



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102301220 B

(45) 授权公告日 2014.06.25

(21) 申请号 200980155830.9

(22) 申请日 2009.11.30

(30) 优先权数据

61/139,144 2008.12.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011.07.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/066038 2009.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/080232 EN 2010.07.15

(73) 专利权人 3M 创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 库尔特·J·霍尔沃森

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

代理人 梁晓广 关兆辉

(51) Int. Cl.

G01N 1/40(2006.01)

B01L 3/14(2006.01)

(56) 对比文件

US 4632761, 1986.12.30, 说明书第4-6栏、附图1, 3, 4a, 4b.

US 5833860 A, 1998.11.10, 全文.

US 6221655 B1, 2001.04.24, 全文.

审查员 崔秀艳

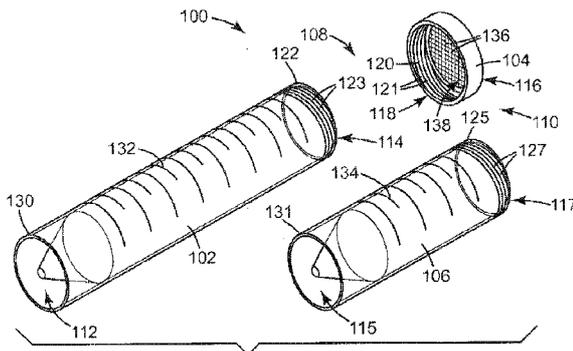
权利要求书2页 说明书21页 附图4页

(54) 发明名称

用于浓缩样品的系统和方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于浓缩样品的系统和方法。所述系统可包括适于容纳样品的第一容器。所述第一容器可包括第一部分和适于以可拆卸方式连接至所述第一部分的第二部分。所述系统还可包括第二容器，所述第二容器包括所述第二部分和适于以可拆卸方式连接至所述第二部分的第三部分。所述方法可包括以朝向所述第一容器的所述第二部分的第一取向对所述第一容器进行离心处理；将所述样品的浓缩物保持在所述第一容器的所述第二部分中；以及以朝向所述第二容器的所述第三部分的第二取向对所述第二容器进行离心处理，使得保持在所述第二部分中的所述浓缩物移至所述第二容器的所述第三部分中，所述第二取向与所述第一取向不同。



1. 一种用于浓缩样品的方法,所述方法包括:

提供适于容纳样品的第一容器,所述第一容器包括第一部分和第二部分,所述第二部分适于以可拆卸方式连接至所述第一部分,所述第二部分具有开口端部和封闭端部并且包括微结构化表面,所述微结构化表面包括多个凹陷部,每个凹陷部均包括基部并且朝向所述第二部分的所述开口端部开口;

以朝向所述第一容器的所述第二部分的第一取向对所述第一容器进行离心处理;

将所述样品的浓缩物保持在所述第一容器的所述第二部分的所述微结构化表面中;

将所述第一容器的所述第二部分从所述第一部分移除;

将所述第二部分连接至第三部分以形成第二容器;以及

以朝向所述第二容器的所述第三部分的第二取向对所述第二容器进行离心处理,使得保持在所述第二部分的所述微结构化表面中的所述浓缩物移至所述第二容器的所述第三部分中,所述第二取向与所述第一取向不同。

2. 一种用于浓缩样品的系统,所述系统包括:

适于容纳样品的第一容器,所述第一容器包括第一部分和第二部分,所述第二部分适于以可拆卸方式连接至所述第一部分,所述第二部分具有开口端部和封闭端部并且包括微结构化表面,所述微结构化表面包括多个凹陷部,每个凹陷部均包括基部并且朝向所述第二部分的所述开口端部开口,所述微结构化表面适于在所述第一容器暴露于第一离心力时接纳所述样品的浓缩物,所述第二部分的所述微结构化表面还适于在正常重力下保持所述样品的所述浓缩物的至少一部分;和

第二容器,包括所述第二部分以及第三部分,所述第三部分适于以可拆卸方式连接至所述第二部分,所述第三部分适于在所述第二容器暴露于第二离心力时接纳来自所述第二部分的所述浓缩物。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中以所述第一取向对所述第一容器进行离心处理包括形成上清液,并且所述方法还包括从所述第一容器移除所述上清液。

4. 根据权利要求2所述的系统,其中所述第一离心力具有朝所述第二部分取向的第一方向,并且所述第二离心力具有朝所述第三部分取向的第二方向。

5. 根据权利要求4所述的系统,其中所述第一方向以相对于所述第二方向成180度的角度取向。

6. 根据权利要求2和4-5中任一项所述的系统,其中所述多个凹陷部包括至少一个一级凹陷部和至少一个二级凹陷部。

7. 根据权利要求2和4-5中任一项所述的系统,其中平均凹陷部体积为至少1皮升。

8. 根据权利要求2和4-5中任一项所述的系统,其中所述微结构化表面的收集体积为至少1微升。

9. 根据权利要求2和4-5中任一项所述的系统,其中所述微结构化表面的收集体积不大于200微升。

10. 根据权利要求1或3所述的方法,其中所述第二取向以相对于所述第一取向成180度的角度取向。

11. 根据权利要求2和4-5中任一项所述的系统,其中所述第一部分包括第一体积,其中所述第二部分包括适于保持所述浓缩物的第二体积,并且其中所述第一体积与所述第二

体积的比值在 10:1 至 10^5 :1 的范围内。

12. 根据权利要求 2 和 4-5 中任一项所述的系统,其中所述样品具有至少 1mL 的体积。

13. 根据权利要求 2 和 4-5 中任一项所述的系统,其中保持在所述第二部分中的所述浓缩物具有至少 1 微升的体积。

14. 根据权利要求 2 和 4-5 中任一项所述的系统,其中保持在所述第二部分中的所述浓缩物具有不大于 100 微升的体积。

15. 根据权利要求 2 和 4-5 中任一项所述的系统,其中所述浓缩物的浓度与所述样品的浓度的比值在 10:1 至 10^5 :1 的范围内。

用于浓缩样品的系统和方法

技术领域

[0001] 本发明整体涉及用于浓缩样品以用于样品测试的系统和方法,具体来讲,本发明涉及用于浓缩液体样品的系统和方法。

背景技术

[0002] 测试水性样品中微生物(例如,细菌、病毒、真菌、孢子等)的存在和/或其他所关注被分析物(例如,毒素、过敏原、激素等)在包括食品和水安全、传染性疾病诊断和环境监测在内的各种应用中可能是重要的。例如,诸如由普通人群消耗的食品、饮料和/或公用水的可食用样品可能含有或可获得微生物或其他被分析物,该微生物或其他被分析物可随着其所处的环境而滋生或生长。这种生长可能会导致病原生物体增殖,这可能会产生毒素或增加至感染性剂量。举个进一步的例子,可以对非可食用样品(如地下水、尿液等)的样品进行多种分析方法,以确定样品是否含有特定被分析物。例如,可对地下水进行微生物或化学毒素检测;可对尿液进行多种诊断指标物的检测,以便于进行诊断(如糖尿病、怀孕等)。

发明内容

[0003] 本发明的一个方面提供用于浓缩样品的方法。该方法可包括提供适于容纳样品的第一容器。第一容器可包括第一部分和适于以可拆卸方式连接至第一部分的第二部分。第二部分可包括微结构化表面。该方法还可包括以朝向第一容器的第二部分的第一取向对第一容器进行离心处理;将样品的浓缩物保持在第一容器的第二部分的微结构化表面中;将第一容器的第二部分从第一部分移除;将该第二部分连接至第三部分以形成第二容器;以及以朝向第二容器的第三部分的第二取向对第二容器进行离心处理,使得保持在第二部分的微结构化表面中的浓缩物移至第二容器的第三部分内,第二取向与第一取向不同。

[0004] 本发明的另一个方面提供用于浓缩样品的方法。该方法可包括提供适于容纳样品的第一容器。第一容器可包括第一部分和适于以可拆卸方式连接至第一部分的第二部分。该方法还可包括以朝向第一容器的第二部分的第一取向对第一容器进行离心处理;将所述样品的浓缩物保持在所述第一容器的所述第二部分中;将第一容器的第二部分从第一部分移除;将该第二部分连接至第三部分以形成第二容器;以及以朝向第二容器的第三部分的第二取向对第二容器进行离心处理,使得保持在第二部分中的浓缩物移至第二容器的第三部分内,第二取向与第一取向不同。

[0005] 本发明的另一个方面提供用于浓缩样品的系统。该系统可包括适于容纳样品的第一容器。第一容器可包括第一部分和适于以可拆卸方式连接至第一部分的第二部分。第二部分可包括微结构化表面,该微结构化表面适于在第一容器暴露于第一离心力时接纳样品的浓缩物。第二部分的微结构化表面还可适于在正常重力下保持样品的浓缩物的至少一部分。该系统还可包括第二容器,该第二容器包括第二部分和适于以可拆卸方式连接至第二部分的第三部分。第三部分可适于在第二容器暴露于第二离心力时接纳来自第二部分的浓缩物。

[0006] 本发明的另一个方面提供用于浓缩样品的系统。该系统可包括适于容纳样品的第一容器。第一容器可包括第一部分和适于以可拆卸方式连接至第一部分的第二部分。第二部分可适于在第一容器暴露于第一离心力时接纳样品的浓缩物。第二部分还可适于在正常重力下保持样品的浓缩物的至少一部分。该系统还可包括第二容器,该第二容器包括第二部分和适于以可拆卸方式连接至第二部分的第三部分。第三部分可适于在第二容器暴露于第二离心力时接纳来自第二部分的浓缩物。

[0007] 通过考虑详细说明和附图,本发明的其它特征和方面将变得清楚。

附图说明

[0008] 图 1 是根据本发明的一个实施例的样品浓缩系统的透视图,该样品浓缩系统包括第一部分、第二部分和第三部分。

[0009] 图 2A-2E 是图 1 的样品浓缩系统的侧视图并且示出了根据本发明的一个实施例的样品浓缩方法。

[0010] 图 3 是图 1 和图 2A-2E 的样品浓缩系统的第二部分沿图 2C 中的线 3-3 截取的在第一时间点的放大示意性局部剖视图。

[0011] 图 4 是根据本发明的一个实施例的微结构化表面的光学显微图。

[0012] 图 5 是根据本发明的另一个实施例的微结构化表面的光学显微图。

[0013] 图 6 是在实例中使用的并且用来形成根据本发明一个实施例的微结构化表面的工具的光学显微图。

[0014] 图 7 是用于实例 4-6 的水体积对 g 力的曲线图。

具体实施方式

[0015] 在详细说明本发明的任何实施例之前,应当理解本发明在其应用中并不受限于在下文描述中提及的或下列附图中所示的结构细节和部件布置。本发明能有其他的实施例,并且能够以多种方式进行操作或实施。另外应该理解的是,本文中所用的用语和术语的目的是为了进行说明,不应被认为是限制性的。本文中所用的“包括”、“包含”或“具有”以及它们的变化形式意在涵盖其后所列举的项目及其等同项目以及附加项目。除非另有规定或限制,否则术语“连接”及其变化形式被广泛地使用并涵盖直接和间接的连接。应当理解,可利用其它实施例并且在不脱离本发明的范围的情况下可以进行结构或逻辑改变。此外,诸如“顶部”、“底部”等术语仅用于描述其彼此关联的元件,但绝非意在描述装置的具体取向,用于表明或暗示装置的必需或要求的取向,或规定本文描述的发明在应用时应如何使用、安装、陈列或设置。

[0016] 在期望被测试以用于所关注被分析物的各种样品中,被分析物可以低浓度存在于样品中,这可能需要样品浓缩为较小体积以达到所关注被分析物的合适浓度,从而实现分析技术的检测阈值。在一些已有的系统和方法中,离心被用于具有足够高的被分析物浓度(例如,细菌浓度)的样品,以在离心烧瓶的基部中形成可见的、堆积的“片状沉淀物”。

[0017] 然后,可通过滗析或抽吸去除离心处理所产生的上清液。视觉检测可用于滗析和抽吸中以确定待去除的上清液的合适体积,并且在上清液和片状沉淀物之间的界面处可能出现显著被分析物损耗。此外,在具有特别低浓度的所关注被分析物的样品中,被分析物在

离心期间可移至离心烧瓶的基部,但不会形成可见的片状沉淀物并且不会紧紧地堆积。在这种情况下,被分析物可在滗析或抽吸期间容易地除去,这可降低所关注被分析物的总体收集效率,并且可降低样品测试工序的精度。

[0018] 结果,在一些已有的系统和方法中,采用过滤来浓缩低浓度的样品。虽然过滤可增加样品中所关注被分析物的浓度,但从过滤器中回收浓缩样品可能是困难的和/或耗时的。例如,在一些情况下,可能需要大洗脱体积,以从过滤器将浓缩的样品回洗或洗涤出去,特别是对于大的初始样品体积,其可能需要具有大直径的过滤器。此外,样品的部分在过滤期间可能变得不可逆地被截留在过滤器中。使用均孔过滤器可以克服截留,然而,滤过均孔过滤器可能是缓慢的,并且均孔过滤器的孔可在过滤期间容易且很快地被堵塞。

[0019] 本发明整体涉及用于浓缩样品的系统和方法,具体地讲,涉及用于浓缩液体样品的系统和方法,更具体地讲,涉及用于浓缩稀水性样品,例如,以提高收集效率和/或样品测试精度的系统和方法。

[0020] 可采用各种方式来获得这种待浓缩的样品。例如,在一些实施例中,待浓缩的样品自身是液体样品,例如稀液体样品和/或稀水性样品。在一些实施例中,样品可包括利用稀释剂洗涤或冲洗所关注的源(例如,表面、传染体等)所产生的液体。在一些实施例中,样品可包括过滤或沉降所关注的源与合适的稀释剂组合形成的液体组合物所产生的滤液。即,大的不溶性物质和/或密度比所关注被分析物的密度低或高的物质,例如多种食品、传染体等等,可在第一过滤或沉降步骤中从液体组合物中去除,以形成将要利用本发明的样品浓缩系统和方法进行浓缩的样品。

[0021] 术语“源”可用来指期望针对被分析物进行测试的食物或非食物。源可以是固体、液体、半固体、凝胶状材料及其组合。在一些实施例中,源可由用来(例如)从所关注表面收集源的基底提供。在一些实施例中,液体组合物可包括基底,基底可被进一步分解(例如在搅拌或溶解过程中分解),以提高源和所关注的任何被分析物的回收率。所关注的表面可包括多种表面的至少一部分,包括(但不限于)壁(包括门)、地板、天花板、排水管、制冷系统、管道(如风道)、通风孔、马桶座圈、手柄、门把手、扶手、床栏杆(如医院中的床栏杆)、工作台面、桌面、餐具表面(如盘、器皿等)、工作表面、设备表面、衣服等以及它们的组合。源的全部或一部分可用来获得将要利用本发明的样品浓缩系统和方法进行浓缩的样品。

[0022] 术语“食物”通常用于指固体、液体(例如,包括但不限于溶液、分散体、乳状液、悬浮液等以及它们的组合)和/或半固体可食用组合物。食物的例子可包括(但不限于)肉类、家禽、蛋、鱼、海鲜、蔬菜、水果、预加工食品(如汤、调味汁、糊)、谷物产品(如面粉、谷类食物、面包)、罐装食物、奶、其他乳制品(如奶酪、酸奶、酸奶油)、脂肪、油类、甜点、调味品、香料、面食、饮料、水、动物饲料、其他合适的可食用材料以及它们的组合。

[0023] 术语“非食物”通常用于表示不在“食物”定义之内且通常认为不可食用的所关注的源。非食物源的例子可包括(但不限于)临床样品、细胞溶解物、全血或血液的一部分(如血清)、其他体液或分泌物(如唾液、汗液、皮脂、尿液)、粪便、细胞、组织、器官、活组织检查、植物材料、木材、污垢、沉淀物、药物、化妆品、食品补充剂(如人参胶囊)、药剂、传染体、其他合适的非食用材料以及它们的组合。

[0024] 术语“传染体”通常用于表示能够携带和/或传播传染性有机体的无生命物体或基质。传染体可包括(但不限于):布、拖把头、毛巾、海绵、抹布、餐具、硬币、纸币、手机、衣

物（包括鞋子）、门把手、女性用品、尿布等以及它们的部分或它们的组合。

[0025] 术语“被分析物”通常用于指待检测（例如通过实验室或现场测试检测）的物质。可针对具体被分析物的存在、数量和 / 或生活力对样品进行测试。这种被分析物可存在于源内（如内部）或源之外（如外表面上）。被分析物的例子可包括（但不限于）微生物、生物分子、化学品（如杀虫剂、抗生素）、金属离子（如汞离子、重金属离子）、含金属离子的络合物（如包含金属离子和有机配体的络合物）以及它们的组合。

[0026] 多种测试方法可以用来辨识、定量和 / 或阐明被分析物的生活力，包括，但不限于微生物测定法、生物化学测定法（如免疫测定法）或它们的组合。可采用的测试方法的具体例子包括（但不限于）横流测定法、滴定、热分析、显微镜法（如光学显微镜、荧光显微镜、免疫荧光显微镜、扫描电子显微镜（SEM）、透射电子显微镜（TEM））、谱学方法（如质谱、核磁共振（NMR）谱、拉曼光谱、红外（IR）光谱、X 射线光谱、衰减全反射光谱、傅里叶变换光谱、伽马射线光谱等）、分光光度法（如吸光度、荧光、发光等）、层析法（如气相层析法、液相层析法、离子交换层析法、亲和层析法等）、电化学分析、基因技术（如聚合酶链反应（PCR）、转录介导的扩增（TMA）、杂交保护测定法（HPA）、DNA 或 RNA 分子识别测定法等）、三磷酸腺苷（ATP）检测测定法、免疫测定法（如酶联免疫吸附测定法（ELISA））、细胞毒性测定法、病毒斑测定法、细胞病变效应评估技术、诸如可用培养基（如琼脂）和 / 或 3M™PETRIFILM™ 板（如使用 3M™ PETRIFILM™ 读板仪（3MCompany, St. Paul, MN）成像、量化和 / 或解释）之类装置进行的培养技术、其他合适的被分析物检测方法或它们的组合。

[0027] 术语“微生物”通常用来表示任何原核或真核微观生物体，包括（但不限于）一种或多种细菌（如运动性细菌或植物性细菌、革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌）、病毒（如类诺瓦克病毒、诺瓦克病毒、轮状病毒、腺病毒、DNA 病毒、RNA 病毒、有包膜病毒、无包膜病毒、人免疫缺陷病毒（HIV）、人乳头瘤病毒（HPV）等）、细菌孢子或内生孢子、藻类、真菌（如酵母、丝状真菌、真菌孢子）、朊病毒、支原体以及原生动物。在一些情况下，特别要关注的微生物是病原性的那些，术语“病原体”用于指任何病原微生物。病原体的例子可包括（但不限于）肠杆菌科（Enterobacteriaceae）成员、或微球菌科（Micrococaceae）成员、或葡萄球菌属（Staphylococcus spp.）、链球菌属（Streptococcus spp.）、假单胞菌属（Pseudomonas spp.）、肠球菌属（Enterococcus spp.）、沙门氏菌属（Salmonella spp.）、军团菌属（Legionella spp.）、志贺氏菌属（Shigella spp.）、耶尔森菌属（Yersinia spp.）、肠杆菌属（Enterobacter spp.）、埃希杆菌属（Escherichia spp.）、芽孢杆菌属（Bacillus spp.）、李斯特菌属（Listeria spp.）、弯曲菌属（Campylobacter spp.）、不动杆菌属（Acinetobacter spp.）、弧菌属（Vibrio spp.）、梭菌属（Clostridium spp.）以及棒状杆菌属（Corynebacterium spp.）。病原体的具体例子可包括（但不限于）大肠杆菌，其包括肠出血性大肠杆菌例如，血清型 O157:H7, O129:H11；铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*）；蜡状芽孢杆菌（*Bacillus cereus*）；炭疽芽孢杆菌（*Bacillus anthracis*）；肠炎沙门氏菌（*Salmonella enteritidis*）；肠道沙门氏菌鼠伤寒血清型（*Salmonella enterica* serotype Typhimurium）；单核细胞增多性李斯特菌（*Listeria monocytogenes*）；肉毒梭状芽孢杆菌（*Clostridium botulinum*）；产气荚膜梭状芽孢杆菌（*Clostridium perfringens*）；金黄色酿脓葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）；耐甲氧西林金黄色葡萄球菌；空肠弯曲菌（*Campylobacter jejuni*）；小肠

结肠炎耶尔森菌 (*Yersinia enterocolitica*) ; 创伤弧菌 (*Vibrio vulnificus*) ; 艰难梭状芽孢杆菌 (*Clostridium difficile*) ; 耐万古霉素肠球菌 ; 和阪崎肠杆菌 (*Enterobacter* [*Cronobacter*] *sakazakii*) 。可能影响微生物生长的环境因素可包括营养物质存在与否、pH 值、含水量、氧化 - 还原电位、抗微生物化合物、温度、大气气体组成和生物结构或屏障。

[0028] 术语“生物分子”一般用来指在生物体中出现或由生物体形成的分子或其衍生物。例如,生物分子可包括(但不限于)氨基酸、核酸、多肽、蛋白质、多核苷酸、类脂、磷脂、糖类、多糖中的至少一者以及它们的组合。生物分子的具体例子可包括(但不限于)代谢物(如葡萄球菌肠毒素)、变应原(如花生变应原、蛋变应原、花粉、尘螨、霉菌、毛屑或其内部固有的蛋白质等)、激素、毒素(如芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 腹泻毒素、黄曲霉毒素、艰难梭状芽孢杆菌毒素等)、RNA(如 mRNA、总 RNA、tRNA 等)、DNA(如质粒 DNA、植物 DNA 等)、标记蛋白、抗体、抗原、ATP 以及它们的组合。

[0029] 术语“可溶性物质”和“不溶性物质”一般用来指在一定条件下在给定介质中相对可溶或不溶的物质。具体地讲,在一组给定的条件下,“可溶性物质”是指进入溶液中并且可溶解于体系的溶剂(如稀释剂)中的物质。“不溶性物质”是指在一组给定的条件下不进入溶液并且不溶解于体系溶剂中的物质。源可包括可溶性物质和不溶性物质(如细胞碎屑)。不溶性物质有时称作颗粒或碎片,并且可包括来源物质本身的部分(即来自来源的内部或外部(如外表面))或搅拌过程产生的其他来源残余物或碎片。此外,包括源和稀释剂的液体组合物可包括较为致密的物质(即,密度比混合物中的稀释剂和其他物质高的物质)和不太致密的物质(即,密度比混合物中的稀释剂和其他物质低的物质)。因此,可以选择样品的稀释剂,使得所关注被分析物比稀释剂致密,并且能够通过沉降(例如,离心)而被浓缩。

[0030] 术语“稀释剂”通常用来指添加至源材料中以分散、溶解、悬浮、乳化、洗涤和 / 或冲洗该源的液体。稀释剂可用来形成液体组合物,由该液体组合物可获得利用本发明的样品浓缩系统和方法进行浓缩的样品。在一些实施例中,稀释剂是无菌液体。在一些实施例中,稀释剂可包含多种添加剂,包括(但不限于)表面活性剂,或其他有助于分散、溶解、悬浮或乳化源以用于后续被分析物测试的合适添加剂;流变剂;抗微生物中和剂(如中和防腐剂或其他抗微生物剂的那些);包含营养物质(如有助于所需微生物选择性生长的营养物质)和 / 或生长抑制剂(如抑制不需要的微生物生长的抑制剂)的富集介质或培养基; pH 缓冲剂;酶;指示分子(如 pH 值或氧化 / 还原指示物);孢子萌发剂;中和消毒剂的试剂(如中和氯的硫代硫酸钠);旨在促进细菌复苏的试剂(如丙酮酸钠);稳定剂(例如,稳定所关注被分析物的稳定剂,包括溶质,例如氯化钠、糖等);或上述物质的组合。在一些实施例中,稀释剂可包括无菌水(如无菌双蒸馏水 (ddH₂O));一种或多种选择性溶解、分散、悬浮或乳化来源的有机溶剂;水性有机溶剂,或它们的组合。在一些实施例中,稀释剂为无菌缓冲液(如得自 Edge Biological (Memphis TN) 的 Butterfield 氏缓冲液)。在一些实施例中,稀释剂为选择性或半选择性营养制剂,使得稀释剂可用于所需被分析物(如细菌)的选择性或半选择性生长。在这些实施例中,可将稀释剂与源一起孵育一段时间(例如在规定温度下),以促进所需被分析物的这种生长和 / 或发育。

[0031] 培养基的例子可包括(但不限于)胰酶大豆肉汤 (TSB)、缓冲蛋白胨水 (BPW)、通

用预富集肉汤 (UPB)、李斯特菌富集肉汤 (LEB)、乳糖肉汤、博尔顿肉汤或本领域的普通技术人员已知的其他通用、非选择性或略带选择性的培养基。培养基可包括支持一种以上的所需微生物 (即所关注被分析物) 生长的营养物质。

[0032] 生长抑制剂的例子可包括 (但不限于) 胆酸盐、脱氧胆酸钠、亚硒酸钠、硫代硫酸钠、硝酸钠、氯化锂、亚碲酸钾、连四硫酸钠、磺胺乙酰钠、扁桃酸、连四硫酸半胱氨酸亚硒酸盐、磺胺二甲嘧啶、亮绿、孔雀石绿草酸盐、结晶紫、十四烷基硫酸钠、磺胺嘧啶、阿米卡星、氨基曲南、萘啶酮酸钠盐、吡啶黄、多粘菌素 B、新生霉素、阿拉磷、有机和无机酸、噬菌体、二氯硝基苯胺孟加拉红、氯四环素、一定浓度的氯化钠、蔗糖和其他溶质以及它们的组合。

[0033] 术语“过滤”通常用来指的是按粒度、电荷和 / 或功能分离物质的过程。例如, 过滤可包括将可溶性物质和溶剂 (如稀释剂) 与不溶性物质分离, 或过滤可包括将可溶物、溶剂和相对较小的不溶性物质与相对较大的不溶性物质分离。结果, 可“预过滤”液体组合物, 以获得利用本发明的样品浓缩系统和方法进行浓缩的样品。可使用多种过滤方法, 包括但不限于, 将液体组合物 (例如, 包括所关注的源, 从该源可获得待浓缩的样品) 滤过过滤器、通过其他合适的过滤方法以及它们的组合。

[0034] “沉降”通常用来指按密度分离物质的过程, 例如, 通过让液体组合物中较为致密的物质 (即, 密度比混合物中的稀释剂和其他物质高的物质) 沉降或下沉, 和 / 或通过让液体组合物中不太致密的物质 (即, 密度比混合物中的稀释剂和其他物质低的物质) 上升或漂浮。沉降可通过重力或通过离心进行。然后, 通过从较为致密的物质抽吸不太致密的物质 (即, 不沉降的或漂浮的物质) 和稀释剂、淹析不太致密的物质和稀释剂以及它们的组合, 较为致密的物质可与不太致密的物质 (和稀释剂) 分隔开。除了预过滤步骤之外或者代替预过滤步骤的是, 预沉降步骤可以用来获得利用本发明的样品浓缩系统和方法进行浓缩的样品。

[0035] “过滤器”通常用来描述用于将液体组合物中的可溶性物质 (或可溶性物质和相对较小的不溶性物质) 和溶剂与不溶性物质 (或较大的不溶性物质) 分离和 / 或在样品浓缩期间过滤样品的装置。过滤器的例子可包括 (但不限于) 织造网或非织造网 (如丝网、布网、塑料网等)、织造或非织造聚合物网 (如具有以均匀或不均匀工艺铺设的聚合物纤维, 其可被压延)、表面过滤器、深度过滤器、膜 (如陶瓷膜 (如可以商品名 ANOPORE 购自 Whatman Inc. (Florham Park, NJ) 的陶瓷氧化铝膜过滤器)、聚碳酸酯膜 (如可以商品名 NUCLEOPORE 购自 Whatman, Inc. 的径迹刻蚀聚碳酸酯膜过滤器))、聚酯膜 (如包含径迹刻蚀聚酯等)、筛、玻璃棉、玻璃料、滤纸、泡沫等以及它们的组合。

[0036] 在一些实施例中, 术语“滤液”通常用来描述已从液体组合物中分离或移除不溶性物质 (或至少相对较大的不溶性物质) 之后剩下的液体。在一些实施例中, 术语“上清液”通常用来描述已从液体组合物中分离或移除较为致密的物质之后剩下的液体。这样的滤液和 / 或上清液可形成利用本发明的样品浓缩系统和方法待被浓缩的样品。

[0037] 术语“微结构”或“微结构特征物”及其衍生词通常用于指具有可辨认的凸起 (如, 壁) 或者凹陷 (如, 至少部分地由壁所限定的井) 几何形状的结构或特征物。例如, 微结构可包括形成来保持液体、固体、半固体、凝胶材料、其他合适材料或它们的组合的微结构化的井。微结构还可包括至少部分地限定微结构井的壁或基部。此外, 微结构可包括存在于任何上述微结构上的凸起、凹陷等。例如, 微结构井或壁可具有纹理, 该等纹理也可

被称为微结构。

[0038] 术语“微结构化表面”通常用来指具有微结构或微结构特征物的表面。

[0039] 术语“微复制”及其衍生词通常用于指通过结构化表面特征物在制作中及制作后个体特征得到精确复制的工艺来制备微结构化表面。

[0040] 当术语“一级”用于指微结构时,通常用于指在同一表面上具有最大量级的任何微结构的微结构。

[0041] 当术语“二级”用于指微结构时,通常用于指在同一表面上相对一个或多个一级微结构具有较小量级的微结构的微结构。

[0042] 图 1 示出根据本发明的一个实施例的样品浓缩系统 100。样品浓缩系统 100 包括第一部分 102、第二部分 104 和第三部分 106。在一些实施例中,第一部分 102 和第二部分 104 能够以可拆卸方式连接在一起以形成第一容器 108。在一些实施例中,第一部分 102 和第三部分 106 能够以可拆卸方式连接在一起以形成第二容器 110。

[0043] 通常,可以利用图 1 的样品浓缩系统 100 如下地执行样品浓缩方法:可将样品放置在第一部分 102 中,并且可将第一部分 102 连接至第二部分 104 以形成第一容器 108。可将第一容器 108 朝第二部分 104 进行离心处理以在第二部分 104 中形成保留在第二部分 104 中的样品浓缩物。可将第二部分 104 从第一部分 102 移除并连接至第三部分 106 以形成第二容器 110,并且可以离开第二部分 104 的方式离心第二容器 110,以将样品的浓缩物移入至第三部分 106 中。以下将参考图 2A-2E 更加详细地说明本发明的样品浓缩方法。

[0044] 为了简单起见,第一容器 108 将会被描述为包括第一部分 102 和第二部分 104,并且第二容器 110 将会描述为包括第二部分 104 和第三部分 106。然而,应当理解,样品浓缩系统 100 的一些实施例不包括第三部分 106,并且在这些实施例中,第一部分 102 可以用在第二容器 110 以及第一容器 108 中。例如,可清洁第一部分 102 并再次用在第二容器 110 中。

[0045] 第一容器 108 适于容纳待浓缩的样品,例如以用于进一步处理,例如用于测试一种或多种所关注被分析物。样品通常是液体样品,在一些实施例中,为稀液体样品(即,样品中存在的任何所关注被分析物以低浓度存在),并且在一些实施例中,为稀水性样品。第一容器 108 的尺寸和形状根据需要可设计用于容纳待浓缩的样品,并且仅以举例的方式示出了第一部分 102 和第二部分 104 的形状和构造。

[0046] 如上所述,第一部分 102 和第二部分 104 能够以可拆卸方式连接在一起,以形成第一容器 108。仅仅以举例的方式,第一部分 102 在图 1 中示出为具有封闭端部 112 和开口端部 114 的细长管,并且第二部分 104 示出为具有封闭端部 116 和开口端部 118 的顶盖。第二部分 104 的开口端部 118 尺寸被设计用于接纳第一部分 102 的至少一部分,具体来讲为第一部分 102 的开口端部 114,使得将第二部分 104 和第一部分 102 连接在一起可闭合和/或覆盖第一部分 102 的开口端部 114。举以另一个例子,第二部分 104 包括内表面 120,该内表面 120 包括一个或多个螺纹 121,并且第一部分 102 包括外表面 122,该外表面 122 包括邻近开口端部 114 的一个或多个螺纹 123。第二部分 104 的螺纹 121 被构造用于与第一部分 102 的螺纹 123 配合和接合,使得第二部分 104 和第一部分 102 能够连接在一起。在一些实施例中,第一部分 102 和第二部分 104 能够连接在一起以形成第一容器 108,该第一容器 108 被密封隔绝周围环境(例如,使得第一容器 108 包括不透液密封件、真空密封件或

它们的组合)。例如,在一些实施例中,第一部分 102 和第二部分 104 中的一个或两个可包括一个或多个密封件(例如,0 形环)。

[0047] 仅仅以举例的方式,第一部分 102 包括渐缩的封闭端部 112。举以另一个例子,第一部分 102 包括凸缘 130,该凸缘 130 从第一部分 102 的侧壁延伸至与渐缩封闭端部 112 的终点相同的距离。凸缘 130 能够允许第一部分 102 以端部竖立以方便第一部分 102 的操纵、存储和 / 或运送。

[0048] 如上所述,第二部分 104 和第三部分 106 能够以可拆卸方式连接在一起以形成第二容器 110。仅仅以举例的方式,第三部分 106 在图 1 中示出为具有封闭端部 115 和开口端部 117 的细长管。第二部分 104 的开口端部 118 的尺寸被设计为接纳第三部分 106 的至少一部分,具体是第三部分 106 的开口端部 117,使得将第二部分 104 和第三部分 106 连接在一起而闭合和 / 或覆盖第三部分 106 的开口端部 117。举以另一个例子,第三部分 106 包括外表面 125,该外表面 125 包括位于开口端部 117 附近的一个或多个螺纹 127。第二部分 104 的螺纹 121 被构造为与第三部分 106 的螺纹 127 配合和接合,使得第二部分 104 和第三部分 106 能够连接在一起。在一些实施例中,第二部分 104 和第三部分 106 能够连接在一起以形成第二容器 110,该第二容器 110 被密封隔绝周围环境(例如,使得第二容器 110 包括不透液密封件、真空密封件或者它们的组合)。例如,在一些实施例中,第三部分 106 和第二部分 104 其中之一或二者可包括一个或多个密封件(例如,0 形环)。

[0049] 仅仅以举例的方式,第三部分 106 包括渐缩的封闭端部 115。举以另一个例子,第三部分 106 包括凸缘 131,该凸缘 131 从第三部分 106 的侧壁延伸至与渐缩封闭端部 115 的终点相同的距离。凸缘 131 能够允许第三部分 106 以端部竖立以方便第三部分 106 的操纵、存储和 / 或运送。

[0050] 第一部分 102、第二部分 104 和第三部分 106 可由多种材料形成,包括但不限于聚合物材料、金属(例如,铝、不锈钢等)、陶瓷、玻璃以及它们的组合。聚合物材料的例子可包括(但不限于)聚烯烃(如聚乙烯、聚丙烯以及它们的组合等)、聚碳酸酯、丙烯酸树脂、聚苯乙烯、高密度聚乙烯(HDPE)、聚丙烯、能够形成独立式和 / 或自支承式容器的其他合适聚合物材料或它们的组合。根据待浓缩的样品的类型、量和 / 或尺寸,以及待收集的浓缩物的类型、量和 / 或尺寸,第一部分 102、第二部分 104 和第三部分 106 可以是半透明的(或者甚至是透明的)或不透明的,并且可以是任何合适的尺寸。例如,在一些实施例中,第一部分 102 可具有至少约 1mL、至少约 5mL、至少约 10mL、至少约 25mL、至少约 50mL、至少约 100mL 或至少约 250mL 的容量。在一些实施例中,第二部分 104 可具有不大于约 1mL、不大于约 2mL、不大于约 5mL 或不大于约 10mL 的容量。在一些实施例中,第三部分 106 可具有不大于约 1mL、不大于约 5mL 或大于约 10mL 的容量。

[0051] 第一部分 102 和第二部分 104 的形状、尺寸和连接装置仅仅以举例的方式如上所述和如图 1 所示。然而,应当理解,第一部分 102 和第二部分 104 可以采用多种形状和尺寸。此外,多种连接装置可以用来以可拆卸方式连接第一部分 102 和第二部分 104,包括但不限于夹具(例如,弹簧支承夹具、按扣型夹具等);夹片(例如,弹簧支承夹片等);系带(例如,线材系带);一个或多个磁体;带材;粘合剂;粘接剂;钩环扣件;搭扣配合接合(例如,其中第二部分 104 用作掀盖);压力配合接合(有时也称为“摩擦配合接合”或“过盈配合接合”);热粘结(例如,施加到待连接的部件中的一个或两个上的热和 / 或压力);其他合

适的连接装置；以及它们的组合。

[0052] 在一些实施例中，如图 1 所示，第一部分 102 和第三部分 106 可分别包括标记 132 和 134，所述标记可用来方便向第一部分 102 和 / 或第三部分 106 添加期望的量。

[0053] 在一些实施例中，第二部分 104 可包括适于保持待浓缩样品的浓缩物的一个或多个凹陷部 136，每个凹陷部 136 都朝向第二部分 104 的开口端部 118 开口。每个凹陷部 136 都包括井、凹陷、槽等等以及它们的组合中的至少一者。在一些实施例中，一个或多个凹陷部 136 可包括向外突起的微结构之间的槽或空隙，例如 Ylitalo 等人的第 6,386,699 号美国专利中所述的那些。在一些实施例中，凹陷部 136 中的一个或多个可包括表面修改（例如，亲水 / 亲油表面处理或涂层）以便于保持关注的浓缩。凹陷部 136 不必都具有相同的形状或尺寸，在一些实施例中，第二部分 104 包括多个凹陷部 136，范围为从微结构化的到较大的，并且具有多种形状和构造。在一些实施例中，一个或多个凹陷部 136 可直接形成在第二部分 104 的内表面 120 中，在一些实施例中，一个或多个凹陷部 136 可形成在连接至第二部分 104 的内表面 120 的基底中。

[0054] 在一些实施例中，如将参考图 3 更详细描述，第二部分 104 的内表面 120 的至少一部分可包括微结构化表面 138。在采用微结构化表面 138 的实施例中，一个或多个凹陷部 136 可以是微结构化凹陷部 136，并且微结构化表面 138 可包括多个微结构特征物。

[0055] 在一些实施例中，第一部分 102 的体积（即，第一部分 102 的容量）为至少约 1mL，在一些实施例中，为至少约 10mL，并且在一些实施例中，为至少约 100mL。在一些实施例中，第一部分 102 的体积的范围为约 1mL 至约 100mL。结果，在一些实施例中，样品的体积为至少约 1mL，在一些实施例中，为至少约 10mL，并且在一些实施例中，为至少约 100mL。在一些实施例中，样品的体积为不大于约 200mL，在一些实施例中，不大于约 100mL，在一些实施例中，不大于约 75mL，并且在一些实施例中，不大于约 50mL。在一些实施例中，样品的体积的范围为约 1mL 至约 100mL。

[0056] 在一些实施例中，第二部分 104 包括的体积和 / 或一个或多个凹陷部 136 包括的收集体积（即，保持浓缩物 154 的体积的容量）为至少约 1 微升 (μL)，在一些实施例中，为至少约 5 μL ，在一些实施例中，为至少约 10 μL ，并且在一些实施例中，为至少约 25 μL 。在一些实施例中，第二部分 104 包括的体积和 / 或一个或多个凹陷部 136 包括的收集体积不大于 200 μL ，在一些实施例中，不大于约 100 μL ，在一些实施例中，不大于约 75 μL ，并且在一些实施例中，不大于约 50 μL 。在一些实施例中，第二部分 104 的体积和 / 或一个或多个凹陷部 136 的收集体积的范围为约 1 μL 至约 100 μL 。

[0057] 在一些实施例中，第一部分 102 的体积与第二部分 104 的体积的比值为至少约 10 : 1，在一些实施例中，为至少约 100 : 1 (10^2 : 1)，在一些实施例中，为至少约 1000 : 1 (10^3 : 1)，在一些实施例中，为至少约 10,000 : 1 (10^4 : 1)，并且在一些实施例中，为至少约 100,000 : 1 (10^5 : 1)。在一些实施例中，第一部分 102 的体积与第二部分 104 的体积的比值的范围为约 10 : 1 至约 10^5 : 1。

[0058] 在一些实施例中，浓度增加（即，保持在第二部分 104 中的所得的浓缩物的浓度（例如，较为致密的物质的浓度，例如所关注被分析物的浓度），除以初始样品的浓度，表示为比值）可以为至少约 10 : 1，在一些实施例中，为至少约 100 : 1 (10^2 : 1)，在一些实施例中，为至少约 1000 : 1 (10^3 : 1)，在一些实施例中，为至少约 10,000 : 1 (10^4 : 1)，并且

在一些实施例中,为至少约 100,000 : 1 (10^5 : 1)。在一些实施例中,浓度效率的范围为约 10 : 1 至约 10^5 : 1。

[0059] 参照图 2A-2E,现在将继续参考图 1 的样品浓缩系统 100 描述样品浓缩方法 150,为了简单和清楚起见,去除了第一部分 102 的凸缘 130 和第三部分 106 的凸缘 131。

[0060] 如图 2A 所示,可将样品 152 布置在由第一部分 102 和第二部分 104 形成的第一容器 108 中,并且第一容器 108 可以倒置并以朝向第二部分 104 的第一方向(或取向) D_1 离心。这样的离心处理可使包含样品 152 中的较为致密的物质的浓缩物 154(见图 3)移入至第二部分 104 中,具体地讲是移入至第二部分 104 中形成的一个或多个凹陷部 136 中。

[0061] 在图 2A 所示的第一离心步骤,在第二部分 104 中形成和保持浓缩物 154 所需的离心 g 力和 / 或持续时间可根据待浓缩样品 152 的组成中的一种或多种、所关注被分析物等而变化。在一些实施例中,浓缩所关注被分析物所需的 g 力的大小可根据被分析物的尺寸和密度、稀释剂的密度和粘度和第一部分 102 中的样品 152 的体积(即第一部分 102 中的样品 152 的高度限定了被分析物在特定的 g 力下迁移到达第二部分 104 所需的距离)而变化。沉降速度 (V , 单位为厘米每秒 (cm/s)) 可用以下公式近似得到:

$$[0062] \quad V = 2ga^2(\rho_1 - \rho_2) / 9\eta$$

[0063] 其中 g = 单位为 cm/s^2 的加速度(即,单位为 $gs * 980 \text{cm/s}^2$ 的 g 力), ρ_1 = 单位为 g/cm^3 的被分析物密度, ρ_2 = 单位为 g/cm^3 的样品介质(例如,稀释剂)的密度, η = 单位为泊 ($\text{g/cm} \cdot \text{s}$) 的粘度系数, a = 单位为厘米的被分析物半径(假设为球形形状)。在一些离心中, g 力可通过转速(例如,单位为每分钟的转数 (RPM)) 和样品与转子中心的距离(即样品在置于进一步远离转子时在同一转速下经历较高的 g 力)来确定。结果,为了收集可能存在于距离第二部分 104 最远的样品 152 中的所关注被分析物,可计算转子中心与设置在最靠近转子的样品 152 的高度之间的距离,以估计将需要多少 g 力来使所关注被分析物在样品中移动该最远距离,从而使所关注被分析物的收集最大化。

[0064] 可利用上述公式计算沉降速度,然后,可通过所关注被分析物(如果存在的话)将需要行进的距离(例如,最大距离)除以该沉降速度来计算离心时间(即,持续时间)。或者,可将期望的时间和距离用来估计沉降速度,然后可利用上述公式来计算所需的 g 力。

[0065] 在一些实施例中,第一离心步骤中的 g 力可以为至少约 500 g (例如,在地面上的海平面处为 $500 * 9.8 \text{m/s}^2$),在一些实施例中,为至少约 1000 g ,并且在一些实施例中,为至少约 5000 g 。在一些实施例中,第一离心步骤中的 g 力可以不大于约 100,000 g ,在一些实施例中,不大于约 50,000 g ,并且在一些实施例中,不大于约 10,000 g 。

[0066] 在一些实施例中,第一离心步骤的持续时间可以为至少约 1 分钟,在一些实施例中,为至少约 5 分钟,并且在一些实施例中,为至少约 10 分钟。在一些实施例中,第一离心步骤的持续时间可不大于约 120 分钟,在一些实施例中,不大于约 60 分钟,并且在一些实施例中,不大于约 20 分钟。

[0067] 如图 2B 所示,接下来可倒置第一容器 108,使得第一离心步骤所产生的上清液 156 从第二部分 104 倾析出来,同时浓缩物 154 保持在第二部分 104 中。术语“倒置”在本文中用来指取向的变化并可包括以多种角度进行取向,不限于将取向改变 180 度。第二部分 104 可适于在正常重力(例如,在标准重力下,即,在海平面处的地球重力加速度标准值, 9.8m/s^2) 下保持浓缩物 154。即,浓缩物 154 可以保持在第二部分 104 中,直到施加足够的 g 力

(例如,沿第二方向 D_2 ,如图 2D 所示)以从第二部分 104 移出浓缩物 154,而与第二部分 104 的取向无关。

[0068] 然后,可将第二部分 104 从第一部分 102 移除,如图 2C 所示。在一些实施例中,可将包括上清液 156 的第一部分 102 用于后续的工序(例如,重复的离心步骤,例如图 2A 中所示的离心步骤),并且在一些实施例中,可将第一部分 102 和上清液 156 丢弃。

[0069] 图 3 为图 2C 中的第二部分 104 的剖视图,其中浓缩物 154 保持在第二部分 104 的凹陷部 136 中。如图 3 所示,一个或多个凹陷部 136(例如,形成微结构化表面 138 的微结构化凹陷部 136)可形成在第二部分 104 的内表面 120 中。在一些实施例中,如图 3 所示,浓缩物 154 可包括不溶性物质 158 和液体 160,其也可包括可溶性物质,特别是密度比不溶性物质 158 低的可溶性物质。浓缩物 154 以及特别是不溶性物质 158(如果存在的话)可包括所关注被分析物(例如,所关注的微生物),如果在样品 152 中存在的话。

[0070] 如图 2D 所示,接下来,可将包括浓缩物 154 的第二部分 104 与第三部分 106 连接以形成第二容器 110。然后,可将第二容器 110 以离开第二部分 104 的第二方向(或取向) D_2 离心。这样的离心过程可使包括所关注被分析物(如果有的话)的浓缩物 154 从第二部分 104 的一个或多个凹陷部 136 中移出,并且移入至第三部分 106 中,具体地讲是移入至第三部分 106 的渐缩封闭端部 115 中。在一些实施例中,浓缩物 154 可以在第三部分 106 的底部处形成片状沉淀物 162,如图 2E 所示。然后,可进一步处理浓缩物 154,例如,以说明所关注被分析物的存在、量和/或生活力。

[0071] 在图 2D 所示的第二离心步骤中,将浓缩物 154 从第二部分 104 的一个或多个凹陷部 136 移出所需的离心 g 力、持续时间和/或循环次数可根据浓缩物 154 的组成中的一种或多种、所关注被分析物、形状、凹陷部 136 的尺寸和表面能、浓缩物 154 的表面能(例如,浓缩物 154 中具有的任何稀释剂的表面能)等等而变化。

[0072] 在一些实施例中,第二离心步骤中的 g 力可以为至少约 500 g ,在一些实施例中,为至少约 1000 g ,并且在一些实施例中,为至少约 5000 g 。在一些实施例中,第二离心步骤中的 g 力可以不大于约 100,000 g ,在一些实施例中,不大于约 50,000 g ,并且在一些实施例中,不大于约 10,000 g 。

[0073] 在一些实施例中,第二离心步骤的持续时间可以为至少约 10 秒,在一些实施例中,为至少约 1 分钟,并且在一些实施例中,为至少约 5 分钟。在一些实施例中,第二离心步骤的持续时间可以为不大于约 60 分钟,在一些实施例中,不大于约 30 分钟,并且在一些实施例中,不大于约 10 分钟。

[0074] 图 2A-2E 所示的且如上所述的样品浓缩方法 150 可以提供对样品 152 的浓缩物 154 的有效收集(即,和样品 152 中可能具有的任何所关注被分析物),而样品 152 和/或浓缩物 154 的损失最小。例如,可通过在图 2A 所示的第一离心步骤期间将浓缩物 154(包括所关注被分析物,如果有的话)基本“截留”在第二部分 104 中来实现有效的收集。样品浓缩方法 150 还可以提供浓缩物 154 的小体积洗脱,该浓缩物 154 的浓度比可能已存在于样品 152 中任何所关注被分析物的样品 152 高得多。例如,可通过图 2D 和 2E 所示的第二离心步骤实现小的、浓缩的最终体积的洗脱,其中浓缩物 154 被从第二部分 104 移出并移入至第三部分 106 中。

[0075] 根据离心步骤中采用的离心参数,和/或第二部分 104 中采用的凹陷部 136 的数

量、形状和尺寸,可确定保持在第二部分 104 中的浓缩物 154 的质量和 / 或体积。即,可根据待浓缩的样品 152 和期望的所关注被分析物构造第二部分 104(和 / 或离心步骤)。在一些实施例中,因为第二部分 104 的凹陷部 136 的体积是恒定的,所以每次可用第二部分 104 来获得预测的体积。在一些实施例中,可将更加浓缩的初始样品 152 添加至第一容器 108 中,并且第二部分 104 的凹陷部 136 的恒定体积 / 尺寸可以用来获得已知数量或量的一种或多种所关注被分析物,例如,给定的所关注微生物的已知细胞群体。现在将更加详细地说明第二部分 104 的凹陷部 136。

[0076] 回到图 3,一个或多个凹陷部 136 可形成在第二部分 104 的内表面 120 中和 / 或一个或多个凹陷部 136 可形成在可连接至第二部分 104 的内表面 120 的基底中。在采用基底的实施例中,基底的厚度可以为至少约 25 微米,在一些实施例中,为至少约 100 微米,并且在一些实施例中,为至少约 400 微米。在一些实施例中,基底的厚度可不超过约 2000 微米,在一些实施例中,可不超过约 1000 微米,并且在一些实施例中,可不超过约 250 微米。

[0077] 图 3 示出了根据本发明的一个实施例的凹陷部 136。在图 1 和 2 所示的实施例中,凹陷部 136(其可为井和 / 或槽)至少部分地由多个壁 142 限定。在凹陷部 136 包括井的实施例中,多个壁 142 可包括多个相交的壁 142。

[0078] 在一些实施例中,一个或多个凹陷部 136 为微结构化凹陷部 136 并且限定了微结构化表面 138。在这样的实施例中,微结构化表面 138 可通过多种方法形成,包括各种微复制方法,包括但不限于浇铸、涂层和 / 或压制技术。例如,微结构表面 138 的微结构化可通过下列方法中的至少一种形成:(1) 利用具有微结构图案的模具浇铸熔融热塑性塑料,(2) 将流体涂覆到具有微结构图案的模具上,使流体凝固,移出所得的薄膜,和 / 或(3) 让热塑性膜通过压料辊从而对着具有微结构图案(即,压印)的模具进行挤压。可使用本领域内的技术人员已知的许多技术中的任何一种来形成该模具,技术的选择部分取决于模具材料和所期望外形的特征。示例性的技术包括蚀刻(如,化学蚀刻、机械蚀刻或诸如激光刻蚀、反应性离子蚀刻等之类的其他刻蚀方法以及它们的组合)、光刻法、立体光刻、微机械加工、滚花(如切滚或酸强化滚)、刻痕、切削等,或它们的组合。

[0079] 形成微结构表面 138 的替代方法包括热塑性挤出法、可固化流体涂覆法,以及压印热塑层,该热塑层也可固化。可找到有关基底材料和多种形成微结构化表面 138 的工艺 的额外信息,例如,在 Halverson 等人的 PCT 公开 WO 2007/070310 和美国公开 US 2007/0134784; Hanschen 等人的美国公开 US 2003/0235677; Graham 等人的 PCT 公开 WO2004/000569; Ylitalo 等人的美国第 6,386,699 号专利;以及 Johnston 等人的美国公开 US 2002/0128578 和美国专利 US 6,420,622、US6,867,342 和 US 7,223,364 中可找到,将这些专利均以引用方式并入本文。

[0080] 通过微复制,可大规模制备微结构表面 138 而在产品间无明显差异,并且未使用相对复杂的加工技术。在一些实施例中,通过微复制制备的微结构化表面在制备中及制备后各特征物得到准确复制,产品间的差异不大于约 50 微米。在一些实施例中,微结构表面 138 在制备中及制备后各特征物得到准确复制,产品间的差异不大于 25 微米。在一些实施例中,微结构表面 138 具有各特征得到精确复制的表面特征物(即,物品、地方或其区域的表面特征物),个体特征保真性以约 50 至 0.05 微米之间的分辨率、在一些实施例中为约 25 至 1 微米之间的分辨率保持。

[0081] 凹陷部 136 适于保持图 2 中所示的且如上所述的第一离心步骤所获得的浓缩物 154。各凹陷部 136 在图 3 中示出为具有大致矩形的横截面形状并且由至少两个壁 142 和基部 146 形成, 并且各凹陷部 136 通过壁 142 与相邻的凹陷部 136 隔开。然而, 应当理解, 凹陷部 136 可包括多种形状, 只要凹陷部 136 限定在第二部分 104 的内表面 120 和 / 或适于与内表面 120 连接的基底中, 以便能够保持浓缩物 154。换句话说讲, 各凹陷部 136 的形状和尺寸可形成为提供用于浓缩物 154 的贮存器。

[0082] 不管凹陷部 136 是否包括井、凹陷、槽或它们的组合, 合适的凹陷部形状的例子可包括但不限于多种多面体形状、平行六面体 (例如, 如图 3 和 4 所示)、拟柱体、平截头棱锥体等, 以及它们的组合。例如, 凹陷部 136 可以为多面体、圆锥体、截头圆锥体、棱锥、截头棱锥、球形、部分球形、半球状、椭球体、穹顶形、圆柱形、立体角形 (例如, 见图 6, 其示出了用来形成在实例中使用的锥形或立体角微结构化表面的模具 (模子)) 等, 以及它们的组合。此外, 凹陷部 136 可具有多种截面形状 (包括如图 3 所示的竖直截面、水平截面或它们的组合), 包括但不限于, 平行四边形、带圆角的平行四边形、矩形、正方形、圆形、半圆形、椭圆形、半椭圆形、三角形、梯形、星形、其他多边形 (例如以下如图 5 所示的六边形) 等中的至少一种以及它们的组合。

[0083] 在一些实施例中, 凹陷部 136 被成形为包括边或角。这样的边或角可方便将浓缩物 154 保持在凹陷部 136 中并且能够防止浓缩物 154 在正常重力下被从凹陷部 136 移出。例如, 在浓缩物 154 具有高表面能或者浓缩物 154 包括被吸引到构成第二部分 104 的内表面 120 的那些材料或形成凹陷部 136 的基底上的分子的实施例中, 浓缩物 154 可优先地被吸引到凹陷部 136 的边和 / 或角 (即, 在这些地方浓缩物 154 可保持与两个或更多个表面接触), 而不是光滑的单个表面。

[0084] 在图 3 所示的实施例中, 各凹陷部 136 的基部 146 是平坦的且平面的 (即, 具有面), 并且与主表面 148 (例如, 第二部分 104 的内表面 120 的主表面和 / 或适于与内表面 120 连接的基底的主表面) 大致平行。然而, 因为凹陷部 136 可能具有其他的形状, 所以基部 146 不必是平面的, 而是可包括与主表面 148 间隔最大距离的点或线。例如, 在采用一个或多个半球状凹陷部 136 的实施例中, 这种凹陷部 136 的基部 146 可包括半球形中的与主表面 148 间隔最大距离的点。此外, 即使在采用平坦基部 146 的实施例中, 基部 146 也不必整个都是平坦的, 而是可以为至少部分地弯曲的、平坦的, 或它们的组合。此外, 即使在采用平坦的平面基部 146 的实施例中, 基部 146 也不必与主表面 148 平行, 而是可取向成相对于主表面 148 成一角度 (例如, 非零角度)。

[0085] 另外, 在图 3 所示的实施例中, 每个凹陷部 136 显示为具有多个对称线, 且基部 146 相对于凹陷部 136 的开口居中。然而, 应当理解, 凹陷部 136 不必包括任何对称线, 且基部 146 (无论基部 146 包括一个点、一条线或一个面) 相对于凹陷部 136 的开口不必居中。

[0086] 图 3 所示的凹陷部 136 仅以举例的方式显示具有相同的尺寸和形状; 然而, 应当理解, 不必所有的凹陷部 136 具有相同的尺寸或形状。即, 凹陷部 136 均可形成大概相同的形状和尺寸、相同或相似的形状但不同的尺寸、不同的形状但相似的尺寸、不同的形状和尺寸或它们的组合。例如, 在一些实施例中, 凹陷部 136 可包括交替尺寸的形状相似的凹陷部 136 的图案, 或者包括凹陷部 136 的一些区域, 其中同一区域内的凹陷部 136 的尺寸 (或形状) 相同, 但与相邻区域的凹陷部 136 的尺寸 (或形状) 不同, 等等, 以及它们的组合。

[0087] 此外,图 3 所示的凹陷部 136 仅仅以举例的方式示出为规则地布置(例如,在凹陷部 136 包括井的实施例中为细胞阵列)。然而,应当理解,凹陷部 136 可包括多种规则排列或阵列、无规排列或它们的组合。在一些实施例中,凹陷部 136 局部或较小范围无规排列,但该无规排列在较大范围内有序出现或重复。或者,在一些实施例中,凹陷部 136 在较小范围有序排列,但该有序区域在较大范围内无规排列。

[0088] 此外,在图 3 所示的实施例中,所有的壁 142 均具有相同的尺寸和形状。然而,应当理解,壁可能具有多种其他形状。例如,壁 142 的截面形状不必是大致的矩形,而是可包括上述截面形状中的任何一种。

[0089] 壁 142 和凹陷部 136 可通过多种尺寸、维度、壁 142 或凹陷部 136 之间的距离、相对尺寸等来表征。壁 142 通常具有诸如厚度、高度、长度、宽度等之类的尺寸。凹陷部 136 通常具有诸如半径、直径、高度、宽度、长度等之类的尺寸的体积。通常来讲,壁 142 和 / 或凹陷部 136 的尺寸、形状和间隔被设计成在第二部分 104 为任意取向时将浓缩物 154 保持在凹陷部 136 中(如,通过毛细力)。

[0090] 在一些实施例中,壁 142 的平均厚度为至少约 1 微米,在一些实施例中,至少约 5 微米,并且在一些实施例中,至少约 10 微米。在一些实施例中,壁 142 的平均厚度可不大于约 50 微米,在一些实施例中,不大于约 30 微米,在一些实施例中,不大于约 20 微米。

[0091] 在一些实施例中,壁 142 的形状和 / 或尺寸可设计为使得壁 142 的顶部表面的面积最小,从而被收集在壁 142 的顶部表面上的任何物质可转移到相邻的凹陷部 136 中。例如,在一些实施例中,壁 142 可包括朝向顶部表面的渐缩部。在一些实施例中,顶部表面可包括凸面形状。在一些实施例中,可以采用渐缩部和凸面形状的组合。

[0092] 在一些实施例中,在任何给定区域中选择壁 142 和凹陷部 136 的构造使得壁或凹陷部的平均间距(即,相邻壁 142 或凹陷部 136 之间相应的中心至中心距离)为至少约 1 微米,在一些实施例中,至少约 10 微米,并且在一些实施例中,至少约 50 微米。在一些实施例中,平均壁间距或凹陷部间距为不大于约 1000 微米,在一些实施例中,不大于约 500 微米,在一些实施例中,不大于约 400 微米。

[0093] 在一些实施例中,凹陷部 136 可通过主表面 148 的平面上 x 方向的维度(如,长、宽、半径、直径、对角线等)来表征。短语“在平面内”通常用于指 x-y 平面维度,且仅用于与深度或 z 方向的维度区分,但并不一定要求维度完全在主表面 148 的平面上,而是可包括在与主表面 148 的平面大致平行的其他类似 x-y 平面内的维度。在一些实施例中,平均凹陷部 x 方向的维度(例如,基部 146 的宽度)为至少约 1 微米,在一些实施例中,至少约 10 微米,并且在一些实施例中,至少约 50 微米。在一些实施例中,平均凹陷部 x 方向的维度为小于约 1000 微米,在一些实施例中,小于约 500 微米,在一些实施例中,小于约 100 微米。

[0094] 在一些实施例中,平均凹陷部体积为至少大约 1 皮升(pL),在一些实施例中,为至少大约 10pL,在一些实施例中,为至少大约 100pL,并且在一些实施例中,为至少大约 1000pL(1nL)。在一些实施例中,平均凹陷部体积为不大于约 1,000,000pL(1 μ L),在一些实施例中,不大于约 100,000pL,并且在一些实施例中,不大于大约 10,000pL。

[0095] 表征壁 142 和凹陷部 136 的另一种方式是以它们的纵横比来描述。凹陷部 136 的“纵横比”是凹陷部 136 的深度与凹陷部 136 的宽度之比。壁 142 的“纵横比”是壁 142 的高度与壁 142 的宽度(或厚度)之比。在一些实施例中,凹陷部的平均纵横比为至少约 0.01,

在一些实施例中,至少约 0.05,在一些实施例中,至少约 1。在一些实施例中,凹陷部的平均纵横比为不大于约 2,在一些实施例中,不大于约 1,并且在一些实施例中,不大于约 0.8。

[0096] 在一些实施例中,壁的平均纵横比为至少约 0.01,在一些实施例中,至少约 0.05,在一些实施例中,至少约 1。在一些实施例中,壁的平均纵横比不大于约 15,在一些实施例中,不大于约 10,并且在一些实施例中,不大于约 8。

[0097] 在一些实施例中,壁 142 的平均高度或凹陷部 136 的平均深度(即,凹陷部 136 的基部 146 与凹陷部 136 的顶部即主表面 148 的邻近部分之间的距离)为至少约 5 微米,在一些实施例中,至少约 20 微米,并且在一些实施例中,至少约 30 微米。在一些实施例中,壁 142 的平均高度或凹陷部 136 的平均深度可不大于约 200 微米,在一些实施例中,不大于约 100 微米,并且在一些实施例中,不大于约 50 微米。在图 3 所示的实施例中,壁的高度与凹陷部的深度基本上相同;然而,应当理解,这种情况并不是必须的。例如,在一些实施例中,凹陷部 136 包括凹进去甚至低于壁 142 的底部的部分,使得井的深度大于壁的高度。然而,即使在這些实施例中,以上尺寸范围也能够适用。

[0098] 无论凹陷部 136 或壁 142 自身是否是微结构化的,第二部分 104 都可包括微结构化表面 138,该微结构化表面 138 包括额外的微结构特征物,例如凸起、凹陷或凹陷部,或者它们的组合。至少一些微结构特征物可形成为纳米级、微米级或宏观级。各微结构特征物可由两个或更多个维度(如,主表面 148 的平面内/外的一个或多个维度以及主表面 148 的平面上的一个或多个维度)所限定。在一些实施例中,主表面 148 包括微结构特征物的构造,使得各特征物的至少两个维度是微观的。“特征物”可包括在主表面 148 上形成的任何上述微结构特征物,包括壁 142、凹陷部 136 或在主表面 148 上形成的任何其他微结构特征物。“微结构特征物”足够微小而使得需要光学手段协助肉眼来确定其形状。在一些实施例中,微结构特征物的尺寸在其可能的维度中至少两个中不大于 200 微米。

[0099] 微结构特征物可具有所需的特征尺寸(如,长度、宽度、深度、半径、直径或沿任何方向测量的其他维度)和密度(如,主表面 148 的单位面积特征物)。可构造特征物而使得在全部三个维度上(如,x、y(在主表面 148 的平面上)和 z(在主表面 148 的平面内/外))的特征长度类似。或者可构造特征物而使得在一个或多个方向上的特征长度比其他方向上的大。

[0100] 在一些实施例中,特征物在一个或多个维度上可具有不大于约 500 微米的最大特征长度。在一些实施例中,最大特征长度是 50 微米,并且在一些实施例中,最大特征长度是 10 微米。在一些实施例中,在一个或多个维度上的最小特征长度是 1 纳米。在一些实施例中,最小特征长度是 10 纳米,并且在一些实施例中,最小特征长度是 100 纳米。此外,在一些实施例中,特征密度为每平方毫米(mm^2)至少 100 个特征物,在一些实施例中,每平方毫米(mm^2)至少 1,000 个特征物,并且在一些实施例中,每平方毫米(mm^2)至少 10,000 个特征物。

[0101] 图 4 示出了根据本发明另一个实施例的微结构化表面 238,其采用一级和二级微结构特征。微结构化表面 238 与上文结合图 3 所示实施例所述有许多相同的元件和特征物。因此,与图 3 所示元件和特征物相对应的元件和特征物在 200 系列中具有相同的附图标记。为了更完整地描述图 4 所示实施例的特征物和元件(以及这些特征物和元件的替代形式),参考了上文结合图 3 进行的描述。

[0102] 微结构化表面 238 包括主表面 248, 该主表面 248 至少部分地由多个一级相交壁 242 限定, 具体地讲, 由多个一级相交壁 242 的上表面限定。主表面 248 还可称为“一级微结构化表面”248。一级微结构化表面 248 包括多个一级凹陷部 276 (即, 在图 4 中其被限定为井), 每个一级凹陷部 276 都至少部分地由四个一级壁 242 和一级基部 246 限定。

[0103] 微结构化表面 238 还包括二级水平或程度的微结构。具体地说, 微结构化表面 238 包括二级主表面 268, 其也可称为“二级微结构化表面”268。二级微结构化表面 268 至少部分地由多个二级相交壁 272, 具体地讲由多个二级相交壁 272 的上表面所限定。在图 4 所示的实施例中, 多个二级壁 272 的上表面与主表面 248 间隔一定距离, 使得二级壁 272 相对于微结构化表面 238 的主表面 248 凹进去。

[0104] 二级微结构化表面 268 还由多个二级凹陷部 266 (即, 在图 4 中其被限定为井) 限定, 该二级凹陷部 266 每个都至少部分地由四个二级壁 272 和二级基部 276 限定。二级基部 276 与一级微结构化表面 248 间隔一定距离, 并且与二级微结构化表面 268 间隔一定距离。在图 4 所示的实施例中, 一级基部 246 每个都至少部分地由多个二级基部 276 限定, 并且二级基部 276 定位成与一级微结构化表面 248 相距的距离和一级基部 246 相同。然而, 应当理解, 二级基部 276 不必定位在与一级基部 246 相同的深度处, 而是二级基部 276 可以定位成与一级微结构化表面 248 相距额外的距离并且能够同样与相应一级基部 246 相距一定距离。例如, 在一些实施例中, 一个或多个一级凹陷部 236 可包括一个或多个二级凹陷部 266, 该一个或多个二级凹陷部 266 定位成使得二级凹陷部 266 在一级基部 246 和二级基部 276 之间限定了阶梯构造。

[0105] 浓缩物可以定位在微结构化表面 238 的微结构化凹陷部 236、266 中, 具体地讲, 是定位在二级凹陷部 266 中。即, 每个一级凹陷部 236 和每个二级凹陷部 266 都适于保持浓缩物。在如图 4 所示的实施例中, 二级壁 272 示出为比一级壁 242 低, 然而, 应当理解, 二级壁 272 可以与一级壁 242 一样高 (或尺寸相对更加相似)。在一些使用较低二级壁 272 的实施例中, 可允许浓缩物溢出二级凹陷部 266 而仍然保持在微结构化表面 238 中。

[0106] 图 4 所示的实施例仅以举例的方式给出包括两级或程度的微结构。然而, 更多程度的微结构可进一步加强浓缩物在微结构化表面 238 上的保持。这些更多程度的微结构可包括另外的三级微结构、四级微结构等等。微结构的每个额外水平可逐渐更加深入到第二部分 104 的内表面 120 和 / 或限定微结构化表面 238 的基底中, 所形成的额外的井可以具有这样的基部, 该基部与一级微结构化表面 248 相距的距离和一级基部 246 一样, 或者它们的组合。

[0107] 图 4 的微结构化表面 238 示出了一级凹陷部 236 以及每个一级凹陷部 236 中具有多个二级凹陷部 266。然而, 应当理解, 多种规则构造、不规则构造或组合的构造也是可能的。例如, 在一些实施例中, 不规则一级凹陷部 236 可包括二级凹陷部 266, 或者每隔一个一级凹陷部 236 可包括二级凹陷部 266, 或者微结构化表面 238 的一些区域可包括一级和二级凹陷部 236 和 266, 而微结构化表面 238 的一些区域仅仅包括一级凹陷部 236, 等等。

[0108] 在图 4 所示的实施例中, 二级壁 272 取向成相对于一级壁 242 成大约 45 度的角度。然而, 应当理解, 二级壁 272 可相对于一级壁 242 以多种其他的角度 (例如, 0 度、90 度等) 取向。此外, 二级凹陷部 266 示出为具有与一级凹陷部 236 相同的形状; 然而, 应当理解, 上述相对于图 3 的凹陷部 136 描述的有关形状、数量、取向、尺寸等的所有可替代方案都适用

于图 4 的微结构化表面 238 的一级凹陷部 236 和二级凹陷部 266。

[0109] 二级壁 272 和二级凹陷部 266 可具有尺寸范围,且可由上述相对于图 3 所示壁 142 和凹陷部 136 给出的尺寸范围来限定。此外,在一些实施例中,二级凹陷部 266 的平均深度或二级壁 272 的平均高度为至少约 0.1 微米,在一些实施例中,至少约 1 微米,并且在一些实施例中,至少约 2 微米。在一些实施例中,二级凹陷部 266 的平均深度或二级壁 272 的平均高度为不大于约 50 微米,在一些实施例中,不大于约 20 微米,在一些实施例中,不大于约 10 微米,并且在一些实施例中,不大于约 5 微米。

[0110] 二级壁 272 和二级凹陷部 266 还可通过与一级壁 242 和一级凹陷部 236 比较得出的相对大小来限定。例如,在一些实施例中,二级壁的平均高度或二级井的平均深度比一级壁的平均高度或一级井的平均深度分别少至少约 5 微米。一级壁的平均高度和一级井的平均深度,以及一级壁 242 和一级凹陷部 236 的其他特征物可认为与上述关于图 3 所示的壁 142 和凹陷部 136 的那些特征物相同。此外,在一些实施例中,二级壁的平均高度或二级井的平均深度比一级壁的平均高度或一级井的平均深度分别少至少约 20 微米,在一些实施例中,少至少约 50 微米,并且在一些实施例中,少至少约 70 微米。

[0111] 在一些实施例中,一级井的平均体积与二级井的平均体积的比值为至少约 5,在一些实施例中,至少约 30,在一些实施例中,至少约 50,在一些实施例中,至少约 150。在一些实施例中,一级井的平均体积与二级井的平均体积的比值不大于约 2,000,000,在一些实施例中,不大于约 1,000,000,在一些实施例中,不大于约 150,000,在一些实施例中,不大于约 500。

[0112] 图 5 示出了根据本发明另一个实施例的微结构化表面 338。微结构化表面 338 与上文结合图 3 所述实施例有许多相同的元件和特征物。因此,与图 3 所示实施例的元件和特征物相对应的元件和特征物在 300 系列中具有相同的附图标记。为了更完整地描述图 5 所示实施例的特征物和元件(以及这些特征物和元件的替代形式),参考了上文结合图 3 进行的描述。

[0113] 如图 5 所示,微结构化表面 338 包括适于例如在图 2A 所示的第一离心步骤之后保持样品浓缩物的多个凹陷部 336。图 5 所示的每个凹陷部 336 至少部分地由六个壁 342 和基部 346 限定。结果,每个凹陷部 336 都具有六边形水平截面形状(即,沿着与每个凹陷部 336 的基部 346 大致平行的平面截取的)。

[0114] 微结构化表面 138、238 和 338 仅仅以举例的方式示出,但是应当理解,在本发明的样品浓缩系统中可以采用微结构化表面 138、238 和 338 的组合。此外,或者可替代的是,任何其他公开的或等效的微结构化表面可用在第二部分 104 中以保持所关注样品的浓缩物。

[0115] 下面工作实例旨在示出本发明而非进行限制。

[0116] 实例

[0117] 在实例中使用以下的三种微结构化表面,每个微结构化表面在基底中制备。在各自基底中制备微结构化表面之后,使用打孔机将每个基底的圆截面冲切为 24mm 的直径。然后,将每个基底的圆截面用硅树脂聚脲转移粘合剂附着到离心平盖(即,CENTRISTAR™ 离心顶盖,得自 Corning, Inc., Corning, NY) 的平坦内表面(即,下侧),该硅树脂聚脲转移粘合剂是按 Melancon 等人的第 6,730,397 号美国专利中所述的进行制备,将该专利以引用方式并入本文中。为了防止离心期间的泄漏,在顶盖的外槽中设置内径为一英寸的 O 形环垫圈,

该 O 形环垫圈具有圆的、0.100 英寸的截面（零件编号为 AS568A-120，得自 Grainger, Inc., Lake Forest, IL）。包括 O 形环的顶盖和具有微结构化表面的基底在本实例中用作样品浓缩系统的“第二部分”。

[0118] 微结构化表面 I

[0119] 将图 4 的微结构化表面 238 用在“实例”部分中并称为“微结构化表面 I”。微结构化表面 I 通过对着浇铸辊浇铸熔融的聚丙烯树脂而制备，该浇铸辊具有所期望的微结构化表面的相反表面。具体地讲，微结构化表面 I 的一级凹陷部 236（其为井的形式）和一级壁 242 包括大约 250 微米的间距（即，相应的相邻一级壁 242 或凹陷部 236 之间的中心至中心间距）。一级凹陷部 236 的形状为长菱形，标称深度为约 67 微米，并且一级壁 242 取向成与基底的纵向成 45 度的角度。一级壁相交处之间的一级壁高度为约 67 微米，并且在相交区域中的一级壁高度为约 75 微米。微结构表面 I 还包括二级壁 272，该二级壁 272 将各一级凹陷部 236 分成多个二级凹陷部 266。二级壁 272 高约 4 微米，并且二级壁 272 和二级凹陷部 266 的间距（即，相应的相邻二级壁 272 或凹陷部 236 之间的中心至中心的距离）为约 25 微米。二级壁 272 布置为使得其与基底的纵向平行或垂直（即，二级壁 272 与一级壁 242 设置成约 45 度角）。微结构化表面 I 的另外的细节及其制备方法在上文参考图 4 进行了描述以及在 Halverson 等人的 PCT 公开 W02007/070310 中所述中进行了描述，将该公开以引用方式并入本文中。

[0120] 微结构化表面 II

[0121] 将图 5 的微结构化表面 338 用在“实例”中并称为“微结构化表面 II”。通过利用玻璃板将 3M™ ESPE™ EXPRESS™ 印模材料压到模具上至逼近 1mm 的最终厚度，由蚀刻母模制备微结构化表面 II。所形成的微结构化表面 II 包括六边形凹陷部 336，如图 5 所示以及如上文所述。六边形凹陷部 336 的间距（即，相应的相邻一级壁 342 或凹陷部 336 之间的中心至中心的间距）为约 100 微米。壁高约 50 微米。每个凹陷部 336 的横截面都为长菱形并且具有大约 10 度的侧壁角度。

[0122] 微结构化表面 III

[0123] 微结构化表面 III 包括倒置的（即，上下颠倒且为中空的）立体角形的凹陷部。微结构化表面 III 利用热固化的聚二甲基硅氧烷（PDMS；商品名为 SYLGARD® 184，得自 Dow Corning Corporation, Midland, MI）由凸形模具复制而成。所用的凸形模具是 3M™ DIAMOND GRADE™ 棱镜式逆反射片材（得自 3M Company, St. Paul, MN）的立体角侧面，其扫描电子显微图如图 6 所示。将模具置于 100mm×15mm 的培养皿（目录号为 25384-302，得自 VWR International, West Chester, PA）中，立体角指向上。根据制造商的说明混合 PDMS 试剂并倾注到模具上至逼近 1mm 的厚度。通过在暴露于大气压之后反复暴露于真空而在封闭室中脱气来去除气泡。培养皿被覆盖并在 80℃ 下使 PDMS 固化 2 个小时。在固化之后，将 PDMS 基底与模具分开，使得微结构化表面 III 包括锥形凹陷部。

[0124] 实例 1-3- 第一离心步骤

[0125] 对保持在三个微结构化表面（即微结构化表面 I、微结构化表面 II 和微结构化表面 III）的每一者中的水的总量进行定量确定，并在表 1 中分别记录为实例 1、实例 2 和实例 3。一式四份地制备包括离心顶盖的上述“第二部分”，该离心顶盖包括所述微结构化表面中的一种和 O 形环。对空的第二部分进行称重，以获得初始重量。将十毫升的水置于 50mL 的

离心管（名称为 Self-Standing 50-mL 离心管, No. 430921, 得自 Corning, Inc., Corning, NY）中。该 50mL 离心管用作该实例的样品浓缩系统的“第一部分”。将第二部分螺纹连接至第一部分上以形成第一容器。然后, 将第一容器顶盖朝下（即, 朝向第二部分取向）放置在吊桶式离心转子（即, 多用途离心机, 名称为“Eppendorf Model 5804”, 得自 Eppendorf, Hamburg, Germany）中。将第一容器以 3,000RPM（约 1400g）离心 2 分钟, 以填充微结构和置换截留的气泡。将第一容器从吊桶中移出并倒置。第二部分从第一部分移出并立即称重, 以确定微结构化表面中的表面张力所保持的液体的质量。假定水的密度为 $1\text{mg}/\mu\text{L}$ 将质量转换为体积, 并且对于实例 1-3 中的每一者, 取一式四份的平均值记录在表 1 中。

[0126] 表 1. 在实例 1-3 中离心填充之后保持的体积

[0127]

微结构	在离心之后保持在第二部分中的总体积
实例 1	35 μL
实例 2	43 μL^*
实例 3	37 μL^*

[0128] * 包括在约 1mm 厚的膜和顶盖凸缘之间的周边间隙中截留的任何体积。对于厚 (1mm) 膜在该空间中可观察到液体。

[0129] 实例 4-6- 第二离心步骤

[0130] 对从微结构化表面 I、微结构化表面 II 和微结构化表面 III 的每一者中排出液体所需的重力大小进行定量确定, 其结果在图 7 中分别记录为实例 4、实例 5 和实例 6。根据上文在实例 1-3 中所述的第一离心步骤制备和填充第二部分。将第二部分从第一部分移除并连接至高度缩短至 3cm 的新的 50mL 离心管（即, 名称为 Self-Standing 50-mL 离心管的离心管, No. 430921, 得自 Corning, Inc., Corning, NY）。该新的缩短的 50mL 离心管用作实例 4-6 的“第三部分”, 并将第二部分连接至第三部分以形成第二容器。将用于各实例 4-6 的第二容器置于实例 1-3 中所使用的同一离心转子的底部（即, 朝向第三部分且远离第二部分）, 并在渐增的重力下离心 2 分钟, 如图 7 中所记录的。通过在每种 g 力下的每次离心之前和之后对第二部分进行称重来确定通过第二离心步骤释放到第三部分中的液体的量。实例 6（包括微结构化表面 III）看起来在较低的 g 力下释放水。

[0131] 实例 7-10- 细菌浓度

[0132] 利用四个样品浓缩系统实施实例 7-10。样品浓缩系统中的两个（实例 7 和 8）包括具有如上所述制备的微结构化表面 III 的第二部分。另外两个样品浓缩系统（实例 9 和 10）包括没有任何微结构化表面的第二部分。

[0133] 在 Butterfield 氏缓冲液中对大肠杆菌的过夜肉汤培养物（胰蛋白胨大豆肉汤）进行系列稀释, 以提供液体样品, 该液体样品具有接近每毫升 150 个细菌的最终浓度（实际初始浓度记录在表 2 中）。将 40mL 的该液体样品置于四个 50mL 离心管（名称为 Self-Standing 50-mL 离心管, No. 430921, 得自 Corning, Inc., Corning, NY）中, 其用作各实例 7-10 的“第一部分”。对于实例 7-10 每一者, 将第二部分连接至第一部分以形成第一容器, 并根据以上实例 1-3 中所述的第一离心步骤在 5,000RPM（约 2500g）下离心（即, 朝

向第二部分)。

[0134] 在离心持续 10、20 和 40 分钟之后,第一部分从实例 7-10 每一者的第二部分移除。在每个时间点,将每个第二部分连接至第三部分(如实例 4-6 中所述)以形成第二容器,并如实例 4-6 中所述,在第二离心步骤中通过在 3,000RPM(约 1400g)下离心 2 分钟来逐出截留在第二部分中的浓缩物。

[0135] 在第二离心步骤之前和之后在每个时间点对每个第三部分(即,每个接纳管)进行称重,以确定每个样品浓缩系统的第三部分中收集的液体体积。对于实例 7-10 每一者,在表 2 中记录在第一离心步骤的第 20 分钟时间点处收集的体积。

[0136] 将收集的浓缩物稀释至 30mL,之后在有氧计数 3M™ PETRIFILM™ 板(得自 3M Company, St. Paul, MN)接种 1mL 等分试样,以确定每个样品浓缩系统的最终浓度。对于实例 7-10 每一者,在表 2 中记录在第 20 分钟时间点处的最终浓度。实例 7-10 每一者在第 20 分钟时间点处的“浓度增加”通过这样计算:对于实例 7-10 每一者,将在第 20 分钟时间点处的最终浓度除以初始浓度,结果记录在表 2 中。

[0137] 表 2. 在第一离心步骤 20 分钟之后,实例 7-10 的细菌浓度结果

[0138]

样品	收集的体积 (μL)	初始浓度(细菌 /mL)	最终浓度(细菌 /mL)	浓度增加(倍 数)
实例 7 (微结构化表面 III)	29	158	104,000	660
实例 8 (微结构化表面 III)	13	172	251,000	1,460
实例 9 (无微结构化表面)	20 (悬滴)	151	17,000	112
实例 10 (无微结构化表面)	29 (悬滴)	172	14,000	81

[0139] 实例 11-12- 食物源的细菌浓度

[0140] 利用樱桃番茄来展示食物源的细菌浓度。对于实例 11 和 12 每一者,选取两个樱桃番茄来提供总共约 11 克的质量。对于实例 11 和 12 每一者,将樱桃番茄置于 3M™ Mini Paint Preparation System(产品编号 051131-16113,得自 3M Company, St. Paul, MN)中,然后利用 Halverson 等人的 PCT 公开 No. WO 2007/137257 中所述的系统和方法添加 99mL Butterfield 氏缓冲液并用涡旋搅拌器搅拌,将该 PCT 公开以引用方式并入本文中。

[0141] 将 1mL 悬浮液等分试样接种在有氧计数 3M™ PETRIFILM™ 板(得自 3M Company, St. Paul, MN)上,以确定实例 11 和 12 每一者的初始细菌浓度,将其记录在表 4 中。将悬浮液等分试样(30mL)通过 3M™ Mini Paint Preparation System 的封盖中的过滤器(即,目筛网)滗析到 50mL 离心管(名称为 Self-Standing 50-mL 离心管, No. 430921,得自 Corning, Inc., Corning, NY)中,该离心管用作实例 11 和 12 每一者的“第一部分”。实例 11 和 12 的第二部分根据实例 7 和 8(以及所含的微结构化表面 III)制备。

[0142] 对实例 11-12 每一者,将第二部分连接至第一部分以形成第一容器,并根据上面

实例 1-3 中所述的第一离心步骤在 5,000RPM(约 2500g) 下离心 20 分钟(即,朝向第二部分)。

[0143] 如实例 7-10 中所述收集细菌并进行计数。将针对实例 11-12 每一者所收集的体积记录在表 4 中。实例 11-12 每一者的最终浓度记录在表 4 中。实例 11-12 每一者的“浓度增加”通过将最终浓度除以初始浓度来计算,将其结果记录在表 4 中。

[0144] 对实例 11-12 每一者,确定 30mL 中所收集的总细菌和初始总细菌,并将其记录在表 3 中。此外,对实例 11-12 每一者,将第一离心步骤之后保留在第一部分中的上清液进行涡旋并平板接种,以确定第一离心步骤的上清液中保留的细菌数量,结果记录在表 3 中。最后,对实例 11-12 每一者,通过将所收集的总细菌除以初始总细菌来计算收集效率(表示为百分比)。收集效率记录在表 3 中。

[0145] 表 3. 实例 11 和 12 的细菌收集效率

[0146]

	30mL 中的初始总细菌	离心后上清液中的总细菌	微结构化表面 III 中收集的总细菌	收集效率 (%)
实例 11 (微结构化表面 III)	9600	1830	4600	48
实例 12 (微结构化表面 III)	9600	1590	4275	44

[0147] 表 4. 实例 11 和 12 的细菌浓缩结果

[0148]

	收集的体积 (μL)	初始浓度 (细菌/mL)	最终浓度 (细菌/mL)	浓度增加 (倍数)
实例 11 (微结构化表面 III)	26	320	177000	553
实例 12 (微结构化表面 III)	36	320	119000	371

[0149] 上面描述并在附图示出的实施例仅以举例的方式呈现,并无意于作为对本发明的概念和原则的限制。这样,本领域的普通技术人员应当理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下可以对元件及其结构和布置进行各种改变。以下权利要求书描述了本发明的各种特征和方面。

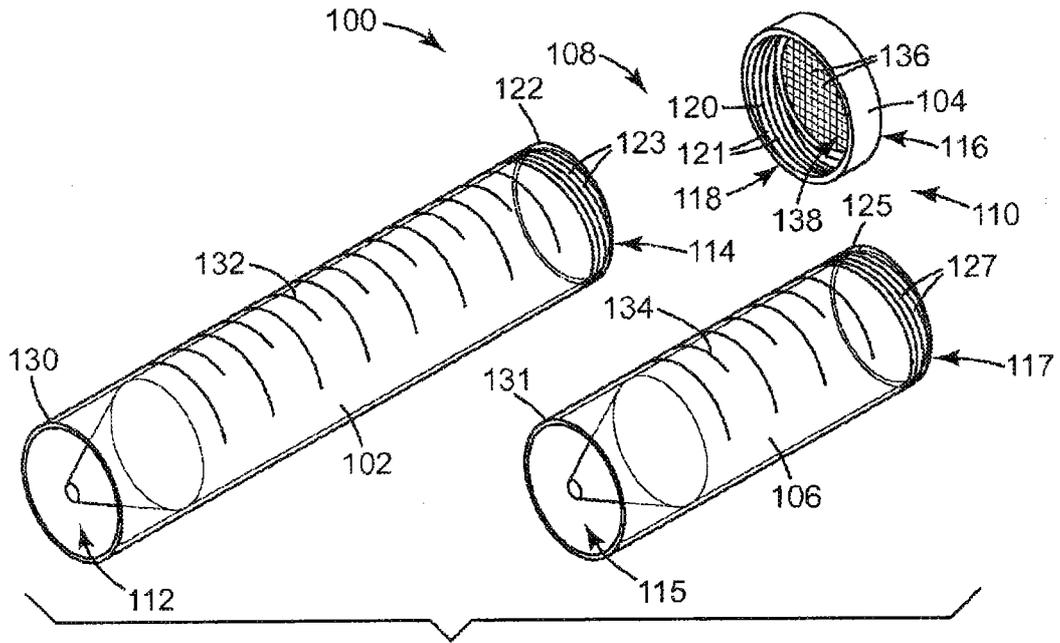


图 1

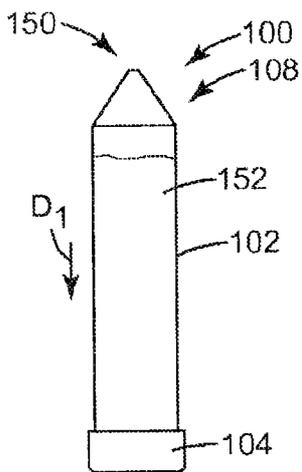


图 2A

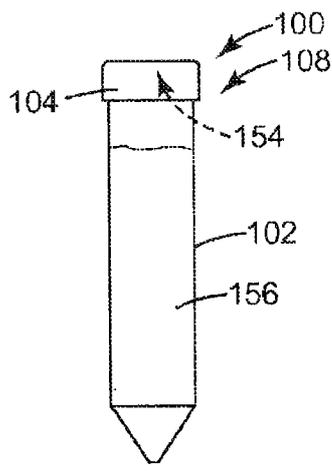


图 2B

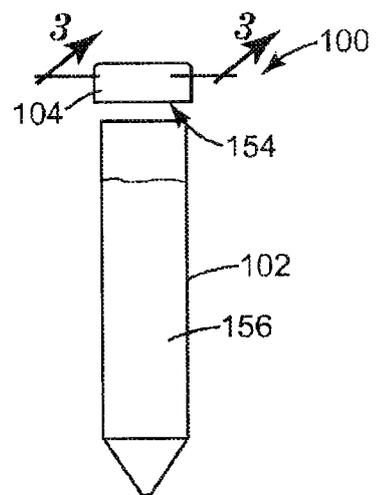


图 2C

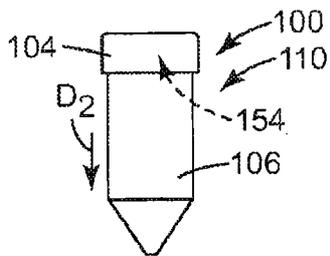


图 2D

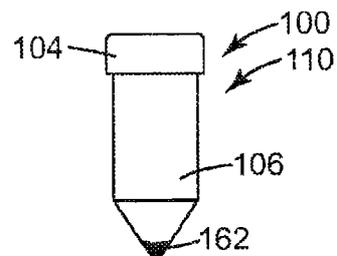


图 2E

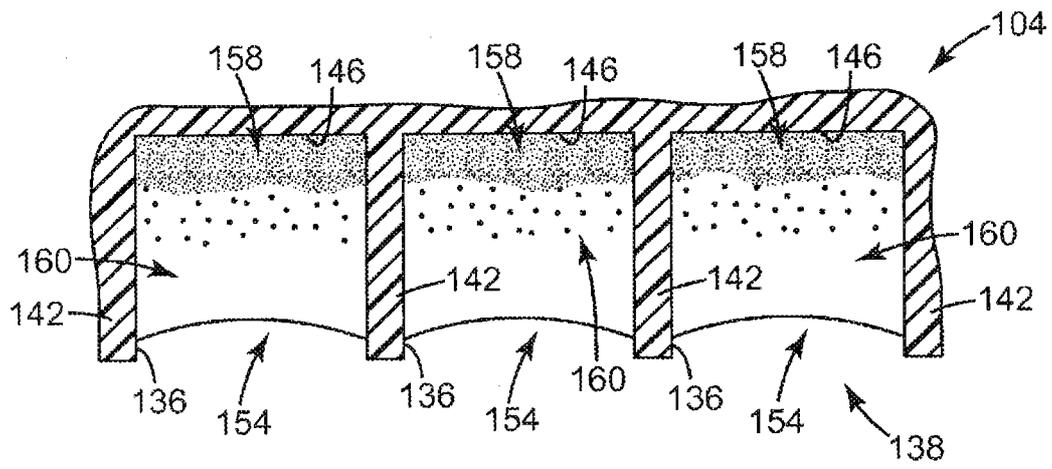


图 3

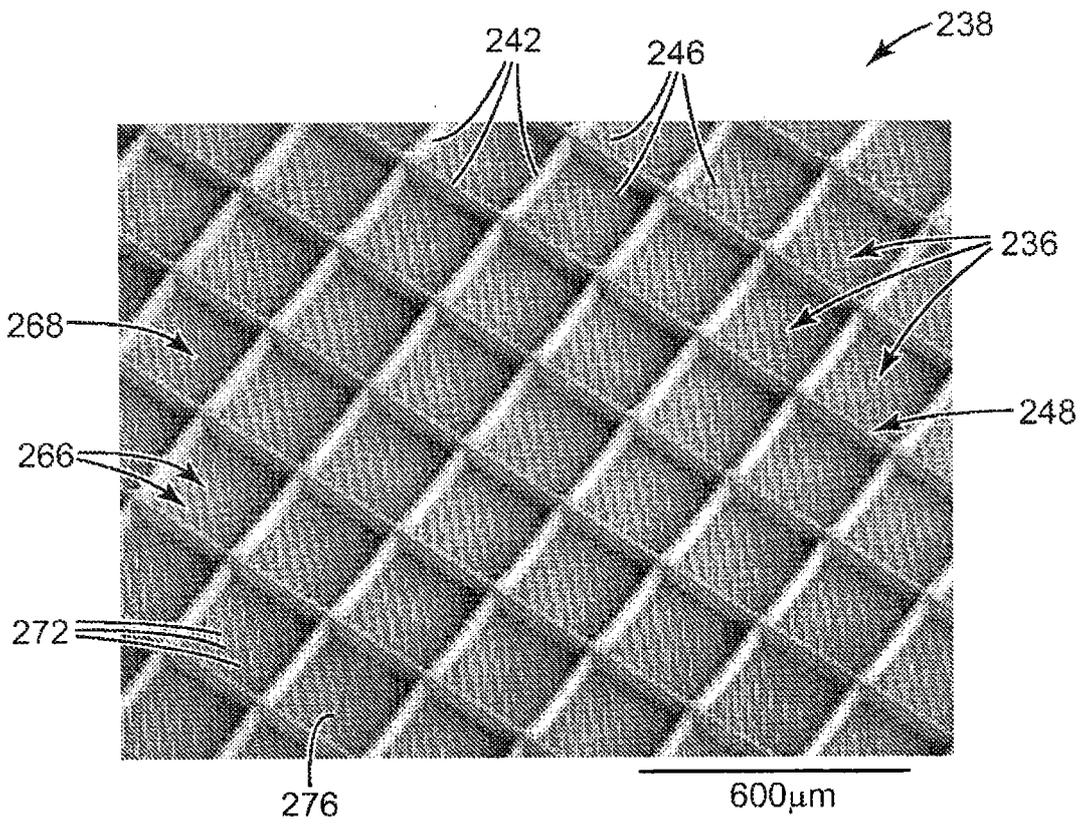


图 4

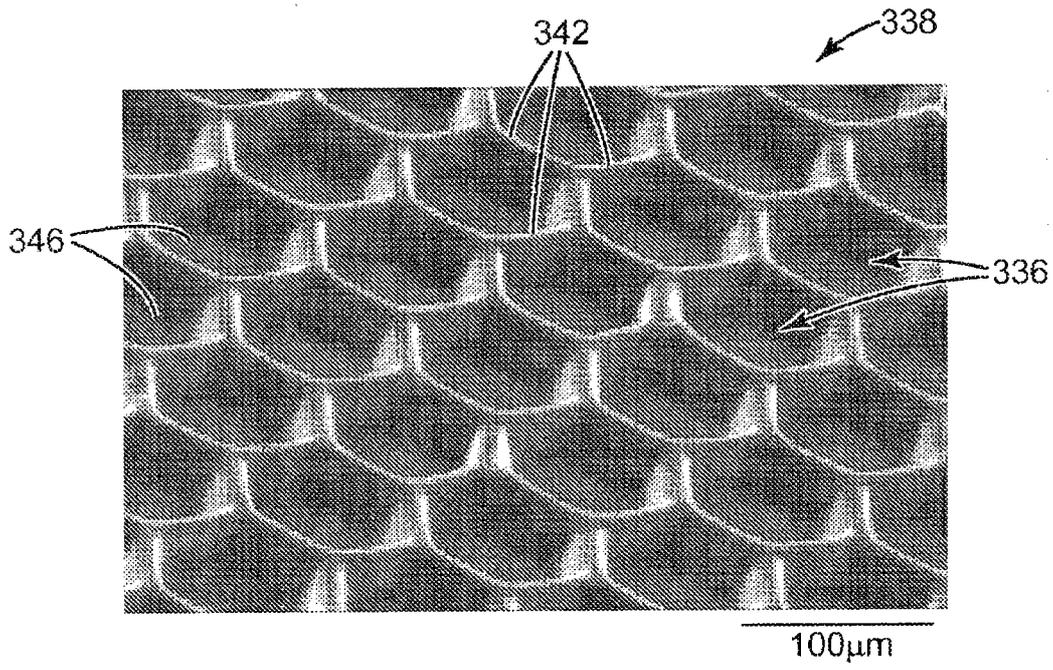


图 5

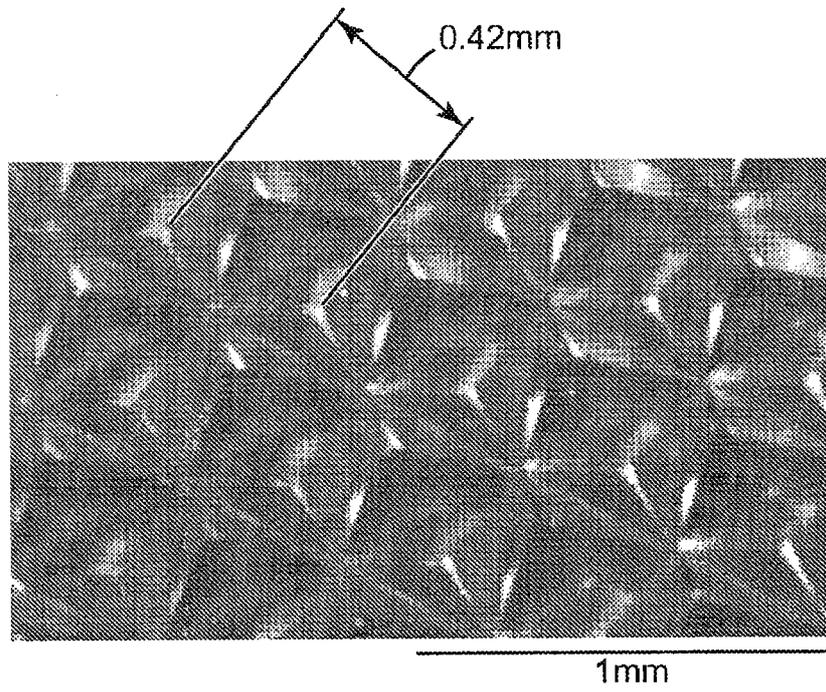


图 6

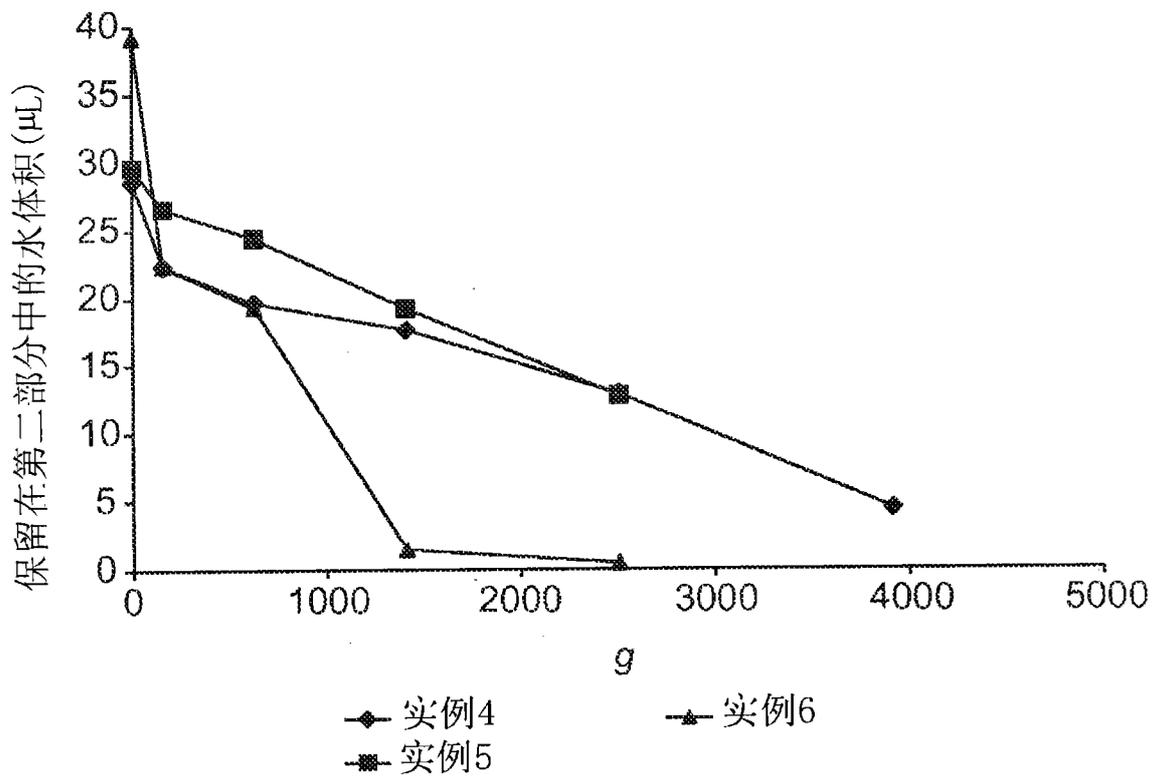


图 7