(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114011479 B
(45)授权公告日 2023.05.02

(21)申请号 202111135982.1
(22)申请日 2018.06.06
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114011479 A
(43)申请公布日 2022.02.08
(30)优先权数据
62/515,876 2017.06.06 US
(62)分案原申请数据
201880048221.2 2018.06.06
(73)专利权人 西北大学
地址 美国伊利诺伊州
(72)发明人 D·M·凯尔索 A·K·阿加瓦尔
S·M·麦克法尔 T·韦斯特伯格
M·A·布泽尔 J·L·里德
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
B01L 3/00(2006.01)
B01L 7/00(2006.01)
(56)对比文件
US 2012295366 A1,2012.11.22
CN 103384565 A,2013.11.06
CN 101010592 A,2007.08.01
WO 2011076860 A1,2011.06.30
US 2016195523 A1,2016.07.07
US 2007110613 A1,2007.05.17
US 2011065209 A1,2011.03.17
审查员 贾宁

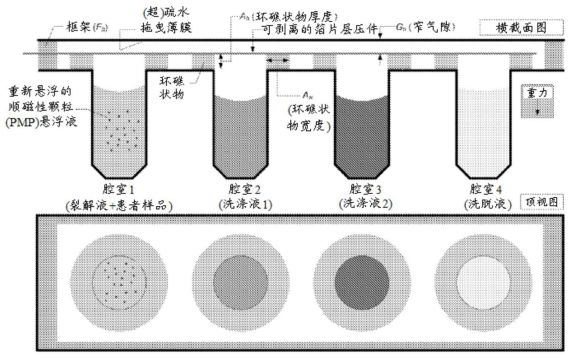
权利要求书1页 说明书29页 附图17页

(54)发明名称

跨界面磁性分离

(57)摘要

本文中提供了有助于从样品中磁性分离分析物的装置以及其使用方法。在特定的实施方案中,提供了用于从样品中跨界面磁性分离(TIMS)分析物的装置和方法。



CN 114011479 B

1.一种使顺磁性颗粒移动越过液体/空气界面的方法,包括:

(a) 提供包含顺磁性颗粒(PMP)的液体样品;

(b) 在所述液体内产生磁场以形成所述PMP的球粒;

(c) 定位所述磁场以将所述球粒放置在液体内并靠近所述液体/空气界面;

(d) 减小或消除所述PMP所经历的磁场;

(e) 在所述液体/空气界面的空气侧产生磁场;和

(f) 允许成球的PMP流动越过所述液体/空气界面并进入所述空气中,并且

所述方法是通过依次实施(a)至(f)实现的。

2.在根据权利要求1所述的方法,其中位于与转移表面的远端侧相邻的可移动磁体用于使在所述转移表面的近端侧上的PMP成球和流动。

3.根据权利要求2所述的方法,其中产生磁场包括将磁体放置在所述转移表面的远端侧附近或抵靠在所述转移表面的远端侧。

4.根据权利要求3所述的方法,减小或消除所述PMP所经历的磁场包括将所述磁体移动离开所述转移表面。

5.根据权利要求1所述的方法,其中所述PMP在其表面上显示捕获剂。

6.根据权利要求5所述的方法,其中所述捕获剂是核酸探针、抗体或抗体片段、或亲和剂。

7.根据权利要求5所述的方法,其中所述捕获剂结合到分析物。

8.根据权利要求1所述的方法,进一步包括:

(g) 定位所述磁场以将所述球粒放置在空气中并与空气/液体界面相邻;

(h) 减小或消除所述PMP所经历的磁场;

(i) 在空气/液体界面的液体侧产生磁场;和

(j) 允许成球的PMP流动越过所述空气/液体界面并进入所述液体中,并且

所述方法是通过依次实施(g)至(j)实现的。

9.根据权利要求8所述的方法,其中所述液体/空气界面的液体和所述空气/液体界面的液体是不同的液体。

跨界面磁性分离

[0001] 本发明申请是基于申请日为2018年6月6日,申请号为201880048221.2,发明名称为“跨界面磁性分离”的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本发明要求2017年6月6日提交的美国临时专利申请62/515,876的优先权权益,所述申请以引用的方式整体并入。

技术领域

[0004] 本文中提供了有助于从样品中磁性分离分析物的装置以及其使用方法。在特定的实施方案中,提供了用于从样品中跨界面磁性分离(TIMS)分析物的装置和方法。

背景技术

[0005] 在现场或在护理点设施中不能利用用于从生物和环境样品纯化和/或分离目标分析物的低成本而又有效的选项对许多潜在的诊断和环境测试解决方案构成了重大局限。

发明内容

[0006] 本文中提供了有助于从样品中磁性分离分析物的装置以及其使用方法。在特定的实施方案中,提供了用于从样品中跨界面磁性分离(TIMS)分析物的装置和方法。

[0007] 在一些实施方案中,本文中提供了分析物纯化装置,所述分析物纯化装置包括:(a)第一腔室和第二腔室,所述第一腔室和第二腔室各自包括封闭底部和顶部开口,所述腔室能够包含一定体积的液体,所述腔室的顶部开口沿着平面表面定位;(b)转移表面,所述转移表面设置在平面表面上方,具有朝向平面表面定向的近端侧和远离平面表面定向的远端侧,并且在平面表面与转移表面的近端侧之间产生气隙;(c)气锁室,所述气锁室沿着平面表面设置在第一腔室与第二腔室之间,其中气锁室中断了沿着平面表面的在两个腔室之间的路径;其中装置的尺寸被设计成使得离开第一腔室和第二腔室中的任一者的液体都不能跨过气锁,并且将在气锁的边缘处在平面表面与转移表面的近端侧之间产生液体/空气界面;其中所述气锁具有足够的大小,以防止气锁的任一侧上的由来自第一腔室和第二腔室的液体产生的液体/空气界面之间的接触。在一些实施方案中,第一腔室和第二腔室以及气锁沿着平面表面线性地对准。在一些实施方案中,转移表面的近端侧包括疏水薄膜或涂层。在一些实施方案中,装置还包括磁体,所述磁体定位在与转移表面的远端侧相邻之处。在一些实施方案中,磁体可沿着转移表面的远端侧横向地移动,并且能够单独地在第一腔室和第二腔室以及气锁上方定位在转移表面上。在一些实施方案中,由磁体产生的磁场在磁体处于相邻位置时被施加到第一腔室或第二腔室,但是在磁体处于远侧位置时在腔室内减小。

[0008] 在一些实施方案中,本文中提供了分析物纯化系统,所述分析物纯化系统包括本文(例如,前述段落和本文的其他位置)描述的装置(例如,盒)以及在第一腔室和第二腔室内的缓冲溶液。在一些实施方案中,第一腔室中的缓冲溶液包括顺磁性颗粒(PMP)。在一些

实施方案中，PMP在其表面上显示捕获剂。在一些实施方案中，捕获剂是核酸、抗体或抗体片段或亲和剂。在一些实施方案中，捕获剂结合到分析物。在一些实施方案中，第一腔室中的缓冲液是有助于分析物结合到捕获剂的杂交缓冲液。

[0009] 在一些实施方案中，本文中提供了方法，所述方法包括：(a)将本文(例如，前述段落和本文的其他位置)描述的系统的磁体定位在第一腔室上方，从而在第一腔室上方抵靠转移表面的近端侧收集PMP；(b)沿着转移表面横向地移动磁场，从而使PMP沿着转移表面的近端侧移动穿过气隙，并且将PMP定位在第二腔室上方；以及(c)将PMP释放到第二腔室中包含的缓冲液中。在一些实施方案中，第二缓冲液是洗涤缓冲液。在一些实施方案中，沿着转移表面横向地移动磁场包括：(i)沿着第一腔室与第二腔室之间的路径移动磁场以将所收集的PMP带到第一腔室的液体与气锁之间的空气/液体界面附近或与所述空气/液体界面相邻之处；(ii)减小或消除PMP所经历的磁场；(iii)在气隙内重新产生磁场；(iv)允许PMP在液体内成球以从液体流出到气隙中。

[0010] 在一些实施方案中，本文中提供了分析物纯化装置，所述分析物纯化装置包括：(a)第一腔室和第二腔室，所述第一腔室和第二腔室各自包括封闭底部和顶部开口，所述腔室能够包含一定体积的液体；(b)通道，所述通道连接第一腔室和第二腔室，其中所述通道在第一腔室的底部附近连接到第一腔室，并且其中所述通道在第二腔室的顶部附近连接到第二腔室，使得当装置处于平面定向时，液体必须向上流过通道以从第一腔室移动到第二腔室；(c)通风口，所述通风口将第一腔室连接到装置的外部，其中所述通风口在第一腔室的顶部附近连接到第一腔室；以及(d)柱塞帽，其中所述柱塞帽装配在第一腔室的顶部开口内并且密封第一腔室的顶部开口，但是不密封通向第一腔室的通风口，其中在手动地将柱塞帽进一步压入到第一腔室中时，柱塞帽也密封通风口。在一些实施方案中，当装置处于非平面定向时，液体可以流过通道以从第一腔室移动到第二腔室，而不会向上流动。

[0011] 在一些实施方案中，本文中提供了分析物纯化系统，所述分析物纯化系统包括本文(例如，前述段落和本文的其他位置)描述的装置(例如，盒)以及定位在与第一腔室相邻之处的第一加热器。在一些实施方案中，第一加热器被配置成将第一腔室内的材料加热到超过90℃的温度。在一些实施方案中，系统还包括定位在与第二腔室相邻之处的第二加热器。在一些实施方案中，第二加热器被配置成将第二腔室内的材料加热到50℃至75℃的温度。在一些实施方案中，系统还包括在第一腔室内的样品。在一些实施方案中，样品是包含细胞的生物样品。在一些实施方案中，系统还包括在第一腔室内的裂解缓冲液。在一些实施方案中，样品包含目标分析物。在一些实施方案中，系统还包括在第二腔室中的顺磁性颗粒(PMP)。在一些实施方案中，PMP被干燥到第二腔室的壁和/或底部。在一些实施方案中，PMP显示对目标分析物具有亲和力的捕获剂。

[0012] 在一些实施方案中，本文中提供了方法，所述方法包括：(a)将样品添加到本文(例如，前述段落和本文的其他位置中)描述的系统的第一腔室，其中装置处于平面定向；(b)用柱塞帽密封第一腔室的开口；(c)在第一腔室中孵育样品；(d)将装置重新定向为非平面定向；(e)压下柱塞帽以将样品从第一腔室转移到第二腔室；以及(f)在第二腔室中孵育样品。在一些实施方案中，样品包含细胞和裂解缓冲液。在一些实施方案中，方法还包括加热样品。

[0013] 在一些实施方案中，本文中提供了分析物纯化装置，所述分析物纯化装置包括：

(a)细胞裂解室,所述细胞裂解室包括封闭底部和开口顶部,所述细胞裂解室能够包含一定体积的液体;(b)分析物捕获室,所述分析物捕获室包括封闭底部和开口顶部,所述细胞裂解室能够包含一定体积的液体;(c)转移通道,所述转移通道将细胞裂解室连接到分析物捕获室,其中转移通道在细胞裂解室的底部附近连接到细胞裂解室,其中转移通道在分析物捕获室顶部附近连接到分析物捕获室,使得当装置处于平面定向时,液体必须向上流过转移通道以从细胞裂解室移动到分析物捕获室,其中当装置处于非平面定向时,液体可以流过通道以从裂解室移动到分析物捕获室,而不会向上流动;(d)通风口,所述通风口将细胞裂解室连接到装置的外部,其中通风口在细胞裂解室的顶部附近连接到细胞裂解室;(e)柱塞帽,其中当柱塞帽处于第一位置时,柱塞帽密封细胞裂解室的顶部开口,但是不密封通向细胞裂解室的通风口,并且其中在手动地将柱塞帽进一步压入到细胞裂解室中时,柱塞帽也密封通风口;(f)洗涤室,洗涤捕获室包括封闭底部和开口顶部,所述洗涤室能够包含一定体积的液体,洗涤室的底部包括浅部分和深部分,其中当装置处于平面定向时,一定体积的液体将定位在洗涤室的底部的深部分中,并且其中当装置处于非平面定向时,所述体积的液体将定位在洗涤室的底部的浅部分中;(g)气锁室,所述气锁室沿着平面表面设置在分析物捕获室与洗涤室之间,其中气锁室中断了沿着平面表面的在两个腔室之间的转移路径;(h)隔离层,其中所述隔离层安设在平面表面上方并且包括切口,所述切口靠近分析物捕获室、气锁室和洗涤室的周边,并且限定从分析物捕获室到洗涤室的转移路径的侧部;以及(i)转移表面,所述转移表面设置在隔离层上方,具有朝向平面表面定向的近端侧和远离平面表面定向的远端侧,并且在分析物捕获室、气锁室、洗涤室和转移路径上方在平面表面与转移表面的近端侧之间产生气隙。在一些实施方案中,平面表面包括放置在包括腔室的盒顶上的膜(例如,基层)。在一些实施方案中,装置的尺寸被设计成使得通过分析物捕获室的顶部开口离开所述腔室的液体可以沿着转移路径行进,但是不能跨过气锁,并且将在气锁的边缘处在平面表面与转移表面的近端侧之间产生第一液体/空气界面,并且其中通过洗涤室的顶部开口离开所述腔室的液体可以沿着转移路径行进,但是不能跨过气锁,并且将在气锁的边缘处在平面表面与转移表面的近端侧之间产生第二液体/空气界面。在一些实施方案中,气锁具有足够的大小,以防止第一液体/空气界面与第二液体/空气界面之间的接触。在一些实施方案中,分析物捕获室、洗涤室的浅底部和气锁沿着转移路径线性地对准。

[0014] 在一些实施方案中,本文中提供了系统,所述细胞包括本文(例如,前述段落和其他位置)描述的分析物纯化装置,并且还包括:(i)第一加热器,所述第一加热器定位在与裂解室相邻之处,其中第一加热器被配置成将裂解室内的材料加热到超过90℃的温度;(ii)第二加热器,所述第二加热器定位在与分析物捕获室相邻之处,其中第二加热器被配置成将分析物捕获室内的材料加热到50℃至75℃的温度;以及(iii)磁体,所述磁体定位在转移表面的远端侧上,其中磁体可沿着转移表面的远端侧横向地移动,并且能够沿着转移路径单独地定位在分析物捕获室、气锁室和洗涤室上方,其中由磁体产生的磁场在磁体处于相邻位置时被施加到分析物捕获室、气锁室和洗涤室,但是在磁体处于远侧位置时减小。

[0015] 在一些实施方案中,本文中提供了方法,所述方法包括:(a)提供本文(例如,前述段落和其他位置)描述的系统;其中所述系统还包括:(i)洗涤室中的洗涤缓冲液;以及(ii)顺磁性颗粒(PMP),所述PMP被干燥到分析物捕获室的壁和/或底部,其中PMP在其表面上显

示分析物捕获剂;(b)将系统放置在平面定向上;(c)将样品添加到裂解室,其中所述样品包含分析物和裂解缓冲液;(d)用柱塞帽密封裂解室的开口;(e)在第一温度下在裂解室中孵育样品以使样品内的细胞裂解;(f)将装置重新定向为非平面定向,由此对装置进行重新定向允许洗涤缓冲液从洗涤室流动到转移路径中并且形成第二液体/空气界面;(g)压下柱塞帽以将样品从裂解室转移到分析物捕获室,其中装置的非平面定向允许液体从细胞裂解室流动到转移路径中并且形成第一液体/空气界面;(h)将装置重新定向为平面定向;(i)在第二温度下在分析物捕获室中孵育样品以使PMP重新悬浮并且通过分析物捕获剂捕获分析物;(j)将磁体定位在分析物捕获室上方,从而抵靠转移表面的近端侧收集PMP;(k)沿着转移路径移动磁场以将所收集的PMP带到分析物裂解室的液体与气锁之间的第一空气/液体界面附近或与所述第一空气/液体界面相邻之处;(l)减小或消除PMP所经历的磁场;(m)在气隙内重新产生磁场;(n)允许所收集的PMP从液体流出到气隙中;(o)越过第二液体/空气界面移动磁场,从而将PMP拖曳到洗涤缓冲液的液体中;以及(p)将PMP释放到洗涤室中包含的缓冲液中。在其他实施方案中,代替将PMP干燥到分析物捕获室的壁和/或底部,将所述PMP干燥到洗涤室的壁/底部,当将洗涤试剂释放到洗涤室中时,可以通过磁体将PMP从洗涤室移动到分析物捕获室中(例如,在已经将样品从裂解室转移到分析物捕获室之后)。

[0016] 在一些实施方案中,本文中提供了装置,所述装置包括:(a)多个腔室(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10个腔室),所述多个腔室各自包括封闭底部(例如,永久地密封或通过可移除的盖帽、唇缘或其他封闭件密封)和顶部开口,所述腔室能够包含一定体积的液体,所述腔室的顶部开口沿着平面表面定位;(b)凸出的环礁状物,所述凸出的环礁状物安设在平面表面顶上,具有带有限定形状和尺寸(宽度和高度)的外缘和顶表面,并且包围多个腔室中的每一个的顶部开口的周边;以及(c)转移表面,所述转移表面设置在平面表面上方,具有朝向平面表面和腔室定向的近端侧以及朝向装置的外部定向的远端侧,并且在环礁状物的顶部上方产生具有距离G_h的气隙;其中在装置倒置时,重力通过腔室的顶部开口将腔室内的液体引出,但是表面张力和毛细管力阻止液体流到凸出的环礁状物的外缘之外,从而围绕每个腔室开口产生固定液池;并且其中相邻的腔室充分地隔开以防止围绕每个腔室开口的固定液池之间的接触,从而在固定液池之间产生具有距离A_g的气隙。

[0017] 在一些实施方案中,凸出的环礁状物包围腔室开口的顶部并且具有相同的形状,但是具有更大的宽度或直径。在一些实施方案中,腔室开口是圆形的并且凸出的环礁状物是环形的。在一些实施方案中,凸出的环礁状物和腔室开口不是相同的形状。在一些实施方案中,腔室开口和/或环礁状物是不对称的。在一些实施方案中,环礁状物是矩形、卵形、沙漏形或其他形状。在一些实施方案中,环礁状物被附接到装置的表面。在一些实施方案中,环礁状物是装置的表面的一部分。在一些实施方案中,凸出的环礁状物包括圆化的内缘。在一些实施方案中,多个腔室沿着平面表面线性地对准。在一些实施方案中,当腔室包含粘度在0.5与15厘泊之间(例如,0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或其间的范围)的液体时,在装置倒置时围绕每个腔室开口形成固定液池。在一些实施方案中,转移表面的近端侧包括薄膜(例如,具有疏水涂层(例如,图案化的疏水涂层))。在一些实施方案中,选择优化与具有已知粘度的特定液体一起使用的气隙的尺寸。

[0018] 在一些实施方案中,本文的装置、系统和方法包括从腔室上方或下方产生来相应地将PMP引出腔室或将PMP放置到腔室中的磁场。在一些实施方案中,通过将磁体放置在所

需的位置来产生磁场。

[0019] 在一些实施方案中，装置还包括磁体，所述磁体定位在与转移表面的远端侧相邻之处。在一些实施方案中，磁体可沿着转移表面的远端侧横向地移动(或在弧上，或沿着不同的限定路径移动，这取决于腔室的布置)，并且能够单独地在腔室中的每一个上方定位在转移表面上。在一些实施方案中，磁体能够在多个腔室中的一个或多个上方升高和降低。在一些实施方案中，由磁体产生的磁场在磁体处于降低位置时被施加到腔室，但是在磁体处于升高位置时在腔室内减小。

[0020] 在一些实施方案中，装置还包括定位在腔室中的一个或多个下方的磁体。在一些实施方案中，腔室下方的磁体可横向地移动并且能够单独地定位在腔室中的每一个下方。在一些实施方案中，腔室下方的磁体能够在多个腔室中的一个或多个下方升高和降低。在一些实施方案中，由腔室下方的磁体产生的磁场在磁体处于升高位置时被施加到腔室，但是在磁体处于降低位置时在腔室内减小。

[0021] 在一些实施方案中，装置还包括一个或多个温度控制区域(例如，加热器和/或冷却器)以有助于试剂的重新悬浮、分析物相对于PMP的结合/释放等。温度控制区域可以沿着腔室的长度，沿着转移表面的一部分等定位。在一些实施方案中，装置包括一个或多个温度调节元件(例如，加热器和/或冷却器)。在一些实施方案中，装置包括加热器，所述加热器接近于样品混合室并且被配置成加热腔室的内容物。在一些实施方案中，加热混合室的内容物有助于混合。在一些实施方案中，加热器具有圆柱形的形状和/或被成形为紧密地围绕腔室(例如，混合室)壁的外部装配。在一些实施方案中，装置包括接近于腔室(例如，样品混合室)的冷却器，其中所述冷却器被配置成冷却腔室的内容物。在一些实施方案中，冷却混合室的内容物有助于分析物结合到PMP。在一些实施方案中，装置包括位于转移表面的远端侧上(例如，在洗脱室附近或与所述洗脱室相邻)的加热器，其中所述加热器被配置成加热蓄积在转移表面上的液体。在一些实施方案中，加热蓄积在转移表面上的液体有助于将分析物从PMP释放。

[0022] 在一些实施方案中，本文中提供了系统，所述系统包括本文描述的装置与一种或多种试剂。在一些实施方案中，试剂是液体试剂。在一些实施方案中，试剂是干燥、固体或冻干试剂。试剂可以包含在腔室内。在一些实施方案中，试剂与腔室隔绝(例如，在胶囊内或在胶囊内的膜后方)。在一些实施方案中，在破坏或溶解使试剂与腔室的其余部分隔绝的材料(例如，胶囊、护罩、膜等)时释放试剂。在一些实施方案中，试剂被涂覆或附着到腔室的表面(例如，侧部或底部)或者腔室的封盖。

[0023] 在一些实施方案中，本文中提供了系统，所述系统包括本文描述的装置和在多个腔室中的每一个内的缓冲溶液。在一些实施方案中，缓冲溶液包含分析物结合缓冲液、一种或多种洗涤缓冲液和洗脱缓冲液。在一些实施方案中，系统包括在每个腔室的顶部开口之上的盖子，所述盖子防止腔室中包含的缓冲溶液在运输、储存和/或处理期间溢出。在一些实施方案中，单个盖子越过环礁状物的顶表面延伸。在一些实施方案中，盖子是可剥离的箔片层压件。

[0024] 在一些实施方案中，系统还包括对目标分析物展示捕获剂的顺磁性颗粒(PMP)。在一些实施方案中，PMP连同分析物结合缓冲液一起包含在腔室中的一个中，所述分析物结合缓冲液有助于捕获剂结合到目标分析物。

[0025] 在一些实施方案中，系统还包括包含目标分析物的样品。

[0026] 在一些实施方案中，系统还包括用于混合腔室内包含的组分的装置。

[0027] 在一些实施方案中，本文中提供了方法，所述方法包括：(a)将以下项组合：(i)样品；(ii)展示对分析物具有亲和力的捕获剂的顺磁性颗粒(PMP)；以及(iii)在本文描述的装置的第一腔室中的分析物结合缓冲液，其中第二缓冲液包含在与第一腔室相邻的第二腔室中；(b)将样品、PMP和分析物结合缓冲液在第一腔室中混合，从而允许捕获剂结合到分析物；(c)将装置倒置，从而在第一腔室和第二腔室上方相应地产生分析物结合缓冲液和第二缓冲液的固定池；(d)将磁场施加在第一腔室上方，从而在第一腔室上方抵靠转移表面的近端侧收集PMP；(e)沿着转移表面横向地移动磁场，从而使PMP沿着转移表面的近端侧移动穿过气隙，并且将PMP定位在第二腔室上方；以及(f)将PMP释放到相邻腔室中包含的第二缓冲液中。在一些实施方案中，第二缓冲液是洗涤缓冲液。在一些实施方案中，由定位在与转移表面的远端侧相邻之处的磁体施加第一腔室上方的磁场。在一些实施方案中，通过升高磁体，将第二磁场施加在相邻腔室下方或两者，将PMP释放到相邻腔室中包含的第二缓冲液中。

[0028] 在一些实施方案中，所述装置包括第三腔室，所述第三腔室与第二腔室相邻并且包括第三缓冲液。在一些实施方案中，所述方法包括：(g)将PMP和第二缓冲液在第二腔室中混合，从而将污染物从分析物和/或PMP中洗去；(h)将磁场施加在第二腔室上方，从而在第二腔室上方抵靠转移表面的近端侧收集PMP；(i)沿着转移表面横向地移动磁场，从而使PMP沿着转移表面的近端侧移动穿过气隙，并且将PMP定位在第三腔室上方；以及(j)将PMP释放到第三腔室中包含的第三缓冲液中。在一些实施方案中，第三缓冲液是洗涤缓冲液或洗脱缓冲液。

[0029] 在一些实施方案中，所述装置包括第四腔室，所述第四腔室与第三腔室相邻并且包含第四缓冲液。在一些实施方案中，方法包括：(k)将PMP和第三缓冲液在第三腔室中混合，从而将污染物从分析物和/或PMP中洗去；(l)将磁场施加在第三腔室上方，从而在第三腔室上方抵靠转移表面的近端侧收集PMP；(m)沿着转移表面横向地移动磁场，从而使PMP沿着转移表面的近端侧移动穿过气隙，并且将PMP定位在第四腔室上方；以及(n)将PMP释放到第四腔室中包含的第四缓冲液中。在一些实施方案中，第四缓冲液是洗脱缓冲液。

[0030] 在一些实施方案中，本文中提供了本文描述的装置或系统用于从样品提取、分离和/或纯化分析物的用途。

[0031] 在一些实施方案中，本文中提供了套件，所述套件包括本文描述的装置、一种或多种缓冲液和/或对分析物展示捕获剂的顺磁性颗粒。

[0032] 本发明包括：

[0033] 1.一种分析物纯化装置，所述分析物纯化装置包括：

[0034] (a)第一腔室和第二腔室，所述第一腔室和所述第二腔室各自包括封闭底部和顶部开口，所述腔室能够包含一定体积的液体，所述腔室的所述顶部开口沿着平面表面定位；

[0035] (b)转移表面，所述转移表面设置在所述平面表面上方，具有朝向所述平面表面定向的近端侧和远离所述平面表面定向的远端侧，并且在所述平面表面与所述转移表面的所述近端侧之间产生气隙；

[0036] (c)气锁室，所述气锁室沿着所述平面表面设置在所述第一腔室与所述第二腔室

之间,其中所述气锁室中断了沿着所述平面表面的在所述两个腔室之间的路径;

[0037] 其中所述装置的尺寸被设计成使得离开所述第一腔室和所述第二腔室中的任一者的液体都不能跨过所述气锁,并且将在所述气锁的边缘处在所述平面表面与所述转移表面的所述近端侧之间产生液体/空气界面;

[0038] 其中所述气锁具有足够的大小,以防止所述气锁的任一侧上的由来自所述第一腔室和所述第二腔室的液体产生的所述液体/空气界面之间的接触。

[0039] 2.如项1所述的装置,其中所述第一腔室和所述第二腔室以及所述气锁沿着所述平面表面线性地对准。

[0040] 3.如项1所述的装置,其中所述转移表面的近端侧包括疏水薄膜或涂层。

[0041] 4.如项1所述的装置,所述装置还包括磁体,所述磁体定位在与所述转移表面的所述远端侧相邻之处。

[0042] 5.如项4所述的装置,其中所述磁体能够沿着所述转移表面的所述远端侧横向地移动,并且能够单独地在所述第一腔室和所述第二腔室以及所述气锁上方定位在所述转移表面上。

[0043] 6.如项5所述的装置,其中由所述磁体产生的磁场在所述磁体处于相邻位置时被施加到所述第一腔室或所述第二腔室,但是在所述磁体处于远侧位置时在腔室内减小。

[0044] 7.一种系统,所述系统包括如项1至6中一项所述的分析物纯化装置以及在所述第一腔室和所述第二腔室内的缓冲溶液。

[0045] 8.如项7所述的系统,其中所述第一腔室中的缓冲溶液包括顺磁性颗粒(PMP)。

[0046] 9.如项8所述的系统,其中所述PMP在其表面上显示捕获剂。

[0047] 10.如项9所述的系统,其中所述捕获剂是核酸、抗体或抗体片段或亲和剂。

[0048] 11.如项9所述的系统,其中所述捕获剂结合到分析物。

[0049] 12.如项11所述的系统,其中所述第一腔室中的所述缓冲液是有助于所述分析物结合到所述捕获剂的杂交缓冲液。

[0050] 13.一种方法,所述方法包括:

[0051] (a)将如项12所述的系统的所述磁体定位在所述第一腔室上方,从而在所述第一腔室上方抵靠所述转移表面的所述近端侧收集所述PMP;

[0052] (b)沿着所述转移表面横向地移动所述磁场,从而使所述PMP沿着所述转移表面的所述近端侧移动穿过所述气隙,并且将所述PMP定位在所述第二腔室上方;以及

[0053] (c)将所述PMP释放到所述第二腔室中包含的缓冲液中。

[0054] 14.如项13所述的方法,其中所述第二缓冲液是洗涤缓冲液。

[0055] 15.如项13所述的方法,其中沿着所述转移表面横向地移动所述磁场包括:

[0056] (i)沿着所述第一腔室与所述第二腔室之间的所述路径移动所述磁场以将所收集的PMP带到所述第一腔室的液体与所述气锁之间的空气/液体界面附近或与所述空气/液体界面相邻之处;

[0057] (ii)减小或消除所述PMP所经历的所述磁场;

[0058] (iii)在所述气隙内重新产生所述磁场;

[0059] (iv)允许所述PMP在所述液体内成球以从所述液体流出到所述气隙中。

[0060] 16.一种分析物纯化装置,所述分析物纯化装置包括:

[0061] (a)第一腔室和第二腔室,所述第一腔室和所述第二腔室各自包括封闭底部和顶部开口,所述腔室能够包含一定体积的液体;

[0062] (b)通道,所述通道连接所述第一腔室和所述第二腔室,其中所述通道在所述第一腔室的所述底部附近连接到所述第一腔室,并且其中所述通道在所述第二腔室的顶部附近连接到所述第二腔室,使得当所述装置处于平面定向时,液体必须向上流过所述通道以从所述第一腔室移动到所述第二腔室;

[0063] (c)通风口,所述通风口将所述第一腔室连接到所述装置的外部,其中所述通风口在所述第一腔室的顶部附近连接到所述第一腔室;以及

[0064] (d)柱塞帽,其中所述柱塞帽装配在所述第一腔室的顶部开口内并且密封所述第一腔室的所述顶部开口,但是不会密封通向所述第一腔室的所述通风口,其中在手动地将所述柱塞帽进一步压入到所述第一腔室中时,所述柱塞帽也密封所述通风口。

[0065] 17.如项16所述的装置,其中当所述装置处于非平面定向时,液体可以流过所述通道以从所述第一腔室移动到所述第二腔室,而不会向上流动。

[0066] 18.一种系统,所述系统包括如项16至17中一项所述的分析物纯化装置,以及定位在与所述第一腔室相邻之处的第一加热器。

[0067] 19.如项18所述的系统,其中所述第一加热器被配置成将所述第一腔室内的材料加热到超过90℃的温度。

[0068] 20.如项19所述的系统,所述系统还包括定位在与所述第二腔室相邻之处的第二加热器。

[0069] 21.如项20所述的系统,其中所述第二加热器被配置成将所述第二腔室内的材料加热到50℃至75℃的温度。

[0070] 22.如项18所述的系统,所述系统还包括在所述第一腔室内的样品。

[0071] 23.如项22所述的系统,其中所述样品是包含细胞的生物样品。

[0072] 24.如项23所述的系统,所述系统还包括在所述第一腔室内的裂解缓冲液。

[0073] 25.如项22所述的系统,其中所述样品包含目标分析物。

[0074] 26.如项25所述的系统,所述系统还包括在所述第二腔室中的顺磁性颗粒(PMP)。

[0075] 27.如项26所述的系统,其中所述PMP被干燥到所述第二腔室的壁和/或底部。

[0076] 28.如项25所述的系统,其中所述PMP显示对所述目标分析物具有亲和力的捕获剂。

[0077] 29.一种方法,所述方法包括:

[0078] (a)将样品添加到如项18所述的系统的所述第一腔室,其中所述装置处于所述平面定向;

[0079] (b)用所述柱塞帽密封所述第一腔室的所述开口;

[0080] (c)在所述第一腔室中孵育所述样品;

[0081] (d)将所述装置重新定向为非平面定向;

[0082] (e)压下所述柱塞帽以将所述样品从所述第一腔室转移到所述第二腔室;以及

[0083] (f)在所述第二腔室中孵育所述样品。

[0084] 30.如项29所述的方法,其中所述样品包含细胞和裂解缓冲液。

[0085] 31.如项30所述的方法,其中步骤(c)包括加热所述样品。

[0086] 32.一种分析物纯化装置,所述分析物纯化装置包括:

[0087] (a)细胞裂解室,所述细胞裂解室包括封闭底部和开口顶部,所述细胞裂解室能够包含一定体积的液体;

[0088] (b)分析物捕获室,所述分析物捕获室包括封闭底部和开口顶部,所述细胞裂解室能够包含一定体积的液体;

[0089] (c)转移通道,所述转移通道将所述细胞裂解室连接到所述分析物捕获室,其中所述转移通道在所述细胞裂解室的所述底部附近连接到所述细胞裂解室,其中所述转移通道在所述分析物捕获室的所述顶部附近连接到所述分析物捕获室,使得当所述装置处于平面定向时,液体必须向上流过所述转移通道以从所述细胞裂解室移动到所述分析物捕获室,其中当所述装置处于非平面定向时,液体可以流过所述通道以从所述裂解室移动到所述分析物捕获室,而不会向上流动;

[0090] (d)通风口,所述通风口将所述细胞裂解室连接到所述装置的外部,其中所述通风口在所述细胞裂解室的所述顶部附近连接到所述细胞裂解室;

[0091] (e)柱塞帽,其中当所述柱塞帽处于第一位置时,所述柱塞帽密封所述细胞裂解室的顶部开口,但是不密封通向所述细胞裂解室的所述通风口,并且其中在手动地将所述柱塞帽进一步压入到所述细胞裂解室中时,所述柱塞帽也密封所述通风口;

[0092] (f)洗涤室,洗涤捕获室包括封闭底部和开口顶部,所述洗涤室能够包含一定体积的液体,所述洗涤室的所述底部包括浅部分和深部分,其中当所述装置处于所述平面定向时,一定体积的液体将定位在所述洗涤室的所述底部的所述深部分中,并且其中当所述装置处于非平面定向时,所述体积的液体将定位在所述洗涤室的所述底部的所述浅部分中;

[0093] (g)气锁室,所述气锁室沿着平面表面设置在所述分析物捕获室与所述洗涤室之间,其中所述气锁室中断了沿着所述平面表面的在所述两个腔室之间的转移路径;

[0094] (h)隔离层,其中所述隔离层安设在所述平面表面上方并且包括切口,所述切口靠近所述分析物捕获室、所述气锁室和所述洗涤室的周边,并且限定从所述分析物捕获室到所述洗涤室的所述转移路径的侧部;以及

[0095] (i)转移表面,所述转移表面设置在所述隔离层上方,具有朝向所述平面表面定向的近端侧和远离所述平面表面定向的远端侧,并且在所述分析物捕获室、所述气锁室、所述洗涤室和所述转移路径上方在所述平面表面与所述转移表面的所述近端侧之间产生气隙。

[0096] 33.如项32所述的装置,其中所述装置的尺寸被设计成使得通过所述分析物捕获室的顶部开口离开所述腔室的液体能够沿着所述转移路径行进,但是不能跨过所述气锁,并且将在所述气锁的边缘处在所述平面表面与所述转移表面的所述近端侧之间产生第一液体/空气界面,并且其中通过所述洗涤室的顶部开口离开所述腔室的液体能够沿着所述转移路径行进,但是不能跨过所述气锁,并且将在所述气锁的所述边缘处在所述平面表面与所述转移表面的所述近端侧之间产生第二液体/空气界面。

[0097] 34.如项33所述的装置,其中所述气锁具有足够的大小,以防止所述第一液体/空气界面与所述第二液体/空气界面之间的接触。

[0098] 35.如项32所述的装置,其中所述分析物捕获室、所述洗涤室的所述浅底部和所述气锁沿着转移路径线性地对准。

[0099] 36.一种系统,所述系统包括如项32至35中一项所述的分析物纯化装置,并且还包

括：

[0100] (i)第一加热器，所述第一加热器定位在与所述裂解室相邻之处，其中所述第一加热器被配置成将所述裂解室内的材料加热到超过90℃的温度；

[0101] (ii)第二加热器，所述第二加热器定位在与所述分析物捕获室相邻之处，其中所述第二加热器被配置成将所述分析物捕获室内的材料加热到50℃至75℃的温度；以及

[0102] (iii)磁体，所述磁体定位在所述转移表面的所述远端侧上，其中所述磁体能够沿着所述转移表面的所述远端侧横向地移动，并且能够沿着所述转移路径单独地定位在所述分析物捕获室、所述气锁室和所述洗涤室上方，其中由所述磁体产生的磁场在所述磁体处于相邻位置时被施加到所述分析物捕获室、所述气锁室和所述洗涤室，但是在所述磁体处于远侧位置时减小。

[0103] 37.一种方法，所述方法包括：

[0104] (a)提供如项36所述的系统，其中所述系统还包括：

[0105] (i)所述洗涤室中的洗涤缓冲液，以及

[0106] (ii)顺磁性颗粒(PMP)，所述PMP被干燥到所述分析物捕获室的壁和/或底部，其中所述PMP在其表面上显示分析物捕获剂，

[0107] (b)将所述系统放置在平面定向上；

[0108] (c)将样品添加到所述裂解室，其中所述样品包含所述分析物和裂解缓冲液；

[0109] (d)用所述柱塞帽密封所述裂解室的所述开口；

[0110] (e)在第一温度下在所述裂解室中孵育所述样品以使所述样品内的细胞裂解；

[0111] (f)将所述装置重新定向为非平面定向，由此对所述装置进行重新定向允许所述洗涤缓冲液从所述洗涤室流动到所述转移路径中并且形成所述第二液体/空气界面；

[0112] (g)压下所述柱塞帽以将所述样品从所述裂解室转移到所述分析物捕获室，其中所述装置的所述非平面定向允许所述液体从所述细胞裂解室流动到所述转移路径中并且形成所述第一液体/空气界面；

[0113] (h)将所述装置重新定向为所述平面定向；

[0114] (i)在第二温度下在所述分析物捕获室中孵育所述样品以使所述PMP重新悬浮并且通过所述分析物捕获剂捕获所述分析物；

[0115] (j)将所述磁体定位在所述分析物捕获室上方，从而抵靠所述转移表面的所述近端侧收集所述PMP；

[0116] (k)沿着所述转移路径移动所述磁场以将所收集的PMP带到所述分析物裂解室的所述液体与所述气锁之间的所述第一空气/液体界面附近或与所述第一空气/液体界面相邻之处；

[0117] (l)减小或消除所述PMP所经历的所述磁场；

[0118] (m)在所述气隙内重新产生所述磁场；

[0119] (n)允许所述所收集的PMP从所述液体流出到所述气隙中；

[0120] (o)越过所述第二液体/空气界面移动所述磁场，从而将所述PMP拖曳到洗涤缓冲液的液体中；以及

[0121] (p)将所述PMP释放到所述洗涤室中包含的所述缓冲液中。

附图说明

[0122] 图1.用于分析物纯化和提取的示例性跨界面磁性分离(TIMS)盒的横截面和俯视示意图。腔室含有适当的缓冲液。腔室1包含重新悬浮型顺磁性颗粒(PMP)悬浮液。在使用之前移除可剥离的箔片层压件。

[0123] 图2.处于倒置位置的示例性TIMS盒的横截面和俯视示意图。在TIMS盒倒置的情况下,在上方的气腔中的低压平衡静水压力。环礁状物的外径(OD)边缘和疏水表面为每个腔室产生固定液池,其中在来自每个腔室的液体之间存在气隙(A_g)。

[0124] 图3.在疏水转移薄膜的远端侧上的磁体将PMP收集成紧密的球粒并且使这种球粒移动穿过液体-空气-液体界面以定位在下一个腔室上方,其中之后将PMP释放到所述腔室中,并且针对后续腔室重复所述过程。

[0125] 图4.示例性4腔TIMS盒。在外周边上存在四个螺纹插入件和两个对准孔以供组装。

[0126] 图5.对聚碳酸酯塑料环礁状物进行激光切割,使所述环礁状物与四个腔室中的每一个同心地对准并且以粘附地方式粘结到盒表面。

[0127] 图6.将塑料框架放置在盒表面的顶部上,其中F_h略大于A_h。

[0128] 图7.用疏水涂层处理聚碳酸酯薄膜,例如PMP转移膜的一侧,并且将所述聚碳酸酯薄膜以粘附的方式粘结到激光切割的丙烯酸刚性背衬。丙烯酸片具有供永磁体沿着腔室开口滑动以将PMP移入G_h通道的槽。

[0129] 图8.将适当的液体分配到四个腔室中的每一个中。也将重新悬浮的PMP悬浮液添加到腔室1中。最后,使用机用螺钉将丙烯酸+经过疏水处理的聚碳酸酯膜组件组装到盒上。

[0130] 图9.(顶部)组装好的TIMS盒。(中间和下部)组装好的TIMS盒的横截面图,示出了如由框架产生的G_h、经过疏水处理的聚碳酸酯膜(即,PMP转移膜)和环礁状物。

[0131] 图10.在将盒倒置(注意重力矢量)时在前三个腔室(裂解室、洗涤室1和洗涤室2)用三种缓冲液进行的功能测试实验的屏幕快照。(a)使用圆柱形磁体将PMP收集到经过疏水处理的聚碳酸酯转移膜的底部。(b-d)使用同一个磁体将所述PMP缓慢地移动到腔室2,并且最终移动到腔室3中。

[0132] 图11.修改后的环礁状物,所述修改后的环礁状物较厚(根据公式2),并且具有ID半径以有助于PMP收集和移动期间的转移。

[0133] 图12.(左图)在内颈上具有90°拐角角度的盒腔室设计,这在收集期间可能会捕捉PMP。(右图)模拟图4的腔室4的修改后的设计,所述修改后的设计具有使其更适合于注塑成型的拔模。

[0134] 图13A至图13C.(A)示例性盒的顶部透视图,其中转移膜覆盖装置的顶部,箔片层压件从装置的一端延伸并且腔室向下延伸。(B)暴露出腔室内部的横截面透视图;腔室1和4的底部分别用样品进入盖和洗脱盖塞住;腔室2和3的底部被密封。(C)示例性装置的横截面透视图;已移除转移膜和箔片层压件,从而暴露出腔室开口和环礁状物。

[0135] 图14A至图14H.示例性跨界面磁性分离(TIMS)盒的横截面图和顶视图,示出了分析物纯化和提取的示例性方法的步骤。

[0136] 图14A.盒包含预先装填的缓冲液(腔室2-3)以及干燥的裂解试剂和结合剂(腔室1)。结合剂以与腔室1的其余部分分离的方式进行牢固的装填。可剥离的箔片层压件密封腔室。样品盖和洗脱盖密封腔室1和4的底部。

[0137] 图14B.用户打开样品盖并且将样品分配到腔室1中。样品液体使干燥的裂解试剂再水化。

[0138] 图14C.移除可剥离的箔片层压件以打开所有腔室。将腔室1的内容物混合，同时将腔室1加热到95℃以使样品变性。在盒倒置时，在气隙(G_h)中产生了液池。

[0139] 图14D.使用风扇(或热电冷却器或其他冷却部件)来将腔室1冷却到60℃。在冷却期间(或之前或之后)，将结合剂片剂释放到腔室1中，并且将所述片剂与腔室1的内容物混合(结合剂片剂可以独立于盒定向而释放)。

[0140] 图14E.用于将PMP从腔室1转移到腔室2中以及用于在腔室2中洗涤悬浮的顺磁性颗粒(PMP)(也适用于转移到腔室3-4并在其中进行洗涤)的替代技术。(顶部)使用磁体1将PMP在疏水转移表面上收集为紧密球粒。穿过气隙将球粒转移到腔室2中。将磁体1移动离开盒，并且定位磁体2以将PMP从转移表面流式传送到腔室2中。在有效洗涤之前可以将这个过程重复几次。(底部)可选地，一旦使用磁体1收集到PMP并将所述PMP转移到腔室2下方的转移表面，就通过磁体的重复运动使PMP掠过转移表面以对所述PMP进行洗涤。

[0141] 图14F.从PMP中洗脱已分离的分析物的替代技术。(顶部)使PMP掠过转移膜，同时加热环礁池以有助于从PMP中洗脱DNA。(底部)使用具有伸展的洗脱段的不对称的环礁状物，在伸展的环礁状物上方将PMP转移到池中，并且施加热量以从PMP中洗脱DNA。

[0142] 图14G.降低环礁池的温度，并且使用磁体以从洗脱室收集PMP并将所述PMP转移离开所述洗脱室。

[0143] 图14H.通过将芯吸垫(安装在芯吸垫固持器上)滑动到盒的侧部中以从环礁状物芯吸洗出液而提取洗出液。

[0144] 图15A.示例性样品制备盒的逐层示意图。

[0145] 图15B.用于组装到图15A的示例性盒中的示例性盒体的示意图。

[0146] 图15C.用于组装到图15A的示例性盒中的示例性基层的示意图。

[0147] 图15D.用于组装到图15A的示例性盒中的示例性隔离膜的示意图。

[0148] 图15E.用于组装到图15A的示例性盒中的示例性拖曳膜的示意图。

[0149] 图15F.用于组装到图15A的示例性盒中的示例性PSA拖曳板的示意图。

[0150] 图16.示例性的组装好的盒消耗品的示意图，示出了如何将洗涤试剂装填通道并固定在固定凸部2处。经由柱塞通过转移通道(其连接腔室1和2)将红色流体从腔室1转移到腔室2。气锁将流体稳定并固定在腔室2中，从而通过气隙将两种流体分开。

[0151] 图17.示出了示例性开始于平面定向(居中图像)并左右旋转(例如，±10°至45°)以有助于混合、使干燥试剂再增溶并有助于到流体中的均匀的热传递的示意图。

[0152] 图18A.处于平面定向的示例性盒的顶视图。当流体处于腔室1或腔室2中时，所述流体会散布在整个表面区域上，并且是有助于快速而有效的热传递的一层非常薄的液体。

[0153] 图18B.旋转约90°时的示例性盒的顶视图。腔室1中的流体朝向转移通道落到腔室1的底部，并且准备好转移到腔室2。

[0154] 图18C.旋转约90°时的示例性盒的顶视图：(上图)当流体转移到腔室2时，所述流体占据紧凑的尺寸，适合于填充腔室2并且装填固定凸部1；(下图)定位在流体体积正上方的磁体有助于更快/有效的PMP收集。

[0155] 定义

[0156] 虽然与本文描述的那些类似或等同的任何方法和材料可以用于本文描述的实施方案的实践或测试，但是本文描述了一些优选的方法、组合物、装置和材料。然而，在描述本发明的材料和方法之前，应理解，本发明不限于本文描述的特定分子、组合物、方法或方案，因为这些可以根据常规实验和优化而变化。还应理解，说明书中使用的术语仅用于描述特定型式或实施方案的目的，而不意图限制本文描述的实施方案的范围。

[0157] 除非另外定义，否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。然而，在冲突的情况下，将以包括定义的本说明书为准。因此，在本文描述的实施方案的上下文中，以下定义都将适用。

[0158] 如本文中和所附权利要求中所使用，除非上下文另外明确指明，否则单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括多个指代物。因此，例如，提及“磁性颗粒”就是提及一个或多个磁性颗粒以及本领域技术人员已知的其等同物等等。

[0159] 如本文所使用，术语“和/或”包括所列项目的任何和所有组合，包括单独列出的任何项目。例如，“A、B和/或C”涵盖A、B、C、AB、AC、BC和ABC，其中每一者都应被视为由语句“A，B和/或C”单独地描述。

[0160] 如本文所使用，术语“包含”以及其语言变型形式表示存在所叙述的特征、元件、方法步骤等，而不排除存在额外的特征、元件、方法步骤等。相反，术语“由…组成”以及其语言变型形式表示存在所叙述的特征、元件、方法步骤等并且除了通常相关联的杂质之外，排除任何未叙述的特征、元件、方法步骤等。短语“基本上由…组成”表示所叙述的特征、元件、方法步骤等以及实质上不影响组合物、系统或方法的基本性质的任何额外的特征、元件、方法步骤等。本文的许多实施方案使用开放性“包含”语言来描述。这类实施方案涵盖多个封闭式“由…组成”和/或“基本上由…组成”实施方案，可以可选地使用以上这种语言要求保护或描述所述封闭式实施方案。

[0161] 如本文所使用，术语“基本上所有”、“基本上完全”和类似术语指代大于99％；并且术语“基本上没有”、“基本上不含”和类似术语指代少于1％。

[0162] 术语“约”允许值或范围的一定程度的可变性。如本文所使用，术语“约”指代在所叙述的值或范围的10％以内的值(例如，约50是45-55的等同物)。

[0163] 如本文所使用，术语“系统”指代出于所需的目的而被共同地分组的一组装置、组合物等。

[0164] 如本文所使用，术语“环礁状物”指代包围和/或靠近开口的边缘的凸脊。尽管环礁状物可以具有任何合适的形状，但是它们通常是环形的，以靠近孔或腔室的圆形开口的边缘。

[0165] 如本文所使用，术语“缓冲液”指代用于本文描述的装置和方法中并且包含用于实现所需目的(例如，细胞裂解、将捕获剂结合到分析物、从分析物结合PMP洗涤污染物、从PMP洗脱分析物等)的适当组分和特性的液体或溶液。如本文所使用，“缓冲液”可以包含或不包含提供pH稳定的化合物。

[0166] 如本文所使用，术语“抗体”指代完整的抗体分子或其片段(例如，诸如Fab、Fab’和F(ab’)2之类的片段)，所述抗体可以是多克隆或单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人源抗体等。

[0167] 如本文所使用，术语“抗体片段”指代全长抗体的一部分，包括至少一部分抗原结

合区或可变区。抗体片段包括但不限于:Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、scFv、Fd、双体以及保留完整抗体的可变区的至少一部分的其他抗体片段。参见,例如Hudson等人(2003)Nat.Med.9:129-134;所述参考文献以引用的方式整体并入本文。在某些实施方案中,通过经由重组DNA技术或化学多肽合成产生的完整抗体的酶促或化学切割(例如,抗体的木瓜蛋白酶消化和胃蛋白酶消化)来产生抗体片段。

具体实施方式

[0168] 本文中提供了有助于从样品中磁性分离分析物的装置以及其使用方法。在特定的实施方案中,提供了用于从样品中跨界面磁性分离(TIMS)分析物的装置和方法。

[0169] 在一些实施方案中,TIMS装置(例如,盒)包括多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个,或其间的范围(例如,2个或更多个))离散的腔室,所述多个离散的腔室各自能够包含试剂液体。

[0170] 在一些实施方案中,在所述装置倒置时,腔室中的液体被固定在腔室开口与转移表面(例如,疏水转移膜)之间,所述转移表面定位在腔室开口上方,但是不与所述腔室开口接触。

[0171] 在一些实施方案中,通过将磁体放置在转移表面的上侧上,由此抵靠转移表面固定顺磁性颗粒(PMP)而从腔室中的一个收集PMP以及其结合的任何分析物。在一些实施方案中,磁体沿着转移表面进行的横向运动会导致PMP的移动。从磁体释放PMP(通过撤走磁体或掠过转移表面)将PMP以及其结合的任何分析物投放到第二腔室中。在其他实施方案中,磁体放置在恰好越过液体/空气界面之处,从而吸引液体中的PMP穿过液体/空气界面。PMP之后可以转移到下一个腔室中以进行其他处理。

[0172] 在一些实施方案中,PMP以及液体样品和试剂都从一个腔室转移到下一个腔室。在一些实施方案中,连接两个腔室的通道有助于转移。在一些实施方案中,腔室和通道的几何形状使得当装置保持在第一定向上时,PMP和液体样品/试剂保持在初始腔室(例如,裂解室)中;静水压力、重力和/或液体与通道的失准会阻止液体转移。在一些实施方案中,在将装置放置到第二定向(例如,10°至90°旋转)中时,液体样品/试剂和PMP能够穿过通道流动到后续腔室(例如,混合室)中。

[0173] 其他特征,诸如腔室的开口处的环礁状物、优化的腔室/环礁状物尺寸、磁体位置、加热器/冷却器的存在、密封试剂、密封腔室对可打开腔室、气锁、固定凸部、亲水和疏水涂层、静水压力、盒旋转、旋转混合、独立的裂解室和混合室等有助于样品处理以及分析物结合颗粒在腔室之间的有效移动,伴有腔室液体或其他污染物穿过液体/空气界面的最低限度的转移(例如,少于10%的转移材料(例如,按质量计、按体积计等)是腔室液体(例如,<10%、<9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1%或更少)),以及用本文的装置进行的分析物从样品的纯化/分离。在附图中示出并在本文描述了示例性实施方案。

[0174] 在一些实施方案中,TIMS盒包括多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个,或其间的范围(例如,2个或更多个))离散的腔室(例如,相同的腔室或出于具体用途(例如,试剂添加/混合、裂解、洗涤、洗脱等)而专门定向、加盖、布置、设定大小、成形等的腔室)。

[0175] 在一些实施方案中,由用户添加或针对具体应用(例如,针对特定分析物的纯化/

提取/分离/制备)预先装载样品制备缓冲液。在一些实施方案中,试剂(例如,裂解试剂、结合剂、洗脱试剂、洗涤试剂等)被添加或预先装载在腔室中。由用户将对所需的分析物(例如,DNA或RNA、显示表位的试剂、亲和目标(例如,连接到生物素、显示His_6标签等)等)显示捕获试剂(例如,核酸杂交探针、抗体或抗体片段、亲和剂(例如,链霉亲和素、二价镍等)等)的PMP添加到腔室中或将所述PMP预先装载到所述腔室中。在一些实施方案中,试剂和缓冲液可以进入腔室内或可以相对于主腔室被可逆地密封(例如,通过胶囊、膜、泡罩或其他覆盖物)。在一些实施方案中,试剂和缓冲液经由连接到腔室的通道添加。在一些实施方案中,试剂经由通道从一个腔室流动到下一个腔室(例如,在装置旋转或柱塞作用来允许试剂进入或行进穿过通道时)。在一些实施方案中,通风口允许在经由通道添加试剂时释放压力。

[0176] 本文的装置包括多个腔室,并且装置几何形状被构造用于在腔室之间转移(i)PMP和流体(例如,样品、缓冲液、试剂等),或(ii)仅PMP。本文的一些实施方案利用两个腔室之间的气隙(例如,包括一个或多个液体/空气界面)以有助于PMP/结合剂以及其结合的分析物从初始腔室到后续腔室的转移,同时最小化液体(例如,样品、试剂、污染物、缓冲液等)的转移。可以使用各种装置几何形状和转移方法来产生气隙和液体/空气界面,诸如装置的倒置(例如,尤其是在与顶部带有环礁状物的腔室联接的情况下)、在转移通道和转移(例如,拖曳)表面下方的气锁室(例如,具有固定凸部)等。本文描述了用于产生气隙并使PMP以及所结合的分析物穿过气隙的示例性几何形状/方法。本文的其他实施方案允许在腔室之间转移PMP和流体(例如,样品、缓冲液、试剂等)两者;这类实施方案可以在腔室之间包括通道,所述通道在装置定位在第一定向上时阻止材料(例如,PMP和流体)转移,但是在装置定位在第二定向(例如,围绕装置的轴线旋转10°至90°)上时允许材料(例如,PMP和流体)转移。本文描述了用于使PMP、液体试剂(例如,样品、缓冲液、试剂等)和所结合的分析物在腔室之间穿过的示例性几何形状/方法。本文的某些装置可以结合用于在腔室之间转移材料的各种元件,和/或可以结合用于在腔室之间转移材料的各种技术。

[0177] 在一些实施方案中,用户将包含或怀疑包含特定分析物的样品(例如,生物或环境样品)分配在第一腔室中。在一些实施方案中,对第一腔室的PMP、样品、缓冲液、试剂等进行混合(例如,手动地(例如,摇动、倒置等)或通过机械手段(例如,超声处理、磁流传送等)进行)以使PMP重新悬浮和/或允许分析物结合到PMP上的捕获试剂。在一些实施方案中,对腔室的温度进行操纵(例如,加热、冷却或两者)以有助于样品混合、样品裂解、分析物结合等。对盒进行操纵(例如,倒置),使得腔室中的液体固定在腔室边缘(和/或环礁状物的顶部)与转移膜(例如,疏水转移膜)之间的气隙中(图2)。盒的适当尺寸(例如,G_h)确保气隙(A_g)存在于由每个腔室中的液体产生的固定液池之间。通过将磁场施加到第一腔室,经由转移表面来收集PMP(例如,已捕获存在于第一腔室中的分析物)(图3)。在一些实施方案中,(例如,由用户手动地,通过自动化装置等)将磁体放置在转移表面的远端侧上以抵靠转移表面形成分析物结合PMP的球粒。越过转移表面横向地移动磁场会使所收集的PMP穿过第一腔室的固定液体移动到第一腔室与第二腔室之间的气隙中,并且移动到第二腔室的固定液体中。去除磁场会将分析物结合PMP释放到第二腔室的缓冲液中。可选地,使磁体(例如,重复地)横越过转移表面可以用于通过扫掠到转移表面上来释放分析物结合PMP。在一些实施方案中,通过向腔室的相对端(例如,底部、封闭端等)暂时施加磁场来促成PMP到腔室中的释放。针对后续腔室重复以下过程:在缓冲液中混合(例如,以洗涤PMP和分析物),磁性地收集PMP,

穿过气隙将PMP移动到下一个腔室的固定液体(例如,洗涤缓冲液)中并且将PMP释放到下一个腔室中。在一些实施方案中,将PMP移动到最终腔室中的洗脱缓冲液中以从PMP释放分析物。在一些实施方案中,通过加热洗脱缓冲液中的样品来促成分析物释放。从洗脱缓冲液移除PMP,从而在溶液中产生提取/分离/纯化的分析物。可以通过任何合适的技术从洗脱缓冲液移除PMP(参见,例如图14F至图14G)。在一些实施方案中,一旦将PMP从分析物和/或洗脱缓冲液分离,就将分析物和/或洗脱缓冲液从装置移除(例如,图14H)。在一些实施方案中,以上过程提供用于在数分钟(例如,20分钟、15分钟、10分钟、5分钟、4分钟、3分钟、2分钟或更短、或其间的范围(例如,<10分钟))内在单个装置之中/之上纯化所需的分析物。在一些实施方案中,提取/分离/纯化的分析物已准备好用于分析和/或后续处理。

[0178] 在一些实施方案中,将样品(例如,已处理(例如,已裂解、已过滤、已离心等)或未处理)、PMP、裂解试剂、缓冲液和其他试剂中的一者或多者组合在第一腔室(例如,混合室)内。在一些实施方案中,将分析物(例如,在样品(例如,已处理或未处理)中)和PMP单独地添加到第一腔室(例如,混合室)。在一些实施方案中,将分析物(例如,在样品(例如,已处理或未处理)中)和PMP组合在第一腔室(例如,混合室)内。

[0179] 尽管本文的装置的实施方案不受大小、形状或相对尺寸的限制,但是在一些实施方案中,本文描述的优选尺寸(例如,A_w、A_h、G_h、F_h、A_g等)提供用于有效且有用的分析物纯化。

[0180] 在一些实施方案中,腔室的开口的顶部是环礁状物。在一些实施方案中,环礁状物升高到腔室的开口上方。在一些实施方案中,相邻腔室的环礁状物不连接,从而在相邻环礁状物之间产生间隙。在一些实施方案中,环礁状物在腔室开口之间产生了不连续的表面。在一些实施方案中,环礁状物靠近腔室的开口并且具有与腔室开口相似的形状(例如,圆形)。在其他实施方案中,环礁状物和腔室开口具有不同的形状。例如,在某些实施方案中,不对称的环礁状物允许有抵靠转移表面收集样品(例如,用于洗脱(图14H))的额外的空间。在一些实施方案中,环礁状物具有限定的高度(A_h)和宽度(A_w)。环礁状物高度(A_h)连同转移表面与腔室顶部之间的距离(F_h)一起限定气隙的高度(G_h)(图1)。环礁状物宽度(A_w)连同相邻腔室之间的距离一起限定气隙的宽度(A_g)(图2)。气隙的高度(G_h)在环礁状物的外缘周围限定并产生稳定的液池。对适当的尺寸进行选择以产生足够尺寸的气隙,以允许PMP从第一腔室的固定液体转移到相邻腔室的固定液体,而不存在固定液体之间的接触(例如,同时维持气隙)并且不存在来自第一腔室的液体对相邻腔室的液体的显著污染。在环礁状物与转移表面之间大约为约0.025至0.25mm(例如,0.025mm、0.03mm、0.04mm、0.05mm、0.06mm、0.07mm、0.08mm、0.09mm、0.10mm、0.11mm、0.12mm、0.13mm、0.14mm、0.15mm、0.16mm、0.17mm、0.18mm、0.19mm、0.20mm、0.21mm、0.22mm、0.23mm、0.24mm、0.25mm或其间的范围(例如,0.10至0.15mm))的示例性间隙高度(G_h)确保当盒倒置时(图2),每个腔室内的液体会流出来,并且变得固定在每个相应的环礁状物的外径(OD)处。由于G_h很小,如图可见,表面张力和毛细管力处于支配地位(邦德数,Bo<<1,参见公式1),并且重力不会导致液体失去其固定边缘。

[0181] 公式1. $$Bo = \frac{\Delta\rho g (G_h)^2}{\sigma}$$

[0182] 其中:

[0183] Δρ=两个相的密度差

[0184] g=重力加速度

[0185] G_h＝框架与环礁状物之间的窄间隙,其中液池被固定

[0186] σ＝表面张力

[0187] 密封的液体腔室通过在液体流出时抽出负气压来最小化静水压头。另外,环礁状物提供了将静水压力分散在相对大的区域的大的圆形界面(图2)。针对每个腔室产生了由气隙(A_g)隔开的离散的液池,这防止了液体交叉污染。这消除了对许多其他技术中使用的昂贵的不可混溶的聚合酶链反应(PCR)相容油的需求。在一些实施方案中,环礁状物的内径具有圆化的边缘或拐角以有助于液体和PMP在环礁状物上的流动。

[0188] 在一些实施方案中,A_g是足够大的,以确保在TIMS(PMP球粒在各腔室之间移动)期间不存在液体桥接。另外,固定的液体边缘不会受到干扰。在一些实施方案中,G_h是足够大的,以防止在沿着窄通道移动期间剪切紧密的PMP球粒(例如,球粒高度),但却是足够小的,以在环礁状物外缘处利用表面张力和液体固定。通过使用薄的转移表面来利用高磁场强度。例如,疏水膜减少移动期间的PMP损失(PMP不会粘住表面)。PMP会穿越液体-空气-液体界面。从一个腔室到下一个腔室的液体携带(例如,不期望的污染)被最小化。

[0189] 在一些实施方案中,本文的装置包括多个腔室(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、32个或更多个或其中的范围)。在一些实施方案中,腔室开口安设成与装置的表面齐平(例如,其中环礁状物升高到表面上方)。在一些实施方案中,若干个腔室沿着装置线性地设置。在一些实施方案中,腔室以多个排和/或列设置在装置的表面上。在一些实施方案中,装置的所有腔室在大小、形状等方面都是相同的。在一些实施方案中,多个不同的腔室(例如,用于不同功能(例如,样品混合、样品裂解、PMP结合、洗涤、洗脱等))提供在装置上。在一些实施方案中,当装置在操作时,腔室包括开口顶部和封闭底部。在一些实施方案中,腔室的开口顶部(在使用之前)通过单个可移除的封闭件(例如,可剥离的膜或层压件)来密封。在一些实施方案中,腔室的开口顶部(在使用之前)通过单独的封闭件(例如,可剥离的膜或层压件、盖帽、螺旋盖等)单独地密封。在一些实施方案中,封闭底部被不可逆地封闭(例如,底部附接到侧部)。在一些实施方案中,腔室的底部包括可再密封的封盖或盖帽。

[0190] 在一些实施方案中,腔室体积的范围为25μl至2ml(例如,25μl、50μl、100μl、150μl、200μl、300μl、400μl、500μl、600μl、700μl、800μl、900μl、1ml、1.5ml、2ml或其间的范围(例如,50μl至1ml))。在一些实施方案中,腔室开口的直径的范围为1至15mm(例如,1mm、2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm或其间的范围(例如,2至10mm))。在一些实施方案中,环礁状物宽度(A_w)是在1与20mm之间(例如,1mm、2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm、16mm、17mm、18mm、19mm、20mm或其间的范围(例如,1至10mm))。在一些实施方案中,环礁状物高度(A_h)是在0.1与5mm之间(例如,0.1mm、0.2mm、0.3mm、0.4mm、0.5mm、0.6mm、0.7mm、0.8mm、0.9mm、1.0mm、1.1mm、1.2mm、1.3mm、1.4mm、1.5mm、2.0mm、2.5mm、3.0mm、3.5mm、4.0mm、4.5mm、5.0mm或其间的范围(例如,0.1至3mm))。在一些实施方案中,框架高度(F_h)是在A_h+0.025mm与A_h+0.5mm之间(例如,A_h+0.025mm、A_h+0.050mm、A_h+0.1mm、A_h+0.125mm、A_h+0.15mm、A_h+0.175mm、A_h+0.2mm、A_h+0.225mm、A_h+0.25mm、A_h+0.275mm、A_h+0.3mm、A_h+0.325mm、A_h+0.35mm、A_h+0.375mm、A_h+0.4mm、A_h+0.425mm、A_h+0.45mm、A_h+0.475mm、A_h+0.5mm或其间的范围(例如,在A_h+0.025mm与A_h+0.25mm之间))。在一些实施方案中,窄间隙高度(G_h,其被定义为F_h-A_h)是在0.025mm与0.5mm之间(例如,0.025mm、0.050mm、A_h+0.15mm、0.175mm、0.2mm、0.225mm、0.25mm、

0.275mm、0.3mm、0.325mm、0.35mm、0.375mm、0.4mm、0.425mm、0.45mm、0.475mm、0.5mm或其间的范围(例如,在0.025mm与0.25mm之间))。在一些实施方案中,环礁状物之间的气隙(A_g)是在0.5与8mm之间(例如,0.5mm、0.6mm、0.7mm、0.8mm、0.9mm、1.0mm、1.5mm、2.0mm、2.5mm、3.0mm、3.5mm、4.0mm、4.5mm、5.0mm、5.5mm、6.0mm、6.5mm、7.0mm、7.5mm、8.0mm或其间的范围(例如,1至5mm))。

[0191] 在一些实施方案中,腔室包括平坦的底部和在整个腔室上的一致的深度。然而,在其他实施方案中,腔室包括深部分和浅部分。取决于装置的定向,包括不同深度的腔室将具有不同的有效体积。例如,当装置处于平面定向时,这种腔室内的液体将定位在腔室的深部分中;然而,在装置旋转到非平面定向时,液体将流动到腔室的浅部分中。在一些实施方案中,将液体放置到不同深度的腔室中可能会导致液体流动到通道中和/或抵靠着气锁固定下来(例如,参见图16)。

[0192] 在一些实施方案中,本文描述的装置不受腔室和腔室开口的尺寸形状的限制,只要来自倒置腔室的液体能抵靠转移表面固定住,并且在相邻腔室的固定液体之间形成气隙即可。本文展示的实施方案展现出圆形腔室和腔室开口(以及因此环形环礁状物)。在一些实施方案中,装置包括具有圆形横截面和/或圆形开口横截面的腔室。在其他实施方案中,利用其他形状(例如,卵形、三角形、方形、五边形、六边形等)的腔室和/或腔室开口。在一些实施方案中,腔室具有颈部部分,使得腔室的开口小于腔室本身(例如,较小的直径)(图4)。在其他实施方案中,腔室的开口具有与腔室本身相同的大小(例如,相同的直径)(图4)。在一些实施方案中,腔室的壁彼此平行和/或垂直于腔室开口(图12,左图)。在其他实施方案中,腔室壁发生倾斜以产生大于腔室的平均宽度(例如,直径)的腔室开口。在一些实施方案中,腔室开口是与用于将PMP从腔室移除的磁体大致相同的大小(例如,+/-20%、+/-15%、+/-10%、+/-50%、+/-2%、+/-1%或其间的范围)。在一些实施方案中,腔室的底部可以具有任何合适的形状(例如,圆化、方形(squared-off)、平坦形状等)。

[0193] 在一些实施方案中,腔室的内部是单一开放空间。在其他实施方案中,腔室包括一个或多个可密封(和不可密封)隔室。在一些实施方案中,试剂包含在隔室内并且在所需的情况下释放到腔室的其余部分中(例如,通过添加液体或特定试剂而溶解,密封件被破坏,在加热下溶解等)。

[0194] 在一些实施方案中,装置包括在腔室开口顶上的环礁状物。在一些实施方案中,环礁状物有助于将腔室内的液体固定在环礁状物与转移表面之间。在一些实施方案中,环礁状物包围腔室开口。在一些实施方案中,环礁状物靠近开口的顶表面。在一些实施方案中,环礁状物具有与腔室开口的外缘相同的形状(例如,圆形)。在一些实施方案中,环礁状物具有等于腔室开口的直径或宽度的内部宽度或直径。在一些实施方案中,环礁状物具有大于腔室开口的直径或宽度的外部宽度或直径。在一些实施方案中,环礁状物形状不限于腔室开口的形状。环礁状物可以包括较宽或较窄区域,以例如改变固定在环礁状物上方的液体的体积。

[0195] 当装置倒置(或在其他实施方案中旋转)时,重力将液体从腔室引出,并且来自每个腔室的液“池”被固定在环礁状物与转移表面之间。装置的尺寸确保池前侧仅前进到与环礁状物的外缘(例如,外径(OD))一样远之处(大约与所述外缘一样远之处)。转移表面限制了液体从腔室的流动,并且防止腔室之间的溢出或污染。转移表面还提供了平台,PMP在所

述平台上穿过气隙转移到相邻的固定液池。在一些实施方案中，转移表面包括光滑、平坦和/或刚性材料。在一些实施方案中，转移表面包括光滑的刚性塑料，诸如聚碳酸酯。用于转移表面和其他装置部件的其他示例性材料在本文中进行了描述，并且可用于一些实施方案中。在一些实施方案中，转移表面包括，或者完全或部分地涂覆有疏水涂层(例如，超疏水涂层)，诸如氧化锰聚苯乙烯(MnO_2/PS)纳米复合材料、氧化锌聚苯乙烯(ZnO/PS)纳米复合材料、沉淀碳酸钙、基于碳纳米管的涂层、二氧化硅纳米涂层等。在液体与转移表面之间产生大的接触角的任何涂层、膜、薄膜等都可以用于本文的实施方案中。在一些实施方案中，转移表面(例如，拖曳膜)或其他表面上被PMP接触的疏水涂层有助于稳定固定的液体-空气界面，并且防止PMP在流式传送/移动期间尤其是在对于球粒来说不存在用作润滑的液体的气锁区域中的粘连。

[0196] 在一些实施方案中，在腔室之间(例如，沿着转移通道)产生气隙。在一些实施方案中，两个腔室由气阱隔开(例如，位于两个腔室之间的转移通道下方的小腔室)。在一些实施方案中，气阱诱导气隙(例如，借助于气阱的具有基层和/或拖曳(或转移)层的任一侧上的液体之间的表面张力)。在一些实施方案中，气隙进一步由存在于基层上的固定凸部(例如，悬伸部)的存在诱导产生，所述固定凸部在气锁上延伸，但是不跨过气锁。在一些实施方案中，气锁的一侧上的液体形成从固定凸部的端部延伸到转移(或拖曳)层的液体/空气界面。在一些实施方案中，从转移层后方(或上方)施加磁场允许PMP穿过气隙越过转移层转移，同时阻止液体(例如，样品、缓冲液、试剂等)穿过气锁。在一些实施方案中，从转移层上方(或后方)施加以及施加在气隙内的磁场吸引PMP穿过液体/空气界面，而不会大量转移液体材料(例如，样品、缓冲液、试剂等)；在这类实施方案中，磁场的移动允许PMP转移到后续液体层中。

[0197] 在一些实施方案中，除了利用表面张力能力之外，密封的气锁室进一步有助于例如在腔室2(例如，混合室)与腔室3(例如，洗涤室)之间产生稳定的液体-空气界面。在一些实施方案中，气锁在例如腔室2与腔室3之间产生气隙，PMP转移穿过所述气隙，但是液体(例如，样品、缓冲液、试剂等)和污染物却不会转移穿过所述气隙。

[0198] 在一些实施方案中，气锁室包括尺寸(例如，长度(例如，沿着转移通道)、宽度(例如，垂直于转移通道)和深度为2-15mm(例如，2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、0.9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm或其间的范围)。在一些实施方案中，固定凸部有0.5-2mm(例如，0.5mm、0.75mm、1mm、1.25mm、1.5mm、1.75mm、2mm或其间的范围)伸出到气隙中并且延伸到气锁室上方。在一些实施方案中，不存在固定凸部(例如，没有基层延伸到气锁室上方)。在一些实施方案中，跨越气锁室的气隙是3-8mm(例如，3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm或其间的范围(例如，4-6mm))。在一些实施方案中，固定凸部之间的最小距离是3-8mm(例如，3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm或其间的范围(例如，4-6mm))。

[0199] 在一些实施方案中，“流式传送”PMP(例如，将磁场定位在远离液体-空气界面(例如，在气隙上方)一定距离(例如，0.5mm、1mm、1.5mm、2mm、2.5mm、3mm、3.5mm、4mm、4.5mm、5mm或其间的范围)之处，并使用磁力将PMP引出到气隙中)提供了清洁的样品转移，而在PMP球粒内不存在显著的不期望的液体携带。流式传送PMP穿过液体/空气界面，而不是拖曳(例如，其中磁体连续定位在PMP的磁诱导的球粒上方)减少了液体/空气界面的伸长，并且减少了由PMP携带到气隙中的不期望的液体的体积。在一些实施方案中，通过以下方式实现流式

传送:(i)在腔室上方产生磁场(例如,通过将磁体放置在转移表面(例如,拖曳膜)的相对侧附近/抵靠所述相对侧放置所述磁体)以将腔室内的PMP拉拔成球粒引到转移表面上,(ii)沿着转移通道移动磁场以将PMP球粒带到空气/液体界面附近或与所述空气/液体界面相邻之处,(iii)减小或消除PMP所经历的磁场(例如,通过提起磁体使其远离转移表面(例如,拖曳膜),(iv)在气隙内重新产生磁场(例如,通过将磁体放置在转移表面的相对侧附近/抵靠所述相对侧放置所述磁体),以及(v)允许在液体内成球的PMP从液体流出到气隙中。通过流式传送PMP穿过界面,而不是将整个球粒拖过所述界面,PMP携带较少的液体。在PMP流式传送到气隙中之后,可以拖曳或流式传送PMP穿过第二液体/空气界面并且使其进入下一个腔室中。

[0200] 在一些实施方案中,腔室以及其所连接的通道、通风口、孔口等被配置成使得可通过重新定向装置的位置(例如,使装置围绕轴线旋转)诱导腔室/通道之间的流动和/或静水压力。例如,当加热样品,通过磁力沿着转移通道转移PMP等时,装置可以定位在平面(约0°旋转)定向上;在一些实施方案中,定位在平面定向上减小了对固定的液体/空气界面的应力。然而,使装置围绕纵向轴线旋转(参见图15B)例如10°至90°(例如,10°、20°、30°、40°、50°、60°、70°、80°、90°或其间的范围(例如,30°至60°等))允许装填流体和通道,压实腔室内的液体以进行PMP收集,通过通道转移材料等。在一些实施方案中,通过在平面定向与旋转定向之间切换装置(例如,切换一次或多次(例如,1、2、3、5、6、7、8次或更多次或其间的范围)),执行本文描述的各种步骤(例如,流体转移、通道装填、流体压实、PMP压实、PMP转移、PMP收集、混合等)。在一些实施方案中,当盒的定向接近垂直(例如,与垂直方向相差<30°、<25°、<20°、<15°、<10°或<5°),使得重力施加在装置的整个宽度上时,会产生静水压头来帮助填充通道;这也会影响整个空气/水界面上的压降。当盒的平面接近水平(又称“平面”)(例如,与垂直方向相差<30°、<25°、<20°、<15°、<10°或<5°)时,压降会减小,这使得空气/液体界面更稳定,并且在颗粒被拉过所述界面时更不可能破裂。装置的旋转使得能够有一个界面压降用于填充并且有另一个界面压降用于颗粒流式传送。

[0201] 在一些实施方案中,当装置处于第一定向(例如,平面)时,两个腔室之间的通道连接到第一腔室(例如,裂解室)的底部和第二腔室(例如,杂交室)的顶部;这防止液体在装置处于第一定向时流过通道。然而,将装置放置在第二定向上(例如,沿着纵向轴线旋转)允许流体在重力的作用下(例如,单独或在施加辅助压力的情况下)流过通道。

[0202] 在一些实施方案中,样品和/或试剂添加到包括开口顶部的腔室。在一些实施方案中,盖帽或塞子紧固到腔室的顶部开口。在一些实施方案中,盖帽/塞子包括柱塞功能,使得其可以采用两个或更多个封闭构型(例如,凸出(但仍封闭的)构型、凹陷构型等)。在一些实施方案中,当柱塞帽处于凸出/封闭构型时,腔室的顶部被密封,但是腔室的顶部附近的通风口与空气相通。在一些实施方案中,鉴于通风口的位置接近腔室的顶部(以及通风口的大小较小),装置的显著旋转和/或摇动不会导致液体通过通风口离开腔室。在一些实施方案中,当柱塞帽被压下时,通风口被密封(除了腔室的开口顶部之外),并且因此压力被施加到腔室的内容物;这个压力迫使腔室内的液体(例如,包含样品、试剂、缓冲液等)穿过连接由柱塞帽密封的腔室的通道流动到后续腔室中。

[0203] 在一些实施方案中,与液体(例如,样品、缓冲液、试剂等)的体积相比较,本文装置的腔室(例如,裂解室、杂交室、洗涤室等)中的一个或多个是尺寸过大的。在一些实施方案

中,腔室的体积大于本文包含的液体(例如,样品、缓冲液、试剂等)的预期(或实际)体积(例如,大1.2倍、1.4倍、1.6倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.4倍、2.6倍、2.8倍、3.0倍、3.5倍、4.0倍或更多倍或其间的范围(例如,1.6倍至2.6倍)。在一些实施方案中,尺寸过大的腔室允许通过旋转装置(例如,围绕纵向轴线(参见图15B),围绕另一个轴线旋转)或摇动来促成(试剂、样品、PMP等的)混合或再增溶。在一些实施方案中,尺寸过大的腔室体积和尺寸导致腔室内的液体的大的表面对体积比(例如,尤其是在装置处于平面定向的情况下),并由此加快腔室内的液体的温度变化(例如,升温)。

[0204] 在一些实施方案中,本文描述的装置或其部件是一次性的。在一些实施方案中,本文描述的装置或其部件意图用作一次性消耗品。在一些实施方案中,整个装置是一次性的。在一些实施方案中,由于装置的一次性性质,用于装置的材料被选择来降低成本。在一些实施方案中,装置的部分或部件是一次性的(例如,腔室和/或包括腔室的板、转移表面等),而装置的其他部分或部件是多次使用的(例如,框架、磁体组件等)。在一些实施方案中,一次性盒(例如,包括腔室、转移表面、环礁状物等)插入到多次使用的装置(例如,包括框架、磁体、混合装置等)中。在一些实施方案中,整个装置意图用于多次使用。

[0205] 特别是在其中装置(或至少装置的腔室部分)是消耗品的实施方案中,可以对装置或其一部分提供(例如,购买、提供给用户等)预先装载到腔室中的适当的缓冲液和/或试剂(例如,捕获PMP)。在一些实施方案中,可以干燥(例如冻干)形式提供试剂。在一些实施方案中,通过在环礁状物的顶部之间延伸的盖子来防止运输、储存、处理等期间的溢出。在一些实施方案中,这个盖子是可移除的。在一些实施方案中,盖子是可剥离的箔片层压件。在尤其是其中装置(或至少装置的腔室部分)是可重复使用的其他实施方案中,用户用适当的缓冲液和/或试剂(例如,捕获PMP)填充腔室。在一些实施方案中,用户将一种或多种缓冲液或试剂(例如,捕获PMP)添加到一次性装置的腔室。

[0206] 在一些实施方案中,在腔室内提供一种或多种干燥试剂。在一些实施方案中,在腔室的主腔中提供干燥试剂,使得如果可能的话,向腔室添加液体会导致干燥试剂悬浮在液体中。在其他实施方案中,试剂(液体或干燥试剂)包含在腔室的相对于主腔密封的辅助空间内。在这类实施方案中,辅助空间可以在需要时通过任何合适的方法(例如,溶解密封件、破坏密封件等)来打开以允许试剂与腔室的主腔的材料混合。在一些实施方案中,可以在腔室的主腔中或在腔室的不可密封的隔室中提供缓冲剂、裂解试剂、结合剂、PMP等。

[0207] 在一些实施方案中,用本文的装置/方法对分析物进行提取/分离/纯化依赖于磁体(例如,放置在与腔室的开口相邻之处,放置在转移表面的远端侧上,放置在腔室的底部下方等)与腔室中的缓冲液内的PMP之间的吸引力。在一些实施方案中,PMP是纳米颗粒或微粒。可以通过在转移表面的远端侧上施加磁场而抵靠转移表面容易地收集(例如,成球)的任何合适的PMP都可以用于本文的实施方案中。在一些实施方案中,PMP显示用于结合(例如,非共价地,共价地结合)到目标分析物的适当的捕获剂。捕获剂可以是分析物的配体(例如,小分子或肽配体等)、抗体、抗体片段、抗原(例如,当分析物是抗体时)、核酸(例如,用于捕获NA结合蛋白,用于捕获互补核酸)、亲和分子(例如,生物素或链霉亲和素(例如,用于捕获链霉亲和素或生物素标记的分析物)、GST或谷胱甘肽(例如,用于捕获谷胱甘肽或GST标记的分析物等)等。除非明确指明,否则本文的实施方案不受捕获剂的身份的限制,并且本领域中已知或了解的任何分析物/捕获剂对都可以用于本文中。

[0208] 在一些实施方案中，PMP混合和/或重新悬浮在每个腔室中。在一些实施方案中，混合是手动地执行(例如，用手摇动)。在一些实施方案中，混合是经由机械手段执行，例如超声处理、磁流传送、机械摇动器等。在一些实施方案中，利用在本文描述的装置外部的自动化装置来促成混合。

[0209] 在一些实施方案中，通过使用一个或多个磁体在腔室之间转移PMP。在一些实施方案中，磁体放置在转移表面的远端侧上以将PMP从腔室撤走并且抵靠转移表面收集所述PMP。可以采用具有合适的大小、形状和强度的任何磁体。在一些实施方案中，用户手动地将磁体施加到装置。在一些实施方案中，磁体是装置的一部分。在一些实施方案中，本文描述的盒放置到包括磁体的装置中。在一些实施方案中，由用户手动地移动磁体。在一些实施方案中，向转移表面施加磁体以及使磁体在腔室之间移动是自动化的。在一些实施方案中，从转移表面撤走收集磁体以允许PMP进入其在此下方对准的腔室。在一些实施方案中，采用第二磁体来将PMP从转移表面返回到腔室中。在一些实施方案中，将第二磁体放置在腔室的底部处，并且将PMP从转移表面吸引到腔室中。

[0210] 在一些实施方案中，通过装置的区域温度的变化来促成在装置内执行的各种方法步骤。在一些实施方案中，腔室(或其一部分)或其中的样品可以加热(例如，加热到30℃、35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃、75℃、80℃、85℃、90℃、95℃或其间的范围)以有助于例如混合、溶解试剂、分析物与PMP的离解等。在一些实施方案中，腔室(或其一部分)或其中的样品可以冷却(例如，冷却到5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃或其间的范围)，以例如有助于分析物结合到PMP，防止分析物降解等。任何合适的加热或冷却机构都在本文的范围内。在一些实施方案中，装置仅利用加热，而不利用任何冷却机构。在一些实施方案中，主动式冷却的缺乏简化了装置的硬件。在一些实施方案中，加热器被预热(例如，在引入样品或液体试剂之前达到一定温度)以加速处理。

[0211] 在一些实施方案中，不同的腔室维持在不同的温度。例如，裂解室(例如，用于使样品内的细胞裂解)可以维持在高于70℃(例如，70℃、75℃、80℃、85℃、90℃、95℃或其间的范围)的温度，而杂交室(例如，用于在分析物与PMP上的捕获剂之间形成复合物)维持在50℃至70℃(例如，50℃、55℃、60℃、65℃、70℃或其间的范围)的温度。在一些实施方案中，将不同的腔室维持在不同的温度以及在不同的腔室中执行不同的步骤允许将温度敏感试剂(作为液体或干燥试剂)储存在适当的腔室中，而不用担心它们会暴露于高温。例如，用于杂交的温度敏感试剂储存在腔室2(或任何杂交室)中(例如在其中干燥或作为液体)，而不用担心它们会暴露于腔室1(或任何裂解室)中的高温(例如，95℃)。

[0212] 在一些实施方案中，由用户提供样品，将从所述样品提取/分离/纯化分析物。样品可以是生物、环境或其他来源。在一些实施方案中，未处理的样品被施加到装置。在一些实施方案中，在将样品施加到装置之前执行一个或多个预处理步骤(例如，离心、细胞裂解、过滤等)。

[0213] 在一些实施方案中，本文的装置和方法采用一种或多种缓冲液以从样品提取/分离/纯化分析物。可用于本文的实施方案中的缓冲液可以包括裂解缓冲液、分析物结合缓冲液、核酸酶缓冲液、蛋白酶缓冲液、洗涤缓冲液、洗脱缓冲液等。用于这些目的的缓冲液和溶液是被充分理解的。在一些实施方案中，取决于分析物的身份和样品的类型，提供一组特定

的缓冲液。

[0214] 在一些实施方案中，提供了套件，所述套件包括本文描述的装置以及适当的缓冲液和PMP(例如，预先装载的或在单独的容器中)。

[0215] 用于构造本文描述的装置的材料被选择来优化装置的每个部件的特定特征(例如，轻质、廉价、刚性、光滑、非反应性、疏水、薄等)。合适的材料包括塑料、金属、膜、薄膜等。在一些实施方案中，本文的装置/系统的部件包含一种或多种塑料，包括但不限于：酚醛塑料、COP、COC、氯丁橡胶、尼龙、PVC、聚苯乙烯、聚丙烯腈、PVB、硅树脂、橡胶、聚酰胺、合成橡胶、硫化橡胶、丙烯酸、聚乙烯、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二酯、聚四氟乙烯、gore-tex、聚碳酸酯等；非塑料部件，诸如玻璃、纺织品(例如，来自动物、植物、矿物和/或合成来源)等；TEFLON、HDPE、尼龙、PEEK、PTFE和/或PEBAX；或其他合适的材料。在一些实施方案中，本文的装置/系统的部件包含：一种或多种金属，包括但不限于：铝、锑、硼、镉、铯、铬、钴、铜、金、铁、铅、锂、锰、汞、钼、镍、铂、钯、铑、银、锡、钛、钨、钒、锌以及其合金。

[0216] 实验

[0217] 实施例1

[0218] 示例性装置制作和组装

[0219] 已使用3D打印的塑料(Protolabs,Maple Plain,MN)、激光切割的塑料件、转移粘附剂(例如，3M 9472LE)和疏水涂层(例如，Aculon NanoProof 5.0,San Diego,CA)的组合来制作示例性装置。已从塑料树脂3D打印出四腔盒。腔室在一端是密封的，从而允许通过开口端进行缓冲液添加(图4)。

[0220] 将螺纹插入件热压到周边孔中以有助于组装。将聚碳酸酯膜(McMaster-Carr 85585K103)以粘附方式单面粘结到3M 9472LE粘附剂转移胶带，并且将所述聚碳酸酯膜激光切割成圆形环礁状物。将环礁状物与四个腔室中的每一个同心地对准并且粘结到盒表面。

[0221] 对塑料框架进行激光切割，并且将所述塑料框架放置在盒表面的顶部上(图6)。使用棉签在一个面上对第二聚碳酸酯薄膜涂覆Aculon's NanoProof 5.0，并且允许干燥至少30分钟。将一块0.125”厚的透明丙烯酸(McMaster-Carr 8560K239)以粘附的方式单面粘结到3M 9472LE粘附剂转移胶带，并且进行激光切割。丙烯酸沿着四个腔室的长度具有中心槽，以引导圆柱形永磁体的移动(槽宽度略大于磁体直径)以便移动PMP球粒。丙烯酸提供结构刚性和支撑以维持G_h(图7)。

[0222] 在最终组装之前，使用精密移液器对腔室填充适当的缓冲液和重新悬浮的PMP悬浮液。使用机用螺钉将丙烯酸+聚碳酸酯的经过疏水处理的PMP转移膜和丙烯酸框架组装到盒(图8)。

[0223] 图9中示出了最终组装的供消耗的盒。

[0224] 实施例2

[0225] 示例性装置操作和测试

[0226] 在前三个腔室中用以下三种液体测试实施例1中描述的示例性TIMS盒的功能：裂解缓冲液、洗涤液1(洗涤剂和酒精的混合物)和洗涤液2(酒精和水溶液)。由于在大多数表面上存在非常低的接触角，这些流体是高度润湿的。将重新悬浮的PMP悬浮液添加到腔室1。使用小的圆柱形钕磁体(K&J Magnetics,Pipersville,PA)将腔室1中的PMP收集到经过疏

水处理的聚碳酸酯膜上。将PMP球粒缓慢地转移穿过G_h并且转移到腔室2中。片刻之后，再次重新收集PMP并且将所述PMP转移到腔室3(图10)。测试表明，液体保持固定在其相应的环礁状物的外缘处。另外，在PMP移动期间不存在液体桥接。在腔室之间最小化了液体携带(污染)。

[0227] 实施例3

[0228] 其他设计元素

[0229] 使用实施例1中描述的示例性装置进行的实验已揭示可以并入到本文的范围内的实施方案中的替代设计以及可以整合到下一个原型中的改进。例如，增加的环礁状物高度(例如，较高的框架)防止液池破裂经过环礁状物；环礁状物上的圆化的ID边缘有助于PMP转移；从腔室内颈去除90°拐角角度减少收集期间的PMP损失；等。在将PMP从一个液体腔室转移到另一个液体腔室时，如果液滴被拉入气障中，则A_h应当>疏水转移表面上的针对具有180°接触角的液体而实现的液池高度，即LP_h(作为最坏的情况)。在发生上述情形的情况下，这能永远防止液体接触盒表面。

[0230] 公式2：$$LP_h \approx 2\sqrt{\left(\frac{\sigma}{g\rho}\right)}$$

[0231] 其中，

[0232] LP_h＝疏水转移表面上的液池高度

[0233] σ＝液体表面张力

[0234] g＝重力

[0235] ρ＝液体密度

[0236] 环礁状物的ID上的锐利的90°边缘可能会导致PMP收集以及沿着G_h进行的横向运动期间出现增加的拖曳和/或剪切。为了减少拖曳，在某些实施方案中，将拐角半径(例如，圆角，倒角等)添加到环礁状物的ID，同时维持足够的宽度(A_w)以密封箔片层压膜。例如，当G_h为约0.005”(0.125mm)时，减少拖曳所需的拐角半径并不大(图11)。

[0237] 在一些实施方案中，装置包括以下中的一者或多者：(1)腔室中的一个或多个上的可移除的盖帽、封盖或其他封闭件；(2)储存在一个或多个腔室内的液体或干燥试剂(例如，裂解试剂、缓冲液、结合剂等)(例如，使得向腔室添加液体会导致试剂的重新悬浮；或储存在腔室内的密闭罩内，使得必须打开或破坏密闭罩来使试剂重新悬浮)；(3)例如有助于分析物相对于PMP的结合和/或释放的调节温度区(例如，加热器、冷却器等)；(4)例如有助于收集分析物和/或PMP收集的不对称的环礁状物形状；(5)例如有助于从装置移除分析物的芯吸垫；等。在图13和图14中示出了描绘包括这类特征的装置以及其使用方法的示例性实施方案；然而，这些特征也可以单独地使用和/或结合本文描述的其他元件一起使用。

[0238] 实施例4

[0239] 示例性盒

[0240] 图15A至图15F中示出了示例性跨界面磁性分离(TIMS)装置构造的元件。图15所示的元件的替代配置以及其与本文中的其他实施方案的组合被涵盖在内。下文描述了装置示例性TIMS装置的层和各种特征。

[0241] 底盖

[0242] 刚性塑料薄膜(例如，聚碳酸酯，0.010”厚)在腔室1和2中发生的裂解和杂交步骤

期间能够承受高温(例如,120℃)数分钟。膜的类型和厚度会影响到腔室中的快速热传递(例如,越薄的膜会带来越快的热传递)以及其固有刚度(例如,膜与加热器之间的接触电阻)两者。

[0243] 压敏粘附剂(PSA)底盖

[0244] 使用双面压敏粘附剂(例如,3M 9471、AR Care 7876)来将底盖粘结到注塑成型盒体上。粘附剂在高温(例如,120℃)下可使用较短的持续时间(数分钟)。如果材料相容,也可以代替粘附剂将底盖焊接到盒体。

[0245] 盒

[0246] 一次性塑料盒可以由若干种塑料,诸如聚丙烯、聚碳酸酯等注塑成型。它能承受高温(约120℃)暴露数分钟。所述一次性塑料盒的特征是,例如用于流体的3个腔室、气锁室和流体转移通道(图15B)。大多数洗涤试剂预先装填在腔室3中(在一些实施方案中,试剂包含在箔式泡罩中,当在仪器内部时,所述箔式泡罩会被刺破,并且试剂会流出到腔室中)。用户将患者样品引入到腔室1中(约300uL)。腔室1和2出于以下若干原因是尺寸过大的(例如,2-4倍于所需的体积):(a)当盒保持相对平坦时,最大化流体的表面积以实现快速热传递;(b)利用通过沿着所示轴线旋转盒进行混合的能力,这有助于使干燥试剂再增溶并进行均匀的热传递(参见图17);腔室2被设计成使得300uL的流体仅够到达转移通道的出口(参见图16);以及(c)通过使主体旋转离开平面来实现紧凑的流体体积。

[0247] 基层

[0248] 将此薄膜(例如,塑料膜(例如,PSA(例如,3M 9471)和刚性塑料,诸如聚碳酸酯(例如,0.010”厚)的层压件))附接(例如,以粘附方式粘结)到盒体并且产生两个固定凸部(参见图15C)。固定凸部1将流体固定在腔室2中,而固定凸部2将洗涤试剂固定在腔室3中。所述基层在选择流体通道的底部的表面性质方面提供了灵活性(例如,所述基层不受盒体塑料的限制),并且提供了添加表面活性剂涂层来使通道的底部具有亲水性或疏水性的能力。

[0249] 隔离膜

[0250] 隔离膜(例如,PSA(例如,3M 9471、AR Care 7876)、塑料(例如,0.0075”厚的PET塑料)和PSA的层压件)限定流体通道的高度(例如,约0.0115”),并且被附接(例如,以粘附的方式粘结)到基层(参见图15D)。在裂解(加热)步骤期间,为腔室1提供通风口。顺磁性颗粒(PMP)转移通道可用于从腔室2到腔室3的过程中收集、洗涤和移动PMP。

[0251] 拖曳膜

[0252] 图15E示出了示例性拖曳膜(例如,COP/COC塑料膜、PSA(例如,3M 9471、AR Care 7876)和刚性塑料支撑膜(例如,0.010”厚的聚碳酸酯)的层压件)。在一些实施方案中,COP/COC塑料膜面向流体通道的内部,从而用作通道的顶面。所述塑料膜粘结到隔离膜的第二粘附面。两个小的通风口用于腔室2(通风口2;空气在流体从腔室1转移到腔室2的过程中逸出)和腔室3(通风口3a;在洗涤试剂在暗礁状物上流出并流动到侧通道中时,更换空气)。COP/COC膜涂覆有超疏水涂层,诸如Aculon NanoProof 5.0x,以有助于PMP的有效磁运动。塑料支撑膜应是刚性的,但也是相对薄的,以最小化一侧上的磁体与另一侧上的PMP收集之间的距离。

[0253] PSA拖曳板

[0254] 这是将拖曳膜以粘附的方式粘结到拖曳板的双面PSA(例如,3M 9471、AR Care

7876)。它具有与通风口3a重叠的单个通风口(3b)以及磁体进入通道(参见图15F)。

[0255] 拖曳板

[0256] 这个板可以与盒体整合在一起。所述板由例如3/32”塑料片组装而成,并且有助于配合盒体与仪器。拖曳板在仪器中的轨道上滑动。它具有与PSA拖曳板相同的特征(参见图15F)。

[0257] PSA引入孔

[0258] 这是将引入孔以粘附的方式粘结到拖曳板的双面PSA(例如,3M 9471、AR Care 7876)。

[0259] 引入孔

[0260] 这个特征可以与盒体整合在一起。在一些实施方案中,所述引入孔由3/32”塑料片组装而成,并且充当通向腔室1的开口和柱塞的引入端两者,所述柱塞用于封闭腔室1并且随后将流体从腔室1推入到腔室2中。

[0261] 柱塞

[0262] 柱塞是例如柔韧的橡胶(例如,来自注射器主体的柱塞),其充当用于封闭和密封腔室1的盖帽,并且随后可以推入到腔室1中以经由转移通道将患者样品从腔室1推入到腔室2中。

[0263] 具有独立的加热器的双腔前端

[0264] 如图15B所示,盒体在前侧具有两个腔室:(a)腔室1,例如在其中发生裂解(例如,在95℃下);以及(b)腔室2,例如在其中发生杂交(例如,在60℃下)。两个腔室的分离具有若干优点:(a)独立的加热器可以预先加热并稳定在固定的设定点,以有助于经由底盖进行到流体中的快速热传递(图15A);因此,仅加热装置是需要的;主动式冷却是不需要的,这简化了工程硬件并加快了处理时间;以及(b)对腔室1中所经历的高温敏感的干燥试剂可以单独地储存在腔室2中以用于杂交步骤。

[0265] 气锁

[0266] 小的密闭室(气锁)定位在两个固定凸部1与2之间(参见图15C)。在使用期间,洗涤试剂首先会从深孔中流出并且流动到暗礁状物上。所述洗涤试剂朝向固定凸部2流动,并且由于表面张力(产生于基层与涂覆超疏水涂层的拖曳膜之间)而保持固定在该处。当经由柱塞将患者样品从腔室1转移到腔室2时,空气可以仅经由通风口2逸出,因为通风口1已被柱塞密封。在流体高度在腔室2中升高时,由于毛细管作用,所述流体立即流入到固定凸部1中。然而,由于气锁室(例如,在该方向上空气无法排出),所述流体不会越过固定凸部1,这产生了稳定的液体-空气界面。流体继续向上填充在腔室2中,在恰好未到达转移通道之处停止。结果是在腔室2中的流体与腔室3中的洗涤试剂之间产生气隙。PMP转移穿过这个液体-空气界面。参见图16。

[0267] 实施例5

[0268] HIV p24免疫测定

[0269] 在开发本文的实施方案期间进行实验以证实与手动测定相比较,示例性TIMS盒(描述于实施例4中并且示出于图15至图18中)用于以HIV p24 ELISA测试0或50IU/ml血浆样品[National Institute for Biological Standards and Controls(NIBSC)编码90/636,Potters Bar Hertfordshire,UK]的免疫测定的用途。

[0270] 试剂

[0271] ●捕获抗体(115B-151):使用ChromaLink™生物素抗体标记试剂盒(TriLink Biotechnologies B-9007-105,San Diego,CA)进行标记。

[0272] ●检测抗体(108-394):用ThermoFisher FluoroMax 0.328μM颗粒(目录号93470720011150)(Waltham,MA)进行标记。首先,使用N-羟基琥珀酰亚胺酯形成对颗粒涂覆BSA,之后在减小的mAb与BSA之间进行GMBS连接。

[0273] ●涂覆Dynal M270链霉亲和素的顺磁性颗粒(PMP)(ThermoFisher Scientific 65305)

[0274] ●抗体稀释与测定,以及洗涤缓冲液

[0275] ○1%BSA

[0276] ○50mM Tris,pH 7.5

[0277] ○0.5%Triton x100

[0278] ○200mM NaCl

[0279] ○0.02%NaN_3

[0280] ●洗脱缓冲液

[0281] ○100mM甘氨酸HCl,pH 2.74

[0282] ○0.01%Tween 20

[0283] 反应条件

[0284] 每个反应有mAb:50ng生物素化捕获抗体和$7.0X10^7$Eu缀合的检测抗体。将包含0或50IU/ml p24(NIBSC 90/636)的25μl血浆样品添加到190μl结合缓冲液和25μl混合型抗体,另外添加25μl预先洗涤过的涂覆Dynal M270链霉亲和素的PMP,并且在颠倒混合下孵育30分钟。

[0285] 手动洗涤

[0286] 用250μl洗涤缓冲液洗涤2次;收集在磁力架上并且丢弃上清液TIMS洗涤

[0287] 1.将样品放置在TIMS盒的腔室2中。

[0288] 2.收集PMP并且穿过气锁将所述PMP从腔室2输送到洗涤室。

[0289] 3.通过移动磁体进行洗涤,并且使PMP赶得上洗涤(流中跳跃)2次

[0290] 4.收集洗涤中的PMP并且移出洗涤室

[0291] 5.使PMP重新悬浮在约10μl洗涤缓冲液中并且将液体移动到新的管

[0292] 6.将PMP磁性地收集在磁力架上

[0293] 7.去除上清液

[0294] TIMS和手动的洗脱

[0295] 1.添加125μl洗脱缓冲液;移液混合

[0296] 2.孵育5分钟

[0297] 3.使PMP在磁力架上成球并且去除包含已洗脱的蛋白质的上清液

[0298] 4.读取荧光(在Biotek Synergy 4微板读数器上读出激发@333nm和发射@613nm)。

[0299]

处理方法	0IU/ml p24	50IU/ml p24	信号/噪声*
手动	2331	7741	3.3
TIMS	261	1601	6.1

[0300] *50IU/0IU

[0301] 与手动测定相比较,TIMS洗涤移除了相当多未结合的珠粒,从而在TIMS的0IU/ml和50IU/ml样品两者中产生较低的信号,但是相较于手动,TIMS的信噪比几乎翻倍。

[0302] 实施例6

[0303] 亲和蛋白质纯化

[0304] 在开发本文的实施方案期间进行实验以证实示例性TIMS盒(描述于实施例4中并且示出于图15至图18中)在亲和蛋白质纯化中的用途。HIS标记的蛋白质结合到MagneHisTM顺磁性颗粒。分割样品,并且手动地或在TIMS设备上进行处理(将PMP洗涤3次)。

[0305] HSC70在N端用His标签标记并且在C端经由马来酰亚胺连接到AlexaFluor®633(ThermoFisher Scientific#A20342),用MagneHisTM试剂盒(Promega)在台架上使用磁力架或在TIMS原型中进行纯化:

[0306] 1.将20μl标记的HSC70添加到280μl MagneHis结合/洗涤缓冲液;

[0307] 2.通过上下移液来混合;

[0308] 3.将10μl MagneHis Ni颗粒添加到溶液;

[0309] 4.孵育2分钟以进行结合;

[0310] 5a.对于手动过程:

[0311] ○将PMP在磁力架上收集30秒,

[0312] ○去除并丢弃上清液,

[0313] ○在PMP收集30秒之后在150μl洗涤缓冲液中洗涤3次,

[0314] ○添加20μl洗脱缓冲液;移液混合,

[0315] ○孵育2分钟,

[0316] ○使PMP在磁力架上成球并且去除包含已洗脱的蛋白质的上清液,以及

[0317] ○在Rotor-Gene Q 5Plex的红色通道中进行读取(激发@625±和检测@660±10)增益=5.33。

[0318] 5b.对于TIMS:

[0319] ○将包含PMP的蛋白质混合物添加到TIMS盒,

[0320] ○磁性地收集PMP,

[0321] ○跨过气锁移动到洗涤室,

[0322] ○通过移动磁体进行洗涤,并且使PMP赶得上洗涤(流中跳跃)2次,

[0323] ○收集洗涤中的PMP并且移出洗涤室,

[0324] ○重新悬浮在约10μl洗涤缓冲液中并且将液体移动到新的管,

[0325] ○将PMP磁性地收集在磁力架上,

[0326] ○丢弃上清液,

[0327] ○添加20μl洗脱缓冲液;移液混合

[0328] ○孵育2分钟,

[0329] ○使PMP在磁力架上成球并且去除包含已洗脱的蛋白质的上清液,以及

[0330] ○在Rotor-Gene Q 5Plex的红色通道中读取5次(激发@625±和检测@660±10)并且对读数求平均值。增益=5.33

[0331]

样品	Alexa 633(RFU)

空白样	0.189±0.004
手动	8.863±0.192
TIMS	12.720±0.056

[0332] TIMS产生比手动处理更高产率的荧光标记的HSC70。

[0333] 以下列出和/或本文提供的所有公布和专利以引用的方式整体并入。在不脱离本发明的范围和精神的情况下,本发明的所描述的组合物和方法的各种修改和变化对于本领域技术人员而言将是显而易见的。虽然已结合特定的优选实施方案描述了本发明,但是应理解,要求保护的本发明不应不适当地受限于所述特定实施方案。事实上,对于相关领域的技术人员明显的,对描述的用于实施本发明的模式的各种修改意图处在本发明的范围内。

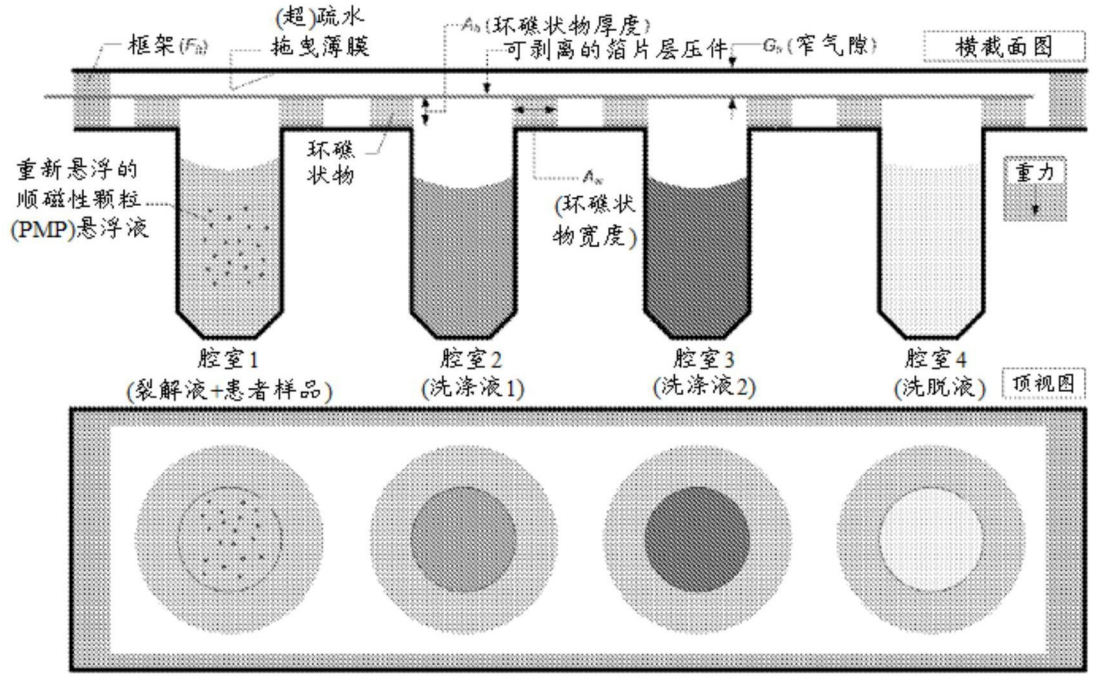

(超)疏水
拖曳薄膜
框架(F_{fr})
A_h(环礁状物厚度)
可剥离的箔片层压件
G_n(窄气隙)
横截面图
重新悬浮的
顺磁性颗粒
(PMP)悬浮液
环礁
状物
A_w
(环礁状
物宽度)
重力
腔室1
(裂解液+患者样品)
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
顶视图

图1

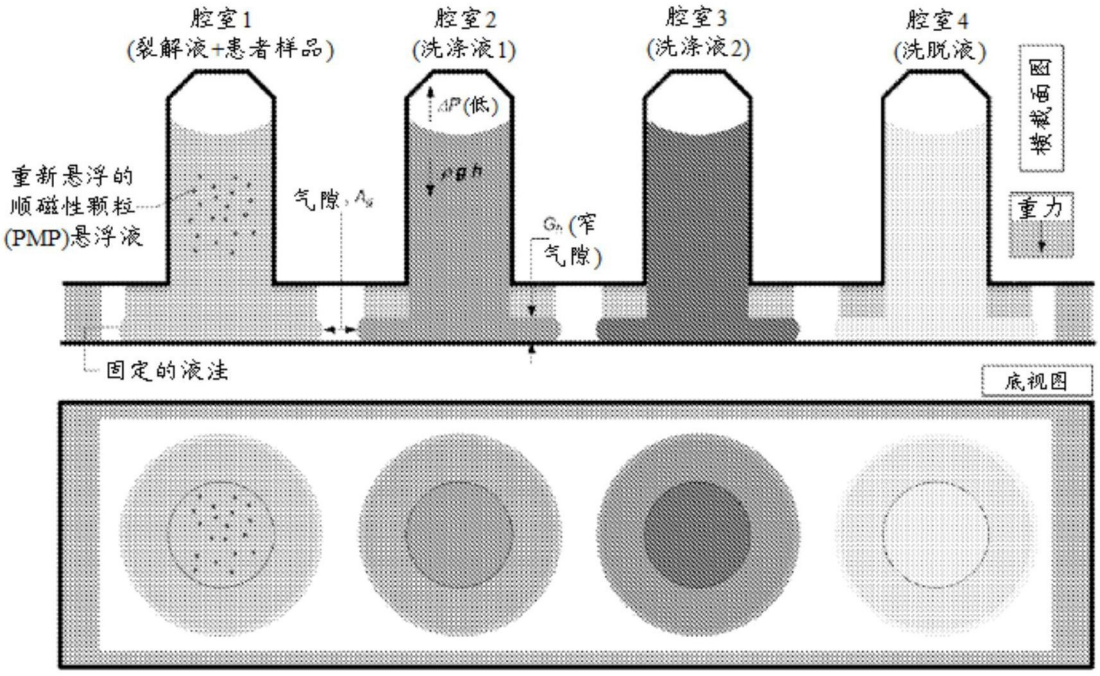

腔室1
(裂解液+患者样品)
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
横截面图
ΔP(低)
$\rho g h$
重新悬浮的
顺磁性颗粒
(PMP)悬浮液
气隙, A_w
G_n(窄
气隙)
重力
固定的液注
底视图

图2

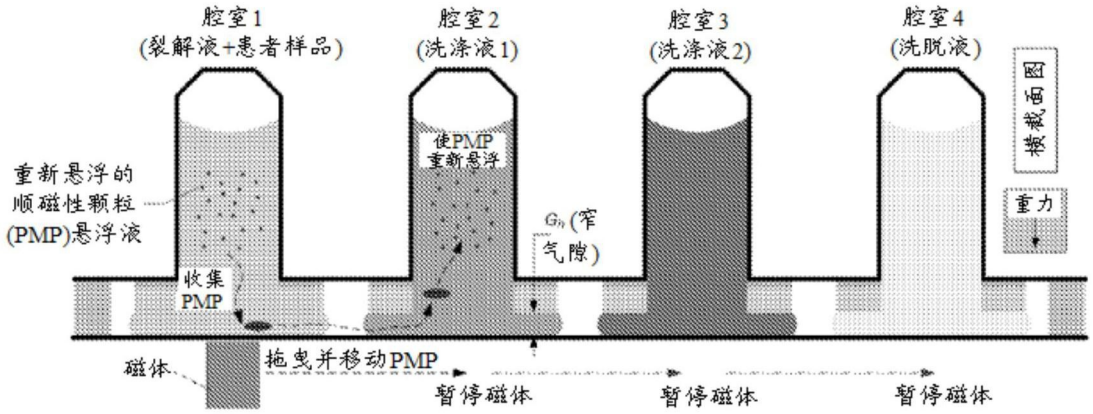

腔室1
(裂解液+患者样品)
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
图面截断
重力
使PMP
重新悬浮
重新悬浮的
顺磁性颗粒
(PMP)悬浮液
G_n (窄
气隙)
收集
PMP
磁体
拖曳并移动PMP
暂停磁体
暂停磁体
暂停磁体

图3

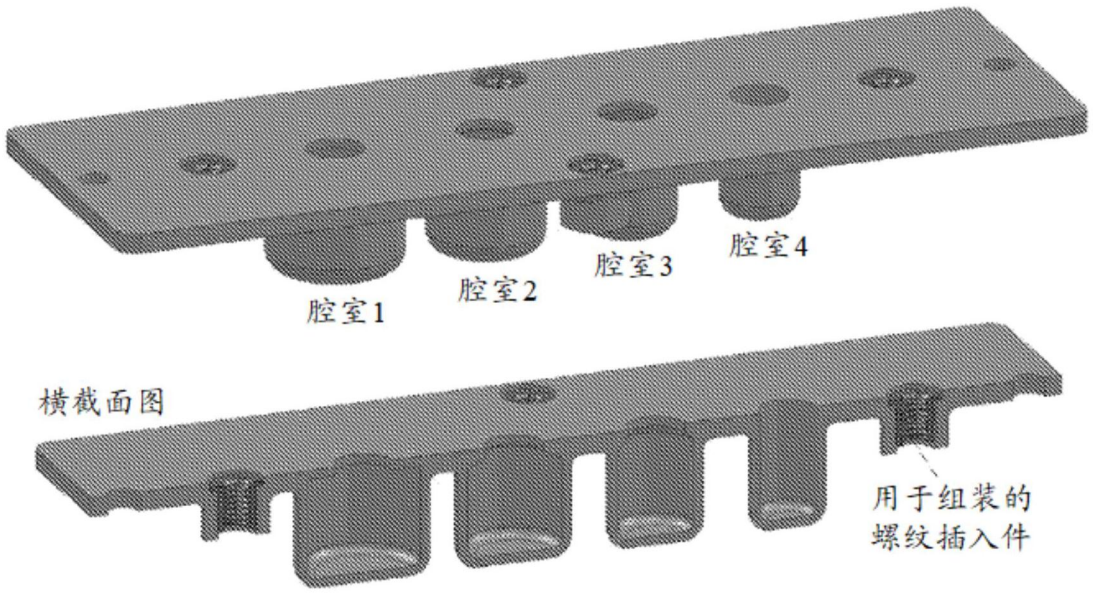

腔室1
腔室2
腔室3
腔室4
横截面图
用于组装的
螺纹插入件

图4

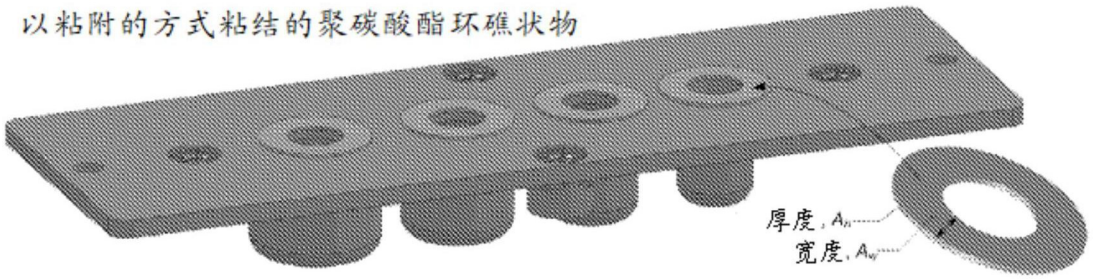

以粘附的方式粘结的聚碳酸酯环礁状物
厚度，A_h
宽度，A_w

图5

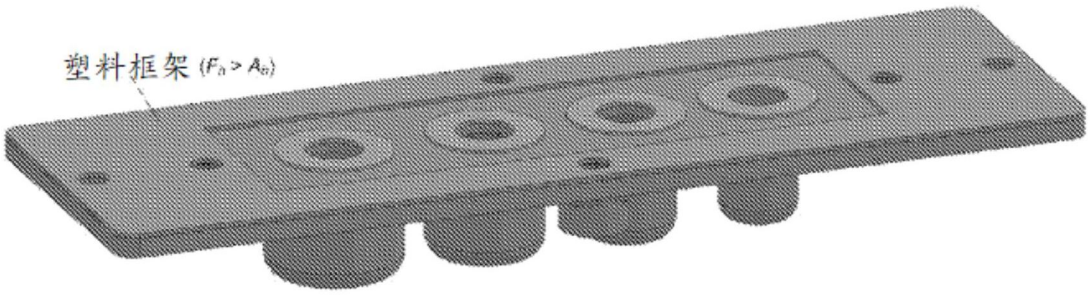

塑料框架 ($F_a > A_a$)

图6

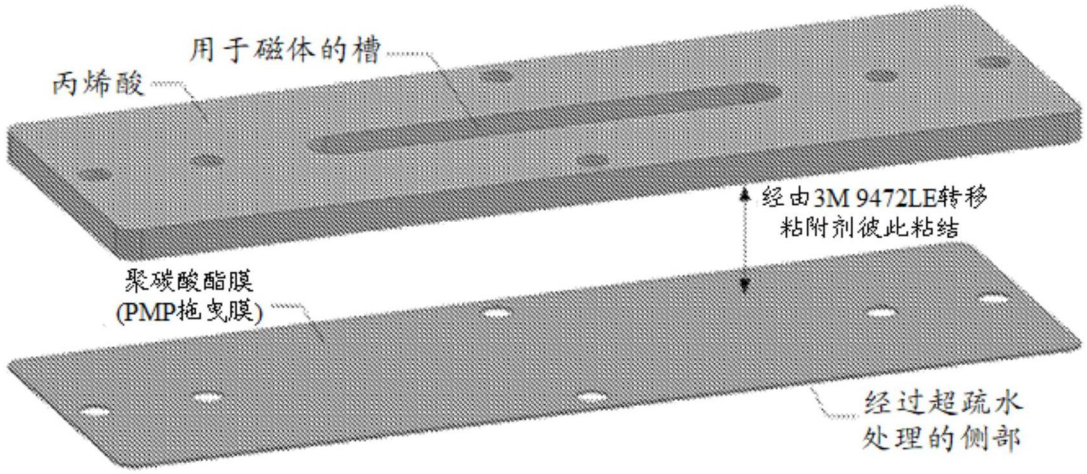

用于磁体的槽
丙烯酸
经由3M 9472LE转移
粘附剂彼此粘结
聚碳酸酯膜
(PMP拖曳膜)
经过超疏水
处理的侧部

图7

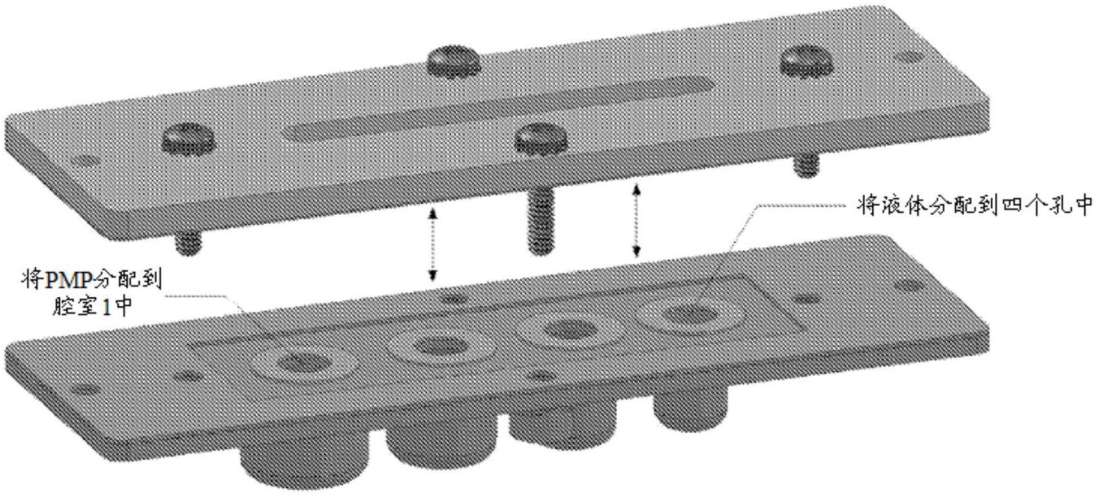

将液体分配到四个孔中
将PMP分配到
腔室1中

图8

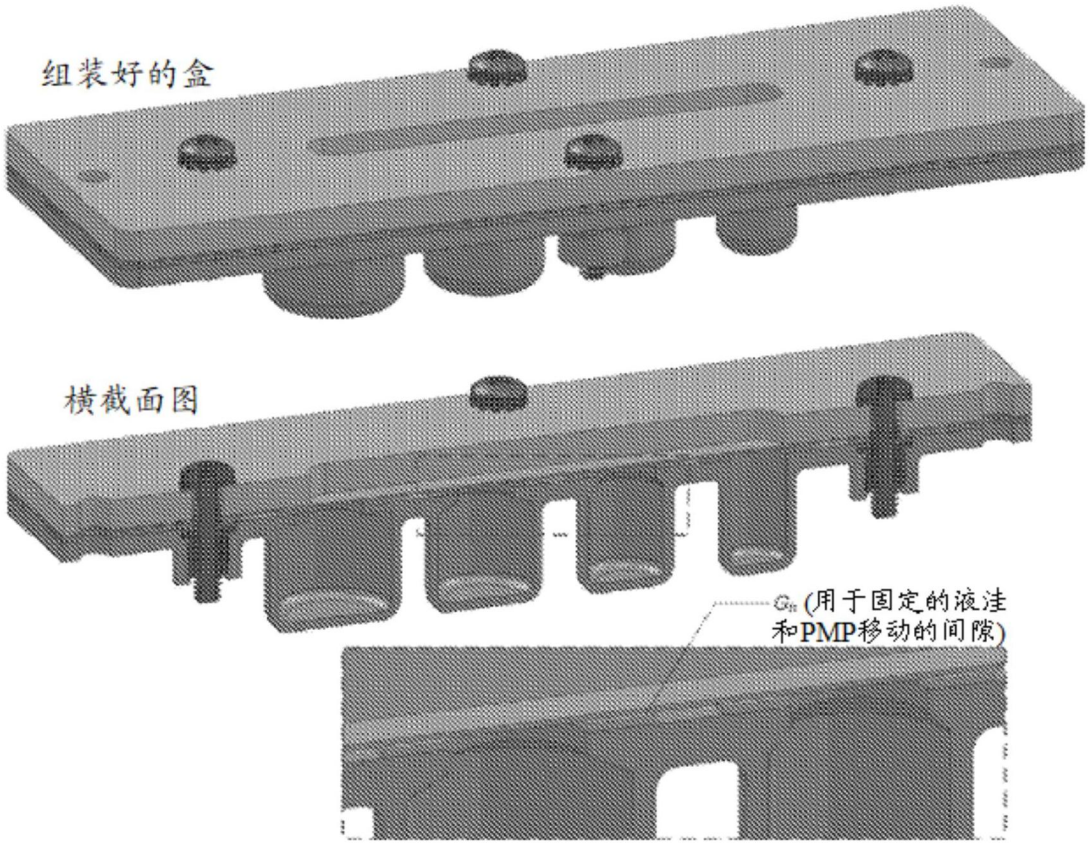

组装好的盒
横截面图
G_{fl} (用于固定的液注和PMP移动的间隙)

图9

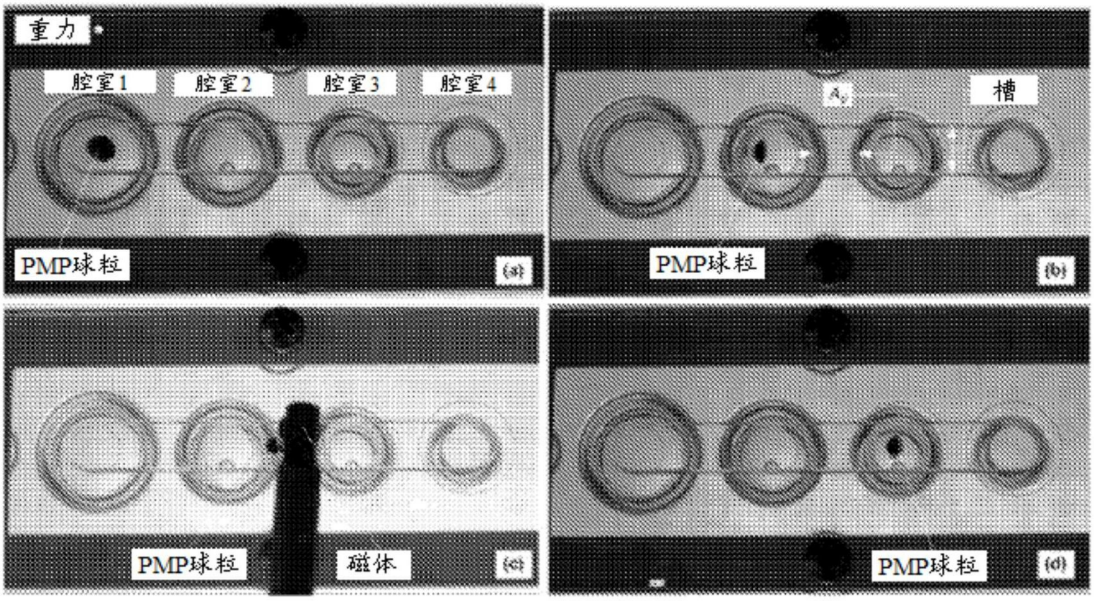

重力
腔室1
腔室2
腔室3
腔室4
PMP球粒
(a)
A_v
槽
PMP球粒
(b)
PMP球粒
磁体
(c)
PMP球粒
(d)

图10

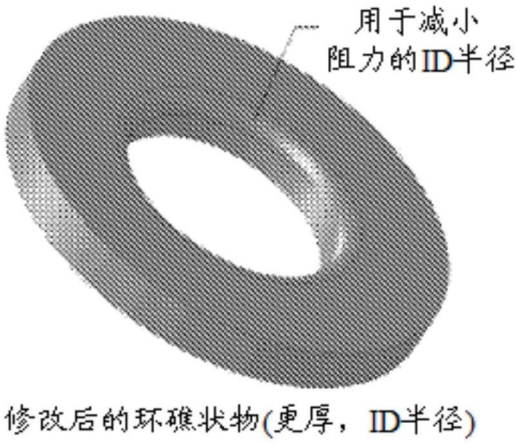

用于减小
阻力的ID半径
修改后的环礁状物(更厚，ID半径)

图11

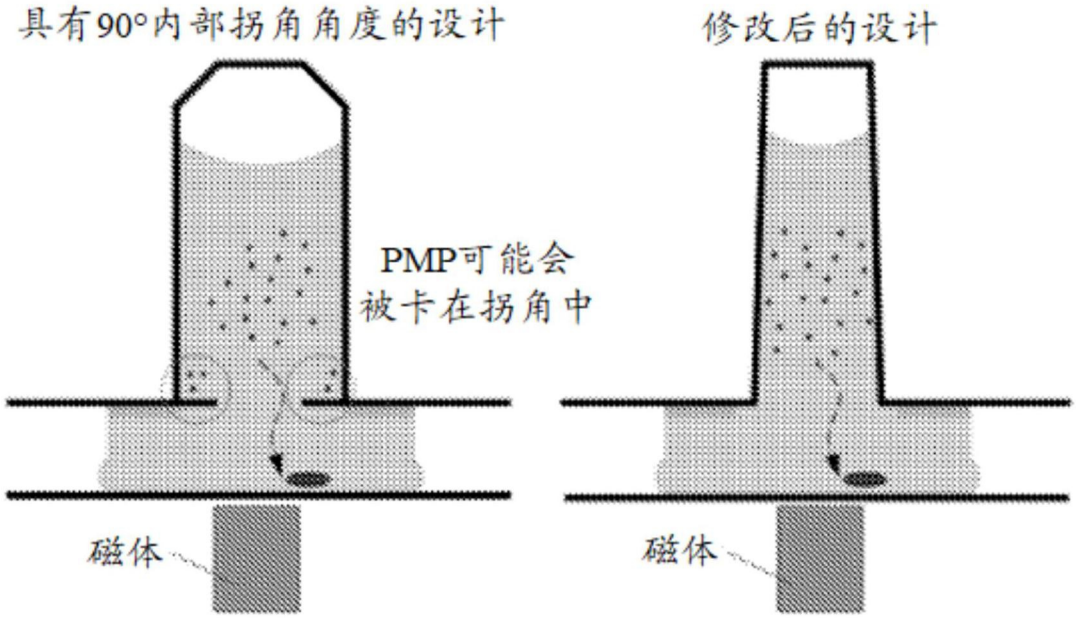
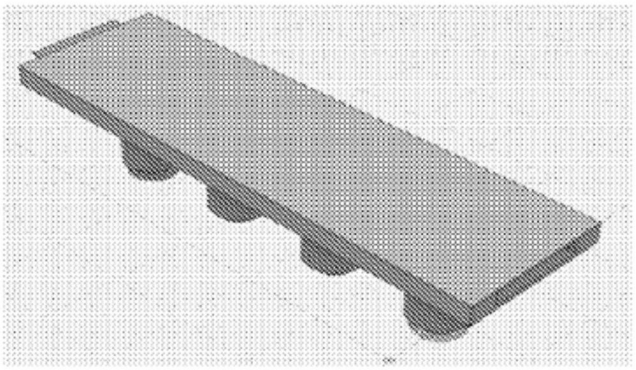
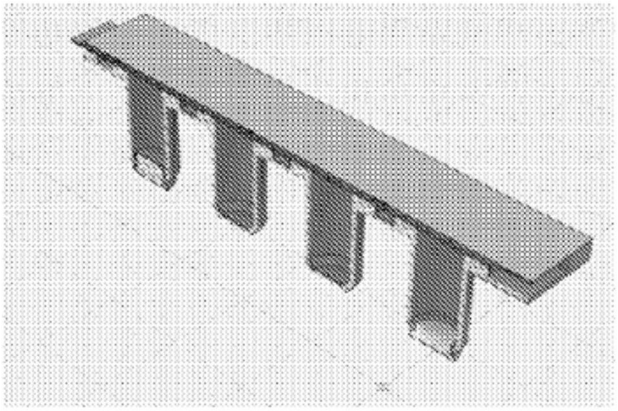

具有90°内部拐角角度的设计
修改后的设计
PMP可能会
被卡在拐角中
磁体
磁体

图12

(A)



(B)



(C)

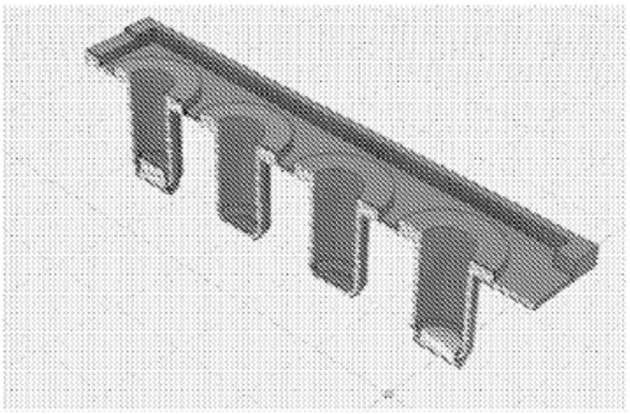


图13

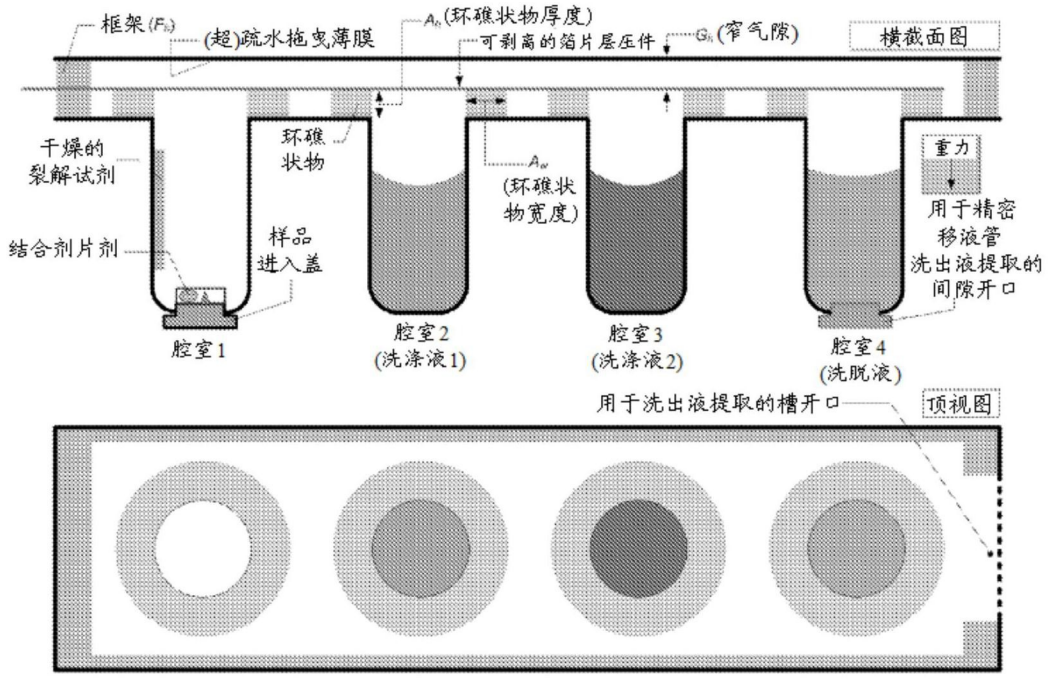

框架(F_H)
(超)疏水拖曳薄膜
A_h(环礁状物厚度)
可剥离的箔片层压件
G_A(窄气隙)
横截面图
干燥的
裂解试剂
环礁
状物
A_w
(环礁状
物宽度)
重力
用于精密
移液管
洗出液提取的
间隙开口
结合剂片剂
样品
进入盖
腔室1
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
用于洗出液提取的槽开口
顶视图

图14A

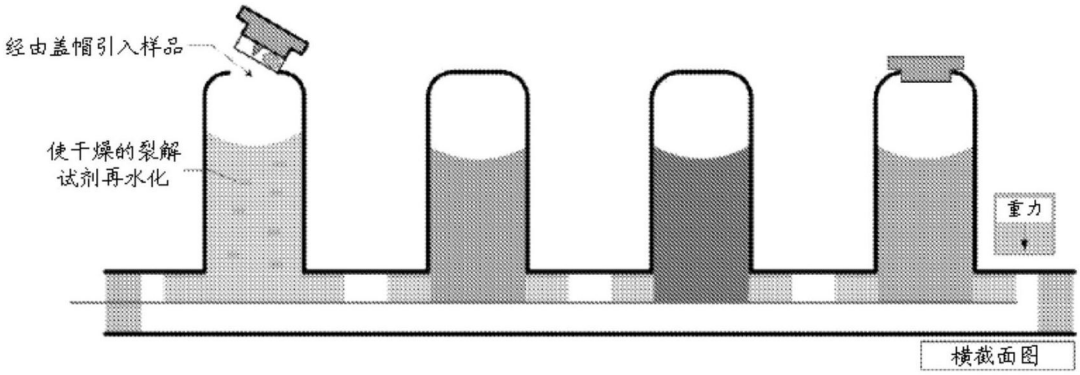

经由盖帽引入样品
使干燥的裂解
试剂再水化
重力
横截面图

图14B

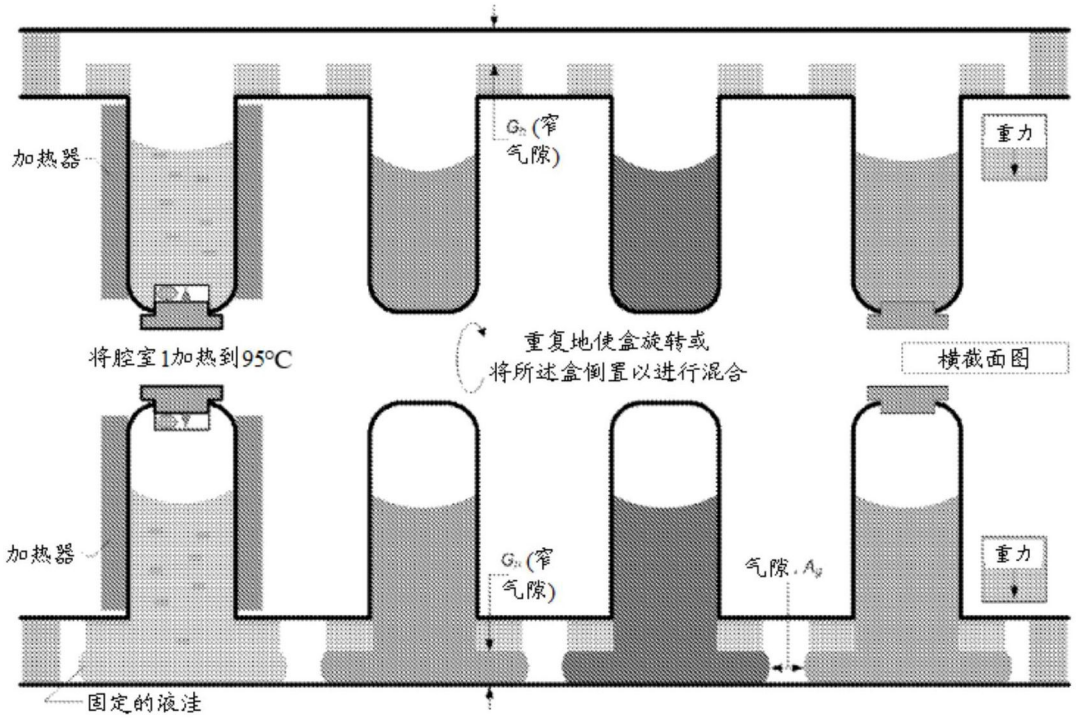

加热器
G_n(窄气隙)
重力
将腔室1加热到95°C
重复地使盒旋转或将所述盒倒置以进行混合
横截面图
加热器
G_n(窄气隙)
气隙，A_g
重力
固定的液注

图14C

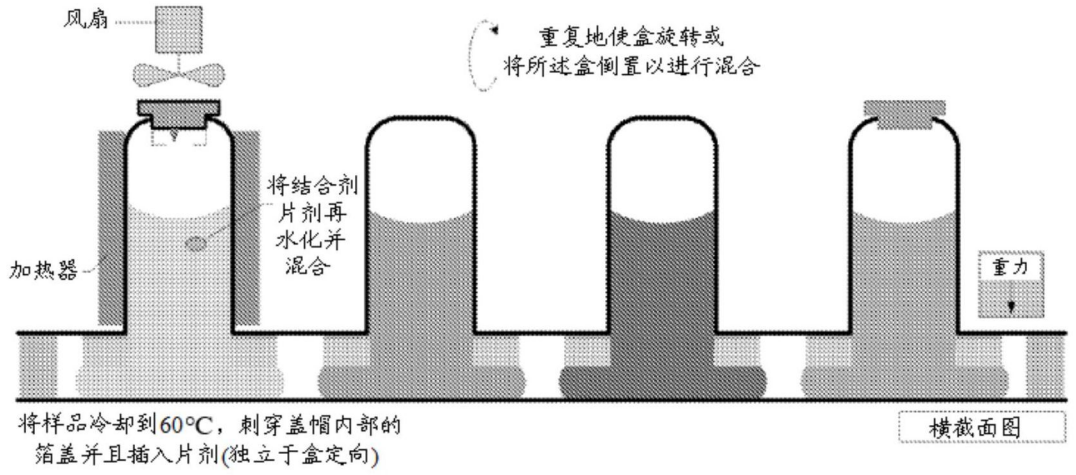

风扇
重复地使盒旋转或将所述盒倒置以进行混合
将结合剂片剂再水化并混合
加热器
重力
将样品冷却到60°C，刺穿盖帽内部的箔盖并且插入片剂(独立于盒定向)
横截面图

图14D

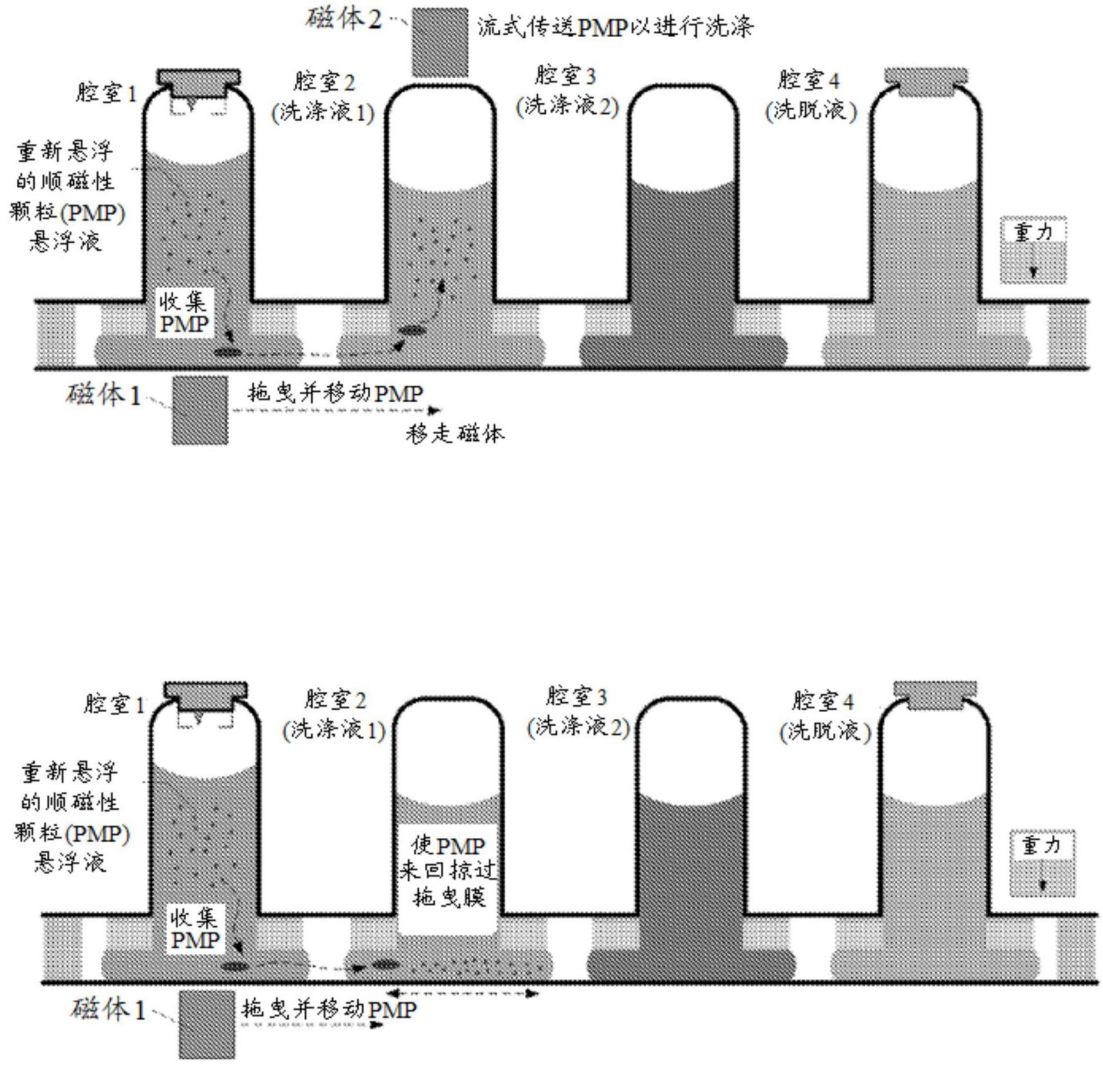

磁体2
流式传送PMP以进行洗涤
腔室1
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
重新悬浮
的顺磁性
颗粒(PMP)
悬浮液
重力
收集
PMP
磁体1
拖曳并移动PMP
移走磁体
腔室1
腔室2
(洗涤液1)
腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
重新悬浮
的顺磁性
颗粒(PMP)
悬浮液
使PMP
来回掠过
拖曳膜
重力
收集
PMP
磁体1
拖曳并移动PMP

图14E

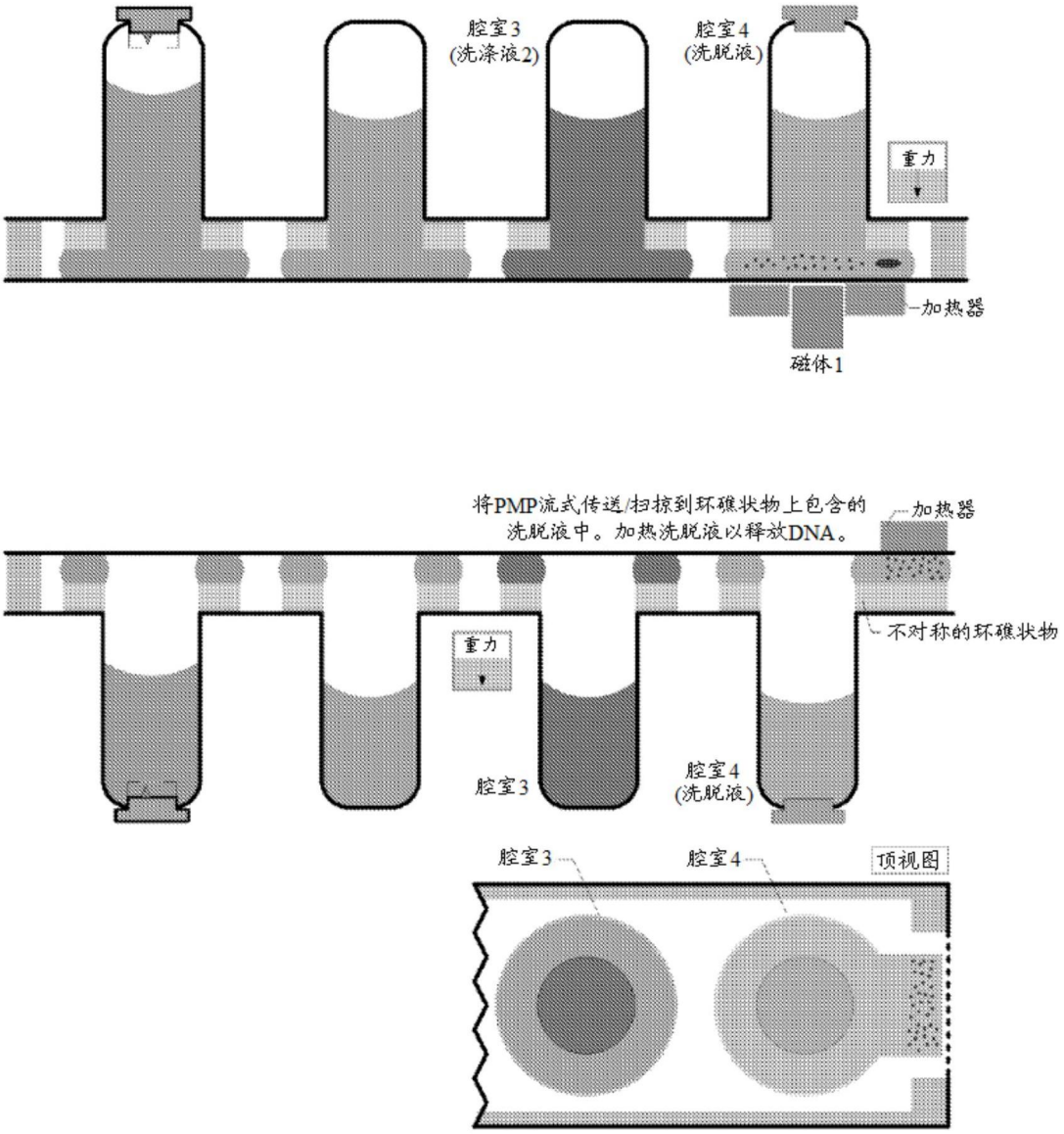

腔室3
(洗涤液2)
腔室4
(洗脱液)
重力
加热器
磁体1
将PMP流式传送/扫掠到环礁状物上包含的
洗脱液中。加热洗脱液以释放DNA。
加热器
不对称的环礁状物
重力
腔室3
腔室4
(洗脱液)
腔室3
腔室4
顶视图

图14F

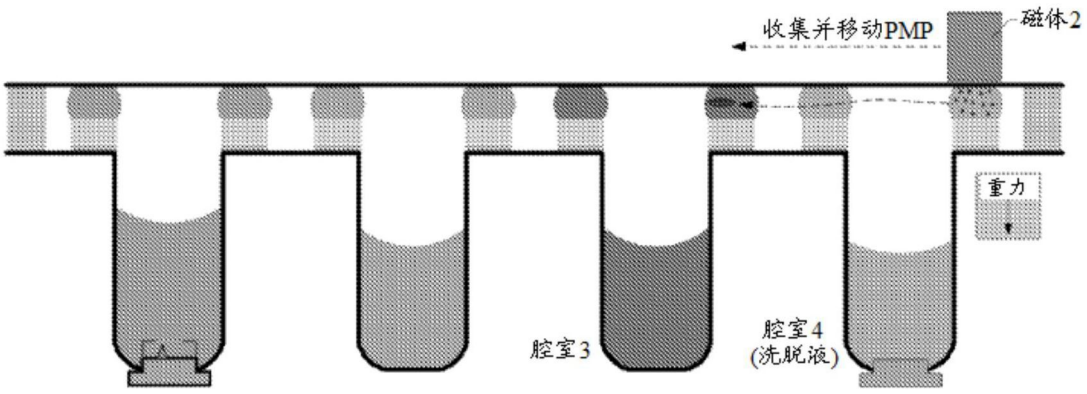

收集并移动PMP
磁体2
重力
腔室3
腔室4
(洗脱液)

图14G

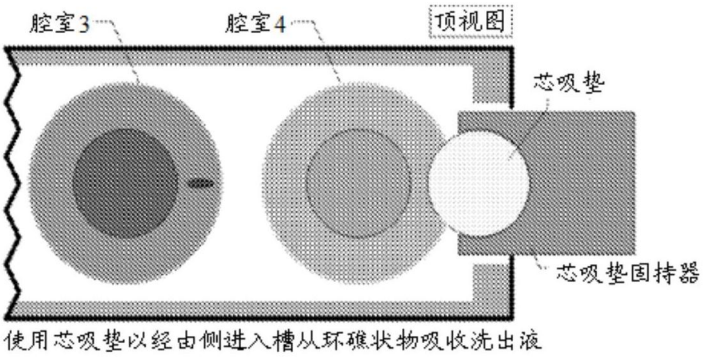


图14H

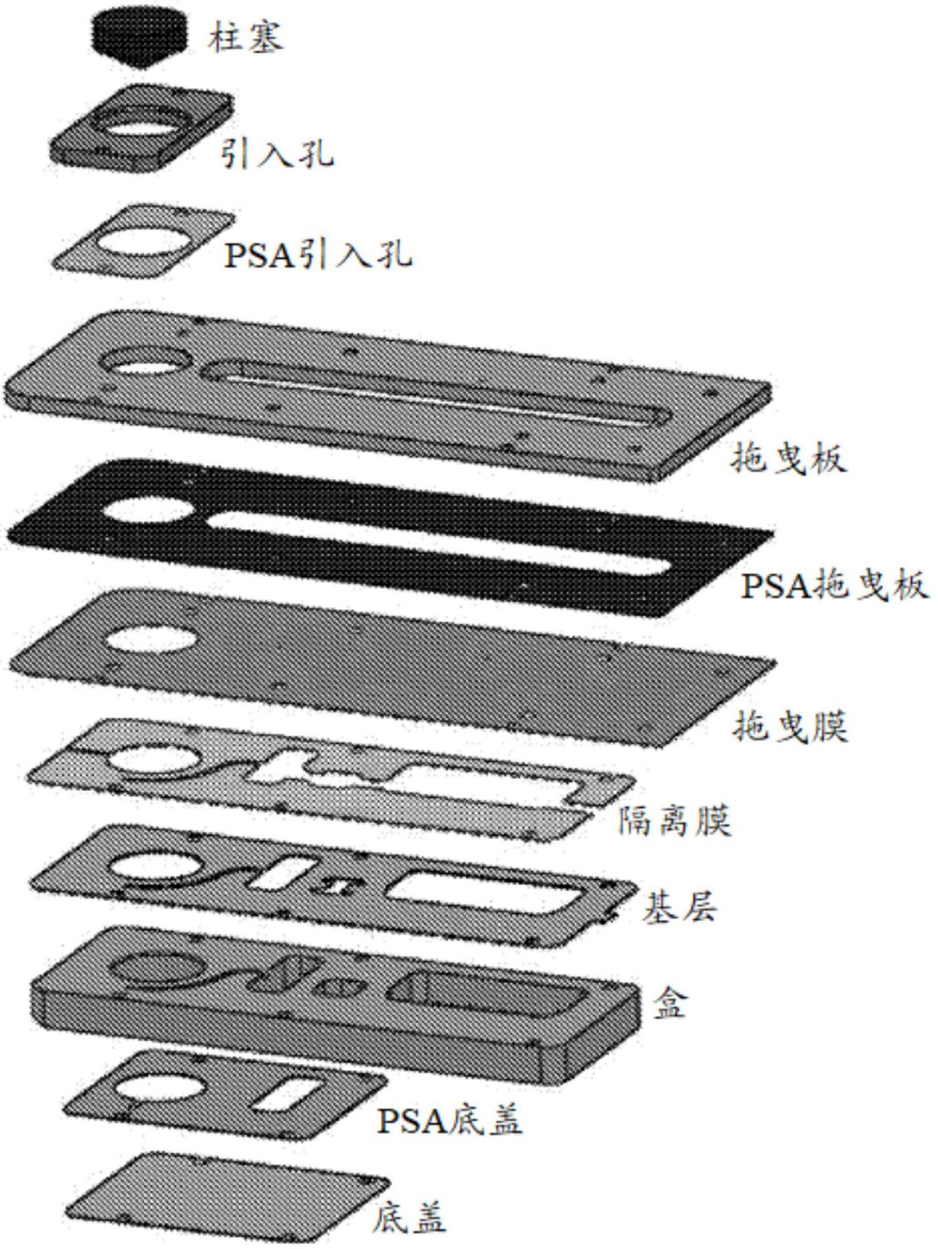


图15A

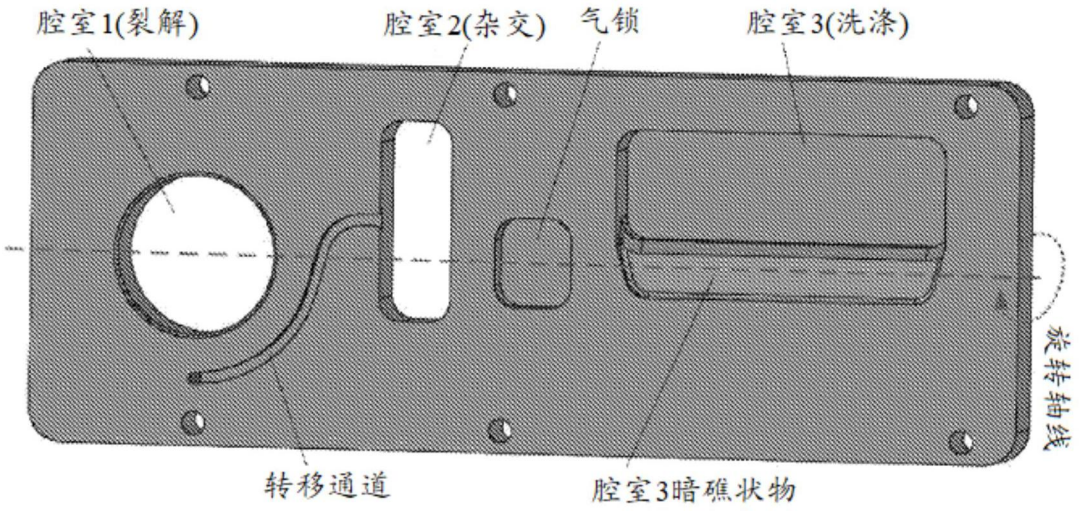


图15B

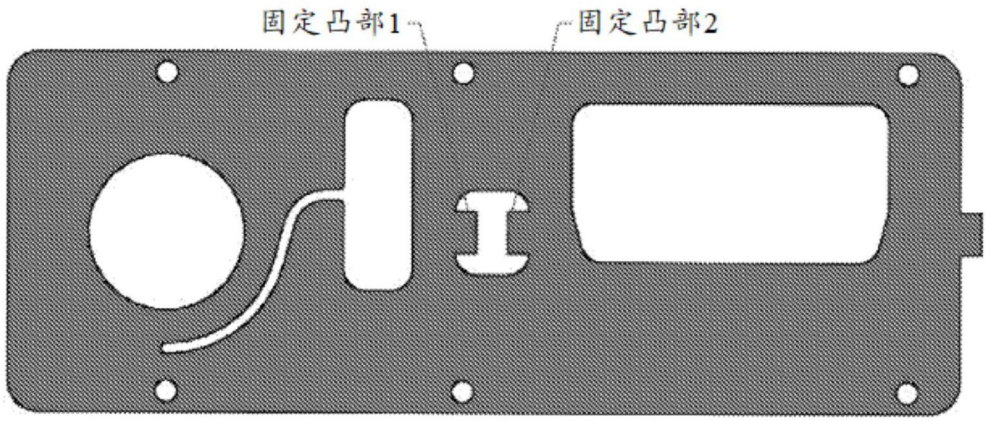


图15C

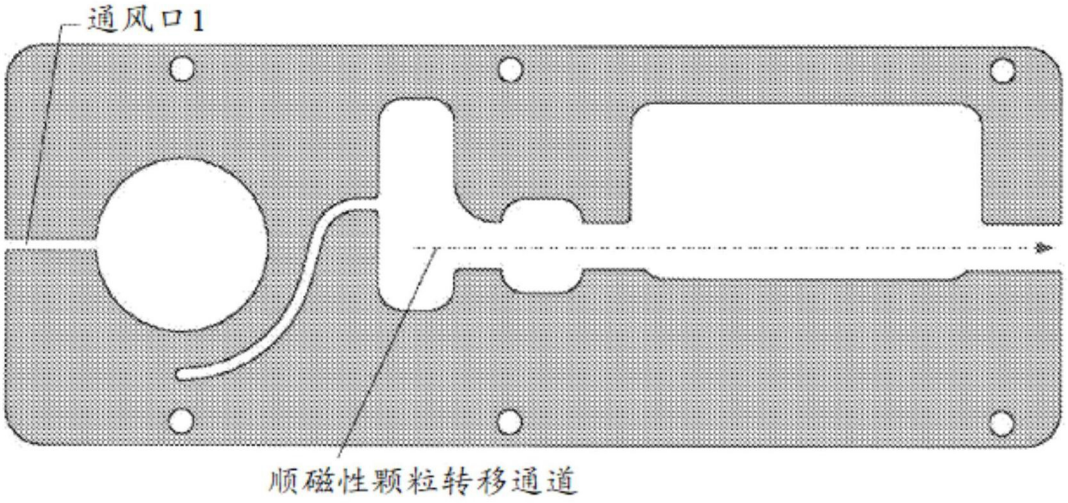


图15D

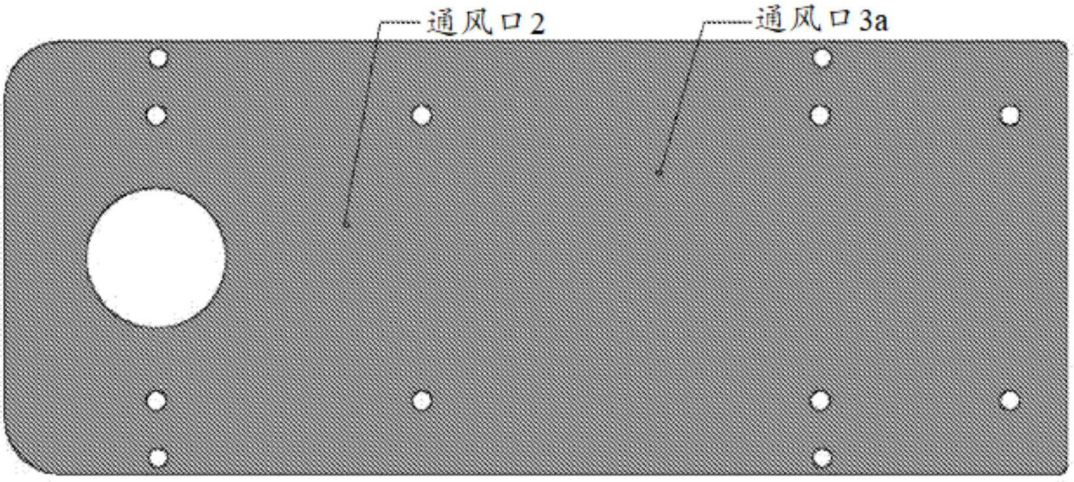


图15E

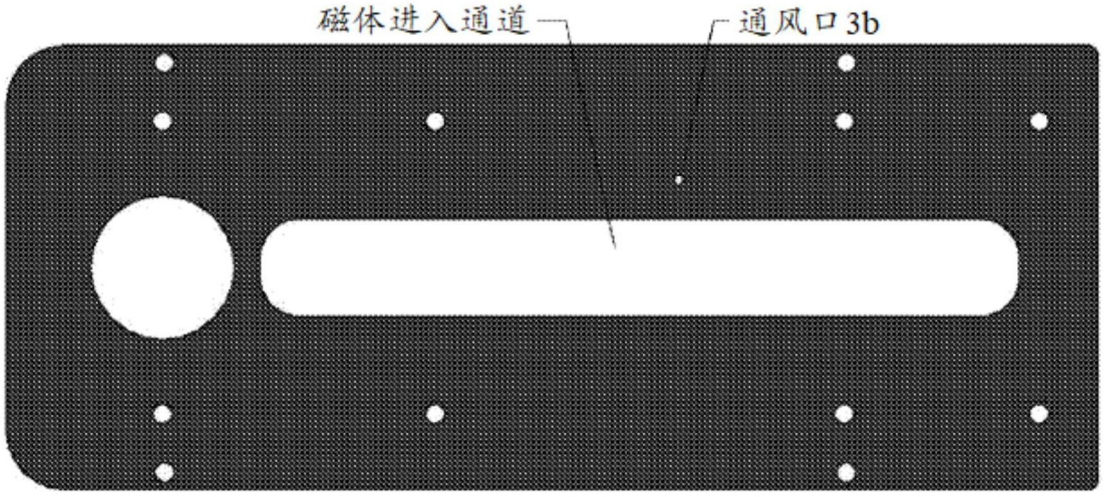

磁体进入通道
通风口3b

图15F

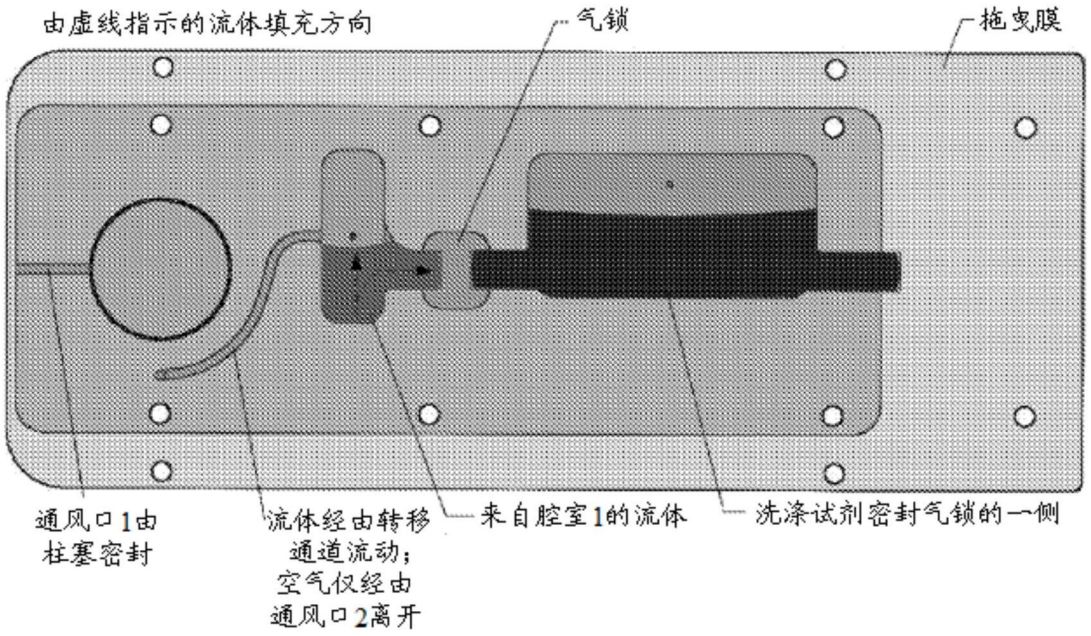

由虚线指示的流体填充方向
气锁
拖曳膜
通风口1由
柱塞密封
流体经由转移
通道流动；
空气仅经由
通风口2离开
来自腔室1的流体
洗涤试剂密封气锁的一侧

图16

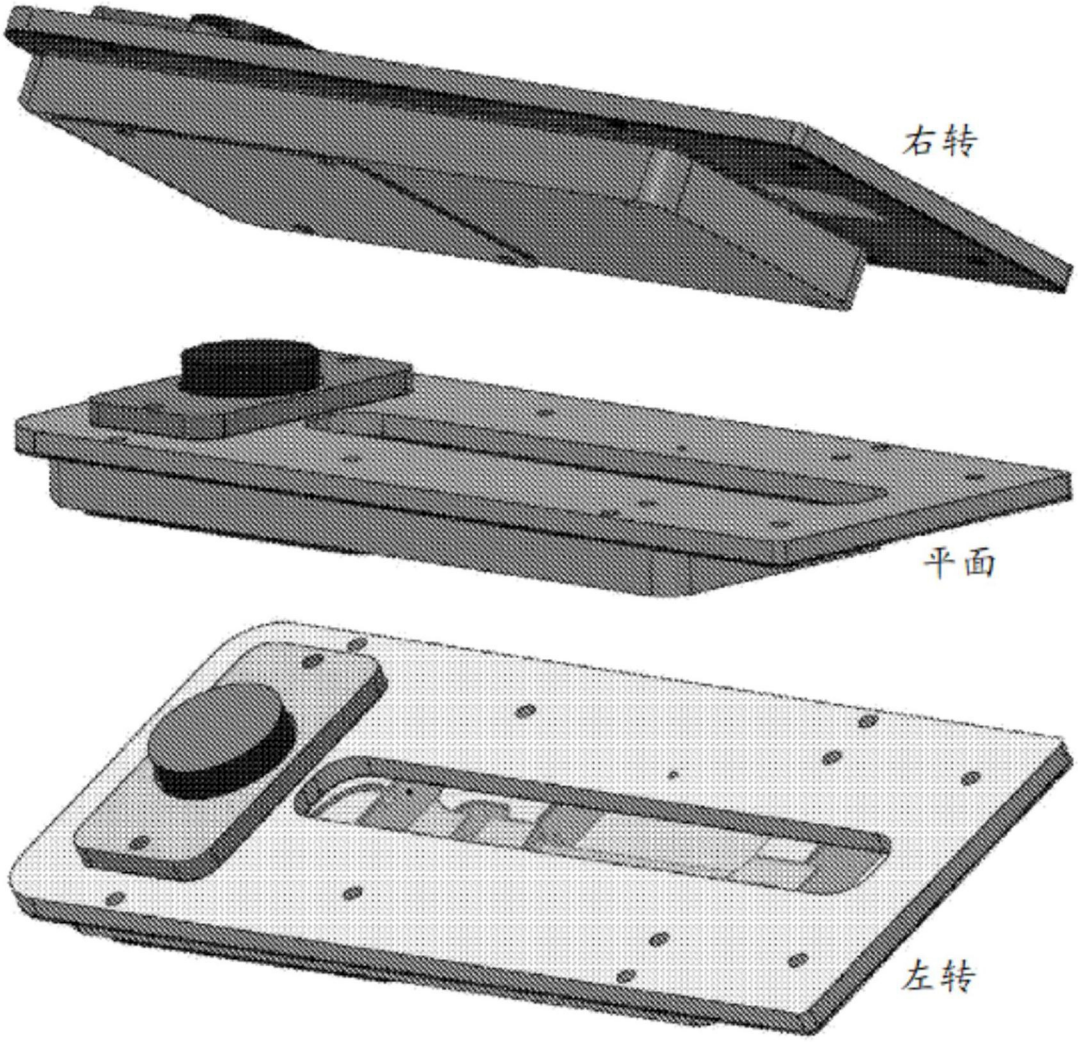


图17

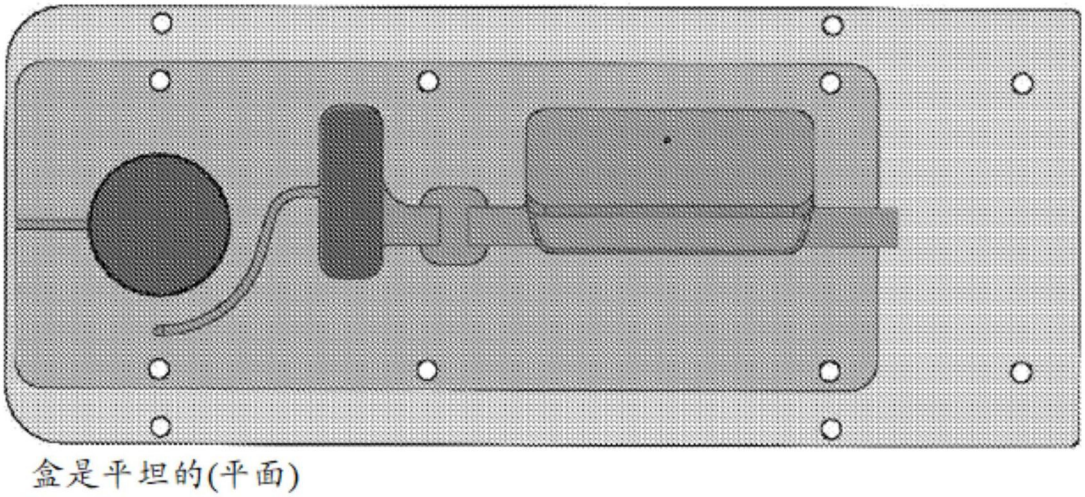


图18A

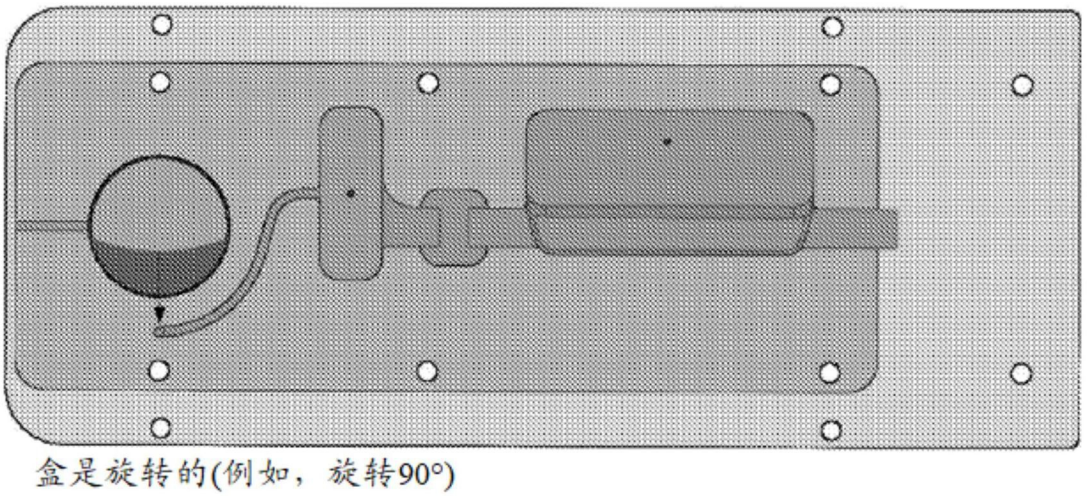


图18B

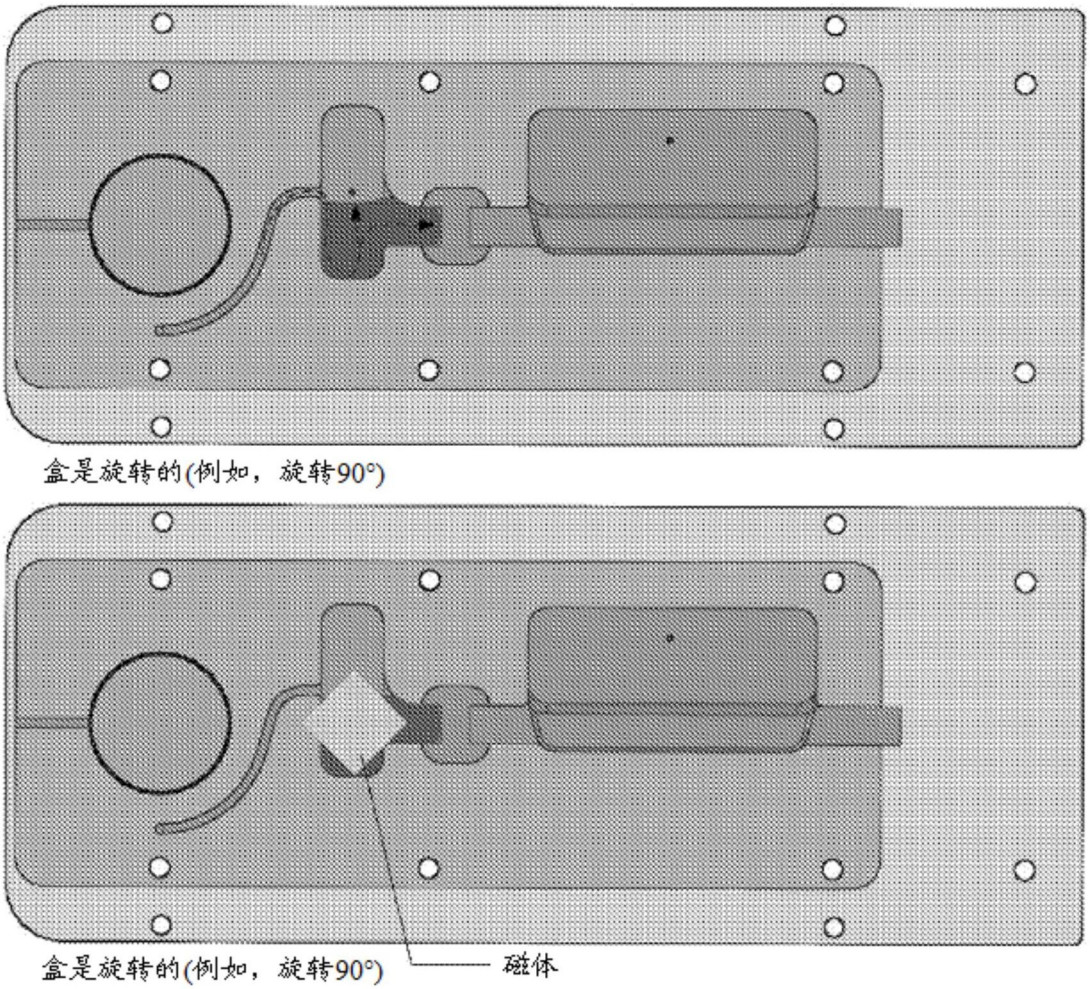


图18C