

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-512299

(P2021-512299A)

(43) 公表日 令和3年5月13日(2021.5.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Y	4 B O 2 9
GO 1 N 33/536 (2006.01)	GO 1 N 33/536 A	4 B O 6 3
GO 1 N 33/569 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	GO 1 N 33/53 X	
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	GO 1 N 33/569 B	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 78 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-540818 (P2020-540818)
 (86) (22) 出願日 平成31年1月25日 (2019. 1. 25)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年9月10日 (2020. 9. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/015309
 (87) 国際公開番号 W02019/148054
 (87) 国際公開日 令和1年8月1日 (2019. 8. 1)
 (31) 優先権主張番号 PCT/US2019/013388
 (32) 優先日 平成31年1月11日 (2019. 1. 11)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/621, 761
 (32) 優先日 平成30年1月25日 (2018. 1. 25)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 518048123
 エッセンリックス コーポレーション
 アメリカ合衆国 08852 ニュージャ
 ージー州 モンマス ジャンクション デ
 ィアパーク ドライブ 1 スイート ア
 ール
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料中の細胞および非細胞分析物の並行アッセイ法

(57) 【要約】

とりわけ、本発明は、生物学的/化学的なサンプリング、センシング、アッセイおよび用途に関する。

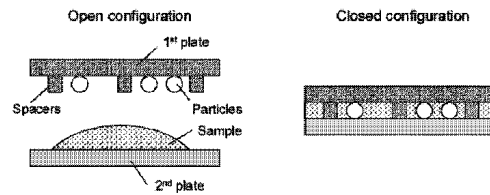
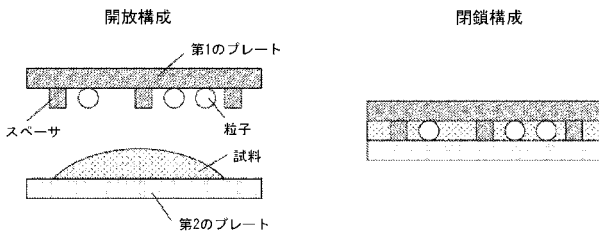


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスであって、第1のプレートと、第2のプレートと、複数のスペーサと、複数の粒子と、捕捉剤と、を含み、

(f) 第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり；

(g) プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し；

(h) スペーサが、均一な高さを有する柱の周期的なアレイを含み、第1のプレートに固定され；

(i) 粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され；

(j) 捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

開放構成が、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成が、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

試料の適切な試料体積が、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成されている、

デバイス。

【請求項 2】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスであって、第1のプレートと、第2のプレートと、複数のスペーサと、複数の粒子と、捕捉剤と、を含み、

(f) 第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり；

(g) プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し；

(h) スペーサが、150um以下の均一な高さを有する柱のアレイを含み、第1のプレートに固定され；

(i) 粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され；

(j) 捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

開放構成が、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成が、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成され、層の

10

20

30

40

50

均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

適切な試料体積が、試料の一部分または全体積であり、適切な試料体積が、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され、適切な試料体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている、デバイス。

【請求項3】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするための装置であって、

第1のプレートと、第2のプレートと、複数のスペーサと、複数の粒子と、捕捉剤と、イメージャと、プロセッサと、を含み、

(h) 第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり；

(i) プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有する試料に接触するための試料接触領域を有し；

(j) 粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、閉鎖構成では、試料中でランダムに分散され；

(k) スペーサが、150um以下の均一な高さを有する柱のアレイを含み、第1のプレートに固定され；

(l) 捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ；

(m) イメージャが、適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮り；

(n) プロセッサが、

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、

(ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されており、

開放構成が、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成が、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成され、

適切な試料体積が、試料の一部分または全体積であり、適切な試料体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成され、

プロセッサが、

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、

(ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されている、

装置。

【請求項4】

スペーサが、周期的なアレイである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項5】

スペーサの均一な高さが、粒子直径の少なくとも約0.8倍である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項6】

1つまたは複数のスペーサの均一な高さが、粒子直径の少なくとも約0.8倍~200umである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項7】

10

20

30

40

50

試料の適切な試料体積の画像を取得するためのイメージャをさらに含む、いずれか一項のデバイス請求項に記載のデバイス。

【請求項 8】

適切な試料体積が、試料の少なくとも一部のうちの一部分または全体積であり、適切な試料体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている、

先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 9】

画像を処理するためのプロセッサをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

10

【請求項 10】

処理が、

(i) 少なくとも10個の粒子のうちの1つまたは複数の画像を分析することによって非細胞分析物を検出する工程、および

(ii) 標的細胞分析物を検出する工程

のうちの少なくとも1つを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 11】

a. 第1のプレートと；

b. その表面上に試料接触領域を有する第2のプレートと

(ここで第1のプレートおよび第2のプレートは、

i. 1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有する試料がその間に付着され得るように、第1のプレートおよび第2のプレートが少なくとも部分的に分離される開放構成、および

ii. 第1のプレートが第2のプレートの上部に配置されることにより、第1のプレートと第2のプレートとの間の試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する閉鎖構成

へと、互いに相対的に移動可能である)；

c. 柱の周期的なアレイを含む1つまたは複数のスペーサと

(ここで層の前記均一な厚さは、1つまたは複数のスペーサによって調節される)；

d. その表面に配置された1つまたは複数の捕捉剤を有する複数の粒子と

を含み、

閉鎖構成において、(i) 1つまたは複数の標的細胞間、(ii) 複数の粒子間、および (iii) 1つまたは複数の標的細胞と複数の粒子との間に実質的に重なりがないように、第1のプレートおよび第2のプレートが、試料の少なくとも一部分を圧縮する、デバイス。

20

30

【請求項 12】

1つまたは複数のスペーサが、第2のプレートの表面上に固定されている、請求項11記載のデバイス。

【請求項 13】

複数の粒子が、0.2um ~ 100umの直径を有する、請求項11記載のデバイス。

40

【請求項 14】

第1のプレートおよび第2のプレートが開放構成にある場合、第2のプレートの試料接触領域において複数の粒子がランダムに分散される、請求項11記載のデバイス。

【請求項 15】

捕捉剤が、光標識に付いた非細胞分析物を含む標識された標的分析物に、特異的に結合する、請求項11記載のデバイス。

【請求項 16】

1つまたは複数のスペーサが、均一な高さを有する、請求項11記載のデバイス。

【請求項 17】

1つまたは複数のスペーサの均一な高さが、粒子直径の少なくとも約0.8倍である、請求

50

項11記載のデバイス。

【請求項18】

1つまたは複数のスペーサの均一な高さが、約200umより低い、請求項11記載のデバイス。

【請求項19】

1つまたは複数のスペーサの均一な高さが、粒子直径の少なくとも約0.8倍～200umである、請求項11記載のデバイス。

【請求項20】

試料の適切な体積の画像を取得するためのイメージャをさらに含む、請求項11に記載のデバイス。

10

【請求項21】

適切な体積が、試料の少なくとも一部のうちの一部分または全体積であり、適切な体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている、請求項11に記載のデバイス。

【請求項22】

画像を処理するためのプロセッサをさらに含む、請求項11に記載のデバイス。

【請求項23】

処理することが、

(i) 少なくとも10個の粒子のうちの1つまたは複数の画像を分析することによって非細胞分析物を検出する工程、および

20

(ii) 標的細胞分析物を検出する工程

のうちの少なくとも1つを含む、請求項11に記載のデバイス。

【請求項24】

液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、以下の工程を含む、方法：

(h) 請求項1に記載のデバイスを有する工程と；

(i) 1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料を有する工程と；

(j) 非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する工程と；

30

(k) 開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と；

(l) 工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と；

(m) 光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と；

(n) (i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程と

を含む、方法。

【請求項25】

液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、

40

(h) 請求項2に記載のデバイスを有する工程と；

(i) 1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料を有する工程と；

(j) 非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する工程と；

(k) 開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と；

(l) 工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と；

(m) 光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と；

50

(n) プロセッサを使用して、(i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程とを含み、

プロセッサが、

- (i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、
- (ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されている、方法。

【請求項 26】

非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画像を分析することが、デジタル方式の計数によるものであり、

デジタル方式の計数において、試料中の非細胞分析物の存在または量が、閾値を上回る光信号を有するビーズの数または割合から決定され、割合が、閾値を上回る光信号を有するビーズの数と、閾値を下回る光信号を有するビーズの数との比率である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、または方法。

【請求項 27】

非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画像を分析することが、適切な試料領域におけるすべてのビーズからの光信号振幅から試料中の非細胞分析物の存在または量を決定するアナログ方式の計数によるものである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、または方法。

【請求項 28】

2つ以上の画像をさらに含み、少なくとも1つの画像が暗視野画像であり、少なくとも1つが明視野画像である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、または方法。

【請求項 29】

1つまたは複数の粒子が、

- (i) プレート間に粒子の単一層を生成し、
- (ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しない

のに十分な幾何学的形状(形状およびサイズ)を有する、

先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 30】

1つまたは複数の粒子が、

- (i) プレート間に粒子の単一層を生成し、
- (ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しない

のに十分な密度を有する、

先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 31】

1つまたは複数の粒子が、デバイス内に試料を付着させる前に試料と混合される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 32】

1つまたは複数の粒子が、試料の付着の前に、第1のプレートと第2のプレートのうちの少なくとも1つに配置され、その後デバイスへの試料の付着の際に、試料と混合される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 33】

1つまたは複数の粒子が、様々な形状を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 34】

1つまたは複数の粒子が、0.05um~100umの範囲内の最大寸法を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 35】

10

20

30

40

50

存在する場合、分析物に対する捕捉剤に結合するために、非細胞分析物と競合する標識された競合検出剤を提供する工程を含む競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 36】

非細胞分析物の別の結合部位に特異的に結合する標識された検出剤を提供する工程を含む非競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出され、

別の結合部位が、捕捉剤による結合部位とは異なる結合セットである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 37】

画像のうちの1つが、トポロジー（すなわち、幾何学的形状）および共通領域における粒子の位置の情報を含む直接的な画像であり、他の画像が、画像の主要な信号として、標識された競合検出剤からの信号を含むように構成される信号画像である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

10

【請求項 38】

試料ホルダーが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能な第1および第2のプレートを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 39】

アッセイすることが、対象のウイルス感染症または細菌感染症を診断するためのものである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

20

【請求項 40】

携帯型電子機器を使用して、

(i) 前記1つまたは複数の捕捉剤と会合した前記分析物の量に対応する1つまたは複数の第1の値と、

(ii) 前記試料内の前記1つまたは複数の細胞の量に対応する1つまたは複数の第2の値と

を決定する工程をさらに含む、

先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 41】

前記複数の粒子が、前記第1のプレートおよび前記第2のプレートのうちの少なくとも1つに除去可能に結合されている、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

30

【請求項 42】

前記複数の粒子が、ガラスビーズ、磁気ビーズ、ポリスチレンビーズ、プラスチックビーズ、ラテックス粒子、金属ビーズ、合金ビーズ、ならびに金属および誘電体を含むビーズからなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 43】

前記光標識が、レポーター分子、蛍光性分子、色素分子、非選択性色素分子、およびレドックス反応性分子から選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

40

【請求項 44】

前記複数の粒子が、第1の複数の粒子および第2の複数の粒子を含み、

前記第1の複数の粒子が、そこに結合された1つまたは複数の第1の捕捉剤を含み、

前記第2の複数の粒子が、そこに結合された1つまたは複数の第2の捕捉剤を含む、

先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 45】

前記1つまたは複数の第1の捕捉剤が、前記分析物の第1のエピトープと会合することができ、前記1つまたは複数の第2の捕捉剤が、前記分析物の第2のエピトープと会合することができる、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

50

【請求項 4 6】

前記第1の複数の粒子が、前記第1のプレートに沿って配置され、前記第2の複数の粒子が、前記第2のプレートに沿って配置されている、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 4 7】

前記第1の複数の粒子が、ガラスビーズ、磁気ビーズ、ポリスチレンビーズ、およびラテックス粒子からなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 4 8】

前記第2の複数の粒子が、レポーター分子、蛍光性分子、色素分子、非選択性色素分子、およびレドックス反応性分子からなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

10

【請求項 4 9】

前記1つまたは複数の第1の捕捉剤と前記1つまたは複数の第2の捕捉剤のうちの少なくとも1つが、前記分析物に特異的と会合することができる、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 0】

前記デバイスが、前記スペース内の1つまたは複数のスペースをさらに含み、前記第1のプレートまたは前記第2のプレートのうちの少なくとも1つに沿って配置されている、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

20

【請求項 5 1】

前記1つまたは複数のスペースが、前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の距離を決定する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 2】

前記第1のプレートから前記第2のプレートへ方向に沿った前記1つまたは複数のスペースの長さが、前記試料中の前記1つまたは複数の細胞の平均的な直径よりもおおよそ短いかまたはおおよそ等しい、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 3】

前記複数の粒子が、様々な形状を有している、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

30

【請求項 5 4】

前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞が、コンフルエントではない単一層として実質的に配置されている、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 5】

前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞が、浮遊状態にある、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 6】

前記決定することが、前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分を含む領域のうちの1つまたは複数の画像を取得することを含み、前記画像化された領域は、前記複数の粒子のうちの少なくとも1つを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

40

【請求項 5 7】

前記1つまたは複数の第1の値が、前記粒子によって放出されるエネルギーの強度に対応する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 5 8】

前記試料を、前記1つまたは複数の細胞と会合することができる細胞用色素と接触させることをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

50

【請求項 59】

前記1つまたは複数の第2の値が、前記細胞用色素によって放出されるエネルギーの強度に対応する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 60】

前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の関連性を決定するためにアルゴリズムを使用することをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 61】

前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の前記関連性に基づいて、前記試料が取得された対象における感染症のレベルを分類する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

10

【請求項 62】

前記感染症が、ウイルス感染症、細菌感染症、またはこれらの組み合わせである、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 63】

前記1つまたは複数の細胞が、白血球 (white blood cell)、白血球 (leukocyte)、顆粒球、無顆粒球、骨髄系細胞、リンパ球系細胞、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、および単球からなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 64】

前記分析物が、ポリペプチド、タンパク質、タグ付けされたタンパク質、融合タンパク質、抗体、小分子、ウイルス粒子、細菌、C反応性タンパク質、およびその任意のフラグメントからなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

20

【請求項 65】

前記試料の少なくとも一部分を、前記1つまたは複数の捕捉剤と会合することができる競合検出剤と接触させることをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 66】

前記競合検出剤が、前記分析物とともに前記1つまたは複数の捕捉剤に競合的に結合する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

30

【請求項 67】

前記試料の少なくとも一部分を、前記分析物と会合することができる補助的な検出剤と接触させることをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 68】

前記1つまたは複数の捕捉剤が、前記分析物の第1のエピトープと会合することができ、前記補助的な検出剤が、前記分析物の第2のエピトープと会合することができる、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 69】

前記方法が、約10秒未満、約20秒未満、約30秒未満、約40秒未満、約50秒未満、約60秒未満、約120秒未満、約180秒未満、約240秒未満、約300秒未満、約400秒未満、約500秒未満、または約1000秒未満で実施される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

40

【請求項 70】

工程 (d) ~ (f) が、任意の洗浄する工程の非存在下で行われる、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 71】

第1および第2のプレートが、手で一緒に押圧される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

50

【請求項 7 2】

非細胞分析物が、ポリペプチド、核酸、または代謝産物である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 3】

試料が、羊水、房水、硝子体液、血液、全血、画分血液、血漿、血清、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、鼻漏、痰、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、および呼気凝縮物を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 4】

結果に基づいて疾患を診断することをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 5】

疾患が、がん、炎症性疾患、または感染性疾患である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 6】

方法が、複数の異なる非細胞分析物を検出する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 7】

試料が、1つまたは複数の標的細胞を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、および方法。

【請求項 7 8】

試料が、1つまたは複数の非細胞分析物を含む、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 7 9】

1つまたは複数の粒子が、0.2um ~ 100umの直径を有する、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 0】

捕捉剤が、非細胞分析物に結合する、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 1】

試料の少なくとも一部が、第1のプレートおよび第2のプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮される、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 2】

試料の少なくとも一部が、プレートに対して実質的に停滞している、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 3】

閉鎖構成における試料厚さが、

(i) 1つまたは複数の標的細胞が、プレート間に単一層を有するように、かつ

(ii) 1つまたは複数の標的細胞間で実質的な重なりを有しないように

構成されている、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 4】

1つまたは複数の粒子が、

(i) 粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ

(ii) 粒子間で実質的な重なりを有しないように

構成される幾何学的形状（形状およびサイズ）を有する、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 8 5】

1つまたは複数の粒子が、

(i) 粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ

10

20

30

40

50

(ii) 粒子間で実質的な重なりを有しないように構成された密度を有する、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 86】

第1のプレートと第2のプレートのうちの一方または両方にスペーサをさらに含む、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 87】

存在する場合、競合アッセイにおける分析物に対する捕捉剤に結合するために、分析物と競合するための標識された競合検出剤をさらに含む、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 88】

非競合アッセイにおいて分析物の付加的な結合部位に特異的に結合する標識された検出剤をさらに含み、付加的な結合部位は、捕捉剤による結合部位とは異なる結合部位である、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 89】

試料が2つのプレート間にありかつプレートが閉鎖構成にある場合に、標的細胞および非細胞分析物を画像化するイメージャをさらに含む、先行する装置請求項のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 90】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、スペーサ間距離 (SD) が、約120um (マイクロメートル) 以下である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 91】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、スペーサ間距離 (SD) が、約100um (マイクロメートル) 以下である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 92】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、可撓性プレートの厚さ (h) およびヤング率 (E) で割ったスペーサ間距離 (ISD) の4乗 ($ISD^4 / (hE)$) が、 $5 \times 10^6 \text{um}^3/\text{GPa}$ 以下である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 93】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、可撓性プレートの厚さ (h) およびヤング率 (E) で割ったスペーサ間距離 (ISD) の4乗 ($ISD^4 / (hE)$) が、 $5 \times 10^5 \text{um}^3/\text{GPa}$ 以下である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 94】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、スペーサが、柱形状、実質的に平坦な上面、予め決定された実質的に均一な高さ、および分析物のサイズよりも少なくとも約2倍大きい予め決定された一定のスペーサ間距離を有し、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じたものが2MPa以上であり、充填率が、スペーサ接触面積と総プレート面積との比率であり、各スペーサについて、スペーサの横方向寸法とその高さとの比率が、少なくとも1である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 95】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、スペーサが、柱形状、実質的に平坦な上面、予め決定された実質的に均一な高さ、および分析物のサイズよりも少なくとも約2倍大きい予め決定された一定のスペーサ間距離を有し、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じたものが2MPa以上であり、充填率が、スペーサ接触面積と総プレート面積との比率であり、各スペーサについて、スペーサの横方向寸法とその高さとの比率が、少なくとも1であり、可撓性プレートの厚さ (h) およびヤング率 (E) で割ったスペーサ間距離 (ISD) の4乗 ($ISD^4 / (hE)$) が、 $5 \times 10^6 \text{um}^3/\text{GPa}$ 以下である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 96】

デバイスが、2つのプレートとスペーサとを含み、スペーサのスペーシング間距離とスペーサの平均幅との比率が2以上であり、スペーサの充填率をスペーサのヤング率で乗じ

10

20

30

40

50

ると2MPa以上である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 97】

分析物が、タンパク質、ペプチド、核酸、合成化合物、および無機化合物からなる群より選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、システム、スマートフォンシステム、または方法。

【請求項 98】

スぺーサが、柱の形状を有し、柱の幅と高さとの比率が1以上である、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、システム、スマートフォンシステム、または方法。

【請求項 99】

プレート的一方または両方に付着した試料が未知の量を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 100】

スぺーサが柱形状を有し、柱が実質的に均一な断面を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、システム、スマートフォンシステム、または方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2018年1月25日に出願された米国仮出願第62/621,761号および2019年1月11日に出願された国際出願番号PCT/US2019/013388の恩典を主張し、これらの出願の各々の開示は、すべての目的のためにそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

分野

本開示は、生物学/化学的なサンプリング、センシング、アッセイ、およびアプリケーションの分野に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

多くの状況において、試料の細胞分析物（すなわち、白血球）および非細胞分析物（例えば、タンパク質、核酸等）の両方をアッセイする（すなわち、検出および/または定量化する）ことが必要とされる。そのようなアッセイは、感染症が細菌またはウイルスによって引き起こされたかどうかの識別、HIV診断、その他を含む多くの用途を有する。

【0004】

本発明は、とりわけ、試料ホルダー中の細胞分析物および非細胞分析物を、並行して、迅速に、単純に、かつ均質的に（すなわち、洗浄無しで）アッセイするデバイスおよび方法を提供し、そのようなデバイスおよび方法の用途を提供する。

【0005】

単一の試料ホルダーおよび単一のプロセスにおいて異なる分析物を測定することは、1つだけでなく複数の分析物を考慮することが健康状態の診断の精度を高めることができることから、非常に有用である。

【0006】

2つの移動可能なプレートを使用して検出ビーズおよび試料を間に挟むアッセイの場合、ランダムに分散されたビーズの多くがビーズの破壊限界を超える圧力を経験し得ることから、プレートはビーズを粉砕することがある。

【発明の概要】

【0007】

簡単な概要

本発明は、とりわけ、同一試料ホルダー中の細胞分析物および非細胞分析物を、並行して、迅速に、単純に、かつ均質的に（すなわち、洗浄無しで）アッセイするデバイスおよ

10

20

30

40

50

び方法を提供し、そのようなデバイスおよび方法の用途を提供する。

【0008】

本発明の一面は、試料ホルダー中の細胞分析物および非細胞分析物を並行してアッセイするデバイスおよび方法であり、試料ホルダーは、互いに移動可能な2つのプレートと、プレートの一方に固定されたスペーサと、標的分析物に特異的に結合する捕捉剤を有する粒子（例えばブレット）とを含み、2つのプレートが開放位置から閉鎖構成へと移動した場合、これらは、試料およびブレットを均一な薄い層に圧縮し、ここで試料は、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いがある。

【0009】

本発明の別の局面は、イメージャとプロセッサを使用して、試料の画像を撮って画像を分析することにより、試料中の1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物の存在または量を検出することである。

10

【0010】

本発明の別の局面は、押圧の間、ビーズが粉碎されるように、スペーサの形状、スペーサ間距離、配置、その他を構成することである。

【0011】

本発明の別の局面は、スペーサを有するプレート上にブレットを置く一方、他方のプレートは試料接触領域にスペーサを有しないことによって、スペーサによってビーズが粉碎されるのを回避することである。

【0012】

本発明の別の局面は、少なくとも10個のビーズからの光信号を測定することによって、標的細胞および非細胞分析物のより良い検出を得ることである。

20

【0013】

本発明の別の局面は、ビーズの検出はデジタル方式であって、閾値を上回る光信号を有するビーズの数を計数することを含み、ビーズ間には流体の隔りがある。

【0014】

本発明の別の局面は、たとえ圧縮力が不正確であっても試料が均一な層を形成できるように、スペーサとプレートの可撓性を表すことである。

【0015】

ある特定の態様では、本開示は、

30

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、および捕捉剤を含む、液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスであって、

第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し、

スペーサが、均一な高さを有する柱の周期的なアレイを含み、第1のプレートに固定され、

粒子が、0.2 μ m~100 μ mのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され、

40

捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

開放構成が、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成が、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

試料の適切な試料体積が、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され

50

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成されている、デバイスを提供する。

【0016】

ある特定の態様では、本開示は、

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、および捕捉剤を含む、液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスであって、

第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し、

スペーサが、150um未満の均一な高さを有する柱のレイを含み、第1のプレートに固定され、

粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され、

捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成され、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

適切な試料体積が、試料の一部分または全体積であり、適切な試料体積が、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され、適切な試料体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている、デバイスを提供する。

【0017】

ある特定の態様では、本開示は、

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、捕捉剤、イメージャ、およびプロセッサを含む、液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするための装置であって、

第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し、

粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、閉鎖構成では、試料中でランダムに分散され、スペーサが、150um以下の均一な高さを有する柱のレイを含み、第1のプレートに固定され、

捕捉剤が粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

イメージャが、適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮り、プロセッサが、

- (i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、
- (ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されており、

開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

10

20

30

40

50

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成され、

適切な試料体積が、試料の一部分または全体積であり、適切な体積中の粒子数が、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成され、

プロセッサが、

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、

(ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されている、装置を提供する。

【0018】

ある特定の態様では、本開示は、

第1のプレートと；

その表面上に試料接触領域を有する第2のプレートと

(ここで第1のプレートおよび第2のプレートは、

1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有する試料がその間に付着され得るように、第1のプレートおよび第2のプレートが少なくとも部分的に分離される開放構成、および

第1のプレートが第2のプレートの上部に配置されることにより、第1のプレートと第2のプレートとの間の試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する閉鎖構成

へと、互いに相対的に移動可能である)；

柱の周期的なアレイを含む1つまたは複数のスペーサと

(ここで層の前記均一な厚さは、1つまたは複数のスペーサによって調節される)；

その表面に配置された1つまたは複数の捕捉剤を有する複数の粒子と

を含み、

閉鎖構成において、(i) 1つまたは複数の標的細胞間、(ii) 複数の粒子間、および (iii) 1つまたは複数の標的細胞と複数の粒子との間に実質的に重なりがないように、第1のプレートおよび第2のプレートが、試料の少なくとも一部分を圧縮する、デバイスを提供する。

【0019】

ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサは、第2のプレートの表面上に固定される。ある特定の態様では、複数の粒子は、0.2 μ m ~ 100 μ mの直径を有する。ある特定の態様では、第1のプレートおよび第2のプレートが開放構成にある場合、第2のプレートの試料接触領域において複数の粒子はランダムに分散される。ある特定の態様では、捕捉剤は、光標識に付いた非細胞分析物を含む標識された標的分析物に、特異的に結合する。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサは、均一な高さを有する。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、粒子直径の少なくとも約0.8倍である。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、約200 μ mより低い。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、粒子直径の少なくとも約0.8倍 ~ 約200 μ mである。ある特定の態様では、デバイスは、適切な体積の試料の画像を取得するためのイメージャをさらに含む。ある特定の態様では、適切な体積は、試料の少なくとも一部のうちの一部分または全体積であり、適切な体積中の粒子数は、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている。ある特定の態様では、デバイスは、画像を処理するためのプロセッサをさらに含む。ある特定の態様では、処理することは、

(i) 少なくとも10個の粒子のうちの1つまたは複数の画像を分析することによって非細胞分析物を検出すること、および

10

20

30

40

50

(ii) 標的細胞分析物を検出すること
のうちの少なくとも1つを含む。

【0020】

ある特定の態様では、本開示は、
液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、
本開示のデバイスを有する工程と、
1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある
試料を有する工程と、
非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する
工程と、
開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と、
工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少な
くとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な
試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、
(i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために少
なくとも1つの画像を分析する工程と
を含む、方法
を提供する。

10

【0021】

ある特定の態様では、本開示は、
液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、
本開示のデバイスを有する工程と、
1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある
試料を有する工程と、
非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する
工程と、
開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と、
工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少な
くとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な
試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、
プロセッサを使用して、(i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在また
は量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程と
を含み、

20

プロセッサが、

- (i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、
- (ii) 標的細胞分析物を検出する

ために、少なくとも1つの画像を処理するように構成されている、方法
を提供する。

30

40

【0022】

ある特定の態様では、非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画像を分
析することは、デジタル方式の計数によるものであり、デジタル方式の計数において、試
料中の非細胞分析物の存在または量は、閾値を上回る光信号を有するピーズの数または割
合から決定され、割合は、閾値を上回るピーズの数と、閾値を下回るピーズの数との比率
である。ある特定の態様では、非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画
像を分析することは、適切な試料領域におけるすべてのピーズからの光信号振幅から試料
中の非細胞分析物の存在または量を決定するアナログ方式の計数によるものである。ある
特定の態様では、デバイスまたは方法は、試料層の共通領域/体積の2つ以上の画像をさ
らに含み、試料層の共通領域は、1つまたは複数の粒子のうちの少なくとも1つの粒子を含

50

有する試料の領域である。ある特定の態様では、デバイスまたは方法は、2つ以上の画像をさらに含み、少なくとも1つの画像は暗視野画像であり、少なくとも1つは明視野画像である。ある特定の態様では、試料層の厚さは、プレート間に標的細胞の単一層を生成するのに十分である。ある特定の態様では、試料層の厚さは、プレート間の1つまたは複数の標的細胞間に実質的な重なりを生成しないのに十分である。ある特定の態様では、(i) プレート間に粒子の単一層を生成し、(ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しないのに十分な幾何学的形状(形状およびサイズ)を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、(i) プレート間に粒子の単一層を生成し、(ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しないのに十分な密度を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、デバイス内に試料を付着させる前に、1つまたは複数の粒子を試料と混合する。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、試料の付着の前に、第1のプレートと第2のプレートのうちの少なくとも1つに配置され、その後デバイスへの試料の付着の際に、試料と混合される。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、様々な形状を有する。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、0.05um ~ 100umの範囲内の最大寸法を有する。ある特定の態様では、存在する場合、分析物に対する捕捉剤に結合するために、非細胞分析物と競合する標識された競合検出剤を提供する工程を含む競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出される。ある特定の態様では、非細胞分析物の別の結合部位に特異的に結合する標識された検出剤を提供する工程を含む非競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出され、ここで他の結合部位は、捕捉剤による結合部位とは異なる結合セットである。ある特定の態様では、画像のうちの1つは、トポロジー(すなわち、幾何学的形状)および共通領域における粒子の位置の情報を含む直接的な画像であり、他の画像は、画像の主要な信号として、標識された競合検出剤からの信号を含むように構成された信号画像である。ある特定の態様では、試料ホルダーは、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能な第1および第2のプレートを含む。

10

20

【0023】

ある特定の態様では、本開示は、

対象のウイルス感染症または細菌感染症を診断するための方法であって、以下の工程を含む、方法を提供する：

第1のプレート、第2のプレート、および粒子に結合された1つまたは複数の捕捉剤を含む複数の粒子を含むデバイスを取得する工程であって、

30

前記複数の粒子が、実質的に単一層として、前記第1のプレートおよび前記第2のプレートのうちの少なくとも1つに沿って配置され、

前記1つまたは複数の捕捉剤が、分析物と会合することができ、

前記デバイスが、

前記第1のプレートおよび前記第2のプレートが少なくとも部分的に分離されることにより、前記第1のプレートと前記第2のプレートのうち少なくとも一方に配置された前記複数の粒子を含む試料接触領域を露出させる開放構成と、

前記第1のプレートおよび前記第2のプレートが実質的に平行で、それらの間にスペースを含む閉鎖構成と

を含む、工程；

40

前記デバイスを、前記分析物および1つまたは複数の細胞を含む前記試料に接触させる工程であって、前記デバイスが、前記開放構成にある、工程；

前記デバイスを前記閉鎖構成に配置する工程であって、それにより、前記試料の少なくとも一部分が前記スペース内に含有され、

前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分の厚さが実質的に均一であり、

前記閉鎖構成では、前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞が実質的に単一層として配置される、工程；

薄い試料層の共通領域のうちの1つまたは複数の画像を撮る工程であって、試料層の共通領域が、前記複数の粒子のうちの1つの粒子、および前記1つまたは複数の細胞のうちのある細胞、のうち少なくとも1つを含有する試料の領域である、工程。

50

【 0 0 2 4 】

ある特定の態様では、方法は、携帯型電子機器を使用して、(i)1つまたは複数の捕捉剤と会合する前記分析物の量に対応する1つまたは複数の第1の値と、(ii)試料内の前記1つまたは複数の細胞の量に対応する1つまたは複数の第2の値と、を決定する工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、前記第1のプレートおよび前記第2のプレートのうちの少なくとも1つに除去可能に結合される。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、ガラスビーズ、磁気ビーズ、ポリスチレンビーズ、ラテックス粒子、レポーター分子、蛍光性分子、色素分子、非選択性色素分子、およびレドックス反応性分子からなる群より選択される。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、第1の複数の粒子および第2の複数の粒子を含み、前記第1の複数の粒子は、そこに結合される1つまたは複数の第1の捕捉剤を含み、前記第2の複数の粒子は、そこに結合される1つまたは複数の第2の捕捉剤を含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第1の捕捉剤は、前記分析物の第1のエピトープと会合することができ、前記1つまたは複数の第2の捕捉剤は、前記分析物の第2のエピトープと会合することができる。ある特定の態様では、前記第1の複数の粒子は、前記第1のプレートに沿って配置され、前記第2の複数の粒子は、前記第2のプレートに沿って配置される。ある特定の態様では、前記第1の複数の粒子は、ガラスビーズ、磁気ビーズ、ポリスチレンビーズ、およびラテックス粒子からなる群より選択される。ある特定の態様では、前記第2の複数の粒子は、レポーター分子、蛍光性分子、色素分子、非選択性色素分子、およびレドックス反応性分子からなる群より選択される。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第1の捕捉剤と前記1つまたは複数の第2の捕捉剤のうち少なくとも1つは、前記分析物と特異的に会合することができる。ある特定の態様では、前記デバイスはさらに、前記スペース内に1つまたは複数のスペーサを含み、前記第1のプレートまたは前記第2のプレートのうちの少なくとも1つに沿って配置される。ある特定の態様では、前記1つまたは複数のスペーサは、前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の距離を決定する。ある特定の態様では、前記第1のプレートから前記第2のプレートへの方向に沿った前記1つまたは複数のスペーサの長さは、最大約500マイクロメートル、最大約250マイクロメートル、最大約100マイクロメートル、最大約90マイクロメートル、最大約80マイクロメートル、最大約70マイクロメートル、最大約60マイクロメートル、最大約50マイクロメートル、最大約40マイクロメートル、最大約30マイクロメートル、最大約25マイクロメートル、最大約20マイクロメートル、最大約15マイクロメートル、最大約10マイクロメートル、最大約5マイクロメートル、最大約4マイクロメートル、最大約3マイクロメートル、最大約2マイクロメートル、最大約1マイクロメートル、最大約0.5マイクロメートル、または最大約0.1マイクロメートルである。ある特定の態様では、前記第1のプレートから前記第2のプレートへの方向に沿った前記1つまたは複数のスペーサの長さは、前記試料中の前記1つまたは複数の細胞の平均的な直径よりもおおよそ短いかまたはおおよそ等しい。ある特定の態様では、前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分の厚さは、最大約500マイクロメートル、最大約250マイクロメートル、最大約100マイクロメートル、最大約90マイクロメートル、最大約80マイクロメートル、最大約70マイクロメートル、最大約60マイクロメートル、最大約50マイクロメートル、最大約40マイクロメートル、最大約30マイクロメートル、最大約25マイクロメートル、最大約20マイクロメートル、最大約15マイクロメートル、最大約10マイクロメートル、最大約5マイクロメートル、最大約4マイクロメートル、最大約3マイクロメートル、最大約2マイクロメートル、最大約1マイクロメートル、最大約0.5マイクロメートル、最大約0.1マイクロメートル、または最大約0.05マイクロメートルである。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、様々な形状を有する。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、約500マイクロメートル、約250マイクロメートル、約100マイクロメートル、約90マイクロメートル、約80マイクロメートル、約70マイクロメートル、約60マイクロメートル、約50マイクロメートル、約40マイクロメートル、約30マイクロメートル、約25マイクロメートル、約20マイクロメートル、約15マイクロメートル、約10マイクロメートル、約5マイクロメートル、約4マイクロメートル、約3マイクロメートル、約2マイクロメートル、約1マイクロメートル、約0.5マイク

10

20

30

40

50

ロメートル、約0.1マイクロメートル、または約0.05マイクロメートルの最大寸法を有する。ある特定の態様では、前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞は、コンフルエントではない単一層として実質的に配置される。ある特定の態様では、前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞は、浮遊状態にある。ある特定の態様では、前記決定する工程は、前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分を含む領域のうちの1つまたは複数の画像を取得することを含み、前記画像化された領域は、前記複数の粒子の少なくとも1つを含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第1の値は、前記粒子によって放出されるエネルギーの強度に対応する。ある特定の態様では、方法は、前記試料を、前記1つまたは複数の細胞と会合することができる細胞用色素と接触させることをさらに含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第2の値は、前記細胞用色素によって放出されるエネルギーの強度に対応する。ある特定の態様では、方法は、前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の関連性を決定するためにアルゴリズムを使用する工程をさらに含む。ある特定の態様では、方法は、前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の前記関連性に基づいて、前記試料が取得された対象における感染症のレベルを分類する工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記感染症は、ウイルス感染症、細菌感染症、またはこれらの組み合わせである。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の細胞は、白血球 (white blood cell)、白血球 (leukocyte)、顆粒球、無顆粒球、骨髄系細胞、リンパ球系細胞、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、および単球からなる群より選択される。ある特定の態様では、前記分析物は、ポリペプチド、タンパク質、タグ付けされたタンパク質、融合タンパク質、抗体、小分子、ウイルス粒子、細菌、C反応性タンパク質、およびその任意のフラグメントからなる群より選択される。ある特定の態様では、方法は、前記試料の少なくとも一部分を、前記1つまたは複数の捕捉剤と会合することができる競合検出剤と接触させる工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記競合検出剤は、前記分析物とともに前記1つまたは複数の捕捉剤に競合的に結合する。ある特定の態様では、方法は、前記試料の少なくとも一部分を前記分析物と会合することができる補助的な検出剤と接触させる工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の捕捉剤は、前記分析物の第1のエピトープと会合することができ、前記補助的な検出剤は、前記分析物の第2のエピトープと会合することができる。ある特定の態様では、前記方法は、約10秒未満、約20秒未満、約30秒未満、約40秒未満、約50秒未満、約60秒未満、約120秒未満、約180秒未満、約240秒未満、約300秒未満、約400秒未満、約500秒未満、約1000秒未満、または約2000秒未満で実施する。ある特定の態様では、前記方法は、前記試料の少なくとも一部分を洗浄バッファに接触させる工程を含まない。ある特定の態様では、方法は、任意の洗浄する工程の非存在下で行われる。ある特定の態様では、第1および第2のプレートは、手で一緒に押圧される。ある特定の態様では、非細胞分析物は、ポリペプチド、核酸、または代謝産物である。ある特定の態様では、試料は、体液である。ある特定の態様では、体液は、羊水、房水、硝子体液、血液、全血、画分血液、血漿、血清、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、鼻漏、痰、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、および呼気凝縮物を含む。ある特定の態様では、方法は、結果に基づいて疾患を診断する工程をさらに含む。ある特定の態様では、疾患は、がん、炎症性疾患、または感染性疾患である。ある特定の態様では、方法は、複数の異なる非細胞分析物を検出する。

【0025】

ある特定の態様では、本開示は、

第1のプレート、第2のプレート、1つまたは複数の粒子、および捕捉剤を含む、液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのキットであって、

第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し

10

20

30

40

50

、
粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、それらの表面に付着された捕捉剤を有し、
捕捉剤が非細胞分析物に特異的に結合し、
開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、粒子の少なくとも1つが、試料の少なくとも一部の中にある、

閉鎖構成において、(i)1つまたは複数の標的細胞が、互いに実質的に重ならず、(ii)粒子が、互いに実質的に重ならないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成されている、キット
を提供する。

10

【0026】

ある特定の態様では、本開示は、以下のデバイスを含むキットを提供する：

第1のプレートと、第2のプレートと、その表面に取り付けられた捕捉剤を有する1つまたは複数の粒子を含む、試料を接触させるために第1のプレートと第2のプレートのうちの一方または両方に配置された試料接触領域とを含むデバイスであって、

第1のプレートおよび第2のプレートは、開放構成または閉鎖構成へと互いに相対的に移動可能であり、

20

開放構成は、第1のプレートおよび第2のプレートが、試料をそれらの間に付着させることができようになくとも部分的に分離される構成であり、

閉鎖構成は、第1のプレートが第2のプレートの上部に配置されることにより、第1のプレートと第2のプレートとの間の試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する構成である、デバイス。

【0027】

ある特定の態様では、キットは、デバイスを使用するための命令をさらに含む。ある特定の態様では、試料は、1つまたは複数の標的細胞を含む。ある特定の態様では、試料は、1つまたは複数の非細胞分析物を含む。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、0.2um~100umの直径を有する。ある特定の態様では、捕捉剤は、非細胞分析物に結合する。ある特定の態様では、試料の少なくとも一部は、第1のプレートおよび第2のプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮される。ある特定の態様では、試料の少なくとも一部は、プレートに対して実質的に停滞している。ある特定の態様では、(i)1つまたは複数の標的細胞が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii)1つまたは複数の標的細胞間で実質的な重なりを有しないように、閉鎖構成における試料厚さが構成されている。ある特定の態様では、(i)粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii)粒子間で実質的な重なりを有しないように構成された幾何学的形状(形状およびサイズ)を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、(i)粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii)粒子間で実質的な重なりを有しないように構成された密度を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、デバイスは、第1のプレートと第2のプレートのうちの一方または両方に、スペーサをさらに含む。ある特定の態様では、存在する場合、競合アッセイにおける分析物に対する捕捉剤に結合するために、分析物と競合するための標識された競合検出剤を、デバイスはさらに含む。ある特定の態様では、デバイスは、非競合アッセイにおいて分析物の付加的な結合部位に特異的に結合する標識された検出剤をさらに含み、付加的な結合部位は、捕捉剤による結合部位とは異なる結合部位である。ある特定の態様では、デバイスは、試料が2つのプレート間にありかつプレートが閉鎖構成にある場合に、標的細胞および非細胞分析物を画像化するイメージャをさらに含む。

30

40

【0028】

参照による組み込み

50

本明細書において挙げられるすべての刊行物、特許、および特許出願は、個々の刊行物、特許、または特許出願それぞれが参照により組み込まれることが明確かつ個別に示される場合と同じ程度に、参照によって本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0029】

当業者は、以下に記載される図面が、単に例示目的のためであることを理解するであろう。いくつかの図面において、図面は縮尺どおりである。実験データ点を提示する図では、データ点をつなぐ線は、単にデータの表示を示すためのものであり、他の意味はない。明確さの目的で、図面中に示す場合は、いくつかの要素が拡大される。図面は、要素を厳密な比率で示すように意図されたものではないことに留意されたい。要素の寸法は、参照によって提供されて組み込まれる本明細書の記載から表されるべきである。図面は、決して本発明の範囲を限定することを意図していない。

10

【0030】

【図1A】本発明の例示的なプロセスの一部を示す概略図を提供する。

【図1B】本発明の例示的なプロセスの一部を示す概略図を提供する。

【図2】本発明の例示的なプロセスの一部を示す概略図を提供する。

【図3】本発明の例示的なプロセスの一部を示す概略図を提供する。

【図4】本発明の例示的なプロセスの一部を示す概略図を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0031】

20

詳細な説明

以下の詳細な説明は、発明のある特定の態様を、限定ではなく例として示している。もしあれば、本明細書で使用されるセクション見出しおよび任意の小見出しは、単に系統化する目的であって、決して記載された主題事項を限定するものとして解釈されるものではない。セクション見出しおよび/または小見出しの内容は、セクション見出しおよび/または小見出しに限定されるものではなく、本発明の記載全体に適用される。

【0032】

任意の刊行物の引用は、出願日より前のその開示に対するものであり、先行の発明によって、本特許請求の範囲がこのような刊行物に先立つ権利を有しないという容認として解釈すべきではない。さらに、提供される刊行物の日付は、個別に確認する必要がある実際の刊行日とは異なることがある。

30

【0033】

定義

特に定義されない限り、本明細書において使用されるすべての技術的および科学的な用語は、本開示が属する技術における当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似または均等の任意の方法および材料もまた、本教示の実施または試験において使用されるが、いくつかの例示的な方法および材料をここで説明する。

【0034】

「非細胞分析物」および「分析物」という用語は、分析物が細胞でない限り、交換可能である。

40

【0035】

「標的細胞」および「分析物」という用語は、分析物が細胞である限り、交換可能である。

【0036】

本明細書において使用される場合、「単一層」という用語は、層の方向で見た場合に、細胞とビーズとの著しい重なりを有しない、細胞またはビーズの層を指すことがある。

【0037】

「取り付ける」、「結合する」、「連結する」、および「繋ぐ」という用語は、交換可能に使用され、共有結合相互作用（例えば、化学的に連結することによる）、または非共

50

有結合相互作用（例えば、イオン性相互作用、疎水性相互作用、水素結合、ハイブリダイゼーション等）、または、表面上で乾燥された分子もしくは細胞を指す。「特定の」、「特異的に」、または「特異性」という用語は、複数の他の分子のうちのいずれかとの第1の分子の、認識、接触、および形成と比較した、第1の分子と第2の分子との間の安定複合体の優先的な認識、接触、および形成を指す（例えば、第1の分子（捕捉剤など）と、複数の他の分子のうちのいずれか（分析物など）との間の安定複合体の、認識、接触、および形成が、実質的に少ないかまたは無い。）

【0038】

高速の、並行での細胞または非細胞分析物の均質な染色

細胞および非細胞分析物を並行して画像化および/または分析することは、対象がある病態（例えば、ウイルスまたは細菌感染症）を有するかどうかを決定する際に有用なツールとなり得る。いくつかの態様では、細胞および非細胞分析物は、同時に画像化および/または分析することができる（例えば、細胞および非細胞分析物の量は、単一の画像または視野を使用して決定することができる）。いくつかの態様では、細胞および非細胞分析物は、順次画像化および/または分析することができる（例えば、第1の画像または第1の視野を使用して細胞の量を決定することができ、第2の画像または第2の視野を使用して非細胞分析物の量を決定することができる）。いくつかの態様では、単一の画像または視野を使用して、細胞および/または非細胞分析物に対応する1つまたは複数の量を決定することができる。いくつかの態様では、2つ以上の画像または視野を使用して、細胞および/または非細胞分析物に対応する1以上の量を決定することができる。

10

20

【0039】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスは、

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、および捕捉剤を含み、
(a) 第1のプレートおよび第2のプレートは、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

(b) プレートの各々は、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し、

(c) スペーサは、均一な高さを有する柱の周期的なアレイを含み、第1のプレートに固定され、

30

(d) 粒子は、0.2um~100umのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され、

(e) 捕捉剤は、粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さが、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

40

試料の適切な試料体積は、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成されている。

【0040】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのデバイスであって、

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、および捕捉剤を含み、
(a) 第1のプレートおよび第2のプレートは、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

50

(b) プレートの各々は、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料に接触するための試料接触領域を有し、

(c) スペーサは、150um以下の均一な高さを有する柱のレイを含み、第1のプレートに固定され、

(d) 粒子は、0.2um~100umのサイズを有し、開放構成では、第1のプレートの試料接触領域においてランダムに分散され、

(e) 捕捉剤は、粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部は、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞しており、

閉鎖構成において、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状は、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがなく、層の均一な厚さは、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

適切な試料体積は、試料の一部または全体積であり、適切な試料体積は、非細胞分析物および標的細胞をアッセイするために分析され、適切な試料体積中の粒子数は、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成される。

【0041】

液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするための装置であって、

第1のプレート、第2のプレート、複数のスペーサ、複数の粒子、捕捉剤、イメージャ、およびプロセッサを含み、

(a) 第1のプレートおよび第2のプレートは、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

(b) プレートの各々は、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有する試料に接触するための試料接触領域を有し、

(c) 粒子は、0.2um~100umのサイズを有し、閉鎖構成では、試料中でランダムに分散され、

(d) スペーサは、150um以下の均一な高さを有する柱のレイを含み、第1のプレートに固定され、

(e) 捕捉剤は、粒子に取り付けられ、ここで捕捉剤は、非細胞分析物に特異的に結合し、非細胞分析物は、標識された非細胞分析物を形成する光標識に結合することができ、

(f) イメージャは、適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮り、

(g) (i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、(ii) 標的細胞分析物を検出するために、少なくとも1つの画像を処理するようにプロセッサが構成され、

開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、適切な試料体積は、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さは、プレートによって限定されかつプレートおよびスペーサによって調節され、

閉鎖構成において、1つまたは複数の標的細胞間、粒子間、および標的細胞と粒子との間で著しい重なりがないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成され、

適切な試料体積は、試料の一部または全体積であり、適切な試料体積中の粒子数は、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成され、

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、(ii) 標的細胞分析物を検出するために、少なくとも1つの画像を処理するようにプロセッサ

10

20

30

40

50

が構成されている。

【0042】

スペーサが、周期的なアレイである、先行する請求項のいずれかに記載のデバイス。

【0043】

液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、

- (a) 請求項1に記載のデバイスを有する工程と、
 - (b) 1つまたは複数の標的細胞と非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料を有する工程と、
 - (c) 非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する工程と、
 - (d) 開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と、
 - (e) 工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
 - (f) 光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、
 - (g) (i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程と
- を含む、方法。

10

【0044】

液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイするための方法であって、

- (a) 請求項2に記載のデバイスを有する工程と、
 - (b) 1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料を有する工程と、
 - (c) 非細胞分析物を結合し標識された非細胞分析物を形成することができる光標識を有する工程と、
 - (d) 開放構成で、デバイスの試料接触領域について試料を付着させる工程と、
 - (e) 工程(d)の後に、デバイスを閉鎖構成にする工程であって、それにより、試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
 - (f) 光標識および標的細胞を画像化することができるイメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、
 - (g) プロセッサを使用して、(i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために、少なくとも1つの画像を分析する工程と
- を含み、

20

30

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、(ii) 標的細胞分析物を検出するために、少なくとも1つの画像を処理するようにプロセッサが構成されている、方法。

【0045】

一般的に、細胞または非細胞分析物の量は、試料内の細胞または非細胞分析物の数に対応し得る。しかしながら、いくつかの態様では、細胞または非細胞分析物の量は、試料内の細胞または非細胞分析物の濃度に対応し得る。いくつかの態様では、細胞または非細胞分析物の量は、細胞または非細胞分析物の画分(例えば、所定のサイズまたは形状を有する細胞の画分)に対応し得る。

40

【0046】

分析物は、一般的に、病態の存在または非存在に関連付けられた任意の分子であり得る。分析物の非限定的な例は、アルファ・フェトプロテイン、前立腺特異抗原、心筋トロポニン、C反応性タンパク質(CRP)、またはヒト絨毛性ゴナドトロピン、発がん物質、インフルエンザウイルス、HPV、HBV、HCV、EBV、HIV、HSV、FeLV、FIV、ハンタウイルス、HTLV I、HTLV II、またはCMV感染症に対するマーカー、細菌感染症に対するマーカー、真菌感染、または寄生虫感染症に対するマーカーを含む。細胞は、身体の任意の細胞であり得る。いくつかの態様では、細胞は、免疫系の細胞を指すことがある。免疫系の細胞の非限

50

定的な例は、白血球 (white blood cell)、白血球 (leukocyte)、顆粒球、無顆粒球、骨髄系細胞、リンパ球系細胞、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、および単球を含む。

【0047】

本開示の態様は、試料中の (i) 細胞の量および (ii) 非細胞分析物の量を、検出するかまたは決定することを含み得る。いくつかの態様では、方法は、試料中の細胞の量および非細胞分析物の量に基づいて、対象が病態を有するかどうかを決定する工程をさらに含む。いくつかの態様では、病態は、試料中の細胞または非細胞分析物の量における変化を生じさせる病態であるだろう。本開示のいくつかの態様では、試料中の細胞および非細胞分析物を分析することは、分析される試料が免疫系障害を有する対象から取得されたかどうかを決定するために使用され得る。本明細書において使用される「免疫系疾患または障害」は、免疫系における欠陥によって生じる病的状態を指すことがある。ヒトが重篤な欠陥のある免疫系を持って生まれた場合、ウイルス、細菌、真菌、または寄生虫による感染症による死が起こり得る。重症複合免疫不全において、酵素の欠落は、毒性廃棄物を免疫系細胞の内部で蓄積させ、それら免疫系細胞を殺し、よって免疫系を破壊することを意味し得る。免疫系細胞の欠如はまた、ディジョージ症候群の基となる、すなわち、胸腺の不適當な発達は、T細胞生成が減少していることを意味し得る。他の大部分の免疫系障害は、過剰な免疫応答または「自己免疫性の攻撃」のいずれかから生じる。例えば、喘息、家族性地中海熱、およびクローン病 (炎症性腸疾患) は、すべて免疫系の過剰反応から生じる一方、多腺性自己免疫症候群、および糖尿病のいくつかの局面は、「自己」細胞および分子を攻撃する免疫系に起因する。免疫系の役割の鍵となる部分は、侵入者と身体自身の細胞とを見分けることであり、この区別を行うのに失敗すると、「自己」細胞および分子に対する反応が、自己免疫疾患を生じさせる。

10

20

【0048】

本開示のいくつかの態様では、試料中の細胞および非細胞分析物を分析することは、分析される試料が代謝性疾患を有する対象から取得されたかどうかを決定するために使用され得る。本明細書において使用する場合、「代謝性疾患または障害」は、代謝性のプロセスにおけるエラーによって生じる病的状態を指すことがある。代謝は、ミネラルやビタミンにより支援される酵素反応によって、身体がエネルギーを得て、食物由来の脂肪、炭水化物、およびタンパク質から必要とする他の分子を合成する手段であり得る。この系におけるエラーに耐える、ある有意な水準があり、多くの場合、1つの酵素における変異は、個々が疾病を患う可能性があることを意味しない。複数の異なる酵素が、同じ分子を修飾するために競合してもよく、様々な代謝中間体に対して同じ最終結果を達成するための、複数の方法があってもよい。重要な酵素が不能になるかまたは代謝経路に対する制御メカニズムが影響をうけた場合は、疾患が起こり得る。

30

【0049】

本開示のいくつかの態様では、試料中の細胞および非細胞分析物を分析することは、分析される試料が筋肉または骨の疾患を有する対象から取得されたかどうかを決定するために使用され得る。本明細書において使用する場合、「筋肉および骨の疾患または障害」は、筋肉および結合組織の形成および機能にとって重要な遺伝子における欠陥によって生じる病的状態を指すことがある。結合組織は、本明細書において、骨、軟骨、および腱を含む幅広い用語として使用される。例えば、フィブリリン (組織を強くまたしなやかに作る際に重要な結合組織タンパク質) における欠陥は、マルファン症候群を生じさせるが、一方でダイアストロフィー性骨異形成症は、軟骨において見られる硫酸塩輸送体における欠陥によって生じる。

40

【0050】

本開示のいくつかの態様では、試料中の細胞および非細胞分析物を分析することは、分析される試料が神経系疾患を有する対象から取得されたかどうかを決定するために使用され得る。神経系疾患は、中枢神経系、すなわち、脳、および末梢神経系を含む神経系における欠陥によって生じる病的状態を指すことがある。脳および末梢神経系は、筋肉、感覚

50

、言語、記憶、思考、および感情を調整する能力がある電気信号の複雑なネットワークを形成する。神経系に直接影響するいくつかの疾患は、遺伝的な要素を有しており、一部は単一遺伝子における変異に起因し、その他は、遺伝の、より複雑な機序を有することが確認されている。

【0051】

本開示のいくつかの態様では、試料中の細胞（例えば、白血球）および非細胞分析物（例えば、発がん物質）を分析することを使用して、分析される試料が、がんを有する対象から取得されたかどうかを決定し得る。対象は、任意のタイプのがんを有することがある。がんの例は、副腎がん、肛門がん、基底細胞がん、胆管がん、膀胱がん、血液のがん、骨がん、脳腫瘍、乳がん、気管支がん、心血管系のがん、子宮頸がん、大腸がん、結腸直腸がん、消化器系のがん、内分泌系のがん、子宮内膜がん、食道がん、眼のがん、胆嚢がん、胃腸腫瘍、腎臓がん、造血器腫瘍、喉頭がん、白血病、肝臓がん、肺がん、リンパ腫、メラノーマ、中皮腫、筋肉系のがん、骨髄異形成症候群（MDS）、ミエローマ、鼻腔がん、上咽頭がん、神経系のがん、リンパ系のがん、口腔がん、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、陰茎がん、下垂体腫瘍、前立腺がん、直腸がん、腎盂がん、生殖器系のがん、呼吸器系のがん、サルコーマ、唾液腺がん、骨格系のがん、皮膚がん、小腸がん、胃がん、精巣がん、咽頭がん、胸腺がん、甲状腺がん、腫瘍、泌尿器系のがん、子宮がん、膣がん、または外陰がんを含み得るが、これらに限定されない。用語「リンパ腫」は、B細胞リンパ腫（例えば、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、または原発性中枢神経系リンパ腫）またはT細胞リンパ腫（例えば、前駆Tリンパ芽球性白血病、または末梢性T細胞リンパ腫）を含む任意のタイプのリンパ腫を指してもよい。用語「白血病」は、急性白血病または慢性白血病を含む任意のタイプの白血病を指してもよい。白血病のタイプは、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、急性未分化型白血病、または慢性リンパ性白血病を含む。いくつかの場合において、がん患者は特定のタイプのがんを有しない。例えば、いくつかの例において、患者は、乳がんでないがんを有することがある。

10

20

30

40

50

【0052】

コンジュゲートされたレポーター分子を有する捕捉剤は、細胞および/または非細胞分析物を検出するために使用され得る。例えば、アクリジンオレンジは、試料中の白血球を染色するために使用され得る。レポーター分子の非限定的な例は、シアニン5（Cy5）、ヒスチジン（His）、V5、FLAG、インフルエンザヘマグルチニン（HA）、Myc、VSV-G、およびチオレドキシシン（Trx）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）、ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ（HRP）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）ベータ-ガラクトシダーゼ、ベータ-グルクロニダーゼ、ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質（GFP）、HcRed、DsRed、シアン蛍光タンパク質（CFP）、黄色蛍光タンパク質（YFP）、および青色蛍光タンパク質を含む自家蛍光タンパク質（BFP）を含む。例えば、GFPとコンジュゲートした抗CRP抗体（例えば、捕捉剤）は、試料中のCRPの存在または量を決定するために使用され得る。

【0053】

染色試薬（例えば、色素）は、細胞（例えば、有核細胞）を検出可能にするために使用され得る。例えば、試料は、アクリジンオレンジ（AO）、いくつかの細胞質の成分とともに生細胞の核を染色することができる色素により染色され得る。アクリジンオレンジは、DNAに結合した場合、490nmでの吸収ピークを有し、520nmで発光する。他の蛍光色素、例えば、Hoechst 33258やHoechst 33342が使用され得る。一般的に、細胞、細胞質、細胞核の材料、または核自体を非特異的に染色する任意の蛍光色素が使用され得る。これらの色素は、本明細書において「非特異性の蛍光色素」と呼ばれる。いくつかの態様では、捕捉剤または染色試薬は、第1のプレートおよび/または第2のプレートのうちの1つまたは複数の表面上にコーティングされ得る。第1のプレートまたは第2のプレートのうちの1つまたは複数の表面上に捕捉剤または染色試薬をコーティングすることは、試料を分析するた

めにユーザによって実施される工程の数を減らすのに有用であり得ると考えられる。例えば、第1のプレートが細胞染色試薬によりコーティングされた場合、ユーザは単に、QMAXカード上にまたはその中に（例えば、試料接触領域内に）試料を置くだけでよい。細胞染色試薬との接触の際、試料内の細胞は、自動的に（例えば、ユーザ介入なしで）染色され得る。ユーザによって実施される工程数の低減は、エラー（例えば、ヒューマンエラー）を減らして、データ分析の精度を高め、試料を分析するのに必要な時間の量を低減させることができる。いくつかの態様では、第1のプレートの1つまたは複数の表面上に捕捉剤をコーティングすることができ、第2のプレートの1つまたは複数の表面上に染色試薬をコーティングすることができる。別の態様では、捕捉剤および染色試薬は、第1のプレートまたは第2のプレートのうちいずれかの、1つまたは複数の表面上にコーティングすることができる。また別の態様では、捕捉剤および染色試薬は、第1のプレートおよび第2のプレートの両方の、1つまたは複数の表面上にコーティングされ得る。

【0054】

一例において、CRP（C反応性タンパク質）は通常、健康な人間の血液中に非常に低い濃度（ $<1\mu\text{g/mL}$ ）で存在する。細菌感染症では、CRP濃度は際立って高まる（ $>10\mu\text{g/mL}$ ）のに対し、ウイルス感染症では、通常非常に控えめなCRP上昇を引き起こすだけであるか、または上昇は全くない。したがって、CRPは、細菌感染症とウイルス感染症を臨床上区別するためのバイオマーカーとして使用され得る。本カテゴリーにおける他のバイオマーカーは、白血球（WBC）計数、リンパ球（LYM）計数、およびPCT（プロカルシトニン）等を含む。

【0055】

細胞および非細胞分析物の量を分析することは、細胞（例えば、白血球）の数を決定することと、非細胞分析物（例えば、CRP）の数を決定することと、分析される試料が取得された対象が病態を有するかどうかを決定するために1つまたは複数の参照値に対してこれらの値を比較することとを含み得る。いくつかの態様では、細胞および非細胞分析物の量を分析することは、細胞の量と非細胞分析物の量との比率を決定することと、分析される試料が取得された対象が状態を有するかどうかを決定するために比率と参照値を比較することとを含み得る。いくつかの態様では、健康な対象または病態を有する対象から取得された測定値（例えば、細胞の量または非細胞分析物の量）は、データベースに記憶され、将来の測定値が比較される参照値を決定するために使用されてもよい。

【実施例】

【0056】

実施例1．高速の、並行での細胞または非細胞分析物の均質な染色

ここで、CRP、WBC、およびLYMレベルまたは計数を60秒で報告するOne-Step combo血液検査を記載する。3つの検査の組み合わせ（CRP、WBC、およびLYM）は、結果として、非常に高い感度および特異性となって、細菌感染症をウイルス感染症と区別するので、したがって抗生物質投与に大変役立つ。

【0057】

本実験において、免疫アッセイのためのデバイスは、第1のプレートおよび第2のプレートを含む。図3、パネル1に示されるように、捕捉抗体はまず、磁気ビーズにコンジュゲートされる。次に、パネル2に示されるように、1つのXプレートが、WBC染色試薬と混合された、抗体とコンジュゲートされたビーズによってコーティングされる。パネル3に示されるように、第2のXプレートがその後、標識された抗CRP検出抗体によりコーティングされる。パネル4では、個々のXプレートの調製の後に、Qカードは1滴の血液を受ける準備ができています。パネル5に示されるように、1滴の全血を加えた後に、Xプレートが迅速に一緒に押圧されると、試薬が溶けてアッセイが始まる。続いて、パネル6に示されるように、30秒が経過した後、WBC計数およびCRP濃度についてアッセイが分析され得る。

【0058】

実験を、以下の材料を使用して行った：抗ヒトCRPウサギポリクローナル抗体（Abcam）、PureProteome NHS FlexiBind磁気ビーズ（Millipore）、ヒトCRP分析物（Fitzgerald）

、4% BSA、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）、PBS-Tween 20（PBST）、10 μ mのスペーサを有するXプレート、全血、およびアクリジンオレンジ。

【0059】

実験を以下の手順にしたがって行った。

【0060】

1. 抗CRP捕捉抗体のビーズへのコンジュゲーション

NHS活性化ビーズ（Millipore、直径10 μ m）は、製造者のプロトコルにしたがって、抗CRPマウスモノクローナル捕捉抗体（Fitzgerald）にコンジュゲートされる。

【0061】

2. ビーズのプロッキング

抗体とコンジュゲートされたビーズを、PBS中の4% BSAを使用して4時間一晩ブロックする。翌日、使用前にビーズをPBSTによって6回洗浄する。

【0062】

3. 第1のプレートのコーティング

25 μ g/mLアクリジンオレンジ（AO、WBC染色試薬）を有するまたは有しない、工程2からの抗体とコンジュゲートされたビーズの1 μ L（ビーズ濃度10⁷~10⁸/mL）を、Qカードに滴下して室温で空気乾燥する。

【0063】

4. 均質なBESTアッセイ

新鮮な全血の1 μ Lと、Cy5で標識された抗CRPマウスモノクローナル検出抗体（Fitzgerald）の1 μ Lを一緒に混合し、その後、乾燥した、抗体とコンジュゲートされたビーズで占有された、Qカードの同じ領域の上部に滴下する。混合物は直ちに、10 μ mの柱を含有する第2のXプレートによって覆われる。アッセイは、画像化の前に30秒間インキュベートされる。

【0064】

5. 画像化

洗浄することなく、iPhone 6を使用して異なる波長で2つの蛍光画像を撮り、WBCの染色信号または抗CRP検出抗体からの信号のいずれかを観測する。

【0065】

実験の目的の1つは、細菌と区別することである。

【0066】

実施例2

別の実験では、免疫アッセイのためのデバイスは、第1のプレートおよび第2のプレートを含む。図3、パネル1に示されるように、捕捉抗体はまず、ビーズにコンジュゲートされる。次に、パネル2に示されるように、1つのXプレートが、抗体とコンジュゲートされたビーズによりコーティングされる。パネル3に示されるように、第2のXプレート（すなわち、柱スペーサを有するプレート）がその後、標識された抗CRP検出抗体によりコーティングされる。パネル4では、個々のXプレートの調製の後に、Qカードは、WBC染色試薬と混合された1滴の血液を受ける準備ができています。パネル5に示されるように、WBC染色試薬と混合された1滴の全血を加えた後に、Xプレートが迅速に閉鎖構成へと一緒に押圧されると（すなわち、試料厚さがプレートおよびスペーサによって調節されると）、プレート上のビーズが試料と混合され、標識された抗CRP検出抗体が試料中に溶解、試薬が溶けてアッセイが始まる。続いて、パネル6に示されるように、30秒が経過した後、試料中のWBC計数およびCRP濃度についてアッセイが分析され得るが、Qカードはその閉鎖構成にある（すなわち、閉鎖構成での試料ホルダーの後、洗浄を使用しない）。

【0067】

実施例3. 画像化および分析

局所読み取り手法では、図1に示されるように、1つまたは複数の粒子が、以下の2つの測定について測定されることになる：（a）粒子区域（SP）からの信号。これは、全粒子区域または粒子区域の指定領域からのものであり得る；（b）粒子周辺の領域の信号（局

10

20

30

40

50

所背景SB)。これは、粒子周辺の全領域または指定領域からのものであり得る。「周辺」の定義は、0.01D、0.1D、0.2D、0.5D、1D、2D、5D、10D、50D、または粒子の外側表面に対する任意の2つの値の間の範囲の距離であり、ここで、「D」は、粒子の平均的な直径である。各粒子についてのアッセイの真の信号(SA)は、 $SA = SP - SB$ として決定され得る。各CROF(SCROF)からのアッセイ信号は、複数の粒子の平均であり得る。これは、全CROFの全ての粒子またはCROFの指定領域における粒子であり得る(例えば、SCROF = 平均(SA1、SA2、SA3、...SAn))。

【0068】

ある特定の態様では、スペーサおよびピースは、おおよそ同じ高さを有している。ある特定の態様では、スペーサおよび標的細胞は、おおよそ同じ高さを有している。

10

【0069】

ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサは、第2のプレートの表面上に固定される。ある特定の態様では、複数の粒子は、0.2um~100umの直径を有する。ある特定の態様では、第1のプレートおよび第2のプレートが開放構成にある場合、第2のプレートの試料接触領域において複数の粒子はランダムに分散される。ある特定の態様では、捕捉剤は、光標識に付いた非細胞分析物を含む標識された標的分析物に、特異的に結合する。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサは、均一な高さを有する。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、粒子直径の少なくとも約0.8倍である。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、約200umより低い。ある特定の態様では、1つまたは複数のスペーサの均一な高さは、粒子直径の少なくとも約0.8倍~約200umである。ある特定の態様では、デバイスは、試料の適切な体積の画像を取得するためのイメージャをさらに含む。ある特定の態様では、適切な体積は、試料の少なくとも一部のうちの一部分または全体積であり、適切な体積中の粒子数は、閉鎖構成では、少なくとも10個となるように構成されている。ある特定の態様では、デバイスは、画像を処理するためのプロセッサをさらに含む。ある特定の態様では、処理することは、(i)少なくとも10個の粒子のうちの1つまたは複数の画像を分析することによって非細胞分析物を検出すること、および(ii)標的細胞分析物を検出すること、のうちの少なくとも1つを含む。

20

【0070】

ある特定の態様では、本開示は、
 液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイする方法であって、
 本開示のデバイスを有する工程と、
 開放構成において、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料をデバイス内に付着させる工程と、
 デバイスを閉鎖構成に配置する工程であって、それにより試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
 イメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、
 (i)標的細胞および/または(ii)非細胞分析物の存在または量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程
 を含む、方法

30

40

【0071】

ある特定の態様では、本開示は、
 液体試料中の細胞および非細胞分析物をアッセイする方法であって、
 本開示のデバイスを有する工程と、
 開放構成において、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有するかまたは含有する疑いのある試料をデバイス内に付着させる工程と、
 デバイスを閉鎖構成に配置する工程であって、それにより試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する、工程と、
 イメージャを使用して、試料の適切な試料体積の少なくとも1つの画像を撮る工程と、

50

プロセッサを使用して、(i) 標的細胞および/または(ii) 非細胞分析物の存在または量を検出するために少なくとも1つの画像を分析する工程を含み、

(i) 少なくとも10個の粒子の画像を分析することによって非細胞分析物を検出し、(ii) 標的細胞分析物を検出するために、少なくとも1つの画像を処理するようにプロセッサが構成されている、方法を提供する。

【0072】

ある特定の態様では、非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画像を分析することは、デジタル方式の計数によるものであり、デジタル方式の計数において、試料中の非細胞分析物の存在または量は、閾値を上回る光信号を有するピーズの数または割合から決定され、割合は、閾値を上回るピーズの数と、閾値を下回るピーズの数との比率である。ある特定の態様では、非細胞分析物の検出において、少なくとも10個の粒子の画像を分析することは、適切な試料領域におけるすべてのピーズからの光信号振幅から試料中の非細胞分析物の存在または量を決定するアナログ方式の計数によるものである。ある特定の態様では、デバイスまたは方法は、試料層の共通領域/体積の2つ以上の画像をさらに含み、試料層の共通領域は、1つまたは複数の粒子のうちの少なくとも1つの粒子を含有する試料の領域である。ある特定の態様では、デバイスまたは方法は、2つ以上の画像をさらに含み、少なくとも1つの画像は暗視野画像であり、少なくとも1つは明視野画像である。ある特定の態様では、試料層の厚さは、プレート間に標的細胞の単一層を生成するのに十分である。ある特定の態様では、試料層の厚さは、プレート間の1つまたは複数の標的細胞間に実質的な重なりを生成しないのに十分である。ある特定の態様では、(i) プレート間に粒子の単一層を生成し、(ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しないのに十分な幾何学的形状(形状およびサイズ)を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、(i) プレート間に粒子の単一層を生成し、(ii) プレート間の粒子間に実質的な重なりを生成しないのに十分な密度を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、試料をデバイスに付着させる前に、1つまたは複数の粒子が試料と混合される。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、試料の付着の前に、第1のプレートと第2のプレートのうちの少なくとも1つに配置され、その後デバイスへの試料の付着の際に、試料と混合される。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、様々な形状を有する。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、0.05um~100umの範囲内の最大寸法を有する。ある特定の態様では、存在する場合、分析物に対する捕捉剤に結合するために、非細胞分析物と競合する標識された競合検出剤を提供する工程を含む競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出される。ある特定の態様では、非細胞分析物の別の結合部位に特異的に結合する標識された検出剤を提供する工程を含む非競合アッセイを使用して、非細胞分析物が検出され、ここで他の結合部位は、捕捉剤による結合部位とは異なる結合セットである。ある特定の態様では、画像のうちの1つは、トポロジー(すなわち、幾何学的形状)および共通領域における粒子の位置の情報を含む直接的な画像であり、他の画像は、画像の主要な信号として、標識された競合検出剤からの信号を含むように構成された信号画像である。ある特定の態様では、試料ホルダーは、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能な第1および第2のプレートを含む。

【0073】

ある特定の態様では、本開示は、

対象のウイルス感染症または細菌感染症の診断のための方法であって、以下の工程を含む、方法を提供する：

第1のプレート、第2のプレート、および粒子に結合された1つまたは複数の捕捉剤を含む複数の粒子を含むデバイスを取得する工程であって、

前記複数の粒子が、実質的に単一層として、前記第1のプレートおよび前記第2のプレートのうち少なくとも1つに沿って配置され、

前記1つまたは複数の捕捉剤が、分析物と会合することができ、

10

20

30

40

50

プレートから前記第2のプレートへの方向に沿った前記1つまたは複数のスペーサの長さは、前記試料中の前記1つまたは複数の細胞の平均的な直径よりもおおよそ短いかまたはおおよそ等しい。ある特定の態様では、前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分の厚さは、最大約500マイクロメートル、最大約250マイクロメートル、最大約100マイクロメートル、最大約90マイクロメートル、最大約80マイクロメートル、最大約70マイクロメートル、最大約60マイクロメートル、最大約50マイクロメートル、最大約40マイクロメートル、最大約30マイクロメートル、最大約25マイクロメートル、最大約20マイクロメートル、最大約15マイクロメートル、最大約10マイクロメートル、最大約5マイクロメートル、最大約4マイクロメートル、最大約3マイクロメートル、最大約2マイクロメートル、最大約1マイクロメートル、最大約0.5マイクロメートル、最大約0.1マイクロメートル、または最大約0.05マイクロメートルである。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、様々な形状を有する。ある特定の態様では、前記複数の粒子は、約500マイクロメートル、約250マイクロメートル、約100マイクロメートル、約90マイクロメートル、約80マイクロメートル、約70マイクロメートル、約60マイクロメートル、約50マイクロメートル、約40マイクロメートル、約30マイクロメートル、約25マイクロメートル、約20マイクロメートル、約15マイクロメートル、約10マイクロメートル、約5マイクロメートル、約4マイクロメートル、約3マイクロメートル、約2マイクロメートル、約1マイクロメートル、約0.5マイクロメートル、約0.1マイクロメートル、または約0.05マイクロメートルの最大寸法を有する。ある特定の態様では、前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞は、コンフルエントではない単一層として実質的に配置される。ある特定の態様では、前記スペース内の前記1つまたは複数の細胞は、浮遊状態にある。ある特定の態様では、前記決定する工程は、前記スペース内の前記試料の前記少なくとも一部分を含む領域のうちの1つまたは複数の画像を取得することを含み、前記画像化された領域は、前記複数の粒子のうち少なくとも1つを含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第1の値は、前記粒子によって放出されるエネルギーの強度に対応する。ある特定の態様では、方法は、前記試料を、前記1つまたは複数の細胞と会合することができる細胞用色素と接触させる工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の第2の値は、前記細胞用色素によって放出されるエネルギーの強度に対応する。ある特定の態様では、方法は、前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の関連性を決定するためにアルゴリズムを使用する工程をさらに含む。ある特定の態様では、方法は、前記1つまたは複数の第1の値と前記1つまたは複数の第2の値との間の前記関連性に基づいて、前記試料が取得された対象における感染症のレベルを分類する工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記感染症は、ウイルス感染症、細菌感染症、またはこれらの組み合わせである。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の細胞は、白血球 (white blood cell)、白血球 (leukocyte)、顆粒球、無顆粒球、骨髄系細胞、リンパ球系細胞、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、および単球からなる群より選択される。ある特定の態様では、前記分析物は、ポリペプチド、タンパク質、タグ付けされたタンパク質、融合タンパク質、抗体、小分子、ウイルス粒子、細菌、C反応性タンパク質、およびその任意のフラグメントからなる群より選択される。ある特定の態様では、方法は、前記試料の少なくとも一部分を、前記1つまたは複数の捕捉剤と会合することができる競合検出剤と接触させる工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記競合検出剤は、前記分析物とともに前記1つまたは複数の捕捉剤に競合的に結合する。ある特定の態様では、方法は、前記試料の少なくとも一部分を前記分析物と会合することができる補助的な検出剤により接触させる工程をさらに含む。ある特定の態様では、前記1つまたは複数の捕捉剤は、前記分析物の第1のエピトープと会合することができ、前記補助的な検出剤は、前記分析物の第2のエピトープと会合することができる。ある特定の態様では、前記方法は、約10秒未満、約20秒未満、約30秒未満、約40秒未満、約50秒未満、約60秒未満、約120秒未満、約180秒未満、約240秒未満、約300秒未満、約400秒未満、約500秒未満、約1000秒未満、または約2000秒未満で実施される。ある特定の態様では、前記方法は、前記試料の少なくとも一部分を洗浄バッファーに接触させる工程を含まない。ある特定の態様では

10

20

30

40

50

、前記方法は、任意の洗浄する工程の非存在下で行われる。ある特定の態様では、第1および第2のプレートは、手で一緒に押圧される。ある特定の態様では、非細胞分析物は、ポリペプチド、核酸、または代謝産物である。ある特定の態様では、試料は、体液である。ある特定の態様では、体液は、羊水、房水、硝子体液、血液、全血、画分血液、血漿、血清、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、鼻漏、痰、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、および呼気凝縮物を含む。ある特定の態様では、方法は、結果に基づいて疾患を診断する工程をさらに含む。ある特定の態様では、疾患は、がん、炎症性疾患、または感染性疾患である。ある特定の態様では、方法は、複数の異なる非細胞分析物を検出する。

10

【0075】

ある特定の態様では、本開示は、

第1のプレート、第2のプレート、1つまたは複数の粒子、および捕捉剤を含む、液体試料中の標的細胞および非細胞分析物をアッセイするためのキットであって、

第1のプレートおよび第2のプレートが、開放構成および閉鎖構成を含む異なる構成へと互いに相対的に移動可能であり、

プレートの各々が、そのそれぞれの表面上に、1つまたは複数の標的細胞および非細胞分析物を含有する試料に接触するための試料接触領域を有し、

粒子が、0.2um~100umのサイズを有し、それらの表面に取り付けられた捕捉剤を有し、捕捉剤が、非細胞分析物に特異的に結合し、

20

開放構成は、2つのプレートが分離され、試料が一方または両方のプレートに付着される構成であり、

閉鎖構成は、開放構成での試料付着の後に構成される構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部が、2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、粒子の少なくとも1つが、試料の少なくとも一部の中にある、

閉鎖構成において、(i)1つまたは複数の標的細胞が、互いに実質的に重ならず、(ii)粒子が、互いに実質的に重ならないように、均一な厚さおよび粒子の幾何学的形状が構成されている。

30

【0076】

ある特定の態様では、本開示は、以下のデバイスを含むキットを提供する：

第1のプレートと、第2のプレートと、その表面に取り付けられた捕捉剤を有する1つまたは複数の粒子を含む、試料を接触させるために第1のプレートと第2のプレートのうちの一方または両方に配置された試料接触領域とを含むデバイスであって、

第1のプレートおよび第2のプレートは、開放構成または閉鎖構成へと互いに相対的に移動可能であり、

開放構成は、第1のプレートおよび第2のプレートが、試料をそれらの間に付着できるように少なくとも部分的に分離される構成であり、

閉鎖構成は、第1のプレートが第2のプレートの上部に配置されることにより、第1のプレートと第2のプレートとの間の試料の少なくとも一部分を、均一な厚さを有する層に圧縮する構成である、デバイス。

40

【0077】

ある特定の態様では、キットは、デバイスを使用するための命令をさらに含む。ある特定の態様では、試料は、1つまたは複数の標的細胞を含む。ある特定の態様では、試料は、1つまたは複数の非細胞分析物を含む。ある特定の態様では、1つまたは複数の粒子は、0.2um~100umの直径を有する。ある特定の態様では、捕捉剤は、非細胞分析物に結合する。ある特定の態様では、試料の少なくとも一部は、第1のプレートおよび第2のプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮される。ある特定の態様では、試料の少なくとも一部は、プレートに対して実質的に停滞している。ある特定の態様では、(i)1つまたは複数の標的細胞が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii)1つまたは複数の標的

50

細胞間で実質的な重なりを有しないように、閉鎖構成における試料厚さが構成されている。ある特定の態様では、(i) 粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii) 粒子間で実質的な重なりを有しないように構成された幾何学的形状(形状およびサイズ)を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、(i) 粒子が、プレート間に単一層を有するように、かつ(ii) 粒子間で実質的な重なりを有しないように構成された密度を、1つまたは複数の粒子が有する。ある特定の態様では、デバイスは、第1のプレートと第2のプレートのうちの一方または両方にスペーサをさらに含む。ある特定の態様では、存在する場合、競合アッセイにおける分析物に対する捕捉剤に結合するために、分析物と競合するための標識された競合検出剤を、デバイスはさらに含む。ある特定の態様では、デバイスは、非競合アッセイにおいて分析物の付加的な結合部位に特異的に結合する標識された検出剤をさらに含み、付加的な結合部位は、捕捉剤による結合部位とは異なる結合部位である。ある特定の態様では、デバイスは、試料が2つのプレート間にありかつプレートが閉鎖構成にある場合に、標的細胞および非細胞分析物を画像化するイメージャをさらに含む。

【0078】

QMAXシステム

A) QMAXカード

QMAXカードの詳細は、すべての目的のために、参照によって本明細書に組み込まれた国際出願PCT/US2016/046437(Essenlixドケット番号ESSN-028WO)を含む様々な刊行物において詳細に説明されている。

【0079】

I. プレート

本発明において、一般的に、CROFのプレートは、(i) スペーサと一緒に、試料の全体的積の一部分の厚さを調節するのに使用することができ、(ii) 試料、アッセイ、またはプレートが遂行しようとする意図する目標への著しい悪影響を有しない任意の材料から作られる。しかしながら、ある態様では、特定の材料(したがってそれらの特性)が、ある目的を達成するためにプレートに対して使用される。

【0080】

ある特定の態様において、2つのプレートは、以下のパラメータ: プレート材料、プレート厚さ、プレート形状、プレート面積、プレート可撓性、プレート表面特性、およびプレート光透過性、のそれぞれについて、同じまたは異なるパラメータを有する。

【0081】

(i) プレート材料

プレートは、単一材料、複合材料、複数材料、多層の材料、合金、またはこれらの組み合わせから作られる。プレートのための材料のそれぞれは、無機材料、有機材料、または混合物であり、材料の例が、Mat-1およびMat-2の段落に与えられる。

【0082】

Mat-1: プレートのための無機材料は、これらに限定されないが、ガラス、石英、酸化物、二酸化ケイ素、窒化ケイ素、酸化ハフニウム(HfO)、酸化アルミニウム(AlO)、半導体(シリコン、GaAs、GaN等)、金属(例えば、金、銀、銅、アルミニウム、Ti、Ni等)、セラミックス、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0083】

Mat-2: スペーサのための有機材料は、これらに限定されないが、ポリマー(例えば、プラスチック)または無定形の有機材料を含む。スペーサのためのポリマー材料は、これらに限定されないが、アクリレートポリマー、ビニルポリマー、オレフィンポリマー、セルロースポリマー、非セルロースポリマー、ポリエステルポリマー、ナイロン、環状オレフィンコポリマー(COC)、ポリ(メチルメタクリレート)(PMMA)、ポリカーボネート(PC)、環状オレフィンポリマー(COP)、液晶ポリマー(LCP)、ポリアミド(PA)、ポリエチレン(PE)、ポリイミド(PI)、ポリプロピレン(PP)、ポリ(フェニレンエーテル)(PPE)、ポリスチレン(PS)、ポリオキシメチレン(POM)、ポリエーテルエーテル

10

20

30

40

50

ケトン（PEEK）、ポリエーテルスルホン（PES）、ポリ（エチレンフタレート）（PET）、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、ポリ塩化ビニル（PVC）、ポリフッ化ビニリデン（PVDF）、ポリブチレンテレフタレート（PBT）、フッ化エチレンプロピレン（FEP）、ペルフルオロアルコキシアルカン（PFA）、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ゴム、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0084】

ある特定の態様において、プレートは、それぞれ独立して、ガラス、プラスチック、セラミック、および金属のうちの少なくとも1つから作られる。ある態様では、各プレートは、独立して、ガラス、プラスチック、セラミック、および金属のうちの少なくとも1つを含む。

10

【0085】

ある特定の態様において、一方のプレートは、横方向面積、厚さ、形状、材料、または表面処理において、他方のプレートとは異なる。ある態様では、一方のプレートは、横方向面積、厚さ、形状、材料、または表面処理において、他方のプレートと同じである。

【0086】

プレートのための材料は、剛性の、可撓性のある、または2つの間の何らかの可撓性を有する。剛性（すなわち、硬さ）または可撓性は、プレートを閉鎖構成にする際に使用される所与の圧力と相対的である。

【0087】

ある特定の態様において、剛性または可撓性のプレートの選択は、閉鎖構成での試料厚さの均一性を制御する必要性から決定される。

20

【0088】

ある特定の態様において、2つのプレートのうち少なくとも1つは、（光に対して）透明である。特定の態様では、一方のプレートまたは両方のプレートの少なくとも一部またはいくつかの部分が透明である。ある態様では、プレートは透明でない。

【0089】

(ii) プレート厚さ

ある特定の態様において、プレートの少なくとも一方についての平均的な厚さは、2nm以下、10nm以下、100nm以下、500nm以下、1000nm以下、2um（ミクロン）以下、5um以下、10um以下、20um以下、50um以下、100um以下、150um以下、200um以下、300um以下、500um以下、800um以下、1mm（ミリメートル）以下、2mm以下、3mm以下、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

30

【0090】

ある特定の態様において、プレートの少なくとも一方についての平均的な厚さは、最大3mm（ミリメートル）、最大5mm、最大10mm、最大20mm、最大50mm、最大100mm、最大500mm、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

【0091】

ある特定の態様において、プレートの厚さは、プレートにわたって均一ではない。異なる位置で異なるプレート厚さを用いることは、プレートの屈曲、褶曲、試料厚さ調節等を制御するのに使用され得る。

40

【0092】

(iii) プレート形状および面積

一般的に、プレートは、形状が試料の圧縮オープンフローおよび試料厚さの調節を可能にする限り、任意の形状を有し得る。しかしながら、ある態様では、特定の形状が有利であり得る。プレートの形状は、丸形、楕円形、矩形、三角形、多角形、輪形、またはこれらの形状の任意の重ね合わせであり得る。

【0093】

ある特定の態様において、2つのプレートは、同じサイズもしくは形状、または異なるものを有することがある。プレートの面積は用途に依存する。プレートの面積は、最大1m²（ミリメートル平方）、最大10mm²、最大100mm²、最大1cm²（センチメートル平方）、

50

最大5cm²、最大10cm²、最大100cm²、最大500cm²、最大1000cm²、最大5000cm²、最大10,000cm²、または10,000cm²超、または任意のこれら2つの値の間の何らかの構成である。プレートの形状は、矩形、四角、丸型等であり得る。

【0094】

ある特定の態様において、プレートのうち少なくとも一方は、幅、厚さ、および長さを有するベルト（またはストリップ）の形態にある。幅は、最大0.1cm（センチメートル）、最大0.5cm、最大1cm、最大5cm、最大10cm、最大50cm、最大100cm、最大500cm、最大1000cm、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。長さは、必要とされるだけの長さであり得る。ベルトはロール状に巻かれ得る。

【0095】

(iv) プレート表面平坦度

多くの態様において、プレートの内表面は、平坦または有意に平坦な平面である。ある態様では、2つの内表面は、閉鎖構成で互いに平行である。平坦な内表面は、閉鎖構成で、予め決定されたスペーサ高さを単純に使用することによって、試料厚さの定量化および/または制御を促進する。閉鎖構成で試料厚さを定量化および/または制御するために、プレートの平坦でない内表面について、スペーサ高さだけでなく、内表面の正確なトポロジを知る必要がある。表面トポロジを知ることは、さらなる測定および/または補正を必要とするが、これは複雑で、時間を消費し、かつ費用がかかることがある。

【0096】

プレート表面の平坦度は、最終試料厚さ（最終厚さは、閉鎖構成での厚さである）と相対的であり、しばしばプレート表面平坦度変動と最終試料厚さとの比率である「相対的な表面平坦度」という用語によって特徴付けられる。

【0097】

ある特定の態様において、相対的な表面は、0.01%未満、0.1%、0.5%未満、1%未満、2%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、50%未満、70%未満、80%未満、100%未満、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

【0098】

(v) プレート表面平行度

ある特定の態様では、プレートの2つの表面は互いに有意に平行である。ある特定の態様では、プレートの2つの表面は互いに平行でない。

【0099】

(vi) プレート可撓性

ある特定の態様では、プレートは、CROFプロセスの圧縮下で可撓性がある。ある態様では、両方のプレートが、CROFプロセスの圧縮下で可撓性がある。ある態様では、CROFプロセスの圧縮下で、一方のプレートは剛性で、別のプレートは可撓性がある。ある態様では、両方のプレートが剛性である。ある態様では、両方のプレートが可撓性であるが、異なる可撓性を有している。

【0100】

(vii) プレート光透過性

ある特定の態様において、プレートは光透過性がある。ある態様では、両方のプレートは光透過性がある。ある態様では、一方のプレートは光透過性があり、別のプレートは不透明である。ある態様では、両方のプレートは不透明である。ある態様では、両方のプレートは光透過性があるが、異なる光透過性を有する。プレートの光透過性は、プレートの一部または全領域を指すことができる。

【0101】

(viii) 表面湿潤特性

ある特定の態様において、プレートは、試料、移送液、または両方を湿潤させる内表面を有する（すなわち、接触角度は90度未満である）。ある態様では、両方のプレートは、試料、移送液、または両方を、同じまたは異なる湿潤性のいずれかにより湿潤させる内表面を有する。ある態様では、一方のプレートは、試料、移送液、または両方を湿潤させる

10

20

30

40

50

内表面を有し、別のプレートは、湿潤させない内表面を有する（すなわち、接触角度は90度以上である）。プレート内表面の湿潤は、プレートの一部または全領域を指すことがある。

【0102】

ある特定の態様において、プレートの内表面は、CROFの間、試料の横方向流れを制御するために、他のナノまたはマイクロ構造を有する。ナノまたはマイクロ構造は、これらに限定されないが、チャンネル、ポンプ等を含む。ナノまたはマイクロ構造はまた、内表面の湿潤特性を制御するためにも使用される。

【0103】

II. スペーサ

(i) スペーサの機能

本発明において、スペーサは、以下の機能および特性のうちの1つまたは任意の組み合わせを有するように構成されており、スペーサは、(1) プレートと一緒に、試料の厚さまたは適切な体積の試料を制御するように（好ましくは、厚さ制御は、関連領域にわたって正確であるか、または均一であるか、または両方である）、(2) 試料がプレート表面上に圧縮調節オープンフロー（CROF）を有するのを可能にするように、(3) 所与の試料面積（体積）において甚大な表面積（体積）をとらないように、(4) 試料中の粒子または分析物の沈降の影響を低減させるかまたは増大させるように、(5) プレートの内表面の湿潤性を変更および/または制御するように、(6) プレートの位置、サイズの縮尺、および/またはプレートに関する情報を識別するように、あるいは(7) 上記の任意の組み合わせを行うように構成されている。

【0104】

(ii) スペーサ構造および形状

所望の試料厚さの低減および制御を達成するために、特定の態様において、スペーサはそのそれぞれのプレートに固定されている。一般的に、スペーサがCROFプロセス中に試料厚さを調節することができる限り、スペーサは任意の形状を有し得るが、ある特定の機能、例えば、より良い均一性、押圧におけるより少ないオーバーシュート等を達成するために、特定の形状が好ましい。

【0105】

スペーサは、単一のスペーサまたは複数のスペーサ（例えば、アレイ）である。複数のスペーサの特定の態様は、スペーサのアレイ（例えば、柱）であり、ここで、スペーサ間距離は、周期的もしくは非周期的であり、または、プレートの特定の領域において周期的もしくは非周期的であり、または、プレートの異なる領域で異なる距離を有している。

【0106】

2種類のスペーサ（開放型スペーサおよび閉鎖型スペーサ）がある。開放型スペーサは、試料がスペーサを通して流れるのを可能にし（すなわち、試料はスペーサの周囲を流れて通過する。例えば、スペーサとしての支柱）、閉鎖型スペーサは、試料流れを止めるスペーサである（すなわち、試料はスペーサを越えて流ることができない。例えば、輪状スペーサで、試料は輪の内側にある）。両タイプのスペーサは、それらの高さを使用して、閉鎖構成における最終試料厚さを調節する。

【0107】

ある特定の態様において、スペーサは、開放型スペーサのみである。ある態様では、スペーサは、閉鎖型スペーサのみである。ある態様では、スペーサは、開放型スペーサおよび閉鎖型スペーサの組み合わせである。

【0108】

「柱スペーサ」という用語は、スペーサが柱形状を有するということを意味し、柱形状は、圧縮オープンフローの間、試料がその周囲を流れるのを可能にする高さおよび横方向形状を有する物体を指すことがある。

【0109】

ある特定の態様において、柱スペーサの横方向形状は、(i) 丸形、楕円形、矩形、三

10

20

30

40

50

角形、多角形、輪形、星形、文字形（例えば、L字形、C字形、A～Zの文字）、数字形（例えば、0、1、2、3、4～9のような形状）；（ii）少なくとも1つの丸みを帯びた角部を有する（i）群における形状；（iii）ジグザグまたは凸凹の縁部を有する（i）群からの形状；ならびに（iv）（i）、（ii）、および（iii）のうちの任意の重ね合わせの群から選択された形状である。複数のスペーサについて、異なるスペーサは、隣接するスペーサとは異なる横方向形状およびサイズならびに異なる距離を有し得る。

【0110】

ある特定の態様において、スペーサは、支柱、円柱、ビーズ、球、および/または他の適切な幾何学的形状であり得るおよび/またはこれらを含み得る。スペーサの横方向形状と寸法（すなわち、それぞれのプレート表面に対して横向き）は、特定の態様では、以下の制限：（i）スペーサ幾何学的形状が、試料厚さおよび体積を測定する際に著しい誤差を生じないこと；または（ii）スペーサ幾何学的形状が、プレート間の試料の流出を妨げない（すなわち、これが閉鎖型形態にない）ことを除いて、任意のものであり得る。しかし、ある態様では、試料流れを制限するために、いくつかのスペーサが閉鎖スペーサとなることが要求される。

10

【0111】

ある特定の態様において、スペーサの形状は、丸みを帯びた角部を有する。例えば、矩形形状のスペーサは、1つの、いくつかの、またはすべての角部が（90度の角度よりもむしろ丸のように）丸みを帯びている。丸みを帯びた角部は、しばしばスペーサの製造をより容易にし、一部の場合には生物学的材料に対する損害を少なくする。

20

【0112】

柱の側壁は、直線的な、湾曲した、傾いた、または側壁の異なる区画で異なる形状であり得る。ある態様では、スペーサは、様々な横方向形状、側壁、および柱高さとは柱横方向面積との比率の柱である。好ましい態様では、スペーサは、オープンフローを可能にするために柱形状を有している。

【0113】

（iii）スペーサの材料

本発明において、スペーサは一般的に、2つのプレートと一緒に、適切な体積の試料の厚さを調節するのに使用することが可能である任意の材料から作られている。ある態様では、スペーサのための材料は、プレートのためのものとは異なる。ある態様では、スペーサのための材料は、少なくとも1つのプレートのための材料の一部と少なくとも同じである。

30

【0114】

スペーサは、単一の材料、複合材料、複数材料、多層の材料、合金、またはこれらの組み合わせから作られている。スペーサのための材料のそれぞれは、無機材料、有機材料、または混合であり、材料の例は、Mat-1およびMat-2の段落で与えられている。好ましい態様では、スペーサは、CROFにおいて使用されるプレートと同じ材料で作られている。

【0115】

（iv）スペーサの機械的強度および可撓性

ある特定の態様において、スペーサの機械的強度は十分強いので、プレートの圧縮中および閉鎖構成でのスペーサの高さは、プレートが開放構成にあるときと同じまたは有意に同じである。特定の態様では、開放構成と閉鎖構成との間のスペーサ距離は、特徴付けられ、そして予め決定され得る。

40

【0116】

スペーサのための材料は、剛性である、可撓性がある、またはこれら2つの間の任意の可撓性である。剛性は、プレートを閉鎖構成にするのに使用される所与の圧力に相対的であり、スペーサが、圧力下でその高さの1%より大きく変形しない場合、スペーサ材料は剛性とみなされ、そうでなければ可撓性とみなされる。スペーサが可撓性材料から作られた場合、閉鎖構成での最終試料厚さは、依然として圧力およびスペーサの機械的特性から予め決定され得る。

50

【0117】

(v) 試料内のスペーサ

所望の試料厚さの低減および制御を達成するために、特に良好な試料厚さの均一性を達成するために、特定の態様において、試料または適切な体積の試料内にスペーサが配置される。ある態様では、適したスペーサ間距離により、試料または適切な体積の試料内に1つまたは複数のスペーサがある。ある態様では、スペーサの少なくとも1つが試料内にあり、スペーサの少なくとも2つが試料もしくは適切な体積の試料内にあり、または少なくとも「n」個のスペーサが試料もしくは適切な体積の試料内にあり、ここで、「n」は、試料厚さの均一性またはCROFの間に要求される試料流れ特性によって決定され得る。

【0118】

(vi) スペーサ高さ

ある特定の態様において、すべてのスペーサが、予め決定された同じ高さを有している。ある態様では、スペーサは、予め決定された異なる高さを有している。ある態様では、スペーサは、群または区域に分割されることがあり、各群または区域は、その特有のスペーサ高さを有している。そして、ある態様では、予め決定された高さのスペーサは、スペーサの平均的な高さである。ある態様では、スペーサは、おおよそ同じ高さを有している。ある態様では、一定割合の数のスペーサが、同じ高さを有している。

【0119】

スペーサの高さは、所望の調節された最終試料厚さおよび残余試料厚さによって選択される。スペーサ高さ（予め決定されたスペーサ高さ）および/または試料厚さは、3nm以下、10nm以下、50nm以下、100nm以下、200nm以下、500nm以下、800nm以下、1000nm以下、1μm以下、2μm以下、3μm以下、5μm以下、10μm以下、20μm以下、30μm以下、50μm以下、100μm以下、150μm以下、200μm以下、300μm以下、500μm以下、800μm以下、1mm以下、2mm以下、4mm以下、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

【0120】

スペーサ高さおよび/または試料厚さは、1つの好ましい態様において1nm~100nm、別の好ましい態様では100nm~500nm、また別の好ましい態様では500nm~1000nm、別の好ましい態様では1μm（すなわち1000nm）~2μm、また別の好ましい態様では2μm~3μm、別の好ましい態様では3μm~5μm、また別の好ましい態様では5μm~10μm、別の好ましい態様では10μm~50μm、また別の好ましい態様では50μm~100μmにある。

【0121】

ある特定の態様において、スペーサ高さおよび/または試料厚さは、(i) 分析物の最小寸法と等しいかもしくはわずかに大きい、または(ii) 分析物の最大寸法と等しいか、もしくはわずかに大きい。「わずかに大きい」とは、これが約1%~5%大きく、2つの値の間の任意の数であることを意味する。

【0122】

ある特定の態様において、スペーサ高さおよび/または試料厚さは、分析物の最小寸法よりも大きい（例えば、分析物が異方形状を有している）が、分析物の最大寸法よりも小さい。

【0123】

例えば、赤血球は、最小寸法2μm（円盤厚さ）および最大寸法11μm（円盤直径）の円盤形状を有している。本発明の態様では、スペーサは、関連する領域におけるプレートの内表面スペーシングが、一態様では（最小寸法と等しい）2μm、別の態様では2.2μm、または他の態様では（最小寸法よりも50%大きい）3となるが、赤血球の最大寸法よりも小さくなるように選択される。このような態様は、血球算定において、ある特定の利点を有する。一態様では、赤血球算定について、内表面スペーシングを2または3μmおよびこれら2つの値の間の任意の数にすることによって、希釈していない全血試料をスペーシングにおいて制限し、概して、各赤血球（RBC）は他のものと重ならず、赤血球細胞の正確な算定を視覚的に可能にする。（RBC間の多過ぎる重なりは、算定の際に深刻な誤差を生じることがある）。

10

20

30

40

50

【0124】

本発明において、ある特定の態様では、プレートが閉鎖構成にある場合、試料の厚さのみでなく試料中の分析物/存在物の配向および/または面密度も調節することに、プレートおよびスペーサを使用する。プレートが閉鎖構成にある場合、より薄い試料厚さは、表面領域毎に、より少ない分析物/存在物(すなわち、より低い表面濃度)をもたらす。

【0125】

(vii) スペーサ横方向寸法

開放型スペーサについて、横方向寸法は、xとyの2つの直交方向におけるその横方向寸法(幅と呼ばれることもある)によって特徴付けることができる。各方向におけるスペーサの横方向寸法は、同じかまたは異なる。ある態様では、各方向(xまたはy)に対する横方向寸法は、...

10

【0126】

ある特定の態様において、x方向とy方向との横方向寸法の比率は、1、1.5、2、5、10、100、500、1000、10,000、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。ある態様では、異なる比率を使用して試料流れ方向を調節し、流れは、比率が大きくなるにつれて一方向(より大きなサイズ方向)に沿う。

【0127】

ある特定の態様では、x方向とy方向におけるスペーサの異なる横方向寸法は、(a)プレートの配向を示すためのスケールマーカーとしてスペーサを使用して、(b)好ましい方向において試料流れをさらに作製するためにスペーサを使用して、またはこの両方で使用される。

20

【0128】

好ましい態様において、周期、幅、および高さ。

【0129】

ある特定の態様において、すべてのスペーサが同じ形状および寸法を有している。ある態様では、スペーサのそれぞれが異なる横方向寸法を有している。

【0130】

閉鎖型スペーサについて、特定の態様では、内側横方向形状およびサイズは、閉鎖型スペーサによって閉鎖されることになる試料の総体積に基づいて選択され、体積サイズは、本開示において記載されており、そして、ある態様では、外側横方向形状およびサイズは、必要とされる強度に基づいて選択されて、スペーサに対する液体の圧力およびプレートを押圧する圧縮圧力を支持する。

30

【0131】

(viii) 柱スペーサの高さと平均的な横方向寸法とのアスペクト比

ある特定の態様において、柱スペーサの高さと平均的な横方向寸法とのアスペクト比は、100,000、10,000、1,000、100、10、1、0.1、0.01、0.001、0.0001、0、00001、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

【0132】

(ix) スペーサ高さ精度

スペーサ高さは、正確に制御すべきである。スペーサの相対的な精度(すなわち、偏差と所望のスペーサ高さとの比率)は、0.001%以下、0.01%以下、0.1%以下、0.5%以下、1%以下、2%以下、5%以下、8%以下、10%以下、15%以下、20%以下、30%以下、40%以下、50%以下、60%以下、70%以下、80%以下、90%以下、99.9%以下、または任意の値の間の範囲である。

40

【0133】

(x) スペーサ間距離

スペーサは、プレート上または試料の関連する領域における単一のスペーサまたは複数のスペーサであり得る。特定の態様では、プレート上のスペーサは、アレイ形態で構成および/または配置されており、アレイは、周期的、非周期的なアレイであるか、またはプレートのいくつかの位置では周期的である一方、他の位置では非周期的である。

50

【0134】

ある特定の態様において、スペーサの周期的なアレイは、正方形、長方形、三角形、六角形、多角形、またはこれらの任意の組み合わせの格子を有し、ここで、組み合わせは、プレートの異なる位置が異なるスペーサ格子を有することを意味する。

【0135】

ある特定の態様では、スペーサアレイのスペーサ間距離は、アレイの少なくとも一方向において周期的（すなわち、均一なスペーサ間距離）である。特定の態様では、スペーサ間距離は、閉鎖構成でのプレートスペーシング間の均一性を改善するように構成されている。

【0136】

隣接するスペーサ間の距離（すなわち、スペーサ間距離）は、1 μ m以下、5 μ m以下、10 μ m以下、20 μ m以下、30 μ m以下、40 μ m以下、50 μ m以下、60 μ m以下、70 μ m以下、80 μ m以下、90 μ m以下、100 μ m以下、200 μ m以下、300 μ m以下、400 μ m以下、または任意のこれら2つの値の間の範囲である。

【0137】

ある特定の態様において、スペーサ間距離は、400以下、500以下、1mm以下、2mm以下、3mm以下、5mm以下、7mm以下、10mm以下、または値の間の任意の範囲である。特定の態様では、スペーサ間距離は、10mm以下、20mm以下、30mm以下、50mm以下、70mm以下、100mm以下、または値の間の任意の範囲である。

【0138】

隣接するスペーサ間の距離（すなわち、スペーサ間距離）は、プレートの所与の特性および試料について、プレートの閉鎖構成において、2つの隣接するスペーサ間の試料厚さ変動が、特定の態様では、最大0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、50%、80%、もしくは値の間の任意の範囲であるか、またはある態様では、最大80%、100%、200%、400%、もしくは任意のこれら2つの値の間の範囲であるように選択される。

【0139】

明らかに、2つの隣接するスペーサ間の所与の試料厚さ変動を維持するために、より可撓性のあるプレートを使用した場合、より近いスペーサ間距離が必要とされる。

【0140】

スペーサ間距離の正確性を特定する。

【0141】

好ましい態様において、スペーサは、周期的な正方形アレイであり、スペーサは、2~4 μ mの高さ、5~20 μ mの平均的な横方向寸法、および1 μ m~100 μ mのスペーサ間のスペーシングを有する柱である。

【0142】

好ましい態様において、スペーサは、周期的な正方形アレイであり、スペーサは、2~4 μ mの高さ、5~20 μ mの平均的な横方向寸法、および100 μ m~250 μ mのスペーサ間のスペーシングを有する柱である。

【0143】

好ましい態様において、スペーサは、周期的な正方形アレイであり、スペーサは、4~50 μ mの高さ、5~20 μ mの平均的な横方向寸法、および1 μ m~100 μ mのスペーサ間のスペーシングを有する柱である。

【0144】

好ましい態様において、スペーサは、周期的な正方形アレイであり、スペーサは、4~50 μ mの高さ、5~20 μ mの平均的な横方向寸法、および100 μ m~250 μ mのスペーサ間のスペーシングを有する柱である。

【0145】

スペーサアレイの周期は、1つの好ましい態様では1nm~100nm、別の好ましい態様では100nm~500nm、別個の好ましい態様では500nm~1000nm、別の好ましい態様では1 μ m（すなわち、1000nm）~2 μ m、別個の好ましい態様では2 μ m~3 μ m、別の好ましい態様では3 μ m~5 μ m

10

20

30

40

50

m、別個の好ましい態様では5um~10um、そして別の態様では10um~50um、別個の好ましい態様では50um~100um、別個の好ましい態様では100um~175um、そして別個の好ましい態様では175um~300umである。

【0146】

(xi) スペーサ密度

スペーサは、 um^2 毎に1より高い、 10um^2 毎に1より高い、 100um^2 毎に1より高い、 500um^2 毎に1より高い、 1000um^2 毎に1より高い、 5000um^2 毎に1より高い、 0.01mm^2 毎に1より高い、 0.1mm^2 毎に1より高い、 1mm^2 毎に1より高い、 5mm^2 毎に1より高い、 10mm^2 毎に1より高い、 100mm^2 毎に1より高い、 1000mm^2 毎に1より高い、 10000mm^2 毎に1より高い、または任意のこれら2つの値の間の範囲の面密度で、それぞれのプレート上に配置される。

10

【0147】

(3) スペーサは、所与の試料面積(体積)において甚大な表面積(体積)をとらないように構成されている。

【0148】

(xii) スペーサ量と試料量との比率

多くの態様において、スペーサ量(すなわち、スペーサの体積)と試料量(すなわち、試料の体積)との比率、および/または、適切な体積の試料内にあるスペーサの体積と、試料の適切な体積との比率が、特定の利点を達成するために調整される。利点は、これらに限定されないが、試料厚さの均一性の制御、分析物の均一性、試料流れ特性(すなわち、流速、流向等)を含む。

20

【0149】

ある特定の態様において、スペーサ体積 r)と試料体積との比率、および/または、適切な体積の試料内にあるスペーサの体積と、試料の適切な体積との比率は、100%未満、最大99%、最大70%、最大50%、最大30%、最大10%、最大5%、最大3%、最大1%、最大0.1%、最大0.01%、最大0.001%、または任意の値の間の範囲である。

【0150】

(xiii) プレートに固定されたスペーサ

本発明の鍵となる役割を果たすスペーサ間距離およびスペーサの配向は、プレートを開放構成から閉鎖構成にするプロセスの間維持されることが好ましく、および/または、開放構成から閉鎖構成へのプロセスの前に予め決定されることが好ましい。

30

【0151】

本開示の特定の態様において、プレートを閉鎖構成にする前は、スペーサはプレートのうち一方の上に固定されている。「スペーサがそのそれぞれのプレートで固定される」という用語は、スペーサがプレートに取り付けられて、取り付けがプレートの使用中、維持されることを意味する。「スペーサがそのそれぞれのプレートで固定される」例は、スペーサがプレートの材料の一部分から一体に作られて、プレート表面に相対するスペーサの位置が変化しないことである。「スペーサがそのそれぞれのプレートと固定されていない」例は、スペーサが接着剤によってプレートに接着されたが、プレートの使用中、接着剤がスペーサをプレート表面上のその元の位置に保持できない(すなわち、スペーサがプレート表面上のその元の位置から移動する)ことである。

40

【0152】

ある特定の態様において、スペーサのうち少なくとも1つが、そのそれぞれのプレートに固定される。特定の態様では、2つのスペーサが、そのそれぞれのプレートに固定される。ある態様では、スペーサの大部分が、それらのそれぞれのプレートで固定される。ある態様では、すべてのスペーサが、それらのそれぞれのプレートで固定される。

【0153】

ある特定の態様において、スペーサは、プレートに一体に固定される。

【0154】

ある特定の態様において、スペーサは、以下の方法および/または構成のうちの1つまたは任意の組み合わせによって、そのそれぞれのプレートに固定され、取り付けられ、接

50

着され、融着され、インプリントされ、そしてエッチングされる。

【0155】

「インプリントされた」という用語は、材料の一部をインプリント（すなわち、エンボス加工）して、スペーサをプレート表面上に形成することによって、スペーサとプレートが一体に固定されることを意味する。材料は、材料の単一の層または材料の複数の層であり得る。

【0156】

「エッチングされた」という用語は、材料の一部をエッチングしてスペーサをプレート表面上に形成することによって、スペーサとプレートが一体に固定されることを意味する。材料は、材料の単一の層または材料の複数の層であり得る。

10

【0157】

「融着された」という用語は、スペーサとプレートと一緒に取り付けることによって、スペーサとプレートが一体に固定されることを意味し、スペーサおよびプレートのための元の材料は互いに融着されており、融着後の2つの材料の間にはっきりとした材料境界がある。

【0158】

「接着された」という用語は、スペーサとプレートを接着剤によって結合することによって、スペーサとプレートが一体に固定されることを意味する。

【0159】

「取り付けられた」という用語は、スペーサとプレートと一緒に接続されることを意味する。

20

【0160】

ある特定の態様では、スペーサおよびプレートは、同じ材料から作られる。他の態様では、スペーサおよびプレートは、異なる材料から作られる。他の態様では、スペーサおよびプレートは、一部分において形成される。他の態様では、スペーサは、そのそれぞれのプレートに固定された1つの端部を有するが、端部は、2つのプレートの異なる構成を調整するために利用可能である。

【0161】

他の態様において、スペーサのそれぞれは独立して、それぞれのプレートに取り付けられた、接着された、融着された、インプリントされた、およびエッチングされたもののうちの少なくとも1つである。「独立して」という用語は、それぞれのプレートに取り付けられた、接着された、融着された、インプリントされた、およびエッチングされた方法から選択される、同じまたは異なる方法によって、1つのスペーサがそのそれぞれのプレートで固定されることを意味する。

30

【0162】

ある特定の態様において、2つのスペーサ間の少なくともある距離は、予め決定されている（「予め決定されたスペーサ間距離」は、ユーザがプレートを使うときに距離が既知であることを意味する）。

【0163】

本明細書において説明されるすべての方法およびデバイスのある特定の態様では、固定されたスペーサに加えてさらなるスペーサがある。

40

【0164】

(xiv) 特定の試料厚さ

本発明において、（所与の試料領域に対して）より小さなプレートスペーシング、または（所与のプレートスペーシングに対して）より大きな試料領域、または両方を使用することによって、より大きなプレート保持力（すなわち、2つのプレートと一緒に保持する力）が達成できることが観測された。

【0165】

ある特定の態様では、プレートのうちの少なくとも1つは、関連する領域を包含する区域において透過性であり、各プレートは、閉鎖構成で試料を接触させるように構成された

50

内表面を有し、プレートの内表面は、閉鎖構成において互いに実質的に平行であり、プレートの内表面は、スペーサを有する位置を除いて実質的に平面であるか、またはこれらの任意の組み合わせである。

【0166】

スペーサは、リソグラフィ、エッチング、エンボス加工（ナノインプリント）、付着、リフトオフ、融着、またはこれらの組み合わせを使用して、様々な方法でプレート上に製造することができる。ある特定の態様では、スペーサは、プレート上に直接エンボス加工されるかまたはインプリントされる。ある特定の態様では、材料（例えばプラスチック）中にインプリントされたスペーサをプレート上に付着させる。ある特定の態様では、スペーサは、CROFプレートの表面を直接エンボス加工することによって作られる。ナノインプリ
10
ンティングは、ローラインプリンタを使用するロールツーロール技術、またはロールツ
ープレーナナノインプリントによって行われ得る。このようなプロセスは高い経済的利
点を有し、したがってコストを低減させる。

【0167】

ある特定の態様では、スペーサをプレート上に付着させる。付着は、蒸着、ペースティ
ンク、またはリフトオフであり得る。ペースティングでは、スペーサは、まずキャリア上
で製造されて、それからスペーサがキャリアからプレートに移される。リフトオフでは、
除去可能な材料がまずプレート上に付着されて、材料に孔が作製され、孔底がプレート表
面を露出させ、そしてスペーサ材料が孔の中に付着され、その後、除去可能な材料が取り
除かれて、プレート表面上にスペーサだけを残す。特定の態様では、プレート上に付着さ
れるスペーサは、プレートと融着される。ある特定の態様では、スペーサおよびプレート
20
は単一のプロセスで製造される。単一のプロセスは、インプリンティング（すなわち、エ
ンボス加工、成形）または合成を含む。

【0168】

ある特定の態様において、少なくとも2つのスペーサが、異なる製造方法によってそれ
ぞれのプレートに固定され、必要に応じて、異なる製造方法は、付着、接着、融着、イン
プリント、またはエッチングのうちの少なくとも1つを含む。

【0169】

ある特定の態様において、接着され、融着され、インプリントされ、もしくはエッチン
グされる製造方法、またはこれらの任意の組み合わせによって、1つまたは複数のスペー
30
サが、それぞれのプレートに固定される。

【0170】

ある特定の態様において、このような一体型スペーサをプレート上に形成するための製
造方法は、接着され、融着され、インプリントされ、もしくはエッチングされる方法、ま
たはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0171】

(xv) ISD^4/hE

本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料
層を形成するためのデバイスは、第1のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様で
40
は、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成するためのデバイ
スは、第2のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによっ
て均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成するためのデバイスは、スペーサを含み得
る。ある特定の態様では、プレートは、異なる構成へと互いに相対的に移動可能である。
ある特定の態様では、一方または両方のプレートは可撓性である。ある特定の態様
では、プレートの各々は、流体試料と接触するための試料接触領域を有する内表面を含
む。ある特定の態様では、プレートの各々は、そのそれぞれの外表面上に、プレートを一
緒に押し付ける押圧力を加えるための力領域を含む。ある特定の態様では、プレート
の一方または両方は、それぞれのプレートの内表面上に恒久的に固定されているスペー
50
サを含む。ある特定の態様では、スペーサは、200ミクロン以下の所定の実質的に均
一な高さ、および所定の固定スペーサ間距離を有する。ある特定の態様では、可撓性
プレートの厚さ（h）およびヤ

ング率 (E) で割ったスペーサ間距離 (ISD) の4乗 ($ISD^4 / (hE)$) は、 $5 \times 10^6 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、スペーサの少なくとも1つは、試料接触領域内にある。ある特定の態様では、構成のうちの1つは開放構成であり、開放構成では、2つのプレートは部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングは、スペーサによって調節されず、試料は、プレート的一方または両方に付着する。ある特定の態様では、構成の別の構成は、開放構成において試料が付着した後に構成される閉鎖構成であり、プレートは、力領域に押圧力を加えることによって閉鎖構成へと押し付けられ、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部は、2つのプレートによって非常に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さは、2つのプレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

10

【0172】

本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、本開示のデバイスを取得する工程を含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、プレートが開放構成に構成されている場合、プレート的一方または両方に流体試料を付着させる工程を含み得る。ある特定の態様では、開放構成は、2つのプレートが部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングがスペーサによって調節されていない構成である。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、試料の少なくとも一部が2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮される閉鎖構成で2つのプレートを押し付ける工程を含むことができ、層の均一な厚さは、プレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

20

【0173】

本開示のある特定の態様では、流体試料を分析するためのデバイスは、第1のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、流体試料を分析するためのデバイスは、第2のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、流体試料を分析するためのデバイスは、スペーサを含み得る。ある特定の態様では、プレートは、異なる構成へと互いに相対的に移動可能である。ある特定の態様では、一方または両方のプレートは可撓性である。ある特定の態様では、プレートの各々は、そのそれぞれの内表面上に、流体試料と接触するための試料接触領域を有する。ある特定の態様では、プレート的一方または両方は、それぞれのプレートの内表面上に固定されているスペーサを含む。ある特定の態様では、スペーサは、200ミクロン以下である所定の実質的に均一な高さを有し、スペーサ間距離が事前に決定されている。ある特定の態様では、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaである。ある特定の態様では、スペーサの少なくとも1つは、試料接触領域内にある。ある特定の態様では、構成のうちの1つは開放構成であり、開放構成では、2つのプレートは部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングは、スペーサによって調節されず、試料は、プレート的一方または両方に付着する。ある特定の態様では、別の構成は、開放構成において試料が付着した後に構成される閉鎖構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部は、2つのプレートによって非常に均一な厚さの層に圧縮され、層の均一な厚さは、プレートの試料接触表面によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

30

40

【0174】

本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、本開示のデバイスを取得する工程を含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、プレートが開放構成に構成されている場合、プレート的一方または両方に流体試料を付着させる工程を含み得る。ある特定の態様では、開放構成は、2つのプレートが部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングがスペーサによって調節されていない構成である。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、2つのプレートを閉鎖構成へと押し付ける工程を含み得る。

50

ある特定の態様では、試料の少なくとも一部が2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、層の均一な厚さが、プレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

【0175】

本開示のある特定の態様では、流体試料を分析するためのデバイスは、第1のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、流体試料を分析するためのデバイスは、第2のプレートを含み得る。ある特定の態様では、プレートは、異なる構成へと互いに相対的に移動可能である。ある特定の態様では、一方または両方のプレートは可撓性である。ある特定の態様では、プレートの各々は、そのそれぞれの表面上に、分析物を含む試料と接触するための試料接触領域を有する。ある特定の態様では、プレートの一方または両方は、試料接触領域内のプレートに恒久的に固定されるスペーサを含み、スペーサは、所定の実質的に均一な高さ、および分析物のサイズの少なくとも約2倍大きく、最大200umである所定の固定スペーサ間距離を有し、スペーサの少なくとも1つは、試料接触領域内にある。ある特定の態様では、構成のうちの1つは開放構成であり、開放構成では、2つのプレートが分離され、プレート間のスペーシングがスペーサによって調節されず、試料は、プレートの一方または両方に付着する。ある特定の態様では、別の構成は、開放構成において試料が付着した後に構成される閉鎖構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部は、2つのプレートによって非常に均一な厚さの層に圧縮され、層の均一な厚さは、プレートの試料接触表面によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

10

【0176】

本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、本開示のデバイスを取得する工程を含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、プレートが開放構成に構成されている場合に、プレートの一方または両方に流体試料を付着させる工程を含み、開放構成は、2つのプレートが部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングがスペーサによって調節されていない構成である。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、2つのプレートを閉鎖構成へと押し付ける工程を含み、試料の少なくとも一部は2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、層の均一な厚さは、プレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

20

30

【0177】

本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成するためのデバイスは、第1のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成するためのデバイスは、第2のプレートを含み得る。本開示のある特定の態様では、押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成するためのデバイスは、スペーサを含み得る。ある特定の態様では、プレートは、異なる構成へと互いに相対的に移動可能である。ある特定の態様では、一方または両方のプレートは可撓性である。ある特定の態様では、プレートの各々は、そのそれぞれの内表面上に、流体試料と接触するおよび/またはそれを圧縮するための試料接触領域を含む。ある特定の態様では、プレートの各々は、そのそれぞれの外表面上に、プレートを一緒に押し付ける力を加えるための領域を含む。ある特定の態様では、プレートの一方または両方は、それぞれのプレートの内表面上に恒久的に固定されているスペーサを含む。ある特定の態様では、スペーサは、200ミクロン以下の所定の実質的に均一な高さ、所定の幅、および所定の固定スペーサ間距離を有する。ある特定の態様では、スペーサ間距離とスペーサ幅との比率は、1.5以上である。ある特定の態様では、スペーサの少なくとも1つは、試料接触領域内にある。ある特定の態様では、構成のうちの1つは開放構成であり、開放構成では、2つのプレートは部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングは、スペーサによって調節されず、試料は、プレートの一方または両方に付着する。ある特定の態様では、別の構成は、開放構成において試料が付着した後に構成される閉鎖構成であり、閉鎖構成では、試料の少なくとも一部は、2つの

40

50

プレートによって非常に均一な厚さの層に圧縮され、プレートに対して実質的に停滞し、層の均一な厚さは、2つのプレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

【0178】

本開示のある特定の態様では、不正確な押圧力で押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、本開示のデバイスを取得する工程を含み得る。本開示のある特定の態様では、不正確な押圧力で押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、流体試料を取得する工程を含み得る。本開示のある特定の態様では、不正確な押圧力で押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、プレートが開放構成に構成されている場合、プレートの一方または両方に試料を付着させる工程を含むことができ、開放構成は、2つのプレートが部分的または完全に分離され、プレート間のスペーシングがスペーサによって調節されていない構成である。本開示のある特定の態様では、不正確な押圧力で押圧することによって均一な所定の厚さの薄い流体試料層を形成する方法は、2つのプレートを閉鎖構成へと押し付ける工程を含むことができ、試料の少なくとも一部は2つのプレートによって実質的に均一な厚さの層に圧縮され、層の均一な厚さは、プレートの試料接触領域によって限定され、プレートおよびスペーサによって調節される。

10

【0179】

ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部および他方のプレートに接触するための平坦な上面を備えた柱形状を有する。ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部、他方のプレートに接触するための平坦な上面、実質的に均一な断面を備えた柱形状を有する。ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部および他方のプレートに接触するための平坦な上面を備えた柱形状を有し、柱の平坦な上面は、10nm未満の変動を有する。ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部および他方のプレートに接触するための平坦な上面を備えた柱形状を有し、柱の平坦な上面は、50nm未満の変動を有する。ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部および他方のプレートに接触するための平坦な上面を備えた柱形状を有し、柱の平坦な上面は、50nm未満の変動を有する。ある特定の態様では、スペーサは、プレートの一方に固定された脚部および他方のプレートに接触するための平坦な上面を備えた柱形状を有し、柱の平坦な上面は、10nm、20nm、30nm、100nm、200nm未満、またはいずれの2つの値間の範囲内の変動を有する。

20

30

【0180】

ある特定の態様では、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaである。ある特定の態様では、試料は分析物を含み、所定の一定のスペーサ間距離は、分析物のサイズより少なくとも約2倍大きく、最大200umである。ある特定の態様では、試料は分析物を含み、所定の一定のスペーサ間距離は、分析物のサイズより少なくとも約2倍大きく、最大200umであり、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaである。

【0181】

ある特定の態様では、可撓性プレートの厚さ(h)およびヤング率(E)で割ったスペーサ間距離(ISD)の4乗($ISD^4 / (hE)$)は、 $5 \times 10^6 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、可撓性プレートの厚さおよびヤング率で割ったスペーサ間距離(ISD)の4乗($ISD^4 / (hE)$)は、 $1 \times 10^6 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、可撓性プレートの厚さおよびヤング率で割ったスペーサ間距離(ISD)の4乗($ISD^4 / (hE)$)は、 $5 \times 10^5 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaであり、可撓性プレートの厚さおよびヤング率で割ったスペーサ間距離(ISD)の4乗($ISD^4 / (hE)$)は、 $1 \times 10^5 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaであり、可撓性プレートの厚さおよびヤング率で割ったスペーサ間距離(ISD)の4乗($ISD^4 / (hE)$)は、 $1 \times 10^4 \text{um}^3 / \text{GPa}$ 以下である。ある特定の態様では、スペーサのヤン

40

50

グ率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも20MPaである。

【0182】

本開示のある特定の態様では、スペーサのスペーシング間距離とスペーサの平均幅との比率は2以上である。ある特定の態様では、スペーサのスペーシング間距離とスペーサの平均幅との比率は2以上であり、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じた値は、少なくとも2MPaである。ある特定の態様では、最大200umの分析物のサイズより少なくとも約2倍大きいスペーサ間距離である。ある特定の態様では、スペーサ間距離とスペーサ幅との比率は1.5以上である。ある特定の態様では、スペーサの幅と高さとの比率は1以上である。ある特定の態様では、スペーサの幅と高さとの比率は1.5以上である。ある特定の態様では、スペーサの幅と高さとの比率は2以上である。ある特定の態様では、スペーサの幅と高さとの比率は、2、3、5、10、20、30、50より大きいか、またはいずれの2つの値間の範囲内である。

10

【0183】

ある特定の態様では、2つのプレートを閉鎖構成へと押圧する力は、不正確な押圧力である。ある特定の態様では、2つのプレートを閉鎖構成へと押圧する力は、ヒトの手によって提供される不正確な押圧力である。ある特定の態様では、試料の少なくとも一部を実質的に均一な厚さの層に圧縮するため2つのプレートを押し付けることは、並行または順次のいずれかで、プレートのうちの少なくとも1つの領域を適合可能に押圧し、プレートを一緒に閉鎖構成へと押圧することを含み、適合可能に押圧することは、試料の少なくとも一部にわたってプレートに実質的に均一な圧力を発生させ、押圧することは、試料の少なくとも一部をプレートの試料接触表面間で横方向に広げ、閉鎖構成は、均一な厚さの領域の層におけるプレート間のスペーシングがスペーサによって調節される構成であり、試料の低減された厚さは、貯蔵部位上の試薬を試料と混合する時間を低減させる。ある特定の態様では、押圧力は、力が加えられた時点で、(a) 未知で予測不可能、または(b) 知ることができない、のいずれかであり、加えられる平均押圧力の20%以上の精度内で予測不可能である大きさを有する不正確な力である。ある特定の態様では、押圧力は、力が加えられた時点で、(a) 未知で予測不可能、または(b) 知ることができない、のいずれかであり、加えられる平均押圧力の30%以上の精度内で予測不可能である大きさを有する不正確な力である。ある特定の態様では、押圧力は、力が加えられた時点で、(a) 未知で予測不可能、または(b) 知ることができない、のいずれかであり、加えられる平均押圧力の30%以上の精度内で予測不可能である大きさを有する不正確な力であり、非常に均一な厚さの層は、厚さの均一さの20%以下の変動を有する。ある特定の態様では、押圧力は、力が加えられた時点で、30%、40%、50%、70%、100%、200%、300%、500%、1000%、2000%以上、または2つの値のうちのいずれかの間の範囲内の精度内で決定することができない大きさを有する不正確な力である。

20

30

【0184】

本開示のある特定の態様では、可撓性プレートは、10um~200umの範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、20um~100umの範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、25um~180umの範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、200um~260umの範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、250um、225um、200um、175um、150um、125um、100um、75um、50um、25um、10um、5um、1um以下、またはいずれの2つの値間の範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、試料は、0.1~4 (mPa s) の範囲内の粘度を有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、200um~260umの範囲内の厚さを有する。ある特定の態様では、可撓性プレートは、20um~200umの範囲内の厚さおよび0.1~5GPaの範囲内のヤング率を有する。

40

【0185】

本開示のある特定の態様では、試料付着は、いかなる移送デバイスも使用しない、対象からプレートへの直接的な付着である。ある特定の態様では、付着中、プレートに付着した試料の量は未知である。ある特定の態様では、方法は、試料を分析する分析する工程を

50

さらに含む。ある特定の態様では、分析することは、適切な試料体積の横方向の面積を測定し、横方向の面積および所定のスペーサの高さから体積を計算することによって、適切な試料体積の体積を計算することを含む。ある特定の態様では、閉鎖構成での2つのプレート間の試料の位置におけるpH値は、位置の体積と、その位置から撮られた画像を分析することによって決定される。ある特定の態様では、画像を分析することによる決定は、人工知能および機械学習を使用する。

【0186】

ある特定の態様では、分析する工程(e)は、i. イメージング、ii. フォトルミネセンス、エレクトロルミネセンス、および電気化学ルミネセンスから選択されるルミネセンス、iii. 表面ラマン散乱、iv. 抵抗、静電容量、およびインダクタンスから選択される電気インピーダンス、またはv. i~ivの任意の組み合わせを測定することを含む。ある特定の態様では、分析することは、分析物の読み取り、画像分析、もしくは計数、またはそれらの組み合わせを含む。ある特定の態様では、試料は、1つまたは複数の分析物を含み、一方または両方のプレート試料接触表面は、それぞれの分析物をそれぞれ結合および固定化する1つまたは複数の結合部位を含む。ある特定の態様では、一方または両方のプレート試料接触表面は、試薬をそれぞれ貯蔵する1つまたは複数の貯蔵部位を含み、試薬は、試料内で溶解および拡散する。ある特定の態様では、一方または両方のプレート試料接触表面は、分析物または標識が増幅部位から500nm以内にある場合、分析物または分析物の標識からの信号をそれぞれ増幅することができる1つまたは複数の増幅部位を含む。ある特定の態様では、i. 一方もしくは両方のプレート試料接触表面は、それぞれの分析物をそれぞれ結合および固定化する1つまたは複数の結合部位を含むか、あるいはii. 一方もしくは両方のプレート試料接触表面は、試薬をそれぞれ貯蔵する1つまたは複数の貯蔵部位を含み、試薬(複数可)は、試料内で溶解および拡散し、試料は1つまたは複数の分析物を含むか、あるいはiii. 分析物または標識が増幅部位から500nm以内にある場合、分析物または分析物の標識からの信号をそれぞれ増幅することができる1つまたは複数の増幅部位、あるいはiv. i~iiiの任意の組み合わせである。

【0187】

ある特定の態様では、液体試料が、羊水、房水、硝子体液、血液(例えば、全血、画分血液、血漿、または血清)、母乳、脳脊髄液(CSF)、耳垢(cerumen)(耳垢(earwax))、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、呼吸、胃酸、胃液、リンパ、粘液(鼻漏および痰を含む)、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、呼気凝縮物、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、および尿から選択される生体試料である。

【0188】

ある特定の態様では、閉鎖構成における均一な厚さの層は150um未満である。ある特定の態様では、押圧することは、加圧液体、加圧ガス、または適合可能な材料によって提供される。ある特定の態様では、分析することは、均一な厚さの層における細胞を計数することを含む。ある特定の態様では、分析することは、均一な厚さの層においてアッセイを実行することを含む。ある特定の態様では、ある特定の態様では、アッセイは、結合アッセイまたは生化学アッセイである。ある特定の態様では、付着した試料は、0.5uL未満の総体積を有する。ある特定の態様では、数滴の試料が、プレートの一方または両方に付着される。

【0189】

ある特定の態様では、スペーサ間距離は、1 μ m~120 μ mの範囲内である。ある特定の態様では、スペーサ間距離は、120 μ m~50 μ mの範囲内である。ある特定の態様では、スペーサ間距離は、120 μ m~200 μ mの範囲内である。ある特定の態様では、可撓性プレートは、20um~250umの範囲内の厚さおよび0.1~5GPaの範囲内のヤング率を有する。ある特定の態様では、可撓性プレートについて、可撓性プレートの厚さに可撓性プレートのヤング率を乗じたものは、60~750GPa \cdot umの範囲内である。

【0190】

ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、少なくとも1mm²である横方向の面積に

10

20

30

40

50

わたって均一である。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、少なくとも 3mm^2 である横方向の面積にわたって均一である。ある特定の態様では、ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、少なくとも 5mm^2 である横方向の面積にわたって均一である。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、少なくとも 10mm^2 である横方向の面積にわたって均一である。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、少なくとも 20mm^2 である横方向の面積にわたって均一である。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、 $20\text{mm}^2 \sim 100\text{mm}^2$ の範囲内である横方向の面積にわたって均一である。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-5\%$ 以上の厚さの均一性を有する。均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-10\%$ 以上の厚さの均一性を有する。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-20\%$ 以上の厚さの均一性を有する。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-30\%$ 以上の厚さの均一性を有する。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-40\%$ 以上の厚さの均一性を有する。ある特定の態様では、均一な厚さの試料の層は、最大 $+/-50\%$ 以上の厚さの均一性を有する。

10

20

30

【0191】

ある特定の態様では、スペーサは、円形、多角形、円形、正方形、長方形、楕円形、長円形、またはそれらの任意の組み合わせから選択される断面形状を有する柱である。ある特定の態様では、スペーサは柱形状を有し、実質的に平坦な上面を有し、実質的に均一な断面を有し、各スペーサについて、スペーサの横方向寸法とその高さとの比率は少なくとも1である。ある特定の態様では、スペーサ間距離は周期的である。ある特定の態様では、スペーサは、1%以上の充填率を有し、充填率は、スペーサの接触面積と、全プレート面積との比率である。ある特定の態様では、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じたものは、 20MPa 以上であり、充填率は、スペーサの接触面積と、全プレート面積との比率である。ある特定の態様では、閉鎖構成での2つのプレート間のスペーシングは、 200um 未満である。ある特定の態様では、閉鎖構成での2つのプレート間のスペーシングは、 $1.8\text{um} \sim 3.5\text{um}$ から選択される値である。ある特定の態様では、スペーシングは、プレートを直接エンボス加工するか、またはプレートを射出成形することによってプレートに固定される。ある特定の態様では、プレートおよびスペーサの材料は、ポリスチレン、PMMA、PC、COC、COP、または別のプラスチックから選択される。ある特定の態様では、スペーサは柱形状を有し、スペーサの側壁角は少なくとも 1um の曲率半径を有する丸い形状を有する。ある特定の態様では、スペーサは少なくとも $1000/\text{mm}^2$ の密度を有する。ある特定の態様では、プレートのうちの少なくとも1つは透明である。ある特定の態様では、スペーサを作製するために使用される金型は、(a) 直接反応性イオンエッチングもしくはイオンビームエッチング、または(b) 反応性イオンエッチングもしくはイオンビームエッチングされる特徴の、繰り返しまたは複数の繰り返し、のいずれかによって製造される特徴を含む金型によって製造される。

40

40

【0192】

ある特定の態様では、充填率が1%~5%の範囲になるようにスペーサが構成されている。ある特定の態様では、表面の変動は、スペーサの高さに対して相対的であり、柱の平坦な上面の変動とスペーサの高さとの比率は、0.5%、1%、3%、5%、7%、10%、15%、20%、30%、40%未満、または任意の2つの値の間の範囲内である。好ましい平坦な柱上部の平滑度は、スペーサの高さに対する柱の平らな上面の変動の比率が2%、5%、または10%未満であることである。ある特定の態様では、充填率が1%~5%の範囲になるようにスペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率が5%~10%の範囲になるようにスペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率が10%~20%の範囲になるようにスペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率が20%~30%の範囲になるようにスペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率が5%、10%、20%、30%、40%、50%、またはいずれか2つの値間の範囲内になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率が50%、60%、70%、80%、またはいずれか2つの値間の範囲内になるように、スペーサが構成されている。

【0193】

50

ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が2MPa～10MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が10MPa～20MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が20MPa～40MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が40MPa～80MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が80MPa～120MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。ある特定の態様では、充填率にスペーサのヤング率を乗じた値が120MPa～150MPaの範囲になるように、スペーサが構成されている。

【0194】

10

ある特定の態様では、デバイスは、一方または両方のプレート上にコーティングされた乾燥試薬をさらに含む。ある特定の態様では、デバイスは、一方または両方のプレート上に、所定の面積を有する乾燥結合部位をさらに含み、乾燥結合部位は、試料中の分析物に結合しこれを固定化する。ある特定の態様では、デバイスは、一方または両方のプレート上に、放出可能な乾燥試薬、および放出可能な乾燥試薬が試料中に放出される時間を遅延させる放出時間制御材料をさらに含む。ある特定の態様では、放出時間制御材料は、乾燥試薬が試料中に放出される時間を少なくとも3秒遅らせる。ある特定の態様では、試薬は、抗凝固剤および/または染色試薬（複数可）を含む。ある特定の態様では、試薬は細胞溶解試薬（複数可）を含む。ある特定の態様では、デバイスは、一方または両方のプレート上に、1つもしくは複数の乾燥結合部位および/または1つもしくは複数の試薬部位をさらに含む。ある特定の態様では、分析物は、分子（例えば、タンパク質、ペプチド、DNA、RNA、核酸、または他の分子）、細胞、組織、ウイルス、および様々な形状のナノ粒子を含む。ある特定の態様では、標的細胞は、白血球、赤血球、および血小板を含む。ある特定の態様では、分析物は染色されている。

20

【0195】

ある特定の態様では、均一な厚さの層を調節するスペーサは、少なくとも1%の充填率を有し、充填率は、均一な厚さの層に接触するスペーサ面積と、均一な厚さの層に接触する全プレート面積との比率である。ある特定の態様では、均一な厚さの層を調節するスペーサに関して、スペーサのヤング率にスペーサの充填率を乗じたものは、10MPa以上であり、充填率は、均一な厚さの層と接触するスペーサ面積と、均一な厚さの層と接触する全プレート面積との比率である。ある特定の態様では、可撓性プレートについて、可撓性プレートの厚さに可撓性プレートのヤング率を乗じたものは、60～750GPa- μm の範囲内である。ある特定の態様では、可撓性プレートについて、可撓性プレートの厚さ（ h ）および可撓性プレートのヤング率（ E ）で割ったスペーサ間距離（ ISD ）の4乗、 $ISD^4 / (hE)$ は、 $10^6 \mu\text{m}^3 / \text{GPa}$ 以下である。

30

【0196】

III. 不正確な押圧力による均一な薄い流体層の形成

本発明のある特定の態様では、不正確な力による押圧を使用することにより、均一な薄い流体試料層が形成される。詳細を追加せずに、不正確な押圧力の定義を追加しない、「不正確な押圧力」という用語。本明細書で使用される場合、力の文脈における「不正確な」という用語（例えば、「不正確な押圧力」）は、

40

(a) 力が加えられた時点で正確に知られていないか、または正確に予測できない大きさを有し、

(b) $0.01 \text{kg}/\text{cm}^2$ （平方センチメートル）～ $100 \text{kg}/\text{cm}^2$ の範囲内の圧力を有し、

(c) 力の、ある適用から次の適用までに大きさが変動し、

(d) (a) および (c) の力の不正確さ（すなわち、変動）は、実際に加えられる力の合計の、少なくとも20%である、力

を指す。

【0197】

不正確な力は、例えば、親指と人差し指の間で物体をつまむことによって、または親指

50

と人差し指の間で物体をつまんだり擦ったりすることによって、ヒトの手によって加えることができる。

【0198】

いくつかの態様では、手押圧による不正確な力は、0.01kg/cm²、0.1kg/cm²、0.5kg/cm²、1kg/cm²、2kg/cm²、kg/cm²、5kg/cm²、10kg/cm²、20kg/cm²、30kg/cm²、40kg/cm²、50kg/cm²、60kg/cm²、100kg/cm²、150kg/cm²、200kg/cm²、またはいずれの2つの値間の範囲；および0.1kg/cm²～0.5kg/cm²、0.5kg/cm²～1kg/cm²、1kg/cm²～5kg/cm²、5kg/cm²～10kg/cm²（圧力）の好ましい範囲の圧力を有する。

【0199】

B) アダプタ

アダプタの詳細は、すべての目的のために、参照によって本明細書に組み込まれた国際出願PCT/US2018/017504（Essenlixドケット番号ESXPCT18F04）を含む様々な刊行物において詳細に説明されている。

【0200】

本明細書において記載される本発明は、光学アダプタおよびスマートフォンを含むシステムを提供することによって本問題を取り扱う。光学アダプタデバイスは、スマートフォンにわたって適合し、これを試料の蛍光および明視野画像両方を利用することができる顕微鏡に変換する。このシステムは、任意の位置で、共通の人物によって便利かつ確実に操作され得る。光学アダプタは、カメラ、光源、プロセッサ、およびディスプレイスクリーンを含むスマートフォンの既存のリソースを利用し、これはユーザに明視野および蛍光顕微鏡検査法を行わせる低コストの解決策を提供する。

【0201】

本発明において、光学アダプタデバイスは、スマートフォンの上部にわたって適合するホルダーフレームと、試料容器スロットおよび照明光学系を有するホルダーに取り付けられた光学ボックスとを含む。いくつかの参照（米国特許出願公開第2016/029091号および米国特許出願公開第2011/0292198号）において、これらの光学アダプタ設計は、スマートフォンにわたって適合するためのクリップ留め機構部品と機能的光学要素との両方を含む全部分である。この設計は、特定のモデルのスマートフォンそれぞれに対して、全部分の光学アダプタを再設計する必要があるという問題を有している。しかし、本発明では、スマートフォンおよびすべての機能的な部品を含有する汎用光学ボックスに適合するためにのみ、光学アダプタがホルダーフレームに分離される。異なる寸法を有するスマートフォンについて、カメラと光源の相対的な位置が同じである限り、ホルダーフレームのみが再設計を必要とするので、このことは設計および製造の多大なコストを節約するであろう。

【0202】

光学アダプタの光学ボックスは、スマートフォンカメラの視野および集束範囲において試料スライド内で試料を受容して位置付ける容器スロットと、試料の明視野顕微鏡検査画像を捕捉するための明視野照明光学系と、試料の蛍光顕微鏡検査画像を捕捉するための蛍光照明光学系と、光学ボックスにおいて内向きおよび外向きにスライドさせることによって明視野照明光学系と蛍光照明光学系との間を切り替えるためのレバーとを含む。

【0203】

容器スロットは、これに取り付けられたゴムのドアを有し、これは、周辺光が光学ボックスに入ってカメラによって収集されるのを防ぐためにスロットを完全に覆うことができる。米国特許出願公開第2016/0290916号において、試料スロットは常に周辺光に露光されているが、明視野顕微鏡検査法のみが行われることから、あまり大きな問題は生じない。しかし、本発明は、周辺光がカメラの画像センサに対して多くのノイズをもたらすので、蛍光顕微鏡検査法を行うときにこのゴムのドアを利用することがある。

【0204】

良好な蛍光顕微鏡検査画像を捕捉するために、カメラの中に励起光がほとんど入らず、試料によって放出された蛍光のみがカメラによって収集されることが望ましい。しかしながら、すべてのよくあるスマートフォンについて、光源によって放出されたビームの広い

10

20

30

40

50

発散角およびコリメートされないビームに対して上手く働かない光学フィルタのせいで、カメラの前方に置かれた光学フィルタは、スマートフォンの光源から放出された光の望ましくない波長範囲をそれほど上手く遮断することができない。コリメート光学系は、この課題を処理するために、スマートフォン光源によって放出されたビームをコリメートするように設計され得るが、この手法は、アダプタのサイズおよびコストを増大させる。代わりに、本発明では、蛍光照明光学系は、励起光が、広い斜め入射角で、試料スライド内の導波路から部分的におよび試料スライドの裏側から部分的に、試料を照らすのを可能にするので、励起光がカメラによって収集されることはほとんどなく、カメラに入るノイズ信号を低減させるであろう。

【0205】

アダプタにおける明視野照明光学系は、標準入射角で試料を裏面照射するように、光源によって放出されたビームを受けて向きを変える。

【0206】

典型的に、光学ボックスはまた、スマートフォンのカメラと整列され、そこに実装された、カメラによって捕捉された画像を拡大するレンズを含む。カメラによって捕捉された画像はさらに、スマートフォンのプロセッサによって処理されて、スマートフォンのスクリーン上に分析結果を出力する。

【0207】

本発明では、スライド可能なレバーを使用して、同じ光学アダプタにおいて明視野照明および蛍光照明光学系の両方を達成する。蛍光照明光学系の光学要素がレバー上に実装され、レバーが完全に光学ボックス中にスライドしたとき、蛍光照明光学系要素は、明視野照明光学系の光路を遮断して、照明光学系を蛍光照明光学系に切り替える。そして、レバーがスライドアウトしたとき、レバー上に実装された蛍光照明光学要素が光路の外に移動して照明光学系を明視野照明光学系に切り替える。このレバー設計は、2つの異なる単一モードの光学ボックスを設計する必要なく、明視野および蛍光照明モードの両方において、光学アダプタを働かせる。

【0208】

レバーは、異なる高さの異なる平面において、2つの平面を含む。

【0209】

ある特定の態様では、2つの平面は、垂直方向の棒と一緒に結合されて、光学ボックスの中または外と一緒に移動することができる。ある特定の態様では、2つの平面は分離されて、各平面は、光学ボックスの中または外に個々に移動することができる。

【0210】

上部レバー平面は、光学フィルタであり得るがこれに限定されない少なくとも1つの光学要素を含む。上部レバー平面は、光源の下で移動し、上部レバー平面と光源との間の好ましい距離は、0~5mmの範囲内である。

【0211】

底部レバー平面の一部は、画像平面と平行でない。そして、底部レバー平面の平行でない部分の表面は、95%よりも高い高反射率を有する鏡面仕上げを有する。底部レバー平面の平行でない部分は、光源の下で移動し、光源から放出された光を曲折させて、カメラの真下で試料領域を裏面照射する。底部レバー平面の平行でない部分の好ましい傾斜角は、45度~65度であり、傾斜角は、平行でない底部平面と垂直方向平面との間の角度として定義される。

【0212】

底部レバー平面の一部は、画像平面と平行であり、試料から、1mm~10mm離れて位置付けられている。底部レバー平面の平行部分の表面は、95%よりも高い光吸収を有する高度な光吸収性がある。この吸収表面は、小さな入射角で試料を裏面照射する反射光を除去するためのものである。

【0213】

アダプタから外方に引かれたとき、予め規定された位置でレバーを停止させるために、

10

20

30

40

50

レバーを使用してスライドインおよびスライドアウトして照明光学系を切り替えるように、レバー上にボールプランジャおよび溝を含むストッパ設計が使用される。これは、ユーザが恣意的な力を用いてレバーを引くことができるようにするが、光学アダプタの作動モードが明視野照明に切り替えられた場合、固定位置にレバーを停止させる。

【0214】

試料スライダは、スマートフォンカメラの視野および集束範囲において、QMAXデバイスを受容して、QMAXデバイス内に試料を位置付けるために、容器スロット内に実装される。

【0215】

試料スライダは、固定されたトラックフレームおよび移動可能なアームを含む。

【0216】

フレームトラックは、光学ボックスの受容スロット内に固定的に実装される。そして、トラックフレームは、QMAXデバイスの幅および厚さに適合するスライディングトラックスロットを有するので、QMAXデバイスはトラックに沿ってスライドすることができる。トラックスロットの幅および高さは、QMAXデバイスを摺動平面において摺動方向に対して垂直方向に0.5mm未満で移行させ、QMAXデバイスの厚さ方向に沿って0.2mm未満で移行させるように綿密に構成されている。

【0217】

フレームトラックは、試料の光裏面照明を可能にするために、スマートフォンのカメラの視野の下に開いた窓を有する。

【0218】

移動可能なアームは、トラックフレームのスライディングトラックスロットにおいて予め構築されており、QMAXデバイスと一緒に移動して、トラックフレームでのQMAXデバイスの移動を誘導する。

【0219】

移動可能なアームには、2つの予め規定された停止位置を有する停止機構が装備されている。一方の位置について、QMAXデバイス上に固定された試料領域がスマートフォンのカメラの真下にある位置に、アームはQMAXデバイスを停止させるであろう。他方の位置について、QMAXデバイス上の試料領域がスマートフォンの視野外にあって、QMAXデバイスがトラックスロット外に容易に出され得る位置で、アームはQMAXデバイスを停止させるであろう。

【0220】

移動可能なアームは、トラックスロットの端部に対して、QMAXデバイスおよび移動可能なアームと一緒に押圧して、その後解放することによって、2つの停止位置の間を切り替える。

【0221】

移動可能なアームは、QMAXデバイスが正しい方向に挿入されているかどうかを示し得る。QMAXデバイスの1つの角部の形状は、他の3つの直角角部とは異なるように構成されている。そして、移動可能なアームの形状は、特別な形状を有する角部の形状と一致するので、QMAXデバイスは、正しい方向においてのみ、トラックスロットの正しい位置にスライドすることができる。

【0222】

C) スマートフォン / 検出システム

スマートフォン / 検出システムの詳細は、2016年8月10日に提出された国際出願 (IA) PCT/US2016/046437、2016年9月14日に提出されたIA PCT/US2016/051775、2017年2月7日に提出された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に提出された米国仮出願第62/456287号および第62/456590号、2017年2月8日に提出された米国仮出願第62/456504号、2017年2月15日に提出された米国仮出願第62/459,544号、ならびに2017年2月16日に提出された米国仮出願第62/460075号および第62/459920号を含む様々な刊行物に詳細に記載されており、これらのそれぞれが、すべての目的のために、その全体において参照によって本明細書に組み込まれている。

10

20

30

40

50

【0223】

本明細書において開示されるデバイス/装置、システム、および方法は、試料の検出、分析、および定量化のために、Qカードを含むか、または使用することができる。ある特定の態様では、Qカードは、Qカードをスマートフォン検出システムと接続することができるアダプタと一緒に使用される。ある特定の態様では、スマートフォンは、カメラおよび/または照明源を含む。ある特定の態様では、スマートフォンはカメラを含み、これは、試料がカメラの視野内に位置付けられたとき（例えば、アダプタによって）、画像または試料を捕捉するために使用され得る。ある特定の態様では、カメラは、1セットのレンズ（例えば、iPhone（商標）6にあるような）を含む。ある特定の態様では、カメラは、少なくとも2セットのレンズ（例えば、iPhone（商標）7にあるような）を含む。ある特定の態様では、スマートフォンはカメラを含むが、カメラは画像捕捉のために使用されない。

10

【0224】

ある特定の態様では、スマートフォンは、これに限定されないが、LED（発光ダイオード）などの光源を含む。ある特定の態様では、光源は、試料がカメラの視野内に位置付けられたとき（例えば、アダプタによって）、試料に照明を提供するために使用される。ある特定の態様では、光源からの光は、アダプタの光学部品によって強化、拡大、変更、および/または最適化される。

【0225】

ある特定の態様では、スマートフォンは、試料からの情報を処理するように構成されたプロセッサを含む。スマートフォンは、プロセッサによって実行されると、試料からの信号（例えば、画像）を強化、拡大、および/または最適化することができるソフトウェアの命令を含む。プロセッサは、中央処理装置（CPU）、特定用途向け集積回路（ASIC）、特定用途向け命令セットプロセッサ（ASIP）、グラフィックス処理装置（GPU）、物理処理装置（PPU）、デジタルシグナルプロセッサ（DSP）、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）、プログラマブルロジックデバイス（PLD）、コントローラ、マイクロコントローラユニット、縮小命令セットコンピュータ（RISC）、マイクロプロセッサなど、またはそれらの任意の組み合わせなどの1つまたは複数のハードウェア部品を含み得る。

20

【0226】

ある特定の態様では、スマートフォンは、試料に関連するデータおよび/または画像を別のデバイスに送信するように構成および/または使用される通信ユニットを含む。単なる例として、通信ユニットは、ケーブルネットワーク、有線ネットワーク、光ファイバネットワーク、電気通信ネットワーク、イントラネット、インターネット、ローカルエリアネットワーク（LAN）、ワイドエリアネットワーク（WAN）、無線ローカルエリアネットワーク（WLAN）、メトロポリタンエリアネットワーク（MAN）、ワイドエリアネットワーク（WAN）、公衆電話交換網（PSTN）、Bluetoothネットワーク、ZigBeeネットワーク、近距離無線通信（NFC）ネットワークなど、またはそれらの任意の組み合わせを使用することができる。ある特定の態様では、スマートフォンは、iPhone（商標）、Android（商標）電話、またはWindows（商標）電話である。

30

【0227】

D) 製造方法

製造方法の詳細は、すべての目的のために、参照によって本明細書中に組み込まれた、2018年10月26日に出願された国際出願PCT/US2018/057873を含む様々な刊行物に詳細に説明されている。

40

【0228】

開示のデバイスは、当技術分野においてよく知られた技術を使用して製造することができる。製造技術の選択は、デバイスに使用される材料ならびにスペーサアレイのサイズおよび/またはスペーサのサイズに依存するであろう。本発明のデバイスを製造するための例示的な材料は、ガラス、シリコン、鋼、ニッケル、ポリマー、例えば、ポリ（メチルメタクリレート）（PMMA）、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリオレフィン、シリコン（例えば、ポリ（ジメチルシロキサン））、ポリプロピレン、シス - ポリ

50

イソブレン（ゴム）、ポリ（塩化ビニル）（PVC）、ポリ（酢酸ビニル）（PVAc）、ポリクロロブレン（ネオブレン）、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン）、ポリ（塩化ビニリデン）（サランA）、環状オレフィンポリマー（COP）、および環状オレフィンコポリマー（COC）、ならびにこれらの組み合わせを含む。他の材料は、当技術分野において既知である。例えば、深掘り反応性イオンエッチング（DRIE）を使用して、小さな間隙、小さなスペーサ、および大きなアスペクト比（スペーサ高さと同方向寸法との比率）を有するシリコンベースのデバイスを製造する。プラスチックデバイスの熱形成（エンボス加工、射出成形）はまた、例えば、最小横方向特徴が >20ミクロンであり、これらの特徴のアスペクト比が 10である場合に使用される。

【0229】

さらなる方法は、フォトリソグラフィ（例えば、ステレオリソグラフィまたはX線フォトリソグラフィ）、成形、エンボス加工、シリコン微細加工、湿式または乾式化学エッチング、フライス削り、ダイヤ加工法、リソグラフィ電鍍成形（LIGA）、および電気めっきを含む。例えば、ガラスに対して、湿式（KOH）または乾式エッチング（フッ素ガスまたは他の反応性ガスによる反応性イオンエッチング）に続いてフォトリソグラフィの従来のシリコン製造技術を用いることができる。レーザ微細加工などの技術が、高い光子吸収効率を有するプラスチック材料に適用され得る。この技術は、プロセスの連続的な性質のため、より低いスループットの製造に適している。大量生産のプラスチックデバイスに対しては、熱可塑性プラスチック射出成形および圧縮成形が適切であり得る。（ミクロン以下で特徴の忠実度を保つ）コンパクトディスクの大量製造のために使用された従来の熱可塑性プラスチック射出成形もまた、本発明のデバイスを製造するのに用いることもできる。例えば、デバイス特徴は、従来のフォトリソグラフィによってガラスマスタ上で複製される。ガラスマスタは、電気鋳造され、丈夫な、熱衝撃抵抗性の、熱導電性の強固な型をもたらす。この型は、特徴をプラスチックデバイスに射出成形または圧縮成形するための原型として機能する。デバイスを製造するのに使用されるプラスチック材料と、完成品の光学的特性およびスループットの要件とに依存して、圧縮成形または射出成形が製造方法として選ばれ得る。（ホットエンボス加工または浮彫りインプリンティングとも呼ばれる）圧縮成形は、高分子量重合体との適合性があるという利点を有し、これは小さな構造に対して非常に優れており、高いアスペクト比構造を複製できるが、より長いサイクル時間を有する。射出成形は、低いアスペクト比構造に対して上手く作用するので、低分子量重合体に対して最適である。

【0230】

デバイスは、後に組み立てられる1つまたは複数の部分で製造され得る。デバイスの層は、クランプ、接着剤、熱、陽極接合、または表面群間の反応（例えば、基板接合）によって一緒に接着される。あるいはまた、1つより多い平面においてチャネルまたは間隙を有するデバイスは、例えば、ステレオリソグラフィや他の三次元製造技術を使用して、単一部分として製造され得る。

【0231】

細胞またはデバイスの表面上で溶解された細胞によって放出された化合物の非特異吸着を低減させるために、デバイスの1つまたは複数の表面は、化学修飾されて、非接着性または反発的になり得る。表面は、ヒドロゲルを形成するのに使用される市販の非粘着性試薬の薄膜コーティング（例えば、単層）により被覆され得る。デバイスの表面を修飾するのに使用され得るさらなる例示的な化学種は、オリゴエチレングリコール、フッ素化ポリマー、オルガノシラン、チオール類、ポリエチレングリコール、ヒアルロン酸、ウシ血清アルブミン、ポリビニルアルコール、ムチン、ポリHEMA、メタクリレートPEG、およびアガロースを含む。荷電性ポリマーはまた、反対の荷電を有する化学種を反発させるために使用され得る。反発のために使用される化学種のタイプおよびデバイスの表面への取り付けの方法は、反発する種の性質と、表面の性質と、取り付けられる種の性質とに依存するのである。このような表面修飾技術は当技術分野においてよく知られている。表面は、デバイスが組み立てられる前または後に機能化され得る。デバイスの表面はまた、試料中の

10

20

30

40

50

材料、例えば、膜断片またはタンパク質を捕捉するために被覆され得る。

【0232】

本発明のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第1のプレートの射出成形を含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第2のプレートのナノインプリンティングまたは押出プリンティングを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第1のプレートをレーザ切断することを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第2のプレートのナノインプリンティングまたは押出プリンティングを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第1のプレートを射出成形してレーザ切断することを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第2のプレートのナノインプリンティングまたは押出プリンティングを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、ナノインプリンティングまたは押出プリンティングにより、第1および第2のプレートの両方を製造することを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、射出成形、第1のプレートのレーザ切断、ナノインプリンティング、押出プリンティング、またはこれらの組み合わせを使用して、第1のプレートおよび第2のプレートを製造することを含み得る。本開示のある特定の態様では、本開示の任意のQカードを製造する方法は、第1および第2のプレートの製造の後に、第1および第2のプレート上にヒンジを取り付ける工程を含み得る。

10

20

【0233】

E) 試料タイプおよび対象

試料および対象の詳細は、2016年8月10日に出願された国際出願(IA) PCT/US2016/046437、2016年9月14日に出願されたIA PCT/US2016/051775、2018年2月7日に出願されたIA PCT/US2017/017307、および2017年12月8日に出願されたIA PCT/US2017/065440に記載されており、これらのそれぞれが、すべての目的のために、その全体において参照によって本明細書に組み込まれている。

【0234】

利益を得られる別の特定の分類の対象は、感染症に罹患するより高いリスクにあり得る対象である。さらに、本明細書中で記載される方法または組成物のいずれかによって治療される対象は、男性または女性であり得る。本明細書中で開示される方法、デバイス、またはキットのいずれかはまた、ヒト以外の対象、例えば、研究所または農場の動物に実施することができる。ヒト以外の対象の限定的でない例は、イヌ、ヤギ、モルモット、ハムスター、マウス、ブタ、ヒト以外の霊長類(例えば、ゴリラ、サル、オランウータン、キツネザル、もしくはヒヒ)、ラット、ヒツジ、ウシ、またはゼブラフィッシュを含む。

30

【0235】

本明細書において開示されるデバイス、装置、システム、および方法は、これらに限定されないが、診断試料、臨床試料、環境試料、および食品試料などの試料のために使用され得る。

【0236】

例えば、ある特定の態様では、本明細書において開示されるデバイス、装置、システム、および方法は、細胞、組織、体液、および/またはこれらの混合物を含む試料に対して使用される。ある特定の態様では、試料は、ヒトの体液を含む。ある特定の態様では、試料は、細胞、組織、体液、便、羊水、房水、硝子体液、血液、全血、画分血液、血漿、血清、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、鼻漏、痰、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、および呼気凝縮物のうちの少なくとも1つを含む。

40

【0237】

ある特定の態様では、本明細書中で開示されるデバイス、装置、システム、および方法は、これらに限定されないが、河川、湖、池、海、氷河、氷山、雨、雪、下水、貯水池、水道水、飲料水等のような任意の適切な供給源から取得した環境試料、土壌、堆肥、砂、

50

岩石、コンクリート、材木、煉瓦、下水等からの固体試料、および大気、水中熱排気口、産業排気、車両排気等からの気体試料に使用される。ある特定の態様では、環境試料は、供給源からの新鮮なものであり、ある特定の態様では、環境試料は処理される。例えば、液状でない試料は、主題のデバイス、装置、システム、および方法が適用される前に液状に変換される。

【0238】

ある特定の態様では、本明細書中で開示されるデバイス、装置、システム、および方法は、動物による消費、例えばヒトの消費に適した、または適するようになる可能性を有する食品試料に対して使用される。ある特定の態様では、食品試料は、原料、調理済みまたは加工食品、食品の植物および動物性原料、前処理された食品とともに部分的または完全に加工済みの食品等を含む。ある特定の態様では、液状でない試料は、主題のデバイス、装置、システム、および方法が適用される前に液状に変換される。

10

【0239】

ある特定の態様では、試料の量は、これらに限定されないが、約100uL以下、75uL以下、50uL以下、25uL以下、20uL以下、15uL以下、10uL以下、5uL以下、3uL以下、1uL以下、0.5uL以下、0.1uL以下、0.05uL以下、0.001uL以下、0.0005uL以下、0.0001uL以下、10pL以下、1pL以下、または任意のこれら2つの値の間の範囲を含む。ある特定の態様では、試料の量は、これらに限定されないが、約10uL以下、5uL以下、3uL以下、1uL以下、0.5uL以下、0.1uL以下、0.05uL以下、0.001uL以下、0.0005uL以下、0.0001uL以下、10pL以下、1pL以下、または任意のこれら2つの値の間の範囲を含む。

20

【0240】

ある特定の態様では、試料の量は、約1滴の液体である。ある特定の態様では、試料の量は、刺した指または指先穿刺から収集される量である。ある特定の態様では、試料の量は、マイクロニードル、マイクロピペット、または静脈採血から収集された量である。

【0241】

F) 機械学習

ある特定の態様では、機械学習および人工知能が、光学シグナルの検出に、および/または試料中の細胞および分析物の分析に使用される。機械学習および人工知能の使用におけるある特定の詳細は、国際出願(IA)2018年2月8日に出願されたPCT/US2018/017504および2018年10月26日に出願されたPCT/US2018/057877を含む様々な刊行物に詳細に記載されており、これらのそれぞれが、すべての目的のために参照によって本明細書中に組み込まれている。

30

【0242】

(i i) ディープラーニングとコンピュータビジョンアプローチの混合

本発明のある特定の態様では、検出およびローカリゼーションがコンピュータビジョンアルゴリズムによって実現され、分類がディープラーニングアルゴリズムによって実現され、コンピュータビジョンアルゴリズムが分析対象物の可能な候補を検出し、見つけ、ディープラーニングアルゴリズムが各可能な候補を真の分析対象物と偽の分析対象物とに分類する、ディープラーニングとコンピュータビジョン手法の組み合わせを含む画像解析。すべての真の分析対象物の位置が(真の分析対象物の総数とともに)出力として記録される。

40

【0243】

(a) 検出

コンピュータビジョンアルゴリズムは、強度、色、サイズ、形状、分布などをはじめとする分析対象物の特徴に基づいて、可能な候補を検出する。前処理スキームが検出を改善することができる。前処理スキームは、コントラスト強調、ヒストグラム調整、色強調、ノイズ除去、スムージング、デフォーカスなどを含む。前処理後、入力画像は検出器に送られる。検出器は、分析対象物の可能な候補の存在を知らせ、その場所の推定を出す。検出は、適応的閾値処理などのスキームを使用して、分析対象物構造(たとえばエッジ検出、ライン検出、円検出など)、接続性(たとえばプロブ検出、接続コンポーネント、輪郭

50

検出など)、強度、色、形状などに基づくことができる。

【0244】

(b) ローカリゼーション

検出後、コンピュータビジョンアルゴリズムは、境界またはそれを含むタイトなバウンディングボックスを提供することにより、分析対象物の可能な候補それぞれを見つける。これは、物体セグメンテーションアルゴリズム、たとえば適応的閾値処理、背景差分法、flood fill、Mean Shift、Watershedなどによって達成することができる。非常に多くの場合、ローカリゼーションを検出と組み合わせて、分析対象物の可能な候補それぞれの場所とともに検出結果を出すことができる。

【0245】

(c) 分類

畳み込みニューラルネットワークなどのディープラーニングアルゴリズムは最先端の視覚的分類を達成する。本発明者らは、分析対象物の可能な候補それぞれの分類のためにディープラーニングアルゴリズムを用いる。VGGNet、ResNet、MobileNet、DenseNetなど、様々な畳み込みニューラルネットワークを分析対象物分類に利用することができる。

【0246】

分析対象物の可能な候補それぞれを仮定して、ディープラーニングアルゴリズムは、畳み込みフィルタおよび非線形フィルタを介してニューロンの層を通して計算を実行して、分析対象物を非分析対象物から区別する高レベル特徴を抽出する。完全畳み込みネットワークの層が高レベル特徴を分類結果へと組み合わせ、それが真の分析対象物であるかどうか、または分析対象物である確率を教える。

【0247】

G) 用途、生体/化学的バイオマーカー、および健康状態

本発明の用途は、これらに限定されないが、(a) 特定の疾患、例えば、感染症および寄生虫病、傷害、心血管疾患、がん、精神疾患、神経精神疾患、ならびに器質性疾患、例えば、肺疾患、腎疾患の病期と相関する化学化合物もしくは生体分子の、検出、精製、および定量化；(b) 微生物、例えば、環境、例えば、水、土壌、もしくは生物学的試料、例えば、組織、体液からの、ウイルス、真菌、および細菌の検出、精製、および定量化；(c) 食品の安全性もしくは国家安全保障を危険にさらす化学化合物もしくは生物学的試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽の、検出、定量化；(d) 医学的もしくは生理学的モニターにおけるバイタルパラメータ、例えば、グルコース、血中酸素レベル、総血球数の、定量化；(e) 生体試料、例えば、細胞、ウイルス、体液からの特定のDNAもしくはRNAの、検出および定量化；(f) ゲノム解析のための染色体およびミトコンドリアのDNAの遺伝子配列の、配列決定および比較；または(g) 例えば、医薬品の合成もしくは精製中の反応生成物を検出することを含む。

【0248】

検出は、様々な試料マトリックス、例えば、細胞、組織、体液、および便において実行される。関心対象の体液は、これらに限定されないが、羊水、房水、硝子体液、血液(例えば、全血、画分血液、血漿、血清等)、母乳、脳脊髄液(CSF)、耳垢(cerumen)(耳垢(earwax))、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液(鼻漏および痰を含む)、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂(皮膚の油)、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、ならびに呼気凝縮物を含む。いくつかの態様では、試料は、ヒトの体液を含む。いくつかの態様では、試料は、少なくとも1つの細胞、組織、体液、便、羊水、房水、硝子体液、血液、全血、画分血液、血漿、血清、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、鼻漏、痰、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、および呼気凝縮物のうちの少なくとも1つを含む。

【0249】

態様では、試料は、生物学的試料、環境試料、および生化学的試料のうちの少なくとも

10

20

30

40

50

1つである。

【0250】

本発明におけるデバイス、システム、および方法は、様々な分野の様々な異なる用途での使用を見出し、ここで、存在もしくは非存在の決定および/または試料中の1種または複数種の分析物の定量化が望まれる。例えば、主題の方法は、タンパク質、ペプチド、核酸、合成化合物、無機化合物、有機化合物などの検出における使用を見出す。様々な分野は、これらに限定されないが、ヒト、獣医学、農学、食品、環境、薬物検査等を含む。

【0251】

ある特定の態様では、主題の方法は、核酸、タンパク質、または試料中の他の生体分子の検出における使用を見出す。方法は、試料中のバイオマーカーのセット、例えば、2つ以上の異なるタンパク質または核酸バイオマーカーの検出を含み得る。例えば、方法は、生物学的試料中の2つ以上の疾患バイオマーカーの迅速な臨床検出に使用することができ、例えば、対象の病状の診断または対象の病状の進行中の管理もしくは治療等に用いることができる。上述のように、医師または他の医療提供者に対する伝達は、医師または他の医療提供者が、可能性のある懸念に気づき、認識するのをより確実にし、したがって、より適切な処置を行いやすくし得る。

【0252】

CROFデバイスを用いる本発明におけるデバイス、システム、および方法の用途は、これらに限定されないが、(a)特定の疾患、例えば、感染症および寄生虫病、傷害、心血管疾患、がん、精神疾患、神経精神疾患、ならびに器質性疾患、例えば、肺疾患、腎疾患の病期と関連する化学化合物もしくは生体分子の、検出、精製、および定量化；(b)微生物、例えば、環境、例えば、水、土壌、もしくは生物学的試料、例えば、組織、体液からのウイルス、真菌、および細菌の、検出、精製、および定量化；(c)食品の安全性もしくは国家安全保障を危険にさらす化学化合物もしくは生物学的試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽の、検出、定量化；(d)医学的もしくは生理学的モニターにおけるバイタルパラメータ、例えば、グルコース、血中酸素レベル、総血球数の、定量化；(e)生体試料、例えば、細胞、ウイルス、体液からの特定のDNAもしくはRNAの、検出および定量化；(f)ゲノム解析のための染色体およびミトコンドリアのDNAの遺伝子配列の、配列決定および比較；または(g)例えば、医薬品の合成もしくは精製中の反応生成物を検出することを含む。本発明のデバイス、システム、および方法の特定の用途の一部を、以下でさらに詳細に説明する。

【0253】

本発明の用途は、これらに限定されないが、(a)特定の疾患、例えば、感染症および寄生虫病、傷害、心血管疾患、がん、精神疾患、神経精神疾患、ならびに器質性疾患、例えば、肺疾患、腎疾患の病期と関連する化学化合物もしくは生体分子の、検出、精製、および定量化；(b)微生物、例えば、環境、例えば、水、土壌、もしくは生物学的試料、例えば、組織、体液からのウイルス、真菌、および細菌の、検出、精製、および定量化；(c)食品の安全性もしくは国家安全保障を危険にさらす化学化合物もしくは生物学的試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽の、検出、定量化；(d)医学的もしくは生理学的モニターにおけるバイタルパラメータ、例えば、グルコース、血中酸素レベル、総血球数の、定量化；(e)生体試料、例えば、細胞、ウイルス、体液からの特定のDNAもしくはRNAの、検出および定量化；(f)ゲノム解析のための染色体およびミトコンドリアのDNAの遺伝子配列の、配列決定および比較；または(g)例えば、医薬品の合成もしくは精製中の反応生成物を検出することを含む。

【0254】

本発明のデバイス、システム、および方法の実施は、(a)試料を取得すること；(b)試料中の分析物の捕捉剤への結合に適した条件下で、関心対象の分析物を結合させる捕捉剤を含有するCROFデバイスに試料を適用すること；(c)CROFデバイスを洗浄すること；および(d)CROFデバイスを読み取ることであって、これにより試料中の分析物の量の測定値を取得すること、を含み得る。いくつかの態様では、分析物は、バイオマーカー、環境マー

10

20

30

40

50

カー、または食品マーカであり得る。いくつかの例における試料は、液体試料であり、診断試料（例えば、唾液、血清、血液、痰、尿、汗、涙、精液、および粘液）、河川、海、湖、雨、雪、下水、下水処理排水、農業排水、産業排水、水道水、または飲料水から取得した環境試料、または水道水、飲料水、調理食品、加工食品、もしくは生の食品から取得した食品試料であり得る。

【0255】

任意の態様では、CROFデバイスは、微小流体デバイス内に配置されて、適用する工程(b)は、CROFデバイスを含む微小流体デバイスに試料を適用することを含み得る。

【0256】

任意の態様では、読み取る工程(d)は、CROFデバイスからの蛍光または発光信号を検出することを含み得る。

10

【0257】

任意の態様では、読み取る工程(d)は、CROFデバイスを読み取るように構成された手持ち式デバイスによりCROFデバイスを読み取ることを含み得る。手持ち式デバイスは、携帯電話、例えばスマートフォンであり得る。

【0258】

任意の態様では、CROFデバイスは、CROFデバイス上で分析物捕捉剤複合体に結合できる標識剤を含み得る。

【0259】

任意の態様では、本発明のデバイス、システム、および方法は、工程(c)と(d)の間に、CROFデバイス上で分析物捕捉剤複合体に結合する標識剤をCROFデバイスに適用して、CROFデバイスを洗浄する工程をさらに含み得る。

20

【0260】

任意の態様では、読み取る工程(d)は、CROFデバイスに対する識別子を読み取ることを含み得る。識別子は、光学バーコード、無線周波数IDタグ、またはこれらの組み合わせであり得る。

【0261】

任意の態様では、本発明のデバイス、システム、および方法は、分析物に結合する捕捉剤を含有する制御CROFデバイスに制御試料を適用することをさらに含むことができ、制御試料は、既知の検出可能な量の分析物を含み、制御CROFデバイスを読み取ることにより、試料中の分析物の既知の検出可能な量に対する制御測定値を取得する。

30

【0262】

任意の態様では、試料は、対象から取得した診断試料であり、分析物は、バイオマーカであり、測定された試料中の分析物の量は、疾患または状態の診断に役立つことができる。

【0263】

任意の態様では、本発明のデバイス、システム、および方法は、疾患または状態を有しないか、もしくはその低いリスクにある個体において測定されたバイオマーカの量および測定されたバイオマーカの値の範囲を示すレポートを受信するか、または対象に提供することをさらに含み、測定された値の範囲に対する測定されたバイオマーカの量は、疾患または状態の診断に役立つ。

40

【0264】

任意の態様では、本発明のデバイス、システム、および方法は、測定された試料中のバイオマーカの量を含む情報に基づいた対象の診断をさらに含み得る。一部の場合には、診断する工程は、測定されたバイオマーカの量を含むデータを遠隔地に送信して、測定値を含む情報に基づいた診断を遠隔地から受信することを含む。

【0265】

任意の態様では、適用する工程(b)は、単離miRNA試料を生成するために、miRNAを試料から単離させて、単離miRNA試料をディスク結合柱上ドットアンテナ(CROFデバイス)アレイに適用することを含み得る。

50

【0266】

任意の態様では、方法は、試料が取得された環境にさらされる対象に対する安全性または有害性を示すレポートを受信するかまたは提供することを含み得る。

【0267】

任意の態様では、方法は、測定された環境マーカの量を含有するデータを遠隔地に送信して、試料が取得された環境にさらされる対象に対する安全性または有害性を示すレポートを受信することを含み得る。

【0268】

任意の態様では、CROFデバイスアレイは、それぞれが環境マーカに結合する複数の捕捉剤を含むことができ、読み取る工程(d)は、試料中の複数の環境マーカの量の尺度を取得することを含み得る。任意の態様では、試料は食品試料であり、分析物は食品マーカであることができ、試料中の食品マーカの量は、消費する食品の安全性と関連し得る。

10

【0269】

任意の態様では、方法は、試料が取得された食品を消費する対象に対する安全性または有害性を示すレポートを受信するかまたは提供することを含み得る。

【0270】

任意の態様では、方法は、測定された食品マーカの量を含有するデータを遠隔地に送信して、試料が取得された食品を消費する対象に対する安全性または有害性を示すレポートを受信することを含み得る。任意の態様では、CROFデバイスアレイは、それぞれ食品マーカに結合する複数の捕捉剤を含み、取得は、試料中の複数の食品マーカの量の尺度を取得することを含み、試料中の複数の食品マーカの量は、消費する食品の安全性と関連し得る。

20

【0271】

また、本発明においてデバイス、システム、および方法を実施する際に使用を見出すキットも、本明細書に提供される。

【0272】

試料の量は、約1滴の試料であり得る。試料の量は、刺した指または指先穿刺から収集される量であり得る。試料の量は、マイクロニードルまたは静脈採血から収集された量であり得る。

30

【0273】

試料は、供給源からそれを取得した後、さらに処理することなく使用され得るか、または、例えば、関心対象の分析物に対して濃縮させる、大きな粒子状物質を除去する、固体試料を溶解もしくは再懸濁させる等のように処理され得る。

【0274】

試料をCROFデバイスに適用する任意の適切な方法を用いることができる。適切な方法は、ピペット、スポイト、シリンジなどを使用することを含み得る。ある特定の態様では、以下に説明されるように、CROFデバイスがディップスティック形式の支持体上に位置する場合、ディップスティックの試料受容領域を試料中に浸漬することによって試料がCROFデバイスに適用され得る。

40

【0275】

試料は、一度に、または複数回で収集され得る。経時的に収集された試料は、個別に集約および/または処理され得る(本明細書中で記載されるように、CROFデバイスに適用して、試料中の分析物の量の測定値を得ることによって)。いくつかの例では、経時的に得られた測定値を集約することができ、経時的な縦断的分析に有用であり、スクリーニング、診断、治療、および/または疾患予防を促進することができる。

【0276】

上記のように、CROFデバイスを洗浄して未結合の試料成分を除去することは、任意の便利な方法で行うことができる。ある特定の態様では、結合バッファーを使用してCROFデバイスの表面を洗浄し、未結合の試料成分を除去する。分析物の検出可能な標識は、任意の

50

便利な方法で行うことができる。分析物は、直接または間接的に標識され得る。直接標識では、試料がCROFデバイスに適用される前に、試料中の分析物が標識される。間接標識では、以下に説明されるように、試料がCROFデバイスに適用された後に、試料中の非標識分析物が標識され、非標識分析物を捕捉する。

【0277】

対象からの試料、対象の健康、および本発明の他の用途を以下でさらに説明する。例示的な試料、健康状態、および用途はまた、例えば、米国特許出願公開第2014/0154668号および第2014/0045209号に開示されており、これらは参照によって本明細書中に組み込まれている。

【0278】

本発明は、様々な用途における使用を見出し、ここで、このような用途は、一般的に、所与の試料中の特定の分析物の存在を、量的でなければ少なくとも質的に検出する分析物検出用途である。分析物検出アッセイを実行するためのプロトコルは当業者によく知られており、ここでかなり詳細に説明する必要はない。一般的に、関心対象の分析物を含む疑いのある試料は、センサにつながれたそれぞれの捕捉剤に分析物が結合するのに十分な条件下で、対象ナノセンサの表面と接触される。捕捉剤は、関心対象の標的分子に対して非常に特異的な親和性を有する。この親和性は、抗体が抗原の特異的なエピトープに結合する抗原抗体反応、または、2つ以上の核酸の相補鎖間の配列特異的なDNA/RNAもしくはDNA/RNAハイブリダイゼーション反応であり得る。したがって、関心対象の分析物が試料中に存在するとき、これは、捕捉剤の部位においてセンサに結合する可能性があり、センサ表面上に複合体が形成される。すなわち、捕捉された分析物は、センサ表面で固定化される。未結合の分析物を除去した後、例えば、標識された第2の捕捉剤を使用して、このセンサの表面上の結合複合体（すなわち、固定化された関心対象の分析物）の存在が、その後検出される。

【0279】

特定の関心対象の分析物検出用途は、核酸捕捉剤が用いられるハイブリダイゼーションアッセイと、ポリペプチド、例えば、抗体が用いられるタンパク質結合アッセイとを含む。これらのアッセイにおいて、試料がまず調製され、試料調製に続いて、特異的な結合条件下で試料が対象ナノセンサと接触することによって、センサ表面に取り付けられた薬剤を捕捉するために相補的な標的核酸またはポリペプチド（もしくは他の分子）間で複合体が形成される。

【0280】

一態様では、捕捉オリゴヌクレオチドは、一端においてチオール化された20~100塩基長の合成一本鎖DNAである。これらの分子は、固定化された捕捉DNAに対して相補的な配列を有する（少なくとも長さ50bpであり得る）標的一本鎖DNAを捕捉するために、ナノデバイスの表面に固定化されている。ハイブリダイゼーション反応後、配列が標的DNAで占有されていない核酸に対して相補的な（長さ20~100bpであり得る）検出一本鎖DNAを加えて、標的とハイブリダイズさせる。検出DNAは、その一端を、ナノデバイスの発光波長がプラズモニック共振内にある蛍光標識に共役させる。したがって、ナノデバイスの表面から発出された蛍光を検出することによって、標的一本鎖DNAを正確に検出して、定量化することができる。捕捉および検出DNAについての長さは、融解温度（ヌクレオチド鎖は、上記の融解温度で分離するであろう）およびミスペアリングの程度（鎖が長くなるほど、ミスペアリングは低下する）を決定する。

【0281】

相補的な結合のための長さを選ぶ際の関心事の1つは、融解温度を可能な限り高く保ちながら、ミスペアリングを最小限にする必要性に依存する。さらに、ハイブリダイゼーション長さの全長は、最適な信号増幅を達成するために決定される。

【0282】

主題のセンサは、(a) 疾患または状態を有する疑いのある患者から液体試料を取得すること；(b) 試料を対象ナノセンサに接触させること（ここで、ナノセンサの捕捉剤は

10

20

30

40

50

疾患に対するバイオマーカーに特異的に結合し、接触は、捕捉剤によるバイオマーカーの特異的な結合に適した条件下で行われる)；(c)捕捉剤に結合されていない任意のバイオマーカーを除去すること；および(d)ナノセンサに結合されたままであるバイオマーカーからの光信号を読み取ること、を含む、疾患または状態を診断する方法において用いることができ、光信号は、患者が疾患または状態を有することを示しており、方法はさらに、バイオマーカーが捕捉剤に結合される前または後のいずれかに、発光標識によりバイオマーカーを標識することを含む。以下でより詳細に記載されるように、患者はがんを有する疑いがあり得、抗体は、がんバイオマーカーに結合する。他の態様では、患者は神経疾患を有する疑いがあり、抗体は、神経疾患に対するバイオマーカーに結合する。

【0283】

主題のセンサの用途は、これらに限定されないが、(a)特定の疾患、例えば、感染症および寄生虫病、傷害、心血管疾患、がん、精神疾患、神経精神疾患、ならびに器質性疾患、例えば肺疾患、腎疾患の病期と相関する化学化合物もしくは生体分子の、検出、精製、および定量化；(b)微生物、例えば、環境、例えば、水、土壌、もしくは生物学的試料、例えば、組織、体液からのウイルス、真菌、および細菌の、検出、精製、および定量化；(c)食品の安全性もしくは国家安全保障を危険にさらす化学化合物もしくは生物学的試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽の、検出、定量化；(d)医学的もしくは生理学的モニターにおけるバイタルパラメータ、例えば、グルコース、血中酸素レベル、総血球数の、定量化；(e)生体試料、例えば、細胞、ウイルス、体液からの特定のDNAもしくはRNAの、検出および定量化；(f)ゲノム解析のための染色体およびミトコンドリアのDNAの遺伝子配列の、配列決定および比較；または(g)例えば、医薬品の合成もしくは精製中の反応生成物を検出することを含む。

【0284】

検出は、様々な試料マトリックス、例えば、細胞、組織、体液、および便において実行される。関心対象の体液は、これらに限定されないが、羊水、房水、硝子体液、血液(例えば、全血、画分血液、血漿、血清等)、母乳、脳脊髄液(CSF)、耳垢(cerumen)(耳垢(earwax))、乳糜、糜汁、内リンパ、外リンパ、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液(鼻漏および痰を含む)、心膜液、腹膜液、胸膜液、膿、粘膜分泌物、唾液、皮脂(皮膚の油)、精液、喀痰、汗、滑液、涙、嘔吐物、尿、ならびに呼気凝縮物を含む。

【0285】

いくつかの態様では、主題のバイオセンサは、試料中の病原体から標的核酸を検出することによって、病原体感染を診断するのに使用され得る。標的核酸は、例えば、ヒト免疫不全ウイルス1および2(HIV-1およびHIV-2)、ヒトT細胞白血病ウイルスおよび2(HTLV-1およびHTLV-2)、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)、アデノウイルス、B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、エプスタイン・バーウイルス(EBV)、ヒトパピローマウイルス(HPV)、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)、サイトメガロウイルス(CMV)、単純ヘルペスウイルス1および2(HSV-1およびHSV-2)、ヒトヘルペスウイルス8(HHV-8、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスとしても知られる)、ならびに黄熱ウイルス、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、西ナイルウイルス、およびエボラウイルスを含むフラビウイルスを含む群から選択されたウイルスからのものであり得る。しかしながら、本発明は、前述のウイルスからの、核酸、例えば、DNAやRNAの配列の検出に限定されるものではなく、獣医学および/またはヒト医学で重要な他の病原体に対して何ら問題なく適用することができる。

【0286】

ヒトパピローマウイルス(HPV)はさらに、これらのDNA配列ホモロジーに基づいて、70より多い異なる型に細分される。これらの型は異なる疾患を引き起こす。HPV1、2、3、4、7、10、および26~29型は、良性の疣贅を引き起こす。HPV5、8、9、12、14、15、17、および19~25、および46~50型は、弱った免疫系を有する患者に病変を引き起こす。6、11、34、39、41~44、および51~55型は、生殖器部位および呼吸器の粘膜に鋭尖形の疣贅を引き起こす。HPV16および18型は、これらが生殖器粘膜に上皮性異形成を引き起こし、

10

20

30

40

50

子宮頸部、膣、外陰部、および肛門管の浸潤がんを高割合で関係付けられるので、特別な医学的関心対象である。ヒトパピローマウイルスのDNAの組込みは、子宮頸がんの発がんにおいて決定的であると考えられる。ヒトパピローマウイルスは、例えば、それらのカプシドタンパク質L1およびL2のDNA配列から検出され得る。したがって、本発明の方法は、がんの発達のリスクを判断するための、組織試料中のHVP16および/または18型のDNA配列の検出に特に適している。

【0287】

いくつかの場合、ナノセンサは、低濃度で存在するバイオマーカーを検出するのに用いることができる。例えば、ナノセンサは、容易に到達可能な体液（例えば、血液、唾液、尿、涙等）におけるがん抗原を検出し、容易に到達可能な体液中の組織特有の疾患に対するバイオマーカー（例えば、神経疾患に対するバイオマーカー（例えばアルツハイマー抗原））を検出し、感染症を検出し（特に、低力価潜在ウイルス、例えばHIVの検出）、母体血中の胎児性抗原を検出し、そして、例えば、対象の血流中の外因性化合物（例えば、薬物や汚染物質）を検出するために使用され得る。

10

【0288】

以下の表は、（適切なモノクローナル抗体と共に使用した場合に）主題のナノセンサを使用して検出され得るタンパク質バイオマーカーおよびこれらの関係する疾患のリストを提供する。バイオマーカーの1つの潜在源（例えば「CSF」、脳脊髄液）もまた、表に示されている。多くの場合、主題のバイオセンサは、示したものと異なる体液におけるバイオマーカーを検出することができる。例えば、CSF中で発見されたバイオマーカーは、尿、血液、または唾液において識別され得る。

20

【0289】

H) 有用性

主題の方法は、試料中の1種または複数種の分析物の存在もしくは非存在の決定および/または定量化が望まれる様々な異なる用途での使用を見出す。例えば、主題の方法は、タンパク質、ペプチド、核酸、合成化合物、無機化合物などの検出における使用が見出される。

【0290】

ある特定の態様では、主題の方法は、核酸、タンパク質、または試料中の他の生体分子の検出における使用を見出す。方法は、試料中のバイオマーカーのセット、例えば、2つ以上の異なるタンパク質または核酸バイオマーカーの検出を含み得る。例えば、方法は、生物学的試料中の2つ以上の疾患バイオマーカーの迅速な臨床検出に使用することができる。例えば、対象の病状の診断または対象の病状の進行中の管理もしくは治療等に用いることができる。上述のように、医師または他の医療提供者に対する伝達は、医師または他の医療提供者が、可能性のある懸念に気付き、認識するのをより確実にし、したがって、より適切な処置を行いやすくし得る。

30

【0291】

CROFデバイスを用いる本発明のデバイス、システム、および方法の用途は、これらに限定されないが、(a) 特定の疾患、例えば、感染症および寄生虫病、傷害、心血管疾患、がん、精神疾患、神経精神疾患、ならびに器質性疾患、例えば、肺疾患、腎疾患の病期と相関する化学化合物もしくは生体分子の、検出、精製、および定量化；(b) 微生物、例えば、環境、例えば、水、土壌、もしくは生物学的試料、例えば、組織、体液からのウイルス、真菌、および細菌の、検出、精製、および定量化；(c) 食品の安全性もしくは国家安全保障を危険にさらす化学化合物もしくは生物学的試料、例えば、毒性廃棄物、炭疽の、検出、定量化；(d) 医学的もしくは生理学的モニターにおけるバイタルパラメータ、例えば、グルコース、血中酸素レベル、総血球数の、定量化；(e) 生体試料、例えば、細胞、ウイルス、体液からの特定のDNAもしくはRNAの、検出および定量化；(f) ゲノム解析のための染色体およびミトコンドリアのDNAの遺伝子配列の、配列決定および比較；または(g) 例えば、医薬品の合成もしくは精製中の反応生成物を検出することを含む。本発明のデバイス、システム、および方法の特定用途の一部を、以下でさらに詳細に説

40

50

明する。

【0292】

1) 診断方法

ある特定の態様では、主題の方法は、バイオマーカーを検出する際の使用を見出す。いくつかの態様では、CROFを使用する本発明のデバイス、システム、および方法を使用して、血液、血漿、血清、または他の体液もしくは排泄物、例えば、これらに限定されないが、尿、血液、血清、血漿、唾液、精液、前立腺液、乳頭液、涙液、汗、糞便、チークスワブ、脳脊髄液、細胞溶解液試料、羊水、胃液、生検組織などにおいて、特定のバイオマーカーの存在または非存在とともに、特定のバイオマーカーの濃度における増加または低減を検出する。したがって、試料、例えば、診断試料は、様々な液体または固体試料を含み得る。

10

【0293】

いくつかの例では、試料は、診断されることになる対象からの体液試料であり得る。一部の例では、固体または半固体試料が提供され得る。試料は、対象から収集された組織および/または細胞を含み得る。試料は、生物学的試料であり得る。生物学的試料の例は、これらに限定されないが、血液、血清、血漿、鼻咽頭スワブ、鼻咽頭洗浄、唾液、尿、胃液、脊髄液、涙、便、粘液、汗、耳垢、脂、腺分泌物、脳脊髄液、組織、精液、腔液、腫瘍組織由来の間質液、眼球内の液体、脊髄液、咽頭スワブ、呼気、髪、爪、皮膚、検査用生体組織、胎盤内の液体、羊水、臍帯血、リンパ液、腔液、喀痰、膿、微生物叢、胎便、母乳、呼気凝縮物、および/または他の排泄物を含み得る。試料は、鼻咽頭洗浄を含み得る。鼻咽頭スワブ、咽頭スワブ、便試料、髪、爪、耳垢、呼気、および他の固体、半固体、またはガス状試料は、これらの分析の前に、例えば、固定または可変の時間の間、抽出バッファで処理され得る。抽出バッファまたはそのアリコートは、その後、所望の場合、他の流体試料と同様に処理され得る。対象の組織試料の例は、これらに限定されないが、結合組織、筋組織、神経組織、上皮組織、軟骨、がん性試料、または骨を含み得る。

20

【0294】

いくつかの例では、診断試料が取得される対象は、健康な個体であるか、または、少なくとも疾患もしくは健康状態を有する疑いのある個体であり得る。いくつかの例では、対象は患者であり得る。

【0295】

ある特定の態様では、CROFデバイスは、対象によって提供された試料中のバイオマーカーに特異的に結合するように構成された捕捉剤を含む。ある特定の態様では、バイオマーカーはタンパク質であり得る。ある特定の態様では、バイオマーカータンパク質は、CROFデバイス内に存在する抗体捕捉剤によって特異的に結合される。ある特定の態様では、バイオマーカーは、CROFデバイス内に存在する抗体捕捉剤によって特異的に結合された抗体である。ある特定の態様では、バイオマーカーは、二本鎖核酸バイオマーカーの一方もしくは両方の鎖に相補的な、または一本鎖バイオマーカーに相補的な核酸捕捉剤によって、特異的に結合された核酸である。ある特定の態様では、バイオマーカーは、核酸結合タンパク質によって特異的に結合された核酸である。ある特定の態様では、バイオマーカーは、アダプターによって特異的に結合されている。

30

40

【0296】

バイオマーカーの存在もしくは非存在、またはバイオマーカーの濃度における著しい変化を使用して、個体の疾患リスクと疾患の存在を診断するか、または個体の疾患に合わせた治療をすることができる。例えば、特定のバイオマーカーまたはバイオマーカーのパネルの存在は、個体に与えられる薬物治療または投与計画の選択に影響を及ぼすことがある。可能性のある薬物療法を評価する際、バイオマーカーは、残存するまたは非可逆性の罹患などの自然なエンドポイントの代理として使用され得る。治療が、改善された健康状態と直接的な関係を有するバイオマーカーを変更した場合、バイオマーカーは、特定の治療または投与計画の臨床的利益を評価するための代理のエンドポイントとして機能し得る。したがって、個体で検出された特定のバイオマーカーまたはバイオマーカーのパネルに基

50

づいて個別化された診断および治療が、主題の方法によって促進される。さらに、疾患に関係するバイオマーカーの早期検出が、上述の本発明のデバイス、システム、および方法の高い感度によって促進される。感度、スケーラビリティ、および使い易さを組み合わせた、スマートフォンなどのモバイルデバイスにより複数のバイオマーカーを検出する能力に起因して、本発明で開示される方法は、携帯型のポイントオブケアまたは患者の傍での分子診断において使用を見出す。

【0297】

ある特定の態様では、主題の方法は、疾患または病態に対するバイオマーカーを検出する際に使用を見出す。ある例では、主題の方法は、創薬やワクチン開発のために、細胞信号伝達経路および細胞内伝達の特徴付けのためのバイオマーカーを検出する際に使用を見出す。例えば、主題の方法は、疾患のある、健康なまたは良性の試料中のバイオマーカーの量を検出および/または定量化するのに使用され得る。ある特定の態様では、主題の方法は、感染症または病態に対するバイオマーカーを検出する際に使用を見出す。いくつかの場合では、バイオマーカーは、これらに限定されないが、例えば、タンパク質、核酸、炭水化物、小分子などの分子バイオマーカーであり得る。

10

【0298】

主題の方法は、例えば、これらに限定されないが、以下の、上記のような検出および/または定量化バイオマーカー、無症候の対象に対して規則的な間隔で試料を検査するスクリーニングアッセイ、バイオマーカーの存在およびまたは量を使用して可能性ある疾患経過を予測する予後的アッセイ、異なる薬物治療に対する対象の反応が予測され得る層化アッセイ、薬物治療の有効性が監視される有効性アッセイなどの診断アッセイにおいて使用を見出す。

20

【0299】

いくつかの態様では、主題のバイオセンサを使用して、試料中の病原体から標的核酸を検出することによって、病原体感染を診断することができる。標的核酸は、例えば、ヒト免疫不全ウイルス1および2 (HIV-1およびHIV-2)、ヒトT細胞白血病ウイルスおよび2 (HTLV-1およびHTLV-2)、呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、アデノウイルス、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、エプスタイン・バーウイルス (EBV)、ヒトパピローマウイルス (HPV)、水痘帯状疱疹ウイルス (VZV)、サイトメガロウイルス (CMV)、単純ヘルペスウイルス1および2 (HSV-1およびHSV-2)、ヒトヘルペスウイルス8 (HHV-8、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスとしても知られる)、ならびに黄熱ウイルス、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、西ナイルウイルス、およびエボラウイルスを含むフラビウイルスを含む群から選択されたウイルスからのものであり得る。しかしながら、本発明は、核酸、例えば、前述のウイルスからのDNAまたはRNAの配列の検出に限定されるものではなく、獣医学および/またはヒト医学で重要な他の病原体に対し、何ら問題なく適用することができる。

30

【0300】

ヒトパピローマウイルス (HPV) はさらに、これらのDNA配列ホモロジーに基づいて、70より多い異なる型に細分される。これらの型は異なる疾患を引き起こす。HPV1、2、3、4、7、10、および26~29型は、良性の疣贅を引き起こす。HPV5、8、9、12、14、15、17、および19~25、および46~50型は、弱った免疫系を有する患者に病変を引き起こす。6、11、34、39、41~44、および51~55型は、生殖器部位および呼吸器の粘膜に鋭尖形の疣贅を引き起こす。HPV16および18型は、これらが生殖器粘膜に上皮性異形成を引き起こし、子宮頸部、膣、外陰部、および肛門管の浸潤がんを高割合で関係付けられるので、特別な医学的関心対象である。ヒトパピローマウイルスのDNAの組込みは、子宮頸がんの発がんにおいて決定的であると考えられている。ヒトパピローマウイルスは、例えば、それらのカプシドタンパク質L1およびL2のDNA配列から検出され得る。したがって、本発明の方法は、がんの発達のリスクを判断するための、組織試料中のHPV16および/または18型のDNA配列の検出に特に適している。

40

【0301】

50

本発明のデバイス、システム、および方法を使用して、診断試料中で検出され得る他の病原体は、これらに限定されないが、水痘帯状疱疹、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MSRA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*))、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、スタフィロコッカス・ホミニス (*Staphylococcus hominis*)、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、スタフィロコッカス・キャピティス (*Staphylococcus capitis*)、スタフィロコッカス・ワーネリ (*Staphylococcus warneri*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*)、スタフィロコッカス・シミュランス (*Staphylococcus simulans*)、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、およびカンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*)、淋病 (淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*))、梅毒 (梅毒トレポネーマ (*Treponema pallidum*))、クラミジア (クラミジア・トラコマチス (*Chlamydia trachomatis*))、非淋菌性尿道炎 (ウレアプラズマ・ウレアリチカム (*Ureaplasma urealyticum*))、軟性下疳 (ヘモフィルス・デュクレイ (*Haemophilus ducreyi*))、トリコモナス症 (腔トリコモナス (*Trichomonas vaginalis*))、緑膿菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MSRA)、肺炎桿菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、ステノトロホモナス・マルトフィリア (*Stenotrophomonas maltophilia*)、パラインフルエンザ菌 (*Haemophilus parainfluenzae*)、大腸菌、エンテロコッカス・フェカリス、セラチア・マルセセンス (*Serratia marcescens*)、ヘモフィルス・パラヘモリティカス (*Haemophilus parahaemolyticus*)、エンテロコッカス・クロアカ (*Enterococcus cloacae*)、カンジダ・アルビカンス、モラクセラ・カタラーリス (*Moraxiella catarrhalis*)、肺炎球菌、シトロバクター・フロインデイ (*Citrobacter freundii*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、クレブシエラ・オキシトカ (*Klebsella oxytoca*)、シュードモナス・フルオレセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*)、化膿連鎖球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、ニューモシステイス・カリニ (*Pneumocystis carinii*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsella pneumoniae*)、レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*)、肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*)、および結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 等を含む。

10

20

30

40

50

【0302】

いくつかの場合において、低濃度で存在するバイオマーカーを検出するために、CROFデバイスをを用いることができる。例えば、CROFデバイスは、容易に到達可能な体液 (例えば、血液、唾液、尿、涙等) におけるがん抗原を検出し、容易に到達可能な体液中の組織特有の疾患に対するバイオマーカー (例えば、神経疾患に対するバイオマーカー (例えばアルツハイマー抗原)) を検出し、感染症 (特に、低力価潜在ウイルス、例えば、HIV) を検出し、母体血中の胎児性抗原を検出し、そして、例えば、対象の血流中の外因性化合物 (例えば、薬物や汚染物質) を検出するために使用され得る。

【0303】

バイオマーカーの1つの潜在源 (例えば、「CSF」、脳脊髄液) もまた、表に示される。多くの場合、主題のバイオセンサは、示したものと異なる体液におけるバイオマーカーを検出できる。例えば、CSF中で発見されたバイオマーカーは、尿、血液、または唾液中で識別され得る。主題のCROFデバイスが、疾患または健康状態の診断に役立つ技術分野で既知であるより多くのバイオマーカーを捕捉して検出するように構成され得ることはまた、当業者にとって明らかとなるであろう。

【0304】

バイオマーカーは、特に指定されない限り、タンパク質または核酸 (例えば、mRNA) バイオマーカーであり得る。診断は、特に指定されない限り、試料中のバイオマーカーのレベルにおける増大または低減に関係付けられ得る。バイオマーカーのリスト、診断するために使用され得る疾患、およびバイオマーカーが検出され得る試料は、2015年9月29日出願され、その出願が参照によって本明細書中に組み込まれた米国仮出願第62/234,538の表1および2に記載されている。

【0305】

いくつかの例において、本発明のデバイス、システム、および方法は、試料が由来する対象に、その健康状態について知らせるために使用される。本発明のデバイス、システム、および方法、デバイスおよびシステムによって診断または測定され得る健康状態は、これらに限定されないが、ケミカルバランス、栄養上の健康、運動、疲労、睡眠、ストレス、前糖尿病、アレルギー、老化、環境毒素や農薬や除草剤や合成ホルモンアナログへの曝露、妊娠、閉経、およびアンドロポーズを含む。2015年9月29日に出願され、その出願が参照によって本明細書中に組み込まれた米国仮出願第62/234,538の表3は、(適切なモノクローナル抗体、核酸、または他の捕捉剤と共に使用された場合)本CROFデバイスを使用して検出され得るバイオマーカーと、これらに関係付けられた健康状態のリストを提供している。

10

【0306】

関連資料

本発明は様々な態様を含み、様々な構成要素が互いに矛盾しない限り複数の方法で組み合わせることができる。態様は、単一の発明出願とみなされるべきであり、各出願は、個別に独立しているものとしてではなく、参考文献として他の出願を有し、また、その全体がすべての目的のために参照される。これらの態様は、現在の出願の開示のみでなく、また、本明細書で参照されるか、組み込まれるか、または優先権が主張される文書も含む。

【0307】

(1) 定義

本明細書で開示されるデバイス、システム、および方法の説明に使用される用語は、現在の出願、またはそれぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に出願されたPCT出願(米国指定)第PCT/US2016/045437号および第PCT/US0216/051775号、2017年2月7日に出願された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に出願された米国仮出願第62/456287号、ならびに2017年2月8日に出願された米国仮出願第62/456504号(これらの出願のすべてはすべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる)において定義されている。

20

【0308】

「CROFカード(またはカード)」、「COFカード」、「QMAXカード」、「Qカード」、「CROFデバイス」、「COFデバイス」、「QMAXデバイス」、「CROFプレート」、「COFプレート」、および「QMAXプレート」という用語は、交換可能であるが、例外として、いくつかの態様では、COFカードはスペーサを含まず、これらの用語は、(開放構成および閉鎖構成を含む)異なる構成へと互いに相対的に移動可能な第1のプレートおよび第2のプレートを含み、かつプレート間のスペーシングを調節するスペーサ(COFカードのいくつかの態様を除いて)を含むデバイスを指す。「Xプレート」という用語は、CROFカードの2つのプレートのうち一方を指すことがあり、スペーサは、このプレートに固定されている。COFカード、CROFカード、およびXプレートのさらなる説明は、2017年2月7日に出願された仮出願第62/456065号に与えられており、すべての目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。

30

【0309】

(2) Qカード、スペーサ、および均一な試料厚さ

本明細書で開示されるデバイス/装置、システム、および方法は、試料の検出、分析、および定量化のために、Qカード、スペーサ、および均一な試料厚さの実施形態を含むか、または使用することができる。いくつかの実施形態では、Qカードは、試料の少なくとも一部を非常に均一性の層にするのに役立つスペーサを備える。スペーサの構造、材料、機能、変形、および寸法、ならびにスペーサおよび試料層の均一性は、本明細書に開示され、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に出願されたPCT出願(米国指定)第PCT/US2016/045437号および第PCT/US0216/051775号、2017年2月7日に出願された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に出願された米国仮出願第62/456287号、ならびに2017年2月8日に出願された米国仮出願第62/456504号(これらの出願のすべてはすべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる)において列挙、または説明、および要約されて

40

50

いる。

【0310】

(3) ヒンジ、開口ノッチ、陥凹端部、およびスライダ

本明細書で開示されるデバイス、システム、および方法は、試料の検出、分析、および定量化のために、Qカードを含むか、または使用することができる。いくつかの実施形態では、Qカードは、Qカードの操作および試料の測定を容易にするのに役立つヒンジ、ノッチ、陥凹、およびスライダを備える。ヒンジ、ノッチ、陥凹、およびスライダの構造、材料、機能、変形、および寸法は、本明細書に開示され、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に開示されたPCT出願(米国指定)第PCT/US2016/045437号および第PCT/US0216/051775号、2017年2月7日に開示された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456287号、ならびに2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456504号に列挙、または説明、および要約されており、これらの出願の全ては、全ての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0311】

(4) Qカード、スライダ、およびスマートフォン検出システム

本明細書において開示されるデバイス、システム、および方法は、試料の検出、分析、および定量化のためのQカードを含むかまたは使用し得る。いくつかの態様では、Qカードは、カードをスマートフォン検出システムによって読み取らせることができるスライダと一緒に使用される。Qカード、スライダ、およびスマートフォン検出システムの、構造、材料、機能、変形、寸法、および接続が、本明細書において開示されるか、または、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に開示されたPCT出願(米国指定)PCT/US2016/045437およびPCT/US0216/051775、2017年2月7日に開示された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456287号、および2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456504号に列挙され、記載され、要約されており、これらの出願のすべては、すべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0312】

(5) 検出方法

本明細書において開示されるデバイス、システム、および方法は、検出方法の様々なタイプを含むかまたはそこで使用され得る。検出方法は、本明細書で開示されるか、または、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に開示されたPCT出願(米国指定)PCT/US2016/045437およびPCT/US0216/051775、2017年2月7日に開示された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456287号、および2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456504号に列挙され、記載され、要約されており、これらの出願のすべては、すべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

30

【0313】

(6) 標識、捕捉剤、および検出剤

本明細書において開示されるデバイス、システム、および方法は、分析物検出のために使用される様々なタイプの標識、捕捉剤、および検出剤を用いることができる。標識は、本明細書で開示されるか、または、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に開示されたPCT出願(米国指定)PCT/US2016/045437およびPCT/US0216/051775、2017年2月7日に開示された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456287号、および2017年2月8日に開示された米国仮出願第62/456504号に列挙され、記載され、要約されており、これらの出願のすべては、すべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0314】

(7) 分析物

本明細書において開示されるデバイス、システム、および方法は、様々なタイプの分析物(バイオマーカーを含む)の操作および検出に適用され得る。分析物は、本明細書で開示されるか、または、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に開示されたPCT出願(米国指定)PCT/US2016/045437およびPCT/US0216/051775、2017年2月7日に開示された米

50

国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456287号、および2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456504号に列挙され、記載され、要約されており、これらの出版のすべては、すべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0315】

(8)用途(分野および試料)

本明細書に開示されるデバイス、システム、および方法は、様々な用途(分野および試料)に使用することができる。用途は、本明細書に開示され、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に出版されたPCT出願(米国指定)第PCT/US2016/045437号および第PCT/US0216/051775号、2017年2月7日に出版された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456287号、ならびに2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456504号(これらの出版のすべてはすべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる)において列挙、または説明、および要約されている。

10

【0316】

(9)クラウド

本明細書に開示されるデバイス、システム、および方法は、データ転送、ストレージ、および/または分析のためにクラウド技術を使用することができる。関連するクラウド技術は、本明細書に開示され、それぞれ2016年8月10日および2016年9月14日に出版されたPCT出願(米国指定)第PCT/US2016/045437号および第PCT/US0216/051775号、2017年2月7日に出版された米国仮出願第62/456065号、2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456287号、ならびに2017年2月8日に出版された米国仮出願第62/456504号(これらの出版のすべてはすべての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる)において列挙、または説明、および要約されている。

20

【0317】

他の態様

本開示による本発明の主題のさらなる例は、以下に列挙される段落に記載される。

【0318】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、「単一」という語が使用される場合などの文脈がそうではないことを明確に指示しない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。例えば、「分析物」への言及は単一の分析物および複数の分析物を含み、「捕捉剤」への言及は単一の捕捉剤および複数の捕捉剤を含み、「検出剤」への言及は単一の検出剤および複数の検出剤を含み、「剤」への言及には、単一の剤および複数の剤を含む。

30

【0319】

本明細書において、範囲は、「約」1つの特定の値から、および/または「約」別の特定の値まで、のように表現されることがある。このような範囲が表現される場合、別の態様は、一方の特定の値からおよび/または他方の特定の値までを含む。同様に、値が近似として表現される場合、先の「約」の使用によって、特定の値が別の態様を形成することが理解されるであろう。さらに、範囲のそれぞれの端点は、他方の端点に関して、そして他方の端点とは無関係に、両方有効であることが理解されるであろう。「約」または「おおよそ」という用語は、当業者によって決定された特定の値について許容可能な誤差範囲内を意味することがあり、これは、値がどのように測定または決定されるか、すなわち、測定システムの限定に部分的に依存するであろう。例えば、「約」は、技術の実施毎に1以上の標準偏差内を意味し得る。あるいはまた、「約」は、所与の値の20%まで、10%まで、5%まで、または1%までの範囲を意味し得る。あるいはまた、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、用語は、値の、同じ桁内、5倍以内、より好ましくは2倍以内を意味し得る。特定の値が本出願および特許請求の範囲に記載される場合、特に示されない限り、特定の値について許容可能な誤差範囲内を意味する「約」という用語を仮定すべきである。「約」という用語は、当業者によって通常理解される意味を有する。いくつかの

40

50

態様では、「約」という用語は、 $\pm 10\%$ を指す。いくつかの態様では、「約」という用語は、 $\pm 5\%$ を指す。

【0320】

本明細書で使用される場合、「適合させる」および「構成される」という用語は、要素、構成要素、または他の対象物が所与の機能を果たすように設計および/または意図されることを意味する。したがって、「適応された」および「構成された」という用語の使用は、所与の要素、構成要素、または他の主題が所与の機能を単に実行する「ことができる」ことを意味すると解釈されるべきではない。同様に、特定の機能を実行するように構成されていると列挙されている主題は、加えてまたは代替として、その機能を実行するように作動するものとして説明され得る。

10

【0321】

本明細書で使用される、「例えば」という語句、「例として」という語句、ならびに/または単に「例」および「例示」という用語は、本開示による1つ以上の構成要素、特徴、詳細、構造、実施形態、および/または方法に関して使用される場合、記載される構成要素、特徴、詳細、構造、実施形態、および/または方法が、本開示による構成要素、特徴、詳細、構造、実施形態、および/または方法の例示的で非排他的な例であることを伝えることを意図している。したがって、説明される構成要素、機能、詳細、構造、実施形態、および/または方法は、限定的、必須、または排他的/網羅的であることを意図しておらず、構造的および/または機能的に類似および/または同等の構成要素、機能、詳細、構造、実施形態、および/または方法を含む他の構成要素、機能、詳細、構造、実施形態、および/または方法も、本開示の範囲内である。

20

【0322】

本明細書で使用される、2つ以上の実体のリストに関して「~の少なくとも1つ」および「~の1つ以上」という語句は、実体のリスト内の実体の任意の1つ以上を意味し、実体のリスト内に具体的に列記されているあらゆる実体の少なくとも1つに限定されない。例えば、「AおよびBの少なくとも1つ」(または、同等に「AまたはBの少なくとも1つ」、または同等に「Aおよび/またはBの少なくとも1つ」)は、Aのみ、Bのみ、またはAおよびBの組み合わせを指す場合がある。

【0323】

本明細書で使用される、第1の実体と第2の実体との間に置かれる「および/または」という用語は、(1)第1の実体、(2)第2の実体、ならびに(3)第1の実体および第2の実体の1つを意味する。「および/または」により列記された複数の実体は、同じように、つまり、そのように結合された実体の「1つ以上」と解釈されるべきである。具体的に特定されたそれらの実体に関連するか無関係であるかにかかわらず、「および/または」節で具体的に特定された実体以外に、他の実体が任意選択で存在する場合がある。

30

【0324】

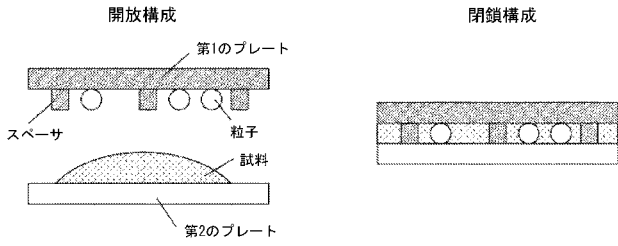
数値範囲が本明細書で言及される場合、本発明は、エンドポイントが含まれる実施形態、両方のエンドポイントが除外される実施形態、および一方のエンドポイントが含まれ他方が除外される実施形態を含む。特に指定のない限り、両方のエンドポイントが含まれると想定するべきである。さらに、特に指示のない限り、または文脈および当業者の理解から明白でない限り。

40

【0325】

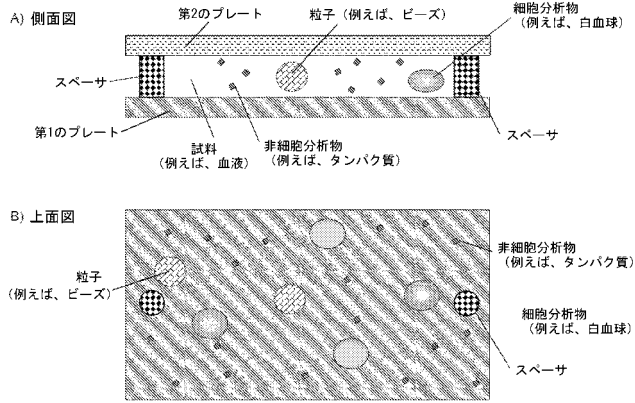
任意の特許、特許出願、または他の参考文献が、参照により本明細書に組み込まれ、かつ(1)本開示の組み込まれていない部分または他の組み込まれた参考文献のいずれかと矛盾する方法で用語を定義する場合、および/または(2)本開示の組み込まれない部分または他の組み込まれた参考文献のいずれかと別様に矛盾する場合、本開示の組み込まれていない部分が優先するものとし、本明細書における用語または組み込まれた開示は、その用語が定義されている、および/または組み込まれた開示が元々存在していた参考文献に関してのみ優先するものとする。

【図1A】



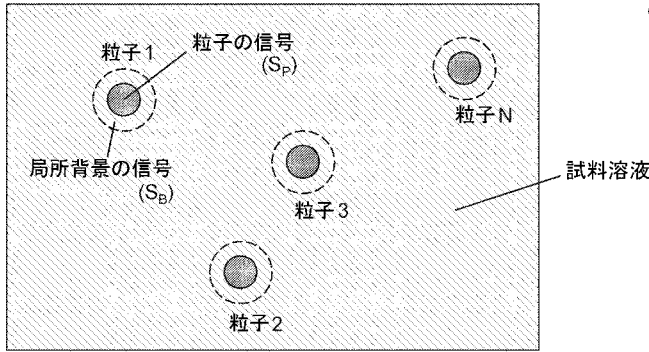
【図2】

QAP (粒子によるQMAXアッセイ)

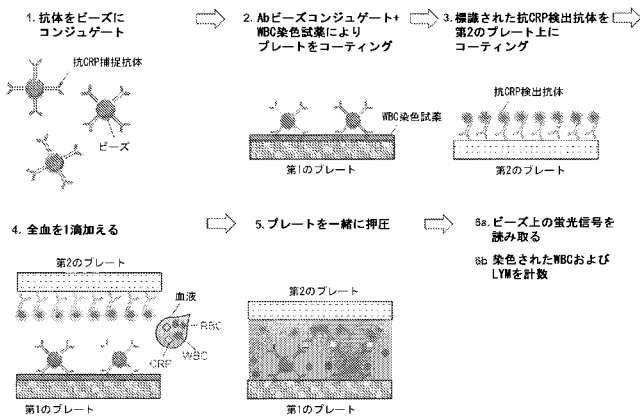


【図1B】

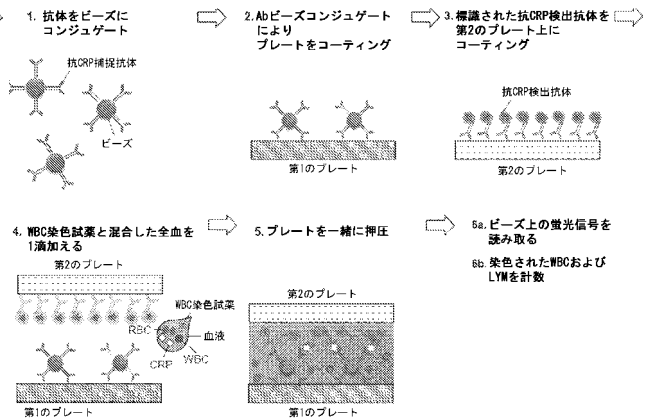
局所読み取り





【図3】



【図4】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2019/015309
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
G01N 33/53(2006.01)i, G01N 33/536(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N 33/53; C07H 21/04; C07K 17/00; G01N 1/28; G01N 21/75; G01N 33/48; G01N 33/543; G01N 33/569; G02B 21/34; G01N 33/536		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: spacer, particle, capture, target, assay, imager, processor		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017-048871 A1 (ESSENLIIX CORP.) 23 March 2017 See abstract; Figures 1, 2, 4, 13A; claims 1-3, 8, 17, 25, 26, 28, 29, 30, 57, 63, 68, 78, 84, 101, 112.	1-4,11-25
Y	US 2013-0157288 A1 (KILFEATHER, STEPHEN et al.) 20 June 2013 See abstract; Figures 1-3; Examples 1, 2; paragraph [0189]; claims 1, 4, 20, 24, 25, 30	1-4,11-25
Y	EP 0961110 A2 (BECTON, DICKINSON AND COMPANY) 01 December 1999 See abstract; claims 1-4; Figures 1-3.	1-4,11-25
Y	US 2010-0216248 A1 (WARDLAW, STEPHEN C.) 26 August 2010 See abstract; Figure 3; claim 1.	1-4,11-25
A	US 4022521 A (HALL, RAYMOND V. et al.) 10 May 1977 See the whole document.	1-4,11-25
A	US 2012-0108787 A1 (LUE, BRIAN C.) 03 May 2012 See the whole document.	1-4,11-25
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 29 April 2019 (29.04.2019)		Date of mailing of the international search report 29 April 2019 (29.04.2019)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer HEO, Joo Hyung  Telephone No. +82-42-481-8150

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2019/015309

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 5-10,26-100
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2019/015309

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017-048871 A1	23/03/2017	AU 2016-304896 A1	01/03/2018
		AU 2016-323062 A1	12/04/2018
		AU 2016-323072 A1	05/04/2018
		CA 2995204 A1	16/02/2017
		CA 2998587 A1	23/03/2017
		CN 108633304 A	09/10/2018
		CN 108700577 A	23/10/2018
		CN 108780081 A	09/11/2018
		EP 3335042 A1	20/06/2018
		EP 3341724 A1	04/07/2018
		EP 3341728 A1	04/07/2018
		JP 2018-529982 A	11/10/2018
		JP 2018-532998 A	08/11/2018
		KR 10-2018-0059828 A	05/06/2018
		PH 12018500558 A1	17/09/2018
		US 2018-0156775 A1	07/06/2018
		US 2018-0202903 A1	19/07/2018
		US 2018-0246089 A1	30/08/2018
		WO 2017-027643 A1	16/02/2017
		WO 2017-048881 A1	23/03/2017
		US 2013-0157288 A1	20/06/2013
EP 2536818 B1	03/10/2018		
GB 2492268 A	26/12/2012		
GB 2492268 B	06/02/2019		
US 2018-0238808 A1	23/08/2018		
US 9945786 B2	17/04/2018		
WO 2011-102903 A1	25/08/2011		
EP 0961110 A2	01/12/1999	EP 0961110 A3	23/08/2000
		JP 11-352411 A	24/12/1999
		US 6358475 B1	19/03/2002
US 2010-0216248 A1	26/08/2010	AU 2005-233571 A1	27/10/2005
		CA 2563002 A1	27/10/2005
		CA 2563002 C	12/07/2011
		CN 1957254 A	02/05/2007
		CN 1957254 B	25/01/2012
		EP 1733226 A2	20/12/2006
		EP 1733226 B1	29/07/2015
		EP 2977757 A1	27/01/2016
		EP 2977757 B1	13/09/2017
		EP 3270156 A1	17/01/2018
		ES 2548567 T3	19/10/2015
		ES 2643836 T3	24/11/2017
		JP 2007-532881 A	15/11/2007
		US 2007-0243117 A1	18/10/2007
		US 2011-0294198 A1	01/12/2011
		US 2015-0323519 A1	12/11/2015

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2019/015309

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 7850916 B2	14/12/2010
		US 8241572 B2	14/08/2012
		US 9084995 B2	21/07/2015
		WO 2005-100539 A2	27/10/2005
		WO 2005-100539 A3	19/01/2006
US 04022521 A	10/05/1977	None	
US 2012-0108787 A1	03/05/2012	US 2010-0256343 A1	07/10/2010
		US 2016-0136198 A1	19/05/2016

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
	G 0 1 N 33/569	G
	G 0 1 N 33/53	Z
	C 1 2 M 1/34	B
	C 1 2 Q 1/02	

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. T W E E N
2. B L U E T O O T H
3. Z I G B E E
4. テフロン

(74) 代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74) 代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 チョウ スティーブン ワイ .

アメリカ合衆国 0 8 5 4 0 ニュージャージー州 プリンストン フォーレット ドライブ 7

(72) 発明者 ディン ウェイ

アメリカ合衆国 0 8 5 1 2 ニュージャージー州 イースト ウィンザー パーンズデール ドライブ 2

(72) 発明者 リ ジ

アメリカ合衆国 0 8 5 4 0 ニュージャージー州 プリンストン レッド ヒル ロード 5 1

(72) 発明者 チャン ユファン

アメリカ合衆国 0 8 8 5 2 ニュージャージー州 モンマス ジャンクション ディアパーク ドライブ 1

F ターム(参考) 4B029 AA07 BB01 BB20 CC01 FA15

4B063 QA18 QQ02 QQ06 QQ08 QQ10 QR72 QR75 QR77 QR79 QS36

QS39 QX01