

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6297546号
(P6297546)

(45) 発行日 平成30年3月20日 (2018. 3. 20)

(24) 登録日 平成30年3月2日 (2018. 3. 2)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 21/552 (2014. 01)

GO 1 N 21/552

GO 1 N 21/64 (2006. 01)

GO 1 N 21/64

G

請求項の数 24 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2015-519424 (P2015-519424)
 (86) (22) 出願日 平成25年6月20日 (2013. 6. 20)
 (65) 公表番号 特表2015-522155 (P2015-522155A)
 (43) 公表日 平成27年8月3日 (2015. 8. 3)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2013/055072
 (87) 国際公開番号 W02014/001982
 (87) 国際公開日 平成26年1月3日 (2014. 1. 3)
 審査請求日 平成28年6月16日 (2016. 6. 16)
 (31) 優先権主張番号 61/665, 922
 (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 590000248
 コーニンクレッカ フィリップス エヌ
 ヴェ
 KONINKLIJKE PHILIPS
 N. V.
 オランダ国 5656 アーエー アイン
 ドーフェン ハイテック キャンパス 5
 High Tech Campus 5,
 NL-5656 AE Eindhoven
 (74) 代理人 110001690
 特許業務法人M&Sパートナーズ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 結合磁性粒子及び未結合磁性粒子の処理

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

磁性粒子が結合し得る結合領域を有する処理チャンバ、又はこうした処理チャンバのための収容空間と、

前記処理チャンバ内に磁場を発生させるための磁場発生器と、

前記磁性粒子を前記結合領域に結合させた後に、前記結合領域の傾きを制御可能に変化させるための傾斜ユニットと、
 を有する、磁性粒子の処理のための装置。

【請求項 2】

前記結合領域の傾きと前記磁場の発生とを連係させるための制御ユニットを更に有する
 ことを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

10

【請求項 3】

前記結合領域は、磁性粒子が当該結合領域に結合する間、前記装置の前記処理チャンバ内に存在する磁性粒子の下又は上の水平配置とすることを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 4】

前記結合領域を有する前記処理チャンバは、交換可能なカートリッジ内に位置されることを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記結合領域は、前記磁場発生器に対して傾斜させられることのできることを特徴とす

20

る、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記磁場発生器は、磁極が前記結合領域に位置される蹄鉄型磁石を有することを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記蹄鉄型磁石の少なくとも 1 つの磁極は、個別に有効にされることができるとを特徴とする、請求項 6 に記載の装置。

【請求項 8】

前記磁場発生器は、前記結合領域の両側に配置される磁石を有することを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

10

【請求項 9】

前記結合領域を照明するための光源を更に有することを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 10】

前記結合領域からの光を検出するための光検出器を更に有することを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

分子診断、生物学的試料分析、化学的試料分析、食品分析、及び/又は法医学的分析のための、請求項 1 乃至 10 の何れか一項に記載の装置の使用。

20

【請求項 12】

結合領域を有する処理チャンバ内に磁性粒子を提供するステップと、
前記結合領域に磁性粒子を結合させるステップと、
前記磁性粒子を前記結合領域に結合させた後に、未結合磁性粒子を、前記結合領域の傾きを制御可能に変化させることを含む引力によって前記結合領域から離隔させるステップと、
磁場発生器を用いて、離隔された磁性粒子を前記結合領域から更に離れる方向に動かす磁場を発生させるステップと、
を有する、磁性粒子の処理のための方法。

【請求項 13】

制御ユニットが、前記結合領域の傾きと前記磁場の発生とを連係させるために提供されることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

30

【請求項 14】

前記結合領域は、磁性粒子が当該結合領域に結合する間、前記処理チャンバ内に存在する磁性粒子の下又は上の水平配置とすることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記結合領域を有する前記処理チャンバは、交換可能なカートリッジ内に位置されることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

前記結合領域は、前記磁場発生器に対して傾斜させられることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

40

【請求項 17】

引力は、未結合磁性粒子を、前記結合領域に結合した磁性粒子から離れる方向に、これら粒子の直径の約 2 倍を超える距離動かすのに十分な時間にわたって作用することを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 18】

未結合磁性粒子の前記結合領域からの離隔の前に、中間磁場が発生させられることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 19】

前記未結合磁性粒子は、前記結合領域外の場所へ動かされることを特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

50

【請求項 2 0】

前記磁場発生器は、磁極が前記結合領域に位置される蹄鉄型磁石を有することを特徴とする、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記蹄鉄型磁石の少なくとも 1 つの磁極は、個別に有効にされることを特徴とする、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記磁場発生器は、前記結合領域の両側に配置される磁石を有することを特徴とする、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 3】

光源が、前記結合領域を照明するために提供されることを特徴とする、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

光検出器が、前記結合領域からの光を検出するために提供されることを特徴とする、請求項 1 2 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、結合領域に結合し得る磁性粒子の処理のための方法及び装置に関する。

【背景技術】**【0 0 0 2】**

国際特許公開 W O 2 0 1 0 / 1 3 4 0 0 5 A 1 号公報は、光学式バイオセンサ内で光ビームの減衰内部全反射 (F T I R) が検出され、結合領域での磁性粒子の量に関して評価される、光学式バイオセンサを開示する。磁場は、磁性粒子を表面に引き付けて結合を加速させるために、また、検出が行われる前に未結合磁性粒子を洗浄除去するために用いられる。

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0 0 0 3】**

本発明の目的は、改良された精密さを有する、結合領域での磁性粒子の処理を可能にする手段を提供することである。

【課題を解決するための手段】**【0 0 0 4】**

この目的は、請求項 1 に記載の装置、請求項 2 に記載の方法、及び請求項 1 5 に記載の使用によって達成される。好ましい実施形態は、従属請求項において開示されている。

【0 0 0 5】

第 1 の実施形態によると、本発明は、磁性粒子の処理のための装置に関し、次の構成要素を有する。

以下において「処理チャンバ」と呼ばれる、磁性粒子が結合し得る結合領域を有するチャンバ。装置は追加的又は代替的に、こうした反応チャンバが中に収容され得る収容空間を有してよい。このとき反応チャンバは、例えば交換可能なカートリッジの一部であってよい。

処理チャンバ内に磁場を発生させるための磁場発生器。磁場発生器は、例えば 1 以上の永久磁石及び／又は電磁石を有してよい。

結合領域の傾き、すなわち、引力の方向に対する結合領域の配向を、制御可能に変化させるための傾斜ユニット。

【0 0 0 6】

説明される装置を用いてなされ得る「処理」は、任意の種類、例えば物理的操作又は化学的操作を含んでよい。詳細には、「処理」は、装置に結合した磁性粒子又は標的成分が、質的又は量的に検出される検出手順を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 7 】

「磁性粒子」との用語は、永久磁性粒子及び例えば超常磁性ビーズといった磁化可能粒子の両方を含む。磁性粒子の大きさは、典型的には $3 \text{ nm} \sim 50 \text{ }\mu\text{m}$ の範囲である。更に、磁性粒子は、実際に対象とする結合標的成分を含んでもよい。磁性粒子は、通常例えば試料流体といった何らかの担体又は媒体内で、処理チャンバに提供される。

【 0 0 0 8 】

「処理チャンバ」は、典型的には、空の空洞又は試料物質を吸収し得るゲルのような何らかの物質で満たされた空洞であり、開空洞、閉空洞、又は流体接続チャネルによって他の空洞に接続される空洞であってよい。

【 0 0 0 9 】

「結合領域」は、典型的には、処理チャンバの表面の一部分だけである（例えば、処理チャンバの1つの壁の表面に位置する）が、処理チャンバの全面にわたり広がってもよい。磁性粒子の結合領域への相互作用は、最も好ましくは分子間結合である任意のタイプであってよい。更に、結合は、好ましくは「特異的」であり、処理チャンバ内に存在する磁性粒子のうち特定のもののだけが、結合領域に結合することができる。磁性粒子は、例えば試料流体の標的成分に対する捕捉部位を備え、捕捉された標的成分を有する磁性粒子のみが結合領域に結合することができる。この場合、結合磁性粒子は、対象の標的成分の存在に対する指標である。

【 0 0 1 0 】

本発明は更に、磁性粒子の処理のための方法に関する。前記方法は、詳細には上述の型の装置を用いて実行され、次のステップを有する。

- a) 結合領域を有する処理チャンバ内に磁性粒子を提供するステップ。
- b) 結合領域上に磁性粒子を結合させるステップ。
- c) 前のステップにおいて結合領域に結合しなかった未結合磁性粒子を、引力によって結合領域から離隔させるステップ。
- d) 磁場発生器を用いて、結合領域から離隔された前述の磁性粒子を、結合領域から更に離れる方向に動かす（すなわち、これら磁性粒子の結合領域までの距離は更に増大する）磁場を発生させるステップ。

【 0 0 1 1 】

磁性粒子を結合領域に結合させるステップ b) は通常、受動的なステップであり、磁性粒子が、結合領域へ移動して結合領域に結合する（例えば化学親和力によって動かされる）ための十分な時間を与えられることを、主に必要とする。オプションとして、このステップ b) は、移動処理を加速させるために、例えば磁性粒子を結合領域へ磁氣的に引き付けることによって、能動的に支援されてもよい。

【 0 0 1 2 】

ステップ c) における未結合磁性粒子の離隔は、詳細には、初期に結合領域に近接し又は接触すらしている磁性粒子に対し、磁性粒子と結合領域との間の距離が増大されることを含む。更に、引力は、好ましくはこのステップの間に磁性粒子に作用する、唯一の（又は少なくとも支配的な）外力である。例えば引力は、離隔ステップ c) の間に磁性粒子に作用する平均外力の 50% を超えて、好ましくは 90% を超えて達してよい。磁性粒子に作用し得る（軽微な影響の）他の外力は、流体力学的力（周囲媒体の流れによって伝達される）及び磁力（このステップの間好ましくは最小化される）である。このコンテキストにおいて、熱力（周囲粒子の熱運動によって伝達される）は「内力」として考慮され、引力との比較には含まれないことに留意すべきである。

【 0 0 1 3 】

離隔ステップ c) において用いられる引力は、地球の重力に起源を有してよい。未結合磁性粒子を結合領域から遠ざかる方向へ引き寄せることは、このとき、結合領域を傾斜させることによって、すなわち、結合領域に水平以外の傾きを与えることによって達成される。極端な場合として、結合領域は、（未結合）磁性粒子が結合領域の下にあるように、上下が逆さまにされてもよい。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 4 】

引力の別の例は、慣性力、具体的には、例えば結合領域を回転させることによって発生させられ得る、遠心力であってよい。

【 0 0 1 5 】

装置及び方法は共に、未結合磁性粒子は、最初に引力によって結合領域から離隔されるという発明のコンセプトに基づく。したがって、装置に対して与えられる説明及び定義は、方法に対しても有効であり、逆も同じである。

【 0 0 1 6 】

本発明による装置及び方法は、結合領域に結合した磁性粒子を用いて実行される手順の、改善された精密さを可能にする。なぜなら、こうした手順を妨害する恐れのある未結合磁性粒子が、最初に引力によって非常に効率的に結合領域から離隔される（また、次いでオプションとして、磁力によって更に離隔される）からである。引力の事前の利用は、離隔のために磁力のみが用いられる場合によくあるように、未結合磁性粒子が結合磁性粒子に付着することがないという利点を有する。離隔のために磁力のみが用いられる場合、未結合磁性粒子は、結合磁性粒子と、未結合粒子の結合領域からの離隔を妨げるクラスタ（鎖）を形成する恐れがある。

【 0 0 1 7 】

以下において、上述の装置及び方法に関する、本発明の様々な好ましい実施形態が説明される。

【 0 0 1 8 】

装置は、好ましくは、結合領域の傾きを磁場の発生と連係させる制御ユニットを有する。この連係は、好ましくは上記に規定される方法により実施される。詳細には、結合領域は、未結合磁性粒子を結合領域から所定の距離だけ除去するのに十分な時間にわたって（水平から外れて）傾けられ、その後、磁性粒子の結合領域からの離隔を継続する磁場が発生させられる。制御ユニットは、例えば専用の電子ハードウェア及び／又は関連したソフトウェアを有するデジタルデータ処理ハードウェアにおいて実現される。

【 0 0 1 9 】

本発明の好ましい実施形態では、結合領域は、磁性粒子の下、すなわち処理チャンバの底での水平配置を前提とする。水平配置は特に、磁性粒子が結合領域に結合する段階の間に前提とされる。この実施形態では、引力は磁性粒子を処理チャンバの内側から結合領域に向かって動かす傾向がある（結合領域自体においては、引力の影響は結合領域に対する接触力によって平衡される）。

【 0 0 2 0 】

別の好ましい実施形態では、結合領域は、磁性粒子の上、すなわち処理チャンバの最上部での水平配置を前提とする。この場合、引力による未結合磁性粒子の結合領域からの離隔は、結合領域を傾斜させる必要なしに自然に生じる。磁性粒子は、例えばブラウン運動により、及び／又は磁力の援助で、（結合領域に結合するために）結合領域に到達し得る。

【 0 0 2 1 】

装置は、全ての構成要素が互いに恒久的に取り付けられている１ピースの要素であってよい。この場合、結合領域の傾斜は通常、装置全体の傾斜を含む。好ましい実施形態では、結合領域を有する処理チャンバは、何らかの処理装置内へと差し込まれ得る、交換可能なカートリッジ内に設置され、カートリッジと処理装置とは共に、本発明による装置を構成する。したがって、こうした処理装置（カートリッジなし）もまた、本発明の範囲に該当すると考慮される。カートリッジは典型的には、例えば血液、唾液、又は尿のような試料流体といった手中にある媒体の処理のために１度だけ用いられる、使い捨ての構成要素である。

【 0 0 2 2 】

本発明の更に好ましい実施形態では、結合領域は、磁場発生器に対して（及び／又は装置の他の構成要素に対して）、傾斜させられることができる。この実施形態は、結合領域

10

20

30

40

50

が別個のカートリッジ内に設置されている場合、このとき結合領域の傾斜は、カートリッジ（のみ）を傾斜させることによって達成され得るので、特に可能性がある。

【 0 0 2 3 】

引力が（結合領域で）未結合磁性粒子に作用する時間は、好ましくは、未結合磁性粒子を結合磁性粒子から離れる方向に、磁性粒子の（平均）直径の約 2 倍を超える、好ましくは前記直径の 3 ～ 5 倍を超える距離動かすのに十分な時間である。未結合磁性粒子を結合領域から離れる方向に動かす磁場が付与されたとき、結合磁性粒子から少なくともこれらの距離離れた未結合磁性粒子は、結合磁性粒子とクラスタ又は鎖を形成しない（したがって結合領域へ戻らない）ことを、調査が示している。

【 0 0 2 4 】

本発明の別の実施態様によると、引力による未結合磁性粒子の結合領域からの離隔の前に、更なる磁場（以下において「中間磁場」と呼ばれる）が発生させられる。この「中間磁場」は、磁性粒子の鎖の形成を誘発することを目的とし、したがって、これを達成するのに十分な比較的短期間（例えば、数秒）にわたってのみ付与される。中間磁場がオフに切り替えられた後もしばらくの間持続する磁性粒子の鎖は、引力の作用の間、周囲媒体を通じ、より速く動くことができる。この効果を支援するために、中間磁場の磁力線は、好ましくは（後の）引力と平行（すなわち、通常は鉛直）に配向される。

【 0 0 2 5 】

好ましくは、未結合磁性粒子は、結合領域外の場所、詳細には、未結合磁性粒子が結合領域での処理に影響を及ぼさず、かつ、処理チャンバの隣接容積内である領域へ動かされる（又は動かされることができる）。この動きは、適切な磁場（引力の後に作用する）によって達成され得る。処理チャンバの結合領域の上の部分が未結合磁性粒子を（ほとんど）含まないので、したがって、結合領域外の場所は、例えば、未結合磁性粒子による外乱のない、この容積を通じた光の伝送を可能にする。

【 0 0 2 6 】

本発明の好ましい実施形態では、磁場発生器は、結合領域付近に、すなわち結合領域及び処理チャンバの隣接容積内での磁場の発生を可能とするのに十分結合領域に近い位置に設置される（少なくとも）2 つの磁極を有する、蹄鉄型磁石を有する。

【 0 0 2 7 】

好ましくは、蹄鉄型磁石の前述の磁極のうちの少なくとも 1 つは、個別に有効にされることができる。蹄鉄型磁石の磁極が、結合領域（又は処理チャンバ）に対して対称的に配置されるとき、単一の磁極を有効にすることは、通常、結合領域に対して非対称的な磁場を発生させる。こうした場合は例えば、（未結合）磁性粒子を結合領域外の場所へ動かすために用いられ得る。

【 0 0 2 8 】

本発明の別の実施形態では、磁場発生器は、結合領域の両側（したがって、通常は処理チャンバの両側でもある）に配置される磁石を（追加的又は代替的に）有する。これらの磁石を適切な態様で個別的に有効にすることは、未結合磁性粒子を結合領域から離れる方向に引き寄せるために用いられ得る。

【 0 0 2 9 】

処理チャンバにおける磁性粒子の処理は、特に光学的手段による処理を含んでよい。この目的のために、装置は結合領域を照明するための光源を含んでよい。照明は例えば、特に処理チャンバ及び処理チャンバ内の媒体を通じ、直接であってよい。この場合、結合領域の照明の外乱を回避するために、照明によって横断される媒体は（未結合）磁性粒子を含まないことが、いつも重要である。また、結合領域の照明は、例えば光源により放射される照明光ビームの内部全反射によって発生させられる、エバネッセント波によって達成されてもよい。

【 0 0 3 0 】

装置はオプションとして、結合領域からの光を検出するための光検出器を有してもよい。この光は、例えば前述の光源の内部全反射光であってよく、強度における減少は、結合

10

20

30

40

50

領域での結合磁性粒子の指標である。このアプローチは、「減衰内部全反射」(FTIR)として知られており、国際特許公開WO2008/155716A1号公報、国際特許公開WO2009/016533A2号公報、又は国際特許公開WO2008/072156A2号公報においてより詳細に説明されている。別の実施例では、検出される光は、結合領域において励起される蛍光であってよい。

【0031】

本発明は更に、分子診断、生物学的試料分析、化学的試料分析、食品分析、及び/又は法医学的分析のための上述の装置の使用に関する。分子診断は、例えば、標的分子に直接的に又は間接的に付着された磁性ビーズ又は蛍光粒子の援助で実現され得る。

【図面の簡単な説明】

10

【0032】

本発明のこれらの及び他の態様は、以下に説明される実施形態から明らかとなり、以下に説明される実施形態を参照することによって解明されるであろう。

【0033】

【図1】結合領域でのFTIR検出を含む、本発明による装置の側面図を概略的に示す。

【図2】重力が短い時間にわたってのみ作用するとき、頭上の結合領域で結合磁性粒子及び未結合磁性粒子に作用する磁場の影響を示す。

【図3】重力がより長い時間にわたって作用するとき、図2の状況を示す。

【図4】傾斜した結合領域での、磁性粒子への重力の影響を示す。

【図5】結合領域の明視野照明を有する、本発明による装置の側面図を概略的に示す。

20

【図6】磁場が上方磁石のみによって発生させられるときの、図1の装置を示す。

【図7】磁場が上方磁石及び下方蹄鉄型磁石の1つの磁極によって発生させられるときの、図1の装置を示す。

【図8】磁場が下方蹄鉄型磁石の1つの磁極のみによって発生させられるときの、図1の装置を示す。

【0034】

類似の参照番号又は100だけ異なる参照番号は、図面において同一又は同様の構成要素を参照する。

【発明を実施するための形態】

【0035】

30

体液内のマーカー分子の特異的検出のためのプラットフォームは、例えば、出願人によって開発されたマグノテック(登録商標)の技術によって提供される。マーカー分子の1例は、心臓血管疾患の検出のためのトロポニン-I(cTnI)である。この検出技術は、カートリッジの表面上の超常磁性ナノ粒子(ビーズ)の光学的検出と組み合わせられたイムノアッセイに基づく。多くのプラットフォームは、表面の近くにエバネッセント光場を形成することによる内部全反射(TIR)照明を用いる。この技術は、表面感受性であり、原則としてバルク内のナノ粒子からの干渉はない。

【0036】

図1は、前述の技術を適用し、更に本発明によってデザインされる(センサ)装置100の第1の実施形態の断面図を概略的に示す。装置100は、(a)交換可能なカートリッジ110用のための収容スペースを有する読取器150と、(b)前記カートリッジ110とを有する。

40

【0037】

装置100は、カートリッジの処理チャンバ114を満たす試料流体(例えば血液)内に含まれる標的成分の検出のために用いられる。カートリッジ110は、処理チャンバ114の底面で処理チャンバ114に接し、処理表面115を提供する、透明基部111を含む。処理チャンバ114の側壁は、中間層112、例えば処理チャンバ及び付随する流体チャンネル(図示されていない)のための開口が切り込まれたテープで構成される。処理チャンバ114は、上面において(例えばプラスチックの)カバー113で覆われている。

50

【 0 0 3 8 】

処理表面 1 1 5 上に、少なくとも 1 つの結合領域 1 1 6 が配置される。結合領域 1 1 6 は、特定の物質が特異的に結合し得る、例えば抗体といった捕捉プローブを有する。これら特定の物質は、詳細には、物質の表面上にプローブ（抗体）を有する磁性粒子 M P であり、プローブは処理チャンバ 1 4 内の試料媒体から対象の標的成分を（特異的に）捕捉している。

【 0 0 3 9 】

図 1 は更に、ここでは結合領域 1 1 6 の下にある蹄鉄型磁石 1 5 3（2 つの磁極 1 5 3 a 及び 1 5 3 b を有する）と、結合領域 1 1 6 の上にある上方磁石 1 5 4 とを有する、磁場発生器を示す。これらの磁石の磁極は、処理チャンバ 1 1 4 内の磁場 B によって磁性粒子 M P が操作され得る当該磁場 B を発生させるため、読取器 1 5 0 の制御ユニット 1 5 5 によって個々に制御され得る。

10

【 0 0 4 0 】

図 1 は更に、入力光ビーム L 1 をカートリッジ 1 1 0 内へと放射するための光源 1 5 1 を示す。この入力光ビームは、結合領域 1 1 6 で内部全反射され、次いで光検出器 1 5 2 に向かう出力光ビーム L 2 としてカートリッジ 1 1 0 から離れる。これらの光ビームは、磁性粒子 M P と結合領域 1 1 6 の捕捉プローブと特異的に結合した、試料流体の標的成分を検出するために用いられ得る。このアッセイ及び減衰内部全反射（F T I R）による標的成分の光学的検出の更なる詳細は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、国際特許公開 W O 2 0 0 8 / 1 1 5 7 2 3 A 1 号公報において見つけることができる。

20

【 0 0 4 1 】

速い反応を生成するためには、標的分子（例えば心臓マーカ）を捕捉するためのプローブ（抗体）は多量である必要があり、結果としてバルク内の磁性粒子は多量である必要がある。これはいくつかの問題を引き起こす。

（ a ）カートリッジの不正確な位置合わせや、カートリッジ材料自体の中の不純物（例えばごく小さな気泡、傷）による散乱のために、入射光の一部は、表面の近くに限定されるのではなく、カートリッジの容積内へと散乱する恐れがある。これはバルク照明を引き起こす。バルク内の多量の磁性粒子（「ビードクラウド」）による散乱のために、したがってバルクからの光もまた検出される。これはバックグラウンドレベルを上げ、像のコントラストを減少させる。ビードクラウドの不均一な分布のために、バックグラウンドもまた不均一であろう。

30

（ b ）エバネッセント照明場は、表面までの距離とともに指数関数的に減衰する。典型的には、減衰長さは 1 0 0 n m のオーダーである。指数関数的な減衰は、表面上の磁性粒子の強度が、表面の上の高さの影響を非常に受けやすい原因となる。高さに依存する強度は、有用な情報（例えば結合長について）を与え得るが、これはまた、表面上の磁性粒子の一部のみが検出され得る原因となる。T I R 照明の代わりに追加的な手段としてカートリッジの上からの明視野照明を用いることにより、高さ依存は解消され得る。しかしながら、多量の自由ナノ粒子のために、明視野照明は妨害される。

（ c ）磁気洗浄の（すなわち、磁場が未結合粒子を表面から除去する）間、磁性粒子の垂直クラスタは、結合磁性粒子に付着される。これらの垂直クラスタの長さについての情報は、検出の性能を改善し得る。しかしながら、エバネッセント場の減衰の長さの短さのために、これらの垂直クラスタの大きさは不可視である。明視野照明を用いることにより（例えば対物レンズの可変焦点深度との組み合わせで）垂直クラスタの大きさの推定値が得られる。しかしながら、多量の自由磁性粒子のために、明視野照明は妨害される。

40

【 0 0 4 2 】

上記の問題に対処するために、処理チャンバからの反応の後又は場合により反応の間に、未結合ピーズ（磁性粒子）を除去することが提案される。超常磁性ピーズの性質のために、超常磁性ピーズは、外部磁場が付与されるとき、鎖を形成する。このことは、未結合磁性ピーズの一部が、結合領域上の結合ピーズに磁氣的に結合するので、視野からの全ての未結合磁性粒子の除去を妨害する恐れがある。1 つの解決方法は、ほんのわずかな部分

50

を依然として表面結合ビーズに結合させたまま、大過剰のビーズをなお除去することである。磁場を表面と垂直に付与するとき、ビーズは同じ配向で鎖を形成し、容易な検出を可能にする。

【 0 0 4 3 】

カートリッジはまた、官能化された表面からの未結合ビーズの沈降を可能にするために、傾斜され又は上下が逆さまにすらされ得る。その後磁場が付与されるとき、未結合ビーズは他の未結合ビーズとだけ鎖を形成し、したがって表面に結合したビーズから全ての未結合ビーズを除去する。このことは以下においてより詳細に説明されるであろう。

【 0 0 4 4 】

実験は、上下逆さまに置かれた設定における結合処理は、作動プロトコルがわずかに修正されるとき、同等にうまくなされ得ることを示した。上下逆さまにされた設定を用いることの利点は、重力が洗浄処理を改良し得ることである。

10

【 0 0 4 5 】

このことは、結合処理の直後の状況をスケッチする図 2 a) に示される。結合処理は、全ての粒子を結合領域 1 1 6 の近くに保つために磁力を用いるので、結合磁性粒子 M P 及び自由磁性粒子 M P は近接近して存在する。

【 0 0 4 6 】

図 2 b) では、自由粒子を表面から離れる方向に動かすために、磁気洗浄場 H がオンに切り替えられる。しかしながら、実際には、磁氣的クラスタリングが発生する。つまり、磁性粒子間の磁氣的相互作用のために、多数の自由ビーズが、表面に結合した粒子に磁氣的に結合する。したがって、これらの自由ビーズは除去されることができない。結合ビーズの近くのこれらの自由ビーズの存在は、結合ビーズの (光) 信号を歪める (例えば、結合ビーズの強度が変わる) 。

20

【 0 0 4 7 】

図 3 は、この問題が、重力を短時間用いることによってどのように解決され得るかを示す。図 3 a) は、開始状況である図 2 a) に対応する。

【 0 0 4 8 】

図 3 b) によると、結合処理の直後に、自由磁性粒子 M P を、結合領域 1 1 6 の結合磁性粒子 M P から、これらの間に相互作用力を有することなく、離れる方向に動かすために、重力 F_g が用いられる。

30

【 0 0 4 9 】

自由磁性粒子が結合粒子からある距離 D (典型的には、 $5 \sim 10 \mu m$ の距離で十分である) だけ動かされると、自由ビーズを表面から更に離れる方向に動かすために、磁気洗浄力 F_m が用いられ得る。これは図 3 c) に示される。

【 0 0 5 0 】

結合ビーズと自由ビーズとの間の距離 D は十分大きいので、磁氣的相互作用は無視できるようになる (磁氣的相互作用力 F_m は、粒子間の距離の 4 乗で減少する) 。表面は、付着した自由粒子のない結合粒子だけを含む。このとき (光) 信号は、表面上の結合ビーズの数に対するより良い表現となる。

【 0 0 5 1 】

40

典型的には、おおよそ、ビーズ直径の約 5 倍、すなわち $D^3 \propto d$ の、結合ビーズと自由ビーズとの間の距離 D が必要である。このときビーズ間の磁気引力は、磁氣的結合を防止するのに十分低い。

【 0 0 5 2 】

いくつかの数値の例は、次のとおりである。

$d = 500 \text{ nm}$ の直径を有するビーズに対しては、沈降速度は約 100 nm / 秒 である。このとき進むべき距離は、 $5 \cdot 500 \text{ nm} = 2500 \text{ nm}$ である。したがって、重力が働かなければならない時間は、 $2500 \text{ nm} / (100 \text{ nm / 秒}) = 25 \text{ 秒}$ である。

【 0 0 5 3 】

$d = 1000 \text{ nm}$ 、速度 400 nm / 秒 のビーズに対しては、進むべき距離は $= 50$

50

0 0 n mで、所要時間は5 0 0 0 / 4 0 0 秒 = 1 2 . 5 秒である。

【 0 0 5 4 】

したがって、タイムフレームは、ビーズの直径及び当然ビーズの密度（上記の計算では、典型的な密度である 1.8 g / cm^3 を用いた）に依存する。

【 0 0 5 5 】

未結合磁性ビーズを結合領域から除去するために重力を用いるとき、最初に中間磁場を短時間オンに切り替えることによって、改良が達成され得る。これは、磁性ビーズ、特に結合ビーズと未結合であるビーズとの鎖を形成する。次いで重力がその働きをすることが可能となる。鎖の（垂直の）配列及び鎖間の流体力学的結合のために、これらの鎖は、孤立した個々の磁性ビーズよりも速く「降下」する。最後に、ビーズを結合領域から離れる方向に引き付けるために、磁場は再びオンに切り替えられる。

10

【 0 0 5 6 】

通常の位置における、すなわち、処理表面 1 1 5 及び結合領域 1 1 6 が処理チャンバ 1 1 4 の下部に水平に配向されている設定では、重力はまた、自由な未結合磁性粒子を横方向移動によって、プリントされた場所（結合領域 1 1 6）から除去するためにも用いられ得る。これは図 4 に示される。表面 1 1 5 を傾斜させることによって、表面に沿って向けられる重力 F_g の成分が利用できるようになる。この力成分は、自由粒子 M P を、当該場所内の結合粒子 M P から離れる方向に動かす。図 2 と同様に、結合粒子と自由粒子との間の磁氣的相互作用が、自由ビーズを当該場所内の結合ビーズの近くに保つので、磁力ではこの効果を達成することができない。この効果は、当該場所内の結合ビーズの数が多いときに、より顕著である。

20

【 0 0 5 7 】

図 1 の装置 1 0 0 において、上記の原理は、制御ユニット 1 5 5 によって制御され、高さにおいて変化されることのできる、装置 1 0 0 の 1 つの脚として図に示される、「傾斜ユニット」1 5 6 の援助で実現され得る。したがって、結合領域 1 1 5 を有する装置 1 0 0 全体が、重力（z 方向）に対して傾斜され得る。

【 0 0 5 8 】

図 5 は、本発明の第 2 の実施形態によるセンサ装置 2 0 0 の側面図を概略的に示す。センサ装置 2 0 0 は、読取器 2 5 0 と、交換可能なカートリッジ 2 1 0 とを有する。カートリッジ 2 1 0 は、磁性粒子 M P を含む流体で満たされる処理チャンバ 2 1 4 と、結合領域 2 1 6 とを有する。更に、傾斜ユニット 2 5 6 が記号的に示され、当該傾斜ユニット 2 5 6 を用いて、カートリッジ 2 1 0 は読取器 2 5 0 に対して制御可能に傾斜されることができ

30

【 0 0 5 9 】

読取器 2 5 0 は、下方磁石 2 5 3 と上方磁石 2 5 4（洗浄磁石）とを有し、これらは、今度は両方とも蹄鉄型磁石である。この構成は、磁性ビーズ M P を光路から離れる方向に動かすとともに、結合領域 2 1 6 の真上に光源 2 5 1 を配置する機会を与える。したがって、結合ゾーンの真下の高 N A 対物レンズ 2 5 2 とともに用いられ得る、結合領域 2 1 6 の明視野照明が達成される（国際特許公開 W O 2 0 1 1 / 0 3 6 6 3 4 A 1 号公報参照）。

40

【 0 0 6 0 】

要約すると、上記のアプローチは、次の特徴によって特徴付けられる。

1．引力が粒子を結合領域から実質的に離れる方向に向けるような配置にある、抗体を有する結合領域を有すること。

2．磁性粒子が当該領域からビーズ直径 d の数個分を超えるだけ進むのに十分長い時間にわたって、「引力を付与する」（磁力はない）こと。

3．粒子を検出エリア（例えば散乱によって、粒子が検出信号に依然として干渉するエリアとして規定される）から大幅に離れる方向に向ける磁力を付与すること。

【 0 0 6 1 】

未結合磁性粒子の除去は、ビーズを処理チャンバ 1 1 4 から引き寄せる、中心から外れ

50

た磁場方向を形成するために、上方磁石 1 5 4（洗浄磁石）を下方磁石（蹄鉄型磁石 1 5 3）の磁極先端 1 5 3 a、1 5 3 b の一方との組み合わせで用いて、追加的又は代替的に、利用可能な電磁石によってなされてもよい。また、上方磁石のみを用いるか、あるいは下方磁石及び上方磁石の両方の組合せのいずれかによって、ビーズを反応エリアへ戻すことも可能である。

【0062】

したがって、本発明は、1 以上の次の特徴を有する、未結合ビーズを処理チャンバから除去するための方法に関する。

未結合ビーズは、磁力によって処理チャンバから除去される。

未結合ビーズは、蹄鉄型磁石の磁極先端のうちの 1 つを用いることにより視野外の磁場トラップを形成することによって、処理チャンバから除去される。

像のコントラストは、未結合ビーズを除去することによって高められる。

明視野照明は、未結合ビーズを除去することによって使用可能となる。

明視野照明は、未結合ビーズを部分的に除去することによって、すなわち、表面上の結合ビーズに連結する（限定的な）量の未結合ビーズの鎖を形成することによって、使用可能となる。

未結合ビーズの（部分的な）除去は、引力を用いることによって（例えば上下の磁石が逆にされる構成において）、使用可能となる。

【0063】

図 6 乃至図 8 は、上記の目的のうちのいくつかを達成するために、処理チャンバ 1 1 4 内に磁場を発生させ付与する、好ましい手順を示す。この手順は、通常の磁氣的作動（超常磁性ビーズの表面への最適な特異的結合を有する）及びオプションの中間ステップである、重力による粒子離隔の後に開始する。

【0064】

図 6 によると、最初に未結合ビーズを上方（洗浄）磁石 1 5 4 により処理チャンバ 1 1 4 の上部へ引き寄せることによって、未結合ビーズは、視野から離れる方向に引き寄せられ、このことは未結合ビーズを処理表面から除去するが、表面上方のバルクからは除去しない。

【0065】

図 7 によると、その後ビーズは、上方磁石 1 5 4 及び蹄鉄型磁石の一方の磁極先端 1 5 3 b の両方を用いることによって、処理チャンバの側方へ動かされ得る。加えて、上方磁石の利用は、少量の自由ビーズが、既に結合したビーズの上に鎖を形成するのを強制することができ、これら自由ビーズを検出に対して不可視にする。

【0066】

図 8 によると、その後ビーズは、蹄鉄型磁石の一方の磁極先端 1 5 3 b のみを用いることによって、チャンバの側方へ引き寄せられ得る。表面にほぼ平行な磁場のみの形成のために、未結合ビーズは、検出を妨害する表面と平行にある結合ビーズとの鎖を形成する。

【0067】

オプションとして、ビーズが視野から除去されることを保証するために、蹄鉄型磁石 1 5 3 の磁極先端のうちの 1 つと、上方磁石 1 5 4 とを、交互に切り替えてよい。

【0068】

要約すると、本発明は、磁性粒子が（特異的に）結合し得る結合領域を有する処理チャンバ内に提供される磁性粒子の処理のための、装置及び方法に関する。結合領域からの未結合磁性粒子の除去は、最初にこれら未結合磁性粒子を引力によって結合領域から離隔させ、次いでこれら未結合磁性粒子を磁力によって更に離れる方向に動かすことによって達成される。引力は、例えば傾斜ユニットを用いて結合領域を傾斜させることによって発生させられ得る。

【0069】

引力を用いることの背後にある基本的な発想は、表面上の結合ビーズへの自由ビーズの磁氣的付着を防止することである。通常、洗浄磁石がオンに切り替えられるとき、結合ビ

10

20

30

40

50

ーズ及び自由ビーズは磁化され、自由ビーズは結合ビーズに磁氣的に結合する。引力は、自由ビーズが結合ビーズから離れる方向に動くことを可能にし、したがって、未結合磁性粒子が結合磁性粒子とのクラスタにおいて捕捉されることを防止する。

【 0 0 7 0 】

本発明は、図面及び前述の説明において詳細に例示され説明されたが、こうした例示や説明は、例示的又は典型的であると考えられるべきであり、限定と考えられるべきではなく、本発明は、開示された実施形態に限定されない。当業者によって、特許請求された発明を実施するにあたり、図面、明細書、及び添付の請求項の研究から、開示された実施形態の他のバリエーションが理解され達成されることができ。請求項で、「有する」の文言は他の要素やステップを除外するものではなく、不定冠詞「a」又は「an」は複数を除外するものではない。特定の手段が、相互に異なる従属請求項に記載されているという単なる事実は、これらの手段の組み合わせを有利に使用できないことを意味するわけではない。請求項のいかなる参照符号も範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

10

【 図 1 】

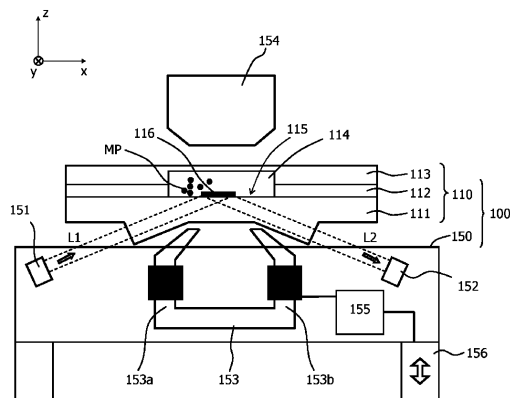
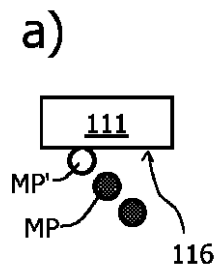
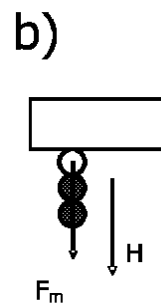


Fig. 1

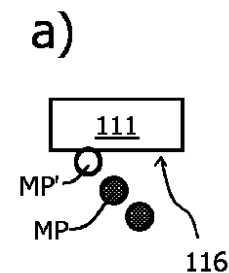
【 図 2 a) 】



【 図 2 b) 】

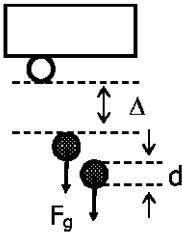


【 図 3 a) 】



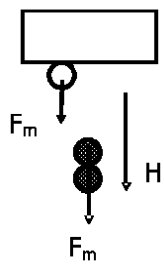
【図 3 b)】

b)



【図 3 c)】

c)



【図 4】

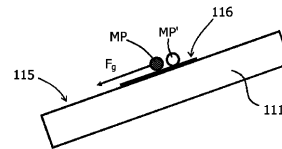


Fig. 4

【図 5】

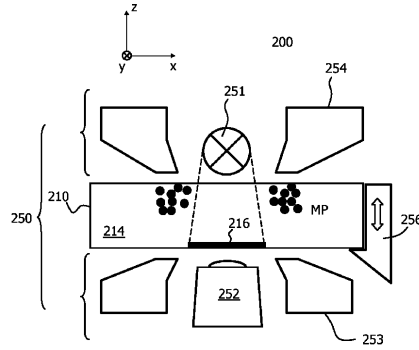


Fig. 5

【図 6】

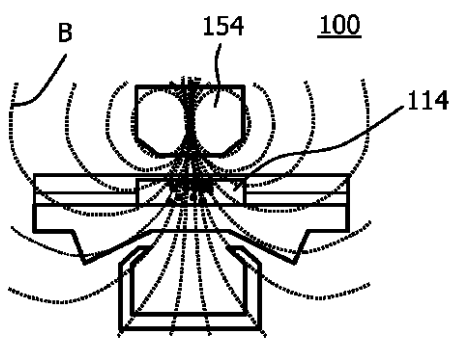


Fig. 6

【図 8】

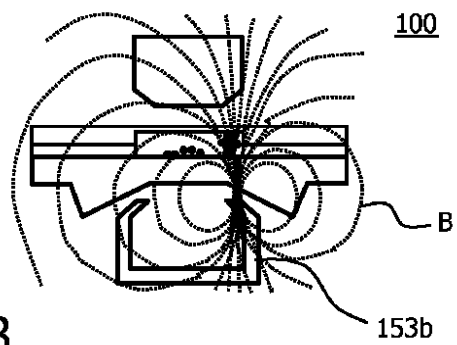


Fig. 8

【図 7】

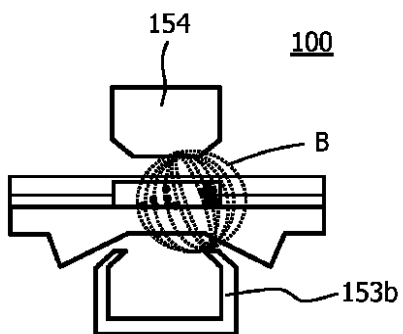


Fig. 7

フロントページの続き

- (72)発明者 バン リースハウト ロン マルティヌス ラウレンティウス
オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイ テック キャンパス 5
- (72)発明者 ファン ゾン ジョアネス バプティスト アドリアヌス ディオニシウス
オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイ テック キャンパス 5
- (72)発明者 エバーズ トーン ヘンドリック
オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイ テック キャンパス 5

審査官 横井 亜矢子

- (56)参考文献 特表 2 0 0 9 - 5 3 6 3 4 8 (J P , A)
米国特許第 0 5 4 4 5 9 7 1 (U S , A)
米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 1 6 5 3 4 5 (U S , A 1)
米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 1 7 0 2 1 2 (U S , A 1)
特開平 1 1 - 2 8 7 8 0 3 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 1 / 0 7 3 8 6 7 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G 0 1 N 2 1 / 0 0 - 2 1 / 0 1
G 0 1 N 2 1 / 1 7 - 2 1 / 6 1
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8
G 0 1 N 2 7 / 7 2 - 2 7 / 9 0
J a p i o - G P G / F X