



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112673255 A

(43) 申请公布日 2021.04.16

(21) 申请号 201980021703.3

(22) 申请日 2019.01.25

(30) 优先权数据

62/621,761 2018.01.25 US

PCT/US2019/013388 2019.01.11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.09.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/015309 2019.01.25

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/148054 EN 2019.08.01

(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 丁惟 李骥

张琦璠

(74) 专利代理机构 北京百欧知识产权代理事务所(普通合伙) 11930

代理人 吴泳历

(51) Int.Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/536 (2006.01)

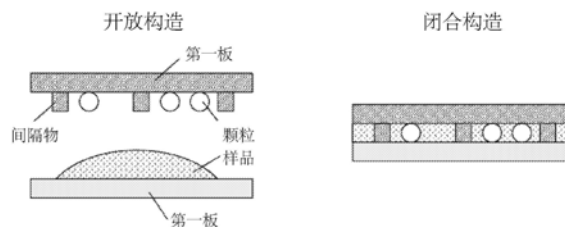
权利要求书8页 说明书47页 附图5页

(54) 发明名称

并行测定样品中细胞和非细胞分析物

(57) 摘要

其中,本发明涉及生物/化学采样,感测,测定和应用。



1. 一种用于分析液体样品中的靶细胞和非细胞分析物的装置,包括:

第一板,第二板,多个间隔物,多个颗粒和捕获剂,其中:

f) 第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造;

g) 每个板在其各自的表面上具有样品接触区,用于接触包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;

h) 间隔物包括固定在第一板上的具有均匀高度周期性的柱的阵列;

i) 颗粒的尺寸为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$,当装置处于开放状态时,颗粒随机地分布在第一块板的样品接触区域;并且

j) 捕获剂附着在颗粒上,其中捕获剂特异性结合非细胞分析物,其中非细胞分析物能够结合发光标记形成被标记的非细胞分析物;

其中,在开放构造下,两个板分开,并且将样品沉积在一个或两个板上;

其中,在闭合构造中,是在将样品沉积在开放构造中之后配置的一种构造;在所述闭合构造中,通过两个板将相关的样品体积压缩成厚度基本均匀的层,并且相对于板基本停滞,并且该层的均匀厚度由板限定,并由板和间隔物调节;

其中样品的相关样品体积被分析以测定非细胞分析物和靶细胞;和

其中均匀厚度和颗粒的几何形状被构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间,颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间没有明显的重叠。

2. 一种测定液体样品中靶细胞和非细胞分析物的装置,包括:

第一板,第二板,多个间隔物,多个颗粒和捕获剂,其中:

f) 第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造;

g) 每个板在其各自的表面上具有样品接触区,用于接触包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;

h) 间隔物包括具有 $150\mu\text{m}$ 或更小的均匀高度的柱阵列;

i) 颗粒的尺寸为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$,当处于开放状态时,颗粒随机地分布在第一块板的样品接触区域;并且

j) 捕获剂附着在颗粒上,其中捕获剂特异性结合非细胞分析物,其中非细胞分析物能够结合发光标记形成被标记的非细胞分析物;

其中,在开放构造下,两个板分开,并且将样品沉积在一个或两个板上;

其中闭合构造是在将样品沉积在开放构造中之后配置的一种构造;在所述闭合构造中,通过两个板将至少一部分样品压缩成厚度基本均匀的层,并且相对于板基本停滞;并且

其中均匀厚度和颗粒的几何形状被构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间,颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间没有明显的重叠,并且该层的均匀厚度由板限定,并由板和间隔物调节;且

其中所述相关样品体积是所述样品总体积的一部分,其中所述相关样品体积被分析以测定非细胞分析物和靶细胞,其中在所述相关样品体积中的所述颗粒的数量被配置为,在闭合构造中,至少为10。

3. 一种用于测定液体样品中靶细胞和非细胞分析物的设备,包括:

第一板,第二板,多个间隔物,多个颗粒、捕获剂、成像器和处理器,其中:

h) 第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造;

i) 每个板在其各自的表面上具有样品接触区,用于接触包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;

j) 颗粒的尺寸为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$,并且在闭合构造随机地分布所述样品中;

k) 间隔物包括具有 $150\mu\text{m}$ 或更小的均匀高度的柱阵列;并且固定在第一板上;

l) 捕获剂附着在所述颗粒上,其中捕获剂特异性结合非细胞分析物,其中非细胞分析物能够结合发光标记形成被标记的非细胞分析物;

m) 所述成像器获取所述相关样品体积的至少一个图像;

n) 所述处理器被配置来处理至少一个图像以 (i) 通过分析至少10个颗粒的所述图像检测所述非细胞分析物,并 (ii) 检测所述靶细胞分析物;

其中开放构造是一种构成,其中,两个板分开,并且将样品沉积在一个或两个板上;

其中闭合构造是在将样品沉积在开放构造中之后配置的一种构造;在所述闭合构造中,通过两个板将相关体积的样品压缩成厚度基本均匀的层并且相对于板基本停滞;并且该层的均匀厚度由板限定,并由板和间隔物调节;

其中均匀厚度和颗粒的几何形状被构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间,颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间没有明显的重叠;且

其中所述相关样品体积是所述样品总体积的一部分,并且其中在所述相关样品体积中的所述颗粒的数量被配置为,在闭合构造中,至少为10;

其中所述处理器被配置以处理至少一个图像以 (i) 通过分析至少10个颗粒的所述图像检测所述非细胞分析物,并 (ii) 检测所述靶细胞分析物;

4. 前述权利要求中的装置,其中所述间隔物是周期性整列。

5. 前述权利要求中的装置,其中,所述间隔物的均匀高度为所述粒径的至少约0.8倍。

6. 前述权利要求中的装置,其中,所述一个或多个间隔物的均匀高度在所述粒径的至少约0.8倍至约 $150\mu\text{m}$ 之间。

7. 前述权利要求中的装置,其中,进一步包括成像器,用于获得所述样品的相关样品体积的图像。

8. 前述权利要求中的装置,其中,所述相关样品体积是所述至少一部分样品的一部分或全部体积,并且其中,所述相关样品体积中的所述颗粒的数量被配置为在闭合构造中至少为10。

9. 前述权利要求中的装置,还包括用于处理所述图像的处理器。

10. 前述权利要求中的装置,其中所述处理包括以下至少之一: (i) 通过分析至少10个颗粒的一个或多个图像来检测所述非细胞分析物;以及 (ii) 检测所述靶细胞分析物。

11. 一种装置,包括:

a. 第一板;

b. 第二板在其表面上具有样品接触区域;

其中第一板和第二板可相对于彼此移动到:

i. 一种开放结构,其中第一板和第二板至少部分地分开,从而可以将包含一个或多个靶细胞和非细胞分析物的样品沉积在它们之间,以及

ii. 闭合构造,其中将第一板放置在第二板的顶部上,从而将第一板和第二板之间的样品的至少一部分压缩成具有均匀厚度的层;

- c. 一个或多个隔离物,所述一个或多个隔离物包括柱的周期性阵列;和
其中该层的均匀厚度由一个或多个间隔物调节,
- d. 在其表面上具有一种或多种捕获剂的多个颗粒,
- 其中,在闭合构造中,第一板和第二板压缩样品的至少一部分,使得 (i) 一个或多个靶细胞,
- (ii) 多个颗粒和以及 (iii) 一个或多个靶细胞和多个颗粒之间基本上没有重叠。
12. 权利要求11所述的装置,其中,所述一个或多个间隔物固定在所述第二板的表面上。
13. 权利要求11所述的装置设备,其中,所述多个颗粒具有0.2至100 μm 之间的直径。
14. 权利要求11所述的装置,设备,试剂盒和方法,其中,当第一板和第二板处于开放构造时所述多个颗粒随机分布在第二板的样品接触区域中。
15. 权利要求11所述的装置,其中,所述捕获剂特异性地结合标记的靶分析物上,所述标记的靶分析物包含结合在发光标签上的非细胞分析物。
16. 权利要求11所述的装置,其中,一个或多个间隔物具有均匀高度。
17. 权利要求11所述的装置,其中,所述一个或多个间隔物的均匀高度至少为颗粒直径的0.8倍。
18. 权利要求11所述的装置,其中所述一个或多个间隔物的均匀高度低于200 μm 。
19. 权利要求11所述的装置,所述一个或多个间隔物的均匀高度在颗粒直径的0.8倍与200 μm 之间。
20. 权利要求11所述的装置,还包含一个用于捕获相关体积样品的图像的成像器。
21. 权利要求11所述的装置,其中所述相关体积是样品的至少一部分的部分或全部体积,并且其中所述在样品相关体积中的颗粒的数量被配置为在闭合构造中至少为10。
22. 权利要求11所述的装置,还包含用于处理所述图像的处理器的。
23. 权利要求11所述的装置,其中,所述处理包含以下至少之一 (i) 通过分析至少10个颗粒的一个或多个图像来检测所述非细胞分析物;以及 (ii) 检测所述靶细胞分析物。
24. 一种测定液体样品中细胞和非细胞分析物的方法,包括:
- h) 具有权利要求1的设备;
- i) 具有包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;
- j) 具有能够结合非细胞分析物形成被标记的非细胞分析物的光学标签;
- k) 以开放构造在设备样品接触区域存放样品,
- 1) 在步骤(d)之后,使装置处于闭合状态,从而将至少一部分样品压缩成具有均匀厚度的层;
- m) 使用成像仪拍摄样品相关样品体积的至少一张图像,其中该成像仪能够对光学标签和靶细胞成像,和
- n) 分析至少一个图像以检测 (i) 靶细胞和/或 (ii) 非细胞分析物的存在或数量。
25. 一种测定液体样品中细胞和非细胞分析物的方法,包括:
- h) 具有权利要求2的设备;
- i) 具有包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;
- j) 具有能够结合非细胞分析物形成被标记的非细胞分析物的光学标签;

k) 以开放构造存放设备样品接触区域的样品,

l) 在步骤(d)之后,使装置处于闭合状态,从而将至少一部分样品压缩成具有均匀厚度的层;

m) 使用成像仪拍摄样品相关样品体积的至少一张图像,其中该成像仪能够对光学标签和靶细胞成像;和

n) 使用处理器分析至少一幅图像以检测(i) 目标细胞和/或(ii) 非细胞分析物的存在或数量;

其中所述处理器被配置为处理所述至少一个图像以(i) 通过分析至少10个颗粒的图像来检测所述非细胞分析物,以及(ii) 检测所述靶细胞分析物。

26. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,在检测所述非细胞分析物时,通过数字计数来分析至少10个颗粒的图像,其中在数字计数中,根据光信号高于阈值的颗粒的数量或百分比确定样品中非细胞分析物的存在或含量,其中百分比是光信号高于阈值的颗粒的数量或比例光信号低于阈值的面包数量。

27. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,在检测所述非细胞分析物时,通过模拟计数来分析至少10个颗粒的图像,其中所述模拟计数通过来自于相关样本区域中所有粒子的光信号振幅对样本中非细胞分析物的存在或数量进行确定。

28. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,还包括两个或更多个图像,其中至少一个图像是暗场图像,并且至少一个图像是亮场图像。

29. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其中,所述一个或多个颗粒具有足以(i) 在所述板之间产生单层颗粒并且(ii) 板之间的颗粒之间基本上不重叠的几何形状(形状和大小)。

30. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个颗粒具有足以(i) 在所述板之间产生单层颗粒的密度和(ii) 在所述颗粒和板之间之间不产生实质性重叠的密度。

31. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,在将样品沉积到所述装置中之前,将所述一个或多个颗粒与所述样品混合。

32. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,在沉积所述样品之前,将所述一个或多个颗粒设置在所述第一板和所述第二板上的至少一个上,然后在样品沉积到设备上后将其与所述样品混合。

33. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个颗粒具有各种形状。

34. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个颗粒的最大尺寸在0.05 μm 至100 μm 的范围内。

35. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,使用竞争性测定法检测所述非细胞分析物,包括提供与所述非细胞分析物(如果存在)竞争的标记竞争性检测剂的步骤。与捕获物结合的分析物。

36. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,使用非竞争性测定法检测所述非细胞分析物,包括提供与所述非细胞的另一结合位点特异性结合的标记的检测剂的步骤。分析物,其中另一个结合位点是与捕获剂的结合位点不同的结合集。

37. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其中,所述图像之一是直接图像,所述直

接图像包括所述拓扑结构(即,几何形状)和所述粒子在所述公共区域中的位置的信息。另一个图像是信号图像,其被配置为包括来自标记的竞争性检测剂的信号作为图像的主要信号。

38. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其中,所述样品保持器包括第一板和第二板,所述第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造。

39. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中所述测定是用于诊断受试者病毒感染或细菌感染。

40. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其特征在于,还包括使用移动电子装置确定:(i) 一个或多个第一值,其对应于与所述一种或多种捕获剂缔合的所述分析物的量;以及(ii) 对应于所述样品内所述一个或多个细胞的数量的一个或多个第二值。

41. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其特征在于,所述多个颗粒可移除地联接至所述第一板和所述第二板中的所述至少一个。

42. 权利要求1所述的装置,设备,试剂盒和方法,其中,所述多个颗粒选自玻璃颗粒,磁性颗粒,聚苯乙烯颗粒,塑料颗粒,胶乳颗粒,金属颗粒,合金颗粒和所述颗粒。包括金属和电介质。

43. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中所述光学标签选自报告分子、荧光分子、染料分子、非特异性染料分子、和氧化还原反应活性分子。

44. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述多个颗粒包括第一多个颗粒和第二多个颗粒,其中所述第一多个颗粒包括与其偶联的一种或多种第一捕获剂,并且其中所述第二多个颗粒包含偶联于其上的一种或多种第二捕获剂。

45. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一种或多种第一捕获剂能够与所述分析物上的第一表位缔合,并且其中所述一种或多种第二捕获剂能够与所述分析物上的第二表位缔合。

46. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,所述多个第一颗粒沿着所述第一板设置,并且所述多个第二颗粒沿着所述第二板设置。

47. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述第一多个颗粒选自玻璃颗粒,磁性颗粒,聚苯乙烯颗粒和胶乳颗粒。

48. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述第二多个颗粒选报告分子,荧光分子,染料分子,非选择性染料分子和氧化还原反应活性分析组成的组。

49. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一种或多种第一捕获剂和所述一种或多种第二捕获剂中的至少一种能够与所述分析物特异性缔合。

50. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述装置还包括在所述空间内并且沿着所述第一板或所述第二板中的至少一个设置的一个或多个间隔物。

51. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个间隔物确定所述第一板和所述第二板之间的距离。

52. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个间隔物沿着从所述第一板到所述第二板的方向的长度小于或大约等于所述样品中的一个或多个细胞的平均直径。

53. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述多个颗粒具有各种形状。

54. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,在所述空间内的所述一个或多个细胞基本上形成非汇合的单层。

55. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述空间内的所述一个或多个细胞处于悬浮状态。

56. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述确定包括:获得包括在所述空间内的所述样本的所述至少一部分的区域的一个或多个图像,其中,所述成像区域包括所述多个图像中的至少一个的粒子。

57. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,其中,所述一个或多个第一值对应于由所述粒子发射的能量的强度。

58. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,还包括使所述样品与能够与所述一个或多个细胞缔合的细胞染料接触。

59. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个第二值对应于所述细胞染料发射的能量的强度。

60. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,还包括使用算法来确定所述一个或多个第一值与所述一个或多个第二值之间的关系。

61. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,基于所述一个或多个第一值与所述一个或多个第二值之间的所述关系,对从中获得所述样品的受试者的感染水平进行分类。

62. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述感染是病毒感染,细菌感染或其组合。

63. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一个或多个细胞选自白细胞,白细胞,粒细胞,粒细胞,髓样细胞,淋巴样细胞,嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞,淋巴细胞,T细胞,B细胞,自然杀伤细胞和单核细胞。

64. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述分析物选自多肽,蛋白质,标记蛋白质,融合蛋白质,抗体,小分子,病毒颗粒,细菌,C反应蛋白及其任何片段。

65. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,还包括使所述样品的至少一部分与能够与所述一种或多种捕获剂缔合的竞争性检测剂接触。

66. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述竞争性检测剂与所述分析物竞争性地结合至所述一种或多种捕获剂。

67. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,还包括使所述样品的至少一部分与能够与所述分析物缔合的补充检测剂接触。

68. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述一种或多种捕获剂能够与所述分析物上的第一表位缔合,并且其中所述补充检测剂能够与所述分析物上的第二表位缔合。

69. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述方法在小于大约10秒,小于大约20秒,小于大约30秒,小于大约40秒,小于大约50秒,小于大约60秒,小于大约120秒,小于大约180秒,小于大约240秒,小于大约300秒,小于大约400秒,小于大约500秒,小于大约1000秒或小于大约2000秒。

70. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,,步骤(d)至(f)在没有任何洗涤步骤的情

况下进行。

71. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述第一板和第二板用手压在一起。

72. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述非细胞分析物是多肽,核酸或代谢物。

73. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述样品是羊水,房水,玻璃体液,血液,全血,分馏血液,血浆,血清,母乳,脑脊髓液,子宫,乳糜,钟声,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液,鼻腔引流,痰,心包液,腹膜液,胸膜液,脓,大黄,唾液,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出气冷凝物。

74. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其特征在于,还包括基于结果诊断疾病。

75. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述疾病是癌症,炎症疾病或传染性疾病。

76. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述方法检测多种不同的非细胞分析物。

77. 前述权利要求所述的装置,设备或方法,其中,所述样品包括一个或多个靶细胞。

78. 前述设备权利要求所述的设备其中样品包含一种或多种非细胞分析物。

79. 前述设备权利要求所述的设备其中一种或多种颗粒的直径在0.2 μ m至100 μ m之间。

80. 前述设备权利要求所述的设备,其中,所述捕获剂结合至所述非细胞分析物。

81. 前述设备权利要求所述的设备,其中,所述样品的至少一部分是由第一板和第二板压缩成基本上均匀厚度的层。

82. 前述设备权利要求所述的设备,其中,所述样品的至少一部分是相对于板基本上停滞。

83. 前述设备权利要求所述的设备,其中,在所述闭合配置中,所述样品厚度被配置为(i)使所述一个或多个靶细胞在所述板之间具有单层,并且(ii)在所述一个或多个之间没有实质重叠靶细胞

84. 前述设备权利要求所述的设备,其中,所述一个或多个颗粒具有被构造为(i)使所述颗粒在所述板之间具有单层并且(ii)所述颗粒之间没有实质重叠的几何形状(形状和尺寸)。

85. 前述设备权利要求所述的设备,其中,所述一个或多个颗粒具有被配置为(i)使所述颗粒在板之间具有单层并且(ii)在所述颗粒之间没有实质重叠的密度。

86. 前述设备权利要求所述的设备,还包括在所述第一板和所述第二板中的一个或两个上的隔离物。

87. 根据任何在先设备权利要求所述的设备,还包括标记竞争检测试剂,用于与分析物竞争(如果存在),以便在竞争性测定中与分析物的捕获剂结合。

88. 根据任何在先设备权利要求所述的设备,其进一步包括在非竞争性测定中特异性结合所述分析物的另外的结合位点的标记的检测剂,其中所述另外的结合位点不同于捕获剂结合的所述结合位点。

89. 根据任何在先设备权利要求所述的设备,还包括成像器,当所述样品在所述两个板之间并且所述板处于闭合构造时,所述成像器对所述靶细胞和所述非细胞分析物成像。

90. 根据前述权利要求中任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并

且其中,所述间隔物之间的距离(SD)等于或小于约120 μm (微米)。

91.根据前述权利要求中的任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并且其中,所述间隔物之间的距离(SD)等于或小于大约100 μm (微米)。

92.根据前述权利要求中任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并且,所述间隔物间距离(ISD)的四次幂除以所述柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E) ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$)为 $5 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 或更小。

93.根据前述权利要求中任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和垫片,并且其中,所述间隔物间距离(ISD)的第四次幂除以所述柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E) ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$)为 $5 \times 10^{-5} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 或更小。

94.根据前述权利要求中的任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并且其中,所述间隔物具有柱状形状,基本上平坦的顶表面,预定的基本上均匀的高度以及预定的恒定间隔间距,所述间隔间距至少为比分析物的尺寸大2倍左右,其中间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数等于或大于2MPa,其中填充系数是间隔物接触面积与总板面积之比,其中,对于每个间隔物,间隔物的横向尺寸与其高度的比率至少为1(一个)。

95.根据前述权利要求中的任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并且其中,所述间隔物具有柱状形状,基本上平坦的顶表面,预定的基本上均匀的高度以及预定的恒定间隔间距,所述间隔间距至少为比分析物的尺寸大2倍左右,其中垫片的杨氏模量乘以间隔物的填充系数等于或大于2MPa,其中填充系数是垫片接触面积与总板面积之比,其中,对于每个间隔物,间隔物的横向尺寸与其高度的比率至少为1(一个),其中,间隔物间距离(ISD)的四次幂除以所述柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E) ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$)为 $5 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 或更小。

96.根据前述权利要求中任一项所述的装置,其中,所述装置包括两个板和间隔物,并且其中,所述间隔物的间隔距离与所述间隔物的平均宽度的比为2或更大,并且所述间隔物的填充系数乘以间隔物的杨氏模量为2MPa或更大。

97.根据前述权利要求中任一项所述的设备,装置,系统,智能电话系统或方法,其中,所述分析物选自蛋白质,肽,核酸,合成化合物和无机化合物。

98.根据前述权利要求中的任一项所述的设备,装置,系统,智能电话系统或方法,其中,所述间隔物具有柱的形状,并且所述柱的宽度与高度的比率等于或大于一个。

99.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中,沉积在一个或两个板上的样品的体积未知。

100.根据前述权利要求中任一项所述的设备,装置,系统,智能电话系统或方法,其中,所述间隔件具有柱状的形状,并且所述柱状部具有基本均匀的横截面。

并行测定样品中细胞和非细胞分析物

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请是2019年1月25日提交的国际申请PCT/US19/15309的国家阶段申请 (§ 371), 该申请要求2018年1月25日提交的美国临时专利申请62/621,761和2019年1月11日提交国际申请PCT/US2019/013388的权益, 其内容依赖于此, 并通过引用将其全部内容合并在此。

[0003] 本文提及的任何出版物或专利文件的全部公开内容通过引用整体并入。

[0004] 领域

[0005] 本公开涉及生物/化学采样, 感测, 测定和应用领域。

[0006] 背景

[0007] 使用很大比例的抗生素来治疗对抗生素几乎没有效果的疾病。过度 and 不当使用抗生素会导致耐药性越来越高的细菌的出现, 这已成为世界范围内的严重问题。个体医疗保健从业者经常面临如何识别需要 (尤其是不需要) 抗生素治疗的患者的难题。

[0008] 简述

[0009] 在某些实施方案中, 本公开提供了一种用于测定液体样品中的靶细胞和非细胞分析物的装置, 其包括第一板, 第二板, 多个间隔物, 多个颗粒和捕获剂, 其中: 第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构型, 包括打开构型和闭合构型; 每个板在其各自的表面上具有样品接触区域, 用于接触含有或怀疑含有一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品。间隔物包括周期性排列的具有均匀高度的支柱, 并固定在第一板上。所述颗粒的尺寸为0.2 μm 至100 μm , 并且以开放构造随机地分布在第一板的样品接触区域中。捕获剂特异性地结合非细胞分析物, 所述非细胞分析物能够结合形成被标记的非细胞分析物的光学标记。其中, 开放构造是这样的构造, 其中: 两个板分开, 并且将样品沉积在一个或两个板上; 其中, 闭合构造是在样品沉积之后以开放构造配置的配置; 在闭合构造下, 相关的样品体积被两个板压缩成厚度基本均匀的层, 并且相对于板基本停滞, 并且该层的均匀厚度由板限制并且由板调节和间隔物; 其中分析样品的相关样品体积以分析非细胞分析物和靶细胞; 并且其中颗粒的均匀厚度和几何形状构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间, 颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间没有明显的重叠。

[0010] 在某些实施方案中, 本公开提供了一种用于测定液体样品中的靶细胞和非细胞分析物的装置, 该装置包括: 第一板, 第二板, 多个间隔物, 多个颗粒和捕获剂, 其中: 第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造, 包括开放构造和闭合构造; 每个板在其各自的表面上具有样品接触区域, 用于接触含有或怀疑含有一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品; 间隔物包括固定在第一板上的, 具有小于150 μm 的均匀高度的支柱的阵列。所述颗粒的尺寸为0.2 μm 至100 μm , 并且以开放构造随机地分布在第一板的样品接触区域中。捕获剂特异性地结合非细胞分析物, 所述非细胞分析物能够结合形成被标记的非细胞分析物的光学标记。其中颗粒的均匀厚度和几何形状构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间, 颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间不存在明显的重叠, 并且均匀的厚度该层的层数由板限制, 并由板和间隔物调节; 并且其中相关样品体积是样品的一部分或全部体积, 其中分析相关

样品体积以分析非细胞分析物和靶细胞,其中相关样品体积中的颗粒数目被配置为,在闭合构造下,至少为10。

[0011] 在某些实施方案中,本公开提供了一种用于测定液体样品中的靶细胞和非细胞分析物的设备,其包括:第一板,第二板,多个间隔物,多个颗粒,捕获剂,成像器和处理器,其中:第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造;每个板在其各自的表面上具有样品接触区域,用于接触包含一个或多个靶细胞和非细胞分析物的样品。所述颗粒的尺寸为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$,并且以闭合构造随机地分布在样品中;间隔物包括固定在第一板上的具有均匀高度为 $150\mu\text{m}$ 的支柱的阵列。捕获剂附着在颗粒上,其中捕获剂特异性结合非细胞分析物,其中非细胞分析物能够结合形成被标记的非细胞分析物的光学标记。成像器拍摄至少一张有关样品量的图像;所述处理器被配置为处理所述至少一个图像以 (i) 通过分析至少10个颗粒的图像来检测所述非细胞分析物,以及 (ii) 检测所述靶细胞分析物;其中,开放构造是这样的构造,其中:两个板分开,并且将样品沉积在一个或两个板上;其中,闭合构造是在样品沉积在开放构造上形成的配置;在闭合构造下,相关的样品体积被两个板压缩成厚度基本均匀的层,并且相对于板基本停滞,并且该层的均匀厚度由板限制并且由板调节和间隔物;其中颗粒的均匀厚度和几何形状构造成在闭合构造中使一个或多个靶细胞之间,颗粒之间以及靶细胞和颗粒之间没有明显的重叠;并且其中相关样品体积是样品的一部分或全部体积,并且其中相关体积中的颗粒数量被构造成在闭合构造中为至少10个;其中所述处理器被配置为处理所述至少一个图像以 (i) 通过分析至少10个颗粒的图像来检测所述非细胞分析物,以及 (ii) 检测所述靶细胞分析物。

[0012] 在某些实施例中,本公开提供了一种装置,该装置包括:第一板;以及第二板。第二板在其表面上具有样品接触区域;其中所述第一板和所述第二板可相对于彼此移动成:敞开构造,其中所述第一板和所述第二板至少部分地分开,使得包含一个或多个靶细胞和非细胞分析物的样品可以将其放置在它们之间,以及将第一板放置在第二板的顶部上从而将第一板和第二板之间的样品的至少一部分压缩成具有均匀厚度的层的闭合构造;一个或多个隔离物,所述一个或多个隔离物包括柱的周期性阵列;并且其中所述层的均匀厚度由一个或多个间隔物调节,多个颗粒具有布置在其表面上的一种或多种捕获剂,其中,在闭合构造中,第一板和第二板至少压缩样品的一部分,使得在 (i) 一个或多个靶细胞, (ii) 多个颗粒和 (iii) 一个或多个靶细胞和多个颗粒之间基本上没有重叠。

[0013] 在某些实施例中,一个或多个间隔物固定在第二板的表面上。在某些实施方案中,多个颗粒的直径为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 。在某些实施方式中,当第一板和第二板处于开放构造时,多个颗粒随机地分布在第二板的样品接触区域中。在某些实施方案中,捕获剂特异性结合至标记的靶向分析物,该分析物包括附着于光学标签的非细胞分析物。在某些实施例中,一个或多个间隔物具有均匀的高度。在某些实施方案中,一个或多个间隔物的均匀高度为粒径的至少约0.8倍。在某些实施例中,一个或多个间隔物的均匀高度小于约 $200\mu\text{m}$ 。在某些实施方案中,一个或多个间隔物的均匀高度在粒径的至少约0.8倍与约 $200\mu\text{m}$ 之间。在某些实施例中,该设备还包括用于获得样品的相关体积的图像的成像器。在某些实施方案中,相关体积是样品的至少一部分的一部分或全部体积,并且其中在相关体积中的颗粒数量被配置为在闭合构造下至少为10。该设备还包括用于处理图像的处理器。在某些实施方案中,所述处理包括以下至少一项: (i) 通过分析至少10个颗粒的一个或多个图像来检测非细胞分析

物,以及(ii)检测靶细胞分析物。

[0014] 在某些实施方案中,本公开提供了一种用于测定液体样品中的细胞和非细胞分析物的方法,包括:具有本公开的装置;具有包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;具有能够结合非细胞分析物形成标记的非细胞分析物的光学标签;在开放构造中沉积所述装置的样品接触区域的样品,在步骤(d)之后将所述装置制成闭合构造,从而将至少一部分样品压缩成具有均匀厚度的层;使用成像器获取样品相关样品体积的至少一个图像,其中所述成像器能够使光学标签和靶细胞成像。分析至少一个图像以检测(i)靶细胞和/或(ii)非细胞分析物的存在或数量。

[0015] 在某些实施方案中,本公开提供了一种用于测定液体样品中的细胞和非细胞分析物的方法,包括:具有本公开的装置;具有包含或怀疑包含一种或多种靶细胞和非细胞分析物的样品;具有能够结合非细胞分析物形成标记的非细胞分析物的光学标签;在步骤(d)之后,将所述装置的样品接触区域的样品以敞开状态沉积,使所述装置处于闭合状态,从而将至少一部分样品压缩成具有均匀厚度的层;使用成像器获取样品相关样品体积的至少一个图像,其中该成像器能够对光学标签和靶细胞成像。使用处理器分析至少一幅图像以检测(i)目标细胞和/或(ii)非细胞分析物的存在或数量;其中所述处理器被配置为处理所述至少一个图像以(i)通过分析至少10个颗粒的图像来检测所述非细胞分析物,以及(ii)检测所述靶细胞分析物。

[0016] 在某些实施方案中,在检测非细胞分析物时,通过数字计数来分析至少10个颗粒的图像,其中在数字计数中,从样品中确定样品中非细胞分析物的存在或量。具有高于阈值的光信号的珠子的数量或百分比,其中该百分比是高于阈值的珠子的数量与低于阈值的数量的比。在某些实施方案中,在检测非细胞分析物时,通过模拟计数来分析至少10个颗粒的图像,其中模拟计数从光信号确定样品中非细胞分析物的存在或数量。相关样本区域中所有珠子的振幅。在某些实施例中,该装置或方法还包括样品层的公共区域/体积的两个或更多个图像,其中样品层的公共区域是包含一种或多种颗粒中的至少一个颗粒的样品的区域。。在某些实施例中,该设备或方法还包括两个或更多个图像,其中至少一个图像是暗场图像,并且至少一个是亮场图像。在某些实施方案中,样品层的厚度足以在板之间产生靶细胞的单层。在某些实施方案中,样品层的厚度足以在板之间的一个或多个靶细胞之间不产生实质重叠。在某些实施方案中,一个或多个颗粒具有足以(i)在板之间产生颗粒的单层和(ii)在板之间的颗粒之间没有实质重叠的几何形状(形状和尺寸)。在某些实施方案中,一种或多种颗粒具有足以(i)在板之间产生颗粒的单层和(ii)在板之间的颗粒之间没有实质重叠的密度。在某些实施方案中,在将样品沉积到装置中之前,将一种或多种颗粒与样品混合。在某些实施方案中,在样品沉积之前,将一个或多个颗粒置于第一板和第二板上的至少一个上,然后在将样品沉积至装置上时与样品混合。在某些实施方案中,一种或多种颗粒具有各种形状。在某些实施方案中,一种或多种颗粒的最大尺寸为0.05 μm 至100 μm 。在某些实施方案中,使用竞争性测定法检测非细胞分析物,该步骤包括提供与非细胞分析物竞争的标记竞争检测剂的步骤,如果存在的话,其与分析物的捕获剂结合。在某些实施方案中,使用非竞争性测定法检测非细胞分析物,该步骤包括提供与非细胞分析物的另一个结合位点特异性结合的标记的检测剂的步骤,其中另一个结合位点是结合组。与捕获剂的结合位点不同。在某些实施例中,图像之一是直接图像,其包括拓扑结构(即,几何形状)和粒子在公

共区域中的位置的信息。另一个图像是信号图像,其被配置为包括来自标记的竞争性检测剂的信号作为图像的主要信号。在某些实施例中,样品保持器包括第一板和第二板,第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造。

[0017] 在某些实施方案中,本公开提供了用于诊断受试者的病毒感染或细菌感染的方法,其包括:获得装置,该装置包括第一板,第二板以及多个颗粒,所述多个颗粒包含偶联于其上的一种或多种捕获剂,其中所述多个颗粒基本上沿着所述第一板和所述第二板中的至少一个单层设置,其中所述一种或多种捕获剂能够与分析物缔合,并且其中所述装置包括:开放构造,其中所述第一板和所述第二板至少部分地分开,从而暴露出包括所述多个颗粒的样品接触区域,所述样品接触区域设置在所述第一板和所述第二板上的至少一个上;封闭结构,其中所述第一板和所述第二板基本平行并且在它们之间包括空间。使所述装置与包含所述分析物和一个或多个细胞的样品接触,其中所述装置处于所述开放构造;将所述装置置于所述闭合构造中,从而将至少一部分所述样品容纳在所述空间内,其中,所述至少一部分所述样品的厚度在所述空间内基本均匀,并且其中,在所述闭合构造中,所述一个在所述空间内的一个或多个细胞基本上设置为单层;并拍摄薄样品层的公共区域的一个或多个图像,其中样品层的公共区域是包含以下至少一种的样品区域:所述多个颗粒中的一个;以及所述一个或多个细胞的一个细胞。

[0018] 在某些实施方案中,该方法进一步包括使用移动电子设备确定:(i)一个或多个第一值,其对应于与所述一种或多种捕获剂缔合的所述分析物的量;(ii)对应于所述样品内所述一个或多个细胞的数量的一個或多个第二值。在某些实施方案中,所述多个颗粒可移除地偶联至所述第一板和所述第二板中的所述至少一个。在某些实施方案中,所述多个颗粒选自玻璃珠,磁性珠,聚苯乙烯珠,乳胶颗粒,报告分子,荧光分子,染料分子,非选择性染料分子和氧化还原反应性的分子。在某些实施方案中,所述多个颗粒包括第一多个颗粒和第二多个颗粒,其中所述第一多个颗粒包括与其偶联的一种或多种第一捕获剂,并且其中所述第二多个颗粒包括一个或多个耦合到其上的第二捕获剂。在某些实施方案中,所述一种或多种第一捕获剂能够与所述分析物上的第一表位缔合,并且其中所述一种或多种第二捕获剂能够与所述分析物上的第二表位缔合。在某些实施例中,所述多个第一颗粒沿着所述第一板设置,并且所述多个第二颗粒沿着所述第二板设置。在某些实施方案中,所述第一多个颗粒选自玻璃珠,磁性珠,聚苯乙烯珠和乳胶颗粒。在某些实施方案中,所述第二多个颗粒选报告分子,荧光分子,染料分子,非选择性染料分子和氧化还原反应性分子。在某些实施方案中,所述一种或多种第一捕获剂和所述一种或多种第二捕获剂中的至少一种能够与所述分析物特异性缔合。在某些实施例中,所述装置还包括在所述空间内并沿着所述第一板或所述第二板中的至少一个设置的一个或多个间隔物。在某些实施例中,所述一个或多个间隔物确定所述第一板和所述第二板之间的距离。在某些实施例中,所述一个或多个间隔物沿着从所述第一板到所述第二板的方向的长度为至多约500微米,至多约250微米,至多约100微米,至多约90微米,至多约80微米,至多约70微米,至多约60微米,至多约50微米,至多约40微米,至多约30微米,至多约25微米,至多约20微米,至多约15微米,至多约10微米,至多约5微米,至多约4微米,至多约3微米,至多约2微米,至多约1微米,至多约0.5微米,或至多约0.1微米。在某些实施方案中,所述一个或多个间隔物沿着从所述第一板到所述第二板的方向的长度小于或大约等于所述样品中所述一个或多个细胞的平均直径。

在某些实施方案中,所述样品在所述空间内的至少一部分的所述厚度为至多约500微米,至多约250微米,至多约100微米,至多约90微米,至多约80微米,至多约70微米,至多约60微米,至多约50微米,至多约40微米,至多约30微米,至多约25微米,至多约20微米,至多约15微米,至多约10微米,至多约5微米,至多约4微米,至多约3微米,至多约2微米,至多约1微米,至多约0.5微米,至多约0.1微米,或至多约0.05微米。在某些实施方案中,所述多个颗粒具有各种形状。在某些实施方案中,所述多个颗粒的最大尺寸为约500微米,约250微米,约100微米,约90微米,约80微米,约70微米,约60微米,约50微米,约40微米,约30微米,约25微米,约20微米,约15微米,约10微米,约5微米,约4微米,约3微米,约2微米,约1微米,约0.5微米,约0.1微米或约0.05微米。在某些实施方案中,在所述空间内的所述一个或多个细胞基本上设置为非汇合的单层。在某些实施方案中,所述空间内的所述一个或多个细胞处于悬浮状态。在某些实施例中,所述确定包括获得包括在所述空间内的所述样本的所述至少一部分的区域的一个或多个图像,其中所述成像区域包括所述多个粒子中的至少一个。在某些实施例中,所述一个或多个第一值对应于由所述粒子发射的能量的强度。在某些实施方案中,该方法进一步包括使所述样品与能够与所述一个或多个细胞缔合的细胞染料接触。在某些实施方案中,所述一个或多个第二值对应于所述细胞染料发射的能量的强度。在某些实施例中,该方法还包括使用算法来确定所述一个或多个第一值与所述一个或多个第二值之间的关系。在某些实施方案中,该方法进一步包括基于所述一个或多个第一值和所述一个或多个第二值之间的所述关系,对从中获得所述样品的受试者的感染水平进行分类。在某些实施方案中,所述感染是病毒感染,细菌感染或其组合。在某些实施方案中,所述一种或多种细胞选自白细胞,白细胞,粒细胞,粒细胞,髓样细胞,淋巴样细胞,嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞,淋巴细胞,T细胞,B细胞,天然杀伤剂。细胞和单核细胞。在某些实施方案中,所述分析物选自多肽,蛋白,标记蛋白,融合蛋白,抗体,小分子,病毒颗粒,细菌,C反应蛋白及其任何片段。在某些实施方案中,该方法进一步包括使至少一部分所述样品与能够与所述一种或多种捕获剂缔合的竞争性检测剂接触。在某些实施方案中,所述竞争性检测剂与所述分析物竞争性结合至所述一种或多种捕获剂。在某些实施方案中,该方法进一步包括使至少一部分所述样品与能够与所述分析物缔合的补充检测剂接触。在某些实施方案中,所述一种或多种捕获剂能够与所述分析物上的第一表位缔合,并且其中所述补充检测剂能够与所述分析物上的第二表位缔合。在某些实施例中,所述方法在小于约10秒,小于约20秒,小于约30秒,小于约40秒,小于约50秒,小于约60秒,小于约120秒的时间内执行。小于约180秒,小于约240秒,小于约300秒,小于约400秒,小于约500秒,小于约1000秒或小于约2000秒。在某些实施方案中,所述方法不包括使所述样品的至少一部分与洗涤缓冲液接触。在某些实施方案中,该方法在没有任何洗涤步骤的情况下完成。在某些实施例中,用手将第一板和第二板压在一起。在某些实施方案中,非细胞分析物是多肽,核酸或代谢产物。在某些实施方案中,样品是体液。在某些实施方案中,体液是羊水,房水,玻璃体液,血液,全血,分馏血液,血浆,血清,母乳,脑脊髓液,乳糜,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液,鼻腔引流,痰液,心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大黄,唾液,皮脂,精液,痰液,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出气冷凝物。在某些实施方案中,该方法进一步包括基于结果诊断疾病。在某些实施方案中,该疾病是癌症,炎性疾病或感染性疾病。在某些实施方案中,该方法检测多种不同的非细胞分析物。

[0019] 在某些实施方案中,本公开提供了用于测定液体样品中的靶细胞和非细胞分析物的试剂盒,其包括:第一板,第二板,一个或多个颗粒和捕获剂,其中:第一板和第二板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造;每个板在其各自的表面上具有样品接触区域,用于接触包含一个或多个靶细胞和非细胞分析物的样品。所述颗粒的尺寸为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$,并且在其表面上附着有捕获剂,其中所述捕获剂与所述非细胞分析物特异性结合。其中,开放构造是这样的构造,其中:两个板分开,并且将样品沉积在一个或两个板上;其中,闭合构造是在样品沉积之后以开放构造配置的配置;在闭合构造下:至少一部分样品被两块板压缩成厚度基本均匀的层,并且相对于板基本停滞,并且至少一个颗粒在至少一部分样品内;并且其中颗粒的均匀厚度和几何形状被构造成使得在闭合构造中,(i) 一个或多个靶细胞基本上彼此不重叠,并且(ii) 颗粒彼此基本上不重叠。

[0020] 在某些实施例中,本公开提供了一种试剂盒,包括:装置,该装置包括第一板;第二盘;样品接触区域设置在第一板和第二板上的一个或两个上,用于接触包含一个或多个在其表面附着有捕获剂的颗粒的样品;其中第一板和第二板可相对于彼此移动成打开构型或闭合构型,其中打开构型是第一板和第二板至少部分地分开使得样品可沉积在它们之间;其中闭合结构是将第一板放置在第二板的顶部,从而将第一板和第二板之间的样品的至少一部分压缩成具有均匀厚度的层。

[0021] 在某些实施方案中,试剂盒进一步包括使用该装置的说明书。在某些实施方案中,样品包含一个或多个靶细胞。在某些实施方案中,样品包含一种或多种非细胞分析物。在某些实施方案中,一种或多种颗粒的直径为 $0.2\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 。在某些实施方案中,捕获剂与非细胞分析物结合。在某些实施方案中,样品的至少一部分被第一板和第二板压缩成厚度基本均匀的层。在某些实施方案中,样品的至少一部分相对于板基本停滞。在某些实施方案中,处于封闭构造的样品厚度被配置为(i) 使一个或多个靶细胞在板之间具有单层,并且(ii) 在一个或多个靶细胞之间没有实质重叠。在某些实施方案中,一个或多个颗粒具有被构造为(i) 使颗粒在板之间具有单层并且(ii) 在颗粒之间没有实质重叠的几何形状(形状和尺寸)。在某些实施方案中,一种或多种颗粒具有被配置为(i) 使颗粒在板之间具有单层并且(ii) 在颗粒之间没有实质重叠的密度。在某些实施例中,该装置还包括在第一板和第二板中的一个或两个上的间隔物。在某些实施方案中,该装置还包括标记的竞争检测剂,用于与分析物竞争(如果存在的话),以便在竞争性测定中与分析物的捕获剂结合。在某些实施方案中,该装置进一步包括标记的检测剂,其在非竞争性测定中特异性结合分析物的另外的结合位点,其中另外的结合位点是与捕获剂的结合位点不同的结合位点。在某些实施方案中,该装置进一步包括成像器,当样品在两个板之间并且板处于闭合构造时,该成像器对靶细胞和非细胞分析物成像。

[0022] 通过引用合并

[0023] 本说明书中提到的所有出版物,专利和专利申请都以相同的程度通过引用并入本文,就好像每个单独的出版物,专利或专利申请被明确地并单独地指出通过引用并入。

[0024] 附图的简要说明

[0025] 本领域技术人员将理解,以下描述的附图仅用于说明目的。在某些图中,附图是按比例绘制的。在提供实验数据点的图中,连接数据点的线仅用于引导数据查看,而没有其他手段。为了清楚起见,当在附图中示出时,一些元件被放大。应该注意的是,这些附图并非意

图严格地示出这些要素。元件的尺寸应从本文提供的描述中划定,并通过引用并入。附图无意以任何方式限制本发明的范围。

[0026] 图1提供了示出本发明的一些示例性方法的示意图。

[0027] 图2提供了显示本发明一些示例性方法的示意图。

[0028] 图3提供了显示本发明的一些示例性方法的示意图。

[0029] 图4提供了示意图,显示了本发明的一些示例性方法。

[0030] 详细说明

[0031] 下面的详细描述通过示例而非限制的方式示出了本发明的某些实施例。如果有的话,此处使用的章节标题和任何副标题仅用于组织目的,而不应被解释为以任何方式限制所描述的发明。节标题和/或副标题下的内容不限于节标题和/或副标题,而是适用于本发明的整个描述。

[0032] 任何出版物的引用都是由于其在申请日之前的公开,并且不应解释为承认本权利要求书无权凭借在先发明而早于该出版物。此外,提供的发布日期可能与实际发布日期不同,实际发布日期可能需要独立确认。

[0033] 定义

[0034] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。尽管类似于或等同于本文描述的那些方法和材料的任何方法和材料也可以用于本教导的实践或测试中,但是现在描述一些示例性方法和材料。

[0035] 如本文所用,术语“单层”可以指1个细胞厚的细胞层,或1个分子厚的分子层。在一些实施方案中,单层或细胞或分子可以是汇合的。在一些实施方案中,细胞或分子(例如,分析物)的单层可以是亚汇合的。在一些实施方案中,细胞或分子的单层可以是稀疏的。

[0036] 术语“连接”,“结合”,“偶联”和“连接”可互换使用,是指共价相互作用(例如,通过化学偶联)或非共价相互作用(例如,离子相互作用,疏水相互作用,氢键),杂交等),或将分子或细胞干燥到表面上。术语“特异性的”,“特异性地”或“特异性”是指与第一分子和多个其他分子中的任何一个相比,第一分子和第二分子之间优先识别,接触和形成稳定的复合物。分子(例如,在诸如捕获剂的第一分子与诸如分析物的多个其他分子中的任何一个之间的稳定的络合物的识别,接触或形成的程度几乎没有)。

[0037] 分析物或靶分析物可以是但不限于多肽,蛋白质(例如,C反应蛋白),蛋白质片段,标记的蛋白质,融合蛋白,抗体,抗体片段,小分子,病毒颗粒,细胞或其任何片段。

[0038] 本文所述的受试者可以是任何年龄,并且可以是成人,婴儿或儿童。在某些情况下,受试者年龄为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99岁,或在一定范围内(例如2至20岁之间,20至40岁之间或40至90岁之间)。可以受益的特定类别的受试者是患有或怀疑患有感染的受试者。可以受益的另一类特殊受试者是感染风险更高的受试者。此外,通过本文所述的任何方法或组合物治疗的受试者可以是男性或女性。本文公开的任何方法,装置或试剂盒也可以在非人类受试者例如实验室或农场动物上

进行。非人类受试者的非限制性实例包括狗,山羊,豚鼠,仓鼠,小鼠,猪,非人类灵长类动物(例如大猩猩,猿,猩猩,狐猴,或狒狒),老鼠,绵羊,母牛或斑马鱼。

[0039] 如本文所用,“病毒”可以指活的但非细胞性质的专性细胞内寄生虫,其由DNA或RNA和蛋白质外壳组成。病毒的直径范围可以从约20至约300nm。I类病毒(巴尔的摩分类)的基因组可以具有双链DNA。II类病毒可以具有单链DNA作为其基因组。III类病毒可以将双链RNA作为其基因组。IV类病毒的基因组可以具有阳性单链RNA,而基因组本身则作为mRNA。V类病毒的基因组可用作mRNA合成的模板,其负单链RNA可能为负。第六类和第六类病毒可以具有阳性的单链RNA基因组,但不仅在复制中而且在mRNA合成中都具有DNA中间体。病毒可以通过它们在植物,动物和原核生物中引起的疾病来识别。原核生物的病毒也称为噬菌体。

[0040] 如本文所用,“真菌”可以指以不规则块状生长,没有根,茎或叶,并且不含叶绿素或其他能够光合作用的色素的真核生物的划分。每种真菌生物可以是单细胞到丝状的,并具有分支的体细胞结构(例如,菌丝),其被含有葡聚糖或几丁质或两者的细胞壁包围,并含有真实的细胞核。

[0041] 如本文所用,“感染”可以指具有可能引起疾病的生物入侵多细胞生物的机体。

[0042] 术语“压印”是指通过将一块材料压印(即压花)以在板表面上形成间隔物来将间隔物和板整体固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0043] 术语“蚀刻的”是指通过蚀刻一片材料以在板表面上形成间隔物而将间隔物和板整体固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0044] 术语“融合至”是指通过将隔离物和板粘合在一起而将隔离物和板整体固定,用于隔离物和板的原始材料彼此融合,并且在之后两种材料之间存在清晰的材料边界融合。

[0045] 术语“结合到”是指通过通过粘接将间隔物和板结合而将间隔物和板整体地固定。

[0046] 术语“附接到”是指间隔物和板连接在一起。

[0047] 对于本领域技术人员而言,在阅读本公开后将显而易见的是,本文描述和示出的每个单独的实施例具有离散的组件和特征,这些组件和特征可以容易地与其他几个实施例中的任何一个的特征分离或组合。从本教导的范围或精神。可以以事件的顺序或逻辑上可能的任何其他顺序执行任何叙述的方法。本领域技术人员将理解,本发明的应用不限于构造,部件的布置,类别选择,权重,预定信号限制或本文的说明书或附图中阐述的步骤的细节。本发明能够具有其他实施例并且能够以许多不同的方式来实践或执行。

[0048] 快速,均质的细胞和非细胞分析物并行染色

[0049] 使用很大比例的抗生素来治疗抗生素几乎没有效果的疾病。过度和不当使用抗生素会导致耐药性越来越高的细菌的出现,这已成为世界范围内的严重问题。个体医疗保健从业者经常面临如何识别需要(尤其是不需要)抗生素治疗的患者的难题。

[0050] 并行地成像和/或分析细胞和非细胞分析物可以是确定受试者是否患有疾病(例如病毒或细菌感染)的有用工具。在一些实施方案中,细胞和非细胞分析物可以同时成像和/或分析(例如,可以使用单个图像或视野来确定细胞和非细胞分析物的量)。在一些实施方案中,可以对细胞和非细胞分析物进行串联成像和/或分析(例如,可以使用第一图像或第一视场确定细胞的数量,并且可以确定非细胞分析物的数量使用第二张图片或第二个视野)。在一些实施方案中,单个图像或视野可用于确定对应于细胞和/或非细胞分析物的一个或多个量。在一些实施方案中,可以使用两个或更多个图像或视野来确定对应于细胞和/

或非细胞分析物的一个或多个量。

[0051] 通常,细胞或非细胞分析物的数量可以对应于样品中细胞或非细胞分析物的数量。但是,在一些实施方案中,细胞或非细胞分析物的量可以对应于样品中细胞或非细胞分析物的浓度。在一些实施方案中,细胞或非细胞分析物的量可以对应于一部分细胞或非细胞分析物(例如,具有给定大小或形状的一部分细胞)。

[0052] 分析物通常可以是与病症的存在或不存在相关的任何分子。分析物的非限制性实例包括甲胎蛋白,前列腺特异性抗原,心肌肌钙蛋白,C反应蛋白(CRP)或人绒毛膜促性腺激素,致癌物,流感病毒标记,HPV,HBV,HCV,EBV,HIV,HSV,FeLV,FIV,Hanta病毒,HTLV I,HTLV II或CMV感染,细菌感染标记,真菌感染标记或寄生虫感染标记。细胞可以是身体的任何细胞。在一些实施方案中,细胞可以指免疫系统的细胞。免疫系统细胞的非限制性实例包括白细胞,粒细胞,粒细胞,髓样细胞,淋巴样细胞,嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞,淋巴细胞,T细胞,B细胞,天然杀伤细胞和单核细胞。

[0053] 本公开的实施例可以包括检测或确定(i)样品中的细胞数量和(ii)非细胞分析物的数量。在一些实施方案中,方法可以进一步包括基于样品中的细胞量和非细胞分析物的量确定受试者是否患有病症。在一些实施方案中,该病症将是引起样品中细胞或非细胞分析物的量变化的病症。在本公开的一些实施方案中,分析样品中的细胞和非细胞分析物可用于确定所分析的样品是否获自患有免疫系统疾病的受试者。如本文所用,“免疫系统疾病或病症”可以指由免疫系统缺陷引起的病理状况。如果一个人出生时免疫系统严重缺陷,则可能因病毒,细菌,真菌或寄生虫感染而死亡。在严重的联合免疫缺陷中,缺乏酶可能意味着有毒废物在免疫系统细胞内积累,杀死它们,从而破坏免疫系统。缺乏免疫系统细胞也是DiGeorge综合征的基础:胸腺的不适当发育可能意味着T细胞的产生减少。其他大多数免疫疾病是由于过度的免疫反应或“自身免疫”引起的。例如,哮喘,家族性地中海热和克罗恩病(炎性肠病)均是免疫系统反应过度引起的,而自身免疫性多腺综合征和糖尿病的某些方面则是由于免疫系统攻击“自身”细胞和分子。免疫系统作用的关键部分是区分入侵者和人体自身的细胞,如果无法区分,针对“自身”细胞和分子的反应会导致自身免疫性疾病。

[0054] 在本公开的一些实施方案中,可以使用分析样品中的细胞和非细胞分析物来确定所分析的样品是否获自患有代谢疾病的受试者。如本文所用,“代谢疾病或病症”可以指由代谢过程中的错误引起的病理状况。代谢可以是人体通过矿物质和维生素的酶促反应从食物中的脂肪,碳水化合物和蛋白质中合成能量并合成所需的其他分子的方式。该系统对错误的容忍度很高:通常,一种酶的突变并不意味着该人可以患某种疾病。许多不同的酶可能竞争修饰同一分子,对于多种代谢中间体,可能有不只一种方法来达到相同的最终结果。如果关键酶失去功能或代谢途径的控制机制受到影响,则可能发生疾病。

[0055] 在本公开的一些实施方案中,分析样品中的细胞和非细胞分析物可以用于确定所分析的样品是否获自患有肌肉或骨骼疾病的受试者。如本文所用,“肌肉和骨疾病或病症”可以指由对肌肉和结缔组织的形成和功能重要的基因中的缺陷引起的病理状况。结缔组织在本文中用作广义术语,包括骨骼,软骨和肌腱。例如,原纤维蛋白(一种结缔组织蛋白,对使组织坚固而柔韧性很重要)中的缺陷会引起马凡氏综合症,而灾难性的发育异常则是由软骨中硫酸盐转运蛋白的缺陷引起的。

[0056] 在本公开的一些实施方案中,分析样品中的细胞和非细胞分析物可用于确定所分

析的样品是否获自患有神经系统疾病的受试者。神经系统疾病可以指由包括中枢神经系统即大脑和周围神经系统在内的神经系统缺陷引起的病理状况。大脑和神经系统形成复杂的电信号网络,负责协调肌肉,感觉,言语,记忆,思想和情感。有几种直接影响神经系统的疾病具有遗传成分:有些是由于单个基因的突变所致,有些则被证明具有更复杂的遗传方式。

[0057] 在本公开的一些实施方案中,分析样品中的细胞(例如白细胞)和非细胞分析物(例如致癌物)可用于确定所分析的样品是否获自患有癌症的受试者。受试者可以患有任何类型的癌症。癌症的例子可以包括但不限于肾上腺癌,肛门癌,基底细胞癌,胆管癌,膀胱癌,血液癌,骨癌,脑瘤,乳腺癌,支气管癌,肝癌。心血管系统,子宫颈癌,结肠癌,结肠直肠癌,消化系统癌,内分泌系统癌,子宫内膜癌,食道癌,眼癌,胆囊癌,胃肠道肿瘤,肾癌,造血系统恶性肿瘤,喉癌,白血病,肝癌,肺癌,淋巴瘤,黑素瘤,间皮瘤,肌肉系统癌,骨髓增生异常综合症(MDS),骨髓瘤,鼻腔癌,鼻咽癌,神经系统癌,淋巴系统癌,口腔癌,口咽癌癌症,骨肉瘤,卵巢癌,胰腺癌,阴茎癌,垂体瘤,前列腺癌,直肠癌,肾盂癌,生殖系统癌,水库癌呼吸系统,肉瘤,唾液腺癌,骨骼系统癌,皮肤癌,小肠癌,胃癌,睾丸癌,喉癌,胸腺癌,甲状腺癌,肿瘤,泌尿系统癌,子宫癌,阴道癌,或外阴癌。术语“淋巴瘤”可以指任何类型的淋巴瘤,包括B细胞淋巴瘤(例如,弥漫性大B细胞淋巴瘤,滤泡性淋巴瘤,小淋巴细胞淋巴瘤,套细胞淋巴瘤,边缘区B细胞淋巴瘤,伯基特淋巴瘤,淋巴浆细胞性淋巴瘤,毛细胞白血病或原发性中枢神经系统淋巴瘤)或T细胞淋巴瘤(例如前体T淋巴细胞淋巴瘤或外周T细胞淋巴瘤)。“白血病”一词可以指任何类型的白血病,包括急性白血病或慢性白血病。白血病的类型包括急性髓细胞性白血病,慢性髓细胞性白血病,急性淋巴细胞性白血病,急性未分化白血病或慢性淋巴细胞性白血病。在某些情况下,癌症患者没有特定类型的癌症。例如,在某些情况下,患者可能患有非乳腺癌的癌症。

[0058] 具有报告分子的捕获剂可用于检测细胞和/或非细胞分析物。例如,a啶橙可用于染色样品中的白细胞。报告分子的非限制性实例包括花青5(Cy5),组氨酸(His),V5,FLAG,流感血凝素(HA),Myc,VSV-G和硫氧还蛋白(Trx),谷胱甘肽-S-转移酶(GST),辣根过氧化物酶(HRP),氯霉素乙酰转移酶(CAT) β -半乳糖苷酶, β -葡萄糖醛酸糖苷酶,萤光素酶,绿色荧光蛋白(GFP),HcRed,DsRed,青色荧光蛋白(CFP),黄色荧光蛋白(YFP)和自动荧光蛋白,包括蓝色荧光蛋白(BFP)。例如,与GFP缀合的抗CRP抗体(例如捕获剂)可用于确定样品中CRP的存在或量。

[0059] 可以使用染色试剂(例如染料)以使细胞(例如有核细胞)可检测。例如,可以用a啶橙(AO)染色样品,,啶橙是一种能够染色活细胞和细胞质某些成分的染料。cr啶橙的吸收峰在490nm,与DNA结合时在520nm发射。可以使用其他荧光染料,例如Hoechst 33258和Hoechst 33342。通常,可以使用任何非特异性染色细胞,细胞质,细胞核酸材料或细胞核本身的荧光染料。这些染料在本文中称为“非特异性荧光染料”。在一些实施方案中,可以将捕获剂或染色剂涂覆在第一板和/或第二板的一个或多个表面上。可以预期的是,将捕获剂或染色剂涂覆在第一板或第二板的一个或多个表面上可用于减少用户为了分析样品而执行的步骤数量。例如,如果第一板涂覆有细胞染色试剂,则用户仅需要将样品沉积到QMAX卡上或Q质卡中(例如,在样品接触区域内)。接触细胞染色试剂后,可以自动(例如,无需用户干预)对样品中的细胞进行染色。减少用户执行的步骤数量可以减少错误(例如人为错误),提高数据分析的准确性,并减少分析样品所需的时间。在一些实施方案中,捕获剂可以被涂覆

在第一板的一个或多个表面上,并且染色剂可以被涂覆在第二板的一个或多个表面上。在另一个实施方案中,捕获剂和染色剂可以涂覆在第一板或第二板的一个或多个表面上。在又一个实施方案中,可以将捕获剂和染色剂涂覆在第一板和第二板的一个或多个表面上。

[0060] 在一个例子中,CRP (C反应蛋白) 是一种在健康人的血液中通常以非常低的浓度 ($<1\mu\text{g/mL}$) 存在的蛋白质。在细菌感染中,CRP浓度显著增加 ($>10\mu\text{g/mL}$),而病毒感染通常仅引起非常适度的CRP升高或根本没有升高。因此,CRP可以用作生物标志物,从临床上区分细菌感染和病毒感染。此类别中的其他生物标志物包括白细胞(WBC)计数,淋巴细胞(LYM)计数和PCT(降钙素)等。

[0061] 分析细胞和非细胞分析物的数量可以包括确定细胞(例如白细胞)的数量,确定非细胞分析物的数量(例如CRP),以及将这些值与一个或多个参考值进行比较,以确定从其获得分析样品的受试者是否患有疾病。在一些实施方案中,分析细胞和非细胞分析物的量可以包括确定细胞的量与非细胞分析物的量的比率,以及将该比率与参考值进行比较,以确定是否从中分析了受试者获得的样品有条件。在一些实施例中,从健康受试者或患有疾病的受试者获得的测量结果(例如,细胞的数量或非细胞分析物的数量)可以存储在数据库中,并用于确定参考值,用来与未来的测量进行比较。

[0062] 示例1

[0063] 快速,均质的细胞和非细胞分析物并行染色

[0064] 在这里,我们描述了一步组合血液测试,该测试报告了CRP,WBC和LYM水平或60秒内的计数。三种测试(CRP,WBC和LYM)的组合可产生很高的灵敏度和特异性,可以区分细菌感染和病毒感染,因此对于抗生素给药非常有价值。

[0065] 在局部读取方法中,如图1所示,将为以下两次测量测量一个或多个粒子:(a)来自粒子区域(SP)的信号。它可以来自整个粒子区域,也可以来自粒子区域的指定区域。(b)粒子周围区域的信号(局部背景SB)。它可以来自粒子周围的整个区域或指定区域。“周围”的定义可以是与粒子外表面之间的距离 $0.01D, 0.1D, 0.2D, 0.5D, 1D, 2D, 5D, 10D, 50D$ 或任意两个值之间的范围。其中“D”是颗粒的平均直径。可以将每个颗粒的真实测定信号(SA)确定为 $SA = SP - SB$ 。来自每个CROF(SCROF)的测定信号可以是多个颗粒的平均值。它可以是整个CROF上的所有粒子,也可以是CROF指定区域中的所有粒子(例如 $SCROF = \text{平均值}(SA_1, SA_2, SA_3 \dots SA_n)$)

[0066] 在该实验中,用于免疫测定的装置包括第一板和第二板。如图3中图片1所示,首先将捕获抗体缀合至磁珠。接下来,如图片2所示,将一块与WBC染色试剂混合的抗体偶联珠粒包被在一个x板上。如面板3所示,然后用标记的抗CRP检测抗体包被第二个x板。在面板4中,准备好各个X板后,Q卡就可以接收一滴血了。如图片5所示,在滴了一滴全血后,将x板快速压在一起以溶解试剂并启动测定。随后,如图片6所示,经过30秒后,可以分析该测定的WBC计数和CRP浓度。

[0067] -实验使用以下材料进行:

[0068] -抗人CRP兔多克隆抗体(Abcam)

[0069] -PureProteome NHS FlexiBind磁珠(Millipore)

[0070] -人CRP分析物(Fitzgerald)

[0071] -4%牛血清白蛋白

[0072] -PBS (磷酸盐缓冲盐溶液)

[0073] -PBS-吐温20 (PBST)

[0074] -带有10 μ m间隔物的X板

[0075] -全血

[0076] -cr啖橙

[0077] 根据以下程序进行实验:

[0078] 1. 抗CRP捕获抗体与珠的缀合。根据制造商的协议,将NHS活化的珠子(直径10 μ m的微孔)与抗CRP小鼠单克隆捕获抗体(Fitzgerald)偶联。

[0079] 2. 珠子阻断处理。使用4%BSA的PBS中的4%BSA将抗体偶联的珠阻断过夜。第二天,在使用前,将珠子用PBST洗涤6次。

[0080] 3. 第一板涂层。将第2步中的1 μ L抗体缀合的珠子(珠子浓度为107-108/mL)加或不加25 μ g/mL cr啖橙(A0,WBC染色试剂)滴到Q卡上,并在室温下风干。

[0081] 4. 均质的BEST测定。将1 μ L新鲜全血和1 μ L Cy5标记的抗CRP小鼠单克隆检测抗体(Fitzgerald)混合在一起,然后滴在Q卡的同一区域上方,该区域被干燥的,抗体缀合的磁珠占据。混合物立即被包含10 μ m柱子的第二块X板覆盖。在发生成像之前,将测定温育30秒。

[0082] 5. 成像。无需清洗,就可以使用iPhone 6s在不同波长下拍摄两个荧光图像,以观察WBC的染色信号或来自抗CRP检测抗体的信号。

[0083] 在另一个实验中,用于免疫测定的装置包括第一板和第二板。如图4第1幅图片所示,首先将捕获抗体缀合至磁珠。接下来,如第2幅图片所示,将一个x-板用抗体缀合的珠子包被。如第3幅图片所示,然后用标记的抗CRP检测抗体包被第二个x板。在第4幅图片中,准备好各个X板后,Q卡准备好接受一滴与WBC染色试剂混合的血液。如第5幅图片所示,在添加一滴全血与WBC染色试剂混合后,将X板快速压在一起以溶解试剂并启动测定。随后,如第6幅图片所示,经过30秒后,可以分析该测定的WBC计数和CRP浓度。

[0084] QMAX系统

[0085] A) QMAX卡

[0086] QMAX卡的详细信息在包括国际申请号PCT/US2016/046437 (Essenlix存档号ESSN-028W0)的各种出版物中进行了详细描述,出于所有目的,通过引用将其合并于此。

[0087] I. 板

[0088] 在本发明中,CROF的板通常由以下任何材料制成:(i)能够与间隔物一起调节样品的一部分或全部体积的厚度,并且(ii)没有对板子要达到的样品,测定或目标的重大不利影响。然而,在某些实施例中,用于板的特定材料(因此具有它们的特性)可以实现某些目的。

[0089] 在某些实施例中,对于以下参数中的每一个,两个板具有相同或不同的参数:板材料,板厚度,板形状,板面积,板柔性,板表面性质和板光学透明度。

[0090] (i) 板的材料。板由单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或它们的组合制成。用于板的每种材料是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的示例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。

[0091] Mat-1:板材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ha (HfO),氧化铝 (AlO),半导体:(硅,GaAs,GaN等),金属(例如金,银,铜,铝,Ti,Ni等),陶瓷

或它们的任何组合。

[0092] Mat-2: 用于隔离物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, 烯烃聚合物, 纤维素聚合物, 非纤维素聚合物, 聚酯聚合物, 尼龙, 环烯烃共聚物(COC), 聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA), 聚碳酸酯(PC), 环状烯烃聚合物(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), 聚苯乙烯(PS), 聚甲醛(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), 橡胶或它们的任意组合。

[0093] 在某些实施例中, 板分别独立地由玻璃, 塑料, 陶瓷和金属中的至少一种制成。在某些实施例中, 每个板独立地包括玻璃, 塑料, 陶瓷和金属中的至少一种。

[0094] 在某些实施例中, 一个板在横向面积, 厚度, 形状, 材料或表面处理上不同于另一板。在某些实施例中, 一块板在横向面积, 厚度, 形状, 材料或表面处理上与另一块板相同。

[0095] 板的材料是刚性的, 柔性的或两者之间的任何柔性。刚性(即, 刚性)或挠性相对于使板进入闭合构造所使用的给定压力。

[0096] 在某些实施例中, 根据在闭合构造下控制样品厚度的均匀性的要求来确定刚性板或柔性板的选择。

[0097] 在某些实施例中, 两个板中的至少一个是透明的(对光而言)。在某些实施例中, 一个板或两个板的至少一部分或几部分是透明的。在某些实施例中, 板是不透明的。

[0098] (ii) 板厚度。在某些实施例中, 至少一个板的平均厚度为小于等于2nm, 小于等于10nm, 小于等于100nm, 小于等于500nm, 小于等于1000nm, 小于等于2 μ m(微米), 小于等于5 μ m, 小于等于10微米, 小于等于20微米, 小于等于50微米, 小于等于100微米, 小于等于150微米, 小于等于200微米, 小于等于300微米, 小于等于500微米, 小于等于800微米, 小于等于1mm(毫米), 小于等于2mm, 小于等于3mm或任意两个值之间的范围。

[0099] 在某些实施例中, 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500mm, 或两个值之间的范围。

[0100] 在某些实施例中, 板的厚度在整个板上不均匀。在不同位置使用不同的板厚度可用于控制板的弯曲, 折叠, 样品厚度调节等。

[0101] (iii) 板的形状和面积。通常, 板可以具有任何形状, 只要该形状允许样品的压缩开放流和样品厚度的调节即可。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。

[0102] 在某些实施例中, 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。板的面积最大为1平方毫米, 最大为10平方毫米, 最大为100平方毫米, 最大为1平方厘米, 最大为5平方厘米, 最大为10平方厘米, 最大为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平方厘米或最多10,000平方厘米, 或两个值之间的任意排列。板的形状可以是矩形, 正方形, 圆形或其他形状。

[0103] 在某些实施例中, 至少一个板是具有宽度, 厚度和长度的带(或条)的形式。宽度最多为0.1厘米, 最多为0.5厘米, 最多为1厘米, 最多为5厘米, 最多为10厘米, 最多为50厘米, 最多为100厘米, 最多为500厘米, 最多为1000厘米, 或任意两个值之间的范围。该长度可以

是所需的长度。带形板可以卷成卷。

[0104] (iv) 板表面平整度。在许多实施例中,板的内表面是平坦的或显着平坦的,平坦的。在某些实施例中,两个内表面在闭合构造下彼此平行。平坦的内表面可通过在闭合构造下简单地使用预定的间隔物高度来促进样品厚度的量化和/或控制。对于板的非平坦内表面,不仅需要知道间隔物的高度,而且还需要知道内表面的确切拓扑,以量化和/或控制闭合构造下的样品厚度。要知道表面拓扑需要额外的测量和/或校正,这可能是复杂,费时和昂贵的。

[0105] 板表面的平整度是相对于最终样品厚度(最终厚度是闭合构造时的厚度)而言,通常以术语“相对表面平整度”来表征,即相对于最终样品厚度的比率最终样品厚度。

[0106] 在某些实施例中,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%或这些值中的任意两个之间的范围。

[0107] (v) 板表面平行度。在某些实施例中,板的两个表面彼此显着平行。在某些实施例中,板的两个表面不彼此平行。

[0108] (vi) 板的柔性。在某些实施例中,板在CROF过程的压缩下是柔性的。在某些实施例中,两个板在CROF过程的压缩下都是柔性的。在某些实施例中,在CROF工艺的压缩下,一块板是刚性的而另一块板是柔性的。在某些实施例中,两个板都是刚性的。在某些实施例中,两个板都是柔性的,但是具有不同的柔性。

[0109] (vii) 板光学透明度。在某些实施例中,板是光学透明的。在某些实施例中,两个板都是光学透明的。在某些实施例中,板是光学透明的,而另一板是不透明的。在某些实施例中,两个板都是不透明的。在某些实施例中,两个板都是透光的,但是具有不同的透光率。板的光学透明性可以指板的一部分或整个区域。

[0110] (viii) 表面润湿性能。在某些实施方案中,板的内表面润湿(即接触角小于90度)样品,转移液体或兼具这两种功能。在某些实施例中,两个板均具有润湿样品,转移液体或两者均润湿的内表面。具有相同或不同的润湿性。在某些实施方案中,板具有润湿样品,转移液体或两者的内表面。另一块板的内表面不湿(即接触角等于或大于90度)。板内表面的润湿可以指板的一部分或整个区域。

[0111] 在某些实施方案中,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。纳米结构和微结构也用于控制内表面的润湿性能。

[0112] II. 间隔物

[0113] (i) 间隔物的功能。在本发明中,间隔物被构造成具有以下功能和特性中的一种或任意组合:间隔物被构造成(1)与板一起控制样品的厚度或样品的相关体积(优选,厚度控制在相关区域内是精确的,或均匀的,或两者兼有);(2)允许样品在平板表面上具有压缩的调节开流(CROF);(3)在给定的样品区域(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降的影响;(5)改变和/或控制板的内表面的润湿性;(6)确定盘子的位置,大小比例和/或与盘子有关的信息,或者(7)将以上各项进行任意组合。

[0114] (ii) 间隔物的结构和形状。为了实现所需的样品厚度减小和控制,在某些实施方案中,将间隔物固定在其各自的板上。通常,间隔物可以具有任何形状,只要间隔物能够在

CROF过程中调节样品厚度即可,但是为了实现某些功能(例如更好的均匀性,压制的过冲程度等),优选使用某些形状。

[0115] 隔离物是单个隔离物或多个隔离物。(例如数组)。多个间隔物的某些实施例是间隔物(例如,柱)的阵列,其中间隔物之间的距离是周期性的或非周期性的,或者在板的某些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。

[0116] 间隔物有两种:开放式间隔物和封闭式间隔物。开放式间隔物是允许样品流过间隔物的间隔物(即样品流过并通过间隔物。例如,柱子作为间隔物。),封闭的间隔物是阻止样品流动的间隔物。(即样品不能流过隔离物。例如,环形隔离物,样品在环内。)。两种类型的间隔物都使用它们的高度来调节封闭结构下的最终样品厚度。

[0117] 在某些实施例中,间隔物仅是开放间隔物。在某些实施例中,间隔物仅是封闭的间隔物。在某些实施例中,间隔物是开放式间隔物和封闭式间隔物的组合。

[0118] 术语“柱状间隔物”是指间隔物具有柱状形状,并且柱状形状可以指代具有高度和侧面形状的物体,该高度和侧面形状允许样品在压缩的开放流期间围绕其流动。

[0119] 在某些实施例中,柱状间隔物的横向形状是选自以下的组的形状:(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形-形,字母从A到Z),数字形(例如0、1、2、3、4...到9之类的形状);(ii) (i) 组中具有至少一个圆角的形状;(iii) (i) 组的形状具有锯齿形或粗糙边缘;(iv) (i), (ii) 和 (iii) 的任何叠加。对于多个间隔物,不同的间隔物可具有不同的横向形状和尺寸以及与相邻间隔物的不同距离。

[0120] 在某些实施例中,间隔物可以是和/或可以包括柱,柱,珠,球和/或其他合适的几何形状。间隔物的横向形状和尺寸(即横向于相应板表面的尺寸)可以是任何东西,除了在某些实施例中,以下限制除外:(i) 间隔物的几何形状不会在测量样品厚度时引起重大误差,并且卷;(ii) 间隔物的几何形状不会阻止样品在板之间流出(即,它不是封闭形式的)。但是在某些实施例中,它们需要一些隔离物为封闭的隔离物以限制样品流动。

[0121] 在某些实施例中,间隔物的形状具有圆角。例如,矩形间隔器具有一个,几个或所有倒角的角(例如圆形而不是90度角)。圆角通常使隔离物的制造更容易,并且在某些情况下,对生物材料的损害也较小。

[0122] 支柱的侧壁在侧壁的不同部分中可以是直的,弯曲的,倾斜的或不同的形状。在某些实施例中,间隔物是具有各种横向形状,侧壁以及柱子高度与柱子侧面面积比的柱子。在一个优选的实施例中,间隔物具有用于允许开放流动的支柱形状。

[0123] (iii) 间隔物的材料。在本发明中,间隔物通常由能够与两个板一起用来调节样品的相关体积的厚度的任何材料制成。在某些实施例中,用于间隔物的材料不同于用于板的材料。在某些实施例中,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。

[0124] 间隔物由单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或它们的组合制成。用于间隔物的每种材料是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的示例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。在优选的实施方式中,隔离物由与CROF中使用的板相同的材料制成。

[0125] (iv) 间隔物的机械强度和柔韧性。在某些实施例中,间隔物的机械强度足够强,使得在压缩期间以及在板的闭合构造下,间隔物的高度与板处于开放构造时的高度相同或明显相同。在某些实施例中,可以表征和预定间隔物在开放构造和闭合构造之间的差异。

[0126] 间隔物的材料是刚性的,柔性的或两者之间的任何柔性。刚性是相对于使板进入

闭合状态所使用的施加压力:如果空间在压力下变形的高度不超过其高度的1%,则将隔离材料视为刚性的,否则视为柔性的。当间隔物由柔性材料制成时,仍可以根据间隔物的按压力和机械性能来确定处于闭合构造的最终样品厚度。

[0127] (v) 样品内的间隔物。为了实现所需的样品厚度减小和控制,特别是获得良好的样品厚度均匀性,在某些实施例中,将隔离物放置在样品内部或样品的相关体积内。在某些实施方案中,样品或样品的相关体积内有一个或多个间隔物,间隔物之间具有适当的间隔。在某些实施方案中,至少一个间隔物在样品内部,至少两个间隔物在样品内部或样品的相关体积,或至少“n”个间隔物在样品内部或样品的相关体积中,其中“n”可以通过CROF期间的样品厚度均匀性或所需的样品流动性来确定。

[0128] (vi) 间隔物高度。在某些实施例中,所有间隔物具有相同的预定高度。在某些实施例中,间隔物具有不同的预定高度。在某些实施例中,间隔物可分为组或区域,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。在某些实施例中,间隔物具有大约相同的高度。在某些实施例中,一定数量的间隔物具有相同的高度。

[0129] 间隔物的高度由所需的规定最终样品厚度和残留样品厚度选择。间隔物高度(预定间隔物高度)和/或样品厚度为3nm以下,10nm以下,50nm以下,100nm以下,200nm以下,500nm以下,800nm以下,1000nm以下,1 μ m以下,2 μ m以下,3 μ m以下,5 μ m以下,10 μ m以下,20 μ m以下,30 μ m以下,50 μ m以下,100 μ m以下,150 μ m以下,200 μ m以下,300 μ m以下,500 μ m以下,800 μ m以下,1mm以下,2mm以下,4mm以下,或两个值之间的范围。

[0130] 间隔物高度和/或样品厚度在一个优选实施方案中为1nm至100nm,在另一优选实施方案中为100nm至500nm,在单独的优选实施方案中为500nm至1000nm,1 μ m(即1000nm)至2nm。在另一个优选实施例中为 μ m,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在单独的优选实施方案中为100 μ m至100 μ m。

[0131] 在某些实施方案中,间隔物高度和/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。“稍大”表示它大约大1%至5%,并且两个值之间可以有任何数字。

[0132] 在某些实施方案中,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的形状),但是小于分析物的最大尺寸。

[0133] 例如,红细胞具有圆盘形状,其最小尺寸为2 μ m(圆盘厚度),最大尺寸为11 μ m(圆盘直径)。在本发明的一个实施例中,选择隔离物以使板在相关区域中的内表面间距在一个实施例中为2 μ m(等于最小尺寸),在另一实施例中为2.2 μ m,或3(50在另一实施例中,该尺寸比最小尺寸大1%,但小于红细胞的尺寸)。这样的实施方案在血细胞计数方面具有某些优点。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,并且使两个值之间具有任意数字,将未稀释的全血样品平均限制在每个红细胞(RBC)的间距内不会与其他细胞重叠,从而可以在视觉上准确计数红细胞。(RBC之间的重叠过多会导致计数上的严重错误)。

[0134] 在本发明的某些实施方案中,当板处于闭合构造时,它使用板和间隔物不仅调节样品的厚度,而且调节样品中分析物/实体的取向和/或表面密度/实体。组态。当板处于闭

合构造时,样品的厚度越薄,单位表面积的分析物/实体就越少(即表面浓度越小)。

[0135] (vii) 间隔物横向尺寸。对于开放式间隔物,其横向尺寸可以通过x和y的两个正交方向的横向尺寸(有时称为宽度)来表征。间隔物在每个方向上的横向尺寸相同或不同。在某些实施例中,每个方向(x或y)的横向尺寸是…

[0136] 在某些实施例中,x与y方向的横向尺寸之比为1、1.5、2、5、10、100、500、1000、10,000,或该值中任意两个之间的范围。在某些实施方案中,使用不同的比例来调节样品的流动方向;例如,比率越大,流向的方向就越大(尺寸方向越大)。

[0137] 在某些实施例中,间隔物在x和y方向上的不同横向尺寸用作(a)使用间隔物作为比例标记以指示板的方向,(b)使用间隔物在a中产生更多的样品流。首选方向,或两者兼而有之。

[0138] 在优选实施例中,周期,宽度和高度。

[0139] 在某些实施例中,所有间隔物具有相同的形状和尺寸。在某些实施例中,每个间隔物具有不同的横向尺寸。

[0140] 对于封闭的间隔物,在某些实施例中,基于要被封闭的间隔物封闭的样品的总体积来选择内部横向形状和尺寸,其中,在本公开中已经描述了体积大小;在某些实施例中,外部的形状和尺寸是根据所需的强度来选择的,以支撑液体对着间隔物的压力和挤压板的压缩压力。

[0141] (viii) 高度与支柱间隔物的平均横向尺寸的长宽比。在某些实施例中,柱间隔物的高度与平均横向尺寸的纵横比为100,000、10,000、1,000、100、10、1、0.1、0.01、0.001、0.0001、0.00001,或任意两个值之间的范围。

[0142] (ix) 间隔物高度精度。间隔物的高度应精确控制。间隔物的相对精度(即,相对于期望的间隔物高度的偏差的比率)为小于等于0.001%,小于等于0.01%,小于等于0.1%,小于等于0.5%,小于等于1%,小于等于2%,小于等于5%,小于等于8%,小于等于10%,小于等于15%,小于等于20%,小于等于30%,小于等于40%,小于等于50%,小于等于60%,小于等于70%,小于等于80%,小于等于90%,小于等于99.9%,或在任意值之间的范围。

[0143] (x) 间隔物间距。隔离物可以是板上或样品的相关区域中的单个隔离物或多个隔离物。在某些实施例中,板上的间隔物以阵列形式配置和/或布置,并且该阵列是周期性的,非周期性的阵列或在板的某些位置是周期性的,而在其他位置是非周期性的。

[0144] 在某些实施例中,间隔物的周期性阵列具有正方形,矩形,三角形,六边形,多边形或它们的任何组合的格子,其中组合意味着板的不同位置具有不同的间隔物格子。

[0145] 在某些实施方案中,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)。在某些实施例中,间隔器之间的距离被配置成在闭合构造下提高板间隔之间的均匀性。

[0146] 相邻间隔物之间的距离(即,间隔物之间的距离)为1 μ m或以下,5 μ m或以下,10 μ m或以下,20 μ m,30 μ m或以下,40 μ m或以下,50 μ m或以下,60 μ m或以下,70 μ m或以下,80 μ m或以下,90 μ m或以下,100 μ m或以下,200 μ m或以下,300 μ m或以下,400 μ m或以下,或者介于两个值之间。

[0147] 在某些实施例中,间隔物距离为400,500,1mm,2mm,3mm,5mm,7mm,10mm,或以上任何两个值之间的范围。在某些实施例中,间隔器之间的距离是10mm,20mm,30mm,50mm,70mm,

100mm,或两个值之间的任何范围。

[0148] 选择相邻间隔物之间的距离(即,间隔物之间的距离),以使得对于板和样品的给定特性,在某些实施例中,在板的闭合构造下,两个相邻间隔物之间的样品厚度变化为,最大为0.5%,1%,5%,10%,20%,30%,50%,80%或两个值之间的任意范围;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。

[0149] 显然,为了在两个相邻的间隔物之间保持给定的样品厚度变化,当使用更柔性的板时,需要更近的间隔物间距。

[0150] 指定间隔间隔距离的精度。

[0151] 在一个优选的实施方案中,所述间隔物是周期性的正方形阵列,其中所述间隔物是具有2至4 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸以及1 μm 至100的间隔物间隔的柱。

[0152] 在一个优选的实施方案中,所述间隔物是周期性的正方形阵列,其中所述间隔物是具有2至4 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸以及100 μm 至250的间隔物间隔的柱。

[0153] 在一个优选的实施方案中,间隔物是周期性的正方形阵列,其中间隔物是具有4至50 μm 的高度,5至20 μm 的平均横向尺寸以及1 μm 至100的间隔物间隔的柱。

[0154] 在一个优选的实施方案中,间隔物是周期性的正方形阵列,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 μm 的间隔物间隔的柱。

[0155] 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,在单独的优选实施方案中为500nm至1000nm,在另一个优选实施方案中为1 μm (即1000nm)至2 μm 。优选实施例,在单独的优选实施例中为2 μm 至3 μm ,在另一个优选实施例中为3 μm 至5 μm ,在单独的优选实施例中为5 μm 至10 μm ,在另一个优选实施例中为10 μm 至50 μm ,在50 μm 至100在单独的优选实施方案中为100 μm 至175 μm ,在单独的优选实施方案中为100 μm 至175 μm ,在单独的优选实施方案中为175 μm 至300 μm 。

[0156] (xi) 间隔物密度。间隔物以每1 μm^2 大于1,每10 μm^2 大于1,每100 μm^2 大于1,每500 μm^2 大于1,每1000 μm^2 大于1,每5000 μm^2 大于1,每0.01 mm^2 大于1,每0.1 mm^2 大于1,每1 mm^2 大于1,每5 mm^2 大于1,每10 mm^2 大于1,每100 mm^2 大于1,每100 mm^2 大于1,1000 mm^2 大于1,每10000 mm^2 大于1,或者介于两个值之间的范围的表面密度布置在各个板上。

[0157] (3) 间隔物配置为在给定的样品区域(体积)中不占用较大的表面积(体积);

[0158] (xii) 间隔物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)之比,和/或在容器的相关体积内的间隔物的体积之比。控制样品到样品的相关体积以获得某些优势。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,样品流动特性(即流速,流动方向等)。

[0159] 在某些实施方案中,间隔物体积 r 与样品体积的比率,和/或在样品的相关体积内的间隔物的体积与样品的相关体积的比率最多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%,或任何一个值之间的范围。

[0160] (xiii) 固定在板上的间隔物。在本发明中起关键作用的间隔物之间的间隔距离和间隔物的取向优选在使板从打开构型到闭合构型的过程中得以保持,和/或优选在将板从打开构型变为封闭构型之前预先确定。

[0161] 在本公开的某些实施例中,在将板关闭到闭合构造之前,将间隔物固定在其中一

个板上。术语“隔离物用其各自的板固定”是指将隔离物附接到板上并且在使用该板期间保持附接。“用其各自的板固定间隔物”的示例是，间隔物由板的一种材料整体地制成，并且间隔物相对于板表面的位置不变。“间隔物未固定在其各自的板上”的示例是，间隔物通过粘合剂粘合到板上，但是在使用板时，粘合剂无法将间隔物保持在板表面上的原始位置(也就是说，间隔物从其在板表面上的原始位置移开)。

[0162] 在某些实施例中，至少一个间隔物固定到其各自的板上。在某些实施例中，两个间隔物固定在其各自的板上。在某些实施例中，大多数间隔物用它们各自的板固定。在某些实施例中，所有间隔物都用它们各自的板固定。

[0163] 在某些实施例中，间隔物整体地固定到板上。

[0164] 在某些实施例中，间隔物通过以下方法和/或构造中的一种或任何组合固定到其各自的板上：附接到，结合，融合，压印和蚀刻。

[0165] 术语“压印”是指通过将一块材料压印(即压花)以在板表面上形成间隔物来将间隔物和板整体固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0166] 术语“蚀刻的”是指通过蚀刻一片材料以在板表面上形成间隔物而将间隔物和板整体固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0167] 术语“融合至”是指通过将隔离物和板粘合在一起而将隔离物和板整体固定，用于隔离物和板的原始材料彼此融合，并且在之后两种材料之间存在清晰的材料边界融合。

[0168] 术语“结合到”是指通过通过粘接将间隔物和板结合而将间隔物和板整体地固定。

[0169] 术语“附接到”是指间隔物和板连接在一起。

[0170] 在某些实施例中，间隔物和板由相同的材料制成。在其他实施例中，间隔物和板由不同的材料制成。在另一实施例中，间隔物和板形成为一体。在另一实施例中，间隔物的一端固定到其相应的板上，而该端是开放的，以容纳两个板的不同构造。

[0171] 在其他实施例中，每个间隔物独立地是附接到相应的板，结合到，融合到，压印在相应的板中以及蚀刻在相应的板中的至少一个。术语“独立地”是指一个隔离物通过相同或不同的方法固定在其各自的板上，该方法选自在各自的板上附着，粘合，融合，压印和蚀刻的方法。

[0172] 在某些实施例中，至少两个间隔物之间的距离是预定的(“预定的间隔物距离”是指当用户使用板时该距离是已知的)。

[0173] 在本文描述的所有方法和设备的某些实施例中，除了固定间隔物之外，还存在其他间隔物。

[0174] (xiv) 特定样品厚度。在本发明中，观察到可以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)或两者兼而有之来实现较大的板保持力(即，将两个板保持在一起的力)。

[0175] 在某些实施方案中，至少一个板在包围相关区域的区域中是透明的，每个板具有配置成在闭合构造中接触样品的内表面；板的内表面在闭合状态下基本彼此平行；板的内表面基本上是平面的，除了具有隔离物的位置；或其任何组合。

[0176] 可以使用光刻，蚀刻，压印(纳米压印)，沉积，剥离，熔合或其组合，以各种方式将间隔物制造在板上。在某些实施例中，间隔物直接压印或压印在板上。在某些实施例中，间隔物被压印到沉积在板上的材料(例如塑料)中。在某些实施例中，通过直接压印CROF板的

表面来制造间隔物。纳米压印可以使用辊压印机通过卷对卷技术完成,也可以卷成平面纳米压印。这种方法具有很大的经济优势,因此降低了成本。

[0177] 在某些实施例中,间隔物沉积在板上。沉积可以是蒸发,粘贴或剥离。在粘贴过程中,首先将间隔物制成在载体上,然后将间隔物从载体转移到板上。在提起中,首先将可除去材料沉积在板上,并在该材料中创建孔;孔底部露出板表面,然后将隔离材料沉积到孔中,然后移除可移除材料,仅在板表面上保留隔离物。在某些实施例中,沉积在板上的隔离物与板融合。在某些实施例中,间隔物和板是在单个过程中制造的。单个过程包括压印(即压花,模制)或合成。

[0178] 在某些实施例中,间隔物中的至少两个通过不同的制造方法固定到相应的板上,并且可选地,其中不同的制造方法包括沉积,结合,融合,压印和蚀刻中的至少一种。

[0179] 在某些实施例中,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。

[0180] 在某些实施例中,用于在板上形成这种整体式间隔物的制造方法包括被结合,被融合,被压印或被蚀刻或其任何组合的方法。

[0181] (xv) ISD^4/hE

[0182] 在本公开的某些实施方式中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可以包括第一板。在本公开的某些实施方案中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包括第二板。在本公开的某些实施方式中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包括间隔物。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中,一个或两个板是柔性的。在某些实施例中,每个板包括内表面,该内表面具有用于接触流体样本的样本接触区域。在某些实施例中,每个板在其各自的外表面上包括用于施加将板压在一起的压力的力区域。在某些实施例中,两个板中的一个或两个包括隔离物,该隔离物永久地固定在各个板的内表面上。在某些实施例中,间隔物具有等于或小于200微米的预定的基本均匀的高度,以及预定的固定间隔间距。在某些实施例中,间隔物距离(ISD)的四次方除以柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E) (ISD^4/hE) 为 $5 \times 10^6 \mu m^3/GPa$ 。在某些实施方案中,至少一个间隔物在样品接触区域内。在某些实施方案中,一种配置是开放构造,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔物限制,并且样品沉积在一个或两个板上。在某些实施例中,另一种构型是封闭构型,该构型是在样品以开放构型沉积并且通过在作用力区域上施加压力而将板强制到封闭构型之后构造的。在闭合状态下,至少一部分样品被两个板压缩成高度均匀的层,并且相对于板基本上停滞,其中该层的均匀厚度由样品的接触面积限制。两个板,由板和间隔物调节。

[0183] 在本公开的某些实施例中,通过挤压形成具有均匀的预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中,一种通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法,该方法可以包括:当将板配置成开放构造时,将流体样品沉积在一个或两个板上。在某些实施例中,开放构造是其中两个板部分或完全分开并且板之间的间隔不受间隔物限制的构造。在本公开的某些实施方式中,通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括迫使两个板进入闭合构造,其中:至少一部分样品被两个板压缩。制成厚度基本均匀的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制,并由板和间隔物调节。

[0184] 在本公开的某些实施例中,用于分析流体样本的装置可以包括第一板。在本公开的某些实施例中,用于分析流体样本的装置可以包括第二板。在本公开的某些实施例中,用于分析流体样本的装置可以包括隔离物。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中,一个或两个板是柔性的。在某些实施例中,每个板在其各自的内表面上具有用于接触流体样本的样本接触区域。在某些实施例中,板中的一个或两个包括间隔物,并且间隔物固定在相应板的内表面上。在某些实施例中,间隔物具有等于或小于200微米的预定的基本均匀的高度,并且间隔物之间的距离是预定的。在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数为至少2MPa。在某些实施方案中,至少一个间隔物在样品接触区域内。在某些实施方案中,一种配置是开放构造,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔物限制,并且样品沉积在一个或两个板上。在某些实施方案中,另一种配置是封闭配置,其在样品以开放构造沉积之后配置;在闭合状态下:至少一部分样品被两块板压缩成高度均匀的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制,并由板和间隔物。

[0185] 在本公开的某些实施例中,通过挤压形成具有均匀的预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中,一种通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法,该方法可以包括:当将板配置成开放构造时,将流体样品沉积在一个或两个板上。在某些实施例中,开放构造是其中两个板部分或完全分开并且板之间的间隔不受间隔物限制的构造。在本公开的某些实施例中,一种通过挤压形成具有均匀的预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括迫使两个板进入闭合构造。在某些实施方式中,样品的至少一部分被两个板压缩成基本上均匀厚度的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制并且由板和间隔物调节。

[0186] 在本公开的某些实施例中,用于分析流体样本的装置可以包括第一板。在本公开的某些实施例中,用于分析流体样本的装置可以包括第二板。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中,一个或两个板是柔性的。在某些实施例中,每个板在其各自的表面上具有用于接触包含分析物的样品的样品接触区域。在某些实施例中,板中的一个或两个包括间隔物,该间隔物在样品接触区域内永久地固定到板上,其中间隔物具有预定的基本均匀的高度和预定的固定间隔器距离,该间隔距离至少大大约2倍。比分析物的尺寸大,最大为200 μm ,并且其中至少一个隔圈在样品接触区域内。在某些实施例中,配置之一是开放构造,其中:两个板分开,两个板之间的间隔不受间隔物的限制,并且样品沉积在一个或两个板上。在某些实施例中,配置的另一种是封闭配置,其在样品沉积之后以开放构造配置。在闭合状态下:至少一部分样品被两块板压缩成高度均匀的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制,并由板和间隔物调节。

[0187] 在本公开的某些实施例中,通过挤压形成具有均匀的预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中,一种通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括:将流体样品沉积在两个板中的一个或两个上。当板被构造成开放构造时,其中开放构造是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不受间隔物限制的构造。在本公开的某些实施方式中,通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括迫使两个板进入闭合构造,其中:至少部分样品被两个板压缩成层具有基本均匀的厚度,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制,并由板和

间隔物调节。

[0188] 在本公开的某些实施方式中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可以包括第一板。在本公开的某些实施方案中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包括第二板。在本公开的某些实施方式中,用于通过压制形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包括间隔物。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中,一个或两个板是柔性的。在某些实施例中,每个板在其各自的内表面上包括用于接触和/或压缩流体样本的样本接触区域。在某些实施例中,每个板在其各自的外表面上包括用于施加将板压在一起的力的区域。在某些实施例中,两个板中的一个或两个包括隔离物,该隔离物永久地固定在各个板的内表面上。在某些实施例中,间隔物具有等于或小于200微米的预定的基本均匀的高度,预定的宽度和预定的固定间隔间距。在某些实施例中,间隔物间距离与间隔物宽度的比率为1.5或更大。在某些实施方案中,至少一个间隔物在样品接触区域内。在某些实施方案中,一种配置是开放构造,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔物限制,并且样品沉积在一个或两个板上。在某些实施例中,配置的另一种是封闭配置,其在样品沉积之后以开放构造配置。在闭合状态下,至少一部分样品被两个板压缩成高度均匀的层,并且相对于板基本上停滞,其中该层的均匀厚度由样品的接触面积限制。两个板,由板和间隔物调节。

[0189] 在本公开的某些实施例中,一种通过用不精确的压力进行挤压来形成具有均匀的预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括获得本公开的装置。在本公开的某些实施方案中,通过用不精确的压力进行压制来形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包括获得流体样品。在本公开的某些实施例中,一种通过用不精确的压力挤压而形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可以包括:将样品沉积在一个或两个板上;或将样品沉积在一个或两个板上。当板被构造成开放构造时,其中开放构造是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不受间隔物限制的构造。在本公开的某些实施方案中,通过用不精确的压力进行压制来形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包括迫使两个板进入闭合构造,其中:至少一部分样品为通过两个板将其压缩成基本上均匀厚度的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触表面限制并且由板和间隔物调节。

[0190] 在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板中,并且平坦的顶表面用于接触另一个板。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板中,用于接触另一个板的平坦顶表面具有基本均匀的横截面。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板中,并且具有平坦的顶表面以接触另一个板,其中柱的平坦的顶表面具有小于10nm的变化。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板上,并且具有用于接触另一个板的平坦顶表面,其中,柱的平坦顶表面具有小于50nm的变化。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板上,并且具有用于接触另一个板的平坦顶表面,其中,柱的平坦顶表面具有小于50nm的变化。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,其脚固定在一个板上,并且具有用于接触另一个板的平坦顶表面,其中柱的平坦顶表面具有小于10nm,20nm,30nm,100nm,200nm或任意两个值的范围内的变化。

[0191] 在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充因子为至少2MPa。在某些实施例中,样品包括分析物,并且预定的恒定间隔间隔距离是分析物的尺寸的至少约两倍,最大为200 μm 。在某些实施方案中,样品包含分析物,预定的恒定间隔间距比分析物的尺寸

大至少约2倍,最大200 μm ,并且间隔物的杨氏模量乘以填充物的填充系数至少为2MPa。

[0192] 在某些实施例中,间隔物距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度 (h) 和杨氏模量 (E) ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$) 为 $5 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 以下。在某些实施例中,间隔物距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量 ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$) 为 $1 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 。在某些实施例中,间隔物距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量 ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$) 为 $5 \times 10^{-5} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 。在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数为至少2MPa,并且间隔物间距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量 ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$) 为 $1 \times 10^{-5} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 。在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数为至少2MPa,并且间隔物间距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量 ($\text{ISD}^4/(\text{hE})$) 为 $1 \times 10^{-4} \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 。在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数为至少20MPa。

[0193] 在本公开的某些实施例中,间隔物的间隔间距与间隔物的平均宽度的比率为2或更大。在某些实施例中,间隔物的间隔距离与间隔物的平均宽度之比为2或更大,并且间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数为至少2MPa。在某些实施方案中,间隔物间的距离是分析物的大小的至少约2倍,最高达200 μm 。在某些实施例中,间隔物间距离与间隔物宽度的比率为1.5或更大。在某些实施例中,间隔物的宽度与高度之比为1或更大。在某些实施例中,间隔物的宽度与高度之比为1.5或更大。在某些实施例中,间隔物的宽度与高度之比为2或更大。在某些实施例中,间隔物的宽度与高度之比大于2、3、5、10、20、30、50,或在该值的任何两个的范围内。

[0194] 在某些实施例中,将两个板挤压成闭合构造的力是不精确的挤压力。在某些实施例中,将两个板按压成闭合构造的力是人手提供的不精确的按压力。在某些实施方案中,迫使两个板将至少一部分样品压缩成厚度基本均匀的层包括使用顺应性的压制,平行或顺序地压制至少一个板的面积以压制将板一起形成闭合结构,其中顺应性挤压在至少一部分样品上的板上产生基本均匀的压力,并且挤压将至少一部分样品在板的样品接触表面之间横向扩展。并且其中,闭合构造是通过间隔物来调节厚度均匀区域的层中的板之间的间隔的构造。并且其中减小的样品厚度减少了将存储位置上的试剂与样品混合的时间。在某些实施例中,按压力是一种不精确的力,其大小在施加力时是 (a) 未知且不可预测的,或者 (b) 未知且无法在相等的精度内进行预测的或优于施加的平均按压力的20%。在某些实施例中,按压力是一种不精确的力,其大小在施加力时是 (a) 未知且不可预测的,或者 (b) 未知且无法在相等的精度内进行预测的或优于施加的平均按压力的30%。在某些实施例中,按压力是一种不精确的力,其大小在施加力时是 (a) 未知且不可预测的,或者 (b) 未知且无法在相等的精度内进行预测的或大于施加的平均按压力的30%;并且其中高度均匀的厚度层的均匀厚度变化为20%。在某些实施例中,按压力是不精确的力,该不精确的力的大小在施加力时无法确定等于或优于30%,40%,50%,70%,100%,200%,300%,500%,1000%,2000%或两个值之间的范围的精度。

[0195] 在本公开的某些实施例中,柔性板的厚度在10 μm 至200 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在20 μm 至100 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在25 μm 至180 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在200 μm 至260 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度等于或小于250 μm ,225 μm ,200 μm ,175 μm ,150 μm ,125 μm ,100 μm ,75 μm ,50 μm ,25 μm ,10 μm ,5 μm ,1 μm 或两个值之间的范围内。在某些实施方案中,样品的粘度为0.1至4 (mPa · s)。

在某些实施例中,柔性板的厚度在200 μm 至260 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在20 μm 至200 μm 的范围内,并且杨氏模量在0.1至5GPa的范围内。

[0196] 在本公开的某些实施方式中,样品沉积是直接从受试者到板的沉积,而不使用任何转移装置。在某些实施例中,在沉积期间,未知样品沉积在板上的量。在某些实施方案中,该方法还包括分析样品的分析。在某些实施例中,分析包括通过测量相关样本体积的横向面积并从该横向面积和预定间隔物高度计算体积来计算相关样本体积的体积。在某些实施例中,处于封闭构造的两个板之间的样品位置处的pH值由该位置的体积以及通过分析从该位置获取的图像来确定。在某些实施例中,通过分析图像进行的确定使用人工智能和机器学习。

[0197] 在某些实施例中,分析步骤(e)包括测量:i.成像;ii.发光选自光致发光,电致发光和电化学致发光,iii.表面拉曼散射,iv.从电阻,电容和电感中选择的电阻抗,或v.i-iv的任意组合。在某些实施方案中,分析包括读取,图像分析或计数分析物,或其组合。在某些实施方案中,样品包含一种或多种分析物,并且一个或两个平板样品接触表面包含一个或多个结合位点,每个结合位点并固定相应的分析物。在某些实施方式中,一个或两个板样品接触表面包括一个或多个存储部位,每个存储部位存储一种或多种试剂,其中一种或多种试剂溶解并扩散在样品中。在某些实施方案中,一个或两个板样品接触表面包括一个或多个扩增位点,当分析物或标记物距扩增位点500nm以内时,每个扩增位点均能够放大来自分析物或分析物的标记物的信号。在某些实施例中,i.一个或两个板样品接触表面包含一个或多个结合位点,每个结合位点结合并固定相应的分析物;或ii.一个或两个板样品接触表面包括一个或多个存储位置,每个存储一个或多个试剂;其中一种或多种试剂溶解并扩散在样品中,并且其中样品包含一种或多种分析物;或iii.一个或多个扩增位点,当所述分析物或标记物距所述扩增位点500nm时,各自能够放大来自所述分析物或所述分析物的标记物的信号;或iv.i至iii的任意组合。

[0198] 在某些实施方案中,液体样品是选自羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分馏血液,血浆或血清),母乳,脑脊液(CSF),皮肤(耳垢)的生物样品,乳糜,钟声,内淋巴,周淋巴,粪便,呼吸,胃酸,胃液,淋巴液,黏液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大黄,唾液,呼出气冷凝物,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物和尿液。

[0199] 在某些实施例中,处于闭合构造的均匀厚度的层小于150 μm 。在某些实施例中,压制是通过加压液体,压制气体或保形材料提供的。在某些实施例中,分析包括对均匀厚度的层中的细胞进行计数。在某些实施方案中,分析包括在均匀厚度的层中进行测定。在某些实施方案中,在某些实施方案中,所述测定是结合测定或生化测定。在某些实施方案中,所沉积的样品的总体积小于0.5 μL 。在某些实施方案中,将多滴样品沉积在一个或两个板上。

[0200] 在某些实施例中,间隔器之间的距离在1 μm 至120 μm 的范围内。在某些实施例中,间隔器之间的距离在120 μm 至50 μm 的范围内。在某些实施例中,间隔器之间的距离在120 μm 至200 μm 的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在20 μm 至250 μm 的范围内,并且杨氏模量在0.1至5GPa的范围内。在某些实施例中,对于柔性板,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量在60至750GPa- μm 的范围内。

[0201] 在某些实施例中,厚度均匀的样品层在至少1mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,厚度均匀的样品层在至少3mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,厚度

均匀的样品层在至少5mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,在某些实施例中,均匀厚度的样品层在至少10mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,厚度均匀的样品层在至少20mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,厚度均匀的样品层在20mm²至100mm²的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度的样品层具有高达+/-5%或更好的厚度均匀性。在某些实施例中,均匀厚度的样品层具有高达+/-10%或更高的厚度均匀性。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性最高为+/-20%或更高。在某些实施例中,均匀厚度的样品层具有高达+/-30%或更高的厚度均匀性。在某些实施例中,均匀厚度的样品层具有高达+/-40%或更好的厚度均匀性。在某些实施例中,均匀厚度的样品层具有高达+/-50%或更好的厚度均匀性。

[0202] 在某些实施例中,间隔物是具有选自圆形,多边形,圆形,正方形,矩形,椭圆形,椭圆形或它们的任何组合的横截面形状的支柱。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,具有基本平坦的顶表面并且具有基本均匀的横截面,其中,对于每个间隔物,间隔物的横向尺寸与其高度的比率至少为1。在实施例中,间隔物之间的距离是周期性的。在某些实施例中,间隔物具有1%或更高的填充率,其中填充率是间隔物接触面积与总板面积之比。在某些实施例中,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充系数等于或大于20MPa,其中填充系数是间隔物接触面积与总板面积的比率。在某些实施例中,处于闭合构造的两个板之间的间隔小于200 μm。在某些实施例中,处于闭合构造的两个板之间的间隔是从1.8 μm至3.5 μm之间选择的值。在某些实施例中,通过直接压花板或板的注射模制将间隔固定在板上。在某些实施例中,板和间隔物的材料选自聚苯乙烯,PMMA,PC,COC,COP或另一种塑料。在某些实施例中,间隔物具有柱形形状,并且间隔物的侧壁拐角具有曲率半径至少为1 μm的圆形。在某些实施例中,间隔物具有至少1000/mm²的密度。在某些实施例中,至少一个板是透明的。在某些实施例中,用于制造间隔物的模具是通过包含特征的模具来制造的,该特征通过以下方式制造:(a) 直接进行反应性离子蚀刻或离子束蚀刻,或者(b) 通过复制或多次复制反应性特征离子蚀刻或离子束蚀刻。

[0203] 在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充系数在1%至5%的范围内。在某些实施例中,表面变化是相对于间隔物高度的,并且柱状平顶表面变化与间隔物高度的比率小于0.5%,1%,3%,5%,7%,10%,15%,20%,30%,40%或介于两个值之间的范围内。优选的平的柱顶平整度具有的柱平顶表面变化与间隔物高度的比率小于2%,5%或10%。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充系数在1%至5%的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充系数在5%至10%的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充率在10%至20%的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充率在20%至30%的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充率是5%,10%,20%,30%,40%,50%,或在任何两个值的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置为使得填充率是50%,60%,70%,80%或在任何两个值的范围内。

[0204] 在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因子乘以间隔物的杨氏模量在2MPa至10MPa的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因子乘以间隔物的杨氏模量在10MPa和20MPa的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因子乘以间隔物的杨氏模量在20MPa至40MPa的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因子乘以间隔物的杨氏模量在40MPa至80MPa的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因

子乘以间隔物的杨氏模量在80MPa和120MPa的范围内。在某些实施例中,间隔物被配置成使得填充因子乘以间隔物的杨氏模量在120MPa至150MPa的范围内。

[0205] 在某些实施方案中,该装置还包括涂覆在一个或两个板上的干燥试剂。在某些实施方案中,该装置还包括在一个或两个板上的具有预定面积的干结合位点,其中该干结合位点结合并固定在样品中的分析物上。在某些实施方案中,该装置在一个或两个板上还包括可释放的干试剂和释放时间控制材料,该材料延迟可释放的干试剂释放到样品中的时间。在某些实施方案中,释放时间控制材料将干试剂开始释放到样品中的时间延迟至少3秒。在某些实施方案中,试剂包括抗凝剂和/或染色剂。在某些实施方案中,试剂包括细胞裂解试剂。在某些实施方案中,该装置还包括在一个或两个板上的一个或多个干结合位点和/或一个或多个试剂位点。在某些实施方案中,分析物包括分子(例如蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其他分子),细胞,组织,病毒和具有不同形状的纳米颗粒。在某些实施方案中,分析物包括白细胞,红细胞和血小板。在某些实施方案中,分析物被染色。

[0206] 在某些实施方案中,调节均匀厚度的层的间隔物具有至少1%的填充率,其中填充率是与均匀厚度的层接触的间隔物面积与与均匀厚度的层接触的总板面积之比。层厚度均匀。在某些实施方案中,对于调节厚度均匀的层的间隔物,间隔物的杨氏模量乘以间隔物的填充因子等于或大于10MPa,其中填充因子是间隔物与层接触的面积之比。均匀厚度对与均匀厚度层接触的总板面积的影响。在某些实施例中,对于柔性板,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量在60至750GPa- μm 的范围内。在某些实施例中,对于柔性板,间隔器间距离 (ISD) 的四次方除以柔性板的厚度 (h) 和柔性板的杨氏模量 (E), $\text{ISD}^4/(\text{hE})$, 等于或小于 $10^6 \mu\text{m}^3/\text{GPa}$ 。

[0207] III. 通过不精确的压力形成均匀的薄流体层

[0208] 在本发明的某些实施例中,通过使用具有不精确力的压制来形成均匀的薄流体样品层。术语“不精确的按压力”在不添加细节的情况下然后添加不精确的按压力的定义。如本文所用,在力(例如,“不精确的按压力”)的上下文中的术语“不精确”是指这样的力:

[0209] (a) 其大小在施加力时尚不清楚或无法准确预测;(b) 压力在0.01kg/cm²(平方厘米)到100kg/cm²的范围内,(c) 从一次施加力到下一次施加力的大小变化;(d) (a) 和 (c) 中力的不精确性(即变化)至少为实际施加的总力的20%。

[0210] 可以通过人的手施加不精确的力,例如,通过将受试者捏在一起在拇指和食指之间,或者通过将受试者捏和摩擦在一起在拇指和食指之间。

[0211] 在一些实施例中,通过手压产生的不精确力具有的压力为0.01kg/cm²、0.1kg/cm²、0.5kg/cm²、1kg/cm²、2kg/cm²、kg/cm²、5kg/cm²、10kg/cm²、20kg/cm²、30kg/cm²、40kg/cm²、50kg/cm²、60kg/cm²、100kg/cm²、150kg/cm²、200kg/cm²或任意两个之间的范围值;优选范围为0.1kg/cm²至0.5kg/cm²,0.5kg/cm²至1kg/cm²,1kg/cm²至5kg/cm²,5kg/cm²至10kg/cm²(压力)。

[0212] B) 适配器

[0213] 适配器的细节在包括国际申请号PCT/US2018/017504(Essenlix案号ESXPCT18F04)在内的各种出版物中都有详细描述,该出版物出于所有目的通过引用结合在此。

[0214] 本文描述的本发明通过提供一种包括光学适配器和智能电话的系统来解决该问

题。光学适配器设备可安装在智能手机上,并将其转换为显微镜,从而可以拍摄样品的荧光和明场图像。普通人可以在任何位置方便,可靠地操作该系统。光学适配器利用了智能手机的现有资源,包括相机,光源,处理器和显示屏,从而提供了一种低成本解决方案,使用户能够进行明场和荧光显微镜检查。

[0215] 在本发明中,光学适配器装置包括安装在智能手机的上部之上的保持架框架和附接至具有样品容器插槽和照明光学器件的保持架的光学盒。在某些参考文献中(美国专利第2016/029091号和美国专利第2011/0292198号),其光学适配器设计是一个整体,既包括可安装在智能手机上的夹式机械零件,也包括功能性光学元件。这种设计存在的问题是,他们需要针对每种特定型号的智能机重新设计整个光学适配器。但是在本发明中,光学适配器被分成仅用于安装智能手机的支架框架和包含所有功能部件的通用光学盒。对于尺寸不同的智能手机,只要摄像机和光源的相对位置相同,就只需要重新设计支架框架,可以节省大量的设计和制造成本。

[0216] 光学适配器的光学盒包括:容纳槽,其在智能手机相机的视场和焦距范围内接收样品并将其放置在样品载玻片中;用于捕获样品的明场显微图像的明场照明光学器件;用于捕获样品的荧光显微镜图像的荧光照明光学器件;通过在光学盒中向内和向外滑动,在明场照明光学器件和荧光照明光学器件之间切换的控制杆。

[0217] 插座插槽上有一个橡胶门,该门可以完全盖住插槽,以防止环境光进入光学盒以被相机收集。在美国专利2016/0290916,样品槽始终暴露在环境光下,不会造成太大问题,因为它只能进行明场显微镜检查。但是本发明可以在进行荧光显微镜检查时利用这种橡胶门的优点,因为环境光会给照相机的图像传感器带来很多噪声。

[0218] 为了捕获良好的荧光显微镜图像,理想的是几乎没有激发光进入照相机,并且照相机仅收集样品发出的荧光。但是,对于所有常见的智能手机,由于光源和红外光源发出的光束的发散角较大,因此放在相机前部的滤光器无法很好地阻挡智能手机光源发出的不希望的波长范围。光学滤光镜对于未准直的光束效果不佳。可以将准直光学器件设计为准直智能手机光源发出的光束以解决此问题,但是这种方法会增加适配器的尺寸和成本。相反,在本发明中,荧光照明光学器件使激发光能够以大的倾斜入射角部分地从样品载玻片内部的波导和部分地从样品侧的背面照射样品,从而激发光几乎不会被照相机收集以减少进入照相机的噪声信号。

[0219] 适配器中的明场照明光学器件接收并转向光源发出的光束,以便以法向入射角对样品进行背照。

[0220] 通常,光学盒还包括一个安装在其中的镜头,该镜头与智能手机的摄像头对齐,可以放大摄像头捕获的图像。相机拍摄的图像可以由智能手机的处理器进一步处理,并在智能手机的屏幕上输出分析结果。

[0221] 为了在同一光学适配器中同时实现明场照明和荧光照明光学器件,在本发明中,使用了可滑动的杆。荧光照明光学元件的光学元件安装在杠杆上,并且当杠杆完全滑入光学盒时,荧光照明光学元件会阻挡明场照明光学元件的光路,并将照明光学元件切换为荧光照明光学元件。并且当控制杆滑出时,安装在控制杆上的荧光照明光学元件会移出光路,并将照明光学系统切换为明场照明光学系统。这种杠杆设计使光学适配器可以在明场和荧光照明模式下工作,而无需设计两个不同的单模光学盒。

[0222] 杠杆包括在不同高度处的不同平面处的两个平面。

[0223] 在某些实施例中,两个平面可以用垂直杆连接在一起,并一起移入或移出光学盒。在某些实施例中,两个平面可以分开,并且每个平面可以单独地移入或移出光学盒。

[0224] 上杠杆平面包括至少一个光学元件,该光学元件可以是但不限于滤光器。上杠杆平面在光源下方移动,上杠杆平面与光源之间的首选距离为0到5mm。

[0225] 底部杠杆平面的一部分不平行于图像平面。底部杠杆平面的不平行部分的表面具有镜面光洁度,反射率大于95%。底部杠杆平面的不平行部分在光源下移动,并使从光源发出的光发生偏转,从而对相机正下方的样品区域进行背照式照明。底部杠杆平面的不平行部分的优选倾斜角度在45度至65度的范围内,并且该倾斜角度定义为不平行的底部平面和垂直平面之间的角度。

[0226] 底部杠杆平面的一部分平行于图像平面,并位于样品下方并与样品相距1mm至10mm。底部杠杆平面的平行部分的表面具有很高的光吸收率,并且光吸收率大于95%。该吸收性表面是为了消除小入射角的样品上的反光。

[0227] 为了滑入和滑出以使用杠杆来切换照明光学器件,使用了包括球形柱塞和杠杆上的凹槽的塞子设计,以在从适配器向外拉出时将杠杆停止在预定位置。这使用户可以用任意力拉动控制杆,但使控制杆停在固定位置,在固定位置光学适配器的工作模式切换为明亮照明。

[0228] 样品滑块安装在插座插槽内,以容纳QMAX设备并将样品放在QMAX设备中的智能手机相机的视野和焦距范围内。

[0229] 样本滑块包括固定的轨道框架和可移动的臂:

[0230] 框架轨道固定安装在光学盒的插槽中。轨道框架具有适合QMAX设备宽度和厚度的滑动轨道槽,因此QMAX设备可以沿着轨道滑动。轨道槽的宽度和高度经过精心配置,以使QMAX器件在垂直于滑动平面中的滑动方向的方向上偏移小于0.5mm,并在QMAX器件的厚度方向上偏移小于0.2mm。

[0231] 框架轨道在智能手机摄像头的视野下具有一个打开的窗口,以允许光线向后照亮样品。

[0232] 可移动臂预先内置在轨道框架的滑动轨道槽中,并与QMAX设备一起移动,以引导QMAX设备在轨道框架中的移动。

[0233] 可动臂配备了带有两个预定义的停止位置的停止机构。对于一个位置,手臂将使QMAX设备停在QMAX设备上固定样本区域正位于智能手机摄像头正下方的位置。对于其他位置,手臂将使QMAX设备停在QMAX设备上的样本区域不在智能手机视野范围内的位置,并且可以轻松地将QMAX设备从轨道槽中取出。

[0234] 通过将QMAX设备和可移动臂一起压到履带槽的末端,然后松开,可移动臂在两个停止位置之间切换。

[0235] 可动臂可以指示QMAX设备是否以正确的方向插入。QMAX设备的一个角的形状配置为与其他三个直角的角不同。可动臂的形状与特殊形状的拐角形状相匹配,因此,只有在正确的方向上,QMAX设备才能滑动到轨道槽中的正确位置。

[0236] C) 智能手机/检测系统

[0237] 在各种出版物中详细描述了智能手机/检测系统的详细信息,包括2016年8月10日

提交的国际申请 (IA) PCT/US2016/046437、2016年9月14日提交的IA PCT/US2016/051775, 2017年2月7日提交的美国临时申请62/256065、2017年2月8日提交的美国临时申请62/456287和62/456590, 于2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504, 于2017年2月15日提交的美国临时申请62/459,544和于2017年2月16日提交的美国临时申请62/460075和62/459920, 为了所有目的, 通过引用将其全部内容合并于此。

[0238] 本文公开的设备/装置, 系统和方法可包括或使用Q卡进行样品检测, 分析和定量。在某些实施例中, Q卡与可以将Q卡与智能手机检测系统连接的适配器一起使用。在某些实施例中, 智能电话包括照相机和/或照明源。在某些实施例中, 智能电话包括照相机, 当样本被放置在照相机的视场中时 (例如, 通过适配器), 照相机可以用于捕获图像或样本。在某些实施例中, 照相机包括一组镜头 (例如, 如iPhone™ 6中)。在某些实施例中, 照相机包括至少两组镜头 (例如, 如iPhone™ 7)。在某些实施例中, 智能电话包括照相机, 但是照相机不用于图像捕获。

[0239] 在某些实施例中, 智能电话包括诸如但不限于LED (发光二极管) 的光源。在某些实施例中, 当样本位于相机的视场中时 (例如, 通过适配器), 光源用于向样本提供照明。在某些实施例中, 来自光源的光通过适配器的光学部件来增强, 放大, 改变和/或优化。

[0240] 在某些实施例中, 智能电话包括处理器, 该处理器被配置为处理来自样本的信息。智能电话包括软件指令, 该软件指令在由处理器执行时可以增强, 放大和/或优化来自样本的信号 (例如图像)。处理器可以包括一个或多个硬件组件, 例如中央处理单元 (CPU), 专用集成电路 (ASIC), 专用指令集处理器 (ASIP), 图形处理单元 (GPU), 物理处理单元 (PPU), 数字信号处理器 (DSP), 现场可编程门阵列 (FPGA), 可编程逻辑器件 (PLD), 控制器, 微控制器单元, 精简指令集计算机 (RISC), 微处理器等或其任何组合。

[0241] 在某些实施例中, 智能电话包括通信单元, 其被配置和/或用于将与样品有关的数据和/或图像传输到另一设备。仅作为示例, 通信单元可以使用电缆网络, 有线网络, 光纤网络, 电信网络, 内联网, 因特网, 局域网 (LAN), 广域网 (WAN), 无线局域网 (WLAN), 城域网 (MAN), 广域网 (WAN), 公共电话交换网 (PSTN), 蓝牙网络, ZigBee网络, 近场通信 (NFC) 网络或类似内容, 或其任意组合。在某些实施例中, 智能电话是iPhone™, Android™ 电话或Windows™ 电话。

[0242] D) 制造方法

[0243] 制造方法的细节在各种出版物中有详细描述, 包括2018年10月26日提交的国际申请PCT/US2018/057873, 出于所有目的在此通过引用并入。

[0244] 可以使用本领域众所周知的技术来制造本公开的装置。制造技术的选择将取决于用于器件的材料和间隔物阵列的尺寸和/或间隔物的尺寸。用于制造本发明的装置的示例性材料包括玻璃, 硅, 钢, 镍, 聚合物, 例如聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA), 聚碳酸酯, 聚苯乙烯, 聚乙烯, 聚烯烃, 硅酮 (例如聚 (二甲基硅氧烷)), 聚丙烯, 顺式聚异戊二烯 (橡胶), 聚氯乙烯 (PVC), 聚乙酸乙烯酯 (PVAc), 聚氯丁二烯 (氯丁二烯), 聚四氟乙烯 (Teflon), 聚偏二氯乙烯 (SaranA) 和环烯烃聚合物 (COP) 和环状烯烃共聚物 (COC) 及其组合。其他材料是本领域已知的。例如, 深反应离子蚀刻 (DRIE) 用于制造具有小间隙, 小间隔物和大长宽比 (间隔物高度与横向尺寸的比率) 的硅基器件。例如, 当最小的横向特征为>20微米且这些特征的长宽比为≤10时, 也可以使用塑料器件的热成型 (压花, 注塑)。

[0245] 其他方法包括光刻(例如立体光刻或X射线光刻),成型,压花,硅微加工,湿法或干法化学刻蚀,研磨,金刚石切割,光刻和电铸(LIGA)以及电镀。例如,对于玻璃,可以采用光刻的传统硅制造技术,然后进行湿法(KOH)或干法刻蚀(用氟或其他反应性气体进行反应性离子刻蚀)。对于具有高光子吸收效率的塑料材料,可以采用激光微加工等技术。由于该工艺的连续性,该技术适用于较低产量的制造。对于批量生产的塑料器件,热塑性注塑和压塑可能是合适的。用于大规模制造光盘的常规热塑性注射成型(其保持亚微米级特征的保真度)也可以用于制造本发明的装置。例如,通过传统的光刻将器件特征复制到玻璃原版上。对玻璃原盘进行电铸以产生坚韧,抗热冲击,导热,坚硬的模具。该模具用作将特征注塑或压缩模制成塑料设备的主模板。取决于用于制造装置的塑料材料以及对成品的光学质量和产量的要求,可以选择压缩成型或注射成型作为制造方法。压缩成型(也称为热压花或浮雕压印)具有与高分子量聚合物相容的优点,该聚合物对小结构非常好,可以复制高纵横比的结构,但循环时间更长。注塑成型适用于低纵横比的结构,并且最适合于低分子量聚合物。

[0246] 可以将一个设备制成一件或多件然后组装。器件的各层可以通过夹具,粘合剂,加热,阳极键合或表面基团之间的反应(例如晶片键合)键合在一起。可替代地,例如在使用立体光刻法或其他三维制造技术的情况下,可以将具有在一个以上平面中的通道或间隙的装置制造为单件。

[0247] 为了减少细胞或裂解细胞释放的化合物在装置表面上的非特异性吸附,可以对装置的一个或多个表面进行化学修饰以使其不粘附或排斥。所述表面可以涂有市售不粘试剂的薄膜涂层(例如,单层),例如用于形成水凝胶的那些。可用于修饰设备表面的化学物质的其他示例包括低聚乙二醇,氟化聚合物,有机硅烷,硫醇,聚乙二醇,透明质酸,牛血清白蛋白,聚乙烯醇,粘蛋白,聚HEMA,甲基丙烯酸酯PEG和琼脂糖。带电荷的聚合物也可用于排斥带相反电荷的物质。用于排斥的化学物质的类型以及附着到装置表面的方法将取决于被排斥物质的性质以及所附着的表面和物质的性质。这样的表面改性技术是本领域众所周知的。可以在组装设备之前或之后对表面进行功能化。装置的表面也可以被涂覆以便捕获样品中的材料,例如膜碎片或蛋白质。

[0248] 在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括第一板的注射成型。

[0249] 在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括第二板的纳米压印或挤压印刷。

[0250] 在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括激光切割第一板。在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括第二板的纳米压印或挤压印刷。在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括注射成型和激光切割第一板。在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括第二板的纳米压印或挤压印刷。在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括纳米压印或挤压印刷以制造第一板和第二板。在本公开的某些实施例中,一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可包括:使用注射成型,激光切割第一板,纳米压印,挤压印刷或以上的组合来制造第一板或第二板。在本公开的某些实施例中,用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包括在制造第一板和第二板之后将铰链附接在第一板和第二板上的步骤。

[0251] E) 样品类型和受试者

[0252] 在各种出版物中详细描述了样本和受试者的详细信息,包括2016年8月10日提交的国际申请 (IA) PCT/US2016/046437、2016年9月14日提交的IA PCT/US2016/051775,于2018年2月7日提交的IA No. PCT/US201/017307,和于2017年12月8日提交的IA No. PCT/US2017/065440,出于所有目的在此通过引用并入本文。

[0253] 可从受试者获得样品。本文所述的受试者可以是任何年龄,并且可以是成人,婴儿或儿童。在某些情况下,受试者的年龄为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99岁,或在一定范围内(例如2至20岁之间,20至40岁之间或40至90岁之间)。可以受益的特定类别的受试者是患有或怀疑患有感染(例如细菌和/或病毒感染)的受试者。可以受益的另一类特殊受试者是感染风险更高的受试者。此外,通过本文所述的任何方法或组合物治疗的受试者可以是男性或女性。本文公开的任何方法,装置或试剂盒也可以在非人类受试者例如实验室或农场动物上进行。非人类受试者的非限制性实例包括狗,山羊,豚鼠,仓鼠,小鼠,猪,非人类灵长类动物(例如大猩猩,猿,猩猩,狐猴,或狒狒),老鼠,绵羊,母牛或斑马鱼。

[0254] 本文公开的设备,装置,系统和方法可用于样品,例如但不限于诊断样品,临床样品,环境样品和食品样品。

[0255] 例如,在某些实施方案中,本文公开的装置,设备,系统和方法用于包括细胞,组织,体液和/或其混合物的样品。在某些实施方案中,样品包含人体流体。在某些实施方案中,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,脑脊液,子宫,乳糜,叮貯,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液,鼻腔引流,痰,心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大黄,唾液,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出气凝结物中的至少一种。。

[0256] 在某些实施方式中,本文公开的设备,装置,系统和方法用于从任何合适的来源获得的环境样品,所述合适的来源例如但不限于:河流,湖泊,池塘,海洋,冰川,冰山,雨水,雪,污水,水库,自来水,饮用水等;来自土壤,堆肥,沙子,岩石,混凝土,木材,砖块,污水等的固体样品;在某些实施例中,环境样品是从源头新鲜获得的;以及来自空气,水下散热孔,工业排气,车辆排气等的气态样品。在某些实施方案中,处理环境样品。例如,在应用本发明的装置,设备,系统和方法之前,将非液体形式的样品转换成液体形式。

[0257] 在某些实施方案中,本文公开的设备,装置,系统和方法用于食品样品,该食品样品适合或具有变得可能适合动物食用例如人类食用的潜力。在某些实施方案中,食品样品包括原料,熟食或加工食品,植物和动物的食物来源,预处理食品以及部分或完全加工的食品等。在某些实施方案中,将非液体形式的样品转化为在应用本发明的装置,装置,系统和方法之前,先以液体形式。

[0258] 受试者设备,装置,系统和方法可用于分析任何体积的样品。体积的例子包括但不限于小于等于10mL,小于等于5mL,小于等于3mL小于等于,小于等于1微升(uL,在本文中也称为“uL”),小于等于500uL,小于等于300uL,小于等于250uL,小于等于200uL,小于等于

170uL, 小于等于150uL, 小于等于125uL, 小于等于100uL, 小于等于75uL, 小于等于50uL, 小于等于25uL, 小于等于20uL, 小于或等于15uL, 小于或等于10uL, 小于或等于5uL, 小于或等于3uL, 小于或等于1uL, 小于或等于0.5uL, 小于或等于0.1uL, 小于或等于0.05uL, 小于或等于0.001uL, 小于等于0.0005uL, 小于等于0.0001uL, 小于等于10pL, 小于等于1pL, 或两个值之间的范围。

[0259] 在某些实施方案中, 样品的体积包括但不限于小于或等于100uL, 小于或等于75uL, 小于或等于50uL, 小于或等于25uL, 小于或等于20uL, 小于或等于15uL, 小于或等于10uL, 小于或等于5uL, 小于或等于3uL, 小于或等于1uL, 小于或等于0.5uL, 小于或等于0.1uL, 小于或等于0.05uL, 小于或等于0.001uL, 小于或等于0.0005uL, 小于或等于0.0001uL, 小于或等于10pL, 小于或等于1pL或介于两个值之间的范围。在某些实施方案中, 样品的体积包括但不限于小于或等于10uL, 小于或等于5uL, 小于或等于3uL, 小于或等于1uL, 小于或等于0.5uL, 小于或等于0.1uL, 小于或等于0.05uL, 小于或等于0.001uL, 小于或等于0.0005uL, 小于或等于0.0001uL, 小于或等于10pL, 小于或等于1pL, 或两个值之间的范围。

[0260] 在某些实施方案中, 样品的量约为一滴液体。在某些实施方案中, 样品的量是从刺破的手指或指尖收集的量。在某些实施方案中, 样品的量是从微针, 微量移液器或静脉抽吸收集的量。

[0261] F) 机器学习

[0262] 在包括出版物2018年2月8日提交的国际申请 (IA) PCT/US2018/017504和2018年10月26日提交的PCT/US2018/057877在内的各种出版物中详细描述了网络的细节, 出于所有目的在此引用。

[0263] 本发明的一个方面提供了一种用于分析物检测和定位的机器学习和深度学习的框架。机器学习算法是一种能够从数据中学习的算法。机器学习的一个更严格的定义是: “如果某计算机程序在T任务中的性能 (由P衡量) 随着经验E的提高而提高, 则可以说它是从经验E中学习有关某类任务T和绩效指标P的计算机程序。” 它探索了可以从数据中学习并做出预测的算法的研究和构建-这种算法通过根据样本输入建立模型来进行数据驱动的预测或决策, 从而克服了静态程序指令。

[0264] 深度学习是一种特殊的机器学习, 它基于一组试图对数据中的高级抽象建模的算法。在简单的情况下, 可能会有两组神经元: 一组接收输入信号, 另一组发送输出信号。当输入层接收到输入时, 它将输入的修改版本传递到下一层。在一个深层网络中, 输入和输出之间有很多层 (这些层不是由神经元组成的, 但是可以帮助我们以这种方式思考), 从而允许算法使用多个处理层, 这些处理层由多个线性和非-线性变换。

[0265] 本发明的一方面是提供两种分析物检测和定位方法。第一种方法是深度学习方法, 第二种方法是深度学习和计算机视觉方法的组合。

[0266] (i) 深度学习方法。在第一种方法中, 公开的分析物检测和定位工作流程包括两个阶段: 训练和预测。我们在以下段落中描述训练和预测阶段。

[0267] (a) 训练阶段

[0268] 在训练阶段, 将带有注释的训练数据输入到卷积神经网络中。卷积神经网络是用于处理数据的专用神经网络, 具有类似网格的前馈分层网络拓扑。数据的示例包括时间序

列数据和图像数据,时间序列数据可以被视为以固定的时间间隔采样的1D网格,图像数据可以被视为像素的2D网格。卷积网络已在实际应用中取得成功。名称“卷积神经网络”表示该网络采用称为卷积的数学运算。卷积是一种特殊的线性运算。卷积网络只是简单的神经网络,在其至少一层中使用卷积代替一般的矩阵乘法。

[0269] 机器学习模型接收一幅或多幅样品图像,这些图像包含成像仪在样品固定QMAX设备上获取的分析物作为训练数据。注释了要分析的分析物的训练数据,其中注释指示分析物是否在训练数据中以及它们在图像中的位置。注释可以采用紧密包围盒的形式进行,其中完全包含分析物或分析物的中心位置。在后一种情况下,中心位置被进一步转换为覆盖点图中的分析物或高斯核的圆。

[0270] 当训练数据量很大时,训练机器学习模型会面临两个挑战:注释(通常由人来完成)很耗时,并且训练在计算上很昂贵。为了克服这些挑战,可以将训练数据划分为较小的补丁,然后对这些补丁或部分补丁进行注释和训练。术语“机器学习”可以指代人工智能领域中的算法,系统和设备,该算法,系统和设备通常使用从数据训练而未经过明确编程的统计技术和人工神经网络。

[0271] 带注释的图像被馈送到机器学习(ML)训练模块,并且机器学习模块中的模型训练器将从训练数据(带注释的样本图像)中训练一个ML模型。输入数据将在多次迭代中馈送到模型训练器,直到满足特定的停止条件为止。ML训练模块的输出是ML模型-一种计算模型,它是根据数据从机器学习的训练过程中构建的,该数据使计算机能够自行执行某些任务(例如,检测和分类受试者)。

[0272] 受过训练的机器学习模型在预测(或推断)阶段由计算机应用。机器学习模型的示例包括ResNet,DenseNet等,由于其网络结构中连接层的深度,它们也被称为“深度学习模型”。在某些实施例中,具有完全卷积网络(FCN)的Caffe库用于模型训练和预测,并且也可以使用其他卷积神经网络体系结构和库,例如TensorFlow。

[0273] 训练阶段生成一个模型,该模型将在预测阶段使用。该模型可以在预测阶段重复使用以分析输入。因此,计算单元仅需要访问所生成的模型。它不需要访问训练数据,也不需要训练阶段在计算单元上再次运行。

[0274] (b) 预测阶段

[0275] 在预测/推断阶段,将检测组件应用于输入图像,然后将输入图像馈入预先加载有从训练阶段生成的训练模型的预测(推断)模块中。预测阶段的输出可以是包含有检测到的分析物及其中心位置的边界框,或者是指示每种分析物位置的点图,或者是包含检测到的分析物信息的热图。

[0276] 当预测阶段的输出是边界框的列表时,要检测的样品图像中分析物的数量由检测到的边界框的数量来表征。当预测阶段的输出是点图时,用于分析的样品图像中分析物的数量由点图的积分来表征。当预测的输出是热图时,将使用定位组件来标识位置,并且通过热图的条目来表征检测到的分析物的数量。

[0277] 定位算法的一个实施例是将热图值从最高值到最低值排序为一维有序列表。然后选择具有最高值的像素,将像素及其相邻像素从列表中移除。重复此过程以选择列表中具有最高值的像素,直到从列表中删除所有像素为止。

[0278] 在使用热图的检测组件中,将输入图像与从训练阶段生成的模型一起输入到卷积

神经网络中,并且检测阶段的输出是以热图的形式进行像素级预测。热图可以具有与输入图像相同的大小,也可以是输入图像的按比例缩小版本,并且它是本地化组件的输入。我们公开了一种定位分析物中心的算法。主要思想是从热图中迭代检测局部峰。峰定位后,我们计算峰周围的局部区域,但值较小。我们从热图中删除该区域,并从其余像素中找到下一个峰值。重复该过程,仅从热图中删除所有像素。

[0279] 在某些实施例中,本发明提供了定位算法,以将热图值从最高值到最低值排序为一维有序列表。然后选择具有最高值的像素,将像素及其相邻像素从列表中移除。重复此过程以选择列表中具有最高值的像素,直到从列表中删除所有像素为止。

```

Algorithm GlobalSearch (heatmap)
Input:
    heatmap
Output:
    loci
loci  $\leftarrow \{\}$ 
[0280] sort(heatmap)
while (heatmap is not empty) {
    s  $\leftarrow$  pop(heatmap)
    D  $\leftarrow$  {disk center as s with radius R}
    heatmap = heatmap \ D // remove D from the heatmap
    add s to loci
}

```

[0281] 排序后,热图是一维排序列表,其中热图值从最高到最低排序。每个热图值都与其对应的像素坐标关联。热图中的第一项是具有最高值的项,它是pop (heatmap) 函数的输出。创建一个磁盘,其中心是热图值最高的磁盘的像素坐标。然后,将所有像素坐标位于磁盘内部的热图值从热图中删除。该算法会反复弹出当前热图中的最大值,然后删除其周围的磁盘,直到从热图中删除所有项目为止。

[0282] • 在有序列表热图中,每个项目都具有进行中项目和后续项目的知识。从订购清单中删除商品时,我们进行了以下更改:

[0283] • • 假设删除项是 x_r ,其继续项是 x_p ,而其后续项是 x_f 。

[0284] • • 对于进行中的项目 x_p ,将其下一个项目重新定义为删除项目的下一个项目。因此, x_p 的以下项现在是 x_f 。

[0285] • • 对于删除项 x_r ,请取消定义其继续项和后续项,从而将其从订购清单中删除。

[0286] • • 对于以下项目 x_f ,将其处理项目重新定义为已删除项目的处理项目。因此, x_f 的进行项现在是 x_p 。

[0287] 从有序列表中删除所有项目后,本地化算法完成。设置基因座中元素的数量将是分析物的数量,位置信息是设置基因座中每个s的像素坐标。

[0288] 另一实施例搜索局部峰值,这不是具有最高热图值的局部峰值。为了检测每个局部峰值,我们从一个随机的起点开始,并搜索局部最大值。找到峰后,我们将计算峰周围的局部区域,但其值较小。我们从热图中删除该区域,并从其余像素中找到下一个峰值。重复该过程,仅从热图中删除所有像素。

Algorithm LocalSearch (s, heatmap)

Input:

s: starting location (x, y)

heatmap

Output:

s: location of local peak.

[0289] We only consider pixels of value > 0 .

Algorithm Cover (s, heatmap)

Input:

s: location of local peak.

heatmap:

Output:

cover: a set of pixels covered by peak:

[0290] 这是一种从s开始的广度优先搜索算法,其中访问点的条件发生了变化:仅当 $\text{heatmap}[p] > 0$ 和 $\text{heatmap}[p] \leq \text{heatmap}[q]$ 时,才添加当前位置q的邻居p。因此,覆盖物中的每个像素都具有通往局部峰s的非下降路径。

Algorithm Localization (heatmap)

Input:

heatmap

Output:

loci

$\text{loci} \leftarrow \{\}$

[0291] $\text{pixels} \leftarrow \{\text{all pixels from heatmap}\}$

while pixels is not empty {

s $\leftarrow$ any pixel from pixels

s $\leftarrow$ LocalSearch(s, heatmap) // s is now local peak

probe local region of radius R surrounding s for better local peak

r $\leftarrow$ Cover(s, heatmap)

$\text{pixels} \leftarrow \text{pixels} \setminus r$ // remove all pixels in cover

[0292] add s to loci

[0293] (ii) 深度学习和计算机视觉方法的混合。在第二种方法中,检测和定位是通过计算机视觉算法实现的,分类是通过深度学习算法实现的,其中计算机视觉算法检测并定位分析物的可能候选物,深度学习算法将每个可能的候选物分类为真实分析物和错误分析物。所有真实分析物的位置(连同真实分析物的总数)将被记录为输出。

[0294] (a) 检测。计算机视觉算法根据分析物的特征检测可能的候选物,包括但不限于强度,颜色,大小,形状,分布等。预处理方案可以改善检测效果。预处理方案包括对比度增强,直方图调整,颜色增强,降噪,平滑,散焦等。预处理之后,将输入图像发送到检测器。检测器告知可能存在可能存在的分析物,并给出其位置的估计值。检测可以基于分析物的结构(例如边缘检测,线检测,圆检测等),连接性(例如斑点检测,连接组件,轮廓检测等),强度,颜色,使用方案的形状例如自适应阈值等。

[0295] (b) 本土化。检测后,计算机视觉算法通过提供其边界或包含该边界的紧密边界框来定位每种可能的分析物候选物。这可以通过受试者分割算法来实现,例如自适应阈值处

理,背景减除,洪水填充,均值漂移,临界值等。很多时候,可以将定位与检测结合起来以产生检测结果以及每个分析物候选受试者的位置。

[0296] (c) 分类。诸如卷积神经网络之类的深度学习算法可实现最先进的视觉分类。我们采用深度学习算法对每种可能的分析物进行分类。各种卷积神经网络可用于分析物分类,例如VGGNet, ResNet, MobileNet, DenseNet等。

[0297] 给定每种可能的分析物候选项,深度学习算法通过卷积滤波器和非线性滤波器计算神经元层,以提取区分分析物与非分析物的高级特征。完全卷积的网络层会将高级特征组合到分类结果中,从而表明它是否是真正的分析物,或者是被分析物的可能性。

[0298] G) 应用,生物/化学生物标记和健康状况

[0299] 本发明的应用包括但不限于(a)与某些疾病阶段相关的化合物或生物分子的检测,纯化和定量,这些疾病例如是传染性和寄生性疾病,伤害,心血管疾病,癌症,精神疾病,神经精神疾病和器质性疾病,例如肺部疾病,肾脏疾病,(b)对环境(例如水,土壤或生物样品)中微生物(例如病毒,真菌和细菌)的检测,纯化和定量,组织,体液,(c)对食品安全或国家安全构成危害的化合物或生物样品的检测,定量有毒废物,炭疽病;(d)医学或生理监护仪中重要参数的定量,例如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数;(e)检测和定量化来自生物样品(例如细胞,病毒)的特定DNA或RNA(f)对染色体和线粒体中的DNA中的基因序列进行测序和比较,以进行基因组分析;或(g)在例如药物合成或纯化过程中检测反应产物。

[0300] 可以在各种样品基质中进行检测,例如细胞,组织,体液和粪便。目标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),母乳,脑脊液(CSF),子宫(耳垢),乳糜,chi,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,黏液(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,样品包含人体流体。在一些实施方案中,样品包括细胞,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,脑脊液,子宫,乳糜,胆汗,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液,鼻腔引流,痰,心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大黄,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中的至少一种。

[0301] 在实施方案中,样品是生物样品,环境样品和生化样品中的至少一种。

[0302] 本发明的设备,系统和方法可用于各种领域中的各种不同应用中,在这些领域中,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,本受试者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。

[0303] 在某些实施方案中,本发明方法可用于检测样品中的核酸,蛋白质或其他生物分子。所述方法可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,该方法可以用于快速,临床检测生物样品中的两种或更多种疾病生物标志物,例如可以用于诊断受试者的疾病状况或用于正在进行治疗或治疗中。如上所述,与医生或其他健康护理提供者的通信可以更好地确保使医生或其他健康护理提供者知道并意识到可能的隐患,因此更有可能采取适当的措施。

[0304] 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)对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,比如,传染病和寄生虫病,伤害,

心血管疾病,癌症,精神疾病,神经精神疾病和器质性疾病,例如肺部疾病,肾脏疾病,(b)对微生物(如病毒,真菌和细菌)的检测,纯化和定量环境,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合物或生物样品的检测,定量有毒废物,炭疽病;(d)医学或生理监护仪中重要参数的定量,例如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数;(e)检测和定量化来自生物样品(例如细胞,病毒)的特定DNA或RNA(f)对染色体和线粒体中的DNA中的基因序列进行测序和比较,以进行基因组分析;或(g)在例如药物合成或纯化过程中检测反应产物。现在进一步详细描述本发明中的设备,系统和方法的一些特定应用。

[0305] 本发明的应用包括但不限于(a)与某些疾病阶段相关的化合物或生物分子的检测,纯化和定量,这些疾病例如是传染性和寄生性疾病,伤害,心血管疾病,癌症,精神疾病,神经精神疾病和器质性疾病,例如肺部疾病,肾脏疾病,(b)对环境(例如水,土壤或生物样品)中微生物(例如病毒,真菌和细菌)的检测,纯化和定量,组织,体液,(c)对食品安全或国家安全构成危害的化合物或生物样品的检测,定量有毒废物,炭疽病;(d)医学或生理监护仪中重要参数的定量,例如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数;(e)检测和定量化来自生物样品(例如细胞,病毒)的特定DNA或RNA(f)对染色体和线粒体中的DNA中的基因序列进行测序和比较,以进行基因组分析;或(g)在例如药物合成或纯化过程中检测反应产物。

[0306] 本发明中的装置,系统和方法的实现可以包括:a)获得样品,b)在适合于分析物结合的条件下,将样品施加到包含与目标分析物结合的捕获剂的CROF装置。将样品放入捕获剂中;c)清洗CROF设备,以及d)读取CROF设备,从而获得样品中分析物含量的测量值。在一些实施方案中,分析物可以是生物标志物,环境标志物或食品标志物。在某些情况下,样品是液体样品,并且可以是诊断样品(例如唾液,血清,血液,痰,尿液,汗液,泪液,精液或粘液);从河流,海洋,湖泊,雨水,雪,污水,污水处理径流,农业径流,工业径流,自来水或饮用水中获取的环境样品;或从自来水,饮用水,预制食品,加工食品或生食品中获得的食品样品。

[0307] 在任何实施方案中,CROF装置可以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装置的微流体装置上。

[0308] 在任何实施例中,读取步骤d)可以包括检测来自CROF设备的荧光或发光信号。

[0309] 在任何实施例中,读取步骤d)可以包括利用配置为读取CROF设备的手持设备来读取CROF设备。手持设备可以是移动电话,例如智能电话。

[0310] 在任何实施方案中,CROF装置可以包括可以与CROF装置上的分析物捕获剂复合物结合的标记剂。

[0311] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法在步骤c)和d)之间还可包括将结合到CROF装置上的分析物捕获剂复合物的标记剂施加到CROF装置的步骤,然后清洗CROF设备。

[0312] 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标签或它们的组合。

[0313] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法可以进一步包括将对照样品施加到含有与分析物结合的捕获剂的CROF对照装置中,其中对照样品包括已知可检测量的分析物,和读取控制CROF设备,从而获得样品中分析物的已知可检测量的控制测量值。

[0314] 在任何实施方案中,样品可以是获自受试者的诊断样品,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是疾病或病症的诊断。

[0315] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法可以进一步包括接收或向受试者提供报告,该报告指示个体中无或低的生物标志物的测量量和生物标志物的测量值范围。具有疾病或病症的风险,其中相对于测量值范围的生物标志物的测定量是疾病或病症的诊断。

[0316] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法还可包括基于包括样品中生物标志物的测量量在内的信息来诊断受试者。在某些情况下,诊断步骤包括将包含测量的生物标志物量的数据发送到远程位置,并基于包括来自远程位置的测量值的信息来接收诊断。

[0317] 在任何实施方案中,施加步骤b)可包括从样品中分离miRNA以产生分离的miRNA样品,并将分离的miRNA样品施加至盘耦合的柱上点天线(CROF装置)阵列。

[0318] 在任何实施方案中,该方法可以包括接收或提供报告,该报告指出受试者暴露于从中获得样品的环境中的安全性或有害性。

[0319] 在任何实施例中,该方法可以包括:将包含所测量的量的环境标志物的数据发送到远程位置;以及接收报告,该报告指出受试者暴露于从其获得样品的环境中的安全性或有害性。

[0320] 在任何实施方案中,CROF装置阵列可以包括各自与环境标志物结合的多种捕获剂,并且其中读取步骤d)可以包括获得样品中多种环境标志物的量的量度。

[0321] 在任何实施方案中,样品可以是食品样品,其中分析物可以是食品标记物,并且其中样品中食品标记物的量可以与食用食品的安全性相关。

[0322] 在任何实施方案中,该方法可以包括接收或提供报告,该报告指示受试者食用从其获得样品的食品的安全性或有害性。

[0323] 在任何实施例中,该方法可以包括:将包含所测量的食物标记物的量的数据发送到远程位置,并接收指示受试者食用从其获取样品的食品的安全性或有害性的报告。

[0324] 在任何实施方案中,CROF装置阵列可包括各自与食品标记物结合的多种捕获剂,其中所述获得可包括获得样品中多种食品标记物的量的量度,并且其中样品中的多种食品标记可以与食用食品的安全性相关。

[0325] 本文还提供了在实践本发明的装置,系统和方法中有用的试剂盒。

[0326] 样品量可以约为一滴样品。样品的量可以是刺破的手指或指尖收集的量。样品的量可以是微针或静脉抽吸收集的量。

[0327] 从源头获取样品后无需进一步处理即可使用样品,或者可以进行处理以例如富集目标分析物,去除大颗粒物质,溶解或重悬固体样品等。

[0328] 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器,滴管,注射器等。在某些实施例中,当CROF设备以量油尺形式位于支撑物上时,如下所述,可以通过将样品浸入样品将样品施加到CROF设备上,量油尺的接收区域进入样品。

[0329] 可以一次或多次收集样品。随时间推移收集的样品可以分别进行聚集和/或处理(通过应用到CROF设备并获得样品中分析物的量的测量值,如此处所述)。在某些情况下,随着时间的推移获得的测量值可以被汇总,并且可以用于随着时间的推移进行纵向分析以促进筛查,诊断,治疗和/或疾病预防。

[0330] 如上所述,可以以任何方便的方式清洗CROF设备以去除未结合的样品成分。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。

[0331] 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,在将样品施加到CROF设备之前,先标记样品中的分析物。在间接标记中,如下所述,在将样品施加到CROF设备以捕获未标记的分析物之后,标记样品中未标记的分析物。

[0332] 下面进一步描述来自受试者的样品,受试者的健康状况以及本发明的其他应用。示例性样品,健康状况和应用还公开于例如美国公开号2014/0154668和2014/0045209号,其通过引用合并于此。

[0333] 本发明可用于多种应用中,其中这些应用通常是分析物检测应用,其中如果不是定量的,至少定性地检测给定样品中特定分析物的存在。进行分析物检测测定的方案是本领域技术人员众所周知的,在此无需进行详细描述。通常,在足以使分析物结合到其束缚在传感器上的其各自的捕获剂的条件下,将怀疑包含目标分析物的样品与受试者纳米传感器的表面接触。捕获剂对目标靶向分子具有高度特异性的亲和力。这种亲和力可以是抗体与抗原上的特定表位结合的抗原-抗体反应,也可以是在两条或更多条互补链之间具有序列特异性的DNA/RNA或DNA/RNA杂交反应。因此,如果样品中存在目标分析物,则它很可能在捕获剂的位置与传感器结合,并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。在除去未结合的分析物之后,然后例如使用标记的第二捕获剂检测该结合复合物在传感器表面上的存在(即,固定的目标分析物)。

[0334] 目标特定分析物检测应用包括使用核酸捕获剂的杂交测定和其中使用多肽例如抗体的蛋白质结合测定。在这些测定中,首先制备样品,并且在制备样品后,在特定结合条件下将样品与受试者纳米传感器接触,从而在与结合至传感器表面上的捕获剂互补的靶核酸或多肽(或其他分子)之间形成复合物。

[0335] 在一实施方案中,捕获寡核苷酸是合成的20-100个碱基长的单链DNA,其一端被硫醇化。这些分子被固定在纳米器件的表面上,以捕获具有与固定的捕获DNA互补序列的目标单链DNA(长度至少为50bp)。杂交反应后,添加检测单链DNA(长度为20-100bp),其序列与目标DNA的未占用核酸互补,从而与靶标杂交。检测DNA的一端与荧光标记偶联,荧光标记的发射波长在纳米器件的等离子体共振范围内。因此,通过检测从纳米器件表面发出的荧光发射,可以准确地检测和定量靶向的单链DNA。捕获和检测DNA的长度决定了解链温度(核苷酸链将在解链温度以上分离),错配的程度(链越长,错配的程度越低)。

[0336] 选择互补结合的长度的考虑之一取决于在保持熔融温度尽可能高的同时最小化错配的需要。另外,确定杂交长度的总长度以实现最佳的信号放大。

[0337] 受试者传感器可以用于诊断疾病或状况的方法,包括:(a)从怀疑患有疾病或状况的患者获得液体样品,(b)使样品与受试者纳米传感器接触,其中捕获纳米传感器的试剂与疾病的生物标志物特异性结合,并且其中在适合于生物标志物与捕获剂特异性结合的条件下进行接触;(c)去除任何不与捕获剂结合的生物标志物;(d)从生物标志物读取仍与纳米传感器结合的光信号,其中光信号指示患者患有疾病或病状,其中该方法还包括在或之前或之后用发光标签标记生物标志物。绑定到捕获代理之后。如以下将更详细描述,患者可以怀疑患有癌症,并且抗体结合至癌症生物标志物。在其他实施方案中,怀疑患者患有神经

系统疾病,并且抗体与神经系统疾病的生物标志物结合。

[0338] 受试者传感器的应用包括但不限于(a)与某些疾病阶段相关的化学化合物或生物分子的检测,纯化和定量,例如传染病和寄生虫病,伤害,心血管疾病,癌症,精神疾病,神经精神疾病和器质性疾病,例如肺部疾病,肾脏疾病,(b)对环境(例如水,土壤或生物样品)中微生物(例如病毒,真菌和细菌)的检测,纯化和定量,组织,体液,(c)对食品安全或国家安全构成危害的化合物或生物样品的检测,定量有毒废物,炭疽病;(d)医学或生理监护仪中重要参数的定量,例如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数;(e)检测和量化来自生物样品(例如细胞,病毒)的特定DNA或RNA(f)对染色体和线粒体中的DNA中的基因序列进行测序和比较,以进行基因组分析;或(g)在例如药物合成或纯化过程中检测反应产物。

[0339] 可以在各种样品基质(例如细胞,组织,体液和粪便)中进行检测。目标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),母乳,脑脊液(CSF),耳屎(耳垢),乳糜,眵,内淋巴,周淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,黏液(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(皮油),精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。

[0340] 在一些实施方案中,可以通过检测来自样品中的病原体的靶核酸来使用受试者生物传感器诊断病原体感染。靶核酸可以例如选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1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,本发明不限于从上述病毒中检测核酸,例如DNA或RNA序列,而是可以毫无问题地应用于对兽医和/或人类医学重要的其他病原体。

[0341] 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会引起良性疣。HPV类型5、8、9、12、14、15、17和19-25和46-50在免疫系统较弱的患者中引起病变。6、11、34、39、41-44和51-55型会在生殖器和呼吸道的粘膜上引起良性尖锐湿疣。HPV 16和18型具有特殊的医学意义,因为它们会引起生殖器粘膜的上皮异常增生,并且与宫颈,阴道,外阴和肛管的浸润性癌占很大比例。人乳头瘤病毒的DNA整合被认为对宫颈癌的致癌性起决定性作用。可以从例如衣壳蛋白L1和L2的DNA序列中检测人乳头瘤病毒。因此,本发明的方法特别适合于检测组织样品中HPV 16和/或18型的DNA序列,以评估癌发生的风险。

[0342] 在某些情况下,可以使用纳米传感器检测低浓度存在的生物标记。例如,纳米传感器可用于检测易于获取的体液(例如血液,唾液,尿液,眼泪等)中的癌症抗原,以检测易于获取的体液中的组织特异性疾病的生物标志物(例如,用于神经系统疾病(例如阿尔茨海默氏病抗原)的生物标记物,以检测感染(尤其是检测低滴度潜伏病毒,例如HIV),检测母体血液中的胎儿抗原,以及检测外源性化合物(例如药物或污染物)。

[0343] 下表提供了可以使用受试者纳米传感器(当与适当的单克隆抗体结合使用时)可以检测到的蛋白质生物标记物及其相关疾病的列表。该表中还指出了生物标志物的一种潜在来源(例如“CSF”;脑脊髓液)。在许多情况下,受试者生物传感器可以在与所指示的体液不同的体液中检测那些生物标记。例如,可以在尿液,血液或唾液中鉴定出存在于CSF中的

生物标志物。

[0344] H) 实用性

[0345] 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和/或定量的各种不同应用中。例如,本受试者方法可用于检测蛋白质,肽,核酸,合成化合物,无机化合物等。

[0346] 在某些实施方案中,本发明方法可用于检测样品中的核酸,蛋白质或其他生物分子。所述方法可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,该方法可以用于快速,临床检测生物样品中的两种或更多种疾病生物标志物,例如可以用于诊断受试者的疾病状况或用于正在进行治疗或治疗中。如上所述,与医生或其他健康护理提供者的通信可以更好地确保使医生或其他健康护理提供者知道并意识到可能的担忧,因此可以更有可能采取适当的措施。

[0347] 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)对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,比如,传染病和寄生虫病,伤害,心血管疾病,癌症,精神疾病,神经精神疾病和器质性疾病,例如肺部疾病,肾脏疾病,(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合物或生物样品的检测,定量有毒废物,炭疽病;(d)医学或生理监护仪中重要参数的定量,例如葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数;(e)检测和定量来自生物样品(例如细胞,病毒)的特定DNA或RNA(f)对染色体和线粒体中的DNA中的基因序列进行测序和比较,以进行基因组分析;或(g)在例如药物合成或纯化过程中检测反应产物。现在进一步详细描述本发明中的设备,系统和方法的一些特定应用。

[0348] I) 诊断方法

[0349] 在某些实施方案中,本发明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,血清或血浆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,乳头抽吸液,泪液,汗液,粪便,颊拭子,脑脊液,细胞裂解液样品,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。

[0350] 在某些情况下,样品可以是来自要诊断的受试者的体液样品。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。生物样品的例子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,眼泪,粪便,粘液,汗液,耳垢,油,腺体分泌物,脑脊髓液,组织,精液,阴道液,源自肿瘤组织的组织液,眼液,脊髓液,咽喉拭子,呼吸,头发,指甲,皮肤,活检,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。样品可以包括鼻咽冲洗液。鼻拭子,咽喉拭子,粪便样本,头发,指甲,耳垢,口气和其他固体,半固体或气体样本可以在提取缓冲液中处理,例如固定时间或可变时间他们的分析。如果需要,提取缓冲液或其等分试样可随后与其他流体样品类似地进行处理。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,癌性样品或骨骼。

[0351] 在一些情况下,从其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。在某些情况下,受试者可以是患者。

[0352] 在某些实施方案中,CROF装置包括捕获剂,其被配置为特异性结合受试者提供的样品中的生物标记。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,生物标志物蛋白被CROF装置中存在的抗体捕获剂特异性结合。在某些实施方案中,生物标志物是与CROF装置中存在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,该核酸捕获剂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,生物标志物是被核酸结合蛋白特异性结合的核酸。在某些实施方案中,生物标志物被适体特异性结合。

[0353] 生物标志物的存在与否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调整个体中疾病的治疗。例如,特定生物标志物或生物标志物组的存在可影响给予个体的药物治疗或给药方案的选择。在评估潜在的药物治疗时,可以将生物标志物用作自然终点(例如生存或不可逆的发病率)的替代指标。如果治疗改变了与改善健康状况直接相关的生物标志物,则该生物标志物可以作为替代终点,以评估特定治疗或给药方案的临床益处。因此,通过本受试者方法促进了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,通过本发明中的装置,系统和方法的高灵敏度,促进了与疾病相关的生物标记物的早期检测。由于结合了灵敏性,可扩展性和易用性的利用移动设备(例如智能手机)检测多种生物标记的能力,本发明公开的方法可用于便携式和即时医疗或近患者分子诊断中。

[0354] 在某些实施方案中,本发明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生物标志物,以表征细胞信号通路和用于药物发现和疫苗开发的细胞内通讯。例如,本受试者方法可以用于检测和/或定量患病,健康或良性样品中生物标志物的量。在某些实施方案中,本发明方法可用于检测传染病或疾病状态的生物标志物。在某些情况下,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。

[0355] 本受试者方法可用于诊断测定中,例如但不限于以下各项:如上所述,检测和/或定量生物标记;筛选试验,定期检查无症状受试者的样品;预后测定,其中使用生物标志物的存在和/或数量来预测可能的疾病进程;分层分析,可以预测受试者对不同药物治疗的反应;功效分析,其中监测药物治疗的功效;等等。

[0356] 在一些实施方案中,可以通过检测来自样品中的病原体的靶核酸来使用受试者生物传感器诊断病原体感染。靶核酸可以例如选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1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,本发明不限于从上述病毒中检测核酸,例如DNA或RNA序列,而是可以毫无问题地应用于对兽医和/或人类医学重要的其他病原体。

[0357] 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会引起良性疣。HPV类型5、8、9、12、14、15、17和19-25和46-50在免疫系统较弱的患者中引起病变。6、11、34、39、41-44和51-55型会在生殖器和呼吸道的粘膜上引起良性尖锐湿疣。HPV 16和18型具有特殊的医学意义,因为

它们会引起生殖器粘膜的上皮异常增生,并且与宫颈,阴道,外阴和肛管的浸润性癌占很大比例。人乳头瘤病毒的DNA整合被认为对宫颈癌的致癌性起决定性作用。可以从例如衣壳蛋白L1和L2的DNA序列中检测人乳头瘤病毒。因此,本发明的方法特别适合于检测组织样品中HPV 16和/或18型的DNA序列,以评估癌发生的风险。

[0358] 可以使用本发明的装置,系统和方法在诊断样品中检测到的其他病原体包括但不限于带状疱疹;表皮葡萄球菌,大肠杆菌,耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MSRA),金黄色葡萄球菌,人型葡萄球菌,粪肠球菌,铜绿假单胞菌,葡萄球菌性角膜炎,葡萄球菌,肺炎链球菌,肺炎克雷伯氏菌,肺炎克雷伯氏菌,淋病(淋病奈瑟氏球菌),梅毒(梅毒螺旋体),克霉菌(衣原体交通炎),非淋菌性尿道炎(解脲脲原体),类脉络膜炎(嗜血杆菌),滴虫(滴虫);铜绿假单胞菌,耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(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,副溶血性嗜血杆菌,大肠埃希氏杆菌,嗜血肠球菌,肠球菌,肠球菌,肠球菌,弗氏柠檬酸杆菌,粪肠球菌,产氧克雷伯菌,荧光假单胞菌,脑膜炎奈瑟氏球菌,化脓性链球菌,卡氏肺孢子虫,肺炎克雷伯氏菌,肺炎军团菌,肺炎支原体,支原体等。

[0359] 在某些情况下,CROF设备可用于检测低浓度的生物标志物。例如,CROF设备可用于检测易于获取的体液(例如血液,唾液,尿液,眼泪等)中的癌症抗原,以检测易于获取的体液中的组织特异性疾病的生物标记(例如,一种神经系统疾病(例如阿尔茨海默氏症抗原)的生物标记,以检测感染(尤其是检测低滴度潜伏病毒,例如HIV),检测母体血液中的胎儿抗原,以及检测外源性化合物(例如药物)或污染物)。

[0360] 该表中还指出了生物标志物的一种潜在来源(例如“CSF”;脑脊髓液)。在许多情况下,受试者生物传感器可以在与所指示的体液不同的体液中检测那些生物标记。例如,可以在尿液,血液或唾液中鉴定出存在于CSF中的生物标志物。对于本领域的普通技术人员来说还将清楚的是,本发明的CROF装置可以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生物标记。

[0361] 除非另有说明,否则生物标记可以是蛋白质或核酸(例如,mRNA)生物标记。除非另有说明,否则诊断可以与样品中生物标志物水平的升高或降低有关。生物标志物的列表,可用于诊断的疾病以及可检测到生物标志物的样品在2015年9月29日提交的美国专利申请第62/234,538号的表1和2中进行了描述,该申请通过引用并入本文。

[0362] 在某些情况下,本发明中的设备,系统和方法用于告知样本来源的受试者其健康状况。可以通过本发明的装置,系统和方法,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;以及营养健康;行使;疲劳;睡觉;强调;糖尿病前期过敏老化;暴露于环境毒素,农药,除草剂,合成激素类似物;怀孕;绝经;和更年期。美国临时申请序号表3 2015年9月29日提交的美国专利申请62/234,538提供了可以使用本CROF设备检测的生物标志物清单(当与适当的单克隆抗体,核酸或其他捕获剂结合使用时)及其相关的健康状况。

[0363] J) 试剂盒

[0364] 如上所述,本公开的方面包括在执行本发明中的装置,系统和方法中有用的试剂盒。在某些实施方案中,试剂盒包括用于使用手持设备例如移动电话来实践受试者方法的说明书。这些说明书可以以各种形式存在于受试者试剂盒中,其中一种或多种可以存在于试剂盒中。可以以这些说明形式出现的一种形式是在适当的介质或基材上印刷的信息,例

如,在试剂盒的包装中,在包装插页中的,在上面印刷信息的纸张上。装置将是计算机可读介质,例如磁盘,CD,DVD,蓝光,计算机可读存储器等,其上已记录或存储了信息。可以存在的另一种手段是可以通过互联网使用的网址,以在已删除的站点上访问信息。试剂盒可进一步包括在计算机可读介质上提供的用于实现如本文所述的用于在设备上测量分析物的方法的软件。试剂盒中可以有任何方便的方法。

[0365] 在一些实施方案中,试剂盒包括检测剂,该检测剂包括可检测的标记物,例如抗氧化剂。与目标分析物特异性结合的荧光标记抗体或寡核苷酸,用于标记目标分析物。检测剂可以作为CROF设备提供在单独的容器中,也可以提供在CROF设备中。

[0366] 在一些实施方案中,试剂盒包括对照样品,其包括在样品中待检测的已知可检测量的分析物。对照样品可以提供在容器中,并且可以以已知浓度存在于溶液中,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,试剂盒还可以包括用于溶解对照样品的缓冲液。

[0367] 相关文件

[0368] 本发明包括各种实施例,只要各种组件彼此不矛盾,就可以以多种方式组合。实施例应被视为单个发明文件:每个文件都具有其他文件作为参考,并且也为了所有目的而整体上被引用,而不是作为离散的独立文件。这些实施例不仅包括当前文件中的公开内容,而且包括本文中引用,结合或要求优先权的文件。

[0369] (1) 定义

[0370] 用于描述本文公开的设备,系统和方法的术语在当前申请或分别于8月10日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2016年和2016年9月14日提交,于2017年2月7日提交美国临时申请号62/456065,于2017年2月8日提交美国临时申请号62/456287和美国临时申请号为于2017年2月8日提交的美国专利申请62/456504中定义,出于所有目的将所有这些申请的全部内容合并于此。

[0371] 术语“CROF卡(或卡)”,“COF卡”,“QMAX卡”,“Q卡”,“CROF设备”,“COF设备”,“QMAX设备”,“CROF板”,“COF板”和“QMAX板”是可互换的,但在某些实施例中,COF卡不包含间隔物。并且术语指的是一种设备,该设备包括可相对移动到不同配置(包括打开配置和关闭配置)的第一板和第二板,并且包括间隔物(COF卡的某些实施例除外)调节板之间的间距。术语“X板”是指CROF卡中的两个板之一,其中间隔物固定在该板上。于2017年2月7日提交的美国专利申请62/456065中提供了COF卡,CROF卡和X板的更多说明,该申请出于所有目的将其全文并入本文。

[0372] (2) Q卡,间隔物和均匀的样品厚度

[0373] 本文公开的装置,系统和方法可包括或使用Q卡,隔离物和均匀的样品厚度实施方案进行样品检测,分析和定量。在一些实施例中,Q卡包括隔离物,其有助于将至少一部分样品呈现为高度均匀的层。间隔物的结构,材料,功能,变化和尺寸以及间隔物和样品层的均匀性在本文中公开或列出,描述和总结在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年2月8日提交的美国临时申请62/456287和2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504,所有这些申请为了所有目的整体并入本文。

[0374] (3) 铰链,开口槽,凹边和滑块

[0375] 本文公开的设备,系统和方法可以包括或使用Q卡进行样品检测,分析和定量。在一些实施例中,Q卡包括铰链,凹口,凹部和滑动件,其有助于促进Q卡的操纵和样品的测量。铰链,凹口,凹口和滑块的结构,材料,功能,变化和尺寸在此公开或列出,描述和总结在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,美国临时申请62/456287(于2017年2月8日提交)和美国临时申请62/456504,出于所有目的将所有这些申请的全部内容合并于此。

[0376] (4) Q卡,滑条和智能手机检测系统

[0377] 本文公开的设备,系统和方法可以包括或使用Q卡进行样品检测,分析和定量。在一些实施例中,Q卡与允许智能手机检测系统读取卡的滑块一起使用。Q卡,滑条和智能手机检测系统的结构,材料,功能,变化,尺寸和连接在此公开或列出,描述和总结在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,美国临时申请62/456287(于2017年2月8日提交)和美国临时申请62/456504,所有这些申请为了所有目的都全文并入本文。

[0378] (5) 检测方法

[0379] 本文公开的设备,系统和方法可以包括或用于各种类型的检测方法。检测方法公开在本文和分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,美国临时申请号62/456287(于2017年2月8日提交)和美国临时申请号62/456504,出于所有目的,所有这些申请的全部内容都合并于此。

[0380] (6) 标记,捕获剂和检测剂

[0381] 本文公开的设备,系统和方法可以采用用于分析物检测的各种类型的标记,捕获剂和检测剂。本文的标记在于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,2017年2月8日提交的美国临时申请62/456287和2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504,中进行了披露,列出,描述和概述,所有这些申请均出于所有目的整体并入本文。

[0382] (7) 分析物

[0383] 本文公开的设备,系统和方法可以应用于各种类型的分析物(包括生物标志物)的操纵和检测。分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,2017年2月8日提交的美国临时申请62/456287和2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504,公开或列出,描述和概述了这些分析物,出于所有目的,将所有这些申请的全部内容合并于此。

[0384] (8) 应用(领域和样品)

[0385] 本文公开的设备,系统和方法可以用于各种应用(田地和样品)。分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,2017年2月8日提交的美国临

时申请62/456287和2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504中公开或列出,描述和总结了这些应用,所有这些申请均出于所有目的整体并入本文。

[0386] (9) 云端

[0387] 本文公开的设备,系统和方法可以采用云技术来进行数据传输,存储和/或分析。分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)PCT/US2016/045437和PCT/US0216/051775,于2月7日提交的美国临时申请号62/456065,2017年,2017年2月8日提交的美国临时申请62/456287和2017年2月8日提交的美国临时申请62/456504,中公开或列出,描述和总结了相关的云技术,所有这些申请均出于所有目的整体并入本文。

[0388] 其他实施方式

[0389] 在以下列举的段落中描述了根据本公开的发明受试者的其他示例。

[0390] 必须注意的是,如本文和所附权利要求书中所使用的,单数形式的“一”,“一个”和“该”包括复数指示物,除非上下文另有明确规定,例如,当使用单词“单数”时。例如,提及“分析物”包括单一分析物和多种分析物,提及“捕获剂”包括单一捕获剂和多种捕获剂,提及“检测剂”包括单一检测剂和多种检测剂。和“代理”一词包括一个代理和多个代理。

[0391] 范围可以在本文中表示为从“大约”一个特定值和/或到“大约”另一特定值。当表达这样的范围时,另一实施例包括从一个特定值和/或至另一特定值。类似地,当通过使用先行词“约”将值表示为近似值时,将理解的是,特定值形成另一实施例。还将理解的是,每个范围的端点相对于另一个端点以及独立于另一个端点都是重要的。术语“大约”或“大约”可以表示在特定值的可接受误差范围内,如本领域普通技术人员所确定的那样,这将部分取决于如何测量或确定该值,即该值的限制。测量系统。例如,根据本领域的实践,“约”可以表示在1个或大于1个标准偏差之内。替代地,“约”可以表示给定值的至多20%,至多10%,至多5%或至多1%的范围。可替代地,特别是关于生物系统或过程,该术语可以意指数值的一个数量级内,5倍以内,更优选2倍以内。在本申请和权利要求书中描述了特定值的情况下,除非另有说明,否则应假设术语“约”表示该特定值在可接受的误差范围内。术语“约”具有本领域普通技术人员通常理解的含义。在一些实施例中,术语“约”是指 $\pm 10\%$ 。在一些实施例中,术语“约”是指 $\pm 5\%$ 。

[0392] 如本文所使用的,术语“适应的”和“配置的”是指元件,组件或其他受试者被设计和/或旨在执行给定功能。因此,术语“适应的”和“配置的”的使用不应被解释为意味着给定的元素,组件或其他受试者仅仅是“能够”执行给定的功能。类似地,被叙述为被配置为执行特定功能的受试者可以附加地或替代地被描述为可操作以执行该功能。

[0393] 如本文所使用的,短语“例如”,短语“作为示例”和/或简单地术语“示例”和“示例性”在参考一个或多个组件,特征,细节,结构,根据本公开的实施例和/或方法旨在传达所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法是组件,特征,细节,结构的说明性,非排他性示例,根据本公开的实施例和/或方法。因此,所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法并非旨在进行限制,要求或排他/穷举;以及包括结构和/或功能上相似和/或等效的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法的其他组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法也在本发明的范围内。

[0394] 如本文所使用的,在提及多于一个实体的列表时,短语“至少一个”和“一个或多个”是指实体列表中的任何一个或多个实体,并且不限于实体列表中明确列出的每个实体

中的至少一个。例如,“A和B中的至少一个”(或等效地,“A或B中的至少一个”,或等效地“A和/或B中的至少一个”)可以指的是单独的A,B单独或A和B的组合。

[0395] 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”是指(1)第一实体,(2)第二实体和(3)第一实体和第二实体中的一个。用“和/或”列出的多个实体应以相同的方式解释,即如此连接的实体中的“一个或多个”。除了由“和/或”子句明确标识的实体以外,还可以选择存在其他实体,无论与那些具体标识的实体有关还是无关。

[0396] 在这里提到数值范围的情况下,本发明包括其中包括端点的实施例,其中两个端点都被排除的实施例以及其中一个端点被包括而另一端点被排除的实施例。除非另有说明,否则应假定包括两个端点。此外,除非另外指明或从上下文和本领域普通技术人员的理解中是显而易见的。

[0397] 如果将任何专利,专利申请或其他参考文献通过引用并入本文,并且(1)以与以下内容之一不一致的方式定义术语,和/或(2)与以下内容中的非合并部分不一致:在本公开或任何其他并入的参考文献中,应以本公开的非并入部分为准,并且其中的术语或并入的公开仅应在定义了该术语的参考文献和/或并入的公开中为准。

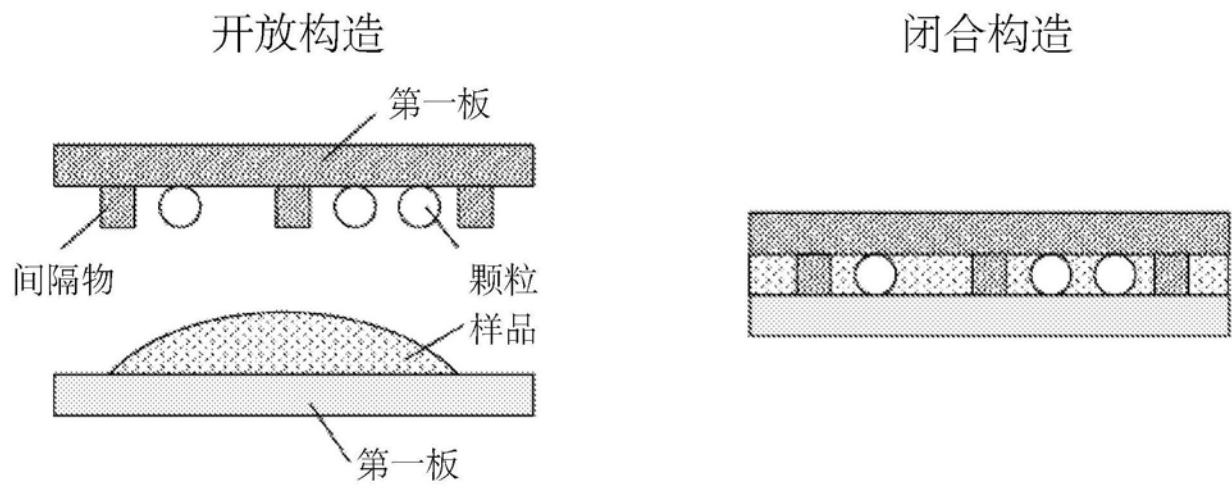


图1A

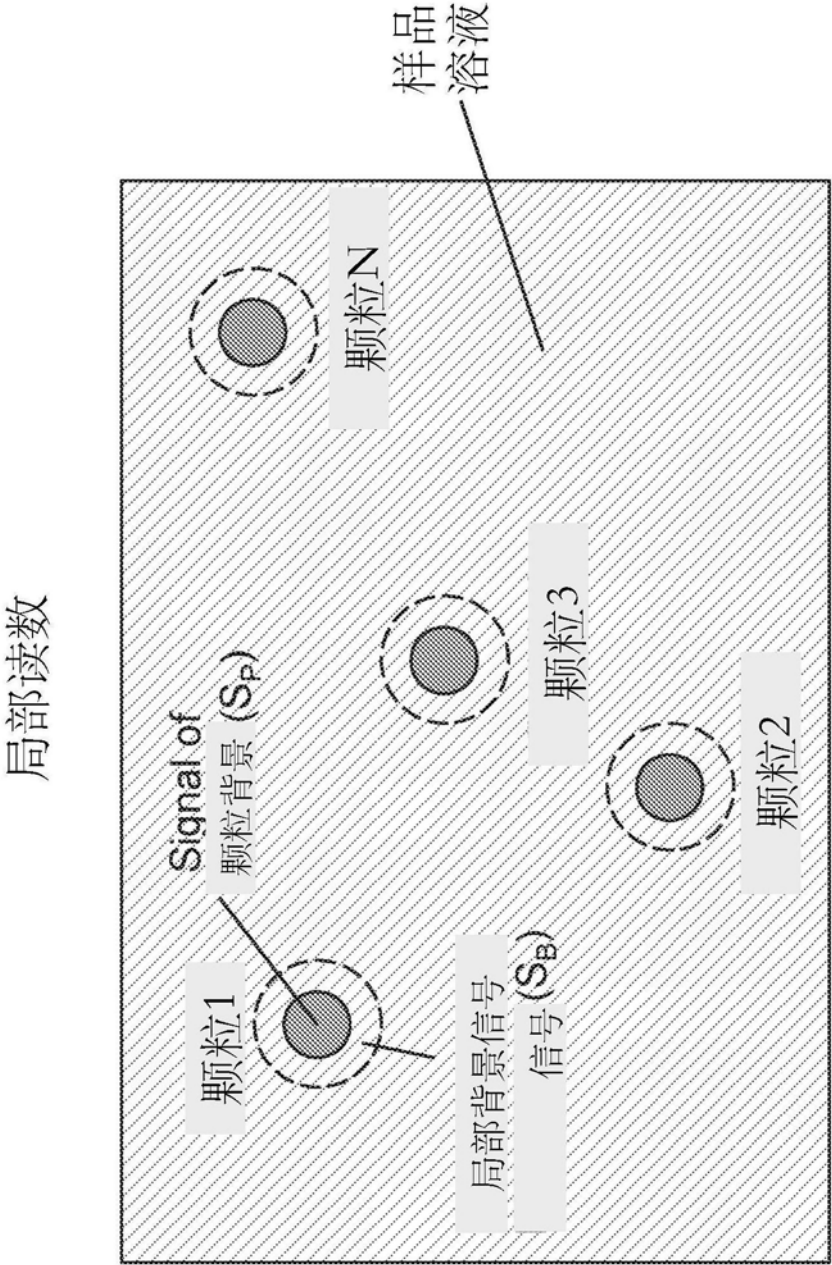


图1B

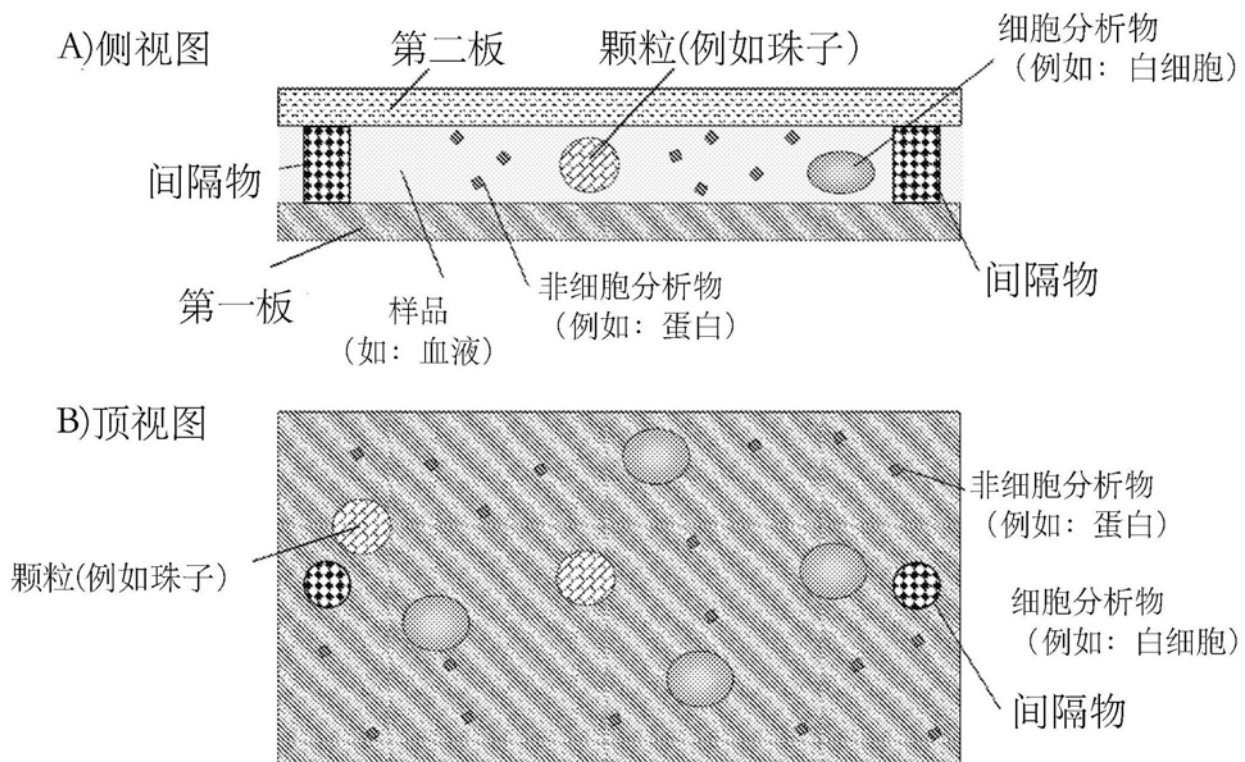
QAP (采用颗粒的QMAX测定)

图2

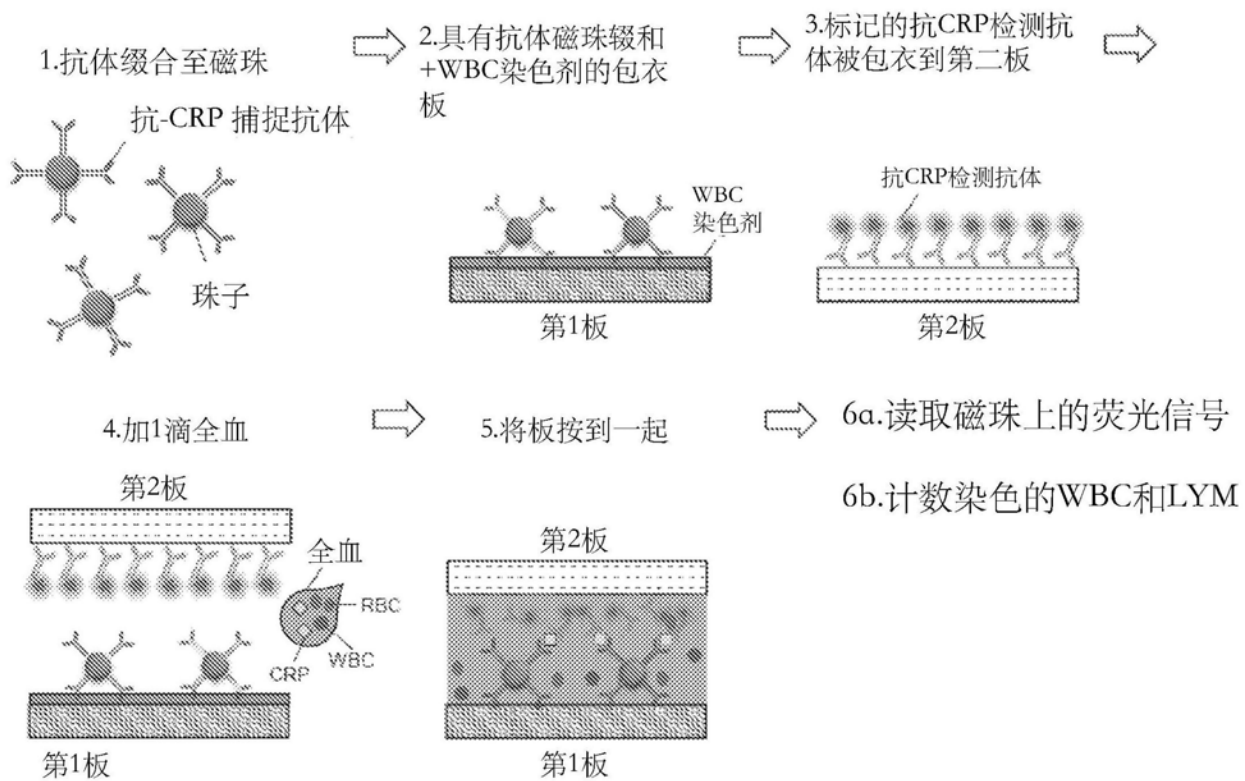


图3

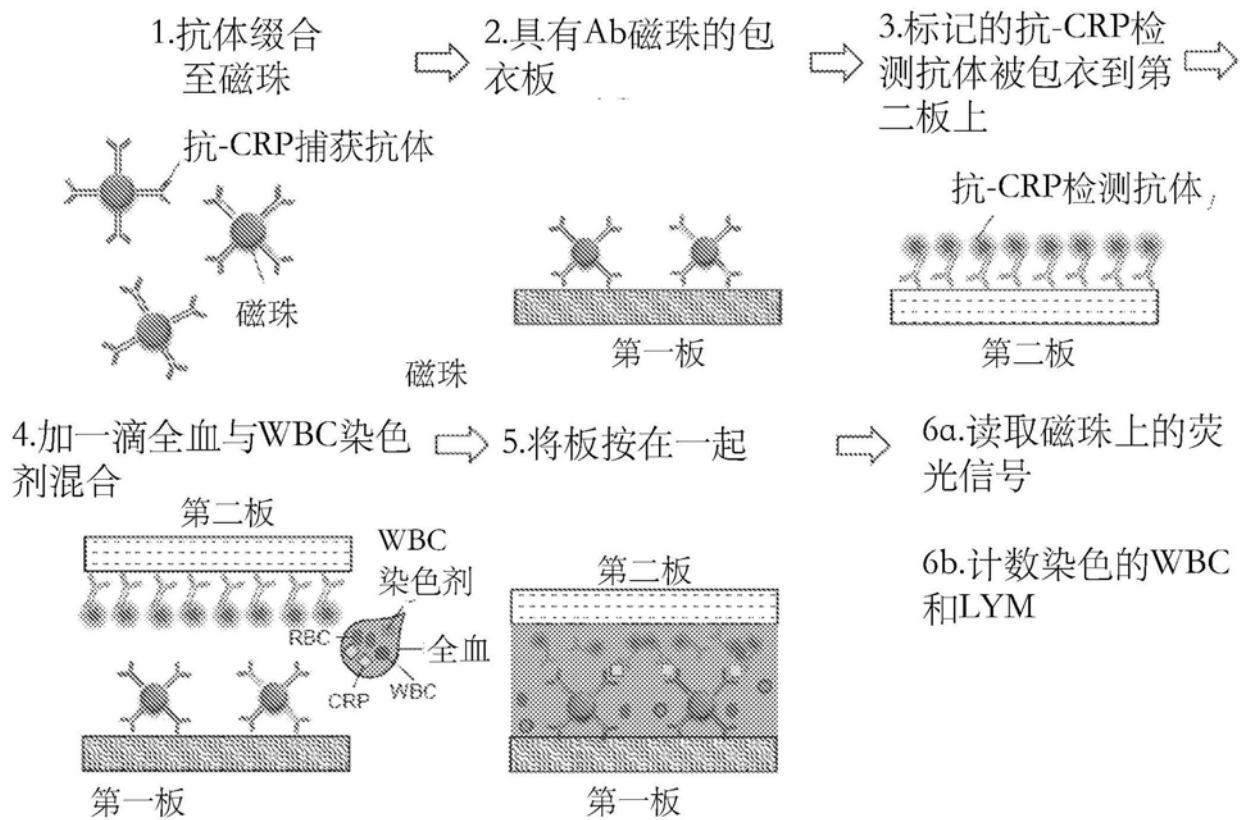


图4