



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111094533 A

(43)申请公布日 2020.05.01

(21)申请号 201880044342.X

(22)申请日 2018.10.31

(30)优先权数据

62/581,066 2017.11.03 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.12.31

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/058461 2018.10.31

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2019/089757 EN 2019.05.09

(71)申请人 伊鲁米那股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

申请人 伊鲁米纳剑桥有限公司

(72)发明人 安德鲁·乔德 丹尼尔·L·弗勒

保罗·克里韦利

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 李慧慧 郑霞

(51)Int.Cl.

G12M 1/12(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

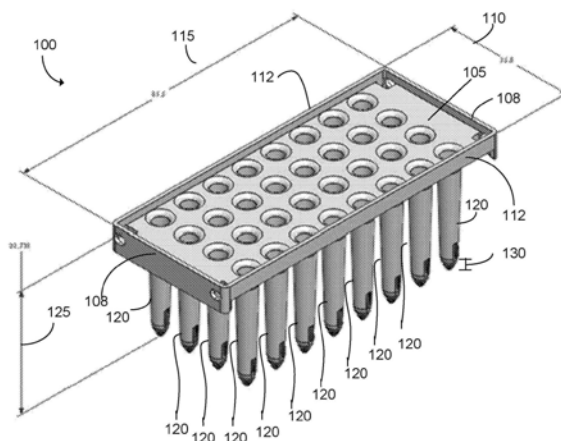
权利要求书2页 说明书16页 附图11页

(54)发明名称

多孔板适配器

(57)摘要

公开了多孔板插入件,该多孔板插入件可以用于从含有目标生物分子诸如核酸分子和蛋白质的液体中分离固体碎片,包括含有血液样品的纸穿孔物。还提供了使用该插入件的方法,例如作为分析目标生物分子的方法的一部分。



1. 一种多孔板适配器,包括:
两个或更多个部件部分,每个部件部分包括:
顶部表面,所述顶部表面具有从所述顶部表面延伸的中空圆锥形突出部,所述圆锥形突出部的轴线垂直于所述顶部表面;并且
每个中空圆锥形突出部包括在远离所述顶部表面的端部处的成角度的尖端,所述成角度的尖端包括一个或更多个孔洞以及在所述成角度的尖端的外表面上的一个或更多个脊状部。
2. 如权利要求1所述的多孔板适配器,其中所述多孔板是96孔板。
3. 如权利要求2所述的多孔板适配器,包括三个部件部分。
4. 如权利要求3所述的多孔板适配器,其中所述顶部表面具有约75mm-95mm的长度和约20mm-30mm的宽度。
5. 如权利要求1所述的多孔板适配器,其中每个中空圆锥形突出部从所述顶部表面延伸的距离短于所述多孔板的孔的深度。
6. 如权利要求5所述的多孔板适配器,其中每个中空圆锥形突出部从所述顶部表面延伸的所述距离为约15mm-30mm。
7. 如权利要求1所述的多孔板适配器,其中所述中空圆锥形突出部的内径可以容纳移液器吸头。
8. 如权利要求1所述的多孔板适配器,其中所述成角度的尖端的所述一个或更多个孔洞具有约0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸。
9. 如权利要求1所述的多孔板适配器,其中所述成角度的尖端包括在远侧端部处的中央孔洞和从所述中央孔洞对称地辐射的多个纵向孔洞,各个孔洞被所述成角度的尖端的一部分分隔开,并且其中所述成角度的尖端分隔开各个所述纵向孔洞的所述部分还包括在所述成角度的尖端的所述外表面上的所述一个或更多个脊状部,其中所述中央孔洞具有约0.6mm-1mm的直径,并且所述纵向孔洞包括约0.6mm-1mm的最小开口尺寸。
10. 一种孔板插入件,包括:
两个或更多个插入件部件,每个插入件部件包括
矩形顶部表面,所述矩形顶部表面具有从所述矩形顶部表面突出的中空延伸部,其中所述中空延伸部的主轴线至少基本上垂直于所述矩形顶部表面的平面;
所述中空延伸部在其末端处具有远侧尖端,所述远侧尖端具有一个或更多个穿孔;
所述远侧尖端在其外表面上还包括远离所述远侧尖端的主体延伸的一个或更多个脊状部;以及
所述矩形顶部表面的长边缘适于与另一个插入件部件的所述矩形顶部表面的所述长边缘配合。
11. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中所述中空延伸部的主体是长形的截头圆锥形延伸部,并且所述远侧尖端从所述中空延伸部的较小直径端基本上圆锥形地延伸。
12. 如权利要求11所述的孔板插入件,其中所述中空延伸部的所述主体包括实心表面。
13. 如权利要求11所述的孔板插入件,其中所述一个或更多个脊状部不延伸超过所述远侧尖端到所述中空延伸部的所述主体上。
14. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中所述中空延伸部不包括网格或纤维插入件。

15. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中每个穿孔具有约0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸。

16. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中所述远侧尖端的所述一个或更多个脊状部能够刺穿所述孔板的密封件。

17. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中所述一个或更多个穿孔被设定尺寸成允许裂解物流过并防止所述孔板的孔中的颗粒通过。

18. 如权利要求10所述的孔板插入件,其中每个插入件部件包括32个以栅格布置的中空延伸部,所述栅格沿着所述矩形顶部表面的短边缘具有四个中空延伸部并且沿着所述矩形顶部表面的所述长边缘具有八个中空延伸部。

19. 如权利要求18所述的孔板插入件,适于嵌套在96孔板的顶部上,其中所述中空延伸部突出到每个单独的孔中。

20. 一种裂解物分离板适配器,包括:

三个相同的部件部分,每个部件部分包括:

平面矩形主体,所述平面矩形主体具有32个以栅格图案从其突出的长形延伸部,其中每个长形延伸部的主轴线至少基本上垂直于所述平面矩形主体;

每个长形延伸部具有圆形尖端,所述圆形尖端在其中具有多于一个孔洞,每个孔洞具有0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸;以及

一个或更多个成角度的棘状部,其在所述圆形尖端的外表面上。

多孔板适配器

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年11月3日提交的美国临时申请62/581,066的优先权,该临时申请通过引用以其整体并入本文。

[0003] 背景

[0004] 血液样品通常以干燥的血斑(DBS)收集在滤纸穿孔物(filter paper punches)上。福尔马林固定的石蜡包埋(FFPE)样品通常被溶解以提取目标分子,诸如核酸分子。DBS和FFPE样品可以储存在孔板(例如96孔板)中,用于批量测定和患者阵列(patient array)。在这样的测定中,可溶性材料诸如核酸分子可以从DBS内的血液中或者从FFPE样品内的生物材料(例如组织)中提取。

[0005] 将样品裂解物吸移(pipetting)至含DBS样品或含FFPE样品的孔(well)中的问题是滤纸穿孔物、组织、石蜡颗粒和/或其他碎片可能会粘在移液器吸头上或粘在移液器吸头中。可用于具有许多多重样品的孔板测定中的液体处理机器人不具有精细度或者视觉或战术反馈来避免滤纸、石蜡、组织或孔板内的其他碎片。当使用液体处理机器人移液小的体积时,不期望的碎片的转移可能干扰抽吸,或者碎片可能会粘至移液器吸头的外部,导致材料意外转移至不正确的板或孔。吸头被碎片堵塞也可以导致裂解物不完全转移到后续的加工步骤中。因此,理想地,从含DBS样品或含FFPE样品的孔中抽吸溶液可以避免滤纸穿孔物、组织、石蜡颗粒和/或其他碎片,以防止移液器吸头的堵塞并维持精确的移液体积。

[0006] 概述

[0007] 本文在一些实例中提供了多孔板适配器或插入件(multi-well plate adaptors or insert)以及它们用于例如在孔板测定中将固体碎片与液体抽吸物分离的方法。

[0008] 本文提供了可以与多孔板一起使用的多孔板适配器或插入件,该适配器或插入件可以在要从含有固体碎片的多孔板中移出裂解物或抽吸物时使用。在一些实例中,多孔板适配器或插入件被设计成用于与96孔板(诸如每个96孔板三个适配器)、12孔板、24孔板、48孔板或384孔板(诸如每个12孔板或24孔板一个适配器;每个48孔板一个、两个或三个适配器;或者每个384孔板12个适配器)一起使用。例如,孔板适配器或插入件可以被配置成使得它可以嵌套在多孔板(例如,96孔板)的顶部上,使得适配器/插入件的多个中空延伸部的每一个突出到多孔板的分开的单独的孔中(在一些情况下无需触碰多孔板的底部)。

[0009] 在一个实例中,多孔板适配器包括两个或更多个部件部分(component part),诸如至少三个、至少四个、至少五个或至少十个部件部分,诸如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个部件部分。每个部件部分可以包括顶部表面,该顶部表面具有从该顶部表面延伸的中空圆锥形突出部,该圆锥形突出部的轴线垂直于该顶部表面。部件部分的每个圆锥形突出部可以包括在远离顶部表面的端部处的成角度的尖端(angled tip),该成角度的尖端包括一个或更多个孔洞(hole)以及在成角度的尖端的外表面上一个或更多个脊状部(ridge)。

[0010] 在一些实例中,每个部件部分的顶部表面具有约75mm-95mm的长度、约30mm-40mm的宽度和约30mm-40mm的高度。在一些实例中,突出部(例如圆锥形)从顶部表面延伸的距离

短于所述突出部所被配置用于的多孔板的孔的深度。在一些实例中,突出部(例如圆锥形)从顶部表面延伸的距离为约15mm-35mm。在一些实例中,中空突出部(例如圆锥形)的内径使得其可以容纳移液器吸头或其他抽吸装置。在一些实例中,成角度的尖端的一个或更多个孔洞具有约0.6mm至0.8mm的开口尺寸。在一些实例中,成角度的尖端包括在远侧端部处的中央孔洞(hole)和从其对称地辐射的多个纵向孔洞,各孔洞被成角度的尖端的一部分分隔开,并且其中成角度的尖端分隔开纵向各个孔洞的部分还包括在成角度的尖端的外表面上的脊状部。在一些实例中,中央孔洞具有约0.6mm-1mm的直径,并且纵向孔洞包括约0.6mm-1mm的最小开口尺寸。

[0011] 在一个实例中,用于抽吸裂解物的多孔板插入件包括两个或更多个插入件部件,诸如至少三个、至少四个、至少五个或至少十个插入件部件,诸如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个插入件部件。每个插入件部件可以包括矩形顶部表面,该矩形顶部表面具有从该矩形顶部表面突出的中空延伸部,其中该中空延伸部的主轴线至少基本上垂直于(包括完全地垂直于)矩形顶部表面的平面。在一种配置中,每个插入件部件包括32个以栅格布置的中空延伸部,所述栅沿着矩形顶部表面的短边缘具有四个中空延伸部并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有八个中空延伸部。矩形顶部表面的长边缘可以适于与另一个插入件部件的矩形顶部表面的长边缘配合。中空延伸部可以在其末端处包括具有一个或更多个穿孔的远侧尖端,并且远侧尖端还可以在其外表面上包括一个或更多个远离所述远侧尖端的主体延伸的脊状部。一个或更多个穿孔可以包括在远侧尖端处的中央孔洞、从其对称地辐射的多个纵向孔洞或者两者,其中每个穿孔被远侧尖端的一部分分隔开。

[0012] 中空延伸部的主体(可以是实心表面)可以是长形的截头圆锥形延伸部,其中远侧尖端从中空延伸部的较小直径端部至少基本上圆锥形地延伸。在一些实例中,一个或更多个脊状部不延伸超过远侧尖端到中空延伸部的主体上。在一些实例中,中空延伸部不包括网格(mesh)或纤维插入件(例如筛网)或者不由网格或纤维插入件(例如筛网)制成。在一些实例中,中空延伸部上的一个或更多个穿孔被设定尺寸成允许裂解物流动通过并且防止在孔板的孔中的颗粒(particulate)的通过(诸如使颗粒的通过减少至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或者甚至100%),并且在一些实例中具有约0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸。在一些实例中,远侧尖端的一个或更多个脊状部能够刺穿孔板的无菌密封件或者扩展(propagate)由移液器吸头形成的孔洞或穿孔。

[0013] 在一个实例中,多孔板插入件(例如裂解物分离板适配器)包括三个相同的部件部分,其中每个部件部分包括平面矩形主体,该平面矩形主体具有32个以栅格图案从其突出的长形延伸部,其中每个长形延伸部的主轴线垂直于平面矩形主体。每个长形延伸部具有圆形尖端(rounded tip),在该圆形尖端中具有多于一个孔洞,在一些实例中,每个孔洞具有约0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸;以及在圆形尖端的外表面上的一个或更多个成角度的棘状部(spines)。

[0014] 本文提供了一种多孔板适配器,包括两个或更多个部件部分,每个部件部分包括顶部表面,该顶部表面具有从该顶部表面延伸的中空圆锥形突出部,该圆锥形突出部的轴线垂直于顶部表面;并且每个中空圆锥形突出部包括在远离顶部表面的端部处的成角度的尖端,成角度的尖端包括一个或更多个孔洞以及在成角度的尖端的外表面上的一个或更多

个脊状部。

[0015] 本文提供了一种孔板插入件,包括两个或更多个插入件部件,每个插入件部件包括矩形顶部表面,该矩形顶部表面具有从该矩形顶部表面突出的中空延伸部,其中该中空延伸部的主轴线至少基本上垂直于矩形顶部表面的平面;中空延伸部在其末端处具有远侧尖端,所述远侧尖端具有一个或更多个穿孔;远侧尖端在其外表面上还包括一个或更多个远离远侧尖端的主体延伸的脊状部;并且矩形顶部表面的长边缘适于与另一个插入件部件的矩形顶部表面的长边缘配合。

[0016] 一种裂解物分离板适配器,包括三个相同的部件部分,每个部件部分包括平面矩形主体,该平面矩形主体具有32个以栅格图案从其突出的长形延伸部,其中每个长形延伸部的主轴线至少基本上垂直于平面矩形主体;每个长形延伸部具有其中具有多于一个(a plurality of)孔洞的圆形尖端,每个孔洞具有0.6mm-0.8mm的最小开口尺寸;和在圆形尖端的外表面上的一个或更多个成角度的棘状部。

[0017] 还提供了在例如包括获得或收集含有一种或更多种目标生物分子(诸如核酸分子或蛋白质,诸如DNA、RNA或抗体)的裂解物的方法中使用所公开的多孔板插入件的方法。例如,该方法可以包括将一个或更多个所公开的多孔板插入件添加在或放置在含有裂解物(诸如来自DBS样品或FFPE样品)的多孔板的顶部上,使得多孔板插入件的每个延伸部或突出部突出到多孔板的单个孔中(例如每个孔一个延伸部)。在一些实例中,将一个或更多个所公开的多孔板插入件锁定在多孔板上。然而,在一些实例中,一个或更多个所公开的多孔板插入件简单地位于多孔板的顶部上。这允许多孔板的孔中的裂解物而不是碎片经由延伸部/突出部中的孔洞流入到延伸部/突出部中。该方法然后可以包括将移液器吸头(或其他抽吸装置)引入到每个延伸部/突出部中,以允许收集裂解物,而没有碎片。

[0018] 附图简述

[0019] 图1是示出了多孔板插入件的示例性单个部件部分100的示意图。

[0020] 图2A是示出了多孔板插入件的示例性单个部件100的长侧112的侧视图200的示意图。

[0021] 图2B是示出了多孔板插入件的单个部件100的短侧108的侧视图250的示意图。

[0022] 图3A是示出了在一个实例中多孔板插入件的单个部件100的俯视图300的示意图。

[0023] 图3B是示出了在一个实例中多孔板插入件的单个部件100的仰视图350的示意图。

[0024] 图4是示出了在一个实例中多孔板插入件的单个部件100的突出部/延伸部120的横截面400的示意图。

[0025] 图5是示出了在一个实例中多孔板插入件的突出部/延伸部120的尖端130的特写视图500的示意图。

[0026] 图6A示出了在一个实例中箔覆盖的多孔板600。

[0027] 图6B示出了在一个实例中嵌套在多孔板600内的多孔板插入件的单个部件100。

[0028] 图6C示出了在一个实例中嵌套在多孔板内的多孔板插入件的三个部件100。

[0029] 图7示出了在一个实例中装配在嵌套在多孔板600内的多孔板插入件100的突出部/延伸部120内部的移液器吸头700。

[0030] 图8A是示出了在一个实例中如何分析血液样品的概述的示意图。

[0031] 图8B是示出了在一个实例中使用DBS样品和所公开的多孔板插入件的DNA回收的

条形图。

[0032] 图8C是示出了在一个实例中使用液体血液样品和所公开的多孔板插入件的DNA回收的条形图。

[0033] 图9A是示出了在一个实例中如何分析血液样品的概述的示意图。

[0034] 图9B是示出了在一个实例中使用DBS样品和液体样品以及所公开的多孔板插入件的DNA回收的条形图。

[0035] 详细描述

[0036] 除非另有说明,否则技术术语根据常规用法使用。分子生物学中常用术语的定义可以在以下中找到:Benjamin Lewin, *Genes VII*, 其由牛津大学出版社 (Oxford University Press) 出版,1999年;Kendrew等人(编辑), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, 其由Blackwell Science Ltd. 出版,1994年;以及Robert A. Meyers(编辑), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, 其由VCH Publishers, Inc. 出版,1995年;和其他类似的参考文献。

[0037] 如本文中所使用的,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该(the)”指的是单数以及复数两者,除非上下文另有明确地指示。如本文中所使用的,术语“包括(comprises)”意指“包括(includes)”。因此,“包括(comprising)多孔插入件”意指“包括(including)多孔插入件”,而不排除其他元件。还应当理解,除非另有指示,关于否则核酸给出的任何和所有碱基大小都是近似的,并且是为了描述目的而提供的。尽管可以使用与本文描述的那些相似或等效的许多方法和材料,但是下文描述了特别合适的方法和材料。在冲突的情况下,将以本说明书(包括术语的解释)为准。另外,材料、方法和实例仅是说明性的,并且不意图是限制性的。包括专利申请和专利在内的所有参考文献都通过引入并入本文。

[0038] 在整个本公开内容(包括权利要求)中使用的术语“基本上”和“约”用于描述并考虑到诸如由于在加工中的变化而引起的小波动。例如,它们可以指的是小于或等于 $\pm 5\%$, 诸如小于或等于 $\pm 2\%$, 诸如小于或等于 $\pm 1\%$, 诸如小于或等于 $\pm 0.5\%$, 诸如小于或等于 $\pm 0.2\%$, 诸如小于或等于 $\pm 0.1\%$, 诸如小于或等于 $\pm 0.05\%$ 。

[0039] 为了便于回顾本公开内容的各种实例,提供了特定术语的以下解释:

[0040] 干燥的血斑:被干燥的并且存在于固体支撑物诸如滤纸卡或滤纸盘上的血液样品。在一些实例中,血液可以从脚跟、脚趾或手指的针刺获得,或者从静脉或动脉获得,被施加到固体支撑物(例如滤纸)上,并且允许干燥(例如持续若干个小时)。在一些实例中,血液来自哺乳动物受试者。

[0041] 分离的:“分离的”生物组分(诸如蛋白质、核酸分子或细胞)已经基本上与其中存在该组分的生物体的细胞或组织中的其他生物组分(诸如其他细胞、染色体和染色体外的DNA和RNA以及蛋白质)分离、分开生产或纯化。在一些实例中,分离的蛋白质、核酸或细胞为至少50%纯的,诸如至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或至少100%纯的。在一些实例中,分离的生物组分存在于液体裂解物中。

[0042] 核酸(分子或序列):脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸聚合物或其组合,包括但不限于cDNA、mRNA、miRNA、rRNA、tRNA、基因组DNA和合成的(诸如化学合成的)DNA或RNA。核酸分子可以是双链的(ds)或单链的(ss)。在单链的情况下,核酸可以是有义链或反义链。核酸可以包括天然核苷酸(诸如A、T/U、C和G),并且可以包括天然核苷酸的类似物,诸如标记的核

昔酸。

[0043] 多肽、肽和蛋白质：指的是任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可以是直链的或支链的，它可以包括修饰的氨基酸，并且它可以被非氨基酸中断。该术语还涵盖已被修饰的氨基酸聚合物；例如，二硫键的形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作，诸如与标记组分的缀合。如本文中所使用的，术语“氨基酸”包括天然的氨基酸和/或非天然的氨基酸或合成的氨基酸，包括甘氨酸，且包括D光学异构体或L光学异构体两者，以及氨基酸类似物和肽模拟物。

[0044] 纯化的：术语纯化的不需要绝对纯度；相反，它意图作为相对的术语。因此，例如，纯化的蛋白质制品是其中蛋白质比蛋白质在细胞内的其天然环境中更富集的蛋白质的制品。在一个实例中，制品被纯化使得蛋白质代表制品的总蛋白质含量的至少50%。在一些实例中，纯化的蛋白质存在于液体裂解物中。

[0045] 样品：指的是任何生物样品（从生物有机体中获取）或环境样品（从环境，诸如水、土壤或空气样品中获取）。生物样品是从为生物有机体的受试者（诸如人类或兽医受试者）中获得的样品。在一些实例中，样品是被固定的，诸如FFPE样品。在特定实例中，生物样品是来自任何体液的生物流体样品，诸如外周血、血清、血浆、腹水、尿液、脑髓液（CSF）、痰、唾液、骨髓、滑液、房水、羊水、耳垢、母乳、肺泡灌洗液、精液（包括前列腺液）、考珀液（Cowper's fluid）或射精前液、女性射精、汗液、粪便、毛发、眼泪、囊肿液、胸膜和腹膜液、心包液、淋巴液、食糜、乳糜、胆汁、间质液、月经、脓、皮脂、呕吐物、阴道分泌物、粘膜分泌物、粪便水、胰液、来自窦腔的灌洗液、支气管肺抽吸物或其他灌洗液。生物样品也可以包括胚泡腔、脐带血或母体循环，其可以来自胎儿或母体。生物样品也可以是组织样品或活检（包括细针抽吸物）。在一些实例中，生物样品为FFPE肿瘤样品。在一些实例中，生物样品为DBS。这样的样品可以用于检测目标分子，诸如目标核酸分子或目标蛋白质。在一些实例中，这样的样品被用作核酸分子的来源，目标核酸分子可以从该来源被测序。

[0046] 样品：生物样本，诸如含有生物分子的样品，所述生物分子例如核酸分子（例如基因组DNA、cDNA、RNA和/或mRNA）。示例性的样品是那些含有来自受试者的细胞或细胞裂解物（并且其可能包含一种或更多种病原体）的样品，诸如外周血（或其一部分，诸如血浆或血清）、尿液、唾液、痰、组织活检、颊拭子（cheek swabs）、排泄物样本（例如粪便样品）、呼吸样本、手术样本、细针抽吸物、羊膜穿刺样品和尸检材料。还包括其他类型的样品，诸如环境样品（例如土壤、空气、水）和食品样品。样品可以应用于固体支撑物，例如以储存样品中存在的核酸分子。

[0047] 受试者：脊椎动物，诸如哺乳动物，例如人类。哺乳动物包括但不限于鼠类、猿猴、人类、农场动物（farm animal）、运动动物（sport animal）以及宠物。在一个实例中，受试者是非人类哺乳动物受试者，诸如猴子或其他非人类灵长类动物、小鼠、大鼠、兔子、猪、山羊、绵羊、狗、猫、马或牛。在一些实例中，受试者已经感染有或被怀疑感染有病原体（诸如具有病毒、细菌、真菌或寄生虫感染）。在一些实例中，受试者患有癌症或被怀疑患有癌症。因此，受试者可以用作使用所公开的方法和装置分析的样品源。

[0048] 综述

[0049] 从含有干燥的血斑或组织活检（例如FFPE组织）的孔中吸移液体材料（例如细胞或组织裂解物）可以导致碎片（例如斑点或斑点的一部分（例如滤纸）、组织或石蜡颗粒）粘在

吸液头上或粘在吸液头中。本公开内容的多孔板插入件减少了该问题。本文所述的多孔板插入件搁置在孔中含有液体材料(例如细胞或组织裂解物)的多孔板的顶部上,并且允许吸移液体材料(例如细胞或组织裂解物)而不吸移孔中存在的碎片。本文公开的多孔板插入件可以用于机器人样品处理。

[0050] 本文提供的多孔板插入件适于装配在多孔板的顶部上。插入件包括插入到板的孔中的突出部(projection)。突出部中的孔洞或开口足够小,以允许孔中的液体而不是碎片进入突出部。然后,可以例如通过吸移来移出所得的液体。因此,如果孔含有干燥的血斑、组织碎片、滤纸、硝酸纤维素纸或石蜡颗粒,则它们不进入插入件的突出部,并且不在样品处理期间被移出。

[0051] 多孔板适配器

[0052] 本文提供了多孔板适配器(在本文中也被称为插入件,因为它们在使用时被引入到或被插入到多孔板中),其可以与多孔板一起使用,例如当可能含有不期望的碎片的液体材料(例如裂解物或抽吸物)要从多孔板中被移出时。在一些实例中,多孔板适配器或插入件被设计成用于与96孔板(诸如每个96孔板三个适配器)、6孔板(诸如每个6孔板一个适配器)、12孔板(诸如每个12孔板一个适配器)、24孔板(诸如每个24孔板一个适配器)、48孔板(诸如每个48孔板一个、两个或三个适配器)或384孔板(诸如每个384孔板12个适配器)一起使用。例如,多孔板适配器或插入件可以被配置成使得它可以嵌套在多孔板(例如,96孔板)的顶部上,使得适配器的每个中空延伸部突出到多孔板的单独的孔中(例如,每个孔一个延伸部)。

[0053] 在一个实例中,多孔板适配器或插入件包括两个或更多个部件部分或插入件部件,诸如至少三个、至少四个、至少五个或至少十个部件部分或插入件部件,诸如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个部件部分或插入件部件。每个部件部分或插入件部件可以包括顶部表面(诸如矩形顶部表面),该顶部表面具有从该顶部表面延伸的中空突出部(诸如圆锥形、圆形、正方形或矩形形状的中空突出部)(或从其突出的中空延伸部)。顶部表面可以包括四个侧或边缘,诸如两个长的侧或边缘和两个短的侧或边缘(例如,从而形成矩形)。第一插入件部件的顶部表面的第一长边缘(诸如矩形顶部表面的长边缘)可以适于与第二插入件部件的顶部表面的第一长边缘(诸如矩形顶部表面的长边缘)配合。此外,第一插入件部件的顶部表面的第二长边缘(诸如矩形顶部表面的长边缘)可以适于与第三插入件部件的顶部表面的长边缘(诸如矩形顶部表面的长边缘)配合。

[0054] 在一些实例中,每个部件部分或插入件部件的顶部表面(诸如矩形顶部表面)具有至少约75mm、至少约80mm、至少约90mm或至少约95mm的长度,诸如约75mm至约95mm、约80mm至约95mm、约85mm至约95mm、约85mm至约90mm的长度,诸如 $75 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $76 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $77 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $78 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $79 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $80 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $81 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $82 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $83 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $84 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $85 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $86 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $87 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $88 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $89 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $90 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $91 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $92 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $93 \pm 0.5\text{mm}$ 、 $94 \pm 0.5\text{mm}$ 或 $95 \pm 0.5\text{mm}$,或约 $75 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $76 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $77 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $78 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $79 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $80 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $81 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $82 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $83 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $84 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $85 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $86 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $87 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $88 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $89 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $90 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $91 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $92 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $93 \pm 0.1\text{mm}$ 、 $94 \pm 0.1\text{mm}$ 或 $95 \pm 0.1\text{mm}$,在一些实例中, $80 \pm 1\text{mm}$ 、 $81 \pm 1\text{mm}$ 、 $82 \pm 1\text{mm}$ 、 $83 \pm 1\text{mm}$ 、 $84 \pm$

1mm、85±1mm、85.5±1mm、86±1mm、87±1mm、88±1mm、89±1mm或90±1mm。其他值也是可能的。在一些实例中，每个部件部分或插入件部件的顶部表面（诸如矩形顶部表面）具有85.5±1mm、85.5±0.5mm、85.5±0.3mm、85.5±0.2mm或85.5±0.1mm的长度。在一些实例中，每个部件部分或插入件部件的顶部表面（诸如矩形顶部表面）具有约至少约25mm、至少约30mm、至少约33mm、至少约35mm、至少约36mm或至少约37mm的宽度，诸如约25mm至约40mm、约25mm至约36mm、约28mm至约36mm、约34mm至约36mm的宽度，诸如25±0.5mm、26±0.5mm、27±0.5mm、28±0.5mm、29±0.5mm、30±0.5mm、31±0.5mm、32±0.5mm、33±0.5mm、34±0.5mm、35±0.5mm、36±0.5mm、37±0.5mm或38±0.5mm，或25±0.1mm、26±0.1mm、27±0.1mm、28±0.1mm、29±0.1mm、30±0.1mm、31±0.1mm、32±0.1mm、33±0.1mm、34±0.1mm、35±0.1mm、36±0.1mm、37±0.1mm或38±0.1mm。在一些实例中，每个部件部分或插入件部件的顶部表面（诸如矩形顶部表面）具有35.8±0.5mm、35.8±0.3mm、35.8±0.2mm或35.8±0.1mm的宽度，诸如35.8mm+0.2mm或-0.5mm的宽度。其他值也是可能的。在一些实例中，每个部件部分或插入件部件的顶部表面（诸如矩形顶部表面）具有至少约25mm、至少约30mm、至少约33mm、至少约35mm或至少约40mm的高度，诸如约25mm至约40mm、约25mm至约35mm、约28mm至约35mm、约32mm至约34mm的高度，诸如25±0.5mm、26±0.5mm、27±0.5mm、28±0.5mm、29±0.5mm、30±0.5mm、31±0.5mm、32±0.5mm、33±0.5mm、34±0.5mm、35±0.5mm、36±0.5mm、37±0.5mm、38±0.5mm、39±0.5mm、40±0.5mm或25±0.1mm、26±0.1mm、27±0.1mm、28±0.1mm、29±0.1mm、30±0.1mm、31±0.1mm、32±0.1mm、33±0.1mm、34±0.1mm、35±0.1mm、36±0.1mm、37±0.1mm、38±0.1mm、39±0.1mm、40±0.1mm、41±0.1mm、42±0.1mm、43±0.1mm、44±0.1mm或45±0.1mm。在一些实例中，每个部件部分或插入件部件的顶部表面（诸如矩形顶部表面）具有33.7±0.3mm、33.7±0.2mm、33.7±0.1mm、33.718±0.3mm、33.718±0.2mm或33.718±0.1mm的高度。其他值也是可能的。

[0055] 顶部表面包括具有远侧尖端的多个中空突出部/延伸部，其中突出部/延伸部的轴线至少基本上垂直于顶部表面。在一些实例中，突出部/延伸部是圆锥形的、矩形的、圆形的或正方形的。例如，中空延伸部的主体（可以是实心表面的）可以是长形的截头圆锥形延伸部，其中远侧尖端从中空延伸部的较小直径端部基本上圆锥形地延伸。在一些实例中，突出部/延伸部（例如，圆锥形的、矩形的、圆形的或正方形的）从顶部表面延伸的距离短于多孔板的孔的深度。在一些实例中，突出部（诸如圆锥形的、矩形的、圆形的或正方形的）从每个部件的顶部表面延伸的距离为至少约10mm、至少约12mm、至少约15mm、至少约20mm、至少约25mm、至少约30mm、至少约35mm或至少约40mm，诸如约10mm至约30mm、约12mm至约30mm、约15mm至约30mm、约25mm至约35mm、约29mm至约30mm，诸如10±0.5mm、11±0.5mm、12±0.5mm、13±0.5mm、14±0.5mm、15±0.5mm、16±0.5mm、17±0.5mm、18±0.5mm、19±0.5mm、20±0.5mm、21±0.5mm、22±0.5mm、23±0.5mm、24±0.5mm、25±0.5mm、26±0.5mm、27±0.5mm、28±0.5mm、29±0.5mm、30±0.5mm、31±0.5mm、32±0.5mm、33±0.5mm、34±0.5mm、35±0.5mm或10±0.1mm、11±0.1mm、12±0.1mm、13±0.1mm、14±0.1mm、15±0.1mm、16±0.1mm、17±0.1mm、18±0.1mm、19±0.1mm、20±0.1mm、21±0.1mm、22±0.1mm、23±0.1mm、24±0.1mm、25±0.1mm、26±0.1mm、27±0.1mm、28±0.1mm、29±0.1mm、30±0.1mm、31±0.1mm、31±0.5mm、33±0.1mm、34±0.1mm或35±0.1mm。在一些实例中，圆锥形突出部从每个部件的顶部表面延伸的距离为29.715±0.5mm、29.715±0.3mm、29.715±0.2mm或29.715±

0.1mm。其他值也是可能的。

[0056] 圆锥形突出部的轴线至少基本上垂直于顶部表面。例如，中空延伸部/突出部的主轴线至少基本上垂直于矩形顶部表面的平面。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有32个以栅格布置的中空延伸部/突出部，所述栅格沿着矩形顶部表面的短边缘具有四个中空延伸部/突出部并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有八个中空延伸部/突出部。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有6个以栅格布置的中空延伸部/突出部，所述栅格沿着矩形顶部表面的短边缘具有两个中空延伸部/突出部，并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有三个中空延伸部/突出部。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有12个以栅格布置的中空延伸部/突出部，所述栅格沿着矩形顶部表面的短边缘具有两个中空延伸部/突出部，并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有六个中空延伸部/突出部。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有24个以栅格布置的中空延伸部/突出部，所述栅格沿着矩形顶部表面的短边缘具有四个中空延伸部/突出部，并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有六个中空延伸部/突出部。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有48个以栅格布置的中空延伸部/突出部，所述栅格沿着矩形顶部表面的短边缘具有六个中空延伸部/突出部，并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有八个中空延伸部/突出部。在一个实例中，每个插入件部件或部分具有96个以栅格布置的中空延伸部/突出部，其中沿着矩形顶部表面的短边缘具有八个中空延伸部/突出部，并且沿着矩形顶部表面的长边缘具有12个中空延伸部/突出部。

[0057] 部件部分/插入件的每个圆锥形突出部/延伸部可以包括在远离顶部表面的端部处的成角度的尖端。每个圆锥形突出部/延伸部的成角度的尖端可以包括一个或更多个孔洞或穿孔以及在成角度的尖端的外表面上一个或更多个脊状部。例如，中空延伸部/突出部可以在其末端处包括具有一个或更多个穿孔或孔洞的远侧尖端，并且远侧尖端还可以在其外表面上包括一个或更多个远离远侧尖端的主体延伸的脊状部。在一些实例中，中空延伸部不包括网格或纤维插入件（诸如筛网）或不由网格或纤维插入件（诸如筛网）制成。因此，例如，在一些实例中，孔洞/穿孔不由网格或纤维插入件（诸如筛网）形成（或不包括网格或纤维插入件（诸如筛网））。

[0058] 由孔洞/穿孔提供的开口可以被设定尺寸成允许裂解物（或其他液体）流过（例如进入）中空延伸部/突出部的内部中，同时防止颗粒进入中空延伸部/突出部的内部中的通过。相反，在多孔板的孔中的裂解物（或其他液体）中存在的颗粒或碎片（诸如滤纸或石蜡）保留在中空延伸部/突出部的外部上。在一些实例中，孔洞或穿孔基本上是圆形的、椭圆形的、三角形的、正方形的或矩形的。在一些实例中，孔洞/穿孔基本上是矩形的或纵向的，其中离顶部表面最远的端部是尖的，例如，孔洞/穿孔可以包括比更靠近顶部表面的短的端部和更远离顶部表面的尖的端部更长的两个平行侧面。在一些实例中，每个孔洞/穿孔具有约0.6mm至1mm的最小开口尺寸，诸如0.6mm至0.8mm、0.7mm至0.75mm的最小开口尺寸，诸如0.6mm、0.65mm、0.7mm、0.75mm或0.8mm的最小开口尺寸。在一个实例中，每个中空延伸部/突出部在其末端处包括具有至少两个孔洞/穿孔、至少三个孔洞/穿孔、至少四个孔洞/穿孔、至少五个孔洞/穿孔、至少10个孔洞/穿孔或者至少20个孔洞/穿孔，诸如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个孔洞/穿孔的远侧尖端。在一个实例中，每个中空延伸部/突出部的远侧尖端在其末端处包括孔洞/穿孔，并且可以包括在末端孔洞/穿孔上方的两个或更多个另外的孔洞/穿孔（例如，与

一个或更多个脊状部交替布置)。在一些实例中,中空圆锥形突出部的内径使得其可以容纳移液器吸头(或其他抽吸装置)。在一些实例中,成角度的尖端的一个或更多个孔洞/穿孔具有约0.6mm至0.8mm的开口尺寸。在一些实例中,成角度的尖端包括在远侧端部处的中央孔洞和从其对称地辐射的多个纵向孔洞,各个孔洞被成角度的尖端的一部分分隔开,并且其中成角度的尖端分隔开各个纵向孔洞的部分还包括在成角度的尖端的外表面上的脊状部。在一些实例中,中央孔洞具有约0.6mm-1mm的直径,并且纵向孔洞包括约0.6mm-1mm的最小开口尺寸。

[0059] 部件部分/插入件的每个圆锥形突出部/延伸部可以在其外表面上包括一个或更多个脊状部,诸如在成角度的尖端的外表面上。在一些实例中,一个或更多个脊状部不延伸超过远侧尖端到中空延伸部的主体上。在一些实例中,每个突出部/延伸部包括至少两个脊状部,诸如至少三个、至少四个或至少五个脊状部,诸如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个脊状部。远侧尖端的一个或更多个脊状部可以能够刺穿孔板的无菌密封件,或者扩展由移液器吸头形成的孔洞或穿孔。在一些实例中,成角度的尖端包括交替的脊状部和孔洞/穿孔。

[0060] 在一个实例中,多孔板插入件(或裂解物分离板适配器)包括三个相同的部件部分,其中每个部件部分包括平面矩形主体,该平面矩形主体具有32个以栅格图案从其突出的长形延伸部,其中每个长形延伸部的主轴线垂直于平面矩形主体。每个长形延伸部具有其中具有多于一个孔洞的圆形尖端,每个孔洞具有约0.6mm至0.8mm的最小开口尺寸,以及一个或更多个在圆形尖端的外表面上的成角度的棘状部。

[0061] 图1至图7示出了多孔板适配器或插入件的示例性单个部件部分及其部分。图1至图7中的每一个都是按比例示出的。图1示出了多孔板插入件的示例性单个部件100。在该图示的实例中,部件100可以是与96孔板一起使用的三个相同部件中的一个,每个单独的部件100包含32个突出部并覆盖96孔板的三分之一。然而,本领域技术人员将认识到,本文提供的特征可以适用于其他多孔板(诸如12孔板、24孔板、48孔板或384孔板),并且每个多孔板可以形成其他数量的部件部分。例如,被设计成用于与96孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个96孔板三个适配器,被设计成用于与6孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个6孔板一个适配器,被设计成用于与12孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个12孔板一个适配器,被设计成用于与24孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个24孔板一个适配器,被设计成用于与48孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个48孔板两个、三个或四个适配器,并且被设计成用于与384孔板一起使用的多孔板适配器或插入件可以包括每个96孔板12个适配器。

[0062] 如图1中所示出的,部件100包含顶部表面105。顶部表面105可以基本上是平面的并且很大程度上是矩形的。在一些实例中,顶部表面105是平坦的。在一个实例中,部件100具有两个短侧108,其具有宽度110,诸如约为至少约25mm、诸如约35.8mm的宽度,如图1中所示出的。在一个实例中,部件100具有两个长侧112,其具有长度115,诸如至少约75mm、诸如约85.5mm的长度115,如图1中所示出的。部件100具有高度125,诸如至少约30mm、诸如约33.718mm的高度125,如图1中所示出的。

[0063] 如图1中所示出的,从至少基本上平面的顶部表面105延伸的是多个长形延伸部或突出部120。每个突出部/延伸部120是中空的,并且包括内表面和外表面(参见图4),并且终

止于成角度的尖端或锥形的尖端130。突出部/延伸部120可以在这样的方向上远离至少基本上平面的顶部表面105延伸,所述方向使得它们的主轴线垂直于顶部表面105的平面。突出部/延伸部120可以具有在形状上与适配器所插入进的孔匹配的形状(诸如,可以是圆锥形的、圆形的、矩形的或正方形的),并且可以例如容纳移液器吸头或其他抽吸装置的至少一部分(诸如,150 μ l移液器吸头,诸如具有约65mm的长度,以及约0.4mm的内部尖端孔口(orifice))。每个单个部件100的突出部/延伸部120的数量可以变化,但是每个多孔板使用的所有单个部件100中的突出部/延伸部120的总数量与多孔板中孔的数量相同。因此,例如,如果三个单一部件100被用于单个96孔板,则每个单一部件100具有32个突出部/延伸部120。此外,突出部/延伸部120以与目标多孔板相同的格式布置成行和列。例如,96孔板具有8行和12列,并且因此单个的部件100被设计成使得当一起使用时(例如,每个96孔板3个部件100)得到单个的突出部/延伸部120的8行和12列的布置。

[0064] 突出部/延伸部120的细节在图2A和图2B中提供。示出并讨论了示例性的圆锥形突出部/延伸部120,但是可以使用其他形状。如图2A(多孔板插入件的示例性单个部件100的长侧112的侧视图200)和图2B(多孔板插入件的单个部件的短侧108的侧视图250)中所示出的,突出部/延伸部120具有从每个突出部/延伸部120的顶部表面105到尖端130的底部所测量的深度125。尖端130是突出部/延伸部120的远侧端部处的成角度的或锥形的末端区域,其与顶部表面间隔开突出部/延伸部120的中空轴的长度或深度125。深度125使得突出部/延伸部120搁置在孔板的每个孔内部,但是不完全延伸到孔板的孔的底部。在一个实例中,突出部/延伸部120的深度为至少约25mm,诸如如图1中所示出的约33.718mm。

[0065] 在图2A中示出了单独的部件100的侧视图250。顶部表面105可以包括两个侧裙板(side apron)205,所述两个侧裙板在突出部/延伸部120的尖端130的方向上垂直地延伸超过基本上平面的顶部表面105的周壁(perimeter wall)210。周壁210可以与一个或更多个另外的多孔板插入件部件部分100的周壁齐平地装配。侧裙板205可以被配置成搁置在顶部表面105的外部,以帮助对齐多孔板插入件部件部分100。在一些实例中,多孔板插入件部件部分100不包含侧裙板205。

[0066] 如图2A和图2B中所示出的,可以是基本上圆锥形的突出部/延伸部120包含孔洞或穿孔215、216,所述孔洞或穿孔215、216允许多孔板中的液体进入突出部/延伸部120的内部,其可以通过吸移来移出。在一个实例中,这样的孔洞是沿着每个突出部/延伸部120的长轴线垂直地延伸的纵向孔洞或开口215(坚硬的其他形状是可能的,诸如圆形、椭圆形、正方形或矩形)。在一些实例中,每个突出部/延伸部120具有1个、2个、3个、4个、5个、6个或更多个纵向孔洞。突出部/延伸部120包括在顶部表面105的相对的端部处的尖端130,尖端130可以包括一个或更多个末端孔洞/穿孔216(尽管示出了一个孔洞/穿孔216,但是可以存在更多个,诸如至少1个、至少2个或至少三个末端孔洞/穿孔216)。在一些实例中,孔洞或穿孔215、216具有至少约0.6mm、至少约0.7mm、至少约0.8mm、至少约0.9mm或至少约1mm的最小开口尺寸220,诸如约0.6mm、约0.7mm、约0.8mm、约0.9mm或约1mm。

[0067] 从图2A中示出的单独的部件100的长侧视图200中,可以看到孔洞/穿孔215的示例性的基本上圆锥形的形状,在顶部处具有朝向尖端130成角度的较宽开口。尖端130也可以是在大部分截头圆锥形突出部(largely frustoconical protrusion)的下部部分处的圆锥形的或圆形的圆锥形尖端。在图2A和图2B中示出的实例中,这些实例中示出的单独的部

件100的长侧112包含八列和四行的突出部120。如图2B中所示出的,在每个突出部/延伸部120上可看到两个纵向孔洞215的开口。在每个突出部/延伸部120上也可以存在一个或更多个末端孔洞/穿孔216。在一些实例中,圆形孔洞仅被包含在成角度的尖端130区域内,该区域比突出部120的主体更陡地变窄,并且不沿突出部纵向向上延伸。

[0068] 突出部/延伸部120还可以包括脊状部222,在图2A和图2B中示出的实例中,脊状部222位于突出部/延伸部120的尖端130处。孔洞还可以被定位在脊状部222周围、之间或之中。脊状部222可以远离基本上圆锥形的尖端130的中央轴线轴向地延伸。在一些实例中,尖端可以被钝化(诸如,圆形的、正方形的或平坦的)。脊状部可以被配置成刺穿孔板上的箔密封件。

[0069] 如图2B中所示出的,从短侧250的视图来看,在侧裙板205内可看见端口或孔洞225。端口225可以是圆形的孔洞或椭圆形的孔洞,可用于例如通过处理机器人来保持或处理孔板插入件的部件100。

[0070] 图3A和图3B分别示出了多孔板插入件的单个部件100的俯视图300和仰视图350。从俯视图300,可以看到32个突出部/延伸部120的每一个。每个突出部/延伸部120是中空的,以容纳移液器吸头或其他抽吸装置。在每个突出部/延伸部120的底部,可以存在孔洞/穿孔215、216。举例说明了具有四个周围孔洞/穿孔215的中央孔洞/穿孔216,但是其他布置是可能的(诸如具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个周围孔洞的中央孔洞/穿孔216)。孔洞/穿孔215、216可以是围绕中央轴线对称的。在一些实例中,存在中央孔洞216。在一些实例中,在每个突出部/延伸部120的尖端130处存在总共五个孔洞/穿孔215、216。孔洞/穿孔215、216的每一个也可以从图3B中示出的仰视图350中看到。在一些实例中,中央孔洞/穿孔216不存在,并且代替地包括闭合点(例如,尖锐点),例如以使得能够刺穿箔或其他覆盖物。

[0071] 图4示出了示例性的突出部/延伸部120的横截面400和特写。可以看到部件部分100的周壁210围绕至少基本上平面的顶部表面105,可以与外部突出部/延伸部120的外部邻接。在一些实例中,不存在凸起的周壁210,并且孔板插入件部件的周边与顶部表面105的其余部分处于同一平面。至少基本上平面的顶部表面105被每个突出部/延伸部120的中空入口打破。每个突出部/延伸部120包括外部406和内部405部件。每个突出部/延伸部120的内部空腔405被设定尺寸成在突出部/延伸部120内容纳移液器吸头(或其他抽吸装置)。在图4中示出的实例中,在横截面中,突出部/延伸部120包括纵向孔洞/穿孔215,所述纵向孔洞/穿孔215远离每个突出部/延伸部120的尖端130处的任选的中央孔洞/穿孔216辐射。在该实例中,纵向孔洞/穿孔215在尖端130处,而不是在突出部/延伸部120的主体中(例如,与图1至图3相反)。尖端130的外部包括一个或更多个脊状部222。在所示出的实例中,每个突出部/延伸部120包括四个脊状部222。但是其他布置是可能的,诸如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个单独的脊状部222。脊状部可以沿着突出部/延伸部120的长度向上延伸,从中央孔洞向外辐射。在一些实例中,尖端130包括交替的脊状部222和孔洞/穿孔215。

[0072] 图5示出了突出部/延伸部120的尖端130的特写视图500,其中可以更详细地看到脊状部222。在图5中示出的实例中,孔洞/穿孔215被示出为远离沿着突出部/延伸部120延伸的任选的中央孔洞/穿孔216朝向插入件的平面的顶部表面105辐射。在一些实例中,任选

的中央孔洞/穿孔216是圆形的。在一些实例中,孔洞/穿孔215是纵向的。在一些实例中,任选的中央孔洞/穿孔216和孔洞/穿孔215具有至少0.6mm的直径,诸如至少0.7mm、至少0.8mm、至少0.9mm或至少1mm的直径,诸如约0.6mm,诸如约0.7mm、约0.8mm、约0.9mm或约1mm的直径。孔洞/穿孔215可以被限制在尖端区域130或者沿着突出部/延伸部120延伸任何长度。脊状部222还远离任选的一个或更多个中央孔洞或开口216(其可以是圆形的)径向地延伸。脊状部被示出为散布在纵向孔洞215之中。脊状部222可以是刀片形的,作为成角度的棘状部远离尖端130的表面延伸。在一些实例中,脊状部222装配在纵向孔洞215之间。在横截面中,脊状部222可以是具有90度的角度的三角形的。

[0073] 脊状部222可以有助于孔板的先前刺穿的密封箔顶部的刺穿或撕裂。以密封箔顶部的最小阻力容易地插入孔板插入件使孔板的孔的液体内容物的飞溅最小化。飞溅可以导致减小的溶液体积、孔交叉污染或测定组分的污染。

[0074] 图6A至图6C示出了在一个实例中一个或更多个单个部件100如何与多孔板一起使用。示出了具有96孔板的三个单独的单个部件100的使用。图6A示出了具有箔覆盖物或密封件600的多孔板,该箔覆盖物或密封件600已经被穿孔(例如用移液器头)。图6B示出了嵌套在96孔板的孔的三分之一(例如32个孔)内的多孔板插入件的单个部件100。图6C示出了并排装配以占据96孔板600的每个孔的三个单独的单个部件100。图7示出了移液器吸头700可以被插入到多孔板插入件100的单个部件100的突出部/延伸部120中。

[0075] 多孔板插入件的单个部件可以使用三维(3D)打印机、注射模具或两者来制造。在一些实例中,多孔板插入件使用3D打印机或注射模具制造,而没有端口/孔洞225、孔洞/穿孔215和/或任选的中央孔洞/穿孔216,但是替代地,随后添加这样的开口。

[0076] 多孔板插入件的单个部件可以由聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯或它们的混合物组成。在一个实例中,多孔板插入件的单个部件由有机聚合物组成。示例性的材料包括但不限于:聚丙烯、聚乙烯、聚丁烯、聚异丁烯、聚丁二烯、聚异戊二烯、聚乙烯吡咯烷、聚四氟乙烯、聚偏二氟乙烯、聚氟乙烯-丙烯、聚乙烯乙醇、聚甲基戊烯、聚三氟氯乙烯、聚砜、羟基化双轴取向聚丙烯、胺化双轴取向聚丙烯、硫醇化双轴取向聚丙烯、乙烯丙烯酸(ethylene acrylic acid)、乙烯甲基丙烯酸(thylene methacrylic acid)及其共聚物的混合物。在一个实例中,多孔板插入件的单个部件由具有低核酸结合性质的材料组成。

[0077] 还提供了包括一个或更多个多孔插入件(或其部件部分)的套盒(kit)。在一些实例中,这样的套盒还包括多孔板。因此,在一些实例中,套盒包括被设计成用于与96孔板一起使用的多孔板适配器(诸如三个适配器)和96孔板。其他套盒可以包括特定数量的多孔板适配器以及它们对应的多孔板,诸如1个适配器伴随一个6孔板、1个适配器伴随一个12孔板、1个或2个适配器伴随一个24孔板、1个、2个或3个适配器伴随一个48孔板、或者12个适配器伴随一个384孔板。在一些实例中,这样的套盒还包括移液器吸头。在一些实例中,这样的套盒还包括缓冲液,以提取核酸分子,例如从DBS样品或FFPE样品中提取核酸分子。在一些实例中,这样的套盒还包括裂解缓冲液,诸如包括洗涤剂的缓冲液。

[0078] 使用的方法

[0079] 本文还提供了在例如包括获得或收集液体的方法中使用所公开的多孔板插入件的方法,所述液体诸如含有一种或更多种目标生物分子(诸如核酸分子或蛋白质)的裂解物。例如,该方法可以包括将一个或更多个所公开的多孔板插入件添加在或放置在含有裂

解物(诸如由DBS样品或FFPE样品产生的裂解物)的多孔板的顶部上,使得多孔板插入件的延伸部/突出部被引入到多孔板的孔中。在一些实例中,这是手动完成的,并且在其他实例中,这是自动完成的。在一些实例中,一个或更多个所公开的多孔板插入件锁定在多孔板上。然而,在一些实例中,一个或更多个所公开的多孔板插入件简单地置于多孔板的顶部上。这允许多孔板的孔中的液体(例如裂解物)而不是碎片经由孔洞/穿孔流入到延伸部或突出部中。然后,该方法可以包括将移液器吸头引入到每个延伸部/突出部中,每个延伸部/突出部现在包含存在于孔中的液体,以允许收集液体(例如裂解物),而不收集碎片。因此,该方法可以包括移出或收集液体(例如裂解物),而不收集碎片。在一些实例中,在将一个或更多个所公开的多孔板插入件引入到多孔板中之后收集的液体的体积为至少50 μ L、至少100 μ L、至少150 μ L、至少200 μ L、至少300 μ L、至少500 μ L、至少600 μ L,诸如约150 μ L、约300 μ L或约600 μ L。

[0080] 所公开的多孔板插入件被插入到多孔板中,使得多孔板的每个孔在其中包括一个延伸部/突出部。

[0081] 在一些实例中,在将一个或更多个所公开的多孔板插入件添加在或放置在含有液体(例如裂解物)的多孔板的顶部上之前,例如,如果多孔板包括可刺穿的覆盖物(诸如箔),则该方法可以包括例如用移液器吸头刺穿覆盖物,这在覆盖物中引入孔洞,允许接近孔的内容物。然后,所引入的孔洞可以用作用于多孔板插入件的延伸部/突出部的入口点。延伸部/突出部上的脊状部可以有助于此。

[0082] 在一些实例中,在将一个或更多个所公开的多孔板插入件添加在或放置在含有液体(例如裂解物)的多孔板的顶部上之前,加工孔中的样品(例如DBS、组织样品、FFPE样品)。例如,可以裂解(例如,用热,诸如至少约40 $^{\circ}$ C、至少约50 $^{\circ}$ C、至少约60 $^{\circ}$ C、至少约70 $^{\circ}$ C、至少约65 $^{\circ}$ C、至少约70 $^{\circ}$ C、至少约80 $^{\circ}$ C或至少约90 $^{\circ}$ C,和/或洗涤剂)细胞、降解不期望的分子(例如,用蛋白酶或核酸酶)、处理目标分子(例如,核酸分子可以例如用PCR扩增),或它们的组合。在一些实例中,在将一个或更多个所公开的多孔板插入件添加在或放置在含有液体(例如裂解物)的多孔板的顶部上之前,例如,如果多孔板包括可刺穿的覆盖物(诸如箔),则该方法可以包括例如用移液器吸头刺穿覆盖物,这在覆盖物中引入孔洞,允许接近孔的内容物。然后,所引入的孔洞可以被作用于多孔板插入件的延伸部/突出部的入口点。延伸部/突出部上的脊状部可以有助于此。

[0083] 在一些实例中,多孔板在每个孔中包括固体支撑物,诸如疏松(bulk)材料,诸如纸(诸如滤纸)、膜、多孔材料、水不混溶的凝胶、水不混溶的离子液体、水不混溶的聚合物(诸如有机聚合物)等。例如,孔可以包含膜,诸如硝化纤维素。在具体实例中,固体支撑物是FTA[®]卡。

[0084] 在一些实例中,多孔板在孔中包括DBS。例如,含有血液样品的FTA[™]卡可以使用Hamilton EasyPunch STARlet系统被引入到96孔板中。在一个实例中,孔包括滤纸盘(诸如来自Whatman[™] FTA[™]卡),其包含来自受试者的干燥的血液样品。在一些实例中,包含血液样品的支撑物的直径为约3mm。

[0085] 在一些实例中,多孔板包括含有DNA文库的裂解物。

[0086] 在一些实例中,多孔板在孔中包括FFPE样品。例如,FFPE组织样品,诸如含有组织的FFPE切片或螺旋状物(curl),可以在多孔板中。在一些实例中,多孔板包括新鲜组织,或者从载玻片获得的组织(例如,组织刮片(tissue scrape))。该组织可以是任何感兴趣的组

织,诸如来自皮肤、结肠、肺、肝、肾、胰腺、CNS、大脑、肌肉、乳房、前列腺、子宫、子宫颈、卵巢等的组织。在一个实例中,组织是肿瘤样品(诸如液体瘤或实体瘤样品)。可以作为用于用所公开的插入件分析的材料源的示例性肿瘤(诸如癌症)包括实体瘤,诸如乳腺癌(例如小叶癌和导管癌)、肉瘤、肺癌(例如非小细胞癌、大细胞癌、鳞状细胞癌和腺癌)、肺间皮瘤、结肠直肠癌、胃癌、前列腺腺癌、卵巢癌(诸如浆液性囊腺癌和粘液性囊腺癌)、卵巢生殖细胞瘤、睾丸癌和生殖细胞瘤、胰腺癌、胆管腺癌、肝细胞癌、膀胱癌(包括例如过渡细胞癌、腺癌和鳞状细胞癌)、肾细胞腺癌、子宫内膜癌(包括例如腺癌和混合型苗勒管瘤(mixed Mullerian tumors)(癌肉瘤))、子宫颈内癌、子宫颈外癌和阴道癌(诸如其每一个的腺癌和鳞状细胞癌)、皮肤肿瘤(例如鳞状细胞癌、基底细胞癌、恶性黑色素瘤、皮肤附件肿瘤、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、皮肤淋巴瘤、皮肤附件肿瘤和各种类型的肉瘤和默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma))、食管癌、鼻咽癌和口咽癌(包括其鳞状细胞癌和腺癌)、唾液腺癌、大脑和中枢神经系统肿瘤(brain and central nervous system tumors)(包括例如神经胶质、神经元和脑膜源性肿瘤)、周围神经肿瘤、软组织肉瘤和骨及软骨肉瘤、以及淋巴瘤(包括B细胞恶性淋巴瘤和T细胞恶性淋巴瘤)。在一个实例中,肿瘤是腺癌。可以作为用于用所公开的插入件分析的材料源的示例性肿瘤(诸如癌症)包括液体瘤,诸如淋巴、白血细胞或其他类型的白血病。在具体实例中,所治疗的肿瘤是血液肿瘤,诸如白血病(例如急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性髓细胞白血病(AML)、慢性髓细胞白血病(CML)、毛细胞白血病(HCL)、T细胞前淋巴细胞白血病(T-PLL)、大颗粒淋巴细胞白血病和成人T细胞白血病)、淋巴瘤(诸如霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤)。

[0087] 在一些实例中,多孔板包括固体支撑物(诸如纸或硝化纤维素),其包含来自非人类来源的样品,诸如孔中的环境样品(例如水、空气或土壤样品)。例如,可以分析这样的来源中目标病原体(诸如病毒、细菌、寄生虫或真菌)的存在。在一些实例中,包含样品的支撑物的直径为约3mm。

[0088] 孔还可以包括液体,诸如允许细胞的裂解、目标分子(诸如目标蛋白质或核酸分子,诸如DNA、RNA或抗体)的提取或分离的缓冲液等。在一个实例中,孔中的液体包含可以被测序的核酸分子(诸如测序文库),例如使用下一代序列(NGS)被测序。在一些实例中,液体包括蛋白酶K或其他酶以降解不期望的蛋白质。

[0089] 在一些实例中,该方法是多重的。例如,多孔板的每个孔可以包含来自不同患者(或来源)的样品、来自相同患者(或来源)的不同样品或其组合。

[0090] 实施例1

[0091] DNA的提取

[0092] 本实例描述了用于使用如本文所描述的孔板插入件从血液样品中提取DNA的方法。

[0093] 如图8A中所示出的,分析样品(12个DBS,12个液体血液)。对于每个DBS样品,在多孔板的每个孔中存在五个穿孔物。液体血液在多孔板的每个孔中包括12 μ L的血液。将12个DBS和12个血液样品以一式四份交织布置在孔板各处。使用标准的DNA提取方案,其中裂解、裂解物回收和固相可逆固定化(Solid Phase Reversible Immobilization)(SPRI)清洁步骤被自动化。简言之,向每个孔中添加裂解缓冲液。在裂解后,将插入件引入到多孔板中,并且移出裂解物并分析DNA收率。确定从每个孔获得的DNA的量。

[0094] 多孔板插入件成功地将DBS的固体碎片和由制备液体血液样品产生的碎片与用于溶液抽吸的液体处理机器人的移液器吸头分离。如表1 (和图8B至图8C) 中所示出的, 使用机器人样品处理的DNA提取测定包含来自孔板内的液体血液和DBS两者的相似的DNA量。完成这项测定需要约2小时40分钟。

[0095] 表1 DNA收率

[0096]

样品号	供体ID	类型	量子位HS ng/ul	ng
1	CS658	DBS	6.269	313.45
2	CS658	血液	2.3	115
3	CS658	血液	2.7	135
4	CS658	DBS	6.44	322
5	CS658	DBS	7.2	360
6	CS658	血液	2.62	131
7	CS658	血液	2.8	140
8	CS658	DBS	6.88	344
9	CS658	DBS	7.16	358
10	CS658	血液	2.58	129
11	CS658	血液	6.86	343
12	CS658	DBS	7.16	358
13	CS658	DBS	7.36	368
14	CS658	血液	2.64	132
15	CS658	血液	3.04	152
16	CS658	DBS	6.54	327
17	CS658	DBS	7.28	364
18	CS658	血液	6.16	308
19	CS658	血液	6.2	310
20	CS658	DBS	6.94	347
21	CS658	DBS	6.56	328
22	CS658	血液	7.46	373
23	CS658	血液	5.56	278
24	CS658	DBS	6.1	305

[0097] 在第二个实验中, 如图9A中所示出的, 分析样品 (4个DBS, 4个液体血液)。对于每个DBS样品, 在多孔板的每个孔中存在五个穿孔物。液体血液在多孔板的每个孔中包括12uL的血液。将4个DBS和4个血液样品以一式四份交织布置在孔板各处 (图9A)。使用标准的DNA提取方案, 其中裂解、裂解物回收和固相可逆固定化 (Solid Phase Reversible Immobilization) (SPRI) 清洁步骤被自动化。简言之, 用移液器吸头刺穿多孔板上的箔, 并且向每个孔中添加200uL的裂解缓冲液。在裂解后, 将插入件引入到多孔板中, 并且移出裂解物并分析DNA收率。使用量子位定量法 (Qubit quantitation) 来确定从每个孔获得的DNA的量。

[0098] 多孔板插入件成功地将DBS的固体碎片和由制备液体血液样品产生的碎片与用于

溶液抽吸的液体处理机器人的移液器吸头分离。如图9B中所示出的,使用机器人样品处理的DNA提取测定包含来自孔板内的液体血液和DBS两者的相似的DNA量。

[0099] 应该认识到,前述概念的所有组合(假设这样的概念不相互矛盾)都被预期为本文公开的发明主题的一部分。特别是,出现在本公开内容的末尾处的所要求保护的主题的所有组合都被预期为本文公开的发明主题的一部分。

[0100] 鉴于可以应用本公开内容的原理的很多可能的实例,应该认识到,所图示的实例仅仅是本公开内容的实例,并且不应被认为是限制本发明的范围。相反,本发明的范围由所附的权利要求界定。因此,我们要求所有在这些权利要求的范围和精神内的内容作为我们的发明。

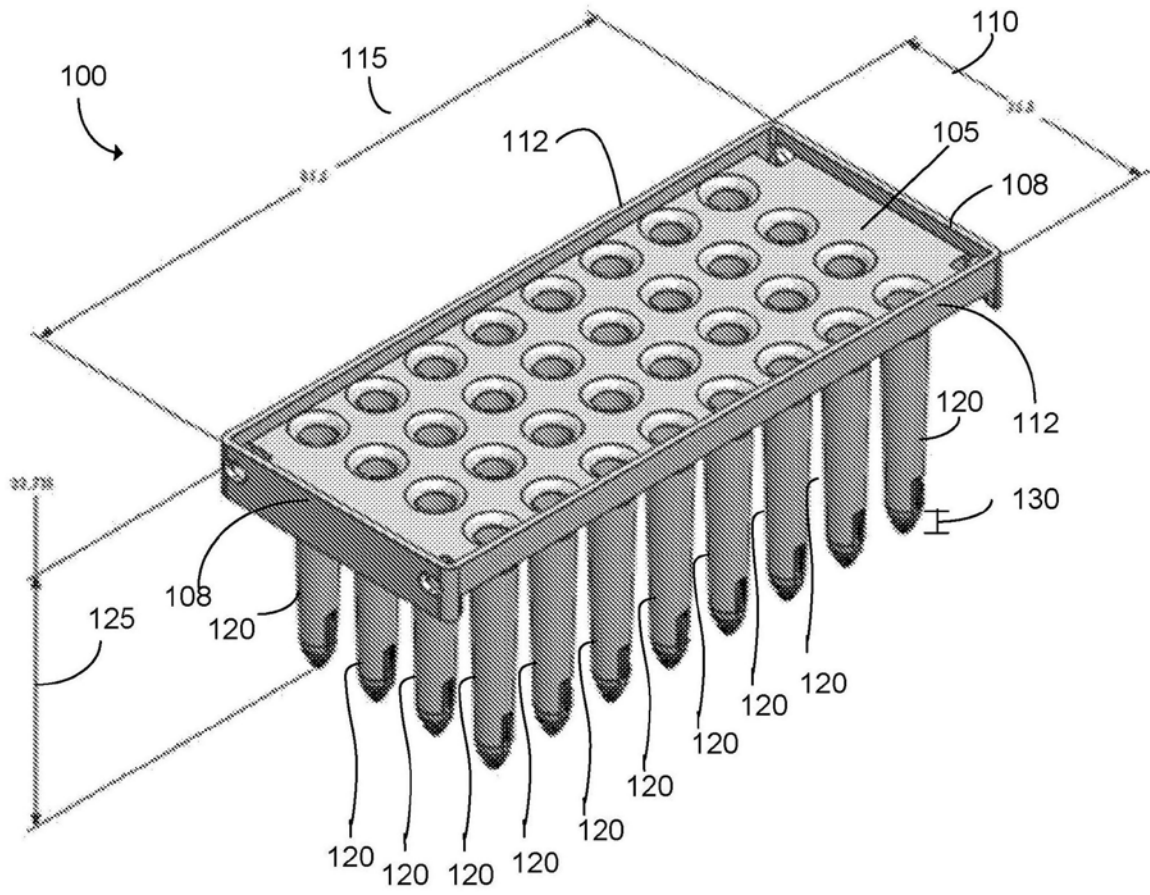


图1

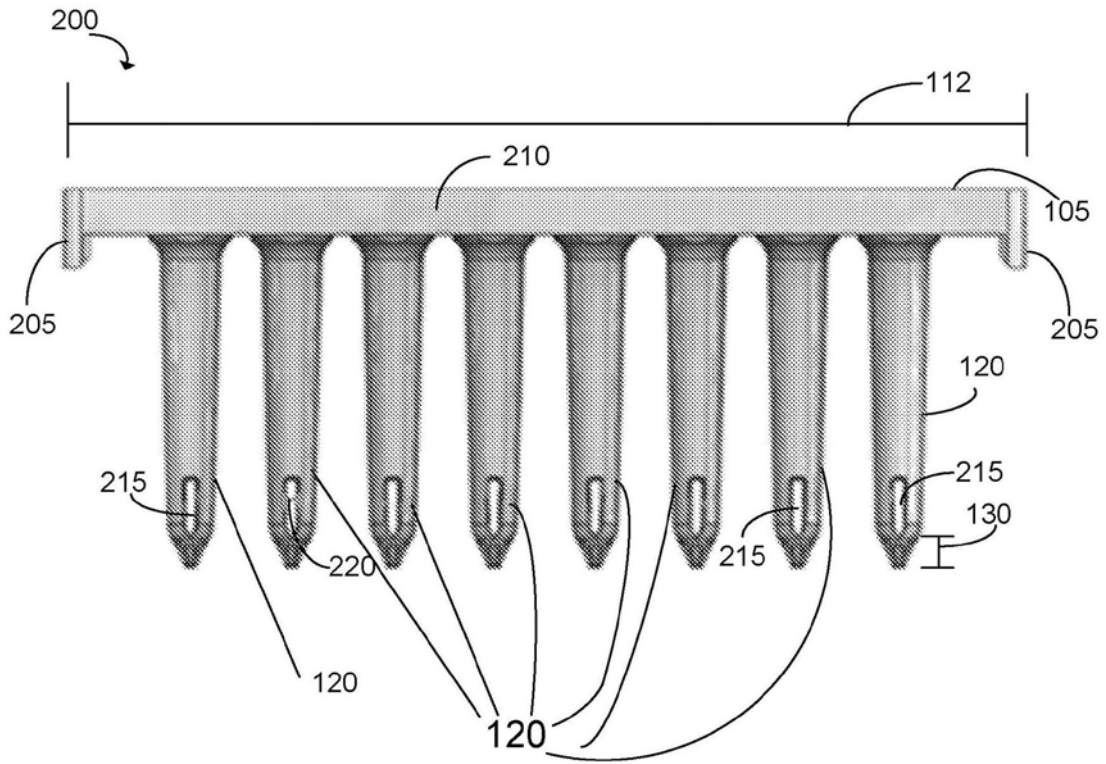


图2A

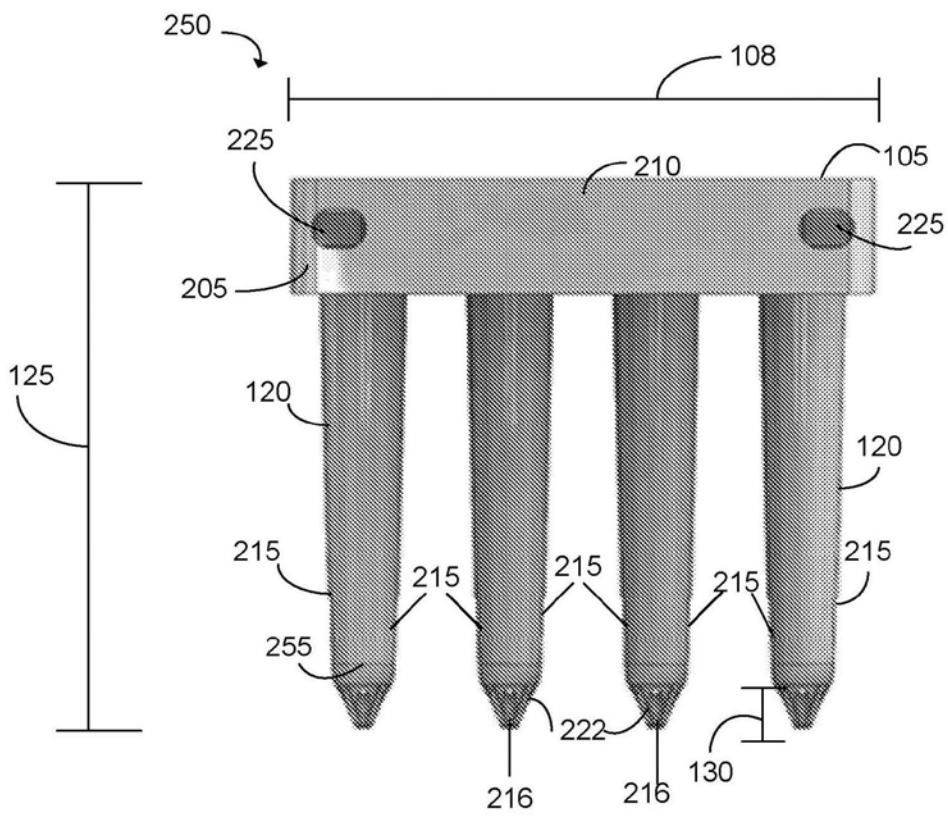


图2B

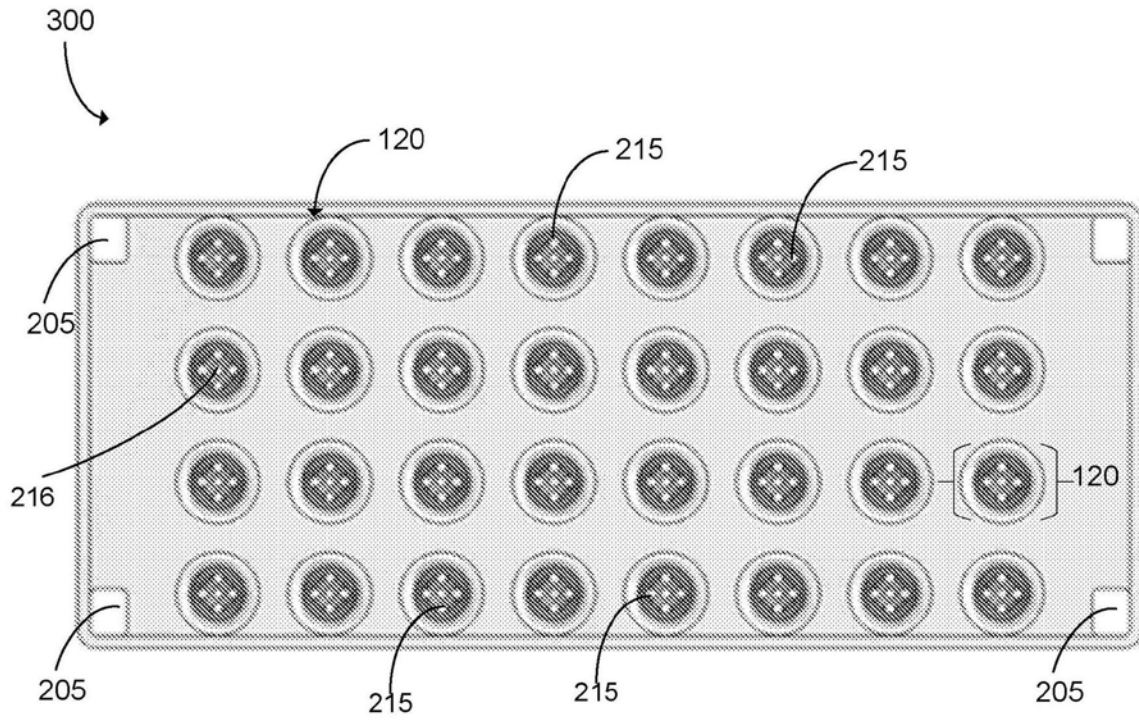


图3A

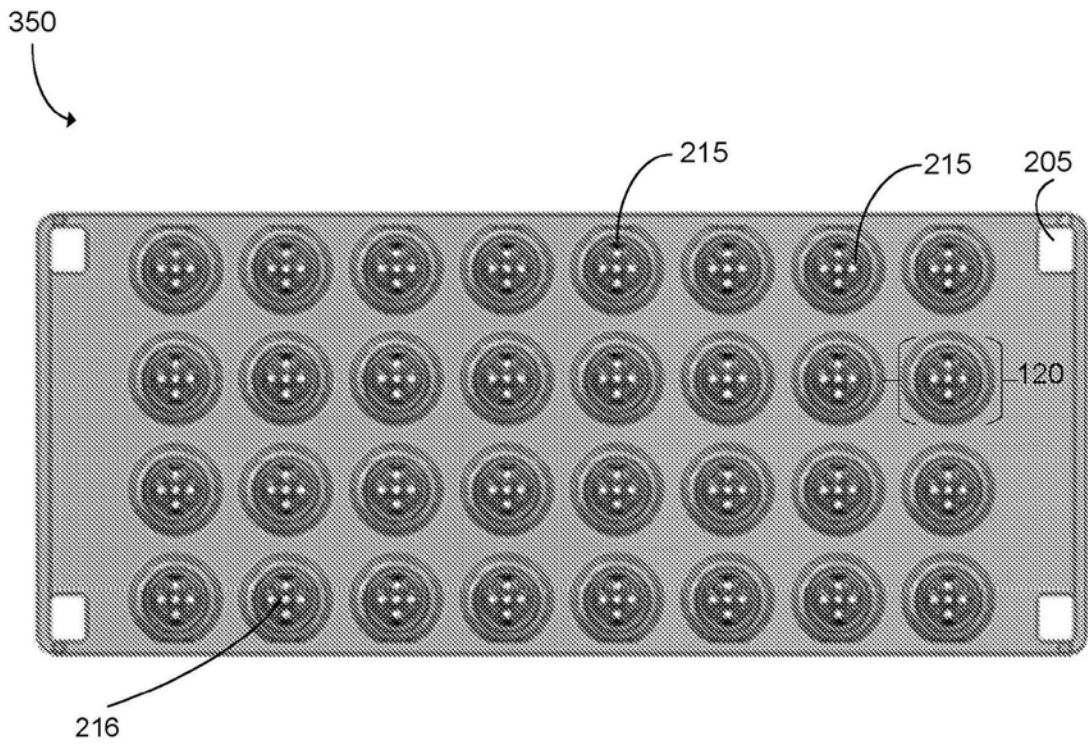


图3B

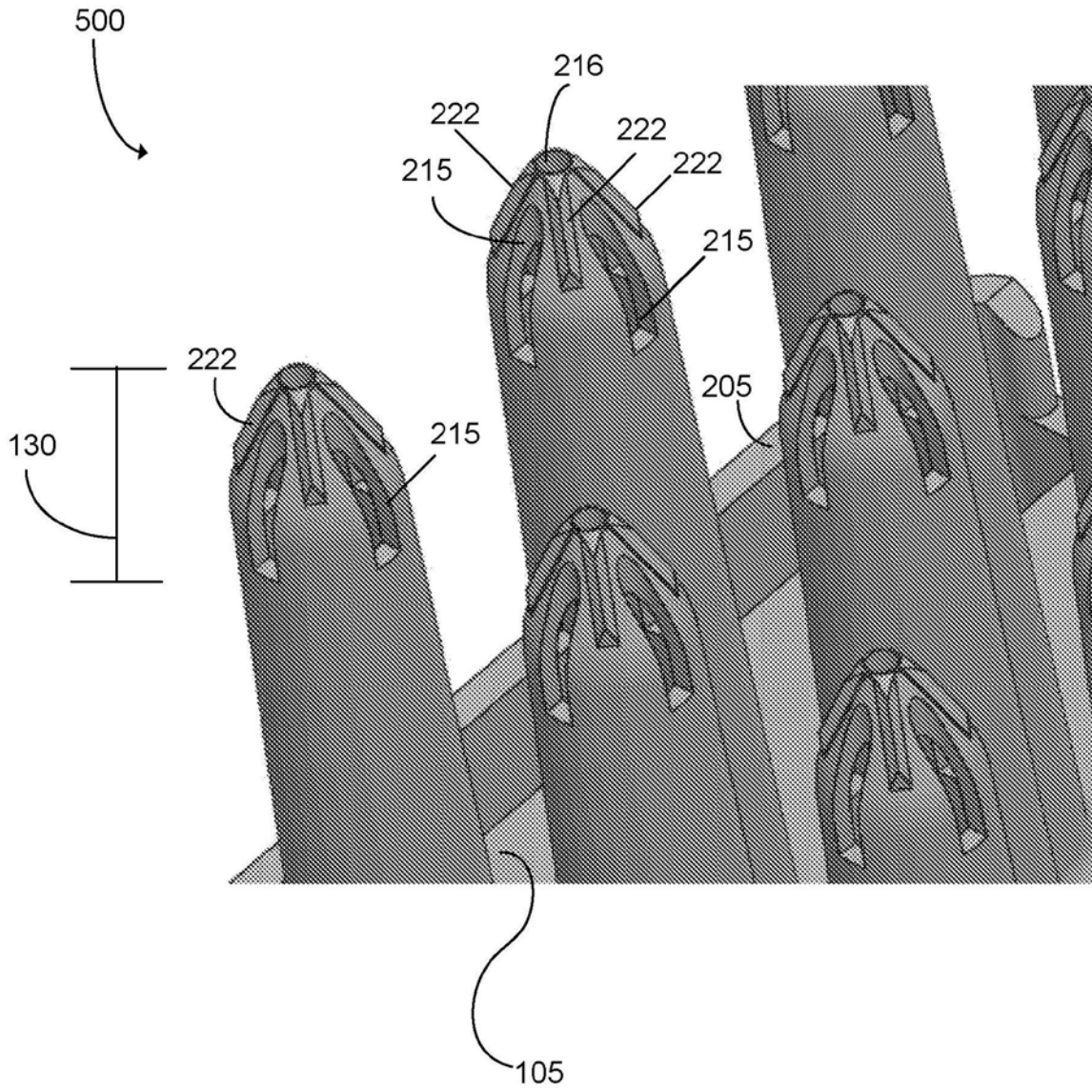


图5

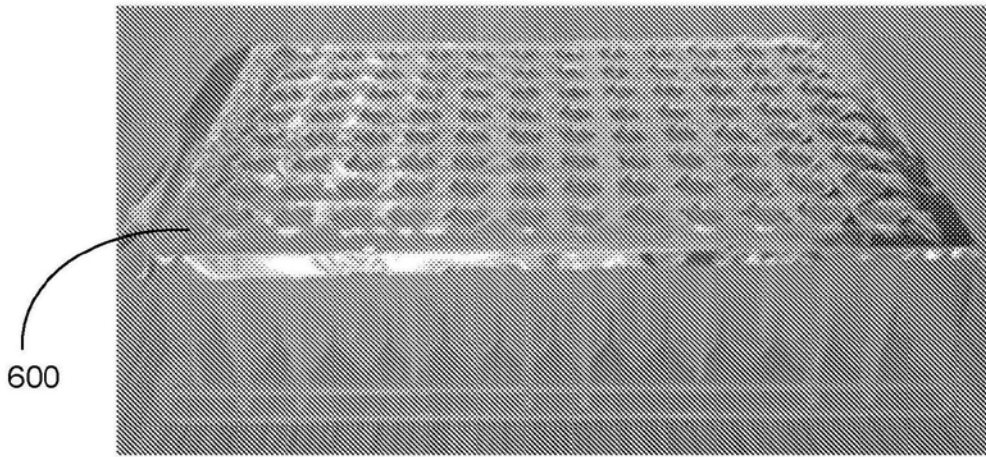


图6A

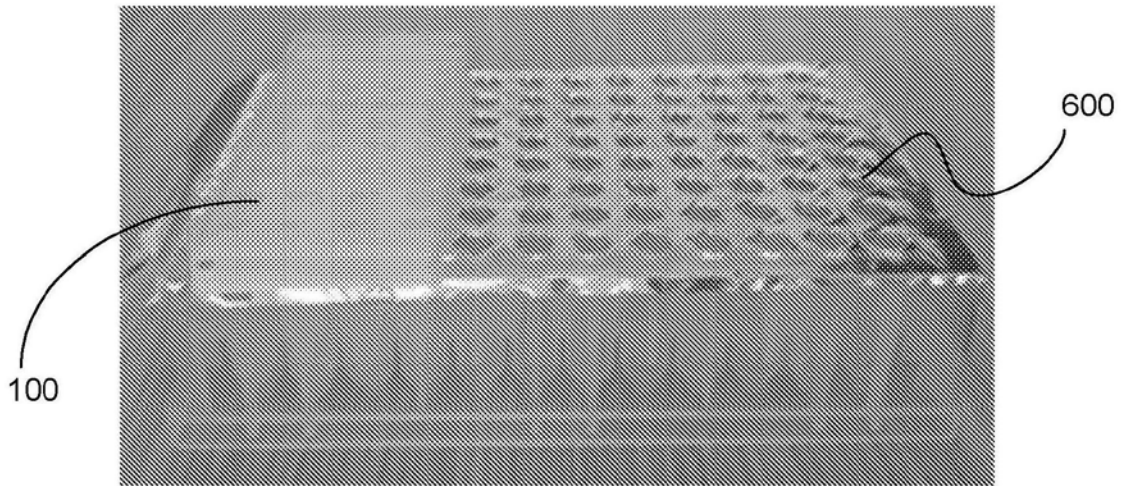


图6B

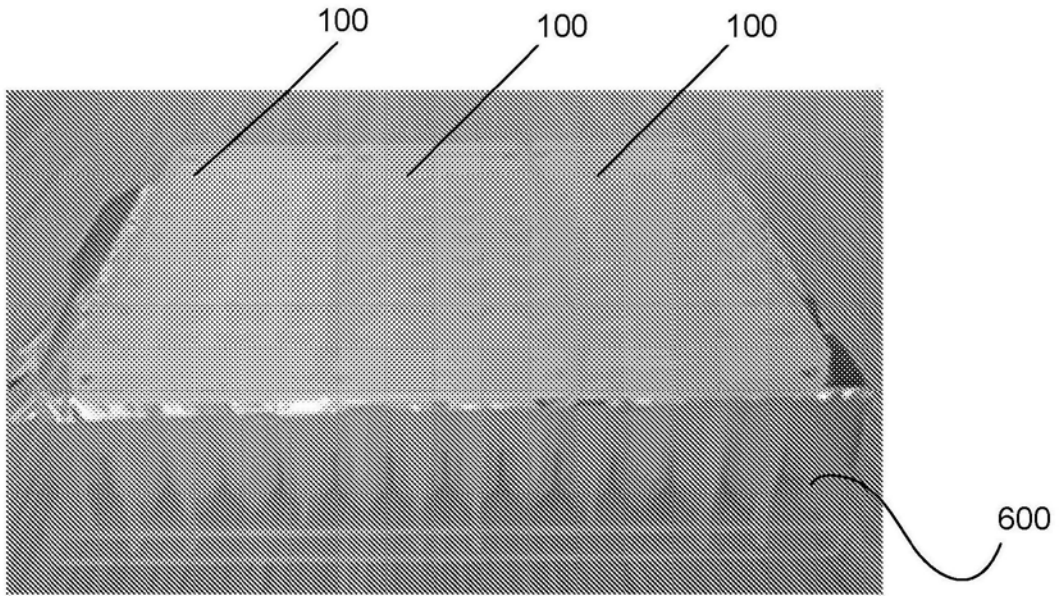


图6C

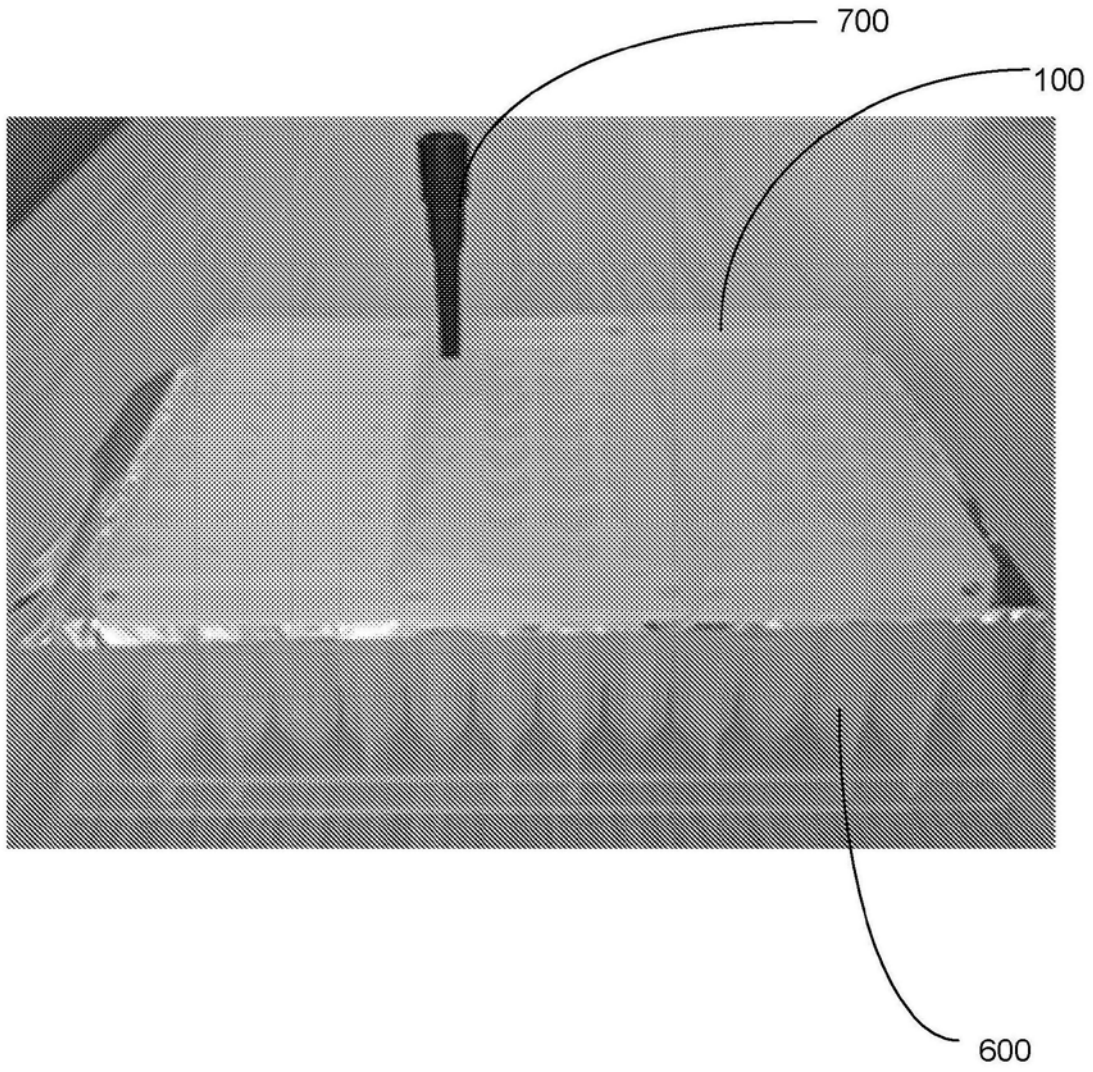


图7

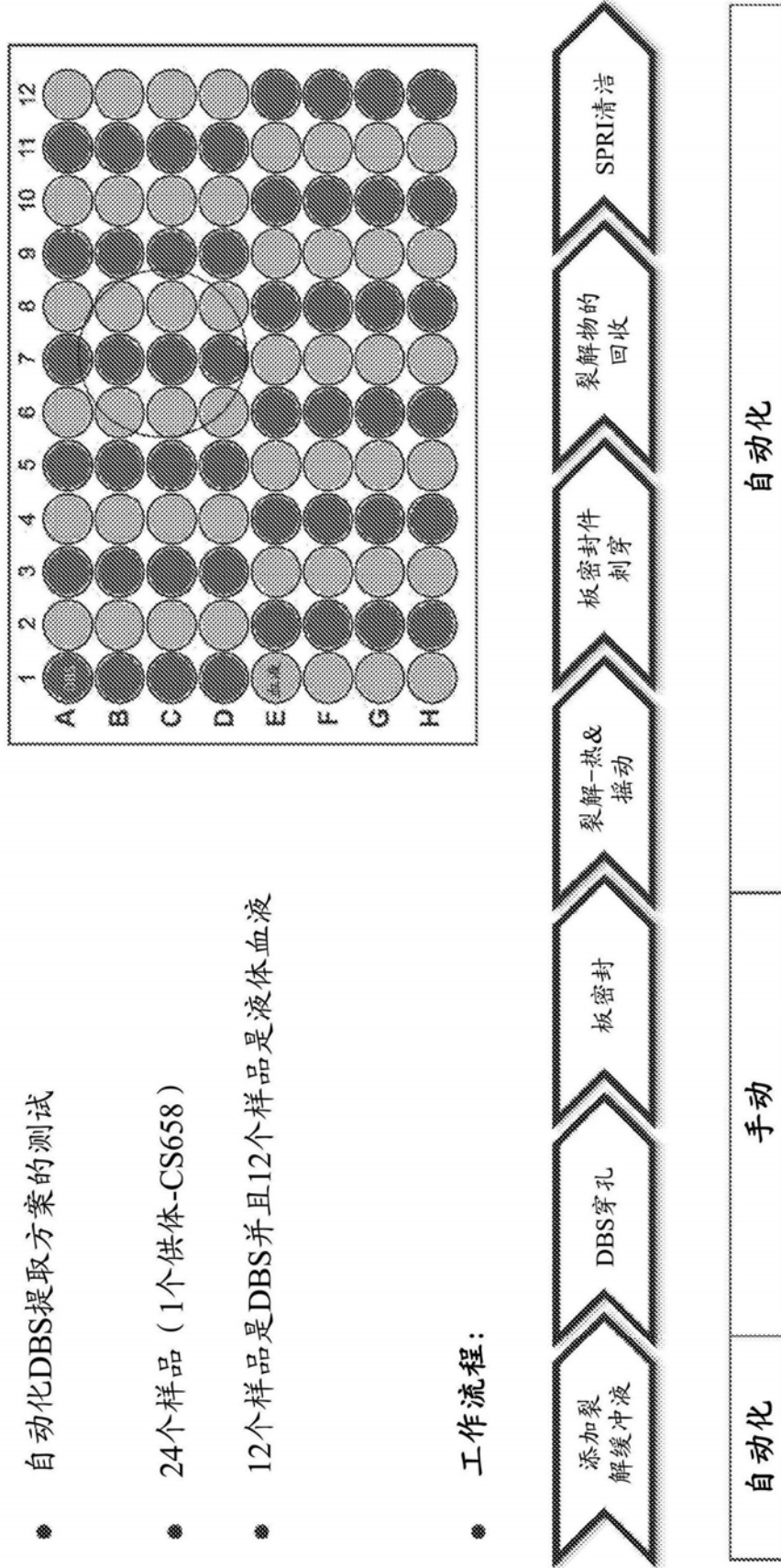


图8A

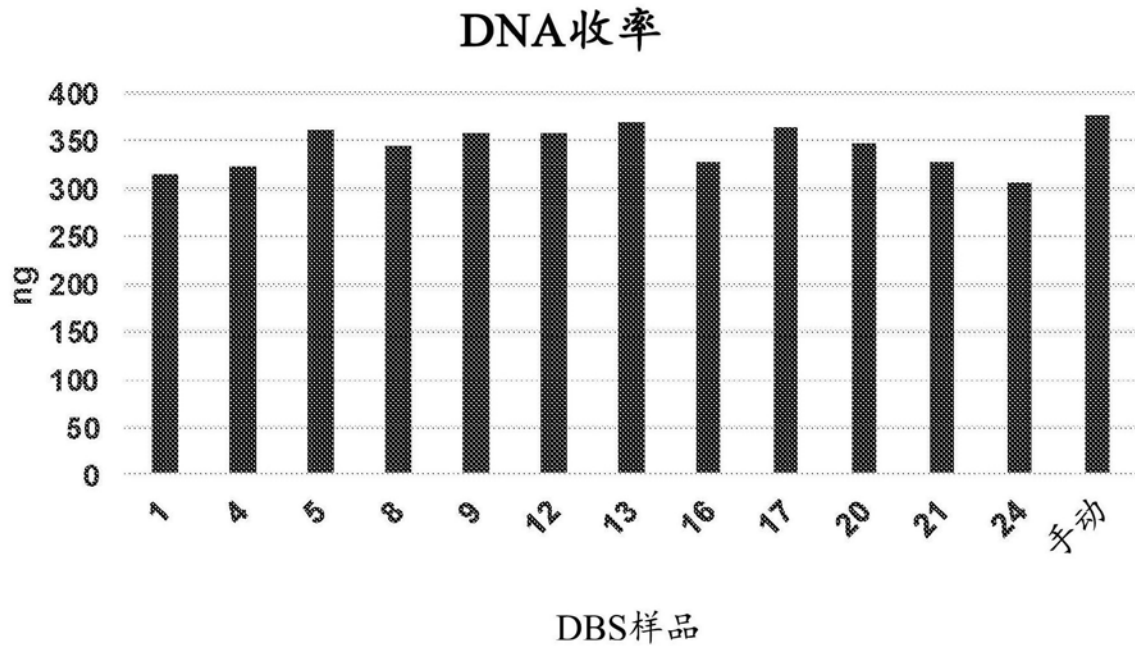


图8B

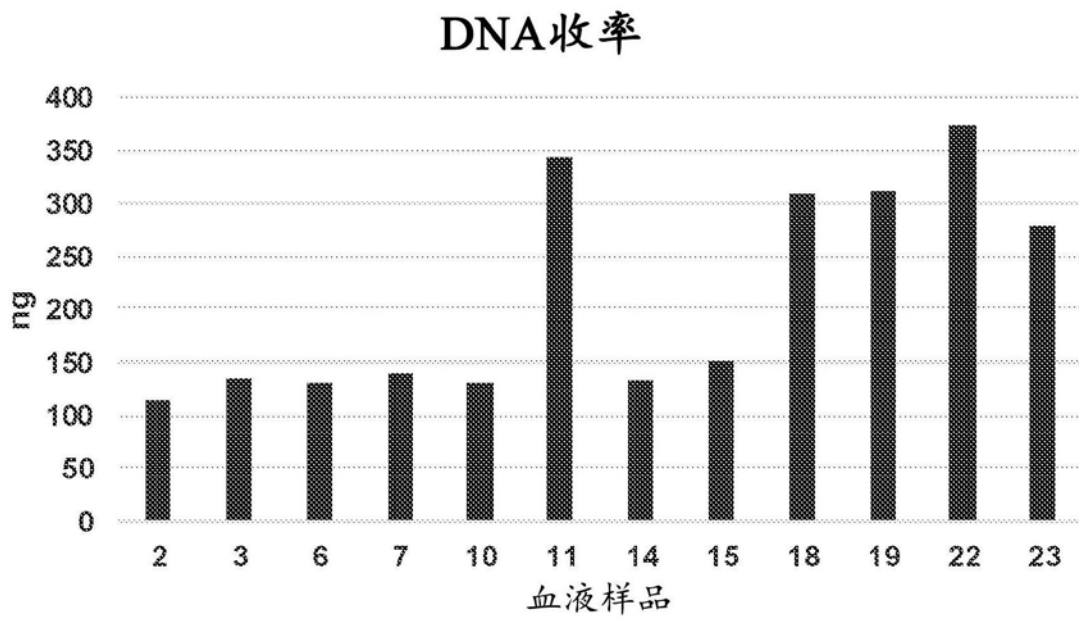


图8C

- 自动化DBS提取方案的测试
- 进行一些小的改变以解决第一次运行时看到的移液问题
- 测试以观察之前的低收率是否仅是样品或者方法是否是一个因素
- 8个样品（1个供体-CS653）
- 4个样品是DBS并且4个样品是液体血液
- 工作流程：

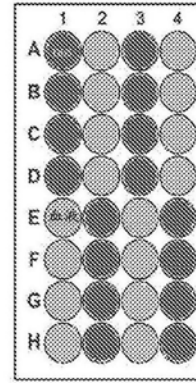


图9A

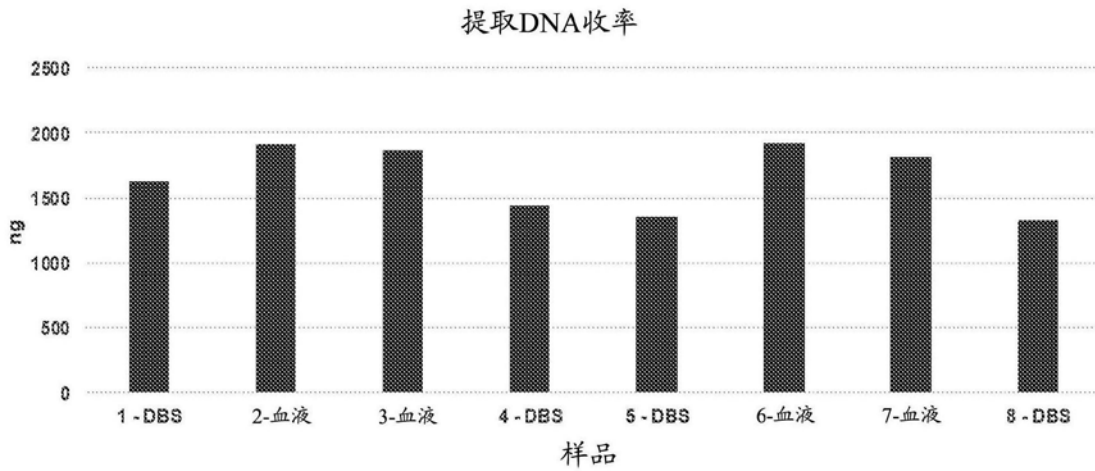


图9B

专利名称(译)	多孔板适配器		
公开(公告)号	CN111094533A	公开(公告)日	2020-05-01
申请号	CN201880044342.X	申请日	2018-10-31
[标]申请(专利权)人(译)	亿明达股份有限公司 伊卢米纳剑桥有限公司		
申请(专利权)人(译)	伊鲁米那股份有限公司 伊鲁米纳剑桥有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	伊鲁米那股份有限公司 伊鲁米纳剑桥有限公司		
发明人	安德鲁·乔德 丹尼尔·L·弗勒 保罗·克里韦利		
IPC分类号	C12M1/12 B01L3/00 G01N33/53		
CPC分类号	B01L3/50255 B01L3/50853 B01L2200/0631 B01L2300/0672 B01L2300/0829 C12M23/12 C12M23/38 C12M25/04 C12M1/12 B01L3/5085 B01L3/56		
代理人(译)	李慧慧 郑霞		
优先权	62/581066 2017-11-03 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

公开了多孔板插入件，该多孔板插入件可以用于从含有目标生物分子诸如核酸分子和蛋白质的液体中分离固体碎片，包括含有血液样品的纸穿孔物。还提供了使用该插入件的方法，例如作为分析目标生物分子的方法的一部分。

