



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104965071 A

(43) 申请公布日 2015. 10. 07

(21) 申请号 201510105679. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2015. 03. 11

G01N 33/53(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/951135 2014. 03. 11 US

62/039082 2014. 08. 19 US

(71) 申请人 EMD 密理博公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 C. 斯科特 P. 塞德洛夫斯基

J. 多伊尔 R. 阿马拉 L. 克拉迪

S. 古铁雷斯 M. 埃默里克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 严志军 傅永霄

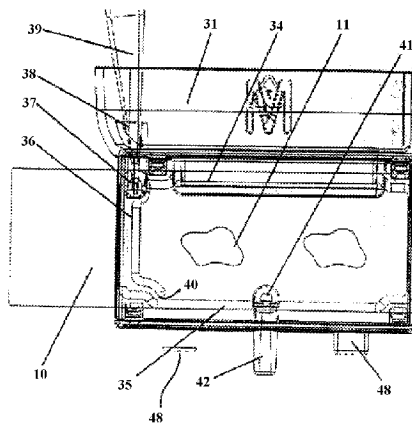
权利要求书2页 说明书8页 附图13页

(54) 发明名称

IHC、组织载片流体交换可置换件和系统

(57) 摘要

一种用于免疫组织化学的设备和方法,包括载片保持器组件夹具、载片保持器、载片保持器框架和载片保持器框架组件,该载片保持器框架组件适于放置成与驱动力连通,以将流体抽吸通过载片保持器。载片保持器可包括注射端口,该注射端口允许一致地输送和回收流体,同时最小化气泡引入。载片保持器可包括:储存器,其允许填充、浸泡、漂洗、冲洗组织、用抗体均匀地覆盖组织,以及减少处理时间、空间和误差;以及一个或多个样本腔室。载片在载片保持器中的定向允许目测标签信息和组织,以确认充分的抗体覆盖。多端口框架允许同时执行多次化验,并且能够从真空歧管移除,并且允许从真空歧管容易地传送到孵化箱/冰箱以及传送回来。



1. 一种样本保持器,包括:
与样本腔室连通的流体储存器;
经由流体通道与所述样本腔室流体连通的第一端口;
与所述样本腔室流体连通的第二端口;以及
构造成接收样本衬底的多个间隔开的夹子,其中,当所述样本衬底接合在所述样本保持器中时,由所述样本衬底支承的样本在所述样本腔室中。
2. 根据权利要求1所述的样本保持器,其特征在于,所述流体通道由垫圈限定。
3. 根据权利要求1所述的样本保持器,其特征在于,所述第一端口构造成接收吸管。
4. 根据权利要求1所述的样本保持器,其特征在于,所述样本衬底包括载片。
5. 根据权利要求1所述的样本保持器,其特征在于,所述第一端口是注射或回收端口,并且所述第二端口是排泄端口。
6. 一种将样本衬底附连于样本保持器的方法,其包括:
提供样本保持器,所述样本保持器具有与样本腔室连通的流体储存器、经由流体通道与所述样本腔室流体连通的第一端口、与所述样本腔室流体连通的第二端口,以及构造成接收样本衬底的多个间隔开的夹子;
提供样本衬底,所述样本衬底上具有样本;
提供样本衬底组件夹具,所述样本衬底组件夹具具有用于容纳所述样本衬底的一个或更多个周边壁;
将所述样本衬底接合在所述样本衬底组件夹具中;
接合所述样本衬底组件夹具,使得所述样本衬底上的所述样本定位在所述样本腔室中。
7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述样本衬底包括载片。
8. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述方法进一步包括在所述样本衬底组件夹具上提供液面指示器,以协助将所述样本置于所述样本衬底上。
9. 一种样本保持器框架,其包括表面,所述表面具有多个端口,各个端口构造成接收相应的样本保持器,所述相应的样本保持器具有样本腔室、与所述样本腔室连通的流体储存器、经由流体通道与所述样本腔室流体连通的第一端口,以及与所述样本腔室流体连通的第二端口;其中,当样本保持器定位在相应的端口中时,所述样本保持器的排泄物渗透到所述相应的端口中。
10. 根据权利要求9所述的样本保持器框架,其特征在于,阀与各个所述端口相关联。
11. 根据权利要求9所述的样本保持器框架,其特征在于,所述样本保持器包括样本衬底,并且其中,当所述样本保持器定位在端口中时,所述样本衬底的平面垂直于所述样本保持器框架的所述表面的平面。
12. 根据权利要求9所述的样本保持器框架,其特征在于,所述样本保持器框架进一步包括任务跟踪器。
13. 一种样本保持器,其包括:
与第一样本腔室和第二样本腔室连通的流体储存器;
经由第一流体通道与所述第一样本腔室流体连通的第一端口;
与所述第一样本腔室流体连通的第二端口;

经由第二流体通道与所述第二样本腔室流体连通的第三端口；

构造成接收第一样本衬底的第一多个间隔开的夹子,其中,当所述第一样本衬底接合在所述样本保持器中时,由所述第一样本衬底支承的样本在所述第一样本腔室中;以及

构造成接收第二样本衬底的第二多个间隔开的夹子,其中,当所述第二样本衬底接合在所述样本保持器中时,由所述第二样本衬底支承的样本在所述第二样本腔室中。

14. 根据权利要求 13 所述的样本保持器,其特征在于,所述第一流体通道由第一垫圈限定,并且所述第二流体通道由第二垫圈限定。

15. 根据权利要求 13 所述的样本保持器,其特征在于,所述第一端口构造成接收吸管。

16. 根据权利要求 13 所述的样本保持器,其特征在于,所述第一样本衬底和所述第二样本衬底均包括载片。

17. 根据权利要求 13 所述的样本保持器,其特征在于,所述第一端口是注射或回收端口,并且所述第二端口是排泄端口。

18. 一种流槽,其包括:铰接地连接于载片保持器部件的开放式顶部部件,所述开放式顶部部件在开启位置和闭合位置之间枢转,所述开启位置允许有将载片装到所述载片保持器部件中的通路;以及粘合剂,当所述载片定位在所述载片保持器部件上时,所述粘合剂将所述顶部部件密封于所述载片保持器部件。

19. 一种组件,其包括权利要求 18 所述的流槽和真空歧管,所述真空歧管具有用于密封地接收所述流槽的井。

20. 一种具有附连膜片的载片,所述载片直接定位在真空歧管的载片井中。

IHC、组织载片流体交换可置换件和系统

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求 2014 年 3 月 11 日提交的美国临时申请序列 No. 61/951,135 和 2014 年 8 月 19 日提交的 No. 62/039,082 的优先权,它们的公开通过引用并入本文中。

背景技术

[0002] 免疫组织化学 (IHC) 指的是通过使用标记的抗体或其它配体来利用特定抗体 - 抗原相互作用来检测组织切片的细胞中的抗原 (例如蛋白质) 的过程。IHC 在基础研究中还广泛地用来理解生物组织的不同部分中的生物标志物和表达不同的蛋白质的分布和定位。应用包括诊断、药物开发和研究。

[0003] 例如,可在单独的载片上准备样本,或者可将多个样本布置在单个载片上用于比较分析,诸如用组织微阵列。可对 IHC 载片进行处理和染色,并且接着通过光学显微镜或荧光显微镜观看。组织染色的主要输出是用于光学或荧光成像,以及对染色组织进行存档和储存。

[0004] 目前存在对于 IHC 可用的高容量和中等容量的自动化系统。手动系统对于临时研究为可用的,该手动系统是劳动力密集型的,并且需要许多移液和浸渍 / 浸泡洗涤步骤。这些步骤包括载片安装式组织洗涤、封堵、一级、二级和三级抗体引入、覆盖孵化,以及在各个步骤之间的多次洗涤和漂洗。该复杂冗长的处理过程容易有误差,其最终可损害结果。

发明内容

[0005] 提供一种消除常规系统的缺点的系统将是合乎需要的,该系统例如允许将流体一致地输送到样本,回收宝贵的试剂,对载片进行最少的处理 (载片不在不同的浴槽之间传送),以及同时进行多个化验。

[0006] 现有技术的缺点已经由本文公开的实施例克服,该实施例在某些方面涉及真空源,该真空源连接于夹到样本安装式载片上的流槽。基元使组织保持干燥,并且允许流体 (例如封堵剂、抗体、洗涤剂 and 漂洗剂等) 引入到样本中以及放置成与样本接触,以及从腔室中冲洗出。在某些实施例中,设备包括载片保持器组件夹具、载片保持器、载片保持器框架和载片保持器框架组件,该载片保持器框架组件适于放置成与诸如真空的驱动力连通,以将流体抽吸通过载片保持器。

[0007] 在某些实施例中,载片保持器包括注射 / 回收端口,该注射 / 回收端口允许一致的流体 (例如抗体、链接剂、指示剂和色原) 输送和回收,同时最小化气泡引入,从而减少误差,并且允许有大约 >75% 的流体 (例如抗体) 回收,以及在某些实施例中, >95% 的回收。在某些实施例中,载片保持器包括储存器,该储存器允许填充、浸泡、漂洗、冲洗组织、用抗体均匀地覆盖组织,以及减少处理时间、空间和误差。在某些实施例中,载片在载片保持器中的定向允许目测标签信息和组织,以确认充分的抗体覆盖。多端口框架允许同时执行多次化验 (例如,每个框架组件可处理 1-12 个载片)。能够从真空歧管移除载片保持器框架,并且允许载片保持器框架从真空歧管容易地传送到孵化箱 / 冰箱以及传送回来。

附图说明

[0008] 图 1 是根据某些实施例的载片保持器组件夹具和载片的透视分解图；

图 2 是根据某些实施例的、具有安装好的载片和载片保持器的载片保持器组件夹具的透视分解图；

图 3 是根据某些实施例的、安装在载片保持器组件夹具上的载片保持器的透视俯视图；

图 4 是根据某些实施例的、安装在载片保持器组件夹具上的载片保持器的透视侧视图；

图 5A 是根据某些实施例的载片保持器的正视图；

图 5B 是根据某些实施例的图 5A 的载片保持器的侧视图；

图 5C 是根据某些实施例的载片保持器中的垫圈的一部分的放大透视图；

图 6 是根据某些实施例的图 5A 的载片保持器的一部分的第一透视图；

图 7 是根据某些实施例的图 5A 的载片保持器的一部分的第二透视图；

图 8 是根据某些实施例的图 5 的载片保持器的正视图，其显示流体流进入载片保持器腔室中的方向；

图 9 是根据某些实施例的图 5 的载片保持器的正视图，其显示流体流离开载片保持器腔室的方向；

图 10 是根据某些实施例的保持载片保持器的载片保持器框架和盖的透视图；

图 11 是根据某些实施例的、定位在载片保持器框架中的载片保持器的横截面图；

图 12 是根据某些实施例的载片保持器框架的透视图；

图 13 是根据某些实施例的、显示载片释放特征的载片保持器和载片保持器组件夹具的透视图；

图 14 是根据某些实施例的、具有附连于其的膜片的载片的透视图；

图 15A 是根据某些实施例的图 14 的载片和具有载片井的真空歧管的分解透视图；

图 15B 是根据某些实施例的真空歧管的载片井的横截面透视图；

图 15C 是根据某些实施例的真空歧管的载片和载片井的分解横截面图；

图 16A 是根据某些实施例的载片保持器的正视图；

图 16B 是根据某些实施例的载片保持器的第一横截面透视图；

图 16C 是根据某些实施例的载片保持器的第二横截面透视图；

图 16D 是根据某些实施例的载片保持器的俯视图；

图 17A 是根据某些实施例的载片和载片保持器流槽组件的分解透视图；

图 17B 是根据某些实施例的安装于载片保持器流槽组件的载片的透视图；

图 17C 是图 17B 的组件的仰视透视图；

图 18A 是根据某些实施例的歧管框架和载片保持器流槽的横截面分解透视图；

图 18B 是根据某些实施例的图 18A 的歧管框架和载片保持器流槽的横截面透视图，其中流槽就位；

图 18C 是图 18B 的组件的横截面侧视图；

图 19 是根据某些实施例的载片保持器流槽和载片的分解图；

图 20A 是根据另一个实施例的流槽和载片的透视分解图；
图 20B 是根据某些实施例的图 20A 的流槽的透视图，其中载片就位；
图 20C 是根据某些实施例的、处于组装好的状态的图 20A 的流槽的透视图；
图 21 是根据某些实施例的、显示为定位在真空歧管中的图 20A 的流槽的示意图；以及
图 22 是根据某些实施例的、显示为定位在真空歧管中的图 20A 的流槽的下区域的示意图。

具体实施方式

[0009] 首先转到图 1，显示了载片 10，其上具有样本 11，诸如组织样本。典型地，组织样本置于载片 10 上之前已经经过固定处理。载片 10 是常规的样本保持器，并且可为平坦的，并且由例如玻璃制成。还显示了样本或载片保持器组件夹具 20，其接收处于安装接合的载片 10。在某些实施例中，样本 11 定向在载片 10 的顶侧上，并且当布置就位时，驻留在载片保持器组件夹具 20 的预定的样本目标区域（箭头 A）内。在某些实施例中，一个或更多个液面指示器 12（显示了三个）定位在样本目标区域中，其协助操作者将样本以如下方式定位使得确保样本甚至覆盖半填满的样本腔室，因而使用最少量的一级抗体。

[0010] 在某些实施例中，载片保持器组件夹具 20 是伸长部件，其具有大体平的顶部表面 21、端壁 22 和相对的端壁 23。在某些实施例中，端壁 22 在表面 21 上方沿竖向延伸超过端壁 23 的距离。端壁 22 和 23 的朝内表面之间的长度略微长于载片 10 的长度，以使载片 10 在端壁 22、23 之间配合，如图 2 中显示的。短侧壁 24、25 以及对齐翅片 26、27 布置在表面 21 的周边上，并且从表面 21 沿竖向向上延伸，并且还用来将载片容纳在载片保持器组件夹具 20 的表面 21 上的位置。对齐翅片 26、27 还用作用于定位载片保持器 30 的对齐部件，如下面更详细地论述的。在某些实施例中，间隔开的切口 28（显示了四个）形成于夹具 20 的表面 21 中。在某些实施例中，各个切口 28 成形为局部截顶锥形，其中其向内最深的切口部分定位在表面 21 处，在切口接近夹具 20 的底部时向外朝侧周边渐缩。切口 28 构造成接收载片保持器 30 的相应的压缩夹 43，如下面更详细地论述的。

[0011] 在某些实施例中，载片保持器 30 是一次性装置，并且包括储存器 31 和样本腔室 33，样本腔室 33 经由储存器 31 的底部处的狭窄狭缝 32 与储存器 31 流体连通，狭窄狭缝 32 与通到样本腔室 33 中的储存器通道 34 连通。在某些实施例中，储存器 31 构造成容纳 20 ml 的流体体积。在某些实施例中，载片保持器 30 可由聚碳酸酯、聚苯乙烯、聚乙烯或衍生物（例如 PETG、PET、PE、PETE）、聚丙烯或丙烯酸制成。在某些实施例中，样本腔室 33 包括垫圈 35，诸如分配的硅垫圈，如在图 5A 中看到的。在某些实施例中，垫圈 35 还可为二次成型的，诸如二次成型式热塑性弹性体（TPE）、二次成型式硅树脂、模切式硅树脂、模切式双重粘性泡沫、模切式厚丙烯酸粘合剂等。垫圈 35 包括限定注射 / 回收端口流体通道 36 的区域。注射 / 回收端口流体通道 36 与注射 / 回收端口通道端口 37 流体连通，注射 / 回收端口通道端口 37 又与构造成接收注射装置（诸如吸管 39）的注射 / 回收端口 38 流体连通。注射 / 回收端口流体通道 36 在出口开口 40 处通到样本腔室 33 中，在图 5C 中最佳地看到的。

[0012] 在某些实施例中，载片保持器 30 包括排泄端口 41，排泄端口 41 将流体从腔室 33 排到排泄口 42。在某些实施例中，载片保持器 30 包括间隔开的载片压缩夹 43，其中各个由载片保持器组件夹具 20 的相应的切口 28 接收并且接合在其中。在某些实施例中，压缩夹

43 在自由端 44 中终止,并且包括对压缩夹 43 提供柔性的斜凹部 45(图 4)。

[0013] 在某些实施例中,为了将载片 10 附连于载片保持器 30,载片保持器 30 如图 2 中显示地定位在载片上方,并且向下压到载片保持器组件夹具 20 上,与对齐翅片 26、27、侧壁 24、25 和端壁 22 对齐(图 3)。使载片压缩夹 43 偏转的斜凹部 45 允许最佳地接合在切口 28 中。在该组装好的状态中,支承在载片 10 上的样本 11 定位在载片保持器 30 的样本腔室 33 中。可诸如经由吸管 39 或通过储存器 31 将适当的流体引入到样本腔室 33 中。例如,吸管 39 的末端可插入到注射/回收端口 38 中,如在图 6 和 7 中最佳地看到的。来自吸管 39 的流体流到注射/回收端口流体通道 36、出口开口 40 中,并且流到样本腔室 33 中,其中,流体接触样本。

[0014] 现在转到图 8,箭头描绘流体流,诸如可经由例如吸管 39 引入到注射/回收端口 38 中的抗体、链接剂、指示剂和色原。流体沿着注射/回收端口流体通道 36 行进,离开出口开口 40,并且进入到样本腔室 33 中,其中,流体从下到上填充腔室,因而减少潜在的气泡,该潜在的气泡可导致支承在载片 10 上的样本的不一致覆盖。

[0015] 图 9 描绘在从样本腔室移除或回收流体期间的流体流。这里,注射/回收端口 38 通过使用吸管 39 从样本腔室中吸出流体,以回收 >75% 的流体而用作回收端口。在某些实施例中,实现差不多 95% 的回收。高回收可为重要的,特别是在流体包括宝贵或定制的抗体的情况下。

[0016] 现在转到图 10 和 11,显示了组件 200,其包括歧管基部 100、样本或载片保持器框架 102 和盖 101。在某些实施例中,歧管基部 100 与诸如真空的驱动力(未显示)连通,以将流体推过安装在定位在歧管基部 100 上的载片保持器框架 102 上的一个或更多个载片保持器 30,歧管基部 100 可用作对样本进行多次漂洗、洗涤等的洗涤盆。在某些实施例中,一个或更多个盖 101 可定位在一个或更多个载片保持器 30 上方,以防止光影响化验中涉及的任何荧光信号化学性质,以及消除样本的潜在污染。在某些实施例中,歧管基部 100 可容纳一个或更多个载片保持器框架 102。各个载片保持器框架(102)可使例如 1-12 个载片保持器 30 保持与驱动力连通。可能从歧管基部 100 移除载片保持器框架 102。

[0017] 在某些实施例中,盖 101 可包括夹紧把手 112,以协助从载片保持器框架 102 提起盖 101。在某些实施例中,盖 101 可包括任务跟踪器 103,以跟踪正在处理的协议中的步骤,这在多个载片保持器框架 102 同时使用,或者驻留在孵化腔室或冰箱中时是有用的。在某些实施例中,任务跟踪器 103 是可移动的转盘(相对于盖表面),其具有指向盖 101 上的其它记号的一个或更多个固定记号。在某些实施例中,盖 101 还可具有多个间隔开的堆叠凹口 104,其均构造成接收另一个载片保持器框架 102 的相应的支腿 114(图 11),以实现经济地堆叠空间,诸如在置于孵化腔室中时可为必要的。

[0018] 在某些实施例中,载片保持器框架 102 包括多个端口 105(图 12),各个端口 105 构造成接收相应的载片保持器 30。可如显示地对端口编号,用于便于跟踪各个单独的化验。在显示的实施例中,各个载片保持器框架 102 构造成容纳 12 个载片保持器 30 以及 12 个端口插销 106,但本领域技术人员将认识到的是,可使用更少或更多的载片保持器 30 和端口插销 106。如果端口 105 未被载片保持器 30 占用,则可安装端口插销 106,以在系统中保持真空。当端口 105 正在使用(例如被载片保持器 30 占用)时,则用于该端口 105 的插销 106 可储存在接近安装好的载片保持器 30 的方便的储存孔口 148 中。在某些实施例中,载片保

持器框架 102 可包括用于储存载片保持器组件夹具 20 的井 107。启用诸如真空的驱动力允许同时对定位在载片保持器框架 102 中的多个载片保持器 30 进行流体冲洗。

[0019] 图 11 示出定位在载片保持器框架 102 中的载片保持器 30 的某些实施例。根据某些实施例,在载片保持器 30 的底部上的间隔开的突片 48 由载片保持器框架 102 中的对应的槽口 149 接收。当载片保持器 30 如此定位在载片保持器框架 102 中时,排泄口 42 渗透到端口 105 中,并且被端口密封件 108 密封。阀 110(诸如鸭嘴阀)定位在端口 105 中,并且在通过对端口 105 施加真空来克服阀之前,防止流体离开载片保持器腔室 33。

[0020] 在某些实施例中,通过用诸如循环吸管、喷瓶或任何分配装置装载储存器 31 来实现封堵、漂洗和洗涤步骤。溶液装到和流到样本腔室 33 中,并且允许浸泡样本。启用真空,并且溶液在样本上方流动并且流出排泄口 42,漂洗掉例如任何残余封堵剂、抗体、链接剂、指示剂、色原或伊红染色 (hemotoxilin)。

[0021] 在某些实施例中,将支承组织样本 11 的载片 10 置于载片保持器组件夹具 20 中,其中组织侧朝上。将载片 10 放置成确保容纳组织的区域在目标区域内,以便如被指示器 12 帮助地不干涉载片保持器 30 的垫圈密封件。接着,载片保持器 30 对齐到载片保持器组件夹具 20 上,并且稳固地压到载片 10 上,直到压缩夹 43 接合在相应的切口 28 中。

[0022] 该组件接着塞入到插入到基部 100 上的载片保持器框架 102 中的期望端口中。如有必要,可记录样本端口位置。必要时,框架 102 中任何未使用的端口都用端口插销 106 塞上。在某些实施例中,载片的平面因而垂直于载片保持器框架 102 的表面的平面;其定位在水平/竖直平面中,以允许观看样本和载片信息,以及最小化流体腔室容积。

[0023] 如果需要水合或洗涤,则将期望溶液引入到储存器 31 中达期望时间段,诸如为了对组织样本进行水合或洗涤。接着可对基部施加真空,以洗涤和冲洗来自载片保持器的溶液。

[0024] 可通过将期望浓度的封堵剂装入注射/回收端口 38 或样本腔室 33 的储存器 31 中来执行封堵。应当装入足够的封堵溶液,以覆盖样本腔室 33 中的样本 11。

[0025] 一旦所有载片保持器都装满,并且如果需要进行孵化,则用盖 101 覆盖载片保持器框架,并且可将任务跟踪器 103 设定成合适的任务,诸如“封堵剂”指示。被覆盖的框架 102 接着可在孵化箱中孵化,诸如在室温下,或者在冰箱中孵化达期望时间。

[0026] 在孵化之后,可通过使框架 102 返回到基部 100,移除盖,以及施加真空,以及通过将洗涤溶液引入到储存器 31,允许样本 11 浸泡(如有需要)在洗涤溶液中达期望时间,并且接着通过施加真空来进行冲洗来执行的任何必要洗涤步骤,来冲洗封堵剂。如果期望的话,可使用多个此类洗涤步骤。

[0027] 可将期望浓度的足以覆盖样本 11 的量的一级抗体引入到注射/回收端口 38 中。如果期望进行孵化步骤,用盖 101 覆盖框架 102,并且将任务跟踪器设定成合适的指示,诸如“一级”。被覆盖的框架 102 接着可在孵化箱中孵化,诸如在室温下,或者在冰箱中孵化达期望时间。

[0028] 在孵化之后,将框架 102 放回基部 100 上,移除盖,并且使用真空来进行冲洗。备选地,可通过经由端口 38(诸如用吸管)从样本腔室 33 抽出一级抗体来回收它。通过将洗涤溶液引入到储存器 31,允许样本 11 浸泡(如有需要)在洗涤溶液中达期望时间,并且接着通过施加真空来进行冲洗,来执行任何期望的洗涤步骤。如果期望的话,可使用多个此类

洗涤步骤。

[0029] 可将期望浓度的足以覆盖样本 11 的量的链接剂或二级抗体引入到注射 / 回收端口 38 中。如果期望进行孵化步骤,用盖 101 覆盖框架 102,并且将任务跟踪器设定成合适的指示,诸如“链接剂”。被覆盖的框架 102 接着可在孵化箱中孵化,诸如在室温下,或者在冰箱中孵化达期望时间。

[0030] 在孵化之后,将框架 102 放回基部 100 上。可通过移除盖,将洗涤溶液引入到储存器 31,允许样本 11 浸泡(如有需要)在洗涤溶液中达期望时间,并且接着通过应用真空来进行冲洗,来执行任何期望的洗涤步骤。如果期望的话,可使用多个此类洗涤步骤。

[0031] 可将期望浓度的足以覆盖样本 11 的量的指示剂或三级抗体引入到注射 / 回收端口 38 中。如果期望进行孵化步骤,用盖 101 覆盖框架 102,并且将任务跟踪器设定成合适的指示,诸如“指示剂”。被覆盖的框架 102 可接着在孵化箱中孵化,诸如在室温下,或者在冰箱中孵化达期望时间。

[0032] 在孵化之后,将框架 102 放回基部 100 上。可通过移除盖,将洗涤溶液引入到储存器 31,允许样本 11 浸泡(如有需要)在洗涤溶液中达期望时间,并且接着通过施加真空来进行冲洗,来执行任何期望的洗涤步骤。如果期望的话,可使用多个此类洗涤步骤。

[0033] 可将足以覆盖样本 11 的量的色原引入到注射 / 回收端口 38 中。如果期望进行孵化步骤,则用盖 101 覆盖框架 102,并且将任务跟踪器设定成合适的指示,诸如“色原”。被覆盖的框架 102 接着可在孵化箱中孵化,诸如在室温下,或者在冰箱中孵化达期望时间。

[0034] 在孵化之后,将框架 102 放回基部 100 上。可通过移除盖,将洗涤溶液引入到储存器 31,允许样本 11 浸泡(如有需要)在洗涤溶液中达期望时间,并且接着通过施加真空来进行冲洗,来执行任何期望的洗涤步骤。如果期望的话,可使用多个此类洗涤步骤。

[0035] 在色原步骤完成之后,可执行最终洗涤,然后从载片保持器框架 102 移除载片保持器。可通过以下方式来执行从载片保持器 30 移除载片 10:诸如通过将两个底部压缩夹 43 插入到载片保持器组件夹具 20 中的槽口 66 中来使它们弯开,从而释放载片 10(图 13)。可丢弃载片保持器 30。

[0036] 图 14 示出载片 10' 的另一个实施例。在显示的实施例中,载片 10' 可为模制载片或模切载片,其中多孔膜片 201 附连于其。膜片可通过任何适当的手段附连于载片,诸如通过热密封、超声焊接,或者用适当的粘合剂,诸如基于硅树脂的粘合剂或丙烯酸粘合剂。可在本文描述的实施例中使用由多种材料制成的多种膜片。此类材料的示例包括多聚糖、合成和半合成聚合物、金属、金属氧化物、陶瓷、玻璃和它们的组合。可用来制造可使用的膜片的示例性聚合物包括(但不限于)替代或非替代的聚丙烯酰胺、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸酰胺、聚酰亚胺、聚丙烯酸酯、聚碳酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚乙烯亲水聚合物、聚苯乙烯、聚砜、聚苯醚砜、共聚合物或苯乙烯和二乙烯基苯、芳族聚砜、聚四氟乙烯 (PTFE)、氟化热塑性聚合物、聚烯烃、芬芳聚酰胺、脂肪族聚酰胺、超高分子量聚乙烯、聚偏氟乙烯 (PVDF)、聚醚醚酮 (PEEK)、聚酯和它们的组合。可在商业上获得的示例性膜片为可从 EMD Millipore 公司(马萨诸塞州的比勒利卡)获得的 Durapore® 和 Millipore Express® 和 Millipore Express PLUS®。优选地,膜片为多微孔膜片。

[0037] 诸如组织切片的样本切片 301 安装于膜片 201。膜片 201 用作样本支承,允许封堵和抗体流体(例如)与样本相互作用,而且允许流体在例如漂洗和洗涤步骤期间传送通过

膜片 201。

[0038] 如图 15A、15B 和 15C 中显示的,各个载片 10' 可直接定位到真空歧管载片框架 205 中的对应的载片井 302 中。真空歧管载片框架 205 可具有一个或更多个载片井 302。在某些实施例中,各个载片井 302 具有垫圈 401,诸如硅树脂或泡沫密封垫圈 401,以密封相应的载片井 302 中的各个载片 10'。在施加真空作为驱动力之后,流体传送通过膜片 301,并且通过膜片 201 下方的多孔表面暗沟 501(沿流体流的方向)。在某些实施例中,暗沟包括模制式排泄槽口、孔、烧结式多孔材料等,其支承膜片,因为膜片下垂。优选地,暗沟易于清洁,但可模制,并且从下面提供真空驱动式排泄。

[0039] 图 16A-16C 示出载片保持器 30' 的备选实施例。像载片保持器 30 一样,载片保持器 30' 是一次性装置,并且包括储存器 31',以及分别将流体从各个腔室排到排泄口 42'、42'' 中的排泄端口 41'、41''。不像载片保持器 30 那样,载片保持器 30' 包括多个样本腔室 33' 和 33''(显示了两个),它们均经由储存器 31' 的底部处的狭窄狭缝 32' 与储存器 31' 流体连通。在某些实施例中,腔室 33' 和 33'' 彼此相对且共生,但与彼此流体隔开,以使相应的腔室中的各个样本彼此独立地作用。在某些实施例中,各个样本腔室 33'、33'' 包括相应的垫圈 35'、35'',诸如分配的硅垫圈,如图 16B 和 16C 中看到的。在某些实施例中,垫圈 35'、35'' 也可为二次成型的,诸如二次成型式热塑性弹性体(TPE)、二次成型式硅树脂、模切式硅树脂、模切式双重粘性泡沫、模切式厚丙烯酸粘合剂等。各个垫圈 35'、35'' 包括限定相应的注射/回收端口流体通道 36'、36'' 的区域。各个注射/回收端口流体通道 36'、36'' 与相应的注射/回收端口通道端口 37'、37'' 流体连通,相应的注射/回收端口通道端口 37'、37'' 继而又与构造成接收注射装置(诸如吸管)的相应的注射/回收端口 38'、38'' 流体连通。各个注射/回收端口流体通道 36'、36'' 在相应的出口开口 40'、40'' 处通到相应的样本腔室 33'、33'' 中。

[0040] 在某些实施例中,载片 10'、10'' 以与其中仅存在一个载片和样本腔室的上述实施例类似的方式附连于载片保持器 30'。可将适当的流体引入到样本腔室 33' 中,诸如经由吸管或通过储存器 31'。例如,相应的吸管的末端可插入到注射/回收端口 38'、38'' 中。来自各个吸管的流体流到相应的注射/回收端口流体通道 36'、36''、相应的出口开口 40'、40'' 和相应的样本腔室 33'、33'' 中,其中,其接触样本。

[0041] 图 17A-17C 示出水平实施例,其中,组织安装式衬底 10(诸如标准玻璃载片)约束在热成形载片保持器流槽 600 内并且用适当的粘合剂 601 密封,诸如半永久式不透流体的粘合剂,诸如基于丙烯酸或硅树脂的粘合剂。在某些实施例中,热成形载片保持器流槽 600 具有多个支座 602,多个支座 602 定位在四个角部中的各个中,以允许在载片 10 的侧部和下侧上有微小间隙,以允许排泄。流槽 600 包括较接地连接于载片保持器部件 623 的开放式顶部部件 622。在某些实施例中,较接件是在热成形处理期间形成的“活较接件”。顶部部件 622 处于图 17A 中显示的开启位置,以将载片装到流槽 600 中,并且接着枢转到闭合位置,如图 17C 中显示的。可将诸如封堵剂、抗体和染色剂的各种试剂放置到载片 10 上的组织上,并且漂洗和浸泡溶液可从顶部 622 上的储存器开口引入(图 17C)。

[0042] 图 18A-18C 示出适合与图 17A 中显示的热成形载片保持器流槽 600 一起使用的歧管的实施例。在某些实施例中,真空歧管框架 620 包括多个载片保持器井 632。各个井 632 构造成接收相应的载片保持器流槽 600。在某些实施例中,各个井 632 包括排泄端口 624,

排泄端口 624 接收处于密封 (627) 的载片保持器流槽 600 的排泄口 603。在某些实施例中, 排泄通道 626 形成于歧管框架 620 中, 与排泄端口 624 连通。在引入诸如真空的驱动力之后, 流体从载片冲洗通过多个旁路 605, 并且向下通过排泄口 603, 并且接着通过排泄通道 626。阀 (诸如鸭嘴阀) 可定位在端口 624 中, 并且在通过施加真空来克服阀之前, 防止流体离开。

[0043] 图 19 示出其中热成形载片保持器流槽 600 的下侧上的粘合剂 640 直接密封于载片 10 表面的实施例。粘合剂 640 中的小狭缝 645 用作排泄端口。使用储存器开口 630 来引入浸泡和漂洗流体, 从而允许经由真空歧管上的真空从组织切片中冲洗出化合物。

[0044] 图 20A-20C 示出热成形竖直实施例。标准组织安装式玻璃载片 10 约束在热成形载片保持器流槽 200 内, 用半永久式不透流体的粘合剂 260 密封, 诸如基于硅树脂的粘合剂或丙烯酸粘合剂。在某些实施例中, 热成形在所有四个角部中具有支座 400, 以允许在载片 10 的组织侧上有微小间隙。可提供多个间隔开的纵向肋条 411, 以对流槽 200 提供额外的刚性, 以及提供间隙, 从而在施加驱动力之后允许恰当的排泄。当组装好时, 热成形 200 在组织前面产生间隙, 该间隙允许诸如封堵剂、抗体、染色剂等试剂接触组织, 但例如漂洗和浸泡溶液可从顶部上的储存器 203 开口引入。当施加诸如真空的驱动力时, 流体从载片冲洗通过粘合剂中的毛细管排泄口 (例如小狭缝) 500, 并且向下通过排泄口。在某些实施例中, 热成形由第一部件 401 形成, 第一部件 401 通过铰接件 403 枢转地连接于第二部件 402, 以允许快速组装。虽然在显示的实施例中, 显示了铰接件 403 沿着流槽的纵向轴线, 但在某些实施例中, 铰接件可定向在流槽的基部处。

[0045] 如图 21 和 22 中显示的, 吸管 39 的末端可将流体 (诸如抗体和洗涤流体) 引入到储存器 203 中, 储存器 203 与组织腔室 204 流体连通, 组织腔室 204 包括用于流体的已知区域。显示了流槽 200 定位在真空歧管密封组件中。在某些实施例中, 真空歧管 100' 包括一个或更多个流槽接收井 149', 其可包括硅树脂管系 320、321 等。在某些实施例中, 平坦的热成形在两个管 320、321 之间滑动, 从而围绕热成形组件产生密封部。当施加诸如真空的驱动力时, 流体从由热成形和粘合剂的夹层产生的粘合剂层中的毛细管排泄口 500 中排出, 如由图 21 和 22 中的虚线箭头 510 示出的。

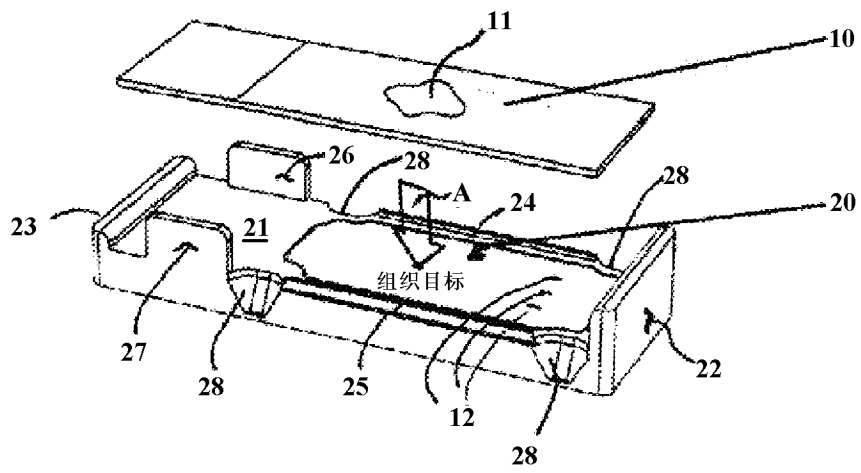


图 1

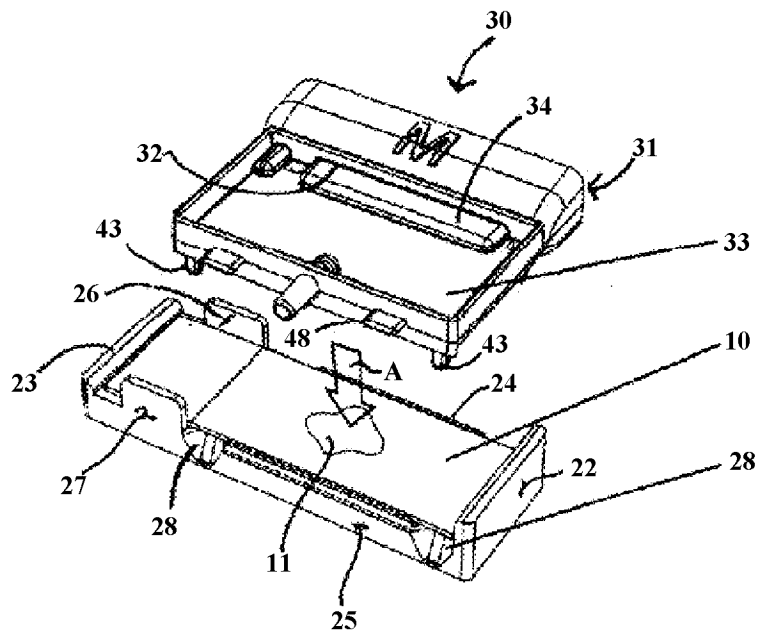


图 2

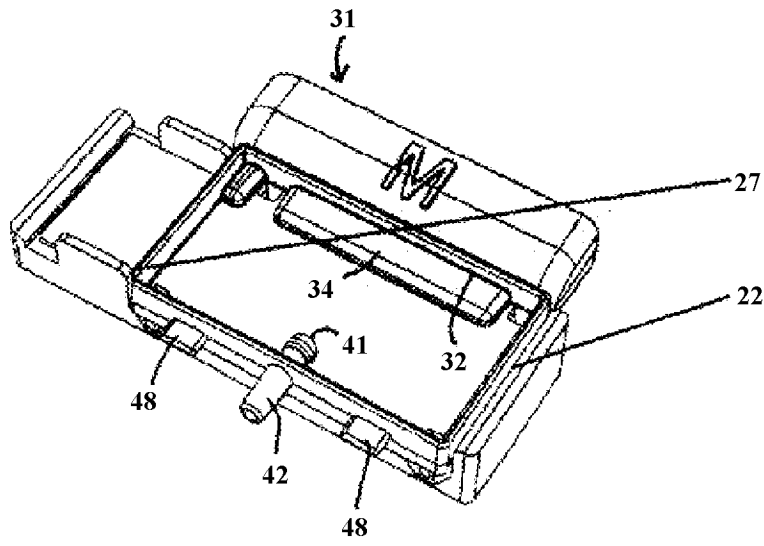


图 3

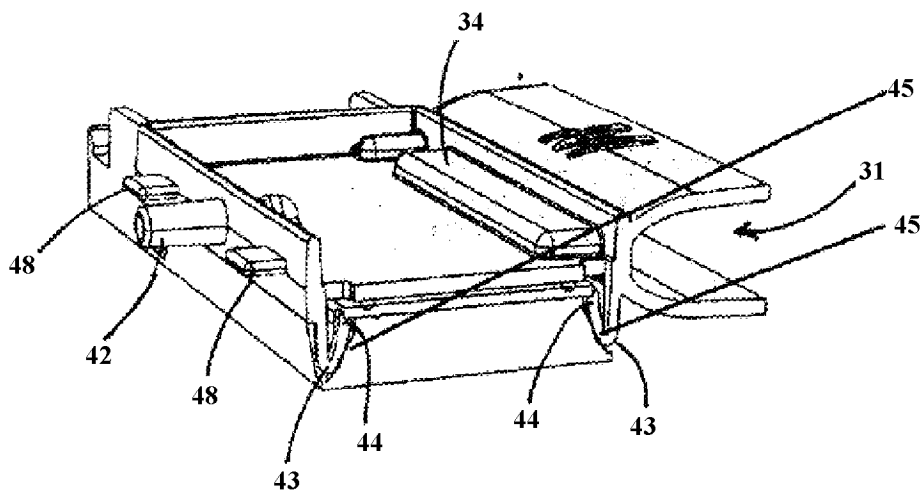


图 4

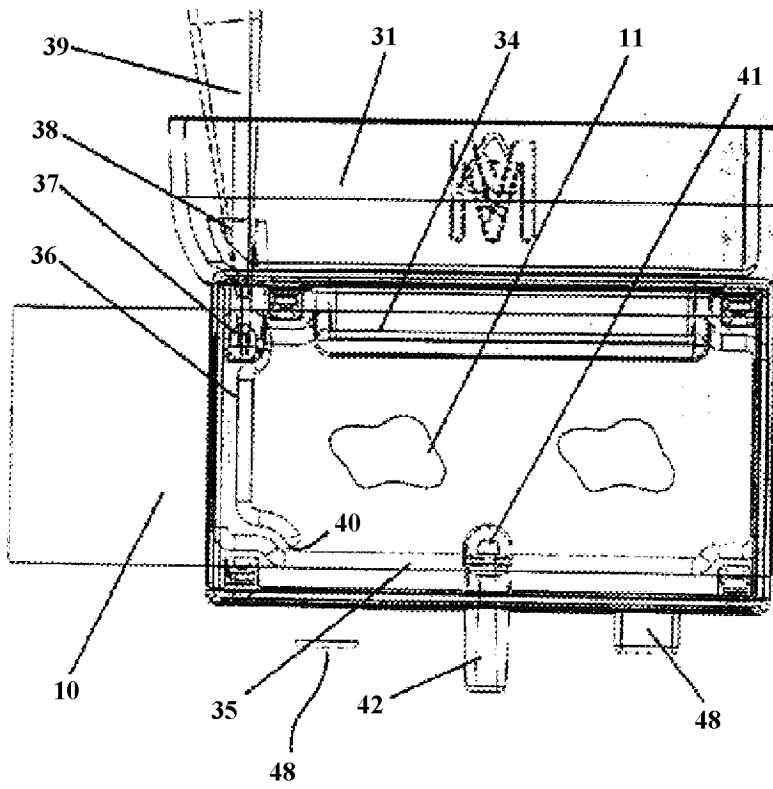


图 5A

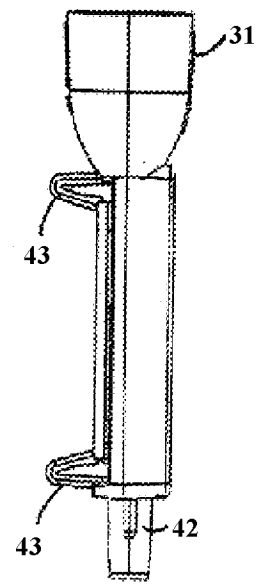


图 5B

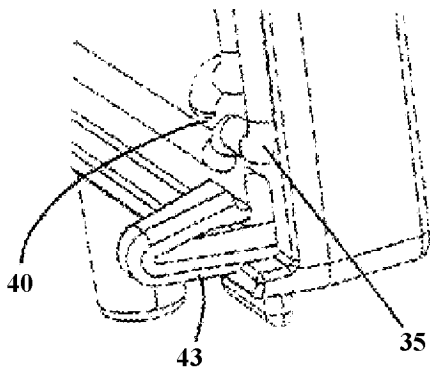


图 5C

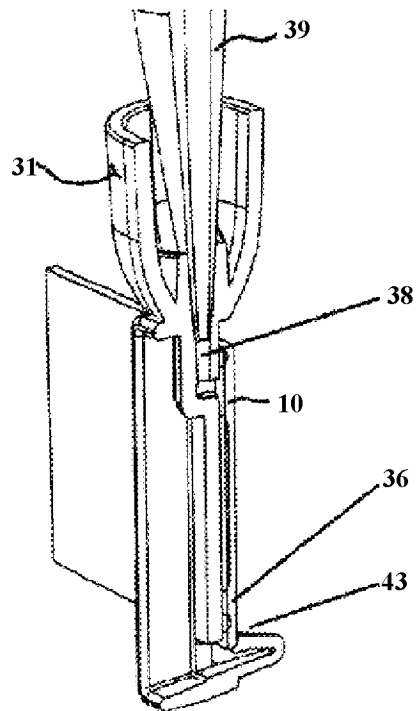


图 6

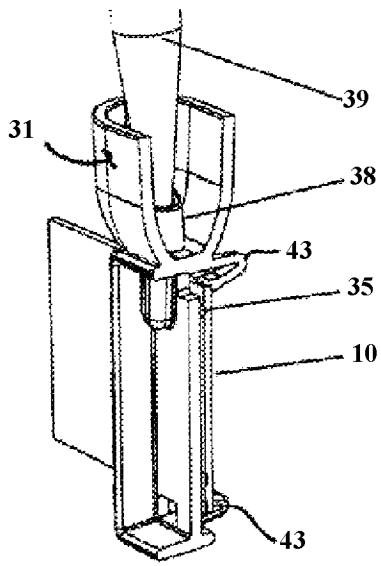


图 7

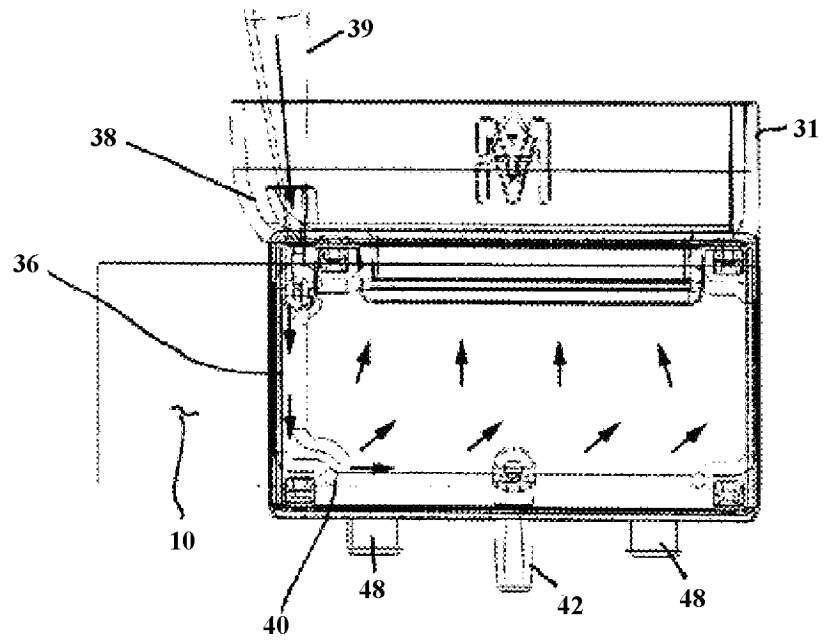


图 8

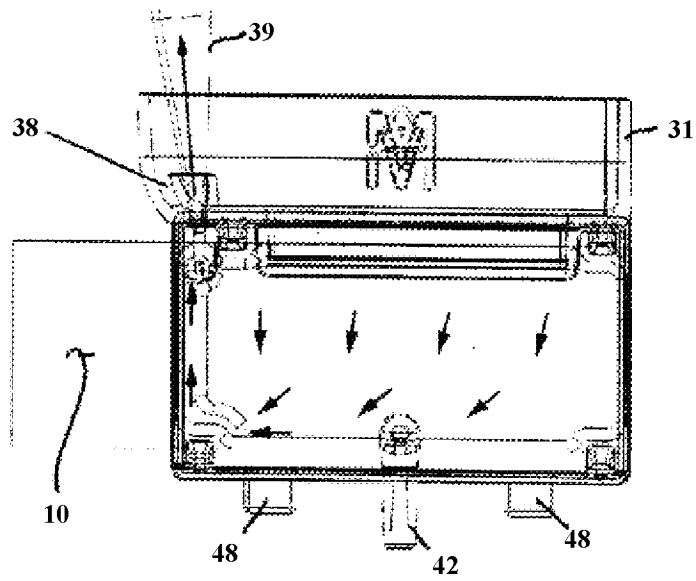


图 9

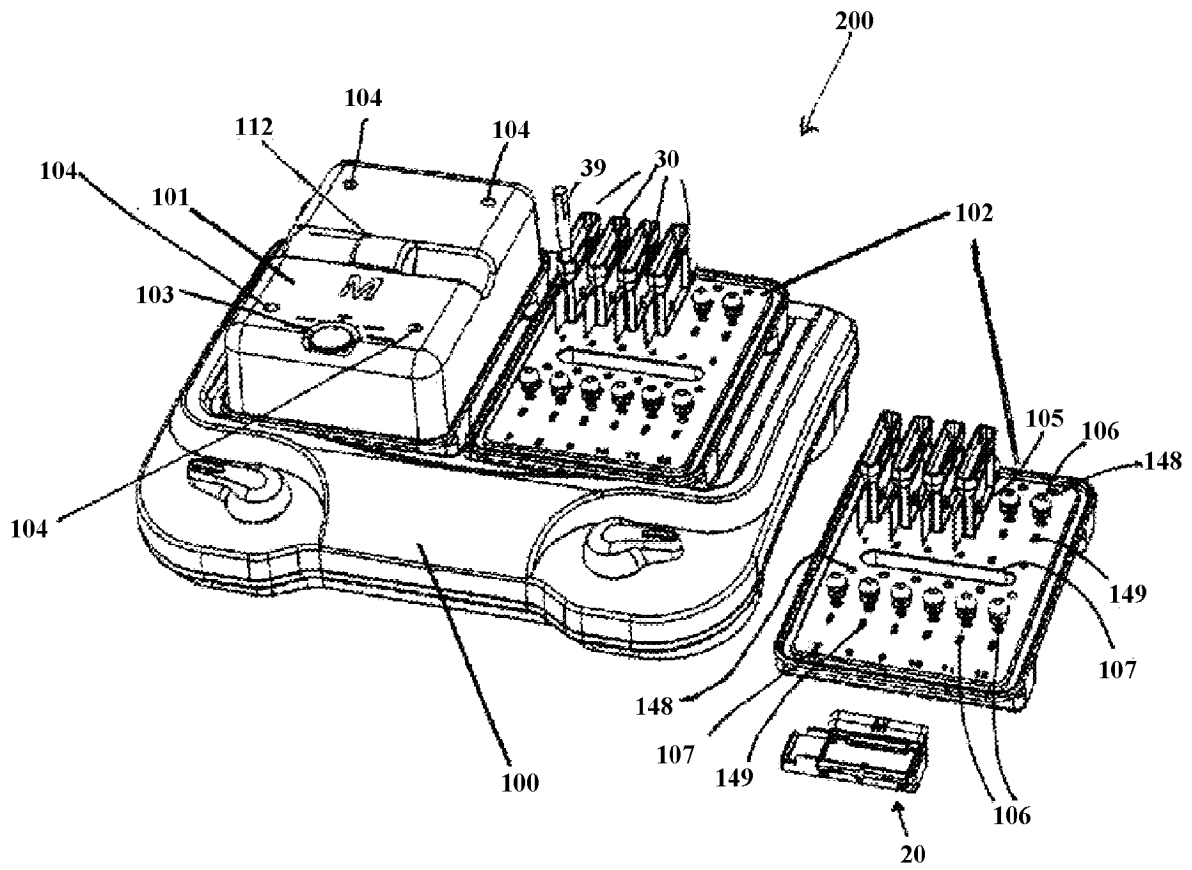


图 10

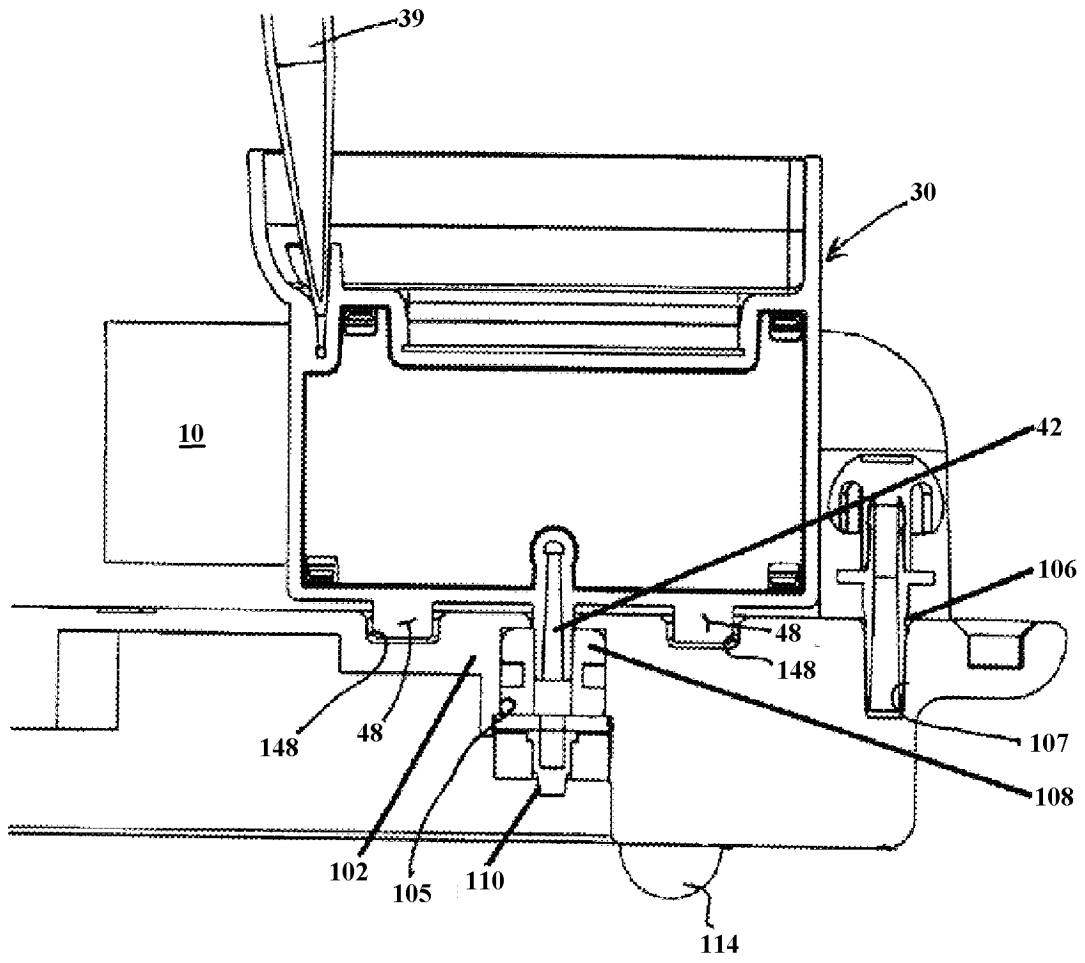


图 11

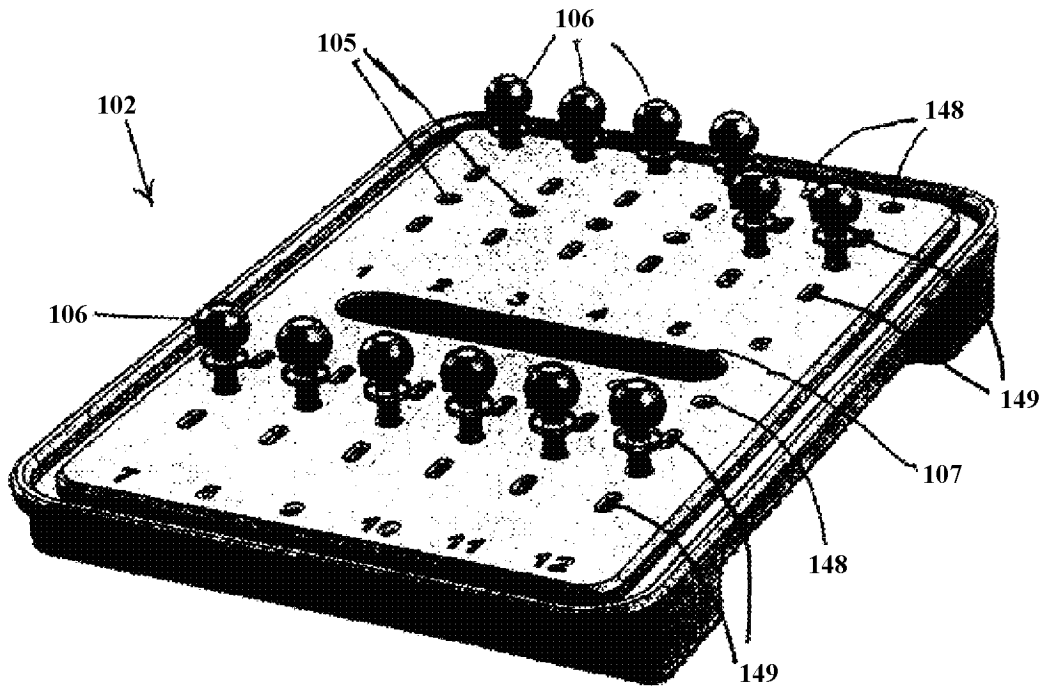


图 12

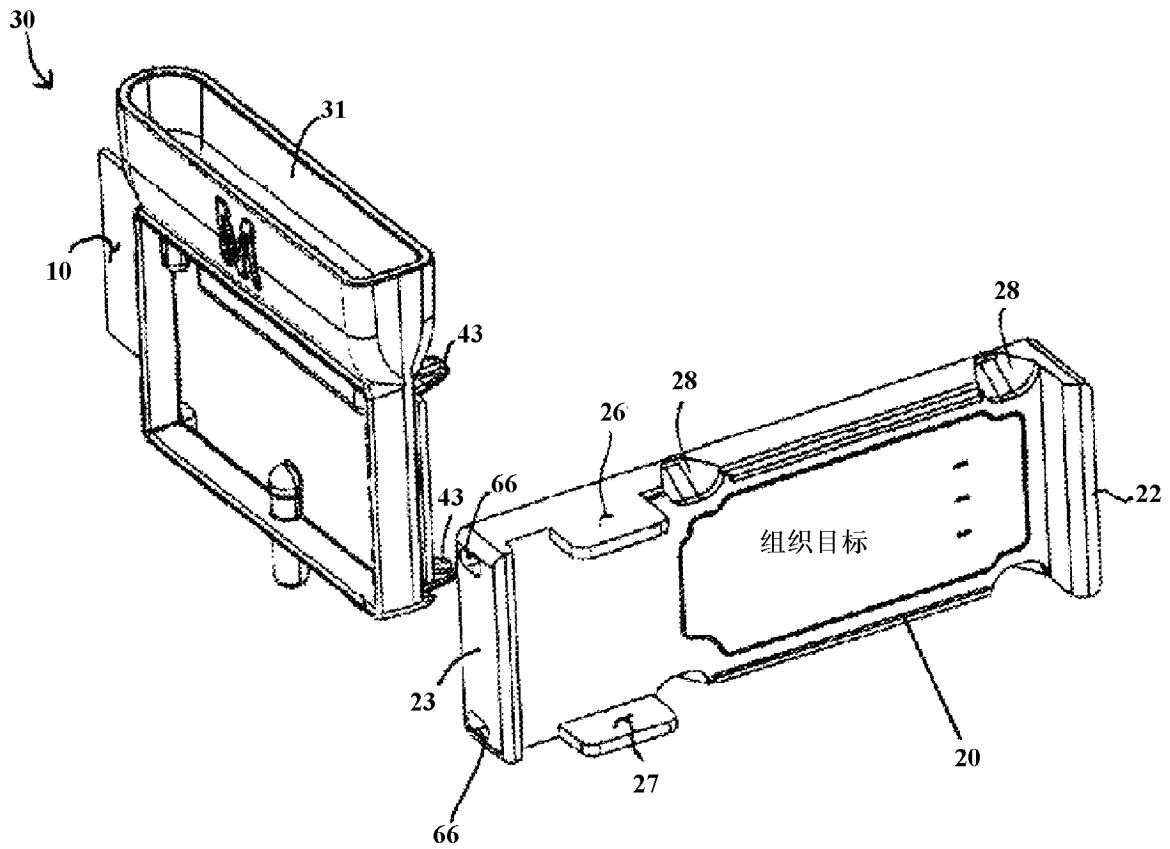


图 13

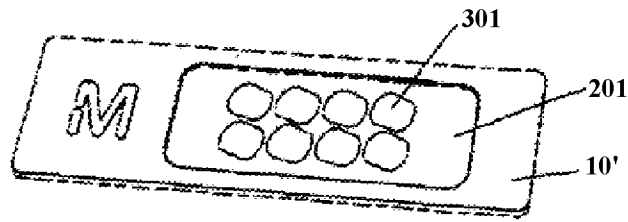


图 14

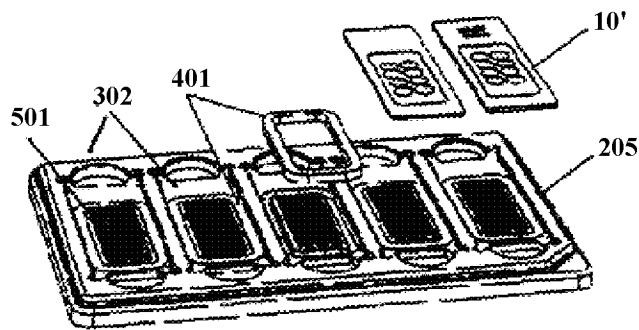


图 15A

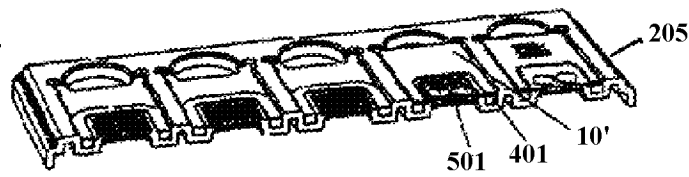


图 15B

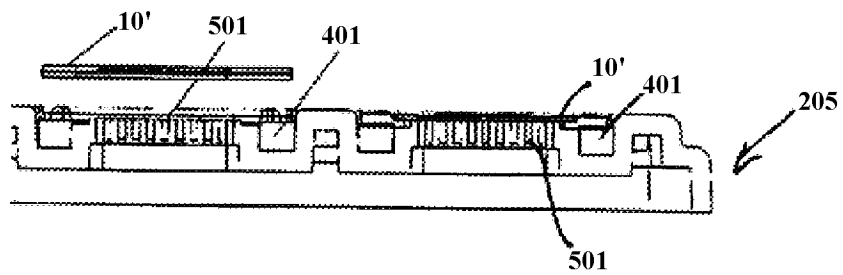


图 15C

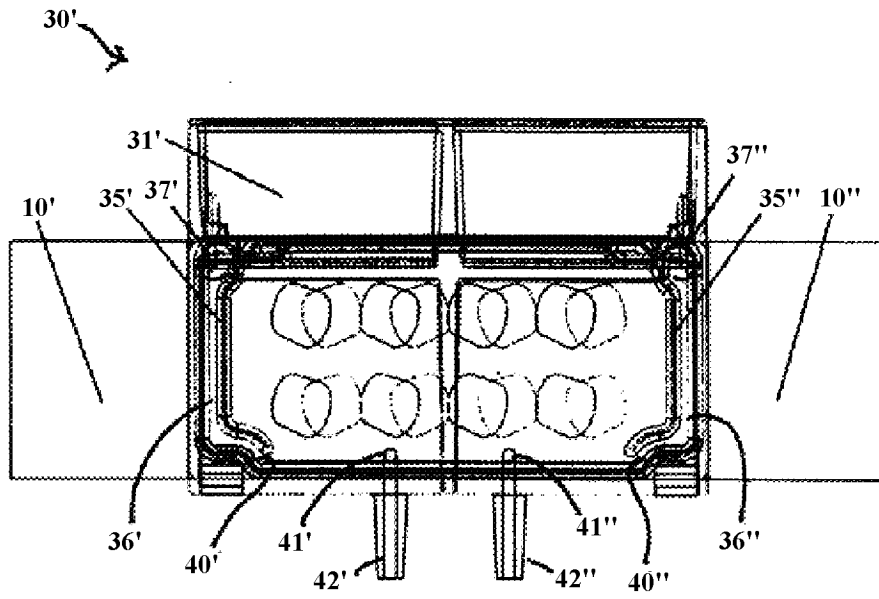


图 16A

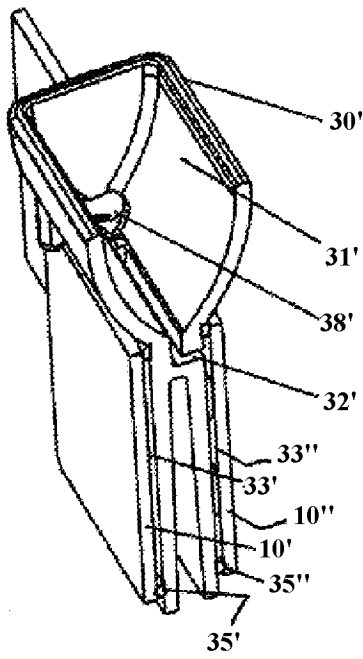


图 16B

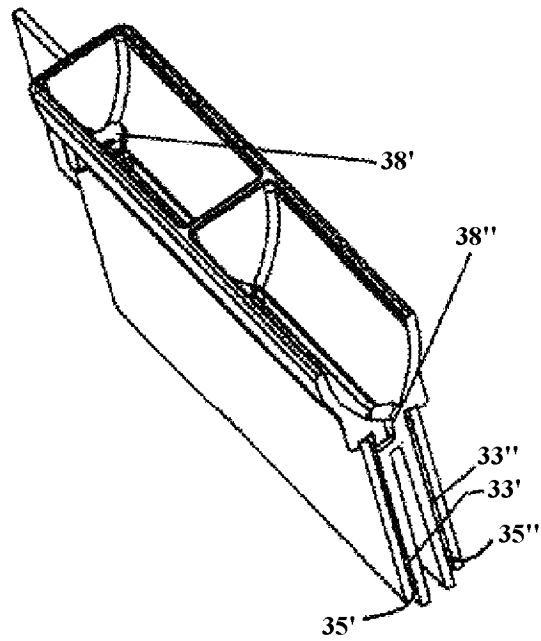


图 16C

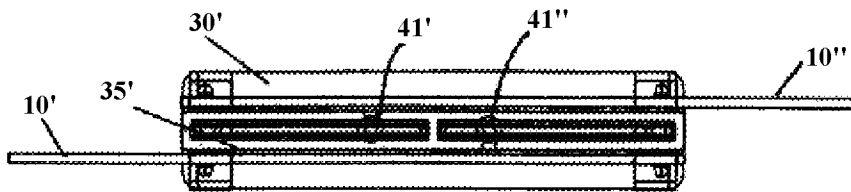


图 16D

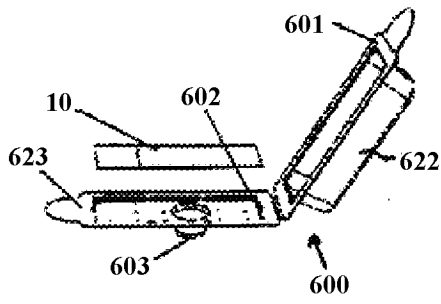


图 17A

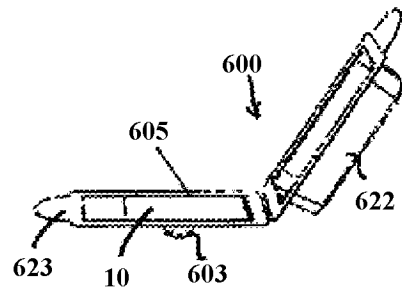


图 17B

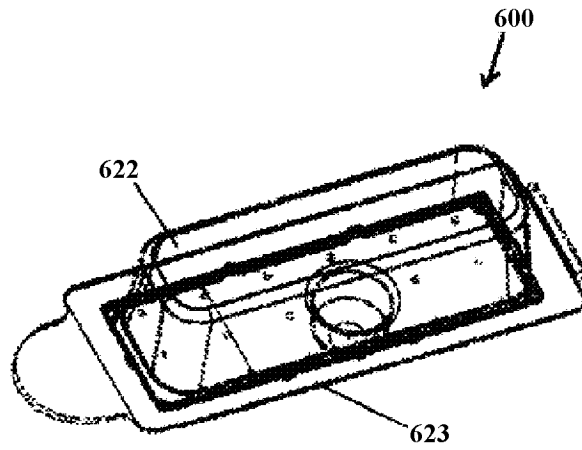


图 17C

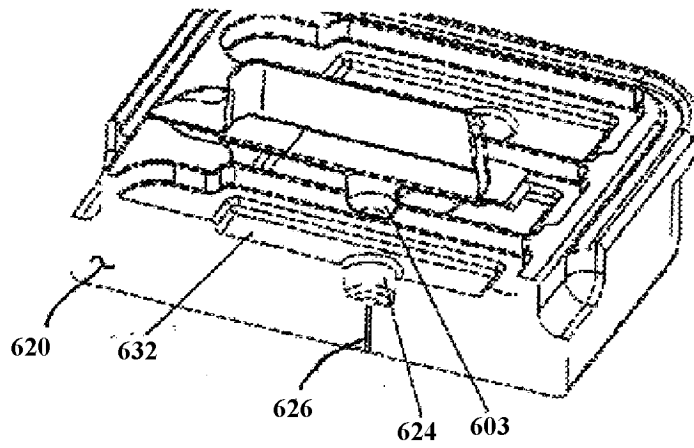


图 18A

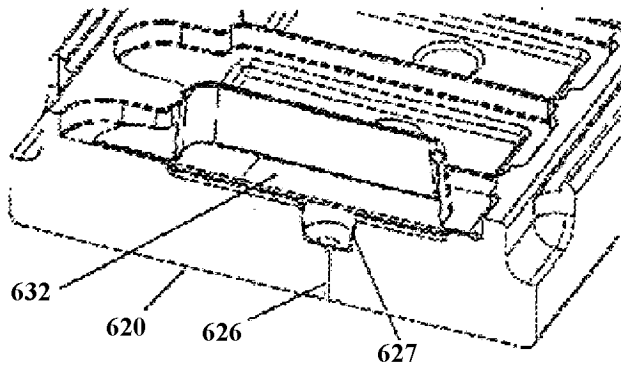


图 18B

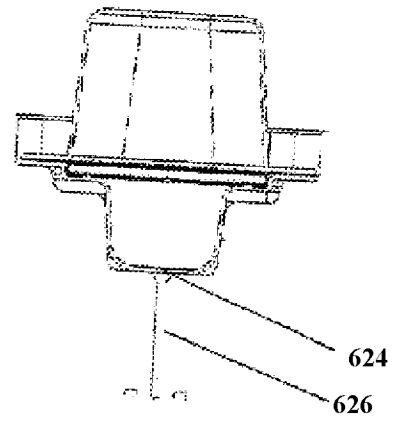


图 18C

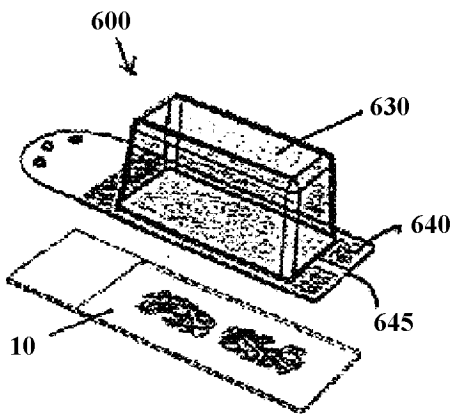


图 19

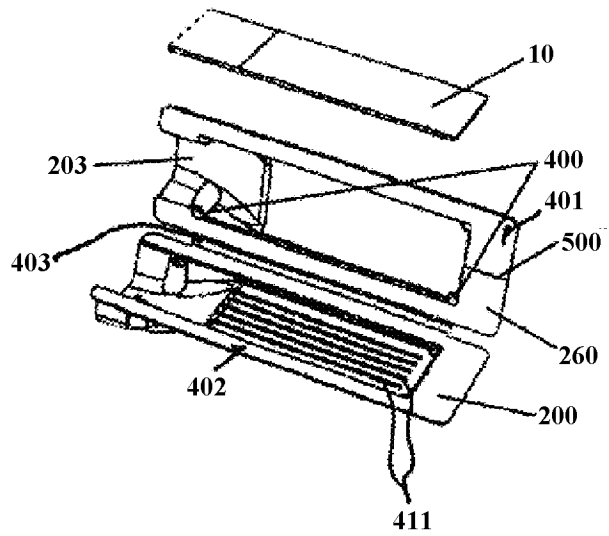


图 20A

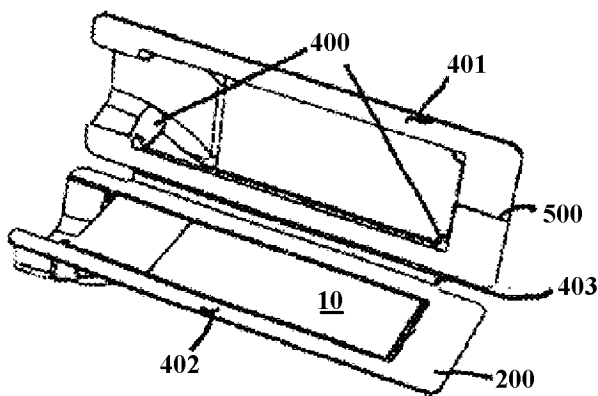


图 20B

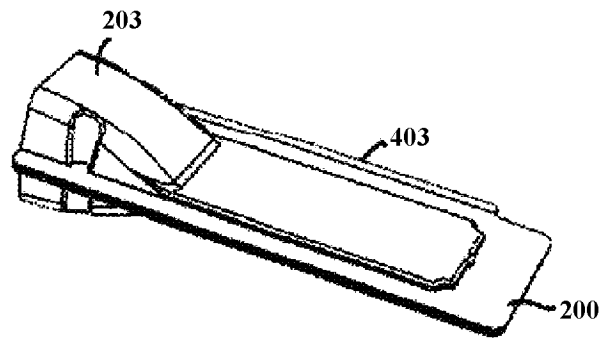


图 20C

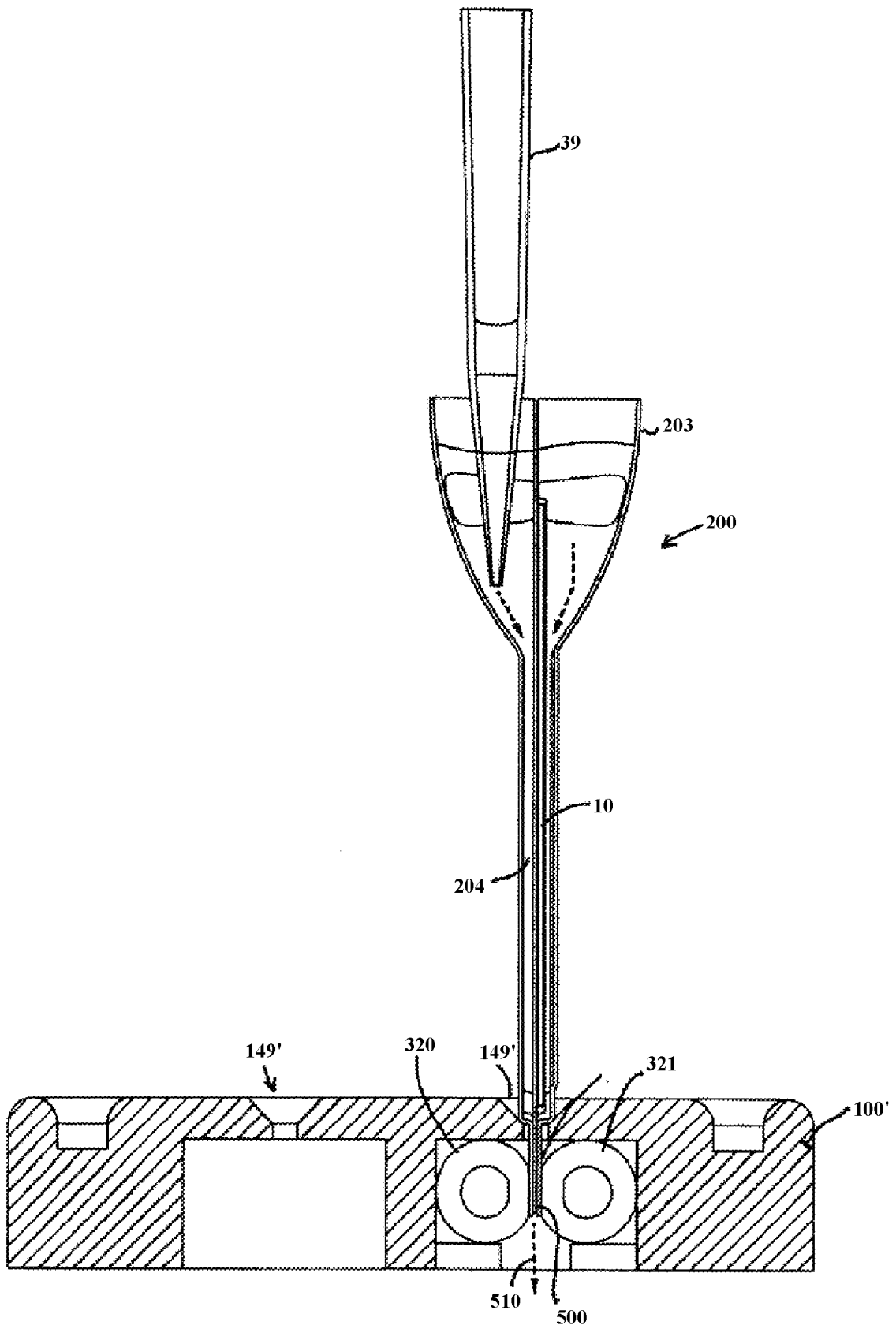


图 21

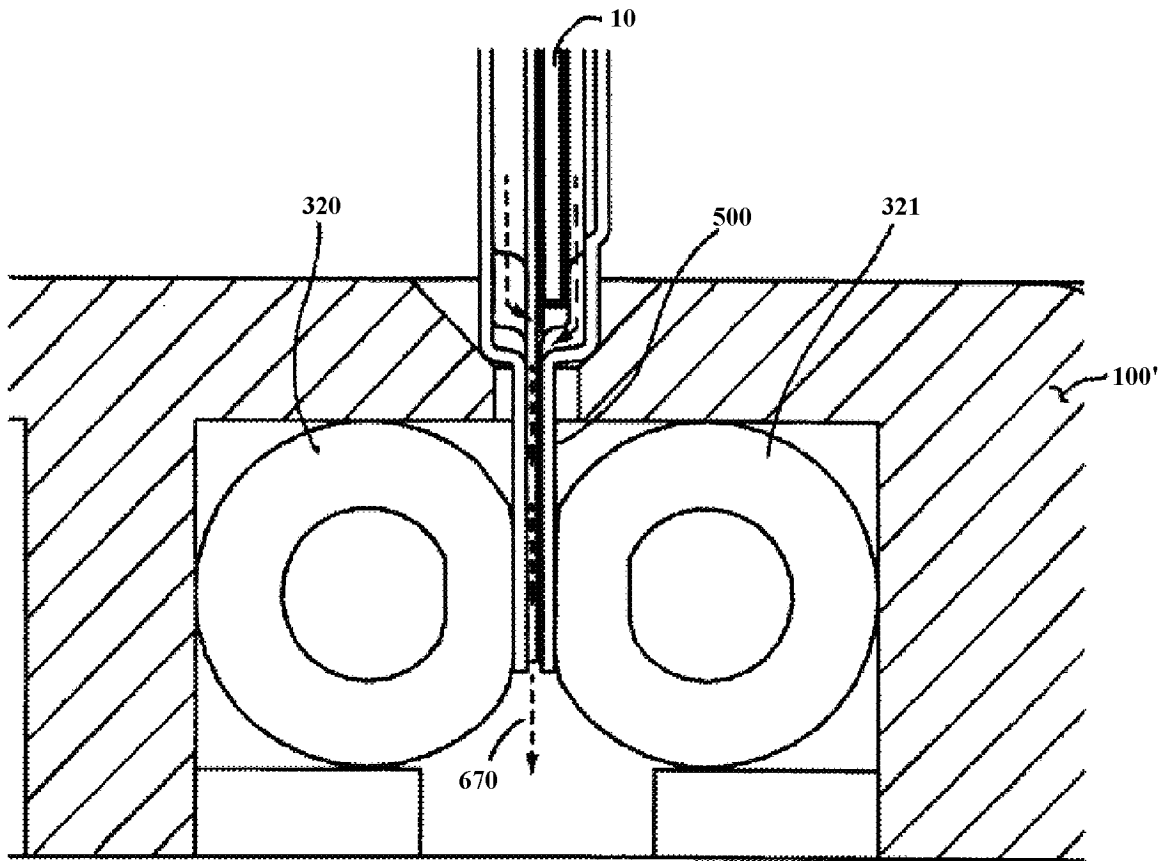


图 22

专利名称(译)	IHC、组织载片流体交换可置换件和系统		
公开(公告)号	CN104965071A	公开(公告)日	2015-10-07
申请号	CN201510105679.5	申请日	2015-03-11
[标]申请(专利权)人(译)	EMD密理博公司		
申请(专利权)人(译)	EMD密理博公司		
当前申请(专利权)人(译)	EMD密理博公司		
[标]发明人	C 斯科特 P 塞德洛夫斯基 J 多伊尔 R 阿马拉 L 克拉迪 S 古铁雷斯 M 埃默里克		
发明人	C.斯科特 P.塞德洛夫斯基 J.多伊尔 R.阿马拉 L.克拉迪 S.古铁雷斯 M.埃默里克		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N1/312 B01L3/502715 B01L3/50853 B01L9/52 B01L2200/026 B01L2300/043 B01L2300/047 B01L2300/0822 B01L2300/0877 G01N33/5302		
代理人(译)	严志军		
优先权	61/951135 2014-03-11 US 62/039082 2014-08-19 US		
其他公开文献	CN104965071B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种用于免疫组织化学的设备和方法，包括载片保持器组件夹具、载片保持器、载片保持器框架和载片保持器框架组件，该载片保持器框架组件适于放置成与驱动力连通，以将流体抽吸通过载片保持器。载片保持器可包括注射端口，该注射端口允许一致地输送和回收流体，同时最小化气泡引入。载片保持器可包括：存储器，其允许填充、浸泡、漂洗、冲洗组织、用抗体均匀地覆盖组织，以及减少处理时间、空间和误差；以及一个或更多个样本腔室。载片在载片保持器中的定向允许目测标签信息和组织，以确认充分的抗体覆盖。多端口框架允许同时执行多次化验，并且能够从真空歧管移除，并且允许从真空歧管容易地传送到孵化箱/冰箱以及传送回来。

