

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6929646号  
(P6929646)

(45) 発行日 令和3年9月1日 (2021.9.1)

(24) 登録日 令和3年8月13日 (2021.8.13)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 35/08 (2006.01)	GO 1 N 35/08 A
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34 B
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1

請求項の数 15 (全 53 頁)

(21) 出願番号	特願2016-569728 (P2016-569728)	(73) 特許権者	514202402
(86) (22) 出願日	平成27年6月3日 (2015.6.3)		イラミーナ インコーポレーテッド
(65) 公表番号	特表2017-522546 (P2017-522546A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
(43) 公表日	平成29年8月10日 (2017.8.10)		122 サンディエゴ イラミーナ ウェ
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/034053		イ 5200
(87) 国際公開番号	W02015/187868	(74) 代理人	100147485
(87) 国際公開日	平成27年12月10日 (2015.12.10)		弁理士 杉村 憲司
審査請求日	平成30年5月15日 (2018.5.15)	(74) 代理人	100173794
審判番号	不服2020-14181 (P2020-14181/J1)		弁理士 色部 暁義
審判請求日	令和2年10月8日 (2020.10.8)	(72) 発明者	セバスチャン ボーム
(31) 優先権主張番号	62/008, 276		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
(32) 優先日	平成26年6月5日 (2014.6.5)		122 サンディエゴ イラミーナ ウェ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		イ 5200

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料調製又は試料解析の少なくとも一方を行うため回転バルブを備えるシステム及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料チャンネル (131)、反応チャンバ (126)、及びリザーバ (151, 152) を有する流体ネットワーク (106) であって、前記試料チャンネルは、生物試料を受け入れるよう構成した試料通口 (116) に流体連通するものとし、前記反応チャンバは、光路からの照射光を受ける少なくとも1つの光学的に透明な面及び反応窪みのアレイを有する、該流体ネットワーク (106) と、

前記流体ネットワークに流体連通するよう構成したポンプアセンブリと、

フローチャンネル (140) を有し、また第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で回転するよう構成した回転バルブ (123) であって、前記フローチャンネルは、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき前記反応チャンバ及び前記試料チャンネルを流体的に接続し、また前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき前記リザーバ及び前記反応チャンバを流体的に接続し、前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき前記生物試料を前記反応チャンバに向かわせるフローを誘導することができ、また前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき反応成分を前記リザーバから前記反応チャンバに向かわせるフローを誘導することができる、前記回転バルブ (123) と、

前記反応チャンバ内の前記反応窪みのアレイから、1つ以上の反応によって生み出される光信号を検出する検出アセンブリと、  
を備え、

前記回転バルブは、前記回転バルブが前記第 1 バルブ位置から前記第 2 バルブ位置に回転するにつれて、前記フローチャンネル内に前記生物試料を保持することができ、前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブが前記第 2 バルブ位置にあるとき、前記生物試料を前記リザーバ内に流入させるフローを誘導することができる、システム ( 1 0 0 )。

【請求項 2】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記ポンプアセンブリは、前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) に流体連通しかつ前記反応チャンバに対して下流側に位置するシステムポンプ ( 1 1 9 ) を有する、システム。

【請求項 3】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記試料チャンネル ( 1 3 1 ) は第 1 試料チャンネルとし、また前記生物試料は第 1 生物試料とし、前記流体ネットワーク ( 1 0 6 ) は第 2 生物試料を有する第 2 試料チャンネルを含み、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) は、前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) が前記第 2 試料チャンネルに流体連通する第 3 バルブ位置に回転するよう構成し、前記ポンプアセンブリは、前記第 2 試料チャンネル内の第 2 生物試料を前記フローチャンネル内に流入させるフローを誘導する構成とし、この場合、前記回転バルブが前記第 3 バルブ位置から前記第 2 バルブ位置に回転するにつれて、前記フローチャンネル内に前記第 2 生物試料を保持することができ、また前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブが前記第 2 バルブ位置にあるとき、前記フローチャンネルにおける前記第 2 生物試料を前記リザーバ ( 1 5 1 , 1 5 2 ) に流入させるフローを誘導することができる、システム。

【請求項 4】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記リザーバ ( 1 5 1 , 1 5 2 ) は第 1 リザーバとし、前記流体ネットワーク ( 1 0 6 ) はさらに第 2 リザーバを有するものとし、この場合、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) は、前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) が前記第 2 リザーバ及び前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) を流体的に接続する第 3 バルブ位置に移動する構成とした、システム。

【請求項 5】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記試料チャンネル ( 1 3 1 ) は第 1 試料チャンネルとし、また前記流体ネットワークは第 2 試料チャンネルを含むものとする、システム。

【請求項 6】

請求項 5 記載のシステムにおいて、前記第 1 試料チャンネル及び第 2 試料チャンネルのそれぞれは、共通サプライ通口を介して前記回転バルブ ( 1 2 3 ) に流体連通する、システム。

【請求項 7】

請求項 5 記載のシステムにおいて、さらに、前記試料チャンネル ( 1 3 1 ) に接続し、第 1 位置と第 2 位置との間で移動するよう構成したチャンネルバルブ ( 1 2 1 ) であって、前記第 1 位置及び第 2 位置ではそれぞれ、前記試料チャンネルを通過するフローを阻止及び許可する、該チャンネルバルブ ( 1 2 1 ) を備える、システム。

【請求項 8】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記回転バルブ ( 1 2 3 , 2 1 6 ) は軸線 ( 1 4 2 , 2 9 9 ) 周りに回転し、前記流体ネットワーク ( 1 0 6 ) はフィード通口 ( 2 2 6 ) を有し、前記フィード通口 ( 2 2 6 ) が実質的に前記回転バルブ ( 1 2 3 , 2 1 6 ) の回転軸 ( 1 4 2 , 2 9 9 ) と並んで一致し、かつ前記フィード通口 ( 2 2 6 ) は、前記フローチャンネル ( 1 4 0 / 2 1 8 ) 及び前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) を流体的に接続する、システム。

【請求項 9】

請求項 1 記載のシステムにおいて、前記流体ネットワーク ( 1 0 6 ) は、さらに、試薬チャンネルを有し、前記試料チャンネル ( 1 3 1 ) 及び前記試薬チャンネルは、前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) に対して上流側に配置した共通のサプライ通口に流体連通し、前記サプライ通口は、前記試料チャンネル及び前記試薬チャンネルを前記フローチャンネル

10

20

30

40

50

に流体的に接続する、システム。

【請求項 1 0】

請求項 1 記載のシステムにおいて、さらに、前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) 内の指定反応を検出するよう構成した検出アセンブリ ( 1 0 8 ) を備える、システム。

【請求項 1 1】

請求項 1 記載のシステムにおいて、さらに、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) 及び前記ポンプアセンブリを自動的に制御して、シーケンシング・パイ・シンセシスプロトコルの反復サイクルを行うよう構成したシステムコントローラ ( 1 8 0 ) を備える、システム。

【請求項 1 2】

請求項 1 - 1 1 のいずれか一項に記載のシステム ( 1 0 0 ) を使用する方法であり、  
前記回転バルブ ( 1 2 3 ) を前記第 1 バルブ位置に回転し、前記第 1 バルブ位置にあるとき前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) を前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) に流体連通させるステップと、

10

前記回転バルブが前記第 1 バルブ位置にあるとき、生物試料を前記試料チャンネル ( 1 3 1 ) から前記フローチャンネルを経由して前記反応チャンバ内に流入させるステップと、

前記回転バルブを前記第 2 バルブ位置に回転し、前記第 2 バルブ位置にあるとき前記フローチャンネルを第 1 リザーバ ( 1 5 1 ) 及び前記反応チャンバに流体的に接続するステップと、

第 2 リザーバからの反応成分を前記反応チャンバ内に流入させ、前記反応成分を前記反応チャンバ内の前記生物試料と相互反応させるステップと、  
有する、方法。

20

【請求項 1 3】

請求項 1 2 記載の方法において、さらに、複数の前記生物試料を個別に前記リザーバ ( 1 5 1 ) 内に流入させて前記生物試料をリザーバ ( 1 5 1 ) 内で組み合わせ、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) が前記第 1 バルブ位置にあるとき、前記生物試料を同時に前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) 経由で前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) 内に流入させるステップを有する、方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 2 記載の方法において、さらに、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) を第 4 バルブ位置に回転し、また第 3 リザーバからの洗浄溶液を前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) 内に流入させるステップを有し、さらに、前記回転バルブを前記第 2 バルブ位置に回転し、また前記第 1 リザーバからの前記反応成分を前記反応チャンバ内に導入させるステップを有する、方法。

30

【請求項 1 5】

請求項 1 2 記載の方法において、前記回転バルブ ( 1 2 3 ) は軸線 ( 1 4 2 ) 周りに回転し、フィード通口が前記フローチャンネル ( 1 4 0 ) 及び前記反応チャンバ ( 1 2 6 ) を流体的に接続し、前記軸線は前記フィード通口を貫通するものとする、方法。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明の実施形態は、概して生化学的解析用の試料 ( サンプル ) を生成する及び / 又は生化学的反応を起こさせるシステム並びに方法に関し、またより具体的には、回転バルブを利用するシステム及び方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

様々な生化学プロトコルは、支持表面上又は指定反応チャンバ内で多数の制御反応を行わせることが関与する。これら制御反応は、生物試料を解析するため、又はその後の解析用に生物試料を調製するために起こさせる。解析により、反応に関与する化学物質の特

50

性を同定又は究明することができる。例えば、配列（アレイ）ベースのサイクリック・シーケンシング分析（例えば、シーケンシング・バイ・シンセシス(SBS)）において、DNA特徴（例えば、鋳型核酸）の濃密配列を酵素的操作の反復サイクルによりシーケンシング（塩基配列結合順序決定）する。各サイクル後に画像を取得し、また他の画像により順次に解析して、DNA特徴のシーケンス（塩基配列結合順序）を決定する。他の生化学分析において、識別可能ラベル（例えば、蛍光ラベル）を有する未確認検体をアレイ内の所定アドレスを有する既知のプロープのアレイに曝露させることができる。プロープと未確認検体との間に生ずる化学反応を観測することは、その検体の特性を同定又は究明するのに役立ち得る。

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

上述したような分析を自動的に行う、すなわち、ユーザーの仕事量が少ない又はユーザーが少ししか関与しないシステムに対する一般的需要がこれまでであった。現時点では、多くのプラットフォームは、ユーザーが個別に生物試料を調製してから、その生物試料を解析用のシステム内に装填することを必要とする。ユーザーにとっては、1つ又は複数の生物試料をシステム内に装填し、システムが実行する分析を選択し、また例えば、1日又は1日未満のような所定期間内で解析結果を得るのが望ましい。現行で使用される幾つかのシステムは、十分な品質レベルを有しかつ僅かなコスト範囲内でデータを供給する全ゲノムシーケンシングのような信頼できるプロトコールを実行することはできない。

20

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明の実施形態によれば、試料チャンネル、反応チャンバ、及びリザーバを有する流体ネットワークを備えるシステムを提供する。前記試料チャンネルは、生物試料を受け入れるよう構成した試料通口に流体連通するものとする。システムは、さらに、前記流体ネットワークに流体連通するよう構成したポンプアセンブリを備える。システムは、さらに、フローチャンネルを有し、また第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で回転するよう構成した回転バルブを備える。前記フローチャンネルは、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき前記反応チャンバ及び前記試料チャンネルを流体的に接続し、また前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき前記リザーバ及び前記反応チャンバを流体的に接続する。前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブを前記第1バルブ位置にあるとき前記生物試料が前記反応チャンバに向かわせるフローを誘導し、また前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき反応成分を前記リザーバから前記反応チャンバに向かわせるフローを誘導する。

30

【0005】

本発明の実施形態において、本発明方法は、フローチャンネルを有する回転バルブを第1バルブ位置に回転するステップを有する。前記フローチャンネルは、回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき反応チャンバに流体連通する。本発明方法は、さらに、前記第1バルブ位置にあるとき、生物試料を試料チャンネル又は第1リザーバから前記フローチャンネルを経由して前記反応チャンバ内に流入させるステップを有する。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを第2バルブ位置に回転するステップを有する。前記フローチャンネルは、前記第2バルブ位置にあるとき前記第2リザーバ及び前記反応チャンバに流体連通させる。本発明方法は、さらに、前記第2リザーバからの反応成分を前記反応チャンバ内に流入させるステップを有する。前記反応成分は前記反応チャンバ内で生物試料と相互反応する。

40

【0006】

本発明の実施形態において、流体ネットワーク及び前記流体ネットワークに流体連通するポンプアセンブリを有するフロー制御システムを備えるシステムを提供する。前記流体ネットワークは、生物試料を受け入れるよう構成した試料チャンネル、複数個のリザーバ、及び反応チャンバを含むものとする。本発明システムは、さらに、フローチャンネルを

50

有する回転バルブを備える。前記回転バルブは、異なるバルブ位置に回転するように構成して、前記反応チャンバを前記試料チャンネルに、または前記リザーバのうち1つに流体的に接続できるようにする。本発明システムは、さらに、分析プロトコル中に前記反応チャンバから光信号を検出するように構成した検出デバイスを備える。本発明システムは、さらに、前記回転バルブ及び前記ポンプアセンブリを制御し、前記生物試料を前記試料チャンネルから前記反応チャンバに流入させるよう構成したシステムコントローラを備える。前記システムコントローラは、さらに、複数のプロトコルサイクル中に前記回転バルブ、前記ポンプアセンブリ及び前記検出デバイスを制御するように構成し、前記プロトコルサイクルの各サイクルは、(a) 前記回転バルブを第1リザーバ-バルブ位置に回転して、前記反応チャンバを前記複数のリザーバのうち第1リザーバに流体連通させるステップと、(b) 前記ポンプアセンブリを制御して、流体を前記第1リザーバから前記反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するステップと、(c) 前記回転バルブを第2リザーバ-バルブ位置に回転して、前記反応チャンバを前記複数のリザーバのうち第2リザーバに流体連通させるステップと、(d) 前記ポンプアセンブリを制御して、流体を前記第2リザーバから前記反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するステップと、及び(e) 前記第2リザーバからの流体を前記反応チャンバに流入させる間に、又は前記第2リザーバからの流体を前記反応チャンバに通過させた後に前記反応チャンバから光信号を検出するステップとを含むものとする。

10

#### 【0007】

本発明の実施形態において、本発明方法は、マイクロ流体制御構体及び回転バルブを準備する準備ステップを有する。前記マイクロ流体制御構体は構体側面及び流体ネットワークを有し、前記流体ネットワークはサプライ通口及びフィード通口を含む。前記サプライ通口は前記構体側面に開口する。前記回転バルブは前記構体側面に対して回転可能に取り付ける。前記回転バルブは、第1チャンネル通口、第2チャンネル通口、及び前記第1チャンネル通口と前記第2チャンネル通口との間に延在するフローチャンネルを有するものとする。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを、前記第1チャンネル通口が前記マイクロ流体制御構体の前記サプライ通口に流体連通する第1バルブ位置に回転するステップを有する。本発明方法は、さらに、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき、生物試料を前記第1チャンネル通口経由で前記フローチャンネルに流入させるステップを有する。本発明方法は、さらに、前記生物試料が前記フローチャンネル内に存在する状態で前記回転バルブを第2バルブ位置に回転して、前記第1チャンネル通口を前記構体側面によって封止するステップを有する。本発明方法は、さらに、熱サイクリング操作を行って、前記フローチャンネル内における生物試料の温度を選択温度に変化させるステップを有する。

20

30

#### 【0008】

本発明の実施形態によれば、構体側面及び流体ネットワークを有するマイクロ流体制御構体であって、前記流体ネットワークはサプライ通口及びフィード通口を有する、該マイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。前記サプライ通口は前記構体側面に開口するものとする。本発明システムは、前記構体側面に対して回転可能に取り付けた回転バルブを備える。前記回転バルブは、第1チャンネル通口、第2チャンネル通口、及び前記第1チャンネル通口と前記第2チャンネル通口との間に延在するフローチャンネルを有する。前記回転バルブは、第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で回転するように構成する。前記第1チャンネル通口は、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき前記マイクロ流体制御構体の前記サプライ通口に流体連通する。前記第1チャンネル通口は、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき前記マイクロ流体制御構体によって封止されるものとする。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき、流体を前記サプライ通口経由で前記フローチャンネル内に流入させるフローを誘導する構成としたポンプアセンブリを備える。本発明システムは、さらに、前記回転バルブに対して位置決めされる熱サイクラーであって、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、前記フローチャンネル内の流体が受ける温度を制御するように構成した、該熱サイ

40

50

クラーを備える。

【 0 0 0 9 】

本発明の実施形態において、流入通口、流出通口、及び試料リザーバを含む流体ネットワークを有するマイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体に回転可能に連結した回転バルブを備える。回転バルブは、第1チャンネルセグメント及び第2チャンネルセグメントを有する。前記第1チャンネルセグメントは、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき前記流入通口及び試料リザーバを流体的に接続する。前記第2チャンネルセグメントは、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき前記流出通口及び試料リザーバを流体的に接続する。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、前記流入通口及び第1チャンネルセグメント経由で前記試料リザーバ内に流体を流入させる構成としたポンプアセンブリを備える。前記回転バルブは、第2バルブ位置に移動する場合に、前記試料リザーバが前記回転バルブによって封止されるよう構成する。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、熱エネルギーを前記試料リザーバに供給するよう前記マイクロ流体制御構体に対して位置決めした熱サイクラーを備える。

10

【 0 0 1 0 】

本発明の実施形態において、試料リザーバ及び別個の分析チャンネルを含む流体ネットワークを有するマイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。前記分析チャンネルは第1通口と第2通口との間に延在する。前記流体ネットワークは、さらにフィード通口を有する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体の熱制御領域に隣接して位置決めされる熱サイクラーを備える。前記分析チャンネルは前記熱制御領域に貫通する。前記熱サイクラーは、熱エネルギーを前記熱制御領域に供給するよう構成する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体に回転可能に連結し、また第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で移動するよう構成した回転バルブを備える。前記回転バルブは、ブリッジチャンネル及び別個のフローチャンネルを有する。前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、前記ブリッジチャンネルは前記試料リザーバ及び前記分析チャンネルの第1通口を流体的に接続し、また前記フローチャンネルは前記分析チャンネルの第2通口及び前記フィード通口を流体的に接続する。前記回転バルブは、前記回転バルブが第2バルブ位置に移動して前記分析チャンネルの前記第1通口及び第2通口を封止する構成とする。

20

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 1 】

【 図 1 】 本発明実施形態により形成したシステムであって、生化学的解析又は試料調製の少なくとも一方を行う構成としたシステムの概略図である。

【 図 2 】 本発明実施形態により形成したシステムであって、図1のシステムに使用し得るフロー制御システムの平面図である。

【 図 3 】 図2のフロー制御システムに使用し得るバルブ調節機構の第1位置又は第1状態における断面図である。

【 図 4 】 図3に示すバルブ調節機構の第2位置又は第2状態における断面図である。

【 図 5 】 図2のフロー制御システムに使用し得る別のバルブ調節機構の第1位置又は第1状態における断面図である。

40

【 図 6 】 図5に示すバルブ調節機構の第2位置又は第2状態における断面図である。

【 図 7 】 図2のフロー制御システムに使用し得るさらに別のバルブ調節機構の第1位置又は第1状態における断面図である。

【 図 8 】 図7に示すバルブ調節機構の第2位置又は第2状態における断面図である。

【 図 9 】 本発明の実施形態によるマイクロ流体制御構体に取り付けた回転バルブの断面図である。

【 図 1 0 】 図9に示すマイクロ流体制御構体の平面図である。

【 図 1 1 】 指定反応を反応チャンバから検出するのに使用し得る検出アセンブリの断面図である。

50

【図 1 2】本発明の実施形態による方法のフローチャートである。

【図 1 3】本発明の実施形態によるマイクロ流体制御構体に回転可能に取り付けた回転バルブの平面図である。

【図 1 4】図 1 3 に示すマイクロ流体制御構体に回転可能に取り付けた回転バルブの断面図である。

【図 1 5 A】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 B】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 C】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

10

【図 1 5 D】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 E】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 F】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 G】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 H】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

20

【図 1 5 I】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 J】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 K】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 5 L】分析プロトコルの異なる段階中における回転バルブの異なる回転位置を示す。

【図 1 6】本発明の実施形態により形成した回転バルブの平面図である。

30

【図 1 7】図 1 6 に示す回転バルブの増幅プロトコル中における平面図である。

【図 1 8】本発明の実施形態により形成した別の回転バルブの平面図である。

【図 1 9】本発明の実施形態による方法のフローチャートである。

【図 2 0】回転バルブ及びマイクロ流体制御構体を備える本発明実施形態により形成したフロー制御システムの斜視図である。

【図 2 1】増幅プロトコルのため回転バルブが増幅プロトコルの指定位置にあるときの図 2 0 に示すフロー制御システムの斜視図である。

【図 2 2】図 2 0 に示すフロー制御システムの一部切除した断面図である。

【図 2 3】本発明実施形態により形成したシステムであって、生化学的解析又は試料調製の少なくとも一方を行う構成としたシステムの概略図である。

40

【図 2 4】本発明実施形態により形成し、ブリッジチャンネルを利用するフロー制御システムの平面図である。

【図 2 5】図 4 に示すフロー制御システムの部分的に分解した分解斜視図である。

【図 2 6】本発明実施形態による回転バルブの底面から見た斜視図である。

【図 2 7】図 2 6 に示す回転バルブの側方から見た斜視図である。

【図 2 8】図 2 6 に示す回転バルブの断面図である。

【図 2 9】図 2 6 に示す回転バルブの拡大断面図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本明細書に記載する実施形態は、試料（サンプル）調製及び／又は生化学的解析のため

50

の指定反応を遂行するのに使用することができる。本明細書で使用する用語「生化学的解析」は、生物学的解析又は化学的解析のうち少なくとも一方を含み得る。図1は、生化学的解析及び／又は試料調製を行うよう構成したシステム100の概略図である。システム100は、ベース機器102と、及びこのベース機器102に離脱可能に係合するよう構成した係脱可能カートリッジ104とを備える。ベース機器102及び係脱可能カートリッジ104は、生物試料を含む指定反応を行わせるため互いに相互作用して、生物試料をシステム100内の異なる場所に輸送し、その後の解析用に生物試料を調整する、また随意的に、生物試料による1つ又は複数の事象を検出できるよう構成することができる。事象は生物試料による指定反応の指標となり得る。係脱可能カートリッジ104は、2014年5月27日出願の米国仮出願第62/003,264号(参照により全体が本明細書に組み入れられるものとする)に示されまた記載されたような統合化マイクロ流体カートリッジに類似のものとして行うことができる。しかし、本明細書に記載の実施形態は統合化デバイスに限定されるものではなく、より大型のシステムにも使用することができる。

10

#### 【0013】

以下は図1に示すベース機器102及び係脱可能カートリッジ104に言及するが、ベース機器102及び係脱可能カートリッジ104は、システム100における単に1つの例示的な実施形態を示すに過ぎず、それ以外の実施形態もあると理解されたい。例えば、ベース機器102及び係脱可能カートリッジ104は、共同して生物試料を調製する及び／又は生物試料を解析する多数の操作を実行する種々のコンポーネント及び形体を有する。図示の実施形態において、ベース機器102及び係脱可能カートリッジ104のそれぞれは、特定の機能を行うことができる。しかし、ベース機器102及び係脱可能カートリッジ104は異なる機能を実施する及び／又はこのような機能を共有することができると理解されたい。例えば、図示の実施形態において、係脱可能カートリッジ104は、検出アセンブリ(例えば、撮像デバイス)の使用により指定反応を検出するよう構成する。代替的实施形態において、ベース機器102は、検出アセンブリを含むことができる。他の実施例として、図示の実施形態において、ベース機器102は、係脱可能カートリッジ104に対して液体を供給、受容又は交換しない「乾式」機器とする。代替的实施形態において、ベース機器102は、例えば、試薬又は他の液体を係脱可能カートリッジ104に供給し、次いで、この係脱可能カートリッジ104が試薬又は他の液体を消費する(例えば、指定反応に使用する)ことができる。

20

30

#### 【0014】

本明細書で使用するように、生物試料としては、1種類又は複数種類の生物学的又は化学的な物質、例えば、ヌクレオシド、核酸、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、タンパク質、酵素、ポリペプチド、抗体、抗原、リガンド、受容体、多糖類、炭水化物、ポリリン酸塩、ナノ細孔、オーガネル(細胞小器官)、脂質層、細胞、組織、有機体、上述した種の類似物又は模倣物のような生物学的活性化化合物が有り得る。幾つかの場合、生物試料としては、全血、リンパ液、血清、血漿、汗、涙、唾液、痰、脳脊髄液、羊水、精液、膣排出物、漿液、滑液、心膜液、腹水、胸膜液、浸出液、滲出液、囊胞液、胆汁、尿、胃液、腸液、糞試料、単一又は複数の細胞を含む液体、オーガネルを含む液体、流動化組織、流動化有機体、多細胞生物を含む液体、生物学的スワブ、及び生物学的洗浄液があり得る。

40

#### 【0015】

幾つかの実施形態において、生物試料は、添加材料、例えば、水、脱イオン水、生理食塩水溶液、酸性溶液、塩基性溶液、清浄液及び／又はpH緩衝液を含有することができる。添加材料としては、さらに、指定反応分析プロトコール中に使用して生化学的反応を行わせる試薬もあり得る。例えば、添加液体は、生物試料で複数のポリメラーゼ連鎖反応(PCR)サイクルを行わせる材料を含有することができる。

#### 【0016】

しかし、解析される生物試料は、システム100に装填される生物試料とは異なる形式又は状態の場合もあり得ると理解されたい。例えば、システム100に装填される生物試

50



料は全血又は唾液とし、次にこれを処理して（例えば、分離又は増幅手順により）調製した核酸を生ずることができる。調製した核酸は、この後システム 100 によって解析する（例えば、PCR によって定量化する又は SBS によってシーケンシングする）。したがって、最初の操作、例えば PCR を記述する間に用語「生物試料」を使用し、それに続いて第 2 操作、例えばシーケンシングを記述する間に再び使用するとき、第 2 操作における生物試料は第 1 操作前又は第 1 操作中の生物試料とは変更されている場合があり得る。例えば、シーケンシングステップ（例えば、SBS）は、先行増幅ステップ（例えば、PCR）で増幅された鋳型核酸から産生した単位複製配列核酸で実施することができる。この場合、単位複製配列は鋳型の複製であり、また単位複製配列は鋳型の量よりも多い量で存在する。

10

#### 【0017】

幾つかの実施形態において、システム 100 は、ユーザーが供出した物質（例えば、全血又は唾液）に基づく生化学的解析用の試料を自動的に調製することができる。しかし、他の実施形態において、システム 100 は、ユーザーが解析用に部分的に又は予め調製した生物試料を解析することができる。例えば、ユーザーは、全血から既に単離及び／又は増幅した核酸を含む溶液を供出することができる。

#### 【0018】

本明細書で使用する「指定反応」は、関心対象検体の化学的、電気的、物理的、光学的な特性（又は特質）のうち少なくとも 1 つにおける変化を含む。特別な実施形態において、指定反応は、会合性結合事象（例えば、関心対象検体に蛍光ラベル付けした生体分子の組み込み）とする。指定反応は、解離性結合事象（例えば、関心対象検体から蛍光ラベル付けした生体分子の釈放）であり得る。指定反応は、化学変換、化学変化、化学的相互作用とすることができる。さらに、指定反応は、電気的特性の変化とすることができる。例えば、指定反応は、溶液内のイオン濃度変化とすることができる。例示的な反応としては、以下のものに限定しないが、還元、酸化、付加、脱離、転位、エステル化、アミド化、エーテル化、環化、又は置換のような化学反応、第 1 化学物質が第 1 化学物質に結合する結合相互作用、2 つ以上の化学物質が互いに分離する解離反応、蛍光発光、発光、生物発光、化学発光、及び生物反応、例えば核酸複製、核酸増幅、核酸雑種形成、核酸連結反応、リン酸化反応、素触媒反応、受容体結合、又はリガンド結合がある。指定反応は、例えば、周囲溶液又は周囲環境における pH などとして検出可能な陽子の付加又は脱離であり得る。付加的指定反応は、薄膜（例えば、天然又は合成の）二層膜を透過するイオンの流れを検出でき、例えば、イオンが薄膜を透過するとき電流が中断し、この中断を検出することができる。従来既知の温度感知及び他の解析感知技術として荷電タグの電界センシングを用いることもできる。

20

30

#### 【0019】

特別な実施形態において、指定反応としては、検体に対する蛍光ラベル付け分子の取り込みがある。検体はオリゴヌクレオチドとし、蛍光ラベル付け分子はヌクレオチドとすることができる。指定反応は、ラベル付けヌクレオチドを有するオリゴヌクレオチドに向けて励起光を照射し、また蛍光色素分子が検出可能な蛍光信号を発生するとき検出することができる。代替的实施形態において、検出した蛍光は化学発光又は生物発光の結果である。指定反応は、さらに、例えば、受容体蛍光色素分子にドナー蛍光色素分子を近づけることによって蛍光（又はフェルスター）共鳴エネルギー転移（FRET）を増加させることができ、ドナー蛍光色素分子及び受容体蛍光色素分子を引き離すことによって FRET を減少し、消光剤を蛍光色素分子から引き離すことにより蛍光を増加し、又は消光剤及び蛍光色素分子を再配置することによって蛍光を減少させることができる。

40

#### 【0020】

本明細書に使用する「反応成分（reaction component）」は、指定反応を得るのに使用できる任意の材料を含む。例えば、反応成分としては、試薬、酵素のような触媒、反応のための反応剤、試料、反応生成物、他の生体分子、塩、金属共同因子、キレート剤、及び緩衝溶液（水素化緩衝液）がある。反応成分は、個別溶液として又は 1 つ以上の混合物と

50

して、流体ネットワークの種々の場所に送給することができる。例えば、反応成分は、生物試料が固定化される反応チャンバに送給することができる。反応成分は、生物試料と直接的又は間接的に相互作用することができる。幾つかの実施形態において、係脱可能カートリッジ 104 に対して、指定分析プロトコルを実施するのに必要な 1 種類以上の反応成分を予め装填する。予装填は、カートリッジ 104 をユーザーが係合する（例えば、ユーザー施設で）のに先立って、1 つの場所（例えば、製造施設）で行うことができる。

#### 【0021】

幾つかの実施形態において、ベース機器 102 は、セッション毎に 1 個の係脱可能カートリッジ 104 と相互作用するよう構成することができる。セッション後に係脱可能カートリッジ 104 は他の係脱可能カートリッジ 104 と交換することができる。他の実施形態において、ベース機器 102 は、セッション毎に 1 つより多い係脱可能カートリッジ 104 と相互作用するよう構成する。本明細書に使用する用語「セッション」は、試料調製及び/又は生物試料解析プロトコルのうち少なくとも 1 つを実施することを含む。試料調製としては、生物試料における 1 種類以上の成分を分離、単離、変更及び/又は増幅して、調製した生物試料が解析に適合できるようにすることが挙げられる。幾つかの実施形態において、セッションとしては、多数の制御下での反応を行う連続的行為があり、この連続行為は、(a) 指定回数の反応が行われるまで、(b) 指定回数の事象が行われるまで、(c) システムの指定期間が経過するまで、(d) 信号対ノイズ比が指定閾値まで低下するまで、(e) 標的成分が同定されるまで、(f) システム障害若しくはシステム異常が検出されるまで、及び/又は (g) 反応を行わせる 1 つ以上の反応源が枯渇するまで継続する。代案として、セッションとしては、或る期間（例えば、数分、数時間、数日、数週間）にわたりシステム行為を停止させ、またその後 (a) ~ (g) のうち少なくとも 1 つが生ずるまでセッションを完遂する。

#### 【0022】

分析プロトコルは、指定反応を行わせる、指定反応を検出する、及び/又は指定反応を解析するという一連の操作シーケンスを含むことができる。総合的に、係脱可能カートリッジ 104 及びベース機器 102 は、異なる操作を実行するのに必要なコンポーネントを有する。分析プロトコルの操作としては、流体操作、熱制御操作、検出操作、及び/又は機械的操作があり得る。流体操作としては、システム 100 に流れる流体（例えば、液体又はガス）のフローを制御することがあり、この制御は、ベース機器 102 及び/又は係脱可能カートリッジ 104 によって作動させる。例えば、流体操作としては、生物試料又は反応成分を反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するポンプを制御することがあり得る。熱制御操作としては、システム 100 における指定部分の温度を制御することがあり得る。例えば、熱制御操作としては、生物試料を含む液体を保存するポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) ゾーンの温度を上昇又は低下させることがあり得る。検出操作としては、生物試料の所定特性、品質若しくは特徴を検出する検出器の作動を制御する、又はその活動をモニタリングすることがあり得る。一つの実施例において、検出操作としては、生物試料を含む指定領域の画像を撮像し、指定領域からの蛍光発光を検出することがあり得る。検出操作としては、生物試料に照射する光源を制御する、又は生物試料を観測する検出器を制御することがあり得る。機械的操作としては、係脱可能カートリッジ 104 における可動バルブに作用的に係合する、ベース機器 102 のバルブ制御コンポーネントを移動させるモータを制御することがあり得る。幾つかの事例において、異なる操作の組合せを同時に行うことができる。例えば、ポンプが反応チャンバに流れる流体フローを制御するとき、検出器が反応チャンバの画像を撮像する。幾つかの事例において、異なる生物試料に対する異なる操作を同時に行うことができる。例えば、第 1 生物試料に増殖（例えば、PCR）を行わせるとともに、第 2 生物試料に検出を受けさせることができる。

#### 【0023】

同様又は同一の流体素子（例えば、チャンネル、通口、リザーバ等）に異なる名前付けをし、流体素子の見分けが容易にできるようにする。例えば、通口は、リザーバ通口、サブライ通口、ネットワーク通口、フィード通口等と称することができる。異なる名前付け

10

20

30

40

50

をした2つ以上の流体素子（例えば、リザーバチャンネル、試料チャンネル、フローチャンネル、ブリッジチャンネル）は、流体素子が構造上異なるものである必要はない。さらに、特許請求の範囲は、請求項において、このような流体素子の区別が容易につくような名前を追加して補正することができる。

#### 【0024】

本明細書に使用する用語「液体」は、比較的圧縮不能である物質であり、またこの物質を保持する容器又はチャンネルの形状に追従及び適合する能力を有する物質である。液体は、水をベースとし、また液体を互いに保持する表面張力を示す極性分子を含むものとすることができる。さらに、液体は、オイルをベースとする又は水性ではない物質で見られるような、無極性分子を含むものとすることができる。本明細書における液体への言及は、2種類以上の液体の組合せから形成される液体も含むと理解されたい。例えば、個別の試薬溶液は、指定反応を行わせるため後に組み合わせることができる。

#### 【0025】

係脱可能カートリッジ104は、ベース機器102に離脱可能に係合する、又は係脱可能に結合するよう構成する。本明細書に使用する用語「離脱可能に係合（した）」又は「係脱可能に結合（した）」（等々）は、係脱可能カートリッジとベース機器との間の関係性を記述するのに使用するとき、この用語の意図は、係脱可能カートリッジとベース機器との間の連結（接続）がベース機器を破壊することなく容易に切り離すことを意味するものである。したがって、係脱可能カートリッジは、ベース機器に対して電氣的に離脱可能に係合し、ベース機器の電氣的接点が破壊されることのないようにすることができる。係脱可能カートリッジは、ベース機器に対して機械的に離脱可能に係合し、係脱可能カートリッジを保持するベース機器の形体を破壊することのないようにすることができる。係脱可能カートリッジは、ベース機器に対して流体的に離脱可能に係合し、ベース機器の通口がされることのないようにすることができる。ベース機器は、例えば、コンポーネントに対する簡単な調整（例えば、再整列化）又は簡単な交換（例えば、ノズル交換）を必要とする場合、「破壊した」と見なされない。コンポーネント（例えば、係脱可能カートリッジ104及びベース機器102）は、互いに離脱させるとき、コンポーネントが不当な労力なしに又はコンポーネントを分離するのに費やされる長い時間がかかることなく、容易に離脱可能とすることができる。幾つかの実施形態において、係脱可能カートリッジ104及びベース機器102は、係脱可能カートリッジ104又はベース機器102のいずれかを破壊することなく、容易に離脱させることができる。

#### 【0026】

幾つかの実施形態において、係脱可能カートリッジ104はベース機器102とのセッション中に永久的な変更を受ける又は部分的に損傷し得る。例えば、液体を保留する容器は、液体をシステム100に流入させることができるよう穿刺するフォイルカバーを有する。このような実施形態において、フォイルカバーは損傷し、これにより損傷した容器を他の容器に交換する必要がある。特定の実施形態において、係脱可能カートリッジ104は交換し、また随意的に1回使用後に廃棄できるよう、使い捨て可能カートリッジとする。

#### 【0027】

他の実施形態において、係脱可能カートリッジ104は、ベース機器102に係合したまま1回よりも多いセッションに使用する、及び/又はベース機器102から取り外し、試薬を再充填し、またベース機器102に再係合させて、追加の指定反応を行わせるようにすることができる。したがって、係脱可能カートリッジ104は、幾つかの場合において、同一係脱可能カートリッジ104を異なる消耗品（例えば、反応成分及び生物試料）を使用できるように改造することができる。改造は、カートリッジを顧客施設に配置したベース機器から取り外した後に、製造施設で行うことができる。

#### 【0028】

図1に示すように、係脱可能カートリッジ104は、流体（例えば、液体又はガス）を保持及び導く流体ネットワーク106を有する。流体ネットワーク106は、流体を保存

10

20

30

40

50

できる及び／又は流体を流すことができるよう相互連結した複数個の流体素子を有する。流体素子の非限定的な例としては、チャンネル、チャンネルの通口、キャピティ、保存モジュール、保存モジュールのリザーバ、反応チャンバ、廃棄リザーバ、検出チャンバ、反応及び検出用の多目的チャンバ、等々がある。流体素子は指定の仕方で互いに流体的に接続し、システム 100 が試料を調製する及び／又は解析できるようにする。

#### 【0029】

本明細書で使用する用語「流体的に接続した」（又は類似用語）は、2つの空間的領域を互いに接続して、液体又はガスが2つの空間的領域間で導かれるようにすることに言及する。いくつかの場合では、流体接続は、流体を2つの空間的領域間で行き来するよう導くのを可能にする。他の場合では、流体接続は一方向のものとし、2つの空間的領域間のフローが一方向のみとする。例えば、分析リザーバをチャンネルに流体的に接続し、液体が分析リザーバからチャンネル内に移送できるようにする。しかし、幾つかの実施形態において、チャンネル内の流体を分析リザーバに逆流できないようにする。特定実施形態において、流体ネットワーク 106 は、生物試料を受容し、また生物試料を試料調製及び／又は試料解析に導くよう構成する。流体ネットワーク 106 は、生物試料及び他の反応成分を廃棄リザーバに導くことができる。

#### 【0030】

1つ又は複数の実施形態は、生物試料（例えば、鋳型核酸）を解析する指定場所で保持する。本明細書で使用する用語「保持した」は、生物試料について使用するとき、生物試料を表面に実質的に付着させる、又は生物試料を指定空間内に閉じ込めることを含む。本明細書で使用する用語「固定化」は、生物試料について使用するとき、実質的に生物試料を固形支持体内又は固形支持体上の表面に付着させることを含む。固定化は、分子レベルの生物試料を表面に付着することを含み得る。例えば、生物試料は、非共有相互作用（例えば、静電力、ファン・デル・ワールス力、及び疎水性界面の脱水）を含めた吸着技術、並びに官能基又はリンカーが生物試料を表面に付着させるのを促進する共有結合技術を用いて、基板表面に対して固定化することができる。生物試料の基板表面に対する固定化は、基板表面の特性、生物試料を担持する液体状の媒体、及び生物試料自体の特性に基づく。幾つかの場合において、基板表面は、生物試料の基板表面に対する固定化を促進するよう機能化する（例えば、化学的又は物理的に変更する）ことができる。基板表面は、先ず表面に結合する官能基を有するよう変更することができる。次に、この官能基が生物試料に結合し、官能基における生物試料を固定化する。幾つかの場合において、生物試料は、米国特許出願公開第 2011/0059865 号及び同第 2014/0079923 号（これら各特許文献は、参照によって本明細書に組み入れられるものとする）に記載のようなゲルにより表面に対して固定化することができる。

#### 【0031】

幾つかの実施形態において、核酸を表面に対して固定化し、またブリッジ増幅を用いて増幅することができる。有用なブリッジ増幅方法は、例えば、米国特許第 5,641,658 号、国際公開第 07/010251 号、米国特許第 6,090,592 号、米国特許出願公開第 2002/0055100 号、米国特許第 7,115,400 号、米国特許出願公開第 2004/0096853 号、同第 2004/0002090 号、同第 2007/0128624 号、同第 2008/0009420 号に記載されており、これら各特許文献は、参照によって本明細書に組み入れられるものとする。表面上における核酸を増幅する他の有用な方法は、例えば、以下に詳細に説明する方法を用いる、ローリング・サークル増幅（RCA: rolling circle amplification）である。幾つかの実施形態において、核酸は、表面に付着させ、また1つ以上のプライマー対を用いて増幅することができる。例えば、一方のプライマーを溶液内に存在させ、また他方のプライマーを表面上で固定化することができる（例えば、5'-付着）。例えば、核酸分子は、表面上における一方のプライマーに対する雑種を生じ、これに続いて固定化したプライマーの延伸を生じ、核酸の第1複製を産生する。この後、溶液内のプライマーは核酸の第1複製に対する雑種を生じ、核酸の第1複製を鋳型として使用して延伸することができる。随意的に、核酸の第1

10

20

30

40

50

複製を産生した後、原核酸分子を表面上に固定化した第2プライマーに対して雑種を生じ、溶液におけるプライマーが延伸すると同時に、延伸することができる。いかなる実施形態においても、固定化したプライマー及び溶液内プライマーを用いる延伸（増幅）の反復ラウンドにより、核酸の複数の複製を生ずる。幾つかの実施形態において、生物試料は、生物試料の増幅（例えば、PCR）中に使用するよう構成された所定空間内に反応成分とともに閉じ込めることができる。

#### 【0032】

本明細書に記載する1つ又は複数の実施形態は、増幅プロトコルである、又は増幅プロトコルを含む分析プロトコルを実行するよう構成することができる。増幅プロトコル中、リザーバ又はチャンネル内の生物試料の温度を変化させて、生物試料（例えば、生物試料のDNA）を増幅できるようにする。例えば、生物試料は、(1) 約75秒間にわたる約95の予加熱段階、(2) 約15秒間にわたる約95の変性段階、(3) 約45秒間にわたる約59のアニーリング延伸段階、(4) 約60秒間にわたる約72の温度保持段階を受けさせる。実施形態は複数回の増幅サイクルを実行することができる。上述のサイクルは1つの特定実施形態についてのみ記載したものであり、また代替的实施形態は増幅プロトコルに対する変更もあり得ることに留意されたい。

#### 【0033】

本明細書に記載の方法及びシステムは、特徴を有する配列を様々な密度のうち任意の密度にして使用することができ、これら密度としては、例えば、少なくとも約10特徴/cm<sup>2</sup>、100特徴/cm<sup>2</sup>、500特徴/cm<sup>2</sup>、1,000特徴/cm<sup>2</sup>、5,000特徴/cm<sup>2</sup>、10,000特徴/cm<sup>2</sup>、50,000特徴/cm<sup>2</sup>、100,000特徴/cm<sup>2</sup>、1,000,000特徴/cm<sup>2</sup>、5,000,000特徴/cm<sup>2</sup>、又はそれ以上がある。本明細書に記載の方法及びシステムは、これら例示的密度のうち1つ又は複数での個別特徴を少なくとも十分に解像する解像度を有する検出コンポーネント又はデバイスを設けることができる。

#### 【0034】

図示の実施形態において、係脱可能カートリッジ104は、複数個のハウジング側面111~114があるカートリッジハウジング110を有する。ハウジング側面111~114には、非合体側面111~113及び合体側面114がある。合体側面114はベース機器102に係合するよう構成する。図示の実施形態において、カートリッジハウジング110はほぼ単一構造体を形成する。代替的实施形態において、カートリッジハウジング110は、システム100のユーザーが組み付ける1つ又は複数のサブコンポーネントによって構成することができる。サブコンポーネントは、係脱可能カートリッジ104を離脱可能にベース機器102に係合させる前に、又は1つのサブコンポーネントを離脱可能にベース機器102に係合させた後に組み付けることができる。例えば、保存モジュール150を第1サブハウジング（図示せず）によって保持し、また係脱可能カートリッジ104の残りの部分（例えば、流体ネットワーク及び撮像デバイス）を第2サブハウジング（図示せず）に設けることができる。第1及び第2のサブハウジングを組み合わせてカートリッジハウジング110を形成することができる。

#### 【0035】

流体ネットワーク106は、カートリッジハウジング110によって保持し、また非合体側面112に開口する複数個の試料通口（ポート）116を有する。代替的实施形態において、試料通口116は、非合体側面111若しくは113に沿って配置する、又は合体側面114に沿って配置することができる。各試料通口116は、生物試料を受容するよう構成する。単なる例として、生物試料は全血又は唾液とすることができる。幾つかの実施形態において、生物試料は、核酸及びPCRを行うための他の材料（例えば、試薬、緩衝液等）とすることができる。3個の試料通口116を図1に示したが、実施形態によっては、1個のみの試料通口、2個の試料通口、又は3個より多い個数の試料通口を設けることができる。

#### 【0036】

流体ネットワーク 106 は、さらに、合体側面 114 に開口し、またカートリッジハウジング 110 の外部に露出する流体接続通口 118 を有する。流体接続通口 118 は、ベース機器 102 のシステムポンプ 119 に流体的に接続するよう構成する。流体接続通口 118 は、流体ネットワーク 106 の一部であるポンプチャンネル 133 と流体連通する。システム 100 の動作中、システムポンプ 119 は、流体をポンプチャンネル 133 及び流体ネットワーク 106 の残りの部分を経由させるフローを誘導する負圧を生ずるよう構成する。例えば、システムポンプ 119 は、生物試料を試料通口 116 から試料調製領域 132 に流入させるフローを誘導し、この試料調製領域 132 において、生物試料をその後の解析のために調製することができる。システムポンプ 119 は、生物試料を試料調製領域 132 から反応チャンバ 126 に流入させるフローを誘導し、この反応チャンバ 126 において検出操作を行って、生物試料のデータ（例えば、撮像データ）を取得する。システムポンプ 119 は、さらに、流体を保存モジュール 150 のリザーバ 151, 152 から反応チャンバ 126 に流入させるフローを誘導することができる。検出操作を行った後、システムポンプ 119 は、流体を廃棄リザーバ 128 に流入させるフローを誘導する。

10

#### 【0037】

流体ネットワーク 106 の他に、係脱可能カートリッジ 104 は、ベース機器 102 が制御し得る 1 つ以上の機械的インタフェース 117 を有することができる。例えば、係脱可能カートリッジ 104 は、流体ネットワーク 106 に作用的に接続される複数のフロー制御バルブ 121 ~ 123 を設けたバルブアセンブリ 120 を有する。各フロー制御バルブ 121 ~ 123 は、ベース機器 102 が制御し得る機械的インタフェース 117 を代表することができる。例えば、フロー制御バルブ 121 ~ 123 は、システムポンプ 119 の選択的な作動と関連してベース機器 102 によって選択的の動作又は制御し、流体ネットワーク 106 内の流体のフローを制御することができる。

20

#### 【0038】

例えば、図示の実施形態において、流体ネットワーク 106 は、試料通口 116 の直ぐ下流に流体連通する試料チャンネル 131 を有する。図 1 には単に 1 個の試料チャンネル 131 を示したが、代替的实施形態においては複数の試料チャンネルを設けることができる。試料チャンネル 131 は、試料調製領域 132 を有することができる。バルブアセンブリ 120 は、1 対のチャンネルバルブ 121, 122 を有し、これらチャンネルバルブ 121, 122 は、フロー制御バルブと称することもできる。チャンネルバルブ 121, 122 は、ベース機器 102 によって選択的に作動し、流体の試料チャンネル 131 を経由するフローを阻止又はブロックできるようにする。特定実施形態において、チャンネルバルブ 121, 122 は、試料チャンネル 131 の試料調製領域 132 内の液体用指定容積を保持するシールを形成するよう作動する。試料調製領域 132 内の指定容積に生物試料を含むことができる。

30

#### 【0039】

バルブアセンブリ 120 は、さらに可動バルブ 123 を有することができる。可動バルブ 123 は、対応する通口間に延在する少なくとも 1 個のフローチャンネル 140 を設けることができる弁本体 138 を有する。弁本体 138 は、通口を流体ネットワーク 106 の対応する通口に整列させる異なる位置間で移動することができる。例えば、可動バルブ 123 の位置は、反応チャンバ 126 内に流入する流体タイプを決定することができる。第 1 位置において、可動バルブ 123 は、試料チャンネル 131 の対応する通口に整列して、生物試料を反応チャンバ 126 に供給することができる。第 2 位置において、可動バルブ 123 は、保存モジュール 150 のリザーバ 151, 152 にそれぞれ流体連通する 1 個又は複数の対応するリザーバチャンネル 161, 162 に整列する。各リザーバ 151, 152 は、指定反応を行うのに使用される反応成分を保存するよう構成する。リザーバチャンネル 161, 162 は、それぞれリザーバ 151, 152 の下流で流体連通するよう配置する。幾つかの実施形態において、可動バルブ 123 は、異なる位置に個別に移動して、リザーバチャンネルの対応する通行と整列することができる。

40

50

## 【 0 0 4 0 】

図示の実施形態において、可動バルブ 1 2 3 は、軸線 1 4 2 の周りに回転するよう構成した回転バルブ（又は回転可能バルブ）とする。可動バルブ 1 2 3 は回転バルブ 2 1 6（図 2 に示す）に類似のものとすることができる。しかし、代替的实施形態は異なる位置に回転しない可動バルブを有することができる。このような実施形態において、可動バルブは対応する通口に整列するよう 1 つ又は複数の直線方向に摺動し得るものとする。本明細書に記載の回転バルブ及び直線移動バルブは、2 0 1 3 年 3 月 1 5 日出願の国際出願第 P C T / U S 2 0 1 3 / 0 3 2 3 0 9 号に記載の装置に類似するものとすることができる。

## 【 0 0 4 1 】

幾つかの実施形態において、生物試料をベース機器 1 0 2 の光源 1 5 8 によって照射する。代案として、光源 1 5 8 は係脱可能カートリッジ 1 0 4 に組み込むことができる。例えば、生物試料は、適合する波長を有する光によって励起するとき発光する 1 種類又は複数の蛍光色素分子を含むことができる。図示の実施形態において、係脱可能カートリッジ 1 0 4 は光路 1 5 4 を有する。この光路 1 5 4 は、ベース機器 1 0 2 の光源 1 5 8 からの照射光 1 5 6 が反応チャンバ 1 2 6 内の生物試料に入射できるよう構成する。したがって、反応チャンバは 1 個又は複数個の透明側面又は窓を有することができる。光路 1 5 4 は 1 個又は複数個の光学的素子、例えばレンズ、リフレクタ、光ファイバライン等を有することができる。照射光 1 5 6 を反応チャンバに能動的に指向させる。例示的实施形態において、光源 1 5 8 は発光ダイオード（L E D）とすることができる。しかし、代替的实施形態において、光源 1 5 8 は別タイプの発光デバイス、例えば、レーザー又はランプとすることができる。

## 【 0 0 4 2 】

幾つかの実施形態において、検出アセンブリ 1 0 8 は、撮像検出器 1 0 9 及び反応チャンバ 1 2 6 を含む。撮像検出器 1 0 9 は、反応チャンバ 1 2 6 内の指定反応を検出するよう構成する。幾つかの実施形態において、この撮像検出器 1 0 9 は、反応チャンバ 1 2 6 からの光信号（例えば、吸光度、反射 / 屈折、又は発光度）を検出するよう反応チャンバ 1 2 6 に対して相対位置決めする。撮像検出器 1 0 9 は、電荷結合素子（C C D）カメラ又は相補型金属酸化膜半導体（C M O S）撮像装置のような撮像デバイスを 1 個又は複数個有することができる。幾つかの実施形態において、撮像検出器 1 0 9 は、化学発光から発生した光信号を検出することができる。さらに他の実施形態において、検出アセンブリ 1 0 8 は撮像用途に限定しないものとすることができる。例えば、検出アセンブリ 1 0 8 は、液体の電気的特性を検出する 1 個又は複数個の電極とすることができる。

## 【 0 0 4 3 】

上述したように、ベース機器 1 0 2 は、係脱可能カートリッジ 1 0 4 に作用的に係合し、また係脱可能カートリッジ 1 0 4 内の種々の動作を制御して、生物試料の指定反応を行わせる及び / 又は生物試料のデータを取得できるよう構成する。この目的のため、合体側面 1 1 4 は、ベース機器 1 0 2 が係脱可能カートリッジ 1 0 4 の 1 つ又は複数のコンポーネントにおける動作の制御を可能にするよう構成する。例えば、合体側面 1 1 4 には、バルブ 1 2 1 ~ 1 2 3 をベース機器 1 0 2 が制御できるようにする複数個のアクセス開口 1 7 1 ~ 1 7 3 を設けることができる。合体側面 1 1 4 には、さらに、ベース機器 1 0 2 の熱サイクラー（例えば、熱ブロック又は熱伝達ブロック）を収容するよう構成したアクセス開口 1 7 4 を設けることができる。図示の実施形態において、熱サイクラー 1 8 6 は熱ブロックとする。アクセス開口 1 7 4 は試料チャンネル 1 3 1 に沿って延在する。図示のように、アクセス開口 1 7 1 ~ 1 7 4 は合体側面 1 1 4 に開口する。

## 【 0 0 4 4 】

幾つかの実施形態において、流体ネットワーク 1 0 6 及びバルブアセンブリ 1 2 3 はフロー制御システム 1 6 4 を構成することができる。このフロー制御システム 1 6 4 は、システム 1 0 0、より具体的には、係脱可能カートリッジ 1 0 4 における 1 つ又は複数の流体のフローを制御し、1 つ又は複数の指定動作を実行できるようにするコンポーネントを含むことができる。このフロー制御システム 1 6 4 は、他の実施形態において、システム

ポンプ 119 のような追加コンポーネントを含むことができる。フロー制御システム 164 は、フロー制御システム 200 (図 2 に示す) と類似又は同一のものとすることができる。

#### 【0045】

ベース機器 102 は、係脱可能カートリッジ 104 の合体側面 114 に離脱可能に係合するよう構成した制御側面 198 を有する。係脱可能カートリッジ 104 の合体側面 114 及びベース機器 102 の制御側面 198 は、集合的にシステムインタフェース 195 を画定する。システムインタフェース 195 は、係脱可能カートリッジ 104 とベース機器 102 との間の共通境界面を代表し、この共通境界面を通じてベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 が動作可能に係合する。より具体的には、ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は、システムインタフェース 195 に沿って動作可能に係合して、ベース機器 102 が係脱可能カートリッジ 104 の種々の特徴形体を合体側面 114 経由で制御することができる。例えば、ベース機器 102 は、係脱可能カートリッジ 104 の対応するコンポーネントを制御する 1 個又は複数個の制御可能コンポーネントを有することができる。

10

#### 【0046】

幾つかの実施形態において、ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は動作可能に係合し、システムインタフェース 195 で確立される、電氣的接続部、熱的接続部、光学的接続部、バルブ連結部、又は流体接続部のうち少なくとも 1 つにより、システムインタフェース 195 において、ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 が互いに固定される。図示の実施形態において、ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は、電氣的接続部、熱的接続部、バルブ連結部、及び光学的接続部を有する構成とする。より具体的には、ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は、データ及び/又は電力を電氣的接続部経由で送受することができる。ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は、熱的接続部経由で熱エネルギーを相互に送受することができ、またベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 は、光学的接続部経由で光信号 (例えば、照射光) を送受することができる。

20

#### 【0047】

図示の実施形態において、システムインタフェース 195 は、片面インタフェース 195 とする。例えば、制御側面 198 及びハウジング側面 114 はほぼ平面状にし、互いに逆向きにして対面させる。システムインタフェース 195 は、係脱可能カートリッジ 104 及びベース機器 102 は合体側面 114 及び制御側面 198 経由のみで互いに動作可能に接続するよう片面インタフェースとする。代替の実施形態において、システムインタフェースは複数側面インタフェースとすることができる。例えば、係脱可能カートリッジの少なくとも 2、3、4、又は 5 つの側面はベース機器と連結するよう構成した合体側面とすることができる。これら複数側面は、平面状とし、また互いに直交する又は互いに対向する (例えば、直方体容積のすべて又は一部を包囲する) よう配列されるものとすることができる。

30

#### 【0048】

係脱可能カートリッジ 104 の動作を制御するため、ベース機器 102 は、フロー制御バルブ 121 ~ 123 に動作可能に係合するよう構成したバルブアクチュエータ 181 ~ 183 と、試料調製領域 132 に対して熱エネルギーを供給及び/又は除去するよう構成した熱サイクラー 186 と、及び電気接点の接点アレイ 188 とを有することができる。ベース機器 102 は、さらに、制御側面 198 に沿って位置決めした光源 158 を有することができる。ベース機器 102 は、さらに、制御側面 198 に沿って位置決めした制御通口 199 を有するシステムポンプ 119 を有することができる。

40

#### 【0049】

システム 100 は、さらに、ロック機構 176 を有することができる。図示の実施形態において、ロック機構 176 は、係脱可能カートリッジ 104 のラッチ係合素子 178 に係合するよう構成した回転可能なラッチ 177 を有する。代案として、係脱可能カートリ

50



ッジ 104 が回転可能なラッチ 177 を有し、またベース機器 102 がラッチ係合素子 178 を有することができる。係脱可能カートリッジ 104 をベース機器 102 に取り付けるとき、ラッチ 177 は回転し、またラッチ係合素子 178 に係合することができる。ロック機構 176 が生ずるカム作用が係脱可能カートリッジ 104 をベース機器 102 に向けて押圧又は駆動して係脱可能カートリッジ 104 をベース機器 102 に固定することができる。

#### 【0050】

ベース機器 102 は、指定分析プロトコルを行うためのユーザー入力を受け取るよう構成した及び/又は分析に関してユーザーに情報を通信するよう構成したユーザー・インタフェース 125 を有することができる。ユーザー・インタフェース 125 は、ベース機器 102 に組み込むことができる。例えば、ユーザー・インタフェース 125 は、ベース機器 102 のハウジングに取り付けたタッチパネルであって、またユーザーからのタッチ及びタッチパネルに表示される情報に対するタッチ場所を識別するよう構成した、該タッチパネルを有することができる。代案として、ユーザー・インタフェース 125 は、ベース機器 102 に対して離れた位置に配置することができる。

#### 【0051】

ベース機器 102 は、さらに、バルブアクチュエータ 181 ~ 183、熱サイクラー 186、接点アレイ 188、光源 158、又はシステムポンプ 119 のうち少なくとも 1 つの動作を制御するよう構成したシステムコントローラを有することができる。システムコントローラ 180 は回路モジュールの集合体として概念的に示すが、専用ハードウェア回路板、DSP、プロセッサ等の任意な組合せを利用して実装することができる。代案として、システムコントローラ 180 は、単一プロセッサ又はプロセッサ間に分散させた機能操作の多重プロセッサを有する市販 PC を利用して実装することができる。他の選択肢として、以下に記載の回路モジュールをハイブリッド構成の利用により実装することができ、このハイブリッド構成の場合、若干のモジュール機能は専用ハードウェアを利用して実施するとともに、残りのモジュール機能は市販 PC 等を利用して実施することができる。

#### 【0052】

システムコントローラ 180 は、ベース機器 102 及び/又は係脱可能カートリッジ 104 の特定コンポーネントの動作を制御するよう構成された複数個の回路モジュール 190 ~ 193 を有することができる。例えば、回路モジュール 190 は、流体ネットワーク 106 における流体のフローを制御するよう構成したフロー制御モジュール 190 とすることができる。このフロー制御モジュール 190 は、バルブアクチュエータ 181 ~ 183 及びシステムポンプ 119 に動作可能に接続することができる。フロー制御モジュール 190 は、バルブアクチュエータ 181 ~ 183 及びシステムポンプ 119 を選択的に作動させ、1 つ又は複数の経路における流体のフローを誘導し、及び/又は 1 つ又は複数の経路における流体のフローを阻止することができる。

#### 【0053】

単に例として、バルブアクチュエータ 183 は可動バルブ 123 に回転可能に係合することができる。バルブアクチュエータ 183 は、バルブアクチュエータ 183 を駆動（例えば、回転）するよう構成した回転モータ 189 を有することができる。フロー制御モジュール 190 はバルブアクチュエータ 183 を作動させて、可動バルブ 123 を第 1 回転位置に移動することができる。可動バルブ 123 が第 1 回転位置にある状態で、フロー制御モジュール 190 はシステムポンプ 119 を作動させ、これにより生物試料を試料調製領域 132 から反応チャンバ 126 に引き込むことができる。次に、フロー制御モジュール 190 はバルブアクチュエータ 183 を作動させて、可動バルブ 123 を第 2 回転位置に移動する。可動バルブ 123 が第 2 回転位置にある状態で、フロー制御モジュール 190 はシステムポンプ 119 を作動させ、これにより 1 種類又は複数種類の反応成分を対応するリザーバから反応チャンバ 126 に引き込むことができる。幾つかの実施形態において、システムポンプ 119 は正圧を供給するよう構成し、これにより流体を逆方向に能動的にポンプ送給できるようにする。このような動作を使用して、複数種類の液体を共通リ

10

20

30

40

50

ザーバに追加流入させ、リザーバ内でこれら流体を混合できるようにする。したがって、流体接続通口 118 は、流体（例えば、ガス）をカートリッジハウジング 110 から排出させたり、又は流体をカートリッジハウジング 110 内に受容したりすることができる。

#### 【0054】

システムコントローラ 180 は、さらに、熱制御モジュール 191 を有することができる。熱制御モジュール 191 は熱サイクラー 186 を制御して、試料調製領域 132 に対して熱エネルギーを供給及び／又は除去できるようにする。1つの特別な実施例において、熱サイクラー 186 は、試料チャンネル 131 内の生物試料が PCR プロトコールにしたがって受ける温度を上昇及び／又は低下することができる。図示しないが、システム 100 は、試料調製領域 132 に隣接する位置に追加の熱デバイスを設けることができる。

10

#### 【0055】

システムコントローラ 180 は、さらに、生物試料に関するデータを取得する検出アセンブリ 108 を制御するよう構成した検出モジュール 192 を有することができる。検出モジュール 192 は、接点アレイ 188 により検出アセンブリ 108 の動作を制御することができる。例えば、検出アセンブリ 108 は、合体側面 114 に沿う電気接点 196 の接点アレイ 194 に通信可能に係合することができる。幾つかの実施形態において、電気接点 196 は可撓接点（例えば、ポゴ接点又は接点ビーム）とし、合体側面 114 に対して出入りする再位置決めができるようにする。電気接点 196 は、カートリッジハウジングの外部に露出し、また検出アセンブリ 108 に電氣的に接続する。電気接点 196 は、入／出力（I/O）接点と称することができる。ベース機器 102 及び係脱可能カートリッジ 104 が動作可能に係合するとき、検出モジュール 192 は検出アセンブリ 108 を制御して、所定時点で又は所定期間にわたりデータを取得できるようにする。例えば、検出モジュール 192 は検出アセンブリ 108 を制御して、生物試料がそれに付着する蛍光色素分子を有するとき、反応チャンバ 126 の画像を撮像できるようにする。多数の画像を取得することができる。

20

#### 【0056】

随意的に、システムコントローラ 180 は、少なくとも部分的結果をシステム 100 のユーザーに提供するデータを解析するよう構成した解析モジュール 193 を有する。例えば、解析モジュール 193 は、撮像検出器 109 によって得られた画像データを解析することができる。解析は、生物試料の核酸シーケンスを同定することができる。

30

#### 【0057】

システムコントローラ 180 及び／又は回路モジュール 190～193 は、1個又は複数のマイクロコントローラ、プロセッサ、縮小命令セット・コンピューター（RISC）、特定用途向け集積回路（ASIC）、フィールド・プログラマブル・ゲート・アレイ（FPGA）、論理回路、本明細書に記載した機能を実行できる任意の他の回路を含む、1つ又は複数の論理ベースのデバイスを設けることができる。例示的实施形態において、システムコントローラ 180 及び／又は回路モジュール 190～193 は内部に記憶した命令セットを実行して、1つ又は複数の分析プロトコールを実施する。記憶素子は、ベース機器 102 及び／又は係脱可能カートリッジ 104 内の情報源又は物理的メモリ素子の形態とすることができる。分析システム 100 が実施するプロトコールは、例えば、DN  
A 若しくは RNA の定量解析、タンパク質解析、DNA シーケンシング（例えば、シー  
ケンシング・バイ・シンセシス（SBS））、試料調製、及び／又はシーケンシングの断  
片ライブラリ準備を実行することができる。

40

#### 【0058】

命令セットは、システム 100 に命令する様々なコマンドを含み、本明細書に記載の種々の実施形態の方法及びプロセスのような特別な操作を実施することができる。命令セットはソフトウェアプログラムの形態とすることができる。本明細書で使用する用語「ソフトウェア」及び「ファームウェア」は、互換的に使用され、またコンピュータが実行するためのメモリ、例えば、RAM メモリ、ROM メモリ、EPROM メモリ、EEPROM  
メモリ、及び不揮発性 RAM（NVRAM）メモリに記憶させた任意のコンピュータプロ

50

グラムがある。上述のメモリタイプは、単に例示的なものであり、コンピュータプログラムの記憶用に使用可能なメモリタイプに限定されない。

【0059】

ソフトウェアは、システム・ソフトウェア又はアプリケーション・ソフトウェアのような様々な形態とすることができる。さらに、ソフトウェアは、大規模プログラムにおける個別プログラム若しくはプログラムモジュールの集合体としての形態、又はプログラムモジュールの一部としての形態があり得る。さらに、ソフトウェアは、オブジェクト指向プログラミングの形態でプログラミングするモジュールを含むことができる。検出データを取得した後、検出データは、システム100が自動的に処理する、ユーザー入力に応答して処理する、又は他の処理装置が発するリクエスト（例えば、通信リンク経由の遠隔リクエスト）に

10

【0060】

システムコントローラ180は、通信リンク経由でシステム100の他のコンポーネント又はサブシステムに接続することができ、この通信リンクは、有線又は無線とすることができる。システムコントローラ180は、さらに、オフサイトシステム又はサーバーに通信可能に接続することができる。システムコントローラ180は、ユーザー・インタフェース（図示せず）からユーザー入力又はコマンドを受け取ることができる。ユーザー・インタフェースとしては、キーボード、マウス、タッチ画面パネル、及び/又は音声認識システム等があり得る。

【0061】

20

システムコントローラ180は、ソフトウェア命令の記憶、解釈及び/又は実行、並びにシステム100の全体動作の制御のような処理能力を提供するのに供することができる。システムコントローラ180は、種々のコンポーネントのデータ及び/又は電力状況を制御するよう構成する、及びプログラムすることができる。システムコントローラ180は図1に単一構造体として示すが、システムコントローラ180は、システム100にわたり異なる場所に分散する複数の個別コンポーネント（例えば、プロセッサ）を有することができる。幾つかの実施形態において、1個又は複数個のコンポーネントをベース機器に内蔵することができ、また1個又は複数個のコンポーネントをベース機器に対して遠隔位置に配置することができる。

【0062】

30

図2は、本発明の実施形態により形成したフロー制御システム200の平面図である。このフロー制御システム200は、システム100（図1に示す）のような、試料調製及び/又は試料解析を行うシステム（図示せず）の一部とすることができる。幾つかの実施形態において、フロー制御システム200は、係脱可能カートリッジ104（図1参照）のような統合装置内に全体的に位置する。しかし、他の実施形態において、フロー制御システム200は標準システム（例えば、デスクトップシステム）の一部とすることができる。図2において、フロー制御システム200のコンポーネントは、局所的エリア内に配置する。他の実施形態において、フロー制御システム200のコンポーネントは互いに離間させ、また異なるエリアに分散させることができる。

【0063】

40

図示の実施形態において、フロー制御システム200は、内部に流れる1種類又は複数種類の流体（ガス又は液体）を有するよう構成した流体ネットワーク202を含む。流体ネットワーク202は、相互接続した流体素子の構成体を有する。流体素子は、流体ネットワーク202内の指定領域に流体を導くよう構成することができ、この指定領域において、例えば、流体は所定条件に晒される及び/又は指定反応を受けることができる。流体素子は、1個又は複数個のバルブによって選択的に相互接続され、これにより1個又は複数個の流体素子を、動作中に1個又は複数個の他の流体素子に対して接続分離できるようにする。

【0064】

図示の実施形態において、流体ネットワーク202は、試料通口204A～204Dと

50

、及び試料通口204A~204Dとそれぞれ流体連通する試料チャンネル206A~206Dとを有する。試料チャンネル206A~206Dは、対応の試料通口204A~204Dから共通の合流部又は交差部209に延在する。流体ネットワーク202は、さらに、合流部209からサプライ通口210(図9に示す)まで延在する統合した試料チャンネル208を有する。回転バルブ216をサプライ通口210上に配置する。

【0065】

流体ネットワーク202は、さらに、フィード通口226(図9に示す)と、及びこのフィード通口226から延在するフィードチャンネル224とを有する。フィードチャンネル224は、フィード通口226と流体ネットワーク202におけるフローセル320との間に延在する。フローセル320は、流入通口322、流出通口324、及びこれら通口322, 324間に延在する反応チャンバ326を有する。動作中、流体は、フィードチャンネル224から流入通口322を経由して流れ、また流出通口324経由で反応チャンバ326から流出することができる。反応チャンバ326から流出した後、流体は、流体ネットワーク202の廃棄リザーバ330に流れることができる。廃棄リザーバ330は図2で小さいボックスで代表して示すが、廃棄リザーバ330の容積は、例えば、リザーバ240~244よりも大きいものにすることができると理解されたい。

10

【0066】

流体は反応チャンバ326を流れるとともに、流体は反応チャンバ326内の既存の物質(例えば、検体)と反応し合うことができる。指定反応は反応チャンバ326内で検出することができる。例えば、検出アセンブリ(図示せず)は反応チャンバ326に隣接して位置決めし、また反応チャンバ326から光信号を検出することができる。

20

【0067】

図示の実施形態において、試料通口204A~204Dは、マイクロ流体制御構体212の外部に露出するように、マイクロ流体制御構体212の構体側面又は表面214に開口する。試料チャンネル206A~206D及び統合した試料チャンネル208はマイクロ流体制御構体212に貫通する(例えば、マイクロ流体制御構体内部に存在する)。サプライ通口210は、構体側面214に開口する。代案として、サプライ通口210は、マイクロ流体制御構体212の下側面(図示せず)又は側方側面に開口することができる。したがって、試料チャンネル206A~206Dは、サプライ通口210のような単一通口に流体連通する。代替的实施形態において、試料チャンネル206A~206Dは、構体側面214に開口する個別のサプライ通口に流体連通することができる。このような代替的实施形態において、各試料チャンネルは、対応の試料通口と対応のサプライ通口との間に延在することができる。

30

【0068】

図示の実施形態において、流体ネットワーク202は、さらに、複数個のリザーバチャンネル220を有する。各リザーバチャンネル220は、リザーバ通口222(図10に示す)とリザーバ240との間に流体的に介在させる。リザーバ通口222は構体側面214に開口する。サプライ通口210と同様に、リザーバ通口222は、回転バルブ216によってカバーすることができる。随意的に、流体ネットワーク202は、共通試料チャンネル208とリザーバ230との間に流体的に介在させたリザーバチャンネル228を有することができる。

40

【0069】

図示の実施形態において、フロー制御システム200はマイクロ流体制御構体212を有する。マイクロ流体制御構体212は、流体ネットワーク202の流体素子を画定する物理的構体とすることができる。例えば、マイクロ流体制御構体212は積層したPCB層を有し、これらのPCB層において、1つ又は複数の層は、流体ネットワーク202の1つ又は複数のチャンネル(例えば、試料チャンネル206A~206D、共通試料チャンネル208、リザーバチャンネル220, 228及びフィードチャンネル224)、並びに1個又は複数個の通口(例えば、試料通口204A~204D、リザーバ通口222、サプライ通口210及びフィード通口226)をエッチング又は整形する。フローセル3

50

20は、マイクロ流体制御構体212に固定することができる。このようなマイクロ流体制御構体は、米国仮出願第62/003,264号及び同第61/951,462号に図示及び記載されている。これら各米国仮出願は、参照により全体が本明細書に組み入れられるものとする。PCB層に代えて又は付加して、他の材料、例えば、ガラス又はプラスチックを使用することができる。代替的实施形態において、マイクロ流体制御構体212は、集合的に複数の構体コンポーネントから形成することができる。幾つかの場合において、流体ネットワーク202は少なくとも部分的に管材によって形成することができる。

#### 【0070】

回転バルブ216は、軸線299周りに異なるバルブ位置に回転して、流体ネットワーク202の異なるチャンネルを流体的に接続するよう構成する。回転バルブ216は、構体側面214に摺動可能に連結することができ、また構体側面214に開口する多数の通口、例えば、リザーバ通口222、サプライ通口210、及びフィード通口226をカバーするよう位置決めすることができる。回転バルブ216は、離散した個別チャンネルを流体的に接続するよう構成した少なくとも1個のフローチャンネル218（図9に示す）を有する。例えば、回転バルブ216が第1バルブ位置にあるとき、フローチャンネル218は試料チャンネル208をフィードチャンネル224に流体的に接続することができる。回転バルブ216が第2回転位置にあるとき、フローチャンネル218は1個のチャンネル又はリザーバチャンネル220をフィードチャンネル224の流体的に接続することができる。

#### 【0071】

試料通口204A～204Dそれぞれは、対応の生物試料を受容するよう構成する。例えば、例えば、検査技師又は研究所職員のようなフロー制御システム200のユーザーは、生物試料を1個又は複数個の試料通口204A～204D内に装填する（ピペット注入）することができる。生物試料は、同一個体（例えば、人間）のものとする、又は集団からの多数の異なる個体からのものとするることができる。生物試料は、当然のことながら、動物、植物、細菌、又は真菌のような他の種からのものとするることができる。図示の実施形態において、試料通口204A～204Dは、フロー制御システム200の外側からアクセスできるよう構成する。代替的实施形態において、試料通口204A～204Dは、より大規模な流体ネットワークの一部とすることができ、これにより生物試料を大規模流体ネットワーク経由で試料通口204A～204D内に送給する。

#### 【0072】

図2に示すように、試料チャンネル206A～206Dのそれぞれは、試料調製領域232を有することができる。図示の実施形態において、試料チャンネル206A～206Dは、対応の試料調製領域232に沿って対応の波状又は蛇行経路を有する。波状又は蛇行経路は、より多くの量の生物試料が温度制御エリア234内に存在できるようにする。代替的实施形態において、試料調製領域232は対応の試料チャンネルの他の部分とは異なる寸法を有することができる。例えば、試料調製領域232は、広いチャンバ又は増大した深さを有するウェルを形成することができる。

#### 【0073】

試料調製領域232において、生物試料は、その後の反応及び/又は解析のために試料調製の処理を受けることができる。例えば、生物試料は、圧力及び/又は温度の変化を受けることができる。代替的又は付加的に、生物試料は、試料調製領域232内で1種類又は複数種類の反応成分と混合することができる。幾つかの実施形態において、フロー制御システム200は、試料チャンネル206A～206Dの試料調製領域232に隣接する温度制御エリア234に沿って延在する温度制御ストリップ又はバンド236（破線で示す）を有することができる。幾つかの実施形態において、温度制御ストリップ236は、米国仮出願第61/951,462号（参照によって全体が本明細書に組み入れられる）に記載の可撓性PCBヒータのような、可撓性PCBヒータとすることができる。可撓性PCBヒータは、温度制御エリア234に沿って延在させ、また電流を通電するとき発熱する導電性配線を有することができる。

## 【0074】

熱制御ストリップ236は、熱制御エリア234に沿う対応の試料チャンネル206A～206D内の生物試料の温度を制御するよう構成する。温度は、増幅プロトコール中に制御され、生物試料が所定スケジュールに従って温度上昇/低下を受けて生物試料を増幅できるようにする。このような実施形態において、生物試料を試薬の増幅（例えば、PCR）ミックスとともに試料通口204A～204Dに装填することができる。代案として、この増幅ミックスは、別個に流体ネットワーク202経由で試料調製領域232に送給することができる。例えば、試料調製領域232は、増幅ミックスを送給できる他のチャンネル（図示せず）に流体連通することができる。

## 【0075】

10

幾つかの実施形態において、フロー制御システム200は、保存アセンブリ又はモジュール238を有する。図示のように、保存アセンブリ238は、複数個のリザーバ240～244を有する。各リザーバ240～244は、所定分析プロトコール（例えば、SBSプロトコール）中に使用し得る反応成分を保有するよう構成する。各リザーバ240～244はリザーバチャンネル220のうち1つに対応する通口に流体連通することができる。本明細書に記載のように、回転バルブ216は、所定スケジュールに従って異なるバルブ位置に回転するよう構成し、フィードチャンネル224を流体ネットワーク202の別チャンネルに流体的に接続する。

## 【0076】

20

幾つかの実施形態において、フロー制御システム200は、さらに、チャンネルバルブ246, 248を有することができる。図示のように、試料チャンネル206A～206Dそれぞれは、1対のチャンネルバルブ246, 248に接続する。各試料チャンネル206A～206Dの対応する試料調製領域232は、対応する対におけるチャンネルバルブ246, 248間に延在する。チャンネルバルブ246, 248の各対は、生物試料が異なる条件に晒されるとき試料調製領域232内の対応する生物試料を封止するよう構成する。例えば、チャンネルバルブ246, 248は、生物試料がPCRプロトコールの熱サイクリングに晒されるとき、対応の生物試料をチャンネルバルブ246, 248間に封止することができる。

## 【0077】

30

流体ネットワーク202全体にわたりフローを誘導するため、フロー制御システム200はポンプアセンブリ332を有する。図示の実施形態において、フロー制御システム200は、反応チャンバ326の下流に配置し、流体ネットワーク202に流体を吸引する単一ポンプのみを有する。代替的实施形態において、1個又は複数個のポンプを使用して、流体ネットワーク202に流体を圧送することができる。例えば、1個又は複数個のポンプをリザーバ240～243及び/又はリザーバ244に対する上流に流体的に配置することができる。試料通口204A～204Dは、さらに、生物試料の試料チャンネル208に向かうフローを誘導する上流ポンプに流体的に接続することができる。

## 【0078】

40

図3～8は、フロー制御システム200（図2参照）が流体ネットワーク（図2参照）におけるフローを制御（例えば、調節）できる異なるバルブ調節機構を示す。より具体的には、図3及び4は、チャンネルバルブ246を有するバルブ調節機構250の断面を示す。以下はチャンネルバルブ246についての説明であるが、チャンネルバルブ248（図2参照）及び他のバルブも同様又は同一の特徴を有することができる。図示のように、マイクロ流体制御構体212は互いに並置積層させた複数個の層252～254を有する。層252～254はプリント回路板（PCB）層とすることができる。1つ又は複数の層252～254はエッチングし、このエッチングは、層252～254を互いに並置積層させるとき、マイクロ流体制御構体212が試料チャンネル206を形成するように行う。試料チャンネル206はバルブ又は内部キャビティ256を有する。

## 【0079】

50

チャンネルバルブ246は、試料チャンネル206における流体のフローを調節するよ

う構成する。例えば、チャンネルバルブ 246 は、流体が阻害されることなしに流動できる最大クリアランスを可能にする。チャンネルバルブ 246 は通過する流体のフローを阻害することもできる。本明細書に使用する用語「阻害する」は、流体フローを緩慢にすること又は流体フローを完全に遮断することを含む。図示のように、試料チャンネル 206 は、バルブキャビティ 256 に流体連通する第 1 通口 258 及び第 2 通口 260 を有する。試料チャンネルは、流体を第 1 通口 258 経由でバルブキャビティ 256 内に流入させ、また第 2 通口 260 経由でバルブキャビティ 256 から流出させるよう構成する。図示の実施形態において、チャンネルバルブ 246 は、第 1 状態と第 2 状態との間で撓むことができる可撓性薄膜を構成する。可撓性薄膜は、図 3 で第 1 状態にあり、また図 4 で第 2 状態にある。特別な実施形態において、可撓性薄膜は可撓層とする。可撓層は、バルブキャビティ 256 内に押し込んで第 1 通口 258 をカバーして、第 1 通口における流体のフローをブロックするよう構成する。代替的实施形態において、チャンネルバルブ 246 は、異なる状態又は位置間で移動して流体のフローを調節できる他の物理的素子とすることができる。

#### 【0080】

フロー制御システム 200 (図 2 参照) は、さらに、チャンネルバルブ 246 を作動させる構成としたバルブアクチュエータ 262 を有することができる。例えば、バルブアクチュエータ 262 は可撓性薄膜を第 1 状態と第 2 状態との間で撓ませることができる。バルブアクチュエータ 262 は、アクセス孔又は開口 266 に貫通する支柱又はロッドのような細長本体 264 をする。アクセス孔 266 は、バルブアクチュエータ 262 が、図示の実施形態では可撓性薄膜であるチャンネルバルブ 246 に直接係合できるようにする。図 6 において、バルブアクチュエータ 262 は第 2 状態又は第 2 位置にある。この第 2 位置において、バルブアクチュエータ 262 はチャンネルバルブ 246 に係合し、第 1 通口 258 に向かって或る距離移動している。バルブアクチュエータ 262 はチャンネルバルブ 246 を変形し、これによりチャンネルバルブ 246 は第 1 通口 258 をカバーする。このようにして、第 1 通口 258 経由の流体フローはチャンネルバルブ 246 によってブロックされる。

#### 【0081】

図 5 及び 6 は、チャンネルバルブ 272 を有するバルブ調節機構 270 の断面を示す。幾つかの実施形態において、チャンネルバルブ 246 (図 2 参照) をチャンネルバルブ 272 に置き換えることができる。バルブ調節機構 270 はバルブ調節機構 250 と同様のものとしてすることができる。例えば、バルブ調節機構はチャンネルバルブ 272 及びバルブアクチュエータ 274 を有する。バルブアクチュエータ 274 はノズルのような細長本体 276 を有し、この細長本体 276 をアクセス孔又は開口 278 内に突入させる。アクセス孔 278 は閉鎖又は封止したチャンバを構成することができる。例示的实施形態において、可撓性薄膜とすることができるチャンネルバルブ 272 をバルブアクチュエータ 274 によって空気圧的に作動する。より具体的には、バルブアクチュエータ 274 は、流体 (例えば、空気) を供給して閉鎖チャンバ内の圧力を増加し、これによりチャンネルバルブ 272 を変形させる。チャンネルバルブ 272 が変形したとき、チャンネルバルブは試料チャンネル 279 の通口 277 をカバーし、これにより試料チャンネル 279 におけるフローをブロックすることができる。

#### 【0082】

図 7 及び 8 は、チャンネルバルブ 282 を有するバルブ調節機構 280 を示す。バルブ調節機構 280 は、バルブ調節機構 250 (図 3 参照) 及びバルブ調節機構 270 (図 5 参照) と同様の特徴を有することができる。チャンネルバルブ 282 はバルブアクチュエータ 284 に回転可能に係合する。チャンネルバルブ 282 は、第 1 回転位置 (図 7 に示す) にあるとき試料チャンネル 286 におけるフローを可能にし、また第 2 回転位置 (図 8 に示す) にあるとき試料チャンネル 286 におけるフローをブロックできる形状の平面状本体とする。より具体的には、チャンネルバルブ 282 は第 2 回転位置にあるとき通口 288 をカバーすることができる。

10

20

30

40

50

## 【0083】

図9は、バルブアクチュエータ290に動作可能に係合する回転バルブ216の断面を示す。回転バルブ216は、マイクロ流体制御構体212の構体側面214に摺動可能に係合する。バルブアクチュエータ290は、回転バルブ216を軸線99周りに指定バルブ位置（又は回転位置）に回転して、流体ネットワーク202（図1参照）の異なるチャンネルを流体的に接続するよう構成する。回転バルブ216は、流体制御側面294及び操作側面296を有する弁本体292を有する。操作側面296は、バルブアクチュエータ290に係合するよう構成した機械的インタフェース（接合部分）298を有することができる。図示の実施形態において、機械的インタフェース298は、軸線299に一致する平面状本体又はフィン（図10参照）を有する。バルブアクチュエータ290は機械的インタフェース298を収容する構成とした溝孔300を有し、これによりバルブアクチュエータ290は回転バルブ216に動作可能に係合する。より具体的には、バルブアクチュエータ290が回転バルブ216に係合し、バルブアクチュエータ290が回転バルブ216を軸線299周りに回転させることができる。

10

## 【0084】

構体側面214は、サプライ通口210及びフィード通口226を有する。構体側面214は、さらに、リザーバ通口222A～222E（図10に示す）を有する。フローチャンネル218は、第1チャンネル通口306と第2チャンネル通口308との間に延在する。第1及び第2のチャンネル通口306、308は弁本体292の流体制御側面294に開口する。例示の実施形態において、回転バルブ216は、2個のみのチャンネル通口306、308と、1個のみのフローチャンネル218を有する。しかし、他の実施形態において、回転バルブ216は2個より多いチャンネル通口及び/又は1個より多いフローチャンネルを有することができる。このような実施形態によれば、回転バルブ216の単一回転位置で2個より多いチャンネルを流体的に接続することができる。

20

## 【0085】

図9に示すように、フィード通口226はチャンネル通口308に整列して流体的に接続され、またサプライ通口210はチャンネル通口306に整列して流体的に接続される。回転バルブ216の回転位置に基づいて、チャンネル通口306は、さらに、リザーバ通口222A～222Eのうち1つに流体的に接続することができる。上述したように、回転バルブ216は軸線299周りに回転するよう構成する。幾つかの実施形態において、フィード通口226及びチャンネル通口308は軸線299に整列するよう位置決めする。より具体的には、軸線299は、フィード通口226及びチャンネル通口308のそれぞれを貫通する。

30

## 【0086】

バルブアクチュエータ290が回転バルブ216に動作可能に係合するときには、バルブアクチュエータ290が構体側面214に向かう方向にアクチュエータ力310を加えることができる。このような実施形態において、アクチュエータ力310は、チャンネル通口306、308間のフローチャンネル218を封止し、またリザーバ通口222及び/又はサプライ通口210を封止するのに十分なものとなり得る。

40

## 【0087】

したがって、回転バルブ216は、第1回転位置において、フィード通口226及びサプライ通口210を流体的に接続し、また第2回転位置において、フィード通口226及び対応のリザーバ通口222を流体的に接続する。回転バルブ216が異なる回転位置間で回転するとき、回転バルブ216は、流体ネットワークの流路を効果的に変化する。

## 【0088】

流体はフローチャンネル218をいずれかの方向に流動することができる。例えば、システムポンプ119（図1参照）のようなシステムポンプ（図示せず）はフィード通口226に流体連通することができる。システムポンプは吸引力を発生し、流体をサプライ通口210経由でフローチャンネル218内に引き込み、またフィード通口226を通過させる。代案として、システムポンプは流体をフローチャンネル218内に変位させる正圧

50



を供給することができ、これにより、流体をフィード通口 2 2 6 経由でフローチャンネル 2 1 8 内に流入させ、またサプライ通口 2 1 0（又は対応のリザーバ通口 2 2 2）を通過させることができる。

【 0 0 8 9 】

図 1 0 は、構体側面 2 1 4 を上から見下ろした図であり、サプライ通口 2 1 0、フィード通口 2 2 6、及びリザーバ通口 2 2 2 A ~ 2 2 2 E を示す。図 1 0 において、フローチャンネル 2 1 8 は、2 つの回転位置を代表して示すが、フローチャンネル 2 1 8 は他の回転位置をとることができることを理解されたい。フローチャンネル 2 1 8 の回転位置は、回転バルブ 2 1 6（図 2 参照）のバルブ位置に相関する。リザーバ通口 2 2 2 A ~ 2 2 2 E は、対応のリザーバチャンネルにより対応のリザーバに流体的に接続される。例えば、リザーバ通口 2 2 2 A はリザーバ 2 4 3 に流体的に接続され、リザーバ通口 2 2 2 A はリザーバ 2 4 3 に流体的に接続され、リザーバ通口 2 2 2 B はリザーバ 2 4 2 に流体的に接続され、リザーバ通口 2 2 2 C はリザーバ 2 4 1 に流体的に接続され、リザーバ通口 2 2 2 D はリザーバ 2 4 0 に流体的に接続され、またリザーバ通口 2 2 2 E はリザーバ 2 4 4 に流体的に接続される。上述したように、回転バルブ 2 1 6（図 2 参照）の回転位置に基づいて、フローチャンネル 2 1 8 は、フィード通口 2 2 6 をサプライ通口 2 1 0 に、又は対応のリザーバ通口 2 2 2 A ~ 2 2 2 E のうち 1 つに流体的に接続することができる。

10

【 0 0 9 0 】

表 1 は、シークエンシング・バイ・シンセシス（S B S）プロトコルの種々の段階を示す。例示の実施形態において、リザーバ 2 4 4 は水素化緩衝液を含み、リザーバ 2 4 3 はヌクレオチド溶液を含み、リザーバ 2 4 2 は洗浄溶液を含み、またリザーバ 2 4 1 は開裂溶液を含む。表 1 は S B S プロトコルのスケジュールを提示するが、所望分析プロトコルに基づいて様々なスケジュールを設けることができることを理解されたい。以下の実施例において、生物試料は P C R プロトコルに従って対応の試料調製領域 2 3 2（図 2 参照）内で増幅されている。

20

【 0 0 9 1 】

段階 1 において、フローチャンネル 2 1 8 は、サプライ通口 2 1 0 及びフィード通口 2 2 6 を流体的に接続するバルブ位置を有する。段階 1 において、試料チャンネル 2 0 6 A に接続したチャンネルバルブ 2 4 6、2 4 8（図 2 参照）を不作動状態（例えば、第 1 状態）にし、第 1 生物試料が試料チャンネル 2 0 6 A 及び試料チャンネル 2 0 8 に流れることを可能にする。しかし、試料チャンネル 2 0 6 B ~ 2 0 6 D に接続したチャンネルバルブ 2 4 6、2 4 8 は作動状態にして、第 2、第 3、及び第 4 の生物試料を対応する試料調製領域 2 3 2 内に封止する。したがって、段階 1 において、ポンプアセンブリ 3 3 2（図 2 参照）は、第 1 生物試料のフローをフローチャンネル 2 1 8 に誘導することができる。段階 2 において、第 1 生物試料をフローチャンネル 2 1 8 内に保存したまま、回転バルブ 2 1 6 を第 2 バルブ位置に回転し、これによりフローチャンネル 2 1 8 はリザーバ通口 2 2 2 E 及びフィード通口 2 2 6 を流体的に接続する。この第 2 バルブ位置において、ポンプアセンブリ 3 3 2 は、フローチャンネル 2 1 8 内の流体のフローを誘導し、第 1 生物試料をリザーバ通口 2 2 2 E 経由で水素化緩衝液内に流入させる。

30

【 0 0 9 2 】

段階 3 において回転バルブ 2 1 6 を回転して第 1 バルブ位置に戻し、またチャンネルバルブ 2 4 6、2 4 8 を選択的に作動して、第 3 及び第 4 の生物試料を試料調製領域 2 3 2 内に封止したまま第 2 生物試料をフローチャンネル 2 1 8 内に流入できるようにする。第 4 段階で、第 2 生物試料をフローチャンネル 2 1 8 内に保存したまま回転バルブ 2 1 6 を回転して第 2 バルブ位置に戻し、第 2 生物試料を、第 1 生物試料を含む水素化緩衝液に添加する。段階 5 ~ 8 中に第 3 及び第 4 の生物試料を対応の試料調製領域から取り出して、水素化緩衝液に添加する。したがって、第 4 生物試料は、水素化緩衝液を有する単一リザーバ内に保存することができる。リザーバ 2 4 4 内に存在する間に、生物試料及び水素化緩衝液で、S B S シークエンシング用に生物試料を調整する反応を生ずる。

40

【 0 0 9 3 】

50

段階 9 において、ポンプアセンブリ 332 は、統合した生物試料 / 水素化緩衝液を、リザーバ通口 222E、フローチャンネル 218、フィード通口 226 を経由して反応チャンバ 326 (図 2 参照) 内に引き込む。生物試料は、反応チャンバを画定する表面に固定化することができる。例えば、生物試料を含むクラスターを形成することができる。段階 10 ~ 13 は、シークエンシング・サイクルを表す。段階 10 において、回転バルブ 216 を第 3 バルブ位置にし、ヌクレオチド溶液をフローチャンネル 218 経由で反応チャンバ内に引き込むことができる。この時点で、ヌクレオチドが対応の生物試料 (例えば、鋳型核酸にアニーリングされたプライマー) に組み込まれる。段階 11 において回転バルブ 216 を第 4 バルブ位置にし、洗浄溶液を反応チャンバに通過させ、ヌクレオチド溶液を伴って反応チャンバから流出させることができる。段階 11 において、反応チャンバを撮像検出器、例えば検出デバイス 404 (図 11 参照) によって画像化する。クラスターから発せられた光の色を使用して、クラスターが組み込んだ塩基を同定することができる。段階 12 において、回転バルブ 216 を第 4 バルブ位置にし、開裂溶液を反応チャンバに流し、また蛍光色素分子 (及び、もし存在するならば、可逆的ターミネーター部分) をクラスターから除去することができる。段階 13 において、回転バルブ 216 を再び第 3 バルブ位置にし、洗浄溶液を反応チャンバに流して、開裂溶液を除去することができる。段階 10 ~ 13 は、シークエンシングが完了するまで、及び / 又は試薬が枯渇するまで繰り返すことができる。

【0094】

【表 1】

	通口	フローチャンネルに流入する流体タイプ	フロー方向
段階 1	210	第 1 生物試料	フィード通口 266 に向かう
段階 2	222E	第 1 生物試料	フィード通口 266 から出る
段階 3	210	第 2 生物試料	フィード通口 266 に向かう
段階 4	222E	第 2 生物試料	フィード通口 266 から出る
段階 5	210	第 3 生物試料	フィード通口 266 に向かう
段階 6	222E	第 3 生物試料	フィード通口 266 から出る
段階 7	210	第 4 生物試料	フィード通口 266 に向かう
段階 8	222E	第 4 生物試料	フィード通口 266 から出る
段階 9	222E	統合生物試料 + 水素化緩衝液	フィード通口 266 に向かう
段階 10	222A	ヌクレオチド溶液	フィード通口 266 に向かう
段階 11	222B	洗浄溶液	フィード通口 266 に向かう
段階 12	222C	開裂溶液	フィード通口 266 に向かう
段階 13	222B	洗浄溶液	フィード通口 266 に向かう
検出完了まで段階 10 ~ 13 を繰り返す			

【0095】

図 11 は、検出アセンブリ 400 の一部の断面を示す。図示の実施形態において、検出アセンブリ 400 は、フローセル 320 に一体的に形成する。より具体的には、検出アセンブリは、フローセル 320 及び反応チャンバ 326 に隣接して位置決めした検出デバイス 404 を有する。フローセル 320 は検出デバイス 404 に取り付けることができる。図示の実施形態において、フローセル 320 は 1 つ又は複数の固定メカニズム (例えば、接着剤、ボンド、固定具等々) により検出デバイス 404 に直接付着する。幾つかの実施形態において、フローセル 320 は、検出デバイス 404 に取外し可能に連結することができる。特定実施形態において、検出デバイス 404 は、反応チャンバ 326 からの光信号を検出するよう構成する。したがって、検出デバイス 404 は、幾つかの実施形態において、撮像検出器を称することができる。

【0096】

図示の実施形態において、検出デバイス404はデバイス基部425を有する。特定実施形態において、デバイス基部425は、複数の積層レイヤ（例えば、シリコン層、誘電体層、金属-誘電体層等）を有する。デバイス基部425は、光センサ440のセンサアレイ424、光ガイド462のガイドアレイ426、及び対応する反応部位414を有する反応窪み408の反応アレイ428を有することができる。若干の実施形態において、コンポーネントは、各光センサ440が単一の光ガイド462及び単一の反応部位414に整列するよう配列する。しかし、他の実施形態において、単一の光センサ440が、1個より多い光ガイド462からの、及び/又は1つより多い反応部位414からの光子を受け取ることができる。本明細書で使用する単一光センサは、1個のピクセル又は1個より多いピクセルを有することができる。検出デバイス404は、相補型金属酸化膜半導体（CMOS）技術を用いて製造することができる。特定実施形態において、検出デバイス404は、CMOS撮像検出器とする。

10

#### 【0097】

用語「アレイ」又は「サブアレイ」は、必ずしも検出デバイスを有する所定タイプの各アイテム及びすべてのアイテムを含まなくてもよい。例えば、センサアレイ424は、検出デバイス404に各光センサ及びすべての光センサを含まないものとすることができる。その代わり、検出デバイス404は、他の光センサ（例えば、光センサの別アレイ）を含むことができる。他の実施例として、ガイドアレイ426は、検出デバイスの各光ガイド及びすべての光ガイドを含まないものとすることができる。その代わり、光ガイド462とは異なる構成の他の光ガイド、又は検出デバイス404の他の素子と異なる関係性を有する他の光ガイドとすることができる。このようにして、他に明示しない限り、用語「アレイ」は、このような検出デバイスのアイテムをすべて含む又は含まないものとすることができる。

20

#### 【0098】

図示の実施形態において、フローセル320は、側壁406と、並びに側壁406及び他の側壁（図示せず）によって支持されるフローカバー410とを有する。側壁は、検出器表面412に連結し、またフローカバー410と検出器表面412との間に延在する。幾つかの実施形態において、側壁は、フローカバー410を検出デバイス404に結合する硬化可能接着剤層から形成する。

#### 【0099】

30

フローセル320は、反応チャンバ326がフローカバー410と検出デバイス404との間に存在するサイズ及び形状にする。図示のように、反応チャンバ326は高さ $H_1$ を有することができる。単に例として、高さ $H_1$ は、約50~400 $\mu\text{m}$ （ミクロン）の間、とくに約80~200 $\mu\text{m}$ （ミクロン）の間とすることができる。図示の実施形態において、高さ $H_1$ は約100 $\mu\text{m}$ とする。フローカバー410は、検出アセンブリ400の外部から反応チャンバ326内に伝播する励起光を透過する材料を含むことができる。図7に示すように、励起光401は直角でない角度でフローカバー410に入射する。しかし、これは単に説明目的のためだけのものであり、励起光は異なる角度でフローカバー410に入射することができる。反応チャンバ326は、検出器表面412に沿って流体を導くことができるサイズ及び形状にする。反応チャンバ326の高さ $H_1$ 及び他の寸法は、検出器表面412に沿う流体のほぼ均一なフローを維持するよう構成することができる。反応チャンバ326の寸法は、さらに、バブル形成を抑制するよう構成する。

40

#### 【0100】

側壁406及びフローカバー410は、互いに連結する個別コンポーネントとすることができる。他の実施形態において、側壁406及びフローカバー410は、材料の連続ピースから形成されるよう一体形成することができる。例えば、フローカバー410（又はフローセル320）は、ガラス又はプラスチックのような透明材料を有することができる。フローカバー410は、反応チャンバ326を画定する平面状外面及び平面状内面を有する、ほぼ直方体ブロックを構成することができる。このブロックを側壁406に取り付けることができる。代案として、フローセル320をエッチングして、フローカバー41

50

0 及び側壁 4 0 6 を画定する。例えば、窪みを透明材料にエッチングすることができる。エッチングした材料を検出デバイス 4 0 4 に取り付けるとき、窪みは反応チャンバ 3 2 6 となり得る。

#### 【 0 1 0 1 】

検出デバイス 4 0 4 は、官能化する（例えば、指定反応を行うため適正な方法で化学的又は物理的に修飾する）ことができる検出器表面 4 1 2 を有する。例えば、検出器表面 4 1 2 は、官能化し、また固定化した 1 種類又は複数種類の生体分子を有する複数の反応部位 4 1 4 を有することができる。検出器表面 4 1 2 は、反応窪み又は片面開放反応窪み 4 0 8 のアレイを有する。各反応窪み 4 0 8 は、1 つ又は複数の反応部位 4 1 4 を有する。反応窪み 4 0 8 は、例えば、検出器表面 4 1 2 に沿う凹み又は深さ変化によって画定することができる。他の実施形態において、検出器表面 4 1 2 はほぼ平面状にすることができる。

10

#### 【 0 1 0 2 】

図 1 1 に示すように反応部位 4 1 4 は、検出器表面 4 1 2 に沿ってパターン化して分布させることができる。例えば、反応部位 4 1 4 は、マイクロアレイに類似するように検出器表面 4 1 2 に沿う行列として配置することができる。しかし、反応部位の様々なパターンを使用できると理解されたい。反応部位は、光信号を発生する生物学的物質又は化学物質を含むことができる。例えば、反応部位における生物学的物質又は化学物質は、励起光 4 0 1 に応答して発光することができる。特別な実施形態において、反応部位 4 1 4 は、検出器表面 4 1 2 に固定化した生体分子（例えば、核酸）のクラスター又はコロニーを有する。

20

#### 【 0 1 0 3 】

図 1 2 は方法 4 7 0 のフローチャートである。この方法は、生物試料を調製するステップ及び / 又は解析用に生物試料の指定反応を検出するステップを有することができる。方法 4 7 0 は、例えば、本明細書に記載の実施形態（例えば、システム及び / 又は方法）の構造又は態様を採用することができる。様々な実施形態において、若干のステップを同時に実施する、若干のステップを一斉に実施する、若干のステップを複数ステップに分割する、若干のステップを異なる順序で実施する、又は若干のステップ若しくは一連のステップを反復して再実施することができる。

#### 【 0 1 0 4 】

方法 4 7 0 は、フロー制御システム 2 0 0（図 2 参照）と類似又は同一のフロー制御システムを用いて実施又は実行することができる。方法 4 7 0 は、回転バルブを第 1 バルブ位置に回転するステップを有する。回転バルブは少なくとも 1 個のフローチャンネルを有する。第 1 バルブ位置において、このフローチャンネルは、試料チャンネル（又はフロー制御システムの他のリザーバ）に、また反応チャンバに流体連通し、フローチャンネルは、試料チャンネル及び反応チャンバを流体的に接続することができる。例えば、回転バルブは第 1 チャンネル通口及び第 2 チャンネル通口を有することができる。第 1 チャンネル通口は、通口（例えば、サプライ通口又はリザーバ通口）に整列し、また第 2 チャンネル通口はフィード通口に整列することができる。回転バルブが第 1 バルブ位置にあるとき、他の通口は回転バルブによって封止され、流体は他の通口に流れるのをブロックすることができる。

30

40

#### 【 0 1 0 5 】

方法 4 7 0 は、さらに、回転バルブが第 1 バルブ位置にあるとき生物試料を試料チャンネル（又は第 1 リザーバ）からフローチャンネルに流入させるステップ（4 7 4）を有する。例えば、生物試料はサプライ通口経由で回転バルブのフローチャンネルに流入することができる。他の実施例として、生物試料は、リザーバ、例えば水素化緩衝液を収容するリザーバ内に配置することができる。生物試料（水素化緩衝液とともに）リザーバ通口経由でフローチャンネルに流入することができる。

#### 【 0 1 0 6 】

随意的に、生物試料を反応チャンバ内に流入させ続けることができる（ステップ 4 7 6

50

）。代案として、方法４７０は、生物試料がフローチャンネル内に配置された状態のまま回転バルブを第２バルブ位置に回転するステップ（４７８）を有する。第２バルブ位置において、フローチャンネルは、他のリザーバ、例えば水素化緩衝液を収容するリザーバに流体的に接続することができる。ステップ４８０において、フローチャンネル内の生物試料がリザーバ内に流入するフローを誘導することができる（例えば、ポンプアセンブリによって）。方法４７０は、所望生物試料のそれぞれが共通リザーバ内に配置されるまで、ステップ４７２、４７４、４７８、及び４８０を繰り返す。ステップ４８２において、水素化緩衝液を伴う生物試料を同時にフローチャンネル経由で反応チャンバ内に進入させることができる。

#### 【０１０７】

したがって、１つ又は複数の生物試料が反応チャンバ内に回転バルブを利用して反応チャンバに導くことができる。代替的实施形態において、生物試料（又は複数の生物試料）は反応チャンバへの直接チャンネルを有し、回転バルブを流れることがないものとしてすることができる。随意的に、方法４７０は、指定反応を行わせるため、表１につき説明した操作のような指定操作の繰り返しを開始することができる。例えば、回転バルブは他のバルブ位置に回転し（ステップ４８４）、反応チャンバを指定リザーバに流体的に接続することができる。ステップ４８６において、反応成分は反応チャンバに流入し、生物試料と相互作用することができる。随意的に、ステップ４８８において、方法４７０は、反応チャンバ内における指定反応を検出する。方法４７０は、次にステップ４８４に復帰する。

#### 【０１０８】

図１３は、マイクロ流体制御構体５０４の構体側面５０２に回転可能に取り付ける、本発明の実施形態による回転バルブ５００の平面図である。この回転バルブ５００は、回転バルブ２１６（図２参照）と類似する特徴を有することができる。マイクロ流体制御構体５０４は、反応成分及び／又は生物試料を保持するよう構成した複数個のリザーバ５０６～５１０を有する。より具体的には、リザーバ５０６～５０９は、それぞれ第１、第２、第３、及び第４の生物試料（又は試料液体）を保持する。リザーバ５１０は水素化緩衝液を有する。リザーバ５０６～５１０のそれぞれは、図１３に直線で示す対応するリザーバチャンネル５１６～５２０により対応する通口に流体的に接続する。図示のように、これら通口は、構体側面５０２に開口し、またリザーバ５０６～５１０に流体連通するサプライ通口５２６～５３０を含む。マイクロ流体制御構体５０４は、さらに、構体側面５０２に開口するフィード通口５２４（図１３に示す）を有する。

#### 【０１０９】

回転バルブ５００は、構体側面５０２に係合する流体制御側面５１３及び反対側の操作側面５１４を有する弁本体５１２を備える。この弁本体５１２は、第１、第２、第３、及び第４のフローチャンネル５３６～５３９を有する。各フローチャンネル５３６～５３９は、増幅又はＰＣＲプロトコール中に生物試料を保持するよう構成する。各フローチャンネル５３６～５３９は、中心に位置する共通チャンネル通口（又は流出通口）５４４を有する。他の実施形態において、フローチャンネル５３６～５３９は同一のチャンネル通口を共有しないものとする。共通チャンネル通口５４４は、軸線５４２を有し、この軸線５４２の周りに回転バルブ５００が回転する。フローチャンネル５３６～５３９は、第１チャンネル通口（又は流入通口）５４６～５４９を有する。したがって、各フローチャンネル５３６～５３９は、対応する第１チャンネル通口５４６～５４９から共通チャンネル通口５４４まで延在する。回転バルブ２１６（図２参照）と同様に、回転バルブ５００は、異なるバルブ位置に回転してリザーバ及びチャンネルを流体的に接続するよう構成する。しかし、回転バルブ５００とは異なり、回転バルブ５００は増幅プロトコール中に使用する。より具体的には、弁本体５１２は、生物試料をフローチャンネル５３６～５３９内に保持したまま、熱サイクラー５７０（図１４参照）に係合することができる。

#### 【０１１０】

幾つかの実施形態において、フローチャンネル５３６～５３９は、非拡散セグメント５４５を有することができる。この非拡散セグメント５４５は、フローチャンネル５３６～

10

20

30

40

50

539内の生物試料がPCRプロトコルを受けるときに生ずる拡散の可能性を減少するよう構成する。例えば、図13に示すフローチャンネル536～539は、非線形経路を有し、また経路に沿って変化する寸法を有する。より具体的には、フローチャンネル536～539は、フローチャンネルが対応の第1チャンネル通口から共通チャンネル通口544に向かって延在するにつれて、行ったり来たりする巻回をする蛇行経路又は波状経路を有する。第1チャンネル通口546～549は、半径方向外方の場所をとる。フローチャンネル536～539の形状の他に、フローチャンネル536～539は、フローチャンネルが対応の第1チャンネル通口から共通チャンネル通口544に向かって延在するにつれて減少する寸法を有する。他の実施形態において、非拡散セグメント545は蛇行経路を持たないようにすることができる。非拡散セグメント545を含まないフローチャンネル536～539のセグメントは、試料調製領域543と称することができ、この試料調製領域543は、対応のフローチャンネルにおける生物試料が温度変化のような異なる条件に晒される部分を表すものである。しかし、少なくとも幾つかの実施形態において、生物試料は非拡散セグメント545内にも存在し得ることを理解されたい。

10

#### 【0111】

図14は、熱サイクラー570を操作側面514に取り付けるときの回転バルブ500の垂直断面図を示す。幾つかの実施形態において、熱サイクラー570は、弁本体512をマイクロ流体制御構体505の構体側面502に押し付ける取付け力572を付与することができる。図14には示さないが、弁本体512は、熱サイクラー570に係合する1個又は複数の機械的インタフェース（例えば、フィンのような非平面状形体）を有することができる。この熱サイクラー570は、フローチャンネル536～539の温度を制御するよう構成する。特定の実施形態において、熱サイクラー570は、各フローチャンネル536～539の温度を同時に制御する。他の実施形態において、熱サイクラー570は、一度にすべてのフローチャンネルではなく、フローチャンネルに選択的に係合することができる。

20

#### 【0112】

図14に示すように、共通チャンネル通口544はフィード通口524に流体的に接続する。軸線542は共通チャンネル通口544及びフィード通口524に貫通する。フローチャンネル537の第1チャンネル通口547は、リザーバ通口527に流体的に接続する。しかし、フローチャンネル539の第1チャンネル通口549は構体側面502によって封止される。したがって、図14に示すバルブ位置において、流体（例えば、生物試料を含む流体）は、リザーバ507（図13参照）からフローチャンネル537内に流入する。

30

#### 【0113】

図15A～15Lは、回転バルブ500の平面図であり、また異なる操作を生ずる異なるバルブ位置を示す。増幅プロトコル用に調製するため、システムコントローラ180（図1参照）のようなシステムコントローラは、ポンプアセンブリ（図示せず）及び回転バルブ500を選択的に制御するよう構成する。ポンプアセンブリは、ポンプアセンブリ332に類似のものとし、また1つ又は複数のフローポンプを有することができる。幾つかの実施形態において、単一ポンプを回転バルブ500の下流に設け、また流体を共通チャンネル通口544（図15A参照）に引き込むよう構成することができる。

40

#### 【0114】

随意的に、フローチャンネル536～539（図15A参照）は、生物試料を収容する前に、流体をプライム注入することができる。例えば、図15A～15Dは、対応するフローチャンネルの第1チャンネル通口が、リザーバ510に流体連通するリザーバ通口530に流体的に接続される状態を示す。したがって、各フローチャンネルの第1チャンネル通口は、個別にリザーバ510に接続することができる。フローチャンネルがリザーバ510に流体連通するとき、システムコントローラは、ポンプアセンブリを選択的に作動させて、リザーバ510内の反応成分のフローを誘導し、反応成分を対応のフローチャンネルに流入させる。

50

## 【0115】

従って図15Dの状態後、各フローチャンネル536～539は、反応成分をプライム注入する。反応成分はリザーバ510に関連するが、他の反応成分を使用してフローチャンネル536～539にプライム注入することができる。例えば、フローチャンネル536～539は、例えば、水又は緩衝溶液を収容する別個のリザーバ（図示せず）に流体的に接続することができる。図示の実施形態において、各フローチャンネル536～539は、個別にリザーバ510に接続する。代替的实施形態において、フローチャンネル536～539のうち1つ又は複数を、リザーバ510又は別個のリザーバに同時に接続することができる。

## 【0116】

フローチャンネル536～539がプライム注入された後、リザーバ506～509（図15E参照）からの生物試料をフローチャンネル536～539内に装填することができる（図15E参照）。例えば、図15Eに示すように、フローチャンネル538を、リザーバ508に流体連通するリザーバ通口528に流体的に接続する。このとき、フローチャンネル536、537及び539は構体側面502によってカバーされる。ポンプアセンブリはリザーバ508内の生物試料のフローを誘導し、これにより生物試料はフローチャンネル538内に流入する。フローの量は、リザーバ508内の流体の量に基づくものとすることができる。生物試料がフローチャンネル538内に装填された後、回転バルブ500を選択的に回転し、またポンプアセンブリを同様に選択的に作動させ、リザーバ506、507、及び509における生物試料を、それぞれ図15F～15Hに示すように、フローチャンネル536、537、及び539内に導入させることができる。

## 【0117】

生物試料を各フローチャンネル536～539内に装填した状態で、回転バルブ500を選択的に回転し、各第1チャンネル通口546～549をマイクロ流体制御構体504の構体側面502によってカバー（又は封止）する。第1チャンネル通口546～549が封止されるバルブ位置を図15Iに示す。次に、熱サイクラー570（図14参照）を制御し、指定増幅プロトコルに従って温度変化のサイクルを開始することができる。フローチャンネル536～539は、一方の端部のみを封止するが、ポンプアセンブリ及び非拡散セグメント545は、生物試料（例えば、PCRプラグ）のフィード通口524（図14参照）への移動及び/又は拡散に抵抗を与えることができる。

## 【0118】

増幅プロトコル後、生物試料を共通リザーバ内に装填することができる。例えば、図15J～15Lに示すように、フローチャンネル536～538内の生物試料をリザーバ510に流体的に接続することができる。ポンプアセンブリを選択的に操作して、生物試料のリザーバ510内へのフローを誘導することができる。図示しないが、フローチャンネル536も流体的にリザーバ510に接続し、これによりフローチャンネル536内の生物試料をリザーバ510内に装填することができる。したがって、リザーバ506～509からの各生物試料を、増幅プロトコル後に共通リザーバ510内に装填することができる。次に、ポンプアセンブリを選択的に作動させ、混合した生物試料のフィード通口へのフローを誘導することができる。生物試料は、反応チャンバ、例えば、反応チャンバ326（図2参照）に流体的に送給することができる。この後、生物試料は、上述したように指定反応を行うことができる。特別な実施形態において、生物試料はSBSプロトコル中に使用することができる。

## 【0119】

図16は、本発明の実施形態により形成し、マイクロ流体制御構体618の構体側面616に取り付ける回転バルブ600の平面図である。回転バルブ600は回転バルブ216（図2参照）及び回転バルブ500（図13参照）に類似の特徴を有することができる。回転バルブ600は、フローチャンネル604～606を有する弁本体602を備える。各フローチャンネル604～606は、第1チャンネル通口（又は流入通口）608と第2チャンネル通口（又は流出通口）610との間に延在する。回転バルブ500とは異なる

り、フローチャンネル 604 ~ 606 は、共通チャンネル通口に流体連通しない。

【0120】

図示の実施形態において、各フローチャンネル 604 ~ 606 は、上流チャンネル 612 及び下流チャンネル 614 に流体連通する。図 16 において、回転バルブ 600 は、各フローチャンネル 604 ~ 606 が対応の上流チャンネル 612 から生物試料を受容するバルブ位置にある。例えば、フローチャンネル 604 ~ 606 は、対応する生物試料を同時に受容することができる。生物試料のフローチャンネル 604 ~ 606 へのフローは、共通ポンプによって誘導することができる。例えば、下流チャンネル 614 は互いに合流させ、また単一ポンプに流体的に接続することができる。代案として、個別ポンプをフローチャンネル 604 ~ 606 に流体的に接続することができる。

10

【0121】

図 17 は、フローチャンネル 604 ~ 606 それぞれの第 1 及び第 2 のチャンネル通口 608, 610 がマイクロ流体制御構体 618 の構体側面 616 によって封止されるバルブ位置に回転バルブを回転した後の回転バルブ 600 の平面図である。図 17 に示すバルブ位置において、熱サイクラー（図示せず）を弁本体 602 に係合して、フローチャンネル 604 ~ 606 内で受ける温度を制御する。このようにして、生物試料は上述のような増幅プロトコルを受けることができる。図 13 ~ 15 に示す実施形態とは異なり、フローチャンネル 604 ~ 606 は、PCR プラグが拡散及び移動する可能性を減少するため両側の端部を封止する。

【0122】

20

図 18 は、本発明の実施形態により形成した回転バルブ 620 の平面図である。回転バルブ 620 は、回転バルブ 600（図 16 参照）に類似又は同一のものとすることができ、また複数個のフローチャンネル 624 ~ 626 を有することができる。図示のように、回転バルブ 600 は、3つの温度制御エリア又はゾーン 634 ~ 636 に分割する。温度制御エリア 634 ~ 636 は、破線で示すパイ状エリアで表す。各温度制御エリア 634 ~ 636 は、1個又は複数個の熱サイクラー（図示せず）によって制御する異なる温度レンジを表す。より具体的には、生物試料をフローチャンネル 624 ~ 626 内に装填した後、回転バルブ 620 を選択的に異なる位置に回転することができる。温度制御エリア 634 内のフローチャンネルは、核酸を変性する指定温度に曝すことができる。温度制御エリア 635 内のフローチャンネルは、アニーリング延伸段階用の指定温度に曝し、また温度制御エリア 636 内のフローチャンネルは、予加熱及び/又は温度保持段階用の指定温度に曝すことができる。システムコントローラは、回転バルブ 620 を3つの異なるバルブ位置に選択的に回転して、生物試料に多重 PCR 増幅段階のサイクル動作をさせることができる。したがって、回転バルブ 600 フローチャンネルとは異なり、フローチャンネル 624 ~ 626 は異なる温度に曝される。

30

【0123】

図 19 は方法 650 を示すフローチャートである。幾つかの実施形態において、方法 650 は、生物試料を調製するステップと、及び随意的に、解析用に生物試料の指定反応を検出するステップとを有することができる。方法 650 は、例えば、上述したような種々の実施形態（例えば、システム及び/又は方法）、例えば、図 13 ~ 18 につき説明した実施形態の構造又は態様を採用することができる。様々な実施形態において、若干のステップを省略又は付加する、若干のステップを組み合わせる、若干のステップを同時に実施する、若干のステップを一斉に実施する、若干のステップを複数ステップに分割する、若干のステップを異なる順序で実施する、又は若干のステップ又は一連のステップを反復して再実施することができる。

40

【0124】

方法 650 は、マイクロ流体制御構体及び回転バルブを準備するステップ（652）を有する。マイクロ流体制御構体は、構体側面と、リザーバ通口 526 ~ 529 のようなサプライ通口、及びフィード通口を含む流体ネットワークとを有することができる。サプライ通口は構体側面に開口することができる。回転バルブは、構体側面に回転可能に取り付

50



けることができ、また第1チャンネル通口、第2チャンネル通口、及び第1チャンネル通口と第2チャンネル通口との間に延在するフローチャンネルを有することができる。幾つかの実施形態において、多重のフローチャンネルを使用することができ、これらフローチャンネルは、図16～18の実施形態におけるように個別の第2チャンネル通口を有する、又は図13～15の実施形態におけるように第2チャンネル通口を共有することができる。第2チャンネル通口を共有する実施形態においては、第2チャンネル通口を共通チャンネル通口と称することができる。

#### 【0125】

方法650は、第1チャンネル通口がマイクロ流体制御構体のサプライ通口に流体連通する第1バルブ位置に回転バルブを回転するステップ(654)を有する。方法650は、さらに、回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、生物試料を第1チャンネル通口経由でフローチャンネル内に流入させるステップ(656)を有する。生物試料は、第1チャンネル通口から第2チャンネル通口に向かう方向に流動することができる。流入ステップ(656)は、流動の流量及び/又は持続時間を選択的に制御するステップを有し、この制御は、生物試料が第2チャンネル通口又はフィード通口をほぼ通り過ぎることがないように行う。回転バルブ500のような複数のフローチャンネルを有する実施形態に対しては、ステップ654及び656は、各フローチャンネルが内部に対応の生物試料を有するようになるまで繰り返す。しかし、各フローチャンネルの回転ステップ(654)は同一バルブ位置においてではない。より具体的には、生物試料に対応するフローチャンネル内に流入させるとき、他のフローチャンネルは一方又は双方の端部を封止することができる。

#### 【0126】

方法650は、さらに、フローチャンネル内の生物試料を伴って回転バルブを第2バルブ位置に回転し、第1チャンネル通口を構体側面によって封止するステップ(658)と、フローチャンネル内における生物試料の温度を選択温度に変化させる熱サイクリング操作を実施するステップ(660)とを有する。この実施ステップ(660)は、所定スケジュールに従うものとする。例えば、このスケジュールは、PCR操作を実行してその後の解析用に生物試料を増幅できるものとする。

#### 【0127】

随意的に、この実施ステップ(660)後に、生物試料又は複数の生物試料をリザーバ内に装填する(ステップ662)。例えば、リザーバは、その後の解析用に生物試料を調製する水素化緩衝溶液を有することができる。ステップ664において、生物試料(又は組み合わせた生物試料)を、その後の解析用に反応チャンバに送給する(ステップ666)。

#### 【0128】

図20は、マイクロ流体制御構体702及び回転バルブ704を備える、本発明の実施形態により形成したフロー制御システム700の斜視図である。回転バルブ500(図13参照)、600(図16参照)、及び620(図18参照)とは異なり、増幅は回転バルブ704内のみでは生じない。その代わりに、増幅はマイクロ流体制御構体702内で少なくとも部分的に生ずる。より具体的には、マイクロ流体制御構体702は、第1構体側面706(図22に示す)及び、これとは反対方向に対面する第2構体側面708(図22に示す)を有する。マイクロ流体制御構体702は流体ネットワーク705を備え、この流体ネットワーク705は、複数の試料リザーバ711～714、対応の流入通口731～734を有する複数のサプライチャンネル721～724、及び共通の流出通口736を含む。流入通口731～734及び流出通口736は、第1構体側面706に開口する(図22参照)。

#### 【0129】

回転バルブ704は、第1構体側面706に沿ってマイクロ流体制御構体702に回転可能に取り付ける。図示の実施形態において、回転バルブ704は、第1チャンネルセグメント726及び第2チャンネルセグメント728を有する。これら第1及び第2のチャ

ンネルセグメント 726, 728 は、回転バルブ 704 の流体制御側面 709 に開口することができる。代案として、第 1 及び第 2 のチャンネルセグメント 726, 728 は、流体制御側面 709 に開口する対応するチャンネル通口間に延在することができる。第 1 及び第 2 のチャンネルセグメント 726, 728 は、互いに離間し、また流体制御側面 709 の一部分に沿ってのみ延在する。例示的实施形態において、第 2 チャンネルセグメント 728 は回転バルブ 704 のいずれの回転位置においても流出通口 736 に流体連通する。

#### 【0130】

図 20 は、試料リザーバ 711 がポンプアセンブリに流体連通する指定位置にある回転バルブ 704 を示す。より具体的には、第 1 チャンネルセグメント 726 は、流入通口 731 と試料リザーバ 711 との間に流体的に介在する。第 2 チャンネルセグメント 726 は、試料リザーバ 711 と流出通口 736 との間に介在する。このようにして、サブライチャンネル 721 は、第 1 チャンネルセグメント 726、試料リザーバ 711、及び第 2 チャンネルセグメント 728 経由でフィードチャンネル 756 に流体連通する。

#### 【0131】

図示しないが、フロー制御システム 700 は、流入通口 731 及び第 1 チャンネルセグメント 726 経由で試料リザーバ 711 内に流入する流体のフローを誘導するよう構成したポンプアセンブリを備えることができる。流体は、例えば、サブライチャンネル 721 に流体連通する遠隔のリザーバ（図示せず）内に位置する生物試料を含むことができる。流体の流動及び試料リザーバの寸法は、生物試料が第 2 チャンネルセグメント 728 を経て試料リザーバ 711 からほぼ流出しないよう構成することができる。生物試料を試料リザーバ 711 内に装填した後、回転バルブ 704 を選択的に回転し、第 1 チャンネルセグメント 726 及び第 2 チャンネルセグメント 728 が試料リザーバ 712 に流体的に接続するようにする。試料リザーバ 712 には、サブライチャンネル 722 から流れる生物試料を装填することができる。同様に、試料リザーバ 713 及び 714 に対応する生物試料を装填することができる。

#### 【0132】

図 21 は、試料リザーバ 711 ~ 714 に対応する生物試料を装填した後のフロー制御システム 700 の斜視図である。幾つかの実施形態において、回転バルブ 704 は、図 20 に示すガスリザーバ 741 ~ 744 を有する。増幅プロトコル中、ガスリザーバ 741 ~ 744 は、試料リザーバ 711 ~ 714 に整列するよう構成する。例えば、図 22 に示すように、試料リザーバ 711 及びガスリザーバ 741 が組み合わさって試料調製チャンバ 751 を形成する。ガスリザーバ 741 内のガスは、試料調製チャンバ 751 内でガスバラストとして機能することができる。熱サイクリング後、生物試料は、出口通口 736 に流体連通するフィードチャンネル 756（図 20 参照）に流れる。本明細書に記載したように、生物試料は、反応チャンバ 326（図 2 参照）のような反応チャンバに導くことができる。

#### 【0133】

図 23 は、本発明の実施形態によって形成したシステム 800 の概略図である。システム 800 は、システム 100（図 1 参照）に類似の特徴を有することができる。例えば、システム 800 は、流体ネットワーク 804 を有するフロー制御システム 802 を備える。流体ネットワーク 804 は、多数の相互接続したチャンネル、通口、リザーバ、流体フローを保持又は流すよう構成した他の空間的領域を有する。例えば、流体ネットワーク 804 は、回転バルブ 806, 808 を有する。回転バルブ 806 は試料調製段階中に使用するように構成し、回転バルブ 808 は試料解析段階中に使用するように構成する。回転バルブ 806, 808 は、流体ネットワーク 804 の中間チャンネル 810 によって流体的に接続する。流体ネットワーク 804 は、さらに、フィードチャンネル 812、反応チャンバ 814、及び廃棄リザーバ 816 を有する。フロー制御システム 802 は、流体ネットワーク 804 に流体連通するポンプアセンブリ 818 を有する。図示の実施形態において、ポンプアセンブリ 818 は単一ポンプを有するが、他の実施形態において複数のポンプ

を有することができる。システム 800 は、構体側面 819 を有するマイクロ流体制御構体（図示せず）を備えることができる。回転バルブ 806, 808 は構体側面 819 に回転可能に取り付ける。マイクロ流体制御構体は、さらに、中間チャンネル 810 及びフィードチャンネル 812 を有する又は画定することができる。

#### 【0134】

流体ネットワーク 804 は、さらに、複数の分析チャンネル 821 ~ 824 及び複数の試料リザーバ 831 ~ 834 を有する。各分析チャンネル 821 ~ 824 は、対応する第 1 通口 826 と第 2 通口 828 との間に延在し、また対応する試料リザーバを中間チャンネル 810 に流体的に接続する。図示のように、分析チャンネル 821 ~ 824 は熱制御エリア 825 を貫通する。図示の実施形態において、分析チャンネル 821 ~ 824 は熱制御エリア 825 を通る波状経路を有する。分析チャンネル 821 ~ 824 の熱制御エリア 825 を貫通する部分は、試料調製領域 827 を構成することができる。非線形経路に代わって又は付加的に、分析チャンネル 821 ~ 824 は、対応する生物試料の指定量を保持する異なる寸法にすることができる。

#### 【0135】

回転バルブ 806 は、複数のバルブ位置間で移動するよう構成する。回転バルブ 806 は、ブリッジチャンネル 840 と、及びフローチャンネル 842 とを有する。ブリッジチャンネル 840 及びフローチャンネル 842 は、試料リザーバ 831 ~ 834 のうち 1 つを中間チャンネル 810 に流体的に接続するよう構成する。例えば、図 23 に示すように、ブリッジチャンネル 840 は、試料リザーバ 833 のリザーバ通口（又はサプライ通口）853 を分析チャンネル 823 の第 1 通口 826 に流体的に接続する。同時に、フローチャンネル 842 が第 2 通口 828 を中間通口 856 に流体的に接続する。中間通口 856 は、構体側面 819 に沿って開口し、また中間チャンネル 810 に流体連通する。

#### 【0136】

したがって、システムコントローラ（図示せず）は回転バルブ 806 を選択的に回転し、試料リザーバ 831 ~ 834 をそれぞれ対応の分析チャンネル 821 ~ 824 に流体的に接続する。システムコントローラは、ポンプアセンブリ 818 を制御して、試料リザーバ内における生物試料のフローを誘導し、生物試料を分析チャンネル 821 ~ 824 の試料調製領域 827 内に配置する。

#### 【0137】

生物試料（又は複数の試料）を対応する分析チャンネル内に配置するとき、回転バルブ 806 をシステムコントローラによって他のバルブ位置に回転し、分析チャンネル 821 ~ 824 それぞれの第 1 及び第 2 の通口 826, 828 を構体側面 819 によってカバー又は封止する。分析チャンネルが封止された状態で、生物試料は増幅プロトコルを受けることができる。例えば、熱サイクラー（図示せず）を熱制御エリア 825 に隣接配置し、増幅プロトコルに従って熱エネルギーを加えることができる。特別な実施形態において、各生物試料を同時に熱制御エリア 825 内に配置することができる。代替的实施形態において、生物試料は個別の時点で熱制御エリア 825 内に配置することができる。

#### 【0138】

生物試料を増幅した後、回転バルブ 806 を対応のバルブ位置に戻し、対応の生物試料をフローチャンネル 842 内に装填することができる。生物試料をフローチャンネル 842 内に配置した状態で、回転バルブを他の位置に回転し、フローチャンネル 842 をリザーバ 835 に流体連通させる。リザーバ 835 は、例えば、水素化緩衝溶液を収容することができる。生物試料をこのリザーバ 835 に装填することができる。随意的に、回転バルブ 806 及びポンプアセンブリ 818 を同様にして動作させ、生物試料を他の分析チャンネルからリザーバ 835 内に装填する。生物試料はこの後、他の段階に向かわせることができる。例えば、生物試料は、フローチャンネル 842、中間通口 856 経由で中間チャンネル 810 に流入することができる。代替的实施形態において、生物試料は、最初にリザーバ 835 内に装填されることなく、回転バルブ 808 に向かわせることができる。

#### 【0139】

図 2 3 に示すように、回転バルブ 8 0 8 は、フローチャンネル 8 7 0 と、及び複数の試薬リザーバ 8 7 1 ~ 8 7 8 とを有する。回転バルブ 8 0 6 を用いて、生物試料が調製された後に、生物試料を反応チャンバ 8 1 4 に移送することができる。随意的に、生物試料を反応チャンバ 8 1 4 に送給する前に、回転バルブ 8 0 8 を回転して試薬リザーバ 8 7 1 ~ 8 7 8 のうち 1 つ又は複数を反応チャンバ 8 1 4 に流体的に接続することができる。より具体的には、フローチャンネル 8 7 0 を指定位置に回転して、試薬リザーバ 8 7 1 ~ 8 7 8 のうち 1 つを反応チャンバ 8 1 4 に流体的に接続する。このように、回転バルブ 8 0 8 を使用して、生物試料を収容する反応チャンバ 8 1 4 を準備することができる。例えば、試薬リザーバ 8 7 1 ~ 8 7 8 は、クラスター化試薬、酵素、及び / 又はキャプチャローブを含むことができる。

10

#### 【 0 1 4 0 】

生物試料を反応チャンバ 8 1 4 に送給した後、回転バルブ 8 0 8 を異なるバルブ位置に選択的に回転することができる。例えば、回転バルブ 8 0 8 は、所定サイクルに従って、S B S プロトコルを行うための反応成分を反復して送給することができる。サイクルは、上述の表 1 に示すサイクルと同様のものとして行うことができる。したがって、回転バルブ 8 0 8 を利用して、生物試料を収容する反応チャンバを準備する、及び / 又は分析プロトコルを行うことができる。

#### 【 0 1 4 1 】

図 2 4 及び 2 5 は、ブリッジチャンネルを有する回転バルブを利用する他の実施形態を示す。図 2 4 はフロー制御システム 9 0 0 の平面図であり、また図 2 5 はフロー制御システム 9 0 0 の部分的な分解斜視図である。図示のように、フロー制御システム 9 0 0 は、互いに反対向きの第 1 構体側面 9 0 4 及び第 2 構体側面 9 0 6 ( 図 2 5 参照 ) を有するマイクロ流体制御構体 9 0 2 を備える。マイクロ流体制御構体 9 0 2 は、複数のフローチャンネル 9 0 8 と、及び複数の試料リザーバ 9 1 0 とを備える。各フローチャンネル 9 0 8 は対応の試料リザーバ 9 1 0 に流体的に接続するよう構成する。フローチャンネル 9 0 8 は、フローチャンネル 5 3 6 ~ 5 3 9 ( 図 1 3 参照 ) と同様の形状及びサイズとすることができる。

20

#### 【 0 1 4 2 】

フロー制御システム 9 0 0 は、さらに、回転バルブ 9 1 2 を備える。回転バルブ 9 1 2 は、対応するフローチャンネル 9 0 8 及び試料リザーバ 9 1 0 を流体的に接続するよう構成した、複数のブリッジチャンネル 9 1 3 ~ 9 1 6 を有する。特別な実施形態において、各ブリッジチャンネル 9 1 3 ~ 9 1 6 は、回転バルブ 9 1 2 の外部に沿って側面が開放した溝とする。代替の実施形態において、ブリッジチャンネル 9 1 3 ~ 9 1 6 は側面が開放しないチャンネルとし、またその代わりに外部に開口する第 1 通口と第 2 通口との間に延在するチャンネルとする。例えば、図 2 4 に示すブリッジチャンネル 9 1 6 は、回転バルブ 9 1 2 の回転位置に基づいて、対応する試料リザーバ 9 1 0 を対応するフローチャンネル 9 0 8 に流体的に接続する。生物試料がブリッジチャンネル 9 1 3 に流れるとき、他のブリッジチャンネル 9 1 4 ~ 9 1 6 は、対応する試料リザーバ 9 1 0 には流体的に接続されない。より具体的には、他のブリッジチャンネル 9 1 4 ~ 9 1 6 は回転バルブ 9 1 2 によって封止される。

30

40

#### 【 0 1 4 3 】

他の実施形態で説明したのと同様に、熱サイクラー ( 図示せず ) はフローチャンネル 9 0 8 内の生物試料が晒される温度を変化させることができる。例えば、構体側面 9 0 4 , 9 0 6 のうち一方又は双方に熱サイクラーを係合させることができる。増幅プロトコル後に、生物試料は、付加的修飾 / 調製、及び / 又は解析のための他の空間的領域に送給することができる。

#### 【 0 1 4 4 】

種々の実施形態につき上述したように、回転バルブ及びマイクロ流体制御構体は、互いに連携して 1 つ又は複数の流体フローを指定状態で制御する異なる流体素子を有することができる。上述の実施形態は単に例示的なものであり、限定的ではないと理解されたい。

50

例えば、上述の実施形態（及び／又はその態様）は互いに組み合わせて使用することができる。さらに、多くの変更を行って、発明の範囲から逸脱することなく種々の実施形態の教示するものに特別な状況又は材料を適用することができる。

【0145】

図26～29は、本発明の実施形態により形成した回転バルブ950の様々な図である。回転バルブ950は、回転バルブ216（図2参照）のような、種々の実施形態における回転バルブとして使用することができる。図26及び27のそれぞれは、回転バルブ950を底部側から見た斜視図及び側方から見た斜視図である。この回転バルブ950は、流体制御側面952及び操作側面954を有する。操作側面954は、バルブアクチュエータ（図示せず）に係合するよう構成した機械的インタフェース956を有する。

10

【0146】

図28は回転バルブ950の断面図を示す。図示のように、回転バルブ950は、ハウジングカバー960と、互いに固着状態に固定する側面カバー964とを有する。ハウジングカバー960はバルブキャビティ962を画定し、また側面カバー964は流体制御側面952に沿ってバルブキャビティ962の一方の端部を閉鎖する。回転バルブ950は、さらに、バルブキャビティ962内にそれぞれ配置した機械的インタフェース956、バルブばね968、マニホールド本体970、及び圧縮可能薄膜972を含むロータシャフト966を有する。このロータシャフト966は、マニホールド本体970及び圧縮可能薄膜972を側面カバー964に沿って軸線978周りに回転するよう構成する。

20

【0147】

マニホールド本体970は、一方の側面をロータシャフト966に固定し、反対側の側面を圧縮可能薄膜972に固定する。圧縮ばね968は、マニホールド本体970及び圧縮可能薄膜972を側面カバー964の内側表面に対して偏倚又は押圧することができる。特別な実施形態において、圧縮可能薄膜972は、ポリプロピレン又は他の類似材料とすることができる。図26に戻って説明すると、側面カバー964は、中心フロー通口980、ドレイン通口、及び外側フロー通口982を有する。この側面カバー964は、図26において部分的に透明化して、中心フロー通口980、ドレイン通口、及び外側フロー通口982を示す。合計9個の外側フロー通口982を示すが、他の実施形態では異なる個数の通口を有することができる。

30

【0148】

図29は、回転バルブ950の拡大断面図であり、マニホールド本体970、圧縮可能薄膜972、及び側面カバー964間における相互作用を示す。図示のように、側面カバー964及び圧縮可能薄膜972は、両者間に潤滑リザーバ990を画定することができる。潤滑リザーバ990は軸線978周りに延在することができる。幾つかの実施形態において、外側潤滑リザーバ991を設けることもできる。潤滑リザーバ990は図26にも示す。ドレイン通口981は潤滑リザーバ990に流体連通し、潤滑剤をリザーバ990に装填できるようにする。図示のように、マニホールド本体970及び圧縮可能薄膜972は、両者間にフローチャンネル984を画定する。ロータシャフト966がマニホールド本体970を圧縮可能薄膜972とともに回転するとき、フローチャンネル984がともに回転する。回転に抗する摩擦力は、圧縮可能薄膜972及び潤滑リザーバ980に起因して減少する。したがって、回転バルブ950の耐用寿命は、既知のバルブよりも長くすることができる。

40

【0149】

本発明の実施形態によれば、試料チャンネル、反応チャンバ及びリザーバを有する流体ネットワークを備えるシステムを提供する。試料チャンネルは、生物試料を受容するよう構成した試料通口に流体連通する。システムは、さらに、流体ネットワークに流体連通するよう構成したポンプアセンブリを備える。システムは、さらに、フローチャンネルを有し、また第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で回転するよう構成した、回転バルブを備える。フローチャンネルは、回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、反応チャンバ及び試料チャンネルを流体的に接続し、また回転バルブが第2バルブ位置にあるとき、リザ

50

ーバ及び試料チャンネルを流体的に接続する。ポンプアセンブリは、回転バルブが第1バルブ位置にあるとき生物試料を反応チャンバに向かわせるフローを誘導し、また回転バルブが第2バルブ位置にあるとき反応成分をリザーバから反応チャンバに向かわせるフローを誘導する。

【0150】

一態様において、ポンプアセンブリは、前記反応チャンバに流体連通しかつ前記反応チャンバに対して下流側に位置するシステムポンプを有することができる。

【0151】

他の実施形態において、前記回転バルブは、前記回転バルブが前記第1バルブ位置から前記第2バルブ位置に回転するにつれて、前記フローチャンネル内に前記生物試料を保持する構成とすることができる。前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、前記生物試料を前記リザーバ内に流入させるフローを誘導するよう構成することができる。

10

【0152】

随意的に、前記試料チャンネルは第1試料チャンネルとし、また前記生物試料は第1生物試料とすることができる。前記流体ネットワークは第2生物試料を有する第2試料チャンネルを含むことができる。前記回転バルブは、前記フローチャンネルが前記第2試料チャンネルに流体連通する第3バルブ位置に回転するよう構成することができる。前記ポンプアセンブリは、前記第2試料チャンネル内の第2生物試料を前記フローチャンネル内に流入させるフローを誘導する構成とし、この場合、前記回転バルブが前記第3バルブ位置から前記第2バルブ位置に回転するにつれて、前記フローチャンネル内に前記第2生物試料を保持するよう構成とすることができる。前記ポンプアセンブリは、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、前記フローチャンネルにおける前記第2生物試料を前記リザーバに流入させるフローを誘導する構成とすることができる。幾つかの実施形態において、前記ポンプアセンブリは、前記第1生物試料及び前記第2生物試料を前記リザーバから前記反応チャンバに向かわせるフローを誘導する構成とすることができる。

20

【0153】

他の態様において、前記リザーバは第1リザーバとすることができる。前記流体ネットワークは第2リザーバを有するものとすることができ、この場合、前記回転バルブは、前記フローチャンネルが前記第2リザーバ及び前記反応チャンバを流体的に接続する第3バルブ位置に移動する構成とする。

30

【0154】

他の態様において、前記試料チャンネルは第1試料チャンネルとし、また前記流体ネットワークは第2試料チャンネルを含むものとすることができる。随意的に、前記第1試料チャンネル及び第2試料チャンネルのそれぞれは、共通サプライ通口を介して前記回転バルブに流体連通することができる。随意的に、システムは、さらに、前記試料チャンネルに接続するチャネルバルブを備えることができる。前記チャネルバルブは、第1位置と第2位置との間で移動し、前記第1位置及び第2位置ではそれぞれ、前記試料チャンネルを通過するフローを阻止及び許可するよう構成する。

【0155】

40

他の態様において、前記回転バルブは軸線周りに回転することができる。前記流体ネットワークは、前記軸線に整列しかつ前記フローチャンネル及び前記反応チャンバを流体的に接続するフィード通口を有することができる。

【0156】

他の態様において、前記流体ネットワークは、さらに、試薬チャネルを有することができる。前記試料チャンネル及び前記試薬チャネルは、前記フローチャンネルに対して上流側に配置した共通のサプライ通口に流体連通することができる。前記サプライ通口は、前記試料チャンネル及び前記試薬チャネルを前記フローチャンネルに流体的に接続することができる。

【0157】

50

他の態様において、システムは、前記反応チャンバ内の指定反応を検出するよう構成した検出アセンブリを備えることができる。随意的に、前記検出アセンブリは、前記反応チャンバからの光信号を検出するよう位置決めできる撮像検出器を含む。随意的に、前記撮像検出器は、前記流体ネットワークに対する定位置をとることができる。

【0158】

他の態様において、システムは、前記回転バルブ及び前記ポンプアセンブリを自動的に制御して、シークエンシング・バイ・シンセシス(SBS)プロトコルの反復サイクルを行うよう構成したシステムコントローラを備える。

【0159】

実施形態において、フローチャンネルを有する回転バルブを第1バルブ位置に回転するステップを有する方法を提供する。前記フローチャンネルは、前記第1バルブ位置にあるとき反応チャンバに流体連通する。本発明方法は、さらに、回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき、生物試料を試料チャンネル又は第1リザーバから前記フローチャンネルを経由して前記反応チャンバ内に流入させるステップを有することができる。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを第2バルブ位置に回転するステップを有することができる。前記フローチャンネルは、前記第2バルブ位置にあるとき第2リザーバ及び前記反応チャンバを流体的に接続することができる。本発明方法は、さらに、前記第2リザーバからの反応成分を前記反応チャンバ内に流入させるステップを有する。前記反応成分は前記反応チャンバ内の生物試料と相互反応する。

有する。

【0160】

一態様において、本発明方法は、前記反応チャンバ内における前記反応成分と前記生物試料との間の指定反応を検出するステップを有する。随意的に、前記指定反応を検出するステップは、前記反応チャンバからの光信号を検出するステップを含むことができる。前記光信号は前記指定反応の指標となり得る。

【0161】

他の態様において、本発明方法は、さらに、複数の前記生物試料を個別に前記リザーバ内に流入させて前記生物試料をリザーバ内で組み合わせるステップを有する。前記生物試料は、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき、同時に前記フローチャンネル経由で前記反応チャンバ内に流入することができる。

【0162】

他の態様において、本発明方法は、さらに、前記回転バルブを第3バルブ位置に回転し、また第3リザーバからの洗浄溶液を前記反応チャンバ内に流入させるステップを有する。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを前記第2バルブ位置に回転し、また前記第2リザーバからの前記反応成分を前記反応チャンバ内に導入させるステップを有することができる。随意的に、本発明方法は、シークエンシング・バイ・シンセシス(SBS)プロトコルの反復サイクルを実行するステップを有する。

【0163】

他の態様において、本発明方法は、さらに、前記生物試料を前記フローチャンネル経由で前記反応チャンバ内に流入させる前に、前記試料チャンネル又は前記リザーバ内の前記生物試料を増幅させるステップを有する。

【0164】

実施形態において、流体ネットワーク及び前記流体ネットワークに流体連通するポンプアセンブリを有するフロー制御システムを備えるシステムを提供する。前記流体ネットワークは、生物試料を受け入れるよう構成した試料チャンネル、複数個のリザーバ、及び反応チャンバを含むものとする。システムは、さらに、フローチャンネルを有する回転バルブを備える。回転バルブは、異なるバルブ位置に回転し、前記反応チャンバを前記試料チャンネルに、または前記リザーバのうち1つに流体的に接続するよう構成する。本発明システムは、さらに、分析プロトコル中に前記反応チャンバから光信号を検出するよう構成した検出デバイスを備える。本発明システムは、さらに、前記回転バルブ及び前記ポン

プアセンブリを制御し、前記生物試料を前記試料チャンネルから前記反応チャンバに流入させるよう構成したシステムコントローラを備える。システムコントローラは、さらに、複数のプロトコールサイクル中に前記回転バルブ、前記ポンプアセンブリ及び前記検出デバイスを制御するよう構成し、前記プロトコールサイクルの各サイクルは、(a) 前記回転バルブを第1リザーバ-バルブ位置に回転して、前記反応チャンバを前記複数のリザーバのうち第1リザーバに流体連通させるステップと、(b) 前記ポンプアセンブリを制御して、流体を前記第1リザーバから前記反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するステップと、(c) 前記回転バルブを第2リザーバ-バルブ位置に回転して、前記反応チャンバを前記複数のリザーバのうち第2リザーバに流体連通させるステップと、(d) 前記ポンプアセンブリを制御して、流体を前記第2リザーバから前記反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するステップと、及び(e) 前記第2リザーバからの流体を前記反応チャンバに流入させる間に、又は前記第2リザーバからの流体を前記反応チャンバに通過させた後に前記反応チャンバから光信号を検出するステップとを含むものとする。

10

#### 【0165】

一態様において、前記試料チャンネルは試料調製領域を含むものとして行うことができる。本発明システムは、さらに、前記試料調製領域内における生物試料の温度を制御するよう構成した熱サイクラーを備えることができる。前記システムコントローラは、前記熱サイクラーを制御して、前記生物試料を前記試料チャンネルから前記反応チャンバ内に流入させる前に、前記試料調製領域内の前記生物試料を増幅させることができる。

20

#### 【0166】

随意的に、前記プロトコールサイクルの各サイクルは、さらに、前記回転バルブを第3リザーバ-バルブ位置に回転して、前記反応チャンバを前記複数のリザーバのうち第3リザーバに連通させるステップと、及び前記ポンプアセンブリを制御して、流体を前記第3リザーバから前記反応チャンバ内に流入させるフローを誘導するステップとを有する。

#### 【0167】

他の態様において、前記検出デバイスはCMOS撮像検出器を有する。他の態様において、フローセルを前記検出デバイスに接続する。前記フローセルは前記反応チャンバを画定することができる。随意的に、前記フローセルは前記検出デバイスに対して定位置に固定する。

30

#### 【0168】

他の態様において、前記フロー制御システムは、構体側面を有するマイクロ流体制御構体を含む。前記構体側面は、その構体側面に開口する複数の通口を有し、前記フローチャンネルが前記複数の通口のうち少なくとも1個に流体的に接続するとき他の前記複数の通口を封止するよう構成する。特定実施形態において、本発明システムは、シーケンシング・バイ・シンセシス(SBS)プロトコールを実行するよう構成する。

#### 【0169】

実施形態によれば、マイクロ流体制御構体及び回転バルブを準備する準備ステップを有する方法を提供する。前記マイクロ流体制御構体は構体側面及び流体ネットワークを有し、前記流体ネットワークはサプライ通口及びフィード通口を含む。前記サプライ通口は前記構体側面に開口する。前記回転バルブは前記構体側面に対して回転可能に取り付ける。前記回転バルブは、第1チャンネル通口、第2チャンネル通口、及び前記第1チャンネル通口と前記第2チャンネル通口との間に延在するフローチャンネルを有する。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを、前記第1チャンネル通口が前記マイクロ流体制御構体の前記サプライ通口に流体連通する第1バルブ位置に回転するステップを有する。本発明方法は、さらに、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき、生物試料を前記第1チャンネル通口経由で前記フローチャンネルに流入させるステップを有する。本発明方法は、さらに、前記生物試料が前記フローチャンネル内に存在する状態で前記回転バルブを第2バルブ位置に回転して、前記第1チャンネル通口を前記構体側面によって封止するステップを有する。本発明方法は、さらに、熱サイクリング操作を行って、前記フローチャンネル内における生物試料の温度を選択温度に変化させるステップを有する。

40

50



## 【0170】

一態様において、前記マイクロ流体制御構体は、前記構体側面に開口してリザーバに流体連通するリザーバ通口を有することができる。本発明方法は、さらに、前記回転バルブを前記第1チャンネル通口及び前記リザーバ通口を整列させるよう回転して、前記フローチャンネル内の前記生物試料を前記第1チャンネル通口経由で前記リザーバ内に流入させるフローを誘導するステップを有する。随意的に、本発明方法は、さらに、前記リザーバから前記フローチャンネル及び前記マイクロ流体制御構体の前記フィード通口を経由する前記生物試料のフローを誘導するステップを有する。

## 【0171】

他の態様において、前記回転バルブが第2バルブ位置にあるとき、前記第2チャンネル通口は前記フィード通口に整列することができる。

10

## 【0172】

他の態様において、前記回転バルブが第2バルブ位置にあるとき、前記第2チャンネル通口は前記構体側面によって封止することができる。

## 【0173】

他の態様において、前記第1チャンネル通口は第1流入通口とし、前記フローチャンネルは第1フローチャンネルとする。前記回転バルブは第2流入通口及び第2フローチャンネルを有することができる。前記第2フローチャンネルは前記第2流入通口と前記第2チャンネル通口との間に延在することができる。

## 【0174】

20

他の態様において、前記第1チャンネル通口は第1流入通口とし、前記第2チャンネル通口は第1流出通口とする。前記回転バルブは第2流入通口及び第2流出通口を有し、フローチャンネルが前記第2流入通口と前記第2流出通口との間に延在することができる。

## 【0175】

他の態様において、前記回転バルブは互いに逆向きに対面する流体制御側面及び操作側面を有する。前記熱サイクラーは、前記操作側面に係合して前記生物試料の温度を制御することができる。

## 【0176】

他の態様において、本発明方法は、前記リザーバからの前記生物試料が前記フローチャンネル及び前記マイクロ流体制御構体の前記フィード通口を経由して反応チャンバ内に流入するフローを誘導するステップを有することができる。本発明方法は、さらに、前記反応チャンバからの光信号を検出するステップを有する。随意的に、前記反応チャンバは前記回転バルブに対して離れた位置をとるものとする。

30

## 【0177】

他の態様において、フローセルが前記反応チャンバを含むものとする。前記反応チャンバからの光信号を検出するステップは、前記フローセルに接続した撮像検出器を用いて、前記光信号を検出するステップを含むことができる。随意的に、前記撮像検出器及び前記フローセルは互いに固定する。

## 【0178】

本発明の実施形態において、構体側面及び流体ネットワークを有しするマイクロ流体制御構体であって、前記流体ネットワークはサプライ通口及びフィード通口を有する、該マイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。前記サプライ通口は前記構体側面に開口するものとする。本発明システムは、さらに、前記構体側面に対して回転可能に取り付ける回転バルブを備える。前記回転バルブは、第1チャンネル通口、第2チャンネル通口、及び前記第1チャンネル通口と前記第2チャンネル通口との間に延在するフローチャンネルを有する。前記回転バルブは、第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で回転するよう構成する。前記第1チャンネル通口は、前記回転バルブが前記第1バルブ位置にあるとき前記マイクロ流体制御構体の前記サプライ通口に流体連通する。前記第1チャンネル通口は、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき前記マイクロ流体制御構体によって封止されるものとする。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが前記第1バルブ位

40

50

置にあるとき、流体を前記サプライ通口経由で前記フローチャンネル内に流入させるフローを誘導する構成としたポンプアセンブリを備える。本発明システムは、さらに、前記回転バルブに対して位置決めされる熱サイクラーであって、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、前記フローチャンネル内の流体が受ける温度を制御するように構成した、該熱サイクラーを備える。

【0179】

一態様において、前記マイクロ流体制御構体は、前記構体側面に開口してリザーバに流体連通するリザーバ通口を有することができる。前記回転バルブは、前記第1チャンネル通口及び前記リザーバ通口が整列する第3バルブ位置に回転することができる。前記ポンプアセンブリは、前記フローチャンネル内の前記流体を前記第リザーバ通口経由で前記リザーバ内に流入させるフローを誘導するように構成することができる。随意的に、前記ポンプアセンブリは、前記リザーバからの前記流体が前記フローチャンネル及び前記マイクロ流体制御構体の前記フィード通口を経由するフローを誘導するように構成する。

10

【0180】

他の態様において、前記回転バルブは軸線の周りに回転するように構成する。前記第2チャンネル通口及び前記フィード通口は前記軸線に整列することができる。

【0181】

他の態様において、前記フローチャンネルは第1フローチャンネルとすることができる。前記回転バルブは、対応するチャンネル通口間に延在する第2フローチャンネルを有することができる。

20

【0182】

他の態様において、本発明システムは、前記フィード通口に流体連通する反応チャンバと、及び前記反応チャンバ内の指定反応を検出するよう位置決めした検出デバイスとを備える。随意的に、前記反応チャンバは前記回転バルブに対して離れた位置をとる。随意的に、本発明システムは、前記反応チャンバを有するフローセルを備える。前記検出デバイスは、前記フローセルに隣接して位置決めした撮像検出器とすることができる。幾つかの実施形態において、前記撮像検出器及び前記フローセルは互いに固定することができる。

【0183】

本発明の実施形態において、流入通口、流出通口、及び試料リザーバを含む流体ネットワークを有するマイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体に回転可能に連結した回転バルブを備える。前記回転バルブは、第1チャンネルセグメント及び第2チャンネルセグメントを有する。前記第1チャンネルセグメントは、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき前記流入通口及び試料リザーバを流体的に接続する。前記第2チャンネルセグメントは、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき前記流出通口及び試料リザーバを流体的に接続する。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、前記流入通口及び第1チャンネルセグメント経由で前記試料リザーバ内に流体を流入させる構成としたポンプアセンブリを備える。前記回転バルブは、前記試料リザーバが前記回転バルブによって封止される第2バルブ位置に移動するように構成する。本発明システムは、さらに、前記回転バルブが前記第2バルブ位置にあるとき、熱エネルギーを前記試料リザーバに供給するように前記マイクロ流体制御構体に対して位置決めした熱サイクラーを備える。

30

40

【0184】

一態様において、前記回転バルブは被包化したガスリザーバを有することができる。前記被包化したガスリザーバは、前記回転バルブが第2バルブ位置にあるとき、前記試料リザーバと整列することができる。前記被包化したガスリザーバ及び前記試料リザーバは反応チャンバを形成するよう組み合わせることができる。

【0185】

他の態様において、本発明システムは、さらに、前記流出通口に流体連通するフィードチャンネルを備える。前記フィードチャンネルは前記流出通口を反応チャンバに流体的に接続することができる。本発明システムは、前記反応チャンバと、及び前記反応チャンバ

50

内の指定反応を検出するよう位置決めした検出デバイスとを備える。

【0186】

他の態様において、前記反応チャンバは前記回転バルブに対して離れた位置をとることができる。随意的に、本発明システムは、前記反応チャンバを有するフローセルを備える。前記検出デバイスは、前記フローセルに隣接して位置決めした撮像検出器とすることができる。

【0187】

本発明の実施形態において、試料リザーバ及び別個の分析チャンネルを含む流体ネットワークを有するマイクロ流体制御構体を備えるシステムを提供する。前記分析チャンネルは第1通口と第2通口との間に延在する。前記流体ネットワークは、さらにフィード通口を有する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体の熱制御エリアに隣接して位置決めされる熱サイクラーを備える。前記分析チャンネルは前記熱制御エリアに貫通する。前記熱サイクラーは、熱エネルギーを前記熱制御エリアに供給するよう構成する。本発明システムは、さらに、前記マイクロ流体制御構体に回転可能に連結し、また第1バルブ位置と第2バルブ位置との間で移動するよう構成した回転バルブを備える。前記回転バルブは、ブリッジチャンネル及び別個のフローチャンネルを有する。前記回転バルブが第1バルブ位置にあるとき、前記ブリッジチャンネルは、前記ブリッジチャンネルは前記試料リザーバ及び前記分析チャンネルの第1通口を流体的に接続し、また前記フローチャンネルは前記分析チャンネルの第2通口及び前記フィード通口を流体的に接続する。前記回転バルブは、前記分析チャンネルの前記第1通口及び第2通口を封止する第2バルブ位置に移動するよう構成する。

【0188】

一態様において、前記フローチャンネルは前記分析チャンネルから生物試料を受け取るよう構成することができる。前記回転バルブは、前記フローチャンネルがリザーバに流体的に接続される第3バルブ位置に回転するよう構成することができる。前記生物試料は前記フローチャンネルを経由して前記リザーバ内に流入することができる。

【0189】

他の態様において、本発明システムは、さらに、前記フィード通口に流体連通する反応チャンバと、前記反応チャンバ内での指定反応を検出するよう位置決めした検出デバイスとを備える。随意的に、前記反応チャンバは前記回転バルブに対して離れた位置をとることができる。随意的に、本発明システムは、さらに、前記反応チャンバを有するフローセルを備える。前記検出デバイスは、前記フローセルに隣接して位置決めした撮像検出器とすることができる。

【0190】

本明細書に使用するように、単数形で表現され、単語「a」「an」が前置される要素又はステップは、明示しない限り、複数素子又は複数ステップを排除しないと理解されたい。さらに、「一実施形態」への言及は、記載される特徴を組み込んだ他の実施形態の存在を排除することを意図しない。他に明示しない限り、特定特性を有する1つの要素又は複数要素を「備える (comprising)」又は「有する (having)」実施形態は、その特性を有する又は有していない他の要素を含むことができる。

【0191】

当然のことながら、図示した実施形態のコンポーネントの特別な構成 (例えば、個数、タイプ、配置等) は、種々の代替的实施形態においては変更することができる。種々の実施形態において、所与のモジュール若しくはユニットの異なる個数を採用することができる、所与のモジュール若しくはユニットの異なるタイプを採用することができる、所与のモジュール若しくはユニットを追加することができる、又は所与のモジュール若しくはユニットを省略することができる。

【0192】

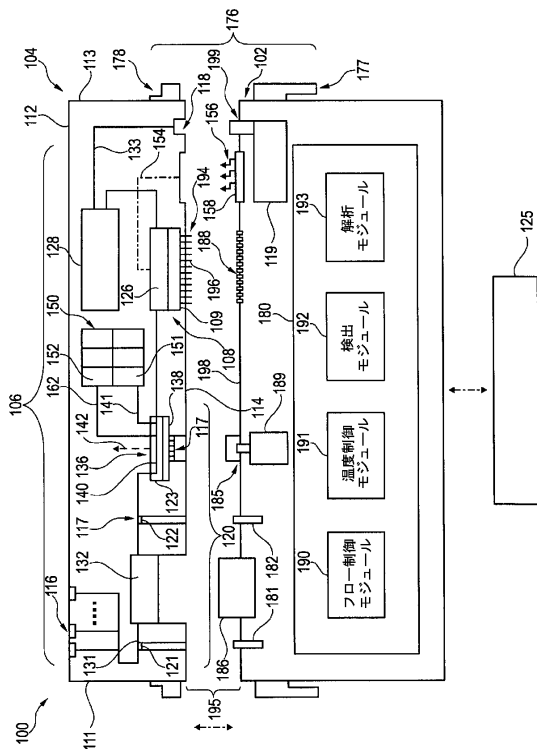
上述の記載は説明を意図するもので、限定的なものではないことを理解されたい。例えば、上述の実施形態 (及び / 又は態様) は、互いに組み合わせて使用することができる。

さらに、本発明の範囲から逸脱することなく、種々の実施形態が教示するところに特別な状況又は材料を適用するための多くの変更を加えることができる。種々のコンポーネントの寸法、材料タイプ、向き、並びに本明細書に記載の種々のコンポーネントの個数及び位置は、若干の実施形態のパラメータを規定することを意図し、何ら限定的なものではなく、単なる例示的实施形態に過ぎない。本明細書を閲覧する際に、特許請求の精神及び範囲内における多くの他の実施形態及び変更例は、当業者には明らかであろう。したがって、特許可能な範囲は、添付の特許請求の範囲の請求項を参照し、並びにこのような請求項に記載の均等物の全範囲とともに決定されるべきものである。

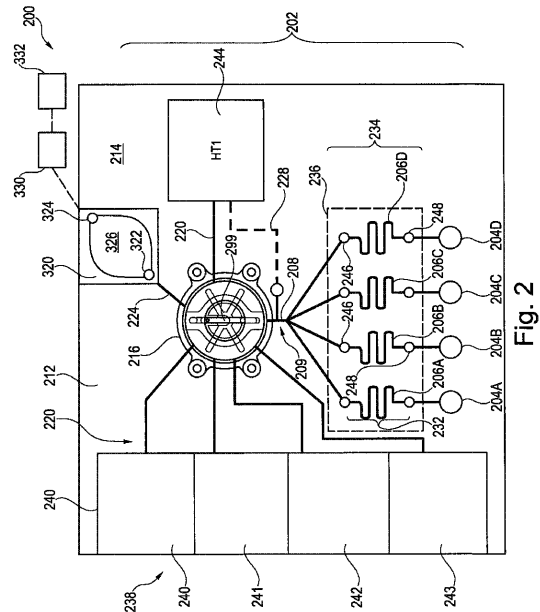
### 【0193】

本明細書で使用するように、「例示的实施形態 (exemplary embodiment)」等の語句は、記載された実施形態は単なる1つの実施例であることを意味する。この語句は、をその実施形態に限定することを意図しない。新規性要旨の他の実施形態は、記載の特徴又は構造を含まないことがあり得る。添付の特許請求の範囲において、用語「含む (including)」、「において (in which)」は、対応する用語「備える (comprising)」、「における (wherein)」という平明英語の均等物として使用する。さらに、以下の特許請求の範囲において、用語「第1 (first)」、「第2 (second)」、及び「第3 (third)」等は、単なる名前付けとして使用するもので、対象物に対する数値要件を課することを意図しない。さらに、以下の特許請求の範囲の限定は、このような特許請求の範囲の限定が、他の構造がない機能表現が後続する語句「ための手段 (means for)」を明確に使用しない限り、また使用するまでは、「means-plus-function」フォーマットで記述されず、米国特許法 112 条 (f) に基づいて解釈することを意図しない。

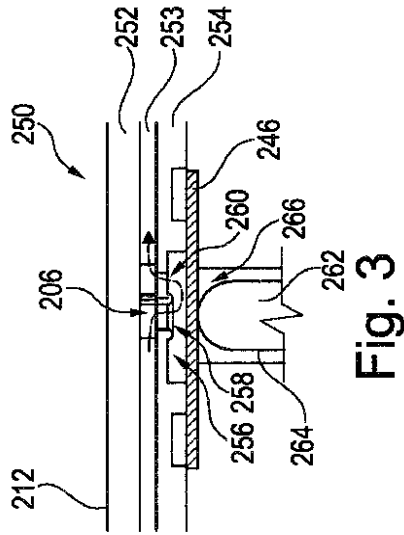
【図1】



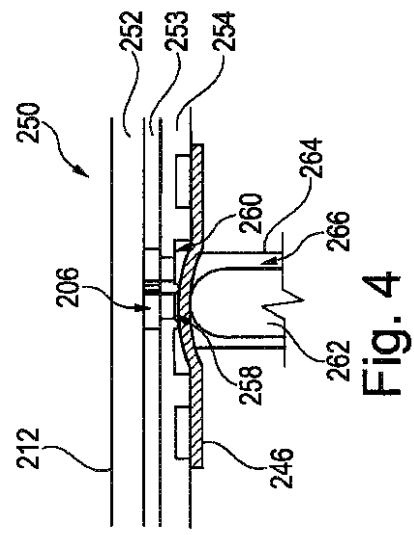
【図2】



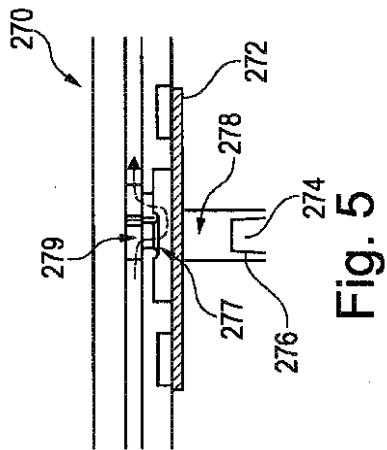
【図 3】



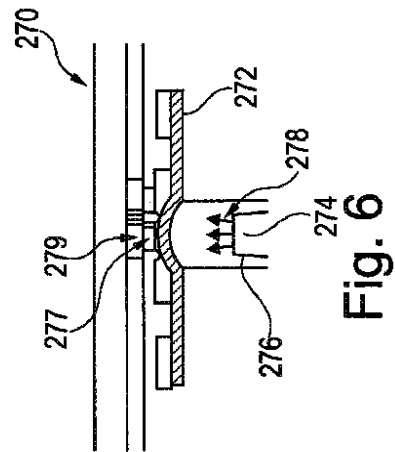
【図 4】



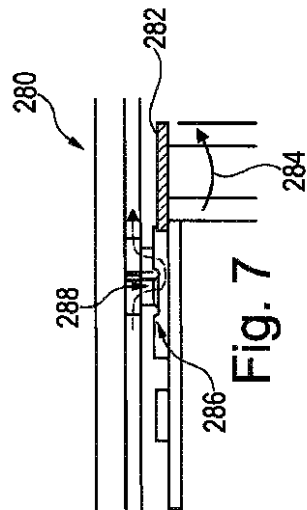
【図 5】



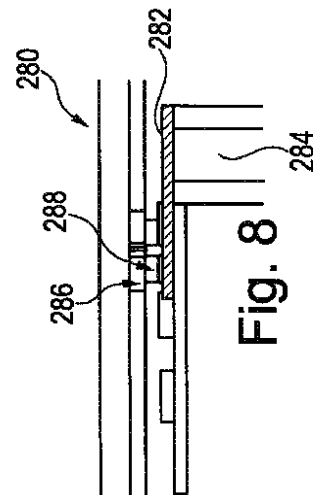
【図 6】



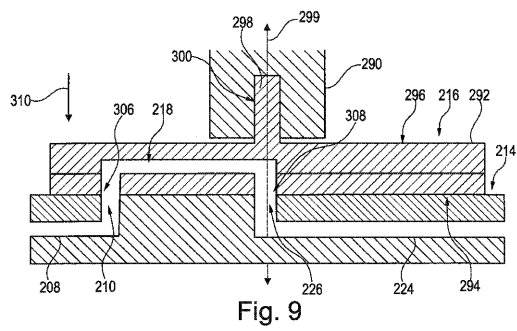
【図 7】



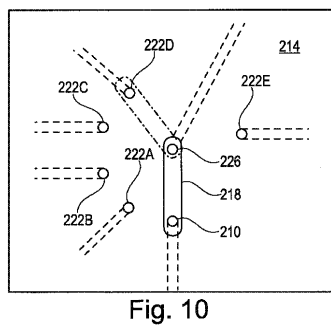
【図 8】



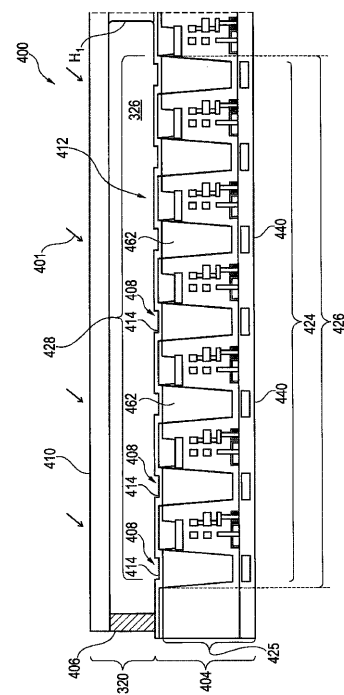
【図 9】



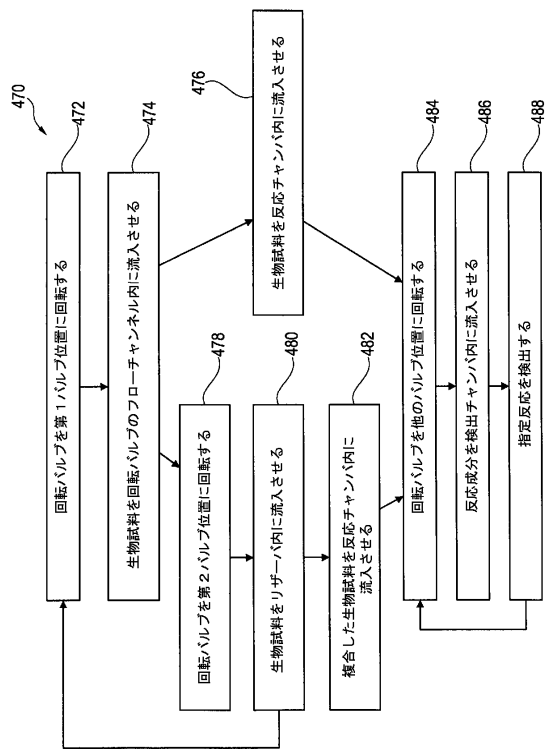
【図 10】



【図 11】



【図 1 2】



【図 1 3】

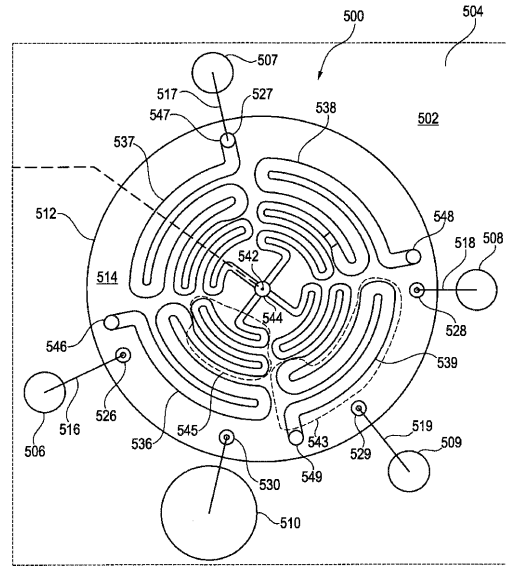


Fig. 13

【図 1 4】

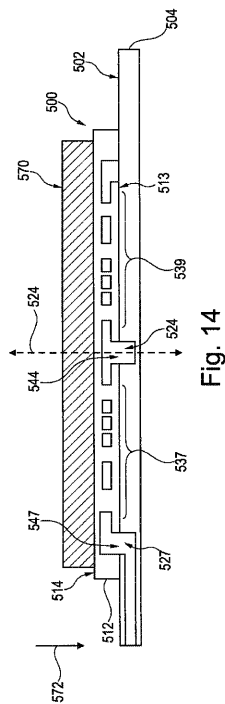


Fig. 14

【図 1 5 A】

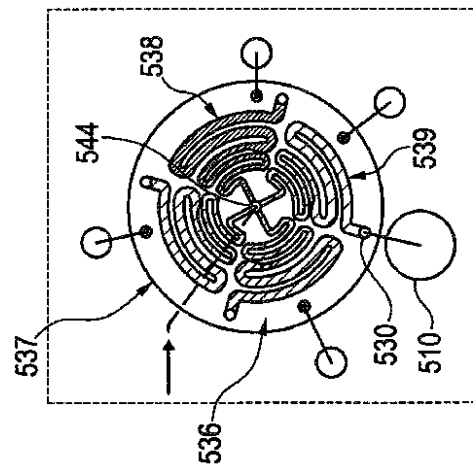


Fig. 15A

【図 15 B】

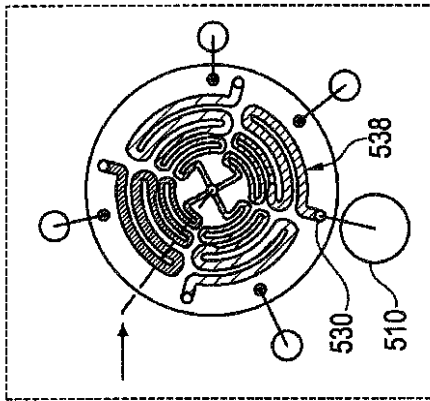


Fig. 15B

【図 15 C】

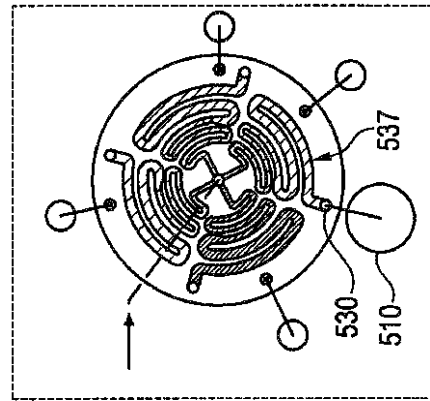


Fig. 15C

【図 15 D】

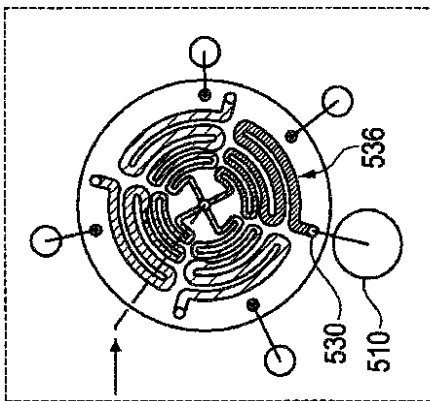


Fig. 15D

【図 15 E】

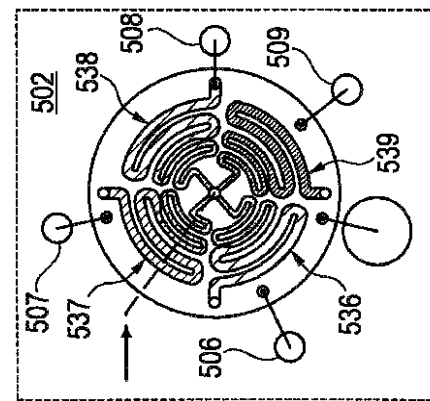


Fig. 15E



【図 15 F】

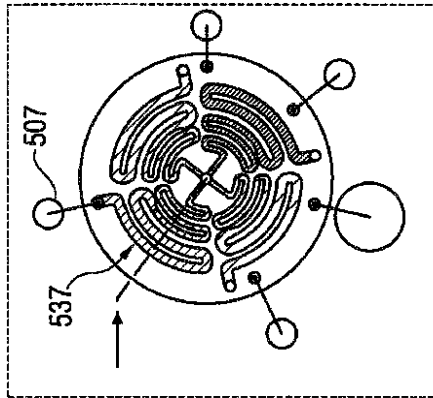


Fig. 15F

【図 15 G】

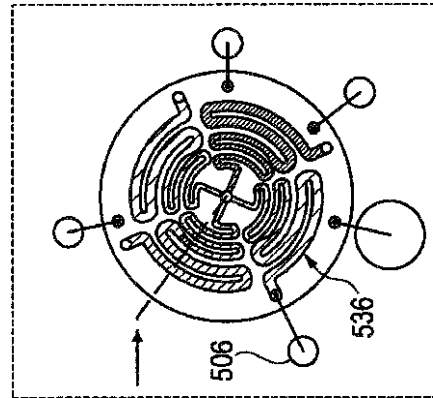


Fig. 15G

【図 15 H】

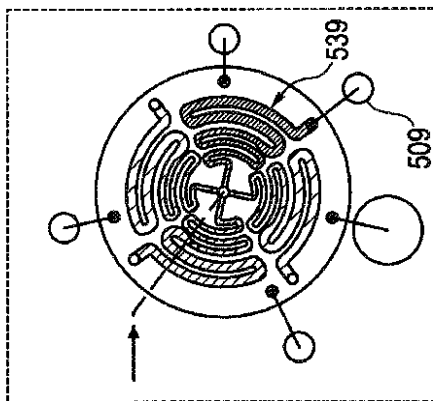


Fig. 15H

【図 15 I】

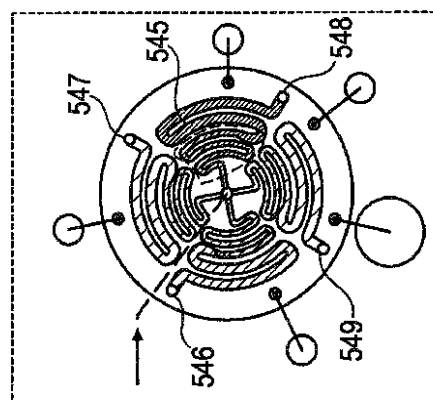


Fig. 15I

【図 15 J】

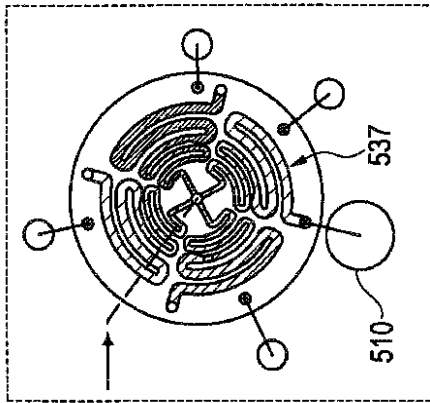


Fig. 15J

【図 15 K】

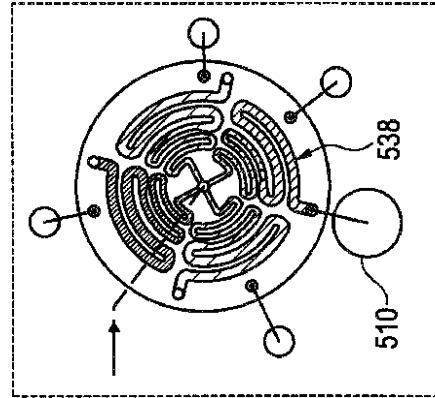


Fig. 15K

【図 15 L】

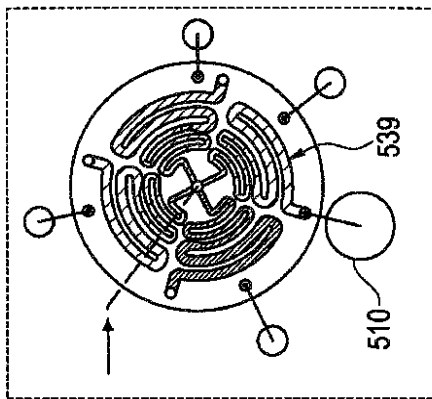


Fig. 15L

【図 17】

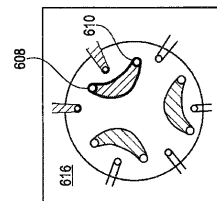


Fig. 17

【図 18】

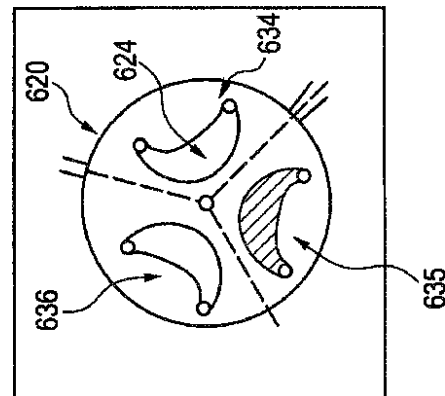


Fig. 18

【図 16】

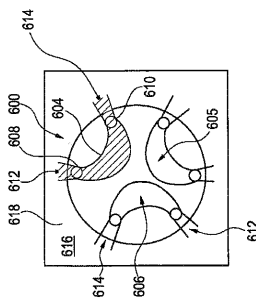
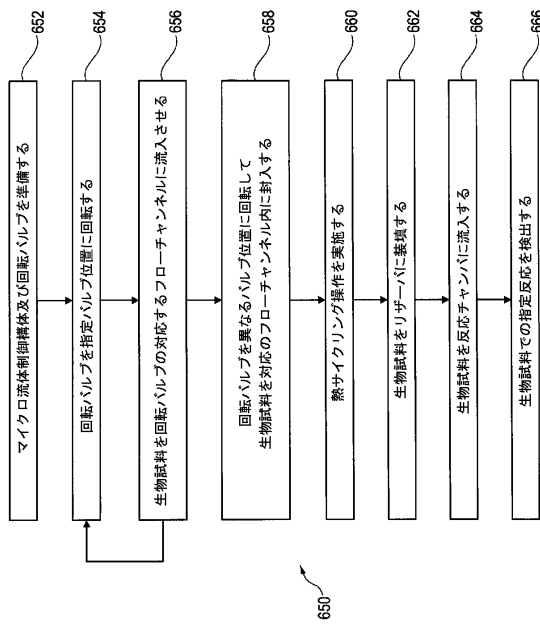
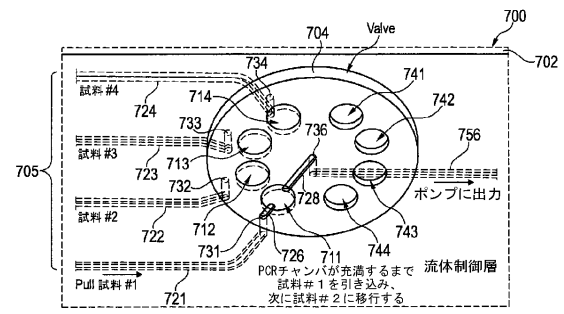


Fig. 16

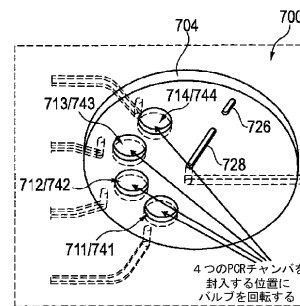
【図 19】



【図 20】



【図 21】



【図 22】

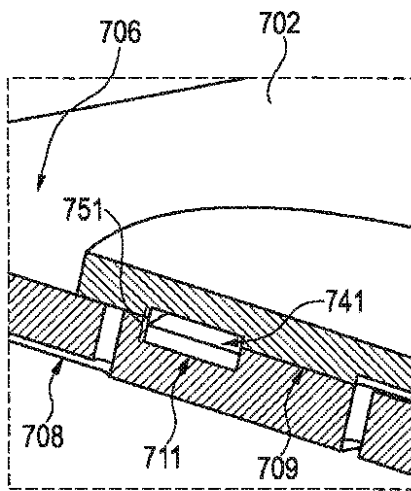
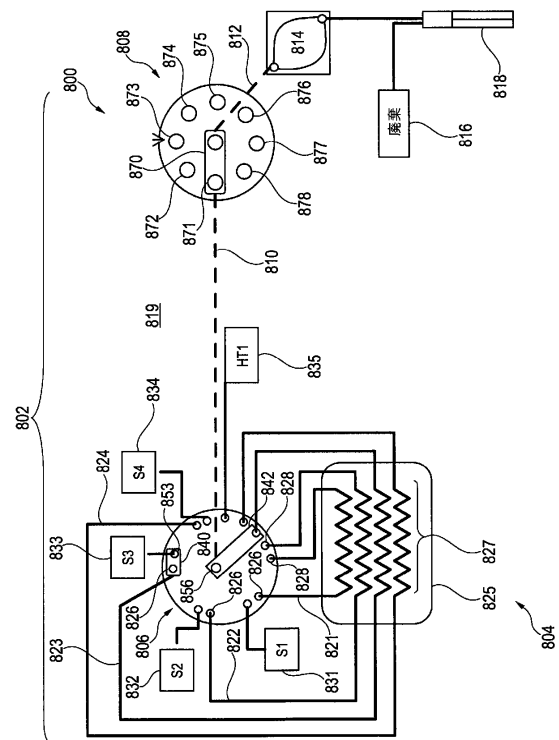


Fig. 22

【図 23】



【図 24】

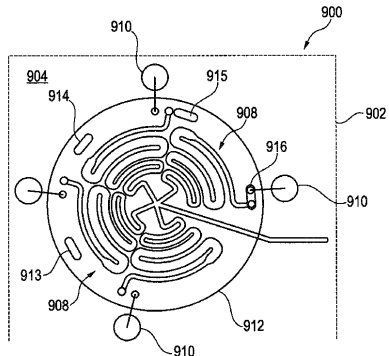


Fig. 24

【図 25】

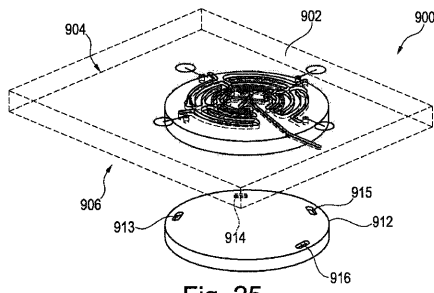


Fig. 25

【図 26】

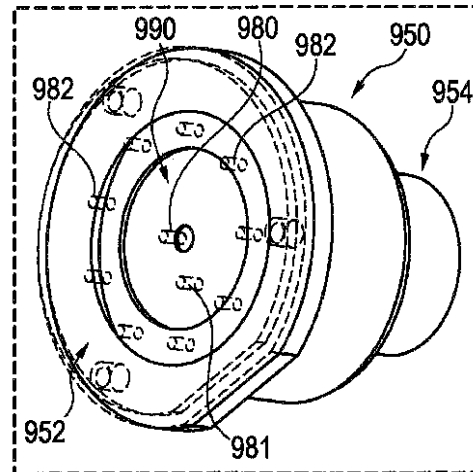


Fig. 26

【図 27】

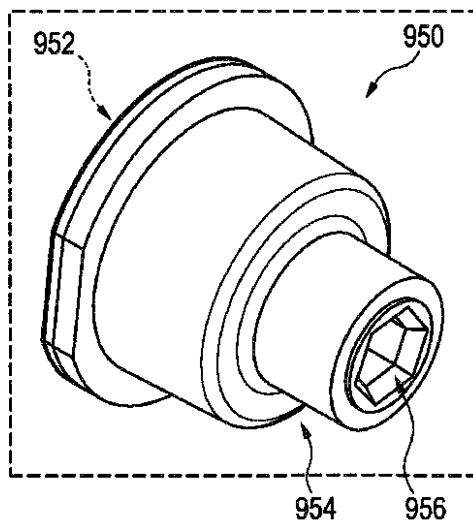


Fig. 27

【図 28】

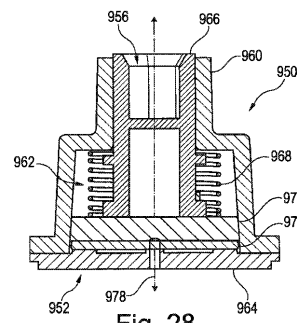


Fig. 28

【図 29】

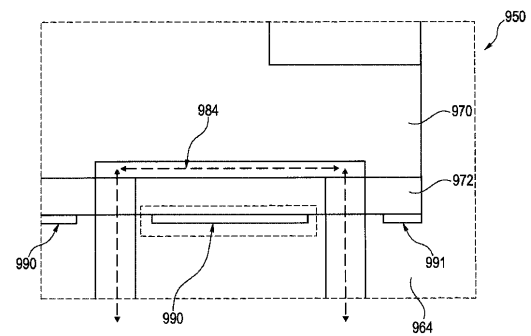


Fig. 29

## フロントページの続き

- (72)発明者 アレックス アラバニス  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 1 5 8 サンフランシスコ イリノイ ストリート 4  
9 9 スイート 2 1 0
- (72)発明者 アレクサンダー シャオ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 0 0 2 5 ロサンゼルス カムデン アベニュー 1 6 5  
8 アpartment 1 0 4
- (72)発明者 ベナム ジャヴァンマルディ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 1 5 8 サンフランシスコ イリノイ ストリート 4  
9 9 スイート 2 1 0
- (72)発明者 タルン クラナ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンフランシスコ イリノイ ストリート 4  
9 9 スイート 2 1 0
- (72)発明者 ハイ クアン トラン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンディエゴ イラミーナ ウェイ 5 2 0 0
- (72)発明者 マジド アグババザデー  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 1 5 8 サンフランシスコ イリノイ ストリート 4  
9 9 スイート 2 1 0
- (72)発明者 シェーン ボウエン エム  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンディエゴ イラミーナ ウェイ 5 2 0 0
- (72)発明者 ボヤン ボヤノフ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンディエゴ イラミーナ ウェイ 5 2 0 0
- (72)発明者 デール ベールマン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サンディエゴ イラミーナ ウェイ 5 2 0 0

## 合議体

審判長 井上 博之

審判官 高 見 重雄

審判官 伊藤 幸仙

- (56)参考文献 国際公開第2014/008381(WO, A2)  
特開2004-333255(JP, A)  
特表平11-500602(JP, A)  
特開2009-97902(JP, A)  
特開2006-78276(JP, A)  
米国特許出願公開第2013/0260372(US, A1)  
特開2009-2899(JP, A)  
国際公開第2013/116285(WO, A1)

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N35/00-37/00

G01N1/00-1/44