

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6465878号  
(P6465878)

(45) 発行日 平成31年2月6日 (2019.2.6)

(24) 登録日 平成31年1月18日 (2019.1.18)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/53 (2006.01)  
GO 1 N 33/543 (2006.01)  
GO 1 N 37/00 (2006.01)  
C 1 2 M 1/34 (2006.01)  
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

GO 1 N 33/53 D  
GO 1 N 33/543 5 4 1 B  
GO 1 N 37/00 1 0 1  
C 1 2 M 1/34 B  
C 1 2 Q 1/02

請求項の数 43 (全 35 頁)

(21) 出願番号 特願2016-525565 (P2016-525565)  
(86) (22) 出願日 平成26年10月22日 (2014.10.22)  
(65) 公表番号 特表2017-502257 (P2017-502257A)  
(43) 公表日 平成29年1月19日 (2017.1.19)  
(86) 国際出願番号 PCT/US2014/061848  
(87) 国際公開番号 W02015/061506  
(87) 国際公開日 平成27年4月30日 (2015.4.30)  
審査請求日 平成29年10月20日 (2017.10.20)  
(31) 優先権主張番号 61/996, 973  
(32) 優先日 平成25年10月22日 (2013.10.22)  
(33) 優先権主張国 米国 (US)  
(31) 優先権主張番号 61/996, 969  
(32) 優先日 平成25年10月22日 (2013.10.22)  
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 514304762  
パークレー ライツ, インコーポレイテッ  
ド  
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94  
608, エメリービル, ホールトン スト  
リート 5858, スイート 320  
(74) 代理人 100079108  
弁理士 稲葉 良幸  
(74) 代理人 100109346  
弁理士 大貫 敏史  
(74) 代理人 100117189  
弁理士 江口 昭彦  
(74) 代理人 100134120  
弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体アクティビティをアッセイするための微量流体デバイス

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

微量流体デバイスにおいて生体アクティビティをアッセイする処理であって、  
前記微量流体デバイスの保持用囲いにおいて、目的の生体材料を生産する 1 以上の生体細胞を培養することと、  
前記保持用囲いの中へ 1 以上の捕捉微小物体を導入することと、  
前記 1 以上の生体細胞を培養しながら、前記 1 以上の生体細胞によって生産される前記目的の生体材料が、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合するようにすることと、  
前記捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料を評価することと、  
を含み、  
前記微量流体デバイスがハウジングを含み、  
前記ハウジングが、  
基部と、  
前記基部上に配置されている微量流体構造物と、  
前記基部上に配置されている前記保持用囲いと、  
を備え、  
前記微量流体構造物および前記基部が、前記保持用囲いが配置されている流れ領域を定義し、  
前記保持用囲いが、  
単一の開口を有する単離領域と、

前記流れ領域への近位開口と前記単離領域への遠位開口を有する接続領域と、  
を含み、  
前記接続領域の長さが、前記流れ領域を流れる流体の浸透深さより大きく、前記保持用  
囲いの前記単離領域が、前記微少流体デバイスの流れのない領域であり、流体が前記単離  
領域に直接流れることが防止され、

前記捕捉微小物体の各々が、前記目的の生体材料に特異的に結合する結合物質を含む、  
処理。

【請求項 2】

前記目的の生体材料が、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合させるようにすることの後であるが、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料を評価することの前に、前記保持用囲いから前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することをさらに含む、請求項 1 に記載の処理。

10

【請求項 3】

前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することが、前記微少流体デバイス内に位置づけられるアッセイ領域へ前記 1 以上の捕捉微小物体を移動させることを含む、請求項 2 に記載の処理。

【請求項 4】

前記アッセイ領域が、前記微少流体デバイスにおいてチャンネル内に位置づけられる停留部である、請求項 3 に記載の処理。

【請求項 5】

前記アッセイ領域が、前記微少流体デバイス内に位置づけられるチャンバーである、請求項 3 に記載の処理。

20

【請求項 6】

前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することが、前記微少流体デバイス中のチャンネルへ前記 1 以上の捕捉微小物体を移動させることと、前記微少流体デバイスから前記 1 以上の捕捉微小物体を搬出することとを含む、請求項 2 に記載の処理。

【請求項 7】

前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することが、  
前記微少流体デバイスの内表面上へ前記少なくとも 1 つの捕捉微小物体を取り囲む光パターンを投影することによって、前記保持用囲い中の前記捕捉微小物体の少なくとも 1 つを捕らえる光トラップを作り出すこと、および

30

前記微少流体デバイス中のチャンネルの中へ前記保持用囲いから前記光トラップを移動させることを含む、請求項 2 ～ 6 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 8】

前記 1 以上の捕捉微小物体が磁気を帯び、前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することが、前記微少流体デバイスに磁場を適用することを含む、請求項 2 ～ 6 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 9】

前記除去された捕捉微小物体の各々を、そこから前記除去された捕捉微小物体が除去された前記保持用囲いと互に関係づけることをさらに含む、請求項 2 ～ 8 のいずれか一項に記載の処理。

40

【請求項 10】

前記評価することが、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料のタイプを決定することを含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 11】

前記評価することが、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料の活性を決定することを含む、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 12】

前記評価することが、前記 1 以上の捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料の量を決定することを含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の処理。

50

## 【請求項 13】

前記決定することが、

前記 1 以上の捕捉微小物体に結合されている前記目的の生体材料にアッセイ材料を結合することと、

前記 1 以上の捕捉微小物体と前記アッセイ材料から生じる放射線との間の関連を検知することと、

を含む、請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 14】

前記決定することが、前記目的の生体材料に前記アッセイ材料を結合することの後であるが、前記 1 以上の捕捉微小物体と前記アッセイ材料から生じる放射線との間の関連を検知することの前に、前記 1 以上の捕捉微小物体から、結合されないアッセイ材料を洗い流すことをさらに含む、請求項 13 に記載の処理。

10

## 【請求項 15】

各前記捕捉微小物体に関連する前記放射線が、所定の特徴に対応するかどうかを決定することをさらに含む、請求項 13 に記載の処理。

## 【請求項 16】

前記目的の生体材料が、タンパク質である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 17】

前記タンパク質が、抗体である、請求項 16 に記載の処理。

20

## 【請求項 18】

前記評価することが、前記 1 以上の捕捉微小物体が前記保持用囲いにある間に実施される、請求項 1 に記載の処理。

## 【請求項 19】

前記 1 以上の捕捉微小物体の結合物質が、前記目的の生体材料に対して、少なくとも 1  $\mu$ M の結合親和性を有する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 20】

前記保持用囲い中の前記 1 以上の生体細胞が、生体細胞のクローンコロニーを含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 21】

前記保持用囲い中の前記 1 以上の生体細胞が、単一の細胞である、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の処理。

30

## 【請求項 22】

前記 1 以上の捕捉微小物体が、単一の捕捉微小物体である、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 23】

前記 1 以上の捕捉微小物体が、複数の捕捉微小物体を含み、その各々が、前記複数における他の捕捉微小物体の結合物質とは異なる結合物質を含む、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の処理。

## 【請求項 24】

前記目的の生体材料が、抗体であり、前記複数の捕捉微小物体の各々が、前記複数における他の捕捉微小物体の結合物質によって結合される抗体アイソタイプとは異なる抗体アイソタイプに結合する結合物質を含む、請求項 23 に記載の処理。

40

## 【請求項 25】

前記目的の生体材料が、抗体であり、前記複数の捕捉微小物体の各々が、前記抗体によって認識される抗原のエピトープに対応する結合物質を含む、請求項 23 に記載の処理。

## 【請求項 26】

前記目的の生体材料が、抗体であり、前記複数のうち 1 つの捕捉微小物体が、前記抗体によって認識される抗原またはそのエピトープに対応する結合物質を含み、前記複数のうち他の捕捉微小物体の各々が、異なる種からの前記抗原の相同体またはそのエピトープに

50

対応する結合物質を含む、請求項 2 3 に記載の処理。

【請求項 2 7】

前記 1 以上の捕捉微小物体を除去することが、

前記少なくとも 1 つの捕捉微小物体に近接した前記微少流体デバイスの内表面上に光パターンを投影することによって、前記保持用囲いにおいて前記捕捉微小物体の少なくとも 1 つに近接した光誘起 D E P 電極を起動することと、

前記保持用囲いから前記微少流体デバイスにおけるチャンネル中へ前記光パターンを移動させ、前記起動した D E P 電極が、前記少なくとも 1 つの捕捉微小物体を前記チャンネル中へ遠ざけることと、

を含む、請求項 2 に記載の処理。

10

【請求項 2 8】

微少流体デバイスにおいて生体アクティビティをアッセイする処理であって、

微少流体デバイスの保持用囲いにおいて、1 以上の異なる目的の生体材料を生産する 1 以上の生体細胞を培養することと、

前記保持用囲いの中へ 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体を導入することと、

前記 1 以上の生体細胞を培養しながら、前記 1 以上の生体細胞によって生産される前記 1 以上の異なる目的の生体材料が、前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体に結合するようにすることと、

前記 1 以上の異なる目的の生体材料と前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体との間の結合を評価することと、

20

を含み、

前記微少流体デバイスがハウジングを含み、

前記ハウジングが、

基部と、

前記基部上に配置されている微少流体構造物と、

前記基部上に配置されている前記保持用囲いと、

を備え、

前記微少流体構造物および前記基部が、前記保持用囲いが配置されている流れ領域を定義し、

前記保持用囲いが、

30

単一の開口を有する単離領域と、

前記流れ領域への近位開口と前記単離領域への遠位開口を有する接続領域と、

を含み、

前記接続領域の長さが、前記流れ領域を流れる流体の浸透深さより大きく、前記保持用囲いの前記単離領域が、前記微少流体デバイスの流れのない領域であり、流体が前記単離領域に直接流れることが防止され、

前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体の各タイプが、前記 1 以上の異なる目的の生体材料のそれぞれの 1 つに特異的に結合する結合物質を含む、  
処理。

【請求項 2 9】

40

前記 1 以上の異なる目的の生体材料の少なくとも 1 つが、前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体の 1 つに特異的に結合する場合、前記評価の結果が陽性である、請求項 2 8 に記載の処理。

【請求項 3 0】

前記 1 以上の異なる目的の生体材料の少なくとも 2 つが各々、前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体のそれぞれの 1 つに特異的に結合する場合、前記評価の結果が陽性である、請求項 2 8 に記載の処理。

【請求項 3 1】

前記 1 以上の異なる目的の生体材料のすべてが各々、前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体の 1 つに特異的に結合する場合、前記評価の結果が陽性である、請求項 2 8 に記

50

載の処理。

【請求項 3 2】

前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体が、同時に前記 囲いの中へ導入される、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 3 3】

前記 1 以上の異なるタイプの捕捉微小物体が、連続して前記 囲いの中へ導入される、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の処理。

【請求項 3 4】

ハウジングを含む微少流体デバイスであって、

前記ハウジングが、

基部と、

前記基部上に配置されている微少流体構造物と、

前記微少流体構造物および前記基部で定義されたチャネルを含む流れ領域内かつ前記基部上に配置されている保持用 囲いと、

アッセイ領域と、

を備え、

前記保持用 囲いが、

単一の開口を有する単離領域と、

前記チャネルへの近位開口と前記単離領域への遠位開口を有する接続領域と、

を含み、

前記接続領域の長さが、前記チャネルを流れる流体の浸透深さより大きく、前記保持用 囲いの前記単離領域が、前記微少流体デバイスの流れのない領域であり、流体が前記単離領域に直接流れることが防止され、

前記アッセイ領域が、前記保持用 囲いに近接して位置づけられる、

微少流体デバイス。

【請求項 3 5】

前記アッセイ領域が、前記チャネル内に位置づけられる停留部を含む、請求項 3 4 に記載の微少流体デバイス。

【請求項 3 6】

前記アッセイ領域が、前記チャネルへの開口を有するアッセイチャンバーを含み、前記アッセイチャンバーは、前記保持用 囲いに並んで位置づけられる、請求項 3 4 に記載の微少流体デバイス。

【請求項 3 7】

前記アッセイ領域が、前記チャネルへの開口を有するアッセイチャンバーを含み、前記アッセイチャンバーへの前記開口は、前記保持用 囲いの前記接続領域の前記近位開口から前記チャネルを横切って直接に位置づけられる、請求項 3 4 に記載の微少流体デバイス。

【請求項 3 8】

前記アッセイチャンバーが、実質的に単離領域を欠く、請求項 3 6 または 3 7 に記載の微少流体デバイス。

【請求項 3 9】

前記デバイスが、包囲体内で磁力を発生させるための手段をさらに含む、請求項 3 4 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の微少流体デバイス。

【請求項 4 0】

前記ハウジングが、

第 1 電極と、

第 2 電極と、

電極起動基板と、

をさらに含み、

前記第 1 電極は、前記ハウジングの第 1 壁の一部であり、前記第 2 電極および前記電極起動基板は、前記ハウジングの第 2 壁の一部であり、

10

20

30

40

50

前記電極起動基板は、複数のDEP電極領域を含む表面を有し、  
前記電極起動基板の前記表面は、前記流れ領域の内表面である、  
請求項34～39のいずれか一項に記載の微少流体デバイス。

【請求項41】

前記電極起動基板が、光伝導材料である、請求項40に記載の微少流体デバイス。

【請求項42】

前記電極起動基板が、半導体材料を含む、請求項40に記載の微少流体デバイス。

【請求項43】

前記半導体材料が、半導体集積回路を形成する複数のドーパ層、電気絶縁層および導電層を含む、請求項42に記載の微少流体デバイス。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願（単数または複数）への相互参照

本願は、U.S.変更仮特許出願第14/060,423号の仮ではない（したがって、その利益および/またはそれに対する優先権を主張する）。

【背景技術】

【0002】

背景

20

生物科学および関連分野において、細胞などの微小物体の生体アクティビティ(biological activity)をアッセイすることは、有用であり得る。本発明のいくつかの態様は、微少流体デバイスの保持用囲い(holding pens)中の生体アクティビティをアッセイするための装置および処理を含む。

【発明の概要】

【0003】

概要

いくつかの態様において、本発明は、微少流体デバイス中の生体アクティビティをアッセイするための処理を提供する。生体アクティビティは、生体細胞などによる、目的の生体材料の生産であり得る。したがって、処理は、微少流体デバイスの保持用囲い中の目的の生体材料を生産する1以上の生体細胞の培養を含み得る。処理は、さらに、保持用囲いの中に1以上の捕捉微小物体(capture micro-objects)を導入すること、および、1以上の生体細胞によって生産される目的の生体材料が、1以上の捕捉微小物体に結合することを可能にすることを含み得る。捕捉微小物体は、例えば、前目的の生体材料を特異的に結合する結合物質を含み得る。処理はまた、結合された目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することを含み得る。

30

【0004】

ある態様において、1以上の捕捉微小物体は、目的の生体材料が、1以上の捕捉微小物体に結合させるようにすることの後であるが、結合されている目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することの前に、保持用囲いから除去される。1以上の捕捉微小物体を除去することは、微少流体デバイス内に位置づけられるアッセイ領域に、1以上の捕捉微小物体を移動させることを含み得る。ある態様において、アッセイ領域は、微少流体デバイス中のチャンネル内に位置づけられる停留部、微少流体デバイス内に位置づけられるチャンバーまたは同種のものである。それとは関係なく、アッセイ領域は、そこから1以上の捕捉微小物体が除去される保持用囲いに近接して位置づけられ得る。代わりに、または加えて、1以上の捕捉微小物体を除去することは、前記微少流体デバイス中のチャンネルに1以上の捕捉微小物体を移動させ、その後、前記微少流体デバイスから1以上の捕捉微小物体を搬出することを含み得る。

40

【0005】

ある態様において、1以上の捕捉微小物体を除去することは、それが保持用囲いにある

50

間、捕捉微小物体の少なくとも1つを捕らえる光トラップを作り出すことを含む。光トラップは、微少流体デバイスの内表面上に投影され、少なくとも1つの捕捉微小物体を取り囲み、および、微少流体デバイス内で誘電泳動（DEP）電極などの電極を起動させる光パターンを含み得る。微少流体デバイスのチャンネルおよび/またはアッセイ領域に保持用囲いから光トラップを移動させることは、捕らえられる捕捉微小物体が、それに応じて移動することを引き起こし得る。

【0006】

ある態様において、1以上の捕捉微小物体は、磁気を帯びている。関連する態様において、1以上の捕捉微小物体を除去することは、微少流体デバイスに磁場を適用することを伴い得る。

10

【0007】

ある態様において、保持用囲いから除去された捕捉微小物体は、保持用囲いと関連したままであり得る。例えば、相互関係は、捕捉微小物体およびそこから除去される保持用囲いの間で維持され得る。この仕方において、微少流体デバイスが複数の保持用囲いを収容するとき、その保持用囲いから除去された捕捉微小物体から入手されるデータは、適切な保持用囲いまで遡り得る。

【0008】

ある態様において、結合される目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することは、捕捉微小物体が保持用囲いにある間に実施される。

【0009】

20

ある態様において、結合される目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することは、捕捉微小物体に結合される目的の生体材料のタイプを決定することを伴い得る。ある態様において、結合される目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することは、捕捉微小物体に結合される目的の生体材料の活性を決定することを伴い得る。ある態様において、結合される目的の生体材料のために捕捉微小物体を評価することは、捕捉微小物体に結合される前記目的の生体材料の量を決定することを伴い得る。かかるいかなる決定も、捕捉微小物体に結合される目的の生体材料とアッセイ材料とを混合すること（および/または結合すること）、および、捕捉微小物体とアッセイ材料との間の関連を検知することを含み得る。例えば、アッセイ材料が、検知可能な放射線を生産することが可能である場合、決定は、捕捉微小物体とアッセイ材料から生じる放射線との間の関連を検知することを伴い得る。決定は、微小物体とアッセイ材料から生じる放射線との間の関連を検知する前に、捕捉微小物体から、結合されないおよび/または反応しないアッセイ材料を洗い流すことをさらに伴い得る。代わりに、または加えて、決定は、捕捉微小物体と関連した放射線が所定の特徴に対応するかどうかを決定することをさらに伴い得る。例えば放射線は、特徴的な波長を有してもよい。

30

【0010】

ある態様において、目的の生体材料は、治療用タンパク質、抗体、成長因子、サイトカイン、がん抗原、ウイルスまたは他の病原体に関連した感染性抗原、分泌タンパク質、または、生体細胞によって生産され、および/または、放出される他のあらゆるタンパク質などのタンパク質である。ある態様において、目的の生体材料は、タンパク質、核酸、炭水化物、脂質、ホルモン、代謝物質、小分子、ポリマーまたはそのあらゆる組み合わせである。ある態様において、捕捉微小物体の結合物質は、目的の生体材料のために、少なくとも1  $\mu$ M、100 nM、50 nM、25 nM、10 nM、5 nM、1 nMまたはより強い結合親和性を有する。

40

【0011】

ある態様において、保持用囲い中に単一の生体細胞がある。他の態様において、保持用囲い中に2以上の生体細胞がある。ある態様において、保持用囲い中の生体細胞は、クローンコロニーである。ある態様において、単一の捕捉微小物体は、保持用囲いの中へ導入される。他の態様において、2以上の（例えば、複数の）捕捉微小物体は、保持用囲いの中へ導入される。これらの後者の態様において、複数の捕捉微小物体の各々は、その複数

50

において他の捕捉微小物体の結合物質とは異なる結合物質を有し得る。

【0012】

ある態様において、目的の生体材料は、候補治療用抗体などの抗体である。関連する態様において、処理は、その各々が異なる抗体アイソタイプに結合する結合物質を有する、複数の捕捉微小物体を含み得る。他の関連する態様において、処理は、その各々が抗体によって認識される抗原の異なるエピトープに対応する結合物質を有する、複数の捕捉微小物体を含み得る。さらに他の関連する態様において、処理は、その1つが前記抗体によって認識される抗原またはそのエピトープに対応する結合物質を有する、複数の捕捉微小物体を含み得る。複数における残りの捕捉微小物体は、抗原の相同体またはそのエピトープに対応する結合物質を有し得る。相同抗原またはそのエピトープは、異なる種類からあり得る。

10

【0013】

いくつかの態様において、本発明は、微少流体デバイス中の $n$ 個の異なる目的の生体材料の生産のアクセイのための処理を提供する。処理は、微少流体デバイスの保持用囲い中の1以上の生体細胞を培養することを含み得、ここで、1以上の細胞は、 $n$ 個の異なる目的の生体材料を生産する。処理は、保持用囲いの中へ捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプを導入することであって、各々のタイプは、前記 $n$ 個の異なる目的の生体材料の1つに特異的に結合する結合物質を有すること、および、生体細胞によって生産される $n$ 個の異なる目的の生体材料が捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプに結合することを可能にすることをさらに含む。処理はまた、結合される目的の生体材料のために捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプを評価することを含み得る。ある態様において、 $n$ 個の異なる目的の生体材料の少なくとも1つが捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプの1つに特異的に結合する場合、かかる評価の結果は、陽性である。他の態様において、 $n$ 個の異なる目的の生体材料の少なくとも2つの各々が、捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプの1つに特異的に結合する場合、かかる評価の結果は、陽性である。さらに他の態様において、 $n$ 個の異なる目的の生体材料のすべての各々が、捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプの1つに特異的に結合する場合、かかる評価の結果は、陽性である。

20

【0014】

ある態様において、捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプは、同時に保持用囲いの中へ導入される。他の態様において、捕捉微小物体の $n$ 個の異なるタイプは、連続して保持用囲いの中へ導入される。

30

【0015】

いくつかの態様において、微少流体デバイス中の $n$ 個の異なる目的の生体材料の生産のアクセイのための処理は、保持用囲いへ1以上の $y$ -材料捕捉微小物体を導入することを含み、各 $y$ -材料捕捉微小物体は、 $y$ 個の異なる結合物質を有し、その各々は、1以上の生体細胞によって生産される $n$ 個の異なる目的の生体材料の1つに特異的に結合する。処理は、1以上の生体細胞によって生産される $n$ 個の異なる目的の生体材料が、前記 $y$ -材料捕捉微小物体に結合することを可能にすることをさらに含む得る。加えて、処理は、結合される目的の生体材料のために $y$ -材料捕捉微小物体を評価することを含み得る。

40

【0016】

前述のあらゆる処理のために、微少流体デバイスは、複数の保持用囲いを含み得、その各々は、1以上の生体細胞を収容し、連続してまたは並行してアクセイされ得る。

【0017】

いくつかの態様において、本発明は、微少流体デバイスを提供する。微少流体デバイスは、チャンネル、保持用囲いおよびアクセイ領域を有する包囲体(enclosure)を含み得る。保持用囲いは、チャンネルへの近位開口および単離領域への遠位開口を有する接続領域を備えた、単離領域および接続領域を含み得る。アクセイ領域は、保持用囲いに近接して位置づけられ得る。例えば、アクセイ領域は、チャンネル内に位置づけられる停留部を含み得る。停留部は、接続領域の近位開口からまたはちょうどその外側のチャンネルを横切って、直接位置づけられ得る。代わりに、アクセイ領域は、アクセイチャンバーを含み得る。アッ

50



セイチャンバーは、保持用囲いに並んで、または、保持用囲いの接続領域の近位開口からのチャンネルを横切って、直接位置づけられ得る。いくつかの態様において、アッセイチャンバーは、実質的に単離領域を欠く（例えばアッセイチャンバーの体積の50%未満は、チャンネルを経て流れている媒体のバルク流れから単離される）。ある態様において、微少流体デバイスは、包囲体内で磁力を発生させるための手段も含み得る。かかる手段は、例えば磁石であり得る。

【図面の簡単な説明】

【0018】

図面の簡単な説明

【図1】図1は、本発明のいくつかの態様に従い、微少流体デバイスの保持用囲い中の生体アクティビティをアッセイするための処理の例である。

10

【0019】

【図2A】図2Aは、本発明のいくつかの態様に従い、それを備えて図1の処理が実施され得る微少流体デバイスの斜視図である。

【0020】

【図2B】図2Bは、図2Aの微少流体デバイスの垂直断面図である。

【0021】

【図2C】図2Cは、図2Aの微少流体デバイスの水平断面図である。

【0022】

【図3A】図3Aは、それにおいてセレクタが、本発明のいくつかの態様に従い誘電泳動（DEP）デバイスとして構成される、（説明し易いように）障壁および停留部がない図2A～2Cの微少流体デバイスの部分的な垂直断面図である。

20

【0023】

【図3B】図3Bは、図3Aの部分的な水平断面図である。

【0024】

【図4】図4は、それにおいて保持用囲い中の細胞の生体アクティビティが、本発明のいくつかの態様に従いアッセイされ得る処理の例である。

【0025】

【図5A】図5Aは、本発明のいくつかの態様に従い、図4の培養するステップの例を説明する。

30

【0026】

【図5B】図5Bは、それにおいて生体細胞が、単離領域および接続領域を有する保持用囲い中で培養される、図4の培養するステップの例を説明する。

【0027】

【図6】図6は、本発明のいくつかの態様に従い図4の移動させるステップの例を説明する。

【0028】

【図7A】図7Aは、本発明のいくつかの態様に従い図4の移動させるステップの別の例を説明する。

【0029】

【図7B】図7Bは、それに保持用囲いが近接するチャンネルを経て捕捉物体が流れるとき、それにおいてデフレクタが保持用囲いの中へ捕捉物体を導くために使用される、図7Aの微少流体デバイスの変動を説明する。

40

【0030】

【図8】図8および9は、本発明のいくつかの態様に従い図4において培養を継続するステップの例を示す。

【図9】図8および9は、本発明のいくつかの態様に従い図4において培養を継続するステップの例を示す。

【0031】

【図10】図10は、本発明のいくつかの態様に従い図4の除去するステップの例を説明

50

する。

【0032】

【図11A】図11Aは、本発明のいくつかの態様に従い図4の除去するステップの他の例を説明する。

【0033】

【図11B】図11Bは、それにおいて捕捉物体が生体細胞を収容する保持用囲いから除去され、アッセイ囲いへ置かれる、図4の除去するステップの変動を説明する。

【0034】

【図11C】図11Cは、それにおいて捕捉物体が、生体細胞を収容する保持用囲いから除去され、アッセイ囲いへ置かれる、図4のステップを除去することの別の変動を説明する。

10

【0035】

【図12】図12から14は、本発明のいくつかの態様に従い図4の評価するステップの例を示す。

【図13】図12から14は、本発明のいくつかの態様に従い図4の評価するステップの例を示す。

【図14】図12から14は、本発明のいくつかの態様に従い図4の評価するステップの例を示す。

【0036】

【図15】図15は、本発明のいくつかの態様に従い、特徴の第1数 $n$ 、その後、特徴の第2数 $m$ について、微少流体デバイス中の保持用囲い中の生体アクティビティを試験するための処理の例を説明する。

20

【0037】

【図16】図16は、本発明のいくつかの態様に従い図15の処理において、 $n$ 個の特徴および/または $m$ 個の特徴について試験をするための処理の例である。

【0038】

【図17】図17は、本発明のいくつかの態様に従い図15の処理において、 $n$ 個の特徴および/または $m$ 個の特徴について試験をするための処理の別の例である。

【0039】

【図18】図18は、その各々が本発明のいくつかの態様に従い異なる目的の材料を結合させるために構成される数 $x$ の捕捉物体を、連続してまたは並行して保持用囲いの中へ移動させる例を説明する。

30

【0040】

【図19】図19は、本発明のいくつかの態様に従い複数の $y$ 個の異なる目的の材料を結合させるために構成される捕捉物体を、保持用囲いの中へ移動させる例を示す。

【0041】

【図20A】図20A～20Cは、生体細胞を培養するための領域および捕捉微小物体を置くための分離領域を有する保持用囲いの例を説明する。

【図20B】図20A～20Cは、生体細胞を培養するための領域および捕捉微小物体を置くための分離領域を有する保持用囲いの例を説明する。

40

【図20C】図20A～20Cは、生体細胞を培養するための領域および捕捉微小物体を置くための分離領域を有する保持用囲いの例を説明する。

【発明を実施するための形態】

【0042】

例示態様の詳細な記載

本明細書は、本発明の例示態様および適用を記載する。しかしながら、本発明は、これらの例示態様および適用に、あるいは、例示態様および適用が動作するかまたは本明細書に記載されるやり方に限定されない。また、図は、簡略化されたかまたは部分的な図を示してもよく、図中の要素の寸法は、明確化のため、大きく見せてもよいし、またはそうでなければ、釣り合いが取れていなくてもよい。加えて、用語「の上にある(on)」、「に付

50

着されている(attached to)」または「とカップリングされている(coupled to)」が本明細書に使用されるとき、1つの要素(例えば材料、層、基板など)は、1つの要素が直接、他の要素の上に、それに付着されているか、または、それとカップリングされているか否かにかかわらず、あるいは、1以上の介在要素が一方の要素と他方の要素との間にあるか否かにかかわらず、別の要素「の上にある」か、それ「に付着されている」か、または、それ「とカップリングされてい」てもよい。提供される場合、方向(例えば、上へ(above)、下へ(below)、上端(top)、下端(bottom)、横へ(side)、上方へ(up)、下方へ(down)、下へ(under)、上へ(over)、上方へ(upper)、下方へ(lower)、水平の(horizontal)、垂直の(vertical)、「x」、「y」、「z」など)もまた相対的なものであって、説明および検討を容易にするため例を用いて単に提供されるものであり、限定する目的はない。加えて、要素の一覧(例えば要素a、b、c)を参照する場合、かかる参照は、載せられた要素のいずれか1つそれ自体、載せられた要素の全部より少ないものからなるいずれかの組み合わせ、および/または、載せられた要素の全部からなる組み合わせを含むことを意図する。

10

#### 【0043】

本明細書に使用される「実質的に」は、本来の目的どおりに働くのに充分であることを意味する。よって、用語「実質的に」は、完全なまたは完璧な状態、寸法、大きさ、結果からの有意でない小さな変動量、あるいは、例えば当該技術分野における当業者に予期されるであろうが、全体的な性能に感知できるほどに影響を及ぼさない同種のものを可能にする。数値もしくはパラメータまたは数値として表現され得る特徴に関して使用されるとき、「実質的に」という用語は、10パーセント内を意味する。用語「1つ(複数)(ones)」は1つより多いことを意味する。

20

#### 【0044】

本明細書に使用される用語「捕捉物体」および「捕捉微小物体」は互換的に使用され、以下の1以上を包含し得る：微小粒子、マイクロビーズ(例としてポリスチレンビーズ、Luminex(商標)ビーズまたは同種のもの)、磁性ビーズ、マイクロロッド(microrod)、マイクロワイヤ(microwire)、量子ドットなどの無生物の微小物体；細胞(例として組織または流体サンプル、血液細胞、ハイブリドーマ、培養細胞、細胞株からの細胞、がん細胞、感染した細胞、形質移入および/または形質転換された細胞、レポーター細胞など)等の生物学的な微小物体、リボソーム(例として合成のまたは膜調製物由来の)、脂質ナノラフト(lipid nanoraft)など；または、無生物の微小物体と生物学的な微小物体との組み合わせ(例として細胞に付着されているマイクロビーズ、リボソームで被覆されたマイクロビーズ、リボソームで被覆された磁性ビーズまたは同種のもの)。脂質ナノラフトは、例としてRitchie et al. (2009) "Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs," Methods Enzymol., 464:211-231に記載されている。

30

#### 【0045】

本明細書において使用される用語「特異的な結合をすること」および「特異的に結合する」は、イオン結合、水素結合および/またはファンデルワールス力が、特異的な配座(conformation)において一緒にリガンドおよびレセプタを保持するように、それにおいてリガンドの特異的な表面が、レセプタ上の特異的な表面へ結合する、リガンドとレセプタとの間の相互作用を指す。リガンドは、タンパク質(例えば、治療用タンパク質、抗体、成長因子、サイトカイン、がん抗原、ウイルスまたは他の病原体と関連した感染性抗原、分泌タンパク質、または、生体細胞によって生産され、および/または、放出されるあらゆる他のタンパク質)、核酸、炭水化物、脂質、ホルモン、代謝物質またはそのあらゆる組み合わせなどの、目的の生体材料であり得る。レセプタは、結合物質、例えば、タンパク質(例えば、治療用タンパク質、抗体、成長因子、サイトカイン、がん抗原、ウイルスまたは他の病原体と関連した感染性抗原、分泌タンパク質、または生体細胞によって生産され、および/または、放出されるあらゆる他のタンパク質)、核酸、炭水化物、脂質、ホルモン、代謝物質、小分子、ポリマー、またはそのあらゆる組み合わせなどの生物学もしくは化学分子であり得る。レセプタへのリガンドの特異的な結合は、定量化できる結合親

40

50

和性に関連する。結合親和性は、例えば、解離定数  $K_d$  として表され得る。

【0046】

液体に準拠して本明細書において使用される用語「流れ」は、主として、拡散以外いずれのメカニズムにも起因する、液体のバルク移動を指す。例えば媒体の流れは、地点間の圧力差に起因する、ある地点から別の地点への流動性媒体の移動を伴い得る。かかる流れは、液体の、一続きの、パルス状の、周期的な、ランダムな、断続的な、または、往復の流れ、あるいは、それらの組み合わせを含み得る。ある流動性媒体が他の流動性媒体に流入するとき、培地の乱流および混合が起こり得る。

【0047】

語句「実質的に流れがない」は、液体の中へのまたは液体内の材料の成分（例として目的のアナライト）の拡散の速度より小さい液体の流れの速度を指す。かかる材料の成分の拡散の速度は、例えば温度、成分の大きさ、および、成分と流動性媒体との間の相互作用の強さに依存し得る。

【0048】

流動性媒体に準拠して本明細書に使用される「拡散する」および「拡散」は、濃度勾配を下回る、流動性媒体の成分の熱力学的な移動を指す。

【0049】

微少流体デバイス内の異なる領域に準拠して本明細書に使用される語句「流体的に接続されている」は、異なる領域が実質的に流体培地などの流体で満たされているとき、領域の各々における流体が、流体の単体(single body)を形成するように接続されていることを意味する。これは、異なる領域中の流体（または流体培地）の組成が必ずしも同一であることを意味しない。むしろ、微少流体デバイスの、流体的に接続されている異なる領域中の流体は、溶質がそれら夫々の濃度勾配を下る(move down)ようにおよび/または流体がデバイスを経て流れるように流動的である異なる組成物（例として異なる濃度のタンパク質、炭水化物、イオンまたは他の分子などの溶質）を有し得る。

【0050】

本発明の微少流体デバイスまたは装置は、「一掃される」領域および「一掃されない」領域を含み得る。流体接続が、拡散を可能にするが、一掃される領域と一掃されない領域との間に実質的に培地の流れがないように構築されるという条件で、一掃されない領域は一掃される領域と流体的に接続され得る。よって、微少流体装置は、一掃される領域中の媒体の流れから、一掃されない領域を実質的に単離するが、実質的に唯一、一掃される領域と一掃されない領域との間の拡散性の流体連絡(fluid communication)を可能にするように構築され得る。

【0051】

生体細胞のコロニーは、複製が可能であるコロニー中の生細胞の全てが、単一の親細胞に由来する娘細胞である場合、「クローン(clonal)」である。用語「クローン細胞」は、同じクローンコロニーの細胞を指す。

【0052】

本発明のいくつかの態様において、微少流体デバイス中の保持用囲い中の生体アクティビティは、生体アクティビティによって生産される特定の目的の材料を結合させる捕捉物体を、保持用囲い中に置くことによって、アッセイされ得る。その後各捕捉物体に結合された目的の材料は、微少流体デバイスにおいて評価され得る。したがって、本発明の態様は、微少流体デバイス中の保持用囲い中で生じる生体アクティビティを効率的にアッセイし得る。また、生体アクティビティが、保持用囲いの1つにおいて特定の目的の生体材料を生産する各クローン細胞コロニーを含む場合、いくつかの本発明の態様は、各コロニーのクローンを保ちながら（例として、いずれの1つのコロニーからも複製し得る細胞をいずれの別のコロニーとも混合せずに）、微少流体デバイスにおいて目的の材料を生産する各コロニーの能力を評価し得る。

【0053】

図1は、アッセイ処理100の例を説明する。図2A~2Cは、処理100を実施する

10

20

30

40

50

ための微少流体デバイス 200 の例を説明し、図 3 A および 3 B は、微少流体デバイス 200 の一部であり得る誘電泳動 (DEP) デバイスの例を説明する。

#### 【0054】

図 1 に示されるとおり、処理 100 は、ステップ 102 で、微少流体デバイス中の保持用囲いの中へ捕捉物体を移動し得、処理 100 は、ステップ 104 で、特定の目的の生体材料を生産する保持用囲いの各々中に生体アクティビティを培養し得る。保持用囲いは、一掃されない領域を含み得、生体アクティビティは、かかる一掃されない領域において位置づけられ得、またはそこへ置かれ得る。生体アクティビティは、卵母細胞、精子、組織から解離された細胞、血液細胞 (例として B 細胞、T 細胞、マクロファージおよび同種のもの)、ハイブリドーマ、培養される細胞、細胞株からの細胞、がん細胞、感染した細胞、形質移入および / または形質転換された細胞、レポーター細胞および同種のものなどの 1 以上の細胞の一部であり得、またはそれらからなり得る。捕捉物体は、1 以上の結合物質を含み得、その各々は、特定の目的の生体材料に特異的に結合する。例えば、捕捉物体の結合物質は、少なくとも約 1 mM またはより強い (例として、約 100  $\mu$ M、10  $\mu$ M、1  $\mu$ M、500 nM、400 nM、300 nM、200 nM、100 nM、75 nM、50 nM、25 nM、15 nM、10 nM、5 nM、2.5 nM、1 nM またはより強い)、特定の目的の生体材料のための親和性 (例として K<sub>d</sub>) を有し得る。かかる親和性は、特定の目的の生体材料 (または保持用囲いおよび / または微少流体デバイス中に存在する、少なくともいづれの他の目的の生体材料) 以外の他のいづれの材料のための親和性よりも、例えば 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍またはそれ以上の倍数で、より強くあり得る。したがって、各捕捉物体は、1 以上の特定の目的の生体材料を結合させるが、保持用囲い中の他の生体材料を実質的に結合させないと言われ得る。しばらくして、捕捉物体は、ステップ 106 で、保持用囲いから除去され得、および、除去される捕捉物体とそこから除去される各捕捉物体が取られた囲いとの間の相互関係は、ステップ 108 で維持され得る。各保持用囲い中の生体アクティビティは、ステップ 110 で、保持用囲いから除去される捕捉物体に結合した生体材料を分析することによって評価され得る。例えば、処理 100 は、ステップ 110 で、保持用囲いから除去される捕捉物体によって結合された生体材料の量を決定することによって、各保持用囲い中の生体アクティビティを見積もり (rate) 得る。見積もりは、例えば、各保持用囲い中のコロニーがしきい率で、または、それよりも上で、目的の材料を生産するかどうかの決定を含み得る。別の例として、見積もりは、各保持用囲い中のコロニーによって生産される目的の材料の量を定量化し得る。

#### 【0055】

図 1 は例であり、処理 100 の多くの変動が考慮される。例えば、処理 100 は、捕捉物体が保持用囲い中にある間にステップ 110 で生体アクティビティを評価し得、および、したがって処理 100 は、いくらかの変動において、ステップ 106、108 を含む必要がなく、または、ステップ 106、108 は、スキップされ得る。別の例として、ステップ 102 ~ 110 は、図 1 に示される順序において実施される必要がない。例えば、ステップ 102 および 104 は、逆にされ得る。

#### 【0056】

図 2 A ~ 2 C は、処理 100 がその上で実施され得る微少流体デバイス 200 の例を説明する。示されるとおり、微少流体デバイス 200 は、ハウジング 202、セクタ 222、ディテクタ 224、流れコントローラ 226 および制御モジュール 230 を含み得る。

#### 【0057】

示されるとおり、ハウジング 202 は、液状媒体 244 を保持するための 1 以上の流れ領域 240 を含み得る。図 2 B は、媒体 244 が配置され得る流れ領域 240 の内表面 242 を、平ら (例として平面) であって特色のないものとして説明する。しかしながら、内表面 242 は代わりに、平らでないもの (例として非平面) であってもよく、電気端子などの特長 (示されず) を含んでいてもよい。

#### 【0058】

10

20

30

40

50

ハウジング 202 は、1 以上の入口 208 を含み得、それを経て媒体 244 が流れ領域 240 の中へ投入され得る。入口 208 は、例えば、投入口、開口、バルブ、別のチャネル、流体コネクタまたは同種のものであり得る。ハウジング 202 は、1 以上の出口 210 をも含み得、それを経て媒体 244 は、除去され得る。出口 210 は、例えば、排出口、開口、バルブ、チャネル、流体コネクタまたは同種のものであり得る。別の例として、出口 210 は、2013 年 4 月 4 日に出願された U.S. 特許出願第 13/856,781 号 (attorney docket no. BL1-US) に開示されているいずれの排出メカニズムなどの液滴排出メカニズムをも含み得る。ハウジング 202 の全部または一部は、ガス（例として、周囲空気）が流れ領域 240 に入出入りするのを可能にするようにガス透過性であり得る。

【0059】

ハウジング 202 は、基部（例として基板）206 上に配置されている微少流体構造物 204 をも含み得る。微少流体構造物 204 は、ガス透過性である、ゴム、プラスチック、エラストマー、シリコン（例としてパターン化可能なシリコン）、ポリジメチルシロキサン（「PDMS」）または同種のものなどの可撓性がある材料を含み得る。代わりに、微少流体構造物 204 は、硬質な（rigid）材料を含む他の材料を含み得る。基部 206 は、1 以上の基板を含み得る。単一の構造物として説明されているが、基部 206 は、多数の基板などの多数の相互接続された構造物を含み得る。微少流体構造物 204 は、同様にして、相互接続され得る多数の構造物を含み得る。例えば微少流体構造物 204 は加えて、構造物中の他の材料と同じかまたは異なる材料から作られるカバー（示されず）を含み得る。

【0060】

微少流体構造物 204 および基部 206 は、流れ領域 240 を定義し得る。1 つの流れ領域 240 が図 2A ~ 2C に示されているが、微少流体構造物 204 および基部 206 は、媒体 244 のための多数の流れ領域を定義し得る。流れ領域 240 は、微少流体回路を形成するように相互接続され得るチャネル（図 2C 中の 252、253）およびチャンバーを含み得る。1 つより多い流れ領域 240 を含む包囲体において、各流れ領域 240 は、媒体 244 を投入することとそれを流れ領域 240 から除去することとの夫々のために、1 以上の入口 208 および 1 以上の出口 210 と関連し得る。

【0061】

図 2B および 2C に示されるとおり、保持用囲い 256 は、流れ領域 240 において配置され得る。例えば、各保持用囲い 256 は、部分的な包囲体を形成する障壁 254 を含み得る。部分的な包囲体は、流れのないスペース（または単離領域）を定義し得る。したがって、各保持用囲い 256 の内部の一部は、空の流れ領域 240 が最初に媒体 244 で満たされているときを除き、その中へチャネル 252 からの媒体 244 が直接流れない、流れのないスペースであり得る。例えば、各保持用囲い 256 は、その内側が流れのないスペースを含み得る、部分的な包囲体を形成する 1 以上の障壁 254 を含み得る。したがって、保持用囲い 256 を定義する障壁 254 は、流れ領域 240 が媒体 244 で満たされる間、媒体 244 がチャネル 252 からいずれの保持用囲い 256 の保護された内部の中へも直接、流れることを防止し得る。例えば囲い 256 の障壁 254 は、流れ領域 240 が媒体 244 で満たされる間、チャネル 252 から囲い 256 の流れのないスペースへの、媒体 244 のバルク流れを実質的に防ぎ得、代わりに、囲い 256 中の流れのないスペース中の媒体と、チャネル 252 からの媒体との拡散性混合のみを実質的に可能にする。それに応じて、保持用囲い 256 中の流れのないスペースとチャネル 252 との間の栄養物と廃棄物の交換が、実質的に唯一、拡散によって生じ得る。

【0062】

前述のことは、囲い 256 の中へのいずれの開口も、チャネル 252 において媒体 244 の流れの中へ直接面しないように、囲い 256 を方向付けることによって達成され得る。例えば、図 2C 中のチャネル 252 において媒体の流れが入口 208 から出口 210（したがって左から右）である場合、囲い 256 の各々は、囲い 256 の各々の開口が図 2C において左に面しないため、それはかかる流れの中へ直接であったであろう、チャネル

10

20

30

40

50

2 5 2 から囲い 2 5 6 の中への媒体 2 4 4 の直接の流れを実質的に妨げる。

【 0 0 6 3 】

いずれのパターンでも配置される流れ領域 2 4 0 中に、多くのかかる保持用囲い 2 5 6 はあり得、保持用囲い 2 5 6 は、多くの異なる大きさおよび形状のうちのいずれでもよい。図 2 C に示されるとおり、保持用囲い 2 5 6 の開口は、チャンネル 2 5 2、2 5 3 に近接して配置され得、該チャンネル 2 5 2、2 5 3 は、1 つより多い囲い 2 5 6 の開口に近接したスペースであり得る。各保持用囲い 2 5 6 の開口は、チャンネル 2 5 2、2 5 3 に流れる液状媒体 2 4 4 の自然な交換を可能にし得るが、そうでなければ、各保持用囲い 2 5 6 は、いずれか 1 つの囲い 2 5 6 中の生体細胞などの微小物体（示されず）が、別の 1 つの囲い 2 5 6 中の微小物体と混合することを防止するために充分に閉鎖され得る。8 つの囲い 2 5 6 および 2 つのチャンネル 2 5 2、2 5 3 が示されているが、より多くてもより少なくてもよい。媒体 2 4 4 は、保持用囲い 2 5 6 中の開口を通り過ぎて、チャンネル 2 5 2、2 5 3 に流され得る。チャンネル 2 5 2、2 5 3 中の媒体の流れ 2 4 4 は、例えば、保持用囲い 2 5 6 中の生物学的な物体（示されず）に栄養物を提供し得る。別の例として、共通の流れスペース 2 5 2、2 5 3 中の媒体の流れ 2 5 2、2 5 3 は、保持用囲い 2 5 6 からの廃棄物の除去をも提供し得る。

10

【 0 0 6 4 】

図 2 C に示されるとおり、停留部 2 5 8 はまた、流れ領域 2 4 0 中の、例えばチャンネル 2 5 2、2 5 3 において配置され得る。停留部 2 5 8 の各々は、チャンネル 2 5 2、2 5 3 中の媒体 2 4 4 の流れに対して微小物体（示されず）を適所に保つように構成され得る。囲い 2 5 6 の停留部 2 5 8 および障壁 2 5 4 は、微少流体構造物 2 0 4 に関して上で検討された材料のいずれのタイプをも含み得る。停留部 2 5 8 および障壁 2 5 4 は、微少流体構造物 2 0 4 と同じかまたは異なる材料を含み得る。障壁 2 5 4 は、図 2 B に示されるとおり、基部 2 0 6 の表面 2 4 2 から流れ領域 2 4 0 の全体を超えて微少流体構造物 2 0 4 の上壁（表面 2 4 2 の反対）に延び得る。代わりに、1 以上の障壁 2 5 4 は、流れ領域 2 4 0 を超えて部分的にのみ延び得、したがって、全体的には表面 2 4 2 または微少流体構造物 2 0 4 の上壁へ延びない。示されないが、停留部 2 5 8 および / または障壁 2 5 4 は、それを通して媒体 2 4 4 が通り得る、1 以上の相対的に小さな開口などの追加の特長を含み得る。かかる開口（示されず）は、微小物体が通り過ぎることを防止するために、微小物体（示されず）よりも小さくてもよい。

20

30

【 0 0 6 5 】

セレクトア 2 2 2 は、媒体 2 4 4 中の微小物体（示されず）上に動電学的な力 (electrokinetic force) を選択的に生じさせるように構成され得る。例えば、セレクトア 2 2 2 は、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 での電極を選択的に起動させる（例えばオンにする）および起動停止させる（例えばオフにする）ように構成され得る。電極は、媒体 2 4 4 中の微小物体（示されず）を引き寄せるかまたは遠ざける力を媒体 2 4 4 中に生じさせ得、よってセレクトア 2 2 2 は、媒体 2 4 4 中の 1 以上の微小物体を選択し得、移動させ得る。電極は、例えば誘電泳動 (DEP) 電極であり得る。

【 0 0 6 6 】

例えば、セレクトア 2 2 2 は、1 以上の光（例としてレーザー）ピンセットデバイス、および / または、1 以上の光電ピンセット (OET) デバイス（例として U.S. 特許第 7,612,355 号（これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）または U.S. 特許出願第 14/051,004 号 (attorney docket no. BL9-US)（これもまた、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる））を開示されるとおり）を含み得る。さらに別の例として、セレクトア 2 2 2 は、微小物体の 1 以上が懸濁されている媒体 2 4 4 の液滴を移動させるための 1 以上のデバイス（示されず）を含み得る。かかるデバイス（示されず）は、光電ウェットティング (OEW) デバイス（例えば U.S. 特許第 6,958,132 号に開示されるとおり）などのエレクトロウェットティングデバイスまたは他のエレクトロウェットティングデバイスを含み得る。よってセレクトア 2 2 2 は、いくつかの態様において、DEP デバイスとして特徴づけられ得る。

40

50

## 【 0 0 6 7 】

図 3 A および 3 B は、セレクト 2 2 2 が O E T D E P デバイス 3 0 0 を含む例を説明する。示されるとおり、D E P デバイス 3 0 0 は、第 1 電極 3 0 4、第 2 電極 3 1 0、電極起動基板 3 0 8、電源 3 1 2（例として交流電流（A C）電源）および光源 3 2 0 を含み得る。流れ領域 2 4 0 中の媒体 2 4 4 および電極起動基板 3 0 8 は、電極 3 0 4、3 1 0 を分離し得る。光源 3 2 0 からの光のパターン 3 2 2 を変化させることは、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 の領域 3 1 4 での D E P 電極の変化するパターンを、選択的に起動および起動停止し得る。（以下、領域 3 1 4 は、「電極領域」ともいう。）

## 【 0 0 6 8 】

図 3 B に説明される例において、内表面 2 4 2 上へ向けられる光パターン 3 2 2 ' は、示される四角いパターン中の斜光平行の電極領域 3 1 4 a に光を当てる。他の電極領域 3 1 4 には光が当てられず、それを以下「暗」電極領域 3 1 4 というときもある。電極起動基板 3 0 8 を超えて各暗電極領域 3 1 4 から第 2 電極 3 1 0 への相対電気インピーダンスは、第 1 電極 3 0 4 から、流れ領域 2 4 0 中の媒体 2 4 4 を超えて、暗電極領域 3 1 4 への相対インピーダンスより大きい。しかしながら、電極領域 3 1 4 a に光を当てることは、電極起動基板 3 0 8 を超えて、光が当てられた電極領域 3 1 4 a から第 2 電極 3 1 0 への相対インピーダンスを、第 1 電極 3 0 4 から、流れ領域 2 4 0 中の媒体 2 4 4 を超えて、光が当てられる電極領域 3 1 4 a への相対インピーダンス未満まで、低減させる。

## 【 0 0 6 9 】

電源 3 1 2 が起動されると、前述のものは、光が当てられた電極領域 3 1 4 a と、近接した暗電極領域 3 1 4 との間の媒体 2 4 4 に、電場勾配を引き起こし、これが順に、媒体 2 4 4 中の近くの微小物体（示されず）を引き寄せるかまたは遠ざける局所的な D E P 力を生じさせる。よって、媒体 2 4 4 中の微小物体を引き寄せるかまたは遠ざける D E P 電極は、光源 3 2 0（例としてレーザー源、高輝度放電ランプまたは他のタイプの光源）から微少流体デバイス 3 0 0 の中へ投影される光パターン 3 2 2 を変化させることによって、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 での多くの異なるかかる電極領域 3 1 4 で、選択的に起動および起動停止され得る。D E P 力が近くの微小物体を引き寄せるかまたは遠ざけるかは、電源 3 1 2 の周波数ならびに媒体 2 4 4 および / または微小物体（示されず）の誘電特性といったパラメータに依存し得る。

## 【 0 0 7 0 】

図 3 B に説明される、光が当てられた電極領域 3 1 4 a の四角いパターン 3 2 2 ' は、例でしかない。電極領域 3 1 4 のいずれのパターンも、デバイス 3 0 0 の中へ投影される光のパターン 3 2 2 によって光が当てられ得、光が当てられた電極領域 3 2 2 ' のパターンは、光パターン 3 2 2 を変化させることによって繰り返し変化され得る。

## 【 0 0 7 1 】

いくつかの態様において、電極起動基板 3 0 8 は、光伝導材料であってもよく、内表面 2 4 2 は、特色のないものであってもよい。かかる態様において、D E P 電極 3 1 4 は、光パターン 3 2 2 に従い（図 3 A を参照）、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 上、どこでも、いずれのパターンにおいても、生じさせられ得る。よって、電極領域 3 1 4 の数およびパターンは、確定されるものではないが、光パターン 3 2 2 に対応する。例は、上記 U.S. 特許第 7,612,355 号中に説明される。ここで、前述した特許の図面中に示されている非ドーブの非晶質ケイ素材料 2 4 が、電極起動基板 3 0 8 を構成し得る光伝導材料の例であり得る。

## 【 0 0 7 2 】

他の態様において、電極起動基板 3 0 8 は、半導体分野などにおいて知られている半導体集積回路を形成する複数のドーブ層、電気絶縁層および導電層を含む半導体材料などの回路基板を含み得る。かかる態様において、電気回路要素は、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 での電極領域 3 1 4 と、光パターン 3 2 2 によって選択的に起動および起動停止され得る第 2 電極 3 1 0 との間の電氣的接続を形成し得る。起動されないとき、対応する電極領域 3 1 4 から第 2 電極 3 1 0 への相対インピーダンスが、第 1 電極 3 0 4 から媒体 2 4

10

20

30

40

50



4 を経て対応する電極領域 3 1 4 への相対インピーダンスより大きくなるように、各電氣的接続は高インピーダンスを有し得る。しかしながら、光パターン 3 2 2 中の光によって起動されるとき、対応する電極領域 3 1 4 から第 2 電極 3 1 0 への相対インピーダンスが、第 1 電極 3 0 4 から媒体 2 4 4 を経て対応する電極領域 3 1 4 への相対インピーダンスより小さくなるように、各電氣的接続は低インピーダンスを有し得、これは、上述のとおり、対応する電極領域 3 1 4 での D E P 電極を起動する。よって、媒体 2 4 4 中の微小物体（示されず）を引き寄せるかまたは遠ざける D E P 電極は、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 での多くの異なる電極領域 3 1 4 にて、光パターン 3 2 2 によって選択的に起動および起動停止され得る。電極起動基板 3 0 8 のかかる構成の非限定例は、U.S. 特許第 7,956,339 号の図 2 1 および 2 2 に説明される光トランジスタをベースとした O E T デバイス 3 0 0 ならびに上記 U.S. 特許出願 14/051,004 号中の図面にわたって説明される O E T デバイスを含む。

10

#### 【 0 0 7 3 】

いくつかの態様において、一般に図 3 A に説明されるとおり、第 1 電極 3 0 4 は、ハウジング 2 0 2 の第 1 壁 3 0 2（またはカバー）の一部であり得、電極起動基板 3 0 8 および第 2 電極 3 1 0 は、ハウジング 2 0 2 の第 2 壁 3 0 6（または基部）の一部であり得る。示されるとおり、流れ領域 2 4 0 は、第 1 壁 3 0 2 と第 2 壁 3 0 6 との間にあり得る。しかしながら、前述のものは、例に他ならない。他の態様において、第 1 電極 3 0 4 は、第 2 壁 3 0 6 の一部であり得、電極起動基板 3 0 8 および / または第 2 電極 3 1 0 の一方または両方は、第 1 壁 3 0 2 の一部であり得る。別の例として、第 1 電極 3 0 4 は、電極起動基板 3 0 8 および第 2 電極 3 1 0 と同じ壁 3 0 2 または 3 0 6 の一部であり得る。例えば、電極起動基板 3 0 8 は、第 1 電極 3 0 4 および / または第 2 電極 3 1 0 を含み得る。また、光源 3 2 0 は代わりに、ハウジング 2 0 2 の下に位置づけられる。

20

#### 【 0 0 7 4 】

よって、図 3 A および 3 B の D E P デバイス 3 0 0 として構成されると、流れ領域 2 4 0 の内表面 2 4 2 の電極領域 3 1 4 で 1 以上の D E P 電極を起動するため、光パターン 3 2 2 を、微小物体を囲み捕捉するパターンでデバイス 3 0 0 の中へ投影することによって、セクタ 2 2 2 は、流れ領域 2 4 0 中の媒体 2 4 4 中の微小物体（示されず）を選択し得る。その後、セクタ 2 2 2 は、デバイス 3 0 0 に対して相対的に光パターン 3 2 2 を移動させることによって、捕捉された微小物体を移動させ得る。代わりに、デバイス 3 0 0 は、光パターン 3 2 2 に対して相対的に、移動させられ得る。

30

#### 【 0 0 7 5 】

保持用囲い 2 5 6 を定義する障壁 2 5 4 が図 2 B および 2 C に説明され、物理的障壁として上述されているが、障壁 2 5 4 は代わりに、光パターン 3 2 2 によって起動される D E P 力を含む仮想の障壁であり得る。同様に、停留部 2 5 8 は、光パターン 3 2 2 によって起動される D E P 力を含む物理的障壁および / または仮想の障壁を含み得る。

#### 【 0 0 7 6 】

図 2 A ~ 2 C を再び参照して、ディテクタ 2 2 4 は、流れ領域 2 4 0 中の事象を検知するためのメカニズムであり得る。例えば、ディテクタ 2 2 4 は、媒体中の微小物体（示されず）の 1 以上の放射特徴（例として、蛍光または冷光による）を検知することが可能である光ディテクタを含み得る。例えば、かかるディテクタ 2 2 4 は、媒体 2 4 4 中の 1 以上の微小物体（示されず）が電磁放射線および / または近似する波長、輝度、明度または同種のものの放射線を放射していることを検知するように構成され得る。好適な光ディテクタの例は、限定されることなく、光電子増倍管ディテクタおよびアバランチ光ディテクタを含む。

40

#### 【 0 0 7 7 】

ディテクタ 2 2 4 は、代わりに、または加えて、媒体 2 4 4 中の微小物体（示されず）を含む流れ領域 2 4 0 のデジタル画像を捕捉するためのイメージングデバイスを含み得る。ディテクタ 2 2 4 が含み得る好適なイメージングデバイスの例は、デジタルカメラ、または、電荷結合素子および相補型金属酸化膜半導体撮像装置などの光センサを含む。画像

50

は、（例として制御モジュール 230 および / またはヒトのオペレータによって）かかるデバイスにより捕捉され得、分析され得る。

【0078】

流れコントローラ 226 は、流れ領域 240 中の媒体 244 の流れを制御するように構成され得る。例えば、流れコントローラ 226 は、流れの方向および / または速さを制御し得る。流れコントローラ 226 の非限定例は、1 以上のポンプまたは流体アクチュエータ (actuator) を含む。いくつかの態様において、流れコントローラ 226 は、例えば流れ領域 240 中の媒体 244 の流れの速さを感知するための 1 以上のセンサ（示されず）などの追加の要素を含み得る。

【0079】

制御モジュール 230 は、セレクトア 222、ディテクタ 224 および / または流れコントローラ 226 からの信号を受け入れ、ならびにそれらを制御するように構成され得る。示されるとおり、制御モジュール 230 は、コントローラ 232 およびメモリ 234 を含み得る。いくつかの態様において、コントローラ 232 は、デジタル電子的な、光学的なまたは磁気的なメモリデバイスであり得るメモリ 234 に非一過性の信号として保存された機械読取り可能な命令（例としてソフトウェア、ファームウェア、マイクロコードまたは同種のもの）に従って動作するように構成されたデジタル電子コントローラ（例としてマイクロプロセッサ、マイクロコントローラ、コンピュータまたは同種のもの）であり得る。代わりに、コントローラ 232 は、実配線のデジタル回路網および / またはアナログ回路網あるいは機械読取り可能な命令に従って動作するデジタル電子コントローラと、実配線のデジタル回路網および / またはアナログ回路網との組み合わせを含み得る。

【0080】

検討されるとおり、微少流体デバイス 200 は、処理 100 を実施するために使用され得るデバイスの例である。例えば、ステップ 102 で、（例として図 3A および 2B に示されるとおり構成される）セレクトア 222 は、流れ領域 240 中の媒体 244 中の捕捉物体（示されず）を選択し得、保持用囲い 256 の中へ選択された捕捉物体を移動させ得る。ステップ 104 で、栄養物は、チャネル 252、253 中の媒体 244 の流れ中の囲い 256 中の生物学的な微小物体（示されず）に提供され得る。ステップ 106 で、セレクトア 222 は、囲い 256 から捕捉物体（示されず）を選択および除去し得、ステップ 108 で、ディテクタ 224 およびコントローラ 232 は、そこから捕捉物体が取られた囲い 256 と、除去される各捕捉物体（示されず）とを互いに関係づけ得る。例えば、ディテクタ 224 は、捕捉物体（示されず）および囲い 256 の画像を捕捉し得、コントローラ 232 は、相互関係をメモリ 234 にデジタルデータとして保存し得る。ステップ 110 で、生体材料は、微少流体デバイス 200 中で評価され得る除去される各捕捉物体（示されず）に結合される。例えば、ディテクタ 224 は、除去される捕捉物体に結合される生体材料を評価するために、画像を捕捉し得、または、除去される捕捉物体（示されず）の特徴を検知し得る。

【0081】

図 4 は、微少流体デバイスの保持用囲い中の生体アクティビティをアッセイするための処理 400 の別の例を説明する。処理 400 は、より一般の処理 100 のより狭い例であり得、保持用囲い中の生体アクティビティは、図 4 の処理 400 において、細胞のクローンコロニーによる目的の生体材料の生産である。説明および検討がし易いように、処理 400 は、図 2A ~ 2C の微少流体デバイス 200 に関して以下で検討され、それにおいてセレクトア 222 は、図 3A および 3B に説明されるとおりに構成され得る。しかしながら、処理 400 はそのように限定されず、したがって、他の微少流体デバイス上で実施され得る。

【0082】

図 4 に示されるとおり、処理 400 は、ステップ 402 で、微少流体デバイス 200 の保持用囲い 256 中にクローン細胞のコロニーの生産物を培養し得る。図 5A（図 6、7A、8 ~ 11B および 12 ~ 14 のように、図 2A ~ 2C の微少流体デバイス 200 の流

10

20

30

40

50

れ領域 240 の一部の水平断面図を示す) および図 5 B は、例を説明する。

【0083】

図 5 A および 5 B に示されるとおり、生体細胞 502 は、囲い 256 の少なくともいくつかの開口に近接したチャネル 252 中に流れる液状媒体 244 によって、1 以上の保持用囲い 256 中に培養され得る。流れ 506 中の栄養物は、保持用囲い 256 中の生体アクティビティを培養し得る。流れ 506 はまた、囲い 256 からの廃棄物の除去を提供し得る。類似の流れは、デバイス 200 の他の囲い 256 の開口に近接した他のチャネル(例として図 2 C に示される 253)中に提供され得る。

【0084】

図 5 B は、単離領域 508 および接続領域 510 を有する囲いを示す。知られているとおり、囲い 256 の近位開口を通る微少流体チャネル 252 中の流動性媒体 244 の流れ 506 は、囲いの中へおよび/またはその外への媒体 244 の第 2 の流れを引き起こし得る。第 2 の流れから囲い 256 の単離領域 508 中の微小物体 502 を単離するために、遠位開口への近位開口からの隔離囲い 256 の接続領域 510 の長さは、チャネル 252 中の流れ 506 の速さが最大( $V_{max}$ )であるとき、接続領域 510 の中への第 2 の流れの最大浸透深さ  $D_p$  よりも大きくてもよい。よって、チャネル 252 中の流れ 506 が最大の速さ  $V_{max}$  を超えない限り、流れ 506 および結果として生じる第 2 の流れは、チャネル 252 および接続領域 510 に限定され得、単離領域 508 の外にあり続け得る。よって、チャネル 252 中の流れ 506 は、単離領域 508 の外に生物学的な微小物体 502 (またはいずれの他の微小物体)を引き出さないだろう。よって、単離領域 508 中の生物学的な微小物体 502 は、チャネル 252 中の流れ 506 とは関係なく、単離領域 508 中にとどまるだろう。

【0085】

ステップ 402 で培養することは、細胞の繁殖または各囲い 256 中の細胞 502 が各囲い 256 中の細胞 502 のコロニー 500 を生産することを容易にし得る。各囲い 256 は、いずれの 1 つの囲い 256 中の細胞 502 も、いずれの別の囲い 256 中の細胞 502 と混合することを十分に防止するために、他の囲い 256 のすべてにおける細胞 502 からその細胞 502 を単離し得る。また、各保持用囲い 256 中に生産されるコロニー 500 は、囲い 256 中の単一の細胞 502 を備えて始まり得る。よって、各囲い 256 中の細胞 502 のコロニー 500 は、クローンであり得る。

【0086】

ステップ 402 で培養することはまた、アッセイされることになる特定の目的の材料 504 の生産を容易にし得る。目的の材料 504 の非限定例は、タンパク質、核酸、炭水化物、脂質、ホルモン、代謝物質またはそのあらゆる組み合わせを含む。目的のタンパク質は、例えば、治療用タンパク質、抗体、成長因子、サイトカイン、がん抗原、ウイルスもしくは他の病原体に関連した感染性抗原、分泌タンパク質または生体細胞によって生産され、および/または、放出される他のあらゆるタンパク質などのタンパク質を含んでもよい。よって、例えば、細胞 502 は、細胞を生産するタンパク質(例として抗体)であり得、目的の材料 504 は、特定のタンパク質(例として特定の抗体)であり得る。例えば、目的の材料は、免疫グロブリン G(IgG)アイソタイプの抗体であり得る。目的の材料 504 以外の生体材料を含む材料は、囲い中にあり得る。例えば、細胞 502 は、目的の材料 504 に加えて、他の材料を生産し得る。

【0087】

いくつかの態様において、ステップ 402 で培養することは、多数のタイプの培養することを伴い得る。例えば、媒体 244 の第 1 のタイプの第 1 の流れ 506 は、各囲い 256 中の細胞 502 の成長および分裂を培養し得る。その後、媒体 244 の第 2 のタイプの第 2 の流れは、各囲い 256 中の細胞 502 によって目的の材料 504 の生産を培養し得る。

【0088】

処理 400 は、図 4 のステップ 404 で、保持用囲い 256 の中へ捕捉物体 602 を移

10

20

30

40

50

動させ得る（図6を参照）。捕捉物体602は、例えば、微小粒子、マイクロビーズ（例としてポリスチレンビーズ、Luminex（商標）ビーズまたは同種のもの）、磁性ビーズ、マイクロロッド、マイクロワイヤ、量子ドットまたは同種のものなどの無生物の微小物体であり得る。いくつかの場合において、捕捉物体602は、無生物の微小物体および生物学的な微小物体（例としてリボソームで被覆されたマイクロビーズ、リボソームで被覆された磁性ビーズ、細胞に付着されているマイクロビーズまたは同種のもの）の組み合わせであり得る。さらに他の場合において、捕捉物体602は、細胞、リボソーム、脂質ナノラフトまたは同種のものなどの生物学的な微小物体であり得る。また、各捕捉物体602は、特定の目的の生体材料に特異的に結合する特定の結合物質を含み得る。捕捉物体602は、例として、少なくとも約1mMまたはより強い（例として約100μM、10μM、1μM、500nM、400nM、300nM、200nM、100nM、75nM、50nM、25nM、15nM、10nM、5nM、2.5nM、1nMまたはより強い）、特定の目的の生体材料のための親和性（例としてKd）を有する特定の結合物質を含み得る。かかる親和性は、特定の目的の生体材料（または保持用囲いおよび/または微少流体デバイス中に存在する、少なくともいずれの他の目的の生体材料）以外の他のいずれの材料のための親和性よりも、例えば2倍、3倍、4倍、5倍、10倍またはそれ以上の倍数で、より強くあり得る。例えば、目的の材料504が特定の抗体である場合、捕捉物体602は、保持用囲い256および/または微少流体デバイス中のいずれの他の材料のためよりも、その特定の抗体のためにより大きな親和性を有する結合物質（例として抗原またはそのエピトープ）を含み得る。言及したとおり、目的の材料504は、IgG抗体であり得、その場合において捕捉物体602の結合物質は、IgG抗体を結合するためのIgG Fcレセプタを伴う材料を含み得る。図6～8は、ステップ404の例を説明する。

#### 【0089】

図6に示されるとおり、捕捉物体602は、囲い256への開口に近接したチャンネル252中に配置され得る。図7A～7Bおよび8に示されるとおり、個別の捕捉物体602は、特定の囲い256の中へ移動させられ得る。

#### 【0090】

捕捉物体602は、入口208を通じて微少流体デバイス200の中へ導入され得（図2A～2Cを参照）、図6に示されるとおり、流れ506とともにチャンネル252へ移動させられ得る。図7Aは、光トラップ702を発生させる例を説明し、それにおいて、図3Aおよび3BのDEPデバイス300のように構成されたセクタ222（図2A～2Cを参照）は、個別の捕捉物体602を捕らえ得る。その後DEPデバイス300は、囲い256の1つの中へ光トラップ702を移動させ得、それは、捕らえられた捕捉物体602を囲い256の中へ移動させる。光トラップ702は、図3Aおよび3Bに関して上述のとおり、微少流体デバイス300の流れ領域240の内表面242上へ投影される光のパターン322を変化させることの一部であり得る。捕捉物体602が囲い256中にある場合、捕捉物体602に対応する光トラップ602は、図8に説明されるとおりオフにされ得る。ディテクタ224は、流れ領域240の全部または一部の画像を捕捉し得、それらの画像は、特定の囲い256の中へ個別の捕捉物体602を捕らえ、移動させることを容易にし得る。よって、特定の数（例として1以上）の捕捉物体602は、同定され、選択され、および、各囲い256の中へ移動させられ得る。

#### 【0091】

図7Aに示されるとおり、媒体244の流れ506は、流れ506がチャンネル252の中へ捕捉物体602をもたらず後に、停留され得る。流れ506を停留させることは、個別の捕捉物体602を同定し、選択することを容易にし得る。図8に示されるとおり、捕捉物体602が囲い256中にある場合、流れ506は、再開され得る。代わりに、流れ506を停留させるよりもむしろ、流れ506は、ディテクタ224がチャンネル252中の個別の捕捉物体602を検知し、セクタ222がそれを捕らえ、移動させるのに十分に遅い速さまで、単に遅くされ得る。さらに別の代わりとして、流れ506は、ディテク

タ 2 2 4 が個別の捕捉物体 6 0 2 を検知し、セレクト 2 2 2 がそれを捕らえ、移動させるのに十分に遅い、一般に安定した比率で始められ、維持され得る。かかる場合において、流れ 5 0 6 は、図 6、7 A および 8 の各々において一般に一定の速さで維持され得る。

【 0 0 9 2 】

図 7 A は、トラップ 7 0 2 ごとに 1 つの捕捉物体 6 0 2 を捕らえることを説明するが、トラップ 7 0 2 は、1 つより多い捕捉物体 6 0 2 を捕捉し得る。同様に、図 8 は、各囲い 2 5 6 中の 1 つの捕捉物体 6 0 2 を示すが、1 つより多い捕捉物体 6 0 2 が、囲い 2 5 6 の中へ移動させられ得る。それとは関係なく、特定の、知られている数の捕捉物体 6 0 2 (例として 1 以上) は、各囲い 2 5 6 の中へ移動させられ得る。一般的に言えば、処理 1 0 0 および 4 0 0 中のステップの順序は重大ではなく、よって、例えば、ステップ 4 0 4 および 4 0 2 の順序は、逆にされ得る。例えば、捕捉物体 6 0 2 は、第 1 の細胞 5 0 2 が囲い 2 5 6 中に置かれる前でさえ、保持用囲い 2 5 6 中に置かれ得る。かかる場合において、処理は、保持用囲い 2 5 6 の中へ生体アクティビティ (例として生体細胞 5 0 2) を移動させるためのステップを含み得る。

【 0 0 9 3 】

図 7 B は、捕捉物体 6 0 2 を能動的に選択し、保持用囲い 2 5 6 の中へ移動させることの代わりとして、保持用囲い 2 5 6 の中へ捕捉物体 6 0 2 を積み入れることに対するより受動的なアプローチを説明する。図 7 B の微少流体デバイスは、保持用囲い 2 5 6 のちょうど外側のチャンネル 2 5 2 中に位置づけられるデフレクタ 7 5 4 があることを除き、図 7 A に示される微少流体デバイスに類似する。ごく一部の捕捉物体 6 0 2 は、捕捉物体 6 0 2 が微少流体デバイスの中へ、および、チャンネル 2 5 2 を通じて流されるとき、チャンネル 2 5 2 の周辺へ運ばれるだろう。チャンネル 2 5 2 の周辺で流れ 5 0 6 によって運ばれる捕捉物体 6 0 2 は、デフレクタ 7 5 4 によって捕まえられ得、保持用囲い 2 5 6 の中へそらされ得る。デフレクタの使用は、特定の捕捉物体 6 0 2 を選択し、特定の保持用囲い 2 5 6 の中へ移動させるために光トラップを使用するアプローチとは異なり、図 7 B に示されるとおり、正確にどの捕捉物体 6 0 2 が、または、いくつかの捕捉物体 6 0 2 が各保持用囲い 2 5 6 の中へ移動させられるかの綿密な制御を可能にしない。しかしながら、デフレクタ 7 5 4 の使用は、同時に多数の保持用囲いの積み入れを容易にし得る。

【 0 0 9 4 】

図 7 B に示されるデフレクタ 7 5 4 は、障壁 2 5 4 または本明細書中に検討されるいずれの他の好適な材料と同じ材料で作られ得る。加えて、デフレクタ 7 5 4 は、障壁 2 5 4 (示されるとおり) から分離し得、または、付着され得る。デフレクタ 7 5 4 は、チャンネル 2 5 2 の高さいっぱい延び得、または、それは、チャンネルを通じて上に部分的にのみ延び得、それによって、保持用囲い 2 5 6 の中へそらされる捕捉物体 6 0 2 (または細胞などの生物学的な微小物体) の数を潜在的に低減させる。また、デフレクタ 7 5 4 は、チャンネル 2 5 2 の表面 2 4 2 上に焦点を合わせた光によって生じる仮想の障壁であり得る。かかる光は、電極 (例として DEP 電極) を起動させ得、それによって、上述のとおり光トラップのやり方において捕捉物体 6 0 2 (または細胞 5 0 2) への障壁を作り出す。かかる仮想のデフレクタは、捕捉物体 6 0 2 のしきい数が保持用囲い 2 5 6 の中へそらされた場合にオフにされ得るため、有利であり得る。例えば、ヒトのユーザまたはコントローラ 2 3 2 は、いずれの特定の保持用囲い 2 5 6 の中へそらされる捕捉物体 6 0 2 の数をも監視し得、その後、捕捉物体 6 0 2 のしきい数に達すると、電極を活性化している (および、それによってデフレクタを発生させている) 光をオフにし得る。

【 0 0 9 5 】

チャンネル 2 5 2 中の媒体 2 4 4 の流れ 5 0 6 の高い比率は、捕捉物体 6 0 2 を能動的に選択し、保持用囲い 2 5 6 の中へ移動させることのさらに別の代わりとして、保持用囲い 2 5 6 に入る第 2 の流れの浸透深さ  $D_p$  を増加させるために使用され得る。よって、捕捉物体 6 0 2 は、チャンネル 2 5 2 中の媒体 2 4 4 の流れ 5 0 6 の比率を増加させることによって、保持用囲い 2 5 6 の中へ押し込まれ得る。いくつかの態様において、微少流体デバイスは、約 3, 0 0 0 から 6, 0 0 0 平方ミクロンまたは約 2, 5 0 0 から 4, 0 0 0 平

10

20

30

40

50

方ミクロンの断面エリアを有するチャネル 2 5 2 を有する。かかる微少流体デバイス中の保持用囲い 2 5 6 の中へ捕捉物体 6 0 2 を積み入れるために好適な媒体 2 4 4 の流れ 5 0 6 の比率は、例として約 0 . 0 5 ~ 5 . 0  $\mu$  E / 秒 (例として約 0 . 1 ~ 2 . 0、0 . 2 ~ 1 . 5、0 . 5 ~ 1 . 0  $\mu$  E / 秒または約 1 . 0 ~ 2 . 0  $\mu$  E / 秒) であり得る。

【 0 0 9 6 】

図 4 のステップ 4 0 6 で囲い 2 5 6 中の細胞 5 0 2 を培養することは、その間に細胞 5 0 2 が目的の材料 5 0 4 を繁殖させ、および / または、生産するために継続し得る期間、継続し得る。図 9 に説明されるとおり、特定の囲い 2 5 6 中の捕捉物体 6 0 2 は、その囲い 2 5 6 中の細胞 5 0 2 によって生産される目的の材料 5 0 4 を結合し得る。よって図 9 は、囲い 2 5 6 中の捕捉物体 6 0 2 に結合される目的の材料 5 0 4 を示す。

10

【 0 0 9 7 】

いくつかの態様において、図 4 のアッセイ処理 4 0 0 の目的は、最小のしきい率で目的の材料 5 0 4 を生産する、囲い 2 5 6 中の細胞コロニー 5 0 0 を同定するためであり得る。かかる態様において、いずれの 1 つの囲い 2 5 6 中の 1 以上の捕捉物体 6 0 2 も結合し得る目的の材料 5 0 4 の量、および、ステップ 4 0 6 の期間は、最小のしきい率以上で目的の材料 5 0 4 を生産するコロニー 5 0 0 が、囲い 2 5 6 中の捕捉物体 (単数または複数) 6 0 2 を浸すのに十分な目的の材料 5 0 4 などを生産する量および期間であり得る。

【 0 0 9 8 】

他の態様において、アッセイ処理 4 0 0 の目的は、各囲い 2 5 6 中で生産される目的の材料 5 0 4 の数量を決定するためであり得る。かかる態様において、囲い 2 5 6 中の 1 以上の捕捉物体 6 0 2 が結合し得る目的の材料 5 0 4 の量、および、ステップ 4 0 6 の期間は、可能な限り最も高い比率で目的の材料 5 0 4 を生産するコロニー 5 0 0 でさえ、囲い 2 5 6 中の捕捉物体 (単数または複数) 6 0 2 など浸さない量および期間であり得る。

20

【 0 0 9 9 】

処理 4 0 0 は、図 5 ~ 1 4 中のページの右の保持用囲い 2 5 6 中に説明されるとおり、保持用囲い 2 5 6 中の単一の生物学的物体 5 0 2 (例として単一の生体細胞) をアッセイし得る。保持用囲い 2 5 6 中の単一の生物学的物体 5 0 2 をアッセイする能力は、例えば、生体細胞のアッセイのための既知の技術が、例えば単一の細胞によって生産される材料をアッセイするのに十分な感度がないと信じられているため意義深い。

【 0 1 0 0 】

30

処理 4 0 0 は、図 4 に説明されるとおり、上述のステップ 4 0 6 の期間の後に、ステップ 4 0 8 で、特定の囲い 2 5 6 から個別の捕捉物体 6 0 2 を選択し得、囲い 2 5 6 から選択された捕捉物体 6 0 2 を除去し得る。いくつかの態様において、除去される捕捉物体 6 0 2 は、チャネル 2 5 2 の中へ移動させられ得る。図 1 0 および 1 1 A は、ステップ 4 0 8 の例を示す。

【 0 1 0 1 】

図 1 0 に示されるとおり、個別の捕捉物体 6 0 2 は、上述のとおり光トラップ 7 0 2 のようにあり得る光トラップ 1 0 0 2 を備えて、特定の囲い 2 5 6 中に選択され得る。図 1 1 A に示されるとおり、捕らえられた捕捉物体 6 0 2 は、囲い 2 5 6 から除去され得、囲い 2 5 6 の開口に近接したチャネル 2 5 2 中に置かれ得る。例えば、光トラップ 1 0 0 2 は、囲い 2 5 6 からチャネル 2 5 2 の中へ移動させられ得る。また図 1 1 A に示されるとおり、捕捉物体 6 0 2 は、検討されるとおり、流れ領域 2 4 0 中の媒体 2 4 4 の流れ 5 0 6 に対して適所に捕捉物体 6 0 2 を保ち得るチャネル 2 5 2 中の、停留部 2 5 8 へ移動させられ得る。除去された捕捉物体 6 0 2 が停留部 2 5 8 へ移動させられる場合、光トラップ 1 0 0 2 は、オフにされ得る。代わりに、光トラップ 1 0 0 2 は、例えば媒体 2 4 4 の流れ 5 0 6 に対して適所に、除去された捕捉物体 6 0 2 を保ち続けられ得る。かかる場合において、停留部 2 5 8 は、デバイス 2 0 0 の流れ領域 2 4 0 中に含まれる必要はない。それとは関係なく、流れ 5 0 6 は、ステップ 4 0 8 の間、遅くされ得、または停留させられ得る。さらに別の代わりとして、捕捉物体 6 0 2 は、チャネル 2 5 2 の中へ移動させられた場合、後続の分析のためのデバイスから搬出され得る。捕捉物体を搬出するための好

40

50

適な方法は、例えば、2014年10月22日に出願されたU.S.特許出願第14/520,150号中に開示されており、参照によりその全体の内容が本明細書に組み込まれる。捕捉物体602は、同じ保持用囲い256から捕捉物体の群を備えて、または、複数の保持用囲い256からの捕捉物体602を含む群を備えて、個別に搬出され得る。後者の場合において、捕捉物体602は、それらの識別およびそこから除去される保持用囲い256との関連を容易にする識別子(identifier)を有し得る。例えば、Luminex(商標)ビーズは、捕捉物体602として使用され得、それによって、特定の保持用囲い256からの捕捉物体602を、他の保持用囲い256からの捕捉物体から区別することが可能となる。

#### 【0102】

図11Bに示されるとおり、チャンネル252中の停留部258へ捕捉物体602を移動させることの代わりは、アッセイ領域1156へ捕捉物体602を移動させることを伴う。アッセイ領域1156は、保持用囲い256に近接し得、それによって、捕捉物体602を移動させるために必要とされる時間を低減させ、捕捉物体602と、そこから除去される保持用囲い256との間の相互関係の維持を容易にする。アッセイ領域は、障壁254または本明細書において検討されるいずれの他の好適な材料とも同じ材料で作られ得る障壁1154によって、定義され得る。アッセイ領域1156は、保持用囲い256と同じ大きさおよび形状を有するものとして示されるが、より小さくてもよく、および/または、異なる形状を有してもよい。例えば、アッセイ領域1156は、より小さくてもよく、および、単離領域を含んでも含まなくてもよい。よって、例えば、アッセイ領域1156は、単離領域を実質的に欠き得る(例としてアッセイ領域の体積の50%未満が、チャンネル252中の媒体244の流れ506の第2の流れから単離され得る)。ある態様において、単離領域の実質的な欠如は、捕捉物体602からアッセイ材料を洗い流すことを容易にし得る(さらに以下で検討される)。

#### 【0103】

保持用囲い256の外に捕捉物体602を移動させるために光トラップ1002を使用することの代わりとして、磁性捕捉物体602は、磁石などの磁力を使用して囲い256の外に強いられ得る。図11Cに示されるとおり、微少流体デバイス1100は、開口から保持用囲い256へチャンネル252を超えて位置づけられるアッセイ領域1156を含み得る。磁性捕捉物体602を保持用囲い256の外に、および、アッセイ領域1156の中へ移動させるために、磁力は、磁性捕捉物体602がアッセイ領域1156の中へ引かれるか、または押されるように、微少流体デバイスへ適用され得る。かかるステップの間、チャンネル252中の媒体244の流れ506は、遅くされ得、または、停留され得る。

#### 【0104】

図10および11A~11C中に、1つの捕捉物体602が各囲い256から除去されながら示されるが、上で検討されたとおり、1つより多い捕捉物体602が、ステップ404で囲い256へ置かれ得、かかる場合において、1つより多い捕捉物体602は、それに応じてステップ408で囲い256から除去され得る。

#### 【0105】

図4に再び戻ると、ステップ410で、処理400は、ステップ408で囲い256から除去される各捕捉物体602と、そこから捕捉物体602が除去される囲い256との間の相互関係を維持し得る。例えば、コントローラ232は、ディテクタ224によって提供される画像から捕捉物体602および囲い256の位置を同定し得、その跡を付け得、および、コントローラ232は、チャンネル252中の個別の除去された捕捉物体602と、そこから各捕捉物体602が取られた囲い256との間の相互関係をメモリ234中に保存し得る。表1は、メモリ234中に保存され得るデジタル表の例であり、捕捉物体602と、そこから捕捉物体602が除去された囲い256とのチャンネル252中の位置を互いに関係づける。表1の例において、停留部Aとして同定される停留部258での捕捉物体602は、3の番号を付けられた囲い256から取られた。同様に、停留部258Bでの捕捉物体602は、1の番号を付けられた囲い256から取られ、および、停留部

258Cでの捕捉物体602は、2の番号を付けられた囲い256から取られた。対応する表は、アッセイ領域1156中の捕捉物体602、および、そこから捕捉物体602が除去された保持用囲い256の位置に関するデータを保存するために使用され得る。同様に、分析のために微少流体デバイスから搬出される捕捉物体602のための表は、特定の捕捉物体602、および、そこから捕捉物体602が除去された保持用囲い256と関連した、識別子に関するデータを保存するために使用され得る。

【表1】

表 1	
捕捉対象位置	囲い
停留部 A	囲い 3
停留部 B	囲い 1
停留部 C	囲い 2

10

【0106】

図4のステップ412で、処理400は、チャンネル252中の除去された捕捉物体602に結合される目的の材料504を評価し得る。例えば、処理400は、ステップ412で、細胞のコロニー500または囲い256中の単一の細胞502によって生産される目的の材料504の数量および/または質を決定することによって、目的の材料504を評価し得る。別の例として、処理400は、ステップ412で、細胞502のコロニー500または囲い256中の単一の細胞502によって生産される材料504のタイプを評価し得る。さらに別の例として、処理400は、ステップ412で、細胞502のコロニー500または囲い256中の単一の細胞502によって生産される材料504の活性を評価し得る。ステップ408で、捕捉物体602に結合される目的の材料504が、そこから捕捉物体602が除去された囲い256中の生体アクティビティによって生産されたため、ステップ412で、除去された捕捉物体602に結合される目的の材料504の評価は、それから囲い256中の生体アクティビティが評価され得る情報を提供し得る。図12~14は、ステップ412の例を説明する。

20

【0107】

図12に示されるとおり、ステップ412で、アッセイ材料1202は、チャンネル252を通じて流され得る。アッセイ材料1202は、除去された捕捉物体602上の目的の材料504に結合すること、および、別個の、検知可能なふるまいを提示することの両方をし得る。例えば、アッセイ材料1202は、目的の生体材料504に特異的に（例として、捕捉物体602によって結合される位置と異なる目的の材料504上の位置で）結合する結合物質を含むラベルを収容し得る。目的の生体材料504が抗体である場合において、ラベルは、Fcレセプタを含み得、捕捉物体602は、抗体によって結合される抗原を含み得、その逆もまた同様である。図12~14に示される例において、アッセイ材料1202は、図14に示されるとおり、捕捉物体上で目的の材料504に結合し、エネルギー1402を放射するラベルを含み得る。よって、例えば、アッセイ材料1202は、目的の生体材料504に特異的に結合し、発色団に連結する結合物質を含み得る。他の態様において、アッセイ材料1202は、例として、目的の生体材料504に特異的に結合する、ルシフェラーゼが連結した(luciferase-linked)結合物質を含み得る。後者の場合において、アッセイ材料1202は、加えて、適切なルシフェラーゼ基板（例としてルシフェリン基板）を含み得る。よって、アッセイ材料1202は、蛍光または冷光を発し得る。それとは関係なく、アッセイ材料1202は、アッセイ材料1202が実質的に、除去された捕捉物体602に結合される目的の材料504のすべてに結合するのに十分な数量において、および、それに十分な時間の間、除去された捕捉物体602に提供され得る。

30

40

【0108】

図13に示されるとおり、その後、除去された捕捉物体602の1つに結合されなかつ

50



たアッセイ材料 1 2 0 2 は、チャンネル 2 5 2 の外にフラッシュされ得る。例えば、アッセイ材料 1 2 0 2 の流れ 5 0 6 は、チャンネル 2 5 2 中の媒体の流れ 2 4 4（またはいずれの洗浄材）が続き得、それは、除去された捕捉物体 6 0 2 上の目的の材料 5 0 4 に結合しなかったアッセイ材料 1 2 0 2 のすべてを、実質的にチャンネル 2 5 2 の外に洗い出し得る。図 1 3 に示されるとおり、チャンネル 2 5 2 中の捕捉物体 6 0 2 は、いま、捕捉物体 6 0 2 に結合される目的の材料 5 0 4、および、目的の材料 5 0 4 に結合されるアッセイ材料 1 2 0 2 を含み得る。

#### 【 0 1 0 9 】

図 1 4 に示されるとおり、アッセイ材料 1 2 0 2 は、ディテクタ 2 2 4 によって検知され得るエネルギー 1 4 0 2 を放射し得る。いくつかの態様において、アッセイ材料 1 2 0 2 は、エネルギー 1 4 0 2 の放射線を誘発するために、（例として光もしくは他の放射線、または、（チャンネル 2 5 2 を通じて流され得る）化学的触媒もしくは基板を備えて）刺激されることを必要としてもよい。除去された捕捉物体 6 0 2 から放射されるエネルギー 1 4 0 2 のレベル、輝度、色（例として特異的な波長）または同種のものなどの検知可能な特徴は、除去された捕捉物体 6 0 2 に結合されるアッセイ材料 1 2 0 2 の量に対応し得、それは、除去された捕捉物体 6 0 2 に結合される生体材料の量に対応し得、これが順に、目的の材料 5 0 4 を生産するためにそこから捕捉物体 6 0 2 が除去された囲い 2 5 6 中の細胞コロニー 5 0 0 の性能に対応し得る。いくつかの態様において、アッセイ材料は、繰り返し刺激されてもよい。例えば、光刺激は、各刺激に続いて、結果として生じるいずれの放射線をも検知しながら周期的に与えられ得る。代わりに、化学的触媒または基板（例としてルシフェリン）は、チャンネル 2 5 2 の中へ流され得、その際、検知可能な放射線が検知され得る。チャンネル 2 5 2 は、適切な期間の後、化学的触媒を取り除き得、処理はその後、繰り返しされ得る。

#### 【 0 1 1 0 】

ステップ 4 1 2 は、ステップ 4 0 8 で囲い 2 5 6 から除去される各個別の捕捉物体 6 0 2 から放射する、エネルギー 1 4 0 2 のレベルを検知することを含み得る。例えば、ディテクタ 2 2 4 は、チャンネル 2 5 2 中に除去された各捕捉物体 6 0 2 からのエネルギー 1 4 0 2 のレベルを検知し得る。ステップ 4 1 0 に関して言及したとおり、除去された各捕捉物体 6 0 2 と、そこから捕捉物体 6 0 2 が取られた囲い 2 5 6 との間の相互関係は、例えば、上の表 1 などのデジタル表において維持され得る。ステップ 4 1 2 の部分として検知される、除去された各捕捉物体 6 0 2 から放射されるエネルギー 1 4 0 2 のレベルは、かかる表中に保存され得、それは、下の表 2 に示されるとおり、検知されるエネルギーレベルのための列を含み得る。

#### 【表 2】

表 2		
捕捉対象位置	囲い	エネルギーレベル
停留部 A	囲い 3	レベル ZZ
停留部 B	囲い 1	レベル XX
停留部 C	囲い 2	レベル YY

#### 【 0 1 1 1 】

図 4 のステップ 4 1 4 で、処理 4 0 0 は、所望の細胞コロニー 5 0 0 を備える保持用囲い 2 5 6 を同定し得、および、少なくともデフォルト設定によって、それはまた所望でない細胞コロニー 5 0 0 を備える保持用囲い 2 5 6 をも同定し得る。例えば、ステップ 4 1 4 で、処理 4 0 0 は、どの除去された捕捉物体 6 0 2 がしきいレベルよりも上（または下）のエネルギーを放射したかを決定し得、および、それらの除去された捕捉物体 6 0 2 の、互いに関係づけられた保持用囲い 2 5 6 は、所望の細胞コロニー 5 0 0 を有するものとして同定され得る。しきいレベル未満で 1 4 0 2 を放射する、除去された捕捉物体 6 0 2 に互いに関係する保持用囲い 2 5 6 は、所望でない細胞コロニー 5 0 0 を収容するものと

して同定され得る。

【0112】

ステップ414で、所望のおよび所望でない細胞コロニー500を備えて単に保持用囲い256を同定するよりもむしろ、処理400は、他の態様において、除去された捕捉物体602に対応する各保持用囲い256中の細胞コロニー500を定量的に見積り得る。例えば、処理400は、除去された各捕捉物体602によって放射されるエネルギー1402を検知および定量化し得、それによって、目的の材料504を生産するために、そこから除去される捕捉物体602が取られた保持用囲い256の各々中の、細胞コロニー500の性能を見積もり得る。

【0113】

いくつかの態様において、ディテクタ224は、画像を捕捉し得、その画像から、ヒトのオペレータまたはコントローラ232は、そこから除去される捕捉物体602の1つが取られた保持用囲い256の各々中の細胞502の数を数えるかまたは近似し得る。かかる態様において、処理400は、細胞502ごとの比率として、目的の材料504を生産するための特定の保持用囲い256中の細胞502のコロニー500の性能を決定するために、ステップ412の部分として検知される放射されたエネルギー1402のレベル（または色、輝度または同種のものなどの他の特徴）および保持用囲い256中の細胞の数を利用し得る。その後、処理400は、ステップ414で所望の細胞コロニー500を備える保持用囲い256を同定するために、前述のものを利用し得る。

【0114】

それとは関係なく、ステップ414の後、所望の細胞コロニー500は、それらの夫々の保持用囲い256からデバイス200中の他の位置へ、または、さらなる処理、分析、試験または使用のための他のデバイス（示されず）へ除去され得る。例えば、所望の細胞コロニー500は、2014年10月22日に出願されたU.S.特許出願第14/520,150号に示されるとおり、選択され得、および、移動させられ得、それは、本出願と同じ譲受人に譲渡される。

【0115】

図4は例であり、処理400の多くの変動が考慮される。例えば、処理400は、ステップ412で、捕捉物体602が保持用囲い256中にある間、生体アクティビティを評価し得る。よって、処理400は、いくらかの変動において、ステップ408、410を含む必要がなく、または、ステップ408、410は、スキップされ得る。別の例として、ステップ402～414のすべては、図4に示される順序において実施される必要がない。

【0116】

図15は、微少流体デバイスの保持用囲い中の生体アクティビティのアッセイのための処理1500のさらに別の例を説明する。処理1500は、より一般の処理100のより狭い例であり得、それにおいて、図15の処理1500中の生体アクティビティは、特徴の第1数nについて試験され、その後特徴の第2数mについて試験され、ここでnおよびm（それらは同じ数かまたは異なる数であり得る）は、各々1以上のいずれの整数値でもあり得る。説明および検討をし易いように、処理1500は、図2A～2Cの微少流体デバイス200に関して以下で検討され、それにおいてセクタ222は、図3Aおよび3Bに説明されるとおり構成され得る。しかしながら、処理1500は、そのように限定されず、よって他の微少流体デバイス上で実施され得る。

【0117】

図15に示されるとおり、ステップ1502で、処理1502は、微少流体デバイス中の保持用囲い中の生体アクティビティを培養し得る。ステップ1502は、図1のステップ104または図4のステップ402のように実施され得る。例えば、一般に図4の上の検討に従って、生体アクティビティは、図2A～2Cの微少流体デバイス200の各囲い256中の1以上の生体細胞による、1以上の異なる目的の材料の生産であり得る。ステップ1502の培養することは、処理1500の実行全体を通じて一続きに実施され得、

よって、ステップ1502の培養することは、ステップ1504および/または1506の間、継続され得る。

#### 【0118】

ステップ1504で、処理1500は、その各々が異なる特徴であり得るn個の特徴について各保持用囲い256中の生体アクティビティを試験し得る。n個の特徴は、上述のとおり図1および4の処理100または処理400中に試験されるいずれの特徴または生体アクティビティの他の特徴でもあり得る。この仕方において多数の特徴を評価することは、抗体の特徴づけを含む多くの適用のために所望される。よって、例えば、多数の評価は、以下に続くいずれをも助け得る：配座特異的な抗体を同定すること（例として異なる特徴が、特定の抗原の異なる立体配座に結合するための抗体アナライトの能力であり得る）；抗体アナライトのエピトープマッピング（例として異なる特徴が、抗原の様々な遺伝的または化学的に変更された形態に結合するための能力であり得る）；抗体アナライトの種間交差反応性を評価すること（例として異なる特徴が、ヒト、マウス、ラットおよび/または他の動物（例として実験動物）などの、異なる種から生じる相同抗原に結合するための、抗体アナライトの能力であり得る）；および、抗体アナライトのIgGアイソタイピング（例として異なる特徴が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、IgEおよび/またはIgDに結合するための能力であり得る）。抗体のエピトープマッピングのための化学的に組み換えられた抗原の発生は、例えば、Dhungana et al. (2009), Methods Mol. Biol. 524:119-34に記載されている。多数の特徴を評価することから利益を得られ得る他の適用は、例えば、細胞の健康、がん、感染（例としてウイルス、バクテリア、寄生虫など）、炎症、治療用剤への反応および同種のものと互いに関係づけるマーカーを検知することを含む。

#### 【0119】

ステップ1504で、処理1500は、各囲い256中の生体アクティビティがn個の特徴のいずれか1以上を有するかを示唆する試験を実施し得る。よって、いくつかの態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがn個の特徴のうち1つしか有さない場合、ステップ1504にて試験で陽性が出ると思われる。他の態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがn個の特徴のうちすべてを有する場合にのみ、ステップ1504にて試験で陽性が出ると思われ、さらに他の態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがn個の特徴のうちq個の数を有する場合、ステップ1504にて試験で陽性が出ると思われ、ここでqは、1より大きくnより小さい。

#### 【0120】

ステップ1506で、処理1500は、異なるm個の特徴についてステップ1504にて試験で陽性が出た各保持用囲い256中の生体アクティビティを試験し得、その各々は、異なる特徴であり得る。ステップ1506で試験されたm個の特徴は、ステップ1504で試験されたn個の特徴とは異なり得る。m個の特徴は、上述のとおり図1および4の処理100または処理400中に試験された特徴または生体アクティビティの他の特徴のいずれをも含み得る。代わりに、ステップ1506で試験されたm個の特徴と、ステップ1504で試験されたn個の特徴との間に重複があり得る。

#### 【0121】

ステップ1506はステップ1504を実施するための上述のいずれの仕方においても実施され得る。例えばステップ1506で、処理1500は、ステップ1504にて試験で陽性が出た囲い256中の生体アクティビティが、いずれの1以上のm個の特徴をも有するかどうかを示唆する試験を実施し得る。よって、いくつかの態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがm個の特徴のうち1つしか有さない場合、ステップ1506にて試験で陽性が出たと思われる。他の態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがm個の特徴のうちすべてを有する場合にのみ、ステップ1506にて試験で陽性が出ると思われ、さらに他の態様において、囲い256中の生体アクティビティは、生体アクティビティがm個の特徴のうちp個の数

を有する場合、ステップ 1 5 0 6 にて試験で陽性が出るとわれ、ここで p は、1 より大きく m より小さい。

【 0 1 2 2 】

図 1 6 および 1 7 は、図 1 5 のステップ 1 5 0 4 および / またはステップ 1 5 0 6 を実施し得る処理 1 6 0 0、1 7 0 0 の例を説明する。

【 0 1 2 3 】

まず図 1 6 を見ると、処理 1 6 0 2 は、ステップ 1 6 0 2 で、微少流体デバイス 2 0 0 の各囲い 2 5 6 の中の数 x の捕捉物体を移動させ得る。例えば、数 x は、1 と n を含めたそれらの間であり得る。図 1 8 ( 図 2 A ~ 2 C の微少流体デバイス 2 0 0 の流れ領域 2 4 0 の一部の水平断面図を示す ) は、例を説明する。示されるとおり、x 個の捕捉物体 1 8 1 2 は、囲い 2 5 6 の中へ移動させられ得る。捕捉物体 1 8 1 2 は、連続して、並行してまたは連続および並行の組み合わせにおいて、囲い 2 5 6 の中へ移動させられ得る。さらに示されるように、生物学的な微小物体 1 8 0 2 は、囲い 2 5 6 中にあり得る。3 つの生物学的な微小物体 1 8 0 2 が囲い 2 5 6 中に示されるが、1、2 または 3 以上があり得る。生物学的な微小物体 1 8 0 2 は、例えば、1 以上の目的の材料を生産する生体細胞であり得る。

【 0 1 2 4 】

各捕捉物体 1 8 1 2 は、特定の目的の生体材料に特異的に結合する結合物質を含み得る。例えば、結合物質は、少なくとも約 1 mM またはより強い ( 例として約 1 0 0  $\mu$ M、1 0  $\mu$ M、1  $\mu$ M、5 0 0 nM、4 0 0 nM、3 0 0 nM、2 0 0 nM、1 0 0 nM、7 5 nM、5 0 nM、2 5 nM、1 5 nM、1 0 nM、5 nM、2 . 5 nM、1 nM またはより強い ) 特定の目的の生体材料のための親和性 ( 例として K d ) を有し得る。かかる親和性は、特定の目的の生体材料 ( または保持用囲いおよび / または微少流体デバイス中に存在する、少なくともいずれの他の目的の生体材料 ) 以外の他のいずれの材料のための親和性よりも、例えば、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、1 0 倍またはそれ以上の倍数で、より強くあり得る。よって、例えば各捕捉物体 1 8 1 2 は、図 1 5 のステップ 1 5 0 2 によって囲い 2 5 6 中で培養されている生体アクティビティによって存在し、または生産されてもよい、異なる目的の材料のためのかかる優勢な親和性を有する異なる結合物質を含み得る。さもなければ、捕捉物体 1 8 1 2 は、捕捉物体 6 0 2 に一般に類似し得、捕捉物体 1 8 1 2 は、捕捉物体 6 0 2 を選択し、移動させるための上述のいずれの仕方においても選択され得、移動させられ得る。

【 0 1 2 5 】

ステップ 1 6 0 4 で、処理は、ステップ 1 6 0 2 で囲い 2 5 6 の中へ移動させられた x 個の捕捉物体の各々によって捕捉された生体材料を評価し得る。ステップ 1 6 0 4 は同様であり得、図 1 のステップ 1 1 0 または図 4 のステップ 4 1 4 に関する上述のいずれのやり方においても実施され得る。

【 0 1 2 6 】

図 1 6 に説明されるとおり、処理 1 6 0 0 は、いずれの回数でも任意に繰り返され得る。数 x は、ステップ 1 6 0 2 の繰り返される各性能のために同じかまたは異なり得る。よって、例えば処理 1 6 0 0 は、n 個の捕捉物体 ( その各々が異なる結合物質を有し得る ) が、ステップ 1 6 0 2 で囲いの中へ移動させられ、ステップ 1 6 0 4 で評価されるまでずっと、1 以上の回数で実施され得る。よって、処理 1 6 0 0 を 1 以上の回数で実施することは、ステップ 1 6 0 2 を 1 以上の回数で実施し、ステップ 1 6 0 4 を 1 以上の回数で実施することによって n 個の捕捉物体によって捕捉された生体材料を評価することすることにより、各囲いの中へ n 個の捕捉物体の合計を移動させるという結果になり得る。例えば、ステップ 1 6 0 2 の繰り返される各性能で、x の値は、1 以上 n - 1 以下のいずれの数でもあり得、処理 1 6 0 0 は、ステップ 1 6 0 2 の繰り返される各性能での x の値が少なくとも n まで合計されるまでずっと繰り返され得る。

【 0 1 2 7 】

言及したとおり、図 1 5 のステップ 1 5 0 4 および / またはステップ 1 5 0 6 は、図 1

10

20

30

40

50

6の処理1600によって実施され得る。ステップ1506が実施される場合、数mは、図16の上の検討においてnに代用される。

【0128】

いま図17を参照すると、ステップ1702で、処理1700は、微少流体デバイス200の囲い256の中へy-材料捕捉物体を移動させ得、そこで各y-材料捕捉物体は、y個の異なる結合物質を含み得る。数yは、2以上n以下であり得る。図19(図2A~2Cの微少流体デバイス200の流れ領域240の一部の水平断面図を示す)は、例を説明する。示されるとおり、y-材料捕捉物体1912は、1以上の生物学的な微小物体1802を備えて囲い256の中へ移動させられ得、それは上述のとおりであり得る。

【0129】

y-材料捕捉物体1912は、y個の異なる結合物質を含み得、それらの各々は、特定の目的の生体材料に特異的に結合する。例えば、各結合物質は、少なくとも約1mMまたはより強い(例として約100μM、10μM、1μM、500nM、400nM、300nM、200nM、100nM、75nM、50nM、25nM、15nM、10nM、5nM、2.5nM、1nMまたはより強い)特定の目的の生体材料のための親和性(例としてKd)を有し得る。かかる親和性は、特定の目的の生体材料(または保持用囲いおよび/または微少流体デバイス中に存在する、少なくともいずれの他の目的の生体材料)以外の他のいずれの材料のための親和性よりも、例えば、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍またはそれ以上の倍数で、より強くあり得る。さもなければ、y-材料捕捉物体1912は、捕捉物体602に一般に類似し得、捕捉物体1912は、捕捉物体602を選択し、移動させるための上述のいずれの仕方においても選択され得、移動させられ得る。

【0130】

ステップ1704で、処理1700は、各囲い256中のy-材料捕捉物体1912によって捕捉された生体材料を評価し得る。ステップ1704は同様であり得、図1のステップ110または図4のステップ414に関する上述のいずれのやり方においても実施され得る。

【0131】

図17に説明されるとおり、処理1700は、いずれの回数でも任意に繰り返され得る。数yは、ステップ1702の繰り返される各性能のために同じかまたは異なり得る。よって、例えば処理1700は、ステップ1702の各性能でのyの値が少なくともnに加わるまでずっと、1以上の回数で実施され得る。例えば、ステップ1702の繰り返される各性能で、yの値は、2以上n-2以下のいずれの数でもあり得、処理1700は、ステップ1702の繰り返される各性能でのyの値が少なくともnまで合計されるまでずっと繰り返され得る。

【0132】

言及したとおり、図15のステップ1504および/またはステップ1506は、図17の処理1700によって実施され得る。ステップ1506が実施される場合、数mは、図17の上の検討においてnに代用される。

【0133】

図20A~20Cは、微少流体デバイス中に使用され得る保持用囲いの形状上の変動および本発明の方法を示す。各場合において、保持用囲いは、生体アクティビティ(例として1以上の生体細胞)を収容するために使用され得る領域、および、捕捉物体602を収容するために使用され得る別の領域を含む。例えば、図20Aにおいて、保持用囲い256は、生体細胞502を収容し得る左部および捕捉物体602を収容し得る右部を含む、単離領域508を有する。保持用囲い256は、チャンネル252への近位開口および単離領域508への遠位開口を有する、接続領域510をさらに含む。図20B中に類似する配列があるが、保持用囲い256は、(接続領域510の深さの観点から)より長く、より浅い。図20Cにおいて、保持用囲い256は、捕捉物体602を収容し得る右部から、生体細胞502を収容し得る左部を分離する薄い壁を含む。薄い壁は漏れやすく、したがって、保持用囲い256の左部と右部との間の目的の生体材料の拡散を可能にし、それ

10

20

30

40

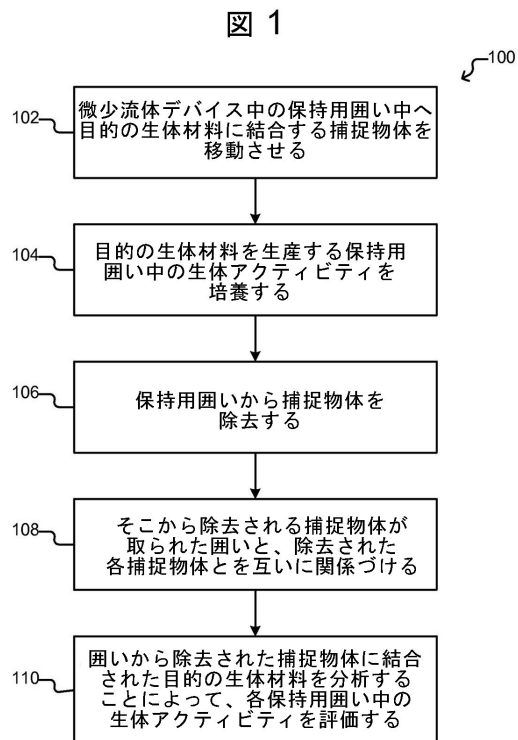
50

によって生体アクティビティ（例として生体細胞 5 0 2 ）が捕捉物体 6 0 2 に接触することを防止する。

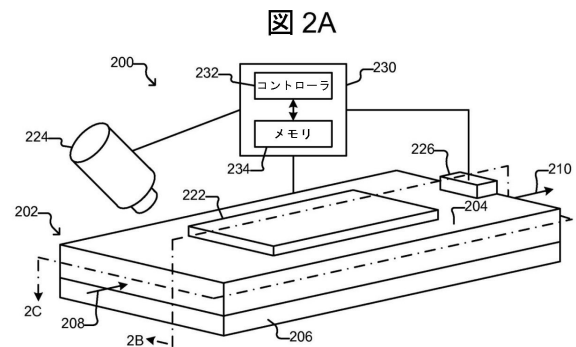
【 0 1 3 4 】

本発明の具体的な態様および適用が本明細書中に記載されているが、これらの態様および適用は、例示する目的しかなく、多くの変動があり得る。

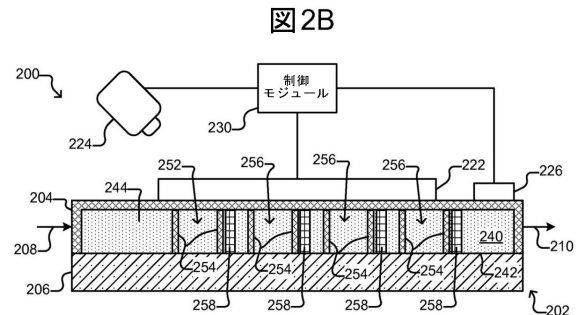
【 図 1 】



【 図 2 A 】



【 図 2 B 】



【 図 3 B 】

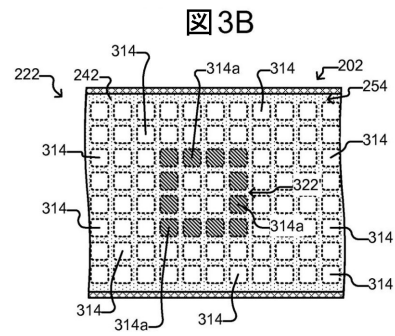
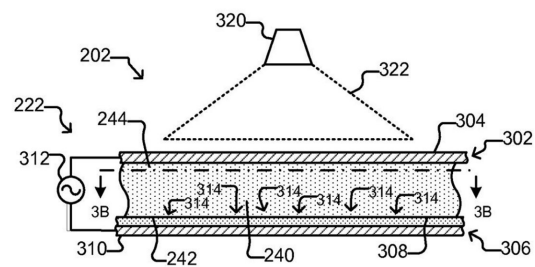


図 3A



【 図 5 A 】

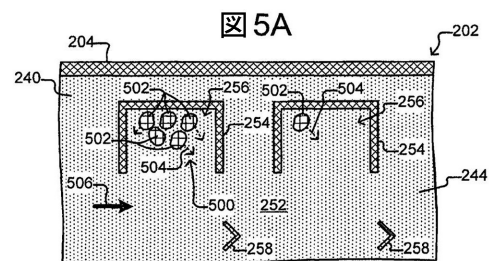
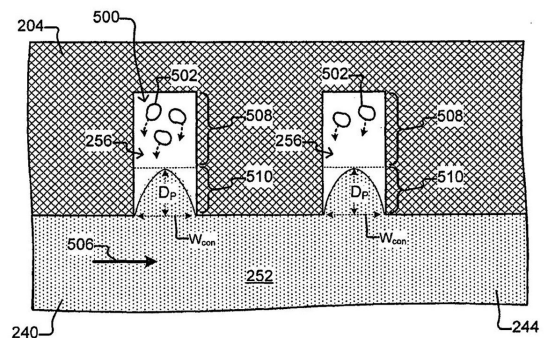
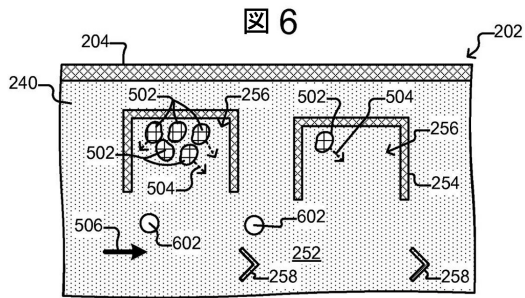


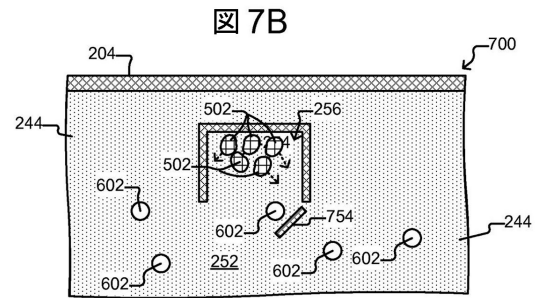
图 5B



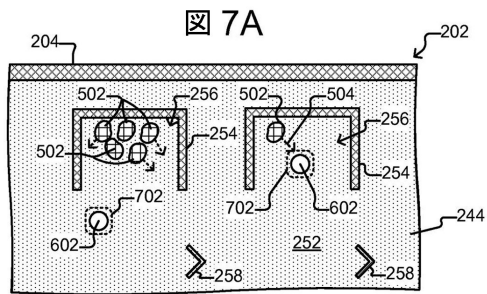
【図 6】



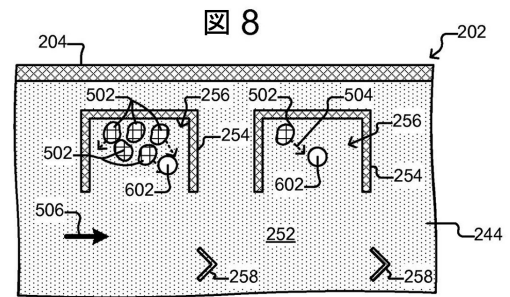
【図 7 B】



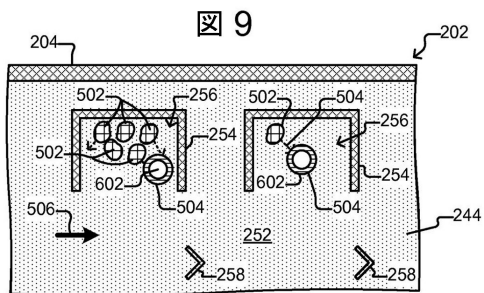
【図 7 A】



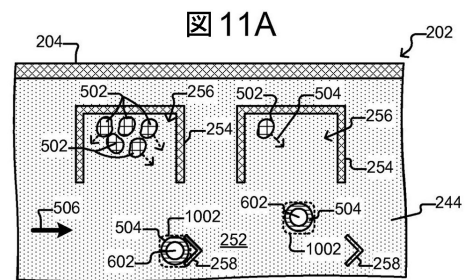
【図 8】



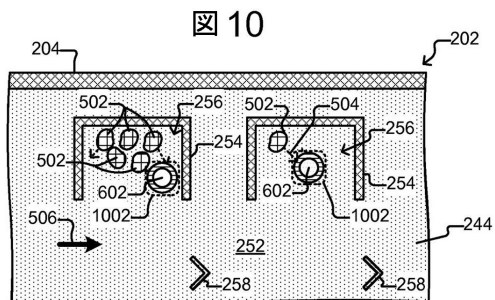
【図 9】



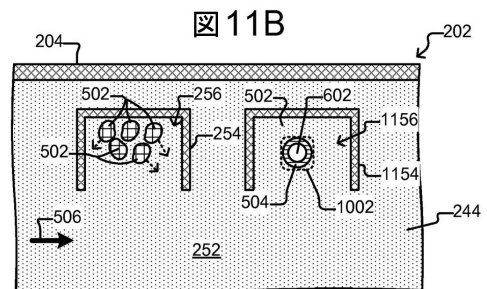
【図 11 A】



【図 10】

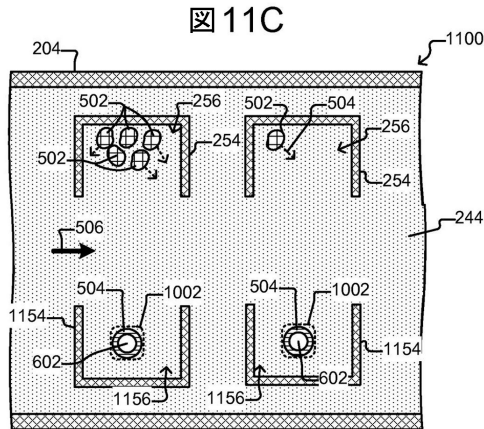


【図 11 B】

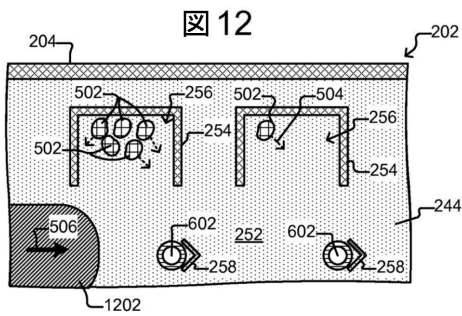




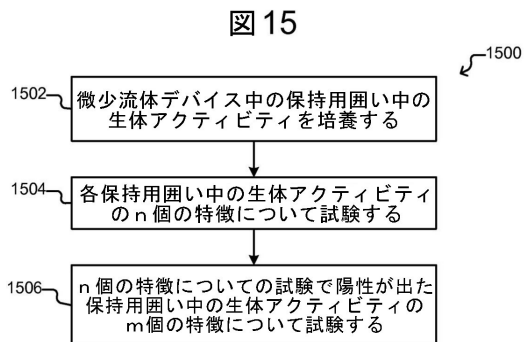
【図 11C】



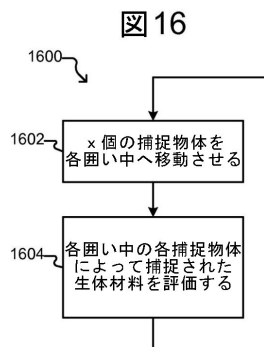
【図 12】



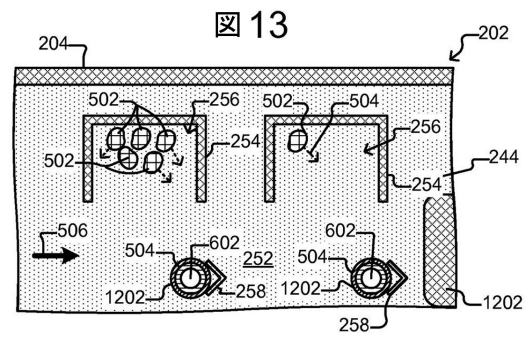
【図 15】



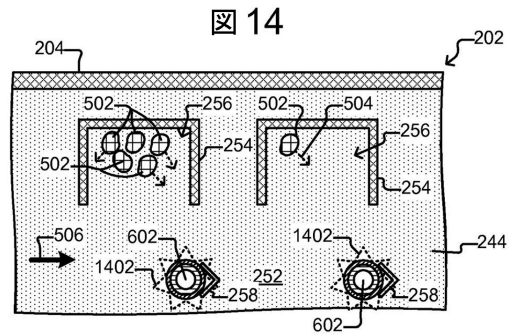
【図 16】



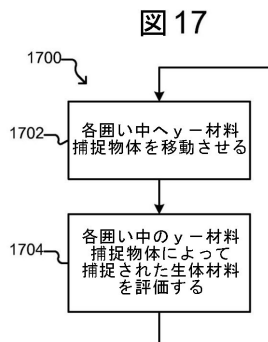
【図 13】



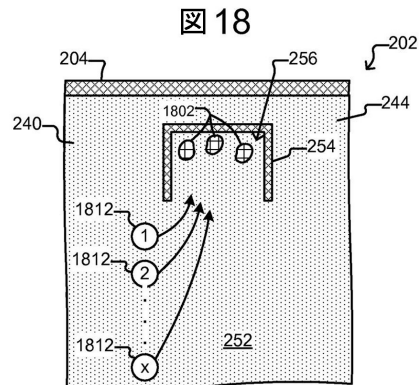
【図 14】



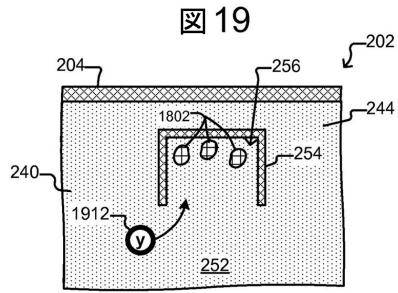
【図 17】



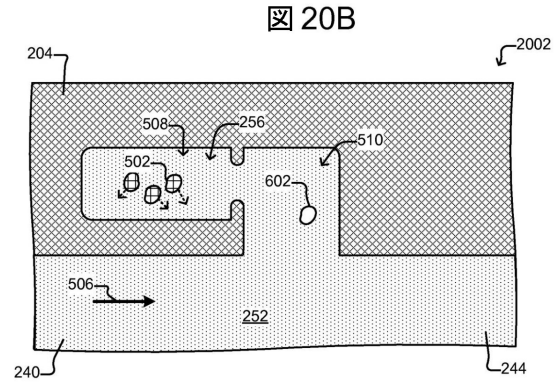
【図 18】



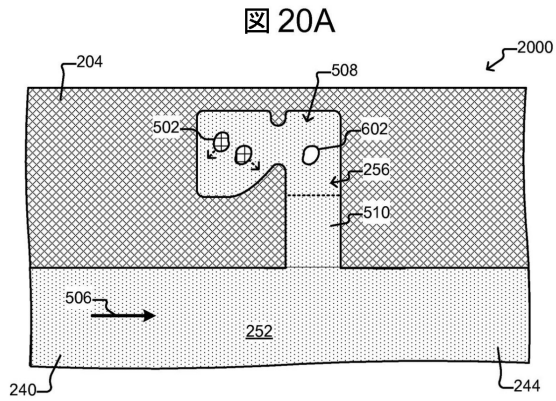
【図 19】



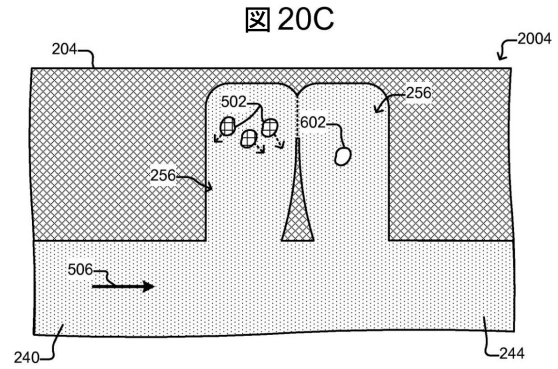
【図 20 B】



【図 20 A】



【図 20 C】



## フロントページの続き

(31)優先権主張番号 62/058,658

(32)優先日 平成26年10月1日(2014.10.1)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/996,962

(32)優先日 平成25年10月22日(2013.10.22)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 14/520,510

(32)優先日 平成26年10月22日(2014.10.22)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 チャプマン, ケヴィン ティー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

(72)発明者 マレオ, ダニエレ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

(72)発明者 ネヴィル, ジェイ. タナー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

(72)発明者 ショート, スティーヴン ダブリュ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

(72)発明者 ホワイト, マーク ピー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

(72)発明者 ロウレイロ, エム. ジメナ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホールトン ストリート 58  
58、スイート 320

審査官 高田 亜希

(56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0262906(US, A1)

米国特許出願公開第2009/0170186(US, A1)

特開2010-060567(JP, A)

米国特許出願公開第2010/0003666(US, A1)

国際公開第2013/148865(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)