



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107849120 A

(43)申请公布日 2018.03.27

(21)申请号 201680044709.9

(22)申请日 2016.06.15

(30)优先权数据

62/175,748 2015.06.15 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.01.30

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/037695 2016.06.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/205416 EN 2016.12.22

(71)申请人 优比欧迈公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 扎迦利·阿普特

丹尼尔·阿尔莫纳西德

杰西卡·里奇曼

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 李平 郑霞

(51)Int.Cl.

G07K 16/00(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

C12Q 1/6869(2018.01)

C12P 19/34(2006.01)

C12N 9/96(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

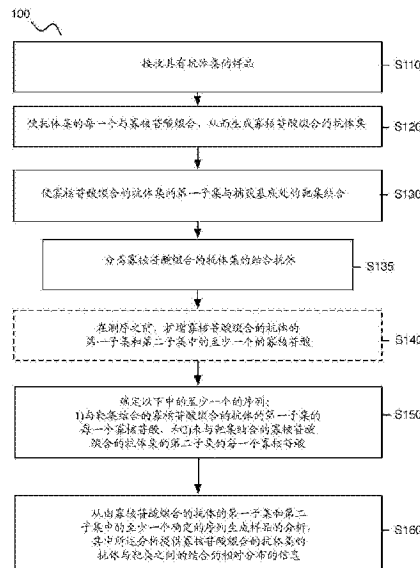
权利要求书3页 说明书16页 附图6页

(54)发明名称

用于在表征抗体结合行为中测序的方法和系统

(57)摘要

一种用于通过对与抗体结合的合成的寡核苷酸进行测序来表征抗体结合的靶的方法和系统,所述方法包括:接收具有抗体集的样品;使所述抗体集的每一个与寡核苷酸缀合,从而生成寡核苷酸缀合的抗体集;使所述寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合;确定以下中的至少一个的序列:1)与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的每一个寡核苷酸,和2)未与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体集的第二子集的每一个寡核苷酸;以及从由寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和第二子集中的至少一个确定的序列生成样品的分析。



1. 一种用于通过对合成的寡核苷酸进行测序来表征抗体结合的靶的方法,所述方法包括:

●使抗体集的每一个与合成的寡核苷酸缀合,从而生成寡核苷酸缀合的抗体集;

●使所述寡核苷酸缀合的抗体集的至少第一子集与捕获基底处的靶集结合,所述靶集与来自受试者的样品相关;

●确定以下中的至少一个的序列:1)与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的每一个寡核苷酸,和2)未与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体集的第二子集的每一个寡核苷酸;以及

●从由寡核苷酸缀合的抗体的所述第一子集和所述第二子集中的至少一个确定的序列生成所述样品的分析,其中所述分析基于对所述第一子集和所述第二子集中的至少一个的每一个寡核苷酸进行测序来鉴定所述靶集,并且其中所述分析提供所述寡核苷酸缀合的抗体集的抗体与所述靶集之间的结合的相对分布的信息。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述抗体集包括与鉴定的健康状况中的多样化靶集相关的不同类型抗体的多样化组。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述鉴定的健康状况包括以下中的至少一种:神经系统健康状况、自身免疫状况、内分泌系统状况、心理健康状况、运动系统状况、代谢相关的疾病状况、心血管疾病状况、皮肤状况、性传播疾病、牙齿健康状况和胃肠健康状况。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中使所述抗体集的每一个与所述合成的寡核苷酸缀合包括使所述抗体集的每一个与具有至少16S V4-样区域的合成的寡核苷酸缀合,并且其中所述方法还包括在测序之前,除了所述合成的寡核苷酸以外,用16S-相容的引物同时扩增样品中存在的所有细菌DNA和古细菌DNA。

5. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:在寡核苷酸缀合之前用减少所述抗体集的不同抗体之间的相互作用的溶剂预处理所述抗体集。

6. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:在寡核苷酸缀合之前用可控地阻断具有与所述抗体集的其他抗体相互作用的潜力的抗体位点的阻断化合物预处理所述抗体集。

7. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括用以下预处理与所述抗体集缔合的寡核苷酸:消除具有竞争缀合位点的官能基团的化合物、使所述寡核苷酸中的碱基重复最小化、以及实施具有少于或等于4个连续鸟嘌呤碱基的寡核苷酸。

8. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括在与所述抗体集缀合之前用末端氨基基团处理与所述抗体集缔合的寡核苷酸,并且在所述抗体集缀合后去除未结合的寡核苷酸组分。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中将所述寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合包括以酶联免疫吸附测定(ELISA)结构结合所述第一子集。

10. 根据权利要求1所述的方法,其中与靶结合的寡核苷酸缀合的抗体集的每一个在有或没有扩增的情况下用测序操作进行分析。

11. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:由所述分析生成诊断表征,所述诊断表征指示与来自所述受试者的样品相关的至少一种健康状况的阳性鉴定。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中生成所述分析包括确定抗体-寡核苷酸复合物集中的哪一个与所述靶集的靶结合,并且确定所述抗体-寡核苷酸复合物集的不同抗体与所

述靶集之间的结合的相对量,并且其中生成所述诊断表征包括同时生成与所述受试者中测试的状况组相关的诊断。

13. 根据权利要求11所述的方法,所述方法还包括:基于所述诊断表征,为具有至少一种健康状况的受试者自动地安排治疗方案。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中安排所述治疗方案包括为所述受试者安排疗法,其中安排所述疗法包括为受试者安排微生物组修改疗法以治疗所述受试者的至少一种状况。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中安排所述微生物组修改疗法包括为所述受试者安排益生元疗法和益生菌疗法中的至少一个,其中所述微生物组修改疗法包括一种消费品,所述消费品选择性调节期望的分类单元的群体尺寸或期望功能的丰度,以用于治疗所述受试者的至少一种状况。

16. 一种用于通过对合成的寡核苷酸进行测序来表征抗体结合的靶的方法,所述方法包括:

- 使抗体集的每一个与具有16S-样区域和另一个特征基因区域中的至少一个的合成的寡核苷酸缀合,从而生成寡核苷酸缀合的抗体集;

- 使所述寡核苷酸缀合的抗体集的至少第一子集与捕获基底处的靶集同时结合,所述靶集与来自受试者的样品相关;

- 同时确定与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和未与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第二子集中的至少一个的每一个寡核苷酸的序列;

- 从由寡核苷酸缀合的抗体的所述第一子集和所述第二子集中的至少一个确定的序列生成所述样品的分析,其中所述分析包括对寡核苷酸进行测序后鉴定与寡核苷酸缀合的抗体的所述第一子集结合的靶,并且其中所述分析提供所述寡核苷酸缀合的抗体集的抗体与所述靶集之间的结合的相对分布的信息;

- 由所述分析生成诊断表征,所述诊断表征指示与来自所述受试者的样品相关的至少一种健康状况的阳性鉴定;

- 在建立了与与所述受试者相关联的至少一个实体的电子装置的可通信链接后,将所述诊断表征自动地传输至所述实体;以及

- 基于所述诊断表征,为具有至少一种健康状况的受试者自动地安排治疗方案。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中所述抗体集包括与至少一种鉴定的健康状况中的多样化靶集相关的不同类型抗体的多样化组。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中所述鉴定的健康状况包括以下中的至少一种:神经系统健康状况、自身免疫状况、内分泌系统状况、心理健康状况、运动系统状况、代谢相关的疾病状况、心血管疾病状况、皮肤状况、性传播疾病、牙齿健康状况和胃肠健康状况。

19. 根据权利要求17所述的方法,所述方法还包括用以下中的至少一种预处理所述抗体集:可控地阻断具有与所述抗体集的其他抗体相互作用的潜力的抗体位点的阻断化合物、减少所述抗体集的不同抗体之间的相互作用的溶剂、以及选择性引入减少所述抗体集的不同抗体之间的相互作用的抗体。

20. 根据权利要求17所述的方法,所述方法还包括在与所述抗体集缀合之前用末端氨基基团处理与所述抗体集缔合的寡核苷酸,并且在所述抗体集缀合后去除未结合的寡核苷酸

酸组分。

21. 根据权利要求17所述的方法, 其中将所述寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合包括以酶联免疫吸附测定 (ELISA) 结构结合所述第一子集。

22. 根据权利要求17所述的方法, 其中生成所述分析包括确定抗体-寡核苷酸复合物集中的哪一个与所述靶集的靶结合, 并且确定所述抗体-寡核苷酸复合物集的不同抗体与所述靶集之间的结合的相对量, 并且其中生成所述诊断表征包括同时生成与所述受试者中测试的状况组相关的诊断。

23. 根据权利要求16所述的方法, 其中安排所述治疗方案包括为所述受试者安排疗法, 其中安排所述疗法包括为所述受试者安排微生物组修改疗法以用于治疗所述受试者的至少一种状况。

24. 根据权利要求16所述的方法, 其中使所述抗体集的每一个与所述合成的寡核苷酸缀合包括以可逆方式和不可逆方式中的至少一种缀合。

25. 根据权利要求16所述的方法, 其中缀合包括以下中的至少一个: 在溶液中将所述抗体集与寡核苷酸混合、在溶液中将所述抗体集与寡核苷酸孵育、和进行单向缀合以形成抗体-寡核苷酸复合物而不形成抗体-抗体复合物且不形成寡核苷酸-寡核苷酸复合物。

26. 根据权利要求16所述的方法, 其中与靶结合的寡核苷酸缀合的抗体集的每一个在使用或不使用扩增的情况下用测序操作进行分析。

27. 根据权利要求16所述的方法, 其中确定每一个寡核苷酸的序列包括使用基于PCR的过程。

用于在表征抗体结合行为中测序的方法和系统

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年6月15日提交的美国临时申请序号62/175,748的权益,该申请通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明总体涉及分子生物学领域,且更具体地涉及分子生物学领域中用于表征抗体结合行为中的核酸测序的新的且有用的方法及系统。

[0004] 背景

[0005] 抗体结合行为的表征在医学和研究环境中是有用的,具有在健康状况诊断、疗法设计和生物样品中有毒/有害化合物的检测中的应用。特别地,改进的表征和检测方法可以增加用于疾病组的诊断测试的效率和/或准确度,增强基于非核酸生物标志物(例如,血液生物标志物)的诊断,并且通常便于表征生物样品的健康状态。用于以高通量方式进行抗体样品操作(handling)、处理、表征和测定的当前方法和系统存在缺陷,因为以多重和/或高通量方式处理样品时出现复杂情况。此外,由于用于处理生物样品的当前方法和系统的固有问题,用于抗体结合表征的当前技术是昂贵的并且其缺乏提供良好的检测限值的能力。

[0006] 因此,在微生物学领域,对用于表征抗体结合行为中的核酸测序的新的且有用的方法和系统存在需求。本发明产生了这样的新的且有用的方法及系统。

[0007] 附图简述

[0008] 图1是用于表征抗体结合行为的方法的实施方案的流程图;

[0009] 图2是用于表征抗体结合行为的方法和系统的实施方案的示意图;

[0010] 图3描绘了在用于表征抗体结合行为的方法的实施方案中的侧向流动测定捕获基底的实例;

[0011] 图4和图5描绘了用于表征抗体结合行为的方法的实施方案的部分的变化形式;

[0012] 图6是用于表征抗体结合行为的系统的实施方案的示意图;并且

[0013] 图7A和图7B是用于表征抗体结合行为的系统的实施方案的部分的示意图。

具体实施方式

[0014] 本发明的实施方案的以下描述不意图将本发明限制为这些实施方案,而是意图使本领域的任何技术人员能够制造和使用本发明。

[0015] 1.方法

[0016] 如图1和图2中示出的,用于表征抗体结合行为的方法100的实施方案包括:接收具有抗体集的样品S110;使所述抗体集的每一个与寡核苷酸缀合,从而生成寡核苷酸缀合的抗体集S120;使所述寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合S130;确定以下中的至少一个的序列:1)与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的每一个寡核苷酸,和2)未与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体集的第二子集的每一个寡核苷酸S150;以及从由寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和第二子集中的至少一个确定的序列生

成样品的分析,其中所述分析提供所述寡核苷酸缀合的抗体集的抗体与所述靶集之间的结合的相对分布的信息。在一些变化形式中,方法100还可以包括:在测序之前,扩增寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和第二子集中的至少一个的寡核苷酸S140。

[0017] 方法100用于促进并行且以具有改进的检测限值的快速方式表征样品中核酸区段的组合。特别地,方法100可以用于能够使用对与抗体缔合的寡核苷酸的测序(或其他基于聚合酶链式反应的技术)来确定由抗体结合的任何分子。以多重方式,方法100可以用于能够使用对与抗体集缔合的寡核苷酸集的测序(或其他基于聚合酶链式反应的技术)来确定由抗体集结合的任何分子集。在与16S V4靶相关的特定应用中(例如,关于微生物组测序),方法100的寡核苷酸可以执行包括由16S V4引物识别的区域的合成的(即“外来(aIien)”)DNA,其中合成的DNA的其余部分是不同的(即在自然界不存在)。因此,在使用针对16S区域设计的引物的情况下,除了连接至与抗原/靶结合的抗体的“外来”16S-样寡核苷酸以外,方法100还可以能够同时扩增存在于样品中的所有细菌DNA和古细菌DNA。因此,根据方法100,将DNA/RNA、蛋白、小分子和/或任何其他合适的分子的鉴定减少至DNA测序过程。“外来”寡核苷酸和/或引物的变化形式可以适于与样品中任何其他合适的靶的扩增、处理和/或鉴定相关的任何其他合适的区域(例如18S区域、ITS区域等)。

[0018] 因此,在使用被核酸(例如,寡核苷酸)加标签的抗体的情况下,方法100可以用于通过DNA测序过程来检测、鉴定和表征抗体与抗原/靶之间的结合,其中靶可以是与以下中的一种或更多种相关的分子:感染原(infectious agent)(例如,朊病毒)、微生物(例如,细菌、病毒、真菌生物体等)、毒性化合物,以及与医学(例如,诊断、治疗)或研究应用相关的任何其他合适的抗体靶。在一个应用中,方法100可以用于检测样品中抗体结合的寡核苷酸集(a set of antibody-bound oligonucleotides)的哪一个与靶(例如,以酶联免疫吸附测定)结合,并表征结合的相对分布。方法100的变化形式可以另外地或可选地用于支持针对疾病组(例如,呼吸道疾病组、性传播疾病组等)的诊断测试和任何其他合适的基于生物标志物的测试,其中生物化合物(biocompound)检测和定量(即,相对定量、绝对定量)是期望的。

[0019] 在一个变化形式中,方法100可以用于处理和生成分析,所述分析提供关于多样化抗体集中的哪一个与免疫测定的靶/抗原结合的信息。另外地或可选地,方法100可以以多重方式并且以高效的方式提供用于并行检测多个抗原靶的快速和新颖的诊断工具。因此,如以上指示的,方法100的输出可以提供与以下中的一个或多个相关的信息:感染原(例如,朊病毒)、微生物(例如,细菌、病毒、真菌生物体等)、毒性化合物以及与使用多重测定的医学(例如,诊断、治疗)或研究应用相关的任何其他合适的抗体靶。在实例中,方法100的输出可以支持针对疾病组(例如,呼吸道疾病组、性传播疾病组等)以及使用多样化寡核苷酸加标签的抗体集的任何其他合适的疾病组的诊断测试。

[0020] 在应用中,方法100可以以系统200(如图2和图6中示出的)至少部分地实施,所述系统200接收具有不同抗体结合的寡核苷酸的分布的生物样品,使抗体结合的寡核苷酸的至少一部分与在基底处的靶结合,扩增与靶结合的抗体结合的寡核苷酸中的寡核苷酸,并且对与靶结合的抗体结合的寡核苷酸中的寡核苷酸进行测序。系统200然后可以被配置为生成特定抗体结合的寡核苷酸与在基底处的靶之间的结合行为的分析,其指示与生物样品的不同抗体结合的寡核苷酸相关的结合的相对分布。然而,可选地,方法100可以使用被配

置为接收和处理具有核酸组分的生物样品的任何其他合适的系统来实施,其中对核酸组分进行测序是感兴趣的。

[0021] 1.1方法-抗体样品接收和处理

[0022] 模块S110叙述:接收具有抗体集的样品,其用于提供在模块S130中用于结合基底处的至少一个靶/抗原的候选抗体集。特别地,抗体集优选地是对模块S130中的抗原/靶化合物具有选择性结合亲和力的多样化抗体集,使得抗体集的一部分与模块S130中的抗原结合,而该抗体集的另一部分不与抗原结合。样品优选地包含在溶液中的抗体集,其中抗体集的每一个包含抗原结合位点和用于与寡核苷酸缀合的缀合位点。抗体集可以包括以下中的一个或多个:单克隆抗体、多克隆抗体、天然产生的抗体、和遗传工程化抗体。此外,抗体集可以包括源自任何合适的物种的抗体。此外,抗体集可以基于其Fc区分布在5个不同同种型(即,IgA、IgD、IgE、IgG、IgM)的任何一种中。此外,抗体集可以包括具有相似高变区域或不相似高变区的抗体。此外,抗体集中的一个或多个可以表现出一定程度的类别转换行为,形成抗体的不同同种型,同时保留用于与模块S130中感兴趣的抗原选择性结合的抗原特异性可变区。此外,抗体集可以包括完整的抗体和/或片段化的抗体(例如,已经经历部分酶促消化的抗体)。因此,模块S110的生物样品的抗体集可以包括任何合适类型的抗体。另外地或可选地,方法100的变化形式可以适于以特异性(例如,高特异性)结合或以其他方式偶联的分子对。因此,模块S110的抗体集和模块S130的靶/抗原可以被在方法100的其他变化形式中以特异性偶联的其他分子(例如,合成的“抗体”、合成的抗原)替代。

[0023] 因此,模块S110的抗体集可以包含被配置用于结合不同靶的不同类型的抗体,其中在模块S110的样品中存在不同类型的抗体的每一个的分布。另外地或可选地,模块S110中的抗体集可以包括单一类型的抗体,使得样品中不存在不同抗体类型之间的相对丰度。

[0024] 在变化形式中,模块S110可以包括用于以防止抗体集中的抗体以不期望的方式彼此相互作用(例如,彼此偶联)的方式预处理样品的步骤。例如,模块S110可以包括用阻断化合物预处理包括抗体集的样品,该阻断化合物可控地阻断具有与抗体集的其他抗体以不期望的方式相互作用的潜力的抗体位点。另外地或可选地,模块S110可以包括用减少抗体之间以不期望的方式的相互作用的一种或更多种溶剂预处理包括抗体集的样品。另外地或可选地,模块S110可以包括提供足够的样品体积(例如,溶液体积)以控制样品内抗体的浓度,从而限制样品中抗体集的抗体之间的相互作用。另外地或可选地,模块S110可以包括基于相互作用行为选择性地省略来自样品的抗体或选择性地包括样品中的抗体(例如,包括减少抗体集的不同抗体之间的相互作用的抗体),从而选择性地设计样品的抗体集的抗体分布谱。类似地,模块S110可以包括基于相互作用行为选择性地省略来自样品的抗体片段或选择性地包括样品中的抗体片段。另外地或可选地,模块S110可以包括分阶段(例如,按顺序)应用抗体集的抗体(或抗体子集)。例如,可以应用第一抗体组并且允许其与抗原结合,随后是洗涤步骤以去除未结合的第一抗体组的实体(instances)。然后,可以应用第二抗体组并且允许其与抗原结合,随后是洗涤步骤以去除未结合的第二抗体组的实体。然后可以对随后的抗体组(例如,在微流体装置等中)重复该过程。然而,防止不期望的抗体-抗体相互作用可以以任何其他合适的方式在模块S110中实施。

[0025] 虽然以上步骤描述为在与将抗体集的每一个与寡核苷酸缀合相关的步骤之前,但用缓冲液或任何其他合适的处理元件防止抗体集的抗体以不希望的方式彼此相互作用(例

如,彼此偶联)可以另外地或可选地在方法100的任何其他合适的阶段进行。例如,可以另外地或可选地实施与模块S130的捕获基底(例如,捕获板、捕获抗体)相关的处理步骤以防止不希望的抗体-抗体相互作用。

[0026] 此外,模块S110的变化形式可以另外地或可选地包括增强抗体样品纯化的步骤。例如,模块S110可以包括以下中的一个或多个:使样品脱盐、离心样品、对样品进行过滤、对样品进行缓冲液交换步骤、对样品进行层析分离(例如,用亲和层析)、和进行任何其他纯化步骤来以可表征的方式控制样品的抗体集的抗体纯度。另外地或可选地,模块S110的变化形式可以包括活化抗体集的缀合和/或结合位点的步骤,以便于与抗体-寡核苷酸缀合和/或抗体-抗原结合相关的方法100的下游部分。

[0027] 模块S110优选地使用这样的系统实施,所述系统包括能够接收样品、湿实验室处理(wet lab processing)样品、从样品提取数据和/或以减少的人工输入(例如,以自动化方式)对样品进行数据处理的设备、控制子系统和致动器(actuator)。在一些变化形式中,此类系统可以包括以下中的一种或更多种:样品容器操作机器人(例如,门架(gantry)、具有期望的自由度和灵活性的机械臂系统、控制系统)、流体递送设备(例如,抽吸系统、流体导管、控制系统)、样品分析设备(例如,光学检测系统、信号传输单元)、计算系统(例如,数据存储单元、用于数据处理的远程服务器、台式数据处理计算机、基于云的计算系统等),以及用于半自动化或自动化样品操作的其他合适的设备。然而,模块S110可以另外地或可选地完全由人类或其他实体来实施。

[0028] 1.2方法-抗体与寡核苷酸缀合

[0029] 模块S120叙述:使抗体集的每一个与寡核苷酸缀合,从而生成寡核苷酸缀合的抗体集。模块S120用于生成寡核苷酸缀合的抗体集,所述寡核苷酸缀合的抗体集可以被并行处理,以确定寡核苷酸的特征序列,并且能够鉴定与寡核苷酸结合的抗体对模块S130中的抗原/靶的选择性结合行为。因此,在模块S120中使用的寡核苷酸可以能够在对寡核苷酸进行测序后以单一或双重方式(例如,使用寡核苷酸集)鉴定任何抗体结合的靶。

[0030] 在与16S V4靶相关的一个应用中(例如,关于微生物组测序),模块S120的寡核苷酸可以包含包括由16S V4引物识别的区域的合成的(即,“外来”)DNA,其中合成的DNA的剩余部分是不同的(即,在自然界不存在)。因此,在使用针对16S区域设计的引物的情况下,除了与抗体连接的“外来”16S-样寡核苷酸以外,方法100的随后模块还可以能够同时扩增存在于样品中的所有细菌DNA和古细菌DNA,其中抗体与抗原/靶分子结合或者变成与抗原/靶分子结合。因此,基于模块S120中使用的寡核苷酸,可以将DNA/RNA、蛋白、小分子和/或任何其他合适的分子的鉴定减少至DNA测序过程。然而,与模块S120相关的“外来”寡核苷酸和/或引物的变化形式可以适于与样品中任何其他合适的靶的扩增、处理和/或鉴定相关的任何其他合适的区域(例如,18S区域,ITS区域等)。

[0031] 在模块S120中,寡核苷酸优选地共价结合至模块S110的抗体集的相关抗体;然而,寡核苷酸可以以任何其他合适的方式、以可逆或不可逆的方式键接或附接至模块S110的抗体集的相关抗体。在模块S120中,缀合可以包括以下的一个或多个:在溶液中将抗体集与寡核苷酸混合、在溶液中将抗体集与寡核苷酸孵育、加热在溶液中的抗体集与寡核苷酸、搅拌(例如,震荡、摇动)在溶液中的抗体集与寡核苷酸、洗涤在溶液中的抗体集与寡核苷酸并且进行用于将抗体与寡核苷酸偶联的任何其他合适的技术。此外,在模块S120中,缀合优选

地单向地进行以形成抗体-寡核苷酸复合物而不形成抗体-抗体复合物和/或寡核苷酸-寡核苷酸复合物。此外,可以用对照(例如,阳性对照、阴性对照等)进行缀合,以能够确定缀合正确发生。然而,缀合可以以任何其他合适的方式在模块S120中进行。

[0032] 在模块S120中,寡核苷酸优选地具有从20-120个碱基的长度;然而,寡核苷酸可以可选地具有任何其他合适的长度(例如,多达200个碱基)。此外,在模块S120中使用的寡核苷酸中的寡核苷酸优选地被配置为在寡核苷酸的5'末端处与抗体集的相关抗体偶联,这提供了缀合效率的增加;然而,在模块S120中使用的寡核苷酸可以另外地或可选地被配置在寡核苷酸的3'或5'末端处与抗体集的相关抗体偶联。模块S120的寡核苷酸优选地还包含末端氨基基团(例如,通过烃链附接至寡核苷酸的氨基基团);但可以另外地或可选地配置有任何其他合适的官能基团。例如,对模块S120的寡核苷酸的修饰可以包括以下中的一个或多个:磷酸化修饰(例如,用于使用寡核苷酸作为DNA连接酶底物)、接头修饰(例如,生物素、氨基修饰剂、叠氮化物、胆固醇基-TEG、炔烃、硫醇等以增强对基底的附接)、荧光团修饰、暗猝灭剂修饰、阻断修饰(例如,以防止空间位阻效应)、碱基修饰(例如,以调节杂交亲和力)、硫代磷酸酯键修饰(例如,以防止核酸酶降解)、醛修饰、肼修饰、以及任何其他合适的修饰。

[0033] 类似于模块S110,模块S120的变化形式可以另外地或可选地包括增强所使用的寡核苷酸纯化的步骤。例如,模块S120可以包括以下中的一个或多个:层析处理寡核苷酸(例如,用高效液相层析)、使寡核苷酸样品脱盐、洗涤寡核苷酸样品、离心寡核苷酸样品,并且进行任何其他纯化步骤来以可表征的方式控制寡核苷酸的纯度。另外地或可选地,模块S110的变化形式可以包括活化寡核苷酸的缀合位点的步骤以便于抗体-寡核苷酸缀合。

[0034] 此外,为了增强缀合效率和/或防止缀合期间不期望的问题,模块S120可以包括以下中的一个或多个:消除具有竞争缀合位点的官能基团(例如,硫醇)的化合物、减少寡核苷酸中的碱基重复(例如,当在均聚物中时)或使寡核苷酸中的碱基重复(例如,当在均聚物中时)最小化、使用或设计具有 ≤ 4 个连续的G碱基的寡核苷酸,4个连续的G碱基可以形成减少杂交和偶联效率的结构(例如,四联体、十字形等),以及解决缀合错误的任何其他步骤。此外,模块S120可以包括去除未结合或片段化的寡核苷酸(例如,通过沉淀和重构缀合物)、或以任何其他合适的方式对寡核苷酸缀合的抗体的样品进行后处理的步骤。

[0035] 在模块S120中,并且与模块S140相关,所使用的寡核苷酸条形码的每一个可以包括便于在模块S150中进行测序的一个或多个元件。例如,关于Illumina测序,模块S120的每一个寡核苷酸可以包括以下中的一个或多个:正向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina正向索引)、正向条形码序列、转座酶序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的转座酶结合位点)、接头(例如,被配置以减少同质性并改进测序结果的0个、1个或2个碱基的片段)、另外的随机碱基、用于靶向特定靶区域(例如,附接至抗体的寡核苷酸中的靶、偶联至抗体集的所有寡核苷酸中的预先设计的靶等)的序列、反向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina反向索引)和反向条形码序列。因此,方法100的变化形式可以包括在模块S130中结合和鉴定结合的抗体之后直接进行测序,而不在任意的模块S140中进行扩增。在与模块S120和S140相关的另一个变化形式中,模块S140可以在模块S120之后使用,以将一个或多个元件添加至寡核苷酸条形码以用于测序,其中模块S120中使用的寡核苷酸已包含Nextera序列组分。然而,模块S120和S140的

变化形式可以以任何其他合适的方式使用,包括以任何其它合适的测序技术实施。

[0036] 类似于模块S110,关于抗体与寡核苷酸的缀合,模块S120可以使用这样的系统实施,所述系统包括能够接收样品、湿实验室处理样品、从样品提取数据和/或以减少的人工输入(例如,以自动化方式)对样品进行数据处理的设备、控制子系统和致动器。机械臂在一些变化形式中,此类系统可以包括以下中的一种或更多种:样品容器操作机器人(例如,门架、具有期望的自由度和灵活性的机械臂系统、控制系统)、流体递送设备(例如,抽吸系统、流体导管、控制系统)、样品分析设备(例如,光学检测系统、信号传输单元)、计算系统(例如,数据存储单元、用于数据处理的远程服务器、台式数据处理计算机、基于云的计算系统等),以及用于半自动化或自动化样品操作的其他合适的设备。然而,模块S120可以另外地或可选地完全由人类或其他实体来实施。

[0037] 1.3方法-抗体-靶结合

[0038] 模块S130叙述:使寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合,其用于使寡核苷酸缀合的抗体集的子集与抗原靶结合和/或直接与捕获基底选择性结合。优选地,寡核苷酸缀合的抗体集与靶集之间的结合在模块S130中同时(contemporaneously)发生(例如,同时(simultaneously)、在大致相同的时间);然而,结合可以可选地在模块S130中不同时发生。在使寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与靶集(例如,抗原)结合时,模块S130优选地在免疫测定中进行。在变化形式中,免疫测定可以具有任何底物格式,可以以任何合适数目的阶段(例如,用中间洗涤步骤)进行,和/或可以是异质的或同质的。在一个变化形式中,模块S130可以用酶联免疫吸附测定(ELISA)实施,从而将靶/抗原非特异性地或特异性地(例如,如在夹心ELISA中,用捕获抗体)固定在固体支持物(例如,板、微量滴定板等)上。在该变化形式中,ELISA可以以定性或定量格式运行。此外,ELISA可以用任何合适数目的结合阶段(例如,分阶段使寡核苷酸缀合的抗体集的子集结合以限制不期望的抗体-抗体相互作用)进行,具有任何合适数目的中间洗涤或处理步骤。因此,洗涤步骤可以去除未结合的抗体,从而能够鉴定与靶结合的抗体(以及互补地,未与靶结合的抗体)。另外地或可选地,ELISA可以是竞争性ELISA或任何其他合适类型的ELISA(例如,MELISA)。

[0039] 在另一个变化形式中,模块S130可以可选地用侧向流动测定(例如,竞争性侧向流动测定、夹心侧向流动测定)来实施,从而样品垫(例如,多孔基底)接收样品并且通过毛细管作用将其传输到缀合垫,用于使抗原/靶与寡核苷酸缀合的抗体集结合。在该变化形式中,可以在模块S140中检测在测定进行后与抗原/靶结合的寡核苷酸缀合的抗体并测序。在侧向流动测定中使用的缀合物垫可以具有测试区域(例如,垂直于通过缀合物垫的流动方向定向的测试条),并且可以另外地包括便于检测测定适当进行的控制区域(例如,控制条)。在该变化形式中,侧向流动测定可以用任何合适数目的结合阶段(例如,分阶段使寡核苷酸缀合的抗体集的子集结合以限制不期望的结合相互作用)进行,具有任何合适数目的中间洗涤或处理步骤。可选地,在其他变化形式中,模块S130中实施的免疫测定可以包括以下中的一个或多个:克隆酶供体免疫测定(CEDIA)、磁性免疫测定、放射免疫测定、环绕光纤免疫测定(surround optical fiber immunoassay)(SOFIA)以及任何其他合适的测定。

[0040] 在用于侧向流动测定的捕获基底的具体实例中,如图3中示出的,捕获基底可以包括:包括检测区域的膜、与膜的下游末端偶联的吸收区域(以便于流动通过所述膜)、设置在

膜的上游末端处并且被配置为接收和传输测试样品通过缀合物垫并进入膜的样品垫、以及用作膜的基底的背卡 (back card), 其中所述背卡可以偶联至用于维持侧向流动元件的元件位置的盖子。因此, 样品垫可以将样品 (例如, 包括靶集的样品) 虹吸 (wick) 至缀合物垫用于方法100的随后模块中的抗体-靶结合。

[0041] 在模块S130的任何以上测定中, 基底 (例如, 板、微量滴定板、侧向流动基底等) 的表面特征可以被设计为防止抗体和/或基底之间不期望的相互作用。例如, 可以调节表面化学、电荷、粗糙度、孔隙率和任何其他合适的参数以控制抗体与底物之间粘附的特异性。然而, 模块S130可以包括任何其他合适的模块或步骤, 所述其他合适的模块或步骤阻止或减少寡核苷酸缀合的抗体集的抗体与基底之间的不期望的相互作用 (例如, 结合偏好中的偏倚)。

[0042] 关于靶集, 模块S130可以包括模块S131, 模块S131叙述: 在适当的捕获基底处接收来自受试者 (例如, 人类受试者、非人类受试者) 的测试样品, 其中所述测试样品包括靶集。模块S131可以包括任何合适的样品接收和/或处理步骤。例如, 样品接收的非侵入性方式的变化形式可以使用以下中的一个或多个: 可渗透性基底 (例如, 被配置为擦拭受试者的身体的区域的拭子、厕纸、海绵等)、不可渗透性基底 (例如, 载玻片、胶带等)、被配置为从受试者的身体的区域接收样品的容器 (例如, 小瓶、管、袋等) 以及任何其他合适的样品接收元件 (sample-reception element)。在特定实例中, 可以以非侵入性方式 (例如, 使用拭子和小瓶) 从受试者的鼻、皮肤、生殖器、口和肠中的一个或多个收集样品。然而, 另外地或可选地, 在模块S131中, 可以以半侵入性方式或侵入性方式接收受试者的样品。在变化形式中, 样品接收的侵入性方式可以使用以下中的任何一个或多个: 针、注射器、活组织检查元件、柳叶刀 (lance) 和用于以半侵入性或侵入性方式收集样品的任何其他合适的器具。在特定实例中, 样品可以包含血液样品、血浆/血清样品 (例如, 以使能够提取无细胞DNA)、脑脊液和组织样品。

[0043] 因此, 如图4中示出的, 在变化形式中, 在模块S131中的样品处理可以包括以下中的任何一个或多个: 裂解样品S31、破坏样品的细胞中的膜S32、将元件 (例如, RNA、蛋白) 与样品分离S33以暴露靶集、纯化样品中的样品的期望组分 (例如, 核酸、抗原、其他蛋白等) S34、分选样品的组分S35、以及任何其他合适的处理步骤。

[0044] 在变化形式中, 裂解样品S31和/或破坏样品的细胞中的膜S32优选地包括细胞裂解/膜破坏的物理方法 (例如, 珠击打、氮减压、均质化、超声处理), 其省略了在测序后在某些组分的呈现方面产生偏倚的某些试剂。另外地或可选地, 模块S31或S32中的裂解或破坏可以包括化学方法 (例如, 使用去垢剂、使用溶剂、使用表面活性剂等)。因此, 模块S31和S32可以用于在样品操作网络处以预处理的裂解状态接收样品的变化形式中完成样品的组分的裂解。在变化形式中, 元件与样品的分离S33可以包括使用RNA酶去除RNA和/或使用蛋白酶分离蛋白。在变化形式中, 纯化样品中的核酸以生成核酸样品S34可以包括以下中的一种或更多种: 沉淀来自生物样品的核酸 (例如, 使用基于醇的沉淀方法)、基于液体-液体的纯化技术 (例如, 苯酚-氯仿提取)、基于层析的纯化技术 (例如, 柱吸附)、包括利用被配置为结合核酸并被配置为在洗脱环境 (例如, 具有洗脱溶液、提供pH改变、提供温度改变等) 的存在下释放核酸的结合部分结合颗粒 (binding moiety-bound particles) (例如, 磁珠、浮珠 (buoyant beads)、具有粒度分布的珠、超声响应的珠等等) 的纯化技术、以及任何其他合适

的纯化技术。然而,可以进行与模块S131相关的任何合适的处理步骤。

[0045] 在进行模块S130之后,在对与抗原结合的抗体偶联的寡核苷酸的子集和/或与未与抗原结合的抗体偶联的寡核苷酸的子集进行下游测序期间(即,在模块S150中)优选地并行进行不同的抗体-抗原复合物的检测和表征;然而,抗体-抗原复合物的检测和表征可以另外地或可选地基于探针(例如,荧光探针、变色(color-changing)探针、显色(color-exhibiting)探针等)与模块S130的免疫测定中形成的抗体-抗原复合物的偶联来验证或归一化。另外地或可选地,可以以任何其他合适的方式进行与模块S130和S150相关的抗体-抗原复合物的检测和表征。

[0046] 此外,模块S130可以另外地或可选地包括模块S135,模块S135叙述:在方法100的随后模块之前分离寡核苷酸缀合的抗体集的结合抗体,用于允许与以下中的一个或多个方法步骤相关的分离:扩增、测序和分析。在模块S135中的分离可以包括以下的任何合适类型:与结合抗体的分离相关的洗涤过程、润洗过程、洗脱过程、分选过程和/或任何其他合适的过程。

[0047] 类似于先前描述的模块,关于抗体与捕获基底处的靶的结合,模块S130可以使用这样的系统实施,所述系统包括能够接收样品、湿实验室处理样品、从样品提取数据和/或以减少的人工输入(例如,以自动化方式)对样品进行数据处理的设备、控制子系统和致动器。在一些变化形式中,此类系统可以包括以下中的一个或多个:样品容器操作机器人(例如,门架、具有期望的自由度和灵活性的机械臂系统、控制系统)、基底(例如,免疫测定基底)操作机器人、流体递送设备(例如,抽吸系统、流体导管、控制系统)、样品分析设备(例如,光学检测系统、信号传输单元)、计算系统(例如,数据存储单元、用于数据处理的远程服务器、台式数据处理计算机、基于云的计算系统等),以及用于半自动化或自动化样品操作的其他合适的设备。然而,模块S130可以另外地或可选地完全由人类或其他实体来实施。

[0048] 1.4方法-寡核苷酸扩增

[0049] 如以上指示的,方法100的一些变化形式可以另外地或可选地包括模块S140,模块S140叙述:在测序之前扩增寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和寡核苷酸缀合的抗体的第二子集中的至少一个的寡核苷酸(例如,未结合靶集的寡核苷酸缀合的抗体)。模块S140用于扩增在模块S130处理后的寡核苷酸,这可以在模块S150中对寡核苷酸进行测序后便于信号增强和/或提供良好的检测限值。模块S140可以另外地或可选地用于以便于在模块S150中测序的方式用将测序元件附加至寡核苷酸的引物来扩增寡核苷酸标签。特别地,关于IIIllumina测序,在模块S140中的扩增可以包括具有以下的引物:正向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的IIIllumina正向索引)、正向条形码序列、转座酶序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的转座酶结合位点)、接头(例如,被配置以减少同质性并改进序列结果的0个、1个或2个碱基的片段)、另外的随机碱基、用于靶向特定靶区域(例如,衔接至抗体的寡核苷酸中的靶、偶联至抗体集的所有寡核苷酸中的预先设计的靶等)的序列、反向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的IIIllumina反向索引)和任选地反向条形码序列。然而,用于扩增的引物可以另外地或可选地具有便于根据方法100的下游处理和分析的任何其他合适的功能元件。

[0050] 特别地,模块S140和S150优选地包括扩增在模块S130中与靶结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的寡核苷酸,这可以用于以直接方式表征结合的寡核苷酸缀合的抗体。

然而,模块S140和S150可以另外地或可选地包括扩增在模块S130中未结合的寡核苷酸缀合的抗体的第二子集的寡核苷酸,这可以用于以间接方式表征结合的寡核苷酸缀合的抗体。因此,对寡核苷酸缀合的抗体集的结合的表征可以以直接和/或间接的方式进行。

[0051] 在模块S140的变化形式中,寡核苷酸的扩增优选地包括以下中的一个或更多个:基于聚合酶链式反应(PCR)的技术(例如,固相PCR、RT-PCR、qPCR、多重PCR、降落PCR(touchdown PCR)、纳米PCR(nanoPCR)、巢式PCR、热启动PCR等)、依赖解旋酶的扩增(HDA)、环介导的等温扩增(LAMP)、自主持续序列复制(3SR)、基于核酸序列的扩增(NASBA)、链置换扩增(SDA)、滚环扩增(RCA)、连接酶链式反应(LCR)和任何其他合适的扩增技术。在扩增纯化的核酸时,所使用的引物优选地被设计为通用扩增与抗体偶联的所有寡核苷酸条形码,从而能够扩增用于测序的条形码,并且能够鉴定在模块S130中与抗原/靶结合的抗体。另外地或可选地,引物可以被选择为防止扩增偏倚或使扩增偏倚最小化,并且被配置为扩增以下核酸区域/序列(例如,16S区域、18S区域、ITS区域等的),所述核酸区域/序列提供分类学信息、提供系统发育信息、提供用于诊断的信息、提供用于制剂(例如,用于益生菌制剂)的信息和/或提供用于任何其他合适的目的的信息。因此,被配置为避免扩增偏倚的通用引物可以用于扩增。在模块S140的变化形式中使用的引物可以另外地或可选地包括对每一个样品特异的掺入的条形码序列,所述条形码序列可以便于扩增后生物样品的鉴定。如以上指示的,在模块S140的变化形式中使用的引物可以另外地或可选地包括被配置为与包括互补衔接子的测序技术(例如,Illumina测序)配合的衔接子区域。另外地或可选地,模块S140可以实施被配置为便于处理的任何其他步骤(例如,使用Nextera试剂盒用于片段化等)。

[0052] 类似于先前描述的模块,关于扩增,模块S140可以使用这样的系统实施,所述系统包括能够接收样品、湿实验室处理样品、从样品提取数据和/或以减少的人工输入(例如,以自动化方式)对样品进行数据处理的设备、控制子系统和致动器。在一些变化形式中,此类系统可以包括以下中的一个或更多个:样品容器操作机器人(例如,门架、具有期望的自由度和灵活性的机械臂系统、控制系统)、流体递送设备(例如,抽吸系统、流体导管、控制系统)、热循环设备(例如,加热器和加热器控制模块)、样品分析设备(例如,光学检测系统、信号传输单元)、计算系统(例如,数据存储单元、用于数据处理的远程服务器、台式数据处理计算机、基于云的计算系统等),以及用于半自动化或自动化样品操作的其他合适的设备。然而,模块S140可以另外地或可选地完全由人类或其他实体来实施。

[0053] 1.5方法-测序

[0054] 模块S150叙述:确定以下中的至少一个的序列:1)与靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的每一个寡核苷酸,和2)未与靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体集的第二子集的每一个寡核苷酸。模块S150用于并行测序抗体-寡核苷酸复合物的寡核苷酸标签,从而能够表征哪一个抗体-寡核苷酸复合物结合或未结合模块S130的免疫测定的靶抗原。在测序中,模块S150因此允许方法100能够使用测序过程鉴定与抗体结合的任何分子(例如,靶、抗原)。模块S150优选地包括对在模块S130中与靶结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的寡核苷酸进行测序,这可以用于以直接方式表征结合的寡核苷酸缀合的抗体。然而,如以上表明的,如果已知整个寡核苷酸缀合的抗体集的多个方面,模块S150可以另外地或可选地包括对在模块S130中未结合的寡核苷酸缀合的抗体的第二子集的寡核苷酸进行测序,这可以用于以间接方式表征结合的寡核苷酸缀合的抗体。因此,对寡核苷酸缀合的抗体集的

结合的表征可以以直接和/或间接的方式进行。此外,方法100的变化形式可以可选地包括模块S150的测序步骤,而不实施模块S140的扩增步骤。

[0055] 如遍及本公开内容表明的,在模块S150中,还可以对任何合适的分子(例如,链、片段等)进行测序。在特定实例中,测序包括使用边合成边测序(sequencing-by-synthesis)技术的Illumina测序(例如,用HiSeq平台、用MiSeq平台、用NextSeq平台等)。另外地或可选地,可以使用任何其他合适的下一代测序技术(例如,PacBio平台、MinION平台、Oxford Nanopore平台等)。另外地或可选地,可以使用任何其他合适的测序平台或方法(例如,Roche 454Life Sciences平台、Life Technologies SOLiD平台等)。在实例中,测序可以包括深度测序来定量样品中特定序列的拷贝数,然后还可用于确定样品中不同序列的相对丰度。深度测序是指核酸序列的高度冗余测序,例如使得可以确定或估计样品中序列的原始拷贝数。测序的冗余度(即,深度)可以由待确定的序列的长度(X)、测序读段的数目(N)和平均读段长度(L)决定。给定这些参数,冗余度可以被表示为 $N \times L / X$ 。在特定实例中,测序深度/冗余度可以是约2-100个单位、从100-1000个单位、从1000-5000个单位、或多于5000个单位的级别。然而,在模块S150中进行的测序操作可以另外地或可选地由任何其他合适的冗余度参数或其他参数来表征。

[0056] 在变化形式中,在模块S150中的测序可以另外地或可选地包括牵涉靶向的扩增子测序和/或宏基因组测序的方法,实施包括以下中的一个或多个的技术:边合成边测序技术、毛细管测序技术(例如,Sanger测序)、焦磷酸测序技术、和纳米孔测序技术(例如,使用Oxford Nanopore技术)。在模块S140和S150的特定实例中,对来自生物样品集的生物样品的核酸的扩增和测序包括:固相PCR,所述固相PCR包括用寡核苷酸衔接子桥式扩增基底上的生物样品的DNA片段,其中扩增包括具有以下的引物:正向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina正向索引)、正向条形码序列、转座酶序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的转座酶结合位点)、接头(例如,被配置以减少同质性并改进序列结果的0个、1个或2个碱基的片段)、另外的随机碱基、用于靶向特定靶区域的序列、反向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina反向索引)和反向条形码序列。在特定实例中,测序包括使用边合成边测序技术的Illumina测序(例如,用HiSeq平台、用MiSeq平台、用NextSeq平台等)。

[0057] 类似于先前描述的模块,关于测序,模块S150可以使用这样的系统实施,所述系统包括能够接收样品、湿实验室处理样品、从样品提取数据和/或以减少的人工输入(例如,以自动化方式)对样品进行数据处理的设备、控制子系统和致动器。在一些变化形式中,此类系统可以包括以下中的一个或多个:样品容器操作机器人(例如,门架、具有期望的自由度和灵活性的机械臂系统、控制系统)、流体递送设备(例如,抽吸系统、流体导管、控制系统)、热循环设备(例如,加热器和加热器控制模块)、样品分析设备(例如,光学检测系统、信号传输单元)、计算系统(例如,数据存储单元、用于数据处理的远程服务器、台式数据处理计算机、基于云的计算系统等),以及用于半自动化或自动化样品操作的其他合适的设备。然而,模块S150可以另外地或可选地完全由人类或其他实体来施。

[0058] 与方法100的描述的模块相关的样品处理的一些变化形式可以另外地或可选地包括在测序之前进一步纯化扩增的核酸(例如,PCR产物),用于去除过量的扩增元件(例如,引物、dNTP、酶、盐等)。在实例中,可以使用以下中的任一种或更多种来利于另外的纯化:纯化

试剂盒、缓冲液、醇类、pH指示剂、离液盐、核酸结合过滤器、离心和任何其他合适的纯化技术。

[0059] 1.6方法-分析

[0060] 模块S160叙述:从由寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和第二子集中的至少一个确定的序列生成样品的分析,其中所述分析提供寡核苷酸缀合的抗体集的抗体与靶集之间的结合的相对分布的信息。模块S160用于表征哪一个抗体-寡核苷酸复合物结合或未结合模块S130的免疫测定的靶抗原,并且允许基于测序过程鉴定特异性抗体结合的分子。因此,分析可以能够检测哪一个抗体-寡核苷酸复合物结合(或未结合)靶抗原,并且表征抗体-寡核苷酸复合物集的不同抗体与模块S130中使用的抗原/靶之间的结合的相对量。通过已知因素归一化(例如,归一化量),模块S160的分析可以另外地或可选地提供抗体-寡核苷酸复合物集的不同抗体之间的结合的绝对测量(例如,绝对定量)。

[0061] 在实例中,对于模块S110中使用的不同抗体集,基于模块S150的测序操作和输出,分析可以输出不同抗体的哪一个在模块S130中与抗原/靶结合的相关信息,以及在模块S130中与靶/抗原结合的不同抗体的每一个的相对量或绝对量。因此,与模块S110中使用的抗体相关的知识(例如,抗原特异性信息)结合,模块S160可以使得能够表征来自受试者的测试样品中的不同抗原/靶的量和存在。因此,模块S160的一些变化形式可以包括接收与在抗体集中的抗原特异性相关的补充数据集,并且在处理补充数据集与由模块S150提供的序列后生成指示来自受试者的测试样品中的靶集的特征。

[0062] 在变化形式中,分析还可以提供源自抗体-抗原结合行为的定性和/或定量测量的信息,如在模块S150中对寡核苷酸进行测序后确定的。

[0063] 在使得能够处理和分析多样化抗体集中的哪一个与模块S130的免疫测定的靶/抗原结合的情况下,模块S160可以以多重方式并以高效的方式提供用于并行检测多个抗原靶的快速且新颖的诊断工具。因此,如以上表明的,模块S160的分析可以输出与以下相关的诊断:感染原(例如,朊病毒)、微生物(例如,细菌、病毒、真菌生物体等)、毒性化合物以及与医学(例如,诊断、治疗)或研究应用相关的任何其他合适的抗体靶。在实例中,模块S160的分析可以支持针对疾病组(例如,呼吸道疾病组、性传播疾病组等)以及任何其他合适的疾病组的诊断测试。

[0064] 因此,在一些变化形式中,方法100可以包括模块S170,如图5中示出的,模块S170叙述:关于为受试者的一个或更多个健康相关的状况提供诊断测试,将靶集的特征提供至与样品相关的实体。表征可以以电子格式和/或以非电子格式提供至实体。此外,在变化形式中,实体可以是人类实体(例如,健康护理提供者、医师、护士、实验室技术人员、亲属等)或与受试者相关的非人类实体(例如,与护理和健康记录相关的电子健康护理平台/系统)。在变化形式中,将表征提供至实体可以包括以使得信息能够在该实体的电子装置(例如,个人计算机、智能电话、头戴式可佩戴计算装置、手腕式可佩戴计算装置、平板装置(tablet)、笔记本电脑(laptop)、上网本(netbook)等)处可访问的方式传输信息。另外地或可选地,信息可以以印刷报告、电子文档(例如,PDF)的形式作为原始数据和/或以任何其他合适的形式提供至个体。

[0065] 在特定实例中,在模块S160中生成分析和相关表征后,模块S170可以包括与实体的电子装置建立通信并且近乎实时地传输与表征相关联的信息。在实例中,与安全信息传

输相关的通信规则可以包括在特定条件(对请求的响应格式、何时处理请求)下通过特定通信链路(例如,无线链路、有线链路等)传输数据以及任何其他合适的通信规则。许可规则可以包括第三方账户的许可级别(例如,对诊断测试结果的不同访问级别)、用户账户(例如,用户查看与受试者的治疗相关的诊断测试结果的第三方分析的不同访问级别等)。因此,在传输信息时,通信模块(例如,与实体的电子装置相关的硬件通信模块)可以响应于根据方法100进行的近乎实时分析通过有线数据链路和/或无线数据链路(例如,通过蓝牙的可通信链路、通过蓝牙LTE的可通信链路等)接收数据。然而,可以确定控制方法100和/或系统200的任何合适方面的任何合适类型的规则。

[0066] 在特定实例中,与模块S170相关的诊断测试可以包括针对不同的鉴定的健康状况和/或疾病组的测试,其中所鉴定的健康状况和/或疾病组可以与以下中的一个或多个相关:神经系统健康状况、自身免疫状况、内分泌系统状况、心理健康状况、运动系统状况、代谢(相关)疾病状况、心血管疾病状况、皮肤状况、性传播疾病、牙齿健康状况、胃肠健康状况和/或任何其他合适的状况,这些状况的实施方案、变化形式和实例在以下中描述:于2015年10月21日提交的美国申请第14/919,614号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/097,862号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,027号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,248号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,236号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,222号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,204号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,174号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,110号、于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,081号、和于2016年4月13日提交的美国申请第15/098,153号,这些申请通过该引用以其整体并入本文。在这些特定实例中,模块S170可以包括提供定性信息(例如,阳性测试结果、阴性测试结果)、定量信息(例如,与基于结合行为的不同检测到的或未检测到的靶相关的定量参数值)、与诊断测试的不同子结果中的置信度相关的信息(例如,置信度范围,潜在的假阳性结果的指示、潜在的假阴性结果的指示),与非确定性结果相关的信息,和/或与疾病组的每一个状况相关的任何合适的信息。另外地或可选地,模块S170可以提供具有与疾病不相关的健康状态的信息。

[0067] 模块S170可以包括便于指导治疗或对诊断测试信息的其他响应的步骤。例如,在一个变化形式中,模块S170可以包括自动地生成治疗方案以维持或改进受试者的健康状态(例如,关于阳性测试结果)。生成治疗方案可以包括基于疗法模型生成治疗方案(例如,如2016年4月13日提交的美国申请第15/097,862号中描述的,该申请通过该引用以其整体并入本文)。类似于方法100的以上描述的模块,与治疗方案相关的信息可以以电子格式(例如,在由实体或受试者以安全方式访问的移动应用内、网络应用内等)通过有线或无线可通信链路提供至受试者或与受试者相关的实体。

[0068] 治疗方案的方面可以包括以下中的一个或多个:可以使受试者的微生物组组成和/或功能特征朝向在改善受试者的健康方面期望的平衡状态改变的微生物组改变疗法(例如,基于益生菌的疗法、基于益生元的疗法、基于噬菌体的疗法、基于小分子的疗法等)。在实例中,治疗和/或疗法可以选自包括以下中的一个或多个的疗法:益生菌疗法、基于噬菌体的疗法、益生元疗法、基于小分子的疗法、认知/行为疗法、物理康复疗法(physical rehabilitation therapies)、临床疗法、基于药物的疗法、膳食相关疗法、和/或任何其他合适的疗法。

[0069] 根据模块S170,治疗供应可以以自动化方式进行。例如,在一个特定应用中,模块S160和/或S170的输出可以用于使用受试者的自动化药物分配器来管理受试者的药物供应。在该具体应用中,源自治疗方案的信息可以转化为用于管理药物分配器的分配功能的规则(例如,关于药物剂量、关于药物相互作用、关于改善/恶化的健康状况状态、关于药物滴定 (medication titration) 等)。例如,阳性测试结果的鉴定可以产生(例如,通过无线通信链路、通过有线通信链路)传输至连接的药物分配器的规则,使得规则能够基于阳性测试结果以期望的给药要求将一种或更多种新的药物自动分配至受试者。例如,阴性测试结果的鉴定可以产生(例如,通过无线通信链路、通过有线通信链路)传输至连接的药物分配器的规则,使得规则基于阴性测试结果停止将一种或更多种药物自动分配至受试者。例如,阳性测试结果的鉴定可以另外地或可选地产生(例如,通过无线通信链路、通过有线通信链路)传输至连接的药物分配器的规则,使得规则能够基于阳性测试结果自动分配与受试者当前使用的药物具有较少不良的药物相互作用特征的可选药物。

[0070] 然而,方法100可以包括被配置为便于寡核苷酸缀合的抗体样品的并行/多重处理的任何其他合适的模块或步骤,和分析从与寡核苷酸缀合的抗体与一个或多个靶/抗原之间的相互作用相关的抗体结合得到的数据。方法100可以另外地或可选地支持用于检测抗体与靶/抗原结合的其他方法,和/或牵涉对核酸进行测序的任何其他合适的方法。

[0071] 2. 系统

[0072] 如图2和图6中示出的,用于表征抗体结合行为的系统200可以包括:样品操作网络210,其便于接收来自受试者的样品,在样品操作网络内的样品处理子系统230处处理样品(例如,关于寡核苷酸缀合和抗体-靶结合),在样品操作网络内的处理系统240处进行测序操作,并且将源自测序操作的信息(例如,结合表征、诊断测试信息)通过可通信链路(例如,安全无线通信链路、安全有线通信链路)传输至相关实体。然而,方法100可以可选地使用被配置为接收和处理与其他信息聚集的样品的任何其他合适的系统来实施,以多重方式生成并共享从表征抗体结合行为得到的深刻理解。

[0073] 样品操作网络210可以用作平台,从该平台可以分布采样试剂盒,以接收来自受试者的样品,其中样品可以被返回以进行处理和分析。因此,样品操作网络210的一个方面作用于样品操作的分布和接收中心,其中个体能够将样品直接传输至样品操作网络,而不需要个体与配备训练有素的生物样品操作人员的基于临床或基于实验室的中介之间的直接接触。因此,样品操作网络210优选地被配置为以可靠的方式直接将指令提供至与样品供应相关的个体,而不牵涉样品供应过程中的实验室训练有素的人员,并且优选地被配置为使样品与提供样品的个体以符合监管标准的安全和可靠方式(例如符合健康保险携带和责任法案(the Health Insurance Portability and Accountability Act, HIPAA)相关。然而,样品操作网络210可以可选地被配置为使用基于实验室或基于临床的中介来分布采样试剂盒和/或接收来自个体的样品,和/或以任何其他合适的方式操作样品。

[0074] 样品处理子系统230(其实例在图7A中示出)优选地被配置为处理在样品操作网络210内的样品,但可以另外地或可选地被配置为处理与样品操作网络210相关联的任何其他合适网络中的样品。样品处理子系统230可以包括样品操作网络210内的实验室环境30(例如,湿实验室环境),其中在样品操作网络210处接收的样品容器中的样品在样品操作网络210内被传输至样品处理子系统230用于样品处理(例如,核酸内含物的纯化、核酸内含物的

扩增、核酸内含物的测序)。样品处理子系统230优选地完全在样品操作网络210内实施,但可以另外地或可选地包括在样品操作网络210内(例如,以“内部(in house)”方式)实施的子模块和在样品操作网络210的外部(例如,以“在外部(out of house)”的方式)实施的子模块。在一个变化形式中,样品纯化可以在样品操作网络210内的样品处理子系统230的第一子模块处进行,扩增可以在样品操作网络210外部的样品处理子系统230的第二子模块处进行,并且测序可以在样品操作网络210外部的样品处理子系统230的第三子模块处进行。然而,样品处理子系统230及其子模块可以以与样品操作网络210相关的任何其他合适的方式来配置。

[0075] 对于样品处理和纯化,样品处理子系统230优选地包括在其中进行样品处理的、对任何污染物质(例如,可能影响样品中的核酸或有助于污染物核酸的物质)进行灭菌的环境30(例如,无菌的实验室罩、无菌室)。可以对环境30进行温度控制、控制氧气含量、控制二氧化碳含量、和/或控制光暴露(例如,暴露于紫外线)。样品处理子系统230的纯化模块232可以基于以下来操作:基于力的分离、基于尺寸的分离、基于结合部分的分离(例如,用磁性结合部分、用漂浮的结合部分等)和/或任何其他合适的分离形式。例如,纯化模块232可以包括以下中的一个或多个:便于上清液提取的离心机、过滤器(例如,过滤板)、配置为将裂解样品与结合靶的部分和/或样品的废弃物合并的流体递送模块、洗涤试剂递送系统、洗脱试剂递送系统以及用于从样品中纯化靶内含物的任何其他合适的设备。

[0076] 对于核酸扩增(例如,与寡核苷酸扩增相关),样品处理子系统230可以包括扩增基底233(例如,PCR相容的样品接收基底)和被配置为在扩增基底233上进行热循环的热循环模块234,其中扩增基底233被配置为接收一个或多个样品(例如,裂解的样品)、引物溶液、试剂(例如,主混合物、PCR水)以及用于核酸扩增的任何其他合适的材料。热循环模块234可以被配置为使用一系列单独可控制的加热元件根据个体化的热循环顺序(例如,温度、斜升时间(ramp up time)、保持时间、斜降时间、循环等)对不同的扩增基底进行热循环,或者可以另外地或者可选地被配置为使用单个加热元件或者一系列共同控制的加热元件根据常见的热循环顺序对不同的扩增基底热循环。样品处理子系统230可以另外地或可选地包括第二纯化模块235,其被配置为从扩增试剂(例如,过量的引物、过量的dNTP、酶、盐等)纯化核酸扩增产物。在变化形式中,纯化模块235可以包括包含缓冲液、醇类(例如,乙醇、异丙醇等)、pH指示剂、离液盐、核酸结合过滤器的纯化试剂盒,和离心。然而,样品处理子系统230可以包括任何其他合适的元件(例如,用于定量的分光光度设备、用于使用与核酸结合的荧光染料定量的荧光模块、用于尺寸选择的毛细管元件、用于尺寸选择的电泳元件、用于尺寸选择的过滤元件、质量控制元件等)。

[0077] 对于对扩增的核酸进行测序,样品处理子系统230可以包括测序模块236,其根据以下之一进行操作:边合成边测序技术(例如,Illumina测序)、毛细管测序技术(例如,Sanger测序)、焦磷酸测序技术、单分子实时(SMRT)技术、边连接边测序(sequencing by ligation)(例如,SOLiD)技术、可逆终止子测序技术、质子检测测序技术、离子半导体(例如,Ion Torrent)测序技术、纳米孔测序技术、电子测序技术以及任何其他合适类型的测序技术。在特定实例中,样品处理子系统230的测序模块236可以包括以下中的一个或多个:Applied Biosystems®ABI 3730DNA分析仪、454Life Sciences®454FLX Titanium测序仪、Illumina®测序仪(例如,GAllx测序仪、HiSeq测序仪、MiSeq测序仪)、Pacific

Biosciences®PacBio测序仪、Ion Torrent™测序仪、以及任何其他合适的测序仪。

[0078] 样品处理子系统230的元件可以被配置为以自动化方式操作,并且在一个实例中,样品处理子系统230包括实验室自动化工作站(例如,Biomex®实验室自动化工作站),其通过由一个或更多个控制模块管理的机械臂和门架、致动器和流体递送系统的方式使样品容器操作和处理自动化机械臂。可选地,样品处理子系统230可以被配置为至少部分地由训练有素的技术人员操作,以便提供手动或半手动形式的样品操作和处理。此外,样品处理子系统230可以被配置为通过使用流体装置(例如,微流体装置)以连续流动的方式进行操作,所述流体装置能够实现在单个流体装置上进行的多个处理模块(例如,样品裂解、核酸提取、核酸纯化、核酸扩增等)。可选地,样品处理子系统230的元件可以被配置为使用不同的装置和/或不同的样品处理室来更加离散地操作。

[0079] 处理系统240(其实例在图7B中示出)被配置为根据在以上部分1中描述的方法100的模块来进行分析。处理系统240可以与样品处理子系统230的模块直接通信,并且在一个变化形式中,样品操作网络210的测序模块236可以被配置为将测序的数据作为输出提供至处理系统240的模块。另外地或可选地,处理系统240可以被配置为通过存储装置241接收来自样品处理子系统230的输出的输入,所述存储装置241被配置为存储从在样品操作网络210处接收的样品的处理得到的数据。处理系统240优选地在一个或多个计算系统中实施,其中计算系统可以至少部分地在云端和/或作为被配置为接收存储计算机可读指令的计算机可读介质的机器(例如,计算机器、服务器、基于云的计算系统等)被实施。因此,处理系统240可以包括在云端和/或作为机器实施的一个或多个处理模块,其包括用于进行方法100的模块的指令。然而,处理系统240可以以任何其他合适的方式来配置。

[0080] 实施方案的方法100和/或系统可以至少部分地呈现或实施为被配置为接收存储计算机可读指令的计算机可读介质的机器。指令可以通过与患者的计算机或移动设备的应用程序、小应用程序、主机、服务器、网络、网站、通信服务、通信界面、硬件/固件/软件元件集成的计算机可执行组件或其任何合适的组合来执行。实施方案的其他系统及方法可以至少部分地被呈现和/或实施为被配置为接收存储计算机可读指令的计算机可读介质的机器。指令可以通过与以上描述的类型装置和网络集成的计算机可执行组件执行。计算机可读介质可以存储在任何合适的计算机可读介质上,诸如RAM、ROM、闪存存储器、EEPROM、光学设备(CD或DVD)、硬盘驱动器、软盘驱动器或任何合适的设备。计算机可执行组件可以是处理器,虽然任何合适的专用硬件设备可以(可选地或另外地)执行指令。

[0081] 附图例证了根据优选的实施方案、实例配置及其变化形式的系统、方法和计算机程序产品的可能的实施的架构(architecture)、功能和操作。在这方面,流程图或框图中的每一个模块可以代表模块、部分、步骤或部分代码,其包括用于实施指定的逻辑功能的一个或多个可执行的指令。还应当指出的是,在一些可选的实施方案中,在模块中提到的功能可以在附图中指出的顺序以外的顺序发生。例如,实际上,根据所牵涉的功能,示出的两个连续的模块可以基本上同时执行,或者模块有时可以以相反的顺序执行。还应当指出的是,框图和/或流程图说明中的每一个模块,以及框图和/或流程图说明中的模块的组合,可以由进行指定功能或动作的基于特定目的的硬件的系统、或特定目的的硬件和计算机指令的组合来实施。

[0082] 如本领域技术人员将从之前的详细描述和从附图和权利要求认识到的,可以对本

发明的实施方案进行修改和改变而不偏离如以下权利要求中定义的本发明的范围。

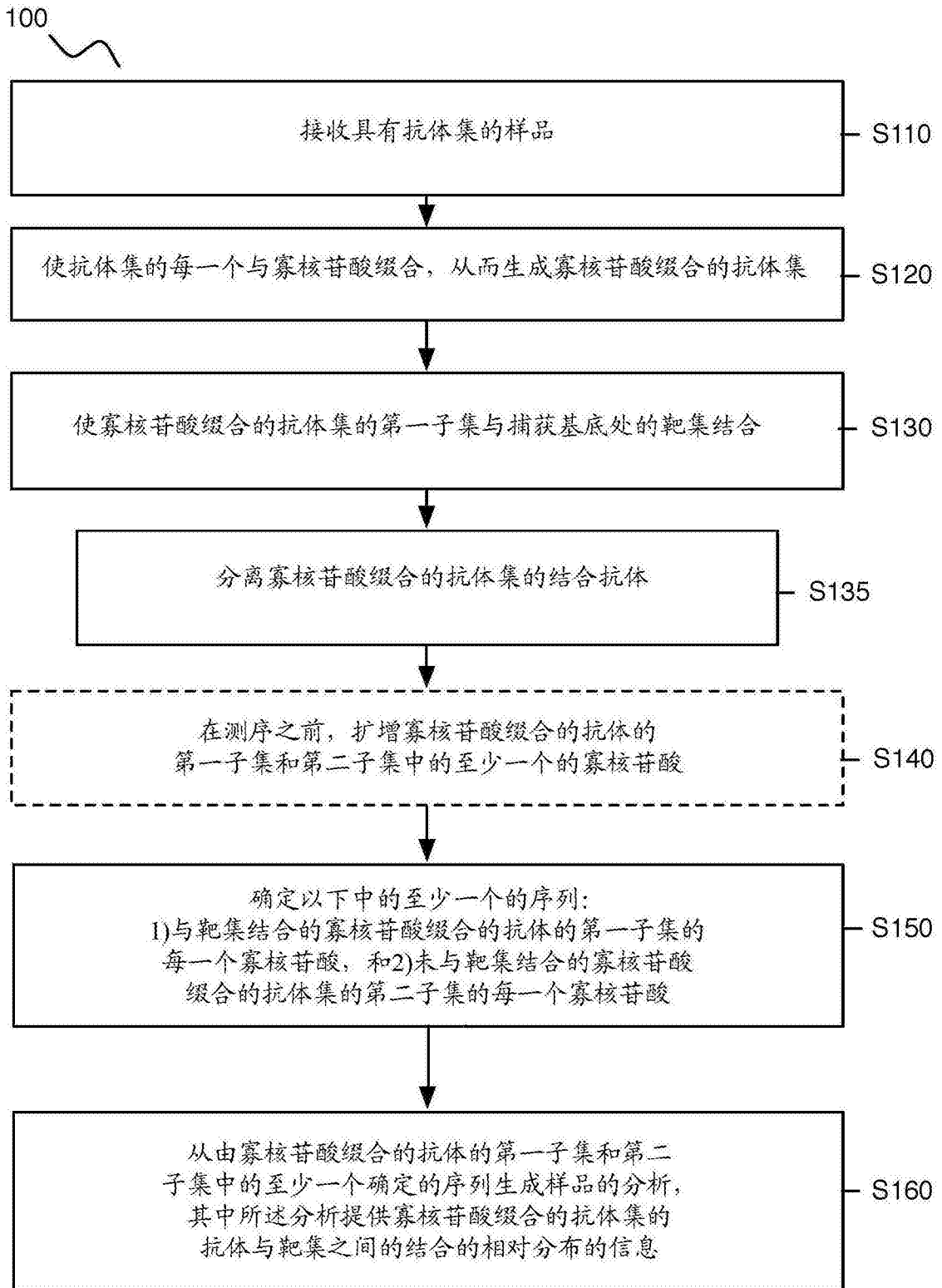


图1

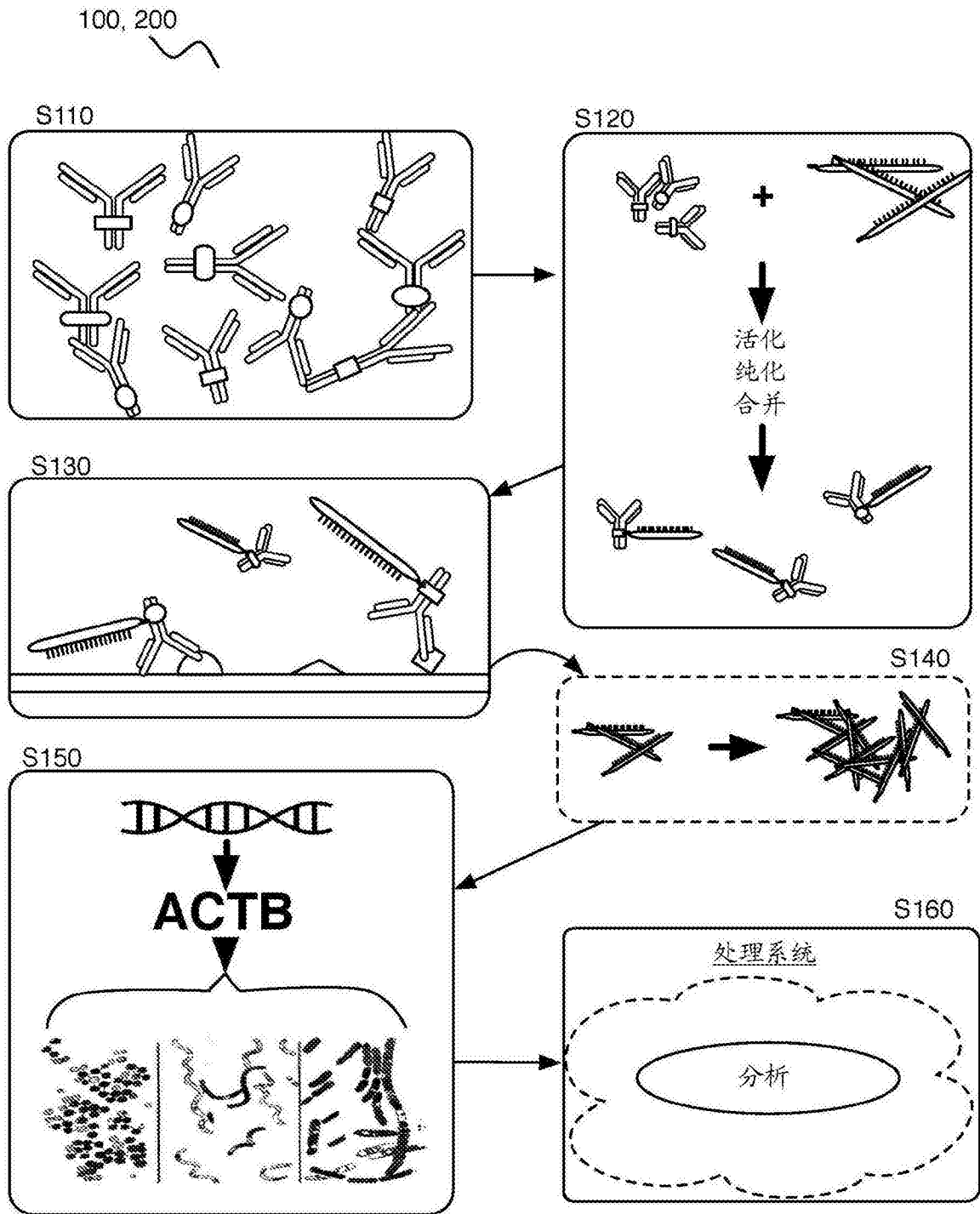


图2

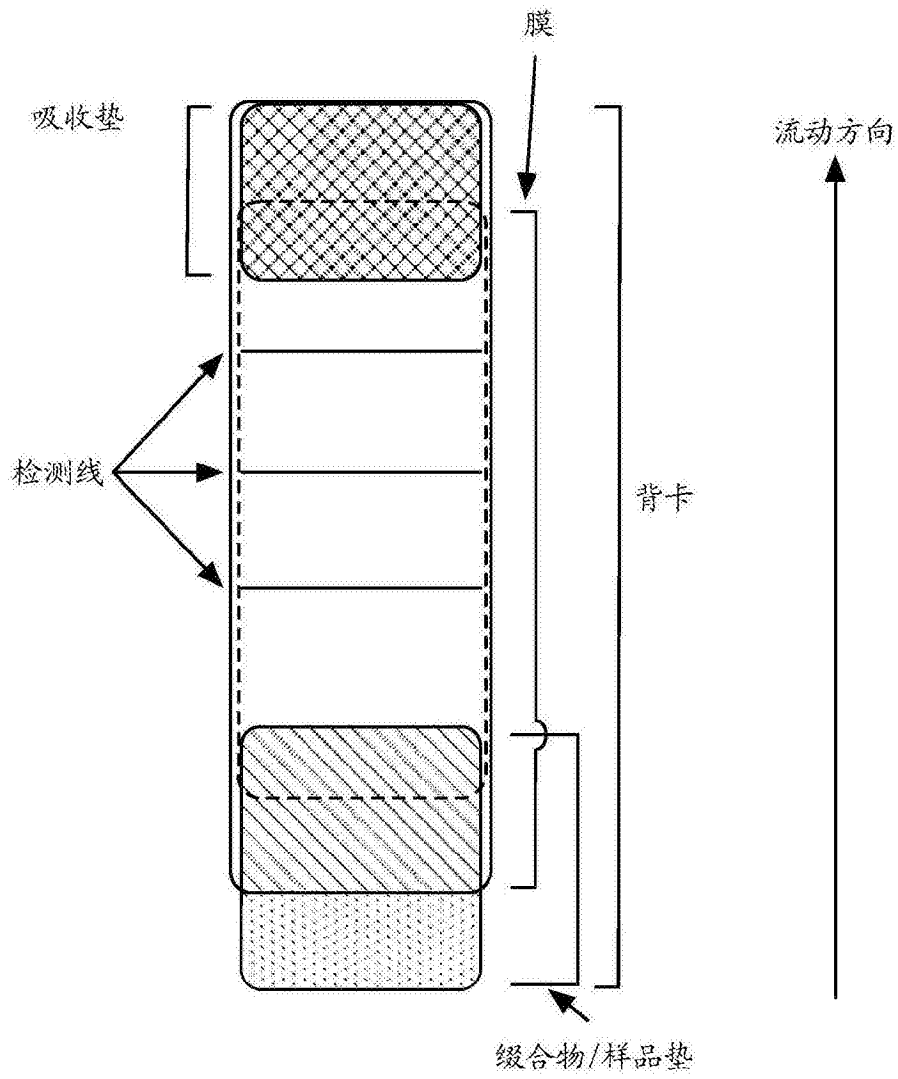


图3

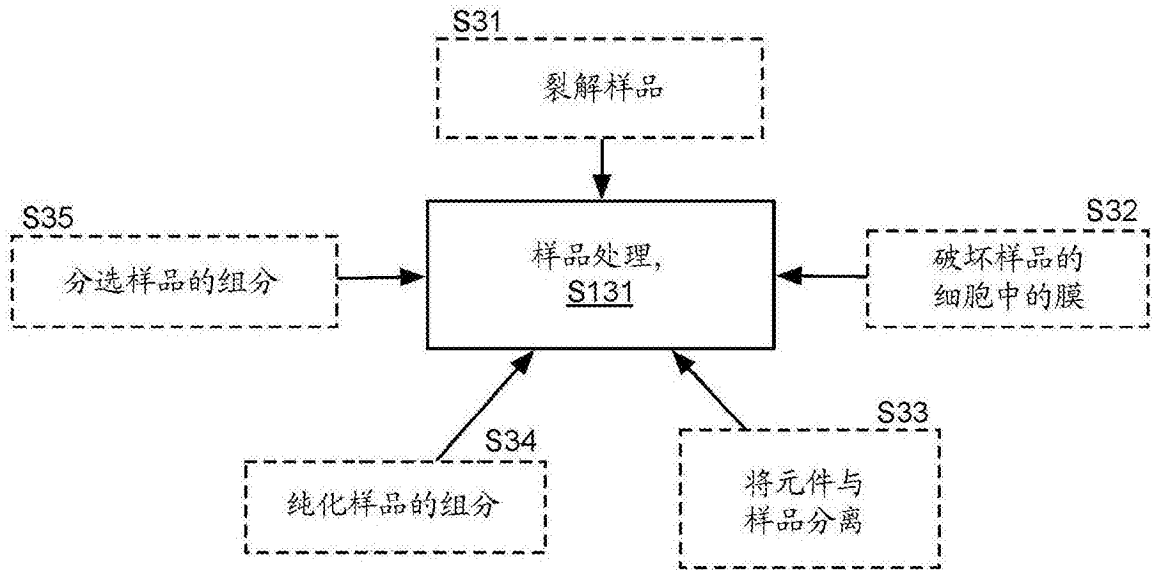


图4

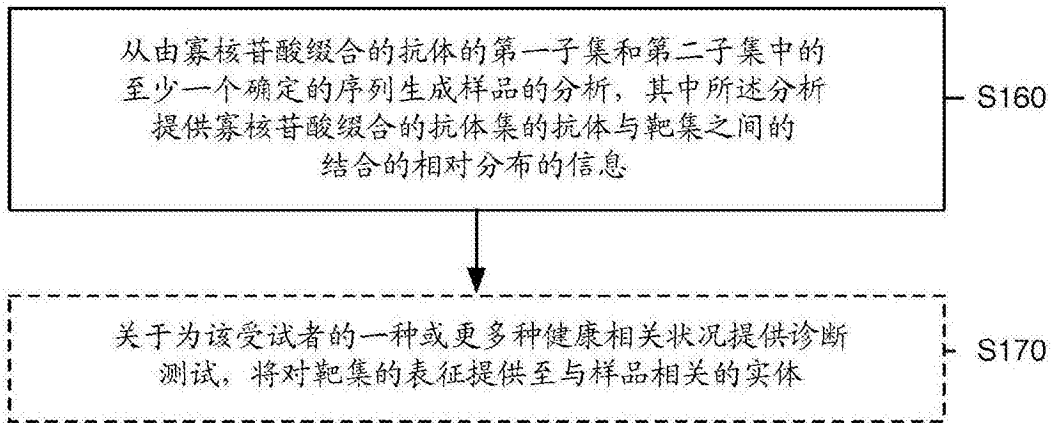


图5

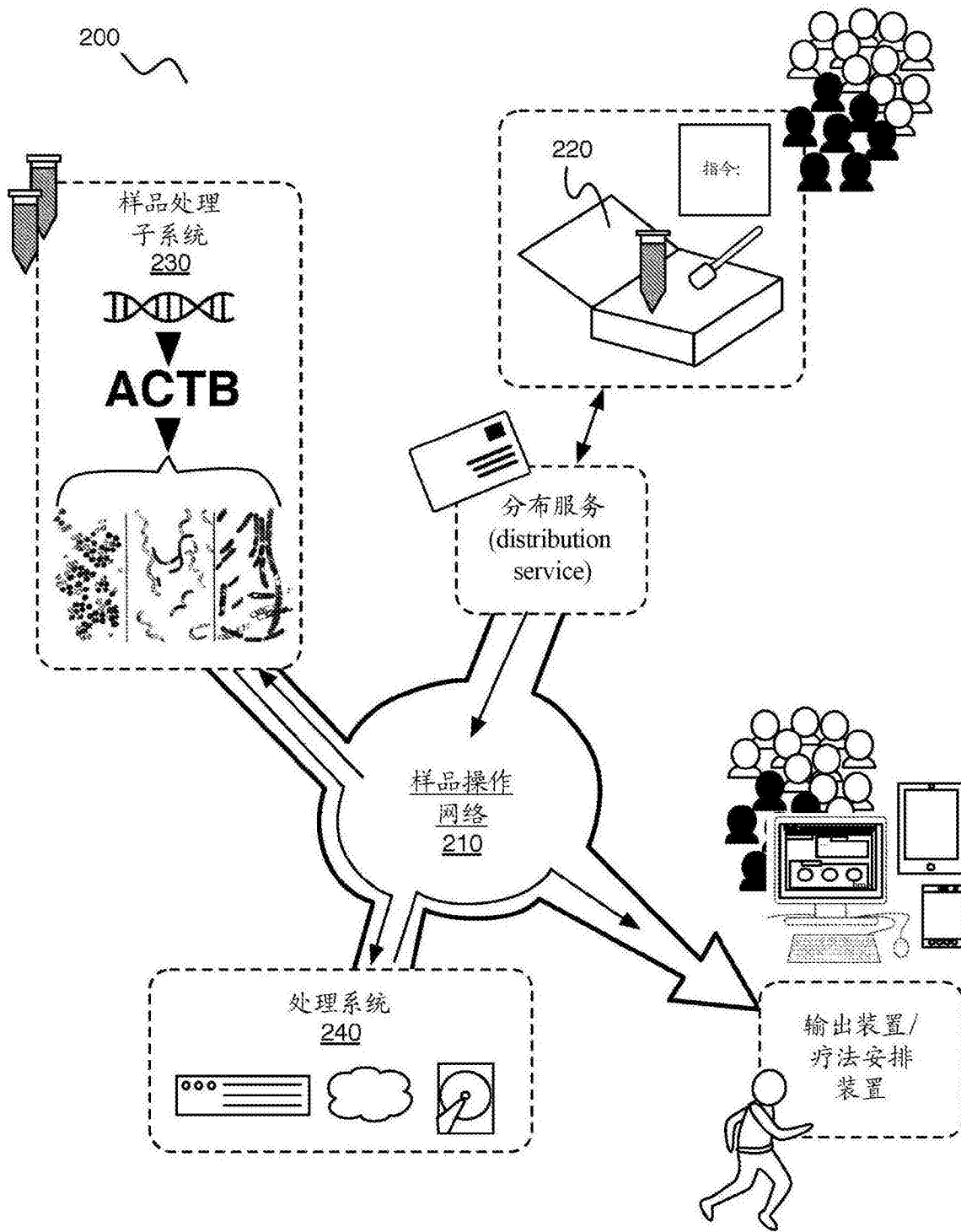


图6

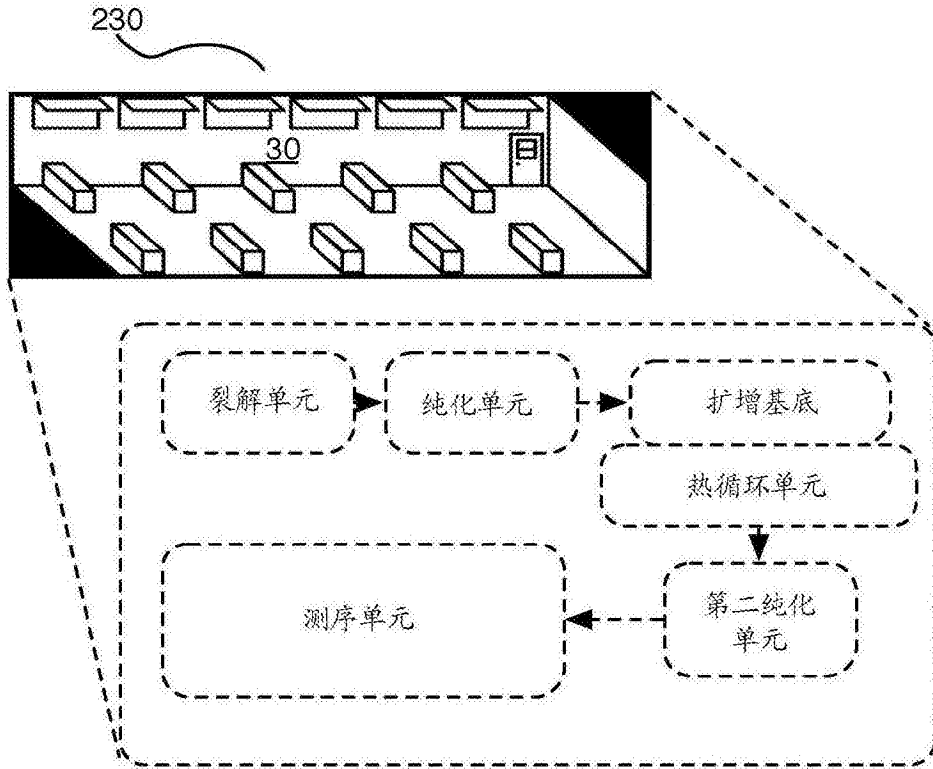


图7A

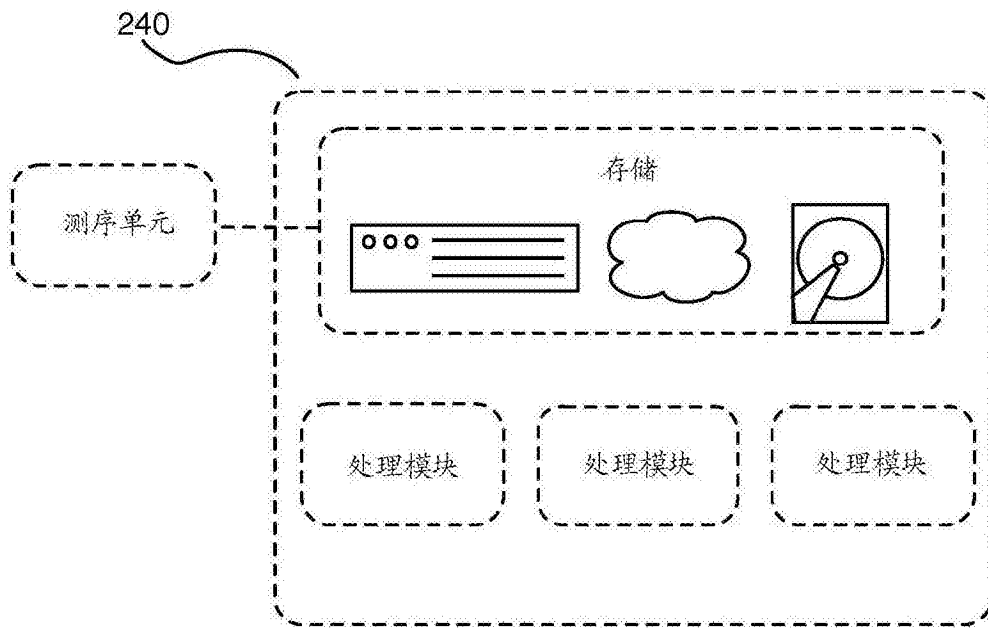


图7B

专利名称(译)	用于在表征抗体结合行为中测序的方法和系统		
公开(公告)号	CN107849120A	公开(公告)日	2018-03-27
申请号	CN201680044709.9	申请日	2016-06-15
[标]发明人	扎迦利阿普特 丹尼尔阿尔莫纳西德 杰西卡里奇曼		
发明人	扎迦利·阿普特 丹尼尔·阿尔莫纳西德 杰西卡·里奇曼		
IPC分类号	C07K16/00 G01N33/532 C12Q1/6869 C12P19/34 C12N9/96 A61K39/00		
CPC分类号	C12Q1/6869 C12Q1/6804 G01N33/58 C12Q2525/179 C12Q2565/531		
代理人(译)	李平 郑霞		
优先权	62/175748 2015-06-15 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种用于通过对与抗体结合的合成的寡核苷酸进行测序来表征抗体结合的靶的方法和系统，所述方法包括：接收具有抗体集的样品；使所述抗体集的每一个与寡核苷酸缀合，从而生成寡核苷酸缀合的抗体集；使所述寡核苷酸缀合的抗体集的第一子集与捕获基底处的靶集结合；确定以下中的至少一个的序列：1)与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第一子集的每一个寡核苷酸，和2)未与所述靶集结合的寡核苷酸缀合的抗体的第二子集的每一个寡核苷酸；以及从由寡核苷酸缀合的抗体的第一子集和第二子集中的至少一个确定的序列生成样品的分析。

