

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-521466

(P2024-521466A)

(43)公表日 令和6年5月31日(2024.5.31)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 35/08 (2006.01)	G 0 1 N 35/08 A	2 G 0 5 8
G 0 1 N 37/00 (2006.01)	G 0 1 N 37/00 1 0 1	

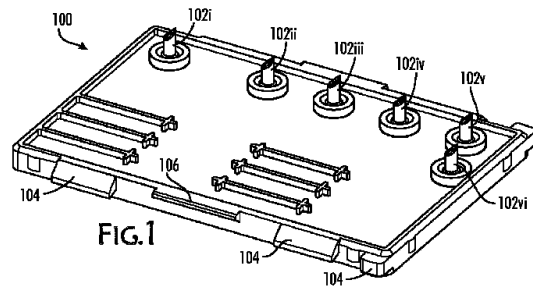
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全18頁)

(21)出願番号	特願2023-576372(P2023-576372)	(71)出願人	520225875 フォーミュラトリックス・インコーポレイテッド Formulatrix, Inc. アメリカ合衆国01730マサチューセツ州ベッドフォード、ディアンジェロ・ドライブ10番
(86)(22)出願日	令和3年10月19日(2021.10.19)	(74)代理人	100118913 弁理士 上田 邦生
(85)翻訳文提出日	令和5年12月12日(2023.12.12)	(74)代理人	100142789 弁理士 柳 順一郎
(86)国際出願番号	PCT/US2021/055649	(74)代理人	100201466 弁理士 竹内 邦彦
(87)国際公開番号	WO2022/086991	(72)発明者	カビル ヤマナ アメリカ合衆国01730マサチューセ
(87)国際公開日	令和4年4月28日(2022.4.28)		最終頁に続く
(31)優先権主張番号	63/093,640		
(32)優先日	令和2年10月19日(2020.10.19)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 PCR分析に答える試料のための流体チャンネル形状を有する装置とその使用方法

(57)【要約】

リアルタイムqPCRシステムにおいて使用するためのチップに関する様々な実施形態が開示される。チップは、試料をチップに受け入れるための少なくとも1つのポートと、少なくともポートと流体連通する少なくとも1つのチャンネルと、少なくとも1つのチャンネル内に配置され、試料が少なくとも1つのチャンネルを通過する際に試料からDNA/RNAを捕捉する複数の磁気ビーズと、少なくとも1つのチャンネルと流体連通する光検出領域であって、磁気ビーズ上に先に捕捉された溶出DNA/RNAを含む試料の光学分析を行うための光検出領域とを含み得る。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

リアルタイム qPCR システムにおいて使用するためのチップであって、  
試料を前記チップに受け入れるための少なくとも 1 つのポートと、  
該少なくとも 1 つのポートと流体連通する少なくとも 1 つのチャンネルと、  
該少なくとも 1 つのチャンネル内に配置され、前記試料が前記少なくとも 1 つのチャンネルを通過する際に前記試料から DNA / RNA を捕捉する複数の磁気ビーズと、  
該磁気ビーズ上に先に捕捉された溶出 DNA / RNA を含む前記試料の光学的分析を行うために、前記少なくとも 1 つのチャンネルと流体連通する光検出領域とを備えるチップ。

10

## 【請求項 2】

洗浄流体および溶出流体の少なくとも一方を前記チップに受け入れるための少なくとも 1 つの追加のポートをさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 3】

前記少なくとも 1 つのポートに対応しかつ流体連通し、前記チップの上面に位置する少なくとも 1 つの入口をさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 4】

前記磁気ビーズと磁気活性となるように構成された少なくとも 1 つの磁気活性領域をさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 5】

前記少なくとも 1 つの磁気活性領域が前記光検出領域の上流に配置されている請求項 4 に記載のチップ。

20

## 【請求項 6】

少なくとも 1 つの加熱領域をさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの加熱領域が前記光検出領域の両側に配置されている請求項 6 に記載のチップ。

## 【請求項 8】

前記少なくとも 1 つのチャンネル内に配置された少なくとも 1 つのフィルタをさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

30

## 【請求項 9】

前記少なくとも 1 つのチャンネルが、深さ 0.5 mm、幅 0.5 mm である請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 10】

少なくとも 1 つのバーストバルブをさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 11】

前記少なくとも 1 つのバーストバルブが、深さ 0.1 mm、幅 0.1 mm である請求項 10 に記載のチップ。

## 【請求項 12】

前記チップの外面上に該外面から突出して配置された少なくとも 1 つのチップストップパをさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

40

## 【請求項 13】

前記試料を前記チップから排出するための出口バルブをさらに備える請求項 1 に記載のチップ。

## 【請求項 14】

カートリッジおよびチップ組立体であって、  
少なくとも 1 つの流体リザーバを備えるカートリッジと、  
該カートリッジの下に配置され、前記少なくとも 1 つの流体リザーバに対応する入口とポートとを有するチップと、  
前記カートリッジの上部に配置された弾性のある膜とを備えるカートリッジおよびチ

50

ップ組立体。

【請求項 15】

前記入口が前記少なくとも 1 つの流体リザーバと流体連通しないように、前記カートリッジの少なくとも 1 つの下部クリップと少なくとも 1 つの上部クリップとの間に前記チップが保持される第 1 の構成を有する請求項 14 に記載のカートリッジおよびチップ組立体。

【請求項 16】

前記入口が前記少なくとも 1 つの流体リザーバと流体連通するように、前記カートリッジの少なくとも 1 つの上部クリップと前記カートリッジとの間に前記チップが保持される第 2 の構成を有する請求項 14 に記載のカートリッジおよびチップ組立体。

10

【請求項 17】

前記カートリッジおよび前記チップ組立体を、第 1 の構成から第 2 の構成に移行させるために前記カートリッジ上に配置された少なくとも 1 つのリリースをさらに備える請求項 14 に記載のカートリッジおよびチップ組立体。

【請求項 18】

前記カートリッジの廃棄領域と流体連通する出口バルブおよび前記チップの出口をさらに備える請求項 14 に記載のカートリッジおよびチップ組立体。

【請求項 19】

少なくとも 1 つのホイルシール、圧縮性層、および光学的に透明なシールのうちの少なくとも 1 つをさらに備える請求項 14 に記載のカートリッジおよびチップ組立体。

20

【請求項 20】

カートリッジおよびチップ組立体の使用方法であって、

前記カートリッジおよび前記チップ組立体の前記カートリッジの試料リザーバに試料を採取して挿入することと、

前記試料を前記試料リザーバから前記カートリッジおよび前記チップ組立体のチップに、該チップの入口およびポートから押し込むことと、

前記試料を磁気ビーズと混合し、該磁気ビーズを前記チップ内に捕捉することと、

前記試料を前記チップから前記試料リザーバに戻すことと、

前記カートリッジ内の少なくとも 1 つの洗浄流体リザーバから少なくとも 1 つの洗浄流体を押し出すことと、

30

該少なくとも 1 つの洗浄流体を前記チップから前記少なくとも 1 つの洗浄流体リザーバに戻すことと、

溶出バッファを

弾性のある膜を押圧することによって前記カートリッジの溶出リザーバから、または、

前記カートリッジの PCR リザーバから、

前記チップ内に押し込むことと、

前記溶出バッファを、

前記弾性部材に戻すか、または、

前記溶出バッファを前記 PCR リザーバ内に引き込み、精製された試料を作成することによって、戻すことと、

40

前記精製された試料を回収し、該精製された試料を前記チップの少なくとも 1 つの加熱領域に引き込むことと、

前記少なくとも 1 つの加熱領域の温度を設定することと、

前記精製された試料を前記チップの光検出領域を通して循環させることと、

前記光検出領域において、前記精製された試料から取り出された信号を測定することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願との相互参照】

【0001】

50

本出願は、2020年10月19日に出願され、「Point of Collection qPCR System」と題された米国仮特許出願第63/093,640号のPCT第8条に基づく優先権の利益を主張する。本出願はまた、全て2021年10月19日に同時出願され、同一の出願人であるFormulatrix, Inc.が記載されている「Fluidic Detection and Control Algorithm for PCR Analysis」、「Disposable Cart ridge for Reagent Storage and Methods Using Same」、「Method and Apparatus for Controlling Fluid Volumes to Achieve Separation and PCR Amplification」と題されたPCT出願、および「Fluidic Channel Geometries of a Chip」と題された米国意匠出願第29/812,034号にも関連する。上記出願の内容は全て、参照により、その全体が本明細書に完全に記載されているように組み込まれる。

#### 【技術分野】

#### 【0002】

本発明は、そのいくつかの実施形態において、リアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応(qPCR)に関するものであり、より詳細には、これに限定されないが、qPCR処理および分析の効率を改善するための装置および方法に関する。

#### 【背景技術】

#### 【0003】

試料抽出、精製、およびRT-qPCRプロセス全体を、小型で使い捨て可能なフォーマットに縮小するための様々な異なるアプローチが存在する。その1つが、Roche Cobas Liatプラットフォームである。このプラットフォームは、試料溶液を保存バッファから試薬保存用消耗品にピペットで移すために、使い捨ての小型トランスファーピペットを利用する。アッセイを実行するのに必要な試薬は、別々のセクションを持つチューブに封入される。アッセイ中、特定のセクションを破裂させ、適切な試薬を適切なタイミング、適切な順序で導入する。これは、システムを使用する前に、複雑な手作業による試料ハンドリングを必要とする。さらに、全ての流体制御は、流体チャネルを持たない隠れたりザーバで行われる。

#### 【0004】

もう1つのアプローチは、油と水/水溶液のような二相流体によるエレクトロウエットイング・アプローチである。このアプローチはNuGen(Mondrian)、Advanced Liquid Logic、Illumina(NeoPrep)によって商品化され、NGSライブラリ調製専用の試薬を分離しておき、所定のエレクトロウエットイングシーケンスで導入する。これは一部のシーケンスには有効であるが、商業的にはほぼ失敗だった。Baebies社は現在、FINDERプラットフォームでPCR検査にこの技術を使おうとしている。

#### 【0005】

QIAsat-Dxは複数の物理的な仕切りと物理的な移動バリア、あるいは液体を物理的に移動させたり誘導したりするその他の駆動機能を採用したシステムである。このシステムの装置は、消耗品内の流体動作を直接または間接的に駆動し、消耗品に存在するチャネルを通して液体をある領域から別の領域に移動させる。

#### 【0006】

他のアプローチとしては、遠心装置、いわゆる「cd-microfluidics」があり、異なる回転速度、界面の特徴を利用して液体の動きを実現する。

[ufluidix.com/circle/whats-a-discman-and-how-is-it-a-medical-diagnostic-device-cd-microfluidics/](http://ufluidix.com/circle/whats-a-discman-and-how-is-it-a-medical-diagnostic-device-cd-microfluidics/)を参照のこと。

これはいくつかのワークフローには有用であるが、qPCRでは進行中のPCR反応を熱サイクルごとに画像化する必要がある。さらに、DNA-Nudgeシステムは試薬添

10

20

30

40

50

加の順序を制御するために回転バルブを使用するが、最終的には固定された場所にある個別の容積においてPCRを行う。

【発明の概要】

【0007】

本発明のいくつかの実施形態の一態様によれば、リアルタイムqPCRシステムにおいて使用するためのチップであって、試料をチップに受け入れるための少なくとも1つのポートと、少なくともポートと流体連通する少なくとも1つのチャンネルと、少なくとも1つのチャンネル内に配置され、試料が少なくとも1つのチャンネルを通過する際に試料からDNA/RNAを捕捉する複数の磁気ビーズと、磁気ビーズ上に先に捕捉された溶出DNA/RNAを含む試料の光学分析を行うための、少なくとも1つのチャンネルと流体連通する光学検査領域と、を備えるチップが提供される。

10

【0008】

本発明の実施形態において、チップは、洗浄流体および溶出流体の少なくとも一方をチップに受け入れるための少なくとも1つの追加ポートをさらに備える。

【0009】

本発明の実施形態において、チップは、少なくとも1つのポートに対応し、少なくとも1つのポートと流体連通し、チップの上面に配置された少なくとも1つの入口をさらに備える。

【0010】

本発明の実施形態において、チップは、磁気ビーズによって磁気活性になるように構成された少なくとも1つの磁気活性領域をさらに備える。

20

【0011】

本発明の実施形態において、1つの磁気活性領域が、光学検査領域の上流に配置される。

【0012】

本発明の実施形態において、チップは、少なくとも1つの加熱領域をさらに備える。

【0013】

本発明の実施形態において、1つの加熱領域が光学検査領域の両側に配置される。

【0014】

本発明の実施形態において、チップは、少なくとも1つのチャンネル内に配置された少なくとも1つのフィルタをさらに備える。

30

【0015】

本発明の実施形態において、少なくとも1つのチャンネルは、深さ0.5mm、幅0.5mmである。

【0016】

本発明の実施形態において、チップは、少なくとも1つのバーストバルブをさらに備える。

【0017】

本発明の実施形態において、少なくとも1つのバーストバルブは、深さ0.1mm、幅0.1mmである。

40

【0018】

本発明の実施形態において、チップは、チップの外面に配置され、チップの外表面から突出する少なくとも1つのチップストップをさらに備える。

【0019】

本発明の実施形態において、チップは、チップから試料を排出するための出口バルブをさらに備える。

【0020】

本発明のいくつかの実施形態の他の態様によれば、カートリッジおよびチップ組立体が提供され、組立体は、少なくとも1つの流体リザーバを備えるカートリッジと、少なくとも1つの流体リザーバに対応する入口およびポートを有するカートリッジの下に配置され

50

るチップと、カートリッジの上に配置された弾性のある膜とを備える。

【0021】

本発明の一実施形態において、組立体は、チップが、入口が少なくとも1つの流体リザーバと流体連通しないように、カートリッジの少なくとも1つの下部クリップと少なくとも1つの上部クリップとの間に保持される第1の構成を有する。

【0022】

本発明の一実施形態において、組立体は、チップが、入口が少なくとも1つの流体リザーバと流体連通するように、カートリッジの少なくとも1つの上部クリップとカートリッジとの間に保持される第2の構成を有する。

【0023】

本発明の一実施形態において、組立体は、カートリッジおよびチップ組立体を第1の構成から第2の構成に移行させるためにカートリッジ上に配置された少なくとも1つのリリースをさらに備える。

【0024】

本発明の一実施形態において、組立体は、カートリッジの廃棄領域と流体連通するチップの出口バルブおよび出口をさらに備える。

【0025】

本発明の一実施形態において、組立体は、少なくとも1つのホイルシール、圧縮性層、および光学的に透明なシールのうちの少なくとも1つをさらに備える。

【0026】

本発明のいくつかの実施形態の他の態様によれば、カートリッジおよびチップ組立体を使用する方法であって、カートリッジおよびチップ組立体のカートリッジの試料リザーバに試料を採取して挿入することと、試料リザーバからチップの入口およびポートを介してカートリッジおよびチップ組立体のチップに試料を押し込むことと、試料を磁気ビーズと混合し、次いでビーズをチップ内に捕捉することと、試料をチップからリザーバに戻すことと、カートリッジ内の少なくとも1つの洗浄流体リザーバから少なくとも1つの洗浄流体を押し込むことと、チップから少なくとも1つの洗浄流体リザーバに少なくとも1つの洗浄流体を戻すことと、弾性のある膜を押し下げることにより、カートリッジの溶出リザーバから、またはカートリッジのPCRリザーバから、溶出バッファをチップに押し込むことと、弾性部材を戻すことにより、溶出バッファを戻すこと、またはPCRリザーバに溶出バッファを後退させることにより、精製された試料を作製することと、精製された試料を回収し、精製された試料をチップの少なくとも1つの加熱領域に引き込むことと、少なくとも1つの加熱領域の温度を設定することと、精製された試料をチップの光学検査領域を通過させて循環させることと、光学検査領域で精製された試料から取り出された信号を測定することとを含む方法が提供される。

【0027】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および/または科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般的に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同等の方法および材料が、本発明の実施形態の実施または試験において使用され得るが、例示的な方法および/または材料が以下に記載される。矛盾がある場合は、定義を含む特許明細書が優先する。さらに、材料、方法および実施例は例示に過ぎず、必ずしも限定することを意図していない。

【0028】

本発明の実施形態の方法および/またはシステムの実施は、選択されたタスクを手動、自動、またはそれらの組み合わせで実行または完了することを含むことができる。さらに、本発明の方法および/またはシステムの実施形態の実際の計装および機器によれば、いくつかの選択されたタスクは、ハードウェアによって、ソフトウェアによって、またはファームウェアによって、あるいはオペレーティングシステムを使用してそれらの組み合わせによって実施され得る。

【0029】

10

20

30

40

50

例えば、本発明の実施形態による選択されたタスクを実行するためのハードウェアは、チップまたは回路として実装され得る。ソフトウェアとして、本発明の実施形態による選択されたタスクは、任意の適切なオペレーティングシステムを使用してコンピュータによって実行される複数のソフトウェア命令として実装され得る。本発明の例示的な実施形態では、本明細書に記載の方法および/またはシステムの例示的な実施形態に係る1つまたは複数のタスクは、複数の命令を実行するためのコンピューティングプラットフォームなどのデータプロセッサによって実行される。任意に、データプロセッサは、命令および/またはデータを記憶するための揮発性メモリ、および/または、命令および/またはデータを記憶するための、例えば磁気ハードディスクおよび/またはリムーバブル媒体などの不揮発性ストレージを含む。任意に、ネットワーク接続も提供される。ディスプレイおよび/またはキーボードまたはマウスなどのユーザ入力装置も任意に提供される。

10

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0030】

本発明のいくつかの実施形態が、添付図面を参照して、例示のためにのみ、本明細書において説明される。ここで図面を具体的に参照して詳細に説明すると、示された特定事項は例示であり、必ずしも縮尺通りではなく、本発明の実施形態の説明のためのものであることが強調される。この点に関して、図面とともに取られる説明は、本発明の実施形態がどのように実施され得るかを当業者に明らかにする。

#### 【0031】

【図1】本発明の例示的な実施形態によるチップの上側斜視図である。

20

【図2】本発明の例示的な実施形態によるチップの下側斜視図である。

【図3】本発明の例示的な実施形態によるチップの底面図である。

【図4】本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体の分解斜視図である。

【図5】本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体の上側斜視図である。

【図6】本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体の下側斜視図である。

【図7A】本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体の断面図である。

30

【図7B】図7Aとは異なる構成のカートリッジおよびチップ組立体の断面図である。

【図8】本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体とともに使用される光学検出ユニットの斜視図である。

【図9】本発明の例示的な実施形態によるチップを使用する方法のフローチャートである。

【図10】本発明の例示的な実施形態による注入口の縦断面図である。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0032】

本発明は、そのいくつかの実施形態において、リアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) に関するものであり、より詳細には、限定されるものではないが、qPCR 処理および分析の効率を改善するための装置および方法に関するものである。

40

#### 【0033】

本発明の少なくとも1つの実施形態を詳細に説明する前に、本発明は、その適用において、以下の説明に記載され、かつ/または図面に例示される構成要素および/または方法の構造の詳細および配置に必ずしも限定されないことを理解されたい。本発明は、他の実施形態が可能であり、または様々な方法で実施もしくは実行することが可能である。

#### 【0034】

一般に、本明細書に記載された発明は、バルク試薬リザーバおよび/または廃棄領域へのアクセスを有する流体チャネルのネットワークを使用して、1つの使い捨て消耗品 (例えば、カートリッジ/チップ組立体) において qPCR および PCR のプロセスを完全に

50

自動化する。本明細書に記載される発明は：実験室の機器要件および/またはコストを最小化/単純化し、PCR増幅用の試料を調製するための試料抽出および/または精製のプロセスを加速し、有効なレベルの感度を提供しながらqPCRプロセスを加速する。本明細書で例示的に詳細に説明するように、これらの利点を提供する1つの方法は、(駆動モータと組み合わせたシステムのカートリッジ内)の膜駆動リザーバを使用することによって、適切な試薬および試料を正しい順序でチップに押し込むことである。インテリジェントに計画されたチャンネル設計、小さな狭窄(「バーストバルブ」)、および、他のチャンネル部分とは明らかに異なる(広い/深い)イメージング領域により、液体を適切な順序で、また制御された予測可能な方法でチップの適切な領域に導入できることが想定されている。qPCRシステムの他の構成要素は、関連出願のセクションで相互参照される特許出願に関して記載されている。これらの構成要素の一部または全部を利用する例示的なqPCRシステムは、マサチューセッツ州ベッドフォードのFormulaTriX社からqPCRシステムとして入手可能であろう。

#### 【0035】

図1は、本発明の例示的な実施形態によるチップ100の上側斜視図である。チップ100は、より大きなqPCRシステムの構成部分であり、これらを一緒にすると、リアルタイムqPCR分析を実施することができることが理解されるべきである。本発明の一実施形態において、複数の入口102i、102ii、102iii、102iv、102v、および出口102viがチップ100に設けられており、流体は、例えば、チップ100とともに使用されるカートリッジ402(図4、図5、図7Aおよび図7Bに関して以下でさらに詳細に説明される)内に配置された流体リザーバまたはウェルから、入口を通してチップに導入されるか、または出口102viを介してチップから排出される。所望の流体の数または容量に応じて、より多くのまたはより少ない入口が提供され得る。本発明の一実施形態において、入口は、例えば、角度のついたカットによって形成されることによって、穿刺/鋭利な上端部を有するように構成される。本発明のいくつかの実施形態において、チップ100は、チップ100の周囲または外側の周りにチップストッパ/位置合わせ形状104、106を備えて構成され、これらは、カートリッジ402の対向部品形状(図7Aから図7Bに関して以下でさらに詳細に説明される「クリップ」)と組み合わせて使用される。本発明の一実施形態において、チップ100は、低コスト、容易に再生産可能、拡張可能かつ/または変更可能な構造のために射出成形される。

#### 【0036】

図2は、本発明の例示的な実施形態によるチップ100の下側斜視図である。例示的なチャンネル構成が図2に示され、図3に関してさらに説明される。

#### 【0037】

図3は、本発明の例示的な実施形態によるチップ100の底面図である。簡潔にするために、図3のチップ100を、本発明の例示的な実施形態によるチップ100を使用する方法のフローチャート900である図9と併せて説明する。試料綿棒をあらかじめ採取し、細胞を溶解すると同時に、露出したDNAおよびRNA断片をDNaseおよびRNaseプロテオーム活性から保護するための溶解剤を含む、図5に示され、より詳細に説明される試料リザーバ502iに挿入する(902)。試料と溶解剤のこの溶液は、試料リザーバ502iから注入口102iに押し込まれ(904i)、チップ100の試料ポート302iを通して、チップ100とその本発明の流体チャンネル形状に溶液を導入する。図全体を通して、入口、ポートおよびリザーバ/ウェルの参照数字が一貫して使用され、図1の入口102iが図3のポート302iに対応し、その両方が図5のリザーバ502iに対応するなど、一例として、入口102ii、ポート302iiおよびリザーバ502iiも対応するようになっていることに留意すべきである。

#### 【0038】

本発明の一実施形態では、チップ100は、チップ100を詰まらせる可能性を低減するために、試料溶液が押し込まれる(904i)チャンネル内に設計されたフィルタ304を有する。フィルタ304の後(すなわち下流)には、試料溶液からDNA/RNAを捕



捉する表面を有するシリカまたはカルボン酸塩磁気ビーズの乾燥した溶液を含む、ある長さのチャンネル306がある。試料溶液は、ビーズを試料溶液中に再水和させ、核酸物質がビーズに結合する時間を確保するために、繰り返される屈曲を通して、この長いチャンネル306を数回通過する。本発明の一実施形態において、オンチップ磁気ビーズ抽出によってRNAが濃縮され、マスターミックスの使用量が少なくて済む。磁気ビーズ抽出は、本明細書に記載されるように採用される場合には、優れた感度を示すはずである。

#### 【0039】

試料溶液は、チャンネルを進むにつれて、公称チャンネルよりも浅く薄い狭窄領域308を通過する。本発明の一実施形態において、チップ上の公称チャンネルは、おおよそ深さ0.5mm、幅0.5mmである。この小さい狭窄領域は、実施形態では、0.1mm×0.1mm幅である。これらの狭窄領域、すなわち「バーストバルブ」は、押し込まれる流体の流れを制限し、流体がチップ100の望ましくない領域に入るのを避け、かつ/または流体をチップ100の所望の領域に導くように設計されている。このチップの設計により、磁性領域310の端部にある出口バルブ302viへの流れが一般に望まれ、そのため、バーストバルブ308のようなバーストバルブの設計および/またはチップ100内の位置によって流体的に促される。

#### 【0040】

試料溶液はチップ100を通り、磁性領域310を通過して押し出される。この流体の移動の間に、磁気ビーズはqPCRシステムに存在する磁石に抗してチャンネルの壁に引き付けられる。残りの溶液は、チャンネルを通過して、出口バルブ302vi、および流体がチップ100に戻ることができないカートリッジ402の大きな廃棄領域504に出る出口ポート502viから排出され続ける。この押し出し(904i)の後、試料ポート上の膜404は、関連出願のセクションに示された出願の少なくとも1つに記載されたqPCRシステムの膜駆動モータによって駆動される特別に設計されたカムシャフトの動作により、戻り、これに対応して、任意に、空気圧および/または(空気に加えて、または空気の代わりに圧力を発生させるために第2の非混和性流体が使用される実施形態において)液圧により、試料溶液をそのリザーバ502iiに戻す(904ii)。

#### 【0041】

操作において、いくつかの試料溶液が、例えば接合部318において意図されないバーストバルブを透過し、チップ100の他の領域にわずかに進行することは予期されないことではない。この点において、バーストバルブは漏れやすいバルブである。しかし、この現象は、洗浄液リザーバ502iii、502ivから入口102iii、102ivを通過して流入する後続の洗浄液(この実施形態ではエタノール)によって処理され、これらの領域にも「漏れる」。洗浄液はチップ100内に押し込まれ(906i)、磁氣的に結合したビーズ上を流れて不純物を除去し、廃棄領域504に流れ込む。この実施形態において、チップ100内に押し込まれ(906i)、その後(再び膜駆動モータによって)引き戻される(906ii)洗浄液を収容する2つのリザーバ502iii、502ivがあるが、他の実施形態においては、もっと多くても少なくともよい。任意に、接合部318が磁化され、磁気ビーズを実質的に定位置に保持することにより漏出防止を補助する。

#### 【0042】

磁氣的に結合したビーズが洗浄された後、溶出バッファがチップ100内に押し込まれ、磁気ビーズの上かけられる。この溶出バッファは、溶出リザーバ502vから入口102vを通して供給されるか、あるいは、PCRミックスへの溶出が望まれる場合には、PCRミックスリザーバ502iiから入口102iiを通して供給される。溶出バッファが溶出リザーバ502vから来る実施形態において、PCRリザーバ502iiは空であり、メンブレン404は最初に押し下げられ(908i)、保持される。このようにして、溶出リザーバ502vの液体は磁性領域310に押し込まれ、PCRリザーバ502iiに対応する膜404は戻され(908ii)、溶出した精製された試料をチップのPCR領域314に引き込む。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 4 3 】

溶出バッファがPCRリザーバ502iiから来る実施形態において、洗浄工程の後に、溶出バッファがPCRリザーバ502iiからPCR領域314, 316を通過して磁性領域310に押し込まれ(910i)、試料を溶出し、溶出後にPCRリザーバ502iiに戻る(910ii)。

## 【 0 0 4 4 】

本発明の一実施形態において、この例示的なチップ100の最後の機能領域は、「ボクセル」とも呼ばれる光検出領域312である。光検出領域312を分析するためのqPCRシステムの光学検出ユニット800が、図8に代表例として示されている。光検出領域312は、それを取り囲むチャンネルと同じ寸法とすることもできるし、蛍光信号の光学的検出を強化するために深さや幅を変化させることもできる。この実施形態においては、それを取り囲む流体チャンネルよりも広くかつ深いことが示されている。これは、いくつかの実施形態においては、特定のPCR成分(プライマ、プローブおよびマスターミックス)が、溶出流体がその上を通過する際に、後で再水和するために任意に乾燥させることができる領域である。

10

## 【 0 0 4 5 】

精製された試料が磁性領域から回収され、PCR領域314, 316に引き込まれた後(912)、流体制御と動きは単純になる。qPCRシステム内の加熱素子は、別々のPCR領域314, 316を所望のプロトコルのために所望の温度に加熱するために所望の温度に設定(914)される。本発明の例示的な実施形態において、高温領域は95 ~ 98に任意に設定され、低温領域は55 ~ 60に任意に設定され、加熱素子によって特定の温度に加熱される。ほとんどのRNAワークフローにおいては、RNAの相補的DNA(cDNA)への逆転写を可能にする時間と温度が含まれる。その後、使用されるPCR試薬によっては、PCR酵素に対する阻害物質を除去するために必要な高温での「ホットスタート」が必要となることがある。本発明のいくつかの実施形態において、温度はDNAの最適な増幅のために定義される。他の例においては、加熱領域の可変性を有する1つの加熱素子が使用されてもよく、追加の例においては、2つ以上の加熱素子が使用されてもよい。

20

## 【 0 0 4 6 】

これらの工程は、ヒータが所望の温度に設定されている間、溶出された試料液量、または液体の「スラグ」を、いずれかの加熱領域上に所望の時間配置することを含む。これらの工程の後、加熱素子は所望のPCRアニーリング/伸長および変性温度に設定され(914)、スラグは2つの加熱領域314, 316の間で循環され(916)、所望の酵素活性の完了を確実にするために各セクションにおいてプログラム可能な時間だけ静止する。スラグの各循環(916)の結果、スラグはチップ312の光検出領域を通過する。この通過の間、蛍光信号は、信号のqPCR増幅を特徴付けるために、光学検出ユニット800によって測定(918)され得る。測定(918)が完了すると、スラグ/試料は、出口バルブ302viを介してチップから廃棄領域504に排出(920)される。

30

## 【 0 0 4 7 】

本発明の他の実施形態において、多数のPCRチャンネル(複数のチャンネル)が共通のPCR加熱領域を通過して並列に走る。そして、これらは全て、加熱領域の間に位置する検出領域を通過し得る。

40

## 【 0 0 4 8 】

本発明のいくつかの実施形態において、静電容量式液体検出アレイはPCR領域314, 316の中および/またはその周辺に配置され、磁気ビーズと組み合わせてチップ100の流体チャンネル内の流体の追跡を可能にする。いくつかの実施形態において、静電容量式検出アレイは光検出領域312の両側に配置される。そうすることにより、2つの加熱領域(加熱PCR領域314, 316)間の循環の相対位置を決定することができる。さらに、静電容量式液体検出アレイは、加熱PCR領域314, 316の入口側と出口側とに配置されてもよく、したがって、増幅プロセス中を移動する試料の完全な追跡を可能に

50

する。静電容量式アレイは、光学検出ユニット 3 1 2 とは独立して、または組み合わせて、信号または情報を検出し、膜駆動モータ並びに技術者のためのスクリーンまたは診断のような機器を制御する処理ユニット（図示せず）に送信する際に機能することができる。

【 0 0 4 9 】

図 4 は、本発明の例示的な実施形態によるカートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 の分解斜視図である。図 4 は、弾性のある膜 4 0 4、ホイルシール 4 0 6、リザーバを含むカートリッジ 4 0 2、第 2 のホイルシール 4 0 6、圧縮性層 4 0 8、チップ 1 0 0 および底部シール 4 1 0（これは、本発明のいくつかの実施形態において、光学的に透明であり、光学検出ユニット 8 0 0 による光検出領域 3 1 2 の走査を可能にする）を示す。本発明の例示的な実施形態において、かつ、本明細書の他の箇所に記載されるように、膜 4 0 4 は、カートリッジのリザーバと組み合わせて流体シールを形成するように機能し、記載されているように、チップ 1 0 0 全体にわたって流体を移動させるための空気圧および/または液圧を作用させる。

10

【 0 0 5 0 】

さらに、圧縮性層 4 0 8 は、カートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 が完全に構築されると、カートリッジ 4 0 2 をチップ 1 0 0 に流体密封する役割を果たすことができる。カートリッジ 4 0 2 上の流体リザーバは両端が開口しており、各リザーバの上部は、膜 4 0 4 がその中に変形して流体動作に使用される空気圧および/または液圧を引き起こすのに十分な幅を有している。各リザーバの底部には、チップ 1 0 0 上の入口の穿刺構造よりわずかに大きい開口がある。開口は使用前の状態では密封されている。

20

【 0 0 5 1 】

図 5 は、本発明の例示的な実施形態による、カートリッジ 4 0 2 およびチップ 1 0 0（図示せず）を含むカートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 の上側斜視図である。本発明の実施形態において、種々のリザーバ 5 0 2 i（試料リザーバ）、5 0 2 i i（PCR リザーバ）、5 0 2 i i i（洗浄 1 リザーバ）、5 0 2 i v（洗浄 2 リザーバ）、5 0 2 v（溶出リザーバ）、および廃棄領域 5 0 4 への出口ポート 5 0 2 v i が示されている。

【 0 0 5 2 】

図 6 は、本発明の例示的な実施形態に従って、チップ 1 0 0 がカートリッジ 4 0 2 内に装着されているのを見ることができる、カートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 の下側斜視図である。

30

【 0 0 5 3 】

図 7 A、図 7 B は、本発明の例示的な実施形態に従った、異なる構成のカートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 の縦断面図である。図 7 A は、qPCR システムに組立体 4 0 0 を挿入する前の、製造後のチップ組立体 4 0 0 の第 1 の構成を示す。本発明の実施形態において、カートリッジ 4 0 2 は、チップ 1 0 0 をカートリッジ 4 0 2 に保持するための様々な一方向クリップを備える。カートリッジ 4 0 2 の下部可撓性クリップ 7 0 2 は、チップ 1 0 0 のチップストップ/位置決め構造 1 0 4 に係合し、工場でのカートリッジおよびチップ組立体 4 0 0 の初期組立後、qPCR システムに挿入されるまで、チップ 1 0 0 をカートリッジ 4 0 2 に保持する。この第 1 の構成では、下部保持クリップ 7 0 2 が、カートリッジ 4 0 2 の少なくとも 1 つの上部保持クリップ 7 0 4 に対してチップを保持する。これらの上部保持クリップ 7 0 4 は、チップ 1 0 0 の入口の穿刺/鋭利な上方端部がカートリッジ 4 0 2 の底部の第 2 のホイルシール 4 0 6 および圧縮性層 4 0 8 を事前に穿刺する（これにより、カートリッジ 4 0 2 のリザーバとチップ 1 0 0 のチャネルとの間に意図せず流体連通を確立することになる）のを防止するために、チップ 1 0 0 をカートリッジ 4 0 2 から十分に離して保持する。

40

【 0 0 5 4 】

本発明の実施形態において、使用者は綿棒または他の方法で試料を採取し、それをカートリッジ 4 0 2 の試料リザーバ 5 0 2 i に入れる。本発明の実施形態において、綿棒はカートリッジ 4 0 2 内で折れるか、少なくともカートリッジ内に試料を堆積させ、任意に、試料リザーバ 5 0 2 i に綿棒と係合する登録構造を設け、これにより、綿棒/試料がカー

50

トリッジ 402 内にある状態で、付属の蓋を使用して試料リザーバ 502 i を密封することができる。このようにして、綿棒 / 試料は、試料リザーバ 502 i 内の予め貯蔵されている湿潤試薬に浸漬される。

【0055】

図 7 B は、qPCR システムへの組立体 400 の挿入後の組立体 400 の第 2 の構成を示す。本発明の一実施形態において、組立体 400 が qPCR システムに挿入されると、システムハードウェア機能は、チップストップリリース 708 を内側に押し、このリリースは、上部クリップ 704 を係合解除 / 揺動させて、チップ 100 を第 1 の構成の下部位置に保持することから離す。次に、qPCR システムは、リリース 708、上部クリップ 704、および下部クリップ 702 への圧力を持続することによってチップ 100 の底部を押し、チップ 100 を機械的に上方に押し、図 7 B に示す第 2 の構成にする。この動作の間、入口の穿刺 / 鋭利な上方端部は、チップ 100 とカートリッジ 402 との間の圧縮性層 408 を貫通し、その後、シール構造が圧縮性層 408 に対して密封する間に、第 2 のホイール層 406 を穿刺する。この時点で、チップ 100 はカートリッジ 402 に対して密封され、上部保持クリップ 704 にも係合する。チップストップ構造はまた、チップ 100 を第 2 の構成に保持するように作用するチップ 100 の側面のチップストップ / 位置決め構造 106 (レリーフの構造を提供する) によっても実現される。

10

【0056】

本発明の一実施形態において、チップ 100 がカートリッジ 402 と流体的に係合すると、ピンが上部の可撓性膜 404 を押して、カートリッジリザーバに収容されている液体をチップ 100 上のチャンネルネットワークに移動させる。上部の保持クリップ 704 は、チップ 100 をアッセイ実行時間の間中、カートリッジ 402 に係合させ、接続させ、またその後安全に廃棄する。

20

【0057】

図 8 は、本発明の例示的な実施形態による、カートリッジおよびチップ組立体 400 とともに使用される光学検出ユニット 800 の斜視図である。膜駆動モータがピンを膜 404 に押し込むことによる力によって、試料がチップ 100 を通って移動すると、流体は光検出領域 312 を横切り、光学検出ユニット 800 が試料に対して分析を実行する。この種の検出は、流体の循環に合わせて光学検出ユニット 800 が検出を実行し、増幅がリアルタイムで起こるため、しばしば動的検出と呼ばれる。

30

【0058】

図 10 は、入口 1002 の例示的な実施形態の縦断面図であり、カートリッジのリザーバをチップのチャンネルネットワークに流体的に接続する穿刺 / 鋭利な上方端部 1004 および内孔 1006 を示す。本発明のいくつかの実施形態において、入口 1002 の周囲にトレイ 1008 が設けられ、穿孔からの漏れを捕捉して保持し / 入口とリザーバとの間の流体接続を形成する。

【0059】

用語「備える」、「備えている」、「含む」、「含んでいる」、「有する」およびそれらの組合せは、「含むがこれらに限定されない」ことを意味する。

【0060】

「からなる」という用語は、「～を含み、～に限定される」という意味である。

40

「本質的にからなる」という用語は、組成物、方法または構造が、追加の成分、ステップおよび / または部分を含んでもよいが、追加の成分、ステップおよび / または部分が、請求される組成物、方法または構造の基本的かつ新規な特性を実質的に変更しない場合に限ることを意味する。

【0061】

「複数」という用語は、「2 つ以上」を意味する。

【0062】

本明細書において、単数形の「一の」、「ある」および「その」は、文脈上明らかにそうでないことが指示されない限り、複数形の言及を含む。例えば、用語「ある化合物」ま

50

たは「少なくとも1つの化合物」は、それらの混合物を含む複数の化合物を含み得る。

【0063】

本出願を通じて、本発明の様々な実施形態は、範囲形式で提示される場合がある。範囲形式での説明は、単に便宜上、簡潔にするためのものであり、本発明の範囲を柔軟性なく限定するものとして解釈されるべきではないことを理解されたい。したがって、範囲の説明は、その範囲内の個々の数値と同様に、可能な全ての部分範囲を具体的に開示したとみなされるべきである。例えば、1から6までのような範囲の記述は、1から3まで、1から4まで、1から5まで、2から4まで、2から6まで、3から6までのような部分範囲、およびその範囲内の個々の数値、例えば、1、2、3、4、5、および6を具体的に開示したとみなされるべきである。これは範囲の広さに関係なく適用される。

10

【0064】

本明細書において数値範囲が示される場合は常に、示された範囲内の引用数字（分数または積分）を含むことを意味する。本明細書において、第1の指示数値と第2の指示数値との「間の範囲」、および第1の指示数値「から」第2の指示数値までの「範囲」という表現は、互換的に使用され、第1および第2の指示数値、並びにその間の全ての分数および整数数字を含むことを意味する。

【0065】

本明細書において「方法」という用語は、化学、薬学、生物学、生化学および医学の専門家により公知であるか、または公知の方法、手段、技術および手順から容易に開発される方法を含むが、これらに限定されない、所与の課題を達成するための方法、手段、技術および手順を指す。

20

【0066】

明確にするために、別個の実施形態の文脈で説明されている本発明の特定の特徴は、単一の実施形態において組み合わせ提供されることもあることが理解される。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈で記載されている本発明の様々な特徴も、別個に、または任意の適切なサブコンビネーションで、または本発明の他の説明された実施形態において適切に提供されてもよい。様々な実施形態の文脈で説明された特定の特徴は、その実施形態がそれらの要素なしでは動作不能でない限り、それらの実施形態の本質的な特徴とはみなされない。

【0067】

本発明をその特定の実施形態と併せて説明してきたが、多くの代替案、修正および変形が当業者に明らかであることは明らかである。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲の精神および広範な範囲に属する、そのような代替案、修正例および変形例を全て包含することを意図している。

30

【0068】

本明細書において言及される全ての刊行物、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が参照により本明細書に組み込まれることが具体的かつ個別に示される場合と同じ程度に、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。さらに、本出願における参考文献の引用または特定は、かかる参考文献が本発明の先行技術として利用可能であることを認めるものと解釈してはならない。セクションの見出しが使用されている限りにおいて、それらは必ずしも限定的であると解釈されるべきではない。

40

【 図面 】

【 図 1 】

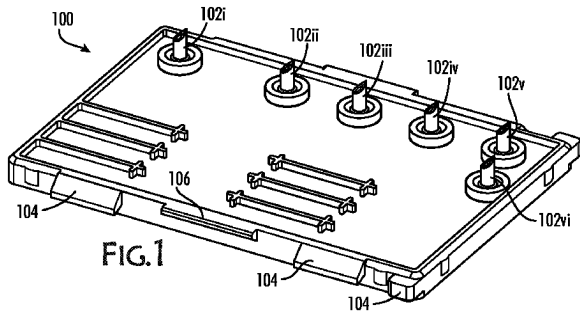


FIG.1

【 図 2 】

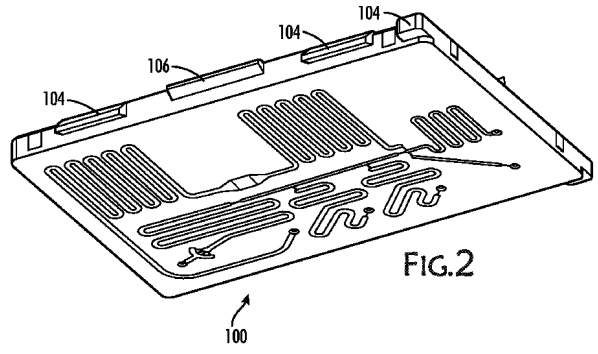


FIG.2

10

【 図 3 】

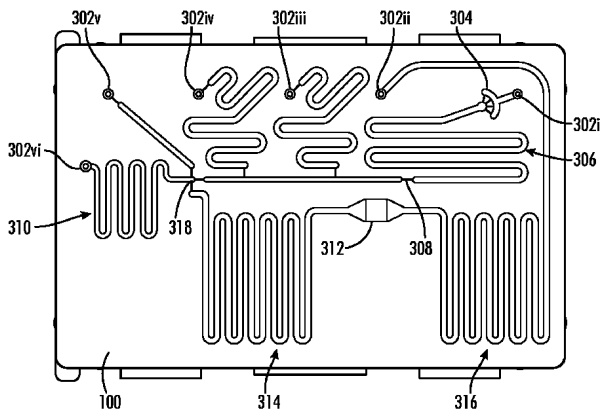


FIG.3

【 図 4 】

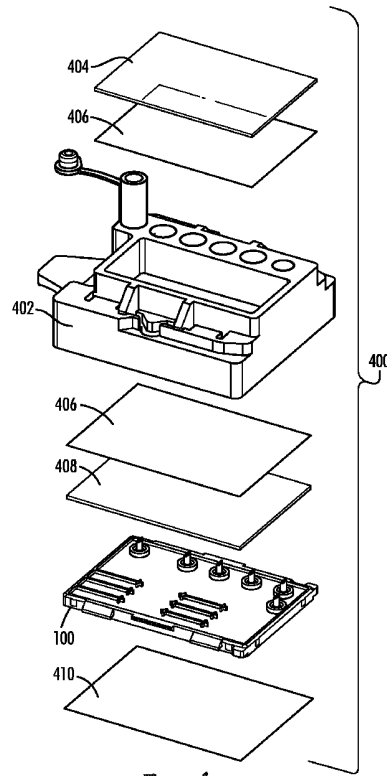


FIG.4

20

30

40

50

【 図 5 】

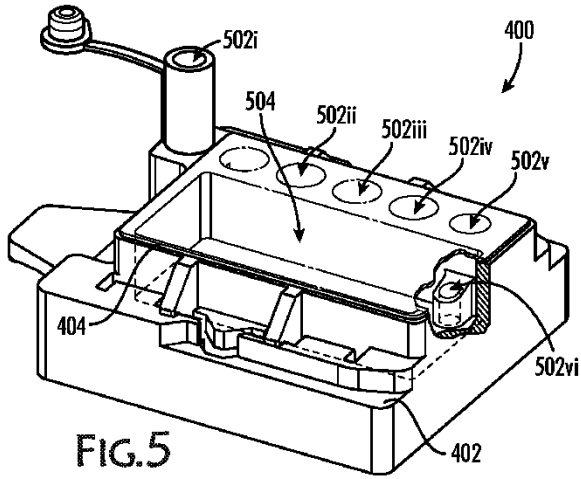


FIG.5

【 図 6 】

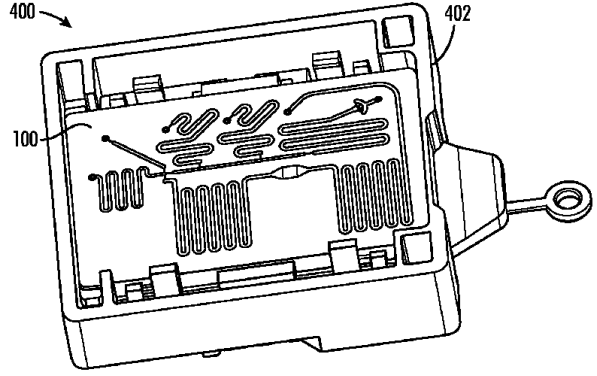


FIG.6

10

【 図 7 A 】

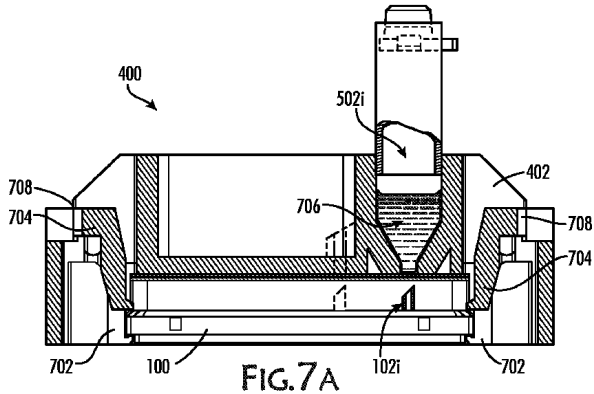


FIG.7A

【 図 7 B 】

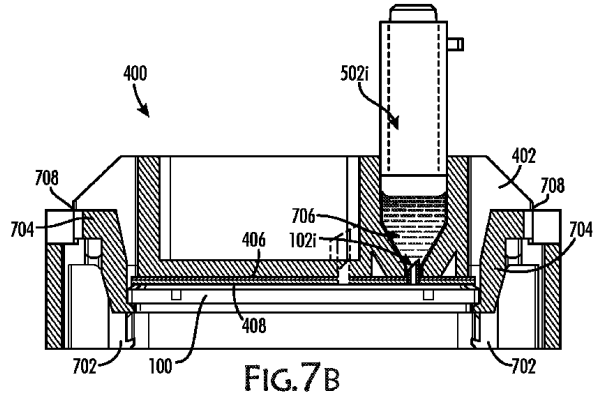


FIG.7B

20

30

40

50

【 図 8 】

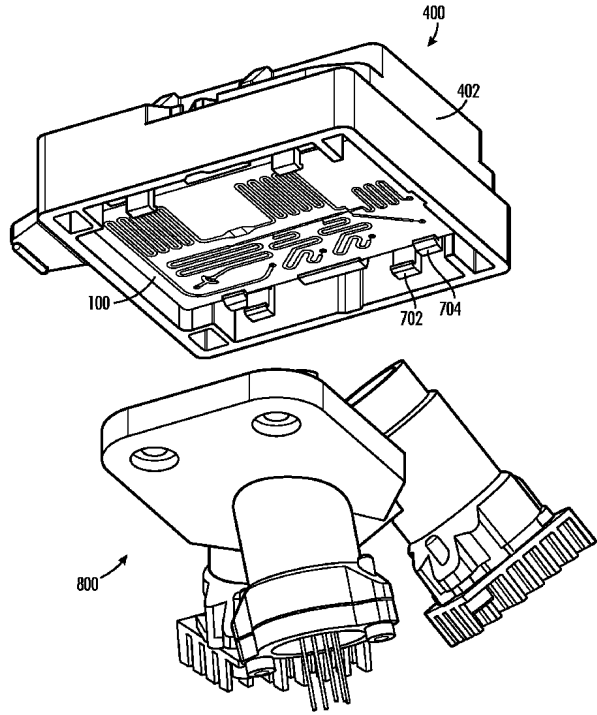
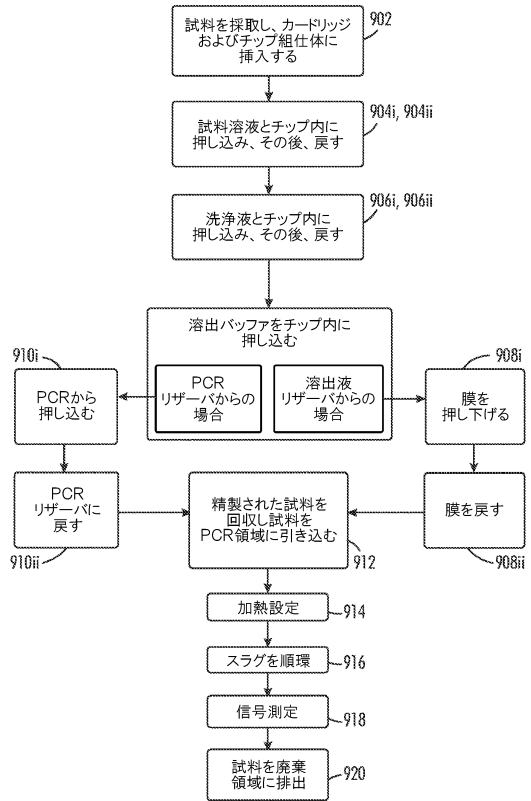


FIG.8

【 図 9 】



10

20

【 図 10 】

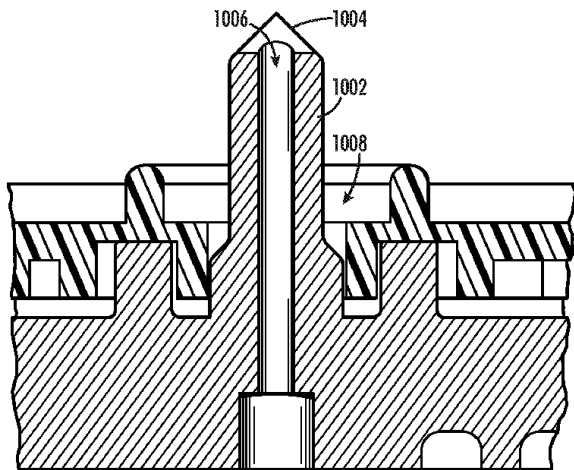


FIG.10

30

40

50



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 21/55649

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC - C12N 15/10; C12Q 1/6806, 1/686, 1/6834, 1/6874; B01L 3/00 (2021.01)  
 CPC - C12N 15/1013, 15/1003; C12Q 1/6806, 1/686, 1/6834, 1/6874; B01L 3/5027, 7/52

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)  
 See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
 See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015/0136602 A1 (INTEGENX INC.) 21 May 2015 (21.05.2015), Fig. 3, 4, 6, abstract, para [0012], [0022], [0025], [0035], [0149], [0155], [0166]-[0178], [0198], [0202], [0213]-[0215], [0225], [0231]-[0235], [0325], [0326], [0411], [0415]	1-6, 9, 12-18
Y		7, 8, 10, 11, 19, 20
Y	US 2013/0252262 A1 (ADVANCED LIQUID LOGIC INC.) 26 September 2013 (26.09.2013), Fig. 1, abstract, para [0056], [0068], [0086], [0093]	7
Y	WO 2018/022971 A1 (BIOFIRE DIAGNOSTICS, LLC.) 01 February 2018 (01.02.2018), para [0281], [0460]	8
Y	US 2015/0217293 A1 (APPLIED BIOSYSTEMS, LLC) 06 August 2015 (06.08.2015), abstract, para [0012], [0081], [0090], [0092], [0098], [0110]	10, 11, 19
Y	US 2017/0241949 A1 (ADVANCED LIQUID LOGIC INC.) 24 August 2017 (24.08.2017) Fig. 1, 45 para [0056], [0058], [0066]-[0073], [0107], [0159], [0162], [0174], [0177], [0180], [0185], [0190]	20

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "D" document cited by the applicant in the international application  
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  
 "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)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  
 "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  
 "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  
 "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  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
20 December 2021

Date of mailing of the international search report  
JAN 28 2022

Name and mailing address of the ISA/US  
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450  
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer  
Kari Rodriguez  
Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

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,N  
E,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,IT,JO,JP,K  
E,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,N  
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,  
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ッツ州ベッドフォード、ディアンジェロ・ドライブ10番 フォーミュラトリックス・インコーポ  
レイテッド 内

(72)発明者 マイケル ニルソン

アメリカ合衆国01730マサチューセッツ州ベッドフォード、ディアンジェロ・ドライブ10番  
フォーミュラトリックス・インコーポレイテッド 内

Fターム(参考) 2G058 DA07 GA06