又はこれらの組合せを含む段階を含む。

【0008】

一実施形態では、複数の試料を処理及びイメージングするためのシステムは、複数の試料の1以上を処理するように構成された試料処理ユニットと、試料処理ユニットと動作可能に結合した画像取得ユニットと、複数の試料を試料処理ユニット、画像取得ユニット又はその両方に移送するように構成された試料搬送ユニットとを備えており、システムは、複数の試料からの1以上の試料を処理すると同時に、複数の試料からの別の試料をイメー

50

ジングするように構成されている。

【0009】

本発明の上記その他の特徴、態様及び利点については、図面と併せて以下の詳細な説明を参照することによって理解を深めることができるであろう。図面を通して、同様の部材には同様の符号を付した。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】例示的な生体試料の処理及びイメージングシステムのブロック図である。

【図2】試料ステージ上の各フローセルに配置された例示的な生体試料の処理及びイメージングシステムのブロック図である。

10

【図3】複数の試料を同時に処理し、逐次イメージングするように構成された例示的な試料搬送ユニットの概略図であり、試料搬送ユニットはコンベアベルトを備える。

【図4】複数の試料を同時に処理し、逐次イメージングするように構成された例示的な試料搬送ユニットの概略図であり、試料搬送ユニットは可動アーム及び試料受容部を備える。

【図5】2つの不連続部分を含む例示的な試料ステージの概略図である。

【図6】試料の同時処理及び逐次イメージングのための例示的な方法のフローチャートである。

【図7】試料の同時処理及び逐次イメージングのための例示的な方法の詳細なフローチャートである。

20

【図8】2以上の試料群を処理及びイメージングするための例示的な方法のフローチャートである。

【図9】2以上の試料群を処理及びイメージングするための例示的な方法の詳細なフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0011】

実施形態は、生体試料の処理及びイメージングのための分子病理学システム及び方法に関する。本システム及び方法は、試料処理ユニット、画像取得ユニット又はそれらの両方付随するアイドル時間を低減又は解消することができる。ある実施形態では、生体試料の処理及びイメージングのためのシステム及び方法は自動化することができる。これらの実施形態では、システム及び方法は、例えば、試料（例えば、フローセル内の組織試料）を移送する必要性を低減又はなくすことによって、オペレータの介入を最低限にして動作させることができる。

30

【0012】

特許請求の範囲に記載された発明の要旨について明確及び簡潔に説明するため、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲で用いる特定の用語について以下の通り定義する。明細書を通して、特定の用語に関する例示は、非限定的な例と解すべきである。

【0013】

本明細書で用いる「生体試料」という用語は、生体内又は生体外で得られる生体組織又は体液由来の試料を始めとする、生物から得られる試料をいう。かかる試料としては、特に限定されないが、ヒトを始めとする哺乳類から単離された組織、画分、液体及び細胞が挙げられる。ある実施形態では、生体試料として、大腸、正常乳房組織、前立腺癌、大腸腺癌、乳房組織マイクロアレイ、乳房TMA又は正常な前立腺の組織切片が挙げられる。組織切片は、組織試料の單一部分又は切片（例えば、組織試料から切り取られた組織又は細胞の1枚の切片）を含むものであってもよい。ある実施形態では、本明細書に開示する方法を組織試料の同じ切片での2以上の異なる標的に関する分析（形態学的又は分子レベルでの）に使用できる場合には、組織試料の複数の切片を採取して分析してもよい。ある実施形態では、組織試料の同じ切片を、形態学的及び分子レベルの両方で分析してもよい。組織切片を生体試料として用いる場合、組織切片の厚さは、特に限定されないが、約100μm未満、約50μm未満、約25μm未満又は約10μm未満とし得る。

40

50

【0014】

本明細書で用いる「プローブ」という用語は、結合剤、信号発生基又はその両者を含む薬剤をいう。ある実施形態では、プローブの結合剤と信号発生基は、単一物質（例えば、標的と結合できる放射性又は蛍光性分子）で具体化される。別の実施形態では、結合剤と標識は、別個の物質（例えば、標的に結合できる一次抗体、又は一次抗体に結合できる標識二次抗体）で具体化される。

【0015】

本明細書で用いる「結合剤」という用語は、生体試料中の1以上の標的に非共有結合で結合し得る生体分子をいう。結合剤は、標的に特異的に結合することができる。適切な結合剤は、天然又は修飾ペプチド、タンパク質（例えば、抗体、Affibody又はアプタマー）、核酸（例えば、ポリヌクレオチド、DNA、RNA又はアプタマー）、多糖類（例えば、レクチン、糖）、脂質、酵素、酵素基質又は阻害剤、リガンド、受容体、抗原、ハプテンなどの1種以上を含む。適切な結合剤は、分析すべき試料及び検出に利用できる標的に応じて選択し得る。

10

【0016】

本明細書で用いる「信号発生基」という用語は、1以上の検出技術（例えば、分光分析、熱量測定、分光測定又は目視検査）を用いて検出可能な信号を与えることができる分子をいう。検出可能な信号の好適な例としては、光信号、電気信号又は放射性信号が挙げられる。一例では、信号発生基は、発光団、フルオロフォア又はその両方を含む。

【0017】

20

本明細書で用いる「発光団」という用語は、化学発光、生物発光、燐光及び光ルミネンスを始めとする発光を呈する化学物質をいう。具体例としては、特に限定されないが、ルミノール、ルシゲニン、アクリダン、アクリジニウムエステル及びジオキセタン並びにフルオロフォアが挙げられる。

【0018】

本明細書で用いる「フルオロフォア」という用語は、特定の波長の光に露光することによって励起したときに、異なる波長の光を放出する化学物質をいう。フルオロフォアは、それらの発光特性又は「色」の観点から記載されることもある。緑色フルオロフォア（例えば、Cy3、FITC及びオレゴングリーン）は、一般に515～540nm域の波長での発光で特徴付けられる。赤色フルオロフォア（例えば、テキサスレッド、Cy5、テトラメチルローダミン）は、一般に590～690nm域の波長での発光で特徴付けられる。フルオロフォアの具体例としては、特に限定されないが、4'-アセトアミド-4'-イソチオシアネートスチルベン-2,2'-ジスルホン酸、アクリジン、アクリジン及びアクリジンイソチオシアネートの誘導体、5-(2'-アミノエチル)アミノナフタレン-1-スルホン酸(EDANS)、4-アミノ-N-[3-(ビニルスルホニル)フェニル]ナフタルイミド-3,5-ジスルホネート(Lucifer Yellow VS)、N-(4-アニリノ-1-ナフチル)マレイミド、アントラニルアミド、ブリリアントイエロー、クマリン、クマリン誘導体、7-アミノ-4-メチルクマリン(AMC、クマリン120)、7-アミノ-トリフルオロメチルクマリン(クマリン151)、シアノシン、4',6-ジアミニジノ-2-フェニルインドール(DAPI)、5',5"-ジブロモピロガロール-スルホンフタレイン(ブロモピロガロールレッド)、7-ジエチルアミノ-3-(4'-イソチオシアネートフェニル)-4-メチルクマリン、4,4'-ジイソチオシアネートジヒドロ-スチルベン-2,2'-ジスルホン酸、4,4'-ジイソチオシアネートスチルベン-2,2'-ジスルホン酸、5-[ジメチルアミノ]ナフタレン-1-スルホニルクロリド(DNS、ダンシルクロリド)、エオシン、エオシンイソチオシアネートのようなエオシン誘導体、エリスロシン、エリスロシンB及びエリスロシンイソチオシアネートのようなエリスロシン誘導体、エチジウム、フルオレセイン及びその誘導体、例えば5-カルボキシフルオレセイン(FAM)、5-(4,6-ジクロロトリアジン-2-イル)アミノフルオレセイン(DTAF)、2',7'-ジメトキシ-4',5'-ジクロロ-6-カルボキシフルオレセイン(JOE)、フルオレセイン、フルオ

30

40

50

レセインイソチオシアネート(F I T C)など、フルオレスカミン誘導体(アミンとの反応時に蛍光)、I R 1 4 4、I R 1 4 4 6、マラカイトグリーンイソチオシアネート、4 - メチルウンベリフェロン、オルトクレゾールフタレン、ニトロチロシン、パラローズアニリン、フェノールレッド、B - フィコエリスリン、o - フタルジアルデヒド誘導体(アミンとの反応時に蛍光)、ピレン及び誘導体、例えばピレン、ピレンブチレート及びスクシンイミジル 1 - ピレンブチレートなど、リアクティブルエッド 4 (C i b a c r o n . R T M . B r i l l i a n t R e d 3 B - A)、ローダミン及びその誘導体、例えば 6 - カルボキシ - X - ローダミン(R O X)、6 - カルボキシローダミン(R 6 G)、リサミンローダミン B スルホニルクロリド、ローダミン(R h o d)、ローダミン B、ローダミン 1 2 3、ローダミン X イソチオシアネート、スルホローダミン B、スルホローダミン 1 0 1、及びスルホローダミン 1 0 1 のスルホニルクロリド誘導体(テキサスレッド)、N , N , N ' , N ' - テトラメチル - 6 - カルボキシローダミン(T A M R A)、テトラメチルローダミン、テトラメチルローダミンイソチオシアネート(T R I T C)など、リボフラビン、ロゾール酸とラントニドキレート誘導体、量子ドット、シアニン、並びにスクアラインが挙げられる。

【 0 0 1 9 】

本明細書で用いる「オキシダント」又は「酸化剤」という用語は、信号発生基を実質的に不活性化する脱色試薬をいう。酸化剤の具体例としては、活性酸素種、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、過酸化水素又はオゾン(過酸化水素など)、過マンガン酸カリウム、ニクロム酸ナトリウム、臭素水溶液、ヨウ素 - ヨウ化カリウム、並びに t - ブチルヒドロペルオキシドが挙げられる。

【 0 0 2 0 】

ある実施形態では、処理及びイメージングのための方法は、第 1 及び第 2 の複数の試料を用意する段階と、第 1 の複数の試料からの 1 以上の試料を処理する段階と、第 1 の複数の試料からの処理試料をイメージングすると同時に、第 2 の複数の試料からの 1 以上の試料を処理する段階と、第 2 の複数の試料からの処理試料をイメージングし、任意には同時に第 1 の複数の試料からの試料を処理する段階とを含む。ある実施形態では、複数の試料は 1 以上の試料群を含んでいてもよい。複数の試料が 2 以上の試料群を含む実施形態では、試料群は、互いに離間して配置してもよい。群間の距離は、1 以上の試料群を処理に付しながら、別の 1 以上の試料群をイメージングすることのできるものであってもよいし、その逆であってもよい。一実施形態では、ある群の試料はアレイとして配置してもよいし、或いは不規則なパターンで配置してもよい。

【 0 0 2 1 】

ある実施形態では、複数の試料を処理及びイメージングするためのシステムは、試料処理ユニット、画像取得ユニット及び試料搬送ユニットを備える。一実施形態では、システムは、2 以上の画像取得ユニットを備えていてもよい。試料処理ユニットは、イメージングの前又は後に、複数の試料の 1 以上を処理するように構成することができる。一実施形態では、画像取得ユニットを試料処理ユニットに動作可能に結合して、処理試料を画像取得ユニットでイメージングできるようにしてもよい。一実施形態では、試料搬送ユニットは、複数の試料の 1 以上を試料処理ユニット、画像取得ユニット又はそれら両方に搬送するように構成することができる。一例では、試料搬送ユニットは、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で試料を搬送するように構成することができる。別の例では、試料搬送ユニットは、別の場所から、試料処理ユニット、画像取得ユニット又はそれら両方に試料を搬送するように構成することができる。例えば、試料搬送ユニットは、試料貯蔵所から試料処理ユニットに、また試料処理ユニットから画像取得ユニットに試料を搬送するように構成することができる。ある実施形態では、システムは、複数の試料からの 1 以上の試料を処理すると同時に、複数の試料の別の試料をイメージングするように構成することができる。一実施形態では、試料搬送ユニットは、コンベアベルト、ロボットアーム、可動式試料ステージ又はこれらの組合せの形態とすることができます。

【 0 0 2 2 】

10

20

30

40

50

ある実施形態では、試料処理は複数の段階を含んでいてもよく、各々の段階はそれぞれの処理時間を有する。試料処理段階の非限定的な具体例としては、染色、洗浄、脱色、イメージング液の適用、任意にはカバーガラスの適用、任意にはカバーガラスの除去又はこれらの組合せが挙げられる。試料処理のための複数の段階の1段階以上は、それぞれのインキュベーション時間を含んでいてもよい。一例では、染色剤の適用段階は、インキュベーション時間を有する。別の例では、染色剤の適用後に、抗体が生体試料中の分子と結合するのに十分な時間を与えるため、試料を所定時間インキュベートしてもよい。1以上の試料処理段階に伴うインキュベーション時間は、試料処理に要する合計時間をさらに増大させかねない。

【0023】

10

自明であろうが、試料処理とイメージングは、システムにおいて同時には実施されない別個の操作段階である。一例では、イメージングは試料処理後に実施される。別の例では、イメージングは試料処理の前及び後に実施される。

【0024】

ある実施形態では、システム及び方法は、試料処理ユニット、画像取得ユニット又はその両方に付随する個々のアイドル時間が低減するように試料処理及びイメージング段階を計画することによって、分子病理システムのスループットを増大させてることができる。試料処理ユニット、画像取得ユニット又はその両方のアイドル時間を低減させると、システムの作動コストも低減させることができる場合がある。一実施形態では、試料処理ユニット及び画像取得ユニットに関する個々のアイドル時間を最小限にする。一例では、複数の試料の最初の試料から最後の試料までイメージングするための画像取得ユニットに関するアイドル時間を約0分とすることができる。この例では、2つの連続する試料の間の測定可能な時間差をゼロとして、順次試料を逐次イメージングすることができる。したがって、試料処理ユニット及び画像取得ユニットがアイドル位置に維持される時間が最小限となるように、試料処理及びイメージング段階をスケジューリング又は計画することによって、システムのスループットを増大させることができる。

20

【0025】

ある実施形態では、試料の最適な群分け（例えば完了までの時間が最小限となる試料の群分け）によって、システムのスループットを増大させることができる。例えば、各試料の走査領域を決定するために各試料の低倍率画像を取得し、次いで各試料の走査領域に基づいて第1及び第2の複数の試料へと試料を群分けしてもよい。走査領域を用いて、各試料の走査時間を予測してもよく、各群に要する走査時間が略同じになるように、つまり走査領域に基づいて等しいバッチサイズとなるように、第1及び第2の複数の試料を群分けしてもよい。

30

【0026】

別の例では、各試料の走査領域だけでなく、試料を種々のアッセイの混合に付すときにも、アッセイに関する情報に基づいて、第1及び第2の複数の試料に試料を群分けする。かかる組合せの情報は、バッチのスループットの予測に用いられ、それに応じて試料の群分けが行われる。アッセイに関する情報としては、どのようなアッセイを実施すべきか、どの程度の数のラウンドを要するか、並びに総走査領域が挙げられる。

40

【0027】

$$\text{合計時間} = [(\text{走査速度} \times \text{組織面積}) + \text{染色剤の数} + \text{ラウンド数}]$$

ある実施形態では、システム及び方法は、処理前に、背景画像を得るために第1及び第2の複数の試料をイメージングすることによって、分子病理システムのスループットを増大させることができる。

【0028】

ある実施形態では、システム及び方法は、第1又は第2の複数の試料の一方を処理しながら、もう一方を、処理前にイメージングして背景画像を得ることによって、分子病理システムのスループットを増大させることができる。

【0029】

50

ある実施形態では、複数の試料は同時に又は順次処理される。複数の試料のイメージングも順次又は同時にを行うことができる。

【0030】

ある実施形態では、複数の試料の同時処理は、1以上の試料に対して処理段階の1以上を同時に実施することを含む。複数の試料を同時に処理すると、試料処理ユニット及び画像取得ユニットを最大限に活用して、全作業時間を低減させることができる。一例では、1以上の試料を同時に染色してもよく、1以上の試料に用いられる染色は同一でも、異なるものでもよい。染色段階に関するインキュベーション時間は、1以上の試料で同一であっても、異なっていてもよい。

【0031】

ある実施形態では、複数の試料を2以上の群に分割する。これらの実施形態では、第1の群の1以上の試料の染色によってプロセスを開始してもよい。ある群の試料の幾つか又はすべてを同時に処理してもよい。処理後、第1の群の試料をイメージングしてもよい。第1の群の処理試料をイメージングすると同時に、試料の第2の群からの試料を処理してもよい。そこで、第2の群の試料の処理時間が、第1の群の処理試料の累積イメージング時間以下である場合、第1の群の試料のイメージング直後に第2の群の試料をイメージングすることができる。したがって、複数の試料の最初の試料の処理から最後の試料のイメージングまでの間の時間が最小限となるように、試料処理ユニット及び画像取得ユニットをアイドル状態に保ってもよい。

【0032】

ある実施形態では、多重化又は多重分析は、一般に、同じ検出機序を用いて生体試料中の複数の標的を分析することをいう。分子イメージングでは、信号発生基（例えば、フルオロフォア）を励起して、得られる信号（例えば、蛍光信号）をデジタル信号（例えば、デジタル画像）の形態で観察及び記録することができる。多重化では、試料中の結合した複数の異なる信号発生基（存在する場合）に対して適切な蛍光フィルターを用いて同じ手順を繰り返してもよい。ある実施形態では、生体試料の多重分析を得るために、一連のプローブを生体試料と順次接触させてもよい。ある実施形態では、生体試料の多重分析を得るために、一連のプローブセット（1セット当たり最大4種のプローブを含む）を生体試料と順次接触させてもよい。

【0033】

2つの試料群を多重用途に用いる実施形態では、第1の群の試料を、処理（例えば、第1の染色剤での染色）のため試料処理ユニットに搬送する。第1の群の試料を次いでイメージングのため画像取得ユニットに搬送する。イメージングに次いで、第1の群の試料を第2の染色剤での染色のため処理ユニットに搬送し、次いでイメージングのため画像取得ユニットに戻してもよい。したがって、多重化用途で用いられる染色回数に応じて、試料は、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間を複数回搬送してもよい。同様に、試料の第2の群は、染色回数に応じて、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間を往復して搬送することができる。

【0034】

ある実施形態では、試料搬送ユニットで複数の試料を受け取ってもよい。試料搬送ユニットは、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で試料を搬送するように構成された可動部を備えていてもよい。一実施形態では、試料搬送ユニットは、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で試料を1回以上搬送するように構成することができる。一例では、試料搬送ユニットは、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で往復して試料を搬送することができる。例えば、多重化用途の場合、試料は第1の染色のため試料処理ユニットに搬送する。次いで、試料は、イメージングのため画像取得ユニットに搬送される。次いで、試料は、異なる染色剤を用いた染色の第2ラウンドのため試料処理ユニットに搬送される。試料は、多重化に用いられる染色の回数に応じて、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間を複数回往復して搬送することができる。

【0035】

10

20

30

40

50

一例では、試料は、2以上の群に物理的に分割してもよく、各群は1以上の試料を含む。これらの群は、1の群の試料の処理中に、別の群の試料をイメージングすることができるよう、試料搬送ユニット上に配置又は位置付けることができる。試料ステージ上に配置される試料の最適な数は、個々の試料に対するイメージング時間と試料処理時間との比に基づいて求めることができる。

【0036】

図1は、一体化型試料処理/イメージングシステム10の例を示す。システム10は、自動化分子病理システムであってもよい。システム10は、試料処理ユニット12、画像取得ユニット14及び試料搬送ユニット16を備える。試料処理ユニット12は、イメージングの前又は後に、試料を処理するように構成できる。ある実施形態では、試料処理ユニット12は、特に限定されないが、染色、洗浄、脱色又はこれらの組合せのような1以上の処理段階を実施するように構成できる。一実施形態では、試料搬送ユニット16は、複数の試料を受けるように構成することができる。試料搬送ユニット16は、試料処理ユニット12に試料を供給する。画像取得ユニット14は、試料をイメージングし、信号処理ユニット18にイメージング信号を供給するように構成できる。イメージング信号は、信号処理ユニット18で処理及び/又は分析できる。信号処理ユニット18は、処理データを表示するための表示ユニット22に動作可能に結合していてもよい。

10

【0037】

一実施形態では、試料搬送ユニット16は、システム10の画像取得ユニット14の一部であってもよい。一例では、試料搬送ユニット16は、画像取得ユニット14のステージである。例えば、試料搬送ユニット16は、顕微鏡のステージである。この例では、試料処理及びイメージングを含めた操作は、顕微鏡のステージ上で起こる。別の例では、試料搬送ユニット16は、画像取得ユニット14とは別体であってもよい。この例では、試料ステージは電動ステージであってもよく、作動中に画像取得ユニットと動作可能に結合させてもよい。

20

【0038】

別の実施形態では、試料搬送ユニット16は画像取得ユニット14とは別体であり、画像取得ユニット14及び試料処理ユニット12と動作可能に結合するように構成される。ある実施形態では、試料搬送ユニット16は、試料処理ユニット12、画像取得ユニット又はそれら両方に試料を選択的に搬送するように構成することができる。一実施形態では、試料搬送ユニット16は、特に限定されないが、試料貯蔵所のような別の場所から、試料処理ユニット12、画像取得ユニット又はそれら両方に試料を搬送するように構成することができる。別の実施形態では、試料搬送ユニット16は、試料処理ユニット12と画像取得ユニット14との間で往復して試料を搬送するように構成することができる。この実施形態では、システム10で2以上の画像取得ユニットを用いる場合に、試料搬送ユニット16は、試料処理ユニットと2以上の画像取得ユニットとの間で試料を搬送するように構成することができる。一例では、試料搬送ユニット16は、染色、洗浄及び脱色の各段階のため、試料処理ユニット12に試料を搬送するように構成することができる。試料搬送ユニット16は、染色、洗浄又は脱色の段階の前又は後に、イメージングのため画像取得ユニット14に試料を搬送するように構成することができる。

30

【0039】

試料搬送ユニット16は、並進運動、回転運動又はその両方をなすように構成することができる。一実施形態では、並進運動は、振動運動を含んでいてもよい。ある実施形態では、試料搬送ユニット16は、コンベアベルト、ロボットアーム、可動式試料ステージ又はこれらの組合せを含む。試料搬送ユニット16は、1以上の試料群を受けるように構成することができる。試料搬送ユニットは、1つの群からの試料を画像取得ユニット14でイメージングする時に、別の群からの試料を試料処理ユニット12で処理できるように、1以上の試料群が別個の場所に配置されるように構成することができる。

40

【0040】

試料搬送ユニット16の運動は、制御ユニット20を用いて制御してもよい。制御ユニ

50

ット20は、試料処理ユニット12、画像取得ユニット14、試料搬送ユニット16又はそれらの組合せを少なくとも部分的に制御するように構成することができる。ある実施形態では、制御ユニット20は、制御入力又はユーザインターフェース24と通信する。ある実施形態では、試料搬送ユニット16は、機械的駆動部材又は試料搬送ユニット16の並進及び/又は回転運動を促進するためのアクチュエータのような駆動デバイスを備えていてもよい。駆動デバイスは、制御ユニット20、ユーザインターフェース24又はその両方からの入力又はコマンドを受信するように構成することができる。

【0041】

ある実施形態では、システム10は自動化システムであってもよい。自動化システム10は、複数の試料のイメージング及び処理の際に、最小限のオペレータの介入しか必要としない。一実施形態では、試料処理(染色サイクルとも呼ばれる。)に含まれる1以上のプロセスステップ(特に限定されないが、染色剤及び酸化剤の添加など)をコンピュータ制御することによって、自動化を達成することができる。ある実施形態では、画像取得部品(例えば、顕微鏡又はカメラ)は、LabVIEW又はCで書かれたプログラムのようなソフトウェアで制御できる。

【0042】

ある実施形態では、試料処理段階の自動化は、ロボティックデバイスの使用によって達成できる。計画された処理段階に予想外の変更を組み込むための対策を設けてもよい。例えば、試料の処理中の段階について染色時間又はインキュベーション時間を変更するための対策を設けてもよい。さらに、システム10は、オペレータにアクションを示唆するように構成してもよい。示唆するオペレータアクションを表示してもよい。一例では、システム10は、染色のためのインキュベーション時間などに応じて、1以上の試料に対する試料処理に関するスケジュールを提案するように構成することができる。2以上の群が存在する実施形態では、システム10は、処理及びイメージングのための群の順序を提案する。

【0043】

ある実施形態では、自動化システム10は、プロトコール又は試薬情報のような情報の取得又は承認又はアクセス、かかる情報の1以上の試料処理システム又は独立型プロセッサ並びにプロセッサシステムへの送信を含んでいてもよい。さらに、実施形態は、試料処理情報の取扱い、維持、共有及び使用を含んでいてもよい。これらの態様は、所与データとして又はリアルタイムで、個々の試料又は試料群について設けることができる。

【0044】

ある実施形態では、システム10は、リアルタイム情報表示を与える。情報をリアルタイムで表示する実施形態では、表示ユニット22は、リアルタイム情報表示が起こる時間についての情報を表示してもよい。一例では、リアルタイム情報表示は、遠隔地に供給して、オペレータ又はユーザが、自宅又は別の研究所のような遠隔地からプロセスの進行を監視できるようにしてよい。ある実施形態では、自動化システム10は、ハードウェア、ソフトウェア又はこれらの組合せで制御してもよい。これらの実施形態では、1以上の試料群に対する試料処理及びイメージング段階は、コンピュータ支援手段を用いて計画及び実施してもよい。

【0045】

図2は、例示的な一体化型試料処理/イメージングシステム30の詳細図を示す。システム30は、自動化分子病理システムであってもよい。システム30は、試料処理ユニット32、画像取得ユニット34及び試料搬送ユニット36を備えていてもよい。試料搬送ユニット36は、試料ステージ40及び駆動デバイス38を備えていてもよい。例示された実施形態では、試料ステージ40は画像取得ユニット34の一体部分である。

【0046】

システム30はフローセル42を備える。フローセル42の拡大図を長方形の点線43に示す。フローセル42は、中実支持受容部材44、スライド48上に配置された試料を受けるように構成された開口部を有するガスケット46、蓋50、入口ポート52及び出

10

20

30

40

50

口ポート54を備えていてもよい。各フローセル42は、スライド受容部材44内にスライド48が配置される密閉チャンバーを画成する。ガスケット46は、スライド48と蓋50との間に配置し得る。フローチャンバーはフローセル42内に封入されるため、流体の蒸発が最小限となり、試薬の損失も最小限となる。また、密閉式の構成は、温度制御も改善する。

【0047】

一実施形態では、ガスケット46は、フローチャンバーに適用される液体を保持する変形可能で、化学的に不活性なゴム又はプラスチックから製造することができる。ガスケットの開口部は、画像取得ユニット34の画像取得窓の視野が最大となるような大きさにしてもよい。入口ポート52及び出口ポート54は、画像取得窓から離間して配置してもよい。一実施形態では、入口ポート及び出口ポートは、ガスケット46内又は蓋50に配置し得る。入口ポート52及び出口ポート54の大きさも、同様に、試料に対して所望の流量が達成されるように流入流量と流出流量とが調和するように設定し得る。10

【0048】

中実支持受容部材44は、ある範囲の化学的変動及び温度変動に適合性のものとすることができます。一実施形態では、中実支持受容部材44は、スライド48をチャンバー内に確保するためのロッキング機構を備えていてもよい。ロッキング機構の非限定的な例としては、ベースとピン又はタブシステム、或いはマグネット式機構が挙げられる。

【0049】

ある実施形態では、フローセル42は、試料ステージ40上に配置し得る。試料ステージ40は、試料処理ユニット32及び画像取得ユニット34に動作可能に結合させることができる。例示された実施形態では、試料ステージ40は、システム30の画像取得ユニット34のプラットフォーム又はステージである。20

【0050】

試料ステージ40は、連続又は不連続プラットフォームを備える。試料ステージ40は、1以上の試料群を配置するための1以上の別個の部分を備えていてもよい。好適には、染色作業は、別の群の試料のイメージングに起因する試料ステージ40の動きに対する感受性が非常に低いので、試料処理及びイメージング作業を共に同一のステージ上で起こってもよい。

【0051】

ある実施形態では、試料ステージ40は、試料ステージ40の並進及び/又は回転運動を促進するための、機械的な駆動部材又はアクチュエータのような駆動デバイス38を備えていてもよい。ある実施形態では、試料ステージ40の回転運動のために回転アクチュエータ2を使用してもよく、試料ステージ40の並進運動のために並進アクチュエータを使用してもよい。30

【0052】

一実施形態では、駆動デバイス38は、試料ステージ40と動作可能に連携したモーターのような機械的駆動部材を含んでいてもよい。一実施形態では、試料ステージ40を駆動モーターのような機械的駆動部材のシャフトに結合して、機械的駆動部材で試料ステージ40を回転させてもよい。一実施形態では、試料ステージ40は、ステッピングモーターに動作可能に結合させることができる。ステッピングモーターは一般にコンパクトなサイズで、電気パルスを離散的な機械的運動に変換する電磁デバイスである。ステッピングモーターでは固定子及び回転子が用いられる。回転子の位置の精密な制御は、回転子のディテントの数を増加させることによって得ることができる。試料ステージ40は、開ループコマンド、閉ループコマンド、コマンドのフィードバックモード又はこれらの組合せのいずれかを用いる。試料ステージ40は1以上のステッピングモーターを用いてもよい。40

【0053】

試料処理ユニット32は、試料処理に関する様々な処理段階を実施するための1以上のサブユニットを含んでいてもよい。一実施形態では、試料処理ユニット32は、染色サブユニット並びに脱染又は脱色サブユニットを含んでいてもよい。染色サブユニットは、複

数の試料の 1 以上を染色するための染色剤を供給するように構成することができる。染色サブユニットは、1 以上の染色剤を含んでいてもよい。染色サブユニットは、様々な試薬の供給を同時に又は順次行うように構成することができる。例として、染色サブユニットは、フローセル 4 2 の 1 以上に異なる染色剤を供給する。

【 0 0 5 4 】

ある実施形態では、試料ステージ 4 0 を試料処理及びイメージングに共通のものとすることにより、手作業を要することなく、試料を一連の試薬に曝露することができ、画像取得又は登録のために顕微鏡ステージ上の試料を再配置する必要がなくなる。このことは、各染色段階後に取得した画像を重ね合わせて複合画像を形成することができるので、多重染色及びイメージングに対して特に有用である。

10

【 0 0 5 5 】

加熱エレメント又は攪拌エレメント（例えば、音響振動部品）のような付属デバイスは、試料ステージ 4 0 又はフローセル 4 2 に動作可能に結合させることができる。一例では、付属デバイスは、画像キャプチャ窓から離間して配置してもよく、この画像キャプチャ窓を通して、カメラに結合された顕微鏡で、処理の様々なフェーズの試料の画像を取得することができる。

【 0 0 5 6 】

試料ステージ 4 0 は、照明源 5 8 と動作可能に結合させてもよい。照明源 5 8 は、試料ステージ 4 0 上に配置された試料の少なくとも一部を照明するように構成することができる。照明源 5 8 の非限定的な例としては、レーザ源、発光ダイオード、白色光源又はこれらの組合せが挙げられる。

20

【 0 0 5 7 】

ある実施形態では、システム 3 0 は、フローセル 4 2 に対する流体の分配及び液の温度を制御するための流体制御デバイスを備えていてもよい。流体制御デバイスは、フローセル 4 2 の上流に配置していてもよい。流体制御デバイスは、1 以上のフローセル 4 2 中への試薬の注入前に 1 以上の試薬を準備するための、リザーバ、フローセンサ、混合チャンバー及び脱ガス装置を備えていてもよい。流体制御デバイスは、フローセル 4 2 に試薬及び試料を分配するように構成することができる。一実施形態では、流体制御デバイスは、試薬を予め混合し、保存する必要性を防ぐように構成することができる。例えば、流体制御デバイスは、安定性又は保存寿命を制限することがある、試薬を予め混合し、保存する必要性を、生じさせないように構成することができます。流体制御デバイスは、フローの入口ポート 5 2 及び出口ポート 5 4 との流体的な伝達があつてもよい。一実施形態では、プレミキサーは、チャンバーの設計又は管の設計に基づいていてもよい。チャンバーの設計は、入口ポート及び出口ポートを持ち、機械式混合機を含む小さな容器を含んでいてもよい。ある実施形態では、試薬をフローセル 4 2 中に導入した直後に反応物質を拡散するためにプレミキサーを使用することによって、液が分子レベルで混合される。一実施形態では、反応物質の混合時間は、試薬を生成するのに十分なほど長く維持され、試薬の分解を防ぐのに十分なほど制限してもよい。ある実施形態では、システム 3 0 は、フローセル 4 2 の液の温度を制御するための温度制御デバイスを備えていてもよい。

30

【 0 0 5 8 】

ある実施形態では、システム 3 0 は、処理試料からの信号を取得するための画像取得ユニット 3 4 を備えていてもよい。一実施形態では、画像取得ユニット 3 4 は、特に限定されないが、カメラのような画像受信デバイスと動作可能に結合した顕微鏡を備えていてもよい。画像取得ユニット 3 4 は、特に限定されないが、対物レンズのような光学素子をさらに備えてもよい。ある実施形態では、画像取得ユニット 3 4 は、置かれた試料スライド上の 2 以上の視野中の画像を記録し、試料の複数の染色物をマッピングするように構成することができる。

【 0 0 5 9 】

ある実施形態では、画像取得ユニット 3 4 は、カラー・チャネルによって 2 以上の別個の光学エンジンに分割される。ある実施形態では、画像取得ユニット 3 4 は、倍率によって

40

50

2 以上の別個の光学エンジンに分割される。他の実施形態では、画像取得ユニット34は、取得開口数によって2以上の別個の光学エンジンに分割される。さらに他の実施形態では、画像取得ユニット34は、カラーチャネルと倍率の両方により、2以上の別個の光学エンジンに分割される。

【0060】

ある実施形態では、画像取得ユニット34は、試料が画像取得ユニット34の視野内に位置付けられるように、フローセル42の画像キャプチャ窓に動作可能に結合させることができる。画像キャプチャ窓は、試料が配置された基板（例えば、顕微鏡スライド又は組織マイクロアレイ）で画成してもよい。画像キャプチャ窓は、試料の基板又は支持体の下側に任意には透過性材料を含んでいてもよい。一例では、画像取得ユニット34は、イメージングすべきフローセル42に隣接して配置してもよい。画像取得ユニット34は、試料がフローセル中に配置されている間に、すなわち、試料が、スライド又は試料支持体とフローチャネルハウジングとの間に配置されている間に、試料の画像を記録するように構成することができる。10

【0061】

ある実施形態では、画像取得ユニット34は、信号処理ユニット56と通信してもよい。信号処理ユニット56は、画像取得ユニット34で取得されたデータを処理するように構成することができる。画像取得ユニット34で取得されたデータは、処理のために信号処理ユニット56に送信してもよい。一例では、信号処理ユニット56は、システム30の一部を形成してもよい。別の例では、信号処理ユニット56は別体であってもよく、システム30に動作可能に結合すればよい。20

【0062】

ある実施形態では、信号処理ユニット56は、画像取得ユニット34で取得された画像を分析するように構成することができる。一実施形態では、画像取得ユニット34は、画像をリアルタイムに取得してもよい。一例では、信号処理ユニット56は、画像をリアルタイムに処理してもよい。別の例では、信号処理ユニット56は、後で画像にアクセス、処理又はその両方ができるように、画像を保存してもよい。信号処理ユニット18は、処理データを表示するために表示ユニット64に動作可能に結合させることができる。

【0063】

ある実施形態では、信号処理ユニット56は、マイクロプロセッサ、マイクロ制御装置、デジタル信号プロセッサ（D S P）、フィールドプログラム可能ゲートアレイ（F P G A）又はこれらの組合せを含んでいてもよい。システム10はまた、1以上の画像又は関心領域に関する情報を少なくとも一時的に記憶するための記憶デバイスを備えていてもよい。記憶デバイスは、特に限定されないが、C P U（中央処理装置）のR O M（リードオンリーメモリ）、R A M（ランダムアクセスメモリ）又はD R A M（動的ランダムアクセスメモリ）のようなプロセッサに関係付けられた任意の適切なハードドライブメモリ、或いは、D V D又はC Dのような任意の適切なディスクドライブメモリデバイス、もしくは、ジップドライブ又はメモリカードを含んでいてもよい。記憶デバイスは、信号処理ユニット56とは遠隔地にあってもよく、さらになお、特に限定されないが、ハードワイヤード又はワイヤレスであるか否かにかかわらず、ローカルエリアネットワーク、ケーブルネットワーク、衛星ネットワーク及びインターネットを含む任意の適切な接続デバイス或いは通信ネットワークを通してアクセスできる。一実施形態では、F P G Aの組み込み型D S P機能は、散在する個別の画像と、異なる波長での蛍光とを同時に生成させことがある。3040

【0064】

信号処理ユニット56は、制御ユニット60に動作可能に結合させることができる。ある実施形態では、制御ユニット60は、制御入力又はユーザインターフェース62と通信してもよい。ユーザインターフェース62は、オペレータが、表示されたグラフィック、アイコンなどをタッチすることによりオプションを選択することを可能にする、タッチスクリーン又はキーボード、パッド或いはスタイルスであってもよい。制御ユニット60は50

、試料処理ユニット32、画像取得ユニット34、試料ステージ40の動き又はこれらの組合せを少なくとも部分的に制御するように構成することができる。例えば、制御ユニット60は、特に限定されないが、プレミキサー、混合ユニット、ポンプ、バルブ又はこれらの組合せのような試料処理ユニット32の1以上の部品を制御してもよい。一実施形態では、特に限定されないが、顕微鏡のような画像取得ユニット34の1以上の部品と、カメラとは、制御ユニット60で制御してもよい。

【0065】

制御ユニット60は、中央処理装置(CPU)を備えていてもよい。制御ユニット60は、1以上のメモリエレメントをさらに備えててもよい。制御ユニット60は、試料ステージ40の動きを制御できる。制御ユニット60は、試料ステージ40の所望の動きを促進するように、試料ステージ40の駆動部材63に指示するように構成することができる。一実施形態では、制御ユニット60はシステム30の一部を形成してもよい。別の実施形態では、制御ユニット60はシステム30の外部にあってもよい。制御ユニット60がシステム30の外部にある一例では、CPUは、システム30(例えば、試料処理ユニット32又は画像取得ユニット34)に動作可能に結合させることができる。制御ユニット60は、ワイヤード接続又はワイヤレス接続を使用して、システム30に結合してもよい。一実施形態では、制御ユニット60は、ワイヤレス又はハードワイヤードであってもよく、システム30から遠隔地にあってもよい。

【0066】

ある実施形態では、制御ユニット60は、試料の試料処理及びイメージングを制御してもよい。一例では、閉ループシステムでは、制御ユニット60は、染色段階を止めるように及び洗浄段階のような次の段階に進むように、フローセル42に指示する信号を、フローセル42に送信してもよい。同様に、試料のイメージングに関して、制御ユニット60は、試料に対するイメージングの時間を推定してもよい。一実施形態では、試料処理のための処理段階のそれぞれにかかる時間は、制御ユニット60にプレフィードしてもよい。さらに、ある段階を一つ止めて、次の段階に進むかに関して制御ユニットが決定できるように、試料のイメージングにかかる時間も、制御ユニット60にプレフィードしてもよい。処理時間及びイメージング時間のようなデータは、ユーザインターフェース62を使用して、システム30中にプレフィードしてもよい。一例では、推定又はプレフィードされた試料のイメージング時間に基づいて、制御ユニット60は、次の試料を画像取得ユニット34に提示するように試料ステージ40に指示してもよい。一実施形態では、所定の数の試料に関して、制御ユニット60は、特に限定されないが、アッセイタイプ、試料の個別の処理時間、試料の個別のイメージング時間、画像取得ユニットの数又はこれらの組合せのような要因に基づいて、試料を2以上の群に分割してもよい。

【0067】

図3は、例示的な試料搬送ユニット76を示す。例示する実施形態では、試料搬送ユニット76はコンベアベルト78を備える。コンベアベルト78の部分80は、複数のフローセル82を含んでいてもよい。フローセル82。フローセル82は、アレイとして配列してもよく、或いは、横一列に、縦一列に又は他の何らかの規則的又は不規則的な配列で配置してもよい。生体試料84は、試料処理及びイメージングのためにフローセル82中に配置してもよい。ある実施形態では、様々な生体試料84は、例えば、ロボティックアームを使用して同時に処理してもよい。これらの実施形態では、試料処理及びイメージングの段階のうちの幾つかは同時に実施してもよいし、残りの幾つかの段階は別の時間に実施してもよい。例として、2つの試料が、異なるインキュベーション時間を持つ異なる染色で染色する場合に、染色は試料と並行して混合してもよいが、インキュベーション後の段階は、それぞれの染色に対するインキュベーション時間に依存して、別の時間に実施してもよい。試料は連続法又は回分法でフローセル82内に配置することができる。

【0068】

コンベアベルト78は、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で試料を搬送するように構成することができる。一例では、コンベアベルト78は、試料を受ける2以上の

10

20

30

40

50

部分 8 0 を備えていてもよい。

【 0 0 6 9 】

図 4 は、可動アーム 8 8 及び試料を受けるための試料受容部 9 0 を備える試料搬送ユニット 8 6 の面の例を示す。試料搬送ユニット 8 6 は、試料処理ユニットと画像取得ユニットとの間で試料を移動させるように構成することができる。一実施形態では、可動アーム 8 8 は、1 以上の方に沿った並進運動、1 以上の方に沿った回転運動又はその両方に付されるように構成することができる。可動アーム 8 8 は、ロボティックアームを含んでいてもよい。一実施形態では、可動アーム 8 8 は、試料処理ユニット又は画像取得ユニットと一体化していてもよい。別の実施形態では、可動アーム 8 8 は、システムの外部にあってもよい。一実施形態では、可動アーム 8 8 は、試料貯蔵所から試料を受けるように構成することができる。10

【 0 0 7 0 】

試料受容部 9 0 は、フローセル 9 4 中の試料を受けるように構成されている。例示した実施形態では、試料受容部 9 0 は、フローセル 9 4 の 2 つの群 9 2 を含んでいてもよい。群 9 2 は、複数のフローセル 9 4 をそれぞれ含んでもよい。群 9 2 は、試料ステージ 9 0 の別個の場所に配置してもよい。群 9 2 は、別の群 9 2 のフローセル 9 4 中に配置された試料 9 6 をイメージングすると同時に、1 つの群のフローセル 9 4 中に配置された試料 9 6 が、染色されるように、位置付けられてもよい。

【 0 0 7 1 】

2 つの群 9 2 中のフローセル 9 4 の数は、同一であっても、異なっていてもよい。フローセル 9 4 の数は、試料の処理時間及びイメージング時間に基づいて決めることができる。一実施形態では、群 9 2 のそれぞれに配置される試料の最適数は、個々の試料に対するイメージング時間と試料処理時間との比に基づいて決めることができる。例として、同じ数の試料を有する 2 つの群に対して、単一の試料に対する試料処理の段階が 6 0 分を要し、各試料に対するイメージング時間が 1 0 分である場合がある。試料の同時処理に対して必要とされる時間は 6 0 分であってもよい。したがって、試料処理及び撮像ユニットの最適な利用のために、各群は、この非限定的な例では 6 つの試料を含んでいてもよい。20

【 0 0 7 2 】

ある実施形態では、試料ステージの 2 以上の部分が、同じ水平面上に配置してもよい。別の実施形態では、群は、異なる水平面上に配置してもよい。図 5 は、2 つの別個の部分 1 0 2 及び 1 0 4 を備える試料搬送ユニット 1 0 0 の例を示す。フローセル 1 0 6 の群を有する試料ステージの部分 1 0 2 は、1 つの水平面上に配置してもよく、フローセル 1 0 8 の別の群を有する試料ステージ 1 0 0 の他の部分 1 0 4 は、別の水平面上に配置してもよい。試料ステージ 1 0 0 の 2 つの部分 1 0 2 及び 1 0 4 は、垂直に整列してもよく又はスタガーペリオドしてもよい。部分 1 0 2 及び 1 0 4 は、アーム 1 0 3 及び 1 0 5 をそれぞれ使用して共通のシャフト 1 1 1 に結合してもよい。一実施形態では、アーム 1 0 3 及び 1 0 5 は、試料処理ユニット及び画像取得ユニットにフローセル 1 0 6 及び 1 0 8 を搬送するのを促進するために、伸長可能であってもよい。30

【 0 0 7 3 】

一例では、試料ステージ 1 0 0 の別個の部分は、水平面での空間要件を満たすために、垂直面で整列してもよい。部分 1 0 2 及び 1 0 4 は、試料処理ユニット又は画像取得ユニット又はその両方に選択的に動作可能に結合されるように、並進運動、回転運動又はそれらの組合せに付されるように構成することができる。矢印 1 1 0 は、試料ステージ 1 0 0 の並進運動を表し、矢印 1 1 2 は、試料ステージ 1 0 0 の部分 1 0 2 及び 1 0 4 の回転運動を表す。試料ステージ 1 0 0 の部分 1 0 2 及び 1 0 4 は、必要であれば、試料処理ユニット又は画像取得ユニットに動作可能に結合するために、垂直に動くように構成することができる。40

【 0 0 7 4 】

好適には、方法及びシステムは、複数の試料の処理及びイメージングのためのスループットを増大させる。ある実施形態では、システムのスループットを増大させながら、試料50

におけるプロセス誤差及び障害に寄与する因子を減少させてもよい。ある実施形態では、処理及びイメージングシステムのスループットは、特に限定されないが、顕微鏡のような画像取得ユニットの利用を最大化することにより向上させてもよい。一般的に、試料はオフライン位置にある撮像ユニットとは別個に処理され、処理試料は、オフライン位置からイメージングステージまで手動で移される。一実施形態では、システムは、イメージングのためにオフライン位置から試料搬送ユニットまで、処理試料を移す必要がないように、試料を処理するように構成することができる。ある実施形態では、方法は、所定の組の染色抗体に対する複数の染色のサイクル時間を低減させ、それによりスループットを改善してもよい。

【0075】

ある実施形態では、試料処理は、特に限定されないが、試料の洗浄、試料の特有の部分に対する試薬の結合、試薬の活性化のような一連の段階を含んでいてもよい。さらに、各処理段階は、複数の個別の処理段階を含んでいてもよい。ある実施形態では、試料に対する試料処理は、概して、組織切片のような生体試料を、フローセル中で、顕微鏡のスライド又はウェル上に位置付けることと、使用される標識の濃度及びタイプに依存して、発光団と試料との間の、一般的には30～60分の範囲である十分な接触時間が可能になるような方法で、蛍光標識又はミルフォアを試料に適用することと、洗浄液、例えば、適切な緩衝液を適用して、任意の未結合の蛍光標識又は発光団を洗い流すことによって、生体試料を洗浄することとを含んでいてもよい。ある実施形態では、試料処理は、同一のものをスライドに配置する前にスライドを準備することと、媒質を配置することと、少なくとも部分的に染色を除去するために及び次の染色サイクルの試料を準備するために、試料を脱色することとをさらに含んでもよい。染色段階、洗浄段階及び脱色段階のそれぞれは、特定の試薬を含む液をフローセル内に位置付けられた試料にわたって流すことによって達成できる。或いは、試料上に液を施してもよく、液が広がるのを助けるため及び試料上のカバーレッジを最大化するために、任意にはカバーを適用してもよい。

【0076】

処理に次いで、処理試料はイメージングのために撮像ユニットに搬送してもよい。イメージングは、染色サイクルとも呼ばれる試料処理中に、2以上のステージにおいて実施してもよい。一実施形態では、各染色サイクルは、生体試料の少なくとも一部を染色することと、背景となる蛍光を減少させるために染色の少なくとも一部を洗浄することと、染色を脱色することとを含んでいてもよい。染色サイクルは複数の染色に対して繰り返してもよい。イメージングの段階は、染色、洗浄及び脱色のいずれかの後に実施してもよい。或いは、イメージングの段階は、染色、洗浄及び脱色の各々の後に実施してもよい。一実施形態では、イメージングは、試料の曝露時間よりも長い時間で実施してもよい。

【0077】

試料をイメージングする段階は、処理試料の画像から信号を取得することを含んでいてもよい。ここで、信号の取得は、画像取得窓を通して信号を取得することを含む。

【0078】

ある実施形態では、方法は、所望の状態が達成されるか（例えば、どの程度脱色、染色又は洗浄が起こるか）のリアルタイムでの決定とともに、組織の少なくとも一部のリアルタイムでの監視を含む。

【0079】

図6は、高スループットの複数の試料の試料処理及びイメージングのためのイベントの例示的な順序を表すフローチャートを示す。段階120において、試料は試料ステージ上に配置してもよい。試料は、試料搬送ユニットに配置された対応するフローセル中に配置してもよい。試料搬送ユニットは、試料処理ユニット及び画像取得ユニットに動作可能に結合させることができる。段階122において、複数の試料のうちの2つ以上が同時に処理してもよい。一例では、複数の試料を処理してもよく、例えば、複数の試料が同時に染色してもよい。段階124において、少なくとも処理試料が撮像ユニットに搬送してもよい。処理試料は、並進運動、回転運動又はそれらの組合せで、試料ステージを動かすこと

10

20

30

40

50

により搬送してもよい。段階 1 2 6において、処理試料は、撮像ユニットを使用して、逐次イメージングしてもよい。ある実施形態では、システムは、複数の試料からの 1 以上の試料を処理すると同時に、複数の試料の別の試料をイメージングするように構成することができる。

【 0 0 8 0 】

ある実施形態では、方法は、多重用途に対して使用してもよい。一実施形態では、イメージング後に、試料が再び処理してもよく、例えば、試料は、以前から存在する染色と相互作用しない別の染色を使用して染色してもよい。或いは、試料は第 1 の染色を除去するために脱色してもよい。次いで、試料は、別の染色を使用して染色してもよい。一実施形態では、試料は、脱色後及び別の染色で染色される前に、イメージングしてもよい。

10

【 0 0 8 1 】

試料処理時間が、試料に対する脱色時間及び染色時間の両方を含むと仮定する。さらに、脱色後ではなく染色後に試料のイメージングが実施されると仮定すると、式(1)は、n 数の試料を有する複数の試料を処理及びイメージングするのに要する時間を表す。式(1)を以下に再現する。

【 0 0 8 2 】

$$1 \text{ ラウンドの時間} = [t_s + n t_i] \quad \text{式 (1)}$$

式中、n は試料又はフローセルの数であり、t_s は試料の染色時間であり、t_i は試料のイメージング時間である。

【 0 0 8 3 】

20

式(2)は、試料当たりの処理速度を表す。

【 0 0 8 4 】

$$\text{試料当たりの処理速度} = 1 / [t_s / n + t_i] \quad \text{式 (2)}$$

ある実施形態では、図 5 のアプローチは、試料の累積イメージング時間が、試料の処理時間と比較して相対的に大きいときに使用してもよい。

【 0 0 8 5 】

図 7 は、個別の処理段階及びイメージング段階を含む例示的な詳細なフローチャートを示す。試料は試料ステージ上に配置してもよい。試料ステージは、試料処理ユニット及び撮像ユニットに動作可能に結合させることができる。例示する実施形態では、試料は同時に処理してもよい。すなわち、試料は同一の時間中に処理してもよい。時間は、概して、イベントの同時性又はシーケンシャルな順序を示すために横座標 1 2 8 で表される。例えば、試料は、符号 1 3 0 で示すように、フローセルに同時に配置してもよい。媒質は、符号 1 3 2 で示すように、フローセルに同時に配置してもよい。試料はイメージングしてもよい(1 3 4)。フローセル中の試料は逐次イメージングしてもよい。したがって、総イメージング時間は、試料の個別のイメージング時間の合計である。イメージングに次いで、試料は処理してもよい。例えば、試料は洗浄(1 3 6)、染色(1 3 8)、染色後に洗浄(1 4 0)、媒質に配置してもよい(1 4 2)。様々な試料に対して様々な処理段階が同時に実施してもよく、このため、試料に対する総処理時間が大幅に減少する。さらに、試料ステージ上に依然として配置されている間に、試料は処理してもよい。ある実施形態では、試料処理ユニット及び試料ステージは、試料ステージ上に配置されている間に、試料の処理を促進するように構成されている。このため、試料は、試料処理の場所とイメージングの場所との間で移される必要がない。したがって、群の試料は、撮像ユニットが別の群の試料のイメージングを行い次第、イメージングのために利用可能になる。試料は逐次イメージングしてもよい(1 4 4)。処理段階及びイメージング段階は、符号 1 4 6 で示すように、所望のように繰り返してもよい。

30

【 0 0 8 6 】

図 8 は、時間に関するイベントの例示的な順序に関するブロック図を示す。例示する実施形態では、試料の処理及び / 又は撮像ユニットに関するアイドル時間を低減させながら、システムのスループットを最大化するように、試料群の処理及びイメージングが計画される。

40

50

【0087】

例示する実施形態では、概して、符号152及び符号154で示す2群のフローセルを用意する。フローセルは試料ステージ上に配置してもよい。第1の群152は、n数の試料を含んでいてもよく、第2の群は、m数の試料を含んでいてもよい。2群中の試料の数は、2群中の試料に必要な、個別の処理時間及びイメージング時間に依存してもよい。例として、第1の群152中の試料のための処理時間及びイメージング時間の合計が、第2の群154中の試料のための処理時間及びイメージング時間の合計より相対的に低い場合に、第1の群中の試料の数は、第2の群中の試料の数より多くてもよい($n > m$)。同様に、2群152及び154中の試料のための処理時間及びイメージング時間が実質的に類似している場合に、2群中の試料の数は同じであってもよい($n = m$)。ブロック156により例示するように、第1の群152の試料は処理してもよく、例えば、染色及び洗浄してもよい。試料は同時に処理してもよい。次いで、処理試料は、逐次イメージングしてもよい(158)。

【0088】

第1の群152の試料をイメージングすると同時に(158、164、162)、第2の群154の試料を処理してもよい(160、156)。第2の群の試料が処理されている間に第1の群の試料がイメージングされることとは、第1の群152の試料のイメージングと、第2の群の試料の処理とに対するオーバーラップした時間範囲により表してもよい。同様に、第2の群154の試料をイメージングすると同時に(162、170)、第1の群の試料を処理してもよい(164、172)。しかし、幾つかの例では、1群の試料の処理時間が、他の群の試料の累積イメージング時間よりも小さくてもよいことに留意すべきである。これらの例では、第1の群の試料が依然としてイメージングしている間に、第2の群の試料がイメージングのために利用可能になってもよい。

【0089】

ある実施形態では、試料処理ユニットに関する最小限のアイドル時間は、第1の群152又は第2の群154の試料処理を表すブロック(156、160、164、158及び172)が、任意の2つの連続した処理ブロック間の最小限の時間差で横座標を集合的に占有してもよいときに達成してもよい。このため、それにしたがって計画が行われてもよい。同様に、イメージングブロック(158、162、166及び170)が、2つの連続したイメージングブロック間の間隔を最小限又はゼロにしながら、時間軸で互いに隣接して配置されるときに、画像取得ユニットのアイドル時間を最小限にすることができる。したがって、図7の方法は、試料の適切な群サイズを選択することにより撮像ユニット及び処理ユニットの最大の利用を達成してもよい。

【0090】

一実施形態では、試料処理時間が脱色時間及び染色時間の両方を含むと仮定すると、イメージングは(脱色後ではなく)染色後にのみ実施される。式(3)は、n個の試料の処理及びイメージングに要する時間を表す。式(3)を以下に示す。

【0091】

n 個の試料を有する試料群の処理及びイメージング時間 = $[t_s + n t_i]$ 式(3)
式中、 n は1群におけるフローセル又は試料の数であり、 t_s は試料の染色時間であり、 t_i は試料のイメージング時間であり、 n_{total} は試料ステージ上の試料の総数である。試料の総数は以下の式(4)で表される。

【0092】

$$n_{total} / 2 = t_s / t_i \quad \text{式(4)}$$

図9は、2以上の試料群を処理するための具体例を例示する。例示された実施形態では、 n 個の試料を含む第1の群と m 個の試料を含む第2の群とを用意する。第1の群の試料は、同時に処理してもよい。例えば、スライド上にプライマー層を適用する段階(180)と、スライド上に試料を配置する段階(182)と、試料に関する媒質を配置する段階(184)とが、第1の群の n 数の試料に対して同時に実施してもよい。次に、処理試料はイメージングのために撮像ユニットに提示してもよい(186)。第1の群の試料が撮

10

20

30

40

50

像ユニットによりイメージングしている間に、第2の群の試料が処理のために試料処理ユニットに提供してもよい。試料は、試料搬送ユニットを使用して、撮像ユニット及び試料処理ユニットに搬送してもよい。例示された実施形態では、第2の群の試料の処理は、スライド上にプライマー層を適用する段階(206)と、スライド上に試料を配置する段階(208)と、試料に関する媒質を配置する段階(210)とを含んでいてもよい。次に、処理試料はイメージングのために撮像ユニットにおいて提示してもよい(214)。第2の群の試料をイメージングすると同時に、第1の群の試料がさらなる処理のために試料処理ユニットに提示してもよい。試料の2群が試料ステージ面上の別個の場所に配置される一実施形態では、試料ステージと比較したイメージング及び試料処理ユニットの位置に依存して決定された角度だけ試料ステージを回転させることによって、試料がイメージング及び試料処理ユニットに提供してもよい。

10

【0093】

例示するように、試料は洗浄(196)、染色(198)、染色後に洗浄(200)、媒質に配置してもよい(202)。次に、第1の群の処理試料はイメージングのために撮像ユニットに提示してもよい(204)。第1の群の処理試料をイメージングすると同時に、第2の群の試料がさらなる処理のために試料処理ユニットに提示してもよい。一実施形態では、処理は、洗浄(226)、染色(228)、染色後の洗浄(230)、及び媒質における配置(232)を含んでいてもよい。次に、第2の群の処理試料はイメージングしてもよい(234)。第2の群の試料をイメージングすると同時に、第1の群の試料をさらに処理してもよい。処理は、洗浄(216)、脱色(218)、染色後の洗浄(220)、及び媒質における配置(222)を含んでいてもよい。処理試料はイメージングのために撮像ユニットに提示してもよい(224)。同時に、第2の群の試料は、洗浄(216)、脱色(218)、脱色後の洗浄(220)及び媒質における配置(222)を含むさらなる処理のために、試料処理ユニットに提示してもよい。処理は、さらに多い数の染色に対して繰り返してもよい。

20

【0094】

したがって、第1及び第2の群の試料は、システムの試料処理ユニット及び撮像ユニットのアイドル時間を最小限に抑えながら、オペレータの介入を最小限にする時間的に効率のよい方法で、処理及びイメージングしてもよい。

30

【0095】

同様のアプローチを使用して、フローセルの3以上の群も処理及びイメージングしてもよいことに留意すべきである。

【0096】

本明細書に開示したシステム及び方法は、様々な分野、例えば、特に限定されないが、生物学及び医学における分析、診断及び治療に用途を見出すことができる。ある実施形態では、本明細書に開示したシステム及び方法は、組織化学、特に免疫組織化学に用途を見出すことができる。患者の細胞又は組織試料の分析は、本明細書に記載の方法に従って、診断(例えば、特定の疾患を有する患者、特定の毒素に曝された患者又は特定の療法もしくは臓器移植に十分応答している患者の同定)に、或いは予後的(例えば、特定の疾患を発症する可能性のある患者、特定の療法に十分応答する可能性のある患者又は特定の臓器移植の受容の可能性のある患者の同定)に用いることができる。本明細書に開示した方法は、同じ生体試料から得られた複数(例えば、無限であってもよい)の標的(例えば、疾患マーカー)の正確で信頼性の高い分析を容易にする。

40

【0097】

本明細書では、本発明の幾つかの特徴だけを例示・説明してきたが、数多くの修正及び変更が当業者には明らかであろう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の技術的範囲に属するかかる修正及び変更をすべて包含するものである。

【図1】

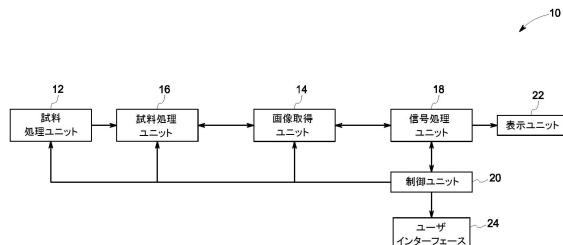


FIG. 1

【図3】

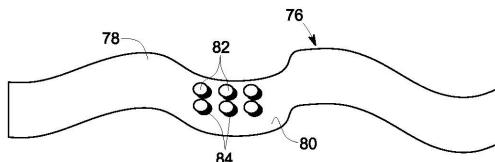


FIG. 3

【図2】

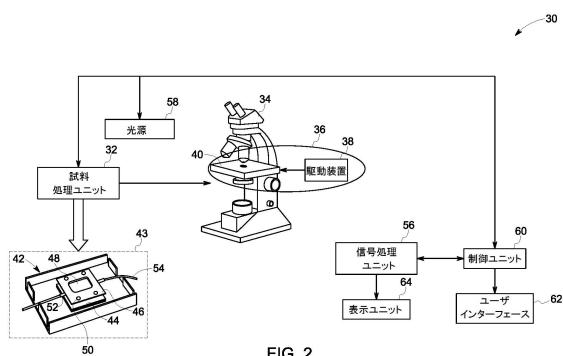


FIG. 2

【図4】

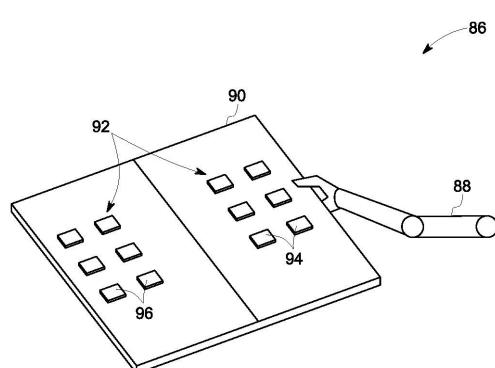


FIG. 4

【図5】

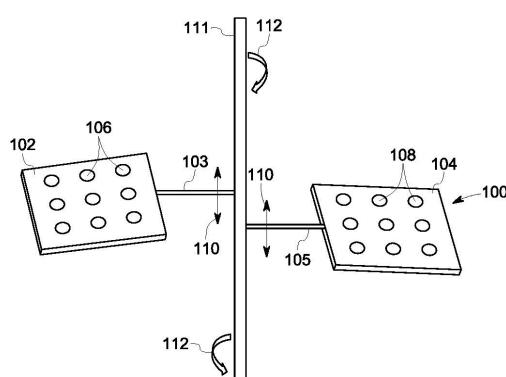


FIG. 5

【図6】

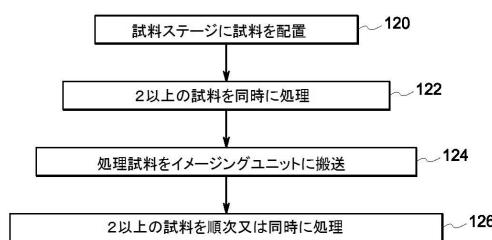


FIG. 6

【図7】

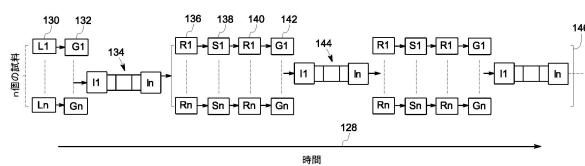


FIG. 7

【図8】

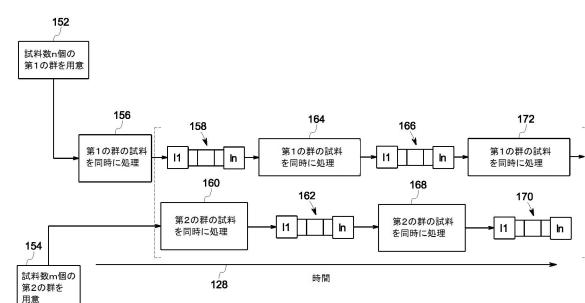
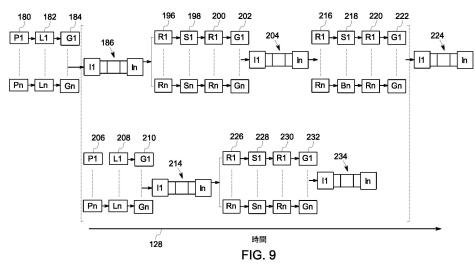


FIG. 8

【図9】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 2 B 21/36 (2006.01) G 0 2 B 21/36

- (72)発明者 コーウィン , アレックス・デイヴィッド
アメリカ合衆国、ニューヨーク州・12309、ニスカユナ、ワン・リサーチ・サークル、ジーイー・グローバル・リサーチ
- (72)発明者 フィルキンス , ロバート・ジョン
アメリカ合衆国、ニューヨーク州・12309、ニスカユナ、ビルディング・ケイ1-3エイ59、ワン・リサーチ・サークル、ゼネラル・エレクトリック・カンパニー・グローバル・リサーチ
- (72)発明者 シュー , ジュン
アメリカ合衆国、ニューヨーク州・12309、ニスカユナ、ビルディング・ケイ1-3エイ59、ワン・リサーチ・サークル、ゼネラル・エレクトリック・カンパニー・グローバル・リサーチ
- (72)発明者 チェン , ナンアン
アメリカ合衆国、ニューヨーク州・12309、ニスカユナ、ビルディング・ケイ1-3エイ59、ワン・リサーチ・サークル、ゼネラル・エレクトリック・カンパニー・グローバル・リサーチ
- (72)発明者 シャイク , カシャン・アリ
アメリカ合衆国、ニューヨーク州・12309、ニスカユナ、ビルディング・ケイ1-3エイ59、ワン・リサーチ・サークル、ゼネラル・エレクトリック・カンパニー・グローバル・リサーチ

審査官 濱戸 息吹

(56)参考文献 欧州特許出願公開第02446263(E P, A 1)
米国特許出願公開第2008/0113440(US, A 1)
特表2012-515931(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 2 B 1 9 / 0 0 - 2 1 / 3 6
G 0 1 N 1 / 0 0 - 1 / 3 4
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8