

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101652780 B

(45) 授权公告日 2012. 10. 03

(21) 申请号 200880006704. 2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 01. 28

G06F 19/22(2011. 01)

(30) 优先权数据

C12Q 1/68(2006. 01)

60/897, 647 2007. 01. 26 US

G06T 7/00(2006. 01)

60/897, 646 2007. 01. 26 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2009. 08. 31

WO 9908223 A1, 1999. 02. 18,

(86) PCT申请的申请数据

US 2006293558 A1, 2006. 12. 28,

PCT/US2008/052198 2008. 01. 28

CN 1771336 A, 2006. 05. 10,

(87) PCT申请的公布数据

CN 2478110 Y, 2002. 02. 20,

W02008/092150 EN 2008. 07. 31

CN 1606695 A, 2005. 04. 13,

(73) 专利权人 伊鲁米那股份有限公司

审查员 王越

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 R·C·凯恩 D·L·海纳 C·赵

K·冈德森

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 刘佳

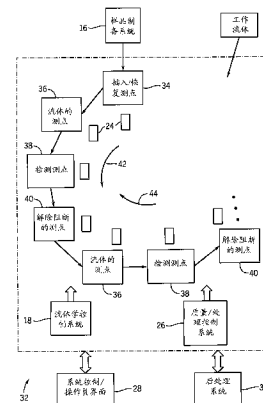
权利要求书 2 页 说明书 19 页 附图 8 页

(54) 发明名称

核酸测序系统以及方法

(57) 摘要

披露了一种以自动化或半自动化的方式对核酸进行测序的技术。在多个循环中对众多核酸位点的多个样品阵列进行处理以将多种核苷酸加入有待测序的材料中,对加至多个位点的核苷酸进行检测,并且将所加入的核苷酸与被用于鉴定最后加入的核苷酸的阻断剂以及标签进行解除阻断。对该系统的多个参数进行监测以便在这些样品的测序过程中对多种问题在它们发生时能够进行诊断并校正。在测序过程中运行多个质量控制例行程序以确定样品的质量、以及所收集的数据的质量。



1. 一种用于通过一种测序系统对多个核酸进行测序的方法,包括:
 - (a) 通过所述测序系统执行对于包括多个核酸的一个阵列的一个测序过程的循环;
 - (b) 评估经过多个测序循环信噪比中的衰减;
 - (c) 基于该信噪比中的衰减改变对于该阵列的测序过程,包括:
评估一种试剂输送系统的运作并基于所述评估来改变所述试剂输送系统的运作参数;
中断试剂输送;
改变测序试剂;
改变用于核苷酸加入的条件;
将多种核苷酸重复引入该阵列中;
改变成像参数;
选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该测序过程;
对该阵列重新成像;或
中断该测序过程;并且
 - (d) 对于该阵列进行该测序过程的另一个循环。
2. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 进一步包括评估该阵列的多个样品位点之间的定相。
3. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 进一步包括评估该阵列的一个对照束的一种质量。
4. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 进一步包括评估用于对该阵列进行测序的一种试剂。
5. 如权利要求 4 所述的方法,其中步骤 (b) 进一步包括评估该试剂的一个体积。
6. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 进一步包括评估用于对该阵列进行测序的一个光学成像系统的一个参数。
7. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (c) 基于该信噪比中的衰减改变对于该阵列的测序过程包括对该阵列重新成像,其中对该阵列重新成像包括采用一个更长的曝光或者一个更高的成像系统灵敏度对该阵列重新成像。
8. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (c) 基于该信噪比中的衰减改变对于该阵列的测序过程包括选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该测序过程,且步骤 (d) 包括仅对该阵列的这些选择的区域收集成像数据。
9. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (c) 基于该信噪比中的衰减改变对于该阵列的测序过程包括选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该测序过程,且步骤 (d) 包括对该阵列的所有区域收集成像数据。
10. 如权利要求 9 所述的方法,其中对该阵列的未被选择用于进行测序的区域的成像数据进行存储。
11. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (c) 基于该信噪比中的衰减改变对于该阵列的测序过程包括中断该测序过程并且不执行步骤 (d)。
12. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 以及 (c) 是响应于来自一位人类操作员的输入来执行的。

13. 如权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 以及 (c) 是由一个计算机系统来执行的。

14. 一种用于通过一种测序系统对多个核酸进行测序的方法,包括:

- (a) 进行一种自动化的核酸测序运作;
- (b) 基于该自动化的核酸测序运作生成数据;
- (c) 基于这些数据评估样品的一种质量;以及

(d) 基于该样品的所述质量改变该自动化的核酸测序运作,包括:评估一种试剂输送系统的运作并基于所述评估来改变所述试剂输送系统的运作参数;中断试剂输送;改变测序试剂;改变用于核苷酸加入的条件;将多种核苷酸重复引入该阵列中;改变成像参数;选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该自动化的核酸测序运作;对该阵列重新成像;中断该自动化的核酸测序运作;或通过该自动化的核酸测序运作的一个额外的循环进行。

15. 一种用于通过一种测序系统对多个核酸进行测序的方法,包括:

- (a) 通过所述测序系统对包括多个核酸的一个阵列进行一个测序过程的循环;
- (b) 检测表明存在于该阵列的多个位点的核苷酸的多个信号;
- (c) 评估这些信号以确定该阵列的质量;并且

(d) 基于该质量改变对于该阵列的测序过程,包括:评估一种试剂输送系统的运作并基于所述评估来改变所述试剂输送系统的运作参数;中断试剂输送;改变测序试剂;改变用于核苷酸加入的条件;将多种核苷酸重复引入该阵列中;改变成像参数;选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该测序过程;对该阵列重新成像;中断该测序过程;或通过该测序过程的一个额外的循环进行。

16. 一种用于对多个核酸进行测序的系统,包括:

- 一个射流运送系统,用于协助测试多个反应方案;
- 一个成像系统,用于获取测序数据;

多个诊断部件,这些诊断部件被配置为在该测序系统的运作过程中测量多个系统参数;

质量评估电路,该质量评估电路被配置为基于一种多步骤的分析对该测序系统的一种质量进行评定;以及

控制电路,该控制电路被配置为基于由这些诊断部件或该质量评估电路所收集的数据来改变该测序系统的运作条件,其中改变该测序系统的运作条件包括:评估一种试剂输送系统的运作并基于所述评估来改变所述试剂输送系统的运作参数;中断试剂输送;改变测序试剂;改变用于核苷酸加入的条件;将多种核苷酸重复引入该阵列中;改变成像参数;选择该阵列的某些区域,对于这些区域成像数据将被用于该测序过程;对该阵列重新成像;中断该测序过程;或通过该测序过程的一个额外的循环进行。

核酸测序系统以及方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求于 2007 年 1 月 26 日提交的美国临时专利申请号 60/897,646 (名称为“Image Data Efficient Genetic Sequencing Method and System”,其全文通过引用结合在此),以及于 2007 年 1 月 26 日提交的美国临时专利申请号 60/897,647 (名称为“Nucleic Acid Sequencing System and Method”,其全文通过引用结合在此)的优先权。

发明背景

[0002] 本发明总体上涉及遗传测序的领域。更具体地说,本发明涉及多种改进的技术,这些技术用于通过使用遗传片段的阵列而允许对遗传材料进行自动化的测序。

[0003] 遗传测序已成为遗传研究的一个愈来愈重要的领域,对于未来使用在诊断以及其他应用中大有希望。一般而言,遗传测序包括确定对于一个核酸(例如一个 RNA 或 DNA 的片段)的核苷酸的顺序。典型地是对相对短的序列进行分析,并且所得到的序列信息可用于不同的生物信息学方法中以便对照一个参考序列来比对多个片段或者在逻辑上将多个片段装配在一起以便可靠地确定得出这些片段的遗传材料的具有更广泛长度的序列。已经开展了对特征性片段的自动化的、基于计算机的检查,并且这些片断最近已用于基因组定位、个体之间的遗传变异的分析、基因以及它们的功能的识别、等等。然而,现有技术是高度地时间密集性的(time-intensive),并且所得到的基因组信息相应地是极其昂贵的。

[0004] 目前多种替代性测序技术正在处于调查以及开发中。这些技术包括使用能够进行操作的遗传材料的微阵列,以便允许在众多遗传材料的片段中对核苷酸的排序进行平行检测。这些阵列典型地包括在一个底物上形成的或安置的许多位点。引入了多种额外的材料(典型地是单一的核苷酸或多个核苷酸(寡核苷酸)的链段),并且允许或促使这些材料结合至有待测序的遗传材料的模板上,由此以一种依赖于序列的方式选择性地对该模板进行标记。然后可通过对这些位点进行成像来收集序列信息。例如,在某些当前的技术中,对每种核苷酸类型用一种荧光标签或染料进行标明,该标签或染料允许通过图像数据的分析对附着于一个特定位点上的有待确定的核苷酸进行分析。虽然此类技术显示出显著改进测序的通过量并降低成本的希望,但令人希望的是在测序中所涉及的分析步骤的速度以及可靠性上的进一步的进展。

简要说明

[0005] 本发明提供了在核酸测序领域中的显著的改进,尤其是关于仪器以及分析方法。这些技术可被用于任何所希望的测序,并且典型地在 DNA 以及 RNA(包括 cDNA)的测序中将是最为有用的。这些技术是基于支持在一个底物上的样品中的核苷酸序列的分析,并且典型地包含例如在一个核酸阵列中的众多单个的位点。此外,这些技术可与多种测序方法或技术一起使用,包括经常被称为边测序边合成(sequencing-by-synthesis)(SBS)、边测序边连接(sequencing-by-ligation)、焦磷酸测序(pyrosequencing)等等的技术。已发现或相信本发明的技术提供了更高度自动化的或更高质量的测序,允许更高的通过量并且最终

降低的序列成本。

[0006] 因此,本发明提供了一种用于对多个核酸进行测序的方法,它可包括以下步骤:(a) 通过一种系统开始对于包括多个核酸的一个阵列的一个测序过程的循环,该系统能够确定该阵列的核苷酸序列;(b) 评估该系统的一个参数;(c) 基于该参数改变对于该阵列的测序过程;并且(d) 对于该阵列进行另一个循环的测序过程。

[0007] 本发明进一步提供了一种用于对多个核酸进行测序的方法,该方法包括以下步骤:(a) 进行一种自动化的核酸测序运作;(b) 基于该运作生成数据;并且(c) 基于这些数据评估该样品的质量。

[0008] 还提供了一种用于对多个核酸进行测序的方法,包括以下步骤:(a) 通过一种系统对包括多个核酸的一个阵列进行一个测序过程的循环,该系统能够确定该阵列的核苷酸序列;(b) 检测表明存在于该阵列的多个位点的核苷酸的多个信号;(c) 评估这些信号以确定该阵列的质量;并且(d) 基于该质量改变对于该阵列的测序过程。

[0009] 一种用于多个核酸的测序的方法可包括以下步骤:(a) 将一种工作流体引入处于一个系统里的一个阵列或多个核酸中,该系统对于该阵列进行一个核酸测序过程;并且(b) 通过该系统对于该阵列进行至少一循环的测序过程;其中在引入该阵列之前将该工作流体加热或冷却。

[0010] 一种用于对多个核酸进行测序的方法可包括以下步骤:(a) 通过一种系统对包括多个核酸的一个阵列进行测序过程的一个循环,该系统能够确定该阵列的核苷酸序列;(b) 检测表明该阵列的位点上存在多个核苷酸的多个信号;并且(c) 重复步骤(a) 以及(b);其中步骤(a) 以及(b) 的时序安排暂时被解除联系。

[0011] 一种用于对多个核酸进行测序的方法可包括以下步骤:(a) 通过一种系统对于包括多个核酸的一个阵列进行一个测序过程的循环,该系统能够确定该阵列的核苷酸序列;(b) 对该阵列进行成像以生成图像数据;(c) 从该图像数据中推导出序列数据,这些序列数据表明在该阵列的一个核酸的序列中的一个位置上存在的核苷酸的种类;(d) 重复步骤(a)、(b) 以及(c);并且(e) 保留这些序列数据并且在阵列上完成测序过程之前删除从中推导出这些序列数据的图像数据的至少一部分。

[0012] 本发明还提供了一种用于对多个核酸进行测序的系统。该系统可包括多个处理站点,这些处理站点被配置为将多个有标记的核苷酸加至一个阵列的多个位点中;以及多个检测站点,这些检测站点散置在这些处理站点之间用于检测这些位点的核酸序列并生成代表它们的数据。

[0013] 还提供了一种用于对多个核酸进行测序的系统,包括一个射流运送系统用于协助多个测试反应方案;一个成像系统,用于获取测序数据;多个诊断部件,这些诊断部件被配置为在该测序系统的运作过程中测量多个系统参数;质量评估电路,该质量评估线路被配置为基于一种多步骤的分析对该测序系统的质量进行评定;以及控制电路,该控制电路被配置为基于由这些诊断部件或该质量评估电路所收集的数据来改变该测序系统的运行状态。

附图

[0014] 当参照以下附图(其中贯穿这些附图相同的符号代表相同的部分)阅读以下详细

的说明时本发明的这些以及其他特点、方面、以及优点将得到更好的理解,在附图中:

[0015] 图 1 是结合了本技术的多个方面的一个测序系统的图解概观;

[0016] 图 2 是实施本技术的多个方面的一个多站点测序系统的图解概观;

[0017] 图 3 是一个示例性成像系统的图解概观,该系统可与图 1 或 2 的系统结合使用于在一个阵列的多个单独的位点上的序列检测;

[0018] 图 4 是根据 SBS 技术在以上附图的系统中进行测序的图解表示,该技术作为可在系统中使用的测序方法的一个实例;

[0019] 图 5 是一个流程图,该流程图展示了根据本技术的多个方面用于测序以及样品质量控制示例性逻辑;

[0020] 图 6 是一个流程图,该流程图展示了根据本技术的多个方面用于一种初始测序循环的质量控制方法的示例性逻辑,这样来确定有待测试的样品的质量;

[0021] 图 7 是一个流程图,该流程图展示了根据本技术用于控制碱基或核苷酸加入的质量的示例性逻辑;以及

[0022] 图 8 是一个流程图,该流程图展示了根据本技术的多个方面用于对质量控制解除阻断的示例性逻辑。

详细说明

[0023] 现在转至附图,首先参见图 1,测序系统 10 的图解表示被展示作为包括一个测序仪 12,该测序仪被设计为用于确定一个样品 14 的遗传材料的序列。该测序仪可以用多种方式并且基于多种技术来发挥作用,包括使用经标记的核苷酸通过引物延伸进行测序(如在目前考虑的实施方案中),连同其他测序技术,如边测序边连接或者焦磷酸测序。总体而言,并且如以下更详细的说明,测序仪 12 通过多个反应循环以及多个成像循环逐渐地移动样品以便通过在样品上的单独的位点处将多个核苷酸结合至多个模板上来逐渐地构建多个寡核苷酸。在一个典型的安排中,样品将通过样品制备系统 16 进行制备。这个处理可包括在支持物上扩增 DNA 或 RNA 的多个片段以产生众多 DNA 或 RNA 片段的位点,这些片段的序列可通过该测序过程来确定。用于产生适于进行测序的扩增的核酸位点的示范性方法包括但不限于,滚环扩增(RCA)(Lizardi et al., Nat. Genet. 19 :225-232(1998)),桥式 PCR(bridge PCR)(Adams and Kron, Method for Performing Amplification of Nucleic Acid with Two Primers Bound to a Single Solid Support, Mosaic Technologies, Inc. (Winter Hill, MA); Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, (1997); Adessi et al., Nucl. Acids Res. 28 :E87(2000); Pemov et al., Nucl. Acids Res. 33 :e11(2005); 或 US 5,641,658), polony 生成(polony generation)(Mittra et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100 :5926-5931(2003); Mittra et al., Anal. Biochem. 320 :55-65(2003)),或使用乳剂在珠粒上的克隆扩增(Dressman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100 :8817-8822(2003))或连接至基于珠粒的接头库(Brenner et al., Nat. Biotechnol. 18 :630-634(2000); Brenner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97 :1665-1670(2000)); Reinartz, et al., Brief Funct. Genomic Proteomic 1 :95-104(2002))。样品制备系统 16 将典型地将样品放置在一个样品容器中用于处理并且成像,该样品可能处于多个位点的一个阵列的形式。

[0024] 测序仪 12 包括一个射流控制/输送系统 18 以及一个检测系统 20。射流控制/输

送系统 18 将接收多个工作流体（如总体上由参考标号 22 所表示），用于循环通过处理中的样品的多个样品容器（总体上由参考标号 24 所标明）。如本领域的那些普通技术人员将会理解，这些工作流体将根据测序的特定阶段而变化。例如，在使用这些已标记的核苷酸的 SBS 中，被引入样品中的这些工作流体将包括一种聚合酶以及四种常见的 DNA 类型的多种有标记的核苷酸，每种核苷酸具有一个独特的荧光标签以及与其连接的一种阻断剂。该荧光标签允许检测系统 20 在该阵列的单独的位点上检测哪些核苷酸是最后被加到与模板核酸进行杂合的探针上，并且该阻断剂在每个位点防止每个循环中加入多于一个的核苷酸。在其他的处理中，例如边测序边连接，这个阶段的工作流体将包括多种询问探针，这些询问探针带有附着至其上的独特的荧光标签。类似地，这些询问探针将在一个构型中的每个位点处结合至这些模板上，该构型允许这些询问探针连接至一个锚定引物上并且可由检测系统 20 进行检测用于每个位点上的模板的测序。

[0025] 在测序循环的其他时期，工作流体 22 将包括其他流体以及试剂，如用于以下用途的试剂：将延伸阻断物从核苷酸中去除、切割核苷酸连接物、或从已连接的寡核苷酸中去除碱基以释放一个新的可延伸的探针末端。例如，一旦反应已在这些样品的阵列的单独的位点上发生，包含多个有标记的核苷酸的初始工作流体将在一个或多个冲洗运作中从该样品被洗涤。然后该样品可经受检测，例如在检测系统 20 上通过光学成像进行检测。随后，将由射流控制 / 输送系统 18 加入多种试剂以便对最后加入的核苷酸解除阻断并且从每个核苷酸中去除该荧光标签。然后射流控制 / 输送系统 18 典型地将再次对该样品进行洗涤，该样品然后被制备用于随后的测序循环。WO 07/123744 中描述了可在此给出的方法以及设备中使用的示例性流体以及检测构型。总体而言，此类测序可以持续直到从测序推导出的数据的质量退化（由于累积的产量损失）或直到已经完成预定数目的循环，如以下更详细的说明。

[0026] 处理中的样品 24 的质量连同由该系统推出的数据的质量，以及用于处理这些样品的不同的参数由质量 / 处理控制系统 26 来控制。质量 / 处理控制系统 26 将典型地包括一个或多个编程的处理器，或者多个通用目的或特定应用的计算机，这些计算机与射流控制 / 输送系统 18 以及检测系统 20 内的多个传感器以及其他处理系统相联通。以下更详细讨论的多个处理参数可用于复杂的质量与处理控制，例如，作为反馈环的一部分，该反馈环能够在测序运行的过程中改变多个仪器运作参数。

[0027] 测序仪 12 还与系统控制 / 操作员界面 28 联通并最终与后处理系统 30 联通。系统控制 / 操作员界面 28 这里同样将典型地包括一种通用目的或特定应用的计算机，该计算机被设计为监测处理参数、已获取的数据、系统设置、等等。操作员界面可由本地执行的一个程序或由在测序仪 12 之内执行的多个程序来产生。总体而言，它们可提供系统或测序仪的子系统的正常状态、所获取的数据的质量、等等的视觉表示。系统控制 / 操作员界面 28 还可允许人类操作员与系统进行接口以对运作进行调节、启动或中断测序、以及对于系统硬件或软件可能希望进行的任何其他相互作用。例如，系统控制 / 操作员界面 28 可自动地从事和 / 或修改在测序过程中有待执行的步骤，而无需来自人类操作员的输入。可替代地或另外地，系统控制 / 操作员界面 28 可生成关于在测序过程中有待执行的步骤的建议并将这些建议显示给人类操作员。当然，这一模式在该测序过程中从事和 / 或修改步骤之前会允许进行来自人类操作员的输入。此外，系统控制 / 操作员界面 28 可向人类操作员提供一

个选择项,该选择项允许人类操作员在有待由测序仪 12 自动执行的测序过程中选择某些步骤,同时在从事和 / 或修改其他步骤之前要求来自人类操作员的输入。在任何情况下,允许自动化的以及操作员的互动模式可在执行该测序的过程中提供增加的灵活性。此外,自动控制以及由人类控制的互动作用的组合可进一步允许一种系统能够基于从人类操作员所收集的输入通过自适应的机器学习来产生并修改多种新的测序过程与算法。

[0028] 后处理系统 30 典型地也将包括一个或多个已编程序的计算机,这些计算机接收所检测的信息,这些信息可处于像素化的图像数据的形式并且从该图像数据中推导出序列数据。后处理系统 30 可包括多种图像识别算法,这些算法在附着至这些核苷酸上的染料的颜色之间进行区分(这些核苷酸随着测序的进展而结合在单独的位点上)(例如通过对多种特定颜色或强度进行编码的图像数据的分析),并且记录这些单独位点的位置上的核苷酸的序列。然后,后处理系统 30 将逐步地为样品阵列的这些单独的位点构建序列列表,这些序列列表可进一步处理以通过不同的生物信息学算法对材料所延伸的长度建立遗传信息。

[0029] 测序系统 10 可以被配置为对单独的样品进行处理或者可总体上以图 2 所表示的方式被设计为用于较高的通过量。图 2 展示了一种多站点的测序仪 32,其中提供了多个站点用于输送试剂以及其他流体,并用于逐步构建多个核苷酸序列的检测。在所示出的实施方案中,测序仪 32 可包括安置于一个平面中(例如在一张桌子上)或多个平面中的一系列站点。为了允许将样品插入至该测序仪中,典型地将提供一个插入 / 取出站点 34。这一站点将被物理性地配置为允许人类操作员或机器人将一个样品插入该装置中并且将该样品置于处理流中用于在不同的额外的站点上有待自动执行的测序运作。从插入 / 取出站点 34,一个机械的传送系统(未示出)将用于移动样品 24 并在其他站点之间进行处理。

[0030] 在图 2 所示的实施方案中,额外的站点将包括流体站点 36、检测站点 38、以及解除阻断站点 40,尽管取决于所希望的处理以及步骤的顺序其他站点可以包括或散置在这些站点之间。例如,流体站点 36 将用于将试剂以及其他工作流体引入样品 24 中,这样以随着测序的进展而允许进行单独的核苷酸的结合。流体站点 36 还可以允许进行洗涤或冲洗来自样品的试剂。可替代地或另外地,支撑该样品的工作台可被配置为允许从多种样品中去除液体(包括存在于液体中的试剂),而独立于它们在系统中的位置。例如,该工作台可以包括多条阀门致动的真空管线,当样品处于任何站点中或者甚至当样品在多个站点之间时该真空管线可被启动用于从样品中去除液体。例如,在未决的美国专利申请系列号 11/521,574 中描述了一个有用的真空系统,它通过引用结合在此。

[0031] 检测站点 38 可包括任何希望的检测电路,例如光学的、电的、或其他设备,这些设备被设计为随着测序的进展而检测在样品的单独位点上被加入的具体的核苷酸。以下参见图 3 说明用于这种检测的一种示例性光学系统。解除阻断站点 40 可用于输送多种试剂,这些试剂被用来去除保护性的分子,这些分子防止在同一个时间内结合多于一个的核苷酸(特别是在 SBS 系统中)。解除阻断站点 40 还可用于随着测序的进展对来自这些核苷酸或寡核苷酸的荧光染料以及类似的分子进行切割。

[0032] 总体而言,样品 24 可在如总体上由箭头 42 所表示的前进的流程方向上通过测序仪 32 而前进。这可以相对于通过测序仪的一个正常的样品流动。然而,如总体由参考标号 44 所表示,这些样品可在这些站点中后退。这种后退可以是所希望的以允许样品的再次成像、试剂的再次引入、再次冲洗、或者总体上能够由一个先前的站点来执行的任何重复性

动作。还应当注意的是样品在系统中的进展（同样如在图 1 的系统中）在瞬时的意义上可以被解除联系。即，并非所有样品均需通过这些站点进展相同数目的循环，亦非所有样品均需在同一循环中进入并退出一个多循环的处理。

[0033] 多个样品可从处理中被去除、被再处理、并且这样的处理时序安排可被实时地改变，特别是在射流控制系统 18 或质量 / 处理控制系统 26 检测到一次或多次运作不是以最佳的或所希望的方式来进行的情况下。在多个实施方案中，其中一个样品从处理中被去除或在处理中经历了一次暂停，该暂停具有一段实质性的持续时间，则可将该样品置于一种存储状态。将样品置于存储状态可包括改变样品或样品的组合物的环境以稳定该样品的活质分子试剂、生物聚合物或其他成分。用于改变样品环境的示例性方法包括但不限于，降低温度以稳定样品组分、加入惰性气体以减少样品组分的氧化作用、并且从光源中移除以降低样品组分的光漂白或光降解作用。改变样品组合物的示例性方法包括而不局限于，加入稳定溶剂（例如抗氧化剂、甘油以及类似物）、将 pH 改变至使酶稳定的水平、或去除降解或改变其他组分的组分。此外，在从处理中去除样品之前可进行该测序过程中的某些步骤。例如，如果确定样品应当从处理中去除，则可将样品引向射流控制 / 输送系统 18，这样在存储前可对样品进行洗涤。再者，可采取这些步骤以确保没有丢失来自样品的信息。

[0034] 此外，在某些预定的事项发生时测序运作可在任何时间被测序仪 21 中断。这些事项包括而不局限于，不可接受的环境因素（例如人们不希望的温度、湿度、振动、杂散光）；不充足的试剂输送或杂化作用；样品温度中不可接受的变化；不可接受的样品位点数 / 质量 / 分布；衰减的信噪比；不足的图像数据；等等。应当注意的是此类事项的发生不要求中断测序运作。相反地，此类事项可以是由质量 / 处理控制系统 26 在确定测序运作是否应该持续时要进行衡量的因素。例如，如果一个特定循环的图像被实时地进行分析并且对该通道示出一种低信号，则该图像可使用更长的曝光时间进行再次曝光，或重复一个特定的化学处理。如果该图像在一个流动单元中示出一个气泡，则仪器可自动地用更多的试剂进行冲洗以去除该气泡，然后重新记录该图像。如果该图像由于射流问题在一个循环中对于一个具体通道显示出零信号，则仪器可自动地停止扫描以及对该具体通道的试剂输送，因此节省了分析时间以及试剂消耗。

[0035] 虽然以上关于通过样品的物理性移动将样品与不同站点相互作用的系统已经对该系统进行了示例说明，但应理解在此给出的原理还可应用至一种系统，其中通过不要求移动样品的其他装置而实现了在每个站点处发生的步骤。例如，在这些站点处存在的试剂可通过连接至包含不同的试剂的储存器的一个流体系统被输送至一个样品上。类似地，一个光学系统可被配置为检测一个样品，该样品与一个或多个试剂站点处于流体联通。这样，多个检测步骤可在输送在此说明的任何特定的试剂之前、过程中或之后实施。因此，通过中断一个或多个处理步骤可将样品从处理中有效地去除，无论这些步骤是进行液体输送或光学检测，而不必将样品从其在装置中的位置上物理性地去除。

[0036] 如在图 1 的系统中，这些不同的站点被结合至射流控制系统 18 以及质量 / 处理控制系统 26 上以允许这些运作的控制，连同这些样品以及在不同处理站点处进行的运作两者的质量控制。此外，如在图 1 的系统中，将该测序仪的不同站点连接至系统控制 / 操作员界面 28 上，并且所收集的数据最终被传送至后处理系统 30 中，其中从所检测的数据中推导出序列数据，典型地由这些检测站点 38 生成图像数据。

[0037] 本发明的系统可用于在多个不同样品中对多个核酸进行连续测序。本发明的系统可被配置为包括多个样品的安排以及用于进行测序步骤的多个站点的安排。在该样品安排中的这些样品可按固定的顺序以及彼此相对固定的间隔来放置。例如，核酸阵列的安排可沿圆桌的外边缘放置。类似地，可将站点按照固定的顺序以及彼此相对固定的间隔来放置。例如，这些站点可以放置在一个圆形安排中，该安排具有与用于样品阵列的安排的布置相对应的一个周长。这些站点各自可被配置为在一个测序方案中进行一个不同的操作。可将这两种安排（即，样品阵列以及站点）彼此相对的进行移动使得这些站点在每个反应位点上进行一次反应方案所希望的步骤。这些站点的相对位置以及用于相对移动的进程可与在测序反应方案中的反应步骤的顺序以及持续时间相关，使得一旦一个样品阵列已经完成了与全组的站点进行相互作用的一次循环，然后一次单一的测序循环即完成。例如，如果这些站点的顺序、这些站点之间的间隔、以及用于一个阵列的通过速度与试剂输送的顺序以及一次完整的测序反应循环的反应时间相对应，则在该阵列上与多个核酸目标进行杂合的多种引物可以各自通过加入一个单一核苷酸而被延伸，被检测并且被解除阻断。

[0038] 根据以上所给出、并且以下更详细地描述的构型，由单独的样品阵列完成的每一周圈（或者在使用圆桌的情况下实施方案中的完整的旋转）可对应于针对该阵列上的这些目标核酸中的每一个的一个单一核苷酸的确定（即，包括在一个测序运行的每次循环中进行合并、成像、切割以及解除阻断的步骤）。此外，在系统中（例如在圆桌上）存在的几种样品阵列通过该系统沿类似的、重复的周圈同时移动，由此导致了通过该系统的连续测序。使用本发明的系统或方法，可主动地输送多种试剂或根据测序循环的第一个反应步骤将这些试剂从第一个样品阵列中去除，而在该循环中发生对于一个第二个样品阵列的孵育、或一些其他反应步骤。这样，一组站点可按照与多个样品阵列的一种安排的空间以及时间关系进行配置，这样使得甚至当多个样品阵列在任何给定时间经受不同测序循环的步骤时在这样些样品阵列上同时发生反应，由此允许进行持续并且同时的测序。当化学作用（chemistry）以及成像时间不成比例时这类循环系统的优点是明显的。对于仅用一小段时间进行扫描的小流动单元而言，有利的是具有许多平行运行的流动单元，以便对仪器获取数据所花费的时间进行优化。当成像时间以及化学作用时间相等时，在一个单一的流动单元上对样品进行测序的系统花一半的时间进行一次化学作用循环而不是一次成像循环，并因此可以处理两个流动单元的一个系统可以有一个单元在化学作用循环上而一个单元在成像循环上。当该成像时间比该化学作用时间少十倍时，该系统可以有十个流动单元处于化学处理的不同阶段而同时持续地获取数据。

[0039] 本发明的多个实施方案提供了一种系统，该系统被配置为允许用第二个样品阵列替换第一样品阵列，同时该系统连续地对一个第三样品阵列的核酸进行测序。这样，第一个样品阵列能被单独地在系统中加如或从中去除，而不中断发生在另一个样品阵列的测序反应，由此为该组样品阵列提供了连续测序的优点。进一步的优点是不同长度的测序运行可在该系统中连续地并且同时进行，因为单独的样品阵列能通过该系统完成不同数量的周圈并且这些样品阵列可以一种独立的方式从该系统去除或被加入其中，这样使得在其他位点发生的反应不被扰乱。

[0040] 图 3 展示了一个示例性的检测站点 38，该检测站点被设计为根据目前所考虑的光学系统在一个阵列的多个位点上检测所加入的核苷酸。如以上所给出，可将样品移至该装

置的两个或更多个位于物理上不同位置中站点,或者可替代地可在一个样品上实施一个或多个步骤,该样品与一个或多个站点相联通而不必被移至不同的位置上。因此,在此对于特定站点的描述应理解为与处于多种构型中的站点有关,无论是该样品在多个站点之间移动、这些站点移至样品、或这些站点与样品是否彼此相对的是静止的。在图 3 所展示的实施方案中,一个或多个光源 46 提供了光束,这些光束指向调节光学部件 48。光源 46 可包括一束或多束激光,其中多束激光典型地被用于检测在不同的对应的波长处发出荧光的多种染料。这些光源可将光束指向调节光学部件 48 用于光束在该调节光学部件中的滤波以及成形。例如,在目前所考虑的实施方案中,调节光学部件 48 结合了来自多束激光的光束并且生成一个总体上为线性的辐射光束,该辐射光束被传输至聚焦光学部件 50。这些激光模块可额外地包括一个测量部件,该测量部件记录了每束激光的功率。功率的测量可被用作一种反馈机制以控制记录一幅图像的时间长度,以便对每幅图像获得均匀的曝光能量,并因此获得均匀的信号。如果该测量部件检测到该激光模块的故障,则该仪器可用一种“保持缓冲剂”对样品进行冲洗以保存样品直到激光中的错误得到校正。

[0041] 样品 24 被定位在样品定位系统 52 上,该系统可适当地对样品进行三维定位,并且可移动该样品用于在样品阵列上多个位点的渐进成像。在目前所考虑的实施方案中,聚焦光学部件 50 将辐射共焦点地指向该阵列的一个或多个表面,有待测序的单独的位点定位于该阵列上。取决于该聚焦光束的光的波长,由于在每个位点上与核苷酸相结合的染料的荧光,从该样品处返回辐射的一个反向光束。

[0042] 然后该反向光束通过反向光束光学部件 54 被返回,该反向光束光学部件可对该光束进行滤波,这样使得该光束中不同的波长分离开,并且将这些分离的光束指向一个或多个照相机 56。照相机 56 可基于任何适宜的技术,如包括电荷藕连器件,该器件基于在器件中光子碰撞的位置生成像素化的图像数据。照相机生成图像数据然后被传送至图像处理电路 58 中。总体而言,处理电路 58 可进行不同的运作,如模拟-数字转换、比例缩放 (scaling)、滤波、以及将多帧中的数据的相关联,以适当地并准确地对样品上特定位置处的多个位点进行成像。图像处理电路 58 可存储图像数据,并最终将图像数据传送至后处理系统 30 中,在该后处理系统可从图像数据中推导出序列数据。可在检测站点上使用的特别有用的检测装置包括,例如在 US 2007/0114362 (美国专利申请系列号 11/286,309) 以及 WO 07/123744 中描述的那些检测装置,每个专利申请通过引用结合在此。

[0043] 图 4 展示了通过对于多个寡核苷酸的合成技术在一次测序中的典型的反应循环,该循环可从本发明的核苷酸再捕获并且再循环技术中受益。总体而言,在图 4 中总结的合成运作可在一个样品 24 上进行,该样品包括一个支持物 60,在该支持物上形成了众多个位点 62 以及 64。在每个样品 24 的制备中,可形成许多此类的位点,每个位点均带有总体上由参考标号 66 所表示的遗传材料的独特的片段。这些片段可组成有待测序的 DNA 或 RNA 的模板。这些片段可使用本领域已知的方法从生物来源中分离出。在利用扩增方法的多个实施方案中,这些片段可以是生物来源中分离出的 DNA 或 RNA 的扩增子。每个模板包括许多部分 (mer) 或碱基 68,它们将在合成处理过程中唯一地结合至一个互补的核苷酸 (或其类似物) 上。该测序过程从将锚定引物 70 结合至每个模板上开始。这一锚定引物包括互补的碱基 72,该互补碱基与模板序列的一部分的那些碱基相结合。该模板的剩余部分 (总体上由参考标号 74 所指明) 组成了有待测序的那个部分。有待测序的部分的长度 76 可以

变化,在目前所考虑的实施方案中从 25 个碱基延伸至 40 个碱基或甚至多达 50、75、或 100 个碱基。

[0044] 随着测序的发展,被引入的经处理的液流(stream)将包括所有四种常见的 NDA 核苷酸,它们中的一种将在一个位置上被加入到引物中,该位置正对着模板中的下一个可获得的碱基(如参考标号 78 所表示)。所加入的核苷酸将包括与该模板互补的一个碱基 80,连同荧光标签 82 以及阻断分子 84。如本领域的那些普通技术人员将注意的,如在此所使用,在所阐述的过程中的术语“核苷酸”将典型地包括多个单元,从这些单元中构建出 DNA 分子。虽然根据本技术可再捕获并再循环任何核苷酸或寡核苷酸,在许多实际应用中这些核苷酸或寡核苷酸将包括脱氧核苷酸三磷酸盐(dNTP),各自均带有一个单一的含氮碱基(腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶)。由于聚合酶的活性的缘故,将互补的核苷酸加入到引物中,如总体上由参考标号 86 所示。除结合至该模板上的特定核苷酸外其他核苷酸也将存在于该工作流体中,如总体上由在图 4 中的参考标号 88、90、以及 92 所表示。未结合至模板上的核苷酸将随后在冲洗运作中从样品中被洗涤出来,在如上述的有待被再捕获并再循环的排放液流中流出。

[0045] 通过多种方法可使利用上述类型的用于寡核苷酸序列分析的测序系统自动化并且进行调节。本技术提供了用于此类系统的多个参数的自动检测以及基于此类参数对测序过程的控制。总体而言,由本发明所实现的性能以及质量控制可运行进行在一个或许多样品阵列上进行正常的测序运作,该测序运作可基于以下被检测到的事项而被改变:样品阵列的性能或质量、射流控制/输送系统的性能、检测系统的性能、或这些系统的任何子部件或子系统。当检测到在质量或性能中的异常或反常时,如以下更详细地说明,可采用补救措施对系统性能进行校正、对某些测序循环步骤(例如核苷酸加入、成像、解除阻断等等)进行再次测序或再次运行,或者甚至完全地中断测序。因为就时间以及材料而言测序将代表一种投资,所以如果有任何可能的话可对这些补救措施进行适配以便继续进行测序,同时采取步骤以防范继续进行一个合成过程,而该过程注定要失败或至少注定产生没有足够的价值来保证所花费的时间以及材料的结果。因此,这些补救措施改善了将获得的可靠的测序数据的可能性。

[0046] 图 5 代表了根据这一方法用于执行并控制测序运作的示例性逻辑。该测序运作(总体上用参考标号 94 表示)从在该测序系统中加载一个样品阵列开始,如在步骤 96 中所示。如以上所指出,可采用许多不同的方法,如可以采用多个阵列的不同配置。例如,在一个目前所考虑的实施方案中,采用了众多在遗传上不同的位点的多个阵列,其中每个位点具有众多相同的寡核苷酸、模板、或有待测序的片段。该阵列可加载在一个样品容器中并且被结合至射流控制/输送系统上,这样使得试剂以及其他工作流体可被引入样品中并巡行通过该样品容器用于多种反应(例如碱基加入以及解除阻断)、冲洗、等等。

[0047] 本发明中所使用的阵列可以是不同反应位点的任何群体,这些反应位点存在于一个或多个底物上,这样可以根据它们的相对位置对彼此进行区别。典型地,生物聚合物的一个单一种类(例如一种核酸)被附着在每个单度的反应位点上。然而,生物聚合物的一个特定种类的多个拷贝可附着在一个特定的反应位点上。该阵列作为一个整体将典型地包括附着在多个不同的位点上的多种不同的生物聚合物。这些反应位点可位于同一底物上的不同可寻址的位置上。作为替代,一个阵列可包括各自带有一个不同的反应位点的多个分离

的底物（例如多个珠粒）。

[0048] 然后在图 5 的步骤 98 中，根据所采用的特定的测序方法将碱基或核苷酸（在例如边测序边连接或者边测序边杂合的处理的情况下为寡核苷酸）加入到该阵列的这些位点上。还可以输送在这一步骤中所使用的其他活质分子试剂，例如，包括多种酶（如聚合物或连接酶）。例如，在 SBS 中，将聚合酶以及四种常见的核苷酸类型（各种包括阻断剂以及独特的荧光染料）被引入样品阵列中并且允许它们在各自己位点上与寡核苷酸模板进行反应。然后，步骤 98 还可包括一旦对于所希望的反应已经渡过了足够的时间就对聚合酶以及核苷酸的样品进行冲洗。在步骤 100 中，检测出这些位点以及最新附着的核苷酸。如以上所指出，这一检测能够以多种方式进行，其中在目前所思考的实施方案中倾向于光学检测。同样如以上所说明，检测步骤可包括对在阵列上的位点逐步进行扫描以产生图像数据，对这些图像数据进行处理以鉴定单独的位点并且最终鉴定最近在每个位点上附着的核苷酸的身份。

[0049] 在步骤 102 中，该逻辑确定了当前循环是否是初始测序循环。如以上所指出，测序可包括碱基加入、检测、以及解除阻断的多个相似的循环，目前所思考的是从 25 个到 40 个或甚至更多的此类循环。然后，如果当前循环是初始循环，则如在步骤 104 中所示执行初始循环质量控制例行程序。这一例行程序可被配置为确定该阵列的一种或多种质量，参见图 6 如以下更详细地说明。应当注意的是初始循环质量控制例行程序可引起在测序系统中做出的校正，或者可引起以处理单个样品阵列的方式的改变。即，某些步骤可重复执行，或基于如以下说明的初始循环的质量控制进行系统改变。

[0050] 假设测序按照例行程序 104 继续，则该逻辑可前进至步骤 106，在该步骤中执行一个例行程序来评估测序的碱基加入步骤的质量。参见图 7，将目前所考虑的碱基加入质量控制例行程序 106 的细节说明如下。然而，总体而言，碱基加入质量控制例行程序将对该测序系统的参数进行评估以确定是否应该对系统运作设置做出变化或者在相同或不同的条件下测序是否能够或应该继续。如同初始循环质量控制 104 一样，碱基加入质量控制例行程序 106 可导致重新执行某些测序步骤或甚至完全终止该测序过程。

[0051] 在一个替代实施方案中，步骤 106 可在步骤 100 之后并在步骤 102 之前执行。如果步骤 106 中涉及的询问以及步骤提供了一些信息，这些信息在评估样品的特征或质量以及在步骤 104 的系统中是有用的，则这一顺序可能是有优点的。此外，如以下关于图 6 至 8 进一步详细地给出，与在此确切地进行示例说明的顺序相比，对于图 5 的不同的质量控制步骤进行示例说明的不同询问以及步骤可以按不同顺序来执行，或甚至重复多于一次并处于多种组合中以适应特定的合成技术或合成系统。

[0052] 在步骤 108 中，该逻辑可要求确定当前循环是否是测序的最后循环。对于这个步骤可设想几种情景。例如，可对测序系统进行编程以仅进行一个预定数目的循环，其中在已经执行预定数目的循环之后结束该测序。可替代地，可对由该系统收集的某些数据的质量进行评估以确定是否仍正在收集所希望质量的数据。即，如以下所总结，在目前所考虑的质量控制例行程序中，可对信噪比进行评估以确定该碱基加入运作以及成像运作是否对在单独的位点被加入的核苷酸的类型能够适当地进行区分。在这种加入、或图像质量、或对附着在单独的位点的核苷酸进行区分的能力是处于一种不希望的水平的前提下，该系统可表示当前循环将是对特定样品阵列进行测序的最后循环。当然，可实行其他测序结束方案。然

后,如果当前循环被确定为是最后循环,则如步骤 110 所示可执行结束运行程序。总体而言,此类程序可包括图像数据的处理、数据的输出、通知人类操作员或机器人从该系统上去除该样品阵列容器,等等。

[0053] 如果当前循环不被确定为是最后的测序循环,则该逻辑可前进到步骤 112,在该步骤中从最后加入在每个位点上的核苷酸上去除阻断剂以及荧光染料。然后,在步骤 114 中,对于额外的质量控制可对位点或流出液流中的废料进行检测。例如,步骤 114 中的位点或废料的额外的成像可被用于确定这些位点是否被充分地解除阻断,这是通过确定染料是否在每个位点(或在对照位点,如以下说明)是否继续发出荧光来确定。可替代地,废弃材料的检测可确定阻断剂(这些阻断剂是有荧光的或吸收特定波长的辐射)是否以足够的水平存在于流出液流中,以便指示已经发生了所希望水平的解除阻断。在这种检测不令人满意的情况下,步骤 114 是可任选的并且可从该过程中被删除。然后,在步骤 116 中,执行一个评估解除阻断运作的质量控制例行程序。参见图 8,当前考虑的解除阻断的质量控制例行程序的细节在以下进行说明。在步骤 116 之后,逻辑可返回步骤 98,在该步骤中加入额外的碱基用于随后的测序循环。

[0054] 如在图 5 中存在的并且如以上所给出的用于执行并控制一个测序运作的逻辑仅仅是示例性的。该逻辑在特定的测序技术的背景中已经进行了示例说明。应理解,可对该逻辑进行修改以适应不同的测序技术。例如,经常使用不具有阻断基团的核苷酸来进行焦磷酸测序技术。因此,用于进行焦磷酸测序的逻辑不需要包括与解除阻断有关的步骤,例如在图 5 中如 112、114、以及 116 标识的步骤。作为另一个实例,焦磷酸测序技术典型地利用次级酶(secondary enzyme)进行焦磷酸盐的释放检测,此类酶包括例如硫酸化酶以及荧光素酶。用于进行焦磷酸测序的逻辑可包括与加入或去除次级酶有关的附加的步骤。此外,在焦磷酸测序方法中所使用的 QC 步骤可包括以下步骤,它们与对次级酶的活性进行询问以及对从该询问中获得的信息进行响应有关。可对该逻辑进行类似的修改以便进行其他的测序技术,这些技术包括次级试剂的使用,例如用于检测或核酸修饰的酶。例如,边测序边连接的多次循环(这些循环包括一个步骤,该步骤在检测之后并且在新循环开始之前使用限制性核酸内切酶或一条核酸链的化学切割来去除已连接的探针的一部分)可由以下逻辑所涵盖,该逻辑包括的多个步骤与加入并且去除切割剂(例如限制性核酸内切酶或化学切割剂)或评估关于该切割剂活性的 QC 有关。

[0055] 在整个测序过程中,可按一种闭环或开环的方式对许多单个的系统参数进行监测并调节。再者,此类监测以及控制的目的是运行进行有效的反应以及检测过程为自动化或半自动化地进行测序。例如,在目前所思考的实施方案中,多个系统诊断参数可包括样品或样品容器的温度、试剂温度、在仪器中不同位置上的温度、试剂体积以及流速、光源的功率(尤其是激光光源)、流动单元下游的 pH 水平、湿度、振动、臭氧的存在、图像光强、聚焦质量、等等。额外的参数可包括试剂泵压力,储存器中剩余的试剂的水平、检测腔(例如,流动单元)中气泡的存在、以及可利用的计算机存储空间(用于图像数据以及序列数据二者)。此外,除了这些正在进行的以及定期检查外,还可检测异常的过程进展,如在样品插入以及取出站点处的门或其他进入面板的打开(参见图 2)、流体溢出,等等。在该系统确定继续测试过程将不会导致对于每个循环的数据被收集的情况下,该系统可作出一个自动化的决定来结束该测序运行或通过流动单元对试剂进行冲洗以保存样品并进入一个安全状态,该状

态将该样品保存到数据收集能重新开始时。在一个具体的实施方案中,该系统可向操作员表示错误并可任选地建议多个校正的措施。可替换地或另外地,该系统可进行一个自动化的诊断并对错误进行响应。这样,合成步骤可以重新开始并且通过操作员介入或通过自动化的校正来继续数据收集。

[0056] 用于监测并控制此类参数的传感器以及电路总体上类似于可用于其他处理系统的那些传感器与电路。例如,任何形式的适宜的温度传感器可被用于监测样品、容器、试剂、以及仪器温度。适宜的流量计可被用于监测试剂的体积以及流量。常规的压力传感器可被用于检测试剂泵压力、反压力等等。基于此类参数的检测用于闭环控制或开环的操作员通知的逻辑电路可包括模拟或数字的电路(例如,已编程的计算机)。例如,在一个目前所考虑的实施方案中,参见图 1 以及 2 上述的质量/处理控制系统可执行这些功能。如本领域的那些普通技术人员将会理解,由不同的传感器(其中采用了计算机控制)所产生的信号将被转换成数字值,这些数字值可与正常的运作范围、故障限制、警报限制等等进行比较。在可能的情况下,可采用闭环控制以在可接受的范围内保持温度、体积、功率级、流速、压力等等从而允许继续进行测序。在达到警报或故障限制时,控制例行程序的运作优选地包括建立异常或错误日志并在错误日志中存储事项,这样以允许在特定的测序步骤过程中经过多个时间段来随后评估该测序仪的性能以及运作。

[0057] 可对此类参数执行闭环控制以增强该测序过程。例如,在目前所思考的实施方案中,射流控制/输送系统 18 可包括加热器或冷却器,它们能在所希望的温度下提供试剂以及其他流体以增强并促进在这些阵列中与样品的反应。例如,可提供加热器用于在测序过程的某个部分升高样品的温度,并且还可对此类温度进行调节用于工作流体。为此目的,可采用热传递装置,例如加热器、冷却器、热交换器等等。基于目标参数对于测序过程中的单独的步骤可执行其他闭环控制。本领域的那些普通操作人员同样将意识到,可对此类参数进行组合以确定测序系统何时进行适当的运作、何时能进行测序、或者一个或多个此类参数何时超过了正常范围以至于达到不应进行测序的程度。在此类情况下,可将样品保存至少一段持续时间直到该测序系统在其所希望的参数范围内运作。

[0058] 图 6 展示了示例性逻辑,该逻辑可包含在用于测序的初始循环的一个质量控制例行程序中。初始循环质量控制例行程序 104 可被设计为检查样品以及样品阵列的特性或质量以确定是否能获得高质量的并且足够的测序数据。例如,在目前所考虑的实施方案中,该例行程序可以从一个询问开始(如步骤 118 所示)以确定在阵列中存在的并且可检测的位点是否太少。这一步骤可以针对位点的一个可接受的范围或数目,这些位点使该阵列的测序就数据的量值(对于处理该阵列所要求的时间以及材料的数量上可收集的数据的量值)而言是经济的。在步骤 118 上作出的询问将典型地基于参见图 5 在所总结的步骤 100 而进行的检测。仅以举例的方式,在目前所考虑的实施方案中,可接受的位点数目(在这些位点上可进行测序)可以是大约 1 千万个位点/cm²或可以在大约 5 百万个位点/cm²与 1 亿个位点/cm²之间的范围内,尽管在大多数例子中正在发展的技术将有可能将这一范围的上端增加至 10 亿个位点/cm²或更高。还可以就容量百分数而言来评估一个阵列上位点(例如,珠粒)的密度,这样可接受的位点数目由例如在 35%与 100%之间的一个容量所指示(100%或全部容量是基于理想情况,其中位点是均匀分布的并且所处的距离是刚好足以允许临近的位点被区分开)。这些珠粒或其他位点的位置可用在单独的位点之间的一个已知间隔有

规律地间隔开、或是一种随机分布,例如多个扩增的束(cluster)的一个阵列或者在表面上多个珠粒的一种随机阵列。

[0059] 如果从在初始循环中执行的成像或检测运作中检测到或可辨别的位点过少,则可将控制引向步骤 120,在该步骤中可以对流体输送或检测系统、或流体输送与检测系统、或测序仪的其他系统做出询问。总体而言,多个位点或束的一个特定的密度将是所希望的。如果此类位点所检测的数目是低值或低于所希望的值,则这可通过对位点数目进行计数或通过确定“黑”像素的数目(例如不明显地表明位点存在的像素)已经超过最高限度来表示。此类情况可能是因为流体输送系统或检测系统的参数、或流体输送系统与检测系统的参数,连同测序仪的其他参数的缘故。例如,缺乏检测的位点可能是因为到达阵列样品的标记的核苷酸的不充足输送或者是因为成像系统的不适当聚焦。然后,在步骤 120 中执行的询问可检查以上所说明的类型的运作参数以确定适当的运作是否可行。按照此类确定,可改变对系统设置,并且如果有需要的话可将样品返回用于再次聚焦以及再次成像,如在步骤 122 中所示。类似地,该系统可返回的步骤 98 进行活质分子试剂的再次输送。

[0060] 应当注意的是在整个本文的讨论中,并且确实对于在本讨论中所总结的所有质量控制例行程序而言,可进行一次或多次响应,并可以在适当的情况下按任何逻辑性的顺序进行此类响应。例如,对于输送以及检测系统,以及上述的再次聚焦/再次成像例行程序的询问而言,可在任何序列中平行地进行这些询问。此外,对于这些询问并且对于所执行的其他例行程序而言,本讨论不应该被认为是限制性的。取决于所收集的参数数据、正在使用的测序技术以及在系统运作或在所获得的测序数据中异常的可能原因,同样可以执行其他例行程序。类似地,在其他例行程序之前执行一些例行程序也许是有利的。例如,系统的运作参数的快速检查(注意到已经被校正的轻微异常)可能比以后退的形式返回至成像站点(如将要在步骤 122 中所要求)再循环样品要更加有效(假设样品已经从检测或成像站点中移动)。最后,应当注意的是某些步骤将明确地要求对某些测序运作进行重复,改变某些测序运作、或者甚至将特定样品的测序中止,如在图 6、7、以及 8 中向右延伸的箭头所表示。可认为按照在此所述的不同的响应例行程序,对于导致该动作的条件是否已经得到补救作出确定,这样测序仍可以进行,尽管这是通过将样品返回至前一个运作。

[0061] 除了确定在样品中存在的位点是否太少外,初始循环质量控制例行程序(检查样品的质量)还可确定是否存在太多的位点或者位点分布不均匀,如总体上由参考标号 124 所示。因为某些样品制备技术可导致位点的过剩,或者导致彼此之间可以过于接近的多个位点,对于特定样品中的位点的数目、在该阵列的一个或多个区域中的相对密度或位点的过密可能存在所希望的限制。在这一步骤中可询问的样品质量的其他指示包括位点的大小、形状、或形态。典型地,位点将具有一个预期的尺寸、形状、或形态并且偏差可表明一个具体问题。例如,如果位点过于密集那么一大部分的位点将彼此重叠,这样使得重叠的位点表现为一个单个位点,该位点具有大于对单个分离的位点所预期尺寸的外观尺寸。类似地,可通过外观形状对重叠的位点进行鉴别,该形状不同于对单个位点所预期的形状,例如在典型的圆形位点的情况下,当两个位点重叠时它将表现为一个单个沙漏的形状。在位点的尺寸、形状、或形态中的其他偏差可表示该阵列制备中的问题,这些问题发生在系统中装载该阵列之前,例如在一个或多个位点上的扩增不足或在一个或多个位点上的扩增过量。基于在图 5 中步骤 100 所收集的数据的评估,如果确定存在过多的位点或不希望的位点分布,

则对其响应而设想几种方法。例如,在步骤 126 中,可以类似于参考以上步骤 120 所讨论的方式对流体输送以及检测系统进行再次询问。此外,可对成像系统进行再次聚焦,特别是如果检测数据表明获得了不充足或不可靠的图像数据,而这也许已经导致了在步骤 124 上的确定。再次聚焦以及再次成像步骤 128 可以在实质上与在以上步骤 122 中上所进行的再次聚焦以及再次成像相类似,并且如果样品已从成像站点中移出则可要求将样品返回至成像站点中。

[0062] 对存在过多的位点或位点分布不均匀的另一种响应可以是某些区域或位点掩蔽并且在处理过程中忽略来自此类区域的图像数据。在步骤 130 中所表示的掩蔽响应总体上会包括对于像素化图像发展一种数字掩蔽,其中对应于特定位点的特定位置被标明为第一个值,并将有待分析的位点标明为第二个值。这种二元掩蔽总体上会作为一个查询表来存储,该查询表允许在随后的测序循环中对掩蔽像素的位点进行比较,使得此类位置的数据将不会为了分析以及测序而进行处理。然而,有可能这种掩蔽会导致来自测序的过多位点甚至样品阵列的大区域的消失,这样对样品采取进一步处理变得不经济或者另外是不可取的。于是,在步骤 132 中,可能希望确定掩蔽是否已经导致过少的位点。如同步骤 118 一样,这一询问可基本上由以下确定事项构成:确定在数字掩蔽之后剩余位点的数目是否使测序就可收集的数据的量值而言值得进行。如果在步骤 130 进行掩蔽之后用于测序的可利用的位点过少,则该掩蔽可如在步骤 134 所示重新进行评估,以此来确定是否对某些位点可靠地进行测序。然后可相应地改变掩蔽并且可进行测序。如果用于测序的可利用的位点过少,则测序可被完全中断。

[0063] 在测序运作过程中所处理的图像数据的数量倾向于是巨量的并且有时是难以承受的。这样,可证明数据的分析是相当繁重的,除非对数据进行了有效地收集、组织、并管理。因此,可能有利的是将处理数据成使得有用的数据被保存并准备用于进一步处理同时放弃了无用的概率高的数据。因此,掩蔽连同其他成像处理实用程序的使用可以进行协调以达到有价值的测序数据的总体目标。记住这一点,应当注意的是可以按照不同的方式对所收集的图像数据进行处理。例如,可选择测试样品上的区域以进行成像同时可选择将其其他区域忽略。如果进行了这一类型的选择性成像,则可使用几种不同的选择项来处理这些数据。在一个实施方案中,可以仅对于标识为感兴趣的区域的图像数据进行收集,而可不收集对于其他区域的图像数据、或收集这些数据但不保留或不分析。在一个可替代的实施方案中,可对样品的所有区域收集图像数据但可将这些数据存储在不同的位置中。例如,可将插上标识为感兴趣的区域的图像数据存储在第一个数据库中,将这一数据库用于测序分析,而可将其他图像数据存储在第二个数据库中。此外,图像数据收集的记录可按照类似的程序,例如仅记录某些成像的活动或记录对于所有成像的活动但将日志保存在不同位置中。同样,图像数据的选择性处理可基于在测序运作过程中所收集的任何参数,包括但不限于,化学参数、环境参数、等等。因此,总体而言,可使用不同的选择性处理方案基于不同的处理来掌控图像数据,这些处理包括但不限于以上所讨论的掩蔽方法。

[0064] 然后,如果在步骤 126、128、130、或 134 中所示任何响应、或对询问 132 的响应能使测序进行,那么可退出初始循环质量控制例行程序并且测序可参照图 5 如以上所总结的而继续。

[0065] 图 7 展示了用于执行碱基加入质量控制例行程序 106 的示例性逻辑,如以上参见

图 5 的总体性说明。可在测序的不同阶段执行该例行程序但有可能在每个成像循环的阵列的成像之后但在将成像数据用于确定序列数据之前进行该例行程序。该例行程序实质上被设计为确定检测处理是否如所希望的那样前进,或者是否应该对测序仪参数进行调整以提供改进的成像以及检测。因为在样品上进行的检测的质量将最终影响测序数据的质量,可能令人希望的是将高质量的图像返回并且可能是最有用的是对每一个测序循环执行此类碱基加入质量控制例行程序。此外,如以上所讨论,该例行程序可以是确定以下事项的考虑中的至少一个:测序是否应该进行、或目前的或甚至先前的测序循环是否应该被认为是最后的可靠循环,其中的测序数据应该被保留或进行评估。

[0066] 在图 7 中展示的实施方案中,初始询问 136 确定总体图像质量是否是可接受的。例如,当希望一个清晰的图像、并且特别是希望在阵列的长度以及宽度方面一个连贯的清晰图像时,诸如不良聚焦等因素可导致无法接受的模糊的图像。图像质量的评估可采用多种形式。例如,在目前所考虑的实施方案中,对每个图像给予一个焦点评分。焦点评分可基于图像的清晰度,图像中具体特征或标记的清晰度、图像中可见的预期结构、图像中可检测的光强或颜色梯度,等等。图像质量可基于全部或部分阵列的一个图像。仅评估该阵列的一部分的优点在于为了在花费时间获得全部图像之前确定质量的目的能够更快速地获得一个图像。如果发现图像质量不可接受,则可相应地执行步骤 138 以及 140、或其他适宜的步骤。步骤 138 以及 140 总体上可对应以上参见图 6 说明的步骤 120 以及 122。即,可对流体输送和 / 或检测系统进行评估以确定他们的运作参数是否在可接受的范围内,或者成像系统是否可进行再次聚焦并且如果已将样品从成像站点中移动则是否将样品返回用于成像。

[0067] 可被监测的图像质量的另一个方面是该样品之内存在的气泡。如果检测到气泡,则图像数据、或部分数据对于进一步处理可能是不适当的。例如,图像数据可表现为具有模糊的区域或检测的颜色无法区分的区域。此外,气泡的存在可意味着一个具体样品的潜在问题。例如,气泡可阻碍核苷酸附着至样品上。可在流体通道之内通过光电二极管或其他检测器(例如一个检测器,该检测器被配置为监测在对空气与液体之间折射率差异感应的二极管所接收的信号中的变化)对气泡的存在进行检测。如果检测到气泡,则可执行任何数目的适宜的响应步骤。例如,该情形可能要求将样品返回特定的射流站点并且再次执行碱基加入步骤。在用空气而不是液体将这些通道从上到下进行充满的情况下,有可能自动调整焦深,以便恢复“干”图像的焦点,或者简单地使更多液体流动通过该通道以便去除空气的气泡。另一种可能的响应可包括掩蔽某些区或位点并且忽略已确定为包含气泡的区域以及位点的图像数据。再另一种响应可包括如果确定气泡是一种有害成分以至适当的成像已不再可能,则中断该样品上的测序运作。

[0068] 应当注意的是类似于步骤 136 的询问、以及响应(如在步骤 138 以及 140 上所总结的那些响应)也可以是参照图 6 在以上所总结的初始循环质量控制例行程序的一部分。即,有可能样品的质量控制被流体输送系统或检测系统的不良作用打了折扣。在此类情况中,还可执行多种例行程序(例如那些旨在步骤 138 以及 140 上的例行程序)以确保在可靠的信息的基础上进行样品质量评估。在希望的情况下,可对测序系统的参数进行调整并且对样品进行再次成像,并且基于改进的输入数据对样品质量进行再次评估。

[0069] 如以上所指出,样品阵列可被设计为协助某些类型的质量控制。例如,具有已知的核苷酸序列的对照束或位点可包含于在阵列中。例如,此类已知的序列可以是四种常见的

DNA 核苷酸的重复序列。作为替代,此类对照位点可包括单一核苷酸类型的均聚物序列。在例行程序 106 中执行的质量控制可依赖于连续的测序以及成像步骤的过程中对于此类对照物的预期的结果,它们与未知组合物的位点的测序以及成像步骤平行进行,对于这些未知组合物而言序列信息是所希望得到的。然后,如在步骤 142 上所示,可作出对此类对照位点的评估以确定碱基预计的加入是否已经被检测到。因为此类对照位点的序列是已知的,所以这种评估可确定(例如)没有加入碱基、加入错误的碱基、或检测到碱基结合的低产量(例如,在一个对照位点上预期的特征性染料颜色光强是弱的或被另一种颜色使其变模糊)。可包括的另一种类型的对照是具有直接附着的标记部分的位点。例如,在针对使用荧光标记测序的实施方案中,一个位点可包括直接附着的荧光标记(例如,不通过经杂合的寡核苷酸)以作为一种对照用于独立于测序化学的其他方面的检测质量(例如,杂合以及核苷酸加入的效率)。

[0070] 加入碱基失败可通过图像数据中的单一光强来表明,该光强低于所希望的阈值。加入错误的碱基可通过在图像数据中(例如在对照位点上)与预计的颜色信号相比被检测到的不同的颜色信号来表明。对于低产量的碱基结合的代表可以(如以上所表示)是一个信号强度,该强度低于预期的强度,类似于没有加入碱基的测试。预期的强度可以是一个特定的阈值水平,该水平在全部循环中保持不变。作为替代,根据每个步骤的可接受的产量损失或根据从一个或多个先前循环中所检测到的信号中确定的经验确定的产量损失能够在每个循环上降低阈值水平,例如,象以下关于信噪比(S/N)的说明。

[0071] 可以设想几个应答来用于改进测序、图像数据、或序列数据,其中询问 142 确定了对照位点的成像是存在缺陷的。例如,如在步骤 144 中所示,该系统可对流体输送以及检测系统进行询问以确定运作参数是否在可接受的范围内。可替代地,或除了这一步骤之外,碱基加入步骤可如步骤 146 所示来进行重复。总体而言,步骤 146,如同以上说明的再次成像步骤一样,可要求将样品返回至射流站点中用于碱基的加入。

[0072] 此外,可使用几种参数以帮助监测成像以及测序运作。如在整个本披露中的不同段中所提及的,那些参数可包括与化学有关的参数(例如评估试剂输送)、与基准物有关的参数(例如对照束)、样品位点参数(例如位点质量、分布、形状、数目、等等)、以及温度参数(例如流体温度、阵列温度、仪器温度、等等)。然而,许多其他参数可证明在确定测序运作是怎样成功地进行中是有用的。例如,可对不同环境参数进行监测以提供关于外部因素可怎样影响测序运作的输入。这些环境参数可包括(而无限制)湿度、外部电源、温度、振动、等等。此外,监测流动单元下游的 pH 水平可以证明是有用的。这样做可产生关于以下问题的了解:碱基加入、阻断、解除阻断、以及洗涤的步骤是在多么有效地进行着。还可能令人希望的是来对在单独的样品位点之间发生的任何定相进行监测。例如,在一个样品位点上的序列的多个单独的拷贝可经历核苷酸不附着的多循环。结果是一个位点在所延伸的长度的长度上具有异质性。如果在每个循环上被截短的拷贝数增加,则最后在该位点上在每个循环中已经被延伸的拷贝部分被减少。这导致了该位点具有多个拷贝,这些拷贝是异相的并且在信噪比中可感知的减少。最后,这可导致一种情况,其中 S/N 比退化至如此的一个水平以致测序数据变得不可靠。显示出高水平的具有定相问题的位点的流动单元的早期检测可允许采取措施来确保样品没有完全丢失,例如改变测序试剂或检查仪器的射流部分。可替代地或另外地,可做出决定中断将试剂输送到具有不令人希望的数目的异相位点

的样品中。这可提供降低样品浪费的优点。跟踪过早的定相问题可为确定仪器的功能性提供基础,该问题可通过由操作员或根据预计的原因以自动化的方式进行改变而被响应。

[0073] 可在碱基加入质量控制例行程序中进行的另一个询问是在步骤 148 中表示出,并且可包括确定信噪比是否在可接受的限制之内。总体而言,如以上所指出,对于单独的位点的荧光染料的颜色的检测可以是用于确定序列数据的基础,并且准确地检测此类颜色的能力对获得可靠的序列数据可能是重要的。例如,可通过对多个单独的位点、或多个对照位点的光强或颜色与在之前的多个循环中针对类似位点的信噪比进行比较而确定不良的信噪比。可以预计,由于在一系列的测序循环中用于核苷酸结合的产量在统计学上可接受的衰减,所以应该预计到信噪比的正常衰减。的确,确定测试是否应该通过一个额外的循环进行或者甚至对于当前循环是否应该对序列数据或者图像数据进行分析或储存可通过参考信噪比的衰减或这一比例的客观性限制来确定。当信噪比不正常地或以一种灾难性的方式衰减时,几种响应也许可供使用,例如在进行测序化学以及检测的另一个循环之前改变试剂(例如仪器上的扫描缓冲液)。应该注意的是作为一种替代,或除了分析信噪比的衰减之外,可在流出液流中对来自解除阻断的试剂的信号进行衰减。

[0074] 除了终止测序外,对在步骤 148 上检测到的信噪比减低的响应可包括如在步骤 150 上所示对流体输送以及检测系统进行询问,以此确定系统是否在他们的正常参数内运作,或者是否对系统进行调整以允许进一步测序。可替代地,或除此之外,用更高的曝光水平(例如对光源的较高的功率输出)、在检测算法中较高的灵敏度、或任何其他参数(它们可允许对信噪比进行改进)(步骤 152)的变化对样品进行再次成像。例如,将曝光的时间延长以允许在特定的图像中收集更多的光子。同样令人希望的是改变成像参数(例如扫描率)以允许对位点进行更准确、或更高分辨率的检测。其他可被改变的参数是用于核苷酸加入的条件。例如,随着信噪比减低,每个后续的循环的实行可用更长的孵育时间或者增加试剂浓度来帮助更好地推动核苷酸加入反应至完成。如果能够以此类方式将信噪比改进至一个可接受的水平,则测序可以继续。

[0075] 图 8 展示了目前所考虑的逻辑用于解除阻断质量控制例行程序 116,参见图 5 总体上如以上所讨论。总体而言,这一例行程序被设计为确定染料以及解除阻断的试剂在单独的位点上是否已充分地、从最后被加入的核苷酸中去除,这样能下一个测序循环中够在加入另一个核苷酸,并且确保之前加入的核苷酸的染料将不干扰随后加入的核苷酸的成像。与以前一样,几个询问可依次进行以确定是否已经充分地进行了解除阻断。例如,在步骤 154 中,可进行一个询问,该询问与在解除阻断后之后制做的图像是否适合用于分析。如以上参照图 7 的步骤 136 所讨论,几个因素可造成有待获得的图像不足够清晰或详细。然后,在与图 7 的响应 138 以及 140 相类似地方式中,可对流体输送以及检测系统进行询问,并且在解除阻断后用于对样品进行成像的成像系统可进行再次聚焦并且对样品进行再次成像,分别如在步骤 156 以及 158 上所示。然而,如本领域的那些普通技术人员将会认识到,将对在步骤 156 检查的流体输送系统进行评估以确定用于切割解除阻断的试剂以及荧光染料的试剂是否在正常限度内或以令人希望的方式运作。

[0076] 如果在步骤 156 以及 158 上的响应能适当地补救该条件,则可进行随后的询问 160。步骤 160 基本上与参见图 7 在以上所总结的步骤 148 相类似。即,该系统可确定信噪比是否足够高以允许解除阻断的适当分析。如果该比例不足够高或者不在可接受的范围

内,则响应可再次包括对流体输送以及检测系统进行询问、并且用已修改的成像设置对解除阻断的样品进行再次成像,分别如步骤 162 以及 164 上所示。

[0077] 在示例性的例程序 116 中的另一个询问可包括确定解除阻断的试剂是否已经被充分地去除,如在步骤 166 中所示。目前针对这一评估考虑两种测试,它们可以替代地进行或者两个测试均可进行。总体而言,第一个测试是基于以上所讨论的类型的对照位点的评估。对此类位点可以成像以确定是否发生了预期的颜色变化(例如,基本上该位点从该图像上消失)。如果这些对照位点不表示进行了有效的解除阻断,则可如在步骤 168 所表明对解除阻断的运作进行重复。再者,重复解除阻断的运作可要求将样品返回至解除阻断站点上。如果希望的话,还可对除对照位点之外的位点进行成像以便询问解除阻断是否已经发生。

[0078] 用于解除阻断的另一个测试可以是在解除阻断的步骤之后对废液中的解除阻断剂或流出液流的评估。如本领域的那些普通技术人员将会认识到,阻断剂可与将活化的染料相结合并且一旦已将阻断剂从核苷酸中去除阻断剂就能发出荧光。通过在特定波长的吸收也可以检测到在流出液中的阻断剂。可对废液流进行测试,例如使用引向流出液流的线内检测器,以确定在废弃液流中是否检测到足够的阻断剂。如果检测到阻断剂不足,则可能的响应可以是对用于解除阻断的反应的工作流体的流体输送系统进行询问和/或重复解除阻断的运作,分别如在步骤 170 以及 172 上所示。取决于所使用的测序化学作用,被加入的核苷酸上的一个单一部分可作为阻断基团用于抑制延伸并且作为一个标记用于检测核苷酸的加入或,可替代地,被加入的核苷酸可具有独立的标记以及阻断部分。在此所给出的关于确定去除阻断基团的这些方法旨在是对用于确定单独或总体地去除一个标记部分和/或阻断部分的多种方法的说明。例如,在使用分离的标记以及阻断部分的实施方案中,使用一些方法(类似于以上所示例说明的那些与检测阻断基团有关的方法)可在流出液中对这些部分进行去除并且分别地或一起进行检测。

[0079] 应该注意的是在图 6、7、以及 8 中所总结的所有步骤中,所进行的运作的日志以及所采取的任何补救措施优选地要进行保存。这些日志还可与单个的样品相关联,并且可进行时间标记以评估测序系统的适当性能。在测序运作是由或可由一个或多个操作员来照管时,通过视觉或听觉警报的通知可提供给操作员,表明也许应当对测序系统中对一个或多个样品或对一个或多个站点给予注意。

[0080] 应该注意,根据本发明可能存在这些测序步骤的一种实质性的暂时解除联系以及在质量控制例程序中所采取的多种补救措施。即,虽然可将测序系统设立为处理多个样品以及多个样品容器,它们并不需要通过系统以任何特定的顺序、或者甚至以相同的速度来进行处理。例如,基于样品的质量、处理参数、以及不同质量控制步骤以及例程序的结果,某些样品可通过这些测序站点以及测序步骤进行某种程度的倒退流动。在某些例子中,样品可被放在一边或置于系统之外一定的时间段用于样品或系统之一或这二者的评估。系统控制电路可优选地被设计为跟踪多个单独的样品以及所进行的测序,无论样品是否从序列中取出、取自不同的时间、或甚至样品是否要求更长或更短的时间来进行不同的反应、成像、评估、等等。这种暂时的解除联系在促进有效地运作以及样品的自动化或半自动化的平行测序的高通过量中是一个重要的特征。

[0081] 虽然仅对本发明的某些特征在此进行了解释和说明,本领域的普通技术人员将会

想到许多修改以及变化。因此,应理解所附的权利要求旨在涵盖落入本发明的真实精神范围内的所有此类修改以及变化。

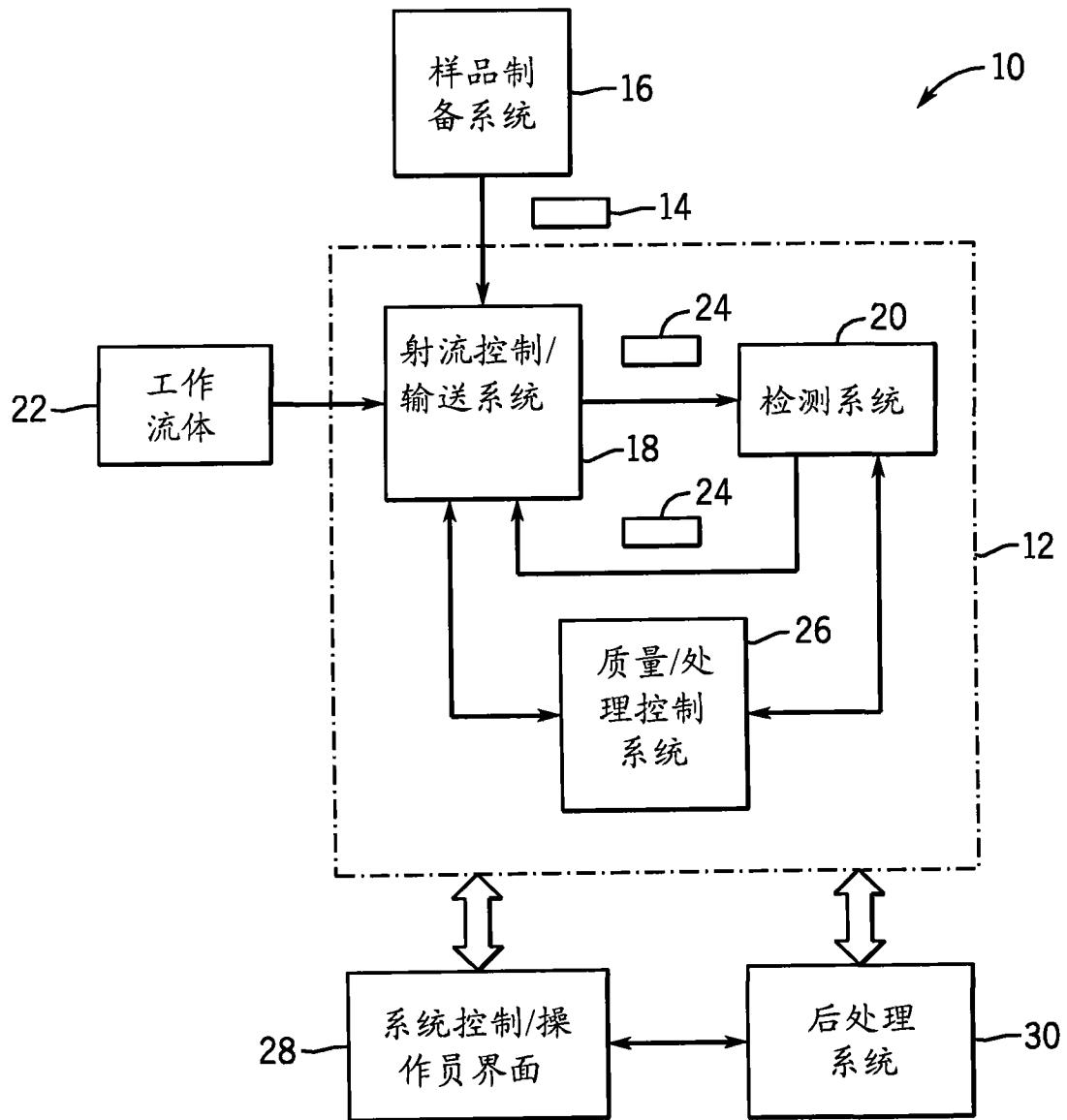


图 1

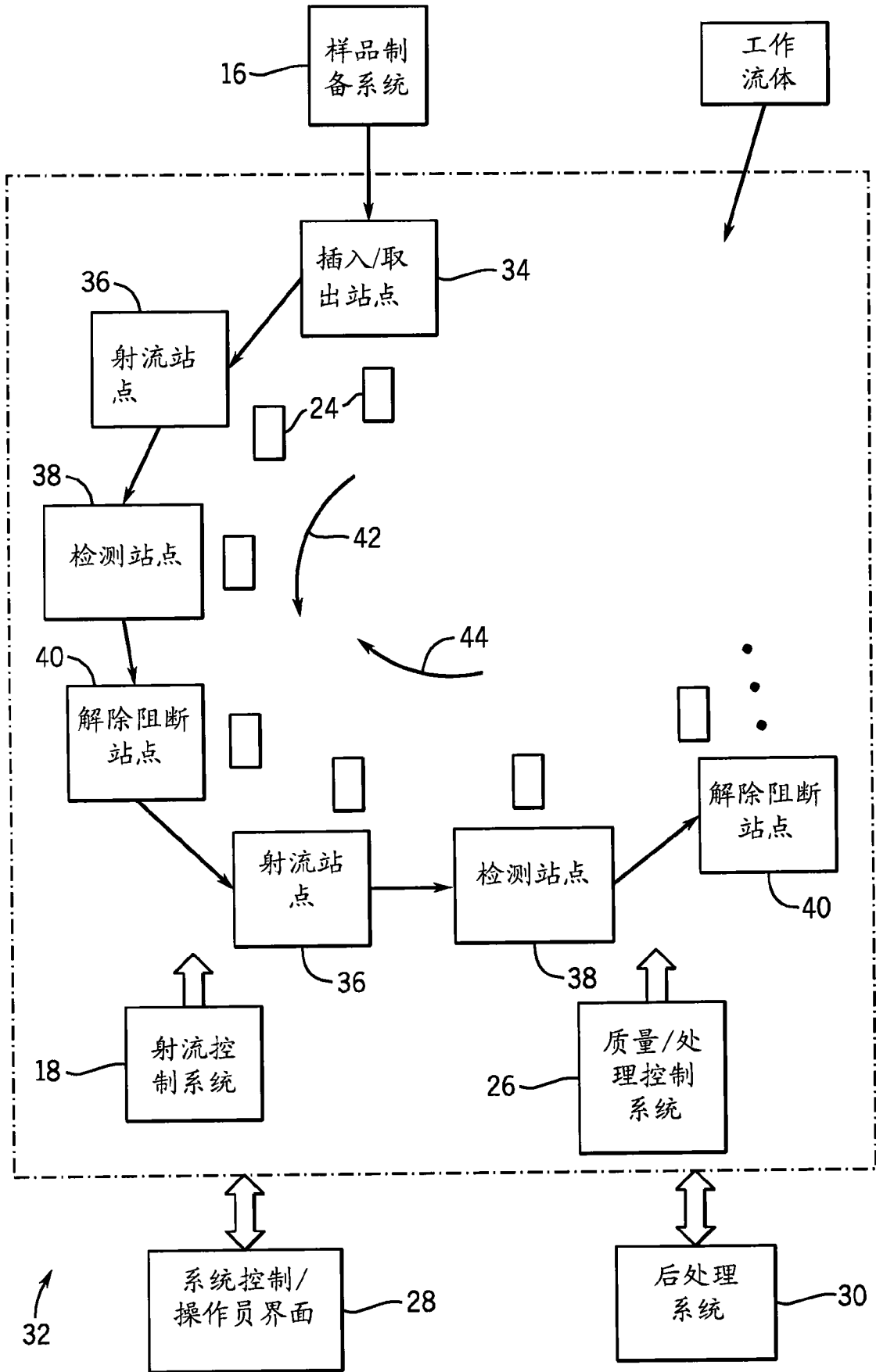


图 2

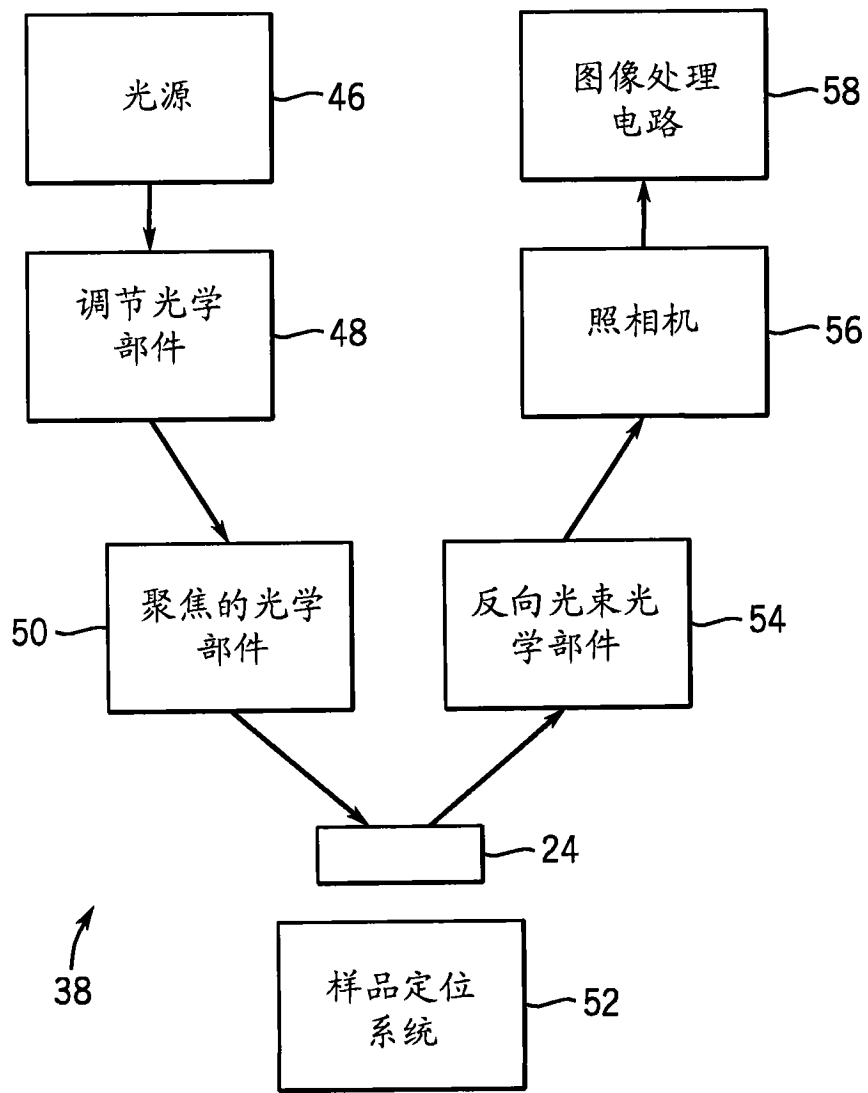


图 3

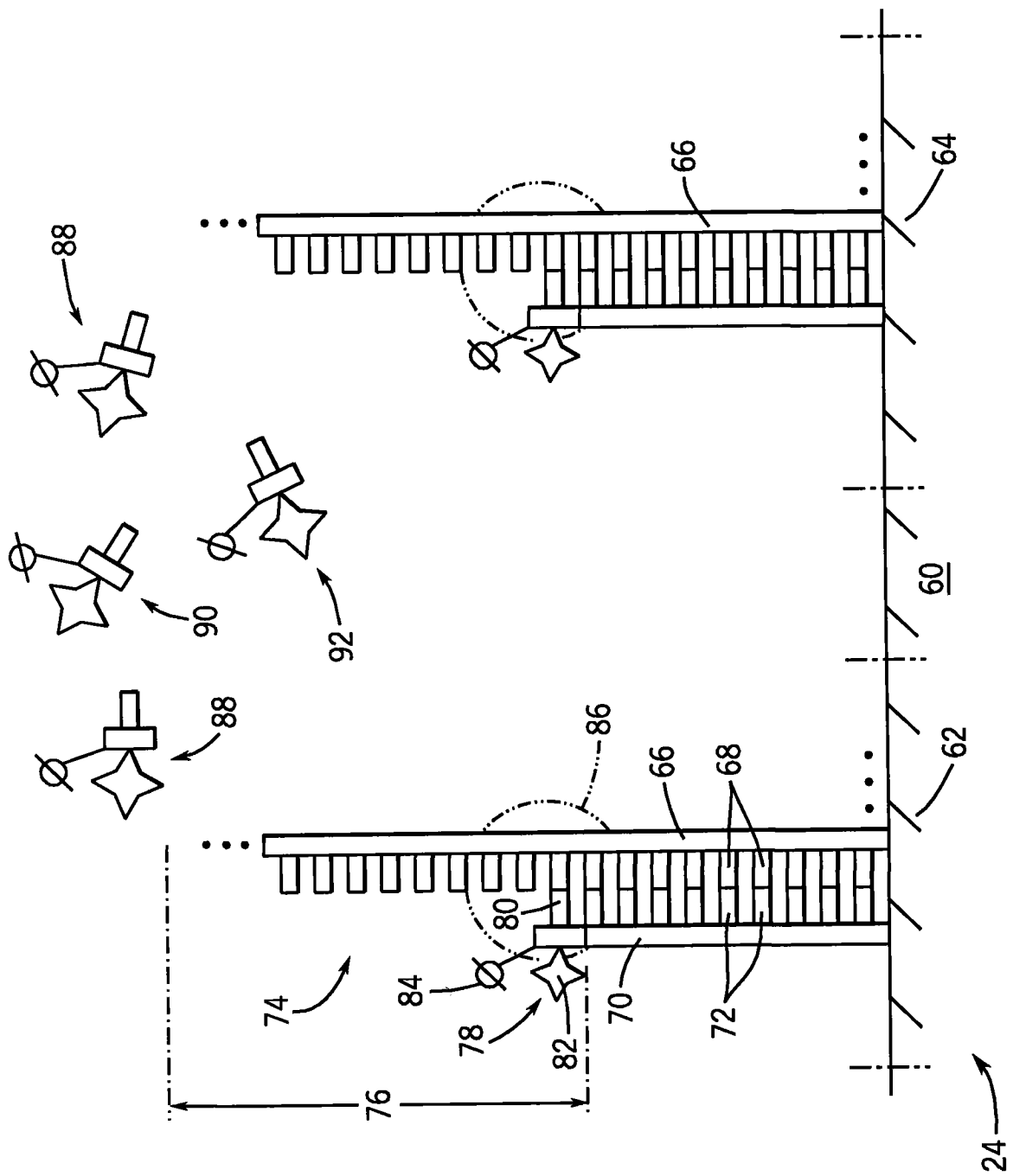


图 4

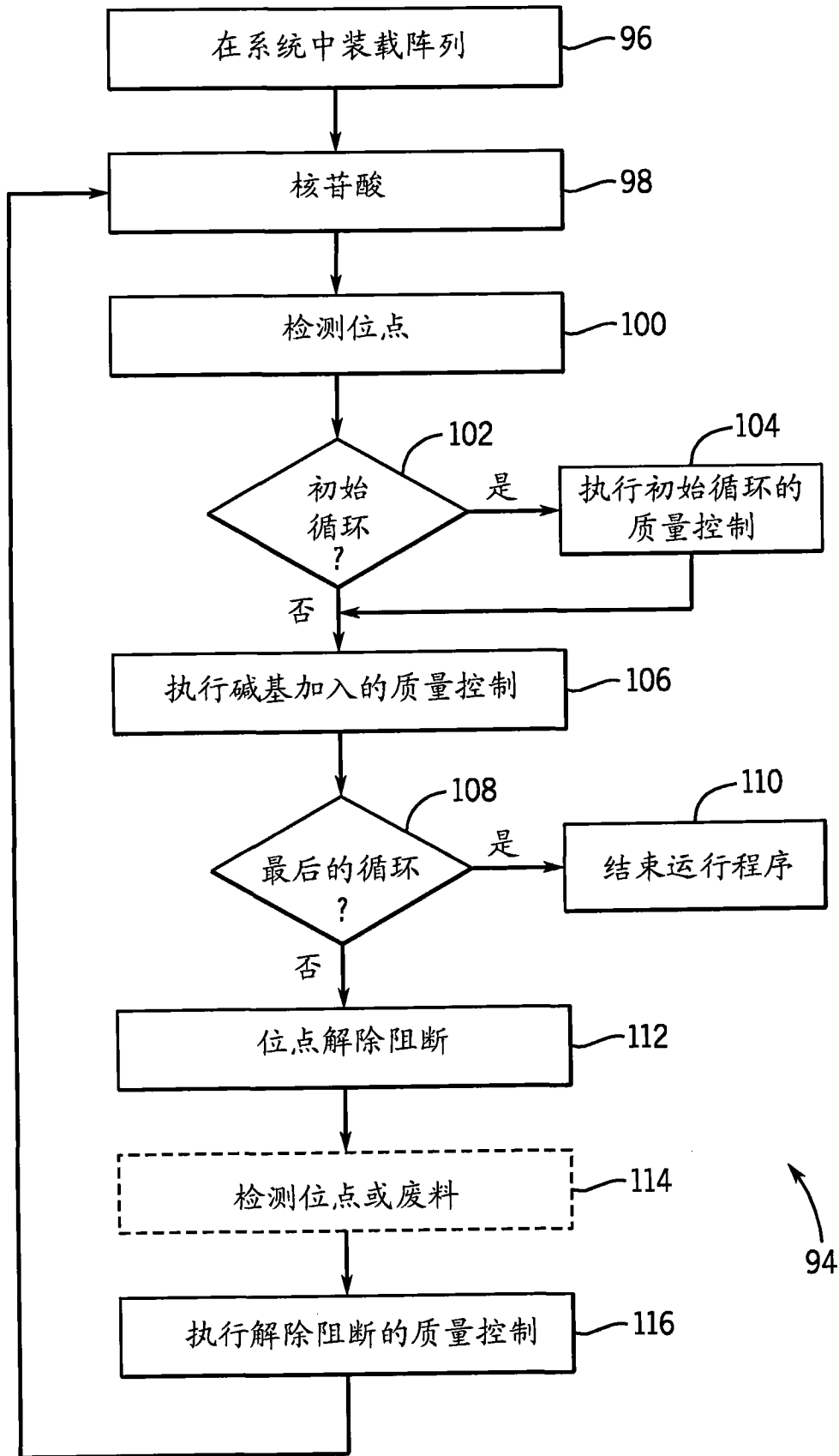


图 5

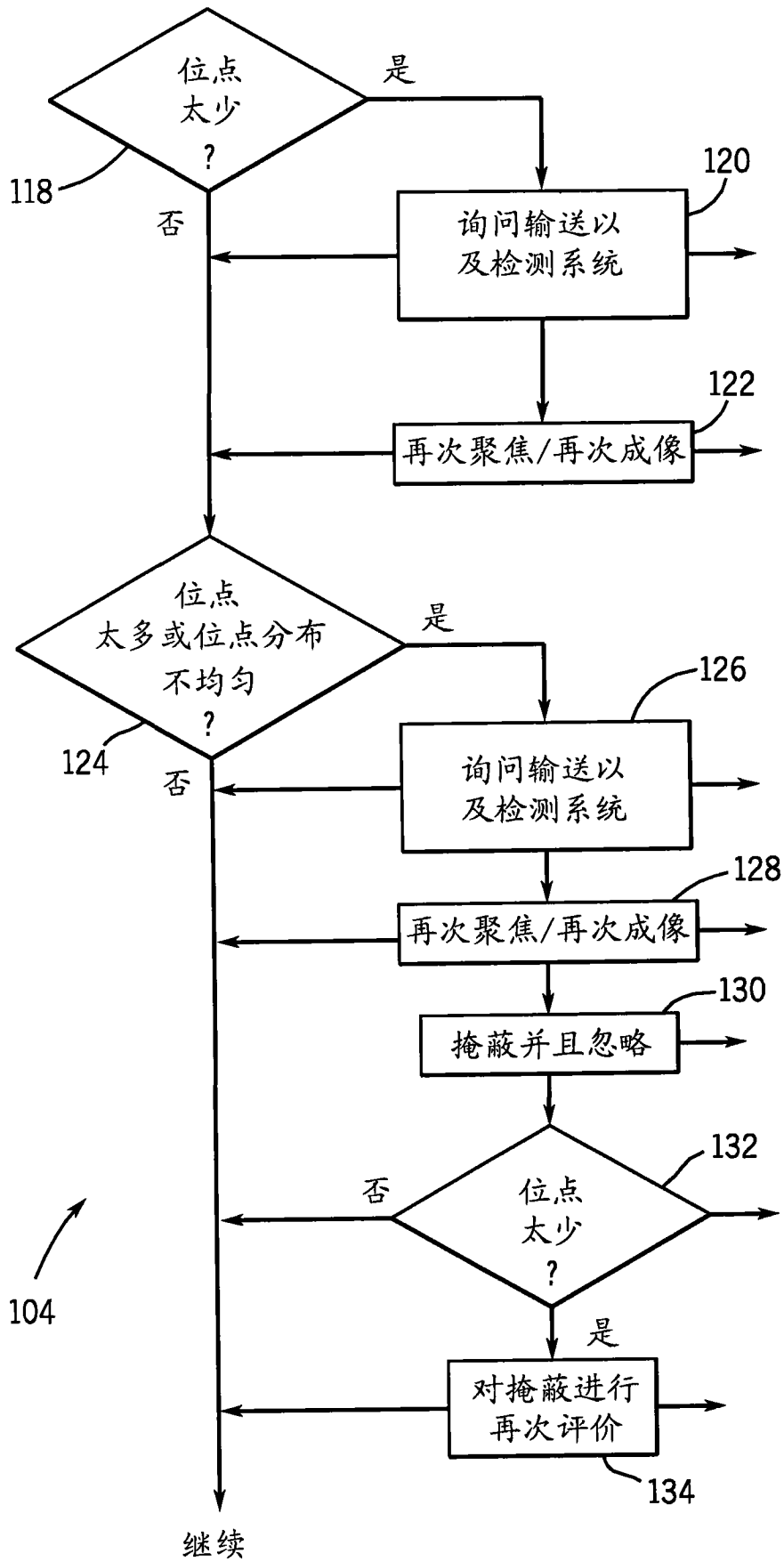


图 6

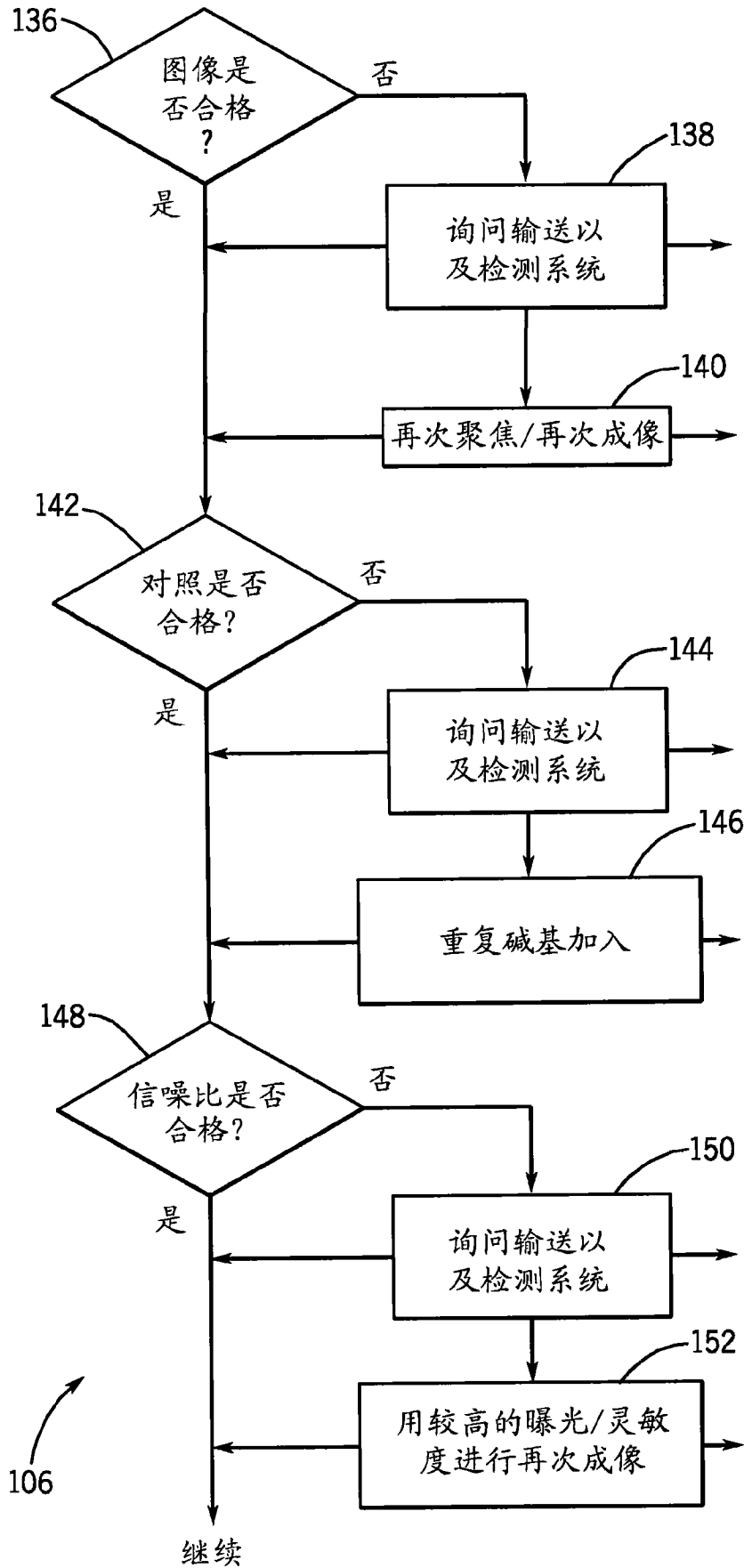


图 7

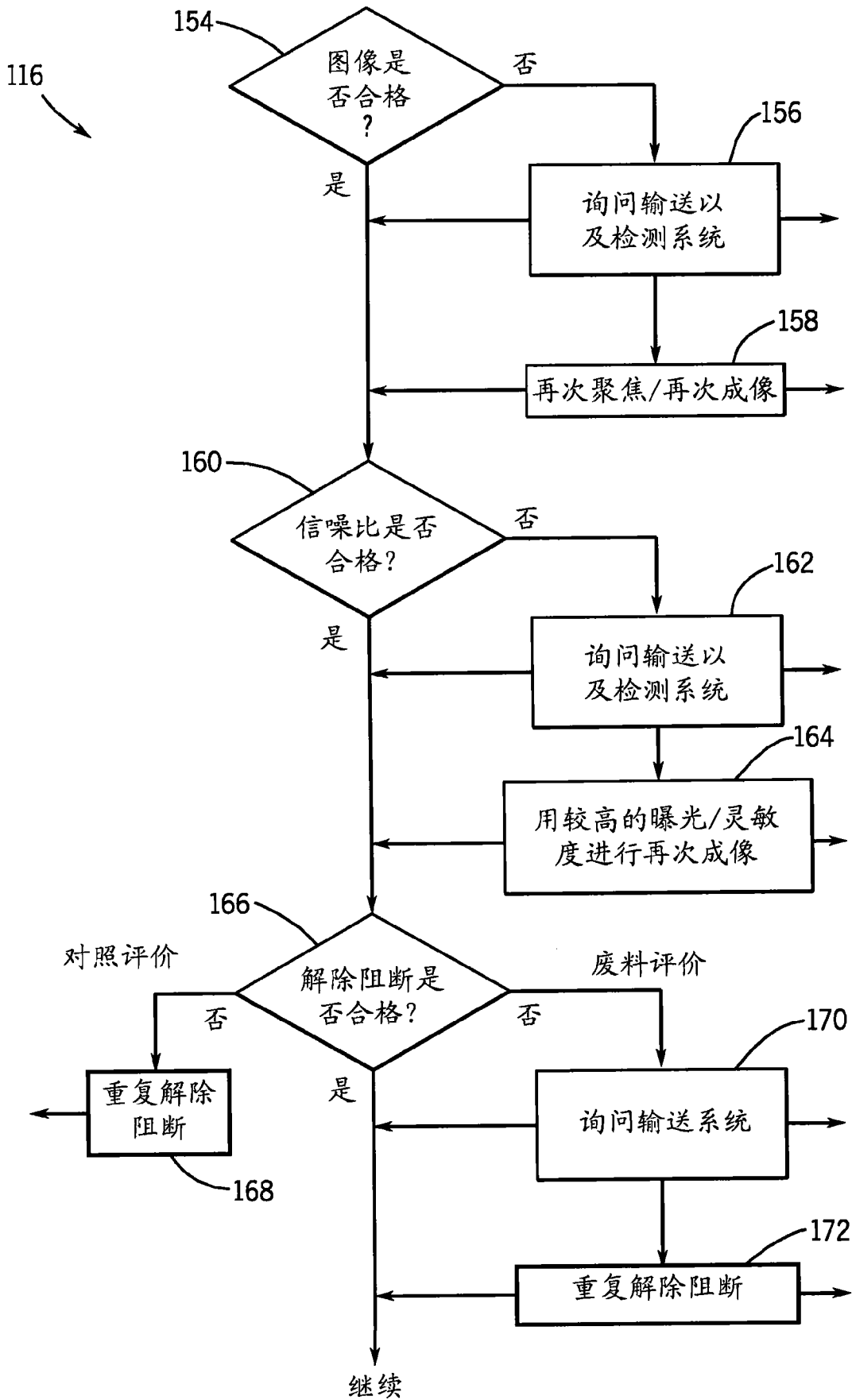


图 8