

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5127878号
(P5127878)

(45) 発行日 平成25年1月23日(2013.1.23)

(24) 登録日 平成24年11月9日(2012.11.9)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 35/02 (2006.01)	GO 1 N 35/02 Z
GO 1 N 21/76 (2006.01)	GO 1 N 21/76
GO 1 N 27/416 (2006.01)	GO 1 N 27/46 U
GO 1 N 27/28 (2006.01)	GO 1 N 27/28 3 2 1 F
GO 1 N 27/30 (2006.01)	GO 1 N 27/30 B
請求項の数 12 (全 82 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2010-113192 (P2010-113192)	(73) 特許権者	504002920
(22) 出願日	平成22年5月17日(2010.5.17)		メソ スケイル テクノロジーズ、エルエルシー
(62) 分割の表示	特願2004-565694 (P2004-565694) の分割		アメリカ合衆国 メリーランド、ゲイサーズバーグ、インダストリアル ドライブ 16020
原出願日	平成15年12月23日(2003.12.23)	(74) 代理人	100066692
(65) 公開番号	特開2010-243498 (P2010-243498A)		弁理士 浅村 皓
(43) 公開日	平成22年10月28日(2010.10.28)	(74) 代理人	100072040
審査請求日	平成22年6月14日(2010.6.14)		弁理士 浅村 肇
(31) 優先権主張番号	60/436,569	(74) 代理人	100107504
(32) 優先日	平成14年12月26日(2002.12.26)		弁理士 安藤 克則
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 アッセイカートリッジ及び同アッセイカートリッジを用いた方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複数の生化学アッセイを実行する装置であって、
フローセル経路を有するフローセル及び該フローセル経路に沿って配置されている複数の電極を備え；

該複数の電極は少なくとも1つの専用の作用電極、少なくとも1つの二役電極、及び少なくとも1つの専用の対向電極を含み；

該専用の作用電極及び二役電極の上にはアッセイ試薬が付着され；

該二役電極は最初は作用電極として働き、次に対向電極として働くように構成された；
装置。

【請求項 2】

前記アッセイ試薬は対象とする被検体に固有の結合試薬である請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記結合試薬は前記専用の作用電極及び二役電極の各々について異なっている請求項 2 に記載の装置。

【請求項 4】

前記専用の対向電極は前記二役電極に隣接しており、且つ前記二役電極は前記専用の作用電極に隣接している請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記複数の電極は単一の検出チャンバ内に配置されている請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記複数の電極は印刷されたカーボンインクである請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記アッセイ試薬は前記専用の作用電極及び二役電極上の誘電体層によって定められたアッセイ領域内に存在する請求項 2 に記載の装置。

【請求項 8】

前記複数の電極に電気エネルギーを供給する専用の作用電極リード線、二役電極リード線、及び専用の対向電極リード線であり、少なくとも 2 つの隣接しない電気リード線はその上に露出表面を有しているリード線と、

前記フローセルと流体的に連通し、且つ前記リード線の前記露出表面によって少なくとも部分的に定められた入口導管とをさらに備え、

前記入口導管内の流体は、前記露出表面と電気接触しており、

前記露出表面は、前記露出表面間に入口導管検査電位を印加して、前記入口導管内の流体の存在又は組成を判断するように構成された請求項 1 に記載の装置。

【請求項 9】

前記露出表面は前記印加した検査電位が前記対応する電極において電気化学発光を誘起するのに不十分であるようにさらに構成された請求項 8 に記載の装置。

【請求項 10】

前記専用の作用電極及び二役電極において生成された発光を検出する光学検波器をさらに備えた請求項 1 に記載の装置。

【請求項 11】

前記専用の作用電極及び二役電極において電位を測定する電圧計をさらに備えた請求項 1 に記載の装置。

【請求項 12】

前記専用の作用電極及び二役電極において電流を測定する電流計をさらに備えた請求項 1 に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は本願明細書に参照により組み入れた 2002 年 12 月 26 日に出願された米国特許仮出願第 60 / 436569 号の優先権を主張する。

【0002】

本出願は、標本に化学的、生化学的及び / 又は生物学的アッセイを行う装置、システム、キット、及び方法に関する。これらの装置にはこのようなアッセイを行うアッセイカートリッジ及びカートリッジリーダーを含む。本出願はアッセイに使用する電極アレイ、このような電極を調整且つ使用する方法、及び該電極アレイを備えた診断デバイスも記載する。このような電極アレイは本発明のカートリッジ及び装置に組み込まれてよい。

【背景技術】

【0003】

従来、臨床測定は多数の標本をバッチモードで処理することのできる大型の臨床分析装置を用いて中央臨床検査室において行われてきた。このような検査室にはこのような複雑な分析装置を保守且つ操作することのできる熟練の人員が配置される。臨床測定を中央検査室から「医療現場（ポイントオブケア）」、例えば、緊急救命室、病院のベッドサイド、診察室、家庭等に移そうという要求が高まっている。ポイントオブケアの測定によって、臨床検査室から検査結果を受け取るのに何時間又は何日も待たなければならないのとは対照的に、介護者又は患者は診断情報に基づいて迅速に決断することができる。ポイントオブケアの診断システムを開発する際の問題は、未熟な操作者がシステムを非集中的設定で容易に使用できるようにシステムを十分小さく且つ簡単にするとともに、低コスト、種

10

20

30

40

50

々のアッセイメニュー、及び/又は中央検査室において従来の臨床分析装置で実行される高性能のテストを維持することにあつた。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は一部にはアッセイモジュール、好適にはアッセイカートリッジに関する。本発明のアッセイモジュールは、コンパートメント、ウェル、チャンバ、流体導管、流体入口/出口、弁等の1つ又は複数の流体コンポーネント、及び/又は電極、電極コンタクト、センサ(例えば、電気化学センサ、流体センサ、質量センサ、光学センサ、容量センサ、インピーダンスセンサ、光導波管等)、検出ウィンドウ(例えば、吸光度、光散乱、光屈折、光反射、蛍光、リン光、化学発光、電気化学発光等)の測定などのカートリッジ内の標本の光学的測定を可能にするように構成されたウィンドウ等の1つ又は複数の検出コンポーネントは組み込む。モジュールは結合剤、検出可能な標識、標本処理試薬、洗浄溶液、緩衝液等のアッセイを実行する試薬を含んでもよい。この試薬は液体、固体、及び/又はカートリッジ内の存在する固相支持体の表面上に固定化された状態で存在してよい。本発明のある実施例では、本モジュールはアッセイを実行するのに必要なすべてのコンポーネントを含む。他の実施例では、本発明は、モジュールを収容するように、且つ流体の動きの制御、給電、カートリッジに対する物理的測定等のある操作をモジュールに実行するように適合されたモジュールリーダーも含む。

10

【0005】

本発明は一部には、アッセイ依存性の信号が複数の電極を用いて測定される複数のアッセイを実行する方法にも関する。電極の少なくとも1つはアッセイ依存性の信号を測定する作用電極として使用され、続いて異なる電極において異なるアッセイ依存性の信号を測定する対向電極として使用されることが好ましい。好適な一実施例では、電極の少なくとも2つが作用電極として使用され、続いて対向電極として使用される。最も好適には、本方法は少なくとも専用の対向電極、専用の作用電極、及び2つ以上の付加的な電極を使用し、該付加的な電極の各々はアッセイ依存性の信号を測定する作用電極として使用され、続いて異なる電極において異なるアッセイ依存性の信号を測定する対向電極として使用される。

20

【0006】

別の好適な実施例では、複数の電極を用いて複数の生化学アッセイを実行する方法を開示する。この方法は、第1の電極と第2の電極との間に電気エネルギーを印加する工程、第2の電極においてアッセイ依存性の信号を測定する工程、第2の電極と第3の電極との間に電気エネルギーを印加する工程、及び第3の電極においてアッセイ依存性の信号を測定する工程を含む。測定されるアッセイ依存性の信号は電流、電位及び/又は電極誘起発光から選択されることが好ましい。第2及び第3の電極は各々その上に固定化した試薬を有し得る。さらに、各々の電極の上には固定化した異なる試薬を有することができ、アッセイ試薬の各々は対象とする異なる検体に固有のものであり得る。

30

【0007】

一実施例では、複数の電極はフローセル内に配置され得る。好適な実施例では、フローセルは電極がそれに沿って配置されてよいフローセル経路を有し得る。電極はその経路に沿って連続的に配置され得る。さらに、電極は第1の電極が第2の電極に隣接するように、且つ第2の電極が第3の電極に隣接するように配置され得る。電極は検出チャンバ内に配置され得る。また、電極は印刷されたカーボンインクを含んでよい。さらに、アッセイ試薬は電極上の誘電層によって定められたアッセイ領域内の電極表面上に固定化されてよい。

40

【0008】

さらに別の実施例では、電極は電極に電気エネルギーを供給するリード線を有してよい。このリード線は、フローセルと流体的に連通する入口導管を少なくとも部分的に形成する露出面を含んでよい。次に、本方法は入口導管内の流体の存在又は組成を判断するため

50

に、リード線の露出面の間に入口導管検査電極を印加する工程を含んでよい。好適には、導管検査電極は電気化学発光を誘導するのに十分な大きさである。

【0009】

本発明の別の態様によれば、複数の生化学アッセイを実行する装置を開示する。この装置は少なくとも1つの専用の作用電極、少なくとも1つの二役電極、及び少なくとも1つの専用の対向電極を含んだ複数の電極を備えてよい。専用の作用電極及び二役電極の上にはアッセイ試薬が付着されていることが好ましい。二役電極は最初に作用電極として働き、次に対向電極として働くことが有利である。アッセイ試薬は、対象とする被検体に特異的であり、且つ専用の作用電極及び二役電極の各々に対して異なってもよい結合試薬であることが好ましい。

10

【0010】

またさらには、複数の電極はフローセル経路に沿ってフローセル内に配置されてよい。専用の対向電極は二役電極に隣接し、且つ二役電極は専用の作用電極に隣接していることが好ましい。さらに、複数の電極は単一の検出チャンバ内に配置されることが好ましい。複数の電極は印刷されたカーボンインクを含んでよい。専用の作用電極及び二役電極の上には、誘電体層によって定められたアッセイ領域内にアッセイ試薬が固定化されてよい。

【0011】

専用の作用電極、二役電極、及び対向電極は好適には、電極に電気エネルギーを供給する対応するリード線を有する。好適には、少なくとも2つの隣接しないリード線はその間に位置する露出面を有するであろう。リード線のこのような露出面は好適には少なくとも部分的に、入口導管内に存在する流体が露出面と電氣的に接触するようにフローセルと流体的に連通する入口導管を形成する。このような好適な実施例では、入口導管内の流体の存在又は組成を判断するために、露出面は露出面の間に入口導管検査電極を印加するように構成されてよい。さらに、本装置は好適には、露出面の間に印加された導管検査電極が対応する電極において電気化学発光を誘導するのに十分な大きさになるように構成される。

20

【0012】

さらに別の実施例では、本装置は専用の作用電極及び二役電極において生成される発光を検出する光学検波器を備えて構成され得る。別の場合には、本装置は専用の作用電極及び二役電極において電位を測定する電圧計を備えてよい。さらに別の代替的实施例では、本装置は前記専用の作用電極及び二役電極において電流を測定する電流計を備えてよい。電極は使い捨て式のアッセイカートリッジ内に収容され、且つ光学検波器、電圧計、及び/又は電流計は別個の再使用可能なカートリッジリーダー内に収容されることが好ましい。

30

【0013】

本発明の別の態様によれば、複数のアッセイを実行するカートリッジは、入口、出口、及び検出チャンバを有するフローセルを備えてよい。検出チャンバは好適には1次元のアレイに配置された複数の電極を含み、少なくとも第1の電極の上には第1のアッセイ試薬が固定化されている。好適なある実施例によれば、電極はカーボンインクを含んでよい。電極は好適には電極に電氣的エネルギーを供給する複数のリード線を有する。さらに、カートリッジは第1の電極に隣接して配置された第2の電極を含んでよく、該第2の電極の上には第2のアッセイ試薬が固定化されている。

40

【0014】

一実施例によれば、カートリッジは好適には少なくとも1つの検出チャンバ表面を備えた検出チャンバを有する。好適には、検出チャンバ表面の少なくとも一部分は透過性であろう。さらにまた、カートリッジは検出チャンバからのルミネセンスを検出するように適合且つ配置された光学検波器を備えてよい。好適には、この光学検波器は別個のカートリッジリーダー内に設けられる。

【0015】

本発明の別の態様によれば、電気化学発光測定を実行する方法を開示し、この方法では

50

2つの電極間でインピーダンスが測定され、且つ2つの電極のうち的一方において電気化学発光が誘起される。気泡の存在を検出するために、測定チャンパ内の2つの電極間でインピーダンスが測定される。このインピーダンス測定工程は、電極において電気化学発光を生成するには不十分な電気エネルギーを用いて行われることが好ましい。さらに、インピーダンス測定は、DCインピーダンス測定、又はより好適にはACインピーダンス測定のいずれかを用いて行われてよい。

【0016】

本発明のさらに別の態様によれば、アッセイ領域を形成するために好適にはカーボンインクを含んだアッセイ試薬を電極表面上に付着させる方法が開示される。この方法はインパクト駆動式流体拡散法を用いて電極表面上に所定量のアッセイ試薬を分注して電極表面上の所定領域を被覆する工程を含む。この所定量のアッセイ試薬は好適には200cm/秒を超える速度で分注される。好適には、所定のアッセイ試薬の面積は、電極表面上の所定量のアッセイ試薬の定常状態の拡散面積よりも大きい。より好適には、所定のアッセイ試薬面積は、電極表面上の所定量のアッセイ試薬の定常状態の拡散面積の少なくとも2倍である。この方法は好適にはマイクロピペット、マイクロシリンジ、電磁弁式分注器、圧電駆動式分注器、インクジェットプリンタ、バブルジェット（登録商標）プリンタ等の流体マイクロ分注器の使用を利用した流体分注器を使用するであろう。また、アッセイ試薬は好適には界面活性剤を実質的に含まない。

【0017】

一実施例によれば、電極表面はアッセイ試薬（好適には、水の接触角に近似する接触角を有する水溶液）に対する進入接触角及び後退接触角が異なっている材料を含んでいることが好ましい。この差は少なくとも10度であることがより好ましい。電極表面をプラズマ処理しなくてよい。さらに、所定の領域は、アッセイ試薬に対する進入接触角及び後退接触角を有する誘電体材料によって定められることが好ましい。この誘電体の後退接触角は電極表面の後退接触角よりも大きいことが好ましい。誘電体の進入接触角及び後退接触角は互いにほぼ等しいが、電極表面の進入接触角及び後退接触角よりも（好適には、10度を超えるだけ）大きいことがより好ましい。誘電体の進入接触角及び後退接触角は互いに約20度以内にあることが最も好ましい。また、所定の量は、誘電体材料上に拡散するアッセイ試薬が、誘電体材料と電極との間で所定の領域を定める界面まで後退するように選択されることが好ましい。

【0018】

本発明のさらなる態様はカーボンインク電極上でアッセイ試薬を吸着する方法に関する。この方法は電極を洗浄し、次にアッセイ試薬を含んだ溶液で電極を処理する工程を含んでよい。洗浄する工程は好適には、界面活性剤、例えば、Brij、Triton、Tween、Thesit、Lubrol、Genapol、Pluronic（例えば、F108）、Tetronic、Tergitol、及びSpan、最も好適にはTriton X100の商標で知られている界面活性剤から選択された非イオン性界面活性剤を含んだ洗浄溶液を使用する。さらに、洗浄工程が終わって処理工程の前に、電極は界面活性剤を含まない溶液で洗い流されてよい。好適には、電極は界面活性剤を含まない溶液中に約1時間浸漬される。

【0019】

本発明のまたさらなる態様によれば、アッセイ試薬を含んだアッセイ領域を形成する方法を開示する。このような方法によれば、吸着されたアビジン層を表面の所定の領域内に形成するように、表面の所定の領域をアビジン溶液で処理することが好ましい。次に、吸着されたアビジン層をアッセイ試薬を含んだ溶液で処理することが好ましく、アッセイ試薬はビオチンと結合されている。アッセイ試薬溶液で処理する前に、アビジン溶液を表面上で乾燥させることが好ましい。この方法はアッセイ試薬溶液で処理する前に吸着されたアビジンを洗浄する工程を採用してもよい。表面はカーボンインク電極であってよい。所定領域は、アビジン及び/又はアッセイ試薬溶液を所定領域に閉じ込めるように適合された境界によって定められることが好ましい（両溶液が所定領域に閉じ込められることが最

10

20

30

40

50

も好ましい)。境界は誘電体層によって定めることができる。

【0020】

本発明の別の態様によれば、複数のアッセイ領域を形成する方法を開示し、該方法は表面の所定領域内にアビジン吸着層を形成するように表面の複数の所定領域の1つがアビジン溶液で処理される。次に、アビジン吸着層は好ましくはビオチンに架橋されたアッセイ試薬を含んだ溶液で処理される。次にこのような工程を複数のアッセイ領域の各々に対して繰り返すことができる。アビジン溶液はアッセイ試薬溶液で処理する前に表面上で乾燥されることがより好ましい。本方法はアッセイ試薬溶液で処理する前にアビジン吸着層を洗浄する工程を利用してよい。表面はカーボンインク電極であってよい。所定領域は好ましくはアビジン及び/又はアッセイ試薬溶液を所定領域に制限するように適合された境界によって定められる(最も好適には、両溶液が所定領域に制限される)。この境界は誘電層によって形成され得る。

10

【0021】

各領域のアッセイ試薬は同じであってよいが、又は異なってよい。使用できるアッセイ試薬には抗体、抗体の断片、タンパク質、酵素、酵素基質、阻害剤、補因子、抗原、ハプテン、リポタンパク質、リポサッカライド、細胞、細胞内成分、細胞受容体、膜断片、ウイルス、核酸、抗原、脂質、糖タンパク質、炭水化物、ペプチド、アミノ酸、ホルモン、タンパク質結合性リガンド、薬剤、膜小胞、リポソーム、細胞小器官、バクテリア及び/又はそれらの組合せがあるが、これに限定されるものではない。アッセイ試薬は対象となる被検体に特異的に結合できるか、又は別の場合には、対象となる被検体の結合パートナーと結合するように対象となる被検体と競合的であり得る結合試薬であることが好ましい。特に好適なアッセイ試薬は抗体及び核酸である。

20

【0022】

一実施例によれば、1つ又は複数のアッセイ領域を形成するアビジン溶液は高分子形態のアビジンを含んでよい。高分子形態のアビジンは、アビジン及び好適には複数のビオチン基を有する架橋分子の溶液を形成することによって形成されてよい。架橋分子とアビジンの比率は好適には0.01~0.25である。アッセイ領域を形成する方法は好適にはアッセイ領域又は複数の圧制領域を洗浄する工程を含み得る。より好適には、洗浄溶液は遮断剤を含み、この遮断剤はタンパク質又はビオチンである。

【0023】

本発明は電極アレイを使用したアッセイカートリッジ及び/又は上記のこのような電極を使用した(及びこのようなアレイ及び領域を使用する上記方法を実行するように適合された)結合領域、及びこのようなカートリッジを操作且つ分析するアッセイカートリッジリーダーにも関する。本発明はこのようなカートリッジ及びカートリッジリーダーを備えたアッセイシステムにも関する。このカートリッジ及びカートリッジリーダーは好適には、標本及び試薬液体を動かし、廃液を収集し、液体試薬及び/又は標本から気泡を除去且つ/又は導入し、標本に物理的測定を実行し、且つ/又は標本を抽出するのに必要なフルイディスク及び制御システムを含む。

30

【0024】

本発明は好適には密閉可能なクロージャを有する標本チャンバ、任意の廃棄物チャンバ及び検出チャンバ(好適には固定化した結合試薬を含んだ1つ又は複数の結合領域、より好適には、1つ又は複数の電極上、最も好適には上記のような本発明の電極アレイ上の1つ又は複数の結合領域を有する検出チャンバ)を備えたアッセイカートリッジにも関する。この検出チャンバは標本導管を介して標本チャンバに接続され、存在している場合には、廃棄物導管を介して廃棄物チャンバに接続されている。アッセイカートリッジは標本チャンバに接続された標本チャンバ通気口及び/又は通気口に接続された廃棄物チャンバ通気口を含んでもよい。標本チャンバはキャピラリ破壊、好適にはz-移行を含み得る。このz-移行はカートリッジの2つの平面流体ネットワークを接続する流体導管セグメントを含むことが好ましい。キャピラリ破壊は別の場合には二重のz-移行を含んでよい。

40

【0025】

50

導入口及び密閉可能なクローージャを備えた通気口の付いた標本チャンバ、通気口の付いた廃棄物チャンバ、並びに標本導管及び廃棄物導管をそれぞれ介して標本チャンバ及び廃棄物チャンバに接続された検出チャンバ（好適には、結合試薬を固定化した1つ又は複数の結合領域を有する、より好適には1つ又は複数の電極上に結合領域を有する、最も好適には上記の本発明の電極アレイを有する、検出チャンバ）を備えたアッセイカートリッジの別の実施例では、1つ又は複数の流体ネットワークが1つ又は複数のカバー層のカートリッジボディのある側面への結合によってカートリッジボディ内に形成されてよい。第2のカバー層又はカバー層のセットが、1つ又は複数の付加的な第2の側面の流体ネットワークをその間に結合するためにカートリッジボディの第2の側面に結合されてよく、第1及び第2の流体ネットワークはカートリッジボディ内の少なくとも1つのスルーホールによって流体的に連通している。この流体ネットワークは、少なくとも部分的には、カートリッジボディ及び/又はカバー層の凹部によって形成されてよい。また、流体ネットワークの少なくとも1つは、少なくとも部分的には、カートリッジボディと少なくとも1つのカバー層との間に配設されたガスカートリッジ層内の開口部によって形成されてよい。

10

【0026】

さらに、z-移行キャピラリ破壊を含んだ実施例は、第1、第2、第3、第4、及び第5の標本導管セグメントを順に含んでよく、このセグメントの各々は隣接するセグメントに対してある角度を成して接続され、このセグメントは配向になっている。第1及び第5のセグメントは第1の流体ネットワーク内に存在し、第3のセグメントは第2の流体ネットワーク内に存在し、且つ第2及び第4のセグメントはカートリッジボディの貫通孔であるような配向になっている。

20

【0027】

またさらに、アッセイカートリッジは標本導管内に乾燥試薬を含んでよい。乾燥試薬は、例えば、標識した結合試薬、遮断剤、ELC共同作用物質及び/又は抽出緩衝液中和試薬を含んでよい。さらに別の実施例では、アッセイカートリッジは標本導管に接続された空気通気口を含んでよい。又さらに別の実施例では、アッセイカートリッジは通気した試薬チャンバ、及び試薬チャンバを標本導管に接続する試薬チャンバ導管を含んでよい。試薬チャンバは任意には試薬チャンバ内の試薬アンブル内に含まれてよい液体試薬を含んでよい。試薬チャンバ導管は空気通気口に接続されてもよい。

【0028】

試薬導管は乾燥試薬を含んでよい。この乾燥試薬は、例えば、標識結合試薬、遮断剤、ECL共同作用物質及び/又は抽出緩衝液中和試薬を含んでよい。この液体試薬は、例えば、洗浄緩衝液、抽出緩衝液、アッセイ希釈液、及び/又はECLリード緩衝液であってよい。抽出緩衝液は好適には亜硝酸又は硝酸塩である。

30

【0029】

別の実施例では、アッセイカートリッジは第2の液体試薬を保持する第2の試薬チャンバをさらに備えてよく、第2の試薬チャンバの通気口は第2の試薬チャンバ及び該第2の試薬チャンバを標本導管に接続する第2の試薬チャンバ導管に接続されている。

【0030】

本発明のカートリッジ内の検出チャンバは上記のような結合試薬のアレイを含んでいることが好ましい。さらには、検出チャンバは上記のように結合試薬がその上に固定化された1つ又は複数の電極を含んでよい。

40

【0031】

他の実施例では、アッセイカートリッジは第2の廃棄物チャンバ、該第2の廃棄物チャンバに接続された廃棄物チャンバ通気口、及び第2の標本導管によって標本チャンバ又は第1の標本導管に接続され、且つ第2の廃棄物導管によって第2の廃棄物チャンバに接続され第2の検出チャンバをさらに備える。さらに、検出チャンバの1つの壁の少なくとも一部分は、検出チャンバ内の物質を光学的に監視できるように実質的に透過性であってよい。アッセイカートリッジは第2の標本導管によって標本チャンバ又は第1の標本導管に接続され、且つ第2の廃棄物導管によって第1の廃棄物チャンバに接続された第2の検出

50

チャンバを備えてもよい。同じく、カバー層の1つの少なくとも一部分は、前記カートリッジ内の流体の流れを監視できるように実質的に透過性であってよい。

【0032】

別の実施例では、カバー層は検出チャンバの表面を形成する固定化した結合試薬のパターン化したアレイを含んだ第1の領域、及び標本導管の表面を形成するその上に乾燥試薬を有する第2の領域を有してよい。このカートリッジは2つの第2の側の流体ネットワークを形成する第2の側の2つの面カバー層、及び該第2の側の2つの流体ネットワークを接続する第1の側の架橋カバー層を有してもよい。ある実施例では、乾燥試薬は第1の側の架橋カバー層の上にあってよい。

【0033】

またさらなる実施例では、シャフト及び標本採取ヘッドを備えたアプリケーションスティックを用いて採取された標本を分析するアッセイカートリッジは、第1の細長形領域及び第2の細長形領域を含んだ細長形の空洞を有する標本チャンバを含んでよく、アプリケーションスティック標本チャンバに挿入したときにシャフトを屈曲させてシャフトの破碎を容易にするために相互に対してある角度に配向されている。この角度は30度~70度であることが好ましい。また、いくつかの実施例では、この空洞の断面積はアプリケーションスティックヘッドの幅の2倍未満である。この破碎によって、標本採取ヘッドを含んだ短くなったスティックの断片が生じるが、この断片の長さは空洞の長さより短い。カートリッジは短くなったスティックの断片を空洞内に入れた状態で標本コンパートメントを密閉する密閉可能なクローージャを含んでもよい。

【0034】

アッセイカートリッジ用の他の実施例は、抽出試薬を保持する抽出試薬チャンバ、アプリケーションスティックを収容するように適合された、標本導入口を有する標本チャンバ、及び第1の標本導管によって標本チャンバに接続された第1の検出チャンバ（好適には1つ又は複数の結合領域を有する、より好適には1つ又は複数の電極上に1つ又は複数の結合領域を有する、最も好適には上記の本発明の電極アレイを有する、検出チャンバ）を備えてよい。標本チャンバは抽出試薬チャンバ導管によって抽出試薬チャンバに接続されている。任意には、フィルタが標本チャンバと標本導管との間に含まれてよい。標本導管及び抽出試薬導管は空洞に接続されるとともに、該空洞に沿って配置されてよい。抽出試薬は好適には亜硝酸又は硝酸塩を含む。

【0035】

アッセイカートリッジのさらに別の実施例は洗浄試薬を保持する洗浄試薬チャンバ、及び検出チャンバ（好適には、結合試薬を固定化した1つ又は複数の結合領域を有する、より好適には1つ又は複数の電極上に結合領域を有する、最も好適には上記の本発明の電極アレイを有する、検出チャンバ）を含み、この洗浄試薬チャンバ及び廃棄物チャンバは洗浄導管及び廃棄物導管をそれぞれ介して検出チャンバに接続されている。別の場合には、洗浄チャンバは廃棄物導管を介して検出チャンバに接続されてよく、洗浄試薬チャンバは洗浄導管を介して標本導管に接続されてよい。

【0036】

本発明の別の態様によれば、カートリッジをベースにしたアッセイを実行する方法が開示される。該方法は一般に全般的に、標本チャンバから第1の標本導管分岐に標本を移動させる工程を含む。乾燥試薬が標本内で戻され、所定量を有する標本のスラグが検出チャンバ内に移動された後、廃棄物チャンバへと移動される。次に試薬は検出チャンバ内へ移動され、信号が測定される。

【0037】

標本導管内に標本を移動させる工程は、標本通気口を開き、第1の廃棄物チャンバ通気口を減圧する工程を含んでよい。標本のスラグは空気通気口を開き、第1の廃棄物チャンバ通気口を減圧することによって検出チャンバ内に移動されてよい。試薬を移動させる工程は、試薬通気口を開き、第1の廃棄物チャンバ通気口を減圧することによって達成されてよい。任意には、試薬を移動させる工程は空気通気口を開いて試薬を分割する工程を含

10

20

30

40

50

んでよい。

【0038】

アッセイは検出チャンバが1つ又は複数の固定化した結合試薬を含み、且つ第1の乾燥試薬は1つ又は複数の標識下結合試薬を含んだ結合アッセイであってよい。信号は電気化学発光信号であってよく、この場合、検出チャンバは電極をさらに含み、1つ又は複数の標識した結合試薬は1つ又は複数の電気化学発光用の標識を含むことができ、第1の試薬は電気化学発光用の共作用物質を含んでよい。

【0039】

ある実施例では、乾燥試薬は標本を乾燥試薬上で前後に動かすことによって戻すことができる。さらに、標本のスラグは検出チャンバ内で前後に動かされてよい。流体を前後に動かす工程は空気チャンバ通気口又は標本チャンバ通気口を開放し、且つ廃棄物チャンバ通気口に正圧及び負圧を交互に印加することによって達成され得る。

10

【0040】

流体運動の選択的な制御は標本及び/又は試薬を所定の時間間隔移動させることによって達成されてよい。別の場合には、いくつかの実施例は標本及び/又は試薬が所定の場所に達するまで標本及び/又は試薬を移動してよい。さらに、ある実施例は標本及び/又は試薬が所定の場所に達するときを判断するために流体センサを使用してよい。標本のスラグは検出チャンバ内でスラグを前後に動かすことによって検出チャンバ内で混ぜられてよい。ある実施例では、標本導管及び/又は試薬導管はキャピラリの破壊として働くz-移行を含んでよい。

20

【0041】

本方法は標本導入口を通して標本チャンバに標本を加える工程及び標本導入口を密閉する工程を含んでもよい。本発明は標本が液体標本であり且つ/又は標本が固体マトリクスを含んだ実施例を含む。本方法は標本チャンバが抽出試薬を含んだ抽出チャンバを通して標本チャンバベントに接続されている場合に利用されてよい。

【0042】

さらに別の実施例では、カートリッジをベースにしたアッセイ方法は、第2の通気した廃棄物チャンバと第2の乾燥試薬を含んだ第2の標本導管分岐によって標本チャンバに接続され、且つ第2の廃棄物導管によって第2の廃棄物チャンバに接続された第2の検出チャンバとを有するカートリッジで実行されてよい。この方法は標本チャンバから第2の標本導管分岐内に標本を移動し、標本中の第2の乾燥試薬を再構成し、所定の量を有する標本の第2のスラグを第2の検出チャンバ内に移動し、第2の検出チャンバ内のスラグを第2の廃棄物チャンバ内に移動し、第2の検出チャンバ内に試薬を移動し、且つ第2の検出チャンバからの信号を検出する工程をさらに含むであろう。試薬導管は第3の乾燥試薬を含んでもよい。他の実施例は第2の試薬を含んだ第2の試薬チャンバを採用してよく、該第2の試薬チャンバは第2の試薬導管を介して標本導管又は第1の試薬導管に接続されており、該第2の試薬は検出チャンバ内に移動される。

30

【0043】

カートリッジをベースにしたアッセイを実行する方法のさらに他の実施例は、標本チャンバから第1の標本導管内に標本を移動する工程、標本内で第1の乾燥試薬を戻す工程、第1の検出チャンバ内に標本のスラグを移動する工程、廃棄物チャンバ内に第1の検出チャンバ内の標本を移動する工程、検出チャンバ内に試薬を移動する工程、及び検出チャンバから信号を測定する工程を含んでよい。このような方法は、細長形の寸法を有する検出チャンバを備えたカートリッジを使用してよく、標本導管及び試薬導管が細長形の寸法に沿って実質的に検出チャンバの端部に接続されている。さらに、本方法は標本のスラグがある経路に沿って検出チャンバを通過して前方方向に移動するように、且つ試薬が前記経路に沿って検出チャンバを通過して逆方向に移動するように実行されてよい。

40

【0044】

またさらなる実施例では、この方法は第2の廃棄物及び検出チャンバを有するカートリッジで実行されてよく、第2の検出チャンバは第2の試薬チャンバ導管を介して第1の検

50

出チャンバ導管に接続され、第2の廃棄物導管を介して第2の廃棄物チャンバに接続されている。この方法は第2の検出チャンバ内に試薬を移動して、第2の検出チャンバからの信号を測定する工程を含んでよい。

【0045】

本発明の別の態様によれば、分析用の標本を調整する方法は、標本チャンバを有するカートリッジ内に標本を採取するのに用いられるシャフト及び標本採取ヘッドを有するアプリケーションスティックを挿入する工程、アプリケーションスティックのシャフトをシャフト部分及びヘッド部分に分割する工程、及び標本チャンバ内でヘッド部分を密閉する工程を含んでよい。この挿入工程は分割工程と同時に進行されてよいが、又は分割工程の前に行われてよい。破壊工程はシャフトに対して垂直方向の力を加えることによって実行できる。任意には、標本チャンバは力集束要素を含んでよい。

10

【0046】

さらに他の実施例では、分析用の標本を調整する方法に使用されるアッセイカートリッジは細長形の空洞を有する標本チャンバを有してよく、該細長形の空洞は第1の細長形領域及び第2の細長形領域を含み、この2つの領域は相互に対してある角度に配向されている。このようなアッセイカートリッジを用いた方法の挿入工程は、標本採取ヘッドを第1の領域を通して第2の領域まで押し入れてシャフトを曲げて、折る工程を含んでよい。ある実施例では、アプリケーションスティックはシャフト上に位置する所定の弱点において折れる。好適には、この弱点はアプリケーションスティックが完全に挿入されたときに第1の領域と第2の領域との間に位置する。

20

【0047】

またさらなる実施例では、分析用の標本を調整する方法は、抽出試薬をヘッド部分を有する標本チャンバに通して標本液を作成し、次に該標本液を検出チャンバ内に導入する工程を含んでよい。さらに、標本チャンバに接続された標本導管はフィルタを含んでよい。またさらに、カートリッジは標本チャンバに接続された気泡トラップチャンバを含んでよく、前記方法は標本液を気泡トラップチャンバ内に導入し、検出チャンバ内に標本液を導入する前に標本液から気泡を除去する工程をさらに含んでよい。

【0048】

ある実施例では、気泡トラップチャンバは標本導管に接続された気泡トラップ導管を介して標本チャンバに接続されてよく、該気泡トラップ導管は気泡トラップチャンバの底部において又はその近傍で気泡トラップチャンバに接続されている。このような実施例では、気泡を除去する工程は、十分な時間の間、標本液を気泡トラップ内で保持して標本液中に存在するかもしれない気泡を標本液の上部まで上昇させて、標本液の低減された気泡部分が次に気泡トラップチャンバ導管を介して気泡トラップチャンバから除去できるようにする工程を含む。別の場合には、気泡トラップチャンバは標本導管と検出チャンバとの間に挿置されてよく、標本導管に接続された入口及び検出チャンバに接続された出口を備えてよく、この場合出口は気泡トラップチャンバの底部において又はその近傍に配置されている。このような代替的な実施例では、気泡を除去する工程は、十分な時間の間、標本液を気泡トラップ内で保持して標本液中に存在するかもしれない気泡を標本液の上部まで上昇させて、標本液の低減された気泡部分が気泡トラップチャンバ導管を介して気泡トラ

30

40

【0049】

本発明のさらに別の態様によれば、アッセイシステムは本発明の実施例のいずれかによるアッセイカートリッジ及び該カートリッジを用いてアッセイを実行するように適合されたカートリッジリーダーを備えてよい。

【0050】

さらに、本発明の実施例のいずれかによるアッセイカートリッジ及びアプリケーションスティックを含んでよいキットが開示される。このようなキットのアプリケーションスティックは所定の弱点を有する。

【0051】

50

本発明は上記カートリッジ、上記カートリッジを備えたシステム、並びにカートリッジ及び1つ又は複数の試薬及び/又は該カートリッジを利用して実行されるアッセイに使用されるアプリケーションスティックを含んだキットを用いた測定を制御且つ実行するように適合されたカートリッジリーダーにも関する。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1a】図1はカートリッジベースのアッセイモジュールを示す略図である。

【図1b】2つの検出チャンバ及び2列の個々にアドレス可能な電極を有するアッセイカートリッジを示す分解組立図である。

【図1c】電極アレイの一実施例を示す分解組立図である。

10

【図2】電気リード線抵抗が適合された電極の一実施例を示す略図である。

【図3a】ペアワイズ形態の発射スキームと共に使用する電極アレイの構成を示す略図である。

【図3b】ペアワイズ形態の発射スキームと共に使用する電極アレイの構成を示す略図である。

【図3c】ペアワイズ形態の発射スキームと共に使用する電極アレイの構成を示す略図である。

【図3d】ペアワイズ形態の発射スキームと共に使用する電極アレイの構成を示す略図である。

【図3e】ペアワイズ形態の発射スキームと共に使用する電極アレイの構成を示す略図である。

20

【図3f】単一の共通の対向電極を採用した電極アレイの可能な構成を示す略図である。

【図3g】単一の共通の対向電極を採用した電極アレイの可能な構成を示す略図である。

【図4】アッセイカートリッジの一実施例による図3の電極アレイを示す略図である。

【図5】電極の1つが電極表面上に気泡を有した状態の電極アレイから放出された電気化学発光を示す画像である。

【図6a】未処理の電極アレイからの電気化学発光を示す画像である。

【図6b】界面活性剤で予洗した電極アレイからの電気化学発光を示す画像である。

【図7a】同心円管を有する局所洗浄装置の使用を示す略図である。

【図7b】図7aに示した局所洗浄装置を示す断面図である。

30

【図8】カーボンインク表面及び誘電体インク表面に対する流体の液滴の接触角を分注速度の関数として示したグラフである。

【図9】アッセイカートリッジの一実施例を示す略図であり、種々の流体コンポーネントを示している。

【図10】図9の略図による流体ネットワークを示す略図である。

【図11a】カートリッジの一方の側上に形成された流体ネットワークを示す上面図である。

【図11b】カートリッジの他方側上に形成された流体ネットワークを示す底面図である。

【図11c】カートリッジボディ内のカートリッジ流体ネットワーク全体を細かい点線で示した等角図である。

40

【図12】流体の動きを検出/監視する流体検出器の好適なレイアウトを示す底面図である。

【図13a】図9に示したアッセイカートリッジの積層組立体を示す分解組立図である。

【図13b】図13に示したガスケット及び電極アレイカバー層を示す詳細図である。

【図14a】アッセイカートリッジの別の実施例を示す略図であり、種々の流体コンポーネントを示している。

【図14b】図14aに示した2部分型のアッセイカートリッジの積層組立体を示す分解組立図である。

【図14c】図14bに示したガスケット及び電極アレイカバー層を示す詳細図である。

50

【図15a】図14bに示したアッセイカートリッジの上部カートリッジコンポーネントを示す上面図である。

【図16a】図14bに示したアッセイカートリッジの下部カートリッジコンポーネントを示す上面図である。

【図16b】図14bに示したアッセイカートリッジの下部カートリッジコンポーネントを示す底面図である。

【図17】流体の動きを検出/監視する流体検出器の好適なレイアウトを示す図14bのアッセイカートリッジの底面図である。

【図18a】図14aに示した略図の流体ネットワークを示す上面等角図である。

【図18b】図14aに示した略図の流体ネットワークを示す底面等角図である。

【図19】一体型フィルタの一実施例を示す図14に示したアッセイカートリッジの上部カートリッジコンポーネントの底面図である。

【図20】フィルタインサートを示すアッセイカートリッジの別の実施例を示す底面等角図である。

【図21】アッセイ試薬放出機構の一実施例を示す、アッセイ試薬アンプルが挿入された図14に示したアッセイカートリッジの等角図である。

【図22】ドロップイン式アッセイ試薬ブリスターパック及び組み込まれたアッセイ試薬放出(穿孔)機構を示す分解図である。

【図24】図14aに示したアッセイカートリッジの好適な弁構成を示す斜視図である。

【図25】流体コンポーネントの配置及び流体検出器の場所を示す図14aに示した略図である。

【図26a】図25に示したアッセイカートリッジを操作する好適な形態を示す略図である。

【図26b】図25に示したアッセイカートリッジを操作する好適な形態を示す略図である。

【図26c】図25に示したアッセイカートリッジを操作する好適な形態を示す略図である。

【図27】チャンバ自身の中に一体型のベントポートを有する標本チャンバを示す断面図である。

【図28】固体又は固体を含んだマトリクスから被検体を抽出する標本チャンバの一実施例を示す断面図である。

【図29】力集束要素を組み込んだ、固体又は固体を含んだマトリクスから被検体を抽出する標本チャンバの別の実施例を示す断面図である。

【図30】2つの領域又は化合物、標本チャンバを組み込んだ、固体又は固体を含んだマトリクスから被検体を抽出する標本チャンバの別の実施例を示す断面図である。

【図31】気泡トラップチャンバの一実施例を示す断面図である。

【図32】種々の流体コンポーネントを示すアッセイカートリッジの別の実施例を示す斜視図である。

【図33】図32の斜視図による2部分型の抽出アッセイカートリッジの積層組立図を示す分解組立図である。

【図34】カートリッジリーダーの好適な設計を示す切断分解図である。

【発明を実施するための形態】

【0053】

本発明のほかそのさらなる目的、特徴及び利点は以下のある実施例の詳細な説明からより十分に理解されよう。「測定する」又は「測定」という用語を本願明細書において使用する場合、ある物質又は性質の検出、ある物質又は性質の量の測定、及び/又は標本中のある物質又は性質の同定を含む種々の目的のために実行される定量的且つ定性的測定を包含するが、これに限定されるものではない。

【0054】

10

20

30

40

50

本発明は標本に1つ又は複数のアッセイを実行するための装置、電極、電極アレイ、システム、システムコンポーネント、キット、試薬、及び方法を含む。本発明は複数のアッセイ測定のための1つ又は複数のアッセイ領域（例えば、アッセイ反応が発生する及び/又電気化学的信号又は好適には電極が誘導する発光信号などのアッセイ依存性の信号が誘導されるアッセイセル表面上の離散した場所）を有してよい1つ又は複数のアッセイセル（例えば、ウェル、コンパートメント、チャンバ、導管、フローセル等）を有する、アッセイモジュール（例えば、アッセイカートリッジ、アッセイプレート等）を含む。

【0055】

ある好適な実施例では、アッセイ領域は電気化学発光測定又は電極誘起発光測定に基づいてアッセイを実行できるようにアッセイ電極（好適には、アッセイ電極のアレイ、最も好適にはアッセイ電極の1次元アレイ）上に支持される。このアッセイ領域は任意には電極上に付着された誘電体層によって定められる。アッセイモジュールは該モジュールを「ポイントオブケア」の臨床測定での使用に適したものに1つ又は複数の属性、例えば、小型、低コスト、廃棄処分性、検出の多重性、使い易さ等を有することが好ましい。本発明の装置及び方法によって、中央の臨床検査室において典型的に使用されるタイプの従来のバッチ処理機器のパフォーマンスを維持しつつこのような利点を達成することが可能になる。

【0056】

アッセイモジュールは、などのアッセイ測定を実行する必要な電子部品及び/又は機械的能動部品、例えば、1つ又は複数の電気エネルギーの源、電流計、電位計、光検出器、温度モニタ又はコントローラ、ポンプ、弁等を含んでよい。好適には、電子部品及び/又は機械的能動部品の一部又は全部は別個のモジュールリーダー内に配置される。このリーダーはアッセイモジュールでアッセイを実行するための、アッセイモジュールとの適した電氣的、流体的及び/又は光学的接続部も有するであろう。このような構成を用いることにより、（より高価で複雑なコンポーネントを保持する）リーダーが再使用可能であると同時にアッセイモジュールは低コスト且つ使い捨てできるように設計され得る。アッセイモジュール及びアッセイリーダーを用いた好適なアッセイ手順は、カートリッジとの電氣的、流体的及び/又は光学的接続部を形成する（カートリッジ及びリーダー上の電氣的、流体的及び/又は光学的コネクタを利用する）とともに、カートリッジ内でアッセイを実行できるように、カートリッジをリーダーの中に挿入する工程を含むであろう。標本は好適にはリーダー内にカートリッジを挿入する前にカートリッジ内に導入される。アッセイはカートリッジに1つ又は複数のアッセイ試薬を加える工程も伴ってよい。例えば、好適には、1つ又は複数のアッセイ試薬が乾燥した状態且つ/又は湿った状態でカートリッジ内に格納される。

【0057】

本発明は電極アレイを調整する方法及びこのような電極アレイ上にアッセイ領域を形成する方法を含んだアッセイモジュールを調整する方法も含む。本発明はアッセイ領域を洗浄して結合していない試薬がアッセイモジュール内の他の表面と相互に作用させずに該結合していない試薬を除去する方法も含む。

【0058】

本発明の好適な一実施例は1つ又は複数のアッセイ用フローセルを備えたアッセイカートリッジを含む。このアッセイ用フローセルは流体出口及び流体出口を有し、且つ該入口と出口との間の流路を有するチャンバを含む。電極のアレイがこのチャンバの内面上にボタン化される。電極誘起発光アッセイに使用される場合、電極アレイに対向するチャンバの内面は電極において生成された光を検出できるように半透性であることが好ましい。電極の1つ又は複数の電極上に固定化したアッセイ試薬を含む。アッセイ領域を用いて、電極を用いて電気化学発光信号又は好適には電極誘起発光信号などのアッセイ依存性の信号を誘起すること及びその信号を検出することによって検出されるアッセイ反応が実行される。このようなアッセイ試薬は、電極上に付着された誘電体層の開口部によって定められた1つ又は複数のアッセイ領域内に配置されることが好ましい。任意には、流体入口は流

10

20

30

40

50

体入口ライン内の流体の存在を検出するセンサを有する流体入口ラインを含む。

【 0 0 5 9 】

好適には、アッセイカートリッジ内の電極は流体経路に沿って1次元にパタン化されている。アレイ及び/又は経路は好適には直線的配置であるが、他の形状（例えば、扇形、曲線、ジグザグ形等）が使用されてもよい。このような構成では、電極の作用面積及び流路のアスペクト比は、電極上のアッセイ領域がフローセルを通過する流体内の被検体を効果的に採取することを確実にするように選択されることが有利である。最も好適には、流れの方向に沿った流路の長さは流れの方向に対して垂直な幅よりも大きく、電極の作用面積は流路の幅のかなりの部分（好適には、60%を超える、より好適には80%を超える）を占め、且つ/又は電極の上の流路の高さは流路の幅に比して小さい。驚くべきことに、フローセル内の専用の対向電極の表面積は、作用電極（例えば、電極が誘導する発光アッセイに使用される結合領域を有する作用電極）として用いられる電極を再利用することによってアッセイのパフォーマンスに影響を及ぼすことなく著しく低減され得ることが認められた。このような電極は別の作用電極、好適には隣接する作用電極からのアッセイ依存性の信号を測定する対向電極として再利用される。特に好適な実施例では、電極はフローセルの経路に沿ってペアワイズ形態で起動され、1次元電極アレイの内側の電極はアッセイ依存性の信号を誘導する作用電極として、続いて隣接する電極においてアッセイ依存性信号を誘導する対向電極として用いられる。

10

【 0 0 6 0 】

本発明のアッセイカートリッジは複数のフローセル又は検出チャンバを含む。ある好適な実施例では、このフローセルは同じアッセイ領域を含んでよいか、又は、対象とする同じ被検体の特異性を共有する少なくともいくつかのアッセイ領域を少なくとも有してよい。このような実施例では、複数のフローセルを用いて複数の異なる標本を分析できるか、又は異なる方法で前処理した標本を比較することができる。別の場合には、フローセルの1つは対照標本を分析するのに使用される対照フローセルであってよく、別のフローセルは試験標本を分析するのに使用される試験用フローセルであってよい。この対照フローセルは完全な所定の対照サンプルであってよいか、又は、標準的な添加の方法によってアッセイの校正ができるように試験標本を含んでいるが対象となるさらなる被検体でスパイクされた混合物であってよい。別の実施例では、アッセイカートリッジは異なる2つのアッセイパネル用のアッセイドメインを有する少なくとも2つのフローセルを有する。有利には、そのようなカートリッジを用いて互いに互換性のない圧制反応を別個に実行することができる。

20

30

【 0 0 6 1 】

図1 aは本発明の一実施例によるカートリッジをベースにした生化学的検出システム100の略図である。好適には、システムハウジング、例えばカートリッジリーダー105は光学検波器110を備え、処理のためにカートリッジ115及び/又は光学検波器110を収容且つ/又は位置決めするように適合且つ/又は構成されるであろう。本システムは好適には、アッセイ試薬/消耗品及び/又は廃棄物を収容する収容サブシステム；標本取扱い用の標本処理/前処理/収容サブシステム；試薬、標本、廃棄物等を取り扱い、且つ流体入口ライン125を介して検出チャンバ120に流体を供給する流体取扱いサブシステム；カートリッジの電気接点130を電氣的に接触させ、且つ電極135、136、137に電気エネルギーを供給する電氣的サブシステム；及び本システム及びサブシステムの動作を制御且つ調整し、且つ光学的検出信号を取得、処理且つ保存する制御サブシステムのうちの1つ又は複数を備えてよい支持サブシステム（図示せず）を含むであろう。

40

【 0 0 6 2 】

図示のように、好適な一実施例は、好適には少なくとも1つの専用の対向電極135、1つの二役電極136、及び1つの専用の作用電極137を有する電極アレイを使用するであろう。このような好適な構成は二役電極135が再利用され得るペアワイズ形態の発射スキーム（以下で詳細に説明する）を使用するであろう。図1 bはカートリッジベースのデバイス150の検出部分の可能な一実施例をより詳細に示している。図示のように、2

50

つの検出チャンバ155、156は各々、個々にアドレス可能な9本の電極の列157、158を含んでいる。検出チャンバ及び電極157、158への対応するリード線170、171を備えた2列の電気接点165、166に標本、試薬及び/又は洗浄溶液を導入する2つの流体入口ライン160、161が示されている。この好適な実施例では、流体検出(例えば、標本、試薬、洗浄液、緩衝液等)及び/又は流体識別(例えば、標本、試薬、洗浄液、緩衝液等及び/又は全血、血漿、粘液等の標本タイプの識別)において使用されてよい2列のインピーダンスセンサ172、173も示されている。

【0063】

図1cは好適な一実施例のアセンブリの略図であり、電極アレイ176を備えたカートリッジコンポーネント178のアセンブリを示している。一実施例によれば、(好ましくはカーボンインクから成る)電極アレイ176は電極180、電気リード線181、及び電気接点182の部分形成する基体層175に塗布される。誘電体層177を電極層上に塗布して、アッセイ領域190及びインピーダンスセンサ191を形成することが好ましい。別の場合には、電気接点182は基体の反対側に印刷され、基体を貫ける貫通孔を介して電極180又は電気リード線181に接続されてよい。カーボン層又は誘電体層のほか種々の別の材料を塗布する方法を以下により詳細に説明する。

【0064】

カートリッジコンポーネント178は好適には第2のカートリッジコンポーネントと結合される。第2のカートリッジコンポーネントはカートリッジコンポーネント178と結合されるときに電極アレイにわたって(例えば、図1bの検出チャンバ155及び156並びに図1aの検出チャンバ120で示したような)検出チャンバを形成するように働くように、結合面上に配置されたチャネル又は開口部を有する。好適には、第2のカートリッジコンポーネントはコンポーネント178と結合されたときに電極にわたってフローセルを形成する結合面上にチャネルを有する(このフローセルはコンポーネント178によって定められた1つの表面及び第2のコンポーネントによって定められた対向面及びウェルを有する)。このチャネルはフローセルに向かう流体入口ライン及び出口ラインなどの他の流体経路を形成するのに使用されてもよい。このようなチャネルは、例えば第2のコンポーネント内に成形されるか、又は第2のコンポーネントに食い込んでよい。別の場合には、フローセル又は他の流体経路の壁は、コンポーネント178と第2のカートリッジコンポーネントとの間に付けられたガスケット材料(好適には、両面接着テープ)によって形成されてよい。別の場合には、第2のコンポーネントは結合面にコンポーネント178と結合されるときにウェルを形成する開口部を有する。

【0065】

本発明の好適な実施例では、アッセイカートリッジは最小限の機器又は非動的機器、或いは電子機器を有する。アッセイを実行する際、そのようなアッセイカートリッジをこのような機能を提供するカートリッジリーダー内に導入することができる。例えば、リーダーは、アッセイ電極に電気エネルギーを供給して、その結果得られた電位又は電流をアッセイ電極において測定する電子回路を備えてよい。このリーダーはアッセイ電極において生成された発光を測定する1つ又は複数の光検出器を有してよい。使用してよい光検出器には光電子増倍管、アバランシェフォトダイオード、フォトダイオード、アバランシェ・フォトダイオードアレイ、CCDチップ、CMOSチップ、フィルム等を含むが、これに限定されるものではない。この光検出器はレンズ、フィルタ、シャッタ、開口部、光ファイバ、光導波路等も備えた工学検出システム内に含まれてよい。リーダーはカートリッジに流体を提供し、流体の存在を検出し、且つ/又は流体に適した制御温度に維持するポンプ、弁、ヒータ、センサ等を含んでもよい。リーダーを用いて、リーダー自身の上か、別個のアッセイ試薬ボトル又はアッセイ試薬保管デバイスからのいずれかによって、アッセイ試薬を保管及び提供することができる。リーダーはカートリッジをリーダーの内外に移動するモーションコントローラなどのカートリッジ取扱いシステムを有してもよい。リーダーは機械的及び/又は電子的サブシステムを制御し、取得したデータを分析し、且つ/又はグラフィカルユーザーインターフェース(GUI)を提供するマイクロプロセッサを

10

20

30

40

50

有してよい。カートリッジリーダーはカートリッジに接続される電氣的、機械的及び／又は光学的コネクタを有してもよい。

【0066】

本発明の一態様は電極を使用したアッセイモジュール、これら電極上へのアッセイ試薬の固定化、及びこれらのアッセイへの、好適には電極が誘導する発光アッセイへの使用に関する。参照により本願明細書に組み入れた2002年6月28日に出願された米国特許同時係属出願第10/185274号は、電極が誘導する発光アッセイにおいて要されるように適合され、且つ本発明のアッセイモジュールと共に使用するのに適した、電極及び誘電材料、電極パタン及びパタン化技術並びに固定化技術の例を示している。本発明の電極は好適には導電性材料から構成される。この電極は金、銀、白金、ニッケル、スチール、イリジウム、銅、アルミニウム、導電性合金等の金属を含んでよい。この電極は酸化物でコーティングされた金属（例えば、酸化アルミニウムでコーティングされたアルミニウム）を含んでよい。電極は導電性形態の分子カーボンのなどの非金属性導体を含んでよい。電極は半導体材料（例えば、シリコン、ゲルマニウム）又はインジウムスズ酸化物（ITO）、アンチモンズ酸化物（ATO）等の半導体フィルムから構成されてもよい。電極は導電性複合材、インク、ペースト、ポリマーブレンド、金属/非金属複合材等を含んだ材料の混合物から構成されてもよい。このような混合物は非導電性材料と混合された導電性又は半導電性材料を含んでよい。好適には、電極材料はシリコンベースの材料を実質的には含まない。

【0067】

本発明のアッセイモジュールに使用される電極（特に作用電極）は有利には発光種から発光を誘起することができる。作用電極用の好適な材料は、（トリプロピルアミンなどの）第3級アルキルアミンの存在下で、ルテニウムトリスピリジンから電気化学発光を誘起することができる材料である。このような好適な材料の例には、白金、金、ITO、カーボン、カーボンポリマー複合材、導電性ポリマーが含まれる。

【0068】

好適には、電極はカーボン、カーボンブラック、黒鉛状炭素、カーボンナノチューブ、カーボンの微小繊維、黒鉛、炭素繊維、及びこれらの混合物などのカーボンベースの材料から構成される。有利には、電極はカーボン-ポリマー複合材、マトリクス状に分散された導電性粒子（例えば、カーボンインク、カーボンペースト、金属インク）、及び／又は導電性ポリマーから構成されてよい。本発明の好適な一実施例は、カーボンを含む、好適にはカーボン層を含む、より好適にはカーボンインクのスクリーン印刷された層を含む電極（例えば、作用電極及び／又は対向電極）を有する、アッセイモジュール、好適にはアッセイカートリッジである。いくつかの有用なカーボンインクには、Acheson Colloids社によって製造された材料（例えば、Acheson 440B、423ss、PF407A、PF407C、PM-003A、30D071、435A、Electrodag 505SS、及びAquadag（商標））、E. I. Du Pont de Nemours and Co.によって製造された材料（例えば、Dupont 7105、7101、7102、7103、7144、7082、7861D、E100735 62B及びCB050）、によって製造された材料、Advanced Conductive Materials社によって製造された材料（例えば、PTF20）、Gwen Electronics Materials社によって製造された材料（例えば、C2000802D2）、Conductive Compound社によって製造された材料（例えば、C-100）、及びErcon社によって製造された材料（例えば、G-451、G-499及び150401）がある。

【0069】

別の好適な実施例では、本発明の電極はカーボンフィブリルを含む。「カーボンフィブリル」、「カーボンナノチューブ」、単層ナノチューブ（SWNT）、多層ナノチューブ（MWNT）、「グラファイトナノチューブ」、「グラファイトフィブリル」、「カーボン細管」、「フィブリル」及び「バッキーチューブ」という用語はすべて、広範なクラス

のカーボン材料を記載するために用いることができる (Dresselhaus, M. S.、Dresselhaus, G.、Eklund, P. C. の「 Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes 」 Academic Press、米国カリフォルニア州サンディエゴ、1996年及びその引用文献を参照のこと)。この出願を通して、この広範なクラスのカーボンベースの材料を含むように、「フィブリル」及び「カーボンフィブリル」という用語を用いる。米国特許第4663230号、第5165909号、及び第5171560号に開示されている個々のカーボンフィブリルは特に有利である。これらは直径が約3.5nm~70nmの範囲の値をとり、長さが直径の10²倍よりも長く、配列された炭素原子からなる本質的に連続した多層の外部領域及び別個の内部コア領域を有し得る。単なる例として、カーボンフィブリルの典型的な直径は、約7~25nmであり、一般に、長さは、1000nm~10,000nmの範囲の値をとり得る。カーボンフィブリルは単層の炭素原子を有することもでき、その直径は1nm~2nmの範囲であり得る。本発明の電極は、例えばフィブリルマット、フィブリル会合体、フィブリルインク、フィブリル複合材(例えば、オイル、ペースト、セラミック、ポリマー等の中に分散されたフィブリルを含んだ導電性複合材)の形態で1つ又は複数のカーボンフィブリルを含んでよい。

【0070】

電極は成形プロセス(すなわち、電極の製造中)、パタン化した付着、パタン化した印刷、選択的エッチング、ダイカット又はレーザ穿孔などの切断プロセス、及び/又は電子機器の微細加工業界では知られた技術によってパタンに形成され得る。電極は自立型であってよいし、別の材料、例えば、フィルム、プラスチックシート、粘着フィルム、紙、裏地、メッシュ、フェルト、繊維材料、ゲル、固体(例えば、金属、セラミック、ガラス)、エラストマー、液体、テープ、粘着剤、他の電極、誘電体材料などの上で支持することもできる。この支持体、すなわち基体は、剛体状又は可撓性のもの、平坦又は変形したものの、透明、半透明、不透明又は反射性のものとすることができる。この支持体はアセテート又はポリスチレンなどのプラスチックの平坦なシートを含む。塗り、吹付けコーティング、スクリーン印刷、インクジェット印刷、レーザプリンティング、スピンコーティング、蒸着コーティング、化学気相成長法等の当技術分野で知られた様々なコーティング及び付着プロセスによって、支持体に電極材料を付着させることができる。支持された電極は、(例えば、電子機器の微細加工において確立された技術である)フォトリソグラフィ技術を使用して、選択的エッチング、及び/又は選択的付着(例えば、マスクを用いた蒸着又はCVDプロセス)によって、パタン化されてよい。好適な実施例では、電極は導電性カーボン/ポリマー複合材の押し出しフィルムから成る。別の好適な実施例では、電極は基体上に付着されたスクリーン印刷した導電インクから成る。いくつかの用途では、電極の導電性を上げるようにスクリーン印刷されたカーボンインク電極は導電性金属インク(例えば、銀インク)層上に印刷される。アッセイカートリッジでは、設計の小型化によって、比較的長さが類似する短い印刷電極リード線(好適には1.5cm未満、より好適には1.0cm未満)を有する電極を使用できるようにすることが好ましい。このリード線を短く保つことによって、銀層などの下側の導電性金属層の無いスクリーン印刷されたカーボン電極を使用することが可能となる。

【0071】

本発明の好適な一実施例によれば、電極表面(好適には、アッセイモジュール又はアッセイプレートの作用電極表面)は誘電性表面によって結合されており、該誘電性表面は隆起しているか又は低くなっており(好適には、隆起している)、且つ/又は電極表面とは異なった疎水性である。好適には、この誘電体境界は、電極表面に対して0.5~100µm、又は好適には2~30µm、或いは最も好適には8~12µmだけより高くなっている。さらにより好適には、この誘電体境界は輪郭が明確なエッジ(すなわち、電極と誘電体境界との間の界面に急勾配の境界壁及び/又は鋭角を提供する)を有する。

【0072】

第1の電極表面は、誘電体表面よりも水に対する進入接触角が10度小さい、好適には

10

20

30

40

50

15度小さい、より好適には20度小さい、より好適には30度小さい、さらに一層好適には40度小さい、最も好適には50度小さいことが好ましい。誘電体表面が電極表面よりも高く且つノ又は疎水性であることの1つの利点は、試薬付着プロセスにおいて有利であることであり、この誘電体境界を用いて電極表面の境界内に試薬を閉じ込めることができる。特に、境界壁が急峻になり、且つノ又は電極と誘電体境界との間の界面で鋭角が得られる状態で縁部が鋭角に定められると、溶液の液滴を「固定」し、それらを電極表面に閉じ込めるのに特に有用である。本発明の特に好適な実施例では、誘電体境界は電極の上且つノ又は周囲にパタン化した誘電体インクを印刷することによって形成され、このパタンは電極上の1つ又は複数のアッセイ領域を露出させるように設計されている。

【0073】

試薬の固定化を高めるために、電極は化学的又は機械的処理によって改変されてよい。試薬の固定化のための機能基を導入するため又は試薬の吸着性を増強するために、電極表面が処理されてよい。電極表面の性質、例えば、電極表面上の水の拡散性又は電極表面における電気化学的処理のキネティクスに影響を及ぼすために、表面処理が用いられてもよい。使用されてよい技法には、電磁放射、電離放射、プラズマ、又は酸化剤、求電子試薬、求核試薬、還元剤、強酸、強塩基及びノ又はこれらの混合物などの化学試薬への曝露がある。電極の1つ又は複数のコンポーネントをエッチングする処理は、電極の粗さを、故に電極の表面積を広くすることによって特に有益となる。導電性の粒子又は繊維（例えば、カーボンの粒子又は微小繊維）をポリマーマトリクス又は結合剤として有する複合材電極の場合、この導電性の粒子又は繊維を露出させるためにポリマーの選択的エッチングが使用されてよい。

【0074】

特に有用な一実施例は電極の改変、及びより広範には、グロー放電とも呼ばれるプラズマを用いた、具体的には低温プラズマを用いた処理による本発明に組み入れられる材料の改変である。この処理は処理中にプラズマと接触する電極の表面特性を変えるために実行される。プラズマ処理は、例えば、電極の物理的性質、化学組成、又は表面の化学的性質を変えるかもしれない。このような変化によって、例えば、試薬の固定化が促進され、汚染物が低減され、他の材料への接着性が向上し、電極表面の湿潤性が改変され、材料の付着が容易になり、パタンが形成され、且つノ又は均一性が向上することになる。有用なプラズマの例には酸素、窒素、アルゴン、アンモニア、水素、過フッ化炭化水素、水、及びこれらを組み合わせたものがある。酸素プラズマはカーボン-ポリマー複合材中のカーボン粒子を露出させるのに特に好ましい。酸素プラズマは試薬の結合が可能となるように、カルボン酸又は他の酸化カーボンの官能性をカーボン材料又は有機材料（このような材料は活性化された、例えば、活性エステル又は塩化アシルであってよい）に導入するために使用されてもよい。同様に、アッセイ試薬の結合に使用するためのアミノ基を導入するために、アンモニアを含有したプラズマが使用されてよい。

【0075】

電極表面の処理は、試薬の固定化を改善するか、或いは容易にし、電極の濡れ性を変え、表面積を増大させ、試薬（例えば、脂質、タンパク質又は脂質/タンパク質層）を固定化するか、又は検体を結合する結合能力を増加させ、且つノ又は、電極における電気化学反応速度を変化させるのに有利であり得る。しかし、いくつかの用途では、未処理の電極を使用することが好ましいかもしれない。例えば、本発明者らは、電極の面積当たりのダイナミックレンジを広く、故に、結合能力を高くすることが必要な用途のとき、固定化の前にカーボンインク電極をエッチングすることが有利であることを見出した。本発明者らは、（例えば、酸素プラズマによる）酸化エッチングには、TPA（トリプロピルアミン）を酸化するための電位及び水に対する接触角がともに、エッチングしていないインクに対して小さくなるという点でさらなる利点があることを見出した。水に対する接触角が小さいと、少量の水性緩衝液中の試薬を付着させることによって電極上に試薬を結合させることができ、電極表面の上でその少量を均一に広げることができる。驚くべきことに、本発明者らは、インク中にポリマー結合剤が存在するにもかかわらず、エッチングしていな

10

20

30

40

50

いカーボンインク電極上で優れたアッセイを行うこともできることを見出した。実際、高感度又は非特異性結合が低いことを要するいくつかの用途では、エッチングしていないカーボンインク電極を使用して、露出したカーボンの表面積を最小限に抑え、故に、試薬が露出カーボンに非特異的に結合することから生じるバックグラウンド信号及び試薬の損失を最小限に抑えることが好ましい。使用するインク及びインクを塗布するのに使用するプロセスに応じて、水溶液で電極表面を容易に濡らすことができないことがある。本発明者らは、試薬溶液に低濃度の非イオン性界面活性剤を添加して、電極表面の上で溶液が拡散するのを容易にすることによって、試薬結合時の電極の低い濡れ性を補償できることを見出した。少量の溶液から試薬を局所的に固定化する際、均一に拡散することが特に重要である。例えば、本発明者らは、0.005~0.04%のTriton X-100（登録商標）を添加すると、電極へのタンパク質の結合に影響を及ぼすことなく、且つ電極表面に液体を閉じ込めるために電極上又は電極に隣接して付着させた誘電体フィルム（好適には、厚さ0.5~100ミクロン、より好適には2~30ミクロン、最も好適には8~12ミクロンの、鋭角に定められたエッジ部を有する印刷された誘電体フィルム）の能力を阻害することなく、エッチングしていないカーボンインク表面の上でタンパク質溶液を拡散することができることを見出した。好適には、Triton X-100などの非イオン性界面活性剤を使用して、エッチングしていないスクリーン印刷した電極上に試薬（例えば、捕捉試薬）を拡散するのを容易にすると（すなわち、試薬を固定化することができるように）、電極表面上で試薬を含む溶液を乾燥させることができる。この乾燥工程は固定化プロセスの有効性及び再現性を著明に改善することが認められた。

10

20

【0076】

カーボンインク電極、特に未エッチングのカーボンインク電極上への試薬の固定化の有効性は電極表面の種々のレベルの汚染に起因するいくつかの可変性を示すかもしれない。この効果はある誘電性インクを用いて電極上にアッセイ領域を形成する場合に特に顕著である。われわれは固定化の有効性を改善するとともに電極表面を好適には界面活性剤を用いて予洗することによって可変性を抑えることができることを見出した。

【0077】

ある誘電体インクによるカーボン電極インクの汚染を、接触径を測定することにより電極の表面濡れ性を定量的に評価することによって観察した。その結果、接触径が大きくなると濡れ性が向上することがわかった。異なる誘電体層に対して3つの別のカーボン表面を比較した結果を表1に示す。表1のデータが示すように、電極表面を洗浄すれば451誘電体と接触するカーボン表面の濡れ性（接触径）は著明に増大し得る（451誘電体の印刷に関連する電極表面の汚染を除去すること、例えば、誘電体インクの成分が電極表面上に移動したことによるものと思われる）。

30

【0078】

【表 1】

表面	接触径 (インチ)
* —	
前処理無し：	
カーボン対 451 誘電体	0.93mm(0.0366インチ)
カーボン対 Nazdar 誘電体	1.17mm(0.0461インチ)
カーボン対 PD 039A 誘電体	1.16mm(0.0457インチ)
前処理済み：	
カーボン対 451誘電体	1.11mm(0.0438インチ)
カーボン対 Nazdar 誘電体	1.18mm(0.0438インチ)
カーボン対 PD039A 誘電体	1.14mm(0.0448インチ)

表 1 3つの異なる誘電体材料に対するカーボン電極表面の接触径の比較
(開放時間400 μ 秒における50nLの水滴の平均径)

【 0 0 7 9 】

一実施例では、電極表面を水性の 0.5% Triton X-100 溶液中に数時間浸漬し、次に脱イオン水で洗い流した後、脱イオン水に約 1 時間浸漬し、最後に乾燥させるというカーボン電極表面を除染する方法が用いられてよい。この Triton 溶液は好適には表面から汚染物質を除去し、脱イオン水は吸着された界面活性を除去する。この除染方法はカーボン上の後退接触角と誘電性インクとの間の差を高める効果的な洗浄手順である。

【 0 0 8 0 】

図 6 は除染手順の結果を示している。特に、図 6 はカーボンインク電極上の ECL 標識からの ECL の画像を示しており、電極の露出エリアは誘電フィルムによって形成されている。図 6 a は除染していない状態の ECL 画像であり、図 6 b は本発明の実施例による Triton-X-100 を用いて除染後の ECL 画像である。この ECL 画像は処理プロセスが電極の表面にわたって ECL 強度の変動を著しく低減させることを示しており、未処理の電極上の ECL の斑状化は表面上の汚染の斑状化によって引き起こされるものと推定される。

【 0 0 8 1 】

電極に他の材料を付着させるのに使用することができる化学反応基で電極を被覆することができる。材料を、これらの反応基に共有結合的に付着させるか、或いは被覆電極又は非被覆電極に非共有結合的に結合させることができる。電極はその表面に共有結合的に付着させた化学反応基によって調製することができる。これらの化学反応基には、COOH、OH、NH₂、活性化カルボキシル基（例えば、NHS（ヒドロキシサクシニミド）エステル）、ポリ（エチレングリコール）、チオール、アルキル（(CH₂)_n）基及び/又はそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されるものではない。ある種の化学反応基（例えば、COOH、OH、NH₂、SH、活性化カルボキシル基）を用いて、電極に試薬を結合させることができる。さらに、有用な固定化及びバイオコンジュゲーション技術を参照するには、G. Hermanson、A. Mallia、P. Smith の「Immobilized Affinity Ligand Techniques」、Academic Press、米国カリフォルニア州サンディエゴ、1992 年及び G. Hermanson の「Bioconjugate Techniques」、Aca

demic Press、米国カリフォルニア州サンディエゴ、1996年を参照されたい。

【0082】

好適な実施例では、NHSエステル基を用いて求核性化学官能基（例えば、アミン）を担持する他の分子又は材料を付着させる。好適な実施例では、求核性化学官能基は、自然に、且つ/又は、化学的な被覆によって、生体分子上及び/又は生体分子中に存在する。適切な生体分子の例には、アミノ酸、タンパク質及びその機能性断片、抗体、抗体の結合断片、酵素、核酸及びそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されるものではない。これは多くのこのような可能な技術の1つであり、一般には、ここで挙げた例及び他の多くの類似の材料及び/又は生体分子に適用可能である。好適な実施例では、NHSエステル基によって、ECLに使用することができる試薬を電極に付着させることができる。

10

【0083】

電極への材料の非特異的結合を制御することが好ましいであろう。単に非限定的な例を挙げると、タンパク質、抗体、抗体の断片、細胞、細胞内粒子、ウイルス、血清及び/又はその成分の1つ又は複数、ECL標識（例えば、 $Ru^{II}(bpy)_3$ 及び $Ru^{III}(bpy)_3$ 誘導体）、シュウ酸塩、トリアルキルアミン、抗原、被検体、及び/又はこれらの混合物の非特異的吸着を阻止又は低減させることが好ましい。別の例では、生体分子の結合を増強することが好ましい。

【0084】

（ブロック基としても知られている）非特異的結合を低減又は阻止する1つ又は複数の化学的部分が、電極の上、中、又は電極に近接して存在してよい。このような部分、例えば、PEG部分及び/又は帯電した残留物（例えば、リン酸塩、アンモニウムイオン）が電極に取り付けられるか、又は電極上に被覆されてよい。有用なブロック試薬の例には、タンパク質（例えば、血清アルブミン及び免疫グロブリン）、核酸、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシド、ポリエチレンオキシド及びポリプロピレンオキシドのブロック共重合体、ポリエチレンイミン、及び洗剤又は界面活性剤（例えば、Brij, Triton, Tween, Thesit, Lubrol, Genapol, Pluronic（例えば、F108）、Tetronic, Tergitol、及びSpanの商標で知られている非イオン性の洗剤/界面活性剤のクラス）がある。

20

【0085】

非特異的結合を低減させるために、電極に使用される材料は界面活性剤で処理されてよい。例えば、電極は当業者には周知の界面活性剤及び/又は洗剤（例えば、Tween, Triton, Pluronic（例えば、F108）、Span、及びBrijシリーズの洗剤）で処理されてよい。PEG及び/又はPEGと同様の作用をする分子（例えば、オリゴサッカライド又はポリサッカライド、他の親水性オリゴマー又はポリマー）（「1992年、Plenum Press、Harris, J.M. Editor、Polyethylene glycol chemistry: Biochemical and Biomedical Applications」）の溶液が、界面活性剤及び/又は洗剤の代わりに且つ/又はそれと共に使用されてよい。上記に示したものなどのある実体の望ましくない非特異的吸着は遮断剤の競合的非特異的吸着によって、例えば、ウシ血清アルブミン（BSA）、カゼイン、又は免疫グロブリンG（IgG）などのタンパク質によって阻止することができる。電極上にアッセイ試薬を吸着又は共有結合させた後、表面上の残りの非占有部位を遮断するように遮断剤で電極を処理してよい。

30

40

【0086】

好ましい実施例では、（共有結合的又は非共有結合的な手段で）生体分子その他のアッセイ試薬を、カーボン含有材料、例えば、カーボンインク、カーボンブラック、フィブリル及び/又は別の材料中に分散させたカーボンに固定化することが望ましいかもしれない。抗体、抗体の断片、タンパク質、酵素、酵素基質、阻害剤、補因子、抗原、ハプテン、リポタンパク質、リポサッカライド、細胞、細胞内成分、細胞受容体、ウイルス、核酸、抗原、脂質、糖タンパク質、炭水化物、ペプチド、アミノ酸、ホルモン、タンパク質結合

50

性リガンド、薬剤、及び/又はそれらの組合せを付着させることができる。非生物体を付着させることが望ましいこともある。こうした非生物体は、ポリマー、エラストマー、ゲル、コーティング、ECタグ、酸化還元活性種（例えば、トリプロピルアミン、オキサレート）、無機材料、キレート剤、リンカー等であるが、これらに限定されるものではない。複数の化学種を同時に吸着させて、電極表面上に混合層を形成することができる。生体物質（例えば、タンパク質）を受動的吸着によってカーボンを含んだ電極上に固定化することが最も好ましい。驚くべきことに、生体膜（例えば、細胞、細胞膜、膜断片、膜小胞、リポソーム、細胞小器官、ウイルス、バクテリア等）を、膜成分の活動又はそれらの結合試薬への接触性を壊すことなく、カーボン上に直接吸着させることができる（例えば、（参照により本願明細書に組み入れた、2002年7月29日に出願された「Assay Electrodes Having Immobilized Lipid/Protein Layers, Methods Of Making The same And Methods Of Using The Same For Luminescence Test Measurements」と題する）米国特許同時係属出願第10/208526号を参照すること）。

10

【0087】

アッセイモジュールで使用される電極は、好適には、非多孔質であるが、いくつかの応用例では、多孔質電極（例えば、カーボンファイバ又は微小繊維のマット、焼結金属、及び、濾過膜、紙又はその他の多孔質基板上に付着させた金属フィルム）を使用することが有利である。このような応用例には、i）（例えば、溶液中の分子を電極表面上の分子に結合させる速度を増加させるために）電極表面への質量移動を増大させ、ii）電極表面上の粒子を捕捉し、且つ/又は、iii）ウェルから液体を除去するために、電極を通した溶液の濾過が含まれる。

20

【0088】

好ましいアッセイモジュールでは、誘電体インク、フィルムその他の電氣的絶縁材料（以降、誘電体と呼ぶ）を用いることができる。本発明では、誘電体を用いて、電極間の電氣的接続性を妨げ、パタン化領域を画定し、材料を互いに粘着させ（すなわち、接着剤として）、材料を支持し、マスクとして、しるしとしてアッセイ領域を定め、且つ/又はアッセイ試薬及び他の流体を保持することができる。誘電体は、非導電性であり、有利には非多孔質であり（すなわち、材料を透過させない）、電極が誘導する発光測定で使用される培地の存在下で溶解又は劣化し難い。本発明では、このような誘電体は、液体、ゲル、固体、又は基材中に分散させた材料であってよい。これらを非硬化の形態で付着させ、硬化させて固体にすることができる。これらは、インク、固体フィルム、テープ、又はシートであってよい。誘電体に使用される材料には、ポリマー、フォトレジスト、プラスチック、接着剤、ゲル、ガラス、非導電性インク、非導電性ペースト、セラミック、紙、エラストマー、シリコーン、熱可塑性物質が含まれる。本発明の誘電体材料は好適にはシリコーンを実質的に含まない。非導電性インクの例には、UV硬化性誘電体、例えば、Acheson Colloids社（例えば、Acheson 451SS、452SS、PF-455、PD039A、PF-021、ML25251、ML25240、ML25265、及びElectrodag 38DJB16 clear）、Nazdar社（例えば、Nazdar GS2081 3400SPL）、及びE. I. du Pont de Nemours and社（例えば、Dupont 5018、3571、及び5017）により製造される材料が含まれる。

30

40

【0089】

ある好適な実施例の誘電体は、例えば、印刷、吹付け、積層などの種々の手段で付着させるか、又は接着剤、粘着剤、溶剤、又は機械式ファスナを使用して取り付けられてよい。誘電体層中のパタン及び/又は穴は、成型加工（すなわち、層の作成中に）により、選択的エッチングにより、且つ/又は、打抜き又はレーザ穿孔などの切断加工により形成することができる。誘電体は、確立されたフォトリソグラフィ技術（例えば、半導体エレクトロニクス業界で使用される術）の使用、及び/又は（例えば、マスクを通した付着によ

50

る)蒸着又はCVD法を用いたパタン付着によってパタンとして付着且つ/又はエッチングされてよい。好適な実施例では、印刷(例えば、インクジェット印刷、レーザプリント、より好適にはスクリーン印刷)によって基板上に誘電体インクを付着させ、任意にはUV硬化させる。スクリーン印刷した誘電体は、溶剤ベースの誘電体よりも縁部の画定を改善することができるUV硬化性であることが好ましい。別の実施例では、接着剤を用いて支持体に非導電性ポリマーフィルムを付着させる。

【0090】

電極上又はそれに隣接して印刷した誘電体インクを使用して電極表面の領域に流体を閉じ込めるとき、誘電体フィルムは、 $0.5 \sim 100 \mu\text{m}$ 、より好適には $2 \sim 30 \mu\text{m}$ 、最も好適には $8 \sim 12 \mu\text{m}$ の厚さを有し、急峻な壁を有する鋭角に定められた縁部を有する

10

【0091】

ECLベースのアッセイを支援するのに必要な種々のコンポーネント及びプロセスを小型化することによって、ECLを誘起させる新規なアプローチからも利益を受けることができる。ECLを誘起するとき、作用電極及び対向電極は、ECL信号の強度及び空間分布に対する溶液中の電圧低下の影響を最小限にするように相互に相対的に近接していることが好ましい。複数の測定を同じ溶液体積で行う場合、(電気化学回路を形成するように)測定の各々は(電気化学発光が誘起される)近接した作用電極、及び対向電極を使用することが好ましい。可能性のある一構成は、測定の各々が個々自身の電極対を有することである。しかし、この構成は最大の体積、空間、及びデバイス上の電気接点数を必要とするであろう。別の構成は測定の各々が、再利用される共通の対向電極を共有することである。図3f及び3gは共通の対向電極を使用する可能な別のアプローチを示している。この図からわかるように、各構成の検出チャンバ(例えば、検出チャンバ341)は、作用電極(例えば、作用電極315)及び単一の共通する対向電極311を共に収容するために、依然として大きな空間を必要とするであろう。さらに、各々の作用電極-対向電極対の相対的寸法及び間隔は各対の相対的パフォーマンスに影響を及ぼすであろう。したがって、図3f及び3gに示したように、単一の共通の対向電極を採用した構成は、各々の作用電極-対向電極対の相対的寸法及び間隔がほぼ等しくなるように確実にすることが好ましいであろう。作用電極は1次元アレイで配置されることが好ましく、このアレイはフローセルの流路に沿って配置されていることが好ましい。共通の対向電極も作用電極の各々

20

30

【0092】

好適な一実施例では、実施可能な最大の程度にまでカートリッジを小型化するため、故に必要な大きさ及びスペースを著しく縮小するために、電極のペアワイズ形態の発射スキームを採用することができる。この好適なペアワイズ形態の発射スキーム、すなわち電極のペア化スキームは、好適には、犠牲的な、つまり最初の測定のための専用の対向電極を使用し、その後先に発射した(「発射した」とは、作用電極の電位を、例えば、作用電極において電気化学発光を発生するのに十分な電位を印加した後の表面の状態を言う)作用電極を次の測定のための次の対向電極として使用できることであろう。驚くべきことに以下で説明するように、タンパク質でコーティングされていない電極を対向電極として使用することも、その電極が作用電極既に一度発射されたという事実も、対向電極として使用されるその電極のパフォーマンスに影響を及ぼさず、これによって電極を作用電極及び対向電極の両方として二役電極として使用することができるということが認められた。

40

【0093】

50

図3 a ~ 3 e はペアワイズ形態の発射スキームを採用した電極アレイ用の可能な別の構成を示している。図3 a は1つ又は複数の検出チャンバ内で使用できる1列の電極を示している(ここでは1つの検出チャンバ340を点線で示している)。電極は一次元アレイで配置されることが好ましい。任意には、検出チャンバと接触する電極表面積は、電極層上に付着された(電極層上に円で示した)誘電体フィルムの開口部によって定められる。一実施例では、電極310は専用の対向電極として構成されてよく、電極305~309は二役電極として構成されてよく、電極315は専用の作用電極として構成されてよい。この電極列は、検出チャンバへの入口及び出口ライン内の流体と接触するように配置され得る、電極へのリード線上にインピーダンスセンサ325を有する。インピーダンスセンサは電極層上に付着された誘電体フィルムの開口部によって定められるのが好ましい。図3 a の電極アレイは、電気接点及びリード線が電極の一方の側に設置されて制御ユニットとの結合を単純化できる構成を使用している。図3 b は電気接点及びリード線が電極のいずれかの側に交互に設置された別の構成を示している。このような交互になった構成によって、(例えば、流体入口ライン及び流体出口ラインが電極の交互の側にあるインピーダンスセンサと各々接触するように配置することによって)検出チャンバからの出入り両方の間に、流体の検査ができるようにインピーダンスセンサを電気リード線の各々の上に設置することが可能となる。

10

【0094】

図3 c ~ 3 e は複数の検出チャンバを使用した構成を示している。特に図3 c 及び3 d は2列の電極を使用した2つの検出チャンバを示している。図3 d は1セットの接点リード線用の電極が対向して設置された検出チャンバ内にある構成を示している。このような構成により、より緻密な電極アレイ及びインピーダンスセンサを各リード線上に設置できる能力などのさらなる利点を得ることができる。検出チャンバの各々を交互に処理することができるので、インピーダンスセンサを各リード線上に設置することができる。すなわち、流体はまず検出チャンバの上に導かれてすべてのアッセイが行われ、その後流体は残りのアッセイを処理するために他方の検出チャンバへと導かれる。

20

【0095】

図3 e は4つの検出チャンバを利用した実施例を示している。図3 e は検出チャンバの各々において共通の単一の対向電極を採用した電極アレイを示しているが、そのような構成は上記のペアワイズ形態の発射スキームを用いて使用することもできることに留意されたい。

30

【0096】

図3 a ~ 3 g に示した電極アレイはプラスチックのフィルム又はシートなどの支持体上で支持されるのが好ましい。検出チャンバは開口部がその上に形成された第2のカートリッジコンポーネントに支持体を結合することによって形成される(任意には、このような形状は少なくとも部分的にはガスケットと電極支持体及び第2のカートリッジコンポーネントとの間に形成される)のが好ましい。図1 c の説明を参照すること。

【0097】

電極をペア化するスキームを用いれば、結果として先に使用した電極を用いたアッセイが、次に作用電極になる対向電極としてのその機能に影響を及ぼすかもしれないと考えられていたので、3つの異なるタンパク質コーティングを用いてその影響を判定する実験を考案した。3つのタンパク質、すなわち、アビジン、CK-MB(クレアチンキナーゼMB)捕捉抗体、及びウシIgGの影響を測定した。(コーティング済、未コーティング、及び未使用の)種々の対向電極を用いて、未コーティングの電極についてトリプロピルアミンを含んだバッファの10nMのルテニウムトリスピリジン溶液のBCLを測定した。この結果を表2に記載した。この表では、 $ECL_{firedCE}$ は先に作用電極として発射した対向電極と対にしたときの作用電極からのECLを示し、 $ECL_{virginCE}$ は先に作用電極として発射していない対向電極と対にしたときの作用電極からのECLを示す。観察されたECL信号はすべて相互の実験誤差の範囲内にあり、表面上にタンパク質が存在する場合も作用電極として先に使用した場合も対向電極としての表面のパフォ

40

50

ーマンスに何ら影響を及ぼさなかったという予期せぬ結果を示している。

【 0 0 9 8 】

【表 2】

対向電極上のタンパク質	ECL _{fired CE}	ECL _{virgin CE}
抗-CK-MB	199	207
無	199	197
アビジン	181	205
IgG	203	214

10

表 2 Free TAG ECL 生成におけるタンパク質コーティング及び対向電極として先に使用した電極への酸化電位印加の影響

【 0 0 9 9 】

単なる例示として図 4 を参照して、単一の検出チャンバ内にペアワイズ形態の発射スキームを採用した簡略化した電極アレイの動作を記載する。この動作上の例示のために、流体入口ライン 4 5 0 を通した標本、アッセイ試薬、洗浄溶液、及びノ又はバッファの導入については記載しない。アッセイを実行するのに必要な構成要素の各々はこの例のために検出チャンバ内に存在していることを理解されたい。電極の少なくとも 1 つは専用の対抗電極、例えば 4 0 1 として動作し、故にアッセイ試薬はその電極上に固定化されないであろう。電極 4 0 2 ~ 4 0 7 の上にはアッセイ試薬が固定化されるであろう。電極 4 0 2 ~ 4 0 6 は二役電極として使用され、電極 4 0 7 は専用の作用電極として使用される。図示したように、電極は好適には検出チャンバ内の流体経路に沿って 1 次元アレイ（最も好適には、直線状のアレイ）として配置される。専用の対向電極 4 0 1 はまず隣接する二役電極 4 0 2 と共に使用され、この場合二役電極は作用電極として働いて二役電極 4 0 2 において所望のアッセイを実行するであろう。その後、二役電極 4 0 2 は対向電極として働き、二役電極 4 0 3 と共にペアワイズとして発射されるが、この場合二役電極 4 0 3 は作用電極として働いて二役電極 4 0 3 において所望のアッセイを実行するであろう。このペアワイズの発射は電極対 4 0 6 及び 4 0 7 が動作するまで残りの電極について継続する。この最後の残りの対は対向電極として二役電極 4 0 6 を操作し、作用電極として専用の作用電極 4 0 7 を操作して、専用の作用電極 4 0 7 において所望のアッセイを実行するであろう。特定の発射において使用される電極対は相互に隣接して（すなわち、その間には他の電極は存在しない）、その間の場所に位置する電極からの E C L の望ましくない放出を回避する。

20

30

【 0 1 0 0 】

カートリッジにパタン化した電極を使用すれば、ある固有の設計及びノ又はパフォーマンスの制限を課すことになるかもしれない。特に、パタン化した電極リード線を使用すれば、特に比較的高い電流を必要とすることが多い電気化学発光のような用途においては、リード線に沿った電圧低下に関わる問題が生じる恐れがある。この問題はカーボンインクなどのほんの緩やかな導電性材料の薄層を含んだ電極を使用した場合に、最大となることが多い。この問題は（カーボンインクなどの導電性が緩やかな露出した材料の導電率は、銀インクなどのより導電性のある材料上に印刷することによって大きくなる）パタン化した多層電極の使用によって部分的に緩和されるかもしれないが、この方法は製造工程が多くなる。別の場合には、この問題は、（好適には、電極と電気接点との間の抵抗が 5 0 0 未満、より好適には 3 0 0 未満、最も好適には 1 0 0 未満になるように）電圧低下を最小にするようにリード線を短く保つこと及び電圧低下を電極毎に一貫したものになるようにリード線をほぼ同じ長さに保つことによって、複数のアッセイ電極を有するシステムにおいて部分的に緩和されるかもしれない。

40

【 0 1 0 1 】

50

複数の作用電極を備えたアッセイモジュールでは、電極リード線にわたる電圧低下の電極毎の変動は、この変動性が測定の変動性に与える影響が最小になるように、アッセイ測定の過程に印加される電位よりも小さいことが好ましい。特に好適な実施例では、リード線にわたる電圧低下の変動性は、アッセイ測定の過程に印加される電位の20%未満であり、より好適には10%未満、又は最も好適には2%未満である。別の場合には、リード線の均一性はリード線にわたる抵抗の変動性の観点で説明することができ、この抵抗の変動性は好適には50%未満、より好適には10%未満、最も好適には1%未満である。

【0102】

電極及び/又は接点の配置がリード線を均一な長さに保つことが困難な場合、リード線抵抗のマッチングは、電極リード線の各々の長さ対幅の比を幾何学的にマッチングする(一貫した印刷厚を想定)ことによって達成することができる。この長さ対幅の比を以降「numbers of squares」と呼ぶ。典型的には、スクリーン印刷されたカーボンインクを用いた好適なカートリッジベースの構成では、電極リード線は約4~5スクエアである。市販のインクは典型的には抵抗/厚さ²(例えば、 Ω/mm^2)で指定されるインク抵抗を有し、選択されるインクに応じて変動し得る。特に好適な実施例では、約15 Ω/mm^2 のインク抵抗を有するカーボンインクが使用される。好適な一実施例のリード線両端で測定される総抵抗は、典型的には5スクエアのリード線を用いた構成については約450 Ω である。

【0103】

図2はカートリッジベースの標本/試薬の混合/供給のための必要条件を有するフォームファクタに組み込むことのできる、ECLを生成するアドレス可能な電極アレイの好適な一実施例を示している。図示したように、接点205及びリード線210を用いて、カートリッジと接触、すなわち結合するように適合されたアドレス可能な電極内の電極215を制御ユニット(図示せず)によって制御できる。リード線210両端の抵抗はアッセイ測定中の総セル抵抗の大部分を表すので、各リード線両端の抵抗をできるだけ近くマッチさせることが好ましい。図示のように、リード線の長さは電極及び接点の位置に応じて変化するが、幅は均一なリード線抵抗が得られるようにリード線の長さ対幅の比が一定に保たれるように変えられる(この図中の幅は原寸大ではなく、強調のために誇張してある)。

【0104】

複数の目的用の電極アレイを使用することは、付加的なコンポーネントの必要性がなくなるので、カートリッジベースのデバイスの小型化に有用である。本発明の別の態様によれば、この電極アレイは有利には、流体の存在の検出、取り込まれた空気の状態の検出、及び/又は標本タイプの識別のために使用することもできる。インピーダンス測定を用いてカートリッジのルーチン中の細胞の状態を監視できることが好ましい。この測定はインキュベーション中及び洗浄工程の後に電極上又はその上方に空気を取り込まれているか否かを判断することができる。さらに、インピーダンス測定によって、電極アレイを用いてカートリッジ内に引き出された異なる標本タイプを区別すること、例えば、尿、唾液、血清、血漿、又は全血の標本の識別を行い、且つ必要となるかもしれない必要な調整を行うことも可能となる。

【0105】

インピーダンス測定を実行することによってカートリッジの動作を監視するのに電極アレイを使用することに関連する利点は多数あり得る。次のECL測定に影響を及ぼすことなく低電圧の直流、又は好適には交流波形を印加することができるので、このような方法で電極アレイを使用すれば、非破壊検査の実行が可能となる。また、この電極アレイによって実行されるインピーダンス測定は他のカートリッジの動作に比して比較的高速である。またさらに、この電極アレイによって実行されるインピーダンス測定は非常に正確であり、好適には他のセンサ、例えば圧力センサ、光センサ等と共に使用され得る。

【0106】

低電圧では、検出が行われる領域、すなわち、リードチャンバ内に設置した電極はシリーズのRC回路のように働く。これは流体の存在、望ましくない気泡の存在の確認するか又はリードチャンバ内の標本種のタイプを識別するためのフェイルセーフ機構の開発に適したモデルであることが証明されている。実際、取り込まれた空気は電極表面の上又は溶液バルクの中に存在するであろうことが認められている。本発明によれば、電極に対する空気の場所が重要である。一実施例によれば、抵抗測定を利用してバルク溶液中の及び電極/溶液界面において取り込まれた空気に反応し易い指標を提供することができる。別の実施例によれば、容量測定を利用して界面において取り込まれた空気に主として反応し易い指標を提供することができる。さらに別の代替的实施例では、ECL測定中の電気化学的電流(例えば、ECL中のTPA酸化電流)を用いてECL中に取り込まれた空気を検出してよいが、この測定は標本導入及びインキュベーション相中に取り込まれた空気に関連する情報を提供しないであろうし、ECL測定の前に修正工程を実行できるようにしないであろう。

10

【0107】

容量測定の使用に関し、関連する容量は二重層容量である。平行板の容量は約1MHz以下の周波数では重要では微小であるので、無視するのが好ましい。電極の各々は二重層容量を有する。二重層容量は周波数依存が小さいので、真のコンデンサであることに留意されたい。有利には、この容量は大きさによってではなく、界面における変化(例えば、電極表面上の気泡の取り込みに起因する電極の有効面積の変化)によって主に影響を受ける。したがって、容量を用いて電極/溶液界面の気泡を検出することが好ましい。好適には、容量測定には10~40000Hz、より好適には20~2000Hz、さらに好適には50~400Hz、最も好適には約200Hzの周波数のAC電圧入力を使用する。取り込まれた空気以外の他の要因、例えば、電極の印刷のエラーは電極の有効面積を、故に測定容量を変えるかもしれない。容量の測定を用いて、このような要因のほか気泡も調べることができ、またそれを用いて、容量値が許容範囲を外れる場合には誤り標識を引き起こすことができるか、又は別の場合には、レポートされるECL信号を正常化して実際の電極面積を補償することができる。

20

【0108】

抵抗測定を用いることに関し、関連する抵抗は溶液及びリード線の抵抗である。溶液抵抗は周波数依存性が小さくなるであろうことが認められている。この提供はバルク溶液の変化によって(例えば、バルク溶液を通る電流の流れに干渉する気泡によって)、及び電極/溶液界面における変化によって影響を受ける(例えば、界面において取り込まれた空気は電極の有効面積を低減させ、故に抵抗を増大させるといった影響を及ぼす)。溶液抵抗も電極と接触する溶液の性質に非常に反応し易いと考えられ、この抵抗を用いて標本を識別することもできる。

30

【0109】

インピーダンスの抵抗成分(同相)及び容量成分(異相)は、従来のインピーダンス分析回路を用いて、好適には、両成分がインピーダンスに著しい影響を及ぼす電圧波形及び/又は抵抗がインピーダンスの重要な成分である少なくとも1つの周波数及び容量がインピーダンスの重要な成分である少なくとも1つの周波数を含んだ複数の周波数を有する電圧波形を用いて同時に測定できる。別の場合には、抵抗成分及び容量成分は、好適には測定される成分の影響を最大にする周波数で、別個に測定されてよい。例えば、高い周波数では表面容量の影響は最小化され、インピーダンスは主に溶液抵抗に起因するものである。本発明の好適な一実施例では、溶液抵抗は、2000Hzを超える、より好適には2000~100000Hzの範囲の、最も好適には約20000Hzの周波数を有する電圧波形を印加することによって測定される。

40

【0110】

生化学アッセイは多様な工程又は種々の後処理要件を有するかもしれないので(例えば、血液標本はプラズマ標本とは異なって処理されるかもしれない)、標本マトリクスの識別は非常に重要になり得る。表3及び4は、実験用カートリッジ内の電極に低電圧のAC

50

励起電圧を印加することによって異なる5つのマトリクスについて得られた抵抗値及び容量値を記載している。この電極アレイはスクリーン印刷したカーボン電極から構成し、その露出した表面はカーボンインク上に印刷したバタン化した誘電体層によって定めた。インピーダンス測定は表に示した周波数において0.010V rmsに等しい励起電圧を用いて、25で行った。容量測定については、すべて(又はほぼすべて)の電圧低下が容量素子にわたって発生する周波数を使用することが望ましいので、200Hzの周波数を用いたが、これはこの周波数が結果として95%を超える電圧低下が二重層の容量にわたって発生することがわかっているためである。すなわち、ソリューションロスにはほぼ無視できる。シリーズのRCモデルを用いて抵抗及び容量を算出した。

【0111】

表3及び4に示すように、容量は種々の標本マトリクス間で殆ど変化しなかったが、抵抗はそのマトリクス間で非常に大きく変動していることがわかる。

【0112】

【表3】

マトリクス	容量 (μ F, 200Hz)
アッセイバッファ	0.023
生食水	0.021
血清	0.019
血漿	0.018
血液	0.020

表3 容量測定を用いた標本識別 (位相角: 76~82度)

【0113】

【表4】

マトリクス	抵抗 (Ω , 20,000Hz)
アッセイバッファ	2516
生食水	3722
血清	3996
血漿	4158
血液	7039

表4 抵抗測定を用いた標本識別 (リード抵抗700 Ω を含む。位相角: 12~16度)

【0114】

ある好適な実施例では、取り込まれた空気は電気化学的電流(例えば、ECL中のTPA酸化からの電流)の著しい低下を引き起こし得るので、ECLの誘導中に測定される電気化学的電流を用いて電極にわたって取り込まれた空気の状態を検出することができる。図5はある電極アレイから放出されたECLの画像を示している。電極の1つは電極表面上に小さな気泡が存在するために小さな黒点500がある。またこのような小さな泡は、ECL試験中にその電極で測定される電気化学的電流の検出可能な変化を発生した。気泡存在下の電流(178 μ A)はその他の電極の電流の平均(187 μ A)とは大きく(5%だけ)異なった。取り込まれた空気以外の他の要因、例えば、電極の印刷のエラーは電

10

20

30

40

50

極の有効面積を、故に測定電流を変えるかもしれない。ECL中の電流の測定を用いて、このような要因のほか気泡も調べることができ、またそれを用いて、容量値が許容範囲を外れる場合には誤り標識を引き起こすことができるか、又は別の場合には、レポートされるECL信号を正常化して実際の電極面積を補償することができる。

【0115】

上記の気泡検出方法を用いて流体の存在、流体中の気泡の存在を検出することもでき、且つ/又は検出フローセル外でアッセイカートリッジのコンパートメント中の標本のクラスを識別することもできる。例えば、アッセイカートリッジのある好適な実施例はカートリッジフローセルから流体を導入且つ除去する流体入口ライン及び/又は出口ラインを備え、該入口ライン及び/又は出口ラインは流体の存在、流体中の気泡の存在を検出し、且つ/又は標本を識別する流体検出電極を含む。このような流体検出電極は独立した電極リード線及び接点を有してよい。カートリッジに対する電気接点数を少なくするように、このような流体検出電極は、アッセイ電極（例えば、アッセイカートリッジフローセルのアッセイ電極）へのリード線の露出した表面を含むことが好ましい。この構成では、所与の流体量中の露出したリード線（例えば、入口ライン及び出口ライン）は、アッセイ測定において共に発射されるであろう2つの電極（例えば、ECL測定において作用電極 - 対向電極対として使用される）からのリード線を含まないことがさらに好ましい。この方法では、アッセイ測定は露出したリード線間の抵抗の低い電流経路による影響を受けないことが保証される。

【0116】

図4に示した単純化した実施例を参照すると、流体入口ライン450内の流体存在の検出及び/又は識別のためにインピーダンスセンサ425の使用についてここで記載する。インピーダンスセンサ425は電極401~407と電極接点420との間の電極リード線上の導電性表面の領域である。この導電性表面は好適には電極リード線上にパタン化された誘電層の開口部を通して露出されている。流体が（例えば、ポンプ、弁、毛細管流等を用いて）流体入口ライン450の中を導かれるとき、インピーダンスセンサ425は、センサ対間に検査電位（この検査電位はアッセイ電極においてECLを誘導するのに要するものよりも低いことが好ましい）を印加して流体を検出且つ/又は識別するコントローラ（図示せず）によって起動されてよい。入口ラインの気泡又は流体の位置はインピーダンスを順次測定して、その値を比較することによって判断することができる。センサは隣接する電極が例えばECL測定中に発射されるときにアッセイ電極両端の電位がセンサ間の電流によって短絡しないように、交流の電極リード線上に存在している。

【0117】

本発明の別の態様によれば、電極表面は試薬を含んだ溶液を電極上の1つ又は複数の適した場所、すなわち、捕捉表面に分注することによって、抗体などのアッセイ試薬又は他の特異的結合試薬で被覆される。アッセイ試薬は（例えば、共有結合、非特異的吸着、又は特異的結合相互作用の形成により）その表面上に集まって、電極上に固定化層を形成することが好ましい。好適な実施例では、指定の場所に正確な量を送り届けることによって、結果として所望の電極表面のみ及び/又はその表面の所望の部分のみが完全に被覆される。指定の場所に正確な量を送り届けることは、市販の分注機器、例えば、BioDot社から市販されている装置を用いて容易に達成され得る。

【0118】

液体（例えば、アッセイ試薬又はアッセイ試薬を含んだ液体）を局所的に付着させて表面（例えば、アッセイ電極）上の所定領域を完全に被覆することは、（カーボンインク電極上の界面活性剤を含まない水溶液に関して認められているように）表面の液体の進入接触角が高いと、表面上での液体の拡散が阻止されてしまうので達成が困難であろう。表面を化学的に改質してその表面がより濡れ性を高めることによって、又は液体に界面活性剤を添加することによって拡散し易くすることができるが、多くの場合、表面又は液体の物理的性質を変えることは望ましくない。別の場合には、われわれはインパクトドライブ式

10

20

30

40

50

の拡散技術を用いることによって、高い接触角ヒステリシス（すなわち、表面上の進入接触角と後退接触角との差が大きい、好適には10度を超える、より好適には30度を超える、さらに好適には50度を超える、もっとも好適には70度を超える）を有するカーボンインク電極などの表面上で優れた且つ良好な液体の拡散の制御を達成できることを認めた。このような結果は表面を改質することなく又は界面活性剤を用いることなく達成できる。流体は、高い進入接触角にもかかわらず、表面上で液体が分散された流体の量及び速度によって決定されるサイズにまで拡散するのを促進するように、（好適には、マイクロピペット、マイクロシリンジ、電磁弁制御式マイクロ分注器、圧電駆動式分注器、インクジェット印刷機、パブルジェット（登録商標）印刷機等の流体マイクロ分注器を用いて）高速（好適には200cm/秒を超えて、より好適には500cm/秒最も好適には800cm/秒を超え）で表面上に付着される。インパクトドライブ式の拡散技術を用いれば、所定の量の液体で、定常状態の表面上の所定量の液体の拡散面積（すなわち、ゼロに達する速度で表面と接触するとき、その所定量を有する液滴が拡散する面積）よりも著しく広い（好適には、少なくとも1.2倍、より好適には少なくとも2倍、さらに一層好適には少なくとも5倍の）表面の領域を被覆することが可能である。

【0119】

被覆する領域は、付着した液体を所定領域（例えば、周囲の引っ張り又は凹部、表面上に付着又は印刷したパタン化材料で形成された境界、及び/又は濡れ性などの物理的性質が変化する周囲領域との界面により形成される境界）に閉じ込める障壁として働く物理的境界によって定められることが好ましい。液体は所定領域上よりも周囲領域上でより高い後退接触角（好適には、その差は10度を超える、より好適には30度を超える、最も好適には50度を超える）を有することがより好ましい。この周囲領域も液体に対して低い接触角ヒステリシス（好適には20度未満、最も好適には10度未満）を示すことがさらに一層好ましい。高い後退接触角及び/又は低いヒステリシスを有する周囲領域を用いることによって、付着速度又は拡散速度の不正性に対する耐性は著しく改善される。ある好適な付着方法では、少量の試薬が所定領域にわたって及び僅かに周囲領域の上に拡散するのに十分な速度で所定領域上に分注され、次に、この液体は周囲領域から（その高い後退接触角に起因して）引っ込むが、（その低い後退接触角に起因して）所定エリアの大きさよりも小さくは引っ込まない。本発明の特に好適な実施例では、所定エリアは電極（好適にはカーボンインク電極）の露出したエリアであり、周囲領域は電極上にパタン化した誘電体インクによって与えられる。

【0120】

図8は電磁弁制御型マイクロ分注器（Bio-Dot Microdispenser、Bio-Dot社）を用いて好適な誘電体インク及び好適なカーボンインク上で観察した250nLの水滴の付着の典型的な接触角を示している。この図は分注器の先端を離れるときの流体の速度の関数として接触角を示している。低速では、観察された接触角は表面上の水の進入接触角に近い。速度が上がると、インパクト駆動式の拡散によって液体はより広い面積に拡散し、接触角は小さくなることが観察された。高速では、表面上の液体の後退接触角に接近するにしたがって、接触角は速度と相対的に関係がなくなることが観察され、この後退接触角は液体が表面で有し得る最小の接触角である（接触角が小さくなると、液滴はその後退接触角に達するまで後退する）。

【0121】

上記のように、抗体又は他の特異的結合試薬などのアッセイ試薬は（例えば、インパクト駆動式の拡散により）試薬を含んだ溶液を表面（例えば、電極表面、好適にはカーボンインク電極表面）上の所定の場所に付着させ、且つ（例えば、共有結合、非特異的相互作用及び/又は特異的結合相互作用により）試薬を固定化することによってパタン化することができる。被覆する領域は流体を含んだ領域を形成するように、付着した流体を所定の領域（例えば、周囲の棚部分又は凹部、表面上に付着又は印刷したパタン化した材料によって形成された境界、及び/又は濡れ性などの物理的性質が変化する周囲領域との界面を介して形成された境界）に閉じ込めるための障壁として働く物理的境界によって定められ

ることが好ましい。

【0122】

ある好適な実施例では、抗体又は他の結合試薬（好適にはタンパク性の結合試薬）は非特異的吸着によってカーボンインク電極上に固定化させる。この固定化手順中にアッセイ試薬を電極上で乾燥できるようにすることが有利であろう。この固定化手順は、表面上のコーティングされていない部位をタンパク溶液（例えば、BSA又はカゼインの溶液）などの遮断剤で遮断し、その表面を洗浄溶液（好適には、界面活性剤、遮断剤、及び/又は糖などのタンパク安定剤を含んだ緩衝液）で洗浄し、且つ/又はその表面を乾燥させる工程をさらに含む。

【0123】

本発明の好適な固定化手順では、カーボンインクなどの表面上に吸着する種々のアッセイ試薬の能力の変化に起因する不正確さは、第1及び第2の結合パートナーを伴う特異的結合相互作用を利用して固定化することによって低減される。このような固定化技術は表面の性質の小さな変化による影響を受け難い。一例を挙げると、抗体結合試薬（第2の結合パートナー、例えば、anti-species抗体、タンパク質A、タンパク質G、タンパク質L等）でコーティングした表面上に抗体溶液（第1の結合パートナー）をパタン化して付着させることによって、抗体をパタン化することができる。別の場合には、第2の結合パートナー（好適には、抗ビオチン、ストレプトアビジン、又はより好適には、アビジン）でコーティングした表面上にアッセイ試薬をパタン化して付着させることによって、第1の結合パートナー（好適にはビオチン）で標識したアッセイ試薬をパタン化することができる。最も好適には、第2の結合パートナーをアッセイ試薬と同じパタンで付着させる。分析によれば、この方法は、ハプテン-抗体、核酸-相補的核酸、受容体-リガンド、金属-金属配位子、糖-レクチン、ポロン酸-ジオール等を含むがこれに限定されない種々の知られている第1の結合パートナー-第2の結合パートナーの対の任意のものを使用するように適合され得る。

【0124】

したがって、本発明の固定化方法の一実施例は、(i)表面（好適にはカーボンインク電極表面）の所定の領域を第2の結合パートナーを含んだ溶液を用いて、前記表面の所定領域内に第2の結合パートナー（好適にはアビジン）の吸着された捕捉層（又は、別の場合には共有結合層）を形成するように処理することによって、(ii)前記所定領域内の捕捉層を、第2の結合パートナーを結合する、第1の結合パートナー（好適には、ビオチンで標識したアッセイ試薬）に結合されたか又はそれを含んだアッセイ試薬を用いて処理することによって、アッセイ試薬を含んだアッセイ領域を形成する工程を含む。マイクロ分注技術を用いて第2の結合パートナー及び/又は結合試薬を所定領域内にパタン化（より好適には両方ともパタン化する）することが好ましい。所定の領域は少量の液体を所定領域に閉じ込めるように適合された（好適には表面上にパタン化した誘電体層によって定められた）境界によって定められることがより好ましい。

【0125】

処理工程は所定領域上で溶液を乾燥させる工程を含んでよい。第2の結合パートナーを結合させる工程とアッセイ試薬を結合させる工程との間に、1つ又は複数の洗浄溶液で表面を洗浄して未結合の過剰な結合パートナーを除去することが有利かもしれない。この洗浄溶液は界面活性剤及び/又は遮断剤を含んでいることが好ましい。アッセイ試薬を固定化した後、1つ又は複数の洗浄溶液で表面を洗浄して未結合のアッセイ試薬を除去することが有利かもしれない。この洗浄溶液は界面活性剤、遮断剤、及び/又は糖などのタンパク安定剤を含んでいることが好ましい。有用な遮断剤には、遊離結合部位を遮断するように、当該分野で標準的な遮断剤（BSA、カゼイン等）のほか第1の結合パートナー（例えば、遊離ビオチン）を含んだ遮断剤も含む。洗浄工程には洗浄液を添加及び除去するための同心管を採用した本発明を用いた洗浄技術を採用してよい。任意には、長期間保管用の調整を行った後、表面を乾燥させる。

【0126】

所定領域に塗布される第2の結合試薬及びアッセイ試薬の量は表面に染み込ませるのに要する量以下であることが好ましい。表面に染み込ませるのに要する量にほぼ等しい量を選択することによって、過剰な未結合の試薬の量及び未結合の部位の量を共に最少にすることが可能であり、故に洗浄又は遮断工程の必要がなくなる。別の実施例では、アッセイ試薬の量を捕捉層の利用可能な結合部位の量以下に維持して、結合能力が固定化された第2の結合パートナーの量によってではなく、添加されるアッセイ試薬の量によって決定されることを確実にする（これにより、例えば第2の結合パートナーの吸着の効果が変動することの影響が低減される）。

【0127】

この方法は複数の所定領域に固定化されたアッセイ試薬を含んだ複数のアッセイ領域を形成する工程に応用することができる。この場合、本方法は所定の領域の各々について単純に繰り返される。アッセイ領域の少なくとも2つは、対象とする被検体に対する選択性が異なるアッセイ試薬を含むことが好ましい。複数のアッセイ領域を形成する場合、固定化した第2の結合パートナー上の過剰な結合部位を遮断するために、最終生成物を第1の結合パートナー（被検体に特異的な成分のアッセイ試薬ではない）を含んだ遮断剤で遮断することが特に有利である。すなわち、この手順によって、所定領域上の過剰なアッセイ試薬に起因するアッセイのクロストークが、第1の結合パートナー - 第2の結合パートナーの相互作用によって異なるアッセイ領域まで拡散して結合することが妨げられる。例えば、アビジンを結合（又は他のFc結合受容体）させた後にビオチンで標識した抗体を結合させるという2段階の手順を用いた後、表面は遊離ビオチンで遮断されてよい。別の場合には、タンパク質Aを結合させた後に対象の被検体に対抗する抗体を結合させるという2段階の手順を用いた後、異なる抗体、又はより好適にはある抗体のFc断片を用いて表面が遮断されてよい。

【0128】

ある場合には、カーボンインクなどの表面上に吸着されたアッセイ試薬は時間とともに表面からゆっくりと分離するかもしれないということが観察された。この分離は吸着したアッセイ試薬を使用するアッセイに干渉するかもしれない遊離アッセイ試薬を生じさせることになる。固定化した科学種の分子量が大きくなり、且つ表面との接触地点がより多くなるように吸着したアッセイ試薬を架橋することによって、この分離は著しく遅くなりうる。したがって、上記の固定化方法では、第2の結合パートナーを架橋して表面の調整及び/又は保管中の試薬の分離を最小にすることが好ましい。この架橋は標準的な化学架橋剤を用いた共有結合によって行うことができる。別の場合には、架橋は特異的結合相互作用によって行われる。本発明の好適な実施例では、第2の結合パートナーは多価（すなわち、第1の結合パートナーに対して複数の結合部位を有する）であり、多価の第1の結合パートナー又は複数の第1の結合パートナーを含んだ分子のいずれかである架橋試薬と第2の結合パートナーを結合させることによって架橋される。この実施例では、架橋剤の量は、第2の結合パートナー上の使用可能な結合部位のすべてに染み込ませることなく有益な量の架橋を提供するように選択される。この架橋は第2の結合パートナーを固定化した後に形成されてよいが、固定化の前に溶液中で形成されることが好ましい。有利には、この架橋手順はより安定した表面を形成するように働くだけでなく、緻密な単層以上に第2の結合パートナーを固定化できるようにすることによって（例えば、重合した第2の結合パートナーを溶液にすることによって）、表面上の使用可能な結合部位の数（すなわち、表面の結合能）を増大させるようにも働くことを見出した。

【0129】

一例を挙げると、アビジン（ビオチンに対して4つの結合部位を有する四量体の結合タンパク質）を架橋して、1つのタンパク分子につき複数のビオチン標識を有するビオチンで標識した少量の架橋剤（例えば、BSAなどのタンパク質）を用いてポリ-アビジンを形成する。次に、例えば上記の固定化方法を用いて、ポリ-アビジンを固定化し、ビオチンで標識したアッセイ試薬を固定化するための捕獲表面として使用する。ビオチン-タンパク質の量は、固定化したポリ-アビジンを用いてビオチンで標識した第1の結合試薬（

10

20

30

40

50

例えば、ビオチンで標識した抗体)を捕獲できるように、使用可能な十分なビオチン結合部位を残しながら架橋できるように選択される。ビオチンで標識した架橋剤は、分子当たり少なくとも2個の、より好適には少なくとも4個の、又はより好適には少なくとも8個のビオチンを含んでいることが好ましい。架橋剤のモル等量の数、0.01~4であるのが好ましく、より好適には0.01~1、さらに一層好適には0.01~0.25、さらにまた好適には0.05~0.25、最も好適には0.05~0.10である。固定化に用いるアビジンの濃度は好適には50~1000 µg/mL、より好適には100~800 µg/mL、最も好適には約400 µg/Lであった。分析によれば、このような方法ではアビジンは他のストレプトアビジンなどの多価のビオチンに特異的な受容体に置き換えられてよい。

10

【0130】

カーボンインク電極上のポリ-アビジン捕獲層及び/又は本発明の2段階固定化手順を用いることの利点を実証するために実験を行った。このような実験ではプラスチック基体上にパタン化したスクリーン印刷したカーボンインク電極を用いた。作用電極はカーボンインク電極上にスクリーン印刷したパタン化した誘電層によって形成された約3 mm²の露出した円形エリアを有した。この基体も対向電極として使用される少なくとも1つの付加的なカーボンインク電極を有した。露出した電極エリア上に(Bio-Dot分注器を用いて)試薬を含んだ少量(200~300 nL)の溶液を付着させ(溶液は誘電層によって露出した電極エリアに閉じ込められている)、該溶液を電極上で乾燥させることによって試薬を固定化した。適した量のアビジンとビオチン-BSAを混合し、15分間イン

20

【0131】

アビジン(200 nLの75 µg/mLのアビジン溶液で処理)及びポリ-アビジン(200 nLの75 µg/mLのアビジン及び3.1 µg/mLのビオチンで標識したBSAを含んだ溶液で処理し、その溶液を一晩乾燥させた。このBSAは4倍のビオチン-LC-スルホNHSEステルで標識し、ビオチン対BSAの想定される比は約2~3である)で電極を被覆した。この基体を水で洗浄し、次に電極を100 µg/mLのビオチンで標識した抗TSH抗体を含んだ300 nLの溶液で処理した。この電極を水で洗浄し、カートリッジに組み込み、このカートリッジを20 µIU/mLのTSH及びスルホTAGNHSEステル(MSD)、すなわち電気化学発光標識で標識した12 µg/mLの抗TSH抗体を含んだ溶液に導入した。このカートリッジを8分間インキュベートして結合反応を生じさせ、次にMSDアッセイ緩衝液をフローセルに入れることにより基体を洗浄し、ECLを測定した。ポリ-アビジンで処理した電極から放出された平均的な電気化学発光強度(1652ユニット)は、アビジンで処理した電極から放出されたもの(602ユニット)の約3倍となった。理論を考慮に入れないとすると、ポリ-アビジンで処理した電極の信号が高くなると、ポリ-アビジンで処理した電極上の結合部位の数は増え、且つ/又はポリ-アビジン電極を洗い流し、カートリッジの他の表面に吸着するアビジンの量は低減する(これにより電極上の結合部位と競合する)と考えられる。

30

40

【0132】

抗TSH抗体の直接吸着(抗TSH抗体の100 µg/mL溶液で電極を処理による)をポリ-アビジン層を用いた固定化と比較した(但し、上記のようにポリ-アビジン溶液は400 µg/mLのアビジン及び25 µg/mLのビオチン-BSAを含み、ビオチン

50

で標識した抗TSH抗体の濃度は100ug/mLとした)。この結果、ポリ-アビジン(2207)による固定化を用いて得られた信号は直接吸着(1264)を用いた場合の約2倍となった。さらに、2段階固定化プロトコルによってより正確な結果が得られることがわかった。つまり、変動計数(CV)は2段階固定化法を用いた場合に1/3以下となった。

【0133】

ポリ-アビジン層は電気化学発光標識で標識したアビジン(タンパク質当たり平均して0.3Sulfo-TAG NHS標識)を用いることによってさらに特徴付けられる。3種類の溶液(i)アビジン75ug/mL、(ii)アビジン75ug/mL及びBSA25ug/mL、(iii)アビジン75ug/mL及びビオチン-BSA25ug/mLのうちの1つを用いて電極を処理した。全溶液には0.0035%Triton X-100を含んだ。電極を水で洗浄し、MSD Assay Bufferに浸漬し、ECLを測定した。ポリ-アビジン(アビジン及びビオチン-BSA)のすべての成分で処理したところ、アビジン単独(85235)又はBSAで未標識のアビジン(65570)で処理した場合に比べて約2倍のECL信号(150981)が得られ、ポリ-アビジンのパフォーマンスの改善には架橋が必要であることが実証された。他の電極よりもポリ-アビジンの場合に、ECLの強度が電極にわたってより一層均一になることも明らかとなった。

【0134】

別の実験では、標識して固定化したアビジン及びポリ-アビジンをi)未洗浄、又はii)BSAを含んだ溶液に2時間曝露した後、リン酸緩衝生理食塩水で広範に洗浄した。この実験では、アビジン濃度は0.5mg/mL、アビジン対ビオチン-BSAの比は16:1とし、標識したアビジンを未標識のアビジンと(1:100で)混合して全体的な信号を低減させた。この実験を未処理電極及び酸素プラズマで処理した電極について行った。以下の表は、ポリ-アビジンを使用すれば、広範に洗浄したタンパク質を含んだ溶液に曝露させた後の表面からのアビジンの損を実質的に低減させることを示している。

【0135】

【表5】

	未処理電極				プラズマ処理電極			
	アビジン		ポリ-アビジン		アビジン		ポリ-アビジン	
	信号	% 残り	信号	% 残り	信号	% 残り	信号	% 残り
未洗浄	21,107		26,618		10,871		18,512	
洗浄	9,545	45	18,845	71	3,332	31	14,024	76

【0136】

(例えば、最も好適には、このような溶液の付着をパタン化してアッセイ試薬を含んだアッセイ領域のアレイを形成することによって)固相アッセイに使用するために電極表面上にアッセイ試薬を固定化した後、アッセイ電極を洗浄して未結合のアッセイ試薬を除去することによってアッセイのパフォーマンスが向上することが多い。この洗浄工程は未結合のアッセイ試薬がアッセイに干渉する恐れがある場合(例えば、未結合の抗体は電極表面上の抗体への被検体の捕獲と競合することによって干渉するかもしれない)には特に有用である。この洗浄工程は未結合の試薬が他の望ましくない場所において吸着する能力を最小化する手順を用いて実行することが好ましい。例えば、あるアッセイモジュール内の電極上のアッセイ領域の上に抗体を固定化した後、洗浄工程は非電極表面への未結合の抗体の吸着を最小化することが好ましいであろう(非電極表面上に吸着された抗体は被検体の電極上に固定化された抗体との結合のために競合することによって結合アッセイに干渉する)。さらに一層重要なことは、対象とする種々の被検体に固有の複数のアッセイ領域を伴うアレイ型測定では、洗浄工程は1つのアッセイ領域からの未結合のアッセイ試薬の拡散及び異なるアッセイ領域上のその吸着を最小化すべきである(このプロセスはアッセイのクロストークをもたらず)。

【 0 1 3 7 】

われわれは同心円の管状の分注/吸引治具を用いてアッセイ領域を局所的に洗浄することによって、所定の場所外でのアッセイ試薬の望ましくない吸着を阻止できることを見出した。図7a及び7bは、アッセイモジュール内の単一のアッセイ領域を洗浄するか、又は同心円の管状構造体を各アッセイ電極の上に位置決めすることによってアッセイモジュール内の複数のアッセイ領域を順次洗浄するのに使用することのできる単一の同心円の管状構造体を備えた洗浄治具が構成された一実施例を示している。しかし、本発明は単一の同心円の管状デバイスに限定されるものではなく、好適にはアッセイ領域と同じパターン及び間隔で配置された、好適には同心円管のアレイを使用することができることを理解すべきである。洗浄流体は内管710を通して分注されることが好ましい。操作中、流体が内管から外管へと移動するとき、アッセイ領域表面の上を通して、外管の直径によって限定されたエリア内のアッセイ領域を洗浄することが好ましい。この図は基体730上にパターン化されたカーボンインク電極720を洗浄するのに使用される同心円管を示しており、電極720の露出した表面は、電極720上で流体を含んだ領域を形成する境界として働くパターン化した誘電体層725によって定められている。分析によれば、同心円管を用いて種々の他の表面上のアッセイ領域を洗浄することができ、このアッセイ領域は流体境界によって定められるのが好ましいが、必ずしも必要ではない。この管は外管が洗浄される領域外の領域まで流体が拡散するのを阻止するように十分に高い効果で流体を除去するように構成されることが好ましい。別の実施例では、内管及び外管の機能は、洗浄流体が外管を通して分散され、内管を介して中央で吸引されるように逆転してもよい。このような管の配置によって、アッセイ領域上の未結合のアッセイ試薬がアッセイモジュールの他の表面と接触するのが妨げられる。

10

20

【 0 1 3 8 】

別の代替的な実施例では、3つの同心円状の管を有する管構造体を用いてアッセイ領域上にアッセイ試薬をパターン化し、洗浄する。第1のチューブ（好適には内管）を用いてアッセイ領域上にアッセイ試薬をマイクロ分注する。この管は好適には（任意には電磁弁流量コントローラを有する）マイクロシリンジ又は圧電分注器などの低容量用の流体分注コントローラに結合される。第2の管（好適には中間管）を用いて過剰なアッセイ試薬を吸引し、且つ/又はアッセイ領域から試薬を洗浄する。第3の管（好適には外側管）を用いてアッセイ領域から過剰なアッセイ試薬を吸引する及び/又は試薬を洗浄する。この構成を用いて、単一のデバイスを用いてアッセイ領域上にアッセイ試薬を（例えば、アッセイ領域上にアッセイ試薬の固定化を局在化するように）分注することができ、またアッセイ領域から過剰なアッセイ試薬を洗浄することができ、このような操作は隣接する表面をアッセイ試薬で汚染することなく行われる。任意には、このようなデバイスのアレイを用いてアッセイ領域のアレイをパターン化及び洗浄する。

30

【 0 1 3 9 】

本発明は一部にはアッセイカートリッジに関する。本発明のアッセイカートリッジは1つ又は複数のコンパートメント、ウェル、チャンバ、流体導管、流体ポート/ベント、弁等の流体コンポーネント、及び/又は、電極、電極接点、センサ（例えば、電気化学センサ、流体センサ、質量センサ、光センサ、容量センサ、インピーダンスセンサ、光導波路等）、検出窓（例えば、吸光度、光散乱、光屈折、光反射、蛍光、リン光、化学発光、電気化学発光等のカートリッジ内の標本の光学的測定を可能にするように構成された窓）等の1つ又は複数の検出コンポーネントを組み込んでいる。カートリッジは結合剤、検出可能な標識、標本処理試薬、洗浄溶液、緩衝液等のアッセイを実行する試薬を含んでもよい。この試薬は液体、固体、及び/又はカートリッジ内に存在する固相支持体の表面上に固定化された状態で存在してよい。本発明のある好適な実施例は、（上記のような電極アレイ及び/又は結合領域図1～4に記載した記載した電極アレイ）を有する検出チャンバを含む。

40

【 0 1 4 0 】

流体コンポーネントをカートリッジボディ内に設計且つ組み込んで、ある所定のデザイ

50

ンガイドラインを用いて流体ネットワークを形成することが好ましい。各コンポーネントのデザインガイドラインは、例えばカートリッジボディの設計（すなわち、シングルピースのボディ、複数ピースのボディ、モジュール式ボディ、単一の読取りチャンバ、複数の読取りチャンバ等）、製造工程（例えば、射出成形、ブロー成形、ホットスタンピング、鋳造、マシンニング等）、材料（例えば、アクリル系、P V D F、P E T、ポリスチレン、ポリプロピレン等）、アッセイ要件（例えば、結合アッセイ、競合結合アッセイ、1段階アッセイ、2段階アッセイ等）、機能的要件（例えば、標本サイズ、アッセイ試薬の量、検出技術、time - t o - r e s u l t、インキュベーション、加熱、混合/攪拌）、安全性/取扱い要件（例えば、自己汚染、規制の認可、使い易さ等）、及び/又は等などの1つ又は複数の要因に左右され得る。

10

【0141】

当業者であれば本発明のカートリッジの製造に適した材料を容易に選択できるであろう。適した材料には、ガラス、セラミック、金属、及び/又はアクリルポリマー（L u s i t e など）、アセタール樹脂（D e l r i n など）、フッ化ビニリデン樹脂（P V D F）、ポリエチレンテレフタレート（P E T）、ポリテトラフルオロエチレン（例えば、T e f l o n）、ポリスチレン、ポリプロピレン、A B S、P E E K等のプラスチックが挙げられる。この材料はカートリッジの使用又は保管中に該材料と接触する任意の溶液/試薬に対して不活性であることが好ましい。ある好適な実施例では、カートリッジの少なくとも一部分は、流体又はカートリッジ内部の表面の光学的検査、例えば、カートリッジの検出チャンバ内の組成の分析又はカートリッジ内に形成された流体ネットワークを通過する液体の移動の監視及び制御を可能にする窓を提供するように、ガラス又はアクリルポリマーなどの透明及び/又は半透明の材料から製造される。

20

【0142】

本発明の好適な一実施例は1つ又は複数の標本チャンバ、1つ又は複数の検出チャンバ（好適には、上記のようなE C L測定に使用されるように適合された検出チャンバ）、及び1つ又は複数の廃棄物チャンバを含んだカートリッジである。このチャンバは標本チャンバ内に導入される標本が1つ又は複数の検出チャンバ内に送り込まれて分析された後、1つ又は複数の廃棄物チャンバ内に通されて廃棄されるように、流体導管によって連続して接続されている。好適には、カートリッジは液体試薬を格納する1つ又は複数の試薬チャンバも含み、該試薬チャンバは指定の標本又は検出チャンバ内に液体試薬を導入できるように導管を介して他のコンポーネントに接続されている。このカートリッジはチャンバ内の流体を大気と平衡状態にできるように、或いは正圧又は負圧を加えることによって指定のチャンバの中に、又はそこから外に流体の動きを導くことができるように、標本チャンバ、検出チャンバ及び/又は廃棄物チャンバと（直接か又は通気管を介して）流体的に連通するベントポートを含んでもよい。

30

【0143】

別の実施例では、標本チャンバ及び廃棄物チャンバは共に、第1及び第2の入口/出口導管を有する検出チャンバ（好適には、細長形の形状を有する検出チャンバであり、入口/出口導管はその細長形の寸法の両端において又はその近傍に配置される）の上流側に配置される。このカートリッジは、第1の入口/出口導管を介して検出チャンバ内に標本を導入し、次に、流れを逆にして標本流体を第1の入口/出口導管の外に出して廃棄物チャンバまで導くことができるように構成されている。試薬チャンバは検出チャンバの下流側に設置され、且つカートリッジは第2の入口/出口導管を介して検出チャンバに試薬を導入できるように（すなわち、標本の導入に対して「逆流」で）構成されていることが好ましい。この配置は標本の強い干渉を被る測定に特によく適しており、逆流は検出かチャンバから残存する標本を洗い出すときに特に有効である。この実施例は、亜硝酸を含んだ抽出緩衝液（例えば、参照により本願明細書に組み入れた、2002年12月26日に出願された「Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction」と題された米国特許仮出願第60/436591号に開示された抽出方法及び試薬を参照すること）中の標本のマーカ（例えば、グラ

40

50

△陽性菌の細胞壁マーカー)のためのECLベースのアッセイにおいて特に有用である。本発明の好適な一実施例は、連鎖球菌種及び任意にはインフルエンザA型及びB型ウイルス並びにRSウイルスなどの他の病原体を含む上気道の病原体のパネルに関し、逆流洗浄工程を用いてECL結合アッセイを行うように構成されたカートリッジを使用する(好適には、病原体のマーカーに対する抗体のアレイを用いることによって、このアレイは好適には1つ又は複数の電極上に形成され、最も好適には上記及び図1~4に記載の電極アレイである)。

【0144】

逆方向の流れの洗浄によって亜硝酸がECL測定に及ぼす悪影響が著しく低減される。好適な実施例では、この洗浄効果は、洗浄後に検出チャンバ内に残っている標本(又は試薬)の断片が1/1000未満、より好適には1/10000未満、さらに好適には1/100000未満になるようなものである。

【0145】

標本チャンバはカートリッジ内で分析される標本を受け取るように適合されたカートリッジ内に定められたチャンバである。この標本チャンバは標本をチャンバ内に導入する標本導入口を含む。この導入口は好適には標本チャンバへのアクセスを提供するカートリッジの開口部である。別の場合には、導入口は例えばニードル又はカニューレを用いて標本を標本チャンバ内に注入することのできる膜又は角膜である。好適には、カートリッジは、標本導入口を密閉し、且つ標本の漏れ及びユーザ及び/又は関連する器具のバイオハザードへの起こり得る曝露を阻止する密閉可能なクロージャも含む。密閉/キャッピング機構は標本チャンバに容易にアクセスし、密閉するように、ヒンジ状の構成を利用するのが好ましい。特に好適な実施例では、密閉/キャッピング機構は柔軟性のあるヒンジ、例えば、ゴム、プラスチック等を組み込んでいる。最も好適には、標本チャンバは標本チャンバを密閉するキャップを含んだ、モジュール式の着脱可能なインサートを収容するように適合且つ構成される。標本チャンバ内でモジュール式の着脱可能なインサートを使用することによって、主要なカートリッジボディの材料を独立して選択できる。別の実施例では、標本導入口の密閉は接着テープを入口に貼ることによって達成される。標本チャンバは液体標本を加えたときに戻る、アッセイを実行する際に使用する乾燥試薬を含んでよい。任意には、標本チャンバはカートリッジ内の標本が気泡になるのを妨げるために消泡剤を含む。

【0146】

標本チャンバは標本チャンバからカートリッジ内の他の流体コンポーネントに流体を運ぶ標本導管に接続されている。標本チャンバは(例えば、流体導管を介して)ベントポート及び/又は試薬チャンバに接続されてもよい。液体標本を受け取る好適な構成では、標本チャンバは標本導管及びベントポートに接続されている。好適な実施例の断面図を図27に示す。標本チャンバ2710は標本導管ポート2720を有し、標本導管2730及び(通気導管2750を介して)標本ベントポート2740に連結されている。標本チャンバ2730は、気泡を導入することなく標本量の大きな断片を効果的に運ぶことができるように、チャンバの底部において又はその近傍で標本導管2710と交差するように配置されるのが有利である。通気導管2750は、起こり得る器具の汚染及び/又は標本流体の漏れを回避するように、標本導管2730の上で、且つ想定される標本重点レベルの高さを超える高さで、標本チャンバ2710と交差するように配置されることが有利である。通気導管2750は、例えば、標本が泡だっているか、又は気泡を有している場合に観察されることもあるように、少量の標本流体がベントポート2740まで引き寄せされることなく導管に入ることができるように、流体導管内で十分な容積を有することが好ましい。一実施例では、図9に示したように、ウェル/トラップ975は流体導管内に配置されてよい。別の実施例では、図20に示したように、流体導管は、例えば蛇行した構成2030を利用して、延在/延長してよい。

【0147】

キャップ2760を用いて標本導入口2720を通気導管2750を通る空気の流れを

妨げることなく密閉することができる。図 27 では、流体コンパートメント及び導管はカートリッジボディ 2770 の凹部（例えば、チャンネル）又は穴によって、且つカートリッジボディ 2770 に対して密閉されたカバー層 2780 によって形成されている。標本チャンバ 2710 は内部柵 2790 を有している。通気導管 2750 はカートリッジボディ 2770 から柵 2790 の上面まで延びる垂直穴を含んでいる。この配置によって、カートリッジボディの射出成形又はマシニングの影響を受け易い製造プロセスは簡素化されるが、他の配置の通気導管も等業者には容易に明白であろう。

【0148】

標本チャンバの一実施例では、別個のベントポート及び通気導管は省かれており、標本導入ポートもベントポートを提供する。例えば、標本導入ポートの開口部もベントポートとして働く。このベントポートは、例えば通気穴を密閉/キャップ機構の上部に組み入れることによって、密閉/キャップ機構の上部を通して設けられてもよい。別の実施例は、カートリッジリーダー自身が可撓性の密閉/キャップ機構の上面を穿孔するように適合且つ構成された穿孔/通気機構を含むことができるスキームを使用してよい。特に好適な実施例では、例えば好適にはエラストマー材料を含む隔壁を用いて、密閉/キャップ機構は、穿孔/通気機構を引出し/除去するときに自立密閉型であるように適合且つ構成されている。自立密閉型のキャップ機構の利点は、一旦穿孔/通気機構を除去したら標本が標本チャンバから漏れることは無いということである。

【0149】

標本チャンバは、例えば、標本自身の中に存在するか、又はスワブ等を用いて標本チャンバに標本を導入した結果存在するかもしれない粒子状物質を除去するフィルタを含んでもよい。好適な実施例は、粒子状物質を除去するだけでなく、例えば特定のアッセイ/アッセイフォーマットが標本として血漿を必要とする場合には血漿から赤血球（RBC）を除去するようにも設計されたフィルタを採用してよい。このようなフィルタは一体型の交差流フィルタ、インラインフィルタ等であり得る。このフィルタは標本導管入口において又はその近傍に配置されることが好ましい。

【0150】

固体マトリクス又は固体（例えば、綿ボール、フィルタペーパー片、等）、アプリケーションスティック、汚れ、食物、スラッジ、糞便、組織等を含むマトリクスから被検体を抽出する好適な実施例では、標本チャンバは、抽出試薬、例えば、参照により本願明細書に組み入れた 2002 年 12 月 26 日に出願された Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction と題する米国特許仮出願第 60/436591 号中に開示された試薬を含んだ試薬チャンバに（例えば、試薬導管を介して）接続される。アプリケーションスティックは、細長形ハンドル（好適にはロッド又は矩形プリズム）及び（好適には吸着材料を、又は別の場合には、表面又は生物組織から標本を採取するように構成された搔爬ブレードを備えた）標本採取ヘッドを備えた標本採取デバイスを意味するものとして本願明細書では使用され、標本採取スワブ及び組織掻き取り器を含む。試薬導管及び標本導管は、試薬導管を通して導入された試薬が標本導管に入る前に標本に通されるように、チャンバの反対端において、又はその近傍で標本を横断するように配置されるのが好ましい。より好適には、標本チャンバは 2 本の導管が長さの反対端において、又はその近傍で交差するように配置された細長形状である。上記のように、標本チャンバは固体材料を除去するフィルタを備えてもよい。固体材料から、特にスワブヘッドに見られるような多孔性メッシュからの被検体を抽出することによって、結果として得られる流体の流れに気泡及び空隙が入り込むかもしれない。標本チャンバ又は下流側の流体コンポーネント（例えば、標本導管）は抽出工程中に入り込む空気を除去するために気泡トラップを含む。

【0151】

図 28 は固体又は固体を含んだマトリクスから被検体を抽出する標本チャンバの例示的な一実施例の断面図を示している。細長形の標本チャンバ 2810 は上記のような密閉可能なクロージャを備えた標本導入口 2820 を有している。この標本チャンバはアプリケ

10

20

30

40

50

ータスティックを、特に吸収性のスワブヘッド 2835 を有するスワブ 2830 を保持しているのがわかる。試薬導管 2840 及び標本導管 2845 は、試薬導管 2840 を介して導入された抽出試薬が標本導管 2845 に入る前にスワブヘッド 2835 を通過するように、スワブ 2835 の両端において標本チャンバ 2810 と交差するように配置されている。任意には、抽出された標本から粒子状物質を除去するためにフィルタ要素 2848 が含まれてよい。挿入されたアプリケーションスティックのヘッド部を囲繞する領域における標本チャンバ 2810 の幅は、アプリケーションスティックの挿入中に当該領域を通過しなければならないアプリケーションスティックの最も幅の広い領域の幅の 2 倍未満であることが好ましい（より好適には 1.5 倍未満、さらに一層好適には 1.2 倍未満、最も好適には 1.0 倍以下である）。別の場合には、挿入されたアプリケーションスティックヘッドを囲繞する領域内の標本チャンバ 2810 の断面積は、その領域を通過しなければならないアプリケーションスティックの最も幅の広い領域の断面積の 4 倍未満、より好適には 2 倍未満、最も好適には 1.0 倍以下である。多孔性の圧縮可能な材料（例えば、多孔性の圧縮可能なヘッドを有するスワブ）から標本を抽出するのに使用する場合、標本チャンバの幅はその幅が材料がチャンバの幅の殆ど又は全部を充填する（抽出緩衝液が材料を最も効果的に流れることを確実にする）ようにアプリケーションスティックヘッド周囲で十分に狭くなっているが、過剰な力を必要とせず、且つカートリッジの表面の外部上に材料内の流体が漏れることなく材料を容易に挿入することができるように十分な幅広くなるように選択される（任意には、両性質は、設置されたアプリケーションスティックに対して、シャフトを囲繞している領域よりもヘッドを囲繞している領域でより狭くなっているチャンバを使用することによって達成されてよい）。ある好適な実施例では、このような性質は少しの時間達成される。有利には、標本口 2820 を密閉すれば、標本チャンバ 2810 からの空気の放出が阻止され、標本導管 2845 からの抽出試薬の汚れた流れを阻止される。任意にはスワブ 2830 及び/又はチャンバ 2810 はスワブ 2830 がチャンバ 2810 内に完全に収まるように設計される。（示したように）別の場合には、アプリケーションスティックはチャンバ 2810 内に入らないほど長い（例えば、喉又は鼻腔から粘膜標本を採取するのに必要な長さは、カートリッジの所望のフォームファクタ内に収まるには長過ぎるかもしれない）、標本収集ヘッドを備えた短くなったスティック断片を作るように、チャンバ 2810 内に導入される前、又は好適には導入された後に、割られる（例えば、折られる、砕かれる、切断されるか、これ以外の場合には分離される）。この短くなった断片はチャンバ 2810 内に収まるように十分な短さであり、クロージャ 2825 を密閉することができる。ある実施例では、例えば、可逆的に着脱可能なヘッドを有するか又はシャフトにシャフトを容易に破壊できる弱点を含むことによって、スワブは容易に分離できるように設計されている。

【0152】

スワブ 2830 などのアプリケーションスティックを標本チャンバ 2810 に導入する 1 つの方法は、i) アプリケーションスティックをチャンバ 2810 内に導入する工程、ii) スワブシャフトを裂いて（ヘッドを含む）ヘッド部分及びシャフト部分を形成する工程、及び iii) クロージャ 2825 を密閉することによってチャンバ 2810 内でヘッド部分を密閉する工程を含む。この方法は iv) 試薬導管 2840 を通して抽出試薬を導入する工程、v) スワブヘッド 2835 に抽出試薬を通すことによってスワブヘッド 2830 から被検体を抽出する工程、及び vi) 標本導管 2845 を通して抽出された被検体を取り出す工程をさらに含んでよい。次に、抽出された被検体を検出チャンバまで導いて分析できる。好適な一実施例では、シャフトはチャンバ 2810 のある端部 2827 でシャフトを折ってチャンバの外に延びるシャフトの一部を除去することができるように、チャンバ 2810 の長さに対して垂直方向にシャフトスワブ 2830 の露出端に力を加えることによって裂かれる。スワブヘッド 2830 はシャフトを裂く前にチャンバ 2810 の反対端に対して位置していることが好ましい。

【0153】

特に好適な実施例では、スワブ 2830 のシャフトは力を加えればスワブ 2830 が弱

10

20

30

40

50

点で再現可能に折れるように、（弱点 2 8 3 7 として示した）弱点を有するように構成されている。スワブシャフトは応力 / 歪み集中形状（切欠き、刻み目等）を含んでいることが好ましい。例えば、この弱点はスワブシャフトをその弱点でより狭くすることによって又はシャフトに「刻み目を入れる」（すなわち、1 つ又は複数の切欠きをシャフトの弱点に切り込むか又はエッチングする）ことによって、導入される。この切欠きはシャフトが任意の方向に折れるようにシャフトを一周していることが好ましい。このような切欠きは、旋盤上でアプリケーションスティックを回しながらシャフトに（例えば、工具又はレーザを用いて）溝を切り込むことによって形成できる。この弱点は、シャフトがチャンバ 2 8 1 0 に挿入されるときに、十分な力を加えたらシャフトが折れるように端部 2 8 2 7 に十分接近しているが、クロージャ 2 8 2 5 を密閉できるようにヘッド 2 8 3 5 に十分に近接した位置にあることが好ましい。

10

【 0 1 5 4 】

標本チャンバは標本内のスワブの容易且つ再現可能な破壊を促進するために付加的な受動的及び / 又は能動的特徴を含んでもよい。受動的特徴には標本チャンバ自身の幾何学的な構成 / 配置（例えば、標本チャンバの長さに沿った湾曲又は角度）、力集束要素（例えば、標本チャンバの内壁からの突出部）等のうちの 1 つ又は複数を含んでよい。能動的特徴にはスワブを裂くために標本チャンバ内に配置且つ構成された 1 つ又は複数の起動可能な機構、例えば、当該デバイスに力を及ぼすユーザが起動することのできるシガーカッターに類似する「裁断」デバイスを含んでよい。

【 0 1 5 5 】

20

図 2 9 は標本チャンバ 2 9 1 0、標本チャンバ 2 8 1 0 の適合を示している。標本チャンバ 2 9 1 0 は、標本チャンバの内壁から突出してチャンバ内で力収束要素を形成する、突出部 2 9 9 0 によって定められたくびれを有する。この図に示したように、標本チャンバ 2 9 1 0 内に位置するスワブ 2 9 3 0 に横力を加えることによって、スワブシャフトを 1 つ又は複数の突出部 2 9 9 0 に接触させる。それにより、この横力はスワブ上の 1 つの場所に集められ、その場所でスワブの破壊を容易にする。スワブ及び標本チャンバはスワブが同じ場所で（弱点 2 9 3 7 として示した）弱点を有するように設計 / 選択されることが好ましい（スワブはその場所で印が付けられるのが好ましい）。

【 0 1 5 6 】

特に好適な実施例では、標本チャンバはアプリケーションスティックを挿入時に屈曲させてシャフトが破壊し易いように構成されている。図 3 0 は標本チャンバ 3 0 1 0、標本チャンバが一方に配向された第 1 の細長形領域（屈曲又は角度の一方の側の上）及び第 2 の方向に配向された第 2 の細長形領域（屈曲又は角度の他方の側の上）を有するようにその長さに沿って屈曲又は角度 3 0 1 5 を有する標本チャンバ 2 8 1 0 の特に好適な適合を示しており、該 2 つの領域は相互に対してある角度を成している。図 3 0 に示したように、スワブ 3 0 3 0 を挿入すると、スワブのシャフト上のある場所と角度又は屈曲の内面上のある部位との間で接触が生まれる。この接触によってその場所の上に力が集中し、（ヘッドセグメント 3 0 7 1 及びシャフトセグメント 3 0 7 2 を形成するように）その場所においてシャフトの破壊が容易になる。標本チャンバの幅はスワブヘッドをぴったりと適合するが、スワブの挿入に角の力を要するほどにはきつくないように設計されることが好ましい。スワブ及び標本チャンバはスワブが接触の場所において又はその近傍において（スワブがその場所でスコアされることが好ましい）、弱点（弱点 3 0 3 7 として示した）を有するように設計 / 選択されることが最も好ましい。出願人らはこの配置によって 1 回の簡単な操作でスワブの挿入及び破壊を同時に行うことが可能であることを見出した。有利には、この破壊は非常に再現可能性があり、カートリッジから標本を圧出し得る激しい動作を行わなくても発生する。好適な湾曲の角度又は程度は 2 0 ~ 9 0 度、より好適には 3 0 ~ 7 0 度、より一層好適には 4 0 度 ~ 5 0 度、最も好適には 4 5 度である。図 2 8、2 9、及び 3 0 はスワブを利用した実施例を示しているが、この技術は他のタイプのアプリケーションスティックに適用できる。

30

40

【 0 1 5 7 】

50

試薬チャンバはカートリッジ内で実行されるアッセイの過程に使用される液体試薬を保持するように適合されたチャンバである。カートリッジの好適な実施例のための試薬チャンバ設計の検討事項は、一部には、そのカートリッジによって実効される特定のアッセイに左右される。例えば、カートリッジはアッセイフォーマットが必要とする試薬の数に応じて1つ以上の試薬チャンバを有する。試薬チャンバに保持されてよい液体試薬には、バッファ、アッセイ用希釈液、結合試薬（例えば、タンパク質、受容体、リガンド、ハプテン、抗体、抗原、核酸等）を含んだ溶液、酵素及び/又は酵素基質を含んだ溶液、対照試薬を含んだ溶液、ECL共同作用物質（例えば、piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)などの第3アミン及びトリプロピルアミン）を含んだECLリードバッファ、洗浄溶液、抗発泡剤、抽出試薬（例えば、洗剤、酸、基剤、亜硝酸、硝酸塩等を含んだ溶液）、等がある。カートリッジは例えばアッセイフォーマットが必要とする試薬の数に応じて1つ以上の試薬チャンバを有してよい。カートリッジの好適な実施例のための試薬チャンバ設計の検討事項は、一部には、そのカートリッジによって実効される特定のアッセイに左右される。試薬チャンバは（任意には、試薬通気導管を介して）試薬ベントポートにも結合されていることが好ましい。このチャンバへの導管接続部の配置は、標本チャンバ、標本導管、及び標本ポートの検討事項に類似する設計検討事項に該当する。すなわち、試薬導管は底部において又はその近傍でチャンバと交差し、且つ試薬通気孔/浮き導管は（使用中のカートリッジの向きに対して）上部において又はその近傍でチャンバと交差することが好ましい。例えば、試薬溶液がカートリッジのフルイディスクを詰まらせるか、別の場合にはアッセイパフォーマンスに悪影響を及ぼすかもしれない粒子を含んでいると予期される場合には、任意には、フィルタ要素が試薬導管の前又は中に設置される。

【0158】

本発明の一実施例では、カートリッジは空っぽか又は乾燥した試薬のみを含んだ1つ又は複数のコンポーネントを有する。アッセイを実行する前に、ユーザ又はカートリッジのリーダーは、（例えば、試薬ベントポートを通して、又は上記の標本導入口に類似する試薬導入口を通して）任意にはチャンバ内の乾燥した試薬を戻すこのようなチャンバ内に液体試薬を分注する。このようにして試薬はアッセイで使用するために調整される。試薬添加後に試薬の漏れを防ぐために密閉可能なクロージャを用いてよい。

【0159】

アッセイが液体試薬の使用を必要とする場合、このような液体試薬の一部又はユーザ又はカートリッジのリーダーが行わなければならない操作の数及び複雑さが最小に抑えられるように、全部は試薬チャンバ内に液体形態で保管されるのが好ましい。好適な一実施例では、試薬チャンバを必須のアッセイ試薬でカートリッジ製造時に充填し、その後密閉することができる。液体試薬を保管するために使用される場合、試薬チャンバは保管中のチャンバからの試薬の漏れ又は蒸発損を防ぐように設計されるべきである。特に好適な実施例では、アッセイ試薬は製造中にカートリッジのアッセイ試薬チャンバ内に組み立てることができるアッセイ試薬モジュールに組み入れられる。漏れ及び蒸発損に対する抵抗性などの所望の性質を有するようにアッセイモジュールを設計することによって、カートリッジの残りの部分の設計及び製造は著しく簡単になる。このような好適な実施例では、アッセイ試薬放出機構が試薬モジュールからアッセイ試薬を放出するカートリッジリーダー内に組み込まれることが好ましいであろう。このアッセイ試薬放出機構は試薬モジュールに係合しその中味を放出/回収するように適合且つ構成されることが好ましい。

【0160】

試薬モジュールはアンプル（例えば、ガラス、プラスチック等）、パウチ（例えば、プラスチック、金属箔、プラスチック/金属箔積層体、ゴム等）、プリスターパック、シリンジ等の容器、又は流体を満たし、次の流体の送出的ためにカートリッジ内に密封且つ落とすことのできる他の任意の容器である。好適な材料にはガラス、優れた水蒸気障壁特性を有するプラスチック（例えば、エチレン及びノルボルネンのコポリマーなどの環状オレフィンコポリマー、ナイロン6、ポリエチレンナフタレート、ポリ塩化ビニリデン及びポ

10

20

30

40

50

リクロトリフルオロエチレン)、及び、その化学的不活性及び蒸発損に対する抵抗性に起因して金属箔/プラスチック積層体があるが、他の適した材料も当業者には明白であろう。アンプルはガラス又は硬質プラスチックなどに当たると粉碎又は破壊され得る材料を含むことが好ましい。壊れ易いアンプルを組み込んだ実施例は、アンプルを破裂させる結果生じ得る断片の実質的にすべてが流体ネットワークに入ることができないようにするとともに、流体の流れをできる限り遮断/阻止できないように確実にするために、フィルタを含むことも好ましい。図19はカートリッジの断面平面図であり、フィルタ1515、1516がチャンバ1510及び1511の底部にあることがわかる。このようなフィルタは対応するチャンバ内に一体的に成形/機械加工、エッチング/等されてよい。別の場合には、カートリッジボディの底面図を示す図20に示したように、フィルタ2020、2021は製造/組立プロセス中に対応するチャンバ内に組み込まれる別個のコンポーネント、例えば、フィルタインサートを係合的に収容するように配置且つ構成されたチャンバ内のレセプタクル内に挿入/折り込むことのできるフィルタインサートであってよい。

【0161】

壊れ易いアンプルの内容物を放出するアッセイ試薬放出機構は、起動されてアンプルに力を及ぼす、例えば、アンプルに鋭い一撃を加えることによりアンプルを破壊してその内容物をアッセイ試薬チャンバ内に放出する単純な機械的デバイスであってよい。図21はアッセイ試薬アンプル2120、2121を採用した試薬チャンバの好適な一実施例を示している。最も好適には柔軟性材料から製造されたカバー層(図示せず)は、アンプルが破壊された後に液体がカートリッジから漏出しないようにカートリッジボディの上部に密閉されることが好ましい(図14のカバー層1401を参照)。図21も、好適には続いてアンプルに力を及ぼす柔軟性のあるカバー層を打ちつけることによって(同時に、好適には、カバー層は放出された液体を試薬チャンバに閉じ込めるように原型を保ったままで)、ハンマ要素2115がアンプルを打ちつけるように起動され得るアッセイ放出機構2110(好適には、カートリッジリーダーのコンポーネントである)を示している。適切な衝撃力でアンプルを打ちつけることによって、アンプルがより完全に破壊されてアッセイ試薬がより効果的に放出されることが認められた。しかし、力をゆっくりと加えると大きさが増大するので、最終的にアンプルの破壊は破裂が完全ではなくなり、試薬放出の効果が弱いものになってしまう。

【0162】

別の実施例では、小袋又はプリスターパックなどの穿孔可能な容器が採用されてよい。穿孔可能な容器はプラスチックフィルム、金属箔、又は最も好適には金属箔/プラスチックフィルムの積層物から製造された穿孔可能な壁を有することが好ましい。このような実施例では、アッセイ試薬放出機構は穿孔スキームを採用するかもしれない。図22は穿孔可能な容器を保持する試薬チャンバの好適な1実施例の分解図である。試薬チャンバ2210はチャンバの底部に位置する穿孔先端部2212を有している。チャンバ2210は試薬導管2216に接続され、又任意には通気導管(図示せず)に接続される。試薬モジュール2220は好適には射出成形されたプラスチックから製造されたモジュールボディ2230を含んでおり、このモジュールは第1の開口部2232及び第2の開口部2234を有する流体コンパートメントの壁を形成する。流体は第1の開口部カバー2242及び第2の開口部カバー2244によってコンパートメント内に密閉され、このカバーはプラスチック-金属積層物(最も好適には、アルミニウムで被覆されたマイラーフィルム)から製造されていることが好ましい。モジュール2220は、チャンバ2210内でモジュール2220を適切に整列させ、且つ穿孔要素2212の上の高くなった位置においてモジュールを保持するように、チャンバ溝2214内に嵌合するツマミ2250を有していることも好ましい。チャンバ2210はモジュール2220を破壊した後にチャンバからの試薬の漏れを阻止するチャンバカバー層を有していることも好ましい。好適には可撓性のチャンバカバー層を介して閾値の下向きの力をモジュール2220に印加すると、モジュール2220は先端部2212に押圧されて、第1の開口部カバー2242を穿孔してチャンバ内に試薬を放出する。モジュール2220は片持ばりを介してモジュール壁に

10

20

30

40

50

取り付けられた第2の穿孔先端部2236を含んでいることも好ましい(この第2の穿孔要素及び片持ばりはモジュールボディと一体になっていることが好ましい。このようなコンポーネントは例えば射出成形により容易に製造可能である)。穿孔先端部2212が第2の先端要素2236を用いてモジュール内で第1の開口部2242を穿孔すると、穿孔先端部2212は該先端要素が第2の開口部カバー2234を穿孔するまで第2の先端要素2236を押圧し、これにより第2の開口部がモジュール2220に形成されるとともにその小袋からの流体の抽出が促進、すなわち小袋自身が通気される。

【0163】

別の代替的实施例では、液体試薬はシリンジチャンバ及びプランジャを含んだシリンジ内に保管されている。このチャンバはカートリッジの一体部品、カートリッジに挿入されるモジュール、又は使用前に(例えば、Luer-Lock接続により)カートリッジに取り付けられる別個のコンポーネントであってよい。プランジャを起動させることによりシリンジの内容物を試薬チャンバに放出することができるか、又は別の場合には、カートリッジの他の流体コンポーネントに内容物を直接移送することができる。

10

【0164】

カートリッジベースのアッセイシステムに関する重要な検討事項は、使用前のカートリッジの長期保管、すなわちカートリッジの「貯蔵寿命」に関する。あるアッセイ試薬(特に、生物学的試薬及び/又は酵素、酵素基質、抗体、タンパク質、受容体、リガンド、ハプテン、抗原、核酸等の結合試薬)は、液体媒体に溶解される場合には、貯蔵寿命を延ばすためには特別な取扱い及び保管を要する。ある場合には、液体に溶解されたアッセイ試薬が特別な取扱い及び保管要件に厳しく準拠して取扱い及び保管が行われた場合であっても、その貯蔵寿命は実行不可能なほど短い。さらに、特別な取扱い及び保管要件を遵守しなければならないので、そのような試薬を用いたカートリッジベースのアッセイは複雑になり、コストもかかる。より安定性のある乾燥形態の、又は脱水した形態のアッセイ試薬を用いれば、無くすことはできないにしても、特別な取扱い及び保管要件を少なくすることができ、システムの複雑さ及びコストを最小限に抑えることができる。乾燥試薬を使用すれば、混合操作を単純化し、カートリッジの体積及び重量を低減させることができる。乾燥形態に含んでよい試薬には、生物学的試薬、結合試薬、pH緩衝液、洗剤、抗発泡剤、抽出試薬、遮断剤等がある。乾燥試薬は糖(例えば、スクロース又はトレハロース)などの乾燥試薬を安定化するのに使用される賦形剤を含んでもよい。アッセイが酸性又は塩基性の標本(例えば、本質的に酸性/塩基性の標本、及び/又は酸性及び/又は塩基性の試薬で抽出されたか、又はそれで処理された標本)に遭遇する場合、乾燥試薬は中和剤(例えば、酸、塩基のpH緩衝液)を含んでよい。亜硝酸を用いた標本の抽出を伴う特に好適な実施例では、抽出された標本は塩基、より好適にはその塩基形態の緩衝剤(例えば、トリス緩衝液、ヘペス緩衝液、リン酸緩衝液、PIPES緩衝液等)を含んだ乾燥試薬上を通される。抽出した標本のpHをその標本に対して行われる次のアッセイ反応(例えば、結合試薬との結合相互作用)と適合する値にするために、十分な量の塩基又は緩衝剤が含まれる。

20

30

【0165】

乾燥試薬は多様な方法でカートリッジベースのアッセイシステムに使用されてよい。上記のように、乾燥試薬はユーザ又はカートリッジリーダー装置によって使用される前に充填された試薬チャンバ内に保管されてよい。同じく、乾燥試薬は流体導管又はチャンバ内などの他の流体コンポーネント内、最も好適には標本チャンバ及び検出チャンバを接続する流体導管内に保管されてよい。液体(例えば、液体標本又は液体試薬)が導管又はチャンバに導入されるか、又はそこを通過すると、乾燥試薬は溶解する。乾燥試薬は適した流体コンポーネント内に乾燥試薬を付着させることによって、例えば乾燥試薬を粉末又はパレットの形態で付着させるか、又はスクリーン印刷インクとして乾燥試薬を組み込むことによって、カートリッジの製造中に挿入されてよい。別の場合には、試薬を溶液の中に入れて、その後乾燥させて溶剤を除去してよい。好適な一実施例では、乾燥された試薬は、試薬を含んだ溶液を1つ又は複数の所定の場所内に付着させた後、液体標本又は適した溶剤を

40

50

添加すると乾燥試薬が溶液中に溶解する条件下で、試薬を乾燥させて乾燥試薬錠剤を形成することによって基体上で形成されてよい。本願明細書では「錠剤」という用語は全体的に、基体上にある乾燥しているが再溶解可能なある量の試薬を意味し、特定の3次元形状を包含するものではない。本願明細書では、基体上の錠剤の場所を「錠剤ゾーン」と呼ぶ。基体はカートリッジのコンポーネント、例えばカートリッジボディ、チャンバ、カバー層、電極アレイ等であることが好ましい。錠剤ゾーンの適した場所には液体試薬及び標本が検出チャンバに導入される前に乾燥試薬を獲得するように標本チャンバ、試薬チャンバ、標本導管、及び試薬導管を含む。別の場合には、試薬錠剤はアッセイモジュール自身の中に設置されてよい。図13aに示した好適な実施例では、乾燥試薬錠剤は所定の2つの錠剤ゾーン内のカバー層1322上に形成される。別の実施例では、試薬チャンバはアン

10

【0166】

乾燥した試薬が付着される錠剤ゾーンは付着された溶液（及び故に、溶液を乾燥させた後に残った試薬）の体積を基体の特定の領域に閉じ込める境界によって定められてよい。本発明の好適な一実施例によれば、カートリッジは境界面によって境界が区切られた錠剤ゾーンを含み、この境界面は隆起しているか又は低くなっている（好適には低くなっている）且つ/又は錠剤ゾーンとは異なる疎水性がある（好適にはより疎水性がある）。境界面は錠剤ゾーン内の基体表面に対して、 $0.5 \sim 200 \mu\text{m}$ だけ、又はより好適には $2 \sim 30 \mu\text{m}$ だけ、或いは最も好適には $8 \sim 12 \mu\text{m}$ だけより高くなっていることが好ましい。好適なのは、この境界面は急峻に形成された端部を有すること（すなわち、錠剤ゾーンと境界との間の界面において急勾配の境界壁及び/又は鋭角を提供する）がさらに一層好ましい。錠剤ゾーン表面の水に対する接触角は、境界よりも 10 度未満、好適には 15 度未満、より好適には 20 度未満、より好適には 30 度未満、さらに一層好適には 40 度未満、及び最も好適には 50 度未満であることが好ましい。

20

【0167】

好適な一実施例では、錠剤ゾーンは基体への凹状の切欠又は成形によって定められる。別の実施例では、錠剤ゾーンの境界面は基体上に塗布された境界材料によって形成される。一例では、錠剤ゾーンは基体に塗布されたフィルム又はガスケット内の切欠、好適には接着テープのフィルム内の切欠によって定められる。別の好適な実施例では、境界は、例えば、フォトリソグラフィ、パタン化した付着、スクリーン印刷等のパタン化したコーティングを形成する確立されている技術を用いて錠剤ゾーンの境界を形成する方法でコーティングを塗布することによって定められる。一例では、パタン化した誘電体コーティングを基体材料の表面上にスクリーン印刷することができ、このパタンは開口部を含み、その境界は錠剤ゾーンを定める。次に、試薬を錠剤ゾーン内の基体上に分注した後、乾燥させて乾燥した試薬錠剤を形成することができる。

30

【0168】

廃棄物チャンバは過剰な又は廃棄物の液体を保持するように適合されたチャンバである。ある実施例では、検出チャンバは廃棄物チャンバとして機能してもよい。しかし、ある実施例では、例えば検出チャンバの体積よりも大きい体積を有する検出チャンバに標本を通過させることを伴うアッセイフォーマットを実行するとき又は検出チャンバから標本を除去するための洗浄工程を伴うアッセイフォーマットを実行するときには、別個の廃棄物チャンバを有することが有益である。廃棄物チャンバの寸法決定はアッセイに使用される標本及び試薬の想定される体積に従って行われることが好ましい。液体は廃棄物チャンバに入って泡立つか、又は気泡になるので、考慮されることが好ましい廃棄物チャンバの寸法決定に関連する別のファクタは廃棄物流体の可能性に関連する。泡沫又は気泡が想定されるそのような場合、廃棄物チャンバの体積はそのような泡沫又は気泡から生じ得る問題を回避するのに十分に大きなものにされてよい。

40

50

【0169】

廃棄物チャンバは廃棄物チャンバ導管に、好適には（例えば、通気導管を介して）ベントポートに連結されている。廃棄物チャンバは液体廃棄物を廃棄物チャンバ導管を通して廃棄物チャンバまで送り届けることができるように、好適には廃棄物の流れに含まれた空気を廃棄物チャンバベントポートを通して排出できるように構成される。任意には、廃棄物チャンバは、廃棄物流体を保持してカートリッジを廃棄するときに廃棄物流体が漏れ出ないようにする、スポンジなどの吸水性材料を含む。廃棄物チャンバの構成及び配置を設計するときに考慮されることが好ましいファクタは、廃棄物チャンバからの流体がカートリッジの流体ネットワークに逆流（「バックフロー」）する可能性をなくすか、又は実質的に低減させることに関連する。図10に示したような特に好適な実施例では、廃棄物チャンバ導管はそれが想定された充填レベル/ライン（すなわち、この充填レベル/ラインはアッセイ終了時に廃棄物チャンバ内に存在する廃棄物流体量によって定められる）の上にある地点1040、1041において廃棄物チャンバと流体的に接続されるように配置/ルートされている。この好適な構成によって、流体が廃棄物チャンバからカートリッジの流体ネットワーク内に逆流（「バックフロー」）する可能性が実質的に低減又は取り除かれる。

10

【0170】

バックフローの問題は廃棄物流体の気泡/泡沫にも関連して発生するかもしれない。（標本チャンバについて上記に関し記載したように）ベントポートは（例えば、廃棄物チャンバ中の泡沫のために）少量の液体が導管にベントポートに到達することなく入ることができるように十分大きい体積の導管を介して連結されることが好ましい。さらに、このような通路を通して液体が放出するのを防ぐために、エアロゾル阻止栓又は気体選択膜（すなわち、選択的に気体が通過できるようにするが、液体の通過を阻止する材料）が廃棄物チャンバの通気導管又はベントポートに含まれてよい。エアロゾル阻止栓は分注器の汚染を阻止するためにピペットチップに共通して使用され、乾燥しているときには空気の通過を可能にするが液体と接触するときには膨張して密閉する材料（例えば、セルロースガムで含浸又は被覆したフィルタ材料）を含む。

20

【0171】

廃棄物流体が廃棄物チャンバに導入されるときに、その泡沫/気泡を除去するか又は実質的に低減させる付加的な手段が、特に好適な実施例では使用され得る。このような付加的な抗発泡/気泡手段は、図9及び10に示した実施例の廃棄物チャンバ930及び931に入る導管セグメント910及び911で示したように、充填ラインの上に位置し且つ廃棄物チャンバの垂直壁と交差する地点においてそれが廃棄物チャンバに入るように、廃棄物チャンバ導管を配置/ルートさせることを含んでよい。そのような構成によって流体が廃棄物チャンバの垂直壁に沿って流れることができるような方法で廃棄物流体を廃棄物チャンバに導入することができる。有利には、この構成は廃棄物流体が廃棄物チャンバにルートされるときにその泡沫/気泡を実質的に低減又は除去する。

30

【0172】

ある好適な実施例において使用されてよいさらに別の抗発泡/気泡手段は、廃棄物チャンバの上方部分に含むことのできる垂直ウェブ、すなわち部分的な壁を含む。このような抗発泡/気泡手段を含むための特に適した実施例は、図16に示した2ピース型のカートリッジボディ設計である。この抗発泡ウェブ/壁は上部カートリッジコンポーネント1500内に位置する廃棄物チャンバ1610、1611の上方部分内に含まれることが好ましい。抗発泡ウェブは廃棄物チャンバベントと廃棄物チャンバ入口との間に配置されることが好ましい。抗発泡ウェブの高さは廃棄物チャンバの深さ全体に及ぶことが好ましいが、深さ全体未満であってもよい。別の場合には、抗発泡ウェブは廃棄物チャンバの下方部分内に突出するように廃棄物チャンバの上方部分の深さを超えて延び得る。抗発泡ウェブの高さは、液体ウェブ/壁の下側で流すが、廃棄物チャンバ内の液体の表面の上の気泡の流れを阻止することによって、最適な抗発泡を達成するように選択されることが好ましい。

40

50

【0173】

さらに別の抗発泡/気泡手段は、廃棄物チャンバに入る液体がより低い発泡する且つ/又は気泡を形成する性向を有するように、廃棄物チャンバ或いはカートリッジの別の導管又はチャンバ内に抗発泡剤を含む。

【0174】

検出チャンバは標本の物理的測定を実行するように適合される。検出チャンバは入口導管に接続されている。検出チャンバは出口導管にも接続され、フローセルとして配置されることが好ましい。測定が標本の照射又は光学的観察(例えば、光吸収、光ルミネセンス、反射、化学発光、電気化学発光、光散乱等の測定)を必要とする場合、検出チャンバは照射及び/又は観察ができるように配置された少なくとも1つの透過性の壁を有すべきである。固相结合アッセイに使用される場合、検出チャンバは1つ又は複数の結合試薬(例えば、抗体、タンパク質、受容体、リガンド、ハプテン、核酸等)(好適には、固定化した結合試薬のアレイ、最も好適には固定化した抗体及び/又は核酸のアレイ)がその上に固定化された表面(好適には、チャンバの壁)を含むことが好ましい。特に好適な実施例では、検出チャンバは上記のような電気化学発光検出チャンバであり、1つ又は複数の電極上に固定化された1つ又は複数の結合試薬を有していることが最も好ましい。好適な一実施例では、カートリッジは結合試薬のアレイがその上に固定化された作用電極を有する。別の好適な実施例では、カートリッジは各々結合試薬がその上に固定化された独立して制御可能な作用電極のアレイを含む。結合試薬のアレイを採用したカートリッジでは、アレイの少なくとも2つの要素は対象とする被検体に対する特異性が異なる結合試薬を含むことが好ましい。ECLベースのカートリッジに使用される適した検出チャンバ、電極アレイ、及び固定化した結合試薬のアレイは上記に詳細に記載されており、図1~4に示した実施例を含む。

【0175】

検出チャンバは細長形寸法の対向する端部において又はその近傍に入口及び出口を有する細長形のフローセル設計に配置されることが好ましい。用途、製造方法、標本サイズ等に応じて、フローセルの寸法はナノメートル~数十センチメートルの範囲であってよく、体積はピコリットル~ミリリットルの範囲であってよい。ある好適な実施例は0.05mm~20mm、より好適には1~5mmに及び得る範囲の幅、及び0.01~20mm、より好適には0.05~0.2mmの範囲の高さ(好適には、所与の量に対しては、検出チャンバの底部の表面積を、特にこの表面を用いて結合試薬を固定化するときを増大させるように該幅以下)を有する。高さは幅以下であることが好ましい。検出チャンバは0.1~1000 μ L、より好適には1~200 μ L、さらに好適には2~50 μ L、もっとも好適には5~25 μ Lの標本量を収容するように設計されることが好ましい。標本量(例えば、フィンガープリックの血液を測定するカートリッジ)によって制限される実施例では、特に好適な検出チャンバの容量は、10 μ L未満、より好適には0.5~10 μ L未満、さらに一層好適には2~6 μ L未満である。フローセルは高さ以上の幅を有することが好ましい。

【0176】

カートリッジは1つ又は複数の検出チャンバを含んでよい。複数の検出チャンバを含んだカートリッジは複数の標本に対するアッセイが同時に実行できるように、各検出チャンバ用の分離可能な流体システム(例えば、複数の標本チャンバ及び/又は試薬チャンバ、並びに関連する流体導管)を含んでよい。ある好適な実施例では、複数の検出チャンバは単一の標本チャンバに連結されており、試薬チャンバ、廃棄物チャンバ等の他の流体コンポーネントを共有して使用できる。このような実施例では、2本の検出チャンバを用いて種々のセットのアッセイを実行できるので、検出チャンバが1本のカートリッジと比べて、ある標本に対して実行できる測定の回数を増やすことができる。有利には、複数の検出チャンバを使用することによって、単一のチャンバ内で、複数の互換性のない測定、すなわち、単一の反応容量においては実行することができないか、又は別個の反応容量で実行することからは利益を受けることができない測定、例えば、pH又はアッセイの構成に対

10

20

30

40

50

して異なる用件を有するか、別の場合には相互に悪い方に干渉する測定を実行することが可能となる。

【0177】

複数の検出チャンバを採用した別の実施例では、1つ又は複数の検出チャンバはアッセイ対照/校正標本を測定する対照/校正チャンバとして使用される。そのような一実施例では、第1及び第2の検出チャンバは1つ又は複数の被検体の1つ又は複数のアッセイのパネルを実行するように各々構成されている。1つの検出チャンバ(テストチャンバ)を用いて標本を分析する。その他の検出チャンバ(対照チャンバ)を用いて、所定の付加的な量(この付加的な量は付加的な量を含んだ試薬錠剤ゾーンに標本を通すことによって提供されることが好ましい)の対象の被検体の1つ又は複数を含むスパイク標本を分析する。この2つのチャンバ間の信号の変化によって、被検体の変化に対する信号の応答速度を算出することが可能となり、該信号の変化を用いてシステムを校正し且つ/又はカートリッジが適切に機能しているかどうかを判断することができる。対照チャンバを採用した別の実施例では、対照チャンバは標本又はその誘導体を分析するのに用いられないが、別個の対照又は校正マトリックスの被検体を測定するのに使用される。この対照チャンバの信号は、(被検体の無いマトリックスを用いることによって)機器を校正するために、(校正パラメータを決定するために所定の量の被検体をもつ校正器を用いることによって)背景信号を測定するために、又は(所定の量の被検体をもつ対照マトリックスを用い、信号が所定の容認できる範囲内に入るかどうかを判定することによって)カートリッジが適切に機能しているかどうかを判定するために使用されてよい。

【0178】

カートリッジフルイデックスは気泡トラップを含んでよい。気泡トラップは流体の流れから気泡を除去するように適合されたチャンバ又は導管である。標本を検出チャンバに導入する前に標本中の気泡を除去できるように、トラップは標本チャンバと検出チャンバとの間に存在していることが好ましい。図31はある例示的な実施例の断面図であり、入口導管3140及び出口導管3145(入口及び出口導管はチャンバ3110近傍に位置することが好ましい)及びベントポート3150に接続された気泡トラップチャンバ3110を示している。液体が、入口導管3140を通してチャンバ3110内に導入される。チャンバ3110はチャンバに導入される液体中の気泡がチャンバの上部まで上昇してベントポート3150を介して排出できるように十分幅広くなっている。この後、気泡を含まない液体が出口3145を介して排出される。任意には、出口導管3145は省かれるが、この場合液体は入口導管3140を介して導入され、気泡はベントポート3150を介して排出された後、入口導管3140を通して戻される。任意には、通気性はあるが透水性の無い膜(例えば、Gortex材料から製造された膜)が入口3140とベントポート3150との間に設置される。液体が気泡を含んだ導管を流れるか、ガスのスラグによって分断された流れの中に存在する場合、ガス/気泡は膜を通してベントポート3150を出て(好適には、このプロセスはベントポート3150に吸引力を加えることによって容易になる)、液体はベントポート3150(この任意の膜を膜3190として示した)を介して確実に排出される。

【0179】

流体導管はカートリッジ内の任意の位置に設置でき、且つ任意の角度に配向できる。有利には、流体チャネルは、例えば機械加工された、ダイカットされた、レーザ切断された且つ/又は成型カートリッジボディコンポーネントを使用する多層カートリッジデザインを可能にするように、主に平坦なネットワーク内、好適には外表面(例えば、図11a~cに示したカートリッジの上面901、902又は底面903)近傍に設置される。好適な導管形状には、断面が円形、楕円形、四角形又は矩形の断面を有する導管がある。その幅は特定の断面積に対する表面積を最小にするように高さに類似していることが好ましい。幅及び高さは用途、標本量、及びカートリッジデザインに応じてナノメートルからセンチメートルまで変動し得る。幅及び高さの好適な範囲は0.05~10mm、より好適には0.5~3mm、最も好適には1~2mmである。指の穿刺(フィンガープリック)か

ら得られる血液などの低量の標本に適合されたカートリッジは好適には高さ／幅が < 1 mm、好適には 0.4 ~ 1.0 mm の小さな導管を有してよい。

【0180】

流体チャネルは流体の流れを平面間で輸送する「z - 移行」を利用することが好ましい。このような z - 移行を備えた導管は順番に配置された第 1、第 2 の、及び第 3 の導管セグメントを含んでよく、第 1 及び第 3 の導管セグメントは異なる平面の流体ネットワークに位置し、第 2 の導管セグメントはこの 2 つの流体ネットワークを接続し、且つ他の 2 つのセグメントに対してある角度で配置されている。一例を挙げると、図 11 a ~ c に示したカートリッジでは、「z - 移行」(図 9 にはキャピラリ破壊として示している)は上面 901、902 近傍の流体導管から底面 903 近傍の流体導管へと、またこの逆の向きへと流体の流れ／経路を巡らせている。z - 移行はそれが(図示のように)キャピラリ破壊を提供し、且つ流体導管が 1 つの平面に限定されている場合に可能になるよりも、より複雑な流体ネットワークを可能にするという点で有利である。キャピラリ破壊、好適には z - 移行を選択的に使用／設置すれば、流体の受動的な流れを制御し、流体の流れが混ざり合うのを防ぐことができる。本発明のある好適な実施例は「二重 z - 移行」、すなわち流体の流れを第 1 の平面ネットワークから第 2 の平面ネットワークに導く第 1 の z - 移行、流体の流れを第 1 の平面ネットワークに戻す第 2 の z - 移行及び 2 つの z - 移行を接続する第 2 の平面ネットワーク内の接続セグメントを含んだ導管である。このような二重 z - 移行は順番に配置された第 1、第 2、第 3、第 4、及び第 5 の導管セグメントを含み、第 1 及び第 5 のセグメントは第 1 の流体ネットワーク内に位置し、第 3 のセグメントは第 2 の流体ネットワーク内に位置し、第 2 及び第 4 のセグメントの 2 つはその 2 つの平面ネットワーク間で流れを導くように配置されている。

【0181】

流体ネットワークは一部にはカートリッジに選択される材料に応じて多数の異なる方法でカートリッジ内に形成されてよい。ステレオリソグラフィ、化学的／レーザエッチング、一体形成、機械加工、積層等のカートリッジボディ材料に適した任意の知られている製造方法が採用されてよいが、これに限定されるものではない。このような製造方法は単独で、或いは組み合わせて使用されてよい。本発明のある実施例では、カートリッジはカートリッジボディ、及び 1 つ又は複数の流体ネットワーク(好適には平坦な流体ネットワーク)を当該表面間に形成するようにカートリッジボディの表面に結合された 1 つ又は複数のカバー層を含む。同様に、z - 移行及び／又はポートを選択的に、所定の場所のカートリッジボディ内に成形して、又はその外に機械加工して、上面のチャネルと下面のチャネルとの間に流体接続部を形成することができる。

【0182】

本発明の好適な一実施例は「積層」プロセスを用いて製造されてよく、これによりカートリッジボディの機能表面はカバー層を用いて密閉されて流体ネットワークを形成する。例えば、本願明細書では「機能表面」と呼ばれるものを提供する、カートリッジボディの 1 つ又は複数の表面の凹部(例えば、チャネル、溝、ウェル等)である。カバー層への機能表面の密閉／結合により、少なくともそのいくつかは一部はカートリッジボディの凹部によって、一部はカバー層の表面によって形成される流体コンポーネント(例えば、導管、チャンバ等)を含んだ流体ネットワークが形成される。このカバー層はマイラー樹脂フィルムなどのプラスチックフィルムを含んでいることが好ましい。カバー層はカートリッジ層に対してカバー層を密閉するように接着剤で被覆されてよい。当業者であれば、カートリッジボディにカバー層を結合する他の方法がわかるであろう。例えば、密閉は加熱シーリング、超音波溶接、RF(高周波)溶接、溶剤を用いた溶接(一方の表面又は両面を柔らかくするか、又は溶解する溶剤をコンポーネント間に塗布する)、介在する接着層(例えば、両面接着テープ等)の使用によって達成されてよい。有利には、パタン化した付着(例えば、乾燥試薬錠剤を形成するか或いは固定化した結合試薬との結合領域を形成するための電極又は誘電体層のパタン化した付着及び／又は試薬のパタン化した付着)によって形成されるカートリッジ形状は、大きなシート又はロールのプラスチックフィルムを

10

20

30

40

50

加工するのに利用可能な自動化を利用できるようにカバー層上に形成される。

【0183】

凹部は、例えば、カートリッジ内に成形又はエッチング、或いはカートリッジから機械加工されてよい。類推すると、流体コンポーネントは少なくとも部分的には、カートリッジボディに結合されたカバー層の凹部によって定められてもよい。流体コンポーネントは少なくとも部分的には、カートリッジボディとカバー層との間に配設されたガスケット層から切り出された領域によって定められてもよい。カートリッジ及び/又はカバー層の開口部を用いて流体ネットワークへのアクセスポート、例えば、標本導入ポート、ベントポート、試薬添加ポートを提供することができる。ベントポートはチャンバ内の流体を大気と平衡にできるようにするか、或いは正圧又は負圧を印加することによって流体が指定のチャンバの中又は外に直接移動できるようにすることが好ましい。ベントポートは液体の標本又は試薬がポートを通して漏れるのを防ぐように設計されるのが好ましく、また空気流は通過させるが水溶液に対する障壁として働く、エアロゾル抵抗性のフィルタ、膜、又はフィルタ材料（例えば、Gortexなどの多孔性の疎水性材料から製造されたフィルタ又は膜）、及び空気に対して浸透性があるが水溶液と接触するときには密閉される材料（例えば、セルロースガムを含浸させたフィルタ）を含んでよい。

10

【0184】

好適な実施例には、第1の側及び第2の、好適には対向する側、並びにその間で第1の流体ネットワークを形成するように第1の側に結合された1つ又は複数のカバー層及びその間で第2の流体ネットワークを形成するように第2の側に結合された1つ又は複数のカバー層を備えたカートリッジボディを有するカートリッジを含む。カートリッジボディを貫ける貫通孔（成形、エッチング、機械加工等によって形成されてよい）を用いて第1及び第2の流体ネットワークが連結され、z-移行が提供される複数のカートリッジボディ層及びこれら層間の付加的な流体ネットワークを有する積層化されたカートリッジボディを採用することによって、付加的な流体的複雑さをカートリッジ内に組み込むことができる。種々のカートリッジボディ層を貫ける貫通孔を用いて異なる流体ネットワークが連結される。

20

【0185】

本発明のカートリッジでは、能動的な弁要素をカートリッジ内に導入しなくても、キャピラリ破壊を含んだ流体ネットワークを使用することで液体の動きを高度に制御することができる。本願明細書で使用されるような「キャピラリ破壊」とは、毛管作用で、又は閾値圧力以下の低い圧力勾配の推進力で導管を移動する液体に対する障壁として働く流体導管内の領域を意味する。キャピラリ破壊の好適な例では、閾値圧力を超える圧力を加えると、障壁を越えて流体を押しように作用する。キャピラリ破壊は、例えば、i)（例えば、水に対する接触角で示されるような）導管の表面上の濡れ性の高い表面から濡れ性の低い表面への変化、ii) 毛管の流れを促進する幅の狭い領域から、より幅の広い領域への導管幅の変化、iii) 導管表面上の粗さの変化、iv) 鋭角又は方向の変化、及び/又はv) 断面形状の変化を導入することによって、流体導管内に設計できる。別の実施例では、流体導管は、導管に衝突して閾値圧力より下の圧力により動かされる流れを遮断する可撓性の壁/隔壁を有する。より高い圧力を加えると、可撓性の壁/隔壁は流路から外されて流体を流す。この隔壁は気体を通過させるがある圧力以下の液体の流れを阻止できる材料（例えば、Gortex）で製造されることが好ましい。好適なキャピラリ破壊は、鋭角又は流体導管内の方向の変化、最も好適には上記のような「Z-移行」を含む。

30

40

【0186】

本発明の一実施例では、液体はキャピラリ破壊（好適にはZ-移行）を含んだ出口導管を備えたチャンバ内に導入される。液体は出口導管に入るが、このz-移行で止まる。続いて、（例えば、チャンバに正圧を印加するか、又はこの導管の他端に負圧を印加することによって）z-移行を超えて液体を導管の残りの部分に流す圧力勾配が印加される。

【0187】

流体ネットワークはカートリッジを通る流体の流れを制御する弁を備えてもよい。アッ

50

セイカートリッジ又はマイクロ流体の関係者であれば、(機械弁、動電学的な流れに基づいた弁等を含む)種々の適した弁が理解されよう。しかし、好適な実施例では、少なくとも1つ及びより好適にはすべてのアクティブ制御弁要素はカートリッジ外部にある。一実施例では、流体導管は外的力が無い場合に導管に流体を通過させる柔軟性のある壁/隔壁を有する。この壁/隔壁に(例えば、ピストンを用いて、或いはガス圧又は静水圧を印加して)外的力を加えれば、隔壁は導管に衝突して、これにより流体の流れが妨げられる。

【0188】

流体ネットワークは、入口及び出口を有する、好適には標本チャンバ又は標本導管に連結された少なくとも1つの粘度測定導管を含んでよい。この導管は液体標本を導管内に導入できるように、且つ液体が導管内の2つの場所の間を移動する時間を(好適にはカートリッジ及びそれに関連するカートリッジリーダー内のインピーダンスセンサ又は光センサなどのセンサを用いて)計測することができるように適合されている。このような構成を用いて血液又は血漿標本などの凝固時間を測定することができることは有利である。凝固時間を測定するために、導管又は上流側のコンポーネントは特定の凝固の測定(たとえば、活性凝固時間、全血凝固時間、プロトロンビン時間、トロピン時間、部分トロンプラズチン時間等)に必要な乾燥試薬を含んでいることが有利である。

【0189】

上記のようなベントポートは、カートリッジ内の流体チャンバ又は導管と流体的に連通する、カートリッジの表面上の開口部であることが好ましい。積層されたカートリッジ構成では、ベントポートは、例えば、カートリッジボディを密閉して平坦な流体ネットワークを形成するカバー層の開口部によって、又は別の場合には、反対側の流体ネットワークと連通する、カートリッジボディの1つの表面上の露出した貫通孔によって提供されてよい。このベントポートは、例えば1つ又は複数のポートを密閉すること、1つ又は複数のポートを大気開放すること、1つ又は複数のポートを正圧源に接続すること及び/又は1つ又は複数のポートを負圧源に接続することの組み合わせによって、カートリッジの読み手がカートリッジ内の流体の動きを制御できるようにする制御ポートとして働く。このベントポートを用いて、本発明の流体導管を通過する液流に空気を導入して、例えば空気のスラグでその流体の流れを分割することもできる。空気を導入して導管を順次通過する2つの液体のスラグが混ざるのを阻止して、導管から液体を取り除き且つ/又は洗浄工程の効果を高めることができる。このベントポートはカートリッジボディの幅に沿って共通の場所に1列で配置されることが好ましい。制御地点をそのような配置及び構成にすることにより、有利にはカートリッジリーダーとカートリッジとの間の接合部を単純化することができる。例えば、そのような公的な構成を用いれば、カートリッジリーダーはカートリッジをカートリッジリーダーと流体的に連通させる単一の流体結合デバイスを利用することが可能となる。そのような構成を用いれば、単一のモータ又は起動デバイスを用いて流体結合デバイスを起動し、且つこのデバイスをカートリッジボディと密閉的に係合させることができるので、モーション制御サブシステムを単純化することもできる。

【0190】

図9は上記の流体装置の特徴の多くを組み入れた本発明の好適な一実施例のカートリッジ900の略図である。この例示的な実施例は上記のような本発明の電極アレイを含んだカートリッジを示している。しかし、当業者であれば、この流体装置のコンポーネント及び設計を他の検出チャンバ及び/又は検出技術を採用したカートリッジに容易に適合できる。図9に示したカートリッジの略図は、標本チャンバ920、アッセイ試薬チャンバ925、廃棄物チャンバ930及び931、及び電極アレイ949a及び949b並びに電極接点997及び998を有する検出チャンバ945及び946を含んだ種々のコンパートメントを備えている。流体制御ポイントとして使用されてよい流体ポート/ベント950~953及び980も図9に示しており、ベントはチャンバを大気圧と平衡になるようにし、ポートは気泡又はスラグを流体の流れに導くためのものであり及び/又はカートリッジリーダーとの流体接続部である。図9は種々のコンパートメント及び/又は流体ポート/ベントを接続する流体ネットワークを確立する多数の(種々のチャンバを接続するラ

10

20

30

40

50

インとして示した) 流体導管も示している。流体導管は分配ポイント(例えば、流体をカートリッジ内の2つ以上の場所/コンパートメントに分配するように適合された、分配ポイント976などの分岐ポイント)を含んでよい。図9に示した流体装置の他の特徴には、各々の読取りチャンバ用の錠剤チャンバ/ゾーン990、991を含む。図10は図9の好適な実施例に採用される種々の流体コンポーネントによって形成された流体ネットワークを示す立体図である。

【0191】

標本チャンバ920はカートリッジ内で分析される標本、好適には液体表品を受け取るように適合された、カートリッジ900内に形成されたチャンバである。標本チャンバ920は標本導入口921を含み、通気導管を介してベントポート953に連結され、且つ標本導管分岐940及び941を有する標本導管901を介して検出チャンバ945及び946に連結されている。カートリッジ900は標本導入口921を密閉する密閉可能なクロージャを含むことも好ましい。試薬チャンバ925は液体試薬を保持するように適合されたチャンバであり、(好適には、標本チャンバ920と分配地点976との間で)ベントポート950に連結された通気導管及び標本導管に連結された試薬導管902を含む。ベントポート980に連結された空気チャンバ/トラップ975も標本導管に連結されている。この配置のために、正圧又は吸引力をベントポート980に印加することによって、流体経路内の流体の流れ(例えば、試薬チャンバ925又は標本チャンバ920から検出チャンバ945又は946に向かって導かれる試薬又は標本の流れ)に空気を加えること/該流体の流れから空気を除去することが可能となる。錠剤チャンバ/ゾーン990及び991は乾燥試薬を保持し、チャンバ/ゾーンを通過する液体が乾燥試薬を戻して、その結果得られた溶液を検出チャンバ内に運ぶように、標本ポート920と検出チャンバ945及び946との間の流体経路内に各々位置決めされている。任意には、試薬チャンバ925、空気チャンバトラップ975、ベントポート980及び/又は錠剤チャンバゾーン990及び991は省かれてよい。

【0192】

検出チャンバ945及び946は標本の物理的層的、好適には電気化学発光測定、最も好適には(上記のような)ペアワイズ形態で発射されるように構成された電極アレイを採用した測定を実行するように適合されている。任意には、検出チャンバ946は省かれる。図9の好適な実施例に示したように、検出チャンバ945及び946は、それが流体的に連通する個々の入口チャンネル及び出力チャンネルとは異なる断面形状を有している。このように、流体の流れが異なる領域の間を適切に移行されるように、移行する流体セグメント(947a、b及び948a、b)を読取りチャンバの入口及び出力チャンネルに組み込んでいることが好ましい。この移行は、例えば、できるだけ広角のディフューザー/ノズルを組み込むとともに、気泡の取り込みを阻止するのに十分に段階的にすることによって、その移行の長さを最短にするように設計されることが好ましい。検出チャンバ945及び946は廃棄物導管960、961を介して廃棄物チャンバ930及び931に接続されている。廃棄物チャンバ930及び931は過剰な流体又は廃棄物流体を保持するように構成され、且つ通気導管を介してベントポート952に、通気導管を介してベントポート951にも各々接続されている。有利には、複数の廃棄物チャンバを使用すれば、廃棄物チャンバベントポートに吸引力又は圧力を印加することによって複数のチャンバを流れる流体の流れを別個に制御することができる。別の場合には、使用される廃棄物チャンバは1つだけである(例えば、廃棄物チャンバ930が省かれ、検出チャンバ945及び946は共に廃棄物チャンバ931に接続される)。

【0193】

対象となる被検体の結合アッセイを実行するカートリッジでは、錠剤ゾーン990及び991は標識した結合試薬(例えば、抗体、核酸、対象となる検体の標識した類似体等)を含むことが好ましく、検出チャンバ945及び/又は946は1つ又は複数の固定化した結合試薬(好適には固定化した、最も好適にはECLアッセイを実行する電極上に固定化した、結合試薬のアレイ)を含み、試薬チャンバ925は標本溶液及び/又は未結合の

10

20

30

40

50

標識した試薬を検出チャンバから除去する洗浄試薬を含む。検出チャンバの1つを制御アッセイ又はアッセイの校正のために用いる実施例では、それに関連する錠剤ゾーンは（例えば、スパイク回収、校正測定、又は制御アッセイ測定に使用される）追加の被検体などの対照試薬を含んでよい。

【0194】

カートリッジ900の流体ネットワークは、キャピラリー破壊として働き且つ/又は流体ネットワークをカートリッジの複数の平面にまで延ばすことのできるz-移行を含む。例えば、図10のZ-移行1010~1014を参照すること。標本導管のZ-移行1011及び試薬導管のZ-移行1013は標本液体及び試薬液体をそれらに対応するチャンバに閉じ込めるキャピラリー破壊として働く。流体は適した圧力勾配を印加することによりこれらチャンバから制御され且つ再現可能な方法で移動され得る。Z-移行1060及び1061は、カートリッジの異なる層上に当該分岐を配置することによって廃棄物導管が標本導管分岐940及び941を横断することができる。

10

【0195】

図13a及び13bはカートリッジボディ1100及びカートリッジボディ1100表面に結合されたカバー層1324、1350、1320、1321、及び1322を含むカートリッジ900の一実施例の分解図である。図11はカートリッジボディ1100の上面図(11a)、底面図(図11b)及び等角図(図11c)を示している。カートリッジボディ1100の上部1101、1102及び下部1103の表面は、(例えば成形、機械加工、エッチング等によって)チャンネル、溝、ウェル等の凹状の形状を組み込む。カートリッジボディの上部部分及び下部部分にカバー層を適用することによって、この形状を密閉してカートリッジの標本及び導管を提供する。適した標本及び/又は試薬の量を得るために、カートリッジボディは、標本チャンバ、試薬チャンバ、及び廃棄物チャンバを部分的に形成する形状(チャンネル、溝、ウェル、コンパートメント等)を含んだより厚い部分902を有している。カートリッジの残りの部分はカートリッジの重量、体積、及び材料コストを最小にするように、且つある好適なカートリッジ設計の場合には、光学検波器をカートリッジ底部上のカバー層の上に組み込まれた電極の上面にできるだけ近くに設置できるように、一層薄くなっていることが好ましい。

20

【0196】

試薬チャンバ925、標本チャンバ920、廃棄物チャンバ930及び931並びに標本導管の少なくとも一部分、試薬導管960及び廃棄物導管961はカートリッジボディ1100上の密閉カバー1324によって形成されている。検出チャンバ945及び946は介在するガスケット層1331(好適には両面接着テープ)を介して、((図9に示したパタン化した電極アレイ963を形成する)パタン化した誘電体層1360を有する)カバー層1350及びパタン化した誘電体被覆層1365をカートリッジボディに対して密閉することによって形成される。検出チャンバの深さ、長さ、及び幅はガスケット層内の切欠部1340及び1341によって定められる。カバー層1322はガスケット層1330(好適には両面接着テープ)を介してカートリッジボディ1100に結合して、(二重のz-移行の形成により)カバー層1324及び1350によって定められた流体ネットワークを接続する架橋セグメントとして働く図10に示したような導管セグメントを定める。有利には、そのような「架橋」を使用することによって、パタン化した電極(及び、任意には電極上のパタン化した結合試薬)を有するカバー層1350はパタン化したコンポーネントよりも僅かに大きくなるだけで済む。別の場合には、この架橋カバー層及び関連する二重z-移行を省くことができ、カバー層1324及び1350を連続的な単一のカバー層に組み込むことができる。任意には、乾燥試薬錠剤を含んだ錠剤ゾーンは、その試薬が検出チャンバ945及び946に向かう途中で錠剤ゾーンを通過する液体中で戻るように、ガスケット1330の開口部1345及び1346によって露出された領域内のカバー層1332上に位置する。カバー層1321は空気チャンバ/トラップ976及び、セグメント1070及び1071を接続する二重z-移行を含んだ上部側の導管セグメントを密閉する。カバー層1320は標本導入ポート921及び試薬導入ポート9

30

40

50

22を密閉する。

【0197】

図11及び13に示した好適な実施例では、カートリッジボディは、ガスケット層1331内の切欠部1370及び1371と共に電極接点997, 998との電氣的接触を可能にする電氣的アクセス領域995及び996を含む。電氣的アクセス領域は電極接点と整列するように構成且つ配置された、カートリッジボディ内の切欠部又は穴である。

【0198】

カートリッジボディ1100の少なくとも一部分は光検出窓になるように適合且つ構成されており、電極アレイによって生成される発光の光学的検出ができるように電極と光学的に位置が合った状態で配置されている。特に好適な一実施例では、カートリッジボディ及び/又はカバー層は半透明材料から製造される。光学的に透過性のある材料の使用は、光学検波器、たとえば、カートリッジリーダー内に配置された検出器を用いて導管内の液体の存在を検出できるという利点をさらに有する。このような光学検波器を用いて、カートリッジが適切に機能することを確実にし、且つカートリッジ内の液体の動きを制御する制御システムにフィードバックを送ることを確実にする。別の場合には、カートリッジボディ及び/又はカバー層は、流体の存在及び/又は組成の光学的検出(例えば、光源からの反射率/透過性の検出)を必要とする適切に配置された場所である光検出窓を含んでよい。図12はカートリッジ900内の光検出ポイント1210~1217の好適な場所を示している。

【0199】

図14aは本発明のカートリッジの別の好適な実施例のカートリッジ1400の流体コンポーネントの略図である。図14b及び14cはカートリッジ1400の好適な一設計の分解図である。図18はこの設計の流体ネットワークの立体図である。カートリッジ1400は標本チャンバ1420、第1及び第2の試薬チャンバ1425及び1426、検出チャンバ1445及び1446、廃棄物チャンバ1430及び1431を備えている。標本チャンバ1420は液体標本を受け取るように適合され、通気導管1475を介してベントポート1480に接続され、(分配ポイント1540から分岐する標本導管分岐1440及び1441を含む)標本導管1415を介して検出チャンバ1445及び1446に接続されている。通気導管は、その長さを増長させ、且つ標本チャンバ1420内の気泡からの流体がベントポート1480内に逆流しないように、蛇行した形状を有していることが好ましい。標本導管1415は標本チャンバ1420への導管接続部近傍に、標本チャンバ1420からの早過ぎる漏れを防ぐZ-移行を含んでいることが好ましい。標本チャンバ1420は標本導入口1416及び該入口を密閉するキャップインサート1414も有している。任意には、標本導管分岐1440及び/又は1441は試薬錠剤ゾーンを含む。

【0200】

試薬チャンバ1425及び1426は試薬アンプルを保持するように適合されていることが好ましい。試薬導管1425は試薬通気導管を介してベントポート1450に接続され、試薬導管1470を介して標本導管1415に接続されている。試薬導管1270は通気導管1482を介して、試薬導管1470及び標本導管分岐1440及び1441などの下流側の導管に空気を導入するのに使用されてよいベントポート1481にさらに接続されている。有利には、試薬導管1470は所定量の液体試薬のためのステージングエリアとして使用されてよい、通気導管1482と標本導管1415との間に延長セグメントを有する。この延長セグメントは試薬チャンバ1425内に保持された液体試薬に乾燥試薬を導入する試薬錠剤ゾーンを含むことも好ましい。試薬チャンバ1426は通気導管を介してベントポート1451に接続され、試薬導管1427を介して(標本導管1415のちょうど下流側の試薬導管1470と最初に交差する)標本導管1415に接続されている。試薬導管1427及び1470はチャンバからの試薬の時期尚早な漏れを防ぐために、導管とそれに対応する試薬チャンバとの接続部近傍にZ-移行を含むことが好ましい。検出チャンバ1445及び1446は、対象となる被倦怠検体用の固定化した結合試

10

20

30

40

50

薬、好適には結合試薬のアレイ、好適にはE L C測定を実行する電極アレイ、例えば、上記のような本発明の電極アレイ上に支持された結合試薬のアレイを含むことが好ましい。検出チャンバ1445及び1446は標本導管分岐1440及び1441に接続され、廃棄物導管1460及び1461に接続され、また通気導管を介してペントポート1452及び1453に接続されている。任意には、1つの検出チャンバ（及び関連するフルイデックス及び廃棄物チャンバ）は省かれてよい。

【0201】

カートリッジ1400は（検出洗浄工程を行う前に1つ又は2つの標本/試薬で検出チャンバを処理する工程を伴う）1段階及び2段階の洗浄アッセイを実行するように適合される。1段階洗浄工程の好適な実施例は、i) 標本導管分岐1440及び/又は1441を介して標本チャンバ1420から検出チャンバ1445内に標本を導入し（任意には、標本は標本導管分岐1441及び/又は1441に含まれた錠剤ゾーンにおいて捕獲された標識した結合試薬及び/又は対照/校正試薬などの戻された試薬を含んだ検出チャンバに導入される）、ii) 試薬チャンバ1426に含まれた洗浄試薬で検出チャンバを洗浄し（試薬は電気化学発光共作用物質を含み、E C L測定に適した環境を提供することが好ましい）、且つiii)（好適にはE C L測定を行うことによって）検出チャンバの内容物を検査する工程を含む。カートリッジがこのような1段階工程のプロトコルを実行するために、試薬チャンバ1425は省かれてよい（この場合、ペントポート1481は試薬導管1427又は標本導管1415に直接接続されてよい）。2段階洗浄アッセイの好適な実施例は、i) 標本導管分岐1440及び/又は1441を介して標本チャンバ1420から検出チャンバ1445及び/又は1446内に標本を導入する工程と（任意には、標本は、遮断剤などの戻した試薬、緩衝液、標識した結合試薬、及び/又は標本導管分岐1440及び/又は1441に含まれた錠剤ゾーン内で拾われた対照/校正試薬を含んだ検出チャンバ内に導入される）、ii) 試薬チャンバ1425から検出チャンバ1445及び/又は1446内に液体試薬を導入する工程と（任意には、標本は、遮断剤などの戻した試薬、緩衝液、標識した結合試薬、試薬導管1470に含まれた錠剤ゾーン内で拾われた対照/校正試薬を含んだ検出チャンバ内に導入される）、(iii) 試薬チャンバ1426に含まれた洗浄試薬で検出チャンバを洗浄する工程（この試薬は好適には電気化学反応共作用物質を含み、E C Lに適した環境を提供する）と、iv)（好適にはE C L測定を行うことによって）検出チャンバの中味を検査する工程とから構成される。任意には、洗浄工程は工程(i)と(ii)の間に含まれる。有利には、結合アッセイに2段階フォーマットを使用すれば、標本中の被検体又は他の成分を検出チャンバ内の固定化した結合試薬に結合させ、標識した検出試薬（例えば、サンドイッチ結合アッセイに使用される標識した結合試薬又は競合アッセイに使用される標識した被検体）を導入する前に検出チャンバを洗い出すことができる。すなわち、2段階でアッセイを行うことは、競合アッセイ又は大きな標本のマトリクス効果又はフック効果を被るアッセイにおいて有利かもしれない。いくつかのアッセイは洗浄工程を必要としないかもしれない（例えば、非洗浄E C LアッセイはE C L共作用物質を標本に導入する工程を取り入れることによって実行されてよい）。例えば、そのような非洗浄アッセイ（1段階又は2段階フォーマットで）を行うカートリッジでは、試薬チャンバ1426を省いてよい。

【0202】

図14bに示したように、カートリッジ1400の好適な実施例は、2部分のカートリッジボディ（1410及び1411）及びカバー層1401、1402、1403、及び1407を用いた積層カートリッジ設計を使用する。適した標本及び/又は試薬量を可能にするために、カートリッジボディは標本チャンバ、試薬チャンバ、及び廃棄物チャンバを部分的に形成する形状（チャンネル、溝、ウェル、コンパートメント等）を含んだより厚い部分を有する。カートリッジの残りの部分はカートリッジの重量、体積及び材料コストを最小限にするように非常に薄くなっていることが好ましい。2部分のカートリッジ設計は必要ではないが、カートリッジボディのより厚い領域を中空にしてカートリッジを製造するのに必要な材料の量を低減させることによって、低コストの射出成形技術でカートリ

10

20

30

40

50

ッジを製造するには有利であり、これによって射出成形金型からの射出の前にパーツを冷却するのに必要な時間は短縮され、金型から出された後にパーツの変形は低減される。この中空設計では、カートリッジボディを貫ける貫通孔は管をボディコンポーネント1410及び/又は1411に組み込むことによって設けることができる(例えば、図14bの管1439を参照すること)。このような管を他のボディコンポーネント内の管又は穴に結合させてボディを貫ける貫通孔を形成することができる。この結合は当該分野では知られた結合方法を含む種々の方法によって達成され得る。好適な方法にはプラスチック溶接及び/又はプレス嵌め使用がある(好適には、その端部にて d_{max} から d_{min} まで小さくなる外形を有する先細状の管を d_{max} から d_{min} の範囲の内径を有する管と結合することによる)。別の実施例では、一部分のカートリッジボディが使用される。

10

【0203】

少なくとも標本導管、試薬導管、及び通気導管の部分は、下部のカートリッジボディ部分1410上にカバー1403を密閉することによって形成される。検出チャンバ1445及び1446、標本導管分岐1440及び1441の部分、及び細長形試薬導管1470の部分は、(好適には両面接着テープから製造された)介在するガスケット層を介して、(図9に示した電極アレイ963に類似するパタン化した電極アレイを形成するパタン化した導電層1423を有する)カバー層及びパタン化した誘電体被覆層1421、1422を下部のカートリッジボディ部分1410に密閉することによって形成される。検出チャンバの深さ、長さ、及び幅はガスケット層内の切欠き1447及び1448によって定められる。ガスケット層内の切欠き1406、1408、1412、1413は誘電体層1421及び1422の領域を標本導管分岐1440及び1441並びに細長形試薬導管1470に露出する。有利には、このような試薬に含まれた乾燥試薬錠剤はこれらの領域上に位置する。この錠剤の場所を選択することによって、検出チャンバ内の乾燥試薬錠剤及び/又は固定化した試薬を単一の基体上に分注することができる。図14に示すように、標本導管分岐1440及び1441は検出チャンバと接続できるように検出チャンバ1445に隣接する且つ/又は実質的に平行なセグメント及びUターン形セグメントを有することが好ましい。この配置は、標本を導管内に導入し、標本が検出チャンバに導入される前に標本を導管内の錠剤と混合するのに十分に長い導管の長さを提供する。このような長さはカートリッジの長さを長くしなくても達成される。有利には、この配置によって、パタン化した電極層を用いて、上記のように標本導管内の流体の容量測定及び電気伝導度の測定を行うこともできる。同様に、細長形試薬導管1470は、検出チャンバ1445及び1446と平行な、Uターン形セグメントを介して接続された入口セグメント及び戻りセグメントを有する。下部のカートリッジボディコンポーネント1410は、ガスケット層内の切欠き1417及び1418と共に導電層1423との電気接点を形成できるようにするアクセス領域1432及び1433をさらに含む。

20

30

【0204】

カバー層1402は下部のカートリッジボディコンポーネント1410に結合されて、(2つのz-移行を接続することによって)カバー層1403及び1407によって定められた流体ネットワークを接続する橋セグメントとして働く導管セグメント1805(図18aに示す)を形成する。任意には、標本導管又は試薬導管内に含まれる橋セグメントの表面上のカバー層1402上に形成された錠剤ゾーンを用いて、乾燥試薬を標本試薬又は液体試薬に導入することができる。カバー層1401は上部のカートリッジボディコンポーネント1411に結合されて試薬チャンバ1425及び1426を密閉し、チャンバ内のアンブルからの流体の漏れを防ぐ。カバー層1401は、図18aに示したセグメント1810及び1815などのセグメントを接続する二重のz-移行を含んだ上部側の導管セグメントも密閉する。

40

【0205】

図15aは上部のカートリッジボディコンポーネント1411の上面図を示している。図16a及び16bは下部のカートリッジボディコンポーネント1410の上面図及び底面図を示している。図15aに示したように、上部のカートリッジコンポーネント141

50

1 は、試薬アンプルを保持するように構成された試薬チャンバ 1 4 2 5、1 4 2 6 を含むことが好ましい。フィルタ 1 5 1 5、1 5 1 6 は、破壊されたガラスアンプルからのガラスの破片の実質的にすべてが流体ネットワークに入って流体の流れを閉塞 / 遮断することができないように確実にするために、上部のカートリッジコンポーネントに一体成形されることが好ましい。別の場合にはフィルタは製造 / 組立工程中に標本チャンバ及び / 又は試薬チャンバに組み込まれる別個のコンポーネントであってよい。例えば、このフィルタは好適には適所に折り込むことのできるインサートである（例えば、図 2 0 のインサート 2 0 2 0 及び 2 0 2 1 を参照すること）。

【 0 2 0 6 】

2 部分型のカートリッジ設計は、廃棄物チャンバにおいてさらなる抗発泡測定の使用を単純化することも有利である。垂直方向のウェブ、すなわち部分壁を、上部カートリッジコンポーネント 1 4 1 1 の別の実施例である上部カートリッジコンポーネント 1 6 0 0 内に位置する廃棄物チャンバ 1 6 1 0、1 6 1 1 の上部部分内に含むことができる。抗発泡ウェブは廃棄物ベントポートと廃棄物入力との間に配置されることが好ましい。抗発泡ウェブの高さは廃棄物チャンバの上部部分の深さ全体に及ぶことが好ましいが、深さ全体未満であってもよい。別の場合には、抗発泡ウェブは廃棄物チャンバの下方部分に突出するように廃棄物チャンバの上部部分の深さを越えて延在し得る。抗発泡ウェブの高さは最適な抗発泡性を達成するように選択されることが好ましい。

【 0 2 0 7 】

上記のように、廃棄物チャンバの入力導管は廃棄流体が廃棄物チャンバの壁を下に移動して発泡を最小化又は除去できるような様式で廃棄物チャンバに入るように配置されることが好ましい。図 1 6 a に示したように、入口導管 1 6 2 5、1 6 1 6 は廃棄物チャンバの壁の 1 つと交差する。別の場合には、このベントは、想定する流体レベルを越えるであろう地点で廃棄物チャンバに接近するように構成且つ配置されることが好ましい。廃棄物チャンバのベントを廃棄物チャンバ近傍に又はその上部に設置すれば、チャンバ内で生じるであろう発泡が、結果的には通気管路に入ってカートリッジリーダーの器具を汚染する恐れのある流体にならないように確実にすることができる。

【 0 2 0 8 】

図 3 2 はマトリクスから、好適にはアプリケーションスティックから、最も好適にはスワブから被検体を抽出するように構成された本発明の好適な実施例であるカートリッジ 3 2 0 0 の流体ネットワークの略図を示している。図 3 3 はカートリッジ 3 2 0 0 の好適な設計の分解図を示している。カートリッジ 3 2 0 0 は本発明の 2 つの好適な特徴、すなわちマトリクスから被検体を抽出する標本チャンバ及び「逆流」洗浄の使用工程を示している。カートリッジ 3 2 0 0 はベントポート 3 2 1 2 及び抽出試薬導管 3 2 1 4（好適には Z - 移行を含む）に連結された試薬チャンバ 3 2 1 0 を有する、試薬チャンバ 3 2 1 0 は被検体を抽出するのに適した液体試薬を保持する。試薬チャンバは亜硝酸のアンプルを保持するか、又はより好適には、アンプルを破壊して亜硝酸を生成するように、酸（好適には酢酸）のアンプル、及び該アンプルの外に乾燥硝酸塩を保持する。亜硝酸はグラム陽性菌から細胞壁抗原を抽出するのに特に有用な抽出試薬であり、これを用いて上気道標本などの標本を含んだ粘液中の他の微生物からマーカーを抽出することもできる（参照により本願明細書に組み入れた、「Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction」と題する 2 0 0 2 年 1 2 月 2 6 日に出願された米国特許仮出願第 6 0 / 4 3 6 5 9 1 号に開示された抽出方法及び試薬を参照すること）。

【 0 2 0 9 】

カートリッジ 3 2 0 0 は、抽出試薬が標本（好適にはスワブヘッド 3 2 0 5）を流れるように抽出試薬導管 3 2 1 4 及び標本 3 2 2 4 に接続された細長形の標本チャンバ 3 2 2 0（図 2 8 ~ 3 0 に関して上に記載した標本チャンバなどの、標本を抽出するように構成された標本チャンバ）を有する。図 3 3 に示したように、標本チャンバ 3 2 2 0 は、標本コンパートメントに挿入される刻み目の付いたスワブを破壊しやすいようにその細長形の

10

20

30

40

50

寸法に沿ってある角度を成しているか又は湾曲していることが好ましい。標本導管 3 2 2 4 は抽出した標本から空気を除去する気泡トラップ 3 2 2 6 (好適には気泡トラップベントポート 3 2 6 6 に接続される) 及び (好適には廃棄物ベントポート 3 2 6 2 に接続される) 廃棄物チャンバ 3 2 2 8 に接続されている。さらに下流では、標本導管 3 2 2 4 は検出チャンバ 3 2 3 0 に接続されている。標本導管 3 2 2 4 は、標識した試薬 (例えば、サンドイッチ免疫測定において検出試薬として使用する標識した抗体) 及び / 又は酸性の抽出試薬 (亜硝酸など) を標本内で中和する中和剤 (例えば、トリス緩衝液、ヘペス緩衝液、リン酸緩衝液等の pH 緩衝成分) を保持できる錠剤ゾーン 3 2 2 5 を含む。

【 0 2 1 0 】

検出チャンバ 3 2 3 0 は対象とする被検体用の固定化した結合試薬、好適には結合試薬のアレイ、好適には上記の他のカートリッジ実施例について記載したような E C L 測定を実行する電極アレイ上に指示された結合試薬のアレイを含んでいることが好ましい。特に好適な実施例では、結合試薬は、上気道標本などの粘液を含んだ標本内に存在し得る (好適には少なくとも 1 つのグラム陽性菌、最も好適にはストレプトコッカス菌を含む) 微生物のマーカールに向けられた抗体である (参照により本願明細書に組み入れた、「Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction」と題する 2002 年 12 月 26 日に出願された米国特許仮出願第 60 / 436591 号に開示された抽出方法及び試薬を参照すること)。検出チャンバ 3 2 3 0 は (好適には z - 移行を含む) 洗浄試薬導管 3 2 4 2 を介して洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 に接続されている。ベントポート 3 2 4 4 は検出チャンバ 3 2 3 0 と洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 との間の洗浄試薬導管 3 2 4 2 に沿って配置されている。洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 は液体洗浄試薬を好適にはアンプル内に含んでいる。この液体は試薬であり、好適には、E C L 共作用物質を含み、E C L 測定のために適した環境を提供する。

【 0 2 1 1 】

カートリッジ 3 2 0 0 の流体配置によって、錠剤ゾーン 3 2 2 5 を介して検出チャンバ 3 2 3 0 内に抽出した標本を前進方向に流すことができ、廃棄物チャンバ 3 2 2 8 内に標本を逆流させることができ、また洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 から検出チャンバ 3 2 3 0 内に洗浄試薬を逆流させることができる。

【 0 2 1 2 】

カートリッジ 3 2 0 0 は任意には検出チャンバ 3 2 3 0 のように構成されるのが好ましい対照検出チャンバ 3 2 5 0 も有する。このカートリッジの流体配置によって、洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 からの洗浄試薬を錠剤ゾーン 3 2 5 2 を介して検出チャンバ 3 2 5 0 まで送ることができる。錠剤ゾーン 3 2 5 2 は錠剤ゾーン 3 2 2 5 と同じ結合試薬を有するが、洗浄試薬を戻して対照標本を形成するように対照試薬 (好適には、検出チャンバ 3 2 3 0 内で測定される所定量の被検体) も含むことが好ましい。この流体配置によって、対象標本を (好適には廃棄物ベントポート 3 2 6 4 に接続される) 廃棄物チャンバ 3 2 5 4 内に、且つ洗浄試薬チャンバ 3 2 4 0 からの洗浄試薬を検出チャンバ 3 2 5 0 内に前進方向に流すこともできる。

【 0 2 1 3 】

図 3 2 及び 3 3 に示したように、カートリッジ 3 2 0 0 は、z - 移行、積層構造、電極アレイ、架橋セグメント等のカートリッジ 9 0 0 及び / 又は 1 4 0 0 の好適な実施例と同じ設計の特徴の多くを使用することが好ましい。図 3 3 に示したように、カートリッジ 3 3 0 0 は 2 部分型設計を有することが好ましい。有利には、この設計によって標本チャンバを 2 つの部分から構成することができ、且つ湾曲した / 角度の付いた細長形チャンバの製造を単純化する。図 3 3 に示したように、カートリッジ 3 2 0 0 は例えばカートリッジで実行されるアッセイパネル、カートリッジのロット、製造時間、有効期限、カートリッジ固有の校正データ、標本源等を識別することのできるバーコード 3 2 9 5 又は識別用の特徴を含んでもよい。

【 0 2 1 4 】

流体コンポーネントはカートリッジリーダー器具を用いて選択的に制御することのでき

10

20

30

40

50

る流体システムを形成するように適合且つ構成されることが好ましい。カートリッジリーダー 2300 を図 23 に概略的に示しており、所定のアッセイを実行する種々のサブシステムを組み込んでいることが好ましい。このカートリッジリーダーは別個に供給されてよいカートリッジ 2390 を保持した状態で示されている。図示のように、カートリッジリーダーはカートリッジハンドラ 2315、流体ハンドラ 2340、及びアッセイ電子機器 2330 サブシステムを含むことが好ましい。このようなサブシステムは、リーダー内にカートリッジを装填且つ位置決めするようにカートリッジハンドラサブシステムに指令し、流体ネットワークを介する流体の導入/移動を制御/調整し、且つアッセイ測定を実行するようにアッセイ電子機器に指令する責任を負う電子制御システム 2310 によって共に制御されることが好ましい。カートリッジリーダーは単一の内臓型ユニットとしてパッケージングされることが好ましい。発光ベースのアッセイを採用した好適な実施例では、より小さな光を漏らさない領域がカートリッジリーダーハウジング全体内に組み込まれる。これによって、読取りが周囲光の影響を受けないことを確実にするように発光ベースのアッセイを光を漏らさないエンクロージャ内で実行することができる。電子コンポーネント及び他の熱を発生するコンポーネントはこの光を漏らさないエンクロージャの外部に設置することが好ましい。

【0215】

カートリッジハンドラサブシステムは、カートリッジをカートリッジハウジング内に引き入れ、且つカートリッジをカートリッジリーダー内に位置決めする、例えばセンサ/検出器 2355 の下側にカートリッジを位置決めするためのモータを含むことが好ましい。好適な一実施例では、結合された機構を動機的/強制的に操作できるように、カートリッジリーダーハウジング内のカートリッジの抜き取りはカートリッジリーダー内の1つ又は複数の機構に機械的に結合されてよい。例えば、カートリッジの抜き取り、カートリッジがチャンバに入った後に光を漏らさないエンクロージャにドア 2325 を閉じる機構、カートリッジリーダーの電気接点 2330 をカートリッジの電気接点に係合させる、すなわち、電極アレイの電気接点と電氣的に接触させるアッセイ電子機器サブシステム(以下に詳細に記載する)、カートリッジの流体ポートと係合する、すなわちカートリッジの流体ポートと流体的に連通させる(例えば、カートリッジの流体ポートと流体マニホールドとの間に圧力シールを確立する)流体ハンドラサブシステム(以下に詳細に記載する)の流体マニホールド 2340、及び/又はアンプルなどの試薬モジュールをカートリッジの抜き取り/位置決め工程中に破壊させる流体ハンドラサブシステムの試薬モジュール破壊機構 2350 に機械的に結合され得る。

【0216】

ある実施例では、測定工程は各々の読取りチャンバからの信号を別個に読み取る工程を含んでよい。これは単一の適した検出器を用いること、及び該単一の検出器に関連してカートリッジの読取りチャンバを最適に位置決めすることによって達成できるが、測定/検出の成功も所望の読取りチャンバに関連して検出器を再位置決めすることによって達成できる。このような実施例のために、カートリッジ取扱いサブシステムはカートリッジ及び/又は検出器を位置決めすることができるよう別個のモータを含んでよい。特定の実施例では、検出器が測定が実行されている正確な場所、例えば、ECL を生成するために現在刺激されている作用電極の場所と位置が合って整列されているように、カートリッジ取扱いサブシステムはカートリッジ又は検出器、或いはその両方を正確に位置決めするように適合且つ構成されている。

【0217】

好適な実施例では、好適には例えばカートリッジリーダーに入って来的时候にカートリッジ上の識別用マーク/ラベル 2370 を自動的に走査するように、バーコードリーダー 2365 はカートリッジリーダーの上/中に組み込まれている。このラベルは実行される特定のアッセイに関連する符号化された情報、校正パラメータ及び/又はアッセイを実行するのに必要な他の任意の情報を含んでよい。さらに、好適な実施例は、事前にカートリッジを所定温度、例えば、37 まで暖めるためにカートリッジリーダー内にヒータを組

10

20

30

40

50

み込んでよい。

【0218】

リーダーはカートリッジ内に含まれた液体と接触しないことが好ましい。この特徴はベントポートに印加された空気圧を用いてカートリッジ内の流体を動かすことによって達成され得る。この流体取扱いサブシステムは、カートリッジ及びその種々の流体コンポーネントの中の流体の動き、及びそこを通る流体の動きを選択的に制御するためにカートリッジの流体コンポーネントの1つ又は複数に正圧及び/又は負圧(すなわち吸引力を印加)を選択的に印加するように、ポンプ2345(好適にはピストンポンプ)を含むことが好ましい。この流体取扱いサブシステムは、1つ又は複数の流体制御地点、例えば正の制御ポート、ベントポート等においてカートリッジを流体的に係合させるように適合且つ構成されていることが好ましく、またこのような流体的係合を成すための流体コネクタを含む。好適には、カートリッジの流体コンポーネントに選択的に圧力を加えることは、カートリッジリーダー内に収容された流体マニホールド2340を組み込んで、流体的係合の機能を単純化且つ増強するとともに流体システムの数及び複雑さを最小限にすることによって達成される。有利には、流体マニホールド2340は単一のポンプを容易に使用できるように適合且つ構成され得る。すなわち、制御弁2342を流体マニホールド2340内に組み込んでカートリッジの種々の流体コンポーネント内の又はそこを通る流体の動きを選択的に制御できる。この流体取扱いサブシステムは、流体ネットワーク内の流体の正確/反復可能な移動及び/又は位置決めを容易にするように圧力センサを備えることが好ましい。この流体コネクタはカートリッジ内の液体による読取りフルイディクスの汚染を防ぐようにエアロゾル阻止栓又は気体選択性部材(すなわち、選択的にガスを通過させることができるが、液体に通過を阻止する材料)を含むことが好ましい。このような栓又は膜を含んだコンポーネントは、液体で汚染された場合に容易に除去且つ交換されることが好ましい。エアロゾル阻止栓はピペッターの汚染を防ぐためにピペットチップにおいて共通して使用され、乾燥しているが膨らんだときには空気が通過できるようにし、液体と接触したときには通路を密閉できるようにする材料(例えば、セルロースガムで含浸又は被覆したフィルタ材料)を含む。

【0219】

流体取扱いサブシステムは流体ネットワーク内の所定の場所に位置決めされた、流体センサ(図23ではわかり難いが、図12及び17はカートリッジ/流体ネットワークの配置に関連して別の流体センサのレイアウトを示している)、例えば、反射光センサを採用することが好ましい。このような好適な実施例によれば、流体センサはカートリッジボディ上の標識した光検出ポイントと位置が合って整列された状態で位置決めされる。センサの信号データを用いて、ポンプ速度、方向及び特定のポンプ操作の持続時間などのポンプの操作パラメータを制御するのに使用され得る流体の位置情報を提供することができる。カートリッジ内及びそこを通る流体を正確に制御することに加え、例えば、前後の混合動作中のスラグの流体前面の限界を定めること及び/又は混合操作の状態を表す吸光度又は光散乱などの流体の光学的特性を測定することによって、流体センサを用いて流体の混合を制御(例えば、インキュベーション中、及び洗浄及び読取りサイクル中の読取りチャンバからの標本の排出)することができる。流体センサを用いて標本の粘度測定を行うこともできる。一実施例では、所定の速度で又は所定の圧力勾配を達成するように設定された条件下でポンプを操作することによって、読取りポンプはある光センサの位置から別の位置まで標本の流体前面を流体導管に通すように指示される。この2つの位置間で流体を移動させるのに必要な時間は粘度を示す。任意にはこのような粘度測定を用いて血液又は血漿標本の凝固時間(例えば、全血凝固時間、トロンビン時間、プロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間、及び/又は活性凝固時間)が測定される。このような方法はタイミング工程を行う前に1つ又は複数の凝固試薬を(例えば、このような試薬を含んだ乾燥試薬上を標本を通過させることによって)導入する工程をさらに含んでよい。トロンビン時間を測定するのに適した試薬はトロンピンを含んでよい。プロトロンビン時間を測定するのに適した試薬はトロンボプラスチン及び/又はカルシウムを含んでよい。部分トロ

10

20

30

40

50

ンボプラスチン時間を測定するのに適した試薬はケファリン及び負に帯電した物質（好適には、珪藻土、カオリン、ガラス微粒子、及び／又はエラグ酸）を含んでよい。活性凝固時間を測定するのに適した試薬は、珪藻土、カオリン、ガラス微粒子、及び／又はエラグ酸などの負に帯電した物質を含んでよい。

【0220】

光センサを使用して流体の流れを監視することは有利であるが、必要というわけではない。ある別の実施例では、流体移動の操作は所定の時間に所定の速度でポンプを操作することによって実行されるか、又は決定された条件下で（例えば、ポンプの校正を通して）結果的に流体スラグの所定の移動が達成される。

【0221】

アッセイ電子機器サブシステムは電気接点、センサ、及び電子回路を備えることが好ましい。電気接点2330は電極アレイとの電気接点内に設置されるように適合且つ構成されることが好ましい。好適な一実施例では、カートリッジリーダーの電子回路は、電極の特定の対（すなわち、上記により詳細に説明したペアワイズ形態の発射）にアドレスし、且つその電極対によって形成された回路に所定の電圧波形を印加するために、アナログスイッチング回路及びトランスインピーダンス回路を含んでよい。実際の出力電圧及び電流は任意には診断のために測定されてよい。この電子回路は（上記のような）容量測定又は導電性測定のためにAC波形（例えば、500Hz以下）を印加することができることが好ましい。またさらに、この電子回路は、例えば血液標本のヘマトクリット測定に適した20kHzの信号を生成するように適合且つ構成されてよい。

【0222】

発光ベースのアッセイを実行するように構成されたカートリッジリーダーの特に好適な一実施例では、カートリッジリーダーは読取りチャンバから放出される光／発光を検出且つ／又は測定するために、光学検波器2335、例えば、フォトダイオード（最も好適には、冷却フォトダイオード）、光電子増倍管、CCD検出器、CMOS検出器等を採用してよい。冷却フォトダイオードを採用する場合、熱電クーラー及び温度センサをフォトダイオード自身に組み込んで、電子制御システムによる選択的制御が可能となる。

【0223】

カートリッジベースのシステムの操作を選択的に制御するために、コンピュータ制御システム2310が利用されることが好ましい。このコンピュータ制御システムはカートリッジリーダー内に完全に統合されるか、外部に収容されたシステムのカートリッジリーダーから分離されるか、且つ／又はカートリッジリーダー内に部分的に統合され、且つそこから部分的に分離されてよい。例えば、カートリッジリーダーはカートリッジリーダー及び／又はそのサブシステムを制御するようにプログラムされることが好ましい汎用コンピュータシステム（図示せず）に接続するための外部通信ポート（例えば、RS-232、パラレル、USB、IEEE1394等）を備えて構成され得る。好適な一実施例では、単一の内蔵されたマイクロプロセッサを用いて電子機器を制御し、且つカートリッジのオペレーションを調整することができる。さらに、このマイクロプロセッサは内蔵されたオペレータインタフェース、接続性、及びデータ管理オペレーションを支援することもできる。内蔵されたオペレータインタフェースは統合されたディスプレイ2360及び／又は統合されたデータ入力デバイス2355（例えば、キーボード）を利用できることが好ましい。コンピュータ制御システムはカートリッジの結果及び機器の構成パラメータを格納する不揮発性メモリを好ましくは含んでよい。

【0224】

図34はリーダー2300用の好適な一設計の断面分解図であり、リニアガイド2384上にありカートリッジをリーダーの内外に出し入れするモータ2380によって駆動される（好適には組み込まれたカートリッジヒータを含む）カートリッジ引出し2386も示している。図34はカートリッジ内の選択された位置において流体を検出する（センサ、好適には光センサを保持する）流体センサアレイ2388、及び電気コネクタ（この図では示さず）、流体コネクタ（この図では示さず）、アンプル破壊機構2350及び光学

10

20

30

40

50

検波器 2335 を支持するフレーム 2838 とカートリッジリーダーを一体化するモータ 2382 を示している。

【0225】

図 24 は (カートリッジリーダー用流体検出センサ 1 ~ 15 に対する好適な場所とともに) 図 25 の流体経路に示した (カートリッジ 1400 に類似の) カートリッジ 2500 と共に使用するように構成されたカートリッジリーダー用流体取扱いサブシステム内の弁の好適な構成を示している。サブシステムはポンプマニホールドに連結された空圧式ポンプ (好適にはエアピストン) を含んだポンプシステムを備えている。このマニホールドは、ポンプをカートリッジ上の選択されたベントポート (好適には、廃棄物チャンバ A のベントポート 2512A 及び廃棄物チャンバ B のベントポート 2512B) に接続し、且つポンプを使用してカートリッジ内の流体を選択されたベントポートから離れるように、又はそれに向かって移動できるようにする (制御弁 2412A 及び 2412B を含んだ) 制御ラインに接続されている。このマニホールドはポンプマニホールドを通気する (ポンプ通気管路弁 2492 を含んだ) ポンプ通気管路にも接続されている。制御弁は制御ライン及びそれに関連するベントポートを密閉する閉位置、ポンプをカートリッジベントポートに接続する開位置、及び、任意にはカートリッジベントポートを大気圧に開放する通気位置を有する。ポンプ通気管路弁はポンプベントポートを密閉する閉位置及びポンプマニホールドを大気圧に曝露してポンプマニホールド内の圧力 / 吸引力を放出する開位置を有する。流体取扱いサブシステムは、カートリッジ上に、ベントポート (それぞれ、標本チャンバベントポート 2512、空気ポート 2522、試薬チャンバ A のベントポート 2532A 及び試薬チャンバ B のベントポート 2532B) の通気を可能にする (通気弁 2412、222、2432A、及び 2432B を含んだ) 通気管路をさらに含む (好適には、廃棄物カートリッジポート以外のカートリッジベントポート)。通気弁は関連するカートリッジベントポートを密閉する閉位置及びベントポートを大気圧に曝露する開位置を有する。流体取扱いサブシステムは、マニホールドの圧力を検出するポンプマニホールドに結合された圧力センサを含んでもよい。カートリッジの流体制御中、マニホールドの圧力を監視して、その圧力が特定の操作に対する想定 of 圧力範囲になるように保証し、且つ流体取扱いサブシステムが適切に働いていることを確認することが好ましい。図 24 に示した好適な特定の弁構成は主に弁室に向けて流体を吸い出すことによって流体を移動させるように設計されている。他の弁構成、例えば主に正圧によって流体を移動させる構成が当業者には容易に理解されるであろうし、廃棄物チャンバ以外のチャンバをポンプに接続できるようにする且つ / 又は廃棄物チャンバを大気と直接通気できるようにする弁も、当業者には容易に理解されるであろう。

【0226】

図 24 ~ 26 を参照して、本発明の好適なカートリッジを用いたアッセイのパフォーマンスを記載する。この例示的方法を結合試薬として抗体を及び検出方法として ECL を用いた 2 段階多重化アッセイと関連して記載するが、記載した流体の操作は種々の異なるアッセイフォーマット (例えば、他のクラスの結合試薬を用いた結合アッセイ、酵素アッセイ等) において種々の異なる検出技術とともに用いることができることは当業者には明白であろう。以下に記載する操作の順序は特定のカートリッジの構成の違いに加え実行される特定のアッセイの違いに応じて変化してよいことも明白である。

【0227】

操作中、ポンプ通気ライン弁を用いて、より正確に流体を制御するためにシステムの加圧を有効及び無効にすることができる。つまり、ポンプのベントが開くと、システムは非常に迅速に気圧に戻る。典型的な流体誘導操作、すなわち、流体ネットワークの内又はそこを通して流体をルートさせる工程には、ポンプ通気弁を閉鎖し、且つ i) 1 つ又は複数の (好適には 1 つの) カートリッジ通気弁、例えば、標本、空気、試薬チャンバ A 及び / 又は試薬チャンバ B の通気弁及び ii) 1 つ又は複数の (好適には 1 つの) 制御弁、例えば、廃棄物チャンバ A 又は廃棄物チャンバ B の制御弁を開放する工程を伴う。したがって、ある経路を含んだ流体チャネルが一端で空気に通じて、他端において圧力又は吸引力の

10

20

30

40

50

いずれかに晒されたときに、液体のスラグはカートリッジの流体ネットワーク内をその経路に沿って移動する。

【0228】

ユーザは所望の測定を実行するのに適したカートリッジを選択し、カートリッジの標本導入口に標本を導入し、好適には標本導入口上でクロージャを密閉する。カートリッジリーダーにカートリッジを挿入する。カートリッジは、例えばカートリッジをトレイ上でどの方向に設置すべきかを示す識別マーク及び/又はユーザがカートリッジを正しい方向に設置するように誘導する機械的特徴を組み入れることによって、カートリッジを正しい方向に確実に挿入する特徴を含むであろうことが好ましい。ユーザがカートリッジを上手く調整且つ挿入した後、ユーザから読取りサイクルを開始せよという指示を受け取ると同時に、カートリッジの読取り/処理がカートリッジリーダーによって実行される(別の場合には、適切に処理されたカートリッジがカートリッジリーダーに適切に挿入されたことを確認すると同時に、カートリッジリーダーは自動的にオペレーションを開始してよい)。この後に続くカートリッジの読取りは自動化されていることが好ましい。例えば、カートリッジリーダーの電子制御システム(コンピュータ制御システム等)がカートリッジを自動的に処理し、読み取る。

10

【0229】

カートリッジリーダーによって実行される操作の自動化されたシーケンスをここで記載する。カートリッジはカートリッジリーダーによって検出且つ処理される機械読取可能な印、例えば、バーコードを含んでいることが好ましい。例えば、機械読取可能な印を処理することにより、カートリッジリーダーは、有効な読取り可能なバーコードが検出されたことを確認し、次に現在の読取りサイクルのための操作パラメータを決定できる。すなわち、カートリッジリーダーは実行されるアッセイ/テストのセットを決定し、関連する機器構成パラメータを引き出し、且つその有効期限を確認できる。ある好適な実施例では、カートリッジリーダーは、それが必要とするデータ、例えば、オペレータのID、標本又は患者のID等をユーザに促すことができる。さらに、カートリッジがあるパネルのテストを実行することができる場合、ユーザはパネル内のどのテストを実行すべきかどうかを選択することができるであろう。

20

【0230】

カートリッジリーダーは、カートリッジを機械的に係合し、且つカートリッジを適所に移動/整列させるカートリッジ取扱いサブシステムを有していることが好ましい。このプロセスは光を漏らさないエンクロージャ内にカートリッジを位置決めする工程を含むことが好ましい。またカートリッジリーダーはカートリッジとの適した流体的及び/又は電子的接続部を形成する、任意には、カートリッジ試薬チャンバ内に存在する試薬モジュール(例えば、試薬アンプル)を破壊又は穿孔する。上記のように、好適な一実施例では、カートリッジハンドラーの動きは、光を漏らさないエンクロージャ内にカートリッジを位置決めすると、電気接点及び流体マニホールドが各々の係合ポイントにおいてカートリッジを係合させるように(及び、任意には、試薬モジュール放出機構が任意の試薬モジュールから試薬を放出するように)、流体的又は電子的ハンドラー(及び、任意には試薬モジュール放出機構)に物理的に結合されるであろう。次に、必要に応じて又は好適には、電子制御システムはカートリッジを適した温度まで上昇させ、そのようなターゲット温度にカートリッジを維持するためにヒータの操作を開始する。ある好適な実施例では、温度調節を比例微分制御を採用したマイクロプロセッサで制御して、ターゲット温度を維持するヒータを制御できる。この場合、適したアルゴリズムが使用されることが好ましい。

30

40

【0231】

一旦カートリッジが所定の時間間隔の間、ターゲット温度に維持されると、流体取扱いは読み取りのためにカートリッジの処理を開始する、すなわち、アッセイをまとめることができる。図26を参照すると、2段階アッセイフォーマット中の、カートリッジリーダーの中間の状態及びカートリッジ2500の流体ネットワーク内の流体の位置を示している。図26に示したように、カートリッジ2500(パネル2601)が示されており、

50

流体ネットワーク内の成分流体を示している。アッセイアセンブリは、特定量の標本流体を計量する工程、標本流体内で乾燥試薬を戻す工程、及び検出チャンバ内で標本流体をインキュベートする工程から構成される。成分流体によって決定される所望の流体の流路に従って、所定の順序で所定の弁が開放される。

【0232】

2つの読取りチャンバが存在しており、且つ標本を試験するのに利用される本発明によれば、等しい長さの2つ標本（例えばスラグ）が引き出される。この標本スラグの長さは読取りチャンバの体積によって決定される。標本スラグは2つの標本スラグ間に空気のスラグを導入することによって区切られる。したがって、標本チャンバ通気弁2412及び廃棄物チャンバ2442Aが開放され、ポンプ通気弁は閉じられる。続いて、ポンプが起10
動されて（好適には、標本チャンバからの標本の漏れを阻止するのに使用されるZ-移行により提供されるキャピラリ破壊を乗り越える）標本チャンバ2510から標本導管分岐2515A内に標本が吸い込まれる／引き込まれる。この及び他のポンプ工程では、圧力センサ（図示せず）が操作によって生まれた圧力を検出し、ポンプが流体を正しく吸引／分注していることを確認することが好ましい。流体がセンサ3で検出されるとき（図26の2602を参照）、ポンプ通気弁が開放されてポンプが起動する。次に、標本チャンバ通気弁2412及び廃棄物チャンバ通気弁2442Aが閉じられる。同じく、標本チャンバ通気弁2412及び廃棄物チャンバB通気弁2442Bが開いた状態でポンプを操作することによって、標本は標本導管分岐2512B内に引き込まれる（図26、パネル2603を参照）。空気通気弁2422に加え廃棄物チャンバA及びBの通気弁2442A～20
Bを開放した状態でポンプを操作することによって、定められた標本流体のスラグが標本導管分岐内に引き込まれる。この及び次の工程では、2つのスラグは両方の廃棄物チャンバ通気弁を開けたままにすることによって標本導管分岐2515A及びBを同時に移動され得るか、又は1回につき1つの廃棄物チャンバ通気弁を開放することによって順番に移動され得る。

【0233】

標本導管分岐は（好適には、遮断剤、pH緩衝液、塩、標識した結合試薬等から選択された1つ又は複数の試薬を含んだ）乾燥試薬錠剤を含むことが好ましい。導管分岐の及び／又はスパイク回収制御のためにスパイクした被検体を含んでもよい。乾燥試薬を戻すために、2つの標本流体スラグは、空気通気弁2422及び廃棄物チャンバ通気弁244230
A及び／又はBを開放し、且つポンプを操作して廃棄物チャンバベントへの正圧及び負圧の印加を交互に行うことによって、錠剤ゾーンにわたって所定の回数前後に移動される（図26、パネル2605～2606）。この2つの標本流体スラグは前後に同時に移動され得るか、又は2つのスラグの混合は連続して達成され得る。流体が錠剤ゾーンにわたってサイクルされる反復の回数は、乾燥試薬のサイズ／量、試薬錠剤の組成、試薬付着／錠剤形成時に用いられる乾燥方法等を含むファクタに依存してよいが、これに限定されるものではない。好適な実施例によれば、流体取扱いサブシステムが実行するのに必要とする反復の回数は、カートリッジ固有のものであり得、カートリッジリーダーによってカートリッジに取り付けられた／組み込まれた機械読取可能な印に符号化された情報から、自動40
的に確定され得る。反復回数は実験に基づいた結果から予め決められてよいが、試薬及び標本流体の混合度を測定するように適合且つ構成された1つ又は複数のセンサを用いて、例えば、光センサを用いて（透過率及び反射率）、電気センサを用いて（インピーダンス、伝導性、抵抗等）、*in-situ*で決定されてもよい。

【0234】

ここで、標本スラグがセンサ7において検出されるまで空気通気弁2422及び廃棄物通気弁2442Aを開放した状態でポンプを操作し、標本スラグがセンサ8において検出されるまで空気通気弁2422及び廃棄物通気弁2442Bを開放した状態でポンプを操作することによって、標本流体スラグはそれらの検出チャンバ2550A及び2550Bまで移動される（図26、パネル2607～2608を参照）。この標本スラグを検出チャンバ内でインキュベートして、標本（例えば、標識した結合試薬、被検体、対照被検体50

等)の成分及び固定化した結合試薬を検出チャンバ内で結合させて検出チャンバ内で結合複合体を形成する。混合操作を用いてこのような結合反応の速度を上げることが好ましい。混合操作は試薬錠剤を戻す工程について記載したものと同様のプロセスにより、(任意には、各方向に停止ポイントを提供するようにセンサ1、2、11及び12を用いて)検出チャンバ内で流体スラグを前後に移動させることによって達成されることが好ましい。吸引及び分注操作は所定の回数又は所望の混合度合いが達成/検出されるまで繰り返される。インキュベーション工程が完了すると、空気チャンバ通気弁及び廃棄物チャンバ通気弁を用いてスラグが検出チャンバの外に出されて、廃棄物チャンバ2540A及び2540B内に引き込まれる(図26、パネル2609~2610)。

【0235】

(示したように)好適には、アッセイプロセスは検出チャンバから標本及び未結合の標識した試薬を除去する洗浄工程を含む。この洗浄工程は、試薬チャンバA2530A内に保管された洗浄試薬(好適には、緩衝液、より好適にはTriton X-100などの非イオン性界面活性剤を含んだ緩衝液、最も好適にはTPA又はPIPESなどのECL共作用物質を含んだ緩衝液)を使用する。この洗浄試薬が試薬モジュール(好適にはアンブル)内にあり、モジュールが開いていなかった場合には、この段階で開けられる。任意には、ポンプを操作して試薬チャンバA通気弁2432A及びこれに対応する廃棄物チャンバ通気弁2442A又はBを開放した状態で負圧を印加することによって(及び、好適には、試薬導管内のZ-移行により提供されるキャピラリ破壊を乗り越えることによって)、残りの標本流体は標本導管分岐の1つまで試薬チャンバA2530Aから引き出される。この後、ポンプを操作して標本チャンバ通気弁を開放した状態で廃棄物チャンバ通気弁に正圧を印加することによって、過剰な標本が標本チャンバ内に引き出される(図26、パネル2611~26120)。次に、試薬チャンバA通気弁2432A及び廃棄物チャンバ通気弁2442A及び/又は2442B(同時に又は順番に)を開放した状態でポンプを操作することによって、洗浄試薬が試薬チャンバA2530Aから引き出され、検出チャンバ2550A及び2550Bを介して廃棄物チャンバ2540A及び2540B内に引き込まれる(図26、パネル2613~1616)。示したように、特に好適な実施例では、洗浄液は分割、すなわち1つ又は複数の空気のスラグによって破壊されてよい。検出チャンバ内で空気と交互になっている洗浄流体は洗浄サイクルの効果を増大させる。洗浄流体の分割は、空気が標本導管内に引き込まれるように、空気通気弁2422を周期的且つ一時的に開放すると同時に試薬チャンバA通気弁2432Aを閉じることによって達成できる。このような操作のタイミング及び持続時間は、分割された洗浄流体内に導入される空気スラグの大きさ及び頻度を決定するであろう。

【0236】

2段階フォーマットでは、1つ又は複数の標識した検出試薬はさらなるインキュベーション工程において検出チャンバでインキュベートされてよい。検出試薬溶液は試薬チャンバB2530Bに含まれたアッセイ希釈液を用いて検出試薬を含んだ乾燥試薬錠剤を戻すことによって調整されることが好ましい。このアッセイ希釈液試薬が試薬モジュール(好適にはアンブル)内にあり、まだモジュールが破壊されていなかった場合には、この段階で破壊される。このアッセイ希釈液はアッセイ希釈液がセンサ13に達するまで試薬チャンバBの通気弁2432Bを開放しながら廃棄物通気口の一端で吸引することによって、細長形の試薬導管2535内に引き込まれる(図26、パネル2617)。所定量のアッセイ希釈液は試薬チャンバBの通気弁2432Bを閉じ、空気通気弁2422を開放して、廃棄物通気口において吸引し続けることによって調整される。細長形の試薬導管内で乾燥試薬を戻す工程は、乾燥試薬錠剤の上でスラグを前後に移動させるように正圧と負圧との間でポンプを交互に切り換えることによって促進される(図26、パネル2618~2619)。検出チャンバへの標本の導入に類似するプロセスでは、検出試薬溶液のスラグをi)標本導管分岐2515AとBとの間に分配し、ii)検出チャンバ(2550A及び2550B)内に導入して、検出チャンバ内で前後に移動させながら該検出チャンバ内でインキュベートして検出チャンバ内の固定化した試薬への検出試薬の結合速度を上昇さ

10

20

30

40

50

せ、且つ検出チャンバから廃棄物チャンバ2540A及び2540B内に排出する(図26、パネル2620~2622)。任意には、残りの検出試薬溶液は、試薬チャンバB通気弁2432Bを開放した状態で(及び、好適には、流体の流れを分割するように、試薬チャンバB通気弁2432B及び空気通気弁を交互に開放して)、且つ次に空気通気弁2422を連続して開放した状態で廃棄物ベントにおいて吸引して過剰なアッセイ希釈液を廃棄物チャンバ内に引き込むことによって、検出チャンバ2550A及びBから洗浄される(図26、パネル2623~2625)。別の場合には、洗浄はパネル2613~2616に工程を繰り返すことによって達成され得る。

【0237】

ECL測定のために適した環境を提供するために、検出チャンバ2550A及び2550Bは(好適にはECL共作用物質を含んだECL読取り緩衝液である)洗浄試薬で充填される。したがって、標本導管分岐2515A及び2515B内に洗浄試薬を吸引するように、試薬チャンバA通気弁2432A及び廃棄物通気弁2442A及び/又は2442Bを開放した状態でポンプを操作することによって、洗浄試薬は検出チャンバ内に導入される。空気通気弁2422及び廃棄物チャンバ弁2442A及び/又は2442Bを開いた状態でポンプを操作することによって、スラグ洗浄溶液が検出チャンバ内に導入される(図16、パネル2628~2631)。上記アッセイは2回の結合工程を採用した2段階アッセイについて記載したものである。好適には図26のパネル2617~2625の工程を省くことによって、類似するプロトコルが1回の結合工程と共に1段階のプロトコルに使用されてよい。1段階フォーマットでは、アッセイで使用されるすべての検出試薬は、標本が分岐を通る間に乾燥試薬が戻されるように、標本導管分岐2515A及び2515B内で乾燥試薬として保管されることが好ましい。

【0238】

ECL測定は検出チャンバ内で作用電極を刺激/発射することによって実行されることが好ましい。検出チャンバの固定化した結合試薬は1つ又は複数の作用電極上に、より好適には電極のアレイ上に、最も好適には(上記のような)ペアワイズ形態で発射されるように構成された電極のアレイ上に固定化されることが好ましい。好適には上記のペアワイズ形態で、ECLを刺激するために電位が作用電極に印加される。このように生成された光は光学検波器を用いて、例えば、フォトダイオード等を用いて検出される。カートリッジ及び/又は光検出器は、活性電極を光検出器と整列させるようにペアワイズの発射プロセス中に移動されてよい。任意には、カートリッジ及び/又は光検出器の移動を必要としないように、光検出器のアレイ又は十分に大きい光検出器が使用される。所定のアッセイ固有の変換パラメータを用いて、測定されたECL計数から濃度/結果を導き出すこと、例えば、テストデータから実験的に導き出すことができるか、又は論理的予測/モデルから算定することができる。特に好適な実施例では、種々のカートリッジは種々の電極パターンを有してよいが、共通のカートリッジ電極接点パターン/エリアを採用することが好ましいであろう。電極接点のいくつかは、より低密度のカートリッジフォーマットに使用できない。

【0239】

カートリッジリーダーの一実施例が各々の読取り場所を発射するのに使用できる操作の好適な順序をここで説明する。この説明は光学検波器としてフォトダイオードを参照するが、当該分野で知られている任意の適した光学検波器が使用されてよいことを理解されたい。このフォトダイオードアセンブリ(又は別の場合にはカートリッジ)は適所に、例えばカートリッジの電極アレイの適した側まで移動される。次に、カートリッジは処理される第1の読取り場所がフォトダイオードとの所定の整列位置(例えば、登録された整列に位置決めされる)になるように、且つ電極接点との電気接点的形成されるように位置決めされる。一端接点 formationされると、リーダーは診断測定を実行して、電極アレイ及び/又はそのコンポーネント(リード線、接点、電極等)の適切な動作を妨げる恐れのある潜在的異常を検出することが好ましい。検出されるのが好ましい異常には、製造上の欠陥、表面の気泡等が含まれる。この診断測定は、好適には500HzのAC電圧又は非常に低い

10

20

30

40

50

電圧（例えば、100 mV未満）の低電流（例えば、1 μ A未満の）DC信号のいずれかを電極に印加し、表面容量を測定することによって達成され得る。次に、適した所定のアルゴリズムを利用して、そのような異常の存在及び/又は影響を判断、例えば、測定した信号を一定の閾値と比較することなどができるであろう。異常が検出された場合、カートリッジリーダーはそのエラーを記録し、それに応じて先に進むことが好ましいであろう。例えば、異常が特定の電極/電極対に分離される場合、カートリッジリーダーはこの場所の読取りを飛ばして、次の対及び/又は次の動作に進むであろう。動作状態が確定されると、電極の第1の対からのECLが電圧波形を印加することによって開始される。したがって、光検出器からのデータ取得も開始される。ECL測定が終了すると、カートリッジ/光検出器は第2の電極対からのECLを測定するように整列され、ECL誘起/測定プロセスが繰り返される。このサイクルは分析される電極対の各々について繰り返される。

10

【0240】

ある好適な実施例では、データポイントの完全なセットが取得されると、カートリッジリーダーは、後で検索/調査するために好適には機械読取可能な記憶媒体を用いて格納し、必要な最終工程（以下に詳細に示す）を実行することによって読取りサイクルを完了するか、又は、好適にはリアルタイムの実行で、取得したデータを後処理し、後処理されたデータを単独で又は取得した生データを組み合わせて格納するかのいずれかを実行できる。多くの場合生データ（例えば、トラブルシューティング、診断、データクレンジン/フィルタリング等）を調べることが重要であるので、データが後処理されたフォーマットでのみ格納されている場合、取得された生データを必要に応じて計算/判断できるように、データを変換する際に使用されるそれに対応するパラメータも格納されてよい。別の場合には、取得された生データのほか後処理されたデータも格納されてよい。さらに、取得された生データのみ、リアルタイム所定のデータ変換/分析オペレーションのサブセットに受けさせ、オフラインで、すなわちリアルタイムではなく、さらに後処理を行うために格納することができる。後処理はカートリッジリーダー自身又は別のデバイス、例えば、汎用のプログラマブルコンピュータによって実行され得る。

20

【0241】

ECL検出技術を採用したある好適な実施例では、データ変換/分析オペレーションはバックグラウンド除去、ECLカウントへの変換、ECLカウントから濃度への変換、及び/又は取得データに関する品質チェックのパフォーマンスのうちの1つ又は複数を含んでよい。結果として得られたデータセットはECLによって生成された光のみを表していることが好ましいので、バックグラウンド除去を用いて周囲光又は「バックグラウンド」信号の影響を補正する。バックグラウンド除去はフォトダイオード信号からバックグラウンド信号を除去する工程を含む。

30

【0242】

ECLカウントは所定の校正パラメータを用いて濃度に変換されることが好ましい。例えば、校正パラメータは1つ又は複数のファクタ、例えば、カートリッジ内で実行される特定のアッセイ/アッセイフォーマット、使用される検出技術/複数の検出技術、カートリッジ構成等に左右され得る。校正パラメータはカートリッジに関連する機械読取可能な印、例えば、カートリッジボディ上に貼られたか又は刻み込まれたバーコードから確認されることが好ましい。ECLカウントへの変換は、データ取得後に取得した全データを変換する工程、各々の個々に取得したデータポイントをそれが取得されたときに変換する工程、取得したデータポイントのグループ/グルーピングを変換する工程（例えば、カートリッジが読取りチャンバが2つある設計を使用している場合、ECLカウントへの変換は各読取りチャンバのデータの取得と同時である）、等を含む数多くの異なる方法で行うことができることを認識されたい。

40

【0243】

ある好適な実施例では、品質検査を実行すること、すなわち取得したデータの品質を評価することが好ましい。ECL検出技術を用いる場合、短絡の検出、断線の検出、電圧following確認、及びピーク電流検出を含む有用な品質検査を取得したデータに関

50

して実行することができる。断線及び短絡検出に関し、出力電圧及び監視される電圧は取得したデータポイントの各々について統合されることが好ましく、次にこの2つの値の比（電流対印加電圧）が閾値と比較され得る。例えば、このような閾値はアッセイ依存性であってよい。相対電流が非常に低いという結果の場合は断線状態の可能性の印とするのが好ましく、相対電流が非常に高いという結果の場合は短絡の可能性の印とするのが好ましい。この情報は後で検討/考慮するために相関的形式で格納することができる。別の場合には、いずれかの状態が検出されると、その結果は無効であると見なすことができ、このような測定に関する濃度は報告/算出されない。

【0244】

電圧 following 確認が使用される場合、取得した電圧波形の各ポイントは、標本抽出した出力された波形のそれに対応するポイントと比較されることが好ましい。所定の固定された電圧 following 限界を定めることが好ましく、ポイントのいずれかの対が、その所定の値（すなわち、 $|v(t)_{\text{defined}} - v(t)_{\text{measure}}| < \text{電圧 following 限界}$ ）以上異なっている場合、結果は無効であるという印になるか、又は考慮されることが好ましい。結果に印をつける場合、この情報は後で検討/考慮するために相関的形式で格納することができる。結果は無効であると見なされる場合、このようなデータポイントに関して算出された結果は報告/算出されないことが好ましい。

【0245】

一旦必要な測定のすべてが行われ、必要な流体処理のすべてが行われると（例えば、一旦最終測定が行われると、チャンネル及び/又は読取りチャンパ内に残っているすべての流体は廃棄物チャンパ内に送られる）、カートリッジ読取りオペレーションの最終工程が行われ得る。カートリッジはカートリッジリーダーから排出され得る。カートリッジ排出オペレーションはカートリッジリーダー内にカートリッジを入れるのに用いる操作と逆の手順で行われることが好ましい。具体的には、カートリッジリーダーコントローラは確実にポンプベントを開放し、他のすべての弁を閉じる。ポンプが停止し且つすべての電極がトライステート化していることが確認され、カートリッジヒータが存在し、使用される場合、カートリッジヒータを停止する。次に、カートリッジがリーダートレイ上に戻され、リーダートレイはカートリッジを残してカートリッジリーダーから排出されて使用可能な状態になるか、任意には、自動システムがトレイからカートリッジを取り出してそれを適切に処理することが好ましい。

【0246】

カートリッジ 3200 を用いたアッセイのパフォーマンスの好適な実施例を以下に記載するが、この記載はカートリッジ 2500 について記載した操作工程とは異なる態様について目を向けたものである。この操作説明は図 24 に記載したものと類似するカートリッジリーダー内の好適な弁構成の使用を含むが、空気ベントポート 3244 及び気泡トラップベントポート 3266 がポンプに接続されるか、密閉されるか、又は大気と通気されるような構成になっている。カートリッジ 2500 について記載した操作説明を考慮すると、この好適な実施例において流体を移動させるのに用いられる基本的操作（例えば、移動される流体の一方の側にあるベントポートを空気に開放し、正圧又は負圧をその流体の他方側のベントポートに印加する）は明白であるので、説明するとは限らない。

【0247】

標本、好適には固体マトリクスを含んだ且つ/又は固体マトリクス上に集められた標本を標本チャンバ 3220 に挿入し、キャップ 3297 を閉じる。特に好適な実施例では、標本（最も好適には、上気道標本及び/又はストレプトコッカス菌を含んでいることが疑われる標本）をアプリケーションスティック（好適にはスワブ）上に採取し、このアプリケーションスティックは所定の弱点を含んでいることが好ましく、標本チャンバは図 33 に示したように湾曲している。この特に好適な実施例では、湾曲したチャンバへアプリケーションスティックを挿入するとシャフトが折れる。次に、シャフト部分を取り除き、キャップ 3297 を閉じることによってヘッド部分を密閉することが好ましい。

【 0 2 4 8 】

カートリッジをリーダーに挿入し、カートリッジ 2 5 0 0 について記載したような適した電氣的及び流体的接続部と結合させる。カートリッジはこの時点では破壊されている（又は別の場合には必要となる前の任意の時点で）ことが好ましいそれぞれチャンバ 3 2 1 0 及び 3 2 4 0 内で抽出及び洗浄緩衝液のアンプルを保持することが好ましい。抽出試薬（好適には亜硝酸、より好適には試薬アンプル中の液体酸及びチャンバ 3 2 1 0 のアンプル外に存在する乾燥硝酸塩から作られた亜硝酸）は、ベントポート 3 2 1 2 を空気に開放し、ベントポート 3 2 4 4 又は 3 2 6 4 をポンプに開放し、ポンプを操作してスワブを介して抽出試薬を引き出すことによってその試薬チャンバから取り出される。標本中の気泡を除去するために、スワブからの流体がセンサ位置 # 1 において検出されるまでポンプを操作する。次に、流体はベントポート 3 2 6 6 を空気に開放し、ポンプを操作してベントポート 3 2 4 4 又は 3 2 6 4 に正圧を印加することによって（又はこれとは逆に、すなわち、ベントポート 3 2 6 6 に負圧を印加し、ベントポート 3 2 4 4 又は 3 2 6 4 を空気に開放することによって）、気泡トラップ 3 2 6 6 に押し込まれる。気泡トラップ 3 2 2 6 では、気泡はトラップの上部まで上昇し、トラップの底部には気泡の無い液体が残る。さらにスワブからの流体がセンサ # 1 まで引き上げられて、再度気泡トラップに押し込まれる。この工程はアッセイを行うために気泡のない液体を十分に気泡トラップ内に確実に集めることが必要になる毎に繰り返される。

10

【 0 2 4 9 】

次に、気泡の無い液体が、流体の前面がセンサ # 1 に達するまで、（ベントポート 3 2 6 6 を空気に開放した状態で、ベントポート 3 2 4 4 又は 3 2 6 4 から吸引することによって）気泡トラップ 3 2 2 6 の底部から引き出される。ベントポート 3 2 6 6 を閉鎖し、ベントポート 3 2 6 2 を空気に開放し、標本の所定のスラグが前方に引き出され、ベントポート 3 2 6 2 からその後ろにある空気が引き出される。このプロセスは所定量の標本液を正確に計り分ける。次に、標本スラグは乾燥アッセイ試薬をわたって引き出されてその試薬を溶解する。この試薬は緩衝液、アッセイ用の標識した結合試薬（好適には抗体）、安定化剤、及び/又は遮断剤などの他の添加剤を含むことが好ましい。抽出試薬として亜硝酸を用いたアッセイでは、標本の pH を 4 ~ 10、より好適には 5 ~ 9、さらに好適には 6 ~ 8 にするように、乾燥試薬は十分な塩基（好適には、トリス緩衝液、ヘペス緩衝液、リン酸緩衝液、P I P E S 緩衝液等の pH 緩衝液）を含んでいることが好ましい。溶解した試薬は、液体が導管の所定の領域内に残っていることを確実にするためにセンサを用いて、流体管路内で前後に標本を動かすことによって標本に混合され得る。

20

30

【 0 2 5 0 】

戻されたアッセイ試薬を含んだ標本は次に、固定化した結合試薬（好適には抗体）がより好適には電極アレイ内の電極上にある個々の結合ゾーン上に存在する検出チャンバ内に導かれる。標本は所定に時間間隔の間、静的モード又混合しながらのいずれかで、結合ゾーン上でインキュベートされ、その時間の間、被検体及び標識した結合試薬は互いと且つ/又は個々の結合ゾーンと結合することができる。混合は読取りチャンバの端部においてセンサ間で標本を前後に動かすことによって実行される。

40

【 0 2 5 1 】

標本のインキュベーションの前、間、又は後のある時点で、陽性対照アッセイも他の結合チャンバ内で行われる。洗浄緩衝液はベントポート 3 2 4 1 を空気に開放した状態でベントポート 3 2 6 4 で吸引力を加えることによって、洗浄緩衝液保管チャンバ 3 2 4 0 からセンサ # 2 まで引き出される。流体スラグはベントポート 3 2 4 1 を閉じ、ベントポート 3 2 4 4 を開放することによって計量され、対照検出チャンバ 3 2 5 0 に向かって引き出されるときに計量された流体の後ろに空気を導入する。計量された流体スラグは次に引き出され、乾燥対照試薬 3 2 5 2 を溶解する。このような試薬は標識した結合試薬（好適には抗体）、（陽性対照を提供するための）アッセイ用の所定量の被検体、安定化剤及び/又は他のアッセイ試薬を含んでいることが好ましい。次に、計量された洗浄緩衝液のスラグ及び戻した対照試薬を含んだ陽性対照試薬は、静的形態又は対照結合ゾーンの端部に

50

位置するセンサ間で標本を動かすことによって混合しながら、対照検出チャンバ3250内でインキュベートされる。

【0252】

インキュベーション工程後、陽性対照標本は廃棄物チャンバ2354内に引き込まれ、抽出されたスワブは廃棄物チャンバ3228内に引き込まれる。両検出チャンバは、洗浄緩衝液チャンバ3240から検出チャンバを介して対応する廃棄物チャンバ（検出チャンバ3230用の廃棄物チャンバ3228及び対照検出チャンバ3250用の廃棄物チャンバ3254）内に洗浄緩衝液を引き込むことによって、連続して又は同時に洗浄される。洗浄工程中使用される洗浄試薬はペントポート3244に空気を導入することによって分割されることが好ましい。洗浄後、対照及び標本結合ゾーンを共に洗浄緩衝液で充填してこの流体シーケンスが完了する。有利には、洗浄試薬は標本がチャンバ3230に導入される方向とは反対方向に検出チャンバ3230を流れる。この逆流洗浄によって、検出チャンバ内の測定に干渉するであろう標本中の成分及び/又は抽出緩衝液は確実に効果的に除去される。

10

【0253】

検出チャンバ内の結合領域への被検体及び/又は標識した結合試薬の結合は、カートリッジ2500について上に記載したようなECL測定によって測定される。ECLは所望の電位を結合ゾーンを支持する電極に印加することによって開始される。検出チャンバ3250内の陽性対照結合ゾーンは各アッセイ用の陽性信号を提供し、この結合ゾーンを用いてカートリッジ上のアッセイ試薬が劣化していないことを保証することができる。検出チャンバ3230内の標本結合ゾーンのいずれかからのECL信号は、被検体の存在がその捕獲ゾーンと結合しているか又はその捕獲ゾーンへの標識した試薬の結合と競合していることを示している。

20

【0254】

本発明のアッセイモジュール（好適にはアッセイカートリッジ）を用いて、対象の被検体を測定する種々の異なるアッセイフォーマット、好適には電極誘起発光測定に基づいたフォーマットを実行することができる。このアッセイは標本、及び任意には1つ又は複数の溶液相のアッセイ試薬を、対象とする被検体と（少なくともある程度の選択性をもって）結合する固定化した結合試薬を含んだ1つ又は複数のアッセイ領域（好適には複数のアッセイ領域）を含んだ検出チャンバ（好適にはフローセル）に導入する工程を含むことが好ましい。被検体に対する選択性が異なる固定化した結合試薬を含んだ少なくとも2つのアッセイ領域があることが好ましい。固定化した結合試薬のパターン化したアレイが存在することが好ましい。検出チャンバはアッセイ領域を有する1つ又は複数のアッセイ作用電極を含んだ複数の電極を備えていることが好ましい。このような場合、電気エネルギーを電極に（例えば、上記のようなペアワイズ形態で）印加して、標本中に存在する対象とする被検体の量に左右されるアッセイ依存性の信号（例えば、電流又は電位などの電気化学信号、又は、好適には電極誘起発光信号、最も好適には電気化学発光信号）を電極に誘起する。このアッセイ依存性の信号を測定して対象とする被検体の量を判定する。このアッセイは洗浄溶液で電極を洗浄する工程を含んでよいが、又は非洗浄フォーマットで実行されてよい。洗浄電気化学発光アッセイでは、アッセイは電気化学発光共作用物質（例えば、トリプロピルアミン又はPIPEsなどの第3アルキルアミン。適した共作用物質の例として、2002年9月10日に出願された米国特許同時係属出願第10/238437号を参照すること）を含んだ溶液で電極を洗浄する工程、及びその共作用物質の存在下でECLを誘起する工程を含むことが好ましい。非洗浄ECLアッセイでは、共作用物質は標本と共に検出チャンバ内に導入されるか、又は標本が導入される前に検出チャンバ内に存在していることが好ましい。有利には、好適には複数の電極上に複数のアッセイ領域を含んだアッセイモジュールを用いて対象とする複数の被検体用のアッセイを行うことができる。

30

40

【0255】

本発明の好適な実施例では、本発明のアッセイモジュール（好適にはアッセイカートリ

50

ッジ)を用いて結合アッセイ、最も好適にはサンドイッチ結合アッセイ又は競合的結合アッセイ、好適にはサンドイッチイムノアッセイ又は競合的イムノアッセイが行われる。このようなアッセイは、任意には、対象とする被検体の標識した結合パートナー又は対象とする被検体の結合パートナーに対する対象とする被検体を競合する標識した競合相手などの標識した結合試薬を検出チャンバ内に導入する工程を含む。別の場合には、このような試薬は検出チャンバ内に乾燥状態又は濡れた状態で保管されてよい。結合アッセイの実行に関する詳細については、参照により本願明細書に組み入れた、2002年6月28日出願された米国特許同時係属出願第10/185274号及び2002年9月10日出願された米国特許同時係属出願第10/238391号を参照すること。

【0256】

アッセイモジュール(好適にはアッセイカートリッジ)を用いてアッセイのパネルを実行することができる。適したパネルには被検体、又は特定の生化学系、生化学的経路、組織、器官、細胞型、細胞小器官、疾患状態、受容体のクラス、酵素のクラス、病原体のクラス、環境試料、食物試料等に関連する活性のパネルを含む、好適なパネルには、サイトカイン及び/又はその受容体(例えば、TNF-、TNF-、IL1-、IL1-、IL2、IL4、IL6、IL10、IL12、IUFN-等の1つ又は複数)、成長因子及び/又はその受容体(例えば、EGF、VGF、TGF、VEGF等の1つ又は複数)、二次メッセンジャー(例えば、cMAP、cGMP、イノシトール又はホスファチジルイノシトールのリン酸化体)、薬物乱用、治療薬、自己抗体(例えば、Sm、RNP、SS-A、SS-B、Jo-1、及びSc1-70抗原の1つ又は複数の抗体)、アレルギーに特異的な抗体、腫瘍マーカー、心臓マーカー(例えば、トロポニンT、トロポニンI、ミオグロビン、CKMB等の1つ又は複数)、うっ血に関連するマーカー(フィブリンモノマー、D-ダイマー、トロンピン-抗トロンピン複合体、プロトロンピンの断片1&2、anti-Factor Xa等の1つ又は複数)、急性ウイルス性肝炎の感染のマーカー(例えば、A型肝炎ウイルスに対するIgM抗体、B型肝炎コア抗原に対するIgM抗体、B型肝炎ウイルス表面抗原、C型肝炎ウイルスに対する抗体等の1つ又は複数)、アルツハイマー疾患のマーカー(アミロイド、タウタンパク質等)、骨粗鬆症のマーカー(例えば、架橋Nテロペプチド又は架橋Cテロペプチド、総デオキシピリジノリン、遊離オキシピリジノリン、オステオカルシン、アルカリ性リン酸塩等の1つ又は複数)、受精能力のマーカー(例えば、エストラジオール、プロゲステロン、卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成ホルモン(LH)、プロラクチン、hCG、テストステロン等の1つ又は複数)、鬱血性心不全のマーカー(例えば、ナトリウム利尿タンパク質(BNP)、a-ナトリウム利尿タンパク質(ANP)、エンドセリン、アルドステロン等の1つ又は複数)、甲状腺障害マーカー(例えば、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、全T3、遊離T3、全T4、遊離T4及びリバースT3の1つ又は複数)、及び前立腺癌のマーカー(例えば、全PSA、遊離PSA、複合PSA、前立腺酸性ホスファターゼ、クレアチンキナーゼ等の1つ又は複数)、上気道感染に關与する病原体(例えばインフルエンザA、インフルエンザB、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)、及び連鎖球菌)、食物及び水に認められる病原体(例えば、サルモネラ菌、リステリア菌、クリプトスポリジウム属、カンピロバクター菌、大腸菌O157等)、性感染症(例えば、HIV、梅毒、ヘルペス、淋病、ヒト乳頭腫ウイルス(HPV)等)、血液媒介病原体及び可能性のある生物兵器テロ(例えば、Select A、B、及びCの炭疽菌、ペスト菌、天然痘、野兎病菌、リシン、ボツリヌス毒素、ブドウ球菌エンテロトキシン等の米国疾病対策センターのリストにある病原体及び毒素)に対するイムノアッセイなどがある。好ましいパネルには、サイトカイン、成長因子、アポトーシス経路の成分、P450酵素の発現、腫瘍関連遺伝子の発現、腫瘍関連遺伝子(例えば上記記載の病原体)の発現をコードするmRNAのmRNAレベルを測定するための核酸アレイも含まれる。好ましいパネルとしては、個体(例えば、SNP分析)、病原体、腫瘍細胞等の遺伝形質を決定するための核酸アレイも含まれる。好ましいパネルとしては、酵素及び/又は酵素基質(例えば、ユビキチン結合、プロテアーゼ活性、キナーゼ活性、ホスファターゼ活性、核酸プロセッシング活性

10

20

30

40

50

、GTP加水分解酵素活性、グアニンヌクレオチド交換活性、GTP加水分解酵素活性化活性等に関する基質及び/又は酵素)のライブラリも含まれる。好ましいパネルには、受容体又はリガンドのライブラリ(例えば、Gタンパク質共役受容体、チロシンキナーゼ受容体、核ホルモン受容体、細胞接着分子(インテグリン、VCAM、CD4、CD8)、主要組織適合複合体タンパク質、ニコチン受容体等のパネル)も含まれる。好ましいパネルには、様々な源から(例えば、様々な細胞タイプ、細胞系、組織、生物、活性化状態などから)の細胞、細胞膜、膜断片、再構成膜、細胞小器官などのライブラリも含まれる。好ましいパネルに、様々な源から(例えば、様々な細胞タイプ、細胞系、組織、生物、活性化状態等から)の細胞、細胞膜、膜断片、再構成膜、細胞小器官等のライブラリも含まれる。

10

【0257】

本発明はキットも含む。このキットには本発明のアッセイモジュールを作成するのに必要な分解されているコンポーネントを含んでもよい。別の場合には、キットはアッセイを実行するのに必要な本発明のアッセイモジュール及び少なくとも1つの付加的なアッセイ試薬を1つ又は複数の容器内に含んでもよい。1つ又は複数のアッセイ試薬は、対象とする被検体に特異的な結合試薬(好適には標識した結合試薬、より好適には電気化学発光標識で標識した結合試薬)、ECL共作用物質、酵素、酵素质質、抽出試薬、アッセイ校正用の基準物質又は対照物質、洗浄溶液、希釈剤、緩衝液、標識(好適には、電気化学発光標識)等を含んでもよいが、これに限定されるものではない。本発明の好ましいキットには標本(上に詳細に記載した)、好適にはアプリケーションスティック上に採取された標本を抽出するように適合されたカートリッジを含む。このようなキットには特定のカートリッジに適合する特性を有するアプリケーションスティック(より好適にはスワブ)を含むことが好ましい。最も好適には、i)スティックがカートリッジ内に挿入されて分割されてヘッド部分を形成するように、且つii)ヘッド部分を標本チャンバ内で密閉できるように、アプリケーションスティックはカートリッジ内の標本導入チャンバの形状に適合された弱点を有する。このようなキットはアプリケーションスティック上の標本を抽出する抽出緩衝液を含んでもよい。本発明の一実施例は上気道の病原体又は粘液を含んだ標本中に存在し得る病原体を測定するキットである。このキットは標本を抽出するアプリケーションスティック(好適にはスワブ)(アプリケーションスティックは弱点を含んでいることが好ましい)及び病原体のパネル(例えば、上気道病原体のパネル、性感染症のパネル、粘膜内に存在する病原体のパネル等)を測定するカートリッジを含み、このカートリッジはこのような病原体のマーカを結合させる結合試薬を含んだ1つ又は複数の結合領域を含んでいることが好ましい。キットはこのような病原体のマーカに対する1つ又は複数の標識した結合試薬を(カートリッジ内又は別個のコンポーネントとして)含んでもよい。

20

30

【0258】

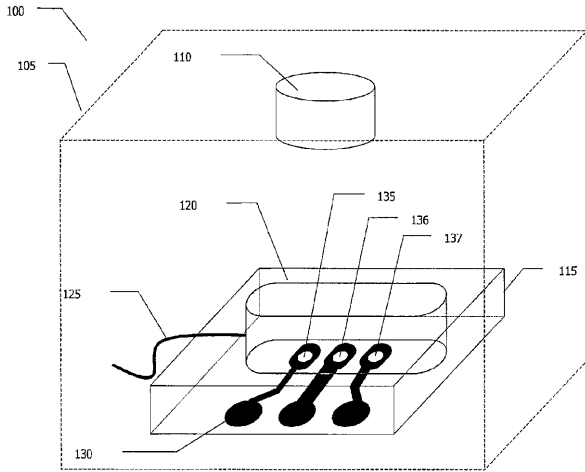
本発明は上記のようなアッセイモジュール(好適にはアッセイカートリッジ)及びモジュールリーダー(好適にはカートリッジリーダー)を含む。これらは別個のコンポーネントとして供給されてよい。本発明はアッセイモジュール(好適にはカートリッジ)及びモジュールリーダー(好適にはカートリッジリーダー)を備えたアッセイシステムも含む。

【0259】

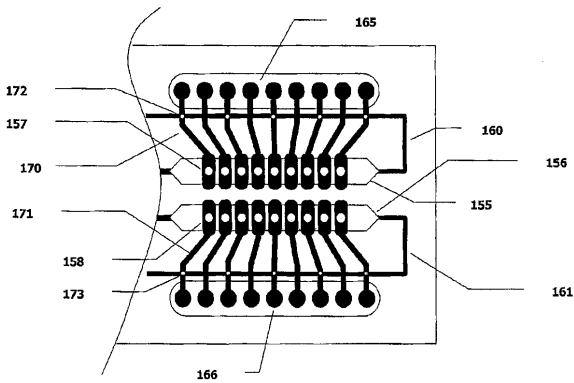
本発明は本願明細書に記載の特定の実施例によって範囲が限定されるものではない。実際、当業者であれば、上記の説明及び添付図面から本願明細書に記載したものに就いて本発明の種々の変形が可能であることは明白となる。このような変形は添付の特許請求の範囲内にあることが意図される。

40

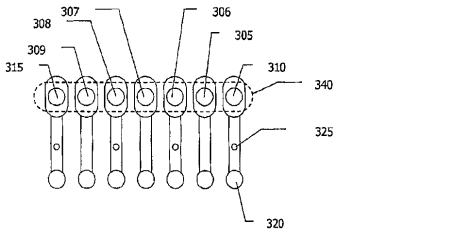
【 1 a 】



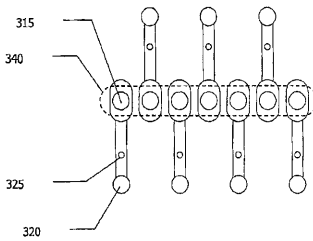
【 1 b 】



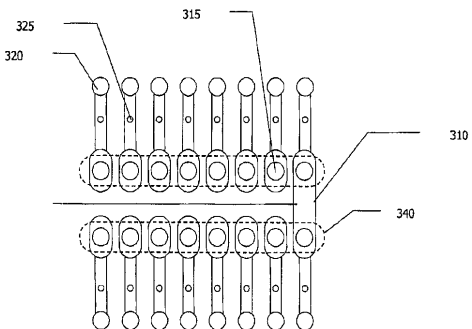
【 3 a 】



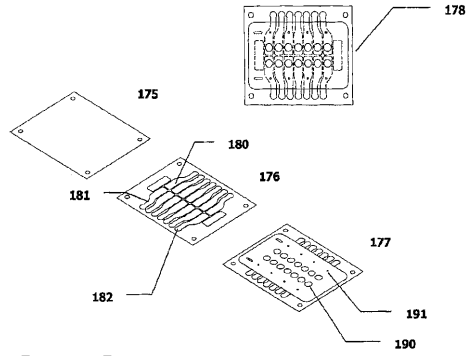
【 3 b 】



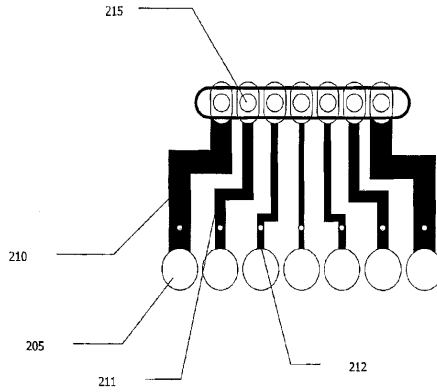
【 3 c 】



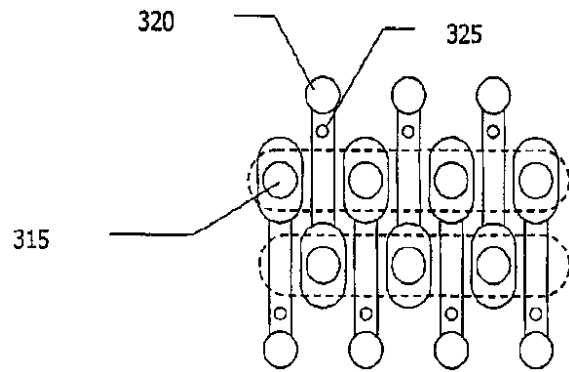
【 1 c 】



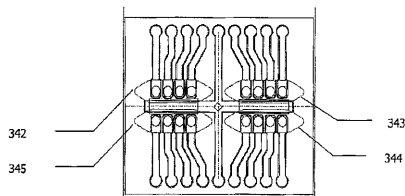
【 2 】



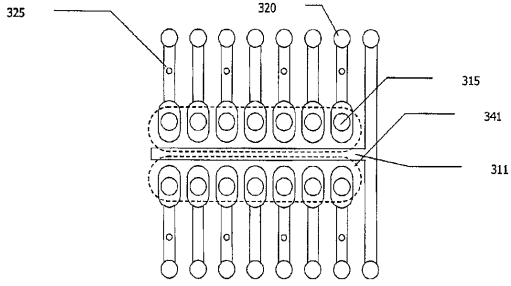
【 3 d 】



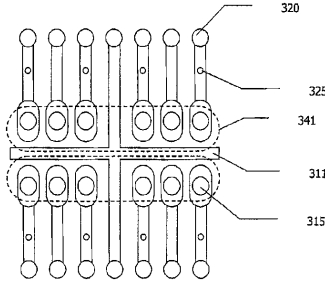
【 3 e 】



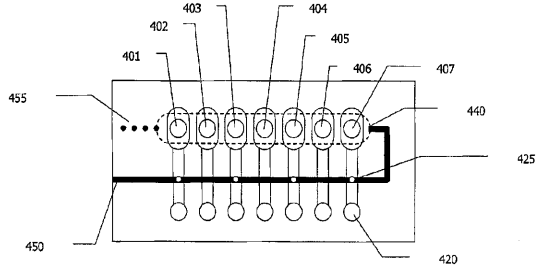
【図 3 f】



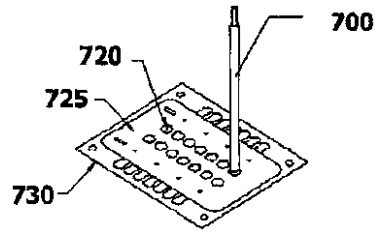
【図 3 g】



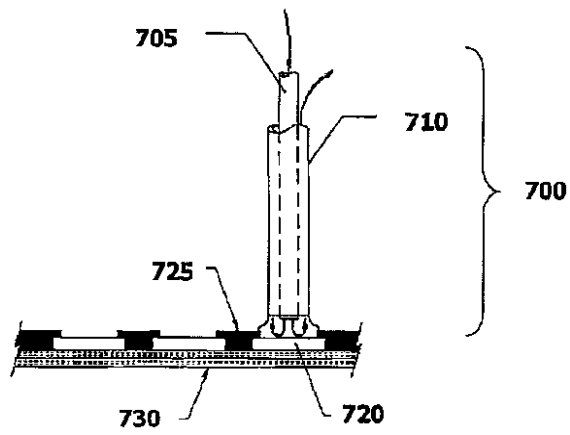
【図 4】



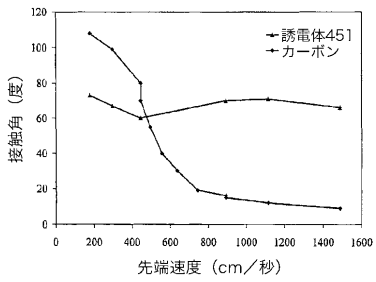
【図 7 a】



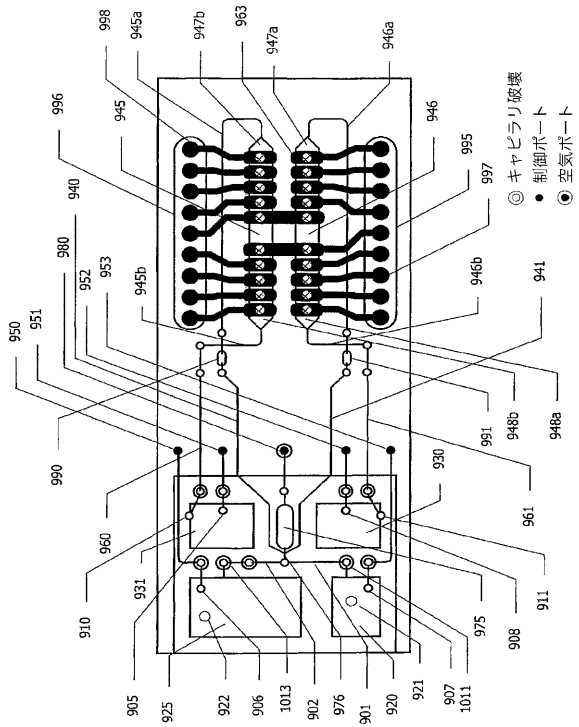
【図 7 b】



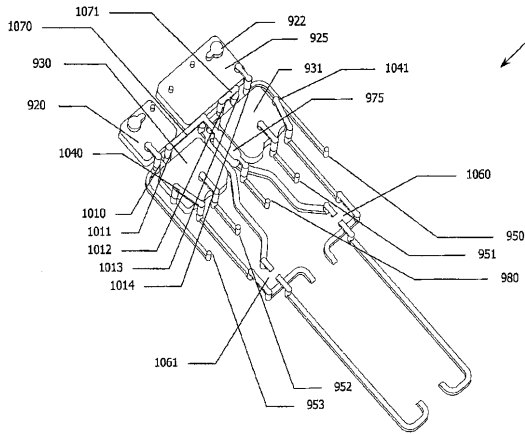
【図 8】



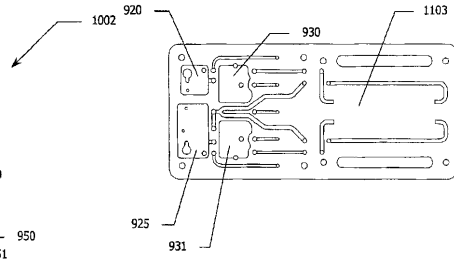
【図 9】



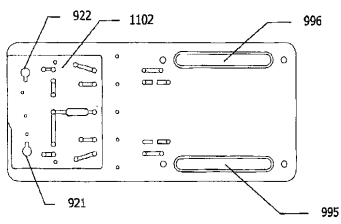
【図10】



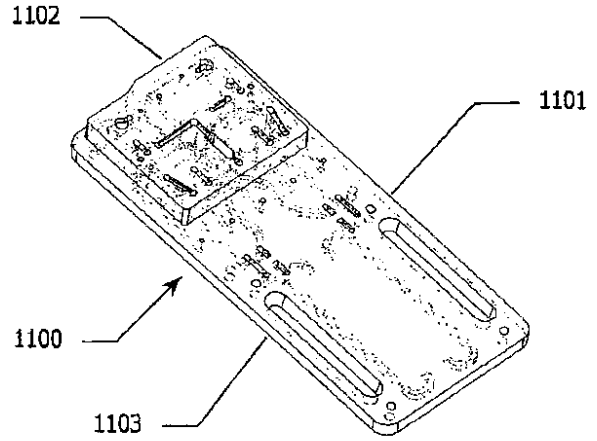
【図11b】



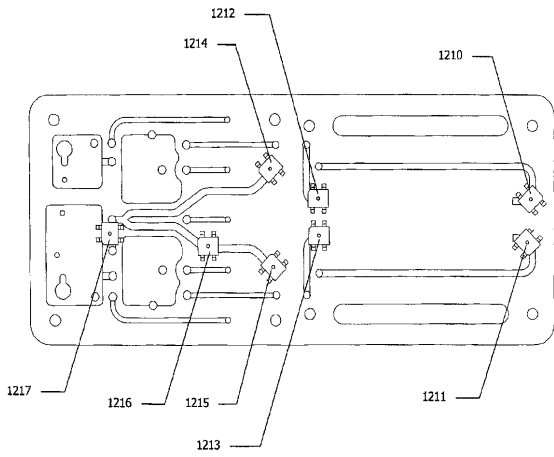
【図11a】



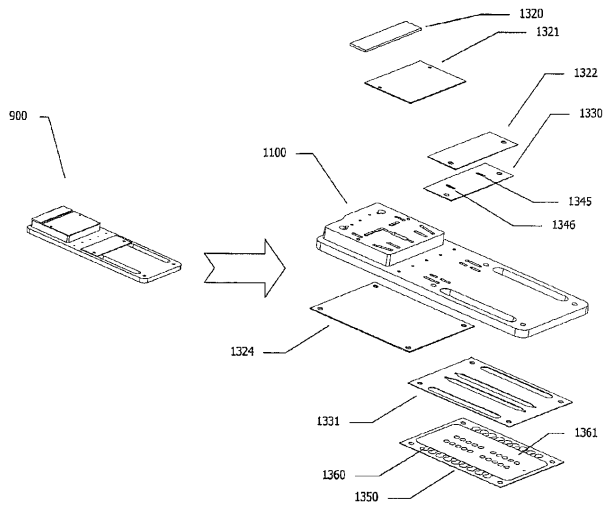
【図11c】



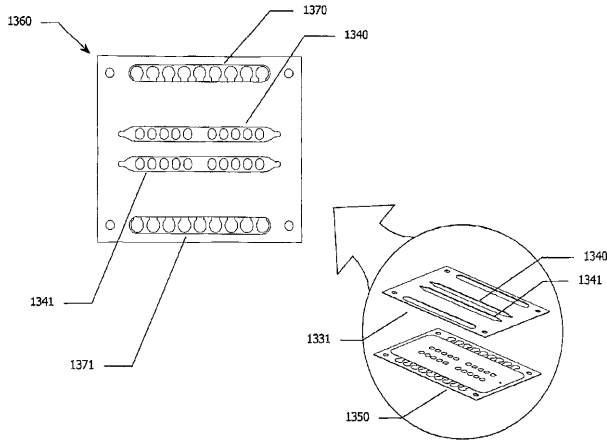
【図12】



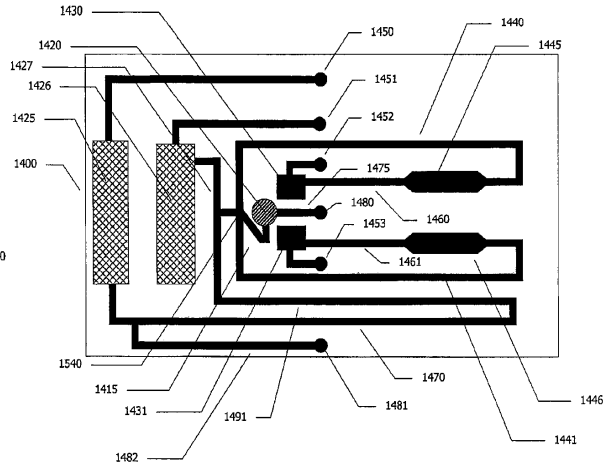
【図13a】



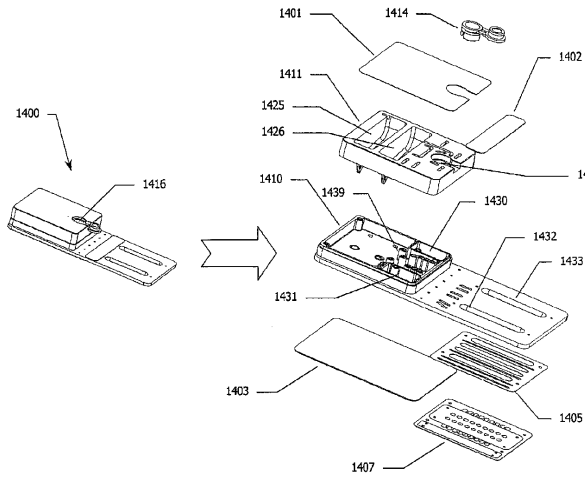
【図 13 b】



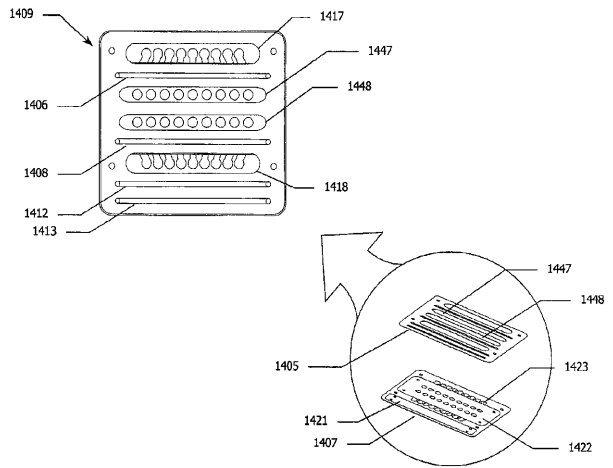
【図 14 a】




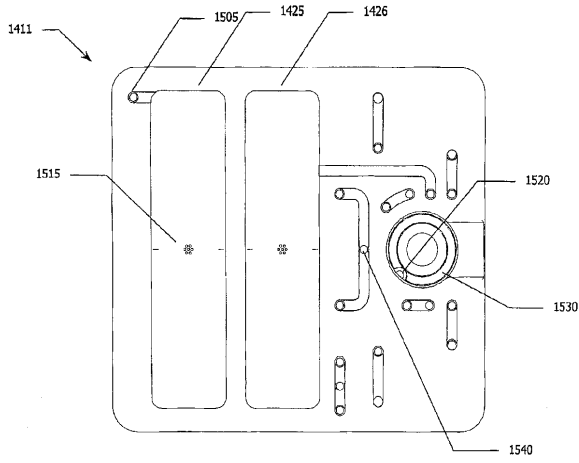
【図 14 b】




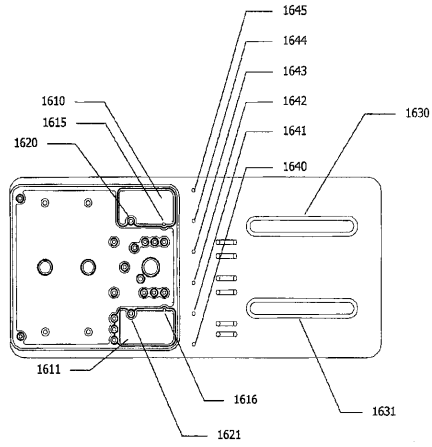
【図 14 c】




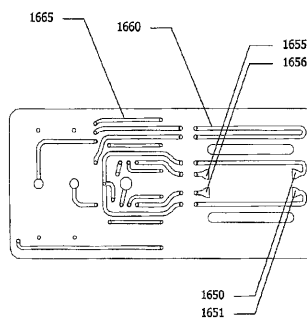
【 15 a】




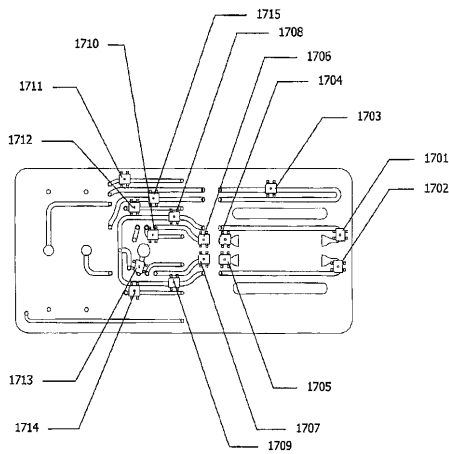
【 16 a】




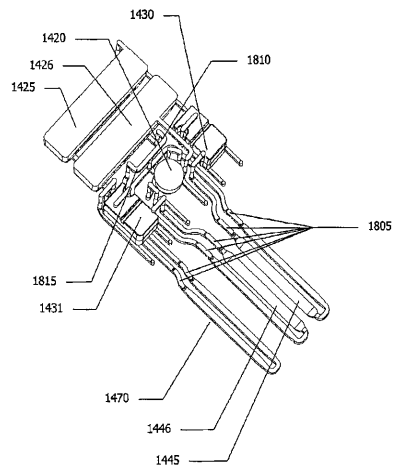
【 16 b】




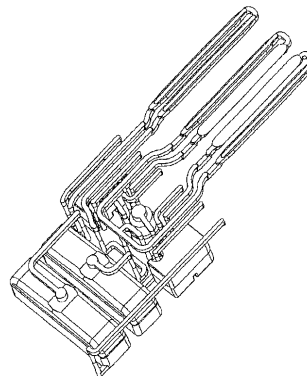
【 17】



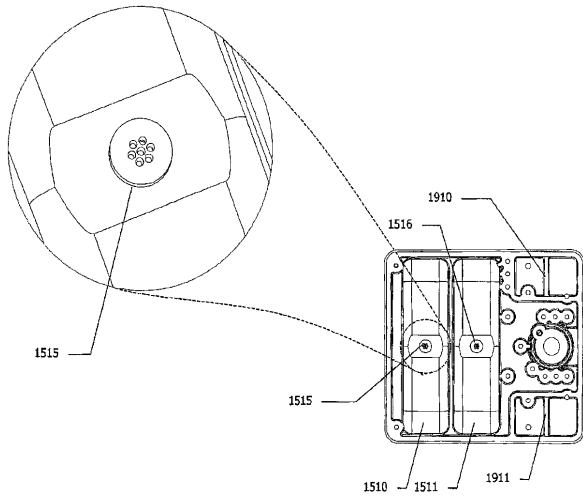
【 18 a】



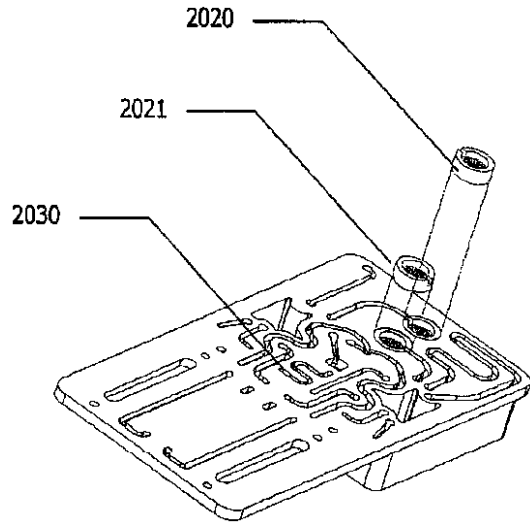
【 18 b】



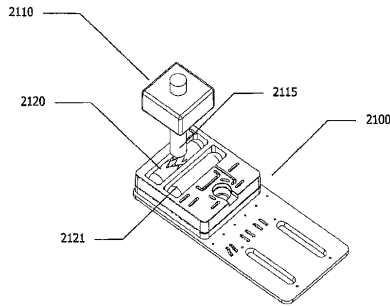
【図19】



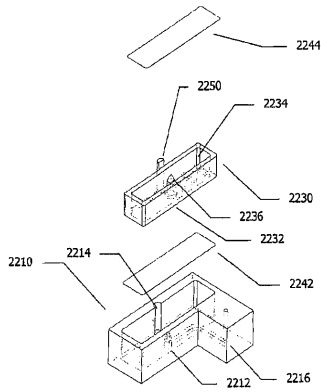
【図20】



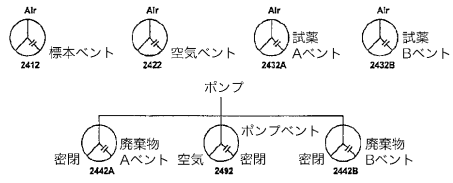
【図21】



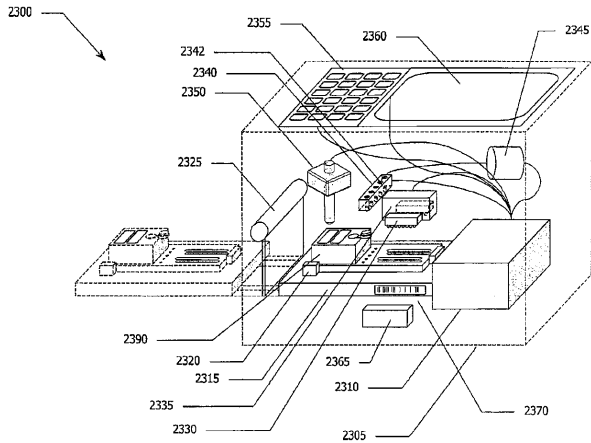
【図22】



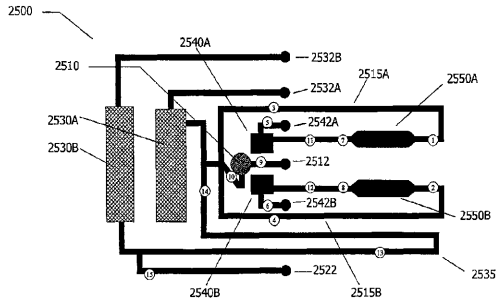
【図24】



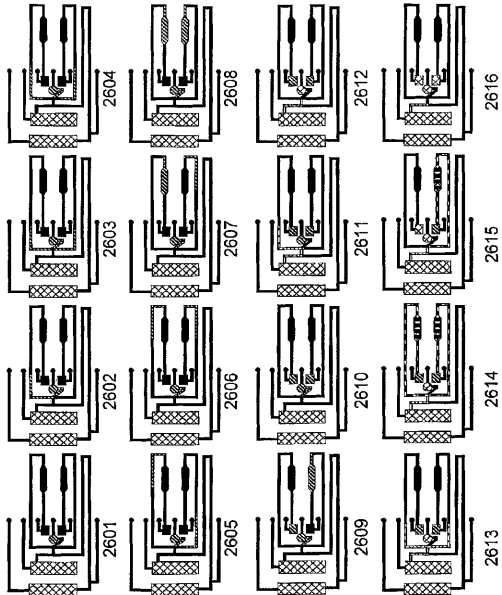
【図23】



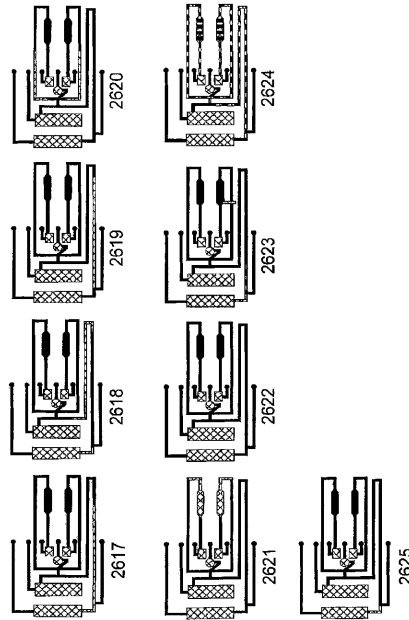
【図25】



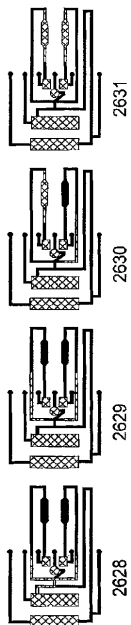
【 26 a 】



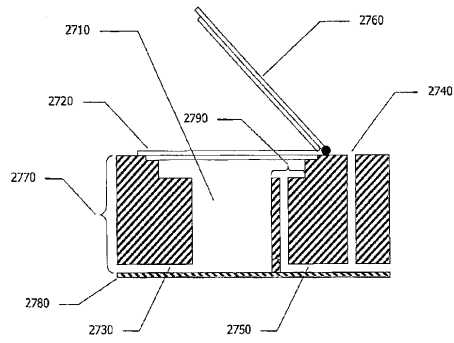
【 26 b 】



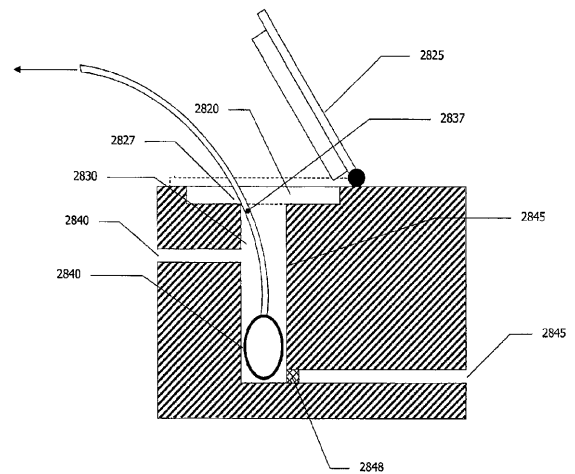
【 26 c 】



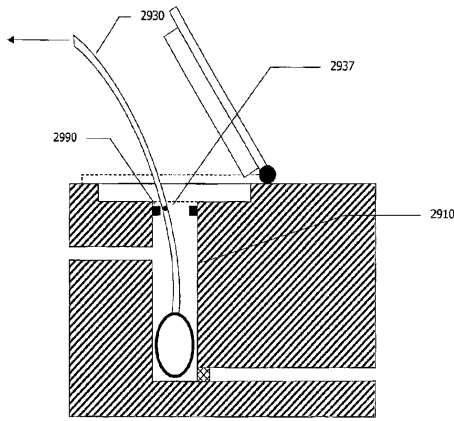
【 27 】



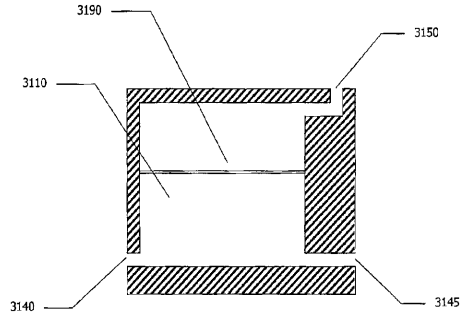
【 28 】



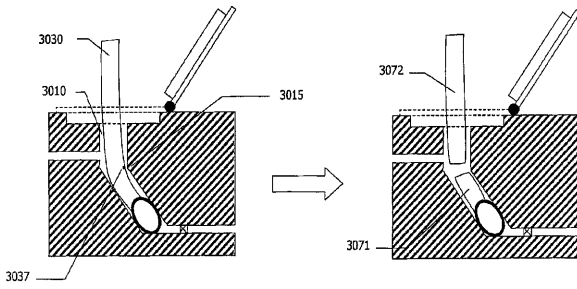
【図 29】



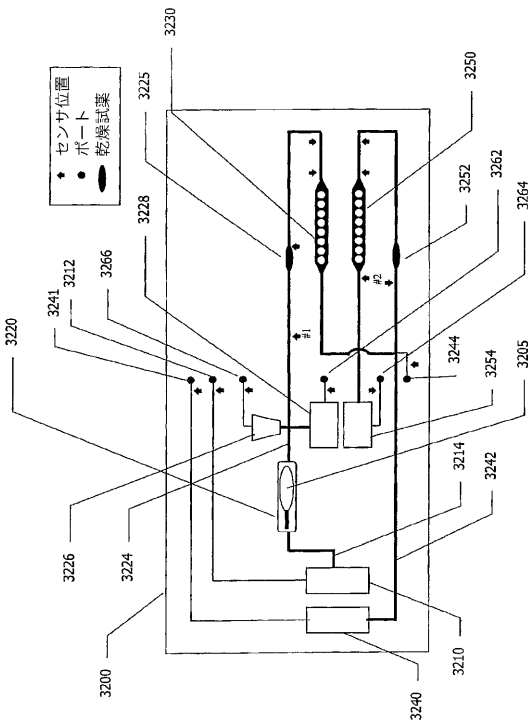
【図 31】



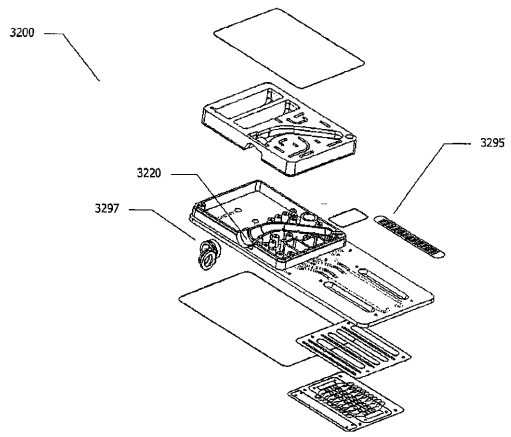
【図 30】



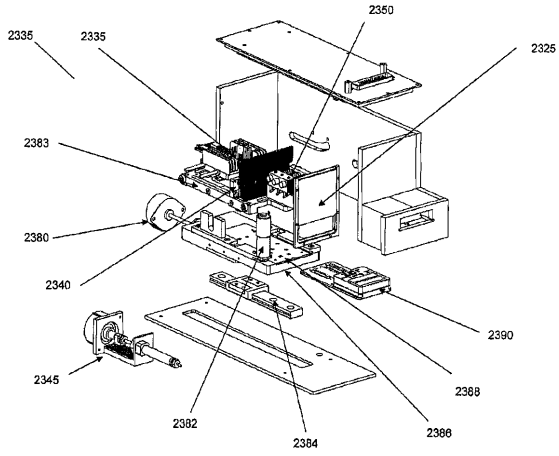
【図 32】



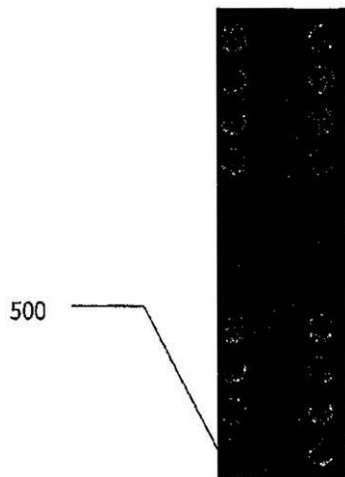
【図 33】



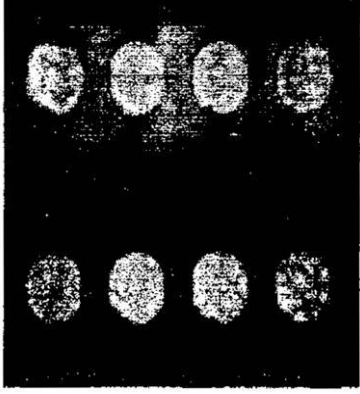
【 3 4 】



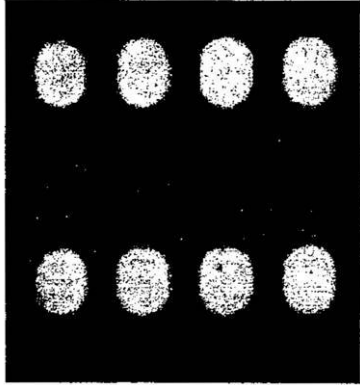
【 5 】



【図 6 a】



【図 6 b】



フロントページの続き

- (51) Int.Cl. F I
G 0 1 N 27/327 (2006.01) G 0 1 N 27/30 A
 G 0 1 N 27/30 3 5 1
 G 0 1 N 27/30 3 5 3 B
 G 0 1 N 27/30 3 5 7
 G 0 1 N 27/30 3 5 3 J
- (72)発明者 グレーザー、エリー、エヌ。
 アメリカ合衆国、メリーランド、チェヴィー チェース、アビリーン ドライブ 2 8 0 0
- (72)発明者 リーランド、ジョナサン、ケイ。
 アメリカ合衆国、メリーランド、シルバースプリングス、アンパーリー テラス 1 4 2 3 6
- (72)発明者 ビラドー、マーク、エイ。
 アメリカ合衆国、メリーランド、ノックスヴィル、ヴァリー ロード 8 2 6
- (72)発明者 レギナス、ジョゼフ、エム。
 アメリカ合衆国、メリーランド、シルバースプリングス、キャベンディッシュ ドライブ 1 3 2
 4
- (72)発明者 ジェフリー - コッカー、バンデール
 アメリカ合衆国、メリーランド、ダレンスタウン、スコティッシュ オータム ウェイ 1 3 4 2
 8
- (72)発明者 ディーバッド、ジェフ、ディー。
 アメリカ合衆国、メリーランド、ゲーズズバーグ、ファウンテン グリーン レーン 2 6 2、
 ユニット 1 0 0
- (72)発明者 ファルニカー、コウステュブハ、エイ。
 アメリカ合衆国、メリーランド、ゲーズズバーグ、クロッパー ロード 9 3 5 ナンバー エ
 イ 2
- (72)発明者 ジャムプナサン、スリラム
 アメリカ合衆国、ニュージャージー、ジャージー シティ、セコンド ストリート 2 0、アパ
 ートメント 1 6 0 7

審査官 高 見 重雄

- (56)参考文献 特開2002-195997(JP,A)
 国際公開第01/033216(WO,A1)
 特開2001-133436(JP,A)
 国際公開第02/097418(WO,A1)
 国際公開第02/066969(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 3 5 / 0 0 - 3 7 / 0 0
 G 0 1 N 2 1 / 7 6
 G 0 1 N 2 7 / 2 8
 G 0 1 N 2 7 / 3 0
 G 0 1 N 2 7 / 3 2 7
 G 0 1 N 2 7 / 4 1 6