

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7146743号

(P7146743)

(45)発行日 令和4年10月4日(2022.10.4)

(24)登録日 令和4年9月26日(2022.9.26)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/00

A Z N A

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/50

P

G 0 1 N 33/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/68

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

G 0 1 N 37/00

1 0 1

G 0 1 N 35/00 (2006.01)

G 0 1 N 35/00

B

請求項の数 24 (全105頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-515808(P2019-515808)

(86)(22)出願日 平成29年9月20日(2017.9.20)

(65)公表番号 特表2020-501511(P2020-501511  
A)

(43)公表日 令和2年1月23日(2020.1.23)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/052555

(87)国際公開番号 WO2018/057647

(87)国際公開日 平成30年3月29日(2018.3.29)

審査請求日 令和2年9月23日(2020.9.23)

(31)優先権主張番号 62/399,047

(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/398,959

(32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

最終頁に続く

(73)特許権者 517119545

アルヴェオ テクノロジーズ インコーポ  
レイテッドALVEO TECHNOLOGIES  
INC.

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4

5 0 1 アラメダ, アトランティック ア

ヴェニュー 1 0 0 0 スイート 1 1 4

(74)代理人 100077012

弁理士 岩谷 龍

(72)発明者 ピアソン, シャッド

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォル

ニア州 アラメダ, アトランティック ア

ヴェニュー 1 0 0 0 スイート 1 1 4

(72)発明者 ミーハン, ティモシー, ディー .

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 分析種を検出するための方法および組成物

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

核酸を検出するためのシステムであって、

該システムが分析カートリッジおよび読取装置を含むこと、

前記分析カートリッジが励起電極と検出電極とを含有する試験ウェルを含み、該試験ウェルが増幅プロセスに供される核酸を含む試料を含有するよう構成されていること、ならびに

前記読取装置が

分析カートリッジを受け入れる領域と、

使用時に分析カートリッジを加熱するよう前記領域内に位置付けられたヒーターと、 10

少なくともコンピュータ可読な記憶命令を格納するメモリと、

前記命令によって、少なくとも

試験ウェル内で増幅プロセスが行われるよう、ヒーターによって、分析カートリッジを所定の温度まで加熱し、

増幅プロセスの実行時間の少なくとも一部にわたって励起電極に励起電流を供給し、

検出電極から、少なくとも試験ウェル内の試料により減衰した励起電流を表す信号を受信し、

該信号を抵抗成分とリアクタンス成分とに分解し、

リアクタンス成分を分析し、増幅プロセスの実行時間の前記少なくとも一部に 20

において、核酸を含む陽性試料であることを示す信号のクリフがリアクタンス成分に含まれるか否かを判定し、かつ

信号のクリフが生じたと判定された場合には陽性であるという試験結果を出力し、信号のクリフが生じなかったと判定された場合には陰性であるという試験結果を出力する

よう構成されたプロセッサと

を含むこと

を特徴とするシステム。

【請求項 2】

前記分析カートリッジが、試料を受け入れるよう構成された試料導入部と、該試料導入部と試験ウェルとを流体連通させる流路とをさらに含む、請求項 1 に記載のシステム。

10

【請求項 3】

前記分析カートリッジが、前記増幅プロセス用の液体成分を含有する密封チャンバをさらに含み、該密封チャンバが、分析カートリッジにおいて前記流路へと通じる開口部を有する領域に位置し、前記試料導入部が、流路に沿って開口部と試験ウェルとの間に位置すること、

前記分析カートリッジが、空気インターフェースと該分析カートリッジにおける前記領域とを流体連通させる空気流路をさらに含むこと、ならびに

試験ウェルに、前記増幅プロセス用の乾燥成分が供給されること

を特徴とする、請求項 2 に記載のシステム。

20

【請求項 4】

前記読取装置が空気インターフェースを通じて圧力を加えるよう構成された空気圧システムを含み、前記プロセッサがさらに、前記命令によって少なくとも

前記密封チャンバを破裂させて前記液体成分を前記分析カートリッジの前記領域に流入させるよう位置付けられた作動装置に連結されたモータを作動させ、

前記空気圧システムを作動させて、前記液体成分を前記流路に流入させ、かつ前記試料導入部で受け入れた試料を試験ウェルへと搬送するよう構成されている、

請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記分析カートリッジが、流路に沿って試料導入部と試験ウェルとの間に位置付けられた混合チャンバをさらに含み、該混合チャンバが、前記液体成分と前記試料とを混合して実質的に均一に混合された試験流体とするよう構成されている、請求項 4 に記載のシステム。

30

【請求項 6】

前記分析カートリッジが、前記励起電極に通じる第 1 の接続パッドと、前記検出電極に通じる第 2 の接続パッドとを含む第 1 の電極インターフェースを含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 7】

前記読取装置が、前記第 1 の電極インターフェースを介して、該読取装置の前記領域に受け入れられた分析カートリッジと連結されるよう構成されている第 2 の電極インターフェースを含む、請求項 6 に記載のシステム。

40

【請求項 8】

前記読取装置が、励起電流を生成するよう構成された電圧源をさらに含み、前記第 2 の電極インターフェースが、

電圧源に連結され、かつ前記第 1 の接続パッドに連結するよう位置付けられた第 3 の接続パッドと、

メモリに連結され、かつ前記第 2 の接続パッドに連結するよう位置付けられた第 4 の接続パッドと

を含む、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 9】

50



前記信号を抵抗成分とリアクタンス成分とに分解するために、前記プロセッサがさらに、前記命令によって少なくとも

試料のインピーダンスを示す信号のサンプリングを、該信号のナイキスト周波数よりも速く行い、

該信号を同相成分と異相成分とに分解し、かつ

該同相成分に基づいて抵抗成分を計算し、該異相成分に基づいてリアクタンス成分を計算する

よう構成されている、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 10】

リアクタンス成分を計算するために、前記プロセッサがさらに、前記命令によって少なくとも、メモリ内に格納されている信号のクリフに関する所定の期待特性にアクセスするよう構成されている、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のシステム。

10

【請求項 11】

前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性が、増幅プロセスの前記実行時間において信号のクリフが生じると予測される時間枠を含む、請求項 10 に記載のシステム。

【請求項 12】

前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性が、リアクタンス成分の値の閾値変化を含む、請求項 10 または 11 に記載のシステム。

【請求項 13】

20

前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性が、増幅プロセスの前記実行時間の前記少なくとも一部を通してサンプリングされたリアクタンス成分の値を示す曲線の閾値勾配を含む、請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 14】

前記増幅プロセスが、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 15】

前記増幅プロセスが等温増幅を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 16】

核酸を検出するための方法であって、

30

励起電極と検出電極とを含む試験ウェルを含むカートリッジを提供すること、  
核酸を含む試料を前記カートリッジに導入すること、

読取装置に前記カートリッジを挿入すること、

前記試験ウェル内の前記試料に含まれている核酸の増幅を行うこと、

前記読取装置からの励起信号を前記励起電極に印加すること、

前記励起電極を使用して、前記試験ウェルからの信号すなわち増幅に供されている試料のインピーダンスを示す信号を検出すること、

前記読取装置に前記信号を伝送すること、および

前記読取装置に基づいて前記核酸を検出し、核酸の増幅の実行時間の少なくとも一部において、核酸を含む陽性試料であることを示す信号のクリフが前記インピーダンスのリアクタンス部分に含まれるか否かを判定すること

40

を含む方法。

【請求項 17】

前記カートリッジの試料導入部に前記試料を導入すること、

前記カートリッジ内の密封チャンバを破裂させて、前記増幅プロセス用の液体成分を該カートリッジの流路へと放出すること、および

前記試験ウェルに通じる前記流路に沿って前記液体成分と前記試料とを流れさせ、それによって該液体成分と該試料とを混合し、試験流体とすること

をさらに含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

50

前記試験ウェル内に供給された増幅プロセスの乾燥成分を、前記試験流体で水和させることをさらに含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記試験流体内にトラップされている気体を、前記試験ウェルと流体連通している通気口を通じて押し出すことをさらに含む、請求項 16 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記増幅プロセスの所定の時間枠におけるリアクタンス部分に基づいて生成されたリアクタンス曲線の一部に基づいてリアクタンスの上昇または下降を示す信号のクリフを同定することをさらに含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

前記増幅プロセスが、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む、請求項 16 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

前記増幅プロセスが等温増幅を含む、請求項 16 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記増幅プロセスの前記液体成分が、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される成分を含む、請求項 17 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記増幅プロセスの前記乾燥成分が、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される成分を含む、請求項 18 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、「ウイルス標的を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 398 , 959 号、「バクテリア標的を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 399 , 047 号、「抗原を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 398 , 925 号、「寄生生物を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 398 , 913 号、「マイクロ RNA を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 398 , 955 号、ならびに「農業関連の分析種を検出するための方法および組成物」と題された 2016 年 9 月 23 日出願の米国特許仮出願 62 / 398 , 965 号に基づく優先権を主張するものであり、これらはいずれも参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0002】

配列表の参照

本出願は、配列表と共に、電子的に提出される。この配列表は、2017 年 9 月 13 日に作成された ALVEO010WOSEQ という名称のファイルとして提供される。このファイルのサイズは、約 4 キロバイトである。この配列表の電子形式の情報は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0003】

分野

本出願は概して、病原体、ゲノム物質、タンパク質、および / または他の小分子もしくはバイオマーカーを検出および / または同定するための診断のためのシステム、方法およびデバイスを対象とする。いくつかの実施形態において、低価格の省スペース型デバイスにより、迅速かつロバストな検出および同定が提供される。そのようなデバイスは、医療の分野において、医療の現場であるいは現場により近い場所で、1 つ以上の標的を一度に

10

20

30

40

50

検出するために、マイクロ流体力学、生化学および電子工学を利用しうる。

【背景技術】

【0004】

特定のゲノム物質（DNAまたはRNA）を検出することにより、試料中に存在する病原体が同定されるかもしれない。病原体の検出の域を越えて、がんを早期に発見したり、出生前の重大な情報を得たり、患者の微生物叢についての理解を深めたりするための分子を含む、他の多くのバイオマーカーを、試験に利用することができる。従来の核酸試験（「NAT」）では、試料中に存在するゲノム物質はまず、存在するDNAが十分に測定可能な量になるまで、ポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）として知られている分子増幅の手法を使用して、指数関数的に複製されることもある。多くのウイルスのゲノム物質であるRNAの場合には、PCRによる増幅に先立ってまず該RNAをDNAに転写するためのさらなる工程が含まれることもある。

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

いくつかの実施形態は、標的物質を検出するためのシステムを含み、該システムは、分析カートリッジおよび読取装置を含むこと、前記分析カートリッジが励起電極と検出電極とを含有する試験ウェルを含み、該試験ウェルが増幅プロセスに供される標的物質を含む試料を含有するよう構成されていること、ならびに前記読取装置が、分析カートリッジからの受信を行う領域と、使用時に分析カートリッジを加熱するようキャビティ内に位置付けられたヒーターと、少なくともコンピュータ可読な記憶命令を格納するメモリと、プロセッサとを含み、該プロセッサが前記命令によって、少なくとも、試験ウェル内で増幅プロセスが行われるよう、ヒーターによって、分析カートリッジを所定の温度まで加熱し、増幅プロセスの実行時間の少なくとも一部にわたって励起電極に励起電流を供給し、検出電極から、少なくとも試験ウェル内の試料により減衰した励起電流を表す信号を受信し、該信号を抵抗成分とリアクタンス成分とに分解し、リアクタンス成分を分析し、増幅プロセスの実行時間の前記少なくとも一部において試料が標的物質を含むことを示す信号のクリフが生じているか否かを判定し、かつ信号のクリフが生じたと判定された場合には陽性であるという試験結果を出力し、信号のクリフが生じなかったと判定された場合には陰性であるという試験結果を出力するよう構成されていること

を特徴とする。

20

30

【0006】

いくつかの実施形態において、前記分析カートリッジは、試料を受け入れるよう構成された試料導入部と、試料導入部と試験ウェルとを流体連通させる流路とをさらに含む。

【0007】

いくつかの実施形態において、前記分析カートリッジは、前記増幅プロセス用の液体成分を含有する密封チャンバをさらに含み、該密封チャンバは、分析カートリッジにおいて前記流路へと通じる開口部を有する領域に位置し、前記試料導入部は、流路に沿って開口部と試験ウェルとの間に位置し、前記分析カートリッジはまた、空気インターフェースと該分析カートリッジにおける前記領域とを流体連通させる空気流路を含み、該領域において前記増幅プロセス用の乾燥成分が試験ウェルに供給される。

40

【0008】

いくつかの実施形態において、前記読取装置は、空気インターフェースを通じて圧力を加えるよう構成された空気圧システムを含み、前記プロセッサはさらに、前記命令によって少なくとも、前記密封チャンバを破裂させて前記液体成分を前記分析カートリッジの前記領域に流入させるよう位置付けられた作動装置に連結されたモータを作動させ、前記空気圧システムを作動させて、前記液体成分を前記流路に流入させ、かつ前記試料導入部で受け入れた試料を試験ウェルへと搬送するよう構成されている。

【0009】

いくつかの実施形態において、前記分析カートリッジは、流路に沿って試料導入部と試

50

験ウェルとの間に位置付けられた混合チャンバをさらに含み、該混合チャンバは、前記液体成分と前記試料とを混合して実質的に均一に混合された試験流体とするよう構成されている。

【 0 0 1 0 】

いくつかの実施形態において、前記分析カートリッジは、前記励起電極に通じる第 1 の接続パッドと、前記検出電極に通じる第 2 の接続パッドとを含む第 1 の電極インターフェースを含む。

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態において、前記読取装置は、前記第 1 の電極インターフェースを介して、該読取装置の前記領域に受け入れられた分析カートリッジと連結されるよう構成されている第 2 の電極インターフェースを含む。

10

【 0 0 1 2 】

いくつかの実施形態において、前記読取装置は、励起電流を生成するよう構成された電圧源をさらに含み、前記第 2 の電極インターフェースは、電圧源に連結され、かつ前記第 1 の接続パッドに連結するよう位置付けられた第 3 の接続パッドと、メモリに連結され、かつ前記第 2 の接続パッドに連結するよう位置付けられた第 4 の接続パッドとを含む。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態において、前記信号を抵抗成分とリアクタンス成分とに分解するために、前記プロセッサはさらに、前記命令によって少なくとも、試料のインピーダンスを示す信号のサンプリングを該信号のナイキスト周波数よりも速く行い、該信号を同相成分と異相成分とに分解し、かつ該同相成分に基づいて抵抗成分を計算し、該異相成分に基づいてリアクタンス成分を計算するよう構成されている。

20

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態において、リアクタンス成分を計算するために、前記プロセッサはさらに、前記命令によって少なくとも、メモリ内に格納されている信号のクリフに関する所定の期待特性にアクセスするよう構成されている。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、増幅プロセスの前記実行時間において信号のクリフが生じると予測される時間枠を含む。

30

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、リアクタンス成分の値の閾値変化を含む。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、増幅プロセスの前記実行時間の少なくとも一部を通してサンプリングされたリアクタンス成分の値を示す曲線の閾値勾配を含む。

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、前記検出可能な核酸は、増幅される。

40

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、自律配列複製反応 ( 3 S R ) ; 9 0 - I ; B A D 増幅 ; 交差プライミング増幅 ( C P A ) ; 等温指数関数的増幅反応 ( E X P A R ) ; 等温キメラプライマー開始核酸増幅 ( I C A N ) ; 等温多置換増幅 ( I M D A ) ; ライゲーション媒介 S D A ; 多置換増幅 ; ポリメラーゼスパイラル反応 ( P S R ) ; 制限カスケード指数関数的増幅 ( R C E A ) ; スマート増幅法 ( S M A P 2 ) ; 単一プライマー等温増幅 ( S

50

P I A ) ; 転写ベースの増幅系 ( T A S ) ; 転写媒介増幅 ( T M A ) ; リガーゼ連鎖反応 ( L C R ) ; および交差多置換増幅 ( M C D A ) からなる群から選択される等温増幅反応を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、ループ媒介等温増幅 ( L A M P ) を含む。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態において、前記試験ウェル内で前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、30 よりも高い。いくつかの実施形態において、いくつかの実施形態において、前記試験ウェル内で前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、37 よりも高い。いくつかの実施形態において、前記試験ウェル内で前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、60 よりも高い。いくつかの実施形態において、前記試験ウェル内で前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、60 ~ 70 の範囲内にある。

10

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記液体成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記乾燥成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

20

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態は、試料中の標的物質の有無を調べるためのデバイスを含み、該デバイスは、標的物質を含む試料を受け入れるよう構成された試料導入部；励起電極と検出電極とを含有する試験ウェル；および前記試料導入部と前記試験ウェルとを流体連通させる流路を含むこと、ならびに該試験ウェルが、増幅プロセスの間、試料を含有し、該増幅プロセスの間、前記励起電極を使用して試料に電流を流し、かつ前記検出電極を使用して、少なくとも試験ウェル内の試料により減衰した電流を表す信号を検出することを特徴とする。

【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態は、前記増幅プロセス用の液体成分を含有する密封チャンバと、前記試験ウェル内に供給される、増幅プロセス用の乾燥成分とをさらに含み、前記密封チャンバは、当該デバイスにおいて前記流路へと通じる開口部を有する領域に位置し、前記試料導入部は、流路に沿って開口部と試験ウェルとの間に位置する。

30

【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態は、前記密封チャンバを破裂させることによって前記液体成分を前記領域に流入させるための鋭利部分と、前記空気インターフェースと当該デバイスの前記領域とを流体連通させる空気流路とをさらに含み、該空気流路は、前記領域に圧力を加えることによって前記液体成分を前記流路に流入させ、かつ前記試料導入部で受け入れた試料を試験ウェルへと搬送するよう構成されている。

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態は、流路に沿って試料導入部と試験ウェルとの間に位置付けられた混合チャンバをさらに含み、該混合チャンバは、前記液体成分と前記試料とを混合して実質的に均一に混合された試験流体とするよう構成されている。

40

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施形態において、前記分析カートリッジは、前記励起電極に通じる第1の接続パッドと、前記検出電極に通じる第2の接続パッドとを含む第1の電極インターフェースを含む。

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態は、励起電極と検出電極とを含む回路基板をさらに含み、前記試料導入部と、前記流路の少なくとも一部とは液体不浸透性材料で一体に形成されており、前

50

記回路基板は、該液体不浸透性材料の一部に接着されている。

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態は、前記液体不浸透性材料と前記回路基板との上に位置するカバーをさらに含み、該カバーは、前記試料導入部の上に位置付けられた開口部と、該開口部を開放可能に密封するよう構成されたキャップとを含む。

【 0 0 3 0 】

いくつかの実施形態において、前記試験ウェルの側面は、前記液体不浸透性材料に設けられた円形開口部として形成され、該試験ウェルの底面は、前記回路基板によって形成されている。

【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極および前記検出電極は、前記試験ウェルの底面上に、該試験ウェルの側面から離れて位置付けられている。

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極および前記検出電極は、前記回路基板の下位層と実質的に同一平面状にあるよう構成されている。

【 0 0 3 3 】

いくつかの実施形態は、前記試験ウェルから気体を放出するよう構成されている通気口をさらに含み、該通気口が、液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタで覆われている。

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極は、前記ウェルの中心に配置された円形電極を含み、前記検出電極は、該励起電極を囲むよう同心に位置付けられた環状電極を含む。

【 0 0 3 5 】

いくつかの実施形態において、前記環状電極は、該環状電極の半径とほぼ等しい間隙によって前記円形状電極から隔てられている。

【 0 0 3 6 】

いくつかの実施形態において、前記環状電極は、該環状電極の半径の少なくとも 2 倍の間隙によって前記円形状電極から隔てられている。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極は第 1 の半円電極を含み、前記検出電極は、該第 1 の半円電極から間隙によって隔てられた第 2 の半円電極を含み、該第 1 の半円電極と該第 2 の半円電極の直線部分は、該間隙を挟んで互いに対面している。

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極は第 1 の線状電極を含み、前記検出電極は、該第 1 の線状電極から間隙によって隔てられた第 2 の線状電極を含む。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態において、前記励起電極は第 1 の方形電極を含み、前記検出電極は、該第 1 の線状電極から間隙によって隔てられた第 2 の方形電極を含む。

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、前記検出可能な核酸は、増幅される。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、自律配列複製反応 ( 3 S R ) ; 9 0 - I ; B A D 増幅 ; 交差プライミング増幅 ( C P A ) ; 等温指数関数的増幅反応 ( E X P A R ) ; 等温キメラプライマー開始核酸増幅 ( I C A N ) ; 等温多置換増幅 ( I M D A ) ; ライゲーション媒介 S D A ; 多置換増幅 ; ポリメラーゼスプライラル反応 ( P S R ) ; 制限カスケード指数関数的増幅 ( R C E A ) ; スマート増幅法 ( S M A P 2 ) ; 単一プライマー等温増幅 (

10

20

30

40

50

S P I A ) ; 転写ベースの増幅系 ( T A S ) ; 転写媒介増幅 ( T M A ) ; リガーゼ連鎖反応 ( L C R ) ; および交差多置換増幅 ( M C D A ) からなる群から選択される等温増幅反応を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、ループ媒介等温増幅 ( L A M P ) を含む。

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態において、前記試験ウェルは、前記試料を 3 0 よりも高い温度まで加熱するよう構成されている。いくつかの実施形態において、前記試験ウェルは、前記試料を 3 7 よりも高い温度まで加熱するよう構成されている。いくつかの実施形態において、前記試験ウェルは、前記試料を 6 0 よりも高い温度まで加熱するよう構成されている。いくつかの実施形態において、前記試験ウェルは、前記試料を 6 0 ~ 7 0 の範囲にある温度まで加熱するよう構成されている。

10

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記液体成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記乾燥成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態は、命令を格納している非一時的コンピュータ可読媒体を含み、該媒体は、標的物質を含む試料と試験ウェルとを含有する分析カートリッジを受け入れるよう構成されている読取装置による実行時に、該読取装置に、試験ウェル内で行われる増幅プロセスの実行時間の少なくとも一部にわたって、試験ウェル内に位置する励起電極に励起電流を供給すること、試験ウェル内に位置する検出電極から、少なくとも試験ウェル内で増幅プロセスに供されている試料により減衰した励起電流を表す信号を受信すること、該信号を抵抗成分とリアクタンス成分とに分解すること、リアクタンス成分を分析し、増幅プロセスの実行時間の前記少なくとも一部において試料が標的物質を含むことを示す信号のクリフが生じているか否かを判定すること、および信号のクリフが生じたと判定された場合には陽性であるという試験結果を出力し、信号のクリフが生じなかったと判定された場合には陰性であるという試験結果を出力することを含む操作を実行させる。

20

30

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態において、前記操作は、増幅プロセスが行われるよう、ヒーターによって前記分析カートリッジを所定の温度まで加熱することをさらに含む。

【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態において、前記操作は、前記陽性であるという試験結果または前記陰性であるという試験結果をネットワーク上で伝送することをさらに含む。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態において、前記操作は、試料のインピーダンスを示す信号のサンプリングを、該信号のナイキスト周波数よりも速く行うこと、該信号を同相成分と異相成分とに分解すること、および該同相成分に基づいて抵抗成分を計算し、該異相成分に基づいてリアクタンス成分を計算することをさらに含む。

40

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態において、リアクタンス成分を分析するための前記操作は、メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性にアクセスすることをさらに含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、増幅プロセスの実行時間において信号のクリフが生じると予測される時間枠を含む。

50

## 【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、リアクタンス成分の値の閾値変化を含む。

## 【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、前記メモリ内に格納されている、信号のクリフに関する所定の期待特性は、増幅プロセスの前記実行時間の少なくとも一部を通してサンプリングされたリアクタンス成分の値を示す曲線の閾値勾配を含む。

## 【 0 0 5 3 】

いくつかの実施形態において、前記操作は、空気圧システムを作動させて前記分析カートリッジの流路に圧力を加えることによって、前記試料を前記増幅プロセスの成分と混合し、かつ前記試験ウェル内へと流入させることをさらに含む。

10

## 【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態において、前記操作は、モータを作動させて作動装置を分析カートリッジのプリスターパックに押し込み、前記増幅プロセス用の液体成分を流路内へと放出することをさらに含む。

## 【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、前記検出可能な核酸は、増幅される。

20

## 【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、自律配列複製反応 ( 3 S R ) ; 9 0 - I ; B A D 増幅 ; 交差プライミング増幅 ( C P A ) ; 等温指数関数的増幅反応 ( E X P A R ) ; 等温キメラプライマー開始核酸増幅 ( I C A N ) ; 等温多置換増幅 ( I M D A ) ; ライゲーション媒介 S D A ; 多置換増幅 ; ポリメラーゼスパイラル反応 ( P S R ) ; 制限カスケード指数関数的増幅 ( R C E A ) ; スマート増幅法 ( S M A P 2 ) ; 単一プライマー等温増幅 ( S P I A ) ; 転写ベースの増幅系 ( T A S ) ; 転写媒介増幅 ( T M A ) ; リガーゼ連鎖反応 ( L C R ) ; および交差多置換増幅 ( M C D A ) からなる群から選択される等温増幅反応を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、ループ媒介等温増幅 ( L A M P ) を含む。

30

## 【 0 0 5 7 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、30 よりも高い。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、37 よりも高い。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、60 よりも高い。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスを実施するための前記所定の温度は、60 ~ 70 の範囲内にある。

## 【 0 0 5 8 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記液体成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

40

## 【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される乾燥成分をさらに含む。

## 【 0 0 6 0 】

いくつかの実施形態は、標的物質を検出するための方法を含み、該方法は、励起電極と検出電極とを含む試験ウェルを含むカートリッジを提供すること、標的物質を含む試料を前記カートリッジに導入すること、読取装置に前記カートリッジを挿入すること、前記試

50



験ウェル内の前記試料に含まれている標的物質の増幅を行うこと、前記読取装置からの励起信号を前記励起電極に印加すること、前記励起電極を使用して、前記試験ウェルからの信号すなわち増幅に供されている試料のインピーダンスを示す信号を検出すること、前記読取装置に前記信号を伝送すること、および前記インピーダンスのリアクタンス部分を分析する前記読取装置に基づいて前記標的物質を検出することを含む。

【0061】

いくつかの実施形態は、前記カートリッジの試料導入部に前記試料を導入すること、前記カートリッジ内の密封チャンバを破裂させて、前記増幅プロセス用の液体成分を該カートリッジの流路へと放出すること、および前記試験ウェルに通じる流路に沿って前記液体成分と前記試料とを流れさせ、それによって該液体成分と該試料とを混合し、試験流体とすることをさらに含む。

10

【0062】

いくつかの実施形態は、前記試験ウェル内に供給された増幅プロセス用の乾燥成分を、前記試験流体で水和させることをさらに含む。

【0063】

いくつかの実施形態は、前記試験流体内にトラップされている気体を、前記試験ウェルと流体連通している通気口を通じて押し出すことをさらに含む。

【0064】

いくつかの実施形態は、前記信号のリアクタンス部分を分析して、陽性である試験結果を示す信号のクリフを同定することをさらに含む。

20

【0065】

いくつかの実施形態は、前記増幅プロセスの所定の時間枠における値の閾値変化および/または時間的な位置よりも大きなリアクタンス部分に基づいて生成された曲線の一部に基づいて信号のクリフを同定することをさらに含む。

【0066】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択されるいくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、前記検出可能な核酸は、増幅される。

30

【0067】

いくつかの実施形態において、前記増幅は、等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅は、自律配列複製反応(3SR); 90-I; BAD増幅; 交差プライミング増幅(CPA); 等温指数関数的増幅反応(EXPAR); 等温キメラプライマー開始核酸増幅(ICAN); 等温多置換増幅(IMDA); ライゲーション媒介SDA; 多置換増幅; ポリメラーゼスパイラル反応(PSR); 制限カスケード指数関数的増幅(RCEA); スマート増幅法(SMAP2); 単一プライマー等温増幅(SPIA); 転写ベースの増幅系(TAS); 転写媒介増幅(TMA); リガーゼ連鎖反応(LCR); および交差多置換増幅(MCDA)からなる群から選択される等温増幅反応を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスは、ループ媒介等温増幅(LAMP)を含む。

40

【0068】

いくつかの実施形態において、前記標的物質の増幅を行うことは、前記試料を30よりも高い温度まで加熱することを含む。いくつかの実施形態において、前記標的物質の増幅を行うことは、前記試料を37よりも高い温度まで加熱することを含む。いくつかの実施形態において、前記標的物質の増幅を行うことは、前記試料を60よりも高い温度まで加熱することを含む。いくつかの実施形態において、前記標的物質の増幅を行うことは、前記試料を60 ~ 70の範囲にある温度まで加熱することを含む。

【0069】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記液体成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およ

50

びポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

【0070】

いくつかの実施形態において、前記増幅プロセスの前記乾燥成分は、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体、プライマーなどの核酸、緩衝液、およびポリメラーゼなどの酵素からなる群から選択される。

【0071】

いくつかの実施形態は、標的物質を検出するための方法を含み、該方法は、励起電極と検出電極とを含むデバイスを提供すること、標的物質を含む試料を前記デバイスに導入すること、前記デバイス内の試料を処理すること、および処理を施した前記試料の電気特性を測定することによって当該標的を検出することを含む。

10

【0072】

いくつかの実施形態において、前記電気特性は、複素アドミタンス、インピーダンス、導電率、抵抗率、抵抗および比誘電率からなる群から選択される。

【0073】

いくつかの実施形態において、前記電気特性は、複素アドミタンスである。

【0074】

いくつかの実施形態において、検出は、前記励起電極に励起信号を印加することを含む。

【0075】

いくつかの実施形態において、前記励起信号は、交流電流を含む。

【0076】

いくつかの実施形態において、前記励起信号は、直流電流を含む。

20

【0077】

いくつかの実施形態において、前記励起信号は、電圧および周波数が変化するスイープ信号を含む。

【0078】

いくつかの実施形態において、検出は、前記検出電極における誘導電流を測定することを含む。

【0079】

いくつかの実施形態において、前記電気特性は、一定の時間にわたって測定される。

【0080】

いくつかの実施形態において、少なくとも1つの電極は、不動態化されている。

30

【0081】

いくつかの実施形態において、前記電極は、誘電材料で不動態化されている。

【0082】

いくつかの実施形態において、前記電極は、酸化チタンで不動態化されている。

【0083】

いくつかの実施形態において、検出は、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、磁気ビーズを含む。

【0084】

いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、検出は、前記検出可能な核酸を増幅することを含む。

40

【0085】

いくつかの実施形態において、前記増幅は、等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅は、ループ媒介等温増幅(LAMP)を含む。いくつかの実施形態において、前記処理した試料は、低イオン溶液を含む。

【0086】

いくつかの実施形態において、前記処理した試料は、硫酸アンモニウムを含まない。

【0087】

50

いくつかの実施形態において、検出は、前記試料を、該試料を含む溶液の導電率の変化を増大させる物質と接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記物質は、無機ピロリン酸と結合する。いくつかの実施形態において、前記物質は、 $Cd^{2+}$  - サイクレン - クマリン；ビス(2 - ピリジルメチル)アミン(DPA)単位を有する $Zn^{2+}$ 錯体；DPA -  $2Zn^{2+}$  - フェノキシド；アクリジン - DPA -  $Zn^{2+}$ ；DPA -  $Zn^{2+}$ ピレン；およびアザクラウン -  $Cu^{2+}$ 錯体からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記物質は、2 - アミノ - 6 -メルカプト - 7 - メチルプリンリボヌクレオシドを含む。

#### 【0088】

いくつかの実施形態は、周波数依存性容量結合非接触導電率検出デバイスを使用して標的物質を検出する方法を含み、該方法は、標的物質を含む試料を前記デバイスに導入すること、前記デバイス内の試料を処理すること、および該試料の周波数依存性容量結合非接触導電率を分析することによって標的を検出することを含む。

10

#### 【0089】

いくつかの実施形態において、処理は、前記試料中の前記標的物質を濃縮すること、前記試料から非標的物質を除去すること、細胞を溶解させること、タンパク質を沈殿させること、および防腐剤を加えることからなる群から選択される工程を含む。

#### 【0090】

いくつかの実施形態において、検出は、処理を施した前記試料を捕捉プローブと接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、抗体またはその抗体の抗原結合性フラグメント、タンパク質受容体および核酸からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記捕捉プローブは、検出可能な核酸を含む。いくつかの実施形態において、検出は、前記検出可能な核酸を増幅することを含む。

20

#### 【0091】

いくつかの実施形態において、前記増幅は、等温増幅を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅は、自律配列複製反応(3SR)；90 - I；BAD増幅；交差プライミング増幅(CPA)；等温指数関数的増幅反応(EXPAR)；等温キメラプライマー開始核酸増幅(ICAN)；等温多置換増幅(IMDA)；ライゲーション媒介SDA；多置換増幅；ポリメラーゼスパイラル反応(PSR)；制限カスケード指数関数的増幅(RCEA)；スマート増幅法(SMAP2)；単一プライマー等温増幅(SPIA)；転写ベースの増幅系(TAS)；転写媒介増幅(TMA)；リガーゼ連鎖反応(LCR)；および交差多置換増幅(MCDA)からなる群から選択される等温増幅反応を含む。いくつかの実施形態において、前記増幅は、ループ媒介等温増幅(LAMP)を含む。

30

#### 【0092】

いくつかの実施形態において、検出は、前記試料を、該試料を含む溶液の導電率の変化を増大させる物質と接触させることを含む。いくつかの実施形態において、前記物質は、無機ピロリン酸と結合する。いくつかの実施形態において、前記物質は、 $Cd^{2+}$  - サイクレン - クマリン；ビス(2 - ピリジルメチル)アミン(DPA)単位を有する $Zn^{2+}$ 錯体；DPA -  $2Zn^{2+}$  - フェノキシド；アクリジン - DPA -  $Zn^{2+}$ ；DPA -  $Zn^{2+}$ ピレン；およびアザクラウン -  $Cu^{2+}$ 錯体からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記物質は、2 - アミノ - 6 -メルカプト - 7 - メチルプリンリボヌクレオシドを含む。

40

#### 【0093】

いくつかの実施形態において、前記検出は、交流電流を利用する。

#### 【0094】

いくつかの実施形態において、前記検出は、高周波交流電流を利用する。

#### 【0095】

いくつかの実施形態において、前記検出は、直流電流を利用する。

#### 【0096】

いくつかの実施形態は、試料中の標的物質を検出するためのデバイスを含み、該デバイ

50

スは、液体試料を含有することの可能なチャンバ；前記チャンバと流体連通し、核酸増幅のための１種以上の試薬を含み、少なくとも１つの側壁を有するチャンネル；前記チャンネルを熱することの可能なヒーター；前記側壁に接している第１の電極；前記側壁に接し、前記チャンネルに沿って前記第１の電極とは隔置されている第２の電極；ならびに前記第１の電極および前記第２の電極と電氣的に接続され、該第１の電極に電流を流し、第２の電極が受信した、標的物質の存在を示す電流信号を検出することの可能な回路を含む。

【００９７】

いくつかの実施形態において、前記電流は、直流電流である。

【００９８】

いくつかの実施形態において、前記電流は、交流電流である。

10

【００９９】

いくつかの実施形態において、前記ヒーターは、液体試料を少なくとも３０℃まで加熱することができる。いくつかの実施形態において、前記ヒーターは、液体試料を少なくとも３７℃まで加熱することができる。いくつかの実施形態において、前記ヒーターは、液体試料を少なくとも６０℃まで加熱することができる。いくつかの実施形態において、前記ヒーターは、液体試料を６０℃～７０℃の範囲にある温度まで加熱することができる。

【０１００】

いくつかの実施形態において、前記チャンネルは誘電体基板内に形成され、前記ヒーターはチャンネルに隣接して配置されている。

【０１０１】

20

いくつかの実施形態において、前記デバイスは、併用する装置と電子的かつ機械的に連結されるよう構成されている。

【０１０２】

いくつかの実施形態において、前記併用する装置は、プロセッサ、メモリ、グラフィックユーザディスプレイを含む消費者製品である。

【０１０３】

いくつかの実施形態において、前記併用する装置は、スマートフォン、タブレット、ラップトップおよびスマートウォッチからなる群から選択される。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、前記核酸増幅のための１種以上の試薬は、プライマーおよびポリメラーゼを含む。

30

【０１０５】

いくつかの実施形態において、前記核酸増幅のための１種以上の試薬は、前記試料を含む溶液の導電率の変化を増大させる物質を含む。いくつかの実施形態において、前記物質は、無機ピロリン酸と結合する。いくつかの実施形態において、前記物質は、 $Cd^{2+}$ -サイクレン-クマリン； $Pis(2-ピリジルメチル)アミン(DPA)$ 単位を有する $Zn^{2+}$ 錯体； $DPA-2Zn^{2+}$ -フェノキシド；アクリジン- $DPA-Zn^{2+}$ ； $DPA-Zn^{2+}$ ピレン；およびアザクラウン- $Cu^{2+}$ 錯体からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、前記物質は、2-アミノ-6-メルカプト-7-メチルプリンリボヌクレオシドを含む。

40

【０１０６】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が、ウイルス核酸、ウイルスカプシドタンパク質、ウイルス構造タンパク質、ウイルス糖タンパク質、ウイルス膜融合タンパク質、ウイルスプロテアーゼおよびウイルスポリメラーゼからなる群から選択される、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、前記標的物質は、ウイルスに含まれている。

【０１０８】

いくつかの実施形態において、前記ウイルスは、二本鎖DNAウイルス、一本鎖DNAウイルス、二本鎖RNAウイルス、一本鎖(+)RNAウイルス、一本鎖(-)RNAウ

50

イルス、一本鎖逆転写RNAウイルスおよび二本鎖逆転写DNAウイルスからなる群から選択される。

【0109】

いくつかの実施形態において、前記ウイルスは、アデノ随伴ウイルス、アイチウイルス、オーストラリアコウモリウイルス、BKポリオーマウイルス、パンナウイルス、バーマ森林ウイルス、ブニヤンペラウイルス、ブニヤウイルス科ラクロスウイルス、ブニヤウイルス科カンジキウサギウイルス、オナガザルヘルペスウイルス、チャンディプラウイルス、チクングニアウイルス、コサウイルスA、牛痘ウイルス、コクサッキーウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、デング熱ウイルス、ドーリウイルス、Dugbeウイルス、ドゥベンヘイジウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、エボラウイルス、エコーウイルス、脳心筋炎ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヨーロッパコウモリウイルス、GBウイルスC/G型肝炎ウイルス、ハンタウイルス、ヘンドラウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、デルタ肝炎ウイルス、馬痘ウイルス、ヒトアデノウイルス、ヒトアストロウイルス、ヒトコロナウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、ヒトエンテロウイルス68型、70型、ヒトヘルペスウイルス1型、ヒトヘルペスウイルス2型、ヒトヘルペスウイルス6型、ヒトヘルペスウイルス7型、ヒトヘルペスウイルス8型、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルス2型、ヒトパピローマウイルス16型、18型、ヒトパピローマウイルス、ヒトパラインフルエンザ、ヒトパルボウイルスB19、ヒトRSウイルス、ヒトライノウイルス、ヒトSARSコロナウイルス、ヒトスプーマレトロウイルス、ヒトTリンパ球向性ウイルス、ヒトトロウイルス、インフルエンザA型ウイルス、インフルエンザB型ウイルス、インフルエンザC型ウイルス、イスファハンウイルス、JCポリオーマウイルス、日本脳炎ウイルス、フニンアレナウイルス、KIポリオーマウイルス、クンジンウイルス、ラゴスコウモリウイルス、ピクトリア湖マルブルグウイルス、ランガトウイルス、ラッサウイルス、Lordsdaleウイルス、跳躍病ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、マチュポウイルス、マヤロウイルス、MERSコロナウイルス、はしかウイルス、メング脳心筋炎ウイルス、メルケル細胞ポリオーマウイルス、モコラウイルス、伝染性軟属腫ウイルス、サル痘ウイルス、ムンプスウイルス、マレー溪谷脳炎ウイルス、ニューヨークウイルス、ニパウイルス、ノーウォークウイルス、オニオンニオンウイルス、オルフウイルス、オロブーシェウイルス、ピチンデウイルス、ポリオウイルス、プンタトロフレボウイルス、プーマラウイルス、狂犬病ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、RosaウイルスA、ロスリバーウイルス、A群口タウイルス、B群口タウイルス、C群口タウイルス、風疹ウイルス、サギヤマウイルス、サリウイルスA、サシチョウバエ熱シチリア型ウイルス、サッポロウイルス、セムリキ森林ウイルス、ソウルウイルス、サル泡沫状ウイルス、シミアンウイルス5、シンドビスウイルス、サザンブトンウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ダニ媒介ポワッサンウイルス、トルクテノウイルス、トスカーナウイルス、Ukuniemiウイルス、ワクシニアウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、痘瘡ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、WUポリオーマウイルス、西ナイルウイルス、ヤバサル腫瘍ウイルス、ヤバ様疾患ウイルス、黄熱ウイルスおよびジカウイルスからなる群から選択される。

【0110】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が、バクテリア核酸、バクテリアタンパク質およびバクテリア毒素からなる群から選択される、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

【0111】

いくつかの実施形態において、前記標的物質は、バクテリアに含まれている。

【0112】

いくつかの実施形態において、前記バクテリアは、グラム陽性菌またはグラム陰性菌からなる群から選択される。

【0113】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、前記バクテリアは、緑膿菌、蛍光菌、シュードモナス・アシドボランス、シュードモナス・アルカリゲネス、シュードモナス・プチダ、ステノトロホモナス・マルトフィリア、バークホルデリア・セバシア、エロモナス・ハイドロフィラ、大腸菌、サイトロバクター・フレウンディイ、ネズミチフス菌、チフス菌、パラチフス菌、腸炎菌、志賀赤痢菌、フレクスナー赤痢菌、ソンネ赤痢菌、エンテロバクター・クロアカエ、エンテロバクター・アエロゲネス、肺炎桿菌、クレブシエラ・オキシトカ、霊菌、野兔病菌、モーガネラ・モーガニイ、プロテウス・ミラビリス、プロテウス・ブルガリス、プロビデンシア・アルカリファシエンス、プロビデンシア・レットゲリ、プロビデンシア・スチュアルティイ、アシネトバクター・バウマンニイ、アシネトバクター・カルコアセチカス、アシネトバクター・ヘモリティカス、腸炎エルシニア、ペスト菌、偽結核菌、エルシニア・インターメディア、百日咳菌、パラ百日咳菌、気管支敗血症菌、インフルエンザ菌、パラインフルエンザ菌、ヘモフィラス・ヘモリティカス、ヘモフィラス・パラヘモリティカス、軟性下痢菌、パスツレラ・ムルトシダ、マンヘイミア・ヘモリティカ、モラクセラ・カタラーリス、ヘリコバクター・ピロリ、カンピロバクター・フィタス、キャンピロバクター・ジェジュニ、カンピロバクター・コリ、ボレリア・ブルグドルフェリ、コレラ菌、腸炎ビブリオ、レジュネラ・ニューモフィラ、リステリア・モノサイトゲネス、淋菌、髄膜炎菌、キングセラ属、モラクセラ属、ガードネセラ・バギナリス、バクテロイデス・フラギリス、バクテロイデス・ディスタソニス、バクテロイデス 3452A ホモロジー群、バクテロイデス・ブルガータス、バクテロイデス・オバルス (*Bacteroides ovalus*)、バクテロイデス・シータイオタオミクロン、バクテロイデス・ユニフォルミス、バクテロイデス・エガーシイ、バクテロイデス・スプランクニカス、クロストリジウム・ディフィシル、結核菌、鳥結核菌、パテー杆菌、癩菌、ジフテリア菌、コリネバクテリウム・アルセランス、肺炎連鎖球菌、ストレプトコッカス・アガラクティエ、化膿連鎖球菌、エンテロコッカス・フェカーリス、エンテロコッカス・フェシウム、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス・サブロフィティクス、スタフィロコッカス・インターメジウス、スタフィロコッカス・ヒイカス亜種ヒイカス、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・ホミニスおよびスタフィロコッカス・サッカロリティカスからなる群から選択される。

#### 【0114】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が、タンパク質、ポリペプチド、核酸、小分子および医薬化合物からなる群から選択される、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

#### 【0115】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が寄生生物に含まれている、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

#### 【0116】

いくつかの実施形態において、前記寄生生物は、内部寄生虫および外部寄生虫からなる群から選択される。

#### 【0117】

いくつかの実施形態において、前記寄生生物は、原虫、蠕虫、吸虫および回虫からなる群から選択される。

#### 【0118】

いくつかの実施形態において、前記内部寄生虫は、アcantアメーバ属、バベシア属、多型バベシア、フタゴバベシア、小形馬バベシア、ネズミバベシア、バベシアダンカニ、バラムチア・マンドリルリス、大腸パラチジウム、ブラストシスチス属、クリプトスポリジウム属、サイクロスポーラ、二核アメーバ、赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫、戦争イソスポラ、リーシュマニア属、フォーラーネグレリア、熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫 (*Plasmodium ovale curtisi*)、卵形マラリア原虫 (*Plasmodium ovale wallikeri*)、四日熱マラリア原虫、サルマラリア原虫、リノスポリジウム症菌、肉胞子虫 (*Sarcocystis*

10

20

30

40

50

20

## 30

50

i R - 133b、h s a - m i R - 134、h s a - m i R - 135a、h s a - m i R - 135b、h s a - m i R - 136、h s a - m i R - 137、h s a - m i R - 138、h s a - m i R - 138 - 1、h s a - m i R - 138 - 2、h s a - m i R - 139、h s a - m i R - 139 - 5p、h s a - m i R - 140、h s a - m i R - 140 - 3p、h s a - m i R - 141、h s a - m i R - 142 - 3p、h s a - m i R - 142 - 5p、h s a - m i R - 143、h s a - m i R - 144、h s a - m i R - 145、h s a - m i R - 146a、h s a - m i R - 146b、h s a - m i R - 147、h s a - m i R - 148a、h s a - m i R - 148b、h s a - m i R - 149、h s a - m i R - 15、h s a - m i R - 150、h s a - m i R - 151、h s a - m i R - 151 - 5p、h s a - m i R - 152、h s a - m i R - 153、h s a - m i R - 154、h s a - m i R - 155、h s a - m i R - 15a、h s a - m i R - 15a - 2、h s a - m i R - 15b、h s a - m i R - 16、h s a - m i R - 16 - 1、h s a - m i R - 16 - 2、h s a - m i R - 16a、h s a - m i R - 164、h s a - m i R - 170、h s a - m i R - 172a - 2、h s a - m i R - 17、h s a - m i R - 17 - 3p、h s a - m i R - 17 - 5p、h s a - m i R - 17 - 92、h s a - m i R - 18、h s a - m i R - 18a、h s a - m i R - 18b、h s a - m i R - 181a、h s a - m i R - 181a - 1、h s a - m i R - 181a - 2、h s a - m i R - 181b、h s a - m i R - 181b - 1、h s a - m i R - 181b - 2、h s a - m i R - 181c、h s a - m i R - 181d、h s a - m i R - 182、h s a - m i R - 183、h s a - m i R - 184、h s a - m i R - 185、h s a - m i R - 186、h s a - m i R - 187、h s a - m i R - 188、h s a - m i R - 189、h s a - m i R - 190、h s a - m i R - 191、h s a - m i R - 192、h s a - m i R - 192 - 1、h s a - m i R - 192 - 2、h s a - m i R - 192 - 3、h s a - m i R - 193a、h s a - m i R - 193b、h s a - m i R - 194、h s a - m i R - 195、h s a - m i R - 196a、h s a - m i R - 196a - 2、h s a - m i R - 196b、h s a - m i R - 197、h s a - m i R - 198、h s a - m i R - 199a、h s a - m i R - 199a - 1、h s a - m i R - 199a - 1 - 5p、h s a - m i R - 199a - 2、h s a - m i R - 199a - 2 - 5p、h s a - m i R - 199a - 3p、h s a - m i R - 199b、h s a - m i R - 199b - 5p、h s a - m i R - 19a、h s a - m i R - 19b、h s a - m i R - 19b - 1、h s a - m i R - 19b - 2、h s a - m i R - 200a、h s a - m i R - 200b、h s a - m i R - 200c、h s a - m i R - 202、h s a - m i R - 203、h s a - m i R - 204、h s a - m i R - 205、h s a - m i R - 206、h s a - m i R - 207、h s a - m i R - 208、h s a - m i R - 208a、h s a - m i R - 20a、h s a - m i R - 20b、h s a - m i R - 21、h s a - m i R - 22、h s a - m i R - 210、h s a - m i R - 211、h s a - m i R - 212、h s a - m i R - 213、h s a - m i R - 214、h s a - m i R - 215、h s a - m i R - 216、h s a - m i R - 217、h s a - m i R - 218、h s a - m i R - 218 - 2、h s a - m i R - 219、h s a - m i R - 219 - 1、h s a - m i R - 22、h s a - m i R - 220、h s a - m i R - 221、h s a - m i R - 222、h s a - m i R - 223、h s a - m i R - 224、h s a - m i R - 23a、h s a - m i R - 23b、h s a - m i R - 24、h s a - m i R - 24 - 1、h s a - m i R - 24 - 2、h s a - m i R - 25、h s a - m i R - 26a、h s a - m i R - 26a - 1、h s a - m i R - 26a - 2、h s a - m i R - 26b、h s a - m i R - 27a、h s a - m i R - 27b、h s a - m i R - 28、h s a - m i R - 296、h s a - m i R - 298、h s a - m i R - 299 - 3p、h s a - m i R - 299 - 5p、h s a - m i R - 29a、h s a - m i R - 29a - 2、h s a - m i R - 29b、h s a - m i R - 29b - 1、h s a - m i R - 29b - 2、h s a - m i R - 29c、h s a - m i R - 301、h s a - m i R - 302、h s a - m i R - 302a、h s a - m i R - 302b、h s a - m i R - 302c、h s a - m i R - 302c、h s a - m i R - 302d、h s a - m i R - 30a、



hsa-miR-30a-3p、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-30b、hsa-miR-30c、hsa-miR-30c-1、hsa-miR-30d、hsa-miR-30e、hsa-miR-30e、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-31、hsa-miR-31a、hsa-miR-32、hsa-miR-32、hsa-miR-320、hsa-miR-320-2、hsa-miR-320a、hsa-miR-322、hsa-miR-323、hsa-miR-324-3p、hsa-miR-324-5p、hsa-miR-325、hsa-miR-326、hsa-miR-328、hsa-miR-328-1、hsa-miR-33、hsa-miR-330、hsa-miR-331、hsa-miR-335、hsa-miR-337、hsa-miR-337-3p、hsa-miR-338、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-339、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-34a、hsa-miR-340、hsa-miR-340、hsa-miR-341、hsa-miR-342、hsa-miR-342-3p、hsa-miR-345、hsa-miR-346、hsa-miR-347、hsa-miR-34a、hsa-miR-34b、hsa-miR-34c、hsa-miR-351、hsa-miR-352、hsa-miR-361、hsa-miR-362、hsa-miR-363、hsa-miR-355、hsa-miR-365、hsa-miR-367、hsa-miR-368、hsa-miR-369-5p、hsa-miR-370、hsa-miR-371、hsa-miR-372、hsa-miR-373、hsa-miR-374、hsa-miR-375、hsa-miR-376a、hsa-miR-376b、hsa-miR-377、hsa-miR-378、hsa-miR-378、hsa-miR-379、hsa-miR-381、hsa-miR-382、hsa-miR-383、hsa-miR-409-3p、hsa-miR-419、hsa-miR-422a、hsa-miR-422b、hsa-miR-423、hsa-miR-424、hsa-miR-429、hsa-miR-431、hsa-miR-432、hsa-miR-433、hsa-miR-449a、hsa-miR-451、hsa-miR-452、hsa-miR-451、hsa-miR-452、hsa-miR-452、hsa-miR-483、hsa-miR-483-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-485-5p、hsa-miR-485-3p、hsa-miR-486、hsa-miR-487b、hsa-miR-489、hsa-miR-491、hsa-miR-491-5p、hsa-miR-492、hsa-miR-493-3p、hsa-miR-493-5p、hsa-miR-494、hsa-miR-495、hsa-miR-497、hsa-miR-498、hsa-miR-499、hsa-miR-5、hsa-miR-500、hsa-miR-501、hsa-miR-503、hsa-miR-508、hsa-miR-509、hsa-miR-510、hsa-miR-511、hsa-miR-512-5p、hsa-miR-513、hsa-miR-513-1、hsa-miR-513-2、hsa-miR-515-3p、hsa-miR-516-5p、hsa-miR-516-3p、hsa-miR-518b、hsa-miR-519a、hsa-miR-519d、hsa-miR-520a、hsa-miR-520c、hsa-miR-521、hsa-miR-532-5p、hsa-miR-539、hsa-miR-542-3p、hsa-miR-542-5p、hsa-miR-550、hsa-miR-551a、hsa-miR-561、hsa-miR-563、hsa-miR-565、hsa-miR-572、hsa-miR-582、hsa-miR-584、hsa-miR-594、hsa-miR-595、hsa-miR-598、hsa-miR-599、hsa-miR-600、hsa-miR-601、hsa-miR-602、hsa-miR-605、hsa-miR-608、hsa-miR-611、hsa-miR-612、hsa-miR-614、hsa-miR-615、hsa-miR-615-3p、hsa-miR-622、hsa-miR-627、hsa-miR-628、hsa-miR-635、hsa-miR-637、hsa-miR-638、hsa-miR-642、

h s a - m i R - 6 4 8、h s a - m i R - 6 5 2、h s a - m i R - 6 5 4、h s a - m i R - 6 5 7、h s a - m i R - 6 5 8、h s a - m i R - 6 5 9、h s a - m i R - 6 6 1、h s a - m i R - 6 6 2、h s a - m i R - 6 6 3、h s a - m i R - 6 6 4、h s a - m i R - 7、h s a - m i R - 7 - 1、h s a - m i R - 7 - 2、h s a - m i R - 7 - 3、h s a - m i R - 7 0 8、h s a - m i R - 7 6 5、h s a - m i R - 7 6 9 - 3 p、h s a - m i R - 8 0 2、h s a - m i R - 8 8 5 - 3 p、h s a - m i R - 9、h s a - m i R - 9 - 1、h s a - m i R - 9 - 3、h s a - m i R - 9 - 3 p、h s a - m i R - 9 2、h s a - m i R - 9 2 - 1、h s a - m i R - 9 2 - 2、h s a - m i R - 9 - 2、h s a - m i R - 9 2、h s a - m i R - 9 2 a、h s a - m i R - 9 3、h s a - m i R - 9 5、h s a - m i R - 9 6、h s a - m i R - 9 8、h s a - m i R - 9 9 a および / または h s a - m i R - 9 9 b からなる群から選択される。

10

#### 【 0 1 2 3 】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が農業関連の分析種に含まれている、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

#### 【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、食品の供給源を示す。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、食品の動物性供給源を示す。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、前記動物性供給源の属を示す。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、食品の植物性供給源を示す。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、前記植物性供給源の属を示す。

20

#### 【 0 1 2 5 】

いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、農薬である。いくつかの実施形態において、前記農薬は、除草剤、殺虫剤、および殺菌剤からなる群から選択される農薬である。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、2, 4 - ジクロロフェノキシ酢酸 ( 2, 4 - D )、アトラジン、グリホサート、メコプロップ、ジカンバ、パラコート、グルホシネート、メタムナトリウム、ダゾメット、ジチオピル ( d i t h o p y r )、ベンディメタリン、E P T C、トリフルラリン、フラザスルフロン、メソスルフロンメチル、ジウロン、ニトロフェン、ニトロフルオルフェン、アシフルオルフェン、メソトリオン、スルコトリオンおよびニチシノンからなる群から選択される除草剤である。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、有機塩化物、有機リン酸塩、カルバミン酸塩、ピレスロイド、ネオニコチノイドおよびリアノイドからなる群から選択される殺虫剤である。いくつかの実施形態において、前記農業関連の分析種は、カルベンダジム、ジエトフェンカルブ、アゾキシストロビン、メタラキシル、メタラキシルM、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、クロロタロニル、テブコナゾール、ジネブ、マンゼブ、テブコナゾール、ミクロブタニル、トリアジメホン、フェンブコナゾール、デオキシニバレノールおよびマンゼブからなる群から選択される殺菌剤である。

30

#### 【 0 1 2 6 】

前記実施形態のいくつかは、前記標的物質が疾患のバイオマーカーに含まれている、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。いくつかの実施形態において、前記疾患は、がんである。いくつかの実施形態において、前記疾患は、乳がん、結腸直腸がん、胃がん、消化管間質腫瘍、白血病およびリンパ腫、肺がん、黒色腫、脳腫瘍および膵臓がんから選択されるがんである。いくつかの実施形態において、前記バイオマーカーは、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、HER - 2 / n e u、E G F R、K R A S、U G T 1 A 1、c - K I T、C D 2 0、C D 3 0、F I P 1 L 1 - P D G F R、P D G F R、フィラデルフィア染色体 ( B C R / A B L )、P M L / R A R、T P M T、U G T 1 A 1、E M L 4 / A L K、B R A F、ならびにロイシン、イソロイシンおよびバリンのような特定のアミノ酸の濃度の亢進から選択される。

40

#### 【 0 1 2 7 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が鳥類から得た試料である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

50

## 【 0 1 2 8 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が哺乳類から得た試料である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

## 【 0 1 2 9 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料がヒトから得た試料である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

## 【 0 1 3 0 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が、血液、血清、血漿、尿、唾液、腹水、髄液、精液、肺洗浄液、痰 ( s p u t u m )、痰 ( p h l e g m )、粘液、細胞または核酸を含む液体培地、細胞または核酸を含む固形培地、および組織からなる群から選択される、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

10

## 【 0 1 3 1 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が、指先穿刺、踵穿刺、静脈穿刺、成人鼻腔吸引、小児鼻腔吸引、鼻咽頭洗浄、鼻咽頭吸引、綿棒による採取、カップ内へのバルク収集、組織生検および洗浄からなる群から選択される工程を行うことによって得られる、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

## 【 0 1 3 2 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が植物である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

## 【 0 1 3 3 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が環境試料である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

20

## 【 0 1 3 4 】

前記実施形態のいくつかは、前記試料が土壌の試料または水の試料である、システム、デバイス、非一時的コンピュータ可読媒体または方法を含む。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 1 3 5 】

【 図 1 】 図 1 A ~ 図 1 D は、標的を検出するためのカートリッジの一例を示す。

## 【 0 1 3 6 】

【 図 2 】 標的を検出するためのカートリッジの別の一例を示す。

30

## 【 0 1 3 7 】

【 図 3 】 図 3 A および図 3 B は、標的を検出するためのカートリッジの別の一例を示す。

## 【 0 1 3 8 】

【 図 4 】 図 4 A ~ 図 4 G は、図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジの試験ウェル内または本明細書に記載される別の適切な標的検出カートリッジの試験ウェル内もしくはチャンネル内で使用することのできる様々な電極の例を示す。

## 【 0 1 3 9 】

【 図 5 A 】 図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジの試験ウェル内または本明細書に記載される別の適切な標的検出カートリッジの試験ウェル内もしくはチャンネル内で互いに間隔を空けて配置されてもよい、第 1 の電極または励起電極、および第 2 の電極または信号電極を示す。

40

## 【 0 1 4 0 】

【 図 5 B 】 図 5 A の信号電極から抽出することのできる信号の一例を示す。

## 【 0 1 4 1 】

【 図 5 C 】 例示的陽性試験に基づいて生成された図 5 B に示すような信号から抽出した抵抗成分およびリアクタンス成分を示す。

## 【 0 1 4 2 】

【 図 5 D 】 陽性対照および陰性対照の例示的試験から得られた図 5 B に示すような信号から抽出した抵抗成分およびリアクタンス成分を示す。

## 【 0 1 4 3 】

【 図 5 E 】 別の例示的陽性試験に基づいて生成された図 5 B に示すような信号から抽出さ

50

れた抵抗成分およびリアクタンス成分を示す。

【0144】

【図6】本明細書に記載されるカートリッジと共に使用することのできる例示的読取装置の略ブロック図を示す。

【0145】

【図7A】本明細書に記載されるような試験の間に読取装置を動作させるための、例示的プロセスのフローチャートを示す。

【0146】

【図7B】本明細書に記載されるような標的を検出するために試験データを分析するための、例示的プロセスのフローチャートを示す。

10

【0147】

【図8】増幅免疫測定のスキームを示す。

【0148】

【図9】ビーズを用いた増幅免疫測定のスキームを示す。

【0149】

【図10】磁性ビーズを用いた増幅免疫測定のスキームを示す。

【0150】

【図11】チャンネルに沿って互いに間隔を空けて配置されてもよい、第1の電極または励起電極、および第2の電極または信号電極を示す。

【0151】

20

【図12】信号のインピーダンスが励起周波数に依存し、チャンネルでLAMP反応が生じた後に変化することを示すグラフであり、左側の平らでない部分から、ある周波数領域が定義されうる。

【0152】

【図13】両側の極値領域ではインピーダンスがコンデンサ様となり、励起電圧とは異相である(90°に近づく)ことを示すグラフである。

【0153】

【図14】測定された試料チップのインピーダンスを、励起周波数に関して示すグラフである。

【0154】

30

【図15】無次元の導電率に関してプロットした同期検出器の応答を示すグラフである。

【0155】

【図16】あるモデルにおける検出器の出力の結果が、広範な導電率および所与の段階の周波数において一致することを示すグラフである。

【0156】

【図17】図17Aおよび図17Bは、特定の核酸および/またはヌクレオチドが試料中に存在するか否かを検出するために使用されてもよい検出システムの一実施形態を示す。図17Aは該システムの上面図であり、図17Bは該システムの側断面図である。

【0157】

【図18】標的を検出するためのデバイスの一実施形態を示すプロセスフローチャートである。

40

【0158】

【図19】標的を検出するためのデバイスの一実施形態を示すプロセスフローチャートである。

【0159】

【図20】流体力学カートリッジの一例を示す。

【0160】

【図21】図20の例示的流体力学カートリッジの平面図である。

【0161】

【図22】電極の形状の一例を示す。

50

【 0 1 6 2 】

【 図 2 3 】 チャンネルの一例を示す。

【 0 1 6 3 】

【 図 2 4 】 センサ電圧の経時変化を、増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

【 0 1 6 4 】

【 図 2 5 】 センサ電圧の経時変化を、0 % 全血の増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

【 0 1 6 5 】

【 図 2 6 】 センサ電圧の経時変化を、1 % 全血の増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

10

【 0 1 6 6 】

【 図 2 7 】 センサ電圧の経時変化を、5 % 全血の増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

【 0 1 6 7 】

【 図 2 8 】 ろ過されていない試料として0 % 全血を用いた場合のセンサ電圧の経時変化を、増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

【 0 1 6 8 】

【 図 2 9 】 ろ過された試料として0 % 全血を用いた場合のセンサ電圧の経時変化を、増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

20

【 0 1 6 9 】

【 図 3 0 】 標的の量を変化させ、それに関する時間を、標準偏差を表すエラーバーと共に示すグラフである。

【 0 1 7 0 】

【 図 3 1 】 増幅前（ - 対照 ）バイアルおよび増幅後（ + 対照 ）バイアルから得た様々な試料の導電率を示すグラフである。

【 0 1 7 1 】

【 図 3 2 】 H B s A g を検出するための、磁性ビーズを用いた増幅免疫測定のスキームを示す。

【 0 1 7 2 】

30

【 図 3 3 】 H B s A g の検出を示すグラフである。

【 0 1 7 3 】

【 図 3 4 】 低イオン緩衝液（ T 1 0 ）を用いた H B s A g の検出を示すグラフである。

【 0 1 7 4 】

【 図 3 5 】 流体力学カートリッジのインピーダンス特性を示すグラフである。

【 0 1 7 5 】

【 図 3 6 A 】 6 5 のカートリッジ上で実施した L A M P の異相信号のグラフを示す。

【 0 1 7 6 】

【 図 3 6 B 】 6 5 のカートリッジ上で実施した L A M P の同相信号のグラフを示す。

【 0 1 7 7 】

40

【 図 3 6 C 】 6 7 のカートリッジ上で実施した L A M P の異相信号のグラフを示す。

【 0 1 7 8 】

【 図 3 6 D 】 6 7 のカートリッジ上で実施した L A M P の同相信号のグラフを示す。

【 0 1 7 9 】

【 図 3 6 E 】 6 7 のカートリッジ上で実施した L A M P の異相信号のグラフを示す。

【 0 1 8 0 】

【 図 3 6 F 】 6 7 のカートリッジ上で実施した L A M P の同相信号のグラフを示す。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 1 8 1 】

本明細書に開示される態様は、試料中に存在する標的を検出するための、増幅および非

50

接触電氣的検出の使用に関する。そのような診断プラットフォームは、光学検出に使用される複雑な光学システムおよび高価な蛍光標識、ならびに通常の電子部品を使用する既存の電気化学技術およびFET技術において使用される電極および電気活性剤に置き換わるかもしれない。いくつかの態様において、前記増幅は等温増幅でありうる。本明細書に記載されるプラットフォームは、安価、頑丈かつポータブルであり、従来の診断システムと比べて消費電力も少ない。いくつかの態様において、この診断プラットフォームは、消費者の手のひらに収まるほど小さく、また現場で、例えば診療所、家庭、医療設備から遠く離れた場所などで実施することができる。

#### 【0182】

市販されている多くの核酸検出プラットフォームは、従来のPCRを利用するものであり、よって温度サイクル、蛍光標識および光学的検出機器を必要とする。このような要素により、高価な、検査室に設置された機器が必要となり、振動の影響を受けやすい繊細な検出器、高価な蛍光マーカーおよび大きな設置面積を使用することとなる。この装置は、高度に訓練された人員による操作および頻繁な較正を必要とする。

10

#### 【0183】

このような大型で扱い難いプラットフォームによって、従来のNATを診療所で日常的に使用することは難しく、ましてや家庭での使用はさらに困難である。NATは、集中型実験施設と密接に結び付けられた、高価かつ時間のかかる戦略のままであり続けている。本明細書において開示される技術は、対照的に、そのような困難を回避するものである。

#### 【0184】

20

ポイントオブケア(「POC」)試験へのハードルは、全血や粘液のような処理されていない生の臨床試料においてしばしば生じることであるが、阻害物質によって増幅が抑制されうることである。増幅阻害を緩和することは、臨床的に関連のある生物試料から標的核酸を直接検出することへの挑戦であるかもしれない。

#### 【0185】

従来の検出方法は、一般に、蛍光検出技術に依存している。そのような技術は、複雑であったり、費用がより多くかかったり、精密な光学システムを必要としたりするかもしれない。しかしながら、本発明の開示は、概して電氣的検出システムを利用するものである。そのような電氣的検出システムは、比較的消費電力が低く、大量生産によりコストを抑えて製造することのできるマイクロエレクトロニクスを活用しうる。したがって、ゲノム物質の電氣的な検出は、コンピュータ産業の進歩をバイオアッセイにおける検出へと伝えるものであるかもしれない。

30

#### 【0186】

増幅をモニタリングするための既存の電子的な方法では、表面に対する、電気化学的に活性な標識の結合または増幅された物質の選択的結合が要求されるかもしれない。しかしながら、これらの技術を実際の臨床応用において使用する場合には、応答に時間がかかること、電極や結合表面の生物付着により信号対雑音比が悪くなること、ならびにデバイスの寿命および信頼性に限界があることなどにしばしば悩まされる。高い感度を得られる可能性はあるものの、電気化学的検出または電界効果トランジスタ「FET」による検出は、検出をより一層複雑にする。これは、POCや、その他の民生用アプリケーションよりも高価かつ脆弱な戦略につながりうる。したがって、さらなる診断デバイスの必要性は明白である。

40

#### 【0187】

本明細書において開示されるプラットフォームは、核酸増幅の間に生じる導電率の変化の測定を利用する。要するに、ヌクレオチド三リン酸からDNAが生化学的に合成される間に、電荷を帯びた分子の数および移動度は変化する。その結果、増幅の進行と共に溶液の導電率が変化する。溶液の導電率におけるこの変化を、周波数依存性容量結合非接触導電率検出(「fC<sup>4</sup>D」)を使用して検出できるかもしれない。

#### 【0188】

いくつかの実施形態において、fC<sup>4</sup>Dは、増幅チャンバ内の流体のごく近くに、ただ

50

し接触はしないように配置された１対の電極を使用して、溶液の電気特性を測定する。このようにして、直接的に接触することなく溶液の特性を測定できることで、他の電氣的測定法に共通する表面への付着物の問題が回避される。

#### 【０１８９】

いくつかの実施形態では、 $fC^4D$ を利用して、励起電極に高周波の交流（「ＡＣ」）信号が印加される。この信号は、溶液を通じて容量的に結合され、信号電極において検出される。励起信号と信号電極における信号とを比較することによって、溶液の導電率を測定することができる。

#### 【０１９０】

高分解能有限要素モデルおよび実証的研究から得た情報によれば、 $fC^4D$ に基づく技術において許容差を特定の値とすることで、プラットフォームの特定の実施形態に最適な検出感度および検出のダイナミックレンジが達成されるかもしれない。マイクロ流体のサイズ、容量結合特性および印加周波数のパラメータをそのように計算し、実証的に決定することで、溶液の導電率の変化の検出に有効なパラメータを決定することが可能となりうる。いくつかの実施形態において、最適検出に相当するパラメータは、相互依存変数でありうる。以下の等式によれば、インピーダンスの測定値は、溶液抵抗、静電容量および印加周波数の関数である。

$$Z = R - (1/\pi i * f * C) * j$$

#### 【０１９１】

電極不動態化層の厚さが増すほど、この層による寄生容量は増加する。したがって、 $fC^4D$ によって溶液導電率を測定する際の最適ＡＣ周波数は、不動態化層の静電容量に対して選択することができる。

#### 【０１９２】

いくつかの態様において、試料中に存在する標的を検出するためのシステムは、併用する読取装置に連結することのできる取り外し可能な流体工学カートリッジを含む。ユーザは、カートリッジに試料を導入し、次いで該カートリッジを読取装置に挿入することができる。この読取装置は、カートリッジを用いて試験の手順を実施し、また試験データを分析することによって、試料中の標的の有無の判定や標的の量の測定を行うよう構成されている。例えば、試料中に当初から存在する標的を増幅するための増幅プロセスを目的として、カートリッジに所望の物質、タンパク質または他の化学物質を供給することができる。具体的に言えば、いくつかのカートリッジには、核酸試験のための所望の化学物質を供給することができ、このカートリッジにおいて、試料中のゲノム物質は、本明細書に記載するように、分子増幅プロセスを用いて指数関数的に複製される。カートリッジはさらに、増幅プロセスを含むための試験ウェルを含みうる。この試験ウェルは、ウェル、チャンバ、チャンネル、または試験液と増幅プロセスの構成要素とを含む（もしくは実質的に含む）よう構成された別の形態を指す。読取装置は、カートリッジにおいて増幅プロセスが促進されるような所望の温度またはその他の試験環境パラメータを維持してもよく、増幅プロセスの一部または全部にわたって、カートリッジの試験ウェルを電子的にモニターすることができる。このようにして、読取装置は、増幅プロセスの時間にわたって試験ウェルのインピーダンスを示す信号データを収集し、本明細書に記載するように、このインピーダンスを分析して、試料中の標的の有無またはその量を確認することができる。一例において、増幅プロセスの時間は５分～６０分の範囲にあり、別のいくつかの例では、１０分～３０分の範囲でありうる。いくつかの好ましい実施形態では、増幅産物はウェル内の流体に懸濁された状態で検出される。すなわち、該増幅産物は、ウェルに接着したり固定されたりすることなく、またウェルに結合されているプローブに固定されたり結合されたりすることのない状態において検出される。別の実施形態では、増幅産物は、ウェルに接着したり固定された状態で、例えば、ウェルに結合されているプローブに固定されたり結合された状態で検出される。

#### 【０１９３】

このようなシステムは、試料を増幅および分析のために検査室へ送ることを必要とせず

、臨床の場合において、さらにはユーザの家庭においても標的の検出を行うことが可能であるため、有益である。これによって、臨床の場合では、従来の核酸試験の遅れを回避することができ、臨床医は、患者が診療所を訪れる定型的時間枠内で診断を確定できるようになる。したがって、開示されるこのようなシステムによれば、臨床医は、検査室から戻って来る試験結果を受け取るまで何時間も、あるいは何日間も待つ必要はなく、患者の最初の来院時に、その患者の治療計画を立てることができるようになる。例えば、患者が診療所を訪れた際に、看護師または他の医療関係者が患者から試料を採取し、記載のシステムを用いて試験を開始することができる。患者が医師の診察を受けて治療計画が決定されるまでに、このシステムは試験結果を提供できる。特に、急速に進行する病状の診断に使用される場合、開示のシステムは、患者の治療および経過に悪影響を及ぼしうる、検査室試験に関する遅れを回避することができる。

10

#### 【0194】

別の利点として、開示のシステムは、臨床の場合以外（例えば、診療所に容易にアクセスできない野外やへき地など）で、接触伝染病（例えばエボラなど）のような健康状態を検出するために使用することができ、それによって、接触伝染病の広がりを予防または緩和するために、適切な人員が直ちに行動を取ることが可能となる。同様に、開示のシステムは、野外や危険な汚染（例えば、炭疽菌など）の疑われる場所で、試料が該危険な汚染物質を含有しているか否かを迅速に判定するために使用することができ、それによって、該汚染物質への人の曝露を予防または緩和するために、適切な人員が直ちに行動を取ることが可能となる。さらに、開示のシステムは、供給される血液もしくは血漿または食品産業において汚染物質を検出するために使用することができる。標的をリアルタイムで検出することが、離れた場所にある検査室へ試料を送ることによる遅れた検出と比べてより有効な行動を可能にするような他のシナリオにおいても、開示のシステムが同様の利点を提供できることは、理解されるであろう。

20

#### 【0195】

このようなシステムのまた別の利点は、廉価な使い捨てのカートリッジを、再使用可能な読取装置と共に使用することである。この読取装置は、カートリッジを替えて、かつ／または標的の異なる試験のために、何度も使用することができる。

#### 【0196】

図1A～図1Dは、標的を検出するよう構成されたカートリッジ100の例を示す。本明細書に記載されるように、該標的は、ウイルス標的、バクテリア標的、抗原標的、寄生生物標的、マイクロRNA標的または農業関連の分析種であってよい。カートリッジ100のいくつかの実施形態は、単一の標的について試験を行うよう構成することができ、カートリッジ100の別のいくつかの実施形態は、複数の標的について試験を行うよう構成することができる。

30

#### 【0197】

図1Aは、ベース部125の上にカバー105を備えたカートリッジ100を示す。使用時、カバー105によって、供給された試料をカートリッジ100内に密封することで、操作者の試料への曝露を予防し、また関連付けられた読取装置の電子機器へと液体が流出することを予防できる。カバー105は、ベース部125に恒久的に取り付けられていてもよく、また特定の実施形態では、取り外し可能であってもよい。カバー105は、プラスチックのような適切な材料から形成することができ、図に示したように不透明であってもよく、別の実施例では、半透明または透明であってもよい。

40

#### 【0198】

カバー105は、ベース部125の試料導入部120の上に位置付けられた開口部115を含む。ここでは、カートリッジ100を、開口部115を含むカバー105の平面と直交するよう上から見下ろした場合に、試料導入部120の上方にある開口部115に注目する。カバー105はさらに、開口部115を通じて試料が供給される前後に開口部115を流体密封するように構成されたキャップ110を含む。キャップ110は、キャップ110で開口部115を密封する際に開口部115に押し込まれる円筒状突起111と

50



、キャップ 110 が開口部 115 を密封している場合にユーザが開口部 115 からキャップ 110 を引くことを助けるよう構成された開放つまみ 113 と、キャップ 110 を、カバー 105 に固定された状態に維持しつつ、開口部 115 から離して試料供給路から外すことを可能にするよう構成されたヒンジ 112 とを含む。開口部 115 の密封を達成するために他の様々な形状のキャップ 110 も同様に使用可能であり、またいくつかの実施形態においてヒンジ 112 および / または開放つまみ 113 の変形または省略が可能であることは、理解されるであろう。図示した実施形態において、カバー 105 とキャップ 110 とは同じ材料から一体に形成されているが、別の実施形態では、キャップ 110 はカバー 105 とは別の構造体でありうる。

#### 【0199】

使用時、ユーザはキャップ 110 を開き、カバーに設けられた開口部 115 を通じて、標的を含む可能性のある試料をベース部 125 の試料導入部 120 へと導入する。例えば、ユーザは指を刺し、例えば毛細管を通じて全血試料を試料導入部 120 へと導入することができる。カートリッジ 100 は、1 以上の液体、半固体および固体の試料を受け入れるよう構成することができる。試料を導入した後、ユーザは、キャップ 110 を閉じて開口部 115 を密封することができる。ベース部 125 の流路の入口を密封すると、試料（および他の液体）はベース部 125 の流路を通して試験ウェルへと移動することとなり、有利である。例えば、ユーザは、本明細書に記載したように、試料を含む密封したカートリッジ 100 を読取装置に挿入することができ、読取装置は、試料を試験ウェルへと移動させるための、任意選択の空気インターフェースを活性化することができる。流路および試験ウェルについては、図 1 B および図 1 C に関してより詳細に説明する。また、読取装置の例は、図 6 に関して説明する。

#### 【0200】

カバー 105 は、ベース部 125 の電極インターフェース 135 を露出させるための凹部 130 を含む。これについては、以下でより詳細に説明する。いくつかの実施形態において、カバー 105 は、使用時まで電極インターフェース 135 を保護するための可動フラップまたは取り外し可能なシースを含みうる。

#### 【0201】

図 1 B は、図 1 A のカートリッジ 100 を、ベース部 125 の特徴がわかるようにカバーを除去して示す。ベース部 125 は、液体不浸透性材料から形成することができ、例えば、射出成形されていてもよく、切削したアクリルまたはプラスチックであってもよい。ベース部 125 は、試料導入部 120、プリスターパック 140、空気インターフェース 160、試験ウェル 175 を含む試験領域 170 A および流路 150 を含み、流路 150 は、導入された試料をプリスターパック 140 に含まれる液体と混合し、この混合された液体を試験ウェル 175 へと運ぶよう構成されている。これらの特徴の、特定の幾何学的形状や相対的配置が、他の実施形態において様々に変更されうことは理解されるであろう。

#### 【0202】

プリスターパック 140 は、フィルム、例えば熱成形されたプラスチックであるフィルムを含み、このフィルムは、導入された試料と混合するための液体を含む密封チャンバを形成している。これらの液体は、増幅試薬、緩衝液、水、または試験プロセスのためのその他所望の液体成分を含みうる。これらの液体は、カートリッジ 100 を用いて試験しようとしている特定の標的に合わせて、その特定の選択および化学的性質を変更することができる。プリスターパック 140 のいくつかの実施形態では、封入されている液体に溶解または懸濁された非液体化合物がさらに含まれうる。プリスターパック 140 はベース部 125 に、例えば空気流路 161 を有する流体密封チャンバ内に固定することができ、空気流路 161 は、チャンバおよび開口部 141 へと続いており、チャンバから出た後は流路 150 へと続いている。例えば、プリスターパック 140 を所定の位置に固定するために、プリスターパック 140 の一面または両面の外縁に沿って粘着剤を環状に配置して使用することができる。

#### 【0203】

10

20

30

40

50

使用時、ユーザまたは読取装置は、鋭利部分（例えば、鋭い先端を有する針など）を機械的に作動させることによって、プリスターパック 140 を刺し、その液状内容物を、開口部 141 を通じて流路 150 の第 1 のセグメントへと放出させることができる。鋭利部分はカートリッジ 100 に組み込まれていてもよく、例えば、プリスターパック 140 を含み、かつ流路の第 1 のセグメント 151 と流体連通しているチャンバ内に位置していてもよい。本明細書において、流体連通とは、流体（例えば、液体、気体）が移動可能であることを指す。別の一実施形態において、ユーザまたは読取装置は、プリスターパック 140 の下側表面（図 1 B では示されていないが、下側表面は見えている表面の反対側にある）を鋭利部分に食い込むよう押し上げることにより、鋭利部分でプリスターパック 140 を刺すことができる。他の実施形態において、鋭利部分が含まれていない場合もあり、ユーザまたは読取装置は、プリスターパック 140 がその液状内容物の圧力によって破裂するまで、プリスターパック 140 を圧縮することができる。破裂可能なプリスターパックについて説明したが、他の実施形態においては、機械的に開けることのできるチャンバを備え、封入されている液体を同様に流路 150 の第 1 のセグメント 151 へと放出するよう構成することもできる。

#### 【0204】

上述したように、試料を導入した後、ユーザはカバーの開口部 115 を密封し、それによって、カートリッジ 100 内の流路 150 を密封する。空気インターフェース 160 は、流路 150 に沿って試験ウェル 175 に至る所望の方向への流体の流れを促進するために、プリスターパックチャンバを通じて密封された流路 150 内へ空気などの流体を供給するよう構成されている。空気インターフェース 160 は、空気流路 161 と流体連通しつつ該空気流路 161 に至る開口部であってもよく、該空気流路 161 は、プリスターパック 140 またはプリスターパック 140 を含むチャンバと流体連通しつつ該プリスターパック 140 または該チャンバへと続いている。いくつかの実施形態において、空気インターフェース 160 は、圧縮されると外気を強制的に空気流路 161 へと送り込み、減圧時には周囲から外気を取り入れる圧縮可能な一方向弁であってもよい。このような実施形態では、空気インターフェース 160 に繰り返し圧力をかけることで、カートリッジ内の流体を強制的に流路に沿って流すことができる。

#### 【0205】

流路 150 は、試料導入部 120、試験ウェル 175、試験ウェル流入路 176 および試験ウェル流出路 177 と共にセグメント 151、152、153、154、155 および 156 を含む。流路 150 の第 1 のセグメント 151 は、プリスターパック 140 から出て試料導入部 120 へと通じている。流路 150 の第 2 のセグメント 152 は、試料導入部 120 から出て混合チャンバ 153 へと通じている。混合チャンバ 153 は、流路 150 の第 3 のセグメントであり、第 2 のセグメント 152 および第 4 のセグメント 154 よりも広がっている。流路 150 の第 4 のセグメント 154 は、混合チャンバ 153 から出て流路の第 5 のセグメント 155 へと通じている。流路 150 の第 5 のセグメント 155 は、試験領域 170 A の中に形成されている。流路 150 の第 5 のセグメント 155 は、第 1 の試験ウェルの流入路 176 と、流路 150 の第 6 のセグメント 156 とのいずれにも通じている。流路 150 の第 6 のセグメント 156 はそれぞれ、隣り合う試験ウェル流入路同士をつないでおり、これによって流路 150 から最後の試験ウェル 176 までがつながっている。試験ウェル流入路 176 は、試験ウェル 175 と流路 150 とを流体連通させており、バルブ 174 によって、例えば、試験ウェル間の交差増幅を防止するために閉鎖されていてもよい。試験ウェル流出路 177 は、試験ウェル 175 から出て、出口開口部 178 へと通じており、これによって、気体が試験ウェル 175 から出てカートリッジ 100 の外へと出ることが可能となる。

#### 【0206】

プリスターパック 140 から出た液体と導入された試料とを均一あるいは一様に混合することにより、いくつかの実施形態における試験結果が、より正確なものとなる。そのため、混合チャンバ 153 は、プリスターパック 140 から出た液体と導入された試料との

10

20

30

40

50

均一な混合を容易に行えるよう構成されており、例えば、混合チャンバ 1 5 3 内での液体の流れが層流ではなく乱流となるように、湾曲した領域および / または断面形状を含んでいる。乱流とは、流体力学における一流動様式であり、流体の圧力および流速の無秩序な変動を特徴とする。乱流は層流と対照をなすものであり、層流とは、流体が平行な層状に流れ、層間に乱れがないものを指す。

【 0 2 0 7 】

流路 1 5 0 のセグメント 1 5 1、1 5 2、1 5 3、1 5 4 は、ベース部 1 2 5 の材料で完全に覆われていてもよく、3つの表面がベース部 1 2 5 の材料から形成され、カバー 1 0 5 がこれらのチャンネルを密封する上面を形成していてもよい。流路 1 5 0 のセグメント 1 5 5、1 5 6 ならびに試験ウェル流入路 1 7 6 および試験ウェル流出路 1 7 7 は、ベース部 1 2 5 の材料で完全に覆われていてもよく、3つの表面がベース部 1 2 5 の材料から形成され、カバー 1 0 5 がこれらの要素を密封する上面を形成していてもよく、また、2つの表面がベース部 1 2 5 の材料から形成され、回路基板 1 7 9 がこれらの要素の上面を形成し、カバー 1 0 5 がこれらの要素の上面を形成していてもよい。

10

【 0 2 0 8 】

図 1 C は、流路 1 5 0 に沿った流れの方向を示し、丸で囲んだ数字は、流路に沿った特定の点を示すものである。丸で囲んだ数字については、カートリッジ 1 0 0 内の流路 1 5 0 を通って移動する流体 1 8 0 の進行の例示的ステップとして、以下で説明する。ステップごとに、そのステップにおける流体の移動の方向を示す矢印が付されている。

【 0 2 0 9 】

20

ステップ ( 1 ) に先立って、ユーザは試料導入部 1 2 0 に試料を導入する。図 1 C を簡単かつ明瞭にするため、図 1 B において参照番号を付した構成要素に関して、図 1 C ではその番号を表示しない。また、ステップ ( 1 ) に先立って、プリスターパック 1 4 0 を破裂させ、その液状内容物を、あらかじめ密封したチャンバから放出させる。

【 0 2 1 0 】

ステップ ( 1 ) において、空気インターフェース 1 6 0 から流れて来た空気または他の流体は、空気流路 1 6 1 に沿って、破裂したプリスターパック 1 4 0 に向かって、図示した方向に移動する。

【 0 2 1 1 】

ステップ ( 2 ) において、破裂したプリスターパック 1 4 0 から放出された液体 ( 本明細書中、「マスターミックス」と称する ) は、開口部 1 4 1 を通って、図示した方向に移動し、流路 1 5 0 の第 1 のセグメントへと入る。このマスターミックスは、第 1 のセグメント 1 5 1 に沿って流れ続け、ステップ ( 3 ) では試料導入部 1 2 0 に入り、ここからは自体と共に試料を搬送しながら、流路に沿ってさらに流れる。

30

【 0 2 1 2 】

ステップ ( 4 ) において、マスターミックスと試料は試料導入部 1 2 0 を離れ、流路 1 5 0 の第 2 のセグメント 1 5 2 に沿って、図示した方向に流れる。マスターミックスの容量は、導入された試料を試料導入部 1 2 0 から完全に、あるいは実質的に完全に流し去るように、かつ / または少なくとも試験ウェル 1 7 5 およびそれらの流入路 1 7 6 を満たすように、あらかじめ選択することができる。

40

【 0 2 1 3 】

ステップ ( 5 ) において、マスターミックスと試料は図示した方向に流れて、流路 1 5 0 の中で幅が広がっている第 3 のセグメント 1 5 3 に通じる入口に入り、ステップ ( 6 ) において、マスターミックスと試料とが混合されて、試料がマスターミックス全体に均一に分配されている均質な溶液となる。上述したように、第 3 のセグメント 1 5 3 は、マスターミックスと試料との混合を促進するよう構成された湾曲したセグメントと平坦な混合チャンバとを含む。いくつかの実施形態において、空気インターフェース 1 6 0 によって供給される流体の割合は、この混合をさらに促進するように選択できる。

【 0 2 1 4 】

ステップ ( 7 ) において、混合されたマスターミックスと試料 ( 「試験液」と称する )

50

は、混合チャンバ 1 5 3 を離れ、試験領域 1 7 0 A と続く流路 1 5 0 の第 4 のセグメント 1 5 4 に入る。

【 0 2 1 5 】

ステップ ( 8 ) において、試験液は流路 1 5 0 の第 5 のセグメント 1 5 5 に沿って図示した方向に移動し、試験領域 1 7 0 A を通って試験ウェル 1 7 5 に向かう。

【 0 2 1 6 】

ステップ ( 9 ) において、試験液は第 1 の試験ウェル流入路 1 7 6 に到達し、その流れは、ステップ ( 9 ) の流路の矢印から三叉に分かれて示された 3 つの可能な経路に沿って導かれる。

【 0 2 1 7 】

ステップ ( 1 0 ) の経路は、流路 1 5 0 のセグメント 1 5 6 に沿ってさらに次の試験ウェル流入路 1 7 6 へと進む試験液の流れを示す。任意選択で、試験ウェル流入路 1 7 6 のバルブ 1 7 4 は、ステップ ( 1 0 ) へと進む試験液の流れを防止するために閉鎖されていてもよい。

【 0 2 1 8 】

ステップ ( 1 1 ) の経路は、バルブ 1 7 4 を通る試験液の気体部分の流れを示しており、これは任意選択の流れである。いくつかの実施形態において、バルブ 1 7 4 は、試験液中に存在する気体を試験ウェル 1 7 5 に入る前にバルブ 1 7 4 を通して排出するために、液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バルブ 1 7 4 は、気体を排出するように構成されていなくてもよい。

【 0 2 1 9 】

ステップ ( 1 2 ) の経路は、試験ウェル 1 7 5 へと入る試験液の流れの方向を示す。いくつかの実施形態において、バルブ 1 7 4 は、所定のトリガの発生に際して試験ウェル 1 7 5 を密封するために閉鎖されうる。このトリガは、少なくとも試験ウェル 1 7 5 ( さらに流入路および流出路 1 7 6 , 1 7 7 ) の容量に相当する所定容量の液体がステップ ( 1 2 ) の経路に沿って流れた後に生じうる。バルブ閉鎖トリガの別の例は、この容量の液体がステップ ( 1 2 ) の経路に沿って流れたために要すると見込まれる時間に相当する所定の時間が経過した後に生じうる。別の実施形態において、このトリガは、空気インターフェース 1 6 0 の非活性化であり、流体が図示した経路に沿って逆方向に流れ始め、異なる試験ウェルにおける増幅プロセスの交差汚染を引き起こしかねない点がトリガとなりうる。いくつかの実施形態において、バルブ 1 7 4 の位置は、図に描かれた場所ではなく液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタで任意に覆われた気体排出開口部であってもよく、このバルブは、試験ウェル流入路 1 7 6 または流路セグメント 1 5 6 に沿って位置しうる。

【 0 2 2 0 】

ステップ ( 1 3 ) の経路は、流出路 1 7 7 を通って試験ウェル 1 7 5 から出る試験液または気体成分の流れの方向を示す。流出路 1 7 7 は、試験ウェル 1 7 5 から出るチャンネルであってもよく、空気インターフェース 1 6 0 によって与えられる圧力によって試験液を流出路 1 7 7 に押し込むことができる。いくつかの実施形態において、試験液の気体成分のみが流出路 1 7 7 を通って流れるように、液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタを、試験ウェル 1 7 5 と流出路 1 7 7 とのインターフェースに備えることができる。

【 0 2 2 1 】

ステップ ( 1 4 ) において、試験液から出る気体は、排出開口部 1 7 8 を通ってカートリッジ 1 0 0 から放出される。排出開口部 1 7 8 は、液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタで覆うことによって、カートリッジ 1 0 0 から気体を逃がしつつ液体の漏出を防止することができる。試験液から気体が抜けることを可能にし、促進することで、試験ウェルに残存する気体を最小限にし、試験ウェル内の液体の量を最大限にできるため、有益である。後述するように、電極間の経路に気泡が生ずる可能性を最小限にすることは、より信頼性の高い信号およびより正確な試験結果につながるため、有益である。

【 0 2 2 2 】

図 1 B に戻ると、試験領域 1 7 0 A は、流路 1 5 0 のセグメント 1 5 5 , 1 5 6 、試験

10

20

30

40

50

ウェル 175、試験ウェル流入路 176、試験ウェル流出路 177、開口部 / バルブ 176, 178 および回路基板 179 を含む。回路基板 179 は、試験ウェルの電極 171A, 171B、電流および他の電気信号を運ぶためのコンダクタ 172 ならびに電極インターフェース 135 を含む。電極インターフェース 135 は、接続パッド 173 を含み、接続パッド 173 の半数は、読取装置の電圧源または電流源と試験ウェルの励起電極とを連結するよう構成され、接続パッド 173 の残りの半数は、試験ウェルの信号電極と該試験装置の信号読取コンダクタとを電気的に連結するよう構成されている。図 1B を明瞭にするため、試験領域 170A において繰り返される要素に関しては、特定のもののみに参考番号を付している。

#### 【0223】

回路基板 179 は、プリント回路基板、例えば、多層のスクリーン印刷回路基板またはシルクスクリーン印刷回路基板などであってもよい。回路基板 179 は、柔軟性のあるプラスチック基板上または半導体基板上に印刷することができる。回路基板 179 は、少なくとも部分的に、ベース部 125 とは別の材料から形成して、重なり領域 126 を有するベース部 125 の下側に固定することができ、ベース部 125 の重なり領域 126 は、流路 150 のセグメント 155, 156、試験ウェル 175、試験ウェル流入路 176、試験ウェル流出路 177、開口部 / バルブ 176, 178 を含む。例えば、回路基板 179 は、重なり領域 126 のアクリル樹脂に接着、固定または積層された多層のプリント回路基板であってもよい。電極インターフェース 135 は、重なり領域 126 の端部を越えて伸びていてもよい。試験ウェル 175 は、重なり領域 126 の材料に設けられた穴として、回路基板 179 の電極 171A, 171B がウェル 175 内で露出されるように形成することができる。したがって、電極 171A, 171B は、ウェル 175 に流れ込む流体と直接的に接触しうる。回路基板 179 は、試験ウェルの底面となる滑らかな平坦面を作成するために、その上面を樹脂によってコーティングすることができる。

#### 【0224】

試験ウェル 175 には、試験プロセスのために、固体の乾燥成分、例えばプライマーやタンパク質などを供給することができる。これらの乾燥成分は、カートリッジ 100 を用いて試験しようとしている特定の標的に合わせて、その特定の選択および化学的性質を変更することができる。試験ウェル 175 に供給される乾燥成分は、同一であってもそれぞれ異なってもよい。これらの乾燥成分は、試験ウェルに流れ込む液体（例えば、プリスターパック 140 から出て、導入された試料と混合された液体）で水和し、試験手順のために活性化することができる。プリスターパック 140 内の液体成分と、試験ウェル 175 内の乾燥固体成分とを別々に供給することで、使用前のカートリッジ 100 を、増幅プロセスに必要とされる成分を収容した状態で使用時まで保管することが可能となり、また試料が導入されるまで増幅の開始を遅らせることが可能となるため、有益である。

#### 【0225】

試験ウェル 175 は、電極インターフェース 135 からの距離に差をつけて交互に 2 列に配置された円形のウェルとして描かれている。試験ウェル 175 は、通常は円筒形状であってもよく、例えば、上側および下側が平面によって（例えば、上側がカバー 105 または重なり領域 126 の一部によって、下側が回路基板 179 によって）境界付けられている、重なり領域 126 の材料内に形成された円形の穴であってもよい。試験ウェル 175 はそれぞれ、2 つの電極 171A, 171B を含む。一方の電極は、試験ウェル 175 に入っている試料に電流を流すよう構成された励起電極であり、他方の電極は、励起電極から液体試料を通して流れて来た電流を検出するよう構成された信号電極である。いくつかの実施形態において、カートリッジ 100 内の流体の温度をモニタリングするために、1 つ以上の試験ウェルが、電極の代わりにサーミスタを有してもよい。

#### 【0226】

試験ウェルはそれぞれ、他の試験ウェルから独立してモニタリングすることができるため、試験ウェルごとに異なる試験を構成することができる。各試験ウェル内に描かれている電極 171A, 171B は、互いに平行に位置付けられた線状電極である。図示された

10

20

30

40

50

試験ウェル 175 の配置であれば、流路 150 から各試験ウェル 175 までのアクセスを有するコンパクトな試験領域 170 A が得られる。いくつかの実施形態では、単一の試験ウェルのみが含まれることもあるが、様々な実施形態において、他の構成で配置された 2 つ以上の試験ウェルが含まれることもある。さらに、試験ウェルの形状は、他の実施形態では変化させることができ、また電極の形状は、図 4 A ~ 図 4 G に示される電極のいずれであってもよい。

#### 【0227】

いくつかの実施形態において、試験ウェル 175 内の気泡は、特に電極 171 A , 171 B の間の電流路に沿って位置する場合、信号電極が拾い上げる信号にノイズを生じさせることがある。このノイズは、信号電極から得られる信号に基づいて決定される試験結果の精度を低下させる可能性がある。電流路に沿って液体のみが存在する場合、あるいは電流路に沿って存在する気泡が最小限である場合に、所望の高品質な信号が得られるかもしれない。上述したように、流路 150 に沿って流れる流体中に当初存在する空気はすべて、排出開口部 178 を通って押し出すことができる。さらに、電極 171 A , 171 B および / または試験ウェル 175 は、液体試料の核生成（液体試料中に空気または気体の泡が生じ、電極に沿って集まる）を軽減または防止するように形作ることができる。

#### 【0228】

例えば、電極 171 A , 171 B は、試験ウェル 175 の底面に位置付けられる。これにより、空気または気体はすべて試験ウェル内の流体の最上部へと上昇し、電極間の経路から離れることとなる。本明細書中、試験ウェルの底面とは、重力によって、より重い液体が沈んでいる試験ウェルの部分を指し、また試験ウェルの最上部とは、より軽い気体がより重い液体の上に浮いている試験ウェルの部分を指す。さらに、電極 171 A , 171 B は、典型的に気泡核形成が生じる場所である試験ウェルの周囲または端部から離して位置付けられる。

#### 【0229】

さらに、電極 171 A , 171 B は、試験ウェルの底面を形成している、下部の回路基板層との関連において最小限の高さを有する、薄く平坦な材料の層から形成することができる。いくつかの実施形態において、電極 171 A , 171 B は、例えば、高さが約 300 nm である金属フィルムの薄層を形成するための電着およびパターニングを使用して形成することができる。このように高さを最小にすることは、気泡が電極と下位層との間のインターフェースに沿ってトラップされることを防止または軽減する助けとなる。いくつかの実施形態において、各電極の上に導電材料の層を設けることによって、電極の端部と試験ウェルの底面との間の遷移をより滑らかにすることができる。例えば、薄いポリイミド層（例えば、高さ約 5 ミクロン）を電極上に設けたり、回路基板をコーティングしたりすることができる。それに加えて、あるいは別法として、電極の高さとほぼ等しい深さを有する溝を備えた下位層の溝の中に、電極を位置付けることができる。これらの方法および他の適切な方法によって、ほぼ平坦またはウェルの底面とほぼ同じ高さにある電極を得ることができる。

#### 【0230】

上述の特徴は、電極 171 A , 171 B を液体に包まれた状態に保ち、かつ気泡が電極 171 A , 171 B の間の電流路に沿って位置するようになることを防止または低減する助けとなるため、有益である。

#### 【0231】

図 1 D は、カートリッジ 100 の試験領域 170 B の平面図を線画で描いたものである。図 1 B と同様、図 1 D を簡単かつ明瞭にするために、特定の繰り返される要素に関しては、1箇所のみ参照番号を付している。

#### 【0232】

試験領域 170 B は、試験領域 170 A の代わりとなる実施形態であり、2 つの実施形態の違いは、試験ウェル 175 内の電極構成が異なることである。試験領域 170 B の実施形態において、試験ウェルには、環状電極 171 C および 171 D が備えられている。

試験領域 170A の線状電極 171A, 171B において、いずれかの電極が励起電極または信号電極となりうる。試験領域 170B のこの実施形態では、内側電極 171D が励起電極であり、外側電極 171C が信号電極である。

#### 【0233】

内側電極 171D は、電流を供給するコンダクタ 172B に連結された円板形状または円形状の電極であってよく、コンダクタ 172B は次に、読取装置から内側電極 171D へと電流（例えば、特定周波数の AC 電流）を伝える電極インターフェース 135 の電流供給パッド 173 に連結されている。内側電極 171D は、試験ウェル 175 の中心に位置付けることができる。外側電極 171C は、内側電極 171D の周りで同心になるよう形成され、間隙によって内側電極 171D から隔てられた半円形の電極である。外側電極 171C の半円の切れ目は、導電性リードが電流供給コンダクタ 172B と内側電極 171D とを接続する箇所に位置している。外側電極 171C は、電流を検出するコンダクタ 172B に連結されており、コンダクタ 172B は次に、検出された電流を読取装置へと伝える電極インターフェース 135 の電流検出パッド 173 に連結されている。

10

#### 【0234】

図 1A ~ 図 1D のカートリッジ 100 は、増幅に基づく標的の試験、例えば、試料中のゲノム物質が、分子増幅プロセスを用いて指数関数的に複製される核酸試験を行うための、自己完結型かつ使用の簡単なデバイスを提供する。いくつかの実施形態において、ユーザは、単に試料を導入し、読取装置にカートリッジ 100 を挿入するだけで試験結果を得ることができ、有利である。これは、増幅プロセスの液体成分と固体成分がカートリッジ内にあらかじめ備えられ、自動的に試料と混合されることによる。いくつかの実施形態において、カートリッジおよび読取装置のいずれかまたはいずれもが、カートリッジを増幅に望ましい温度に維持するために、ヒーターと、ヒーターを操作するよう構成されたコントローラとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、カートリッジおよび読取装置のいずれかまたはいずれもが、トラップされている気体をすべて液体の最上部へと上昇させて試験ウェルから排出するために、カートリッジに振動を与えるか、あるいは他の方法でカートリッジを攪拌するためのモータを含んでいてもよい。

20

#### 【0235】

図 2 に、標的を検出するための、別の例示的カートリッジ 200 の写真を示す。カートリッジ 200 は、本明細書に記載された試験データのいくつかを生成するために使用されたものであり、カートリッジ 100 に関して説明された構成要素のいくつかは別の構成で配置されている。

30

#### 【0236】

カートリッジ 200 は、プリント回路基板層 205 およびアクリル層 210 を含み、アクリル層 210 は、プリント回路基板層 205 の一部を覆い、粘着剤を使用して該一部に接着されている。アクリル層 210 は、複数の試験ウェル 215A と、アクリル層 210 の高さ全体を通じて伸びる円形開口部として形成された複数の温度監視ウェル 215B を含む。プリント回路基板層 205 は、上述した回路基板 179 と同様に形成することができ、それぞれの試験ウェル 215A 内に位置付けられた 1 対の電極 220 と、それぞれの温度監視ウェル 215B 内に位置付けられたサーミスタ 225 を含む。電極 220 およびサーミスタ 225 はそれぞれ、プリント回路基板の複数のリード 230 で終了するコンダクタに連結されている。図示されているように、リードのうち 6 つは信号電極用であり、「SIG」の後に 1 ~ 6 の番号が続くよう表示され、リードのうち 6 つは励起電極用であり、「EXC」の後に 1 ~ 6 の番号が続くよう表示され、2 つのリードは、サーミスタ用として RT1 および RT2 と表示されている。

40

#### 【0237】

本明細書に記載する試験のいくつかにおいて、以下の例示的なプロトコルを実施した。最初に、ユーザは、ウェル 215A を試験液で満たし、これを鉱油で覆った。試験液はプライマー対照を有さず、増幅を引き起こすプライマーが存在しないことから、確定的陰性対照が可能となった。

50

## 【 0 2 3 8 】

次いで、ユーザは、カートリッジ 2 0 0 を 6 5 で 1 0 分間加熱し、試験流体内にトラップされている気体を膨張させ、泡として液体の最上部まで上昇させる。この最初の加熱の間に、ウェル 2 1 5 A 内に泡が生じた。

## 【 0 2 3 9 】

次のステップにおいて、ユーザは、ピペットまたは他のツールを使用して、ウェル 2 1 5 A 内の液体の表面にある泡をこすり落とした。上述のように、気泡を除去することで、試験結果はより正確なものとなりうる。

## 【 0 2 4 0 】

泡を除去した後、ユーザは、カートリッジ 2 0 0 を室温まで冷却した。次いで、ユーザは、ループ媒介等温増幅 ( L A M P ) 陽性対照 ( P C ) を各試験ウェル 2 1 5 A の底部に注入し、カートリッジ 2 0 0 をヒートブロック上に配置し、L A M P 試験を開始した。信号電極から検出された信号は、本明細書に記載するように分析され、陽性を示す信号のクリフが同定された。

## 【 0 2 4 1 】

図 3 A および図 3 B は、標的を検出するよう構成された、別の例示的カートリッジ 3 0 0 を示す。図 3 A は、カートリッジ 3 0 0 を、左前上方から見た斜視図であり、図 3 B は、カートリッジ 3 0 0 のウェル 3 2 0 の輪郭を示す斜視断面図である。カートリッジ 3 0 0 では、カートリッジ 1 0 0 に関して説明された構成要素のいくつかが別の構成で配置されている。

## 【 0 2 4 2 】

カートリッジ 3 0 0 は、試料導入部 3 0 5、中央チャネル 3 1 0、試験ウェル 3 2 0、試験ウェル 3 2 0 と中央チャネル 3 1 0 とを流体連通させる分岐 3 1 5、各試験ウェル 3 2 0 内に位置付けられた電極 3 2 5 A、3 2 5 B、および電極インターフェース 3 2 0 を含む。電極インターフェース 3 2 0 は接続パッドを含み、接続パッドは、電極 3 2 5 A、3 2 5 B のそれぞれに連結されたコンダクタに連結され、読取装置との間で信号の送受信を行うよう構成されている。図 3 B で示されるように、各ウェルが全体として半球状となるように、ウェル 3 2 0 は湾曲した底面を有しうる。カートリッジ 3 0 0 は、その内部の構成要素が明らかになるよう、上部が開かれた状態で描かれているが、使用時には、カートリッジ 3 0 0 の流路を密封するために、カバーまたは他の上位層を備えることができる。カバーは、カートリッジ 3 0 0 から気体を逃がすための通気口を含んでもよく、例えば、図 1 A ~ 図 1 D に関して上述したように、液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタを備えることができる。

## 【 0 2 4 3 】

試料導入部 3 0 5 に導入された流体試料は、例えば、試料導入部 3 0 5 の上に連結されたポートを通して試料をカートリッジ 3 0 0 の中へと注入する読取装置からの圧力を受けて、中央チャネル 3 1 0 を下って流れる。いくつかの実施形態では、そのような読取装置に、例えば積み重ねられた 1 組のカートリッジを提供することができ、各カートリッジに供給される試料は同一であっても異なってもよい。流体試料の大部分は、気体が溶解または ( 例えば気泡として ) トラップされている液体でありうる。流体は、中央チャネル 3 1 0 から分岐チャネル 3 1 5 を通って試験ウェル 3 2 0 の中へと流れうる。分岐チャネル 3 1 5 は、ウェルの最上部につながっていてもよく、異なる試験ウェル間での増幅プロセスの交差汚染につながりうる流体の逆流を防止または軽減するために、屈曲していても ( 例えば、半径の小さな湾曲部を複数含んでも ) よい。

## 【 0 2 4 4 】

図 4 A ~ 図 4 G は、図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジの試験ウェル内または本明細書に記載される別の適切な標的検出カートリッジの試験ウェル内もしくはチャネル内で使用することのできる様々な電極構成の例を示す。図 4 A ~ 図 4 G に描かれている試験ウェルは円形であるが、これらの電極は、別の例では、別の形状の試験ウェル内で使用することができる。特に断りのない限り、図 4 A ~ 図 4 G の黒丸は、開示される電極と、該電極につな

10

20

30

40

50



がるコンダクタとの接点を表す。以下で使用する「幅」は、図 4 A ~ 図 4 G のページの水平方向に沿った寸法を指し、以下で使用する「高さ」は、図 4 A ~ 図 4 G のページの垂直方向に沿った寸法を指す。特定の方向で描かれているが、図 4 A ~ 図 4 G で示される電極は、別の実施形態では回転していてもよい。さらに、開示される例示的寸法は、電極構成 4 0 0 A ~ 4 0 0 G の実施可能な形態における特定の例を表したものであり、様々な変形では、提示される例示的寸法間の比率に従った異なる寸法であってもよい。図 4 A ~ 図 4 G に示される電極は、白金、金、銅および錫を含む適切な材料から作られうる。実験的試験において、錫および白金は、特定の試験設定および試験標的に対して、同様に適切に機能した。

【 0 2 4 5 】

10

図 4 A は第 1 の電極構成 4 0 0 A を示したものであり、第 1 の電極 4 0 5 A および第 2 の電極 4 0 5 B は、それぞれ半円の外周として形成されている。第 1 の電極 4 0 5 A の直線状の縁は、第 2 の電極 4 0 5 B の直線状の縁に隣接し、構成 4 0 0 A の幅に沿って間隙により隔てられている。この間隙は、電極の半円の半径より大きい。したがって、第 1 の電極 4 0 5 A および第 2 の電極 4 0 5 B は、鏡に映った半円の外周のように位置付けられている。第 1 の電極構成 4 0 0 A の一例において、第 1 の電極 4 0 5 A と第 2 の電極 4 0 5 B とが最も接近している部分の間隙は約 2 6 . 3 6 9 mm であり、第 1 の電極 4 0 5 A および第 2 の電極 4 0 5 B それぞれの（直線状の縁に沿った）高さは約 2 5 . 3 9 9 mm であり、また第 1 の電極 4 0 5 A および第 2 の電極 4 0 5 B それぞれの半円の半径は約 1 2 . 7 0 3 mm である。

20

【 0 2 4 6 】

図 4 B は第 2 の電極構成 4 0 0 B を示す。第 1 の電極構成 4 0 0 A と同様に、第 2 の電極構成 4 0 0 B の第 1 の電極 4 1 0 A および第 2 の電極 4 1 0 B は、それぞれ半円の外周として形成され、直線状の縁同士が向かい合う、鏡に映った半円の外周のように位置付けられている。第 2 の電極構成 4 0 0 B の第 1 の電極 4 1 0 A および第 2 の電極 4 1 0 B は、第 1 の電極構成 4 0 0 A の第 1 の電極 4 0 5 A および第 2 の電極 4 0 5 B と同じ大きさであってよい。第 2 の電極構成 4 0 0 B において、第 1 の電極 4 1 0 A と第 2 の電極 4 1 0 B との間の、構成 4 0 0 B の幅に沿った間隙は、第 1 の電極 4 1 0 A および第 2 の電極 4 1 0 B の半円の半径よりも小さい。第 2 の電極構成 4 0 0 B の一例において、第 1 の電極 4 1 0 A と第 2 の電極 4 1 0 B とが最も接近している部分の間隙は約 1 0 . 1 5 8 mm であり、第 1 の電極 4 1 0 A および第 2 の電極 4 1 0 B それぞれの（直線状の縁に沿った）高さは約 2 5 . 3 9 9 mm であり、また第 1 の電極 4 1 0 A および第 2 の電極 4 1 0 B それぞれの半円の半径は約 1 2 . 7 0 3 mm である。

30

【 0 2 4 7 】

図 4 C は、第 1 の線状電極 4 1 5 A および第 2 の線状電極 4 1 5 B を有する第 3 の電極構成 4 0 0 C を示し、第 1 の線状電極 4 1 5 A と第 2 の線状電極 4 1 5 B は、電極 4 1 5 A および 4 1 5 B の高さとはほぼ等しい間隙によって、構成 4 0 0 C の幅に沿って隔てられている。電極 4 1 5 A および 4 1 5 B の幅は、これらの電極の高さの約 2 分の 1 から 3 分の 1 である。第 3 の電極構成 4 0 0 C の一例において、第 1 の電極 4 1 5 A と第 2 の電極 4 1 5 B とが最も接近している部分の間隙は約 2 5 . 3 9 9 mm であり、第 1 の電極 4 1 5 A および第 2 の電極 4 1 5 B それぞれの高さも約 2 5 . 3 9 9 mm であり、また第 1 の電極 4 1 5 A および第 2 の電極 4 1 5 B それぞれの幅は約 1 0 . 1 5 8 mm である。第 1 の電極 4 1 5 A および第 2 の電極 4 1 5 B の端部は丸みをつけられていてもよく、例えば、約 5 . 0 7 8 mm の半径を有していてもよい。

40

【 0 2 4 8 】

図 4 D は、第 1 の方形電極 4 2 0 A および第 2 の方形電極 4 2 0 B を有する第 4 の電極構成 4 0 0 D を示し、第 1 の方形電極 4 2 0 A と第 2 の方形電極 4 2 0 B とは、電極 4 2 0 A および 4 2 0 B の幅とはほぼ等しい間隙によって、構成 4 0 0 D の幅に沿って隔てられている。第 4 の電極構成 4 0 0 D の一例において、第 1 の電極 4 2 0 A と第 2 の電極 4 2 0 B とが最も接近している部分の間隙は約 2 0 . 3 2 5 mm であり、第 1 の電極 4 2 0 A

50

および第2の電極420Bそれぞれの高さは約23.496mmであり、また第1の電極420Aおよび第2の電極420Bそれぞれの幅は約17.777mmである。

【0249】

図4Eは、第1の線状電極425Aおよび第2の線状電極425Bを有する第5の電極構成400Eを示し、第1の線状電極425Aと第2の線状電極425Bは、電極425Aおよび425Bの高さとほぼ等しい間隙によって、構成400Eの幅に沿って隔てられている。第5の電極構成400Eは、電極構成400Cと同様であるが、電極425Aおよび425Bの高さは同じであるものの、その幅は、電極415Aおよび415Bの幅の約2分の1から3分の2まで減じられている。第5の電極構成400Eの一例において、第1の電極425Aと第2の電極425Bとが最も接近している部分の間隙は約25.399mmであり、第1の電極425Aおよび第2の電極425Bそれぞれの高さも約25.399mmであり、また第1の電極425Aおよび第2の電極425Bそれぞれの幅は約5.078mmである。第1の電極425Aおよび第2の電極425Bの端部は丸みをつけられていてもよく、例えば、約2.542mmの半径を有していてもよい。

10

【0250】

図4Fは、同心の環状電極430Aおよび430Bを有する第6の電極構成400Fを示す。第6の電極構成400Fは、図1Dの試験ウェル175で示した構成である。内側電極430Bは、試験ウェルの中心に位置付けられてもよい円板形状または円形状の電極でありうる。外側電極430Aは、内側電極430Bの周りで同心になるよう形成され、間隙によって内側電極430Bから隔てられた半円形の電極でありうる。第6の電極構成400Fにおいて、間隙は、内側電極430Bの半径とほぼ等しい。外側電極430Aの半円の切れ目は、導電性リードが電流供給コンダクタと内側電極430Bとを接続する箇所に位置している。第6の電極構成400Fの一例において、環状の第1の電極430Aの内縁と円形の第2の電極430Bの外周との間隙は約11.430mmであり、円形の第2の電極430Bの半径は約17.777mmであり、また環状の第1の電極430Aの環の厚さは約5.080mmである。第1の電極430Aの端部は丸みをつけられていてもよく、例えば、約2.555mmの半径を有していてもよい。また、第1の電極435Aの環の開放端間の間隙は、頂部から頂部までが約28.886mmであってよい。

20

【0251】

図4Gは、同心の環状電極435Aおよび435Bを有する第7の電極構成400Gを示す。図4Fの実施形態と同様に、内側電極435Bは、内側電極430Bと同一の半径を有する円板形状または円形状の電極であってよく、試験ウェルの中心に位置付けられていてもよい。外側電極435Aは、内側電極435Bの周りで同心になるよう形成され、間隙によって内側電極435Bから隔てられた半円形の電極でありうる。第7の電極構成400Gにおいて、間隙は、内側電極435Bの半径より大きく、例えば、2倍から3倍の大きさである。相応して、外側電極435Bの半径は、外側電極430Bの半径より大きい。第7の電極構成400Gの一例において、環状の第1の電極435Aの内縁と円形の第2の電極435Bの外周との間隙は約24.131mmであり、円形の第2の電極435Bの半径は約17.777mmであり、また環状の第1の電極435Aの環の厚さは約5.080mmである。第1の電極435Aの端部は丸みをつけられていてもよく、例えば、約2.555mmの半径を有していてもよい。また、第1の電極435Aの環の開放端間の間隙は、頂部から頂部までが約46.846mmであってよい。

30

40

【0252】

図4A～図4Eの実施形態において、いずれかの電極を励起電極として使用することができ、他方の電極を信号電極として使用することができる。図4Fおよび図4Gの実施形態では、内側電極430B、435Bは励起電極として使用されるよう構成されており（例えば、電流源に連結されている）、外側電極430A、435Aは信号電極として使用されるよう構成されている（例えば、自体の信号を、メモリまたはプロセッサに提供する）。いくつかの例示的試験において、第6の電極構成400Fは、図4A～図4Gで示される構成の中で最高のパフォーマンスを示した。

50

## 【 0 2 5 3 】

図 5 A は、図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジの試験ウェル内または本明細書に記載される別の適切な標的検出カートリッジの試験ウェル内もしくはチャンネル内で互いに間隔を空けて配置されてもよい、第 1 の電極または励起電極、および第 2 の電極または信号電極を示す。

## 【 0 2 5 4 】

例えば、図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジの試験ウェル内での増幅プロセスの間に、凝集塊、核酸複合体または重合体が形成されると、チャンネルを通して送られる 1 つ以上の電気信号の波形特性に影響する場合がある。図 5 A に示すように、第 1 の電極または励起電極 5 1 0 A は、第 2 の電極または検出電極 5 1 0 B とは間隔を空けて試験ウェル 5 0 5 内に配置される。試験ウェル 5 0 5 は、増幅プロセスに供される試験液を含むことができる。このプロセスの一部または全部において、励起電圧 5 1 5 を励起電極 5 1 0 A に供給することができ、この励起電極から、ウェル 5 0 5 内の流体（好ましくは液体の全体または実質的に全体）に励起電圧 5 1 5 を送ることができる。

## 【 0 2 5 5 】

液体試料（抵抗 R およびリアクタンス X によって図式的に表示）を通過して減衰した励起電圧は、検出電極 5 1 0 B で感知または検出される。この流体は、励起電極 5 1 0 A および検出電極 5 1 0 B と直列になった抵抗器 R として作用する。この流体はさらに、リアクタンス X によって示されている直列コンデンサとして作用する。試験の一部または全部において検出された生の信号は、プロット 5 2 0 に示すような、振幅が変化する正弦曲線として経時的に表すことができる。

## 【 0 2 5 6 】

励起電圧 5 1 5 は、所定の駆動周波数の交流電流でありうる。選択された特定の周波数は、例えば、検出しようとしている特定の標的、試験試料の培地、増幅プロセスの成分の化学的組成、増幅プロセスの温度および/または励起電圧に依存しうる。図 1 A ~ 図 3 B のカートリッジのいくつかの実施形態では、励起駆動周波数は、可能な限り低い励起電圧において 1 k H z ~ 1 0 k H z の間でありうる。一例を挙げると、5 % 全血に加えたインフルエンザ菌（*H . I n f l u i e n z a*）（反応あたり  $10^6$  コピー）を標的として同定するために実施した試験では、励起センサ駆動周波数は、0 . 1 5 V において 1 0 0 H z ~ 1 0 0 , 0 0 0 H z の範囲で変化した。これらの試験から、所望の「信号のクリフ」、試験試料が陽性であることを示唆する信号の一部におけるアーチファクト（これについては、後により詳細に説明する）は 1 0 0 H z 未満で容易に検出することが可能となり、1 k H z ~ 1 0 k H z の間で最も容易に検出できることが明らかになった。さらに、1 k H z ~ 1 0 k H z の範囲の周波数を用いた場合、1 2 分間の試験時間が経過する前に信号のクリフが同定されうるため、有利である。信号のクリフを迅速に同定できれば、試験時間の短縮につながり、これによって試験結果をすばやく提供することが可能となり、1 日あたりに実施できる試験数が多くなるため、有益である。1 k H z 未満の周波数では、（陽性試料において信号のクリフが見出されうる）信号のリアクタンス成分は、単調に減少した。センサ駆動周波数も同様に、パフォーマンスを最適化するために、すなわち信号のクリフの検出可能性を最適化するために、他の試験のために微調整することができる。信号のクリフの検出可能性とは、陽性試料と陰性試料とを一貫して識別する能力を指す。

## 【 0 2 5 7 】

図 5 B に、検出電極 5 1 0 B によって提供される生信号 5 2 0 から抽出することのできるインピーダンス信号 5 3 0 を示す例示的なプロット 5 2 5 を示す。インピーダンス信号 5 3 0 は、試験ウェルの電気インピーダンス Z を経時的に表したものである。インピーダンス Z は、デカルトの複素数方程式によって以下のように表すことができる：

$$Z = R + jX$$

ここで、R は試験ウェルの抵抗を表し、上記の方程式の実数部分である。また、X は試験ウェルのリアクタンスを表し、上記の方程式の虚数部分（j で示す）である。したがって、試験ウェルのインピーダンスは、分析によって 2 つの成分、抵抗 R およびリアクタンス

Xへと分解することができる。

#### 【0258】

まず、抵抗Rの値は、増幅プロセスに先立って、またはその開始時に試験ウェルのベースライン測定を行うことによって決定できる。試験液の抵抗は、試験の実行時間を通じてのこのベースライン値から離れることもありうるが、試験液の抵抗に基づいて検出電極510Bによって検出される電流は、励起電極510Aによって提供される信号と同相でありうる。したがって、抵抗の変動またはドリフトは、信号520の同相成分の経時的な値によって同定することができる。リアクタンスは、試験液のインダクタンス、試験液の静電容量またはこれらの両方の影響を受けて発生する可能性があり、この影響によって試験液が一時的に電流（例えば、励起電極510Aによって供給された電子）を保持すること

10

#### 【0259】

試験中、励起電極510Aは、いくつかの振幅および電圧で正弦波的に励起することができる。励起電極510Aは、抵抗器Rと見なすことのできるウェル内の試験液と直列になっている。抵抗器（例えば、試験液）と電極とで分圧器が形成される。この分圧器の電圧は、抵抗器と電極の化学的性質／インピーダンスの比率によって決まる。結果として生じ、検出電極510Bで検出された電圧波形は、複素インピーダンス信号530を示す。いくつかの実施形態において、インピーダンス信号530のような曲線が生成されないこともあるが、本明細書に記載するように、生の検出信号520を抵抗成分およびリアクタンス成分へと分解することができる。インピーダンス信号530は、試験液の抵抗と試験液のリアクタンスの両方を経時的に示す曲線の組み合わせとして提示される。複素インピーダンス信号530は、直交変調波形（例えば、試験液の抵抗に起因する同相波形と、試験液のリアクタンスに起因する異相波形との組み合わせ）として解釈することができ、そこでは、同相成分と異相成分とが、変調周波数よりもはるかに大きな時間スケールで変化する。同相波形は、複素インピーダンスの合成波形と同相である。いくつかの実施形態では、生の信号520から同相成分と異相成分を抽出し、それらの振幅と位相を計算するために、同期検出器（例えば、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）内に乗算器および低域通過フィルタを有する）を使用することができる。

20

30

#### 【0260】

インピーダンス信号530（または生の検出信号520）を、それを構成する抵抗成分とリアクタンス成分とに分解するために、検出電極510Bにおける電圧波形520を、そのナイキスト周波数よりも速く（例えば、励起電圧の最高周波数の2倍）サンプリングし、次いで、同相成分（抵抗）と異相成分（リアクタンス）とに分解する。同相成分と異相成分は、既知の直列抵抗（例えば、Rの値）を使用してインピーダンス（リアクタンス）の実数成分とインピーダンス（リアクタンス）の虚数成分とを計算することによって、算出できる。

40

#### 【0261】

図5Cは、例示的陽性試験に基づいて生成された生の信号520から抽出した抵抗成分540Aおよびリアクタンス成分540Bの経時的な（ $t = 3$ 分～ $t = 45$ 分）プロット541を示す。図中、信号のクリフ545は、特定の時間枠 $T_W$ におけるリアクタンス540Bの変化Rを示す。信号のクリフ545は、陽性試料であることを示唆している。信号のクリフ545以前の時間において、リアクタンス曲線540Bは比較的平らであり、安定していると言える。また、信号のクリフ545以後のリアクタンス曲線540Bも

50

、再び比較的平らな、安定した状態にある。したがって、この実施形態において、プロット 5 4 1 によって表される、特定の試験パラメータを用いた場合の信号のクリフ 5 4 5 は、予測された領域 5 3 5 内の R の低下として生じている。

#### 【0 2 6 2】

陽性試料の信号のクリフ 5 4 5 に相当するリアクタンスの変化 R の大きさ、ならびに信号のクリフ 5 4 5 が生じると予測される特定の時間枠  $T_W$  の位置および / または持続時間は、試験における複数のパラメータに依存して変化しうる。このようなパラメータとしては、特定の試験標的（例えば、その標的の増幅速度）、励起電圧の周波数、励起電極および検出電極の構成（例えば、各々の形状および寸法、電極を隔てる間隙ならびに電極の材料）、サンプリング速度、試験開始時に供給される増幅剤の量、増幅プロセスの温度ならびに試料中に存在する標的の量が挙げられる。いくつかの実施形態では、陽性試料と陰性試料とを識別するために、例えば実験を通じてあらかじめ定められた、陽性試料の信号のクリフの予測される特性を使用することができる。いくつかの実施形態において、信号のクリフの予測される特性を使用することによって、例えば特定の信号クリフ特性と試料中の標的の特定の初期量との相関によって、病状の重症度または進行を判定することができる。試験カートリッジの検出電極から信号を受信するよう構成された読取装置に、このようなあらかじめ定められた予測される特性を提供し、格納しておくことで、試験結果を決定する際にアクセスすることが可能となる。

10

#### 【0 2 6 3】

与えられた試験に関して、陽性試料におけるリアクタンスの変化 R の予測される大きさ、および信号のクリフ 5 4 5 の予測される時間枠  $T_W$  は、陽性対照試料（および任意選択で陰性対照試料）によって生じるリアクタンス曲線のモニタリングおよび分析に基づいて、実験的に決定することができる。いくつかの実施形態において、信号のクリフに影響を及ぼすこのような試験パラメータを変化させて微調整することにより、正確に識別可能な信号のクリフに相当するパラメータを同定することができる。本明細書に記載される読取装置およびカートリッジは、試験構成と一致するように構成することができ、この装置およびカートリッジに対して、当該試験のための予測される信号クリフ特性を提供することができる。

20

#### 【0 2 6 4】

例えば、インフルエンザ菌の一連の実験的試験において、試験液は当初、増幅プライマーと追加された標的 1 , 0 0 0 , 0 0 0 コピーを含んでいた。励起電圧は 2 0 0 m V P 2 P であり、試験パラメータとしては、励起電流の周波数に対して 1 0 k H z のスイープスタートおよび 1 0 M H z のスイープストップ、また電極間の間隙は、狭いものが 2 . 5 5 m m 、広いものが 5 m m となるよう配置した。増幅温度は 6 5 . 5 に設定し、2 つの電極設定（間隙の大小それぞれにつき 1 つ）には白金電極を含めた。低周波（1 0 k H z ~ 1 0 0 k H z ）において、間隙が 5 m m の電極構成を使用した場合、検出可能な信号のクリフは、約 1 0 k H z では増幅開始から約 2 3 分、約 1 0 0 k H z では約 3 0 分で始まると同定され、リアクタンスの変化の大きさは、1 0 k H z で約 3 . 5 ~ 4 オーム、1 0 0 k H z では約 3 . 2 5 ~ 3 . 5 オームまで低下した。低周波（1 0 k H z ~ 1 0 0 k H z ）において、間隙が 2 . 5 m m の電極構成を使用した場合、検出可能な信号のクリフは、約 1 0 k H z では増幅開始から約 2 5 分、約 1 0 0 k H z では約 3 0 分で始まると同定され、リアクタンスの変化の大きさは、約 3 . 5 ~ 4 オームであった。高周波では、信号のクリフのリアクタンスの低下は小さくなり、この小さな信号クリフが同定された時間は、増幅プロセスの後方ヘシフトした。したがって、この実施例において、試験カートリッジ内の試験ウェルは、電極間隙 5 m m として構成されてもよく、読取装置は、増幅中の試験カートリッジに 1 0 k H z の励起電流を供給するよう構成されてもよい。この電流を供給した後、増幅全体を通して、あるいは予測される信号クリフ時間（ここでは 2 3 分）の周辺の時間枠において、例えば 2 0 分から 3 5 分の間において、試験ウェルに生じるリアクタンスをモニタリングするよう、読取装置に指示することができる。また、読取装置に対して、増幅開始から約 2 3 分、あるいは予測される信号クリフ時間の周辺の時間枠にお

30

40

50

いて、約 3 . 5 ~ 4 オームの変化を示すリアクタンスに基づいて陽性試料を同定するよう指示することもできる。

#### 【 0 2 6 5 】

同定された  $R$  と  $T_W$  の値は、その特定の試験において陽性試料と陰性試料とを識別するために、読取装置に提供することができる。いくつかの実施例において、そのような装置は、リアクタンス曲線 5 4 0 B が同定された時間枠  $T_W$  内に信号のクリフに相当する要求値および / または傾斜を有するか否かを判定することができる。別の実施形態において、読取装置は、経時的リアクタンス曲線の形状を分析することによって、該曲線に信号のクリフが含まれるか否かを判定することができる。いくつかの実施形態において、読取装置は、信号のクリフ 5 4 5 が生じると予測される、同定された時間枠  $T_W$  に基づいて、試験手順を変更することができる。例えば、この枠内においてのみ励起電圧を供給して生じる信号のモニタリングを行うことによって、試験時間全体にわたってモニタリングを継続する場合と比べて電力および処理資源を節約することができ、有利である。

10

#### 【 0 2 6 6 】

図 5 D は、陽性対照および陰性対照の例示的試験における検出電極 5 1 0 B の生の検出データから抽出された抵抗成分およびリアクタンス成分を示す。具体的に言えば、プロット 5 5 1 は、3 5 分間の試験時間にわたる、陽性試料の抵抗の曲線 5 5 0 A、陽性試料のリアクタンスの曲線 5 5 0 B、陽性試料の抵抗の曲線 5 5 0 C、および陽性試料のリアクタンスの曲線 5 5 0 D を示す。図 5 D に示されるように、陽性試料の信号のクリフは試験開始後約 1 7 分で生じ、この信号のクリフまでのリアクタンス曲線 5 5 0 B は、比較的平坦であり安定している。対照的に、同じ時間において、陰性試料のリアクタンス曲線 5 5 0 D に信号のクリフは見られず、 $t = 8$  分頃から試験終了まで、二次曲線が維持されている。

20

#### 【 0 2 6 7 】

図 5 E は、例示的陽性試験に基づいて生成された生の信号 5 2 0 から抽出した抵抗成分 5 6 0 A およびリアクタンス成分 5 6 0 B の経時的な ( 増幅開始後  $t = 0$  分 ~  $t = 6$  0 分 ) プロット 5 6 1 を示す。図中、信号のクリフ 5 6 5 は、特定の時間枠  $T_W$  におけるリアクタンス 5 6 0 B の変化  $R$  を示す。信号のクリフ 5 6 5 は、陽性試料であることを示唆している。信号のクリフ 5 6 5 以前の時間において、リアクタンス曲線 5 6 0 B は比較的平らであり、安定していると言える。また、信号のクリフ 5 6 5 以後のリアクタンス曲線 5 6 0 B も、わずかな凹みはあるものの、再び比較的平らな、安定したものとなっている。プロット 5 6 1 によって表される、特定の試験パラメータを用いた場合の信号のクリフ 5 6 5 は、予測された領域 5 3 5 内でピーク、スパイクまたは釣鐘曲線として現れ、その間にリアクタンスの値は、概ね放物線を描きながら  $R$  だけ上昇または下降している。本明細書に記載するように、特定の試験パラメータ ( 例えば、試験ウェルの構成、増幅成分の化学的性質および当初の量、標的、ならびに励起電流の特性 ) を変化させることで、陽性試料から得られる信号のクリフの形状を変化させうる。したがって、いくつかの実施形態において、リアクタンス値対時間曲線における「信号のクリフ」の形状は、試験ごとに变化しうる。ただし、特定の試験では、その試験で用いる陽性試料のいずれにおいても、曲線の形状および / または信号のクリフのタイミングがリアクタンスの変化および / またはタイミングパラメータと一致したままとなる。

30

40

図 6 は、本明細書に記載されるカートリッジ、例えばカートリッジ 1 0 0 または 3 0 0 と共に使用することのできる例示的読取装置 6 0 0 の略ブロック図を示す。読取装置 6 0 0 は、メモリ 6 0 5、プロセッサ 6 1 0、通信モジュール 6 1 5、ユーザインターフェース 6 2 0、ヒーター 6 2 5、電極インターフェース 6 3 0、電圧源 6 3 5、圧縮空気貯蔵部 6 4 0、モータ 6 5 0、およびカートリッジを挿入できるキャビティ 6 6 0 を含む。

#### 【 0 2 6 8 】

試験カートリッジ 1 0 0 が読取装置に挿入されると、カートリッジの電極インターフェース 1 3 5 が読取装置 6 0 0 の電極インターフェース 6 3 0 と連結される。これにより、読取装置 6 0 0 は、カートリッジが挿入されたことを、例えば通信経路が確立されたか否

50

かを試験することによって、検出できるようになる。さらに、そのような通信により、読取装置 600 は、挿入された特定の試験カートリッジ 100 を同定し、対応する試験プロトコルにアクセスできるようになる。試験プロトコルには、試験の実行時間、試験の温度、陽性試料のインピーダンス曲線特性、および得られた試験結果に基づいてユーザに対して出力すべき様々な情報が含まれる。別の実施形態において、読取装置 600 は、ユーザインターフェース 620 を介して、カートリッジが挿入されたという指標を（例えば、ユーザが「試験開始」というコマンドおよび任意で試験カートリッジ識別子を入力することによって）受信することができる。

#### 【0269】

メモリ 605 は、読取装置 600 の演算を制御するためのコンピュータによる実行の可能な命令と、読取装置 600 の使用の間に生成されたデータとを格納するよう構成された 1 つ以上の物理的電子記憶装置を含む。例えば、メモリ 605 は電極インターフェース 630 に連結された検出電極からのデータを受信し格納することができる。

#### 【0270】

プロセッサ 610 は、試験中に読取装置 600 の演算を制御するためのコンピュータによる実行の可能な命令を、例えばユーザインターフェース 620 を管理し、ヒーター 625 を制御し、通信モジュール 615 を制御し、電圧源 635 と圧縮空気 640 とモータ 650 を作動させることによって実行する 1 つ以上のハードウェアプロセッサを含む。試験操作の一実施例を、図 7A に関して以下で説明する。プロセッサ 610 はまた、命令によって、例えば以下で説明する図 7B のプロセスを実行することによって、挿入された試験カートリッジの励起電極から受信したデータに基づいて試験結果を決定するよう構成される。プロセッサ 610 は、単一のカートリッジの異なる試験ウェルから受信した信号に基づいて同一の試験試料中の異なる標的を同定するよう構成することができたり、異なる試験ウェルからの信号の個別分析または集計分析に基づいて単一の標的を同定することができたりする。

#### 【0271】

通信モジュール 615 は、任意選択で読取装置 600 内に備えることができ、ネットワーク対応のハードウェア構成要素、例えば読取装置 600 と遠隔計算装置との間にネットワークによる通信を提供するための、有線または無線のネットワーク構成要素を含む。適切なネットワーク構成要素としては、Wi-Fi、ブルートゥース、セルラーモデム、イーサネットポート、USB ポートなどが挙げられる。ネットワーキングが可能であることにより、読取装置 600 は、試験結果およびその他の試験データを、ネットワークを通じて特定の遠隔計算装置に、例えば、電子カルテを格納している病院の情報システムおよび/または実験室の情報システム、全国健康機関データベース、ならびに臨床医または他の特定の人員の計算装置に送ることができる。例えば、医師は、特定の患者の試験結果を、試験結果が読取装置によって判定されると同時に自身のモバイル機器、ラップトップまたは診察室のデスクトップで受信することができるため、より短時間で診断および治療計画を提供できる。さらに、ネットワーキングが可能であることにより、読取装置 600 は、遠隔計算装置からネットワークを通じて、例えば既存の試験用の更新済み信号クリフパラメータ、新しい試験用の新しい信号クリフパラメータ、更新済みまたは新しい試験プロトコルなどの情報を受け取ることができる。

#### 【0272】

ユーザインターフェース 620 は、ユーザに試験結果および他の試験情報を提示するためにディスプレイと共に、ユーザが読取装置 600 にコマンドや試験データを入力するための入力装置（例えば、ボタン、タッチディスプレイ）を含みうる。

#### 【0273】

ヒーター 625 は、挿入されたカートリッジを増幅プロセスのための所望の温度まで加熱するために、キャピティ 660 に隣接して位置付けることができる。キャピティ 660 の片側に描かれているが、いくつかの実施形態において、ヒーター 625 はキャピティを囲みうる。

10

20

30

40

50

## 【 0 2 7 4 】

本明細書に記載するように、電圧源 6 3 5 は、挿入された試験カートリッジの励起電極それぞれに、所定の電圧および周波数で励起信号を供給することができる。圧縮空気貯蔵部 6 4 0 は、試験カートリッジ内の液体の流れを促進するために、チャンネル 6 4 5 を経由して試験カートリッジ 1 0 0 の空気インターフェース 1 6 0 へと空気圧を供給するために使用することができる。圧縮空気貯蔵部 6 4 0 は、あらかじめ圧縮空気を貯蔵することも、読取装置 6 0 0 による求めに応じて圧縮空気を生成することもできる。別の実施形態において、貯蔵または生成された圧縮空気の代わりに、他の適切な空気ポンプおよび圧力供給機構を使用してもよい。モータ 6 5 0 は、上述したように、挿入されたカートリッジのプリスターパック 1 4 0 を破裂させるために、アクチュエータ 6 5 5 を移動させてプリスターパックに近づけたりプリスターパックから遠ざけたりするように作動させることができる。

10

## 【 0 2 7 5 】

図 7 A は、本明細書に記載されるような試験の間に読取装置を動作させるための、例示的プロセス 7 0 0 のフローチャートを示す。プロセス 7 0 0 は、上述した読取装置 6 0 0 によって実行することができる。

## 【 0 2 7 6 】

ブロック 7 0 5 において、読取装置 6 0 0 は、例えば、ユーザの入力に応じて、または挿入されたカートリッジとの信号経路の確立に応じて、分析カートリッジ 1 0 0 , 2 0 0 , 3 0 0 が挿入されたことを検出できる。いくつかの実施形態において、カートリッジ 1 0 0 , 2 0 0 , 3 0 0 は、読取装置 6 0 0 が行うべき特定の試験を同定する情報要素を含むことができ、任意選択で、試験プロトコル情報を含む。

20

## 【 0 2 7 7 】

ブロック 7 1 0 において、読取装置 6 0 0 は、カートリッジ 1 0 0 , 2 0 0 , 3 0 0 を増幅のための所定の温度まで加熱することができる。例えば、該温度は、カートリッジ 1 0 0 , 2 0 0 , 3 0 0 に格納された情報によって与えられてもよく、またはカートリッジ 1 0 0 , 2 0 0 , 3 0 0 の同定に応じて、読取装置 6 0 0 の内部メモリにアクセスして得ることもできる。

## 【 0 2 7 8 】

ブロック 7 1 5 において、読取装置 6 0 0 は、プリスターパック穿刺機構、例えばモータ 6 5 0 およびアクチュエータ 6 5 5 を作動させることができる。プリスターパックを穿刺すると、あらかじめ密封したチャンバから、増幅を促進するために化学成分を含むその液状内容物が放出される。

30

## 【 0 2 7 9 】

ブロック 7 2 0 において、読取装置 6 0 0 は、試料と液体とをカートリッジの流路を通してプリスターパックから試験ウェルへと移動させるために、空気ポンプを作動させることができる。上述したように、試験ウェルは、カートリッジの流路を通して液体を押すことを可能にし、さらにトラップされた空気を逃がすことを可能にするような通気口を含みうる。空気ポンプは圧縮空気 6 4 0 または別の適切な圧力源を含むことができ、空気インターフェース 1 6 0 と流体連通することができる。

40

## 【 0 2 8 0 】

ブロック 7 2 5 において、読取装置 6 0 0 は、例えば、ある特定の抵抗が検出されるまでカートリッジの流路を通して液体を押すことによって（例えば、流路の液体は、通気口に設けられた液体不浸透性かつ気体浸透性のフィルタに向かって押される）、トラップされた空気を試験ウェルから放出することができる。ブロック 7 2 5 は、トラップされた空気または他の気体の気泡が液体と通気口を通して移動することを促進するために、挿入されたカートリッジを攪拌することを任意で含んでもよい。さらに、ブロック 7 2 5 において、読取装置 6 0 0 は、増幅プロセスの混合を回避するために、試験ウェル間に位置付けられたバルブを閉鎖させる信号を、任意選択でカートリッジに提供することができる。

## 【 0 2 8 1 】

50



判定ブロック 730 において、読取装置 600 は、試験が所定の試験時間内にあるか否かを判断することができる。例えば、陽性試料に信号のクリフが現れることが予測される時間枠が既知である場合、試験時間は、その枠の終了時または枠の終了後所定のいくらかの時間を置いた後に終了してもよい。試験時間内にある場合、プロセス 700 は、任意選択の判定ブロック 735 へと移動するが、ブロック 735 を省略する実施形態では、ブロック 740 へと移動する。

#### 【0282】

任意選択の判定ブロック 735 において、読取装置 600 は、試験ウェルの検出電極から得たデータの記録から、試験ウェルの増幅をモニタリングすべきか否かを判定する。例えば、読取装置 600 は、試験の特定の（1つまたは複数の）枠において、試験ウェルのインピーダンスのみをモニタリングするという命令を受けてもよい。読取装置 600 が試験ウェルの増幅のモニタリングを行わないと判定した場合、プロセス 700 は判定ブロック 730 に戻る。

10

#### 【0283】

読取装置 600 が試験ウェルの増幅をモニタリングすると判定した場合、プロセス 700 は、ブロック 740 へと移動する。ブロック 740 において、読取装置 600 は、挿入されたカートリッジの試験ウェルの励起電極に、励起信号を提供する。上述したように、これは特定の周波数および電圧の交流でありうる。

#### 【0284】

ブロック 745 において、読取装置 600 は、挿入されたカートリッジの試験ウェルの検出電極からのデータを検出し、記録する。いくつかの実施形態において、このデータは後の分析のために、例えば試験終了後に分析を行うために保存することができる。いくつかの実施形態において、読取装置 600 は、リアルタイムで（例えば、試験が行われている最中に）このデータを分析することができ、ひとたび陽性試料の信号クリフが同定されれば、試験を終了してもよい。

20

#### 【0285】

ブロック 730 において、読取装置 600 が、試験が指定された時間内にないと判定した場合、プロセス 700 はブロック 750 に移動し、試験データの分析および試験結果の出力を行う。試験結果は、試験した試料が標的に関して陽性であるか陰性であるかという表示を含むことができ、より具体的に、試験した試料中の標的の推定量を示すこともできる。

30

#### 【0286】

図 7B は、本明細書に記載されるような標的を検出するために試験データを解析するための、例示的プロセスのフローチャートを示し、このプロセスは図 7A のブロック 750 として読取装置 600 によって実行できる。

#### 【0287】

ブロック 755 において、読取装置 600 は、ウェルの電極から受け取って記録された信号データにアクセスすることができる。カートリッジに複数のウェルがある場合も、各ウェルからのデータを個別に分析することができる。カートリッジ内で行われたすべての試験に基づいて試験結果を後に総体的に分析して、単一の標的のための単一の試験結果の判定を行ってもよく、複数の標的に関する複数の試験結果の判定を行ってもよい。

40

#### 【0288】

ブロック 760 において、読取装置 600 は、試験の異なる時点の一部または全部についての信号を、抵抗成分およびリアクタンス成分へと分解することができる。例えば、上述したように、読取装置 600 は、サンプリングされた生の電圧波形の同相成分および異相成分を各時点において判定し、次いで、この電気回路の既知の直列抵抗を使用してこれらの成分のデコンボリューションを行い、試験ウェルのインピーダンスにおける同相（抵抗）部分および異相（リアクタンス）部分を計算することができる。

#### 【0289】

ブロック 765 において、読取装置 600 は、経時的なリアクタンス値の曲線を生成す

50

ることができる。さらに、ブロック 765 において、読取装置 600 は、任意選択で経時的な抵抗値の曲線を生成することができる。

#### 【0290】

ブロック 770 において、読取装置 600 は、試験が陽性であることを示唆する信号の変化を特定するためにリアクタンス曲線を分析することができる。図 5C の信号のクリフに関して上述したように、読取装置 600 は、閾値よりも大きなリアクタンスの変化を探したり、所定の時間枠内でそのような変化を探したり、所定の時間におけるリアクタンス曲線の傾きを分析したり、信号のクリフ（例えば、信号が比較的安定して続く中での上昇または下降）が存在するか否かを判定するためにリアクタンス曲線の全体的な形状を分析したりすることができる。

10

#### 【0291】

判定ブロック 775 において、読取装置 600 は、ブロック 770 で実施した分析に基づいて、求める信号の変化がリアクタンス曲線において確認されるか否かを判定することができる。確認された場合、プロセス 750 は、陽性であるという試験結果をユーザに対して出力するブロック 780 へと移動する。確認されない場合、プロセス 750 は、陰性であるという試験結果をユーザに対して出力するブロック 785 へと移動する。結果は、局所的に、例えば読取装置のディスプレイ上に出力することもでき、またネットワークを通じて指定された遠隔計算処理装置に出力することもできる。

#### 【0292】

##### 例示的デバイスの概要

20

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、励起電極および検出電極を含む。いくつかの実施形態において、励起電極および検出電極は、試料の電気特性を測定する。いくつかの実施形態において、電気特性には、複素アドミタンス、インピーダンス、導電率、抵抗率、抵抗および / または誘電率が含まれる。

#### 【0293】

いくつかの実施形態において、前記電気特性は、測定中に変化することのない電気特性を有する試料で測定される。いくつかの実施形態において、前記電気特性は、動的な電気特性を有する試料で測定される。いくつかの実施形態において、前記動的電気特性は、リアルタイムで測定される。

#### 【0294】

30

いくつかの実施形態において、励起電極には励起信号が印加される。励起信号は直流の電流もしくは電圧および / または交流の電流もしくは電圧を含みうる。いくつかの実施形態において、励起電極は、試料と / 試料を通じて容量的に結合される。いくつかの実施形態において、励起電極および / または検出電極は、試料と電極との直接的接触を防止するために不動態化されている。

#### 【0295】

いくつかの実施形態において、パラメータは、試料の電気特性に合わせて最適化される。そのような実施形態のいくつかにおいて、パラメータは、当該試料の容量および / または構造に関する、印加電圧、印加周波数および / または電極構成を含みうる。

#### 【0296】

40

いくつかの実施形態において、励起電圧の電圧および周波数は、測定の間、固定されていても変化してもよい。例えば、測定には、検出中に電圧および周波数をスイープすること、または試料ごとに最適化されていてもよい特定の電圧および周波数を選択することができる。いくつかの実施形態では、デバイスのアドミタンスおよび / または試料の特性に応じて変化する電極を、励起電圧によって信号電極上に誘導することができる。

#### 【0297】

いくつかの実施形態において、検出パラメータは、電極試料結合インピーダンス、試料インピーダンスおよび電極間寄生インピーダンスからなる集中定数等価回路を用いてアドミタンス、デバイスおよび試料のモデリングを行うことによって最適化される。集中定数

50

等価回路のパラメータは、１つのデバイスについて１つまたは複数の励起周波数で電極試料系のアドミタンスを測定することにより決定される。いくつかの実施形態において、電極試料系の複素（実数成分と虚数成分のいずれもを有する数）アドミタンスは、大きさ検出技術および位相検出技術をいずれも使用して測定される。タンスを測定することで周波数域間の移行に相応する周波数を判定することにより、最適化される。いくつかの実施形態において、検出パラメータは、与えられた集中定数モデルの値からの計算によって周波数域間の移行に相応する周波数を判定することにより、最適化される。

【 0 2 9 8 】

いくつかの実施形態において、容量的に結合された電極試料系のアドミタンスは、３つの周波数領域、すなわち電極試料結合インピーダンスに支配される低周波領域、試料インピーダンスに支配される中周波領域、および電極間寄生インピーダンスに支配される高周波領域を含む。電極試料結合領域のアドミタンスは本質的に容量性であり、周波数につれて大きさが直線的に増加するという特徴を有し、位相は  $90^\circ$  である。試料領域のアドミタンスは本質的に導電性であり、周波数が変化してもアドミタンスに大きな変化はないという特徴を有し、位相は約  $0^\circ$  である。電極間領域のアドミタンスは本質的に容量性であり、周波数につれて大きさが直線的に増加するという特徴を有し、位相は  $90^\circ$  である。

10

【 0 2 9 9 】

いくつかの実施形態において、検出電極における誘導電流は、励起電圧および複素アドミタンスと、次の関係にある。

電流 = ( 複素アドミタンス ) × ( 電圧 )

20

【 0 3 0 0 】

いくつかの実施形態において、前記装置は、励起電圧の大きさと誘導電流の大きさをいずれも測定し、複素アドミタンスの大きさを判定する。いくつかの実施形態において、前記装置は、既知の励起電圧に合わせて調整された後、誘導電流の大きさを測定する。複素アドミタンスの位相を判定するために、前記装置は、励起電圧と誘導電流の間の相対位相差を測定してもよい。

【 0 3 0 1 】

いくつかの実施形態において、前記大きさおよび位相は直接測定される。

【 0 3 0 2 】

いくつかの実施形態において、前記大きさおよび位相は間接的に、例えば、同期検出および非同期検出をいずれも使用することによって測定される。同期検出器により、誘導電流の同相成分が得られる。非同期検出器により、誘導電流の直交成分が得られる。両成分を組み合わせることにより、複素アドミタンスを決定することができる。

30

【 0 3 0 3 】

いくつかの実施形態において、電極は不動態化されていない。

【 0 3 0 4 】

いくつかの実施形態において、励起電極および／または検出電極は不動態化されている。いくつかの実施形態において、励起電極および／または検出電極は不動態化されている。励起電極および／または検出電極は、例えば、該電極と試料または試料中の成分との不適切な接着、付着、吸着または他の不都合な物理的相互作用を防止するために不動態化されていてもよい。いくつかの実施形態において、不動態化層は誘電材料を含む。いくつかの実施形態において、不動態化により、電極と試料との効率的な容量結合が可能となる。結合効率は、電極試料系の特性を測定することにより決定することができ、そのような特性としては、例えば、不動態化層の誘電特性、不動態化層の厚さ、不動態化 - 試料インターフェースの面積、不動態化面の粗さ、試料 - 不動態化インターフェースにおける電気二重層、温度、印加電圧および印加周波数、試料の電気特性、電極物質の電気特性および／または化学特性などが挙げられる。

40

【 0 3 0 5 】

いくつかの実施形態において、電極の構成および構造は、電極間の不適切な寄生結合を軽減するために最適化される。これは、電界シールド、様々な誘電率の電極基材の使用、

50

配置の最適化および / または層の接地によって達成されてもよい。

#### 【0306】

##### 生体分子検出用例示的デバイスの概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、生体分子などの標的を検出するためのデバイスを含む。そのような実施形態のいくつかにおいて、試料の電気特性の測定が、検出戦略として生体分子を分析するための検出戦略として使用される。

#### 【0307】

いくつかの実施形態において、標的は、核酸、タンパク質、小分子、薬物、代謝産物、毒素、寄生生物、無傷ウイルス、バクテリア、胞子または他の抗原であり、これらは捕捉プローブ部分および / または検知プローブ部分によって認識および / または検出されてもよい。

10

#### 【0308】

いくつかの実施形態において、前記標的は核酸である。いくつかの実施形態において、方法には核酸増幅が含まれる。いくつかの実施形態において、増幅には等温増幅が含まれる。いくつかの実施形態において、核酸増幅反応は、反応溶液の電気特性またはそれらの変化を測定することにより定量される。いくつかの実施形態において、増幅反応の電気特性を反応の経過を通してリアルタイムで測定してもよく、反応の前後において測定した電気特性を比較する比較測定が行われてもよい。

#### 【0309】

いくつかの実施形態において、標的抗原は、例えば抗体、アプタマーまたはその他の分子認識部分および / または分子結合部分などの検出プローブの、抗原への特異的結合によって検出される。例示的な一実施形態において、検出抗体は、核酸配列に連結されて抗体核酸のキメラ複合体を形成する。キメラ複合体は、抗原を検出する目的で分析に先立って合成される。単一の抗体に多くの異なる核酸を結合させることによって、抗原に対するキメラ複合体の結合の検出感度を増加させてもよい。抗原に結合していない過剰のキメラ複合体を除去した後、キメラ複合体の核酸部分を増幅し、この増幅反応を、本明細書に記載するように反応溶液の電気特性（またはそれらの変化）を測定することによって定量する。このように、キメラ複合体を通じて抗原に結合する核酸の増幅の程度から、標的抗原の存在を知ることができ、抗原を定量することができる。抗原認識において第2の増幅代表

20

30

#### 【0310】

いくつかの実施形態において、抗体、アプタマーまたはその他の分子認識部分および / または抗原に対する結合部分などの捕捉プローブは、共役または連結によって表面に結合する。捕捉プローブを表面に固定化することにより、結合していない過剰の試薬および / または抗原を洗浄によって除去できる。キメラ複合体が表面に捕捉されたこの抗原に結合することで、結合していないキメラ複合体を洗浄によって除去することが可能となる。このように、捕捉された抗原のみが、キメラ複合体による検出のために保持される。図8に、例示的な実施形態を示す。いくつかの実施形態において、捕捉プローブと検出抗体は同一である。

40

#### 【0311】

いくつかの実施形態において、捕捉プローブは、共役、ストレプトアビジン - ビオチン連結の使用または当分野で慣用のよく知られた他の生体共役法および分子固定化法の使用によって、表面に固定化される。いくつかの実施形態において、前記表面は、平面、足場、フィルタ、ミクロスフェア、任意の形状の粒子、ナノ粒子またはビーズなどである。図9に、例示的な実施形態を示す。

#### 【0312】

##### 例示的磁性ビーズの概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、磁性ビーズ

50

またはその使用を含む。いくつかの実施形態において、前記マイクロスフェア、粒子またはビーズは、磁化されている、かつ/または磁化可能である。そのような実施形態において磁性支持体を使用することによって、過剰の抗原および/または非特異的に吸着したキメラ複合体を表面から除去するためにビーズを洗浄することが容易になる。磁性粒子支持体の使用を含む方法は、磁気増幅免疫測定(MAIA)を含んでもよい。図10に、例示的な実施形態を示す。

#### 【0313】

いくつかの実施形態において、磁性ビーズは標的の捕捉に有用であり、純粋に電氣的な(MEMS)試料の処理および/または増幅/検出カートリッジにおける磁気泳動の操作に使用され、流体工学における流れ/圧力による移動性への依存を低減または除去できる。いくつかの実施形態において、磁性ビーズは、試料中の標的ゲノム材料の抽出および/または濃縮に使用される。例えば、Tekin, H C. et al., による Lab Chip DOI: 10.1039/c3lc50477hを参照のこと。この文献は、参照によりその全体が援用される。本明細書で提示される実施形態において有用である自動マイクロ流体処理プラットフォームについては、Sasso, L A. et al., による Microfluid Nanofluidics 13: 603 - 612に記載されており、この文献は、参照によりその全体が援用される。本明細書で提示される実施形態において有用であるビーズの例としては、核酸IVD用 Dynabeads (登録商標) (ThermoFisher Scientific) または Dynabeads (登録商標) SILANE ウイルスNAキット (ThermoFisher Scientific) が挙げられる。

#### 【0314】

##### 例示的 $fC^4D$ の励磁および検出の概要

いくつかの実施形態において、開示のデバイス、システムおよび/または方法は、核酸増幅をリアルタイムでモニタリングするために、 $fC^4D$ に基づくアプローチを利用する。したがって、試料内の1つ以上の標的が、1つ以上の位相敏感電気伝導度測定によって示されうる。

#### 【0315】

いくつかの態様において、方法には、増幅に関連する試料の導電率が最大となる最適励起周波数( $f_{opt}$ )を決定するために、特定の駆動電圧値で急速に周波数をスイープすることが含まれる。 $f_{opt}$ において、センサの出力は、励起電圧と誘導電流との最小相対位相差に相当するため、伝導度測定を通じた高感度な生体定量が可能となる。

#### 【0316】

いくつかの実施形態において、 $fC^4D$ 検出システムは、少なくとも2つの電極を使用する。2つの電極は、核酸増幅が行われるマイクロチャンネルと比較的近接するように配置される。2つの電極のうち1つに、交流信号が印加される。信号が印加される電極は、2つの電極のうちの第2の電極に、マイクロチャンネルを通じて容量的に連結されていてもよい。したがって、いくつかの態様において、第1の電極は信号電極であり、第2の電極は信号電極である。

#### 【0317】

一般に、信号電極で検出される信号は、信号電極に印加された交流信号と同一の周波数であるが、大きさは印加信号よりも小さく、負に位相シフトしている。ピックアップ電流は、次いで増幅されてもよい。いくつかの態様において、ピックアップ電流は電圧に変換される。いくつかの態様において、電圧は整流される。いくつかの態様において、整流された電圧は低域通過フィルタを使用してDC信号に変換される。さらに処理するためにDAQシステムへと送る前に、信号をゼロにバイアスしてもよい。

#### 【0318】

上述の系は、一連のコンデンサおよび抵抗器によって表されてもよい。チャンネル内の核酸増幅の間に生じる導電率の変化により、系全体のインピーダンスが減少し、生成されるピックアップ信号のレベルは上昇しうる。結果として生じる出力信号のレベルのそのよう

な変化は、DAQシステムにおける1つ以上のピークとして現れうる。

【0319】

信号の生成および復調用の電子装置は、回路によって実装される。例えば、プリント回路基板（「PCB」）、ASICデバイスまたは他の集積回路（「IC」）は、従来の製造技術を使用して作られる。いくつかの態様において、そのような電子装置は、その全体または一部が使い捨てのかつ／または消耗品である部品として設計される。そのような回路の物理的形狀および電気特性（不動態化層の厚さ、電極パッドの面積、チャンネルの断面積および長さならびに絶縁耐力）は、所望の結果を達成するために変更される。

【0320】

核酸検出システムの一例は、少なくとも1つのチャンネルを含み、チャンネルの長さに沿った少なくとも1つの部分において、pH、光学特性、電気特性などの物理特性および／または性質を検出し、チャンネルに目的とする特定の核酸および／または目的とする特定のヌクレオチドが含まれるか否かを判定する。

10

【0321】

検出システムの一例は、試料および1つ以上のセンサ化合物（例えば、1つ以上の核酸プローブ）を収容するための1つ以上のチャンネル、試料およびセンサ化合物をチャンネルに導入するための1つ以上の入口ポート、ならびにいくつかの実施形態では、チャンネルの内容物がそこから除去されてもよい1つ以上の出口ポートを含むよう構成されている。

【0322】

1つ以上のセンサ化合物（例えば、1つ以上の核酸プローブ）は、目的とする核酸および／またはヌクレオチド（試料中に存在する場合）と該センサ化合物の粒子とが直接的または間接的に相互作用して凝集塊を形成し、この凝集塊によってチャンネルの長さの少なくとも1つの部分におけるpH、光学特性または電気特性ならびに／または性質が変化するように選択されてもよい。

20

【0323】

特定の場合において、凝集塊、核酸複合体または重合体の形成は、チャンネル内の流体の流れを抑制または遮断し、その結果、チャンネルの長さに沿って測定される導電率および電流に、測定可能な低下をもたらす。同様に、このような場合、凝集塊、核酸複合体または重合体の形成は、チャンネルの長さに沿って測定される抵抗率に、測定可能な上昇をもたらす。別の特定の場合において、凝集塊、核酸複合体または重合体は導電性であり、このような凝集塊、核酸複合体または重合体の形成は、チャンネルの長さの少なくとも1つの部分に沿った電気経路を強化し、その結果、チャンネルの長さに沿った導電率および電流に、測定可能な増加をもたらす。このような場合、凝集塊、核酸複合体または重合体の形成は、チャンネルの長さに沿って測定される抵抗率に、測定可能な低下をもたらす。

30

【0324】

特定の場合において、凝集塊、核酸複合体または重合体の形成は、チャンネルを通じて送信される1つ以上の電気信号の波形特性に影響を与える。図11の例に示されるように、第1の電極または励起電極1116と、第2の電極（「ピックアップ」電極または「検出」電極）1118は、チャンネル1104に沿って互いに間隔を空けて配置されている。図11は、図5A～図5Dに関して上述したアプローチの代替的または補完的アプローチを表す。第1の電極1116および第2の電極1118は、チャンネル1104内に含まれている測定溶液と接触していなくてもよい。この意味で、第1の電極1116および第2の電極1118は、チャンネル1104内の溶液と容量的に結合されている。容量結合の強さは、電極の形状、不動態化層の厚さおよび不動態化層の材料（特にその相対絶縁耐力）に依存する。

40

【0325】

いくつかの態様において、溶液はチャンネル1104に閉じ込められている。このチャンネルは、ミクロンスケールの断面積を有していてもよい。この場合、溶液は、その抵抗が溶液の導電率およびチャンネル1104の形状に依存する抵抗器として作用する。

【0326】

50

いくつかの実施形態において、交流電流 / 電圧が励起電極 1 1 1 6 に印加され、誘導電流が信号電極 1 1 1 8 で測定される。誘導電流は、電極間インピーダンスに比例し、このインピーダンスは溶液の導電率と共に変化する。示されるように、励起電圧 1 4 0 0 が励起電極 1 1 1 6 に印加され、誘導電流 1 4 1 0 が信号電極 1 1 1 8 で検出される。

【 0 3 2 7 】

いくつかの実施形態において、検出感度は、少なくとも部分的に励起周波数に依存する。したがって、いくつかの態様において、誘導電流の位相の絶対値が最小である場合に感度は最大となる。この領域において、チップインピーダンスは流体インピーダンスに支配される。流体インピーダンスは、流体の導電率およびチップ形状の関数である。最大検出感度および正確な検出動作を保証するために、複素インピーダンス情報は重要である。

10

【 0 3 2 8 】

等価回路用の集中パラメータモデルの分析から、検出感度が、結合容量の強度  $C_{WALL}$ 、溶液抵抗  $R_{LAMP}$  および寄生容量  $C_X$  と密接な関係にあることが示された。具体的に言うと、励起周波数  $f$  が以下を満たすときに、導電率の変化に関する電極間インピーダンスの変化は最大となる。

$$1/(R_{LAMP} C_{WALL}) < f < 1/(R_{LAMP} C_X)$$

【 0 3 2 9 】

図 1 2 に示すように、信号のインピーダンスは励起周波数に依存し、チャンネル 1 1 0 4 において  $LAMP$  反応が生じた後、変化する。図 1 2 からさらに、左側の平らでない部分から、それを下回ると結合インピーダンスが支配的になり、溶液のインピーダンスの変化が実質的に不可視となるような周波数領域が定義されることがわかる。右側の平らでない部分からは、それを上回ると寄生効果が支配的になり、電極 1 1 1 6 および 1 1 1 8 が実質的に短絡された状態となるような周波数領域が定義されうる。

20

【 0 3 3 0 】

図 1 3 に示すように、両側の極値領域ではインピーダンスがコンデンサ様となり、励起電圧とは異相である ( $90^\circ$  に近づく)。2つの領域の間で、インピーダンスは、単純な抵抗器の限界に接近し始め、インピーダンスの対周波数応答は平らになる。実際に、最大の検出感度は、インピーダンスの位相の最小に相当する。

【 0 3 3 1 】

同期検出の必要性を明らかにするために、単純化モデルにおける電流の 2 本の並列経路：流体チャンネルを經由してチップを通る電流および寄生容量または形状容量を考慮してもよい。特定の周波数  $f$  における特定の励起信号  $V$  を与えられた場合、誘導電流  $I$  は以下のようになる。

30

【数 1】

$$I(t) = (Y + 2\pi f C_x j) V(t)$$

ここで、 $Y$  は流体経路への結合によるチップのアドミタンスであり、 $C_X$  は寄生容量であり、 $j$  は虚数単位である。 $j$  を乗じることが、寄生経路を通る電流が励起電圧とは  $90^\circ$  位相がずれていることを意味する。励起周波数に関して測定された試料チップのインピーダンスを図 1 4 に示す。

40

【 0 3 3 2 】

同期検出器では、ピックアップ電流に同相矩形波  $m$  を乗じ、次いで低域通過フィルタリングを行う。

【数 2】

$$m(t) = \text{sgn}(\sin(2\pi f t)) = \frac{4}{\pi} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{\sin(2\pi(2k-1)ft)}{2k-1}$$

50

【 0 3 3 3 】

変調信号から 90°ずれた信号の寄与がゼロとなることは明快に示されるため、この分析において寄生容量は無視してもよいだろう。流体経路を通る電流に対する同期検出の効果を見るため、誘導電流（寄生の寄与は差し引く）に変調波を乗じることができる。

【数 3】

$$\begin{aligned} mI &= mYV = \frac{4}{\pi} |V||Y| \sin(2\pi ft + \varphi) \sin(2\pi ft) + H.F.T. \\ &= \frac{2}{\pi} |V||Y| \cos(\varphi) - \frac{2}{\pi} |V||Y| \cos(2\pi(2f)t + \varphi) + H.F.T. \end{aligned}$$

10

ここで、 $|Y|$  はアドミタンスの大きさであり、 $\varphi = \arg(Y)$  であり、H.F.T. は高周波項（例えば、 $f$  より大きい）を意味する。低域通過フィルタリングの後、同期出力の DC 項が残るかもしれない。

【数 4】

$$s = \frac{2}{\pi} |V||Y| \cos(\varphi)$$

この式は、

20

【数 5】

$$\cos(\varphi) = \frac{\operatorname{Re}\{Y\}}{|Y|}$$

であることに着目すれば単純化することができ、

【数 6】

$$s = \frac{2}{\pi} |V| \operatorname{Re}\{Y\}$$

30

となる。

あるいは、

【数 7】

$$Y = \frac{1}{Z} = \frac{\bar{Z}}{|Z|^2}$$

に着目すれば、 $Z$  によってインピーダンスに関してこれを表すことができ、ここでのバーは複素共役を示す。したがって、同期検出器の出力は

40

【数 8】

$$s = \frac{2}{\pi} |V| \frac{\operatorname{Re}\{Z\}}{|Z|^2}$$

となる。

【 0 3 3 4 】

チップの単純な回路モデルが与えられれば、インピーダンスは明示的に計算され、同期検出器の出力が予測される。

50



【 0 3 3 5 】

単純な等価回路モデルは、抵抗器  $R$  と直列である 2 つのコンデンサ  $C$  を含む。上述したように、抵抗  $R$  は主としてマイクロ流体の形状および溶液の導電率の関数である。静電容量は、主として電極面積、不動態化層に使用される誘電体および不動態化層の厚さの関数である。単純化された回路のインピーダンス  $Z$  は、

【数 9】

$$Z = R - \left( \frac{1}{\pi f C} \right) j$$

10

によって与えられる。

インピーダンスの大きさの 2 乗は

【数 10】

$$|Z|^2 = R^2 + (\pi f C)^{-2}$$

であり、

同期検出器の出力は

【数 11】

$$s = \frac{2}{\pi} |V| \frac{R}{R^2 + (\pi f C)^{-2}} = \frac{2}{\pi} |V| \frac{G}{1 + \left( \frac{G}{\pi f C} \right)^2} =$$

20

となる。式の分子および分母に、導電率

【数 12】

$$G = 1/R$$

の 2 乗を乗じている。

【 0 3 3 6 】

30

導電率計に関して、セル定数  $k$  は、

【数 13】

$$R = \frac{k}{\sigma}$$

と定義されてもよく、ここで  $k$  は、長さの逆数の単位を有している。セル定数  $k$  は、主として電極の配置、面積および流体経路の関数であり、単純な線形関係にはないかもしれない。このとき同期検出器の出力は

【数 14】

40

$$s = \frac{2}{\pi} |V| \frac{\sigma/k}{1 + \left( \frac{\sigma}{\pi k f C} \right)^2}$$

となる。

分析の助けとなるように、無次元導電率パラメータ

$$\tilde{\sigma}$$

50

を導入してもよく、ここで

【数 1 5】

$$\tilde{\sigma} = \frac{\sigma}{\pi k f C}$$

であり、したがって

【数 1 6】

$$s = 2|V|fC \frac{\tilde{\sigma}}{1 + \tilde{\sigma}^2}$$

10

となる。

検出器出力の無次元導電率

【数 1 7】

$$\tilde{\sigma}$$

への依存は、注目に値する。

【数 1 8】

20

1)  $\tilde{\sigma} \ll 1$ であれば、検出器の応答は $\tilde{\sigma}$ に漸近的に比例する。

【数 1 9】

2)  $\tilde{\sigma} = 1$ において、検出器の応答は極大 $s_{\max} = |V|fC$ に達する。

【数 2 0】

3)  $\tilde{\sigma} \gg 1$ であれば、検出器の応答は $1/\tilde{\sigma}$ に漸近的に比例する。

30

【0 3 3 7】

検出器の応答が無次元導電率に依存するのであれば、チップと検出器の設計を緊密に結合することは重要である。実際の導電率に関して上述の点を書き換えると、以下のようになる。

【数 2 1】

1)  $f \gg \frac{\sigma}{\pi k C}$ であれば、検出器の応答は $\sigma$ に漸近的に比例する。

40

【数 2 2】

2)  $f \ll \frac{\sigma}{\pi k C}$ であれば、検出器の応答は $\frac{1}{\sigma}$ に漸近的に比例する。

【数 2 3】

3)  $\sigma = \pi k f C$ において、検出器の応答は非単調となる。

【0 3 3 8】

50

言い換えると、励起周波数を増加させると、同期検出器の出力が線形となる導電率の範囲が広がる。無次元導電率に関してプロットした同期検出器の応答を図 15 に示す。

【0339】

集中パラメータモデルの妥当性を評価するために、導電率が既知である KCl 溶液検出器応答を測定した。チップのチャンネルは 2 mm であり、断面積は 0.01 mm<sup>2</sup> であった。2 つの電極はそれぞれ 9 mm<sup>2</sup> であり、SU8 フォトリソの 10 μm の層で不動態化されていた。セル定数と静電容量を推定し、検出器出力の非線形性に相当する導電率が約 5 mS/cm となるように励起周波数を選択した。励起周波数を 10 kHz、15 kHz および 20 kHz として実験を繰り返した。

【0340】

LAMP 前の化学的性質において導電率を測定したところ、約 10 mS/cm であった。以下の TABLE 1 に、以前に見出された制約、すなわち

【数 24】

$$f \gg \frac{G}{\pi C}$$

に支配される最小検出器周波数の推定値を示す。

[表 1]

【表 1】

形状	$A_E$ [mm <sup>2</sup> ]	$t$ [μm]	$\epsilon_r$	$C$ [pF]	$A_F$ [mm <sup>2</sup> ]	$l$ [mm]	$G$ [mS]	$f$ [MHz]
制限チャンネル	9	10	3	24	0.01	3	0.003	0.044
バルクウェル, 平坦電極	0.8	0.3	3	71	0.8	1	0.8	3.6
平行平板非集積 電極	16	300	2.8	1.3	16	1.5	10.5	2500

【0341】

図 16 に示したモデルの結果は、広範な導電率、および所与の段階の周波数において、検出器の出力がよく一致することを実証している。各周波数において、同じ 2 つのパラメータ、すなわち  $k$  および  $C$  が使用されていることに留意すべきである。このモデルは、検出器の応答の質的挙動を予測するものである。すなわち、応答および励起周波数に非線形性が生じる臨界導電率への依存を形成する。このモデルは、臨界導電率を過ぎた後の導電率に関する周波数依存挙動の発散を過大に評価している。

【0342】

導電率および壁の静電容量を迅速に評価するツールとして、フリンジフィールド効果に加えて表面導電率および静電容量効果を見逃してもよい。形状特有有限要素モデルを用いて、この生の評価をさらに精緻化することができる。

【0343】

電極は、面積  $A_E$ 、相対絶縁耐力  $\epsilon_r$  の誘電体によって分離され、厚さが  $t$  である平行平板電極コンデンサとしてモデル化される。次いで、静電容量は以下のように概算される。

【数 25】

$$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A_E}{t}$$

ここで  $\epsilon_0$  は絶縁定数である。

【 0 3 4 4 】

流体は、断面積  $A_F$ 、長さ  $l$  および導電率  $\sigma$  の単純な抵抗器としてモデル化されてもよい。したがって、流路の導電率は

【 数 2 6 】

$$G = \frac{\sigma A_F}{l}$$

として概算されてもよい。これから、セル定数も概算される。

【 0 3 4 5 】

いくつかの態様において、前記装置は、チップが導入された後、「インピーダンススペクトル」を判定するよう構成される。該装置は、デジタル制御された励起周波数を含んでもよい。該装置は、迅速に周波数をスイープする能力を有してもよい。該装置は、それを基に複素インピーダンスを決定できるような、誘導信号の同相成分および直交成分を含んでもよい。インピーダンススペクトルの適合性は、曲線あてはめまたは他のヒューリスティクスに少なくとも一部基づいて判定され、それによって適切なチップの挿入および/または適切な試料の導入が判定される。いくつかの態様において、該装置は最初に、最初のスイープによって決定された周波数で励起することにより試験される。いくつかの実施形態において、該装置は、同期検出を利用する検出器を含む。このようにして、流路（最小位相における）に起因する測定誘導電流を、リアルタイムで検出してもよい。

【 0 3 4 6 】

#### 例示的チャンネルの概要

いくつかの実施形態において、チャンネルは以下の寸法を有する：検出システムの基板と平行な平面に沿って伸び、最長寸法（ $y$  軸）に沿って測定される長さ；基板と平行な平面に沿って伸び、最長寸法と垂直な軸（ $x$  軸）に沿って測定される幅；および基板と平行な平面に垂直な軸（ $z$  軸）に沿って測定される深さ。チャンネルの一例は、その幅および深さよりも実質的に大きい長さを有してもよい。いくつかの場合、長さ：幅の比は、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1 または 20 : 1 であってもよく、あるいはこれらの比のいずれか 2 つで定められる範囲内であってもよい。

【 0 3 4 7 】

いくつかの実施形態において、チャンネルは、チャンネル内で形成される凝集塊、核酸複合体または重合体の直径と実質的に同じであるかまたはそれ以下である深さおよび/または幅を有するよう構成される。凝集塊、核酸複合体または重合体は、好ましくは、チャンネル内の懸濁液中で、目的の核酸と、目的の核酸を検出するために使用されるセンサ化合物（例えば 1 つ以上の核酸プローブ）の粒子との間の相互作用により形成される。

【 0 3 4 8 】

いくつかの実施形態において、チャンネルは、 $x$  軸に沿って約 1 nm ~ 約 50,000 nm またはこの範囲にある任意の 2 つの数によって定義される範囲内の幅を有してもよいが、これらの例示的な範囲に限定されるものではない。チャンネルの一例において、その長さは、 $y$  軸に沿って約 10 nm ~ 約 2 cm であるか、またはこの範囲にある任意の 2 つの数によって定義される範囲内の長さであってもよいが、これらの例示的な範囲に限定されるものではない。チャンネルの一例において、その深さは、 $z$  軸に沿って約 1 nm ~ 約 1 ミクロンであるか、またはこの範囲にある任意の 2 つの数によって定義される範囲内の深さであってもよいが、これらの例示的な範囲に限定されるものではない。

【 0 3 4 9 】

いくつかの実施形態において、チャンネルは、任意適切な横断面形状（例えば、 $x - z$  平面に沿った断面）を有し、該形状としては、円、楕円、長方形、正方形、D 形（等方性工

ッチングによる)などが挙げられるが、これらに限定はされない。

#### 【0350】

いくつかの実施形態において、チャネルは10nm~10cmの範囲にある長さを有し、例えば、少なくとも10nm、50nm、100nm、200nm、400nm、600nm、800nm、1μm、10μm、50μm、100μm、300μm、600μm、900μm、1cm、3cm、5cm、7cmもしくは10cmであるか、またはこれらと等しい長さ、またはこれらのうち任意の2つによって定義される範囲内の長さを有する。いくつかの実施形態において、チャネルは1nm~50μmの範囲にある深さを有し、例えば、少なくとも1nm、5nm、7nm、10nm、50nm、100nm、200nm、400nm、600nm、800nm、1μm、10μm、20μm、30μm、40μm、50μm、100μm、500μmもしくは1mmであるか、またはこれらと等しい深さ、またはこれらのうち任意の2つによって定義される範囲内の深さを有する。いくつかの実施形態において、チャネルは1nm~50μmの範囲にある幅を有し、例えば、少なくとも1nm、5nm、7nm、10nm、50nm、100nm、200nm、400nm、600nm、800nm、1μm、10μm、20μm、30μm、40μm、50μm、100μm、500μmもしくは1mmであるか、またはこれらと等しい幅、またはこれらのうち任意の2つによって定義される範囲内の幅を有する。

10

#### 【0351】

いくつかの実施形態において、チャネルは、後に前記装置へと挿入されるカートリッジ内に形成される。いくつかの態様において、カートリッジは使い捨てのカートリッジであってもよい。いくつかの態様において、カートリッジは、コスト効率の良いプラスチック材料から作られる。いくつかの態様において、少なくともカートリッジの一部は、流体力学の紙およびラミネートベースの材料から作られる。

20

#### 【0352】

試料中に特定の核酸および/または特定のヌクレオチドが存在するか否かを検出するために使用される検出システム2100の一実施形態を、図17A~図17Bに示す。図17Aは該システムの上面図であり、図17Bは該システムの側断面図である。検出システム2100は、実質的に水平なx-y平面に沿って伸びる基板2102を含む。いくつかの実施形態において、基板2102は、誘電材料、例えばシリカから作られていてもよい。基板2102の材料の別の例としては、ガラス、サファイアまたはダイヤモンドが挙げられるが、これらに限定はされない。

30

#### 【0353】

基板2102は、少なくとも流体を収容するための内部表面2106と内部空間2108とを有するチャネル2104を、支持するかまたは含んでいる。いくつかの場合において、チャネル2104は、基板2102の上面にエッチングされる。チャネル2104の内部表面2106の材料の例としては、ガラスまたはシリカが挙げられるが、これらに限定はされない。

#### 【0354】

特定の実施形態において、チャネル2104および基板2102は、ガラスから作られる。ガラスが体液に徐々に溶解したり、タンパク質や小分子がガラスの表面に接着したりするため、生物学的条件は、ガラスでできたインプラントの使用の妨げとなる。特定の非限定的な実施形態では、自己集合単分子層を使用した表面修飾によって核酸の検出および分析のためのガラス表面を修飾するアプローチが提供される。特定の実施形態において、チャネル2104の内部表面2106の少なくとも一部は、該内部表面に対するセンサ化合物の特異的共有結合を可能にする材料を含むか、またはそのような材料でコーティングするために、前処理されたり、共有結合によって修飾されたりする。特定の実施形態では、チャネルをカバーするカバー2114もまた、何らかの材料を用いて共有結合によって修飾されてもよい。

40

#### 【0355】

チャネル2104の内部表面2106を修飾するために使用される典型的な材料として

50

は、シラン化合物（例えば、トリクロロシラン、アルキルシラン、トリエトキシシラン、パーフルオロシラン）、両性イオン性スルトン、ポリ（６－９）エチレングリコール（PEG）、パーフルオロオクチル、フルオレセイン、アルデヒドまたはグラフェン化合物が挙げられる。チャンネルの内部表面の共有結合性修飾によって、特定の分子の非特異的吸収が低減する。一実施例では、内部表面の共有結合性修飾によって、内部表面による他の分子の非特異的吸収を防止しつつ、内部表面へのセンサ化合物分子の共有結合を可能にする。例えば、ポリエチレングリコール（PEG）は、チャンネル２１０４の内部表面２１０６を修飾して、内部表面に対する材料の非特異的吸着を低減させるために使用される。

#### 【０３５６】

いくつかの実施形態において、チャンネル２１０４は、明確に定義された滑らかな内部表面２１０６を有するよう、ナノスケールまたはマイクロスケールで微細に作製されている。チャンネルを作製し、チャンネルの内部表面を修飾するための典型的な技術としては、Sumita Pennathur and Pete Crisallai（２０１４），“Low Temperature Fabrication and Surface Modification Methods for Fused Silica Micro- and Nanochannels”，MRS Proceedings，１６５９，pp 15 - 26 . doi : 10 . 1557 / opl . 2014 . 32に教示されており、その内容の全体が、参照により本明細書に明示的に援用される。

#### 【０３５７】

チャンネル２１０４の第１の端部は、入口ポート２１１０を含むか、または入口ポート２１１０と流体連通しており、チャンネル２１０４の第２の端部は、出口ポート２１１２を含むか、または出口ポート２１１２と流体連通している。特定の非限定的な実施形態において、ポート２１１０および２１１２は、チャンネル２１０４の末側に備えられる。

#### 【０３５８】

チャンネル２１０４およびポート２１１０，２１１２を有する基板２１０２の上面は、いくつかの実施形態において、カバー２１１４で覆われ、密封されている。いくつかの実施形態において、上面を含むチャンネルを定めるために硬質プラスチックを使用してもよく、半透膜を使用してもよい。

#### 【０３５９】

第１の電極２１１６は、チャンネル２１０４の第１の端部において、例えば入口ポート２１１０またはその近傍において、電氣的に接続されている。第２の電極２１１８は、チャンネル２１０４の第２の端部において、例えば出口ポート２１１２またはその近傍において、電氣的に接続されている。第１の電極２１１６と第２の電極２１１８との間に電位差を生じさせるために、第１の電極および第２の電極は、電源または電圧源２１２０と電氣的に接続されている。すなわち、チャンネルの長さの少なくとも一部にわたって、電位差が与えられる。チャンネル２１０４内に流体が存在し、与えられた電圧差の影響下にある場合、電極２１１６，２１１８と流体とが完全な電気経路を形成する。

#### 【０３６０】

電源または電圧源２１２０は、チャンネルの長さに沿った（ｙ軸に沿った）第１の方向および逆方向である第２の（ｙ軸に沿った）方向に電位差が与えられるように、可逆的に電界を発生させるよう構成されている。電界または電位差の方向が第１の方向である一実施例において、陽極は、チャンネル２１０４の第１の端部において、例えば入口ポート２１１０またはその近傍において接続され、陰極は、チャンネル２１０４の第２の端部において、例えば出口ポート２１１２またはその近傍において接続されている。電界または電位差の方向が第２の逆方向である別の一実施例において、陰極は、チャンネル２１０４の第１の端部において、例えば入口ポート２１１０またはその近傍において接続され、陽極は、チャンネル２１０４の第２の端部において、例えば出口ポート２１１２またはその近傍において接続されている。

#### 【０３６１】

いくつかの実施形態において、電源または電圧源２１２０は、交流信号を印加するよう

10

20

30

40

50

構成されている。この交流信号の周波数は、動的に変更されてもよい。いくつかの態様において、電源または電圧源 2 1 2 0 は、 $10 \sim 10^9$  Hz の間にある周波数を有する電気信号を供給するよう構成されている。いくつかの態様において、電源または電圧源 2 1 2 0 は、 $10^5 \sim 10^7$  Hz の間にある周波数を有する電気信号を供給するよう構成されている。

#### 【0362】

チャンネル 2 1 0 4 の第 1 の端部および第 2 の端部（例えば、入口ポート 2 1 1 0 および出口ポート 2 1 1 2 またはそれらの近傍）は、特定の核酸および / またはヌクレオチドがチャンネル 2 1 0 4 の中に存在するか否かを判定するためにチャンネル 2 1 0 4 の 1 つ以上の電気特性の値を検出するようプログラムまたは構成された核酸検出回路 2 1 2 2 と、電気的に接続されている。電気特性値は、単一の期間（例えば、試料および 1 つ以上のセンサ化合物がチャンネル内へ導入された後の特定の期間）、または複数の異なる期間（例えば、試料および 1 つ以上のセンサ化合物の両方がチャンネル内へ導入される前後）に検出される。いくつかの態様において、電気特性値は、試料の導入から、LAMP 増幅を通して設定された期間にわたって連続的に検出される。検出される電気特性の例としては、電流、導電率、抵抗、周波数または波形が挙げられるが、これらに限定はされない。核酸検出回路 2 1 2 2 の特定の例は、例えば、図 18 に示す装置 1 7 0 0 として、プロセッサまたは計算処理装置を含むか、または該装置として構成されている。別の特定の核酸検出回路 2 1 2 2 は、アンメータ、電圧計、オーム計、またはオシロスコープを含むが、これらに限定はされない。

#### 【0363】

一実施形態において、核酸検出回路 2 1 2 2 は、チャンネル 2 1 0 4 の長さの少なくとも一部に沿って 1 つ以上の電気特性値を測定するようにプログラムまたは構成された測定回路 2 1 2 3 を含む。核酸検出回路 2 1 2 2 はさらに、チャンネルの電気特性の 1 つ以上の値を、ある期間にわたって周期的にまたは連続的にモニタリングするように、かつ / または値が平衡に達した後（例えば、分散または許容差に閾値を越える変動が見られなくなった後）に値のうち 1 つを選択するようにプログラムまたは構成されている平衡回路 2 1 2 4 を含む。

#### 【0364】

核酸検出回路 2 1 2 2 はさらに、チャンネルの 2 つ以上の電気特性値を比較するように、例えば、ある基準電気特性値（例えば、試料およびすべてのセンサ化合物がチャンネルに導入される前の状態で測定される）と、別の電気特性値（例えば、試料およびすべてのセンサ化合物がチャンネルに導入された後に測定される）とを比較するようにプログラムまたは構成されている比較回路 2 1 2 6 を含んでもよい。比較回路 2 1 2 6 は、核酸がチャンネル内に存在するか否かを判断するために、前記比較を使用してもよい。一実施形態において、比較回路 2 1 2 6 は、測定された電気特性値と基準電気特性値との差を計算し、この差をチャンネル内の核酸の有無を示す所定の値と比較する。また、この情報は、対象の病態または感染の有無を診断または予測するために使用される。

#### 【0365】

特定の実施形態では、チャンネルへの試料およびセンサ化合物のいずれもの導入に際して、比較回路 2 1 2 6 は、電界または電位差がチャンネルの長さに沿った第 1 の方向にチャンネルにわたって印加された場合の第 1 の電気特性値（例えば電流の大きさ）と、電界または電位差がチャンネルの長さに沿った第 2 の逆方向にチャンネルにわたって印加された場合の第 2 の電気特性値（例えば電流の大きさ）とを比較するようにプログラムまたは構成されている。一実施形態において、比較回路 2 1 2 6 は、第 1 の値と第 2 の値の大きさの差を計算し、この差をチャンネル内の核酸の有無を示す所定の値と比較する（例えば、その差が実質的にゼロであるか否かを判断する）。例えば、差が実質的にゼロであれば、チャンネル内で分散していたり、重合体の形態にあたり、集合状態にあたりするかもしれない核酸は存在しないことが示される。差が実質的にゼロでない場合、チャンネル内で分散形態にあたり、重合体の形態にあたり、集合状態にあたりするかもしれない核酸の存在が示

10

20

30

40

50

される。

【0366】

特定の実施形態において、核酸検出回路2122は、試料中に存在する核酸の絶対的濃度、および/または試料中に存在する1つ以上のさらなる物質に対する核酸の相対濃度を判定するようにプログラムまたは構成されている。

【0367】

いくつかの実施形態において、比較回路2124および平衡回路2126は、別個の回路またはモジュールとして構成されているが、別の実施形態においては、単一の集積回路またはモジュールとして構成されている。

【0368】

核酸検出回路2122は出力2128を有し、いくつかの実施形態において、この出力は1つ以上の外部装置またはモジュールに接続されていてもよい。例えば、核酸検出回路2122は、基準電気特性値および/または1つ以上の測定された電気特性値を、さらなる計算、処理および分析のためのプロセッサ2130、値の記憶のための非一時的記憶装置またはメモリ2132、ならびに/または、値をユーザに対して表示するための視覚表示装置2134のうち1つ以上に対して送信してもよい。いくつかの実施形態において、核酸検出回路2122は、試料が核酸を含んでいるか否かを示す結果を生成し、これをプロセッサ2130、非一時的な記憶装置またはメモリ2132および/または視覚表示装置2134に送信する。

【0369】

図17Aおよび図17Bのシステムを使用する方法の一例では、1つ以上のセンサ化合物（例えば、1つ以上の核酸プローブ）および試料が、順次にまたは同時にチャンネルへと導入される。流体の流れおよび/または流体中の荷電粒子の流れに制約がない（これは、例えば、凝集塊が存在しないことによる）場合、流体中の導電性粒子またはイオンは、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿って、入口ポート2110からy軸に沿って出口ポート2112に向かって移動する。導電性粒子またはイオンが移動することによって、第1のまたは「基準」の電気特性値（例えば電流、導電率、抵抗率または周波数）またはその範囲が作成または生成され、これが核酸検出回路2122によって、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿って検出される。いくつかの実施形態において、平衡回路2124は、値が平衡に達するまでのある期間にわたって、電気特性値の周期的または連続的なモニタリングを行う。次いで、平衡回路2124は、電気特性における過渡的变化の影響を避けるために、値のうち1つを基準電気特性値として選択する。

【0370】

本明細書中、「基準」電気特性値は、試料およびセンサ化合物（例えば1つ以上の核酸プローブ）のすべてがチャンネルに導入される前の電気特性値またはその範囲を指す。すなわち、この基準値は、試料中の核酸とセンサ化合物との間に何らかの相互作用が生じる以前のチャンネルを特徴付ける値である。いくつかの場合において、基準値は、センサ化合物の1つがチャンネルに導入された後、試料およびさらなるセンサ化合物がチャンネルに導入される前のある期間に検出される。いくつかの場合において、基準値は、センサ化合物の1つと試料とがチャンネルに導入された後、さらなるセンサ化合物がチャンネルに導入される前のある期間に検出される。いくつかの場合において、基準値は、試料またはセンサ化合物がチャンネルに導入される前のある期間に検出される。いくつかの場合において、基準値は、あらかじめ定められ、アクセス可能な非一時的記憶媒体に格納される。

【0371】

いくつかの場合において、チャンネル内での導電性凝集塊、重合体または核酸複合体の形成（例えば、試料中の目的の核酸と1つ以上の核酸プローブとの間の相互作用による）は、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿った電気経路を強化する。この場合、核酸検出回路2122は、第2の電気特性値またはその範囲（例えば電流、導電率、抵抗率または周波数）を、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿って検出する。いくつかの実施形態において、核酸検出回路2122は、試料およびすべてのセンサ化合物がチ

10

20

30

40

50



ヤネルに導入された後、第2の電気特性値を検出する前に、待機期間または調整期間を提供する。この待機期間または調整期間に、チャンネル内で凝集塊、重合体または核酸複合体が、好ましくはチャンネル内に懸濁された状態で形成されることが可能となり、これらの凝集塊、重合体、または核酸複合体の形成によって、好ましくはこれらがチャンネル内に懸濁された状態において、チャンネルの電気特性が変化する。

【0372】

いくつかの実施形態において、平衡回路2124は、試料およびすべてのセンサ化合物がチャンネルに導入された後、値が平衡に達するまでのある期間にわたって、電気特性値の周期的または連続的なモニタリングを行う。次いで、平衡回路2124は、電気特性における過渡的变化の影響を避けるために、値のうち1つを第2の電気特性値として選択してもよい。

10

【0373】

比較回路2126は、第2の電気特性値を基準電気特性値と比較する。第2の値と基準値との差が、電流もしくは導電率の増加（または抵抗率の低下）についてあらかじめ定められた範囲に相当すると判定された場合、核酸検出回路2122は、チャンネル内に凝集塊、重合体または核酸複合体が存在すること、したがって試料中に標的核酸が存在する（または検出される）ことを確定する。これに基づいて、対象における標的の有無、および病態または感染状態を診断または確認することができる。

【0374】

他の特定の実施形態において、チャンネル内の流体の流れおよび/または流体中の荷電粒子の流れが部分的にあるいは完全に（例えば、凝集塊、重合体または核酸複合体の形成によって）遮断されている場合、流体中の導電性粒子またはイオンは、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿って、入口ポート2110からy軸に沿って出口ポート2112に向かって自由に移動できない。導電性粒子またはイオンの移動が妨害または阻止されることによって、第3の電気特性値またはその範囲（例えば電流もしくは電気信号、導電率、抵抗率または周波数）が作成または生成され、これが核酸検出回路2122によって、チャンネル2104の長さの少なくとも一部に沿って検出される。第3の電気特性値は、第2の電気特性値に加えて、または第2の電気特性値の代わりに、検出される。いくつかの実施形態において、核酸検出回路2122は、試料およびすべてのセンサ化合物がチャンネルに導入された後、第3の電気特性値を検出する前に、待機期間または調整期間の間、待機してもよい。この待機期間または調整期間に、チャンネル内で凝集塊、重合体または核酸複合体が形成されることが可能となり、これらの凝集塊、重合体、または核酸複合体の形成によって、チャンネルの電気特性が変化する。

20

30

【0375】

いくつかの実施形態において、平衡回路2124は、試料およびすべてのセンサ化合物がチャンネルに導入された後、値が平衡に達するまでのある期間にわたって、電気特性値の周期的または連続的なモニタリングを行う。次いで、平衡回路2124は、電気特性における過渡的变化の影響を避けるために、値のうち1つを第3の電気特性値として選択する。

【0376】

比較回路2126は、第3の電気特性値を基準電気特性値と比較する。第3の値と基準値との差が、電流もしくは導電率の低下（または抵抗率の増加）についてあらかじめ定められた範囲に相当すると判定された場合、核酸検出回路2122は、チャンネル内に凝集塊、重合体または核酸複合体が存在すること、したがって試料中に標的核酸が存在することを確定する。

40

【0377】

チャンネルの長さに沿った流体の流れは、チャンネルの寸法に対する凝集塊、重合体または核酸複合体の大きさに依存し、また、チャンネルの内部表面の電気二重層（EDL）の形成に依存する。

【0378】

一般的に、EDLは、荷電した固体（例えば、チャンネルの内部表面、分析種の粒子、凝

50

集塊、重合体または核酸複合体)と電解質含有溶液(例えば、チャンネル内の流動性内容物)との間の正味の荷電領域である。EDLは、チャンネルの内部表面と、チャンネル内のあらゆる核酸粒子、凝集塊、重合体または核酸複合体の周囲とに存在する。電解質由来の対イオンは、チャンネルの内部表面の電荷に引き寄せられ、正味の電荷を有する領域を生じさせる。EDLは、チャンネル内ならびに分析種の粒子および凝集塊、重合体または目的の核酸複合体の周囲の流れに影響を与え、ダイオード様の挙動を示す。その結果、対イオンはいずれも、チャンネルの長さを通り抜けることができなくなる。

#### 【0379】

EDLの特性長を数学的に解くために、ポアソン - ボルツマン(「PB」)方程式および/またはポアソン - ネルンスト - プランク方程式(「PNP」)を解く。これらの解を流体の流れを表すナビエ - ストークス(NS)方程式と連立させて連立方程式の非線形のセットを作成し、例示的な系の動作を理解するために分析する。

10

#### 【0380】

チャンネル表面、EDL、および凝集塊、重合体または核酸複合体の間の寸法上の相互作用を考慮して、例示的チャンネルは、ある所定の大きさの凝集塊、重合体または核酸複合体がチャンネル内で形成された場合にチャンネルの長さに沿った導電性イオンの流れが実質的に抑制されることを保証するように注意深く選択された寸法パラメータを用いて構成・構築される。特定の場合において、例示的チャンネルは、核酸検出中にチャンネル内で形成された凝集粒子の直径と実質的に同じであるかまたはそれよりも小さな深さおよび/または幅を有するように構成される。特定の実施形態においては、EDLのサイズもまた、チャンネルの寸法パラメータを選択する際に考慮される。特定の場合において、例示的チャンネルは、チャンネルの内部表面およびチャンネル内の凝集塊、重合体または核酸複合体の周囲に生じたEDLの寸法と実質的に同じであるかまたはそれよりも小さな深さおよび/または幅を有するように構成される。

20

#### 【0381】

特定の実施形態においては、検出システムを使用する前に、チャンネルにセンサ化合物(例えば1つ以上の核酸プローブ)は一切存在しない。すなわち、検出システムの製造者は、センサ化合物を含むような前処理や修飾をチャンネルに対して行わなくてもよい。この場合、使用中にユーザが、例えば電解質緩衝液中の1つ以上のセンサ化合物をチャンネルに導入して、センサ化合物は存在するが試料は存在しない状態でのチャンネルの基準電気特性値を検出することとなる。

30

#### 【0382】

別の特定の実施形態においては、検出システムを使用する前に、チャンネルに対して前処理または修飾を行い、内部表面の少なくとも一部が、センサ化合物(例えば1つ以上の核酸捕捉プローブ)を含むか、センサ化合物でコーティングされた状態とする。一実施例においては、製造者が、センサ化合物で修飾されたチャンネルの基準電気特性値を検出し、ユーザは、使用中に、格納されたその基準電気特性値を使用してもよい。すなわち、検出システムの製造者は、センサ化合物を含むようにチャンネルの前処理または修飾を行ってもよい。この場合、ユーザは、試料と1つ以上のさらなるセンサ化合物とをチャンネルに導入する必要がある。

40

#### 【0383】

特定の例示的検出システムでは、1つのチャンネルのみが含まれる。別の特定の例示的検出システムでは、1つの基板上に複数のチャンネルが含まれる。このような検出システムは、任意適切な数のチャンネルを含んでもよく、その数としては、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10、またはこれらの数のうち任意の2つによって定義される範囲内の数以上のチャンネル数が挙げられるが、これらに限定はされない。

#### 【0384】

一実施形態において、検出システムは、少なくとも2つのチャンネルが互いから独立して作動する複数のチャンネルを含む。例示的チャンネル2104および図17A~図17Bに示される関連する構成要素を、同じ基板上で複製することにより、そのようなマルチチャネ

50

ル検出システムを得ることができる。マルチチャネルは、同一の試料中の同一の核酸、同一の試料中の異なる核酸、異なる試料中の同一の核酸、および/または異なる試料中の異なる核酸を検出するために使用される。別の実施形態において、検出システムは、少なくとも2つのチャネルが互いと連携して作動する複数のチャネルを含む。いくつかの態様において、各チャネルは、検出対象である標的に応じて、異なる形状で作製される。

#### 【0385】

##### ポイントオブケア用例示的デバイスの概要

いくつかの態様において、前記装置はポータブルであり、試料中の1つ以上の標的を検出するよう構成されている。図19に示されるように、該装置は、fC<sup>4</sup>D回路905を制御するよう構成されたプロセッサ900を含む。fC<sup>4</sup>D回路905は、信号発生器907を含む。上述したように、信号発生器907は、チャネル2104または試験ウェルを通じて1つ以上の信号を供給するよう構成されている。信号発生器907は、該信号発生器907からの1つ以上の信号を増幅するための前増幅器915に連結される。該1つ以上の信号は、マルチプレクサ909およびチャネル2104を通して送信される。チャネル2104からの信号は後増幅器911によって増幅され、デマルチプレクサ913によって復調される。アナログ・デジタル変換器917は、信号を復元し、デジタル信号をプロセッサ900へと転送する。プロセッサ900は、所望の標的が試料中で検出されたか否かを判定するために、測定、平衡化、比較などを行うよう構成された回路を含む。いくつかの実施形態では、アナログ・デジタル変換が最初に行われてもよい。そのような実施形態のいくつかにおいては、誘導波全体をサンプリングし、ソフトウェア内でのデジタル処理により復調することができる。

#### 【0386】

いくつかの実施形態において、プロセッサ900は、1つ以上の発熱体920にも連結されている。該1つ以上の発熱体920は、抵抗発熱体であってもよい。1つ以上の発熱体920は試料および/またはチャネル2104内の溶液を加熱するよう構成される。いくつかの実施形態において、試料は、0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260または任意の温度またはこれらの数のうち2つの間の任意の範囲と等しいか、またはそれよりも高い温度まで加熱される。いくつかの実施形態において、試料は、40、35、30、25、20、15、10、5、0、-5、-10、-15、-20または任意の温度またはこれらの数のうち2つの間の任意の範囲と等しいか、またはそれよりも低い温度まで冷却される。上記を考慮して、プロセッサ900および/または他の回路は、試料および/またはチャネル2104の温度925を読み取り、所望の加熱設定値930に達するまで、1つ以上の発熱体920を制御するよう構成される。いくつかの態様において、チャネル2104は、その全体が1つ以上の発熱体920によって加熱されるよう構成される。別の態様において、チャネル2104は、その一部のみが1つ以上の発熱体920によって加熱されるよう構成される。

#### 【0387】

プロセッサ900は、キーパッド、タッチスクリーン、ボタン、スイッチまたはマイクロホンのような1つ以上のユーザ入力装置からユーザ入力940を受信するよう構成される。データは出力950され、記録951、ユーザへの報告953、クラウドベースの記憶システムへの送信952などが行われる。いくつかの実施形態において、データは、処理のための別の装置への送信および/またはさらなる処理に供される。例えば、fC<sup>4</sup>Dデータは、クラウドに送信され、その後、試料中の標的の有無を判定するために処理されてもよい。

#### 【0388】

いくつかの態様において、前記装置は、比較的低消費電力であるように構成される。例

10

20

30

40

50

えば、該装置が必要とする電力は、たった1～10ワットであるかもしれない。いくつかの態様において、該装置が必要とする電力は7ワット以下である。該装置は、データの処理、他の1つ以上の装置とのワイヤレス通信、チャンネルを通じた信号の送信および検出、試料/チャンネルの加熱、ならびに/または、タッチ対応ディスプレイを用いた入出力の検出および表示を行うよう構成される。

【0389】

いくつかの実施形態において、試料採取装置、試料調製装置および流体力学カートリッジは、個別の物理的装置として形成される。したがって、第1の試料採取装置が、試料を採取するために使用される。試料は、唾液、粘液、血液、血漿、便または脳脊髄液を含んでもよい。次いで、試料は第2の試料調製装置に移される。試料調製装置は、核酸増幅に必要な成分および試薬を含む。調製された試料は、流体力学カートリッジを含む第3の装置へと移され、ここで増幅および $fC^4D$ による励起および測定が行われる。いくつかの実施形態において、試料の採取および調製は、単一の装置によって遂行される。いくつかの実施形態において、試料調製と流体力学カートリッジとは、単一の装置に含まれる。いくつかの実施形態では、単一の装置が、試料の採取、試料の調製、少なくとも試料の一部の増幅、および $fC^4D$ を用いた試料の分析を行うよう構成される。

【0390】

#### 例示的小型流体力学カートリッジの概要

いくつかの態様において、前記装置は、併用する装置に連結することのできる取り外し可能な流体力学カートリッジを含む。該取り外し可能な流体力学カートリッジは、使い捨てのカートリッジであるよう構成されている。いくつかの実施形態において、該カートリッジは複数のチャンネルを含む。複数のチャンネルは、異なる形状で作製されてもよい。いくつかの態様において、4つの形状のチャンネルが使用され、精度を保証するために繰り返される。いくつかの態様において、4つよりも多くの形状のチャンネルが使用され、精度を保証するために繰り返される。いくつかの態様において、各チャンネルは、唯一の標的を検出するよう構成される。別の態様では、各チャンネルは、同一の標的を検出するよう構成される。いくつかの実施形態において、カートリッジは1つ以上の発熱体を含む。一般に、流体力学カートリッジは、 $fC^4D$ 分析のために構成された少なくとも1つのチャンネルを含んでもよい。

【0391】

いくつかの態様において、前記カートリッジは多層のラミネート構造を含む。1つ以上のチャンネルが、打ち抜きおよび/またはレーザ切断によって基板に作製される。いくつかの実施形態において、基板は、ポリプロピレンフィルムを含む。フィルムの一面または両面が、接着剤でコーティングされる。このチャンネルの全部または一部を加熱するために、チャンネル層は、ポリアミドヒーターコイル上に固定される。チャンネルは、少なくとも一部が、親水性のPET層によって覆われる。PET層の下には、プリント電極が配置されてもよい。いくつかの態様において、温度のフィードバックのために、チャンネル当たり少なくとも1つのサーミスタが供給される。

【0392】

別の態様において、カートリッジは射出成型されたプラスチックを含む。該射出成型されたプラスチック内に、1つ以上のチャンネルが配置される。チャンネルの全部または一部に対し、前記IM（射出成型）プラスチックへのPETのレーザ溶接によって、PET層またはPETフィルムのコーティングが施される。射出成型によって剛性および3D構造が提供されることは有利であり、さらに、バルブや、フレームのような取り扱いを容易にするための機能が与えられる。特定の設定に応じて、カートリッジは、プリントされた電子機器および/または発熱体および/またはサーミスタを含んでも含まなくてもよい。

【0393】

流体力学カートリッジ500の例示的な実施形態を、図20に示す。示されているように、カートリッジ2500は4つの層を含む。PCB/PWB層2501の上には、電極2505がトレースされている。電極は、原子蒸着のような方法を用いて、30nmの二

10

20

30

40

50

酸化チタン層で不動態化することができる。PCB/PWB層は、4つの層をまとめるためのねじまたは別の保持手段のためのエントリーポイント2506を含むことができる。電源および検出回路を、PCB/PWB層に連結することができる。ガスケット層2510は、切り抜き部2513および2514ならびにエントリーポイント2506を有する。ガスケット層は、フルオロシリコンのような材料から製造することができる。下位の硬質基板層2520は、エントリーポイント2506および入口ポート2522を含む。入口点2506を含んでいる上位の硬質層2530は、エントリーポイント2506および入口ポート2522を含む。上下の硬質層は、それぞれアクリル樹脂のような材料から製造することができる。4つの層が組み立てられ、それぞれの層のいくつかのエントリーポイント2506を通るねじまたは別の保持手段によって固定されると、4つのチャンネルが形成される。切り抜き部2513および2514は、チャンネルの側面を形成する。切り抜き部513は、2つの台形の端部を有するチャンネルを形成し、また、切り抜き部2514は、実質的に直線状の側面を有するチャンネルを形成する。電極2505を含むPCB/PWB層2501の一部は、チャンネルの底部を形成する。下位の硬質層2520は、チャンネルの最上部を形成し、入口ポート2522は、チャンネルへの入口ポートおよび出口ポートを提供する。上位層の入口ポート2522および上位の硬質層の入口ポートは、各チャンネルに試薬を提供する手段を提供する。いくつかの実施形態において、2つの台形の端部を有するチャンネルは、約 $30\mu\text{l}$ ~ $50\mu\text{l}$ の容量を有しうる。いくつかの実施形態において、実質的に直線状の側面を有するチャンネルは、約 $20\mu\text{l}$ ~ $30\mu\text{l}$ の容量を有しうる。そのような容量は、少なくともガスケット層の圧縮度を変えることにより調節できる。図21は、図20の流体力学カートリッジ2500の平面図であり、ねじまたは別の保持手段のためのエントリーポイント506と、チャンネル2550と流体連通する入口ポート2522と、電極2505とを有する。図22は、2つの電極2505の寸法の例を示す。図23は、2つの台形状の端部を有するチャンネル2550の寸法の例を示す。いくつかの実施形態において、チャンネルは、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74 もしくは75 またはこれらの数のうち任意の2つで定義される範囲内の温度まで加熱され、加圧される。いくつかの態様において、チャンネルは、1気圧、2気圧、3気圧、4気圧、5気圧もしくは6気圧またはこれらの圧力のうち任意の2つで定義される範囲内の圧力まで加圧することができる。

#### 【0394】

いくつかの実施形態において、流体力学デバイスのチャンネルは、 $1\mu\text{l}$ 、 $2\mu\text{l}$ 、 $3\mu\text{l}$ 、 $4\mu\text{l}$ 、 $5\mu\text{l}$ 、 $6\mu\text{l}$ 、 $7\mu\text{l}$ 、 $8\mu\text{l}$ 、 $9\mu\text{l}$ 、 $10\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 、 $30\mu\text{l}$ 、 $40\mu\text{l}$ 、 $50\mu\text{l}$ 、 $60\mu\text{l}$ 、 $70\mu\text{l}$ 、 $80\mu\text{l}$ 、 $90\mu\text{l}$ 、 $100\mu\text{l}$ 、 $200\mu\text{l}$ 、 $300\mu\text{l}$ 、 $400\mu\text{l}$ 、 $500\mu\text{l}$ 、 $600\mu\text{l}$ 、 $700\mu\text{l}$ 、 $800\mu\text{l}$ 、 $900\mu\text{l}$  もしくは $1000\mu\text{l}$  またはこれらの容量のうち任意の2つの間の範囲にある容量と等しいか、それよりも大きい容量を保持できるよう、調整または構成することができる。いくつかの実施形態において、流体力学デバイスのチャンネルは、加圧に適するよう構成されうる。いくつかの実施形態において、チャンネル内の試料は、1気圧、2気圧、3気圧、4気圧、5気圧、6気圧、7気圧、8気圧、9気圧、10気圧またはこれらの圧力のうち任意の2つの間の範囲と等しいか、それよりも大きい圧力まで加圧することができる。いくつかの実施形態において、流体力学デバイスのチャンネルは、-20、-15、-10、-5、0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、85、80、85、90、95、100、105、110、115、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260 または任意の温度またはこれらの温度のうち2つの間の任意の範囲と等しいか、またはそれよりも高い温度を維持できるよう構成することができる。

#### 【0395】

### 例示的試料採取の概要

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される方法、システムおよびデバイスは、単純かつ直接的な試料採取法を利用する。このようにして、試料の採取から分析までのステップ数は削減される。言い換えると、いくつかの実施形態において、試料の汚染を回避するためには、ユーザが試料の移動および／または操作を行う回数は、最小限であることが望ましい。いくつかの態様において、本明細書に開示されるデバイスは、あらゆるタイプの試験環境に適合させるために、複数の試料採取方法に対応するよう構成される。したがって、いくつかの態様において、均質なバイアルチップインターフェースが利用される。試料採取システムを調整すれば、採取され分析される試料のタイプにかかわらず、検出ハードウェアは同じにしておくことができる。

10

【0396】

### 例示的分析の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、単一の容器内の生の試料からの標的の単純な溶解／増幅／検出を含む。いくつかの実施形態は、非核酸標的を検出するための免疫増幅を含む。いくつかの実施形態は、反応に加えることで導電率の変化を増加させる試薬を含む。いくつかの実施形態は、LAMP、SDAおよび／またはRCAなどの等温増幅法を含む。いくつかの実施形態において、検出する標的は、タンパク質、医薬または麻酔剤などの小分子、または毒素のような生物兵器などのバイオマーカーである。そのような標的の検出は、等温増幅反応に関与する核酸と共に、抗体またはアプタマーなどの免疫結合試薬を結合させることにより達成することができる。いくつかの実施形態では、増幅反応に添加剤を加えることにより、標的の定量と関連する溶液導電率の変化を増加させることができる。添加剤の使用により、検出の感度およびダイナミックレンジを増加させることができる。

20

【0397】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態では、試料の採取および処理が以下の望ましい特徴の1つ以上を有しうる：遠心の必要がない；ポータブルである；安価である；使い捨てである；壁付コンセントを必要としない；使用が容易または直感的に使用できる；使用に必要な技術的手腕が比較的低い；少量の試料（例えば70  $\mu$ L）からRNAおよび／またはDNAを抽出できる；増幅までのRNAおよび／またはDNAを安定化できる；熱に安定な試薬を使用することにより、低温保存の必要がない；試料濃度が低くても（例えば、1,000コピー/mL以下の試料）分析が可能である；および／または、例えば、少なくとも4桁にわたってウイルス量を検出できるダイナミックレンジを有する。

30

【0398】

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、本明細書に記載される診断デバイスにおける使用のための、試料の採取および処理を含む。採取される試料は、生物試料とも称されるが、例えば、植物、血液、血清、血漿、尿、唾液、腹水、髄液、精液、肺洗浄液、痰（sputum）、痰（phlegm）、粘液、糞便、細胞または核酸を含む液体培地、細胞または核酸を含む固形培地、組織などを含む。試料を得るための方法は、指先穿刺、踵穿刺、静脈穿刺、成人鼻腔吸引、小児鼻腔吸引、鼻咽頭洗浄、鼻咽頭吸引、綿棒による採取、カップ内へのバルク収集、組織生検または洗浄試料の使用を含みうる。さらなる例としては、土壌試料、水試料などが挙げられる。

40

【0399】

### 例示的増幅の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、核酸標的の増幅を含む。核酸増幅の方法はよく知られており、PCRのような、反応の間に温度を変化させる方法が挙げられる。

【0400】

さらなる例としては、実質的に一定の温度で反応が起こりうる等温増幅が挙げられる。いくつかの実施形態において、核酸標的の等温増幅により、溶液の導電率の変化がもたらされる。等温核酸増幅の方法にはいくつかのタイプがある。例えば、nucleic a

50

cid sequence - based amplification (NASBA) 法、strand displacement amplification (SDA) 法、ループ媒介等温増幅 (LAMP) 法、インベーター法、ローリングサークル増幅 (RCA) 法、signal mediated amplification of RNA technology (SMART) 法、helicase - dependent amplification (HDA) 法、recombinase polymerase amplification (RPA) 法、nicking endonuclease signal amplification (NESA) 法、ニッキングエンドヌクレアーゼによるナノ粒子の活性化 (NENNA) 法、ニッキングエンドヌクレアーゼによる標的リサイクル、Junction or Y - probes 法、スプリット DNA Zyme デオキシリボザイム増幅法、テンプレート指向化学反応による増幅信号、非共有 DNA 触媒反応、hybridization chain reactions (HCR) 法および DNA プローブの自己集合による超分子構造を介した検出などである。例えば、Yan L., et al., Mol. Biosyst., (2014) 10: 970 - 1003 を参照のこと。この文献は、その内容の全体が、参照により本明細書に明示的に援用される。

#### 【0401】

LAMP の一例において、フォワードプライマーセット中の 2 つのプライマーは、インナー (F1c - F2、c は「相補的」を意味する) プライマーおよびアウター (F3) プライマーと呼ばれる。60 において、インナープライマーの F2 領域が最初に標的とハイブリダイズし、DNA ポリメラーゼによって伸長される。次いで、アウタープライマー F3 が、同じ標的鎖の F3c に結合し、ポリメラーゼが F3 を伸長して、新たに合成された鎖と置き換える。置き換えられた鎖は、F1c および F1 領域のハイブリダイゼーションにより 5' 末端でステムループ構造を形成する。3' 末端では、リバースプライマーセットがこの鎖にハイブリダイズすることができ、両末端にステムループ構造を備えた新たな鎖がポリメラーゼによって作製される。このダンベル構造の DNA が指数関数的な増幅サイクルに入り、伸長と鎖の置き換えを繰り返すことにより、標的 DNA のいくつかの逆方向反復を有する鎖を作製することができる。本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、LAMP のための構成要素には、4 つのプライマー、DNA ポリメラーゼおよび dNTPs が含まれる。ELAMP によるウイルス性の病原菌の増幅の例としては、デング熱 (M. Parida, et al., J. Clin. Microbiol., 2005, 43, 2895 - 2903)、日本脳炎 (M. M. Parida, et al., J. Clin. Microbiol., 2006, 44, 4172 - 4178)、チクングンヤ熱 (M. M. Parida, et al., J. Clin. Microbiol., 2007, 45, 351 - 357)、西ナイル熱 (M. Parida, et al., J. Clin. Microbiol., 2004, 42, 257 - 263)、重症急性呼吸器症候群 (SARS) (T. C. T. Hong, Q. L. Mai, D. V. Cuong, M. Parida, H. Minekawa, T. Notomi, F. Hasebe and K. Morita, J. Clin. Microbiol., 2004, 42, 1956 - 1961) および高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) H5N1 (M. Imai, et al., J. Virol. Methods, 2007, 141, 173 - 180) が挙げられ、これらの文献は、その内容の全体が、参照により本明細書に明示的に援用される。

#### 【0402】

SDA の一例において、プローブは 2 つの部分を含む。すなわち 5' 末端の Hinc II 認識部位および標的に相補的な配列を含む別のセグメントである。DNA ポリメラーゼによってプライマーは伸長され、デオキシアデノシン 5' - [ - チオ ] - トリリン酸 (dATP [ - S ]) を取り込む。次いで、制限エンドヌクレアーゼ Hinc II は、プローブ鎖の Hinc II 認識部位でニックを形成するが、これは、このエンドヌクレアーゼが、チオリン酸修飾を含む他方の鎖を開裂させることはできないためである。エンドヌクレアーゼによる切断の結果として 3' - OH が露出し、次いで DNA ポリメラーゼによって

伸長される。新しく生成した鎖も、Hinc IIによるニッキング部位を含んでいる。新たに合成された二本鎖におけるさらなるニッキングと、その後のDNAポリメラーゼを介した伸長とが複数回繰り返されることで、等温増幅カスケードが起こる。本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、SDAのための構成要素には、4つのプライマー、DNAポリメラーゼ、REase Hinc II、dGTP、dCTP、dTTPおよびdATPが含まれる。SDAの応用の一例としては、結核菌ゲノムDNA (M. Vincent, et al., EMBO Rep., 2004, 5, 795-800) が挙げられる。この文献は、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。

#### 【0403】

NASBAの一例において、フォワードプライマー1 (P1) は、2つの部分から構成され、うち1つはRNA標的の3'末端に相補的であり、他方はT7プロモーター配列に相補的である。P1がRNA標的 (RNA(+)) に結合すると、逆転写酵素 (RT) がこのプライマーを伸長させ、当該RNAに相補的なDNA (DNA(+)) とする。次いで、RNase Hが、RNA-DNA (+) ハイブリッドのRNA鎖を分解する。次いで、リバースプライマー2 (P2) がDNA (+) に結合し、逆転写酵素 (RT) により二本鎖DNA (dsDNA) を生成するが、これにはT7プロモーター配列が含まれる。この最初の段階の後、系は増幅段階に入る。T7 RNAポリメラーゼは、dsDNAに基づく多くのRNA鎖 (RNA(-)) を生成し、リバースプライマー (P2) は新たに形成されたRNA (-) と結合する。RTがリバースプライマーを伸長させ、RNase HがRNA-cDNA二本鎖のRNAを分解して単鎖DNAとする。次いで、新たに生成したcDNA (DNA(+)) がP1のためのテンプレートとなり、このサイクルが繰り返される。本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、NASBAのための構成要素には、2つのプライマー、逆転写酵素、RNase H、RNAポリメラーゼ、dNTPおよびrNTPが含まれる。NASBAの応用の例としては、HIV-1ゲノムRNA (D. G. Murphy, et al., J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 4034-4041)、C型肝炎ウイルスRNA (M. Damen, et al., J. Virol. Methods, 1999, 82, 45-54)、ヒトサイトメガロウイルスmRNA (F. Zhang, et al., J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 1920-1925)、細菌種における16S RNA (S. A. Morre, et al., J. Clin. Pathol.: Clin. Mol. Pathol., 1998, 51, 149-154) および腸内ウイルスゲノムRNA (J. D. Fox, et al., J. Clin. Virol., 2002, 24, 117-130) が挙げられる。上述の参考文献はそれぞれ、参照によりその全体が本明細書に明示的に援用される。

#### 【0404】

等温増幅法のさらなる例としては、自律配列複製反応 (3SR) ; 90-I ; BAD増幅 ; 交差プライミング増幅 (CPA) ; 等温指数関数的増幅反応 (EXPAR) ; 等温キメラプライマー開始核酸増幅 (ICAN) ; 等温多置換増幅 (IMDA) ; ライゲーション媒介SDA ; 多置換増幅 ; ポリメラーゼスパイラル反応 (PSR) ; 制限カスケード指数関数的増幅 (RCEA) ; スマート増幅法 (SMA P2) ; 単一プライマー等温増幅 (SPIA) ; 転写ベースの増幅系 (TAS) ; 転写媒介増幅 (TMA) ; リガーゼ連鎖反応 (LCR) ; および/または交差多置換増幅 (MCDA) が挙げられる。

#### 【0405】

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、非核酸標的を検出するための免疫等温増幅の使用を含む。そのようないくつかの実施形態においては、等温増幅法に有用であるプライマーが、抗体もしくはそのフラグメント、またはアプタマーに連結される。本明細書中、「アプタマー」は、標的分子に特異的に結合するペプチドまたはオリゴヌクレオチドを含みうる。いくつかの実施形態において、抗体またはアプタマーは、等温増幅法に有用であるプライマーに、共有結合または非共有結合によって連

10

20

30

40

50



結されうる。そのようないくつかの実施形態において、等温増幅法に有用であるプライマーは、抗体またはアプタマーに、ピオチンおよびストレプトアビジンのリンカーを通じて連結されうる。いくつかの実施形態において、等温増幅法に有用であるプライマーは、抗体またはアプタマーに、THUNDER-LINK (Innova Biosciences, UK) を用いて連結されうる。

#### 【0406】

いくつかの実施形態において、標的抗原が抗体またはアプタマーに結合し、該抗体またはアプタマーに連結されているプライマーは、等温増幅のための基質であるか、等温増幅を開始するものである。例えば、Pourhassan-Moghaddam et al., Nanoscale Research Letters, 8: 485 - 496を参照のこと。この文献は、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。いくつかの実施形態において、標的抗原は、2つの抗体またはアプタマー (Ab) すなわち抗原に特異的に結合する捕捉抗体または検出抗体の間にサンドイッチ形態で捕捉される。あらかじめ固体支持体の表面に固定化されている捕捉Abが標的Agを捕捉し、等温増幅法に有用であるプライマーに連結されている検出Abが、捕捉されたAgに結合する。洗浄の後に等温増幅が行われ、増幅産物の存在によって、試料中の標的Agの存在が間接的に示される。

#### 【0407】

##### 導電率変化の増強例の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、核酸の増幅で得られた溶液における導電率の変化の増強を含む。いくつかの実施形態において、核酸増幅に起因するピロリン酸塩 (「PPi」) のキレート化を使用して、増幅反応継続中の溶液の導電率の変化を増強することができる。1つの理論に束縛されるものではないが、核酸の増幅中に生じる導電率の変化は、マグネシウムの陽イオンとPPiイオンとが溶液から沈殿することに基づいているかもしれない。本明細書で提供されるいくつかの実施形態は、マグネシウムの陽イオンとPPiイオンとの沈殿を防止するよう平衡を変化させて導電率の変化を増強することを含みうる。いくつかの実施形態において、これは、PPiを求めてマグネシウムの陽イオンと競合する分子を添加することによって達成される。そのような実施形態のいくつかにおいては、溶液全体の導電率が高まるような、イオン移動度の高い化合物が提供される。したがって、PPiと共に沈殿させることによってそのような化合物を溶液から除去することで、溶液の導電率に劇的な変化がもたらされる。本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、増幅の継続中にPPiと結合して溶液の導電率に変化および/または増強された変化をもたらす化合物/複合体には、 $Cd^{2+}$ -サイクレン-クマリン；ビス(2-ピリジルメチル)アミン(DPA)単位との $Zn^{2+}$ 複合体；DPA- $2Zn^{2+}$ -フェノキシド；アクリジン-DPA- $Zn^{2+}$ ；DPA- $Zn^{2+}$ ピレン；およびアザクラウン- $Cu^{2+}$ 複合体が含まれる。例えば、Kim S. K. et al., (2008) Accounts of Chemical Research 2: 23 - 31；およびLee D-H, et al., (2007) Bull. Korean Chem. Soc. 29: 497 - 498；Credo G. M. et al., (2011) Analyst 137: 1351 - 1362；ならびにHaldar B. C. (1950) "Pyrophosphato-Complexes of Nickel and Cobalt in Solution" Nature 4226: 744 - 745を参照のこと。上述の参考文献はそれぞれ、参照によりその全体が本明細書に明示的に援用される。

#### 【0408】

いくつかの実施形態には、2-アミノ-6-メルカプト-7-メチルプリンリボヌクレオシド(MESG)などの化合物が含まれる。MESGは、EnzChek(登録商標) Pyrophosphate Assay Kit (ThermoFischer Scientific)などのピロリン酸塩を検出するためのキット中で使用され、無機リン酸塩の存在下でプリンヌクレオシドホスホリラーゼ(PNP)によってリボース-1-リン

10

20

30

40

50

酸と 2 - アミノ - 6 - メルカプト - 7 - メチルプリンとに変換される。M E S G の酵素変換によって、吸収極大は 3 3 0 n m から 3 6 0 n m へとシフトする。P N P は、ピロリン酸塩から 2 つのリン酸塩等価物への変換を触媒する。次いで、このリン酸塩は M E S G / P N P 反応によって消費され、3 6 0 n m における吸収度の増加によって検出される。ピロリン酸塩 1 分子がリン酸塩 2 分子に増幅されることによって、感度はさらに高められる。別のキットとしては、P I P E R P y r o p h o s p h a t e A s s a y K i t ( T h e r m o F i s c h e r S c i e n t i f i c ) が挙げられる。

#### 【 0 4 0 9 】

いくつかの実施形態において、核酸の増幅で得られた溶液における導電率の変化の増強は、増幅された D N A に結合する化合物を含む。そのような実施形態のいくつかにおいて、増幅の継続中、増幅され増量した D N A に電荷担体種が結合することによって、溶液の導電率は全体として低下する。いくつかの実施形態において、電荷担体種には、D N A / R N A の染色剤 / 染料として通常使用される正荷電分子、例えば、臭化エチジウム、クリスタルバイオレット、S Y B R が含まれ、これらは静電引力によって核酸に結合する。これらの荷電した小さな分子種が、大きく移動の低い増幅産物に結合することによって、色素分子の電荷移動性を効果的に低減させ、溶液の導電率を低下させうる。この静電引力のメカニズムはゲル電気泳動法のための D N A の染色にしばしば用いられているが、アンプリコンに結合する分子が D N A 染色に従来使用されている化合物である必要はないことに留意されたい。これらの分子が使用されるのは、電荷担体（溶液導電率に寄与する）としての機能およびアンプリコンに結合する能力のためであり、D N A に対する何らかの染色性能を有する必要はない。

#### 【 0 4 1 0 】

いくつかの実施形態は、ナノ粒子に連結された抗体またはアプタマーの使用を含む。そのような実施形態のいくつかにおいて、標的抗原の存在によって抗体が凝集し、溶液の導電率が変化する。1 つの理論に束縛されるものではないが、液体中に懸濁したナノコロイドの有効導電率は、電気二重層（E D L）特性、容積比率、イオン濃度および他の物理化学特性に複雑に依存しうる。例えば、A n g a y a r k a n n i S A . , e t a l . , J o u r n a l o f N a n o f l u i d s , 3 : 1 7 - 2 5 を参照のこと。この文献は、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。抗体に連結されるナノ粒子は、当技術分野ではよく知られている。また、A r r u e b o M . e t a l . , J o u r n a l o f N a n o m a t e r i a l s 2 0 0 9 : A r t i c l e I D 4 3 9 3 8 9 ; および Z a w r a h M F . , e t a l . , H B R C J o u r n a l 2 0 1 4 . 1 2 . 0 0 1 を参照のこと。これらはそれぞれ、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。本明細書で提供される方法において有用であるナノ粒子としては、 $-Al_2O_3$ 、 $SiO_2$ 、 $TiO_2$  および  $-Al_2O_3$  ならびに金ナノ粒子が挙げられる。例えば、A b d e l h a l i m , M A K . , e t a l . , I n t e r n a t i o n a l J o u r n a l o f t h e P h y s i c a l S c i e n c e s , 6 : 5 4 8 7 - 5 4 9 1 を参照のこと。この文献は、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。ナノ粒子に連結された抗体を使用することで、電気化学インピーダンス分光法（E I S）を使用して行われる測定を通じて表面に生じる信号もまた増強されうる。例えば、L u J . , e t a l . , A n a l C h e m . 8 4 : 3 2 7 - 3 3 3 を参照のこと。この文献は、参照によりその内容の全体が本明細書に明示的に援用される。

#### 【 0 4 1 1 】

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、酵素に連結された抗体またはアプタマーの使用を含む。いくつかの実施形態では、酵素活性によって溶液の導電率の変化がもたらされる。そのようないくつかの実施形態において、導電率の変化は、分析成分と接触する基質への電荷移動によって検出される。

#### 【 0 4 1 2 】

#### 例示的ウイルス標的の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定のウイ

ルスおよびウイルス標的の検出を含む。ウイルス標的は、ウイルス核酸、ウイルスタンパク質および/または酵素もしくはその活性などのウイルス活性産物を含む。本明細書で提供される方法およびデバイスを用いて検出されるウイルスタンパク質としては、ウイルスカプシドタンパク質、ウイルス構造タンパク質、ウイルス糖タンパク質、ウイルス膜融合タンパク質、ウイルスプロテアーゼまたはウイルスポリメラーゼが挙げられる。前記ウイルスタンパク質をコードする遺伝子の少なくとも一部に相当するウイルス核酸配列（RNAおよび/またはDNA）もまた、本明細書に記載される方法およびデバイスを用いて検出される。そのような標的のためのヌクレオチド配列は、公開データベースから容易に得られる。等温増幅に有用なプライマーは、そのような所望のウイルス標的の核酸配列から容易に設計される。そのようなウイルスのタンパク質に対する抗体およびアプタマーもまた、市販品および/または当技術分野で公知の技術を利用して容易に得られる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出されるウイルスとしては、二本鎖DNAウイルスおよび一本鎖ウイルスなどのDNAウイルス；二本鎖RNAウイルス、一本鎖（+）RNAウイルス、一本鎖（-）RNAウイルスなどのRNAウイルス；ならびに一本鎖逆転写RNAウイルスおよび二本鎖逆転写DNAウイルスなどの逆転写ウイルスが挙げられる。この技術を利用して検出されるウイルスとしては、ヒトウイルス、飼育動物ウイルス、家畜ウイルスなどの動物ウイルスまたは植物ウイルスが挙げられる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出されるヒトウイルスとしては、以下の表2 - 1に記載のウイルスが挙げられる。表2 - 1はさらに、増幅に有用なプライマーを容易に設計するための代表的なヌクレオチド配列を提供する。

[表2 - 1]

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 - 1】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
アデノ 随伴ウイルス	NC_001401
アイチウイルス	NC_001918
オーストラリアコウモリウイルス	NC_003243
B Kポリオーマウイルス	NC_001538
バンナウイルス	NC_004217
バーマ森林ウイルス	NC_001786
ブニヤンベラウイルス	NC_001925
ブニヤウイルス科ラクロスウイルス	NC_004108
ブニヤウイルス科カンジキウサギウイルス	
オナガザルヘルペスウイルス	NC_006560
チャンディプラウイルス	
チクングニアウイルス	NC_004162
コサウイルス A	NC_012800
牛痘ウイルス	NC_003663
コクサッキーウイルス	NC_001612
クリミア・コンゴ出血熱ウイルス	NC_005301
デング熱ウイルス	NC_001477
ドーリウイルス	
D u g b e ウイルス	
ドゥベンヘイジウイルス	NC_004159

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 - 2】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
東部ウマ脳炎ウイルス	NC_003899
エボラウイルス	NC_002549
エコーウイルス	NC_001897
脳心筋炎ウイルス	NC_001479
エプスタイン・バーウイルス	NC_007605
ヨーロッパコウモリウイルス	NC_009527
G Bウイルス C／G型肝炎ウイルス	NC_001710
ハンタウイルス	NC_005222
ヘンドラウイルス	NC_001906
A型肝炎ウイルス	NC_001489
B型肝炎ウイルス	NC_003977
C型肝炎ウイルス	NC_004102
E型肝炎ウイルス	NC_001434
デルタ肝炎ウイルス	NC_001653
馬痘ウイルス	
ヒトアデノウイルス	NC_001405
ヒトアストロウイルス	NC_001943
ヒトコロナウイルス	NC_002645
ヒトサイトメガロウイルス	NC_001347
ヒトエンテロウイルス 68 型、70 型	NC_001430
ヒトヘルペスウイルス 1 型	NC_001806
ヒトヘルペスウイルス 2 型	NC_001798
ヒトヘルペスウイルス 6 型	NC_001664
ヒトヘルペスウイルス 7 型	NC_001716
ヒトヘルペスウイルス 8 型	NC_009333
ヒト免疫不全ウイルス	NC_001802

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 - 3】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
ヒトパピローマウイルス 1 型、	NC_001356
ヒトパピローマウイルス 2 型	NC_001352
ヒトパピローマウイルス 1 6 型、1 8 型	NC_001526
ヒトパラインフルエンザ	NC_003461
ヒトパルボウイルス B 1 9	NC_000883
ヒト R S ウイルス	NC_001781
ヒトライノウイルス	NC_001617
ヒト S A R S コロナウイルス	NC_004718
ヒトスプーマレトロウイルス	
ヒト T リンパ球向性ウイルス	NC_001436
ヒトトロウイルス	
インフルエンザ A 型ウイルス	NC_002021
インフルエンザ B 型ウイルス	NC_002205
インフルエンザ C 型ウイルス	NC_006308
イスファハンウイルス	
J C ポリオーマウイルス	NC_001699
日本脳炎ウイルス	NC_001437
フニンアレナウイルス	NC_005080
K I ポリオーマウイルス	NC_009238
クンジンウイルス	
ラゴスコウモリウイルス	
ビクトリア湖マールブルグウイルス	NC_001608
ランガトウイルス	NC_003690
ラッサウイルス	NC_004296
L o r d s d a l e ウイルス	
跳躍病ウイルス	NC_001809

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 - 4】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	NC_004294
マチュポウイルス	NC_005078
マヤロウイルス	NC_003417
MERSコロナウイルス	NC_019843
はしかウイルス	NC_001498
メング脳心筋炎ウイルス	
メルケル細胞ポリオーマウイルス	NC_010277
モコラウイルス	NC_006429
伝染性軟属腫ウイルス	NC_001731
サル痘ウイルス	NC_003310
ムンプスウイルス	NC_002200
マレー溪谷脳炎ウイルス	NC_000943
ニューヨークウイルス	
ニバウイルス	NC_002728
ノーウオークウイルス	NC_001959
オニョンニョンウイルス	NC_001512
オルフウイルス	NC_005336
オロプーシェウイルス	NC_005775
ピチンデウイルス、	NC_006439
ポリオウイルス、	NC_002058
プンタトロフレボウイルス	
プーマラウイルス	NC_005224
狂犬病ウイルス	NC_001542
リフトバレー熱ウイルス	NC_002044
RosaウイルスA	NC_024070
ロスリバーウイルス	NC_001544

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 - 5】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
A 群ロタウイルス	NC_011506
B 群ロタウイルス	NC_007549
C 群ロタウイルス	NC_007570
風疹ウイルス	NC_001545
サギヤマウイルス	
サリウイルス A	NC_012957
サシチョウバエ熱シチリア型ウイルス	
サッポロウイルス	NC_006554
セムリキ森林ウイルス	NC_003215
ソウルウイルス	NC_005237
サル泡沫状ウイルス	NC_001364
シミアンウイルス 5	
シンドビスウイルス	NC_001547
サザンプトンウイルス	
セントルイス脳炎ウイルス	NC_007580
ダニ媒介ポワッサンウイルス	NC_003687
トルクテノウイルス	NC_002076
トスカーナウイルス	NC_006319
Uukuniemi ウイルス	NC_005220
ワクシニアウイルス	NC_006998
水痘・帯状疱疹ウイルス	NC_001348
痘瘡ウイルス	NC_001611
ベネズエラウマ脳炎ウイルス	NC_001449
水疱性口内炎ウイルス	NC_001560
西部ウマ脳炎ウイルス	NC_003908
WU ポリオーマウイルス	NC_009539

10

20

30

40

50



【表 2 - 1 - 6】

ウイルスの例	代表的なヌクレオチド配列 (NCBI アクセッション番号)
西ナイルウイルス	NC_001563
ヤバサル腫瘍ウイルス	NC_005179
ヤバ様疾患ウイルス	NC_002642
黄熱ウイルス	NC_002031;および/または
ジカウイルス	NC_012532

10

## 【 0 4 1 3 】

## 例示的バクテリア標的の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定のバクテリアおよびバクテリア標的の検出を含む。バクテリア標的は、バクテリア核酸、バクテリアタンパク質ならびに / または毒素および酵素活性などのバクテリア活性産物を含む。特定のバクテリアを示すヌクレオチド配列は、公開データベースから容易に得られる。等温増幅に有用なプライマーは、そのようなバクテリア標的の核酸配列から容易に設計される。特定のバクテリアのタンパク質に対する抗体およびアプタマーは、市販品および / または当技術分野で公知の技術を利用して容易に得られる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出されるバクテリアとしては、グラム陰性菌またはグラム陽性菌が挙げられる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出されるバクテリアとしては、緑膿菌、蛍光菌、シュードモナス・アシドボランス、シュードモナス・アルカリゲネス、シュードモナス・ブチダ、ステノトロホモナス・マルトフィリア、バークホルデルシア・セバシア、エロモナス・ハイドロフィラ、大腸菌、サイトロバクター・フレウンディイ、ネズミチフス菌、チフス菌、パラチフス菌、腸炎菌、志賀赤痢菌、フレクスナー赤痢菌、ソンネ赤痢菌、エンテロバクター・クロアカエ、エンテロバクター・アエロゲネス、肺炎桿菌、クレブシエラ・オキシトカ、霊菌、野兎病菌、モーガネラ・モーガニイ、プロテウス・ミラビリス、プロテウス・ブルガリス、プロビデンシア・アルカリファシエンシス、プロビデンシア・レットゲリ、プロビデンシア・スチュアルティイ、アシネトバクター・バウマンニイ、アシネトバクター・カルコアセチカス、アシネトバクター・ヘモリティカス、腸炎エルシニア、ペスト菌、偽結核菌、エルシニア・インターメディア、百日咳菌、パラ百日咳菌、気管支敗血症菌、インフルエンザ菌、パラインフルエンザ菌、ヘモフィラス・ヘモリティカス、ヘモフィラス・パラヘモリティカス、軟性下痢菌、パスツレラ・ムルトシダ、マンハイミア・ヘモリティカ、モラクセラ・カタラーリス、ヘリコバクター・ピロリ、カンピロバクター・フィタス、キャンピロバクター・ジェジュニ、カンピロバクター・コリ、ボレリア・ブルグドルフェリ、コレラ菌、腸炎ビブリオ、レジュネラ・ニューモフィラ、リステリア・モノサイトゲネス、淋菌、髄膜炎菌、キングラ属、モラクセラ属、ガードネレラ・バギナリス、バクテロイデス・フラギリス、バクテロイデス・ディスタソニス、バクテロイデス 3452 A ホモロジー群、バクテロイデス・ブルガータス、バクテロイデス・オバルス (*Bacteroides ovalus*)、バクテロイデス・シータイオタオミクロン、バクテロイデス・ユニフォルミス、バクテロイデス・エガーシイ、バクテロイデス・スプランクニカス、クロストリジウム・ディフィシル、結核菌、鳥結核菌、バテータ菌、癩菌、ジフテリア菌、コリネバクテリウム・アルセランス、肺炎連鎖球菌、ストレプトコッカス・アガラクティエ、化膿連鎖球菌、エンテロコッカス・フェカーリス、エンテロコッカス・フェシウム、黄色ブドウ球菌、表皮

20

30

40

50

ブドウ球菌、スタフィロコッカス・サプロフィティクス、スタフィロコッカス・インターメジウス、スタフィロコッカス・ヒカス 亜種ヒカス、スタフィロコッカス・ヘモリチカス、スタフィロコッカス・ホミニスおよびスタフィロコッカス・サッカロリティカスが挙げられる。さらなる例としては、炭疽菌、枯草菌、ブルセラ菌、葉腐細菌または野兔病菌が挙げられる。

#### 【 0 4 1 4 】

##### 例示的抗原標的の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定の抗原および抗原標的の検出を含む。抗原は、抗体、その結合性フラグメント、または等温増幅などの増幅のために構成されたプライマーに連結されたアプタマーを使用して検出される。特定の抗原に対する抗体およびアプタマーは、市販品および/または当技術分野で公知の技術を利用して容易に得られる。本明細書において「抗原」は、抗体、その結合性フラグメント、またはアプタマーが特異的に結合する化合物または組成物を含む。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出される抗原としては、タンパク質、ポリペプチド、核酸、および医薬品などの小分子が挙げられる。分析種のさらなる例としては、リシン、アブリン、ボツリヌス毒素またはブドウ球菌エンテロトキシン B などの毒素が挙げられる。

#### 【 0 4 1 5 】

##### 例示的寄生生物標的の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定の寄生生物標的の検出を含む。寄生生物標的は、寄生生物核酸、寄生生物タンパク質ならびに/または毒素および/もしくは酵素もしくは酵素活性などの寄生生物活性産物を含む。特定の寄生生物を示すヌクレオチド配列は、公開データベースから容易に得られる。等温増幅に有用なプライマーは、そのような寄生生物標的の核酸配列から容易に設計される。特定の寄生生物のタンパク質に対する抗体およびアプタマーは、市販品および/または当技術分野で公知の技術を利用して容易に得られる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出される寄生生物としては、アカントアメーバ属、バベシア属、多型バベシア、フタゴバベシア、小形馬バベシア、ネズミバベシア、バベシアダンカニ、パラムチア・マンドリルリス、大腸パラランチジウム、プラストシスチス属、クリプトスポリジウム属、サイクロスポーラ、二核アメーバ、赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫、戦争イソスポラ、リーシュマニア属、フォーラーネグレリア、熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫 (*Plasmodium ovale curtisi*)、卵形マラリア原虫 (*Plasmodium ovale wallikeri*)、四日熱マラリア原虫、サルマラリア原虫、リノスポリジウム症菌、肉胞子虫 (*Sarcocystis bovi hominis*)、肉胞子虫 (*Sarcocystis sui hominis*)、トキソプラズマ、膾トリコモナス、ブルーストリパノソーマまたはクルーズトリパノソーマなどの原虫；新世界ザル条虫、サル条虫、条虫綱、多頭条虫、広節裂頭条虫、蟯粒条虫、多包条虫、フォーゲル包条虫、ヤマネコ包条虫、小形条虫、縮小条虫、マンソン裂頭条虫、無鉤条虫、有鉤条虫などの特定の蠕虫；肝吸虫、タイ肝吸虫 (*Clonorchis viverrini*)、槍形吸虫、棘口吸虫 (*Echinostoma echinatum*)、肝蛭、巨大肝蛭、肥大吸虫、有棘顎口虫、剛棘顎口虫、横川吸虫、メトロキスコンジャンクタス (*Metorchis conjunctus*)、タイ肝吸虫 (*Opisthorchis viverrini*)、ネコ肝吸虫、肝吸虫、ウェステルマン肺吸虫、アフリカ灰吸虫、カリエンシス肺吸虫 (*Paragonimus caliensis*)、ケリコット肺吸虫、スクリヤピン肺吸虫；フォーゲル肺吸虫、ビルハルツ住血吸虫、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫およびインターカラーツム住血吸虫、メコン住血吸虫、住血吸虫属、トリコビルハルジアレジエンティ (*Trichobilharzia regenti*) または住血吸虫科などの特定の吸虫；十二指腸鉤虫、アメリカ鉤虫、コスタリカ住血線虫、アニキサス、回虫種 ヒト回虫、アライグマ回虫、マレー系状虫、チモール系状虫、腎虫、メジナ虫、ヒト蟯虫、蟯虫、有害桿線虫、ロア系状虫、捻尾系状虫

10

20

30

40

50

、回旋糸状虫、ヒト糞線虫、カリフォルニア眼虫、東洋眼虫、イヌ回虫、ネコ回虫、旋毛虫 (*Trichinella spiralis*、*Trichinella britovi*、*Trichinella nelsoni*、*Trichinella nativa*)、ヒト鞭虫、イヌ鞭虫またはバンクロフト糸状虫などの特定の回虫；原始鉤頭虫目、鎖状鉤頭虫、鼻腔舌虫、ヒツジバエ上科、クロバエ科、ニクバエ科、アメリカオビキンバエ (クロバエ科)、スナノミ、トコジラミ科：トコジラミまたはヒトヒフバエなどの他の寄生生物などの内部寄生生物が挙げられる。寄生生物のさらなる例としては、ヒトジラミ、アタマジラミ、ケジラミ、ニキビダニ、コニキビダニ、イヌニキビダニ、疥癬虫、ツツガムシなどのクモ綱またはヒトノミまたはマダニ科およびノもしくはヒメダニ科などのクモ綱などの外部寄生虫が挙げられる。

10

【0416】

#### 例示的マイクロRNA標的の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定のマイクロRNA (miRNA) 標的の検出を含む。miRNAとしては、RNAサイレンシングまたは遺伝子発現の転写後調節において機能する、小分子ノンコーディングRNAが挙げられる。miRNAには、異常なDNAメチル化およびヒストン修飾パターンを含む異常なエピジェネティックパターンによって引き起こされる様々なヒト疾患における脱制御に関連するものがある。例えば、対象から得た試料中に特定のmiRNAが存在するか否かによって、疾患または病態が示される。miRNAの検出および等温増幅に有用なプライマーは、miRNAのヌクレオチド配列から容易に設計される。miRNAのヌクレオチド配列は、公開データベースから容易に得られる。本明細書で提供される方法、システムおよび組成物を用いて検出されるmiRNA標的としては、hsa-miR-1、hsa-miR-1-2、hsa-miR-100、hsa-miR-100-1、hsa-miR-100-2、hsa-miR-101、hsa-miR-101-1、hsa-miR-101a、hsa-miR-101b-2、hsa-miR-102、hsa-miR-103、hsa-miR-103-1、hsa-miR-103-2、hsa-miR-104、hsa-miR-105、hsa-miR-106a、hsa-miR-106a-1、hsa-miR-106b、hsa-miR-106b-1、hsa-miR-107、hsa-miR-10a、hsa-miR-10b、hsa-miR-122、hsa-miR-122a、hsa-miR-123、hsa-miR-124a、hsa-miR-124a-1、hsa-miR-124a-2、hsa-miR-124a-3、hsa-miR-125a、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-125b、hsa-miR-125b-1、hsa-miR-125b-2、hsa-miR-126、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-127、hsa-miR-128a、hsa-miR-128b、hsa-miR-129、hsa-miR-129-1、hsa-miR-129-2、hsa-miR-130、hsa-miR-130a、hsa-miR-130a-1、hsa-miR-130b、hsa-miR-130b-1、hsa-miR-132、hsa-miR-133a、hsa-miR-133b、hsa-miR-134、hsa-miR-135a、hsa-miR-135b、hsa-miR-136、hsa-miR-137、hsa-miR-138、hsa-miR-138-1、hsa-miR-138-2、hsa-miR-139、hsa-miR-139-5p、hsa-miR-140、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-141、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-143、hsa-miR-144、hsa-miR-145、hsa-miR-146a、hsa-miR-146b、hsa-miR-147、hsa-miR-148a、hsa-miR-148b、hsa-miR-149、hsa-miR-15、hsa-miR-150、hsa-miR-151、hsa-miR-151-5p、hsa-miR-152、hsa-miR-153、hsa-miR-154、hsa-miR-155、hsa-miR-15a、hsa-miR-15a-2、hsa-miR-15b、hsa-miR-16、hsa-miR-16-1、

20

30

40

50

hsa-miR-16-2、hsa-miR-16a、hsa-miR-164、hsa-miR-170、hsa-miR-172a-2、hsa-miR-17、hsa-miR-17-3p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-17-92、hsa-miR-18、hsa-miR-18a、hsa-miR-18b、hsa-miR-181a、hsa-miR-181a-1、hsa-miR-181a-2、hsa-miR-181b、hsa-miR-181b-1、hsa-miR-181b-2、hsa-miR-181c、hsa-miR-181d、hsa-miR-182、hsa-miR-183、hsa-miR-184、hsa-miR-185、hsa-miR-186、hsa-miR-187、hsa-miR-188、hsa-miR-189、hsa-miR-190、hsa-miR-191、hsa-miR-192、hsa-miR-192-1、hsa-miR-192-2、hsa-miR-192-3、hsa-miR-193a、hsa-miR-193b、hsa-miR-194、hsa-miR-195、hsa-miR-196a、hsa-miR-196a-2、hsa-miR-196b、hsa-miR-197、hsa-miR-198、hsa-miR-199a、hsa-miR-199a-1、hsa-miR-199a-1-5p、hsa-miR-199a-2、hsa-miR-199a-2-5p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b、hsa-miR-199b-5p、hsa-miR-19a、hsa-miR-19b、hsa-miR-19b-1、hsa-miR-19b-2、hsa-miR-200a、hsa-miR-200b、hsa-miR-200c、hsa-miR-202、hsa-miR-203、hsa-miR-204、hsa-miR-205、hsa-miR-206、hsa-miR-207、hsa-miR-208、hsa-miR-208a、hsa-miR-20a、hsa-miR-20b、hsa-miR-21、hsa-miR-22、hsa-miR-210、hsa-miR-211、hsa-miR-212、hsa-miR-213、hsa-miR-214、hsa-miR-215、hsa-miR-216、hsa-miR-217、hsa-miR-218、hsa-miR-218-2、hsa-miR-219、hsa-miR-219-1、hsa-miR-22、hsa-miR-220、hsa-miR-221、hsa-miR-222、hsa-miR-223、hsa-miR-224、hsa-miR-23a、hsa-miR-23b、hsa-miR-24、hsa-miR-24-1、hsa-miR-24-2、hsa-miR-25、hsa-miR-26a、hsa-miR-26a-1、hsa-miR-26a-2、hsa-miR-26b、hsa-miR-27a、hsa-miR-27b、hsa-miR-28、hsa-miR-296、hsa-miR-298、hsa-miR-299-3p、hsa-miR-299-5p、hsa-miR-29a、hsa-miR-29a-2、hsa-miR-29b、hsa-miR-29b-1、hsa-miR-29b-2、hsa-miR-29c、hsa-miR-301、hsa-miR-302、hsa-miR-302a、hsa-miR-302b、hsa-miR-302c、hsa-miR-302c、hsa-miR-302d、hsa-miR-30a、hsa-miR-30a-3p、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-30b、hsa-miR-30c、hsa-miR-30c-1、hsa-miR-30d、hsa-miR-30e、hsa-miR-30e、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-31、hsa-miR-31a、hsa-miR-32、hsa-miR-32、hsa-miR-320、hsa-miR-320-2、hsa-miR-320a、hsa-miR-322、hsa-miR-323、hsa-miR-324-3p、hsa-miR-324-5p、hsa-miR-325、hsa-miR-326、hsa-miR-328、hsa-miR-328-1、hsa-miR-33、hsa-miR-330、hsa-miR-331、hsa-miR-335、hsa-miR-337、hsa-miR-337-3p、hsa-miR-338、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-339、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-34a、hsa-miR-340、hsa-miR-340、hsa-miR

- 341、hsa-miR-342、hsa-miR-342-3p、hsa-miR-345、hsa-miR-346、hsa-miR-347、hsa-miR-34a、hsa-miR-34b、hsa-miR-34c、hsa-miR-351、hsa-miR-352、hsa-miR-361、hsa-miR-362、hsa-miR-363、hsa-miR-355、hsa-miR-365、hsa-miR-367、hsa-miR-368、hsa-miR-369-5p、hsa-miR-370、hsa-miR-371、hsa-miR-372、hsa-miR-373、hsa-miR-374、hsa-miR-375、hsa-miR-376a、hsa-miR-376b、hsa-miR-377、hsa-miR-378、hsa-miR-378、hsa-miR-379、hsa-miR-381、hsa-miR-382、hsa-miR-383、hsa-miR-409-3p、hsa-miR-419、hsa-miR-422a、hsa-miR-422b、hsa-miR-423、hsa-miR-424、hsa-miR-429、hsa-miR-431、hsa-miR-432、hsa-miR-433、hsa-miR-449a、hsa-miR-451、hsa-miR-452、hsa-miR-451、hsa-miR-452、hsa-miR-452、hsa-miR-483、hsa-miR-483-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-485-5p、hsa-miR-485-3p、hsa-miR-486、hsa-miR-487b、hsa-miR-489、hsa-miR-491、hsa-miR-491-5p、hsa-miR-492、hsa-miR-493-3p、hsa-miR-493-5p、hsa-miR-494、hsa-miR-495、hsa-miR-497、hsa-miR-498、hsa-miR-499、hsa-miR-5、hsa-miR-500、hsa-miR-501、hsa-miR-503、hsa-miR-508、hsa-miR-509、hsa-miR-510、hsa-miR-511、hsa-miR-512-5p、hsa-miR-513、hsa-miR-513-1、hsa-miR-513-2、hsa-miR-515-3p、hsa-miR-516-5p、hsa-miR-516-3p、hsa-miR-518b、hsa-miR-519a、hsa-miR-519d、hsa-miR-520a、hsa-miR-520c、hsa-miR-521、hsa-miR-532-5p、hsa-miR-539、hsa-miR-542-3p、hsa-miR-542-5p、hsa-miR-550、hsa-miR-551a、hsa-miR-561、hsa-miR-563、hsa-miR-565、hsa-miR-572、hsa-miR-582、hsa-miR-584、hsa-miR-594、hsa-miR-595、hsa-miR-598、hsa-miR-599、hsa-miR-600、hsa-miR-601、hsa-miR-602、hsa-miR-605、hsa-miR-608、hsa-miR-611、hsa-miR-612、hsa-miR-614、hsa-miR-615、hsa-miR-615-3p、hsa-miR-622、hsa-miR-627、hsa-miR-628、hsa-miR-635、hsa-miR-637、hsa-miR-638、hsa-miR-642、hsa-miR-648、hsa-miR-652、hsa-miR-654、hsa-miR-657、hsa-miR-658、hsa-miR-659、hsa-miR-661、hsa-miR-662、hsa-miR-663、hsa-miR-664、hsa-miR-7、hsa-miR-7-1、hsa-miR-7-2、hsa-miR-7-3、hsa-miR-708、hsa-miR-765、hsa-miR-769-3p、hsa-miR-802、hsa-miR-885-3p、hsa-miR-9、hsa-miR-9-1、hsa-miR-9-3、hsa-miR-9-3p、hsa-miR-92、hsa-miR-92-1、hsa-miR-92-2、hsa-miR-9-2、hsa-miR-92、hsa-miR-92a、hsa-miR-93、hsa-miR-95、hsa-miR-96、hsa-miR-98、hsa-miR-99aおよび/またはhsa-miR-99bが挙げられる。

【0417】

### 例示的農業関連分析種の概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定の農業関連の分析種の検出を含む。農業関連の分析種は、核酸、タンパク質または小分子を含む。特定の農業関連分析種を示すヌクレオチド配列は、公開データベースから容易に得られる。等温増幅に有用なプライマーは、そのような農業関連分析種の核酸配列から容易に設計される。特定の農業関連分析種のタンパク質に対する抗体およびアプタマーは、市販品および/または当技術分野で公知の技術を利用して容易に得られる。

#### 【0418】

本明細書で提供する方法およびデバイスのいくつかの実施形態は、肉加工品、魚加工品またはビール、ブドウ酒もしくはパンのような酵母製品中の生物または生物の産物の存在を確認するために使用される。いくつかの実施形態において、種に特異的な抗体もしくはアプタマー、または種に特異的なプライマーが、食品中の特定生物の存在を確認するために使用される。

10

#### 【0419】

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、農薬の検出を含む。いくつかの実施形態において、農薬は土壌試料または食品試料のような試料において検出される。本明細書に記載されるデバイスおよび方法を用いて検出される農薬としては、除草剤、殺虫剤または殺菌剤が挙げられる。除草剤の例としては、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)、アトラジン、グリホサート、メコプロップ、ジカンバ、パラコート、グルホシネート、メタムナトリウム、ダゾメット、ジチオピル(dithopyr)、ペンディメタリン、EPTC、トリフルラリン、フラザスルフロン、メソスルフロンメチル、ジウロン、ニトロフェン、ニトロフルオルフェン、アシフルオルフェン、メソトリオン、スルコトリオンまたはニチシノンが挙げられる。本明細書に記載されるデバイスおよび方法を用いて検出される殺虫剤の例としては、有機塩化物、有機リン酸塩、カルバミン酸塩、ピレスロイド、ネオニコチノイドまたはリアノイドが挙げられる。本明細書に記載されるデバイスおよび方法を用いて検出される殺菌剤の例としては、カルベンダジム、ジエトフェンカルブ、アゾキシストロピン、メタラキシル、メタラキシルM、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、クロロタロニル、テブコナゾール、ジネブ、マンゼブ、テブコナゾール、ミクロブタニル、トリアジメホン、フェンブコナゾール、デオキシニバレノールまたはマンゼブが挙げられる。

20

30

#### 【0420】

### 例示的バイオマーカーの概要

本明細書で提供する方法、システムおよび組成物のいくつかの実施形態は、特定の疾患の特定のバイオマーカーの検出を含む。バイオマーカーは、核酸、タンパク質、タンパク質フラグメントおよび抗原を含みうる。いくつかのバイオマーカーは、本明細書で提示される標的を含みうる。疾患の例としては、乳がん、結腸直腸がん、胃がん、消化管間質腫瘍、白血病およびリンパ腫、肺がん、黒色腫、脳腫瘍および膵臓がんなどのがんが挙げられる。いくつかの実施形態は、試料中のバイオマーカーの有無またはバイオマーカーの濃度の検出を含む。バイオマーカーは、特定の疾患の存在、非存在または特定の疾患のステージを示しうる。バイオマーカーの例としては、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、HER-2/neu、EGFR、KRAS、UGT1A1、c-KIT、CD20、CD30、FIP1L1-PDGFR、PDGFR、フィラデルフィア染色体(BCR/ABL)、PML/RAR、TPMT、UGT1A1、EML4/ALK、BRAF、ならびにロイシン、イソロイシンおよびバリンのような特定のアミノ酸の濃度の亢進が挙げられる。

40

#### 【実施例】

#### 【0421】

[実施例1] fC4D LAMPによる、PDMS内での増幅前/後の検出

標的としてインフルエンザ菌のゲノムの5'末端非翻訳領域を使用するNEBの標準プロトコルに従って、LAMP反応ミックスを調製した。このミックスを等分し、増幅前バイ

50

アル（ - 対照 ）と増幅後バイアル（ + 対照 ）に入れた。増幅前バイアルは、増幅を予防するために 85 で 20 分間加熱し、不活化した。増幅後バイアルは、63 で 60 分間の増幅に供した。P D M S / ガラスチップ v . 1 . 1 上に、各バイアルからの一定分量を、室温で交互に連続してロードしながら、リアルタイムでデータの収集を行った。図 2 4 は、センサ電圧の経時変化を示すグラフである。

#### 【 0 4 2 2 】

[ 実施例 2 ] f C 4 D による、P D M S 内での全血を用いた増幅前 / 後の検出

0 %、1 % および 5 % ( v / v ) の全血と共に標的としてインフルエンザ菌のゲノムの 5 ' 末端非翻訳領域を使用して、反応ミックスを調製した。このミックスを等分し、増幅前バイアル（ - 対照 ）と増幅後バイアル（ + 対照 ）に入れた。増幅前バイアルは、増幅を予防するために 85 で 20 分間加熱し、不活化した。増幅後バイアルは、63 で 60 分間の増幅に供した。P D M S / ガラスチップ v . 1 . 1 上に、各バイアルからの一定分量を、室温で交互に連続してロードしながら、リアルタイムでデータの収集を行った。図 2 5、図 2 6、図 2 7 は、センサ電圧の経時変化を、それぞれ 0 %、1 % および 5 % の全血の増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

10

#### 【 0 4 2 3 】

[ 実施例 3 ] L A M P 増幅前 / 後のろ過

実施例 1 と同様にして試料を調製した。測定に先立ち、すべての（ただし対照としての 1 つは除く）試料を、50 k D のフィルタを用いてスピンろ過した。P D M S / ガラスチップ v . 1 . 1 上に、各バイアルからの一定分量を、室温で交互に連続してロードしながら、リアルタイムでデータの収集を行った。ろ過により、S / N 比および導電率の変化が改善された。図 2 8 および図 2 9 はそれぞれ、ろ過されていない試料およびろ過した試料として 0 % 全血を用いた場合のセンサ電圧の経時変化を、増幅前（ - 対照 ）および増幅後（ + 対照 ）に関して示すグラフである。

20

#### 【 0 4 2 4 】

[ 実施例 4 ] 1 k - 1 M 標的コピーの導電率検出

標的としてインフルエンザ菌のゲノムの 5 ' 末端非翻訳領域を使用して、反応ミックスを調製した。検出は、f C 4 D 装置を用いて実施した。データは、3 回の反復の平均を取った。図 3 0 は、標的の量を変化させ、それに関する時間を、標準偏差を表すエラーバーと共に示すグラフである。テンプレートのない陰性対照は、60 分の加熱で信号を示さなくなった。

30

#### 【 0 4 2 5 】

[ 実施例 5 ] f C 4 D による、P D M S 内での全血を用いた増幅前 / 後の検出

0 % または 1 % ( v / v ) の全血と共に標的としてインフルエンザ菌のゲノムの 5 ' 末端非翻訳領域を使用して、反応ミックスを調製した。このミックスを等分し、増幅前バイアル（ - 対照 ）と増幅後バイアル（ + 対照 ）に入れた。増幅前バイアルは、増幅を予防するために 85 で 20 分間加熱し、不活化した。増幅後バイアルは、63 で 60 分間の増幅に供した。P D M S / ガラスチップ v . 1 . 1 上に、各バイアルからの一定分量を、室温で交互に連続してロードしながら、リアルタイムでデータの収集を行った。図 3 1 は、増幅前（ - 対照 ）バイアルおよび増幅後（ + 対照 ）バイアルから得た様々な試料の導電率を示すグラフである。

40

#### 【 0 4 2 6 】

[ 実施例 6 ] M A I A を用いた B 型肝炎表面抗原の検出

ビオチン化されたポリクローナル抗体捕捉プローブ（抗 H B s A g ）を、ストレプトアビジンにより機能化した 1 ミクロンの磁性マイクロスフェア（D y n a l T 1 ）に結合させた。キメラ検出複合体は、ビオチン化されたポリクローナル抗体捕捉プローブ（抗 H B s A g ）をストレプトアビジンに結合させ、さらにこのストレプトアビジン - 抗体複合体をビオチン化された D N A 標的結合させて合成した。抗体により機能化されたビーズは、溶液中の H B s 抗原を捕捉した。H B s 抗原は、キメラ A b - D N A 複合体の結合と、それに続く該キメラ複合体の D N A テンプレート部分の増幅によって検出される。図 3 2 は

50

、抗原（核酸で結合した抗体）間の結合を描く。図 3 3 は、B 型肝炎表面抗原の検出を示すグラフである。

【 0 4 2 7 】

[ 実施例 7 ] 低イオン強度緩衝液を用いた検出

市販の増幅溶液および T 1 0 増幅溶液を、それぞれ表 2 - 2 および表 3 に記載の試薬を用いて調製した。市販の増幅溶液は、一般的な増幅反応において通常使用されるものである。T 1 0 増幅溶液は、トリス H C l の含有量が少なく、また硫酸は非含有であった。それぞれ 4 0 0 μ L の溶液を調製し、各溶液の 1 5 μ L を実験用カートリッジの異なるチャンネルにロードした。溶液を 6 3 . 0 に加熱した。データの収集にはデータ収集ボードを使用した。

【 0 4 2 8 】

結果を図 3 4 に示す。T 1 0 増幅緩衝液の場合、市販の増幅溶液によって得られた信号と比較すると、少なくとも 3 0 % 大きな信号が得られた。

[ 表 2 - 2 ]

【 表 2 - 2 】

試薬	容量比	試薬の終濃度	最終添加量
等温増幅緩衝液 (10x; NEB)	0.1	1x (2mM MgSO <sub>4</sub> 含有)	40
MgSO <sub>4</sub> (100mM; NEB)	0.06	6mM (合計 8mM)	24
dNTP ミックス (各 10mM; NEB)	0.14	各 1.4mM	56
10x インフルエンザ菌プライマー ミックス	0.1	1x (1.6μM FIP/BIP, 0.2μM F3/B3, 0.4mM LoopF/B)	40
Bst 2.0 WarmStart polymerase (8000U/L; NEB)	0.04	320 U/L	16
UDG (NEB)	0		0
RTx (NEB)	0		0
インフルエンザ菌の DNA 試料 (1 Mc/uL)	0.04		16
超純水	0.52		208
合計			400

[ 表 3 ]

【 表 3 】

試薬	1x 濃度(mM)	10x 濃度(mM)	FW	10mL 10x への添加 mg 数
Tris-HCl	2	20	157.6	31.52
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	0	132.14	0.00
KCl	50	500	74.55	372.75
MgSO <sub>4</sub>	2	20	246.48	49.30
Tween 20	0.10%	1%	100%	0.1mL
純水				9.9mL

【 0 4 2 9 】

[ 実施例 8 ] 流体力学カートリッジのインピーダンス特性



図 1 7 A に描かれた流体力学カートリッジのチャンネルに 1 2 8 8 m S / c m 基準緩衝液を満たし、励起周波数を約 1 0 0 H z 未満から約 1 M H z を超えるまでスイープし、周波数に対するインピーダンス  $|Z|$  または  $\arg Z$  を測定した。結果を図 3 5 に示す。ここでは、周波数に対する  $|Z|$  または  $\arg Z$  を示している。

【 0 4 3 0 】

[ 実施例 9 ] H C V 配列を含む核酸の増幅

C 型肝炎ウイルス ( H C V ) 配列を含む核酸を含有する試料を、様々な条件下の一連の実験において L A M P によって増幅した。標準偏差 ( S D ) および % 相対標準偏差 ( R S D ) と共に、閾値サイクル ( C t ) 値を求めた。核酸には、H C V 配列を含む合成核酸および H C V 配列を含む合成 R N A が含まれていた。いずれの反応にも 5 % T w e e n 2 0 を使用した。約 1 0 0 万コピーの H C V 配列を含む合成核酸を用いた反応を伴う実験において、平均 C t は 8 5 6 、 R S D は 1 . 7 2 % であった。

【 0 4 3 1 】

H C V 配列を含む合成 R N A を含有する血漿の試料を、「未処理」、「合成 R N A の添加前に加熱処理」、「合成 R N A の添加後に加熱処理」、および「1 0 0 m M の D T T を添加」を含む様々な条件下で、L A M P によって増幅した。各反応において、含まれる核酸は約 2 5 k コピーであった。結果を表 4 にまとめる。

[ 表 4 ]

【 表 4 】

パラメータ	未処理	合成 RNA の添加前に加熱処理	合成 RNA の添加後に加熱処理	100 nM の DTT を添加
平均 C <sub>t</sub>	1043	983	1190	999
SD	53	26	145	19
RSD (%)	5.12	2.64	12.22	1.93
n	12	16	8	4

【 0 4 3 2 】

R S D によって示されるように、「1 0 0 m M の D T T の添加」または「合成 R N A の添加前の血漿の加熱処理」を行うと、未処理の試料と比較して、増幅が改善された。「D T T の添加」または「合成 R N A の添加前の血漿の加熱処理」を行うと、未処理の試料と比較して、増幅の速度も高まった ( 約 5 0 秒 ) ( それぞれ P = 0 . 0 3 および 0 . 0 0 2 ) 。

【 0 4 3 3 】

H C V を含有する血漿 ( S e r a C a r e , ミルフード M A ) の試料を、「血漿の加熱処理」、「1 0 0 m M の D T T の添加」ならびに「S D S および / または D T T の添加」を含む様々な条件下で、L A M P によって増幅した。表 5 に結果をまとめる。

[ 表 5 ]

【 表 5 】

パラメータ	未処理	加熱処理	100 nM DTT	0.05% SDS	0.1% SDS	0.05% SDS + 100 mM DTT	0.05% SDS + 100 mM DTT
平均 C <sub>t</sub>	2020	1081	1117	2032	2793	1190	1288
SD	1368	111	130	2052	1617	230	278
RSD (%)	67.72	10.23	11.63	100.96	57.89	19.36	21.57
n	15	18	16	16	15	16	16

【 0 4 3 4 】

RSDによって示されるように、「血漿の加熱処理」または「DTTの添加」を行うと、未処理の血漿と比較して、増幅結果が改善された。0.05%または0.1%のSDSを添加すると、「未処理」、「加熱処理」または「DTTの添加」の血漿と比較して、増幅の再現性および速度が低下した。

#### 【0435】

[実施例10] HCVを含有する臨床試料の増幅

HCVを含有する臨床血漿試料を、様々なDTT濃度を用いて、LAMPによって増幅した。WarmStart LAMPマスターミックス(New England Biolabs)を用いて、各試料につき同じものを4つずつ準備した。試料は、約20kコピー/反応のHCVを含有する5%の血漿(SeraCare, ミルフォードMA)、50 U/反応のマウス由来RNase阻害剤、ならびに様々な濃度のTweenおよびDTTを含むものであった。HCV配列(1Mコピー/反応)を含む合成核酸を含有する試料は、1%および5%のTweenを用いて試験した。標的非含有対照(NTC)についても試験した。LAMPは67で行い、結果は、Zeus QS3システム上で、1分/サイクルの60サイクルにわたって測定した。各サイクルでデータの取得を行い、LAMPが完了した後に、上昇/下降融解曲線を適用した。結果を表6にまとめて示す。

[表6]

【表6】

試料	平均 $C_t$	SD	RSD (%)
合成核酸 + 1 % Tween	1214	15	1.22
合成核酸+ 5 % Tween	1123	54	4.84
血漿 + 1 % Tween	1754	1040	59.32
血漿+ 1 % Tween + 5 mM DTT	1728	1030	59.61
血漿+ 1 % Tween + 10 mM DTT	1202	213	17.76
血漿+ 1 % Tween + 25 mM DTT	1467	609	41.53
血漿+ 1 % Tween + 50 mM DTT	1576	543	34.43
血漿+ 1 % Tween + 100 mM DTT	1391	165	11.84
血漿+ 5 % Tween	1038	48	4.64
血漿+ 5 % Tween + 5 mM DTT	961	52	5.43
血漿+ 5 % Tween + 10 mM DTT	979	68	6.94
血漿+ 5 % Tween + 25 mM DTT	983	38	3.89
血漿+ 5 % Tween + 50 mM DTT	965	122	12.66
血漿+ 5 % Tween + 100 mM DTT	1111	102	9.18
テンプレート非含有対照	増幅は検出されず		

#### 【0436】

RSD値によって示されるように、5%のTweenを含有する試料では、1%のTweenを含有する試料と比較して、増幅が改善された。反応管内のTweenの濃度をさらに変化させて、同様の検討を行った。結果を表7にまとめて示す。

[表7]

10

20

30

40

50

【表 7】

試料	平均 $C_t$	SD	RSD (%)
合成核酸+ 2 % Tween	957	3	0.27
合成核酸+ 5 % Tween	842	12	1.37
血漿+ 2 % Tween	2163	n/a	n/a
血漿+ 2 % Tween + 0.5 mM DTT	1671	989	59.16
血漿+ 2 % Tween + 1 mM DTT	1512	623	41.17
血漿+ 2 % Tween + 5 mM DTT	1234	154	12.45
血漿+ 2 % Tween + 10 mM DTT	1042	56	5.38
血漿+ 3 % Tween	1995	1004	50.34
血漿+ 3 % Tween + 0.5 mM DTT	1119	63	5.65
血漿+ 3 % Tween + 1 mM DTT	1581	948	59.87
血漿+ 3 % Tween + 5 mM DTT	1067	107	10.03
血漿+ 3 % Tween + 10 mM DTT	1237	120	9.73
血漿+ 4 % Tween	1182	71	6.04
血漿+ 4 % Tween + 0.5 mM DTT	1112	117	10.56
血漿+ 4 % Tween + 1 mM DTT	1229	301	24.50
血漿+ 4 % Tween + 5 mM DTT	1076	114	10.64
血漿+ 4 % Tween + 10 mM DTT	1017	57	5.61
血漿+ 5 % Tween	1142	62	5.42
血漿+ 5 % Tween + 0.5 mM DTT	1104	93	8.46
血漿+ 5 % Tween + 1 mM DTT	1510	800	52.99
血漿+ 5 % Tween + 5 mM DTT	1020	65	6.34
血漿+ 5 % Tween + 10 mM DTT	1014	59	5.79
テンプレート非含有対照	増幅は検出されず		

## 【0437】

TweenおよびDTTの濃度が高い反応は、HCV試料の増幅結果の再現性が良く、特に、同条件での複製において、極端な外れ値や増幅の失敗が少なく、増幅後のRSDは低かった。5 mMのDTTおよび10 mMのDTTでは、Tweenの濃度にかかわらず、複製のすべてにおいて増幅が見られた。同様に、4 %および5 %のTweenでは、DTTの濃度が低い(1 mM以下)場合を除いて、増幅の失敗や極端な外れ値はなかった。

## 【0438】

[実施例11] カートリッジを用いた標的の増幅

6つのウェルを有し、各ウェルが環状電極を有する、図2に示すカートリッジと実質的に同様のカートリッジを用いて、一連の3つの実験を実施した。ウェルはそれぞれ、1本

の測定チャンネルに関連付けられていた。試料は、インフルエンザ菌（H i n f）またはB型肝炎ウイルス（H B V）由来の配列を含む標的核酸を含んでいた。L A M Pによって試料を増幅し、インピーダンスの変化を測定した。

【 0 4 3 9 】

ウェルの準備として、7 2 で2 0分間の予備加熱、2 5 μ lのテンプレートプライマー非含有対照（N T P C）緩衝液の充填、鉱油による緩衝液の被覆、カートリッジに対する7 2 で2 0分間の加熱、ウェルから気泡の除去、室温に1 0分間置くことによるカートリッジの冷却を行った。試料を、充填の済んだウェルの底に注入し、カートリッジを6 7 または7 6 . 5 に置き、個別の実験のためのL A M Pを実施した。H i n fの実験に使用した周波数は6 0 k H zであった。各カートリッジにおける試料および対応するウェル／チャンネルを表 8 に記載する。標的配列およびプライマーは、表 9 に記載する。反応の成分は、表 1 0 に記載する。

[表 8]

【表 8】

ウェル／チャンネル	試料
1	合成 HBV
2	合成 HBV
3	合成 HBV
4	NTPC
5	Hinf
6	Hinf

[表 9]

10

20

30

40

50

【表 9】

配列番号:	配列
配列番号 : 01 (HBV 標的)	GACAAGAATCCTCACAATACCGCAGAGTCTAGACTC GTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTAGGGGGATCACCC GTGTGTCTTGCCAAAATTGCGAGTCCCCAACCTCCA ATCACTACCAACCTCCTGTCCTCCAATTTGTCCTGG TTATCGCTGGATGTGTCTGCGGCGTTTTATCATATTC CTCTTCATCCTGCTGCTATGCC
配列番号 : 02 (HBV F3 プライマー)	TCCTCACAATACCGCAGAGT
配列番号 : 03 (HBV B3 プライマー)	GCATAGCAGCAGGATGAAGA
配列番号 : 04 (HBV FIP プライマー)	GTTGGGGACTGCGAATTTTGGCCTCGTGGTGGACTT CTCTCA
配列番号 : 05 (HBV BIP プライマー)	TCACCAACCTCCTGTCCTCCAAATAAAACGCCGCAGA CACAT
配列番号 : 06 (HBV LF プライマー)	ACGGGTGATCCCCCTAGAAAA
配列番号 : 07 (HBV LB プライマー)	TTTGTCTGGTTATCGCTGG
配列番号 : 08 (Hinf 標的)	TGGTACGCCAATACATTCAACAAGAAATTAATCCAAA AGAAAAATTTGCGTTTGTGAATTCTGGGGGCGAGG CTATACACAAGATACCTTTGGTCGTCTGCTAAATGAT GCCTTTGGTAAAGAAGTAAAAAACCATTCTATTATGT CAGAAGTTTTACTGATGATATGGGTACATCTGTTCCG CATAACTTCATCTTAGCACCAAAAACCTTCTCATTCTT CGAGCCTATTTTTGCACAAACCCCATACGACAGTATT CCTGATTACTACGAAGAAAAAGGCAGAATTGAACCAA TTA
配列番号 : 09 (Hinf LF プライマー)	GCAGACGACCAAAGGTATCTTG
配列番号 : 10 (Hinf B3 プライマー)	CGTATGGGGTTTGTGCA
配列番号 : 11 (Hinf F3 プライマー)	CGCCAATACATTCAACAAGA
配列番号 : 12 (Hinf BIP プライマー)	CTGATGATATGGGTACATCTGTTCCGGAAGAATGAGA AGTTTTGTGG
配列番号 : 13 (Hinf FIP プライマー配列)	ACTTCTTTACCAAAGGCATCATTTTGCCTTTGTTGAC GCCAAATTCTGG

[表 10]

10

20

30

40

50

【表 1 0】

ミックス	成分	容量(μl)
マスターミックス 1	LAMP マスターミックス(2X; NEB)	12.5
	dUT 添加剤(100 mM; Sigma)	0.175
NTPC ミックス	マスターミックス 1	12.675
	水	12.325
Hinf ミックス	マスターミックス 1	12.675
	Hinf プライマー(25X)	1
	Hinf 標的(1 M/μl)	1
	水	10.325
マスターミックス 2	マスターミックス 1	12.675
	UDG	0.5
	HBV プライマー(25X)	1
合成 HBV	マスターミックス 2	13.175
	HBV 標的(10e10 c/μl)	1
	水	10.825

10

20

## 【 0 4 4 0】

6 5 のカートリッジで行った LAMP のデータを、図 3 6 A および 3 6 B に示す。図 3 6 A は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された異相部分を示すグラフである。図中、x 軸は時間を表し、また NTPC の試料ならびに Hinf および合成 HBV の例の LAMP が、それぞれ表示の付いた線で示されている。図 3 6 B は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された同相部分を示すグラフである。図中のそれぞれの線は、合成 HBV (チャンネル 1 ~ 3)、NTPC (チャンネル) および Hinf (チャンネル 5 ~ 6) を表している。合成 HBV を含有する試料は、6 5 のカートリッジ上では増幅されなかった。Hinf と表示した試料では、陽性試料であることを示す信号クリフの例が見られる。

30

## 【 0 4 4 1】

6 7 のカートリッジで行った LAMP のデータを、図 3 6 C および 3 6 D に示す。図 3 6 C は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された異相部分を示すグラフである。図中、x 軸は時間を表し、また NTPC の試料ならびに Hinf および合成 HBV の例の LAMP が、それぞれ表示の付いた線で示されている。図 3 6 D は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された同相部分を示すグラフである。図中のそれぞれの線は、合成 HBV (チャンネル 1 ~ 3)、NTPC (チャンネル) および Hinf (チャンネル 5 ~ 6) を表している。合成 HBV を含有する試料は、6 7、4 9 分では、カートリッジ上で増幅されなかった。Hinf と表示した試料では、陽性試料であることを示す信号クリフの例が見られる。

40

## 【 0 4 4 2】

6 7 のカートリッジで行った LAMP のデータを、図 3 6 E および 3 6 F に示す。図 3 6 E は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された異相部分を示すグラフである。図中、x 軸は時間を表し、また NTPC の試料ならびに Hinf および合成 HBV の例の LAMP が、それぞれ表示の付いた線で示されている。図 3 6 F は、図 2 のカートリッジの試験ウェルで、励起信号が弱まって検出された同相部分を示すグ

50

ラフである。図中のそれぞれの線は、合成HBV（チャンネル1～3）、NTPC（チャンネル）およびHinf（チャンネル5～6）を表している。合成HBVを含有する試料は、67、46分では、カートリッジ上で増幅されなかった。

【0443】

各試料について、さらにApplied BiosystemsのQuantStudio（登録商標）3リアルタイムPCRシステムを用いて、67における定量PCR試験を行った。Thermo FisherのQS3ソフトウェアを用いて、閾値を100kに設定し、また同一の反応のセットには同一のベースライン値を設定して、閾値サイクル（Ct）を計算した。表11に、Hinfまたは合成HBVを含有する試料の平均Ct値を記す。

10

[表11]

【表11】

試料 (標的濃度)	平均 Ct	SD	RSD (%)
Hinf PC (1M c/uL)	1704.5	10.4	0.6
合成 HBV (10B c/uL)	380.4	5.5	1.5

【0444】

20

システムの組み込みと用語

本明細書で開示される実施形態は、標的分析種の有無およびその量を検出するためのシステム、方法、および装置を提供する。当業者であれば、これらの実施形態をハードウェアまたはハードウェアとソフトウェアおよび/またはファームウェアとの組み合わせに組み込み可能であることを理解するであろう。

【0445】

本明細書に記載の信号処理および読取装置制御機能は、プロセッサ可読媒体上またはコンピュータ可読媒体上に1以上の命令として格納されてもよい。「コンピュータ可読媒体」という語は、コンピュータまたはプロセッサによるアクセスの可能な、利用可能な任意の媒体を指す。そのような媒体としては、RAM、ROM、EEPROM、フラッシュメモリ、CD-ROMもしくは他の光学ディスク記憶装置、磁気ディスク記憶装置もしくは他の磁気記憶装置、または命令もしくはデータ構造の形態にある所望のプログラムコードを格納することができ、かつコンピュータによるアクセスの可能な他の任意の媒体が挙げられるが、これらは例示であって、これらに限定はされない。コンピュータ可読媒体は、実体を有する非一時的媒体であってもよいことに留意されたい。「コンピュータプログラム製品」という語は、計算装置またはプロセッサによって実行されてもよいコードまたは命令（例えば「プログラム」）と組み合わせた計算装置またはプロセッサを指す。本明細書中、「コード」という語は、計算装置またはプロセッサによって実行されるソフトウェア、命令、コードまたはデータを指してもよい。

30

【0446】

40

本明細書に開示される実施形態に関して説明された様々な例示的論理ブロックおよびモジュールは、汎用プロセッサ、デジタルシグナルプロセッサ（DSP）、特定用途向け集積回路（ASIC）、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）または他のプログラマブルロジックデバイス、ディスクリートゲートもしくはトランジスタロジック、ディスクリートハードウェア構成要素のようなマシンまた本明細書に記載の機能を遂行するように設計された、これらの任意の組み合わせによって実装または実行できる。汎用プロセッサはマイクロプロセッサであってもよいが、代替的には、コントローラ、マイクロコントローラ、これらの組み合わせなどであってもよい。プロセッサは、計算装置の組み合わせ、例えばDSPとマイクロプロセッサとの組み合わせ、複数のマイクロプロセッサ、1つ以上のマイクロプロセッサとDSPコアとの併用、または他のそのような併用であっ

50

てもよい。本明細書では、主としてデジタル技術に関して記載したが、プロセッサは、アナログが主体である構成要素を含みうる。例えば、本系最初に記載の信号処理アルゴリズムのいずれかを、アナログ回路中に実装してもよい。コンピュータ環境は、任意の種類のコンピュータシステムを含んでもよく、いくつかを挙げると、マイクロプロセッサに基づくコンピュータシステム、メインフレームコンピュータ、デジタルシグナルプロセッサ、ポータブルコンピュータデバイス、電子手帳、デバイスコントローラおよび電化製品内の計算エンジンが含まれるが、これらに限定はされない。

【 0 4 4 7 】

本明細書に開示される方法は、記載の方法を達成するための1つ以上のステップまたはアクションを含む。このような方法のステップおよび/またはアクションは、請求項の範囲から逸脱することなく互いに入れ替えることができる。言い換えると、記載の方法を適正に行うためにステップまたはアクションの特定の順序が求められている場合を除き、それらの順序ならびに/または特定のステップおよび/もしくはアクションの使用は、請求項の範囲から逸脱することなく変更されてもよい。

10

【 0 4 4 8 】

本明細書中、「含む」という語は、「含んでいる」、「含有する」または「特徴を有する」と同義であり、包含的またはオープンエンドであり、記載されていない他の要素や方法のステップを排除するものではない。

【 0 4 4 9 】

上記の説明により、本発明のいくつかの方法および材料が開示される。本発明は、方法および材料に変更を加え易く、また製作技術および装置の改変を行い易い。そのような変更は、本発明の開示または本明細書に開示される発明の実施を考慮すれば、当業者には明らかであろう。したがって、本明細書に開示される具体的な実施形態に本発明が限定されることは意図されず、本発明の真の範囲および精神の内にある変更および代替物はすべて本発明に包含される。

20

【 0 4 5 0 】

本願明細書に引用される参照物（特許出願、特許および参考文献を含むがこれらに限定はされない）は、公開・非公開を問わずいずれも、参照によりその全体が本明細書に援用され、本明細書の一部となる。参照により援用される刊行物、特許または特許出願が本明細書の開示と相反する場合、そのような相反するいかなる事項に対しても本明細書が優位かつ/または優先することが意図される。

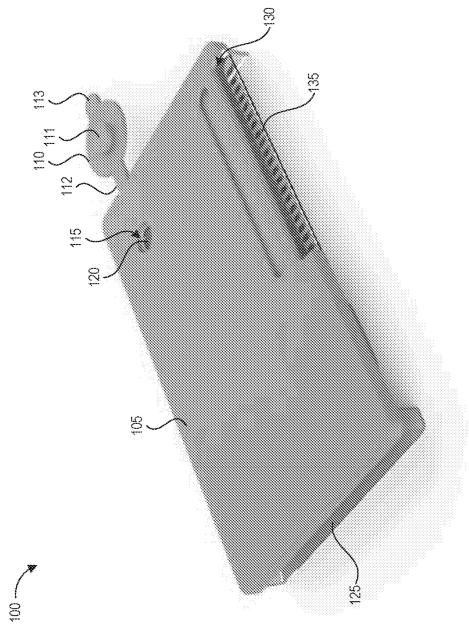
30

40

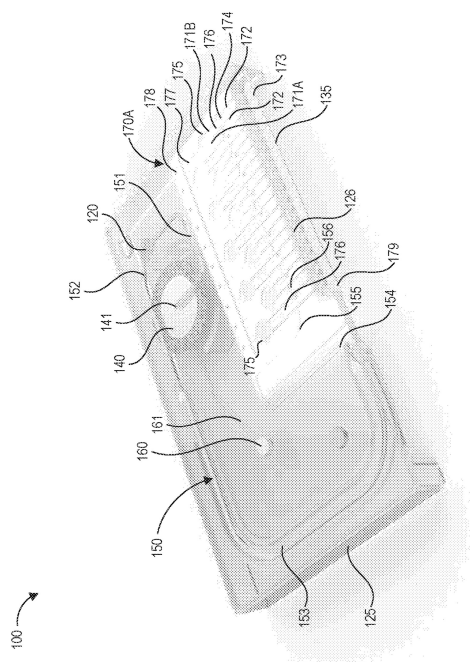
50



【図面】  
【図 1 A】



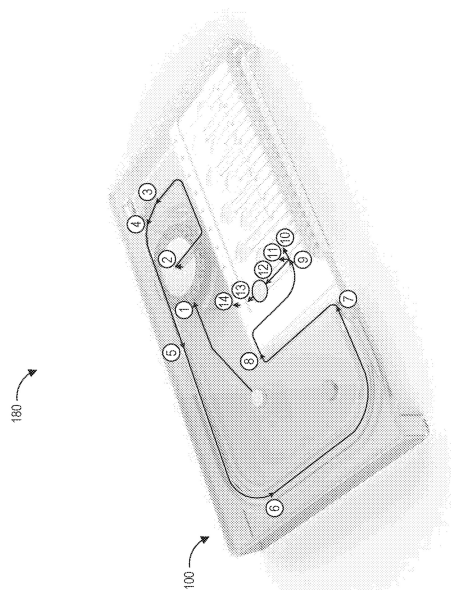
【図 1 B】



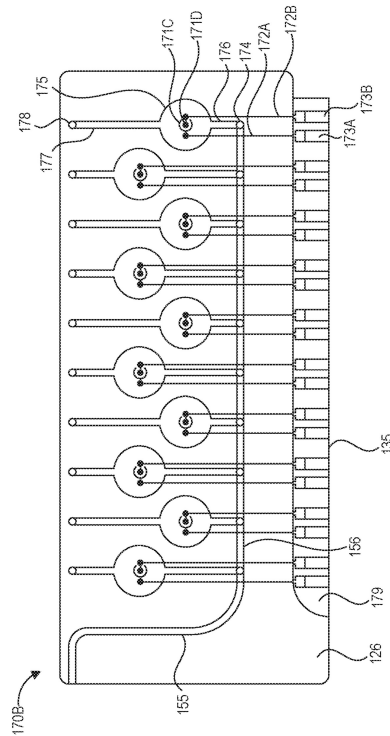
10

20

【図 1 C】



【図 1 D】

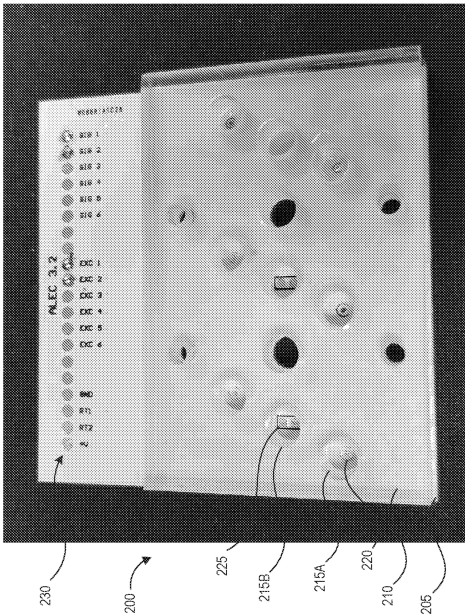


30

40

50

【図 2】



【図 3 A - B】

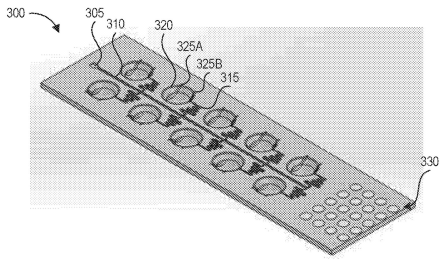


図 3A

10

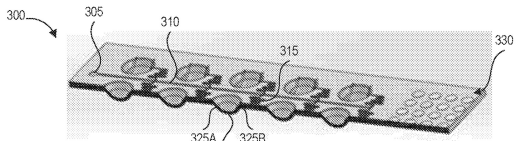


図 3B

20

【図 4 A - G】



図 4A

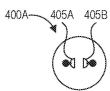


図 4B

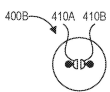


図 4C

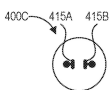


図 4D

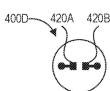


図 4E

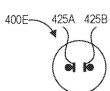


図 4F

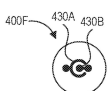
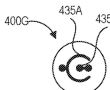


図 4G



【図 5 A - B】

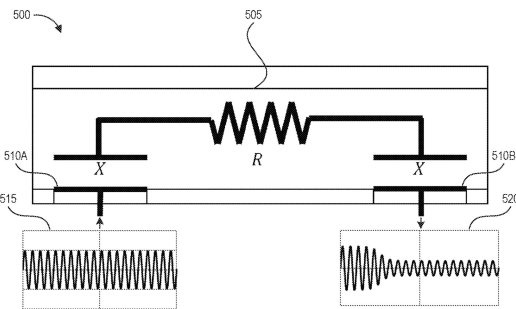


図 5A

30

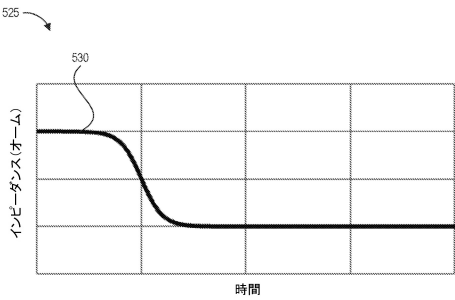
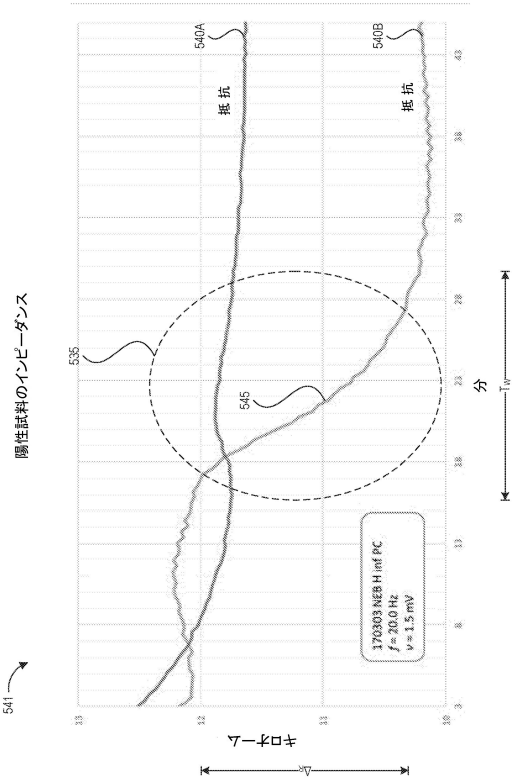


図 5B

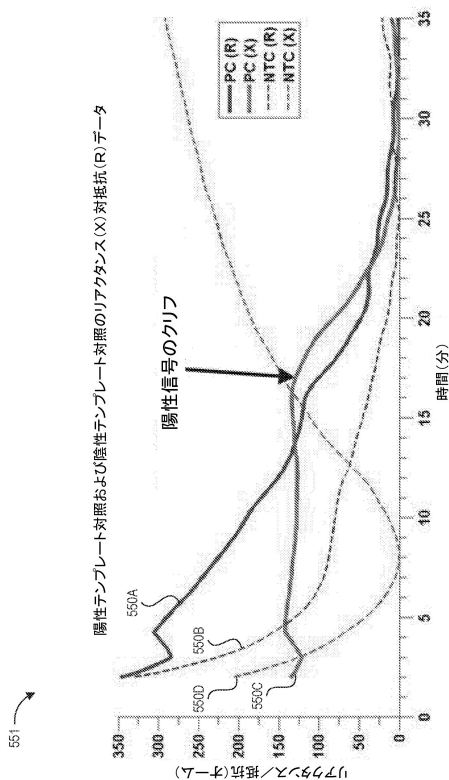
40

50

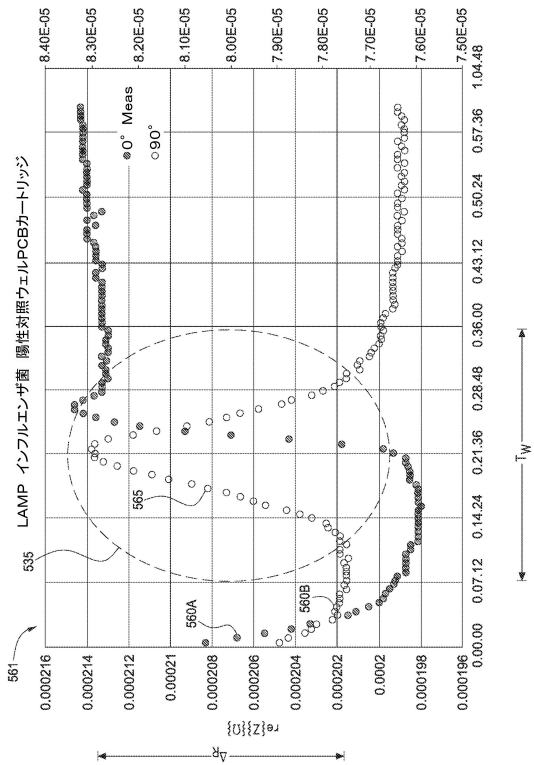
【図 5 C】



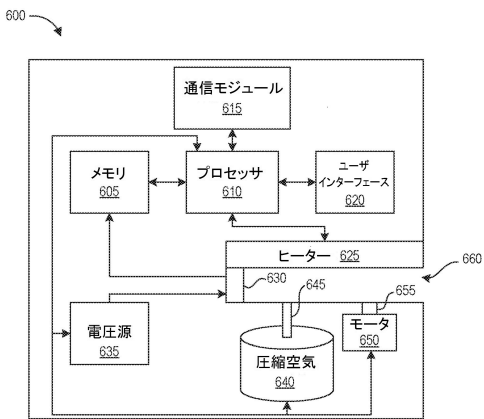
【図 5 D】



【図 5 E】



【図 6】



10

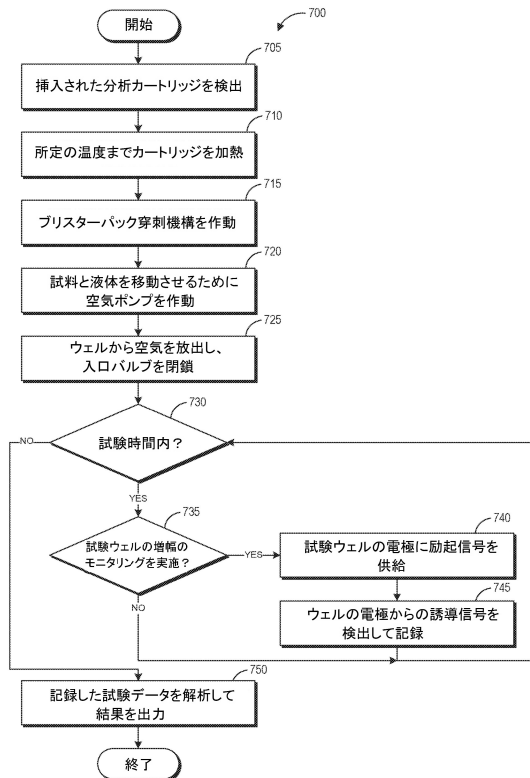
20

30

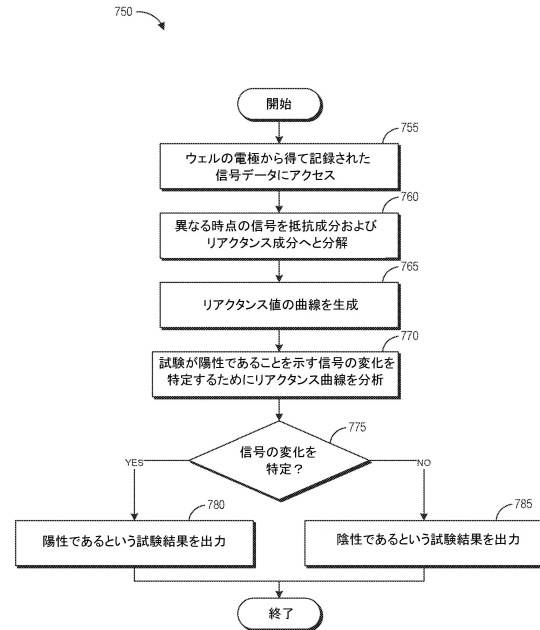
40

50

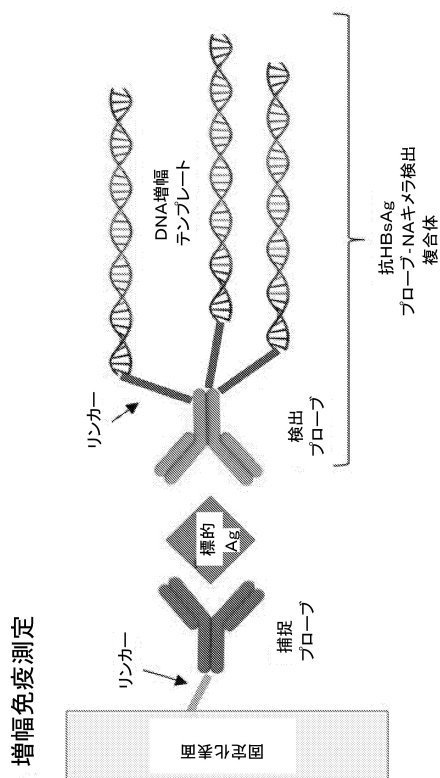
【図 7 A】



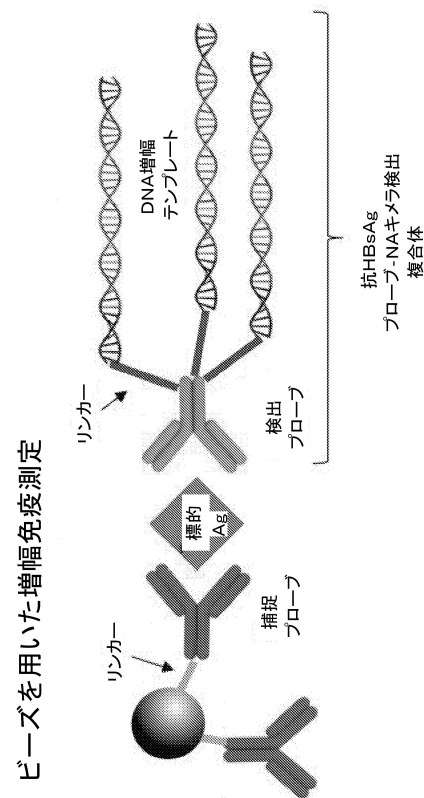
【図 7 B】



【図 8】



【図 9】



10

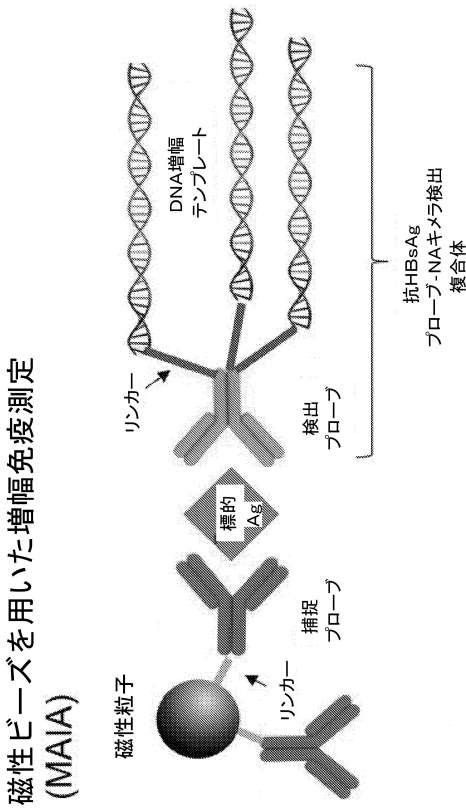
20

30

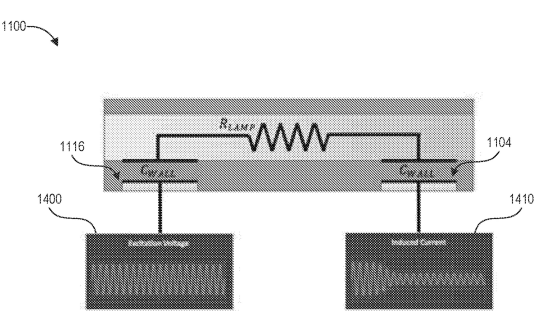
40

50

【図 1 0】



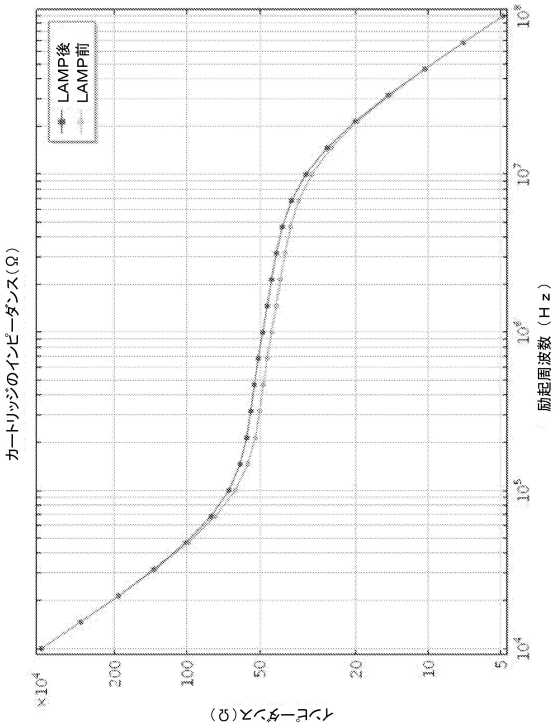
【図 1 1】



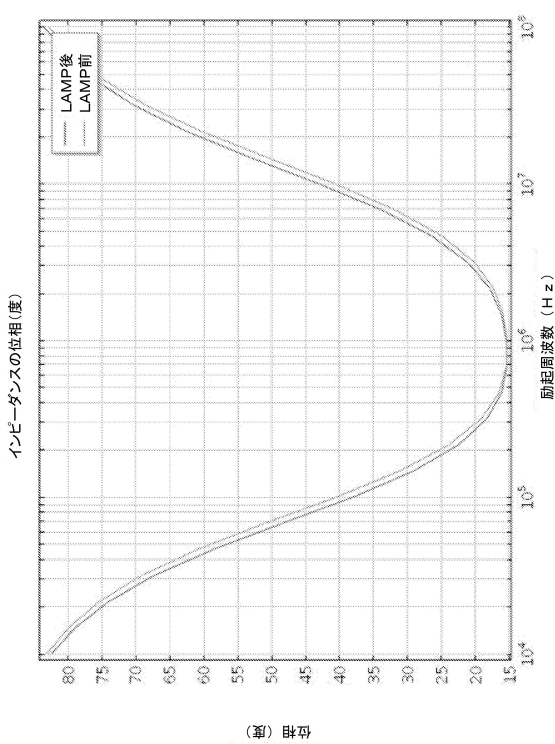
10

20

【図 1 2】



【図 1 3】

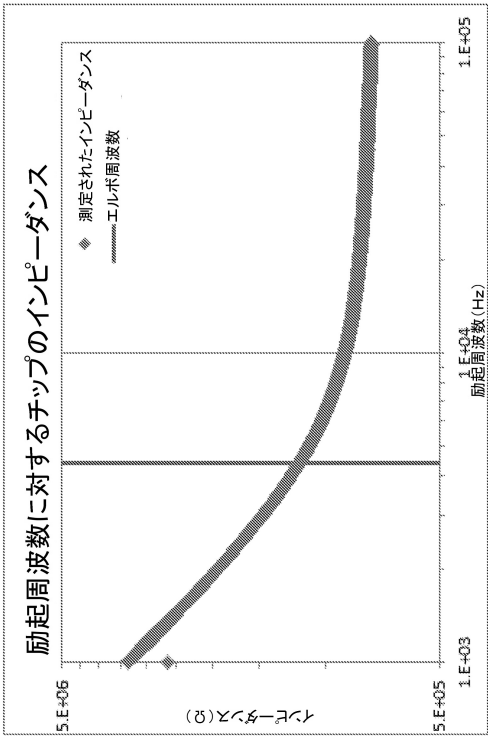


30

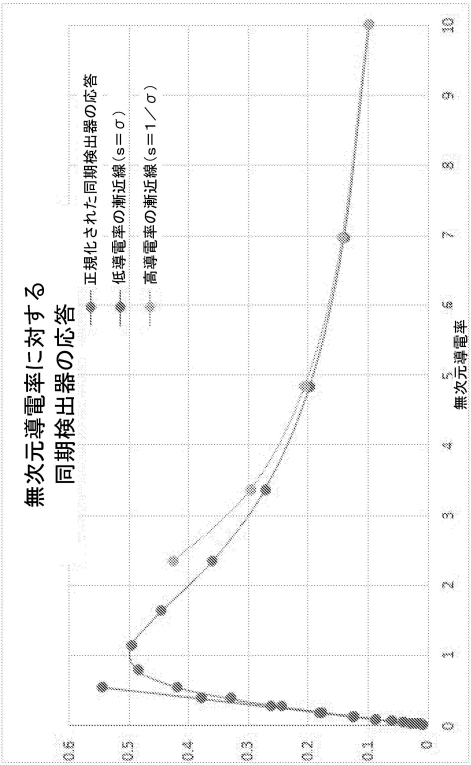
40

50

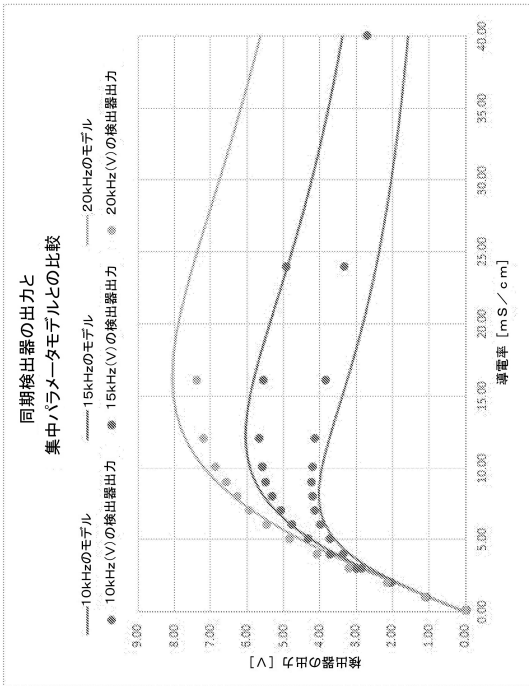
【図 1 4】



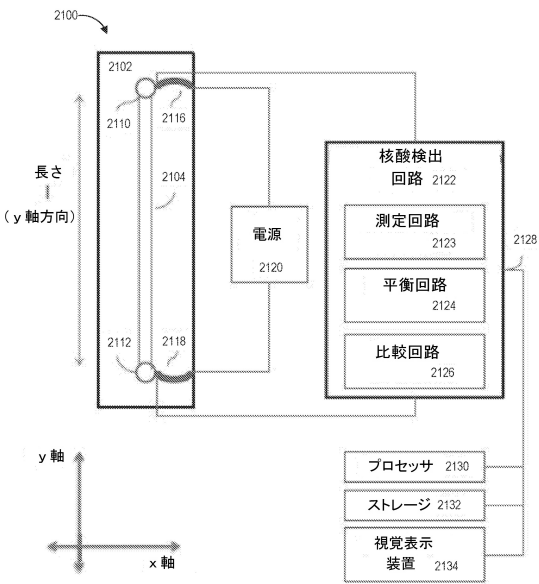
【図 1 5】



【図 1 6】



【図 1 7 A】



10

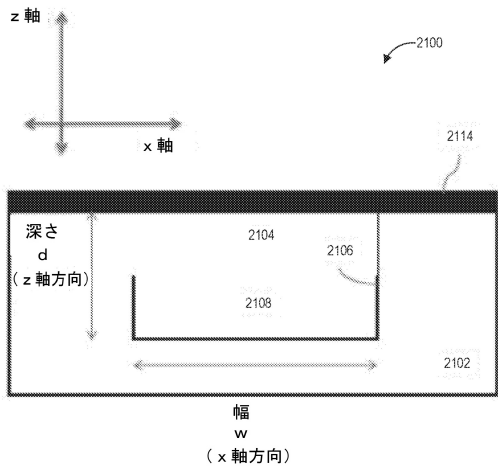
20

30

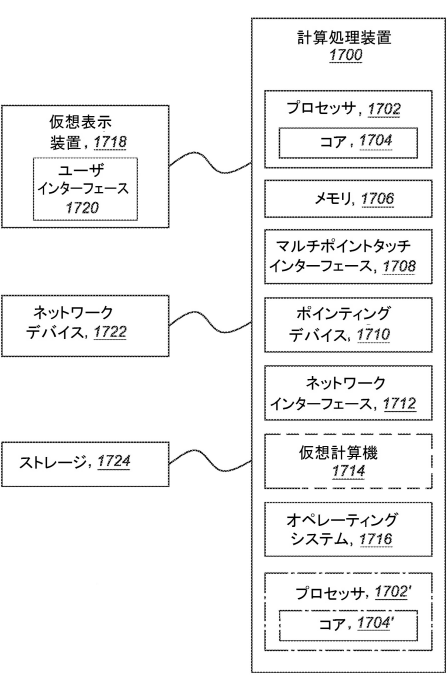
40

50

【図 17B】



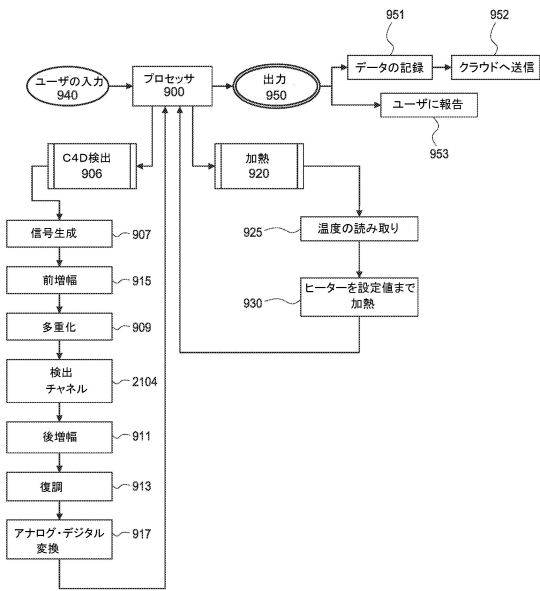
【図 18】



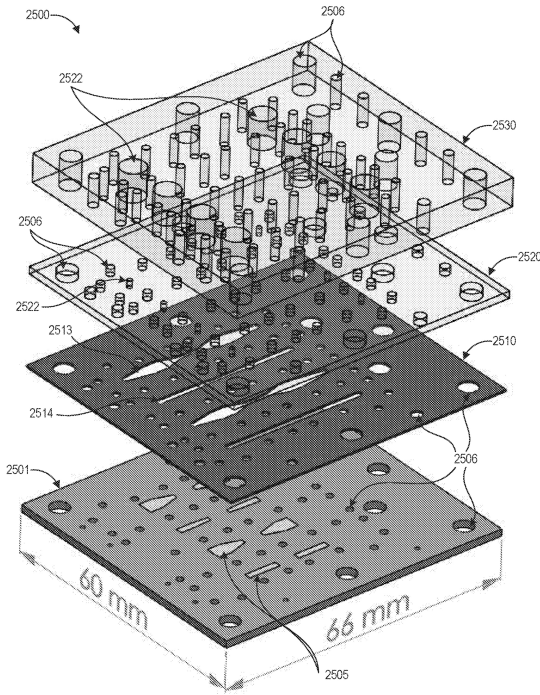
10

20

【図 19】



【図 20】

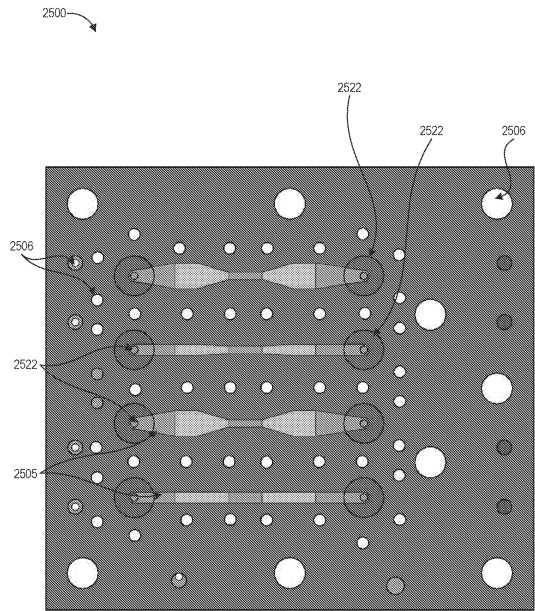


30

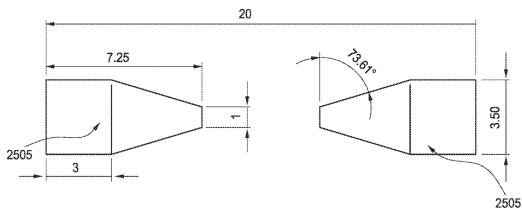
40

50

【図 2 1】



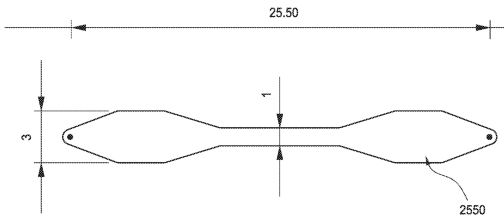
【図 2 2】



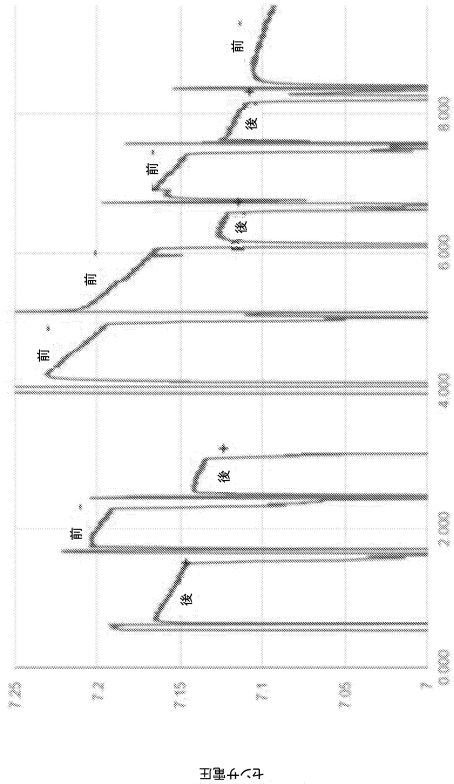
10

20

【図 2 3】



【図 2 4】



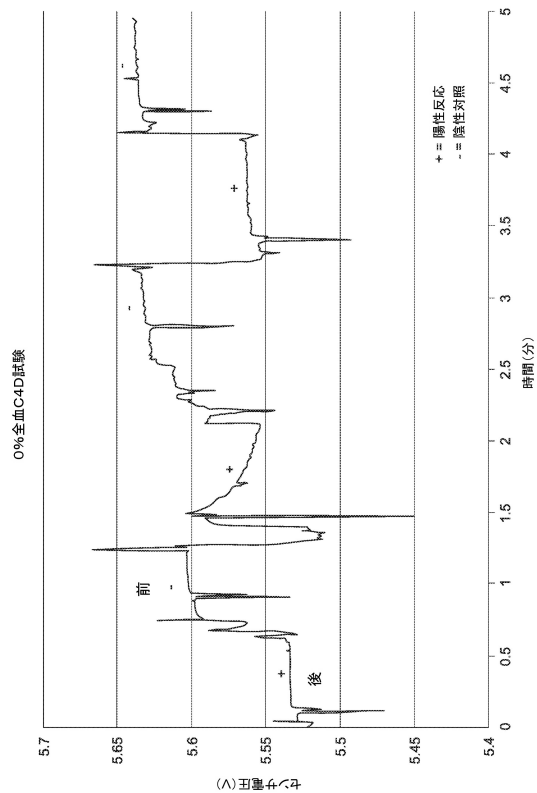
30

40

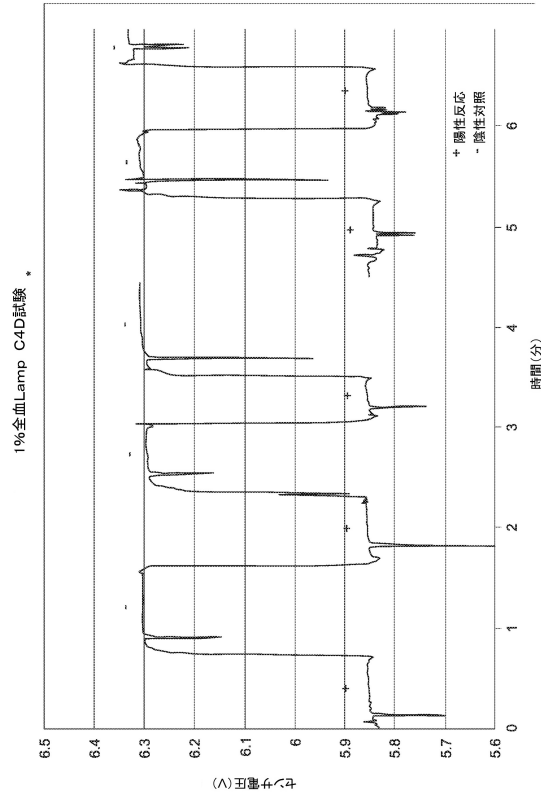
50



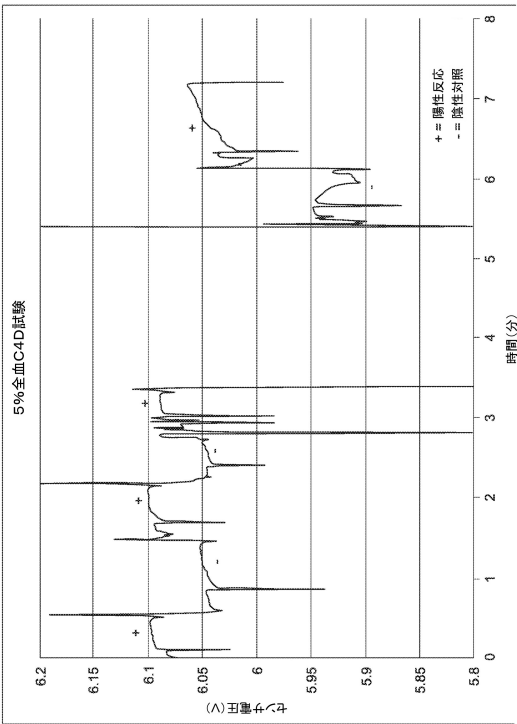
【図 2 5】



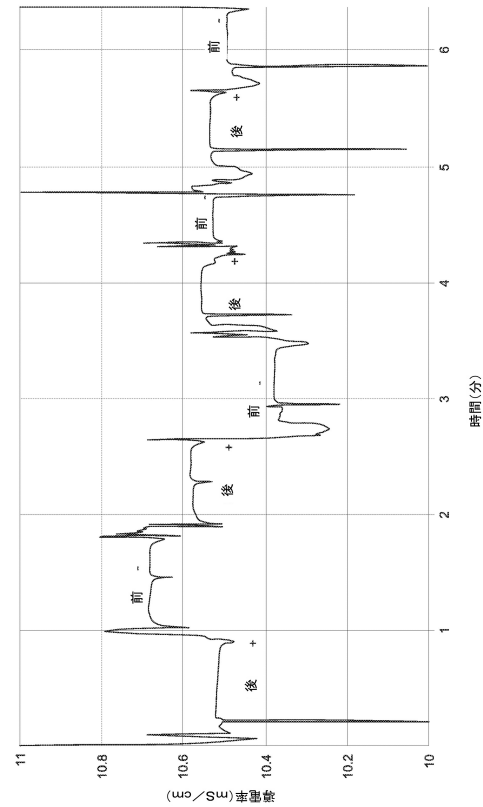
【図 2 6】



【図 2 7】



【図 2 8】



10

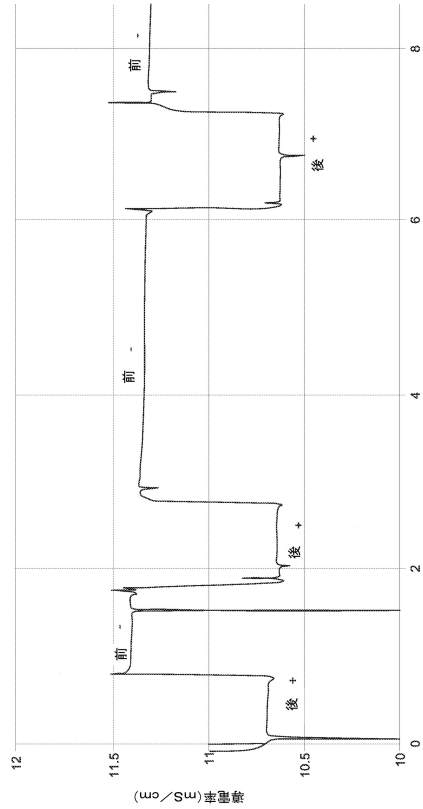
20

30

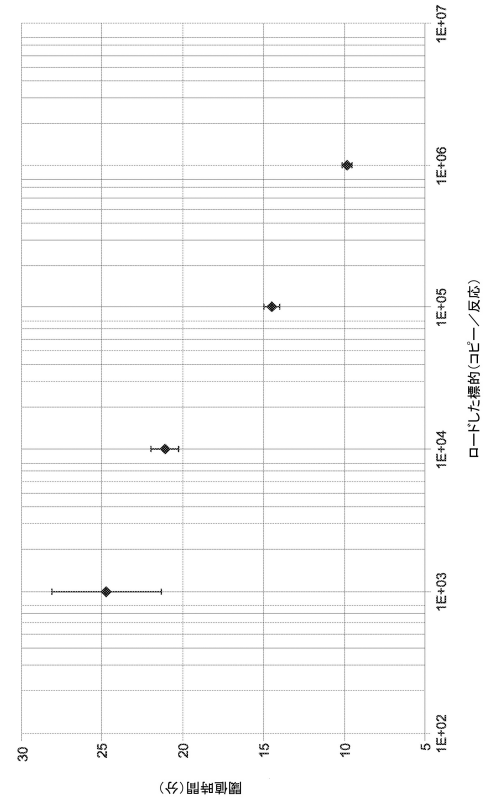
40

50

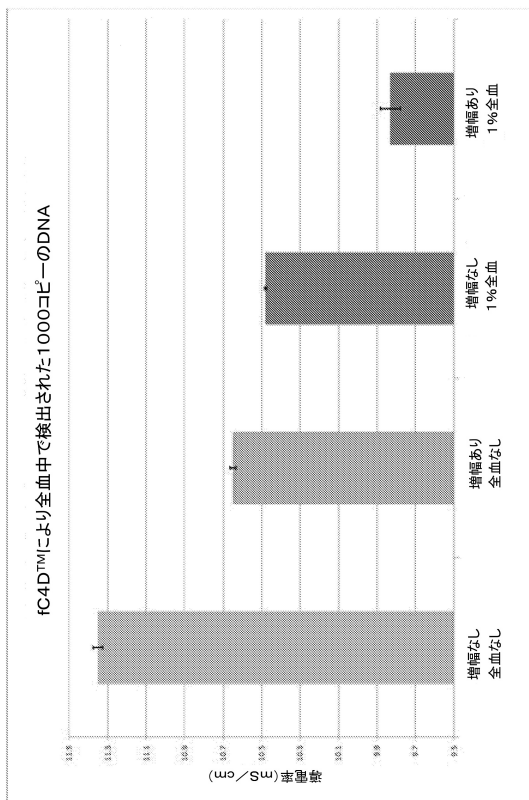
【図 29】



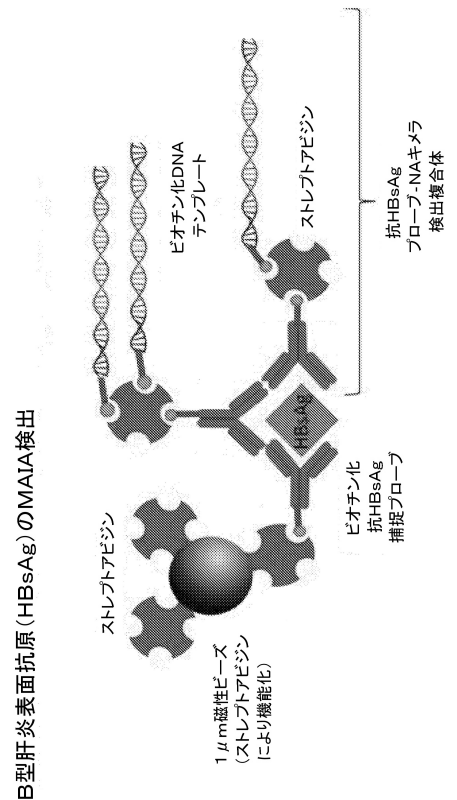
【図 30】



【図 31】



【図 32】



10

20

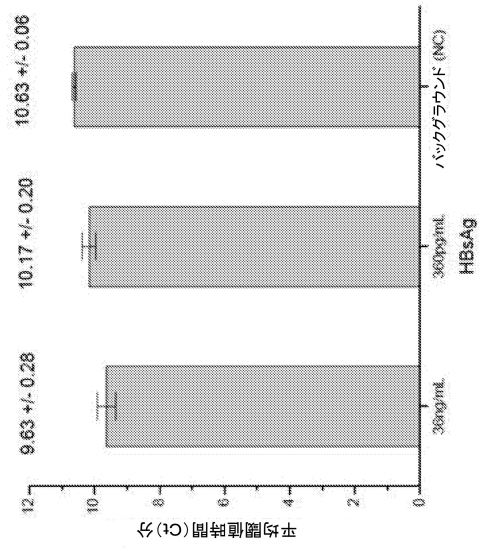
30

40

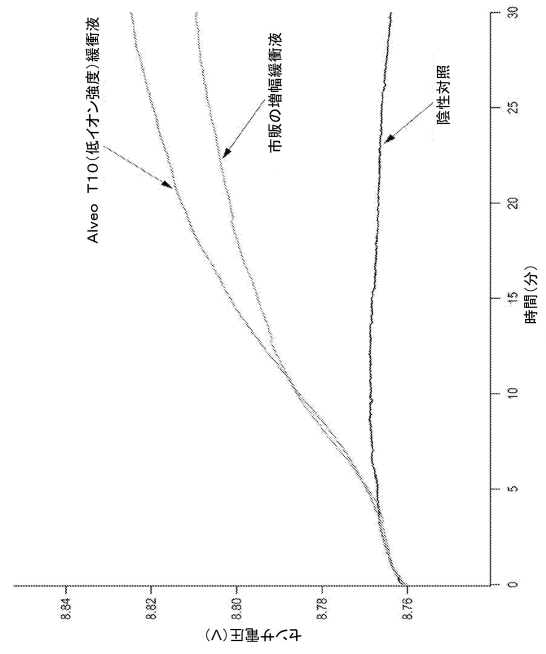
50

【図 3 3】

B型肝炎表面抗原 (HBsAg) のMAIA検出

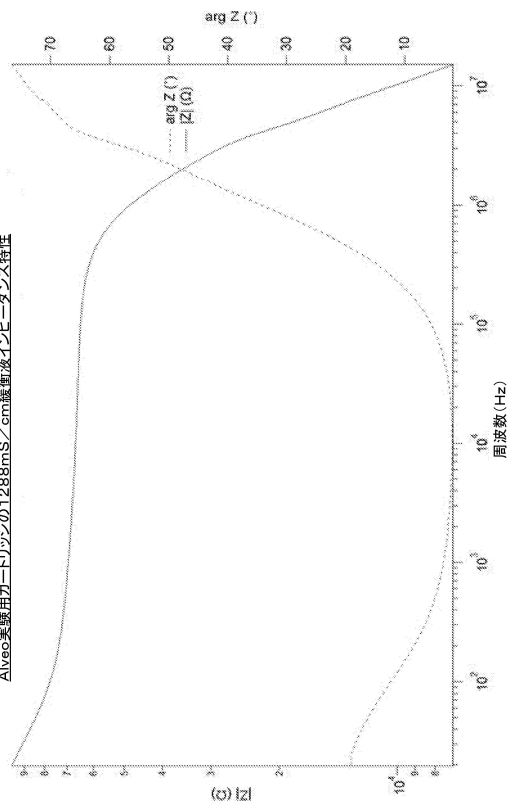


【図 3 4】

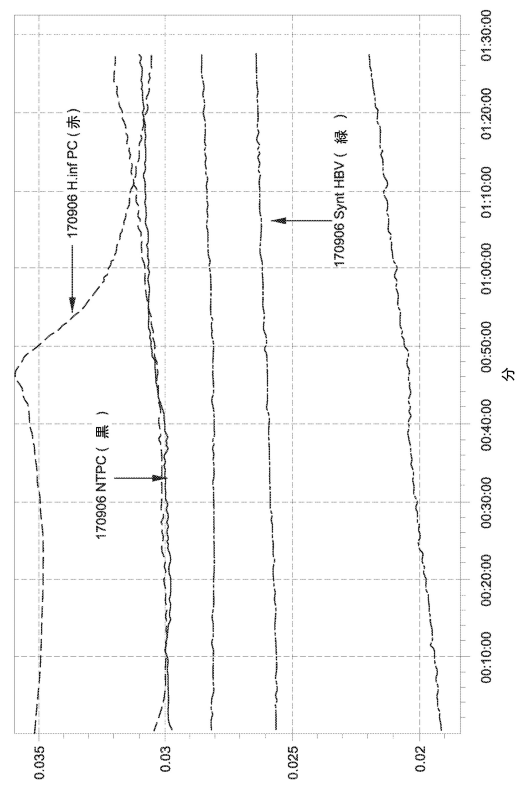


【図 3 5】

Alveo実験用カートリッジの1288mS/cm緩衝液インピーダンス特性



【図 3 6 A】



10

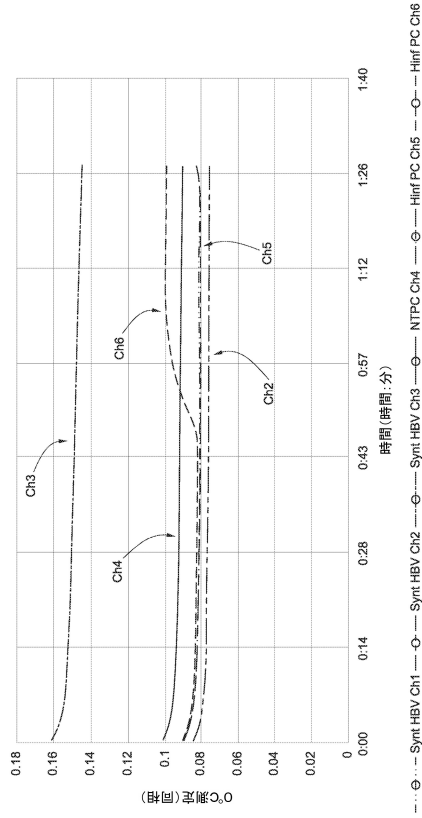
20

30

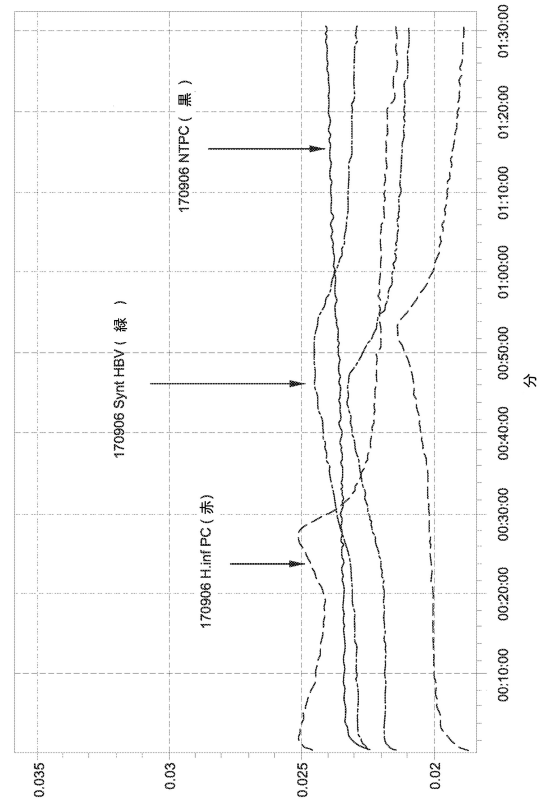
40

50

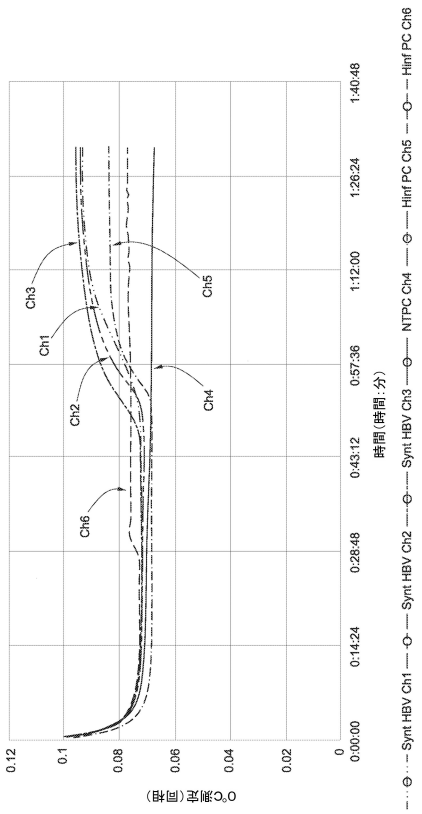
【図 3 6 B】



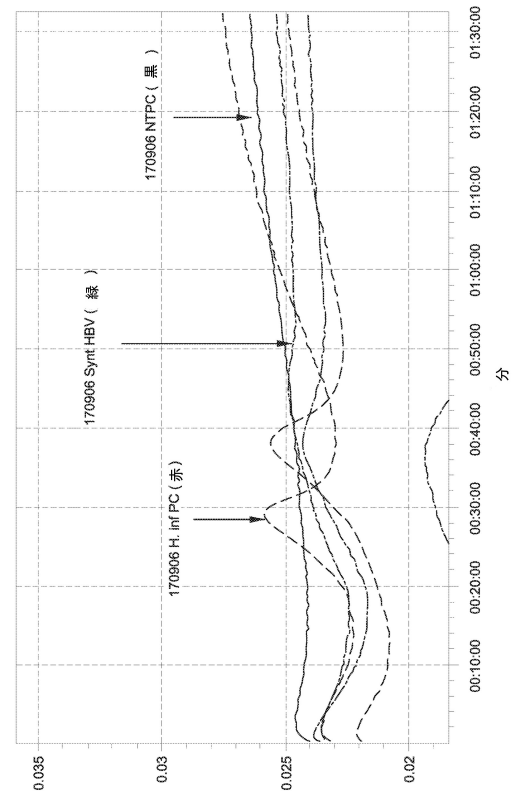
【図 3 6 C】



【図 3 6 D】



【図 3 6 E】



10

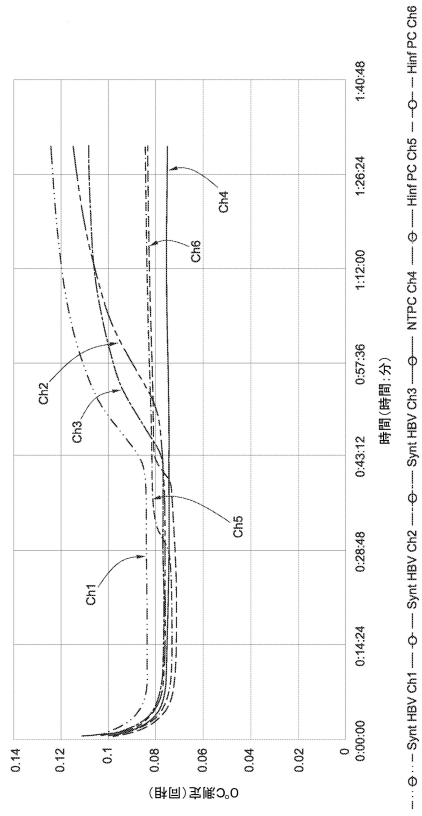
20

30

40

50

【 図 3 6 F 】



【 配列表 】

0007146743000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 35/00

E

G 0 1 N 27/02 (2006.01)

G 0 1 N 33/15

C

C 1 2 Q 1/6844(2018.01)

G 0 1 N 27/02

D

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6844

Z

C 1 2 N 15/09

Z

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/398,925

## (32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/398,965

## (32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/398,913

## (32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/398,955

## (32)優先日 平成28年9月23日(2016.9.23)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

## (72)発明者 モントゴメリ, カイル, ウィリアム

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

## (72)発明者 ウェイド, ダニエル, ジェイ.

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

## (72)発明者 サスタリッチ, ジェッス, エム.

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

## (72)発明者 ロード, プレンナ, ハーン

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

## (72)発明者 チャレロ, ロナルド, フィリップ

アメリカ合衆国 9 4 5 0 1 カリフォルニア州 アラメダ, アトランティック アヴェニュー 1 0  
0 0 スイート 1 1 4

審査官 田中 晴絵

## (56)参考文献 特表2011-517769(JP, A)

国際公開第2016/064635(WO, A1)

特表2001-527220(JP, A)

特表2016-527510(JP, A)

## (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 M 1 / 0 0 - 3 / 1 0

G 0 1 N 3 3 / 5 0

G 0 1 N 3 3 / 6 8

---

G 0 1 N 3 7 / 0 0

G 0 1 N 3 5 / 0 0

G 0 1 N 3 3 / 1 5

G 0 1 N 2 7 / 0 2

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )