

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-109644
(P2018-109644A)

(43) 公開日 平成30年7月12日(2018.7.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 Z	2 GO 4 5
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 1	
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 0 1	

審査請求 有 請求項の数 20 O L 外国語出願 (全 202 頁)

(21) 出願番号 特願2018-45686 (P2018-45686)
 (22) 出願日 平成30年3月13日 (2018.3.13)
 (62) 分割の表示 特願2014-561009 (P2014-561009) の分割
 原出願日 平成25年3月5日 (2013.3.5)
 (31) 優先権主張番号 20125238
 (32) 優先日 平成24年3月5日 (2012.3.5)
 (33) 優先権主張国 フィンランド (FI)
 (31) 優先権主張番号 61/606,554
 (32) 優先日 平成24年3月5日 (2012.3.5)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514225098
 オサケユキテュア・アークティック・パートナーズ・アクチボラゲット
 OY ARCTIC PARTNERS AB
 フィンランド、エフイー-20100トゥルク、ユリオピストンカトゥ2番・ホー155

最終頁に続く

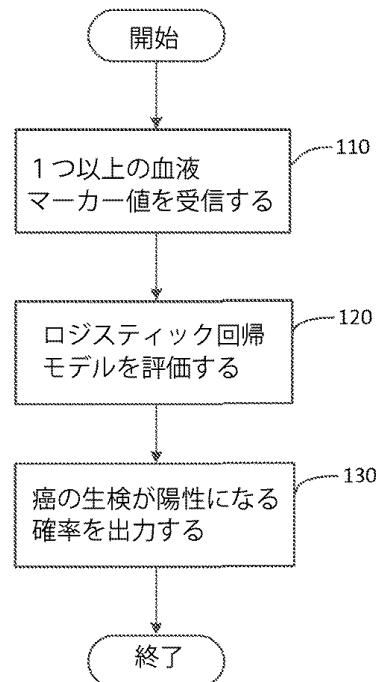
(54) 【発明の名称】 前立腺癌のリスク及び前立腺容積を予測する方法及び装置

(57) 【要約】

【課題】前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する方法及び装置が提供される。

【解決手段】本開示は、モデルを提供し、当該モデルを用いて、前立腺癌のリスクの予測及び/又は前立腺容積の予測を行う方法及び装置に関する。前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する方法及び装置は、少なくとも部分的に、カリクレインマーカのパネルからの情報を用いて提供される。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータであって、
上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを備え、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（f P S A）値及び総 P S A（t P S A）値を含み、

上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも 1 つのプロセッサを備え、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することは、2 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 5 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することは、0 . 2 5 ~ 1 の間の第 3 の内部節点及び 1 . 0 ~ 2 . 0 の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記受信された t P S A 値と、上記 t P S A に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、t P S A の第 1 の値を決定することと、

上記受信された f P S A 値と、上記 f P S A に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、f P S A の第 2 の値を決定することと、

上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することとを含み、

上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースを備えるコンピュータ。

【請求項 2】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのシステムであって、

上記システムは、複数の血液マーカーの値を測定するように構成された検出器を備え、上記複数の血液マーカーは、遊離型前立腺特異抗原（f P S A）、総 P S A（t P S A）、及び未変化 P S A（i P S A）を含み、

上記システムは、上記検出器と電子的に通信する少なくとも 1 つのプロセッサを備え、上記プロセッサは、上記 f P S A、t P S A、及び i P S A の測定された値を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の高悪性度の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされ、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することは、4 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 6 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することは、0 . 2 5 ~ 1 の間の第 3 の内部節点及び 1 . 0 ~ 2 . 0 の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 f P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記受信された t P S A 値と、上記 t P S A に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、t P S A の第 1 の値を決定することと、

上記受信された f P S A 値と、上記 f P S A に関する決定された 3 次スプライン項とを

10

20

30

40

50

少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第2の値を決定することと、

上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することとを含むシステム。

【請求項3】

上記 $tPSA$ に関する3次スプライン項は、第1の3次スプライン項及び第2の3次スプライン項を含み、

上記 $fPSA$ に関する3次スプライン項は、第3の3次スプライン項及び第4の3次スプライン項を含み、

上記第1の値を決定することは、上記受信された $tPSA$ 値を第1の係数によってスケールリングし、上記第1の3次スプライン項を第2の係数値によってスケールリングし、上記第2の3次スプライン項を第3の係数値によってスケールリングすることで、スケールリングされた $tPSA$ 値を生成することと、上記スケールリングされた $tPSA$ 値を合計することとを含み、

上記第2の値を決定することは、上記受信された $fPSA$ 値を第4の係数によってスケールリングし、上記第3の3次スプライン項を第5の係数値によってスケールリングし、上記第4の3次スプライン項を第6の係数値によってスケールリングすることで、スケールリングされた $fPSA$ 値を生成することと、上記スケールリングされた $fPSA$ 値を合計することとを含む、先行する請求項のうちの1つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項4】

上記複数の血液マーカーの情報は、未変化 PSA ($iPSA$) 値及びヒトカリクレイン2 ($hK2$) 値をさらに含み、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、さらに上記 $iPSA$ 値及び上記 $hK2$ 値を少なくとも部分的に基礎とする、先行する請求項のうちの1つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項5】

上記第1の内部節点は3.89として指定され、上記第2の内部節点は5.54として指定され、上記第3の内部節点は0.81として指定され、上記第4の内部節点は1.19として指定される、先行する請求項のうちの1つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項6】

上記入力インターフェースはネットワークインターフェースを備え、上記ネットワークインターフェースは、上記複数の血液マーカーの情報を少なくとも1つのネットワークを介して受信するように構成される、先行する請求項のうちの1つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項7】

上記入力インターフェースは、患者情報を受信するようにさらに構成され、上記患者情報は年齢情報を含み、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、さらに上記年齢情報を少なくとも部分的に基礎とする、先行する請求項のうちの1つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項8】

上記年齢情報を少なくとも部分的に基礎として上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、

上記年齢情報をしきい値と比較することと、

上記年齢情報が上記しきい値を超える場合、第1の係数集合を選択し、上記年齢情報がしきい値未満である場合、第2の係数集合を選択することとを含み、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、さらに上記選択された第1の係数集合又は第2の係数集合を少なくとも部分的に基礎とする、請求項7記載の

10

20

30

40

50

コンピュータ又はシステム。

【請求項 9】

上記コンピュータ又はシステムは、上記複数の血液マーカーのうちの少なくとも 1 つの第 1 の血液マーカーの情報を測定するように構成された検出モジュールをさらに備え、

上記検出モジュールは、上記少なくとも 1 つの第 1 の血液マーカーの情報を測定した後、上記入力インターフェースを介して上記少なくとも 1 つのプロセッサへ上記少なくとも 1 つの第 1 の血液マーカーの情報を提供するように構成される、先行する請求項のうちの 1 つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項 10】

上記入力インターフェースは、上記複数の血液マーカーのうちの少なくとも 1 つの第 2 の血液マーカーを、ネットワーク接続されたソースからネットワークを介して受信するように構成される、請求項 9 記載のコンピュータ又はシステム。

10

【請求項 11】

上記コンピュータはさらに出力インターフェースを含み、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することは、上記出力インターフェースを介して上記表示を出力することを含む、先行する請求項のうちの 1 つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項 12】

上記出力インターフェースはディスプレイインターフェースを備え、

上記表示を出力することは、上記確率の数値表示を上記ディスプレイ上に提供することを含む、請求項 11 記載のコンピュータ又はシステム。

20

【請求項 13】

上記出力インターフェースはスピーカインターフェースを備え、

上記表示を出力することは、上記確率の可聴表示を上記スピーカを介して提供することを含む、請求項 11 記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項 14】

上記出力インターフェースは少なくとも 1 つの光源を備え、

上記表示を出力することは、上記少なくとも 1 つの光源を活性化することを含む、請求項 11 記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項 15】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することは、推定された前立腺容積の表示を出力することを含む、先行する請求項のうちの 1 つに記載のコンピュータ又はシステム。

30

【請求項 16】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することは、前立腺癌の生検が陽性になる可能性の表示を出力することを含む、先行する請求項のうちの 1 つに記載のコンピュータ又はシステム。

【請求項 17】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法であって、

上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) 値及び総 P S A (t P S A) 値を含み、

40

上記方法は、少なくとも 1 つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することは、2 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 5 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 t P S A に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、f P S A に関する 3 次スプライン項

50

を決定することを含み、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、 $0.25 \sim 1$ の間の第 3 の内部節点及び $1.0 \sim 2.0$ の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第 1 の値を決定することと、

上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第 2 の値を決定することと、

上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む方法。

【請求項 18】

コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体であって、

上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値及び総 PSA ($tPSA$) 値を含み、

上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、 $2 \sim 5$ の間の第 1 の内部節点及び $5 \sim 8$ の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、 $0.25 \sim 1$ の間の第 3 の内部節点及び $1.0 \sim 2.0$ の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第 1 の値を決定することと、

上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第 2 の値を決定することと、

上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含むコンピュータ可読記憶媒体。

【請求項 19】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータであって、

上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを備え、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン 2 ($kK2$) 値を含み、

上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確

10

20

30

40

50

率を決定するようにプログラミングされた少なくとも1つのプロセッサを備え、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記 $tPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $hK2$ 値、及び上記 $tPSA$ 値に対する上記 $fPSA$ 値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースを備えるコンピュータ。

【請求項20】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、

上記 $tPSA$ 値を第1の係数値によってスケーリングし、上記 $iPSA$ 値を第2の係数値によってスケーリングし、上記 $hK2$ 値を第3の係数値によってスケーリングし、上記 $tPSA$ 値に対する上記 $fPSA$ 値の比を第4の係数値によってスケーリングすることで、スケーリングされた値を生成することと、

上記スケーリングされた値を加算することと、

上記スケーリングされた値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含む、請求項19記載のコンピュータ。

【請求項21】

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記 $tPSA$ 値の対数を決定することをさらに含み、

上記 $tPSA$ 値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、上記 $tPSA$ 値の対数を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む、請求項19記載のコンピュータ。

【請求項22】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法であって、

上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン2 ($hK2$) 値を含み、

上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記 $tPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $hK2$ 値、及び上記 $tPSA$ 値に対する上記 $fPSA$ 値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む方法。

【請求項23】

コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体であって

上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン2 ($hK2$) 値を含み、

上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記 $tPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $hK2$ 値、及び上記 $tPSA$ 値に対する上記 $fPSA$ 値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

10

20

30

40

50

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含むコンピュータ可読記憶媒体。

【請求項 24】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、

上記 $tPSA$ 値の対数を第 1 の係数値によってスケーリングし、上記 $iPSA$ 値を第 2 の係数値によってスケーリングし、上記 $kK2$ 値を第 3 の係数値によってスケーリングし、上記 $tPSA$ 値に対する上記 $fPSA$ 値の比を第 4 の係数値によってスケーリングすることで、スケーリングされた値を生成することと、

上記スケーリングされた値を加算することと、

上記スケーリングされた値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することとを含む、請求項 19 記載のコンピュータ。

10

【請求項 25】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータであって、

上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを備え、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン 2 ($kK2$) 値を含み、

上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも 1 つのプロセッサを備え、

20

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記 $tPSA$ 値を第 1 の指数でべき乗することで $tPSA$ に関する非線形項を決定することと、

上記 $fPSA$ 値を第 2 の指数でべき乗することで $fPSA$ に関する非線形項を決定することと、

上記 $tPSA$ 値、上記 $fPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $kK2$ 値、上記 $tPSA$ 値に関する非線形項、及び上記 $fPSA$ 値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

30

上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースを備えたコンピュータ。

【請求項 26】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、

上記 $tPSA$ 値を第 1 の係数値によってスケーリングし、上記 $fPSA$ 値を第 2 の係数値によってスケーリングし、上記 $iPSA$ 値を第 3 の係数値によってスケーリングし、上記 $kK2$ 値を第 4 の係数値によってスケーリングし、上記 $tPSA$ に関する非線形項を第 5 の係数値によってスケーリングし、上記 $fPSA$ に関する非線形項を第 6 の係数値によってスケーリングすることで、スケーリングされた値を生成することと、

上記スケーリングされた値を加算することと、

40

上記スケーリングされた値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含む、請求項 25 記載のコンピュータ。

【請求項 27】

上記第 1 の指数は 2 であり、上記第 2 の指数は $1/2$ である、請求項 25 記載のコンピュータ。

【請求項 28】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法であって、

上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 P

50

S A (t P S A) 値、未変化 P S A (i P S A) 値、及びヒトカリクレイン 2 (k K 2) 値を含み、

上記方法は、少なくとも 1 つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記 t P S A 値を第 1 の指数でべき乗することで t P S A に関する非線形項を決定することと、

上記 f P S A 値を第 2 の指数でべき乗することで f P S A に関する非線形項を決定することと、

上記 t P S A 値、上記 f P S A 値、上記 i P S A 値、上記 h K 2 値、上記 t P S A 値に関する非線形項、及び上記 f P S A 値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む方法。

【請求項 29】

コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体であって、

上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) 値、総 P S A (t P S A) 値、未変化 P S A (i P S A) 値、及びヒトカリクレイン 2 (k K 2) 値を含み、

上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

上記 t P S A 値を第 1 の指数でべき乗することで t P S A に関する非線形項を決定することと、

上記 f P S A 値を第 2 の指数でべき乗することで f P S A に関する非線形項を決定することと、

上記 t P S A 値、上記 f P S A 値、上記 i P S A 値、上記 h K 2 値、上記 t P S A 値に関する非線形項、及び上記 f P S A 値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含むコンピュータ可読記憶媒体。

【請求項 30】

前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータであって、

上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを備え、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) 値、総 P S A (t P S A) 値、未変化 P S A (i P S A) 値、及びヒトカリクレイン 2 (k K 2) 値を含み、

上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも 1 つのプロセッサを備え、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

t P S A に関する線形スプライン項を決定することと、

f P S A に関する線形スプライン項を決定することと、

上記受信された t P S A 値と、上記 t P S A に関する決定された線形スプライン項とを

10

20

30

40

50

少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第1の値を決定することと、

上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第2の値を決定することと、

上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースを備えるコンピュータ。

【請求項31】

上記 $tPSA$ に関する線形スプライン項は、第1の線形スプライン項及び第2の線形スプライン項を含み、

上記 $fPSA$ に関する線形スプライン項は、第3の線形スプライン項及び第4の線形スプライン項を含み、

上記第1の値を決定することは、上記受信された $tPSA$ 値を第1の係数値によってスケーリングし、上記第1の線形スプライン項を第2の係数値によってスケーリングし、上記第2の線形スプライン項を第3の係数値によってスケーリングすることで、スケーリングされた $tPSA$ 値を生成することと、上記スケーリングされた $tPSA$ 値を合計することとを含み、

上記第2の値を決定することは、上記受信された $fPSA$ 値を第4の係数によってスケーリングし、上記第3の線形スプライン項を第5の係数値によってスケーリングし、上記第4の線形スプライン項を第6の係数値によってスケーリングすることで、スケーリングされた $fPSA$ 値を生成することと、上記スケーリングされた $fPSA$ 値を合計することとを含む、請求項30記載のコンピュータ。

【請求項32】

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

$iPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、

$hK2$ に関する線形スプライン項を決定することと

をさらに含み、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することは、さらに上記 $iPSA$ に関する線形スプライン項及び上記 $hK2$ に関する線形スプライン項を少なくとも部分的に基礎とする、請求項30記載のコンピュータ。

【請求項33】

前立腺癌に関連付けたイベントの確率を決定するための方法であって、

上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原($fPSA$)値、総 PSA ($tPSA$)値、未変化 PSA ($iPSA$)値、及びヒトカリクレイン2($hK2$)値を含み、

上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

$tPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、

$fPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、

上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第1の値を決定することと、

上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第2の値を決定することと、

上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

10

20

30

40

50

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む方法。

【請求項 3 4】

コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体であって、

上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) 値、総 P S A (t P S A) 値、未変化 P S A (i P S A) 値、及びヒトカリクレイン 2 (k K 2) 値を含み、

上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、

t P S A に関する線形スプライン項を決定することと、

f P S A に関する線形スプライン項を決定することと、

上記受信された t P S A 値と、上記 t P S A に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、t P S A の第 1 の値を決定することと、

上記受信された f P S A 値と、上記 f P S A に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、f P S A の第 2 の値を決定することと、

上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと

を含み、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含むコンピュータ可読記憶媒体。

【請求項 3 5】

高悪性度の癌のリスクを決定するためのシステムであって、

上記システムは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを備え、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) 値、総 P S A (t P S A) 値、未変化 P S A (i P S A) 値、及び (h K 2) 値を含み、

上記システムは、少なくとも 1 つのプロセッサを備え、

上記少なくとも 1 つのプロセッサは、上記受信された値をロジスティック回帰モデルへ入力するようにプログラミングされ、少なくとも上記 t P S A 値及び上記 f P S A 値は、線形項及び非線形項の両方を用いて、上記ロジスティック回帰モデルに入力され、

上記少なくとも 1 つのプロセッサは、上記ロジスティック回帰モデルを評価して上記高悪性度の癌のリスクを決定するようにプログラミングされたシステム。

【請求項 3 6】

ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのシステムであって、

上記システムは、微小流体サンプルアナライザを備え、

上記微小流体サンプルアナライザは、

筐体と、

上記筐体の開口部であって、少なくとも 1 つの微小流体チャンネルを有するカセットを収容するように構成された開口部と

を備え、

上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含み、

上記システムは、

上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも 1 つの微小流体チャンネルに加圧して上記少なくとも 1 つの微小流体チャンネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムと、

10

20

30

40

50

上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも1つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも1つの検出器を含む光学系とを備え、

上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入されるとき、上記カセットに光が透過するように構成され、

上記検出器は、上記光源の反対側に配置され、上記カセットを透過する光量を検出し、上記システムは、

少なくともある人物の年齢を入力するための、上記筐体に関連付けられたユーザインターフェースと、

上記微小流体サンプルアナライザと電子的に通信するプロセッサとを備え、

上記プロセッサは、上記少なくとも1つの検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティクス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされ、

上記ロジスティクス回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含み、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、fPSA、iPSA、及びtPSAからなるグループから選択されるシステム。

【請求項37】

ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法であって、上記方法は、微小流体サンプルアナライザを提供することを含み、

上記微小流体サンプルアナライザは、筐体と、

上記筐体の開口部であって、少なくとも1つの微小流体チャネルを有するカセットを収容するように構成された開口部とを含み、

上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含み、

上記微小流体サンプルアナライザは、

上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも1つの微小流体チャネルに加圧して上記少なくとも1つの微小流体チャネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムと、

上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも1つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも1つの検出器を含む光学系とを備え、

上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入されるとき、上記カセットに光が透過するように構成され、

上記検出器は、上記光源の反対側に配置され、上記カセットを透過する光量を検出し、

上記微小流体サンプルアナライザは、少なくともある人物の年齢を入力するための、上記筐体に関連付けられたユーザインターフェースを備え、

上記方法は、上記微小流体サンプルアナライザを用いて複数の血液マーカーの情報を決定することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原(fPSA)値、総PSA(tPSA)値、及び未変化PSA(iPSA)値を含み、

上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティクス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含み、

上記ロジスティクス回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数

10

20

30

40

50

値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含み、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、fPSA、iPSA、及びtPSAからなるグループから選択される方法。

【請求項38】

装置、検出器、及びプロセッサを備えるシステムであって、

上記装置は、

第1の結合パートナーを備える第1の分析領域と、

第2の結合パートナーを備える第2の分析領域と

を備え、

上記第1の結合パートナーは、遊離型前立腺特異抗原(fPSA)、未変化前立腺特異抗原(iPSA)、及び総PSA(tPSA)の少なくとも1つと結合するように適合され、

上記第2の結合パートナーは、fPSA、iPSA、及びtPSAのうちの少なくとも他の1つと結合するように適合され、

上記検出器は、上記第1及び第2の分析領域に関連付けられ、

上記プロセッサは、上記検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされ、

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含み、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、fPSA、iPSA、及びtPSAからなるグループから選択されるシステム。

【請求項39】

装置へサンプルを導入することを含む方法であって、

上記装置は、

第1の結合パートナーを備える第1の分析領域と、

第2の結合パートナーを備える第2の分析領域と

を備え、

上記第1の結合パートナーは、遊離型前立腺特異抗原(fPSA)、未変化前立腺特異抗原(iPSA)、及び総PSA(tPSA)の少なくとも1つと結合するように適合され、

上記第2の結合パートナーは、fPSA、iPSA、及びtPSAのうちの少なくとも他の1つと結合するように適合され、

上記方法は、

上記サンプルからのfPSA、iPSA、及び/又はtPSAのうちの任意のものが、上記第1及び第2分析領域における上記第1及び/又は第2の結合パートナーと結合することを可能にすることと、

上記第1及び第2の分析領域に関連付けられた1つ以上の検出器を用いて、fPSA、iPSA、及び/又はtPSAの特性を決定することと、

少なくとも1つの検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラムされたプロセッサに、上記fPSA、iPSA、及び/又はtPSAの特性を入力することと

を含み、

10

20

30

40

50

上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することを含み、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択され、

上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む方法

【請求項40】

微小流体システムを備えた装置であって、

上記微小流体システムは、

少なくとも1つの入口及び1つの出口を含む第1の微小流体チャンネルと、

上記第1の微小流体チャンネルに貯蔵された第1の試薬と、

上記第1の微小流体チャンネルに上記第1の試薬を貯蔵するように上記第1の微小流体チャンネルの入口をカバーする封止及び上記第1の微小流体チャンネルの出口をカバーする封止と、

少なくとも1つの入口及び1つの出口を含む第2の微小流体チャンネルとを備え、

上記装置は、抗i P S A特異捕捉抗体、抗f P S A特異捕捉抗体、及び抗t P S A特異捕捉抗体のうちの1つをそれぞれ含む、第1の分析領域、第2の分析領域、及び第3の分析領域を備え、

上記第1、第2、及び第3の分析領域のうちの1つ以上は、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能であり、

上記装置は、上記微小流体システムに接続可能な流体コネクタを備え、

上記流体コネクタは、流体経路入口及び流体経路出口を含む流体経路を備え、接続時に、上記流体経路入口は、上記第1の微小流体チャンネルの出口に接続して、上記流体経路及び上記第1の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にし、上記流体経路出口は、上記第2の微小流体チャンネルの入口に接続して、上記流体経路及び上記第2の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にし、

上記第1及び第2の微小流体チャンネルは、上記流体コネクタを介する接続をもたず、互いに流体を伝達せず、

上記装置は、抗P S Aに結合する抗体に結合した金属コロイドのソースを備える装置。

【請求項41】

上記第1及び第2の結合パートナーは同一である、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項42】

上記装置は、疾患又は症状の第1のバイオマーカーと特異的に結合するように適合された第3の結合パートナーを備える、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項43】

上記装置は、疾患又は症状の第2のバイオマーカーと特異的に結合するように適合された第4の結合パートナーを備える、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項44】

上記第1及び第2の結合パートナーは異なる、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項45】

上記第1の結合パートナーは、疾患又は症状の第1のバイオマーカーと特異的に結合するように適合された、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項46】

10

20

30

40

50

上記第2の結合パートナーは、疾患又は症状の第2のバイオマーカーと特異的に結合するように適合された、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項47】

上記装置は、疾患又は症状の第1及び/又は第2のバイオマーカー（例えば、fPSA、iPSA、及びtPSAの少なくとも1つ）に結合する抗体に結合した金属コロイドを備える、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項48】

上記装置は、hK2と結合するように適合された結合パートナー（例えば抗hK2特異捕捉抗体）を備える第3（又は第4の）分析領域を備える、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項49】

上記第1及び第2の分析領域は、
1) 複数の別個のカセット上に存在するか、
又は

2) 同一のカセットである、

先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項50】

上記第1、第2、及び第3の分析領域のうちの少なくとも2つは、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項51】

上記第1、第2、及び第3の分析領域のそれぞれは、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項52】

上記第1の分析領域は上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能であり、上記第2の分析領域は上記第3の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項53】

上記流体コネクタは、上記微小流体システムへの接続時に、上記第3の微小流体チャンネルの入口に接続する、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項54】

上記第3の分析領域は上記第4の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項55】

上記流体コネクタは、上記微小流体システムへの接続時に、上記第4の微小流体チャンネルの入口に接続する、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項56】

上記第1及び第2の分析領域は異なる基板層に形成される、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項57】

上記第1、第2、及び第3の分析領域は、異なる基板層に形成される、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【請求項58】

第4の分析領域は、上記第1、第2、及び第3の分析領域の少なくとも1つを含む基板層とは異なる基板層に形成される、先行する請求項のうちの1つに記載のシステム、方法又は装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本開示は、前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する方法及び装置に関する。より詳しくは、本開示は、モデルを提供し、当該モデルを用いて前立腺癌のリスクの予測及び/又は前立腺容積の予測を行うための方法及び装置に関する。

【背景技術】

【0002】

米国人男性の生検を行う際の最も一般的なトリガである総前立腺特異抗原 (total prostate-specific antigen :total PSA) の血中濃度が上昇している男性の大部分は、前立腺癌を発症していない。その結果、米国では、毎年75万回近くの不必要な前立腺生検が行われていると推定される。PSAの複数のアイソフォームを総PSAの単一の測定として組み合わせるのではなく、PSAの複数のアイソフォームを別個に測定することが、前立腺癌の存在を予測することを支援できるということを示す相当な証拠がある。これらのデータは、遊離型PSA (free PSA)、BPSA、又は-2proPSAによって癌が予測されることを示す研究を含む。実際に、総PSAに関する結果及び総PSAに対する遊離型PSAの比に関する結果が泌尿器科医に与えられたとき、遊離型PSAはしばしば別々に測定され、遊離型PSAは、推定で毎年1000万回にわたって測定される。PSAをその前駆状態から活性化状態に変換する分子であるhK2が前立腺リスクについての情報をもたらすという証拠もある。しかしながら、これらのマーカーのどれも、それら自体では、前立腺生検結果の良好な予測値とはならない。

10

【0003】

前立腺癌に関する予測モデルを構築するいくつかの試みがあり、最も有名なものには、「前立腺癌予防トライアルリスク計算機」、「Sunnybrook」、ERSPC (European Randomized trial of Screening for Prostate Cancer) リスク計算機がある。これらのモデルに係る課題は、それらが多かれ少なかれ広範囲な臨床の精密検査を必要とし、すなわち、患者が泌尿器科医を訪れる必要があるということにある。例えば、ERSPCリスク計算機は、前立腺容積のデータを必要とし、これは直腸に超音波プローブを挿入することで得られる。従って、前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する新規な方法及び装置が有益であろう。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する方法及び装置が提供される。より詳しくは、本開示は、モデルを提供し、当該モデルを用いて、前立腺癌のリスクの予測及び/又は前立腺容積の予測を行う方法及び装置に関する。

30

【0005】

いくつかの実施形態では、前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測する方法及び装置は、少なくとも部分的に、カリクレインマーカーのパネルからの情報を用いて提供される。本願の内容は、いくつかの場合には、相互関係を持った複数の方法、特定の課題への代替ソリューション、及び/又はシステム及び装置の複数の異なる用途を含んでいる。

【0006】

本発明の1つの目的は、男性について前立腺癌のリスクを予測するためにロジスティック回帰モデルを用いてイベントの確率を取得するための方法を提供することにある。

40

【課題を解決するための手段】

【0007】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータが提供される。上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 (fPSA) 値及び総PSA (tPSA) 値を含む。上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも1つのプロセッサをさらに含む。上記ロジスティック回

50

帰モデルを評価することは、 $tPSA$ 値に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、2 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 5 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、0 . 25 ~ 1 の間の第 3 の内部節点及び 1 . 0 ~ 2 . 0 の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第 1 の値を決定することと、上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第 2 の値を決定することと、上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することとを含む。上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースをさらに含む。

10

【0008】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのシステムが提供される。上記システムは、複数の血液マーカーの値を測定するように構成された検出器を含み、上記複数の血液マーカーは、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$)、総 PSA ($tPSA$)、及び未変化 PSA ($iPSA$) を含む。上記システムは、上記検出器と電子的に通信する少なくとも 1 つのプロセッサをさらに含む。上記少なくとも 1 つのプロセッサは、上記 $fPSA$ 、 $tPSA$ 、及び $iPSA$ の測定された値を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の高悪性度の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされている。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ 値に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、4 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 6 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する第 1 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、0 . 25 ~ 1 の間の第 3 の内部節点及び 1 . 0 ~ 2 . 0 の間の第 4 の内部節点を有する第 2 の 3 次スプラインに基づいて、上記 $fPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第 1 の値を決定することと、上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された 3 次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第 2 の値を決定することと、上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することとを含むシステム。

20

30

40

【0009】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法が提供される。上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値及び総 PSA ($tPSA$) 値を含む。上記方法は、少なくとも 1 つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することをさらに含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ 値に関する 3 次スプライン項を決定することを含み、上記 $tPSA$ に関する 3 次スプライン項を決定することは、2 ~ 5 の間の第 1 の内部節点及び 5 ~ 8 の間の第 2 の内部節点を有する

50

第1の3次スプラインに基づいて、上記tPSAに関する3次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、fPSAに関する3次スプライン項を決定することを含み、上記fPSAに関する3次スプライン項を決定することは、0.25～1の間の第3の内部節点及び1.0～2.0の間の第4の内部節点を有する第2の3次スプラインに基づいて、上記fPSAに関する3次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記受信されたtPSA値と、上記tPSAに関する決定された3次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、tPSAの第1の値を決定することと、上記受信されたfPSA値と、上記fPSAに関する決定された3次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、fPSAの第2の値を決定することと、上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することとを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

10

【0010】

一組の実施形態において、コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体が提供される。上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原(fPSA)値及び総PSA(tPSA)値を含む。上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、tPSA値に関する3次スプライン項を決定することを含み、上記tPSAに関する3次スプライン項を決定することは、2～5の間の第1の内部節点及び5～8の間の第2の内部節点を有する第1の3次スプラインに基づいて、上記tPSAに関する3次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、fPSAに関する3次スプライン項を決定することを含み、上記fPSAに関する3次スプライン項を決定することは、0.25～1の間の第3の内部節点及び1.0～2.0の間の第4の内部節点を有する第2の3次スプラインに基づいて、上記fPSAに関する3次スプライン項を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記受信されたtPSA値と、上記tPSAに関する決定された3次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、tPSAの第1の値を決定することと、上記受信されたfPSA値と、上記fPSAに関する決定された3次スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、fPSAの第2の値を決定することと、上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することとを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

20

30

【0011】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータが提供される。上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原(fPSA)値、総PSA(tPSA)値、未変化PSA(iPSA)値、及びヒトカリクレイン2(kK2)値を含む。上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも1つのプロセッサをさらに含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記tPSA値、上記iPSA値、上記hK2値、及び上記tPSA値に対する上記fPSA値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースをさらに含む。

40

【0012】

50

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法が提供される。上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（fPSA）値、総PSA（tPSA）値、未変化PSA（iPSA）値、及びヒトカリクレイン2（kK2）値を含む。上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記ロジスティックス回帰モデルを評価することは、上記tPSA値、上記iPSA値、上記hK2値、及び上記tPSA値に対する上記fPSA値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む。

10

【0013】

一組の実施形態において、コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体が提供される。上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（fPSA）値、総PSA（tPSA）値、未変化PSA（iPSA）値、及びヒトカリクレイン2（kK2）値を含む。上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記ロジスティックス回帰モデルを評価することは、上記tPSA値、上記iPSA値、上記hK2値、及び上記tPSA値に対する上記fPSA値の比を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することと、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することを含む。

20

【0014】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータが提供される。上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（fPSA）値、総PSA（tPSA）値、未変化PSA（iPSA）値、及びヒトカリクレイン2（kK2）値を含む。上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも1つのプロセッサをさらに含む。上記ロジスティックス回帰モデルを評価することは、上記tPSA値を第1の指数でべき乗することでtPSAに関する非線形項を決定することと、上記fPSA値を第2の指数でべき乗することでfPSAに関する非線形項を決定することと、上記tPSA値、上記fPSA値、上記iPSA値、上記hK2値、上記tPSA値に関する非線形項、及び上記fPSA値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースをさらに含む。

30

40

【0015】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法が提供される。上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（fPSA）値、総PSA（tPSA）値、未変化PSA（iPSA）値、及びヒトカリクレイン2（kK2）値を含む。上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することをさらに含む。上記ロジスティックス回帰モデルを評価することは、上記tPSA値を第1の指数でべき乗することでtPSAに関する非線形項を決定することと、上記fPSA値を第2の指数

50

べき乗することで $fPSA$ に関する非線形項を決定することと、上記 $tPSA$ 値、上記 $fPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $hK2$ 値、上記 $tPSA$ 値に関する非線形項、及び上記 $fPSA$ 値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

【0016】

一組の実施形態において、コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体が提供される。上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン 2 ($kK2$) 値を含む。上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することをさらに含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、上記 $tPSA$ 値を第 1 の指数でべき乗することで $tPSA$ に関する非線形項を決定することと、上記 $fPSA$ 値を第 2 の指数でべき乗することで $fPSA$ に関する非線形項を決定することと、上記 $tPSA$ 値、上記 $fPSA$ 値、上記 $iPSA$ 値、上記 $hK2$ 値、上記 $tPSA$ 値に関する非線形項、及び上記 $fPSA$ 値に関する非線形項を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

10

20

【0017】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのコンピュータが提供される。上記コンピュータは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン 2 ($kK2$) 値を含む。上記コンピュータは、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされた少なくとも 1 つのプロセッサをさらに含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、 $fPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第 1 の値を決定することと、上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第 2 の値を決定することと、上記第 1 の値及び上記第 2 の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記コンピュータは、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力するように構成された出力インターフェースをさらに含む。

30

【0018】

一組の実施形態において、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法が提供される。上記方法は、入力インターフェースを介して複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原 ($fPSA$) 値、総 PSA ($tPSA$) 値、未変化 PSA ($iPSA$) 値、及びヒトカリクレイン 2 ($kK2$) 値を含む。上記方法は、少なくとも 1 つのプロセッサを用いて、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティックス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、 $fPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基

40

50

礎として、 $tPSA$ の第1の値を決定することと、上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第2の値を決定することと、上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

【0019】

一組の実施形態において、コンピュータによって実行されたときに、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法を行う複数の命令が符号化されたコンピュータ可読記憶媒体が提供される。上記方法は、複数の血液マーカーの情報を受信することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原($fPSA$)値、総 PSA ($tPSA$)値、未変化 PSA ($iPSA$)値、及びヒトカリクレイン2($kK2$)値を含む。上記方法は、上記受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することをさらに含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、 $tPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、 $fPSA$ に関する線形スプライン項を決定することと、上記受信された $tPSA$ 値と、上記 $tPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $tPSA$ の第1の値を決定することと、上記受信された $fPSA$ 値と、上記 $fPSA$ に関する決定された線形スプライン項とを少なくとも部分的に基礎として、 $fPSA$ の第2の値を決定することと、上記第1の値及び上記第2の値を少なくとも部分的に基礎として、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率の表示を出力することをさらに含む。

【0020】

一組の実施形態において、高悪性度の癌のリスクを決定するためのシステムが提供される。上記システムは、複数の血液マーカーの情報を受信するように構成された入力インターフェースを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原($fPSA$)値、総 PSA ($tPSA$)値、未変化 PSA ($iPSA$)値、及び($hK2$)値を含み、上記システムは、少なくとも1つのプロセッサをさらに含み、上記少なくとも1つのプロセッサは、上記受信された値をロジスティック回帰モデルへ入力するようにプログラミングされ、少なくとも上記 $tPSA$ 値及び上記 $fPSA$ 値は、線形項及び非線形項の両方を用いて、上記ロジスティック回帰モデルに入力され、上記少なくとも1つのプロセッサは、上記ロジスティック回帰モデルを評価して上記高悪性度の癌のリスクを決定するようにプログラミングされているシステム。

【0021】

一組の実施形態において、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するためのシステムが提供される。上記システムは微小流体サンプルアナライザを含み、上記微小流体サンプルアナライザは、筐体と、上記筐体の開口部であって、少なくとも1つの微小流体チャンネルを有するカセットを収容するように構成された開口部とを備え、上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含む。上記システムは、上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも1つの微小流体チャンネルに加圧して上記少なくとも1つの微小流体チャンネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムをさらに含む。上記システムは、上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも1つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも1つの検出器を含む光学系をさらに含み、上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入されるとき、上記カセットに光が透過するように構成され、上記検出器は、上記光源の反対側に配置され、上記カセットを透過する光量を検出する。上記システムは、少なくともある人物の年齢を入力するための、上記筐体に関連付けられたユーザインターフェースと、上記微小流体サンプルアナライザと電子的に通信するプロセッサとを含む。上記プ

10

20

30

40

50

ロセッサは、上記少なくとも1つの検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティクス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされる。上記ロジスティクス回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含む。上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択される。

【0022】

一組の実施形態において、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法が提供される。上記方法は、微小流体サンプルアナライザを提供することを含む。上記微小流体サンプルアナライザは、筐体と、上記筐体の開口部であって、少なくとも1つの微小流体チャンネルを有するカセットを収容するように構成された開口部とを備える。上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含む。上記微小流体サンプルアナライザは、上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも1つの微小流体チャンネルに加圧して上記少なくとも1つの微小流体チャンネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムを備える。上記微小流体サンプルアナライザは、上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも1つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも1つの検出器を含む光学系をさらに含む。上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入されるとき、上記カセットに光が透過するように構成され、上記検出器は、上記光源の反対側に配置され、上記カセットを透過する光量を検出する。上記微小流体サンプルアナライザは、少なくともある人物の年齢を入力するための、上記筐体に関連付けられたユーザインターフェースをさらに含む。上記方法は、上記微小流体サンプルアナライザを用いて複数の血液マーカーの情報を決定することを含み、上記複数の血液マーカーの情報は、遊離型前立腺特異抗原（f P S A）値、総P S A（t P S A）値、及び未変化P S A（i P S A）値を含む。上記方法は、少なくとも1つのプロセッサを用いて、上記情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティクス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。上記ロジスティクス回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含む。上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択される。

【0023】

実施形態の1つの集合において、あるシステムが提供される。上記システムは、第1の結合パートナーを備える第1の分析領域と、第2の結合パートナーを備える第2の分析領域とを備える装置を含む。上記第1の結合パートナーは、遊離型前立腺特異抗原（f P S A）、未変化前立腺特異抗原（i P S A）、及び総P S A（t P S A）の少なくとも1つと結合するように適合され、上記第2の結合パートナーは、f P S A、i P S A、及びt P S Aのうち少なくとも他の1つと結合するように適合される。上記システムは、上記第1及び第2の分析領域に関連付けられた検出器と、上記検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティクス回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされたプロセッサとを備える。上記ロジスティクス回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含む。上記複数の変数は、年齢と、上記検出

10

20

30

40

50

器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択される。

【0024】

実施形態の1つの集合において、ある方法が提供される。上記方法は、装置へサンプルを導入することを含み、上記装置は、第1の結合パートナーを備える第1の分析領域と、第2の結合パートナーを備える第2の分析領域とを備える。上記第1の結合パートナーは、遊離型前立腺特異抗原(f P S A)、未変化前立腺特異抗原(i P S A)、及び総P S A(t P S A)の少なくとも1つと結合するように適合され、上記第2の結合パートナーは、f P S A、i P S A、及びt P S Aのうちの少なくとも他の1つと結合するように適合される。上記方法は、上記サンプルからのf P S A、i P S A、及び/又はt P S Aのうちの任意のものが、上記第1及び第2分析領域における上記第1及び/又は第2の結合パートナーと結合することを可能にすることと、上記第1及び第2の分析領域に関連付けられた1つ以上の検出器を用いて、f P S A、i P S A、及び/又はt P S Aの特性を決定することと、少なくとも1つの検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラムされたプロセッサに、上記f P S A、i P S A、及び/又はt P S Aの特性を入力することを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケールし、スケールされた変数を生成することと、上記スケールされた変数の値を合計したものを
10
20
20
上記方法を用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することを含む。上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも2つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択される。上記方法は、上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む。

【0025】

実施形態の1つの集合において、ある装置が提供される。上記装置は微小流体システムを含み、上記微小流体システムは、少なくとも1つの入口及び1つの出口を含む第1の微小流体チャンネルと、上記第1の微小流体チャンネルに貯蔵された第1の試薬と、上記第1の微小流体チャンネルに上記第1の試薬を貯蔵するように上記第1の微小流体チャンネルの入口をカバーする封止及び上記第1の微小流体チャンネルの出口をカバーする封止と、少なくとも1つの入口及び1つの出口を含む第2の微小流体チャンネルとを備える。上記装置は、抗i P S A特異捕捉抗体、抗f P S A特異捕捉抗体、及び抗t P S A特異捕捉抗体のうちの1つをそれぞれ含む、第1の分析領域、第2の分析領域、及び第3の分析領域をさらに含み、上記第1、第2、及び第3の分析領域のうちの1つ以上は、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である。上記装置は、上記微小流体システムに接続可能な流体コネクタをさらに含む。上記流体コネクタは、流体経路入口及び流体経路出口を含む流体経路を備える。接続時に、上記流体経路入口は、上記第1の微小流体チャンネルの出口に接続して、上記流体経路及び上記第1の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にし、上記流体経路出口は、上記第2の微小流体チャンネルの入口に接続して、上記流体経路及び上記第2の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にする。上記第1及び第2の微小流体チャンネルは、上記流体コネクタを介する接続をもたず、互いに流体を伝達しない。上記
30
40
40
装置は、抗P S Aに結合する抗体に結合した金属コロイドのソースをさらに含む。

【0026】

一組の実施形態において、男性について前立腺癌のリスクを予測するためにロジスティック回帰モデルを用いてイベントの確率を取得するための方法が提供される。上記方法は、以下のステップa)~d)を含む。

a) 多数の男性のデータの多変数ロジスティック回帰を使用することで得られたロジスティック回帰モデルを提供すること。上記データは、上記多数の男性のうちの各男性について、前立腺癌の状態に関するデータと、前立腺癌の状態に関するデータに先行するデータであって、年齢を含むデータと、上記男性の血液サンプルから得られた血液マーカー、すなわち、総前立腺特異抗原(t P S A)、遊離型P S A(f P S A)、未変化P S A(
50

i P S A)、及びオプションでヒトカリクレイン 2 (h K 2) の決定とを含む。

上記ロジスティック回帰モデルは次式を用いて生成される。

【数 1】

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c$$

ここで、 π は上記イベントの確率であり、 β_i は、上記ロジスティック回帰モデルを得るための、年齢、t P S A、f P S A、i P S A、及びオプションで h K 2 をそれぞれ含む j 個の変数である変数 x_i の係数である。

b) 男性の年齢を、年を単位として提供すること。

c) 上記男性の血液サンプルからそれぞれ得られた上記血液マーカー、すなわち、

i) t P S A、

i i) f P S A、

i i i) i P S A、

i v) オプションで h K 2、

を決定すること。

d) ステップ b) の上記提供された年齢と、ステップ c) の上記決定された血液マーカーとを用いて、上記ロジスティック回帰モデルを使用して、上記男性の上記イベントの上記確率を、

i) 使用する式を

【数 2】

$$y = \log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right)$$

により定義することと、

i i) 上記確率を

【数 3】

$$\pi = \left(\frac{e^y}{1+e^y}\right)$$

として得ることと

により取得すること。

【0027】

上記方法の特性は、上記ロジスティック回帰モデルにおいて、t P S A が 15 ng / ml 以上であり、好ましくは 20 ng / ml 以上であり、最も好ましくは 25 ng / ml 以上である場合、上記癌のリスクは t P S A のみに基づくものである。

【0028】

本発明の別の目的は、線形回帰モデルを用いて前立腺容積を予測するための方法を提供することにある。

【0029】

本発明の実施形態は、線形回帰モデルを用いて前立腺容積を予測するための方法を提供する。上記方法は、以下のステップ a) ~ d) を含む。

a) 多数の男性のデータの線形回帰を使用することで得られた線形回帰モデルを提供すること。

上記データは、上記多数の男性のうちの各男性について、

i) 前立腺容積に関するデータと、

i i) 前立腺容積に関するデータに先行するデータであって、年齢を含むデータと、

上記男性の血液サンプルから得られた血液マーカー、すなわち、総前立腺特異抗原 (t P S A)、遊離型 P S A (f P S A)、未変化 P S A (i P S A)、及びオプションでヒトカリクレイン 2 (h K 2) の決定と

10

20

30

40

50

を含む。

上記線形回帰モデルは次式を用いて生成される。

【数 4】

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c$$

ここで、V は前立腺容積であり、 x_i は、上記線形回帰モデルを得るための、年齢、t P S A、f P S A、i P S A、及びオプションで h K 2 をそれぞれ含む j 個の変数である変数 x_i の係数である。

b) 男性の年齢を、年を単位として提供すること。

c) 上記男性の血液サンプルからそれぞれ得られた上記血液マーカー、すなわち、t P S A、f P S A、i P S A、及びオプションで h K 2 を決定すること。

d) ステップ b) の上記提供された年齢と、ステップ c) の上記決定された血液マーカーとを用いて、上記線形回帰モデルを使用して、上記男性の上記予測された前立腺容積を取得すること。

【0030】

上記方法の特性は、上記線形回帰モデルにおいて、t P S A が 15 ng / ml 以上であり、好ましくは 20 ng / ml 以上であり、最も好ましくは 25 ng / ml 以上である場合、上記癌のリスクは t P S A のみに基づくものである。

【0031】

本発明の他の優位点及び新規な特徴は、添付の図面とともに考慮したとき、本発明のさまざまな非限定的な実施形態についての以下の詳細な説明から明らかになるだろう。本明細書と、参照によって含まれた文献とが矛盾した及び / 又は不整合な開示を含む場合には、本明細書が優先するものとする。参照によって含まれた 2 つ以上の文献が互いに矛盾した及び / 又は不整合な開示を含む場合には、後の有効日を有する文献が優先制御するものとする。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図 1】本発明のいくつかの実施形態に係る、陽性の癌生検の確率を決定する処理のフローチャートを示す。

【図 2】本発明のいくつかの実施形態に係る、ロジスティック回帰モデルを条件付きで選択する処理のフローチャートを示す。

【図 3】本発明のいくつかの実施形態を実装可能であるコンピュータシステムの概要の例を示す。

【図 4】本発明のいくつかの実施形態を使用可能である例示的なネットワーク環境を示す。

【図 5】本発明のいくつかの実施形態に係る、微小流体システムと、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なサンプルアナライザの一部であってもよいさまざまな構成要素とを示すブロック図である。

【図 6】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なサンプルアナライザ及びカセットの斜視図である。

【図 7】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な流体コネクタを含むカセットの斜視図である。

【図 8】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な流体コネクタの分解図である。

【図 9】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なカセットの分解図である。

【図 10】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な流体コネクタを含むカセットの概略図である。

【図 11 A】本発明のいくつかの実施形態に係る、1 つ以上の血液マーカーの決定に使用

10

20

30

40

50

可能なカセットの概略図である。

【図 1 1 B】一組の実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な複数の構成要素からなるカセットの概略図である。

【図 1 1 C】一組の実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な複数の構成要素からなるカセットの概略図である。

【図 1 1 D】一組の実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な複数の構成要素からなるカセットの概略図である。

【図 1 1 E】一組の実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な複数の構成要素からなるカセットの概略図である。

【図 1 1 F】一組の実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能な複数の構成要素からなるカセットの概略図である。

【図 1 2】本発明のいくつかの実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なサンプルアナライザの一部の概略図である。

【図 1 3】本発明のいくつかの実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なさまざまな異なる構成要素に関連付けられたサンプルアナライザの制御システムを示すブロック図である。

【図 1 4】本発明のいくつかの実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定に使用可能なカセットの微小流体システムを示す概略図である。

【図 1 5】本発明のいくつかの実施形態に係る、1つ以上の血液マーカーの決定を示す、光学密度の測定結果を時間の関数として示すプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0033】

本発明の非限定的な実施形態は、添付の図面を参照して例示として説明される。添付の図面は、概要であって、縮尺を合わせて図示することを意図していない。図面において、図示した同一又はほとんど同一の各構成要素は、典型的には、単一の数字によって表される。明瞭さを目的として、当業者が本発明を理解できるようにするために図解が不要である場合には、すべての図のすべての構成要素にラベルが付与されるわけではなく、また、本発明の各実施形態のすべての構成要素が図示されるわけではない。

【0034】

上で議論したように、前立腺癌の確率及び/又は前立腺容積の予測のための多数の従来技術は、患者の臨床検査（例えば直腸指診又はDRE）を少なくとも部分的に基礎としている。本明細書で説明したいくつかの実施形態は、臨床の精密検査を必要とせず、血液マーカーのパネルを少なくとも部分的に基礎として、前立腺癌の確率及び/又は前立腺容積の予測値を決定するための方法及び装置に関する。以下でさらに詳細に議論するように、生検における前立腺癌の確率及び/又は前立腺容積について提供されたる予測値は、前立腺生検に関連する決定を支援するのに有用となりうる、信頼できる測定基準である。

【0035】

いくつかの実施形態は、前立腺癌のリスクを評価するようにプログラミングされた少なくとも1つのプロセッサを含むコンピュータシステムに関するものであり、前立腺癌のリスクは、複数の血液マーカーの値を少なくとも部分的に基礎として決定される。いくつかの実施形態では、コンピュータシステムは、本明細書で説明する血液マーカーのうちの1つ以上の値を決定する1つ以上の検出器を有する総合システム（例えば、アナライザ及び/又はチップ/カセット上のシステム）として実装されてもよい。他の実施形態では、コンピュータシステムは、1つ以上の検出器から遠隔に位置したコンピュータを含んでもよく、本明細書で説明した血液マーカーのうちの1つ以上の値は、ユーザインターフェースを用いて手動で入力されてもよく、及び/又は、上記値は、ネットワーク（例えばインターネット）に通信可能に接続されたネットワークインターフェースを介して受信されてもよい。コンピュータシステム内の少なくとも1つのプロセッサは、以下でより詳細に議論するように、生検時に前立腺癌のリスクを評価するために、受信された入力に1つ以上のモデルを適用するようにプログラミングされてもよい。

10

20

30

40

50

【0036】

本発明のいくつかの実施形態に係る使用されるモデルは、複数の入力ファクタの情報を統合することを支援する。例えば、入力ファクタは、PSA、総PSAに対する遊離型PSAの比、及び/又は直腸指診(DRE)状態であってもよい。この例では、第1の患者は、3 ng/mlのPSA、15%の総PSAに対する遊離型PSAの比、及び陰性のDREを有し、第2の患者は、9.5 ng/mlのPSA、50%の総PSAに対する遊離型PSAの比、及び陰性のDREを有し、第3の患者は、1.5 ng/mlのPSA、29%の総PSAに対する遊離型PSAの比、及び陽性のDREを有してもよい。第1の患者について、PSAが中程度であり、かつDREが陰性である場合、泌尿器科医は、総PSAに対する遊離型PSAの比が低いとき(しかし極端に低くないとき)、生検を行うことが十分に正当か否かについて検討してもよい。第2の患者について、高いPSA値は、通常、即時の生検を行うことを正当化するが、非常に高い総PSAに対する遊離型PSAの比は、PSAの上昇が良性であることを示す強い指標となりうる。第3の患者について、陽性のDREは、通常、非常に気がかりな徴候であるが、PSAが低く、かつ及び総PSAに対する遊離型PSAの比が通常値である場合には、生検が必要であることを示す証拠としては不十分である可能性がある。以上の説明から認識されるように、医師にこれらのファクタが別個に提示されるとき、どのような場合に生検が必要であるかを決定することは困難となる可能性がある。さらに、入力ファクタの個数が増加するとき、さまざまな入力ファクタの数値情報に基づいて生検を行うか否かを決定することは、ずっと複雑になる。

10

20

【0037】

患者及び臨床医の両方は、生検のリスク、害、及び不自由さに比較して癌の早期発見を彼らがどの程度重視しているかということに関する差に依存する、彼らが生検を選ぶ傾向に関して変動する。多くの場合、厳密な決定ルール(例えば、PSAが4 ng/mlより高いとき又は総PSAに対する遊離型PSAの比が15%より引くとき、生検を行う)を用いて、又は、リスクスコア(例えば、前立腺健常インデックス(prostate health index: PHI)スコアが29であるとき)を用いて、そのような選好を組み込むことは非実用的である。例えば、ある男性が医療処置を嫌っている場合、PSA及び/又はPHIスコアがどれだけ高いと生検を正当化するために「十分に高い」といえるのかを決定することは困難である可能性がある。

30

【0038】

厳密な決定ルールを用いるのではなく、いくつかの実施形態によれば、少なくとも1つのプロセッサは、1つ以上の統計モデルを用いて複数の入力を処理することで前立腺の生検に関する決定をガイドするようにプログラミングされる。統計モデルへの入力は、前立腺癌の生検が陽性になる確率を決定するための、血液マーカー値、患者の特性(例えば年齢)、及び他の適切な情報を含んでもよいが、これらに限定されない。そのような確率は、患者と及び臨床医の選好を考慮して生検の決定をガイドするために使用されてもよい、解釈可能な尺度を表す。

【0039】

図1は、本発明のいくつかの実施形態に係る処理のフローチャートを示す。動作110において、血液マーカーの1つ以上の値が、本明細書で説明する技術のうちの1つ以上を用いて処理するために、少なくとも1つのプロセッサによって受信される。以下でさらに詳細に説明するように、1つ以上の血液マーカー値は任意の適切な方法で受信されてもよく、受信方法は、キーボード、タッチスクリーン、マイクロホン、又は他の入力装置のようなローカル入力インターフェースを介して受信すること、又は、1つ以上のプロセッサから遠隔に位置した装置から1つ以上の値を受診する、ネットワーク接続されたインターフェースから受信すること、又は、(例えば、1つ以上の検出器を含む測定装置に1つ以上のプロセッサが統合されている実装では)1つ以上の血液マーカー値を測定する1つ以上の検出器から直接に受信することを含むが、これらに限定されない。

40

【0040】

50

1つ以上の血液マーカー値の受信に応じて、処理は動作120に進み、ここで、少なくとも1つのロジスティック回帰モデルが評価されて、前立腺癌の生検が陽性になる確率が決定され、確率は、受信された1つ以上の血液マーカー値を少なくとも部分的に基礎とする。さらに詳細に以下で説明するように、受信された血液マーカー値以外の情報（例えば、年齢、癌の悪性度、など）は、オプションで、使用する特定のモデルを決定する際のファクタとして使用されてもよく、又は、選択されたモデルを評価するための入力ファクタとして使用されてもよい。

【0041】

癌の生検が陽性になる確率を決定した後に、処理は動作130に進み、ここで、生検が必要か否かについての決定処理をガイドするために、確率がユーザ（例えば、医師、患者）に出力される。確率は任意の適切な方法で出力されてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、確率は、当該確率を表す数値を装置の表示画面上に表示することで出力されてもよい。他の実施形態では、確率は、装置上の1つ以上の光源又は他の視覚インジケータを用いて出力されてもよい。さらに他の実施形態において、確率は、音声出力、触覚出力、又は、音声、触覚、及び視覚出力のうちの1つの以上の組み合わせを用いて提供されてもよい。いくつかの実施形態では、確率を出力することは、決定された確率をユーザに通知するために、ネットワーク接続された装置へ情報を送信することを含む。例えば、確率は、遠隔の場所に位置した1つ以上のプロセッサによって決定されてもよく、確率の表示は、遠隔の場所における確率の決定に応じて、1つ以上のネットワークを用いてユーザ（例えば医師）の電子機器に送られてもよい。本明細書で説明する技術によりユーザに出力を提供する電子機器は、ラップトップ、デスクトップ、又はタブレットコンピュータ、スマートフォン、ページャ、携帯情報端末、及び電子ディスプレイを含み、これらに限定されない、任意の適切な装置であってもよい。

10

20

【0042】

上で議論したように、いくつかの実施形態は、ロジスティック回帰モデルを用いて、ある男性の前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積を予測するために、あるイベントの確率を取得するための方法に関するものである。

いくつかの実施形態では、

本方法は、1つ以上のカリクレインマーカー、すなわち、総前立腺特異抗原（total prostate-specific antigen : tPSA）、遊離型PSA（free PSA : fPSA）、未変化PSA（intact PSA : iPSA）、及びヒトカリクレイン2（human kallikrein 2 : hK2）からの情報を包含することを含む。

30

任意の適切なロジスティック回帰モデルが使用されてもよく、本明細書で説明する技術はこの点で限定しない。

いくつかの実施形態では、

イベントの確率は次式（I）により決定される。

【0043】

【数5】

$$\text{確率} = \frac{e^L}{1+e^L}$$

40

（I）

【0044】

$\logit(L)$ は、複数のロジスティック回帰モデルのうちの任意のものを用いて決定される。本明細書で説明する技術により使用可能な9つの異なるタイプのロジスティック回帰モデルの非限定的な例は、次のものを含む。

【0045】

1. 単純モデル（tPSAのみ）

【0046】

【数 6】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA)$$

【0047】

2. 総PSAに対する遊離型PSAの比を用いる4分析物モデル

このモデルでは、総PSAに対する遊離型PSAの比が遊離型PSA項の代わりに用いられる。

【0048】

【数 7】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3\left(\frac{fPSA}{tPSA}\right) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2)$$

10

【0049】

3. 対数(tPSA)及び総PSAに対する遊離型PSAの比を用いる4分析物モデル

このモデルでは、この予測ファクタの寄与分の増大の原因となるtPSA項にtPSAの対数が代入される。

【0050】

【数 8】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(\log[tPSA]) + \beta_3\left(\frac{fPSA}{tPSA}\right) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2)$$

20

【0051】

4. 多項式モデル

このモデルでは、tPSA及びfPSAに関する追加の非線形項が含まれている。以下に提示する例示的な式では、tPSA項と前立腺癌のリスクとの間の直接的関係を強調するためにtPSAの2乗が使用され、また、総PSAに対する遊離型PSAの比の項とリスクとの負の関連付けを反映するために、総PSAに対する遊離型PSAの比の項の平方根が使用される。しかしながら、いくつかの実施形態では、多項式の高次の項(例えば3乗)も含まれている可能性があるということは認識されるべきである。

【0052】

【数 9】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(tPSA^2) + \beta_7\left(\sqrt{\frac{fPSA}{tPSA}}\right)$$

30

【0053】

5. 4つの分析物すべてに関する線形スプライン

このモデルでは、メジアン値において単一の節点を有するように、線形スプラインが追加される。スプラインは、モデルが次式:

【数 10】

$$\begin{aligned} L = & \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA]) \\ & + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA]) + \beta_{10}(sp1[iPSA]) + \beta_{11}(sp2[iPSA]) \\ & + \beta_{12}(sp1[hK2]) + \beta_{13}(sp2[hK2]) \end{aligned}$$

40

を用いて表されるとき、次式を用いて決定されてもよい。

【0054】

【数 11】

$$\begin{aligned} spl(x) &= x && x < \text{節点である場合} \\ spl(x) &= \text{節点} && x \geq \text{節点である場合} \end{aligned}$$

50

【数 1 2】

$$sp2(x)=0 \quad x < \text{節点である場合}$$

$$sp2(x)=x-\text{節点} \quad x \geq \text{節点である場合}$$

【0 0 5 5】

6. t P S A 及び f P S A に関する線形スプライン

このモデルでは、変数の個数を減らしてモデルを単純化するために、t P S A 及び f P S A に関してのみ線形スプラインが含まれている。

【0 0 5 6】

【数 1 3】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA])$$

$$+ \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

10

【0 0 5 7】

7. 4つの分析物すべてに関する3次スプライン

このモデルにおいて、各項に関して3次スプラインが含まれている。以下で提示する例では、4つの節点を有する3次スプラインが説明される。しかしながら、代替として、5つの節点、6つの節点、7つの節点、及び8つの節点を含むが、これらに限定されない任意の適切な個数の節点を用いる3次スプラインが使用されてもよいということは認識されるべきである。スプラインは次式を用いて決定されてもよい。

20

【0 0 5 8】

【数 1 4】

$$sp[x]1 = \max([x] - knot1, 0)^3 - \max([x] - knot3, 0)^3 \frac{knot4 - knot1}{knot4 - knot3}$$

$$+ \max([x] - knot4, 0)^3 \frac{knot3 - knot1}{knot4 - knot3}$$

【数 1 5】

$$sp[x]2 = \max([x] - knot2, 0)^3 - \max([x] - knot3, 0)^3 \frac{knot4 - knot2}{knot4 - knot3}$$

$$+ \max([x] - knot2, 0)^3 \frac{knot3 - knot2}{knot4 - knot3}$$

30

【0 0 5 9】

ここで、knot 1 及び knot 4 は3次スプラインの外部節点であり、knot 2 及び knot 3 は3次スプラインの内部節点である。いくつかの実施形態では、内部節点は、t P S A の場合には約 2 ~ 約 5 の間及び約 5 ~ 約 8 の間の範囲内に、f P S A の場合には約 0.25 ~ 約 1 の間及び約 1.0 ~ 約 2.0 の間の範囲内に、i P S A の場合には約 0.2 ~ 約 0.5 の間及び約 0.4 ~ 約 0.8 の間の範囲内に、h K 2 の場合には約 0.02 ~ 約 0.04 の間及び約 0.04 ~ 約 0.08 の間の範囲内に指定されている。例えば、ある実装では、t P S A の内部節点として 3.89 及び 5.54 の値が使用され、f P S A の内部節点として 0.81 及び 1.19 の値が使用され、i P S A の内部節点として 0.3 及び 0.51 の値が使用され、及び k K 2 の内部節点として 0.036 及び 0.056 の値が使用される。

40

【0 0 6 0】

ある実施形態では、t P S A に関する1つ以上の内部節点が、約 3 ~ 約 5 の間の範囲内、約 3 ~ 約 6 の間の範囲内、約 2.5 ~ 約 6 の間の範囲内、約 2.5 ~ 約 6.5 の間の範囲内、約 5 ~ 約 8 の間の範囲内、約 5.5 ~ 約 8 の間の範囲内、約 5 ~ 約 9 の間の範囲内、約 5 ~ 約 10 の間の範囲内、約 1 ~ 約 5 の間の範囲内、約 1 ~ 約 4 の間の範囲内、及び

50

、約 1 ~ 約 3 の間の範囲内に独立して存在してもよい。他の範囲もまた可能である。

【 0 0 6 1 】

ある実施形態では、f P S A に関する 1 つ以上の内部節点が、約 0 . 1 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内、約 0 . 1 ~ 約 1 . 2 の間の範囲内、約 0 . 3 ~ 約 0 . 8 の間の範囲内、約 0 . 4 ~ 約 0 . 9 の間の範囲内、約 0 . 5 ~ 約 1 . 2 の間の範囲内、約 0 . 7 ~ 約 1 . 4 の間の範囲内、約 0 . 7 ~ 約 0 . 9 の間の範囲内、約 1 . 1 ~ 約 1 . 6 の間の範囲内、約 1 . 1 ~ 約 1 . 2 の間の範囲内、及び、約 1 . 1 ~ 約 2 の間の範囲内に独立して存在してもよい。他の範囲もまた可能である。

【 0 0 6 2 】

ある実施形態では、i P S A に関する 1 つ以上の内部節点が、約 0 . 0 5 ~ 約 0 . 5 の間の範囲内、約 0 . 1 ~ 約 0 . 5 の間の範囲内、約 0 . 2 ~ 約 0 . 5 の間の範囲内、約 0 . 1 ~ 約 0 . 8 の間の範囲内、約 0 . 2 ~ 約 0 . 8 の間の範囲内、約 0 . 4 ~ 約 0 . 8 の間の範囲内、約 0 . 4 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内、約 0 . 3 ~ 約 0 . 6 の間の範囲内、約 0 . 5 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内、及び、約 0 . 6 ~ 約 0 . 8 の間の範囲内に独立して存在してもよい。他の範囲もまた可能である。

10

【 0 0 6 3 】

ある実施形態では、h K 2 に関する 1 つ以上の内部節点が、約 0 . 0 1 ~ 約 0 . 0 3 の間の範囲内、約 0 . 0 1 ~ 約 0 . 0 4 の間の範囲内、約 0 . 0 1 ~ 約 0 . 0 5 の間の範囲内、約 0 . 0 2 ~ 約 0 . 0 5 の間の範囲内、約 0 . 0 2 ~ 約 0 . 0 6 の間の範囲内、約 0 . 0 3 ~ 約 0 . 0 5 の間の範囲内、約 0 . 4 ~ 約 0 . 0 7 の間の範囲内、約 0 . 0 4 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内、約 0 . 5 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内、及び、約 0 . 6 ~ 約 1 . 0 の間の範囲内に独立して存在してもよい。他の範囲もまた可能である。

20

【 0 0 6 4 】

上で議論したように、任意の適切な個数の内部節点（例えば、3 つ、4 つ、5 つ、6 つの内部節点）を組み込んだ 3 次スプラインが使用されてもよく、2 つの内部節点を含む 3 次スプラインの例は、限定ではなく、単に例示として提示されている。2 つを超える内部節点を含む実施形態において、節点は、上で議論した範囲のうちの 1 つ以上の範囲内に、又は他のある適切な範囲中で配置されてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、隣接する一対の節点の間のスプラインのセグメントの長さが本質的に等しくなるように、節点は指定されてもよい。

30

【 0 0 6 5 】

モデルは次式で表されてもよい。

【 0 0 6 6 】

【 数 1 6 】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA]) + \beta_{10}(sp1[iPSA]) + \beta_{11}(sp2[iPSA]) + \beta_{12}(sp1[hK2]) + \beta_{13}(sp2[hK2])$$

【 0 0 6 7 】

8 . t P S A 及び f P S A に関する 3 次スプライン

このモデルでは、変数の個数を減らしてモデルを単純化するために、t P S A 及び f P S A のみに関する 3 次スプラインが含まれている。

【 0 0 6 8 】

ある実施形態では、t P S A 及び f P S A に関する内部節点は、4 つの分析量すべてに関する 3 次スプラインモデルに関して上述した範囲のうちの 1 つ以上を用いて指定される。例えば、内部節点は、t P S A の場合には約 2 ~ 約 5 の間及び約 5 ~ 約 8 の間の範囲内に、f P S A の場合には約 0 . 5 ~ 約 1 の間及び約 1 . 0 ~ 約 1 . 5 の間の範囲内に指定されてもよい。例えば、ある実装において、3 . 8 9 及び 5 . 5 4 の値は t P S A に関する内部節点に用いられ、0 . 8 1 及び 1 . 1 9 の値は f P S A に関する内部節点に用いら

40

50

れる。しかしながら、代替として、他の値及び/又は範囲が使用されてもよいことは認識されるべきである。さらに、4つの分析物すべてに関する3次スプラインモデルに関して上で議論したように、いくつかの実施形態では、任意個数の節点(例えば4つ以外の節点)が代替として使用されてもよいことは認識されるべきである。

【0069】

モデルは次式のように表されてもよい。

【0070】

【数17】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

10

【0071】

9. 年齢で階層化され、tPSA及びfPSAに関する3次スプライン

このモデルでは、特定の年齢(例えば年齢65)未満又はより高い/等しい年齢を有する患者について使用するための異なる係数()を生成するために、データセットの2つの部分に3次スプラインが適用される。従って、このモデルでは、両方のグループの患者に同様の表現が(異なる係数値を用いて)使用される。このモデルとともに使用可能な異なる係数の例は、以下の表1に提示される。

【0072】

モデルは次式で表されてもよい。

【0073】

年齢 < 65 である場合 :

【数18】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

20

年齢 65 である場合 :

【数19】

$$L = \beta_0 + \beta_1(Age) + \beta_2(tPSA) + \beta_3(fPSA) + \beta_4(iPSA) + \beta_5(hK2) + \beta_6(sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

30

【0074】

上述のロジスティック回帰モデルの各々は、年齢と、総PSA(tPSA)、遊離型PSA(fPSA)、未変化PSA(iPSA)、及びヒトカリクレイン2(hK2)のうちの1つ以上に関する血液マーカー値とを含む、複数の入力ファクタを含む。いくつかの場合には、血液マーカー値は、患者のサンプルにおける血液マーカーの濃度である。上述のロジスティック回帰モデルのうちのいくつかにおいて、非線形項に関する線形又は3次スプラインが決定される。より高次のスプラインが代替として使用されてもよく、本明細書で説明した技術はこの点で限定されるものではないことは認識されるべきである。

40

【0075】

上述のロジスティック回帰モデルに関して、各項には対応する係数値()が乗算される。係数は任意の適切な方法で決定されてもよい。例えば、モデルの各々は、患者の情報、血清分析結果及び生検結果を含むデータセットに供給されてもよい。本明細書で説明した技術により、各モデルのうち、癌を予測するデータセット中の情報に最も適合するモデルが決定されてもよく、また、最も適合する結果に対応する係数が使用されてもよい。以下の表1に、上述したモデルのそれぞれについて決定された係数の例示的なテーブルを示す。これらのモデルに関して、年齢は年を単位として入力され、各分析結果はng/mL

50

を単位として測定される。

【 0 0 7 6 】

【表 1】

モデル	β_0	β_1	β_2	β_3	β_4	β_5	β_6	β_7	β_8	β_9	β_{10}	β_{11}	β_{12}	β_{13}
1	-2.434	0.015	0.165											
2	-2.130	0.040	0.071	-8.721	-0.268	11.136								
3	-2.243	0.041	0.310	-9.306	-0.060	11.035								
4	1.483	0.042	0.013	7.789	-0.137	11.198	0.002	-15.612						
5	-4.218	0.042	0.286	-1.395	0.000	0.000	0.284	0.000	-1.059	0.000	-1.686	0.836	27.608	6.628
6	-3.829	0.041	0.285	-1.260	0.228	11.200	0.278	0.000	-1.628	0.000				
7	-4.545	0.043	0.702	-2.369	-4.205	43.633	0.014	-0.009	-0.475	0.280	-26.422	15.722	18207	-11788
8	-3.925	0.042	0.723	-3.670	0.247	10.822	0.016	-0.010	-1.964	1.288				
9														
年齢 < 65	-4.491	0.045	0.881	-3.965	0.605	13.862	0.025	-0.017	-1.931	1.239				
年齢 ≥ 65	-6.117	0.085	0.359	-2.850	-0.233	7.525	-0.007	0.006	-1.207	0.781				

【 0 0 7 7 】

10

20

30

40

50

表 1：上に議論した 9 つの線形回帰モデルのそれぞれについての例示的な係数 ()。係数は、1420 人の個人からの情報を含むデータセットに対して各モデルについて最も適合するものに基づいて決定された。

【0078】

表 1 中の値は単に例示としてのみ提供しているもので、本明細書で説明した技術の実装において使用される特定の係数は、表 1 に記載されたものとは異なってもよいことが認識されるべきである。さらに、いくつかの実施形態では、異なる係数は、異なる患者集団に関して使用されてもよく、及び/又は、異なる結果の確率を決定するために使用されてもよい。例えば、異なる係数は、年齢で階層化された 3 次スプラインモデルに関して上述したように、異なる年齢範囲の患者に関して使用されてもよい。異なる係数は、異なる悪性度の癌に関する生検が陽性になる確率を決定するために使用されてもよい。例えば、高悪性度の癌 (例えばグリーソンスコア 7) で生検が陽性になる確率を決定するために使用される実施形態では、上記モデルのうちの一つ以上に関して、低悪性度癌で生検が陽性になる確率を決定するために使用される実施形態とは異なる係数を使用してもよい。さらに、血液マーカー値のうちの一つ以上が血清又は血漿から決定されたか否かを少なくとも部分的に基礎として、異なる係数が使用されてもよい。

10

【0079】

いくつかの実施形態では、マーカーのうちの一つ以上の値が所定しきい値より高い場合、第 1 のロジスティック回帰モデルが使用されてもよく、上記値が上記しきい値未満である場合、第 2 のロジスティック回帰モデルが使用されてもよい。図 2 は、本発明のいくつかの実施形態に係る、しきい値に基づいてロジスティック回帰モデルを選択する処理を示す。動作 210 において、血液マーカーである総 PSA (tPSA) の値が受信される。図 2 の例示的な処理は、どのロジスティック回帰モデルを使用するのかを決定するために血液マーカー値として tPSA を使用しているが、他の任意の血液マーカー値、複数の血液マーカー値の組み合わせ、又は他の任意の適切な情報が代替として使用されてもよいことは認識されるべきである。従って、いくつかの実施形態では、少なくとも一つのプロセッサは、一つ以上の入力値を少なくとも部分的に基礎として複数のモデルから実装して選択するようにプログラミングされてもよい。

20

【0080】

tPSA の値を受信した後に処理は動作 212 に進み、ここで、受信された tPSA 値を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルが選択される。例えば、一つの実装において、tPSA の値が 15 ng/ml 以上であり、好ましくは 20 の ng/ml 以上であり、最も好ましくは 25 ng/ml 以上である場合、ロジスティック回帰モデルは tPSA のみに基づいてもよい (例えば、上述した「単純モデル (tPSA のみ)」のモデルが使用されてもよい)。この実装では、tPSA 値が特定のしきい値未満 (例えば 15 ng/ml 未満) である場合、他のロジスティック回帰モデルのうちの一つ以上が選択されてもよい。

30

【0081】

図 2 の処理を継続し、モデルが選択された後、処理は動作 214 に進み、ここで、選択されたモデルが完全モデル (例えば、4 つのカリクレインマーカーのすべてを含む) であるか、それとも、カリクレインパネル中のすべてのマーカーより少ない個数のマーカーを含む部分モデルであるかが決定される。選択されたモデルが完全モデルでないと決定された場合、処理は動作 216 に進み、ここで、癌の確率は、上述したように、受信された tPSA 値のみに基づいて決定される。選択されたモデルが完全モデルでないと決定された場合、処理は動作 218 に進み、ここで、癌の確率は、選択されたモデルに基づいて、複数の血液マーカーを用いて決定される。選択されている特定のモデルにかかわらず、癌の確率が決定された後、処理は動作 220 に進み、ここで、図 1 に関して上で議論したように、癌の確率が出力される。

40

【0082】

本発明のいくつかの実施形態では、上記確率が得られる上記イベントは、無症候性の男

50

性又は下部尿路症状を有する男性から得られた前立腺の生検における前立腺癌の証拠である。

【 0 0 8 3 】

本発明のいくつかの実施形態では、上記確率が得られる上記イベントは、無症候性の男性又は下部尿路症状を有する男性から得られた前立腺の生検における高悪性度、すなわちグリーソンスコア7以上の前立腺癌の証拠である。典型的には、前立腺癌の進行又は前立腺癌の状態は、(i) グリーソンスコア7以上、(i i) グリーソングレード4 + 3以上、又は(i i i) グリーソンスコア8以上として定義される。

【 0 0 8 4 】

多くの好ましい実施形態において、多数の男性のデータは、生検の理由、生検の年、生検コアの個数、陽性コアの個数、各コアにおける陽性の割合、及びそれらの任意の可能な組み合わせからなるグループから選ばれた1つ以上の生検データを含む。

10

【 0 0 8 5 】

上で議論したように、多くの好ましい実施形態において、血液マーカーは、少なくとも1つの血液マーカーに関する高々2つの非線形項を使用するロジスティック回帰モデルに含まれている。ある実施形態では、血液マーカーは、少なくとも1つの血液マーカーに関する高々3つの非線形項を使用するロジスティック回帰モデルに含まれている。ある実施形態では、血液マーカーは、少なくとも1つの血液マーカーに関する高々4つの非線形項を使用するロジスティック回帰モデルに含まれている。ある実施形態では、血液マーカーは、少なくとも1つの血液マーカーに関する高々5つの非線形項を使用するロジスティック回帰モデルに含まれている。

20

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、イベントの確率を取得しようとしている男性を表す目標母集団において予想されるイベントレートが、ロジスティック回帰モデルを得るために使用されたデータに係る多数の男性のイベントレートとは異なる場合、ロジスティック回帰モデルは、式(I I) ~ 式(I V) を定義し、式(V) により構成された確率を取得することにより、再校正されてもよい。

【 0 0 8 7 】

【 数 2 0 】

$$k = \left(\frac{P/(1-P)}{p/(1-p)} \right)$$

(I I)

30

【 0 0 8 8 】

ここで、p は、上記多数の男性の上記データにおけるイベントレートであり、P は、上記目標母集団における予想されるイベントレートである。

【 0 0 8 9 】

【 数 2 1 】

$$Odds = \frac{\pi}{1-\pi}$$

(I I I)

40

【 0 0 9 0 】

ここで、 π は、モデルからの元の確率である。

【 0 0 9 1 】

【 数 2 2 】

$$Odds_{recalibrated} = Odds \times k$$

(I V)

【 0 0 9 2 】

50

【数 2 3】

$$\pi_{\text{recalibrated}} = \left(\frac{\text{Odds}_{\text{recalibrated}}}{1 + \text{Odds}_{\text{recalibrated}}} \right) \quad (\text{V})$$

【0093】

$\pi_{\text{recalibrated}}$ は、上記イベントの確率である。

【0094】

いくつかの実施形態は、線形回帰モデルを用いて前立腺容積を予測するための方法及び装置に関するものであり、上記方法は、動作 a) 多数の男性のデータの線形回帰を使用することで得られた線形回帰モデルを提供することを含む。上記データは、上記多数の男性のうちの各男性について、(i) 前立腺容積に関するデータと、(ii) 前立腺容積に関するデータに先行するデータであって、年齢を含むデータと、上記男性の血液サンプルから得られた、tPSA、fPSA、iPSA、及びオプシオンでhK2を含む血液マーカーを決定することを含む。上記線形回帰モデルは次式(VI)を用いて生成されてもよい。

【0095】

【数 2 4】

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c \quad 20$$

(VI)

【0096】

ここで、Vは前立腺容積であり、 β_i は、上記線形回帰モデルを得るための、年齢、tPSA、fPSA、iPSA、及びオプシオンでhK2をそれぞれ含むj個の変数である変数 x_i の係数である。上記方法は、動作b)~d)をさらに含む。b)男性の年齢を、年を単位として提供すること。c)上記男性の血液サンプルからそれぞれ得られた上記血液マーカー、すなわち、tPSA、fPSA、iPSA、及びオプシオンでhK2を決定すること。d)ステップb)の上記提供された年齢と、ステップc)の上記決定された血液マーカーとを用いて、上記線形回帰モデルを使用して、上記男性の上記予測された前立腺容積を取得すること。いくつかの実施形態では、統計モデルによれば、tPSAが15ng/ml以上であり、好ましくは20ng/ml以上であり、最も好ましくは25ng/ml以上である場合、上記癌のリスクはtPSAのみに基づくものである。

【0097】

生検時に前立腺癌の確率を決定するための上述したモデルを含むが、それに限定されない任意の適切なロジスティック回帰モデルが、前立腺容積を決定するための本発明の実施形態とともに使用可能であるということが認識されるべきである。

【0098】

いくつかの実施形態では、ロジスティック回帰モデル又は線形回帰モデルを提供して、上記男性の血液マーカーを決定するためのステップa)(ii)のデータは、ヒトカリクレイン2を含む。

【0099】

本発明の方法の多くの好ましい実施形態において、前立腺容積が予測された前立腺容積である場合、予測された前立腺容積は、経直腸超音波によって定義されるように提供される。

【0100】

本発明の方法の多くの好ましい実施形態では、ロジスティック回帰モデル又は線形回帰モデルを提供するための上記多数の男性のうちの各男性に関するデータは、直腸指診(DRE)の結果をさらに含み、従って、当該男性についてDREが実行され、得られた結果は、ロジスティック回帰モデル又は線形回帰モデルをそれぞれ用いて上記確率を得る際に

用いられる。好ましくは、DREの結果は2進値で表され、すなわち、正常な場合には0であり、結節が存在する場合には1であり、後者では、推定容積を表す第2の値、すなわち小=0、中=1、及び大=2を付加してもよい。

【0101】

本発明の方法に係るいくつかの好ましい実施形態では、モデルを得るための多数の男性のデータは、年齢特異的なメジアン以上として定義された、増大したレベルのtPSAを有する男性のデータのみを含み、従って、イベント又は予測された前立腺容積の確率は、上記増大したレベルのtPSAを有する男性に関してのみ得られる。

【0102】

本発明の方法の好ましい実施形態では、モデルを得るための多数の男性のうちの各男性に関する血液マーカーと、従って、確率又は予測された前立腺容積を得るために決定された血液マーカーとの決定は、血清又は血漿の血液サンプル、好ましくは抗凝血性であり、新鮮及び冷凍のいずれかの血液サンプルから決定される。好ましくは、すべてのサンプルは同じ種類のものであり、すなわち、血清及び血漿のいずれかであり、新鮮及び冷凍のいずれかである。

【0103】

本発明の方法に係るいくつかの好ましい実施形態では、ロジスティック回帰モデル又は線形回帰モデルは、40~75歳の多数の男性のデータを使用して提供され、従って、イベントの確率又は予測された前立腺容積は、40~75歳の男性について得られる。

【0104】

本発明の方法に係るいくつかの好ましい実施形態では、ロジスティック回帰モデル又は線形回帰モデルは、年齢中上位3分の1以上、年齢中上位4分の1以上、年齢中上位5分の1以上、又は年齢中上位10分の1以上の、血液中のtPSAを有する多数の男性のデータを使用して提供され、従って、イベントの確率又は予測された前立腺容積は、年齢中上位3分の1以上、年齢中上位4分の1以上、年齢中上位5分の1以上、又は年齢中上位10分の1以上の、血液中のtPSAを有する男性について得られる。一例として、60歳の男性について、対応する総PSA値は、年齢中上位3分の1以上について1.5ng/mlであり、年齢中上位4分の1以上について1.9ng/mlであり、年齢中上位5分の1以上について2.1ng/mlであり、年齢中上位10分の1以上について3ng/mlであってもよい。

【0105】

例示的なコンピュータシステム

図3に、本明細書で説明した技術及び/又はユーザ対話処理のうちの一部又はすべてが実装されてもよいコンピュータシステム300の例示の実装を示す。コンピュータシステム300は、1つ以上のプロセッサ310及び1つ以上のコンピュータ可読な非一時的記憶媒体(例えば、メモリ320及び1つ以上の不揮発性記憶メディア330)を含んでもよい。1つ以上のプロセッサ310は、メモリ320及び不揮発性記憶素子330へのデータの書き込み及びデータの読み出しを任意の適切な方法で制御してもよいが、本明細書で説明する本発明の態様はこの点で限定しない。

【0106】

本明細書で説明した機能のうち任意のものを実行するために、1つ以上のプロセッサ310は、1つ以上のコンピュータ可読記憶媒体(例えばメモリ320)に格納された、プログラムモジュールなどの1つ以上の命令を実行してもよく、コンピュータ可読記憶媒体は、プロセッサ310により実行するために命令を格納する非一時的なコンピュータ可読記憶媒体として動作してもよい。概して、プログラムモジュールは、特定のタスクを実行するか又は特定の抽象データ型を実装する、ルーチン、プログラム、オブジェクト、構成要素、データ構造、などを含む。実施形態は、通信ネットワークを介してリンクされた遠隔の処理装置によってタスクが実行される分散コンピューティング環境で実装されてもよい。分散コンピューティング環境において、プログラムモジュールは、メモリ記憶装置を含むローカル及び遠隔の両方のコンピュータ記憶媒体に位置してもよい。

10

20

30

40

50

【0107】

コンピュータ300は、1つ以上の遠隔のコンピュータへの論理的接続を用いて、ネットワーク化された環境において動作してもよい。1つ以上の遠隔のコンピュータは、パーソナルコンピュータ、サーバ、ルータ、ネットワークPC、ピア装置、又は他の一般的なネットワークノードを含んでもよく、典型的には、コンピュータ300に関連して上述した要素の多数又はすべてを含んでもよい。コンピュータ300と1つ以上の遠隔のコンピュータとの間の論理的接続は、ローカルエリアネットワーク(LAN)及び広域ネットワーク(WAN)を含むが、これらに限定されず、他のネットワークを含んでもよい。そのようなネットワークは、任意の適切な技術に基づいてもよく、任意の適切なプロトコルに従って動作してもよく、無線ネットワーク、有線ネットワーク、又は光ファイバーネットワークを含んでもよい。そのようなネットワーキング環境は、オフィス、企業全体のコンピュータネットワーク、イントラネット、及びインターネットにおいて一般的である。

10

【0108】

LANネットワーキング環境において用いられる場合、コンピュータ300は、ネットワークインターフェース又はアダプタを介してLANに接続されていてもよい。WANネットワーキング環境において用いられる場合、コンピュータ300は、典型的には、モデム、又はインターネットなどのWANを介して通信を確立するための他の手段を含む。ネットワーク化された環境において、プログラムモジュール又はその部分は、遠隔のメモリ記憶装置に格納されてもよい。

20

【0109】

前立腺癌のリスクの評価及び/又は前立腺容積の決定を行うための、本明細書で説明したさまざまな入力、当該入力に関連付けられたデータを格納する1つ以上の遠隔のコンピュータ又は装置から、ネットワーク(例えば、LAN、WAN、又は他の何らかのネットワーク)を介してコンピュータ300によって受信されてもよい。遠隔のコンピュータ/装置のうち1つ以上は、コンピュータ300への入力データとして解析結果を送信する前に、遠隔に記憶されたデータの分析を行ってもよい。代替として、遠隔に記憶されたデータは、いかなる遠隔の分析を行うこともなく遠隔に格納されたままで、コンピュータ300に送られてもよい。さらに、コンピュータ300の構成要素として組み込まれてもよい多数の入力インターフェースのうち任意のもの(例えば入力インターフェース340)を用いて、コンピュータ300のユーザから直接に入力が受信されてもよい。

30

【0110】

前立腺癌のリスクの確率及び/又は前立腺容積の出力を含む、本明細書で説明したさまざまな出力は、コンピュータ300に直接的に接続された出力装置(例えばディスプレイ)上に視覚的に提供されてもよく、又は、当該1つ以上の出力は1つ以上の有線又は無線ネットワークを介してコンピュータ300に接続された遠隔に位置した出力装置に提供されてもよく、本発明の実施形態はこの点で限定しない。本明細書で説明した出力は、追加的又は代替的に、視覚的な提示を用いること以外の方法で提供されてもよい。例えば、コンピュータ300、又は出力が提供される遠隔のコンピュータは、スピーカ、及び出力の表示を提供するための震動出力インターフェースを含むが、これらに限定されない1つ以上の出力インターフェースを含んでもよい。

40

【0111】

図3ではコンピュータ300は単一の装置として示しているが、いくつかの実施形態では、コンピュータ300は、本明細書で説明した機能の一部又はすべてを行うために通信可能に接続された複数の装置を備えてもよく、コンピュータ300は、本発明の実施形態によって使用可能であるコンピュータの1つの例示的実装にすぎないことは認識されるべきである。例えば、いくつかの実施形態では、コンピュータ300は、図5に示すシステムと統合されてもよく、及び/又は、当該システムと電子的に通信してもよい。

【0112】

上述したように、いくつかの実施形態では、コンピュータ300は、ネットワーク化された環境に含まれていてもよく、ここで、前立腺癌の確率及び/又は前立腺容積を決定す

50

るために用いられる1つ以上の血液マーカに関する情報は、本明細書で説明した技術のうちの一つ以上を用いて分析を行うために外部ソースからコンピュータ300に送られる。図4に、本発明のいくつかの実施形態に係る例示的なネットワーク化された環境400を示す。ネットワーク化された環境400において、コンピュータ300は、ネットワーク410を介して検出器420に接続されている。上で議論したように、ネットワーク410は、任意の適切なタイプの有線又は無線ネットワークであってもよく、1つ以上のローカルエリアネットワーク(LAN)、又はインターネットなどの広域ネットワーク(WAN)を含んでもよい。

【0113】

検出器420は、本明細書で説明した技術のうちの一つ以上により、前立腺癌の確率及び/又は前立腺容積を決するために使用される血液マーカのうちの一つ以上の値を決定するように構成されてもよい。図4hでは検出器420は単一の検出器として示しているが、検出器420は本明細書で説明された技術の一つ以上により使用される血液マーカのうちの一つ以上を決定するようにそれぞれ構成された、複数の検出器として実装されてもよいことが認識されるべきである。検出器及び検出システムの追加の例を、以下でさらに詳細に提示する(例えば図12)。

【0114】

いくつかの実施形態では、検出器420から決定された血液マーカの値に対応する情報は、当該値をコンピュータ300に送信する前に格納されてもよい。そのような実施形態において、値に対応する情報は、検出器420に通信可能に接続されたローカルな記憶装置420にローカルに記憶されてもよく、及び/又は、ネットワーク接続された中央記憶装置440に記憶されてもよい。従って、血液マーカに対応する値が、本明細書で説明した技術のうちの一つ以上に従ってコンピュータ300によって受信される場合、値のうち少なくとも一部は、検出器420から直接に受信されてもよく、又は、値を格納した1つ以上の記憶装置(例えば、ローカル記憶装置430、中央記憶装置440)から受信されてもよいが、なお、値がどこから受信されているかに基づいては実施形態は限定されないということが認識されるべきである。

【0115】

他のシステム及び構成要素

本明細書で説明したように、いくつかの実施形態では、システムは、前立腺癌(例えば、前立腺癌のリスク及び/又は前立腺容積)に関連付けられたイベントの確率を決定するためのアナライザと電子的に通信してロジスティック回帰モデルを評価するようにプログラミングされたプロセッサ又はコンピュータを含んでもよい。アナライザは、ロジスティック回帰モデルに入力するための血液マーカの一つ以上の特性を決定するように適合されて構成されてもよい。いくつかの実施形態では、アナライザは微小流体サンプルアナライザであり、例えば、アナライザは、微小流体装置/カセット内で処理されたサンプルを決定するように適合されて構成されてもよい。しかしながら、他のタイプのアナライザが用いられてもよく(例えば微小ウェルELISA型分析のためのアナライザ)、本明細書で説明したシステムがこの点で限定されないことは認識されるべきである。

【0116】

そのようなシステムの一例は、一組の実施形態において、微小流体サンプルアナライザは、筐体と、上記筐体の開口部であって、少なくとも一つの微小流体チャネルを有するカセットを収容するように構成された開口部とを備え、上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含む。上記アナライザは、上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも一つの微小流体チャネルに加圧して上記少なくとも一つの微小流体チャネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムをさらに含んでもよい。上記システムは、上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも一つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも一つの検出器を含む光学系をさらに含んでもよい。上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入されると

10

20

30

40

50

き、上記カセットに光が透過するように構成され、上記検出器は、上記光源の反対側に配置され、上記カセットを透過する光量を検出し、上記システムは、少なくとも、ある人物の年齢及び/又は上記線形回帰モデルに入力するための他の情報を入力するための、上記筐体に関連付けられたユーザインターフェースをさらに含んでもよい。

【0117】

ある実施形態では、上記プロセッサは、上記微小流体サンプルアナライザと電子的に通信する（又は電子的に通信するように適合される）。いくつかの場合には、上記プロセッサは上記アナライザの筐体内にある。しかしながら、他の実施形態では、上記プロセッサは、上記アナライザの筐体内に含まれず、本明細書で説明するような電子的手段によってアクセスされてもよい。上記プロセッサは、上記少なくとも1つの検出器から受信された情報

10

【0118】

ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法は、例えば、微小流体サンプルアナライザを提供することを含んでもよい。上記微小流体サンプルアナライザは、筐体と、上記筐体の開口部であって、少なくとも1つの微小流体チャネルを有するカセットを収容するように構成された開口部とを備えてもよい。上記筐体は、上記カセット上の嵌合部品とインターフェースをとって上記筐体内の上記カセットを検出するように構成された構成要素を含む。上記アナライザは、上記筐体内に配置された圧力制御システムであって、上記カセットの上記少なくとも1つの微小流体チャネルに加圧して上記少なくとも1つの微小流体チャネルを介してサンプルを移動させるように構成された圧力制御システムを含んでもよい。上記アナライザは、上記筐体内に配置された光学系であって、少なくとも1つの光源を含み、上記光源から離隔した少なくとも1つの検出器を含む光学系を含んでもよい。上記光源は、上記カセットが上記サンプルアナライザへ挿入される

20

30

40

50

【0119】

システムの別の例は、一組の実施形態において、装置（例えば微小流体カセット）を含み、上記装置は、第1の結合パートナーを備える第1の分析領域と、第2の結合パートナーを備える第2の分析領域と上記第1の結合パートナーは、fPSA、iPSA、及びtPSAのうち

40

50

される。いくつかの実施形態では、上記装置は、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの第 3 のものと結合するように適合された第 3 の結合パートナーを含む第 3 の分析領域を含む。オプションで、上記装置は、h K 2 と結合するように適合された第 4 の結合パートナーを含む第 4 の分析領域を含んでもよい。上記システムは、上記第 1 及び第 2 の分析領域に関連付けられた検出器と、上記検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラミングされたプロセッサとを含む。上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含み、上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも 2 つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及び t P S A からなるグループから選択される。

10

20

30

40

50

【0120】

そのようなシステムにおいて前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するための方法は、例えば、サンプルを装置（例えば微小流体カセット）に導入する動作を含んでもよく、上記装置は、第 1 の結合パートナーを備える第 1 の分析領域と、第 2 の結合パートナーを備える第 2 の分析領域とを備える。上記第 1 の結合パートナーは、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの少なくとも 1 つと結合するように適合され、上記第 2 の結合パートナーは、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの少なくとも他の 1 つと結合するように適合される。いくつかの実施形態では、上記装置は、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの第 3 のものと結合するように適合された第 3 の結合パートナーを含む第 3 の分析領域を含む。オプションで、上記装置は、h K 2 と結合するように適合された第 4 の結合パートナーを含む第 4 の分析領域を含んでもよい。上記方法は、上記サンプルからの f P S A、i P S A、及び / 又は t P S A のうちの任意のものが、少なくとも、上記第 1 及び第 2 分析領域における上記第 1 及び / 又は第 2 の結合パートナーと結合することを可能にすることと、上記第 1 及び第 2 の分析領域に関連付けられた 1 つ以上の検出器を用いて、f P S A、i P S A、及び / 又は t P S A の特性を決定することとを含んでいてもよい。上記方法は、少なくとも 1 つの検出器から受信された情報を少なくとも部分的に基礎としてロジスティック回帰モデルを評価することで、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定するようにプログラムされたプロセッサに、上記 f P S A、i P S A、及び / 又は t P S A の特性を入力することを含み、上記ロジスティック回帰モデルを評価することは、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングし、スケーリングされた変数を生成することと、上記スケーリングされた変数の値を合計したものをを用いて、ある人物の前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することとを含み、上記複数の変数は、年齢と、上記検出器から受信された情報に含まれた少なくとも 2 つの変数とを含み、f P S A、i P S A、及び t P S A からなるグループから選択される。従って、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率が決定されてもよい。

【0121】

ある実施形態では、血液マーカー（例えば、f P S A、i P S A、t P S A、及び / 又は h K 2）を決定するための装置が提供される。いくつかの場合には、上記装置は、例えば単一のカセットにおける、複数の血液マーカーを同時に決定可能であってもよい。上記装置は微小流体システムを含んでもよく、上記微小流体システムは、少なくとも 1 つの入口及び 1 つの出口を含む第 1 の微小流体チャネルと、上記第 1 の微小流体チャネルに貯蔵された第 1 の試薬と、上記第 1 の微小流体チャネルに上記第 1 の試薬を貯蔵するように上記第 1 の微小流体チャネルの入口をカバーする封止及び上記第 1 の微小流体チャネルの出口をカバーする封止とを備える。上記装置は、少なくとも 1 つの入口及び 1 つの出口、第 1 の分析領域、第 2 の分析領域、及び第 3 の分析領域を含む、第 2 の微小流体チャネルをさらに含んでもよい。上記分析領域の各々は、抗 i P S A 特異捕捉抗体、抗 f P S A 特異捕捉抗体、及び抗 t P S A 特異捕捉抗体（及びオプションで h K 2 特異捕捉抗体）のうち

の1つを含んでもよい。上記第1、第2、及び第3の分析領域のうちの1つ以上は、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である。上記装置は、上記微小流体システムに接続可能な流体コネクタをさらに含み、上記流体コネクタは、流体経路入口及び流体経路出口を含む流体経路を備え、接続時に、上記流体経路入口は、上記第1の微小流体チャンネルの出口に接続して、上記流体経路及び上記第1の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にし、上記流体経路出口は、上記第2の微小流体チャンネルの入口に接続して、上記流体経路及び上記第2の微小流体チャンネルの間の流体の伝達を可能にする。上記第1及び第2の微小流体チャンネルは、上記流体コネクタを介する接続をもたず、互いに流体を伝達しない。上記装置は、オプションで、抗PSAに結合する抗体に結合した金属コロイドのソースを含んでもよい。

10

【0122】

本明細書で説明した装置に関するいくつかの実施形態では、上記第1、第2、及び第3の分析領域のうちの少なくとも2つ（又は少なくとも3つ）は、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である。ある場合には、上記第1、第2、及び第3の分析領域（オプションで第4の分析領域）の各々が、上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である。いくつかの例において、上記第1の分析領域は上記第2の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能であり、上記第2の分析領域は上記第3の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である。上記第2及び第3の分析領域（及びさらに上記第2及び第3の微小流体チャンネル）は、例えば、同じ基板層上に形成されてもよく、又は本明細書で説明するように異なる基板層上に形成されてもよい。さらに、いくつかの実施形態では、上記第3の分析領域は上記第4の微小流体チャンネルとの間で流体を伝達可能である、上記第3及び第4の分析領域（及びさらに上記第3及び第4の微小流体チャンネル）は、例えば、同じ基板層上に形成されてもよく、又は本明細書で説明するように異なる基板層上に形成されてもよい。いくつかの場合には、上記第1、第2、及び第3の分析領域（オプションで第4の分析領域）の各々が、異なる基板層に形成される。他の実施形態において、上記第4の分析領域（例えば、それは抗hK2特異捕捉抗体を含んでもよい）は、上記第1、第2、及び第3の分析領域の少なくとも1つを含む基板層とは異なる基板層に形成される。いくつかのそのような実施形態において、上記第1、第2、及び第3の分析領域は、同じ基板層に形成される。

20

【0123】

上記分析領域が異なる基板層に形成されるか、それとも同じ基板層に形成されるかにかかわらず、いくつかの実施形態では、例えば上記装置の使用前に、上記第1、第2、及び/又は第3の分析領域（オプションで第4の分析領域）に試薬が貯蔵されて封止されてもよい。上記試薬は、例えば、抗iPSA特異捕捉抗体、抗fPSA特異捕捉抗体、及び抗tPSA特異捕捉抗体（オプションでhK2特異捕捉抗体）を含んでもよい。上記装置の使用時に（例えば、上記微小流体システムに流体コネクタを接続する際に）、上記第1の微小流体チャンネルは、第1、第2、及び第3の分析領域（オプションで第4の分析領域）の1つ以上との間で流体を伝達可能であるように配置されてもよい。例えば、上記流体コネクタは、上記微小流体システムへの接続時に、第2、第3、及び/又は第4の微小流体チャンネルの1つ以上入口に接続されてもよい。装置構成の例は以下でさらに詳細に説明される。

30

40

【0124】

本明細書で説明したある装置では、分析は、iPSA、fPSA、tPSA、及びhK2のうちの1つよりも多くを認識する検出抗体を使用することを含む。例えば、検出抗体はPSA及びhK2の両方を認識してもよく、次に、遮断薬を用いて、hK2だけが検出されるようにPSAを妨げることができる。例えば、1つの特定の実施形態において、分析領域は、抗hK2捕捉抗体（これは、例えば5～10%のtPSAを捕捉してもよく、本明細書で説明するように使用される前に分析領域に貯蔵されてもよい）と、tPSAを遮断する遮断薬抗体とを含んでもよい。抗hK2検出器抗体（これはtPSAをさらに検出してよい）は、hK2の結合の量を検出するために使用可能である。異なる分析領域

50

は、例えば、f P S A 及び t P S A の両方を捕捉する抗 t P S A 捕捉抗体（これは、本明細書で説明するように使用される前に分析領域に貯蔵されてもよい）を含んでもよい。2つの異なる検出器抗体、例えば、ある波長に関する蛍光タグを有する抗 t P S A 検出器抗体と、異なる波長に関する蛍光タグを有する抗 f P S A 検出器抗体とが、検出のために使用されてもよい。異なる分析領域は、例えば、抗 f P S A 捕捉抗体を含んでもよく、オプションで抗 i P S A 捕捉抗体を含んでもよい。2つの異なる検出器抗体、例えば、ある波長に関する蛍光タグを有する抗 f P S A 検出器抗体と、異なる波長に関する蛍光タグを有する抗 i P S A 検出器抗体とが、検出のために使用されてもよい。

【0125】

しかしながら、他の実施形態において、特異捕捉抗体は種の検出のために使用されてもよい。複数の特異捕捉抗体の各々は、本明細書で説明するように、異なる分析領域に配置してもよい。優位点として、特異捕捉抗体を使用することにより、及び/又は、異なる分析領域に捕捉抗体を配置することにより、種のそれぞれを検出するために同じ検出抗体を使用することができる。いくつかのそのような実施形態において、種のそれぞれを決定するために同じ波長が使用されてもよい。これは、単純化された検出器及び/又は検出のための光学的構成要素の使用を可能にしてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、検出は、以下でさらに詳細に説明するように、特定の波長において決定可能な不透明な材料を異なる分析領域に蓄積することを含む。

【0126】

例えば、一組の実施形態において、抗 i P S A 特異捕捉抗体、抗 f P S A 特異捕捉抗体、及び抗 t P S A 特異捕捉抗体（オプションで h K 2 特異捕捉抗体）は、オプションで陰性及び陽性の対照とともに、本明細書で説明するような異なる分析領域に含まれてもよい。金で標識された抗 P S A 及び抗 h K 2 抗体などの検出抗体は、i P S A、f P S A、t P S A、及び/又は h K 2 のそれぞれを検出するために使用されてもよい。しかしながら、他の実施形態では、金で標識された抗 h K 2 抗体、金で標識された抗 P S A 抗体、及び/又は金で標識された抗 i P S A 抗体など、金で標識された複数の抗体の混合物が、検出のために使用されてもよい。そのようなシステムにおいて、種のそれぞれを決定するために同じ波長が使用されてもよく、これは、単純化された検出器及び/又は検出のための光学的構成要素を使用できるようにする可能性がある。

【0127】

本明細書で提示する実施形態と組み合わせて使用可能な特定のシステム、装置、及びアナライザの例がここで説明される。

【0128】

図5は、微小流体システムと、一組の実施形態に含まれる可能性があるさまざまな構成要素とのブロック図510を示す。微小流体システムは、例えば、カセット520を含んでもよく、カセット520は、（例えば、カセットへ1つ以上の流体を導入するための、及び/又は、流体フローのレートを制御するための）ポンプ等の流体フロー源540のような1つ以上の構成要素に機能的に関連付けられ、オプションで、（例えば、1つ以上の流体をカセット内で移動させる/カセットから除去するための、及び/又は、流体フローのレートを制御するための）陽圧又は真空の両方のどちらかを印加するように構成されてもよいポンプ又は真空などの流体フロー源540のような1つ以上の構成要素に機能的に関連付けられる。微小流体システムは、（例えば、1つ以上のバルブを動作させるための）バルブ調節システム528、（例えば、1つ以上の流体及び/又は処理を検出するための）検出システム534、及び/又は、（例えば、カセットの1つ以上の領域を加熱及び/又は冷却するための）温度調整システム541をさらに含んでもよい。上記構成要素は、微小流体装置の外部にあっても内部にあってもよく、オプションで、当該構成要素又は複数の構成要素のシステムを制御するための1つ以上のプロセッサを含んでもよい。ある実施形態では、1つ以上のそのような構成要素及び/又はプロセッサは、カセットに含まれていたサンプルの処理及び/又は分析を行うように構成されたサンプルアナライザ547と関連付けられる。プロセッサは、オプションで、本明細書で説明するような線形回帰

10

20

30

40

50

モデルを評価するようにプログラミングされてもよい。

【0129】

概して、本明細書での用法によれば、1つ以上の他の構成要素と「機能的に関連付けられた」構成要素とは、そのような構成要素が、互いに接続されたり取り付けられたりすることなく直接の物理接触で互いに直接的に接続されているか、又は、互いに直接的に接続されても互いに接触してもいないが、そのように関連付けられた構成要素がそれらの意図された機能を実行できるようにするために、機械的に、電氣的に（空間を介して送信された電磁気信号を用いることを含む）、又は（例えば、管などのチャンネルを介して）流体伝達可能であるように、そのような構成要素が相互接続されていることを示す。

【0130】

図5に例示的に示した構成要素とともに、本明細書で説明するもののような他のオプションの構成要素もまた、制御システム550と機能的に関連付けられていてもよい。いくつかの実施形態では、制御システムは、微小流体システムで行なわれる1つ以上のイベントからのフィードバックを用いることによって、流体の制御及び/又は品質管理の実行のために使用されてもよい。例えば、制御システムは、各種パラメータの計算及び/又は制御を行うために、1つ以上の信号又は複数の信号のパターンを制御システムへ予めプログラミングされた信号と比較するために、及び/又は、流体フローの変調及び/又は微小流体システムの動作の制御を行うための1つ以上の構成要素に信号を送るために、1つ以上の構成要素から入力信号を受信するように構成されてもよい。制御システムは、以下でさらに詳細に説明するように、オプションで、ユーザインターフェース554、識別システム556、外部通信装置558（例えばUSB）、及び/又は他の構成要素などの、他の構成要素とさらに関連付けられもよい。

【0131】

カセット（例えば微小流体装置）520は、チャンネル及び/又は所望の分析を行うための構成要素の任意の適切な構成も有してもよい。一組の実施形態において、カセット520は、例えば本明細書でさらに詳細に説明するように、化学的及び/又は生物学的反応（例えば免疫測定）を行うために使用可能な、貯蔵された試薬を含んでいる。カセットは、例えば、オプションの試薬貯蔵エリア564との間で流体を伝達可能なオプションの試薬入口562を含んでもよい。貯蔵エリアは、例えば、1つ以上のチャンネル及び/又は貯蔵器を含んでもよく、チャンネル及び/又は貯蔵器は、いくつかの実施形態では、流体（例えば、本明細書でさらに詳細に説明するように、試薬溶液及び洗浄溶液などの非混和性の試薬を含み液体及び気体であって、オプションで非混和性の流体によって分離された液体及び気体）で部分的に又は完全に充填されてもよい。カセットは、試薬貯蔵エリア564をオプションの分析領域568に接続するために使用可能な流体コネクタのような、オプションのサンプル又は試薬の装填エリア566をさらに含んでもよい。分析領域は、サンプル（例えば分析領域）中の1つの成分を検出するための1つ以上のエリアを含んでもよく、分析領域は、オプションの廃棄エリア570との間で流体を伝達可能であるように、出口572に接続されていてもよい。いくつかの場合には、そのような装置機能及び他の装置機能が、本明細書でさらに詳細に説明するように、カセットの異なる構成要素又は層上に、又はその内部に形成されてもよい。従って、カセットが単一の構成要素を含んでもよく、又は、カセットが、ある物品と本明細書で説明するような取り付けられた流体コネクタとの組み合わせなど、使用中に取り付けられる複数の構成要素を含んでもよいことは認識されるべきである。一組の実施形態において、流体は、図に示す矢印の向きに流れてもよい。本明細書では、そのような構成要素及び他の構成要素の別の説明及び例が提供される。

【0132】

いくつかの実施形態では、サンプルをカセットに導入する前は、カセットのセクション571及び577は互いに流体を伝達可能ではない。いくつかの場合には、カセットを最初に使用する前は、セクション571及び577は互いに流体を伝達可能ではなく、最初に使用したとき、これらのセクションは互いに流体を伝達可能になる。しかしながら、他

10

20

30

40

50

の実施形態では、セクション 571 及び 577 は、最初に使用する前、及び / 又は、サンプルをカセットに導入する前に、互いに流体を伝達可能である。カセットの他の構成もまた可能である。

【0133】

図 5 の例示的な実施形態で示すように、ポンプ、真空、又は他の圧力制御システムなどの 1 つ以上の流体フロー源 540、バルブ調節システム 528、検出システム 534、温度調整システム 541、及び / 又は他の構成要素は、カセット 520 の試薬入口 562、試薬貯蔵エリア 564、サンプル又は試薬の装填エリア 566、反応エリア 568、廃棄エリア 570、出口 572、及び / 又は他の領域のうちの一つ以上と機能的に関連付けられてもよい。カセットの 1 つ以上の領域における処理又はイベントの検出は、制御システム 550 に送信可能な 1 つの信号又は複数の信号のパターンを生成することができる。制御システムによって受信された信号に基づいて、このフィードバックは、例えば、ポンプ、真空、バルブ調節システム、検出システム、温度調整システム、及び / 又は他の構成要素のうちの一つ以上を制御することによって、微小流体装置のこれらの各領域内及び / 又は各領域間で流体を操作するために使用可能である。

10

【0134】

図 6 では、微小流体サンプルアナライザ 600 の 1 つの実施形態を示す。図 6 に示す例示的な実施形態に示すように、アナライザは、以下でより詳細に議論するアナライザの構成要素をカバーするか保持するように構成された筐体 601 を含む。筐体の開口 620 は、カセット 520 を収容するように構成される。以下でより詳細に説明するように、アナライザ 600 は、筐体内に位置したユーザインターフェース 650 であって、ユーザがサンプルアナライザに情報を入力するように構成されたユーザインターフェース 650 をさらに含んでもよい。この特定の実施形態では、ユーザインターフェース 650 はタッチスクリーンを含むが、以下で議論するように、ユーザインターフェースは異なる構成を有してもよい。

20

【0135】

いくつかの実施形態では、アナライザは、カセットに加圧するように構成された流体フロー源（例えば真空システム）、カセットに関連付けられた情報を読み出すように構成された識別リーダー、及びカセットとインターフェースをとって筐体内のカセットを検出するように構成された構成要素を含む機械的サブシステムとを含んでもよい。上述のように、筐体の開口は、カセットを収容するように構成される。開口 620 は長方形スロットとして構成されてもよい。開口は、この方法で構成されて、実質的にカード形のカセットを収容してもよい。本発明はそのように限定されず、他の実施形態では開口は異なる形状及び構成を有してもよいことが認識されるべきである。

30

【0136】

上述のように、微小流体サンプルアナライザ 600 は、さまざまなタイプのカセット 520（例えば微小流体装置）を収容するように構成されてもよい。図 7 ~ 図 11F は、アナライザ 600 とともに用いるためのカセット 520 のさまざまな例示的な実施形態を示す。図示するように、カセットは、実質的に硬い板状構造を有する、実質的にカード形（すなわち、カードキーに類似したもの）であってもよい。

40

【0137】

カセット 520 は、カセットの一端に向かってスナップ動作で折り曲げ可能な、流体コネクタ 720 を含むように構成されてもよい。ある実施形態では、流体コネクタは、1 つ以上の流体（例えばサンプル又は試薬）をカセットへ導入するために使用可能である。

【0138】

一組の実施形態において、流体コネクタは、最初に使用する前には接続されていないチャンネルである、カセットの 2 つ（又はより多く）のチャンネルを最初の使用時に流体伝達可能であるように接続するために使用される。例えば、カセットは、カセットを最初に使用する前に流体を伝達可能でない 2 つのチャンネルを含んでもよい。互いに非接続の複数のチャンネルは、各チャンネルに異なる試薬を貯蔵するような場合には有利になる可能性がある。

50

例えば、第1のチャンネルは乾燥した試薬を貯蔵するために使用されてもよく、第2のチャンネルは水分を含む試薬を貯蔵するために使用されてもよい。複数のチャンネルを互いに物理的に隔離させることは、例えば、乾燥形式で貯蔵された1つ以上の試薬を、湿潤形式で貯蔵された1つ以上の試薬から生じる可能性がある水分から保護し続けることによって、各チャンネルに貯蔵された試薬の長期間の安定性を向上させることができる。最初の使用時に、チャンネルは、カセットのチャンネル間で流体を伝達可能にするために流体コネクタを介して接続されてもよい。例えば、流体接続されたものは、カセットの入口及び/又は出口をカバーする封止に穴をあけてもよく、流体コネクタをカセットに挿入することを可能にする。

【0139】

本明細書の用法によれば、「カセットを最初に使用前」とは、カセットが商業的販売の後に意図されたユーザによって最初に用いられる前の1つ以上の時を意味する。最初の使用は、ユーザによる装置の操作を必要とする1つ以上の任意のステップを含んでもよい。例えば、最初の使用は、封止された入口に穴を開けて試薬をカセットに導入すること、2つ以上のチャンネルを接続してチャンネル間で流体を伝達可能にすること、サンプルの分析前に装置を準備すること（例えば、装置に試薬を装填すること）、装置にサンプルを装填すること、装置の領域においてサンプルを準備すること、サンプルと反応させること、サンプルを検出すること、などのステップのうち1つ以上を含んでもよい。第1の使用は、このコンテキストでは、製造を含まず、カセットの製造業者によって行われる他の準備ステップ又は品質管理ステップも含まない。当業者は、このコンテキストにおける最初の使用の意味をよく認識し、本発明のカセットが最初の使用の状態にあるか否かを容易に決定することができるだろう。一組の実施形態において、本発明のカセットは最初の使用の後（例えば、分析の完了後）に使い捨て可能であり、最初の使用の後に（例えば第2の分析を行うために）装置を用いることは典型的にはまったく非実用的であるので、そのような装置が最初に使用されたのがいつなのかは特に明白である。

【0140】

図8に示す例示的な実施形態で示すように、流体コネクタ720は、実質的にU字型のチャンネル722を含んでもよく、又は、カセットに接続される前に流体及び/又は試薬（例えば、流体サンプル及び/又は1つ以上の検出抗体）を保持することができる、他の任意の適切な形状を有するチャンネルを含んでもよい。722は、コネクタ720を形成する2つのシェル構成要素間に収容されてもよい。いくつかの実施形態では、流体コネクタは、流体コネクタがカセットに接続される前に患者からサンプルを集めるために使用されてもよい。例えば、指先の血液サンプルを得るためにランセット又は他の適切な機器が使用可能であり、この血液サンプルは、その後、流体コネクタ720によって集められ、毛管作用によってチャンネル722に装填されてもよい。他の実施形態では、流体コネクタ720は、患者の指を刺してチャンネル722においてサンプルを集めるように構成されてもよい。ある実施形態では、流体コネクタ720は、カセットに接続される前にはサンプル（あるいは試薬）を含んでいないが、接続時にカセットの2つ以上のチャンネル間で流体を伝達可能にする。1つの実施形態では、U字型のチャンネルから毛管が形成される。流体コネクタは、他のチャンネル構成を含むこともでき、いくつかの実施形態では、流体伝達可能であるように互いに接続されてもよく、接続されていなくてもよい、1つよりも多くのチャンネルを含んでもよい。

【0141】

図9～図11Fは、カセット520のさまざまな例示的な実施形態をより詳細に示す。図9の分解図に例示的に示すように、カセット520は、サンプル又は試薬を受けるように構成された少なくとも1つのチャンネル706であって、当該チャンネル706を介してサンプル又は試薬が流れてもよいものを含むカセット本体704を含んでもよい。カセット本体704は、一端に配置されたラッチ708であって、スナップ動作で嵌合するための流体コネクタ整列構成要素702と連結するラッチ708をさらに含んでもよい。

【0142】

10

20

30

40

50

カセット 520 は、上カバー 710 及び下カバー 712 を含んでもよく、これらのカバーは、例えば透明材料からなっているもよい。いくつかの実施形態では、カバーは、生物学的適合性を有する接着剤の形態であってもよく、例えば、ポリマー（例えば、ポリエチレン（PE）、環状オレフィン共重合体（COC）、ポリ塩化ビニル（PVC））又は無機材料からなっているもよい。いくつかの場合には、1つ以上のカバーは、粘着性フィルム（例えばテープ）の形態を有する。いくつかの用途では、カバーの材料及び寸法は、カバーが水蒸気を実質的に通さないように選択される。他の実施形態では、カバーは、非接着剤であってもよいが、熱、レーザーエネルギー、又は超音波エネルギーを直接的に加えることによって微小流体基板に熱的に結合してもよい。カセットのチャンネルの任意の1つ以上の入口及び/又は1つ以上の出口は、1つ以上のカバーを用いて（例えば、1つ以上の入口及び/又は1つ以上の出口にわたって接着剤を配置することによって）封止することができる。いくつかの場合には、カバーは、カセットにおける1つ以上の貯蔵された試薬を実質的に封止する。

10

20

30

40

50

【0143】

図示したように、カセット本体 704 は、カセット本体 704 内のチャンネル 706 に接続された1つ以上のポート 714 を含んでもよい。これらのポート 714 は、流体コネクタ 720 がカセット 520 に接続される場合に、カセット本体 704 内のチャンネル 706 を流体コネクタ 720 中のチャンネル 722 と流体伝達可能であるように接続するために、流体コネクタ 720 における実質的にU字型のチャンネル 722 と整列するように構成可能である。ある実施形態では、実質的にU字型のチャンネル 722 は、流体伝達可能であるようにチャンネル 707 と接続され、これによりチャンネル 706 及び 707 を接続することができる。図示するように、カバー 716 はポート 714 上に設けられてもよく、カバー 716 は、（例えば、コネクタ 720 又は他の手段によって）継ぎ合わされるかさもなければ開かれて、2つのチャンネル 706 及び 722 を流体伝達可能であるように接続するように構成されてもよい。さらに、カバー 718 は、カセット本体 704 においてポート 719（例えば真空ポート）をカバーするように設けられてもよい。以下でさらに詳細に説明するように、ポート 719 は、流体伝達可能であるように流体フロー源 540 をチャンネル 706 と接続し、カセットを通してサンプルを移動させるように構成されてもよい。ポート 719 上のカバー 718 は、貫通されるかさもなければ開かれて、流体伝達可能であるようにチャンネル 706 を流体フロー源 540 と接続するように構成されてもよい。

【0144】

カセット本体 704 は、オプションで、吸収材料 717 を含む廃棄エリア（例えば廃棄パッド）のような液体封じ込め領域を含んでもよい。いくつかの実施形態では、液体封じ込め領域は、カセットに流れる1つ以上の液体を捕捉する領域を含み、この領域を介してカセット内の気体又は他の流体を通過させている間に当該捕捉を行う。これは、いくつかの実施形態では、液体を吸収するために液体封じ込め領域に1つ以上の吸収材料を配置することによって達成されてもよい。この構成は、流体の流れから気泡を除去するために、及び/又は、親水性の液体から疎水性の液体を分離するために、有用となりうる。ある実施形態では、液体封じ込め領域は、液体が当該領域を通過することを防ぐ。いくつかのそのような場合において、液体封じ込め領域は、カセット内の液体の実質的にすべてを捕捉することで廃棄エリアとして作用してもよく、これにより、（例えば、カセットの出口から気体を漏出させている間に）液体がカセットから出ることを防止する。例えば、廃棄エリアは、サンプルの分析中にサンプル及び/又は試薬がチャンネル 706 を通過した後、サンプル及び/又は試薬をカセットに貯蔵するために使用されてもよい。カセットが診断ツールとして使用される場合、カセット内の潜在的に有害な流体にユーザがさらされることを液体封じ込め領域が防止してもよいので、これらの構成及び他の構成は有用となりうる。

【0145】

図 10 に示すカセット 520 の概略図は、カセット 520 が、第1のチャンネル 706 と、第1のチャンネル 706 から離隔した第2のチャンネル 707 を含む場合に係る1つの実施

形態を示す。1つの実施形態では、チャンネル706及び707は、最大横断面寸法について約50マイクロメートルから約500マイクロメートルまでの範囲を有するが、以下でさらに詳細に説明するように、他のチャンネルサイズ及び構成が用いられてもよい。

【0146】

第1のチャンネル706は、サンプルを分析するために使用される1つ以上の分析領域709を含んでもよい。例えば、1つの例示的の実施形態では、チャンネル706は、サンプル分析の間に利用される（例えば、直列又は並列に接続された）4つの分析領域709を含む。本明細書で説明するように、分析領域のそれぞれは、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2のうち1つ以上を検出するように適合してもよい。

【0147】

ある実施形態では、1つ以上の分析領域は、メアング領域（例えば、メアングチャンネルを含む領域）の形態を有する。メアング領域は、例えば、少なくとも 0.25 mm^2 、少なくとも 0.5 mm^2 、少なくとも 0.75 mm^2 、又は少なくとも 1.0 mm^2 のエリアによって定義されてもよく、メアング領域のエリアの少なくとも25%、50%、又は75%は、光学的検出経路を備える。メアング領域の1つより多くの隣接セグメントを通る単一信号の測定を可能にする検出器、メアング領域に隣接して配置されてもよい。いくつかの場合には、チャンネル706は、直列に接続された少なくとも2つのメアング領域に流体伝達可能であるように接続される。

【0148】

本明細書で説明するように、第1のチャンネル706及び/又は第2のチャンネル707は、カセットの最初の使用前にサンプルの処理及び分析を行うために使用される1つ以上の試薬（例えば、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2に関する抗体）を貯蔵するために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、乾燥した試薬は、カセットの1つのチャンネル又はセクションに貯蔵され、水分を含む試薬は、カセットの第2のチャンネル又はセクションに貯蔵される。代替として、カセットの2つの別個のセクション又はチャンネルは、乾燥した試薬及び/又は水分を含む試薬の両方を含んでもよい。試薬は、例えば、液体、気体、ゲル、複数の粒子、又はフィルムとして、貯蔵及び/又は配置することができる。試薬は、チャンネル内、貯蔵器、表面上、及び膜又は膜上を含むが、これらに限定されない、カセットの任意の適切な部分に配置されてもよく、これらの部分は、オプションで、試薬貯蔵エリアの一部であってもよい。試薬は、任意の適切な方法でカセット（あるいはカセットの構成要素）と関連付けられてもよい。例えば、試薬は、カセット内の表面上に、（例えば、共有結合あるいはイオン結合で）架橋されるか、吸収されるか、（物理吸着で）吸着されてもよい。1つの特定の実施形態では、チャンネルのすべて又は一部（流体コネクタの流体経路又はカセットのチャンネルなど）は、抗凝血剤（例えばヘパリン）でコーティングされる。いくつかの場合には、液体は、最初の使用前及び/又はサンプルをカセットに導入する前に、カセットのチャンネル又は貯蔵器内に含まれている。

【0149】

いくつかの実施形態では、貯蔵された試薬は、使用中に複数の流体が分析領域に流れるときそれらが予め決められたシーケンスで配送されるように、線形順序で配置された複数の流体プラグを含んでもよい。分析を行うように設計されたカセットは、例えば、リンス流体、標識された抗体の流体、リンス流体、及び増幅流体を直列的に含み、これらのすべてはそこに貯蔵されてもよい。複数の流体が貯蔵されている間、それらは、通常は接触時に互いに反応する流体試薬が共通チャンネルに貯蔵されてもよいように、実質的に非混和性の分離流体（例えば、空気などの気体）によって分離された状態で維持されてもよい。

【0150】

試薬は、さまざまな長さの時間にわたってカセットに貯蔵可能である。例えば、試薬は、1時間より長い時間、6時間より長い時間、12時間より長い時間、1日より長い時間、1週間より長い時間、1か月より長い時間、3か月より長い時間、6か月より長い時間、1年より長い時間、又は2年より長い時間にわたって格納されてもよい。オプションで、カセットは、貯蔵器を延長するために適切な方法で処理されてもよい。例えば、内部に

10

20

30

40

50

含まれていた試薬を貯蔵したカセットは、真空で封止されてもよく、暗環境で貯蔵されてもよく、及び/又は、低温（例えば0度C未満）で貯蔵されてもよい。記憶装置の長さは、使用される特定の試薬、貯蔵された試薬の形態（例えば、水分を含むか乾燥しているか）、基板及び1つ以上のカバー層を形成するために使用された寸法及び材料、基板及び1つ以上のカバー層を接着する方法、及び、カセットが全体としてどのように処理又は貯蔵されるか、などの1つ以上のファクタに依存する。チャンネルに試薬（例えば、液体又は乾燥した試薬）を貯蔵することは、最初の使用前に、又は装置の梱包中に、チャンネルの1つ以上の入口及び1つ以上の出口を封止することを含んでもよい。

【0151】

図10、図11A~図11Fに示す例示的な実施形態に示すように、流体コネクタ720がカセット520に接続されるまでは、チャンネル706及び707は互いに流体を伝達可能でなくてもよい。言い換えれば、いくつかの実施形態では、2つのチャンネルは、最初に使用する前、及び/又は、サンプルをカセットに導入する前に、互いに流体を伝達可能ではない。特に、図示したように、第2のチャンネル707内の試薬がU字型のチャンネル522を通過することができ、かつ、第1のチャンネル706における分析領域709へ選択的に移動することができるように、コネクタ720の実質的にU字型のチャンネル722は、第1及び第2のチャンネル706及び707を流体伝達可能であるように接続してもよい。他の実施形態では、2つのチャンネル706及び707は、最初に使用する前、及び/又は、サンプルをカセットに導入する前に、互いに流体を伝達可能であるが、流体コネクタは、最初の使用時に2つのチャンネルを（例えば閉ループ系を形成するように）さらに接続する。

10

20

【0152】

いくつかの実施形態では、本明細書で説明したカセットは、さらに1つの微小流体チャンネルを含んでもよいが、そのようなカセットは、微小流体システムに限定されず、他のタイプの流体系に関連してもよい。微小流体を伝達可能なカセット、デバイス、装置、又はシステムは、例えば、1mm未満の最大横断面寸法と、少なくとも3:1の最大横断面寸法に対する長さの比とを有する、少なくとも1つの流体チャンネルを含んでもよい。

【0153】

チャンネルの横断面寸法（例えば直径）は、流体フローの方向に垂直に測定される。本明細書で説明したカセットの構成要素における大部分の流体は、2mm未満の最大横断面寸法を有し、いくつかの場合には1mm未満の最大横断面寸法を有する。一組の実施形態において、カセットのすべての流体は、微小流体を伝達可能であるか、又は高々2mm又は1mm以下の最大横断面寸法を有する。他の一組の実施形態において、1つ以上のチャンネルの最大横断面寸法は、500ミクロン未満、200ミクロン未満、100ミクロン未満、50ミクロン未満、又は25ミクロン未満である。いくつかの場合には、チャンネルの寸法は、流体が物品又は基板を自由に流れることができるように選択されてもよい。チャンネルの寸法は、例えば、チャンネル内の流体について所定の容積測定値又は線形流量を見込んで選択されてもよい。当然ながら、チャンネルの個数及びチャンネルの形は、当業者に既知の任意の適切な方法によって変化可能である。いくつかの場合には、1つよりも多くのチャンネル又は毛管が使用されてもよい。

30

40

【0154】

チャンネルは、少なくとも部分的に流体のフローの方向を決定する物品（例えばカセット）上の、又はその内部の特徴部分を含んでもよい。チャンネルは、任意の適切な横断面形状（円形、楕円形、三角形、不規則形状、正方形、又は長方形、など）を有してもよく、カバーされていて、カバーなしでもよい。完全にカバーされる場合の実施形態において、チャンネルの少なくとも1つの部分は、完全に包囲される横断面を有してもよく、又は、チャンネル全体は、その1つ以上の入口及び1つ以上の出口を例外として、その全長に沿って完全に包囲されてもよい。チャンネルは、少なくとも2:1、より典型的には少なくとも3:1、5:1、又は10:1、又はそれより大きな縦横比（平均横断面寸法に対する長さ）を有してもよい。

50

【0155】

本明細書で説明されたカセットは、カセットの1つ又は2つの面（あるいはカセットの基板層）に位置した複数のチャンネル又は複数のチャンネルセグメントを含んでもよい。いくつかの場合には、チャンネルがカセットの表面に形成される。複数のチャンネルセグメントは、カセットを通過するように設けられた、介在するチャンネルによって接続されてもよい。いくつかの実施形態では、チャンネルセグメントは、エンドユーザによる最初の使用前に装置に試薬を貯蔵するために使用される。チャンネルセグメントの特定の幾何学的形状、及びカセット内のチャンネルセグメントの位置は、カセットの輸送中などカセットの日常的な取り扱い中であっても、また、カセットが物理的衝撃又は振動にさらされるときであっても、複数の流体試薬を混合することなく長期間にわたって貯蔵することを可能にできる。

10

【0156】

ある実施形態では、カセットは、一連の流体チャンネルの反対側にあるカセットの一面上に形成された光学素子を含む。「光学素子」は、当該素子がないときに物品又はカセット上に入射する光に対して入射電磁放射の方向（例えば屈折又は反射によって）、焦点、偏波、及び/又は他の特性を変更するために設けられて使用される物品又はカセット上に、又はその内部に形成又は配置される特徴部分を示すために使用される。例えば、光学素子は、レンズ（例えば、凹面あるいは凸面）、鏡、回折格子、溝、又はカセット内もしくはカセット上に形成もしくは配置された他の特徴部分を備えてもよい。しかしながら、固有の特徴部分をもたないカセット自体は、入射光の1つ以上の特性がカセットとの相互作用により変化する可能性があっても、光学素子を構成しない。光学素子は、カセットを通過する入射光をガイドして、これにより、カセットの特定領域、例えば流体チャンネル間の介在する部分などから光のほとんどを散乱させてもよい。これらの介在する部分に入射する光の量を減少させることによって、所定の光検出システムを用いる場合の検出信号中のノイズの量を減少させることができる。いくつかの実施形態では、光学素子は、カセットの表面上又は当該表面内に形成された三角形の溝を備える。三角形溝の抜け勾配は、カセットの表面に垂直な入射光の方向が外部媒体（例えば空気）及びカセット材料の屈折率に依存する角度で変化するように選択されてもよい。いくつかの実施形態では、1つ以上の光学素子は、分析領域のメアング領域の隣接セグメント間に配置される。

20

【0157】

カセット又はその部分は、チャンネル又は他の構成要素を形成するのに適した任意の材料から製造することができる。材料の非限定的な例は、ポリマー（例えば、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリメタクリル酸メチル、ポリカーボネート、ポリ（ジメチルシロキサン））、PVC、PTFE、PET、及びシクロオレフィン共重合体、ガラス、石英、及びシリコンを含む。カセット及び任意の関連付けられた構成要素（例えばカバー）を形成する材料は、硬いものであっても柔軟なものであってもよい。当業者は、例えば、その硬さ、通過する流体に対するその不活性性（例えば、通過する流体によって劣化しないこと）、特定の装置が使用される温度におけるその頑健さ、（例えば紫外領域及び可視領域における）光に対するその透明性/不透明性、及び/又は、材料中に特徴部分を形成するために使用される方法に基づいて、1つ以上の適切な材料を容易に選択することができる。例えば、射出成型された物品又は他の押し出し成形された物品に関して、用いられる材料は、熱可塑性材料（例えば、ポリプロピレン、ポリカーボネート、アクリロニトリル-ブタジエン-スチレン、ナイロン6）、エラストマー（例えば、ポリイソブレン、イソブレン-イソブレン、ニトリル、ネオブレン、エチレン-プロピレン、ハイバロン、シリコーン）、熱硬化性材料（例えば、エポキシ樹脂、不飽和ポリエステル、フェノール樹脂）、又はそれらの組み合わせを含んでもよい。以下でさらに詳細に説明するように、例えば本明細書で上述したファクタに基づいて、各構成要素の主要な1つ以上の機能に合わせて当該構成要素を調製するように、2つ以上の構成要素又は層を含むカセットは、複数の異なる材質から形成されてもよい。

30

40

【0158】

いくつかの実施形態では、カセット及び/又はカバーの材料及び寸法（例えば厚さ）は

50

、実質的に水蒸気を通さないように選択される。例えば、最初の使用前に1つ以上の流体を内部に貯蔵するように設計されたカセットは、金属フォイル、所定のポリマー、所定のセラミック、及びそれらの組み合わせなど、強い蒸気バリアを提供することが知られた材料を備えるカバーを含んでもよい。低い水蒸気透過性を有する材料の例を以下に提示する。他の場合では、材料は、カセットの形状及び/又は構成を少なくとも部分的に基礎として選択される。例えば、ある材料は、平坦な装置を形成するために使用可能であり、一方、他の材料は、曲がっているか不規則に形成される装置を形成ことにより適している。

【0159】

いくつかの例では、カセットは、上に列挙したもののような2つ以上の材料の組み合わせから構成される。例えば、カセットのチャンネルは、ポリスチレン又は他のポリマーで（例えば射出成形により）形成されてもよく、チャンネルを封止するために生物学的適合性を有するテープが使用されてもよい。生物学的適合性を有するテープ又は可撓材料は、蒸気バリア特性を改善することが知られている材料（例えば、金属フォイル、ポリマー、又は強い蒸気バリアを有することが知られている他の材料）を含んでもよく、オプションで、テープに穴をあけるか又は剥がさないことで入口及び出口へのアクセスを可能にしてもよい。微小流体チャンネル又はチャンネルの部分を封止するために、あるいは、接着剤の使用、粘着性テープの使用、接着、結合、材料の積層、又は機械的方法（例えば、クランプ機構、スナップ機構、など）を含むが、これらに限定されない複数の方法で装置の複数の層を結合するために、さまざまな方法が使用可能である。

10

【0160】

いくつかの例では、カセットは、ともにマウントされた2つ以上の別個の構成要素（例えば層又はカセット）の組み合わせを備える。最初の使用前に内部に貯蔵された試薬をオプションで含んでもよい、独立したチャンネルネットワーク（図5のセクション571及び577など）は、カセットの異なる構成要素上に、又はその内部に含まれていてもよい。別個の構成要素は、ともにマウントされてもよく、さもなければ、例えば単一の（組み立て物の）カセットを形成するように、本明細書で説明した方法など、任意の適切な手段によって互いに関連付けられてもよい。いくつかの実施形態では、2つ以上のチャンネルネットワークは、カセットの異なる構成要素又は層に配置され、最初の使用前には流体伝達可能であるように接続されていないが、最初の使用時に、例えば流体コネクタを用いて、流体伝達可能であるように接続される。他の実施形態では、2つ以上のチャンネルネットワークは、最初の使用前に流体伝達可能であるように接続されている。

20

30

【0161】

優位点として、組み立て物のカセットを形成する異なる構成要素又は層のそれぞれは、当該構成要素又は層の設計された1つ以上の機能に個々に依存して特別に調整されてもよい。例えば、一組の実施形態において、組み立て物のカセットの1つの構成要素は、水分を含む試薬を貯蔵するように調整されてもよい。一部のそのような実施形態では、構成要素は、比較的小さな蒸気透過性を有する材料で形成されてもよい。追加的又は代替的に、例えば、貯蔵される流体の量に依存して、当該カセットの1つ以上の記憶領域は、液体の貯蔵に使用されない他の構成要素のチャンネル又は領域よりも大きな横断面寸法を有して作成されてもよい。カセットを形成するために使用された材料は、より大きな横断面寸法を形成することに適した製造技術に適合したものであってもよい。対照的に、分析物の検出に合わせて調製されてもよい第2の構成要素は、いくつかの実施形態では、より小さな横断面寸法を有するチャンネル部分を含んでもよい。より小さな横断面寸法は、例えば、ある実施形態では、与えられた容積の流体のもとで、チャンネルに流れる流体（例えば試薬溶液又は洗浄流体）と、チャンネルの表面に結合された分析物との間の接触時間をより長くするために有用となりうる。追加的又は代替的に、第2の構成要素のチャンネル部分では、他の構成要素のチャンネル部分に比較して、表面の粗さ（例えば、検出中に信号対雑音比を増加させる）は、より少なくなってもよい。第2の構成要素のチャンネル部分のより小さな横断面寸法又はより少ない表面の粗さは、ある実施形態では、カセットの異なる構成要素を形成するために使用されるものとは異なる所定製造技術又は製造ツールを必要として

40

50

もよい。さらに、いくつかの特定の実施形態では、第2の構成要素に使用される材料は、タンパク質の付着及び検出に関してよく特徴づけられてもよい。そのため、カセットの異なる構成要素において異なる目的に使用される複数の異なるチャンネル部分であって、その後、意図されたユーザによって使用される前にも結合される複数の異なるチャンネル部分を形成することは、優位点となりうる。以下に、他の優位点、構成要素の特徴部分、及び例を提示する。

【0162】

図11B～図11Eは、単一のカセットを形成するように組み合わされる複数の構成要素又は層520B及び520Cを含んでもよい装置を示す。これらの例示の実施形態で示したように、構成要素の520Bは、第1の面521A及び第2の面521Bを含んでもよい。構成要素520Cは、第1の面522A及び第2の面522Bを含んでもよい。チャンネル又は他のエンティティのような、本明細書で説明した装置の構成要素又は部分は、構成要素の第1の面及び/又は構成要素の第2の面に、又はその上に、又はその内部に、及び/又は、いくつかの実施形態では構成要素を通過するように、形成されてもよい。例えば、図11Cに例示的に示すように、構成要素520Cは、入口及び出口を有するチャンネル706を含んでもよく、第1の材料で形成されてもよい。706は、本明細書で説明するような任意の適切な構成を有してもよく、例えば、1つ以上の試薬貯蔵領域、分析領域、液体封じ込め領域、混合領域、などを含んでもよい。いくつかの実施形態では、チャンネル706は、構成要素の520Bの厚さ方向の全体にわたっては形成されない。すなわち、チャンネルは、構成要素の1つの面において、又はその面内に形成されてもよい。706は、オプションで、テープ（図示せず）、カセットの別の構成要素もしくは層、又は他の適切な構成要素のような、本明細書で説明するようなカバーによって包囲されてもよい。他の実施形態では、チャンネル706は、構成要素の520Bの厚さ方向の全体にわたって形成され、チャンネルを包囲するためにカセットの両方の面においてカバーが必要とされる。本明細書で説明するように、複数の異なる層又は構成要素は、サンプル内の種を決定するための複数の異なる分析領域を含んでもよい。例えば、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2に関する捕捉抗体は、複数の異なる分析領域に配置されてもよく、オプションで、図示したようなカセットの複数の異なる構成要素又は層に配置されてもよい。

10

20

30

【0163】

構成要素の520Bは、入口及び出口を有するチャンネル707を含んでもよく、第1の材料と同じであっても異なってもよい第2の材料で形成されてもよい。チャンネル707もまた、本明細書で説明するような任意の適切な構成を有してもよく、構成要素520Cの厚さ方向の全体にわたって形成されるても形成されなくてもよい。チャンネル707は、1つ以上のカバーによって包囲されてもよい。いくつかの場合では、カバーは、構成要素520Cなどの1つ以上の流体チャンネルを含む構成要素ではない。例えば、カバーは、構成要素520B及び520Cの間に配置された生物学的適合性を有するテープ又は他の面であってもよい。他の実施形態では、チャンネル707は、構成要素520Cによって実質的に包囲されてもよい。すなわち、構成要素520B及び520Cが互いに直接的に隣接して位置しているとき、構成要素520Cの表面の522Aはチャンネル707の一部を形成してもよい。

40

【0164】

図11D及び図11Eに例示的に示すように、構成要素520B及び520Cは、実質的に平面であってもよく、互いの上に位置していてもよい。しかしながら、概して、カセットを形成する2つ以上の構成要素は、互いに関して任意の適切な構成で位置することができる。いくつかの場合では、複数の構成要素は互いに隣接して位置する（例えば、並んで、積み重ねて位置する）。複数の第1の構成要素が完全に重ね合わされてもよく、又は、構成要素の部分だけが重ね合わされてもよい。例えば、図11D及び図11Eに例示的に示すように、構成要素520Cは、構成要素520Cの一部が構成要素520Bと重複したり構成要素520Bによってカバーされたりしないように、構成要素520Bよりも

50

さらに延在してもよい。いくつかの場合では、構成要素 5 2 0 C が、実質的に透明であり、構成要素の一部（例えば、反応エリア、分析領域、又は検出領域）を介して伝搬する光を必要とするとき、かつ、構成要素 5 2 0 B が不透明であるか構成要素 5 2 0 C よりも低い透明度を有するとき、この構成は有利となりうる。

【 0 1 6 5 】

さらに、第 1 及び第 2 の構成要素は任意の適切な形状及び / 又は構成を含んでもよい。例えば、いくつかの実施形態では、第 1 の構成要素は、第 1 及び第 2 の構成要素の間の非流体伝達可能な接続を形成するように、第 2 の構成要素の特徴部分に相補的な特徴部分を含む。相補的な特徴部分は、例えば、組み立て中に第 1 及び第 2 の構成要素の整列を支援してもよい。

10

【 0 1 6 6 】

第 1 及び第 2 の構成要素は、いくつかの実施形態では互いに一体的に接続されてもよい。本明細書の用法によれば、2 つ以上の物体に言及する場合の用語「一体的に接続される」とは、通常の使用中に互いに分離されない物体、例えば手で分離できない物体を意味し、このとき、分離するには、少なくとも道具の使用を必要とし、及び / 又は、構成要素の少なくとも 1 つに損傷をもたらすこと、例えば、接着剤又は道具によって互いに固定された構成要素の破壊、剥離、又は分離を必要とする。一体的に接続される構成要素は、通所の使用中に互いに不可逆的に取り付けられてもよい。例えば、構成要素 5 2 0 B 及び 5 2 0 C は、接着剤の使用又は他の結合方法によって一体的に接続されてもよい。他の実施形態では、カセットの 2 つ以上の構成要素は、互いに可逆的に取り付けられてもよい。

20

【 0 1 6 7 】

本明細書で説明するように、いくつかの実施形態では、組み立て物のカセットを形成する少なくとも第 1 の構成要素及び第 2 の構成要素は、異なる材料で形成されてもよい。システムは、第 1 の構成要素が当該第 1 の構成要素の 1 つ以上の機能を支援するか向上させる第 1 の材料を含むように設計されてもよい。例えば、第 1 の構成要素がユーザによる最初の使用前に（例えば、少なくとも 1 日、1 週間、1 か月、又は一年にわたって）液体試薬を（例えば構成要素のチャンネル内に）貯蔵するように設計される場合、貯蔵された液体が経時的に蒸発する量を削減するために、第 1 の材料は、比較的小さな蒸気透過性を有するように選択されてもよい。しかしながら、いくつかの実施形態では、カセットの複数の構成要素（例えば層）に同じ材料が使用されてもよいことは理解されるべきである。例えば、カセットの第 1 及び第 2 の構成要素の両方は、小さな蒸気透過性を有する材料で形成されてもよい。

30

【 0 1 6 8 】

ある実施形態では、カセットの第 1 及び第 2 の構成要素は、異なる光学的透明度を有する。例えば、第 1 の構成要素は実質的に不透明であってもよく、第 2 の構成要素は実質的に透明であってもよい。実質的に透明な構成要素は、構成要素内に含まれたサンプル又は分析物の光学的検出に適する可能性がある。

【 0 1 6 9 】

一組の実施形態において、カセットの構成要素（例えば、第 1 又は第 2 の構成要素）を形成するために使用される材料は、400 及び 800 nm の間の波長の光（例えば可視範囲中の光）で 90 % より高い光透過率を有する。光透過率は、例えば約 2 mm（又は他の実施形態では、約 1 mm 又は約 0.1 mm）の厚さを有する材料を介して測定されてもよい。いくつかの例において、光透過率は、400 及び 800 nm の間の波長の光で、80 % より高いか、85 % より高いか、88 % より高いか、92 % より高いか、94 % より高いか、又は 96 % より高い。装置の他の構成要素は、400 及び 800 nm の間の波長の光で、96 % 未満、94 % 未満、92 % 未満、90 % 未満、85 % 未満、80 % 未満、50 % 未満、30 % 未満、又は 10 % 未満の光透過率を有する材料で形成されてもよい。

40

【 0 1 7 0 】

本明細書で説明するように、いくつかの実施形態では、カセットの第 1 の構成要素のチャンネルは、ユーザによる最初の使用前にカセットの第 2 の構成要素のチャンネルとの流体を

50

伝達可能ではない。例えば、図 1 1 D で例示的に示すように 2 つの構成要素を嵌合させた後であっても、チャンネル 7 0 6 及び 7 0 7 は互いの流体を伝達可能ではない。しかしながら、カセットは、第 1 及び / 又は第 2 の構成要素 5 2 0 B 及び 5 2 0 C 又はカセットの他の部分に取り付け可能な、流体コネクタ整列構成要素 7 0 2 などの (図 1 1 E) 他の部分又は構成要素をさらに含んでもよい。本明細書で説明するように、流体コネクタ整列構成要素は、第 1 及び第 2 の構成要素のチャンネル 7 0 6 及び 7 0 7 の間で流体の伝達を可能にする流体コネクタ 7 2 0 を収容して嵌合するように構成されてもよい。例えば、流体コネクタは、流体経路入口及び流体経路出口を含む流体経路を含んでもよく、流体経路入口は、チャンネル 7 0 6 の出口に流体伝達可能であるように接続可能であり、流体経路出口は、チャンネル 7 0 7 の入口に流体伝達可能であるように接続可能である (又はその逆に接続可能である) 。流体コネクタの流体経路は、チャンネルを接続するために、任意の適切な長さ (例えば、少なくとも 1 c m 、少なくとも 2 c m 、少なくとも 3 c m 、少なくとも 5 c m) も有してもよい。流体コネクタは、カセットとともにキットの一部であってもよく、当該流体コネクタが接続流路 7 0 6 及び 7 0 7 を流体伝達可能であるように接続しないようにパッケージ化されていてもよい。

10

【 0 1 7 1 】

流体コネクタは、カセットに関して、又はカセットの構成要素に関して、任意の適切な構成を有してもよい。図 1 1 E に例示的に示すように、流体コネクタをカセットに接続する際に、流体コネクタは、ある構成要素 (例えば構成要素の 5 2 0 B) の一方の面であって、他の構成要素 (例えば構成要素 5 2 0 C) とは逆の面に配置されてもよい。他の実施形態では、流体コネクタは、カセットの 2 つの構成要素間に配置することができる。例えば、流体コネクタは、カセットの 2 つの構成要素間に配置された (例えば、間にはさまれた) 構成要素又は層であってもよい。他の構成もまた可能である。

20

【 0 1 7 2 】

本明細書の説明の多くは、チャンネルネットワークを含む 1 つ以上の構成要素又は層を有するカセットに関するものであるが、他の実施形態では、カセットは、2 個より多く、3 個より多く、又は 4 個より多くのそのような構成要素又は層を含んでもよい。例えば、図 1 1 F に例示的に示すように、カセットは、少なくとも 1 つのチャンネル、又は複数のチャンネルのネットワークをそれぞれ含む構成要素 5 2 0 B 、 5 2 0 C 、 5 2 0 D 、 及び 5 2 0 E を含んでもよい。いくつかの例では、1 つ以上の構成要素 (例えば、2 つ、3 つ、又はすべての構成要素) の 1 つ以上のチャンネルは、最初の使用前に流体伝達可能であるように接続されていなくてもよいが、最初の使用時に、例えば流体コネクタを用いて、流体伝達可能であるように接続されてもよい。他の実施形態では、1 つ以上の構成要素 (例えば、2 つ、3 つ、又はすべての構成要素) の 1 つ以上のチャンネルは、最初の使用前に流体伝達可能であるように接続されている。

30

【 0 1 7 3 】

本明細書で説明するように、カセットの構成要素又は層のそれぞれは、カセットの他の構成要素の機能とは異なる特定の機能を有するように設計されてもよい。他の実施形態では、2 つ以上の構成要素は同じ機能を有してもよい。例えば、図 1 1 F の例示の実施形態に示すように、各構成要素 5 2 0 C 、 5 2 0 D 、 及び 5 2 0 E は、直列に接続された 1 つ又は複数の分析領域 7 0 9 を有してもよい。流体コネクタ 7 2 2 を組み立て物のカセットに接続する際に、1 つ (又は複数) のサンプルの部分は、複数の分析を行うために、構成要素 5 2 0 C 、 5 2 0 D 、 及び 5 2 0 E のそれぞれのチャンネルネットワークへ導入されてもよい。例えば、分析領域のそれぞれは、i P S A 、 f P S A 、 t P S A 、 及び / 又は h K 2 のうちの 1 つ以上を検出するための結合パートナー (例えば、i P S A 、 f P S A 、 t P S A 、 及び / 又は h K 2 に関する捕捉抗体) を含んでもよい。本明細書で説明するように、いくつかの実施形態では、特異捕捉抗体を使用することにより、及び / 又は、複数の捕捉抗体を異なる分析領域で分離することにより、種のそれぞれを検出するために同じ検出抗体を使用することができる。いくつかのそのような実施形態では、種のそれぞれを決定するために同じ波長が使用されてもよい。これは、簡単化された検出器及び / 又は

40

50

検出のための光学的構成要素の使用を可能にしてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、検出は、特定の波長において決定可能な不透明な材料を異なる分析領域に蓄積することを含む。

【0174】

いくつかの実施形態では、カセットの少なくとも第1及び第2の構成要素は、特定の化学的又は生物学的状態を決定するために使用される装置又はキットの一部であってもよい。装置又はキットは、例えば、第1の材料中の第1のチャンネルを備える第1の構成要素を含んでもよく、第1のチャンネルは、入口と、出口と、第1の入口及び出口の間における、200ミクロンよりも大きな横断面寸法を有する少なくとも1つの部分とを含む。装置又はキットは、第2の材料中の第2のチャンネルを備える第2の構成要素をさらに含んでもよく、第2のチャンネルは、入口と、出口と、第2の入口及び出口の間における、200ミクロン未満の横断面寸法を有する少なくとも1つの部分とを含む。ある場合には、装置又はキットは、第1及び第2の構成要素が互いに接続されるようにパッケージ化される。例えば、第1及び第2の構成要素は、互いに一体的に接続されてもよい。他の実施形態では、第1及び第2の構成要素は、互いに可逆的に取り付けられる。装置又はキットは、第1及び第2のチャンネルを流体伝達可能であるように接続するための流体コネクタをさらに含んでもよく、流体コネクタは、流体経路入口及び流体経路出口を含む流体経路を備え、流体経路入口は、第1のチャンネルの出口に流体伝達可能であるように接続可能であり、流体経路出口は、第2のチャンネルの入口に流体伝達可能であるように接続可能であるその接続可能である。いくつかの実施形態では、流体コネクタがパッケージ中の第1及び第2のチャンネルを流体伝達可能であるように接続しないように、装置又はキットがパッケージ化される。意図されたユーザが装置を最初に使用する際に、流体コネクタを用いて、第1及び第2のチャンネルが互いに流体を伝達可能になるようにすることができる。

10

20

【0175】

本明細書で説明したカセットは、化学的及び/又は生物学的反応又は他の処理などの分析を実行するための、任意の適切な容積を有してもよい。カセットの容積全体は、例えば、任意の試薬貯蔵エリア、分析領域、液体封じ込め領域、廃棄エリアと、任意の流体コネクタと、それらに関連付けられた流体チャンネルとを含む。いくつかの実施形態では、少量の試薬及びサンプルが使用され、流体装置の容積全体は、例えば、10 mL、5 mL、1 mL、500 µL、250 µL、100 µL、50 µL、25 µL、10 µL、5 µL、又は1 µL未満である。

30

【0176】

本明細書で説明したカセットは、携帯型であってもよく、いくつかの実施形態では、ハンドヘルド型であってもよい。カセットの長さ及び/又は幅は、例えば、20 cm、15 cm、10 cm、8 cm、6 cm、又は5 cm以下であってもよい。カセットの厚さは、例えば、5 cm、3 cm、2 cm、1 cm、8 mm、5 mm、3 mm、2 mm、又は1 mm以下であってもよい。優位点として、携帯型装置は、ポイントオブケア設定で使用することに適する可能性がある。

【0177】

本明細書で説明したカセット及びそれらの各構成要素は例示的であり、他の構成及び/又はタイプのカセット及び構成要素もまた本明細書で説明したシステム及び方法で使用可能であることが理解されるべきである。

40

【0178】

本明細書で説明した方法及びシステムは、さまざまな異なるタイプの分析を含んでもよく、さまざまな異なるサンプルを決定するために使用可能である。いくつかの場合では、分析は、化学的及び/又は生物学的反応を含む。いくつかの実施形態では、化学的及び/又は生物学的反応は結合を含む。異なるタイプの結合が本明細書で説明したカセットにおいて生じてもよい。結合は、対応する一対の分子(例えば結合パートナー)間の相互作用を含んでもよく、この相互作用は、相互の親和力又は結合能力を示し、典型的には特異又は非特異結合又は相互作用であり、生化学的、生理学的、及び/又は薬学的相互作用を含

50

む。生物学的結合は、タンパク質、核酸、糖タンパク質、炭水化物、ホルモン、などを含む、一对の分子（例えば結合パートナー）間に生じる一種の相互作用を定義する。特定の例は、抗体／抗原、抗体断片／抗原、抗体／ハプテン、抗体断片／ハプテン、酵素／基質、酵素／阻害剤、酵素／補因子、結合タンパク質／基質、担体タンパク質／基質、レクチン／炭水化物、レセプタ／ホルモン、レセプタ／エフェクタ、核酸の相補鎖、タンパク質／核酸、リプレッサ／インデューサ、リガンド／細胞表面のレセプタ、ウイルス／リガンド、などを含む。結合は、タンパク質又は他の成分とセルとの間に生じてもよい。さらに、本明細書で説明した装置は、成分、濃度などの検出のような、他の流体分析（結合及び／又は反応を含んでいても含んでいなくてもよい）に使用されてもよい。

【0179】

いくつかの場合では、カセット内において不均一反応（又は分析）が行われてもよく、例えば、結合パートナーはチャネルの表面に関連付けられてもよく、相補的な結合パートナーは流体相にあってもよい。タンパク質もしくは他の生体分子（例えば、DNA、RNA、炭水化物）、又は自然に生じることがない分子の間の親和力反応を含む他の固体相分析が実行されてもよい。カセットにおいて実行可能な典型的な反応の非限定的な例は、化学反応、酵素反応、免疫に基づく反応（例えば、抗原-抗体）、及び細胞に基づく反応を含む。

【0180】

典型的なサンプル流体は、人間又は動物の全血、血清、血漿、精液、涙、尿、汗、唾液、髄液、膿液などの生理的に生じる流体、研究中使用される生体外の流体、又は、分析物によって汚染されている疑いがある水系液体などの環境内の流体を含む。

【0181】

いくつかの実施形態では、サンプルの分析物を決定するために使用可能な1つ以上の試薬（例えば、決定される分析物の結合パートナー）は、特定の検査又は分析を行うために、最初の使用前にカセットのチャネル又は室に貯蔵される。抗原が分析対象である場合には、対応する抗体又はアプタマーは、微小流体チャネルの表面に関連付けられた結合パートナーであってもよい。抗体が分析物である場合、適切な抗原又はアプタマーは、表面に関連付けられた結合パートナーであってもよい。疾患の状態を決定しているとき、表面上に抗原を配置することと、被験者において生成された抗体を検査することとが好ましいかもしれない。本明細書では抗体について言及しているが、抗体と組み合わせ、又は抗体の代わりに、抗体断片が使用されてもよいことが認識されるべきである。

【0182】

いくつかの実施形態では、カセットは、微小流体チャネルのある領域上に不透明材料を蓄積すること、当該領域を光に感光させること、及び、不透明材料を介する光の透過を決定することを含む分析を実行するように適合されて構成される。不透明材料は、1つ以上の波長において光の透過率を妨げる物質を含んでもよい。不透明材料は、光を屈折させるだけでなく、例えば光を吸収するか反射することによって、材料を介する透過量を減少させる。異なる不透明材料又は異なる量の不透明材料は、不透明材料を照射する光の、例えば、90、80、70、60、50、40、30、20、10、又は1パーセント未満の透過率を可能にしてもよい。不透明材料の例は、金属（例えば金属単体）の分子層、セラミック層、ポリマー層、及び不透明物質（例えば染料）の層を含む。不透明材料は、いくつかの場合には、無電解的に堆積可能な金属であってもよい。これらの金属は、例えば、銀、銅、ニッケル、コバルト、パラジウム、及びプラチナを含んでもよい。

【0183】

チャネルを形成する不透明材料は、ともに不透明層を形成する一連の不連続な独立した粒子を含んでもよいが、しかし1つの実施形態では、概して平面形状を有する連続材料である。不透明材料は、例えば、1ミクロン以上、5ミクロン以上、10ミクロンより長い、25ミクロン以上、あるいは50ミクロン以上の寸法（例えば幅の長さ）を有してもよい。いくつかの場合では、不透明材料は、不透明材料を含むチャネル（例えば分析領域）の幅にわたって延在する。不透明層の厚さは、例えば、10ミクロン以下、5ミクロン以

10

20

30

40

50

下、1ミクロン以下、100ナノメートル以下、又は10ナノメートル以下であってもよい。これらの小さな厚さにおいても、検知可能な透過率の変化を得ることができる。不透明層を形成しない技術と比較した場合、不透明層は、分析感度の増大をもたらす可能性がある。

【0184】

一組の実施形態において、本明細書で説明したカセットは、免疫測定を実行するために（例えば、tPSA、iPSA、fPSA、及び/又はhK2を決定するために）使用され、オプションで、信号増幅のために銀の増強を使用する。そのような免疫測定では、分析領域において検出される血液マーカーを含むサンプルを配送した後、血液マーカーと対応する結合パートナーとの間の結合が生じうる。1つ以上の試薬は、オプションで使用前に装置のチャンネルに貯蔵されてもよく、次いで、この結合ペア複合体上に流れることができる。貯蔵された試薬のうちの1つは、検出すべき抗原に結合している1つ以上の金属コロイドを含む溶液を含んでもよい。例えば、抗PSA及び抗hK2である抗体金で標識された抗体は、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2のそれぞれを検出するために使用されてもよい。他の例では、金で標識された抗hK2抗体、金で標識された抗PSA抗体、及び/又は金で標識された抗iPSA抗体など、金で標識された複数の抗体の混合物が、検出のために使用されてもよい。そのような試薬は、例えば使用前に、カセットに貯蔵されてもよい。金属コロイドは、1つ以上の分析領域の表面において、金属（例えば銀）の層などの不透明材料の堆積物に触媒表面を提供することができる。金属の層は、2成分系、すなわち、金属前駆体（例えば銀塩の溶液）及び還元剤（例えば、ヒドロキノ

10

20

【0185】

正又は負の差異又は圧力差がシステムに印加されるとき、銀塩及び還元溶液は混合し（例えば、チャンネルの交差において合流し）、次いで、分析領域上に流れることができる。従って、分析領域において抗体-抗原の結合が生じる場合、領域を通る金属前駆体溶液の流れは、抗体-抗原の複合体に関連付けられた触媒金属コロイドの存在に起因して、結果として、銀の層などの不透明層の形成をもたらすことが可能である。不透明層は、1つ以上の波長において光の透過率を妨げる物質を含んでもよい。チャンネルにおいて形成される不透明層は、例えば、抗体又は抗原を含まないエリアの一部と比較して、分析領域の一部（例えば、曲がりくねったチャンネル領域）を介する光透過率の減少を測定することで、光学的に検出することができる。代替として、分析領域においてフィルムが形成されている場合、信号は、光透過率の変動を時間の関数として測定することで取得可能である。不透明層を形成しない技術と比較した場合、不透明層は、分析感度の増大をもたらす可能性がある。さらに、検出器による信号の検出を可能にするために、光信号（例えば、吸光度、蛍光、グロー又はフラッシュの化学ルミネセンス、電気化学ルミネセンス）、電気信号（例えば、無電解処理によって生成された金属構造物の抵抗又は導電率）、又は磁気信号（例えば磁気ビーズ）を生成するさまざまな増幅化学反応を使用可能である。

30

【0186】

さまざまな種類の流体が本明細書で説明したカセットとともに使用可能である。本明細書で説明するように、流体は、最初の使用時にカセットへ導入されてもよく、及び/又は、最初の使用前にカセット内に貯蔵されてもよい。流体は、溶媒、溶液、及び懸濁液などの液体を含む。流体は、気体と、気体の混合物とをさらに含む。複数の流体がカセットに含まれている場合、当該複数の流体は、他の流体によって分離されてもよく、当該他の流体は、好ましくは、最初の2つの流体のそれぞれにおいて実質的に非混和性である。例えば、チャンネルが2つの異なる水溶液を含んでいる場合、第3の流体の分離プラグは、両方の水溶液において実質的に非混和性であってもよい。複数の水溶液が分離された状態で維持されるべきである場合、セパレータとして使用可能な実質的に非混和性の流体は、空気又は窒素などの気体、又は水系流体と実質的に非混和性である疎水性の流体を含んでもよ

40

50

い。流体は、当該流体と隣接した流体との反応性に基づいて選択されてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、窒素などの不活性気体を使用されてもよく、任意の隣接した流体の保存及び/又は安定化を支援してもよい。分離水溶液としての実質的に非混和性液の一例は、ペルフルオロデカリンである。セパレータ流体の選択は、同様に他のファクタに基づいて行われてもよく、他のファクタは、隣接した流体プラグの表面張力に対してセパレータ流体が有する可能性がある任意の影響を含む。振動、ショック、及び気温変動のような変動する環境条件下では、任意の流体プラグ内の表面張力を最大化して流体プラグを単一の連続的なユニットとして保持することを促進することが好ましい可能性がある。セパレータ流体は、流体が供給される分析領域に対して不活性であってもよい。例えば、分析領域が生物学的な結合パートナーを含む場合、空気又は窒素のようなセパレータ流体は、結合パートナーに対する影響をほとんど又はまったく持たない。装置に含まれていた液体が温度などの変化（凝固を含む）又は圧力の変動に起因して膨張又は収縮する場合、セパレータ流体としての気体（例えば空気）を使用することで、流体装置のチャンネル内の膨張のための空間を提供してもよい。

10

20

30

40

50

【0187】

微小流体サンプルアナライザは、流体フロー源（例えば圧力制御システム）を含んでもよく、流体フロー源は、チャンネルに加圧してサンプル及び/又は他の試薬をチャンネルを介して移動させるために、チャンネル706、707、722に流体伝達可能であるように接続されてもよい。特に、流体フロー源は、サンプル及び/又は試薬を、最初の位置である実質的にU字型のチャンネル722から第1のチャンネル706へ移動させるように構成されてもよい。流体フロー源は、第2のチャンネル707における試薬を、実質的にU字型のチャンネル722を通して第1のチャンネル706へ移動させるために使用されてもよい。サンプル及び試薬が分析領域709を通過して分析された後、流体フロー源540は、流体をカセットの吸収材料717へ移動させるように構成されてもよい。1つの実施形態では、流体フロー源は真空システムである。しかしながら、バルブ、ポンプ、及び/又は他の構成要素のような他の流体フロー源が使用可能であることは理解されるべきである。

【0188】

本明細書で説明するように、いくつかの実施形態では、真空源は、流体フローを駆動するために使用されてもよい。真空源は、ソレノイド動作する膜ポンプなどのポンプを含んでもよい。他の実施形態では、流体フローは、他のタイプのポンプ又は流体フロー源を用いることで駆動/制御されてもよい。例えば、1つの実施形態では、シリンジのプランジヤを外向きに引くことで真空を作るために、シリンジポンプが使用されてもよい。他の実施形態では、カセットの1つ以上の入口に陽圧を印加することで、流体フロー源が提供される。

【0189】

いくつかの実施形態では、カセットの入口及び出口にわたって実質的に一定の非ゼロの圧力降下（すなわち P ）を印加する間に、流体フローが発生する。一組の実施形態において、カセットの入口及び出口にわたって実質的に一定の非ゼロの圧力降下（すなわち P ）を印加する間に、全分析が行われる。実質的に一定の非ゼロの圧力降下は、例えば、入口において陽圧を印加することにより、又は出口において減少した圧力（例えば真空）を印加することで達成可能である。いくつかの場合には、毛細管力によって、及び/又は、作動バルブを使用することなしに（例えば、カセットの流体経路のチャンネルの横断面積を変更することなしに）、支配的な流体フローが発生しない場合には、実質的に一定の非ゼロの圧力降下が達成される。いくつかの実施形態では、カセットにおいて行なわれる分析の本質的に全体において、例えば、分析領域への入口（これは流体コネクタに接続されていてもよい）と、分析領域の下流の出口（例えば、液体封じ込め領域の下流の出口）との間にわたって、実質的に一定の非ゼロの圧力降下が存在してもよい。

【0190】

1つの実施形態では、真空源は、約 - 60 kPa（約 2 / 3 気圧）でチャンネルを加圧するように構成される。他の実施形態では、真空源は、約 - 30 kPa でチャンネルを加圧す

るように構成される。ある実施形態では、真空源は、例えば、 -100 kPa 及び -70 kPa の間、 -70 kPa 及び -50 kPa の間、 -50 kPa 及び -20 kPa の間、あるいは -20 kPa 及び -1 kPa の間で、チャンネルを加圧するように構成される。

【0191】

いったんカセットがアナライザ内に配置されると、流体フロー源は、流体を通さない接続を保証するようにカセットに接続されてもよい。上述のように、カセットは、チャンネル706(706に流体伝達可能であるように接続されている場合には、さらにチャンネル707)を流体フロー源と接続するように構成されたポートを含んでもよい。1つの実施形態では、封止又はo-リングがポートの周囲に配置され、また、カセット本体に対してo-リングを押しつけて封止するためにo-リング上にリニアソレノイドが配置されてもよい。例えば、図11Aに示した例示の実施形態に示すように、ポート719に加えて、2つのベントポート715及び混合ポート713があってもよい。各ポート及び多岐管の間のインターフェースは独立であってもよい(例えば、多岐管の内部には流体接続はなくてもよい)。

10

【0192】

1つの実施形態では、流体フロー源が起動されたとき、カセット中のチャンネル706及び707は(例えば約 -30 kPa に)加圧されてもよく、これにより、チャンネル内の流体(流体サンプル及び試薬の両方)を出口に向かって駆動する。ベントポート715及び混合ポート713を含む実施形態では、多岐管を介してポート713に接続されたベントバルブは最初に開かれていてもよく、これにより、混合ポート713の下流にある試薬のすべてを出口に向かって移動させながら、混合ポート713の上流にある試薬を移動させることができる。いったんベントバルブが閉じると、混合ポート713の上流の試薬は、混合ポートに向かって移動し、その後出口に向かって移動してもよい。例えば、複数の流体は、混合ポートの上流のチャンネルに直列的に貯蔵することができ、また、チャンネルに沿って位置したベントバルブを閉じた後に、流体は、チャンネル出口に向かって逐次的に流れることができる。ある場合には、流体は、別個の互いに交差する複数のチャンネルに格納することができ、ベントバルブを閉じた後に流体は交点に向かってともに流れる。この一組の実施形態は、複数の流体がともに流れるとき、例えば、これらの流体を制御可能に混合するために使用可能である。配送のタイミング及び配送された流体の容積は、例えば、ベントバルブを作動させるタイミングによって制御可能である。

20

30

【0193】

優位点として、従来技術に係る所定のバルブでは、当該バルブが動作させる微小流体チャンネルの横断面を収縮させる可能性があったが、ベントバルブは、それらが動作させる微小流体チャンネルの横断面を収縮させずに動作可能である。そのような動作モードは、バルブにわたる漏れの防止において有効となりうる。さらに、ベントバルブを使用可能であるので、本明細書で説明したいいくつかのシステム及び方法は、ある内部バルブの使用を必要としない。内部バルブの使用は、例えば、それらの高い費用、製造上の複雑さ、こわれやすさ、気体及び液体の混合システムとの限られた互換性、及び/又は微小流体システムにおける低信頼性に起因して問題となりうる。

【0194】

ベントバルブが説明されたが、本明細書で説明したシステム及び方法とともに他のタイプのバルブ調節メカニズムを使用可能であることが理解されるべきである。バルブと機能的に関連付けられる可能性があるバルブ調節メカニズムの非限定的な例は、ダイヤフラムバルブ、ボールバルブ、ゲートバルブ、バタフライバルブ、グローブバルブ、ニードルバルブ、ピンチバルブ、ポペットバルブ、又はピンチバルブを含む。バルブ調節メカニズムは、ソレノイド、モータ、手動、電子的作動、又は液圧/気圧を含む、任意の適切な手段によって作動させられてもよい。

40

【0195】

前述のように、カセット内の液体(サンプル及び試薬)のすべては、液体封じ込めエリアへ移動してもよく、液体封じ込めエリアは吸収材料717を含んでもよい。1つの実施

50

形態では、気体が出口を通過してカセットの外部へ流れてもよいように、吸収材料は液体だけを吸収する。

【0196】

さまざまな決定（例えば、測定、定量化、検出、及び定性化）技術は、例えば、サンプル成分、又は本明細書で説明した微小流体システム又はカセットに関連付けられた他の成分又は状態を分析するために使用されてもよい。決定技術は、光透過、光吸収、光散乱、光反射、及び視覚的技術などの、光に基づく技術を含んでもよい。決定技術は、フォトルミネッセンス（例えば蛍光）、化学ルミネッセンス、生物発光、電気化学ルミネッセンスなどのルミネッセンス技術をさらに含んでもよい。他の実施形態では、決定技術は導電率又は抵抗を測定してもよい。そのため、アナライザは、そのような検出システム及び他の適切な検出システムを含むように構成されてもよい。

10

【0197】

異なる光学的検出技術は、反応（例えば分析）結果を決定するための多数のオプションを提供する。いくつかの実施形態では、透過率又は吸光率の測定は、光が光源から放射されたときと同じ波長で光を検出できることを意味する。光源は単一波長で放射する狭帯域源であってもよいが、多数の不透明材料が広範囲の波長を有効に阻止できる場合には、光源は、所定範囲の波長にわたって放射する広スペクトル源であってもよい。いくつかの実施形態では、システムは、最低限の光学デバイス（例えば、単純化された光検知器）で動作させられてもよい。例えば、決定装置は、光電子増倍管をもたなくてもよく、回折格子、プリズム、もしくはフィルタなどの波長セクタをもたなくてもよく、コルミネータ（*columinator*）などの、光を方向づけたりコルミネート処理したりする装置をもたなくてもよく、拡大光学装置（例えばレンズ）をもたなくてもよい。これらの機能の除去又は削減は、より安価であり、より頑健な装置をもたらすことができる。

20

【0198】

図12は、アナライザの筐体に配置されてもよい、例示的な光学系800を示す。この実施形態に例示的に示すように、光学系は、少なくとも、第1の光源882と、第1の光源から隔離した検出器884とを含む。第1の光源882は、カセットがアナライザへ挿入されるとき、カセットの第1の分析領域に光が通過するように構成されてもよい。第1の検出器884は、第1の光源882の反対側に配置され、カセット520の第1の分析領域を通過する光量を検出してもよい。本発明はそのように限定されず、他の実施形態では、光源及び検出器の個数が変動してもよいことが認識されるべきである。上述のように、カセット520は複数の分析領域709を含んでもよく、カセット520は、各分析領域が光源及び対応する検出器と整列するようにアナライザ内に位置してもよい。いくつかの実施形態では、光源は、光源からカセットの分析領域内の特定領域に光を方向付けることを支援可能な光開口を含む。

30

【0199】

1つの実施形態では、光源は発光ダイオード（LED）又はレーザダイオードである。例えば、654 nmにおいて放射するInGaAlP赤色半導体レーザダイオードが使用されてもよい。他の光源も使用可能である。光源は、入れ子部分又は筐体の内部に位置してもよい。入れ子部分又は筐体は、光を平行化することを支援できる狭い開口又は細い管を含んでもよい。光源は、当該光源の下方にあるカセットの上面に照射するように、カセットがアナライザへ挿入される場所の上方に位置してもよい。カセットに関しての光源の他の適切な構成も可能である。

40

【0200】

本発明はそのように限定されず、光源の波長が変動してもよいことが認識されるべきである。例えば、1つの実施形態では、光源の波長は約670 nmであり、他の実施形態では、光源の波長は約650 nmである。1つの実施形態において、カセットの各分析領域が異なる光波長を受けるように、各光源の波長が異なってもよいことが認識されるべきである。しかしながら、他の実施形態では、カセットの各分析領域が同じ光波長を受けるように、各光源の波長は同じであってもよい。同じ及び異なる波長の光源の組み合わせ

50

もまた可能である。

【0201】

上述のように、検出器 884 は、カセットを通過する光量を検出するために、光源 882 から離隔して光源 882 の下方に位置してもよい。1つの実施形態では、検出器のうちの1つ以上は、光検出器（例えばフォトダイオード）である。ある実施形態では、光検出器は、光源によって放射される光の透過を検出することができる任意の適切な装置であってもよい。1つのタイプの光検出器は、700 nmにおいてピーク感度を有するフォトダイオード、増幅器、及び電圧レギュレータを含む光集積回路（IC）である。検出器は、分析領域 709 の中心からの光だけが検出器 884 において測定されることを保証するために狭い開口又は細い管を含んでもよい、入れ子部分又は筐体の内部に位置してもよい。光源が変調されたパルスである場合、光検出器は、選択された周波数以外の光の影響を除去するためのフィルタを含んでもよい。複数の互いに隣接する信号が同時に検出される場合、各分析領域（例えば検出領域）について使用される光源は、その隣接信号の光源の周波数から十分に異なる周波数において変調可能である。この構成では、各検出器は、その属性で決まる光源として選択し、これにより、干渉する光の形式の隣接する光学的ペアを防止するように（例えば、ソフトウェアを用いて）構成可能である。

10

【0202】

出願人は、カセットの分析領域を透過した光量が、サンプルに関する情報だけでなく、カセットの流体システムに生じる特定の過程（例えば、試薬の混合、流量、など）に関する情報も決定するために使用可能であることを認識した。いくつかの場合には、ある領域を通る光の測定は、システムにおける流体フローを制御するためのフィードバックとして使用可能である。ある実施形態では、カセットの動作における品質管理又は異常を決定することができる。例えば、分析領域から制御システムまでのフィードバックは、微小流体システムで生じた異常を決定するために使用可能であり、制御システムは、1つ以上の構成要素に信号を送ってシステムのすべて又は部分をシャットダウンさせてもよい。従って、微小流体システムで実行されている処理の品質を、本明細書で説明したシステム及び方法を使用して管理することができる。

20

【0203】

澄んだ液体（水など）は、光源 882 から分析領域 709 を通って検出器 884 まで大きな光量を透過させることが認識されるべきである。分析領域 709 内に存在する空気は、澄んだ液体が存在する場合よりも多くの光がチャンネル内で散乱する可能性があるため、分析領域 709 を透過する光の減少をもたらす可能性がある。分析領域 709 に血液サンプルがある場合、血球による光の散乱に起因して、さらに吸光に起因して、検出器 884 まで通過する光量が非常に少なくなる可能性がある。1つの実施形態では、銀は分析領域内の表面に結合されたサンプル成分と連結し、また、銀は分析領域内で蓄積するので、分析領域 709 を透過する光はますます少なくなる。

30

【0204】

各検出器 884 において検出される光量を測定することは、特定の時点において特定の分析領域 709 にどの試薬が存在するのかがユーザが決定できるようにすることが認識される。各検出器 884 で検出される光量を測定することによって、各分析領域 709 に堆積された銀の量を測定できることも認識される。この量は、サンプル中の分析物の濃度の尺度をこのように提供してもよい反応の間に捕捉される分析物の量に対応してもよい。

40

【0205】

上に注意したように、出願人は、さまざまな品質管理の理由で光学系 880 が使用されてもよいことを認識した。まず、分析領域を通過する光を光学系が検出する場所である分析領域にサンプルが到着するまでにかかる時間が、システムにおける漏れ又は障害物の有無を決定するために使用されてもよい。さらに、サンプルが所定容積（例えば約 10 マイクロリットル）であると期待される場合、チャンネル及び分析領域を通過するサンプルに関連付けられる期待フロー時間が存在する。サンプルがその期待フロー時間の範囲外になる場合、それは、分析を行なうのに十分なサンプルがないこと、及び/又は、間違っ

50

ブのサンプルがアナライザに装填されたことを示す可能性がある。さらに、期待される結果の範囲は、サンプルのタイプ（例えば、血清、血液、尿など）に基づいて決定されてもよく、また、サンプルが期待される範囲の外部にある場合、それはエラーであることを示す可能性がある。

【0206】

1つの実施形態では、アナライザは、筐体内に位置した温度調整システムを含み、温度調整システムは、アナライザ内の温度を調整するように構成されてもよい。あるサンプルの分析のために、当該サンプルを所定温度範囲内に維持することを必要としてもよい。例えば、1つの実施形態では、アナライザ内の温度を約37°Cに保持することが望ましい。従って、1つの実施形態では、温度調整システムは、カセットを加熱するように構成されたヒータを含む。1つの実施形態では、ヒータは抵抗ヒータであり、これは、アナライザ内でカセットが配置される場所の下方に位置してもよい。1つの実施形態では、温度調整システムは、カセットの温度を測定するためのサーミスターをさらに含み、また、温度を制御するためにコントローラ回路が設けられてもよい。

10

【0207】

1つの実施形態では、アナライザ内の空気の受動的なフローは、必要な場合にアナライザ内の空気を冷やすように作用してもよい。オプションで、アナライザ内の温度を低下させるためにアナライザ内にファンが設けられてもよい。いくつかの実施形態では、温度調整システムは、アナライザ内に、ペルティエ素子の熱電気ヒータ及び/又はクーラーを含んでもよい。

20

【0208】

ある実施形態では、1つ以上の識別子を含む識別システムが使用されて、カセット及び/又はアナライザに関連付けられた1つ以上の構成要素又は材料と関連付けられる。「識別子」は、以下でより詳細に説明するように、識別子を含む構成要素に関する情報を当該識別子自体に符号化していてもよい（すなわち、無線周波識別（RFID）タグ又はバーコードのような、情報の伝送、記憶、生成、又は運搬のための装置を使用することによって、情報を伝送するか含んでいてもよい）。「識別子」は、構成要素に関する情報を当該識別子自体に符号化していなくてもよく、代わりに、例えば、コンピュータ又はコンピュータ可読媒体上のデータベースに含まれていてもよい情報（例えば、ユーザに関する情報及び/又は分析すべきサンプル）のみと関連付けられていてもよい。後者の例において、そのような識別子を検出することは、データベースから、関連付けられた情報の検索及び使用をトリガすることができる。

30

【0209】

構成要素に関する情報で「符号化された」識別子は、必ずしも、構成要素に関する情報の完全なセットで符号化される必要はない。例えば、ある実施形態では、識別子は、カセットの一意的な識別を可能にするのに十分な情報（例えば、シリアル番号、部品番号などに関する情報）のみで符号化されてもよく、一方、カセットに関する追加情報（例えば、タイプ、用途（例えば、分析のタイプ）、所有権、場所、位置、接続性、内容、など）は、遠隔に格納されて、識別子のみと関連付けられてもよい。

【0210】

カセット、材料、もしくは構成要素などに「関する情報」又は「関連付けられた情報」は、カセット、材料、もしくは構成要素の識別情報、位置、もしくは場所に関する情報、又は、カセット、材料、もしくは構成要素の内容の識別情報、位置、もしくは場所に関する情報であり、カセット、材料、構成要素、又は内容の性質、状態、又は構成に関する情報をさらに含んでもよい。カセット、材料、もしくは構成要素、又はその内容に「関する情報」又は「関連付けられた情報」は、カセット、材料、もしくは構成要素、又はその内容を識別する情報であって、カセット、材料、構成要素、又はその内容を他のものから区別する情報を含むことができる。例えば、カセット、材料、もしくは構成要素、又はその内容に「関する情報」又は「関連付けられた情報」は、タイプを示す情報又はカセット、材料、又は構成要素、又はその内容が何であるのかを示す情報、それがどこに位置してい

40

50

るのか又は位置すべきなのか、それがどのように位置しているのか又は位置すべきなのか、カセット、材料、もしくは構成要素、又はその内容の機能もしくは目的、カセット、材料、もしくは構成要素、又はその内容はシステムの他の構成要素とどのように接続されるか、ロット番号、送達元、較正情報、使用期限、宛先、カセットの製造業者又は所有権、材料もしくは構成要素又はその内容、カセットでは行われる分析/検査のタイプ、カセットが使用/分析されたか否かに関する情報、などを示してもよい。

【0211】

本発明のコンテキストで使用可能な識別子の非限定的な例は、とりわけ、無線周波識別(RFID)タグ、バーコード、シリアル番号、カラータグ、蛍光又は光学タグ(例えば、量子ドットを使用したもの)、化合物、無線タグ、磁気タグを含む。

10

【0212】

1つの実施形態では、識別リーダーは、カセットに関連付けられたRFID識別子を読み取るように構成されたRFIDリーダーである。例えば、1つの実施形態では、アナライザは、アナライザに挿入されたカセットから情報を読み出すように構成されたRFIDモジュール及びアンテナを含む。別の実施形態では、識別リーダーは、カセットに関連付けられたバーコードを読み出すように構成されたバーコードリーダーである。いったんカセットがアナライザへ挿入されると、識別リーダーはカセットから情報を読み出してもよい。カセット上の識別子は、カセットのタイプ、行われる分析/検査のタイプ、ロット番号、カセットが使用/分析されたか否かに関する情報、及び本明細書で説明した他の情報のような、複数のタイプの情報のうちの1つ以上を含んでもよい。リーダーは、例えば、較正情報、使用期限、及びそのロットに固有の任意の追加情報を含むがこれらに限定されない、1箱のカセットのような1群のカセットとともに提供された情報を読み出すようにさらに構成されてもよい。例えば、正しいカセット及び/又は実行されている分析のタイプを確認するために、オプションで、識別された情報はユーザに表示されてもよい。

20

【0213】

いくつかの場合には、識別リーダーは、通信経路を介して制御システムに統合されてもよい。識別リーダー及び制御システムの間通信は、がハードワイヤードのネットワークで行われてもよく、又は無線伝送されてもよい。1つの実施形態では、カセットが特定タイプのアナライザ内に適切に接続又は挿入されたことを示すように、(例えば、カセットのタイプ、製造業者、実行すべき分析、などに関する情報に関連付けられたカセットの)特定の識別子を認識するように制御システムプログラミングすることができる。

30

【0214】

1つの実施形態では、カセットの識別子は、特定の目的、ユーザ、又は製品のためのシステム又はカセットの使用に関するデータベースに含まれる予め決められた情報又はプログラミングされた情報に関連付けられるか、又は、特定の反応条件、サンプルタイプ、試薬、ユーザなどに関連付けられる。不一致が検出されるか、識別子が非活性化された場合、処理は停止されてもよく、又は、ユーザに通知されるまで、もしくはユーザからの肯定応答を受信するまで、システムは非動作状態にされてもよい。

【0215】

識別子からの情報又は識別子に関連付けられた情報は、いくつかの実施形態では、将来の参照及び記録保持の目的で、例えばコンピュータメモリ又はコンピュータ可読媒体に格納される。例えば、ある制御システムは、特定の分析、日付、時刻、及び使用継続時間、使用条件、などで、どの構成要素(例えばカセット)又はどのカセットのタイプが使用されたかを識別するために、識別子からの情報又は識別子と関連付けられた情報を使用してもよい。そのような情報は、例えば、アナライザの1つ以上の構成要素が清掃又は交換されるべきか否かを決定するために使用されてもよい。オプションで、制御システム又は他の任意の適切なシステムは、識別子で符号化された情報又は識別子に関連付けられた情報を含む、収集された情報からレポートを生成してもよく、このレポートは、規定の標準の遵守又は品質管理の検証の証明を提供するために使用されてもよい。

40

【0216】

50

識別子で符号化された情報又は識別子に関連付けられた情報は、例えば、識別子に関連付けられた構成要素（例えばカセット）が本物であるかそれとも偽造品であるかを決定するために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、偽造品の構成要素が存在すると決定されると、システムロックアウトを生じさせる。一例において、識別子は一意の識別コードを含んでいてもよい。この例では、無関係又は不一致の識別コード（あるいは識別コードなし）が検出された場合、プロセス制御ソフトウェア又はアナライザは、システムのスタートアップを許可しない（例えば、システムは非動作状態にされてもよい）。

【0217】

ある実施形態では、識別子から得られた情報又は識別子に関連付けられた情報は、カセット及び/又はアナライザを販売する相手である顧客、又は、生物学的、化学的、もしくは薬学的の処理を実行する対象である顧客の識別情報を検証するために使用可能である。いくつかの場合には、識別子から得られた情報又は識別子に関連付けられた情報は、システムのトラブルシュートのためのデータを収集する処理の一部として使用される。識別子は、とりわけ、バッチ履歴、組立工程及び計装図（assembly process and instrumentation diagrams; P and IDs）、トラブルシュート履歴のような情報をさらに含むか、当該情報に関連付けられていてもよい。システムのトラブルシュートは、いくつかの場合には遠隔アクセスを介して達成されてもよく、又は診断ソフトウェアの使用を含んでもよい。

10

【0218】

1つの実施形態では、アナライザはユーザインターフェースを含み、ユーザインターフェースは、筐体内に位置し、ユーザがサンプルアナライザに情報を入力するように構成されてもよい。1つの実施形態では、ユーザインターフェースはタッチスクリーンである。

20

【0219】

タッチスクリーンは、アナライザを使用するためのテキスト及び/又はグラフィックの命令を提供して、アナライザの動作を介してユーザをガイドしてもよい。タッチスクリーンのユーザインターフェースは、例えば、アナライザにカセットを挿入するようにユーザをガイドしてもよい。その後、それは、患者の名前又は他の患者の識別ソース/番号（例えば、年齢、DRE検査の結果、など）をアナライザに入力するようにユーザをガイドしてもよい。患者を識別するために、名前、生年月日、及び/又は患者ID番号のような患者情報がタッチスクリーンのユーザインターフェースに入力されてもよいことが認識されるべきである。タッチスクリーンは、サンプルの分析を完了するまでの残り時間の長さ表を示してもよい。次いで、タッチスクリーンのユーザインターフェースは、サンプル分析の結果を患者の名前又は他の識別情報とともに表示してもよい。

30

【0220】

他の実施形態では、ユーザインターフェースは、LCDディスプレイ及び単一のボタンスクロールスルメニューなどを用いて、異なる形態で構成されてもよい。他の実施形態では、ユーザインターフェースは、単に、アナライザを起動するためのスタートボタンを含んでもよい。他の実施形態では、アナライザとインターフェースをとるために、別個の独立した複数の装置（スマートフォン又はモバイルコンピュータなど）からのユーザインターフェースが使用可能である。

【0221】

上述のアナライザは、アナライザ内に配置されたサンプルの処理及び分析を行うさまざまな方法で使用されてもよい。1つの特定の実施形態において、カセットとのインターフェースをとるよう構成された機構構成要素が、カセットがアナライザに適切に装填されたことをいったん示すと、識別リーダーは、カセットに関連付けられた情報を読み出して識別する。アナライザは、この特定のサンプルに関する較正情報を有することを保証するために、制御システムに格納されたデータに対して情報を比較するよう構成されてもよい。アナライザが適正な較正情報をもたない場合、アナライザは、必要な特定の情報をアップロードするためにユーザに要求を出力してもよい。アナライザは、カセットに関連付けられた使用期限情報を調べて、使用期限が経過している場合には分析を取り消すよう構成されてもよい。

40

50

【 0 2 2 2 】

1つの実施形態では、カセットが分析されてもよいとアナライザがいったん決定すると、真空多岐管などの流体フロー源は、真空ポート及びベントポートのまわりの気密シールを保証するためにカセットと連絡をとるように構成されてもよい。1つの実施形態では、光学系は、基準読み取り値を得るために初期測定を行ってもよい。そのような基準読み取り値は、活性化された光源及び非活性化された光源の両方を用いて取得されてもよい。

【 0 2 2 3 】

サンプルの移動を開始するために、真空システムは活性化されてもよく、それは、1つ以上のチャンネル内の圧力を急速に変化させてもよい（例えば、約 - 30 kPa まで減少させる）。このチャンネル内の圧力の減少は、サンプルをチャンネル内で駆動し、さらに各分析領域 709A ~ 709D（図10を参照）を介して駆動することができる。サンプルが最後の分析領域 709D に達した後、サンプルは液体封じ込め領域 717 に流れ込み続けてもよい。

10

【 0 2 2 4 】

特定の一組の実施形態において、微小流体サンプルアナライザは、血液サンプルにおける iPSA、fPSA、tPSA、及び/又は hK2 のレベルを測定するために使用される。いくつかの実施形態では、サンプルを分析するために、3つ、4つの、5個、6個、又はそれよりも多くの分析領域（例えば分析領域 709A ~ 709D）が利用されてもよい。例えば、第1の分析領域において、分析領域の壁に結合する血液サンプル中のタンパク質がほとんど又はまったく存在しないように（場合によっては、洗浄によって除去されるかもしれない何らかの非特異結合を除く）、チャンネルの壁は、遮断タンパク質（ウシ血清アルブミンなど）で遮断されてもよい。この第1の分析領域は陰性の対照として作用してもよい。

20

【 0 2 2 5 】

第2の分析領域において、チャンネルの壁は、ハイレベル又は陽性の対照として作用するために、予め決められた大量の前立腺特異性抗原（PSA）でコーティングされてもよい。血液サンプルが第2の分析領域を通過するとき、チャンネルの壁に結合した血液中のPSAタンパク質は、ほとんど又はまったく存在しなくてもよい。サンプル中の、金が結合した検出抗体は、流体コネクタ管 722 の内部から溶かされてもよく、あるいは他の適切な場所から流されてもよい。これらの抗体は、サンプル中のPSAにまだ結合されなくてもよく、従って、それらは、ハイレベル又は陽性の対照として作用するために、チャンネルの壁上のPSAに結合してもよい。

30

【 0 2 2 6 】

第3の分析領域において、チャンネルの壁は、iPSAに関する捕捉抗体（例えば抗iPSA抗体）でコーティングされてもよく、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、PSAタンパク質上のエピトープに結合してもよい。血液サンプルが第3の分析領域を流れるとき、血液サンプル中のiPSAタンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗iPSA抗体に結合してもよい。

【 0 2 2 7 】

第4の分析領域において、チャンネルの壁は、fPSAに関する捕捉抗体（例えば抗fPSA抗体）でコーティングされてもよく、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、PSAタンパク質上のエピトープに結合してもよい。血液サンプルが第4の分析領域を流れるとき、血液サンプル中のfPSAタンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗fPSA抗体に結合してもよい。

40

【 0 2 2 8 】

第5の分析領域において、チャンネルの壁は、tPSAに関する捕捉抗体（例えば抗tPSA抗体）でコーティングされてもよく、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、PSAタンパク質上のエピトープに結合してもよい。血液サンプルが第5の分析領域を流れるとき、血液サンプル中のtPSAタンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗tPSA抗体に結合してもよい。

50

【0229】

オプションで、第6の分析領域において、チャンネルの壁は、hK2に関する捕捉抗体（例えば抗hK2抗体）でコーティングされてもよく、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、タンパク質上のエピトープに結合してもよい。血液サンプルが第6の分析領域を流れるとき、血液サンプル中のhK2タンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗hK2抗体に結合してもよい。

【0230】

金で標識された抗PSA及び抗hK2抗体などの検出抗体は、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2のそれぞれを検出するために使用されてもよい。しかしながら、他の実施形態では、金で標識された抗hK2抗体、金で標識された抗PSA抗体、及び/又は金で標識された抗iPSA抗体など、金で標識された複数の抗体の混合物が、検出のために使用されてもよい。

10

【0231】

いくつかの実施形態では、サンプル中の、金が結合した検出抗体は、流体コネクタ管722の内部から溶かされてもよく、あるいは他の適切な場所から流されてもよい。いくつかの例では、分析する領域から測定値は、サンプル中の分析物の濃度を決定するためだけでなく、対照としても使用することができる。例えば、しきい値の測定値は、増幅の初期のフェーズにおいて確立することができる。この値より高い測定値（又はこの値未満の測定値）は、分析物の濃度が所望の検査範囲の外にあることを示してもよい。この技術は、例えば、分析中に高用量フック効果が生じているか否か、すなわち、非常に高い濃度の分析物が見かけ上の非常に低い読み取り値をもたらす場合を識別するために使用されてもよい。

20

【0232】

他の実施形態では、異なる個数の分析領域を提供することができ、また、分析は、オプションで、実際にサンプルを検査する1つより多くの分析領域を含んでもよい。システムが単一のサンプルで同時に多重の分析を行うことができるように、追加の分析物を測定するために追加の分析領域を使用可能である。

【0233】

1つの特定の実施形態において、10マイクロリットルの血液サンプルが4つの分析領域を流れるために、約8分かかる。チャンネル内の圧力が約-30kPaである場合、この分析の開始が計算されてもよい。この間に、光学系は、各分析領域の光透過率を測定している。1つの実施形態において、このデータは約0.1秒ごとに制御システムに送信されてもよい。基準値を用いて、これらの測定値は次式を用いて変換されてもよい。

30

【0234】

$$\text{透過率} = (1 - I_d) / (1 r - I_d) \quad (1)$$

【0235】

I = 与えられた時点における分析領域を通る透過光の強度

I_d = 光源をオフしたときの分析領域を通る透過光の強度

I_r = 基準強度（すなわち、光源を活性化したときの、空気だけがチャンネルにある場合の分析開始前の、分析領域における透過光の強度）

40

【0236】

$$\text{光学密度} = -\log(\text{透過率}) \quad (2)$$

【0237】

従って、これらの式を用いて、分析領域における光学密度が計算されてもよい。

【0238】

図13は、制御システム550（図12を参照）が、1つの実施形態に係るさまざまな異なる構成要素とどのように機能的に関連付けられてもよいかを示すブロック図900である。本明細書で説明した制御システムは、上述した機能又は上述したものの任意の適切な組み合わせを実行するためのマイクロコード又はソフトウェアを用いてプログラミングされるプロセッサを使用して、専用ハードウェア又はファームウェアを用いることなど、

50

多数の方法で実装することができる。制御システムは、単一の分析（例えば、生物学的、生化学的、又は化学的な反応に関する）又は複数の（別個の、又は相互に関連した）分析に係る1つ以上の動作を制御してもよい。例えば、制御システムは、アナライザの筐体内に位置してもよく、カセット内のサンプルを分析するために、識別リーダー、ユーザインターフェース、流体フロー源、光学系、及び/又は温度調整システムと通信するように構成されてもよい。

【0239】

1つの実施形態では、制御システムは、カセットと直接的にインターフェースをとるすべてのサブシステムを制御してモニタする実時間プロセッサを含む、少なくとも2つのプロセッサを含む。1つの実施形態では、特定の時間間隔（例えば0.1秒ごと）において、このプロセッサは、ユーザインターフェースを介してユーザと通信する第2の上位プロセッサ及び/又は通信サブシステム（以下で議論する）と通信し、アナライザの動作を指示する（例えば、いつサンプルの分析を開始するのかを決定し、結果を解釈する）。1つの実施形態では、これらの2つのプロセッサ間の通信は、シリアル通信バスを介して行われる。本発明はそのように限定されず、他の実施形態では、アナライザは1つのプロセッサのみ又は2つより多くのプロセッサを含んでもよいことが認識されるべきである。

10

【0240】

1つの実施形態では、アナライザは、外部装置とインターフェースをとることができ、例えば、1つ以上の外部通信ユニットと接続するためのポートを含んでもよい。外部通信は、例えばUSB通信を介して達成されてもよい。例えば、図13に示すように、アナライザは、USBプリンタ901又はコンピュータ902にサンプル分析の結果を出力してもよい。さらに、実時間プロセッサによって生成されたデータストリームは、コンピュータ又はUSBメモリースティック904に出力されてもよい。いくつかの実施形態では、コンピュータは、USB接続を介する場合にも同様にアナライザを直接的に制御可能であってもよい。さらに、他のタイプの通信オプションも利用可能であり、本発明はこの点で限定されない。例えば、イーサネット（登録商標）、Bluetooth（登録商標）、及び/又はWiFiによるアナライザとの通信が、プロセッサを介して確立されてもよい。

20

【0241】

本明細書で説明した計算方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、及びシステム構成要素は、以下に説明するコンピュータで実装したシステムのさまざまな実施形態のような、コンピュータで実装した制御システムを用いて実現されてもよい。本明細書で説明した方法、ステップ、システム、及びシステム構成要素は、その実装を、本明細書で説明した任意の特定のコンピュータシステムに限定せず、他の多くの異なるマシンが使用されてもよい。

30

【0242】

コンピュータで実装した制御システムは、サンプルアナライザの部分であってもよく、あるいはサンプルアナライザと機能的に関連付けられるように接続されていてもよく、いくつかの実施形態では、上述したように、値の分析及び計算を行うことに加えて、サンプルアナライザの動作パラメータの制御及び調節を行うように構成及び/又はプログラミングされてもよい。いくつかの実施形態では、コンピュータで実装した制御システムは、サンプルアナライザの動作パラメータ及びオプションで他のシステム装置の動作パラメータの設定及び/又は制御を行うために基準信号の送信及び受信を行うことができる。他の実施形態では、コンピュータで実装した制御システムは、サンプルアナライザとは別個に設けられてもよく、及び/又は、サンプルアナライザから遠隔して位置してもよく、また、1つ以上の遠隔のサンプルアナライザ装置から、間接的及び/又はポータブルな手段を介して、例えば、磁気ディスクなどのポータブルな電子データ記憶装置を介して、又はインターネットもしくはローカルイントラネットなどのコンピュータネットワーク上の通信を介して、データを受信するように構成されてもよい。

40

【0243】

50

コンピュータで実装した制御システムは、処理装置（すなわちプロセッサ）、メモリシステム、入出力装置及びインターフェース（例えば相互接続メカニズム）を含み、さらに、トランスポート回路（例えば1つ以上のバス）、ビデオ及びオーディオデータ入力/出力（I/O）サブシステム、専用ハードウェアなどの他の構成要素を含み、さらに、以下でさらに詳細に説明する他の構成要素及び回路を含む、いくつかの既知の構成要素及び回路を含んでもよい。さらに、コンピュータシステムは、マルチプロセッサコンピュータシステムであってもよく、又は、コンピュータネットワークを介して接続された複数のコンピュータを含んでもよい。

【0244】

コンピュータで実装した制御システムは、例えば、インテルから入手可能なx86シリーズのCeleron（登録商標）及びPentium（登録商標）プロセッサ、AMD及びサイリックスからの同様のデバイス、モトローラから利用可能な680X0シリーズのマイクロプロセッサ、IBMからのPowerPC（登録商標）マイクロプロセッサ、及びARMプロセッサのうちの一つのような市販のプロセッサなどのプロセッサを含んでもよい。他の多くのプロセッサが利用可能であり、また、コンピュータシステムは特定のプロセッサに限定されない。

10

【0245】

プロセッサは、典型的にはオペレーティングシステムと呼ばれるプログラムを実行し、Windows（登録商標）NT、Windows 95又は98、Windows 7、Windows 8、UNIX（登録商標）、Linux（登録商標）、DOS、VMS、MacOS及びOSX（登録商標）、及びiOSはオペレーティングシステムの例であり、オペレーティングシステムは、他のコンピュータプログラムの実行を制御し、スケジューリング、デバッグ、入出力制御、アカウントリング、コンパイル、記憶装置の割り当て、データ管理及びメモリ管理、通信制御及び関連サービスを提供する。プロセッサ及びオペレーティングシステムはともに、高レベルのプログラミング言語のアプリケーションプログラムが記述される対象であるコンピュータプラットフォームを定義する。コンピュータで実装した制御システムは、特定のコンピュータプラットフォームに限定されない。

20

【0246】

コンピュータで実装した制御システムは、メモリシステムを含んでもよく、これは、典型的には、コンピュータが読み出し可能かつ書き込み可能な不揮発性記録媒体を含み、磁気ディスク、光ディスク、フラッシュメモリ、及びテープはその例である。そのような記録媒体は、例えばフロッピー（登録商標）ディスク、読み出し/書き込みCD、又はメモリースティックのように着脱可能であってもよく、あるいは、例えばハードドライブのように永続的であってもよい。

30

【0247】

そのような記録媒体は、典型的には2進形式（すなわち、1及び0のシーケンスとして解釈される形式）で、信号を格納する。ディスク（例えば、磁気又は光）は多数のトラックを有し、これらのトラック上に、そのような信号が典型的には2進形式、すなわち1及び0のシーケンスとして解釈される形式で格納されてもよい。そのような信号は、マイクロプロセッサによって実行される例えばアプリケーションプログラムなどのソフトウェアプログラムを定義し、又はアプリケーションプログラムによって処理される情報を定義してもよい。

40

【0248】

コンピュータで実装した制御システムのメモリシステムは、集積回路メモリ素子を含んでもよく、それは典型的には、ダイナミックランダムアクセスメモリ（DRAM）又はスタティックメモリ（SRAM）などの揮発性のランダムアクセスメモリである。典型的には、動作時に、プロセッサは、不揮発性記録媒体から集積回路メモリ素子にプログラム及びデータを読み出させ、集積回路メモリ素子は、典型的には、不揮発性記録媒体の場合よりも、プロセッサによるプログラム命令及びデータへのより高速なアクセスを可能にする

50

。

【0249】

プロセッサは、概して、プログラム命令に従って集積回路メモリ素子内のデータを操作し、次に、処理が完了した後、操作されたデータを不揮発性記録媒体にコピーする。不揮発性記録媒体及び集積回路メモリ素子の間のデータ移動を管理するためのさまざまなメカニズムが既知であり、また、コンピュータで実装した制御システムであって、図13に関して上述した方法、ステップ、システム、及びシステム構成要素を実装するシステムは、それに限定されない。コンピュータで実装した制御システムは、特定のメモリシステムに限定されない。

【0250】

上述したそのようなメモリシステムの少なくとも一部は、上述した1つ以上のデータ構造（例えばルックアップテーブル）又は式を格納するために使用可能である。例えば、不揮発性記録媒体の少なくとも一部は、そのようなデータ構造の1つ以上を含むデータベースの少なくとも一部を格納してもよい。そのようなデータベースは、さまざまなタイプのデータベースのいずれであってもよく、例えば、データがデリミタによって分離されたデータ単位に組織化される1つ以上のフラットファイルデータ構造を含むファイルシステム、データがテーブルに格納されたデータ単位に組織化されるリレーショナルデータベース、データがオブジェクトとして格納されたデータ単位に組織化されるオブジェクト指向データベース、他のタイプのデータベース、又はそれらの任意の組み合わせであってもよい。

。

【0251】

コンピュータで実装した制御システムは、ビデオ及びオーディオデータI/Oサブシステムを含んでもよい。このサブシステムのオーディオ部分は、アナログオーディオ情報を受信してそれをデジタル情報に変換するアナログ/デジタル(A/D)変換器を含んでもよい。デジタル情報は、別の時に使用するためにハードディスク上に格納するために、既知の圧縮システムを用いて圧縮されてもよい。I/Oサブシステムの典型的なビデオ部分は、当該技術において多数のものが既知であるビデオ画像コンプレッサ/デコンプレッサを含んでもよい。そのようなコンプレッサ/デコンプレッサは、アナログビデオ情報を圧縮されたデジタル情報に変換し、さらに逆の処理を実行する。圧縮されたデジタル情報は、後の使用のためにハードディスク上に格納されてもよい。

【0252】

コンピュータで実装した制御システムはの1つ以上の出力装置を含んでもよい。例示的な出力装置は、陰極線管(CRT)ディスプレイ、液晶ディスプレイ(LCD)及び他のビデオ出力装置、プリンタ、モデム又はネットワークインターフェースのような通信装置、ディスク又はテープのような記憶装置、及びスピーカのようなオーディオ出力装置を含む。

【0253】

コンピュータで実装した制御システムは、1つ以上の入力装置を含んでもよい。例示的な入力装置は、キーボード、キーパッド、トラックボール、マウス、ペン、及びタブレット、上述したような通信装置、ならびに、オーディオ及びビデオキャプチャ装置及びセンサのようなデータ入力装置を含む。コンピュータで実装した制御システムは、本明細書で説明した特定の入力又は出力装置に限定されない。

【0254】

本明細書で説明したさまざまな実施形態を実装するために、任意のタイプのコンピュータで実装した制御システムのうちの1つ以上が使用されてもよいことが認識されるべきである。本発明の態様は、ソフトウェア、ハードウェア、又はファームウェア、又はそれらの任意の組み合わせで実装されてもよい。コンピュータで実装した制御システムは、特にプログラミングされた専用ハードウェア、例えば、特定用途向け集積回路(ASIC)を含んでもよい。そのような専用ハードウェアは、上述したコンピュータで実装した制御システムの一部として、又は独立した構成要素として上述した方法、ステップ、シミュレ

10

20

30

40

50

ーション、アルゴリズム、システム、及びシステム構成要素の1つ以上を実装するように構成されてもよい。

【0255】

コンピュータで実装した制御システム及びその構成要素は、さまざまな1つ以上の適切なコンピュータプログラミング言語のうちの任意のものを用いてプログラミングされてもよい。そのような言語は、C、Pascal、Fortran、及びBASICなどの手続き型プログラミング言語、C++、Java（登録商標）、Eiffelなどのオブジェクト指向言語、スクリプト言語又はアセンブリ言語などの他の言語を含んでもよい。

【0256】

方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、及びシステム構成要素は、手続き型プログラミング言語、オブジェクト指向プログラミング言語、他の言語、及びそれらの組み合わせを含み、そのようなコンピュータシステムによって実行されてもよい、さまざまな適切なプログラミング言語のうちの任意のものを用いて実装されてもよい。そのような方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、及びシステム構成要素は、コンピュータプログラムの別個のモジュールとして実装されてもよく、又は別個のコンピュータプログラムとして個々に実装されてもよい。

そのようなモジュール及びプログラムは、複数の別個のコンピュータ上で実行可能である。

【0257】

そのような方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、及びシステム構成要素は、個々に、又は組み合わせとして、コンピュータ可読媒体上の、例えば、不揮発性記録媒体、集積回路メモリ素子、又はそれらの組み合わせ上のコンピュータ可読信号として具体化されたコンピュータプログラム製品として実装されてもよい。そのような方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、又はシステム構成要素のそれぞれについて、そのようなコンピュータプログラム製品は、コンピュータ可読媒体上に具体化されたコンピュータ可読信号であって、コンピュータによって実行される結果、方法、ステップ、シミュレーション、アルゴリズム、システム、又はシステム構成要素を実行するようにコンピュータに命令する、例えば1つ以上のプログラムの一部である命令を定義するコンピュータ可読信号を備えてもよい。

【0258】

さまざまな実施形態は上述の機能のうちの1つ以上を備えて形成されてもよいことが認識されるべきである。上述の複数の態様及び複数の機能は、任意の適切な組み合わせで使用されてもよく、本発明はこの点で限定されない。図面はさまざまな実施形態に組み込まれてもよいさまざまな構成要素及び機能を示していることも認識されるべきである。簡単化のために、図面のうちのいくつかは1つより多くのオプションの機能又は構成要素を示している可能性がある。しかしながら、本発明は図面中で開示した特定の実施形態に限定されない。本発明が、いずれか1つの図面に示した構成要素の一部だけを含んでいつかもしれない実施形態を包含すること、及び/又は、複数の異なる図面に示した構成要素を組み合わせた実施形態を包含してもよいことが認識されるべきである。

【0259】

他の好ましい実施形態

本発明の方法をさまざまな実施形態の形態で具体化することができ、それらの少数だけが本明細書で開示されていることは認識されるだろう。他の実施形態が存在し、本発明の精神から外れないことは、当業者には明らかであろう。従って、説明した実施形態は例示であり、限定的なものとして解釈されるべきでない。

【実施例1】

【0260】

研究

統計モデルを使用する合計7個の別個の研究が行なわれた。研究は、増大したPSA及び2270の癌を有する合計7647人の男性を含み、5つの研究は外部検証を構成する

10

20

30

40

50

。さらに、研究は、広範囲の臨床シナリオをカバーするように系統的に設計された。おそらくは最も重要なこととして、研究のうちの1つは自然経過アプローチを含むものだった。生検結果が代替エンドポイントであるので、重要なことは、ある男性が前立腺癌を有するか否かではなく、彼が彼の生活に影響する前立腺癌のリスクを有するか否かであり、理想的な研究は、患者から血液を取得し、その後、さらなるスクリーニングを行うことなく患者を数年にわたって追跡し、前立腺癌の結果を決定することである。我々は、十分に幸運にもそのような研究を行なうことができた (Vickers, A.J., et al., *Cancer Epidemiology Biomarkers Prey*, 2011. 20(2): p. 255-61)。

【0261】

マルメの食事及び癌のコホートは、癌死亡率における食事のリスクファクタを識別するための大規模な集団ベースの研究の一部であり、1923年及び1945年の間に生まれ、スウェーデンのマルメ市において生活していた11063人の男性が、1996~1991にEDTA抗凝結血液サンプルを提供した。結果の確認はスウェーデン癌レジストリを介して行われた。マーカー値は、アーカイブされた血液サンプルから取得され、これは、2008年に分析され、保存血液から正確なカリクレイン測定値を得るものとして以前に検証された (Ulmer, D., et al., *Clin. Chem.*, 2006. 52(2): p. 235-9)。臨床的に診断されたほとんどすべての場合で、PSA検査のレートは非常に低かった。そのため、研究は、増大したPSAを有する男性について前立腺癌の「自然経過」を追跡する。ベースラインにおいて3ng/mlのPSAを有した792人の男性のうち、474人はその後前立腺癌であると診断された。追跡期間中央値は11年間であった。重要なことには、4カリクレインパネル統計モデルの予測上な識別力は、任意の癌、及び確実に致死性となる進行癌(ステージT3もしくはT4、又は転移)の両方の予測について、PSAよりもすぐれていた。従来の研究でわかるように、モデルによれば、男性の約50%は、20%未満の前立腺癌のリスクを有していた。我々は、増大したPSAを有する1000人当たり13人の男性だけが、モデルから20%未満のリスクを有し、さらに5年以内に癌であると診断され、1人の男性だけが進行癌であると診断されると推定した。

【0262】

マルメコホートは、我々の予測モデルのいくつかの重要な機能を実証する。第1に、それは外部検証を構成する。第2に、それは、モデルが、臨床的に診断された癌であって、定義によって過剰診断を構成しないものを予測することを示す。第3に、研究は、モデルによって見逃された癌が、過剰診断とみなされるものであることを示唆し、我々の生検研究からのデータは、パネルが、生検で検知できる癌にかかっている1000人当たり約60人の男性を低リスクとして分類することを示し、マルメコホートデータは、これらのうちの4つにおける1つ未満が、5年間の追跡調査の後に臨床的に明らかになることを示唆する。第4に、それは、モデルが、男性の寿命を短くするある種の高悪性度の癌である可能性が非常に高いと予測することを実証する。最後に、1000人当たり1人だけがモデルによれば低リスクの前立腺癌を有するが、その後、進行癌を有すると診断されるので、データは、モデルの臨床使用が、遅れた診断に関する深刻な害をもたらさないことを示す。我々のモデルに関する我々の研究の概要を表2に示す。

【0263】

要するに、我々の予備的研究は以下のように要約することができる。

【0264】

1. 血液中の複数のカリクレイン形式、すなわち、総PSA、遊離型PSA、未変化PSA、及びhK2は、増大した総PSAを有する男性における前立腺生検の結果を予測することができる。
2. 4つのカリクレインに基づいた統計的予測モデルは、単一のトレーニング集合を用いて構築された。
3. これは、予測された癌の確率を与えるために、新規のマーカーから情報に臨床検査を統合する。
4. 合計で、パネルは、2250近くの癌を含む、診断された7500人を超える男性

に適用され、5つの別個の研究が外部検証を構成した。

5. モデルは、前立腺癌に関して高い識別力を有し、標準的な予測値（総PSA、年齢、及び直腸指診）のみに基づいた統計モデルよりもずっと高いAUCを有する。

6. 前立腺生検の参照を決定する4カリクレイン統計的予測モデルの使用は、決定分析によれば、すべての男性に生検を行うことのような代替方法と比較して臨床上の結果を改善するだろう。

7. モデルは、所定範囲の異なる臨床設定値内の値を有し、先のスクリーニングを行うか否か、先の生検を行うか否か、生検を参照する前に臨床の精密検査を行うか否かを含む。

8. アーカイブされた男性の血液にモデルを適用し、スクリーニングせずに長期的に追跡することは、増大したPSAを有するが統計モデルによれば低リスクを有する男性において、後の5～10年にわたって高悪性度の癌が進行する可能性がほとんどないことを実証した。反対に、臨床的に診断された高悪性度の癌は、モデルにより高リスクであるとされた男性において一般的だった。

【0265】

【表 2】

研究の概要

コホート	説明	サンプル サイズ	AUCの増加: 4カリクレイン モデル対PSA	AUCの増加: 4カリクレイン モデル +DREモデル 対PSA+DRE
ゴセンバーグ 1回目	スクリーニング されていない 男性	740	任意の癌: 0.832対0.680 高悪性度: 0.870対0.816	任意の癌: 0.836対0.724 高悪性度: 0.903対0.868
ゴセンバーグ 2回目以降	以前にPSA 検査を行った 男性	1241	任意の癌: 0.674対0.564 高悪性度: 0.819対0.658	任意の癌: 0.697対0.622 高悪性度: 0.828対0.717
ロッテルダム 1回目	スクリーニング されていない 男性	2186	任意の癌: 0.764対0.637 高悪性度: 0.825対0.776	任意の癌: 0.776対0.695 高悪性度: 0.837対0.806
ロッテルダム 2回目以降	以前にPSA 検査を行った 男性	1501	任意の癌: 0.713対0.557 高悪性度: 0.793対0.699	任意の癌: 0.711対0.585 高悪性度: 0.798対0.709
ロッテルダム 陰性の生検前	陰性の生検 後に持続的に 増大したPSA	925	未評価	任意の癌: 0.681対0.584 高悪性度: 0.873対0.764
タルヌ	生検前の 臨床精密検査	262	未評価	任意の癌: 0.782対0.628 高悪性度: 0.870対0.767
マルメ	生検又は スクリーニング なしの長期 追跡調査	792	任意の癌: 0.751対0.654 進行癌*: 0.824対0.716	未評価

* 診断においてT3/T4又は転移

【0266】

この例で使用される例示のモデル

Age: 年を単位として年齢を入力する

tPSA: ng/mlを単位として総PSAを入力する

fPSA: ng/mlを単位として遊離型PSAを入力する

iPSA: ng/mlを単位として未変化PSAを入力する

hK2: ng/mlを単位としてhK2を入力する

tPSA < 25である場合、次式を用いる。

$$L = 0.0733628 \times tPSA - 1.377984$$

$$\text{前立腺癌のリスク} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

【0267】

tPSA < 25である場合、下記の2つの式、一方は臨床情報を含み、他方は含まない式のうちの一方を使用する。

【0268】

10

20

30

40

50

3次スプライン変数は次式のように決定される。

【0269】

$$\text{Spline1_tPSA} = - (162 - 4.4503) / (162 - 3) \times (tPSA - 3)^3 + \max(tPSA - 4.4503, 0)^3$$

$$\text{Spline2_tPSA} = - (162 - 6.4406) / (162 - 3) \times (tPSA - 3)^3 + \max(tPSA - 6.4406, 0)^3$$

fPSA < 11.8である場合：

$$\text{Spline1_fPSA} = - (11.8 - 0.84) / (11.8 - 0.25) \times (fPSA - 0.25)^3 + \max(fPSA - 0.84, 0)^3$$

fPSA > 11.8である場合：

$$\text{Spline1_fPSA} = (11.8 - 0.84) \times (0.84 - 0.25) \times (11.8 + 0.84 + 0.25 - 3 \times fPSA)$$

fPSA < 11.8である場合：

$$\text{Spline2_fPSA} = - (11.8 - 1.29) / (11.8 - 0.25) \times (fPSA - 0.25)^3 + \max(fPSA - 1.29, 0)^3$$

fPSA > 11.8である場合：

$$\text{Spline2_fPSA} = (11.8 - 1.29) \times (1.29 - 0.25) \times (11.8 + 1.29 + 0.25 - 3 \times fPSA)$$

【0270】

実験室モデルの場合

次式を定義する。

【0271】

$$x1 = 0.0846726 \times tPSA + -0.0211959 \times \text{Spline1_tPSA} + 0.0092731 \times \text{Spline2_tPSA}$$

$$x2 = -3.717517 \times fPSA - 0.6000171 \times \text{Spline1_fPSA} + 0.275367 \times \text{Spline2_fPSA}$$

$$x3 = 3.968052 \times iPSA$$

$$x4 = 4.508231 \times hK2$$

【0272】

この場合、

$$L = -1.735529 + 0.0172287 \times \text{Age} + x1 + x2 + x3 + x4$$

$$\text{前立腺癌のリスク} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

【0273】

これは、いかなる臨床情報もない状態での前立腺癌のリスクを与える。我々は、このリスクが高い場合には、臨床の精密検査及び直腸指診を受けるように臨床医が患者に依頼するだろうと考える。その後、次のモデルを0又は1としてコード化されたDREを用いて2度実行し、DREが正常であるかそれとも異常であるかに依存してリスクをそれぞれ与える。

【0274】

次式を定義する。

【0275】

$$x1 = 0.0637121 \times tPSA - 0.0199247 \times \text{Spline1_PSA} + 0.0087081 \times \text{Spline2_tPSA}$$

$$x2 = -3.460508 \times fPSA - 0.4361686 \times \text{Spline1_fPSA} + 0.1801519 \times \text{Spline2_fPSA}$$

$$x3 = 4.014925 \times iPSA$$

$$x4 = 3.523849 \times hK2$$

【0276】

DREが陽性である場合、リスクは次式で得られる。

【0277】

10

20

30

40

50

$$L = -1.373544 + 0.9661025 + 0.0070077 \times \text{Age} + x_1 + x_2 + x_3 + x_4$$

【0278】

DREが陰性である場合、リスクは次式で得られる。

【0279】

$$L = -1.373544 + 0.0070077 \times \text{Age} + x_1 + x_2 + x_3 + x_4$$

【0280】

リスクを次式により決定する。

【0281】

$$\text{前立腺癌のリスク} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

10

【0282】

再較正の場合

再較正は、先の陰性の生検を有する男性について使用されてもよいが、再較正は、イベントレートが（予めスクリーニングされていない）ロツテルダムコホートで観察されたイベントレート（29%）から有意に異なっている他の状況でも使用可能である。

【0283】

次式を定義する。

【0284】

$$\text{癌の見込み} = \text{Pr}(\text{癌}) / (1 - (\text{Pr}(\text{癌})))$$

$$\text{予測された見込み} = \text{予測された癌のリスク} / (1 - \text{予測された癌のリスク})$$

20

【0285】

この場合、

$$\text{ベイズファクタ} = \text{癌の見込み} / \text{予測された見込み}$$

$$y_{\text{adj}} = y + \log(\text{ベイズファクタ})$$

$$\text{再較正された前立腺癌のリスク} = \exp(y_{\text{adj}}) / [1 + \exp(y_{\text{adj}})]$$

【実施例2】

【0286】

（予言的实施例）

これは、サンプルと関連付けられた金の粒子上に無電解に銀を堆積することで、サンプルにおけるiPSA、fPSA、tPSA、及びhK2を発見する分析を行うためのカセット及びアナライザの使用を説明する予言的实施例である。図14は、この例で使用されるカセットの微小流体システム1500の概略的な例示を含む。カセットは、図7に示すカセット520を同様の形状を有するものであった。

30

【0287】

微小流体システムは、分析領域1510A～1510F、廃棄封じ込め領域1512、及び出口1514を含むものであった。分析領域は、深さ50ミクロン及び幅120ミクロンと、175mmの合計長さとを有する微小流体チャネルを含むものであった。微小流体システムは、微小流体チャネル1516、チャネル分岐1518及び1520（それぞれ入口1519及び1521を有する）をさらに含むものであった。チャネル分岐1518及び1520は、深さ350ミクロン及び幅500ミクロンを有するものであった。チャネル1516は複数のサブチャネル1515から形成され、各サブチャネル1515は、深さ350ミクロン及び幅500ミクロンを有し、カセットの両面に交互に配置され、約500ミクロンの直径を有するスルーホール1517によって接続されていた。図14は、試薬がカセットの単一の面上に貯蔵されたことを示すが、他の実施形態において、試薬はカセットの両方の面上に貯蔵された。チャネル1516は合計で390mmの長さを有し、分岐1518及び1520は長さ360mmの長さをそれぞれ有していた。チャネルを封止する前に、抗PSA及び抗hK2捕捉抗体は、以下でさらに詳細に説明するように、分析領域1510及び1511の複数のセグメントにおいて微小流体システムの表面に結合された。

40

【0288】

50

最初の使用前に、カセットに貯蔵された液体試薬が微小流体システムに装填された。一連の7つの洗浄プラグ1523～1529（水、緩衝液のいずれか、それぞれ約2マイクロリットル）は、ピペットを用いて、チャンネル1516のサブチャンネル1515へスルーホールを用いて装填された。洗浄プラグのそれぞれは、空気のプラグによって分離された。銀塩の溶液を含む流体1528は、ピペットを用いて、ポート1519を通して分岐チャンネルに装填された。還元液を含む流体1530は、ポート1521を通して分岐チャンネル1520に装填された。示した各液体は、空気のプラグによって他の液体から分離された。ポート1514、1519、1521、1536、1539、及び1540は、容易に除去又は貫通可能な接着テープで封止された。このように、液体は最初の使用前に微小流体システムに貯蔵された。

10

【0289】

最初の使用時に、ポート1514、1519、1521、1536、1539、及び1540の封止は、ポートの開口をカバーするテープをユーザがはがすことによって除去された。10マイクロリットルのサンプル血液（1522）が追加されている、コロイド状の金で標識された凍結乾燥された抗PSA及び抗hK2抗体を含んでいる管1544が、ポート1539及び1540に接続された。管は、図7に示す形状及び構成を有する流体コネクタの一部であった。これは、分析領域1510及びチャンネル1516の間の流体接続を生成した。これらは、さもなければ非接続状態にあり、最初の使用前には互いに流体を伝達可能ではない。

20

【0290】

微小流体システム1500を含むカセットが、アナライザの開口へ挿入された。アナライザの筐体は、筐体内に位置したアームであって、カセット上のカム動作する面と係合するように構成されたアームを含むものであった。アームは、筐体の開口まで少なくとも部分的に延在し、これにより、カセットが開口へ挿入されたとき、アームが開口から第2の位置へ押しつけられて、カセットが開口に侵入可能になる。いったんアームがカセットの内側にカム動作する面と係合すると、カセットは、アナライザの筐体内に配置されて保持され、また、パネのバイアスは、カセットがアナライザの外部に脱落することを防止した。アナライザは、位置センサによりカセットの挿入を検出する。

30

【0291】

アナライザの筐体内に位置した識別リーダー（RFIDリーダー）は、ロット識別情報を含むカセット上のRFIDタグを読み取るために使用された。アナライザは、この識別子を用いて、アナライザに格納されたロット情報（例えば、校正情報、カセットの使用期限、カセットが新品であることを示す検証情報、及びカセットにおいて行われる分析/検査のタイプ）と一致するか否かを調べた。ユーザは、タッチスクリーンを用いて、（サンプルを取得した）患者に関する情報をアナライザに入力するように促された。カセットに関する情報がユーザによって検証された後、制御システムは分析を開始した。

40

【0292】

制御システムは、分析を行うためのプログラミングされた命令を含むものであった。分析を開始するために、真空システムを制御する電子回路に信号が送信された。この電子回路は、アナライザの一部であり、流体フローを提供するために使用された。o-リングを有する多岐管は、ソレノイドによってカセット表面に対して押しつけられた。多岐管上の1つのポートは、カセットの微小流体システムのポート1536に（o-リングによって）封止された。多岐管上のこのポートは、管によって、大気が開かれた簡単な電磁弁に接続された。多岐管上の別個の真空ポートは、カセットの微小流体システムのポート1514に（o-リングによって）封止された。約-30kPaの真空がポート1514に印加された。分析全体にわたって、ポート1540及び1514の間に位置した分析領域1510を含むチャンネルは、約-30kPaの実質的に一定の非ゼロの圧力降下を有していた。サンプル1522は、分析領域1510A～1510Hのそれぞれにおいて、矢印538の方向に流された。流体が分析領域を通過したとき、サンプル1522中のPSA及びhK2タンパク質は、以下でさらに詳細に説明するように、分析領域の壁に固定された抗

50

P S A 及び抗 h K 2 抗体によって捕捉された。サンプルは、分析領域を通過するために約 7 ~ 8 分かかり、その後、残りのサンプルは、廃棄封じ込め領域 1 5 1 2 において捕捉された。

【 0 2 9 3 】

分析の開始は、検出を開始するために、各分析領域 1 5 1 0 に隣接する光検知器に制御システムが信号を送ることをさらに含むものであった。分析領域に関連付けられた検出器のそれぞれは、分析領域のチャンネルを通った光の透過率を記録した。サンプルが各分析領域を通過したとき、ピークが生成された。検出器によって測定されたピーク（及び底）は、制御システムに送られる信号（又は変換された信号）であり、制御システムは、測定された信号を、制御システムへ予めプログラミングされた基準信号又は値と比較した。制御システムは、信号 / 値の比較を少なくとも部分的に基礎として微小流体システムへのフィードバックを提供するための、予めプログラミングされた一組の命令を含むものであった。

10

【 0 2 9 4 】

図 1 4 の装置 1 5 0 0 の第 1 の分析領域 1 5 1 0 - A において、この分析領域のチャンネルの壁は、最初の使用前（例えば装置を封止する前）に、遮断タンパク質（ウシ血清アルブミン）で遮断された。分析領域 1 5 1 0 - A の壁に結合された血液サンプル中のタンパク質は、ほとんど又はまったく存在しない（場合によっては、洗浄によって除去されるかもしれない何らかの非特異結合を除く）。この第 1 の分析領域は陰性の対照として作用した。

20

【 0 2 9 5 】

第 2 の分析領域 1 5 1 0 - B において、この分析領域のチャンネルの壁は、ハイレベル又は陽性の対照として作用するために、最初の使用前（例えば装置を封止する前）に、予め決められた大量の前立腺特異性抗原（P S A）でコーティングされた。血液サンプルが第 2 の分析領域 1 5 1 0 - B を通過したときチャンネルの壁に結合した血液中の P S A タンパク質は、ほとんど又はまったく存在しなかった。サンプル中の金が結合した信号抗体は、サンプル中の P S A にまだ結合されなくてもよく、従って、それらは、ハイレベル又は陽性の対照として作用するために、チャンネルの壁上の P S A に結合してもよい。

【 0 2 9 6 】

第 3 の分析領域 1 5 1 0 - C において、この分析領域のチャンネルの壁は、捕捉抗体、すなわち抗 i P S A 抗体でコーティングされ、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、i P S A タンパク質上のエピトープに結合した。壁は、最初の使用前（例えば装置を封止する前）にコーティングされた。使用中に血液サンプルが第 4 の分析領域を流れたとき、血液サンプル中の i P S A タンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗 i P S A 抗体に結合した。i P S A を含むサンプルが、i P S A に結合された、金で標識された抗 i P S A 抗体をさらに含んでいたので、分析領域の壁に捕捉された i P S A はサンドイッチ免疫複合体を形成した。

30

【 0 2 9 7 】

第 4 の分析領域 1 5 1 0 - D において、この分析領域のチャンネルの壁は、捕捉抗体、すなわち抗 f P S A 抗体でコーティングされ、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、f P S A タンパク質上のエピトープに結合した。壁は、最初の使用前（例えば装置を封止する前）にコーティングされた。使用中に血液サンプルが第 4 の分析領域を流れたとき、血液サンプル中の f P S A タンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗 f P S A 抗体に結合した。f P S A を含むサンプルが、f P S A に結合された、金で標識された抗 f P S A 抗体をさらに含んでいたので、分析領域の壁に捕捉された f P S A はサンドイッチ免疫複合体を形成した。

40

【 0 2 9 8 】

第 5 の分析領域 1 5 1 0 - E において、この分析領域のチャンネルの壁は、捕捉抗体、すなわち抗 t P S A 抗体でコーティングされ、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、t P S A タンパク質上のエピトープに結合した。壁は、最初の使用前（例えば装置

50

を封止する前)にコーティングされた。使用中に血液サンプルが第5の分析領域を流れたとき、血液サンプル中のtPSAタンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗tPSA抗体に結合した。tPSAを含むサンプルが、tPSAに結合された、金で標識された抗tPSA抗体をさらに含んでいたため、分析領域の壁に捕捉されたtPSAはサンドイッチ免疫複合体を形成した。

【0299】

金で標識された抗iPSA、抗fPSA、及び抗tPSA抗体を使用可能であるが、他の実施形態では、検出のために、任意のPSAのタンパク質に結合する、金で標識された抗PSA抗体を使用可能である。

【0300】

第1、第2、第3、第4、及び第5の分析領域は、単一の基板層の上に形成された。第6(1510-F)、第7(1510-G)、及び第8(1510-H)の分析領域は、別個の基板層(1511)の上に形成された。

【0301】

第6の分析領域1510-Fにおいて、この分析領域のチャネルの壁は、捕捉抗体、すなわち抗hK2抗体でコーティングされ、それは、金が結合した信号抗体のものとは異なる、hK2タンパク質上のエピトープに結合した。壁は、最初の使用前(例えば装置を封止する前)にコーティングされた。使用中に血液サンプルが第6の分析領域を流れたとき、血液サンプル中のhK2タンパク質は、血液中のこれらのタンパク質の濃度に比例するように、抗hK2抗体に結合した。hK2を含むサンプルが、hK2に結合された、金で標識された抗hK2抗体をさらに含んでいたため、分析領域の壁に捕捉されたhK2はサンドイッチ免疫複合体を形成した。

【0302】

分析領域1510-Aに関して上述したように、陰性の対照として第7の分析領域1510-Gが使用されてもよい。分析領域1510-Bに関して上述したように、ハイレベル又は陽性の対照として第8の分析領域1510-Hが使用されてもよい。

【0303】

オプションで、ローレベルの対照として第9の分析領域(図示せず)を使用可能である。そのような実施形態では、この分析領域のチャネルの壁は、ローレベルの対照として作用するために、最初の使用前(例えば装置を封止する前)に、予め決められた少量のPSAでコーティングされてもよい。血液サンプルがこの分析領域を流れたとき、チャネルの壁に結合したサンプル中のPSAタンパク質は、ほとんど又はまったく存在しない。サンプル中の金が結合した信号抗体は、ローレベルの対照として作用するために、チャネルの壁上のPSAに結合してもよい。

【0304】

洗浄流体1523~1529は、サンプルを、分析領域1510を通過して廃棄封じ込め領域1512に向かって矢印1538の方向に追跡した。洗浄流体が分析領域を通過したとき、それらは、残りの結合していないサンプル成分を洗浄して除去した。各洗浄プラグは、分析領域のチャネルを掃除し、次第により完全に掃除された状態にする。最後の洗浄流体1529(水)は、銀塩(例えば塩化物、リン酸塩、アジ化物)と反応する可能性がある塩類を洗浄して除去した。

【0305】

図15に示すプロットに示すように、洗浄流体が分析領域を流れていた間に、分析領域に関連付けられた検出器のそれぞれは、パターン1620のピーク及び底を測定する。底は洗浄プラグに対応するものであった(それらは澄んだ液体であり、従って最大の光透過をもたらす)。各プラグ間のピークは、澄んだ液体の各プラグ間の空気を表す。検査が7つの洗浄プラグを含んでいたため、プロット1600には7つの底及び7つのピークがある。第1の洗浄プラグがチャネルに残った血球をしばしば捕捉し、従って完全には澄んでいないので、概して、第1の底1622は他の底1624ほど深くない。

【0306】

10

20

30

40

50

空気の最後のピーク 1 6 2 8 は、後続の洗浄プラグがなかったので、前のピークよりもずっと長い。検出器がこの空気のピークの長さを検出するとき、1 つ以上の信号が制御システムに送られ、制御システムは、このピークの時間長を、予め設定された基準信号又は特定の長さを有する入力値と比較する。測定されたピークの時間長が基準信号と比較して十分に長い場合、制御システムは、バルブを動作させて流体 1 5 2 8 及び 1 5 3 0 の混合を開始するようにベントバルブ 1 5 3 6 を制御する電子回路に信号を送る。(空気のピーク 1 6 2 8 の信号が、1) ピークの強度、2) このピークが時間の関数として存在している位置、及び / 又は、3) 特定の強度の一連のピーク 1 6 2 0 が既に生じたことを示す 1 つ以上の信号、のどれを示す信号と組み合わせられてもよいことに注意する。このように、制御システムは、例えば信号のパターンを用いて、空気のピーク 1 6 2 8 を、サンプルからのピーク 1 6 1 0 のような長時間の他のピークから区別する。)

10

【 0 3 0 7 】

図 1 4 を再び参照して、混合を開始するために、多岐管によってベントポート 1 5 3 6 に接続されたソレノイドは閉じられる。真空が維持され、ベントバルブ 1 5 3 6 を通って空気が入ることはできないので、空気はポート 1 5 1 9 及び 1 5 2 1 (それらは開いている) を通って装置に入る。これにより、ベントバルブ 1 5 3 6 の上流にある 2 つの貯蔵チャンネルにおける 2 つの流体 1 5 2 8 及び 1 5 3 0 は、実質的に同時に出口 1 5 1 4 に向かって移動させられる。これらの試薬はチャンネルの交差部において混合し、約 1×10^{-3} Pa · s の粘性を有する増幅試薬 (反応性銀液) を形成する。流体 1 5 2 8 及び 1 5 3 0 の容積の比は約 1 : 1 であった。増幅試薬は、下流の貯蔵チャンネルを通過して、管 1 5 4 4 を通って、分析領域 1 5 1 0 を通過して、廃棄封じ込め領域 1 5 1 2 まで続く。設定された時間長 (12 秒) の後、アナライザは、(ベントポートの代わりに) ベントバルブ 1 5 3 6 を介して空気が流れるように、ベントバルブ 1 5 3 6 を再び開いた。これにより、装置上の上流の貯蔵チャンネル 1 5 1 8 及び 1 5 2 0 の後に所定量の試薬が残された。これは、さらに、混合された増幅試薬の単一のプラグをもたらす。ベントバルブを 12 秒間にわたって閉じることは、約 50 μ L の増幅プラグをもたらす。(簡単なタイミングを用いる代わりに、ベントバルブを再び開くことをトリガするための別の方法は、増幅試薬を、分析領域に最初に入るときに検出することである。)

20

【 0 3 0 8 】

混合された増幅試薬が安定しているのは数分のみ (通常 10 分未満) であるので、混合は、分析領域 1 5 1 0 において使用する前 1 分未満に行われた。増幅試薬は澄んだ液体であり、従って、それが分析領域に入るとき、光学密度はその最低値にある。増幅試薬が分析領域にわたって通過したとき、信号を増幅するコロイドのサイズを増加させるために、捕捉された金の粒子上に銀が堆積された。(上に注意したように、検査分析領域において、金の粒子は、ローレベル及びハイレベルの陽性の対照の分析領域内において存在してもよく、かつ、サンプル中に P S A 及び h K 2 が存在していた程度に存在してもよい。) その後、銀は、既に堆積された銀の上に堆積され、分析領域にますます銀が堆積されてもよい。結局、堆積された銀は、分析領域を通る光の透過率を削減する。透過光の減少は、堆積した銀の量に比例し、また、チャンネルの壁に捕捉された金のコロイドの量に関連してもよい。銀が堆積されない分析領域 (例えば、陰性の対照、又はサンプルが標的タンパク質を含んでいない場合の検査領域) には、光学密度は増加しない (又は最小値にならない)。有意な銀の堆積を有する分析領域において、光学密度を増加させるパターンの傾き及び最終レベルは、高くなる。サンプル中の分析物の濃度を決定するために、アナライザは、検査領域において増幅中にこの光学密度のパターンをモニタする。1 つのバージョンの検査において、増幅の最初の 3 分間以内にパターンがモニタされる。各分析領域における時間の関数としての光学密度が記録され、図 1 4 に曲線 1 6 4 0 ~ 1 6 4 7 として示される。これらの曲線は、分析領域で生成された信号に対応した。3 分間の増幅の後、アナライザは検査を止める。これ以上の光学測定は記録されず、また、多岐管は装置から取り外される。

30

40

【 0 3 0 9 】

50

曲線から、血液マーカー（例えばiPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2）の値（例えば濃度）が、（例えばアナライザ内の）コンピュータを用いて決定される。値は、（アナライザと電子的に通信している）プロセッサに送られ、プロセッサは、受信された値を（少なくとも部分的に）基礎としてロジスティック回帰モデル（例えば本明細書で説明するもの）を評価し、患者の前立腺癌のリスクの確率、推定された前立腺容積の表示、及び/又は、患者における前立腺癌の生検が陽性になる可能性の表示を決定するようにプログラミングされている。

【0310】

検査結果は、アナライザの画面上に表示され、プリンタ、コンピュータ、あるいはユーザが選択した任意の出力に伝達される。ユーザはアナライザから装置を除去し、それを廃棄してもよい。検査で使用されるサンプル及びすべての試薬は装置内に残る。アナライザは別のテストを行う準備ができています。

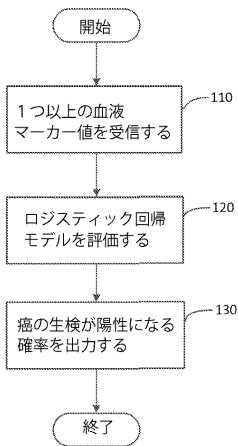
10

【0311】

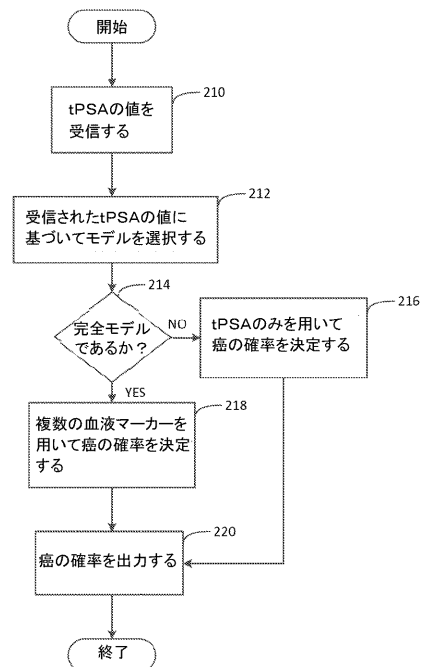
この予言的实施例は、カセットにおける流体フローを制御するアナライザを用いることによって、及び、1つ以上の測定信号からのフィードバックを用いて流体を変調することによって、iPSA、fPSA、tPSA、及び/又はhK2を含んでいるサンプルの分析を単一の微小流体システムにおいて実行可能であることを示す。この予言的实施例は、そのような分析の結果が、患者の前立腺癌のリスクの確率、推定された前立腺容積の表示、及び/又は、患者における前立腺癌の生検が陽性になる可能性の表示を決定するために使用可能であることをさらに示す。

20

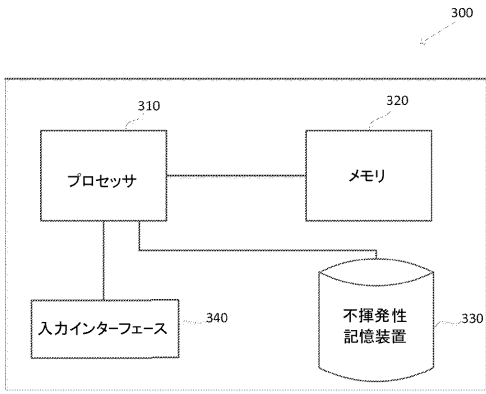
【図1】



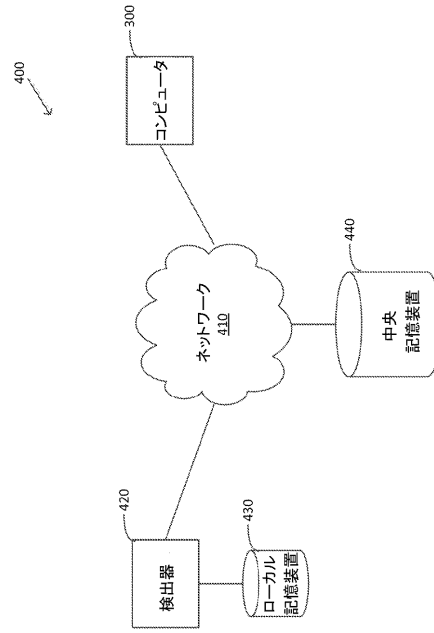
【図2】



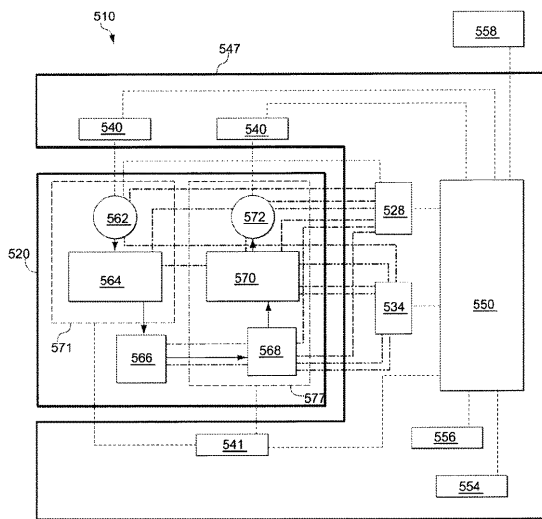
【 図 3 】



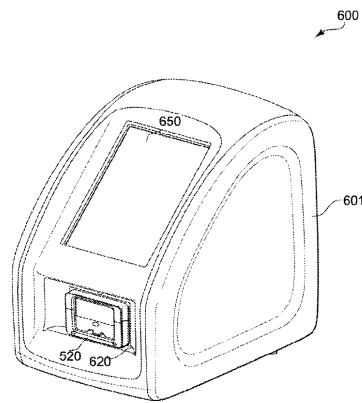
【 図 4 】



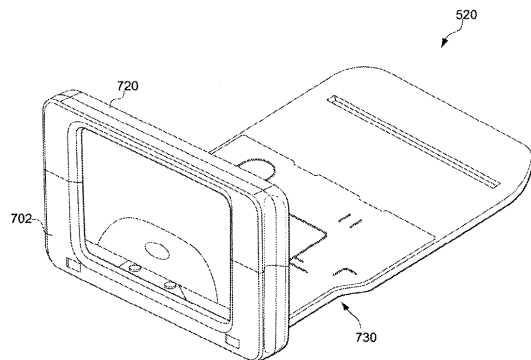
【 図 5 】



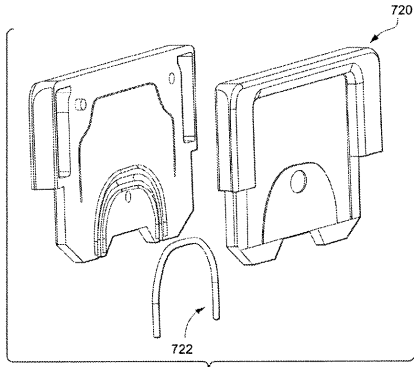
【 図 6 】



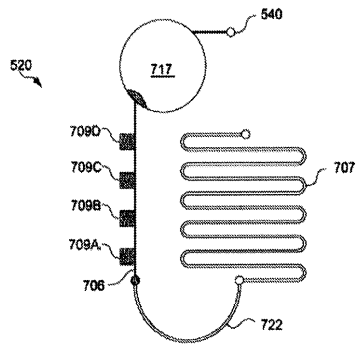
【 図 7 】



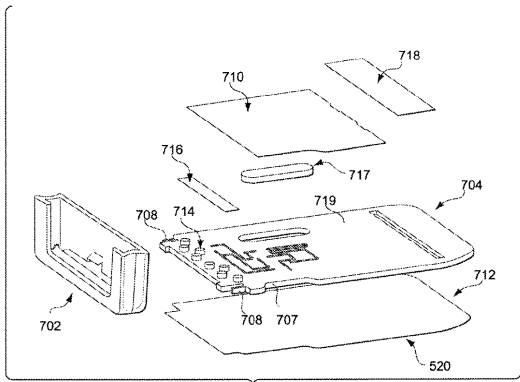
【 図 8 】



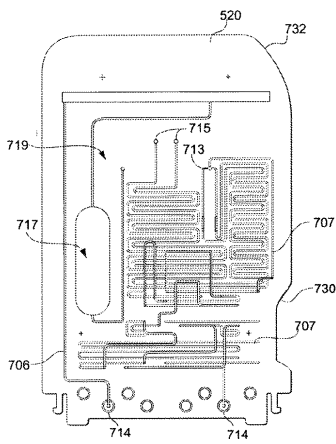
【 図 1 0 】



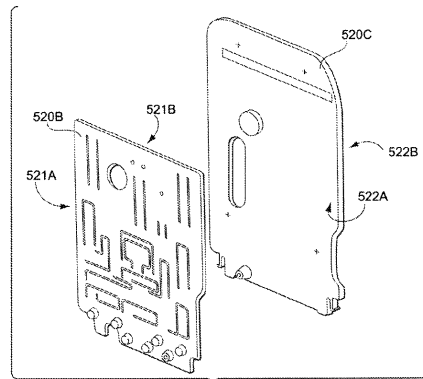
【 図 9 】



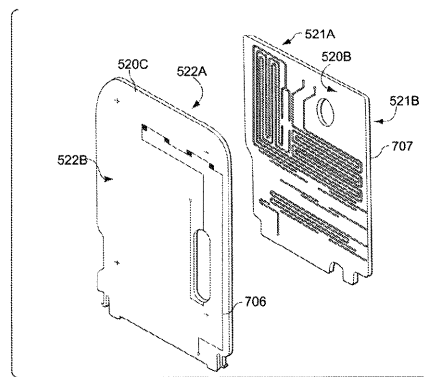
【 図 1 1 A 】



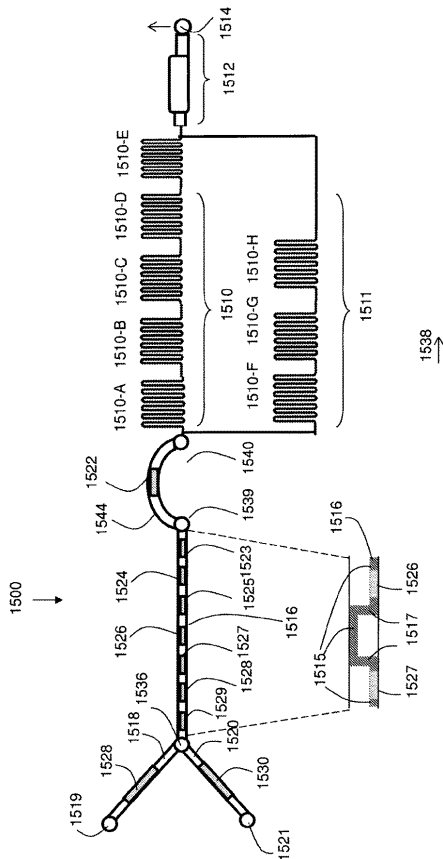
【 図 1 1 B 】



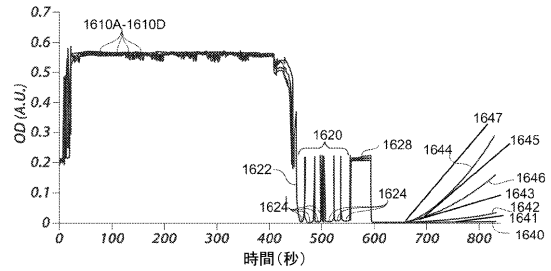
【 図 1 1 C 】



【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成30年3月13日 (2018.3.13)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

分析領域と、検出装置と、コンピュータとを備える分析システムであって、

上記分析領域は、内部の固体相部分に固定された1つ又は複数の結合パートナーを含み、上記1つ又は複数の結合パートナーは、総前立腺特異抗原 (t P S A) を結合する結合パートナーと、遊離型前立腺特異抗原 (f P S A) を結合する結合パートナーと、未変化前立腺特異抗原 (i P S A) を結合する結合パートナーと、ヒトカリクレイン 2 (h K 2) を結合する結合パートナーとからなるグループから選択され、

上記検出装置は、上記分析領域からのサンプルにおける分析物の存在を検出するように構成され、上記分析物は、t P S A、f P S A、i P S A、及びh K 2 からなるグループから選択され、

上記コンピュータは、

複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケーリングして複数のスケーリングされた変数を生成し、

上記複数のスケーリングされた変数の値を合計することで、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成し、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報を入力するようにプログラミングされ、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出装置から受信された情報に含まれる少なくとも2つの変数とを含み、上記少なくとも2つの変数は、f P S A、i P S A、及びt P S Aからなるグループから選択される、
分析システム。

【請求項2】

上記少なくとも2つの変数はf P S A及びt P S Aを含み、
上記コンピュータは、
f P S Aに係る第1のスプラインを定義し、
上記検出装置から受信された情報に含まれるf P S Aの値を用いて上記f P S Aに係る第1のスプラインを評価することにより第1のf P S A値を計算し、
t P S Aに係る第1のスプラインを定義し、
上記検出装置から受信された情報に含まれるt P S Aの値を用いて上記t P S Aに係る第1のスプラインを評価することにより第1のt P S A値を計算するようにさらにプログラミングされ、
上記複数のスケーリングされた変数の値は、第1の係数値によってスケーリングされた上記計算された第1のf P S A値と、第2の係数値によってスケーリングされた上記計算された第1のt P S A値とを含む、
請求項1記載の分析システム。

【請求項3】

上記コンピュータは、
f P S Aに係る第2のスプラインを定義し、
上記検出装置から受信された情報に含まれるf P S Aの値を用いて上記f P S Aに係る第2のスプラインを評価することにより第2のf P S A値を計算し、
t P S Aに係る第2のスプラインを定義し、
上記検出装置から受信された情報に含まれるt P S Aの値を用いて上記t P S Aに係る第2のスプラインを評価することにより第2のt P S A値を計算するようにさらにプログラミングされ、
上記複数のスケーリングされた変数の値は、第3の係数値によってスケーリングされた上記計算された第2のf P S A値と、第4の係数値によってスケーリングされた上記計算された第2のt P S A値とをさらに含む、
請求項2記載の分析システム。

【請求項4】

上記f P S Aに係る第1のスプライン、上記f P S Aに係る第2のスプライン、上記t P S Aに係る第1のスプライン、及び上記t P S Aに係る第2のスプラインのそれぞれは、3次スプラインである、
請求項3記載の分析システム。

【請求項5】

上記複数のスケーリングされた変数の値を合計することで、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することは、
ロジスティック回帰モデルを評価してロジット関数を決定することと、
上記ロジット関数を少なくとも部分的に基礎として、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を決定することを含む、
請求項1記載の分析システム。

【請求項6】

上記検出装置から受信された情報は、t P S A、f P S A、i P S A、及びh K 2の情報を含み、
上記複数の変数は、年齢、t P S A、f P S A、i P S A、及びh K 2を含む、
請求項1記載の分析システム。

【請求項7】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報を出力することは、前立腺癌

の生検が陽性になる可能性を示す情報を出力することを含む、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 8】

上記検出装置は、光透過、光吸収、光散乱、光反射、視覚的技術、フォトルミネッセンス、蛍光、化学ルミネッセンス、生物発光、及び電気化学ルミネッセンスからなるグループから選択された光又はルミネッセンス検出技術を利用する、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 9】

上記検出装置は、上記結合パートナーに結合された分析物を示す化学ルミネッセンス又は蛍光の放射を検出する、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 10】

上記検出装置は、光信号の変動を時間の関数として検出する、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 11】

上記サンプルは、全血、血清、又は血漿である、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 12】

上記分析領域は、少なくとも 1 つの入口及び 1 つの出口を含む微小流体チャネルを備える、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 13】

上記 1 つ又は複数の結合パートナーは、互いに異なる第 1 及び第 2 の結合パートナーを含む、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 14】

上記第 1 の結合パートナーは、特に、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの 1 つと結合するように適合される、
請求項 1 3 記載の分析システム。

【請求項 15】

上記第 2 の結合パートナーは、特に、f P S A、i P S A、及び t P S A のうちの他の 1 つと結合するように適合される、
請求項 1 4 記載の分析システム。

【請求項 16】

上記 1 つ又は複数の結合パートナーは、特に h K 2 と結合するように適合される第 3 の結合パートナーを含む、
請求項 1 5 記載の分析システム。

【請求項 17】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報は、ある人物の生検の要否についての決定をガイドするために使用される、解釈可能な尺度を含む、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 18】

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報は、高悪性度の癌又は低悪性度の癌に対応する陽性の生検についての決定を含む、
請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 19】

検出装置により、内部の固体相部分に固定された 1 つ又は複数の結合パートナーを含む分析システムの分析領域からのサンプルにおいて、分析物の存在を検出することと、
少なくとも 1 つのコンピュータプロセッサによって、複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケールリングして複数のスケールリングされた変数を生成することと、

少なくとも1つのコンピュータプロセッサによって、上記複数のスケールされた変数の値を合計することで、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することと、
 上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報を出力することとを含み、
 上記1つ又は複数の結合パートナーは、総前立腺特異抗原 (tPSA) を結合する結合パートナーと、遊離型前立腺特異抗原 (fPSA) を結合する結合パートナーと、未変化前立腺特異抗原 (iPSA) を結合する結合パートナーと、ヒトカリクレイン2 (hK2) を結合する結合パートナーとからなるグループから選択され、上記分析物は、tPSA、fPSA、iPSA、及びhK2からなるグループから選択され、
 上記複数の変数は、年齢と、上記検出装置から受信された情報に含まれる少なくとも2つの変数とを含み、上記少なくとも2つの変数は、fPSA、iPSA、及びtPSAからなるグループから選択される、
 方法。

【請求項20】

検出装置と、コンピュータによって実行されたときに所定の方法を実施する複数の命令が符号化された非一時的コンピュータ可読記憶媒体とを備える分析システムであって、
 上記検出装置は、上記分析領域からのサンプルにおける分析物の存在を検出するように構成され、

上記分析領域は、内部の固体相部分に固定された1つ又は複数の結合パートナーを含み、
 上記1つ又は複数の結合パートナーは、総前立腺特異抗原 (tPSA) を結合する結合パートナーと、遊離型前立腺特異抗原 (fPSA) を結合する結合パートナーと、未変化前立腺特異抗原 (iPSA) を結合する結合パートナーと、ヒトカリクレイン2 (hK2) を結合する結合パートナーとからなるグループから選択され、

上記分析物は、tPSA、fPSA、iPSA、及びhK2からなるグループから選択され、

上記方法は、

複数の変数のそれぞれを異なる係数値によってスケールして複数のスケールされた変数を生成することと、

上記複数のスケールされた変数の値を合計することで、前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を生成することと、

上記前立腺癌に関連付けられたイベントの確率を示す情報を出力することとを含み、

上記複数の変数は、年齢と、上記検出装置から受信された情報に含まれる少なくとも2つの変数とを含み、上記少なくとも2つの変数は、fPSA、iPSA、及びtPSAからなるグループから選択される、

分析システム。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0054

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0054】

【数11】

$$sp1[x] = x \quad x < \text{節点である場合}$$

$$sp1[x] = \text{節点} \quad x \geq \text{節点である場合}$$

【数12】

$$sp2[x] = 0 \quad x < \text{節点である場合}$$

$$sp2[x] = x - \text{節点} \quad x \geq \text{節点である場合}$$

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 5 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 5 8 】

【数 1 4】

$$sp1[x] = \max([x] - knot1, 0)^3 - \max([x] - knot3, 0)^3 \frac{knot4 - knot1}{knot4 - knot3}$$

$$+ \max([x] - knot4, 0)^3 \frac{knot3 - knot2}{knot4 - knot3}$$

【数 1 5】

$$sp2[x] = \max([x] - knot2, 0)^3 - \max([x] - knot3, 0)^3 \frac{knot4 - knot2}{knot4 - knot3}$$

$$+ \max([x] - knot2, 0)^3 \frac{knot3 - knot2}{knot4 - knot3}$$

フロントページの続き

- (71)出願人 512265308
オプコ・ダイアグノスティクス・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー
OPKO DIAGNOSTICS, LLC
アメリカ合衆国01801マサチューセッツ州ウォバーン、コンスティテューション・ウェイ4番
、スウィート・イー
- (74)代理人 100101454
弁理士 山田 卓二
- (74)代理人 100125874
弁理士 川端 純市
- (72)発明者 アンドリュー・ジェイ・ピッカーズ
アメリカ合衆国11215ニューヨーク州ブルックリン、フィフス・ストリート374番
- (72)発明者 ピーター・ティ・スカーディノ
アメリカ合衆国10022ニューヨーク州ニューヨーク、サットン・プレイス・サウス25番、ナン
バー11ジー
- (72)発明者 ハンス・リルヤ
アメリカ合衆国10065ニューヨーク州ニューヨーク、イースト・シックスティサード・ストリ
ート504番、アパートメント31エス
- (72)発明者 ビンセント・リンダー
アメリカ合衆国01887マサチューセッツ州ウィルミントン、セニカ・レイン22番
- (72)発明者 デイビッド・スタインミラー
アメリカ合衆国02138マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウォーカー・コート2番、ナンバー
2
- Fターム(参考) 2G045 AA26 CA25 DA36 FB03 HA09 JA01 JA07

【 外国語明細書 】

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

METHODS AND APPARATUSES FOR PREDICTING RISK OF PROSTATE CANCER AND PROSTATE GLAND VOLUME

FIELD OF THE INVENTION

5 This disclosure relates to methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume. More particularly this disclosure relates to methods and apparatuses for providing the models and employing the models for predicting risk of prostate cancer and/or predicting prostate gland volume.

10

BACKGROUND

 Most men with an elevated blood level of total prostate-specific antigen (PSA) — the most common trigger for biopsy in US men — do not have prostate cancer. As a result, it has been estimated that there are close to 750,000 unnecessary prostate biopsies each year in the US. There is considerable evidence that measuring the isoforms of PSA separately,
15 rather than combining them together in a single measure of total PSA, can help predict the presence of prostate cancer. These data include studies showing that cancer is predicted by free PSA, BPSA or -2proPSA. Indeed, free PSA is often measured separately, with urologists given results in terms of total PSA and free-to-total PSA ratio, with an estimated
20 10 million free PSAs measured per year. There is also evidence that hK2, the molecule that converts PSA from its pro- to active form, is informative of prostate risk. However, none of these markers on their own constitute good predictors of prostate biopsy outcome.

 There have been several attempts to build predictive models for prostate cancer, most notably the "Prostate Cancer Prevention Trial Risk Calculator", the "Sunnybrook", and the European Randomized trial of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) risk calculator. The
25 problem with these models is that they require more or less extensive clinical work-up, that is, the patient needs to visit a urologist. For instance, the ERSPC risk calculator requires data on prostate volume, which is obtained by inserting an ultrasound probe into the rectum. Accordingly, new methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume would be beneficial.

30

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

SUMMARY OF THE INVENTION

Methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume are provided. More particularly, this disclosure relates to methods and apparatuses for providing the models and employing the models for predicting risk of prostate cancer and/or predicting prostate gland volume. In some embodiments, the methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume are provided using, at least in part, information from a panel of kallikrein markers. The subject matter of this application involves, in some cases, interrelated methods, alternative solutions to a particular problem, and/or a plurality of different uses of systems and devices.

One object of the present invention is to provide a method for obtaining a probability of an event using a logistic regression model for predicting the risk for a male person of prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The computer includes an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total PSA (tPSA) value. The computer also includes at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8, determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The computer also includes an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In one set of embodiments, a system for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The system includes a detector configured to measure values for a plurality of blood markers, wherein the plurality of blood markers includes free prostate-specific antigen (fPSA), total PSA (tPSA), and intact PSA (iPSA).

5 The system also includes at least one processor in electronic communication with the detector. The at least one processor is programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the measured values for fPSA, tPSA, and iPSA to determine a probability of an event associated with high grade prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining cubic spline terms for tPSA, wherein

10 determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 4-5 and a second internal knot between 6-8, determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on

15 a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA, determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value, and outputting an indication of

20 the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total

25 PSA (tPSA) value. The method further comprises evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on

30 a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8; determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

1.0-2.0, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total PSA (tPSA) value, evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8, determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The computer includes an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The computer also includes at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio of the fPSA value to the tPSA value. The computer also includes an output interface
5 configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the
10 plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value, evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining the probability
15 of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio of the fPSA value to the tPSA value, and outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method of
20 determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value, evaluating, using at least one processor, a logistic
25 regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio of the fPSA value to the tPSA value, and outputting an indication of the probability of the
30 event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The computer includes an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The computer also includes at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a

5 probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first exponent, determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2

10 value, the non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA. The computer further includes an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving, via an input

15 interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The method further comprises evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an

20 event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first exponent, determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2 value, the

25 non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method of determining a probability of an event associated with prostate cancer is provided. The

30 method comprises receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The method further comprises evaluating a logistic regression model based,

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first exponent, determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent, and
5 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2 value, the non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer for determining a probability of an event
10 associated with prostate cancer is provided. The computer includes an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, and a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The computer also includes at least one processor programmed to evaluate a logistic
15 regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining linear spline terms for tPSA, determining linear spline terms for fPSA, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA, determining a second
20 value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The computer also includes an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a method for determining a probability of an event
25 associated with prostate cancer is provided. The method comprises receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The
30 method further comprises evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining linear spline terms for tPSA, determining linear spline terms for

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

fPSA, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method of determining a probability of an event associated with prostate cancer. The method comprises receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value. The method further comprises evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises determining linear spline terms for tPSA, determining linear spline terms for fPSA, determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA, determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value. The method further comprises outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a system for determining a risk of high-grade cancer is provided. The system includes an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and an hK2 value. The system also includes at least one processor programmed to enter the received values into a logistic regression model, wherein at least the tPSA value and the fPSA values are entered into the logistic regression model using both linear and non-linear terms, and evaluate the logistic regression model to determine the risk of high-grade cancer.

In one set of embodiments, a system for determining a probability of an event associated with prostate cancer in a person is provided. The system includes a microfluidic

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

sample analyzer, comprising a housing and an opening in the housing configured to receive a cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing. The system also includes a pressure-control system positioned
5 within the housing, the pressure-control system configured to pressurize the at least one microfluidic channel in the cassette to move the sample through the at least one microfluidic channel. The system further includes an optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the light source is configured to pass light through the cassette
10 when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned opposite the light source to detect the amount of light that passes through the cassette. The system includes a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person, and a processor in electronic communication with the microfluidic sample analyzer, the processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in
15 part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of
20 variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

In one set of embodiments, a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer in a person is provided. The method involves providing a microfluidic sample analyzer, comprising a housing, an opening in the housing configured
25 to receive a cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing, and a pressure-control system positioned within the housing, the pressure-control system configured to pressurize the at least one microfluidic channel in the cassette to move the sample through the at least one microfluidic channel. The microfluidic
30 sample analyzer also includes an optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the light source is configured to pass light through the cassette when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

opposite the light source to detect the amount of light that passes through the cassette, and a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person. The method involves determining information for a plurality of blood markers using the microfluidic sample analyzer, wherein the information for the plurality of blood markers
5 includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, and an intact PSA (iPSA) value, and evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce
10 scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

In one set of embodiments, a system is provided. The system includes a device
15 comprising a first analysis region comprising a first binding partner, and a second analysis region comprising a second binding partner, wherein the first binding partner is adapted to bind with at least one of free prostate-specific antigen (fPSA), intact prostate-specific antigen (iPSA), and total PSA (tPSA), and wherein the second binding partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA. The system includes a detector
20 associated with the first and second analysis regions, and a processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for
25 the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

In one set of embodiments, a method is provided. The method comprises introducing
30 a sample into a device comprising a first analysis region comprising a first binding partner, and a second analysis region comprising a second binding partner, wherein the first binding partner is adapted to bind with at least one of free prostate-specific antigen (fPSA), intact prostate-specific antigen (iPSA), and total PSA (tPSA), and wherein the second binding

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA. The method involves allowing any of the fPSA, iPSA and/or tPSA from the sample to bind with the first and/or second binding partners at the first and second analysis regions, determining a characteristic of fPSA, iPSA and/or tPSA using one or more detectors associated with the first and second analysis regions, inputting the characteristics of fPSA, iPSA and/or tPSA into a processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA, and determining the probability of the event associated with prostate cancer.

In one set of embodiments, a device is provided. The device includes a microfluidic system comprising a first microfluidic channel including at least one inlet and one outlet, a first reagent stored in the first microfluidic channel, a seal covering the inlet of the first microfluidic channel and a seal covering the outlet of the first microfluidic channel so as to store the first reagent in the first microfluidic channel, and a second microfluidic channel including at least one inlet and one outlet. The device also includes a first analysis region, a second analysis region, and a third analysis region, each of the analysis regions including one of an anti-iPSA specific capture antibody, an anti-fPSA specific capture antibody, and an anti-tPSA specific capture antibody, wherein one or more of the first, second and third analysis regions are in fluid communication with the second microfluidic channel. The device also includes a fluidic connector that can be connected to the microfluidic system, wherein the fluidic connector comprises a fluid path including a fluid path inlet and a fluid path outlet, wherein upon connection, the fluid path inlet connects to the outlet of the first microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the first microfluidic channel, and the fluid path outlet connects to the inlet of the second microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the second microfluidic channel, wherein the first and second microfluidic channels are not in fluid communication with one another absent connection via the fluidic connector. The device also includes a source of a metal colloid conjugated to an antibody that binds to anti-PSA.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In one set of embodiments, a method for obtaining a probability of an event using a logistic regression model for predicting the risk for a male person of prostate cancer is provided. The method comprises the steps of:

- a) providing a logistic regression model obtained by employing multivariable logistic regression of data of a multitude of male persons, said data comprising for each male person of said multitude of male persons data on prostate cancer status, and data, preceding data of said prostate cancer status, comprising age; and determinations of blood markers, total prostate-specific antigen (tPSA), free PSA (fPSA), intact PSA (iPSA), and optionally human kallikrein 2 (hK2) from blood samples of said male persons, wherein said logistic regression model is generated employing formula:

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c$$

wherein π is the probability of said event, β_i is the coefficient for variable x_i for j variables comprising age, tPSA, fPSA, iPSA, and optionally hK2, respectively, to obtain said logistic regression model;

- b) providing the age of a male person in years;
- c) determining said blood markers
- i) tPSA,
- ii) fPSA,
- iii) iPSA,
- iv) optionally hK2, respectively, from a blood sample of said male person;
- d) employing said logistic regression model using said provided age of step b) and said determined blood markers of step c) to obtain said probability of said event of said male person by

i) defining employing formula: $y = \log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right)$, and

- ii) obtaining said probability as $\pi = \left(\frac{e^y}{1+e^y}\right)$

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Characteristic for the method is that in said logistic regression model said risk for cancer is based on tPSA alone if tPSA is ≥ 15 ng/ml, preferably ≥ 20 ng/ml and most preferably ≥ 25 ng/ml.

Another object of the present invention is to provide a method for predicting prostate gland volume using a linear regression model.

Embodiments of the present invention provide a method for predicting prostate gland volume using a linear regression model wherein said method comprises the steps of:

a) providing a linear regression model obtained by employing linear regression of data of a multitude of male persons, said data comprising for each male person of said multitude of male persons

i) data on prostate gland volume, and

ii) data, preceding data on prostate gland volume, comprising age; and determinations of blood markers: total prostate-specific antigen (tPSA), free PSA (fPSA), intact PSA (iPSA), and optionally, human kallikrein 2 (hK2), from blood samples of said male persons, wherein said linear regression model is generated employing formula:

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c, \text{ wherein } V \text{ is prostate gland volume, } \beta_i \text{ is the coefficient for}$$

variable x_i ; for j variables comprising age, tPSA, fPSA, iPSA, and optionally hK2, respectively, to obtain said linear regression model;

b) providing the age of a male person in years;

c) determining said blood markers, tPSA, fPSA, iPSA, and optionally, hK2, respectively, from a blood sample of said male person;

d) employing said linear regression model using said provided age of step b) and said determined blood markers of step c) to obtain said predicted prostate volume of said male person.

Characteristic for the method is that in said linear regression model said risk for cancer is based on tPSA alone if tPSA is ≥ 15 ng/ml, preferably ≥ 20 ng/ml and most preferably ≥ 25 ng/ml.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Other advantages and novel features of the present invention will become apparent from the following detailed description of various non-limiting embodiments of the invention when considered in conjunction with the accompanying figures. In cases where the present specification and a document incorporated by reference include conflicting and/or inconsistent disclosure, the present specification shall control. If two or more documents incorporated by reference include conflicting and/or inconsistent disclosure with respect to each other, then the document having the later effective date shall control.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Non-limiting embodiments of the present invention will be described by way of example with reference to the accompanying figures, which are schematic and are not intended to be drawn to scale. In the figures, each identical or nearly identical component illustrated is typically represented by a single numeral. For purposes of clarity, not every component is labeled in every figure, nor is every component of each embodiment of the invention shown where illustration is not necessary to allow those of ordinary skill in the art to understand the invention. In the figures:

FIG. 1 illustrates a flow chart of a process for determining a probability of a positive cancer biopsy in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 2 illustrates a flow chart of a process for conditionally selecting a logistic regression model in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 3 shows a schematic illustration of a computer system on which some embodiments of the invention may be implemented;

FIG. 4 illustrates an exemplary network environment within which some embodiments of the invention may be used;

FIG. 5 is a block diagram showing a microfluidic system and a variety of components that may be part of a sample analyzer that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 6 is a perspective view of a sample analyzer and cassette that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

FIG. 7 is a perspective view of a cassette including a fluidic connector that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 8 is an exploded assembly view of a fluidic connector that can be used to
5 determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 9 is an exploded assembly view of a cassette that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 10 is a schematic view of a cassette including a fluidic connector that can be
10 used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 11A is a schematic view of a cassette that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIGS. 11B-11F are schematic views of cassettes formed of multiple components that
15 can be used to determine one or more blood markers according to one set of embodiments;

FIG. 12 is a schematic view of a portion of a sample analyzer that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 13 is a block diagram showing a control system of a sample analyzer associated
20 with a variety of different components that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention;

FIG. 14 is a schematic diagram showing a microfluidic system of a cassette that can be used to determine one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention; and

FIG. 15 is a plot showing measurement of optical density as a function of time
25 showing determination of one or more blood markers in accordance with some embodiments of the invention.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

30 As discussed above, many conventional techniques for predicting a probability of prostate cancer and/or prostate gland volume are based, at least in part, on a clinical examination (e.g., a digital rectal exam or DRE) of the patient. Some embodiments described herein relate to methods and apparatuses for determining a predicted probability

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

of prostate cancer and/or prostate gland volume based, at least in part, on a panel of blood markers, without the need for a clinical work-up. As discussed in further detail below, the provided predicted probability of prostate cancer on biopsy and/or prostate gland volume is a reliable metric that may be useful in aiding decisions related to prostate biopsy.

5 Some embodiments are directed to a computer system including at least one processor programmed to assess a risk of prostate cancer, wherein the risk of prostate cancer is determined based, at least in part, on values for a plurality of blood markers. In some embodiments, the computer system may be implemented as an integrated system (e.g., on an analyzer and/or a chip/cassette) with one or more detectors that determine a value for one or
10 more of the blood markers described herein. In other embodiments, the computer system may include a computer remotely located from the one or more detectors, and values for one or more of the blood markers described herein may be manually entered using a user interface and/or the values may be received via a network interface communicatively coupled to a network (e.g., the Internet). The at least one processor in the computer system
15 may be programmed to apply one or more models to received inputs to evaluate a risk of prostate cancer upon biopsy, as discussed in more detail below.

Models used in accordance with some embodiments of the invention help to integrate information for a plurality of input factors. For example, the input factors may be PSA, free-to-total PSA ratio, and/or digital rectal exam (DRE) status. Continuing with this
20 example, a first patient may have a PSA of 3 ng/ml, a free-to-total PSA ratio of 15%, and a negative DRE, a second patient may have a PSA of 9.5 ng/ml, a free-to-total PSA ratio of 50%, and a negative DRE, and a third patient may have a PSA of 1.5 ng/ml, a free-to-total ratio of 29%, and a positive DRE. For the first patient, a urologist may wonder whether the low (but not extremely low) free-to-total PSA ratio is enough to warrant biopsy given that
25 PSA is moderate and DRE negative. For the second patient, the high PSA value would normally warrant an immediate biopsy, but the very high free-to-total PSA ratio may be a strong indication that the PSA rise is benign. For the third patient, a positive DRE is normally a very worrying sign, but may be insufficient evidence that a biopsy is needed given the low PSA and normal free-to-total PSA ratio. As should be appreciated from the
30 foregoing, when a physician is presented with these factors in isolation, it may be difficult to determine when a biopsy is needed. Additionally, as the number of input factors increases, the decision of whether to perform a biopsy based on the numerical information for the various input factors becomes even more complex.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Both patients and clinicians vary with respect to the propensity that they will opt for biopsy, depending on differences as to how they value early detection of cancer compared to the risks, harms and inconvenience of biopsy. It is often impractical to incorporate such preferences using strict decision rules (e.g. perform biopsy if PSA > 4 ng/ml OR free-to-total ratio < 15%) or using risk scores (e.g. prostate health index (PHI) score of 29). For example, if a man were averse to medical procedures, it may be difficult to determine how high of a PSA and/or PHI score would be "high enough" to warrant biopsy.

Rather than using strict decision rules, in accordance with some embodiments, at least one processor is programmed to use one or more statistical models to process a plurality of inputs to guide decisions about prostate biopsy. Inputs to the statistical models may include, but are not limited to, blood marker values, patient characteristics (e.g., age), and other suitable information, to determine a probability that a positive biopsy for prostate cancer will be found. Such a probability represents an interpretable scale that may be used to guide biopsy decisions in view of patient and clinician preferences.

FIG. 1 illustrates a flowchart of a process in accordance with some embodiments of the invention. In act 110, one or more values for blood markers are received by at least one processor for processing using one or more of the techniques described herein. As described in more detail below, the blood marker value(s) may be received in any suitable way including, but not limited to, through a local input interface such as a keyboard, touch screen, microphone, or other input device, from a network-connected interface that receives the value(s) from a device located remote from the processor(s), or directly from one or more detectors that measure the blood marker value(s) (e.g., in an implementation where the processor(s) are integrated with a measurement device that includes the one or more detectors).

In response to receiving the blood marker value(s), the process proceeds to act 120, where at least one logistic regression model is evaluated to determine a probability of a positive biopsy for prostate cancer, wherein the probability is based, at least in part, on the received blood marker value(s). As described in further detail below, information other than the received blood marker values (e.g., age, cancer grade, etc.) may optionally be used as factors in determining a particular model to use and/or used as input factors to evaluate a selected model.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

After determining a probability of a positive-cancer biopsy, the process proceeds to act 130, where the probability is output to a user (e.g., a physician, a patient) to guide a decision process of whether a biopsy is needed. The probability may be output in any suitable way. For example, in some embodiments, the probability may be output by

5 displaying a numeric value representing the probability on a display screen of a device. In other embodiments, the probability may be output using one or more lights or other visual indicators on a device. In yet other embodiments, the probability may be provided using audio output, tactile output, or some combination of one or more of audio, tactile, and visual output. In some embodiments, outputting the probability comprises sending information to

10 a network-connected device to inform a user about the determined probability. For example, the probability may be determined by one or more processors located at a remote site, and an indication of the probability may be sent to an electronic device of a user (e.g., a physician) using one or more networks, in response to determining the probability at the remote site. The electronic device that provides output to a user in accordance with the techniques

15 described herein may be any suitable device including, but not limited to, a laptop, desktop, or tablet computer, a smartphone, a pager, a personal digital assistant, and an electronic display.

As discussed above, some embodiments are directed to a method for obtaining a probability of an event using a logistic regression model for predicting the risk of prostate

20 cancer and/or prostate gland volume for a male person. In some embodiments, the method involves including information from one or more kallikrein markers, namely total prostate-specific antigen (tPSA), free PSA (fPSA), intact PSA (iPSA), and human kallikrein 2 (hK2). Any suitable logistic regression model may be used, and the techniques described herein are not limited in this respect. In some embodiments, the probability of the event is determined

25 in accordance with equation (I), reproduced below:

$$\text{Probability} = \frac{e^L}{1 + e^L} \quad (\text{I})$$

where the logit (L) is determined using any of a plurality of logistic regression models. Non-limiting examples of nine different types of logistic regression models that may be used in accordance with the techniques described herein include:

30

1. Simple Model (tPSA only)

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA)$$

2. Four assay model using free/total ratio

In this model, the ratio of free PSA to total PSA is substituted for the free PSA term.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 \left(\frac{fPSA}{tPSA} \right) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2)$$

5 3. Four assay model using log(tPSA) and free/total ratio

In this model, the log of tPSA is substituted for the tPSA term to account for the increased contribution of this predictive factor.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (\log[tPSA]) + \beta_3 \left(\frac{fPSA}{tPSA} \right) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2)$$

4. Polynomial Model

10 In this model, additional non-linear terms for tPSA and fPSA are included. In the example equation provided below, the square of tPSA is used to emphasize the direct relationship between this term and risk of prostate cancer, and the square root of the free/total PSA term is used to reflect the inverse association of this term with risk. It should be appreciated however, that polynomial terms of higher order (e.g., cubic) may also be
15 included in some embodiments.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (tPSA^2) + \beta_7 \left(\sqrt{\frac{fPSA}{tPSA}} \right)$$

5. Linear Splines for all four assays

In this model, linear splines are added, with a single knot at the median value. The splines may be determined using the following equations:

$$\begin{aligned} 20 \quad sp1(x) &= x \text{ if } x < knot \\ sp1(x) &= knot \text{ if } x \geq knot \\ sp2(x) &= 0 \text{ if } x < knot \\ sp2(x) &= x - knot \text{ if } x \geq knot \end{aligned}$$

with the model being represented as:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

$$\begin{aligned}
L = & \beta_0 + \beta_1 (\text{Age}) + \beta_2 (\text{tPSA}) + \beta_3 (\text{fPSA}) + \beta_4 (\text{iPSA}) + \beta_5 (\text{hK2}) + \beta_6 (\text{sp1}[\text{tPSA}]) \\
& + \beta_7 (\text{sp2}[\text{tPSA}]) + \beta_8 (\text{sp1}[\text{fPSA}]) + \beta_9 (\text{sp2}[\text{fPSA}]) + \beta_{10} (\text{sp1}[\text{iPSA}]) + \beta_{11} (\text{sp2}[\text{iPSA}]) \\
& + \beta_{12} (\text{sp1}[\text{hK2}]) + \beta_{13} (\text{sp2}[\text{hK2}])
\end{aligned}$$

6. Linear Splines for tPSA and fPSA

In this model, linear splines are included only for tPSA and fPSA to reduce the number of variables and simplify the model.

$$\begin{aligned}
L = & \beta_0 + \beta_1 (\text{Age}) + \beta_2 (\text{tPSA}) + \beta_3 (\text{fPSA}) + \beta_4 (\text{iPSA}) + \beta_5 (\text{hK2}) + \beta_6 (\text{sp1}[\text{tPSA}]) \\
& + \beta_7 (\text{sp2}[\text{tPSA}]) + \beta_8 (\text{sp1}[\text{fPSA}]) + \beta_9 (\text{sp2}[\text{fPSA}])
\end{aligned}$$

7. Cubic Splines for all four assays

In this model, cubic splines are included for each term. In the example provided below, a cubic spline with four knots is described. It should be appreciated, however, that a cubic spline using any suitable number of knots including, but not limited to, five knots, six knots, seven knots, and eight knots, may alternatively be used. The splines may be determined using the following equations:

$$\begin{aligned}
\text{sp}[x]1 = & \max([x] - \text{knot}1, 0)^3 - \max([x] - \text{knot}3, 0)^3 \frac{\text{knot}4 - \text{knot}1}{\text{knot}4 - \text{knot}3} \\
& + \max([x] - \text{knot}4, 0)^3 \frac{\text{knot}3 - \text{knot}1}{\text{knot}4 - \text{knot}3}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\text{sp}[x]2 = & \max([x] - \text{knot}2, 0)^3 - \max([x] - \text{knot}3, 0)^3 \frac{\text{knot}4 - \text{knot}2}{\text{knot}4 - \text{knot}3} \\
& + \max([x] - \text{knot}4, 0)^3 \frac{\text{knot}3 - \text{knot}2}{\text{knot}4 - \text{knot}3}
\end{aligned}$$

where *knot1* and *knot4* are external knots for the cubic spline, and *knot2* and *knot3* are internal knots for the cubic spline. In some embodiments, the internal knots are specified within the range of between about 2 to about 5 and between about 5 to about 8 for tPSA, between about 0.25 to about 1 and between about 1.0 to about 2.0 for fPSA, between about 0.2 to about 0.5 and between about 0.4 to about 0.8 for iPSA, and between about 0.02 to about 0.04 and between about 0.04 to about 0.08 for hK2. For example, in one implementation, values of 3.89 and 5.54 are used for the internal knots for tPSA, values of 0.81 and 1.19 are used for the internal knots for fPSA, values of 0.3 and 0.51 are used for the internal knots of iPSA, and values of 0.036 and 0.056 are used for the internal knots of hK2.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In certain embodiments, one or more internal knots for tPSA may independently be in the range of between about 3 to about 5, between about 3 to about 6, between about 2.5 to about 6, between about 2.5 to about 6.5, between about 5 to about 8, between about 5.5 to about 8, between about 5 to about 9, between about 5 to about 10, between about 1 to about 5, between about 1 to about 4, and between about 1 to about 3. Other ranges are also possible.

In certain embodiments, one or more internal knots for fPSA may independently be in the range of between about 0.1 to about 1.0, between about 0.1 to about 1.2, between about 0.3 to about 0.8, between about 0.4 to about 0.9, between about 0.5 to about 1.2, between about 0.7 to about 1.4, between about 0.7 to about 0.9, between about 1.1 to about 1.6, between about 1.1 to about 1.2, and between about 1.1 to about 2. Other ranges are also possible.

In certain embodiments, one or more internal knots for iPSA may independently be in the range of between about 0.05 to about 0.5, between about 0.1 to about 0.5, between about 0.2 to about 0.5, between about 0.1 to about 0.8, between about 0.2 to about 0.8, between about 0.4 to about 0.8, between about 0.4 to about 1.0, between about 0.3 to about 0.6, between about 0.5 to about 1.0, and between about 0.6 to about 0.8. Other ranges are also possible.

In certain embodiments, one or more internal knots for hK2 may independently be in the range of between about 0.01 to about 0.03, between about 0.01 to about 0.04, between about 0.01 to about 0.05, between about 0.02 to about 0.05, between about 0.02 to about 0.06, between about 0.03 to about 0.05, between about 0.4 to about 0.07, between about 0.04 to about 1.0, between about 0.5 to about 1.0, and between about 0.6 to about 1.0. Other ranges are also possible.

As discussed above, cubic splines incorporating any suitable number of internal knots (e.g., three, four, five, six internal knots) may be used, and the example of a cubic spline including two internal knots is provided merely for illustration and not limitation. In embodiments that include more than two internal knots, the knots may be placed within one or more of the ranges discussed above, or in some other suitable range. For example, in some embodiments, the knots may be specified such that the length of the segments of the spline between each of the pairs of neighboring knots is essentially equal.

The model may be represented as:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

$$\begin{aligned}
L = & \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) \\
& + \beta_7 (sp2[tPSA]) + \beta_8 (sp1[fPSA]) + \beta_9 (sp2[fPSA]) + \beta_{10} (sp1[iPSA]) + \beta_{11} (sp2[iPSA]) \\
& + \beta_{12} (sp1[hK2]) + \beta_{13} (sp2[hK2])
\end{aligned}$$

8. Cubic Splines for tPSA and fPSA

In this model, cubic splines are included only for tPSA and fPSA to reduce the
5 number of variables and simplify the model.

In certain embodiments, the internal knots for tPSA and fPSA are specified using
one or more of the ranges described above with respect to the cubic spline model for all four
assays. For example, internal knots may be specified within the range of between about 2 to
about 5 and between about 5 to about 8 for tPSA, and between about 0.5 to about 1 and
10 between about 1.0 to about 1.5 for fPSA. For example, in one implementation, values of
3.89 and 5.54 are used for the internal knots for tPSA and values of 0.81 and 1.19 are used
for the internal knots for fPSA. It should be appreciated, however, that other values and/or
ranges may alternatively be used. Additionally, it should be appreciated that any number of
knots (e.g., other than four knots) may alternatively be used in some embodiments, as
15 discussed above with respect to the cubic spline model for all four assays.

The model may be represented as:

$$\begin{aligned}
L = & \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) \\
& + \beta_7 (sp2[tPSA]) + \beta_8 (sp1[fPSA]) + \beta_9 (sp2[fPSA])
\end{aligned}$$

9. Age stratified, Cubic Splines for tPSA and fPSA

In this model, cubic splines are applied to a dataset in two parts to generate different
20 coefficients (β) for use with patients having an age less than or greater than/equal to a
particular age (e.g., age 65). Accordingly, in this model, the same representation (using
different coefficient values) is used for both groups of patients. Examples of the different
coefficients that may be used with this model are provided below in Table 1.

25 The model may be represented as:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

If Age <65:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) \\ + \beta_7 (sp2[tPSA]) + \beta_8 (sp1[fPSA]) + \beta_9 (sp2[fPSA])$$

If Age \geq 65:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Age) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) \\ + \beta_7 (sp2[tPSA]) + \beta_8 (sp1[fPSA]) + \beta_9 (sp2[fPSA])$$

5 Each of the above-described logistic regression models includes a plurality of input factors, including age, and blood marker values for one or more of total PSA (tPSA), free PSA (fPSA), intact PSA (iPSA), and human kallikrein 2 (hK2). In some cases, the blood marker values are concentrations of the blood markers in a patient sample. In some of the above-described logistic regression models, linear or cubic splines for the non-linear terms are determined. It should be appreciated that higher-order splines may alternatively be used, as the techniques described herein are not limited in this respect.

15 For the above-described logistic regression models, each of the terms is multiplied by a corresponding coefficient value (β). The coefficients may be determined in any suitable way. For example, each of the models may be applied to a dataset including patient information, serum assay results, and biopsy results. A best fit of each of the models to the information in the dataset to predict cancer may be determined and the coefficients corresponding to the best fit result may be used in accordance with the techniques described herein. An example table of coefficients determined for each of the models described above, is shown below in Table 1. For these models, age is input in years and each assay result is measured in ng/mL.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

model	β_0	β_1	β_2	β_3	β_4	β_5	β_6	β_7	β_8	β_9	β_{10}	β_{11}	β_{12}	β_{13}
1	-2.434	0.015	0.165											
2	-2.136	0.040	0.071	-8.721	-9.268	11.136								
3	-2.243	0.041	0.310	-9.306	-0.060	11.035								
4	1.483	0.042	0.013	7.789	-0.137	11.198	0.002	-15.612						
5	-4.218	0.042	0.286	-1.395	0.900	0.000	0.284	0.000	-1.059	0.000	-1.686	0.836	27.668	6.628
6	-3.829	0.041	0.285	-1.260	0.228	11.200	0.278	0.000	-1.628	0.000				
7	-4.545	0.043	0.702	-2.369	-4.205	43.633	0.014	-0.009	-0.475	0.280	-26.422	15.722	18207	-11788
8	-3.925	0.042	0.723	-5.670	0.247	10.822	0.016	-0.010	-1.964	1.288				
9														
Age < 65	-4.491	0.045	0.881	-3.965	0.605	13.862	0.025	-0.017	-1.931	1.239				
Age ≥ 65	-5.117	0.085	0.359	-2.850	-0.233	7.525	-0.007	0.006	-1.297	0.781				

Table 1: Exemplary coefficients (β) for each of the nine linear regression models discussed above. The coefficients were determined based on a best fit of each model to a dataset including information from 1420 individuals.

It should be appreciated that the particular coefficients used in an implementation of the techniques described herein may differ from those described in Table 1, as the values in Table 1 are provided merely for illustration. Additionally, in some embodiments, different coefficients may be used for different patient populations and/or to determine probabilities of different outcomes. For example, different coefficients may be used for patients of different age ranges, as described above for the age-stratified cubic spline model. Different coefficients may also be used to determine probabilities of a positive biopsy for different grades of cancer. For example, embodiments used to determine a probability of a high-grade cancer (e.g., Gleason score ≥ 7) positive biopsy may use different coefficients for one or more of the models than embodiments used to determine a probability of a low-grade cancer positive biopsy. Additionally, different coefficients may be used based, at least, in part, on whether one or more of the blood marker values were determined from serum or from plasma.

In some embodiments, a first logistic regression model may be used when a value for one or more of the markers is above a certain threshold, and a second logistic regression model may be used when the value is below the threshold. FIG. 2 illustrates a process for selecting a logistic regression model based on a threshold in accordance with some embodiments of the invention. In act 210, a value for the blood marker total PSA (tPSA) is received. Although the illustrative process of FIG. 2 uses tPSA as a blood marker value to determine which logistic regression model to use, it should be appreciated that any other blood marker value, combination of blood marker values, or any other suitable information

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

may alternatively be used. Accordingly, in some embodiments, at least one processor may be programmed to implement and select from a plurality of models based, at least in part, on one or more input values.

After receiving the value for tPSA, the process proceeds to act 212, where a logistic regression model is selected based, at least in part, on the received tPSA value. For
5 example, in one implementation, when the value of tPSA is ≥ 15 ng/ml, preferably ≥ 20 ng/ml and most preferably ≥ 25 ng/ml, the logistic regression model may be based on tPSA alone (e.g., the "Simple Model (tPSA only)" model described above may be used). For this implementation, when the tPSA value is less than a particular threshold (e.g., less than 15
10 ng/ml), one or more of the other logistic regression models may be selected.

Continuing with the process of FIG. 2, after a model has been selected, the process proceeds to act 214, where it is determined whether the selected model is a full model (e.g., includes all four kallikrein markers) or is a partial model that includes less than all markers in a kallikrein panel. If it is determined that the selected model is not a full model, the
15 process proceeds to act 216, where the probability of cancer is determined based solely on the received tPSA value, as described above. If it is determined that the selected model is a full model, the process proceeds to act 218, where the probability of cancer is determined based on the selected model using multiple blood markers. Regardless of the particular model that is selected, after the probability of cancer is determined, the process proceeds to
20 act 220, where the probability of cancer is output, as discussed above in connection with FIG. 1.

In some embodiments of the invention, said event for which said probability is obtained is evidence of prostate cancer at prostate biopsy taken from an asymptomatic male person or a male person with lower urinary tract symptoms.

25 In some embodiments of the invention, the event for which said probability is obtained is evidence of high grade prostate cancer, i.e. Gleason score 7 or higher, at prostate biopsy taken from an asymptomatic male person or a male person with lower urinary tract symptoms. Typically, the progression of prostate cancer or the prostate cancer status, is defined as (i) Gleason score 7 or higher, (ii) Gleason grade 4 + 3 or higher, or (iii) Gleason
30 score 8 or higher.

In many preferred embodiments the data of the multitude of male persons comprises one or more biopsy data selected from the group consisting of reason for biopsy, year of

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

biopsy, number of biopsy cores, the number of positive cores, the percent of positive in each core and any possible combination thereof.

As discussed above, in many preferred embodiments, the blood markers are included in a logistic regression model employing up to two non-linear terms for at least one blood marker. In certain embodiments, the blood markers are included in a logistic regression model employing up to three non-linear terms for at least one blood marker. In certain embodiments, the blood markers are included in a logistic regression model employing up to four non-linear terms for at least one blood marker. In certain embodiments, the blood markers are included in a logistic regression model including up to five non-linear terms for at least one blood marker

In some embodiments, the logistic regression model may be recalibrated when the anticipated event rate in a target population representative of the male person for which the event probability is to be obtained differs from the event rate of the multitude of male persons for which data have been employed to obtain the logistic regression model by defining, according to equation (II):

$$k = \left(\frac{P / (1 - P)}{p / (1 - p)} \right) \quad (\text{II}),$$

wherein p is the event rate in said data of said multitude of male persons, and P is the anticipated event rate in said target population, defining, according to equation (III):

$$\text{Odds} = \frac{\pi}{1 - \pi} \quad (\text{III}),$$

wherein π is the original probability from the model, and defining, according to equation (IV):

$$\text{Odds}_{\text{recalibrated}} = \text{Odds} \times k \quad (\text{IV}), \text{ and}$$

obtaining a recalibrated probability, according to formula (V):

$$\pi_{\text{recalibrated}} = \left(\frac{\text{Odds}_{\text{recalibrated}}}{1 + \text{Odds}_{\text{recalibrated}}} \right) \quad (\text{V}),$$

wherein $\pi_{\text{recalibrated}}$ is the probability of said event.

Some embodiments are directed to methods and apparatus for predicting prostate gland volume using a linear regression model, wherein said method comprises an act of a)

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

providing a linear regression model obtained by employing linear regression of data of a multitude of male persons, said data comprising for each male person of said multitude of male persons: (i) data on prostate gland volume, and (ii) data, preceding data on prostate gland volume, comprising age; and determinations of blood markers including tPSA, fPSA, 5 iPSA, and optionally hK2, from blood samples of said male persons. Said linear regression model may be generated employing formula (VI):

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c \quad (\text{VI}),$$

wherein V is prostate gland volume, β_i is the coefficient for variable x_i for j variables comprising age, tPSA, fPSA, iPSA, and optionally hK2, respectively, to obtain said linear 10 regression model. The method further comprises an act of b) providing the age of a male person in years, c) determining said blood markers tPSA, fPSA, iPSA, and optionally, hK2, respectively, from a blood sample of said male person, and d) employing said linear regression model using said provided age of step b) and said determined blood markers of step c) to obtain said predicted prostate volume of said male person. In some embodiments, 15 the statistical model said risk for cancer is based on tPSA alone if tPSA is ≥ 15 ng/ml, preferably ≥ 20 ng/ml, and most preferably ≥ 25 ng/ml.

It should be appreciated that any suitable logistic regression model including, but not limited to, the models described above for determining a probability of prostate cancer upon biopsy, may be used with embodiments of the invention for determining prostate gland 20 volume.

In some embodiments, the data of step a) (ii) for providing the logistic regression model or the linear regression model, and the determination of blood markers of said male person comprise human kallikrein 2.

In many preferred embodiments of the method of the invention where prostate gland 25 volume is predicted prostate gland volume is provided as defined by transrectal ultrasound.

In many preferred embodiments of the method of the present invention the data for each male person of said multitude of male persons for providing the logistic regression model or linear regression model further includes results of digital rectal examination (DRE) and accordingly DRE is carried out for the male person and obtained result is used when 30 employing the logistic regression model or linear regression model, respectively, to obtain

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

said probability. Preferably the results of DRE are expressed as binary values, i.e. normal = 0, and nodularity present = 1 with or without a second value for estimate volume, i.e. small = 0, medium = 1 and large = 2.

5 In some preferred embodiments of the method of the present invention the data of the multitude of male persons for obtaining the model only comprises data of male persons with elevated levels, defined as age-specific median or higher, of tPSA and accordingly probabilities of the event or the predicted prostate volume are obtained only for male persons with said elevated levels of tPSA.

10 In preferred embodiments of the method of the present invention determinations of blood markers of for each male person of the multitude of male persons for obtaining the model and accordingly those blood markers determined to obtain the probability or predicted prostate gland volume are determined from blood samples of serum or plasma, preferably anti-coagulated, either fresh or frozen. Preferably all samples are of the same kind, i.e. either serum or plasma and either fresh or frozen.

15 In some preferred embodiments of the method of the present invention the logistic regression model or the linear regression model is provided employing data of a multitude of male persons aged 40 to 75 years; and accordingly the probability of the event or the predicted prostate volume is obtained of a male aged 40 to 75 years.

20 In some preferred embodiments the method of the present invention the logistic regression model or the linear regression model is provided employing data of a multitude of male persons with a tPSA in blood \geq top age tertile, \geq top age quartile, \geq top age quintile, or \geq top age decile, and accordingly the probability of the event or the predicted prostate volume is obtained of a male person with tPSA in blood \geq top age tertile, \geq top age quartile, \geq top age quintile, or \geq top age decile, respectively. As an example, for a male person of age
25 sixty, the corresponding total PSA values may be: 1.5 ng/ml, for the \geq top age tertile, 1.9 ng/ml, for the \geq top age quartile, 2.1 ng/ml, for the \geq top age quintile, and 3 ng/ml, for the \geq top age decile.

Exemplary computer system

30 An illustrative implementation of a computer system 300 on which some or all of the techniques and/or user interactions described herein may be implemented is shown in FIG. 3. The computer system 300 may include one or more processors 310 and one or more computer-readable non-transitory storage media (e.g., memory 320 and one or more non-

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

volatile storage media 330). The processor(s) 310 may control writing data to and reading data from the memory 320 and the non-volatile storage device 330 in any suitable manner, as the aspects of the present invention described herein are not limited in this respect.

To perform any of the functionality described herein, the processor(s) 310 may
5 execute one or more instructions, such as program modules, stored in one or more computer-readable storage media (e.g., the memory 320), which may serve as non-transitory computer-readable storage media storing instructions for execution by the processor 310. Generally, program modules include routines, programs, objects, components, data structures, etc. that perform particular tasks or implement particular abstract data types.
10 Embodiments may also be implemented in distributed computing environments where tasks are performed by remote processing devices that are linked through a communications network. In a distributed computing environment, program modules may be located in both local and remote computer storage media including memory storage devices.

Computer 300 may operate in a networked environment using logical connections to
15 one or more remote computers. The one or more remote computers may include a personal computer, a server, a router, a network PC, a peer device or other common network node, and typically include many or all of the elements described above relative to the computer 300. Logical connections between computer 300 and the one or more remote computers may include, but are not limited to, a local area network (LAN) and a wide area network
20 (WAN), but may also include other networks. Such networks may be based on any suitable technology and may operate according to any suitable protocol and may include wireless networks, wired networks or fiber optic networks. Such networking environments are commonplace in offices, enterprise-wide computer networks, intranets and the Internet.

When used in a LAN networking environment, the computer 300 may be connected
25 to the LAN through a network interface or adapter. When used in a WAN networking environment, the computer 300 typically includes a modem or other means for establishing communications over the WAN, such as the Internet. In a networked environment, program modules, or portions thereof, may be stored in the remote memory storage device.

Various inputs described herein for assessing a risk of prostate cancer and/or
30 determining a prostate gland volume may be received by computer 300 via a network (e.g., a LAN, a WAN, or some other network) from one or more remote computers or devices that stores data associated with the inputs. One or more of the remote computers/devices may

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

perform analysis on remotely-stored data prior to sending analysis results as the input data to computer 300. Alternatively, the remotely stored data may be sent to computer 300 as it was stored remotely without any remote analysis. Additionally, inputs may be received directly by a user of computer 300 using any of a number of input interfaces (e.g., input interface 340) that may be incorporated as components of computer 300.

Various outputs described herein, including output of a probability of prostate cancer risk and/or prostate gland volume, may be provided visually on an output device (e.g., a display) connected directly to computer 300 or the output(s) may be provided to a remotely-located output device connected to computer 300 via one or more wired or wireless networks, as embodiments of the invention are not limited in this respect. Outputs described herein may additionally or alternatively be provided other than using visual presentation. For example, computer 300 or a remote computer to which an output is provided may include one or more output interfaces including, but not limited to speakers, and vibratory output interfaces, for providing an indication of the output.

It should be appreciated that although computer 300 is illustrated in FIG. 3 as being a single device, in some embodiments, computer 300 may comprise a plurality of devices communicatively coupled to perform some or all of the functionality described herein, and computer 300 is only one illustrative implementation of a computer that may be used in accordance with embodiments of the invention. For example, in some embodiments, computer 300 may be integrated into and/or in electronic communication with the system shown in FIG. 5.

As described above, in some embodiments, computer 300 may be included in a networked environment, where information about one or more blood markers, used to determine a probability of prostate cancer and/or prostate gland volume, is sent from an external source to computer 300 for analysis using one or more of the techniques described herein. An illustrative networked environment 400 in accordance with some embodiments of the invention is shown in FIG. 4. In networked environment 400, computer 300 is connected to detector 420 via network 410. As discussed above, network 410 may be any suitable type of wired or wireless network, and may include one or more local area networks (LANs) or wide area networks (WANs), such as the Internet.

Detector 420 may be configured to determine values for one or more of the blood markers used to determine a probability of prostate cancer and/or prostate gland volume, in

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

accordance with one or more of the techniques described herein. Although detector 420 is illustrated in FIG. 4 as a single detector, it should be appreciated that detector 420 may be implemented as multiple detectors, with each detector configured to determine one or more of the blood marker values used in accordance with one or more of the techniques described
5 herein. Additional examples of detectors and detection systems are provided in more detail below (e.g., FIG. 12).

In some embodiments, information corresponding to the values for the blood markers determined from detector 420 may be stored prior to sending the values to computer 300. In such embodiments, the information corresponding to the values may be stored
10 locally in local storage 420 communicatively coupled to detector 420 and/or stored in network-connected central storage 440. Accordingly, when values corresponding to the blood markers are received by computer 300 in accordance with one or more of the techniques described herein, it should be appreciated that at least some of the values may be received directly from detector 420 or from one or more storage devices (e.g., local storage
15 430, central storage 440) on which the values have been stored, as embodiments are not limited based on where the values are received from.

Other Systems and Components

As described herein, in some embodiments, a system may include a processor or computer programmed to evaluate a logistic regression model in electronic communication
20 with an analyzer for determining a probability of an event associated with prostate cancer (e.g., risk of prostate cancer and/or prostate gland volume). The analyzer may be adapted and arranged to determine one or more characteristics of blood markers for inputting into the logistic regression model. In some embodiments, the analyzer is a microfluidic sample analyzer; for example, the analyzer may be adapted and arranged to determine a sample
25 processed in a microfluidic device/cassette. It should be appreciated, however, that other types of analyzers may also be used (e.g., analyzers for microwell ELISA-type assays) and that the systems described herein are not limited in this respect.

An example of such a system includes, in one set of embodiments, a microfluidic sample analyzer comprising a housing, an opening in the housing configured to receive a
30 cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing. The analyzer may also include a pressure-control system positioned within the housing, the pressure-control system configured to pressurize the at least one microfluidic

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

channel in the cassette to move a sample through the at least one microfluidic channel. An optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the light source is configured to pass light through the cassette when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned opposite the light source to detect the amount of light that passes through the cassette. The system may also include a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person and/or other information for inputting into the linear regression model.

In certain embodiments, a processor is (or is adapted to be) in electronic communication with the microfluidic sample analyzer. In some cases, the processor is within the housing of the analyzer. However, in other embodiments, the processor is not included within the housing of the analyzer but may be accessed by electronic means as described herein. The processor may be programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer in a person may include, for example, providing a microfluidic sample analyzer. The microfluidic sample analyzer may comprise a housing, an opening in the housing configured to receive a cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing. The analyzer may further include a pressure-control system positioned within the housing, the pressure-control system configured to pressurize the at least one microfluidic channel in the cassette to move the sample through the at least one microfluidic channel. A optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the light source is configured to pass light through the cassette when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned opposite

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

the light source to detect the amount of light that passes through the cassette. The analyzer may also include a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person. The method may involve determining information for a plurality of blood markers using the microfluidic sample analyzer, wherein the information for the plurality of blood markers includes a fPSA value, iPSA value, tPSA value, and optionally, a hK2 value. The method may also involve evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

Another example of a system includes, in one set of embodiments, a device (e.g., a microfluidic cassette) comprising a first analysis region comprising a first binding partner and a second analysis region comprising a second binding partner. The first binding partner is adapted to bind with at least one of fPSA, iPSA, and tPSA, and the second binding partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA. In some embodiments, the device includes a third analysis region including a third binding partner adapted to bind with the third of fPSA, iPSA, and tPSA. Optionally, the device may include a fourth analysis region including a fourth binding partner adapted to bind with hK2. The system includes a detector associated with the first and second analysis regions, and a processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person. Evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

A method of determining the probability of the event associated with prostate cancer in such a system may include, for example, the acts of introducing a sample into a device (e.g., a microfluidic cassette) comprising a first analysis region comprising a first binding

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

partner and a second analysis region comprising a second binding partner, wherein the first binding partner is adapted to bind with at least one of fPSA, iPSA, and tPSA, and wherein the second binding partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA. In some embodiments, the device includes a third analysis region including a third binding partner adapted to bind with the third of fPSA, iPSA, and tPSA. Optionally, the device may include a fourth analysis region including a fourth binding partner adapted to bind with hK2. The method may involve allowing any of the fPSA, iPSA and/or tPSA from the sample to bind with at least the first and/or second binding partners at the first and second analysis regions and determining a characteristic of fPSA, iPSA and/or tPSA using one or more detectors associated with the first and second analysis regions. The method involves inputting the characteristics of fPSA, iPSA and/or tPSA into a processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA. Accordingly, the probability of the event associated with prostate cancer may be determined.

In certain embodiments, a device for determining blood markers (e.g., fPSA, iPSA, tPSA, and/or hK2) is provided. In some cases, the device may allow for simultaneous determination of the blood markers, e.g., on a single cassette. The device may include a microfluidic system comprising a first microfluidic channel including at least one inlet and one outlet, a first reagent stored in the first microfluidic channel, and a seal covering the inlet of the first microfluidic channel and a seal covering the outlet of the first microfluidic channel so as to store the first reagent in the first microfluidic channel. The device may further include a second microfluidic channel including at least one inlet and one outlet, a first analysis region, a second analysis region, and a third analysis region. Each of the analysis regions may include one of an anti-iPSA specific capture antibody, an anti-fPSA specific capture antibody, and an anti-tPSA specific capture antibody (and, optionally, an hK2 specific capture antibody). One or more of the first, second and third analysis regions may be in fluid communication with the second microfluidic channel. The device also

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

includes a fluidic connector that can be connected to the microfluidic system, wherein the fluidic connector comprises a fluid path including a fluid path inlet and a fluid path outlet, wherein upon connection, the fluid path inlet connects to the outlet of the first microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the first microfluidic
5 channel, and the fluid path outlet connects to the inlet of the second microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the second microfluidic channel. The first and second microfluidic channels are not in fluid communication with one another absent connection via the fluidic connector. The device may optionally include a source of a metal colloid conjugated to an antibody that binds to anti-PSA.

10 In some embodiments involving a device described herein, at least two (or at least three) of the first, second and third analysis regions is in fluid communication with the second microfluidic channel. In certain cases, each of the first, second and third (and optionally fourth) analysis regions is in fluid communication with the second microfluidic channel. In some instances, the first analysis region is in fluid communication with the
15 second microfluidic channel, and the second analysis region is in fluid communication with a third microfluidic channel. The second and third analysis regions (as well as the second and third microfluidic channels) may, for example, be formed on the same substrate layer, or on different substrate layers as described herein. Additionally, in some embodiments the third analysis region is in fluid communication with a fourth microfluidic channel. The third
20 and fourth analysis regions (as well as the third and fourth microfluidic channels) may, for example, be formed on the same substrate layer, or on different substrate layers as described herein. In some cases, each of the first, second and third (and optionally fourth) analysis regions are formed in different substrate layers. In other embodiments, the fourth analysis region (which may include an anti-hK2 specific capture antibody, for example) is formed in
25 a substrate layer different from a substrate layer including at least one of the first, second and third analysis regions. In some such embodiments, the first, second and third analysis regions are formed in the same substrate layer.

Regardless of whether the analysis regions are formed in different substrate layers or the same substrate layer, in some embodiments, reagents may be stored and sealed in the
30 first, second, and/or third (and optionally fourth) analysis regions, e.g., prior to use of the device. The reagents may include, for example, an anti-iPSA specific capture antibody, an anti-fPSA specific capture antibody, and an anti-tPSA specific capture antibody (and, optionally, an hK2 specific capture antibody). Upon use of the device (e.g., upon

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

connection of a fluidic connector to the microfluidic system) the first microfluidic channel may be placed into fluidic communication with one or more of the first, second, and third (and optionally fourth) analysis regions. For example, the fluidic connector may connect to one or more inlets of the second, third and/or fourth microfluidic channel(s) upon
5 connection to the microfluidic system. Examples of the device configurations are described in more detail below.

In certain devices described herein, analysis involves the use of a detection antibody that recognizes more than one of iPSA, fPSA, tPSA and hK2. For example, a detection antibody may recognize both PSA and hK2, and then a blocker can be used to interfere with
10 PSA such that only hK2 is detected. For instance, in one particular embodiment, an analysis region may include an anti-hK2 capture antibody (which may also capture, e.g., 5-10% tPSA, and which may be stored in the analysis region prior to use as described herein), as well as blocker antibodies that block the tPSA. An anti-hK2 detector antibody (which may also detect tPSA) can be used to detect the amount of binding of hK2. A different analysis
15 region may include, for example, an anti-tPSA capture antibody (which may be stored in an analysis region prior to use as described herein) that captures both fPSA and tPSA. Two different detector antibodies, e.g., an anti-tPSA detector antibody with a fluorescent tag for one wavelength, and an anti-fPSA detector antibody with a fluorescent tag for a different
20 wavelength, may be used for detection. A different analysis region may include, for example, an anti-fPSA capture antibody, and optionally an anti-iPSA capture antibody. Two different detector antibodies, e.g., an anti-fPSA detector antibody with a fluorescent tag for one wavelength, and an anti-iPSA detector antibody with a fluorescent tag for a different
wavelength, may be used for detection.

In other embodiments, however, specific capture antibodies may be used for
25 detection of the species. Each of the specific capture antibodies may be positioned in different analysis regions, as described herein. Advantageously, the use of specific capture antibodies and/or the positioning of capture antibodies at different analysis regions may allow for the use of the same detection antibody for detection of each of the species. In some such embodiments, the same wavelength may be used to determine each of the
30 species. This may allow for the use of simplified detectors and/or optical components for detection. For example, in some embodiments, detection involves accumulation of an opaque material at different analysis regions that can be determined at a particular wavelength, as described in more detail below.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

For example, in one set of embodiments an anti-iPSA specific capture antibody, an anti-fPSA specific capture antibody, and an anti-tPSA specific capture antibody (and, optionally, an hK2 specific capture antibody) may be included in different analysis regions as described herein, optionally along with negative and positive controls. A detection antibody such as a gold labeled antibody which is anti-PSA and anti-hK2 may be used to detect each of iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2. In other embodiments, however, a mixture of gold labeled antibodies, such as a gold labeled anti-hK2 antibody, gold labeled anti-PSA antibody, and/or gold labeled anti-iPSA antibody may be used for detection. In such a system, the same wavelength may be used to determine each of the species and this may allow for the use of simplified detectors and/or optical components for detection.

Examples of specific systems, devices and analyzers that can be used in combination with embodiments provided herein are now described.

FIG. 5 shows a block diagram 510 of a microfluidic system and various components that may be included according to one set of embodiments. The microfluidic system may include, for example, a cassette 520 operatively associated with one or more components such as a fluid flow source 540 such as a pump (e.g., for introducing one or more fluids into the cassette and/or for controlling the rates of fluid flow), optionally a fluid flow source 540 such as a pump or vacuum that may be configured to apply either of both of a positive pressure or vacuum (e.g., for moving/removing one or more fluids within/from the cassette and/or for controlling the rates of fluid flow), a valving system 528 (e.g., for actuating one or more valves), a detection system 534 (e.g., for detecting one or more fluids and/or processes), and/or a temperature regulating system 541 (e.g., to heat and/or cool one or more regions of the cassette). The components may be external or internal to the microfluidic device, and may optionally include one or more processors for controlling the component or system of components. In certain embodiments, one or more such components and/or processors are associated with a sample analyzer 547 configured to process and/or analyze a sample contained in the cassette. The processor may optionally be programmed to evaluate a linear regression model as described herein.

In general, as used herein, a component that is "operatively associated with" one or more other components indicates that such components are directly connected to each other, in direct physical contact with each other without being connected or attached to each other, or are not directly connected to each other or in contact with each other, but are mechanically, electrically (including via electromagnetic signals transmitted through space),

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

or fluidically interconnected (e.g., via channels such as tubing) so as to cause or enable the components so associated to perform their intended functionality.

The components shown illustratively in FIG. 5, as well as other optional components such as those described herein, may be operatively associated with a control system 550. In some embodiments, the control system may be used to control fluids and/or conduct quality control by the use of feedback from one or more events taking place in the microfluidic system. For instance, the control system may be configured to receive input signals from the one or more components, to calculate and/or control various parameters, to compare one or more signals or a pattern of signals with signals preprogrammed into the control system, and/or to send signals to one or more components to modulate fluid flow and/or control operation of the microfluidic system. The control system may also be optionally associated with other components such as a user interface 554, an identification system 556, an external communication unit 558 (e.g., a USB), and/or other components, as described in more detail below.

Cassette (e.g., microfluidic device) 520 may have any suitable configuration of channels and/or components for performing a desired analysis. In one set of embodiments, cassette 520 contains stored reagents that can be used for performing a chemical and/or biological reaction (e.g., an immunoassay), e.g., as described in more detail herein. The cassette may include, for example, an optional reagent inlet 562 in fluid communication with an optional reagent storage area 564. The storage area may include, for example, one or more channels and/or reservoirs that may, in some embodiments, be partially or completely filled with fluids (e.g., liquids and gases, including immiscible reagents such as reagent solutions and wash solutions, optionally separated by immiscible fluids, as described in more detail herein). The cassette may also include an optional sample or reagent loading area 566, such as a fluidic connector that can be used to connect reagent storage area 564 to an optional analysis region 568. The analysis region, which may include one or more areas for detecting a component in a sample (e.g., analysis regions), may be in fluid communication with an optional waste area 570 and coupled to outlet 572. In some cases, such and other device features may be formed on or in different components or layers of a cassette, as described in more detail herein. Thus, it should be appreciated that a cassette may include a single component, or multiple components that are attached during use, such as a combination of an article with attached fluidic connector as described herein. In one set

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

of embodiments, fluid may flow in the direction of the arrows shown in the figure. Further description and examples of such and other components are provided herein.

In some embodiments, sections 571 and 577 of the cassette are not in fluid communication with one another prior to introduction of a sample into the cassette. In some cases, sections 571 and 577 are not in fluid communication with one another prior to first use of the cassette, wherein at first use, the sections are brought into fluid communication with one another. In other embodiments, however, sections 571 and 577 are in fluid communication with one another prior to first use and/or prior to introduction of a sample into the cassette. Other configurations of cassettes are also possible.

As shown in the exemplary embodiment illustrated in FIG. 5, one or more fluid flow sources 540 such as a pump and/or a vacuum or other pressure-control system, valving system 528, detection system 534, temperature regulating system 541, and/or other components may be operatively associated with one or more of reagent inlet 562, reagent storage area 564, sample or reagent loading area 566, reaction area 568, waste area 570, outlet 572, and/or other regions of cassette 520. Detection of processes or events in one or more regions of the cassette can produce a signal or pattern of signals that can be transmitted to control system 550. Based on the signal(s) received by the control system, this feedback can be used to manipulate fluids within and/or between each of these regions of the microfluidic device, such as by controlling one or more of a pump, vacuum, valving system, detection system, temperature regulating system, and/or other components.

Turning to FIG. 6, one embodiment of a microfluidic sample analyzer 600 is illustrated. As shown in the exemplary embodiment of FIG. 6, the analyzer includes a housing 601 which is configured to cover or retain the components of the analyzer which are discussed in greater detail below. An opening 620 in the housing is configured to receive a cassette 520. As set forth in greater detail below, the analyzer 600 may also include a user interface 650 positioned within the housing which is configured for a user to input information into the sample analyzer. In this particular embodiment, the user interface 650 includes a touch screen, but as discussed below, the user interface may be configured differently.

In some embodiments, the analyzer may include a fluid flow source (e.g., a vacuum system) configured to pressurize the cassette, an identification reader configured to read information associated with the cassette, and a mechanical subsystem which includes a component configured to interface with the cassette to detect the cassette within the housing.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

As mentioned above, an opening in the housing is configured to receive a cassette. The opening 620 may be configured as an elongated slot. The opening may be configured in this manner to receive a substantially card-shaped cassette. It should be appreciated that in other embodiments, the opening may be shaped and configured differently as the invention is not
5 so limited.

As mentioned above, the microfluidic sample analyzer 600 may be configured to receive a variety of types of cassettes 520 (e.g., microfluidic devices). FIGS. 7-11F illustrate various exemplary embodiments of the cassette 520 for use with analyzer 600. As shown, the cassette may be substantially card-shaped (i.e., similar to a card key) having a
10 substantially rigid plate-like structure.

The cassette 520 may be configured to include a fluidic connector 720, which may snap into one end of the cassette. In certain embodiments, the fluidic connector can be used to introduce one or more fluids (e.g., a sample or a reagent) into the cassette.

In one set of embodiments, the fluidic connector is used to fluidly connect two (or
15 more) channels of the cassette during first use, which channels are not connected prior to first use. For example, the cassette may include two channels that are not in fluid communication prior to first use of the cassette. Non-connected channels may be advantageous in certain cases, such as for storing different reagents in each of the channels. For example, a first channel may be used to store dry reagents and a second channel may be
20 used to store wet reagents. Having the channels be physically separated from one another can enhance long-term stability of the reagents stored in each of the channels, e.g., by keeping the reagent(s) stored in dry form protected from moisture that may be produced by reagent(s) stored in wet form. At first use, the channels may be connected via the fluidic connector to allow fluid communication between the channels of the cassette. For instance,
25 the fluidic connector may puncture seals covering inlets and/or outlets of the cassette to allow insertion of the fluidic connector into the cassette.

As used herein, "prior to first use of the cassette" means a time or times before the cassette is first used by an intended user after commercial sale. First use may include any step(s) requiring manipulation of the device by a user. For example, first use may involve
30 one or more steps such as puncturing a sealed inlet to introduce a reagent into the cassette, connecting two or more channels to cause fluid communication between the channels, preparation of the device (e.g., loading of reagents into the device) before analysis of a sample, loading of a sample onto the device, preparation of a sample in a region of the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

device, performing a reaction with a sample, detection of a sample, etc. First use, in this context, does not include manufacture or other preparatory or quality control steps taken by the manufacturer of the cassette. Those of ordinary skill in the art are well aware of the meaning of first use in this context, and will be able easily to determine whether a cassette
5 of the invention has or has not experienced first use. In one set of embodiments, cassette of the invention are disposable after first use (e.g., after completion of an assay), and it is particularly evident when such devices are first used, because it is typically impractical to use the devices at all (e.g., for performing a second assay) after first use.

As shown in exemplary embodiment illustrated in FIG. 8, the fluidic connector 720
10 may include a substantially U-shaped channel 722, or channel having any other suitable shape, which may hold a fluid and/or reagent (e.g., a fluid sample and/or one or more detection antibodies) prior to be connected to the cassette. Channel 722 may be housed between two shell components which form the connector 720. In some embodiments, the fluidic connector may be used to collect a sample from the patient prior to the fluidic
15 connector being connected to the cassette. For example, a lancet or other suitable instrument can be used to obtain a finger-stick blood sample which may then be collected by the fluidic connector 720 and loaded into channel 722 by capillary action. In other embodiments, the fluidic connector 720 may be configured to puncture a patient's finger to collect the sample in the channel 722. In certain embodiments, fluid connector 720 does not
20 contain a sample (or reagent) prior to connection to the cassette, but simply allows fluid communication between two or more channels of the cassette upon connection. In one embodiment, the U-shaped channel is formed with a capillary tube. The fluidic connector can also include other channel configurations, and in some embodiments, may include more than one channels that may be fluidically connected or unconnected to one another.

FIGS. 9-11F illustrate various exemplary embodiments of the cassette 520 in greater
25 detail. As shown illustratively in the exploded assembly view of FIG. 9, the cassette 520 may include a cassette body 704 which includes at least one channel 706 configured to receive a sample or reagent and through which a sample or reagent may flow. The cassette body 704 may also include latches 708 positioned on one end that interlock with the fluidic
30 connector alignment element 702 for a snap fit.

The cassette 520 may also include top and bottom covers 710 and 712, which may, for example, be made of a transparent material. In some embodiments, a cover can be in the form of a biocompatible adhesive and can be made of a polymer (e.g., polyethylene (PE), a

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

cyclic olefin copolymer (COC), polyvinyl chloride (PVC)) or an inorganic material for example. In some cases, one or more covers are in the form of an adhesive film (e.g., a tape). For some applications, the material and dimensions of a cover are chosen such that the cover is substantially impermeable to water vapor. In other embodiments, the cover can
5 be non-adhesive, but may bond thermally to the microfluidic substrate by direct application of heat, laser energy, or ultrasonic energy. Any inlet(s) and/or outlet(s) of a channel of the cassette can be sealed (e.g., by placing an adhesive over the inlet(s) and/or outlet(s)) using one or more covers. In some cases, the cover substantially seals one or more stored reagents in the cassette.

10 As illustrated, the cassette body 704 may include one or more ports 714 coupled to the channel 706 in the cassette body 704. These ports 714 can be configured to align with the substantially U-shaped channel 722 in the fluidic connector 720 when the fluidic connector 720 is coupled to the cassette 520 to fluidly connect the channel 706 in the cassette body 704 with the channel 722 in the fluidic connector 720. In certain
15 embodiments, substantially U-shaped channel 722 can also be fluidically connected to channel 707, thereby coupling channels 706 and 707. As shown, a cover 716 may be provided over the ports 714 and the cover 716 may be configured to be pieced or otherwise opened (e.g., by the connector 720 or by other means) to fluidly connect the two channels 706 and 722. Additionally, a cover 718 may be provided to cover port 719 (e.g., a vacuum
20 port) in the cassette body 704. As set forth in further detail below, the port 719 may be configured to fluidly connect a fluid flow source 540 with the channel 706 to move a sample through the cassette. The cover 718 over the port 719 may be configured to be pierced or otherwise opened to fluidly connect the channel 706 with the fluid flow source 540.

The cassette body 704 may optionally include a liquid containment region such as a
25 waste area, including an absorbent material 717 (e.g., a waste pad). In some embodiments, the liquid containment region includes regions that capture one or more liquids flowing in the cassette, while allowing gases or other fluids in the cassette to pass through the region. This may be achieved, in some embodiments, by positioning one or more absorbent materials in the liquid containment region for absorbing the liquids. This configuration may
30 be useful for removing air bubbles from a stream of fluid and/or for separating hydrophobic liquids from hydrophilic liquids. In certain embodiments, the liquid containment region prevents liquids from passing through the region. In some such cases, the liquid containment region may act as a waste area by capturing substantially all of the liquid in the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

cassette, thereby preventing liquid from exiting the cassette (e.g., while allowing gases to escape from an outlet of the cassette). For example, the waste area may be used to store the sample and/or reagents in the cassette after they have passed through the channel 706 during the analysis of the sample. These and other arrangements may be useful when the cassette is
5 used as a diagnostic tool, as the liquid containment region may prevent a user from being exposed to potentially-harmful fluids in the cassette.

The schematic view of the cassette 520 illustrated in FIG. 10 shows one embodiment where the cassette 520 includes a first channel 706 and a second channel 707 spaced apart from the first channel 706. In one embodiment, the channels 706, 707 range in largest cross-
10 section dimension from approximately 50 micrometers to approximately 500 micrometers, although other channel sizes and configurations may be used, as described in more detail below.

The first channel 706 may include one or more analysis regions 709 used to analyze the sample. For example, in one illustrative embodiment, the channel 706 includes four
15 analysis regions 709 (e.g., connected in series or in parallel) which are utilized during sample analysis. As described herein, each of the analysis regions may be adapted to detect one or more of iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2.

In certain embodiments, one or more analysis regions are in the form of meandering regions (e.g., regions involving meandering channels). A meandering region may, for
20 example, be defined by an area of at least 0.25 mm^2 , at least 0.5 mm^2 , at least 0.75 mm^2 , or at least 1.0 mm^2 , wherein at least 25%, 50%, or 75% of the area of the meandering region comprises an optical detection pathway. A detector that allows measurement of a single signal through more than one adjacent segments of the meandering region may be positioned adjacent the meandering region. In some cases, channel 706 is fluidically connected to at
25 least two meandering regions connected in series.

As described herein, the first channel 706 and/or the second channel 707 may be used to store one or more reagents (e.g., capture antibodies for iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2) used to process and analyze the sample prior to first use of the cassette. In some
30 embodiments, dry reagents are stored in one channel or section of a cassette and wet reagents are stored in a second channel or section of cassette. Alternatively, two separate sections or channels of a cassette may both contain dry reagents and/or wet reagents. Reagents can be stored and/or disposed, for example, as a liquid, a gas, a gel, a plurality of particles, or a film. The reagents may be positioned in any suitable portion of a cassette,

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

including, but not limited to, in a channel, reservoir, on a surface, and in or on a membrane, which may optionally be part of a reagent storage area. A reagent may be associated with a cassette (or components of a cassette) in any suitable manner. For example, reagents may be crosslinked (e.g., covalently or ionically), absorbed, or adsorbed (physisorbed) onto a
5 surface within the cassette. In one particular embodiment, all or a portion of a channel (such as a fluid path of a fluid connector or a channel of the cassette) is coated with an anti-coagulant (e.g., heparin). In some cases, a liquid is contained within a channel or reservoir of a cassette prior to first use and/or prior to introduction of a sample into the cassette.

In some embodiments, the stored reagents may include fluid plugs positioned in
10 linear order so that during use, as fluids flow to an analysis region, they are delivered in a predetermined sequence. A cassette designed to perform an assay, for example, may include, in series, a rinse fluid, a labeled-antibody fluid, a rinse fluid, and an amplification fluid, all stored therein. While the fluids are stored, they may be kept separated by substantially immiscible separation fluids (e.g., a gas such as air) so that fluid reagents that
15 would normally react with each other when in contact may be stored in a common channel.

Reagents can be stored in a cassette for various amounts of time. For example, a reagent may be stored for longer than 1 hour, longer than 6 hours, longer than 12 hours, longer than 1 day, longer than 1 week, longer than 1 month, longer than 3 months, longer than 6 months, longer than 1 year, or longer than 2 years. Optionally, the cassette may be
20 treated in a suitable manner in order to prolong storage. For instance, cassettes having stored reagents contained therein may be vacuum sealed, stored in a dark environment, and/or stored at low temperatures (e.g., below 0 degrees C). The length of storage depends on one or more factors such as the particular reagents used, the form of the stored reagents (e.g., wet or dry), the dimensions and materials used to form the substrate and cover layer(s),
25 the method of adhering the substrate and cover layer(s), and how the cassette is treated or stored as a whole. Storing of a reagent (e.g., a liquid or dry reagent) in a channel may involve sealing the inlet(s) and outlet(s) of the channel prior to first use or during packaging of the device.

As illustrated in the exemplary embodiment shown in FIGS. 10 and 11A-11F,
30 channels 706 and 707 may not be in fluid communication with each other until the fluidic connector 720 is coupled to the cassette 520. In other words, the two channels, in some embodiments, are not in fluid communication with one another prior to first use and/or prior to introduction of a sample into the cassette. In particular, as illustrated, the substantially U-

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

shaped channel 722 of the connector 720 may fluidly connect the first and second channels 706, 707 such that the reagents in the second channel 707 can pass through the U-shaped channel 522 and selectively move into the analysis regions 709 in the first channel 706. In other embodiments, the two channels 706 and 707 are in fluid communication with one another prior to first use, and/or prior to introduction of a sample into the cassette, but the fluidic connector further connects the two channels (e.g., to form a closed-loop system) upon first use.

In some embodiments, a cassette described herein may include one more microfluidic channels, although such cassettes are not limited to microfluidic systems and may relate to other types of fluidic systems. A cassette, device, apparatus or system that is microfluidic may include, for example, at least one fluid channel having a maximum cross-sectional dimension of less than 1 mm, and a ratio of length to largest cross-sectional dimension of at least 3:1.

The cross-sectional dimension (e.g., a diameter) of the channel is measured perpendicular to the direction of fluid flow. Most fluid channels in components of cassettes described herein have maximum cross-sectional dimensions less than 2 mm, and in some cases, less than 1 mm. In one set of embodiments, all fluid channels of a cassette are microfluidic or have a largest cross sectional dimension of no more than 2 mm or 1 mm. In another set of embodiments, the maximum cross-sectional dimension of the channel(s) are less than 500 microns, less than 200 microns, less than 100 microns, less than 50 microns, or less than 25 microns. In some cases the dimensions of the channel may be chosen such that fluid is able to freely flow through the article or substrate. The dimensions of the channel may also be chosen, for example, to allow a certain volumetric or linear flowrate of fluid in the channel. Of course, the number of channels and the shape of the channels can be varied by any suitable method known to those of ordinary skill in the art. In some cases, more than one channel or capillary may be used.

A channel may include a feature on or in an article (e.g., a cassette) that at least partially directs the flow of a fluid. The channel can have any suitable cross-sectional shape (circular, oval, triangular, irregular, square or rectangular, or the like) and can be covered or uncovered. In embodiments where it is completely covered, at least one portion of the channel can have a cross-section that is completely enclosed, or the entire channel may be completely enclosed along its entire length with the exception of its inlet(s) and outlet(s). A

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

channel may also have an aspect ratio (length to average cross sectional dimension) of at least 2:1, more typically at least 3:1, 5:1, or 10:1 or more.

Cassettes described herein may include channels or channel segments positioned on one or two sides of the cassette (or a substrate layer of the cassette). In some cases, the channels are formed in a surface of the cassette. The channel segments may be connected
5 by an intervening channel passing through the cassette. In some embodiments, the channel segments are used to store reagents in the device prior to first use by an end user. The specific geometry of the channel segments and the positions of the channel segments within the cassettes may allow fluid reagents to be stored for extended periods of time without
10 mixing, even during routine handling of the cassettes such as during shipping of the cassettes, and when the cassettes are subjected to physical shock or vibration.

In certain embodiments, a cassette includes optical elements that are fabricated on one side of a cassette opposite a series of fluidic channels. An "optical element" is used to refer to a feature formed or positioned on or in an article or cassette that is provided for and
15 used to change the direction (e.g., via refraction or reflection), focus, polarization, and/or other property of incident electromagnetic radiation relative to the light incident upon the article or cassette in the absence of the element. For example, an optical element may comprise a lens (e.g., concave or convex), mirror, grating, groove, or other feature formed or positioned in or on a cassette. A cassette itself absent a unique feature, however, would not
20 constitute an optical element, even though one or more properties of incident light may change upon interaction with the cassette. The optical elements may guide incident light passing through the cassette such that most of the light is dispersed away from specific areas of the cassette, such as intervening portions between the fluidic channels. By decreasing the amount of light incident upon these intervening portions, the amount of noise in a detection
25 signal can be decreased when using certain optical detection systems. In some embodiments, the optical elements comprise triangular grooves formed on or in a surface of the cassette. The draft angle of the triangular grooves may be chosen such that incident light normal to the surface of the cassette is redirected at an angle dependent upon the indices of refraction of the external medium (e.g., air) and the cassette material. In some
30 embodiments, one or more optical elements are positioned between adjacent segments of a meandering region of an analysis region.

A cassette, or portions thereof, can be fabricated of any material suitable for forming a channel or other component. Non-limiting examples of materials include polymers (e.g.,

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

polyethylene, polystyrene, polymethylmethacrylate, polycarbonate, poly(dimethylsiloxane), PVC, PTFE, PET, and a cyclo-olefin copolymer), glass, quartz, and silicon. The material forming the cassette and any associated components (e.g., a cover) may be hard or flexible. Those of ordinary skill in the art can readily select suitable material(s) based upon e.g., its

5 rigidity, its inertness to (e.g., freedom from degradation by) a fluid to be passed through it, its robustness at a temperature at which a particular device is to be used, its transparency/opacity to light (e.g., in the ultraviolet and visible regions), and/or the method used to fabricate features in the material. For instance, for injection molded or other extruded articles, the material used may include a thermoplastic (e.g., polypropylene,

10 polycarbonate, acrylonitrile-butadiene-styrene, nylon 6), an elastomer (e.g., polyisoprene, isobutene-isoprene, nitrile, neoprene, ethylene-propylene, hypalon, silicone), a thermoset (e.g., epoxy, unsaturated polyesters, phenolics), or combinations thereof. As described in more detail below, cassettes including two or more components or layers may be formed in different materials to tailor the components to the major function(s) of the each of the

15 components, e.g., based upon those factors described above and herein.

In some embodiments, the material and dimensions (e.g., thickness) of a cassette and/or cover are chosen such that it is substantially impermeable to water vapor. For instance, a cassette designed to store one or more fluids therein prior to first use may include a cover comprising a material known to provide a high vapor barrier, such as metal foil,

20 certain polymers, certain ceramics and combinations thereof. Examples of materials having low water vapor permeability are provided below. In other cases, the material is chosen based at least in part on the shape and/or configuration of the cassette. For instance, certain materials can be used to form planar devices whereas other materials are more suitable for forming devices that are curved or irregularly shaped.

In some instances, a cassette is comprised of a combination of two or more materials, such as the ones listed above. For instance, channels of the cassette may be formed in polystyrene or other polymers (e.g., by injection molding) and a biocompatible tape may be used to seal the channels. The biocompatible tape or flexible material may include a material known to improve vapor barrier properties (e.g., metal foil, polymers or other

30 materials known to have high vapor barriers), and may optionally allow access to inlets and outlets by puncturing or unpeeling the tape. A variety of methods can be used to seal a microfluidic channel or portions of a channel, or to join multiple layers of a device, including but not limited to, the use of adhesives, use adhesive tapes, gluing, bonding,

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

lamination of materials, or by mechanical methods (e.g., clamping, snapping mechanisms, etc.).

In some instances, a cassette comprises a combination of two or more separate components (e.g., layers or cassettes) mounted together. Independent channel networks
5 (such as sections 571 and 577 of FIG. 5), which may optionally include reagents stored therein prior to first use, may be included on or in the different components of the cassette. The separate components may be mounted together or otherwise associated with one another by any suitable means, such as by the methods described herein, e.g., to form a single (composite) cassette. In some embodiments, two or more channel networks are positioned
10 in different components or layers of the cassette and are not connected fluidically prior to first use, but are connected fluidically at first use, e.g., by use of a fluidic connector. In other embodiments, the two or more channel networks are connected fluidically prior to first use.

Advantageously, each of the different components or layers that form a composite
15 cassette may be tailored individually depending on the designed function(s) of that component or layer. For example, in one set of embodiments, one component of a composite cassette may be tailored for storing wet reagents. In some such embodiments, that component may be formed in a material having a relatively low vapor permeability. Additionally or alternatively, e.g., depending on the amount of fluids to be stored, the
20 storage region(s) of that cassette may be made with larger cross-sectional dimensions than channels or regions of other components not used for storage of liquids. The material used to form the cassette may be compatible with fabrication techniques suitable for forming larger cross-sectional dimensions. By contrast, a second component that may be tailored for detection of an analyte may, in some embodiments, include channel portions having smaller
25 cross-sectional dimensions. Smaller cross-sectional dimensions may be useful, for example, in certain embodiments to allow more contact time between fluids flowing in the channel (e.g., a reagent solution or a wash fluid) and an analyte bound to a surface of the channel, for a given volume of fluid. Additionally or alternatively, a channel portion of the second component may have a lower surface roughness (e.g., to increase the signal to noise ratio
30 during detection) compared to a channel portion of another component. The smaller-cross sectional dimensions or lower surface roughness of the channel portions of the second component may, in certain embodiments, require a certain fabrication technique or fabrication tool different from that used to form a different component of the cassette.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Furthermore, in some particular embodiments, the material used for the second component may be well characterized for protein attachment and detection. As such, it may be advantageous to form different channels portions used for different purposes on different components of a cassette, which can then be joined together prior to use by an intended user.

5 Other advantages, features of components, and examples are provided below.

FIGS. 11B-11E show a device that may include multiple components or layers 520B and 520C that are combined to form a single cassette. As shown in these illustrative embodiments, component 520B may include a first side 521A and a second side 521B. Component 520C may include a first side 522A and a second side 522B. Device
10 components or parts described herein such as channels or other entities may be formed at, on, or in the first side of a component, a second side of a component and/or through the component in some embodiments. For example, as shown illustratively in FIG. 11C, component 520C may include a channel 706 having an inlet and an outlet, and may be formed in a first material. Channel 706 may have any suitable configuration as described
15 herein and may include, for example, one or more reagent storage regions, analysis regions, liquid containment regions, mixing regions, and the like. In some embodiments, channel 706 is not formed through the entire thickness of component 520B. That is, the channel may be formed at or in one side of the component. Channel 706 may be optionally enclosed by a cover as described herein such as a tape (not shown), another component or layer of the
20 cassette, or other suitable component. In other embodiments, channel 706 is formed through the entire thickness of component 520B and covers are required on both sides of the cassette to enclose the channel. As described herein, different layers or components may include different analysis regions for determining species within a sample. For instance, capture antibodies for iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2 may be positioned in different analysis regions,
25 optionally in different components or layers of a cassette such as the one shown.

Component 520B may include channel 707 having an inlet and an outlet, and may be formed in a second material, which may be the same or different as the first material. Channel 707 may also have any suitable configuration as described herein, and may or may
30 not be formed through the entire thickness of component 520C. Channel 707 may be enclosed by one or more covers. In some cases, the cover is not a component that includes one or more fluidic channels such as component 520C. For example, the cover may be a biocompatible tape or other surface positioned between components 520B and 520C. In other embodiments, channel 707 may be substantially enclosed by component 520C. That

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

is, surface 522A of component 520C may form a portion of channel 707 as components 520B and 520C lay directly adjacent to one another.

As shown illustratively in FIGS. 11D and 11E, components 520B and 520C may be substantially planar and may lay on top of one another. In general, however, the two or
5 more components forming a cassette can lay in any suitable configuration with respect to one another. In some cases, the components lay adjacent to one another (e.g., side by side, on top of one another). The first components may completely overlap or only portions of the components may overlap with one another. For example, as shown illustratively in
10 FIGS. 11D and 11E, component 520C may extend further than component 520B such that a portion of component 520C is not overlapping or covered by component 520B. In some cases, this configuration can be advantageous where component 520C is substantially transparent and requires light to travel through a portion of the component (e.g., a reaction area, analysis region, or detection region), and where component 520B is opaque or less transparent than component 520C.

15 Furthermore, the first and second components may include any suitable shape and/or configuration. For instance, in some embodiments, the first component includes a feature complementary to a feature of the second component, so as to form a non-fluidic connection between the first and second components. The complementary features may, for example, aid alignment of the first and second components during assembly.

20 The first and second components may be integrally connected to one another in some embodiments. As used herein, the term “integrally connected,” when referring to two or more objects, means objects that do not become separated from each other during the course of normal use, e.g., cannot be separated manually; separation requires at least the use of tools, and/or by causing damage to at least one of the components, for example, by breaking,
25 peeling, or separating components fastened together via adhesives or tools. Integrally connected components may be irreversibly attached to one another during the course of normal use. For example, components 520B and 520C may be integrally connected by use of an adhesive or by other bonding methods. In other embodiments, two or more components of a cassette may be reversibly attached to one another.

30 As described herein, in some embodiments at least a first component and a second component forming a composite cassette may be formed in different materials. The system may be designed such that the first component includes a first material that aids or enhances one or more functionalities of the first component. For example, if the first component is

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

designed to store a liquid reagent (e.g., in a channel of the component) prior to first use by a user (e.g., for at least a day, a week, a month, or a year), the first material may be chosen to have a relatively low vapor permeability so as to reduce the amount of evaporation of the stored liquid over time. It should be understood, however, that the same materials may be used for multiple components (e.g., layers) of a cassette in some embodiments. For instance, both first and second components of a cassette may be formed in a material having a low water vapor permeability.

In certain embodiments, first and second components of a cassette have different degrees of optical clarity. For example, a first component may be substantially opaque, and a second component may be substantially transparent. The substantially transparent component may be suitable for optical detection of a sample or analyte contained within the component.

In one set of embodiments, a material used form a component (e.g., a first or a second component) of a cassette has an optical transmission of greater than 90% between 400 and 800 nm wavelengths of light (e.g., light in the visible range). Optical transmission may be measured through a material having a thickness of, for example, about 2 mm (or in other embodiments, about 1 mm or about 0.1 mm). In some instances, the optical transmission is greater than 80%, greater than 85%, greater than 88%, greater than 92%, greater than 94%, or greater than 96% between 400 and 800 nm wavelengths of light. Another component of the device may be formed in a material having an optical transmission of less than 96%, less than 94%, less than 92%, less than 90%, less than 85%, less than 80%, less than 50%, less than 30%, or less than 10% between 400 and 800 nm wavelengths of light.

As described herein, in some embodiments a channel of a first component of a cassette is not in fluid communication with a channel of a second component of a cassette prior to first use by a user. For instance, even after mating of the two components, as shown illustratively in FIG. 11D, channels 706 and 707 are not in fluid communication with one another. However, the cassette may further include other parts or components such as fluidic connector alignment element 702 (FIG. 11E), which can attach to first and/or second components 520B and 520C or to other portions of the cassette. As described herein, the fluidic connector alignment element may be configured to receive and mate with fluidic connector 720, which can allow fluid communication between channels 706 and 707 of the first and second components, respectively. For example, the fluidic connector may include a

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

fluid path including a fluid path inlet and a fluid path outlet, wherein the fluid path inlet can be fluidically connected to the outlet of channel 706 and the fluid path outlet can be fluidically connected to the inlet of channel 707 (or vice versa). The fluid path of the fluidic connector may have any suitable length (e.g., at least 1 cm, at least 2 cm, at least 3 cm, at least 5 cm) for connecting the channels. The fluidic connector may be a part of a kit along with a cassette, and packaged such that the fluidic connector is not fluidically connecting channels 706 and 707.

A fluidic connector may have any suitable configuration with respect to a cassette, or components of a cassette. As shown illustratively in FIG. 11E, upon connection of the fluidic connector to the cassette, the fluidic connector may be positioned on a side of a component (e.g., component 520B) opposite another component (e.g., component 520C). In other embodiments, a fluidic connector can be positioned between two components of a cassette. For instance, the fluidic connector may be a component or layer positioned between (e.g., sandwiched between) two components of the cassette. Other configurations are also possible.

Although much of the description herein is directed towards a cassette having one or more components or layers including channel networks, in other embodiments, a cassette may include more than 2, more than 3, or more than 4 such components or layers. For example, as shown illustratively in FIG. 11F, a cassette may include components 520B, 520C, 520D, and 520E, each including at least one channel or network of channels. In some instances, the channel(s) of one or more components (e.g., 2, 3, or all components) may be fluidically unconnected prior to first use, but may be connected fluidically at first use, e.g., by use of a fluidic connector. In other embodiments, the channel(s) of one or more components (e.g., 2, 3, or all components) are connected fluidically prior to first use.

As described herein, each of the components or layers of a cassette may be designed to have a specific function that is different from a function of another component of the cassette. In other embodiments, two or more components may have the same function. For example, as shown in the illustrative embodiment of FIG. 11F, each of components 520C, 520D and 520E may have one or multiple analysis regions 709 connected in series. Upon connection of fluidic connector 722 to the composite cassette, portions of a sample (or multiple samples) may be introduced into the channel network in each of components 520C, 520D and 520E to perform multiple analyses. For instance, each of the analysis regions may include one or more binding partners for detecting one or more of iPSA, fPSA, tPSA and/or

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

hK2 (e.g., capture antibodies for iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2). As described herein, in some embodiments the use of specific capture antibodies and/or the separation of capture antibodies at different analysis regions may allow for the use of the same detection antibody for detection of each of the species. In some such embodiments, the same wavelength may
5 be used to determine each of the species. This may allow for the use of simplified detectors and/or optical components for detection. For example, in some embodiments, detection involves accumulation of an opaque material at different analysis regions that can be determined at a particular wavelength.

In some embodiments, at least first and second components of a cassette may be a
10 part of a device or a kit used for determining a particular chemical or biological condition. The device or kit may include, for example, a first component comprising a first channel in a first material, the first channel including an inlet, an outlet and, between the first inlet and outlet, at least one portion having a cross-sectional dimension greater than 200 microns. The device or kit may also include a second component comprising a second channel in a
15 second material, the second channel including an inlet, an outlet and, between the second inlet and outlet, at least one portion having a cross-sectional dimension less than 200 microns. In some cases, the device or kit is packaged such that the first and second components are connected to one another. For example, the first and second components may be integrally connected to one another. In other embodiments, the first and second
20 components are reversibly attached to one another. The device or kit may further include a fluidic connector for fluidically connecting the first and second channels, the fluidic connector comprising a fluid path, including a fluid path inlet and a fluid path outlet, wherein the fluid path inlet can be fluidically connected to the outlet of the first channel and the fluid path outlet can be fluidically connected to the inlet of the second channel. In some
25 embodiments, the device or kit is packaged such that the fluidic connector is not fluidically connecting the first and second channels in the package. Upon first use of the device by an intended user, the fluidic connector can be used to bring the first and second channels into fluid communication with one another.

A cassette described herein may have any suitable volume for carrying out an
30 analysis such as a chemical and/or biological reaction or other process. The entire volume of a cassette includes, for example, any reagent storage areas, analysis regions, liquid containment regions, waste areas, as well as any fluid connectors, and fluidic channels associated therewith. In some embodiments, small amounts of reagents and samples are

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

used and the entire volume of the fluidic device is, for example, less than 10 mL, 5 mL, 1 mL, 500 μ L, 250 μ L, 100 μ L, 50 μ L, 25 μ L, 10 μ L, 5 μ L, or 1 μ L.

A cassette described herein may be portable and, in some embodiments, handheld. The length and/or width of the cassette may be, for example, less than or equal to 20 cm, 15 cm, 10 cm, 8 cm, 6 cm, or 5 cm. The thickness of the cassette may be, for example, less than or equal to 5cm, 3 cm, 2 cm, 1 cm, 8 mm, 5 mm, 3 mm, 2 mm, or 1 mm. Advantageously, portable devices may be suitable for use in point-of-care settings.

It should be understood that the cassettes and their respective components described herein are exemplary and that other configurations and/or types of cassettes and components can be used with the systems and methods described herein.

The methods and systems described herein may involve variety of different types of analyses, and can be used to determine a variety of different samples. In some cases, an analysis involves a chemical and/or biological reaction. In some embodiments, a chemical and/or biological reaction involves binding. Different types of binding may take place in cassettes described herein. Binding may involve the interaction between a corresponding pair of molecules (e.g., binding partners) that exhibit mutual affinity or binding capacity, typically specific or non-specific binding or interaction, including biochemical, physiological, and/or pharmaceutical interactions. Biological binding defines a type of interaction that occurs between pairs of molecules (e.g., binding partners) including proteins, nucleic acids, glycoproteins, carbohydrates, hormones and the like. Specific examples include antibody/antigen, antibody fragment/antigen, antibody/hapten, antibody fragment/hapten, enzyme/substrate, enzyme/inhibitor, enzyme/cofactor, binding protein/substrate, carrier protein/substrate, lectin/carbohydrate, receptor/hormone, receptor/effector, complementary strands of nucleic acid, protein/nucleic acid repressor/inducer, ligand/cell surface receptor, virus/ligand, etc. Binding may also occur between proteins or other components and cells. In addition, devices described herein may be used for other fluid analyses (which may or may not involve binding and/or reactions) such as detection of components, concentration, etc.

In some cases, a heterogeneous reaction (or assay) may take place in a cassette; for example, a binding partner may be associated with a surface of a channel, and the complementary binding partner may be present in the fluid phase. Other solid-phase assays that involve affinity reaction between proteins or other biomolecules (e.g., DNA, RNA, carbohydrates), or non-naturally occurring molecules, can also be performed. Non-limiting

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

examples of typical reactions that can be performed in a cassette include chemical reactions, enzymatic reactions, immuno-based reactions (e.g., antigen-antibody), and cell-based reactions.

5 Typical sample fluids include physiological fluids such as human or animal whole blood, blood serum, blood plasma, semen, tears, urine, sweat, saliva, cerebro-spinal fluid, vaginal secretions; in-vitro fluids used in research or environmental fluids such as aqueous liquids suspected of being contaminated by the analyte.

10 In some embodiments, one or more reagents that can be used to determine an analyte of a sample (e.g., a binding partner of the analyte to be determined) is stored in a channel or chamber of a cassette prior to first use in order to perform a specific test or assay. In cases where an antigen is being analyzed, a corresponding antibody or aptamer can be the binding partner associated with a surface of a microfluidic channel. If an antibody is the analyte, then an appropriate antigen or aptamer may be the binding partner associated with the surface. When a disease condition is being determined, it may be preferred to put the
15 antigen on the surface and to test for an antibody that has been produced in the subject. It should be appreciated that while antibodies are referred to herein, antibody fragments may be used in combination with or in place of antibodies.

In some embodiments, a cassette is adapted and arranged to perform an analysis involving accumulating an opaque material on a region of a microfluidic channel, exposing
20 the region to light, and determining the transmission of light through the opaque material. An opaque material may include a substance that interferes with the transmittance of light at one or more wavelengths. An opaque material does not merely refract light, but reduces the amount of transmission through the material by, for example, absorbing or reflecting light. Different opaque materials or different amounts of an opaque material may allow
25 transmittance of less than, for example, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 or 1 percent of the light illuminating the opaque material. Examples of opaque materials include molecular layers of metal (e.g., elemental metal), ceramic layers, polymeric layers, and layers of an opaque substance (e.g., a dye). The opaque material may, in some cases, be a metal that can be electrolessly deposited. These metals may include, for example, silver, copper, nickel,
30 cobalt, palladium, and platinum.

An opaque material that forms in a channel may include a series of discontinuous independent particles that together form an opaque layer, but in one embodiment, is a continuous material that takes on a generally planar shape. The opaque material may have a

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

dimension (e.g., a width of length) of, for example, greater than or equal to 1 micron, greater than or equal to 5 microns, greater than 10 microns, greater than or equal to 25 microns, or greater than or equal to 50 microns. In some cases, the opaque material extends across the width of the channel (e.g., an analysis region) containing the opaque material. The opaque layer may have a thickness of, for example, less than or equal to 10 microns, less than or equal to 5 microns, less than or equal to 1 micron, less than or equal to 100 nanometers or less than or equal to 10 nanometers. Even at these small thicknesses, a detectable change in transmittance can be obtained. The opaque layer may provide an increase in assay sensitivity when compared to techniques that do not form an opaque layer.

10 In one set of embodiments, a cassette described herein is used for performing an immunoassay (e.g., for determining tPSA, iPSA, fPSA and/or hK2) and, optionally, uses silver enhancement for signal amplification. In such an immunoassay, after delivery of a sample containing a blood marker to be detected at an analysis regions, binding between the blood marker and the corresponding binding partner can take place. One or more reagents, which may be optionally stored in a channel of the device prior to use, can then flow over this binding pair complex. One of the stored reagents may include a solution containing one or more metal colloids that binds to the antigen to be detected. For instance, a gold labeled antibody which is anti-PSA and anti-hK2 may be used to detect each of iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2. In another example, a mixture of gold labeled antibodies, such as a gold labeled anti-hK2 antibody, gold labeled anti-PSA antibody, and/or gold labeled anti-iPSA antibody may be used for detection. Such reagents may be stored in the cassette, e.g., prior to use. The metal colloid can provide a catalytic surface for the deposition of an opaque material, such as a layer of metal (e.g., silver), on a surface of the one or more analysis regions. The layer of metal can be formed by using a two component system: a metal precursor (e.g., a solution of silver salts) and a reducing agent (e.g., hydroquinone, chlorohydroquinone, pyrogallol, metol, 4-aminophenol and phenidone), which can optionally be stored in different channels prior to use.

25 As a positive or negative pressure differential is applied to the system, the silver salt and reducing solutions can mix (e.g., merge at a channel intersection), and then flow over the analysis region. Therefore, if antibody-antigen binding occurs in the analysis region, the flowing of the metal precursor solution through the region can result in the formation of an opaque layer, such as a silver layer, due to the presence of the catalytic metal colloid associated with the antibody-antigen complex. The opaque layer may include a substance

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

that interferes with the transmittance of light at one or more wavelengths. An opaque layer that is formed in the channel can be detected optically, for example, by measuring a reduction in light transmittance through a portion of the analysis region (e.g., a serpentine channel region) compared to a portion of an area that does not include the antibody or antigen. Alternatively, a signal can be obtained by measuring the variation of light transmittance as a function of time, as the film is being formed in an analysis region. The opaque layer may provide an increase in assay sensitivity when compared to techniques that do not form an opaque layer. Additionally, various amplification chemistries that produce optical signals (e.g., absorbance, fluorescence, glow or flash chemiluminescence, electrochemiluminescence), electrical signals (e.g., resistance or conductivity of metal structures created by an electroless process) or magnetic signals (e.g., magnetic beads) can be used to allow detection of a signal by a detector.

Various types of fluids can be used with the cassettes described herein. As described herein, fluids may be introduced into the cassette at first use, and/or stored within the cassette prior to first use. Fluids include liquids such as solvents, solutions and suspensions. Fluids also include gases and mixtures of gases. When multiple fluids are contained in a cassette, the fluids may be separated by another fluid that is preferably substantially immiscible in each of the first two fluids. For example, if a channel contains two different aqueous solutions, a separation plug of a third fluid may be substantially immiscible in both of the aqueous solutions. When aqueous solutions are to be kept separate, substantially immiscible fluids that can be used as separators may include gases such as air or nitrogen, or hydrophobic fluids that are substantially immiscible with the aqueous fluids. Fluids may also be chosen based on the fluid's reactivity with adjacent fluids. For example, an inert gas such as nitrogen may be used in some embodiments and may help preserve and/or stabilize any adjacent fluids. An example of an substantially immiscible liquid for separating aqueous solutions is perfluorodecalin. The choice of a separator fluid may be made based on other factors as well, including any effect that the separator fluid may have on the surface tension of the adjacent fluid plugs. It may be preferred to maximize the surface tension within any fluid plug to promote retention of the fluid plug as a single continuous unit under varying environmental conditions such as vibration, shock and temperature variations. Separator fluids may also be inert to an analysis region to which the fluids will be supplied. For example, if an analysis region includes a biological binding partner, a separator fluid such as air or nitrogen may have little or no effect on the binding partner. The use of a gas

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

(e.g., air) as a separator fluid may also provide room for expansion within a channel of a fluidic device should liquids contained in the device expand or contract due to changes such as temperature (including freezing) or pressure variations.

The microfluidic sample analyzer may include a fluid flow source (e.g., a pressure-control system) which may be fluidly connected to the channels 706, 707, 722 to pressurize the channels to move the sample and/or other reagents through the channels. In particular, the fluid flow source may be configured to move a sample and/or reagent initially from the substantially U-shaped channel 722 into the first channel 706. The fluid flow source may also be used to move the reagents in the second channel 707 through the substantially U-shaped channel 722 and into the first channel 706. After the sample and reagents pass through the analysis regions 709 and are analyzed, the fluid flow source 540 may be configured to move the fluids into the absorbent material 717 of the cassette. In one embodiment, the fluid flow source is a vacuum system. It should be understood, however, that other sources of fluid flow such as valves, pumps, and/or other components can be used.

As described herein, in some embodiments a vacuum source may be used to drive fluid flow. A vacuum source may include a pump, such as a solenoid operated diaphragm pump. In other embodiments, fluid flow may be driven/controlled via use of other types of pumps or sources of fluid flow. For example, in one embodiment, a syringe pump may be used to create a vacuum by pulling the syringe plunger in an outward direction. In other embodiments, a positive pressure is applied to one or more inlets of the cassette to provide a source of fluid flow.

In some embodiments, fluid flow takes place while applying a substantially constant non-zero pressure drop (i.e., ΔP) across an inlet and an outlet of a cassette. In one set of embodiments, an entire analysis is performed while applying a substantially constant non-zero pressure drop (i.e., ΔP) across an inlet and an outlet of a cassette. A substantially constant non-zero pressure drop can be achieved, for example, by applying a positive pressure at the inlet or a reduced pressure (e.g., a vacuum) at the outlet. In some cases, a substantially constant non-zero pressure drop is achieved while fluid flow does not take place predominately by capillary forces and/or without the use of actuating valves (e.g., without changing a cross-sectional area of a channel of a fluid path of the cassette). In some embodiments, during essentially the entire analysis conducted in the cassette, a substantially constant non-zero pressure drop may be present across, for example, an inlet to an analysis

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

region (which may be connected to a fluidic connector) and an outlet downstream of the analysis region (e.g., an outlet downstream of a liquid containment region), respectively.

In one embodiment, a vacuum source is configured to pressurize a channel to approximately -60kPa (approximately 2/3 atmosphere). In another embodiment, the vacuum source is configured to pressurize a channel to approximately -30kPa. In certain 5 embodiments, a vacuum source is configured to pressurize a channel to, for example, between -100kPa and -70kPa, between -70kPa and -50kPa, between -50kPa and -20kPa, or between -20kPa and -1kPa.

Once the cassette is positioned within the analyzer, the fluid flow source may be 10 coupled to the cassette to ensure a fluid-tight connection. As mentioned above, the cassette may include a port configured to couple the channel 706, and channel 707 if fluidically connected to 706, with the fluid flow source. In one embodiment, seals, or o-rings are positioned around the port and a linear solenoid may be positioned above the o-rings to press 15 and seal the o-rings against the cassette body. For example, as shown in the exemplary embodiment illustrated in FIG. 11A, in addition to the port 719, there may be two venting ports 715 and a mixing port 713. The interface between each port and the manifold may be independent (e.g., there may be no fluidic connection inside the manifold).

In one embodiment, when a fluid flow source is activated, the channel 706, 707 in the cassette may be pressurized (e.g., to approximately -30kPa) which will drive the fluids 20 within the channel (both fluid sample as well as reagents) toward the outlet. In an embodiment which includes the vent ports 715 and the mixing port 713, a vent valve connected to port 713 through the manifold may initially be open which may enable all of the reagents downstream of the mixing port 713 to move toward the outlet, but will not cause reagents upstream of the mixing port 713 to move. Once the vent valve is closed, 25 reagents upstream of the mixing port 713 may move toward a mixing port and then to the outlet. For example, fluids can be stored serially in a channel upstream of the mixing port, and after closing a vent valve positioned along the channel, the fluids can flow sequentially towards the channel outlet. In some cases, fluids can be stored in separate, intersecting channels, and after closing a vent valve the fluids will flow together toward a point of 30 intersection. This set of embodiments can be used, for example, to controllably mix the fluids as they flow together. The timing of delivery and the volume of fluid delivered can be controlled, for example, by the timing of the vent valve actuation.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Advantageously, vent valves can be operated without constricting the cross-section of the microfluidic channel on which they operate, as might occur with certain valves in the prior art. Such a mode of operation can be effective in preventing leaking across the valve. Moreover, because vent valves can be used, some systems and methods described herein do not require the use of certain internal valves, which can be problematic due to, for example, their high expense, complexity in fabrication, fragility, limited compatibility with mixed gas and liquid systems, and/or unreliability in microfluidic systems.

It should be understood that while vent valves are described, other types of valving mechanisms can be used with the systems and methods described herein. Non-limiting examples of a valving mechanism which may be operatively associated with a valve include a diaphragm valve, ball valve, gate valve, butterfly valve, globe valve, needle valve, pinch valve, poppet valve, or pinch valve. The valving mechanism may be actuated by any suitable means, including a solenoid, a motor, by hand, by electronic actuation, or by hydraulic/pneumatic pressure.

As previously mentioned, all of the liquids in the cassette (sample and reagents) may move into the liquid containment area which may include an absorbent material 717. In one embodiment, the absorbent material absorbs only liquids such that gases may flow out of the cassette through the outlet.

A variety of determination (e.g., measuring, quantifying, detecting, and qualifying) techniques may be used, e.g., to analyze a sample component or other component or condition associated with a microfluidic system or cassette described herein. Determination techniques may include optically-based techniques such as light transmission, light absorbance, light scattering, light reflection and visual techniques. Determination techniques may also include luminescence techniques such as photoluminescence (e.g., fluorescence), chemiluminescence, bioluminescence, and/or electrochemiluminescence. In other embodiments, determination techniques may measure conductivity or resistance. As such, an analyzer may be configured to include such and other suitable detection systems.

Different optical detection techniques provide a number of options for determining reaction (e.g., assay) results. In some embodiments, the measurement of transmission or absorbance means that light can be detected at the same wavelength at which it is emitted from a light source. Although the light source can be a narrow band source emitting at a single wavelength it may also may be a broad spectrum source, emitting over a range of wavelengths, as many opaque materials can effectively block a wide range of wavelengths.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In some embodiments, a system may be operated with a minimum of optical devices (e.g., a simplified optical detector). For instance, the determining device may be free of a photomultiplier, may be free of a wavelength selector such as a grating, prism or filter, may be free of a device to direct or columnate light such as a columnator, or may be free of magnifying optics (e.g., lenses). Elimination or reduction of these features can result in a less expensive, more robust device.

FIG. 12 illustrates an exemplary optical system 800 which may be positioned in the housing of an analyzer. As shown illustratively in this embodiment, the optical system includes at least a first light source 882 and a detector 884 spaced apart from the first light source. The first light source 882 may be configured to pass light through a first analysis region of the cassette when the cassette is inserted into the analyzer. The first detector 884 may be positioned opposite the first light source 882 to detect the amount of light that passes through the first analysis region of the cassette 520. It should be appreciated that in other embodiments, the number of light sources and detectors may vary as the invention is not so limited. As mentioned above, the cassette 520 may include a plurality of analysis regions 709 and the cassette 520 may be positioned within the analyzer such that each analysis region aligns with a light source and corresponding detector. In some embodiments, the light source includes an optical aperture which may help direct light from the light source to a particular region within an analysis region of the cassette.

In one embodiment, the light sources are light emitting diodes (LEDs) or laser diodes. For example, an InGaAlP red semiconductor laser diode emitting at 654 nm may be used. Other light sources can also be used. The light source may be positioned within a nest or housing. The nest or housing may include a narrow aperture or thin tube that may assist in collimating light. The light sources may be positioned above where the cassette is inserted into the analyzer such that the light source shines down onto the top surface of the cassette. Other suitable configurations of the light source with respect to the cassette are also possible.

It should be appreciated that the wavelength of the light sources may vary as the invention is not so limited. For example, in one embodiment, the wavelength of the light source is approximately 670 nm, and in another embodiment, the wavelength of the light source is approximately 650 nm. It should be appreciated that in one embodiment, the wavelength of each light source may be different such that each analysis region of the cassette receives a different light wavelength. In other embodiments, however, the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

wavelength of each light source may be the same such that each analysis region of the cassette receives the same light wavelength. Combinations of the same and different wavelengths of light sources are also possible.

As mentioned, a detector 884 may be spaced apart from and positioned below a light source 882 to detect the amount of light that passes through the cassette. In one embodiment, one or more of the detectors are photodetectors (e.g., photodiodes). In certain embodiments, the photodetector may be any suitable device capable of detecting the transmission of light that is emitted by the light source. One type of photodetector is an optical integrated circuit (IC) including a photodiode having a peak sensitivity at 700 nm, an amplifier and a voltage regulator. The detector may be positioned within a nest or housing which may include a narrow aperture or thin tube to ensure that only light from the center of the analysis region 709 is measured at the detector 884. If the light source is pulse modulated, the photodetector may include a filter to remove the effect of light that is not at the selected frequency. When multiple and neighboring signals are detected at the same time, the light source used for each analysis region (e.g., detection region) can be modulated at a frequency sufficiently different from that of its neighboring light source. In this configuration, the each detector can be configured (e.g., using software) to select for its attributed light source, thereby avoiding interfering light from neighboring optical pairs.

Applicant has recognized that the amount of light transmitted through an analysis region of the cassette may be used to determine information about not only the sample, but also information about specific processes occurring in the fluidic system of the cassette (e.g., mixing of reagents, flow rate, etc.). In some cases, measurement of light through a region can be used as feedback to control fluid flow in the system. In certain embodiments, quality control or abnormalities in the operation of the cassette can be determined. For example, feedback from an analysis region to a control system can be used to determine abnormalities that have occurred in the microfluidic system, and the control system may send a signal to one or more components to cause all or portions of the system to shut down. Consequently, the quality of the processes being performed in the microfluidic system can be controlled using the systems and methods described herein.

It should be recognized that a clear liquid (such as water) may allow a large amount of light to be transmitted from the light source 882, through the analysis region 709 and to the detector 884. Air within the analysis region 709 may lead to less light transmitted through the analysis region 709 because more light may scatter within the channel compared

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

to when a clear liquid is present. When a blood sample is in an analysis region 709, a significantly less amount of light may pass through to the detector 884 due to the light scattering off of blood cells and also due to absorbance. In one embodiment, silver associates with a sample component bound to a surface within the analysis region and as silver builds up within the analysis region, less and less light is transmitted through the analysis region 709.

It is recognized that measuring the amount of light that is detected at each detector 884 enables a user to determine which reagents are in a particular analysis region 709 at a particular point in time. It is also recognized that by measuring the amount of light that is detected with each detector 884, it is possible to measure the amount of silver deposited in each analysis region 709. This amount may correspond to the amount of analyte captured during a reaction which may thus provide a measure of the concentration of the analyte in the sample.

As noted above, Applicant has recognized that the optical system 880 may be used for a variety of quality control reasons. First, the time it takes for a sample to reach an analysis region where the optical system detects the light that passes through the analysis region may be used to determine whether there is a leak or clog in the system. Also, when the sample is expected to be a certain volume, for example, approximately 10 microliters, there is an expected flow time which would be associated for the sample to pass through the channels and analysis regions. If the sample falls outside of that expected flow time, it could be an indication that there is not enough sample to conduct the analysis and/or that the wrong type of sample was loaded into the analyzer. Additionally, an expected range of results may be determined based upon the type of sample (e.g., serum, blood, urine, etc.) and if the sample is outside of the expected range, it could be an indication of an error.

In one embodiment, the analyzer includes a temperature regulating system positioned within the housing which may be configured to regulate the temperature within the analyzer. For certain sample analysis, the sample may need to be kept within a certain temperature range. For example, in one embodiment, it is desirable to maintain the temperature within the analyzer at approximately 37°C. Accordingly, in one embodiment, the temperature regulating system includes a heater configured to heat the cassette. In one embodiment, the heater is a resistive heater which may be positioned on the underside of where the cassette is placed in the analyzer. In one embodiment, the temperature regulating system also includes

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

a thermistor to measure the temperature of the cassette and a controller circuit may be provided to control the temperature.

In one embodiment, the passive flow of air within the analyzer may act to cool the air within the analyzer if needed. A fan may optionally be provided in the analyzer to lower
5 the temperature within the analyzer. In some embodiments, the temperature regulating system may include Peltier thermoelectric heaters and/or coolers within the analyzer.

In certain embodiments, an identification system including one or more identifiers is used and associated with one or more components or materials associated with a cassette and/or analyzer. The “identifiers,” as described in greater detail below, may themselves be
10 “encoded with” information (i.e. carry or contain information, such as by use of an information carrying, storing, generating, or conveying device such as a radio frequency identification (RFID) tag or bar code) about the component including the identifier, or may not themselves be encoded with information about the component, but rather may only be associated with information that may be contained in, for example, a database on a computer
15 or on a computer readable medium (e.g., information about a user, and/or sample to be analyzed). In the latter instance, detection of such an identifier can trigger retrieval and usage of the associated information from the database.

Identifiers “encoded with” information about a component need not necessarily be encoded with a complete set of information about the component. For example, in certain
20 embodiments, an identifier may be encoded with information merely sufficient to enable a unique identification of the cassette (e.g. relating to a serial no., part no., etc.), while additional information relating to the cassette (e.g. type, use (e.g., type of assay), ownership, location, position, connectivity, contents, etc.) may be stored remotely and be only associated with the identifier.

“Information about” or “information associated with” a cassette, material, or
25 component, etc. is information regarding the identity, positioning, or location of the cassette, material or component or the identity, positioning, or location of the contents of a cassette, material or component and may additionally include information regarding the nature, state or composition of the cassette, material, component or contents. “Information about” or
30 “information associated with” a cassette, material or component or its contents can include information identifying the cassette, material or component or its contents and distinguishing the cassette, material, component or its contents from others. For example, “information about” or “information associated with” a cassette, material or component or

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

its contents may refer to information indicating the type or what the cassette, material or component or its contents is, where it is or should be located, how it is or should be positioned, the function or purpose of the cassette, material or component or its contents, how the cassette, material or component or its contents is to be connected with other
5 components of the system, the lot number, origin, calibration information, expiration date, destination, manufacturer or ownership of the cassette, material or component or its contents, the type of analysis/assay to be performed in the cassette, information about whether the cassette has been used/analyzed, etc.

Non-limiting examples of identifiers that may be used in the context of the invention
10 include radio frequency identification (RFID) tags, bar codes, serial numbers, color tags, fluorescent or optical tags (e.g., using quantum dots), chemical compounds, radio tags, magnetic tags, among others.

In one embodiment, an identification reader is an RFID reader configured to read an RFID identifier associated with the cassette. For example, in one embodiment, the analyzer
15 includes an RFID module and antenna that are configured to read information from the cassette inserted into the analyzer. In another embodiment, the identification reader is a barcode reader configured to read a barcode associated with the cassette. Once the cassette is inserted into the analyzer, the identification reader may read the information from the cassette. The identifier on the cassette may include one or more of the types of information
20 such as cassette type, type of analysis/assay to be performed, lot number, information about whether the cassette has been used/analyzed, and other information described herein. The reader may also be configured to read information provided with a group of cassettes, such as in a box of cassettes, such as, but not limited to calibration information, expiration date, and any additional information specific to that lot. The information identified may be
25 optionally displayed to a user, e.g., to confirm that a correct cassette and/or type of assay is being performed.

In some cases, the identification reader may be integrated with a control system via communication pathways. Communication between the identification readers and the control system may occur along a hard-wired network or may be transmitted wirelessly. In
30 one embodiment, the control system can be programmed to recognize a specific identifier (e.g., of a cassette associated with information relating to a cassette type, manufacturer, assay to be performed, etc.) as indicating the cassette is suitably connected or inserted within a particular type of analyzer.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In one embodiment, the identifier of a cassette be associated with predetermined or programmed information contained in a database regarding the use of the system or cassette for a particular purpose, user or product, or with particular reaction conditions, sample types, reagents, users, and the like. If an incorrect match is detected or an identifier has been
5 deactivated, the process may be halted or the system may be rendered not operable until the user has been notified, or upon acknowledgement by a user.

The information from or associated with an identifier can, in some embodiments, be stored, for example in computer memory or on a computer readable medium, for future reference and record-keeping purposes. For example, certain control systems may employ
10 information from or associated with identifiers to identify which components (e.g., cassettes) or type of cassettes were used in a particular analysis, the date, time, and duration of use, the conditions of use, etc. Such information may be used, for example, to determine whether one or more components of the analyzer should be cleaned or replaced. Optionally,
15 a control system or any other suitable system could generate a report from gathered information, including information encoded by or associated with the identifiers, that may be used in providing proof of compliance with regulatory standards or verification of quality control.

Information encoded on or associated with an identifier may also be used, for example, to determine whether the component associated with the identifier (e.g., a cassette)
20 is authentic or counterfeit. In some embodiments, the determination of the presence of a counterfeit component causes system lockout. In one example, the identifier may contain a unique identity code. In this example, the process control software or analyzer would not permit system startup (e.g., the system may be disabled) if a foreign or mismatched identity code (or no identity code) was detected.

In certain embodiments, the information obtained from or associated with an identifier can be used to verify the identity of a customer to whom the cassette and/or analyzer is sold or for whom a biological, chemical, or pharmaceutical process is to be performed. In some cases, the information obtained from or associated with an identifier is used as part of a process of gathering data for troubleshooting a system. The identifier may
30 also contain or be associated with information such as batch histories, assembly process and instrumentation diagrams (P and IDs), troubleshooting histories, among others. Troubleshooting a system may be accomplished, in some cases, via remote access or include the use of diagnostic software.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In one embodiment, the analyzer includes a user interface, which may be positioned within the housing and configured for a user to input information into the sample analyzer. In one embodiment, the user interface is a touch screen.

The touch screen may guide a user through the operation of the analyzer, providing
5 text and/or graphical instructions for use of the analyzer. The touch screen user interface may, for example, guide the user to insert the cassette into the analyzer. It may then guide the user to input the patient's name or other patient identification source/number into the analyzer (e.g., age, results of a DRE exam, etc.). It should be appreciated that the patient
10 information such as name, date of birth, and/or patient ID number may be inputted into the touch screen user interface to identify the patient. The touch screen may indicate the amount of time remaining to complete the analysis of the sample. The touch screen user interface may then illustrates the results of the sample analysis along with the patient's name or other identifying information.

In another embodiment, the user interface may be configured differently, such as
15 with an LCD display and a single button scroll through menu. In another embodiment, the user interface may simply include a start button to activate the analyzer. In other embodiments, the user interface from separate independent devices (such as a smart phone or mobile computer) can be used to interface with the analyzer.

The above-described analyzer may be used in a variety of ways to process and
20 analyze a sample placed within the analyzer. In one particular embodiment, once a mechanical component configured to interface with the cassette indicates that the cassette is properly loaded in the analyzer, the identification reader reads and identifies information associated with the cassette. The analyzer may be configured to compare the information to data stored in a control system to ensure that it has calibration information for this particular
25 sample. In the event that the analyzer does not have the proper calibration information, the analyzer may output a request to the user to upload the specific information needed. The analyzer may also be configured to review expiration date information associated with the cassette and cancel the analysis if the expiration date has passed.

In one embodiment, once the analyzer has determined that the cassette may be
30 analyzed, a fluid flow source such as the vacuum manifold may be configured to contact the cassette to ensure an airtight seal around the vacuum port and vent ports. In one embodiment, the optical system may take initial measurements to obtain reference readings. Such reference readings may be taken both with the light sources activated and deactivated.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

To initiate movement of the sample, the vacuum system may be activated, which may rapidly change the pressure within one or more channels (e.g., reduced to approximately -30kPa). This reduction of pressure within the channel may drive the sample into a channel and through each of the analysis regions 709A-709D (see FIG. 10). After the
5 sample reaches the final analysis region 709D, the sample may continue to flow into the liquid containment region 717.

In one particular set of embodiments, the microfluidic sample analyzer is used to measure the level of iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2 in a blood sample. In some embodiments, three, four, five, six or more analysis regions (e.g., analysis regions 709A-
10 709D) may be utilized to analyze the sample. For example, in a first analysis region, the walls of the channel may be blocked with a blocking protein (such as Bovine Serum Albumin) such that little or no proteins in the blood sample attach to the walls of the analysis region (except for perhaps some non-specific binding which may be washed off). This first analysis region may act as a negative control.

15 In a second analysis region, the walls of the channel may be coated with a predetermined large quantity of a prostate specific antigen (PSA) to act as a high or positive control. As the blood sample passes through the second analysis region, little or no PSA proteins in the blood may bind to the walls of the channel. Gold conjugated detection antibodies in the sample may be dissolved from inside of the fluidic connector tube 722 or
20 may be flowed from any other suitable location. These antibodies may not yet be bound to the PSA in the sample, and thus they may bind to the PSA on the walls of the channel to act as a high or positive control.

In a third analysis region, the walls of the channel may be coated with a capture antibody for iPSA (e.g., an anti-iPSA antibody), which may bind to a different epitope on
25 the PSA protein than the gold conjugated signal antibody. As the blood sample flows through the third analysis region, iPSA proteins in the blood sample may bind to the anti-iPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood.

30 In a fourth analysis region, the walls of the channel may be coated with a capture antibody for fPSA (e.g., an anti-fPSA antibody), which may bind to a different epitope on the PSA protein than the gold conjugated signal antibody. As the blood sample flows through the fourth analysis region, fPSA proteins in the blood sample may bind to the anti-

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

fPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood.

In a fifth analysis region, the walls of the channel may be coated with a capture antibody for tPSA (e.g., an anti-tPSA antibody), which may bind to a different epitope on the PSA protein than the gold conjugated signal antibody. As the blood sample flows
5 through the fifth analysis region, tPSA proteins in the blood sample may bind to the anti-tPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood.

Optionally, in a sixth analysis region, the walls of the channel may be coated with a
10 capture antibody for hK2 (e.g., an anti-hK2 antibody), which may bind to a different epitope on the protein than the gold conjugated signal antibody. As the blood sample flows through the sixth analysis region, hK2 proteins in the blood sample may bind to the anti-hK2 antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood.

A detection antibody such as a gold labeled antibody which is anti-PSA and anti-hK2
15 may be used to detect each of iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2. In other embodiments, however, a mixture of gold labeled antibodies, such as a gold labeled anti-hK2 antibody, gold labeled anti-PSA antibody, and/or gold labeled anti-iPSA antibody may be used for detection. In some embodiments, gold conjugated detection antibodies in the sample may be dissolved from inside of the fluidic connector tube 722, or may be flowed from any other
20 suitable location.

In some instances, measurements from a region that analyzes the can be used not only to determine the concentration of an analyte in a sample, but also as a control as well. For example, a threshold measurement can be established at an early phase of amplification. Measurements above this value (or below this value) may indicate that the concentration of
25 analyte is outside the desired range for the assay. This technique may be used to identify, for example, whether a High Dose Hook Effect is taking place during the analysis, i.e., when a very high concentration of analyte gives an artificially low reading.

In other embodiments, different numbers of analysis regions can be provided, and an analysis may optionally include more than one analysis regions that actually test the sample.
30 Additional analysis regions can be used to measure additional analytes so that the system can perform multiplex assays simultaneously with a single sample.

In one particular embodiment, it takes approximately eight minutes for a 10 microliter blood sample to flow through the four analysis regions. The start of this analysis

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

may be calculated when the pressure within the channel is approximately -30kPa. During this time, the optical system is measuring the light transmission for each analysis region, and in one embodiment, this data may be transmitted to a control system approximately every 0.1 seconds. Using reference values, these measurements may be converted using the following formulas:

$$\text{Transmission} = (I - I_d) / (I_r - I_d) \quad (1)$$

where:

I = the intensity of transmitted light through an analysis region at a given point in time

I_d = the intensity of transmitted light through an analysis region with the light source off

I_r = a reference intensity (i.e. the intensity of the transmitted light at an analysis region with the light source activated, or before the start of an analysis when only air is in the channel)

and

$$\text{Optical Density} = -\log(\text{Transmission}) \quad (2)$$

Thus, using these formulas, the optical density in an analysis region may be calculated.

FIG. 13 is a block diagram 900 that illustrates how a control system 550 (see FIG. 12) may be operatively associated with a variety of different components according to one embodiment. Control systems described herein can be implemented in numerous ways, such as with dedicated hardware or firmware, using a processor that is programmed using microcode or software to perform the functions recited above or any suitable combination of the foregoing. A control system may control one or more operations of a single analysis (e.g., for a biological, biochemical or chemical reaction), or of multiple (separate or interconnected) analyses. For example, the control system may be positioned within the housing of the analyzer and may be configured to communicate with an identification reader, the user interface, the fluid flow source, the optical system, and/or the temperature regulating system to analyze a sample in the cassette.

In one embodiment, the control system includes at least two processors, including a real time processor that controls and monitors all of the sub-systems which directly interface with the cassette. In one embodiment, at a particular time interval (e.g., every 0.1 seconds),

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

this processor communicates with a second higher level processor which communicates with the user through the user interface and/or the communication sub-system (discussed below) and directs the operation of the analyzer (e.g., determines when to start analyzing a sample and interprets the results). In one embodiment, communication between these two
5 processors occurs through a serial communication bus. It should be appreciated that in another embodiment, the analyzer may only include one processor, or more than two processors, as the invention is not so limited.

In one embodiment, the analyzer is capable of interfacing with external devices and may, for example, include ports for connection with one or more external communication
10 units. External communication may be accomplished, for example, via USB communication. For example, as shown in FIG. 13, the analyzer may output the results of a sample analysis to a USB printer 901, or to a computer 902. Additionally, the data stream produced by the real time processor may be outputted to a computer or a USB memory stick 904. In some embodiments, a computer may be able to directly control the analyzer through
15 a USB connection as well. Further, other types of communication options are available as the present invention is not limited in this respect. For example, Ethernet, Bluetooth and/or WI-FI communication with the analyzer may be established through the processor.

The calculation methods, steps, simulations, algorithms, systems, and system elements described herein may be implemented using a computer implemented control
20 system, such as the various embodiments of computer implemented systems described below. The methods, steps, systems, and system elements described herein are not limited in their implementation to any specific computer system described herein, as many other different machines may be used.

The computer implemented control system can be part of or coupled in operative
25 association with a sample analyzer, and, in some embodiments, configured and/or programmed to control and adjust operational parameters of the sample analyzer, as well as analyze and calculate values, as described above. In some embodiments, the computer implemented control system can send and receive reference signals to set and/or control operating parameters of the sample analyzer and, optionally, other system apparatus. In
30 other embodiments, the computer implemented system can be separate from and/or remotely located with respect to the sample analyzer and may be configured to receive data from one or more remote sample analyzer apparatus via indirect and/or portable means, such as via

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

portable electronic data storage devices, such as magnetic disks, or via communication over a computer network, such as the Internet or a local intranet.

The computer implemented control system may include several known components and circuitry, including a processing unit (i.e., processor), a memory system, input and output devices and interfaces (e.g., an interconnection mechanism), as well as other components, such as transport circuitry (e.g., one or more busses), a video and audio data input/output (I/O) subsystem, special-purpose hardware, as well as other components and circuitry, as described below in more detail. Further, the computer system may be a multi-processor computer system or may include multiple computers connected over a computer network.

The computer implemented control system may include a processor, for example, a commercially available processor such as one of the series x86, Celeron and Pentium processors, available from Intel, similar devices from AMD and Cyrix, the 680X0 series microprocessors available from Motorola, the PowerPC microprocessor from IBM, and ARM processors. Many other processors are available, and the computer system is not limited to a particular processor.

A processor typically executes a program called an operating system, of which WindowsNT, Windows95 or 98, Windows 7, Windows 8, UNIX, Linux, DOS, VMS, MacOS and OSX, and iOS are examples, which controls the execution of other computer programs and provides scheduling, debugging, input/output control, accounting, compilation, storage assignment, data management and memory management, communication control and related services. The processor and operating system together define a computer platform for which application programs in high-level programming languages are written. The computer implemented control system is not limited to a particular computer platform.

The computer implemented control system may include a memory system, which typically includes a computer readable and writeable non-volatile recording medium, of which a magnetic disk, optical disk, a flash memory and tape are examples. Such a recording medium may be removable, for example, a floppy disk, read/write CD or memory stick, or may be permanent, for example, a hard drive.

Such a recording medium stores signals, typically in binary form (i.e., a form interpreted as a sequence of one and zeros). A disk (e.g., magnetic or optical) has a number of tracks, on which such signals may be stored, typically in binary form, i.e., a form

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

interpreted as a sequence of ones and zeros. Such signals may define a software program, e.g., an application program, to be executed by the microprocessor, or information to be processed by the application program.

5 The memory system of the computer implemented control system also may include an integrated circuit memory element, which typically is a volatile, random access memory such as a dynamic random access memory (DRAM) or static memory (SRAM). Typically, in operation, the processor causes programs and data to be read from the non-volatile recording medium into the integrated circuit memory element, which typically allows for faster access to the program instructions and data by the processor than does the non-volatile recording medium.

10 The processor generally manipulates the data within the integrated circuit memory element in accordance with the program instructions and then copies the manipulated data to the non-volatile recording medium after processing is completed. A variety of mechanisms are known for managing data movement between the non-volatile recording medium and the integrated circuit memory element, and the computer implemented control system that implements the methods, steps, systems and system elements described above in relation to FIG. 13 is not limited thereto. The computer implemented control system is not limited to a particular memory system.

20 At least part of such a memory system described above may be used to store one or more data structures (e.g., look-up tables) or equations described above. For example, at least part of the non-volatile recording medium may store at least part of a database that includes one or more of such data structures. Such a database may be any of a variety of types of databases, for example, a file system including one or more flat-file data structures where data is organized into data units separated by delimiters, a relational database where data is organized into data units stored in tables, an object-oriented database where data is organized into data units stored as objects, another type of database, or any combination thereof.

30 The computer implemented control system may include a video and audio data I/O subsystem. An audio portion of the subsystem may include an analog-to-digital (A/D) converter, which receives analog audio information and converts it to digital information. The digital information may be compressed using known compression systems for storage on the hard disk to use at another time. A typical video portion of the I/O subsystem may include a video image compressor/decompressor of which many are known in the art. Such

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

compressor/decompressors convert analog video information into compressed digital information, and vice-versa. The compressed digital information may be stored on hard disk for use at a later time.

The computer implemented control system may include one or more output devices.

5 Example output devices include a cathode ray tube (CRT) display, liquid crystal displays (LCD) and other video output devices, printers, communication devices such as a modem or network interface, storage devices such as disk or tape, and audio output devices such as a speaker.

10 The computer implemented control system also may include one or more input devices. Example input devices include a keyboard, keypad, track ball, mouse, pen and tablet, communication devices such as described above, and data input devices such as audio and video capture devices and sensors. The computer implemented control system is not limited to the particular input or output devices described herein.

15 It should be appreciated that one or more of any type of computer implemented control system may be used to implement various embodiments described herein. Aspects of the invention may be implemented in software, hardware or firmware, or any combination thereof. The computer implemented control system may include specially programmed, special purpose hardware, for example, an application-specific integrated circuit (ASIC). Such special-purpose hardware may be configured to implement one or more of the
20 methods, steps, simulations, algorithms, systems, and system elements described above as part of the computer implemented control system described above or as an independent component.

The computer implemented control system and components thereof may be programmable using any of a variety of one or more suitable computer programming
25 languages. Such languages may include procedural programming languages, for example, C, Pascal, Fortran and BASIC, object-oriented languages, for example, C++, Java and Eiffel and other languages, such as a scripting language or even assembly language.

30 The methods, steps, simulations, algorithms, systems, and system elements may be implemented using any of a variety of suitable programming languages, including procedural programming languages, object-oriented programming languages, other languages and combinations thereof, which may be executed by such a computer system. Such methods, steps, simulations, algorithms, systems, and system elements can be implemented as separate modules of a computer program, or can be implemented

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

individually as separate computer programs. Such modules and programs can be executed on separate computers.

Such methods, steps, simulations, algorithms, systems, and system elements, either individually or in combination, may be implemented as a computer program product tangibly embodied as computer-readable signals on a computer-readable medium, for example, a non-volatile recording medium, an integrated circuit memory element, or a combination thereof. For each such method, step, simulation, algorithm, system, or system element, such a computer program product may comprise computer-readable signals tangibly embodied on the computer-readable medium that define instructions, for example, as part of one or more programs, that, as a result of being executed by a computer, instruct the computer to perform the method, step, simulation, algorithm, system, or system element.

It should be appreciated that various embodiments may be formed with one or more of the above-described features. The above aspects and features may be employed in any suitable combination as the present invention is not limited in this respect. It should also be appreciated that the drawings illustrate various components and features which may be incorporated into various embodiments. For simplification, some of the drawings may illustrate more than one optional feature or component. However, the invention is not limited to the specific embodiments disclosed in the drawings. It should be recognized that the invention encompasses embodiments which may include only a portion of the components illustrated in any one drawing figure, and/or may also encompass embodiments combining components illustrated in multiple different drawing figures.

Other preferred embodiments

It will be appreciated that the methods of the present invention can be incorporated in the form of a variety of embodiments, only a few of which are disclosed herein. It will be apparent for the expert skilled in the field that other embodiments exist and do not depart from the spirit of the invention. Thus, the described embodiments are illustrative and should not be construed as restrictive.

30

EXAMPLES

Example 1

Studies

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

In total, seven separate studies using the statistical model have been carried out. The studies comprise a total of 7,647 men with elevated PSA and 2,270 cancers, with five studies constituting external validation. Further, the studies were systematically designed to cover a wide range of clinical scenarios. Perhaps most importantly, one of the studies
5 included a natural history approach. Because biopsy outcome is a surrogate endpoint — what matters is not whether a man has prostate cancer, but whether he is at risk for a prostate cancer that will affect his life - the ideal study would take blood from patients, then follow them for several years in the absence of further screening to determine prostate cancer outcomes. We have been fortunate enough to have been able to conduct such a study
10 [Vickers, A.J., et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20(2): p. 255-61].

The Malmö Diet and Cancer cohort is part of a large population-based study to identify dietary risk factors of cancer mortality, 11,063 men who were living in the city of Malmö, Sweden and born between 1923 and 1945, provided an EDTA anti-coagulated blood sample 1991 - 1996. Outcome ascertainment was via the Swedish Cancer Registry.
15 Marker values were obtained from archived blood samples analyzed in 2008 that have been previously validated as obtaining accurate kallikrein measures from stored blood [Ulmert, D., et al., *Clin. Chem.*, 2006, 52(2): p. 235-9]. The rate of PSA testing was very low, with almost all cases diagnosed clinically. As such, the study follows the "natural history" of prostate cancer in men with elevated PSA. Of 792 men who had a PSA 3 ng/ml at baseline,
20 474 were subsequently diagnosed with prostate cancer, at a median follow-up of 11 years. The predictive discrimination of the four kallikrein panel statistical model was importantly higher than PSA for both prediction of any cancer and advanced cancers (stage T3 or T4, or metastatic) exactly those cancers most likely to be fatal. As found in previous studies, approximately 50 % of men had a risk of prostate cancer from the model less than 20%. We
25 estimated that only 13 men per 1000 with elevated PSA would have a risk < 20 % from the model, yet be diagnosed with cancer within five years; only 1 man would have cancer that was advanced at diagnosis.

The Malmö cohort demonstrates several important features of our predictive model. First, it constitutes an external validation. Second, it shows that the model predicts clinically
30 diagnosed cancers that, by definition, do not constitute overdiagnosis. Third, the study suggests that cancers missed by the model are those considered overdiagnosis: data from our biopsy studies indicate that the panel classifies as low risk about 60 men per 1000 who have biopsy detectable cancers; the Malmö cohort data suggests that fewer than 1 in 4 of these

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

would become clinically apparent after 5 years of follow-up. Fourth, it demonstrates that the model is very strongly predictive of the sort of aggressive cancers most likely to shorten a man's life. Finally, the data indicate that clinical use of the model would not lead to important harm in terms of delayed diagnoses, as only 1 man per 1000 would have a low risk of prostate cancer according to the model but would subsequently be diagnosed with advanced cancer. An overview of our studies on our model is given in Table 2.

In sum, our preliminary studies can be summarized as follows:

1. Multiple kallikrein forms in blood — total PSA, free PSA, intact PSA and hK2 - can predict the result of prostate biopsy in men with elevated total PSA.
2. A statistical prediction model based on the four kallikreins was built using a single training set.
3. This integrates information from the novel markers with the clinical exam in order to give a predicted probability of cancer.
4. In total, the panel has been applied to over 7,500 men diagnosed with close to 2250 cancers, with five separate studies constituting external validation.
5. The model is highly discriminatory for prostate cancer, with a much higher AUC than a statistical model based on standard predictors alone (total PSA, age and digital rectal exam).
6. Use of the four-kallikrein statistical prediction model to determine referral to prostate biopsy would, according to decision analysis, improve clinical outcome in comparison to alternative strategies, such as performing biopsies on all men.
7. The model was of value in a range of different clinical settings: with and without prior screening; with and without prior biopsy; with and without clinical work up before referral to biopsy.

Table 2. Overview of studies

Cohort	Description	Sample size	Increase in AUC: four kallikrein model vs. PSA	Increase in AUC: four kallikrein panel plus DRE model vs. PSA + DRE

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Gothenburg round 1	Unscreened men	740	Any cancer: 0.832 vs. 0.680 High grade: 0.870 vs. 0.816	Any cancer: 0.836 vs. 0.724 High grade: 0.903 vs. 0.868
Gothenburg subsequent rounds	Men with a prior PSA test	1241	Any cancer: 0.674 vs. 0.564 High grade: 0.819 vs. 0.658	Any cancer: 0.697 vs. 0.622 High grade: 0.828 vs. 0.717
Rotterdam round 1	Unscreened men	2186	Any cancer: 0.764 vs. 0.637 High grade: 0.825 vs. 0.776	Any cancer: 0.776 vs. 0.695 High grade: 0.837 vs. 0.806
Rotterdam subsequent rounds	Men with a prior PSA test	1501	Any cancer: 0.713 vs. 0.557 High grade: 0.793 vs. 0.699	Any cancer: 0.711 vs. 0.585 High grade: 0.798 vs. 0.709
Rotterdam prior negative biopsy	Persistently elevated PSA after negative biopsy	925	Not assessed	Any cancer: 0.681 vs. 0.584 High grade: 0.873 vs. 0.764
Tarn	Clinical work up before biopsy	262	Not assessed	Any cancer: 0.782 vs. 0.628 High grade: 0.870 vs. 0.767
Malmö	Longitudinal follow-up without biopsy or screening	792	Any cancer: 0.751 vs. 0.654 Advanced cancer*: 0.824 vs. 0.716	Not assessed

*T3 / T4 or metastatic at diagnosis

8. Application of the model to archived bloods in men followed longitudinally without screening demonstrated that men with elevated PSA, but at low risk from the statistical model, were highly unlikely to develop aggressive cancers over the subsequent 5 to 10 years. Conversely, clinically-diagnosed aggressive cancers were common in men at high risk from the model.

An illustrative model used in this example:

Age: enter age in years

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

tPSA: enter total PSA in ng/ml

fPSA: enter free PSA in ng/ml

iPSA: enter intact PSA in ng/ml

hK2: enter hK2 in ng/ml

5 If tPSA \geq 25 then use: $L = 0.0733628 \times \text{tPSA} - 1.377984$

risk of prostate cancer = $\exp(L) / [1 + \exp(L)]$

If tPSA < 25 then use one of two equations below, one incorporating clinical information and the other not:

10 The cubic spline variables are determined as follows:

Spline1_tPSA

= $-(162 - 4.4503) / (162 - 3) \times (\text{tPSA} - 3)^3 + \max(\text{tPSA} - 4.4503, 0)^3$

Spline2_tPSA

= $-(162 - 6.4406) / (162 - 3) \times (\text{tPSA} - 3)^3 + \max(\text{tPSA} - 6.4406, 0)^3$

15 If fPSA < 11.8, then Spline1_fPSA

= $-(11.8 - 0.84) / (11.8 - 0.25) \times (\text{fPSA} - 0.25)^3 + \max(\text{fPSA} - 0.84, 0)^3$

If fPSA > 11.8, then Spline1_fPSA

= $(11.8 - 0.84) \times (0.84 - 0.25) \times (11.8 + 0.84 + 0.25 - 3 \times \text{fPSA})$

If fPSA < 11.8, then Spline2_fPSA

20 = $-(11.8 - 1.29) / (11.8 - 0.25) \times (\text{fPSA} - 0.25)^3 + \max(\text{fPSA} - 1.29, 0)^3$

If fPSA > 11.8, then Spline2_fPSA

= $(11.8 - 1.29) \times (1.29 - 0.25) \times (11.8 + 1.29 + 0.25 - 3 \times \text{fPSA})$

For the laboratory model:

25 *Define the following:*

$x1 = 0.0846726 \times \text{tPSA} + -.0211959 \times \text{Spline1_tPSA} + .0092731 \times \text{Spline2_tPSA}$

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

$$x2 = -3.717517 \times \text{fPSA} - 0.6000171 \times \text{Spline1_fPSA} + 0.275367 \times \text{Spline2_fPSA}$$

$$x3 = 3.968052 \times \text{iPSA}$$

$$x4 = 4.508231 \times \text{hK2}$$

Then:

5 $L = -1.735529 + 0.0172287 \times \text{Age} + x1 + x2 + x3 + x4$

$$\text{risk of prostate cancer} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

This gives the risk of prostate cancer in the absence of any clinical information. We assume that, if this risk is high, the clinician will ask the patient to present for a clinical work-up and digital rectal exam. The following model is then run twice, with DRE coded as
10 0 or 1, to give risks depending on whether the DRE is normal or abnormal respectively.

Define the following:

$$x1 = 0.0637121 \times \text{tPSA} - 0.0199247 \times \text{Spline1_PSA} + 0.0087081 \times \text{Spline2_tPSA}$$

$$x2 = -3.460508 \times \text{fPSA} - 0.4361686 \times \text{Spline1_fPSA} + 0.1801519 \times \text{Spline2_fPSA}$$

15 $x3 = 4.014925 \times \text{iPSA}$

$$x4 = 3.523849 \times \text{hK2}$$

Then risk if DRE positive is:

$$L = -1.373544 + 0.9661025 + 0.0070077 \times \text{Age} + x1 + x2 + x3 + x4$$

20

For DRE negative:

$$L = -1.373544 + 0.0070077 \times \text{Age} + x1 + x2 + x3 + x4$$

Determine risk as:

$$\text{risk of prostate cancer} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

25

For recalibration:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

Recalibration may be used for men with prior negative biopsy, but recalibration can be used in other situations where the event rates is importantly different from observed event rate in (previously unscreened) Rotterdam cohort (29 %).

5 *Define the following:*

odds_cancer = $\text{Pr}(\text{cancer}) / (1 - \text{Pr}(\text{cancer}))$

odds_prediction = predicted risk of cancer / (1 - predicted risk of cancer) Then:

bayes_factor = odds_cancer / odds_prediction

y_adj = $y + \log(\text{bayesfactor})$

10 recalibrated risk of prostate cancer = $\exp(y_adj) / [1 + \exp(y_adj)]$

Example 2 (Prophetic)

This is a prophetic example describing the use of a cassette and analyzer to perform an assay to detect iPSA, fPSA, tPSA and hK2 in a sample by electrolessly
 15 depositing silver onto gold particles that are associated with the sample. FIG. 14 includes a schematic illustration of a microfluidic system 1500 of a cassette used in this example. The cassette had a similar shape to cassette 520 shown in FIG. 7.

The microfluidic system included analysis regions 1510A-1510F, waste containment region 1512, and an outlet 1514. The analysis regions included a microfluidic channel
 20 50 microns deep and 120 microns wide, with a total length of 175 mm. The microfluidic system also included microfluidic channel 1516 and channel branches 1518 and 1520 (with inlets 1519 and 1521, respectively). Channel branches 1518 and 1520 were 350 microns deep and 500 microns wide. Channel 1516 was formed of sub-channels 1515, which were
 25 350 microns deep and 500 microns wide located on alternating sides of the cassette, connected by through holes 1517 having a diameter of approximately 500 microns. Although FIG. 14 shows that reagents were stored on a single side of the cassette, in other embodiments, reagents were stored on both sides of the cassette. Channel 1516 had a total length of 390 mm, and branches 1518 and 1520 were each 360 mm long. Before sealing the channels, anti-PSA and anti-hK2 capture antibodies were attached to surfaces of the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

microfluidic system in segments of the analysis regions 1510 and 1511, as described in more detail below.

Prior to first use, the microfluidic system was loaded with liquid reagents which were stored in the cassette. A series of 7 wash plugs 1523-1529 (either water or buffer, 5 approximately 2 microliters each) were loaded using a pipette into sub-channels 1515 of channel 1516 using the thru-holes. Each of the wash plugs was separated by plugs of air. Fluid 1528, containing a solution of silver salt, was loaded into branching channel through port 1519 using a pipette. Fluid 1530, containing a reducing solution, was loaded into 10 branching channel 1520 through port 1521. Each of the liquids shown were separated from the other liquids by plugs of air. Ports 1514, 1519, 1521, 1536, 1539, and 1540 were sealed with an adhesive tape that can be easily removed or pierced. As such, the liquids were stored in the microfluidic system prior to first use.

At first use, the ports 1514, 1519, 1521, 1536, 1539, and 1540 were unsealed by a user peeling off a tape covering the opening of the ports. A tube 1544 containing 15 lyophilized anti-PSA and anti-hk2 antibodies labeled with colloidal gold and to which 10 microliters of sample blood (1522) was added, was connected to ports 1539 and 1540. The tube was part of a fluid connector having a shape and configuration shown in FIG. 7. This created a fluidic connection between analysis region 1510 and channel 1516, which were otherwise unconnected and not in fluid communication with one another prior to first use.

20 The cassette including microfluidic system 1500 was inserted into an opening of an analyzer. The housing of the analyzer included an arm positioned within the housing that was configured to engage a cammed surface on the cassette. The arm extended at least partially into the opening in the housing such that as the cassette was inserted into the opening, the arm was pushed away from the opening into a second position allowing the 25 cassette to enter the opening. Once the arm engaged the inwardly cammed surface of the cassette, the cassette was positioned and retained within the housing of the analyzer, and the bias of the spring prevented the cassette from slipping out of the analyzer. The analyzer senses the cassette's insertion by means of a position sensor.

30 An identification reader (RFID reader) positioned within the housing of the analyzer was used to read an RFID tag on the cassette which includes lot identification information. The analyzer used this identifier to match lot information (e.g., calibration information, expiration date of the cassette, verification that the cassette is new, and the type of analysis/assay to be performed in the cassette) stored in the analyzer. The user was

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

prompted to input information about the patient (from which the sample was acquired) into the analyzer using the touch screen. After the information about the cassette was verified by the user, the control system initiated the analysis.

The control system included programmed instructions to perform the analysis. To
5 initiate the analysis, a signal was sent to the electronics controlling a vacuum system, which was a part of the analyzer and used to provide fluid flow. A manifold with o-rings was pressed against the cassette surface by a solenoid. One port on the manifold sealed (by an o-ring) to port 1536 of the microfluidic system of the cassette. This port on the manifold was connected by a tube to a simple solenoid valve which was open to the atmosphere. A
10 separate vacuum port on the manifold sealed (by-o-ring) to port 1514 of the microfluidic system of the cassette. A vacuum of approximately -30 kPa was applied to port 1514. Throughout the analysis, the channel including analysis region 1510 positioned between ports 1540 and 1514 had a substantially constant non-zero pressure drop of approximately -30 kPa. Sample 1522 was flowed in the direction of arrow 538 into each of analysis regions
15 1510A-1510H. As the fluid passed through the analysis regions, the PSA and hK2 proteins in sample 1522 were captured by anti-PSA and anti-hK2 antibodies immobilized on the analysis region walls, as described in more detail below. The sample took about 7-8 minutes to pass through the analysis regions, after which the remaining sample was captured in the waste containment region 1512.

20 Initiation of the analysis also involved the control system sending a signal to the optical detectors, which were positioned adjacent each of analysis regions 1510, to initiate detection. Each of the detectors associated with the analysis regions recorded the transmission of light through the channels of the analysis regions. As the sample passed by each of the analysis regions, peaks were produced. The peaks (and troughs) measured by
25 the detectors are signals (or are converted to signals) that are sent to the control system which compared the measured signals to reference signals or values pre-programmed into the control system. The control system included a pre-programmed set of instructions for providing feedback to the microfluidic system based at least in part on the comparison of signals/values.

30 In a first analysis region 1510-A of device 1500 of FIG. 14, the walls of the channel of this analysis region were blocked with a blocking protein (Bovine Serum Albumin) prior to first use (e.g., prior to sealing the device). Little or no proteins in the blood sample

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

attached to the walls of the analysis region 1510-A (except for perhaps some non-specific binding which may be washed off). This first analysis region acted as a negative control.

In a second analysis region 1510-B, the walls of the channel of this analysis region were coated with a predetermined large quantity of a prostate specific antigen (PSA) prior to
5 first use (e.g., prior to sealing the device) to act as a high or positive control. As the blood sample passed through the second analysis region 1510-B, little or no PSA proteins in the blood bound to the walls of the channel. Gold conjugated signal antibodies in the sample may not yet be bound to the PSA in the sample, and thus they may bind to the PSA on the walls of the channel to act as a high or positive control.

10 In a third analysis region 1510-C, the walls of the channel of this analysis region were coated with the capture antibody, an anti-iPSA antibody, which binds to a different epitope on the iPSA protein than the gold conjugated signal antibody. The walls were coated prior to first use (e.g., prior to sealing the device). As the blood sample flowed through the fourth analysis region during use, iPSA proteins in the blood sample bound to
15 the anti-iPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood. Since the sample, which included iPSA, also included gold-labeled anti-iPSA antibodies coupled to the iPSA, the iPSA captured on the analysis region walls formed a sandwich immunocomplex.

In a fourth analysis region 1510-D, the walls of the channel of this analysis region
20 were coated with the capture antibody, an anti-fPSA antibody, which binds to a different epitope on the fPSA protein than the gold conjugated signal antibody. The walls were coated prior to first use (e.g., prior to sealing the device). As the blood sample flowed through the fourth analysis region during use, fPSA proteins in the blood sample bound to the anti-fPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in
25 the blood. Since the sample, which included fPSA, also included gold-labeled anti-fPSA antibodies coupled to the fPSA, the fPSA captured on the analysis region walls formed a sandwich immunocomplex.

In a fifth analysis region 1510-E, the walls of the channel of this analysis region were coated with the capture antibody, an anti-tPSA antibody, which binds to a different
30 epitope on the tPSA protein than the gold conjugated signal antibody. The walls were coated prior to first use (e.g., prior to sealing the device). As the blood sample flowed through the fifth analysis region during use, tPSA proteins in the blood sample bound to the anti-tPSA antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

blood. Since the sample, which included tPSA, also included gold-labeled anti-tPSA antibodies coupled to the tPSA, the tPSA captured on the analysis region walls formed a sandwich immunocomplex.

Although gold-labeled anti-iPSA, anti-fPSA and anti-tPSA antibodies can be used, in
5 other embodiments gold-labeled anti-PSA antibodies that bind to any PSA protein can be used for detection.

The first, second, third, fourth and fifth analysis regions were formed on a single substrate layer. Sixth (1510-F), seventh (1510-G) and eighth (1510-H) analysis regions were formed on a separate substrate layer (1511).

10 In the sixth analysis region 1510-F, the walls of the channel of this analysis region were coated with the capture antibody, an anti-hK2 antibody, which binds to a different epitope on the hK2 protein than the gold conjugated signal antibody. The walls were coated prior to first use (e.g., prior to sealing the device). As the blood sample flowed through the sixth analysis region during use, hK2 proteins in the blood sample bound to the anti- hK2
15 antibody in a way that is proportional to the concentration of these proteins in the blood. Since the sample, which included hK2, also included gold-labeled anti- hK2 antibodies coupled to the hK2, the hK2 captured on the analysis region walls formed a sandwich immunocomplex.

The seventh analysis region 1510-G may be used as a negative control as described
20 above for analysis region 1510-A. The eighth analysis region 1510-H may be used as a high or positive control as described above for analysis region 1510-B.

Optionally, a ninth analysis region (not shown) can be used as a low control. In such an embodiment, the walls of the channel of this analysis region can be coated with a predetermined low quantity of PSA prior to first use (e.g., prior to sealing the device) to act
25 as a low control. As the blood sample flowed through this analysis region, little or no PSA proteins in the sample bind to the wall of the channel. Gold conjugated signal antibodies in the sample may bind to the PSA on the walls of the channel to act as a low control.

Wash fluids 1523-1529 followed the sample through the analysis regions 1510 towards waste containment region 1512 in the direction of arrow 1538. As the wash fluids
30 were passed through the analysis regions, they washed away remaining unbound sample components. Each wash plug cleaned the channels of the analysis regions, providing progressively more complete cleaning. The last wash fluid 1529 (water) washed away salts that could react with silver salts (e.g., chloride, phosphate, azide).

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

As shown in the plot illustrated in FIG. 15, while the wash fluids were flowing through the analysis regions, each of the detectors associated with the analysis regions measures a pattern 1620 of peaks and troughs. The troughs corresponded to the wash plugs (which are clear liquids and thus provide maximum light transmission). The peaks between
5 each plug represent the air between each plug of clear liquid. Since the assay included 7 wash plugs, 7 troughs and 7 peaks are present in plot 1600. The first trough 1622 is generally not as deep as the other troughs 1624 since the first wash plug often catches blood cells left in the channel and thus is not completely clear.

The final peak of air 1628 is much longer than the previous peaks because there were
10 no wash plugs to follow. As a detector detects the length of this air peak, one or more signals is sent to the control system which compares the length of time of this peak to a pre-set reference signal or input value having a particular length. If the length of time of the measured peak is long enough compared to the reference signal, the control system sends a signal to the electronics controlling vent valve 1536 to actuate the valve and initiate mixing
15 of fluids 1528 and 1530. (Note that the signal of peak of air 1628 may be combined with a signal indicating either 1) the intensity of the peak; 2) where this peak is positioned as a function of time, and/or 3) one or more signals indicating that a series of peaks 1620 of particular intensity has already passed. In this way, the control system distinguishes peak of air 1628 from other peaks of long duration such as peak 1610 from the sample, e.g., using a
20 pattern of signals.)

Referring again to FIG. 14, to initiate mixing, the solenoid connected by the manifold to vent port 1536 is closed. Since the vacuum remains on and no air can enter through vent valve 1536, air enters the device through ports 1519 and 1521 (which are open). This forces the two fluids 1528 and 1530 in the two storage channels upstream of
25 vent valve 1536 to move substantially simultaneously toward outlet 1514. These reagents mix at the intersection of the channels to form an amplification reagent (a reactive silver solution) having a viscosity of about 1×10^{-3} Pa-s. The ratio of the volumes of fluids 1528 and 1530 was about 1:1. The amplification reagent continued through the downstream storage channel, through tube 1544, through analysis regions 1510, and then to waste
30 containment region 1512. After a set amount of time (12 seconds), the analyzer reopened vent valve 1536 such that air flows through vent valve 1536 (instead of the vent ports). This left some reagent behind in the upstream storage channels 1518 and 1520 on the device. This also results in a single plug of mixed amplification reagent. The 12 seconds of vent-

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

valve closure results in an amplification plug of approximately 50 μ L. (Instead of simple timing, another way to trigger the re-opening of the vent valve would be to detect the amplification reagent as it first enters the analysis regions.)

Because the mixed amplification reagent is stable for only a few minutes (usually
5 less than 10 minutes), the mixing was performed less than a minute before use in analysis region 1510. The amplification reagent is a clear liquid, so when it enters the analysis regions, optical density is at its lowest. As the amplification reagent passed across the analysis regions, silver was deposited on the captured gold particles to increase the size of the colloids to amplify the signal. (As noted above, gold particles may be present in the low
10 and high positive control analysis regions and, to the extent that PSA and hK2 were present in the sample, in the test analysis region.) Silver can then be deposited on top of the already deposited silver, leaving more and more silver deposited in the analysis regions. Eventually the deposited silver reduces the transmission of light through the analysis regions. The reduction in transmitted light is proportional to the amount of silver deposited and can be
15 related to the amount of gold colloids captured on the channel walls. In an analysis region where no silver is deposited (the negative control for example, or the test area when the sample contains none of the target protein), there will be no (or minimal) increase in optical density. In an analysis region with significant silver deposition, the slope and ultimate level of the pattern of increasing optical density will be high. The analyzer monitors the pattern
20 of this optical density during amplification in the test area to determine the concentration of analyte in the sample. In one version of the test, the pattern is monitored within the first three minutes of amplification. The optical density in each of the analysis regions as a function of time was recorded and are shown as curves 1640-1647 in FIG. 14. These curves corresponded to signals that were produced in the analysis regions. After three minutes of
25 amplification, the analyzer stops the test. No more optical measurements are recorded and the manifold is disengaged from the device.

From the curves, values (e.g., concentrations) of the blood markers (e.g., iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2) are determined using a computer (e.g., within the analyzer). The values are sent to a processor (which is in electronic communication with the analyzer) that
30 is programmed to evaluate a logistic regression model (e.g., as described herein) based, at least in part, on the received values to determine a probability of risk of prostate cancer in the patient, an indication of an estimated prostate gland volume, and/or an indication of a likelihood that a prostate cancer biopsy will be positive in the patient.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

The test result is displayed on the analyzer screen and communicated to a printer, computer, or whatever output the user has selected. The user may remove the device from the analyzer and throw it away. The sample and all the reagents used in the assay remain in the device. The analyzer is ready for another test.

5 This prophetic example shows that analysis of a sample containing iPSA, fPSA, tPSA and/or hK2 can be performed in a single microfluidic system using an analyzer that controls fluid flow in the cassette, and by using feedback from one or more measured signals to modulate fluid flow. This prophetic example also shows that the results from such an analysis can be used to determine a probability of risk of prostate cancer in the patient, an
10 indication of an estimated prostate gland volume, and/or an indication of a likelihood that a prostate cancer biopsy will be positive in the patient.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

CLAIMS

1. A computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the computer comprising:
- an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers,
 - 5 wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total PSA (tPSA) value;
 - at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:
 - 10 determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8;
 - determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a
 - 15 second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0;
 - determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA;
 - 20 determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA; and
 - determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and
 - an output interface configured to output an indication of the probability of the event
 - 25 associated with prostate cancer.
2. A system for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the system, comprising:
- a detector configured to measure values for a plurality of blood markers, wherein the
 - 30 plurality of blood markers includes free prostate-specific antigen (fPSA), total PSA (tPSA), and intact PSA (iPSA); and
 - at least one processor in electronic communication with the detector, the processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the measured

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

values for fPSA, tPSA, and iPSA to determine a probability of an event associated with high grade prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

5 determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 4-5 and a second internal knot between 6-8;

determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0;

10 determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA;

determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA;

15 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and

outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

3. A computer or system as in any preceding claim, wherein the cubic spline terms for tPSA includes a first cubic spline term and a second cubic spline term, wherein the cubic spline terms for fPSA includes a third cubic spline term and a fourth cubic spline term;

20 wherein determining the first value comprises scaling the received tPSA value by a first coefficient, scaling the first cubic spline term by a second coefficient value, and scaling the second cubic spline term by a third coefficient value to produce scaled tPSA values and summing the scaled tPSA values; and

25 wherein determining the second value comprises scaling the received fPSA value by a fourth coefficient, scaling the third cubic spline term by a fifth coefficient value, and scaling the fourth cubic spline term by a sixth coefficient value to produce scaled fPSA values and summing the scaled fPSA values.

30

4. A computer or system as in any preceding claim, wherein the information for the plurality of blood markers further includes an intact PSA (iPSA) value and a human

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

kallikrein 2 (hK2) value, and wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer is further based, at least in part, on the iPSA value, and the hK2 value.

5. A computer or system as in any preceding claim, wherein the first internal knot is specified as 3.89 the second internal knot is specified as 5.54, the third internal knot is specified as 0.81, and the fourth internal knot is specified as 1.19.

6. A computer or system as in any preceding claim, wherein the input interface comprises a network interface, and wherein the network interface is configured to receive the information for the plurality of blood markers via at least one network.

7. A computer or system as in any preceding claim, wherein the input interface is further configured to receive patient information, wherein the patient information includes age information, and wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer is further based, at least in part, on the age information.

8. A computer or system as in claim 7, wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer is based, at least in part, on the age information comprises:
comparing the age information to a threshold value;
selecting a first set of coefficients when the age information is above the threshold value and selecting a second set of coefficients when the age information is below the threshold value; and
wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer is further based, at least in part, on the selected first set of coefficients or second set of coefficients.

9. A computer or system as in any preceding claim, further comprising:
a detection module configured to measure the information for at least one first blood marker of the plurality of blood markers, wherein the detection module is configured to provide the information for the at least one first blood marker to the at least one processor via the input interface after measuring the information for the at least one first blood marker.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

10. A computer or system as in claim 9, wherein the input interface is configured to receive at least one second blood marker of the plurality of blood markers from a network-connected source via a network.
- 5 11. A computer or system as in any preceding claim, wherein the computer further comprises an output interface, and wherein outputting the indication of the probability of the event associated with prostate cancer comprises outputting the indication via the output interface.
- 10 12. A computer or system as in claim 11, wherein the output interface comprises a display interface, and wherein outputting the indication comprises providing a numerical indication of the probability on the display.
13. A computer or system as in claim 11, wherein the output interface comprises a
15 speaker interface, and wherein outputting the indication comprises providing an audio indication of the probability via the speaker.
14. A computer or system as in claim 11, wherein the output interface comprises at least
20 one light source, and wherein outputting the indication comprises activation the at least one light source.
15. A computer or system as in any preceding claim, wherein outputting an indication of
the probability of the event associated with prostate cancer comprises outputting an
indication of an estimated prostate gland volume.
25
16. A computer or system as in any preceding claim, wherein outputting an indication of
the probability of the event associated with prostate cancer comprises outputting an
indication of a likelihood that a prostate cancer biopsy will be positive.
- 30 17. A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer,
the method, comprising:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total PSA (tPSA) value;

5 evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

10 determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8;

determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0;

15 determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA;

determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA; and

20 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

18. A computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, wherein the method comprises:

receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value and a total PSA (tPSA) value;

30 evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

- determining cubic spline terms for tPSA, wherein determining cubic spline terms for tPSA comprises determining the cubic spline terms for tPSA based on a first cubic spline having a first internal knot between 2-5 and a second internal knot between 5-8;
- 5 determining cubic spline terms for fPSA, wherein determining cubic spline terms for fPSA comprises determining the cubic spline terms for fPSA based on a second cubic spline having a third internal knot between 0.25-1 and a fourth internal knot between 1.0-2.0;
- determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received
- 10 tPSA value and the determined cubic spline terms for tPSA;
- determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined cubic spline terms for fPSA; and
- determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and
- 15 outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.
19. A computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the computer comprising:
- 20 an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;
- at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at
- 25 least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:
- determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio of the fPSA value to the tPSA value; and
- 30 an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

20. The computer of claim 19, wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer comprises:

scaling the tPSA value by a first coefficient value, scaling the iPSA value by a second coefficient value, scaling the kK2 value by a third coefficient value, and scaling the ratio of the fPSA to the tPSA value by a fourth coefficient value to produce scaled values; adding the scaled values; and

determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the scaled values.

21. The computer of claim 19, wherein evaluating the logistic regression model further comprises determining a log of the tPSA value, and wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value comprises determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the log of the tPSA value.

22. A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the method comprising:

receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio of the fPSA value to the tPSA value; and

outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

23. A computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, wherein the method comprises:

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received
5 information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

determining the probability of the event associated with prostate cancer
based, at least in part, on the tPSA value, the iPSA value, the hK2 value, and a ratio
of the fPSA value to the tPSA value; and
10 outputting an indication of the probability of the event associated with prostate
cancer.

24. The computer of claim 19, wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer comprises:

15 scaling the log of the tPSA value by a first coefficient value, scaling the iPSA value by a second coefficient value, scaling the kK2 value by a third coefficient value, and scaling the ratio of the fPSA to the tPSA value by a fourth coefficient value to produce scaled values;

adding the scaled values; and
20 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the scaled values.

25. A computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the computer comprising:

25 an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at
30 least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first
exponent;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent; and

5 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2 value, the non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA; and
an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

10 26. The computer of claim 25, wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer comprises:

scaling the tPSA value by a first coefficient value, scaling the fPSA value by a second coefficient value, scaling the iPSA value by a third coefficient value, scaling the kK2 value by a fourth coefficient value, scaling the non-linear term for tPSA by a fifth coefficient value, and scaling the non-linear term for fPSA by a sixth coefficient value to
15 produce scaled values;

adding the scaled values; and

determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the scaled values.

20 27. The computer of claim 25, wherein the first exponent is two and the second exponent is $\frac{1}{2}$.

28. A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the method comprising:

25 receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

30 evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first exponent;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent; and

determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2 value, the non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA; and

5

outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

29. A computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, wherein the method comprises:

10

receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

15

evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

determining a non-linear term for tPSA by raising the tPSA value to a first exponent;

20

determining a non-linear term for fPSA by raising the fPSA value to a second exponent; and

determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the tPSA value, the fPSA value, the iPSA value, the hK2 value, the non-linear term for tPSA, and the non-linear term for fPSA; and

25

outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

30. A computer for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the computer comprising:

30

an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, and a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

at least one processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:

- 5 determining linear spline terms for tPSA;
- determining linear spline terms for fPSA;
- determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA;
- determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA; and
- 10 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and
- an output interface configured to output an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.

- 15 31. The computer of claim 30, wherein the linear spline terms for tPSA includes a first linear spline term and a second linear spline term, wherein the linear spline terms for fPSA includes a third linear spline term and a fourth linear spline term;

wherein determining the first value comprises scaling the received tPSA value by a first coefficient value, scaling the first linear spline term by a second coefficient value, and
 20 scaling the second linear spline term by a third coefficient value to produce scaled tPSA values and summing the scaled tPSA values; and

wherein determining the second value comprises scaling the received fPSA value by a fourth coefficient, scaling the third linear spline term by a fifth coefficient value, and scaling the fourth linear spline term by a sixth coefficient value to produce scaled fPSA
 25 values and summing the scaled fPSA values.

32. The computer of claim 30, wherein evaluating the logistic regression model further comprises:

- 30 determining linear spline terms for iPSA;
- determining linear spline terms for hK2; and
- wherein determining the probability of the event associated with prostate cancer is further based, at least in part, on the linear spline terms for iPSA and the linear spline terms for hK2.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

33. A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, the method comprising:
- receiving, via an input interface, information for a plurality of blood markers,
 - 5 wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;
 - evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with
 - 10 prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:
 - determining linear spline terms for tPSA;
 - determining linear spline terms for fPSA;
 - determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA;
 - 15 determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA; and
 - determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and
 - outputting an indication of the probability of the event associated with prostate
 - 20 cancer.
34. A computer-readable storage medium encoded with a plurality of instructions that, when executed by a computer, perform a method for determining a probability of an event associated with prostate cancer, wherein the method comprises:
- 25 receiving information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and a human kallikrein 2 (kK2) value;
 - evaluating a logistic regression model based, at least in part, on the received information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a
 - 30 person, wherein evaluating the logistic regression model comprises:
 - determining linear spline terms for tPSA;
 - determining linear spline terms for fPSA;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

- determining a first value for tPSA based, at least in part, on the received tPSA value and the determined linear spline terms for tPSA;
determining a second value for fPSA based, at least in part, on the received fPSA value and the determined linear spline terms for fPSA; and
5 determining the probability of the event associated with prostate cancer based, at least in part, on the first value and the second value; and
outputting an indication of the probability of the event associated with prostate cancer.
- 10 35. A system for determining a risk of high-grade cancer, the system comprising:
an input interface configured to receive information for a plurality of blood markers, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, an intact PSA (iPSA) value, and an hK2 value; and
15 at least one processor programmed to:
enter the received values into a logistic regression model, wherein at least the tPSA value and the fPSA values are entered into the logistic regression model using both linear and non-linear terms; and
evaluate the logistic regression model to determine the risk of high-grade
20 cancer.
36. A system for determining a probability of an event associated with prostate cancer in a person, comprising:
a microfluidic sample analyzer, comprising:
25 a housing;
an opening in the housing configured to receive a cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing;
a pressure-control system positioned within the housing, the pressure-control system
30 configured to pressurize the at least one microfluidic channel in the cassette to move the sample through the at least one microfluidic channel; and
an optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

light source is configured to pass light through the cassette when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned opposite the light source to detect the amount of light that passes through the cassette;

a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person;

5 and

a processor in electronic communication with the microfluidic sample analyzer, the processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

15

37. A method for determining a probability of an event associated with prostate cancer in a person, comprising:

providing a microfluidic sample analyzer, comprising:

a housing;

20

an opening in the housing configured to receive a cassette having at least one microfluidic channel, wherein the housing includes a component configured to interface with a mating component on the cassette to detect the cassette within the housing;

25

a pressure-control system positioned within the housing, the pressure-control system configured to pressurize the at least one microfluidic channel in the cassette to move the sample through the at least one microfluidic channel;

30

an optical system positioned within the housing, the optical system including at least one light source and at least one detector spaced apart from the light source, wherein the light source is configured to pass light through the cassette when the cassette is inserted into the sample analyzer and wherein the detector is positioned opposite the light source to detect the amount of light that passes through the cassette; and

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

a user interface associated with the housing for inputting at least the age of a person;

determining information for a plurality of blood markers using the microfluidic sample analyzer, wherein the information for the plurality of blood markers includes a free prostate-specific antigen (fPSA) value, a total PSA (tPSA) value, and an intact PSA (iPSA) value; and

evaluating, using at least one processor, a logistic regression model based, at least in part, on the information to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

15

38. A system, comprising:

a device comprising:

a first analysis region comprising a first binding partner; and

a second analysis region comprising a second binding partner,

wherein the first binding partner is adapted to bind with at least one of free prostate-specific antigen (fPSA), intact prostate-specific antigen (iPSA), and total PSA (tPSA), and

wherein the second binding partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA, and

a detector associated with the first and second analysis regions; and

a processor programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

39. A method, comprising:
introducing a sample into a device comprising:
a first analysis region comprising a first binding partner; and
a second analysis region comprising a second binding partner,
5 wherein the first binding partner is adapted to bind with at least one of free prostate-specific antigen (fPSA), intact prostate-specific antigen (iPSA), and total PSA (tPSA), and
wherein the second binding partner is adapted to bind with at least another of fPSA, iPSA, and tPSA, and
10 allowing any of the fPSA, iPSA and/or tPSA from the sample to bind with the first and/or second binding partners at the first and second analysis regions;
determining a characteristic of fPSA, iPSA and/or tPSA using one or more detectors associated with the first and second analysis regions;
inputting the characteristics of fPSA, iPSA and/or tPSA into a processor
15 programmed to evaluate a logistic regression model based, at least in part, on information received from the at least one detector to determine a probability of an event associated with prostate cancer in a person, wherein evaluating the logistic regression model comprises scaling each of a plurality of variables by a different coefficient value to produce scaled variables and summing values for the scaled variables used to produce the probability of the
20 event associated with prostate cancer in a person, wherein the plurality of variables includes age and at least two variables included in the information received from the detector and is selected from the group consisting of fPSA, iPSA, and tPSA; and
determining the probability of the event associated with prostate cancer.
- 25 40. A device, comprising:
a microfluidic system comprising:
a first microfluidic channel including at least one inlet and one outlet;
a first reagent stored in the first microfluidic channel;
a seal covering the inlet of the first microfluidic channel and a seal covering the
30 outlet of the first microfluidic channel so as to store the first reagent in the first microfluidic channel;
a second microfluidic channel including at least one inlet and one outlet;

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

a first analysis region, a second analysis region, and a third analysis region, each of the analysis regions including one of an anti-iPSA specific capture antibody, an anti-fPSA specific capture antibody, and an anti-tPSA specific capture antibody;

5 wherein one or more of the first, second and third analysis regions are in fluid communication with the second microfluidic channel;

a fluidic connector that can be connected to the microfluidic system, wherein the fluidic connector comprises a fluid path including a fluid path inlet and a fluid path outlet, wherein upon connection, the fluid path inlet connects to the outlet of the first microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the first microfluidic channel, and the fluid path outlet connects to the inlet of the second microfluidic channel to allow fluid communication between the fluid path and the second microfluidic channel,

10 wherein the first and second microfluidic channels are not in fluid communication with one another absent connection via the fluidic connector; and

a source of a metal colloid conjugated to an antibody that binds to anti-PSA.

15

41. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first and second binding partners are the same.

42. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the device comprises a third binding partner adapted to bind specifically with the first biomarker of the disease or condition.

20

43. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the device comprises a fourth binding partner adapted to bind specifically with the second biomarker of the disease or condition.

25

44. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first and second binding partners are different.

30 45. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first binding partner is adapted to bind specifically with the first biomarker of the disease or condition.

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

46. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the second binding partner is adapted to bind specifically with the second biomarker of the disease or condition.

47. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the device comprises
5 a metal colloid conjugated to an antibody that binds to the first and/or second biomarkers of the disease or condition (e.g., at least one of fPSA, iPSA and tPSA).

48. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the device comprises
10 a third (or fourth) analysis region comprising a binding partner that is adapted to bind with hK2 (e.g., an anti-hk2 specific capture antibody).

49. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first and second analysis regions are: 1) on separate cassettes; or 2) the same cassette.

15 50. A system, method or device as in any preceding claim, wherein at least two of the first, second and third analysis regions is in fluid communication with the second microfluidic channel.

20 51. A system, method or device as in any preceding claim, wherein each of the first, second and third analysis regions is in fluid communication with the second microfluidic channel.

25 52. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first analysis region is in fluid communication with the second microfluidic channel, and the second analysis region is in fluid communication with a third microfluidic channel.

53. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the fluidic connector connects to an inlet of the third microfluidic channel upon connection to the microfluidic system.

30

WO 2013/134179

PCT/US2013/028978

54. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the third analysis region is in fluid communication with a fourth microfluidic channel.

55. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the fluidic connector
5 connects to an inlet of the fourth microfluidic channel upon connection to the microfluidic system.

56. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the first and second analysis regions are formed in different substrate layers.

10

57. A system, method or device as in any preceding claim, the first, second and third analysis regions are formed in different substrate layers.

58. A system, method or device as in any preceding claim, wherein the fourth analysis
15 region is formed in a substrate layer different from a substrate layer including at least one of the first, second and third analysis regions.

20

1. ABSTRACT

Methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume are provided. More particularly, this disclosure relates to methods and apparatuses for providing the models and employing the models for predicting risk of prostate cancer and/or predicting prostate gland volume. The methods and apparatuses for predicting risk of prostate cancer and/or prostate gland volume are provided using, at least in part, information from a panel of kallikrein markers.

2. REPRESENTATIVE DRAWING

10 FIG. 1

WO 2013/134179

1/18

PCT/US2013/028978

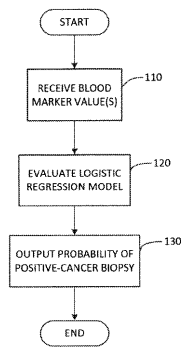


FIG. 1

WO 2013/134179

2/18

PCT/US2013/028978

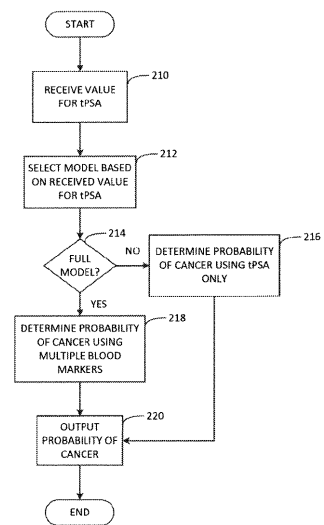


FIG. 2

WO 2013/134179

3/18

PCT/US2013/028978

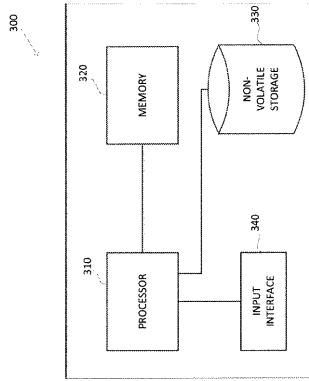


FIG. 3

WO 2013/134179

4/18

PCT/US2013/028978

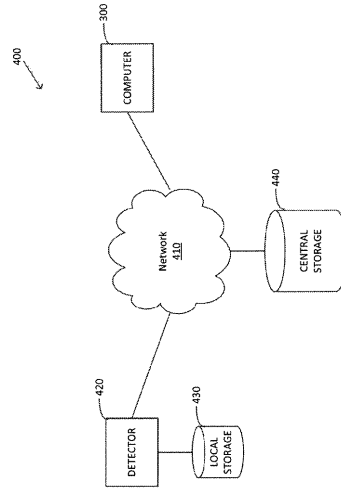


FIG. 4

WO 2013/134179

5/18

PCT/US2013/028978

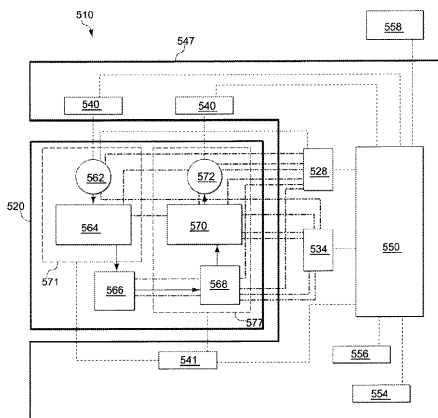


FIG. 5

WO 2013/134179

6/18

PCT/US2013/028978

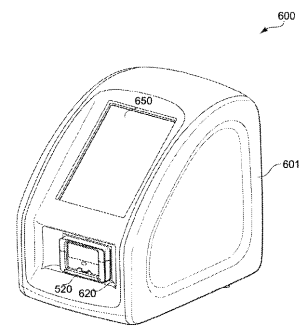


FIG. 6

WO 2013/134179

7/18

PCT/US2013/028978

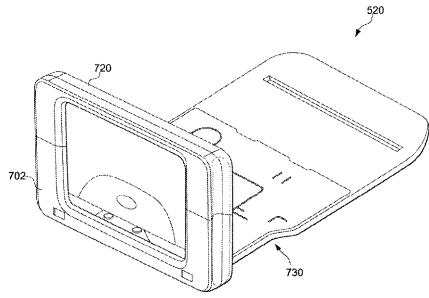


FIG. 7

WO 2013/134179

8/18

PCT/US2013/028978

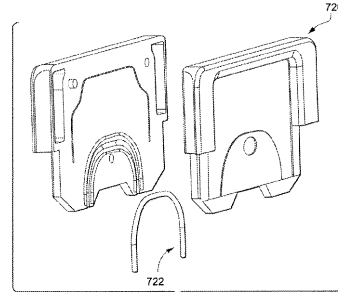


FIG. 8

WO 2013/134179

9/18

PCT/US2013/028978

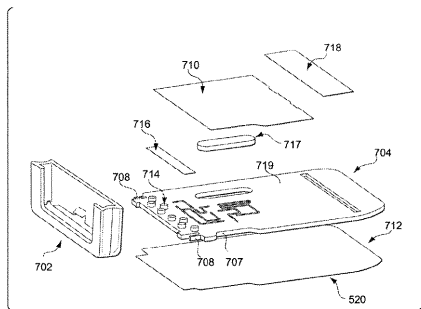


FIG. 9

WO 2013/134179

10/18

PCT/US2013/028978

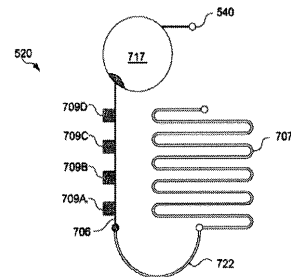


FIG. 10

WO 2013/134179

11/18

PCT/US2013/028978

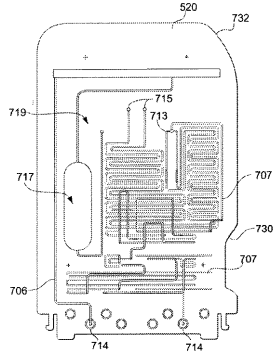


FIG. 11A

WO 2013/134179

12/18

PCT/US2013/028978

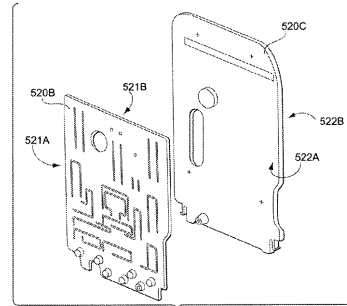


FIG. 11B

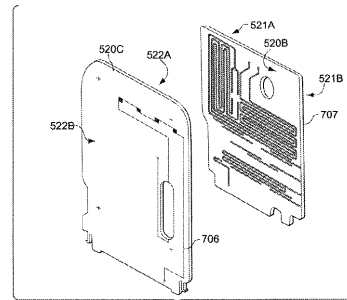


FIG. 11C

WO 2013/134179

13/18

PCT/US2013/028978

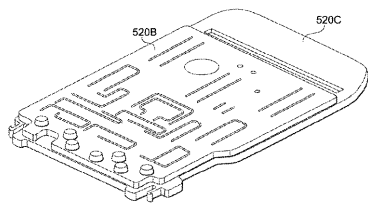


FIG. 11D

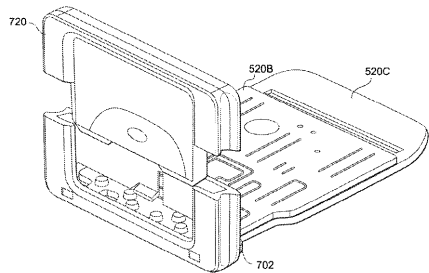


FIG. 11E

WO 2013/134179

14/18

PCT/US2013/028978

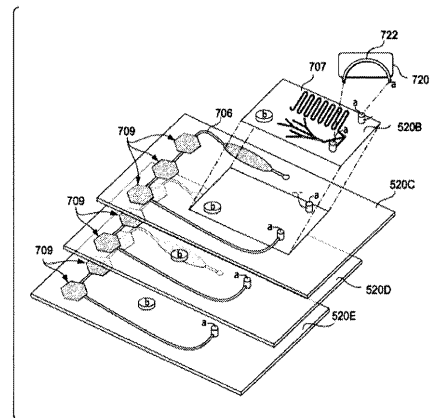


FIG. 11F

WO 2013/134179

15/18

PCT/US2013/028978

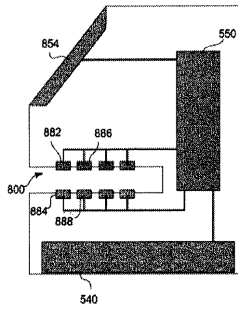


FIG. 12

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 2013/134179

16/18

PCT/US2013/028978

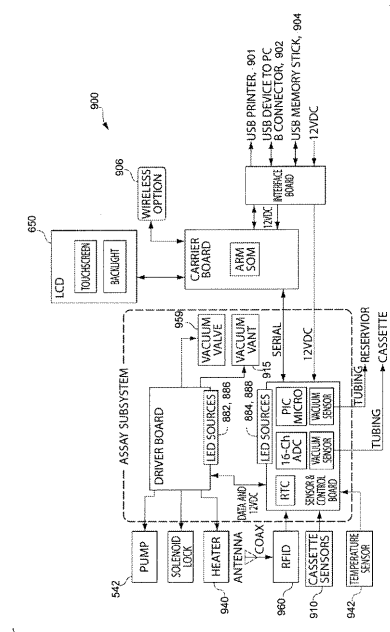


FIG. 13

WO 2013/134179

17/18

PCT/US2013/028978

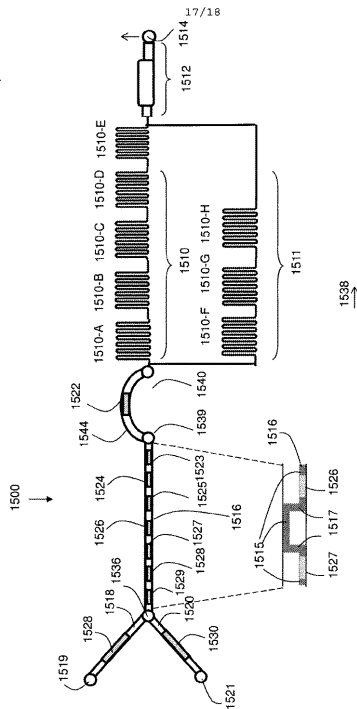


FIG. 14

WO 2013/134179

18/18

PCT/US2013/028978

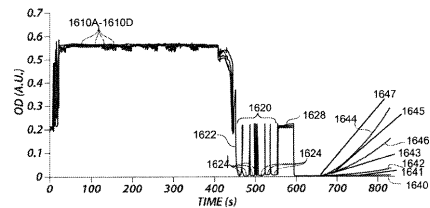


FIG. 15

专利名称(译)	用于预测前列腺癌风险和前列腺体积的方法和设备		
公开(公告)号	JP2018109644A	公开(公告)日	2018-07-12
申请号	JP2018045686	申请日	2018-03-13
[标]申请(专利权)人(译)	Osake雪饱和度的北极合作伙伴激活宝来获得 欧普科诊断有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	Osakeyukiteyua北极合作伙伴激活宝来获得 Opuko诊断有限责任公司		
[标]发明人	アンドリュージェイビッカーズ ピーターティスカーディノ ハンスリルヤ ビンセントリンダー デイビッドスタインミラー		
发明人	アンドリュージェイビッカーズ ピーターティスカーディノ ハンスリルヤ ビンセントリンダー デイビッドスタインミラー		
IPC分类号	G01N33/48 G01N33/574 G01N33/53 G01N33/543 G01N37/00		
CPC分类号	B01L3/502715 B01L2300/0654 B01L2300/0816 B01L2300/087 B01L2400/0487 B01L3/502 G16B20/00 G16B40/00 G16H10/40 G16H50/20 G16H50/30 B01L3/00 G01N33/57434 B01L3/502761 C12Q1/6886 C12Q2600/112 C12Q2600/158 C12Q2600/16 G01N33/54366 G01N33/6893 G01N2333/96455		
FI分类号	G01N33/48.Z G01N33/574.A G01N33/53.D G01N33/543.521 G01N37/00.101		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA25 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/HA09 2G045/JA01 2G045/JA07		
代理人(译)	山田卓司		
优先权	2012005238 2012-03-05 FI 61/606554 2012-03-05 US		
其他公开文献	JP6611844B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供用于预测前列腺癌和/或前列腺体积风险的方法和装置。解决方案：本发明提供了一种模型，并且涉及用该模型预测风险的方法和装置前列腺癌和/或前列腺体积。用于预测前列腺癌和/或前列腺体积风险的方法和装置被配置成至少部分地使用来自激肽释放酶标记物的信息。来自附图：图1

