



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108780081 A

(43)申请公布日 2018.11.09

(21)申请号 201680056780.9

(22)申请日 2016.08.10

(30)优先权数据

62/202,989 2015.08.10 US

62/218,455 2015.09.14 US

62/293,188 2016.02.09 US

62/305,123 2016.03.08 US

62/369,181 2016.07.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.04.04

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/046437 2016.08.10

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/027643 EN 2017.02.16

(71)申请人 ESSENLIX公司

地址 美国新泽西州蒙茅斯章克申

(72)发明人 斯蒂芬·Y·周 丁伟

(74)专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129

代理人 吴泳历

(51)Int.Cl.

G01N 33/487(2006.01)

G01N 33/49(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 35/00(2006.01)

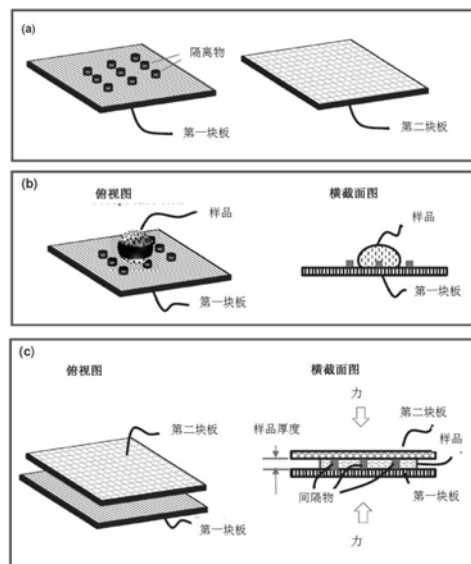
权利要求书23页 说明书148页 附图31页

(54)发明名称

步骤简化、小样品、快速、易使用的生物/化学分析装置和方法

(57)摘要

本发明涉及生物/化学采样,感测,检测和应用等领域。具体地讲,本发明涉及如何使取样/检测/测定能够使用简单,或快速获取结果,或高度敏感的,或易于使用,或使用微小的样品量(例如0.5微升或更小),或无需任何专业人员操作,或由移动电话读取结果,或成本低廉,或它们的组合。



1. 一种用于分析液体样品的方法,包括:

(a) 获得包括分析物的样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,它们可以相对于彼此移动进入不同相态,其中,每个板具有一个样品接触表面,该面基本上是平坦的,一个或两板是柔性的,一个或两个板包括有固定于相应的样品接触表面的间隔物,并且其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,该距离至少比所述分析物的尺寸大大约2倍,最高至200微米;

(c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是其中两个板被部分地或完全分离开的相态,并且板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 在完成(c)后,使用两个板将样品的至少一部分压缩成由所述板的样品接触表面局限的基本上均匀厚度的样品薄层,其中该层的均匀厚度由所述板的间隔物调节,其中所述压缩包括:

使两个板在一起;

适形地按压,平行或顺序地进行,至少一个板地一个区域,以使两板压在一起进入闭合相态,其中,所述适形按压在样品的至少一部分之上的板上产生基本均匀的压力,并且按压使得样品的至少一部分横向展开于所述两板的样品接触表面之间,其中所述闭合相态是一个板的厚度均匀薄层区域之间的间隔由间隔物调节配置的相态;和

(e) 在板处于闭合相态时,分析在厚度均匀薄层中的分析物;

其中,适形按压是一种使得一个区域内的压力,无论所述两板外表面如何形变,都基本恒定的方法;

其中,平行按压是在意向区域上同时施加压力,而顺序按压是在意向区域施加压力后逐步转移到其他意向区域。

2. 如权利要求1所述的方法,其中步骤(d)之后和步骤(e)之前,该方法还包括,在所述两板处于闭合相态后,除去适形按压的压力,其中,在除去适形按压的压力后厚度均匀薄层的厚度:(i) 与除去适形按压的压力之前的厚度均匀薄层的厚度基本相同;(ii) 与间隔物高度偏差小于10%。

3. 任何先前权利要求所述的方法,其中步骤(c)的样品沉积是直接从受试者到板上,不使用任何转移装置的沉积。

4. 任何先前权利要求所述的方法,其中步骤(c)的沉积过程中,沉积在板上的样品的数量是未知的。

5. 任何先前权利要求所述的方法,其中分析步骤(e)包括测量样品相关体量的横向面积,并通过横向区域和预定间隔物的高度计算样品相关体量的体积。

6. 任何先前权利要求所述的方法,其中分析步骤(e)包括测量:

i. 光致发光,电致发光,和电化学发光中的某种发光,

ii. 表面拉曼散射,

iii. 电阻,电容和电感中的某种电阻抗,或

iv. i-iii的任何组合。

7. 任何先前权利要求所述的方法,其中分析步骤(e)包括对于分析物的读取,图像分析,或者计数,或者它们的组合。

8. 任何先前权利要求所述的方法,其中所述样品含有一种或多种分析物,并且一个或两个板的样品接触表面包括一个或多个结合点,其中每个结合点都结合并固定相应的分析物。

9. 任何先前权利要求所述的方法,其中一个或两个板的样品接触表面包括一个或多个存储点,其每个存储点都存储一种或多种试剂,其中所述试剂在步骤(c)期间或之后在样品中溶解和扩散。

10. 任何先前权利要求所述的方法,其中一个或两个板样品接触表面包括一个或多个增强表面,其每个增强表面都能够,在分析物或标记物在增强位点500纳米内时,增强来自分析物的信号或分析物的标记物。

11. 任何先前权利要求所述的方法:

i. 一个或两个板的样品接触表面包括一个或多个结合点,其每个结合点结合并固定相应的分析物;或

ii. 一个或两个板的样品接触表面包括一个或多个存储点,其每个存储点都存储一种或多种试剂,其中所述试剂在步骤(c)期间或之后在样品中溶解和扩散,其中所述样品包括一种或多种分析物;

iii. 一个或两个板样品接触表面包括一个或多个增强表面,其每个增强表面都能够,在分析物或标记物在增强位点500纳米内时,增强来自分析物的信号或分析物的标记物;

iv. i到iii的任何组合。

12. 任何先前权利要求所述的方法,其中所述液体样品包括以下样品组中的样品:羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分馏血液,血浆或血清),乳汁,脑脊髓液(CSF),耳屎(耳屎),乳糜,食糜,内淋巴,外淋巴,粪便,呼吸,胃酸,胃液,淋巴液,粘液(包括鼻腔流液和痰),心包液,腹膜,胸膜液,脓,发炎性分泌物,口水,呼出气息冷凝物,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,泪液,呕吐物,和尿液。

13. 任何先前权利要求所述的方法,其中在闭合相态中厚度均匀薄层的厚度小于150微米。

14. 任何先前权利要求所述的方法,其中在步骤(d)期间,适形按压是通过人手实施的。

15. 任何先前权利要求所述的方法,其中步骤(d)的所述适形按压是由加压液体,加压气体,或一种共形材料提供的。

16. 任何先前权利要求所述的方法,其中所述分析包括计数在厚度均匀薄层中的细胞。

17. 任何先前权利要求所述的方法,其中所述分析包括在厚度均匀薄层进行一个测定法。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述分析是一个结合测定或生物化学测定。

19. 任何先前权利要求所述的方法,其中所述沉积的样品具有的总体积小于0.5微升。

20. 任何先前权利要求所述的方法,其中样品的多个液滴沉积到一个或两个板上。

21. 一种用于分析液体样品的装置,包括:

一个第一板和一个第二板,其中:

i. 所述两板相对于彼此可动以进入不同的相态;

ii. 一个或两个板是柔性的;

iii. 每个板在其各自的表面上都具有接触包括分析物的样品的样品接触区域;

iv. 一个或两个板包括固定于相应样品接触区域的间隔物,其中,所述间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,该距离至少比所述分析物的尺寸大2倍左右,最高至200微米,并且其中所述间隔物中的至少一个在样品接触区域内;

其中,所述相态中的一个是一个开放相态,在开放相态中:所述两板相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节,样品沉积在一个或两个板上;

其中,所述相态的另一个是一个闭合相态,它是在开放相态时样品沉积后形成的相态;在闭合相态中:样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定,并且由板和间隔物所调节。

22. 如权利要求21所述的装置,其中所述间隔物间距离在1微米到120微米的范围内。

23. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述柔性板具有的厚度在20微米至250微米之间和杨氏模量(Young's modulus)在0.1至5GPa的范围内。

24. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中对于一个柔性板,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量(Young's modulus)在60GPa-um至750GPa-um的范围内。

25. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中厚度均匀样品薄层在至少为1mm²的平面区域内是均匀的。

26. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中厚度均匀样品薄层具有至多+/-5%的厚度均匀性。

27. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子,这些形状包括:圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。

28. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物具有支柱的形状,具有大致平坦的顶面,并具有基本上均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。

29. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物间距离是周期性的。

30. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物具有1%或更高的填充系数,其中所述填充系数是间隔物接触面积与总板面积的比率。

31. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物的杨氏模量乘以所述间隔物的填充系数等于或大于20兆帕,其中其中所述填充系数是间隔物接触面积与总板面积的比率。

32. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中在闭合相态中的两个板之间的间隔小于200微米。

33. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中,在闭合相态中两板之间的间距为1.8微米和3.5微米之间选择的值。

34. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物由直接压印板或注塑板的方法固定在板上。

35. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述板和所述间隔物的材料为以下材料组选出:聚苯乙烯,PMMA,PC,COC,COP,或其它塑料。

36. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

37. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/mm²的密度。

38. 任何先前装置权利要求所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

39. 任何前述装置权利要求所述的装置,其中用于制作间隔物的模具含有的样式由(a)反应性离子蚀刻或离子束蚀刻直接而得,或(b)由一次复制或多次复制反应性离子蚀刻或离子束蚀刻所得的样式而得。

40. 一种用于分析血液样品的方法,包括:

(a) 获得一个血液样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,所述两板相对于彼此可移动进入不同的相态,其中,每个板具有一个基本上是平坦的样品接触表面,一个或两个板是柔性的,并且一个或两个板包括固定于相应的样品接触表面的间隔物,并且其中所述间隔物具有:

i. 预定的基本一致的高度;

ii. 具有基本均匀的横截面和平坦的顶面的支柱的形状;

iii. 宽度与高度等于或大于一的比率;

iv. 预定的恒定的间隔物间距离是在10微米的到200微米的范围内;

v. 填充因子等于1%或更大;

vi. 间隔物的填充系数和杨氏模量的乘积为2GPa或更大;

(c) 当两板处于开放相态时,在一个或两个板沉积血液样品,其中,所述开放相态是指,在该相态中,所述两个板部分或完全地相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 完成步骤(c)后,使用两个板将血液样品的至少一部分压缩成由所述板的样品接触表面局限的基本上均匀厚度的样品薄层,其中该层的均匀厚度由所述板的间隔物调节,并具有在1.8微米至3微米的范围内小于10%的误差的平均值,其中所述压缩包括:

使两个板在一起;

适形地按压,平行或顺序地进行,至少一个板地一个区域,以使两板压在一起进入闭合相态,其中,所述适形按压在样品的至少一部分之上的板上产生基本均匀的压力,并且按压使得样品的至少一部分横向展开于所述两板的样品接触表面之间,其中所述闭合相态是一个板的厚度均匀薄层区域之间的间隔由间隔物调节配置的相态;和

(e) 在两板处于闭合相态时,分析厚度均匀薄层的血液,

其中填充系数是间隔物的接触面积与总板面积之比;

其中,适形按压是一种使得一个区域内的压力,无论所述两板外表面如何形变,都基本恒定的方法并且,

其中,平行按压是在意向区域上同时施加压力,而顺序按压是在意向区域施加压力后逐步转移到其他意向区域。

41. 如权利要求40所述的方法,其中该方法包括

在所述两板处于闭合相态后除去外力;和

当两板处于闭合相态时对厚度均匀薄层的血细胞成像;和

在图像的一个区域内计数血细胞。

42. 如权利要求40-41的任一个所述的方法,其中所述间隔物间距离在20微米到200微米的范围内。

43. 如权利要求40-42的任一个所述的方法,其中所述间隔物间距离在5微米到20微米的范围内。

44. 如权利要求40-43的任一个所述的方法,所述表面的误差小于30纳米。
45. 如权利要求40-44的任一个所述的方法,其中步骤(b)的血液样品是未稀释的全血,其中未添加抗凝血剂。
46. 如权利要求40-45的任一个所述的方法,其中所述沉积步骤(b)是如下完成的:
i. 穿刺人体皮肤以释放血液液滴在皮肤上;ii. 不使用血液转移工具,将血液液滴碰触在一个或两个板上。
47. 如权利要求40-46的任一个所述的方法,其中所述计数步骤(f)包括计算红血细胞的数目。
48. 如权利要求40-47的任一个所述的方法,其中所述计数步骤(f)包括计算白血细胞的数量。
49. 如权利要求40-48的任一个所述的方法,其中所述计数步骤(f)包括染色样品中的细胞并计数嗜中性粒细胞,淋巴细胞,单核细胞,嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。
50. 如权利要求40-49的任一个所述的方法,其中所述成像及数量如下完成的:
i. 照亮在厚度均匀薄层的血细胞;
ii. 使用CCD或CMOS传感器对血细胞取一个或多个图像;
iii. 使用计算机识别图像中的细胞;和
iv. 在图像的一个区域计数血细胞。
51. 如权利要求40-50的任一个所述的方法,其中步骤(c)的外力是通过人手提供的。
52. 如权利要求40-51的任一个所述的方法,还包括测量厚度均匀薄层中钠,钾,氯化物,碳酸氢盐,尿素,氮,镁,肌酸酐,葡萄糖,钙,高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的水平或/或甘油三酯的水平。
53. 如权利要求40-52的任一个所述的方法,其中它还包括涂在一个或两个板上的干燥试剂。
54. 如权利要求40-53的任一个所述的方法,其中厚度均匀薄层的样品具有最高至±5%的厚度均匀性。
55. 如权利要求40-54的任一个所述的方法,其中所述间隔物是包括以下横截面形状的支柱,这些横截面形状包括圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。
56. 如权利要求40-55的任一个所述的方法,其中所述间隔物间距离大约是红细胞的平均厚度。
57. 如权利要求40-56的任一个所述的方法,其中分析步骤包括对血液中的细胞成像。
58. 如权利要求40-57的任一个所述的方法,其中所述细胞包括红细胞,白细胞,或血小板。
59. 如权利要求40-58的任一个所述的方法,其中所述分析所述血液包括对血液中的癌细胞,病毒或细菌成像。
60. 根据权利要求40-59的方法,其中所述分析所述血液包括对蛋白质或核酸的检测。
61. 如权利要求40-60的任一个所述的方法,其中所述分析所述血液包括血细胞的测量,包括使用所述间隔物测定样品厚度,通过成像确定所述横向面积,并使用二维图像计算红血细胞的面积。

62. 根据权利要求40-61的任一个所述的方法,其中所述分析所述血液包括对血液中红细胞浓度的测量。

63. 如权利要求40-62的任一个所述的方法,其中所述分析所述血液包括对血液中白细胞浓度的测量。

64. 根据权利要求40-63的任一个所述的方法,其中所述分析所述血液包括对血液中血小板浓度的测量。

65. 一种用于分析液体样品的装置,包括:一个第一板和一个第二板,其中:

v. 所述两板可以相对于彼此移动进入不同的相态;

vi. 一个或两个板是柔性的;

vii. 每个板在其各自的表面上都具有接触血液样品的样品接触区域;

viii. 一个或两个板包括固定于相应样品接触区域的间隔物,其中,所述间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,该距离在7微米至200微米之间的范围内,并且其中所述间隔物中的至少一个在样品接触区域内;

其中,所述相态中的一个是一个开放相态,在开放相态中:所述两板相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节,样品沉积在一个或两个板上;

其中,所述相态的另一个是一个闭合相态,它是在开放相态时样品沉积后形成的相态;在闭合相态中:样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定,由板和间隔物所调节,且具有在1.8微米至3微米的范围内带有微小误差的平均值。

66. 如权利要求65所述的装置,其中所述间隔物间距离在14微米至200微米的范围内。

67. 如权利要求65-66的任一个所述的装置,其中所述间隔物间的距离在7微米至20微米的范围内。

68. 如权利要求65-67的任一个所述的装置,所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子,这些形状包括:圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。

69. 如权利要求65-68的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有支柱的形状,具有大致平坦的顶面,并具有基本上均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。

70. 如权利要求65-69的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

71. 如权利要求65-70的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/ mm^2 的密度。

72. 如权利要求65-71的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

73. 如权利要求65-72的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个由柔性聚合物制成的。

74. 如权利要求65-73的任一个所述的装置,其中所述间隔物是不可压缩的和/或与之无关的,仅有板中的一个柔性的。

75. 如权利要求65-74的任一个所述的装置,其中所述柔性板的厚度在50微米至200微米的范围内。

76. 如权利要求65-75所述的设备,还包括涂覆在一个或两个板的干燥试剂。

77. 如权利要求65-76的任一个所述的装置,其中所述误差小于10%。

78. 一种用于在液体样品的一部分中本地结合目标实体的方法:

(a) 获得包括能够在样品中扩散的目标实体的样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,所述两板可相对于彼此移动进入不同相态,其中一个或两个所述板包括固定于相应板的间隔物,其中,所述间隔物具有预定的基本上均匀的预定高度,并且其中所述第一板在其表面包括有,具有预定面积和结合并固定目标实体的结合点;

(c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是指,在该相态中,所述两个板部分或完全地相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 完成(c)后,通过使两板进入闭合相态压缩样品,其中,所述闭合相态是这样一种相态,其中样品的至少一部分被按压成一个,接触被受两板内表面限制的、接触结合点的厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由板和间隔物所调节,小于250微米,并且大幅小于结合点的预定面积的线性尺寸;

(e) 完成步骤(d)后,在所述两板处于闭合相态时:

(1) 以相关时间长度温育样品,然后停止温育;或者

(2) 以一个等于或大于相关时间长度的最小值的时间长度温育样品,并在等于或小于相关时间长度的最大值的时间长度内评估结合点内对于目标实体的结合;

其中,相关时间长度为:

i. 等于或大于在闭合相态时目标实体所需横跨厚度均匀薄层的厚度以扩散的时间长度;

ii. 显著小于目标实体所需横跨结合点最小横向尺寸以横向扩散的时间长度;

其中,在步骤(1)的温育结束后或在步骤(2)的评估时,结合于结合点的大部分目标实体来自于样品的相关体量中;

其中,所述温育允许目标实体结合于结合点,其中,所述相关体量是指闭合相态中,位于结合点之上的样品的一部分。

79. 如权利要求78所述的方法,还包括一个评估结合至结合点的目标实体的步骤,其中,所述评估在(i)完成步骤(e)后执行,或者(ii)在执行步骤(e)时执行但所述评估发生在样品被温育一段时间后进行,该时间等于或长于分析物横跨厚度均匀薄层的厚度以扩散所需的时间。

80. 如权利要求78-79的任一个所述的方法,还包括一个计算样品相关体量中分析物浓度的步骤,其中,所述计算基于由所述结合点的预定面积所限定的相关样品体量的体积,在闭合相态中厚度均匀样品薄层的厚度,和评估所得结合至结合点的目标实体的量。

81. 如权利要求78-80的任一个所述的方法,其中所述目标实体是捕获剂,分析物,或者探测剂。

82. 如权利要求78-81的任一个所述的方法,其中在所述分析物测定点的样品的体积大约等于结合点的预定面积乘以间隔物的预定高度。

83. 如权利要求78-82的任一个所述的方法,其中所述第一板包括,在其表面上的第一预定测定点和第二预定测定点,其中,所述测定点的边缘之间的距离大幅地大于当两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述预定测

定点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

84. 如权利要求83所述的方法,其中该方法包括:评估所述第一测定点的第一分析物并测定第二个预定测定点的第二分析物。

85. 如权利要求83所述的方法,其中该方法包括测定在第一和第二预定测定点中相同的分析物。

86. 如权利要求78-85的任一个所述的方法,其中第一板在其表面上还具有至少三个分析物测定点,任何两个相邻的测定点的边缘之间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于测定点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

87. 如权利要求78-86的任一个所述的方法,其中该方法包括测定在各个测定点的不同的分析物。

88. 如权利要求78-87的任一个所述的方法,其中每个测定点进一步包括子分析物测定点,其中至少两个相邻的子分析物测定点以小于所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度的距离所间隔开,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于测定点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

89. 如权利要求78-88的任一个所述的方法,其中所述分析物测定点在一对电极之间。

90. 如权利要求78-89的任一个所述的方法,其中所述测定点由一片干燥的试剂所定义。

91. 如权利要求78-90的任一个所述的方法,其中所述测定点结合并固定分析物。

92. 如权利要求78-91的任一个所述的方法,其中所述测定点增强来自分析物的信号。

93. 如权利要求78-92的任一个所述的方法,其中所述测定点由一片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,会溶解入样品中,在样品中扩散,并结合分析物。

94. 如权利要求78-93的任一个所述的方法,其中所述样品厚度小于200微米。

95. 如权利要求78-94的任一个所述的方法,其中所述第一板和第二板包括位于当所述两板处于闭合相态时彼此相对的位置的存储点。

96. 如权利要求78-95的任一个所述的方法,其中所述结合点的线性尺寸与所述均匀厚度的比率大于5。

97. 如权利要求78-96的任一个所述的方法,其中所述反应在小于60秒的时间内饱和。

98. 如权利要求78-97的任一个所述的方法,其中相关时间长度在60秒至30分钟的范围

内。

99. 如权利要求78-98的任一个所述的方法,其中步骤e (i) 包括,停止温育后,评估结合至结合点的目标实体。

100. 如权利要求78-99的任一个所述的方法,其中该方法包括一次或多次洗脱。

101. 一种用于在液体样品的一部分中本地结合目标实体的装置,包括:

一个第一板和一个第二板,其中:

i. 所述两板可相对于彼此移动进入不同的相态;一个或两个板是柔性的;

iii. 每个板在其各自的表面,都具有接触包括有能够在样品中扩散的实体的样品的样品接触区域;

iv. 所述两板中的一个在其样品接触区域包括具有预定面积并结合固定所述目标实体

的结合点；

v. 所述一个或两个板包括固定于相应板上的间隔物，其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离，其中特征间隔物中的至少一个在样品接触区域内；

其中，所述相态中的一个是一个开放相态，在开放相态中：所述两板相互分离，板之间的间隔不由间隔物调节，样品沉积在一个或两个板上；

其中，所述相态的另一个是一个闭合相态，它是在开放相态时样品沉积后形成的相态；在闭合相态中：样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上，其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定，由板和间隔物所调节，小于250微米，并且大幅地小于所述结合点的预定面积的平均线性尺寸。

102. 如权利要求101所述的装置，其中所述第一板在其表面上还包括，第一预定测定点和第二预定测定点，其中，所述测定点的边缘之间的距离大幅地大于当两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述预定测定点之上，并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

103. 如权利要求101-102的任一个所述的装置，其中所述第一板在其表面上具有，至少有三个分析物测定点，并且任何两个相邻的测定点的边缘之间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层地厚度，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于测定点之上，其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

104. 如权利要求101-103的任一个所述的装置，其中所述第一板在其表面上具有至少两个相邻的测定点，该两个测定点不以一个大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层地厚度的距离所间隔，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于测定点之上，并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

105. 如权利要求101-104的任一个所述的装置，其中所述分析物测定点在一对电极之间。

106. 如权利要求101-105的任一个所述的方法，其中所述测定点由一片干燥的试剂所定义。

107. 如权利要求101-106的任一个所述的方法，其中所述测定点结合并固定分析物。

108. 如权利要求101-107的任一个所述的方法，其中所述测定点由一片结合试剂所定义，该结合试剂在接触样品后，会溶解入样品中，在样品中扩散，并结合分析物。

109. 如权利要求101-108的任一个所述的装置，其中所述间隔物间距离在14微米至200微米的范围内。

110. 如权利要求101-109的任一个所述的装置，其中所述间隔物间距离在7微米至20微米的范围内。

111. 如权利要求101-110的任一个所述的装置，其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子，圆形，多边形，圆形，方形，矩形，卵形，椭圆形，或它们的任何组合。

112. 如权利要求101-111的任一个所述的装置，其中所述间隔物具有支柱的形状，具有大致平坦的顶面，并具有基本上均匀的横截面，其中，对于每个间隔物，所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。

113. 如权利要求101-112的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

114. 如权利要求101-113的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/mm²的密度。

115. 如权利要求101-114的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

116. 如权利要求101-115的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个由柔性聚合物制成的。

117. 如权利要求101-116的任一个所述的装置,其中所述两板的至少一个是柔性的。

118. 一种用于向成液体样品的一部分局部释放试剂的方法,包括:

(a) 获得样品;

(b) 获得第一板和第二板,所述两板可相对于彼此移动进入不同相态,其中:

(i) 一个或两个板包括固定于相应的板的间隔物;

(ii) 所述间隔物具有预定的均匀的高度;

(iii) 所述第一板在其表面上包括,具有预定面积并且包括有能够在与样品接触后溶解到样品中并在样品中扩散的试剂的存储点;

(c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是指,在该相态中,所述两板部分或完全地相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 完成步骤(c)后,通过使两板进入闭合相态压缩样品,其中,所述闭合相态是这样一个相态,其中样品的至少一部分被按压成一个,接触被受两板内表面限制的、接触结合点的厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由板和间隔物所调节,小于250微米,并且大幅小于存储点的预定面积的线性尺寸;

(e) 完成步骤(d)之后,当所述两板处于闭合相态时,在一个相关时间长度内温育所述样品,然后停止孵育,

其中,相关时间长度为:

i. 等于或大于在闭合相态时目标实体所需横跨厚度均匀薄层的厚度以扩散的时间长度;

ii. 显著小于目标实体所需横跨结合点最小横向尺寸以横向扩散的时间长度;

由此,在温育后,大多数最初是在存储点的试剂存在于样品的相关体量中,

其中所述温育是一个过程以允许试剂与样品结合或混匀,其中所述相关体量是处于闭合相态时位于结合点之上的样品的一部分。

119. 如权利要求118所述的方法,其中所述试剂是捕获剂,分析物,或者探测剂。

120. 如权利要求118-119的任一个所述的方法,其中步骤(b)的第二板的表面还包括具有相应预定面积和相应位置,并结合和固定化试剂的结合点;

在步骤(d)中在闭合相态时结合点和存储点是对齐的;

其中,在步骤(e)的温育结束时,最初在存储点的大多数试剂已结合至结合点,并且在相关体量中结合点与试剂的结合已基本达到平衡。

121. 如权利要求118-120的任一个所述的方法,还包括一个计算样品相关体量中分析物浓度的步骤,其中,所述计算基于由所述结合点的预定面积所限定的相关样品体量的体积,在闭合相态中厚度均匀样品薄层的厚度,和评估所得结合至结合点的目标实体的量。

122. 如权利要求118-121的任一个所述的方法,其中所述目标实体是捕获剂,分析物,或者探测剂。

123. 如权利要求118-121的任一个所述的方法,其中在所述预定面积的样品的体积大约等于预定面积乘以间隔物的预定高度。

124. 如权利要求118-123的任一个所述的方法,其中所述第一板包括,在其表面上的第一存储点和第二存储点,其中,所述存储点的边缘之间的距离大幅地大于当两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述存储点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

125. 如权利要求124所述的方法,其中该方法包括:评估所述第一存储点之上的第一分析物并测定第二个预定存储点之上的第二分析物。

126. 如权利要求124所述的方法,其中该方法包括测定在第一和第二存储点之上相同的分析物。

127. 如权利要求118-126的任一个所述的方法,其中第一板在其表面上还具有至少三个存储点,任何两个相邻的存储点的边缘之间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态的厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述预定面积之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

128. 如权利要求127的任一个所述的方法,其中该方法包括测定在各个存储点之上的不同的分析物。

129. 如权利要求118-128的任一个所述的方法,其中所述存储点由一片干燥的试剂所定义。

130. 如权利要求118-129的任一个所述的方法,其中所述存储点由一片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,会溶解入样品中,在样品中扩散,并结合分析物。

131. 如权利要求118-130的任一个所述的方法,其中所述样品厚度小于200微米。

132. 权利要求118-131的方法,其中,当所述两板处于闭合相态时第一和第二存储点的位置是彼此相对的。

133. 如权利要求118-132的任一个所述的方法,其中所述结合位点的线性尺寸与均匀厚度的比大于5。

134. 如权利要求118-133的任一个所述的方法,其中所述反应在小于60秒的时间内饱和。

135. 如权利要求118-134的任一个所述的方法,其中相关时间长度在60秒至30分钟的范围。

136. 如权利要求118-135的任一个所述的方法,其中该方法包括一次或多次洗脱。

137. 一种用于向液体样品的一部分局部释放试剂的装置,包括:

一个第一板和一个第二板,其中:

i. 所述两板可相对于彼此移动进入不同的相态;

ii. 一个或两个板是柔性的;

vi. 每个板在其各自的表面,都具有接触样品的样品接触区域;

vii. 所述两板中的一个在其样品接触区域包括具有预定面积且包括能够在接触样品后溶解于样品、在样品中扩散并且能结合目标实体的试剂的存储点;

viii. 所述一个或两个板包括固定于相应板上的间隔物,其中所述间隔物具有(a)预定的基本上均匀的不高于250微米,也大幅地小于所述存储点预定面积的平均线性尺寸的高度,和(b)预定的恒定的间隔物间距离,其中间隔物中的至少一个在样品接触区域内;

其中,所述相态中的一个是一个开放相态,在开放相态中:所述两板相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节,样品沉积在一个或两个板上;

其中,所述相态的另一个是一个闭合相态,它是在开放相态时样品沉积后形成的相态;在闭合相态中:样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上,其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定,由板和间隔物所调节。

138. 如权利要求137所述的装置,其中所述第一板在其表面上还包括,具有预定面积的第二存储点,其中第一和第二存储点的边缘之间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于存储点之上,其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

139. 如权利要求137-138的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上具有至少有三个存储点,任何两个相邻存储点的边缘之间的距离都大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于存储点之上,其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

140. 如权利要求137-139的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上的具有,至少两个相邻的存储点,该两个存储点不以一个大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度的距离所间隔开,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于存储点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

141. 如权利要求137-140的任一个所述的装置,其中所述存储点由一片干燥的试剂所定义。

142. 如权利要求137-141的任一个所述的方法,其中所述存储点由一片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,会溶解入样品中,在样品中扩散,并结合分析物。

143. 如权利要求137-142的任一个所述的装置,其中所述间隔物间距离在14微米至200微米的范围内。

144. 如权利要求137-143的任一个所述的装置,其中所述间隔物间距离在7微米至20微米的范围内。

145. 如权利要求137-144的任一个所述的装置,其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子,圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。

146. 如权利要求137-145的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有支柱的形状,具有大致平坦的顶面,并具有基本上均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。

147. 如权利要求137-146的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

148. 如权利要求137-147的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/ mm^2 的密度。

149. 如权利要求137-148的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

150. 如权利要求137-149的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个由柔性聚合物制成的。

151. 如权利要求137-150的任一个所述的装置,其中所述两板的至少一个是柔性的。

152. 一种用于减少结合板面上结合点中样品相关体量中的目标实体所需时间的方法,包括:

(a) 获得包括有能够在样品中扩散的目标实体的样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,所述两板可相对于彼此移动进入不同相态,其中一个或两个板包括固定于相应的板的间隔物且一个或两个板是柔性的;其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的预定高度和预定的恒定的间隔物间距离,并且其中所述第一板在其表面包括有,具有预定面积和结合并固定目标实体的结合点;

(c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是指,在该相态中,所述两个板部分或完全地相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 完成步骤(c)后,通过使两板进入闭合相态压缩样品,其中,所述闭合相态是这样一个相态,其中样品的相关体量的厚度相较于开放相态被降低,形成一个横向面积至少 1mm^2 的、受两板内表面所限制的、覆盖结合点的基本厚度均匀的薄层,其中所述薄层的均匀厚度由板和间隔物所调节,小于250微米,并且大幅小于结合点的预定面积的线性尺寸,其中相关体量是样品的部分或全部体量;

其中降低样品的相关体量的厚度减少了结合点和相关体量中目标实体之间的结合达到平衡所需的时间。

153. 如权利要求152所述的方法,其中该方法包括降低样品厚度中的至少一部分。

154. 如权利要求152-153的任一个所述的方法,其中所述预定面积至少为 1mm^2 。

155. 如权利要求152-153的任一个所述的方法,其中所述预定面积小于 1mm^2 。

156. 如权利要求152-155的任一个所述的方法,还包括一个评估结合至结合点的目标实体的步骤,其中所述评估在样品温育一定时间后进行,该时间等于或长于目标实体横跨厚度均匀薄层的厚度以扩散所需的时间。

157. 如权利要求152-156的任一个所述的方法,其中所述时间被减少到小于60秒。

158. 如权利要求118-157的任一个所述的方法,还包括一个计算样品相关体量中分析物浓度的步骤,其中,所述计算基于由所述结合点的预定面积所限定的相关样品体量的体积,在闭合相态中厚度均匀样品薄层的厚度,和评估所得结合至结合点的目标实体的量。

159. 如权利要求152-158的任一个所述的方法,其中所述目标实体是捕获剂,分析物,或者探测剂。

160. 如权利要求152-159的任一个所述的方法,其中在所述预定面积的样品的体积大约等于预定面积乘以间隔物的预定高度。

161. 如权利要求152-160的任一个所述的方法,其中所述第一板在其表面上包括,第一结合点和第二结合点,其中,所述结合点的边缘之间的距离大幅地大于当两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述结合点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

162. 如权利要求152-161的任一个所述的方法,其中该方法包括:评估所述第一结合点中的第一分析物并测定第二个结合点中的第二分析物。

163. 如权利要求152-162的任一个所述的方法,其中该方法包括测定在第一和第二结合点中的相同的分析物。

164. 如权利要求152-163的任一个所述的方法,其中第一板在其表面上具有至少三个结合点,任何两个相邻的结合点的边缘之间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态的厚度均匀薄层的厚度,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于预定面积之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

165. 如权利要求164的任一个所述的方法,其中该方法包括测定在各个结合点中的不同的分析物。

166. 如权利要求164的任一个所述的方法,其中每个结合点进一步包括子分析物结合点,其中至少两个相邻的子分析物结合点以小于所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度的距离所间隔开,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于测定点之上,并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

167. 如权利要求152-166的任一个所述的方法,其中所述结合点在一对电极之间。

168. 如权利要求152-167的任一个所述的方法,其中所述结合点由一片干燥的试剂所定义。

169. 如权利要求152-168的任一个所述的方法,其中所述结合点结合并固定分析物。

170. 如权利要求152-169的任一个所述的方法,其中所述结合点增强来自分析物的信号。

171. 如权利要求152-170的任一个所述的方法,其中所述结合点由一片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,会溶解入样品中,在样品中扩散,并结合分析物。

172. 如权利要求152-171的任一个所述的方法,其中所述样品厚度小于200微米。

173. 如权利要求152-172的任一个所述的方法,其中所述第一和第二板包括位于当所述两板处于闭合相态时彼此相对的位置的存储点。

174. 如权利要求152-173的任一个所述的方法,其中所述结合点的线性尺寸与所述均匀厚度的比率大于5。

175. 如权利要求152-174的任一个所述的方法,其中所述反应在小于60秒的时间内饱和。

176. 如权利要求152-175的任一个所述的方法,其中相关时间长度在60秒至30分钟的范围。

177. 如权利要求152-176的任一个所述的方法,其中在步骤e (i) 中,在停止温育后,包括评估与结合位点结合的目标实体。

178. 如权利要求152-177的任一个所述的方法,其中该方法包括一次或多次洗脱。

179. 一种用于减少结合板面上结合点中相样品关体量中的目标实体所需时间的装置,包括:

一个第一板和一个第二板,其中:

i. 所述两板可相对于彼此移动进入不同的相态;

一个或两个板是柔性的;

iii. 每个板在其各自的表面,都具有接触包括有能够在样品中扩散的实体的样品的样品接触区域;

iv. 所述两板中的一个在其样品接触区域包括具有预定面积并结合固定所述目标实体的结合点；

v. 所述一个或两个板包括固定于相应板上的间隔物，其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离，其中间隔物中的至少一个在样品接触区域内；

其中，所述相态中的一个是一个开放相态，在开放相态中：所述两板相互分离，板之间的间隔不由间隔物调节，样品沉积在一个或两个板上；

其中，所述相态的另一个是一个闭合相态，它是在开放相态时样品沉积后形成的相态；在闭合相态中：样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上，其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定，由板和间隔物所调节，小于250微米，并且大幅地小于所述结合点的预定面积的平均线性尺寸；

其中将低样品的相关体量的厚度减少了结合点和相关体量中目标实体之间的结合达到平衡所需的时间。

180. 如权利要求179所述的装置，其中第一板在其表面上包括，第一结合点和第二结合点，其中，所述结合点的边缘之间的距离大幅地大于当两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于所述结合点之上，并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

181. 如权利要求179所述的装置，其中所述第一板在其表面上具有至少三个分析物结合点，任何两个相邻结合点的边缘之间的距离都大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上，其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

182. 如权利要求179所述的装置，其中所述第一板在其表面上具有，至少两个相邻的分析物结合点，该两个结合点不以一个大幅地大于当所述两板处于闭合相态时厚度均匀薄层的厚度的距离所间隔开，其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上，并且其中所述样品具有一个或多个能够在样品中扩散的分析物。

183. 如权利要求179-182的任一个所述的装置，其中所述结合点由一片干燥的试剂所定义。

184. 如权利要求179-183的任一个所述的方法，其中所述结合点结合并固定分析物。

185. 如权利要求179-184的任一个所述的装置，其中所述结合点由一片结合试剂所定义，该结合试剂在接触样品后，会溶解入样品中，在样品中扩散，并结合分析物。

186. 如权利要求179-185的任一个所述的装置，其中所述间隔物间距离在14微米至200微米的范围内。

187. 如权利要求179-186的任一个所述的装置，其中所述间隔物间距离在7微米至20微米的范围内。

188. 如权利要求179-187的任一个所述的装置，其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子，圆形，多边形，圆形，方形，矩形，卵形，椭圆形，或它们的任何组合。

189. 如权利要求179-188的任一个所述的装置，其中所述间隔物具有支柱的形状，具有大致平坦的顶面，并具有基本上均匀的横截面，其中，对于每个间隔物，所述间隔物的横向

尺寸对高度的比例至少为1。

190. 如权利要求179-189的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

191. 如权利要求179-190的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/mm²的密度。

192. 如权利要求179-191的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

193. 如权利要求179-192的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个由柔性聚合物制成的。

194. 如权利要求179-193的任一个所述的装置,其中所述两板的至少一个是柔性的。

195. 一种并行、多重、无流体隔离地测定液体样品的方法,包括:

(a) 获得包括一种或多种目标且其能够在样品中扩散的分析物的样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,所述两板可相对于彼此移动进入不同相态,其中:

i. 一个或两个所述板包括固定于相应板的间隔物,且一个或两个所述板是柔性的;

ii. 所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度,和一个预定的恒定的间隔物间距离;

iii. 所述第一板在其表面包括有,一个或多个结合点,每个结合点都包括一个预定面积,其包括能够结合和固定步骤(a)所述目标分析物的捕获剂;

iv. 所述第二板在其表面包括有,一个或多个相应的存储点,每个存储点都包括一个预定面积,其包括一定浓度的试剂,该试剂在接触样品后,溶解入样品中并在样品中扩散,

其中,每个捕获剂,目标分析物和相应的探测剂都能在所述第一板的结合点上形成捕获剂-目标分析物-探测剂的三明治结构;

(c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是指,在该相态中,所述两板部分地或完全地相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 完成(c)后,通过使两板进入闭合相态压缩样品,其中,所述闭合相态是这样相态,其中:

i. 至少一部分样品被按压成一个,接触并受两板内表面限制的、接触一个或多个结合点以及一个或多个存储点的厚度均匀薄层,

ii. 所述一个或多个相应存储点在所述一个或多个结合点之上;

iii. 所述薄层的均匀厚度由板和间隔物所调节,小于250微米,并且大幅小于各个存储点的预定面积的线性尺寸;

(e) 完成步骤(d)后,在所述两板处于闭合相态时:

(1) 以相关时间长度温育样品,然后停止温育;或者

(2) 以一个等于或大于相关时间长度的最小值的时间长度温育样品,并在等于或小于相关时间长度的最大值的时间长度内评估每个目标分析物与结合点的结合;

其中,相关时间长度为:

i. 等于或大于在闭合相态时步骤(a)中所述目标分析物横跨厚度均匀薄层的厚度以扩散所需的时间长度;

ii. 显著小于步骤(a)中所述目标分析物横跨存储点或结合点预定面积的最小横向尺寸以横向扩散所需的时间长度;

由此,产生一个反应,其中,在步骤(1)的温育结束时或在步骤(2)的评估时,结合于结

合点上捕获剂-目标分析物-探测剂三明治结构的大部分目标分析物来自于样品的相应的相关体量中；

其中,所述温育允许每个目标分析物结合于结合点和探测剂,其中所述相应的相关体量是指闭合相态中,位于相应存储点之上的样品的一部分,其中闭合相态中相邻存储点的间隔与相邻结合点的间隔都大于目标分析物或探测剂在相关时间内所能扩散的距离,其中在结合点和/或存储点之间没有流体隔离。

196. 如权利要求195所述的方法,其中第一板在其表面包括多个所述结合点。

197. 如权利要求196所述的方法,其中所述多个结合点中的每个都结合一个不同的目标分析物。

198. 如权利要求195-197的任一个所述的方法,其中第二板在其表面包括多个所述相应的存储点。

199. 如权利要求195-198的任一个所述的方法,其中所述多个相应的存储点中的每一个都结合一个不同的目标分析物。

200. 如权利要求195-199的任一个所述的方法,其中第一板在其表面包括多个所述结合点,第二板在其表面包括多个所述相应的存储点,其中当所述两板处于闭合相态时每个结合点都面向一个相应的存储点。

201. 如权利要求195-200的任一个所述的方法,其中第一板在其表面包括多个所述结合点,第二板在其表面包括一个存储点,其中当所述两板处于闭合相态时至少其中一些结合点面向存储点的一个区域。

202. 如权利要求195-201的任一个所述的方法,其中第一板在其表面包括一个所述结合点,第二板在其表面包括多个存储点,其中当所述两板处于闭合相态时至少其中一些存储点面向结合点的一个区域。

203. 如权利要求195-202的任一个所述的方法,其中第一板在其表面包括多个结合点,其中所述结合点包括能够结合并固定不同目标分析物的不同捕获剂。

204. 如权利要求195-203的任一个所述的方法,其中第一板在其表面包括多个结合点,其中所述结合点包括同种捕获剂。

205. 如权利要求204所述的方法,其中所述捕获剂在不同结合点有不同的密度。

206. 如权利要求195-205的任一个所述的方法,其中相邻两个结合点或相邻两个存储点间有间隔,该间隔与闭合相态中样品厚度的比例至少为3。

207. 如权利要求195-206的任一个所述的方法,还包括一个计算所述样品相关体量中一种或多种分析物的浓度的步骤,其中所述计算基于由所述结合点的预定面积所限定的相关样品体量的体积,在闭合相态中厚度均匀样品薄层的厚度,和探测所得目标实体的量。

208. 如权利要求195-207的任一个所述的方法,其中目标实体是捕获剂,分析物,或探测剂。

209. 如权利要求195-208的任一个所述的方法,其中在一个预定区域的样品的体积大约等于预定区域面积乘以所述间隔物的预定高度。

210. 如权利要求195-209的任一个所述的方法,其中该方法包括测定位于至少两个结合点上的相关体量中的同种分析物。

211. 如权利要求195-210的任一个所述的方法,其中该方法包括测定位于至少两个结

合点上的相关体量中的不同种分析物。

212. 如权利要求195-211的任一个所述的方法,其中所述存储点由多片干燥的试剂所定义。

213. 如权利要求195-2122的任一个所述的方法,其中所述存储点由多片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,溶解入样品中,在样品中扩散并结合分析物。

214. 如权利要求195-213的任一个所述的方法,其中所述样品的厚度小于200微米。

215. 如权利要求195-214的任一个所述的方法,其中所述结合点的线性尺寸与所述均匀厚度的比率大于5。

216. 如权利要求195-215的任一个所述的方法,其中该方法包括一次或多次洗脱。

217. 一种并行、多重、无流体隔离地测定液体样品的装置,包括第一板和第二板,其中:

i. 所述两板可相对于彼此移动进入不同相态;一个或两个板是柔性的;

ii. 所述一个或两个所述板包括固定于相应板的间隔物;所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度,和一个预定的恒定的间隔物间距离;

iii. 每个板都在其各自的表面上具有,接触包括有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品的样品接触区域;

iv. 所述第一板在其表面具有一个或多个结合点,其中每个结合点都具有一个预定的面积并包括能够结合和固定样品相应目标分析物的捕获剂;

v. 所述第二板在其表面具有一个或多个相应的存储点,其中每个存储点都具有一个预定的面积并且包括一定浓度的探测剂,该探测剂在接触样品后,溶解入样品并在样品中扩散,

其中,每个捕获剂,目标分析物和相应的探测剂都能够在第一板的结合点中形成捕获剂-目标分析物-探测剂三明治结构;

其中,所述相态中的一个是一个开放相态,在开放相态中:所述两板相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节,样品沉积在一个或两个板上;

其中,所述相态的另一个是一个闭合相态,它是在开放相态时样品沉积后形成的相态;在闭合相态中:

i. 样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的内表面限定,并且覆盖一个或多个结合点和一个或多个存储点;

ii. 所述一个或多个相应的存储点位于所述一个或多个结合点之上;

iii. 所述薄层的均匀厚度由所述间隔物和所述两板调节,小于250微米,并且大幅地小于每个存储点的所述预定面积的线性尺寸;

iv. 所述结合点和/或所述存储点之间没有流体隔离;

其中,所述相邻存储点的边缘之间的间隔和相邻结合点的边缘之间的间隔大于目标分析物或探测剂在相关时间内所能扩散的距离,其中所述结合点和/或所述存储点之间没有流体隔离。

218. 如权利要求217所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括多个所述结合点。

219. 如权利要求217-218的任一个所述的装置,其中所述多个结合点的每一个都结合一个不同的目标分析物。

220. 如权利要求217-219的任一个所述的装置,其中所述第二板在其表面上包括多个

所述相应的存储点。

221. 如权利要求217-220的任一个所述的装置,其中所述多个相应的存储点的每一个都结合一个不同的目标分析物。

222. 如权利要求217-221的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括多个所述结合点,所述第二板在其表面上包括多个所述相应的存储点,其中,当所述两板处于闭合相态中,每一个结合点都面对一个相应的存储点。

223. 如权利要求217-222的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括多个所述结合点,所述第二板在其表面上包括一个所述存储点,其中,当所述两板处于闭合相态中,至少所述结合点中的一些面对所述存储点的一个区域。

224. 如权利要求217-223的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括一个所述结合点,所述第二板在其表面上包括多个所述存储点,其中,当所述两板处于闭合相态中,至少所述存储点中的一些面对所述结合点的一个区域。

225. 如权利要求217-224的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括多个所述结合点,其中所述结合点包括能够结合固定不同目标分析物的不同捕获剂。

226. 如权利要求217-225的任一个所述的装置,其中所述第一板在其表面上包括多个所述结合点,其中所述结合点包括同种捕获剂。

227. 如权利要求226的任一个所述的装置,其中所述捕获剂在不同结合点有不同的密度分布。

228. 如权利要求217-227的任一个所述的装置,其中两个相邻的结合点之间或是两个相邻的存储点之间有一个间隔,并且所述间隔与闭合相态中所述样品厚度之比至少为3。

229. 如权利要求217-228的任一个所述的装置,其中所述间隔物间距离在1微米至120微米的范围内。

230. 如权利要求217-229的任一个所述的装置,其中所述柔性板具有的厚度在20微米至250微米之间和杨氏模量(Young's modulus)在0.1至5GPa的范围内。

231. 如权利要求217-230的任一个所述的装置,其中对于一个柔性板,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量(Young's modulus)在60GPa- μm 至750GPa- μm 的范围内。

232. 如权利要求217-231的任一个所述的装置,其中厚度均匀样品薄层在至少为 1mm^2 的平面区域内是均匀的。

233. 如权利要求217-232的任一个所述的装置,其中厚度均匀样品薄层具有至多 $\pm 5\%$ 的厚度均匀性。

234. 如权利要求217-233的任一个所述的装置,其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子,这些形状包括:圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。

235. 如权利要求217-234的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有支柱的形状,具有大致平坦的顶面,并具有基本上均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。

236. 如权利要求217-235的任一个所述的装置,其中所述间隔物间距离是周期性的。

237. 如权利要求217-236的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有1%或更高的填充系数,其中所述填充系数是间隔物接触面积与总板面积的比率。

238. 如权利要求217-237的任一个所述的装置,其中所述间隔物的杨氏模量乘以所述间隔物的填充系数等于或大于20兆帕,其中其中所述填充系数是间隔物接触面积与总板面积的比率。

239. 如权利要求217-238的任一个所述的装置,其中在闭合相态中的两个板之间的间隔小于200微米。

240. 如权利要求217-239的任一个所述的装置,其中,在闭合相态中两板之间的间距为1.8微米和3.5微米之间的一个值。

241. 如权利要求217-240的任一个所述的装置,其中所述间隔物由直接压印板或注塑板的方法固定在板上。

242. 如权利要求217-241的任一个所述的装置,其中所述板和所述间隔物的材料为以下材料组选出:聚苯乙烯,PMMA,PC,COC,COP,或其它塑料。

243. 如权利要求217-242的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。

244. 如权利要求217-243的任一个所述的装置,其中所述间隔物具有至少1000个/mm²的密度。

245. 如权利要求217-244的任一个所述的装置,其中所述板中的至少一个是透明的。

246. 一种使用移动电话快速分析样品的系统,包括:

(a) 一个CROF装置,其中CROF装置的一个或两个板可相对于彼此移动进入不同的相态;其中:

i. 所述相态中的一个是一个开放相态,在开放相态中:所述两板相互分离,板之间的间隔不由间隔物调节,样品沉积在一个或两个板上;

ii. 所述相态的另一个是一个闭合相态,它是在开放相态时样品沉积后形成的相态;在闭合相态中:样品的至少一部分由两个板按压成一个厚度均匀薄层,其中所述薄层的均匀厚度由所述两板的样品接触表面限定,并且由板和间隔物所调节。

(b) 一个移动通讯设备,包括:

i. 用于检测和/或成像样品的一个或多个摄像机;

ii. 电子器件,信号处理器,以及用于接收和/或处理检测到的信号和/或所述样品图像和用于远程通信的硬件和软件;

(c) 一个属于移动通讯设备的光源或是一个外部光源。

247. 如权利要求246所述的系统,其中所述两板中的一个包括一个结合分析物的结合点,其中所述厚度均匀薄层的至少一部分位于结合点之上,且大幅度小于结合点的平均横向线性尺寸。

248. 如权利要求246-247的任一个所述的系统,还包括:

(d) 一个配置成可保持样品并可安装在移动通讯设备上的外壳。

249. 如权利要求248所述的方法,其中所述外壳包括用于促进移动通信设备对样品进行成像和/或信号处理的光学系统,和一个配置成在所述移动通信装置上保持样品的安装件。

250. 如权利要求246-249的任一个所述的系统,其中所述移动通信设备被配置为可传达检测结果给医学专业人员,医疗设施或保险公司的设备。

251. 如权利要求250所述的系统,其中所述移动通讯设备还被配置成可与医学专业人员,医疗设施或保险公司交流受试者信息的设备。

252. 如权利要求246-251的任一个所述的系统,其中所述移动通讯设备被配置成可从医学专业人员处接收处方,诊断或是建议的设备。

253. 如权利要求246-252的任一个所述的系统,其中所述移动通讯设备被配置有硬件和软件以:

- (a) 获取样品图像;
- (b) 分析图像中的测试区和对照区;
- (c) 将测试区分析所得值比较于表征所述快速诊断测试的阈值。

254. 如权利要求246-253的任一个所述的系统,其中所述两板的至少一个包括存储测定试剂的存储点。

255. 如权利要求246-254的任一个所述的系统,其中所述摄像机的至少一个从所述CROF装置读取信号。

256. 如权利要求246-255的任一个所述的系统,其中所述移动通讯设备通过wifi或移动电话网络与远处交流通讯。

257. 如权利要求246-256的任一个所述的系统,其中所述移动通讯设备是移动电话。

258. 一种使用移动电话快速分析样品的方法,包括:

- (a) 在如权利要求246-257的任一个所述的系统的CROF装置上沉积样品;
- (b) 分析CROF装置上沉积的样品以得到一个结果;
- (c) 将结果从所述移动通讯设备传达至一个远离所述移动通讯设备的位置。

259. 如权利要求258的任一个所述的方法,其中该方法包括:

在所述远处分析所述结果以提供一个分析结果;并从所述远处将分析结果传达至所述移动通讯设备。

260. 如权利要求258-259的任一个所述的方法,其中所述分析是由医学专业人员在远处完成的。

261. 如权利要求258-260的任一个所述的方法,其中所述移动通讯设备从远处的医学专业人员处接收处方,诊断或是建议。

262. 如权利要求259-261的任一个所述的方法,其中所述样品是体液。

263. 如权利要求259-262的任一个所述的方法,其中所述体液是血液,唾液,或尿液。

264. 如权利要求259-263的任一个所述的方法,其中所述分析步骤包括在样品中探测分析物。

265. 如权利要求264所述的方法,其中所述分析物是生物标记物。

266. 如权利要求264所述的方法,其中所述分析物是蛋白质,核酸,细胞,或代谢物。

267. 如权利要求259-266的任一个所述的方法,其中该方法包括计数红细胞。

268. 如权利要求259-267的任一个所述的方法,其中该方法包括计数白细胞。

269. 如权利要求259-268的任一个所述的方法,其中该方法包括将样品中细胞染色,计数中性粒细胞,淋巴细胞,单核细胞,嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。

270. 如权利要求259-269的任一个所述的方法,其中步骤(b)中完成的所述分析是结合分析或者生物化学分析。

271. 一种用于分析液体样品的方法,包括:

(a) 获得包括一种能够在样品中扩散的分析物的样品;

(b) 获得一个第一板和一个第二板,它们可以相对于彼此移动进入不同相态,其中一个或两个板包括有固定于相应的样品接触表面的间隔物,并且其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度,其中所述第一板在其表面包括具有预定面积的分析物测定点;

(c) 当板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是其中两个板被部分地或完全分离开的相态,并且板之间的间隔不由间隔物调节;

(d) 在完成(c)后,使用两个板将样品的至少一部分压缩成由所述板的样品接触表面局限的基本上均匀厚度的样品薄层,其中该层的均匀厚度由所述板的间隔物调节,其中所述压缩包括:

使两个板在一起;

施压一个外力于所述两板的外表面上以使两板压在一起进入闭合相态,其中,所述外力在样品的至少一部分之上的板上产生压力,并且按压使得样品的至少一部分横向展开于所述两板的内表面之间,其中所述闭合相态是一个板的厚度均匀薄层区域之间的间隔由间隔物调节配置的相态;

(e) 在板处于闭合相态时,在一个(i)大于等于或长于分析物横跨所述厚度均匀薄层的厚度以扩散所需的时间;(ii)大幅短于分析物横跨所述分析物测定点的面积以扩散所需的时间,的时间内温育所述样品;

(f) 在步骤(e)后立即停止温育测量测定点的分析物,或在所述两板处于闭合相态时持续温育并在一个显著短于分析物横跨所述分析物测定点的区域以扩散所需的时间的时间点测量测定点的分析物。

272. 如权利要求271所述的方法,还包括:(g) 计算在测定点的样品薄层的相关体量中分析物的浓度。

273. 如权利要求271-272的任一个所述的方法,其中测定点的所述样品薄层的样品体积大致等于测定点的预定面积乘以间隔物的预定高度。

274. 如权利要求271-273的任一个所述的方法,其中所述第一板包括第一测定点和第二测定点,其中该方法包括在第一测定点和第二测定点分析同种分析物。

275. 如权利要求271-274的任一个所述的方法,其中所述分析物测定点在一对电极之间。

276. 如权利要求271-275的任一个所述的方法,其中所述测定点由一片干燥的试剂所定义。

277. 如权利要求271-276的任一个所述的方法,其中所述测定点结合并固定分析物。

278. 如权利要求271-277的任一个所述的方法,其中所述测定点由一片结合试剂所定义,该结合试剂在接触样品后,会溶解入样品中,在样品中扩散,并结合分析物。

279. 如权利要求271-278的任一个所述的方法,其中所述第一板在其表面还包括多个分析物测定点,且相邻两个测定点的边缘间的距离大幅地大于当所述两板处于闭合相态中厚度均匀薄层的厚度,其中所述样品包括能够在样品中扩散的一个或多个分析物。

280. 如权利要求279所述的方法,其中相邻测定点中的至少两个不相互区隔以防止测定点间分析物的扩散。

281. 如权利要求271-280的任一个所述的方法,其中所述样品厚度小于200微米。
282. 如权利要求271-281的任一个所述的方法,其中所述第一和第二板包括位于当所述两板处于闭合相态时彼此相对的位置的存储点。
283. 如权利要求271-282的任一个所述的方法,其中所述结合点的线性尺寸与所述均匀厚度的比率大于5。
284. 如权利要求271-283的任一个所述的方法,其中所述反应在小于60秒的时间内饱和。
285. 如权利要求271-284的任一个所述的方法,其中相关时间长度在60秒至30分钟的范围。
286. 如权利要求271-285的任一个所述的方法,其中步骤e (i) 包括,停止温育后,评估结合至结合点的目标实体。
287. 如权利要求271-286的任一个所述的方法,其中该方法包括一次或多次洗脱。
288. 如权利要求271-287的任一个所述的方法,其中所述间隔物间距离在14微米至200微米范围内。
289. 如权利要求271-288的任一个所述的方法,其中所述间隔物间距离在7微米至20微米范围内。
290. 如权利要求271-289的任一个所述的方法,其中所述间隔物是具有以下横截面形状的柱子,这些形状包括:圆形,多边形,圆形,方形,矩形,卵形,椭圆形,或它们的任何组合。
291. 如权利要求271-290的任一个所述的方法,其中所述间隔物具有支柱的形状,具有大致平坦的顶面,并具有基本上均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,所述间隔物的横向尺寸对高度的比例至少为1。
292. 如权利要求271-291的任一个所述的方法,其中所述间隔物具有一支柱的形状,同时所述间隔物的侧壁角具有曲率半径至少为1微米的圆形形状。
293. 如权利要求271-292的任一个所述的方法,其中所述间隔物具有至少1000个/ mm^2 的密度。
294. 如权利要求271-293的任一个所述的方法,其中所述板中的至少一个是透明的。
295. 如权利要求271-294的任一个所述的方法,其中所述两板中至少一个由柔性塑料所制。
296. 如权利要求271-295的任一个所述的方法,其中所述两板仅有一个是柔性的。

步骤简化、小样品、快速、易使用的生物/化学分析装置和方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求以下临时申请的利益,序列号62/202989,于2015年8月10日申请,62/218455提交的2015年9月14日,62/293188,于2016年2月9日提交的62/305123,于2016年3月8日提交的,和62/369181,提交的2016年7月31日,所有这些在此引入其全部应用于所有目的。

发明领域

[0003] 本发明涉及生物/化学采样、感测、检测和应用等领域。

[0004] 摘要

[0005] 本发明涉及生物/化学采样,感测,检测和应用等领域。具体地讲,本发明涉及如何使取样/检测/测定能够使用简单,或快速获取结果,或高度敏感的,或易于使用,或使用微小的样品量(例如0.5微升或更小),或无需任何专业人员操作,或由移动电话读取结果,或成本低廉,或它们的组合。

背景技术

[0006] 在许多生物/化学传感和检测(例如免疫测定法,核苷酸测定中,血球计数等)、化学反应、以及其他过程中,存在对于方法和设备的需求,以能够加快过程进度(例如,结合反应、试剂混合等)同时量化各类参数(例如分析物浓度、样品体积等),能够简化样品收集和测量过程,能够处理小体积的样品,允许在不到一分钟内完成一个完整的测定,允许通过智能手机(如移动电话等)进行化验,允许非专业人士进行自我化验,和允许测试结果以本地通信、远程交流、或无线网络的方法传递给相关各方等。本发明涉及的方法、装置和系统解决了这些需求。

发明内容

[0007] 以下简要概述不旨在包括本发明的所有的特征和涉及的所有方面。本发明涉及的方法、装置和系统,比起目前诸多检测方法和装置,使得生物/化学传感(包括,不限于,免疫测定,核酸检测,电解质分析等)更加快捷,灵敏,所需步骤更少,更易于实施,对于样品量需求更小,降低了(甚至不需要)对于专业协助的需要,同时/或者,耗费更加低廉的成本。

[0008] 当今诸多化验检测的目的是要精确地确定样品中的分析物的绝对浓度。例如,红细胞计数化验涉及在一个量的全血中计量红血细胞的数目,然后计算每微升全血中红血细胞的数目。然而,这种测量如果不在专业的测试中心(即“家庭检测”,或“药房检测”,或“护理点检测”等环境)中进行,可能会是有挑战性的,因为这样的测试通常需要专门的仪器和/或精确的测量装置,以能够准确测定生物流体样品的相对小的体积(比如一个精确的吸移管或类似物)。

[0009] 相关体量的测量

[0010] 许多测定法能够提供样品中分析物的绝对浓度。然而,在对于只有小体积样品(例

如,100纳升到10微升,例如)进行分析时,这些测定法的结果变得相当不准确。这是因为,小体积样品难以精确地处置和/或测量。

[0011] 在一些测定法中,液体样品被放置在由间隔物区隔开的两块板结构之间进行分析。理论上,被分析样品的体积可以通过由被分析样品的厚度与被分析样品的面积相乘来计算。然而在实践中,这样的估算不容易得到同时也因为各种原因而相当不准确。举例来说,一些设备使用小珠来区间隔物结构,同时小珠或是板中的一个是可变形的。这样的设备可能由于如下原因而趋于不准确:

[0012] • 球形间隔物与板结构间只有一个小得多的接触面积(几乎是一个点)。在这样的装置,因为这样小得多的接触面积,对于施加的每一单位按压作用力,将有一个大得多的压力作用到板结构和球形间隔物二者的接触面上。这个大得多的压力使得球形间隔物和/或板结构(如果它们是柔性结构的话)变形,从而破坏了任何测量。

[0013] • 球形间隔物通常会在两板之间最终形成随机的分布。因为球形间隔物是随机分布的,间隔物之间的间距差别很大,而其中有些间隔距离会相当大。这使得间隔物和/或所述板结构(如果它们是柔性的)在某些区域相较于其它区域而言,发生更大程度的变形,这也破坏了测量结果。

[0014] • 随机放置的间隔物如果过于相近则可能成为阻断分析物(例如,细胞)的运动的障碍,从而有可能产生分析物或细胞的“团块”,导致造成更大的困难。

[0015] • 所述板结构之一的显著变形可能导致细胞裂解,这可能导致在细胞计数的错误。

[0016] • 因为球形间隔物在所分析区域的数量以及间隔物和/或板结构中的一个以何种程度变形是不一定的,对于体积的计算将是不准确的。

[0017] • 变形导致分子所需扩散至板结构中的一个的表面上时间不一定。

[0018] 对于使用球形间隔物的设备,被分析样品部分的体积可能通过a)计数所分析样品部分的球体;b)通过实验估算样品层的厚度(例如,添加一个内标,如包含已知浓度校准物的不混溶的液体,用于计算板之间的距离)来估算。然而,额外的步骤是不方便来执行的,并且由于顶板和/或间隔物在使用时的显著变形,由这种设备获得的测量仍然不是很精确。

[0019] 与此相反的是,本发明提供的方法和设备的某些实施例依赖于被以规则模式固定于一个或多个板结构上的具有大致统一高度、近乎统一的横截面、以及平面(即“平整”)顶部的间隔物,其中所述间隔物彼此以一个一致的、既定的距离(即非以泊松分布而行的随机放置)相间隔。在使用过程中本发明的方法和设备的某些实施例时,间隔物和板结构不会被显著压缩或在任何维度发生变形,至少在所述板结构处于闭合组态并通过毛细管力被拉到一起时。本装置可以具有许多优点,其在于在使用本发明的装置时,数据采集部分的样品(即,“有关体量”暨被分析的样品部分体量)的体积可以被容易地非常精确地计算出,并且在某些情况下,甚至可以之前进行化验之前计算出来,即使样品是以未知量置于设备之中的。因为,在闭合组态中,所述板结构基本上是平整的(这意味着该样品的厚度是均匀的)同时在分析区域中的间隔物的数量和尺寸是已知的,样品中的区域中的体积便可以非常精确地计算出来。样品相关体量地体积可以在无需计数间隔物或是估算样品层厚度地基础上被确定出来。另外也不需要放置特定量地样品于设备中。另外,在测定温育开始时,分析物分子应是均匀地分布于整个有关体量(在泊松统计允许的范围),而不是相对集中

于某些区域。

[0020] 缩短的反应时间

[0021] 已知许多分析物在水性环境中的扩散常数非常低,并且,因此,许多测定法需要冗长的温育时间(通常几个小时,在某些情况下,甚至几天),需要搅拌和使用促进或是迫使混合的药剂。此类测定法如此设计,以允许分析物以从初始位置横向扩散到远程目标上的板结构的一个(例如见,Wei et al, Nucl. Acids Res. 33:e78 and Toegl et al, J. Biomol. Tech. 2003 14:197-204)。这样的系统因其可能需要几个小时才能获得结果有很大的局限性。此外,即使获得结果,也常常难以肯定地判断该反应在终止时是否达到了反应平衡。这种不确定性,同其他事项一起,使得不可能估算样品中分析物的绝对浓度。

[0022] 如将在下面更详细地解释的一样,在本方法和装置的一些实施例中可以选择间隔物的高度和测定终点来限定在测定期间分析物横向扩散的量。在这些情况下,这样的测定(通常为结合测定法)可以在很短的时间内运行。另外,样品中的分析物的浓度可以被非常精确地估计,即使整个样品可能没有被全部分析,或者可以具有未知的体积。

[0023] 在这些实施例中,一个测定法可以在1)一个等于或更长于在闭合组态中目标分析物所需横跨厚度均匀层的厚度以扩散的时间(即不短于目标分析物所需从一个板纵向散射到另一个板的时间);2)同时是一个短于目标分析物所需横跨既定结合点区域的线性维度进行横向扩散的时间(即,短于目标分析物所需从结合点的一侧横向扩散至另一侧的时间)被停止,和/或读取分析结果。在这样的“本地结合”的组态中,获取数据部分的样品体积(“相关体量”)可合理精确地估计出来,因为它是紧挨于分析区域之上的样品的体积。实际上,启动测定前获取数据部分的样品体积即可获知。这样的“本地结合”的实施例还有一个优点,即样品,也有可能包括任何检测试剂,都被压成结合点之上的一个薄层,并因此,任何分析物和/或检测试剂之间的结合应比在样品没有被压成薄层的实施例更快达到平衡,例如,如果一滴样品被简单地放置在具有结合点的板上。正因如此,在许多情况下,结合平衡可以在几秒钟内,而不是几分钟之达到,并因此,许多测定法,特别是结合测定法,可以非常迅速地,例如在不到一分钟内,被完成。

[0024] 多重并行

[0025] 此外,“本地结合”的组态允许人们在不需流体隔离不同反应的情况下进行多重并行测定分析。换句话说,多个测定可以在一个开放的环境中完成,而不需将彼此用墙壁区隔开(即,没有流体隔离)。例如,在本地结合的实施例中,在同一样品中两种不同的分析可以并排同时进行,因为在从一个测定区域扩散至另一个测定区域前,对于该分析物的测定既已停止和/或测定结果既已被读取,这些分析物在样品中的绝对浓度可以彼此被分别确定,即使它们并不彼此被流体隔离。

[0026] 通过简单地将样品夹在两个板结构之间,并以限制扩散的方式进行测定,从而能在一个样品上实现多个测定而无需流体隔离,具有很多优点。例如,这些测定可以这样进行:简单地滴置几滴未知量的样品的液滴(例如,血液),将板结构按压在一起以在整个板上展开样品,在一定时间内温育样品反应,并从设备的多个站点读取数据。在实施该方法时,不需要对于规定量的样品进行转移放置到多个腔室中,这在没有精确的流体转移和/或测量装置的情况下是难以实现的。此外,该法还由于前述原因而非常迅速。另外,由于这里的板结构不需要有“墙”的制作,该装置的制造是简单易行的。最后,对于任何所述板结构都没

有对端口的要求,即当设备处于闭合相态时可能被用于添加或移去除样品或试剂的端口。

[0027] 增强表面

[0028] 另外,在本装置和方法的一些实施例中,该装置可以包含一个“增强表面”,例如,增强信号的表面,例如,由一个检测试剂发出的荧光或冷光。在一些情况下,该信号可以由纳米等离子体激元效果(例如,表面增强拉曼散射)增强。通过增强表面信号增强的实施例描述于,例如, Li et al, Optics Express 2011 19:3925-3936和专利申请W02012/024006中,这些文献通过引用并入本文。在一些情况下,增强表面可以是一个盘亲和柱上点天线阵列”阵列(D2PA),这已在美国专利9013690描述。在使用中,包含增强表面的装置可能相对于未配置信号增强的装置,能够将信号增强 10^3 倍或更多,从而允许分析物以非常高的灵敏度被检测。在一些实施例中,样品相关体量中的分析物的量,特别是使用夹心法检测的非细胞类的分析物,可以使用W02014144133中描述的方法,进行数字化计数。增强表面的使用,在某些情况下,允许使用智能电话或类似物进行测定的读取。

[0029] 其他特性

[0030] 在本装置的实施例中,固定于一个或多个板上的间隔物是不能够改变其位置的,或者如果该板浸没在水性环境被冲走。间隔物不是球形并且它们不经由弱力固定到板的表面上,例如静电力,重力等。在一些实施例中,具有间隔物的板可以是一个单片。在许多实施例中,间隔物不是预制后固定于板上的(例如胶合或类似方式)。相反,间隔物可能是使用压花和/或微加工(例如光刻)工艺生长于和/或在平板上进行蚀刻而出。

[0031] 间隔物的参数(例如,它们的横截面,间距和密度等)可被优化,使得在闭合相态中,所述顶板(其可以是柔性的)不在位于被分析样品部分(样品的“相关体量”)之上显著变形。在一些情况下,间隔物的参数可以取决于顶板的灵活性来调节。例如,如果顶板更灵活,则间隔物可能更接近。类似地,如果在顶板不够灵活,则间隔物可以进一步分开。

[0032] 此外,在使用本装置的许多实施例中,分析物在设备关闭后不定向地通过装置迁移。这样,在闭合相态中,不必要有分析物的分选或分馏,无定向的强迫的分析物通过装置的流动,(例如通过重力或电泳),如Austin(US 6632652)中的描述。在许多情况下,没有必要为设备连接电源以产生电动势。在许多实施例中,在样品被展开时没有“障碍”以阻碍分析物(细胞),从而使得分析物在整个相关体量中均匀地分布(泊松统计允许的范围),而不是更集中于某一区域。另外,在其他设备中,盖板的作用是用来密封该装置,以防止液体泄漏,并因此,盖板被放置在基片的顶部在一个时间,而期间没样品在任何板上。这种装置并不一个开放的板面上将液体推成可被分析的薄层。此外,在其它装置中,支柱的主要功能是“过滤”或分选纳米物质(例如细胞或类似物)。因此,支柱间的距离是由被分选纳米物质而确定的,而不是为了用于使盖板和衬底板之间形成均匀的间隔。最后,在如Austin装置的装置中,分选精度主要由支柱间的距离而不是板之间的间距控制,而控制板之间的间距并不被认为是重要的。因此,这样的公开内容将不会引导人们通过改变柱的大小,形状,支柱间的间隔等以调节板间距的均匀性。

[0033] 鉴于上述情况,本设备和方法提供了一种易于使用,价格便宜,操作容易,并且非常快速的方式来确定液体样品中一种分析物的绝对浓度(或多种分析物,如果使用了多重并行的方式配置该设备和方法)。

[0034] 本发明的一个方面是,使用一对特殊的可相互移动的板,为得到一个更简单,快速和/或更好的测定法,来操纵小体积样品或一种或多种试剂或两者皆有。这些操纵包括,但不限于,重塑样品,迫使样品流动,使样品和试剂间发生接触,测量样品的体积,降低扩散距离,提高碰撞频率等等-个个都于某些测定法有益处。在本发明中,板的特殊功能和性能,操作板的特殊方法,以及处理试剂和样品的特殊方法都为测定分析提供了优势。

[0035] 本发明的一个方面是,使至少沉积在板上的液体样品的小滴的一部分成为厚度受控并预定的,并且于大面积上是均匀的薄膜的装置。薄膜的均匀厚度可薄至小于1微米。此外,本发明允许相同的均匀厚度维持于很长一段时间而不遭受蒸发至环境中的影响。

[0036] 本发明的另一个方面是,利用由本发明形成的预定均匀的样品厚度来确定样品的一部分或全部的体积,而无需使用任何吸管或类似物的装置。

[0037] 本发明的另一个方面是一种间隔物的实施例(用于控制两板之间的间隔),间隔物具有平整的顶部和接近均匀横截面的柱状结构。这种间隔物比起球(珠)形状间隔物在控制样品厚度上提供了许多优势。

[0038] 本发明的另一个方面是,在样品两部分之间无需使用流体隔离的情况下,使某些化学反应(或混合)只主要发生在样品的一小部分中,而不是在样品的其他部分的装置。

[0039] 本发明的另一个方面是,在样品两部分之间无需使用流体隔离的情况下,使多个化学反应(或混合)只主要发生在样品的各个小部分,而不是在样品的其他部分的装置。因此,本发明允许使用一小滴样品在没有不同的反应部位之间的流体隔离的情况下进行多重并行测定。

[0040] 本发明的另一个方面是,使测定法(例如免疫测定法,核酸测定法等)更快的装置。例如,饱和温育的时间(分子间的结合达到平衡的时间)从几小时缩短到小于60秒。

[0041] 本发明的另一个方面是,通过一个或几种方法,其中包括扩增表面,或更大或更亮的标签等,的结合显著提高检测灵敏度的装置。

[0042] 本发明的另一个方面是,使用非常少量的样品,例如小至0.5微升,进行测定的装置。

[0043] 本发明的另一个方面是,通过允许从被受直接向测试区或样品区置放微量体液来简化测定法的装置。

[0044] 本发明的另一个方面是,通过对板预涂布试剂来简化并加快测定法的装置。例如,捕获剂和探测剂被预先涂布在平板上并干燥。另一个例子是,所有必需感测试剂被预先涂敷在平板上,而感测通过沉积在预涂板的样品来实现,而不需要置放其它试剂。

[0045] 本发明的另一个方面是,由移动电话执行读取测定结果的装置。

[0046] 本发明的另一个方面是,允许一个人在60秒内,通过直接在一对塑料装置之间置放他的体液(如唾液)并利用移动电话拍照以测试他/她自身生物标记的装置。

[0047] 附图的简要说明

[0048] 熟练的技术人员将理解,附图,如下所述,是仅用于说明目的。附图并不意图以任何方式限制本发明的范围。附图可能不是成比例的。在呈现实验数据点的附图中,连接数据点的线仅用于引导观察数据,而没有其它含义。

[0049] 图1是一个CROF(压缩可调无阻流动)实施例的图示。小图(a)示出的第一板和第二板,其中所述第一板具有间隔物。图(b)示出了在开放相态中沉积在第一板(示出),或第二

板(未示出),或两者(未示出)的样品。小图(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间流动),并降低样品的厚度,并使用间隔物和板来调节在闭合相态的样品厚度,和(ii)每个板的内表面可具有一个或多个结合点和/或存储地点(未示出)。

[0050] 图2示出有结合点或存储点的板。小图(a)示出具有结合点的板。小图(b)示出了具有试剂存储点的板。小图(c)示出具有一个结合点的第一板和具有试剂存储点的第二板。小图(d)示出具有多个点(结合点和/或存储点)的板。

[0051] 图3是用于通过降低样品厚度减少测定温育时间的方法的流程图和示意图。小图(a)表示具有在基板表面上的至少一个结合点的第一板。小图(b)示出了第二板(其可具有与第一板不同的大小)。小图(c)表示沉积样品(含有目标结合实体)在基板表面上(如图所示)或盖板(未示出),或两者(未示出)。小图(d)表示以使它们彼此面对,并通过移动所述第一和第二板降低板之间的内部空间的间距以降低样品的厚度。厚度减小的样品被温育。降低的样品厚度加快温育时间。该方法的一些实施例使用间隔物以调节间隔,在(隔片)图中未示出。

[0052] 图4示出通过使用两板,间隔物,和压缩(以横截面示出)减少结合或混匀的时间。小图(a)示出减少结合样品中的实体至固体表面上结合点的时间(X-(体量到表面))。图(b)示出了减少结合存储在一个板的表面的实体(例如试剂)至另一个面的表面上的结合点的时间(X-(表面到表面))。小图(c)示出减少用于将存储在板的一个表面上的试剂加入被夹持在板和另一板(X-(表面至体量))之间的样品的时间。

[0053] 图5示出如何避免或降低柔性板的局部弯曲。小图(a)表示,如果间隔物间距离对于柔性板(第二板,例如塑料薄膜)在一组给定样品和压缩的条件下太大,假定第一板是刚性的,板在闭合相态中两个相邻间隔物之间具有局部凹陷(即向内弯曲)。板之间的样品没有示出。小图(b)示出了通过使用一个适当的间隔物间距离和适当的压缩力减小或几乎避免在小图(a)中的柔性板局部弯曲(凹陷)。板之间的样品没有绘出。

[0054] 图6示出减少大尘埃对板间距(样品厚度)调节的影响。小图(a)示出当使用两个刚性板时,尘埃厚度大于间隔物高度可以破坏由间隔物调节的预期板间距(因此破坏了预期的样品厚度调节)。板之间的样品没有绘出。图(b)示出使用适当的柔性板和适当的间隔物间距离,尘埃的影响被隔离在尘埃周围的小面积内,而在其他区域,板间距(因此样品的厚度)由调节间隔物不是尘埃。此例证中第一板是刚性的,第二板是柔性的,并且间隔物最初固定在第一板上。小图(c)表示用适当的柔性板和适当的间隔物间距离,尘埃的影响被隔离到尘埃周围的小区域内,而在其他区域,板间距(因此样品厚度)是由间隔物不是尘埃调节。此例证中第一板是刚性的,第二板是柔性的,并且间隔物最初固定在第二板。

[0055] 图7示出通过使用适当的间隔物排列和柔性板减少板的表面平整度变化的影响。小图(a)示出表面平整的变化与期望样品厚度相比可以是显著大的,导致在确定样品厚度时的误差。在本图中,只有一个板具有大的平整度的变化(在现实中,这两个板都可能具有大的平整度的变化)。板之间的样品没有绘制。图(b)示出了板的表面平整度的变化,,是从一个表面高度的局部最大值处到相邻的局部最小值处的距离。小图(c)示出了如何通过使用一个或两个板柔性和使用适当的间隔物间距离和适当的压缩力,在闭合相态中,以校正该板在开放相态时的原始的表面平整度变化,从而实现较小的表面平整度变化。板之间的样品没有绘制。小图(d)表示通过使用柔性第二板和适当的间间隔物距离使样品厚度变化

小于该板的初始表面平整度变化。柔性板具有刚性板的轮廓。板之间的样品没有绘制。

[0056] 图8显示用于样品厚度调节的板和封闭式间隔物(井)。小图(a)示出一个第一板和一个第二板,其中,第一板具有一个封闭的间隔物(井)。小图(b)示出了在开放相态中沉积在第一板(示出),或第二板(未示出),或两者(未示出)的样品。小图(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间的流动),并降低样品的厚度,并(ii)使用间隔物和板来调节在闭合相态的样品厚度。

[0057] 图9示出使用封闭间隔物(井)调节样品厚度的另一个实施例。小图(a)示出一个第一板和第二板,其中,第一板具有一个封闭的间隔物(井)和在井内的至少一个间隔物。图(b)示出了在开放相态中沉积在第一板(示出),或第二板(未示出),或两者(未示出)的样品。小图(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间流动),并降低样品的厚度,和(ii)使用间隔物和板来调节在闭合相态的样品厚度。小图(d)示出了第一和第二板,其中,所述第一板没有在井内的间隔物的另一实施例。

[0058] 图10示意示出了本发明的一个示范实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的一个结合点和另一板的多个存储点的多重检测。小图(a)和(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图。

[0059] 图11示意性示出了本发明的另一个示例性实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的一个存储点和另一板的多个结合点的多重检测。小图(a)和(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图。

[0060] 图12示意性示出了本发明的进一步示例性实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的多个结合点和另一板的多个存储点的多重检测。小图(a)和(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图。

[0061] 图13A示意性地示出了使用包括有30微米间隔物高度的间隔物阵列的CROF装置来实现一个饱和温育时间小于30秒的测定法的一个QMAX测定法。

[0062] 图13B是对于捕获标签信号相对于温育时间的测量,这表明图13A所示的QMAX测定法的饱和温育时间不超过30秒。

[0063] 图14表示实验测量使用30微米间隙(对于CROF装置),带洗脱(异质测定法)和不带洗脱(均相测定)的QAX&QMAX测定法的LoD(检测限)。

[0064] 图15示出(i)在玻璃基板上滴加小体积样品的,和(ii)在CROF的闭合相态中扩大了该样品的面积的顶视图和横截面图。

[0065] 图16示出一些这里使用的术语的含义。

[0066] 图17示出版上的间隔物。照片顶视图:(a)46微米-x46微米的支柱间隔物大小和54微米的支柱间距离,(b)10微米×70微米的支柱间隔物大小和10um的支柱间距离;和扫描电子显微镜透视图:(c)30微米×40微米支柱间隔物大小和2微米间隔物高度,以及(d)30微米×40微米支柱间隔物大小和30微米间隔物高度。

[0067] 图18. IDS和板的厚度与材料对样品厚度的影响。对于不同板和间隔物材料,不同的板的厚度,以及不同的样品,测得的样品厚度偏差和均匀性vs.间隔物间距离(IDS)。CROF装置的基材是未处理的250微米厚的平面的PMMA(25.4毫米X25.4毫米的大小)。X板包括有一个周期性的支柱间隔物阵列,其中间隔物有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20um,50um,100um,200um,和500um的间隔物间距离,X板大小

为25.4毫米X25.4毫米,由PMMA或PS制成。样品为2微升血液(通过手指直接接触置放),唾液或PBS(吸管滴放),CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。在图中,标签—■—指代使用血液样品的175微米厚的PMMA板,标记—●—指代使用唾液样品的175微米厚的PMMA板,标记—▲—指代使用PBS的125微米厚的PMMA板,标记—▼—指代使用血液样品的50微米厚的PMMA板,标记—◀—指代使用血液样品的25微米厚的PS板。

[0068] 图19.测定样品的厚度偏差和均匀性vs.X板的 $ISD^4/(h^xE)$ (在图中 $X=1$)值。 ISD 是间隔物间距离, h 是材料的高度(厚度), E 是材料的杨氏模量, x 是具有1~3的典型范围的一个拟合参数。在测试中,CROF装置的基材是未处理的250微米厚的PMMA(大小25.4毫米x25.4毫米),X板为175微米厚未处理的PMMA,125微米厚的未处理的PS,50微米厚的未处理的PMMA和25微米厚的未处理的PS(大小25.4毫米x25.4毫米),X板包括有一个周期性的支柱间隔物阵列,其中间隔物有5微米高度,矩形形状(10×10 微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20um,50um,100um,200um,和500um的间隔物间距离,X板大小为25.4毫米X25.4毫米。样品为2微升血液(通过手指直接接触置放),唾液或PBS(吸管滴放)。CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。在 $ISD^4/h^{x=1}/E$ 的计算中,PMMA的杨氏模量为2.5GPa,PS为3.3GPa。当 $ISD^4/(hE)$ 的值大于 $10^6 \text{um}^3/\text{Gpa}$,CROF设备的性能变差。在图中,标签—■—指代使用血液样品的175微米厚的PMMA板,标记—●—指代使用唾液样品的175微米厚的PMMA板,标记—▲—指代使用PBS的125微米厚的PMMA板,标记—▼—指代使用血液样品的50微米厚的PMMA板,标记—◀—指代使用血液样品的25微米厚的PS板。

[0069] 图20.测定样品的厚度偏差和均匀性vs.对于X板上不同支柱间隔物的大小和高度的间隔物间距离。CROF装置的底板是未经处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米X25.4毫米)中,X板为125微米厚未处理的PS(大小25.4毫米x25.4毫米),包括一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有5微米间隔物高度与 10×10 微米横向尺寸(近均匀的横截面和圆角)的矩形形状,与20um,50um,100um,200um,和500um的间隔物间距离(标记—■—); 40×40 微米横向尺寸,与60um,150um,和200um的间隔物间距离(标记—●—);一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有12微米间隔物高度与有 40×40 微米横向尺寸的矩形形状,与150um和200um的间隔物间距离(标记—▲—);一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有22微米间隔物高度与有 40×40 微米横向尺寸的矩形形状,与150um和200um的间隔物间距离(标记—▼—);对于5微米CROF装置样品为2微升PBS,对于12微米CROF装置为5微升PBS,对于22微米CROF为9微升PBS(通过吸管滴放),CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。(图中的线为引导观察用。)

[0070] 图21.测量得样品的厚度偏差和均匀性vs.保持 ISD 对于所有样品小于150微米时支柱宽度与柱高度的不同比率。CROF设备的基材是未处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米X25.4毫米)。CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。图中样品的标记如下:

[0071] A.125微米厚PS制成的X板(标记—■—),从左至右依次为:1:X-板柱尺寸 10×10 微米,高度22微米, ISD 100微米,9微升PBS缓冲液,比率(w/h)=0.45;2:X-板柱尺寸 10×10 微米,高度为12微米, ISD 为100微米,5微米PBS缓冲液,比率(w/h)=0.83;3:X-板柱尺寸 40×40 微米,高度22微米, ISD 150微米,9微米PBS缓冲液,比率(w/h)=1.81;4:X-板柱尺寸 40

×40微米,高度5微米,ISD 100微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)=2;5:X-板柱尺寸40×40微米,高度为12微米,ISD 150微米,5微升PBS缓冲液,比率(w/h)=3.33;6:X-板柱尺寸40×40微米,高度5微米,ISD 150微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)=8;7:X-板柱尺寸70×70微米,高度5微米的,ISD 150微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)=14

[0072] B.175微米厚的PMMA制成的X板(标记—●—),从左至右依次为:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度22微米,ISD 100微米,5微升血,比率(w/h)=0.45;2:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)=2;3:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度30微米,ISD 80微米,12微升血,比率(w/h)=1;4:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度10微米,ISD 80微米,1微升血,比率(w/h)=3;5:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度在2微米,ISD 80微米,1微升血,比率(w/h)=15。

[0073] C.50微米厚PMMA制成的X板(标记—▲—),从左至右:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)=2。

[0074] D.25微米厚PS制成的X板(标记—▼—),从左至右:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)=2。

[0075] 图22.测量所得样品的厚度偏差和均匀性vs.间隔物间距离和支柱尺寸/X-板的高度,CROF设备的基材是未处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米X 25.4毫米),X板是125微米厚未处理的PS(大小25.4毫米x 25.4毫米),包括一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有5微米间隔物高度与10×10微米横向尺寸(近均匀的横截面和圆角)的矩形形状,与20um,50um,100um,200um,和500um的间隔物间距离(标记—■—);40×40微米横向尺寸,与60um,150um,和200um的间隔物间距离(标记—●—);一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有12微米间隔物高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150um和200um的间隔物间距离(标记—▲—);一个周期性的支柱间隔物阵列,其中支柱有22微米间隔物高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150um和200um的间隔物间距离(标记—▼—);对于5微米CROF装置样品为2微升PBS,对于12微米CROF装置为5微升PBS,对于22微米CROF为9微升PBS(通过吸管滴放),CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。(图中的线为引导观察用。)

[0076] 图23.测量得样品厚度偏差和均匀性vs.不同的X板厚度(25微米至525微米),固定的柱尺寸(30×38微米),柱体高度(在2微米)和间距距离(80×82微米),由未处理的聚甲基丙烯酸甲酯所制,其中基底是一个1mm厚的未处理的玻璃片(大小25.4毫米X 25.4毫米),样品为1微升由用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0077] 图24所示测量得间距尺寸偏差/CROF设备的均匀性(不同组合的标记:亲水-亲水—●—,亲水-疏水—■—),0.1微升至0.5微升的血液样品体积,相同的X-板柱尺寸(30×38um),柱高度(2um的)和间距距离(80×82微米),其中,基底为尺寸为1毫米厚的玻璃片(25.4毫米X 25.4毫米),X板为175um厚的PMMA制成(大小25.4毫米X 25.4毫米)。样品通过用手指直接接触以滴放,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0078] 图25.测量得样品的厚度偏差和均匀性vs.未经处理的1mm厚的玻璃所制基板(标记—■—)或未处理的250微米厚的PMMA所制基板(标记—●—)(大小25.4毫米x25.4毫米),

其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA,包括有一个周期性的支柱间隔物阵列,其中间隔物有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和50um, 100um, 200um, 和500um的间隔物间距离。样品为2微升通过用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持

[0079] 图26. 测量得样品厚度偏差和均匀性vs. 0至60秒的不同的手按压时间,其中CROF设备的基板为未处理的250微米厚的PMMA所制(大小25.4毫米x25.4毫米),其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA(大小25.4毫米x25.4毫米),包括有一个周期性的支柱间隔物阵列,其中间隔物有2微米高度,矩形形状(30×38微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和80um的间隔物间距离。样品为1微升通过用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持

[0080] 图27. 测量得样品的厚度偏差和均匀性vs. 对于使用随机球间隔物或常规柱状间隔物(X-板)的平均IDS,其中CROF设备的基板为未处理的1毫米厚的PMMA所制(大小25.4毫米x25.4毫米),其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA,包括有一个周期性的支柱间隔物阵列,其中间隔物有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20um, 50um, 和100um的间隔物间距离。样品为2微升PBS,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。球间隔物是碱石灰微型球,在PBS中平均直径为4微米(5%尺寸变化)。微球以 $4 \times 10^5/\mu\text{L}$, $0.9 \times 10^5/\mu\text{L}$, 和 $0.2 \times 10^5/\mu\text{L}$ 的浓度分布在PBS中,这相当于按压后20微米, 50微米和平均100微米的间隔物间距离。使用了两种盖板,未处理的220微米厚玻璃(大小25.4毫米X 25.4毫米)和未处理的175um厚的PMMA(大小25.4毫米X 25.4毫米)。所有设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。标记—■—指代使用X-板,标记—▲—指代使用球间隔物作为间隔物以及220微米厚的玻璃片为盖板,标记—▲—指代使用球间隔物作为间隔物以及175微米厚的PMMA为盖板,

[0081] 图28. 测得的样品厚度偏差和均匀性vs. 不同的X板厚度(25微米至350微米)和基板厚度(25微米至750微米)。X板具有固定的支柱尺寸(30×38微米),柱高度(10微米),间隔物间距离(80×82微米),厚度为25微米,175微米和350微米的未处理的PMMA制成,而基底由未处理PMMA制成(大小25.4毫米X 25.4毫米),厚度为25微米,50微米,175微米,250微米和750微米。样品为4uL用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。在图中,标记—■—指代使用25微米厚的X板,标记—●—指代使用175微米厚的X板,标记—▲—指代使用350微米厚的X板。。

[0082] 图29显示(a)在板间距(也就是样品厚度)为1微米,2微米,3微米和5微米的X-装置中的血细胞的显微镜照片(40倍)。1微米间距的X设备裂解大部分(99%)的红细胞,未溶解血小板。2微米间距的X设备的每个红细胞分离良好,且红细胞形成单层。在3微米间距的X设备可见一些堆积的红细胞,而在5微米间距的X设备可见更多堆积的红细胞。单层细胞(2微米间距的X装置)计数为最优。和(b)红血细胞面积(从二维顶视图图像测量)与CROF板的总横向面积的比率。该比率在2微米板间距(即样品厚度)下为最大,因为低于2微米一些红细胞被裂解而大于2微米时红细胞重叠并旋转,所有这些都都在二维图像中给出较小的红细胞面积。

[0083] 图30. 通过智能手机设备(a)进行BCI(由CROF和成像计数血细胞)的示意图,和(b)

该设备的照片。在使用智能手机BCI验血时,首先有一个卡(1)然后刺破他/她的手指(2),并通过触摸卡(2)直接从手指沉积一个小的血液量到CROF卡(2)上,用手指(4)关闭卡(3)并按压它,然后释放它(5),将卡插入光学适配器(5),最后使用智能电话(6)获取卡的照片,并所从拍摄的图片,由软件测量血容量和血细胞计数以及其他参数(6)。(b)一个真实的用于p-BCI的智能手机和适配器的照片。

[0084] 图31。具有不同板间距的CROF卡中鲜血(a)和存储的未稀释的全血(b)的明视场光学显微镜图像,和不同的约束间隙下红细胞行为的说明图。新鲜血液不含抗凝血剂,从刺破的手指获取,而存储的血液具有抗凝血剂,从商业供应商获得。(a-1至a-6)和(b-1至b-6):g分别等于2,2.2,2.6,3,5和10微米。(c)横截面视图与顶视图表示(1)在2微米间距的CROF红细胞相互分离,没有可观察的重叠;(2)在间距大于2微米的CROF中,红细胞相互重叠。

[0085] 图32。通过用(a)带有光学适配器的智慧型手机,和通过(b)带有DSLR相机的高分辨率显微镜对同一样品(CROF卡中的新鲜血液)获取的明场(1)和荧光(2)图像。图像显示带有光学适配器的智能手机具有与高分辨率显微镜和相机相近的血细胞照片质量。

[0086] 图33显示测得的一个典型白细胞和血小板的光强度vs.这些相互分离的细胞的位置。白细胞的直径(FWHM)在12微米左右,而血小板的直径(FWHM)在2微米左右。白细胞的最大强度大约大于血小板3倍。无论是强度还是面积都给出比血小板大108倍左右的值。因此,如果用较低的放大倍率(如4X),WBC的面积变小,其整体强度变低。血小板的信号在这种情况下将可以忽略不计。

[0087] 图34显示(a)绿色通道光强度vs.红色通道光强度的散点图;和(b)图像中594个白细胞的红/绿色通道光强度比的直方图。从这个图片,我们可以清楚地看到,这些细胞簇成三个不同的区域(阴影区为引导观察用),对应于三个主要的白色细胞亚群。

[0088] 示范实施例的详细描述

[0089] 下面的详细描述说明了本发明的一些实施例以举例的方式而不是通过限制的方式。的章节标题和本文所用的所有的副标题仅用于组织目的,并且不应当被解释为以任何方式限制所描述的主题。一个部分的标题和/或小标题下的内容不限于节标题和/或字幕,但适用于本发明的整个描述。

[0090] 任何出版物的引用是为之前的申请日的公开内容,并且不应被解释为是,本权利要求书没有资格由于在先发明而先于这些出版物的承认。此外,所提供的出版物的日期可以从其中可需要被独立地确认实际出版日期不同。

[0091] 本发明涉及,除其他事项外,方法,设备和系统,可以改善和/或加快量化,装订,和/或样品中的分析物和/或实体的感测。

[0092] 定义

[0093] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有如本公开所属本领域的普通技术人员所理解的相同的含义。虽然任何类似或等同于本文描述的方法和材料也可以用在实践或本教导的测试中,在此说明一些示例性的方法和材料。

[0094] 术语“多肽”,“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链,可以包含修饰的氨基酸,并且可被非氨基酸中断。该术语还包括已被修饰的氨基酸聚合物;例如,二硫键形成,糖基化,脂质化,乙酰化,磷酸化,或任何其他操作,如与标记组分缀合。如本文所用的术语“氨基酸”指的是天然和/或非天然或合

成的氨基酸,包括甘氨酸和D或L光学异构体,以及氨基酸类似物和拟肽。

[0095] 术语“多核苷酸”,“核苷酸”,“核苷酸序列”,“核酸”,“核酸分子”,“核酸序列”和“寡核苷酸”可互换使用,并且取决于所述术语的上下文还可以包括每一个分别的复数。它们是指任何长度的核苷酸的聚合形式,无论是脱氧核糖核苷酸(DNA)或核糖核苷酸(RNA),或其类似物。多核苷酸可具有任何三维结构,并且可以执行任何功能,已知或未知的。以下是非限制性的多核苷酸的实例:编码或非编码从连锁分析,外显子,内含子,信使RNA(mRNA)中定义的基因或基因片段,基因座(基因座)的区域,转移RNA(tRNA的),核糖体RNA,核酶,小干扰RNA(siRNA)的,微小RNA(miRNA)的,小核RNA(snRNA的),cDNA的,任意序列的重组多核苷酸,分支多核苷酸,质粒,载体,分离的DNA(A,B和Z的结构),PNA,锁核酸(LNA),TNA(treose核酸),任意序列的分离的RNA,核酸探针和引物。低噪声放大器,通常被称为不可访问的RNA,是一种修饰的RNA核苷酸。一个LNA核苷酸的核糖部分被修改以额外的桥连接的2'和4'碳。桥“锁定”在3'-内型结构构象的核糖,这通常是在DNA或RNA的A型,其可显著提高热稳定性找到。

[0096] 如本文所用的术语“捕获剂”,是指一种结合成员,例如核酸分子,多肽分子,或任何其他分子或化合物,其可以特异性结合于它的结合配体,例如,互补于第一核酸分子的含有核苷酸的第二核酸分子序列,特异性识别抗原的抗体,被抗体特异性识别的抗原,可以特异性结合目标分子的核酸适体等。捕获剂可以通过特异性结合到目标分子从不同分子的异质混合物中浓缩目标分子。结合可以是非共价或共价的。结合成员及其结合配体之间的亲合性,由 K_D (解离常数)描述,该 K_D 为 $10^{-5}M$ 或更小, $10^{-6}M$ 或更小, $10^{-7}M$ 或更小,包括 $10^{-8}M$ 或更小,例如 $10^{-9}M$ 或更小, $10^{-10}M$ 或更小, $10^{-11}M$ 或更小, $10^{-12}M$ 或更小, $10^{-13}M$ 或更小, $10^{-14}M$ 或更小, $10^{-15}M$ 或更小,包括 $10^{-16}M$ 或更小。“亲和力”是指结合强度,增加的结合亲和力与更低的 K_D 相关。

[0097] 术语“次级捕获剂”,同时也可称为“探测剂”,是指一组具有对抗原具有高度特异性亲和力的生物分子或化学化合物。所述次级捕获剂可以链接上光学检测的标记,例如,酶,荧光标记,或本身可以由通过生物耦合被链接到光学检测标记的另一探测剂检测(赫曼森,“生物结合技术”学术出版社,第2版,2008年)。

[0098] 术语“捕获剂反应性基团”是指在分子中的化学功能的部分,其是与捕获剂反应,也就是说,可与捕获剂的集团反应(如,羟基,巯基,羧基或胺基)以产生一个稳定的强烈的,例如,共价键。

[0099] 术语“特异性结合”和“选择性结合”是指捕获剂优先结合到特定的存在于不同目标分析物的异质混合物中的目标分析物的能力。特定或选择性结合相互作用将样品中的预期的(例如,活动)和不希望的(例如,不活动)的目标分析物区分,通常超过约10至100倍或更多(例如,大于约1000或10,000倍)。

[0100] 术语“抗体”,如本文中所使用的,是指由基本以所识别的免疫球蛋白基因的全部或部分编码的一种或多种多肽组成的蛋白质。公认的免疫球蛋白基因,例如在人中,包括kappa(κ),lamda(λ)和重链基因位点,它们共同构成了无数的可变区基因,以及恒定区基因mu(μ),delta(δ),gamma(γ),sigma(σ),和alpha(α),其分别编码IgM抗体,IgD的,IgG的,IgE和IgA的抗体“同种型”或“类”。本文的抗体包括全长抗体和抗体片段,并且可以指来自任何生物体,工程化的抗体,或用于试验,治疗或其它目的重组产生的抗体与天然抗体。术

语“抗体”包括全长抗体和抗体片段,如在本领域中是已知的,例如Fab,的Fab',F(ab')₂,FV,scFv,或抗体的其他抗原结合亚序列,或者产生通过完整抗体的修饰或那些用重组DNA技术从头合成的。

[0101] 术语“抗体的表位”,“表位”,“抗原”在本文中可互换使用,指的是由抗体结合的生物分子。抗体的表位可以包括蛋白质,碳水化合物,核酸,激素,受体,肿瘤标记,和类似物,以及它们的混合物。抗体表位也可以是一组抗体的表位,如来自大小排阻层析柱洗脱的蛋白的特定部分。更进一步,抗体表位也可以被确定为从一个表达文库的指定克隆或随机的表位库。

[0102] 如本文所用的“过敏原”,是当个体暴露于物质,例如,通过皮肤接触,摄取,吸入,眼接触等引起个体中的过敏性,炎性反应的物质。过敏原可以在由下列组别的来源中找到:天然和人造纤维(棉,麻,毛,丝,柚木,等,木材,稻草和其他尘埃);树花粉(桉木,桦木,榛树,柞木,杨木,棕榈和其他人);杂草,花(豚草,蒿,等等);草和玉米(羊茅,梯牧草,黑麦,小麦,玉米,早熟禾,等);药物(抗生素,抗菌药,镇痛药和非类固醇消炎药,麻醉剂和肌肉松弛剂,激素,和其它物质);表皮和动物过敏原(动物的上皮细胞,鸟类,血清和其他的羽毛);霉菌和酵母菌(青霉符号,枝孢属,烟曲霉,毛霉,等等);昆虫毒液;防腐剂(对羟基苯甲酸丁酯,山梨酸,苯甲酸,等);精液(精液);寄生和螨过敏原(蛔虫,屋尘螨,粉尘螨,Euroglyphus maynei,及其他);职业和业余爱好的过敏原(咖啡豆,甲醛,胶乳,氯胺,染料和其他);食物过敏原(蛋制品,奶制品和奶酪,肉制品,鱼类和海鲜,豆制品,香菇,面粉和谷类,蔬菜,瓜类作物,豆类,香草和香料,坚果,柑橘等水果,浆果,茶和草药,营养补充剂等产品)等。

[0103] 术语“杂交”是指一个或多个多核苷酸反应通过核苷酸残基的碱基之间的氢键键合以形成稳定的复合物的反应。氢键可通过Watson-Crick碱基配对发生,Hoogsteen结合或任何其他序列特异性方式。该复合物可以包括两条链形成的双链结构,三股或更多股形成多链复合物中,单个自杂交链,或这些的任何组合。如本领域技术人员众所周知,杂交可以在各种严格条件下进行。合适的杂交条件是这样的,一个捕获序列和目标核酸之间的识别相互作用既是足够特异性也是足够稳定的。增加杂交反应的严格性的条件是广泛已知和发表的。参见,例如,Green等人,(2012),下同。

[0104] 术语“蛋白质”是指任何长度的氨基酸,即大于2个氨基酸,大于约5个氨基酸,大于约10个氨基酸,大于约20个氨基酸,大于约50个氨基酸,大于约100个氨基酸,大于约200个氨基酸,大于约500个氨基酸,大于约1000个氨基酸,或大于约2000个氨基酸的聚合形式,通常不大于约10,000的氨基酸,其可包括编码和非编码的氨基酸,化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸和具有修饰的肽骨架的多肽。该术语包括融合蛋白,包括,但不限于,融合蛋白与异源氨基酸序列,融合异源和同源前导序列,具有或不具有N-末端甲硫氨酸残基;免疫学标记的蛋白质;融合蛋白具有可检测融合伴侣,例如,融合蛋白,包括作为融合伴侣的荧光蛋白, β 半乳糖苷酶,萤光素酶,等等;和类似物。这些术语还包括那些经翻译后在细胞中修饰,例如,糖基化,裂解,分泌,异戊二烯化,羧化,磷酸化等,和多肽与二级或三级结构,和多肽被强结合,例如,多肽共价或非共价,对其他部分,例如,其它多肽,原子,辅因子,等等。

[0105] 如本文所用的术语“互补”是指一种核苷酸序列,通过氢键与感兴趣的目标核酸碱基配对。在规范的沃森-克里克碱基配对,腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)碱基配对,鸟嘌呤(G)与DNA的胞嘧啶(C)碱基配对。在RNA中,胸腺嘧啶被尿嘧啶(U)取代。这样,A是与T互补,G与C。

通常,“互补”指的是对所关注的目标完全互补的核苷酸序列,使得在每个序列的核苷酸是在目标核酸的每个核苷酸互补酸在相应的位置上。当一个核苷酸序列不是完全互补的(100%互补),以非目标序列,但仍可以碱基配对的非目标序列,由于核苷酸序列的非目标序列的某些延伸的互补性,百分互补可以是计算以评估非特异性(脱目标)结合的可能性。在一般情况下,一个50%或更低的互补性不会导致非特异性结合。另外,70%或更少的互补性在严格杂交条件下可能不会导致非特异性结合。术语“核糖核酸”和这里使用的“RNA”是指一个核糖核苷酸组成的聚合物。术语“脱氧核糖核酸”和如本文所用的“DNA”指脱氧核糖核苷酸组成的聚合物。

[0106] 本文所用的术语“寡核苷酸”是指约10至200个核苷酸的单链核苷酸多聚体,长度可达300个核苷酸,或更长,例如,长度最多为500个核苷酸或更长。寡核苷酸可以是合成的,并且在某些实施方案中,小于300个核苷酸长。

[0107] 在此使用的术语“附着”指的是强的,例如,接合一个分子到另一个的共价或非共价键。这里使用的“表面附着”一词指的是牢固地附着到表面上的分子。

[0108] 如本文所用的术语“样品”涉及的时含有一种或多种分析物或感兴趣实体的材料或材料混合物。在具体的实施方案中,样品可以从生物样品如细胞,组织,体液,和粪便获得。感兴趣的体液包括但不限于,羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分馏血液,血浆,血清等),乳汁,脑脊髓液(CSF),耳垢(耳垢),乳糜,馨,内淋巴,外淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜,胸膜液,脓,大黄,唾液,皮脂(皮肤油),精液,唾液,汗液,滑液,流泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝水。在具体的实施方案中,样品可以来自受试者,例如人类获得,并且可以在受试者测定在使用前进行处理。例如,在分析之前,蛋白质/核酸可以从使用前的组织样品中,以公知的方法,萃取。在具体的实施方案中,样品可以是临床样品,例如,从患者采集的试样。

[0109] 术语“分析物”是指分子(例如,蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其它分子),细胞,组织,病毒和具有不同的形状的纳米颗粒。术语“化验”/“测定”是指测试样品以检测分析物的存在和/或丰度。

[0110] 如本文中所使用的,术语“确定”,“测量”和“评估”和“测定”可互换使用,并包括定量和定性测定。

[0111] 如本文所用,术语“发光标记”指能够在外部激励发光时的标记。这可以是光致发光。荧光标记(其包括染料分子或量子点),和发光标记(例如,电或化学发光标记物)都是不同类型的发光标记。外部激励对于荧光是光(光子),对于电发光时电流,而对于化学发光时化学反应。外部激励可以是上述的组合。

[0112] “被标记分析物”一词指的是被发光标记可检测地标记地分析物,使得该分析物可通过评估标记的存在来检测标记的分析物。一个标记分析物可以被直接标记(即,分析物本身可直接耦合到一个标签,例如,通过很强的键,例如共价或非共价键),或一个标记的分析物可以被间接标记(即分析物是由被直接标记的次级捕获剂)。

[0113] 术语“杂交”和“结合”,相对于核酸,可以互换使用。术语“捕获剂/分析物复合物”是指分析物与捕获剂的特定结合产生的复合物。捕获剂和用于捕获剂的分析物通常会在彼此“特异性结合的条件”或“结合适于特定条件”下特异性结合,在这里这样的条件是那些条件(盐浓度,pH值,洗脱剂,蛋白质方面下浓度,温度等),其允许捕获剂和分析物之间地结合

在溶液中进行。这种条件,特别是对于抗体及其抗原和核酸杂交的技术,是公知的。(见,例如,Harlow和Lane(*Antibodies:A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor,N.Y.(1989)和Ausubel等,*Short Protocols in Molecular Biology*,5th ed.,Wiley&Sons,2002)。

[0114] 相对于捕获剂结合于分析物,例如,生物标记物,生物分子,合成的有机化合物,无机化合物等,术语“特异性结合的条件”和“条件的适当结合”如本文所用指的是产生核酸双链体,或蛋白质/蛋白的条件(例如,抗体/抗原)复合物,蛋白质/化合物复合物,包含特异性结合彼此的分子对的适体/目标复合物,同时,不利于不特异性结合彼此的分子对之间的复合物的形成。特异性结合的条件是杂交和洗脱条件的求和或组合(整体),并在必要时可以包括洗脱和阻断步骤。对于核酸杂交,特异性结合条件可以在温育42℃于溶液中进行,溶液:50%甲酰胺,5×SSC(150mM的氯化钠,15mM的柠檬酸三钠),50mM磷酸钠(pH7.6)中稀释,5×Denhardt氏溶液,10%硫酸葡聚糖和20微克/ml变性,剪切的鲑鱼精DNA,接着在约65℃由0.1×SSC洗脱滤膜。对于对抗原的抗体结合,特异性结合的条件可以通过在封闭液(例如,PBS中的3%BSA或脱脂乳)封闭含有抗体的第一板与稀释含有分析物的样品,随后温育封闭液来实现。该温育后,将第一板在洗脱溶液(例如PBS+Tween 20)洗脱,并用次级捕获抗体(探测抗体,其识别抗原的第二个站点)一起温育。次级捕获抗体可以耦合有光学可检测标记,例如,荧光团如IRDye800CW,Alexa的790,Dylight 800。另一洗脱后,结合的次级捕获抗体的存在可被检测到。本领域的技术人员了解可被修改的以增加检测信号,并减少背景噪声的参数。

[0115] 受试者可以是任何人或非人动物。对象可以是执行本方法的人,一个病人,在测试中心的客户等。如本文所用的“分析物”,是适用于本发明的方法测试的任何物质。

[0116] 如本文所使用的,“诊断样品”指的是作为身体副产品的任何生物样品,如已从受试者得到的体液。诊断样品可以直接从液体形式的受试者中获得,或者可以通过首先将身体副产物置于溶液中从受试者得到,例如缓冲液。示例性的诊断的样品包括,但不限于,唾液,血清,血液,痰,尿,汗,泪液,精液,粪便,呼吸,活组织检查,粘液,等等。如本文中所使用的,“环境样品”指的是从环境中获得的任何样品。环境样品包括从河流液体样品,湖泊,池塘,海洋,冰川,冰山,雨,雪,污水,水库,自来水,饮用水等;从土壤,堆肥,沙子,岩石,混凝土,木材,砖,污水等固体样品;和从空气中,水中散热孔,工业废气,汽车废气等气体样品。典型地,不以液体形式的样品的样品在本发明的方法分析前转化为液体形式。

[0117] 如本文所使用的,“食品样品”指的是适于动物食用的,例如,人食用的任何样品。食料样品可以包括原材料,熟食品,植物的植物和动物来源的,预处理食品以及部分或完全加工的食品等。通常,未在液体形式的样品在本发明的方法所述的分析前转化为液体形式的样品。

[0118] 术语“诊断”,如本文所用,是指使用的方法或用于识别分析物的,预测的结果和/或预测疾病或感兴趣的病症的治疗的反应。诊断可包括预测具有疾病或病症的可能性或易感性,估计疾病或病症的严重程度,确定疾病或病症进展的风险,评估对治疗的临床反应,和/或预测对治疗的反应。

[0119] 如本文所使用的“生物标记物”,是感兴趣的样品中找到的任何分子或化合物,并且已知是与该样品所来源的受试者的疾病或感兴趣的状况的诊断或存在或倾向相关联。生

物标记物包括,但不限于,已知的与疾病或感兴趣的条件下相关联的,多肽或复合物(例如,抗原,抗体),核酸(例如,DNA,miRNA的,mRNA)的,药物的代谢产物,脂质,碳水化合物,激素,维生素等。

[0120] 相对于诊断健康状况中如本文使用的“条件”,是指精神或身体的生理状态,与其他生理状态区分。一种健康状态在某些情况下,可能不被诊断为一种疾病。感兴趣的示例性健康状况包括,但不限于,营养保健;老化;暴露于环境中的毒素,杀虫剂,除草剂,合成的激素类似物;怀孕;绝经;男性更年期;睡觉;强调;糖尿病前期;行使;疲劳;化学平衡;等。术语“生物素部分”是指包括生物素结构部分结合以在亲和链霉生物素或生物素类似物如脱硫生物素,oxybiotin,2'-亚氨基生物素,diaminobiotin,生物素亚砷,生物胞素等的亲和剂至少10⁻⁸M。生物素亲和剂还可以包括一个连接体,例如,—LC生物素,—LC-LC-生物素,—SLC生物素或—PEG_n生物素,其中n是3-12。

[0121] 术语“链霉”指的是链霉和亲和素,以及以高亲和力结合生物素的它们的任何变体。术语“标记物”,如在描述的生物样品中使用,是指生物样品中存在或丰度与疾病或病症相关的分析物。

[0122] 术语“键”包括共价和非共价键,包括氢键,离子键和由范德华力产生的键。

[0123] 术语“增强”是指对于信号幅度的增加,例如,至少10倍的增加,至少100倍的增加,至少1000倍,至少10,000倍的增加,或至少100,000倍增加的信号。

[0124] 术语“实体”是指,但不限于蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,分子(或大或小),细胞,组织,病毒,具有不同形状的纳米颗粒,这将结合于“结合点”。该实体包括捕获试剂,探测剂和阻断剂。“实体”包括“分析物”,而这两个术语可以互换使用。

[0125] 术语“结合点”指的是在固体表面上的位置,可以在样品中固定“实体”。

[0126] 术语“实体伙伴”指的是,但不限于蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,分子(或大或小),细胞,组织,病毒,具有不同形状的纳米颗粒,其在“结合点”上并将结合实体。实体,包括但不限于捕获剂,探测剂,二次探测剂,或“捕获剂/分析物复合物”。

[0127] 术语“目标分析物”或“目标实体”指的是将具体分析特定的分析物(即检测到的),或者将具体结合至结合点的特定的实体。

[0128] 术语“智能电话”或“移动电话”,它可以互换使用,是指具有一个照相机和通信硬件和软件,可以使用相机拍摄图像,处理由照相机拍摄的图像,和将数据传输到远处的手机。在一些实施方案中,智能手机有闪光灯。术语“光”指的是,除非特别指明,具有各种波长的电磁辐射。

[0129] 术语一个区域的“平均线性尺寸”被定义为等于该区域面积乘以4再除以该区域的周边的长度。例如,该区域为矩形,具有宽度w和长度L,则该矩形的线性尺寸的平均值为 $4 * W * L / (2 * (L + W))$ (其中“*”表示乘,“/”表示除)。根据这个定义,平均线性尺寸,分别为,W为宽度W的平方,以及d为具有直径d的圆。该区域包括,但不限于,结合点或存储部位的区域。

[0130] 周期性结构阵列的术语“周期”是指从一个结构的中心到最近的相邻相同结构的中心的距离。

[0131] 术语“存储点”是指在平板上的区域,其中,所述点包含被加入到样品的试剂,该试剂能够被溶解到与试剂接触的样品中,并在样品中扩散。

[0132] 术语“相关”是指它与分析物检测,样品中或板上分析物或实体的定量和/或控制,

被添加到样品或板的试剂的控制或定量或相关。

[0133] 术语表面的“亲水性”，“湿度”或“湿”是指在表面上的样品的接触角小于90度。

[0134] 术语表面的“疏水性”，“非润湿”，或“不湿”意味着表面上的样品的接触角等于或大于90度。

[0135] 术语一个量的“变化”，是指实际值和所需值或数量的平均值之间的差。术语数量的“相对变化”指的是变化到所需的值或量的平均值的比值。例如，如果一个量的理想值是Q，实际值是(Q+)，则是变化和/(Q+)是相对变化。术语“相对样品厚度的变化”指的是样品厚度变化与平均样品厚度的比率。术语“光学透明”是指一种材料，它允许光信号的传输，其中术语“光信号”指的是，除非另有说明，用于探测样品，板，间隔物，规模的标记，使用的任何结构，或者它们的任意组合中一个属性的光信号。

[0136] 术语“非样品体量”指的是，在一个CROF过程的闭合构造，即不被样品而是由不属于样品的其他对象占据的板之间的容积。这些对象包括，但不限于，间隔物，气泡，粉尘，或者它们的任意组合。非样品体量常混于样品中。

[0137] 术语“饱和的温育时间”指的是所需要的两种分子之间的结合以达到平衡的时间（例如捕获剂和分析物）。对于表面固定测定中，“饱和的温育时间”是指样品中的目标分析物（实体）和板面上的结合点之间的结合达到平衡所需的时间，即结合点所捕获并固定的目标分子（实体）的平均数目在统计学上是几乎不变的之后的时间。

[0138] 在一些情况下，“被分析物”和“结合体”和“实体”是可互换的。

[0139] “处理器”，“通信装置”，“移动装置”，指的是包含基本的电子元件（包括一个或多个存储器，输入输出接口，中央处理单元，指令，网络接口，电源的计算机系统，等等）来执行计算任务。该计算机系统可以是包含指令以执行特定任务，或者可以是专用计算机的通用计算机。“站点”或在描述信号或数据通信中使用的“位置”是指其中一个装置或主体所在的局部区域。一个站点可以指一个房间的建筑结构内，如一个医院，或一个较大的地理限定区域之内的一个较小的地理定义的区域。远程站点或远程位置，说的是该远离第二站点的第一站点，是物理上从第二站点按距离和/或通过物理障碍分离的第一部位。远程站点可以是建筑结构中第二部位不同房间的第一站点，与第二站点在不同的建筑结构的第一个站点，与第二站点在不同城市的第一站点，等等。

[0140] 如本文所用，术语“样品收集站点”指的是在其中样品可以从受试者中获得的位置。样品采集网站可能是，例如，一个零售商位置（例如，连锁店，药店，超市或百货公司），供应商的办公室，医生的办公室，医院，主体的家，一个军事要地，雇主站点或其他网站或网站的组合。如本文所用，术语“样品收集站点”也可指一个业务，服务，或与站点相关联的机构的业主或代表。

[0141] 如本文所用，“原始数据”包括从传感器，摄像机和其它部件和仪器，其检测或测量的属性或样品的特性的信号和直接读取。例如，原始数据包括来自传感器，检测器，计数器，相机或其他组件或设备的电压或电流输出；原始数据包括来自传感器的数字或模拟数字输出，检测器，计数器，相机或其他组件或设备；和原始数据可以包括来自传感器的数字化或滤波的输出，检测器，计数器，相机或其他组件或设备。例如，原始数据包括光度计的输出，其可以包括在其中与由光度计检测到的光子的数目“相对光单位”的输出。原始数据可以包括由照相机产生的JPEG, bitmap或其它图像文件。原始数据可以包括细胞计数；光强度

(在特定波长,或等于或一个波长范围内);检测器输出的变化率;两次类似测量值之间的差;检测所得的事件次数;预先设定的范围或满足预先设定的标准之内检测到的事件的数目;一定时间周期内测量,或视场之内的最小值;一定时间周期内测量,或视场之内的最大值;和其它数据。足够多时,原始数据可以在不进一步处理或分析时使用。在其他情况下,原始数据可以被进一步处理,或用于与样品,受试者相关的进一步分析,或用于其它目的进一步分析。

[0142] “样品的代表”,是指有代表性的样品的输出信号或原始数据,是指反映了样品或其部分的测量所得性质的输出信号或原始数据,例如,反映样品中存在的感兴趣的分析物的量。例如,有代表性的样品的荧光信号的强度在包含更多感兴趣的分析物的被荧光标记的样品中比在包含更少感兴趣的分析物的被荧光标记的样品更强烈。

[0143] 如本文中所使用的,“临床实验室改进修正案”和“CLIA”是指42U.S.C.的F部分,例如,subpart 2,sections 263A至263a7,美国联邦法规42CFR Chapter W(sections 493.1至493.2001),及相关法律,法规和修正。与CLIA相关条例由中心卫生和人类服务的美国部门的医疗保险和医疗补助服务中心(CMS)管理。

[0144] 如本文所用的“过程管理”,是指一系列的用于规划和/或监测过程表现,如样品分析过程,的方法和系统。

[0145] 如对阅读本公开内容的那些本领域的技术人员所显而易见的,本发明每个描述和示出的各个实施例具有分立的元件和特点,其可在不脱离本教导的范围或精神的情况下,同其它几个实施方式的特征相分离或结合。任何所述方法可以依所列举的事件的顺序或者以逻辑上可能的任何其它次序进行。

[0146] 一个本领域的技术人员将理解的是,本发明并不限于将其应用到布置或列于此的说明书或附图中的构造的细节,元件的安排,类别选择,加权,预先确定的信号,或是这些步骤。本发明能够被以许多不同的方式实施或执行。

[0147] 本公开内容的各种实施方式的实践使用,除非另有说明,本领域的技术范围内,免疫学,生物化学,化学,分子生物学,微生物学,细胞生物学,基因组学和重组DNA的常规技术。见Green和Sambrook,分子克隆:实验室手册,第4版(2012年);CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY(F.M.Ausubel等编,(1987));the series METHODS IN ENZYMOLOGY(学术出版社公司):PCR 2:实用技术(M.J.MacPherson,B.D.Hames和G.R.Taylor编(1995)),Harlow和Lane,合编(1988年)ANTIBODIES,A LABORATORY MANUAL,and ANIMAL CELL CULTURE(R.I.Freshney编(1987))。

[0148] 必须指出,如本文和所附权利要求书中所使用的,单数形式“一”,“一个”,和“该”包括复数对象,除非上下文另有明确规定,例如,使用单词“单”时。例如,提及“一种分析物”包括单个分析物和多个分析物,提及“一种捕获剂”包括单个捕获剂和多个捕获剂,提及“一种探测剂”包括单个探测剂和多个探测剂和提及“试剂”包括一个试剂和多个试剂。

[0149] 压缩受控开放流

[0150] 在化验中,样品或试剂的操纵可导致在化验的改进。操纵包括,但不限于,操纵一个样品和/或试剂的几何形状和位置,样品和试剂的混合或结合,和样品或试剂与板的接触面积。

[0151] 本发明的许多实施方案使用一种方法操纵样品和/或试剂的几何尺寸,位置,接触

区和混合,该方法称为“压缩受控开放流(CROF)”,以及执行CROF的装置。

[0152] “压缩开流(COF)”一词指的是通过(i)放置至少样品的部分在其他板之上和(ii)然后通过推动两板朝向彼此移动压缩两个板间的所述样品;其中压缩减小至少样品的一部分的厚度,使样品流进板之间的开放空间,从而改变沉积在板上的可流动样品的形状。术语“压缩受控开放流”或“CROF”(或“自校准压缩开放流”或“SCOF”或“SCCOF”)是指一种特定类型的COF,其中的一部分或全部样品的最终厚度在压缩后是通过间隔物“调节”,其中,所述间隔物被放置在两个板之间。

[0153] 在一个CROF术语“的一部分或全部样品的最终厚度由间隔物调节”是指一个CROF期间,一旦达到特定的样品的厚度,在两板的相对运动和样品厚度停止因而变化,其中特定厚度由间隔物决定。

[0154] CROF的方法的一个实施方案,如图所示。1,包括:

[0155] (a) 获得一个可流动的样品;

[0156] (b) 获得一个第一板和一个第二板,两板可相对于彼此移动进入不同形态,其中,每个板具有一个样品接触表面,该面基本上是平整的,一个或两个板包括有间隔物,并且其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度,间隔物在相应的样品接触表面上;

[0157] (c) 当所述两板处于开放相态时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放相态是其中两个板被部分地或完全分离开的相态,并且板之间的间隔不由间隔物调节;和

[0158] (d) 完成(c)后,通过使所述板到闭合相态,其中,在闭合相态中,板彼此面对,间隔物和样品的一个相关体量在板之间,样品相关体量的厚度由板和间隔物调节,其中,所述相关的相关体量是样品的至少一部分,其中当样品扩展时,样品在两个板之间横向流动。

[0159] 术语“板”指的是,除非被另外指定,在CROF过程中使用的板,即具有可以与另一块板一起使用的表面的固体,以压缩位于两个板之间的样品,以减少样品的厚度。

[0160] 术语“板”或“在一对板的”,是指在一个CROF过程的两个板。

[0161] 术语“第一板”或“第二板”是指在一个CROF过程使用的板。

[0162] 术语“板彼此面对的”是指其中一对板的至少部分彼此面对的情况。

[0163] 术语“间隔物”或“止动件”指的是,除非另有说明,即被放置在两个板之间,设置两个板压在一起时能得出的两个板之间间距的最小值的机械物件。即,在压缩时,间隔物将停止两板的相对运动,以防止板间距变得比预先设定的(即,预定的)值还小。有两种类型的间隔物的:“开放间隔物”和“封闭间隔物”。

[0164] 术语“开放的间隔物”是指间隔物具有一个形状,其允许液体围绕间隔物的整个周边和通过间隔物流动。例如,立柱是一个开放的间隔物。

[0165] “封闭的间隔物”这个术语是指具有一个液体不能围绕间隔物的整个周边流动和不能流过间隔物的形状的形状的间隔物。例如,一个环形间隔物是对于环内的液体的一个封闭的间隔物,其中所述环间隔物内的液体保持在环内并且不能去外侧(外周)。

[0166] 术语“间隔物具有一个预定的高度”及“间隔物具有预定的间隔物间距离”是指,该间隔物的高度的值和间隔物间距离在CROF过程之前时已知的。如果间隔物的高度和间隔物之间的距离的值在CROF过程之前未知,它就不是预定的。例如,喷洒在板上的珠子作为间隔物,其中,珠粒在板上降落的位置随机,间隔物间距离不是预定的。不规定间间隔物的距离的另一个例子是,间隔物在CROF过程中移动。

[0167] 在一个CROF过程中的术语“间隔物被固定在其相应的板上”，是指所述间隔物附着于板的一个位置而该附着在CROF期间被保持(即在间隔物上相应的板的位置的确不变)。“间隔物被固定在其相应的板上”的一个例子是，一个间隔物由一块板的材料整体地制成，且相对于板表面的间隔物的位置CROF期间不会改变。“间隔物不固定在其相应的板”的一个例子是，一个间隔物由粘合剂被胶合到板上，而利用该板的过程中，CROF期间，粘合剂不能将间隔物维持在其板表面上的原始位置且间隔物从板表面上的原始位置移动开。

[0168] 术语“间隔物被整体固定到板上”是指间隔物和板在使用类似单件一样活动，间隔物不会移动或从板上其原始位置移开。

[0169] CROF过程中的术语“开放相态”是指一个相态，其中两个板部分或完全分离且板之间的间距不受间隔物调节。

[0170] CROF过程中的术语“闭合相态”是指其中所述板彼此面对的相态，所述间隔物和样品的相关体量在两板之间，样品的相关体量的厚度为由板和间隔物，其中，所述的相关体量至少是样品的整体的一部分。

[0171] CROF过程中的术语“样品厚度由板和间隔物调节”是指对所述板，样品，间隔物，以及所述板压缩方法的一个给定条件下，在板的闭合相态中至少的一部分样品的厚度可从间隔物和板的特性预定的。

[0172] 术语“内表面”，或在CROF装置的板的“样品面”指的是接触到样品的板的表面，而板的另一表面(即不接触样品)被称为“外表面”。

[0173] CROF装置的术语“X-板”指的是一个板，其包括有在板的样品表面上的间隔物，其中，所述间隔物具有预定的间隔物间距离和间隔物的高度，并且其中，所述间隔物中的至少一个在样品接触区域内。

[0174] 术语“CROF设备”是指执行CROF过程的装置。术语“CROFed”是指一个CROF过程被使用过。例如，“一个样品CROFed”一词意味着样品被放入一个CROF装置内，进行CROF处理，并且样品保持，除非另有说明，在CROF的最终相态。

[0175] 术语“CROF板”指的是在执行CROF过程中使用的两个板。

[0176] 术语“表面平滑度”或平面表面的“表面平滑度变化”是指在比几微米左右或更小的短距离内一个平面与一个完美的平面的平均偏差。表面平滑度与表面平整度变化不同。平面表面可以有一个良好的表面平整度，而且表面平滑度差。

[0177] 术语“表面平整”或平面表面的“表面平整性变化”是指大约或大于10微米的较长距离上一个平面表面与一个完美的平面的平均偏离。表面平整度的变化与表面平滑性的变化不同。平面表面可以有一个良好的表面平滑度，但表面平整度差(即大的表面平整度偏差)。

[0178] 板或样品的术语“相对的表面平整度”是在板表面平整度的变化到最终的样品厚度的比率。

[0179] 在CROF过程中，术语“最终样品厚度”指的是，除非另有说明，样品的在CROF过程中板的闭合相态的厚度。

[0180] CROF术语“压缩方法”，是指将两板从开放相态带入闭合相态的方法。

[0181] “感兴趣区域”或板的“感兴趣的区域”这个术语指的是板的某个有关该板执行的功能的区域。

[0182] 术语“至多”是指“等于或小于”。例如,间隔物高度为至多1微米,这意味着该间隔物高度是等于或小于1微米。

[0183] 术语“样品区域”指的是在大致平行于所述板之间空间并垂直于样品厚度的样品的某个区域。

[0184] 术语“样品厚度”指的是在与两板彼此面对的表面(例如,在板之间的间隔的方向上)垂直的方向上的样品尺寸。

[0185] 术语“板间距”指的是两块板的内表面之间的距离。

[0186] CROF术语“最终样品厚度的偏差”是指预定的间隔物的高度(从间隔物的制造测定)和最终样品的厚度之间的差值,其中平均最终样品厚度是在给定区域上的平均值(例如:在超过1.60厘米乘1.6厘米的面积上25个不同点(相隔4毫米)的平均值)。

[0187] CROF过程的术语“测得的最终样品厚度的均匀性”是指测量得到的最终样品的厚度在给定的样品区的标准偏差(例如相对于平均的标准偏差)。

[0188] 术语“样品的相关体量”,和CROF过程中的“样品的相关区域”分别指的是,CROF过程中沉积在板上的试样的整个或部分的体量体积和区域面积,其与通过相应的方法或装置执行的功能是相关的,其中所述功能包括,但不限于,降低分析物或实体结合所需时间,检测分析物,量化体积,浓度的量化,混合试剂,或控制(分析,实体或试剂)的浓度。

[0189] 术语“一些实施方案”,“在一些实施方案中”,“在本发明中,在一些实施方案”,“实施例”,“一个实施例”,“另一实施方案”,“某些实施方案”,“多个实施例中”,或类似的指,除非特别说明,应用到全部公开(即整个发明)的实施例(多个)。

[0190] 术语“高度”或在CROF处理的对象的“厚度”指的是,除非特别说明,即在垂直于板的表面的方向上物体的尺寸。例如,间隔物的高度是垂直于板的表面的方向上间隔物的尺寸,间隔物高度和间隔物厚度是指同样的事情。

[0191] CROF过程中术语一个物体的“面积”指的是,除非特别说明,该物体平行于板的表面方向上的面积。例如,间隔物面积是平行于板的表面的间隔物的面积。

[0192] CROF过程中术语“横向的”或“横向地”是指,除非特别说明,平行于板的表面的方向。

[0193] CROF过程中术语间隔物的“宽度”指的是,除非特别说明,所述间隔物的横向尺寸。

[0194] 术语“样品内的间隔物”指的是间隔物由样品包围(例如,样品内的支柱间隔物)。

[0195] CROF过程中术语板的“临界弯曲跨距”是指对于给定的柔性板,样品和压缩力,两个支撑件间,在该板的弯曲时,的板的跨距,等于其被允许的弯曲。例如,如果一个给定的柔性板,样品,和压缩力时,允许的弯曲是50纳米而临界弯曲跨度为40微米,两个相邻的间隔物之间的板的弯曲为40um除了将50纳米,且弯曲的意志小于50纳米,如果两个相邻的间隔物是小于40微米。

[0196] 术语“可流动”的样品是指当样品的厚度减小时,横向尺寸增大。例如,粪便样品被认为是可流动的。

[0197] 在本发明的一些实施例,CROF处理的样品并不必需是可流动的,才可从过程中受益,只要样品的厚度可以在CROF过程中被减少。例如,通过把染料放到CROF板的表面上染色一个组织,CROF过程可以减少组织厚度并因此加快染料染色的饱和温育时间。

[0198] 1.降低(缩短)绑定或混合时间(X)

[0199] 减少在执行测定法或其他化学反应的温育/反应时间是。例如,在一个样品中的目标分析物被检测出的表面固定化测定法被固定在板表面捕获剂(即固相)捕获,通常期望具有短饱和温育时间,用于捕获目标分析物在上板表面上,或者两者中的溶液的样品,或在捕获剂和检测试剂的固定化英寸另一例子是缩短涂覆捕获剂在板面的时间的需要。与另一示例是缩短试剂混合到样品的时间的需要。

[0200] 本发明提供的方法和设计出减少(即,缩短)需要在固体表面上的样品的结合的实体的结合点的饱和度的温育时间(即,时间为从一个卷到一个表面上的实体)。本发明的另一个方面是(从一个表面即时间为一个实体到另一个表面)减少所需的结合存储在盘表面上的结合点上的另一个板面实体的时间。本发明的另一个方面是减少需要用来将存储在表面上的试剂/混入的样品的体积的时间(即,时间为加/混合自的表面的试剂成的试样的体积)。

[0201] 本发明减少的结合和/或通过使用扩频的样品(或液体)的厚度较薄的装置和方法,从而减少了在样品的厚度扩散一个实体时在测定混合的饱和温育时间。在材料中的一个实体的扩散时间(例如液体或固体或半固体)正比于方向的扩散距离,因此,减少样品的厚度可以降低扩散距离,导致急剧减少的扩散时间和饱和培养时间。较薄的厚度(例如,紧密空间)也增加了一个材料与其它实体的实体冲突的频率,从而进一步提高的结合和混合。在本发明中Themeans也使试样的厚度精确,均匀,快速,简单(较少的操作步骤)和适用的减少来降低样品的厚度,以微米或纳米厚。的发明具有快速,低成本的伟大事业,的PoC,诊断和化学/生物分析。本发明的若干实施例在图中示出。1-4。

[0202] 1.1通过降低样品厚度降低结合实体于固体表面上的结合点所需的饱和温育时间。

[0203] X1.一种用于减少样品中结合目标实体的板表面的结合点,如在图中所示的饱和度的温育时间的方法。1-2,图3a,和4a,包括:

[0204] (a)获得的样品是可流动的,并包含它能够与样品中的扩散的目标实体;

[0205] (b)获得一个第一板和第二板相对于彼此可移动进入不同的配置是,其中所述第一板具有,在其表面上,其被配置为目标实体结合的结合点,其中之一或两者的板包括间隔物,并且每个间隔物的被固定与其相应的板,并具有预定的高度;

[0206] (三)沉积,当板在打开结构被构造,在一个或两个板的样品;所述打开结构是其中两个板被部分地或完全分离开的结构,并在板不受间隔物调节之间的间隔;

[0207] (D)后(c)中,通过使所述板到闭合相态,其中,在闭合构造扩频样品:将板彼此面对,间隔物和样品的一个相关的卷是在板之间,所述结合部位是在与有关容积接触,并且样品的相关体量的厚度是由板和间隔物,比样品的最大厚度薄时,板是在开放相态规管;

[0208] 其中的有关容积的一部分或样品的整个体积和

[0209] 其中,试样的厚度减小降低了饱和度的温育时间为在相关体量的结合点的目标实体的结合。

[0210] 对于给定的样品体积,一个CROF减少样品厚度却增加样品的横向尺寸。本发明利用以下事实来执行(a)局部结合或在样品的一部分混合,和(b)多个结合或混合网的复用,而不流体阻挡到样品流体分离成不同的隔离液体的口袋。

[0211] X2.一种降低饱和温育时间对目标实体结合在一个样品的表面的有关的体积,如

在图中所示

[0212] 的设备。1-2,图3a,和4a,包括:

[0213] 一个第一板和第二板,其(a)的相对于彼此可动成不同的配置,(b)每一板具有用于具有在样品的一个相关体量的目标实体的样品接触的样品接触面积,(三)所述板中的一个具有结合目标实体,以及(d)所述板中的至少一个包括具有预定的间隔物之间的距离和高度,并固定在其各自的表面间隔物结合点的,其中至少一个间隔是样品接触的区域;

[0214] 其中所述配置中的一个是一个开放的结构,其中:所述两个板是部分或完全分离开,且所述板之间的间隔是不调节由间隔物,

[0215] 其中另一配置的是一个封闭结构,它是在开放相态样品沉积后配置;和在闭合相态:所述板彼此面对,间隔物和样品的相关体量是在板之间,所述结合点是在与有关容积接触,并且样品的相关体量的厚度被调节由板和间隔物,是比当板是在开放相态中的样品的最大厚度更薄;其中的有关容积的一部分或样品的整个体积且其中所述样品厚度减小降低了饱和度的温育时间为一个结合在相关体量的结合点的目标的实体。

[0216] 1.2减少饱和温育时间存储在一个版面上的结合点上的其他板面有约束力的实体

[0217] X3.一种降低饱和温育时间绑定存储在一个板的存储点到相关结合点上的另一个板中,如图所示的实体的方法。1,3c和4b中,包括:

[0218] (a)获得一个第一板和第二板相对于彼此可移动进入不同的配置是,其中,第一板的表面具有一个结合点,和第二板的表面具有包含一个实体是一个存储点结合至结合点;其中结合点的区域和存储位点的面积小于相应的板的;且其中的一个或两个板的包括间隔物和每个间隔物的固定有其相应的板,并具有预定的高度;

[0219] (b)获得的转印介质,其中在该存储点的实体是能够被溶解到转印介质和转印介质扩散;

[0220] (三)沉积,当板在打开结构被构造,在一个或两个板的转印介质;所述打开结构是其中两个板被部分或完全分离开的结构,并在板不受间隔物调节之间的间隔;

[0221] (D)后(c)中,通过使所述板到闭合相态,其中,在闭合构造扩频转印介质:所述板彼此面对,间隔物,结合点,所述存储位点和至少一部分转印介质的是在板之间,所述结合点和存储点是至少部分地在彼此的顶部,转印介质接触至少所述结合点和所述存储部位的一部分,在转印介质的厚度由板和间隔物调节,是比当板是在开放相态转印介质的最大厚度更薄;

[0222] 所述转印介质的厚度减小降低了对存储在所述第二板的结合点上的第一板的实体的暴食的时间。

[0223] X4.一种用于减少在饱和温育时间的结合存储在一个盘的存储部位的结合点上的另一个板中,如图所示的实体设备。1,3c和4b中,包括:

[0224] 一个第一板和第二板相对移动,以彼此成不同的构造,其中,第一板的表面具有的结合点是;和第二板的一个表面具有一个包含一个实体被结合至结合点的存储点;其中结合点的区域和存储位点的面积小于相应的板的;且其中的一个或两个板的包括间隔物和每个间隔物的固定有其相应的板,并具有预定的高度;

[0225] 其中所述配置中的一个是一个开放的结构,其中:所述两个板是部分或完全分离开,板之间的间隔不被间隔物调节,转印介质能够在在一个或两个板被沉积,其中在存储点的

实体是能够被溶解到转印介质和转印介质扩散，

[0226] 其中另一配置的是一个封闭结构，它是在开放相态转印介质沉积之后进行配置；和在闭合相态：所述板彼此面对，间隔物，结合点，所述存储位点和至少转印介质的一部分是所述板之间，所述结合点和存储点是至少部分上顶彼此的，至少结合点和存储部位的一部分，在转印介质的厚度是由板和间隔物调节转印介质接触，是比当板是转印介质的最大厚度更薄在开放相态；

[0227] wherenin转印介质的厚度减小降低了饱和度的温育时间为实体对第二板的存储点到第一板的结合点的暴食。

[0228] 在第X3的方法和段落X4的装置中，在一些实施例中，转印介质包括液体，允许该实体或试剂或二者的扩散。

[0229] 在第X3的方法和段落X4的装置中，在一些实施例中，转印介质是一个样品，其中所述样品含有结合的结合点的分析物(也称为目标分析物)。

[0230] 在第X3的方法和段落X4的装置中，在一些实施例中，转印介质是结合的结合点的样品，其中所述样品包含的分析物(也称为目标分析物)和试剂是探测剂结合该分析物。

[0231] 1.3降低时添加(混合)试剂存储在表面成为液体试样

[0232] 许多测定法需要有加入到样品的试剂(包括液体)。经常要被控制的样品或液体需要在加入试剂的浓度。有新的方法是执行这样的试剂加成和浓度控制简单和/或成本低的需求。其中需要试剂补充的两个例子是：(a) 血细胞计数，其中抗凝剂和/或染色试剂(或多种)可被加入到血液样品，和(b) 在加入探测剂的免疫测定在溶液中的目标分析物结合。

[0233] 本发明的一个方面是方法，装置和系统，使试剂添加和试剂浓度控制简单和/或成本低。在当前的发明中，一个试剂层(例如干燥的试剂层)的一个实施方案是在一个CROF设备，然后将样品沉积到CROF装置的板表面的第一放，和一个CROF过程使样品接触与试剂和样品的厚度大于厚度较薄时在CROF板的打开构造的样品。通过降低样品的厚度，这将减少的试剂的扩散时间从表面扩散到整个样品，并因此减少了时间用于试剂与样品混合。

[0234] X5。一种用于减少时间为存储在板表面上的试剂混合到样品，如图11所示的方法。1,3b和4c中，包括：

[0235] (a) 获得一个第一板和第二板相对于彼此成不同的配置，其中所述第一板具有在其表面上，它包含的试剂的存储站点被添加到样品可动是，和所用试剂能够的被溶解到样品和样品中的扩散；且其中的一个或两个板的包括间隔物和每个间隔物的固定有其相应的板，并具有预定的高度；

[0236] (b) 获得的样品；

[0237] (三) 沉积，当板在打开结构被构造，在一个或两个板的样品；所述打开结构是其中两个板被部分或完全分离开的结构，并在板不受间隔物调节之间的间隔；

[0238] (D) 后(c)中，通过使所述板到闭合相态，其中，在闭合构造扩频样品：将板彼此面对，间隔物，存储点，并且至少所述样品的一部分是板之间，至少所述存储部位的一部分，在存储点的样品的厚度由板和间隔物调节的样品接触，比样品的最大厚度薄时，板是在开放组态；

[0239] 其中，试样的厚度减小降低了时间上与样品存储现场混合的试剂。

[0240] 在段X5的方法，它进一步包括温育的步骤，而板是在闭合相态，其中所述温育时间

以这样选择的结果中溶解样品中的试剂的显著号码都包含在相关的卷试样,其中,所述相关的卷是在存储站点和孵化坐在样品的体积的是一个过程,以允许试剂溶解并在样品中扩散。

[0241] 在段X5的方法,它进一步包括一个步骤,在经过(d)和,同时在板处于闭合相态中,温育在整个样品中比的一个因素倍的试剂的扩散时间相等或更小的时间样品的厚度由板在闭合相态调节,然后停止温育其中所述温育允许扩散到样品的试剂;且其中所述因子是0.0001,0.001,0.01,0.1,1,1.1,1.2,1.3,1.5,2,3,4,5,10,100,1000,10,000或任何到值之间的范围。例如,如果因子是1.1,扩散时间为20秒,则温育时间等于或小于22秒。在一个优选的实施方案中,因子为0.1,1,1.5或任何的值之间的范围内。

[0242] X6.一种用于减少时间装置以添加存储在板表面上的试剂到样品中,如图所示。1,3b和4c中,包括:

[0243] 一个第一板和第二板相对于彼此可动成不同的构造,其中所述第一板具有在其表面上,它包含的试剂的存储站点被添加到样品是,所述试剂能够被溶解到的样品和样品中的扩散;且其中的一个或两个板的包括间隔物和每个间隔物的固定有其相应的板,并具有预定的高度;

[0244] 其中所述配置中的一个是一个开放的结构,其中:所述两个板被部分地或完全分离开,板之间的间隔不被间隔物调节,将样品沉积在一个或两个板;

[0245] 其中另一配置的是一个封闭的结构,这是在开放相态转印介质沉积之后进行配置;和在闭合相态:所述板彼此面对,间隔物,存储点,和样品的至少一部分是在板之间,样品至少接触所述存储点的一个部分,所述样品的厚度上的存储点是由板和间隔物调节,比当板处于开放相态中的样品的最大厚度更薄;

[0246] 其中,试样的厚度减小降低了时间上与样品存储现场混合的试剂。

[0247] M1.在该方法或任何段落X1-6,在一些实施方案中,样品的相关卷是就座于样品的体积(即在顶部)的结合点或存储点。

[0248] M2.在该方法或任何段落X1-6,在一些实施方案中,样品的相关卷是上(即在顶部)的整个区域或结合点的部分区域位于所述试样的体积或存储站点。

[0249] M3.在该方法或任何段落X1-6,在一些实施方案中,结合点或所述存储站点到样品厚度的横向尺寸的在闭合相态中的比例为1.5 3或更大,3或更大,5或更大,10或更大,20或更大,30或更大,50或更大,100或更大,200或更大,1000或更大,10,000或更大,或这些值的任意两个之间的范围内。

[0250] 在该方法或任何段落X1-6的器件中,结合点或所述存储站点到样品厚度在闭合相态的横向尺寸的比例是3和在一个优选实施例20,20和100之间在另一个优选的实施方案中,在另一个优选的实施例100和1000在另一个优选的实施方案中,和1000和10000,.

[0251] 在任何段落X1和X3的方法中,在一些实施方案中,最终降低了的采样厚度比的结合点的面积的显著变小,使得在样品区的实体,它是结合点之外的将较长的时间结合的结合点。随着培养时间的适当选择,结合于结合点的实体将主要在样品体积的实体上的结合点位点(即,样品体积,这只是上述的结合区域)。然后在样品中的实体的浓度的计算将基于样品的厚度和结合点的区域。

[0252] 在段X5的方法中,在一些实施方案中,最终降低了的采样厚度比所述存储部位的

区域的显著变小,从而使实体

[0253] 在作为结合点外的样品区域将需要更长的时间来结合的结合点。随着培养时间的适当选择,结合于结合点的实体将主要在样品体积的实体上的结合点位点(即,样品体积,这只是上述的结合区域)。然后在样品中的实体的浓度的计算将基于样品的厚度和结合点的区域。

[0254] 在任何段落X2,X4,X6的方法中,还包括把从开放相态中的板,以封闭结构的压缩装置。在一些实施方案中,压缩装置是一种或中的公开内容所描述的实施方案的任何组合

[0255] 在任何段落X2,X4,X6的方法,它进一步包括一个压缩装置,其带来从开放相态中的板,以封闭构型,并且被配置为保持所述板处于闭合构造的保持装置。在一些实施例中,保持装置是一种或中的公开内容所描述的实施方案的任何组合。

[0256] 在任何段落X2,X4,X6的方法,它进一步包括一个压缩装置,其带来从开放相态中的板,以封闭构型,并且被配置为保持所述板的保持装置是在为一个闭合相态0.001秒以下,0.01秒以下,0.1秒或更小,1秒或更少,5秒以下,10秒或更小,20秒或者更小,30秒或者更小,40秒或更少,1分钟的时间或以下,2分钟或更少,3分钟或更少,5分钟或更少,10分钟或更少,20分钟或更少,30分钟或更少,60分钟或更少,90分钟或更小,120分钟以下,180分钟或以下,250分钟以下,或这些值的任意两个之间的范围内。

[0257] 在任何段落X2,X4,X6的方法,它进一步包括一个压缩装置,其带来从开放相态中的板,以封闭构型,并且被配置为保持所述板的保持装置是在为一个闭合相态的时间,在一个优选的实施方案中,0.001秒以下,0.01秒以下,0.1秒或更小,1秒或更少,5秒以下,10秒或更小,20秒或者更小,30秒或者更小,40秒或更少,1分钟或更少,2分钟或更少,3分钟或更小,或这些值的任意两个之间的范围内。

[0258] 最终样品厚度。在板的闭合相态的最终样品厚度可以在减少的饱和温育时间显著因素。样品的厚度减少/变形后的最终样品厚度,这取决于实体的属性和样品以及应用,因为相对于板的调节间距进行讨论。

[0259] 在一些实施方案中,最终的样品厚度小于约0.5微米(微米),小于约1微米,小于约1.5微米,小于约2微米,小于约4微米,小于约6微米,小于约8微米,小于约10微米,小于约12微米,小于约14微米,小于约16微米,小于约18微米,小于约20微米,小于约25微米,小于约30微米,约小于35微米,小于40微米,小于45微米,小于50微米,小于55微米,小于60微米,小于70微米,小于80微米,小于约90微米,小于约100微米,小于约110微米,小于约120微米,小于约140微米,小于约160微米,小于约180微米,小于约200微米,小于约250微米,小于约300微米,小于约350微米,小于约400微米,小于约450微米,小于约500微米,小于约550微米,小于约600微米,小于约650微米,小于约700微米,小于约800微米,小于约900微米,小于约1000微米(1毫米),小于约1.5mm,小于约2mm,小于约2.5mm,小于约3mm,小于约3.5mm,小于约4毫米,小于约5mm,小于约6mm,小于约7毫米,小于约8mm,小于约9毫米,小于约10毫米,或这些值的任意两个之间的范围内。

[0260] 在某些实施方案中,在关闭配置中的最后的样品厚度小于0.5微米(微米),小于1微米,小于5微米,小于10微米,小于20微米,小于30微米,小于50微米,小于100微米,小于200微米,小于300微米,小于500微米,小于800微米,小于200微米,小于1毫米(毫米),小于2mm(毫米),小于4毫米(毫米),小于8毫米(毫米),或这些值的任意两个之间的范围内。

[0261] 在某些实施方案中,Q-方法使得最终样品厚度均匀且第一板的平整表面和所述第二板被使用。

[0262] 在本发明中,样品温育在各种温度,湿度,气体环境,以及不同的持续时间完成的,有或没有摇动。

[0263] 孵化时间。在任何段落X1和X3的方法,它进一步包括一个步骤,在经过(d)和,而板是在闭合相态,温育比在实体的系数乘以扩散时间相等或更小的时间横跨在闭合相态由平板调节的样品厚度的样品漫射,然后停止温育其中所述温育允许实体到所述结合点的结合;且其中所述因子是0.0001,0.001,0.01,0.1,1,1.1,1.2,1.3,1.5,2,3,4,5,10,100,1000,10,000或任何到值之间的范围。例如,如果因子是1.1,扩散时间为20秒,则温育时间等于或小于22秒。在一个优选的实施方案中,因子为0.1,1,1.5或任何的值之间的范围内。

[0264] 段X5的方法,它进一步包括一个步骤,在经过(d)和,同时在板处于闭合相态中,温育比因子倍试剂的扩散时间在样品厚度漫射等于或小于一个时间通过将平板在闭合相态调节,然后停止温育其中所述温育允许实体到所述结合点的结合;且其中所述因子是0.0001,0.001,0.01,0.1,1,1.1,1.2,1.3,1.5,2,3,4,5,10,100,1000,10,000或任何到值之间的范围。例如,如果因子是1.1,扩散时间为20秒,则温育时间等于或小于22秒。在一个优选的实施方案中,因子为0.1,1,1.5或任何的值之间的范围内。

[0265] M4.的任何X1,X3和X5,或任何X2,X4和X6的段的装置的段落的方法中,间隔物,其中至少一个是样品接触区域内。

[0266] M5.的任何X1,X3和X5,或任何X2,X4的段落的装置中,和X 6的段落的方法,其中具有预定的间隔物间距离间隔物。

[0267] M6.在任何段落X1,X3,X 5的方法,它进一步包括温育的步骤,而板是在闭合相态中,饱和温育时间是0.001秒或更小,0.01秒以下,0.1秒或更小,1秒或更少,5秒以下,10秒或更小,20秒或者更小,30秒或者更小,40秒或更少,1分钟或更少,2分钟或更少,3分钟或更少,5分钟以下,10分钟或更少,20分钟或更少,30分钟或更少,60分钟或更少,90分钟或更小,120分钟以下,180分钟以下,250分钟以下,或这些值的任意两个之间的范围内..

[0268] M7.在任何段落X1,X3,X 5的方法中,在在闭合相态中的降低了的采样厚度的饱和温育时间是0.001秒或更小,0.01秒以下,0.1秒或更小,1秒或更少,5秒或以下,10秒或更小,20秒或者更小,30秒或者更小,40秒或更少,1分钟或更少,2分钟或更少,3分钟或更少,5分钟或更少,10分钟或更少,20分钟或少,30分钟或更少,60分钟或更少,90分钟或更小,120分钟以下,180分钟以下,250分钟以下,或这些值的任意两个之间的范围内。

[0269] 在一些实施例,第1固定化在结合点的捕获剂,然后将样品处于与结合点和样品中的实体接触由捕获剂被捕获,并且被加入最后的检测试剂,以与所捕获的实体的约束并从探测剂的一个信号将被读出(例如,通过光学方法或电方法或组合)。在一些实施方案中,除了捕获剂和检测试剂的其它试剂加入(例如封闭剂)。

[0270] 在许多应用中,如的PoC中,希望具有简单和/或成本低的装置和方法,以增加额外的试剂到样品。本发明的一个方面涉及到简单和/或成本低的装置和方法,以增加额外的试剂到样品。所添加的另外的试剂包括探测剂,粘连剂,光信号增强剂,光信号猝灭剂,或其它。在本发明的一些实施方案中,它控制通过使用存储在相同的位置上的试剂的不同的释放时间测定处理。不同的释放时间可通过加入具有不同溶解速率的其它材料来连接。

[0271] 在某些实施方案中,样品中混合所述试剂的浓度可以通过控制样品厚度来控制(例如,控制样品厚度的到存储站点区域和/或混合时的比率)。

[0272] 1. 2. 板,垫片,刻度标记,样品厚度调节

[0273] 2.1板结构和样品厚度调节

[0274] 开放相态。在一些实施例中,在打开构造中,两个板(即,第一板和第二板)彼此分离。在某些实施例中,两个板在板的所有操作(包括打开和闭合相态)期间具有连接在一起的一个侧面,这两个板类似于书本打开和关闭。在一些实施例中,两块板具有矩形(或正方形)形状,并且在板的所有操作过程中矩形的两侧连接在一起。

[0275] 在一些实施例中,开放相态包括板彼此远离的构造,使得样品沉积到一对板中而不妨碍另一对板中的另一板。

[0276] 在一些实施例中,打开构造包括板远离的构造,使得样本直接沉积到一个板上,就好像另一个板不存在一样。

[0277] 在一些实施例中,开放相态包括这样的配置:一对板间隔开至少10nm,至少100nm,至少1000nm,至少0.01cm,至少0.1cm,至少0.5厘米,至少1厘米,至少2厘米,或至少5厘米,或任何两个值的范围。

[0278] 在一些实施例中,开放相态包括一对板以不同取向定向的配置。在一些实施例中,开放相态包括限定配置成允许添加样本的一对板之间的访问间隙的配置。

[0279] 在一些实施例中,打开构造包括构造,其中每个板具有样本接触表面,并且其中当板处于一种开放相态时,板的至少一个接触表面被暴露。

[0280] 闭合相态和样品厚度调节。在本发明中,两个板的闭合相态是两个板的内表面之间的间隔(即,距离)由两个板之间的间隔器调节的构造。由于在CROF工艺的压缩步骤期间板的内表面(也称为“样品表面”)与样品接触,因此在闭合构造下,样品厚度由间隔物调节。

[0281] 在将板从开放相态带到闭合相态的过程中,板彼此面对(至少一部分板彼此面对)并且使用力将两个板放在一起。当两个板从开放相态变为闭合相态时,两个板的内表面压缩沉积在板上的样品以减小样品厚度(同时样品在板之间具有横向开放流动),并且样品的相关体积的厚度由间隔物,板和所使用的方法以及样品机械/流体性质确定。对于给定的样品和给定的间隔物,板和板压方法,可以预定闭合相态的厚度。

[0282] 术语“通过间隔物调节板内表面之间的间距”或“通过板和间隔物调节样品厚度”或样品的厚度由间隔物和板调节“CROF工艺中样品的厚度由给定的板,间隔物,样品和压制方法决定。

[0283] 在一些实施例中,在关闭配置处的调节样品厚度与间隔物的高度相同;在这种情况下,在闭合相态下,间隔件直接接触两个板(其中一个板是固定间隔件的板,另一个板是与间隔件接触的板)。

[0284] 在某些实施例中,在闭合相态下调节的样品厚度大于间隔物的高度;在这种情况下,在闭合相态下,间隔物仅直接接触其表面上固定或附着有间隔物的板,并间接接触另一个板(即,间接接触)。术语与板的“间接接触”是指间隔件和板由被称为“残留样品层”的薄样品层分隔,并且其厚度被称为“残余物厚度”。对于给定的间隔物和板,给定的板压制方法和给定的样品,可以预定残余厚度(在达到闭合构造之前的预定方式),导致在闭合构造下预定样品厚度。这是因为对于给定的条件(样品,垫片,板和压力),残留层厚度是相同的,并

且可以进行预校准和/或计算。被调节的样品厚度大约等于隔离物高度加上样品残余物厚度。

[0285] 在许多实施例中,柱子的尺寸和形状在其使用之前被预先表征(即,预先确定)。并且预定的信息被用于以后的分析,例如确定样品体积(或相关体积)等。

[0286] 在一些实施例中,样本厚度的调节包括对板施加闭合(压缩)力以维持板之间的间隔。

[0287] 在一些实施例中,样品厚度的调节包括建立具有间隔物的板之间的间距,施加到板的闭合力以及样品的物理性质,并且任选地其中样品的物理性质包括以下中的至少一个:粘度和可压缩性。

[0288] 2.2板

[0289] 在本发明中,通常,CROF的板由以下材料制成:(i)能够用于与间隔件一起调节样品的一部分或全部体积的厚度,以及(ii)不具有对样品,测定或平板打算实现的目标产生显著的不利影响。然而,在某些实施例中,用于板的特定材料(因此它们的性质)用于实现某些目标。

[0290] 在一些实施例中,对于以下参数中的每一个,这两个板具有相同或不同的参数:板材,板厚度,板形状,板面积,板柔性,板表面性质和板光学透明度。

[0291] 板材。板由单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或其组合制成。用于板的每种材料都是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的实例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。

[0292] MAT-1。用于板的无机材料包括但不限于玻璃,石英,氧化物,二氧化硅,氮化硅,氧化铪(HfO),氧化铝(AlO),半导体:(硅,GaAs,GaN等),金属(例如金,银,铜,铝,钛,镍等),陶瓷或其任何组合。

[0293] 垫-2用于垫片的有机材料包括但不限于聚合物(例如塑料)或无定形有机材料。用于间隔物的聚合物材料包括但不限于丙烯酸酯聚合物,乙烯基聚合物,烯炔聚合物,纤维素聚合物,非纤维素聚合物,聚酯聚合物,尼龙,环烯炔共聚物(COC),聚(甲基丙烯酸甲酯)(PMMA),聚碳酸酯(PC),环烯炔聚合物(COP),液晶聚合物(LCP),聚酰胺(PA),聚乙烯(PE),聚酰亚胺(PI),聚丙烯(PP),聚苯醚(PPE)(POM),聚醚醚酮(PEEK),聚醚砜(PES),聚邻苯二甲酸乙二醇酯(PET),聚四氟乙烯(PTFE),聚氯乙烯(PVC),聚偏二氟乙烯(PVDF),聚对苯二甲酸丁二醇酯(PBT),氟化乙烯丙烯(FEP),全氟烷氧基烷烃(PFA),聚二甲基硅氧烷(PDMS),橡胶或其任何组合。

[0294] 在一些实施例中,板各自独立地由玻璃,塑料,陶瓷和金属中的至少一种制成。在一些实施例中,每个板独立地包括玻璃,塑料,陶瓷和金属中的至少一种。

[0295] 在一些实施例中,一个板在横向区域,厚度,形状,材料或表面处理方面不同于另一个板。在一些实施例中,一个板在侧面区域,厚度,形状,材料或表面处理中与另一个板相同。

[0296] 用于板材的材料是刚性的,柔韧的或两者之间的任何柔韧性。刚性(即刚性)或柔性相对于在使板进入关闭构型时所使用的压力而言。

[0297] 在一些实施例中,选择刚性或柔性板是根据在关闭构型下控制样品厚度均匀性的要求确定的。

[0298] 在一些实施例中,两个板中的至少一个是透明的(对于光)。在一些实施例中,一个板或两个板的至少一部分或多个部分是透明的。在一些实施例中,板是不透明的。

[0299] 板厚。在一些实施例中,至少一个所述板的平均厚度为2nm或更小,10nm或更小,100nm或更小,500nm或更小,1000nm或更小,2 μ m(微米)或更小,5 μ m或更少,10微米或更少,20微米或更少,50微米或更少,100微米或更少,150微米或更少,200微米或更少,300微米或更少,500微米或更少,800微米或更少,1毫米(毫米)或更小,2毫米或更小,3毫米或更小,或任何两个值之间的范围。

[0300] 在一些实施例中,至少一个板的平均厚度为至多3mm(毫米),至多5mm,至多10mm,至多20mm,至多50mm,至多100mm,至多500毫米,或任何两个值之间的范围。

[0301] 在一些实施例中,板的厚度在板上不均匀。在不同位置使用不同的板厚可用于控制板弯曲,折叠,样品厚度调节等。

[0302] 板形状和面积。通常,板可以具有任何形状,只要形状允许样品的压缩开放流动和样品厚度的调节。然而,在某些实施例中,特定形状可能是有利的。板的形状可以是圆形,椭圆形,矩形,三角形,多边形,环形或这些形状的任何叠加。

[0303] 在一些实施例中,这两个板可以具有相同的尺寸或形状,或不同。板的面积取决于应用。该板的面积至多为1平方毫米(毫米见方),至多10平方毫米,至多100平方毫米,至多1平方厘米(厘米见方),至多5平方厘米,至多10平方厘米,至多100平方厘米,最多500平方厘米,最多1000平方厘米,最多5000平方厘米,最多10,000平方厘米或超过10,000平方厘米,或任何两个值之间的任何布置。板的形状可以是矩形,正方形,圆形或其他形状。

[0304] 在某些实施例中,板中的至少一个是具有宽度,厚度和长度的带(或带)的形式。宽度最多为0.1厘米(厘米),最多0.5厘米,最多1厘米,最多5厘米,最多10厘米,最多50厘米,最多100厘米,最多500厘米,最多1000厘米,或任何两个值之间的范围。长度可以是它需要的那么长。皮带可以卷成卷。

[0305] 板面平整度。在许多实施例中,板的内表面是平坦的或非常平坦的平面。在某些实施例中,两个内表面在关闭构型下彼此平行。平坦的内表面有助于通过简单地在关闭构型下使用预定的间隔物高度来量化和/或控制样品厚度。对于板的非平坦内表面,不仅需要知道间隔件高度,而且还需要知道内表面的拓扑结构以量化和/或控制关闭构型下的样品厚度。要知道表面拓扑需要额外的测量和/或校正,这可能很复杂,耗时且成本高昂。

[0306] 板表面的平坦度相对于最终样品厚度(最终厚度是闭合构造下的厚度),并且通常以“相对表面平坦度”这一术语为特征,其是板表面平坦度变化与最终样品厚度。

[0307] 在一些实施方案中,相对表面小于0.01%,0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于30%,小于50%,小于70%,小于80%,小于100%或这些值中任何两个之间的范围。

[0308] 板面平行度。在一些实施例中,板的两个表面彼此明显平行。在某些实施例中,板的两个表面不相互平行。

[0309] 板灵活性。在一些实施例中,板在CROF工艺的压缩下是柔性的。在一些实施例中,两个板在CROF工艺的压缩下是柔性的。在一些实施例中,板是刚性的,并且另一板在CROF工艺的压缩下是柔性的。在一些实施例中,两个板都是刚性的。在一些实施例中,两个板都是柔性的但具有不同的柔性。

[0310] 板光学透明度。在一些实施例中,板是光学透明的。在一些实施例中,两个板都是光学透明的。在一些实施例中,板是光学透明的而另一板是不透明的。在一些实施例中,两个板都是不透明的。在一些实施例中,两个板都是光学透明的但具有不同的光学透明度。板的光学透明性是指板的一部分或全部区域。

[0311] 表面润湿性能。在一些实施例中,板湿润(即,接触角小于90度)样品,转印液体或两者。在一些实施例中,两个板均润湿,转印液体或两者的内表面;具有相同或不同的润湿性。在一些实施方案中,板润湿转移液体或两者的内表面;另一块板具有不润湿的内表面(即接触角等于或大于90度)。板内表面的润湿是指板的一部分或全部区域。

[0312] 在一些实施例中,板的内表面具有其他纳米或微结构以在CROF期间控制样品的横向流动。纳米或微结构包括但不限于通道,泵等。纳米和微观结构也用于控制内表面的润湿性能。

[0313] 2.3垫片

[0314] 间隔物的功能。在本发明中,间隔物被配置成具有以下功能和性质中的一种或任意组合:间隔物被配置为(1)与板一起控制样品的厚度或样品的相关体积(优选,厚度控制精确,或统一在一个相关的区域或两者);(2)允许样品在板表面上具有压缩调节开放流量(CROF);(3)在给定样本区域(体积)中不占用显着的表面积(体积);(4)减少或增加样品中颗粒或分析物沉淀的影响;(5)改变和/或控制板内表面的润湿性;(6)识别板的位置,尺寸的比例尺和/或与板相关的信息,或(7)进行上述的任何组合。

[0315] 垫片架构和形状。为了实现期望的样本厚度减小和控制,在某些实施例中,间隔件固定其各自的板。一般而言,间隔物可以具有任何形状,只要间隔物能够在CROF工艺期间调节样品厚度,但是某些形状是优选的以实现某些功能,例如更好的均匀性,更少的冲压过冲等。

[0316] 间隔物(一个或多个)是单个间隔物或多个间隔物。(例如一个数组)。多个间隔物的一些实施例是间隔物(例如柱)的阵列,其中间隔物间距离是周期性的或非周期性的,或者在板的特定区域中是周期性的或非周期性的,或者在板的不同区域中具有不同的距离。

[0317] 有两种间隔物:开放式间隔物和封闭式间隔物。开放式隔离器是允许样品流过隔离器的隔离器(即样品环绕并穿过隔离器,例如,柱子作为隔离器),封闭式隔离器是停止采样流动的隔离器(即样品不能流出隔离物,例如,环形隔离物和样品在环内)。两种类型的垫片使用它们的高度来定期关闭配置下的最终样品厚度。

[0318] 在一些实施例中,间隔物仅是开放式间隔物。在一些实施例中,间隔物仅是封闭间隔物。在一些实施例中,间隔物是开放式间隔物和封闭式间隔物的组合。

[0319] 术语“柱形隔物”是指间隔物具有柱状形状,并且柱状物是指具有高度和横向形状的物体,其允许样品在压缩的开放流动期间在其周围流动。

[0320] 在一些实施例中,柱隔体的横向形状是从以下组中选择的形状:(i)圆形,椭圆形,矩形,三角形,多边形,环形,星形,字母形(例如L形,C字形,从A到Z的字母),数字形状(例如形状如0,1,2,3,4,...至9);(ii)组(i)中具有至少一个圆角的形状;(iii)组(i)中具有之字形或粗糙边缘的形状;及(iv)(i),(ii)及(iii)的任何重叠。对于多个间隔物,不同的间隔物可以具有不同的侧向形状和大小以及与相邻间隔物不同的距离。

[0321] 在一些实施例中,间隔物可以是和/或可以包括柱,柱,珠,球体和/或其他合适的

几何形状。间隔物的横向形状和尺寸(即,横向于相应的板表面)可以是任何东西,除了在一些实施方式中,以下限制:(i)间隔物几何形状不会在测量样品厚度中引起显著的误差并且卷;或(ii)隔板的几何形状不会阻止样品在板之间流出(即不是封闭形式)。但是在一些实施例中,它们需要一些间隔物来成为封闭的间隔物以限制样品流动。

[0322] 在一些实施例中,间隔物的形状具有圆角。例如,一个矩形的垫片有一个,几个或所有的角落圆角(像一个圆形,而不是90度角)。圆角通常使间隔物的制造更容易,并且在某些情况下对生物材料的损害较小。

[0323] 支柱的侧壁可以是直的,弯曲的,倾斜的或在侧壁的不同部分中的不同形状。在一些实施例中,间隔件是各种横向形状,侧壁和柱高与柱横向面积比的柱。

[0324] 在优选实施例中,间隔件具有用于允许开放流动的柱形状。

[0325] 间隔物的材料。在本发明中,间隔物通常由能够用来与两个板一起调节样品的相关体积的厚度的任何材料制成。在一些实施例中,间隔物的材料与用于板的材料不同。在一些实施例中,用于空间的材料至少与用于至少一个板的材料的一部分相同。

[0326] 间隔物制成单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或其组合。用于间隔物的每种材料都是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的实例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。在一个优选实施例中,间隔物由与CROF中使用的板相同的材料制成。

[0327] Spacer的机械强度和灵活性。在一些实施例中,间隔物的机械强度足够强,从而在板的压缩期间和闭合相态期间,间隔的高度与当板处于开放相态时的高度相同或明显相同。在一些实施例中,打开构造和闭合构造之间的间隔物的差异可以被表征和预定。

[0328] 间隔物的材料是刚性的,柔韧的或两者之间的任何灵活性。刚性是相对于将板带入封闭构型所用的压力而言的:如果在压力下该空间在其高度上不会变形大于1%,则间隔件材料被认为是刚性的,否则是柔性的。当间隔物由柔性材料制成时,封闭构型下的最终样品厚度仍可由间隔物的压力和机械性质预先确定。

[0329] 样品中的间隔物。为了实现期望的样品厚度减小和控制,特别是为了实现良好的样品厚度均匀性,在某些实施方案中,间隔物被放置在样品内或样品的相关体积内。在一些实施方案中,样品内或样品的相关体积内存在一个或多个间隔物,具有适当的间隔物间隔距离。在某些实施方案中,间隔物中的至少一个位于样品内部,样品内部的至少两个间隔物或样品的相关体积,或样品内部的至少“n”个间隔物或样品的相关体积,其中“n”可以由CROF期间的样品厚度均匀性或所需的样品流动性确定。

[0330] 垫片高度。在一些实施例中,所有间隔件具有相同的预定高度。在一些实施例中,间隔物具有不同的预定高度。在一些实施例中,间隔物可以分成组或区域,其中每个组或区域具有其自己的间隔物高度。并且在某些实施例中,间隔物的预定高度是间隔物的平均高度。在一些实施例中,间隔物具有大致相同的高度。在一些实施例中,间隔物的数量的百分比具有相同的高度。

[0331] 间隔物的高度由所需调节的最终样品厚度和残余物样品厚度来选择。间隔物高度(预定间隔物高度)和/或样品厚度为3nm或更小,10nm或更小,50nm或更小,100nm或更小,200nm或更小,500nm或更小,800nm或更小,1000nm或更小,1 μ m或更小,2 μ m或更小,3 μ m或更小,5 μ m或更小,10 μ m或更小,20 μ m或更小,30 μ m或更小,50 μ m或更小,100 μ m或更小,150微米或更小,200微米或更小,300微米或更小,500微米或更小,800微米或更小,1毫米或更小,2

毫米或更小,4毫米或更小,或任何两个值之间的范围。

[0332] 在一个优选实施例中,间隔物高度和/或样品厚度在1nm至100nm之间,在另一个优选实施例中为100nm至500nm,在单独的优选实施例中为500nm至1000nm,1 μ m(即1000nm)至2在另一个优选实施例中为2 μ m至3 μ m,在另一个优选实施例中为3 μ m至5 μ m,在另一个优选实施例中为5 μ m至10 μ m,在另一个优选实施例中为10 μ m至50 μ m,50 μ m在单独的优选实施例中为100 μ m至100 μ m。

[0333] 在一些实施例中,隔离物高度和/或样品厚度(i)等于或略大于分析物的最小尺寸,或(ii)等于或略大于分析物的最大尺寸。“略大”意味着它大约1%至5%以及两个值之间的任何数字。

[0334] 在一些实施例中,间隔物高度和/或样品厚度大于分析物的最小尺寸(例如,分析物具有各向异性形状),但小于分析物的最大尺寸。

[0335] 例如,红细胞具有最小尺寸为2 μ m(盘厚度)和最大尺寸为11 μ m(盘直径)的圆盘形状。在本发明的一个实施例中,选择间隔物以使相关区域中的板的内表面间隔在一个实施例中为2 μ m(等于最小尺寸),在另一个实施例中为2.2 μ m,或3(50%比最小尺寸大),但小于红血球的尺寸。这样的实施例在血细胞计数中具有某些优点。在一个实施方案中,对于红细胞计数,通过使内表面间距为2或3 μ m以及两个值之间的任何数值,将未稀释的全血样品平均限定在间隔中,每个红细胞(RBC)不与其他人重叠,从而可以在视觉上准确计数红细胞。(RBC之间的重叠太多会导致严重的计数错误)。

[0336] 在本发明中,在一些实施方案中,它使用板和间隔物来调节不仅样品的厚度,而且还调节板在关闭时样品中分析物/实体的取向和/或表面密度组态。当平板处于闭合相态时,样品的较薄厚度使每个表面区域的分析物/实体减少(即较少的表面浓度)。

[0337] 间隔横向尺寸。对于开式定位器,横向尺寸可以用x和y两个正交方向上的横向尺寸(有时称为宽度)来表征。间隔件在每个方向上的横向尺寸可以相同或不同。在一些实施例中,每个方向(x或y)的横向尺寸是...

[0338] 在一些实施例中,x与y方向的横向尺寸的比率是1,1.5,2,5,10,100,500,1000,10,000或者任何两个值之间的范围。在一些实施例中,使用不同比例来调节样品流动方向;比例越大,流量沿着一个方向(更大的尺寸方向)。

[0339] 在一些实施例中,间隔物在x和y方向上的不同横向尺寸被用作(a)使用间隔物作为刻度标记以指示板的取向,(b)使用间隔物来创建更多样品流首选方向,或两者。

[0340] 在优选实施例中,周期,宽度和高度。

[0341] 在一些实施例中,所有间隔物具有相同的形状和尺寸。在一些实施例中,每个间隔物具有不同的横向尺寸。

[0342] 对于封闭式间隔物,在一些实施例中,内部侧向形状和大小是基于待由封闭式间隔物封闭的样品的总体积来选择的,其中体积大小已经在本公开中进行了描述;并且在某些实施例中,根据所需的强度来选择外部横向形状和尺寸,以支撑液体抵靠隔离物的压力以及压紧板的压缩压力。高度与柱隔片平均横向尺寸的纵横比。

[0343] 在某些实施例中,高度与柱隔离物的平均横向尺寸的高宽比为100,000,10,000,1,000,100,10,1,0.01,0.001,0.001,0.00001或任何两个之间的范围的价值。

[0344] 垫片高度精度垫片的高度应该精确控制。间隔物的相对精度(即偏离所需间隔物

高度的比率)为0.001%或更小,0.01%或更小,0.1%或更小;0.5%以下,1%以下,2%以下,5%以下,8%以下,10%以下,15%以下,20%以下,30%以下,40%以下,50%以下,60%以下,70%以下,80%以下,90%以下,99.9%以下或任何值之间的范围。

[0345] 间隔距离。间隔物可以是板上或样品的相关区域上的单个间隔物或多个间隔物。在一些实施方案中,板上的间隔物以阵列形式配置和/或排列,并且阵列在板的一些位置处是周期性的,非周期性阵列或周期性的,而在其他位置是非周期性的。

[0346] 在一些实施例中,间隔物的周期性阵列具有正方形,矩形,三角形,六边形,多边形或其任何组合的格子,其中组合意味着板的不同位置具有不同的间隔物格子。

[0347] 在一些实施例中,间隔物阵列的间隔物间距离在阵列的至少一个方向上是周期性的(即,均匀的间隔物间距离)。在一些实施例中,间隔件间距离被配置成改善在闭合构造下的板间距之间的均匀性。

[0348] 相邻间隔物之间的距离(即间隔物间距离)为1微米或更小,5微米或更小,10微米或更小,20微米或更小,30微米或更小,40微米或更小,50微米或更小,60 μm 或更小,70 μm 或更小,80 μm 或更小,90 μm 或更小,100 μm 或更小,200 μm 或更小,300 μm 或更小,400 μm 或更小,或者任何两个值之间的范围。

[0349] 在某些实施例中,间隔件间距离为400或更小,500或更小,1mm或更小,2mm或更小,3mm或更小,5mm或更小,7mm或更小,10mm或更小,或者任何值之间的范围。在某些实施例中,间隔件间距离为10mm或更小,20mm或更小,30mm或更小,50mm或更小,70mm或更小,100mm或更小,或者这些值之间的任何范围。

[0350] 选择相邻间隔物之间的距离(即间隔物间距离),使得对于板和样品的给定属性,在板的闭合相态处,两个相邻间隔物之间的样品厚度变化在一些实施方式中,至多0.5%,1%,5%,10%,20%,30%,50%,80%或这些值之间的任何范围;或在某些实施例中,至多80%,100%,200%,400%或任何两个值之间的范围。

[0351] 显然,为了维持两个相邻间隔物之间的给定样品厚度变化,当使用更柔性的板时,需要更近的间隔物间距离。

[0352] 指定间隔距离的精确度。

[0353] 在一个优选实施例中,间隔物是周期性正方形阵列,其中间隔物是高度为2至4 μm ,平均横向尺寸为5至20 μm ,间隔物间隔为1 μm 至100 μm 的柱体。

[0354] 在一个优选实施方案中,间隔物是周期性正方形阵列,其中间隔物是高度为2至4 μm ,平均横向尺寸为5至20 μm ,间隔物间隔为100 μm 至250 μm 。

[0355] 在一个优选实施方案中,间隔物是周期性正方形阵列,其中间隔物是高度为4至50 μm ,平均横向尺寸为5至20 μm ,间隔物间隔为1 μm 至100 μm 的柱体。

[0356] 在一个优选的实施方案中,间隔物是周期性正方形阵列,其中间隔物是高度为4至50 μm ,平均横向尺寸为5至20 μm ,间隔物间隔为100 μm 至250 μm 。

[0357] 间隔物阵列的周期在一个优选实施例中为1nm至100nm,在另一个优选实施例中为100nm至500nm,在单独的优选实施例中为500nm至1000nm,另一个优选实施例中为1 μm (即1000nm)至2 μm 在另一个优选实施方案中为2 μm 至3 μm ,在另一个优选实施方案中为3 μm 至5 μm ,在另一个优选实施方案中为5 μm 至10 μm ,在另一个优选实施方案中为10 μm 至50 μm ,在另一个优选实施方案中为50 μm 至100 μm 在单独的优选实施例中为100微米至175微米,在单独的

优选实施例中为100微米至175微米,而在单独的优选实施例中为175微米至300微米。

[0358] 间隔物密度。间隔物以大于每平方微米一个,大于每10平方微米一个,大于每100平方微米一个,大于每500平方微米一个,大于每1000平方微米一个,大于每5000平方微米一个,大于每0.01平方毫米一个,大于每0.1平方毫米一个,大于每1平方毫米一个,大于每5平方毫米一个,大于每10平方毫米一个,大于每100平方毫米一个,大于每1000平方毫米一个,每10000平方毫米一个大于一个,或者任何两个值之间的范围。

[0359] (3) 间隔物被配置为在给定的样品区域(体积)中不占据显着的表面积(体积);

[0360] 间隔体积与样品体积之比。在许多实施例中,间隔物体积(即间隔物的体积)与样品体积(即样品的体积)的比率和/或在相关体积内的间隔物的体积的比率样品到样品的相关体积被控制以获得某些优点。优点包括但不限于样品厚度控制的均匀性,分析物的均匀性,样品流动性质(即流速,流动方向等)。

[0361] 在某些实施方案中,间隔体积 r 与样品体积的比率,和/或样品的相关体积内部的间隔物的体积与样品的相关体积的比率小于100%最多99%,最多70%,最多50%,最多30%,最多10%,最多5%,最多3%,最多1%,最多0.1%,最多0.01%最多0.001%,或任何值之间的范围。

[0362] 间隔物固定在板上。在本发明中发挥关键作用的间隔物间隔距离和间隔物的取向优选在将板从开放相态转变为闭合相态的过程中保持,并且/或者优选在从处理之前预先确定一个开放的配置到一个封闭的配置。

[0363] 本发明的一些实施例是在将板带到闭合相态之前将垫片固定在其中一个板上。术语“垫片与其各自的板固定”是指垫片附接到板上,并且在使用板时保持附件。“隔板与其各自的板固定”的例子是隔板整体由板的一块材料制成,并且隔板相对于板表面的位置不变。“垫片不与其相应的板固定”的一个例子是垫片通过粘合剂粘合到板上,但是在使用板时,粘合剂不能将垫片保持在板表面上的原始位置(即隔离片离开其在板表面上的原始位置)。

[0364] 在一些实施例中,间隔件中的至少一个固定到其相应的板。在某些实施例中,在两个垫片处固定到其相应的板。在某些实施例中,大部分间隔件与它们各自的板固定。在某些实施例中,所有的垫片都用它们各自的板固定。

[0365] 在一些实施例中,间隔件一体地固定到板上。

[0366] 在一些实施例中,通过以下方法和/或配置中的一种或任何组合将间隔物固定到其各自的板上:附接到,结合到,融合到,压印和蚀刻。

[0367] 术语“压印”是指通过压印(即压印)一块材料以在板表面上形成间隔物而整体固定间隔物和板。材料可以是单层材料或多层材料。

[0368] 术语“蚀刻”意指通过蚀刻一块材料以在板表面上形成间隔物而将间隔物和板单片固定。材料可以是单层材料或多层材料。

[0369] 术语“与...融合”是指通过将间隔件和板附接在一起而将间隔件和板固定为一体,间隔件和板的原始材料彼此融合,并且在两个材料之间存在明显的材料边界融合。

[0370] 术语“结合到”是指间隔物和板通过粘合将间隔物和板结合而整体固定。

[0371] 术语“连接到”意味着隔离物和板连接在一起。

[0372] 在一些实施例中,间隔件和板由相同的材料制成。在其他实施例中,间隔件和板由不同的材料制成。在其他实施例中,间隔件和板形成为一体。在其他实施例中,隔离件的一

端固定在其相应的板上,而端部打开以适应两个板的不同构造。

[0373] 在其他实施例中,每个间隔物独立地是附接到,结合到,熔合到,印在并蚀刻在相应的板中的至少一个。术语“独立”是指一个间隔物通过选自附着,结合到,融合到,压印并蚀刻在相应的板中的方法的相同或不同的方法用其相应的板固定。

[0374] 在一些实施例中,两个间隔物之间的至少一个距离是预定的(“预定的间隔物间距离”是指当用户使用这些板时该距离是已知的)。

[0375] 在本文所述的所有方法和装置的一些实施例中,除了固定间隔物之外还存在额外的间隔物。

[0376] 具体样品厚度。在本发明中,观察到通过使用较小的板间距(对于给定的样品区域)或较大的样品区域(对于给定的样品区域)可以获得较大的板保持力(即将两个板保持在一起的力)板间距)或两者。

[0377] 在一些实施例中,所述板中的至少一个在包围相关区域的区域中是透明的,每个板具有内表面,所述内表面被配置为接触处于闭合相态的样品;在闭合构造中,板的内表面基本上彼此平行;除了具有间隔物的位置之外,板的内表面基本上是平面的;或其任何组合。

[0378] 2.4最终样品厚度和均匀性

[0379] 在一些实施方案中,相对于最终样品厚度确定显着平坦,并且取决于实施方案和应用,具有小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%或小于10%,或这些值中的任何两个之间的范围。

[0380] 在一些实施例中,相对于样本厚度的平坦度可以小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于50%或小于100%,或这些值中的任何两个之间的范围。

[0381] 在一些实施例中,显着平坦可能意味着表面平坦度变化本身(从平均厚度测量)小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%或小于10%,或这些值中的任何两个之间的范围。通常,相对于板厚的平坦度可以小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于50%或小于100%,或这些值中的任何两个之间的范围。

[0382] 2.5间隔物制造方法。

[0383] 可以使用光刻,蚀刻,压印(纳米压印),沉积,剥离,熔合或它们的组合,以各种方式在板上制造间隔物。在一些实施例中,间隔物被直接压印或压印在板上。在一些实施例中,间隔物压印在沉积在板上的材料(例如塑料)中。在某些实施例中,间隔物通过直接压印CROF板的表面而制成。纳米压印可以通过使用辊压印机的卷对卷技术来完成,或者卷绕成平面纳米压印。这一过程具有很大的经济优势,因此降低了成本。

[0384] 在一些实施例中,间隔物沉积在板上。沉积可以是蒸发,粘贴或剥离。在粘贴时,首先在载体上制造间隔件,然后将间隔件从载体转移到板上。在剥离中,首先将可移除材料沉积在板上,并在材料中形成孔;孔底部暴露板表面,然后将间隔材料沉积到孔中,然后除去可去除材料,仅在板表面上留下间隔物。在一些实施例中,沉积在板上的间隔物与板融合。在一些实施例中,间隔件和板在单个工艺中制造。单一过程包括压印(即压印,模制)或合成。

[0385] 在一些实施例中,通过不同的制造方法将至少两个间隔物固定到相应的板,并且

可选地,其中不同的制造方法包括沉积,结合,熔丝,压印和蚀刻中的至少一个。

[0386] 在一些实施例中,一个或多个间隔物通过结合,融合,压印,或蚀刻或其任何组合的制造方法固定到相应的板。

[0387] 在一些实施例中,用于在板上形成这种单片间隔物的制造方法包括被粘合,融合,被压印,或被蚀刻或其任何组合的方法。

[0388] 2.6比例标记

[0389] 术语“比例标记”是指能够辅助量化(即尺寸测量)或相关区域的控制和/或样品的相对体积的比例标记。在一些实施例中,刻度标记位于第一板或第二板上,两个板上,板的一个表面上,板的两个表面上,板之间,板附近或其任何组合。在一些实施例中,刻度标记被固定在第一板或第二板上,两个板上,板的一个表面上,板的两个表面上,板之间,板附近,或者它们。在一些实施例中,刻度标记沉积在第一板或第二板上,两个板上,板的一个表面上,板的两个表面上,板之间,板附近或它们的任意组合上。在一些实施例中,一些间隔物被固定并且一些间隔物被沉积。

[0390] 在一些实施例中,刻度标记是蚀刻刻度标记,沉积材料或印刷材料。在某些实施例中,吸收光,反射光,发射光或其任何组合的材料。

[0391] 在一些实施例中,刻度标记是具有已知尺寸和/或已知间隔距离的一个或多个对象。对象的例子包括但不限于矩形,圆柱形或圆形。

[0392] 在一些实施例中,刻度标记具有纳米(nm),微米(μm)或毫米(mm)或其他尺寸范围内的尺寸。

[0393] 在一些实施例中,比例标记是尺子,其具有被配置为测量物体的尺寸的比例尺标记。在一些实施例中,刻度标记处于纳米(nm),微米(μm)或毫米(mm)或其他尺寸的范围。在一些实施例中,刻度标记是蚀刻刻度标记,沉积材料或印刷材料。在一些实施例中,刻度标记的材料是吸收光,反射光,散射光,干涉光,衍射光,发射光或其任何组合的材料。

[0394] 在一些实施例中,制造商是间隔物,其服务于“调节样品厚度”和“提供刻度标记和/或尺寸缩放”的双重功能。例如,可以使用具有已知尺寸的矩形间隔物或具有已知间距的两个间隔物来测量与间隔物周围的样品有关的尺寸。从测量的样品尺寸中,可以计算样品相关体积的体积。

[0395] 在一些实施例中,刻度标记被配置为至少部分地限定样本的相关体积的边界。

[0396] 在一些实施例中,至少一个刻度标记被配置为具有与样本的相关体积的横向区域的平面平行的已知尺寸。

[0397] 在一些实施例中,至少一对刻度标记被平行于侧面区域的平面的已知距离隔开。

[0398] 在一些实施例中,刻度标记被配置用于光学检测。

[0399] 在一些实施例中,每个刻度标记独立地是光吸收,光反射,光散射,光衍射和发光中的至少一个。

[0400] 在一些实施例中,刻度标记以已知的横向间距排列成规则阵列。

[0401] 在一些实施例中,每个比例标记独立地具有正方形,矩形,多边形和圆形中的至少一个的横向轮廓。

[0402] 在一些实施例中,至少一个刻度标记被连接到,结合到,熔合到,压印在并且蚀刻在板之一中。

[0403] 在一些实施例中,至少一个刻度标记是间隔物中的一个。

[0404] 在一些实施例中,一些间隔物还起到缩放标记的作用以定量样品的相关体积。

[0405] 在某些实施方案中,结合位点(其固定分析物),储存位点或类似物用作比例标记。在一个实施例中,具有已知横向尺寸的位点与产生可检测信号的光相互作用,该信号反映该位点的已知横向尺寸,因此服务于一个或多个缩放标记。

[0406] 在另一个实施方案中,在CROF过程之前预定部位的尺寸,并且当板处于闭合相态时,坐在该部位上的样品部分的厚度明显小于该部位的横向平均尺寸,然后通过控制温育时间,以便在温育后,(1)与结合位点结合的大部分分析物/实体来自位于结合位点之上的样品体积,或(2)大部分混合(扩散)到位于结合位点顶部的样品体积中的试剂来自存储位点。在这些情况下,样品对结合或试剂混合的相关体积是大约等于预定位点面积的体积乘以样品厚度。这可能的关键原因是,对于给定的温育时间,相关体积外的样品体积中的分析物/实体没有足够的时间扩散到结合位点,或者存储位点上的试剂不具有有足够的时间扩散到相关体积之外的样本体积中。

[0407] 通过使用具有已知尺寸的位点并通过限制温育时间来说明测量和/或控制相关面积和体积的方法的实例是测定法通过以下方式具有1,000um的结合位点(即具有捕获剂的区域)在CROF工艺的板(其表面大于结合位点)上有1000微米;在板的闭合相态下,具有分析物的样品在结合位点上方,具有约20um的厚度(在结合位点区域中)和大于结合位点的区域,并温育等于目标的时间分析物/实体扩散时间穿过样品厚度。在这种情况下,大部分与结合位点结合的分析物/实体来自位于其上的样品体积由于距离结合位点20微米的样品部分中的分析物没有时间扩散到结合位点(统计学上),所以结合位点为 $1,000\text{um} \times 1000\text{um} \times 20\text{um} = 0.02\text{p}$ 。在这种情况下,如果在温育后测量由于结合位点捕获的分析物/实体引起的信号,则可以从信息中确定相关区域中的分析物/实体浓度和样品的相关体积(由有关地区和有关数量的约束力地点)。分析物浓度通过结合位点捕获的分析物的数量除以相关体积来量化。

[0408] 在一些实施方案中,相关体积近似等于结合位点面积乘以样品厚度,并且样品中的目标分析物浓度近似等于由结合位点捕获的分析物数量除以相关样品体积。目标分析物体积的量化方法的准确性随着结合位点尺寸与样品厚度的比率变大而变得更好(假定温育时间大约是样品中目标分析物扩散时间对于样品厚度的距离)。

[0409] 在CROF中传播时间。在本发明中,在通过两个板散布样品的所有段落的方法和装置中,在闭合构造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒,100秒,150秒,200秒,300秒,500秒,1000秒或任何两个值之间的范围。

[0410] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和装置中,在优选实施例中,在闭合构造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒,100秒,150秒或任何两个值之间的范围。

[0411] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和装置中,在优选实施例中,在闭合构造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒或任何两个值之间的范围。

[0412] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和装置中,在优选实施例中,在闭合构

造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒或任何两个值之间的范围。

[0413] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和装置中,在优选实施例中,在闭合构造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒或任何两个值之间的范围。

[0414] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和装置中,在优选实施例中,在闭合构造下将样品铺展到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒或任何两个值之间的范围。

[0415] 在本发明的全部描述中,在第3部分中描述的实施例及其任何组合应用于(即,与其他实施例结合)。

[0416] 在一个优选实施例中,间隔物通过使用模具压印(例如纳米压印)塑料薄膜而在X板上整体制造,并且由相同的材料制成。

[0417] 在一个优选实施例中,间隔物通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而整体地制造在X板上,并且由相同的材料制成,并且X板的厚度为50 μm 至500 μm 。

[0418] 在一个优选实施例中,间隔物通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而整体地制作在X板上,并且由相同的材料制成,并且X板的厚度为50 μm 至250 μm 。

[0419] 在一个优选的实施方式中,间隔物整体地制作在X板上并且由相同的材料制成,并且X板的厚度从50 μm 到500 μm 。

[0420] 在一个优选的实施方式中,间隔物使用模具在X板上整体制成薄塑料膜,并且由相同的材料制成,并且X板的厚度为50 μm 至250 μm 。

[0421] 在一个优选实施例中,通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而将间隔物整体地制造在X板上,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PS的PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)(聚苯乙烯)。

[0422] 在一个优选实施例中,通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而将间隔物整体地制造在X板上,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PS的PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)(聚苯乙烯),X板的厚度从50 μm 到500 μm 。

[0423] 在一个优选实施例中,通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而将间隔物整体地制造在X板上,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PS的PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)(聚苯乙烯),X板的厚度从50 μm 到250 μm 。

[0424] 在一个优选实施例中,通过使用模具对薄塑料膜进行压印(例如纳米压印)而将间隔物整体地制造在X板上,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PS的PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)(聚苯乙烯),并且间隔物具有正方形或矩形形状,并具有相同的间隔物高度。

[0425] 在一个优选实施例中,间隔物具有正方形或矩形形状(具有或不具有圆角)。

[0426] 在一个优选实施例中,间隔物具有正方形或长方形柱状物,其柱宽度(每个横向方向上的间隔物宽度)在1 μm 至200 μm 之间;从2 μm 到2000 μm 的支柱时期(即间隔期)和从1 μm 到100 μm 的支柱高度(即间隔物高度)。

[0427] 在一个优选实施例中,由PMMA或PS制成的间隔物具有正方形或长方形柱状物,其柱宽度(每个横向上的间隔物宽度)在1 μm 至200 μm 之间;从2 μm 到2000 μm 的支柱时期(即间隔期)和从1 μm 到100 μm 的支柱高度(即间隔物高度)。

[0428] 在一个优选实施例中,间隔物整体地制作在X板上并且由塑料材料制成,并且间隔物具有正方形或长方形柱子,其柱宽度(每个横向上的间隔物宽度)在 $1\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 之间;从 $2\mu\text{m}$ 到 $2000\mu\text{m}$ 的支柱时期(即间隔期)和从 $1\mu\text{m}$ 到 $100\mu\text{m}$ 的支柱高度(即间隔物高度)。

[0429] 在一个优选实施例中,间隔物整体地制作在X板上并由相同材料制成,并且间隔物具有正方形或长方形柱状物,其柱宽度(每个横向方向上的间隔物宽度)在 $1\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 之间;从 $2\mu\text{m}$ 到 $2000\mu\text{m}$ 的支柱时期(即间隔期)和从 $1\mu\text{m}$ 到 $10\mu\text{m}$ 的支柱高度(即间隔物高度)。

[0430] 在一个优选的实施方式中,间隔物在X板上整体制造并且由从PS或PMMA或其他塑料中选择的相同材料制成,并且间隔物具有正方形或长方形柱,其中柱宽度(每个横向上的间隔物宽度)在 $1\mu\text{m}$ 到 $200\mu\text{m}$ 之间;从 $2\mu\text{m}$ 到 $2000\mu\text{m}$ 的支柱时期(即间隔期)和从 $10\mu\text{m}$ 到 $50\mu\text{m}$ 的支柱高度(即间隔物高度)。

[0431] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X板,另一个板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在 $10\mu\text{m}$ 到 $250\mu\text{m}$ 的范围内;其中所述间隔物固定在所述X板上,并且其中所述板和所述间隔物可以具有相同材料或不同材料并且由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯),PS(聚苯乙烯)或与PMMA具有相似机械性能的材料或PS。

[0432] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X板,而另一个板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在 $250\mu\text{m}$ 至 $500\mu\text{m}$ 的范围内;其中所述间隔物固定在所述X板上,并且其中所述板和所述间隔物可以具有相同材料或不同材料并且由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯),PS(聚苯乙烯)或与PMMA具有相似机械性能的材料或PS。

[0433] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X板,另一个板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在 $10\mu\text{m}$ 到 $250\mu\text{m}$ 的范围内;其中间隔物固定在X板上,并且是具有在 $1\mu\text{m}$ 到 $200\mu\text{m}$ 之间的柱宽度(每个横向方向上的间隔物宽度)的正方形或长方形柱的阵列;(即间隔时间)为 $2\mu\text{m}$ - $2000\mu\text{m}$,柱高度(即间隔物高度)为 $1\mu\text{m}$ - $100\mu\text{m}$,其中板和间隔物可以具有相同的材料或不同的材料并且由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)制成,PS(聚苯乙烯)或与PMMA或PS具有相似机械性能的材料。

[0434] 以上段落中的“类似”意味着机械性能的差异在60%以内。

[0435] 护环。一些实施例具有防护环以防止样品流出板表面。护环的一些实施例是围绕样本区域的封闭壁。墙壁的高度等于垫片高度或与垫片高度不同。墙可以远离样本测量区域。

[0436] CROF工艺中的可移动板可以包括和/或可以联接到铰链,平台或一些其他定位系统,该系统被配置为将板在开放相态和闭合相态之间转换。可移动板可以以留下开口以进入板之间的空间(例如,插入和/或移除样本)的方式用一个或多个接头联接在一起,假设至少一个接头和/或至少一个接头其中一块板足够柔韧以实现所述的打开和关闭配置。膜泵不被认为是可移动的板。

[0437] 3. 均匀的板间距和样品厚度(U)

[0438] 在CROF工艺的许多应用中,改善板间隔的均匀性并且因此改善在闭合相态下的样品厚度的均匀性是有益的,特别是当间隔为微米和/或纳米级时。良好的均匀性可以改善测定法的一致性。本发明提供了改善均匀性的手段。

[0439] 可以降低CROF中的板间隔的均匀性的因素包括(a)板的局部弯曲,(b)板的内表面的非平坦度,以及(c)灰尘。最终板间距越小,这些因素的影响变得越坏。

[0440] 为了改善板间隔(因此样品厚度)的均匀性,本发明利用对于板的某些设计(机械强度,厚度等),间隔物尺寸,间隔物数量,间隔物布局,间隔物间距,间隔物高度的精度,以及其他因素来克服导致不均匀性的因素。

[0441] 3.1使用间隔距离,以实现柔性板的均匀样品厚度

[0442] 在一些应用中,CROF板中的一个或两个是柔性的是有益的。然而,如图5a所示,对于柔性板(例如塑料薄膜),如果间隔件间距离太大,则在CROF过程期间,板的柔性可导致板在两个相邻隔离物之间的位置处局部弯曲(例如,下垂,即向内弯曲),导致较差的样品厚度均匀性。较差的样品厚度均匀性具有许多缺点,例如在确定样品体积和/或分析物浓度时的大误差,温育时间的偏差等。

[0443] 本发明的一个实施例提供了一种通过使用适当的间隔件间距离来减小局部弯曲并因此减小最终样本厚度偏差的解决方案。如图5所示,CROF装置包括一个具有平坦样品表面的刚性板和一个柔性板,如果间隔件间距离太大,则两个相邻间隔件之间具有局部弯曲(图5a)。为了减少局部弯曲,间隔件间距离设置为等于或小于柔性板的临界弯曲跨度(图5b)。当两个板是柔性的时,间隔件间距离应小于两个板的临界弯曲跨度中的最小值。

[0444] U1.一种使用两个板均匀地调节样品的相关体量的厚度的方法,包括:

[0445] (a)获得样品,其中所述样品的相关体量的厚度需要被调节;

[0446] (b)获得能够相对于彼此移动成不同构型的两个板;其中一个或两个板是柔性的;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定于相应的板上;

[0447] (c)当所述两板配置成开放构型时,将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;其中所述开放构型是这样的构型,其中所述两个板或者部分地或完全地分开,并且所述板之间的间隔不受所述间隔件调节;

[0448] (d)在(c)之后,通过使所述板进入封闭构型来铺展所述样品,其中在所述封闭构型中:所述板彼此面对,所述间隔物和所述样品的相关体量在所述两板之间,样品的相关体量的厚度由两板和间隔物调节;

[0449] 其中对于给定的两板,所述间隔物被配置为使得所述样品的相关体量的厚度在给定面积上的偏差小于一个预定值;其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体量。

[0450] 在段落U1的方法中,间隔件的配置包括选择适当的间隔件间距离。在一些实施例中,选择间隔件间距离,以使得对于允许的样本厚度偏差,对于给定的两个板和压制方法,两个板在压制方法下的弯曲等于或小于允许的样本厚度偏差。处于关闭构型下的受调节的样品厚度可以比样品当板处于开放构型时的最大厚度薄。

[0451] U2.一种用于调节样品的相关体量的厚度的装置,包括:

[0452] 第一板和第二板,其可相对于彼此移动成不同的构型;

[0453] 其中所述板中的一个或两个是柔性的,并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定与其相应的板上;

[0454] 其中所述构型之一是开放构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0455] 其中所述构型中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积在所述开放相态中之后

配置;并且在关闭构型中:两板彼此面对,间隔物和样本的相关体量位于两板之间,样本的相关体量的厚度由两板和间隔件调节;

[0456] 其中对于给定的板,所述间隔物被配置为使得所述样品的相关体量的厚度在小于预定值的面积上具有厚度偏差;其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体积。

[0457] 在段落U2的装置中,间隔件的配置包括选择适当的间隔件间距离。在一些实施例中,选择间隔件间距离,以使得对于允许的样本厚度偏差,对于给定的两个板和压制方法,两个板在压制方法下的弯曲等于或小于允许的样本厚度偏差。处于关闭构型下的受调节的样品厚度可以比样品当板处于开放构型时的最大厚度薄。

[0458] 在一些实施例中,小的间隔物间距离还允许通过使间隔物间距离小于两个间隔物之间的板的弯曲来使用柔性薄膜(例如100 μ m厚的塑料薄膜)。

[0459] 在一些实施例中,为了在闭合构造下的大面积上具有均匀的样品厚度,对于柔性板的给定的允许的最大弯曲,间隔件间距离与板的临界弯曲跨度的比率为至多0.001%,在最多0.001%,最多0.001%,最多0.01%,最多0.1%,最多1%,最多10%,最多20%,最多50%,最多70%,最多100%在任意两个值之间的范围。

[0460] 3.2使用柔性板和间隔物克服CROF中灰尘的影响

[0461] 在CROF工艺中需要克服的一个问题是厚度大于间隔物高度的灰尘可以破坏间隔物的调节以实现预期的最终板间隔(因此是样品最终厚度)(如图6a所示)。当使用两个刚性板时,一个这样的灰尘会破坏板的整个区域上的间隔件调节。

[0462] 本发明的某些实施例通过使用适当的柔性板和间隔件间距离来限制灰尘在灰尘周围的小区域中的影响,同时允许小区域外的区域具有由间隔物设定(调节)的最终板间隔和样品厚度,以此来解决该问题。

[0463] 例如,图6b示出为了克服灰尘的影响,使用具有适当柔性的一个柔性板来限制灰尘区域,并且其与具有固定间隔件的刚性板一起使用。图6c示出了减小灰尘效应的另一实施例,其中间隔件固定在柔性板上。显然,另一种解决方案是两个板都是柔性的。

[0464] 可以从板的厚度和机械性质中选择板的适当柔性以使CROF工艺中的灰尘的影响最小化。基于示例中所示的测试,以下是优选实施例。

[0465] U3.一种用于最小化灰尘对调节样品的相关体量的厚度的影响的方法,包括:

[0466] (a) 获得样品,其中所述样品的相关体量的厚度需要被调节;

[0467] (b) 获得能够相对于彼此移动成不同构型的两个板;其中一个或两个板是柔性的;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定于相应的板上;

[0468] (c) 当所述两板配置成开放构型时,将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;其中所述开放构型是这样的构型,其中所述两个板或者部分地或完全地分开,并且所述板之间的间隔不受所述间隔件调节;

[0469] (d) 在(c)之后,通过使所述板进入封闭构型来铺展所述样品,其中在所述封闭构型中:所述板彼此面对,所述间隔物,所述样品的相关体量,以及一个或多个厚度大于间隔物高度的灰尘在所述两板之间,样品的相关体积的厚度由两板和间隔物调节;

[0470] 其中所述间隔物和所述板被配置为使得所述灰尘影响的所述两个板之间的面积最小化;其中受灰尘影响的区域是指这样的区域,其中灰尘防止了间隔件以与没有灰尘的

情况下相同的方式在所述板的闭合相态中调节板之间的最终间隔;其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体量。

[0471] 在段落U3的方法中,用于最小化灰尘影响区域的间隔物和板的配置包括选择柔性板的适当厚度和机械性质。

[0472] 在一些实施例中,选择间隔件间距离,使得对于允许的样本厚度变化,对于给定的两个板和压缩方法,两个板在压缩方法下的弯曲等于或小于允许的样本厚度偏差。处于关闭构型的受调节的样品厚度可以比样品当板处于开放相态时的最大厚度薄。

[0473] U4.一种用于最小化灰尘对调节样品的相关体量的厚度的影响的装置,包括:

[0474] 第一板和第二板,其可相对于彼此移动成不同的构型,并且每个板具有接触样品的样品接触表面,其中所述板中的一个或两个是柔性的;

[0475] 在一个或两个板的样品接触表面上的间隔物,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定与其相应的板上;

[0476] 其中所述构型之一是开放构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0477] 其中所述构型中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积在所述开放相态中之后配置;并且在关闭构型中:两板彼此面对,间隔物,样本的相关体量,以及厚度大于间隔物高度的一个或多个灰尘位于两板之间,样本的相关体量的厚度由两板和间隔件调节;和

[0478] 其中所述间隔物和所述板被配置为使得所述灰尘影响的所述两个板之间的面积最小化;其中受灰尘影响的区域是指这样的区域,其中灰尘防止了间隔件以与没有灰尘的情况下相同的方式在所述板的闭合相态中调节板之间的最终间隔;其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体量。

[0479] 3.3使用间隔物来减少表面平整度变化的影响

[0480] 实际上,板的表面没有完全平坦的可能。如图7a所示,在CROF中,与期望的样品厚度相比,表面平坦度变化可能显著地大,这可能在确定样品厚度时引起大的误差。随着CROF中的最终样品厚度变得非常薄(例如,在微米或纳米配置中),表面平坦度变化可以越来越多地导致显著的误差。

[0481] 表面平坦度变化可以通过板的表面平坦度变化距离,,来表征,其为从表面高度的局部最大值到相邻局部最小值的距离(如图7b所示)。

[0482] 本发明提供了使CROF工艺的闭合相态下的最终样品厚度的变化小于当板处于开放相态时存在于板的样品表面上的表面平坦度变化的装置。本发明中用于实现均匀的最终样品厚度的关键方法是使用柔性板,适当的间隔件间距离和适当的压制力(如图7c和d所示)。

[0483] 考虑到在CROF工艺中使用一个刚性板和柔性板的情况,在板的开放构造下,刚性板的样品表面具有良好的平坦度,但是柔性板的样品表面具有显著的表面平坦度变化(即与预期的最终样品厚度相比显著),如图7a和b所示。本发明通过使用(i) 小于初始表面平坦度变化距离的间隔体间距离来校正处于开放构造(例如,使平坦度变化更小)的样品表面的初始平坦度变化;(ii) 在闭合相态下样品和板之间的适当的压制力和/或适当的毛细管力以使柔性板变形;和(iii) 柔性板的适当的柔性,使得在板的最终构型下,柔性板的样品表面跟随刚性板的平坦表面的轮廓而变形(图7c)。此外,为了减少最终样品厚度变化,间隔物

间距离也应当小于柔性板的临界弯曲跨度。

[0484] 上述校正表面平坦度变化的方法也适用于以下情况：(a) 刚性板具有初始显著的样品表面平坦度变化，而柔性板具有平滑的样品表面，(b) 柔性板和刚性板都具有显著的样品表面平坦度变化以及 (c) 两个板都是柔性的，并且一个或两个板的样本表面具有显著的表面平坦度变化 (图7d)。

[0485] U5. 一种用于减少板的表面平坦度变化对CROF工艺中样品的相关体量的最终厚度均匀性的影响的方法，包括：

[0486] (a) 获得样品，其中所述样品的相关体量的厚度需要被调节；

[0487] (b) 获得能够相对于彼此移动成不同构型的两个板；其中一个或两个板是柔性的；并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件，所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度，并且每个所述间隔件固定于相应的板上；

[0488] (c) 当所述两板配置成开放构型时，将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上；其中所述开放构型是这样的构型，其中所述两个板或者部分地或完全地分开，并且所述板之间的间隔不受所述间隔件调节；

[0489] (d) 在 (c) 之后，通过使所述板进入封闭构型来铺展所述样品，其中在所述封闭构型中：所述板彼此面对，所述间隔物和所述样品的相关体量在所述两板之间，样品的相关体积的厚度由两板和间隔物调节；

[0490] 其中所述间隔件和所述板被配置为使得处于所述关闭构型下的样品的相关体量的厚度变化小于处于所述开放相态下的所述板的表面平坦度变化；其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体量。

[0491] U6. 一种用于减小板的表面平坦度变化对调节样品的相关体量的厚度的均匀性的影响的装置，包括：

[0492] 第一板和第二板，其可相对于彼此移动成不同的构型，其中所述板中的一个或两个是柔性的，并且一个或两个板具有表面平坦度变化；

[0493] 固定于一个或两个板上的间隔物，所述间隔件具有预定高度；

[0494] 其中所述构型之一是开放构造，其中：所述两个板部分地或完全地分开，所述板之间的间隔不受所述间隔件调节，并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上；

[0495] 其中所述构型中的另一个是闭合相态，其在所述样品沉积在所述开放相态中之后配置；并且在关闭构型中：两板彼此面对，间隔物和样本的相关体量位于两板之间，样本的相关体量的厚度由两板和间隔件调节；和

[0496] 其中所述间隔件和所述板被配置为使得处于所述关闭构型下的样品的相关体量的厚度变化小于处于所述开放相态下的所述板的表面平坦度变化；其中所述相关体量是所述样品的一部分或全部体量；并且相关体量的平均尺寸大于开放相态下的所述板的表面平坦度变化。

[0497] 在段落U5的方法和段落U6的装置中，用于减少板的表面平坦度变化对样品的相关体积的最终厚度的均匀性的影响的间隔物和板的配置包括使用适当的间隙间距离 (ISD)。一个优选实施例是ISD等于或小于处于开放构型的板的初始表面平坦度变化距离。

[0498] 在段落U5和U6的方法和装置中，在一些实施方案中，(1) 间隔物在封闭构型下在样品内部，(2) 间隔物固定于相应的板上，(3) 更短的间隔物间距离，或 (4) 其任何组合。

[0499] 在U1至U6的段落中的方法和装置中,使得样品的相关体量的厚度均匀的间隔物和板的配置包括上述实施方案。在一些实施例中,预定的间隔物距离被配置为其限制两板在两个间隔物之间的局部弯曲,其中相关体量是样品的一部分或整个体积。

[0500] 这包括板中的一个或两个是柔性的和各种不同的柔性的情况。(例如100 μm 厚的PMMA或PS)。

[0501] 在一个优选实施方案中,一块板是PMMA。在一个优选实施例中,一个板(第一板)是厚度为0.5至1.5mm厚的玻璃板,并且没有任何间隔物,而另一个板(第二)板是175 μm 厚的PMMA膜,并且具有间隔物阵列,其中间隔物是具有圆角的矩形形状(x方向上为40 μm ,y方向上为30 μm)的柱,并且在x方向上具有120 μm 的周期,在y方向上具有110 μm 的周期(因此在x和y方向上的间隔均为80 μm)。

[0502] 在第3部分的方法和装置中,处于闭合相态的样品内的间隔物,间隔物材料和板的一些实施方案包含了第2部分的实施方案。

[0503] 在段落U1-6的方法和装置中,在一些实施例中,柱宽度(或横向平均尺寸)与柱高度的比率为0.01或更大,0.1或更大,1或更大,1.5或更大,2或更大,3或更大,5或更大,10或更大,50或更大,100或更大,或任何两个值之间的范围。

[0504] 在段落U1-6的方法和装置中,在优选实施例中,柱宽度(或横向平均尺寸)与柱高度的比率为1,1.5,2,10,20,30,50,100或范围在任何两个值之间。

[0505] 在段落U1-6的方法和装置中,在一些实施例中,柱周期与柱宽度(或横向平均尺寸)的比率为1.01,1.1,1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,20,50,100,500,1000,10,000或这些值中任意两个之间的范围。

[0506] 在段落U1-6的方法和装置中,在一个优选的实施方案中,柱周期与柱宽度(或横向平均尺寸)的比为1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,20,30,或任何两个值之间的范围。

[0507] 在段落U1-6的方法和装置中,在一个优选的实施方案中,柱周期与柱宽度(或横向平均尺寸)的比为1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,或任何两个值之间的范围。

[0508] 例如,在血细胞计数应用中,优选的X板柱高度在1 μm 至5 μm 之间,柱宽度在2 μm 至30 μm 之间,柱周期在4 μm 至300 μm 之间。

[0509] 例如,在免疫测定应用中,优选的X板柱高度在5 μm 至50 μm 之间,柱宽度在10 μm 至250 μm 之间,柱周期在20 μm 至2500 μm 之间。

[0510] 第3部分中描述的实施例及其任何组合可以应用于(即与之组合)本发明的整个说明书中的其他实施例。

[0511] 在一些实施例中,还使用其它因素来控制样品厚度均匀性,这些因素包括但不限于样品面积,板的机械性能,在闭合构造下的最终样品厚度和板表面润湿性质。

[0512] 以下是第1部分和其余本公开内容中的方法和装置的一些优选实施例。

[0513] 在优选的实施方案中,间隔物是周期性方形阵列,其中间隔物是具有2至4 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸和1 μm 至100的间隔物间距的柱子。

[0514] 在优选的实施方案中,间隔物是周期性方形阵列,其中间隔物是具有2至4 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸和100 μm 至250的间隔物间距的柱子。

[0515] 在优选的实施方案中,间隔物是周期性的方形阵列,其中间隔物是具有4至50 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸和1 μm 至100的间隔物间距的柱子。

[0516] 在一个优选的实施方案中,间隔物是周期性方形阵列,其中间隔物是具有4至50 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸和100 μm 至250的间隔物间距的柱子。

[0517] 间隔物阵列的周期在一个优选实施方案中为1nm至100nm,在另一个优选实施方案中为100nm至500nm,在另一优选实施方案中为500nm至1000nm,在另一个优选实施方案中为1 μm (即1000nm)至2 μm 在另一优选实施方案中为3 μm 至5 μm ,在另一优选实施方案中为5 μm 至10 μm ,在另一优选实施方案中为10 μm 至50 μm ,在另一优选实施方案中为10 μm 至100 μm ,在单独的优选实施例中为100 μm 至175 μm ,在另一优选实施例中为175 μm 至300 μm 。

[0518] 4样品和沉积

[0519] 在使用CROF工艺的方法和装置的本发明中,通过几种方法或这些方法的组合来沉积样品。在沉积的一个实施例中,样品仅沉积在一个板上。在某些实施方案中,样品沉积在两个板(即第一和第二板)上。

[0520] 当板处于开放相态时,样品被沉积。在一些实施例中,第一板和第二板在样本沉积期间彼此很好地分离,使得样本容易沉积到一个板上而不会妨碍另一个板。例如,第一板和第二板可以很远,使得样品直接滴到第一板或第二板上,就好像另一块板不存在一样。在样品沉积的某些实施方案中,第一板和第二板在板的开口配置处彼此分开一定距离,然后将样品沉积在板上(例如通过横向流动或其他滴落方法)。在某些实施例中,两块板在板的所有操作期间具有连接在一起的一侧(例如边缘)(图30)。以及类似于打开和关闭书的两个板的打开和关闭。

[0521] 样品的沉积可以是单滴或多滴。多滴可以在一个位置或一个板或两个板的多个位置。液滴可以很好地彼此分离,连接或其组合。

[0522] 在一些实施例中,样品包括多于一种材料,并且材料一起或分开地沉积。材料分别以平行或顺序沉积。

[0523] 样品沉积到板(即第一板和第二板)可以使用装置或直接从受试者到板进行。在一些实施例中,使用装置来沉积样本。该装置包括但不限于移液器,针,棒,拭子,管,喷射器,液体分配器,尖端,棒,喷墨打印机,打印机,喷雾装置等。在某些实施方式中,样品通过直接接触样品源处的样品和CROF板,而不使用任何装置(即将样品和板放在一起以使两者接触)。这被称为“直接样品沉积”。

[0524] 将样品直接样品沉积到板上的例子是(a)刺入的手指(或其他身体部分)与板之间的直接接触,(b)将唾液吐出到板上,(c)通过泪液和板之间的直接接触在人眼中造成眼泪,(d)汗液和板之间的直接接触,以及(e)直接呼吸到板上,沉积呼吸等。这种直接沉积方法可以用于人类和动物。

[0525] 在一些实施例中,使用直接和间接(通过装置)样品沉积。

[0526] 在本发明中,沉积在平板或平板上的样品的体积(“样品体积”)为至多0.001pL(微微升),至多0.01pL,至多0.1pL,至多1pL,最10pL的,至多100点PL,最多为1纳升(纳升),至多10NL,至多100NL,至多1微升(微升),至多10微升,至多100微升,至多1毫升(毫升),至多10毫升,或这些值中任何两个的范围。

[0527] 在一些实施方案中,样品的沉积包括以下步骤:(a)将样品放置在一个或两个板上,并且(b)使用除CROF工艺中的第二板压缩以外的方式散布样品。传播样品的方法包括使用其他装置(例如棒,刀片),吹气或其他装置。

[0528] 样品变形。

[0529] 在CROF过程期间,在一些实施例中,样本表现为近似不可压缩的液体(其指的是在形状变形下保持恒定体积的液体),因此样本厚度的变化将导致样本区域的变化。在一些实施例中,样品表现得像可压缩液体,但是其在CROF工艺期间其厚度减小时其横向面积仍然膨胀。在某些实施方案中,样品是液体,凝胶或软固体,只要在CROF过程中,当它们的厚度减小时,它们的横向面积扩大。

[0530] 在所公开的本发明中,“面对第一板和第二板”是操纵第一板或第二板或两者的位置和取向的过程,使得样品位于第一板和第二板的内表面之间板和第二块板。在一些实施例中,“面向第一板和第二板”的动作通过人手,具有某些设备的人手或没有人手的自动设备来执行。

[0531] 在一些实施例中,厚度至多为1毫米,最多100 μm ,最多20 μm ,最多10 μm 或至多2微米。在一些实施例中,厚度至少为0.1微米。在一些实施例中,还包括测量厚度。

[0532] 在一些实施方案中,样品的相关体积的厚度的变化是至多300%,至多100%,至多30%,至多10%,至多3%,至多1%,至多0.3%或最多为有关区域有效直径的0.1%

[0533] 在一些实施例中,厚度至少部分地由预定高度确定。

[0534] 5. 分析物,实体,绑定站点,存储站点和传输媒介

[0535] 在本发明中,实体包括但不限于蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物,代谢物,细胞或纳米颗粒中的一种。

[0536] 在一些实施方案中,结合位点包括被配置成结合相应实体的结合配偶体。

[0537] 在一些实施方案中,结合位点包括与结合位点结合的实体。

[0538] 在一些实施方案中,放置样品包括将样品放置在结合位点内。

[0539] 在一些实施方案中,试剂包括蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物和代谢物中的至少一种。

[0540] 在某些实施方案中,存储位点包括干燥的试剂。

[0541] 在一些实施方案中,储存部位包括构造成在与样品接触时从储存部位释放的试剂。

[0542] 在一些实施例中,第一存储站点和第二存储站点位于公共存储站点中。

[0543] 在一些实施例中,转印介质是样品。在一些实施方案中,转移介质是液体,其中试剂或实体可以溶解并扩散到液体中。

[0544] 在一些实施例中,板具有多个存储位置。在另一个实施例中,一个存储位置具有多个试剂。

[0545] 不同的释放时间。在一些实施方案中,板在板的不同位置上具有多个储存位点或一个储存位点储存多种试剂,并且在通过储存位点与样品接触时,试剂释放但在不同时间释放以用于相同的存储位置或不同存储位置上的试剂。

[0546] 在一些实施方案中,第一试剂被配置成在第一平均释放时间内与样品接触时从第一储存位点释放,并且第二试剂被配置为在与第二储存位点接触后以第二储存位点释放平均释放时间,并且其中第一平均释放时间小于第二平均释放时间。

[0547] 在一些实施方案中,第一试剂被配置成在与样品接触时从第一储存位点释放,并且其中第二试剂是结合的试剂。

- [0548] 在一些实施方案中,沉积包括将至少一种试剂结合到相应的板上。
- [0549] 在一些实施例中,接触包括从相应板释放至少一种试剂。
- [0550] 在一些实施方案中,沉积包括沉积第一试剂和第二试剂,并且其中接触包括在第二试剂之前释放第一试剂。
- [0551] 在一些实施方案中,所述板中的至少一个包含储存位点,所述储存位点包括待添加至样品的相关体积的试剂。
- [0552] 在一些实施方案中,其中所述试剂包括蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物和代谢物中的至少一种。
- [0553] 在一些实施方案中,储存位点包括干燥的试剂。
- [0554] 在一些实施方案中,储存部位包括构造成在与样品接触时从储存部位释放的试剂。
- [0555] 在一些实施方案中,所述储存位点是第一储存位点,并且所述试剂是第一试剂,其中所述装置包括第二储存位点,所述第二储存位点包括待添加到所述样品的相关体积中的第二试剂,其中所述第二储存位点在一个盘子上。
- [0556] 在一些实施例中,第一存储站点和第二存储站点位于公共存储站点中。
- [0557] 在一些实施方案中,第一试剂被配置成在第一平均释放时间内与样品接触时从第一储存位点释放,并且第二试剂被配置为在与第二储存位点接触后以第二储存位点释放平均释放时间,并且其中第一平均释放时间小于第二平均释放时间。
- [0558] 在一些实施方案中,至少一种试剂在相应的板上干燥。
- [0559] 在试剂盒的一些实施方案中,至少一种试剂结合到相应的平板上。
- [0560] 在试剂盒的一些实施方案中,至少一种试剂被配置为在与样品接触时从相应的板释放。
- [0561] 在试剂盒的一些实施方案中,第一试剂位于一个或两个平板上,并且第二试剂位于平板中的一个或两个上,其中第一试剂配置为在与样品接触时从相应平板释放第一平均释放时间并且所述第二试剂被配置为在第二平均释放时间内与所述样品接触时从所述相应板释放,并且其中所述第一平均释放时间小于所述第二平均释放时间。
- [0562] 在装置的一些实施方式中,储存位点是第一储存位点并且试剂是第一试剂,其中该装置包括第二储存位点,该第二储存位点包括待添加到样品的相关体积中的第二试剂,其中第二个存储站点位于其中一个板上。
- [0563] 6. 本地结合或混合样的一部分 (P)
- [0564] 在某些应用中,需要有一个结合位点来捕获(即结合)分析物在一部分样本中,而不是在整个样本中。在一些情况下,也希望将试剂加入(即混合)到样品的端口中,而不是整个样品。通常期望样品的该部分与样品的其余部分之间不存在流体分离。在某些复用检测中,这样的要求是优选的或必需的。
- [0565] 本发明通过使用CROF方法和装置将样品重新成形为厚度超薄膜的小于样品部分的横向尺寸的超薄膜来提供上述要求的解决方案,其中只有内部的分析物那部分样本将被捕获,或者只有部分样本将与试剂混合。这种方法的工作原理是,当样品的厚度小于样品部分的横向尺寸时,通过表面捕获分析物或放置在表面上的试剂的混合可主要受限于分析物和试剂在厚度方向上的扩散,其中横向扩散的扩散相对不明显。例如,如果样品重新成形为

5um厚的薄膜,如果样品中应该捕获分析物或应该混合试剂的部分的横向尺寸为5mm×5mm,并且如果分析物或试剂在5微米上的扩散时间为10秒,则分析物或试剂在5毫米距离上的横向扩散为1,000,000秒(因为扩散时间与扩散距离的平方成比例)。这意味着通过选择样本的感兴趣部分的横向尺寸与样本厚度的适当比例,在特定的时间间隔内,捕获的分析物主要来自感兴趣的样本部分,或者试剂主要混合到感兴趣的样本。

[0566] 6.1样品的一部分中的实体与表面的局部结合(P:体积到表面)

[0567] P1.一种用于将样品的相关体积中的目标实体局部结合到表面上的结合位点的方法,包括:

[0568] (i)在段落X1的方法中执行步骤(a)至(d),其中封闭构型的样品厚度显着小于结合位点的平均线性尺寸;并且其中相关体积是当板处于闭合相态时位于结合位点上的样品的体积;

[0569] (ii)在(i)之后并且当板处于关闭配置时,可以:

[0570] (1)将样品温育相关的时间长度,然后停止孵育;要么

[0571] (2)将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值的时间,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估目标的结合实体在绑定站点;

[0572] 其中相关的时间长度是:

[0573] i.等于或大于目标实体在封闭构型下穿过均匀厚度层的厚度所需的时间;和

[0574] ii.明显短于目标实体在结合位点的最小横向尺寸横向扩散需要的时间;

[0575] 其中在(1)中温育结束时或在(2)中评估期间,与结合位点结合的靶实体的大部分来自样品的相关体积;

[0576] 其中所述温育允许所述目标实体结合所述结合位点,并且其中所述相关体积是所述样品在所述封闭构型处于所述结合位点上方的部分。

[0577] 段落P2的方法,其中术语“样品的相关体积的厚度显着小于结合位点的最小平均尺寸”是指结合位点的最小平均尺寸与样品厚度的比率(称为“长度与厚度比”)为至少3,至少5,至少10,至少20,至少50,至少100,至少500,至少1,000,至少10,000,至少100,000或值之间的任何范围。在优选的实施方案中,长度与厚度的比值为至少3,至少5,至少10,至少20,至少50,至少100,至少500或任何值之间的范围。

[0578] 段落P2的方法,其中术语“明显短于目标实体在结合位点的最小横向尺寸上横向扩散的时间”意指横跨最小横向尺寸扩散的时间结合位点的时间为整个样品厚度扩散(称为“长度与厚度的扩散时间比”)是至少3个,至少10个,至少50个,至少100个,至少1,000,至少10,000个,至少100,000,至少1,000,000或值之间的任何范围。在优选的实施方案中,长度与厚度扩散时间比率为至少3,至少10,至少50,至少100,至少1,000,至少10,000,或值之间的任何范围。

[0579] P2.一种用于将样品的相关体积中的实体局部结合到表面上的结合位点的装置,包括:

[0580] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造,

[0581] 其中所述第一板在其表面上具有结合位点,所述结合位点的面积小于所述板的面积并且被配置为结合样品中的目标实体,其中所述目标实体能够在所述样品中扩散,并且其中一个两个板均包括间隔件并且每个间隔件与其各自的板固定并具有预定高度;

[0582] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,

[0583] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在闭合相态中:板彼此面对,间隔物,结合位点和至少一部分样品位于板之间,样品接触结合位点的至少一部分,相关的厚度样品的体积由板和间隔物调节,当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄,其中相关体积是位于结合位点上的样品的体积;

[0584] 其中选择所述间隔物高度以在所述闭合相态下调节所述相关体积的所述厚度至少比所述结合位点的所述平均线性尺寸小3倍。

[0585] 将相关体积的厚度调节为比结合位点的平均线性尺寸小3倍,使得实体在样品厚度上的扩散时间比在与样品厚度的平均线性尺寸相等的距离上的扩散时间小9倍结合位点。这种厚度调节使得有可能选择孵育时间,使得孵育导致 (i) 相关体积中的大量目标实体与结合位点结合,以及 (ii) 显着数目的目标实体与结合位点来自样品的相关体积,并且其中温育是允许目标实体结合结合位点的过程。

[0586] 例如,如果温育时间设定为等于实体在样品相关体积的厚度上的扩散时间,那么在温育之后,相关体积内的大部分实体已经达到并且按照速率方程进行约束,而相关体积之外的实体(即,温育之前)最初只能扩散到相关体积的外围(相对小的体积),并且这种体积变得不太重要,因为结合位点的平均线性尺寸与相关体积厚度之比变大。

[0587] 6.2 存储在板表面上的结合实体结合到其他板表面上的结合位点(表面到表面)

[0588] P. 一种用于将存储在一个板的存储位置上的实体局部地绑定到另一个板上的绑定位置的方法,包括:

[0589] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构造的第一板和第二板,其中第一板的表面具有结合部位;并且第二板的表面具有包含与结合位点结合的实体的存储位点;其中结合位点的面积和试剂位点的面积小于各板的面积;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0590] (b) 中获得转印介质,其中所述实体能够溶解到转印介质中并扩散在转印介质中;

[0591] (c) 当板配置成开放相态时,沉积在一个或两个板上的转印介质;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0592] (d) 在(c)之后,通过使所述板进入关闭构型来展开所述转印介质,其中在所述关闭构型中:所述板彼此面对,所述间隔物,所述结合位点,所述存储位置和所述转移的至少一部分介质在板之间;存储位置的至少一部分与它们之间的一部分转印介质直接面对结合位点,并且转印介质的相关体积的厚度由板和间隔件调节,其厚度比最大厚度当板处于开放相态时,并且明显小于相关体积在板表面方向上的平均线性尺寸;和

[0593] (e) 中在(d)之后并且当板处于闭合相态时,孵育一段时间并停止孵育,其中选择孵育时间以使得与结合位点结合的显着数目的实体来自储存位点其中相关体积是位于结合位点上的转移介质的体积,并且孵育是允许该实体结合至结合位点的过程。

[0594] 术语“至少存储位置的一个端口直接面对绑定位置”是指从该位置中的点到绑定位置的最短距离与关闭位置处的关联配置的相关容量的厚度相同板。

[0595] P4. 一种用于将存储在一个板的存储位置上的实体与另一个板上的相关绑定位置

绑定的装置,包括:

[0596] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造,其中第一板的表面具有结合部位;并且第二板的表面具有包含与结合位点结合的实体的存储位点;其中结合位点的面积和存储位点的面积小于各板的面积;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0597] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不被所述间隔件调节,并且转印介质沉积在所述板中的一个或两个上,其中存储位置上的实体能够溶解到转印介质中并扩散到转印介质中,

[0598] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在传输介质沉积在开放相态之后配置;并且在关闭构造中:板彼此面对,间隔件,结合位点,存储位置和至少一部分转印介质位于板之间;存储位置的至少一部分与它们之间的一部分转印介质直接面对结合位点,并且转印介质的相关体积的厚度由板和间隔物来调节,并且比最大值当板处于开放相态时样品的厚度;

[0599] 其中所述相关体积是当所述板处于闭合相态时位于所述存储位置上的所述转移介质的体积;和

[0600] 其中选择所述间隔物高度以在所述闭合相态下调节所述相关体积的所述厚度至少比所述结合位点的所述平均线性尺寸小3倍。

[0601] 其中至少一个所述间隔物在所述样品接触区域内部;

[0602] 以及具有预定间隔距离和高度的间隔物。

[0603] 6.3一种用于将一个板的多个存储位置上的实体结合到另一个板上的多个对应结合位点的方法

[0604] P5.一种用于将存储在一个板的多个存储位置上的实体局部地绑定到另一个板上的多个相应绑定位置的方法,包括:

[0605] (a) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一板和第二板;其中第一板的表面具有多个结合位点,并且第二板的表面具有多个相应的存储位置;其中每个对应的存储位置位于第二板上对应于结合位点的位置的位置,使得当两个板面对面放置时,每个结合位点仅与一个存储位置重叠;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0606] (b) 中获得转移介质,其中存储位置上的实体能够溶解到转移介质中并扩散到转移介质中;

[0607] (c) 当板配置成开放相态时,沉积在一个或两个板上的转印介质;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0608] (d) 在(c)之后,通过使所述板进入关闭构型来展开所述转印介质,其中在所述关闭构造中:所述两个板彼此面对,所述间隔件,所述结合部位,所述存储部位和所述至少一部分转移介质位于板之间,每个结合位点仅直接面对一个对应的存储位点,转移介质接触每个结合位点的至少一部分和每个存储位点的一部分,相应体积的转印介质由板和间隔件调节,当板处于开放相态时比转印介质的最大厚度薄,并且明显小于结合位点的平均线性尺寸;和

[0609] (e) 中在 (d) 之后并且当板处于闭合相态时, 孵育一段时间并停止孵育, 其中选择温育时间以使得与每个结合位点结合的显著数目的实体来自相应的储存器其中相关体积是位于结合位点上的转移介质的体积, 并且孵育是允许实体结合到结合位点的过程。

[0610] 在一些实施例中, 间隔限于结合样本区域。

[0611] 在方法P5的一些实施方案中, 转移介质是具有目标分析物的样品, 结合位点包含捕获剂, 并且存储位点中的实体是检测剂, 其中目标分析物结合捕获剂和检测剂以形成捕获剂-分析物-检测剂三明治。方法P5简化了分析步骤, 并且通过使用更小的间隔物高度, 可以缩短样品厚度, 并缩短垂直扩散时间, 从而缩短饱和和分析时间, 从而减少分析物和检测试剂的检测时间。

[0612] P6. 一种用于将存储在一个板的多个存储位置上的实体局部地绑定到另一个板上的多个相应的绑定位置的设备, 包括:

[0613] 第一板和第二板, 所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0614] 其中第一板的表面具有多个结合位点, 并且第二板的表面具有多个相应的存储位置; 其中每个对应的存储位置位于第二板上对应于结合位点的位置的位置, 使得当两个板面对面放置时, 每个结合位点仅与一个存储位置重叠; 并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物, 并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0615] 其中所述构造之一是打开构造, 其中: 所述两个板部分地或完全地分开, 所述板之间的间隔不被所述间隔件调节, 并且转印介质沉积在所述板中的一个或两个上, 其中存储位置上的实体能够溶解到转印介质中并扩散到转印介质中,

[0616] 其中所述配置中的另一个是闭合相态, 其在传输介质沉积在开放相态之后配置; 并且在关闭的构造中: 两个板彼此面对, 间隔物, 结合位点, 储存位置和至少一部分转移介质位于板之间, 每个结合位点仅直接面对一个对应的储存位点, 转印介质接触每个结合部位的至少一部分和每个存储部位的一部分, 转印介质的相关体积的厚度由板和间隔件来调节, 并且比最大厚度当板处于开放相态时的转印介质;

[0617] 其中所述相关体积是当所述板处于闭合相态时位于所述存储位置上的所述转移介质的体积; 和

[0618] 其中选择所述预定隔离物高度以在关闭配置下调节相关容积的厚度, 使其显著小于结合位点的平均线性尺寸。

[0619] 6.4 本地将存储在表面上的试剂加入到的样品的一部分 (表面体积)

[0620] P7. 一种用于将试剂局部添加到样品的相关体积中的方法, 包括:

[0621] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板, 其中所述第一板在其表面上具有含有待加入到相关体积的样品中的试剂的存储位置, 所述试剂能够溶解到样品中并扩散到样品中, 并且存储位置的面积小于板的面积; 并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物, 并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0622] (b) 中获取样本;

[0623] (c) 当板配置成开放相态时, 将样品放置在一个或两个板上; 其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0624] (d) 在 (c) 之后, 通过使板进入关闭状态来铺展样品; 其中, 在闭合相态中: 板彼此面对; 间隔物, 储存位置和至少一部分样品位于板之间; 所述样本接触所述存储位置的至少

一部分并且在大于所述存储位置的区域上接触所述板；样品的相关体积的厚度由板和间隔物调节，当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄，并且明显小于相关体积的平均线性尺寸板表面方向；和

[0625] (e) 中在 (d) 之后并且当板处于闭合相态时，孵育一段时间并停止孵育，其中孵化时间选择为使得 (i) 溶解在样品中的显著数量的试剂包含在样品的相关体积和 (ii) 试剂是相关体积的重要部分，并且其中相关体积是当板处于闭合相态时位于存储位点上的样品的体积，并且孵育是允许试剂在样品中溶解和扩散的过程。

[0626] P8. 一种用于将储存在板表面上的试剂局部加入样品的相关体积中的装置，包括：

[0627] 第一板和第二板，所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造，

[0628] 其中所述第一板在其表面上具有存储位置，所述存储位置包含待添加到相关体积的样品中的试剂，所述试剂能够溶解到所述样品中并扩散到所述样品中；并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物，并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度；

[0629] 其中所述构造之一是打开构造，其中：所述两个板部分地或完全地分开，所述板之间的间隔不受所述间隔件调节，并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上；

[0630] 其中所述配置中的另一个是闭合相态，其在所述样品沉积之后以开放相态配置；并且在关闭的构造中：板相互面对，隔板，存储位置和样品的至少一部分位于板之间，样品与存储位置的至少一部分接触，并且至少一个板的表面在存储位置外面时，样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节，当板处于开放相态时，其厚度比样品的最大厚度薄，并且其中相关体积是当板处于封闭构型时位于存储位置上的样品的体积；

[0631] 其中选择所述垫片高度以在所述板的所述闭合相态下调节所述相关体积的厚度至少小于所述相关体积在所述板表面方向上的平均线性尺寸的3倍。

[0632] 7. 在结合位点形成捕获-分析物-检测三明治 (W)

[0633] 本发明的一个方面是通过使用CROF工艺在固体表面上的结合位点上形成捕获-分析物-检测夹层并且通过将结合位点放置在一个板上和存储检测的存储位置代理在另一个板的相应位置。

[0634] 7.1 在孵育的一个步骤中在结合位点上捕获-分析物-检测三明治 (一般) (W)

[0635] W1. 一种在板的结合位置形成捕获-分析物-检测三明治的方法，包括：

[0636] (a) 获得含有目标分析物的样品，其中目标分析物能够扩散到样品中；

[0637] (b) 获得捕获剂并获得检测剂，其中所述捕获剂和检测剂 (能够) 与所述目标分析物结合以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层；

[0638] (C) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一板和第二板；其中所述第一板具有捕获剂被固定在所述位点上的结合位点，并且所述第二板具有存储所述检测剂的存储位点；其中当所述储存位置与所述样品接触时，所述检测剂能够溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中；并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物，并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度；

[0639] (d) 当板配置成开放相态时，将样品放置在一个或两个板上；其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造；

[0640] (e) 在 (d) 之后，通过使所述板进入关闭构型来展开所述样品，其中在所述关闭构型中：所述板彼此面对，所述间隔件和相关体积的所述样品在所述板之间，相关厚度样品的

体积由板和间隔物调节,并且当板处于开放相态时比样品厚度更薄,并且样品与结合部位和存储部位接触;和

[0641] (f) 在(e)之后,当板处于闭合相态时,孵育一段时间以允许形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;

[0642] 其中相关体积是样品的至少一部分或全部体积。

[0643] W2.一种用于在板的结合位点上形成捕获-分析物检测三明治的设备,包括:

[0644] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0645] 其中所述第一板具有结合位点,所述结合位点具有固定在所述位点上的捕获剂,并且所述第二板具有存储检测剂的存储位点;其中所述捕获剂和所述检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;其中当所述储存位置与所述样品接触时,所述检测剂能够溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0646] 其中所述构造之一是开放相态,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0647] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品于开放相态时沉积;在关闭的构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且比样品更薄于当板处于开放相态并且样品与结合部位和存储部位接触时的厚度;

[0648] 其中相关体积是样品的至少一部分或全部体积。

[0649] 7.2使用来自一部分样品(即局部)的分析物,在一步孵育中在结合位点形成捕获-分析物检测三明治。

[0650] W3.一种使用来自一部分样品的分析物在板的结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治的方法,其包括:

[0651] (a) 获得含有目标分析物的样品,其中目标分析物能够扩散到样品中;

[0652] (b) 获得捕获剂并获得检测剂,其中所述捕获剂和检测剂能够结合所述目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹心物;

[0653] (c) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一板和第二板;其中所述第一板具有捕获剂被固定在所述位点上的结合位点,并且所述第二板具有存储所述检测剂的存储位点,当所述存储位点与所述样品接触的所述试剂能够溶解到样品中并扩散到样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0654] (d) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0655] (e) 中在(d)之后,通过使所述板进入关闭构型来展开所述样品,其中在所述关闭构型中:所述板彼此面对,所述间隔物,所述结合位点和所述存储位置在所述板之间,所述结合位点并且存储位置与样品的相关体积接触,并且样品的相关体积的厚度由板和间隔物调节并且当板处于开放相态时比样品厚度薄;并且显著小于结合位点的平均线性维度;和

[0656] (f) 在(e)之后并且当板处于闭合相态时,孵育一段时间并停止孵育,其中选择孵育时间以使得在结合位点形成大量的捕获-分析物-检测三明治结构包含来自相关体积样

品的分析物,其中相关体积是位于结合位点上的样品的体积,并且孵育是允许形成捕获-分析物检测三明治的过程。

[0657] 在一些实施例中,间距与部位尺寸的比率可以小于1/5。

[0658] W4.一种用于在板的结合位置上形成捕获-分析物-检测三明治的装置,所述捕获-分析物-检测三明治具有来自一部分样品的分析物,所述装置包括:

[0659] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0660] 其中所述第一板具有结合位点,所述结合位点具有固定在所述位点上的捕获剂,并且所述第二板具有存储检测剂的存储位点;其中所述捕获剂和所述检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;其中当所述储存位置与所述样品接触时,所述检测剂能够溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0661] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0662] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在闭合相态中:板彼此面对,间隔物,结合位点和储存位点在板之间,结合位点和储存位点与样品的相关体积接触,并且厚度样品的相关体积由板和间隔件调节并且当板处于开放相态时比样品厚度薄;并且其中相关体积是位于结合位点上的样品的体积;和

[0663] 其中选择间隔物高度以在关闭配置下调节相关体积的厚度,使其显着小于结合位点的平均线性尺寸。

[0664] 7.3通过减少扩散距离(W,X)来减少在结合位点形成捕获-分析物检测三明治的时间的方法。

[0665] W5.一种减少在板的结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治的时间的方法,包括:

[0666] (a) 获得含有目标分析物的样品,其中目标分析物能够扩散到样品中;

[0667] (b) 中获得捕获剂和获得检测剂,其中所述捕获剂和检测剂能够结合所述目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹心物;

[0668] (c) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一板和第二板;其中所述第一板具有捕获剂被固定在所述位点上的结合位点,并且所述第二板具有存储所述检测剂的存储位点,当所述存储位点与所述样品接触的所述试剂能够溶解到样品中并扩散到样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0669] (d) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0670] (e) 中在(d)之后,通过使板进入关闭构型来铺展样品,其中在关闭构型中:板彼此面对,间隔物,结合位点和储存位点在板之间,结合位点与存储位置重叠,结合位置和存储位置与样品的相关体积接触,并且样品的相关体积的厚度由板和间隔物来调节,并且当样品厚度小于样品厚度时盘子处于开放状态;并且由此样品厚度的减小减少了分析物和检测试剂在样品厚度上垂直扩散的时间,其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[0671] 其中允许相关体积中的目标实体结合到结合位点的时间段短于没有关闭结构的

时间段。

[0672] 该方法可以进一步包括清洗步骤以去除板之间的样品,并且当板处于闭合相态或开放相态时执行清洗步骤。

[0673] 该方法进一步包括读取步骤,该步骤从固定在结合位点上的捕获-分析物-检测夹层中读取信号。读取在洗涤之后或者没有任何洗涤之后进行。

[0674] 如上面或下面所述,该方法可以进一步被多路复用。

[0675] W6.一种用于减少在板的结合位点上形成捕获-分析物检测三明治的时间的装置,包括:

[0676] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0677] 其中所述第一板具有结合位点,所述结合位点具有固定在所述位点上的捕获剂,并且所述第二板具有存储检测剂的存储位点;其中所述捕获剂和所述检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;其中当所述储存位置与所述样品接触时,所述检测剂能够溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0678] 其中所述构造之一是开放相态,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0679] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品在开放相态中沉积;在闭合相态中:板彼此面对,间隔物,结合位点和储存位点在板之间,结合位点与储存位点重叠,结合位点和储存位点与相关的样品的体积,并且样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且薄于当板处于开放相态时样品的厚度;并且由此样品减小的厚度减少了分析物和检测试剂在样品厚度上垂直扩散的时间,其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[0680] 在这些实施例中,该方法可以包括附着捕获剂的板,其中所述附接是通过所述捕获剂与在平板上的反应性基团的化学反应来完成。另一个板可以在一个位置处包含干燥的检测试剂贴片,使得在板关闭后,附着的捕获剂和检测试剂贴片彼此面对。接着,如上所述,该方法可以包括含有靶接触样品-分析物与装置并关闭板。检测试剂溶解并扩散到样品中。由于目标分析物处于溶液中,目标分析物将被捕获剂结合并固定到其中一个板的表面。检测试剂可以在与捕获剂结合之前或之后与目标分析物结合。在一些情况下,该方法可以包括除去未结合于捕获剂靶的任何分析物,或任何未结合的检测试剂(例如,通过洗涤板的表面在结合缓冲液);检测试剂可以与光学可检测标记物缀合,从而提供检测目标分析物的方式。任选地除去未结合到目标分析物的检测试剂后,系统可以读取,例如,使用一个读出系统,以读出的光信号(例如,光的波长是在300nm到1200nm之间),其被结合至板上。此外,如上所述,检测试剂可以被直接标记(在这种情况下,检测试剂可以在沉积到其中一个平板上之前与发光标记强烈连接),或间接标记(即通过结合检测剂的第二捕获剂,例如,被标记的第二抗体或标记的核酸,特异性结合到检测代理并连接到发光标签)。在一些实施例中,该方法可以包括封端剂,从而防止捕获剂与非靶分析物的非特异性结合。对于特定目标分析物的绑定条件包括合适的温度,时间,溶液pH水平,环境光照水平,湿度,化学试剂浓度,抗原-抗体比率等等,都是众所周知的或可从本公开中容易地推导出来。用于捕获剂与其结合配偶体(包括分析物)之间的分子相互作用的方法的一般方法在本领域中是公知的(参见例如Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual,第1版(1988) Cold spring Harbor, NY;

Ausubel等, Short Protocols in Molecular Biology, 第3版, Wiley&Sons, 1995)。上面和下面描述的方法是示例性的; 本文的方法不是进行测定的唯一方式。

[0681] 在某些实施方案中, 核酸捕获剂可用于捕获蛋白质分析物(例如DNA或RNA结合蛋白)。在某些实施方案中, 蛋白质捕获剂(例如DNA或RNA结合蛋白)可用于捕获核酸分析物。

[0682] 样品可能是一个来自于临床的样本细胞, 组织或体液。感兴趣的体液包括但不限于羊水, 房水, 玻璃体液, 血液(例如全血, 分离的血液, 血浆, 血清等), 母乳, 脑脊液(CSF), 耳垢(耳垢), 乳糜, 钟状, 内淋巴, 外淋巴, 粪便, 胃酸, 胃液, 淋巴, 粘液(包括鼻腔引流和痰), 心包液, 腹膜液, 胸膜液, 脓液, 大黄, 唾液, 皮脂(皮肤油)精液, 痰, 汗液, 滑液, 眼泪, 呕吐物, 尿液和呼出的冷凝物。

[0683] 在该测定的一个实施方案中, 使板与含有目标分析物(例如目标蛋白)的样品接触, 并且将板关闭。样品含有或修改为含有适合于特异性结合条件的所有必需试剂(例如, 盐等)。捕获剂(例如抗体)和检测剂特异性结合样品中的目标分析物, 从而导致可检测到的标记分析物的贴片。

[0684] 如在任何实施例中那样, 可以测量样品中的目标分析物的量以提供样品中目标分析物的量的定性或定量测量。在一些实施方案中, 信号的量值提供样品中目标分析物的量的定量测定。在一些情况下, 评估可以与在某些情况下可能处于已知浓度的标准曲线(例如, 第二分析物或加标分析物的标准曲线)比较。通过沉积不同密度(例如不同浓度)的捕获剂并从每个捕获剂块读取信号可以促进该比较。

[0685] 8用小体积(V)结合和添加样品和试剂

[0686] 在许多应用中, 非常希望使用尽可能小体积的样品或试剂。然而, 在微流体通道装置(当今使用小样品的最普遍的方法)中, 从装置的入口流动到测试(检测)区域浪费大量样品, 导致需要更大的样品体积而不是测试位置的体积。本发明的一个方面是通过在板上沉积微量体积的样品或试剂, 然后将体积重塑为具有较小厚度的薄膜, 但显着减少测试中使用的样品或试剂的体积, 但是比以前更大的面积。这种重塑也可以加快反应速度。

[0687] 8-1通过扩散样品, 将目标实体绑定在表面结合位点上的小体积样品中。

[0688] V1. 一种将样品中的目标实体与结合位点结合的方法, 包括:

[0689] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构造的第一板和第二板, 其中所述第一板在其表面上具有结合位点, 并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且每个间隔物被固定与其各自的板并具有预定的高度;

[0690] (b) 获得含有待与所述结合位点结合的目标实体的样品;

[0691] (c) 当板配置成开放相态时, 将样品放置在一个或两个板上; 其中, 在开放相态中: 两个板部分地或完全地分开, 板之间的间隔不受隔离物限制, 并且样品在沉积时不覆盖结合部位的区域或部分区域;

[0692] (d) 在(c)之后, 通过使板进入关闭状态来铺展样品; 其中在闭合相态中: 板相互面对, 间隔物和相关体积的样品在板之间, 样品接触结合部位的更多区域, 而不是当板处于开放相态时接触的区域, 并且样品在结合位点上的相关体积的厚度由板和间隔物来调节, 其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0693] V2. 一种用于将样品中的目标实体与表面结合位点结合的装置, 包括:

[0694] 第一板和第二板, 所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0695] 其中所述第一板在其表面上具有与样品中的目标实体结合的结合位点,并且其中当所述样品仅沉积在所述板中的一个上时所述结合位点的面积大于所述样品的接触面积,接触另一块板;

[0696] 其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0697] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间距不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板和盖中的一个或两个上,如所保存的,无论是结合部位的区域还是部分区域;

[0698] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在闭合相态中:板相互面对,隔板和样品在板之间,样品接触结合部位的更多区域,而不是当板处于开放相态时接触的区域,并且样品的厚度在结合位点由板和间隔物调节。

[0699] 8-2通过扩散样品将试剂加入小体积样品中

[0700] V3.一种将样品中的目标实体与结合位点结合的方法,包括:

[0701] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中所述第一板在其表面上具有含有待添加到所述样品中的试剂的存储位置,并且其中所述板包括间隔件并且每个间隔件与其各自的板固定并具有预定的高度;

[0702] (b) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中在所述开放相态中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品在沉积时不接触存储位置的区域或部分区域;

[0703] (c) 在(b)之后,通过使板进入关闭状态来铺展样品;其中在闭合相态中:板彼此面对,间隔件和相关体积的样品在板之间,样品接触储存位置的更多区域,而不是当板处于开放相态时接触的区域,并且样品的相关体积的厚度由隔离物调节;并且其中所述相关体积是所述存储位置上的所述样本的一部分。

[0704] V4.一种用于将样品中的目标实体与结合位点结合的装置,包括:

[0705] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造,

[0706] 其中所述第一板在其表面上具有含有试剂的储存位置并且所述试剂将被添加到所述样品中,并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0707] 其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0708] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,

[0709] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在关闭构造中:板相互面对,间隔件和相关体积的样品位于板之间,与板处于开放相态时相比,样品接触存储位置的更多区域,并且厚度样品的相关体积的数量由间隔物调节;并且其中所述相关体积是所述存储位置上的所述样本的一部分。

[0710] 在V1和V2的方法以及V3和V4的装置中,由于样品的体积小和表面的润湿性,在一些情况下甚至样品沉积在结合位点区域或存储区域中,沉积样品与板的接触面积将小于结合位点或存储位点的面积。因此,需要传播,特别是精确传播。

[0711] 样品滴可能是多滴,而在封闭配置下,滴合并成厚度小于最大厚度的薄膜。

[0712] 在本发明中,在段落V1至V7的方法和段落V2至V8的装置中,沉积在板或板上的样品的体积(“样品体积”)至多为0.001pL(皮升),至多0.01pL,至多0.1pL,至多1pL,至多10pL,至多100pL,至多1nL(纳升),至多10nL,至多100nL,至多1uL(微升),至多10uL,至多100uL,至多1mL(毫升),至多10mL或这些值中任何两个的范围。

[0713] 9使用均匀样本厚度均匀绑定或均匀添加试剂(UAB)

[0714] 对于分析和化学反应,有利的做法是在相当大的区域内使薄样品厚度均匀。这些例子包括将样品实体结合到表面结合位点,将试剂添加到样品中,定量样品的相关体积,定量分析物等。

[0715] 对于使用两块板来减少和调节样品的相关体积(部分或全部体积)的厚度的方法,精确,均匀和易于使用是至关重要的。

[0716] 本发明的一个方面是通过用两个板压缩样品来改进调节样品的相关体积的厚度的方法和/或装置的精度,均匀性或易于使用。

[0717] 9.1将样品中的实体均匀结合到板的结合位点的方法

[0718] UAB1.一种将样本中的实体均匀地结合到板的结合位点的方法,包括:

[0719] (a)获得含有能够在样品中扩散的目标实体的样品;

[0720] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中所述第一板在其表面上具有被配置为结合所述目标实体的结合位点,其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且每个隔离物与其相应的板固定并具有预定的高度;

[0721] (c)当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0722] (d)在(c)之后,通过使板进入闭合相态来铺展样品,其中在闭合相态中:板彼此面对,间隔物和样品的相关体积在板之间,结合位点在与相关体积接触,样品的相关体积的厚度由板和间隔物调节,并且与板处于开放相态相比,比样品的最大厚度更薄并且在结合上更均匀现场;

[0723] 其中所述间隔件和所述板被配置为使得在所述板闭合构造下的所述相关体积的所述调节厚度比所述板打开构造中的所述相应体积的所述调节厚度更均匀;并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0724] 它还在与结合位点相对的平板上具有用于形成均匀三明治的存储位置。

[0725] UAB2.一种用于将样本中的实体均匀地结合到板上的结合位点的装置,包括:

[0726] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0727] 其中所述第一板在其表面上具有被配置为结合所述目标实体的结合位点,其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且所述间隔物中的每一个与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0728] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0729] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且处于关闭状态:板互相面对,垫片和样品的相关体积在板之间,结合部位与相关体积接触,样品相关体积的厚度由板和间隔件,并且与板相比处于开放相态,比样品的最大厚度更

薄并且在结合位点上更均匀；

[0730] 其中所述间隔件和所述板被配置为使得在所述板闭合构造下的所述相关容积的所述调节厚度比所述板打开构造中的所述相关容积的所述调节厚度更均匀；并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0731] 9.2将板上的试剂均匀加入样品中的方法

[0732] UAB3.一种均匀地将试剂加入到相关体积的样品中的方法，包括：

[0733] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板，其中所述第一板在其表面上具有含有待加入到相关体积的样品中的试剂的存储位置，所述试剂能够溶解到样品中并扩散到样品中；并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物，并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度；

[0734] (b) 获取样本；

[0735] (c) 当板配置成开放相态时，将样品放置在一个或两个板上；其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造；

[0736] (d) 在(c)之后，通过使板进入关闭构型来展开样品，其中在关闭构型中：板彼此面对，间隔物和样品的相关体积在板之间，存储位置在接触相关体积，并且样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度薄；

[0737] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置下的所述相关体积的区域上比所述板开放相态下的所述相关体积的区域更均匀；并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0738] UAB4.一种用于将试剂均匀地加入到相关体积的样品中的装置，包括：

[0739] 第一板和第二板，所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造；

[0740] 其中所述第一板在其表面上具有存储位置，所述存储位置包含待添加到相关体积的样品中的试剂，所述试剂能够溶解到所述样品中并扩散到所述样品中；并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物，并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度；

[0741] 其所述构造之一是打开构造，其中：所述两个板部分地或完全地分开，所述板之间的间隔不受所述间隔件调节，并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上；

[0742] 其中所述配置中的另一个是闭合相态，其在所述样品沉积之后以开放相态配置；并且处于关闭状态：板互相面对，隔板和样品的相关体积位于板之间，存储位置与相关体积接触，并且样品的相关体积的厚度被调节当所述板处于开放相态时，所述板和所述间隔件的厚度小于样品的最大厚度；

[0743] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置下的所述相关体积的区域上比所述板开放相态下的所述相关体积的区域更均匀；并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0744] 9.3一种在结合位点上均匀形成捕获-分析物-检测三明治的方法

[0745] UAB5.一种用于在板的结合位点上均匀捕获-分析物检测三明治的方法，包括：

[0746] (a) 获得含有目标分析物的样品；

[0747] (b) 获得捕获剂并获得检测剂，其中所述捕获剂和检测剂(能够)与所述目标分析物结合以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层；

[0748] (c) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一板和第二板；其中所述第一板具有

捕获剂被固定在所述位点上的结合位点,并且所述第二板具有储存所述检测剂的储存位点,当所述储存位点与所述样品接触时,所述检测剂能够是溶解到样品中并扩散到样品中;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0749] (d) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0750] (e) 在(d)之后,通过使板进入关闭构型来展开样品,其中在关闭构型中:板彼此面对,间隔件和相关体积的样品在板之间,相关厚度样品的体积由板和间隔物调节并且当板处于开放相态时比样品厚度更薄,并且样品与结合部位和存储部位接触;

[0751] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置下的所述相关体积的区域上比所述板开放相态下的所述相关体积的区域更均匀;并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0752] UAB6. 一种用于在板的结合位点上均匀捕获-分析物检测三明治的装置,包括:

[0753] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0754] 其中所述第一板具有结合位点,所述结合位点具有固定在所述位点上的捕获剂,并且所述捕获剂能够结合样品中的目标分析物;

[0755] 其中所述第二板具有存储所述检测剂的存储位置,所述存储位置能够(a)当所述存储位置与所述样本接触时,所述检测剂被溶解到所述样本中并且扩散到所述样本中;和(b)与目标分析物结合并形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;

[0756] 其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0757] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0758] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在关闭的构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且比样品更薄当板处于开放相态并且样品与结合部位和存储部位接触时的厚度;

[0759] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置处的所述相关体积的区域上比所述板开放相态处的厚度更均匀;并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0760] 9.4统一调节两板间样品相关体积的厚度。

[0761] UAB7. 一种用于调节样品的相关体积的厚度的方法,包括:

[0762] (a) 获得样品,其中要调节样品的相关体积的厚度;

[0763] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件距离和高度,并且每个所述间隔件与其各自的板固定;

[0764] (c) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0765] (d) 在(c)之后,通过使所述板进入关闭构型来展开所述样品,其中,在所述关闭构

型中:所述板彼此面对,所述间隔件和所述样品的相关体积位于所述板之间,相关厚度样品的体积由板和垫片调节,并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度薄;

[0766] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置下的所述相关体积的区域上比所述板开放相态下的所述相关体积的区域更均匀;并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0767] UAB8.一种用于调节样品的相关体积的厚度的装置,包括:

[0768] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造;

[0769] 其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件距离和高度,并且每个所述间隔件与其各自的板固定;

[0770] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0771] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在关闭的构型中:板相互面对,隔板和相关体积的样品位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和隔板调节并且比最大值当板处于开放相态时样品的厚度;

[0772] 其中所述间隔物和板被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在所述板关闭配置下的所述相关体积的区域上比所述板开放相态下的所述相关体积的区域更均匀;并且其中相关体积是样品的一部分或全部体积

[0773] 在U1至U8的段落中的方法和装置中,使样本的相关体积的厚度均匀间隔物和板的构造具有本公开中描述的实施例。

[0774] 样品厚度的均匀性。在U1至U8的段落中的方法和装置中,样品的相关体积的厚度的均匀性使得在闭合相态下的样品厚度具有至多0.001%,至多0.01%的相对变化,,最多0.05%,最多0.1%,最多0.5%,最多1%,最多2%,最多5%,最多10%,最多20%,最多30%,最多50%至多75%,至多90%,小于100%或这些值中的任何两个之间的范围。

[0775] 在U1至U8的段落中的方法和装置的优选实施例中,样本的相关体积的厚度的均匀性使得在闭合相态下的样本厚度具有至多0.1%的相对变化,至多0.5%,至多1%,至多2%,至多5%,至多10%,至多20%,至多30%,至多50%或这些值中任何两个之间的范围。

[0776] 降低饱和和培养时间可能很重要的另一个参数是样品厚度的均匀性。如果厚度在结合位点上具有大的变化,则饱和和孵育时间可以在结合位点中随着位置而变化,迫使更长的饱和和孵育时间以确保结合位点中的所有位置都达到饱和。

[0777] 10增强表面

[0778] 对于PoC诊断和任何使用少量样本量的分析来说,目前的主要障碍之一是灵敏度差。希望增强测定的信号。本发明的一个方面涉及将结合位点置于信号放大表面(SAS)上以放大信号以实现更高灵敏度的装置和方法。信号放大表面也可以被称为信号放大层(SAL)。

[0779] SAL的一般结构包括纳米级金属-电介质/半导体-金属结构,其放大局部表面电场以及梯度和光信号。在金属结构的尖锐(即大曲率)边缘和两个金属结构的小间隙之间的位置放大率高。最高增强区域是具有尖锐边缘和小间隙的区域。此外,所有金属和非金属微/纳米结构的尺寸通常小于SAL放大的光的波长(即亚波长)。

[0780] 在一些实施例中,SAL层尽可能多地具有金属尖锐边缘和小间隙。这需要具有密集的金属纳米结构组和纳米结构之间的小间隙。SAL结构可能包含几个不同的层。此外,SAL层

本身可以通过一种方法进一步改善,该方法可以进一步覆盖不具有尖锐边缘和小间隙的金属材料部分,如美国临时申请序列号No.2013年3月15日提交的美国临时专利申请61/801,424和2014年3月15日提交的PCT申请W02014197096(为了所有目的通过引用并入本文)以及PCT/US2014/028417(Chou等人,“Analyte Detection Enhancement By Targeted Immobilization, Surface Amplification, and Pixelated Reading And Analysis”),其出于所有目的通过引用结合于此。

[0781] 信号放大表面的一个特定实施例是D2PA阵列(磁盘耦合的点上柱天线阵列),其还可以包括覆盖所述金属点结构的至少一部分的分子粘附层,所述金属盘和/或所述金属背板以及任意的特异性结合分析物的捕获剂,其中所述捕获剂连接至D2PA阵列的分子粘附层。当所述分析物结合到捕获剂时,纳米传感器可以放大来自分析物的光信号。在一些实施例中,SAL的一个,几个或所有关键金属和电介质成分的尺寸小于感测中的光的波长。磁盘耦合的点对柱天线阵列的物理结构的细节,它们的制造方法,将捕获剂链接到磁盘耦合的点对柱天线阵列的方法以及使用磁盘耦合的点对柱用于检测分析物的天线阵列在包括W02012024006,W02013154770,Li等人(Optics Express 2011 19,3925-3936),Zhang等人(Nanotechnology 2012 23:225-301);和Zhou等(Anal.Chem.2012 84:4489),为了所有目的通过引用并入本文。

[0782] 10.1放大检测样品相关体积中目标实体的信号

[0783] M1.一种用于放大测定样品的相关体积中的目标实体的信号的方法,包括:

[0784] (a)获得包含目标实体的样本;

[0785] (b)获得可相对于彼此移动成不同配置的两个板,其中所述板中的一个在其表面上包括一个结合位点,所述结合位点包括信号放大表面,所述信号放大表面被配置为结合所述目标实体并放大光信号,在信号放大表面上或附近;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物在其相应的板上并且具有预定高度;

[0786] (c)当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是这样的配置:其中所述两个板被分开并且所述板之间的间隔不被所述隔离物调节;

[0787] (d)在(c)之后,通过使所述板进入关闭构型来展开所述样品,其中,在所述闭合相态中:所述板彼此面对,所述样品的间隔物和相关体积位于所述板之间,相关厚度样品的体积由板和间隔物调节,并且比板处于开放相态时的样品薄,并且样品的相关体积与结合位点接触;和

[0788] (e)在(d)之后,在平板处于闭合相态时温育一段时间以允许相关体积的样品中的目标实体结合至结合位点;

[0789] 其中所述相关体积是当所述板处于所述闭合相态时与所述结合位点接触的所述样品的一部分。

[0790] M2.一种用于在分析样品的相关体积中的目标实体时放大信号的装置,包括:

[0791] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造,

[0792] 其中所述第一板在其表面上包含一个结合位点,并且所述结合位点包含信号放大表面,所述信号放大表面被配置为(i)结合样品中的目标实体和(ii)放大处于或接近信号放大表面;

[0793] 其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物在其相应的板上并

具有预定高度；

[0794] 其中所述构造之一是打开构造，其中：所述两个板部分地或完全地分开，所述板之间的间隔不受所述间隔件调节，并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上，

[0795] 其中所述配置中的另一个是闭合相态，其在所述样品沉积之后以开放相态配置；并且在关闭的构型中：板彼此面对，间隔件和样品的相关体积位于板之间，样品的相关体积的厚度由板和间隔件来调节，并且比当板材处于开放状态；

[0796] 其中所述相关体积是当所述板处于所述闭合相态时与所述结合位点接触的所述样品的一部分。

[0797] 在一些实施例中，信号放大表面包括金属-电介质纳米结构，金属-半导体纳米结构以及磁盘耦合的点-柱子天线阵列中的至少一个。

[0798] 在一些实施例中，信号放大表面包括金属层。

[0799] 11在快速结合测试中节省试剂体积(S)

[0800] 在将试剂中的实体与表面上的结合位点结合的情况下(例如用捕获剂涂覆平板或将生物样品表面染色)，期望具有短的温育时间。短时间孵育的一种方法是显着增加试剂中的实体浓度。然而，这种方法对实体是浪费的，因此是昂贵的，因为在很短的温育时间内，试剂中靠近结合位点的实体中只有一小部分可以到达结合位点，其余的位置太远扩散到结合位点进行结合并且没用和浪费。对于普通溶液中常见试剂的典型扩散常数，对于1秒(秒)，10秒和100秒的孵育时间，典型的扩散长度分别为约10微米，33微米和100微米。典型表面上液滴的典型厚度为2.5毫米，比上述扩散长度厚至少25倍，如果孵育时间为100秒或更短，则导致显着的浪费(昂贵)。本发明的一个方面是将试剂滴落到大面积但非常薄的厚度(比自然滴落更薄)以节省试剂并因此降低成本。

[0801] 11.1一种用于保存包含在由扩频试剂结合到一个表面结合位点的试剂目标实体试剂法。(体积具有小于结合位点的天然接触面积)

[0802] S1.一种用于保存含有与表面结合位点结合的靶标实体的试剂的方法，包括：

[0803] (a) 获得可相对于彼此移动成不同构造的第一板和第二板，其中所述第一板在其表面上具有结合位点，并且其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且每个间隔物被固定与其各自的板并具有预定的高度；

[0804] (b) 中(i) 包含能够结合结合位点的靶标实体的试剂，和(ii) 具有体积和湿润性质，使得沉积在结合位点上的试剂的接触面积不接触另一个板，比结合位点的面积大；

[0805] (c) 当板配置成开放相态时，将样品放置在一个或两个板上；其中，在所述开放相态中：所述两个板部分地或完全地分开，并且所述板之间的间隔不受所述间隔件的限制；

[0806] (d) 在(c)之后，通过使板进入关闭状态来铺展样品；其中在闭合构造中：板彼此面对，间隔件和样品在板之间，样品接触结合部位的更多区域，而不是当板处于开放相态时的样品的厚度，并且样品的厚度在结合位点上由板和间隔物调节，并且比板处于开放结构时更薄。

[0807] 在段落S1的方法中，其进一步包括在(d)之后且板处于闭合相态时，孵育一段时间并停止孵育，其中孵育时间大约等于目标实体的时间当板处于闭合相态时跨越最大样本厚度扩散，并且其中孵育是允许实体结合结合位点的过程。

[0808] S2.一种用于保存含有与表面结合位点结合的靶标实体的试剂的装置，包括：

[0809] 第一板和第二板,所述第一板和第二板能够相对于彼此移动成不同的构造,

[0810] 其中所述第一板在其表面上具有结合试剂中目标实体的结合位点,并且其中如果所述试剂仅沉积在所述板中的一个上,则所述结合位点的面积大于所述试剂的接触面积,而没有接触另一块板;

[0811] 其中所述板中的一个或两个包括间隔物,并且每个所述间隔物与其相应的板固定并且具有预定高度;

[0812] 其中所述构造之一是开放相态,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述试剂沉积在所述板中的一个或两个上;

[0813] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述试剂沉积在所述开放相态之后配置;并且在关闭配置中:板相互面对,隔板和试剂位于板之间,与板处于开放相态时相比,试剂接触结合部位的更多区域,并且试剂厚度结合位点由板和间隔件来调节,并且比板处于开放相态时更薄。

[0814] 12体积和/或浓度的检测和/或定量(Q)

[0815] 定量和/或控制样品的相关体积可用于定量和/或控制样品中化学化合物(包括分析物,实体,试剂等)的浓度。

[0816] 样品体积定量的常用方法包括使用计量移液管(例如Eppendorf的“研究加移液管,可调节,0.5-10 μ L”,SKU#312000020)或几何形状。对于PoC(床旁检测)或家庭使用,这种计量装置不便于使用和/或昂贵。需要更简单和更便宜的方法和装置来量化和/或控制样品体积和/或浓度。

[0817] 本发明的一个方面涉及量化和/或控制沉积在板上的样品的相关体积而不使用计量移液管和/或固定微流体通道的方法,装置和系统。相关体积可以是样品的一部分或全部体积,与量化和/或控制样品中目标分析物和/或实体的浓度有关。本发明的方法,装置和系统易于使用且成本低廉。

[0818] 12.1量化样品相关体积的方法

[0819] Q1.一种量化样品的相关体积的方法,包括:

[0820] (a)获得样品,其中要量化样品的相关体积;

[0821] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且所述间隔物具有预定的间隔物间距离和高度,并且每个间隔物与其各自的板固定;

[0822] (c)当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[0823] (d)在(c)之后,通过使板进入关闭构型来展开样品,其中在关闭构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,相关的厚度样品的体积由板和隔离物调节并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄,并且至少一个隔离物在样品内部;

[0824] (e)在盘子处于关闭状态时量化样品的相关体积;

[0825] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[0826] Q2.在一些实施例中,用于量化样品中的相关体积的方法包括:

[0827] (a)获得第一板和第二板;

[0828] (b)使样品在两块板之间量化;

[0829] (c) 通过压缩降低样品厚度的两个板使样品的形状变形,并横向地在样品板之间扩散样品;和

[0830] (d) 在盘子处于关闭状态时量化样品的相关体积;

[0831] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[0832] 12.2用于量化样品中相关体积的印版

[0833] Q3.用于量化样品中相关体积的板,包括:

[0834] 在其表面上包括(i)具有预定间隔距离和高度并固定在表面上的间隔物的板,和(ii)用于使样品与待量化的相关体积接触样品接触区域,其中至少一个间隔物在样本接触区域内部。

[0835] 12.3用于量化样品中相关体积的装置

[0836] Q4.一种量化样品中相关体积的装置,包括:

[0837] 第一板和第二板,所述第一板和第二板(a)能够相对于彼此移动成不同的构造,并且(b)每个具有用于使样品与待量化的相关体积接触样品接触区域,

[0838] 其中所述板中的一个或两个在其表面上包括具有预定的间隔件间距离和高度的间隔件,并且所述间隔件与相应的板固定;

[0839] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,

[0840] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在关闭的构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件来调节,并且比当板处于开放相态,并且至少一个间隔件位于样品内部;和

[0841] 其中样品的相关体积在封闭构型中量化,并且相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[0842] 12-5.测量样品的相关体积

[0843] MS1.在本发明中,当板处于关闭配置时量化样品的相关体积包括但不限于以下五个实施例中的每一个:

[0844] (a)通过机械,光学,电学或其任何组合的方法测量样品的相关体积;

[0845] (b)使用从机械,光学,电学或其任何组合的方法中选择的方法独立地测量与样品的相关体积相关的一个或多个参数;

[0846] (c)使用与样品的相关体积相关的预定的一个或多个参数(即,在板处于闭合相态之前确定的样品的参数)

[0847] (d)通过以下方式确定样品的相关体积:(i)当板处于关闭配置时测量与打磨排气量相关的一个或多个参数,以及(ii)在板处于关闭配置之前预先确定与相关体积有关的其他参数;

[0848] (e)确定无样品体积

[0849] (f)上述的任何组合(即a,b和c)。

[0850] 在段落MS1的方法中,机械方法包括但不限于使用间隔物(即,将衬底和盖板的内表面之间的间距调节到预定值的机械装置),机械探测器或尺子,声波(例如超声波的反射和/或干涉以测量间隔)或其任何组合。

[0851] 在段落MS1的方法中,光学方法包括但不限于使用光干涉或光学成像(例如,取样品的2D(二维)/3D(三维)图像,光学多次(具有不同视角,不同波长,不同相位和/或不同偏振)的成像,图像处理或其任何组合。

[0852] 电气方法包括但不限于电容或电阻或阻抗测量,或其任何组合。

[0853] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,样本厚度的测量是测量两个板的内表面之间的间距。

[0854] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,使用与样品的相关体积相关的预定的一个或多个参数,其中预定参数是预定的样品厚度,当板是在一个封闭的配置。

[0855] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,使用与样本的相关体积有关的预定的一个或多个参数,其中预定参数是预定的间隔物高度。

[0856] 在MS1的段落的方法中,在一些实施例中,与样本的相关体积有关的参数是处于闭合相态的参数,包括但不限于(i)第一个内表面(ii)样品厚度,(iii)样品区域的整个或相关部分,(iv)样品体积的全部或相关部分,或(v)它们的组合。

[0857] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,量化样品体积或相关样品体积包括以下步骤:(i)将样品厚度乘以整个样品区域以获得整个样品体积;(ii)将通过相关样本区域的样本厚度来获得相关样本容量,或者(iii)将相关样本厚度乘以整个或相关样本区域以获得相关样本容量。

[0858] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,测量是采取相关体积的3D(三维)图像。

[0859] 在段落MS1的方法中,在一些实施方式中,通过测量样品的相关体积的横向面积来量化样品的相关体积,然后将其与相关体积的厚度一起用于确定相关体积其中相关体积的厚度由间隔物的信息确定,并且间隔物的信息包括间隔物高度;

[0860] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,通过一起测量样品和隔离物的相关体积的横向面积来量化样品的相关体积,然后将其与相关体积的厚度和体积确定样品的相关体积的体积,其中相关体积的厚度由通知间隔物确定;

[0861] 在段落MS1的方法中,在一些实施方案中,通过测量样品的相关体积的横向面积和厚度来量化样品的相关体积;

[0862] 在段落MS1的方法中,在一些实施方案中,通过光学地测量样品的相关体积的体积来量化样品的相关体积。

[0863] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,刻度标记用于在板处于闭合相态时辅助量化样品的相关体积,其中刻度标记的一些实施例,它们的使用和测量等在第2节中描述。

[0864] 在段落MS1的方法中,在一些实施方案中,样品的相关体积的量化包括减去无样品体积的步骤,其中在一些实施方案中,通过在披露

[0865] 12-4. 量化样品相关体积中分析物浓度的方法

[0866] Q5. 一种用于定量样品的相关体积中的分析物的方法,包括:

[0867] (a) 按照Q1段的方法执行步骤;和

[0868] (b) 在步骤(a)之后测量与来自相关体积的分析物有关的信号,

[0869] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[0870] Q6. 一种用于定量样品的相关体积中的分析物的方法,包括:

[0871] (a) 执行第Q2段所述方法中的步骤;和

- [0872] (b) 在步骤(a)之后测量与来自相关体积的分析物有关的信号,
- [0873] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。
- [0874] 在段落Q5-6中的任一段的方法中,在一些实施方式中,其还包括通过将与分析物相关的信号与样品的相关体积除以相关体积的体积来计算分析物浓度的步骤。
- [0875] 在段落Q5-6中任一段的方法中,一个或两个平板进一步包含结合位点,储存位点或两者。
- [0876] 在段落Q5-6中的任一段的方法中,在一些实施方案中,与分析物相关的信号是直接来自分析物或附着于分析物的标签的信号。
- [0877] Q7.一种用于定量样品的相关体积中的分析物的方法,包括:
- [0878] (a) 执行段落Q1的方法中的步骤,其中一个或两个板进一步包含结合位点;和
- [0879] (b) 在步骤(a)之后测量与来自相关体积的分析物有关的信号,
- [0880] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。
- [0881] Q8.一种用于定量样品的相关体积中的分析物的方法,包括:
- [0882] (a) 执行段落Q2的方法中的步骤,其中一个或两个平板进一步包含结合位点;和
- [0883] (b) 在步骤(a)之后测量与来自相关体积的分析物有关的信号,
- [0884] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。
- [0885] 在段落Q7-8中的任一段的方法中,在一些实施方案中,与分析物有关的信号是直接来自结合结合位点的分析物的信号或结合至结合位点的附着于分析物的标记。
- [0886] 12.5用于量化样品中相关体积中分析物浓度的板
- [0887] Q9.用于量化样品中相关体积中分析物浓度的板,其包含:
- [0888] 在其表面上包括(i)具有预定间隔距离和高度的间隔物的板,和(ii)用于使样品与待量化的相关体积中的分析物浓度接触的样品接触区,其中至少一个其中一个垫片位于样品接触区域内。
- [0889] 12.6用于在样品中以相关体积定量分析物的浓度使用的装置
- [0890] 如果对样品中目标分析物和/或实体的数量进行量化,并对样品的相关体积进行量化,则可以量化或控制样品中目标分析物和/或实体的浓度。
- [0891] Q10.一种用于量化样品中相关体积中的分析物浓度的装置,包括:
- [0892] (a)可相对于彼此移动成不同构造的第一板和第二板,和(b)每个具有样品接触区域,用于接触具有待量化的相关体积中的分析物浓度的样品,其中一个或两个所述板在其表面上包括具有预定的间隔件间距和高度的间隔件,并且每个间隔件用相应的板固定;
- [0893] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,
- [0894] 其中所述配置中的另一个是闭合相态,其在所述样品沉积之后以开放相态配置;并且在关闭的构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件来调节,并且比当板处于开放相态,并且至少一个间隔件位于样品内部;和
- [0895] 其中样品的相关体积中的分析物浓度在闭合相态下量化,并且相关体积是样品的整个体积的至少一部分。
- [0896] 在段落Q9和Q10中任一段的装置中,所述板进一步包含结合位点,或存储位点,或

两者。结合位点的一个实施方案是结合样品中分析物的结合位点。

[0897] 在段落Q9和Q10中任一段的装置中,板还包括一个或多个刻度标记,其中在部分2中描述的刻度标记的一些实施例。

[0898] 在Q1-10的段落中的任一个的方法或设备中,在一些实施例中,测量设备包括成像器和相机中的至少一个。

[0899] 在Q1-10的段落中的任一个的方法或装置中,在一些实施例中,测量装置被配置成对样本的相关体积的侧面区域成像。

[0900] 在Q1-10的段落中的任一段的方法或装置中,在一些实施例中,测量装置包括照亮样本的相关体积的侧面区域的光源。

[0901] 在Q1-10中任一段落的方法或装置中,在一些实施例中,计算浓度的步骤是将总目标分析物或实体除以相关样本体积。

[0902] 在Q1-10中任一段落的方法或装置中,在一些实施例中,测量信号是使用光学成像器来计数目标分析物或实体的数量。例如,测量可以是使用光学显微镜来测量血液样品中的血细胞(红细胞,白细胞,血小板)。

[0903] 在Q1-10任一段落的方法或装置中,在一些实施方案中,测量样品中目标分析物或实体的数量可以是捕获目标分析物或表面上的实体的表面固定化测定的实施方案。

[0904] 在一些实施例中,用于量化样品的体积或检测/量化样品中的分析物的设备包括段落Q1-10中的任何设备,加上(1)光学成像器,和/或(2)光源和光学成像仪等。光学成像仪包括光电传感器,光学透镜,滤波器,偏振器,波片,分束器,机械安装件或其任何组合。

[0905] 在一些实施例中,相关样本区域或体积的测量包括(i)在第一板,盖板,它们之间或它们的任何组合上具有标记,(ii)进行光学成像(例如,采取2D二维)/3D(三维)图像,并且图像拍摄可以具有不同视角,不同波长,不同相位和/或不同偏振的多次)和(iii)基于制造者的图像处理 and 样本图像。相关手段与确定目标分析物浓度有关。

[0906] 扫描。在一些实施例中,从样本读取信号使用扫描方法,其中读取器(例如光电探测器或相机)读取样本(或板)的一部分,然后移动到样本(或板)的另一部分,并且这样的过程继续直到读取样本(或板)的某个预先指定的端口。样本的扫描读数覆盖样本(或平板)的全部或部分样本(或平板)。在一些实施例中,扫描读数由指示样本(或板)的位置的位置标记来辅助。位置标记的一个例子是具有固定周期和位置的周期性间隔物,或者也具有用于指示样品或板的位置的预定位置和尺寸的相关区域的标记。

[0907] 13检测和量化分析物及其他(D)

[0908] 在某些实施例中,通过测量与分析物有关的信号来检测和/或量化分析物(即测定),其中信号是光信号,电信号,机械信号,化学物理信号或其任何组合。在一些实施例中,当CROF装置中的两个板彼此靠近时执行分析。在一些实施例中,当CROF装置中的两个板彼此分离时执行分析物测定。

[0909] 光学信号包括但不限于光反射,散射,透射,吸收,光谱,颜色,发射,强度,波长,位置,偏振,发光,荧光,电致发光,化学发光,电致化学发光或其任何组合。光学信号以光学图像(即,光信号vs样本或设备的位置)或来自给定面积或体积的所有光子的总数的形式呈现。光的优选波长在400nm至1100nm的范围内,50nm至400nm的范围内,1nm至50nm的范围内或1100至30,000nm的范围内。另一个优选的波长是太赫兹。

[0910] 电信号包括但不限于电荷,电流,阻抗,电容,电阻或其任何组合。机械信号包括但不限于机械波,声波,冲击波或振动。化学物理信号包括但不限于反应中产生的PH值,离子,热量,气泡,颜色变化。

[0911] 例如,标签是珠子,并且标签通过分析物特异性结合过程连接到标签(例如,使用检测剂将珠子结合到分析物上,使用捕获剂用珠子捕获分析物,使用捕获剂以结合分析物,然后使用检测试剂附着珠子或其他方法注意捕获和检测试剂特异性结合分析物),然后使用测量来识别附着于分析物的每个珠子并对它们进行计数。

[0912] 在一些实施例中,通过光学手段(例如(i)光学标签和标签读数,(ii)表面等离子体共振,(iii)光学干涉,(iv)电气方法)来感测和计数每个分析物或珠子(例如电容,电阻,阻抗等)或其他,传感器可以位于第一板和/或第二板的表面上。

[0913] 某些实施方式可以包括确定(a)表面固定化测定中,(b)大量测定(例如血细胞计数)和(c)其他中的分析物浓度。在一些实施方案中,样品体积的方法,样品的相关体积或浓度使用智能手机。

[0914] 在Q1-10中任一段落的方法或装置中,在一些实施方式中,测量信号用于测量样本中分析物的数量,或者测量附着于样本中分析物的标签的数量。在段落Q5的另一个实施方案中,“测量信号”是(a)识别附着于每种分析物的每种分析物或标签,并且(b)计数它们的数量。

[0915] 在一些实施方案中,当电极放置在第一和第二板中的一个或两个上时(这适用于使用CROF的任何方法和装置),分析物检测是电学方法。电极测量样品的电荷,电流,电容,阻抗或电阻,或其任何组合。电极测量样品中的电解质。电极的厚度等于或小于厚度垫片的厚度。在一些实施例中,电极用作间隔物的一部分。电极由各种导电材料制成。优选的电极材料是金,银,铝,铜,铂,碳纳米管或其任何组合。

[0916] 在Q1-10的段落中的任一个的方法或设备中,在一些实施例中,测量使用作为照相机或光电检测器的设备加上被配置为进行测量的可选处理器。

[0917] 在Q1-10中任一段落的方法或装置中,在一些实施例中,浓度确定装置包括处理器,该处理器被配置成根据测量值(体积,面积,厚度,分析物的数量,强度)

[0918] 在Q1-10中任一段落的方法或装置中,在一些实施方式中,其还包括浓度确定装置,所述浓度确定装置被配置为根据所测量的横向区域,厚度以及测量的目标分子的量。

[0919] 更多关于使用像素化阅读和分析的信号检测

[0920] 在本发明中,在一些实施方案中,检测来自样品,分析物和实体,结合位点,试剂,CROF板或其任何组合的信号并分析。在本公开中描述了使用像素化读取和分析的信号检测的一些实施例,而在公开号W02014144133A和申请号PCT/US2014/028417(Chou等,“Analyte Detection Enhancement By Targeted Immobilization,表面放大和像素化读取和分析”),为了所有目的通过引用将其并入本文。

[0921] 在一些实施例中,信号是电磁信号,包括具有不同频率,光强度,荧光,色度,发光(电和化学发光),拉曼散射,时间分辨信号(包括闪烁)的电和光信号。信号还可以是由于板和读取装置之间的局部电,局部机械,局部生物或局部光学相互作用而产生的力。信号还包括信号的空间(即位置),时间和频谱分布。检测信号也可以是吸收。

[0922] 分析物包括蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,小分子,细胞,不同形状的纳米粒子。目标

分析物可以是溶液,也可以是空气或气相。感测包括检测存在,浓度的量化以及确定目标分析物的状态。

[0923] 在一些实施例中,使用电场来辅助分子选择性或粘合以及检测。

[0924] 检测/阅读方法

[0925] 在光学检测(即通过电磁辐射检测)的一些实施例中,所述方法包括但不限于远场光学方法,近场光学方法,落射荧光光谱学,共聚焦显微镜术,双光子显微镜术和总计内部反射显微镜,其中目标分析物用电磁辐射发射器标记,并且这些显微镜中的信号可以通过CROF板的放大表面放大。

[0926] 在一些实施例中,信号包括位置,局部强度,局部频谱,局部极化,局部相位,所述信号的局部拉曼签名或其任何组合的信息。

[0927] 在一些实施例中,信号的检测是测量来自区域的总和信号(即来自该区域的信号,而不管该区域中的哪个位置)。

[0928] 在某些实施例中,信号的检测是测量区域的信号图像(即,信号vs位置);即该区域被分成像素,并且该区域的每个像素的信号被单独测量,这也被称为“PIX”或“像素化成像检测”。每个像素的单独测量可以是并行或顺序的或混合的。

[0929] 在一些实施例中,读数使用适当的检测系统来按顺序或并行或其组合地检测待检测信号。在顺序检测中,一次检测一个或几个像素,扫描仪将用于将检测移至SAL的其他区域。在并行检测中,多像素检测器阵列(例如成像相机(例如CCD))将用于同时检测来自不同像素的信号。扫描可以是单路径或多路径,每个路径的像素大小不同。PCT/US2014/028417的图2C示意性地示出了x,y,z台上的像素化读数。

[0930] 读取/检测的像素大小将根据光学分辨率和总读取时间的平衡进行调整。较小的像素尺寸将需要较长时间来读取/扫描整个或部分SAL。典型的像素大小为1 μ m到10 μ m。像素具有不同的形状:圆形,方形和矩形。像素尺寸的下限由显微镜系统的光学分辨率决定,并且确定像素尺寸的上限以避免成像器的不均匀光学响应的读取误差(光学像差,照明均匀度等)。

[0931] 阅读系统

[0932] 参考PCT/US2014/028417中的图,读取系统的实施例包括(a)用于CROF的一个或多个板;(b)读取装置205,用于产生从所述板的表面发出的信号的图像,其中信号表示单独的目标分析物结合事件;(c)保持板和成像器的装置组件300;(d)用于存储所述图像的电子器件和数据存储器301;(e)计算机,其包括用于识别和计数图像的区域中的个别绑定事件的程序。

[0933] 装置组件300在三个(x,y,z)正交方向中的至少一个正交方向上控制或改变板和读取装置之间的相对位置,以读取信号。装置组件的实施例包括扫描仪301。在一些实施例中,扫描仪301扫描三个(x,y,z)正交方向中的至少一个。

[0934] 在一些实施例中,读取装置302是CCD照相机。在一些实施例中,读取装置302是包括从光学滤波器303,光谱仪,透镜304,孔径,分束器305,反射镜306,偏振器307,波片和快门中选择一个或多个其它光学装置的光电检测器。在一些实施例中,他阅读设备302是智能电话或移动电话,其具有本地和远程通信的能力。读取装置收集所述信号的位置,局部强度,局部频谱,局部拉曼特征或其任何组合。

[0935] 在一些实施例中,光学滤波器303,光束分离器305,光纤,光电探测器(例如pn结,二极管,PMT(光电倍增管)或APD(雪崩光电二极管),成像相机(例如CCD或手机相机)并且光谱仪与由设备组件301提供的扫描仪一起被耦合到使用远场共焦设置或宽视场设置的显微镜系统。

[0936] 在一些实施例中,在共焦设置中,通过一次记录一个或几个像素的亮度,时间变化和光谱变化并且光栅扫描SAL的整个感兴趣区域来执行读取。在一些实施例中,在广角视野设置中,使用摄像机记录一次SAL区域的整个或部分区域的亮度和时间变化。在一些实施例中,需要适当的光学滤波器和光束操纵器(偏振器,分束器,光纤等)以确保仅收集和检测期望的信号。PCT/US2014/028417的图9示意性地示出了该系统的组件的一种布置。

[0937] 像素化分析(PIX)。在PIX的一些实施例中,分析以像素化方式检测的信号以确定在特定像素或几个像素处的特定分子的数量和/或类型,其又用于量化类型和/或浓度目标分析物。术语“以像素化方式检测到的信号”是指这样一种方法,其中具有信号的区域被划分为像素,并且来自该区域的每个像素的信号被单独测量,这也被称为“PIX”或“像素化成像检测”。每个像素的单独测量可以是并行或顺序的或混合的。

[0938] 在一些实施例中,分析包括分析信号的空间,节奏,光谱信息。在一些实施例中,分析包括但不限于统计分析,比较,整合等。PCT/US2014/028417的图5示出了该方法的一个实施例的流程图。

[0939] 分析方法-1。信号分析的一个实施例分析-1包括(1)确定局部背景信号强度,(2)确定一个标签,两个标签等的局部信号强度;和(3)确定成像区域中的标签总数。

[0940] 背景信号是指除了样品不含有任何目标分析物外,在其他样品的精确条件下生成的信号。

[0941] 分析方法-1的一个实施例使用EM-CCD来记录空间分布生物测定信号强度。在另一个实施例中,使用手机(智能手机,移动电话)来对信号进行成像。

[0942] 分析方法-1的一些细节分析如下:

[0943] (1)确定当地的背景信号强度。为了确定背景信号,使用参考样本。该参考样本是没有任何分析物固定的平板,并且使用相同的仪器组在相同的实验条件下对平板上的生物测定进行成像。然后将图像中所有像素的强度绘制在直方图中,该直方图给出了某个信号强度下的像素数量。然后将具有最相应像素数的信号强度确定为背景信号Background。该背景强度与其标准偏差(sd)一起用于确定用于区分本地背景和本地热点的阈值,该阈值是阈值=背景+n*sd这里n是用作参数的整数调整阈值。通常,在这项工作中,n设定为3,5或7。

[0944] (2)对于单个亮像素($I_{x,y}$ >阈值),使用两步法确定标签的局部信号强度。首先,样本的时间演变成像用于发现具有单个标签(分析物)的热点。成像的总时间在10秒的范围内,并且分辨率在10毫秒的范围内。对于单个分析物的热点,观察到热点荧光强度的明确ON/OFF二元行为。显示此类行为的像素首先被计为单个标签/分析物。因此记录它们在图像和强度上的坐标。然后将这些火锅的平均强度用作平板测定中单个标记的亮度。

[0945] 其次,不显示这种二元行为的明亮像素因此表示多个标记/分析物。然后,我们将它们的信号强度与单个标签的平均亮度进行比较,以计算本地热点中的标签数量。或者,基于泊松统计原理利用另一简化过程。在低浓度分析物($<1\text{pM}$)下,少量被分析物固定在高密度等离子体热点($\sim 2.5 \times 10^7 \text{mm}^{-2}$)内的概率观察到泊松分布,这意味着超过两个分析物位

于同一等离子体热点的温度低。例如,在1fM的目标分析物中,位于我们的成像区域内的两个以上标签的概率小于0.01% (估计)。因此,可以假定所有不显示单个标签行为的明亮热点仅包含两个标签。

[0946] (3) 在完成(1)和(2)之后,可以列出热点像素坐标,强度和相应标签号的列表。标签总数可以通过SUM获取每个亮像素的标签数量。

[0947] 分析-2的方法。信号分析的一个实施例分析-2包括(1)确定本地背景信号频谱,(2)确定一个标签,两个标签等的本地信号频谱;和(3)确定成像区域中的标签总数。

[0948] Analysis-2基于使用高分辨率光谱仪和共聚焦显微镜设置来记录生物测定信号光谱的空间分布。Analysis-2的一些细节分析如下:

[0949] (1) 为了确定背景信号,使用参考样本。该参考样品是没有任何分析物固定的传感板,并使用相同的仪器组在相同的实验条件下对传感板上的生物测定进行成像。然后使用共聚焦显微镜来测量局部生物测定信号谱。检测区域由高分辨率光谱仪之前的针孔尺寸和显微镜物镜的数值孔径决定。共聚焦显微镜光栅扫描感测板的整个感测位置以获得背景信号谱 $I(x, y, \lambda)$ 的空间分布。然后绘制直方图,其给出具有特定谱矩($\int I(\lambda) d\lambda$)的像素的数量。类似于分析-1步骤(1),具有最多像素的光谱矩被用作背景信号并且它们的标准偏差被使用以确定阈值: $I(\lambda)_{\text{threshold}} = I(\lambda)_{\text{background}} + n * sd(\lambda)$ 。这里n是用作调整阈值的参数的整数。通常,在这项工作中,n设定为3,5或7。

[0950] (2) 为了收集单个亮像素的光谱,使用耦合到高分辨率光谱仪的共聚焦显微镜装置。读出与步骤(1)类似地进行。由于单个分子的光谱只能用曝光时间为几秒的高灵敏度CCD才能可靠地检测到,因此无法提供足够的时间分辨率来确定热点中单个标签的二元行为。因此,为了确定明亮像素处的标签数量,我们将比较不同明亮像素之间的光谱时刻。由于感应板的放大倍数较大,单个或多个标签可以与背景区分开来。因此可以确定热点内的分析物的数量。

[0951] (3) 在完成(1)和(2)之后,可以列出热点像素坐标,谱矩和对应标签号的列表。标签总数可以通过SUM获取每个亮像素的标签数量。

[0952] 分析-3(像素化SERS信号感测)。信号分析的一个实施例分析-3包括(1)确定“表面增强拉曼散射”(SERS)签名的局部背景信号,(2)确定一个标签,两个标签等的局部SERS信号;和(3)确定成像区域中的标签总数。

[0953] Analysis-3基于使用高分辨率光谱仪与共聚焦显微镜设置结合来记录生物测定信号SERS光谱的空间分布。Analysis-3的一些细节分析如下:

[0954] (1) 为了确定背景信号,使用参考样本。该参考样品是没有任何分析物固定的传感板,并使用相同的仪器组在相同的实验条件下对传感板上的生物测定进行成像。然后使用共聚焦显微镜来测量局部生物测定SERS谱。检测区域由高分辨率光谱仪之前的针孔尺寸和显微镜物镜的数值孔径决定。共聚焦显微镜光栅扫描发送板的整个感测位置以获得背景信号谱 $I(x, y, \text{cm}^{-1})$ 的空间分布。对于某个生物神经元,绘制直方图,给出具有分子独特的SERS信号强度 $I(\text{cm}^{-1})$ 的像素数量。类似于分析-1步骤(1),具有最多像素的光谱矩被用作背景信号并且它们的标准偏差被用于确定阈值: $I(\text{cm}^{-1})_{\text{threshold}} = I(\text{cm}^{-1})_{\text{background}} + n * sd(\text{cm}^{-1})$ 。这里n是用作调整阈值的参数的整数。通常,在这项工作中,n被设定为等于3,5或7。

[0955] (2) 为了找到局部热点,共焦显微镜设置用于以类似于(1)的方式对传感板的整个

感测位点进行光栅扫描。与分析-1或分析-2不同,SERS是无标记检测方法,单分子SERS信号不显示二元行为。因此,为了确定明亮像素处的标签数量,我们将比较单个明亮像素之间的SERS标签I (cm^{-1})。由于传感板的大量放大,因此可以将单个或多个分析物与背景区分开来。然后可以确定热点内的分析物的数量。

[0956] (3)在完成(1)和(2)之后,可以列出热点像素坐标,SERS签名强度和相应标签号的列表。标签总数可以通过SUM获取每个亮像素的标签数量。

[0957] 分析-4方法。信号分析的一个实施例分析-4包括(1)通过智能手机拍摄板的相关区域的图像(即图片);(2)在本地分析数据(使用相同的智能手机进行分析),远程(将数据传输到远程站点进行分析)或两者;和(3)在智能手机上显示数据,无论是否有关于数据含义的专家建议。在一些实施例中,分析包括成像处理方法,包括但不限于Open-CV或Image-J中的方法。

[0958] 14标记

[0959] 在整个公开中描述的光学标签的实施例的一个或任何组合适用于在本发明的整个描述中描述的所有方法和设备。

[0960] 在一些实施方案中,标记物附着于检测剂,分析物或实体(连结物)。在某些实施方案中,标签是光学标签,电子标签,可用于产生光学或电子信号的酶,或其任何组合。在某些实施方案中,检测试剂,分析物或实体(连结体)连接随后连接至标签的连接分子(例如蛋白质,核酸或其他化合物)。

[0961] 在一些实施例中,光学标签是可以产生光学信号的物体,其中光学信号的产生包括但不限于光(即光子)的反射,散射,透射,吸收,光谱,颜色,发射,强度,波长,位置,偏振,发光,荧光,电致发光,光致发光(荧光),化学发光,电化学发光或其任何组合。在一些实施例中,光信号是光学图像(即,光信号vs样本或设备的位置)的形式或来自给定面积或体积的所有光子的总数。光的优选波长在400nm至1100nm的范围内,50nm至400nm的范围内,1nm至50nm的范围内或1100至30,000nm的范围内。另一个优选的波长是太赫兹。

[0962] 珠子,纳米粒子和量子点。在一些实施例中,光学标签是珠子,纳米粒子,量子点或其任何组合。

[0963] 在一些实施例中,珠子,纳米粒子或量子点的直径为1nm或更小,2nm或更小,5nm或更小,10nm或更小,20nm或更小,30nm或更小,40nm或更小50nm或更小,60nm或更小,70nm或更小,80nm或更小,100nm或更小,120nm或更小,200nm或更小,300nm或更小,500nm或更小,800nm或更小1000nm或更小,1500nm或更小,2000nm或更小,3000nm或更小,5000nm或更小,或者任何两个值之间的范围。

[0964] 在一些实施方案中,珠或量子点用作标记,并且它们预涂覆在CROF板上,并且两块板之间的内部间隔为 $1\mu\text{m}$ 或更小, $10\mu\text{m}$ 或更小, $50\mu\text{m}$ 或更小,或者介于任何两个值。

[0965] 在一些实施方案中,溶液中珠粒之间的分离

[0966] -扩散时间。(转印介质相关体积的厚度导致光学标签在整个厚度上的扩散时间小于1毫秒,

[0967] -溶解时间可以控制。该控件可以使用光子,热量或其他通道及其组合。在施加激发能量之前溶解不会开始。

[0968] 标签的一些实施方式中是具有10nm或更大直径的纳米颗粒。这种大直径的纳米颗

粒比小分子(质量<1000Da)和大分子(质量=1,000至1,000,000道尔顿(da))具有更小的扩散常数,导致给定溶液和距离的扩散时间更长。时间,就是减少扩散距离。

[0969] 段落Q1-Q2中任一段所述的方法,其中所述一个或多个开放配置包括所述板远离的配置,使得所述样品直接沉积到一个板上,就好像所述另一个板不存在一样。

[0970] Q1.段落Q1的方法,其中所述一个或多个开放配置包括所述板彼此远离的配置,使得所述样品沉积到所述一对板中的一个板上而不妨碍所述一对板中的另一个板。

[0971] 当光学标签是直径大于几纳米的珠子或其他纳米粒子时,它们相对于现有技术具有特别的优势。这是因为对于一阶近似,液体中物体的扩散常数与物体的直径成反比(根据爱因斯坦-斯托克斯方程)。

[0972] 例如,分别具有20nm,200nm和2000nm直径的珠光学标签具有扩散常数,因此扩散时间比珠粒2nm的扩散时间大10,100和1000倍。对于当前测定中使用的典型扩散距离,这将导致长时间的饱和培养时间,这对于PoC(Point of Care)应用是实用的。

[0973] 但是,本发明已经解决了直径大于几纳米的光学标签的长时间孵育时间。本发明将光学标签储存在板表面上,然后将存储表面放置在亚毫米,微米或甚至纳米级别的分离距离(两者之间)的结合位点附近,并通过转移填充分离间隙介质(其中存储的光学标记物溶解到转移介质并扩散到结合位点)。本发明还能够在较大的粘合部位区域上均匀地控制这样的小距离,并且容易通过使用间隔技术。

[0974] 标记分析物可以包括使用例如标记试剂,例如包含可检测标记的分析物特异性结合成员。可检测标记包括但不限于荧光标记,比色标记,化学发光标记,酶联试剂,多色试剂,抗生物素蛋白-链霉抗生物素相关检测试剂等。在某些实施方案中,可检测标记是荧光标记。荧光标记是可由荧光检测器检测的标记部分。例如,荧光标签与感兴趣分析物的结合可以允许感兴趣分析物被荧光检测器检测。荧光标记的实例包括但不限于与试剂接触时发荧光的荧光分子,当用电磁辐射(例如UV,可见光,x射线等)照射时发荧光的荧光分子等,等等。

[0975] 在某些实施方案中,用于标记的合适荧光分子(荧光团)包括但不限于IRDye800CW,Alexa 790,Dylight 800,荧光素,异硫氰酸荧光素,羧基荧光素的琥珀酰亚胺酯,荧光素的琥珀酰亚胺基酯,荧光素二氯三嗪的5-异构体,笼状羧基荧光素-丙氨酸-甲酰胺,0regon Green 488,0regon Green 514;吖啶橙,罗丹明,四甲基罗丹明,德克萨斯红,碘化丙锭,JC-1(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羰基碘化物),四溴罗丹明123,若丹明6G,TMRM(四甲基罗丹明甲酯),TMRE(四甲基若丹明乙酯),四甲基罗丹明,罗丹明B和4-二甲基氨基四甲基氯胺,绿色荧光蛋白,蓝移绿色荧光蛋白,青色移绿色荧光蛋白,红移绿色荧光蛋白质,黄移绿色荧光蛋白,4-乙酰氨基-4'-异硫氰酸基苾-2,2'-二磺酸;吖啶和衍生物,如吖啶,异硫氰酸吖啶;5-(2'-氨基乙基)氨基萘-1-磺酸(EDANS);4-氨基-N-[3-乙烯基磺酰基]苯基]萘酰亚胺-3,5-二磺酸盐;N-(4-苯胺基-1-萘基)马来酰亚胺;邻氨基;4,4-二氟-5-(2-噻吩基)-4-bora-3a,4a二氮杂-5-苯并环庚三烯-3-羧酸BODIPY;级联蓝色;亮黄色;香豆素及其衍生物:香豆素,7-氨基-4-甲基香豆素(AMC,香豆素120),7-氨基-4-三氟甲基香豆素(香豆素151);花青染料;cyanosine;4',6-二氨基嘧啶-2-苯基吡啶(DAPI);5',5"-二溴邻苯三酚-磺基萘酐(溴邻苯三酚红);7-二乙基氨基-3-(4'-异硫氰酸苯基)-4-甲基香豆素;二乙烯三胺五乙酸盐;4,4'-二异硫氰酸根合二氢苾-2,2'-二磺酸;4,4'-二异硫

氰基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;5-二甲氨基萘-1-磺酰氯(DNS,丹酰氯);4-二甲氨基苯偶氮苯基-4'-异硫氰酸酯(DABITC);伊红及其衍生物:伊红,异硫氰酸曙红,赤藓红和衍生物:赤藓红B,赤藓红,异硫氰酸酯;;荧光素和衍生物:5-羧基荧光素(FAM),5-(4,6-二氯三嗪-2-基)氨基-荧光素(DTAF),2',7'-二甲氧基-4,5'-二氯-6-羧基荧光素(JOE),荧光素,异硫氰酸荧光素,QFITC(XRITC);荧光胺;IR144;IR1446;孔雀石绿异硫氰酸酯;4-甲基伞形铁卟啉原甲酚酞;硝基酪氨酸;副玫瑰苯胺;酚红;B-藻红蛋白;邻苯二甲醛;;苾,丁酸苾,琥珀酰亚胺1-苾;丁酸量子点;活性红4(Cibacron™ Brilliant Red 3B-A)若丹明及衍生物:6-羧基-X-罗丹明(ROX),6-羧基罗丹明(R6G)罗丹明B磺酰氯罗丹明(Rhodamine),若丹明B,若丹明123,罗丹明X i硫代罗丹明B,磺酰罗丹明101,磺酰罗丹明磺酰氯衍生物101(德克萨斯红);N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA);四甲基罗丹明;四甲基异硫氰酸异丁酯(TRITC);核黄素;5-(2'-氨基乙基)氨基萘-1-磺酸(EDANS),4-(4'-二甲氨基苯偶氮)苯甲酸(DABCYL),罗苏酸;CAL Fluor橙色560;钽螯合物衍生物;Cy 3;Cy 5;Cy 5.5;Cy 7;IRD 700;IRD 800;拉霍亚蓝;酞菁;萘酚花青,香豆素和相关染料,x吨染料如罗丹酚, resorufins, bimanes, 吡啶, 异吡啶, 丹磺酰染料, 氨基邻苯二甲酰肼如鲁米诺和异鲁米诺衍生物, 氨基邻苯二甲酰亚胺, 氨基萘二甲酰亚胺, 氨基苯并咪唑, 氨基喹啉, 二氰氢醌, 荧光铀和钽复合物;它们的组合等等。合适的荧光蛋白和发色蛋白包括但不限于绿色荧光蛋白(GFP),包括但不限于衍生自维多利亚银白色素或其衍生物的GFP,例如“人源化”衍生物如增强型GFP;来自另一种物种的GFP如Renilla reniformis, Renilla mulleri或Ptilosarcus guernei;“人源化”重组GFP(hrGFP);来自Anthozoan物种的各种荧光和有色蛋白质;它们的组合;等等。

[0976] 在某些实施方案中,标记试剂被配置成特异性结合目的分析物。在某些实施方案中,在将样品施加到CROF装置之前,标记剂可以存在于CROF装置中。在其他实施方案中,可以在将样品施加到CROF装置之后将标记剂施加到CROF装置。在某些实施方案中,在将样品施加到CROF装置之后,可以洗涤CROF装置以去除样品中的任何未结合的组分,例如未结合的分析物和其他非分析物共聚物,并且可以将标记试剂施加到CROF装置洗涤后标记结合的分析物。在一些实施方案中,CROF装置可以在标记试剂与分析物-捕获剂复合物结合后洗涤,以从CROF装置除去未结合分析物-捕获剂复合物的任何过量的标记试剂。

[0977] 在某些实施方案中,在分析物与CROF装置结合之后,例如使用能够与分析物同时结合的标记结合剂,作为分析物在CROF装置中结合的捕获剂,即在三明治型测定。在一些实施方案中,核酸分析物可以被捕获在CROF装置上,并且可以同时与分析物杂交的标记核酸作为核酸分析物结合在CROF装置中的捕获剂。

[0978] 在某些方面,CROF装置增强由可检测标记产生的光信号,例如荧光或发光,所述可检测标记直接或间接结合到分析物,所述分析物又结合到CROF装置。在某些实施例中,信号由信号放大的物理过程增强。在一些实施例中,光信号通过纳米等离子体效应(例如,表面增强拉曼散射)而增强。通过纳米等离子体效应的信号增强的实例描述于例如Li等,Optics Express 2011 19:3925-3936和W02012/024006中,其通过引用并入本文。在某些实施方案中,信号增强是在不使用信号的生物/化学放大的情况下实现的。信号的生物/化学扩增可以包括信号的酶促扩增(例如,用于酶联免疫吸附测定(ELISA))和聚合酶链式反应(PCR)扩增信号。在其他实施例中,信号增强可以通过物理过程和生物/化学放大来实现。

[0979] 在某些实施方案中,CROF装置配置成将来自CROF装置表面近侧的可检测标记的信号增强 10^3 倍或更多,例如 10^4 倍或更多, 10^5 倍或更多, 10^6 倍或更高, 10^7 倍或更高,包括 10^8 倍或更高,其中信号可以增强 10^3 至 10^9 倍,例如 10^4 至 10^8 倍或 10^5 至 10^7 倍,相对于可检测的标记是不接近所述CROF装置,即表面,相对于结合到分析物上的常规ELISA板,在常规的核酸微阵列可检测标记,悬浮在溶液中,等等。在某些实施方案中,CROF装置配置成将来自CROF装置表面近侧的可检测标记的信号增强 10^3 倍或更多,例如 10^4 倍或更多, 10^5 倍或更多, 10^6 倍或更多, 10^7 倍或更多,包括 10^8 倍或更多,其中信号可以增强 10^3 至 10^9 倍,例如 10^4 至 10^8 折,或5月10日至7月10日倍,相对于如上述那样不被配置以增强使用物理放大处理的信号,分析物检测阵列。

[0980] 灵敏度。在某些实施方案中,CROF装置被配置为具有0.1nM或更少,例如10pM或更少,或1pM或更少,或100fM或更少,例如10fM或更少,包括1fM或更少的检测灵敏度更少,或者0.5fM或更少,或者100aM或更少,或者50aM或更少,或者20aM或更少。在某些实施方案中,CROF装置被配置为具有在10 μ M至0.1nM范围内,例如20 μ M至10 μ M,50 μ M至1 μ M,包括100 μ M至100fM的检测灵敏度。在一些情况下,CROF装置被配置为能够检测浓度为1ng/mL或更少,例如100pg/mL或更少,包括10pg/mL或更少,1pg/mL或更少,100fg/mL以下,10fg/mL以下或5fg/mL以下。在一些情况下,CROF装置被配置为能够检测浓度在1fg/mL至1ng/mL范围内的分析物,诸如5fg/mL至100pg/mL,包括10fg/mL至10pg/mL。在某些实施例中,CROF装置被配置成具有5个数量级或更多的动态范围,例如6个数量级或更多,包括7个数量级或更多。

[0981] 读取。在某些情况下,从施加样品到CROF装置到读取CROF装置的时间段可以从1秒到30分钟,例如10秒到20分钟,30秒到10分钟,包括1分钟到5分钟。在一些情况下,从施加样品到信号增强检测器到产生可由装置接收的输出的时间段可以是1小时或更少,30分钟或更少,15分钟或更少,10分钟或更少,5分钟或更少,3分钟或更少,1分钟或更少,50秒或更少,40秒或更少,30秒或更少,20秒或更少,10秒或更少,5秒或更少,2秒或更少,1秒或更短,或甚至更短。在一些情况下,从应用样本到信号增强检测器到产生可由设备接收的输出的时间段可以是100毫秒或更多,包括200毫秒或更多,诸如500毫秒或更多,1秒或更多,10秒或更多,30秒或更多,1分钟或更多,5分钟或更长或更长。

[0982] 可以使用任何合适的方法来读取CROF装置以获得样品中分析物的量的测量值。在一些实施例中,读取CROF装置包括从与CROF装置中的分析物结合的可检测标签获得电磁信号。在某些实施例中,电磁信号是光信号。所获得的光信号可以包括光的强度,光的波长,光源的位置等。在特定实施例中,由标签产生的光信号具有在300nm至900nm范围内的波长。在某些实施例中,以CROF装置的视觉图像的形式读取光信号。

[0983] 在某些实施例中,读取CROF装置包括提供电磁辐射源(例如光源)作为与CROF装置中的生物标志物结合的可检测标记的激发源。光源可以是激发可检测标签的任何合适的光源。示例性的光源包括但不限于日光,环境光,UV灯,荧光灯,发光二极管(LED),光电二极管,白炽灯,卤素灯等。

[0984] 读取CROF装置可以通过任何合适的方法来实现,以测量存在于样品中并结合到CROF装置上的分析物的量。在某些实施方案中,CROF装置用配置成从CROF装置中的结合于分析物的可检测标记获取光信号的装置读取。在某些情况下,该设备是手持设备,例如手机或智能手机。被配置为读取CROF装置的任何合适的手持装置可以用在本发明的装置,系统

和方法中。被配置为读取CROF装置的装置在例如美国临时申请系列号2014年10月21日提交的美国临时申请No.62/066,777的优先权,其通过引用结合于此。

[0985] 在一些实施例中,该设备包括光学记录设备,该光学记录设备被配置为从CROF设备获取光信号,例如获取CROF设备的图像。在某些情况下,光学记录设备是相机,例如数码相机。术语“数字照相机”表示包括作为其主要部件的图像拍摄设备的任何照相机,该图像拍摄设备设置有用于形成光学图像的图像拍摄透镜系统,用于将光学图像转换为电信号的图像传感器,以及其他部件,包括数字静态照相机,数字电影照相机和网络照相机(即,公开地或私人地连接到连接到网络以允许图像交换的设备的相机的示例,包括直接连接到网络以及通过具有信息处理能力的诸如个人计算机的设备连接到网络的那些)。在一个示例中,读取CROF设备可以包括可以捕捉随时间变化的视频成像。例如,可以获取视频以提供对应用于CROF设备的样本中的动态变化的评估。

[0986] 在某些实施例中,光学记录设备具有比在研究/临床实验室环境中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度低的灵敏度。在某些情况下,本方法中使用的光学记录设备具有低于10倍或更多倍的灵敏度,例如100倍或更多倍,包括200倍或更多,500倍或更多,或1000倍或更多倍在研究/临床实验室环境中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度。

[0987] 在某些实施例中,该设备可以具有视频显示器。视频显示器可以包括可以以用户可感知的方式(例如,计算机监视器,阴极射线管,液晶显示器,发光二极管显示器,触摸板或触摸屏显示器)显示显示页面的组件,以及/或本领域已知的用于发射视觉可感知输出的其他手段。在某些实施例中,设备配备有用于显示信息的触摸屏,诸如从检测器获取的图像和/或从处理的数据生成的报告,并且允许信息由对象输入。

[0988] 15多重测定

[0989] 在本文描述的任何实施例中,系统可以被设计用于执行多重测定,并且因此,可以包含多个存储位点,结合位点,或多个存储站点S和多个结合位点,使得不同的测定可以在不同的区域来执行在其中一块板的表面上。例如,在一个实施方案中,在一个实施方案中,板中的一个可含有多个结合位点,每个结合位点含有不同的捕获剂,从而允许在相同的测定中检测样品中的多种分析物。这些位置可以在空间上彼此分离,尽管彼此相邻。

[0990] 图10示意性地图示了本发明的示例性实施例,即在单CROF设备中使用一个绑定位置一个板和另一个板上的多个存储位置的多路复用检测。图(a)和(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下,复用CROF装置包括第一板和第二板,其中第一板的一个表面具有一个结合部位;其中所述第二板的一个表面具有多个存储位置;并且其中不同的储存位点可以具有相同的检测剂但是具有不同的浓度或者可以具有相同或不同浓度的不同检测剂。在一些实施方案中,结合位点的面积大于每个存储位点的面积。在一些实施方案中,结合位点面积大于所有存储位点的总面积,和/或结合位点区域与存储位点对齐(即它们彼此顶部,即结合位点和存储点上的点相同或几乎相同)。

[0991] 图11示意性地图示了本发明的另一个示例性实施例,即在单个CROF装置中使用一个板上的一个存储位置和另一个板上的多个绑定位置的多路复用检测。图(a)和(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下,复用CROF装置包括第一板和第二板,其中第一板的一个表面具有多个结合位点;其中所述第二板的一个表面具有一个存储位置;并且其中不同的结合位点可以具有相同的捕获剂但具有不同的浓度,或者可以具有相同或

不同浓度的不同捕获剂。在一些实施例中，存储站点的面积大于每个存储站点的面积。在一些实施方案中，储存位点面积大于所有结合位点的总面积，和/或与结合位点对齐（即它们彼此顶部）。

[0992] 图12示意性地图示了本发明的另一示例性实施例，在单个CROF设备中的多路复用检测，在一个板上具有多个结合位点，在另一个板上具有多个对应的存储位置。图(a)和(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下，多路复用CROF装置包括第一板和第二板，其中第一板的一个表面具有多个结合位点；其中所述第二板的一个表面具有多个对应的存储位置；其中每个相应的存储位置位于第二板上与第一板上的结合位点的位置对应的位置上，使得当板被面对面放置时，每个结合位点仅与一个存储部重叠站点和每个存储站点仅与一个存储站点重叠；其中不同的储存位点可以具有相同的检测剂但具有不同的浓度或可以具有相同或不同浓度的不同检测剂；并且其中不同的储存位点可以具有相同的捕获剂但是具有不同的浓度或者可以具有相同或不同浓度的不同捕获剂。

[0993] 在某些实施方案中，图10,11和12中任一项的装置，其中所述第一板在其表面上进一步包含第一预定测定位点和第二预定测定位点，其中所述相邻物质的边缘当板处于关闭位置时，多个测定位点明显大于均匀厚度层的厚度，其中样品的均匀厚度层的至少一部分位于预定测定位点上方，并且其中样品具有一个或多种能够在样品中扩散的分析物。通过使相邻多个测定位点的边缘之间的距离大于样品厚度，它可以具有多个结合位点，而不会流体分离样品的不同部分，因为测定的饱和孵育可以在显着两个相邻站点之间的相互扩散。通过适当选择相邻距离与样品厚度的比率并适当地选择测量时间，所述时间在比测定饱和温育时间长但小于两个相邻位点之间的显着相互扩散的时间之间，可以通过以下方式进行复用：CROF没有隔离样品的不同部分。在一些实施方案中，在闭合相态下邻近距离与样品厚度的比率为1.5或更大，3或更大，5或更大，10或更大，20或更大，30或更大，50或更大，100或更大，200或更大，1000或更大，10,000或更大，或任何两个值之间的范围。的比率为3或为一个优选实施例中，5个或对于另一个优选的实施方案中，10或更大的对特定优选实施例，30个或另一个优选实施方案中更大，和100或用于另一个优选的实施方案更大的大而变大。

[0994] 在某些实施方案中，图10,11和12中任一项的装置，其中第一板在其表面上具有至少三个分析物测定位点，并且任何两个相邻测定位点的边缘之间的距离基本上更大当所述板处于所述闭合位置时，所述均匀厚度层的厚度比所述均匀厚度层的厚度小，其中所述均匀厚度层的至少一部分位于所述测定位置上方，并且其中所述样品具有一种或多种能够扩散到例子。

[0995] 在某些实施方案中，图10,11和12中任一项所述的装置，其中所述第一板在其表面上具有至少两个相邻的分析物测定位点，所述至少两个相邻的分析物测定位点没有分开的距离远远大于当所述板处于所述闭合位置时所述均匀厚度层，其中所述均匀厚度层的至少一部分在所述测定位点上方，并且其中所述样品具有能够在所述样品中扩散的一种或多种分析物。

[0996] U1-6,X-6,P1-8,W1-6,V1-4,UAB1-8,M1-2,S1-2,Q110和H1中任一段的方法或装置以及它们的任何组合，其中第一和第二板进一步包含结合位点和储存位点，如图10,图11或图12中所述用于多重检测。

[0997] 在这些实施方案中,该装置可以用于在没有流体隔离的情况下(即,在它们不是测定区域之间的物理屏障的情况下)平行,多路复用,测定液体样品。该装置可以包括第一板和第二板,其中:i.板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个盘子是柔性的;II.一个或两个板包括用各自的板固定的间隔件;并且间隔物具有预定的大致均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离;III.每个板在其相应的表面上具有用于接触样品的样品接触区域,所述样品接触区域包含含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品,iii.第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,每个结合位点具有包含捕获剂的预定区域,所述捕获剂结合并固定样品的相应目标分析物;并且iv.第二板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置,每个存储位置具有预定区域并且包括浓度检测试剂,该浓度检测试剂接触样品后溶解到样品中并扩散到样品中,其中每种捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,并且其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并在封闭的配置:我.样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层,所述层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定并覆盖一个或多个结合部位和一个或多个存储部位,ii所述一个或多个对应的储存位置位于所述一个或多个结合位点上方,以及iii.该层的厚度均匀,通过间隔件和所述板调节,是小于250微米,并且比每个存储位点的预定区域的线性尺寸小得多;和iv.在结合位点和/或存储位点之间不存在流体隔离,其中相邻存储位点的边缘之间的分离与相邻结合位点的边缘之间的分离大于目标分析物或检测剂的距离可以在相关时间内扩散,并且其中在结合位点位点和/或存储位点之间不存在流体隔离。

[0998] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个(至少2个,至少4个或至少16个或更多个)结合位点。

[0999] 在一些实施方案中,所述多个结合位点中的每一个结合不同的靶分析物。

[1000] 在一些实施方案中,第二板在其表面上具有多个(至少2个,至少4个或至少16个或更多个)对应的储存位点。

[1001] 在一些实施方案中,多个对应的储存位点中的每一个都与不同的目标分析物结合。

[1002] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个所述结合位点,并且第二板在其表面上具有多个所述对应的储存位点,其中当所述板为在关闭的配置中。

[1003] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个所述结合位点,并且第二板在其表面上具有储存位点,其中至少一些结合位点面对储存位点中的区域,盘子处于关闭状态。

[1004] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有结合位点,并且第二板在其表面上具有多个存储位点,其中至少一些存储位点面对结合位点中的区域,在关闭的配置中。

[1005] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个结合位点,其中结合位点含有结合和固定相同目标分析物的不同捕获剂。

[1006] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个结合位点,其中结合位点含有相同的捕获剂。

[1007] 在一些实施方案中,捕获剂在不同结合位点处具有不同的密度。这些实施例可用

于提供量化样品中分析物的量的方式。

[1008] 在一些实施方案中,在两个相邻的结合位点或两个相邻的储存位点之间存在分离,并且在闭合相态中分离与样品厚度的比例为至少3,例如至少5,至少10,至少20或至少50。

[1009] 在一些实施方案中,间隔物间距离在1微米至120的范围内微米。

[1010] 在一些实施例中,柔性板具有的厚度在20微米至250的范围内微米(例如,在50微米至150微米的范围内)范围内的0.1和杨氏模量至5GPa的(例如,在0.5的范围内-2GPa)。

[1011] 在一些实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量的范围为60至750GPa- μm 。

[1012] 在一些实施方案中,该方法可包括(a)获得含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品;(b)获得可相对于彼此移动成不同配置的第一和第二板,其中:i.一个或两个板包括与各个板固定的间隔物,并且一个或两个板是柔性的,ii.间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,iii.所述第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,所述结合位点各自具有包含捕获剂的预定区域,所述捕获剂结合并固定(a)的相应目标分析物;和IV.第二板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置,每个存储位置具有预定的面积并且包括浓度的检测剂,该浓度在接触样品时溶解到样品中并且扩散到样品中,其中每种捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;(c)当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;(d)在(c)之后,通过使所述两个板进入关闭构型来压缩所述样品,其中所述关闭构造是这样的构造,其中:i.样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层,该层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定,并与一个或多个结合位点接触,并且一个或多个ii.所述一个或多个相应的存储位置在所述一个或多个结合位点上方,以及iii.所述层的均匀厚度由所述间隔物和所述板限制,小于250 μm ,并且实质上小于每个存储位置的预定区域的线性尺寸;(e)在(d)之后并且当板处于闭合相态时,可以:(1)孵育样品达相关时间长度,然后停止孵育;或(2)将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值的时间,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估每个样品的结合将分析物靶向结合位点;其中相关的时间长度是:i.等于或大于(a)的目标分析物在关闭构型下穿过均匀厚度层的厚度而扩散的时间;和ii.明显短于(a)的目标分析物在存储位点或结合位点的预定区域的最小线性维度上横向扩散的时间;从而产生反应,其中在(1)中温育结束时或在(2)中评估期间,与每个结合位点结合的捕获剂-目标分析物-检测剂夹层的大部分来自相应的相关体积的样本;其中所述温育允许每种目标分析物结合至结合位点和检测剂,其中所述相应的相关体积是所述样品在所述闭合相态下位于所述相应存储位点上方的部分,其中所述相邻物质的边缘存储位置和相邻结合位点的边缘之间的间隔大于目标分析物或检测剂在相关时间内可以扩散的距离,并且其中在结合位点位点和/或存储位点之间不存在流体隔离。

[1013] 上述多路复用测定装置的任何实施例都可以用于该方法。

[1014] 16小量样品或试剂在宽井中的测定/化学反应(E)

[1015] 在某些应用中,平板上的孔将用于测试样品体积相对于样品必须覆盖的孔的面积小的样品。本发明的一个方面是允许在广泛的井中测定小体积样品或试剂的分析和其他化

学反应的方法和装置。术语“井”是指在表面上的中空隔室,凹陷区域或凹陷,其防止沉积在井内的液体通过井固体底部和封闭侧壁(图8)而流出井外。井的面积是由侧壁包围的面积。术语“小体积样品”和“宽井”是指当样品滴在井底上而没有任何装置散布样品时,井底样品的体积与井底比井区小(即小和宽是样品自然接触面积和井底面积的比较)。该井起封闭间隔物(E)的作用。

[1016] 图8和9示出用于样品厚度调节的板和封闭隔离物(阱)的某些实施例。示出了两个示例性实施例:(a)第一板在井内具有封闭隔离物(阱)和至少一个隔离物(图9),并且(b)第一板在阱内没有隔离物(图8)。另一个实施例是,在第一和第二板处于闭合相态之前,封闭的间隔件在板中的一个上并且隔离的间隔件在另一个板上;并且在板的关闭构型下,隔离的间隔件在井的内部。

[1017] 在一个实施方案中,沉积在板的孔中的样品的体积可以具有大约等于孔的内部体积的预定体积(即,将体积计量到特定体积)(即,内井区域乘以井高度),以便当板处于闭合相态时,样品几乎完全填满井,没有或几乎没有样品流出井。

[1018] 在另一个实施方案中,沉积在板的孔中的样品的体积未被计量,并且在板的关闭构型下,一部分样品几乎完全填满了孔,而另一部分样品流出井。

[1019] 在另一个实施例中,多个井是一个板。在一些实施例中,井之间存在用于从井中溢出的样品的沟槽(倾倒空间)。倾倒空间防止样品从一口井溢出流入其他井。

[1020] E1.如图8所示,一种用于在广泛的井中用小体积样品进行分析和/或化学反应的方法,包括:

[1021] (a)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中第一板在其表面上具有预定尺寸(包括井底,深度和边缘)和结合位点在井底;

[1022] (b)获得样品,所述样品(i)包含能够与所述结合位点结合并且在所述样品中扩散的目标实体,和(ii)具有体积和润湿性质,使得样品的仅接触所述孔底部的接触面积而不接触第二板,小于井底的面积;

[1023] (c)当板配置成开放相态时,沉积在井内或第二板上相应区域上的样品或两者;其中在所述开放相态中:所述两个板部分地或完全地分开,并且所述第二板与所述井的底部之间的间隔不受所述井的边缘(即,井的深度)的调节;

[1024] (d)在(c)之后,通过使板进入关闭状态来铺展样品;其中,在所述封闭构造中:所述第二板覆盖所述井,所述结合位点上的所述样品的厚度由所述井和所述第二板调节,并且所述样品与所述井底的接触面积大于盘子处于开放状态;其中所述第二板的相应区域是在所述井的顶部上以及在所述井的所述井眼内处于所述关闭构造的区域。

[1025] 在段落E1的方法中,所述板进一步包括在所述阱内的至少一个隔离的隔离物(即阱隔离物)。

[1026] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,样品的体积被计量(例如具有选定体积)。计量体积大约等于,小于或大于井的体积。

[1027] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,来自板外部的压缩力被配置为将板保持在闭合相态中。

[1028] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,毛细管力被构造成将板保持在闭合相态。

[1029] 如图8d所示,在段落E1的方法中,在一些实施例中,井的底部,第二个的对应区域

或两者附接有预定高度的间隔件,其中在关闭构造处,样本厚度是由垫片,边缘或两者调节。

[1030] 在一些实施例中,间隔件高度等于,小于或大于井的深度。井底是平面的(即平坦的)或弯曲的。在一些实施例中,间隔物(1)具有预定的间隔垫间隔,(2)在样品内部,(3)固定到相应的板或其任何组合。

[1031] 在一些实施方案中,样品的体积大约等于孔的体积减去间隔物的体积。在一些实施例中,第二板被构造成密封井。

[1032] 在一些实施方案中,井区与井深度平方的比率为3或更大,5或更大,10或更大,20或更大,30或更大,50或更大,100或更大,200或更大,1000或更大,10,000或更大,或者任何两个值之间的范围。

[1033] 井区至井深度方的吨他比为3和20之间在一个优选的实施方案中,在另一个优选的实施方案在另一个优选实施例20和在另一优选的实施例100和100和1000,以及1000和10,000。

[1034] 需要描述和声明设备。体积更小和未知。

[1035] 17通过校正非样品体积产生的影响来精确量化(C)(C)

[1036] 在CROF过程中,样品通常与非样品体积混合,而样品体积不是样品,包括但不限于间隔物,气泡,粉尘或以下物质的任何组合它们。在CROF工艺中,可以使用样品沉积或其他工艺来引入气泡或灰尘。这些无样品的物体占据体积并位于样品内部,在确定样品的相关体积(感兴趣体积)时应该对其进行校正。本发明的一个方面是校正由两个板之间的样品的相关体积内的非样品体积产生的效应,其中相关体积的厚度通过间隔物来调节。

[1037] C1.一种用于在确定两个板之间的样本的相关体积时校正由非样本材料产生的效应的方法,包括:

[1038] (a) 获得样品,其中要量化样品的相关体积;

[1039] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔件并且所述间隔件具有预定的间隔件间距和高度,并且每个间隔件与其各自的板固定;

[1040] (c) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[1041] (d) 在(c)之后,使板进入关闭构型,其中在关闭构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄,并且相关体积可以包含一定体积的非样品材料;

[1042] (e) 在板关闭时测量,(i) 样品相关体积的横向面积和(ii) 非样品材料的体积;和

[1043] (f) 通过使用由间隔物调节的相关体积的厚度来计算样品的相关体积并校正非样品材料的效果;

[1044] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分,而非样品材料是不是来自样品的材料。

[1045] -无样品体积的测量是通过对两块板之间的样品进行成像。

[1046] 18通过重检查间距进行精确量化

[1047] 在CROF中,对于给定的一组条件,即使隔离片和平板可以在闭合相态下给出预定

的样品厚度,但是特定CROF期间的实际条件组可能与预期不同,这会导致预定的最终样品厚度。为了减少这种误差,本发明的一个方面是在封闭构型下再次检查最终样品厚度。

[1048] C2.一种用于确定和检查两个板之间的样本的相关体积的厚度的方法,包括:

[1049] (a) 获得样品,其中要量化样品的相关体积;

[1050] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔件并且所述间隔件具有预定的间隔件间距和高度,并且每个间隔件与其各自的板固定;

[1051] (c) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[1052] (d) 在(c)之后,使板进入关闭构型,其中在关闭构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄,并且相关体积可以包含一定体积的非样品材料;

[1053] (e) 在板关闭时测量,(i) 样品相关体积的横向面积和(ii) 非样品材料的体积;和

[1054] (f) 通过校正非样品材料的影响来计算样品的相关体积;

[1055] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分,而非样品材料是不是来自样品的材料。

[1056] 19洗脱 (WS)

[1057] 在本发明中,在本发明的全部描述中描述的所有方法和装置中使用在此描述的板按压和保持的实施例中的一个或任何组合。

[1058] 一种用于测定中的洗涤步骤的方法,包括:

[1059] (a) 以上述方法中的一种或任意组合执行步骤

[1060] (b) 洗掉样品或平板之间的转移介质。

[1061] 在使用CROF的方法中,通过使板保持闭合相态来进行清洗。

[1062] 在使用CROF的方法中,洗涤通过将板从闭合相态分离来执行。

[1063] 海绵

[1064] 20有多步骤的测定 (MA)

[1065] 在本发明中,通过将一个实施方式与其他实施方式结合起来,通过使用相同的实施方式多于一次,通过公开(即所有部分)描述的实施方式可以用于组合(a)中,并且(c) (a)和(b)的任何组合。

[1066] MA1.一种用于测定样品中的分析物的方法,包括:

[1067] (a) 用分析物获得样品;

[1068] (b) 执行使用CROF的方法;和

[1069] (c) 分离板并执行使用CROF的方法。

[1070] 在段落MA1的方法中,在一些实施例中,其还包括在MA1的步骤(c)之后至少一次重复MA1的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1071] MA2.一种用于测定样品中的分析物的方法,包括:

[1072] (a) 用分析物获得样品;

[1073] (b) 执行使用CROF的方法;

[1074] (c) 分离板并执行使用CROF的方法(洗涤);和

[1075] (d) 执行使用CROF的方法。

[1076] 在段落MA2的方法中, 在一些实施例中, 其还包括在MA2中的步骤(d) 之后至少一次重复MA2的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1077] 在段落MA2的方法中, 在一些实施例中, 其还包括在MA2中的步骤(c) 之后至少一次重复MA1的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1078] MA3. 用于测定样品中分析物的试剂盒, 包括:

[1079] 使用CROF的第一CROF装置; 和

[1080] 第三板, 当第一CROF装置的板被分离时, 该第三板与第一CROF装置的板中的一个结合以形成第二CROF装置。

[1081] MA4. 用于测定样品中分析物的试剂盒, 包括:

[1082] 使用CROF的第一CROF装置;

[1083] 位于CROF装置的板的样本接触区域上的至少一个结合位点或存储位点; 和

[1084] 第三板, 当第一CROF装置的板分离时, 第三板与第一CROF装置的板中的一个结

[1085] 合以形成第二CROF装置;

[1086] 其中所述结合位点将目标分析物结合到所述板表面, 并且所述储存位点具有试剂, 所述试剂在与所述样品接触时可以溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中。

[1087] 成像可以包括智能手机的使用。该部分的方法可以进一步包括由光源照射的步骤。光源可以是激光器, LED, 灯或相机闪光灯。

[1088] 用于检测样品中目标实体的检测试剂盒 (MQXA)

[1089] 用于分析样品中的目标实体的试剂盒可以包括:

[1090] a. 第一板, 其中所述第一板的一个表面具有一个或多个可以固定目标实体的结合位点, 并且所述结合位点具有结合所述目标实体的结合配偶体;

[1091] b. 盖板;

[1092] c. 在盖板和第一板之间的内部空间中的样本, 其中样本包含可在样本中移动的所述目标实体, 样本的形状是可变形的, 第一板和第二板可相对于彼此移动, 样品的形状基本上与内表面共形, 样品的至少一部分与结合位点接触, 并且在温育期间内部间距小于某个距离。样品与所述结合位点接触;

[1093] d. 可以对第一板表面和/或盖板表面进行成像的成像装置; 和

[1094] 即一个可以测量内部空间间距的测量装置。

[1095] 本节的方法可能包括使用智能手机。本节的方法可能包括使用照明设备。照明装置可以包括激光器, 发光二极管, 灯或相机闪光灯。

[1096] 21 平板的压和保持 (H)

[1097] 压缩力量。在CROF工艺中, 使用力来压缩两个板以将板从开放构型转变为闭合相态。压缩力减小了板的内表面之间的间距, 并因此减小了板之间的样品的厚度。在本发明中, 压缩力包括但不限于机械力, 毛细力(由表面张力引起), 静电力, 电磁力(包括光) 及其任何组合。

[1098] 在使板从开放相态变成闭合相态的一些实施例中, 施加外力以将第一板和第二板朝向彼此推动。

[1099] 在使板从打开构造变成闭合构造的一些实施例中, 外部压力施加到第一板和第二

板的外部以将板朝向彼此推动,并且压力高于板内部的压力。使用一种装置使板外的压力高于板内的压力。该装置仅限于密封装置。

[1100] 在一些实施例中,压缩力至少部分地由毛细管力提供,这是由于第一板和第二板之间的液体以及相应的表面张力和与板的相互作用。在一些实施例中,液体是样品本身,或者样品与液体混合。在某些实施例中,毛细力与其他力一起使用。在很多情况下,样品通常是液体,表面张力适合插入毛细管力。在一些实施例中,当毛细作用力等于使样品变形所需的力时,板的样品变形可自动停止。

[1101] 在某些实施方案中,压力(因此样品变形)通过从板外部(外部压力)隔离第一板和第二板之间的压力(内部压力)而产生,然后使内部压力低于外部压力。隔离可以使用真空密封或其他设备完成。

[1102] 在一些实施例中,它是上述方法的组合。

[1103] 逐渐按下。在某些实施例中,使板进入闭合相态的压缩力在称为“逐渐压制”的过程中施加,该过程包括:在板的一个位置处施加压制(即施加压缩力)首先,然后逐渐应用到样品的其他位置。在逐渐压制的一些实施例中,在一个位置处的压缩力(除了样品本身的毛细管力)在将样品变形为该位置处的期望厚度之后,(i)在压制的整个过程期间保持并且样品变形,(ii)在其他位置被压下时被移除,或(iii)使用(i)用于板的某些部分和使用(ii)用于样品的其他部分。

[1104] 在逐渐压制的一个实施例中,正在使用辊将第一板和第二板(样品在板之间,并且板略微柔性)压靠在另一个辊或平坦表面上。

[1105] 在另一个实施例中,人手指是压板(因此是样品)的工具。按压是人手对人体另一部分(包括人手的另一部分)或人手抵抗物体(例如桌面)的一部分。在一个实施例中,压制开始于样品的一个位置并逐渐移动至样品的其他位置。

[1106] 在逐渐压制的一个实施例中,压缩空气射流首先被引导到板对(位于第一板和第二板之间,其中一个板稍微柔性)的位置(例如中心),并且压力正在逐渐延伸到板对的其他部分。

[1107] 在另一个实施例中,第一板和第二板中的一个或两个是柔性的并且与样品的一个位置接触,然后在该位置的毛细作用力将板对拉到一起(朝向彼此)以使样品变形。

[1108] 逐渐压制的优点包括:它允许使用较小的力来使样品变形(因为对于相同的力,压制区域越小,压力越大);它有助于样品的运动(变形),和/或减少样品中的气泡。压力越大,样品变形越大。逐渐压制可以改善变形样品的厚度均匀性。

[1109] 按压设备。用于确定CROF中样品变形的压缩力的装置有几种实施方式。一些实施例将使用人的手按压,例如,用手指按压。某些实施例将使用压力装置,其中压力装置包括但不限于人手,机械夹,机械压力机,机械夹具,机械滑块,机械装置,电磁装置,在表面上滚动的滚子,两个彼此相对的滚子,流体压力机,液压装置或其任何组合。某些实施例是使用加压液体(包括压缩空气)来直接或间接地按压第一板和/或第二板。“直接”是指加压液体直接施加在第一板和/或第二板上;而“间接”意味着它通过第三个对象来应用。压制中的某些实施例使用压制装置和方法的上述实施例的组合。

[1110] 此外,在样品变形的一些实施例中,监测压制和样品变形。监测可用于控制压制和样品变形。变形的监测包括但不限于机械方法,电学,光学,化学,磁学及其任何组合。机械

方法包括但不限于机械测量仪,垫片(机械塞子,下面将更详细讨论)和声波。

[1111] 在CROF中,间距控制装置包括机械压力机,机械平移台,人手指,提供将板拉向彼此的毛细管力的液体,对板施加压力的液体(包括空气)或其组合。

[1112] 在某些实施例中,机械阶段(平移和/或旋转)用于样品变形和样品厚度控制并与监测系统一起工作。

[1113] 在一些实施例中,压缩力至少部分地由压机(其是将板移至闭合相态的装置)供应,该压机构造成将板压在一起进入闭合相态。

[1114] 在一些实施例中,压板是使用人手。人可以是被测试的人或进行测试的人,也可以是收集样本的人。

[1115] 在一些实施例中,压板将两块板保持在一起将使用毛细作用力。通过使一个板的内表面的至少一部分或两者都是亲水性来产生毛细作用力。在合适的毛细作用力下,两块板可以保持相同的板间距和样品相关体积的相同厚度,这与板初始处于闭合状态时相同,即使是部分或全部力(除外毛细管力)被用于将板压缩至关闭结构。

[1116] 在一些实施例中,在板的外表面上施加压缩力以减小板内表面间隔的设备包括对板的外表面舒适的接触表面,其中设备的接触表面是表面与所述板的外表面接触的装置的“外表面”,并且“与所述板的外表面一致”是指所述装置表面在压缩过程中可以变形以符合所述板外表面的形状。在一个示例性实施例中,压缩装置是人物形象。在另一个示例性实施例中,压缩装置具有由软塑料或橡胶制成的接触表面。

[1117] 自我保持(去除压缩力后保持最终样品厚度)。在CROF压制的一些实施例中,在封闭构造的样品变形之后,一些压缩力被移除并且样品保持与压缩力仍然存在时相同的最终样品厚度。这种情况被称为“自持”。自我保持的一个原因是,在去除从板对外部插入的压缩力之后,在板的内表面之间仍存在其他力,例如毛细作用力,其将板对保持在一起。毛细管力是由于板上样品的润湿性所致。

[1118] 为了具有自保持性,需要控制板表面润湿性质,样品与板的总接触面积,闭合相态下的最终样品厚度或其组合。

[1119] 在一些实施例中,为了实现自保持,板的一个或两个内表面是亲水的。即,板中的任一个具有亲水性的内表面或两个板都具有亲水性的内表面。

[1120] 毛细管力取决于液体表面的曲率半径,曲率越小,毛细管力越高。通过在两个板(即板对)之间使用较小的间距并因此使用较小的样品厚度可以实现较小的曲率。在一些实施方式中,用于实现自保持的最终样品厚度为10nm或更小,100nm或更小,100nm或更小,500nm或更小,1 μ m(微米)或更小,2 μ m或更小,3 μ m或更小5微米或更小,10微米或更小,20微米或更小,50微米或更小,70微米或更小,100微米或更小,150微米或更小,300微米或更小,500微米或更小,700微米或更小更小,1000微米或更小,1200微米或更小,或者任何两个值之间的范围。

[1121] 在一些实施方案中,与用于自保持板合同的样品的面积为至多10微米²,至多100微米²,至多200微米²,至多500微米²,至多1000微米²,在至多2000微米²,至多5000微米²,至多8000微米²,最多0.01毫米²,最多0.05毫米²,至多0.1mm²时,至多0.5mm²,至多1mm²,至多5mm²以下,10mm²以下,50mm²以下,100mm²以下,500mm²以下,1000mm²以下,2000mm²以下,5000mm²以下,10000mm²以下,最多100,000mm²,或者任何两个值之间的范围。

[1122] 在一些实施例中,板内表面的一个或两个润湿性被修改以更好地自我保持。

[1123] HS.1在一些实施例中,在CROF过程中,使用装置来插入压缩力以使板进入闭合相态,并且在达到闭合相态之后,通过装置的压缩力被去除,并且样本厚度和内部板的表面间隔保持大致与通过装置去除压缩力之前的表面间隔相同。在一些实施方案中,在前面段落的方法中,其进一步包括从平板或平板之间读取信号的步骤,其中信号包括但不限于与分析物,实体,标签,样品体积有关的信号,物质的浓度(即化学物质)或其任何组合。

[1124] 在第SH.1段的方法中,该装置是人手,机械夹,机械压力机,机械夹具,机械滑块,机械装置,电磁装置,在表面上滚动的滚筒,两个彼此相对的辊子,流体压力机,液压装置或其任何组合。

[1125] 在段落SH.1的方法中,在一些实施例中,“板的样本厚度和内表面间隔保持大致与通过设备去除压缩力之前的厚度相同”意味着样本厚度的相对差异并且在去除压缩力之前和之后的板内表面间隔为0.001%或更小,0.01%或更小,0.1%或更小;0.5%以下,1%以下,2%以下,5%以下,8%以下,10%以下,15%以下,20%以下,30%以下,40%以下,50%以下,60%以下,70%以下,80%以下,90%以下,99.9%以下或任何值之间的范围。

[1126] 在段落SH.1的方法中,在一些实施例中,在通过装置去除压缩力之后板的样品厚度和内表面间隔预先确定,其中预定意味着去除压缩力之后的厚度和间距是在给定压缩条件下施加压缩力之前已知。

[1127] H1.一种减小样品的相关体积的厚度并保持减小的厚度的方法,包括:

[1128] (a) 获得样品,其中样品的相关体积的厚度将被减小;

[1129] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔物并且所述间隔物具有预定的间隔物间距离和高度,并且每个间隔物与其各自的板固定;

[1130] (c) 当板配置成开放相态时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放相态是其中所述两个板部分或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构造;

[1131] (d) 在(c)之后,通过使用使所述板进入闭合相态的压制装置来铺展样品,其中在闭合构造中:所述板彼此面对,所述间隔物和所述样品的相关体积位于所述板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件来调节并且当板处于开放相态时比样品的最大厚度更薄,并且至少一个间隔件在样品内部;和

[1132] (e) 在(d)之后,松开所述装置,其中在释放所述压紧装置之后,所述板之间的间隔保持与施加所述装置时的相同或近似相同。

[1133] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[1134] 在段落H1的方法中,与板之间的间隔大致相同的是至多1%,至多2%,至多5%,至多10%,至多20%,至多50%,至多60%,至多70%,至多80%,至多90%或任何两个值之间的范围。

[1135] 例如,在CROF中,使用人手或双手将两个板压缩到闭合位置,然后除去手和由此的手的压缩力,但最终样品厚度仍然相同就像人手存在压缩力时那样。

[1136] 22其他组合

[1137] 在本发明中,可以单独使用(a),(b)与其他实施方式,(c)多次组合,以及(d)任意组合的(a)至(c)。

[1138] 所公开的本发明中的方法和装置可以单独使用或其任何组合使用。术语“QMAX”方法或设备是指这里描述的实施例的方法或设备。

[1139] 在一些实施例中,具体而言,对于在部分1和2中公开的发明,我们使用Q,在部分3和5中公开的发明使用Q,在部分4和5中公开的发明中使用X,并且在部分6中公开的发明中使用M.因此,并且在1,2,3和5部分公开的本发明中的器件可以以Q,X,A,M,QX,QA,QM,XA,XM,AM,QXA,QAM,XAM和QXAM。

[1140] 将Q,X,A和M应用于表面固定化测定的一些实施方案包括:

[1141] a. 具有第一板,其中所述第一板表面具有至少一个具有已知深度和体积的孔,并且所述孔的底部表面具有一个或多个可以将目标实体固定在样品中的结合位点;

[1142] b. 将与体积大致相同体积的样品沉积到井中,其中样品包含目标实体,目标实体在样品中是可移动的,样品的形状是可变形的,并且样品仅覆盖一部分(因此具有比井深更高的简单厚度);

[1143] c. 具有盖板;

[1144] d. 使所述第一板和所述盖板相互面对,其中所述样品位于所述第一板和所述第二板的内表面之间;

[1145] 即通过减小第一板和第二板的内表面之间的间距来减小样品厚度;和

[1146] f. 在减小的样品厚度下孵育样品一段时间;

[1147] 这些方法的一个变体是将一个或多个上述步骤应用于96孔板或其他孔板。

[1148] 部分1,2,3和5中公开的本发明中的方法和装置可以单独使用或其任何组合使用。具体而言,对于在部分1和2中公开的发明,我们使用Q,在部分3和5中公开的发明使用Q,在部分4和5中公开的发明中使用X,并且在部分6中公开的发明中使用M.因此,并且在1,2,3和5部分公开的本发明中的器件可以以Q,X,A,M,QX,QA,QM,XA,XM,AM,QXA,QAM,XAM和QXAM。

[1149] 将Q,X,A和M应用于表面固定化测定的一些实施方案包括:

[1150] a. 具有第一板,其中所述第一板表面具有至少一个具有已知深度和体积的孔,并且所述孔的底部表面具有一个或多个可以将目标实体固定在样品中的结合位点;

[1151] b. 将与体积大致相同体积的样品沉积到井中,其中样品包含目标实体,目标实体在样品中是可移动的,样品的形状是可变形的,并且样品仅覆盖一部分(因此具有比井深更高的简单厚度);

[1152] c. 具有盖板;

[1153] d. 使所述第一板和所述盖板相互面对,其中所述样品位于所述第一板和所述第二板的内表面之间;

[1154] 即通过减小第一板和第二板的内表面之间的间距来减小样品厚度;和

[1155] f. 在减少的样品厚度下孵育样品一段时间。

[1156] 这些方法的一个变体是将一个或多个上述步骤应用于96孔板或其他孔板。

[1157] 所述方法,装置和系统的几个实施例组合了样本体积量化(Q),试剂添加(A)和/或化验加速度(X)的一个或多个特征(并且可被称为对应的缩略语QA,QX,AX和QAX)。下面介绍Q,A,X,QA,QX,AX和QAX方法和设备的一些实验演示。

[1158] 23试剂

[1159] 除非另有说明,术语“试剂”是指一种或多种生物试剂,生化试剂和/或化学试剂。

例如,试剂可以包括捕获剂,检测剂,化学化合物,光学标记,放射性标记,酶,抗体,蛋白质,核酸,DNA,RNA,脂质,碳水化合物,盐,金属,表面活性剂,溶剂或它们。

[1160] 在一些实施方案中,以液体,固体,分子蒸气或其组合的形式存在于板上的试剂。试剂的沉积包括但不限于沉积,放置,印刷,冲压,液体分配,蒸发(热蒸发,蒸气蒸发,人呼吸),化学气相沉积和/或溅射。不同的试剂可以在不同的位置。试剂可以印刷和/或沉积为试剂的小点。

[1161] 在一些实施方案中,首先将试剂以液体或蒸气形式沉积在板上,然后在CROF过程之前干燥以成为板上的干试剂。

[1162] 控制试剂释放时间。A方法可以进一步包括控制试剂释放时间的步骤(即,时间测量试剂可以以多快的速度溶解在样品中)。控制试剂的试剂释放时间的一些实施方案包括混合或涂布在顶部在一些实施方式中,释放控制材料可以是另一种试剂,例如,存在两种试剂A和B(一种或多种),其中一种或多种“释放控制材料”影响试剂释放(进入样品),试剂A被涂覆在试剂B的顶部,在一定条件下,试剂A将溶解在试剂B之前的试剂中。

[1163] 此外,第一板和第二板的表面性质可用于控制试剂释放。一个例子是控制表面润湿性能。对于许多试剂,疏水性表面很好地结合试剂,因此导致试剂缓慢释放或不释放到样品中(取决于试剂层的厚度),而亲水性表面不良地结合试剂,因此导致快速释放进入样品。

[1164] 用于本发明的试剂可以是用于测定所需的任何合适的试剂,例如标记的或未标记的抗体,标记的或未标记的核酸,可以含有或不含有亲和部分的酶等。在一些实施方案中和如上所述,所存储的试剂可以是设计用于测试血液或其他液体样品中分析物存在的测定的组分。例如,可以通过以下任何方法测量氯化物离子,并且这些测定的组分可以存在于储存位点中:比色法:氯离子从硫氰酸汞中置换硫氰酸盐。游离硫氰酸盐与三价铁离子反应形成有色络合物-硫氰酸铁,用光度法测定。库仑法:在银电极之间通过恒定直流电流产生银离子,银离子与氯化物反应形成氯化银。在所有氯化物与银离子结合后,游离银离子累积,导致电极两端的电流增加并且指示反应的终点。Mercurimetric方法:氯化物用汞离子的标准溶液滴定并形成 HgCl_2 可溶性复合物。当过量的汞离子与指示剂染料二苯基咪唑结合形成蓝色时,反应的终点用比色法检测。同样地,可以使用钙镁辉石进行比色测量镁,钙镁辉石与镁反应后变成红紫色;通过formazan染料测试;在与镁反应或使用与镁结合形成蓝色复合物的甲基百里香酚蓝发射600nm。同样,钙可以通过使用O-甲酚酞的比色技术来检测,当O-甲酚酞络合物与钙反应时其变为紫色。同样地,碳酸氢盐室由于碳酸氢盐(HCO_3^-)和磷酸烯醇式丙酮酸盐(PEP)在由磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)催化的反应中转化为草酰乙酸和磷酸盐而双色测试。苹果酸脱氢酶(MD)催化草酰乙酸还原为苹果酸,伴随还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的氧化。NADH的这种氧化导致在380/410nm双色测量的与样品的碳酸氢盐含量成比例的反应混合物的吸光度降低。血液尿素氮可以在比色测试中检测到,其中二乙酰或恐惧物用尿素形成黄色色原体,并且可以通过光度法定量,或者多次使用将尿素转化为氨和碳酸的酶脲酶,其可以通过,例如i)当氨与 α -酮戊二酸反应时在340nm处的吸光度降低,ii)测量尿素水解的溶液的电导率增加速率。同样,肌酸酐可以用比色法测量,用碱性苦味酸盐溶液处理样品得到红色复合物。另外,肌酸可以使用测量当肌酸酐被肌酸酐亚氨基水解酶水解时产生的氨的非Jaffe反应来测量。葡萄糖可以在血液暴露于固定量的葡萄糖氧化酶一段有限时间的测定中测量以估计浓度。在规定的的时间过后,过量的血液被

去除并且颜色被允许发展,用于估计葡萄糖浓度。例如,葡萄糖氧化酶与葡萄糖反应形成新生氧气,其将碘化钾(在滤纸中)转化为碘,形成棕色。糖化血红蛋白的浓度作为血液中葡萄糖水平的间接读数。当对红细胞的溶血产物进行色谱分析时,在主血红蛋白A峰之前洗脱三个或更多称为血红蛋白A1a,A1b和A1c的小峰。这些“快速”血红蛋白是通过两步反应中葡萄糖与血红蛋白的不可逆连接形成的。己糖激酶可以在葡萄糖被己糖激酶(HK)磷酸化并在三磷酸腺苷(ATP)和镁离子存在下产生葡萄糖-6-磷酸和腺苷二磷酸(ADP)的测定中测量。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6P-DH)将葡萄糖-6-磷酸特异性氧化为葡糖酸-6-磷酸,同时还原NAD⁺至NADH。340nm处吸光度的增加与样品中的葡萄糖浓度成比例。HDL,LDL甘油三酯可以使用Abell-Kendall方案进行测量,该方案涉及在水解和提取胆固醇后,在620nm下用Liebermann-Burchard试剂(乙酸酐,冰醋酸和浓硫酸的混合试剂)进行颜色显影。可以使用荧光分析来确定甘油三酯参考值。血浆高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定通过用血浆总胆固醇相同的程序测定,在用全肝血浆(LDL和VLDL)沉淀含有载脂蛋白B的脂蛋白后,用肝素-氯化锰。这些化合物也可以在基于量化胆固醇酯和游离胆固醇的酶驱动反应的测定中用比色法检测。胆固醇酯通过胆固醇酯酶水解成胆固醇,胆固醇酯然后被胆固醇氧化酶氧化成酮胆甾-4-烯-3-酮加上过氧化氢。然后用高度特异的比色探针检测过氧化氢。辣根过氧化物酶催化探针和过氧化氢之间的反应,其以1:1的比例结合。样品可以与已知浓度的胆固醇标准进行比较。

[1165] 试剂的干燥。在一些实施方案中,在试剂沉积步骤(c)之后但在样品沉积步骤(d)之前,A-方法还包括干燥步骤(c)中沉积的一些或全部试剂的步骤。

[1166] 试剂的位置。试剂可以施加和/或布置在一个或两个板上。试剂可以在板上的存储位置(位置)上,每个存储位置包括一种或多种试剂。不同的储存位置可以包括不同的试剂,相同的试剂或一种或多种常见的试剂。

[1167] 添加试剂的控制浓度。在一些实施方案中,所述方法可以进一步包括通过控制储存位点(即,具有试剂的表面)上的样品厚度来控制添加的试剂的浓度的步骤。

[1168] 24应用,样品和更多生物/化学生物标志物

[1169] 本发明的应用包括但不限于:(a)与某些疾病的阶段相关的化合物或生物分子的检测,纯化和定量,所述疾病例如感染和寄生虫病,损伤,心血管疾病,癌症,精神障碍,神经精神障碍和器质性疾病,例如肺病,肾病,(b)检测,纯化和定量微生物,例如来自环境的病毒,真菌和细菌,例如水,土壤或生物样品,例如,组织,体液,(c)对食品安全或国家安全构成危害的化学化合物或生物样品的检测,定量,例如有毒废物,炭疽,(d)医学或生理监测中重要参数的量化,葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数,(e)来自生物样品例如细胞,病毒,体液的特定DNA或RNA的检测和定量,(f)测序以及比较染色体和线粒体中DNA的基因序列进行基因组分析,或(g)检测反应产物,例如在药物的合成或纯化过程中。

[1170] 检测可以在各种样品基质中进行,如细胞,组织,体液和粪便。感兴趣的体液包括但不限于羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分离的血液,血浆,血清等),母乳,脑脊液(CSF),耳垢(耳垢),乳糜,钟状,内淋巴,外淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴,粘液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大黄,唾液,皮脂(皮肤油)精液,痰,汗液,滑液,泪液,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。在一些实施方案中,样品包含人体液体。在一些实施方案中,样品包含细胞,组织,体液,粪便,羊水,房水,玻璃体液,血液,全血,分馏血液,血浆,血

清, 母乳, 脑脊髓液, 耳垢, 乳糜中的至少一种, 淋巴, 淋巴, 粘液, 鼻腔引流, 痰, 心包液, 腹膜液, 胸膜液, 脓液, 大便, 唾液, 皮脂, 精液, 痰, 汗液, 滑液, 眼泪, 呕吐物, 尿液和呼出的冷凝物。

[1171] 在实施方案中, 样品是生物样品, 环境样品和生物化学样品中的至少一种。

[1172] 应用, 样品和更多生物/化学生物标志物

[1173] 本发明中的装置, 系统和方法可用于各种领域的各种不同应用, 其中需要确定样品中一种或多种分析物的存在与否和/或定量。例如, 本发明方法可用于检测蛋白质, 肽, 核酸, 合成化合物, 无机化合物等。各个领域包括但不限于人类, 兽医, 农业, 食品, 环境, 药物测试等。

[1174] 在某些实施方案中, 主题方法可用于检测样品中的核酸, 蛋白质或其他生物分子。该方法可以包括检测样品中的一组生物标志物, 例如两种或更多种不同的蛋白质或核酸生物标志物。例如, 所述方法可用于生物样品中两种或更多种疾病生物标志物的快速临床检测, 例如, 可用于诊断受试者的疾病状况, 或用于正在进行的受试者中的疾病状况等。如上所述, 与医生或其他医疗保健提供者的通信可以更好地确保医生或其他医疗保健提供者意识到并认识到可能的担忧并且因此可能是更有可能采取适当的行动。

[1175] 在使用CROF装置的本发明中的装置, 系统和方法的应用包括但不限于: (a) 与某些疾病的阶段相关的化学化合物或生物分子的检测, 纯化和定量, 例如, 感染和寄生虫病, 损伤, 心血管疾病, 癌症, 精神障碍, 神经精神障碍和器质性疾病例如肺病, 肾病, (b) 检测, 纯化和定量微生物, 例如病毒, 真菌和细菌环境, 例如水, 土壤或生物样品, 例如组织, 体液, (c) 对食品安全或国家安全构成危害的化学化合物或生物样品的检测, 定量, 例如有毒废物, 炭疽 (d) 量化医疗或生理监测中的重要参数, 例如葡萄糖, 血氧水平, 总血细胞计数, (e) 检测和定量特定的DNA或RNA fr (f) 测序和比较染色体和线粒体中DNA的基因序列用于基因组分析, 或 (g) 检测反应产物, 例如在药物的合成或纯化过程中。现在更详细地描述本发明中的设备, 系统和方法的一些具体应用。

[1176] 本发明的应用包括但不限于: (a) 与某些疾病的阶段相关的化合物或生物分子的检测, 纯化和定量, 所述疾病例如感染和寄生虫病, 损伤, 心血管疾病, 癌症, 精神障碍, 神经精神障碍和器质性疾病, 例如肺病, 肾病, (b) 检测, 纯化和定量微生物, 例如来自环境的病毒, 真菌和细菌, 例如水, 土壤或生物样品, 例如, 组织, 体液, (c) 对食品安全或国家安全构成危害的化学化合物或生物样品的检测, 定量, 例如有毒废物, 炭疽, (d) 医学或生理监测中重要参数的量化, 葡萄糖, 血氧水平, 总血细胞计数, (e) 来自生物样品例如细胞, 病毒, 体液的特定DNA或RNA的检测和定量, (f) 测序以及比较染色体和线粒体中DNA的基因序列进行基因组分析, 或 (g) 检测反应产物, 例如在药物的合成或纯化过程中。

[1177] 检测可以在各种样品基质中进行, 如细胞, 组织, 体液和粪便。感兴趣的体液包括但不限于羊水, 房水, 玻璃体液, 血液 (例如全血, 分离的血液, 血浆, 血清等), 母乳, 脑脊髓液 (CSF), 耳垢 (耳垢), 乳糜, 钟状, 内淋巴, 外淋巴, 粪便, 胃酸, 胃液, 淋巴, 粘液 (包括鼻腔引流和痰), 心包液, 腹膜液, 胸膜液, 脓液, 大便, 唾液, 皮脂 (皮肤油) 精液, 痰, 汗液, 滑液, 眼泪, 呕吐物, 尿液和呼出的冷凝物。在一些实施方案中, 样品包含人体液体。在一些实施方案中, 样品包含细胞, 组织, 体液, 粪便, 羊水, 房水, 玻璃体液, 血液, 全血, 分馏血液, 血浆, 血清, 母乳, 脑脊髓液, 耳垢, 乳糜中的至少一种, 淋巴, 淋巴, 粘液, 鼻腔引流, 痰, 心包液, 腹膜

液,胸膜液,脓液,大便,唾液,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。

[1178] 在一些实施方案中,样品是生物样品,环境样品和生化样品中的至少一种。

[1179] 本发明中的装置,系统和方法的实施可以包括a) 获得样品,b) 将样品应用于含有结合目的分析物的捕获剂的CROF装置,所述条件适于将分析物结合到将样品提供给捕获剂,c) 清洗CROF装置,以及d) 读取CROF装置,由此获得样品中分析物的量的测量值。在一些实施例中,分析物可以是生物标志物,环境标志物或食物标志物。样本在某些情况下是液体样本,可能是诊断样本(如唾液,血清,血液,痰液,尿液,汗液,泪腺,精液或粘液)。从河流,海洋,湖泊,雨水,积雪,污水,污水处理径流,农业径流,工业径流,自来水或饮用水中获得的环境样本;或从自来水,饮用水,预制食品,加工食品或生食品获得的食品样品。

[1180] 在任何实施例中,CROF装置可以被放置在微流体装置中,并且施加步骤b) 可以包括将样品施加到包括CROF装置的微流体装置。

[1181] 在任何实施例中,读取步骤d) 可包括检测来自CROF装置的荧光或发光信号。

[1182] 在任何实施例中,读取步骤d) 可包括用配置为读取CROF装置的手持装置读取CROF装置。手持设备可以是移动电话,例如智能手机。

[1183] 在任何实施例中,CROF装置可以包括能够结合CROF装置上的分析物捕获剂复合物的标记剂。

[1184] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法还可以在步骤c) 和d) 之间包括向CROF装置施加与CROF装置上的分析物-捕获剂复合物结合的标记剂的步骤,并清洗CROF装置。

[1185] 在任何实施例中,读取步骤d) 可以包括读取CROF设备的标识符。标识符可以是光学条形码,射频ID标签或其组合。

[1186] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法可进一步包括将对照样品施加至含有结合分析物的捕获剂的对照CROF装置,其中对照样品包含已知可检测量的分析物,以及读取对照CROF装置,由此获得样品中已知可检测量的分析物的对照测量值。

[1187] 在任何实施方式中,样品可以是受试者获得的诊断样品,分析物可以是生物标志物,并且样品中分析物的测量量可以诊断疾病或病症。

[1188] 在任何实施例中,本发明中的装置,系统和方法还可以包括接收或向受试者提供指示生物标志物的测量量和生物标志物的测量值范围的报告,该范围不含或低患有疾病或病症的风险,其中生物标志物的测量量相对于测量值的范围是疾病或病症的诊断。

[1189] 在任何实施例中,本发明中的装置,系统和方法可以进一步包括基于包括样品中生物标志物的测量量的信息来诊断受试者。在一些情况下,诊断步骤包括将包含生物标志物的测量量的数据发送到远程位置并且基于包括来自远程位置的测量的信息接收诊断。

[1190] 在任何实施方案中,生物标志物可以选自表B1,2,3或7. 在一些情况下,生物标志物是选自表B1,2或3的蛋白质。在一些情况下,生物标志物是选自表B2,3或7. 在一些情况下,生物标志物是选自表B2的感染剂来源的生物标志物。在一些情况下,生物标志物是选自表B7的微小RNA(miRNA)。

[1191] 在任何实施方案中,应用步骤b) 可以包括从样品中分离miRNA以产生分离的miRNA样品,并将分离的miRNA样品应用于盘耦合点柱状天线(CROF装置)阵列。

[1192] 在任何实施方案中,CROF装置可以含有多种捕获剂,每种捕获剂结合选自表1,2,3和/或7的生物标记,其中读取步骤d)包括获得多种捕获剂的量的量度生物标志物,并且其中样品中的多种生物标志物的量是诊断疾病或病症的量。

[1193] 在任何实施方案中,捕获剂可以是抗体表位并且生物标记可以是结合抗体表位的抗体。在一些实施方案中,抗体表位包括选自表B4,5或6的生物分子或其片段。在一些实施方案中,抗体表位包括选自表5的过敏原或其片段。在一些实施方案中,抗体表位包括选自表6的感染源衍生生物分子或其片段。

[1194] 在任何实施方案中,CROF装置可含有选自表B4,5和/或6的多个抗体表位,其中读取步骤d)包括获得样品中多种表位结合抗体的量的量度,并且其中样品中的多种表位结合抗体的量是对疾病或病症的诊断。

[1195] 在任何实施例中,样本可以是环境样本,并且其中分析物可以是环境标记。在一些实施例中,环境标记选自表B8。

[1196] 在任何实施例中,该方法可以包括接收或提供指示对象暴露于从中获得样本的环境的安全性或危害性的报告。

[1197] 在任何实施例中,该方法可以包括将包含测量的环境标记量的数据发送到远程位置并且接收指示将暴露于从中获得样本的环境的对象的安全性或危害性的报告。

[1198] 在任何实施例中,CROF装置阵列可以包括多个捕获试剂,每个捕获试剂结合选自表B8的环境标记,并且其中读取步骤d)可以包括获得所述多个环境标记样品。

[1199] 在任何实施例中,样本可以是食物样本,其中分析物可以是食物标记,并且其中样本中食物标记的量可以与用于食用的食物的安全性相关。在一些实施方案中,食品标记选自表B9。

[1200] 在任何实施例中,该方法可以包括接收或提供指示对象消费从中获得样本的食物的安全性或有害性的报告。

[1201] 在任何实施例中,该方法可以包括将包含测量的食物标记的量的数据发送到远程位置并且接收指示对象消费从其获得样本的食物的安全性或危害性的报告。

[1202] 在任何实施例中,CROF装置阵列可以包括多个捕获剂,每个捕获剂结合选自表B9的食物标记,其中获得可以包括获得样本中多个食物标记的量的量度,并且其中样品中的多个食品标记的量可能与用于食用的食物的安全性相关。

[1203] 本文还提供了可用于实践本发明中的装置,系统和方法的试剂盒。

[1204] 任何体积的样品都可以应用于CROF设备。体积的实例包括但不限于约10mL或更少,5mL或更少,3mL或更少,1 μ L(μ L,本文中也称为“uL”)或更少,500 μ L或更少,300 μ L或更少,250 μ L以下,200 μ L以下,170 μ L以下,150 μ L以下,125 μ L以下,100 μ L以下,75 μ L以下,50 μ L以下,25 μ L以下,20 μ L或更少,15 μ L以下,10 μ L以下,5 μ L以下,3 μ L以下,1 μ L以下,0.5 μ L以下,0.1 μ L以下,0.05 μ L以下,0.001 μ L以下,0.0005 μ L或更少,0.0001 μ L以下,10 μ L以下,1 μ L以下,或任意两个值之间的范围。

[1205] 在一个优选的实施方式中,施加到CROF装置的样本的体积及其变化不限于大约100 μ L或更小,75 μ L或更小,50 μ L或更小,25 μ L或更小,20 μ L或更小,15 μ L以下,10 μ L以下,5 μ L以下,3 μ L以下,1 μ L以下,0.5 μ L以下,0.1 μ L以下,0.05 μ L以下,0.001 μ L以下,0.0005 μ L以下,0.0001 μ L或更小,10 μ L或更小,1 μ L或更小,或者任何两个值之间的范围。

[1206] 在另一个优选的实施方式中,施加到CROF装置的样品的体积及其变化不限于约10 μL 或更小,5 μL 或更小,3 μL 或更小,1 μL 或更小,0.5 μL 或更小,0.1 μL 以下,0.05 μL 以下,0.001 μL 以下,0.0005 μL 以下,0.0001 μL 以下,10 μL 以下,1 μL 以下或任意两个值之间的范围。

[1207] 样品量可能约为一滴样品。样本量可能是从刺痛的手指或指尖收集的量。样品的量可以是从小针或静脉抽取收集的量。

[1208] 样品可以在从来源获得之后不经进一步处理而使用,或者可以被处理以例如富集感兴趣分析物,除去大颗粒物质,溶解或重新悬浮固体样品等。

[1209] 可以采用将样品施加到CROF装置的任何合适的方法。合适的方法可以包括使用移液管,滴管,注射器等。在某些实施方案中,当CROF装置以浸渍棒形式位于支撑物上时,如下所述,可以通过浸渍样品-将量油尺的区域接收到样品中。

[1210] 样品可以一次收集或多次收集。随着时间的推移收集的样品可以被聚集和/或处理(通过应用于CROF装置并且如本文所述获得样品中分析物的量的测量值)。在一些情况下,随着时间的推移获得的测量值可以被汇总,并且可以用于随时间的纵向分析以便于筛选,诊断,治疗和/或疾病预防。

[1211] 如上所述,可以以任何方便的方式清洗CROF装置以除去未结合的样品组分。在某些实施方案中,使用结合缓冲液洗涤CROF装置的表面以除去未结合的样品组分。

[1212] 分析物的可检测标记可以通过任何方便的方法完成。分析物可以直接或间接标记。在直接标记中,样品中的分析物在样品应用于CROF装置之前进行标记。在间接标记中,如下所述,将样品应用于CROF设备以捕获未标记的分析物后,标记样品中未标记的分析物。

[1213] 数据处理。

[1214] 在某些实施例中,主题设备被配置为处理从读取CROF设备获得的数据。该设备可以以任何合适的方式配置以处理用于主题方法的数据。在某些实施例中,设备具有用于存储数据的存储位置和/或用于处理数据和/或存储数据库的存储指令。数据可以以任何合适的格式存储在存储器中。

[1215] 在某些实施例中,该设备具有处理该数据的处理器。在某些实施例中,用于处理数据的指令可以被存储在处理器中,或者可以被存储在单独的存储器位置中。在一些实施例中,该设备可以包含用于实现处理的软件。

[1216] 在某些实施例中,被配置为处理从CROF设备设备获取的数据的设备包含用于执行处理的软件实现的方法。软件实现的方法可以包括以下中的一个或多个:图像获取算法;图像处理算法;用户界面方法,便于用户和计算设备之间的交互,并作为数据收集,传输和分析手段,通信协议;和数据处理算法。在某些实施例中,图像处理算法包括以下一项或多项:粒子计数,LUT(查找表)滤波器,粒子滤波器,模式识别,形态学确定,直方图,线轮廓,地形表示,二进制转换或颜色匹配配置文件。

[1217] 在某些实施例中,设备被配置为当显示页面被驻留在设备的存储器中的软件解释时在视频显示器或触摸屏显示器上显示信息。这里描述的显示页面可以使用任何合适的软件语言来创建,例如超文本标记语言(“HTML”),动态超文本标记语言(“DHTML”),可扩展超文本标记语言(“XHTML”),可扩展标记语言(“XML”)或可用于以用户可感知的方式创建可在视频或其他显示器上显示的计算机文件的另一种软件语言。任何具有逻辑,代码,数据,指令的计算机可读介质都可以用于实现任何软件或步骤或方法。在网络包括因特网的情况

下,显示页面可以包括适当类型的网页。

[1218] 根据本发明的显示页面可以包括嵌入式功能,该嵌入式功能包括存储在存储设备上的软件程序,诸如例如VBScript例程,JavaScript例程,JavaScript例程,Java小程序,ActiveX组件,ASP.NET,AJAX,Flash小程序,Silverlight小程序或AIR例程。

[1219] 显示页面可以包括图形用户界面技术的众所周知的特征,诸如例如框架,窗口,滚动条,按钮,图标和超链接以及众所周知的特征,诸如“点击”界面或触摸屏接口。指向并点击图形用户界面按钮,图标,菜单选项或超链接也称为“选择”按钮,选项或超链接。根据本发明的显示页面还可以包含多媒体特征,多点触摸,像素感测,基于IR LED的表面,具有或不具有相机的基于视觉的交互。

[1220] 用户界面可以显示在视频显示器和/或显示页面上。如下面进一步描述的,用户界面可以显示基于与样本有关的分析数据生成的报告。

[1221] 处理器可以被配置成以任何合适的方式处理数据以用于主题方法。例如,数据被处理成分箱数据,变换数据(例如,通过傅立叶变换变换到频域的时域数据),或者可以与其他数据组合。处理可以将数据置于期望的形式,并且可能涉及修改数据的格式。处理可以包括检测来自样品的信号,基于数学操纵或校正和/或专用于设备的校准或用于检查样品的试剂校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,这些组合可一起表示存在异常情况,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式。在某些实施例中,处理可以涉及将处理的数据与存储在设备中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。

[1222] 在某些实施例中,设备可以被配置为通过将输入数据与存储在存储器中的数据库进行比较来处理输入数据,以检索要由对象执行的动作过程的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值可用于确定一种或多种分析物的存在或浓度。阈值对于检测警报可能有用的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括对于生成与样本相关的报告可能有用的记录或其他信息。

[1223] 在某些实施例中,该设备可以被配置为接收从CROF设备导出的数据。因此,在某些情况下,该装置可以被配置为接收与受试者提供的样品无关的数据,但仍可能与该诊断相关。这样的数据包括但不限于年龄,性别,身高,体重,个人和/或家庭病史等。在某些实施方案中,设备被配置为处理来自或独立于应用于CROF的样品的数据设备。

[1224] 网络

[1225] 在某些实施例中,该设备可以被配置为通过诸如局域网(LAN)之类的网络,诸如因特网之类的广域网(WAN),个域网,诸如电话网络的电信网络,蜂窝电话网络,移动网络,无线网络,数据提供网络或任何其他类型的网络。在某些实施例中,该设备可以被配置为利用无线技术,诸如蓝牙或RTM技术。在一些实施例中,设备可以被配置为利用各种通信方法,诸如与调制解调器的拨号有线连接,诸如TI的直接链路,综合业务数字网络(ISDN)或电缆线路。在一些实施例中,无线连接可以使用诸如蜂窝,卫星或寻呼网络,通用分组无线电服务(GPRS)之类的示例性无线网络或诸如以太网之类的本地数据传输系统或LAN上的令牌环。

在一些实施例中,设备可以使用红外通信组件进行无线通信。

[1226] 在某些实施例中,该设备被配置为接收可以存储在存储器中的,通过网络从服务器发送的计算机文件。设备可以接收有形的计算机可读介质,其可以包含可以存储在设备的永久或临时存储器中的指令,逻辑,数据或代码,或者可以影响或启动设备的动作。一个或多个设备可以传送可以提供对其他计算机文件的访问的计算机文件或链接。

[1227] 在一些实施例中,设备是个人计算机,服务器,膝上型计算机,移动设备,平板电脑,移动电话,手机,卫星电话,智能电话(例如iPhone,Android,黑莓,Palm,Symbian,Windows),个人数字助理,蓝牙设备,寻呼机,地面线路电话或其他网络设备。这样的设备可以是启用通信的设备。这里使用的术语“移动电话”指的是可以使用蜂窝网络,诸如会话发起协议(SIP)的语音IP(VoIP)网络或无线局域网(WLAN)使用的电话手机802.11x协议或其任何组合。在某些实施例中,该装置可以是手持式的和紧凑的,使得其可以装配到消费者的钱包和/或口袋(例如口袋大小)中。

[1228] 微流体通道

[1229] 在某些实施例中,CROF装置集成在微流体平台或装置中。微流体装置可被配置为具有用于接收样品,用CROF装置检测样品中的分析物,收集储存器中的废物等的不同区域。因此,在某些实施方案中,微流体通道平台可包括流体处理组件如上所述将施加到微流体装置的样品接收区域的样品引导到配置为检测分析物的CROF装置。流体处理部件可构造成引导一种或多种流体通过微流体装置。在一些情况下,流体处理部件被配置为引导流体,例如但不限于样品溶液,缓冲液等。液体处理部件可以包括但不限于被动泵和微流体通道。在一些情况下,被动泵被配置用于通过本文公开的微流体装置的毛细作用驱动的微流体处理和流体路由。在某些情况下,微流体流体处理部件被配置为递送少量流体,诸如1mL或更少,例如500 μ L或更少,包括100 μ L或更少,例如50 μ L或更少,或者25 μ L或更少,或者10 μ L或者更少,或者5 μ L或者更少,或者1 μ L或者更少。因此,在某些实施例中,不需要外部电源来操作微流体装置并且执行本发明中的装置,系统和方法。

[1230] 在某些实施方案中,微流体装置具有5mm \times 5mm至100mm \times 100mm的尺寸,包括50mm \times 50mm或更小的尺寸,例如25mm \times 25mm或更小,或10mm \times 10毫米或更少。在某些实施方案中,微流体装置具有5mm至0.1mm范围内的厚度,例如3mm至0.2mm,包括2mm至0.3mm或1mm至0.4mm。

[1231] 在某些实施方案中,CROF装置设置在容器内,例如多孔板的孔内。CROF装置也可以集成到多孔板的底部或井壁中。

[1232] 在一些实施例中,含有CROF装置(例如微流体装置或多孔板)的支撑物可具有包含在支撑物中的CROF装置的标识符。标识符可以是形成在支撑物上的物理物体,例如微流体装置。例如,如上所述,可以通过诸如移动电话或智能电话的手持设备来读取标识符。在一些实施例中,照相机可以捕捉标识符的图像,并且可以分析图像以识别包含在微流体装置中的CROF装置。在一个示例中,标识符可以是条形码。条形码可以是一维或二维条形码。在一些实施例中,标识符可以发出可以标识信号增强检测器的一个或多个信号。例如,标识符可以提供可以指示CROF设备的身份的红外,超声波,光学,音频,电或其他信号。标识符可以使用射频识别(RFID)标签。

[1233] 标识符可以包含允许确定存在于微流体装置或多孔板中的CROF装置的特定类型

的信息。在某些实施例中,标识符向数据库提供关键字,该数据库将每个标识符关键字与特定于存在于微流体装置或多孔板中的CROF装置的类型的信息相关联。特定于CROF装置类型的信息可包括但不限于CROF装置配置为检测的分析物的身份,特定分析物可结合在CROF装置上的位置的坐标,detection for each analyte,etc.The database may contain other information relevant to a specific CROF device,including an expiration date,lot number,etc.The database may be present on a handheld device,provided on a computer-readable medium,or may be on a remote server accessible by a handheld device.

[1234] 主题方法的其他方面包括提供或接收指示测量的分析物的量和与获得分析物的来源有关的其他信息的报告,例如诊断样本的诊断或健康状况,环境的暴露风险样品,食品样品的健康风险等。可以以任何方便的形式提供或接收报告,包括但不限于通过查看设备上的屏幕上显示的报告,通过查看电子邮件或短信通过收听由设备生成的音频消息,通过感测由设备生成的振动等来发送到主题。

[1235] 该报告可能包含与获得分析物的来源相关的任何合适的信息。在一些情况下,报告可以包括:光数据,包括光强度,波长,偏振,以及其他关于光的数据,例如来自诸如光电倍增管,光电二极管,电荷耦合器件,光度计,分光光度计,照相机等的光学检测器的输出。以及包括吸光率数据,透射率数据,浊度数据,光度数据,波长数据(包括一个,两个或更多个波长或跨越一定波长范围的强度),反射率数据,折射率数据,双折射数据,偏振和其他光数据;图像数据,例如来自数码相机的数据;与用于获取数据的CROF设备相关联的标识符信息;处理的数据,如上所述等。报告可以表示样本的定性或定量方面。

[1236] 在某些方面,报告可以向受试者指示分析物的存在或不存在,分析物的浓度,存在或不存在已知与分析物的存在或水平相关的第二状况,概率或可能性已知与分析物的存在或水平相关的第二种情况,发生已知与分析物的存在或水平相关的第二种情况的可能性,发生已知相关的第二种情况的可能性的变化与分析物的存在或水平,已知与分析物的存在或水平相关的第二条件的进展等。已知与分析物的存在或水平相关的第二种情况可能包括诊断样品的疾病或健康状况,环境样品的毒性或其它有害环境,用于食品样品的被损坏或污染的食物等。在某些实施例中,报告包含敦促或推荐用户采取行动的指令,例如寻求医疗帮助,服药,停止活动,开始活动等。报告可以包括一个警报。警报的一个示例可以是如果在设备上检测到错误,或者如果分析物浓度超过预定阈值。报告的内容可以用任何适当的形式表示,包括文字,图表,图形,动画,颜色,声音,声音和振动。

[1237] 在某些实施例中,报告向主题设备的用户例如移动电话提供行动建议。这些建议将根据设备(例如探测器和移动电话)的测试数据以及一个或多个数据集给出,包括但不限于预装在移动设备上的日期,存储设备上的数据访问,其中存储设备可以是本地可用的或可远程访问的。

[1238] 在某些实施例中,在移动电话显示器中,上述每个建议在方案中都具有其自己的颜色。

[1239] 在某些实施例中,本发明中的设备,系统和方法包括将包含测量量的分析物的数据发送到远程位置,并从远程位置接收分析,例如诊断,安全信息等。如上所述,通过任何方便的方法将数据传输到远程位置。这种传输可以通过电子信号,射频信号,光信号,蜂窝信

号或可以通过有线或无线连接传输的任何其他类型的信号。本文其它地方描述的任何数据传输或电子数据或传输的描述可以经由电子信号,射频信号,光信号,蜂窝信号或可以经由有线或无线连接传输的任何其他类型的信号发生。传输的数据可以包括从CROF设备导出的数据和/或处理的数据和/或生成的报告。所传输的数据还可以包括未从CROF设备获取的数据,即,数据并不直接代表从受试者获得的样本的一个方面,但确实代表如上所述从其获得样本的受试者的其他方面。

[1240] 本公开的其他方面包括CROF装置,其包括多种捕获剂,每种捕获剂结合样品中的多种分析物,即多重CROF装置。在这种情况下,包含多种捕获剂的CROF装置可以被配置为检测不同类型的分析物(蛋白质,核酸,抗体等)。基于阵列内的位置,结合不同分析物的可检测标记的发射波长或上述的组合,不同分析物可以在阵列上彼此区分。

[1241] 在某些实施例中,本发明中的设备,系统和方法包括将对照样品施加到含有与分析物结合的捕获剂的对照CROF装置,其中对照样品含有已知的可检测量的分析物,并读取对照CROF装置,由此获得已知可检测量的样品中的分析物。在某些实施例中,当CROF装置存在于微流体装置中时,控制CROF装置可以存在于与施加测试样本的CROF装置相同的装置中。在某些实施方案中,从对照样品获得的对照测量结果可以用于获得测试样品中分析物的绝对量。在某些实施方案中,从对照样品获得的对照测量结果可以用于获得测试样品中分析物的标准化相对量。

[1242] 效用

[1243] 本发明方法可用于需要确定样品中一种或多种分析物的存在与否和/或定量的各种不同应用。例如,本发明方法可用于检测蛋白质,肽,核酸,合成化合物,无机化合物等。

[1244] 在某些实施方案中,主题方法可用于检测样品中的核酸,蛋白质或其他生物分子。该方法可以包括检测样品中的一组生物标志物,例如两种或更多种不同的蛋白质或核酸生物标志物。例如,所述方法可用于生物样品中两种或更多种疾病生物标志物的快速,临床检测,例如,可用于诊断受试者的疾病状况,或用于正在进行的受试者中的疾病状况等。如上所述,与医生或其他医疗保健提供者的通信可以更好地确保医生或其他医疗保健提供者意识到并认识到可能的担忧,并且因此可能是更有可能采取适当的行动。

[1245] 本发明中使用CROF装置的装置,系统和方法的应用包括但不限于:(a)检测,纯化和量化与某些疾病阶段相关的化学化合物或生物分子,例如,感染和寄生虫病,损伤,心血管疾病,癌症,精神障碍,神经精神障碍和器质性疾病例如肺病,肾病,(b)检测,纯化和定量微生物,例如病毒,真菌和细菌环境,例如水,土壤或生物样品,例如组织,体液,(c)化学化合物或生物样品的检测,定量,食品安全或国家安全,例如有毒废物,炭疽,(d)量化医疗或生理监测中的重要参数,如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数,(e)检测和量化特定DNA或RNA生物样本,例如细胞,病毒,体液,(f)染色体和线粒体中DNA的基因序列的测序和比较以用于基因组分析,或(g)检测反应产物,例如在药物的合成或纯化过程中。现在更详细地描述本发明中的设备,系统和方法的一些具体应用。

[1246] 诊断方法

[1247] 在某些实施方案中,主题方法可用于检测生物标志物。在一些实施方案中,使用CROF的本发明中的装置,系统和方法用于检测特定生物标志物的存在或不存在,以及血液,血浆,血清或血液中特定生物标志物浓度的增加或降低其他体液或排泄物,例如但不限于

尿液,血液,血清,血浆,唾液,精液,前列腺液,乳头吸出液,泪液,汗液,粪便,脸颊拭子,脑脊液,细胞裂解物样品,羊水,胃肠液,活检组织等。因此,样品,例如诊断样品,可以包括各种流体或固体样品。

[1248] 在一些情况下,样品可以是来自待诊断受试者的体液样品。在某些情况下,可以提供固体或半固体样品。样品可以包括从受试者收集的组织和/或细胞。样品可以是生物样品。生物样品的实例可以包括但不限于血液,血清,血浆,鼻拭子,鼻咽洗液,唾液,尿液,胃液,脊髓液,泪液,粪便,粘液,汗液,耳蜡,油,腺分泌物,脑脊液,组织,精液,阴道液,源自肿瘤组织的间质液,眼液,脊髓液,咽拭子,呼吸,头发,指甲,皮肤,活组织检查,胎盘液,羊水,脐带血,淋巴液,腔液,痰,脓液,微生物群,胎粪,母乳,呼出的冷凝物和其他排泄物。样品可能包括鼻咽清洗液。可以在提取缓冲液中处理鼻拭子,咽拭子,粪便样品,毛发,指甲,耳蜡,呼吸以及其他固体,半固体或气体样品,例如预先固定或可变的时间量到他们的分析。如果需要,那么提取缓冲液或其等分试样可以类似于其他流体样品进行处理。受试者的组织样品的例子可以包括但不限于结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。对于固定或可变的时间量,在他们的分析之前。如果需要,那么提取缓冲液或其等分试样可以类似于其他流体样品进行处理。受试者的组织样品的例子可以包括但不限于结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。对于固定或可变的时间量,在他们的分析之前。如果需要,那么提取缓冲液或其等分试样可以类似于其他流体样品进行处理。受试者的组织样品的例子可以包括但不限于结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。

[1249] 在一些情况下,获得诊断样品的受试者可以是健康个体,或者可以是至少被怀疑患有疾病或健康状况的个体。在一些情况下,受试者可能是患者。

[1250] 在某些实施方案中,CROF装置包括配置成特异性结合由受试者提供的样品中的生物标志物的捕获剂。在某些实施方案中,生物标志物可以是蛋白质。在某些实施方案中,生物标志物蛋白质被存在于CROF装置中的抗体捕获剂特异性结合。在某些实施方案中,生物标志物是存在于CROF装置中的抗原捕获剂特异性结合的抗体。在某些实施方案中,生物标志物是与核酸捕获剂特异性结合的核酸,其与双链核酸生物标志物的一条或两条链互补或与单链生物标志物互补。在某些实施方案中,生物标志物是由核酸结合蛋白特异性结合的核酸。在某些实施例中,生物标志物被适体特异性结合。

[1251] 生物标志物的存在或不存在或生物标志物浓度的显著变化可用于诊断疾病风险,个体中疾病的存在或定制个体疾病的治疗。例如,特定生物标志物或生物标志物组的存在可能影响给予个体的药物治疗或给药方案的选择。在评估潜在药物治疗时,生物标志物可以用作自然终点的替代物,例如存活或不可逆发病率。如果治疗改变生物标志物,其与改善的健康直接相关,则生物标志物可以用作评估特定治疗或给药方案的临床益处的替代终点。从而,基于个体中检测到的特定生物标志物或生物标志物组的个性化诊断和治疗通过主题方法促进。此外,如上所述,通过本发明中的装置,系统和方法的高度灵敏性促进了与疾病相关的生物标志物的早期检测。由于利用诸如智能手机之类的移动设备检测多种生物标志物的能力,结合了灵敏度,可扩展性和易用性,所以本发明公开的方法可用于便携式和即时护理或近患者分子诊断。系统和方法,如上所述。由于利用诸如智能手机之类的移动设备检测多种生物标志物的能力,结合了灵敏度,可扩展性和易用性,所以本发明公开的方法

可用于便携式和即时护理或近患者分子诊断。系统和方法,如上所述。由于利用诸如智能手机之类的移动设备检测多种生物标志物的能力,结合了灵敏度,可扩展性和易用性,所以本发明公开的方法可用于便携式和即时护理或近患者分子诊断。

[1252] 在某些实施方案中,主题方法可用于检测疾病或疾病状态的生物标志物。在某些情况下,本发明方法可用于检测用于表征细胞信号传导途径的生物标志物和用于药物发现和疫苗开发的细胞内通讯。例如,主题方法可用于检测和/或量化患病,健康或良性样品中生物标志物的量。在某些实施方案中,主题方法可用于检测传染病或疾病状态的生物标志物。在一些情况下,生物标志物可以是分子生物标志物,例如但不限于蛋白质,核酸,碳水化合物,小分子等。

[1253] 本发明的方法可用于诊断分析,例如但不限于以下:如上所述检测和/或定量生物标志物;筛选测定,其中对无症状受试者定期测试样品;预后分析,其中生物标志物的存在和或量用于预测可能的疾病过程;分层分析,其中可以预测受试者对不同药物治疗的反应;功效测定,其中监测药物治疗的功效;等等。

[1254] 在一些实施方案中,主题生物传感器可以用于通过检测来自样品中病原体的靶核酸来诊断病原体感染。靶核酸可以例如来自选自人免疫缺陷病毒1和2(HIV-1和HIV-2),人T细胞白血病病毒和2(HTLV-1和HTLV-2),呼吸道合胞病毒(RSV),腺病毒,乙型肝炎病毒(HBV),丙型肝炎病毒(HCV),爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV),人乳头瘤病毒(HPV),水痘带状疱疹病毒(VZV),巨细胞病毒CMV),单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2),人类疱疹病毒8(HHV-8,也称为卡波西肉瘤疱疹病毒)和黄病毒,包括黄热病病毒,登革热病毒,日本脑炎病毒,西尼罗河病毒和埃博拉病毒。然而,本发明不是,限于检测来自上述病毒的核酸(例如DNA或RNA)序列,但可以在没有任何问题的情况下应用于在兽医和/或人类医学中重要的其他病原体。

[1255] 人乳头瘤病毒(HPV)根据其DNA序列同源性进一步细分为70多种不同类型。这些类型导致不同的疾病。HPV类型1,2,3,4,7,10和26-29引起良性疣。HPV类型5,8,9,12,14,15,17和19-25以及46-50在免疫系统减弱的患者中引起损伤。类型6,11,34,39,41-44和51-55引起生殖器区域和呼吸道粘膜上的良性尖锐湿疣。人乳头瘤病毒16型和18型具有特殊医学意义,因为它们引起生殖器粘膜上皮发育不良,并与宫颈,阴道,外阴和肛管的侵袭性癌的高比例相关。人乳头状瘤病毒DNA的整合被认为是宫颈癌癌变的决定性因素。人乳头瘤病毒可以例如从其衣壳蛋白L1和L2的DNA序列中检测到。因此,本发明的方法特别适用于检测组织样品中HPV 16和/或18型的DNA序列,以评估癌症发展的风险。

[1256] 使用本发明中的装置,系统和方法可以在诊断样品中检测到的其他病原体包括但不限于:水痘带状疱疹;表皮葡萄球菌,大肠杆菌,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MSRA),金黄色葡萄球菌,人葡萄球菌,粪肠球菌,铜绿假单胞菌,头颈葡萄球菌,瓦氏葡萄球菌,肺炎克雷伯氏菌,流感嗜血杆菌,模拟葡萄球菌,肺炎链球菌和白色念珠菌;淋病(奈瑟氏淋球菌),梅毒(*Treponema pallidum*),*Chlamydia*(*Chlamydia trachomatis*),非淋球菌性尿道炎(*Ureaplasma urealyticum*),软下(*Haemophilus ducreyi*),毛滴虫病(*Trichomonas vaginalis*);铜绿假单胞菌,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MSRA),肺炎克雷伯菌,流感嗜血杆菌,金黄色葡萄球菌,嗜麦芽窄食单胞菌,副流感嗜血杆菌,大肠杆菌,粪肠球菌,粘质沙雷菌,副溶血弧菌,阴沟肠杆菌,白色念珠菌,卡他莫拉菌,肺炎链球菌,弗氏柠檬酸杆菌,尿肠球菌,产酸克雷伯氏菌,荧光假单胞菌,脑膜炎奈瑟球菌,化脓性链球菌,卡氏肺囊虫,肺炎

克雷伯氏菌,嗜肺军团杆菌,肺炎支原体和结核分枝杆菌等,以及表B2和表6中列出的那些。

[1257] 在一些情况下,可以使用CROF装置来检测以低浓度存在的生物标志物。例如,CROF装置可用于检测容易接近的体液(例如,血液,唾液,尿液,眼泪等)中的癌抗原,以检测易接近的体液(例如,血液,血液等)中的组织特异性疾病的生物标志物,用于检测感染(尤其是检测低滴度潜伏病毒,例如HIV),检测母血中的胎儿抗原以及检测外源性化合物(例如药物,例如,药物)的用于神经疾病(例如阿尔茨海默氏病抗原)的生物标志物或污染物)例如在受试者的血流中。

[1258] 下表B1-3提供了可以使用主题CROF装置(当与适当的单克隆抗体,核酸或其他捕获剂一起使用时)检测到的生物标志物及其相关疾病的列表。生物标志物的一个潜在来源(例如,“CSF”;脑脊髓液)也列在表中。在许多情况下,主题生物传感器可以检测到不同体液的生物标志物。例如,可以在尿液,血液或唾液中鉴定在CSF中发现的生物标志物。本领域的普通技术人员还将清楚,主题CROF装置可以被配置为捕获和检测本领域已知的诊断疾病或健康状况的更多的生物标志物。

[1259] 除非另有说明,生物标志物可以是蛋白质或核酸(例如mRNA)生物标志物。除非另有说明,诊断可能与样品中生物标志物水平的升高或降低有关。生物标志物列表,它们可以用于诊断的疾病,以及其中可以检测生物标志物的样品描述于美国临时申请序列号No.10的表1和表2中。62/234,538,于2015年9月29日提交,该申请通过引用并入本文。

[1260] 在一些情况下,本发明中的装置,系统和方法被用于通知样本来源的受试者关于其健康状况。可以由本发明,装置和系统中的装置,系统和方法诊断或测量的健康状况包括但不限于:化学平衡;营养健康;行使;疲劳;睡觉;强调;糖尿病前期;过敏;老化;暴露于环境毒素,杀虫剂,除草剂,合成激素类似物;怀孕;绝经;和更年期。美国临时申请序列号No.3的表32015年9月29日提交的美国临时申请62/234,538(其通过引用并入本文)提供了可以使用本CROF装置检测的生物标志物列表(当与适当的单克隆抗体一起使用时,核酸或其他捕获剂)以及它们相关的健康状况。

[1261] 在一些情况下,可以由本发明中的装置,系统和方法检测的生物标志物是样品(例如诊断样品)中的抗体,其用于诊断受试者的疾病或健康状况,样本得出。配置成检测抗体分析物的CROF装置可以包含抗体分析物特异性结合的抗体表位作为捕获剂。在某些情况下,疾病或健康状况与自身免疫性疾病有关,其中针对其自身身体的抗体(自身抗体)诱导自身免疫应答。在一些实施方案中,目的抗体分析物是IgA,IgM,IgE,IgD或IgG抗体。在某些情况下,标记试剂可以含有特异性结合抗体分析物对特定类型抗体特异性的区域的部分。例如,包含肽M,SSL7或Jacalin的标记剂可以与IgA特异性结合,并且包含蛋白G的标记剂可以与IgG特异性结合。Potein L可用于结合所有类型的抗体。

[1262] 表B4提供了自身抗体目标的列表,其可以全部或作为表位片段用作本发明中的装置,系统和方法中的捕获剂,以测量表位中的表位结合抗体分析物的量从而诊断相关疾病或健康状况,例如自身免疫性疾病。在某些情况下,疾病或健康状况与对过敏原的免疫反应有关。表B5提供了一系列过敏原,其可以全部或作为表位片段用作本发明的装置,系统和方法中的捕获剂,以测量样品中表位结合抗体分析物的量从而诊断相关的疾病或健康状况,例如过敏。在某些情况下,疾病或健康状况与感染性疾病有关,其中感染性病原体可基于包括以下信息被诊断:针对来源于感染剂的一个或多个表位(例如脂多糖,毒素,蛋白质等)的

测量量。表B6提供了感染源衍生表位的列表,其可以全部或作为表位片段用作本发明的装置,系统和方法中的捕获剂,以测量表位结合抗体分析物从而诊断相关疾病或健康状况,例如感染。可适用于本诊断方法的其他表位或抗原描述于例如PCT申请酒吧。No.WO2013164476,其通过引用并入本文。本领域普通技术人员还将清楚,主题CROF装置可以被配置为捕获和检测更多的诊断疾病或健康状况的抗体分析物。CROF装置可以被配置为使得存在于CROF装置上的表位不是交叉反应性的,即,被与CROF装置上存在的许多表位非特异性结合的抗体结合。

[1263] 可以使用本发明方法检测的示例性自身抗原表位,过敏原表位和感染源衍生的表位的列表列出于美国临时申请序列号No.4的表4-6(分别)中。62/234,538,于2015年9月29日提交,该申请通过引用并入本文。

[1264] 在一些情况下,使用本发明中的装置,系统和方法待检测的生物标志物是与疾病或健康状况相关的微RNA(miRNA)生物标志物。下表B7提供了可以使用本CROF装置(当与适当的互补核酸或其他捕获剂一起使用时)以及它们相关的疾病/健康状况来检测的miRNA生物标志物的列表。示例性的miRNA标记物和可以用这些miRNA诊断的疾病的列表如美国临时申请序列号No.62/234,538,于2015年9月29日提交,该申请通过引用并入本文。

[1265] 主题方法也可用于验证分析。例如,验证测定可用于验证或证实潜在的疾病生物标志物是各种个体疾病存在或不存在的可靠指标。本方法的短测定时间可以有助于提高用于在最短时间内筛选多个样品的通过量。

[1266] 在某些情况下,可以使用主题方法而不需要实验室设置。与等效的分析研究实验室设备相比,本方法在便携式手持系统中提供了可比较的分析灵敏度。在某些情况下,质量和运行成本低于典型的固定式实验室设备。此外,本主题方法可以用于家庭环境中,用于由未经医学培训的人员进行的非处方家庭测试,以检测样品中的一种或多种分析物。本主题方法还可以用于临床环境中,例如在床边,用于快速诊断或者在由于成本或其他原因而不提供固定研究实验室设备的环境中。

[1267] 如上所述,主题CROF装置可用于检测样品中的核酸。除了上述诊断应用之外,主题CROF装置可以用于各种药物发现和研究应用。例如,主题CROF装置可用于多种应用中,包括但不限于诊断或监测疾病或病症(其中核酸的存在提供疾病或病症的生物标志物),药物靶标的发现(其中例如核酸在疾病或病症中差异表达并且可以靶向药物治疗),药物筛选(通过评估核酸水平来监测药物的作用),药物筛选确定药物敏感性(其中药物敏感性与核酸的特定概况相关)和基础研究(其中期望鉴定样品中核酸的存在,或者在某些实施方案中,确定特定核酸的相对水平在两个或更多个样本中)。

[1268] 在某些实施方案中,可以使用上述方法获得两种或更多种不同核酸样品中核酸的相对水平,并进行比较。在这些实施方案中,通常将上述方法获得的结果标准化为样品中核酸的总量(例如组成型RNA),并进行比较。这可以通过比较比率或通过任何其他方式来完成。在具体的实施方案中,可以比较两种或更多种不同样品的核酸谱以鉴定与特定疾病或病症相关的核酸。

[1269] 在一些示例中,不同样本可以由“实验”样本(即,感兴趣样本)和可以与实验样本进行比较的“对照”样本组成。在许多实施方案中,不同样品是细胞类型或其片段对,一种细胞类型是感兴趣的细胞类型,例如异常细胞,另一种是对照例如正常细胞。如果比较两部分

细胞,则部分通常是来自两个细胞中每一个的相同部分。然而,在某些实施例中,可以比较相同单元的两个部分。示例性细胞类型对包括例如从组织活检(例如,来自具有诸如结肠癌,乳腺癌,前列腺癌,肺癌,皮肤癌或感染病原体等的疾病的组织)分离的细胞和来自通常来自同一患者的相同组织;(例如,具有增殖性突变的细胞或永生化转基因),被病原体感染或处理(例如用环境或化学试剂如肽,激素,改变的温度,生长条件,物理压力,细胞转化等)以及正常细胞(例如除了它不是永生,感染或治疗等之外与其它实验细胞相同的细胞)。从患有癌症,疾病,老年哺乳动物或暴露于病症的哺乳动物的哺乳动物中分离的细胞,以及来自健康或年轻的相同物种,优选来自同一家族的哺乳动物的细胞;和来自相同哺乳动物的分化细胞和未分化细胞(例如,一个细胞是哺乳动物中另一个的祖细胞)。在一个实施方案中,可以使用不同类型的细胞,例如神经元细胞和非神经元细胞,或不同状态的细胞(例如,在细胞上的刺激之前和之后)。在本发明的另一个实施方案中,实验材料是易受病原体感染的细胞,例如病毒,人类免疫缺陷病毒(HIV)等,并且对照材料是对病原体感染有抵抗力的细胞。在本发明的另一个实施方案中,样品对由未分化细胞例如干细胞和分化细胞代表。

[1270] 如上所述,主题方法的各方面包括提供或接收指示样本中分析物的测量量(例如生物标志物)的报告。在某些情况下,在样品是诊断样品的情况下,报告还可以包括在患有疾病或病症的个体中具有生物标志物的一系列测量值,其中测量的生物标志物在从受试者获得的诊断样品相对于从健康个体获得的测量值的范围是对疾病或病症的诊断。在这种情况下,如果受试者提供的样品中生物标志物的测量值落在生物标志物的期望值的范围之外在健康的个体中,受试者可能具有较高的易患或患有该疾病或病症的机会。在一些情况下,将生物标志物的测量量和从健康个体获得的值的范围标准化为预定的标准以允许比较。

[1271] 在某些方面,报告可以向受试者指示生物标志物的存在或不存在,生物标志物的浓度,疾病或病症的存在或不存在,受试者患有疾病或病症的可能性或可能性,发展疾病或病症的可能性,发展疾病或病症的可能性的改变,疾病或病症的发展等。所报道的疾病或病症可包括但不限于:癌症;炎性疾病,如关节炎;代谢疾病,如糖尿病;缺血性疾病,如中风或心脏病发作;神经退行性疾病,如阿尔茨海默病或帕金森病;器官衰竭,如肾或肝功能衰竭;药物过量;强调;疲劳;肌肉损伤;怀孕相关条件,如非侵入性产前检测等。在某些实施方案中,报告包含敦促或的指示建议患者采取行动,例如寻求医疗帮助,服药,停止活动,开始活动等。报告可能包含警报。警报的一个示例可以是如果在设备上检测到错误,或者如果分析物浓度超过预定阈值。报告的内容可以用任何适当的形式表示,包括文字,图表,图形,动画,颜色,声音,声音和振动。

[1272] 在某些实施例中,报告向主题设备的用户例如移动电话提供行动建议。这些建议将根据设备(例如探测器和移动电话)的测试数据以及一个或多个数据集给出,包括但不限于预装在移动设备上的日期,存储设备上的数据访问,其中存储设备可以是本地可用的或可远程访问的。

[1273] 这些建议包括但不限于以下之一:(i)正常(有一个美好的一天),(ii)应该经常被监控;(iii)应仔细检查以下参数(并列参数),(iv)应每天检查,因为受试者在边界线上的具体参数,(v)应在一定天内访问医生,因为具体参数温和达到阈值;(六)应立即就医,并(七)应立即去急诊室。

[1274] 在一些实施例中,当设备推断对象需要看医生或去急诊室时,该设备自动将这种

请求发送给医生和急诊室。

[1275] 在一些实施例中,当由设备自动发送的请求没有被医生或急诊室回复时,设备将在一定的时间间隔内重复发送请求。

[1276] 在某些实施方案中,报告可以提供对基于从受试者提供的样品得到的信息的建议与基于受试者的健康史或概况的任何禁忌证之间可能出现的任何冲突的警告。

[1277] 在某些实施方案中,主题方法包括基于包括由主题提供的样本中的生物标志物的测量量的信息来诊断主题。除了与样品中测量的生物标志物有关的数据(例如,生物标志物的类型,样品中生物标志物的量),用于诊断对象的信息还可以包括与该对象有关的其他数据,包括但不限于受试者的年龄,性别,身高,体重或个人和/或家庭病史等。

[1278] 在一些实施例中,诊断步骤包括将包括测量的生物标志物量的数据发送到远程位置并从远程位置接收诊断。基于包括由CROF装置检测的生物标志物的信息来诊断受试者可以通过任何合适的手段来实现。在某些实施方案中,诊断由可与受试者一起或可能在远程位置的医疗保健专业人员完成。在其他实施例中,健康护理专业人员可以访问设备在不同远程位置或对象位置的第三位置处传送的数据。医疗保健专业人员可以包括与医疗保健系统相关的个人或实体。医疗保健专业人员可能是医疗保健提供者。医疗保健专业人员可能是医生。医疗保健专业人员可以是个人或机构,以系统的方式向个人,家庭和/或社区提供预防,治疗,促销或康复医疗服务。医疗保健专业人员的例子可以包括医生(包括全科医生和专科医生),牙医,助理医师,护士,助产士,药物经济学家/药剂师,营养师,治疗师,心理学家,脊椎治疗师,临床官员,物理治疗师,抽血医师,职业治疗师,视光师,急救医疗技术人员,护理人员,医务化验师,医疗修复技师,放射技师,社会工作者以及经过培训提供某种类型的医疗服务的各种其他人力资源。医疗保健专业人员可能会或可能没有经过认证可以开处方。医疗保健专业人员可以在医院,保健中心和其他服务提供点工作,也可以在学术培训,研究和管理工作中工作。一些医疗保健专业人员可能为私人住宅病人提供护理和治疗服务。社区卫生工作者可以在正规医疗机构之外工作。医疗保健服务经理,医疗记录和卫生信息技术人员以及其他支持人员也可能是医疗保健专业人员或隶属于医疗保健提供者。

[1279] 在一些实施例中,医疗保健专业人员可能已经熟悉了对象或已经与对象通信。该主题可能是医疗保健专业人员的患者。在某些情况下,医疗保健专业人员可能会规定受试者接受临床检查。在一个例子中,医疗保健专业人员可以是受试者的主要保健医生。医疗保健专业人员可以是该科目的任何类型的医生(包括全科医生和专科医生)。

[1280] 因此,健康护理专业人员可以分析或查看由CROF设备获取光信号的设备生成的报告,或从设备发送的数据和/或在远程位置执行的分析结果。在某些实施例中,健康护理专业人员可以基于由设备发送的数据和/或在远程位置分析的数据向主题发送指令或推荐。

[1281] 环境测试

[1282] 如上所述,本发明中的装置,系统和方法可用于分析环境样品,例如来自水,土壤,工业废物等的样品中是否存在环境标记。环境标记可以是任何合适的标记,例如下表B8中所示的那些标记,其可以被捕获剂捕获,所述捕获剂特异性结合配置有捕获剂的CROF装置中的环境标记。环境样品可以从诸如河流,海洋,湖泊,雨水,雪,污水,污水处理径流,农业径流,工业径流,自来水或饮用水等任何合适的来源获得。在一些实施例中,或不存在,或者样品中环境标记的定量水平可以指示从中获得样品的环境状态。在一些情况下,环境标志

物可能是对暴露于环境的生物体例如人类, 伴侣动物, 植物等有毒或有害的物质。在某些情况下, 环境标志物可能是一些过敏原, 可能会导致一些暴露于环境中的人发生过敏反应。在一些情况下, 样本中环境标记的存在或不存在或定量水平可能与环境的一般健康相关。在这种情况下, 环境的一般健康状况可以在一段时间内测量, 例如一周, 几个月, 几年或几十年。

[1283] 在一些实施例中, 本发明中的装置, 系统和方法进一步包括接收或提供报告, 所述报告指示对象暴露于从其获取样本的环境的安全性或危害性, 所述信息包括测量的环境标志。用于评估环境安全风险或健康的信息可能包括环境标志的类型和测量量以外的数据。这些其他数据可以包括位置, 高度, 温度, 一天中的时间/月份/年份, 压力, 湿度, 风向和速度, 天气等。数据可以表示一定时期内的平均值或趋势(分钟, 小时, 几天, 几周, 几个月, 几年等)或较短时间段(毫秒, 秒, 分钟等)的瞬时值。

[1284] 报告可以由配置为读取CROF设备的设备产生, 或者可以在发送包括测量的环境标志的数据时在远程位置产生。在某些情况下, 专家可能在远程位置或可以访问发送到远程位置的数据, 并且可能会分析或审查数据以生成报告。专家可能是政府机构的科学家或管理人员, 如美国疾病控制中心(CDC)或美国环境保护局(EPA), 研究机构(如大学)或私人公司。在某些实施例中, 专家可以基于由设备发送的数据和/或在远程位置处分析的数据向用户发送指令或推荐。

[1285] 示例性环境标志物的列表在美国临时申请序列号No. 10的表8中列出。62/234, 538, 于2015年9月29日提交, 该申请通过引用并入本文。

[1286] 食品检测

[1287] 如上所概述, 本发明中的装置, 系统和方法可用于分析食物样品, 例如来自生食物, 加工食物, 熟食物, 饮用水等的样品中存在食物标记物。食物标记可以是任何合适的标记, 例如下面的表B9中所示的那些, 其可以被捕获剂捕获, 所述捕获剂特异性结合配置有捕获剂的CROF装置中的食物标记。环境样品可以从任何合适的来源获得, 例如自来水, 饮用水, 预制食品, 加工食品或生食品等。在一些实施方案中, 样品中食物标记物的存在或不存在或定量水平如果食物被食用, 可能表示对受试者的安全性或危害性。在一些实施方案中, 食物标记物是源自致病微生物或微生物生物体的物质, 其指示从其获得样品的食物中存在生物体。在一些实施方案中, 如果受试者食用, 则食物标记物是有毒或有害物质。在一些实施方案中, 食物标记物是生物活性化合物, 如果受试者消耗, 其可能无意或意想不到地改变生理机能。在一些实施方案中, 食品标志物指示在其中获得所述食品的方式(生长, 采购, 抓住, 收获, 加工, 蒸煮等)。在一些实施例中, 食物标记指示食物的营养成分。在一些实施方案中, 食物标记物是过敏原, 如果从其获得样品的食物被受试者消耗, 该过敏原可诱发过敏反应。

[1288] 在一些实施方式中, 本发明中的装置, 系统和方法进一步包括接收或提供指示受试者消耗获得样品的食物的安全性或危害性的报告, 所述报告基于包括所测量的食品标记。用于评估用于消费的食品的安全性的信息可以包括除了食品标记的类型和测量量之外的数据。这些其他数据可能包括与消费者相关的任何健康状况(过敏, 妊娠, 慢性或急性疾病, 当前处方药等)。

[1289] 该报告可以由被配置为读取CROF设备的设备产生, 或者可以在发送包括食物标记

的测量量的数据时在远程位置产生。在某些情况下,食品安全专家可能在远程位置或可以访问发送到远程位置的数据,并可能分析或审查数据以生成报告。食品安全专家可能是政府机构的科学家或管理员,如美国食品和药物管理局(FDA)或CDC,研究机构(如大学)或私人公司。在某些实施例中,食品安全专家可以基于由设备传送的数据和/或在远程位置分析的数据向用户发送指令或建议。

[1290] 示例性食品标记的列表在美国临时申请序列号No.10的表8中列出。62/234,538,于2015年9月29日提交,该申请通过引用并入本文。

[1291] 套件

[1292] 如上所述,本公开的各方面包括可用于执行本发明中的装置,系统和方法的套件。在某些实施方案中,试剂盒包括CROF装置,其被配置为特异性地结合分析物,例如选自表B1,2,3,7,8或9的分析物或与表B4中列出的表位特异性结合的抗体分析物在某些实施例中,套件包括用于使用手持设备(例如移动电话)来实践主题方法的指令。这些说明可能以各种形式存在于主题试剂盒中,其中一种或多种可能存在于试剂盒中。这些说明可以存在的一种形式是作为在合适的介质或基底上的印刷信息,例如在其上打印信息的一张或多张纸,在试剂盒的包装中,在包装说明书等中。另一种形式装置将是其上记录或存储了信息的计算机可读介质,例如软盘,CD,DVD,蓝光,计算机可读存储器等。另一种可能存在的手段是可以通过互联网使用的网站地址,以访问被移除的网站上的信息。试剂盒可以进一步包括用于实施如本文所述的在计算机可读介质上提供的用于测量设备上的分析物的方法的软件。任何方便的手段都可能存在于试剂盒中。

[1293] 在一些实施方案中,试剂盒包括检测试剂,其包括可检测标记,例如特异性结合感兴趣分析物的荧光标记抗体或寡核苷酸,用于标记感兴趣分析物。检测剂可以作为CROF装置提供在单独的容器中,或者可以提供在CROF装置中。

[1294] 在一些实施方案中,试剂盒包括对照样品,其包含已知可检测量的待检测样品中的分析物。对照样品可以提供在容器中,并且可以以已知浓度溶解在溶液中,或者可以以干燥形式提供,例如冻干或冷冻干燥。如果以干燥形式提供,试剂盒还可以包含用于溶解对照样品的缓冲液。

[1295] 25血检

[1296] 本发明的应用的一些示例性实施例是使用智能手机进行简单,快速的血细胞计数。

[1297] 在一些实施方案中,第一板和第二板选自相对平坦表面的薄玻璃载玻片(例如0.2mm厚)或薄塑料膜(例如15mm厚),并且每个具有长度为宽约0.5厘米至10厘米。垫片由玻璃,塑料或其他在压制时不会明显变形的材料制成。在样品沉积之前,垫片放置在第一板,第二板或两者上;并且第一板,第二板或两者任选地用促进血液计数的试剂(染色染料和/或抗凝血剂)涂覆。第一块板和第二块板可以选择密封在袋子中,以便于运输和延长保质期。

[1298] 在血细胞计数测试中,样品只需要约1uL(微升)(或约0.1uL至3uL)的血液,其可以从手指或其他人体位置取得。血样可以直接从人体(例如手指)沉积到第一板和第二板上,而不需要任何稀释。然后使第一板和第二板相互面对,使得血样位于第一板和第二板的内表面之间。如果可选试剂预先沉积(染色染料或抗凝血剂),它们会沉积在内表面上与样品

混合。然后用手指或简单的机械装置(例如使用弹簧按压的夹子)按压第一板和第二板。在压力机下,内部间距减小,最终减小量将停止在间隔器高度设定的值处,并达到最终样品厚度,其通常等于最终内部间距。由于最终的内部间距是已知的,所以最终样品厚度变得已知,即通过该方法进行量化(测量)。

[1299] 如果血样未被稀释,则在压制(样品变形)之后,间隔物以及因此最终样品厚度可能很薄,例如,较小的1 μm ,较小的2 μm ,较小的3 μm ,较小的4 μm ,较小的5 μm ,较小的7小于10微米,小于15微米,小于20微米,小于30微米,小于40微米,小于50微米,小于60微米,小于80微米,小于100微米,小于150微米,或任何两者之间的任何范围数字。薄的最终样品可能是有用的,因为如果最终样品厚度很厚,那么在成像期间许多红细胞可能重叠,这可能使得细胞计数不准确。例如,约4微米厚的全血未经稀释将产生约一层血细胞。

[1300] 在按压之后,可以直接或通过附加的光学元件(例如,根据需要透镜,过滤器或光源)通过智能手机对样品成像。样品的图像将被处理以识别细胞的类型以及细胞数量。图像处理可以在同一个智能手机上完成,该智能手机拍摄图像或者远程传输图像,然后将最终结果传输回智能手机(将图像传输到远程位置并在该处处理。)智能手机将显示手机号码对于特定的细胞。在某些情况下,会显示某些建议。建议可以在测试前存储在智能手机上,也可以来自远程机器或专业人员。

[1301] 在某些实施方案中,使用第5节(试剂混合)中所述的方法和装置将试剂放置在第一板和/或第二板的内表面上。

[1302] 用于血液测试的装置或方法包括(a)本文描述的段落中的装置或方法和(b)处于闭合相态的板间隔(即,两个板的内表面之间的距离),或者这样的间隔,其中板间距中未稀释的全血具有红细胞(RBC)的横向平均细胞间距离大于RBC盘形的平均直径的平均细胞间距离。

[1303] 用于布置非球形单元的取向的装置或方法包括(a)如本文所述的装置或方法,和(b)在所述装置或方法中的板间隔(即,两个板的内表面之间的距离)关闭配置或使用这种间隔,其中间隔小于单元在其长方向上的平均尺寸(长方向是单元的最大尺寸方向)。这样的布置可以改进样品体积的测量(例如红细胞体积)。

[1304] 在本发明中,血液检查中的分析物包括蛋白质标记物,其列表可以在美国临床化学协会的网站找到)。

[1305] 26包装

[1306] 本发明的另一方面涉及包装,其将延长使用的试剂的使用寿命并且便于使用。

[1307] 在一些实施方案中,将CROF中含有或不含试剂的平板置于包装内,每个包装一个平板或每个包装多于一个平板。在一个实施例中,第一板和第二板在使用之前被包装在不同的包装中。在一些实施方案中,不同的测定共享共同的第一板或共同的第二板。

[1308] 在一些实施例中,每个包装都是密封的。在一些实施例中,密封件用于防止来自包装外部的空气,化学物质,湿气,污染物或它们的任何组合进入包装内部。在一些实施例中,封装被真空密封或填充有氮气或内部气体。在一些实施方案中,能够延长板和/或试剂(包括捕获剂,检测剂等)的货架寿命的材料用板包装在包装内。

[1309] 在一些实施例中,包装材料是薄层形式,使得包装容易被人的手撕开。

[1310] 27 PoC,智能手机和网络

[1311] 本发明的一个方面涉及用于监测对象的健康状态的方法,所述方法包括:将从对象提供的样本应用于基于CROF的检测器,所述基于CROF的检测器被配置为指示代表所述样本的输出;用配置成获取检测器输出的装置作为输入数据来处理检测器输出,并分析输入数据以生成报告;并接收报告。信号增强检测器具有快速检测,简化阅读器(例如用smarphone替代大型常规阅读器)的优点,并且损失成本。

[1312] 体液

[1313] 在某些实施方案中,样品可以包括各种流体或固体样品。在一些情况下,样品可以是来自受试者的体液样品。在某些情况下,可以提供固体或半固体样品。样品可以包括从受试者收集的组织和/或细胞。样品可以是生物样品。生物样品的实例可以包括但不限于血液,血清,血浆,鼻拭子,鼻咽洗液,唾液,尿液,胃液,脊髓液,泪液,粪便,粘液,汗液,耳蜡,油,腺分泌物,脑脊液,组织,精液,阴道液,源自肿瘤组织的间质液,眼液,脊髓液,咽拭子,呼吸,头发,指甲,皮肤,活组织检查,胎盘液,羊水,脐带血,淋巴液,腔液,痰,脓液,微生物群,胎粪,母乳和/或其他排泄物。样品可能包括鼻咽清洗液。可以在提取缓冲液中处理鼻拭子,咽拭子,粪便样品,毛发,指甲,耳蜡,呼吸和其它固体,半固体或气体样品,例如预先固定或可变的时间量到他们的分析。如果需要,那么提取缓冲液或其等分试样可以类似于其他流体样品进行处理。受试者的组织样品的实例可以包括但不限于结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。

[1314] 在某些实施方案中,受试者可以是人类或非人类动物。受试者可以是哺乳动物,脊椎动物,如鼠类,猿猴,人类,农场动物,运动动物或宠物。在一些实施例中,受试者可以是患者。在其他实施方案中,受试者可以被诊断患有疾病,或者受试者可能不被诊断患有疾病。在一些实施例中,受试者可以是健康的受试者。

[1315] 设备读取

[1316] 如上所述,该方法的各个方面包括用配置成获取检测器输出作为输入数据的设备处理信号增强检测器输出,并处理输入数据以生成报告。可以使用任何适合于获取检测器输出作为输入数据并处理输入数据以生成报告的设备。在一些实施例中,该设备包括被配置为获取光学检测器输出作为输入数据的光学记录设备。在某些情况下,光学记录设备是相机,例如数码相机。术语“数码相机”表示包括作为其主要部件的图像拍摄设备的任何相机,该图像拍摄设备设置有用于形成光学图像的图像拍摄透镜系统,用于将光学图像转换为电信号的图像传感器,以及其他部件,包括数字静态照相机,数字电影照相机和网络照相机(即,公开地或私人地连接到连接到网络以允许图像交换的设备的相机的示例,包括直接连接到网络以及通过具有信息处理能力的诸如个人计算机的设备连接到网络的那些)。在一个示例中,输入数据可以包括可以捕捉随时间变化的视频成像。例如,可以获取视频以提供对样本中动态变化的评估。

[1317] 在某些实施例中,光学记录设备具有比在研究/临床实验室环境中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度低的灵敏度。在某些情况下,本方法中使用的光学记录设备具有低于10倍或更多倍的灵敏度,例如100倍或更多倍,包括200倍或更多,500倍或更多,或1000倍或更多倍在研究/临床实验室环境中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度。

[1318] 在某些实施例中,设备借助形成设备与检测器之间的接口的适配器来获取检测器输出。在某些实施例中,界面通用以与适合于执行主题方法的任何装置兼容。感兴趣的接口

包括但不限于USB,火线,以太网等。在某些实施例中,设备通过无线通信获取检测器输出,包括蜂窝,蓝牙,WiFi等等

[1319] 在某些实施例中,该设备可以具有视频显示器。视频显示器可以包括可以以用户可感知的方式(例如,计算机监视器,阴极射线管,液晶显示器,发光二极管显示器,触摸板或触摸屏显示器)显示显示页面的组件,以及/或本领域已知的用于发射视觉可感知输出的其他手段。在某些实施例中,该设备配备有用于显示信息的触摸屏,诸如从检测器获取的输入数据和/或从处理的数据生成的报告,并允许信息由对象输入。

[1320] 在某些实施例中,该装置配备有振动能力作为提醒对象例如在处理检测器输出时产生的报告或准备从检测器获取输出的方式。

[1321] 在某些实施例中,主题设备被配置为处理从信号增强检测器获取的输入数据。该设备可以以任何合适的方式配置以处理用于主题方法的数据。在某些实施例中,设备具有用于存储数据的存储位置和/或用于处理数据和/或存储数据库的存储指令。数据可以以任何合适的格式存储在存储器中。

[1322] 在某些实施例中,该设备具有处理该数据的处理器。在某些实施例中,用于处理数据的指令可以被存储在处理器中,或者可以被存储在单独的存储器位置中。在一些实施例中,该设备可以包含用于实现处理的软件。

[1323] 在某些实施例中,被配置为处理从检测器获取的输入数据的设备包含用于执行处理的软件实现的方法。软件实现的方法可以包括以下中的一个或多个:图像获取算法;图像处理算法;用户界面方法,其促进用户与计算设备之间的交互并用作数据收集,传输和分析的手段,通信协议;和数据处理算法。在某些实施例中,图像处理算法包括以下一项或多项:粒子计数,LUT(查找表)滤波器,粒子滤波器,模式识别,形态学确定,直方图,线轮廓,地形表示,二进制转换或颜色匹配配置文件。

[1324] 在某些实施例中,设备被配置为当显示页面被驻留在设备的存储器中的软件解释时在视频显示器或触摸屏显示器上显示信息。这里描述的显示页面可以使用任何合适的软件语言来创建,例如超文本标记语言(“HTML”),动态超文本标记语言(“DHTML”),可扩展超文本标记语言(“XHTML”),可扩展标记语言(“XML”)或可用于以用户可感知的方式创建可在视频或其他显示器上显示的计算机文件的另一种软件语言。任何具有逻辑,代码,数据,指令的计算机可读介质都可以用于实现任何软件或步骤或方法。在网络包括因特网的情况下,显示页面可以包括适当类型的网页。

[1325] 根据本发明的显示页面可以包括嵌入式功能,该嵌入式功能包括存储在存储设备上的软件程序,诸如例如VBScript例程,JScript例程,JavaScript例程,Java小程序,ActiveX组件,ASP.NET,AJAX,Flash小程序,Silverlight小程序或AIR例程。

[1326] 显示页面可以包括图形用户界面技术的众所周知的特征,诸如例如框架,窗口,滚动条,按钮,图标和超链接以及众所周知的特征,诸如“点击”界面或触摸屏接口。指向并点击图形用户界面按钮,图标,菜单选项或超链接也被称为“选择”按钮,选项或超链接。根据本发明的显示页面还可以包含多媒体特征,多点触摸像素基于红外LED的表面,带或不带摄像头的基于视觉的交互。

[1327] 用户界面可以显示在视频显示器和/或显示页面上。如下面进一步描述的,用户界面可以显示基于与样本有关的分析数据生成的报告。

[1328] 处理器可以被配置成以任何合适的方式处理数据以用于主题方法。数据例如被处理成分箱数据,变换数据(例如,通过傅立叶变换变换到频域的时域数据),或者可以与其他数据组合。处理可以将数据置于期望的形式,并且可能涉及修改数据的格式。处理可以包括检测来自样品的信号,基于数学操纵或校正和/或专用于设备的校准或用于检查样品的试剂校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,这些组合可一起表示存在异常情况,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式。在某些实施例中,处理可以涉及将处理的数据与存储在设备中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。

[1329] 在某些实施例中,设备可以被配置为通过将输入数据与存储在存储器中的数据库进行比较来处理输入数据,以检索要由对象执行的动作过程的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值对于确定一种或多种分析物的存在或浓度可能是有用的。阈值对于检测警报可能有用的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括对于生成与样本相关的报告可能有用的记录或其他信息。

[1330] 在某些实施例中,该设备可以被配置为获取不是来自信号增强检测器的输出的数据。因此,在某些情况下,该装置可以被配置为获取不代表受试者提供的样品但仍然可以代表受试者的数据。这样的数据包括但不限于年龄,性别,身高,体重,个人和家庭病史等。在某些实施例中,该设备被配置为处理从检测器输出获取的输入数据以及所获取的数据与检测器输出无关。

[1331] 在某些实施例中,该设备可以被配置为通过诸如局域网(LAN)之类的网络,诸如因特网之类的广域网(WAN),个域网,诸如电话网络的电信网络,蜂窝电话网络,移动网络,无线网络,数据提供网络或任何其他类型的网络。在某些实施例中,该设备可以被配置为利用无线技术,诸如蓝牙或RTM技术。在一些实施例中,设备可以被配置为利用各种通信方法,诸如与调制解调器的拨号有线连接,诸如TI,ISDN或电缆线路的直接链路。在一些实施例中,无线连接可以使用示例性无线网络,例如蜂窝,卫星或寻呼网络,GPRS,或本地数据传输系统,例如以太网或LAN上的令牌环。在一些实施例中,设备可以使用红外通信组件进行无线通信。

[1332] 在某些实施例中,该设备被配置为接收可以存储在存储器中的,通过网络从服务器发送的计算机文件。设备可以接收有形的计算机可读介质,其可以包含可以存储在设备的永久或临时存储器中的指令,逻辑,数据或代码,或者可以以某种方式影响或启动设备的动作。一个或多个设备可以传送可以提供对其他计算机文件的访问的计算机文件或链接。

[1333] 在一些实施例中,设备是个人计算机,服务器,膝上型计算机,移动设备,平板电脑,移动电话,手机,卫星电话,智能电话(例如iPhone,Android,黑莓,Palm,Symbian,Windows),个人数字助理,蓝牙设备,寻呼机,地面线路电话或其他网络设备。这样的设备可以是启用通信的设备。这里使用的术语“移动电话”是指可以使用蜂窝网络,诸如会话发起协议(SIP)的语音IP(VoIP)网络,或者无线局域网(WLAN)来使用的电话手机802.11x协议或其任何组合。在某些实施例中,该装置可以是手持式的和紧凑的,使得它可以装入消费者的钱包和/或口袋(例如口袋大小)中。

[1334] 在某些实施例中,该方法包括将样本导出的数据发送到分析所发送的数据的远程位置。远程位置可能是与设备所在位置不同的位置。远程位置可以包括但不限于医院,医生办公室或其他医疗机构或研究实验室。在一些情况下,远程位置可以具有计算机,例如服务器,其被配置为通过网络与设备进行通信(即从设备接收信息并将信息发送到设备)。在一些实施例中,设备可以将数据传输到云计算基础设施。该设备可以访问云计算基础设施。在一些实施例中,按需提供计算资源(数据,软件)可以经由计算机网络而不是来自本地计算机。该设备可能包含非常少的软件或数据(可能只有最低限度的操作系统和Web浏览器),作为连接到Internet的基本显示终端。由于云可能是潜在的交付机制,因此基于云的应用程序和服务可能支持任何类型的软件应用程序或服务。由设备提供和/或由设备访问的信息可以分布在各种计算资源上。或者,信息可以存储在一个或多个固定数据存储单元或数据库中。

[1335] 在某些实施例中,远程位置包括存储在数据存储单元中的中央数据库,该数据存储单元接收并分析从设备发送的数据。数据存储单元可以能够存储计算机可读介质,该计算机可读介质可以包括用于处理器执行一个或多个步骤的代码,逻辑或指令。在一些实施例中,以与中央数据库中包含的数据相比较的方式分析所接收的数据,并将结果发回给对象。分析可以包括基于数学操纵或校正和/或对于用于检查样品的装置或试剂特定的校准来校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,这些组合可一起表示存在异常情况,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式。

[1336] 在某些实施例中,分析可涉及将分析的数据与存储在远程位置处的数据存储单元中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值对于确定一种或多种分析物的存在或浓度可能是有用的。阈值对于检测警报可能有用的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括与可以在样本上运行的样本制备或临床测试有关的任何其他信息。数据存储单元可以包括可用于生成与分析的数据有关的报告的记录或其他信息。

[1337] 在某些实施例中,健康护理专业人员在远程位置。在其他实施例中,健康护理专业人员可以访问设备在不同于远程位置或设备位置的第三位置处传送的数据。医疗保健专业人员可以包括与医疗保健系统相关的个人或实体。医疗保健专业人员可能是医疗保健提供者。医疗保健专业人员可能是医生。医疗保健专业人员可以是个人或机构,以系统的方式向个人,家庭和/或社区提供预防,治疗,促销或康复医疗服务。医疗保健专业人员的例子可以包括医生(包括全科医生和专科医生),牙医,助理医师,护士,助产士,药物经济学家/药剂师,营养师,治疗师,心理学家,脊椎治疗师,临床官员,物理治疗师,抽血医师,职业治疗师,视光师,急救医疗技术人员,护理人员,医务化验师,医疗修复技师,放射技师,社会工作者以及经过培训提供某种类型的医疗服务的各种其他人力资源。医疗保健专业人员可能会或可能没有经过认证可以开处方。医疗保健专业人员可以在医院,保健中心和其他服务提供点工作,也可以在学术培训,研究和管理工作中工作。一些医疗保健专业人员可能为私人住宅病人提供护理和治疗服务。社区卫生工作者可以在正规医疗机构之外工作。医疗保健服

务经理,医疗记录和健康信息技术人员以及其他支持人员也可以是医疗保健专业人员或隶属于医疗保健提供者。

[1338] 在一些实施例中,医疗保健专业人员可能已经熟悉了对象或已经与对象通信。该主题可能是医疗保健专业人员的患者。在某些情况下,医疗保健专业人员可能已经规定受试者接受临床测试。在一个例子中,医疗保健专业人员可以是受试者的主要保健医生。医疗保健专业人员可以是该科目的任何类型的医生(包括全科医生和专科医生)。

[1339] 因此,医疗保健专业人员可以分析或审查从设备传输的数据和/或在远程位置执行的分析结果。在某些实施例中,健康护理专业人员可以基于由设备发送的数据和/或在远程位置处分析的数据向主题发送指令或推荐。

[1340] 监测对象健康状况的方法

[1341] 在执行主题方法时,可以通过任何合适的方法将从主体提供的样本应用于信号增强检测器,包括使样本与信号增强检测器的样本接收区域接触,例如使用移液管,滴管,注射器等等。在某些实施方式中,当信号增强检测器以浸渍棒形式定位在支撑物上时,如下所述,可通过将浸渍棒的样品接收区域浸入样品中而将样品应用于信号增强检测器。

[1342] 任何体积的样品都可以由受试者提供。体积的实例可以包括但不限于约10mL或更少,5mL或更少,3mL或更少,1 μ L(μ L,本文中也称为“uL”)或更少,500 μ L或更少,300 μ L或更少,250 μ L或更少,200 μ L或更少,170 μ L或更少,150 μ L或更少,125 μ L或更少,100 μ L或更少,75 μ L或更少,50 μ L或更少25 μ L以下,20 μ L以下,15 μ L以下,10 μ L以下,5 μ L以下,3 μ L以下,1 μ L以下。样品量可能约为一滴样品。样本量可能是从刺痛的手指或指尖收集的量。样品的量可以是从小针或静脉抽取收集的量。任何体积,包括本文所述的那些,都可以应用于信号增强检测器。

[1343] 一种或多种,两种或更多种,三种或更多种,四种或更多种,五种或更多种,六种或更多种,七种或更多种,八种或更多种,十种或更多种,十二种或更多种,十五种或更多种或二十种或更多种不同类型的样品可以从受试者提供。可以同时或在不同的时间从受试者提供单一类型的样品或多种类型的样品。可以同时或在不同的时间从受试者提供单一类型的样品或多种类型的样品。

[1344] 可以一次或多次收集来自受试者的样品。数据可以在离散的时间点收集,或者可以连续收集。随着时间收集的数据可以被汇总和/或处理。在一些情况下,数据可以被汇总并且对于随着时间的推移的纵向分析可以是有用的,以便于筛选,诊断,治疗和/或疾病预防。

[1345] 在某些情况下,从施加样品到信号增强检测器到产生可由设备接收的输出的时间段可以在1秒到30分钟的范围内,诸如10秒到20分钟,30秒到10分钟包括1分钟到5分钟。在一些情况下,从施加样品到信号增强检测器到产生可由装置接收的输出的时间段可以是1小时或更少,30分钟或更少,15分钟或更少,10分钟或更少,5分钟或更少,3分钟或更少,1分钟或更少,50秒或更少,40秒或更少,30秒或更少,20秒或更少,10秒或更少,5秒或更少,2秒或更少,1秒或更短,或甚至更短。在一些情况下,从应用样本到信号增强检测器到产生可由设备接收的输出的时间段可以是100毫秒或更多,包括200毫秒或更多,诸如500毫秒或更多,1秒或更多,10秒或更多,30秒或更多,1分钟或更多,5分钟或更长或更长。

[1346] 在某些实施例中,主题方法包括用设备处理检测器输出以生成报告。如上所述,检

测器输出可以由设备处理以通过任何合适的方法生成报告。

[1347] 该方法的实施例可以进一步包括接收由设备生成的报告。报告可以以任何方便的形式被接收,包括但不限于通过查看设备上的屏幕上显示的报告,通过收听发送给对象的电子邮件或文本消息,通过收听由该设备通过感测设备产生的振动等。

[1348] 如上所述,通过任何方便的方法将数据传输到远程位置。这种传输可以通过电子信号,射频信号,光信号,蜂窝信号或可以通过有线或无线连接传输的任何其他类型的信号。本文其它地方描述的任何数据传输或电子数据或传输的描述可以通过电子信号,射频信号,光信号,蜂窝信号或可以通过有线或无线连接传输的任何其他类型的信号发生。传输的数据可以包括输入数据和/或处理的数据和/或生成的报告。如上所述,所发送的数据还可以包括不从信号增强检测器获取的数据,即,不表示从对象获得的样本的一个方面的数据,但是代表了对对象的其他方面。

[1349] 在某些实施例中,该方法包括接收分析的数据。分析的数据可以由对象使用任何方便的方法来接收,包括但不限于通过观看显示在设备上的屏幕上的分析数据,通过收听发送给对象的电子邮件或文本消息,通过收听由设备产生的音频消息,通过感测设备产生的振动等。

[1350] 系统

[1351] 如上所概述,本发明的各方面包括可用于实践本主题方法的系统。在一些实施例中,该系统包括设备,该设备被配置为:从信号增强检测器接收输出数据作为输入;处理输入数据以生成报告;并接收所述报告,其中所述信号增强检测器被配置为通过获取从所述对象提供的样本并生成代表所述样本的输出来指示所述输出。

[1352] 在一些实施例中,信号增强检测器包括液体处理组件,诸如微流体流体处理组件。流体处理部件可以被配置为引导一种或多种流体通过信号增强检测器。在一些情况下,流体处理部件被配置为引导流体,例如但不限于样品溶液,缓冲液等。液体处理部件可以包括但不限于被动泵和微流体通道。在一些情况下,被动泵被配置用于通过本文公开的信号增强检测器的毛细作用驱动微流体处理和流体布线。在某些情况下,微流体流体处理部件被配置为递送少量流体,例如1mL或更少,例如500 μ L或更少,包括100 μ L或更少,例如50 μ L或更少,或者25 μ L或更少,或者10 μ L或者更少,或者5 μ L或者更少,或者1 μ L或者更少。因此,在某些实施例中,操作系统不需要外部电源。

[1353] 在某些实施例中,信号增强检测器具有在5mm \times 5mm至100mm \times 100mm范围内的尺寸,包括50mm \times 50mm或更小,例如25mm \times 25mm或更小,或10mm x 10毫米或更少。在某些实施例中,信号增强检测器具有5mm至0.1mm范围内的厚度,诸如3mm至0.2mm,包括2mm至0.3mm或1mm至0.4mm。

[1354] 在一些实施例中,信号增强检测器可以具有标识符。标识符可以是在信号增强检测器上形成的物理对象。例如,标识符可以由主体系统的设备读取。因此,在一些情况下,来自信号增强检测器的输出可以包括标识符。在一些实施例中,照相机可以捕捉标识符的图像,并且可以分析图像以识别信号增强检测器。在一个示例中,标识符可以是条形码。条形码可以是一维或二维条形码。在一些实施例中,标识符可以发出可以标识信号增强检测器的一个或多个信号。例如,标识符可以提供可以指示信号增强检测器的身份的红外,超声波,光学,音频,电或其他信号。标识符可以使用射频识别(RFID)标签。标识符可以存储在信

号增强检测器的存储器中。在一个示例中,标识符可以是计算机可读介质。

[1355] 标识符可以包含允许设备被配置为从信号增强检测器获取输出并且处理该输出以确定用于产生代表样本的输出的特定类型的信号增强检测器的信息。在某些实施例中,标识符向数据库提供密钥,该数据库将每个标识符密钥与特定于用于产生代表样本的输出的信号增强检测器类型的信息相关联。特定于信号增强检测器类型的信息可以包括但不限于信号增强检测器配置为结合的分析物的身份,特定分析物可结合在信号增强检测器上的位置的坐标,每种分析物的检测灵敏度等。数据库可以包含与特定信号增强检测器有关的其他信息,包括有效期,批号等。数据库可以存在于设备上,提供在计算机可读中等,或者可以由远程服务器上的设备访问。

[1356] 在某些实施例中,该系统的检测灵敏度高于不具有物理信号放大过程但使用高灵敏度实验室级读取器10倍或更多(包括100倍或更多)的系统,诸如200次或更多次,500次或更多次,1000次或更多次或更多次。在某些实施方案中,该系统的检测灵敏度高于不具有物理信号放大过程但使用高灵敏度实验室级读数器10-10,000倍,例如100-5000倍,包括200至2000倍,或500至1000倍。

[1357] 系统的实施例包括被配置为在处理来自信号增强检测器的输出时生成报告并将报告提供给受试者的设备。在一些实施方式中,报告可以包括关于患者的疾病例如疾病的诊断信息。在某些实施方案中,该系统达到75%或更多,例如80%或更多,包括85%或更多,或90%或更多的诊断准确度。

[1358] 效用

[1359] 本发明的方法和系统可用于需要确定样品中一种或多种分析物的存在或不存在和/或定量和/或监测个体健康的各种不同应用中。例如,本发明的系统和方法可用于检测蛋白质,肽,核酸等。在某些情况下,主题系统和方法可用于检测蛋白质。

[1360] 在某些实施方案中,本发明的系统和方法可用于检测样品中的核酸,蛋白质或其他生物分子。该方法可以包括检测样品中的一组生物标志物,例如两种或更多种不同的蛋白质生物标志物。例如,所述方法可以用于生物样品中两种或更多种疾病生物标志物的快速临床检测,例如,可以用于诊断受试者中的疾病状况,或用于正在进行的受试者中的疾病状况等。如上所述,与医生或其他医疗保健提供者的通信可以更好地确保医生或其他医疗保健提供者意识到并认识到可能的担忧并且因此可能是more likely to take appropriate action.

[1361] 在某些实施方案中,本发明的系统和方法可用于检测生物标志物。在一些情况下,本系统和方法可用于检测特定生物标志物的存在或不存在,以及血液,血浆,血清或其他体液或排泄物中特定生物标志物浓度的增加或减少,例如(但不限于)尿液,血液,血清,血浆,唾液,精液,前列腺液,乳头抽吸液,泪液,汗液,粪便,脸颊拭子,脑脊液,细胞裂解液样品,羊水,胃肠液,活检组织,等等。

[1362] 生物标志物的存在或不存在或生物标志物浓度的显著变化可用于诊断疾病风险,个体中疾病的存在或定制个体疾病的治疗。例如,特定生物标志物或生物标志物组的存在可能影响给予个体的药物治疗或给药方案的选择。在评估潜在药物疗法时,生物标志物可以用作自然终点的替代物,例如存活或不可逆发病率。如果治疗改变生物标志物,其与改善的健康直接相关,则生物标志物可以用作评估特定治疗或给药方案的临床益处的替代终

点。从而,本发明的系统和方法有助于基于个体中检测到的特定生物标志物或生物标志物组的个性化诊断和治疗。此外,如上所述,通过主题装置和系统的高灵敏度促进与疾病相关的生物标志物的早期检测。由于利用诸如智能电话的移动设备检测多种生物标志物的能力与灵敏度,可扩展性和易用性相结合,所以本发明公开的系统和方法可用于便携式和床旁护理或接近患者的分子诊断。如上所述。由于利用诸如智能电话的移动设备检测多种生物标志物的能力与灵敏度,可扩展性和易用性相结合,所以本发明公开的系统和方法可用于便携式和床旁护理或接近患者的分子诊断。如上所述。由于利用诸如智能电话的移动设备检测多种生物标志物的能力与灵敏度,可扩展性和易用性相结合,所以本发明公开的系统和方法可用于便携式和床旁护理或接近患者的分子诊断。

[1363] 在某些实施方案中,主题系统和方法可用于检测疾病或疾病状态的生物标志物。在某些情况下,本主题系统和方法可用于检测用于表征细胞信号传导途径的生物标记和用于药物发现和疫苗开发的细胞内通讯。例如,主题系统和方法可用于检测和/或量化患病,健康或良性样品中生物标志物的量。在某些实施方案中,本主题系统和方法可用于检测传染病或疾病状态的生物标志物。在一些情况下,生物标志物可以是分子生物标志物,例如但不限于蛋白质,核酸,碳水化合物,小分子等。

[1364] 本发明的系统和方法可用于诊断测定,例如但不限于以下:如上所述检测和/或定量生物标记;筛选测定,其中对无症状受试者定期测试样品;预后分析,其中生物标志物的存在和或量用于预测可能的疾病过程;分层分析,其中可以预测受试者对不同药物治疗的反应;功效测定,其中监测药物治疗的功效;等等。

[1365] 主题系统和方法也可用于验证分析。例如,验证测定可用于验证或证实潜在的疾病生物标志物是各种个体疾病存在或不存在的可靠指标。主题系统和方法的短测定时间可以有助于增加用于在最短时间内筛选多个样品的通过量。

[1366] 在一些情况下,可以使用主题系统和方法而不需要用于实施的实验室设置。与等效的分析研究实验室设备相比,本设备和系统在便携式手持系统中提供了可比较的分析灵敏度。在某些情况下,质量和运行成本低于典型的固定式实验室设备。此外,本主题系统和设备可以用于家庭环境中,供没有医学培训的人员进行非处方家庭测试,以检测样品中的一种或多种分析物。本主题的系统 and 装置还可以用于临床环境中,例如在床边,用于快速诊断或者在由于成本或其他原因而不提供固定研究实验室设备的环境中。

[1367] 套件

[1368] 本发明的各方面包括提供用于监测对象的健康信号增强检测器的试剂盒以及使用手持设备(例如移动电话)来实践主题方法的指令。这些说明可能以各种形式存在于主题试剂盒中,其中一种或多种可能存在于试剂盒中。这些说明可以存在的一种形式是作为在合适的介质或基底上的印刷信息,例如在其上打印信息的一张或多张纸,在试剂盒的包装中,在包装说明书中等等。另一种形式装置将是其上记录或存储了信息的计算机可读介质,例如软盘,CD,DVD,蓝光,计算机可读存储器等。另一种可能存在的手段是可以通过互联网使用的网站地址,以访问被移除的网站上的信息。该套件可以进一步包括用于实现如在此所述的在计算机可读介质上提供的用于监测设备上的对象的健康状况的方法的软件。任何方便的手段都可能存在于试剂盒中。

[1369] 样本,健康状况和应用程序

[1370] 下文进一步描述来自受试者的样品,受试者的健康以及本发明的其他应用。示例性的样品,健康状况和应用也公开在例如美国公开号编号为2014/0154668和2014/0045209,其通过引用并入本文。

[1371] 本发明可用于各种应用中,其中这样的应用通常是分析物检测应用,其中给定样品中特定分析物的存在至少定性地(如果不是定量地)被检测到。进行分析物检测分析的方案对于本领域技术人员来说是公知的,在此不需要详细描述。一般而言,怀疑含有感兴趣分析物的样品在足以使分析物结合至其束缚于传感器的各自捕获剂条件下与主题纳米传感器的表面接触。捕获剂对目标靶分子具有高度特异性的亲和力。这种亲和力可以是抗原-抗体反应,其中抗体结合抗原上的特定表位,或在核酸的两条或更多条互补链之间序列特异性的DNA/RNA或DNA/RNA杂交反应。因此,如果目标分析物存在于样品中,它可能与捕获剂位点处的传感器结合,并且在传感器表面形成复合物。即,捕获的分析物被固定在传感器表面。除去未结合的分析物后,然后例如使用标记的二级捕获剂检测传感器表面上的该结合复合物(即,所关注的固定的分析物)的存在。捕获的分析物被固定在传感器表面。除去未结合的分析物后,然后例如使用标记的二级捕获剂检测传感器表面上的该结合复合物(即,所关注的固定的分析物)的存在。捕获的分析物被固定在传感器表面。除去未结合的分析物后,然后例如使用标记的二级捕获剂检测传感器表面上的该结合复合物(即,所关注的固定的分析物)的存在。

[1372] 感兴趣的特定分析物检测应用包括其中使用核酸捕获剂的杂交测定法和其中使用多肽(例如抗体)的蛋白质结合测定法。在这些测定中,首先制备样品,并且在样品制备之后,使样品在特定结合条件下与主题纳米传感器接触,由此在靶标核酸或多肽(或其它分子)之间形成复合物,所述靶核酸或多肽与附着于传感器表面。

[1373] 在一个实施方案中,捕获寡核苷酸是合成的20-100个碱基长度的单链DNA,其一端被硫醇化。将这些分子固定在纳米装置的表面上以捕获具有与固定的捕获DNA互补的序列的靶向单链DNA(其可以是至少50bp长度)。杂交反应后,加入检测的单链DNA(其长度可以是20-100bp),其序列与目标DNA未被占据的核酸互补,以与目标杂交。检测DNA的一端与荧光标记结合,荧光标记的发射波长在纳米器件的等离子体激元共振内。因此,通过检测来自纳米器件表面的荧光发射,目标单链DNA可以被准确检测和定量。捕获和检测DNA的长度决定了解链温度(核苷酸链将在高于解链温度时分开),错配的程度(链越长,错配越低)。选择用于互补结合的长度关注点之一取决于尽可能地保持熔融温度尽可能最小化错配的需要。另外,确定杂交长度的总长度以实现最佳的信号放大。选择用于互补结合的长度关注点之一取决于尽可能地保持熔融温度尽可能最小化错配的需要。另外,确定杂交长度的总长度以实现最佳的信号放大。选择用于互补结合的长度关注点之一取决于尽可能地保持熔融温度尽可能最小化错配的需要。另外,确定杂交长度的总长度以实现最佳的信号放大。

[1374] 主题传感器可用于诊断疾病或病症的方法中,其包括:(a)从疑似患有疾病或病症的患者获得液体样品,(b)使样品与主题纳米传感器接触,其中捕获纳米传感器的药物特异性结合疾病的生物标志物,并且其中所述接触在适合生物标志物与捕获剂的特异性结合的条件下进行;(c)去除任何未与捕获剂结合的生物标记物;和(d)从生物标志物读取保持与纳米传感器结合的光信号,其中光信号表明患者患有疾病或病症,其中所述方法还包括在生物标志物之前或之后用发光标记物标记生物标志物,在它被绑定到捕获代理之后。如下

面将更详细描述，患者可能怀疑患有癌症并且抗体与癌症生物标志物结合。在其他实施方案中，患者被怀疑患有神经疾病，并且抗体与神经疾病的生物标志物结合。

[1375] 主题传感器的应用包括但不限于：(a) 与某些疾病的阶段相关的化学化合物或生物分子的检测，纯化和定量，所述疾病例如传染病和寄生虫病，损伤，心血管疾病，癌症，精神障碍，神经精神障碍和器质性疾病，例如肺部疾病疾病，肾病，(b) 从环境例如水，土壤或生物样品例如组织，体液中检测，纯化和定量微生物，例如病毒，真菌和细菌，(c) 检测，(d) 量化医学或生理监测中的重要参数，例如葡萄糖，血氧水平，总血细胞计数，(e) 对化学物质或生物样品进行定量分析，这些化学物质或生物样品对食品安全或国家安全构成危害，例如有毒废物，炭疽) 检测和定量生物样本(如细胞，病毒，体液)中的特定DNA或RNA，(f) 测序和比较染色体和线粒体中DNA的基因序列以进行基因组分析或(g) 检测反应产物例如在药物合成或纯化过程中。

[1376] 检测可以在各种样品基质中进行，如细胞，组织，体液和粪便。感兴趣的体液包括但不限于羊水，房水，玻璃体液，血液(例如全血，分离的血液，血浆，血清等)，母乳，脑脊液(CSF)，耳垢(耳垢)，乳糜，钟状，内淋巴，外淋巴，粪便，胃酸，胃液，淋巴，粘液(包括鼻腔引流和痰)，心包液，腹膜液，胸膜液，脓液，大黄，唾液，皮脂(皮肤油)精液，痰，汗液，滑液，眼泪，呕吐物，尿液和呼出的冷凝物。

[1377] 在一些实施方案中，主题生物传感器可以用于通过检测来自样品中病原体的靶核酸来诊断病原体感染。靶核酸可以例如来自选自人免疫缺陷病毒1和2(HIV-1和HIV-2)，人T细胞白血病病毒和2(HTLV-1和HTLV-2)，呼吸道合胞病毒(RSV)，腺病毒，乙型肝炎病毒(HBV)，丙型肝炎病毒(HCV)，爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)，人乳头瘤病毒(HPV)，水痘带状疱疹病毒(VZV)，巨细胞病毒CMV)，单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)，人类疱疹病毒8(HHV-8，也称为卡波西肉瘤疱疹病毒)和黄病毒，包括黄热病病毒，登革热病毒，日本脑炎病毒，西尼罗河病毒和埃博拉病毒。然而，本发明不是，限于检测来自上述病毒的核酸(例如DNA或RNA)序列，但可以在没有任何问题的情况下应用于在兽医和/或人类医学中重要的其他病原体。

[1378] 人乳头瘤病毒(HPV)根据其DNA序列同源性进一步细分为70多种不同类型。这些类型导致不同的疾病。HPV类型1, 2, 3, 4, 7, 10和26-29引起良性疣。HPV类型5, 8, 9, 12, 14, 15, 17和19-25以及46-50在免疫系统减弱的患者中引起损伤。类型6, 11, 34, 39, 41-44和51-55引起生殖器区域和呼吸道粘膜上的良性尖锐疣。HPV 16型和18型由于它们的原因具有特殊的医疗意义生殖器粘膜的上皮发育不良，并与宫颈，阴道，外阴和肛管的侵袭性癌的高比例相关。人乳头状瘤病毒DNA的整合被认为是宫颈癌癌变的决定性因素。人乳头瘤病毒可以例如从其衣壳蛋白L1和L2的DNA序列中检测到。因此，本发明的方法特别适用于检测组织样品中HPV 16和/或18型的DNA序列，以评估癌症发展的风险。

[1379] 在一些情况下，纳米传感器可用于检测以低浓度存在的生物标志物。例如，纳米传感器可用于检测容易接近的体液(例如血液，唾液，尿液，眼泪等)中的癌抗原，以检测易接近的体液中的组织特异性疾病的生物标志物(例如，(例如阿尔茨海默氏病抗原)的生物标志物)来检测感染(特别是检测低滴度潜伏病毒，例如HIV)，检测母血中的胎儿抗原，以及检测外源性化合物(例如药物或污染物)在受试者的血液中。

[1380] 下表提供了可以使用主题纳米传感器(当与适当的单克隆抗体一起使用时)检测到的蛋白质生物标志物及其相关疾病的列表。生物标志物的一种潜在来源(例如，“CSF”；脑

脊髓液)也列在表中。在许多情况下,主题生物传感器可以检测到不同体液的生物标志物。例如,可以在尿液,血液或唾液中鉴定在CSF中发现的生物标志物。

[1381]

标记	疾病
A β 42, 淀粉样蛋白 β -蛋白 (CSF)	阿尔茨海默氏病。
胎球蛋白 A (CSF)	多发性硬化症。
脑脊液 (CSF)	尼曼挑选类型 C.
秘密颗粒素 II (CSF)	躁郁症。
朊病毒蛋白 (CSF)	阿尔茨海默病, 朊病毒病
细胞因子 (CSF)	HIV 相关的神经认知障碍
α -突触核蛋白 (CSF)	帕金森病 (神经退行性疾病)
头蛋白 (CSF)	帕金森病
神经丝轻链 (CSF)	轴突变性
parkin (CSF)	神经退行性疾病
PTEN 诱导假定激酶 1 (CSF)	神经退行性疾病
DJ-1 (CSF)	神经退行性疾病
富含亮氨酸重复激酶 2 (CSF)	神经退行性疾病
突变的 ATP13A2 (CSF)	Kufor-Rakeb 病
载脂蛋白 H (CSF)	帕金森病 (PD)
血浆铜蓝蛋白 (CSF)	PD
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活物-1 α (PGC-1 α) (CSF)	PD
运甲状腺素蛋白 (CSF)	脑脊液鼻漏 (鼻腔手术样本)
维生素 D 结合蛋白 (CSF)	多发性硬化进展
促凋亡激酶 R (PKR) 及其磷酸化 PKR (pPKR) (CSF)	阿尔茨海默氏病。
CXCL13 (CSF)	多发性硬化症
IL-12p40, CXCL13 和 IL-8 (CSF)	鞘内炎症
Dkk-3 (精液)	前列腺癌
p14 endocan 片段 (血液)	脓毒症: Endocan, 特别是由活化的肺血管内皮细胞分泌, 被认为在控制肺部炎症反应中起着关键作用。
血清 (血液)	视神经脊髓炎
ACE2 (血液)	心血管疾病

[1382]

自身抗 CD25 抗体 (血液)	食管鳞状细胞癌的早期诊断
hTERT (血液)	肺癌
CAI25 (MUC 16) (血液)	肺癌
VEGF (血液)	肺癌
sIL-2 (血液)	肺癌
骨桥蛋白 (血液)	肺癌
人附睾蛋白 4 (HE4) (血液)	卵巢癌
Alpha-Fetal 蛋白 (血液)	怀孕
白蛋白 (尿)	糖尿病
白蛋白 (尿) 尿	蛋白尿
微量白蛋白尿	肾脏泄漏
法新社 (尿)	镜像胎儿法新社水平
嗜中性粒细胞明胶酶相关脂蛋白 (NGAL) (尿)	急性肾损伤
白细胞介素 18 (IL-18) (尿)	急性肾损伤
肾损伤分子-1 (KIM-1) (尿)	急性肾损伤
肝脂肪酸结合蛋白 (L-FABP) (尿)	急性肾损伤
LMP1 (唾液)	EB 病毒癌蛋白 (鼻咽癌)
BARF1 (唾液)	EB 病毒癌蛋白 (鼻咽癌)
IL-8 (唾液)	口腔癌症生物标志物
癌胚抗原 (CEA) (唾液)	口腔或唾液恶性肿瘤
BRAF, CCNI, EGRF, FGF19, FRS2, GREB1 和 LZTS1 (唾液)	肺癌
α -淀粉酶 (唾液)	心血管疾病
癌胚抗原 (唾液)	口腔恶性肿瘤
CA 125 (唾液)	卵巢癌
IL8 (唾液)	脊髓细胞癌。
硫氧还蛋白 (唾液)	脊髓细胞癌。
β -2 微球蛋白水平 - 监测病毒活性 (唾液)	HIV
肿瘤坏死因子- α 受体 - 监测病毒活性 (唾液)	HIV
CA15-3 (唾液)	乳腺癌

[1383] 可以由主题方法,装置和系统诊断或测量的健康状况包括但不限于:化学平衡;营养健康;行使;疲劳;睡觉;强调;糖尿病前期;过敏;老化;暴露于环境毒素,杀虫剂,除草剂,合成激素类似物;怀孕;绝经;和更年期。

[1384] 在某些实施方案中,可以使用上述方法获得两种或更多种不同核酸样品中核酸的相对水平,并进行比较。在这些实施方案中,通常将上述方法获得的结果标准化为样品中核酸的总量(例如组成型RNA),并进行比较。这可以通过比较比率或通过任何其他方式来完成。在具体的实施方案中,可以比较两种或更多种不同样品的核酸谱以鉴定与特定疾病或病症相关的核酸。

[1385] 在一些示例中,不同样本可以由“实验”样本(即,感兴趣样本)和可以与实验样本进行比较的“对照”样本组成。在许多实施方案中,不同样品是细胞类型或其片段对,一种细胞类型是感兴趣的细胞类型,例如异常细胞,另一种是对照例如正常细胞。如果比较两部分细胞,则部分通常是来自两个细胞中每一个的相同部分。然而,在某些实施例中,可以比较相同单元的两个部分。示例性细胞类型对包括例如从组织活检(例如,来自具有诸如结肠癌,乳腺癌,前列腺癌,肺癌,皮肤癌或感染病原体等的疾病的组织)分离的细胞和来自通常来自同一患者的相同组织;(例如,具有增殖性突变的细胞或永生化转基因),被病原体感染或处理(例如用环境或化学试剂如肽,激素,改变的温度,生长条件,物理应激,细胞转化等)和正常细胞(例如除了不是永生,感染或治疗等之外其他方面与实验细胞相同的细胞)。从患有癌症,疾病,老年哺乳动物或暴露于病症的哺乳动物的哺乳动物中分离的细胞,以及来自健康或年轻的相同物种,优选来自同一家族的哺乳动物的细胞;和来自相同哺乳动物的分化细胞和未分化细胞(例如,一个细胞是哺乳动物中另一个的祖细胞)。在一个实施例中,可以使用不同类型的细胞,例如神经元细胞和非神经元细胞,或不同状态的细胞(例如,在细胞上刺激之前和之后)。在本发明的另一个实施方案中,实验材料是易受病原体例如人免疫缺陷病毒(HIV)等病原体感染的细胞,并且对照材料是对病原体感染具有抗性的细胞。在本发明的另一个实施方案中,样品对由未分化细胞例如干细胞和分化细胞代表。人类免疫缺陷病毒(HIV)等,并且对照材料是对病原体感染有抵抗力的细胞。在本发明的另一个实施方案中,样品对由未分化细胞例如干细胞和分化细胞代表。人类免疫缺陷病毒(HIV)等,并且对照材料是对病原体感染有抵抗力的细胞。在本发明的另一个实施方案中,样品对由未分化细胞例如干细胞和分化细胞代表。

[1386] 固相测定

[1387] 在通过固定在第一板表面(即固相)上的捕获剂捕获来检测样品中的目标分析物的表面固定化测定中,通常期望具有短的饱和孵育时间以从捕获目标分析物样品和/或短的饱和温育时间用于将捕获剂,检测剂或其他实体配偶体固定在第一板表面上的溶液中。

[1388] 此外,在表面固定化测定以及其他测定中,需要将另一试剂快速添加并混合到样品中以结合样品中的目标实体,即减少良好混合所需的时间。

[1389] 本发明的一个方面涉及可以通过减少和/或控制样品或液体厚度和/或使样品厚度均匀来减少饱和培育时间的装置,系统和方法。本发明的一个关键优点是快速,简单和低成本。例如,本发明可以使饱和孵育时间等于或快于基于微流体通道的测定法中的饱和孵育时间,而不使用任何复杂的预制微流体通道和泵,从而使其简单,易于使用且成本低。

[1390] 本发明的一个基本原理是基于这样的事实,即在表面固定化测定中,如果结合位点区域(最小的一个)的尺寸大于样品厚度,则用于固定目标分析物/结合位点上的实体主要由样品中的目标分析物/实体在样品厚度的一段距离(即分析物/实体扩散时间)内扩散的时间决定。样本中某个距离的扩散时间与距离的平方成正比,与实体的扩散常数成反比。

因此,通过减小样品厚度,扩散时间急剧减少。

[1391] 28控制和测量样品厚度而不使用间隔物

[1392] 在本发明的一些实施例中,用于调节样品或相关体积样品的间隔物被(a)可以测量板内部间隔的定位传感器和(b)能够控制根据传感器提供的信息将板移动到所需的板内部空间。在一些实施方案中,所有的间隔物被翻译阶段,监测传感器和反馈系统所取代。

[1393] 用光学方法测量间距和/或样品厚度。在一些实施例中,内表面之间的间距的测量(f)包括使用光学干涉。光学干涉可以使用多个波长。例如,由于在第一板和第二板的内表面处反射的光的干涉引起的光信号随着光的波长而振荡。从振荡中,可以确定内表面之间的间距。为了增强干涉信号,内表面或两者之一可以涂覆光反射材料。

[1394] 在一些实施例中,内表面之间的间距的测量(f)包括进行光学成像(例如,采取样品的2D(二维)/3D(三维)图像并且图像拍摄可以多次不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振)和图像处理。

[1395] 使用光学方法测量整个样本面积或体积。在一些实施例中,整个样本区域或体积的测量(f)包括进行光学成像(例如,获取样本的2D(二维)/3D(三维)图像,并且图像拍摄可以多次不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振)和图像处理。样品区域是指大致平行于第一板和第二板的方向上的区域。三维成像可以使用条纹投影轮廓术(FPP)的方法,该方法是获取物体的三维(3D)图像的最普遍的方法之一。

[1396] 在一些实施例中,通过成像测量样本区域或体积包括:(a)通过使用已知区域或体积的样本来校准图像比例(例如,成像是智能手机,并且由手机可以通过比较采用相同电话的已知尺寸的样本的图像来校准);(b)将图像与放置在第一板和第二板(在本文中进一步讨论)上或附近放置的刻度标记(尺子)进行比较,以及(c)其组合。

[1397] 如本文所使用的,光可以包括可见光,紫外光,红外光和/或近红外光。光可以包括范围从20nm到20,000nm的波长。

[1398] 29实施例的其他描述

[1399] 提供以下方法,设备和系统。这些实施例可以使用上面或下面描述的任何组件,材料,参数或步骤来实现。以下实施例使用CROF板。

[1400] 实施例1.一种分析液体样品的方法,包括:

[1401] (a)获得含有分析物的样品;

[1402] (b)获得可相对于彼此移动成不同构造的第一和第二板,其中每个板具有基本上平坦的样本接触表面,一个或两个板是柔性的,并且一个或两个板包括间隔物用相应的样品接触表面固定,并且其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,所述间隔物间距离比所述分析物的尺寸大至少约2倍,直至200微米(微米);

[1403] (c)当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;

[1404] (d)之后,在(c)之后,使用两个板将至少部分样品压缩成由板的样品接触表面限定的基本均匀厚度的层,其中该层的均匀厚度由所述垫片和所述板,其中所述压缩包括:

[1405] 将两块板放在一起;和

[1406] 或者平行地或顺序地施加至少一个板的区域以将板压在一起成为闭合相态,其中

适形的压制在至少部分样本上的板上产生基本均匀的压力,以及所述压力将所述样本的至少一部分横向地散布在所述板的所述样本接触表面之间,并且其中所述封闭构造是这样的构造,其中所述均匀厚度区域中的所述板之间的间隔由所述间隔件来调节;和

[1407] (e) 分析均匀厚度层中的分析物,同时板是封闭构型;

[1408] 其中适形的压制是这样一种方法,该方法使得施加在区域上的压力基本上恒定,而与板的外表面的形状变化无关;和

[1409] 其中平行按压同时在预定区域上施加压力,并且顺序按压对目标区域的一部分施加压力并逐渐移动到其他区域。

[1410] 实施例2.一种用于分析液体样品的装置,包括:

[1411] 第一板和第二板,其中:

[1412] i. 板可相对于彼此移动成不同的构造;

[1413] II. 一个或两个盘子是柔性的;

[1414] III. 每个板在其相应的表面上具有用于接触含有分析物的样品的样品接触区域,

[1415] IV. 所述板中的一个或两个包括与相应的样本接触区域固定的间隔物,其中所述间隔物具有预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,所述间隔物间距比所述分析物的尺寸大至少约2倍,至多200微米,并且其中至少一个间隔物在样品接触区域内部;

[1416] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;和

[1417] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并且在封闭构型中:样品的至少一部分被两个板压缩成高度均匀厚度的层,其中层的均匀厚度由板的样品接触表面限制并且由板调节并且垫片。

[1418] 实施例3.一种分析血液样本的方法,包括:

[1419] (a) 获得血液样本;

[1420] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构造的第一和第二板,其中每个板具有基本上平坦的样本接触表面,一个或两个板是柔性的,并且一个或两个板包括间隔物用相应的样品接触表面固定,并且其中所述间隔物具有:

[1421] i. 预定的基本均匀的高度,

[1422] ii. 具有基本均匀横截面和平坦顶面的柱形;

[1423] iii. 宽度与高度之比等于或大于1;

[1424] iv. 预定的恒定间隔器间距离在 $10\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 的范围内;

[1425] v. 等于1%或更大的填充因子;和

[1426] vi. 填充系数与间隔件的杨氏模量之积为2MPa以上,和

[1427] (c) 当所述板构造成打开构造时,将血液样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述打开构造是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距为不受隔离器的限制;

[1428] (d) 之后,在(c)之后,使用两个板将血液样本的至少一部分压缩成由板的样本接触表面限定的基本均匀厚度的层,其中层的均匀厚度被调节所述间隔物和所述板具有 $1.8\mu\text{m}$ 至 $3\mu\text{m}$ 范围内的平均值且变化小于10%,其中所述压缩包括:

[1429] 将两块板放在一起;和/或者平行地或顺序地施加至少一个板的区域以将板压在一起成为闭合相态,其中适形的压制在至少部分样本上的板上产生基本均匀的压力,以及所述压力将所述样本的至少一部分横向地散布在所述板的所述样本接触表面之间,并且其中所述封闭构造是这样的构造,其中所述均匀厚度区域中的所述板之间的间隔由所述间隔件来调节;和

[1430] (e) 分析厚度均匀的层中的血液,同时板是闭合相态;

[1431] 其中所述填充因子是所述间隔物接触面积与所述总平板面积的比率;

[1432] 其中适形的压制是这样一种方法,该方法使得施加在区域上的压力基本上恒定,而与板的外表面的形状变化无关;和

[1433] 其中平行按压同时在预定区域上施加压力,并且顺序按压对目标区域的一部分施加压力并逐渐移动到其他区域。

[1434] 实施例4.一种用于分析液体样品的装置,包括:

[1435] 第一板和第二板,其中:

[1436] v. 板可相对于彼此移动成不同的构造;

[1437] vi. 一个或两个盘子是柔性的;

[1438] vii. 每个板在其相应的表面上具有用于接触血液样本的样本接触区域;

[1439] viii. 一个或两个板包括与相应的板固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距,该间隔件的距离在 $7\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 的范围内,并且其中至少其中一个垫片位于样品接触区域内;

[1440] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;和

[1441] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并且处于关闭状态:样品的至少一部分被两个板压缩成高度均匀厚度的层,其中层的均匀厚度由两个板的内表面限制并且由板调节并且垫片,并具有在 $1.8\mu\text{m}$ 至 $3\mu\text{m}$ 范围内的平均值,并具有小的变化。

[1442] 实施例5.一种用于局部结合液体样品的一部分中的目标实体的方法,包括:

[1443] (a) 获得含有能够在样品中扩散的目标实体的样品;

[1444] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中所述板中的一个或两个包括固定在相应板上的间隔件,其中所述间隔件具有预定的基本上一致的高度,并且其中所述第一板在其表面上包含具有预定区域并结合并固定目标实体的结合位点;

[1445] (c) 当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;

[1446] (d) 在(c)之后,通过使所述两个板进入闭合相态来压缩所述样品,其中所述闭合相态是其中至少部分所述样品被压缩成与两个板接触的均匀厚度的层的构造,并且由两个板的内表面限定并且与结合位点接触,其中该层的均匀厚度由间隔物和板调节,小于 $250\mu\text{m}$,并且基本上小于该层的线性尺寸结合位点的预定区域;

[1447] (e) 在(d)之后并且当板处于关闭配置时,可以:

[1448] (1) 将样品温育相关的时间长度,然后停止孵育;要么

[1449] (2) 将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值的时间,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估目标的结合实体在绑定站点;

[1450] 其中相关的时间长度是:

[1451] i. 等于或大于目标实体在封闭构型下穿过均匀厚度层的厚度所需的时间;和

[1452] ii. 明显短于目标实体在结合位点的最小横向尺寸横向扩散需要的时间;

[1453] 其中在(1)中温育结束时或在(2)中评估期间,与结合位点结合的靶实体的大部分来自样品的相关体积;

[1454] 其中所述温育允许所述目标实体结合所述结合位点,并且其中所述相关体积是所述样品在所述封闭构型处于所述结合位点上方的部分。

[1455] 实施例6.一种用于局部结合液体样品的一部分中的目标实体的装置,包括:

[1456] 第一板和第二板,其中:

[1457] i. 板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个盘子是柔性的;

[1458] iii. 每个板在其相应的表面上具有用于接触含有能够在样品中扩散的实体的样品的样品接触区域,

[1459] iv. 其中一个板在其样品接触区域上具有结合位点,该结合位点具有预定区域并结合并固定目标实体;;

[1460] v. 所述板中的一个或两个包括与相应的板固定的间隔物,其中所述间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,并且其中至少一个所述间隔物在所述样品接触区域内;

[1461] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,并且

[1462] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并且在闭合相态中:至少部分样品被两个板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分位于结合位点上,并且其中层的均匀厚度是由两块板的内表面限制的,由板和间隔件调节的,小于250微米,并且远小于结合位点的预定区域的平均线性尺寸。

[1463] 实施例7.一种将试剂局部释放到液体样品的一部分中的方法,包括:

[1464] (a) 获取样本;

[1465] (b) 获得可相对于彼此移动成不同配置的第一和第二板,其中:

[1466] (i) 一个或两个板包括用相应的板固定的间隔件,

[1467] (ii) 间隔物具有预定的均匀高度,并且

[1468] (iii) 所述第一板在其表面上包括具有预定区域并且包含试剂的存储位置,所述试剂在接触所述样品时溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中;

[1469] (c) 当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;

[1470] (d) 在(c)之后,通过使两个板进入闭合相态来压缩样品,其中闭合构造是这样的构造,其中至少一部分样品被压缩成均匀厚度的层,其由内部所述两个板的表面并且覆盖所述存储位置,其中所述层的均匀厚度由所述间隔物和所述板调节,小于250 μm ,并且基本上小于所述存储位置的所述预定区域的线性尺寸;

[1471] (e) 在(d)之后并且当板处于闭合相态时,将样品孵育相关的时间长度,然后停止孵育,

[1472] 其中相关的时间长度是:

[1473] i. 大约等于或大于目标实体在闭合相态下穿过均匀厚度层的厚度所需的时间;和

[1474] ii. 短于目标实体横跨结合位点的预定区域的线性维度横向扩散的时间;

[1475] 从而在温育之后,最初在储存位点上的大部分试剂处于样品的相关体积中,

[1476] 其中所述温育是允许所述试剂与所述样品结合或混合的过程,并且其中所述相关体积是所述样品在所述封闭构型处于所述结合位点上方的部分。

[1477] 实施例8.一种用于将试剂局部释放到液体样品的一部分中的装置,包括:

[1478] 第一板和第二板,其中:

[1479] i. 板可相对于彼此移动成不同的构造;

[1480] ii. 一个或两个盘子是柔性的;

[1481] vi. 每个板在其相应的表面上具有用于接触样品的样品接触区域;

[1482] vii. 其中一个板在其样品接触区域上包括具有预定区域并且包含试剂的储存位点,所述试剂在接触样品时溶解到样品中,扩散到样品中并结合到目标实体;

[1483] viii. 所述板中的一个或两个包括用相应的板固定的间隔物,其中所述间隔物具有(a) 预定的基本上均匀的高度,该高度等于或小于 $250\mu\text{m}$ 并且基本上小于所述预定区域的平均线性尺寸(b) 预定的不变间隔器距离为 $200\mu\text{m}$ 或更小,并且其中至少一个间隔物在样品接触区域内;

[1484] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔物调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,并且

[1485] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并且在闭合相态中:至少部分样品被两个板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分在结合位点上方,并且其中层的均匀厚度是由两块板的内表面限制,由板和间隔件调节。

[1486] 实施例9.一种用于减少在板表面上的结合位点上结合样品的相关体积中的目标实体的时间的方法,包括:

[1487] (a) 获得含有能够在样品中扩散的目标实体的样品;

[1488] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构造的第一板和第二板,其中所述板中的一个或两个包括固定在相应板上的间隔物,并且一个或两个板是柔性的,其中所述间隔物具有基本上预定的均匀高度和预定的恒定间隔器间距离,并且其中所述第一板在其表面上包括具有预定区域并结合并固定所述目标实体的结合位点;

[1489] (c) 当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;

[1490] (d) 在(c)之后,通过使两个板进入闭合相态来压缩样品,其中闭合相态是这样的构造,其中样品的相关体积的厚度相比于打开构造中的板形成厚度基本均匀的层,其具有至少 1mm^2 的横向面积,该横向面积由两个板的内表面限制并且覆盖结合部位,其中层的均匀厚度由间隔件调节并且所述板小于 $250\mu\text{m}$,并且远小于结合位点的预定区域的线性尺

寸;其中相关体积是样品的一部分或全部体积;

[1491] 其中减小样品的相关体积的厚度减少了相关体积中结合位点和目标实体之间的结合时间以达到平衡。

[1492] 实施例10.一种用于局部结合液体样品的一部分中的目标实体的装置,包括:

[1493] 第一板和第二板,其中:

[1494] i.板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个盘子是柔性的;

[1495] iii.每个板在其相应的表面上具有用于接触含有能够在样品中扩散的实体的样品的样品接触区域,

[1496] iv.其中一个板在其样品接触区域上具有结合位点,该结合位点具有预定区域并结合并固定目标实体;;

[1497] v.所述板中的一个或两个包括与相应的板固定的间隔物,其中所述间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,并且其中至少一个所述间隔物在所述样品接触区域内;

[1498] 其中所述构造之一是打开构造,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔物调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,并且

[1499] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态;并且在闭合相态中:至少部分样品被两个板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分位于结合位点上,并且其中层的均匀厚度是由所述两个板的内表面限制,由所述板和所述间隔物调节,小于250 μm ,并且远小于所述结合位点的所述预定区域的平均线性尺寸;和

[1500] 其中减小样品的相关体积的厚度减少了相关体积中结合位点和目标实体之间的结合时间以达到平衡。

[1501] 实施例11.一种用于在没有流体隔离的情况下平行,多路复用,测定液体样品的方法,包括:

[1502] (a)获得含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品;

[1503] (b)获得可相对于彼此移动成不同配置的第一和第二板,其中:

[1504] i.一个或两个板包括用各自的板固定的间隔物,并且一个或两个板是柔性的,

[1505] ii.间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离,

[1506] iii.所述第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,所述结合位点各自具有包含捕获剂的预定区域,所述捕获剂结合并固定(a)的相应目标分析物;和

[1507] iv.第二板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置,每个存储位置具有预定的面积并且包括浓度的检测剂,该浓度在接触样品时溶解到样品中并且扩散到样品中,

[1508] 其中每种捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;

[1509] (c)当所述板构造成开放相态时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;

[1510] (d)在(c)之后,通过使所述两个板进入关闭构型来压缩所述样品,其中所述关闭构造是这样的构造,其中:

- [1511] i. 样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层, 该层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定, 并与一个或多个结合位点以及一个或多个存储站点,
- [1512] ii. 一个或多个对应的存储位置在一个或多个绑定位置上, 以及
- [1513] iii. 所述层的均匀厚度由所述间隔物和所述板限制, 小于 $250\mu\text{m}$, 并且实质上小于每个存储位置的预定区域的线性尺寸;
- [1514] (e) 在(d)之后并且当板处于关闭配置时, 可以:
- [1515] (1) 将样品温育相关的时间长度, 然后停止孵育; 要么
- [1516] (2) 将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值的时间, 然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估每个目标的结合分析物结合到结合位点;
- [1517] 其中相关的时间长度是:
- [1518] i. 等于或大于(a)的目标分析物在关闭构型下穿过均匀厚度层的厚度而扩散的时间; 和
- [1519] ii. 明显短于(a)的目标分析物在存储位点或结合位点的预定区域的最小线性维度上横向扩散的时间;
- [1520] 从而产生反应, 其中在(1)中温育结束时或在(2)中评估期间, 与每个结合位点结合的捕获剂-目标分析物-检测剂夹层的大部分来自相应的相关体积的样本;
- [1521] 其中所述温育允许每种目标分析物结合至结合位点和检测剂, 其中所述相应的相关体积是所述样品在所述闭合相态下位于所述相应存储位点上方的部分, 其中所述相邻物质的边缘存储位置和相邻结合位点的边缘之间的间隔大于目标分析物或检测剂在相关时间内可以扩散的距离, 并且其中在结合位点位点和/或存储位点之间不存在流体隔离。
- [1522] 实施例12. 一种用于平行, 多路复用, 分析液体样品而不进行流体隔离的装置, 包括第一板和第二板, 其中:
- [1523] i. 板可相对于彼此移动成不同的构造; 一个或两个盘子是柔性的;
- [1524] ii. 一个或两个板包括用各自的板固定的间隔件; 并且间隔物具有预定的大致均匀的高度和预定的恒定的间隔物间距离;
- [1525] iii. 每个板在其相应的表面上具有用于接触样品的样品接触区域, 所述样品接触区域包含含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品,
- [1526] iv. 第一板在其表面上具有一个或多个结合位点, 每个结合位点具有包含捕获剂的预定区域, 所述捕获剂结合并固定样品的相应目标分析物; 和
- [1527] v. 第二板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置, 每个存储位置具有预定的面积并且包括浓度的检测剂, 该浓度在接触样品时溶解到样品中并且扩散到样品中,
- [1528] 其中每种捕获剂, 目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;
- [1529] 其中所述构造之一是打开构造, 其中: 所述两个板部分地或完全地分开, 所述板之间的间隔不受所述间隔件调节, 并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上, 并且
- [1530] 其中所述配置中的另一个是在所述样品沉积之后以开放相态配置的闭合相态; 并处于关闭状态:
- [1531] i. 样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层, 所述层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定并覆盖一个或多个结合部位和一个或多个存储部位,

- [1532] ii. 一个或多个对应的存储位置在一个或多个绑定位置上, 以及
- [1533] iii. 所述层的均匀厚度由所述间隔物和所述板限制, 小于 $250\mu\text{m}$, 并且实质上小于每个存储位置的预定区域的线性尺寸; 和
- [1534] iv. 在结合位点和/或储存位点之间不存在流体隔离。
- [1535] 其中相邻存储位点的边缘之间的分隔和相邻结合位点的边缘之间的分隔大于目标分析物或检测剂在相关时间内可以扩散的距离, 并且其中在所述相邻存储位置之间不存在流体隔离绑定站点和/或存储站点。
- [1536] 实施例13A. 一种使用移动电话快速分析样本的系统, 包括:
- [1537] (a) CROF装置, 其中CROF装置的一个或两个板可相对于彼此移动成不同的构造; 其中:
- [1538] i. 其中一种构型是开放构型, 其中: 两块板部分或完全分开, 板之间的间距不受间隔件的调节, 样品沉积在一块或两块板上, 以及
- [1539] ii. 另一种配置是在样品沉积后以开放相态配置的封闭配置; 并且在闭合构造中: 样品的至少一部分被两个板压缩成均匀厚度的层, 并且其中层的均匀厚度与两个板的内表面接触并被其限制, 被调节由盘子和垫片组成;
- [1540] (b) 移动通信设备, 包括:
- [1541] i. 用于检测和/或成像样品的一个或多个相机;
- [1542] ii. 电子设备, 信号处理器, 硬件和软件, 用于接收和/或处理检测到的信号和/或样品的图像并用于远程通信; 和
- [1543] (c) 来自移动通信设备或外部源的光源。
- [1544] 实施例13B. 一种使用移动电话快速分析样本的方法, 包括:
- [1545] (a) 将实例沉积在实施例13A的系统的CROF装置上;
- [1546] (b) 分析沉积在CROF装置上的样品以产生结果; 和
- [1547] (c) 将来自移动通信设备的结果传送到远离移动通信设备的位置。
- [1548] 实施例14. 一种分析液体样品的方法, 包括:
- [1549] (a) 获得含有能够在样品中扩散的分析物的样品;
- [1550] (b) 获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板, 其中所述板中的一个或两个包括与相应板固定的间隔件, 其中所述间隔件具有预定的均匀高度, 并且其中所述第一板在其表面上包含具有预定区域的分析物测定区域;
- [1551] (c) 当所述板构造成开放相态时, 将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上, 其中所述开放相态是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由垫片调节;
- [1552] (d) 之后, 在(c)之后, 使用两个板将至少部分样品压缩成均匀厚度的层, 该层由两个板的内表面限定, 其中层的至少一部分覆盖分析物测定区域, 其中所述层的均匀厚度由所述间隔物和所述板调节, 并且基本上小于所述分析物测定区域的所述预定横向区域的线性尺寸, 其中所述压缩包括:
- [1553] 将两块板放在一起; 和
- [1554] 在所述板的外表面上施加外力以将所述板一起按压至闭合相态, 其中所述力在所述至少部分样品上的所述板上产生压力, 并且所述挤压使所述至少部分样品横向在所述板

的内表面之间,并且其中所述闭合构造是这样的构造:其中均匀厚度区域中的所述板之间的间隔通过所述间隔件来调节;

[1555] (e) 在平板处于闭合相态时孵育样品一段时间,该时间是:(i) 约等于或大于分析物在均匀厚度层的厚度上扩散所花费的时间,以及(i) 明显短于分析物扩散穿过分析物测定区域的时间;和

[1556] (f) 在(e) 停止孵化和测量之后立即进行

[1557] 分析区域中的分析物,或者在平板处于闭合相态时继续孵育,并且在明显短于分析物扩散穿过分析物测定区域的时间的时间内测量分析区域中的分析物区。

[1558] 如上所述,以下描述可以应用于实施例1-14。

[1559] 在使用CROF的任何实施例中,间隔物可以位于样品区域内部和样品的相关区域内部,用于样品厚度控制的良好均匀性。

[1560] 在使用CROF的任何实施例中,两个板中的至少一个可以是厚度为 $1\mu\text{m}$ 至 $50\mu\text{m}$ 的塑料膜。

[1561] 在使用CROF的任何实施例中,两个板中的至少一个可以是厚度从50微米到100微米的塑料薄膜。

[1562] 在使用CROF的任何实施例中,两个板中的至少一个可以是厚度从100微米到150微米的塑料薄膜。

[1563] 在使用CROF的任何实施例中,两个板中的至少一个可以是厚度从150微米到250微米的塑料薄膜。

[1564] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以厚度的塑料膜,它们各自独立地选自 $10\mu\text{m}$ 至 $300\mu\text{m}$ 。

[1565] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以厚度为 $100\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 的塑料薄膜。

[1566] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以其中一个厚度的塑料膜独立地选自 $10\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 。

[1567] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 5nm 至 100nm 的范围内。

[1568] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 100nm 至 500nm 的范围内

[1569] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 500nm 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内

[1570] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔物的高度可以在 1 至 $2\mu\text{m}$ 的范围内

[1571] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 2 至 $5\mu\text{m}$ 的范围内。

[1572] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 5 至 $10\mu\text{m}$ 的范围内。

[1573] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 10 至 $30\mu\text{m}$ 的范围内。

[1574] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 30 至 $50\mu\text{m}$ 的范围内。

[1575] 在使用CROF的任何实施例中,板上的间隔件的高度可以在 50 至 $100\mu\text{m}$ 的范围内。

[1576] 在使用CROF的任何实施例中,间隔距离(IDS)不大于 $200\mu\text{m}$ 。

[1577] 在使用CROF的任何实施例中,间隔距离(IDS)不大于 $150\mu\text{m}$ 。

[1578] 在使用CROF的任何实施例中,间隔距离(IDS)不大于 $100\mu\text{m}$ 。

[1579] 在使用CROF的任何实施例中,内部间隔件距离(IDS)不大于 $80\mu\text{m}$,例如不大于 $60\mu\text{m}$,不大于 $40\mu\text{m}$,或不大于 20 微米。

[1580] 在使用CROF的任何实施例中,间隔物的宽高比至少为 1.5 (例如,至少 2 ,至少 3 ,至

少4或至少5)。

[1581] 在使用CROF的任何实施例中,支柱宽度与支柱高度的比率可以是至少1,至少2,至少5或至少10。

[1582] 在使用CROF的任何实施例中,板之间的距离可以在2-50 μm 的范围内,并且任何测定可以具有小于1分钟的饱和时间。

[1583] 在使用CROF的任何实施例中,该方法包括清洗。

[1584] 在使用CROF的任何实施例中,该方法不包括洗涤。

[1585] 在使用CROF的任何实施方案中,该方法在孵育小于1分钟后具有小于1nM的灵敏度,例如0.1nmol,10pmol,1pmol,0.1pmol,10fmol,1fmol或0.1fmol。

[1586] 在使用CROF的任何实施例中,周期与间隔件宽度的比率可小于约7.0(例如,约7.0至1.0),特别是当柱高度小于约100 μm 时。

[1587] 在使用CROF的任何实施例中,板可以具有20-200 μm 的厚度,例如10-50或50-200 μm 。

[1588] 在使用CROF的任何实施例中,样本体积可以小于0.5 μm ,例如小于0.5 μm ,小于0.4 μm ,小于0.3 μm ,小于0.2 μm 或小于0.1 μm 。

[1589] 在使用CROF的任何实施例中,间距距离可以小于200 μm ,例如20-200 μm ,20-50 μm 或50-200 μm 。

[1590] 在使用CROF的任何实施例中,该装置可以用手压缩小于1分钟的时间,例如小于10S。

[1591] 30. 使用信号放大表面的均匀测定

[1592] 在测定的许多应用中,特别是在PoC或其他快速测定中,希望避免洗涤步骤。本发明的一个方面涉及可避免测定洗涤的装置,系统和方法。

[1593] 通过合并和/或使用信号放大表面,所公开的装置,系统和方法可以有助于在没有洗涤的情况下进行测定。表面放大表面可以仅放大距表面小距离发射的光(例如20nm,或50nm,或100nm)。表面放大层的一个例子是D2PA。

[1594] 31. 使用具有环形间隔件的CROF进行测定加速的示例

[1595] 对于使用聚苯乙烯薄膜作为CROF板之一,作为另一板的薄玻璃,蜡环作为隔离物并且固定在聚苯乙烯板上的化验加速进行了实验。在一个CROF过程中,样品的2微升(微升)中的溶液在环间隔内下降(和在中心处,形成为下降小液滴),并通过两个板与板之间的间隔的较薄薄膜压缩被调节通过环垫片(即两个CROF板的闭合相态)。用手压板。在板的闭合相态下发现样品厚度均匀。均匀性的一个主要原因是样品的体积与环形间隔物和两个板之间的体积相同。测试了免疫测定和DNA杂交测定。

[1596] 在免疫测定试验(~40微米高和0.8厘米直径的蜡环间隔物)中,蛋白A被用作捕获剂并被涂覆在聚苯乙烯表面上,标记的IgG被用作分析物。孵育蛋白A和标记的IgG之间的结合后,将未结合的IgG被冲走并测量捕获IgG的标签。测试了不同的孵育时间。我们的实验发现,在小于1分钟的孵育时间内(即1分钟或更少的时间后,捕获的IgG的信号不会随孵育时间而变化),结合饱和。预计这种短的饱和孵育时间为40 μm 间隔(因此样品厚度),因为溶液中IgG在40微米距离内的扩散时间大约为几秒。

[1597] 我们还测试了这种直接测定在具有3mm厚样品厚度的正常96孔板中的孵育,并发

现典型的饱和孵育时间为约120分钟。如果孵育过程受到标记IgG扩散的限制,通过将样品厚度从3mm减小到40 μm ,孵育时间从约120min减少到1.28sec,这与我们观察亚1分钟饱和和孵育时间一致。

[1598] 在DNA杂交测试($\sim 52\mu\text{m}$ 高度和0.7cm直径的蜡环间隔物)中,链霉抗生物素蛋白-BSA是聚苯乙烯底物上的分子连接层并且与生物素化的捕获链连接,捕获链通过杂交捕获经标记的目标链。温育后,将未杂交的目标链洗去,并测试标记信号。测试了不同的孵育时间。我们的实验发现杂交在30秒的孵育时间内饱和(即1分钟或更少的时间后,捕获的IgG的信号不会随孵育时间而改变)。由于在52微米距离内溶液中目标探针的扩散时间大约为几秒,因此期望这种短的饱和孵育时间为52微米的间隔(因此样品厚度)。(实验的更多细节公开于例如临时申请序列号62/202,989中)

[1599] 作为参考文献,对具有较厚样品厚度的相同测定进行了测试,我们发现对于1mm厚的样品,需要约20分钟达到饱和温育。

[1600] (实验的更多细节公开于例如临时申请系列号62/202,989)

[1601] 32. 用CROF和柱形间隔物加速测定(QAX和QMAX)的例子

[1602] E-1.1用CROFF装置测定30 μm 间隔器高度的柱状间隔物阵列以达到小于30秒的饱和和孵育时间。

[1603] 测试CROF的QAX并达到约30秒的饱和时间。实验如图13.a和b所示。在实验中,所述捕获剂和所述标记的检测剂预涂膜和上CROF处理前的一对CROF板之一上干燥,然后将试样滴加在平板上,并与使用CROF过程的另一板封闭。丢弃样品需要几秒钟,CROF过程不到10秒。我们的实验发现,对于30微米的垫片高度,饱和孵育时间在30秒内。

[1604] 板,样品,试剂。(1)使用自保持CROF装置的CROF包括:(i)在样品接触区域中具有间隔阵列的由175 μm 厚的PMMA膜制成的2.5cm \times 2.5cm区域X板,其中间隔物阵列具有矩形晶格与120 $\mu\text{m}/110\mu\text{m}$ 的恒定周期(分别在x和y横向),所有的垫片都是支柱,并且具有相同间隔物高度30 μm 高度和40 μm 宽度x和30 μm y的相同间隔物的矩形形状,并且间隔物由样品材料(PMMA)制成,并通过用模具纳米压印PMMA膜来制造(因此间隔物以预定的间隔物高度和间隔80 μm 的间隔固定在平板上);和(ii)平面表面(1mm厚,3cm \times 5cm)的玻璃板。X板和玻璃板的表面未经处理,对样品具有亲水性。(2)在样品滴加和CROF过程之前,在玻璃板上预涂覆抗IgG的干燥捕获剂(cAb);(3)将干燥的detection剂抗IgG的(DAB)被预涂覆上落下的大CROF处理样品之前的X板;和(4)样品是具有不同常规浓度的BSA缓冲液中的人IgG。

[1605] 实验步骤和结果。将少量含分析物的样品(人IgG)滴在E2-1所述的CROF装置之一的平板表面上。最初,平板上的样品形成水坑,但通过将CROF装置的另一个平板置于浆上并将两个平板压在一起,原始血液包将扩散到大面积样品膜中,但是超薄($\sim 30\mu\text{m}$)被调节通过位于展开样品内部的间隔物阵列。然后,人手将X板均匀地压在玻璃板上的液滴(中心到中心)上5-10秒,释放手,等待30秒,并且板保持其闭合相态。

[1606] 然后不同的样品(具有不同的CROF装置)在不同时间孵育并洗涤并测量(光学信号)。结果在图13.b中,其显示了对于图13.a中描述的QAX测定,小于30秒的饱和和孵育时间。

[1607] E.1.2 QMAX测定和均匀测定

[1608] QMAX已经通过实验用M-Plate(即D2PA)进行放大信号的测试。此外,将QMAX测定与QAX测定进行比较,其中没有MOPate来放大信号。测试了非均质(洗涤)和均匀(不洗涤)。测

试分析是使用QAX&QMAX的人IgG荧光免疫分析。

[1609] 材料和方法: X板(30 μ m柱高, 30 μ m x 40 μ m柱尺寸, 80 μ m ISD) 25mm x 25mm; M板, 尺寸25mm x 25mm; (a) DSU, 蛋白质-A, 抗-人IgG(包被并在底物板上干燥), (b) 人IgG(分析物)和(c) 抗人IgG-IR800试剂(在x-板的存储位置上涂布并干燥)

[1610] 结果(也示于图14): 我们的实验表明, 对于30微米s的闭合相态起搏CROF装置中, 所述饱和度温育1分钟之内, 并且对于包干费读数的灵敏度的LoD=下午2点为QMAX与洗涤, LoD=10pM, 用于QMAX不洗(均质); 的LoD=200PM为卡希用洗涤, 并没有卡希洗涤(均质)

[1611] 的LoD=(无法读取, 对于不同的分析物浓度没有区别)。

[1612] 33. 附加示例性实验测试和优选实施例

[1613] 在本节中, 给出了本发明的附加示例性实验测试和观察以及附加的优选实施例, 其使用以下条件并共享以下常见观察来执行。

[1614] 沉积样品的体积。除非另有说明, 否则沉积在CROF板上的所有样品都具有未知的体积, 即在沉积时确切的体积是未知的。

[1615] 板。在本节使用的CROF设备中, 除非另有说明, 否则称为“X-Plate”的两个板中的一个是唯一具有间隔物的板。称为“基板”的另一块板具有平坦表面并且没有任何间隔物。已经测试了用于板和间隔件的不同材料(包括玻璃, PMMA(聚甲基丙烯酸酯)和PS(聚苯乙烯)), 不同的板厚度和间隔件几何形状(形状和尺寸)。每个板的样本接触表面是平面表面(除了突出的间隔物之外), 其表面平滑度变化典型地小于30nm, 但是许多平面表面具有表面平坦度变化, 这是由板的柔性引起的, 内在的表面平坦度(与板的灵活性无关)或两者兼而有之。一些板的内表面光滑度变化大于30nm。除非另有说明, 实例中使用的板的典型尺寸至少25mm宽并且至少25mm长。

[1616] 间隔。除非另有说明, 否则本节中的所有垫片: (i) 固定在X板的样品表面上并通过压印表面进行制造(因此垫片的材料与X板相同); (ii) 是具有矩形或正方形截面几乎一致的具有圆角的立柱的阵列, 具有从法线倾斜角度小于5度的几乎直的侧壁, 平坦的顶表面和均匀间隔物高度; 和(iii) 在每个X和Y方向上都有一个固定的内部间隔距离(注意, X中的间距可能不同于Y中的间距)(见图17.b)。此外, 柱状间隔件的侧面形状为正方形和具有圆角的矩形; 测试不同的间隔件高度, 尺寸, 间隔件间距, 形状和材料。

[1617] 间隔物的制作。压印在X板表面上的垫片是通过纳米压印制造的, 其中将模具直接压入板中并将原本完全平坦的表面压印到平坦表面上, 但具有从表面突出的柱垫片。压花使用的温度高于塑料材料的玻璃化转变温度, 塑料材料可以在压花下流动。模具通过光刻和蚀刻制造, 并且在一些情况下, 通过在母模上电镀。模具由硅, 二氧化硅或镍制成。

[1618] 图17显示了在板上制造的间隔物的例子。间隔物通过使用模具直接压印塑料板表面来制造。图17(a)和(b)是方形间隔格子的光学显微照片的顶视图。(a) 46 μ m x 46 μ m支柱垫片尺寸和54 μ m支柱间距的照片俯视图, 以及(b) 10 μ m x 70 μ m支柱垫片尺寸和10 μ m支柱距离; (c) 30 μ m x 40 μ m柱间隔物尺寸为2 μ m间隔物高度的前景视图SEM和(d) 30 μ m x 40 μ m间隔物尺寸为30 μ m间隔物高度的前景视图SEM。显微照片显示(1) 柱隔离物的顶部非常平坦, (2) 隔离物具有几乎一致的横截面, 以及(3) 柱隔离物的角为圆形, 具有约1 μ m的曲率半径。较大的曲率半径(例如较小的锐边)是优选的, 因为锐边可以裂解细胞或影响流体流动而不是圆形边缘。

[1619] 使用表面轮廓仪,我们测量了X-Plate 2厘米×2厘米区域的立柱高度。我们发现使用上述方法制造的X板的柱间隔物高度的典型均匀性具有4nm,10nm和100nm的平均变化,并且相对平均变化为0.2%,0.2%和0.33%,分别为2微米,5微米和30微米的垫片高度。

[1620] 典型的实验程序。如图15所示,首先,将小体积(几uL或更少)的样品沉积在基板或形成小浆的x板上。其次,将板与板的样品表面的重叠放在一起。第三,使用手将板压入封闭构型,在此处样品变成薄膜,其面积比原始浆大得多。第四,手是相关的。第五,各种测量都是在封闭式结构下进行的。下面给出了这些步骤的某些细节。

[1621] 样品沉积方法。使用两种样品沉积方法。一种方法是通过移液管将样品沉积在板上。在另一种方法中,通过使受试者的血液和接触的板上的血液从受试者手指(通过工具拾取)直接沉积血液样本。没有稀释到血液直接从手指沉积到平板上。在我们的实验中,我们发现最终的实验结果,除非指定,独立于样品沉积方法。

[1622] 样品沉积在室内和标准室内条件下进行,没有任何特殊的温度控制或防尘过滤器。我们发现在这样的条件下,样品上的灰尘落在样品上并不会影响最终的测量结果,因为(1)柔性板与灰尘相适应,允许其他区域的样品厚度仍然受到间隔物的调节,并且不会影响样品厚度自我保持,(2)有粉尘的面积只是总有效样品面积的非常小的部分,并且测量是在不受灰尘影响的区域进行的。非灰尘区域的选择是通过光学成像完成的。

[1623] 在某些情况下,两块印版具有表面保护盖,以减少落在印版上的灰尘数量。在某些情况下,两块板与样品表面放在一起,以防止灰尘和其他污染物。

[1624] 板的表面润湿性能。我们已经测量了我们的示例性实验中使用的不同板表面的润湿性能。下表给出了对于不同样品类型的不同板材(玻璃,PMMA和PS)以及不同样品表面(平面和X板样品表面)的未处理或经过处理的表面的5uL样品的测量接触角(水,PBS缓冲液(磷酸盐缓冲盐水)和血液),其中X板是175um厚的PMMA,并且其样品表面具有2um高度,30um×40um侧壁的柱状物(即间隔物)大小和110um/120um周期(即80个间隔距离)。

[1625]

板材和表面	水	PBS	血液
未经处理的平板玻璃	45°	46°	46°
未经处理的平面PMMA	60°	57°	59°
未经处理的平面PS	61°	59°	58°
未处理的X板(PMMA)	62°	60°	58°

[1626] 实验表明:(1)玻璃,PMMA和PS的所有未处理表面都具有亲水性表面(即接触角小于90度);(2)未处理的玻璃表面具有比未处理的PMMA和PS更小的润湿角(更亲水);(3)水PBS和血液的接触角相似,并且血液比水和PBS具有稍好的润湿性;(4)未处理的PMMA X板与未处理的PMMA板具有接近的样品接触角;和(5)如预期的那样,表面润湿性能可以通过表面处理显着改变以变得更亲水或更疏水。

[1627] 通过表面处理可以改变板的表面疏水性。例如,对于PMMA X-plate,我们通过在氧等离子体中暴露表面来使其更亲水,并且通过用十三氟烷-1,1,2,2-四氢辛基三氯硅烷处理表面来进行更疏水处理。疏水处理的X-Plate的接触角分别为25,27,28度,亲水处理的X-板的接触角分别为105,104和103度,分别用于水,PBS缓冲液和血液的样品。

[1628] 在下面的讨论中,除非特别说明,板的所有样品表面(即与样品接触的内表面)未

经处理。

[1629] 沉积样品的面积和高度。当使用移液管将水样沉积在处于开放构型的平板上时，我们测量了平板上的样品面积和高度。

[1630]	液体体积	基质:	未经处理的玻璃	未处理 PMMA
	1 微升	直径 (毫米):	2.4	2
		估计高 (毫米):	0.5	0.6
[1631]	2 微升	直径 (毫米):	3.0	2.5
		估计高 (毫米):	0.6	0.8
	5 微升	直径 (mm):	4.1	3.5
		估计高 (毫米):	0.9	1.0

[1632] 实验表明，在开放配置下沉积在板上的典型样品的厚度远大于闭合相态下的厚度。

[1633] 我们观察到，在板的闭合相态下，(1) 总样品面积从几毫米直径膨胀到几厘米（取决于间隔件高度），以及 (2) 如果间隔件阵列具有正方形晶格，则在板的闭合相态下样品的面积也接近正方形，样品的边缘与间隔物正方晶格的方向对齐。因此，它表明可以通过使用间隔物的不同空间布置来控制处于关闭构型的最终样品区域。如果垫片有一个矩形格子，那么封闭构型的最终样品区域应该是矩形。如果垫片是径向圆形图案，那么封闭构型的最终样品区域可以是圆形的。

[1634] 手压。在第30节的所有实验中，将CROF工艺中的板材放在一起并用人手将其压缩成板的闭合形状。在大面积的CROF板上最后压制均匀的样品厚度时，通常拇指按压一个区域并摩擦CROF板的不同区域。使用手将CROF装置（板）压入闭合相态的过程称为“手压”。

[1635] 自保持。除非另有说明，我们观察到，在将CROF板压入最终构型并释放压缩力（例如压紧手）之后，两个板之间的样品厚度仍然受到垫片高度的调节并保持在长时间保持恒定厚度（直至样品最终干燥）。这个观察被称为“自持”。自我保持是由表面张力引起的板，液体样品和环境（例如空气）之间的毛细作用力。我们观察到，CROF装置的手压和自握使样品厚度极佳，如E-1所示。

[1636] 测量板间距和样品厚度。在下面的所有实验中，通过由板的内表面引起的法布里-珀罗空腔共振（FP共振）测量处于闭合相态的两个板的内表面（即样品表面）之间的间距。由于样品（和空气）与内表面之间的光学折射率差异，板的每个内表面充当光学反射器并且两个内表面形成光学腔。FP共振谱是周期性的，并且光学测量点处的内表面间距 h （因此样品厚度）可以由下式计算：

$$[1637] \quad h = \frac{c}{2n\Delta\nu}$$

[1638] 其中 c 是光速， ν 是频域中的周期，并且 n 是板之间的样本的折射率。

[1639] 在我们的FP共振测试中，光源的面积约为2微米 \times 2微米。典型地，我们测量了在

CROF设备的圆心1.6cm×1.6cm区域内的25个不同点处的板内表面间距,其中25点是具有周期的5×5方格(即,两个相邻点之间的距离)4毫米。测量结果远离垫片占据的区域(即支柱)。

[1640] 由于内表面和样品在板的闭合相态下接触,因此测量的内表面间距与测量点处的样品厚度相同。

[1641] 平均样品厚度, H 。平均样品厚度 H 使用在25点测量的板间距和公式计算:

$$[1642] \quad H = \frac{\sum_{i=1}^{25} h_i}{25} .$$

[1643] 样品的厚度偏差是指样品的平均厚度, H , 在给定区域的从预定的间隔的高度, H_0 的偏差: $(H-H_0)$ 。并且相对样本厚度偏差是偏差除以预定间隔物高度: $[(H-H_0)/H_0]$ 。正厚度偏差意味着样品的平均厚度大于间隔物高度, 负厚度偏差意味着样品的平均厚度小于间隔物高度。

[1644] 样品厚度均匀。在给定区域上样品厚度的均匀性 Δ 被定义为样品厚度在给定区域上的标准偏差。

$$[1645] \quad \Delta = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{25} (h_i - H)^2}{25}}$$

[1646] 32.1手压自保持CROF的样品厚度偏差和均匀性

[1647] 在实验中,我们研究了CROF装置和工艺中的参数,这些参数可以在释放手后在板的闭合相态下影响样品厚度偏差和均匀性。我们发现参数包括但不限于间隔器间距(IDS), 间隔器的形状和尺寸(例如间隔器横向尺寸,间隔器高度,间隔器宽度与高度的比率,间隔器区域填充因数(隔板面积与总面积之比或隔板周期与宽度之比),隔板和板的材料机械强度(杨氏模量),板的厚度和每块板的表面平整度得到的某些发现和优选实施例从下面给出实验,间隔物高度的定义,间隔物的IDS,周期和横向尺寸在图16中给出。

[1648] E-1.1IDS(间隔距离)和板厚以及材料对样品厚度的影响。在实验中,我们观察到周期性间隔物阵列的间隔距离(ISD)可以显著影响样品厚度偏差(从间隔物高度)和CROF工艺的闭合相态的均匀性。

[1649] 图18显示了IDS和板厚以及材料对样品厚度的影响。对于不同的板材和间隔材料,不同的板材厚度和不同的样品,所测量的样品厚度偏差和均匀性对间隔器间距(IDS)。间隔物是周期性阵列,并具有5 μ m间隔物高度,平顶和方形(10x10 μ m柱侧向尺寸,几乎均匀的横截面和圆角)。IDS分别为20 μ m, 50 μ m, 100 μ m, 200 μ m和500 μ m。衬底是未经处理的250 μ m厚平坦表面的PMMA板(1×1的面积)。直接制造垫片的X板分别是175微米和50微米厚的非处理PMMA板,以及125微米和25微米厚的未处理PS。样品分别是2 μ L血液(通过直接接触手指滴下),唾液或PBS(通过移液管滴下)。CROF装置通过手压按压并在1英寸的区域上摩擦,并在印刷机后自行保持。样品厚度在CROF装置的闭合相态下测量。

[1650] 图18显示对于给定的实验条件和方形垫片(10x10 μ m支柱横向尺寸,几乎均匀的横截面和圆角):

[1651] (1) 当ISD为20微米, 50微米, 100微米时,平均最终样品厚度为5.1微米至5.2微米,这非常接近预定间隔物高度5微米,并且具有小于4%的厚度偏差和均匀性(即如果ISD等于或小于约120 μ m,则偏差和均匀性可以小于4%)。

[1652] (2) 但是,当ISD为200微米和500微米时,平均最终样品厚度分别为4.3微米和3.5

微米,明显小于预定间隔物高度(5微米),并且厚度偏差为-13.9%和-30.9%和均匀性分别为10.9%和27.7%。这意味着当ISD大于约200 μm 时,不仅平均厚度显着减小,而且均匀性变得非常差。

[1653] 对于40 μm ×40 μm 的横向尺寸柱状间隔阵列(图18),当ISD为60 μm 和150 μm ,100 μm 时,平均最终样品厚度为5.1 μm 至5.2 μm ,这非常接近预定的间隔柱高度为5 μm ,并且厚度偏差和均匀度均小于4%(即,如果ISD等于或小于约100 μm ,则偏差和均匀性可以小于4%)。

[1654] E-1.2 IDS/(Eb³)对样品厚度的影响

[1655] 我们的实验显示(例如图19)帽子可以实现小样品厚度偏差和良好的均匀性,X-Plates的SD⁴/(h^xE)(图中x=1)值应小于10⁶ $\mu\text{m}^3/\text{GPa}$,其中ISD是间距距离,h是材料的高度(厚度),E是材料的杨氏模量。

[1656] 在使用CROF,在某些实施方案中的所有方法和设备,SD⁴/(HXE)值(X=在区1)小于10⁶微米³/GPa,升ESS大于5×10⁵,小于1×10⁶,小于5×10⁶较少等。

[1657] 在任何实施例中,柔性板可具有20 μm 至250 μm (例如50 μm 至150 μm 的范围)内的厚度和0.1至5GPa范围内的杨氏模量(例如,在0.5-2GPa)。

[1658] 在任何实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量可以在60至750GPa- μm 的范围内。

[1659] E-1.3间隔尺寸和高度对样品厚度的影响

[1660] 我们的实验显示(例如图20)为了实现小的样品厚度偏差和对于给定的板厚度,样品和压制,IDS应该约为150 μm 或更小。

[1661] E-1.4对样品厚度的间隔宽度与高度比的影响

[1662] 我们的实验显示(例如图21),为了获得小样品厚度偏差,对于给定的板厚,样品和压制,以及对于20 μm 到150 μm 之间的ISD,柱宽高比(WRH)应大于1,并且在某些实施例中,优选等于大于2。

[1663] 这表明,当WHR大于或等于1时,垫片的强度足以承受手压时的挤压和摩擦,否则所有ISD的偏差和均匀性都会很差并且很大。

[1664] E-1.5间隔填充因子对样品厚度的影响

[1665] 我们的实验显示(例如图22),为了获得小的样品厚度偏差和良好的厚度均匀性,对于给定的样品厚度,样品的间隔物填充因子应该在2.3或更大。

[1666] 例如,图22中实现的小于4%的偏差和均匀性意味着对于给定的支柱面积和IDS以及对于给定的间隔区域填充因子(即支柱横向面积与总面积的比率),PS柱子足够坚固,可以承受手压的压力和摩擦。PS柱的变形可以估算如下:来自拇指的压力约为1-10kg/cm²(10⁵Pa),PS的杨氏模量约为3GPa,20 μm 宽的柱的填充因子间隔和100 μm 的ISD约为4%,导致拇指按压下柱体的相对变形(应变)为1%~0.1%,这与我们的实验观察结果一致。

[1667] E-1.6板厚对样品厚度的影响

[1668] 我们的实验显示(例如图23), (i) 为了获得小样品厚度偏差(等于或小于5%)和良好的厚度均匀性,对于给定的板厚度,样品,至少一个板应该具有板厚小于200微米; (ii) 如果X板和基板都厚于200 μm ,则它们太刚性,不能克服灰尘,导致更差的间距均匀性/偏差。

[1669] E-1.7.基板对样品厚度的影响

[1670] 我们的实验发现(如图25),如果使用较厚(1mm)的玻璃基板,对于较小的样品厚度

偏差和良好的样品厚度均匀性,最大IDS可从150um延伸至PMMA基板至200um。

[1671] E-1.8板面润湿性能的改变及其对自持力的影响

[1672] 我们的实验发现(例如图24):(1) CROF装置良好的自持性要求CROF装置的两个内表面中的至少一个具有亲水性。(2) 如果CROF装置的两个内表面都是亲水性的,它提供了最佳的自持和样品厚度调节和均匀性。(3) 如果CROF装置的一个内表面是亲水的并且另一个内表面是疏水的,则样品区域需要大于 0.5cm^2 以获得良好的自保持性。(4) 如果两个内表面都是疏水的,则自保持不良或失败(不稳定)。(数字中的行是出于眼睛的目的。)

[1673] E-1.9手压时间对样品厚度的影响

[1674] 我们的实验发现CROF装置可以在压制时间1s到60s内自持,并具有相似的良好性能。CROF设备性能不佳,如果不按(按0s),则无法自行保持。

[1675] E-1.10.周期性柱状间隔物与随机球状间隔物对样品厚度的影响比较

[1676] 图27中的测量结果显示,对于给定的实验条件,具有周期性柱隔离物的CROF装置具有小得多的样品厚度偏差以及与无规球(即珠)间隔物更好的均匀性(均小于5%)。具体而言,对于20um,50um和100um ISD,具有周期性,均匀截面柱隔体的平均厚度偏差和均匀性分别为2.3%和-3.4%。然而,当使用平均ISD为20um,50um和100um的随机球隔片时,使用220um厚玻璃盖板的平均厚度偏差和均匀度面积分别为11.2%和12.5%,使用175um厚的PMMA时为10.8%和20%样板厚度偏差约5倍,均匀性差。

[1677] E1.12.其他调查结果

[1678] 图28显示了不同X板厚度和衬底厚度对样品厚度的影响。

[1679] 我们的实验发现,通过移液管滴下并直接从手指取出的液体在最终样品厚度和均匀性方面具有类似的性能。

[1680] 我们的实验还发现,在基板或X板上滴落的液体在测量样品厚度和均匀性方面具有相似的性能。

[1681] 32.2使用自持CROF的未稀释全血中的全血计数

[1682] E2.1使用的CROF设备

[1683] 实施例32,2中的所有测试中使用的CROF装置包括X板和平板玻璃板。X-Plate是厚度为175um,厚度为 $2.5\text{cm} \times 2.5\text{cm}$ 的PMMA薄膜,在样品接触区有一个周期性的间隔阵列。玻璃板厚1毫米,具有平面和3厘米 \times 5厘米的面积。X板上的间隔物直接压印到最初平坦的PMMA膜上,因此它们由PMMA(与X板相同的材料)制成并附着到X板上。

[1684] 每个间隔物是具有在x和y横向方向上分别具有几乎一致的横向横截面,平顶部和40um和30um宽的矩形形状的柱。给定X板上的所有垫片具有相同的垫片高度。周期性的间隔物阵列具有120um和110um的恒定周期的矩形晶格(分别在x和y中),给出80um的恒定的间隔物间隔(IDS)。

[1685] X板和玻璃板的表面未经处理,并且对于以大约40至50度的接触角滴落在表面上的人血是亲水的。两块板对可见光都是透明的。

[1686] E2.2样品,制备,沉积,CROF工艺,自持

[1687] 除非另有说明,否则所有血液样本来自健康受试者,新鲜和直接沉积在CROF板上,无需稀释,且不添加抗凝剂。

[1688] 在实施例3的所有实验中,除非另外具体说明,否则血液来自采摘人类手指,血液

通过血液和板之间的直接接触而沉积在CROF板上。通常,直接触摸在板的表面上沉积约0.1至1 μ L体积的血液。在血液沉积后约60秒内,应用CROF过程将血样压缩成薄膜,然后进行测量。除非特别说明,否则抗凝剂和液体稀释剂都不会加入血样中。

[1689] 在血液测试之前需要对WBC进行染色的某些实验中,将试剂(干燥的吡啶橙染料层)预涂布在CROF装置的一个板的内表面(样品接触表面)上。干染料层的涂层依次包括以下步骤:(a)将30 μ L吡啶橙染料在20 μ g/mL浓度的水中滴加到玻璃板上,(b)将其分散到约1 cm^2 的面积中,并且(c)干燥约1小时。

[1690] 不管在其中一个CROF板上沉积约1 μ L或更少体积的血液的方法,板上沉积的血液形成几毫米或更小直径的水坑。然后用手将CROF装置的两个平板置于闭合形态并用手压几秒钟,其中原始血液淤浆被两个平板压缩成大面积薄血膜(约1-3厘米的横向尺寸)。我们发现,在所有实施例3中,除非另有说明,用手按压的CROF装置具有均匀的样品厚度,由样品垫片调节,并且在手释放后能够自我保持均匀的样品厚度。样品存放在普通房间条件下。我们发现,在大样本区域内,灰尘不会影响达到预定的最终样本厚度。我们还发现最终的血液样本散布成带有圆角的矩形,我们认为这是由周期性间隔物的矩形格造成的。该步骤如图15所示。

[1691] 对于使用在板上使用干染料的样品,在进行任何测量之前,将样品等待30秒。

[1692] 直接沉积在平板上的血液样本没有任何液体稀释(即没有液体稀释),只是将干燥的试剂混合在平板上。

[1693] 所有垫片都具有相同垫片高度2 μ m高度的矩形形状

[1694] 选择2微米间隔器高度以使得CROF装置的闭合相态上的最终血液样品间隔为约2 μ m,其大约等于红血细胞(RBC)的厚度(2-2.5 μ m),但少得多比RBC的直径(6.2-8.2微米)。这样的最终样品厚度使得在CROF的闭合相态下,每个RBC都与其他RBC很好地分开,并且在不同的RBC之间没有重叠或rouleaux,从而通过拍摄样品区域的图像来准确计算RBC。

[1695] E2.3血细胞成像

[1696] 除非另有说明,实施例3中的血液样品的成像在处于闭合相态的两个CROF板之间以及分别通过使用商业DSLR相机(尼康)和iPhone进行。每种相机的结果都是相似的。除非另有说明,图像是通过其中一块透明板(即平行于板表面的平面中的样品中的二维图像)的样品的顶视图。

[1697] 尼康相机。样品由普通商用数码单反相机(Nikon)用两个滤光片(470 \pm 20nm带通滤光片作为激发滤光片和500nm长通滤光片作为发射滤光片),一个光源(氙灯)和一个光源放大/对焦镜头组。在明场模式下,不使用任何滤光片的宽带白光源。在荧光模式下,将470 \pm 20nm滤光片放置在氙灯前,以创建一个围绕470nm波长的窄带激发光源,并将500nm长通滤光片置于照相机前,以阻挡波长较小的光超过500纳米进入相机。

[1698] 移动电话。iPhone-6被用于我们的实验。

[1699] E2.4垫片高度(样品厚度)对血细胞和红细胞计数的影响

[1700] 在我们的实验中,样品厚度被控制为与隔离物高度相同。我们通过实验研究了CROF过程中间隔物高度(因此样品厚度)对血细胞的影响以及它们的成像和计数。所使用的CROF装置和过程以及血液沉积是在实施例2的本节开始时描述的那些。血液样品来自同一健康受试者。在我们的一个实验中测试了四种不同的垫片高度(1 μ m,2 μ m,3 μ m和5 μ m)。

[1701] 图29显示了在四个不同的CROF装置内CROF的血液样品的顶视光学显微照片(明场光学显微镜),其中每个CROF装置具有周期性周期性间隔物的矩形晶格和不同的恒定间隔物高度:1 μm (a), 2微米 (b), 3微米 (c) 和5微米 (d)。血液样本直接由受试者手指沉积在CROF装置的一个平板上,抗凝血剂和液体稀释剂都不添加到血液中。

[1702] 在明视场光学显微镜中,可以看到RBC细胞比WBC更容易。红细胞(RBC)也被称为红血球,其盘直径约为6.2-8.2微米,最厚处的厚度为2-2.5微米(靠近盘的边缘),最小厚度为0.8-1 μm 。

[1703] 我们的光学显微镜观察显示,对于1微米间隔物高度,约99%的RBCs被裂解。例如,图29(a)显示只有RBC留在观察区域。1微米隔离垫高度明显小于平均红细胞厚度。该实验证明,通过使最终的板间隔物(通过控制间隔物高度)小于电池的最小尺寸,CROF装置和工艺可用于裂解电池。

[1704] 我们的光学显微镜观察(例如图29)显示,对于2微米间隔物高度(样品厚度),RBC全部彼此分离,它们之间几乎没有重叠,并具有接近圆形和对称的形状。每个RBC的完整圆形黑色边界线(即边界线完全循环每个(并且只有一个)细胞)在2D显微镜图像中可以清楚地看到每个RBC之间的分离。此外,显微镜观察还显示,细胞中心的红细胞比边缘的红细胞暗,说明在2微米的间隔器高度(样本厚度),红细胞的中心仍然比边缘处的细。

[1705] 我们的光学显微镜观察显示(例如图29),当间隔物高度(因此样品厚度)为3 μm 时,血样的图像在几个方面与2 μm 间隔物高度大不相同,包括但不限于不限于:(1)红细胞变得明显重叠,并且大多数红细胞没有完全圆形的黑色边界线,它们分隔每个细胞,因为它们存在于2微米间隔器高度,而是几个红细胞共享单个黑色边界线,不长的是圆形的;和(2)一些红细胞没有像在2微米垫片高度那样接近圆形,而是呈现更多椭圆形,并且每个红细胞的中心暗盘在2微米垫片高度上变得清晰,变得难以看见。当间隔物高度变为5 μm 时,红细胞有更多的重叠,更多的红细胞具有非圆形形状和几乎看不见的暗中心(例如图29)。

[1706] 众所周知,在没有空间限制的血液中,红血细胞想要相互重叠(例如包括rouleaux)。通过使用间隔物高度和板将血液样本限制在两个平板之间,间隔为2微米,血液厚度约等于RBC的最厚点(其为2-2.5 μm),因此在板表面上的给定位置处,限制力只有一个RBC可以在两个板之间离开并且迫使RBC以其盘平行于板表面取向,导致RBC之间的良好分离,完整的圆形黑色边界线和近似圆形,当使用顶视光学显微镜观察时。

[1707] 随着间隔件高度以及因此样品厚度变大(例如在3 μm 和5 μm 间隔件高度中),样品厚度允许两个板之间在板的位置处存在多于一个的RBC,从而导致RBC重叠并消失,每个RBC的界定边界;并且允许RBC在两个板之间旋转并且平行于板表面位置远离盘旋转,导致RBC顶视图图像中的非圆形形状。

[1708] 为了计算RBC值(例如用于RBC浓度测量),我们的实验清楚地表明,将样品厚度设置为2 μm 厚(例如使用2 μm 间隔物高度)可以比3 μm 样品厚度更容易和更准确和5微米。

[1709] 通过使间隔物的高度(因此两个板和血液样品厚度之间的间隔)为约2微米,这约等于第r编血细胞的厚度(红细胞)(2-2.5微米),但远小于红细胞直径(6.2-8.2微米),血细胞计数比较大的样品厚度更容易和更准确。

[1710] 在最终样品厚度为(2-2.5 μm)或优选1.9至2.2 μm 时,使得在CROF的闭合相态下,每个RBC都与其他RBC完全分离,并且在不同的RBC之间没有重叠或rouleaux,允许通过拍摄样

本区域的图像准确计算红细胞。

[1711] 另一方面,我们观察到1微米间隔器高度的CROF装置,大多数红细胞被溶解,但不是白细胞或血小板。在我们的实验中,CROF顶部的光学成像(即CROF平板几乎平行于显微镜或相机成像仪的成像平面)确定(a)一个区域中的细胞数量和(b)确切的该区域的横向尺寸。CROF装置的横向尺寸可以通过预校准来确定。或者可以在成像期间使用隔离物的横向尺寸作为标记来确定CROF装置的区域横向尺寸。在我们的实验中,我们使用了两者的。

[1712] 在实施例2的实验中,对于给定的CROF板,两个CROF板之间的间距(因此血样厚度)与间隔件高度相同,为5%或更好。使用该样本厚度信息,连同由光学成像确定的给定面积的横向尺寸,确定与给定面积相关的样本体积,其等于样本横向面积乘以样本厚度。了解样本体积和体积内的细胞数量(通过成像确定),我们能够确定该样本体积中的细胞浓度。

[1713] 图29b显示(b)红细胞面积(从2D俯视图测量)与CROF板的总横向面积之比。2微米板间距(即样品厚度)处的最大值,因为低于2微米的一些红细胞被裂解,高于2微米的红细胞被重叠和旋转,所有这些都二维图像中产生较小的红细胞面积。

[1714] 以下实验的一个结论是,用于血细胞计数(RBC和WBC)的CROF装置优化的间隔尺寸为 $1.9\mu\text{m}$ - $2.2\mu\text{m}$,或者 $2\mu\text{m}$ 至 $2.2\mu\text{m}$,或者 $2\mu\text{m}$ 至 $2.1\mu\text{m}$ 。

[1715] 另一个我们的实验发现是两个平板之间间距为1微米的CROF装置溶解大部分红细胞,但不溶解白细胞:CROF装置

[1716] 我们发现,当CROF装置的间隙距离远小于RBC的厚度(例如 $1\mu\text{m}$ 板间距)时,红细胞被裂解。WBC更具弹性,其中大多数仍可观察到,并且可能不会被裂解。

[1717] E3.5计数红细胞(红细胞)。

[1718] 在一个实施方案中,在没有任何过滤器的情况下用明场模式计数RBC。使用4倍,10倍,20倍或40倍放大倍数拍摄照片。由于X板(t)的间隙间距和每个放大倍数的视场(A)都是已知的(间隔物和它们的周期被用作刻度标记(即标尺)),血样中的RBC浓度例如,对于一个视野中的N RBC计数,血液中的红细胞浓度(C)为 $C=N/t/A$,这种计算方法对于WBC,PLT浓度测量也是相同的。

[1719] E2.6.计数WBC和血小板

[1720] 每个白细胞(WBC),也称为白细胞或白细胞,具有约 $10\text{--}15\mu\text{m}$ 的典型盘直径。典型的血小板(PLT)具有 $1\text{--}2\mu\text{m}$ 的典型尺寸。由于WBC和PLT本身没有可见的色素,因此它们在普通显微镜下难以观察到而不是红细胞。为了使WBC和PTL在计数中更清晰可见,在一个实施方案中,它们用吖啶橙(AO)染料染色。

[1721] 吖啶橙是一种对核酸具有天然亲和力的稳定染料。当与DNA结合时,AO插入DNA作为单体,在蓝色激发下产生强烈的绿色荧光(470nm 激发,WBC为 525nm 绿色发射)。当与RNA和蛋白质结合时,它形成聚合物形式的静电复合物,其在蓝色激发(470nm 激发,WBC,PLT的 685nm 红色发射)下产生红色荧光。红细胞没有核酸,因此不能染色。WBC具有DNA核和RNA核,因此强烈染色。PLT具有少量的RNA,因此染色较弱。参见图33。

[1722] WBC在荧光模式下用 $470\pm 20\text{nm}$ 激发滤光片计数,发射滤光片是 500nm 长通滤光片,并且选择4x,10x,20x或40x放大倍数来拍摄照片。使用这些实施例,WBC和PLT被适当计数。

[1723] E2.7不同WBC的测量

[1724] 白细胞可分为五个主要亚类:嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞,淋巴

细胞和单核细胞;或者有时有三个主要类别:粒细胞,淋巴细胞和单核细胞。受试者血液中每一类的浓度可能具有临床意义,因为不同病毒,细菌或真菌感染或过敏可能改变某些WBC亚类浓度的浓度。

[1725] WBC是有核的,它们将它们与无核红细胞和血小板区分开来。此外,不同亚类的WBC具有不同的DNA与RNA和蛋白质的比例,因此可以通过使用合适的染料分别染色DNA和RNA来区分它们。

[1726] 例如,A0染料插入DNA作为单体,在蓝色激发下产生强烈的绿色荧光(470nm激发,WBC为525nm绿色发射)。当与RNA和蛋白质结合时,它形成聚合物形式的静电复合物,其在蓝色激发(470nm激发,WBC,PLT的685nm红色发射)下产生红色荧光。因此,不同的WBC在A0染料染色后将具有不同的R/G色比(绿色发射vs.红色发射)。

[1727] A0染料可以区分3种WBC:粒细胞(包括嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞),淋巴细胞,单核细胞。此外,我们可以直接使用摄像头(或iPhone)的内置RGB滤镜组来区分从拍摄的一张照片中的G通道和R通道的绿色和红色发射。因此我们不需要使用2个独立的滤波器组(如525nm和685nm带通滤波器)。

[1728] 如图34所示,总共有594个WBC计数并绘制。我们可以清楚地看到细胞聚集成三个不同的区域(阴影区域作为眼睛的指导),对应于三个主要的白细胞亚群。表中给出了每个亚群的百分比,与正常人血液值相匹配。

[1729] E2.8.血细胞比容测量

[1730] 血细胞比容(Ht或HCT)也被称为压缩细胞体积(PCV)或红细胞体积分数(EVF),是血液中红细胞的体积百分比(%)。在X-CBC设置中,我们使用2um间隙距离,它将通过底物和X-Plate紧密包装每个RBC。因此,在这种情况下HCT等于整个血容量上的RBC体积。

[1731] E2.10.干A0染料染色WBC速度

[1732] WBCs在30s,10min,30min,90min染色后干燥A0染料。在A0板表面干燥A0染料的CROF工艺中,A0染料可将WBC完全染色不超过1min,不会影响其他染色或长时间过度染色其他区域。而且,因为结合的A0比未结合的染料更强烈地发出荧光,所以不需要洗涤步骤。

[1733] E2.11.其他用于染色WBC的非荧光染料

[1734] 用于染色WBC的非荧光染料可以简化WBC计数设置。结晶紫或龙胆紫(又名甲基紫10B或六甲基副玫瑰苯胺氯化物)是一种三芳基甲烷染料,可用来染色白细胞核。与A0染料类似,我们将1mg/mL,30uL吡啶橙染料水溶液在1cm²的玻璃片上干燥1小时。然后,重复X-CBC实验过程。白细胞将被染成紫色。这种方法的一个缺点很难区分WBC亚群。

[1735] E2.12.CROF不需要抗凝血剂

[1736] 本发明的一个优点是不需要使用抗凝剂来帮助计数,如实验观察到的那样。在我们的实验中,用2um,3um和10um间距X-Plates和1cm×1cm血液面积在CROF装置中测试血样。在0分钟到80分钟的时间内,每隔10分钟采集从样品中心到边缘的5个典型点的图片。所有测试的样品均不含抗凝剂。据观察,对于给定的实验条件,在观察期间在封闭构型下血样没有粘连。这是因为(1)间距约2微米的CROF(样品厚度在封闭构型下)将血细胞彼此分开,(2)CROF板保护大部分血细胞不受氧气影响。

[1737] E2.13.使用CROF和iPhone进行血细胞计数的进一步实验。

[1738] 在其他实验中,我们已经测试并验证了一项技术和一种简洁易用的设备,可以让

一个人在20秒内完全由自己完成血细胞计数,使用的智能手机血滴量不到一滴($<1\mu\text{L}$)。所有人需要做的就是让被刺的手指上的少量(任意未知量)的血液接触卡片,合上卡片并用智能手机拍照。

[1739] 本发明的一个方面是这样的观察结果,即通过将血滴精确地重新塑形成只有一个红血细胞厚($\sim 2\mu\text{m}$)且被限制在两个板之间的均匀血液层中,其在血细胞中提供了前所未有的优势数。其优点包括(i)对于未添加任何抗凝血剂的新鲜未稀释全血,血细胞将彼此充分分离,不凝固,因此可通过成像容易地识别;和(ii)样品几乎没有蒸发(在测试区域),使血细胞浓度保持恒定很长一段时间。我们开发的第二项关键技术被称为“压缩调节开放式流动”(CROF),该技术使用CROF-Card(手动操作的可折叠的一次性邮票大小(1英寸宽,薄纸)塑料薄膜)进行血液重塑,测量重新形成的血液样本厚度(因此体积),并将预涂覆的干试剂混合(如果需要)到血液中(并且在一次中和5秒内完成所有功能)。这里报告的最后两种技术是用于智能手机成像的小型匹配盒大小的光学适配器,以及用于控制智能手机和分析图像的软件。通过与标准商业机器,商业手动Hamocytometer和显微镜成像(代替智能手机)相比较,通过智能手机的方法(“使用CROF和成像的血细胞计数”或BCI)被验证。对于每种方法,使用两种类型的血液(从受试者储存并新鲜)进行超过42次测试,并且红血细胞(RBC),白细胞(WBC),血小板,三种WBC差异,血细胞比容(HCT)和平均值测量了微粒体积(MCV)。验证表明智能手机BCI的准确度与商用手动血细胞计数器(可进一步改进)相同,甚至更好,并且具有与商业仪器相同的日常稳定性。显然,BCI技术在细胞成像,免疫分析,核酸分析,个人健康监测和其他生物化学检测方面具有广泛而重要的应用。

[1740] BCI设备包括三个硬件组件:一次性邮票大小的塑料CROF卡(1×1 英寸面积,薄纸),一部智能手机和一个匹配盒大小的光学适配器(1.5×1.5 英寸 $\times 0.7$ 英寸(长宽高));以及控制智能手机的软件,创建用户界面并分析血细胞。所有这些(智能手机除外)都是由作者设计和开发的。光学适配器(“适配器”),包括透镜,镜子和滤波器;并且被安装在智能手机上,使智能手机的闪光灯和相机分别成为测试的光源和成像器。光学适配器还有一个槽,用于将CROF-Card滑动到相机前部的适当位置(图30)。我们的电流测试中使用了iPhone-6。

[1741] 在使用BCI的血液测试中(图30),一个人首先刺伤她/他的手指,然后将少量(任意未知体积)的血液(例如直接从手指上少于一滴($<1\mu\text{L}$))沉积到通过触摸卡片,关闭卡片,将卡片插入光学适配器,最后使用智能手机拍摄该卡片的照片,从拍摄的照片中,软件进行分析并给出血细胞计数和其他参数。

[1742] 将血液存入CROF-Card到在智能手机上显示血细胞计数结果的总时间约为12至19秒,其中1-2秒用于存放CROF卡上的血液,3-5秒关闭卡片,将卡片插入适配器 $\sim 2-4$ 秒,拍摄图像约3-5秒,完成分析以显示血细胞计数结果3秒钟。

[1743] BCI的一项关键创新是我们开发的CROF-Card技术[参考]。CROF-Card包括两块薄塑料,每块约1英寸 $\times 1$ 英寸面积,厚度厚的纸,在另一边与另一块铰接(图30)(注意,铰链不是必需的,但方便)。CROF-Card卡在处理血液样本方面提供以下关键功能:(i)将血液样本从沉积的形状(例如直径2mm和高度0.4mm的水坑)迅速(例如1秒)扩散到统一在相当大的面积上(约500平方毫米)覆盖 $2\mu\text{m}$ 厚(\sim 原始厚度的 $1/200$)的薄膜,并由CROF的两个板限制;(ii)一旦达到2微米厚度就停止进一步减小样品厚度;(iii)即使手从压缩中释放(即自持,

这是由于血液和板之间的毛细作用力),保持均匀的2 μm 厚度;和(iv)防止样品在这样薄的厚度下蒸发(即,通过两块板的封闭,蒸发仅发生在血膜边缘,并且样品的测试区域在很长时间内具有零蒸发)。在实验中,使用光学干涉(即CROF-Card的两个内表面的法布里-珀罗腔效应),我们发现Essenlix的CROF-Card可以将均匀厚度保持在2微米,5%(即100纳米)的均匀性至少超过20毫米 \times 20毫米的面积。

[1744] CROF-Card为现有方法的血细胞计数提供了几个关键和前所未有的优势。最重要的是我们的观察结果,当血滴重新形成一个均匀的血液层时,血液层只有一个红细胞厚(约2微米)并被限制在两块板之间,(i)新鲜未稀释的血细胞无任何抗凝剂的全血,彼此分离良好,无凝血,血细胞运动少得多,并且易于通过成像识别;和(ii)血液样本在测试区域中的蒸发几乎为零,因此长时间保持该区域中的血细胞浓度恒定。

[1745] CROF-Card的第二个关键优势是血液样本量的“自动”测量(因为样本厚度已确定)。第三个优点是它使用最少量的血液样本(因为没有流体入口或出口,或任何样本转移通道和/或装置)。其他优点是(i)它可以在几秒钟内将CROF-Card表面上的干试剂与样品混合;(二)操作简单快捷,手动操作;(三)方便,成本低。

[1746] 虽然血细胞计数的方法通过对两块板之间的血液样本进行成像已有150多年的历史,并且是商业手工血细胞计数器的基础;根据我们的最佳知识,没有人使用仅厚度为一个红细胞的均匀厚度的血小板约束血液层进行血细胞计数,也没有人在统一的受限血液样本中检查血细胞的行为,在一个红细胞厚度处或附近。在以前的基于成像的方法中,由于血液样本的限制间隔大于红细胞厚度,所以必须稀释血液样本(通常使用抗凝血剂)以避免红细胞的重叠(因此计数错误)。我们的研究观察到全血样品中血细胞的有趣行为被限制在两块平板之间,并且具有均匀厚度的样品厚度仅为一个红细胞厚或稍大于或小于该厚度。取决于CROF-Card的限制间隙(即样品厚度),血细胞行为显着不同。

[1747] 让我们先看一下未经稀释的全血,新鲜地从刺痛的手指放入CROF卡,并且不添加任何抗凝剂(图31.a)。对于2 μm 的限制间隙,光学显微镜图像显示所有血细胞(RBC,WBC,PLT)在样品平面中彼此分离(即,没有重叠),并且每个RBC具有明确界定的边界周围每个细胞都有一个阴影中心,每个边界不会跨越到其他RBC的边界。此外,在成像期间,几乎没有可观察到的细胞运动。对这种行为的一种解释是,由于2微米限制间隔略小于红细胞的平均厚度,所以每个红细胞被限制板轻微夹住,不留下其他细胞重叠并且不能移动的空间。显然,间隙为2微米的细胞的行为为通过成像对细胞进行计数提供了最佳条件。

[1748] 然而,在2.2微米缺口处,一些红细胞开始与另一红细胞重叠,但没有可观察到的血小板重叠。可能的原因是血小板没有足够的空间与PLT重叠。对于2.6微米和3微米的缺口,更多的红细胞重叠,三重红细胞重叠变得可见,并且血小板与红细胞重叠。这些重叠会随着差距而增加。通过成像计算血细胞可能在2.2,2.6和3微米的差距,但准确性越来越差,随着差距越来越大。在5 μm 和10 μm 间隙处,大量细胞重叠(例如凝固),红细胞的红细胞可见,并且许多RBC具有狭窄的椭圆形状,这是由于红细胞相对于成像平面的旋转(大间隙使得旋转成为可能)。显然,在这些差距处准确计数血细胞是非常困难的,如果不是不可能的话。

[1749] 现在让我们看看储存的未稀释的全血与抗凝剂(由商业服务机构收集的对象(Bioreclamation Inc.))。我们的研究显示(图31b)它对CROF-Card限制间隙有不同的响应,与新鲜未稀释的血液,不含抗凝剂。对于2微米的缺口,储存血液中的血细胞表现与没有

抗凝剂的新鲜血液相似。但对于较大的间隙,储存的抗血凝剂与不含抗凝剂的新鲜血液具有不同的二维图像行为。使用抗凝剂和大于 $2\mu\text{m}$ 的限制间隙,尽管RBC不会凝结在一起,但它们可以(a)彼此重叠并且(b)在2D俯视图成像中旋转成狭窄的椭圆形状,所有这些大大降低细胞计数的准确性。

[1750] 在这里介绍智能手机BCI的血细胞计数中,CROF-Card的限制间隙(因此样品厚度)预设为2微米,精度优于5%。样品量由CROF-Card预设的样品厚度和智能手机拍摄的相关区域图像决定。通过从智能手机拍摄的图像中计算相关区域中的细胞,然后除以相关体积来确定血细胞浓度(RBC,WBC,PLT)。通过测量2D顶视图图像中每个RBC的面积和每个RBC相关的平均总体积,同时使用预先设定的 $2\mu\text{m}$ 样品厚度来确定RBC的平均红细胞体积(MCV)。血细胞比容由MCV和RBC浓度的乘积确定。

[1751] 为了计数三种WBC差异(粒细胞,淋巴细胞,单核细胞),我们通过CROF-Card表面之一上放置干燥的吖啶橙(AO)染料层来染色血样。由于AO染色核酸并且以不同的方式染色DNA和RNA,因此仅限于WBC和PLT被染色,并且根据每个细胞中DNA和RNA的量和比例被不同地染色,而RBC不被染色。染色的差异给出了不同的荧光波长(例如染色DNA的525nm绿色发射和染色RNA的685nm红色发射)和强度,允许识别三种WBC差异和PLT中的每一种。我们发现使用CROF-Card,由于样品厚度小,因此染料扩散时间短,WBC在不到5秒内就被预涂AO染料层染色。除明场显微镜外,WBC的染料染色及其荧光提供了另一种测量WBC的方法,并用于以下验证中。

[1752] 光学适配器可以为RBC提供 $0.84\text{mm} \times 0.63\text{mm}$ 的有效视野,为WBC提供 $2.8\text{mm} \times 2.1\text{mm}$ 的视场,PLT提供圆圈的 0.2mm 半径。目前,光学适配器需要在滑块中移动以分别摄取RBC和WBC,并增加约5秒的操作时间。在下一代中,将开发不需要滑块的组合式光学适配器。所有用于图像分析,用户界面和iPhone控制的软件都是通过编写我们自己的代码和使用某些开源代码来构建的。目前,这里介绍的所有血细胞分析都是由我们的软件在从图像到血液计数的2秒内完成的,PLT分析除外,我们的下一代将少于5秒。

[1753] 为了验证智能手机BCI,我们将其与以下四种不同的参考方法(RM)进行了比较。RM-1使用高分辨率显微镜(尼康Diaphot倒置显微镜)和数码单反相机(尼康D5100),而不是iPhone和光学适配器读取与当前iPhone BCI相同读取区域的CROF卡。RM-2与RM-1相同,只是CROF-Card上的读取区域扩展为 3×3 阵列,周期为 8mm (共9个读取区域),均匀分布在 $16\text{mm} \times 16\text{mm}$ 的CROF-卡区域。RM-3使用商业手动血细胞计数器(购自Sigma-Aldrich,Z359629)加上通过与RM 1和2相同的显微镜和相机成像,但是成像面积为 $3\text{mm} \times 3\text{mm}$ 。手动血细胞计数器有两个腔室,每个 $3\text{mm} \times 3\text{mm}$ 在测量区域和 $100\mu\text{m}$ 间隙)。它需要将血液稀释100倍,并裂解红细胞来测量PLT。RM-4使用商业PoC血细胞计数机(由最大的血液检测仪器公司之一制造);它使用流式细胞仪,体积约1立方英尺,重约20磅,成本约为20,000美元。PoC机器需要至少 $10\mu\text{L}$ 体积的血液(超过10滴),血液稀释液,三种液体试剂(裂解,稀释和清洁),5分钟的操作时间和每天30分钟的校准。比较使我们能够检查每个单独的功能以及CROF-Card的成像效果并且大小约为1立方英尺,重量约为20磅,成本约为20,000美元。PoC机器需要至少 $10\mu\text{L}$ 体积的血液(超过10滴),血液稀释液,三种液体试剂(裂解,稀释和清洁),5分钟的操作时间和每天30分钟的校准。比较使我们能够检查每个单独的功能以及CROF-Card的成像效果并且大小约为1立方英尺,重量约为20磅,成本约为20,000美元。PoC

机器需要至少10uL体积的血液(超过10滴),血液稀释液,三种液体试剂(裂解,稀释和清洁),5分钟的操作时间和每天30分钟的校准。比较使我们能够检查每个单独的功能以及CROF-Card的成像效果通过光学适配器和智能手机,以及通过显微镜对其在血细胞计数中的表现进行成像。

[1754] 在验证中,使用两种类型的血液:(i)从商业供应商(Boreclamation.inc)购买的储存血液,其与抗凝剂(EDTA)混合;和(ii)新鲜血液,这是来自两名志愿者的挑选血液(在每次测试中,新鲜手指刺血立即直接从手指放置到(a)用于CROF卡片测试的CROF卡和(b)用于商业PoC和手动血细胞计数器的EDTA包被管。每种方法共测试42个样品,历时数天。

[1755] 共有24个样本在4天内进行检测(3个,3个,3个和15个样本),前三天的血样来自同一批次,但最后一天的检测结果不同。在新鲜血液样本中,共有18个样本在3天内(6,6和6个样本)进行测试。

[1756] 测试结果显示了一些重要的事实。(1)对于给定的血液样本,智能手机BCI(p-BCI)和全部四种参考方法的血细胞计数的日平均值在其观点内彼此一致每日CV(变异系数,比率的标准偏差与平均值)。

[1757] (2) p-BCI与RM-1的比较显示,对于给定的CROF-Card样品,使用我们开发的iPhone和光学适配器的血细胞计数具有与使用高分辨率显微镜和数码单反相机(例如,红细胞的CV均为~12%) (图32)。

[1758] (3) RM-1和RM-2的比较表明,CROF-Card的多个领域的成像比单个领域的当前成像提供更好的准确性。红细胞的CV从~12%提高到~6%。多场观看能力将在我们的下一代智能手机BCI中实现,以获得更高的准确性。

[1759] (4) RM-2和RM-3的比较表明(i) CROF-Card不仅使用简单,而且细胞计数准确度与商业手工血细胞计数器相同或更好(ii)考虑到(i)中的事实和RM1与RM2的比较,得出结论:多场智能手机BCI应该具有与商业手册相同或甚至更好的准确性血细胞计数器。我们也想指出,虽然现在的CROF-Card和手动血细胞计数器的变化是一样的,但是这种变化来自不同的原因。对于血细胞计数器,变化来自稀释,溶解和手动计数,但对于血细胞计数器来说CROF-Card,电流变化(RBC约7%)主要是由于样品厚度变化(~5%),可以进一步改善。

[1760] (5) 智能手机BCI可以通过染色鉴定三种WBC差异中的每一种,并测量作为绿色荧光强度与红色之比的函数的每种WBC细胞强度的比率。标准偏差与其他血细胞测量的标准偏差相似。这是因为每种白细胞的亚型都有特定的荧光颜色比例(取决于它们的相对数量和比例(RNA(红色荧光)和DNA(绿色荧光));粒细胞含有大量的RNA和颗粒(因此高红色荧光和低绿色荧光);淋巴细胞具有低量的RNA和大量的DNA(因此低红色但高绿色荧光);单核细胞在粒细胞和淋巴细胞之间具有红色至绿色比例。

[1761] (6) 在统计学意义上,所有五种测试方法的日间(即日常)变化基本相同,表明智能BCI在进行测试的多天期间非常稳定。

[1762] 最后,(7)利用我们目前的光学成像硬件和软件,通过成像进行血细胞计数还不如商业流式细胞仪PoC机器准确(例如~7%比1%的RBC)。然而,人们必须认识到两个重要的事实:(i)就目前的准确性而言,这里显示的p-BCI在监测偏远地区或发展中国家的健康和临床价值方面已经具有重要价值,(ii)可以进一步改进p-BCI以具有更好的准确性。毫无疑问,BCI技术在细胞成像,免疫分析,核酸分析,个人健康监测和其他生物化学检测方面具有

广泛而重要的应用。

[1763] 在以下文献中已经描述了本发明的某些方面,并且出于所有目的将所有这些文献通过引用并入本文:

[1764] 美国申请序列号2013年3月15日提交的美国临时专利申请序列号13/838,600 (NSNR-003)。2012年4月10日提交的美国专利申请61/622,226,并且是美国专利申请序列号 No.60/622,226的部分继续申请。2013年6月13日提交的美国临时专利申请13/699,270的优先权,该申请是2011年5月20日提交的US2011/037455的第371号申请,2010年5月21日提交的61/347,178;

[1765] 美国申请序列号2013年6月13日提交的美国专利申请13/699,270 (NSNR-001),该申请是国际申请序列号第371号申请。2011年5月20日提交的US2011/037455,该申请要求2010年5月21日提交的美国临时专利申请序列号61/347,178的权益;和

[1766] 美国临时申请序列号2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/801,424 (NSNR-004PRV) 61/801,096,2013年3月15日提交 (NSNR-005PRV),临时申请序列号2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/800,915 (NSNR-006PRV),2013年3月15日提交的临时申请序列号61/793,092 (NSNR-008PRV) 2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/801,933 (NSNR-009PRV) 2013年3月15日提交的美国临时专利申请61/794,317 (NSNR-010PRV),2013年3月15日提交的临时申请序列号61/802,020 (NSNR-011PRV) 和3/15提交的临时申请序列号61/802,223/2013 (NSNR-012PRV)。

[1767] 在以下列举的段落中描述了根据本公开的发明主题的其他示例。

[1768] 如本文所使用的,术语“适应”和“配置”是指元件,组件或其他主题被设计和/或旨在执行给定功能。因此,术语“适应”和“配置”的使用不应被解释为意指给定元件,组件或其它主题简单地“能够”执行给定功能,而是元件,组件和/或其他主题是为了执行功能的目的而被具体地选择,创建,实现,利用,编程和/或设计的。同样在本公开的范围内的,被描述为适于执行特定功能的元件,组件和/或其他所记载的主题可以附加地或可选地被描述为被配置为执行该功能,反之亦然。同样的,被陈述为被配置为执行特定功能的主题可以附加地或可选地被描述为可操作以执行该功能。

[1769] 如这里所使用的,当参照一个或多个组件,特征,细节,结构或特征来使用时,短语“例如”,短语“作为示例”和/或简单地是术语“示例”和“示例性”根据本公开的实施例和/或方法旨在表达所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法是组件,特征,细节,结构等的说明性,非排他性示例。实施例和/或根据本公开的方法。因此,所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法不旨在是限制性的,要求的或排他性的/穷举性的;以及其他组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法,包括结构上和/或功能上类似和/或等同的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法也在本公开的范围内的。

[1770] 如本文所使用的,关于多于一个实体的列表的短语“中的至少一个”和“一个或多个”意指实体列表中的任何一个或多个实体,并且不限于在实体清单内具体列出的每个实体中的至少一个。例如,“A和B中的至少一个”(或者等同地,“A或B中的至少一个”,或者等同地,“A和/或B中的至少一个”)可以单独指A,B单独或A和B的组合。

[1771] 如本文所使用的,放置在第一实体和第二实体之间的术语“和/或”表示(1)第一实体,(2)第二实体,以及(3)第一实体和第二实体中的一个。用“和/或”列出的多个实体应该

以相同的方式解释,即如此连接的实体的“一个或多个”。其他实体可以可选地存在,除了由“和/或”子句具体标识的实体之外,不管与具体标识的那些实体相关还是不相关。因此,作为非限制性示例,当与诸如“包括”的开放式语言结合使用时,对“A和/或B”的引用在一些实施例中可以仅指代A(可选地包括除B);在某些实施例中仅限于B(可选地包括除A之外的实体);在某些实施例中,到A和B(可选地包括其他实体)。这些实体可以指元素,动作,结构,步骤,操作,值等。

[1772] 如果任何专利,专利申请或其他参考文献以引用的方式并入本文中并且(1)以与本文中不一致的方式定义术语和/或(2)与其它方式不一致,本公开内容或任何其他并入的参考文献中,本公开的非并入部分应当控制,并且其中的术语或并入的公开内容应当仅仅关于术语被定义和/或并入的公开内容原本就在场。

[1773] 相信以下权利要求特别指出了针对所公开的发明之一并且新颖且不明显的某些组合和子组合。以特征,功能,元件和/或特性的其他组合和子组合体现的发明可以通过修改本权利要求或在本申请或相关申请中提出新的权利要求来主张。无论这些修改或新的权利要求是针对不同的发明还是针对相同的发明,与原始权利要求的范围不同,更宽,更窄或相等,也被认为包括在本公开。

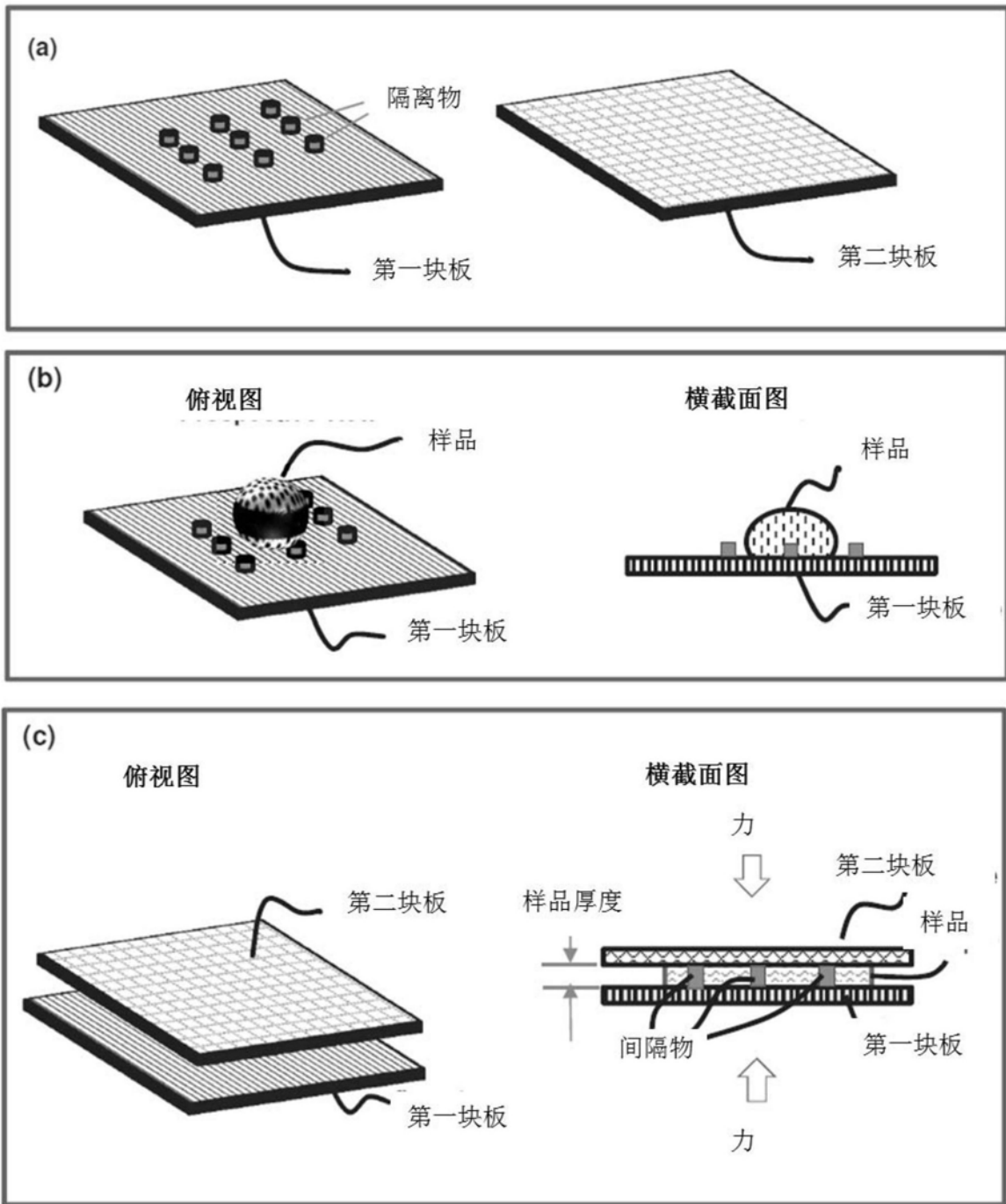


图1

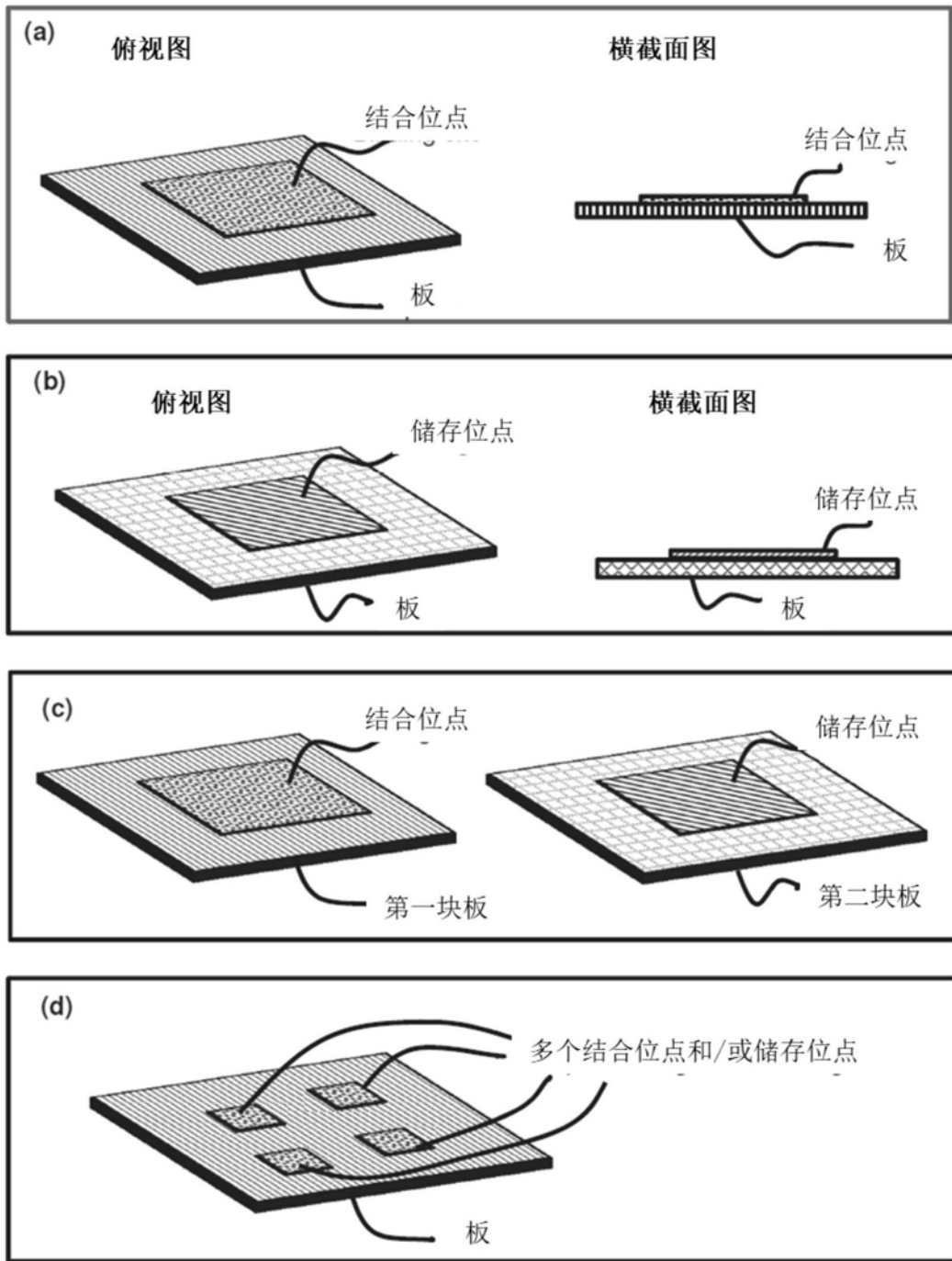


图2

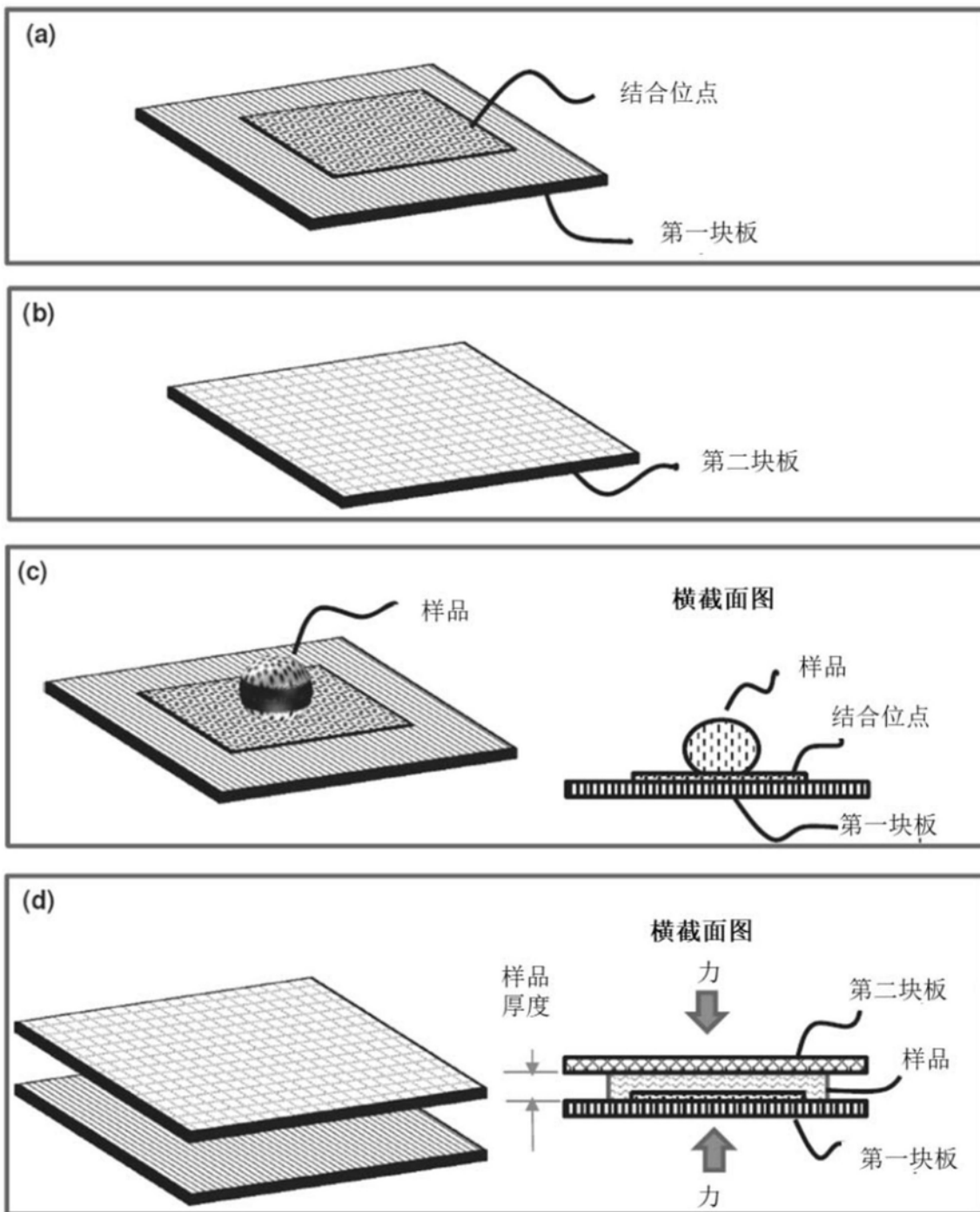


图3

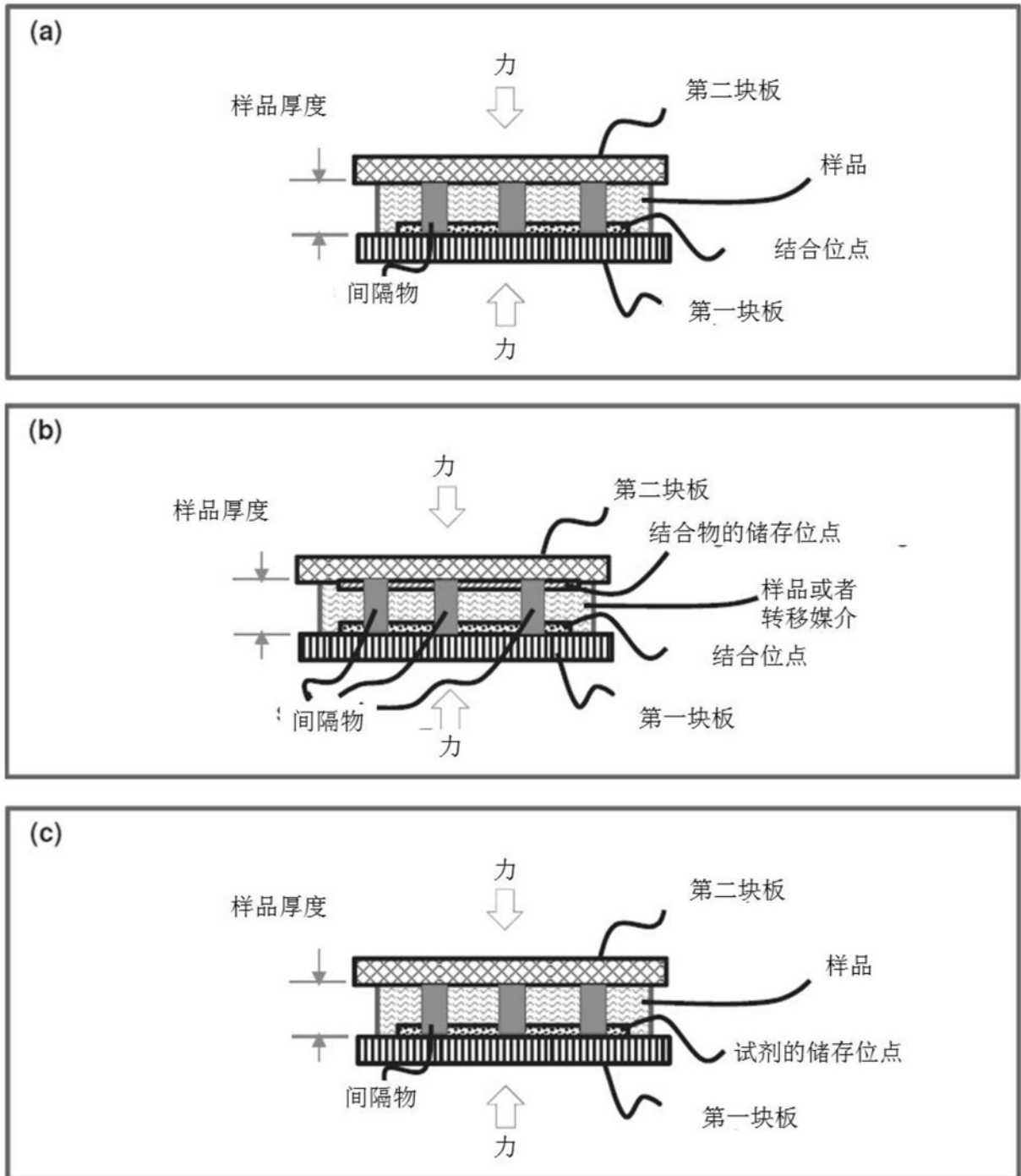


图4

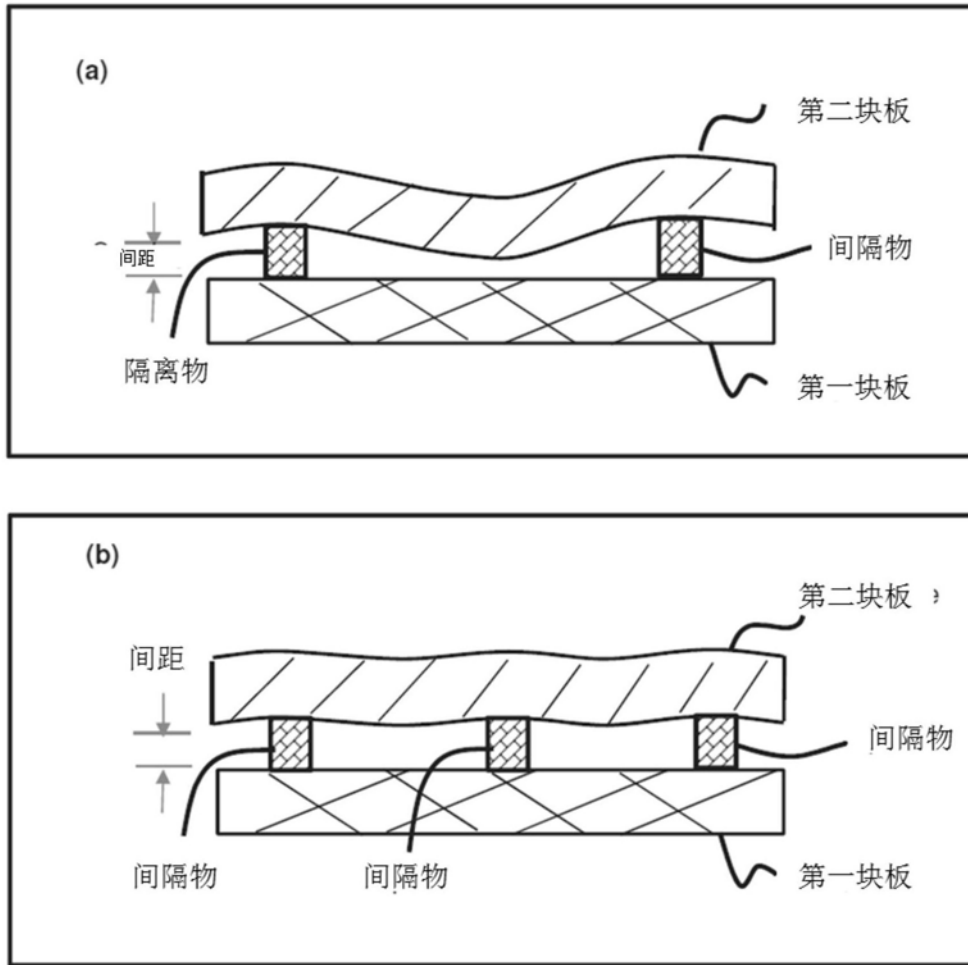


图5

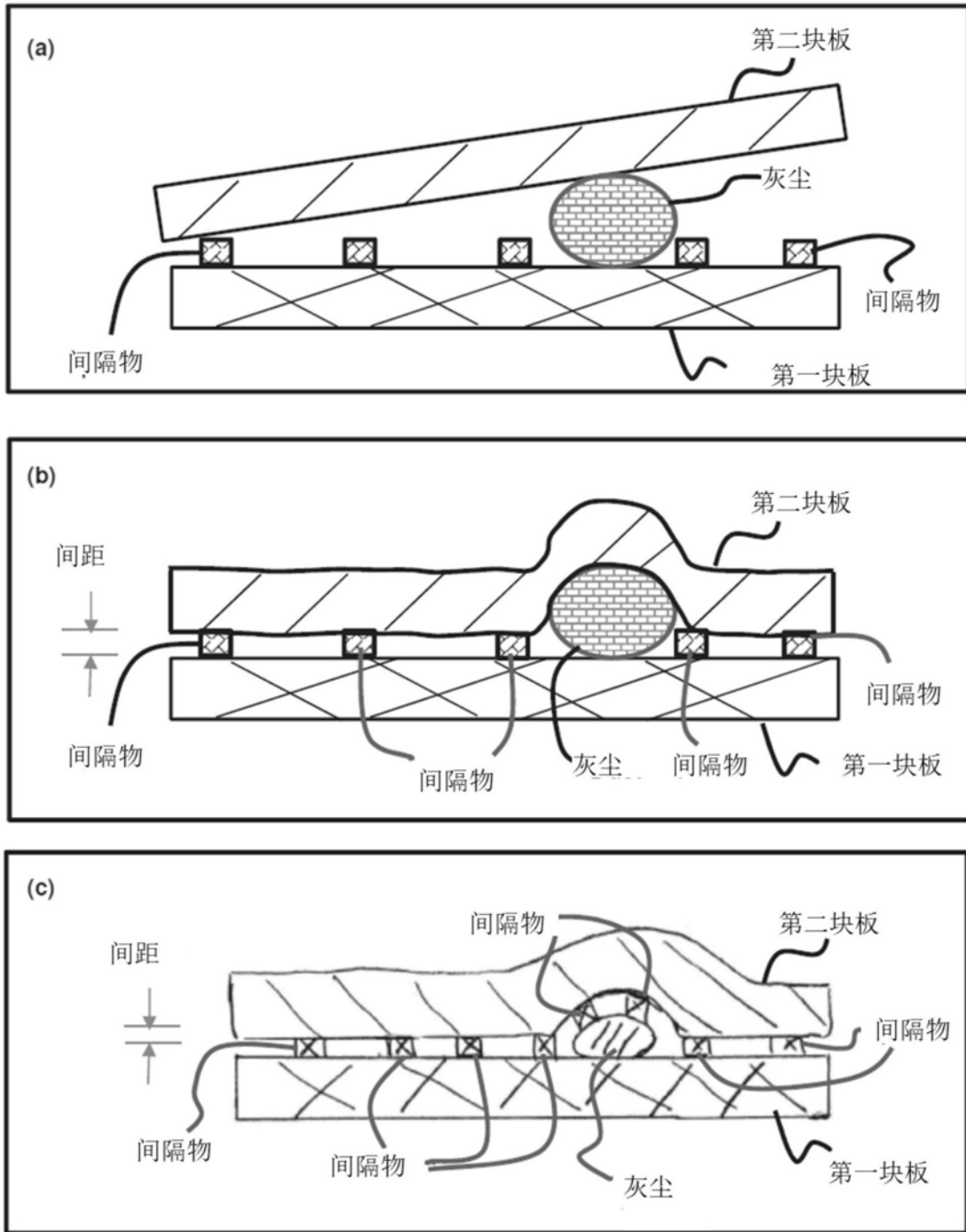


图6

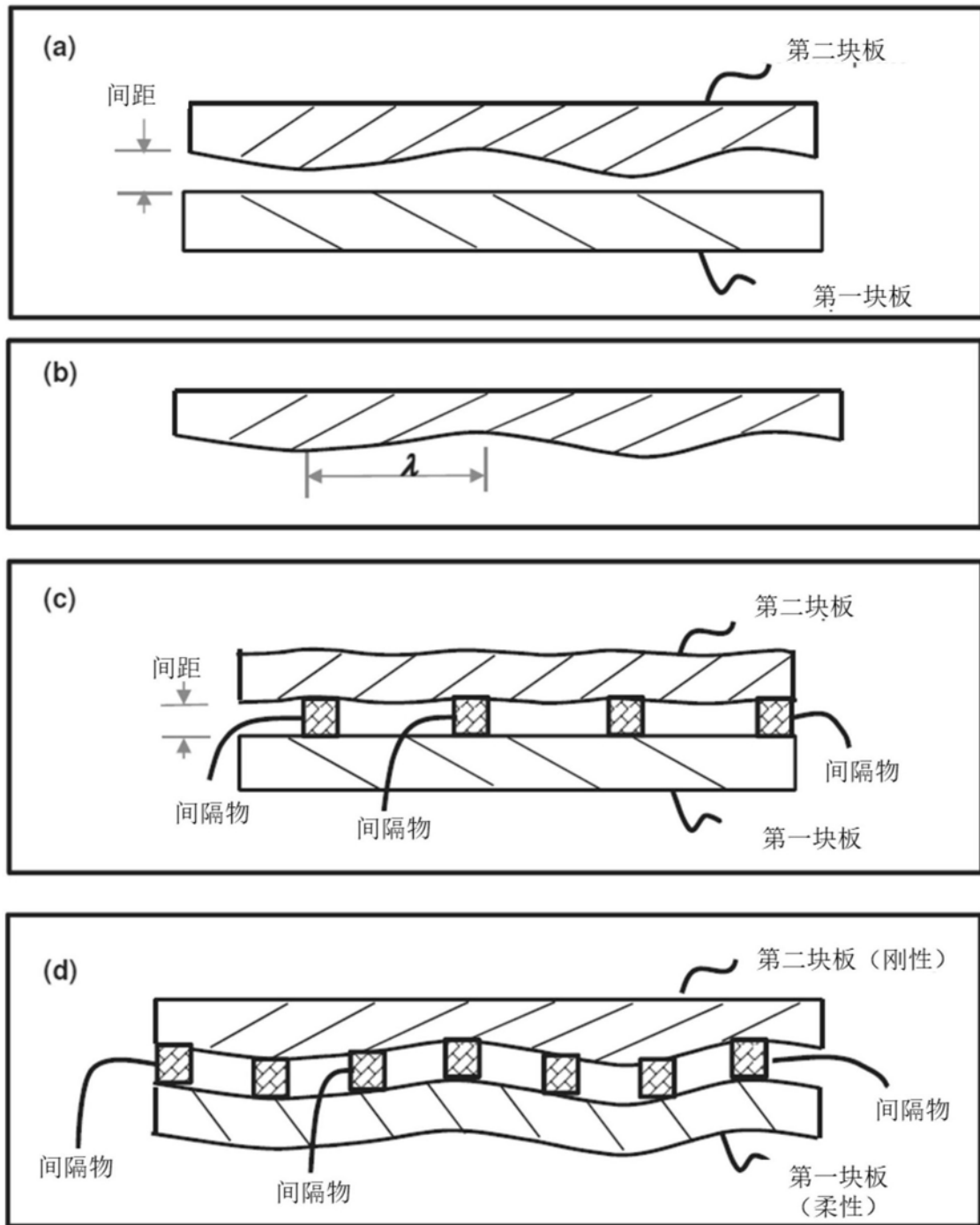


图7

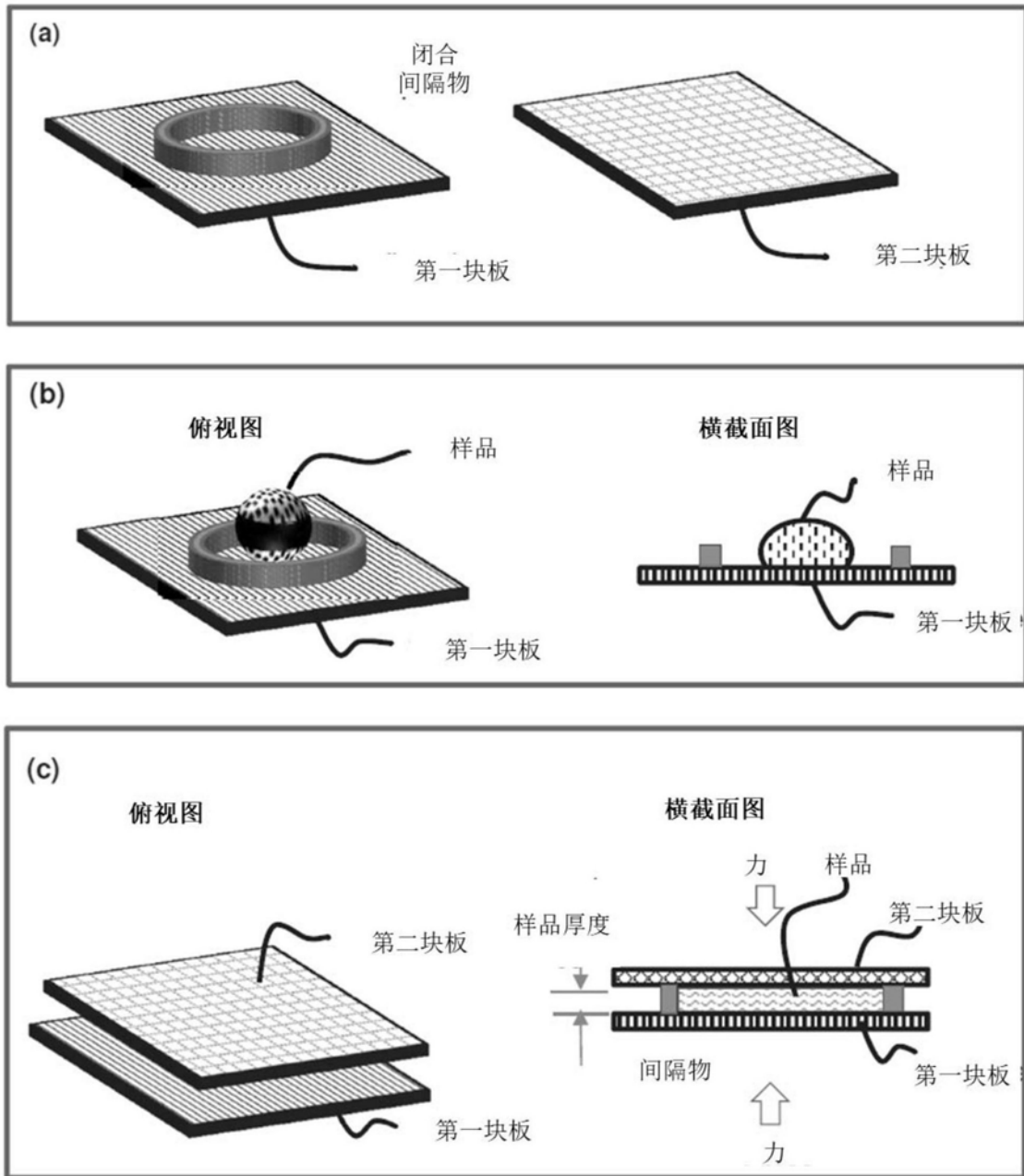


图8

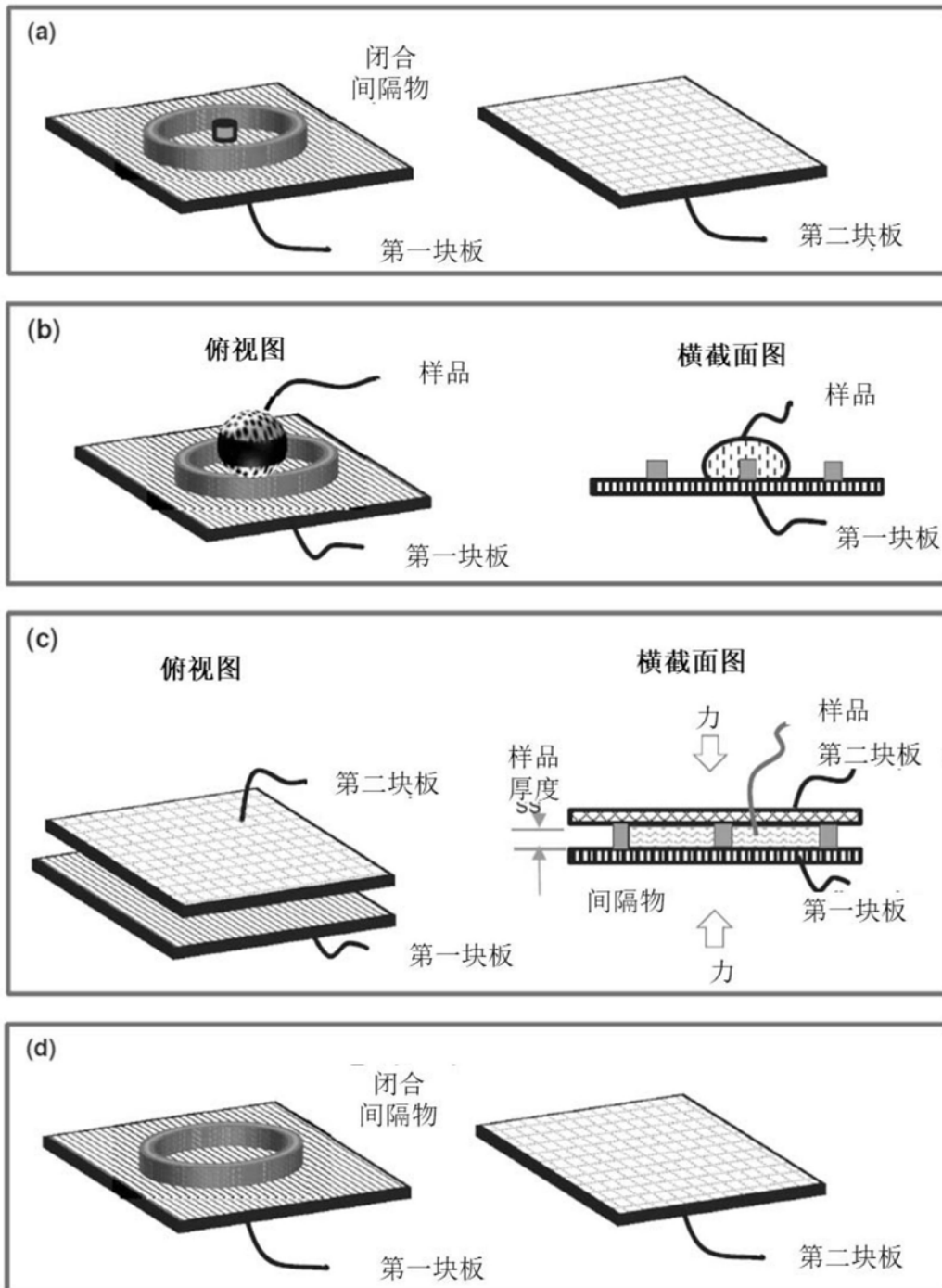


图9

案例1. 多重测定. 一个结合位点对一个或者多个储存位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

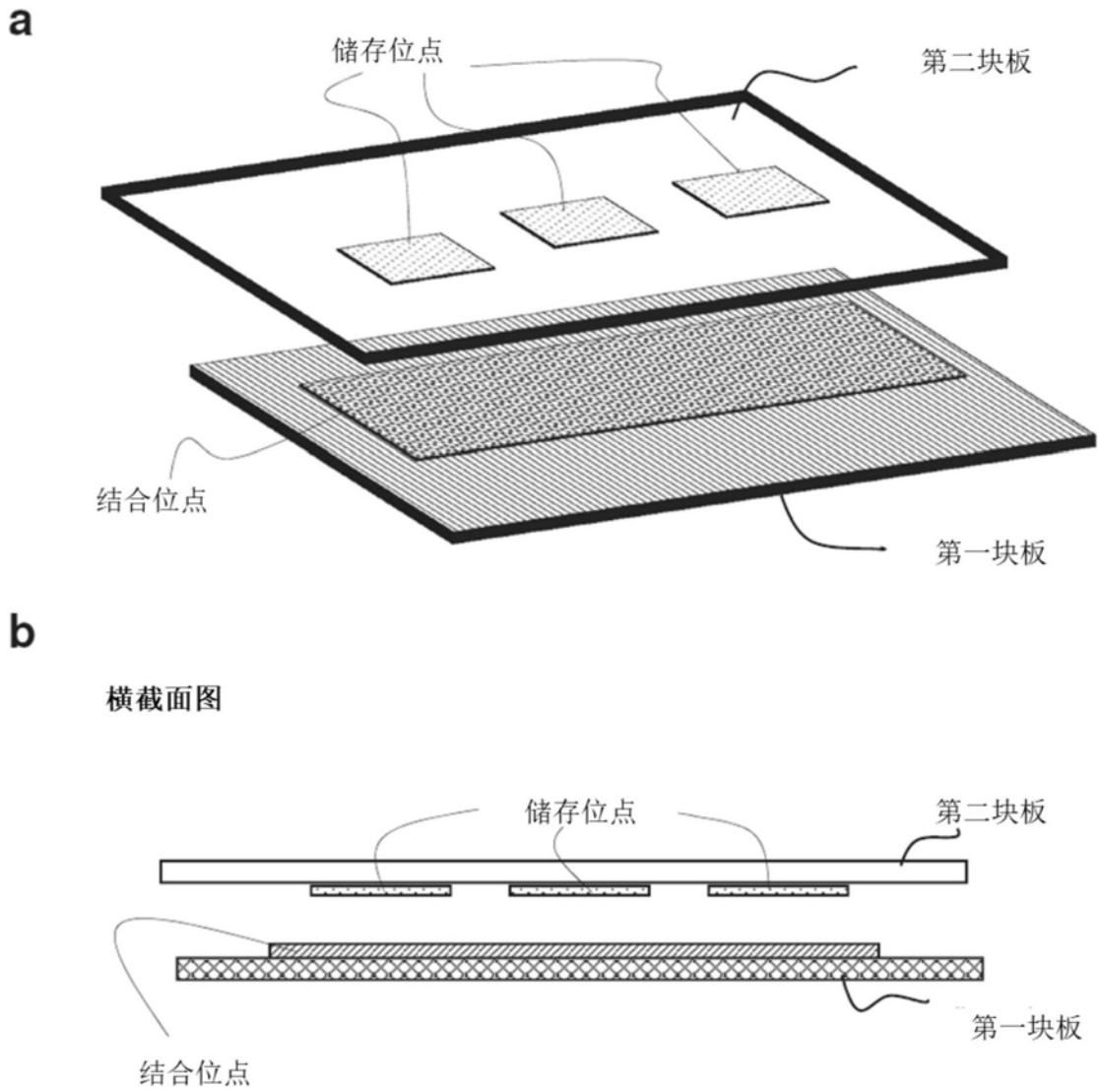


图10

案例2. 多重测定. 一个储存位点对一个或者多个结合位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

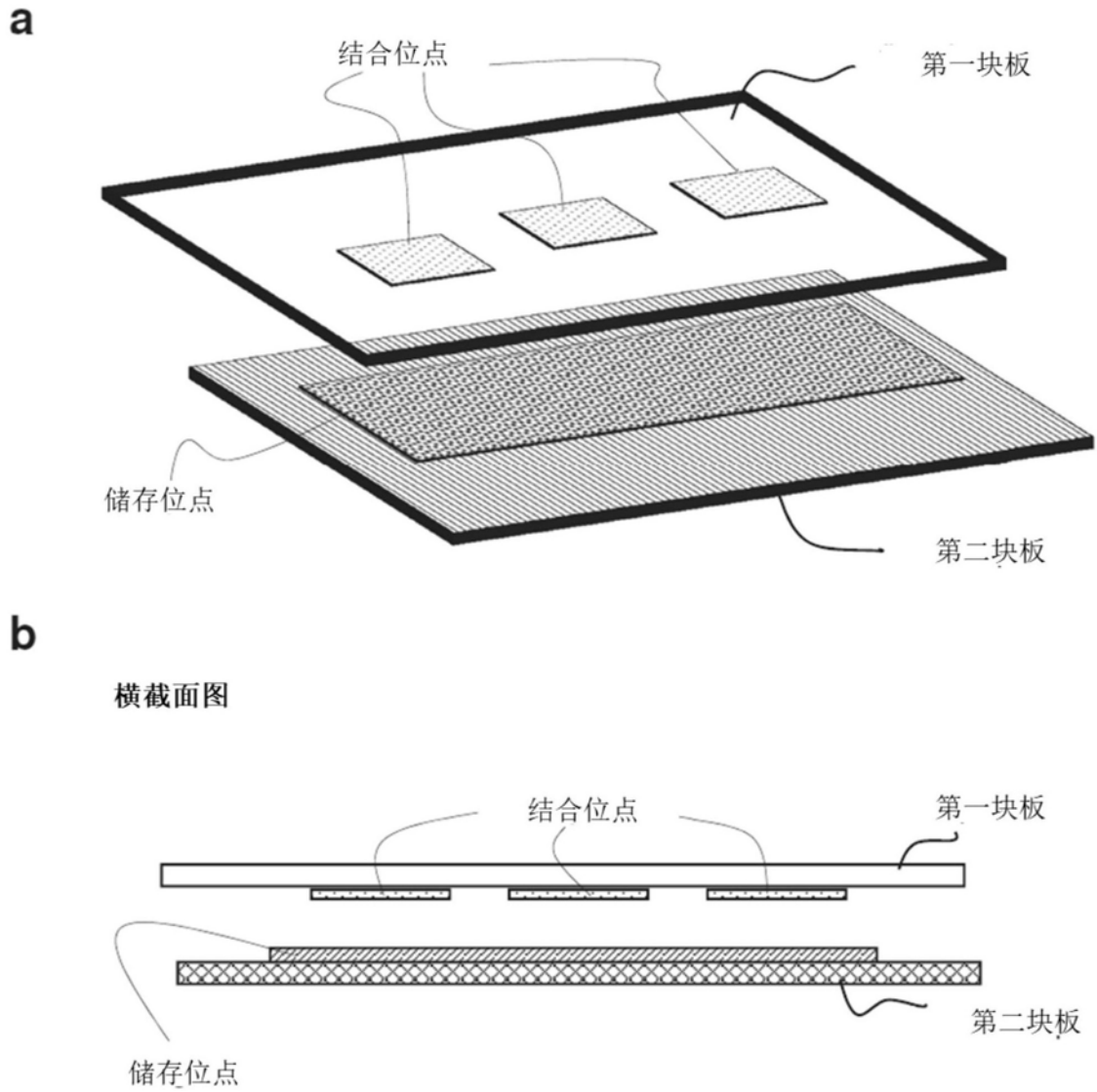


图11

案例3. 多重测定. 多个结合位点对应多个储存位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

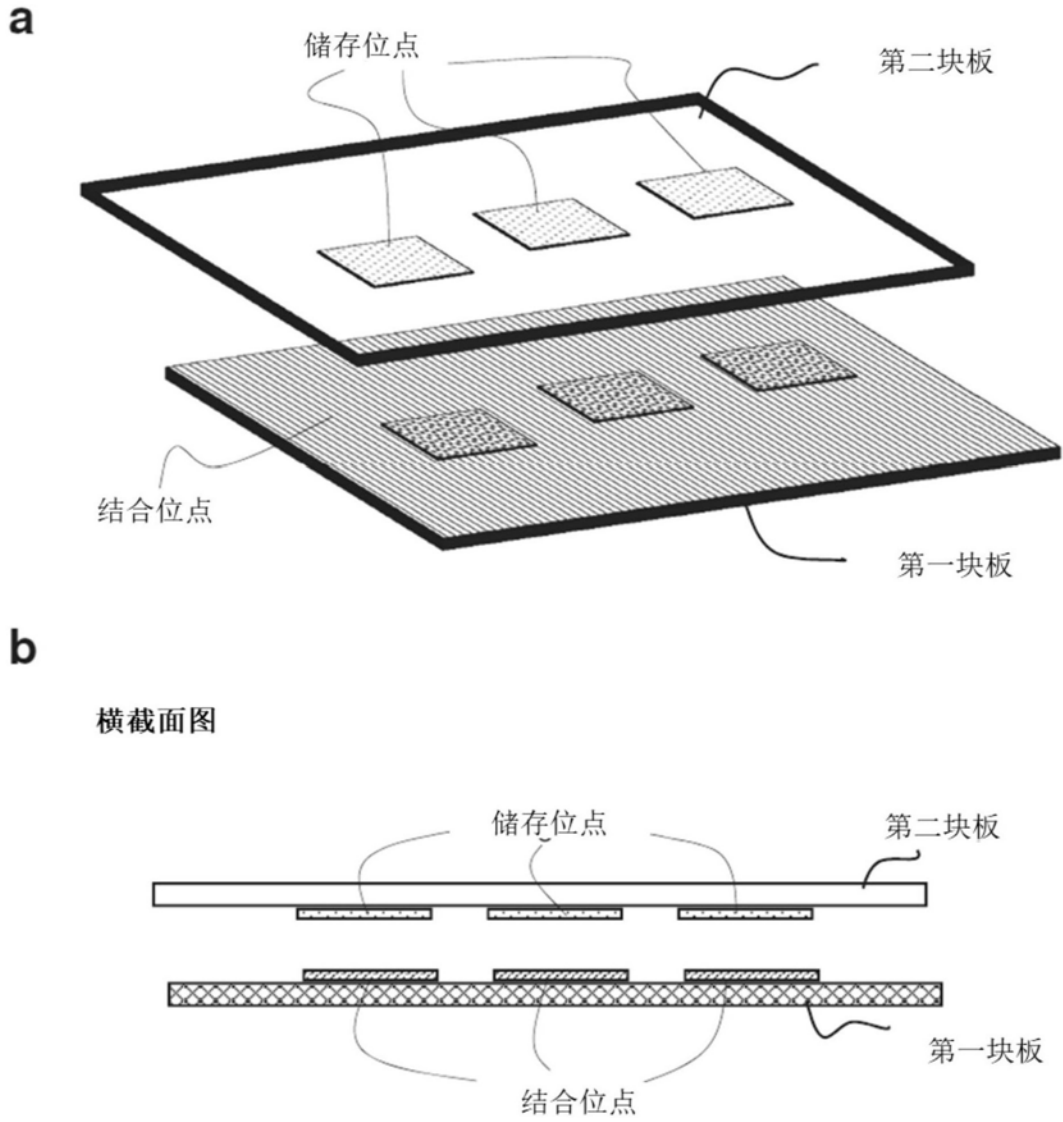


图12

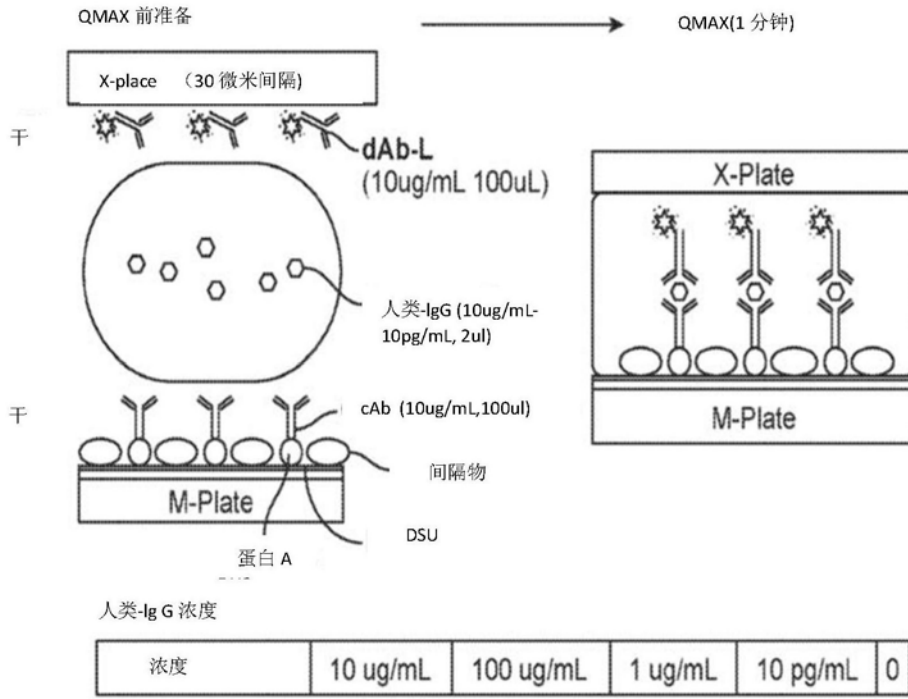


图13A

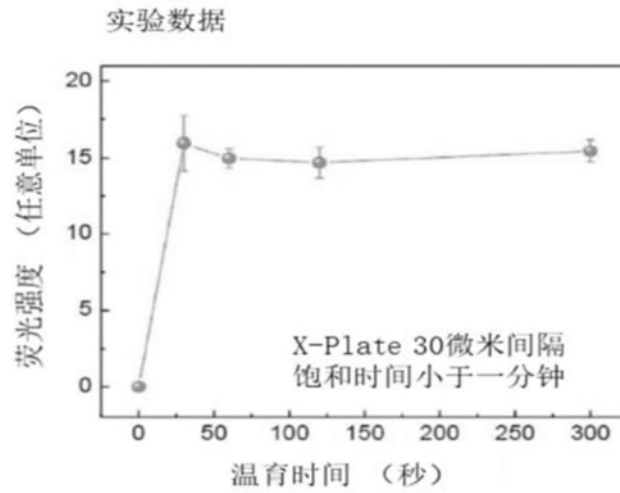
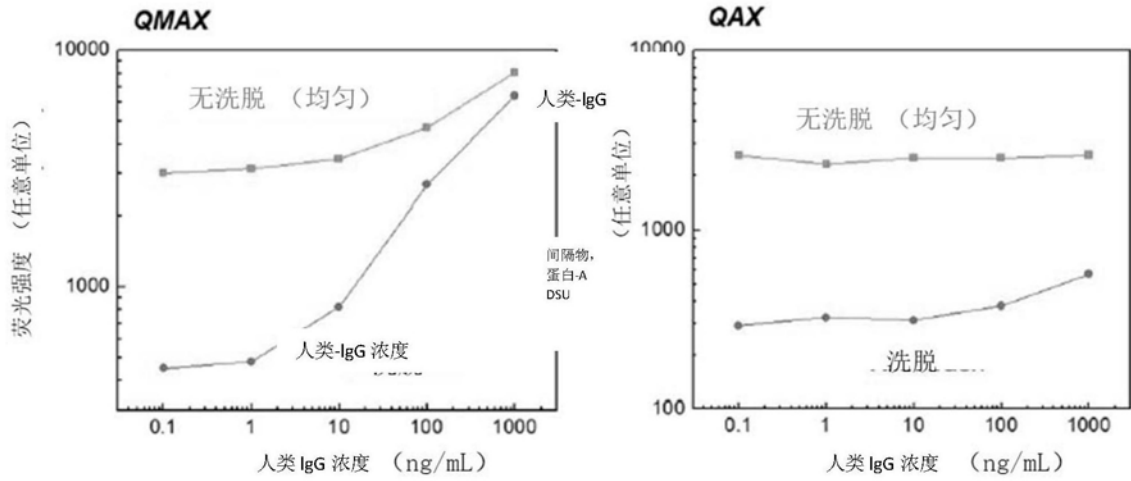


图13B



No.	设备	洗脱或者无洗脱	探测极限
1	QMAX	洗脱	2 pM (300 pg/mL)
2	QMAX	无洗脱	10 pM (1.5 ng/mL)
3	QAX	洗脱	200 pM (30 ng/mL)
4	QAX	无洗脱	---

图14

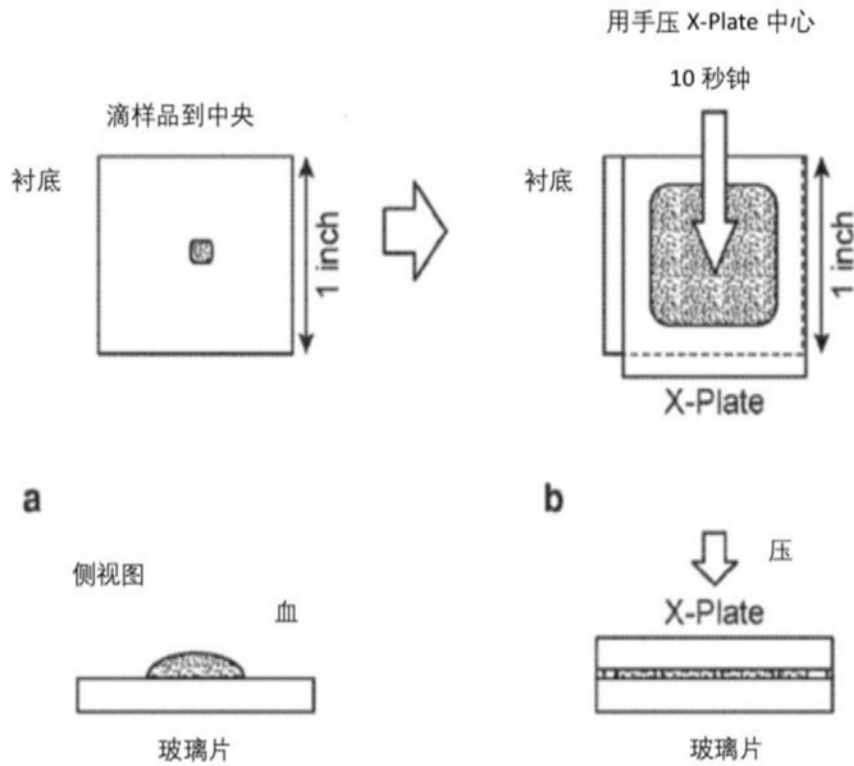


图15

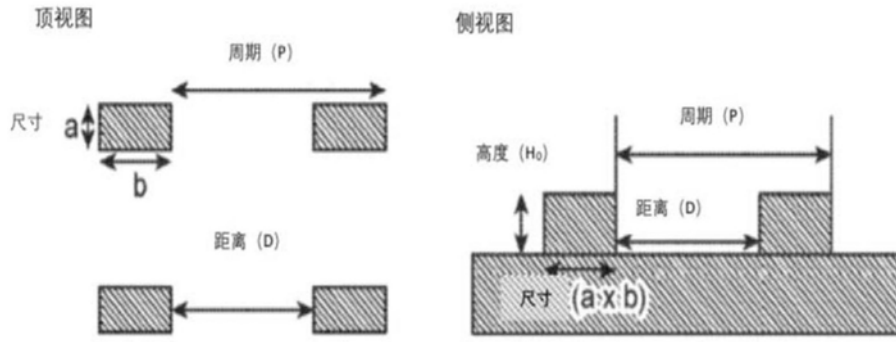


图16

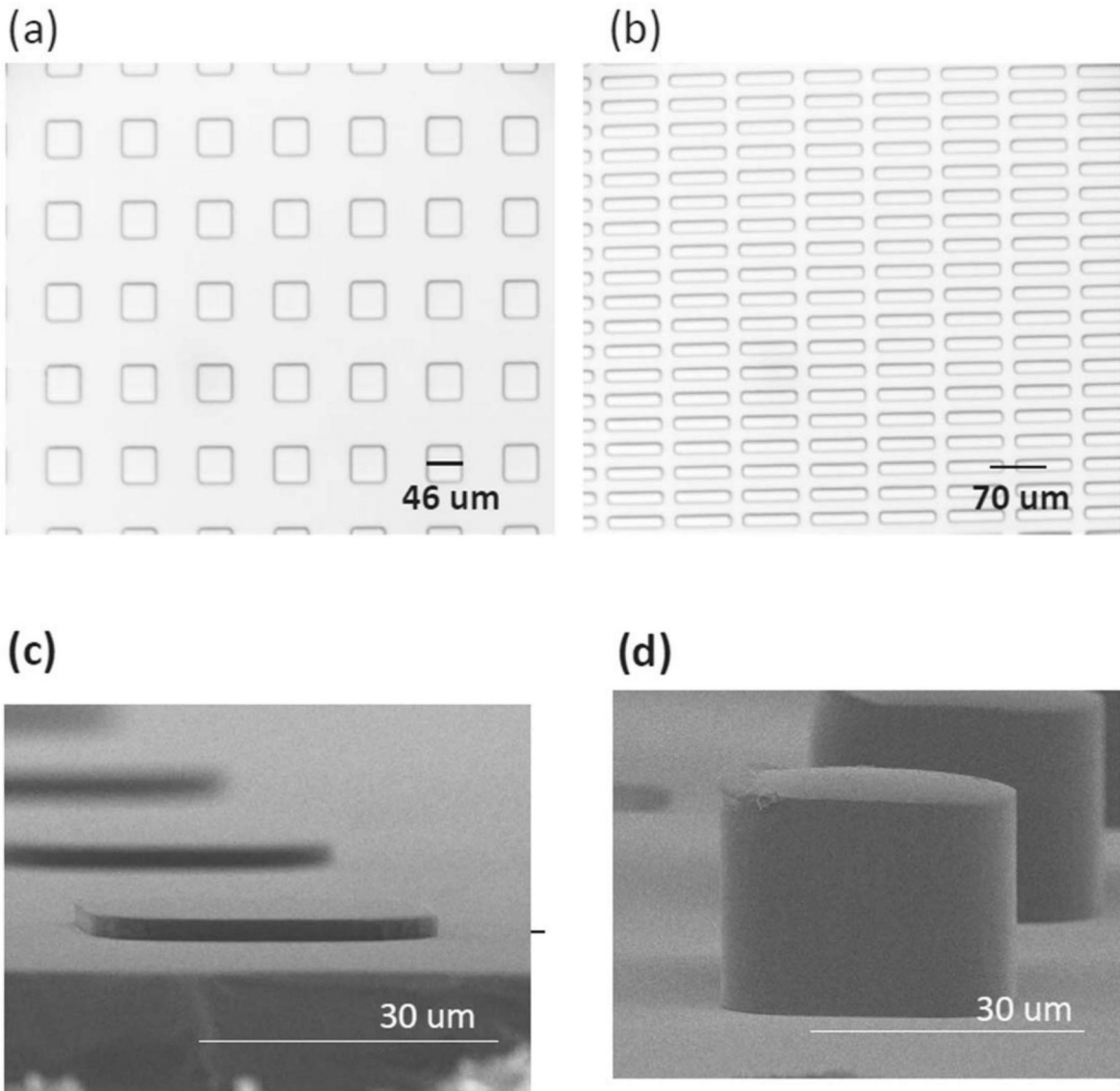


图17

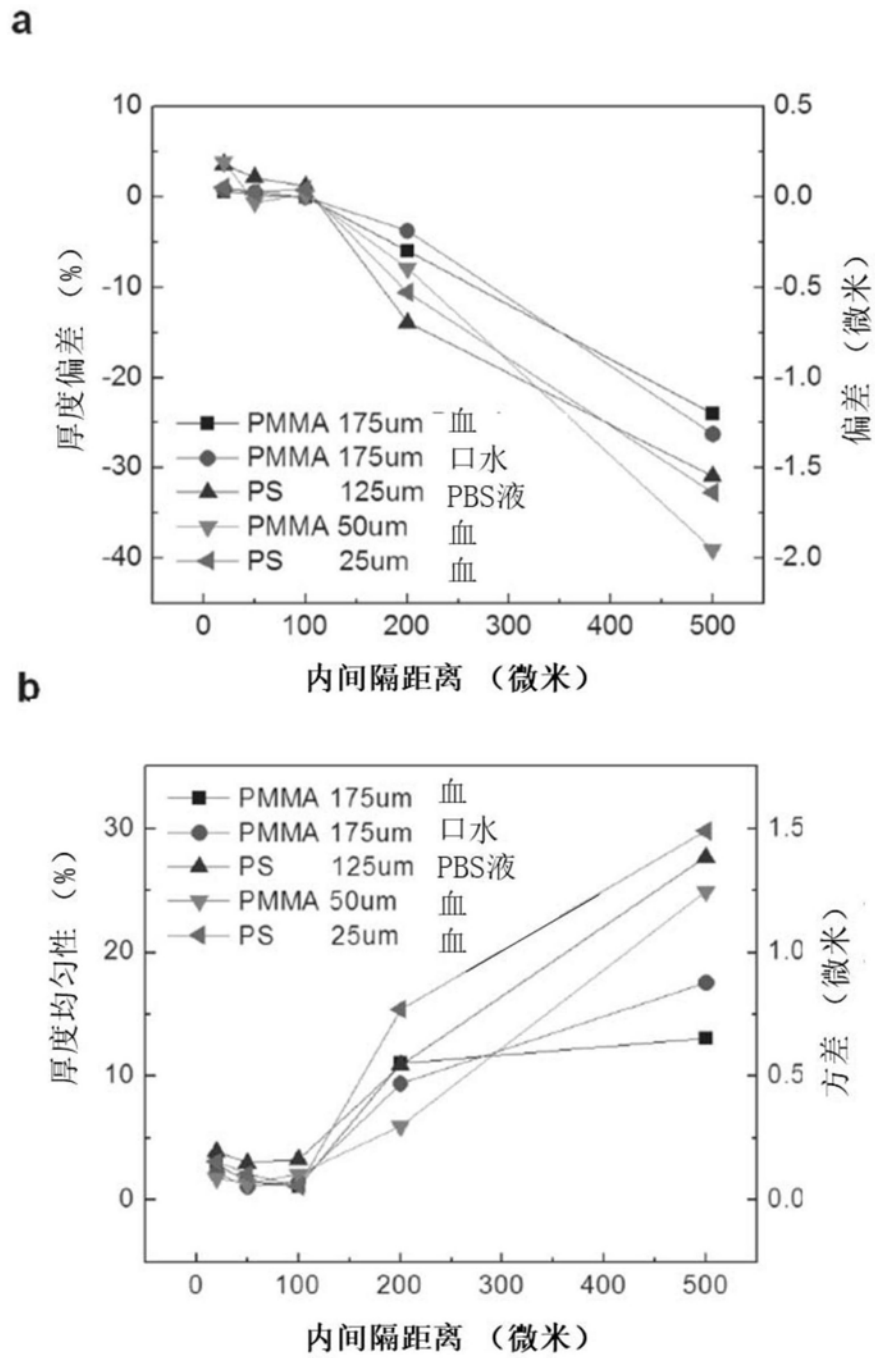


图18

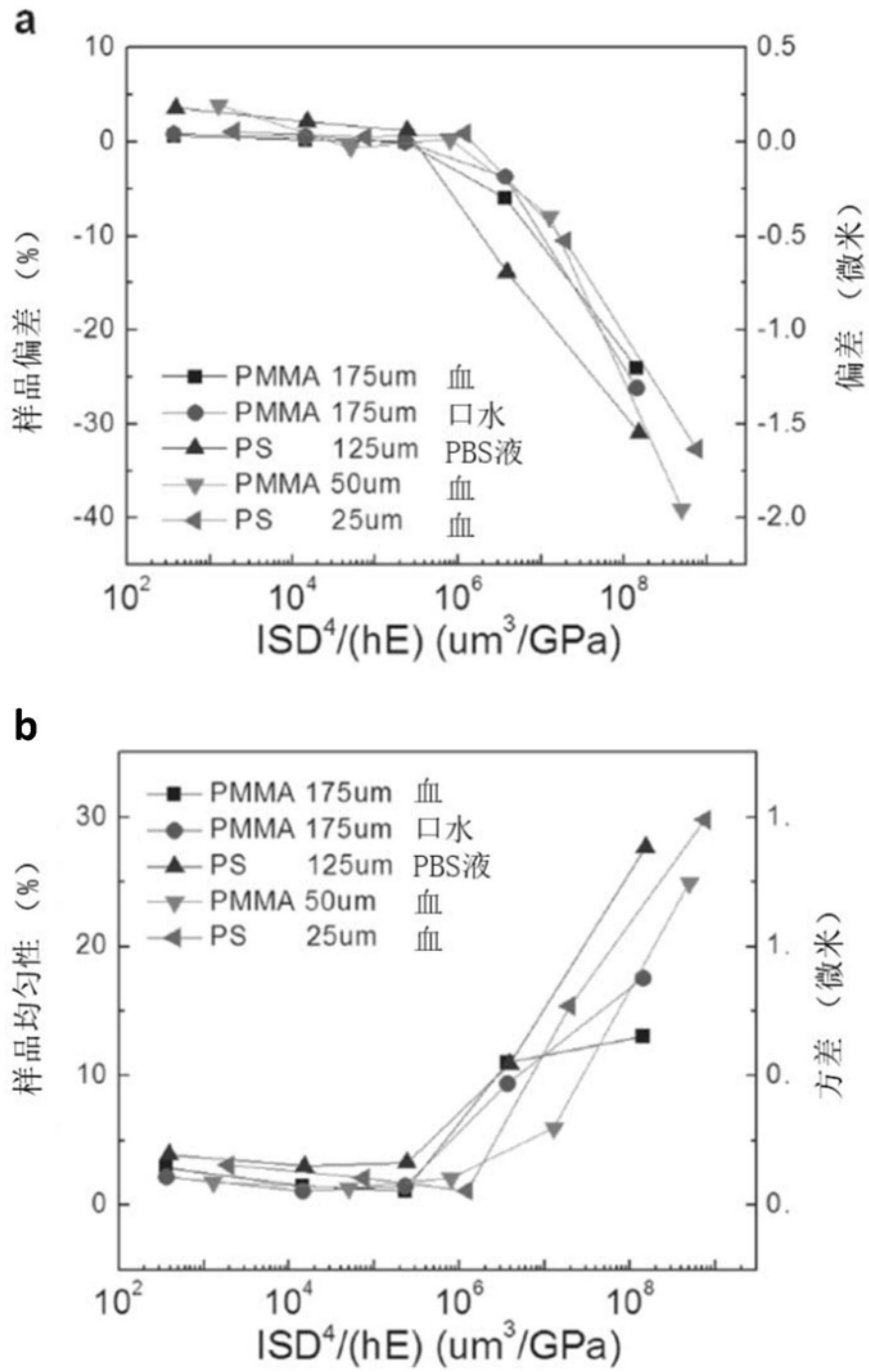


图19

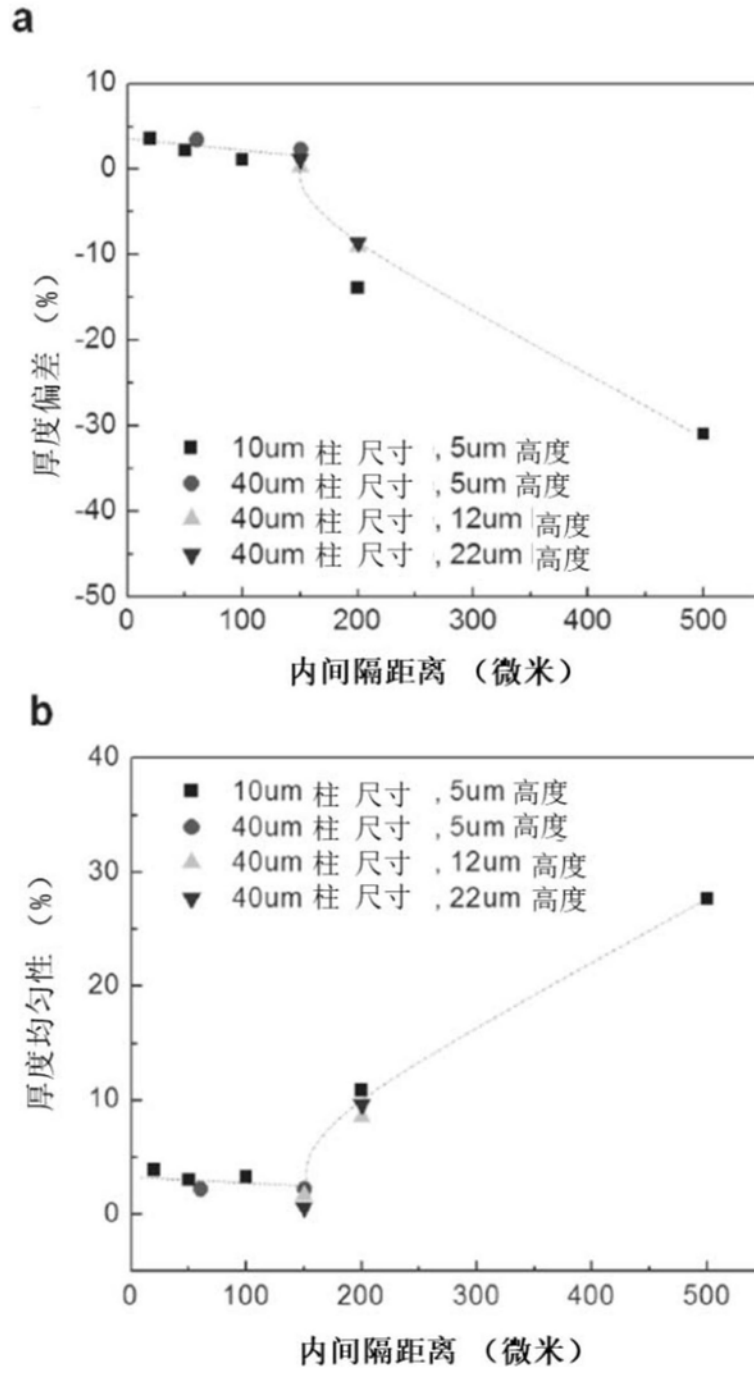


图20

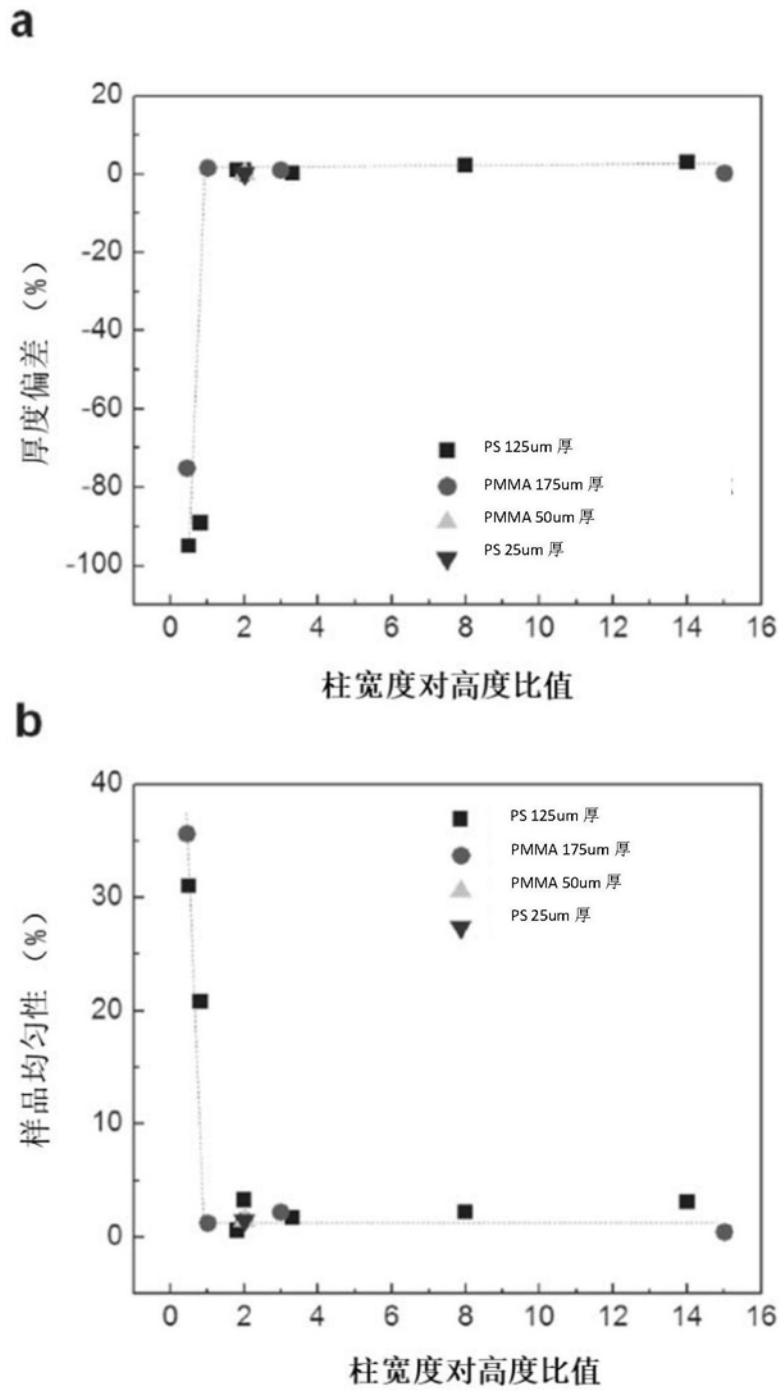


图21

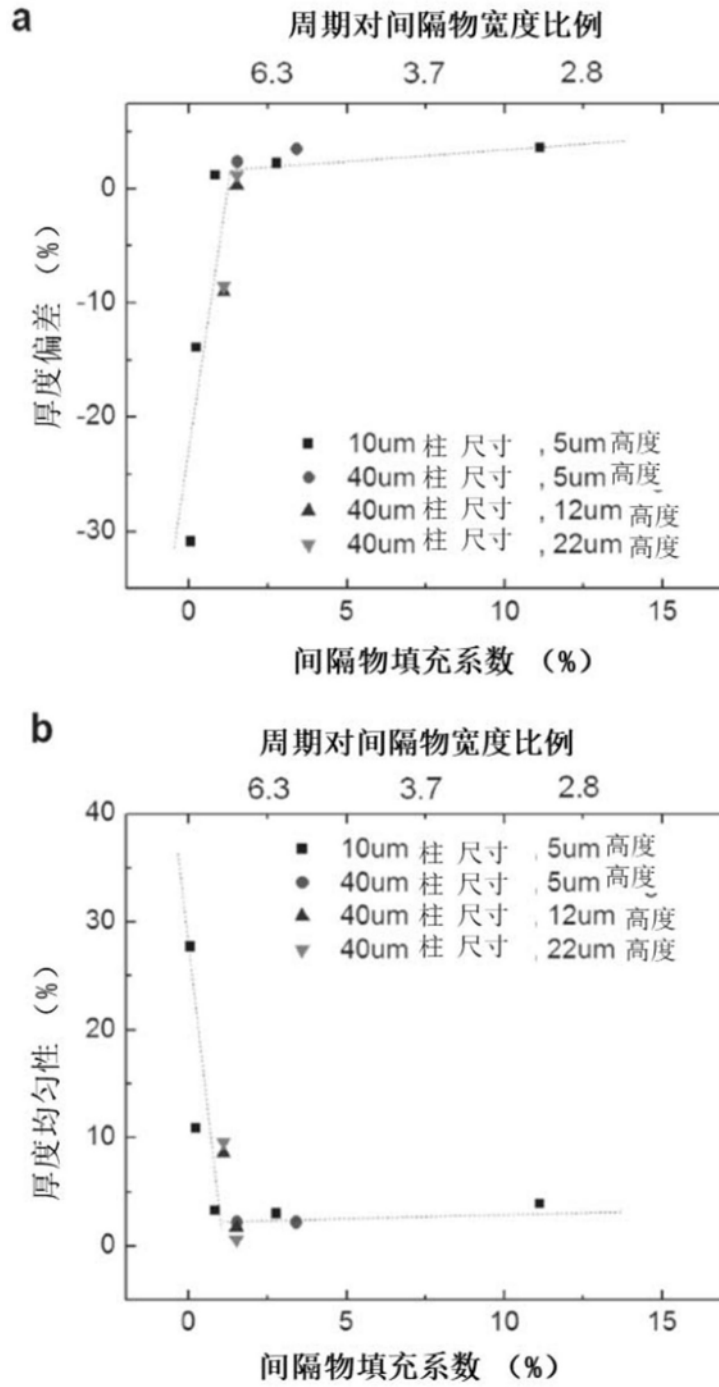


图22

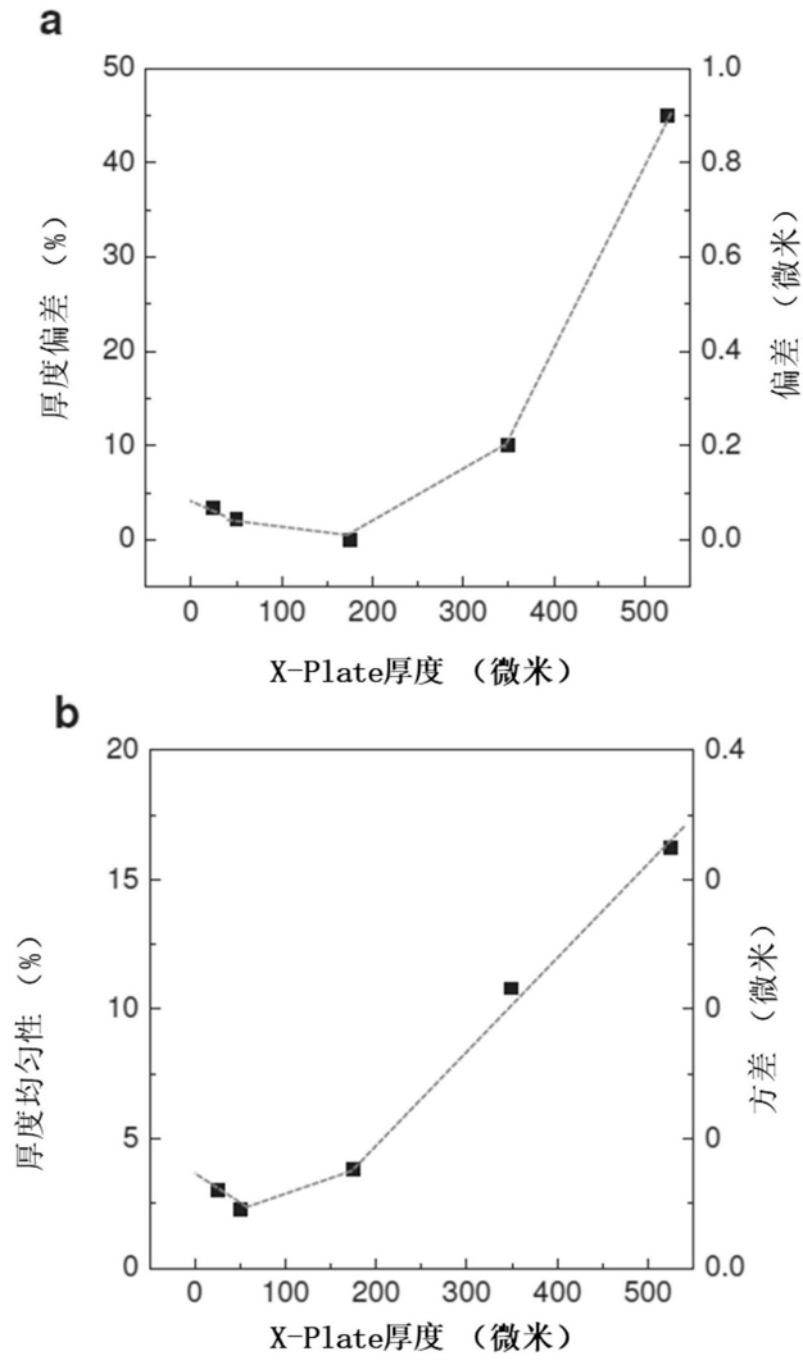


图23

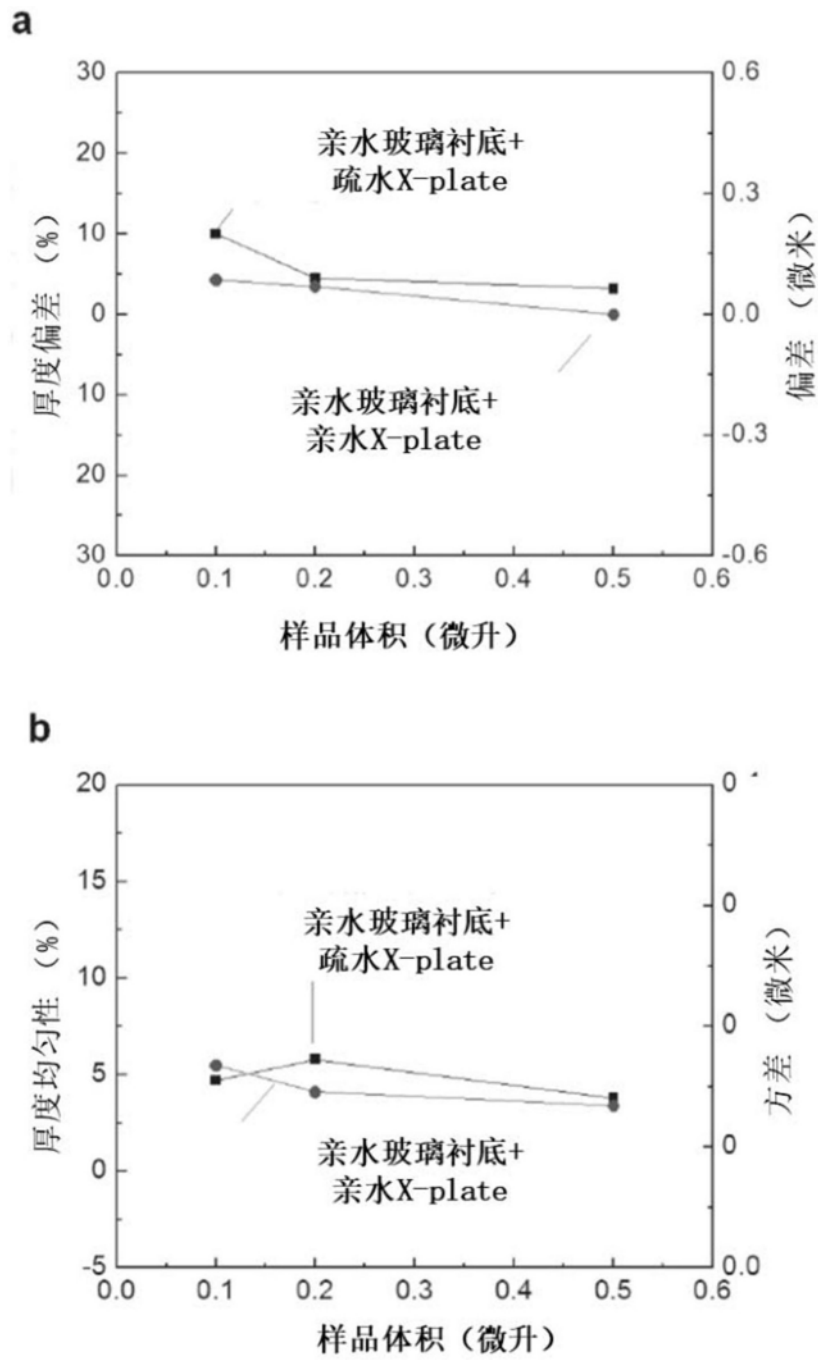


图24

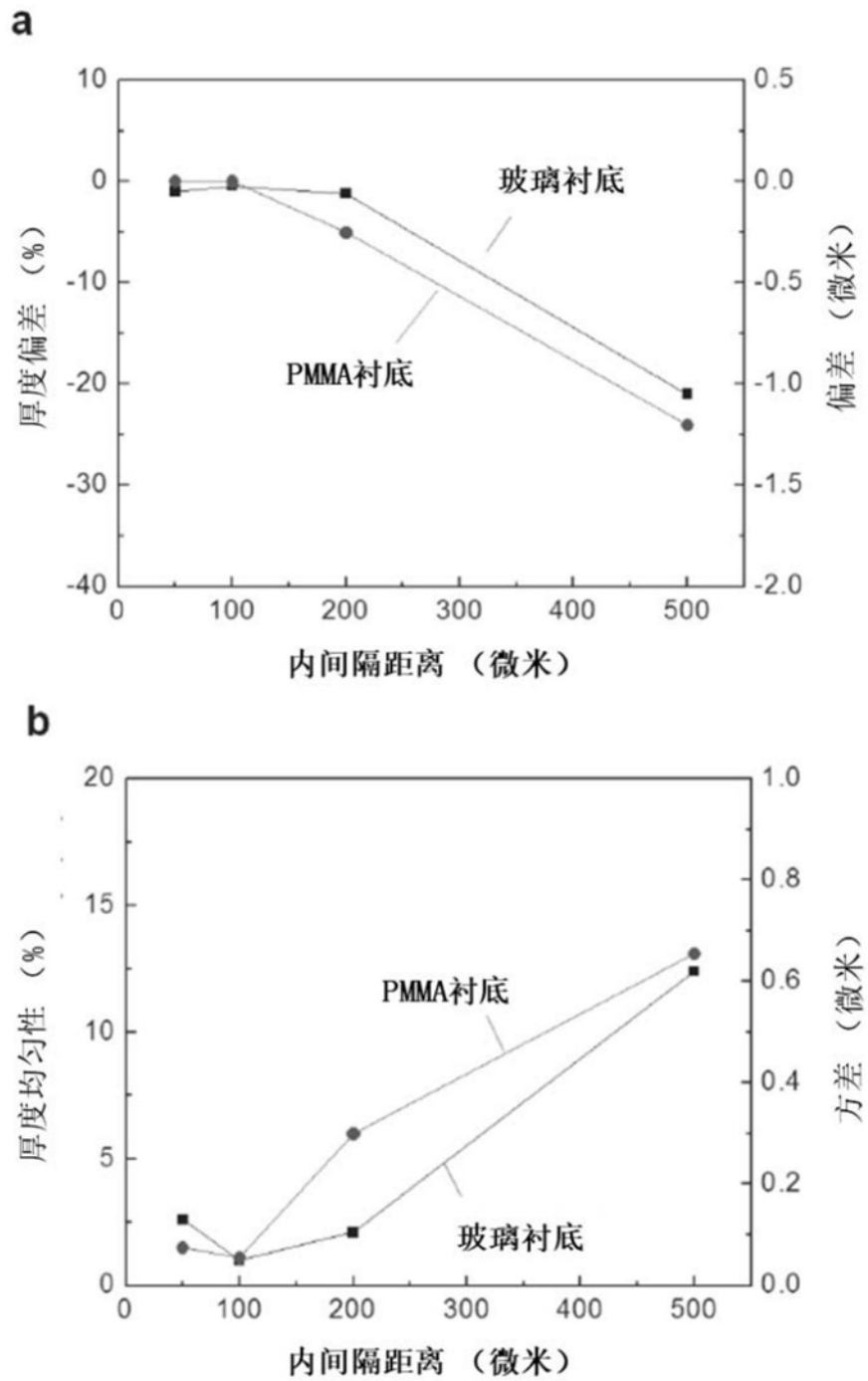


图25

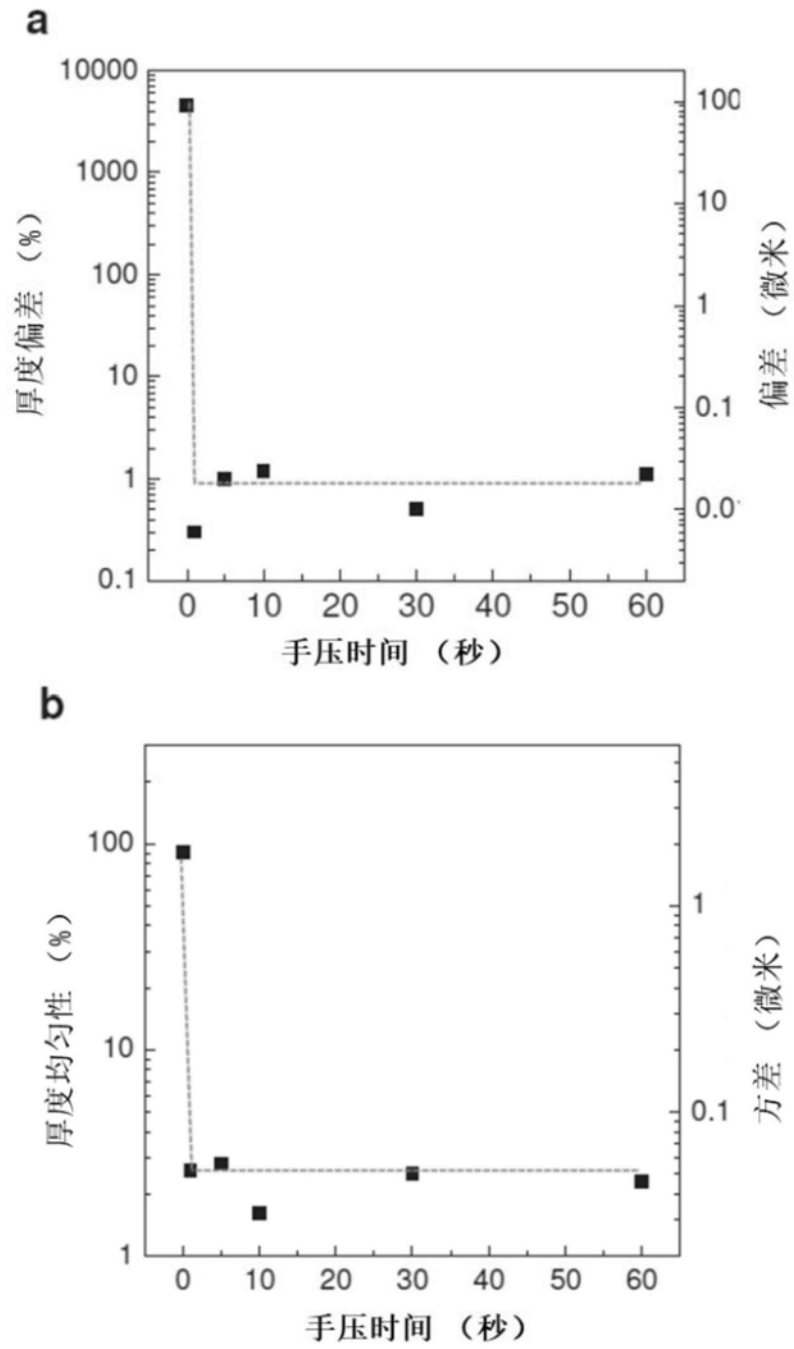


图26

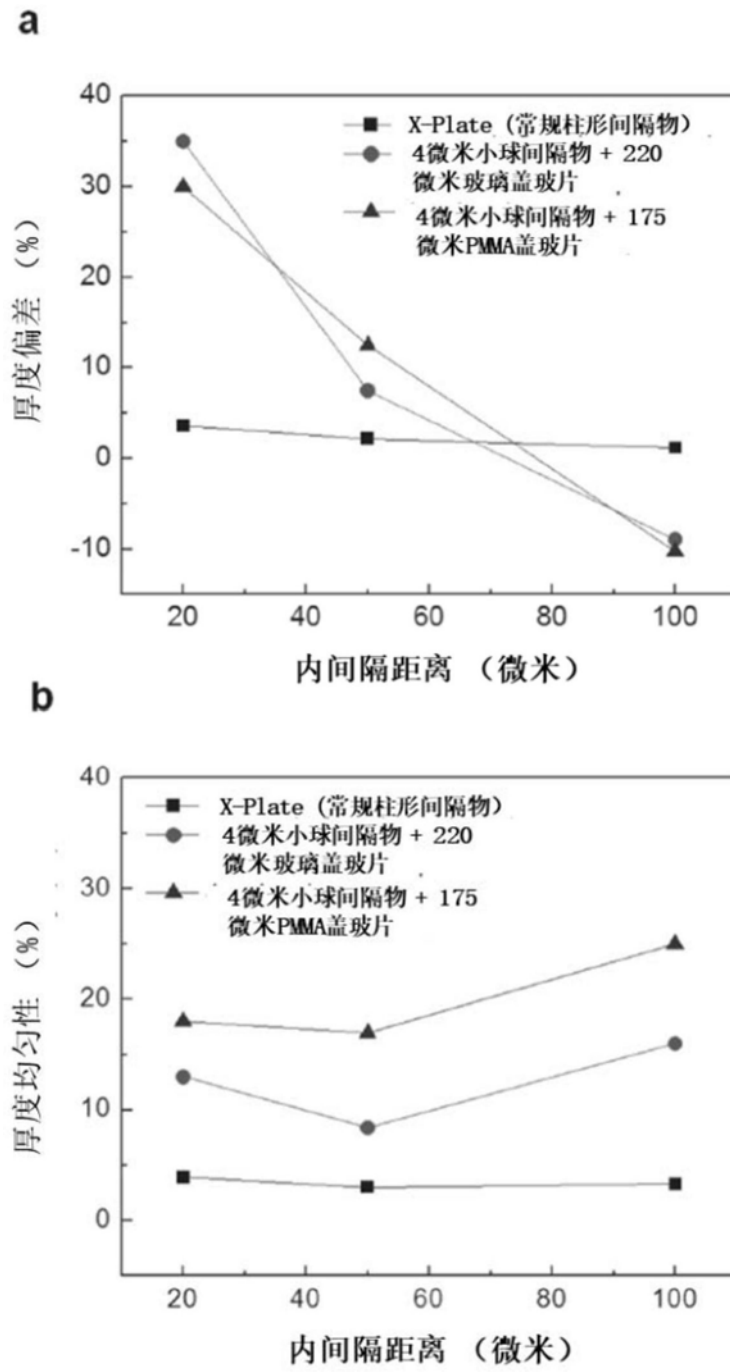


图27

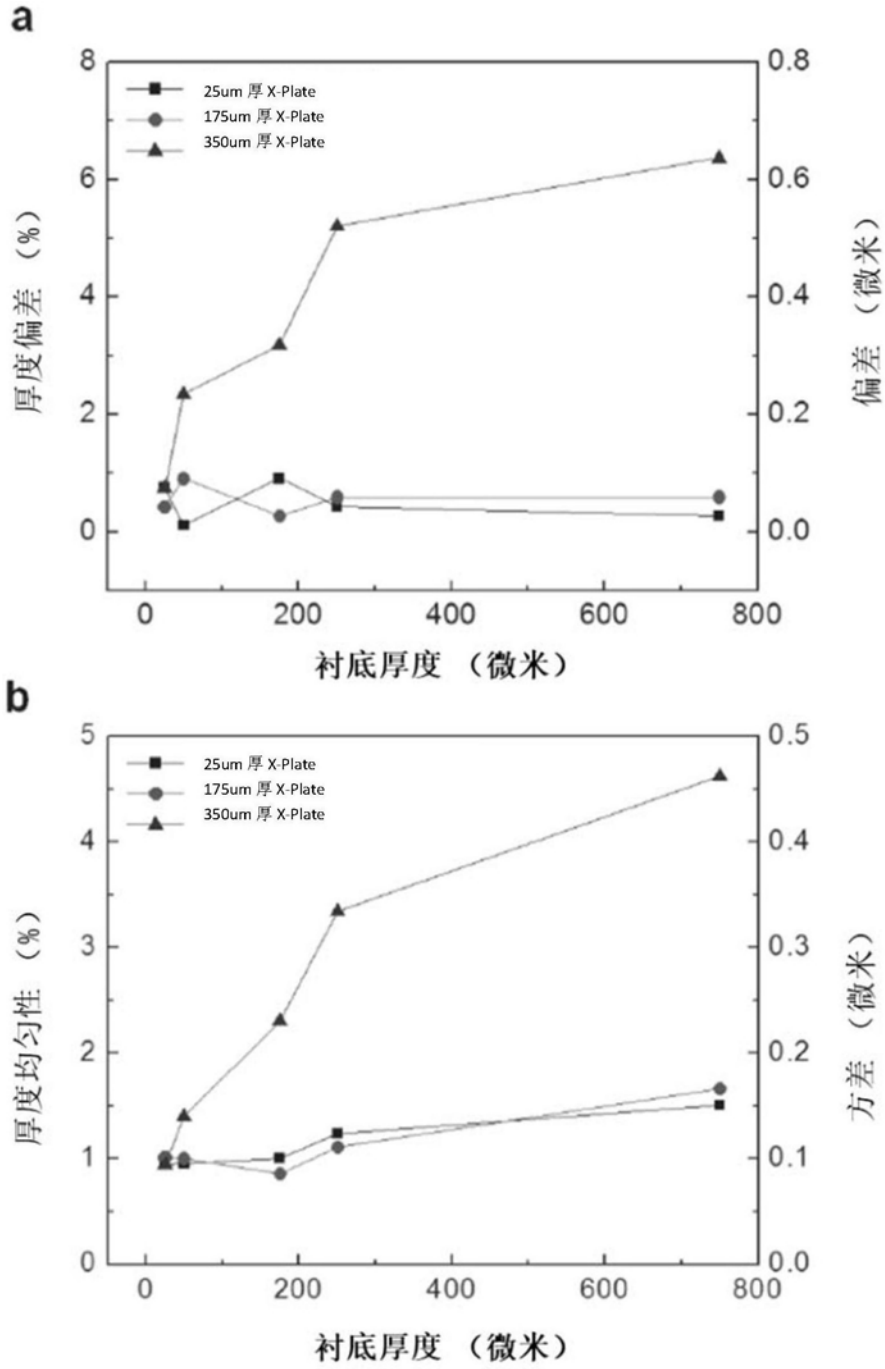


图28

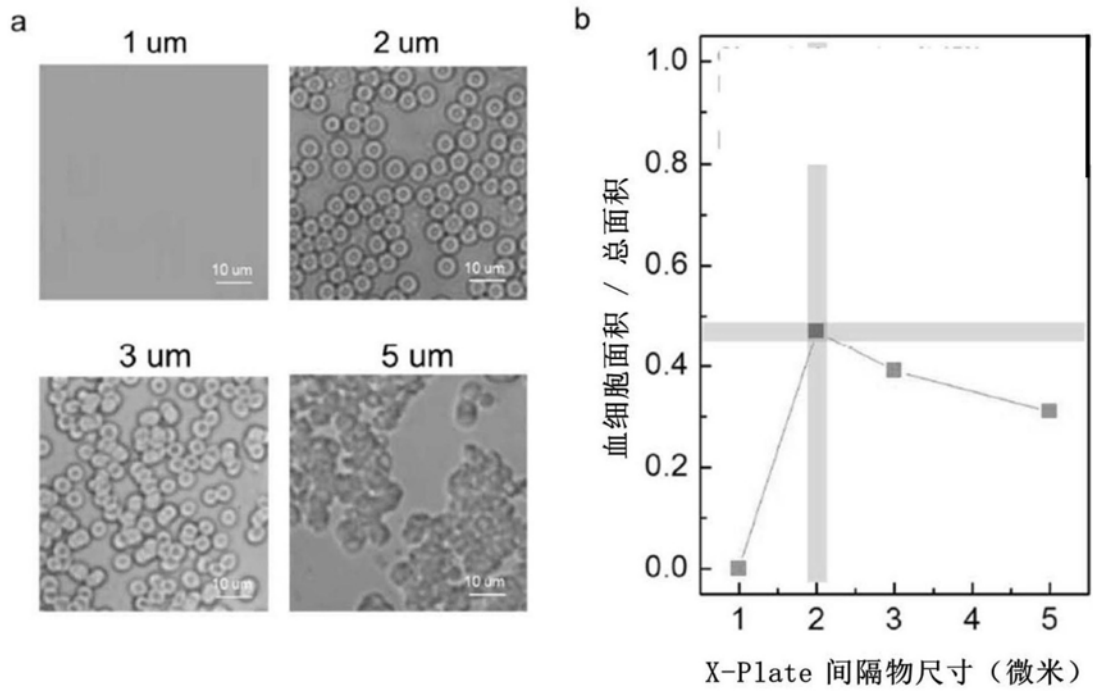
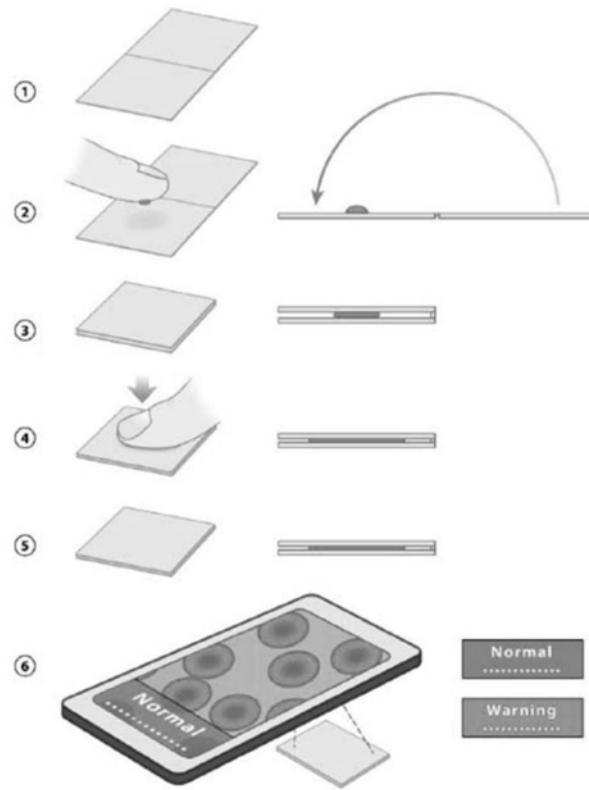


图29

(a)



(b)



图30

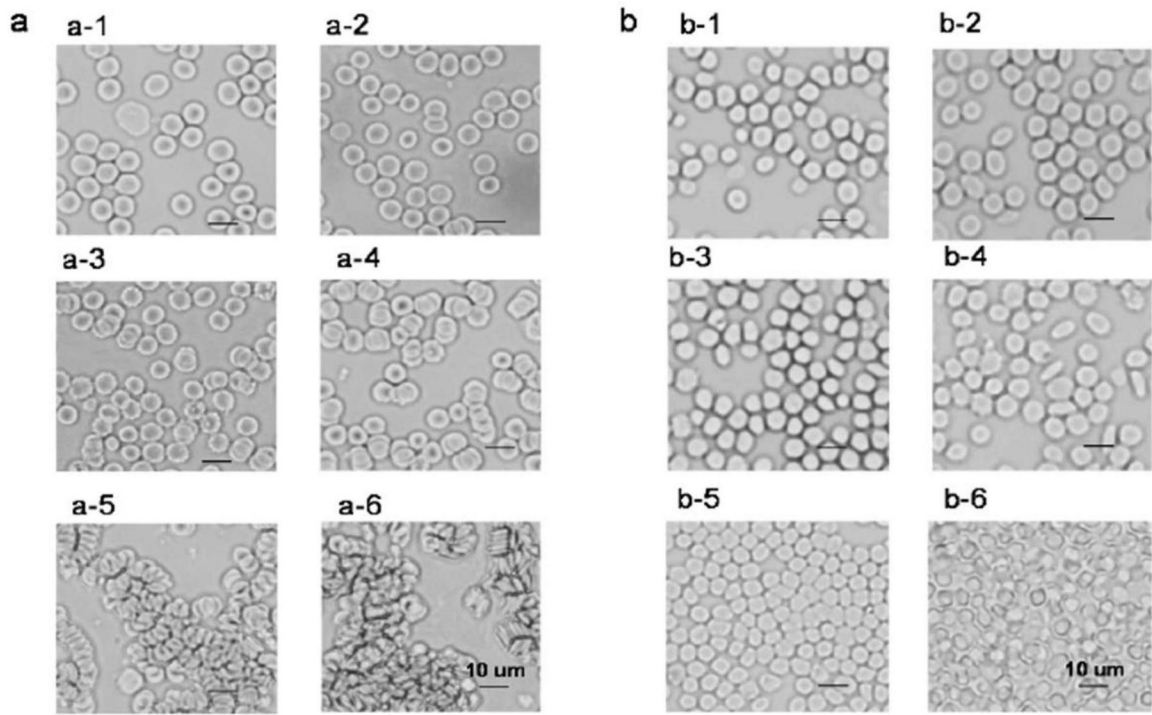


图31

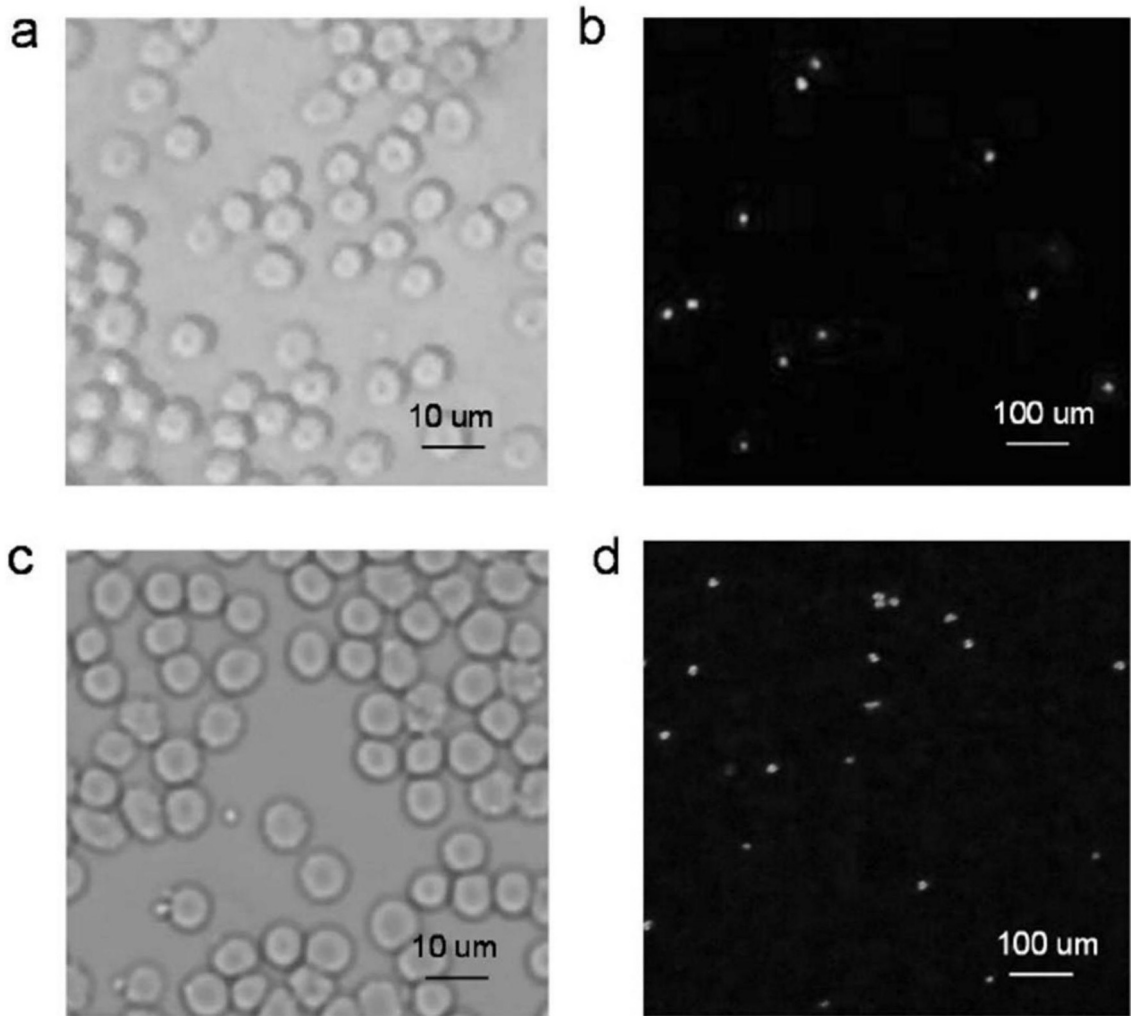


图32

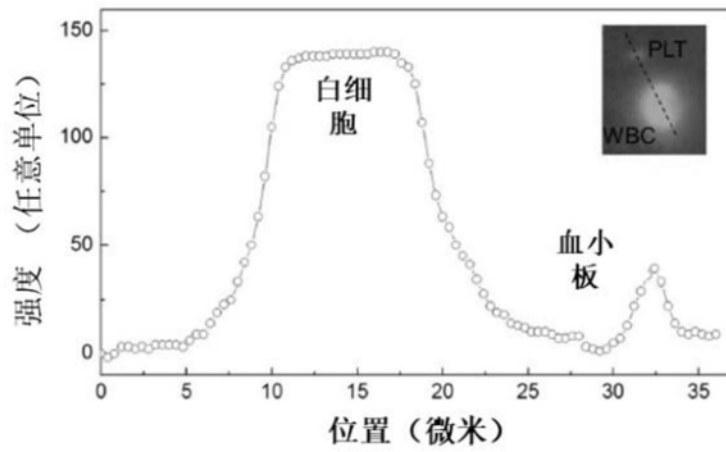


图33

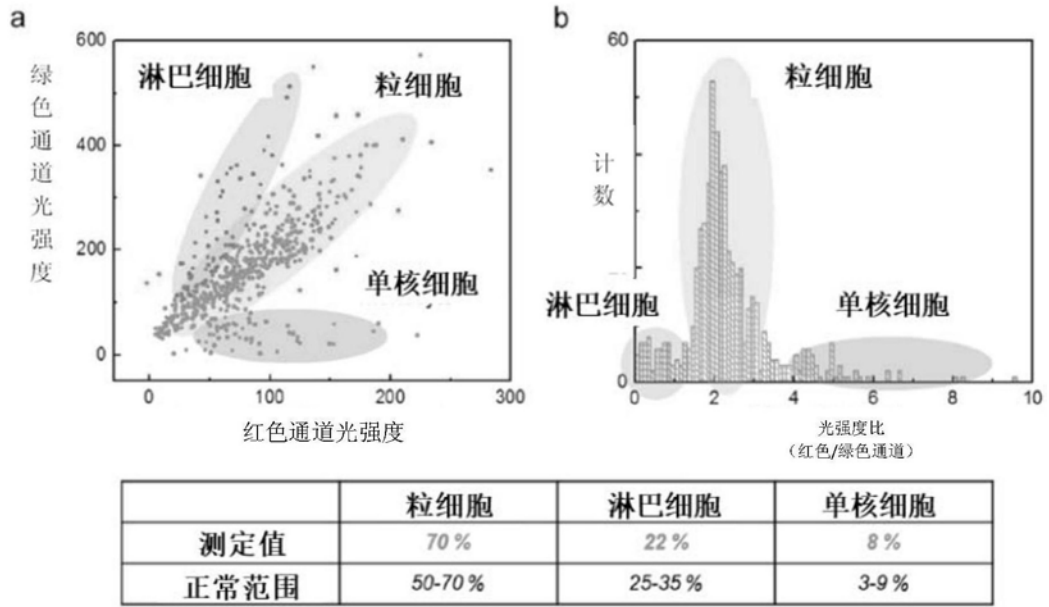


图34

专利名称(译)	步骤简化、小样品、快速、易使用的生物/化学分析装置和方法		
公开(公告)号	CN108780081A	公开(公告)日	2018-11-09
申请号	CN201680056780.9	申请日	2016-08-10
[标]发明人	斯蒂芬·Y·周 丁伟		
发明人	斯蒂芬·Y·周 丁伟		
IPC分类号	G01N33/487 G01N33/49 G01N33/53 G01N35/00		
CPC分类号	B01L3/5055 B01L2300/0809 B01L2300/123 B01L2400/0481 G01N1/2813 G01N15/1484 G01N21/6452 G01N21/658 G01N21/69 G01N21/76 G01N33/487 G01N33/49 G01N33/54366 G01N2015/0073 G01N2015/008 G01N2015/0084 G01N2015/1486 G01N2021/6482 G01N1/30 G01N33/543 G01N35/00029 G01N35/00871		
优先权	62/202989 2015-08-10 US 62/218455 2015-09-14 US 62/293188 2016-02-09 US 62/305123 2016-03-08 US 62/369181 2016-07-31 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物/化学采样，感测，检测和应用等领域。具体地讲，本发明涉及如何使取样/检测/测定能够使用简单，或快速获取结果，或高度敏感的，或易于使用，或使用微小的样品量(例如0.5微升或更小)，或无需任何专业人员操作，或由移动电话读取结果，或成本低廉，或它们的组合。

