



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107430112 A

(43)申请公布日 2017.12.01

(21)申请号 201680016577.9

(22)申请日 2016.03.17

(30)优先权数据

62/134,999 2015.03.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.09.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/022921 2016.03.17

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2016/149522 EN 2016.09.22

(71)申请人 生物辐射实验室股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 J·z·梅格德

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 陶启长 陈扬扬

(51)Int.Cl.

G01N 33/48(2006.01)

G01N 33/483(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/541(2006.01)

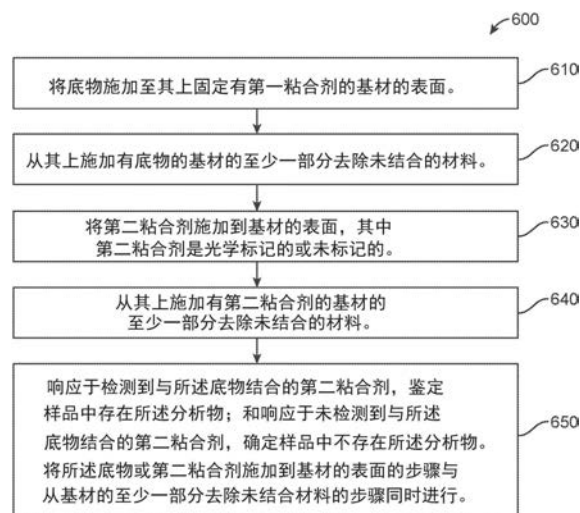
权利要求书4页 说明书16页 附图8页

(54)发明名称

样品分析系统和方法

(57)摘要

提供样品分析系统和方法。在一个实施方案中,该方法可以通过下述步骤实现:将底物施加到其上固定有第一粘合剂的基材表面;从其上施加有所述底物的基材的至少一部分去除未结合的材料;将第二粘合剂施加到所述基材的表面,其中所述第二粘合剂是光学标记的或未标记的;从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,鉴定样品中存在的分析物;并且响应于未检测到与底物结合的光学标记的第二粘合剂,确定样品中不存在分析物;其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材表面的步骤与相应的从所述基材的至少一部分去除未结合的材料的同时进行。



1. 一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:
将底物施加到其上固定有第一粘合剂的基材的表面,其中所述第一粘合剂能够结合所述底物;
从其上施加有底物的基材的至少一部分去除未结合的材料;
将第二粘合剂施加到所述基材的表面,其中所述第二粘合剂是光学标记的或未标记的;
从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;
响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和
响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,确定样品中不存在所述分析物,
其中将所述底物或第二粘合剂施加到基材的表面的步骤与相应的从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。
2. 如权利要求1所述的方法,其还包括:
将第三粘合剂施加到具有与所述底物结合的所述第二粘合剂的所述基材的表面,其中所述第三粘合剂被光学标记,并且所述第二粘合剂未被光学标记;
从其上施加有第三粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;
响应于检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和
响应于未检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,确定样品中不存在所述分析物,
其中将第三粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。
3. 如权利要求1所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的微流体体积。
4. 如权利要求1所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的亚微流体体积。
5. 如权利要求1所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面并且从所述基材的至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。
6. 如权利要求5所述的方法,其中所述分配器是微流体探针。
7. 如权利要求5所述的方法,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
8. 如权利要求5所述的方法,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
9. 如权利要求1所述的方法,其中所述基材的表面是湿的。
10. 如权利要求1所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述底物或第二粘合剂。
11. 如权利要求10所述的方法,其中所述路径是直线。
12. 如权利要求10所述的方法,其中所述路径为25纳米至500微米宽。
13. 如权利要求1所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述底物或第二粘合剂。

14. 如权利要求1所述的方法,其中所述第一粘合剂固定在至少一个离散点中。
15. 如权利要求1所述的方法,其中所述第一粘合剂固定在至少一个离散线中。
16. 如权利要求1所述的方法,其中所述第一粘合剂是1-100种不同的第一粘合剂。
17. 如权利要求1所述的方法,其中所述底物是1-100种不同的底物。
18. 如权利要求1所述的方法,其中所述第一粘合剂包含来自试剂或样品的抗体或抗体片段。
 19. 如权利要求18所述的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。
 20. 如权利要求18所述的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。
21. 一种系统,所述系统包含:
 - 基材,其具有固定在其上的离散位置的第一粘合剂,其中所述第一粘合剂能够结合施加到所述基材表面的底物;
 - 分配器,其被配置为同时将所述底物或至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料;
 - 光源,其被配置为照射所述基材的表面;和
 - 检测器,其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。
22. 如权利要求21所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。
23. 如权利要求21所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
24. 如权利要求21所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
25. 一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:
 - 将第一粘合剂施加到其上固定有底物的基材的表面,其中所述第一粘合剂能结合所述底物并被光学标记或未被光学标记;
 - 从其上施加有第一粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;和
 - 响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和
 - 响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂,确定样品中不存在所述分析物,其中将第一粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。
26. 如权利要求25所述的方法,其还包括:
 - 将第二粘合剂施加到具有与所述底物结合的第一粘合剂的所述基材的表面,其中所述第二粘合剂被光学标记,并且所述第一粘合剂未被光学标记;
 - 从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;
 - 响应于检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和
 - 响应于未检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂,确定样品中不存在所述分析物。
27. 如权利要求25所述的方法,其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的微流体体积。

28. 如权利要求25所述的方法,其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的亚微流体体积。

29. 如权利要求25所述的方法,其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面并且从所述基材的至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述分配器是微流体探针。

31. 如权利要求29所述的方法,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。

32. 如权利要求29所述的方法,其中所述分配器是微流体探针的阵列。

33. 如权利要求25所述的方法,其中所述基材的表面是湿的。

34. 如权利要求25所述的方法,其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述第一粘合剂。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述路径是直线。

36. 如权利要求34所述的方法,其中所述路径为25纳米至500微米宽。

37. 如权利要求25所述的方法,其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述第一粘合剂。

38. 如权利要求25的方法,其中所述底物固定在至少一个离散点中。

39. 如权利要求25的方法,其中所述底物固定在至少一个离散线中。

40. 如权利要求25所述的方法,其中所述底物是1-100种不同的底物。

41. 如权利要求25的方法,其中所述第一粘合剂是1-100种不同的第一粘合剂。

42. 如权利要求25的方法,其中所述底物包含来自试剂或样品的抗原。

43. 如权利要求42的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。

44. 如权利要求43的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。

45. 一种系统,所述系统包含:

基材,其具有固定在离散位置的底物,其中第一粘合剂能够结合所述底物;

分配器,其被配置为同时将至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料;

光源,其被配置为照射所述基材的表面;和

检测器,其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。

46. 如权利要求45所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。

47. 如权利要求45所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。

48. 如权利要求45所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。

49. 一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:

将具有分析物的样品和底物的混合物施加到其上固定有粘合剂的基材的表面,其中所述粘合剂能够与所述底物和所述分析物结合;

从其上固定有所述粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;

响应于未检测到与所述粘合剂结合的底物,鉴定样品中存在所述分析物;和响应于检测到与所述粘合剂结合的底物,确定样品中不存在所述分析物;

其中将所述混合物施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的

步骤同时进行。

50. 如权利要求49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述混合物的微流体体积。

51. 如权利要求49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述混合物的亚微流体体积。

52. 如权利要求49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面并且从所述基材至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。

53. 如权利要求52所述的方法,其中所述分配器是微流体探针。

54. 如权利要求52所述的方法,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。

55. 如权利要求52所述的方法,其中所述分配器是微流体探针的阵列。

56. 如权利要求49所述的方法,其中所述基材的表面是湿的。

57. 如权利要求49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述底物。

58. 如权利要求57所述的方法,其中所述路径是直线。

59. 如权利要求57所述的方法,其中所述路径为25纳米至500微米宽。

60. 如权利要求49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述混合物。

61. 如权利要求49的方法,其中所述粘合剂固定在至少一个离散点中。

62. 如权利要求49的方法,其中所述粘合剂固定在至少一个离散线中。

63. 如权利要求49的方法,其中所述粘合剂是1-100种不同的粘合剂。

64. 如权利要求49所述的方法,其中所述混合物是1-100种不同的混合物。

65. 如权利要求49所述的方法,所述粘合剂包含抗体或抗体片段。

66. 如权利要求49所述的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。

67. 如权利要求66所述的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。

68. 如权利要求49所述的方法,其中所述底物是选自激素、蛋白质和肽的纯化的和光学标记的分析物。

69. 一种系统,所述系统包含:

基材,其具有固定在离散位置的粘合剂,其中所述粘合剂能够结合样品中的分析物并结合底物;

分配器,其配置成同时将样品和底物的混合物分配到基材上并从基材去除未结合的材料;

光源,其被配置为照射所述基材的表面;和

检测器,其被配置为检测样品中是否存在与所述粘合剂结合的分析物。

70. 如权利要求69所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。

71. 如权利要求69所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。

72. 如权利要求69所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。

样品分析系统和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2015年3月18日提交的美国临时申请号62/134,999的优先权,其通过引用纳入本文用于所有目的。

背景技术

[0003] 酶联免疫吸附试验(“ELISA”)是通常用作检测样品中存在抗体或抗原的医学诊断工具的生物化学技术。在ELISA期间,将含有分析物的样品经历在不溶性载体(例如在微升板中的微孔)表面上进行生物化学过程。根据所进行的特定测试,可以将预定的捕获抗体或生物分子(例如,抗原)固定在每个微孔的表面上,并且可以根据包括单独的孵育和洗涤步骤的预定方案将受控量的各种流体(例如封闭溶液,洗涤溶液,测试样品,检测抗体,一抗和二抗和底物)加入到微孔中。可以使用测量吸光度、荧光和/或发光或其他性质的光学检测器来观察生化过程的结果,以提供定性和/或定量测试结果。

[0004] 尽管ELISA可提供有用的信息,但由于每个试验步骤中长时间的孵育时间,该技术是耗时的。在ELISA中使用的抗体和试剂也很贵。

发明内容

[0005] 本文公开了样品分析系统和使用这种方法。

[0006] 在一个实施方案中,公开了确定样品中是否存在分析物的方法。所述方法包括:将底物施加到其上固定有第一粘合剂的基材的表面,其中所述第一粘合剂能够结合所述底物;

[0007] 从其上施加有底物的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0008] 将第二粘合剂施加到所述基材的表面,其中所述第二粘合剂是光学标记的或未标记的;

[0009] 从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0010] 和响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;

[0011] 和响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,确定样品中不存在所述分析物;

[0012] 其中将所述底物或第二粘合剂施加到基材的表面的步骤与相应的从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。在一些实施方式中,所述方法还包括:将第三粘合剂施加到具有与所述底物结合的所述第二粘合剂的所述基材的表面,其中所述第三粘合剂被光学标记,并且所述第二粘合剂未被光学标记;

[0013] 从其上施加有第三粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0014] 响应于检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;

[0015] 和响应于未检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,确定样品中

不存在所述分析物，

[0016] 其中将第三粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。

[0017] 在一些实施方案中，用于确定样品中是否存在分析物的系统包括：

[0018] 基材，其具有固定在离散位置的第一粘合剂，其中所述第一粘合剂能够结合施加到所述基材表面的底物；

[0019] 分配器，其被配置为同时将所述底物或至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料；

[0020] 光源，其被配置为照射所述基材的表面；和

[0021] 检测器，其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。

[0022] 在一个实施方案中，确定样品中是否存在分析物的方法包括

[0023] 将第一粘合剂施加到其上固定有底物的基材的表面，其中所述第一粘合剂能结合所述底物并被光学标记或未被光学标记；

[0024] 从其上施加有第一粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；和

[0025] 响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂，鉴定样品中存在所述分析物；和

[0026] 响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂，确定样品中不存在所述分析物，

[0027] 其中将第一粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。在一些实施方式中，所述方法还包括：将第二粘合剂施加到具有与所述底物结合的所述第一粘合剂的所述基材的表面，其中所述第二粘合剂被光学标记，并且所述第一粘合剂未被光学标记；

[0028] 从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；

[0029] 响应于检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂，鉴定样品中存在所述分析物；和

[0030] 响应于未检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂，确定样品中不存在所述分析物。

[0031] 在一些实施方案中，用于确定样品中是否存在分析物的系统包括：

[0032] 基材，其具有固定在离散位置的底物，其中第一粘合剂能够结合所述底物；

[0033] 分配器，其被配置为同时将至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料；

[0034] 光源，其被配置为照射所述基材的表面；和

[0035] 检测器，其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。

[0036] 在一个实施方案中，确定样品中是否存在分析物的方法包括

[0037] 将底物和具有分析物的样品的混合物施加到其上固定有粘合剂的基材的表面，其中所述粘合剂能够与所述底物和所述分析物结合；

[0038] 从其上固定有所述粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；和

[0039] 响应于未检测到与所述粘合剂结合的底物，鉴定样品中存在所述分析物；和

[0040] 响应于检测到与所述粘合剂结合的底物，确定样品中不存在所述分析物；

[0041] 其中将所述混合物施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。

[0042] 在一些实施方案中,用于确定样品中是否存在分析物的系统包括:

[0043] 基材,其具有固定在离散位置的粘合剂,其中所述粘合剂能够结合样品中的分析物并结合底物;

[0044] 分配器,其配置成同时将样品和底物的混合物分配到基材上并从基材去除未结合的材料;

[0045] 光源,其被配置为照射所述基材的表面;和

[0046] 检测器,其被配置为检测样品中是否存在与所述粘合剂结合的分析物。

[0047] 将底物/第二粘合剂施加到基材的表面和洗涤步骤可以用流体动力学流动限制分配器进行。在一个实施方式中,流体动力学流限制分配器是微流体探针。在一个实施方式中,流体动力学流限制分配器是具有多重微通道的微流体探针。在另一实施方式中,所述流体动力学流限制分配器是微流体探针的阵列。

[0048] 在一些实施方式中,基材的表面是湿的。在一个实施方式中,将底物或粘合剂分配到基材表面上,分配在至少一个离散点中。在一些实施方式中,点的直径为约25纳米至约500微米。在一个实施方式中,底物/粘合剂分配在至少一个离散的路径中。在某些实施方式中,路径是直线。在一些实施方式中,路径为约25纳米至500微米宽。在一些实施方式中,1-100种底物/粘合剂结合到基材的表面。

[0049] 在一些实施方式中,底物或粘合剂是来自试剂或样品的抗原,抗体或抗体片段。在一些实施方式中,所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。在一些实施方式中,所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。

[0050] 附图简要说明

[0051] 图1显示了根据本发明的实施方式的样品分析系统的示意图。

[0052] 图2示出了根据本发明的实施方式的具有施加在其上的粘合剂(例如,样品或试剂)阵列的基材的俯视图,其中底物(例如,分别为试剂或样品)用微流体探针施加。

[0053] 图3A和3B显示了现有技术的微流体探针。

[0054] 图4显示了具有多个处理液体微通道的微流体探针,其根据本发明的实施方式可以连接到单个试剂溶液或多个试剂溶液。

[0055] 图5显示根据本发明的一个实施方式平行连接到单个或多个试剂溶液的多个微流体探针。

[0056] 图6示出根据本发明的实施方式的使用图1的系统确定样品中是否存在分析物的方法的流程图。该方法包括将底物(例如抗原)施加到预先固定有第一粘合剂(例如抗体)的基材的表面。

[0057] 图7示出根据本发明另一实施方式的使用图1的系统确定样品中是否存在分析物的方法的流程图。该方法包括将第一粘合剂(例如抗体)施加到预先固定有底物(例如抗原)的基材的表面。

[0058] 图8示出根据本发明另一实施方式的使用图1的系统确定样品中是否存在分析物的方法的流程图。该方法包括将具有分析物(例如抗原)和底物(例如,纯化和标记形式的分析物)的样品的混合物施加到具有预先固定有粘合剂的基材的表面。粘合剂能够结合底物

和分析物。

[0059] 图9显示了可用于根据本发明的实施方式的系统和方法的示例性计算机系统的框图。

[0060] 定义

[0061] 术语“光学标记的粘合剂”是指用发光(例如,荧光,比色,磷光或化学发光)标记物标记的粘合剂,当用光照射时,其发射光信号。

具体实施方式

[0062] 本文描述了用于分析样品的系统和方法。已经发现样品分析印迹的自动化高通量系统和方法可以一次测试多个样品,使用较少量的试剂,并且可以提供快速的测试结果。

[0063] 本文中所述系统和方法的优点包括但不限于:(1)提供尺寸紧凑并递送纳升至微升体积的试剂(例如含有抗原或抗体的溶液)的系统;(2)提供定位反应化学并降低反应时间的系统;(3)提供能够进行多重试验(例如,测试单个分析物的多个样品和/或测试多个分析物的单个样品)的系统;(4)提供“免操作”系统;(5)提供可以同时执行试剂或样品的施加和未结合材料洗涤步骤的系统。

[0064] 在本说明书和权利要求书中所用的单数形式“一个”、“一种”和“该”包括多个指示物,除非上下文中有明显的表示。因此,例如,引用包含“粘合剂”的系统包括包含一种或多种粘合剂的系统。同样,对“底物”的引用包括一种或多种底物。

[0065] 系统

[0066] 参考图1,显示了用于分析样品的系统100。在一个实施方式中,系统100用于将底物(即,来自试剂或样品的抗原或抗体)施加到其上具有至少一种粘合剂(即分别来自样品或试剂的抗体或抗原)的基材上。系统100包括基材102,分配器104(例如,微流体探针),光源106和检测器108。

[0067] 基材102提供粘合剂110(图2所示)固定或结合到其上的表面。基材102通常为平面形状,并且可以由一种或多种材料形成,包括但不限于聚对苯二甲酸乙二醇酯(例如, Mylar),聚丙烯,聚苯乙烯,聚碳酸酯,塑料,玻璃,硅,氧化硅和/或金属和金属氧化物,其裸露或用聚合物官能化。基材102可以包含微孔或纳米孔。用于官能化由金属或金属氧化物形成的基材的表面的聚合物的实例包括缩水甘油氧基丙基三乙氧基硅烷,聚-L-赖氨酸,聚凝胺,聚乙二醇聚合物,葡聚糖聚合物,氨基丙基硅烷,羧基硅烷(caroxysilane),水凝胶和聚合物刷,和/或自组装单层(例如官能化)烷基硫醇,树枝状聚合物或寡核苷酸。在一个实施方式中,基材102涂覆有金。在一个实施方式中,基材102是具有多个孔的微量滴定板,其中样品110可以在其中固定。在一些实施方式中,基材102是由包括例如硝酸纤维素,聚偏二氟乙烯,尼龙或聚砜的材料形成的膜。

[0068] 基材102的表面可以是湿的或干的。在其中粘合剂110需要水合以保持活性的一些实施方式中,湿表面是理想的。用于湿润基材102的表面的示例性流体包括但不限于缓冲液,水,盐水,封闭溶液和/或油(例如矿物油)。

[0069] 在一些实施方式中,基材102安装在可在X-Y和/或Z方向上移动的平台。

[0070] 在图2所示的实施方式中,一种或多种粘合剂110以点和/或斑点的图案结合到基材102的表面。在一个实施方式中,点/斑点的直径为约25纳米至约500微米。在某些实施方

式中,点/斑点的直径为约50纳米至约200微米。在一个实施例中,点和/或斑点的阵列覆盖基材102的表面。在一个实施方式中,一种或多种粘合剂110以线阵列结合到基材102。在一个实施方式中,线约25纳米至约500微米宽。在某些实施方式中,线约50纳米至约200微米宽。在一个实施方式中,线阵列跨越基材102的宽度。在另一实施方式中,线阵列跨越基材102的长度。在一些实施方式中,1-100种粘合剂结合到基材102的表面。在某些实施方式中,10-100种粘合剂结合到基材的表面。在一些实施方式中,10-50种粘合剂结合到基材的表面。粘合剂110可以相同或不同。

[0071] 粘合剂110能够结合样品中的底物(例如分析物)或试剂中的底物(例如抗体或抗原)。示例性粘合剂110可以包括但不限于抗原,抗体和/或抗体片段。示例性分析物可以包括但不限于激素、细菌抗原、抗体、抗体片段、蛋白质和/或肽。在一些实施方式中,底物(或分析物)是抗原的抗体,并且粘合剂110是抗原。在一些实施方式中,底物是抗原(其可以是重组抗原),并且粘合剂110是抗原的抗体。示例性样品包括但不限于全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵、腹水、杂交瘤上清液、细胞裂解物、组织或细胞培养物上清液和/或水。

[0072] 在其中粘合剂或底物是抗体的实施方式中,抗体可以是多克隆和/或单克隆或具有不同抗原特异性或功能片段的单克隆抗体的混合物,其包括F(ab')₂片段的结构域,Fab片段和scFv。功能性抗体片段可以是(i)衍生自源(例如转基因小鼠);或(ii)嵌合体,其中所述可变结构域来自例如非人源并且恒定结构域来源于例如人源或(iii)互补决定区(CDR)移植的,其中可变结构域的CDR来自例如非人源,而可变结构域的一个或多个框架是例如人源的,并且恒定结构域(如果有的话)是例如人源的。抗体可以从天然来源分离,即活体或细胞培养物,或可以是完全或部分合成的抗体。合成抗体是具有通过计算机而全部或部分源自从基于已知抗体序列分析的合成序列的序列的抗体。抗体序列或其片段的计算机设计可以例如通过分析抗体或抗体片段序列的数据库并利用从其获得的数据设计多肽序列来实现。抗体也可以是一种或多种一抗和/或二抗。

[0073] 粘合剂110可以通过例如但不限于流体动力学流体限制、喷墨印刷、喷雾沉积、微珠和/或微接触印刷的技术沉积到基材102的表面上。在沉积期间或之后,粘合剂110可通过例如静电吸引力、亲和力相互作用、疏水/亲水相互作用或共价偶联固定在基材102的表面上。

[0074] 在一些实施方式中,不具有固定化粘合剂110并且可以提供非特异性结合位点的底物102的区域可以在缓冲液中用封闭剂例如非脂肪乳蛋白、酪蛋白和/或牛血清白蛋白处理。

[0075] 再次参考图1,分配器104被配置为在粘合剂110顶部上的离散路径112中分配一种或多种粘合剂或底物(即,试剂或样品)的微流体或亚微流体积。在一些实施方式中,路径112是连续的。在一些实施方式中,路径是112不连续的。在一些实施方式中,路径跨越基材102的长度。在其他实施方式中,路径跨越基材102的宽度。在某些实施方式中,路径的宽度为约50纳米至约200微米宽。在一些实施方式中,1-100粘合剂/底物以平行路径分配在基材102的表面上。在其他实施方式中,10-100粘合剂/底物以平行路径分配在基材102的表面上。在一些实施方式中,10-50粘合剂/底物以平行路径分配在基材102的表面上。在一些实施方式中,以点和/或斑点的图案分配一种或多种粘合剂/底物。在一个实施方式中,粘合剂/底物的点/斑点的直径为约25纳米至约500微米。在某些实施方式中,粘合剂/底物的点/

斑点的直径为约25纳米至约200微米。在一个实施例中,粘合剂/底物的点和/或斑点阵列覆盖基材的表面。

[0076] 在一些实施例中,分配器104可在X-Y和/或Z方向上移动。分配器104的移动和功能可以是计算机控制的。

[0077] 在一些实施方式中,分配器104是流体动力学流限制分配器。在一个实施方式中,流体动力学流动约束分配器是微流体探针200(或垂直MFP),如美国专利申请13/881,989中所述,其全部内容通过引用并入本文。在图3A和3B所示的实施方式中,微流体探针200可以包括基层220,其中处理液体微通道223,224与浸没液体微通道323,324一起提供。每个通道与孔221,222,321,322流体连通,每个孔位于基层的表面(不一定是相同的面)上,并且优选紧邻。通道223,224,323,324还提供电动泵与孔221,222,321,322之间的连接。当在表面附近移动微流体探针200时,通过孔221提供的处理液体将与浸没液体合并并且优选地插入通过孔321和322提供的浸没液体,如图3B的弯曲(厚)箭头所象征的。后者是为了理解而提供的;他们的维度被刻意夸大。在这方面,在一些实施方式中,该装置被配置为获得层流。在一些实施方式中,孔尺寸可以是几十微米(例如,10-50微米)。在一些实施方式中,孔尺寸可以为1-50微米。孔通常间隔几百微米(例如,200-500微米)。由于这里使用成对的处理通道/孔,所以处理液体可以与一些浸没液体一起在孔222处被再吸出。应注意孔221和222之间的流动路径可以反转,即处理液体可以从孔222注入,而孔221可以吸出液体。处理液体可以基本上位于孔221和222附近,并被基本上存在于头部200附近的浸没液体包围。覆盖层210封闭开在基层的上表面上的通道开口,如描述。

[0078] 此外,在一些实施方式中,处理液体微通道的一部分以基层220的层厚度中的凹槽223',224'提供,在其上表面上有开口。不管横向尺寸(可能很小,例如几十微米),这样很容易实现形成微通道。在组装后,凹槽被覆盖层210的一部分封闭。凹槽可以由工具直接雕刻在基层220的上表面上。其可以具有任意合适的截面形状,例如,圆形、正方形、U或V截面。可以根据基层220的材料来选择该工具。在一个变体中,可以考虑激光烧蚀。最有利的是,深反应离子蚀刻(DRIE)用于制造微通道。

[0079] 如图3B所示,凹槽223',224'延伸到相应的孔221,222。类似地,浸没通道223,224到达相应的孔321,324。在该示例中,通道和孔围绕头部的上表面的主轴对称排列。在基层220的前表面320的边缘310的水平处,在凹槽的端部处直接形成孔,这在此易于再次加工。所述前端320通常是尖锐的,这允许感兴趣的表面上的紧密的液体沉积,并且留下便于光学监测的空间。

[0080] 参考图3A,通孔211,212设置在覆盖层210上。附加通孔311被示出,其允许将流体连通中继到浸没通道323,324(在这里仅提供一个通孔,其向两个浸没通道进料)。可以提供连接到通孔的相应管道端口(未显示)。通道具有布置成例如面向通孔的端部。

[0081] 如图3A和3B所示,微流体探针200包括两个处理液体微通道。在一些实施方式中,微流体探针200包括两个以上的处理液体微通道。在一些实施方式中,微流体探针200包括2-50个处理液体微通道(参见图4)。在一些实施方式中,微流体探针200可以在至少一个处理液体微通道中包括加热元件。加热样品可能会增加抗原和抗体反应的速度,从而可减少测试时间。

[0082] 在图5所示的实施方式中,微流体探针是平行连接的探针阵列(即,探针阵列500),

其可以连接到相同或不同的处理液体。在另一个实施方式中,探针阵列500中的每个探针包括多个微通道。

[0083] 微流体探针可以由与流过通道的流体相容的材料形成。示例性的相容材料包括但不限于硅、二氧化硅、聚二甲基硅氧烷(PDMS)、砷化镓、玻璃、陶瓷、石英、聚合物如氯丁橡胶、Teflon™、聚乙烯弹性体、聚丁二烯/SBR、亚硝酸盐、尼龙和/或金属。通道的内表面也可以用合适的材料涂覆以降低流体组分和通道本身之间的亲和性。

[0084] 示例性的处理液体包括试剂、样品、缓冲液、封闭溶液、油(例如,矿物油)和/或空气。示例性浸没液体包括缓冲液、封闭溶液和油。

[0085] 处理和浸没液体被配置成以高效和可重复的方式填充微通道。因此,将液体配制成具有适当的粘度、亲水性或疏水性。在一些实施方式中,液体可以包括一种或多种表面活性剂、洗涤剂、乳化剂、增溶剂,以便以快速和可重复的方式提供微通道的可接受/最佳填充。在一些实施方式中,液体包括以下中的一种或多种:月桂基硫酸铵、月桂基硫酸钠(SDS,十二烷基硫酸钠)、月桂醇聚醚硫酸钠、肉豆蔻醇聚醚硫酸钠、二辛基磺基琥珀酸钠、全氟辛烷磺酸盐(PFOS)、全氟丁烷磺酸盐、直链烷基苯磺酸盐(LAB)、硬脂酸钠、月桂酰肌氨酸钠、全氟壬酸盐、全氟辛酸盐、烷基三甲基铵盐(例如,十六烷基三甲基溴化铵)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、苯扎氯铵(BAC)、苜索氯铵(BZT)、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷、二甲基双十八烷基氯化铵、十六烷基三甲基溴化铵、双十八烷二甲基基溴化铵(DODAB)、CHAPS、椰油酰胺丙基羟基磺基甜菜碱、卵磷脂、聚氧乙烯二醇烷基醚、聚氧丙烯二醇烷基醚、葡萄糖苷烷基醚、聚氧乙烯二醇辛基酚醚(如曲通X-100)、聚氧乙烯乙二醇烷基酚醚、甘油烷基酯、聚氧乙烯二醇脱水山梨糖醇烷基酯(例如,聚山梨醇酯)、脱水山梨糖醇烷基酯、椰油酰胺MEA、椰油酰胺DEA、十二烷基二甲基氧化胺、聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物和/或聚乙氧基化牛脂胺(POEA)。

[0086] 在一些实施方式中,液体包含调整浓度的吐温(例如,吐温-20)和牛血清白蛋白(BSA)。在一些实施方式中,设计吐温(例如,吐温-20)和BSA的浓度以提供溶液在微通道长度上的高效流动。在一些实施方式中,设计吐温(例如,吐温-20)和BSA的浓度以提供通过微流体通道的基材的活化/润湿。在一些实施方式中,液体包含0.01%至5%的BSA。在一些实施方式中,液体包含0.01%至5%的吐温。

[0087] 再次参考图1,光源106被配置为照射基材102的表面。根据待检测的信号,光源106可以提供从可见范围到近红外范围的光。示例性光源包括激光器和发光二极管。

[0088] 检测器108被配置为检测从基材102的表面发射的光。在一些实施方式中,通过可见、比色、荧光或发光检测来实现检测。在一些实施方式中,通过诸如通过摄影或电子检测器的成像来实现检测。示例性电子检测器包括光电二极管、电荷耦合器件(CCD)检测器或互补金属氧化物半导体(CMOS)检测器。

[0089] 来自检测器108的模拟信号由模拟-数字转换器114数字化。数字化信号由微处理器116处理以获得存储在存储器118中和/或显示在可选显示器120上的检测光的至少一个值或强度。

[0090] 通过使用适当的电子元件和软件,系统100可被编程为知晓结合至基材102的表面上的粘合剂110的特定底物(或分析物)的身份和位置。分析物的身份和位置可以与生成的信号相关联,以便测试者可以测定和鉴定分析物。此外,可以包括统计软件,以便组合和制

定来自样品的各种重复和/或稀释的结果。以这种方式,从多个分析物获得的信号可以被一起因子化 (factored),并将统计学显著的结果显示给测试者。

[0091] 方法

[0092] 本文描述的任何方法可以用图1所示的上述系统来执行。

[0093] 参照图6,现在将描述用于分析样品的方法600。

[0094] 在示例性步骤610中,将底物施加到具有固定在其上的第一粘合剂110的基材102的湿或干的表面。在一个实施方式中,第一粘合剂能够结合底物。在一些实施方式中,第一粘合剂是来自试剂或样品的捕获抗体,并且该底物分别是来自样品或试剂的抗原。在一些实施方式中,在施用后,可将底物与第一粘合剂110孵育约5分钟至约60分钟。

[0095] 在一个实施方式中,一种或多种底物用一种或多种微流体探针施加。在一些实施方式中,每种底物使用一种微流体探针(图2)。将每种底物施加到涂覆有第一粘合剂110的基材102(即,在与第一粘合剂110的线平行或垂直的方向上),使得底物被施加到涂覆在基材102上的各粘合剂110。在另一个实施方式中,平行的探针阵列(探针阵列400)连接到相同或不同的底物(图4)。探针阵列400同时向所有的粘合剂110施加相同或不同的底物。对于新底物,探针阵列400中的通道例如经漂洗以去除第一底物,探针阵列400一起移动到另一组第一粘合剂110上,并且将新底物施加到新的粘合剂110组。对于每种新底物,重复漂洗和移动探针阵列400的过程。在一些实施方式中,多个探针阵列400用于测试多个第一粘合剂110,每个粘合剂一次针对多个底物。

[0096] 在图5所示的实施方式中,微流体探针500包括多个处理液体微通道。多个处理液体微通道可以用于将一种或多种底物(即,相同或不同的底物)和/或第一粘合剂110沉积到基材102的表面上。在一些实施方式中,微流体探针包括2-50个处理液体微通道。在其他实施方式中,探针阵列400(图4所示)中的每个探针包括多个微通道。

[0097] 在示例性步骤620中,从其上施加有底物的基材102的至少一部分去除未结合的材料。

[0098] 在示例性步骤630中,将第二粘合剂施加到基材的表面,其中第二粘合剂是光学标记的或未标记的。在一个实施方式中,第二粘合剂可以是光学标记的或未标记的一抗。在一些实施方式中,在施加之后,可以使第二粘合剂与基材102表面上的材料孵育约5分钟至约60分钟。

[0099] 在示例性步骤640中,从其上施加有第二粘合剂的基材102的至少一部分去除未结合的材料。

[0100] 在步骤620和640中,可以通过用例如缓冲液,水或盐水洗涤基材102的表面来去除未结合的材料。在实施方式中,微流体探针可以用于通过泵送洗涤溶液穿过一个或多个处理液体微通道来去除未结合的材料。在一些实施方式中,洗涤步骤可以与相应的施加步骤同时进行。例如,步骤610可以与步骤620同时进行,并且步骤630可以与步骤640同时进行。

[0101] 在示例性步骤650中,检测与底物结合的光学标记的第二粘合剂,并鉴定存在于样品中的分析物。样品中不存在分析物也可以通过未检测到与底物结合的光学标记的第二粘合剂来确定。

[0102] 与分析物结合的未标记的第二粘合剂也可以通过二次标记检测(包括例如荧光或化学发光的偶联抗体)来检测。在二次标记检测实施方式中,将光学标记的第三粘合剂(例

如光学标记的二抗)施加到具有与底物结合的未标记的第二粘合剂的基材的表面。通过一个或多个处理液体微通道泵送洗涤溶液来除去未结合的材料。在一个实施方式中,洗涤步骤与第三粘合剂施加的步骤同时进行。然后检测与第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,并鉴定存在于样品中的分析物。样品中不存在分析物也可以通过未检测到与第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂来确定。

[0103] 如图7所示,现在将描述用于分析样品的方法700。

[0104] 在示例性步骤710中,将第一粘合剂施加到其上固定有底物的基材的表面。在一个实施方式中,第一粘合剂能够结合底物并被光学标记或未标记。在一些实施方式中,第一粘合剂是标记或未标记的一抗,并且该底物是来自样品或试剂的抗原。在一些实施方式中,在施加后,可将底物与第一粘合剂孵育约5分钟至约60分钟。

[0105] 在一个实施方式中,使用一个或多个微流体探针200将第一粘合剂施加到基材102的表面。在另一个实施方式中,探针阵列400(图4)用于将一种或多种第一粘合剂施加到基材102的表面。在另一个实施方式中,具有多于一个微通道的微流体探针500(图5)用于将一种或多种第一结合剂施到底物102的表面。

[0106] 在示例性步骤720中,通过泵送洗涤溶液穿过微流体探针的一个或多个处理液体微通道来去除未结合的材料。在一个实施方式中,洗涤步骤720与施加步骤710同时进行。

[0107] 在示例性步骤730中,检测与底物结合的光学标记的第一粘合剂,并鉴定存在于样品中的分析物。样品中不存在分析物也可以通过未检测到与底物结合的光学标记的第一粘合剂来确定。

[0108] 与分析物结合的未标记的第一粘合剂也可以通过二次标记检测来检测。在二次标记检测实施方式中,将光学标记的第三粘合剂(例如光学标记的二抗)施加到具有与底物结合的第二粘合剂的基材的表面。通过一个或多个处理液体微通道泵送洗涤溶液来去除未结合的材料。在一个实施方式中,洗涤步骤与第三粘合剂施加的步骤同时进行。然后检测与第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,并鉴定存在于样品中的分析物。样品中不存在分析物也可以通过未检测到与第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂来确定。

[0109] 参照图8,现在将描述用于分析样品的方法800。

[0110] 在示例性步骤810中,将具有分析物的样品和底物的混合物施加到其上固定有粘合剂的基材的表面。在一些实施方式中,粘合剂能够结合底物和分析物。在一个实施方式中,粘合剂是抗体,样品是分析物(例如抗原),该底物是样品中分析物的光学标记和纯化形式。在实施方式中,分析物和底物在粘合剂上竞争相同的结合位点,使得样品中较高量的分析物导致检测到的光学标记底物较少(即,检测到的信号量和样品中分析物的量之间存在反比关系)。在一些实施方式中,在施加后,可将混合物与粘合剂孵育约5分钟至约60分钟。

[0111] 在一个实施方式中,使用一个或多个微流体探针200将混合物施加到基材102的表面。在另一个实施方式中,探针阵列400(图4)用于将一种或多种混合物施加到基材102的表面。在另一个实施方式中,具有多于一个微通道的微流体探针500(图5)用于将一种或多种混合物施加到基材102的表面。

[0112] 在示例性步骤820中,通过泵送洗涤溶液穿过微流体探针的一个或多个处理液体微通道来去除未结合的材料。在一个实施方式中,洗涤步骤820与施加步骤810同时进行。

[0113] 在示例性步骤830中,未检测到与粘合剂结合的光学标记的底物,并鉴定存在于样

品中的分析物。样品中不存在分析物也可以通过检测到与粘合剂结合的光学标记的底物来确定。

[0114] 计算机执行的方法和系统

[0115] 本文所述任何方法均可全部或部分地使用包括一个或多个处理器的计算机系统,可对其进行配置以完成所述方法的步骤。因此,实施方式可指向被配置以执行本文所述任意方法的步骤的计算机系统,潜在地具有执行相应步骤或相应步骤组合的不同组分。虽然以编号或有序步骤呈现,但本文所述方法的步骤可在同一时间或以不同顺序执行。此外,这些步骤的部分可与来自其他方法的其他步骤的部分联用。同样,步骤的全部或部分可以是任选的。此外,任何方法的任何步骤都可使用模块、循环或用于执行这些步骤的其他手段执行。

[0116] 在一些实施方式中,所述计算机执行方法通过计算机系统执行,该系统与能够检测与例如基材上或基材的图像中的底物结合的光学可检测粘合剂的图像扫描仪电子通讯。

[0117] 本公开还提供了一种能够执行本文所述的方法的任何一个或所有步骤的计算机产品。因此,在一些实施方式中,所述计算机产品包括非瞬时计算机可读介质,其储存用于控制处理器执行本发明所述的一种或多种方法步骤操作的多项指令。

[0118] 图9显示示例性计算机系统900的框图,其可用于本公开实施方式的系统和方法。

[0119] 本发明提及的任何计算机系统都可利用任何适当数目的子系统。这类子系统的示例如图9中计算机设备900所示。在一些实施方式中,计算机系统包括单个计算机设备,其中子系统可以是该计算机设备的组件。在其他实施方式中,计算机系统可包括多个计算机设备,其各是子系统,具有内部组件。

[0120] 图9所示的子系统经由系统总线975互联。显示了其他子系统,如打印机974、键盘978、储存装置979、与显示适配器982偶联的监视器976等。与输入/输出(I/O)控制器971偶联的周边和I/O装置可通过任何数量的本领域已知方式(如串行端口977)连接至计算机系统。例如,串行端口977或外部接口981(例如以太网、Wi-Fi等)可用于将计算机系统900连接至广域网(如因特网)、鼠标输入装置或扫描仪。经由系统总线975的互联允许中央处理器973与各子系统连通并控制来自系统内存972或储存装置979(例如固定磁盘,如硬盘或光盘)指令的执行以及子系统间信息的交换。系统存储器872和/或储存装置979可包含计算机可读介质。本文所述的任何数据都可从一种组件输出至另一种组件并可输出至用户。

[0121] 计算机系统可包括多种相同的组件或子系统,例如通过外部接口981或通过内部接口连接在一起。在一些实施方式中,计算机系统、子系统或设备可通过网络连通。在这种情况下,可将一台计算机作为客户端并将另一台计算机作为服务器,其中各计算机都可以是同一计算机系统的部分。客户端和服务器可各包括多个系统、子系统或组件。

[0122] 应理解,上述实施方式可使用硬件(例如专用集成电路或现场可编程门阵列)以控制逻辑的形式和/或采用一般可编程的处理器使用计算机软件以模块化或集成化的方式来实施。本文中,处理器包括同一集成芯片上的多核处理器或者单个电路板上或网络连接的多个处理单元。基于本发明的公开和教导,本领域普通技术人员应知晓并理解使用硬件以及硬件和软件的组合来实施本文所述的实施方式的其他方式和/或方法。

[0123] 本申请中描述的任何软件组件或函数都可作为软件代码使用,以由处理器使用任何适当的计算机语言(如Java、C++或Perl)、使用例如常规或面向对象的技术来执行。软件

代码可作为一系列指令或命令储存于计算机可读介质上用于储存和/或传输,合适的介质包括随机存取存储器(RAM)、只读存储器(ROM)、磁性介质(如硬盘或软盘)、光学介质(如光盘(CD)或DVD(数字多功能光盘)、闪速存储器等)。计算机可读介质可以是这里储存或传输装置的任意组合。

[0124] 也可使用适用于传输的载波信号经由遵循多种协议的有线、光纤和/或无线网络(包括因特网)编码和传输这类程序。同样地,可使用这类程序编码的数据信号来建立本公开的一个实施方式所述的计算机可读介质。程序代码编码的计算机可读介质可与兼容性装置打包或由其他装置单独提供(例如通过因特网下载)。任何这类计算机可读介质可存在于单个计算机产品(例如硬盘、CD或整个计算机系统)之上或之内,且可存在于系统或网络中不同计算机产品之上或之内。计算机系统可包括监视器、打印机或将本发明所述任何结果提供给用户的其他合适显示装置。

[0125] 其他公开和可要求的主题

[0126] 项目1.一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:

[0127] 将底物施加到其上固定有第一粘合剂的基材的表面,其中所述第一粘合剂能够结合所述底物;

[0128] 从其上施加有底物的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0129] 将第二粘合剂施加到所述基材的表面,其中所述第二粘合剂是光学标记的或未标记的;

[0130] 从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0131] 响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和

[0132] 响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂,确定样品中不存在所述分析物,

[0133] 其中将所述底物或第二粘合剂施加到基材的表面的步骤与相应的从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。

[0134] 项目2.如项目1所述的方法,该方法还包括:

[0135] 将第三粘合剂施加到具有与所述底物结合的所述第二粘合剂的所述基材的表面,其中所述第三粘合剂被光学标记,并且所述第二粘合剂未被光学标记;

[0136] 从其上施加有第三粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;

[0137] 响应于检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,鉴定样品中存在所述分析物;和

[0138] 响应于未检测到与所述第二粘合剂结合的光学标记的第三粘合剂,确定样品中不存在所述分析物,

[0139] 其中将第三粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。

[0140] 项目3.如项目1或2所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的微流体体积。

[0141] 项目4.如项目1或2所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的亚微流体体积。

- [0142] 项目5.如项目1或2所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面并且从所述基材的至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。
- [0143] 项目6.如项目5所述的方法,其中所述分配器是微流体探针。
- [0144] 项目7.如项目5所述的方法,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
- [0145] 项目8.如项目5所述的方法,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
- [0146] 项目9.如前述项目1-8中任一项所述的方法,其中所述基材的表面是湿的。
- [0147] 项目10.如前述项目1-9中任一项所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述底物或第二粘合剂。
- [0148] 项目11.如项目10所述的方法,其中所述路径是直线。
- [0149] 项目12.如项目10所述的方法,其中所述路径为25纳米至500微米宽。
- [0150] 项目13.如前述项目1-9中任一项所述的方法,其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述底物或第二粘合剂。
- [0151] 项目14.如前述项目1-13中任一项所述的方法,其中所述第一粘合剂固定在至少一个离散点中。
- [0152] 项目15.如前述项目1-13中任一项所述的方法,其中所述第一粘合剂固定在至少一个离散线中。
- [0153] 项目16.如前述项目1-15中任一项所述的方法,其中所述第一粘合剂是1-100种不同的第一粘合剂。
- [0154] 项目17.如前述项目1-16中任一项所述的方法,其中所述底物是1-100种不同的底物。
- [0155] 项目18.如前述项目1-17中任一项所述的方法,其中所述第一粘合剂包含来自试剂或样品的抗体或抗体片段。
- [0156] 项目19.如项目18所述的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。
- [0157] 项目20.如项目18所述的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。
- [0158] 项目21.一种系统,所述系统包含:
- [0159] 基材,其具有固定在其上的离散位置的第一粘合剂,其中所述第一粘合剂能够结合施加到所述基材表面的底物;
- [0160] 分配器,其被配置为同时将所述底物或至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料;和
- [0161] 检测器,其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。
- [0162] 项目22.如项目21所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。
- [0163] 项目23.如项目21所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
- [0164] 项目24.如项目21所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
- [0165] 项目25.一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:
- [0166] 将第一粘合剂施加到其上固定有底物的基材的表面,其中所述第一粘合剂能结合

所述底物并被光学标记或未被光学标记；

[0167] 从其上施加有第一粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；

[0168] 响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂，鉴定样品中存在所述分析物；和

[0169] 响应于未检测到与所述底物结合的光学标记的第一粘合剂，确定样品中不存在所述分析物，

[0170] 其中将第一粘合剂施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。

[0171] 项目26.如项目25所述的方法，该方法还包括：

[0172] 将第二粘合剂施加到具有与所述底物结合的第一粘合剂的所述基材的表面，其中所述第二粘合剂被光学标记，并且所述第一粘合剂未被光学标记；

[0173] 从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；

[0174] 响应于检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂，鉴定样品中存在所述分析物；和

[0175] 响应于未检测到与所述第一粘合剂结合的第二粘合剂，确定样品中不存在所述分析物。

[0176] 项目27.如项目25或26所述的方法，其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的微流体体积。

[0177] 项目28.如项目25或26所述的方法，其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述底物或第二粘合剂的亚微流体体积。

[0178] 项目29.如项目25或26所述的方法，其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面并且从所述基材的至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。

[0179] 项目30.如前述项目25-29中任一项所述的方法，其中所述分配器是微流体探针。

[0180] 项目31.如前述项目25-29中任一项所述的方法，其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。

[0181] 项目32.如前述项目25-29中任一项所述的方法，其中所述分配器是微流体探针阵列。

[0182] 项目33.如前述项目25-32中任一项所述的方法，其中所述基材的表面是湿的。

[0183] 项目34.如前述项目25-33中任一项所述的方法，其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述第一粘合剂。

[0184] 项目35.如项目34所述的方法，其中所述路径是直线。

[0185] 项目36.如项目34所述的方法，其中所述路径为25纳米至500微米宽。

[0186] 项目37.如权利要求25所述的方法，其中将所述第一粘合剂施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述第一粘合剂。

[0187] 项目38.如前述项目25-33中任一项所述的方法，其中所底物固定在至少一个离散点中。

[0188] 项目39.如前述项目25-33中任一项所述的方法，其中所底物固定在至少一个离散线中。

- [0189] 项目40.如前述项目25-39中任一项所述的方法,其中所述底物是1-100种不同的底物。
- [0190] 项目41.如前述项目25-40中任一项所述的方法,其中所述第一粘合剂是1-100种不同的第一粘合剂。
- [0191] 项目42.如前述项目25-41中任一项所述的方法,其中所述底物包含来自试剂或样品的抗原。
- [0192] 项目43.如项目42的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。
- [0193] 项目44.如项目43的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。
- [0194] 项目45.一种系统,所述系统包含:
- [0195] 基材,其具有固定在离散位置的底物,其中第一粘合剂能够结合所述底物;
- [0196] 分配器,其被配置为同时将至少一种粘合剂分配到所述基材上并从所述基材去除未结合的材料;和
- [0197] 检测器,其被配置为检测是否存在所述至少一种粘合剂。
- [0198] 项目46.如项目45所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。
- [0199] 项目47.如项目45所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
- [0200] 项目48.如项目45所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
- [0201] 项目49.一种确定样品中是否存在分析物的方法,所述方法包括:
- [0202] 将具有分析物的底物和样品的混合物施加到其上固定有粘合剂的底物的表面,其中所述粘合剂能够与所述底物和所述分析物结合;
- [0203] 从其上固定有所述粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料;和
- [0204] 响应于未检测到与所述粘合剂结合的底物,鉴定样品中存在所述分析物;和
- [0205] 响应于检测到与所述粘合剂结合的底物,确定样品中不存在所述分析物;
- [0206] 其中将所述混合物施加到基材的表面步骤与从基材的至少一部分去除未结合材料的步骤同时进行。
- [0207] 项目50.如项目49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述混合物的微流体体积。
- [0208] 项目51.如项目49所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括分配所述混合物的亚微流体体积。
- [0209] 项目52.如前述项目49-51中任一项所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面并且从所述基材的至少一部分去除未结合的材料步骤用流体动力学流动限制分配器进行。
- [0210] 项目53.如项目52所述的方法,其中所述分配器是微流体探针。
- [0211] 项目54.如项目52所述的方法,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
- [0212] 项目55.如项目52所述的方法,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
- [0213] 项目56.如前述项目49-55中任一项所述的方法,其中所述基材的表面是湿的。
- [0214] 项目57.如前述项目49-56中任一项所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括在至少一个离散路径中分配所述底物。

- [0215] 项目58.如项目57所述的方法,其中所述路径是直线。
- [0216] 项目59.如项目57所述的方法,其中所述路径为25纳米至500微米宽。
- [0217] 项目60.如前述项目49-56中任一项所述的方法,其中将所述混合物施加到所述基材的表面的步骤包括在直径25纳米至500微米之间的至少一个离散点中分配所述混合物。
- [0218] 项目61.如前述项目49-60中任一项所述的方法,其中所述粘合剂固定在至少一个离散点中。
- [0219] 项目62.如前述项目49-60中任一项所述的方法,其中所述粘合剂固定在至少一个离散线中。
- [0220] 项目63.如前述项目49-62中任一项所述的方法,其中所述粘合剂是1-100种不同的粘合剂。
- [0221] 项目64.如前述项目49-63中任一项所述的方法,其中所述混合物是1-100种不同的混合物。
- [0222] 项目65.如前述项目49-64中任一项所述的方法,其中所述粘合剂包含抗体或抗体片段。
- [0223] 项目66.如前述项目49-65中任一项所述的方法,其中所述样品选自细胞提取物、全血、血浆、血清、唾液、尿、乳液、卵和水。
- [0224] 项目67.如项目66的方法,其中所述样品包括选自激素、蛋白质、肽、抗体和抗体片段的分析物。
- [0225] 项目68.如前述项目49-67中任一项的方法,其中所述底物是选自激素、蛋白质和肽的纯化的和光学标记的分析物。
- [0226] 项目69.一种系统,所述系统包含:
- [0227] 基材,其具有固定在离散位置的粘合剂,其中所述粘合剂能够结合样品中的分析物并结合底物;
- [0228] 分配器,其配置成同时将样品和底物的混合物分配到基材上并从基材去除未结合的材料;和
- [0229] 检测器,其被配置为检测样品中是否存在与所述粘合剂结合的分析物。
- [0230] 项目70.如项目69所述的系统,其中所述分配器是微流体探针。
- [0231] 项目71.如项目69所述的系统,其中所述分配器是微流体探针的阵列。
- [0232] 项目72.如项目69所述的系统,其中所述分配器是具有多个微通道的微流体探针。
- [0233] 实施例
- [0234] 实施例1:使用微流体探针的ELISA
- [0235] 以下描述了使用微流体探针在单个PVDF膜上从血浆中检测小鼠IL-12蛋白的夹心ELISA的一种提出的方法。
- [0236] 将预先润湿的(包被缓冲液;英杰公司(Invitrogen);CB010000)低荧光PVDF膜安装到微流体探针样品分析系统的X-Y-Z平台上。为了将捕获抗体包被到膜上,用涂覆缓冲液将针对小鼠IL-12(英杰公司;AMC0124D)的大鼠单克隆抗体稀释至1 μ g/ml的浓度。使用微流体探针将捕获抗体以8列和12列共96个位置涂覆在膜上,每个直径为25-500微米的预定点中。与分配步骤同时,未结合的材料被微流体探针去除。
- [0237] 紧接着,或在5分钟至孵育过夜后,将封闭缓冲液(英杰公司;DS98200)用探针分配

给每个点,并除去多余的材料。

[0238] 紧接着或孵育5分钟至1小时后,将重组小鼠IL-12蛋白质标准品(英杰公司;SD041)在试验缓冲液中重建至500pg/ml,并制备6个1:2系列稀释液,再加上仅零标准对照的一个缓冲液。以类似的方式,通过7个1:2的连续稀释度制备来自5只小鼠(经处理的3只和未经处理的2只)的血浆样品。标准品和样品以垂直方式从分别具有最低样品稀释度和仅对照的缓冲液的底行开始用微滴流体探针重复分配到膜上。

[0239] 作为下一步,用补充有5%小牛血清的试验缓冲液(英杰公司;DS98200)将大鼠抗小鼠白细胞介素-12(IL-12)生物素标记的检测抗体(英杰公司;AMC9129D)稀释至0.125 μ g/mL,然后用微流体探针分配膜上的96个点中的每一个中。紧接着或孵育5分钟至2小时后,除去未结合的材料,并通过分配洗涤缓冲液(英杰公司;WB01)洗涤每个点。

[0240] 为了检测每个样品中的IL-12的量,将工作链霉抗生物素蛋白-HRP溶液(英杰公司;SNN4004Y)用微流体探针加入到每个点。紧接着或孵育5分钟至30分钟后,除去未结合的底物,并通过分配洗涤缓冲液洗涤每个点。然后在每个点用微流体探针加入TMB底物溶液(目录号SB01),并在室温下暗孵育5分钟至30分钟后,用微流体探针将终止溶液(英杰公司;SS03100)加入每个点。然后在添加终止溶液30分钟内使用比色成像仪,检测膜上所有96个点。使用log-log或4参数曲线拟合计算每个样品的IL-12浓度。

[0241] 在本文所附权利要求中,当术语“包含”及其各种变体例如“包括”和“含有”位于叙述步骤或要素之前的时候,是用来表示添加其它的步骤或要素是任选的,并且是非排它性的。本说明书中引用的所有专利、专利申请和其它公开的参考材料都通过引用全文结合入本文中。当本说明书的内容与本发明引用的任何参考材料或任何现有技术之间存在矛盾之处的时候,以本说明书为准。所述矛盾之处包括现有技术对词或词组的定义与本说明书对相同的词或词组明确给出的定义之间的差异。

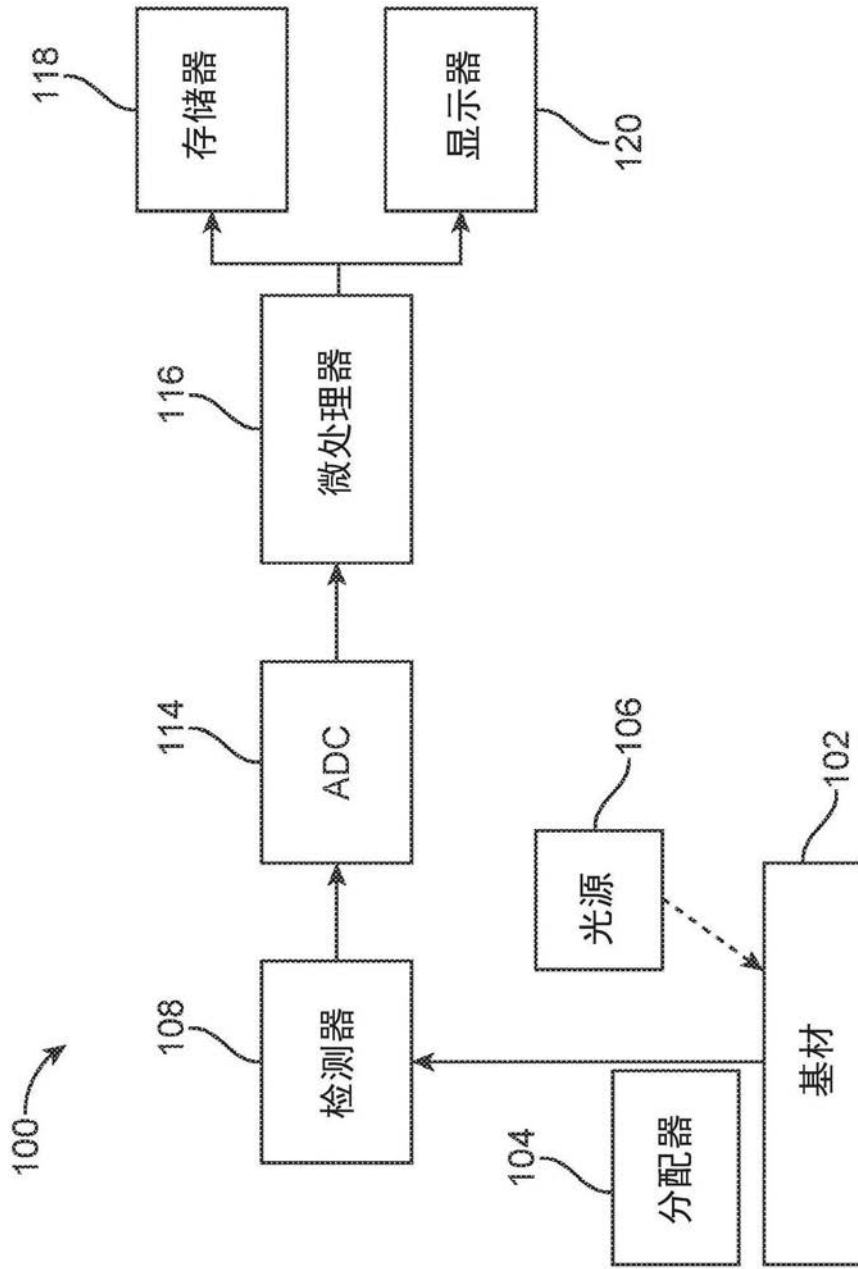


图1

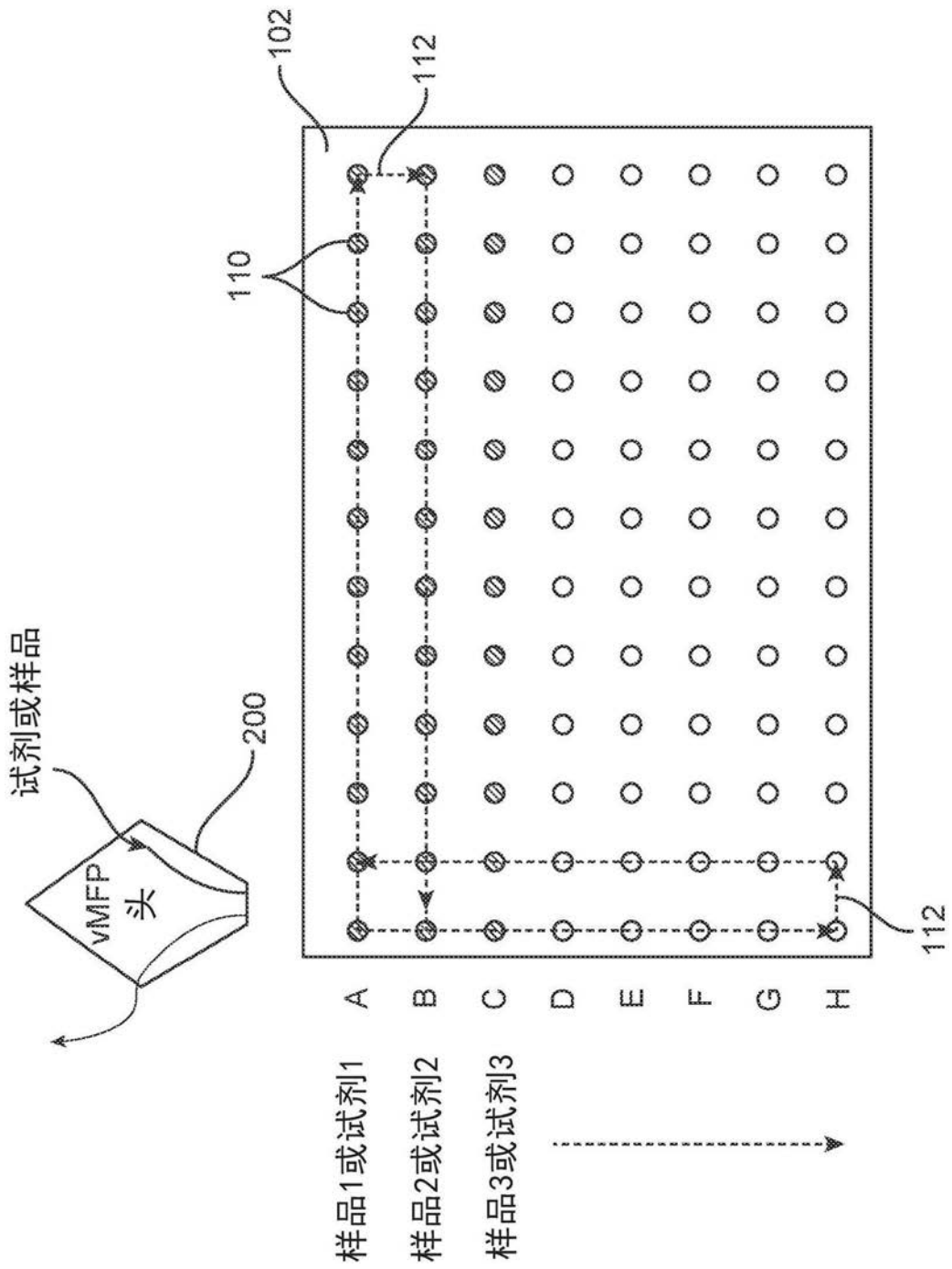


图2

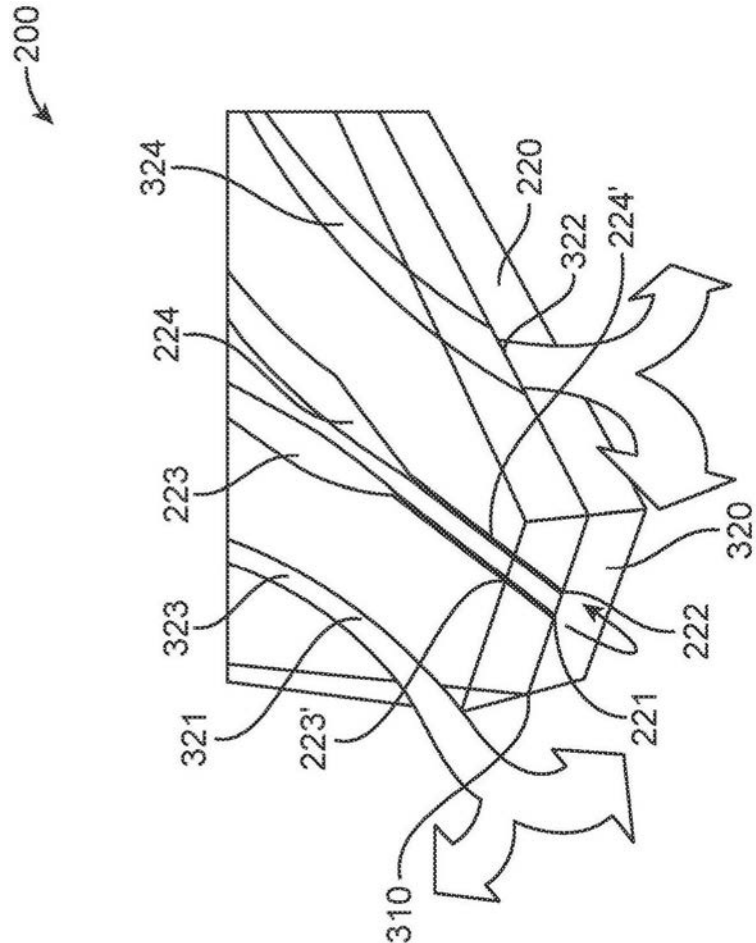


图3B(现有技术)

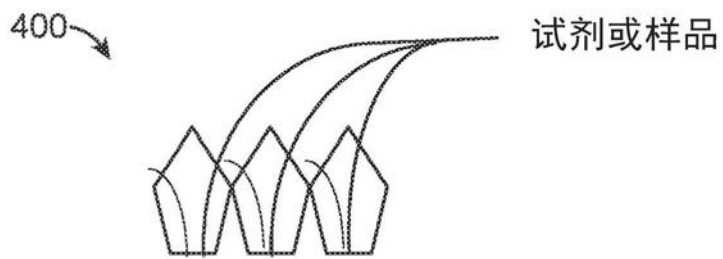


图4

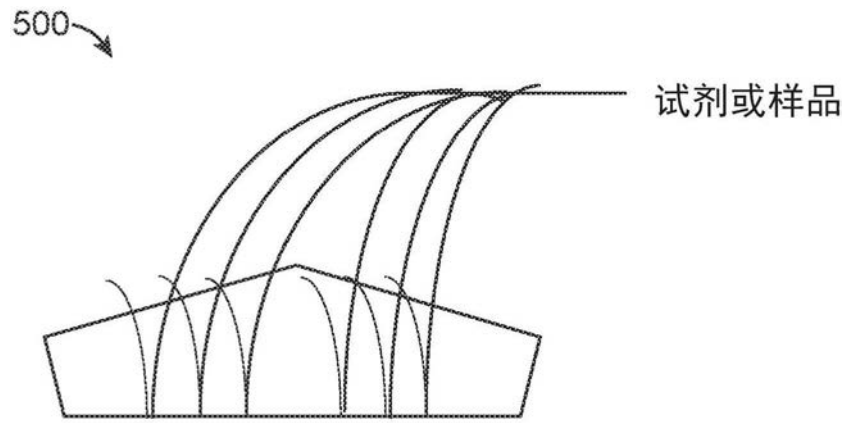


图5

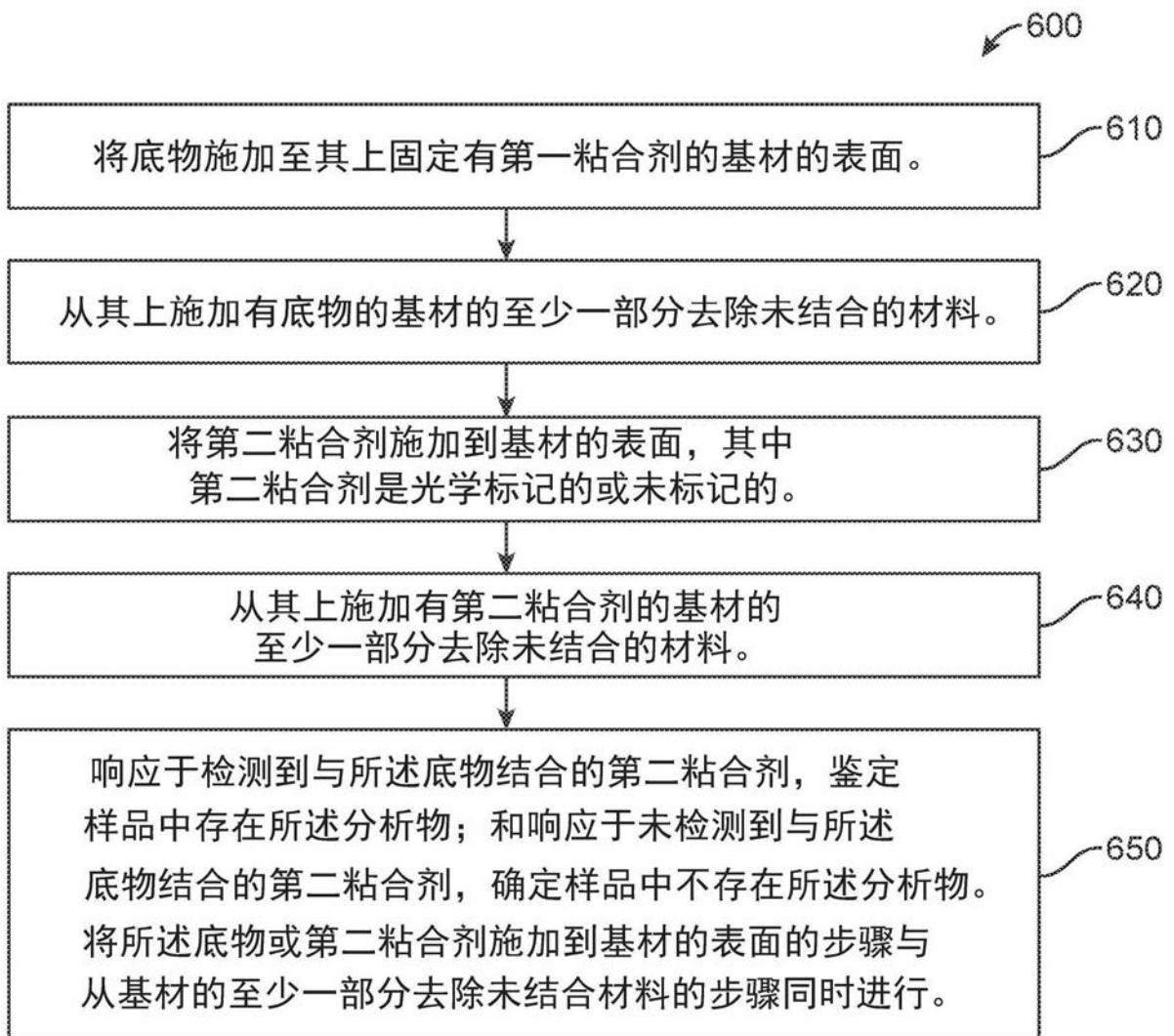


图6

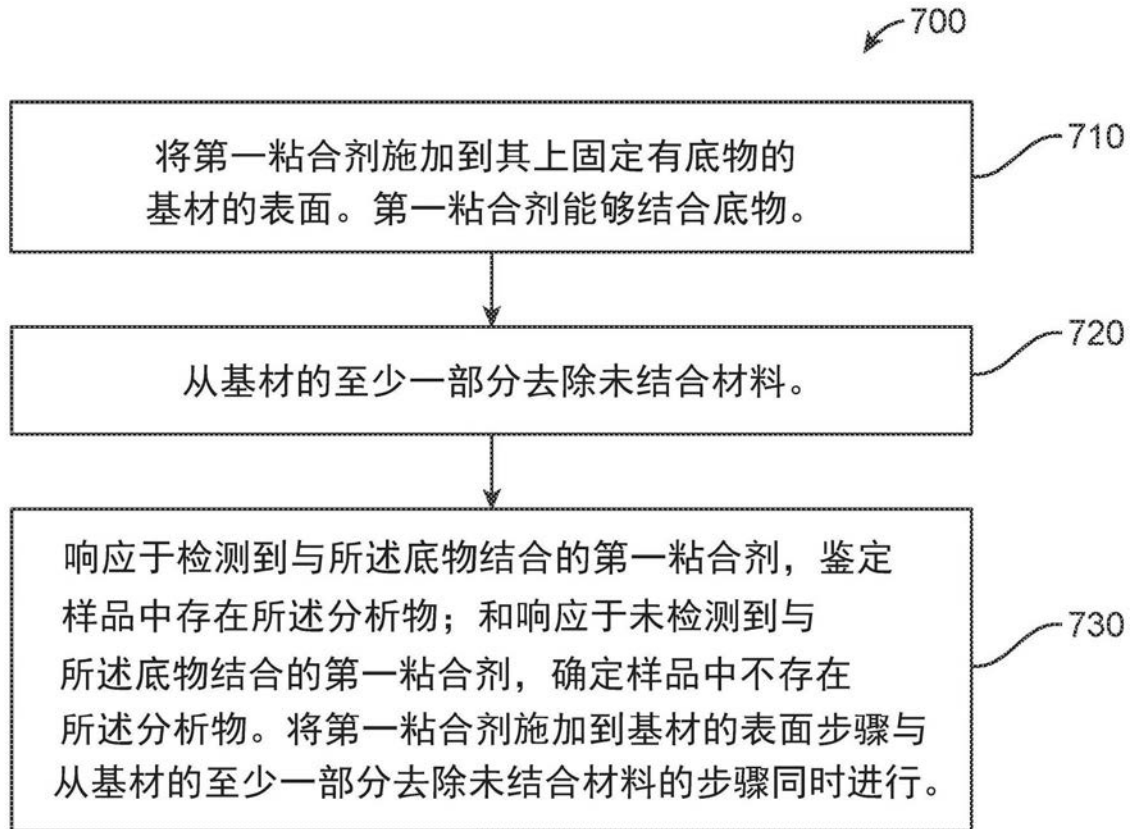


图7

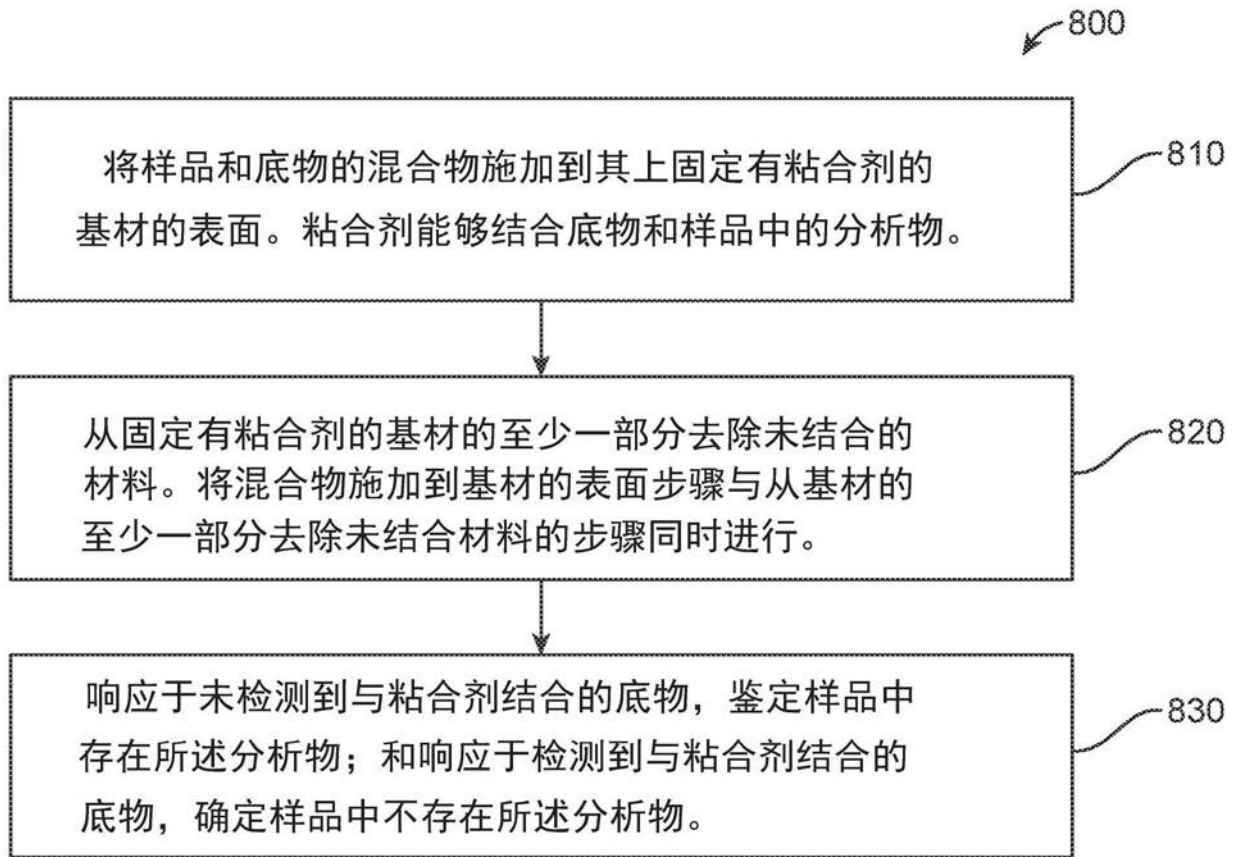


图8

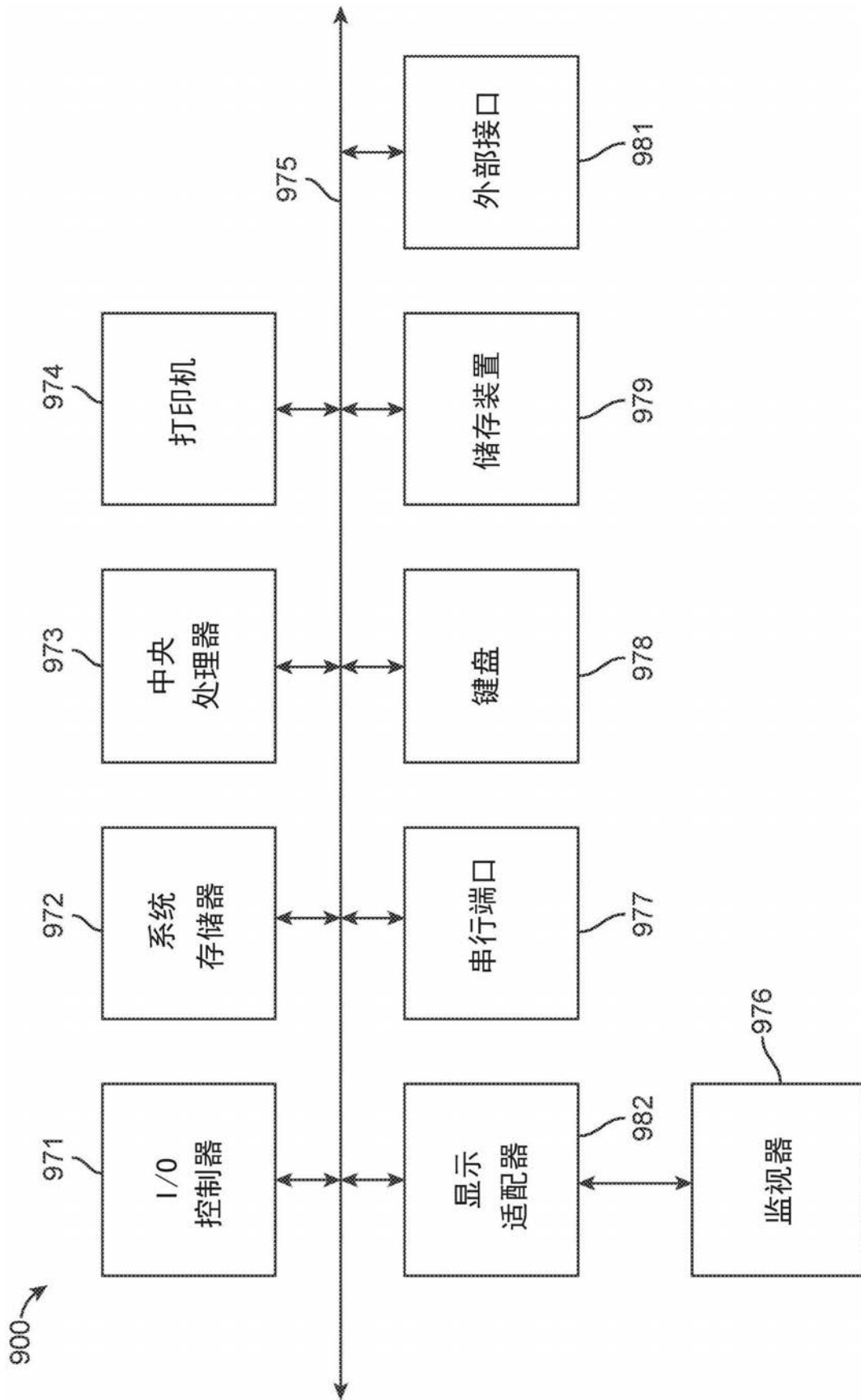


图9

专利名称(译)	样品分析系统和方法		
公开(公告)号	CN107430112A	公开(公告)日	2017-12-01
申请号	CN201680016577.9	申请日	2016-03-17
[标]申请(专利权)人(译)	比奥-雷德实验室股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	生物辐射实验室股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	生物辐射实验室股份有限公司		
发明人	J·z·梅格德		
IPC分类号	G01N33/48 G01N33/483 G01N33/53 G01N33/531 G01N33/541		
CPC分类号	B01L3/0241 B01L3/5027 B01L3/5088 B01L2300/0861 G01N33/54306		
代理人(译)	陈扬扬		
优先权	62/134999 2015-03-18 US		
其他公开文献	CN107430112B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

提供样品分析系统和方法。在一个实施方案中，该方法可以通过下述步骤实现：将底物施加到其上固定有第一粘合剂的基材表面；从其上施加有所述底物的基材的至少一部分去除未结合的材料；将第二粘合剂施加到所述基材的表面，其中所述第二粘合剂是光学标记的或未标记的；从其上施加有第二粘合剂的基材的至少一部分去除未结合的材料；响应于检测到与所述底物结合的光学标记的第二粘合剂，鉴定样品中存在的分析物；并且响应于未检测到与底物结合的光学标记的第二粘合剂，确定样品中不存在分析物；其中将所述底物或第二粘合剂施加到所述基材表面的步骤与相应的从所述基材的至少一部分去除未结合的材料的同时进行。

