



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103175811 B

(45)授权公告日 2017.05.03

(21)申请号 201210555116.2

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2012.12.19

G01N 21/64(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103175811 A

(56)对比文件

(43)申请公布日 2013.06.26

CN 101802164 A, 2010.08.11,
CN 101583708 A, 2009.11.18,
US 2005009070 A1, 2005.01.13,
US 2009143995 A1, 2009.06.04,
US 2008255252 A1, 2008.10.16,
US 2010173394 A1, 2010.07.08,
CN 102103146 A, 2011.06.22,
JP 2000500647 A, 2000.01.25,
CN 101218493 A, 2008.07.09,
EP 1214978 A2, 2002.06.19,
WO 0060362 A1, 2000.10.12,

(30)优先权数据

11194628.1 2011.12.20 EP

审查员 陶颖

(73)专利权人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 P.弗兰克 A.吉斯勒

A.莫特尔赛德 S.罗里格

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

权利要求书2页 说明书9页 附图4页

(54)发明名称

用于核酸测试的改良方法

(57)摘要

用于核酸分析的方法牵涉下列步骤：接受含有样品的样品管，接受每份样品的测试请求（所述测试请求规定要对所述样品进行的一种或多种测定法），根据是否要进行一种或多种测定法，获得每份样品的一份或多份样品等分试样，依照要对所述样品等分试样进行的测定法，将每份样品等分试样归入一个或多个测试类，并将属于同一测试类的样品等分试样组合入同一批次中，其中所述批次包含要进行第一测定法的样品和要进行第二测定法的样品。以如下的方式加工所述批次，使得一起完成所述样品等分试样中含有的核酸的扩增，并且进行样品等分试样的分析以测定所述样品等分试样中核酸的存在和/或浓度。此外，描述了实施此类方法的系统。

1. 用于核酸分析的方法,牵涉下列步骤:

-接受各含有样品的样品管,
-接受每份样品的测试请求,所述测试请求规定要对所述样品进行的一种或多种测定法,

-获得每份样品的一份或多份样品等分试样,每一份等分试样对应于根据所述测试请求要进行的一种测定法,

-将每份样品的一份或多份样品等分试样归入一个或多个测试类,根据要对每一份样品等分试样进行的测定法,将该样品等分试样归入一个测试类,其中至少根据一个特定样品等分试样要进行的测定法所采用的用于扩增核酸的热概况处理,来选择该特定样品等分试样归入的测试类,

-将属于同一测试类的样品等分试样组合入一块多孔板中的一个批次中,所述批次包含要进行第一测定法的样品等分试样和要进行与第一测定法不同的第二测定法的样品等分试样,所述第一测定法和所述第二测定法至少采用相同的热概况处理,

-将试剂添加至所述批次中的样品等分试样,
-使用相同的用于扩增核酸的热概况处理同时扩增所述批次中的样品等分试样中含有的核酸,

-检测来自所述批次中的样品等分试样的信号以测定所述样品等分试样中核酸的存在和/或浓度。

2. 依照权利要求1的方法,其中归入牵涉检查查找表,该查找表显示要进行的测定法的相应测试类。

3. 依照权利要求1的方法,若

a.) 所述第一测定法和所述第二测定法的样品加工步骤是相同的,或
b.) 所述第一测定法和所述第二测定法二者中采用相同的消耗品,
则进一步包括将等分试样归入同一测试类。

4. 依照权利要求1的方法,其中进行分析牵涉检测来自所述样品等分试样的荧光。

5. 用于分析含有核酸的样品的系统(1),其包含:

-样品接受单元(10),其中接受各含有样品的样品管(3),
-阅读器(5),其阅读所述样品管上的标识,
-数据管理单元(6),其接受样品的测试请求,所述测试请求规定要对所述样品进行的测定法,所述数据管理单元进一步自所述阅读器接受样品管标识,其中所述数据管理单元根据相应的测试请求确定对于每一份所述样品多少份样品等分试样是必需的,将所述样品等分试样归入测试类,其中所述测试类归入至少基于所述样品等分试样会进行的测定法所采用的用于扩增核酸的热概况处理,并将所述归入提供给控制单元(7),其中所述控制单元控制吸移器(8)以将归入同一测试类的样品等分试样移液入同一多孔板(101', 101'')的同一批次孔中,且其中将每一份归入同一测试类的样品等分试样移液入所述多孔板(101', 101'')的不同孔中,所述批次包含要进行第一测定法的样品等分试样和要进行与第一测定法不同的第二测定法的样品等分试样,所述第一测定法和所述第二测定法至少采用相同的热概况处理,

-同一或别的吸移器,其用于将试剂移液入所述多孔板(101', 101'')的孔中,

-热单元(102, 210a, 210b), 其用于将所述多孔板(101', 101'')进行所述热概况处理以扩增核酸,

-检测单元(300), 其检测来自所述多孔板(101', 101'')的孔的信号,

-评估单元, 其测定所述多孔板(101', 101'')的各孔中核酸的存在和/或数量。

6. 依照权利要求5的系统, 其进一步包含纯化单元, 其纯化所述多孔板(101', 101'')的孔中含有的核酸。

7. 依照权利要求5的系统, 其中所述数据管理单元已经在其中存储查找表, 该查找表用于根据样品等分试样要进行的测定法将样品等分试样归入测试类。

8. 依照权利要求5的系统, 其中所述热单元具有设置成实施不同热概况处理的两个或更多个部分。

9. 依照权利要求5的系统, 其中所述检测系统是荧光检测系统, 其包含用于照明位于样品孔中的样品等分试样的照明单元, 而且进一步包含用于检测自样品孔发射的荧光的检测器。

10. 依照权利要求5的系统, 其中所述数据管理单元设置成自实验室信息系统(LIS)接受样品命令。

11. 依照权利要求5的系统, 其中若:

a.) 第一测定法和与第一测定法不同的第二测定法的样品加工步骤是相同的, 或

b.) 第一测定法和与第一测定法不同的第二测定法二者中采用相同的消耗品,

则所述数据管理单元进一步设置成将用于所述第一测定法和所述第二测定法的样品等分试样归入同一测试类。

用于核酸测试的改良方法

[0001] 发明背景

[0002] 本申请涉及用于在自动化系统中分析核酸的改良方法及用于进行此类改良分析的分析系统。

[0003] 核酸分析领域中使用的系统需要加工含有核酸的样品。此类加工牵涉分选样品，转移容器，或将液体样品和试剂从一个容器转移至另一个和分析。对于较高通量，同时加工经常用多种消耗品，诸如移液管头和单一容器或多孔板实施。对整合的且自动实施从样品制备到获得分析方法的结果必需的所有或至少大多数步骤的分析仪也有兴趣。

[0004] 发明概述

[0005] 用于核酸分析的方法，牵涉下列步骤：

[0006] 接受各含有样品的样品管，

[0007] 接受每份样品的测试请求，所述测试请求规定要对所述样品进行的一种或多种测定法，

[0008] 根据是否要进行一种或多种测定法，生成每份样品的一份或多份样品等分试样，

[0009] 依照要对所述样品等分试样进行的测定法，将每份样品等分试样归入一个或多个测试类，

[0010] 将属于同一测试类的样品等分试样组合入同一批次中，所述批次包含要进行第一测定法的样品和要进行第二测定法的样品，

[0011] 同时扩增所述批次中含有的核酸，

[0012] 进行所述样品等分试样的分析以测定所述样品等分试样中核酸的存在和/或浓度。

[0013] 用于分析含有核酸的样品的系统，其包含：

[0014] 样品接受单元，其中接受各含有样品的样品管，

[0015] 阅读器，其阅读所述样品管上的标识，

[0016] 数据管理单元，其接受样品的测试请求，所述测试请求规定要对所述样品进行的测定法，所述数据管理单元进一步自所述阅读器接受样品管标识，

[0017] 所述数据管理单元确定多少份样品等分试样是必需的，将所述样品等分试样归入测试类，并将所述归入提供给控制单元，

[0018] 所述控制单元控制吸移器以将归入同一测试类的样品等分试样移液入同一批次孔中，

[0019] 同一或别的吸移器，其用于将试剂移液入所述批次孔中，

[0020] 热单元，其用于将所述批次孔进行热概况处理以扩增核酸，

[0021] 检测单元，其检测来自所述批次孔的信号，

[0022] 评估单元，其测定所述批次的各孔中核酸的存在和/或数量。

[0023] 发明详述

[0024] 核酸分析例如对于检测疾病、测定遗传状况(遗传病症和素因)及对于法医目的具有不断增加的重要性。在谈论核酸分析时，通常意味着检测样品中某些核酸的存在及也可

以是浓度。为了这样做,通常处理样品材料以释放样品中含有的核酸材料,并且经常还纯化有待检测的核酸。然而,鉴于样品中存在的少量核酸和经常可用的非常有限量的样品,此类检测是不容易的。替代越来越提高测定法的灵敏性,已经证明了增加初始样品中含有的核酸材料以使核酸的存在或数量适当检测可行是更有用的。一种用于实现此类增加的标准规程(经常称作“扩增”)是公知的聚合酶链式反应(PCR)。对于此扩增规程,将样品材料(通常在一些预处理后,用于释放核酸并将其纯化)与合适的试剂混合,然后进行温度循环处理。每个温度循环(在最佳条件下)使样品中存在的核酸(NA)量加倍。可以在扩增结束时或者在扩增过程期间完成核酸的存在和/或浓度的检测,如下文会描述的。

[0025] 凭借已知的扩增仪,仅将测试相同核酸的样品一起进行温度循环处理。对于扩增,将样品与扩增试剂混合(以获得扩增混合物),并且经常在多孔板(MWP)的孔中分配。然后,将整个MWP进行温度循环处理。这意味着分批加工扩增混合物。MWP中的孔数目决定可以在一个批次中一起循环的反应混合物的数目。经常使用的MWP形式是每板为48、96、356和1536孔。

[0026] 若没有足够必须测试相同NA的样品可用,则现在存在两种选项。一直等待直至可用更多样品填充批次(即,完成使用的MWP中的开放位置)或者用较少的样品作为板中可用的位置运行批次(即,用空的孔循环MWP)。选项1延长时间到可得到结果,而选项2浪费消耗品。因此,这两种选项都降低测试效率。

[0027] 发现了提及的缺点(等待更多样品或运行不完整的批次)可以通过容许在同一批次内对不同核酸运行分析(即,不同测定法)的方法和系统减轻。

[0028] 此类用于核酸分析的改良方法牵涉下列步骤:

[0029] 接受各含有样品的样品管,并接受每份样品的测试请求,所述测试请求规定要对所述样品进行的一种或多种测定法。根据是否要用所述样品进行一种或多种测定法,获得每份样品的一份或多份样品等分试样。

[0030] 对于每份样品等分试样,然后测定其属于哪一个或多个测试类。依照测试请求进行此测定,所述测试请求规定要对特定的样品等分试样进行的一种或多种测定法。

[0031] 将属于同一测试类的要进行测定法的样品等分试样在一个批次中组合,所述批次至少包含要进行第一测定法的一份样品等分试样和要进行与第一测定法不同的第二测定法的第二样品等分试样。

[0032] 然后,将所述批次中的样品等分试样进行相同温度概况处理以扩增样品等分试样中含有的核酸。

[0033] 然后,依照第一和第二测定法进行核酸的检测,其可以在扩增过程期间或在完成扩增过程后发生。

[0034] 如本文中所使用的,术语“样品”不仅用于初始样品,而且还指已经加工过(移液、稀释、与试剂混合、经过纯化、经过扩增,等等)的样品。

[0035] 样品等分试样是测试采用的样品部分。通常如下生成样品等分试样,即将样品部分移液入孔中,然后在那里进行进一步处理。在需要两份或更多份样品等分试样时,例如有可能吸出一定体积的所述样品,并将所述体积的部分释放入两个或更多个孔中。术语样品等分试样意图还覆盖与试剂和测定样品等分试样通常必需的其它流体混合的样品等分试样。

[0036] 现今,核酸分析是一种测定感染(HIV、HCV等)、遗传疾病和素因及家庭关系和出于法医目的鉴定个人的有力工具。由于典型的样品中微量的核酸,通常必需扩增样品中含有核酸。已知几种用于此类扩增的方法,如聚合酶链式反应(PCR)、连接酶链式反应(LCR)、转录介导的分析(TMA),等等。这些方法是本领域中公知的,并且因此在本文中没有详细描述。然而,此类方法的一项共同要求是在检测前扩增患者样品中的核酸。对于此类扩增,样品及试剂的某种热处理是必需的(即,生成样品混合物)。在平行分析多份样品的自动化系统中,此类扩增混合物的热处理一起(逐批)完成。

[0037] 用于扩增的热处理牵涉某种温度对时间概况,其实现核酸的优化的且可重复的扩增。简言之,这称作热概况。在PCR的情况下,热概况包括以循环方式的多个加热和冷却步骤。单独的循环包括在某个时间中将反应混合物自基线温度(例如40°C)加热至较高水平温度(例如,70°C),然后保持该较高水平温度,冷却至基线温度,然后将基线温度保持预定的时间。此领域的测定法开发意味着寻找实现有待检测的核酸的足够的且可再现的扩增的合适的热概况,等等。LCR和TMA需要不同的,而且明确规定了热概况以获得可再现的扩增,其继而容许标准化的检测过程。

[0038] 如本文中使用的,批次/批是同时进行相同热概况处理以进行核酸扩增的许多样品等分试样。这意味着样品等分试样以如下方式集中在一起,使得单独的样品等分试样在扩增期间进行相同热概况处理。实际上,这经常如下完成,即将属于同一批次的样品等分试样移液入多孔板的孔中,然后,将所述多孔板通过热单元用热概况处理。这意味着每份样品等分试样具有其自身的孔,并且没有混合样品等分试样(即,流体)。

[0039] 在用于NA扩增的相同热处理外,可以将属于一个批次的样品等分试样平行移液,并且可以以其它方式同时加工(如下文所描述的)。这意味着可以在核酸扩增前已经将样品等分试样分批在一起以进行那些步骤。然而,分批在一起并不意味着将样品等分试样混合,而是将一个批次的等分试样各自定位于不同孔中,并同时加工。此类同时加工至少包括将一个批次的样品等分试样进行相同热概况处理以扩增核酸。

[0040] 对于进行提及的测定法,系统包含一个或多个分析单元或分析仪。应当理解,可以通过也实施其它功能的仪器单元实施用于测定分析物的存在和/或浓度的分析功能,例如,可以或多或少以分析为唯一目的通过仪器实施预分析步骤或分析。在本申请的上下文中,术语“分析仪”应当涵盖所有此类实施方案。

[0041] 分析仪具有传感器,其检测鉴定有待测定的分析物的存在和/或浓度的信号。在核酸分析领域中,传感器通常是荧光传感器,其能够检测由与分析物结合的荧光标记物发射的荧光。在其它实施方案中,传感器可以例如是光电倍增管,其检测透射通过样品的放射。对于平行测定多份样品等分试样,经常采用成像传感器,例如CCD阵列。此类传感器通常与光滤光片组合采用。用于在扩增期间检测来自经标记核酸的荧光的分析仪设置例如记载于EP-B-1681555。

[0042] 分析物是进行分析检测的分子。经常,分析物的存在或缺乏容许医生做出诊断决定,即确定患者是否具有某种疾病。然而,在许多情况下,此类诊断决定基于单独的一种分析物不能得出,而是必须将两种或更多种分析物一起察看或者必须在患者的临床情况的背景中察看分析物的结果。

[0043] 依照本申请的分析物是核酸及其衍生物。核酸衍生物是与容许检测核酸的标记物

结合的核酸,等等。例如,此类标记物是荧光染料。

[0044] 用于测定分析物的存在和/或浓度的特定测试称作测定法类型。对于同一分析物,超过一类测定法可能是可用的,例如检测不同样品流体中(例如,血液和尿液中)的分析物的情况。在对特定样品应用此类测定法类型时,就说对所述样品进行所述测定法。

[0045] 为了实施分析物的检测采取的特定措施称作测定方案。测定方案包括使用的试剂的类型和量、加工步骤、使用的消耗品和如何实施检测。

[0046] 如提及的,在核酸分析前,样品处理经常是必需的。典型的样品处理步骤是裂解细胞、纯化和/或分离有待检测的核酸、核酸扩增和与检测试剂混合。如本文中随后会描述的,此类样品处理步骤的性质对于测定样品是否可以归入相同测试类是极要的。

[0047] 依照本说明书的系统具有接受其中具有样品的样品管输入的样品接受单元。经常,样品管位于架中,每个架容纳例如5个样品管。在一些实施方案中,对样品接受单元中的输入手动完成,但是也涵盖自动化输入,例如经由机器人臂或输送机。

[0048] 样品管是用于容纳样品的容器(通常是管形瓶)。此类样品管具有封闭物以防止样品损失并防止运输期间的样品污染。封闭物在样品管进入样品接受单元时可以已经除去或者可以给系统提供启盖器以打开或除去封闭物。在另一个实施方案中,封闭物仍然在样品管上,并且穿过封闭物(例如,通过用钢针穿透)取出样品。样品管进一步具有附于其的管标识。此类管标识可以是条形码、字母数字代码、电子存储器芯片(例如,RFID标签)、磁性代码,等等。此类代码的阅读器是本领域中公知的(例如,条形码阅读器和RFID阅读器)。

[0049] 系统可以进一步包含用于控制分析仪的控制单元(CU)。此类控制单元可以是分开的单元或者可以是分析仪的整合部分。控制单元以如下的方式控制分析仪,使得测定方案的必需步骤由分析仪进行。那意味着控制单元例如指导分析仪进行某些移液步骤以混合样品与试剂,或者控制单元控制分析仪将样品混合物温育某个时间,等等。控制单元自数据管理器接受哪项测试必须用某份样品完成的信息,并且基于其确定分析仪(并且也可以是样品制备单元)必须实施的步骤。在某些实施方案中,控制单元与数据管理单元可以是整合的或者可以由常见的硬件体现。

[0050] 系统进一步包含数据管理单元及测试请求数据库。此类数据库容许将样品管标识与要用样品管中含有的样品进行的测定法联系起来。要用特定样品进行的一种或多种分析测试称作测试请求。许多实施方案中的数据管理单元与LIS(实验室信息系统)和/或HIS(医院信息系统)连接。数据管理单元(DMU)可以是分析仪内或与分析仪共定位的单元,例如,它可以是控制单元的部分。或者,DMU可以是与分析仪远程定位的单元,例如,可以在经由网络与分析仪连接的计算机中体现。

[0051] 在典型的工作流中,医生决定要对患者进行的分析测试(测定法),并在纸上或在计算机上在表格中填写。然后,将此测试请求传送给医学技术助理(MTA)以进一步加工。如本文中所使用的,术语MTA不应限于经历过作为MTA的正规教育的人,而且意图还覆盖其他人,例如履行如下文所描述的责任的护士和非正规训练的助理。

[0052] MTA依照测试请求自患者获得样品(血液、尿液、脊髓液,等等),进入一个或多个样品管中。可以将样品管预标记或者可以以如下的方式由MTA标记,使得患者标识符与样品管联系起来。对于秘密性和隐私,这通常通过附于管的独特标识符(所谓的样品管标识)完成。独特的标识符在数据库(例如,属于上文提及的LIS的数据库)中存储,所述数据库将其与患

者的名字联系起来。独特的标识符通常是条形码、数字或字母数字代码。出于秘密性原因，独特的标识符通常不以明语显示患者名字。

[0053] 若医生尚未将测试请求输入数据库中，则MTA会基于接受的表格将其输入。因而，数据库已经在其中存储样品管的独特标识符和测试请求的关系，即要用特定的样品进行的一种或多种分析测试(测定法)。

[0054] 此部分中提及的数据库可以是本申请的系统的数据管理单元或者可以是LIS、HIS或另一数据库。在后面的情况中，会将独特的样品标识和要进行的一种或多种测试的关系传送给系统的数据库。

[0055] 样品的测试请求确定要用样品进行的一种或多种分析测试(测定法)。将每种测定法归入至少一个测试类。此归入可以通过数据管理单元、控制单元或具有计算性能的另一单元完成。归入至少一个测试类基于稍后会解释的归入规则完成。

[0056] 基于测试请求，数据管理单元确定需要多少份样品等分试样(至少是要对所述样品进行的不同测定法的数目)，并将此类样品归入至少一个测试类。通常，等分试样此时尚不是物理上可用的，但是数据管理单元在为此类等分试样作计划，并且会指导控制单元生成等分试样。

[0057] 测定法需要进行一系列步骤，其在所述测定法的测定方案中限定。测定法通常含有下列步骤：

[0058] 若特定测试需要裂解样品：为了裂解要对样品添加的一种或多种裂解试剂、一种或多种裂解试剂的体积和样品与一种或多种裂解试剂的温育期。

[0059] 若特定测试需要分离核酸：用于分离有待检测的核酸的试剂的类型和体积、温育期、混合或摇动动作、分开期望的核酸与其它流体/样品组分的步骤和释放有待检测的核酸以进一步加工的步骤。

[0060] 有待检测的核酸的扩增：扩增试剂的类型和体积、用于扩增核酸的温度概况。在PCR的情况下，为了扩增添加的试剂是核苷酸和温度抗性聚合物。PCR进一步需要交替加热和冷却反应混合物的温度概况。此类温度概况可以经由高温和低温、此类高温和低温保持的时间及变速(ramping)概况(其是通常以每秒的开尔文(Kelvin)给出的加热或冷却速率)限定。

[0061] 对于检测分析物，添加合适的试剂，其在大多数情况中在照明后提供荧光信号。例如，此类检测试剂是结合有待检测的核酸的经标记的探针。其它试剂是插入核酸双链中的插入染料，如SybGreen。使分析物可检出的各种技术是本领域中已知的，其通过标记分析物或者通过结合可检测实体来进行。

[0062] 在一种测定方案中，进一步规定要使用的消耗品。例如，此类消耗品是一次性移液管头和容器(例如，多孔板或单独的容器)。

[0063] 采用检测单元来进行检测。此类检测单元包含照明位于一个批次的各孔中的样品等分试样的光源和自样品等分试样获得信号的检测器，所述信号容许测定分析物是否存在于样品等分试样中。检测器通常是光学检测器，其检测照明后由样品等分试样发射的荧光。经常采用具有许多灵敏区，使得可以记录该批次的二维图像的检测器。检测单元可以进一步包含各种光学元件，如透镜、滤光片、二色性镜，等等。

[0064] 评估单元评估自检测器获得的信号以测定分析物是否存在于样品等分试样中。评

估单元通常是计算单元,其比较来自检测器的信号与存储的参照值或阈值。在这之前,评估单元可以对接受的信号校正偏移和伪像,并且甚至可以分析图像信息以提取代表来自分析物的信号的某些区域的信号。评估单元可以进一步随时间记录来自检测器的信号。可以通过拟合曲线或其它数学算法来分析此类强度随时间的信息以测定样品等分试样中分析物的存在和/或浓度。

[0065] 依照本说明书的测试类指示哪些样品等分试样可以在一个批次中一起加工。至少依照要对核酸扩增采用的热概况(温育温度、时间概况、扩增步骤的数目)选择特定样品等分试样归入的测试类。这意味着若样品等分试样的扩增热概况是相同的,则它们归入同一测试类,即使会用同一批次的样品等分试样进行不同测定法。必须理解,在扩增的热处理外,还可以用同一批次的样品等分试样一起进行测定法的其它步骤。

[0066] 若核酸扩增要采用的热概况对于两份样品等分试样是相同的,则这两份样品等分试样归入同一测试类。

[0067] 作为用于将两份样品等分试样归入同一测试类的进一步要求,可以要求样品加工步骤对于两份样品等分试样是相同的,和/或

[0068] 两份样品等分试样都需要相同消耗品以进行加工。

[0069] 然而,仅在所有三项标准(扩增的热概况、样品加工步骤、采用的消耗品)相同时将两份样品等分试样归入同一测试类是有利的。

[0070] 然而,上文提及的数据库不需要在测试请求每次进入系统时检查这些标准。如上文提及的,测定方案已经含有用于NA扩增的热概况的详情,并且因此可以在测定法水平确定其属于哪个测试类。或者换言之,可以对可用于系统的测定法类型检查NA扩增需要的热概况,并且因此将其归入测试类。那意味着将需要相同热概况进行NA扩增的测定法归入同一测试类,而将具有不同热概况的测定法归入不同测试类。这意味着测试类的数目等于测定法类型的数目或更低。然而,本文中所描述的方法的优点仅可以在测试类的数目低于测定法类型的数目时实现。仅在此情况中,可以将要进行不同测定法的样品等分试样分批在一起以进行扩增。

[0071] 方便的是,将每个测定法类型归入相应的测试类,并将测定法类型与查找表中的测试类的关系存储。然后,可以如下将样品等分试样归入测试类,即检查要对所述样品等分试样进行的测定法类型的测试命令,并对查找表中的相应测试类查找所述测定法类型。此类查找表可以仅具有下表的前两栏,而其它栏仅为了解释而显示:

	测定法类型	测试类	底部/高水平温度	试剂
	A	I	40 / 70	M
[0072]	B	II	45 / 80	N
	C	I	40 / 70	O
	D	II	45 / 80	P

[0073] 可以看出,用测定法A和C测试的样品等分试样属于同一测试类,并且因而,可以分批在一起以进行扩增。类似地,可以将用测定法B和D测试的样品在一个批次中组合在一起以进行扩增,而测定法A样品不能与测定法B或测定法D样品在同一批次中组合。可以进一步看出,在此情况中,已经依照进行测定法需要的两种不同热概况限定了两个测试类。

[0074] 如本文中所使用的,术语分批并不意味着将样品等分试样混合在一起以获得流体混合物。而是,其意味着将样品等分试样以如下的方式组合,使得它们可以同时加工以至少进行测定法的扩增过程。这可以例如如下实现,即将样品等分试样放入同一多孔板的不同孔中,然后,将所述多孔板用热概况处理,使得所有样品等分试样进行同一热概况处理。

[0075] 可以将属于同一测试类的样品等分试样分类成同一批次,即使要用样品等分试样进行的测定法是不同的。与仅将需要相同测试的样品集中在一起以进行加工和分析的方法或系统相比,这具有许多优点。在将具有不同测试请求的样品等分试样集中在一起(分批在一起)时,将各批次更快速地填充,并且因此可以缩短有待分析的样品等分试样的等待时间。此外,因为可以避免加工不完整的批次或不太满的批次,在容许混合批次(含有要进行不同测定法的样品等分试样的批次)时,可以提高分析系统的效率。然而,必须理解,所述方法根本不需要批次是完全填充的(即,所述批次中的所有可用位置是填充的)或者仅容许混合批次。若系统可自由用具有不同测试请求的样品等分试样填充批次,则已经可得到优点。

[0076] 附图简述

[0077] 图1显示了具有硬件单元和逻辑单元的系统,其基于测试类生成各批次样品。

[0078] 图2显示了系统用于实时检测的光学设置。

[0079] 图3显示了系统用于生成各批样品等分试样的元件

[0080] 图4显示了分部式热单元及含有样品等分试样的多孔板。

[0081] 附图详述

[0082] 图1显示了用于生成各批次样品的系统。将具有样品管3的架2输入系统1的样品接受单元10中。这可以手动或通过例如机器人架处理器自动完成。将架从样品接受单元传送入样品移液部分20中。在此运动期间,样品管上的条形码通过条形码阅读器5阅读。条形码阅读器将阅读数据直接或经由其它单元发送至数据管理单元6。数据管理单元可以整合入系统中或者可以是与其共定位的单元。或者,数据管理单元可以远离系统,例如经由网络与仪器连接的计算机化单元。数据管理单元6基于测试请求确定每份样品或样品等分试样的测试类。这通过检查必须进行哪些测定法的测试请求,然后在查找表中检查测定法属于哪个测试类来完成。

[0083] 控制单元7自数据管理单元接受必须用某份样品进行哪一种或多种测定法的数据。然后,控制单元确定必须由分析仪实施哪些步骤来进行此类测定法。具体地,控制单元控制吸移器单元8,使得属于同一测试类的样品等分试样从样品管移液入同一多孔板的孔中。图1显示了两块多孔板。将属于测试类I的样品等分试样移液入多孔板101'的孔中,而将属于测试类II的样品等分试样移液入多孔板101"中。此后,将多孔板101'和101"有差别地加工。关于移液的许多步骤、采用的试剂、消耗品、温育、核酸分离等对于两种测定法可以是相同的或者不同的。然而,重要的是,属于同一测试类的样品等分试样进行同一热概况处理以扩增核酸。

[0084] 图2显示了用于所谓的实时检测的系统。具有含有样品等分试样和试剂的多个微孔103的多孔板101位于热单元102中,并用检测单元300分析。热单元可以由与帕尔贴(Peltier)元件热连接的由金属(通常为银或铜)制成的底座(mount)实现。帕尔贴元件由控制单元控制以依照预定的温度概况加热和冷却底座,并且因此还有多孔板中的样品混合物。此类温度概况包含将底座加热至期望的温度(例如90摄氏度)和将其冷却至规定的温度

(例如40摄氏度)的多个循环以实施核酸扩增。在样品混合物进行温度概况处理时,荧光检测单元测量自多孔板的孔发射的荧光。如显示的,荧光检测单元包含用于照明样品混合物的光源(例如,LED灯或氘灯)111和检测自孔发射的荧光的检测器121。经由用于聚光的光学元件112和滤光片113引导光源的放射,所述滤光片113透射适合于触发孔中含有的荧光标记物的荧光发射的波长带的光。然后,光透射二色性镜114,并且由一个或多个透镜系统115分配入孔中。自孔发射的荧光放射由透镜系统115收集,并由二色性镜114反射。这意味着二色性镜选择为透射激发波长并反射发射光。发射的放射由第二滤光片122过滤,并用光学元件123引导至检测仪121上。检测仪通常是CCD(电荷耦合器件)检测仪,其生成发射强度的图像。然后,评估此图像以测定相应的分析物是否包含在多孔板的孔内。关于设置的更多详情和此类实时检测系统的功能可以例如参见EP1681555。

[0085] 可以用依照图2的专用分析仪分析依照图1的多孔板101' 和101"或者随后可以用相同分析仪分析多孔板101' 和101"。

[0086] 然而,依照本文中所描述的概念,将属于同一测试类的所有样品等分试样进行相同温度概况处理以实施核酸扩增。原则上,两种实施方案是有可能的。统一的热单元一次将多孔板的所有孔加热至相同温度,并且因此将所有孔进行相同温度概况处理。这意味着在同一多孔板中,仅进行属于同一测试类的测定法。然而,或者,可以采用具有可以运行不同热概况的各部分(可以是两个或四个部分)的分部式热单元。这意味着在一个部分运行例如从40°C至70°C的循环时,热单元的另一部分运行从45°C至80°C的循环。这意味着同一多孔板的一些微孔进行第一热概况处理,而其它微孔进行第二热概况处理。在分部式热单元的情况下,位于由特定部分加热的孔中的所有样品等分试样属于同一测试类,而总的多孔板可以含有属于不同测试类的样品等分试样。

[0087] 图3显示了用于对样品分析核酸的存在和/或浓度的系统。描绘的多孔板101' 和101"已经充满依照图1的样品流体。两块多孔板101', 101"各含有必须进行至少两种不同测定法的样品等分试样,也就是说,会对多孔板101' 孔中的一些样品等分试样测试分析物A的存在,而对其它样品等分试样测试分析物B的存在。

[0088] 吸移器8将裂解试剂从容器201移液入板101' 和101"的孔中。这些板位于热单元210a和210b中,在那里将它们温育以在存在裂解试剂的情况下自样品流体释放核酸。进一步具有纯化释放的核酸的功能。对此,将磁性可吸引微粒的悬浮液从容器202移液入板的孔中。释放的核酸结合微粒,然后,将所述微粒通过磁力在孔的内壁上分开,并用吸移器自孔除去流体。可以将微粒在来自容器203的清洗流体中进一步悬浮,再次在孔的内部上分开,并自孔除去流体。最终,将微粒在来自容器204的洗脱流体中悬浮以释放与微粒结合的核酸。然后,将颗粒在内孔壁上分开,并用吸移器自孔取出含有纯化的核酸的流体,并在多孔板102' 和102"的孔中分配。然后,依照测定方案将试剂205、206、207、208添加至含有纯化的核酸的孔。将要测试分析物A的样品等分试样与试剂205混合,将要测试分析物B的样品等分试样与试剂206混合并且进一步地,对于分析物C与试剂207混合,而对于分析物D与试剂208混合。然后,用热单元211a和211b进行热循环。这些单元进一步具有如图2中显示的检测单元以监测热循环期间的核酸扩增并评估孔中核酸的存在和/或浓度。

[0089] 在描绘的实施方案中,将必须进行测定法A和B的样品等分试样移液入板101' 中,而测试C和D的样品等分试样存在于板102' 中。热单元210a和210b各自可以运行不同温度概

况,而同一单元内的所有孔进行相同温度概况处理(即,图3中的热单元是统一的)。因而,测定法A和B必须具有相同温度概况,因为这两种测试在同一单元210a中进行。这意味着测定法A和B仅在它们与相同温育温度概况相容时归入相同测试类。

[0090] 依照下表,测定法A、B、C和D属于两个不同测试类:

测定法	测试类	底部/高水平温度	试剂
A	I	40 / 70	M
[0091] B	II	45 / 80	N
C	I	40 / 70	O
D	II	45 / 80	P

[0092] 将依照测定法A测试的样品等分试样(以+表示)和依照测定法C测试的样品等分试样(以X表示)在微孔板102'中分批在一起。在热单元211a中以在40和70℃间的热循环处理多孔板102'。

[0093] 将依照测定法B测试的样品等分试样(以•表示)和依照测定法D测试的样品等分试样(以-表示)在多孔板102"中分批在一起。在热单元211b中以在45和80℃间的热循环处理多孔板102"。

[0094] 如可以看出的,与仅将依照单一测定法测试的样品等分试样加载入同一多孔板中的自动化系统相比,在将不同测定法的样品等分试样分批在一起时可以更好地利用多孔板。还可以看出,若不存在足以填充多孔板的样品等分试样,则可以将多孔板的一些孔留空(无标志)。

[0095] 图4显示了分部式热单元211c,其具有可以彼此独立调节温度的两个区域211c',211c"。分部式热单元例如记载于US2005/0009070和W02008/030914。凭借此类热单元,有可能用位于与两个部分热偶联的孔中的样品混合物实施不同热概况。如可以看出的,在部分211c'中进行依照测定法A和C的热处理,而在部分211c"中进行依照测定法B和D的热处理。因此,凭借此类分部式热单元,若仅要进行相对少数的每类测定法,则有可能良好地利用多孔板并实现高通量。对于技术人员,完全想得到设计并采用具有超过两个部分(例如三个或四个)的热单元。

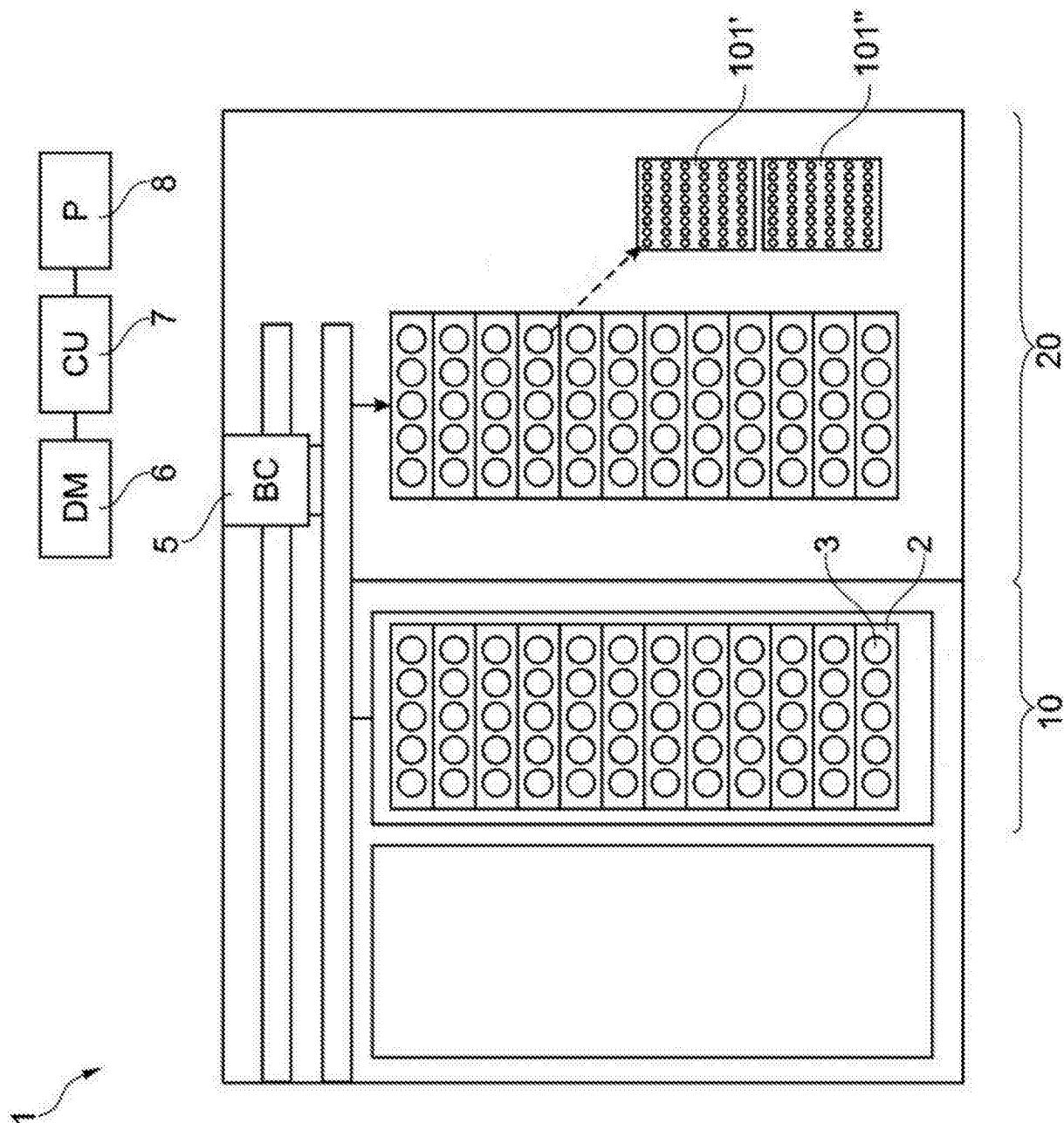


图1

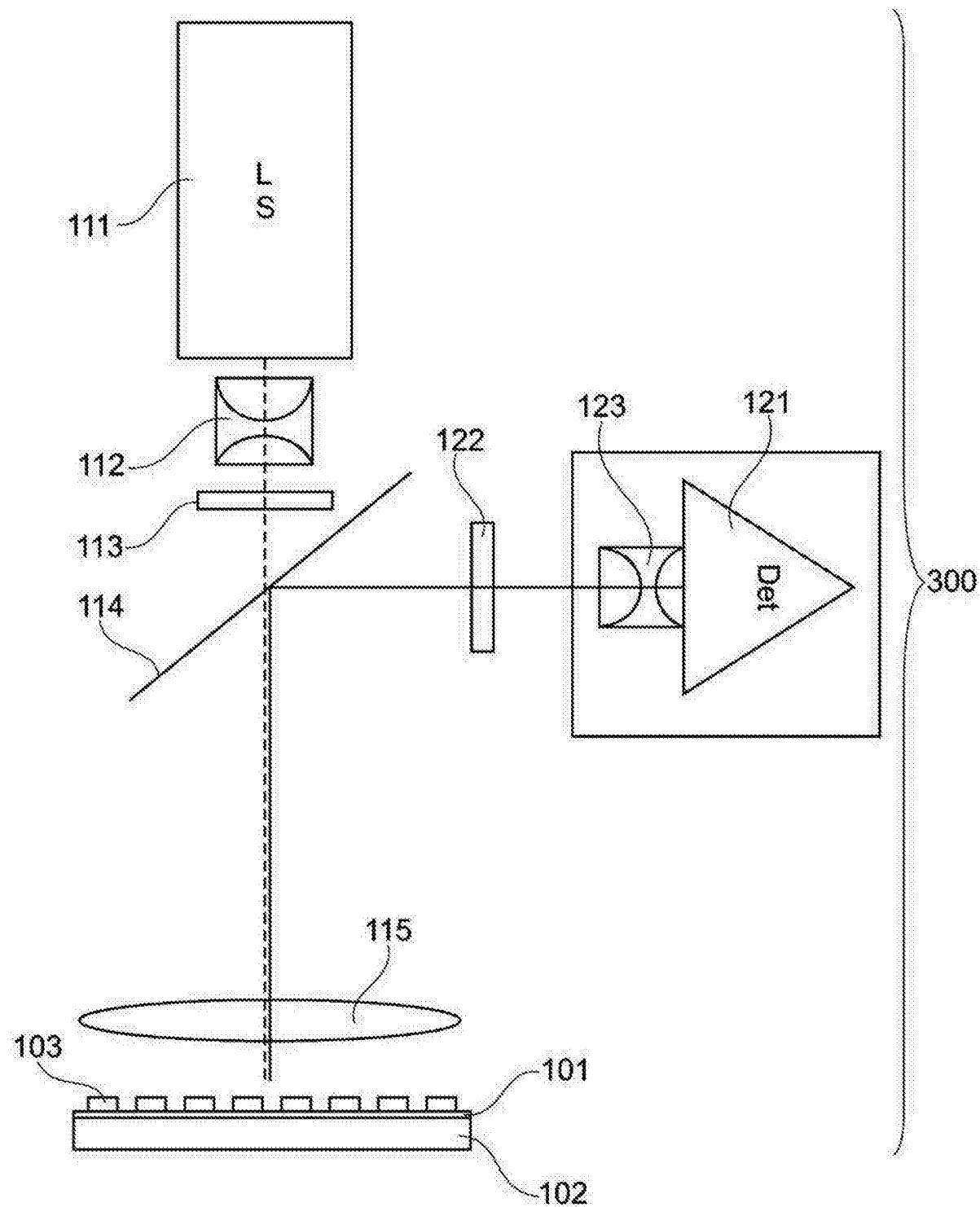


图2

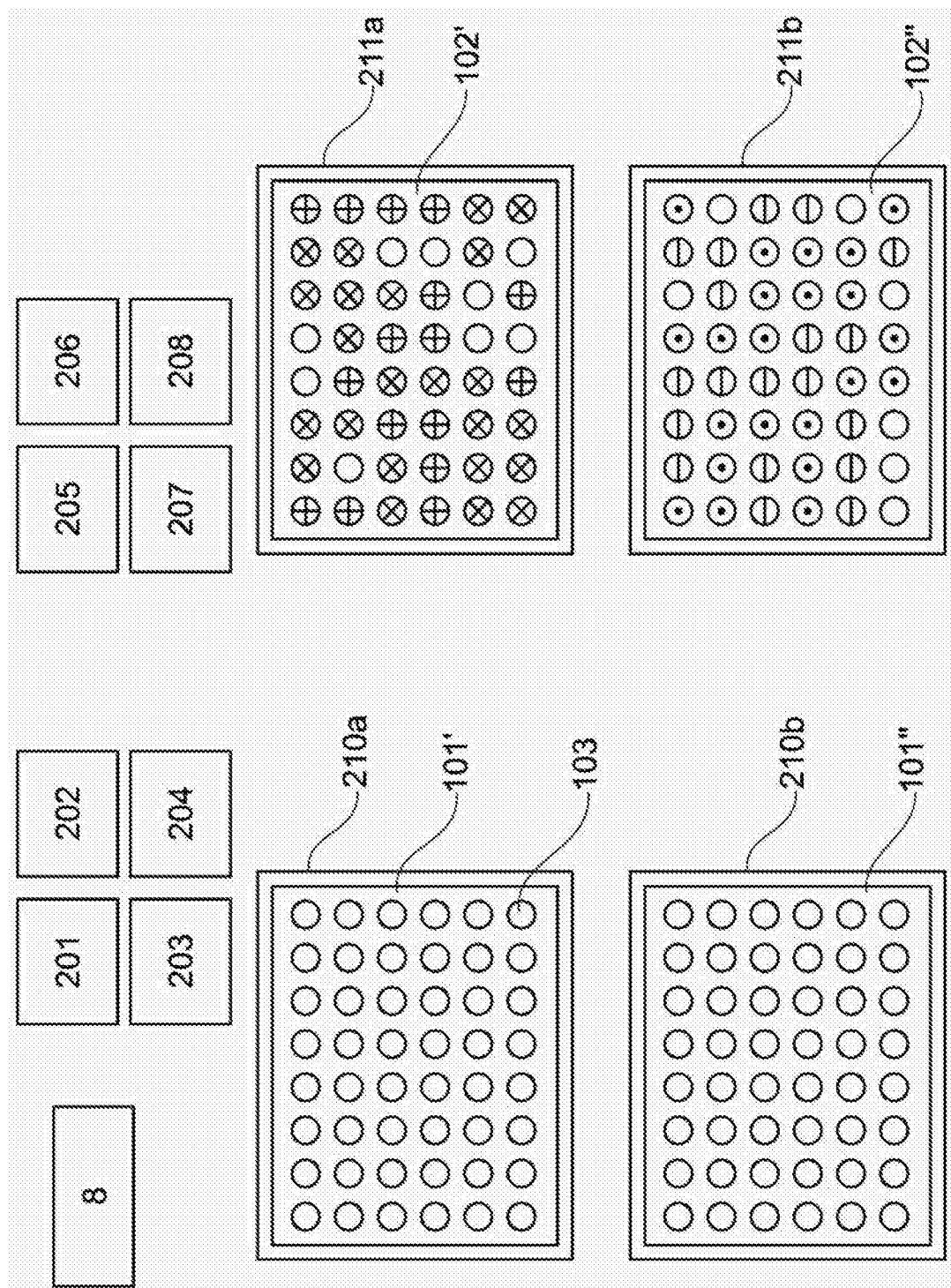


图3

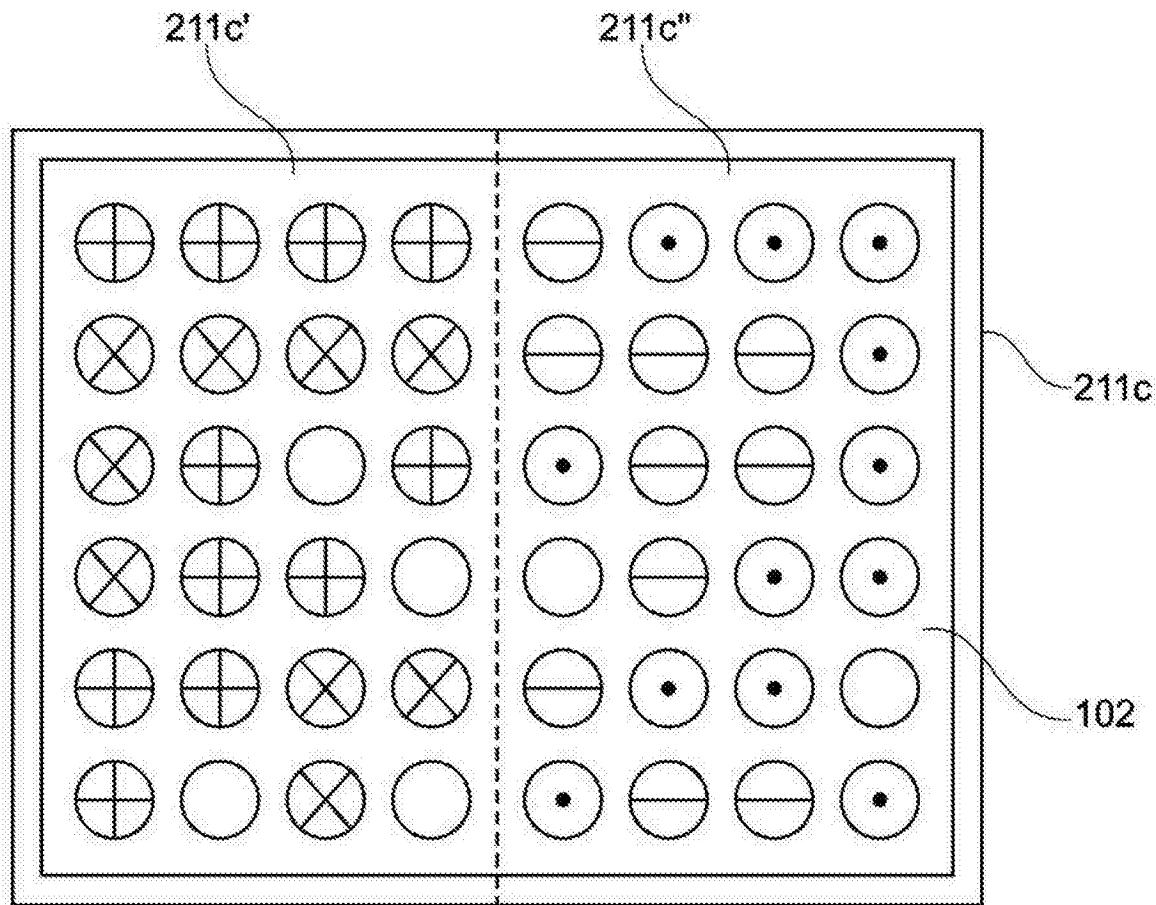


图4