(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112462055 B
(45)授权公告日 2024.06.07

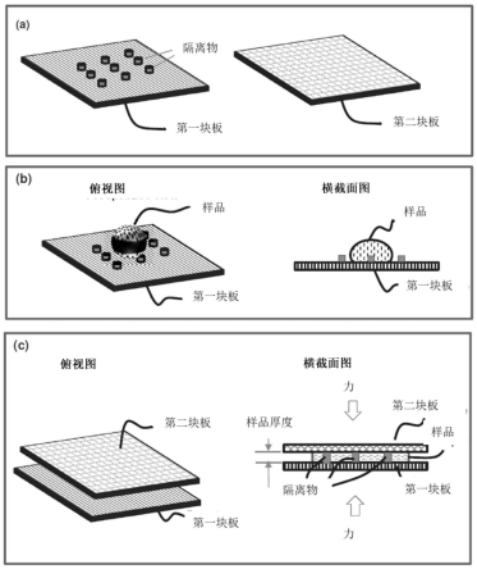
(21)申请号 202010907635.5
(22)申请日 2016.09.14
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112462055 A
(43)申请公布日 2021.03.09
(30)优先权数据
62/218,455 2015.09.14 US
62/293,188 2016.02.09 US
62/305,123 2016.03.08 US
62/369,181 2016.07.31 US
PCT/US2016/046437 2016.08.10 US
(62)分案原申请数据
201680066482.8 2016.09.14
(73)专利权人 上海宜晟生物科技有限公司
地址 200245 上海市闵行区昆阳路1508号2幢4层409室
(72)发明人 斯蒂芬·Y·周 丁伟
(74)专利代理机构 北京百欧知识产权代理事务所(普通合伙) 11930
专利代理师 吴泳历
(51)Int.Cl.
G01N 33/569(2006.01)
G01N 33/543(2006.01)
G01N 33/80(2006.01)
G01N 33/50(2006.01)
G01N 1/30(2006.01)
G01N 1/28(2006.01)
B01L 3/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 101322145 A,2008.12.10
CN 102027350 A,2011.04.20
US 2010216248 A1,2010.08.26
US 2015038373 A1,2015.02.05
US 4022521 A,1977.05.10
WO 2014055559 A1,2014.04.10
审查员 兰云
权利要求书9页 说明书133页 附图31页

(54)发明名称

用于分析样品,尤其是血液,的装置和系统以及其使用方法

(57)摘要

一种用于分析样品,尤其是血液,的装置和系统以及使用它的方法。本发明涉及生物/化学取样,传感,测定和应用领域。具体而言,本发明涉及如何使采样/感测/测定变得使用简便,结果快速,高度灵敏,易于使用,由无任何专业背景人士操作,通过手机读取,或低成本,或他们的组合。



CN 112462055 B

1.一种用于分析样品中目标分析物的装置,包括:

一个第一板,一个第二板,其中:

i.所述两板相对于彼此可移动形成不同的构型;

ii.一个或两个所述板是柔性的;

iii.每个板在其各自的表面上都具有接触包括分析物的样品的样品接触区域;

iv.一个或两个板包括固定于相应样品接触区域的间隔件,其中所述间隔件具有柱形状,基本平坦的顶表面,预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离,该距离至少比所述分析物的尺寸大2倍,并且其中所述间隔件中的至少一个位于所述样品接触区域内;

v.所述间隔件间距离(ISD)的四次方除以柔性板的厚度(h)和柔性板的杨氏模量(E),$ISD^4/(hE)$等于或小于5×10^6 um^3/Gpa;

其中,所述构型中的一个是一个开放构型,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;和

所述构型中的另一个是闭合构型,其是在所述开放构型沉积所述样品之后构成,并且在所述闭合构型中:至少部分样品被所述两个板压缩成高度均匀厚度的层并且相对于板大致停滞,其中所述层的均匀厚度由所述两个板的内表面限制并被所述板和所述间隔件调节,并且具有等于或小于5微米的平均厚度;和

其中在所述闭合构型上,检测器检测至少部分所述样品中的所述分析物。

2.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置进一步包括检测所述分析物的检测器。

3.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置还进一步包含,在一个或两个板上具有预定区域的干结合位点,其中所述干结合位点结合并固定所述样品中的分析物。

4.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置在一个或两个板上进一步包括可释放干燥试剂和释放时间控制材料,所述可释放干燥试剂和释放时间控制材料延迟可释放干燥试剂释放到样品中的时间。

5.根据权利要求4所述的装置,其中所述释放时间控制材料将所述干燥试剂开始释放到所述样品中的时间延迟至少3秒。

6.根据权利要求1所述的装置,所述装置还包括涂覆在一个或两个板上的干燥试剂,并且其中所述试剂包含染色试剂。

7.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置还在一个或两个板上包含一个或多个干结合位点和/或一个或多个试剂位点。

8.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置还包括涂覆在一个或两个板上的干试剂。

9. 根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件的间隔距离与所述间隔件的平均宽度的比率为2或更大,并且所述间隔件的填充因子乘以所述间隔件的杨氏模量为2 MPa或更大。

10.根据权利要求1所述的装置,其中所述分析物是染色的。

11.根据权利要求1所述的装置,其中对于调节所述均匀厚度层的间隔件,所述间隔件的杨氏模量乘以所述间隔件的填充因子等于或大于10MPa,其中所述填充因子是所述间隔件接触面积对总平板区域面积的比率。

12.根据权利要求1所述的装置,所述均匀厚度的层的平均厚度在1.8μm至2.6μm的范围

内且所述样品是未经由另一种液体稀释的全血。

13.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置还包括涂覆在一个或两个板上的干燥试剂并且其中所述试剂包括抗凝血剂。

14. 根据权利要求1所述的装置,其中对于柔性板,所述间隔件间距离(ISD)的四次方除以所述柔性板的厚度(h)和所述柔性板的杨氏模量(E),$ISD^4/(hE)$等于或小于5×10^5 um^3/Gpa。

15.根据权利要求1所述的装置,其中一个或两个板包括定位标记,位于所述板的表面上或位于所述板内部,提供述板上一个位置的信息。

16.根据权利要求1所述的装置,其中,所述一个或两个板包括刻度标记,标记位于所述板的表面上或内部,提供所述样品和/或所述板的结构的横向尺寸的信息。

17.根据权利要求1所述的装置,其中一个或两个板包括成像标记,所述成像标记在所述板的表面上或内部,这有助于样品的成像。

18.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件用作位置标记,比例标记,成像标记或其任何组合。

19.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度为2μm的至2.2μm的范围内且所述的样品是血液。

20. 根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度为2.2μm 至2.6μm的范围内且所述的样品是血液。

21. 根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度为1.8μm 至2μm的范围内 且所述的样品是血液。

22. 根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度为2.6μm 至3.8μm的范围内且所述的样品是血液。

23.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度为1.8μm至3.8μm的范围内且样品是未经由另一种液体稀释的全血。

24.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的平均厚度等于所述样品中分析物的最小尺寸。

25.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件间距离为7μm至50μm的范围内。

26. 根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件间距离为50μm 至120μm 的范围内。

27. 根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件间距离为120μm 至200μm 的范围内。

28.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件间距基本上是周期性的。

29.根据权利要求1的装置,其中所述间隔件是具有选自圆形,多边形,矩形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的柱。

30.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件具有柱形形状并且具有基本平坦的顶表面,其中对于每个间隔件,所述间隔件的横向尺寸与其高度的比率至少为1。

31.根据权利要求1所述的装置,其中每个间隔件的横向尺寸与其高度的比率至少为1。

32.根据权利要求1所述的装置,其中间隔件的最小横向尺寸小于或基本上等于样品中分析物的最小尺寸。

33.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件的最小横向尺寸在0.5μm至100μm的范围内。

34.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件的最小横向尺寸在0.5μm至10μm的范围内。

35. 根据权利要求1所述的装置,其中 所述间隔件具有柱形,基本上平坦的顶表面,预定的基本上均匀的高度以及比分析物的尺寸大至少2倍的预定的恒定间隔件间距,其中间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于2MPa,其中填充因子是间隔件接触区域与总平板区域的比率,并且其中对于每个间隔件,所述间隔件的横向尺寸对其高度的比率至少为1。

36. 根据权利要求1所述的装置,其中所述样品是染色的,其中所述染色使用Romanowsky染色剂,Leishman染色剂,May-Grunwald染色剂,吉姆萨染色剂,Jenner染色剂,Wright染色剂或其相同的任意组合。

37. 根据权利要求1所述的装置,其中所述样品是染色的,其中所述染色是指免疫组织化学(IHC)染色 。

38.根据权利要求1所述的装置,其中所述样品是生物样品,环境样品,化学样品或临床样品。

39.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件具有柱形状,并且所述间隔件的侧壁角具有曲率半径至少为1μm的圆弧形形状。

40. 根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件具有至少100 /mm^2的密度。

41. 根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件具有至少1000 / mm^2的密度 。

42.根据权利要求1所述的装置,其中至少一个所述板是透明的。

43.根据权利要求1所述的装置,其中至少一个所述板由柔性聚合物制成。

44.根据权利要求1所述的装置,其中对于压缩所述板的压力,所述间隔件是不可压缩和/或,相对独立的,仅一个所述板是柔性的。

45. 根据权利要求44所述的装置,其中所述柔性板具有在 10 微米到200 微米范围内的厚度。

46.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的厚度变化小于30%。

47.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的厚度变化小于10%。

48.根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层的厚度变化小于5%。

49.根据权利要求1所述的装置,其中所述第一板和所述第二板是连接的,并且构造成可通过折叠所述板而从所述开放构型变成所述闭合构型。

50.根据权利要求1所述的装置,其中所述第一板和所述第二板通过枢纽连接并且构造成通过沿着所述枢纽折叠所述板从而将所述开放构型变成所述闭合构型。

51.根据权利要求1所述的装置,其中所述第一板和所述第二板通过枢纽连接,所述枢纽是与所述板分离的材料,并且构造成通过沿着所述枢纽折叠所述板从而将所述开放构型变成所述闭合构型。

52.根据权利要求1的装置,其中所述第一板和所述第二板由单片材料制成并且构造成通过折叠所述板从而将所述开放构型变成所述闭合构型。

53. 根据权利要求1所述的装置,其中所述均匀厚度的层在至少1 mm^2的横向区域上是均匀的。

54.根据权利要求1所述的装置,其中所述装置被配置为在60秒或更短的时间内分析样

品。

55.根据权利要求1所述的装置,其中在所述闭合构型下,最终样品厚度被配置为在60秒或更短的时间内分析所述样品。

56.根据权利要求1所述的装置,其中在所述闭合构型下,最终样品厚度被配置为在10秒或更短的时间内分析所述样品。

57.根据权利要求3所述的装置,其中所述干结合位点包含捕获剂。

58.根据权利要求3所述的装置,其中所述干结合位点包含抗体或核酸。

59.根据权利要求4所述的装置,其中所述可释放的干燥试剂是经标记的试剂。

60.根据权利要求4所述的装置,其中所述可释放的干燥试剂是荧光标记的试剂。

61.根据权利要求4所述的装置,其中所述可释放的干燥试剂是荧光标记的抗体。

62.根据权利要求4所述的装置,其中所述可释放的干燥试剂是细胞染色剂。

63.根据权利要求1所述的装置,其中所述检测器是检测光学信号的光学检测器。

64.根据权利要求1所述的装置,其中所述间隔件具有柱形状并且所述柱的宽度与高度的比例等于或大于1。

65.根据权利要求1所述的装置,其中所述检测器是检测电信号的电检测器。

66.根据权利要求1所述的装置,其中通过直接压印所述板或者将所述板注模成型而将所述间隔件固定在板上。

67.根据权利要求1所述的装置,其中所述板和间隔件的材料选自聚苯乙烯,PMMA,PC,COC,COP或其他塑料。

68.一种使用移动电话快速分析样品的系统,包括:

(a)权利要求1~67任一所述的装置;

(b)移动通信设备,包括:

i.用于检测和/或成像样品的一个或多个相机;

ii.电子设备,信号处理器,硬件和软件,用于接收和/或处理检测到的信号和/或样品的图像并用于远程通信; 和

(c)来自移动通信设备或外部源的光源。

69.根据权利要求68所述的系统,其中所述板之一具有结合分析物的结合位点,其中所述均匀厚度的层的至少一部分在所述结合位点上方,并且基本上小于所述结合位点的平均横向线性尺寸。

70.根据权利要求68所述的系统,还包括:被配置为容纳样品并被安装到移动通信设备的外壳。

71.权利要求70所述的系统,其中所述外壳包括用于促进所述移动通信设备对所述样品的成像和/或信号处理的光学器件,以及被配置为将所述光学器件保持在所述移动通信设备上的安装座。

72.权利要求70所述的系统,其中外壳中的光学元件相对于壳体可移动。

73.权利要求68所述的系统,其中所述移动通信设备被配置成将测试结果传送给医学专业人员,医疗设施或保险公司。

74.权利要求68所述的系统,其中所述移动通信设备还被配置为将测试和受试体的信息与医疗专业人员,医疗机构或保险公司进行通信。

75.权利要求68所述的系统,其中,所述移动通信设备还被配置为将测试的信息传送给云网络,并且所述云网络处理所述信息以优化测试结果。

76.权利要求68所述的系统,其中所述移动通信设备还被配置为将测试和受试体的信息传送到云网络,所述云网络处理所述信息以改善测试结果,并且改善的测试结果将被发回受试体。

77.权利要求68所述的系统,其中所述移动通信设备被配置来接收一个来自于医疗专业人员的处方,诊断或建议。

78. 权利要求68所述的系统,其中所述移动通信设备配置有硬件和软件, 用于:

(a)拍摄样品的图像;

(b)分析图像中的测试位置和控制位置; 和

(c)将从测试位置的分析获得的值与表征快速诊断测试的阈值进行比较。

79.权利要求68所述的系统,其中,所述板中的至少一块包括含有检测试剂的存储位点。

80.权利要求68所述的系统,至少一个照相机从CROF装置读取信号。

81. 权利要求68所述的系统,其中移动通信设备经由 WiFi 无线网络或蜂窝网络与远程位置通信 。

82.一种使用移动电话快速分析样品中的分析物的方法,包括:

(a)在权利要求1~67任一所述的装置上沉积样品;

(b)分析沉积在所述装置上的样品中的分析物以产生结果; 和

(c)将来自移动通信设备的结果传送到远离移动通信设备的位置。

83.根据权利要求82所述的方法,其中所述分析物包含具有不同形状的分子,细胞,组织,病毒和纳米粒子。

84.根据权利要求82所述的方法,其中所述分析物包括白细胞,红细胞和血小板。

85.根据权利要求82所述的方法,其中所述分析包括执行白细胞分类分析。

86. 根据权利要求82所述的方法,该方法包括:

分析远程位置处的结果以提供分析结果; 和

将来自远程位置的分析结果传送给移动通信设备。

87.根据权利要求82所述的方法,其中所述分析由远程位置的医疗专业人员完成。

88. 根据权利要求82所述的方法,其中移动通信设备接收处方,诊断或推荐 来自远程医疗专业人员。

89.根据权利要求82所述的方法,其中所述样品是体液。

90. 根据权利要求89所述的方法,其中所述体液是血液,唾液 ,呼吸 或尿液。

91.根据权利要求82所述的方法,其中所述样品为无需由另外液体稀释的全血样品。

92.根据权利要求82所述的方法,其中分析步骤包括检测样品中的分析物。

93.根据权利要求82所述的方法,其中分析物是生物标记物。

94.根据权利要求82所述的方法,其中分析物是蛋白质,核酸,细胞或代谢物。

95.根据权利要求82所述的方法,其中所述方法包括计数红细胞的数量。

96.根据权利要求82所述的方法,其中所述方法包括计数白细胞的数量。

97. 根据权利要求82所述的方法,其中方法包括染色样品中的细胞并计数嗜中性粒细

胞,淋巴细胞,单核细胞, 嗜酸 细胞和嗜碱性粒细胞的数量。

98.根据权利要求82所述的方法,其中步骤(b)中完成的测定是结合测定或生物化学测定。

99. 一种分析样品的方法, 包括:

获得权利要求1~67任一所述的装置;

将样品沉积到装置的一个或两个板上;

将板放置在闭合构型中并且在至少部分板上施加外力; 和

分析厚度均匀的层中的样品,同时板是封闭构型。

100.根据权利要求82~99任一所述的方法,其中所述方法包括:

(a)获得样品;

(b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板,其中每个板具有基本上平坦的样品接触表面,一个或两个板是柔性的,并且一个或两个板包括间隔件用相应的样品接触表面固定,并且其中所述间隔件具有:

i. 预定的基本均匀的高度,

ii. 用基本平坦的顶面的支柱的形状 ;

iii. 宽度与高度之比等于或大于1;iv. 预定的恒定间隔件间距离,该距离在10μm 至200μm 的范围内 ;

v. 间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于2MPa,其中填充因子是间隔件接触区域面积与总平板区域面积的比率;所述间隔件间距离ISD的四次方除以所述柔性板的厚度h和所述柔性板的杨氏模量E,$ISD^4/(hE)$等于或小于$5x10^6$ um^3/GPa;

(c)当所述板构造成打开构型时,将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述打开构型是将其中所述两个板部分地或完全分开并且 所述板之间的间隔不是由间隔件调节;

(d)在(c)之后,使两块板一起进入闭合构型, 其中: 样品的至少一部分形成由板的样品接触表面限定的基本均匀厚度的层,其中层的均匀厚度由间隔件和板调节, 并且具有平均基本均匀厚度的层值在1.8 微米 至3 微米 范围内; 和

(e)当处于闭合构型时分析所述均匀厚度的层。

101. 如权利要求100所述的方法,其中该方法包括:

在板处于闭合构型之后去除外力; 和

在板是闭合构型是对均匀厚度的层中的血细胞成像,和

计数图像区域中的多个血细胞。

102. 如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件间距为20μm 至200μm 的范围内。

103. 如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件间距离为5μm 至20μm 的范围内。

104.如权利要求100所述的方法,其中所述填充因子与所述间隔件的所述杨氏模量的乘积为2MPa或更大。

105. 如权利要求100所述的方法,表面变化小于30 nm。

106. 如权利要求100所述的方法, 其中所述样品是未添加抗凝剂的未稀释的全血。

107. 如权利要求100所述的方法,其中沉积步骤(c)通过以下步骤完成:刺穿人体皮肤释放一滴血液到皮肤上,ii. 在不使用血液转移工具的情况下使血滴与一个或两个板接

触。

108.如权利要求100所述的方法,其中分析步骤包括计数红细胞的数量。

109.如权利要求100所述的方法,其中所述装置进一步包括比例标记,其中所述比例标记包括至少一对所述比例标记,隔开已知距离的一对比例标记平行于横向区域的平面。

110. 如权利要求100所述的方法,其中所述分析步骤包括对所述样品中的细胞进行染色并计数嗜中性粒细胞,淋巴细胞,单核细胞,嗜酸 细胞和嗜碱性粒细胞的数量。

111. 如权利要求101 所述的方法,其中所述成像和计数通过以下步骤完成:

i.照亮均匀厚度的层中的细胞;

ii.使用CCD或CMOS传感器拍摄一个或多个图像;

iii.使用计算机识别图像中的细胞; 和

iv对图像区域中的多个单元进行计数。

112.如权利要求101所述的方法,其中所述外力由人手提供。

113.如权利要求100所述的方法,其进一步包括测量均匀厚度的层中的钠,钾,氯化物,碳酸氢盐,血尿素,氮,镁,肌酸酐,葡萄糖,钙,HDL胆固醇LDL胆固醇水平和/或甘油三酯水平。

114.如权利要求100所述的方法,其中所述装置包括涂覆在一个或两个板上的干试剂。

115. 如权利要求100所述的方法,其中所述均匀厚度的层具有高达+/- 5%的厚度均匀性。

116.如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件是具有选自圆形,多边形,矩形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的柱。

117.如权利要求100所述的方法,其中间隔件之间的间隔近似于红细胞的平均厚度。

118.如权利要求100所述的方法,其中所述分析步骤包括对血液中的细胞进行成像。

119.如权利要求100所述的方法,其中细胞包含红细胞,白细胞或血小板。

120.如权利要求100所述的方法,其中分析步骤包括对血液中的癌细胞,病毒或细菌进行成像。

121.如权利要求100所述的方法,其中,所述分析包括蛋白质或核酸的检测。

122.如权利要求100所述的方法,其中所述分析包括测量血细胞,包括使用间隔件确定样品厚度,通过成像确定横向区域,并且使用2D图像计算红血细胞的面积。

123.如权利要求100所述的方法,其中分析包括测量血液中的红细胞浓度。

124.如权利要求100所述的方法,其中分析包括测量血液中的白细胞浓度。

125. 如权利要求100所述的方法,其中分析血液包括测量血液中的血小板浓度 。

126. 如权利要求100所述的方法,其中所述样品是血液,所述分析物是血细胞,并且所述层的均匀厚度是1.9μm 到 2.2μm 的范围内。

127.如权利要求100所述的方法,其中按压是通过人手进行的。

128.如权利要求100所述的方法,其中压制是通过人手进行的,并且均匀的样品厚度具有50%或更小的变化。

129.如权利要求100所述的方法,其中一个板或两个板的内表面的至少一部分是亲水的。

130.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是直接从受试者到所述板的沉积而不

使用任何传递装置。

131.如权利要求100所述的方法,其中在闭合构型下的样品变形之后,当部分或全部压缩力被移除时,样品保持相同的最终样品厚度。

132.如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件具有柱形形状和基本均匀的横截面。

133.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是生物样品,环境样品,化学样品或临床样品。

134. 如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件间距离(ISD)的四次方除以所述柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E),$ISD^4/(hE)$为$5x10^5$ um^3/GPa 或 更少。

135.如权利要求100所述的方法,其中所述间隔件具有柱形,基本上平坦的顶表面,预定的基本上均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离,所述间隔件间距离比所述分析物的尺寸大至少2倍其中间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于2MPa,其中填充因子是间隔件接触区域与总平板区域的比率,并且其中对于每个间隔件,间隔件的横向尺寸对高度的比率至少为1。

136. 如权利要求100所述的方法,其中 所述分析物是 检测蛋白质,肽,核酸,合成化合物和无机 化合物中的分析物。

137. 如权利要求100所述的方法, 其中沉积在一个或两个板上的样品具有未知体积。

138. 如权利要求100所述的方法,其中所述样品用于检测,纯化和量化与 某些疾病阶段相关的化合物或生物分子。

139.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与传染病和寄生虫病,损伤,心血管疾病,癌症,精神障碍,神经精神障碍,肺病,肾病和其他器质性疾病有关。

140.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与微生物的检测,纯化和定量相关。

141.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与来自环境的病毒,真菌和细菌有关。

142.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与对食品安全或国家安全构成危害的化学化合物或生物样品的检测,定量有关。

143.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与医学或生理监测器中的生命参数的量化有关。

144. 如权利要求100所述的方法,其中所述样品与葡萄糖,血液,氧气水平,总血液 计数有关。

145.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与来自生物样品的特定DNA或RNA的检测和定量相关。

146.如权利要求100所述的方法,其中所述样品与测序和比较染色体中的DNA和线粒体中的基因序列以用于基因组分析。

147.如权利要求100所述的方法,其中样品与检测反应产物有关。

148.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是细胞,组织,体液和粪便。

149.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是检测蛋白质,肽,核酸,合成化合物,无机化合物的样品。

150.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是人类,兽医,农业,食品,环境和药物测试领域中的样品。

151.如权利要求100所述的方法,其中所述样品是选自血液,血清,血浆,鼻拭子,鼻咽

洗液,唾液,尿液,胃液,泪液,粪便,粘液,汗液,耳垢,油,腺分泌物,脑脊液,组织,精液,阴道液,源自肿瘤组织的间质液,眼液,咽拭子,呼吸,头发,指甲,皮肤,活检组织,胎盘液,羊水,脐带血,淋巴液,腔液,痰,脓液,微生物群,胎粪,母乳,呼出凝血液,结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。

用于分析样品,尤其是血液,的装置和系统以及其使用方法

[0001] 本申请是基于申请号为201680066482.8,申请日为2016年9月14日的中国国家阶段申请提出的分案申请,本申请与母案申请享有以下交叉引用所提及的临时申请的权益。

[0002] 交叉引用

[0003] 本申请要求以下临时申请的利益,序列号62/218455于2016年9月14日提交,62/293188于2016年2月9日提交,62/305123于2016年3月8日提交,和62/369181于2016年7月31日提交,以及PCT申请序列号PCT/US16/46437于2016年8月10日提交,其中PCT申请要求以下临时申请的利益,序列号62/202989,于2015年8月19号提交,62/218455于2015年9月14号提交,62/293188于2016年2月9日提交,62/305123于2016年3月8日提交,和62/369181于2016年7月31日提交。所有这些在此引入其全部应用用于所有目的。

发明领域

[0004] 本发明涉及生物/化学采样、感测、检测和应用等领域。

背景技术

[0005] 在生物/化学样品中,尤其是血液分析中,需要能够加速该过程的方法和装置(例如结合,混合试剂等)并量化参数(例如分析物浓度,样品体积等),可以简化样品采集和测量过程,可以处理小体积的样品,从而允许在不到一分钟的时间内完成整个测定,从而允许由智能手机(例如移动电话)执行测定,允许非专业人员执行自己的测试,并允许将测试结果经由本地,远程或无线传输给不同的相关方。本发明涉及能够满足这些需求的方法,设备和系统。

发明内容

[0006] 以下简要概述并非意在包括本发明的所有特征和方面。本发明涉及使生物/化学感应(包括但不限于免疫测定,核酸测定,电解质分析等)比许多现有的感应方法和设备更快,更灵敏,有更少步骤,更容易执行,装置和系统需要的样品数量更少,对专业协助的需求更少(或没有),和/或成本较低。

[0007] 今天许多实验室测试的目标是精确确定样品中分析物的绝对浓度。例如,红细胞(RBC)测试包括计算限定量全血中红细胞的数量,然后计算每微升全血中红细胞的数量。然而,这样的测量在非专业的测试中心(即,在“在家”,“在药房”或“护理点”环境中)的情况下可能很难执行,因为这样的测试通常需要专门的仪器和/或准确的测量装置,这样的装置能够准确地测量生物流体的相对较小的体积(例如精确的移液管等)。

[0008] 相关体积的测量

[0009] 许多测定法能够提供样品中分析物的绝对浓度。然而,在对于只有小体积样品(例如,100纳升到10微升)进行分析时,这些测定法的结果变得相当不准确。这是因为,小体积样品难以精确地处理和/或测量。

[0010] 在一些测定中,液体样品可以放置在两块板之间,通过间隔件分离并分析。理论

上,分析样品的体积可以通过将分析样品的面积乘以分析样品的厚度来计算。然而,实际上,这样的估计不容易做出,并且由于各种原因而非常不准确。举例来说,一些装置使用珠子将板隔开,并且珠或一个板是可变形的。出于以下原因,此类设备可能容易出现不准确性:

[0011] • 球形间隔件与板的接触面积(接近一个点)很小。在这样的装置中,由于接触面积小,对于施加在板上的每个单位的压力,会在板和球体的接触区域上施加大得多的压力。这种很大的压力导致球体和/或板(如果它们是柔性的)变形,这也扭曲了任何测量。

[0012] • 球形间隔件通常最终随机分布在两块板之间。由于球形间隔件是随机分布的,所以间隔件间距变化很大,并且一些距离相当大。这导致间隔件和/或板(如果它们是柔性的)在某些区域相对于其他区域在更大程度上变形,这也扭曲了结果。

[0013] • 随机放置在一起的间隔件可能成为阻碍分析物(例如细胞)运动的障碍物,从而可能产生分析物或细胞的“团块”,导致更多的分析困难。

[0014] • 其中一个平板显著变形可能会导致细胞裂解,这可能会导致细胞计数工作出现错误。

[0015] • 体积计算是不准确的,因为分析区域中的球形间隔件的数量,以及间隔件和/或其中一个板变形的程度因样品而异。

[0016] • 变形导致分子扩散到其中一块板的表面所需时间的变化。

[0017] 对使用球形间隔件的装置中,已经分析的样品部分的体积可以通过以下方式估算:a)对分析的样品体积中的球进行计数,和b)通过实验估算样品层的厚度(例如,添加一个内部标准,如含有已知浓度校准物的不混溶液体,可用于计算板之间的距离)。然而,额外的步骤不便于执行,并且由于顶板和/或间隔件在使用中显著变形,从这些装置获得的测量结果仍然不是很准确。

[0018] 与此相反的是,本方法和装置的实施例依赖于具有基本上均匀的高度,几乎均匀的横截面(例如具有直侧壁的柱)和平面(即“平坦”)顶部的间隔件,所述间隔件以一定规则的排布被固定到一个或多个板,其中间隔件以一致的,限定的距离彼此分开(即,不处于由泊松统计控制的随机位置)。在使用本方法和装置的一些实施方式期间,至少在板处于关闭位置并且通过毛细作用力被拉到一起时,间隔件和板不会在任何尺寸上被显著压缩或变形。本装置可具有许多优点,因为在使用本装置时,获得数据的样品部分的体积(即,“相关体积”或分析区域中样品部分的体积)可以非常准确地计算出来,并且在某些情况下甚至可以在开始分析之前计算,即使未知量的样品沉积在设备上也是如此。因为在关闭位置,板基本上是平的(这意味着样品的厚度是均匀的)并且分析区域中的间隔件的数量和尺寸是已知的,因此可以容易地计算该区域中的样品的准确体积。在测定完成之后,可以确定相关的体积样品,而无需在一个区域内对间隔件进行计数或估计一层样品的厚度。也需要将特定量的样品放入设备中。此外,在温育开始时,分析物分子会均匀地分布在整个相关体积内(达到泊松统计所允许的程度),而不是更集中在一个区域内。

[0019] 缩短的反应时间

[0020] 已知许多分析物在水性环境中的扩散常数非常低,因此,许多测定法需要冗长的温育时间(通常几个小时,在某些情况下,甚至几天),需要搅拌和使用促进或是迫使混合的药剂。此类测定法如此设计,是为了允许分析物以从初始位置横向扩散到板结构的一个远

程目标上(例如见,Wei et al,Nucl.Acids Res.33:e78 and Toegl et al,J.Biomol.Tech.2003 14:197-204)。这样的系统因其可能需要几个小时才能获得结果,有很大的局限性。此外,即使获得结果,也常常难以肯定地判断该反应在终止时是否达到了反应平衡。这种不确定性,同其他事项一起,导致不可能估算样品中分析物的绝对浓度。

[0021] 如下面更详细地解释一样,在本方法和装置的一些实施例中可以选择间隔件的高度和测定终点来限定在测定期间分析物横向扩散的量。在这些情况下,这样的测定(通常为结合测定法)可以在很短的时间内运行。另外,样品中的分析物的浓度可以被非常精确地估计,即使整个样品可能没有被全部分析,或者具有未知的体积。

[0022] 在这些实施例中,一个测定法可以在以下情况被停止,或者读出结果:1)一个等于或更长于在闭合构型中目标分析物所需横跨厚度均匀层的厚度的扩散的时间(即不短于目标分析物所需从一个板垂直扩散到另一个板的时间);2)一个短于目标分析物横跨既定结合点区域的线性维度的横向扩散的时间(即,短于目标分析物从结合点的一侧横向扩散至另一侧的时间)。在这样的“本地结合”的构型中,获取数据部分的样品体积(“相关体积”)可合理精确地估计出来,因为它是紧挨于分析区域之上的样品的体积。实际上,启动测定前获取数据部分的样品体积即可获知。这样的“本地结合”的实施例还有一个优点,即样品,也有可能包括任何检测试剂,都被压成结合点之上的一个薄层,因此,任何分析物和/或检测试剂之间的结合应比在样品没有被压成薄层的实施例更快达到平衡,没有压成薄层的例如是一滴样品被简单地放置在具有结合点的板上。正因如此,在许多情况下,结合平衡可以在几秒钟内,而不是几分钟之达到,因此,许多测定法,特别是结合测定法,可以非常迅速地,例如在不到一分钟内,被完成。

[0023] 多路并行分析

[0024] 此外,“本地结合”的构型允许人们在不需流体隔离不同反应的情况下进行多重并行测定分析。换句话说,多个测定可以在一个开放的环境中完成,而不需将彼此用墙壁区隔开(即,没有流体隔离)。例如,在本地结合的实施例中,在同一样品中两种不同的分析可以并排同时进行,因为在从一个测定区域扩散至另一个测定区域前,该分析物的测定已停止和/或测定结果已被读取,这些分析物在样品中的绝对浓度可以被分别确定,即使它们并不被流体隔离。

[0025] 通过简单地将样品夹在两个板结构之间,并以限制扩散的方式进行测定,能在一个样品上实现多个测定而无需流体隔离,这也具有很多优点。例如,这些测定可以这样进行:简单地滴置几滴未知量的样品的液滴(例如,血液),将板结构按压在一起以在整个板上展开样品,在一定时间内温育样品反应,并从设备的多个点读取数据。在实施该方法时,不需要对于规定量的样品进行转移放置到多个腔室中,这在没有精确的流体转移和/或测量装置的情况下是难以实现的。此外,该法还由于前述原因而非常迅速。另外,由于这里的板结构不需要有“墙”的制作,该装置的制造是简单易行的。最后,对于任何所述板结构都没有对端口的要求,这里端口是指当设备处于闭合构型时可能被用于添加或移除去除样品或试剂的端口。

[0026] 增强表面

[0027] 另外,在本装置和方法的一些实施例中,该装置可以包含一个“增强表面”,例如,增强信号的表面,这里的信号例如,由一个检测试剂发出的荧光或冷光。在一些情况下,该

信号可以由纳米等离子体激元效应(例如,表面增强拉曼散射)增强。通过增强表面信号增强的实施例描述于,例如,Li et al,Optics Express 2011 19:3925-3936和专利申请WO2012/024006中,这些文献通过引用并入本文。在一些情况下,增强表面可以是一个“盘耦合柱上点天线阵列”(D2PA),这已在美国专利9013690描述。在使用中,包含增强表面的装置可能相对于未配置信号增强的装置,能够将信号增强10^3倍或更多,从而允许分析物以非常高的灵敏度被检测。在一些实施例中,样品中的分析物的量,特别是使用夹心法检测的非细胞类的分析物的量,可以使用WO2014144133中描述的方法,进行数字化计数样品的相关体积中分析物的量。增强表面的使用,在某些情况下,会使用智能电话或类似物进行测定的读取。

[0028] 其他特性

[0029] 在本装置的实施例中,如果板浸入含水环境中,则固定到一个或多个板上的间隔件不能改变位置或被冲走。间隔件不是球形的,并且它们不会通过诸如静电力,重力等的弱力附着到板的表面。在一些实施例中,具有间隔件的板可以是单片的。在许多实施例中,间隔件不是预先制造的,然后固定到板上(例如,胶合在其上等)。相反,可以使用压印和/或微制造(例如,光刻)工艺在板上生长和/或蚀刻间隔件。

[0030] 可以优化间隔件的参数(例如它们的横截面,间隔和密度等),使得在闭合构型中,在分析中的样品部分(所述样品的“相关体积”)上的顶板(其可以是柔性的)不会显著地变形。在某些情况下,间隔件的参数可以根据顶板的柔韧性和弹性进行调整。例如,如果顶板更柔韧,那么间隔件可能更接近。同样,如果顶板的柔性较差,则间隔件可能会进一步分开。

[0031] 此外,在使用本装置的许多实施例中,分析物在设备关闭后不定向地在装置中迁移。这样,在闭合相态中,不必要有分析物的分选或分馏,无定向的强迫的分析物在装置内的流动(例如通过重力或电泳),如Austin(US 6632652)中的描述。在许多情况下,没有必要为设备连接电源以产生电动势。在许多实施例中,样品被展开时没有“障碍”以阻碍分析物(细胞),从而使得分析物在整个相关体积中均匀地分布(泊松统计允许的范围内),而不是更集中于某一区域。另外,在其他设备中,盖板的作用是用来密封该装置,以防止液体泄漏,因此,盖板即使在没有样品的时候已经被放置在基片的顶部。这种装置并不会在一个开放的板面上将液体压成可被分析的薄层。此外,在其它装置中,支柱的主要功能是“过滤”或分选纳米物质(例如细胞或类似物)。因此,支柱间的距离是由被分选纳米物质而确定的,而不是为了用于使盖板和衬底板之间形成均匀的间隔。最后,在如Austin的装置中,分选精度主要由支柱间的距离而不是板之间的间距控制,而控制板之间的间距并不被认为是重要的。因此,这样的公开内容将不会引导人们通过改变柱的大小,形状,支柱间的间隔等以调节板间距的均匀性。

[0032] 鉴于上述情况,本设备和方法提供了一种易于使用,价格便宜,操作容易,并且非常快速的方式来确定液体样品中一种分析物的绝对浓度(或多种分析物,如果使用了多重并行的方式配置该设备和方法)。

[0033] 本发明的一个方面是,使用一对可相对移动的板,来操纵小体积样品或一种或多种试剂或两者皆有从而得到一个更简单,快速和/或更好的测定法。这些操纵包括,但不限于,重塑样品,迫使样品流动,使样品和试剂间发生接触,测量样品的体积,降低扩散距离,提高碰撞频率等等-这些都对于某些测定法有益处。在本发明中,板的特殊功能和性能,操

作板的特殊方法,以及处理试剂和样品的特殊方法都为测定分析提供了优势。

[0034] 本发明的一个方面是,提供一种装置,使沉积在板上的液体样品滴的至少一部分成为厚度可控,预先确定且于大面积上均匀的薄膜。薄膜的均匀厚度可薄至小于1微米。此外,本发明允许相同的均匀厚度维持于很长一段时间而不蒸发至环境中。

[0035] 本发明的另一个方面是,利用由本发明形成的预定均匀的样品厚度来确定样品的一部分或全部的体积,而无需使用任何吸管或类似物的装置。

[0036] 本发明的另一个方面是一种间隔件的实施例(用于控制两板之间的间隔),间隔件具有平整的顶部和接近均匀横截面的柱状结构。这种间隔件比起球(珠)形状的间隔件在控制样品厚度上提供了许多优势。

[0037] 本发明的另一方面是用于间隔件(用于控制两个板之间的间隔)的实施例,其具有平顶和几乎均匀横向横截面的柱形。这种间隔件相比于球(珠)形状的间隔件控制样品厚度方面提供了许多优点。

[0038] 本发明的另一方面是使得某些化学反应(或混合)仅在样品的一小部分中而不是在样品的其他部分中发生,这种方法不在样品的两部分之间使用流体隔离的手段。

[0039] 本发明的另一方面是使得多个化学反应(或混合)仅在样品的每个小部分中发生,而不是在样品的其他部分中发生,而不使用样品的不同部分之间的流体隔离的手段。因此,本发明允许使用一小滴样品并行多路测定,而在不同反应位点之间没有流体隔离。

[0040] 本发明的另一方面是使分析(例如免疫分析,核酸分析等)更快的手段。例如,饱和孵育时间(分子之间结合达到平衡的时间)从数小时减少到小于60秒。

[0041] 本发明的另一方面是通过几种方法中的一种或几种方法显著提高检测灵敏度的手段,所述方法包括增强表面,大或亮的标签等

[0042] 本发明的另一方面是使用非常少量的样品进行测定的手段,例如小至0.5uL(微升)或更小。

[0043] 本发明的另一方面是允许受试者直接沉积在测试或样本区域的微小体液来简化测定。

[0044] 本发明的另一方面是通过在板上预涂覆试剂来简化和加速测定。例如,将捕获剂和检测剂预涂布并在板上干燥。另一个例子是,所有需要的传感试剂都预先涂布在平板上,并且在使用时直接将样品沉积在预涂覆的平板上而不需要沉积其他试剂来完成感测。

[0045] 本发明的另一方面是由移动电话执行的分析的手段。

[0046] 本发明的另一个方面是允许人在60秒内自己测试他/她自己的生物标记的方法,通过直接将一滴自身体液(例如唾液)放置在一对塑料之间并用移动电话照相。

[0047] 附图的简要说明

[0048] 熟练的技术人员将理解,附图,如下所述,是仅用于说明目的。附图并不意图以任何方式限制本发明的范围。附图可能不是成比例的。在呈现实验数据点的附图中,连接数据点的线仅用于引导观察数据,而没有其它含义。

[0049] 图1是一个CROF(压缩可调无阻流动)实施例的图示。图1(a)示出的第一板和第二板,其中所述第一板具有间隔件。图(b)示出了在开放构型中沉积在第一板(示出),或第二板(未示出),或两者(未示出)的样品。图1(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间流动),并降低样品的厚度,并使用间隔件和板来调节在闭合构型的样品厚度,和(ii)每个

板的内表面可具有一个或多个结合点和/或存储地点(未示出)。

[0050] 图2示出有结合点或存储点的板。图2(a)示出具有结合点的板。图2(b)示出了具有试剂存储点的板。图2(c)示出具有一个结合点的第一板和具有试剂存储点的第二板。图2(d)示出具有多个点(结合点和/或存储点)的板。

[0051] 图3是用于通过降低样品厚度减少测定温育时间的方法的流程图和示意图。图3(a)表示具有在基板表面上的至少一个结合点的第一板。图3(b)示出了第二板(其可具有与第一板不同的大小)。图3(c)表示沉积样品(含有目标结合实体)在基板表面上(如图所示)或盖板(未示出),或两者(未示出)。图3(d)表示使它们彼此面对,并通过移动所述第一和第二板降低板之间的内部空间的间距以降低样品的厚度。厚度减小的样品被温育。降低的样品厚度加快温育时间。该方法的一些实施例使用间隔件以调节间隔,在(隔片)图中未示出。

[0052] 图4示出通过使用两板,间隔件,和压缩(以横截面示出)来减少样品厚度从而减少结合或混匀的时间。图4(a)示出减少结合样品中的实体至固体表面上结合点的时间(X-(体积到表面))。图4(b)示出了减少结合存储在一个板的表面的实体(例如试剂)至另一个面的表面上的结合点的时间(X-(表面到表面))。图4(c)示出减少用于将存储在板的一个表面上的试剂加入被夹持在板和另一板(X-(表面至体积))之间的样品的时间。

[0053] 图5示出如何避免或降低柔性板的局部弯曲。图5(a)表示,如果间隔件间隔件间距离对于柔性板(第二板,例如塑料薄膜)在一组给定样品和压缩的条件下太大,假定第一板是刚性的,板在闭合构型中两个相邻间隔件之间具有局部凹陷(即向内弯曲)。板之间的样品没有示出。图5(b)示出了通过使用一个适当的间隔件间距离和适当的压缩力减小或几乎避免在小图(a)中的柔性板局部弯曲(凹陷)。板之间的样品没有绘出。

[0054] 图6示出减少大尘埃对板间距(样品厚度)调节的影响。图6(a)示出当使用两个刚性板时,尘埃厚度大于间隔件高度可以破坏由间隔件调节的预期板间距(因此破坏了预期的样品厚度调节)。板之间的样品没有绘出。图6(b)示出使用适当的柔性板和适当的间隔件间距离,尘埃的影响被隔离在尘埃周围的小面积内,而在其他区域,板间距(因此样品的厚度)由调节间隔件不是尘埃。此例证中第一板是刚性的,第二板是柔性的,并且间隔件最初固定在第一板上。图6(c)表示用适当的柔性板和适当的间隔件间距离,尘埃的影响被隔离到尘埃周围的小区域内,而在其他区域,板间距(因此样品厚度)是由间隔件不是尘埃调节。此例证中第一板是刚性的,第二板是柔性的,并且间隔件最初固定在第二板。

[0055] 图7示出通过使用适当的间隔件排列和柔性板减少板的表面平整度变化的影响。图7(a)显示与所需样品厚度相比,表面平坦度变化可能显著较大,从而在确定样品厚度时引起误差。在这个例子中,只有一块板具有较大的平面度变化(实际上,两块板可能具有较大的平面度变化)。板之间的样品未被绘制。图7(b)示出了板的表面平整度的变化,是从一个表面高度的局部最大值处到相邻的局部最小值处的距离。图7(c)示出了如何通过使用一个或两个板柔性和使用适当的间隔件间距离和适当的压缩力,在闭合构型中,以校正该板在开放构型时的原始的表面平整度变化,从而实现较小的表面平整度变化。板之间的样品没有绘制。图7(d)表示通过使用柔性第二板和适当的间间隔件距离使样品厚度变化小于该板的初始表面平整度变化。柔性板具有刚性板的轮廓。板之间的样品没有绘制。

[0056] 图8显示用于样品厚度调节的板和封闭式间隔件(井)。图8(a)示出一个第一板和一个第二板,其中,第一板具有一个封闭的间隔件(井)。图8(b)示出了在开放构型中沉积在

第一板(示出),或第二板(未示出),或两者(未示出)的样品。图8(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间的流动),并降低样品的厚度,并(ii)使用间隔件和板来调节在闭合构型的样品厚度。

[0057] 图9示出使用封闭间隔件(井)调节样品厚度的另一个实施例。图9(a)示出一个第一板和第二板,其中,第一板具有一个封闭的间隔件(井)和在井内的至少一个间隔件。图9(b)示出了在开放构型中沉积在第一板(示出),或第二板(未示出),或两者(未示出)的样品。图9(c)示出(i)使用两个板扩展样品(样品在板之间流动),并降低样品的厚度,和(ii)使用间隔件和板来调节在闭合构型的样品厚度。图9(d)示出了第一和第二板的另一实施例,其中,所述第一板没有在井内间隔件。

[0058] 图10示意示出了本发明的一个示范实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的一个结合点和另一板的多个存储点的多重检测。图10(a)和图10(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图。

[0059] 图11示意性示出了本发明的另一个示例性实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的一个存储点和另一板的多个结合点的多重检测。图11(a)和图11(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图,。

[0060] 图12示意性示出了本发明的进一步示例性实施例,在单个CROF装置中使用一个板上的多个结合点和另一板的多个存储点的多重检测。图12(a)和图12(b)是分别是透视图和示例性装置的剖视图。

[0061] 图13A示意性地示出了使用包括有30微米间隔件高度的间隔件阵列的CROF装置来实现一个饱和温育时间小于30秒的测定法的一个QMAX测定法。

[0062] 图13B是对于捕获标签信号相对于温育时间的测量,这表明图13A所示的QMAX测定法的饱和温育时间不超过30秒。

[0063] 图14表示实验测量使用30微米间隙(对于CROF装置),带洗脱(异质测定法)和不带洗脱(均相测定)的QAX&QMAX测定法的LoD(检测限)。

[0064] 图15示出(i)在玻璃基板上滴加小体积样品的,和(ii)在CROF的闭合构型中扩大了的该样品的面积的顶视图和横截面图。

[0065] 图16示出一些这里使用的术语的含义。

[0066] 图17示出板上的间隔件。照片顶视图:(a)46微米×46微米的支柱间隔件大小和54微米的支柱间距离,(b)10微米×70微米的支柱间隔件大小和10μm的支柱间距离;和扫描电子显微镜透视图:(c)30微米×40微米支柱间隔件大小和2微米间隔件高度,以及(d)30微米×40微米支柱间隔件大小和30微米间隔件高度。

[0067] 图18示出IDS和板的厚度与材料对样品厚度的影响。对于不同板和间隔件材料,不同的板的厚度,以及不同的样品,测得的样品厚度偏差和均匀性vs.间隔件间距离(IDS)。CROF装置的基材是未处理的250微米厚的平面的PMMA(25.4毫米×25.4毫米的大小。X板包括有一个周期性的支柱间隔件阵列,其中间隔件有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20μm,50μm,100μm,200μm,和500μm的间隔件间距离,X板大小为25.4毫米X25.4毫米,由PMMA或PS制成。样品为2微升血液(通过手指直接接触置放),唾液或PBS(吸管滴放),CROF装置通过在1英寸乘1英寸的面积上用手指或者擦拭或按压,并在按后自保持。在图中,标签—■—指代使用血液样品的175微米厚的PMMA板,标记

—●—指代使用唾液样品的175微米厚的PMMA板,标记—▲—指代使用PBS的125微米厚的PMMA板,标记—▼—指代使用血液样品的50微米厚的PMMA板,标记—◀—指代使用血液样品的25微米厚的PS板。

[0068] 图19.测定样品的厚度偏差和均匀性vs.X板的$ISD^4/(h^xE)$(在图中X=1)值。ISD是间隔件间距离,h是材料的高度(厚度),E是材料的杨氏模量,x是具有1~3的典型范围的一个拟合参数。在测试中,CROF装置的基材是未处理的250微米厚的PMMA(大小25.4毫米×25.4毫米),X板为175微米厚未处理的PMMA,125微米厚的未处理的PS,50微米厚的未处理的PMMA和25微米厚的未处理的PS(大小25.4毫米×25.4毫米),X板包括有一个周期性的支柱间隔件阵列,其中间隔件有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20μm,50μm,100μm,200μm,和500μm的间隔件间距离,X板大小为25.4毫米X25.4毫米。样品为2微升血液(通过手指直接接触置放),唾液或PBS(吸管滴放)。CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。在$ISD^4/h^{x=1}/E$的计算中,PMMA的杨氏模量为2.5GPa,PS为3.3GPa。当$ISD^4/(hE)$的值大于$10^6\mu m^3/Gpa$,CROF设备的性能变差。在图中,标签—■—指代使用血液样品的175微米厚的PMMA板,标记—●—指代使用唾液样品的175微米厚的PMMA板,标记—▲—指代使用PBS的125微米厚的PMMA板,标记—▼—指代使用血液样品的50微米厚的PMMA板,标记—◀—指代使用血液样品的25微米厚的PS板。

[0069] 图20.测定样品的厚度偏差和均匀性vs.对于X板上不同支柱间隔件的大小和高度的间隔件间距离。CROF装置的底板是未经处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米×25.4毫米)中,X板为125微米厚未处理的PS(大小25.4毫米×25.4毫米),包括一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有5微米间隔件高度与10×10微米横向尺寸(近均匀的横截面和圆角)的矩形形状,与20μm,50μm,100μm,200μm,和500μm的间隔件间距离(标记—■—);40×40微米横向尺寸,与60μm,150μm,和200μm的间隔件间距离(标记—●—);一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有12微米间隔件高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150μm和200μm的间隔件间距离(标记—▲—);一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有22微米间隔件高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150μm和200μm的间隔件间距离(标记—▼—);对于5微米CROF装置样品为2微升PBS,对于12微米CROF装置为5微升PBS,对于22微米CROF为9微升PBS(通过吸管滴放),CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。(图中的线为引导观察用。)

[0070] 图21.测量得样品的厚度偏差和均匀性vs.保持ISD对于所有样品小于150微米时支柱宽度与柱高度的不同比率。CROF设备的基材是未处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米×25.4毫米)。CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。图中样品的标记如下:

[0071] A.125微米厚PS制成的X板(标记—■—),从左至右依次为:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度22微米,ISD 100微米,9微升PBS缓冲液,比率(w/h)=0.45;2:X-板柱尺寸10×10微米,高度为12微米,ISD为100微米,5微米PBS缓冲液,比率(w/h)=0.83;3:X-板柱尺寸40×40微米,高度22微米,ISD 150微米,9微米PBS缓冲液,比率(w/h)=1.81;4:X-板柱尺寸40×40微米,高度5微米,ISD 100微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)=2;5:X-板柱尺寸40×40微米,高度为12微米,ISD 150微米,5微升PBS缓冲液,比率(w/h)=3.33;6:X-板柱尺寸40×40

微米,高度5微米,ISD 150微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)＝8;7:X-板柱尺寸70×70微米,高度5微米的,ISD 150微米,2微升PBS缓冲液,比率(w/h)＝14

[0072] B.175微米厚的PMMA制成的X板(标记—●—),从左至右依次为:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度22微米,ISD 100微米,5微升血,比率(w/h)＝0.45;2:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)＝2;3:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度30微米,ISD 80微米,12微升血,比率(w/h)＝1;4:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度10微米,ISD 80微米,1微升血,比率(w/h)＝3;5:X-板支柱尺寸为30×30微米,高度在2微米,ISD 80微米,1微升血,比率(w/h)＝15。

[0073] C.50微米厚PMMA制成的X板(标记—▲—),从左至右:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)＝2。

[0074] D.25微米厚PS制成的X板(标记—▼—),从左至右:1:X-板柱尺寸10×10微米,高度5微米,ISD 50微米,2微升血,比率(w/h)＝2。

[0075] 图22测量所得样品的厚度偏差和均匀性vs.间隔件间距离和支柱尺寸,以及X-板的高度,CROF设备的基材是未处理的1mm厚的玻璃(大小25.4毫米×25.4毫米),X板是125微米厚未处理的PS(大小25.4毫米×25.4毫米),包括一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有5微米间隔件高度与10×10微米横向尺寸(近均匀的横截面和圆角)的矩形形状,与20μm,50μm,100μm,200μm,和500μm的间隔件间距离(标记—■—);40×40微米横向尺寸,与60μm,150μm,和200μm的间隔件间距离(标记—●—);一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有12微米间隔件高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150μm和200μm的间隔件间距离(标记—▲—);一个周期性的支柱间隔件阵列,其中支柱有22微米间隔件高度与有40×40微米横向尺寸的矩形形状,与150μm和200μm的间隔件间距离(标记—▼—);对于5微米CROF装置样品为2微升PBS,对于12微米CROF装置为5微升PBS,对于22微米CROF为9微升PBS(通过吸管滴放),CROF装置通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。(图中的线为引导观察用。)

[0076] 图23。测量得样品厚度偏差和均匀性vs.不同的X板厚度(25微米至525微米),固定的柱尺寸(30×38微米),柱体高度(在2微米)和间距距离(80×82微米),由未处理的聚甲基丙烯酸甲酯所制,其中基底是一个1mm厚的未处理的玻璃片(大小25.4毫米×25.4毫米),样品为1微升由用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0077] 图24所示测量得间距尺寸偏差/CROF设备的均匀性(不同组合的标记:亲水-亲水—●—,亲水-疏水—■—),0.1微升至0.5微升的血液样品体积,相同的X-板柱尺寸(30×38μm),柱高度(2μm的)和间距距离(80×82微米),其中,基底为尺寸为1毫米厚的玻璃片(25.4毫米×25.4毫米),X板为175μm厚的PMMA制成(大小25.4毫米×25.4毫米)。样品通过用手指直接接触以滴放,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0078] 图25。测量得样品的厚度偏差和均匀性vs.未经处理的1mm厚的玻璃所制基板(标记—■—)或未处理的250微米厚的PMMA所制基板(标记—●—)(大小25.4毫米×25.4毫米),其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA,包括有一个周期性的支柱间隔件阵列,其中间隔件有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和50μ

m,100μm,200μm,和500μm的间隔件间距离。样品为2微升通过用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0079] 图26.测量得样品厚度偏差和均匀性vs.0至60秒的不同的手按压时间,其中CROF设备的基板为未处理的250微米厚的PMMA所制(大小25.4毫米×25.4毫米),其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA(大小25.4毫米×25.4毫米),包括有一个周期性的支柱间隔件阵列,其中间隔件有2微米高度,矩形形状(30×38微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和80μm的间隔件间距离。样品为1微升通过用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。

[0080] 图27。测量得样品的厚度偏差和均匀性vs.对于使用随机球间隔件或常规柱状间隔件(X-板)的平均IDS,其中CROF设备的基板为未处理的1毫米厚的PMMA所制(大小25.4毫米×25.4毫米),其中X板是一个175微米厚未处理的PMMA,包括有一个周期性的支柱间隔件阵列,其中间隔件有5微米高度,矩形形状(10×10微米柱横向尺寸,近均匀的横截面,和圆角),和20μm,50μm,和100μm的间隔件间距离。样品为2微升PBS,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。球间隔件是碱石灰微型球,在PBS中平均直径为4微米(5%尺寸变化)。微球以4×10^5/uL,0.9×10^5/uL,和0.2×10^5/uL的浓度分布在PBS中,这相当于按压后20微米,50微米和平均100微米的间隔件间距离。使用了两种盖板,未处理的220微米厚玻璃(大小25.4毫米×25.4毫米)和未处理的175μm厚的PMMA(大小25.4毫米×25.4毫米)。所有设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。标记—■—指代使用X-板,标记—▲—指代使用球间隔件作为间隔件以及220微米厚的玻璃片为盖板,标记 —▲—指代使用球间隔件作为间隔件以及175微米厚的PMMA为盖板,

[0081] 图28。测得的样品厚度偏差和均匀性vs.不同的X板厚度(25微米至350微米)和基板厚度(25微米至750微米)。X板具有固定的支柱尺寸(30×38微米),柱高度(10微米),间隔件间距离(80×82微米),厚度为25微米,175微米和350微米的未处理的PMMA制成,而基底由未处理PMMA制成(大小25.4毫米×25.4毫米),厚度为25微米,50微米,175微米,250微米和750微米。样品为4uL用手指直接接触滴放的血液,而CROF设备通过受挤压和在1英寸乘1英寸的面积上擦拭来被按压,并在按后自保持。在图中,标记—■—指代使用25微米厚的X板,标记—●—指代使用175微米厚的X板,标记—▲—指代使用350微米厚的X板。.

[0082] 图29显示(a)在板间距(也就是样品厚度)为1微米,2微米,3微米和5微米的X-装置中的血细胞的显微镜照片(40倍)。1微米间距的X设备裂解大部分(99%)的红细胞,未裂解血小板。2微米间距的X设备的每个红细胞分离良好,且红细胞形成单层。在3微米间距的X设备可见一些堆积的红细胞,而在5微米间距的X设备可见更多堆积的红细胞。单层细胞(2微米间距的X装置)计数为最优。和(b)红血细胞面积(从二维顶视图图像测量)与CROF板的总横向面积的比率。该比率在2微米板间距(即样品厚度)下为最大,因为低于2微米一些红细胞被裂解而大于2微米时红细胞重叠并旋转,所有这些都在二维图像中给出较小的红细胞面积。

[0083] 图30。通过智能手机设备(a)进行BCI(由CROF和成像计数血细胞)的示意图,和(b)该设备的照片。在使用智能手机BCI验血时,首先有一个卡(1)然后刺破他/她的手指(2),并通过触摸卡(2)直接从手指沉积一个小的血液量到CROF卡(2)上,用手指(4)闭合卡(3)并按

压它,然后释放它(5),将卡插入光学适配器(5),最后使用智能电话(6)获取卡的照片,并所从拍摄的图片,由软件测量血容量和血细胞计数以及其他参数(6)。(b)一个真实的用于p-BCI的智能手机和适配器的照片。

[0084] 图31。具有不同板间距的CROF卡中新鲜的(a)和存储的(b)未稀释的全血的明视场光学显微镜图像,和不同的约束间隙下红细胞行为的说明图。新鲜血液不含抗凝血剂,从刺破的手指获取,而存储的血液具有抗凝血剂,从商业供应商获得。(a-1至a-6)和(b-1至b-6):g分别等于2,2.2,2.6,3,5和10微米。横截面视图与顶视图表示(1)在2微米间距的CROF红细胞相互分离,没有可观察的重叠;(2)在间距大于2微米的CROF中,红细胞相互重叠。

[0085] 图32。通过用(a)带有光学适配器的智慧型手机,和通过(b)带有DSLR相机的高分辨率显微镜对同一样品(CROF卡中的新鲜血液)获取的明场(1)和荧光(2)图像。图像显示带有光学适配器的智能手机具有与高分辨率显微镜和相机相近的血细胞照片质量。

[0086] 图33。显示测得的一个典型白细胞和血小板的光强度vs.这些相互分离的细胞的位置。白细胞的直径(FWHM)在12微米左右,而血小板的直径(FWHM)在2微米左右。白细胞的最大强度大约大于血小板3倍。无论是强度还是面积都给出比血小板大108倍左右的值。因此,如果用较低的放大倍率(如4×),WBC的面积变小,其整体强度变低。血小板的信号在这种情况下将可以忽略不计。

[0087] 图34。显示(a)绿色通道光强度vs.红色通道光强度的散点图;和(b)图像中594个白细胞的红/绿色通道光强度比的直方图。从这个图片,我们可以清楚地看到,这些细胞簇成三个不同的区域(阴影区为引导观察用),对应于三个主要的白色细胞亚群。

[0088] 示范实施例的详细描述

[0089] 下面的详细描述说明了本发明的一些实施例以举例的方式而不是通过限制的方式。的章节标题和本文所用的所有的副标题仅用于组织目的,并且不应当被解释为以任何方式限制所描述的主题。一个部分的标题和/或小标题下的内容不限于节标题和/或小标题,但适用于本发明的整个描述。

[0090] 任何出版物的引用都是出于其在申请日之前的公开,并且不应解释为承认本权利要求书无权凭借在先发明而早于该出版物。此外,提供的发布日期可能与实际发布日期不同,实际发布日期可能需要独立确认。

[0091] 本发明涉及,除其他事项外,方法,设备和系统,可以改善和/或加快量化,结合,和/或样品中的分析物和/或实体的感测。

[0092] 定义

[0093] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有如本公开所属本领域的普通技术人员所理解的相同的含义。虽然任何类似或等同于本文描述的方法和材料也可以用在实践或本教导的测试中,在此说明一些示例性的方法和材料。

[0094] 术语“多核苷酸”,“核苷酸”,“核苷酸序列”,“核酸”,“核酸分子”,“核酸序列”和“寡核苷酸”可互换使用,并且还可以分别包括取决于上下文中使用的术语。

[0095] 如本文所用,术语“捕获剂”是指可以特异性结合其结合配偶体的结合成员,例如核酸分子,多肽分子或任何其它分子或化合物,例如含有核苷酸序列的第二核酸分子与第一种核酸分子互补,特异性识别抗原的抗体,由抗体特异性识别的抗原,可与靶分子特异性结合的核酸适体。

[0096] 术语“次级捕获剂”,同时也可称为“探测剂”,是指一组具有对抗原具有高度特异性亲和力的生物分子或化学化合物。所述次级捕获剂可以链接上光学检测的标记,例如,酶,荧光标记,或本身可以由通过生物耦合被链接到光学检测标记的另一探测剂检测(赫曼森,“生物结合技术”学术出版社,第2版,2008年)。

[0097] 术语“捕获剂反应性基团”是指在分子中的化学功能的部分,其是与捕获剂反应,也就是说,可与捕获剂的集团反应(如,羟基,巯基,羧基或胺基)以产生一个稳定的强烈的,例如,共价键。

[0098] 术语“特异性结合”和“选择性结合”是指捕获剂优先结合到特定的存在于不同目标分析物的异质混合物中的目标分析物的能力。特定或选择性结合相互作用会将样品中的预期的(例如,活动)和不希望的(例如,不活动)的目标分析物以超过约10至100倍或更多(例如,大于约1000或10,000倍)地区分。

[0099] 本文所用的术语“样品”涉及时含有一种或多种分析物或感兴趣实体的材料或材料混合物。在具体的实施方案中,样品可以从生物样品如细胞,组织,体液,和粪便获得。感兴趣的体液包括但不限于,羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分馏血液,血浆,血清等),乳汁,脑脊髓液(CSF),耳垢(耳垢),乳糜,磬,内淋巴,外淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜,胸膜液,脓,大黄,唾液,皮脂(皮肤油),精液,唾液,汗液,滑液,流泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝水。在具体的实施方案中,样品可以来自受试者,例如人类获得,并且可以在受试者测定在使用前进行处理。例如,在分析之前,蛋白质/核酸可以从使用前的组织样品中,以已知的方法,萃取。在具体的实施方案中,样品可以是临床样品,例如,从患者采集的试样。

[0100] 术语“分析物”是指分子(例如,蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其它分子),细胞,组织,病毒和具有不同的形状的纳米颗粒。

[0101] 术语“化验”/“测定”是指测试样品以检测分析物的存在和/或丰度。

[0102] 如本文中所使用的,术语“确定”,“测量”和“评估”和“测定”可互换使用,并包括定量和定性测定。

[0103] 如本文所用,术语“发光标记”指能够在外部激励发光时的标记。这可以是光致发光。荧光标记(其包括染料分子或量子点),和发光标记(例如,电或化学发光标记物)都是不同类型的发光标记。外部激励对于荧光是光(光子),对于电发光时电流,而对于化学发光时化学反应。外部激励可以是上述的组合。

[0104] “被标记分析物”一词指的是被发光标记可检测地标记的分析物,使得该分析物可通过评估标记的存在来检测标记的分析物。一个标记分析物可以被直接标记(即,分析物本身可直接耦合到一个标签,例如,通过很强的键,例如共价或非共价键),或一个标记的分析物可以被间接标记(即分析物是由被直接标记的次级捕获剂)。

[0105] 术语“杂交”和“结合”,相对于核酸,可以互换使用。

[0106] 术语“捕获剂/分析物复合物”是指分析物与捕获剂的特定结合产生的复合物。捕获剂和用于捕获剂的分析物通常会在彼此“特异性结合的条件”或“结合适于特定条件”下特异性结合,在这里这样的条件是那些条件(盐浓度,pH值,洗脱剂,蛋白质方面下浓度,温度等),其允许捕获剂和分析物之间地结合在溶液中发生。这种条件,特别是对于抗体及其抗原和核酸杂交的技术,是公知的。(见,例如,Harlow和Lane(Antibodies:A Laboratory

Manual Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.(1989)和Ausubel等,Short Protocols in Molecular Biology,5th ed.,Wiley&Sons,2002)。

[0107] 受试者可以是任何人或非人动物。对象可以是执行本方法的人,一个病人,在测试中心的客户等。

[0108] 如本文所用的“分析物”,是适用于本发明的方法测试的任何物质。

[0109] 如本文所使用的,“诊断样品”指的是作为身体副产品的任何生物样品,如已从受试者得到的体液。诊断样品可以直接以液体形式从受试者中获得,或者可以通过首先将从受试者得到的身体副产物置于溶液中得到,例如缓冲液。示例性的诊断的样品包括,但不限于,唾液,血清,血液,痰,尿,汗,泪液,精液,粪便,呼吸,活组织检查,粘液,等等。

[0110] 如本文中所使用的,“环境样品”指的是从环境中获得的任何样品。环境样品包括从河流液体样品,湖泊,池塘,海洋,冰川,冰山,雨,雪,污水,水库,自来水,饮用水等;从土壤,堆肥,沙子,岩石,混凝土,木材,砖,污水等固体样品;和从空气中,水中散热孔,工业废气,汽车废气等气体样品。典型地,不以液体形式的样品的样品在本发明的方法分析前转化为液体形式。

[0111] 如本文所使用的,“食品样品”指的是适于动物食用的,例如,人食用的任何样品。食料样品可以包括原材料,熟食品,植物和动物来源的食品,预处理食品以及部分或完全加工的食品等。通常,未在液体形式的样品在本发明的方法所述的分析前转化为液体形式的样品。

[0112] 如本文所用,术语“诊断”是指使用方法或分析物来鉴定,预测所关注的疾病或状况的结果和/或预测对所关注的疾病或状况的治疗反应。诊断可以包括预测疾病或病症的可能性或易感性,估计疾病或病症的严重性,确定疾病或病症进展的风险,评估对治疗的临床反应和/或预测对治疗的反应。

[0113] 如本文所使用的“生物标记物”,是感兴趣的样品中找到的任何分子或化合物,并且已知是与该样品所来源的受试者的疾病或感兴趣的状况的诊断或存在或倾向相关联。生物标记物包括,但不限于,已知的与疾病或感兴趣的条件相关联的,多肽或复合物(例如,抗原,抗体),核酸(例如,DNA,miRNA的,mRNA)的,药物的代谢产物,脂质,碳水化合物,激素,维生素等。

[0114] 相对于诊断健康状况中如本文使用的“条件”,是指精神或身体的生理状态,与其他生理状态区分。一种健康状态在某些情况下,可能不被诊断为一种疾病。感兴趣的示例性健康状况包括,但不限于,营养保健;老化;暴露于环境中的毒素,杀虫剂,除草剂,合成的激素类似物;怀孕;绝经;男性更年期;睡觉;强调;糖尿病前期;行使;疲劳;化学平衡;等。术语“生物素部分”是指包括生物素结构部分结合以在亲和链霉生物素或生物素类似物如脱硫生物素,oxybiotin,2’-亚氨基生物素,diaminobiotin,生物素亚砜,生物胞素等的亲和剂至少10-8M。生物素亲和剂还可以包括一个连接体,例如,—LC生物素,—LC-LC-生物素,—SLC生物素或—PEGn生物素,其中n是3-12。

[0115] 术语“增强”是指对于信号幅度的增加,例如,至少10倍的增加,至少100倍的增加,至少1000倍,至少10,000倍的增加,或至少100,000倍增加的信号。

[0116] 术语“实体”是指,但不限于蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,分子(或大或小),细胞,组织,病毒,具有不同形状的纳米颗粒,这将结合于“结合点”。该实体包括捕获试剂,探测剂和

阻断剂。“实体”包括“分析物”,而这两个术语可以互换使用。

[0117] 术语“结合点”指的是在固体表面上的位置,可以在样品中固定“实体”。

[0118] 术语“实体伙伴”指的是,但不限于蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,分子(或大或小),细胞,组织,病毒,具有不同形状的纳米颗粒,其在“结合点”上并将结合实体。实体,包括但不限于捕获剂,探测剂,二次探测剂,或“捕获剂/分析物复合物”。

[0119] 术语“智能电话”或“移动电话”,它可以互换使用,是指具有一个照相机和通信硬件和软件,可以使用相机拍摄图像,处理由照相机拍摄的图像,和将数据传输到远处的手机。在一些实施方案中,智能手机有闪光灯。术语“光”指的是,除非特别指明,具有各种波长的电磁辐射。

[0120] 术语一个区域的“平均线性尺寸”被定义为等于该区域面积乘以4再除以该区域的周边的长度。例如,该区域为矩形,具有宽度w和长度L,则该矩形的线性尺寸的平均值为4*W*L/(2*(L+W))(其中“*”表示乘,“/”表示除)。根据这个定义,平均线性尺寸,分别为,W为宽度W的平方,以及d为具有直径d的圆。该区域包括,但不限于,结合点或存储部位的区域。

[0121] 周期性结构阵列的术语“周期”是指从一个结构的中心到最近的相邻相同结构的中心的距离。

[0122] 术语“存储点”是指在平板上的区域,其中,所述点包含被加入到样品的试剂,该试剂能够被溶解到与试剂接触的样品中,并在样品中扩散。

[0123] 术语“相关”是指与分析物的检测,样品或板上的分析物或实体的定量和/或控制,或要添加到样品或板中的试剂的定量或控制有关。

[0124] 术语表面的“亲水性”,“湿度”或“湿”是指在表面上的样品的接触角小于90度。

[0125] 术语表面的“疏水性”,“非润湿”,或“不湿”意味着表面上的样品的接触角等于或大于90度。

[0126] 术语一个量的“变化”,是指实际值和所需值或数量的平均值之间的差。术语数量的“相对变化”指的是变化到所需的值或量的平均值的比值。例如,如果一个量的理想值是Q,实际值是(Q+Δ),则Δ是变化和Δ/(Q+Δ)是相对变化。术语“相对样品厚度的变化”指的是样品厚度变化与平均样品厚度的比率。、

[0127] 术语“光学透明”是指一种材料,它允许光信号的传输,其中术语“光信号”指的是,除非另有说明,用于探测样品,板,间隔件,规模的标记,使用的任何结构,或者它们的任意组合中一个属性的光信号。

[0128] 术语“非样品体积”指的是,在一个CROF过程的闭合构型,即不被样品而是由不属于样品的其他对象占据的板之间的容积。这些对象包括,但不限于,间隔件,气泡,粉尘,或者它们的任意组合。非样品体积常混于样品中。

[0129] 术语“饱和的温育时间”指的是所需要的两种分子之间的结合以达到平衡的时间(例如捕获剂和分析物)。对于表面固定测定中,“饱和的温育时间”是指样品中的目标分析物(实体)和板面上的结合点之间的结合达到平衡所需的时间,即结合点所捕获并固定的目标分子(实体)的平均数目在统计学上是几乎不变的之后的时间。

[0130] 在一些情况下,“被分析物”和“结合体”和“实体”是可互换的。

[0131] “处理器”,“通信装置”,“移动装置”,指的是包含基本的电子元件(包括一个或多个存储器,输入输出接口,中央处理单元,指令,网络接口,电源的计算机系统,等等)来执行

计算任务。该计算机系统可以是包含执行特定任务的指令的通用计算机,或者可以是专用计算机。

[0132] “站点”或“位置”是指在描述信号或数据通信中使用的其中一个装置或主体所在的局部区域。一个站点可以指一个房间的建筑结构内,如一个医院,或一个较大的地理限定区域之内的一个较小的地理定义的区域。相对于远离第二站点的第一站点,远程站点或远程位置是通过距离和/或物理障碍物与第二站点物理上分开的第一站点。远程站点可以是第一站点,该第一站点与第二站点位于建筑物结构中的另一房间中,第一站点与第二站点位于不同的建筑物结构中,第一站点与第二站点位于不同的城市中等。

[0133] 如本文所用,术语“样品收集站点”指的是样品可以从受试者中获得的位置。样品收集站点可能是,例如,一个零售商位置(例如,连锁店,药店,超市或百货公司),供应商的办公室,医生的办公室,医院,主体的家,一个军事要地,雇主站点或其他网站或网站的组合。如本文所用,术语“样品收集站点”也可指一个业务,服务,或与站点相关联的机构的业主或代表。

[0134] 如本文所用,“原始数据”包括从传感器,摄像机和其它部件和仪器,其检测或测量的属性或样品的特性的信号和直接读取。

[0135] 如本文所用的“过程管理”,是指一系列的用于规划和/或监测过程表现,如样品分析过程,的方法和系统。

[0136] 本领域技术人员将理解,本发明的应用不限于构造细节,组件的布置,类别选择,权重,预定信号极限或说明书或附图中阐述的步骤。在这里。本发明能够具有其他实施例并且能够以许多不同的方式被实践或执行。

[0137] 必须指出,如本文和所附权利要求书中所使用的,单数形式“一”,“一个”,和“该”包括复数对象,除非上下文另有明确规定,例如,使用单词“单”时。例如,提及“一种分析物”包括单个分析物和多个分析物,提及“一种捕获剂”包括单个捕获剂和多个捕获剂,提及“一种探测剂”包括单个探测剂和多个探测剂和提及“试剂”包括一个试剂和多个试剂。

[0138] 用于分析样品尤其是血液的装置和系统以及使用它的方法

[0139] 本文提供了用于分析样品中的分析物,尤其是血液的装置。在一些实施例中,该装置包括:第一板和第二板,其中:

[0140] 板可相对于彼此移动成不同的构型(例如,经由铰链);

[0141] 一个或两个所述板是柔性的;

[0142] 每个板在其相应的表面上具有用于接触样品的样品接触区域;

[0143] 一个或两个板包括与相应的板固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离,其在7μm至200μm的范围内(例如,7μm至50μm(微米),50微米至120微米或120微米至200微米),并且其中至少一个间隔件在样品接触区域内;

[0144] 检测样品中分析物的检测器;

[0145] 其中所述构型之一是开放构型,其中:所述两个板分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;和

[0146] 其中所述构型中的另一个是闭合构型,是在开放构型中沉积所述样品之后形成;并且在闭合构型中:样品的至少一部分被两个板压缩成厚度非常均匀并且相对于板大致停滞(即几乎没有流动或定向流动)的层,其中所述均匀厚度的层(其可以具有至少0.1mm 2,

至少0.5mm 2或至少1mm 2的横向面积)被两个板的内表面限制并且由板和间隔件调节,并且具有平均厚度等于或小于5微米(例如,1.8微米至2微米,2微米至2.2微米,2.2微米至2.6微米或2.6微米至3.8微米),具有小的厚度波动(例如小于10%,小于5%或小于1%);并且在所述闭合构型下,所述检测器检测所述至少一部分样品中的所述分析物。

[0147] 如下所述,该装置可用于分析包含具有不同形状的分子(例如,蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其他分子),细胞,组织,病毒和纳米颗粒的分析物;并且例如用于计数放置在装置中的血液样品中的细胞(例如红细胞和白血细胞)。

[0148] 在一些实施例中,该装置可以包括涂布在一个或两个板上的干燥试剂。在一些实施例中,干燥试剂可以结合样品中的分析物并将所述分析物固定在一个或两个板的表面上。在这些实施方案中,所述试剂可以是例如抗体或其他特异性结合剂。这种干燥的试剂可能有一个预先确定的区域。在其他实施方案中,该装置可以在一个或多个平板上包含可释放的干燥试剂,例如标记的试剂如细胞染色剂或标记的检测剂如抗体等。在一些情况下,在板上可能存在释放时间控制材料,其包含可释放的干燥试剂,其中释放时间控制材料延迟可释放干燥试剂释放到样品中的时间。在一些情况下,释放时间控制材料将干燥试剂开始释放到样品中的时间延迟至少3秒,例如至少5秒或至少10秒。一些实施例中,驱动器可以包含多个干结合位点和/或多个试剂位点,由此允许执行多重测定。在一些情况下,当板处于闭合构型时,由干燥结合部位占据的面积可能与试剂部位占据的面积相反。

[0149] 在一些实施方案中,所述试剂包含抗凝血剂和/或染色试剂。

[0150] 在一些实施例中,分析物可以是具有不同形状的分子(例如,蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其他分子),细胞,组织,病毒或纳米颗粒。在一些实施方案中,分析物可以是白细胞,红细胞和血小板。在一些实施例中,分析物被染色。

[0151] 在一些实施例中,调节均匀厚度层的间隔件(即,在层中将板间隔开的间隔件)具有至少1%的“填充因子”,例如至少2%或在至少5%,其中填充因子是与均匀厚度层接触的间隔件的区域和与均匀厚度层接触的总平板区域的比率。在一些实施例中,对于调节均匀厚度层的间隔件,间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于10MPa,例如至少15MPa或至少20MPa,其中填充因子是与均匀厚度层接触的间隔区域和与均匀厚度层接触的总平板区域的比率。在一些实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量的范围为60至750GPa-μm,例如100至300GPa-μm,300至550GPa-μm或550至750GPa-μm。在一些实施例中,对于柔性板,间隔件间距(ISD)的四次方除以柔性板的厚度(h)和柔性板的杨氏模量(E),$ISD^4/(hE)$等于或小于$10^6\mu m^3/GPa$,例如小于$10^5\mu m^3/GPa$,小于$10^4\mu m^3/GPa$或小于$10^3\mu m^3/GPa$。

[0152] 在一些实施例中,一个或两个板包括在板的表面上或内部的位置标记,其提供板的位置的信息,例如将要分析的位置或样本应该在其上的位置被存放。在一些情况下,一个或两个板可以在板的表面或内部包括刻度标记,其提供样品和/或板的结构的横向尺寸的信息。在一些实施方案中,一个或两个平板包含成像标记,或者在平板的表面上或辅助成像样品的内部。例如,成像标记可以帮助将成像装置聚焦或将成像装置引导至装置上的位置。在一些实施例中,间隔件可以用作位置标记,比例标记,成像标记或其任何组合。

[0153] 在一些实施例中,均匀厚度层的平均厚度在2μm到2.2μm的范围内,并且样本是血液。在一些实施例中,均匀厚度层的平均厚度在2.2μm至2.6μm的范围内,并且样本是血液。在一些实施例中,均匀厚度层的平均厚度在1.8μm至2μm的范围内,并且样本是血液。在一些

实施例中,均匀厚度层的平均厚度在2.6μm至3.8μm的范围内,并且样本是血液。在一些实施方案中,均匀厚度层的平均厚度在1.8μm至3.8μm的范围内,并且样品是全血,而没有被另一种液体稀释。

[0154] 在某些情况下,均匀厚度层的平均厚度大约等于样品中分析物的最小尺寸,例如红细胞或另一个细胞。

[0155] 在一些实施例中,间隔件间距可以基本上是周期性的。在一些情况下,间隔件可以是规则图案并且相邻间隔件之间的间隔可以大致相同。间隔件可以具有选自圆形,多边形,圆形,正方形,矩形,椭圆形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的柱,并且在一些实施例中,间隔件可以具有基本平坦的顶表面,对于每个间隔件,间隔件的横向尺寸与其高度的比率至少为1。在一些情况下,间隔件的最小横向尺寸小于或基本等于样品中分析物的最小尺寸。间隔件的最小横向尺寸在0.5微米到100微米的范围内,例如在2微米到50微米或0.5微米到10微米的范围内。

[0156] 在一些实施方案中,样品可以是全血,例如来自临床样品的血液。在一些情况下,血液可以通过从个体抽血来获得,例如通过刺穿个体的皮肤,并且将抽取的血液(不借助血液转移装置)接触到其中一个平板。在一些实施方案中,样品是未稀释的全血。

[0157] 在一些实施例中,间隔件具有柱形形状,并且间隔件的侧壁拐角具有至少1μm,例如至少1.2μm,至少1.5μm或至少2.0μm的弧形半径的圆形。间隔件可具有任何便利的密度,例如至少1000/mm ^{2}的密度,例如至少1000/mm ^{2}的密度,至少2000/mm ^{2}的密度,至少5,000/mm ^{2}的密度2或密度至少为10,000/mm ^{2}。

[0158] 在该装置中,至少一个板可以是透明的,由此允许以光学方式读取测定。类似地,在该装置中,至少一个板可以由柔性聚合物制成,从而允许通过将板压在一起来有效地扩散样品。在一些实施例中,压缩板的压力,间隔件不可压缩和/或独立地仅板中的一个是柔性的。柔性板可以厚度在10微米至200微米的范围内,例如,10微米至50微米,50微米至150微米或150微米至200微米。如上所述,在闭合构型,均匀厚度层的厚度可能具有小的变化。在一些实施例中,该变化可以小于30%,小于20%,小于10%,小于5%或小于2%,这意味着该区域的厚度不超过+/-30%平均厚度的+/-2 0%,+/-10%,+/-5%或+/-2%。

[0159] 在一些实施例中,第一板和第二板连接并构型成通过折叠而从开放构型变成闭合构型。在一些实施例中,第一板和第二板可以通过铰链连接并且被配置为通过折叠以使得设备沿着铰链弯曲而从开放构型变成闭合构型。铰链可以是附着到板上的单独材料,或者在一些情况下,板可以与板一体化。在一些情况下,第一板和第二板由单件材料制成,并且构型成通过例如沿着铰链折叠而从开放构型变成闭合构型。

[0160] 在一些实施例中,该装置被配置成非常快速地分析样本。在某些情况下,分析可以在60秒或更短,30秒内,20秒内或更短或10秒或更短时间内完成。

[0161] 在任何实施方案中,干结合位点可以包含捕获剂例如抗体或核酸。在一些实施方案中,可释放的干燥试剂可以是标记的试剂,例如荧光标记的试剂,例如荧光标记的抗体或细胞染色,例如Romanowsky染色剂,Leishman染色剂,May-Grunwald染色剂,吉姆萨染色剂,Jenner's染色剂,赖特染色剂或其任何组合(例如赖特-吉姆萨染色剂)。这样的染色剂可以包含曙红Y或曙红B与亚甲蓝。在某些实施方案中,染色剂可以是碱性染色剂如苏木精。

[0162] 在一些实施例中,检测器可以是检测光学信号的光学检测器。在一些实施例中,检

测器可以是检测电信号的电检测器。

[0163] 在一些实施例中,间隔通过直接压印板或板的注射成型而固定在板上。

[0164] 在一些实施例中,板和间隔件由聚苯乙烯,PMMA,PC,COC,COP或另一种塑料制成。

[0165] 这里还提供了一种使用移动电话快速分析样本的系统。在某些实施例中,该系统可以包括:(a)如上所述的设备或器件;(b)移动通信设备(例如,诸如iphone等的移动电话),包括:

[0166] i.用于检测和/或成像样品的一个或多个相机;ii.电子设备,信号处理器,硬件和软件,用于接收和/或处理检测到的信号和/或样品的图像并用于远程通信;和(c)来自移动通信设备或外部源的光源。在一些情况下,设备中的检测器可以由移动通信设备提供,并且在闭合构型下检测样品中的分析物。

[0167] 在该系统中,板的全部可以具有结合分析物的结合位点,其中至少部分均匀样品厚度层在结合位点上方,并且基本上小于结合位点的平均横向线性尺寸。

[0168] 在一些实施例中,该系统可以另外包括(d)被配置为保持样本并被安装到移动通信设备的外壳。外壳可以包括用于促进移动通信设备对样品的成像和/或信号处理的光学器件,以及被配置为将光学器件保持在移动通信设备上的安装座。在一些情况下,外壳中的设备的光学元件(例如,透镜,滤波器,反射镜,棱镜或分束器)可以是相对于外壳可移动的,使得样品可以在至少两种通道中成像。

[0169] 在一些实施例中,移动通信设备可以被配置为将测试结果传达给医疗专业人员(例如MD),医疗机构(例如医院或测试实验室)或保险公司。另外,移动通信设备可以被配置为与医疗专业人员,医疗机构或者保险公司通信关于受试者的信息(例如,受试者的年龄,性别,体重,地址,姓名,在先测试结果,在先病史等)。在某些实施例中,移动通信设备可以被配置为接收处方,诊断或来自医疗专业人员的建议。例如,在一些实施例中,移动通信设备可以将测定结果发送到远方的医学专业人员来给出诊断。诊断可以通过移动通信设备传达给对象。在一些实施例中,移动通信设备可以被配置为将测试的信息传送给云网络,并且云网络处理该信息以优化测试结果。在一些实施例中,移动通信设备可以被配置为将测试和受试体的信息发送给云网络,云网络处理的信息来改进的测试结果,并改进的测试结果将发送回所述对象。

[0170] 在一些实施例中,移动通信设备可以包含允许其(a)捕获样本的图像的硬件和软件;(b)分析图像中的测试位置和参考位置;和(c)将从测试位置的分析获得的值与表征快速诊断测试的阈值进行比较。在一些情况下,移动通信设备经由无线或蜂窝网络与远程位置通信。在任何实施例中,移动通信设备可以是移动电话。

[0171] 该系统可用于一种方法中,该方法包括(a)在系统的装置上放置样品;(b)分析沉积在所述装置上的样品中的分析物以产生结果;和(c)将来自移动通信设备的结果传送到远离移动通信设备的位置。该方法可以包括分析远程位置处的结果以提供分析结果;以及将来自远程位置的分析结果传送给移动通信设备。如上所述,分析可以由远程医疗专业人员完成。并且,在一些实施例中,移动通信设备可以接收处方,诊断或推荐来自远程医疗专业人员。

[0172] 在该方法中,分析物可以是例如具有不同形状的分子(例如,蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸或其他分子),细胞,组织,病毒或纳米颗粒纳米颗粒。在一些实施方案中,分析物可以

是白血细胞,红细胞和/或血小板。

[0173] 在这种方法中,样本可以是未稀释的全血,可以从抽血部位直接转移到设备上。在一些实施方案中,血液样品是临床样品。

[0174] 在一些实施方案中,测定步骤可以包括检测样品中的分析物,例如血液中的生物标志物如蛋白质,核酸,细胞或代谢物。例如,该测定可以是结合测定或生化测定。

[0175] 在一些实施方案中,该方法包括计数红细胞的数量和/或计数白细胞的数量。在一些情况下,该方法可包括对样品中的细胞进行染色并计数样品中嗜中性粒细胞,淋巴细胞,单核细胞,嗜酸细胞和嗜碱性粒细胞中的一种或多种的数量。

[0176] 在一些实施例中,可以使用该方法来执行白细胞微分(用于至少中性粒细胞,嗜酸性粒细胞和淋巴细胞),以便获得一个潜在的诊断者的感染,炎症,过敏,哮喘,免疫紊乱(例如,自身免疫性疾病或免疫缺乏症),白血病(例如,慢性髓性白血病,慢性淋巴细胞性白血病),骨髓增生异常综合征或Cyeloproliferative肿瘤(例如,骨髓纤维化)。

[0177] 还提供了分析样品的方法。在一些实施例中,该方法可以包括获得如上所述的设备,将样品沉积到设备的一个或两个板上;将板放置在闭合构型中并且在至少部分板上施加外力;并且当板是闭合构型分析在均匀厚度的层的样品中的分析物。

[0178] 在一些实施例中,该方法可以包括:

[0179] (a)获取样本;

[0180] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板,其中每个板具有基本上平坦的样本接触表面,一个或两个板是柔性的,一块板或两块板包括间隔件,间隔件固定在各自的样品接触表面上,并且其中所述间隔件具有:

[0181] i.预定的基本均匀的高度,

[0182] ii.具有基本均匀横截面和平坦顶面的柱形;

[0183] iii.宽度与高度之比等于或大于1;

[0184] iv.预定的常数间隔件间距离,该距离10微米至200微米的范围内;

[0185] v.等于1%或更大的填充因子;和

[0186] (c)当所述板构型成开放构型时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不是由间隔件调节;

[0187] (d)在(c)之后,使用两个板将至少一部分样品压缩成厚度基本均匀的层,该层由板的样品接触表面限制,其中该层的均匀厚度由间隔件和板调节,并厚度平均值在1.8微米至3微米的范围内,变化小于10%,其中压缩包括:

[0188] 将两块板放在一起;和

[0189] 平行地或顺序地对至少一个板的区域进行适形按压,以将板压在一起以形成闭合结构,其中,适形按压在至少一部分样品上的板上产生基本均匀的压力,以及加压使样品的至少一部分在板的样品接触表面之间横向地扩散,并且其中闭合构型是其中在均匀厚度区域的层中的板之间的间隔由间隔件调节的构造;和

[0190] (e)分析厚度均匀的层中的血液,同时板是闭合构型;

[0191] 其中所述填充因子是所述间隔件接触面积与所述总平板面积的比率;

[0192] 其中适形按压是这样一种方法,该方法使得施加在区域上的压力基本上恒定,而

与板的外表面的形状变化无关;和

[0193] 其中平行按压是指同时在预定区域上施加压力,并且顺序按压是指对目标区域的一部分施加压力并逐渐移动到其他区域。

[0194] 在一些实施例中,该方法可以包括:在板处于闭合构型之后去除外力;在板处于闭合构型时对均匀厚度的层成像;并计数多个分析物,例如图像区域中的细胞。如上所述,在这些实施例中,间隔件间距可以在20μm至200μm或5μm至20μm的范围内。在这些实施例中,填充因子和隔离件的杨氏模量的乘积是2MPa或更大。在一些实施例中,表面变化小于30nm。

[0195] 在一些实施方案中,样品可以是未添加抗凝剂的未稀释全血。在这些实施例中,存放步骤(b)可以通过以下方式完成:i.刺穿人体皮肤释放一滴血液到皮肤上,ii.在不使用血液转移工具的情况下使血滴与一个或两个板接触。

[0196] 分析步骤可以通过例如计数红细胞的数量和/或计数白细胞的数量来完成。在一些实施方案中,所述方法可以包括对样品中的细胞进行染色并且计数嗜中性粒细胞,淋巴细胞,单核细胞,嗜酸细胞增多症和嗜碱细胞或其任何组合的数量。

[0197] 在这些实施例中的任何一个中,成像和计数可以通过以下方式完成:i.照亮均匀厚度的层中的细胞;ii.使用CCD或CMOS传感器拍摄细胞的一个或多个图像;iii.使用计算机识别图像中的细胞;和iv.对图像区域中的多个单元进行计数。

[0198] 在一些实施例中,外力可以由人手来提供,例如通过使用诸如拇指的手指按下,或在同一只手上的拇指与另一手指(诸如食指)之间捏住。

[0199] 在一些实施方案中,该方法可以包括测量均匀厚度层中的钠,钾,氯化物,碳酸氢盐,血尿素,氮,镁,肌酸酐,葡萄糖,钙,HDL胆固醇LDL胆固醇水平和/或甘油三酯水平。如何进行这种分析的细节可以从已知的方法改编。

[0200] 在一些实施方案中,一个或多个板可以包含涂布在一个或两个板上的干燥试剂(例如,粘合剂,染色剂,检测剂或测定反应物)。

[0201] 在一些实施例中,均匀厚度样本的层可以具有高达+/-5%的厚度均匀性,例如高达+/-2%或高达+/-1%。

[0202] 在一些实施例中,间隔件是具有选自圆形,多边形,圆形,正方形,矩形,椭圆形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的支柱。在一些实施方案中,间隔件之间的间隔大约是红细胞的平均厚度。

[0203] 可以以多种不同方式来分析样品。例如,在一些实施方案中,分析步骤包括使血液中的细胞成像例如红细胞,白细胞或血小板成像。分析可以包括对血液中的癌细胞、病毒或细菌成像。在一些实施例中,该方法可以包括分析血液,检测蛋白质或核酸。

[0204] 在一些实施方案中,分析可以包括测量血细胞,其可以包括使用间隔件确定样品厚度,通过成像确定横向区域,并且使用2D图像计算红细胞的面积。该方法可以包括测量血液中的红细胞浓度,血液中的白细胞浓度和/或血液中的血小板浓度。

[0205] 在上述任何实施例中,样本可以是全血。

[0206] 免疫组化

[0207] 在免疫组织化学(IHC)染色方法中,将组织样品固定(例如在多聚甲醛中),任选地嵌入蜡中,切成厚度小于100μm(例如,2μm至6μm厚)的薄切片,然后将其到诸如载玻片的支撑物上。一旦安装好,可以使用增加浓度的酒精将组织切片脱水,并使用洗涤剂如二甲苯清

除。

[0208] 在大多数IHC方法中,可以使用一级抗体和二级抗体。在这些方法中,一抗与目标抗原(例如生物标志物)结合并且未标记。第二抗体与第一抗体结合,并直接与报道分子或与可以结合溶液中的报道分子的接头分子(例如生物素)缀合。或者,一级抗体本身可以直接缀合到报道分子或可以招募溶液中的报道分子的接头分子(例如生物素)。报道分子包括荧光团(例如FITC,TRITC,AMCA,荧光素和罗丹明)和酶,例如碱性磷酸酶(AP)和辣根过氧化物酶(HRP),其中存在多种荧光,显色和化学发光底物,例如DAB或BCIP/NBT。

[0209] 在直接方法中,将组织切片与结合缓冲液中的标记的一级抗体(例如FITC偶联的抗体)一起温育。第一抗体在组织切片中直接与抗原结合,并且在组织切片被洗涤以除去任何未结合的第一抗体后,通过显微镜分析切片。

[0210] 在间接方法中,将组织切片与结合组织中靶抗原的未标记的一级抗体一起温育。在清洗组织切片以去除未结合的一级抗体后,将组织切片与结合一级抗体的标记二级抗体一起温育。

[0211] 在抗原的免疫组织化学染色之后,组织样品可以用另一染料,例如苏木精,Hoechst染料和DAPI染色以提供对比和/或鉴定其他特征。

[0212] 本装置可用于组织样品的免疫组织化学(IHC)染色。在这些实施例中,该设备可以包括

[0213] 第一板和第二板,其中:

[0214] 板可相对于彼此移动成不同的构型;

[0215] 一个或两个平板是柔性的;

[0216] 每个板在其相应表面上具有用于接触组织样本或IHC染色液的样本接触区域;

[0217] 第一块板的样品接触面光滑平整,

[0218] 在第二板的样品接触区域包括被固定在表面上并且具有预定基本一致的高度和一个预定的常数间隔件间距离,该距离在7μm至200μm的范围内的间隔件;

[0219] 其中所述构型之一是开放构型,其中:所述两个板完全或部分分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件的限制;和

[0220] 其中所述构型中的另一个是闭合构型,其在所述样本和所述IHC染色液沉积在所述开放构型中之后构型;并且在闭合构型中:样品的至少一部分位于两个板之间,并且至少部分染色液体的层位于样品的至少一部分与第二板之间,其中至少部分样品的厚度染色液体层通过在板,样品,和间隔件调节,并具有样品表面和所述第二板表面之间的平均距离等于或小于250μm,同时该距离具有小的变化。

[0221] 在一些实施方案中,所述装置可包含涂布在一个或两个板的样品接触区域上的干燥IHC染色剂。

[0222] 在一些实施方案中,所述装置可包含涂布在第二板的样品接触区域上的干IHC染色剂,IHC染色液包含溶解干IHC染色剂的液体。所述的装置,其中所述样品的厚度为2μm至6μm。

[0223] 还提供了一种使用移动电话快速染色和分析组织样本的系统,包括:

[0224] (a)如上所述的样品,染色液和装置,

[0225] (b)移动通信装置,其包括:

[0226] i.用于检测和/或成像样品的一个或多个相机;

[0227] ii.电子设备,信号处理器,硬件和软件,用于接收和/或处理检测到的信号和/或样品的图像并用于远程通信;和

[0228] (c)来自移动通信设备或外部源的光源。

[0229] 还提供了一种使用移动电话快速染色和分析组织样本的方法,包括:

[0230] (a)将组织样本和染色液体沉积在上述系统的装置上,并将所述两个板放置成闭合构型;

[0231] (b)获得具有成像,数据处理和通信的硬件和软件的移动电话;

[0232] (c)通过由移动电话放置在CROF装置上的组织样本进行分析以产生结果;和

[0233] (c)将来自移动电话的结果传送到远离移动电话的位置。

[0234] 还提供了用于染色组织样本的方法,包括:

[0235] (a)获得组织样本;

[0236] (b)获得染色液;

[0237] (b)获得第一板和第二板,其中:

[0238] 板可相对于彼此移动成不同的构型;

[0239] 一个或两个平板是柔性的;

[0240] 每个板在其相应表面上具有用于接触组织样本或IHC染色液的样本接触区域;

[0241] 第一块板的样品接触面光滑平整,

[0242] 在第二板的样品接触区域包括被固定在表面上并且具有预定基本一致的高度和一

[0243] 个预定的常数间隔件间距离,该距离在7μm至200μm的范围内间隔件;

[0244] (c)当所述板构型成开放构型时,将所述组织样本和所述染色液体沉积在所述板上,其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距为不受隔离器的限制;

[0245] (d)之后,在(c)之后,使用所述两个板将所述组织样本的至少一部分和所述染色液的至少一部分压缩成闭合构型;

[0246] 其中在所述闭合构型中:所述样本的至少一部分位于所述两个板之间,并且至少部分染色液体层位于所述样本的所述至少一部分与所述第二板之间,其中所述至少部分染色液体层通过在板,样品,和间隔件调节,并具有样品表面和所述第二板表面之间的平均距离具有小的变化。

[0247] 其他实施例的所有益处和优点(例如,加速反应,更快结果等)可以应用于该装置,系统和方法。

[0248] 此外,以上在其他实施例的上下文中描述的所有参数(例如,间隔件的尺寸,间隔和形状,间隔件和板的柔性,以及如何使用装置和系统等)可以被并入本节中描述的IHC实施例。

[0249] 例如,在一些实施方案中,调节均匀厚度层的间隔件(即,在层中将板间隔开的间隔件)具有至少1%的“填充因子”,例如至少2%或至少5%,其中填充因子是与均匀厚度层接触的间隔区域与与均匀厚度层接触的总平板区域的比率。在一些实施例中,对于调节均匀厚度层的间隔件,间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于10MPa,例如至少

15MPa或至少20MPa,其中填充因子是与均匀厚度层接触的间隔件区域和与均匀厚度层接触的总平板区域的比率。在一些实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量的范围为60-550GPa-μm,例如100-300GPa-μm。在一些实施例中,对于柔性板,间隔件间距(ISD)的四次方除以柔性板的厚度(h)和柔性板的杨氏模量(E),$ISD^4/(hE)$等于或小于$10^6\mu m^3/GPa$,例如小于$10^5\mu m^3/GPa$,小于$10^4\mu m^3/GPa$或小于$10^3\mu m^3/GPa$。

[0250] 在一些实施例中,一个或两个板包括位于板的表面上或内部的位置标记,其提供板的位置的信息,例如将要分析的位置或部分应当在其上的位置被存放。在一些情况下,一个或两个板可以包括刻度标记,该刻度标记在板的表面上或板内部提供该部分和/或板的结构的横向尺寸的信息。在一些实施例中,一个或两个板包括成像标记,或者在板的表面上或者在板内部,这有助于样本的成像。例如,成像标记可以帮助将成像装置聚焦或将成像装置引导至装置上的位置。在一些实施例中,间隔件可以用作位置标记,比例标记,成像标记或其任何组合。

[0251] 在一些实施例中,间隔件间距可以基本上是周期性的。在一些情况下,间隔件可以是规则图案并且相邻间隔件之间的间隔可以大致相同。间隔件可以具有选自圆形,多边形,圆形,正方形,矩形,椭圆形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的柱,并且在一些实施例中,间隔件可以具有基本平坦的顶表面,对于每个间隔件,间隔件的横向尺寸与其高度的比率至少为1。在一些情况下,间隔件的最小横向尺寸小于或基本等于样品中分析物的最小尺寸。间隔件的最小横向尺寸在0.5微米到100微米的范围内,例如在2微米到50微米或0.5微米到10微米的范围内。

[0252] 在一些实施例中,间隔件具有柱形形状,并且间隔件的侧壁拐角具有至少1μm,例如至少1.2μm,至少1.5μm或至少2.0μm的弧形半径的圆形。间隔件可具有任何便利的密度,例如至少1000/mm 2的密度,例如至少1000/mm 2的密度,至少2000/mm 2的密度,至少5,000/mm 2的密度2或密度至少为10,000/mm 2。

[0253] 在该装置中,至少一个板可以是透明的,由此允许以光学方式读取测定。类似地,在该装置中,至少一个板可以由柔性聚合物制成,从而允许通过将板压在一起来有效地扩散样品。在一些实施例中,压缩板的压力,间隔件不可压缩和/或独立地仅板中的一个是柔性的。柔性板可以具有20μm至200μm范围内的厚度,例如50μm至150μm。如上所述,在闭合构型,均匀厚度层的厚度可能具有小的变化。在一些实施方案中,该变化可小于10%,小于5%或小于2%,这意味着该区域的厚度不超过+/-10%,+/-5%或+/-2%的平均厚度。

[0254] 在一些实施例中,第一板和第二板连接并且可以通过折叠将设备从开放构型变成闭合构型。在一些实施例中,第一板和第二板可以通过铰链连接,并且通过折叠使得设备可以从开放构型变成闭合构型,使得设备沿着铰链弯曲。铰链可以是附着到板上的单独材料,或者在一些情况下,板可以与板一体化。

[0255] 在一些实施例中,装置可能能够非常快速地分析该部分。在某些情况下,分析可以在60秒或更短,30秒内,20秒内或更短或10秒或更短时间内完成。

[0256] 在任何实施方案中,干结合位点可以包含捕获剂例如抗体或核酸。在一些实施方案中,可释放的干燥试剂可以是标记的试剂,例如荧光标记的试剂,例如荧光标记的抗体或细胞染色,例如Romanowsky染色剂,Leishman染色剂,May-Grunwald染色剂,吉姆萨染色剂,Jenner's染色剂,赖特染色剂或其任何组合(例如赖特-吉姆萨染色剂)。这样的染色剂可以

包含曙红Y或曙红B与亚甲蓝。在某些实施方案中,染色剂可以是碱性染色剂如苏木精。

[0257] 在一些实施例中,该系统可以另外包括(d)被配置为保持样本并被安装到移动通信设备的外壳。外壳可以包括用于促进移动通信设备对样品的成像和/或信号处理的光学器件,以及被配置为将光学器件保持在移动通信设备上的安装座。在一些情况下,装置的光学元件(例如透镜,滤波器,反射镜,棱镜或分束器)可以是可移动的,使得样品可以在至少两个通道中成像。

[0258] 在一些实施例中,移动通信设备可以被配置为将测试结果传达给医疗专业人员(例如医生),医疗机构(例如医院或测试实验室)或保险公司。另外,移动通信设备可以被配置为与医疗专业人员,医疗机构或者医疗专业人员保险公司通信关于受试者的信息(例如,受试者的年龄,性别,体重,地址,姓名,在先测试结果,在先病史等)。在某些实施例中,移动通信设备可以被配置为接收处方,诊断或来自医疗专业人员的建议。例如,在一些实施例中,移动通信设备可以将测定结果发送到远方的医学专业人员给出诊断。诊断可以通过移动通信设备传达给对象。

[0259] 在一些实施例中,移动通信设备可以包含允许其(a)捕获样本的图像的硬件和软件;(b)分析图像中的测试位置和参考位置;和(c)将从测试位置的分析获得的值与表征快速诊断测试的阈值进行比较。在一些情况下,移动通信设备经由无线或蜂窝网络与远程位置通信。在任何实施例中,移动通信设备可以是移动电话。

[0260] 该系统可用于包括以下的方法中:(a)在系统的设备上进行采样;(b)分析沉积在装置上的样品以产生结果;和(c)将来自移动通信设备的结果传送到远离移动通信设备的位置。该方法可以包括分析远程位置处的结果以提供分析结果;以及将来自远程位置的分析结果传送给移动通信设备。如上所述,分析可以由远程医疗专业人员完成。并且,在一些实施例中,移动通信设备可以接收处方,诊断或来自远程医疗专业人员的建议。

[0261] 还提供了用于分析组织切片的方法。在一些实施例中,该方法可以包括获得如上所述的设备,将该部分放置在设备的一个或两个板上;将板放置在闭合构型中并且在至少部分板上施加外力;并分析厚度均匀的层中的样品,同时板是闭合构型。

[0262] 在一些实施例中,该方法可以包括:

[0263] (a)获得组织切片;

[0264] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板,其中每个板具有基本上平坦的样本接触表面,一个或两个板是柔性的,并且一个或两个板包括间隔件与相应的样品接触表面固定,并且其中所述间隔件具有:

[0265] i.预定的基本均匀的高度,

[0266] ii.具有基本均匀横截面和平坦顶面的柱形;

[0267] iii.宽度与高度之比等于或大于1;

[0268] iv.预定的常数间隔件间距离,该距离在10微米至200微米的范围内

[0269] v.等于1%或更大的填充因子;和

[0270] (c)当所述板构型成开放构型时,将所述部分沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由间隔件调节;

[0271] (d)在(c)之后,使用两个板将至少一部分样品压缩成厚度基本均匀的层,该层由

板的样品接触表面限制,其中该层的均匀厚度由间隔件和板调节,并且厚度平均值在1.8微米至3微米的范围内,变化小于10%,其中压缩包括:

[0272] 将两块板放在一起;且

[0273] 平行地或顺序地对至少一个板的区域进行适形按压,以将板压在一起以形成闭合结构,其中,适形按压在至少一部分样品上的板上产生基本均匀的压力,以及加压使样品的至少一部分在板的样品接触表面之间横向地扩散,并且其中闭合构型是其中在均匀厚度区域的层中的板之间的间隔由间隔件调节的构造;以及

[0274] (e)分析厚度均匀的层中的部分,而板是闭合构型;

[0275] 其中所述填充因子是所述间隔件接触面积与所述总平板面积的比率;

[0276] 其中适形按压是这样一种方法,该方法使得施加在区域上的压力基本上恒定,而与板的外表面的形状变化无关;和

[0277] 其中平行按压同时在预定区域上施加压力,并且顺序按压对目标区域的一部分施加压力并逐渐移动到其他区域。

[0278] 在一些实施例中,该方法可以包括:在板处于闭合构型之后去除外力;成像在均匀厚度的层中的该部分,同时板是闭合构型。如上所述,在这些实施例中,间隔件间距可以在20μm至200μm或5μm至20μm的范围内。在这些实施例中,填充因子和隔离件的杨氏模量的乘积是2MPa或更大。在一些实施例中,表面变化小于30nm。

[0279] 在这些实施例中的任何一个中,成像和计数可以通过以下方式完成:i.照亮均匀厚度层中的部分;ii.使用CCD或CMOS传感器拍摄该部分的一个或多个图像。

[0280] 在一些实施例中,外力可以由人手来提供,例如通过使用诸如拇指的手指按下,或在同一只手上的拇指与另一数字(诸如食指)之间捏住。

[0281] 在一些实施方案中,一个或多个板可以包含涂布在一个或两个板上的干燥试剂(例如,粘合剂,染色剂,检测剂或测定反应物)。

[0282] 在一些实施例中,均匀厚度样本的层可以具有高达+/-5%的厚度均匀性,例如高达+/-2%或高达+/-1%。

[0283] 在一些实施例中,间隔件是具有选自圆形,多边形,圆形,正方形,矩形,椭圆形,椭圆形或其任意组合的横截面形状的支柱。

[0284] 压缩调节开放流(CROF)

[0285] 本发明的许多实施方案使用一种方法操纵样品和/或试剂的几何尺寸,位置,接触区和混合,该方法称为“压缩调节开放流(CROF)”,以及执行CROF的装置。

[0286] “压缩开流(COF)”一词指的是通过(i)放置至少样品的部分在其他板之上和(ii)然后通过推动两板朝向彼此移动压缩两个板间的所述样品;其中压缩减小至少样品的一部分的厚度,使样品流进板之间的开放空间,从而改变沉积在板上的可流动样品的形状。

[0287] 术语“压缩调节开放流”或“CROF”(或“自校准压缩开放流”或“SCOF”或“SCCOF”)是指一种特定类型的COF,其中的一部分或全部样品的最终厚度在压缩后是通过间隔件“调节”,其中,所述间隔件被放置在两个板之间。

[0288] 在一个CROF术语“的一部分或全部样品的最终厚度由间隔件调节”是指一个CROF期间,一旦达到特定的样品的厚度,在两板的相对运动和样品厚度停止因而变化,其中特定厚度由间隔件决定。

[0289] CROF的方法的一个实施方案,如图1所示,包括:

[0290] (a)获得一个可流动的样品;

[0291] (b)获得一个第一板和一个第二板,两板可相对于彼此移动进入不同形态,其中,每个板具有一个样品接触表面,该面基本上是平整的,一个或两个板包括有间隔件,并且其中所述间隔件具有预定的基本上均匀的高度,间隔件在相应的样品接触表面上;

[0292] (c)当所述两板处于开放构型时,在一个或两个板上沉积样品,其中,所述开放构型是其中两个板被部分地或完全分离开的构型,并且板之间的间隔不由间隔件调节;和

[0293] (d)完成(c)后,通过使所述板到闭合构型,其中,在闭合构型中,板彼此面对,间隔件和样品的相关体积在板之间,样品相关体积的厚度由板和间隔件调节,其中,所述相关体积是所述样品整体体积的至少一部分,其中当样品扩展时,样品在两个板之间横向流动。

[0294] 术语“板”指的是,除非被另外指定,在CROF过程中使用的板,即具有可以与另一块板一起使用的表面的固体,以压缩位于两个板之间的样品,以减少样品的厚度。

[0295] 术语“板”或“在一对板的”,是指在一个CROF过程的两个板。

[0296] 术语“第一板”或“第二板”是指在一个CROF过程使用的板。

[0297] 术语“板彼此面对的”是指其中一对板的至少部分彼此面对的情况。

[0298] 术语“间隔件”或“止动件”指的是,除非另有说明,即被放置在两个板之间,设置两个板压在一起时能得出的两个板之间间距的最小值的机械物件。即,在压缩时,间隔件将停止两板的相对运动,以防止板间距变得比预先设定的(即,预定的)值还小。有两种类型的间隔件的:“开放间隔件”和“封闭间隔件”。

[0299] 术语“开放的间隔件”是指间隔件具有一个形状,其允许液体围绕间隔件的整个周边和通过间隔件流动。例如,立柱是一个开放的间隔件。

[0300] “封闭的间隔件”这个术语是指具有一个液体不能围绕间隔件的整个周边流动和不能流过间隔件的形状的间隔件。例如,一个环形间隔件是对于环内的液体的一个封闭的间隔件,其中所述环间隔件内的液体保持在环内并且不能去外侧(外周)。

[0301] 术语“间隔件具有一个预定的高度”及“间隔件具有预定的间隔件间距离”是指,该间隔件的高度的值和间隔件间距离在CROF过程之前时已知的。如果间隔件的高度和间隔件之间的距离的值在CROF过程之前未知,它就不是预定的。例如,喷洒在板上的珠子作为间隔件,其中,珠粒在板上降落的位置随机,间隔件间距离不是预定的。不规定间间隔件的距离的另一个例子是,间隔件在CROF过程中移动。

[0302] 在一个CROF过程中的术语“间隔件被固定在其相应的板上”,是指所述间隔件附着于板的一个位置和而该附着在CROF期间被保持(即在间隔件上相应的板的位置的确不变)。“间隔件被固定在其相应的板上”的一个例子是,一个间隔件由一块板的材料整体地制成,且相对于板表面的间隔件的位置CROF期间不会改变。“间隔件不固定在其相应的板”的一个例子是,一个间隔件由粘合剂被胶合到板上,而利用该板的过程中,CROF期间,粘合剂不能将间隔件维持在其板表面上的原始位置且间隔件从板表面上的原始位置移动开。

[0303] 术语“间隔件被整体固定到板上”是指间隔件和板在使用类似单件一样活动,间隔件不会移动或从盘上其原始位置移开。

[0304] CROF过程中的术语“开放构型”是指一个构型,其中两个板部分或完全分离开且板之间的间距不受间隔件调节。

[0305] CROF过程中的术语“闭合构型”是指其中所述板彼此面对的构型,所述间隔件和样品的相关体积在两板之间,样品的相关体积的厚度为由板和间隔件,其中,所述相关体积至少是样品整体体积的一部分。

[0306] CROF过程中的术语“样品厚度由板和间隔件调节”是指对所述板,样品,间隔件,以及所述板压缩方法的的一个给定条件下,在板的闭合构型中至少的一部分样品的厚度可从间隔件和板的特性预定的。

[0307] 术语“内表面”,或在CROF装置的板的“样品面”指的是接触到样品的板的表面,而板的另一表面(即不接触样品)被称为“外表面”。

[0308] CROF装置的术语“X-板”指的是一个板,其包括有在板的样品表面上的间隔件,其中,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和间隔件的高度,并且其中,所述间隔件中的至少一个在样品接触区域内。

[0309] 术语“CROF设备”是指执行CROF过程的装置。术语“CROFed”是指一个CROF过程被使用过。例如,“一个样品CROFed”一词意味着样品被放入一个CROF装置内,进行CROF处理,并且样品保持在CROF的最终构型,除非另有说明。

[0310] 术语“CROF板”指的是在执行CROF过程中使用的两个板。

[0311] 术语“表面平滑度”或平面表面的“表面平滑度变化”是指在比几微米左右或更小的短距离内一个平面与一个完美的平面的平均偏差。表面平滑度与表面平整度变化不同。平面表面可以有一个良好的表面平整度,而且表面平滑度差。

[0312] 术语“表面平整”或平面表面的“表面平整性变化”是指大约或大于10微米的较长距离上一个平面表面与一个完美的平面的平均偏离。表面平整度的变化与表面平滑性的变化不同。平面表面可以有一个良好的表面平滑度,但表面平整度差(即大的表面平整度偏差)。

[0313] 板或样品的术语“相对的表面平整度”是在板表面平整度的变化到最终的样品厚度的比率。

[0314] 在CROF过程中,术语“最终样品厚度”指的是,除非另有说明,样品的在CORF过程中板的闭合构型的厚度。

[0315] CROF术语“压缩方法”,是指将两板从开放构型带入闭合构型的方法。

[0316] “感兴趣区域”或板的“感兴趣的区域”这个术语指的是板的某个有关该板执行的功能的区域。

[0317] 术语“至多”是指“等于或小于”。例如,间隔件高度为至多1微米,这意味着该间隔件高度是等于或小于1微米。

[0318] 术语“样品区域”指的在大致平行于所述板之间空间并垂直于样品厚度的样品的某个区域。

[0319] 术语“样品厚度”指的是在与两板彼此面对的表面(例如,在板之间的间隔的方向上)垂直的方向上的样品尺寸。

[0320] 术语“板间距”指的是两块板的内表面之间的距离。

[0321] CROF术语“最终样品厚度的偏差”是指预定的间隔件的高度(从间隔件的制造测定)和最终样品的厚度之间的差值,其中平均最终样品厚度是在给定区域上的平均值(例如:在超过1.60cm乘1.6cm的面积上25个不同点(相隔4毫米)的平均值)。

[0322] CROF过程的术语“测得的最终样品厚度的均匀性”是指测量得到的最终样品的厚度在给定的样品区的标准偏差(例如相对于平均的标准偏差)。

[0323] 术语“样品的相关体积”,和CROF过程中的“样品的相关区域”分别指的是,CROF过程中沉积在板上的试样的整个或部分的体积体积和区域面积,其与通过相应的方法或装置执行的功能是相关的,其中所述功能包括,但不限于,降低分析物或实体结合所需时间,检测分析物,量化体积,浓度的量化,混合试剂,或控制(分析,实体或试剂)的浓度。

[0324] 术语“一些实施方案”,“在一些实施方案中”,“在本发明中,在一些实施方案”,“实施例”,“一个实施例”,“另一实施方案”,“某些实施方案”,“多个实施例中”,或类似的指,除非特别说明,应用到全部公开(即整个发明)的实施例(多个)。

[0325] 术语“高度”或在CROF处理的对象的“厚度”指的是,除非特别说明,即在垂直于板的表面的方向上物体的尺寸。例如,间隔件的高度是垂直于板的表面的方向上间隔件的尺寸,间隔件高度和间隔件厚度是指同样的事情。

[0326] CROF过程中术语一个物体的“面积”指的是,除非特别说明,该物体平行于板的表面方向上的面积。例如,间隔件面积是平行于板的表面的间隔件的面积。

[0327] CROF过程中术语“横向的”或“横向地”是指,除非特别说明,平行于板的表面的方向。

[0328] CROF过程中术语间隔件的“宽度”指的是,除非特别说明,所述间隔件的横向尺寸。

[0329] 术语“样品内的间隔件”指的是间隔件由样品包围(例如,样品内的支柱间隔件)。

[0330] 在CROF过程中,术语板的“临界弯曲跨度”是指板在两个支撑之间的跨度(即距离)时,对于给定的柔性板,样品和压缩力,板的弯曲等于允许弯曲。例如,如果对于给定的柔性板,样品和压缩力,允许的弯曲为50nm,并且临界弯曲跨度为40μm,则两个相邻的间隔件之间的间距为40μm的板的弯曲将为50nm,并且如果两个相邻的间隔件的间距小于40μm,弯曲则应小于50nm。

[0331] 术语“可流动”的样品是指当样品的厚度减小时,横向尺寸增大。例如,粪便样品被认为是可流动的。

[0332] 在本发明的一些实施例,CROF处理的样品并不必需是可流动的,才可从过程中受益,只要样品的厚度可以在CROF过程中被减少。例如,通过把染料放到CROF板的表面上染色一个组织,CROF过程可以减少组织厚度并因此加快染料染色的饱和温育时间。

[0333] 1.降低(缩短)结合或混合时间(X)

[0334] 期望在进行测定或其他化学反应中减少孵育/反应时间。例如,在表面固定化分析中,样品中的目标分析物通过被固定在板表面(即固相)上的捕获剂捕获而被检测出来,通常需要较短的饱和孵育时间来捕获目标分析物或将捕获剂和检测剂固定在板表面上的溶液中,或两者都有。另一个例子是需要缩短将捕获剂涂覆到板表面的时间。另一个例子是需要缩短将试剂混合到样品中的时间。

[0335] 本发明提供了减少(即缩短)将样品中的实体结合到固体表面上的结合位点所需的饱和孵育时间(即,实体从体积到表面的时间)的方法和设计。本发明的另一方面是减少存储在板表面上的实体与另一板表面上的结合位点结合所需的时间(即,实体从一个表面到另一表面的时间)。本发明的另一方面是减少将在表面上存储的试剂添加/混合到样品体积中所需的时间(即,将从表面上的试剂添加/混合到样品体积中所需的时间)。

[0336] 本发明通过使用将样品(或液体)散布到更薄的厚度的装置和方法,减少了测定中结合和/或混合的饱和孵育时间,从而减少了实体在样品厚度上扩散的时间。实体在材料(例如液体,固体或半固体)中的扩散时间与扩散距离的平方成正比,因此减小样品厚度可以减小扩散距离,从而导致扩散时间以及饱和孵育时间大大减少。较薄的厚度(例如,狭窄的密闭空间)也增加了实体与材料中其他实体的碰撞频率,从而进一步增强了结合和混合。本发明的主题还使样品厚度的减小精确,均匀,快速,简单(较少的操作步骤),并且适用于将样品厚度减小至微米或纳米厚度。本发明在快速,低成本,PoC,诊断和化学/生物分析中具有很大的实用性。图1-4示出了本发明的几个实施例。

[0337] 1.1通过减少样品厚度以减少将样品中的实体与固体表面上的结合位点结合的饱和孵育时间。

[0338] X1.一种减少样品中靶标实体与平板表面结合位点结合的饱和孵育时间的方法,如图1-2、3(a)和4(a)所示,包括:

[0339] (a).获得可流动的并包含能够在样品中扩散的目标实体的样品;

[0340] (b).获得相对于彼此可移动成不同构型的第一板和第二板,其中所述第一板在其表面上具有被配置为结合靶实体的结合位点,其中一个或两个板均包含间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度;

[0341] (c).当将板配置成开放构型时,将样品沉积在一个或两个板上;其中,开放构型是两个板部分或完全分开并且两个板之间的间隔不受间隔件限制的构造。

[0342] (d).在(c)之后,通过使板处于闭合构型来散布样品,其中,在闭合构型中:板彼此面对,间隔件和相关体积的样品位于板之间,结合位点在接触相关体积,并且样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节,比板处于开放构型时的最大厚度薄。

[0343] 其中相关体积是样品的一部分或全部体积;和

[0344] 其中减小的样品厚度减少了将相关体积中的靶标实体结合到结合位点的饱和孵育时间。

[0345] 对于给定的样品量,

[0346] CROF会减小样品厚度,但会增加样品的横向尺寸。本发明利用这一事实来执行(a)在样品的一部分中的局部结合或混合,和(b)多个结合或混合位点的多路复用,而没有流体屏障来将样品流体分离成不同的分离液袋。

[0347] X2.如图1-2、3(a)和4(a)所示,一种用于减少饱和孵育时间以将目标实体样品中的相关实体结合到表面的装置,该装置包括:

[0348] (a)可以相对移动到不同构型的第一板和第二板,

[0349] (b)每个板都有一个样品接触区域,用于接触在相关体积的样品中具有目标实体的样品,

[0350] (c)其中一个板具有结合目标实体的结合位点,并且(d)至少一个板包括间隔件,该间隔件具有预定的间隔件距离和高度,并固定在其各自的表面上,其中至少一个间隔件位于样品接触区域内;

[0351] 其中一种配置是开放构型,其中:两块板部分或完全分开,并且两板之间的间隔不受间隔件的限制,

[0352] 其中另一种构型是闭合构型,其在样品在开放构型沉积之后构成;在闭合构型下:

板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,结合位点与相关体积接触,并调节样品相关体积的厚度当板处于开放构型时,板和间隔件的厚度要比样品的最大厚度薄;其中相关体积是样品的一部分或全部体积;并且其中减小的样品厚度减少了相关体积中靶实体与结合位点结合的饱和孵育时间。

[0353] 1.2减少存储在一个板表面上的实体与另一板表面上的结合位点的结合的饱和孵育时间

[0354] X3.一种减少饱和孵育时间以将存储在一个板的存储位点上的实体与另一块板的相关结合位点结合的方法,如图1、3(c)和4(b)所示,包括:

[0355] (a).获得相对于彼此可移动成不同构型的第一板和第二板,其中第一板的表面具有结合位点,并且第二板的表面具有包含待结合至实体的实体的储存位点结合位点;其中结合位点的面积和储存位点的面积小于各板的面积;其中一个或两个板包括间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度;

[0356] (b).获得转移介质,其中所述储存位点上的实体能够溶解到所述转移介质中并在所述转移介质中扩散;

[0357] (c).当板被配置成开放构型时,将转移介质沉积在一个或两个板上。其中,开放构型是两个板部分或完全分开并且两个板之间的间隔不受间隔件限制的构造。

[0358] (d).在(c)之后,通过使板处于闭合构型来散布转移介质,其中,在闭合构型中:板彼此面对,间隔件,结合位点,储存位点和至少一部分转移介质位于板之间,结合位点和储存位点至少部分地彼此重叠,转移介质至少接触结合位点和储存位点的一部分,转移介质的厚度由当板处于开放构型时,板和间隔件比转移介质的最大厚度薄。

[0359] 其中减少的转移介质厚度减少了将存储在第二板上的实体结合到第一板上的结合位点的时间。

[0360] X4.如图1、3(c)和4(b)所示,一种用于减少饱和孵育时间的装置,该饱和孵育时间用于将一个板的存储位点上存储的实体与另一板的结合位点结合,包括:

[0361] 第一板和第二板可彼此相对移动成不同的构型,其中第一板的表面具有结合位点;第二板的表面具有储存位点,该储存位点包含要结合至结合位点的实体;其中结合位点的面积和储存位点的面积小于各板的面积。其中一个或两个板包括间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度;

[0362] 其中一种构型是开放构型,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔件限制,并且可以在一个或两个板上沉积转移介质,其中存储站点上的实体能够溶解到转移介质中并在转移介质中扩散,

[0363] 其中,另一种构造是闭合构型,其在开放构型沉积转移介质之后构造,在闭合构型下:板彼此面对,间隔件,结合位点,储存位点和至少一部分转移介质位于板之间,结合位点和储存位点至少部分在顶部彼此之间,转移介质接触结合部位和储存部位的至少一部分,转移介质的厚度由板和间隔件调节,比当板为板时的转移介质的最大厚度薄。在开放构型中;

[0364] 其中,减小的转移介质厚度减少了将第二板的存储位点上的实体结合到第一板的结合位点上的实体的饱和孵育时间。

[0365] 在段落X3的方法和段落X4的装置中,在一些实施例中,转移介质包括允许实体或

试剂或两者扩散的液体。

[0366] 在段落X3的方法和段落X4的装置中,在一些实施例中,转移介质是样品,其中样品包含结合结合位点的分析物(也称为靶分析物)。

[0367] 在段落X3的方法和段落X4的装置中,在一些实施例中,转移介质是样品,其中样品包含结合结合位点的分析物(也称为靶分析物),并且试剂是结合的检测剂。

[0368] 1.3减少将表面上存储的试剂添加(混合)到液体样品中的时间

[0369] 许多测定需要将试剂添加到样品(包括液体)中。通常,需要控制样品或液体中添加试剂的浓度。需要执行这些试剂添加和浓度控制的简单和/或低成本的新方法。需要添加试剂的两个例子是(a)血细胞计数,其中可以将抗凝剂和/或染色试剂添加到血样中,以及(b)免疫测定,其中添加检测剂以结合溶液中的目标分析物。

[0370] 本发明的一个方面是使试剂添加和试剂浓度控制简单和/或低成本的方法,设备和系统。在本发明的一个实施方案中,首先将试剂层(例如干燥的试剂层)放置在CROF设备的板表面上,然后将样品加入到CROF设备中,并且CROF流程使样品与样品接触。试剂和样品的厚度比CROF板开放构型时的样品厚度要薄。通过减小样品的厚度,将减少试剂从表面扩散到整个样品中的扩散时间,因此减少了试剂与样品混合的时间。

[0371] X5.如图1、3(b)和4(c)所示,一种用于减少将板表面上存储的试剂混合到样品中的时间的方法,包括:

[0372] (a)获得相对于彼此可移动成不同构型的第一板和第二板,其中第一板在其表面上具有包含要添加到样品中的试剂的存储位置,并且该试剂能够溶解进入样品并在样品中扩散;其中一个或两个板包括间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度;

[0373] (b)获取样品;

[0374] (c)将板配置成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;其中,开放构型是两个板部分或完全分开并且两个板之间的间隔不受间隔件限制的构造。

[0375] (d)在(c)之后,通过使板处于闭合构型来散布样品,其中,在闭合构型中:板彼此面对,间隔件,存储部位和至少一部分样品位于板之间样品接触到至少一部分存储位置,存储位置上的样品厚度由板和间隔件调节,比板处于开放构型时的最大厚度薄;

[0376] 其中减小的样品厚度减少了将存储位置上的试剂与样品混合的时间。

[0377] 在段落X5的方法中,其还包括在板处于闭合配置时进行孵育的步骤,其中选择孵育时间以使得导致大量溶解在样品中的试剂包含在相关体积中。样品的体积,其中相关体积是位于储存位点上的样品的体积,孵育是一种允许试剂溶解和扩散在样品中的过程。

[0378] 在段落X5的方法中,其进一步包括以下步骤:在(d)之后并且当板处于闭合构型时,孵育时间等于或小于一个因子乘以试剂扩散穿过在闭合构型中由板调节的样品厚度的时间,然后停止孵育;其中孵育使试剂扩散到样品中;并且其中所述因子是0.0001、0.001、0.01、0.1、1、1.1、1.2、1.3、1.5、2、3、4、5、10、100、1000、10,000,或介于这些值之间的范围。例如,如果所述因子为1.1,扩散时间为20秒,则孵育时间等于或小于22秒。在一个优选的实施方案中,该因子为0.1、1、1.5或在任何值之间的范围。

[0379] X6.如图1、3(b)和4(c)所示,一种用于减少将板表面上存储的试剂添加到样品中的时间的装置,该装置包括:

[0380] 第一板和第二板相对于彼此可移动成不同的构型,其中第一板在其表面上具有一

个存储位置,该存储位置包含要添加到样品中的试剂,该试剂能够溶解到样品中样品和样品中的扩散;其中一个或两个板包括间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度;

[0381] 其中一种构型是敞开构型,其中:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品沉积在一块或两块板上;

[0382] 其中,另一种构造是闭合构型,其在转印介质沉积在开放构型之后构造,在闭合构型下:板彼此相对,间隔件,存储位置和至少一部分样品位于板之间,样品与存储位置的至少一部分,样品的厚度接触在存储位置上,由板和间隔件调节,比板处于开放构型时薄,比样品的最大厚度薄。

[0383] 其中减小的样品厚度减少了将存储位置上的试剂与样品混合的时间。

[0384] 在段落X1-6中任一段的方法或装置中,在一些实施例中,样品的相关体积是位于结合位点或存储位点上(即,顶部)的样品的体积。

[0385] 在段落X1-6中任一项的方法或装置中,在一些实施方案中,样品的相关体积是位于结合位点的整个区域或部分区域上(即,顶部)的样品的体积。或存储站点。

[0386] 在段落X1-6中任一个的方法或装置中,在一些实施例中,在闭合构型下,结合位点或存储位点的横向尺寸与样品厚度的比率为1.5,3或更大,3或更大,5或更大,10或更大,20或更大,30或更大,50或更大,100或更大,200或更大,1000或更大,10,000或更大,或两个值之间的范围。

[0387] 在段落X1-6中任一段的方法或装置中,在优选构型中,结合位点或储存位点的横向尺寸与样品厚度在闭合构型下的比率为3至20,在优选实施例中为20至100。另一个优选实施方案,在另一个优选实施方案中为100和1000,在另一个优选实施方案中为1000和10,000。

[0388] 在段落X1和X3中的任一个的方法中,在一些实施例中,最终减小的样品厚度显着小于结合位点的区域的厚度,从而样品区域中位于结合位点之外的实体将采取与结合位点结合的时间更长。通过适当选择孵育时间,与结合位点结合的实体将主要是位于结合位点上的样品体积中的实体(即,刚好在结合区上方的样品体积)。然后,将基于样品厚度和结合位点面积计算样品中实体的浓度。

[0389] 在段落X5的方法中,在某些实施例中,最终减小的样本厚度显著小于存储位置区域的厚度,因此实体

[0390] 在结合位点之外的样品区域中,将需要更长的时间才能结合到结合位点。通过适当选择孵育时间,与结合位点结合的实体将主要是位于结合位点上的样品体积中的实体(即,刚好在结合区上方的样品体积)。然后,将基于样品厚度和结合位点面积计算样品中实体的浓度。

[0391] 在段落X2,X4,X6中的任一个的方法中,其还包括压缩装置,该压缩装置使面板从开放构型变为闭合构型。在一些实施例中,压缩装置是本公开中描述的实施例的一个或任何组合。

[0392] 在段落X2,X4,X6中的任一个的方法中,其还包括将板从开放构型带到闭合构型的压缩装置,以及被构造成保持板的保持装置处于闭合构型。在一些实施例中,保持装置是本公开中描述的实施例中的一个或任何组合。

[0393] 在段落X2,X4,X6中的任一个的方法中,其还包括将板从开放构型变为闭合构型的压缩装置,以及被配置成将板保持在闭合构型的保持装置,用于将板从开放构型变为闭合构型。0.001秒以下,0.01秒以下,0.1秒以下,1秒以下,5秒以下,10秒以下,20秒以下,30秒以下,40秒以下,1分钟或以下的时间少于,少于2分钟,少于或等于3分钟,少于或等于5分钟,少于或等于10分钟,少于或等于20分钟,少于或等于30分钟,少于或等于60分钟,少于或等于90分钟,少于或等于120分钟,少于或等于180分钟小于,等于或小于250分钟,或介于两个值之间的范围。

[0394] 在段落X2,X4,X6中的任一个的方法中,其还包括将板从开放构型变为闭合构型的压缩装置,以及被配置成将板保持在闭合构型的保持装置,用于将板从开放构型变为闭合构型。在优选的实施方式中,时间为0.001秒以下,0.01秒以下,0.1秒以下,1秒以下,5秒以下,10秒以下,20秒以下,30秒以下,40秒以下小于,等于或小于1分钟,等于或小于2分钟,等于或小于3分钟,或介于这两个值之间的范围内。

[0395] 最终样品厚度。平板在闭合构型下的最终样品厚度可能是减少饱和孵育时间的重要因素。样品厚度减小/变形后的最终样品厚度,取决于实体和样品的性质以及应用,如关于板的调节间距所讨论的。

[0396] 在一些实施方案中,最终样品厚度小于约0.5微米(微米),小于约1微米,小于约1.5微米,小于约2微米,小于约4微米,小于约6微米,小于约8微米,小于约10微米,小于约12微米,小于约14微米,小于约16微米,小于约18微米,小于约20微米,小于约25微米,小于约30微米小于约35微米,小于约40微米,小于约45微米,小于约50微米,小于约55微米,小于约60微米,小于约70微米,小于约80微米,小于约90微米,小于约100微米,小于约110微米,小于约120微米,小于约140微米,小于约160微米,小于约180微米,小于约200微米,小于约250微米,小于约300微米,小于约350微米,小于约400微米,小于约450微米,小于约500微米,小于约550微米,小于约600微米,小于约650微米,小于约700微米,小于约800微米,小于约900微米,小于约1000微米(1毫米),小于约1.5毫米,小于约2毫米,小于约2.5毫米,小于约3毫米毫米,小于约3.5毫米,小于约4毫米,小于约5毫米,小于约6毫米,小于约7毫米,小于约8毫米,小于约9毫米,小于约10毫米,或任意两个值之间的范围。

[0397] 在某些实施方案中,在闭合构型下的最终样品厚度小于0.5微米,小于1微米,小于5微米,小于10微米,小于20微米,小于30微米,小于50微米,小于100微米,小于200微米,小于300微米,小于500微米,小于800微米,小于200微米,小于1毫米,小于2毫米,小于4毫米,小于8毫米,或两个值之间的范围。

[0398] 在某些实施方案中,Q-方法使最终样品的厚度均匀,并使用第一板和第二板的平坦表面。

[0399] 在本发明中,样品孵育是在各种温度,湿度,气体环境和不同的持续时间下进行的,有或没有摇动。

[0400] 温育时间。在段落X1和X3中的任一个的方法中,其还包括以下步骤:在(d)之后并且当板处于闭合构型时,温育等于或小于实体的扩散时间的因子的时间。样品在闭合构型下在平板调节的样品厚度范围内扩散,然后停止孵育;其中温育允许实体结合至结合位点;并且其中因子是0.0001、0.001、0.01、0.1、1、1.1、1.2、1.3、1.5、2、3、4、5、10、100、1000、10,000,或介于这些值之间的范围。例如,如果因子为1.1,扩散时间为20秒,则孵育时间等于或

小于22秒。在一个优选的实施方案中,该因子为0.1、1、1.5或在任何值之间的范围。

[0401] 在段落X5的方法中,其进一步包括以下步骤:在(d)之后并且当板处于闭合构型时,温育等于或小于试剂在整个样品厚度上扩散的扩散时间的倍数的时间。在闭合构型下通过板调节,然后停止孵育;其中温育允许实体结合至结合位点;并且其中因子是0.0001、0.001、0.01、0.1、1、1.1、1.2、1.3、1.5、2、3、4、5、10、100、1000、10,000,或介于这些值之间的范围。例如,如果因子为1.1,扩散时间为20秒,则孵育时间等于或小于22秒。在一个优选的实施方案中,该因子为0.1、1、1.5或在任何值之间的范围。

[0402] X1,X3和X5中任一段的方法,或者X2,X4和X6中任一段的装置,其中至少一个间隔件在样品接触区域内。

[0403] X1,X3和X5的任一段的方法,或X2,X4和X6的任一段的装置,其中间隔件具有预定的间隔距离。

[0404] 在段落X1,X3,X5中的任一个的方法中,其还包括在板处于闭合构型时的孵育步骤,饱和孵育时间为0.001秒或更短,0.01秒或更短,0.1秒或更短,1秒以下,5秒以下,10秒以下,20秒以下,30秒以下,40秒以下,1分钟以下,2分钟以下,3分钟以下,5分钟以下,10分钟或更少,20分钟或更少,30分钟或更少,60分钟或更少,90分钟或更少,120分钟或更少,180分钟或更少,250分钟或更少,或这些值中的任意两个之间的范围。

[0405] 在段落X1,X3,X5中的任一个的方法中,在闭合构型下在减小的样品厚度下的饱和孵育时间是0.001秒或更短,0.01秒或更短,0.1秒或更短,1秒或更短,5秒或更短。小于,小于等于10秒,小于等于20秒,小于等于30秒,小于等于40秒,小于等于1分钟,小于等于2分钟,小于等于3分钟,小于等于5分钟,小于等于10分钟,小于等于20分钟或小于,小于或等于30分钟,小于或等于60分钟,小于或等于90分钟,小于或等于120分钟,小于或等于180分钟,小于或等于250分钟,或介于这两个值之间。

[0406] 在一些实施方案中,首先将捕获剂固定在结合位点,然后使样品与结合位点接触,并且样品中的实体被捕获剂捕获,最后添加检测剂以与捕获的实体结合。并且将读取来自检测剂的信号(例如,通过光学方法或电气方法或组合方法)。在一些实施方案中,加入除捕获剂和检测剂以外的其他试剂(例如封闭剂)。

[0407] 在诸如即时检验的许多应用中,期望具有简单和/或低成本的装置和方法以将额外的试剂添加到样品中。本发明的一个方面涉及向样品中添加其他试剂的简单和/或低成本的设备和方法。添加的附加试剂包括检测剂,封闭剂,光信号增强剂,光信号猝灭剂或其他。在本发明的一些实施方案中,它通过使用存储在相同位置上的试剂的不同释放时间来控制测定过程。可以通过添加其他具有不同溶解速率的材料来附加不同的释放时间。

[0408] 在某些实施方案中,可以通过控制样品厚度(例如,控制样品厚度与存储部位面积的比率和/或混合时间)来控制混合在样品中的试剂浓度。

[0409] 2.板,间隔件,刻度尺,样品厚度调节

[0410] 2.1板构型和样品厚度调节

[0411] 开放构型。在一些实施例中,在开放构型中,两个板(即,第一板和第二板)彼此分离。在某些实施例中,在板的所有操作期间(包括打开和闭合构型),两个板的一侧连接在一起,这两个板的打开和关闭类似于书本。在一些实施例中,两个板具有矩形(或正方形)的形状,并且在板的所有操作期间使矩形的两侧连接在一起。

[0412] 在一些实施例中,开放构型包括板彼此远离的构造,使得样品被沉积到该对中的一个板上而不会妨碍该对中的另一板。

[0413] 在一些实施例中,开放构型包括板远离的构造,使得样品被直接沉积到一个板上,就好像另一板不存在一样。

[0414] 在一些实施例中,开放构型包括一对板以至少10纳米,至少100纳米,至少1000纳米,至少0.01厘米,至少0.1厘米,至少0.5厘米,至少1厘米,至少2厘米或至少5厘米的距离间隔开的配置,或任意两个值的范围。

[0415] 在一些实施例中,开放构型包括成对的板以不同的取向定向的构造。在一些实施例中,开放构型包括在一对板之间限定进入间隙的构造,该进入间隙构造成允许样品添加。

[0416] 在一些实施例中,开放构型包括一种构造,其中每个板具有样品接触表面,并且其中当板处于一个开放构型中时,板的接触表面中的至少一个暴露。

[0417] 闭合构型和样品厚度调节。在本发明中,两块板的闭合构型是通过两块板之间的间隔件来调节两块板的内表面之间的间隔(即,距离)的构造。由于在CROF处理的压缩步骤中,板的内表面(也称为“样品表面”)与样品接触,因此在闭合配置下,样品厚度由间隔件调节。

[0418] 在将板从开放构型变为闭合构型的过程中,板彼此面对(至少一部分板彼此面对),并且使用力将两个板结合在一起。当将两个板从开放构型转换为闭合构型时,两个板的内表面会压缩沉积在板上的样品,以减小样品厚度(而样品在板之间横向产生开放流动),样品的相关体积的厚度由间隔件,平板和所用方法以及样品的机械/流体性能决定。对于给定的样品和给定的间隔件,板和板按压方法,可以预先确定封闭结构的厚度。

[0419] 术语“通过间隔件调节板的内表面之间的间隔”或“通过间隔件和板来调节样品的厚度”,或由间隔件和板来调节样品的厚度”是指CROF处理中样品的厚度由给定的板,间隔件,样品和按压方法确定。

[0420] 在一些实施例中,在闭合配置下的调节的样本厚度与间隔件的高度相同;例如,在图5中,样品厚度等于间隔件的高度。在这种情况下,在闭合配置下,间隔件直接接触两块板(其中一块是固定间隔件的板,另一块是与间隔件接触的板)。

[0421] 在某些实施例中,在闭合配置下的受调节的样品厚度大于间隔件的高度;因此,在一定条件下,样品厚度应小于间隔件的高度。在这种情况下,在闭合构型下,间隔件仅直接接触在其表面上固定或附着有间隔件的板,并间接接触另一块板(即间接接触)。与板的“间接接触”是指间隔件和板被薄样品层隔开,该薄样品层被称为“残余样品层”,并且其厚度被称为“残余厚度”。对于给定的间隔件和板,给定的板按压方法和给定的样品,可以预定残留厚度(达到闭合构型之前的预定装置),从而导致在闭合构型下样品厚度的预先确定。这是因为残留物层的厚度在给定条件下(样品,间隔件,板和压紧力)相同,并且可以预先校准和/或计算。调节后的样品厚度大约等于间隔件高度加上样品残留物厚度。

[0422] 在许多实施例中,支柱的尺寸和形状在其使用之前被预先表征(即预先确定)。预定信息用于以后的测定,例如确定样品体积(或相关体积)等。

[0423] 在一些实施例中,样品厚度的调节包括对板施加闭合(压缩)力以维持板之间的间隔。

[0424] 在一些实施方案中,样品厚度的调节包括在板与间隔件之间建立间隔,施加到板

上的闭合力以及样品的物理性质,并且任选地其中样品的物理性质包括以下至少一种:粘度和可压缩性。

[0425] 2.2板

[0426] 在本发明中,CROF板通常由以下任何材料制成:(i)能够与间隔件一起用来调节样品的一部分或全部体积的厚度,并且(ii)不对样品,测定或平板实现的目标产生显著不利影响。然而,在某些实施例中,特定的材料(因此具有它们的特性)用于该板以实现某些目的。

[0427] 在一些实施例中,对于以下参数中的每一个,两个板具有相同或不同的参数:板材料,板厚度,板形状,板面积,板柔性,板表面性质和板光学透明度。

[0428] 板材料

[0429] 板由单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或它们的组合制成。用于板的每种材料是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的示例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。

[0430] Mat-1.用于板的无机材料包括但不限于玻璃,石英,氧化物,二氧化硅,氮化硅,氧化铪(HfO),氧化铝(AlO),半导体:(硅,GaAs,GaN等),金属(例如金,银,铜,铝,钛,镍等),陶瓷或其任何组合。

[0431] Mat-2.用于间隔件的有机材料包括但不限于聚合物(例如塑料)或无定形有机材料。用于间隔件的聚合物材料包括但不限于丙烯酸酯聚合物,乙烯基聚合物,烯烃聚合物,纤维素聚合物,非纤维素聚合物,聚酯聚合物,尼龙,环烯烃共聚物(COC),聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA),聚碳酸酯(PC),环烯烃聚合物(COP),液晶聚合物(LCP),聚酰胺(PA),聚乙烯(PE),聚酰亚胺(PI),聚丙烯(PP),聚苯醚(PPE),聚苯乙烯(PS),聚甲醛(POM),聚醚醚酮(PEEK),聚醚砜(PES),聚邻苯二甲酸乙二醇酯(PET),聚四氟乙烯(PTFE),聚氯乙烯(PVC),聚偏二氟乙烯(PVDF),聚对苯二甲酸丁二酯(PBT),氟化乙烯丙烯(FEP),全氟烷氧基烷烃(PFA),聚二甲基硅氧烷(PDMS),橡胶或它们的任意组合。

[0432] 在一些实施例中,板分别独立地由玻璃,塑料,陶瓷和金属中的至少一种制成。在一些实施例中,每个板独立地包括玻璃,塑料,陶瓷和金属中的至少一种。

[0433] 在一些实施例中,一个板在横向面积,厚度,形状,材料或表面处理方面不同于另一板。

[0434] 在一些实施例中,一块板在横向面积,厚度,形状,材料或表面处理上与另一块板相同。

[0435] 板的材料是刚性的,柔性的或两者之间的任何柔性。刚性(即,刚性)或挠性相对于使板进入闭合构型中所使用的给定压力。

[0436] 在一些实施例中,根据在闭合构型下控制样品厚度的均匀性的要求来确定刚性板或柔性板的选择。

[0437] 在一些实施例中,两个板中的至少一个是透明的(对光而言)。在一些实施例中,一个板或两个板的至少一部分或几部分是透明的。在一些实施例中,板是不透明的。

[0438] 板厚度.在一些实施例中,至少一个板的平均厚度为2nm或更小,10nm或更小,100nm或更小,500nm或更小,1000nm或更小,2微米(微米)或更小,5微米小于等于10微米,小于等于20微米,小于等于50微米,小于等于100微米,小于等于150微米,小于等于200微米,小于等于300微米,小于等于500微米,小于等于800微米,1毫米(毫米)或更小,2毫米或更

小,3毫米或更小或两个值之间的范围。

[0439] 在一些实施例中,至少一个板的平均厚度为至多3mm(毫米),至多5mm,至多10mm,至多20mm,至多50mm,至多100mm,至多500毫米,或两个值之间的范围。

[0440] 在一些实施例中,板的厚度在整个板上不均匀。在不同位置使用不同的板厚度可用于控制板的弯曲,折叠,样品厚度调节等。

[0441] 板的形状和面积.通常,板可以具有任何形状,只要该形状允许样品的压缩开放流和样品厚度的调节即可。然而,在某些实施例中,特定形状可能是有利的。板的形状可以是圆形,椭圆形,矩形,三角形,多边形,环形或这些形状的任何叠加。

[0442] 在一些实施例中,两个板可以具有相同的尺寸或形状,或者不同。板的面积取决于应用。板的面积最大为1平方毫米,最大为10平方毫米,最大为100平方毫米,最大为1平方厘米,最大为5平方厘米,最大为10平方厘米,最大为100平方厘米。最多500平方厘米,最多1000平方厘米,最多5000平方厘米,最多10,000平方厘米或超过10,000平方厘米,或两个值之间的任意排列。板的形状可以是矩形,正方形,圆形或其他形状。

[0443] 在某些实施例中,板中的至少一个呈带(或带)的形式,其具有宽度,厚度和长度。宽度最多为0.1厘米,最多为0.5厘米,最多为1厘米,最多为5厘米,最多为10厘米,最多为50厘米,最多为100厘米,最多为500厘米,最多为1000厘米,或任意两个值之间的范围。该长度可以是所需的长度。皮带可以卷成卷。

[0444] 板表面平整度.在许多实施例中,板的内表面是平坦的或显著平坦的,平坦的。在某些实施例中,两个内表面在闭合构型下彼此平行。平坦的内表面可通过在闭合配置下简单地使用预定的间隔件高度来促进样品厚度的量化和/或控制。对于板的非平坦内表面,不仅需要知道间隔件的高度,而且还需要知道内表面的确切拓扑,以量化和/或控制闭合配置下的样品厚度。要知道表面拓扑需要额外的测量和/或校正,这可能是复杂,费时和昂贵的。

[0445] 平板表面的平整度是相对于最终样品厚度(最终厚度是闭合配置时的厚度),通常以术语“相对表面平整度”来表征,即平板表面平整度变化与平板表面平整度之比。最终样品厚度。

[0446] 在一些实施例中,相对表面小于0.01%,0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于30%。,小于50%,小于70%,小于80%,小于100%或这些值中的任意两个之间的范围。

[0447] 板面平行度。在一些实施例中,板的两个表面彼此显著平行。在某些实施例中,板的两个表面不彼此平行。

[0448] 面板柔韧性.在一些实施例中,板在CROF过程的压缩下是柔性的。在一些实施例中,两个板在CROF过程的压缩下都是柔性的。在一些实施例中,在CROF过程的压缩下,一块板是刚性的而另一块板是柔性的。在一些实施例中,两个板都是刚性的。在一些实施例中,两个板都是柔性的,但是具有不同的柔性。

[0449] 面板的光学透明度.在一些实施例中,板是光学透明的。在一些实施例中,两个板都是光学透明的。在一些实施例中,板是光学透明的,而另一板是不透明的。在一些实施例中,两个板都是不透明的。在一些实施例中,两个板都是光学透明的,但是具有不同的光学透明性。板的光学透明度是指板的一部分或整个区域。

[0450] 表面润湿性能.在一些实施例中,板具可以浸润(即,接触角小于90度)样品,转移

液体或两者的内表面。在一些实施例中,两个板均具有浸润样品,转移液体或两者均润湿的内表面。具有相同或不同的浸润性。在一些实施例中,板具有浸润样品,转移液体或两者的内表面。另一个板的内表面不浸润(即接触角等于或大于90度)。板内表面的浸润是指板的一部分或整个区域。

[0451] 在一些实施例中,板的内表面具有其他纳米或微结构,以在CROF期间控制样品的横向流动。纳米或微结构包括但不限于通道,泵等。纳米和微结构也用于控制内表面的润湿性能。

[0452] 2.3间隔件

[0453] 间隔件的功能.在本发明中,间隔件被构造成具有以下功能和特性中的一种或任意组合:间隔件被构造成(1)与板一起控制样品的厚度或样品的相关体积(优选,厚度控制在相关区域内是精确的,或均匀的,或两者兼有);(2)允许样品在板表面上具有压缩的调节开流(CROF);(3)在给定的样品面积(体积)中不占用显著的表面积(体积);(4)减少或增加样品中颗粒或分析物沉降的影响;(5)改变和/或控制板的内表面的润湿性;(6)确定盘子的位置,大小比例和/或与盘子有关的信息,或者(7)进行以上任意组合。

[0454] 间隔件的结构和形状.为了实现期望的样品厚度减小和控制,在某些实施例中,将间隔件固定在其各自的板上。通常,间隔件可以具有任何形状,只要间隔件能够在CROF处理中调节样品厚度即可,但为了实现某些功能(例如更好的均匀性,按压的过冲程度等),优选使用某些形状。

[0455] 间隔件是单个间隔件或多个间隔件。(例如阵列)。多个间隔件的一些实施例是间隔件(例如,支柱)的阵列,其中间隔件之间的距离是周期性的或非周期性的,或者在板的某些区域中是周期性的或非周期性的,或者在板的不同区域中具有不同的距离。。

[0456] 间隔件有两种:开放式间隔件和封闭式间隔件。开放式间隔件是允许样品流过间隔件的间隔件(即,样品流过并通过间隔件。例如,柱子作为间隔件。),封闭的间隔件是阻止样品流动的间隔件。(即样品不能流过间隔件。例如,环形间隔件并且样品在环内)。两种类型的间隔件都使用它们的高度来调节封闭结构下的最终样品厚度。

[0457] 在一些实施例中,间隔件仅是开放间隔件。在一些实施例中,间隔件仅是封闭的间隔件。在一些实施例中,间隔件是开放式间隔件和封闭式间隔件的组合。

[0458] 术语“柱状间隔件”是指间隔件具有柱状形状,并且柱状形状是指具有高度和侧面形状的物体,该高度和侧面形状允许样品在压缩的开放流期间围绕其流动。

[0459] 在一些实施例中,柱状间隔件的横向形状是选自以下的组的形状:(i)圆形,椭圆形,矩形,三角形,多边形,环形,星形,字母形(例如,L形,C形-形,字母从A到Z),数字形(例如0、1、2、3、4,....到9之类的形状);(ii)组(i)中具有至少一个圆角的形状;(iii)组(i)的形状为锯齿形或粗糙边缘;(iv)(i),(ii)和(iii)的任何叠加。对于多个间隔件,不同的间隔件可以具有不同的横向形状和尺寸以及与相邻间隔件的不同距离。

[0460] 在一些实施例中,间隔件可以是和/或可以包括柱,柱,珠,球和/或其他合适的几何形状。间隔件的横向形状和尺寸(即,横向于相应的板表面)可以是任何东西,除了在一些实施例中,以下限制除外:(i)间隔件的几何形状不会在测量样品厚度时引起重大误差,并且体积;或(ii)间隔件的几何形状不会阻止样品在两板之间流出(即,它不是封闭形式的)。但是在一些实施例中,它们需要一些间隔件为封闭的间隔件以限制样品流动。

[0461] 在一些实施例中,间隔件的形状具有圆角。例如,矩形间隔件具有一个,几个或所有倒角的角(例如圆形而不是90度角)。圆角通常使间隔件的制造更容易,并且在某些情况下,对生物材料的损害也较小。

[0462] 支柱的侧壁在侧壁的不同部分可以是直的,弯曲的,倾斜的或不同的形状。在一些实施例中,间隔件是具有各种侧向形状,侧壁和柱高与柱的横向面积比的柱。

[0463] 在一个优选的实施例中,间隔件具有用于允许开放流动的支柱形状。

[0464] 间隔件的材料.在本发明中,间隔件通常由能够用于与两个板一起调节样品的相关体积的厚度的任何材料制成。在一些实施例中,用于间隔件的材料不同于用于板的材料。在一些实施例中,用于空间的材料至少与用于至少一个板的材料的一部分相同。

[0465] 间隔件由单一材料,复合材料,多种材料,多层材料,合金或其组合制成。用于间隔件的每种材料是无机材料,有机材料或混合物,其中材料的示例在Mat-1和Mat-2的段落中给出。在优选的实施方式中,间隔件由与CROF中使用的板相同的材料制成。

[0466] 间隔件的机械强度和柔韧性.在一些实施例中,间隔件的机械强度足够强,以使得在压缩期间以及在板的闭合构型下,间隔件的高度与板处于开放构型时的高度相同或明显相同。在一些实施例中,可以表征和预定间隔件在开放构型和闭合构型之间的差异。

[0467] 间隔件的材料是刚性的,柔性的或两者之间的任何柔性。刚性相对于使板进入闭合构型所用的施加压力:如果空间在压力下变形的高度不超过其高度的1%,则将隔离材料视为刚性,否则视为柔性。当间隔件由柔性材料制成时,仍可以根据间隔件的压力和机械性能来预先确定处于闭合配置的最终样品厚度。

[0468] 样品内的间隔件.为了实现期望的样品厚度减小和控制,特别是为了获得良好的样品厚度均匀性,在某些实施例中,将间隔件放置在样品内部或样品的相关体积内。在一些实施方案中,样品或样品的相关体积内有一个或多个间隔件,间隔件之间具有适当的间隔。在某些实施方案中,至少一个间隔件在样品内部,至少两个间隔件在样品内部或样品的相关体积,或至少“n”个间隔件在样品内部或样品的相关体积中,其中“n”可由CROF期间的样品厚度均匀性或所需的样品流动性决定。

[0469] 间隔件高度.在一些实施例中,所有间隔件具有相同的预定高度。在一些实施例中,间隔件具有不同的预定高度。在一些实施例中,间隔件可分为组或区域,其中每个组或区域具有其自己的间隔件高度。并且在某些实施例中,间隔件的预定高度是间隔件的平均高度。在一些实施例中,间隔件具有大约相同的高度。在一些实施例中,一定数量的间隔件具有相同的高度。

[0470] 间隔件的高度由所需的规定最终样品厚度和残留样品厚度选择。间隔件高度(预定间隔件高度)和/或样品厚度为3纳米以下,

[0471] 10纳米以下,50纳米以下,100纳米以下,200纳米以下,500纳米以下,800纳米以下,1000纳米以下,1微米以下,2微米以下,3微米以下,5微米以下,10微米以下,20微米以下,30微米以下,50微米以下,100微米以下,150微米以下,200微米以下,300微米以下,500微米以下,800微米以下,1毫米以下,2毫米以下,4毫米以下,或者任意两个值之间的范围。

[0472] 间隔件高度和/或样品厚度在一个优选实施方案中为1纳米至100纳米,在另一优选实施方案中为100纳米至500纳米,在单独的优选实施方案中为500纳米至1000纳米,1微米(即1000纳米)至2微米,在另一个优选实施例中为2微米至3微米,在另一个优选实施例中

为3微米至5微米,在另一个优选实施例中为5微米至10微米,在另一个优选实施例中为10微米至50微米,在单独的优选实施方案中为100微米至100微米。

[0473] 在一些实施方案中,间隔件高度和/或样品厚度(i)等于或略大于分析物的最小尺寸,或(ii)等于或略大于分析物的最大尺寸。“稍大”表示它大约大1%至5%,并且介于两个值之间的任何数字。

[0474] 在一些实施例中,间隔件高度和/或样品厚度大于分析物的最小尺寸(例如,分析物具有各向异性的形状),但是小于分析物的最大尺寸。

[0475] 例如,红细胞具有最小尺寸为2微米(盘厚度)且最大尺寸为11微米(盘直径)的盘状。在本发明的一个实施例中,选择间隔件以使板在相关区域中的内表面间距在一个实施例中为2微米(等于最小尺寸),在另一实施例中为2.2微米,或在另一实施例中为3微米(该尺寸大于最小尺寸的50%),但小于红细胞的最大尺寸。这样的实施方案在血细胞计数方面具有某些优点。在一个实施方案中,对于红细胞计数,通过使内表面间距为2或3微米,并且使两个值之间具有任何数字,将未稀释的全血样品平均限制在每个红细胞(RBC)的间距内不会与其他细胞重叠,从而可以在视觉上准确计数红细胞。(RBC之间的重叠过多会导致计数上的严重错误)。

[0476] 在本发明中,在一些实施例中,当板处于关闭状态时,它使用板和间隔件不仅调节样品的厚度,而且调节样品中分析物/实体的取向和/或表面密度/实体。构型。当板处于闭合配置时,样品的厚度越薄,单位表面积的分析物/实体就越少(即表面浓度越小)。

[0477] 间隔件的横向尺寸.对于开放式间隔件,其横向尺寸可以通过x和y的两个正交方向的横向尺寸(有时称为宽度)来表征。的在每个方向上的间隔的横向尺寸是相同的或不同的。在某些实施例中,每个方向(x或y)的横向尺寸是…在一些实施例中,x与y方向的横向尺寸之比为1、1.5、2、5、10、100、500、1000、10,000,或该值中任意两个之间的范围。在一些实施方案中,使用不同的比例来调节样品的流动方向;例如,比率越大,流动就沿着一个方向(尺寸方向越大)。

[0478] 在一些实施例中,间隔件在x和y方向上的不同横向尺寸被用作(a)使用间隔件作为比例标记以指示板的方向,(b)使用间隔件在a中产生更多的样品流。首选方向,或两者兼而有之。

[0479] 在优选实施例中,周期,宽度和高度。

[0480] 在一些实施例中,所有间隔件具有相同的形状和尺寸。在一些实施例中,每个间隔件具有不同的横向尺寸。

[0481] 对于封闭的间隔件,在一些实施例中,基于要被封闭的间隔件封闭的样品的总体积

[0482] 来选择内部横向形状和大小,其中,在本公开中已经描述了体积大小;在某些实施例中,外部的形状和尺寸是根据所需的强度来选择的,以支持液体对着间隔件的压力和压板的压缩压力。

[0483] 高度与柱状间隔件的平均横向尺寸之比.

[0484] 在某些实施例中,柱间隔件的高度与平均横向尺寸的纵横比为100,000、10,000、1,000、100、10、1、0.1、0.01、0.001、0.0001、0.0001、00001,或任意两个值之间的范围。

[0485] 间隔件高度精度.间隔件的高度应精确控制。间隔件的相对精度(即,偏差与期望

的间隔件高度的比率)为0.001％以下,0.01％以下,0.1％以下。小于等于0.5％,小于等于1％,小于等于2％,小于等于5％,小于等于8％,小于等于10％,小于等于15％,小于等于20％,小于等于30％,小于等于40％,50％以下,60％以下,70％以下,80％以下,90％以下,99.9％以下,或者任意一个范围内。

[0486] 间隔件间距.间隔件可以是板上或样品的相关区域中的单个间隔件或多个间隔件。在一些实施例中,板上的间隔件以阵列形式配置和/或布置,并且该阵列是周期性的,非周期性的阵列或在板的某些位置是周期性的,而在其他位置是非周期性的。

[0487] 在一些实施例中,间隔件的周期性阵列具有正方形,矩形,三角形,六边形,多边形或它们的任何组合的格子,其中组合意味着板的不同位置具有不同的间隔件格子。

[0488] 在一些实施例中,间隔件阵列的间隔件间距离在阵列的至少一个方向上是周期性的(即,均匀的间隔件间距离)。在一些实施例中,间隔件之间的距离配置成在闭合配置下提高板间隔之间的均匀性。

[0489] 相邻间隔件之间的距离(即,间隔件之间的距离)为1微米或更小,5微米或更小,10微米或更小,20微米或更小,30微米或更小,40微米或更小,50微米或更小,60微米或以下,70微米或以下,80微米或以下,90微米或以下,100微米或以下,200微米或以下,300微米或以下,400微米或以下,或者介于两个值之间。

[0490] 在某些实施例中,间隔件距离为400纳米或更小,500纳米或更小,1毫米或更小,2毫米或更小,3毫米或更小,5毫米或更小,7毫米或更小,10毫米或更小或任何值之间的范围。在某些实施例中,间隔件之间的距离是10毫米或更小,20毫米或更小,30毫米或更小,50毫米或更小,70毫米或更小,100毫米或更小,或两个值之间的任何范围。

[0491] 在一些实施例中,选择相邻的间隔件之间的距离(即,间隔件之间的距离)以使得对于板和样品的给定特性,在板的闭合构型下,两个相邻的间隔件之间的样品厚度变化为,最大为0.5％,1％,5％,10％,20％,30％,50％,80％或两个值之间的任何范围;或在某些实施例中,至多80％,100％,200％,400％或任何两个值之间的范围。

[0492] 显然,为了在两个相邻的间隔件之间保持给定的样品厚度变化,当使用更柔性的板时,需要更近的间隔件间距。

[0493] -指定间隔件间隔距离的精度.

[0494] 在一个优选的实施方案中,所述间隔件是周期性的正方形阵列,其中所述间隔件是具有2至4微米的高度,5至20微米的平均横向尺寸以及1微米至100微米的间隔件间隔的柱。

[0495] 在一个优选的实施方案中,所述间隔件是周期性的正方形阵列,其中所述间隔件是具有2至4微米的高度,5至20微米的平均横向尺寸以及100至250微米的间隔件间隔的柱。

[0496] 在一个优选的实施方案中,间隔件是周期性的正方形阵列,其中间隔件是具有4至50微米的高度,5至20微米的平均横向尺寸和1至100微米的间隔件间隔的柱。

[0497] 在一个优选的实施方案中,间隔件是周期性的正方形阵列,其中间隔件是具有4至50微米的高度,5至20微米的平均横向尺寸以及100至250微米的间隔件间隔的柱。

[0498] 间隔件阵列的周期在一个优选实施方案中为1纳米至100纳米,在另一个优选实施方案中为100纳米至500纳米,在单独的优选实施方案中为500纳米至1000纳米,在另一个优选实施方案中为1微米(即1000纳米)至2微米。优选实施例,在单独的优选实施例中为2微米

至3微米,在另一个优选实施例中为3微米至5微米,在单独的优选实施例中为5微米至10微米,在另一个优选实施例中为10微米至50微米,50微米至100微米,在一个单独的优选实施方案中为100微米至175微米,在一个单独的优选实施方案中为175微米至300微米。

[0499] 间隔件密度.间隔件以大于1每平方微米,大于1每10平方微米,大于1每100平方微米,大于1每500平方微米,大于1每1000平方微米2,1每5000平方微米,1每0.01平方毫米,大于1每0.1平方毫米,大于1每1平方毫米,大于1每5平方毫米,大于1每10平方毫米,大于1每100平方毫米,大于1每1000平方毫米,大于1每10000平方毫米,的表面密度布置在各个板上,或这些值的任意两个之间的范围。

[0500] (3)间隔件被配置为在给定的样品面积(体积)中不占据显著的表面积(体积);

[0501] 间隔件体积与样品体积之比.在许多实施例中,间隔件体积(即,间隔件的体积)与样品体积(即,样品的体积)之比,和/或在容器的相关体积内的间隔件的体积之比。将样品控制到样品的相关体积以实现某些优势。优点包括但不限于样品厚度控制的均匀性,分析物的均匀性,样品流动特性(即流速,流动方向等)。

[0502] 在某些实施方案中,间隔件体积r)与样品体积的比率,和/或在样品的相关体积内的间隔件的体积与样品的相关体积的比率小于100%,最高99%,最高70%,最高50%,最高30%,最高10%,最高5%,最高3%最高1%,最高0.1%,最高0.01%,最多0.001%,或介于两个值之间的范围。

[0503] 间隔件固定在板上.间隔件之间的间隔距离和间隔件的取向,在本发明中起关键作用,优选在使板从开放构型到闭合构型的过程中得以保持,和/或优选在将板从开放构型变为闭合构型之前被预先确定。

[0504] 本发明的一些实施方式是在将板带到闭合构型之前,将间隔件固定在其中一个板上。术语“间隔件被固定在各自的板上”是指将间隔件附接到板上并且在使用该板期间保持附接。“间隔件被固定在各自的板上”的示例是,间隔件由板的一片材料整体地制成,并且间隔件相对于板表面的位置不变。“间隔件未与其各自的板固定”的示例是,间隔件通过粘合剂粘合到板上,但是在使用板时,粘合剂无法将间隔件保持在板表面上的原始位置(也就是说,间隔件从其在板表面上的原始位置移开。

[0505] 在一些实施例中,至少一个间隔件固定到其相应的板上。在某些实施例中,两个间隔件固定在其各自的板上。在某些实施例中,大多数间隔件用它们各自的板固定。在某些实施例中,所有间隔件都用它们各自的板固定。

[0506] 在一些实施例中,间隔件整体地固定到板上。

[0507] 在一些实施例中,间隔件通过以下方法和/或构造中的一种或任意组合固定到其各自的板上:附接到,结合,融合,压印和蚀刻。

[0508] 术语“压印”是指通过将一块材料压印(即压花)以在板表面上形成间隔件来将间隔件和板整体固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0509] 术语“蚀刻的”是指通过蚀刻一片材料以在板表面上形成间隔件而将间隔件和板整体地固定。该材料可以是材料的单层或材料的多层。

[0510] 术语“熔融至”是指通过将间隔件和板粘合在一起而将间隔件和板整体固定,用于间隔件和板的原始材料彼此融合,并且在之后两种材料之间存在清晰的材料边界融合。

[0511] 术语“结合至”是指通过通过粘接将间隔件和板结合而将间隔件和板整体地固定。

[0512] 术语“附接到”是指间隔件和板连接在一起。

[0513] 在一些实施例中,间隔件和板由相同的材料制成。在其他实施例中,间隔件和板由不同的材料制成。在另一实施例中,间隔件和板形成为一体。在另一实施例中,间隔件的一端固定到其相应的板上,而该端是敞开的,以容纳两个板的不同构造。

[0514] 在其他实施例中,每个间隔件独立地是附接到,结合到,融合到,压印在相应板中以及在相应板中蚀刻中的至少一个。术语“独立地”是指一个间隔件通过相同或不同的方法固定在其各自的板上,该方法选自附接到,粘结,融合,压印和蚀刻在各自的板上的方法。

[0515] 在一些实施例中,至少两个间隔件之间的距离是预定的(“预定的间隔件间距离”是指当用户使用板时该距离是已知的)。

[0516] 在本文描述的所有方法和设备的一些实施例中,除了固定间隔件之外,还存在其他间隔件。

[0517] 特定样品厚度.在本发明中,观察到可以通过使用较小的板间距(对于给定的样品面积)或较大的样品面积(对于给定的样品)来实现较大的板保持力(即,将两个板保持在一起的力)。板间距),或两者兼而有之。

[0518] 在一些实施例中,至少一个板在包围相关区域的区域中是透明的,每个板具有配置成在闭合构型中接触样品的内表面;板的内表面在闭合构型下基本彼此平行。板的内表面基本上是平面的,除了具有间隔件的位置。或其任何组合。

[0519] 2.4最终样品的厚度和均匀度

[0520] 在一些实施方案中,相对于最终样品厚度确定显著平坦,并且取决于实施方案和应用,其与样品厚度的比率小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%或小于10%,或这些值中任意两个之间的范围。

[0521] 在一些实施例中,相对于样品厚度的平坦度可以小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于50%,或小于100%,或这些值中任意两个之间的范围。

[0522] 在一些实施例中,显着平坦可以表示表面平坦度变化本身(从平均厚度测量)小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%或小于10%,或介于这些值中的任何两个之间。通常,相对于板厚度的平坦度可以小于0.1%,小于0.5%,小于1%,小于2%,小于5%,小于10%,小于20%,小于50%,或小于100%,或这些值中任意两个之间的范围。

[0523] 2.5间隔件的制造方法.

[0524] 可以使用光刻,蚀刻,压纹(纳米压印),沉积,剥离,熔合或其组合,以各种方式将间隔件制造在板上。在一些实施例中,间隔件直接压印或压印在板上。在一些实施例中,间隔件被压印到沉积在板上的材料(例如塑料)中。在某些实施例中,通过直接压印CROF板的表面来制造间隔件。纳米压印可以通过使用辊式压印机的卷对卷技术完成,或者卷成平面的纳米压印。这种方法具有很大的经济优势,因此降低了成本。

[0525] 在一些实施例中,间隔件沉积在板上。沉积可以是蒸发,粘贴或剥离。在粘贴过程中,首先将间隔件制作在载体上,然后将间隔件从载体转移到板上。在提起中,首先将可除去的材料沉积在板上,然后在该材料中产生孔;孔底部暴露板表面,然后将隔离材料沉积到孔中,然后移除可移除材料,仅将间隔件保留在板表面上。在一些实施例中,沉积在板上的间隔件与板融合。在一些实施例中,间隔件和板在单个过程中制造。单个过程包括压印(即

压花,模制)或合成。

[0526] 在一些实施例中,间隔件中的至少两个通过不同的制造方法固定到相应的板上,并且可选地,其中不同的制造方法包括沉积,结合,熔断,压印和蚀刻中的至少一种。

[0527] 在一些实施例中,通过结合,融合,压印或蚀刻或其任何组合的制造方法将一个或多个间隔件固定到相应的板。

[0528] 在一些实施例中,用于在板上形成这种整体式间隔件的制造方法包括被结合,被熔合,被压印或被蚀刻或其任何组合的方法。

[0529] 2.6刻度标记

[0530] 术语“刻度标记”是指能够辅助定量(即尺寸测量)或控制样品的相关面积和/或相对体积的尺度标记。在一些实施例中,刻度标记在第一板或第二板上,在两个板上,在该板的一个表面上,在该板的两个表面上,在这些板之间,在该板附近,或其任何组合。在一些实施例中,刻度标记被固定在第一板或第二板上,在两个板上,在板的一个表面上,在板的两个表面上,在板之间,在板附近,或以下各项的任意组合。在一些实施例中,刻度标记被放置在第一板或第二板上,在两个板上,在板的一个表面上,在板的两个表面上,在板之间,在板附近,或以下的任何组合:其在一些实施例中,一些间隔件是固定的,并且一些间隔件是放置上去的。

[0531] 在一些实施例中,比例标记是蚀刻的比例标记,沉积的材料或印刷的材料。在某些实施例中,吸收光,反射光,发射光或其任何组合的材料。

[0532] 在一些实施例中,比例标记是具有已知尺寸和/或已知间隔距离的一个或多个对象。对象的示例包括但不限于矩形,圆柱体或圆形。

[0533] 在一些实施例中,比例标记的尺寸在纳米(nm),微米(微米)或毫米(mm)的范围内或其他尺寸。

[0534] 在一些实施例中,比例标记是标尺,其具有被配置为测量对象的尺寸的比例比例标记。在一些实施例中,比例标记的尺寸为纳米(nm),微米(微米)或毫米(mm)或其他尺寸。在一些实施例中,比例尺标记是蚀刻的比例尺标记,沉积的材料或印刷的材料。在一些实施例中,用于刻度标记的材料是吸收光,反射光,散射光,干涉光,衍射光,发射光或其任何组合的材料。

[0535] 在一些实施例中,制造者是间隔件,其具有“调节样品厚度”和“提供刻度标记和/或尺寸缩放”的双重功能。例如,具有已知尺寸的矩形间隔件或具有已知间隔距离的两个间隔件可用于测量与围绕一个或多个间隔件的样品有关的尺寸。根据测得的样品尺寸,可以计算出样品相关体积的体积。

[0536] 在一些实施例中,比例标记被配置为至少部分地限定样品的相关体积的边界。

[0537] 在一些实施例中,比例标记中的至少一个被配置为具有与样本的相关体积的横向区域的平面平行的已知尺寸。

[0538] 在一些实施例中,至少一对比例标记以与侧向区域的平面平行的已知距离分开。

[0539] 在一些实施例中,比例标记被配置用于光学检测。

[0540] 在一些实施例中,每个比例标记独立地是光吸收,光反射,光散射,光衍射和发光中的至少一种。

[0541] 在一些实施例中,比例标记以已知的横向间隔以规则阵列布置。

[0542] 在一些实施例中,每个比例标记独立地具有为正方形,矩形,多边形和圆形中至少之一的横向轮廓。

[0543] 在一些实施例中,比例尺标记中的至少一个附接到,结合,融合,压印在其中一个板上并在其中蚀刻。

[0544] 在一些实施例中,比例标记中的至少一个是间隔件之一。

[0545] 在一些实施方案中,一些间隔件还起到比例标记的作用,以量化样品的相关体积。

[0546] 在某些实施方案中,(固定分析物的)结合位点,贮存位点等用作比例标记。在一个实施例中,具有已知横向尺寸的部位与光相互作用,产生可检测到的信号,该信号实现了该部位的已知横向尺寸,从而用作比例标记。

[0547] 在另一个实施方案中,在CROF过程之前预先确定位点的尺寸,并且当板处于闭合构型时,位于位点上的样品部分的厚度显著小于位点的横向平均尺寸,然后通过控制孵育时间,使孵育后(1)与结合位点结合的大部分分析物/实体来自位于结合位点顶部的样品体积,或(2)大多数混合(扩散)到结合位点顶部的样品体积中的试剂来自存储位点。在这些情况下,样品与结合或试剂混合的相关体积为大约等于预定部位的体积乘以该部位的样品厚度的体积。这样做的一个关键原因是,对于给定的孵育时间,相关体积之外的样品体积中的分析物/实体没有足够的时间扩散到结合位点,或者存储位点上的试剂没有有足够的时间扩散到相关体积之外的样品体积中。

[0548] 举例说明通过使用已知尺寸的位点并限制孵育时间来测量和/或控制相关面积和体积的方法的示例是,测定的结合位点(即具有捕获剂的面积)为1,000×1000微米。在CROF处理的第一块板上放置(其表面大于结合位点);在平板的闭合配置下,带有分析物的样品位于结合位点上方,厚度约为20微米(在结合位点区域),且面积大于结合位点,并孵育等于靶标的时间分析物/实体在整个样品厚度上的扩散时间。在这种情况下,大多数与结合位点结合的分析物/实体来自位于结合位点顶部的样品体积,即1,000微米×1000微米×20微米=0.02p,因为距离结合位点20微米的样品部分没有时间扩散到结合位点(统计上)。在这种情况下,如果在孵育后测量了由于结合位点捕获的分析物/实体引起的信号,则可以根据相关区域和相关体积信息(由所述结合位点提供)确定所述相关区域和相关体积的样品中的分析物/实体浓度。通过结合位点捕获的分析物数量除以相关体积来量化分析物浓度。

[0549] 在一些实施方案中,相关体积大约等于结合位点面积乘以样品厚度,并且样品中的目标分析物浓度大约等于由结合位点捕获的分析物的数量除以相关样品量。结合位点尺寸与样品厚度之比越大,目标分析物体积定量方法的准确性越好(假设孵育时间约为样品厚度范围内目标分析物在样品中的扩散时间)。

[0550] CROF中的扩散时间。在本发明中,在通过两块板展开样品的所有段落的方法和设备中,以闭合构型将样品展开至最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒,100秒,150秒,200秒,300秒,500秒,1000秒或任意两个值之间的范围。

[0551] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和设备中,在优选实施例中,以闭合构型将样品散布到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒,100秒,150秒或任意两个值之间的范围。

[0552] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和设备中,在优选实施例中,以闭合构

型将样品散布到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒,60秒,90秒或任意两个值之间的范围。

[0553] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和设备中,在优选实施例中,以闭合构型将样品散布到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒,20秒,30秒或任意两个值之间的范围。

[0554] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和设备中,在优选实施例中,以闭合构型将样品散布到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒,5秒,10秒或任意两个值之间的范围。

[0555] 在通过两块板散布样品的所有段落的方法和设备中,在优选实施例中,以闭合构型将样品散布到最终厚度的时间为0.001秒或更短,0.01秒,0.1秒,1秒,3秒或任意两个值之间的范围。

[0556] 在第3节中描述的实施例及其任何组合在本发明的整个说明书中适用于其他实施例(即与之组合)。

[0557] 在一个优选的实施方式中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),将间隔件整体地形成在X板上,并由相同的材料制成。

[0558] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,并且X-Plate的厚度为50微米至500微米。

[0559] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,并且X-Plate的厚度为50微米至250微米。

[0560] 在一优选实施例中,间隔件是在X板上单片制造的,并由相同的材料制成,并且X板的厚度为50微米至500微米。

[0561] 在一个优选的实施方式中,间隔件是使用模具在X-平板上单片地制造塑料薄膜,并由相同的材料制成,并且X-平板的厚度为50微米至250微米。

[0562] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)或PS(聚苯乙烯)。

[0563] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)或PS(聚苯乙烯),且X-Plate的厚度为50微米至500微米。

[0564] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)或PS(聚苯乙烯),且X-Plate的厚度为50微米至250微米。

[0565] 在一个优选的实施方案中,通过使用模具对塑料薄膜进行压花(例如,纳米压印),在X-板上整体地形成间隔件,并且由相同的材料制成,其中塑料膜是PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)或PS(聚苯乙烯),并且间隔件具有正方形或矩形形状,并且具有相同的间隔件高度。

[0566] 在一优选实施例中,间隔件具有正方形或矩形形状(具有或不具有圆角)。

[0567] 在一个优选的实施例中,间隔件具有正方形或矩形的柱,柱的宽度(在每个横向方

向上的间隔件宽度)在1微米至200微米之间。支柱周期(即间隔件周期)为2微米-2000微米,支柱高度(即间隔件高度)为1微米-100微米。

[0568] 在一个优选的实施方式中,由PMMA或PS制成的间隔件具有正方形或矩形的支柱,该支柱的宽度(在每个横向方向上的间隔件宽度)在1微米至200微米之间。支柱周期(即间隔件周期)为2微米-2000微米,支柱高度(即间隔件高度)为1微米-100微米。

[0569] 在一个优选的实施例中,间隔件是单片地在X-平板上制成的,并且是由塑料制成的,并且间隔件具有正方形或矩形的柱,柱的宽度(在每个横向方向上的间隔件的宽度)在1微米至200微米之间。支柱周期(即间隔件周期)为2微米-2000微米,支柱高度(即间隔件高度)为1微米-100微米。

[0570] 在一个优选的实施方式中,所述间隔件是在X-平板上单片制造的,并且由相同的材料制成,并且所述间隔件具有正方形或矩形的支柱,所述支柱的宽度(在每个横向方向上的间隔件宽度)在1微米至200微米之间。支柱周期(即间隔件周期)为2微米至2000微米,支柱高度(即间隔件高度)为1微米至10微米。

[0571] 在一个优选的实施方式中,间隔件在X-板上整体地制造,并且由选自PS或PMMA或其他塑料的相同材料制成,并且间隔件具有正方形或矩形的柱,柱的宽度(在每个横向方向上的间隔件的宽度))在1微米至200微米之间;支柱周期(即间隔件周期)为2微米至2000微米,支柱高度(即间隔件高度)为10微米至50微米。

[0572] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X-板,另一个板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在10微米至250微米的范围内。其中隔板固定在X板上,隔板和隔板可以具有相同的材料或不同的材料,并由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯),PS(聚苯乙烯)或具有与PMMA相似的机械性能的材料制成或PS。

[0573] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X-板,另一板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在250微米至500微米的范围内。其中隔板固定在X板上,隔板和隔板可以具有相同的材料或不同的材料,并由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯),PS(聚苯乙烯)或具有与PMMA相似的机械性能的材料制成或PS。

[0574] 在CROF装置的一个优选实施例中,一个板是X-板,另一个板是平面薄膜,其中至少一个板的厚度在10微米至250微米的范围内。其中间隔件固定在X板上,并且是正方形或矩形的柱状阵列,柱状宽度(在每个横向方向上的间隔件宽度)在1微米至200微米之间;柱周期(即间隔件周期)为2微米至2000微米,柱高(即间隔件高度)为1微米至100微米,其中板和间隔件可以具有相同的材料或不同的材料,并由PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)制成,PS(聚苯乙烯)或具有与PMMA或PS相似的机械性能的材料。

[0575] 上段中的“相似”表示机械性能差异在60%以内。

[0576] 护环.一些实施例具有保护环,以防止样品流出板表面。保护环的一些实施例是围绕样品区域的封闭壁。壁的高度等于间隔件高度或不同于间隔件高度。壁可以与样品测量区域相距很大的距离。

[0577] CROF处理中的可移动板可包括和/或可连接至铰链,平台或一些其他定位系统,该铰链,平台或其他定位系统构造成在开放构型和闭合构型之间转换所述板。可动板可以一种或多种接头的方式联接在一起,只要留下至少一个接头和/或至少一个接头,就可以留下一个开口以进入板之间的空间(例如,插入和/或取出样品)。板之一足够柔韧性以实现所述

的打开和关闭构造。膜泵不被视为活动板。

[0578] 3.均匀的板间距和样品厚度(U)

[0579] 在CROF处理的许多应用中,改善板间隔的均匀性并且因此改善在闭合构型下的样品厚度的均匀性是有益的,特别是当间隔为微米和/或纳米级时。良好的均匀性可以改善测定法的一致性。本发明提供了改善均匀性的手段。

[0580] 可以降低CROF中的板间隔的均匀性的因素包括(a)板的局部弯曲,(b)板的内表面的非平坦度,以及(c)灰尘。最终板间距越小,这些因素的影响变得越坏。

[0581] 为了改善板间隔(因此样品厚度)的均匀性,本发明利用对于板的某些设计(机械强度,厚度等),间隔件尺寸,间隔件数量,间隔件布局,间隔件间距,间隔件高度的精度,以及其他因素来克服导致不均匀性的因素。

[0582] 3.1使用间隔距离,以实现柔性板的均匀样品厚度

[0583] 在一些应用中,CROF板中的一个或两个是柔性的是有益的。然而,如图5(a)所示,对于柔性板(例如塑料薄膜),如果间隔件间距离太大,则在CROF过程期间,板的柔性可导致板在两个相邻间隔件之间的位置处局部弯曲(例如,下垂,即向内弯曲),导致较差的样品厚度均匀性。较差的样品厚度均匀性具有许多缺点,例如在确定样品体积和/或分析物浓度时的大误差,温育时间的偏差等。

[0584] 本发明的一个实施例提供了一种通过使用适当的间隔件间距离来减小局部弯曲并因此减小最终样本厚度偏差的解决方案。如图5所示,CROF装置包括一个具有平坦样品表面的刚性板和一个柔性板,如果间隔件间距离太大,则两个相邻间隔件之间具有局部弯曲(如图5(a))。为了减少局部弯曲,间隔件间距离设置为等于或小于柔性板的临界弯曲跨度(图5(b))。当两个板是柔性的时,间隔件间距离应小于两个板的临界弯曲跨度中的最小值。

[0585] U1.一种使用两个板均匀地调节样品的相关体积的厚度的方法,包括:

[0586] (a)获得样品,其中所述样品的相关体积的厚度需要被调节;

[0587] (b)获得能够相对于彼此移动成不同构型的两个板;其中一个或两个板是柔性的;并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定于相应的板上;

[0588] (c)当所述两板构型成开放构型时,将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;其中所述开放构型是这样的构型,其中所述两个板或者部分地或完全地分开,并且所述板之间的间隔不受所述间隔件调节;

[0589] (d)在(c)之后,通过使所述板进入闭合构型来铺展所述样品,其中在所述闭合构型中:所述板彼此面对,所述间隔件和所述样品的相关体积在所述两板之间,样品的相关体积的厚度由两板和间隔件调节;

[0590] 其中对于给定的两板,所述间隔件被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在给定面积上的偏差小于一个预定值;其中所述相关体积是所述样品的一部分或全部体积。

[0591] 在段落U1的方法中,间隔件的配置包括选择适当的间隔件间距离。在一些实施例中,选择间隔件间距离,以使得对于允许的样本厚度偏差,对于给定的两个板和按压方法,两个板在按压方法下的弯曲等于或小于允许的样本厚度偏差。处于闭合构型下的受调节的样品厚度可以比样品当板处于开放构型时的最大厚度薄。

[0592] U2.一种用于调节样品的相关体积的厚度的装置,包括:

[0593] 第一板和第二板,其可相对于彼此移动成不同的构型;

[0594] 其中所述板中的一个或两个是柔性的,并且其中所述板中的一个或两个包括间隔件,所述间隔件具有预定的间隔件间距离和高度,并且每个所述间隔件固定与其相应的板上;

[0595] 其中所述构型之一是开放构型,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;

[0596] 其中所述构型中的另一个是闭合构型,其在所述在所述开放构型中样品沉积之后构型;并且在闭合构型中:两板彼此面对,间隔件和样本的相关体积位于两板之间,样本的相关体积的厚度由两板和间隔件调节;

[0597] 其中对于给定的板,所述间隔件被配置为使得所述样品的相关体积的厚度在小于预定值的面积上具有厚度偏差;其中所述相关体积是所述样品的一部分或全部体积。

[0598] 在段落U2的装置中,间隔件的构型包括选择适当的间隔件间距离。在一些实施例中,选择间隔件间距离,以使得对于允许的样本厚度偏差,对于给定的两个板和按压方法,两个板在按压方法下的弯曲等于或小于允许的样本厚度偏差。处于闭合构型下的受调节的样品厚度可以比样品当板处于开放构型时的最大厚度薄。

[0599] 一些实施例中,小的间隔件间距离还允许通过使间隔件间距离小于两个间隔件之间的板的弯曲来使用柔性薄膜(例如100μm厚的塑料薄膜)。

[0600] 在一些实施例中,为了在闭合构型下的大面积上具有均匀的样品厚度,对于柔性板的给定的允许的最大弯曲,间隔件间距离与板的临界弯曲跨度的比率为至多0.001%,在最多0.001%,最多0.001%,最多0.01%,最多0.1%,最多1%,最多10%,最多20%,最多50%,最多70%,最多100%在任意两个值之间的范围。

[0601] 3.2使用柔性板和间隔件消除CROF中灰尘的影响

[0602] 在CROF处理中需要克服的一个问题是厚度大于间隔件高度的灰尘会破坏间隔件的调节以实现预期的最终板间隔(也就是样品最终厚度)(如图6(a)所示)。当使用两个刚性板时,一个这样的灰尘会破坏整个区域板上的间隔件调节。

[0603] 本发明的某些实例通过使用适当的柔性板和间隔件间距来限制灰尘在小区域中的影响,同时允许小区域外的区域具有由间隔件设定(调节)的最终板间隔和样品厚度,以此来解决该问题。

[0604] 例如,图6(b)显示:为了克服灰尘的影响,使用一个适当的柔性板来限制灰尘区域,并且与具有固定间隔件的刚性板一起使用。图6(c)显示的是减小灰尘效应的另一实例,其中间隔件固定在柔性板上。显然,另一种解决方案则是使用两块柔性板。

[0605] 可以从板材厚度和机械性质中选择板材柔性以使CROF处理中的灰尘的影响最小化。以下是一个优选实例。

[0606] U3.一种通过调节样品的相关体积厚度用于灰尘影响最小化的方法,包括:

[0607] (a)获得样品,该样品的相关体积厚度可根据需要进行调节;

[0608] (b)获得可以彼此移动并组合成不同构型的两块板材;其中的一个或两个板材都可以是柔性材料;并且其中的一个或两个可包含间隔件,该间隔件的间距和高度均可事先设定,并且上述间隔件都固定于相应的板材上;

[0609] (c)当上述两块板材组成开放构型时,将样品沉积在一块或两块板材上;前述的开

放构型,是指两个板块或者部分地或者完全分开,并且两块板之间的间隔不受间隔件调节;

[0610] (d)通过使上述板块进入闭合构型来铺展样品,所谓闭合构型是指:两块板材彼此相对,间隔件,样品,以及大于间隔件高度的灰尘都包含在两板之间,样品的厚度可通过两块板和间隔件进行调节;

[0611] 其中间隔件和两板的配置可使得灰尘的影响最小化;受灰尘影响的区域是指,灰尘阻止了间隔件调节两块板在闭合构型下的终极空间,与没有灰尘的情况相同;上述相关体积是所用样品的部分或全部体积。

[0612] U3部分描述的是使灰尘影响最小化的间隔件和板的构型,包括柔性板材的厚度及其机械性能的选择。

[0613] 在一些实例中,间隔件间距的选择,是对于在给定的两块板材和压缩状态下,两块板材的弯曲等于或小于可允许的样本厚度偏差。处于闭合构型下的样品厚度要比样品在处于开放构型时的最大厚度还要薄。

[0614] U4.一种通过调节样品的相关体积厚度使得灰尘影响最小化的装置,包括:

[0615] 第一块板和第二块板,彼此可相对移动组成不同的构型,并且每个板都有样品接触表,上述两个板块中的一个或两个均可选用柔性材料;

[0616] 在一个或两个板的样品接触表面上的间隔件,可事先设定间隔件间距和高度,并且上述间隔件固定在相应的板块上;

[0617] 构型之一是开放构型,即:所述两块板部分地或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,样品沉积在一个或两个板块上;

[0618] 另一个是闭合构型,是指在开放构型中样品沉积后的构型;在闭合构型中:两板彼此面对,间隔件,样本,以及厚度大于间隔件高度的一个或多个灰尘位于两板之间,样本的厚度可由两板和间隔件调节;

[0619] 其中间隔件和两块板的配置可使得两个板块之间的灰尘影响最小化;受灰尘影响的区域是指,其中灰尘防阻止了间隔件调节两块板在闭合构型下的终极空间,与没有灰尘的情况相同;上述相关体积是所用样品的部分或全部体积。

[0620] 3.3使用间隔件来减少表面平整度变化的影响

[0621] 实际上,板材的表面不可能完全平坦。如图7(a)所示所示,在CROF中,与所期望的样品厚度相比,表面平坦度变化可能显的很大,这可能在确定样品厚度时引起大的误差。随着CROF中的样品最终厚度变得非常薄(例如,以微米或纳米单位出现),表面平坦度变化可以越来越多地导致明显的误差。

[0622] 表面平坦度变化也可以通过板材的表面平坦度变化距离来表现,亦即从表面高度的局部最大值到相邻的局部最小值之间的距离(如图7(b)所示)。

[0623] 本发明提供了使用CROF处理在闭合构型下的样品最终厚度的变化小于在开放构型时存在于板块的样品表面上的表面平坦度变化的一种装置。本发明中用于实现样品最终厚度均匀的关键方法是使用柔性板材,适当的间隔件间距和适当的按压力(如图7(c)和(d)所示)。

[0624] 考虑到在CROF处理中使用一块刚性板和一块柔性板的情况,在开放构型下,刚性板的样品面具有良好的平坦度,但是柔性板的样品面具有显著的表面平坦度变化(即与预期的最终样品厚度相比差异显著),如图7(a)和(b)所示。本发明通过使用(i)小于初始表面

平坦度变化距离的间隔体间距来校正处于开放构型(例如,使平坦度变化更小)的样品面的初始平坦度变化;(ii)在闭合构型下样品和板块之间的适当的按压力和/或适当的毛细管力以使柔性板变形;和(iii)柔性板适度的柔韧性,使得在板块的最终构型下,柔性板的样品表面跟随刚性板的平坦表面轮廓而变形(图7(c))。此外,为了减少样品最终厚度的变化,间隔件间距也应当小于柔性板的临界弯曲跨度。

[0625] 上述校正表面平坦度变化的方法也适用于以下情况:(a)刚性板具有初始显著的样品表面平坦度变化,而柔性板具有平滑的样品表面,(b)柔性板和刚性板都具有显著的样品表面平坦度变化以及(c)两个板都是柔性的,并且一个或两个板的样本表面具有显著的表面平坦度变化(图7(d))。

[0626] U5.一种用于减少板块的表面平坦度变化对CROF处理中样品的相关体积的最终厚度均匀性的影响方法,包括:

[0627] (a)获得样品,该样品的相关体积厚度可根据需要调节;

[0628] (b)获得可以彼此移动并组成不同构型的两块板材;其中的一个或两个板可以是柔性材料;并且其中所述板中的一个或两个可包含间隔件,该间隔件的间距和高度均可事先设定,并且上述间隔件都固定于相应的板材上;

[0629] (c)当上述两板构成开放构型时,将所述样品沉积在所述板中的一个或两个上;所谓开放构型,是指两个板块部分或者完全分开,并且两板之间的间隔不受所述间隔件调节;

[0630] (d)通过使上述板块进入闭合构型来铺展样品,所谓闭合构型是指:两块板彼此相对,间隔件和样品在两板之间,样品的相关体积的厚度由两板和间隔件调节;

[0631] 其中,间隔件和板块配置可使得处于闭合构型下的样品的相关体积厚度变化小于处于开放构型下的板块的表面平坦度变化;其中相关体积是指样品的部分或全部体积。

[0632] U6.一种用于减小板块表面平坦度变化对样品相关体积厚度的均匀性影响的装置,包括:

[0633] 第一块板和第二块板,可彼此相对移动组成不同的构型,两块中的一个或两个都可以是柔性材料,并且任何一个或两个块板都具备表面平坦度变化;

[0634] 间隔件可固定于一个或两块板上,该间隔件具有预设高度;

[0635] 构型之一是开放构型,是指:所述两个板部分地或完全地分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,并且样品可在一个或两个板块上沉积;

[0636] 另一个构型是闭合构型,是指在开放构型中样品沉积之后的构型;闭合构型中:两板彼此面对,间隔件和样本位于两板之间,样本的相关体积厚度由两块板和间隔件予以调节;

[0637] 其中,间隔件和板块配置使得处于闭合构型下的样品相关体积的厚度变化小于处于开放构型下板块的表面平坦度变化;其中相关体积是指样品的一部分或全部体积;并且相关体积的平均尺寸大于开放构型下的板块的表面平坦度变化。

[0638] 在U5的方法部分和U6的装置部分中,用于减少板块表面平坦度变化对样品的相关体积的均匀性影响的间隔件和板块的构型包括使用适当的间隙间距(ISD)。一个优选实例是ISD等于或小于处于开放构型的板块的初始表面平坦度变化距离。

[0639] 在U5和U6部分的一些实施方案中,(1)间隔件在闭合构型下的样品内部,(2)间隔件固定于相应的板块上,(3)更短的间隔件间距,或(4)其中的任何组合。

[0640] 在U1至U6部分的方法和装置中,使得样品相关体积的厚度均匀的间隔件和板块的构型包括上述实施方案。在一些实例中,预定的间隔件距离被配置为其限制两板在两个间隔件之间的局部弯曲,其中相关体积是指样品的一部分或整个体积。

[0641] 这包括板块中的一个或两个是柔性材料和其它不同的柔韧性情况(例如100μμm厚的PMMA或PS)。

[0642] 在一个优选实施方案中,一块板是PMMA材质。其中,一个板(第一块板)是厚度为0.5至1.5mm厚的玻璃板,并且没有任何间隔件,而另一个板(第二块板)是175μm厚的PMMA膜,并且具有间隔件阵列,其中间隔件是具有圆角的矩形形状(x方向为40μm长,y方向上为30μm长)柱体,并且在x方向上的周期为120μm,在y方向上的周期为110μm(因此在x和y方向上的间隔均为80μm)。

[0643] 在第3部分的方法和装置中,处于闭合构型的样品内的间隔件,间隔件材料和板材的一些实施方案也包含在了第2部分当中。

[0644] 在段落U1-6的方法和装置描述的一些实例中,柱体宽度(或横向平均尺寸)与柱体高度的比率为≥0.01,或≥0.1,或≥1,或≥1.5,或≥2,或≥3,或≥5,或≥10,或≥50,或≥100,或者在任意两个数值之间的范围。

[0645] 在段落U1-6的方法和装置描述的优选实例中,柱体宽度(或横向平均尺寸)与体柱高度的比率为1,1.5,2,10,20,30,50,100或其中两个任意数值之间的范围。

[0646] 在段落U1-6的方法和装置部分的一些实例中,柱体周期与柱体宽度(或横向平均尺寸)的比率为1.01,1.1,1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,20,50,100,500,1000,10,000或其中的任意两个数值之间的范围。

[0647] 在段落U1-6的方法和装置部分的一个优选的实施方案中,柱体间距与柱体宽度(或横向平均尺寸)的比率为1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,20,30,或其中两个任意数值之间的范围。

[0648] 在段落U1-6的方法和装置部分的一个优选的实施方案中,柱体周期与柱体宽度(或横向平均尺寸)的比率为1.2,1.5,1.7,2,3,5,7,10,或其中两个任意数值之间的范围。

[0649] c)例如,在血细胞计数应用中,优选的X板柱体高度在1μm至5μm之间,柱体宽度在2μm至30μm之间,柱体周期在4μm至300μm之间。

[0650] d)例如,在免疫测定应用中,优选的X板柱高度在5μm至50μm之间,柱体宽度在10μm至250μm之间,柱体周期在20μm至2500μm之间。

[0651] 第3部分中描述的实例及其任何组合都可以应用于(即与之组合)本发明的整个说明书中的其他实例。

[0652] 在一些实例中,还使用其它因素来控制样品的厚度均匀性,这些因素包括但不限于样品面积,板材的机械性能,在闭合构型下的样品最终厚度和板块表面润湿度。

[0653] 以下是第1部分和其余本公开内容中的方法和装置的一些优选实例。

[0654] 在优选的实施方案中,间隔件是周期性方形阵列,其中间隔件具有2至4μm的高度,5至20μm的平均横向尺寸和1μm至100μm的间隔件间距的柱状体。

[0655] 在优选的实施方案中,间隔件是周期性方形阵列,其中间隔件是具有2至4μm的高度,5至20μm的平均横向尺寸和100μm至250的间隔件间距的柱状体。

[0656] 在优选的实施方案中,间隔件是周期性的方形阵列,其中间隔件是具有4至50μm的

高度,5至20μm的平均横向尺寸和1μm至100μm的间隔件间距的柱状体。

[0657] 在一个优选的实施方案中,间隔件是周期性方形阵列,其中间隔件是具有4至50μm的高度,5至20μm的平均横向尺寸和100μm至250的间隔件间距的柱状体。

[0658] 间隔件阵列的间距在一个优选实施方案中为1nm至100nm,在另一个优选实施方案中为100nm至500nm,在另一优选实施方案中为500nm至1000nm,在另一个优选实施方案中为1μm(即1000nm)至2μm在另一优选实施方案中为3μm至5μm,在另一优选实施方案中为5μm至10μm,在另一优选实施方案中为10μm至50μm,在另一优选实施方案中为10μm至100μm,在单独的优选实例中为100μm至175μm,在另一优选实例中为175μm至300μm。

[0659] 4样品和沉积

[0660] 在使用CROF处理的方法和装置的本发明中,通过几种方法或这些方法的组合来沉积样品。在样品沉积的一个实例中,样品仅沉积在一个板上。而在某些实施方案中,样品沉积在两个板(即第一和第二板)之间。

[0661] 当板块处于开放构型时,样品可被沉积。在一些实例中,第一板和第二板在样品沉积期间彼此可以很好地分离,使得样品容易沉积到一个板块上而不会妨碍另一个板块。例如,第一板和第二板可以距离很远,使得样品直接滴到第一板或第二板上,就好像另一块板不存在一样。在样品沉积的某些实施方案中,第一板和第二板在板的开口处彼此分开一定距离,然后将样品沉积在板上(例如通过横向流动或其他滴落方法)。在某些实例中,两块板在所有操作期间具有连接在一起的一侧(例如边缘)(图30),以及类似于打开和关闭书页的两个板块。

[0662] 样品的沉积可以是单滴或多滴。多滴可以在一个位置,或一个板或两个板的多个位置。液滴可以很好地彼此分离,连接或组合。

[0663] 在一些实例中,样品包括多于一种材料,并且材料可以一起或分开沉积。材料分别以平行或依序沉积。

[0664] 样品沉积到板块上(即第一板和第二板)可以使用装置或直接从受试者到板进行。在一些实施例中,使用装置来沉积样本。该装置包括但不限于移液器,针,棒,拭子,管,喷射器,液体分配器,尖端,棒,喷墨打印机,打印机,喷雾装置等。在某些实施方式中,样品通过直接接触样品源处的样品和CROF板,而不使用任何装置(即将样品和板放在一起以使两者接触)。这被称为“直接样品沉积”。

[0665] 将样品直接样品沉积到板上的例子是(a)刺入的手指(或其他身体部分)与板之间的直接接触,(b)将唾液吐出到板上,(c))通过泪液和板之间的直接接触在人眼中造成眼泪,(d)汗液和板之间的直接接触,以及(e)直接呼吸到板上,沉积呼吸等。这种直接沉积方法可以用于人类和动物。

[0666] 在一些实例中,使用直接和间接(通过装置)样品沉积。

[0667] 在本发明中,沉积在平板或平板上的样品的体积(“样品体积”)为至多0.001pL(皮升),至多0.01pL,至多0.1pL,至多1pL,至多10pL,至多100pL,最多为1nL(纳升),至多10nL,至多100nL,至多1uL(微升),至多10微升,至多100微升,至多1mL(毫升),至多10mL,或这些值中任意两个数值之间的范围。

[0668] 在一些实施方案中,样品的沉积包括以下步骤:(a)将样品放置在一个或两个板上,并且(b)使用除CROF处理中的第二板压缩以外的方式扩散样品。扩散样品的方法包括使

用其他装置(例如小棒,刀片等),吹气或其他装置。

[0669] 样品变形.

[0670] 在CROF处理期间,在一些实施例中,样品表现为近似不可压缩的液体(指的是在形状变形下保持恒定体积的液体),因此样品厚度的变化将导致样品区域的变化。在一些实例中,样品表现得像可压缩液体,但是其在CROF处理期间厚度减小时其横向面积仍然膨胀。在某些实施方案中,样品是液体,凝胶或软固体,只要在CROF过程中,它们的厚度减小时,它们的横向面积就会扩大。

[0671] 在所公开的本发明中,“面对第一板和第二板”是操纵第一板或第二板或两者的位置和取向的过程,使得样品位于第一板和第二板的内表面之间。在一些实例中,“面向第一板和第二板”的动作通过人的手指,具有某些设备的人手或其它自动设备来执行。

[0672] 在一些实例中,厚度至多为1毫米,最多100μm,最多20μm,最多10μm或至多2微米。在另一些实例中,厚度至少为0.1微米。在一些实施例中,还包括测量厚度。

[0673] 在一些实施方案中,样品的相关体积厚度的变化是至多300%,至多100%,至多30%,至多10%,至多3%,至多1%,至多0.3%或最多为有关区域有效直径的0.1%

[0674] 在一些实施例中,厚度至少可以由预定高度部分确定。

[0675] 5.分析物,实体,结合站点,存储位点和传输介质

[0676] 在本发明中,实体包括但不限于蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物,代谢物,细胞或纳米颗粒中的一种。

[0677] 在一些实施方案中,结合位点包括被配置成结合相应实体的结合配偶体。

[0678] 在一些实施方案中,结合位点包括与结合位点结合的实体。

[0679] 在一些实施方案中,放置样品包括将样品放置在结合位点内。

[0680] 在一些实施方案中,试剂包括至少一种蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物和代谢物。

[0681] 在某些实施方案中,存储位点包括干燥的试剂。

[0682] 在一些实施方案中,储存部位包括构型成在与样品接触时从储存部位释放的试剂。

[0683] 在一些实例中,第一存储站点和第二存储站点位于公共存储点中间。

[0684] 在一些实例中,转移介质是样品。在一些实施方案中,转移介质是液体,其中试剂或固体物质可以溶解并扩散到液体中。

[0685] 在一些实例中,测试板具有多个储存位点。在另一个实例中,一个储存位点具有多个试剂。

[0686] 不同的释放时间

[0687] 在一些实施方案中,板块的不同位置上具有多个储存位点或在一个储存位点储存多种试剂,并在与样品接触时释放试剂,但相同的储存位点或不同储存位点上的试剂释放时间不同。

[0688] 在一些实施方案中,第一试剂被配置成在第一平均释放时间内与样品接触时从第一储存位点释放,并且第二试剂被设置为在与第二储存位点接触后以第二储存位点释放平均释放时间,并且其中第一平均释放时间小于第二平均释放时间。

[0689] 在一些实施方案中,第一试剂被设置成在与样品接触时从第一储存位点释放,并

且其中第二试剂是结合的试剂。

[0690] 在一些实施方案中,沉积包括将至少一种试剂结合到相应的板块上。

[0691] 在一些实施例中,接触包括从相应板释放至少一种试剂。

[0692] 在一些实施方案中,沉积包括沉积第一试剂和第二试剂,并且其中接触包括在第二试剂之前释放第一试剂。

[0693] 在一些实施方案中,两块测试板中的至少一个包含储存位点,所述储存位点包括待添加至样品的相关体积的试剂。

[0694] 在一些实施方案中,其中所提到的试剂包括蛋白质,氨基酸,核酸,脂质,碳水化合物和代谢物中的至少一种。

[0695] 在一些实施方案中,储存位点包括干燥的试剂。

[0696] 在一些实施方案中,储存部位包括构型成在与样品接触时从储存部位释放的试剂。

[0697] 在一些实施方案中,所述储存位点是第一储存位点,并且所述试剂是第一试剂,其中所述装置包括第二储存位点,所述第二储存位点包括待添加到所述样品的相关容量中的第二试剂,其中所述第二储存位点在一个平板上。

[0698] 在一些实例中,第一存储站点和第二存储站点位于公共存储点中间。

[0699] 在一些实施方案中,第一试剂被设置成在第一平均释放时间内与样品接触时从第一储存位点释放,并且第二试剂被配置为在与第二储存位点接触后以第二储存位点释放平均释放时间,并且其中第一平均释放时间小于第二平均释放时间。

[0700] 在一些实施方案中,至少一种试剂在相应的测试板块上干燥。

[0701] 在试剂盒的一些实施方案中,至少一种试剂结合到相应的平板上。

[0702] 在试剂盒的一些实施方案中,至少一种试剂被设置为在与样品接触时从相应的板块中释放。

[0703] 在试剂盒的一些实施方案中,第一试剂位于一个或两个平板上,并且第二试剂位于平板中的一个或两个上,其中第一试剂设置为在与样品接触时从相应平板释放第一平均释放时间并且所述第二试剂被设置为在第二平均释放时间内与所述样品接触时从所述相应板释放,并且其中所述第一平均释放时间小于所述第二平均释放时间。

[0704] 在装置部分的一些操作方式中,储存位点指的是第一储存位点并且试剂是第一试剂,该装置还包括第二储存位点,该第二储存位点包括待添加到样品中的第二试剂,其中第二个存储站点位于其中的一个测试板上。

[0705] 6.本地结合或混合样的一部分(P)

[0706] 在某些应用中,需要有一个结合位点来捕获(即结合)分析物在一部分样品中,而不是在整个样品中。在一些情况下,也希望将试剂加入(即混合)到样品的端口中,而不是整个样品。通常期望该部分样品与样品的其它部分之间不存在流体分离。在某些复用检测中,这样的要求是优选或必需的。

[0707] 本发明通过使用CROF方法和装置将样品重新成形为超薄膜厚度的小于样品部分的横向尺寸的超薄膜来提供上述要求的解决方案,其中只有内部分析物那部分样品将被捕获,或者只有部分样本将与试剂混合。这种方法的工作原理是,当样品的厚度小于样品部分的横向尺寸时,通过表面捕获分析物或与放置在表面上的试剂的混合,可主要限于分析物

和试剂在厚度方向上的扩散,其中横向的扩散相对不明显。例如,如果样品重新成形为5μm厚的薄膜,若样品中应该捕获分析物或应该混合试剂的部分的横向尺寸为5mm×5mm,并且如果分析物或试剂在5微米上的扩散时间为10秒,则分析物或试剂在5毫米距离上的横向扩散为1,000,000秒(因为扩散时间与扩散距离的平方成比例)。这意味着通过选择样品的目标部分的横向尺寸与样本厚度的适当比例,在特定的时间间隔内,捕获的分析物主要来自目标样品部分,或者试剂主要混合到目标样品里。

[0708] 6.1样品的一部分中的实体与表面的局部结合(P:体积到表面)

[0709] P1.一种用于将样品的相关体积中的目标实体局部结合到表面结合位点上的方法,包括:

[0710] (i)执行段落X1的方法中的步骤(a)至(d),其中闭合构型的样品厚度明显小于结合位点的平均线性尺寸;并且其中相关体积是指当板块处于闭合构型时位于结合位点上的样品体积;

[0711] (ii)在(i)之后并且当板处于闭合构型时,可以:

[0712] (1)将样品温育一个相关的时间长度,然后停止温育;或

[0713] (2)将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内测定目标实体在结合位点的结合;

[0714] 其中所述相关的时间长度是:

[0715] i.等于或大于目标实体在闭合构型下穿过均匀厚度层所需的时间;和

[0716] ii.明显

[0717] 短于目标实体在结合位点的横向扩散需要的最短时间;

[0718] 其中在(1)中温育结束时或在(2)中测定期间,与结合位点结合的目标实体的大部分来自样品;

[0719] 其中温育允许目标实体结合所述结合位点,其中所述相关体积是指样品在处于闭合构型时结合位点上方的部分。

[0720] P2部分中的术语“样品的相关体积的厚度显著小于结合位点的最小平均尺寸”是指结合位点的最小平均尺寸与样品厚度的比率(称为“长度与厚度比”)至少为3,至少5,至少10,至少20,至少50,至少100,至少500,至少1,000,至少10,000,至少100,000或数值之间的任何范围。在优选的实施方案中,长度与厚度的比值至少为3,至少5,至少10,至少20,至少50,至少100,至少500或任意值之间的范围。

[0721] P2部分中的术语“明显短于目标实体在结合位点的最小横向尺寸上横向扩散的时间”意指横跨最小横向尺寸扩散的时间。结合位点的时间为整个样品厚度扩散(称为“长度与厚度的扩散时间比”)是至少3个,至少10个,至少50个,至少10个,至少100,至少1,000,至少10,000个,至少100,000,至少1,00,000或这些数值之间的任何范围。在优选的实施方案中,长度与厚度扩散时间比率为至少3,至少10,至少50,至少10,至少100,至少1,000,至少10,000,或这些数值之间的任何范围。

[0722] P2.一种用于将样品中的实体局部结合到表面结合位点的装置,包括:

[0723] 第一块板和第二块板,是指两块板能够相对于彼此移动组成不同的构型,

[0724] 其中第一板的表面上具有结合位点,该结合位点的面积小于块板的面积并且被设置为结合样品中的目标实体,其中目标实体能够在样品中扩散,并且其中一个或两个板块

均包括间隔件并且每个间隔件与其各自的板块固定并有设定高度;

[0725] 构型之一是开放构型,其中:两个板块部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,并且样品可以在一个或两个板块上沉积,

[0726] 另一个是闭合构型,是在开放构型中样品沉积之后的构型;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点和至少一部分样品位于两板之间,样品接触结合位点的至少一部分,样品的体积由板块和间隔件调节,当板块处于开放构型时比样品的最大厚度更薄,其中相关体积是位于结合位点上的样品的体积;

[0727] 其中选择间隔件高度以在闭合构型下调节相关体积的厚度至少比结合位点的平均线性尺寸小3倍。

[0728] 将样品相关体积的厚度调节为比结合位点的平均线性尺寸小3倍,使得实体在样品厚度上的扩散时间比在与样品厚度的平均线性尺寸相等的距离上的扩散时间小9倍结合位点。这种厚度调节使得有可能选择温育时间,使得温育导致(i)相关体积中的大量目标实体与结合位点结合,以及(ii)显著数目的目标实体与结合位点来自样品,其中温育是允许目标实体与结合位点相互作用的过程。

[0729] 例如,如果温育时间设定为等于实体在样品相关体积的厚度上的扩散时间,那么在温育之后,相关体积内的大部分实体已经达到并且按照速率方程进行约束,而相关体积之外的实体(即,温育之前)最初只能扩散到相关体积的外围(相对小的体积),并且这种体积变得不太重要,因为结合位点的平均线性尺寸与相关体积厚度之比变大。

[0730] 6.2储存在一块板表面上的结合体与另一板块表面结合位点局部联结(表面到表面)

[0731] P3.一种将存储在一个板块储存位点上的结合体局部绑定到另一个板上的结合位置的方法,包括:

[0732] (a)获得可彼此移动组成不同构型的两板,其中第一块板的表面具有结合部位;第二块板的表面具有包含与结合位点结合的实体的存储位点;其中结合位点的面积和试剂位点的面积小于各板的面积;且两板中的一个或两个包括间隔件,并且每个间隔件与其相应的板块固定并且具有设定高度;

[0733] (b)获得转印介质,其中所述实体能够溶解到转印介质中并扩散到转印介质中去;

[0734] (c)当两板组成开放构型时,沉积在一个或两个板上的转印介质;开放构型是两个板块部分或完全分开并且两板之间的间隔不被间隔件调节的构型;

[0735] (d)通过使两板进入闭合构型来展开转印介质,其中在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点,储存位点和转移的至少一部分介质在两板之间;储存位点的至少一部分与它们之间的一部分转印介质直接面对结合位点,并且转印介质的相关厚度由板块和间隔件调节,其厚度比两板处于开放构型时最大厚度还薄,并且明显小于相关体积在板块表面方向上的平均线性尺寸;

[0736] (e)当两板处于闭合构型时,温育一段时间后停止,其中选择孵育时间以使得与结合位点结合的显著数目的实体来自储存位点,其中的相关体积是位于结合位点上的转移介质的体积,并且温育是允许该实体结合至结合位点上去的过程。

[0737] 术语“至少储存位点的一个端口直接面对绑定位置”是指从该位置中的点到绑定位置的最短距离与闭合构型处的关联构型的相关容量的厚度相同。

[0738] P4.一种用于将存储在一个板的储存位点上的实体与另一个板上的相关绑定位置绑定的装置,包括:

[0739] 第一块板和第二块板,两板彼此移动可组成不同的构型,其中第一板的表面具有结合部位;并且第二板的表面具有包含与结合位点结合的实体的存储位点;其中结合位点的面积和存储位点的面积小于各自板块的面积;两板中的一个或两个包含间隔件,并且每个间隔件与其相应的板块固定并且高度已经确定;

[0740] 构型之一是开放构型,是指:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不被间隔件调节,并且转印介质沉积在一个或两个板块上,其中储存位点上的实体能够溶解并扩散到转印介质中,

[0741] 另一个构型是闭合构型,是传输介质沉积在开放构型之后的构型;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点,储存位点和至少一部分转印介质位于两板之间;储存位点的至少一部分与它们之间的一部分转印介质直接面对结合位点,转印介质的相关厚度由板块和间隔件来调节,并且比开放构型时样品最大厚度还薄;

[0742] 其中上述相关体积是指当测试板处于闭合构型时位于储存位点上的转移介质的体积;和

[0743] 其中间隔件高度以在闭合构型下调节相关体积的厚度至少比结合位点的平均线性尺寸小3倍。

[0744] 其中至少一个间隔件在样品接触区域内;

[0745] 以及间隔距离和高度皆已确定的间隔件。

[0746] 6.3一种将一个板块的多个储存位点上的实体结合到另一个板上的多个对应结合位点的方法

[0747] P5.一种用于将存储在一个板的多个储存位点上的实体局部地绑定到另一个板上的多个相应绑定位置的方法,包括:

[0748] (a)获得可彼此移动组成不同构型的两块板;其中第一块板的表面具有多个结合位点,第二板的表面具有多个相应的储存位点;其中每个对应的储存位点位于第二板上对应于结合位点的位置,因此,当两个板块面对面放置时,每个结合位点仅与一个储存位点重合;两板中的一个或两个板块都包含间隔件,并且每个间隔件与其相应的板固定并且高度也已确定;

[0749] (b)获得转移介质,其中储存位点上的实体能够溶解并扩散到转移介质中;

[0750] (c)当板构型成开放构型时,转印介质沉积在一个或两个板上;开放构型是其中两个板块部分或完全分开并且两板之间的间隔不被间隔件调节的构型;

[0751] (d)通过使两板进入闭合构型来扩散转印介质,其中在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合部位,存储部位和至少一部分转移介质位于两板之间,每个结合位点仅直接面对一个对应的存储位点,转移介质接触每个结合位点的至少一部分和每个存储位点的一部分,相应体积的转印介质由板块和间隔件调节,当板处于开放构型时比转印介质的最大厚度薄,并且明显小于结合位点的平均线性尺寸;(e)当两板处于闭合构型时,温育一段时间并停止,其中选择温育时间,使得与每个结合位点结合的显著数目的实体来自相应的储存器,其中相关体积是位于结合位点上的转移介质的体积,并且温育是允许实体结合到结合位点的过程。

[0752] 在一些实例中,间隔限于结合样本区域。

[0753] 在P5部分的一些实施方案中,转移介质是具有目标分析物的样品,结合位点包含捕获剂,并且存储位点中的实体是检测剂,其中目标分析物结合捕获剂和检测剂,形成捕获剂-分析物-检测剂三明治。P5部分的方法简化了分析步骤,并且通过使用更小的间隔件高度,可以减小样品厚度,缩短垂直扩散时间,从而缩短饱和分析时间,进而减少分析物和检测试剂的检测时间。

[0754] P6.一种将存储在一块板的多个储存位点上的成分局部绑定到另一块板上的多个相应的绑定位置的设备,包括:

[0755] 第一块板和第二块板,两板能够彼此移动组合成不同的构型;

[0756] 其中第一块板的表面具有多个结合位点,第二块板的表面具有多个相应的储存位点;其中每个储存位点位于第二板上对应于结合位点的位置,使得当两块板面对面放置时,每个结合位点仅与一个储存位点重迭;板块中的一个或两个均包含间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0757] 构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,板块之间的间隔不受间隔件调节,并且转递介质可沉积在一个或两个板块上,其中储存位点上的成分能够溶解并扩散到转递介质中,

[0758] 另一个构型是闭合构型,即转递介质沉积在开放构型之后的构型;在闭合的构型中:两个板彼此相对,间隔件,结合位点,储存位点和至少一部分转递介质位于两板之间,每个结合位点仅与一个对应的储存位点直接面对,转递介质接触至少一部分结合部位和每个存储部位的一部分,转递介质的一定厚度由板块和间隔件调节,并且比当板处于开放构型时的转递介质的最大厚度要薄;

[0759] 上述相关体积是指当两板处于闭合构型时位于储存位点上的转递介质的体积;

[0760] 其中设定的间隔件高度在闭合构型下调节一定容积的厚度,使其显著小于结合位点的平均线性尺寸。

[0761] 6.4将存储在板块表面上的试剂局部加入到样品的一部分(表面体积)

[0762] P7.一种将试剂局部添加到样品一定中的方法,包括:

[0763] (a)获得可彼此移动组合成不同质性的两块板,其中第一块板的其表面包含待加入到一定样品中的试剂的储存位点,该试剂能够溶解并扩散到样品中,并且储存位点的面积小于板的面积;两块板中的一个或两个包括间隔件,间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0764] (b)样品;

[0765] (c)当两板成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;开放构型是指两个板部分或完全分开并且两板之间的间隔不受间隔件调节的构型;

[0766] (d)使两板进入闭合构型来铺展样品;闭合构型中:两板彼此相对;间隔件,储存位点和至少一部分样品位于两板之间;样品接触至少一部分储存位点;样品的一定厚度由板块和间隔件调节,当两板处于开放构型时比样品的最大厚度要薄,且明显小于相关体积的平均线性尺寸;

[0767] (e)当两板处于闭合构型时,温育一段时间并停止,其中温育时间选择是为了使得(i)溶解在样品中的试剂包含在样品中一定和(ii)试剂是相关体积的重要部分,并且其中

相关体积是指当两板处于闭合构型时,位于存储位点上的样品的体积,温育是允许试剂在样品中溶解和扩散的过程。

[0768] P8.一种将储存在板块表面上的试剂局部加入样品一定中的装置,包括:

[0769] 第一块板和第二块板,两板能够彼此移动组合成不同的构型,

[0770] 第一块板的表面具有储存位点,该储存位点包含待添加到一定相关体积的样品中的试剂,该试剂能够溶解并扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0771] 构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,样品可在两块板中的一块或两块板上沉积;

[0772] 另一个构型是闭合构型,即开放构型下样品沉积之后构型;在闭合构型中:两板相对,间隔件,储存位点和至少一部分样品位于两板之间,样品与至少一部分储存位点接触,样品的相关体积的厚度由板块和间隔件调节。当板块处于开放构型时,样品厚度比样品的最大厚度薄,上述相关体积是指当两板处于闭合构型时位于储存位点上的样品体积;

[0773] 其中所述间隔件高度被筛选以在两板闭合构型下调节相关体积的厚度至少小于相关体积在板表面方向的平均线性尺寸的3倍。

[0774] 7.在结合位点形成捕获-分析物-检测三明治结构(W)

[0775] 本发明的一个方面是使用CROF处理,在固体表面的结合位点上形成捕获-分析物-检测三夹层结构,结合位点放置在一块板上和存储位点则是在另一个板的相应位置上储存检测试剂。

[0776] 7.1通过温育步骤在结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治结构(通用方式)(W)

[0777] W1.在板块的结合位点形成捕获-分析物-检测三明治结构的方法,包括:

[0778] (a)获得含有目标分析物的样品,该目标分析物能够扩散到样品中;

[0779] (b)获得捕获剂和检测剂,其中捕获剂和检测剂(能够)与所述目标分析物结合以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层结构;

[0780] (c)获得可彼此移动组合成不同构型的第一块板和第二块板;第一块板含有捕获剂,且被固定在结合位点上,第二块板含有存储检测剂的存储位点;当储存位点与所述样品接触时,检测剂能够溶解并且扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0781] (d)当两板构成开放构型时,样品放置在一个或两个板上;开放构型是指两块板部分或完全分开,并且两板之间的间隔不受间隔件调节的构型;

[0782] (e)两板变更成闭合构型展开样品,闭合构型中:两板彼此相对,间隔件和相关体积的样品在两板之间,样品的体积由板块和间隔件调节,当两板处于开放构型时比样品厚度更薄,且样品与结合部位和存储部位接触;

[0783] (f)当两板处于闭合构型时,孵温育一段时间以允许形成捕获剂-目标分析物-检测剂的三明治夹层结构;

[0784] 其中相关体积是指至少一部分或全部样品的体积。

[0785] W2.一种用于在板块的结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治结构的设备,包括:

[0786] 两块测试板,第一块板和第二块板能够彼此移动组合成不同的构型;

[0787] 第一块板包含结合位点,该结合位点包含已固定在该位点上的捕获剂,第二块板包含存储检测剂的存储位点;捕获剂和检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂三夹层结构;储存位点与样品接触时,已储存在该位点的检测剂能够溶解并且扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,间隔件与其相应的板块固定并且高度已经设定;

[0788] 板块构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,样品可在两块板中的一块或两块板上沉积;

[0789] 另一个构型是闭合构型,即在开放构型下样品沉积之后构型;在闭合的构型中:两板彼此相对,间隔件和相关体积的样品一定位于两板之间,样品的相关体积厚度由板块和间隔件调节并且比样品更薄于当两板处于开放构型的厚度;

[0790] 其中相关体积是至少一部分或全部样品的体积。

[0791] 7.2使用部分样品(即局部)的分析物,通过一步温育过程在结合位点形成捕获-分析物检测三明治结构。

[0792] W3.使用部分样品的分析物在测试板块结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治的方法,其包括:

[0793] (a)获得含有目标分析物的样品,该目标分析物能够扩散到样品中;

[0794] (b)获得捕获剂和检测剂,其中捕获剂和检测剂能够结合目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层结构;

[0795] (c)获得可彼此移动组合成不同构型的第一块板和第二块板;第一块板含有捕获剂,且被固定在结合位点上,第二块板含有存储检测剂的存储位点;

[0796] 当储存位点与所述样品接触时,检测剂能够溶解并且扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0797] (d)当两板构成开放构型时,样品放置在一个或两个板上;开放构型是指两块板部分或完全分开,并且两板之间的间隔不受间隔件调节的构型;(e)通过使两板进入闭合构型来展开样品,闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点和储存位点在两板之间,结合位点、储存位点与样品一定接触,样品一定的厚度由板块和间隔件调节并且比当两板处于开放构型时的样品厚度薄;并且显著小于结合位点的平均线性维度;

[0798] (f)当两板处于闭合构型时,温育一段时间并停止,其中选择温育时间使得在结合位点形成大量的捕获剂-分析物-检测三明治结构一定,相关体积是位于结合位点上的样品体积,温育是允许形成捕获-分析物检测三明治结构的过程。

[0799] 在一些实例中,间距与部位尺寸的比率可以小于1/5。

[0800] W4.用于在板块结合位点上形成捕获剂-分析物-检测三明治结构的装置,捕获剂-分析物-检测三明治结构含有来自部分样品的分析物,该装置包括:

[0801] 两块测试板,第一块板和第二块板能够相对于彼此移动成不同的构型;

[0802] 第一块测试板包含结合位点,结合位点包含固定在该位点上的捕获剂,第二块板包含存储检测剂的存储位点;捕获剂和检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂三明治夹层;储存位点与样品接触时,检测剂能够溶解并且扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,且每个间隔件与其相应的板块固定并且高度已

经设定;

[0803] 构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,并且所述样品可在两板中的一块或两块板上附着;

[0804] 其中所述构型中的另一个是闭合构型,其在所述以开放构型样品沉积之后构型;并且在闭合构型中:板彼此面对,间隔件,结合位点和储存位点在板之间,结合位点和储存位点与样品的相关体积接触,并且厚度样品的相关体积由板和间隔件调节并且当板处于开放构型时比样品厚度薄;并且其中相关体积是位于结合位点上的样品的体积;和

[0805] 间隔件高度以在闭合构型下调节相关体积的厚度,使其明显小于结合位点的平均线性尺寸。

[0806] 7.3通过减少扩散距离(W,X)来减少在结合位点形成捕获-分析物检测三明治的时间的方法。

[0807] W5.减少在测试板结合位点上形成捕获-分析物-检测三明治结构时间的方法,包括:

[0808] (a)获得含有目标分析物的样品,目标分析物能够扩散到样品中;

[0809] (b)获得捕获剂和检测剂,捕获剂和检测剂能够结合目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹心层;

[0810] (c)获得可彼此移动组合成不同构型的两块测试板;第一块板包含捕获剂,已被固定在该结合位点上,第二块板包含存储检测剂的存储位点,当存储位点与样品接触时,试剂能够溶解并扩散到样品中;两板中的一个或两个包括间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0811] (d)当两板处于开放构型时,样品可添加在一块或两块板上;开放构型是指两块板部分或完全分开,且板块之间的间隔不受间隔件调节的构型;

[0812] (e)通过使两板进入闭合构型铺展样品,在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点和储存位点在两板之间,结合位点与储存位点重迭,结合位点和储存位点与相关体积的样品接触,样品的厚度由板块和间隔件来调节,当样品厚度小于两板处于开放构型时的样品厚度;样品厚度的减小减少了分析物和检测试剂在样品上垂直扩散的时间,其中相关体积是至少一部分样品。

[0813] 相关体积中的目标实体结合到结合位点的时间短于两板处于开放构型时的时间。

[0814] 该方法包括清洗步骤以去除两板之间的样品,清洗步骤可在两板处于闭合构型或开放构型时执行。

[0815] 该方法包括读取步骤,该步骤从固定在结合位点上的捕获剂-分析物-检测夹层中读取信号。读取可在洗涤之后或者没有任何洗涤步骤之后进行。

[0816] 如前或下面所述,该方法可以进一步被复用。

[0817] W6.用于减少在测试板结合位点上形成捕获剂-分析物-检测三明治结构时间的装置,包括:

[0818] 两块测试板,第一块板和第二块板能够彼此移动组合成不同的构型;

[0819] 第一块板包含结合位点,该结合位点上存在捕获剂,第二块板包含存储检测剂的存储位点;捕获剂和检测剂(能够)结合样品中的目标分析物以形成捕获剂-目标分析物-检测剂三夹层;储存位点与样品接触时,检测剂能够溶解并且扩散到样品中;两板中的一个或

两个包含间隔件,间隔件与其相应的板块固定并且高度已经设定;

[0820] 构型之一是开放构型,即:两板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,并且样品可在任何一块测试板上附着;

[0821] 另一个构型是闭合构型,即样品在开放构型中添加后的构型;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件,结合位点和储存位点在两板之间,结合位点与储存位点重迭,结合位点和储存位点与一定样品接触,相关体积的样品厚度由两板和间隔件调节并且薄于当两板处于开放构型时样品的厚度;减小的样品厚度减少了分析物和检测试剂在样品上垂直扩散时间,其中相关体积是至少一部分样品体积。

[0822] 在这些实例中,该方法可以包括附着捕获剂的测试板,附接是通过捕获剂与在平板上的反应性基团之间的化学反应来完成。另一块板可以在一个位置处包含干燥的检测试剂贴片,使得两板在闭合后,附着的捕获剂和检测试剂贴片彼此相对。接着,如上所述,该方法可以包括含有靶接触的样品-分析物与装置并闭合板。检测试剂溶解并扩散到样品中。由于目标分析物处于溶液中,目标分析物将被捕获剂结合并固定到其中一块板的表面。检测试剂可以在与捕获剂结合之前或之后与目标分析物结合。在某些情况下,该方法可以包括除去未结合捕获剂目标的任何分析成分,或任何未结合的检测试剂(例如,通过洗涤的板的表面在结合缓冲液);检测剂可以与光学检测标记物缀合,从而提供检测目标分析物的方式。任意地除去未结合到目标分析物的检测试剂后,系统可以读取,例如,使用一个读出系统,以读出光信号(例如,光的波长介于300nm到1200nm之间),其被结合至测试板上。此外,如上所述,检测剂可以被直接标记(在这种情况下,检测剂可以附着到其中一个平板上之前与发光标记紧密联结),或间接标记(即通过结合检测剂的第二捕获剂,例如,被标记的第二抗体或标记的核酸,特异性结合到检测剂并连接到发光标记物上)。在一些实例中,该方法可以包括封端剂,从而防止捕获剂与非目标分析物的非特异性结合。对于特定目标分析物的结合条件,包括合适的温度,时间,溶液pH值,环境光照水平,湿度,化学试剂浓度,抗原-抗体结合比率等等,都是众所周知的或可从本公开资料中容易推导出来。用于捕获剂与其结合配体(包括分析成分)之间的分子相互作用的一般方法在本领域中是众所周知的(参见Harlow等,Antibodies:A Laboratory Manual,第1版(1988)Cold spring Harbor,NY;Ausubel等,Short Protocols in Molecular Biology,第3版,Wiley&Sons,1995)。上面和下面描述的方法是示范性的;本文介绍的方法不是进行测定的唯一方法。

[0823] 在某些操作方案中,核酸捕获剂可用于捕获蛋白质分析物(例如DNA或RNA结合蛋白)。在某些操作方案中,蛋白质捕获剂(例如DNA或RNA结合蛋白)可用于捕获核酸分析物。

[0824] 样品可能是来自于临床的样品细胞,组织液或体液。感兴趣的体液包括但不限于羊水,房水,玻璃状液,血液(例如全血,分离的血液,血浆,血清等),母乳,脑脊液(CSF),耳垢,乳糜,钟状,内淋巴,外淋巴,粪便,胃酸,胃液,淋巴,粘液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,食糜,唾液,皮脂(皮肤油),精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。

[0825] 在该测定的一个操作方案中,使测试板与含有目标分析成分(例如目标蛋白)的样品接触,并且将两块测试板闭合。样品中含有或者被处理成为含有适合于特异性结合条件的所有必需试剂(例如,盐等。捕获剂(例如抗体)和检测剂特异性地结合样品中的目标分析成分,从而检测到标记分析物的贴片。

[0826] 正如在实例中介绍的那样,可以测量样品中目标分析成分的含量以提供样品中目标分析成分的定性或定量测试。在一些操作方案中,信号量值提供样品中目标分析成分的定量测定。在某些情况下,评估可以与在某些情况下可能处于已知浓度的标准曲线(例如,第二分析物或加标记分析物的标准曲线)比较。通过添加不同密度(例如不同浓度)的捕获剂,从每个捕获剂反应块读取信号并进行比较。

[0827] 8结合和添加小体积的样品和试剂(V)

[0828] 在许多应用中,非常希望使用尽可能小的样品或试剂量(体积)。然而,在微流体信道装置(当今使用小样品最普遍的方法)中,从装置的入口流动到测试(检测)区域会浪费大量样品,导致需要更大的样品体积而不是测试位置的体积。本发明的一个方面是通过在测试板上添加微量体积的样品或试剂,然后将样品体积重塑为具有较小厚度的薄膜,但明显减少了测试中使用的样品或试剂的体积,但却比以前的面积更大。这种重塑也可以加快反应速度。

[0829] 8-1通过扩散样品,将目标成分结合在表面结合位点上的小体积样品中

[0830] V1.将样品中的目标成分与结合位点结合的方法,包括:

[0831] (a)获得可彼此移动组合成不同构型的两块测试板,第一块板在其表面具有结合位点,两板中的一片或两片包含间隔件,并且每个间隔件被固定各自的板块并且间隔件高度已经设定;

[0832] (b)获得含有与结合位点相结合的目标成分的样品;

[0833] (c)当板块构型成开放构型时,可将样品放置在一块或两块板上;开放构型中:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件限制,且样品在沉积时不覆盖结合部位的部分区域;

[0834] (d)使两板进入闭合构型来铺展样品;在闭合构型中:两板相对,间隔件和相关体积的样品在两板之间,样品可接触结合部位的更多区域,而不是当两板处于开放构型时的接触区域,并且相关体积的样品在结合位点上的厚度由板块和间隔件来调节,相关体积是指部分或全部样品体积。

[0835] V2.用于将样品中的目标成分与表面结合位点结合的装置,包括:

[0836] 两块测试板,第一块板和第二块板能够彼此移动组合成不同的构型;

[0837] 第一块板在其表面上包含与样品中的目标成分结合的位点,且当样品仅附着在测试板中的一块板上时,结合位点的面积大于样品的接触面积;

[0838] 两块板中的一片或两片包含间隔件,间隔件与其相应的板块固定且高度已经设定;

[0839] 构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间距不受间隔件的调节,并且样品附着在两板中的一块或两块板上,无论是结合部位的全部还是部分区域;

[0840] 另一个构型是闭合构型,是在开放构型下添加样品之后的构型;闭合构型中:两板相对,间隔件和样品在两板之间,样品可接触结合部位的更多区域,而不是当两板处于开放构型时的接触区域,样品厚度在结合位点由测试板和间隔件调节。

[0841] 8-2通过扩散样品将试剂加入小体积样品中

[0842] V3.将样品中的目标成分与结合位点结合的方法,包括:

[0843] (a)获得可彼此移动组合成不同构型两块测试板,第一块板的表面上含有待添加

到样品中的试剂储存位点,两板包括间隔件,每个间隔件与其各自的板块固定且高度已定;

[0844] (b)当构型成开放构型时,将样品添加在一块或两块板上;其中在所述开放构型中:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件的调节,并且样品在附着时不接触储存位点;

[0845] (c)通过使两板进入闭合构型来铺展样品;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件和相关体积的样品在两板之间,样品接触储存位点的更多区域,而不是当两板处于开放构型时所接触的区域,并且相关体积样品的厚度由间隔件调节;其中所述相关体积是储存位点上的样本的一部分。

[0846] V4.用于将样品中的目标成分与结合位点结合的装置,包括:

[0847] 两块测试板,第一块板和第二块板能够彼此移动组合成不同的构型,

[0848] 第一块板的表面包含试剂的储存位点并且试剂将被添加到样品中,两块板中的一块或两块均包含间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定且高度已定;

[0849] 构型之一是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节,并且样品沉积在所述板中的一个或两个上,

[0850] 另一个构型是闭合构型,其在在所述开放构型中所述样品沉积之后构型;并且在闭合构型中:板相互面对,间隔件和相关体积的样品位于板之间,与板处于开放构型时相比,样品接触储存位点的更多区域,并且厚度样品的相关体积的数量由间隔件调节;并且其中所述相关体积是所述储存位点上的所述样本的一部分。

[0851] 在V1和V2部分描述的方法以及V3和V4部分描述的装置中,由于样品的体积小和表面的湿润性,在某些情况下甚至样品附着在结合位点区域或存储区域中,样品与板块的接触面积将小于结合位点或存储位点的面积。因此,需要扩散,尤其是精确扩散。

[0852] 样品可能是很多滴,而在闭合构型下,样品滴合并成厚度小于最大厚度的薄膜。

[0853] 在本发明中,在V1至V7部分描述的方法和V2至V8部分描述的装置中,添加在测试板上的样品体积(“样品体积”)分别至多0.001pL(皮升),至多0.01pL,至多0.1pL,至多1pL,至多10pL,至多100pL,至多1nL(纳升),至多10nL,至多100nL,至多1uL(微升),至多10uL,至多100uL,至多1mL(毫升),至多10mL或这些值中任何两个数值之间的范围。

[0854] 9.使用均匀样品厚度均匀结合或添加试剂(UAB)

[0855] 对于测定和化学反应,在足够大的区域内使稀薄的样品厚度保持均匀比较好。这些例子包括将样品成分结合到测试板的表面结合位点,将试剂添加到样品中,定量相关体积的样品,定量分析等。

[0856] 对于使用两块测试板来减少和调节样品相关体积(部分或全部体积)厚度的方法,精确,均匀和易于使用是至关重要的。

[0857] 本发明的一个方面是通过用两个板块压缩样品来调节相关体积样品厚度的方法和/或装置的精度,均匀且易于使用。

[0858] 9.1将样品中的成分均匀结合到测试板结合位点的方法

[0859] UAB1.将样品中的成分均匀地结合到测试板结合位点的方法,包括:

[0860] (a)获得含有可扩散的目标成分的样品;

[0861] (b)获得可彼此移动组合成不同构型两块测试板,第一块板在其表面含有结合目标成分的结合位点,两块板中的一个或两个包括间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定

且高度已定;

[0862] (c)构型呈开放构型时,可将样品放置在一块或两块板上;开放构型是两个板块部分或完全分开,且两板之间的间隔不受间隔件调节的构型;

[0863] (d)通过使测试板处于闭合构型来铺展样品,在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和样品的相关体积位于介于两板之间,结合位点与相关体积的样品接触,相关体积的样品厚度由测试板和间隔件调节,并且样品在处于开放构型的板块最大厚度相比更薄并且在结合位点上更均匀;

[0864] 其中间隔件和板块构造使两板呈闭合构型时样品相关体积的厚度比两板在开放构型中的体积更均匀;其中相关体积是样品的一部分或全部体积。

[0865] -在板上还具有与结合部位相对应的储存部位,用于形成均匀的三明治夹层。

[0866] UAB2。将样品成分均匀结合到测试板结合位点上的装置,包括:

[0867] 相对于彼此可移动成不同构型的两块测试板;

[0868] 其中第一块板在其表面上含有结合目标成分的结合位点,其中一个或两个板包括间隔件,并且每个间隔件被其各自的板固定并具有预定高度;

[0869] 其中一种构型是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品沉积在一块或两块板上;

[0870] 另一种为闭合构型,该构型在样品附着后形成;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件和样品的相关体积位于两板之间,结合位点与相关体积接触,样品相关体积的厚度由测试板和间隔件调整,并且与在两板处于开放构型时的样品最大厚度相比更薄,而且在结合位点上更均匀。

[0871] 其中间隔件和板块构型使得两板在闭合构型下的相关体积的厚度比在开放构型下的体积更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积。

[0872] 9.2将测试板上的试剂均匀加入样品中的方法

[0873] UAB3。将试剂均匀地添加到相关体积样品中的方法,包括:

[0874] (a)获得可相对于彼此移动成不同构型的两块板,第一块板在其表面上包含有要添加到相关体积样品中的试剂的存储位置,试剂能够溶解并在样品中扩散;一个或两个测试板包含间隔件,每个间隔件固定在其各自的板块上且高度已定;

[0875] (b)取得样品;

[0876] (c)当两板处于开放构型时,将样品添加在一个或两个板块上;开放构型是两块板部分或完全分开,并且两块板之间的间隔不受间隔件限制。

[0877] (d)通过两板处于闭合构型来铺展样品,在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和相关体积样品位于两板之间,存储部位与相关体积的样品接触,样品的厚度由测试板和间隔件调节,并且比两板处于开放构型时样品的最大厚度要薄。

[0878] 间隔件和测试板被配置为使得在两板于闭合构型下的样品的厚度比在开放构型下相关体积样品更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积。

[0879] UAB4。将试剂均匀添加到相关体积样品中的装置,包括:

[0880] 相对于彼此可移动成不同构型的两块测试板;

[0881] 其中,第一块板在其表面上包含有添加到样品中的试剂的存储位置,该试剂能够溶解并扩散到样品中;两个板均包含间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定

高度;

[0882] 一种构型是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品可添加在一块或两块板上;

[0883] 另一种为闭合构型,该构型在样品处于开放构型添加后形成;在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和样品位于两板之间,存储位置与样品接触,样品的厚度比两板处于开放状态时样品的最大厚度小。

[0884] 间隔件和测试板被配置为使得在闭合构型下相关体积的样品比在开放构型下的样品的区域更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积。

[0885] 9.3均匀形成捕获剂-分析物-检测三明治的方法

[0886] UAB5.在测试板的结合位点上均匀形成捕获剂-分析物-检测三明治的方法,包括:

[0887] (a)获得含有目标分析成分的样品;

[0888] (b)获得捕获剂和检测剂,捕获剂和检测剂(能够)与目标分析成分结合以形成捕获剂-目标分析成分-检测剂夹层;

[0889] (c)获得可相对于彼此移动成不同构型的两块测试板;第一块板含有已被固定在结合位点上的捕获剂,第二块板含有储存检测剂的储存位点,当储存位点与样品接触时,检测剂能够是溶解中并扩散到样品中;两板中的一个或两个包含间隔件,每个间隔件与其相应的板块固定并且具有预定高度;

[0890] (d)当板型成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;开放构型是两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件调节的构型;

[0891] (e)通过使两板进入闭合构型来铺展样品,在闭合构型中:两板彼此线对,间隔件和相关体积的样品在两板之间,一定厚度样品的体积由测试板和间隔件调节,样品比它在两板处于开放构型时的厚度更薄,样品与结合部位和存储部位相接触;

[0892] 间隔件和测试板被配置为使得相关体积样品在闭合构型下的区域比开放构型下的相关体积的样品区域更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积。

[0893] UAB6.用于在结合位点上均匀形成捕获剂-分析物-检测三明治结构的装置,包括:

[0894] 相对于彼此可移动成不同构型的两块测试板;

[0895] 第一块板具有结合位点,该结合位点含有固定在此的捕获剂,捕获剂能够结合样品中的目标分析成分;

[0896] 第二块板具有存储检测剂的存储位置,该检测剂能够(a)在存储位与样品接触时溶解并扩散到样品中;(b)与目标分析成分结合并形成捕获剂-目标分析成分-检测剂夹心结构;

[0897] 一个或两个板包含间隔件,每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定高度;

[0898] 两板的一种构型是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品可添加在一块或两块板上;

[0899] 另一种配置为闭合构型,该配置在样品处于开放构型添加后形成;在闭合构型中:两板彼此相对,间隔件和样品位于两板之间,相关体积的样品厚度由测试板和间隔件调节,该样品比在处于开放状态下样品与结合位点和储存位点接触时的厚度要薄;

[0900] 间隔件和测试板被配置为使得在两板闭合构型下的样品厚度比在比在两板开放构型下样品的区域更均匀;并且相关体积是样品的部分或全部体积。

[0901] 9.4统一调节两板间相关体积样品的厚度。

[0902] UAB7.调节相关体积样品厚度的方法,包括:

[0903] (a)获得样品,相关体积样品的厚度可调节;

[0904] (b)获得两个彼此可移动组合成不同构型的板块,其中一个或两块板包含间隔件,间隔件具有预定的间距和高度,每个间隔件于各自的板块上固定;

[0905] (c)当两板配置成开放构型时,将样品添加在一个或两个板上;开放构型是两块板部分或完全分开,并且两板之间的间隔不受间隔件限制的构造;

[0906] (d)通过使两板处于闭合构型来铺展样品,在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和样品在两板之间,相关体积的样品厚度由测试板和间隔件调节,比两板处于开放构型时样品的最大厚度要薄;

[0907] 间隔件和测试板被配置为在两板闭合构型下的样品相关区域的厚度比在两板开放构型下的样品的相关体积的区域更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积。

[0908] UAB8.用于调节样品的相关体积的厚度的装置,包括:

[0909] 相对于彼此可移动成不同构型的两块测试板;

[0910] 其中一块或两块板均包含间隔件,间隔件具有预定的间距和高度,每个间隔件固定在其各自的板块上。

[0911] 一种构型是开放构型,即:两块板部分或完全分开,两板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品可添加在一块或两块板上;

[0912] 另一种配置为闭合构型,该配置在样品添加在处于开放构型后形成;在闭合构型中:两板彼此夏相对,间隔件和样品位于两板之间,样品的相关体积的厚度由测试板和间隔件调节,比当板处于开放构型时样品的最大厚度薄;

[0913] 间隔件和测试板被配置为使得在两板闭合构型下的样品的相关体积的厚度比在两板处于开放构型下样品的区域更均匀;相关体积是样品的部分或全部体积

[0914] 在U1至U8部分描述的方法和设备中,使样品的相关体积的厚度均匀的间隔件和测试板的构造具有本公开文件中描述的实例。

[0915] 样品厚度的均匀性。在U1至U8部分描述的方法和设备中,相关体积样品的厚度的均匀性使得在闭合构型下的样品厚度具有至多0.001%,或至多0.01%的相对变化。最多0.05%,最多0.1%,最多0.5%,最多1%,最多2%,最多5%,最多10%,最多20%,最多30%,最多50%,最多75%,最多90%,小于100%或这些值中任意两个数值之间的范围。

[0916] 在U1至U8部分描述的方法和设备的优选实例中,样品的相关体积的厚度的均匀性使得在闭合构型下的样品厚度具有至多0.1%的相对变化,最多0.5%,最多1%,最多2%,最多5%,mos10%,最多20%,最多30%,最多50%或这些值中的任何两个值之间的范围。

[0917] 对于减少温育时间可能很重要的另一个参数是样品厚度的均匀性。如果在结合位点上有样品厚度很大的变化,则饱和温育时间会随着结合位点的位置而变化,从而使温育时间更长,以确保结合位点中的所有位置都达到饱和。

[0918] 10.增强表面

[0919] 当前,PoC诊断和使用少量样品分析的主要障碍之一是灵敏度低。增强测定的信号较为理想。本发明涉及将结合位点置于信号放大表面(SAS)上放大信号以获得灵敏度更高的装置和方法。信号放大表面也可以称为信号放大层(SAL)。

[0920] SAL的一般结构包括纳米级金属-电介质/半导体-金属结构,可放大局部表面电场以及梯度和光信号。在金属结构的锋利(即大曲率)边缘以及两个金属结构的小间隙之间的位置处,放大率很高。最高的增强区域是边缘锋利和间隙小的区域。此外,所有金属和非金属微/纳米结构的尺寸通常小于SAL放大的光的波长(即,亚波长)。

[0921] 在一些实例中,SAL层具有尽可能多的金属锋利边缘和小间隙。这要求具有金属纳米结构的致密组,在纳米结构之间具有小的间隙。SAL结构可以包括几个不同的层次。此外,如在美国临时申请的系列号为No.4,935中所描述的,通过可以进一步覆盖金属材料的不具有锋利边缘和小间隙的部分的工艺来进一步改善SAL层本身。2013年3月15日提交的美国专利申请61/801,424和2014年3月15日提交的PCT申请WO2014197096,以及PCT/US2014/028417(Chou等,“通过靶向固定,表面扩增和像素化读取和分析”),出于所有目的引用并入本文。

[0922] 信号增强表面的一个特定实例是D2PA阵列(磁盘耦合的点在柱体上的天线阵列),它也可以包含分子粘附层,该分子粘附层覆盖至少一部分金属点结构,金属盘和金属背板和/或任意地与分析成分特异性结合的捕获剂,其中捕获剂与D2PA阵列的分子粘附层连接。当分析成分与捕获剂结合时,纳米传感器可以放大来自分析成分的光信号。在一些实例中,SAL的一个,几个或所有关键金属和电介质组件的尺寸小于感测中的光的波长。磁盘耦合的点对点天线阵列的物理结构,制造方法,将捕获剂链接到磁盘耦合的点对点天线阵列的方法以及使用磁盘耦合的点对点阵列的方法的详细信息,在多种出版物中描述了用于检测分析物的天线阵列,包括WO2012024006,WO2013154770,Li等(Optics Express 2011 19,3925-3936),Zhang等(Nanotechnology2012 23:225-301);和Zhou等(Anal.Chem.2012 84:4489),参考文献中已经将其引用在内。

[0923] 10.1在相关体积的样品中测定目标成分的放大信号

[0924] M1.用于在相关体积样品中放大测定目标成分信号的方法,包括:

[0925] (a)获得包含目标实体的样品;

[0926] (b)获得两个彼此可移动组合成不同构型的板块,其中一个板块在其表面上包含一个结合位点,该结合位点包括信号放大表层,该信号放大表层被设置为结合目标成分并放大光学分子。在信号放大表层上或附近的信号;其中的一块或两块板均可包含间隔件,每个间隔件在其各自的板块上且有预定高度;

[0927] (c)当两板配置成开放构型时,样品可添加在一块或两块板上;开放构型是两个板分开并且两个板之间的间隔不受间隔件限制的构造。

[0928] (d)通过使两板处于闭合构型铺展样品,在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和样品在两板之间,样品的相关体积由板块和间隔件调节,相关体积的样品厚度比两板处于开放构型时的样品要薄,相关体积的样品与结合位点接触。

[0929] (e)在测试板处于闭合构型下温育一段时间,使相关体积样品中的目标成分与结合位点结合;

[0930] 相关体积的样品是当两板处于闭合构型时样品与结合部位接触的那部分。

[0931] M2。在分析相关体积样品中的目标成分时的信号放大装置,包括:

[0932] 两块测试板可相对移动组成不同的构型,其中第一块板的表面上包含一个结合位点,该结合位点包括信号放大表面,信号放大表面被配置为(i)结合样品中的目标成分,并

且(ii)放大在信号放大面位点上或附近的光信号;

[0933] 一块或两块板均包含间隔件,每个间隔件在其各自的板块上并具有预定高度;

[0934] 一种配置是开放构型,即:两板部分或完全分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品可添加在一块或两块板上;

[0935] 另一种配置为闭合构型,该配置在样品添加于开放构型后形成;在闭合构型下:两板彼此相对,间隔件和样品位于两板之间,相关体积样品的厚度由测试板和间隔件调节,要比板厚板处于开放构型;

[0936] 相关体积是当两板处于闭合构型时样品与结合部位接触的一部分样品。

[0937] 在一些实例中,信号放大表面包括至少一个金属-电介质纳米结构,金属-半导体纳米结构和盘耦合的柱点天线阵列。

[0938] 在一些实例中,信号放大表面还包括金属层。

[0939] 11节省快速结合测定中的试剂量(S)

[0940] 在使试剂中的实体与表面上的结合位点结合的情况下(例如用捕获剂包被板或对生物样品表面染色),期望具有短的温育时间。短时间温育的一种方法是显著提高试剂中的实体浓度。但是,这种方法浪费了实体,因此成本很高,因为在较短的温育时间内,试剂中只有小部分的实体在结合位点附近才能到达结合位点以进行结合,而其余的距离太远扩散到结合位点进行结合,无用且浪费。对于普通试剂在普通溶液中的典型扩散常数,对于1s(秒),10s和100s的温育时间,典型的扩散长度分别约为10μm,33μm和100μm。典型表面上液滴的典型厚度为2.5mm,比上述扩散长度至少厚25倍,如果温育时间为100s或更短,则会导致大量浪费(成本高昂)。本发明的一个方面是将一滴试剂扩散到大面积但厚度很薄(比自然滴液更薄)以节省试剂并因此降低成本。

[0941] 11-1一种用于保存试剂的方法,该试剂通过扩散试剂而在与表面结合位点结合的试剂中包含靶标实体。

[0942] (该体积的自然接触面积小于结合位点)

[0943] S1.一种保存试剂的方法,该试剂包含与表面结合位点结合的靶标实体,包括:

[0944] (a)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中第一板在其表面上具有结合位点,并且其中一个或两个板包括间隔件,并且每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定的高度。

[0945] (b)获得一种试剂,该试剂(i)包含能够结合结合位点的靶标实体,并且(ii)具有一定的体积和润湿性,以使沉积在结合位点上的试剂的接触面积不与另一块板接触并且小于结合位点的面积;

[0946] (c)当将板配置成开放构型时,将样品沉积在一个或两个板上;其中,在开放构型下,两块板部分或完全分开,并且两块板之间的间隔不受间隔件的限制。

[0947] (d)在(c)之后,通过将板置于闭合构型来使样品分散开来;其中,在闭合构型下:板彼此面对,间隔件和样品位于板之间,与板处于开放构型时相比,样品接触结合位点的面积更大,由板和间隔件调节,并且比板处于开放构型时薄。

[0948] 在段落S1的方法中,其进一步包括以下步骤:在(d)之后并且当板处于闭合构型时,孵育一段时间并停止孵育,其中孵育时间大约等于靶实体在板处于闭合构型时在最大样品厚度上扩散的时间,其中孵育是使实体结合到结合位点的过程。

[0949] S2.一种保存试剂的装置,该试剂包含与表面结合位点结合的靶标实体,包括:

[0950] 第一板和第二板可相对移动到不同的配置,

[0951] 其中第一板在其表面上具有结合试剂中的靶标实体的结合位点,并且其中如果试剂仅沉积在其中一个板上(不接触另一块板),则结合位点的面积大于试剂的接触面积;

[0952] 其中一个或两个板包括间隔件,并且每个间隔件固定在其各自的板上并具有预定高度;

[0953] 其中一种构型是敞开构型,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔件的限制,试剂沉积在一个或两个板上;

[0954] 其中,另一种构型是闭合构型,是从试剂沉积后的开放构型变换而来;在闭合构型下:板彼此相对,间隔件和试剂位于板之间,与板处于开放构型时相比,试剂接触结合位点的面积更大,并且试剂的厚度在结合位点由板和间隔件调节,并且比板处于开放构型时更薄。

[0955] 12体积和/或浓度的检测和/或定量(Q)

[0956] 样品的相关体积的定量和/或控制对于样品中化学化合物(包括分析物,实体,试剂等)的浓度的定量和/或控制是有用的。

[0957] 样品体积定量的常用方法包括使用定量移液器(例如Eppendorf的“Research plus移液器,可调节,0.5-10μL”,SKU#3120000020)或其他计量装置。对于PoC(即使检测)或家庭使用,这种计量装置使用起来不方便和/或昂贵。需要用于定量和/或控制样品体积和/或浓度的更简单和便宜的方法和设备。

[0958] 本发明的一个方面涉及在不使用计量移液管和/或固定微流体通道的情况下量化和/或控制沉积在板上的样品的相关体积的方法,装置和系统。相关体积可以是样品的一部分或全部体积与样品中目标分析物和/或实体的浓度的定量和/或控制有关。本发明中的方法,设备和系统易于使用且成本低廉。

[0959] 12.1量化样品相关体积的方法

[0960] Q1.一种定量样品相关体积的方法,包括:

[0961] (a)获得样品,其中样品的相关体积将被量化;

[0962] (b)获得两个相对于彼此可移动成不同构型的板,其中,一个或两个板包括间隔件,并且间隔件具有预定的间隔件距离和高度,并且每个间隔件用其各自的板固定。;

[0963] (c)当将板配置成开放构型时,将样品沉积在一个或两个板上;其中,开放构型是其中两个板部分或完全分开并且板之间的间隔不受间隔件限制的构型;

[0964] (d)在(c)之后,通过使板处于闭合构型来展开样品,其中,在闭合构型下:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积在板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节,并且比板处于开放构型时薄,且比样品的最大厚度薄,并且至少一个间隔件在样品内部;

[0965] (e)在两板处于关闭状态时量化样品的相关体积;

[0966] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[0967] Q2.在一些实施例中,用于定量样品中相关体积的方法包括:

[0968] (a)获得第一板和第二板;

[0969] (b)在两块板之间制作样本以进行量化;

[0970] (c)通过压缩两个减小样品厚度的板并使样品在板之间横向分布而变形;和

[0971] (d)在两板处于关闭状态时量化样品的相关体积;

[0972] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[0973] 12.2用于量化样品中相关体积的板

[0974] Q3.用于量化样品中相关体积的板,包括:

[0975] 一个板,在其表面上包括:(i)具有预定间隔间距和高度并固定在该表面上的间隔件,以及(ii)样品接触区域,用于与待定量相关体积的样品接触,其中至少一个间隔件在样品接触区域内。

[0976] 12.3用于量化样品中相关体积的装置

[0977] Q4.一种用于量化样品中相关体积的装置,包括:

[0978] 第一板和第二板,(a)相对于彼此可移动成不同的结构,并且(b)每个板均具有样品接触区域,用于与待定量相关体积的样品接触,

[0979] 其中一个或两个板在其一个或多个表面上包括具有预定的间隔件距离和高度的间隔件,并且这些间隔件用各自的板固定;

[0980] 其中一种配置是开放构型,其中:两块板分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品沉积在一块或两块板上,

[0981] 其中,另一种配置为闭合构型,该构型由样品沉积后的开放构型变换而来;在闭合构型下:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节,并且比板厚板处于开放构型薄,并且至少一个间隔件在样品内部;和

[0982] 其中样品的相关体积在闭合构型下被定量,并且相关体积为样品整个体积的至少一部分。

[0983] 12-5.测量样品的相关体积

[0984] MS1.在本发明中,当板处于关闭状态时对样品的相关体积进行量化包括但不限于以下五个实施例中的每个:

[0985] (a)通过机械,光学,电气或它们的任何组合的方法测量样品的相关体积;

[0986] (b)使用选自机械,光学,电学或它们的任何组合的方法,独立地测量与样品的相关体积有关的一个或几个参数;

[0987] (c)使用与样品的相关体积有关的预先确定的一个或多个参数(即,在板处于闭合构型就已经确定的样品的参数);

[0988] (d)通过以下方式确定样品的相关体积:(i)在平板处于关闭状态时测量与下方中空体积相关的一个或多个参数,以及(ii)在平板处于闭合构型前预先确定与相关体积相关的其他参数;

[0989] (e)确定无样本量

[0990] (f)以上各项的任何组合(即a,b和c)。

[0991] 在段落MS1的方法中,机械方法包括但不限于使用间隔件(即,将基板的内表面和盖板的内表面之间的间隔调节为预定值的机械装置),探头或直尺,声波(例如,超声波的反射和/或干涉以测量间距)或其任意组合。

[0992] 在段落MS1的方法中,光学方法包括但不限于使用光干涉或光学成像(例如,拍摄样本的2D(二维)/3D(三维)图像,光学成像)。多次(具有不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振),图像处理或其任何组合。

[0993] 电气方法包括但不限于电容,电阻或阻抗测量,或其任何组合。

[0994] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,样品厚度的测量是测量两个板的内表面之间的间隔。

[0995] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,使用与样品的相关体积有关的预定的一个或多个参数,其中预定的参数是预定的样品厚度,该预定的样品厚度是在闭合构型下由间隔件调节。

[0996] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,使用与样品的相关体积有关的预定的一个或多个参数,其中预定的参数是预定的间隔件高度。

[0997] 在MS1的段落的方法中,在一些实施例中,与样本的相关体积有关的参数是处于闭合构型的参数,包括但不限于(i)第一块板和第二块板的内表面的间距(在CROF中),(ii)样品厚度,(iii)样品区域的整个或相关部分,(iv)样品体积的整个或相关部分,或(v)任何其组合。

[0998] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,样品体积或相关样品体积的量化包括以下步骤:(i)将样品厚度乘以整个样品面积以获得整个样品体积,(ii)将样品厚度乘以相关样品的厚度以获得相关样品体积,或(iii)将相关样品厚度乘以整个或相关样品面积以获得相关样品体积。

[0999] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,测量是通过获取相关体积的3D(三维)图像进行。

[1000] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,通过测量样品的相关体积的横向面积,然后将其与相关体积的厚度一起使用来确定相关体积,从而对样品相关体积进行定量。其中,所述相关体积的厚度由所述间隔件的信息确定,所述间隔件的信息包括所述间隔件的高度;

[1001] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,通过测量样品的相关体积是通过一起测量样品的相关体积和间隔件的横向面积,然后将其与相关体积的厚度和间隔件的体积一起使用,来量化样品的相关体积。确定间隔件的体积以确定样品的相关体积,其中,根据间隔件的信息确定相关体积的厚度;

[1002] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,通过测量样品的相关体积的横向面积和厚度来量化样品的相关体积。

[1003] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,通过光学地测量样品的相关体积的体积来量化样品的相关体积。

[1004] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,当板处于闭合构型时,使用刻度标记来帮助量化样品的相关体积,其中刻度标记的一些实施例,它们的使用和测量等。在第2节中进行了描述。

[1005] 在段落MS1的方法中,在一些实施例中,样品的相关体积的定量包括减去无样品体积的步骤,其中,在一些实施例中,无样品体积在一些实施例中被描述。

[1006] 12-4.一种定量分析样品相关体积中分析物浓度的方法

[1007] Q5.一种定量分析样品相关体积中的分析物的方法,包括:

[1008] (a)执行第Q1段中的步骤;和

[1009] (b)在步骤(a)之后,从相关体积中测量与分析物有关的信号,

[1010] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[1011] Q6.一种定量分析样品相关体积中的分析物的方法,包括:

[1012] (a)执行第Q2段中的步骤;和

[1013] (b)在步骤(a)之后,从相关体积中测量与分析物有关的信号,

[1014] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[1015] 在段落Q5-6中的任一段落的方法中,在一些实施例中,其还包括通过将来自样品的相关体积的与分析物有关的信号除以相关体积来计算分析物浓度的步骤。

[1016] 在段落Q5-6中任一段的方法中,一个或两个板进一步包括结合位点,存储位点或两者。

[1017] 在段落Q5-6中的任一段的方法中,在一些实施例中,与分析物有关的信号是直接来自分析物或附着于分析物的标记的信号。

[1018] Q7.一种定量分析样品相关体积中的分析物的方法,包括:

[1019] (a)执行段落Q1的方法中的步骤,其中一个或两个板进一步包含结合位点;和

[1020] (b)在步骤(a)之后,从相关体积中测量与分析物有关的信号,

[1021] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[1022] Q8.一种定量分析样品相关体积中的分析物的方法,包括:

[1023] (a)执行段落Q2的方法中的步骤,其中一个或两个板进一步包含结合位点;和

[1024] (b)在步骤(a)之后,从相关体积中测量与分析物有关的信号,

[1025] 其中相关体积是样品整个体积的至少一部分。

[1026] 在段落Q7-8中的任一个的方法中,在一些实施例中,与分析物有关的信号是直接来自与结合位点结合的分析物的信号或与结合至结合位点的与分析物相连的标记的信号。

[1027] 12.5用于量化样品相关体积中分析物浓度的板

[1028] Q9.一种用于量化样品相关体积中分析物浓度的板,包括:

[1029] 一种板,在其表面上包括(i)具有预定间隔间距和高度的间隔件,和(ii)样品接触区域,用于使具有待量化浓度的分析物的样品接触,其中至少间隔件之一在样品接触区域内。

[1030] 12.6一种用于量化样品相关体积中分析物浓度的装置

[1031] 如果样品中靶标分析物和/或实体的数量被定量,并且样品的相关体积被定量,则可以定量或控制样品中靶标分析物和/或实体的浓度。

[1032] Q10.一种用于量化样品相关体积中分析物浓度的装置,包括:

[1033] (a)可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,并且(b)每个板均具有样品接触区域,于使具有待量化浓度的分析物的样品接触,其中一个或两个所述板在其表面上包括具有预定的间隔件距离和高度的间隔件,并且每个间隔件均与各自的板固定;

[1034] 其中一种配置是开放构型,其中:两块板分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品沉积在一块或两块板上,

[1035] 其中,另一种配置为闭合构型,该配置在样品沉积后处于开放构型;在闭合构型下:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节,并且比板厚板处于开放构型,并且至少一个间隔件在样品内部;和

[1036] 其中样品的相关体积中的分析物浓度在闭合构型中被定量,并且相关体积是样品

整个体积的至少一部分。

[1037] 在段落Q9和Q10中的任一个的装置中,板进一步包括结合位点,或存储位点,或两者。结合位点的一个实施方案是结合样品中的分析物的结合位点。

[1038] 在段落Q9和Q10中的任一个的装置中,板进一步包括一个或多个刻度标记,其中刻度标记的一些实施例在第2节中描述。

[1039] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量设备包括成像器和照相机中的至少一个。

[1040] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量设备被配置成对样本的相关体积的横向区域成像。

[1041] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量设备包括用于照亮样品的相关体积的横向区域的光源。

[1042] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,计算浓度的步骤是将总目标分析物或实体除以相关样品量。

[1043] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量信号是使用光学成像仪来计数目标分析物或实体的数量。例如,测量可以是使用光学显微镜来测量血液样本中的血细胞(红细胞,白细胞,血小板)。

[1044] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量样品中的目标分析物或实体的数量可以是在表面上捕获目标分析物或实体的表面固定化分析的实施例。。

[1045] 在一些实施方案中,用于定量样品的体积或检测/定量样品中的分析物的设备包括段落Q1-10中的任何装置,加上(1)光学成像仪,和/或(2)光源和光学成像器包括光电传感器,光学透镜,滤光器,偏振器,波片,分束器,机械底座或它们的任意组合。

[1046] 在某些实施例中,相关样本面积或体积的测量包括(i)在第一块板,盖板上或其之间或它们的任意组合上具有标记,(ii)进行光学成像(例如进行2D成像,样品的二维(3D)/3D(三维)图像和所拍摄的图像可以多次使用不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振),并且(iii)基于制造商的图像处理和样本图片。与确定目标分析物浓度有关的相关手段。

[1047] 扫描.在一些实施例中,从样品读取信号使用扫描方法,其中读取器(例如光电探测器或照相机)读取样品(或平板)的一部分,然后移至样品(或平板)的另一部分,并且该过程一直持续到读取样品(或平板)的某些特定端口为止。样品的扫描读数覆盖样品(或板)的所有部分或一部分样品(或板)。在一些实施例中,扫描读数由指示样品(或平板)位置的位置标记辅助。位置标记的一个例子是周期间隔件,其具有固定的周期和位置,或者是相关区域的标记,其也具有预定的位置和大小,以指示样品或板的位置。

[1048] 13分析物及其他成分的检测和定量(D)

[1049] 在某些实施方案中,通过测量与分析物有关的信号来检测和/或定量(即测定)分析物,其中该信号是光信号,电信号,机械信号,化学物理信号或其任意组合。在一些实施方案中,当CROF装置中的两个板彼此靠近时,进行分析物测定。在一些实施方案中,当CROF装置中的两个板彼此分离时,进行分析物测定。

[1050] 光学信号包括但不限于光反射,散射,透射,吸收,光谱,颜色,发射,强度,波长,位置,偏振,发光,荧光,电致发光,化学发光,电化学发光或其任何组合。光学信号的形式为光

学图像(即,光信号与样品或设备位置的关系)或来自给定面积或体积的所有光子的总和。光的优选波长在400nm至1100nm的范围内,在50nm至400nm的范围内,在1nm至50nm的范围内或在1100nm至30,000nm的范围内。另一个优选的波长是太赫兹。

[1051] 电信号包括但不限于电荷,电流,阻抗,电容,电阻或其任何组合。机械信号包括但不限于机械波,声波,冲击波或振动。化学物理信号包括但不限于反应中产生的PH值,离子,热量,气泡,颜色变化。

[1052] 例如,标签是珠子,并且标签通过分析物特异性结合过程(例如,使用检测剂将珠子与分析物结合,使用捕获剂通过珠子捕获分析物,使用捕获剂来将标签附着到标签)。结合分析物,然后使用检测剂附着珠子或其他方法。请注意捕获剂和检测剂会特异性结合被分析物),然后进行测量以识别附着到分析物的每个珠子,并对它们进行计数。

[1053] 在某些实施方案中,通过光学手段(例如(i)光学标记和标记的读取,(ii)表面等离子体激元共振,(iii)光学干扰,(iv)电气方法(例如电容,电阻,阻抗等)(例如电容,电阻,阻抗等)感测和计数每个分析物或珠子,传感器可以在第一板和/或第二板的表面上。

[1054] 某些实施方案可以包括在(a)表面固定测定,(b)大量测定(例如血细胞计数)和(c)其他测定中确定分析物浓度。在一些实施方案中,样品体积,样品的相关体积或浓度的方法使用智能电话。

[1055] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量信号是测量样品中的分析物的数量,或测量附着在样品中的分析物上的标记的数量。。在段落Q5的另一实施例中,“测量信号”用于(a)识别每个分析物或附着到每个分析物的标记,并且(b)计数它们的数目。

[1056] 在一些实施例中,当将电极放在第一板和第二板中的一个或两个上时,分析物检测是一种电方法(这适用于使用CROF的任何方法和设备)。电极测量样品的电荷,电流,电容,阻抗或电阻或其任何组合。电极测量样品中的电解质。电极的厚度等于或小于间隔件的厚度。在一些实施例中,电极用作间隔件的一部分。电极由各种导电材料制成。优选的电极材料是金,银,铝,铜,铂,碳纳米管或其任何组合。

[1057] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,测量使用的设备是照相机或光电检测器以及配置为进行测量的可选处理器。

[1058] 在Q1-10的任一段的方法或设备中,在一些实施例中,浓度确定设备包括处理器,该处理器被配置为根据测量值(体积,面积,厚度,分析物数量,强度)确定浓度。

[1059] 在Q1-10的任一段的方法或装置中,在一些实施例中,其还包括浓度确定装置,该浓度确定装置被配置为从所测量的侧向面积,厚度和目标分子的测量量来确定目标分析物在相关体积中的浓度。

[1060] 有关使用像素化读取和分析进行信号检测的更多信息

[1061] 在本发明中,在一些实施方案中,检测来自样品,分析物和实体,结合位点,试剂,CROF板或其任何组合的信号并分析物。在本公开中描述了使用像素化读取和分析进行信号检测的一些实施例,而在公开号WO2014144133A和申请号PCT/US2014/028417中描述了一些其他实施例(Chou等人,“通过靶向固定增强分析物检测,表面放大和像素化读取和分析”,出于所有目的在此通过引用并入。

[1062] 在一些实施例中,信号是电磁信号,包括具有不同频率,光强度,荧光,色度,发光

(电和化学发光),拉曼散射,时间分辨信号(包括闪烁)的电信号和光信号。信号也可以是由于板和读取装置之间的局部电,局部机械,局部生物或局部光学相互作用而产生的力。该信号还包括信号的空间(即位置),时间和频谱分布。检测信号也可以是吸收的。

[1063] 分析物包括蛋白质,肽,DNA,RNA,核酸,小分子,细胞,不同形状的纳米颗粒。目标分析物可以在溶液中,也可以在空气或气相中。感测包括检测目标物的存在,浓度的量化和目标分析物状态的确定。

[1064] 在一些实施方案中,电场用于辅助分子选择性或键合和检测。

[1065] 检测/读取方法

[1066] 在光学检测(即通过电磁辐射检测)的一些实施方式中,所述方法包括但不限于远场光学方法,近场光学方法,落射荧光光谱法,共聚焦显微镜,双光子显微镜和全内部反射显微镜,其中目标分析物用电磁辐射发射器标记,这些显微镜检查中的信号可以通过CROF板的放大表面进行放大。

[1067] 在一些实施例中,该信号包括所述信号的位置,局部强度,局部光谱,局部极化,局部相位,局部拉曼信号或其任何组合的信息。

[1068] 在一些实施例中,信号的检测是测量来自区域的总和信号(即,来自该区域的信号,而不管该区域中的哪个位置)。

[1069] 在某些实施例中,信号的检测是测量区域的信号图像(即,信号vs位置)。即,将区域划分为像素,并分别测量来自该区域的每个像素的信号,这也称为“PIX”或“像素化成像检测”。每个像素的单独测量可以并行,顺序或混合。

[1070] 在一些实施例中,读数使用适当的检测系统来依次或并行地检测信号或将其组合。在顺序检测中,一次检测一个或几个像素,然后将使用扫描仪将检测结果移至SAL的其他区域。在并行检测中,将使用多像素检测器阵列(例如摄像头(例如CCD))来同时检测来自不同像素的信号。扫描可以是单路径或多路径,每个路径的像素大小不同。PCT/US2014/028417的图2(C)意性地示出了在x,y,z平台上的像素化读取。

[1071] 读取/检测的像素大小将被调整为平衡光学分辨率和总读取时间。较小的像素大小将花费更长的时间来读取/扫描整个或部分SAL。典型的像素大小为1μm至10μm。像素具有不同的形状:圆形,正方形和矩形。像素尺寸的下限由显微镜系统的光学分辨率确定,像素尺寸的上限由避免成像器不均匀的光学响应(光学像差,照明均匀性等)引起的读取错误确定。

[1072] 读取系统

[1073] 参考PCT/US2014/028417中的附图,读取系统的实施例包括:(a)用于CROF的一个或多个板;(b)读取装置205,用于产生从所述板的表面发出的信号的图像,其中,信号表示单独的目标分析物结合事件;(c)容纳板和成像器的装置组件300;(d)一个电子设备和用于存储所述图像的数据存储器301;(e)一种计算机,其包括用于识别和计数图像区域中的各个结合事件的程序。

[1074] 装置组件300在三个(x,y,z)正交方向中的至少一个方向上控制或改变板与读取装置之间的相对位置,以读取信号。装置组件的实施例包括扫描仪301。在一些实施例中,扫描仪301在三个(x,y,z)正交方向中的至少一个上扫描。

[1075] 在一些实施例中,读取装置302是CCD相机。在一些实施例中,读取装置302是包括

一个或多个其他光学装置的光电检测器,所述其他光学装置选自光学滤波器303,光谱仪,透镜304,孔径,分束器305,反射镜306,偏振器307,波片和快门。在一些实施例中,读取设备302是智能电话或移动电话,其具有本地和远程通信的能力。读取设备收集所述信号的位置,局部强度,局部光谱,局部拉曼信号或其任何组合。

[1076] 在一些实施例中,滤光器303,光束分离器305,光纤,光电检测器(例如,pn结,二极管,PMT(光电倍增管)或APD(雪崩光电二极管)),成像相机(例如,CCD或手机相机)光谱仪和光谱仪以及由装置组件301提供的扫描仪一起耦合到使用远场共聚焦设置或广视野视图设置的显微镜系统。

[1077] 在一些实施例中,在共聚焦设置中,通过记录一次或几个像素的亮度,时间变化和光谱变化并光栅扫描SAL的整个感兴趣区域来执行读取。在一些实施例中,在宽视野视图设置中,使用照相机一次记录整个或部分SAL区域的亮度和时间变化。在一些实施例中,需要适当的光学滤波器和光束操纵器(偏振器,分束器,光纤等)以确保仅收集和检测到期望的信号。PCT/US2014/028417的图9示意性地示出了该系统的组件的一种布置。在一些实施例中,分析包括成像处理方法,包括但不限于Open-CV或Image-J中的方法。

[1078] 像素化分析(PIX)在PIX的一些实施例中,分析以像素化方式检测到的信号以确定在特定像素或几个像素处的特定分子的数量和/或类型,其继而被用于量化PIX的类型和/或浓度。目标分析物。术语“以像素化方式检测到的信号”是指将具有信号的区域划分为像素,并分别测量来自该区域每个像素的信号的方法,也称为“PIX”或“像素化”成像检测”。每个像素的单独测量可以并行,顺序或混合。

[1079] 在一些实施例中,分析包括分析信号的空间,速度,频谱信息。在一些实施例中,分析包括但不限于统计分析,比较,积分等。PCT/US2014/028417的图5示出了该方法的一个实施例的流程图。

[1080] 14标记物

[1081] 整个公开中描述的光学标记物的实施例的一种或任意组合适用于本发明的整个说明书中描述的所有方法和装置。

[1082] 在一些实施方案中,将标记附着到检测剂,分析物或实体上。在某些实施方案中,标记是光学标记,电子标记,可用于产生光学或电信号的酶或其任何组合。在某些实施方案中,将一种或多种检测剂,一种或多种分析物或一种或多种实体(联系)连接至连接分子(例如蛋白质,核酸或其他化合物),该连接分子随后被连接至标记。在某些实施方案中,细胞(例如血细胞,细菌等)或纳米颗粒被标记物染色。在一些实施例中,光学标签是可以产生光信号的物体,其中光信号的产生包括但不限于光(即光子)的反射,散射,透射,吸收,光谱,颜色,发射,强度,波长,位置,偏振,发光,荧光,电致发光,光致发光(荧光),化学发光,电化学发光或其任意组合。在一些实施例中,光信号为光学图像的形式(即,光信号对样品或装置的位置)或来自给定面积或体积的所有光子的总和。光的优选波长在400nm至1100nm的范围内,在50nm至400nm的范围内,在1nm至50nm的范围内或在1100nm至30,000nm的范围内。另一个优选的波长是太赫兹。

[1083] 珠子,纳米颗粒和量子点.在一些实施方案中,光学标签是珠子,纳米颗粒,量子点或其任何组合。

[1084] 在一些实施方式中,珠,纳米颗粒或量子点的直径为1nm或更小,2nm或更小,5nm或

更小,10nm或更小,20nm或更小,30nm或更小,40nm或更小。,50nm以下,60nm以下,70nm以下,80nm以下,100nm以下,120nm以下,200nm以下,300nm以下,500nm以下,800nm以下,小于或等于1000nm,小于或等于1500nm,小于或等于2000nm,小于或等于3000nm,小于或等于5000nm,或两个值之间的范围。

[1085] 在一些实施方案中,将珠或量子点用作标记,并且将它们预先涂覆在CROF的板上,并且两个板之间的内部间距为1μm或更小,10μm或更小,50μm或更小,或在任何两个值。

[1086] 在一些实施方案中,溶液中的珠之间的分离

[1087] -扩散时间。(转移介质的相关体积的厚度导致光学标签在整个厚度上的扩散时间小于1毫秒,

[1088] -溶解时间可以控制。控制方法可以使用光子,热或其他激发及其组合。在施加激发能之前,溶解不会开始。

[1089] 在一些实施方案中,标记是直径为10nm或更大的纳米颗粒。如此大直径的纳米粒子的扩散常数小于小分子(质量<1000Da)和大分子(质量=1,000至1,000,000道尔顿(da)),因此对于给定的溶液和距离,扩散时间更长。为了减少扩散时间,通过减少扩散距离。

[1090] 当光学标签是直径大于几纳米的珠子或其他纳米颗粒时,它们与现有技术相比具有特别的优势。这是因为,对于一阶近似,物体在液体中的扩散常数与物体的直径成反比(根据爱因斯坦-斯托克斯方程式)。

[1091] 例如,直径为20nm,200和2000nm的珠子光学标签的扩散常数分别是2nm珠子的扩散常数,因此扩散时间是10倍,100倍和1000倍。对于当前测定中使用的典型扩散距离,这将导致较长的饱和孵育时间,这对于PoC(即使检测)应用而言是不实际的。

[1092] 然而,本发明解决了直径大于几纳米的光学标签的长孵育时间。本发明将光学标签存储在板表面上,然后将存储表面以亚毫米,微米或什至纳米尺度分开的距离(在两者之间)放置在结合部位附近,并通过转移来填充分离间隙。介质(存储的光学标签溶解在转移介质中并扩散到结合位点)。本发明还能够通过使用间隔件技术在大的结合位点区域上均匀地控制这种小的距离。

[1093] 标记分析物可以包括使用例如标记剂,诸如包括可检测标记的分析物特异性结合构件。可检测的标记包括但不限于荧光标记,比色标记,化学发光标记,酶联试剂,多色试剂,抗生物素蛋白-链霉亲和素相关的检测试剂等。在某些实施方案中,可检测标记是荧光标记。荧光标记是可由荧光检测器检测的标记部分。例如,荧光标记物与感兴趣的分析物的结合可以允许感兴趣的分析物被荧光检测器检测。荧光标记的实例包括但不限于在与试剂接触时发荧光的荧光分子,在被电磁辐射(例如UV,可见光,x射线等)照射时发荧光的荧光分子等。

[1094] 在某些实施方案中,用于标记的合适的荧光分子(荧光团)包括但不限于IRDye800CW,Alexa 790,Dylight 800,荧光素,异硫氰酸荧光素,羧基荧光素的琥珀酰亚胺酯,荧光素的琥珀酰亚胺酯,荧光素二氯的5-异构体。笼状羧基荧光素-丙氨酸-羧酰胺,俄勒冈州绿488,俄勒冈州绿514;路西法黄,a啶橙,罗丹明,四甲基罗丹明,德克萨斯红,碘化丙啶,JC-1(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑基碳菁碘),四溴罗丹明123,若丹明6G,TMRM(四甲基罗丹明甲酯),TMRE(四甲基罗丹明乙酯),四甲基罗斯明,罗丹明B和4-二

甲基氨基四甲基罗明,绿色荧光蛋白,蓝移绿色荧光蛋白,蓝移绿色荧光蛋白,红移绿色荧光蛋白质,黄移的绿色荧光蛋白质,4-乙酰氨基-4'-异硫氰酸根合苯乙烯-2,2'二磺酸;cr啶及其衍生物,如a啶,异硫氰酸a啶;5-(2'-氨基乙基)氨基萘-1-磺酸(EDANS);4-氨基-N-[3-乙烯基磺酰基)苯基]萘酰胺-3.5二磺酸盐;N-(4-苯胺基-1-萘基)马来酰亚胺;蒽酰胺4,4-二氟-5-(2-噻吩基)-4-硼-3a,4a二氮-5-茚并三-3-丙酸BODIPY;级联蓝色;艳黄;香豆素及其衍生物:香豆素,7-氨基-4-甲基香豆素(AMC,香豆素120),7-氨基-4-三氟甲基香豆素(香豆素151);花青染料;花青素4′,6-二氨基二氨基-2-苯基吲哚(DAPI);5′,5"-二溴邻苯三酚-磺酞(溴邻苯三酚红);7-二乙氨基-3-(4′-异硫氰酸根合苯基)-4-甲基香豆素;五乙酸二亚乙基三胺4,4'-二异硫氰基二氢-苯乙烯-2-,2'-二磺酸;4,4'-二异硫氰酸根合苯乙烯-2,2'-二磺酸;5-(二甲氨基)萘-1-磺酰氯(DNS,丹酰氯);4-二甲氨基苯基偶氮苯基-4'-异硫氰酸酯(DABITC);曙红及其衍生物:曙红,曙红异硫氰酸酯,赤藓红及其衍生物:曙红B,曙红,异硫氰酸酯;乙锭;荧光素及其衍生物:5-羧基荧光素(FAM),5-(4,6-二氯三嗪-2-基)氨基-荧光素(DTAF),2',7'二甲氧基-4'5'-二氯-6-羧基荧光素(JOE),荧光素,异硫氰酸荧光素,QFITC(XRITC);荧光胺;IR144;IR1446;孔雀石绿异硫氰酸酯;4-甲基伞形-费去甲邻甲酚酞;硝基酪氨酸;对苯胺苯胺;苯酚红;B-藻红蛋白;邻苯二甲醛;邻苯二酚;:pyr,丁酸pyr,琥珀酰亚胺基1-py;丁酸量子点;反应性红4(Cibacron™亮红3B-A)罗丹明及其衍生物:6-羧基-X-罗丹明(ROX),6-羧基罗丹明(R6G),赖氨酸罗丹明B磺酰氯罗丹明(Rhod),罗丹明B,罗丹明123,罗二胺X异硫氰酸酯,磺基若丹明B,磺基若丹明101,磺基若丹明101的磺酰氯衍生物(得克萨斯红);N,N,N',N'-四甲基-6-羧基若丹明(TAMRA);四甲基若丹明;四甲基若丹明异硫氰酸酯(TRITC);核黄素;5-(2′-氨基乙基)氨基萘-1-磺酸(EDANS),4-(4′-二甲基氨基苯基偶氮)苯甲酸(DABCYL),迷迭香酸;CAL荧光橙560;che螯合物衍生物;Cy 3;Cy 5;Cy 5.5;Cy 7;IRD 700;IRD800;拉霍亚蓝酞菁;以及萘酞菁,香豆素和相关染料,an吨染料,例如杜鹃,间苯二酚,二烯类,a啶,异吲哚,丹酰染料,氨基邻苯二甲酰肼(如鲁米诺)和异鲁米诺衍生物,氨基邻苯二甲酰亚胺,氨基萘二甲酰亚胺,氨基苯并呋喃,氨基喹啉,氨基喹啉,配合物;它们的组合等等。合适的荧光蛋白和生色蛋白包括但不限于绿色荧光蛋白(GFP),包括但不限于衍生自维多利亚水母或其衍生物的GFP,例如"人源化"衍生物,例如Enhanced GFP;来自另一种物种的GFP,例如雷尼利亚海肾,雷尼利亚海肾或根蒂尼古拉(Ptilosarcus guernyi);"人源化"重组GFP(hrGFP);来自Anthozoan物种的多种荧光和彩色蛋白中的任何一种;其组合;等等。

[1095] 在某些实施方案中,染料可用于染色血细胞,包括赖特氏染色(曙红,亚甲基蓝),吉姆萨氏染色(曙红,亚甲基蓝和天蓝色B),May-Grünwald染色,利什曼氏染色("多色"亚甲基蓝)(即去甲基化为各种天青石和曙红),赤藓红B染色(赤藓红B)和其他荧光染色,包括但不限于A啶橙染料,3,3-二己基氧杂碳菁(DiOC6),碘化丙啶(PI),异硫氰酸荧光素(FITC)和碱性橙21(BO21)染料,溴化乙锭,辉煌的磺胺黄素和Stilbene二磺酸衍生物,赤藓红B或锥虫蓝,Hoechst 33342,三盐酸盐,三水合物和DAPI(4',6-Diamidino-2-Phenylindole,二盐酸盐)。

[1096] 在某些实施方案中,标记剂被配置为特异性结合感兴趣的分析物。在某些实施方案中,在将样品施加到CROF装置之前,标记剂可以存在于CROF装置中。在其他实施方案中,可以在将样品施加到CROF装置之后将标记剂施加到CROF装置。在某些实施方案中,在将样

品施加到CROF装置上之后,可以清洗CROF装置以除去任何未结合的组分,例如将其除去。样品中未结合的分析物和其他非分析物组分,清洗后可将标记剂应用于CROF设备以标记结合的分析物。在一些实施方案中,可以在将标记剂结合至分析物-捕获剂复合物之后洗涤CROF装置,以从CROF装置中去除未结合至分析物-捕获剂复合物的任何过量的标记剂。

[1097] 在某些实施方案中,在将分析物结合至CROF装置之后,例如,使用能够与分析物结合至CROF装置中的捕获剂同时结合至分析物的标记的结合剂来标记分析物,即夹心型检测在一些实施方案中,可以在CROF装置上捕获核酸分析物,并且可以将与核酸分析物结合的捕获剂同时与分析物同时杂交的标记的核酸在CROF装置中。

[1098] 在某些方面,CROF装置增强了由直接或间接结合至分析物的可检测标记产生的光信号,例如荧光或发光,该分析物又与CROF装置结合。在某些实施例中,通过信号放大的物理过程来增强信号。在一些实施方案中,光信号通过纳米等离子体效应(例如,表面增强的拉曼散射)增强。通过纳米等离子体效应的信号增强的实例在例如Li等人,Optics Express 2011 19:3925-3936和WO2012/024006中描述,其通过引用并入本文。在某些实施例中,无需使用信号的生物/化学放大就可以实现信号增强。信号的生物/化学扩增可包括信号的酶促扩增(例如,用于酶联免疫吸附测定(ELISA))和信号的聚合酶链反应(PCR)扩增。在其他实施例中,可以通过物理过程和生物/化学放大来实现信号增强。

[1099] 灵敏度.在某些实施例中,CROF设备被配置为具有0.1nM或更小,例如10pM或更小,或1pM或更小,或100fM或更小,例如10fM或更小,包括1fM或更低的检测灵敏度。小于或等于0.5fM或小于或等于100aM,或等于或小于50aM,或等于或小于20aM。在某些实施例中,CROF设备被配置为具有在10aM至0.1nM的范围内的检测灵敏度,例如20aM至10pM,50aM至1pM,包括100aM至100fM。在某些情况下,CROF设备配置为能够检测浓度为1ng/mL或更低(例如100pg/mL或更低,包括10pg/mL或更低,1pg/mL或更低)的分析物,100fg/mL以下,10fg/mL以下或5fg/mL以下。在某些情况下,CROF设备配置为能够检测浓度范围为1fg/mL至1ng/mL,例如5fg/mL至100pg/mL,包括10fg/mL的分析物。10pg/mL。在某些实施例中,CROF设备被配置为具有5个数量级以上的动态范围,例如6个数量级以上的动态范围,包括7个数量级以上的动态范围。

[1100] 读取.在某些情况下,从将样品施加到CROF设备到读取CROF设备的时间段可能在1秒到30分钟之间,例如10秒到20分钟,30秒到10分钟,包括1分钟到5分钟。。在某些情况下,从将样本施加到信号增强检测器到生成可以被设备接收的输出的时间段可以是1小时或更短,30分钟或更短,15分钟或更短,10分钟或更短,5分钟以下,3分钟以下,1分钟以下,50秒以下,40秒以下,30秒以下,20秒以下,10秒以下,5秒以下,2秒以下,1秒或更短,甚至更短。在某些情况下,从将样本施加到信号增强检测器到生成可由设备接收的输出的时间段可以是100毫秒或更多,包括200毫秒或更多,例如500毫秒或更多,1秒。大于或等于10秒,大于或等于30秒,大于或等于1分钟,大于或等于5分钟。

[1101] 可以使用任何合适的方法来读取CROF设备以获得样品中分析物含量的测量值。在一些实施例中,读取CROF设备包括从结合到CROF设备中的分析物的可检测标签获得电磁信号。在某些实施例中,电磁信号是光信号。所获得的光信号可以包括光的强度,光的波长,光源的位置等。在特定的实施方案中,由标签产生的光信号具有在300nm至900nm范围内的波长。在某些实施例中,以CROF设备的可视图像的形式读取光信号。

[1102] 在某些实施例中,读取CROF设备包括提供电磁辐射源,例如光源,作为与CROF设备中的生物标记物结合的可检测标记的激发源。光源可以是激发激发可检测标记的任何合适的光源。示例性光源包括但不限于太阳光,环境光,UV灯,荧光灯,发光二极管(LED),光电二极管,白炽灯,卤素灯等。

[1103] 可以通过任何合适的方法来测量样品中存在并结合到CROF设备的分析物的量,从而读取CROF设备。在某些实施方案中,CROF设备用被配置为从结合至CROF设备中的分析物的可检测标签获取光信号的设备读取。在某些情况下,该设备是手持设备,例如移动电话或智能电话。被配置为读取CROF设备的任何合适的手持设备可以在本发明的设备,系统和方法中使用。例如,在美国临时申请系列No.2014年10月21日提交的美国专利第62/066,777号,其通过引用合并于此。

[1104] 在一些实施例中,该设备包括光学记录设备,该光学记录设备被配置为从CROF设备获取光信号,例如,获取CROF设备的图像。在某些情况下,光学记录设备是照相机,例如数字照相机。术语“数码相机”表示包括以下主要设备的任何相机:该摄像设备具有用于形成光学图像的摄像透镜系统,用于将该光学图像转换成电信号的图像传感器,以及其他组件。,这类相机的示例包括数码相机,数码电影相机和网络相机(即,公开或私有连接到连接到网络的设备以允许交换图像的相机,包括直接连接到网络的相机)网络以及通过具有信息处理能力的设备(例如个人计算机)连接到网络的网络)。在一示例中,读取CROF设备可以包括可以捕获随着时间的变化的视频成像。例如,可以获取视频以提供对应用于CROF设备的样本中动态变化的评估。

[1105] 在某些实施例中,光学记录设备的灵敏度低于在研究/临床实验室设置中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度。在某些情况下,在本主题方法中使用的光学记录设备具有比感光度低10倍或更多倍的灵敏度,例如100倍或更多倍,包括200倍或更多倍,500倍或更多倍或1000倍或更多倍。研究/临床实验室环境中使用的高灵敏度光学记录设备的灵敏度。

[1106] 在某些实施例中,该设备可以具有视频显示器。视频显示器可以包括可以以用户可感知的方式在其上显示显示页面的组件,例如计算机监视器,阴极射线管,液晶显示器,发光二极管显示器,触摸板或触摸屏显示器,以及或/或本领域中已知的用于发出视觉上可感知的输出的其他手段。在某些实施例中,该设备配备有触摸屏,该触摸屏用于显示信息,例如从检测器获取的图像和/或从处理后的数据生成的报告,并允许受试者输入信息。

[1107] 15多重测定

[1108] 在本文描述的任何实施例中,系统可以被设计用于执行多重测定,并且因此,可以包含多个存储位点,结合位点,或多个存储站点和多个结合位点,使得不同的测定可以在不同的区域来执行在其中一块板的表面上。例如,在一个实施方案中,板中的可含有多个结合位点,每个结合位点含有不同的捕获剂,从而允许在相同的测定中检测样品中的多种分析物。这些位置可以在空间上彼此分离,尽管彼此相邻。

[1109] 图10示意性地图示了本发明的示例性实施例,即在单CROF设备中使用一个绑定位置一个板和另一个板上的多个储存位点的多路复用检测。图10(a)和10(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下,复用CROF装置包括第一板和第二板,其中第一板的一个表面具有一个结合部位;其中所述第二板的一个表面具有多个储存位点;并且其中

不同的储存位点可以具有相同的检测剂但是具有不同的浓度或者可以具有相同或不同浓度的不同检测剂。在一些实施方案中,结合位点的面积大于每个存储位点的面积。在一些实施方案中,结合位点面积大于所有存储位点的总面积,和/或结合位点区域与存储位点对齐(即它们彼此在互相的上方,即结合位点和存储点上的点相同或几乎相同)。

[1110] 图11示意性地图示了本发明的另一个示例性实施例,即在单个CROF装置中使用一个板上的一个储存位点和另一个板上的多个绑定位置的多路复用检测。图11(a)和11(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下,复用CROF装置包括第一板和第二板,其中第一板的一个表面具有多个结合位点;其中所述第二板的一个表面具有一个储存位点;并且其中不同的结合位点可以具有相同的捕获剂但具有不同的浓度,或者可以具有相同或不同浓度的不同捕获剂。在一些实施例中,存储站点的面积大于每个存储站点的面积。在一些实施方案中,储存位点面积大于所有结合位点的总面积,和/或与结合位点对齐(即它们彼此在互相的顶部)。

[1111] 图12示意性地图示了本发明的另一示例性实施例,在单个CROF设备中的多路复用检测,在一个板上具有多个结合位点,在另一个板上具有多个对应的储存位点。图12(a)和12(b)分别是示例性装置的透视图和横截面图。在示例性情况下,多路复用CROF装置包括第一板和第二板,其中第一板的一个表面具有多个结合位点;其中所述第二板的一个表面具有多个对应的储存位点;其中每个相应的储存位点位于第二板上与第一板上的结合位点的位置对应的位置上,使得当板被面对面放置时,每个结合位点仅与一个存储位点重叠,和每个存储位点仅与一个结合位点重叠;其中不同的储存位点可以具有相同的检测剂但具有不同的浓度或可以具有相同或不同浓度的不同检测剂;并且其中不同的储存位点可以具有相同的捕获剂但是具有不同的浓度或者可以具有相同或不同浓度的不同捕获剂。

[1112] 在某些实施方案中,图10,11和12中任一项的装置,其中所述第一板在其表面上进一步包含第一预定测定位点和第二预定测定位点,当板处于闭合位置时,其中所述相邻预定测定位点的边缘明显大于均匀厚度层的厚度,其中样品的均匀厚度层的至少一部分位于预定测定位点上方,并且其中样品具有一个或多种能够在样品中扩散的分析物。通过使相邻多个测定位点的边缘之间的距离大于样品厚度,可以在不流体分离样品不同部分的情况下具有多个结合位点,因为测定的饱和温育可以在两个相邻站点之间的相互扩散时间之内完成。通过适当选择相邻距离与样品厚度的比值,并在比测定饱和度孵育时间长但小于两个相邻位点之间显著相互扩散的时间之间正确选择测量时间,CROF无需分离样品的不同部分,而进行多路复用。在一些实施方案中,在闭合构型下上述邻近距离与样品厚度的比率为1.5或更大,3或更大,5或更大,10或更大,20或更大,30或更大,50或更大,100或更大,200或更大,1000或更大,10,000或更大,或任何两个值之间的范围。一个优选实施例中的比率为3或更大,5或更大,10或更大,30或更大,和100或更大。

[1113] 在某些实施方案中,图10、11和12中任一项的装置,其中第一板在其表面上具有至少三个分析物测定部位,并且任何两个相邻测定部位的边缘之间的距离明显更大于当板处于关闭位置时均匀厚度层的厚度,其中均匀厚度层的至少一部分在测定部位上方,并且其中样品具有一种或多种能够扩散到其中的分析物。

[1114] 在某些实施方案中,图10,11和12中任一项所述的装置,其中所述第一板在其表面上具有至少两个相邻的分析物测定位点,所述至少两个相邻的分析物测定位点分开的距离

没有远远大于当所述板处于所述闭合位置时所述均匀厚度层,其中所述均匀厚度层的至少一部分在所述测定位点上方,并且其中所述样品具有能够在所述样品中扩散的一种或多种分析物。

[1115] U1-6,X-6,P1-8,W1-6,V1-4,UAB1-8,M1-2,S1-2,Q110和H1中任一段的方法或装置以及它们的任何组合,其中第一和第二板进一步包含结合位点和储存位点,如图10,图11或图12中的多重检测。

[1116] 在这些实施方案中,该装置可以用于在没有流体隔离的情况下(即,在它们不是测定区域之间的物理屏障的情况下)平行,多路复用,测定液体样品。该装置可以包括第一板和第二板,其中:i。板可相对于彼此移动成不同的构型;一个或两个平板平板是柔性的;II。一个或两个板包括用各自的板固定的间隔件;并且间隔件具有预定的大致均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离;III。每个板在其相应的表面上具有用于接触样品的样品接触区域,所述样品接触区域包含含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品,iii。第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,每个结合位点具有包含捕获剂的预定区域,所述捕获剂结合并固定样品的相应目标分析物;并且iv。第二板在其表面上具有一个或多个相应的储存位点,每个储存位点具有预定区域并且包括浓度检测试剂,该浓度检测试剂接触样品后溶解到样品中并扩散到样品中,其中每种捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;其中所述构型之一是开放构型,其中:所述两个板部分地或完全地分开,所述板之间的间隔不受所述间隔件调节,并且所述样品沉积在所述板中的一个或两个上,并且其中所述构型中的另一个是在所述以开放构型构型样品沉积之后的闭合构型;并在闭合构型。样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层,所述层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定并覆盖一个或多个结合部位和一个或多个存储部位,ii所述一个或多个对应的储存位点位于所述一个或多个结合位点上方,以及iii。该层的厚度均匀,通过间隔件和所述板调节,是小于250微米,并且比每个存储位点的预定区域的线性尺寸小得多;和iv。在结合位点和/或存储位点之间不存在流体隔离,其中相邻存储位点的边缘之间的分离大于目标分析物或检测剂可以在相关时间内扩散的距离,并且其中在结合位点位点和/或存储位点之间不存在流体隔离。

[1117] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个(至少2个,至少4个或至少16个或更多个)结合位点。

[1118] 在一些实施方案中,所述多个结合位点中的每一个结合不同的靶分析物。

[1119] 在一些实施方案中,第二板在其表面上具有多个(至少2个,至少4个或至少16个或更多个)对应的储存位点。

[1120] 在一些实施方案中,多个对应的储存位点中的每一个都与不同的目标分析物结合。

[1121] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个所述结合位点,并且第二板在其表面上具有多个所述对应的储存位点,其中当所述板为在闭合的构型中。

[1122] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个所述结合位点,并且第二板在其表面上具有储存位点,其中至少一些结合位点面对储存位点中的区域,平板平板处于闭合构型。

[1123] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有结合位点,并且第二板在其表面上具

有多个存储位点,其中至少一些存储位点面对结合位点中的区域,在闭合的构型中。

[1124] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个结合位点,其中结合位点含有结合和固定相同目标分析物的不同捕获剂。

[1125] 在一些实施方案中,第一板在其表面上具有多个结合位点,其中结合位点含有相同的捕获剂。

[1126] 在一些实施方案中,捕获剂在不同结合位点处具有不同的密度。这些实施例可用于提供量化样品中分析物的量的方式。

[1127] 在一些实施方案中,在两个相邻的结合位点或两个相邻的储存位点之间存在分离,并且在闭合构型中分离与样品厚度的比例为至少3,例如至少5,至少10,至少20或至少50。

[1128] 在一些实施方案中,间隔件间距离在1微米至120微米的范围内。

[1129] 在一些实施例中,柔性板具有的厚度在20微米至250微米的范围内(例如,在50微米至150微米的范围内),杨氏模量0.1至5GPa的范围内(例如,在0.5-2GPa的范围内)。

[1130] 在一些实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量的范围为60至750GPa-μm。

[1131] 在一些实施方案中,该方法可包括(a)获得含有一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品;(b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板,其中:i。一个或两个板包括与各个板固定的间隔件,并且一个或两个板是柔性的,ii。间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离,iii。所述第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,所述结合位点各自具有包含捕获剂的预定区域,所述捕获剂结合并固定(a)的相应目标分析物;和IV。第二板在其表面上具有一个或多个相应的储存位点,每个储存位点具有预定的面积并且包括浓度的检测剂,该浓度在接触样品时溶解到样品中并且扩散到样品中,其中每种捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹层;(c)当所述板构型成开放构型时,将所述样本沉积在所述板中的一个或两个上,其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间距不是由间隔件调节;(d)在(c)之后,通过使所述两个板进入闭合构型来压缩所述样品,其中所述闭合构型是这样的构型,其中:i。样品的至少一部分被压缩成均匀厚度的层,该层与两个板的内表面接触并由两个板的内表面限定,并与一个或多个结合位点接触,并且一个或多个ii。所述一个或多个相应的储存位点在所述一个或多个结合位点上方,以及iii。所述层的均匀厚度由所述间隔件和所述板限制,小于250μm,并且实质上小于每个储存位点的预定区域的线性尺寸;(e)在(d)之后并且当板处于闭合构型时,可以:(1)孵育样品达相关时间长度,然后停止孵育;或(2)将样品温育等于或长于相关时间长度的最小值的时间,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估每个样品分析物与靶向结合位点的结合;其中相关的时间长度是:i等于或大于(a)的目标分析物在闭合构型下穿过均匀厚度层的厚度而扩散的时间;和ii明显短于(a)的目标分析物在存储位点或结合位点的预定区域的最小线性维度上横向扩散的时间;从而产生反应,其中在(1)中温育结束时或在(2)中评估期间,与每个结合位点结合的捕获剂-目标分析物-检测剂夹层的大部分来自相应的相关体积的样本;其中所述温育允许每种目标分析物结合至结合位点和检测剂,其中所述相应的相关体积是所述样品在所述闭合构型下位于所述相应存储位点上方的部分,其中所述相邻物质的边缘储存位点和相邻结合位点的边缘之间的间隔大于目标分析物或检

测剂在相关时间内可以扩散的距离,并且其中在结合位点位点和/或存储位点之间不存在流体隔离。

[1132] 上述多路复用测定装置的任何实施例都可以用于该方法。

[1133] 16小量样品或试剂在宽井中的测定/化学反应(E)

[1134] 在某些应用中,平板上的孔将用于测试样品体积小于相对于样品必须覆盖的孔的面积的样品。本发明的一个方面是允许在广泛的井中测定小体积样品或试剂的分析和其他化学反应的方法和装置。术语"井"是指在表面上的中空隔室,凹陷区域或凹陷,其防止沉积在井内的液体通过井固体底部和封闭侧壁(图8)而流出井外。井的面积是由侧壁包围的面积。术语"小体积样品"和"宽井"是指当样品滴在井底上而没有任何装置散布样品时,井底样品的体积与井底比井区小(即小和宽是样品自然接触面积和井底面积的比较)。该井起封闭间隔件(E)的作用。

[1135] 图8和9示出用于样品厚度调节的板和封闭间隔件(井)的某些实施例。示出了两个示例性实施例:(a)第一板在井内具有封闭间隔件(井)和至少一个间隔件(图9),并且(b)第一板在井内没有间隔件(图8)。另一个实施例是,在第一和第二板处于闭合构型之前,封闭的间隔件在板中的一个上并且隔离的间隔件在另一个板上;并且在板的闭合构型下,隔离的间隔件在井的内部。

[1136] 在一个实施方案中,沉积在板的孔中的样品的体积可以具有大约等于孔的内部体积的预定体积(即,将体积计量到特定体积)(即,内井区域乘以井高度),以便当板处于闭合构型时,样品几乎完全填满井,没有或几乎没有样品流出井。

[1137] 在另一个实施方案中,沉积在板的井中的样品的体积未被计量,并且在板的闭合构型下,一部分样品几乎完全填满了井,而另一部分样品流出井。

[1138] 在另一个实施例中,多个井在一个板上。在一些实施例中,井之间存在用于从井中溢出样品的沟槽(倾倒空间)。倾倒空间防止样品从一口井溢出流入其他井。

[1139] E1.如图8所示,一种用于在广泛的井中用小体积样品进行分析和/或化学反应的方法,包括:

[1140] (a)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中第一板在其表面上具有预定尺寸(包括井底,深度和边缘)和结合位点在井底;

[1141] (b)获得样品,所述样品(i)包含能够与所述结合位点结合并且在所述样品中扩散的目标实体,和(ii)具有体积和润湿性质,使得样品的接触所述孔底部的接触面积,在不接触第二板时,小于井底的面积;

[1142] (c)当板构型成开放构型时,样品沉积在井内或第二板上相应区域上或两者;其中在所述开放构型中:所述两个板部分地或完全地分开,并且所述第二板与所述井的底部之间的间隔不受所述井的边缘(即,井的深度)的调节;

[1143] (d)在(c)之后,通过使板进入闭合构型来铺展样品;其中,在所述闭合构型中:所述第二板覆盖所述井,所述结合位点上的所述样品的厚度由所述井和所述第二板调节,并且所述样品与所述井底的接触面积大于平板平板处于开放构型;

[1144] 其中,第二板的对应区域是在闭合构型下在井的顶部并且在井的边缘内部的区域。

[1145] 在段落E1的方法中,所述板进一步包括在所述井内的至少一个间隔件(即井间隔

件)。

[1146] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,样品的体积被计量(例如具有选定体积)。计量体积大约等于,小于或大于井的体积。

[1147] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,来自板外部的压缩力被配置为将板保持在闭合构型中。

[1148] 在段落E1的方法中,在一些实施例中,应用毛细管力将板保持在闭合构型。

[1149] 如图8所示,在段落E1的方法中,在一些实施例中,在所述井的底部,所述第二板的对应区域或两者都附接有预定高度的间隔件,其中在闭合构型时,样本厚度是由间隔件,边缘或两者调节。

[1150] 在一些实施例中,间隔件高度等于,小于或大于所述井的深度。井底是平面的(即平坦的)或弯曲的。在一些实施例中,间隔件(1)具有预定的间隔垫间隔,(2)在样品内部,(3)固定到相应的板或其任何组合。

[1151] 在一些实施方案中,样品的体积大约等于井的体积减去间隔件的体积。在一些实施例中,第二板被构型以密封所述井。

[1152] 在一些实施方案中,所述井的面积与井的深度的平方的比率为3或更大,5或更大,10或更大,20或更大,30或更大,50或更大,100或更大,200或更大,1000或更大,10,000或更大,或者任何两个值之间的范围。

[1153] 所述井的面积与井的深度的平方的比值为3和20之间在一个优选的实施方案中,20和100之间在一个优选的实施方案中,100和1000之间在一个优选的实施方案中,1000和10000之间在一个优选的实施方案中。

[1154] 17通过校正非样品体积产生的影响来精确量化(C)

[1155] 在CROF过程中,样品通常与非样品体积混合,而非样品体积不是样品,包括但不限于间隔件,气泡,粉尘或以下物质的任何组合。在CROF处理中,可以使用样品沉积或其他工艺来引入气泡或灰尘。这些无样品的物体占据体积并位于样品内部,在确定样品的相关体积(感兴趣体积)时应该对其进行校正。本发明的一个方面是校正由两个板之间的样品的相关体积内的非样品体积产生的效应,其中相关体积的厚度通过间隔件来调节。

[1156] C1.一种用于在确定两个板之间的样本的相关体积时校正由非样本材料产生的效应的方法,包括:

[1157] (a)获得样品,其中要量化样品的相关体积;

[1158] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔件并且所述间隔件具有预定的间隔件间距和高度,并且每个间隔件与其各自的板固定;

[1159] (c)当板构型成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构型;

[1160] (d)在(c)之后,使板进入闭合构型,其中在闭合构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且比当板处于开放构型时样品的最大厚度更薄,并且相关体积可以包含相关体积的非样品材料;

[1161] (e)在板闭合时测量,(i)样品相关体积的横向面积和(ii)非样品材料的体积;和

[1162] (f)通过使用由间隔件调节的相关体积的厚度来计算样品的相关体积并校正非样

品材料的效果;

[1163] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分,而非样品材料是并非来自样品的材料。

[1164] -非样品体积的测量是通过对两块板之间的样品进行成像。

[1165] 18通过双重检查间距进行精确量化

[1166] 在CROF中,对于给定的一组条件,即使隔离片和平板可以在闭合构型下给出预定的样品厚度,但是特定CROF期间的实际条件组可能与预期不同,这会导致预定的最终样品厚度的错误。为了减少这种误差,本发明的一个方面是在闭合构型下再次检查最终样品厚度。

[1167] C2.一种用于确定和检查两个板之间的样本的相关体积的厚度的方法,包括:

[1168] (a)获得样品,其中要量化样品的相关体积;

[1169] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个包括间隔件并且所述间隔件具有预定的间隔件间距和高度,并且每个间隔件与其各自的板固定;

[1170] (c)当板构型成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放构型是其中所述两个板部分地或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构型;

[1171] (d)在(c)之后,使板进入闭合构型,其中在闭合构型中:板彼此面对,间隔件和样品的相关体积位于板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件调节并且当板处于开放构型时比样品的最大厚度更薄,并且相关体积可以包含相关体积的非样品材料;

[1172] (e)在板闭合时测量,(i)样品相关体积的横向面积和(ii)非样品材料的体积;和

[1173] (f)通过校正非样品材料的影响来计算样品的相关体积;

[1174] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分,而非样品材料是并非来自样品的材料。

[1175] 19洗脱(WS)

[1176] 在本发明中,整个说明书中描述的所有方法和装置,使用本文所述的板按压和保持的实施方式的一种或任意组合。

[1177] 一种用于测定中的洗涤步骤的方法,包括:

[1178] (a)以上述方法中的一种或任意组合执行步骤

[1179] (b)洗掉样品或平板之间的转移介质。

[1180] 在使用CROF的方法中,通过使板保持闭合构型来进行清洗。

[1181] 在使用CROF的方法中,洗涤通过将板从闭合构型分离来执行。

[1182] 20有多步骤的测定(MA)

[1183] 本发明中,通过将一个实施例与其他实施例组合,通过使用相同的实施例不止一次,可以将本公开描述的实施例(即所有部分)用于组合(a)。(c)(a)及(b)的任何组合。

[1184] MA1.一种用于测定样品中的分析物的方法,包括:

[1185] (a)获得含有分析物的样品;

[1186] (b)执行使用CROF的方法;和

[1187] (c)分离板并执行使用CROF的方法。

[1188] 在段落MA1的方法中,在一些实施例中,其还包括在MA1的步骤(c)之后至少一次重

复MA1的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1189] MA2.一种用于测定样品中的分析物的方法,包括:

[1190] (a)获得含有分析物的样品;

[1191] (b)执行使用CROF的方法;

[1192] (c)分离板并执行使用CROF的方法(洗涤);和

[1193] (d)执行使用CROF的方法。

[1194] 在段落MA2的方法中,在一些实施例中,其还包括在MA2中的步骤(d)之后至少一次重复MA2的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1195] 在段落MA2的方法中,在一些实施例中,其还包括在MA2中的步骤(c)之后至少一次重复MA1的方法中的所有步骤的相同步骤的步骤。

[1196] MA3.用于测定样品中分析物的试剂盒,包括:

[1197] 第一个CROF装置;和

[1198] 第三板,当第一CROF装置的板被分离时,该第三板与第一CROF装置的板中的一个结合以形成第二CROF装置。

[1199] MA4.用于测定样品中分析物的试剂盒,包括:

[1200] 第一CROF装置;

[1201] 位于CROF装置的板的样本接触区域上的至少一个结合位点或存储位点;和

[1202] 第三板,当第一CROF装置的板分离时,第三板与第一CROF装置的板中的一个结合以形成第二CROF装置;

[1203] 其中所述结合位点将目标分析物结合到所述板表面,并且所述储存位点具有试剂,所述试剂在与所述样品接触时可以溶解到所述样品中并且扩散到所述样品中。

[1204] 成像可以包括智能手机的使用。该部分的方法可以进一步包括由光源照射的步骤。光源可以是激光器,LED,灯或相机闪光灯。

[1205] 用于检测样品中目标实体的检测试剂盒(MQXA)

[1206] 用于分析样品中的目标实体的试剂盒可以包括:

[1207] a.第一板,其中所述第一板的一个表面具有一个或多个可以固定目标实体的结合位点,并且所述结合位点具有结合所述目标实体的结合配偶体;

[1208] b.盖板;

[1209] c.在盖板和第一板之间的内部空间中的样本,其中样本包含可在样本中移动的所述目标实体,样本的形状是可变形的,第一板和第二板可相对于彼此移动,样品的形状基本上与内表面共形,样品的至少一部分与结合位点接触,并且在温育期间内部间距小于某个距离。样品与所述结合位点接触;

[1210] d.可以对第一板表面和/或盖板表面进行成像的成像装置;和

[1211] 即一个可以测量内部空间间距的测量装置。

[1212] 本节的方法可能包括使用智能手机。本节的方法可能包括使用照明设备。照明装置可以包括激光器,发光二极管,灯或相机闪光灯。

[1213] 21平板的压和保持(H)

[1214] 按压力在CROF处理中,使用力来压缩两个板以将板从开放构型转变为闭合构型。压缩力减小了板与板内表面之间的间距,并因此减小了板之间的样品的厚度。在本发明中,

压缩力包括但不限于机械力,毛细作用力(由表面张力引起),静电力,电磁力(包括光)及其任何组合。

[1215] 在使板从开放构型变成闭合构型的一些实施例中,外力被施加以将第一板和第二板朝向彼此推动。

[1216] 在使板从开放构型变成闭合构型的一些实施例中,外部压力被施加到第一板和第二板的外部以将板朝向彼此推动,并且外部压力高于板内部的压力。一种装置被使用使板外的压力高于板内的压力。该装置仅限于密封装置。

[1217] 在一些实施例中,压缩力至少部分地由毛细作用力提供,这是来自于第一板和第二板之间的液体以及相应的表面张力和液体与板的相互作用。在一些实施例中,液体是样品本身,或者样品与其他液体的混合物。在某些实施例中,毛细力与其他力一起被使用。在很多情况下,样品通常是液体,表面张力适合插入毛细作用力。在一些实施例中,当毛细作用力等于使样品变形所需的力时,由板导致的样品变形可自动停止。

[1218] 在某些实施方案中,压力(即样品变形)通过从板外部(外部压力)与第一板和第二板之间的压力(内部压力)的隔离,然后内部压力低于外部压力而产生。这种隔离可以使用真空密封或其他设备完成。

[1219] 在一些实施例中,它是上述方法的组合。

[1220] 逐渐按压.在某些实施例中,使板进入闭合构型的压缩力在被称为"逐渐按压"的过程中施加,该过程包括:首先在板的一个位置处按下(即施加压缩力),然后逐渐应用到样品的其他位置。在逐渐按下的一些实施例中,在一个位置处的压缩力(除了样品本身的毛细作用力)在将样品变形为该位置处的期望厚度之后,(i)在整个按下和样品变形的过程中被保持,(ii)在其他位置被按下时被移除,或(iii)在板的某些部分应用(i)和在样品的其他部分使用(ii)。

[1221] 在逐渐按下的一个实施例中,辊被用来将第一板和第二板(样品在板之间,并且板略微有柔韧性)压靠在另一个辊或平面上。

[1222] 在另一个实施例中,人的手指是压板(级样品)的工具。按下是人手的一部分抵抗人体另一部分(包括人手的另一部分)或人手抵抗一个物体(例如桌面)。在一个实施例中,按下开始于样品的一个位置并逐渐移动至样品的其他位置。

[1223] 在逐渐按下的一个实施例中,压缩空气射流首先被引导到板(位于第一板和第二板之间,其中一个板略微有柔任性)的位置(例如中心),然后压力逐渐延伸到板的其他部分。

[1224] 在另一个实施例中,第一板和第二板中的一个或两个是有柔韧性的并且与样品的一个位置接触,然后位于该位置处的毛细作用力将板与板拉到一起(朝向彼此)以使样品变形。

[1225] 逐渐按下的优点包括:它允许使用较小的力来使样品变形(因为对于相同的力,压下区域越小,压强越大);它有助于样品的运动(变形),和/或减少样品中的气泡。压力越大,样品变形越大。逐渐压下可以改善变形样品的厚度均一性。

[1226] 按压设备.用于提供CROF中样品变形的按压力的装置有几种形式。一些实施例使用人的手按压,例如,用手指按压。某些实施例将使用按压装置,这些装置包括但不限于人手,机械夹,机械压力,机械夹具,机械滑块,机械装置,电磁装置,在表面上滚动的滚子,两

个彼此相对的滚子,流体压力机,液压装置或其任何组合。某些实施例是使用压缩的液体(包括压缩空气)来直接或间接地按压第一板和/或第二板。“直接”是指压缩的液体直接施加在第一板和/或第二板上;而“间接”意味着它通过作用第三个物体来发挥作用。按下中的某些实施例使用按压装置和方法的上述实施例中的按压装置及方法的组合。

[1227] 此外,在样品变形的一些实施例中,按压和样品变形是被监测的。监测可用于控制按压和样品变形。变形的监测包括但不限于机械方法,电学,光学,化学,磁学及其任何组合。机械方法包括但不限于机械测量仪,间隔件(机械塞,下面将更详细讨论)和声波。

[1228] 在CROF中,间距控制装置包括机械压力机,机械平移台,人手指,提供将板拉向彼此的毛细作用力的液体,对板施加压力的液体(包括空气)或其组合。

[1229] 在某些实施例中,机械台(平移和/或旋转)用于样品变形和样品厚度控制并与监测系统一起工作。

[1230] 在一些实施例中,压缩力至少部分地由压机(一种将板变成闭合构型的装置)提供,该压机构型成将板压在一起形成闭合构型。

[1231] 在一些实施例中,压板是使用人手。人可以是被测试的人或进行测试的人,也可以是收集样本的人。

[1232] 在一些实施例中,板的按下是使用毛细作用力将两块板保持在一起。毛细作用力是通过使一个或者两个板的内表面的至少一部分变成亲水性而产生的。在合适的毛细作用力下,两块板能够保持相同的板间距和相同的样品相对体积的厚度,与板初始处于闭合构型时相同。即使是部分或全部(除毛细作用力)用于将板压缩至闭合构型的力被移除。

[1233] 在一些实施例中,在板的外表面上施加压缩力以减小板内表面间隔的设备包括对板的外表面合适的接触表面,其中设备的接触表面是装置与所述板的外表面接触的表面,“对所述板的外表面合适”是指所述装置表面在压缩过程中可以变形以符合所述板外表面的形状。在一个示例性实施例中,压缩装置是人体。在另一个示例性实施例中,压缩装置具有由软塑料或橡胶制成的接触表面。

[1234] 自我保持(去除压缩力后保持最终样品厚度).在CROF压缩的一些实施例中,在闭合构型下样品变形之后,一些压缩力被移除并且样品保持与压缩力仍然存在时相同的最终样品厚度。这种情况被称为“自我保持”。自我保持的一个原因是,在去除板对外部介入的压缩力之后,在板的内表面之间仍存在其他力,例如毛细作用力,其将板对保持在一起。毛细作用力是由于板上样品的润湿性所致。

[1235] 为了具有自我保持性,需要控制板表面润湿性,样品与板的总接触面积,闭合构型下的最终样品厚度或其组合。

[1236] 在一些实施例中,为了实现自保持,板的一个或两个内表面是亲水的。即,板中的任一个内表面具有亲水性或两个板都具有亲水性的内表面。

[1237] 毛细作用力取决于液体表面的曲率半径,曲率越小,毛细作用力越高。通过在两个板(即板对)之间使用较小的间距并因此形成较小的样品厚度可以实现较小的曲率。在一些实施方式中,用于实现自我保持的最终样品厚度为10nm或更小,100nm或更小,100nm或更小,500nm或更小,1μm(微米)或更小,2μm或更小,3μm或更小5μm或更小,10μm或更小,20μm或更小,50μm或更小,70μm或更小,100μm或更小,150微米或更小,300μm或更小,500μm或更小,700μm或更小更小,1000μm或更小,1200μm或更小,或者任何两个值之间的范围。

[1238] 在一些实施方案中,与用于自保持板合同的样品的面积为至多10μm2,至多100μm2,至多200μm 2,至多500μm 2,至多1000μm 2,在至多2000μm 2,至多5000μm 2,至多8000μm 2,最多0.01mm2,最多0.05mm2,至多0.1mm 2时,至多0.5mm 2,至多1mm 2,至多5mm 2以下,10mm 2以下,50mm 2以下,100mm 2以下,500mm 2以下,1000mm 2以下,2000mm 2以下,5000mm 2以下,10000mm 2以下,最多100,000mm 2,或者任何两个值之间的范围。

[1239] 在一些实施例中,一个或者两个板的内表面的润湿性被修饰以更好地自我保持。

[1240] HS.1在一些实施例中,在CROF过程中,使用装置来插入压缩力以使板进入闭合构型,并且在达到闭合构型之后,压缩力被去除,并且样本厚度和内部板的表面间隔保持大致与去除压缩力之前的表面间隔相同。在一些实施方案中,在前面段落的方法中,其进一步包括从平板或平板之间读取信号的步骤,其中信号包括但不限于与分析物,实体,标记物,样品体积有关的信号,物质的浓度(即化学物质)或其任何组合。

[1241] 在第SH.1段的方法中,该装置是人手,机械夹,机械压力机,机械夹具,机械滑块,机械装置,电磁装置,在表面上滚动的滚筒,两个彼此相对的辊子,流体压力机,液压装置或其任何组合。

[1242] 在段落SH.1的方法中,在一些实施例中,“板的样本厚度和内表面间隔保持大致与通过设备去除压缩力之前的厚度相同”意味着样本厚度的和在去除压缩力之前和之后的板内表面间隔的相对差异为0.001%或更小,0.01%或更小,0.1%或更小;0.5%以下,1%以下,2%以下,5%以下,8%以下,10%以下,15%以下,20%以下,30%以下,40%以下,50%以下,60%以下,70%以下,80%以下,90%以下,99.9%以下或任何值之间的范围。

[1243] 在段落SH.1的方法中,在一些实施例中,在通过装置去除压缩力之后板的样品厚度和内表面间隔预先确定,其中预定意味着去除压缩力之后的厚度和间距在给定压缩条件下施加压缩力之前便已知。

[1244] H1.一种减小样品的相关体积的厚度并保持减小的厚度的方法,包括:

[1245] (a)获得样品,其中样品的相对体积的厚度将被减小;

[1246] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的两个板,其中所述板中的一个或两个带有间隔件并且所述间隔件具有预定的间距和高度,并且每个间隔件固定在各自的板上;

[1247] (c)当板构型成开放构型时,将样品放置在一个或两个板上;其中所述开放构型是其中所述两个板部分或完全分开并且所述板之间的间隔不被所述间隔件调节的构型;

[1248] (d)在(c)之后,通过使用使所述板进入闭合构型的按压装置来铺展样品,其中在闭合构型中:所述板彼此面对,所述间隔件和所述样品的相关体积位于所述板之间,样品的相关体积的厚度由板和间隔件来调节并且当板处于开放构型时比样品的最大厚度更薄,并且至少一个间隔件在样品内部;和

[1249] (e)在(d)之后,松开所述装置,其中在释放所述压紧装置之后,所述板之间的间隔保持与施加所述装置时的相同或近似相同。

[1250] 其中相关体积是样品的整个体积的至少一部分。

[1251] 在段落H1的方法中,与板之间的间隔大致相同的是至多1%,至多2%,至多5%,至多10%,至多20%,至多50%,至多60%,至多70%,至多80%,至多90%或任何两个值之间的范围。

[1252] 例如,在CROF中,使用人手或双手将两个板压缩到闭合位置,然后除去手和由此手

长生的压缩力,但最终样品厚度仍然相同于人手施加压缩力时那样。

[1253] 22其他组合

[1254] 在本发明中,任一实施例可以(a)单独使用,(b)与其他实施方式一同使用,(c)多次使用,以及(d)任意(a)至(c)的组合使用。

[1255] 所公开的本发明中的方法和装置可以单独使用或其任何组合使用。术语"QMAX"方法或设备是指这里描述的实施例的方法或设备。

[1256] 在一些实施例中,

[1257] 在公开的发明中的方法和装置可以以Q,X,A,M,QX,QA,QM,XA,XM,AM,QXA,QAM,XAM和QXAM的形式使用。

[1258] 将Q,X,A和M应用于表面固定化测定的一些实施方案包括:

[1259] a.准备第一板,其中所述第一板表面具有至少一个具有已知深度和体积的孔,并且所述孔的底部表面具有一个或多个可以将目标实体固定在样品中的结合位点;

[1260] b.将与体积大致相同体积的样品加到孔中,其中样品包含目标实体,目标实体在样品中是可移动的,样品的形状是可变形的,并且样品仅覆盖一部分(因此具有比孔深更高的样品厚度);

[1261] c.准备一个盖板;

[1262] d.使所述第一板和所述盖板相互面对,其中所述样品位于所述第一板和所述第二板的内表面之间;

[1263] e.即通过减小第一板和第二板的内表面之间的间距来减小样品厚度;和

[1264] f.在减小的样品厚度下孵育样品一段时间;

[1265] 这些方法的一个变体是将一个或多个上述步骤应用于96孔板或其他孔板。

[1266] 部分1,2,3和5中公开的本发明中的方法和装置可以单独使用或其任何组合使用。具体而言,对于在部分1和2中公开的发明,我们使用Q,在部分3和5中公开的发明使用Q,在部分4和5中公开的发明中使用X,并且在部分6中公开的发明中使用M.因此,并且在1,2,3和5部分公开的本发明中的器件可以以Q,X,A,M,QX,QA,QM,XA,XM,AM,QXA,QAM,XAM和QXAM。

[1267] 将Q,X,A和M应用于表面固定化测定的一些实施方案包括:

[1268] a.准备第一板,其中所述第一板表面具有至少一个具有已知深度和体积的孔,并且所述孔的底部表面具有一个或多个可以将目标实体固定在样品中的结合位点;

[1269] b.将与体积大致相同体积的样品加到孔中,其中样品包含目标实体,目标实体在样品中是可移动的,样品的形状是可变形的,并且样品仅覆盖一部分(因此具有比井深更高的简单厚度);

[1270] c.准备盖板;

[1271] d.使所述第一板和所述盖板相互面对,其中所述样品位于所述第一板和所述第二板的内表面之间;

[1272] e.即通过减小第一板和第二板的内表面之间的间距来减小样品厚度;和

[1273] f.在减少的样品厚度下孵育样品一段时间。

[1274] 这些方法的一个变体是将一个或多个上述步骤应用于96孔板或其他孔板。

[1275] 所述方法,装置和系统的几个实施例组合了样本体积量化(Q),试剂添加(A)和/或化验加速度(X)的一个或多个特征(并且可被称为对应的缩略语QA,QX,AX和QAX)。下面介绍

Q,A,X,QA,QX,AX和QAX方法和设备的一些实验演示。

[1276] 23试剂

[1277] 除非另有说明,术语“试剂”是指一种或多种生物试剂,生化试剂和/或化学试剂。例如,试剂可以包括捕获剂,检测剂,化学化合物,光学标记,放射性标记,酶,抗体,蛋白质,核酸,DNA,RNA,脂质,碳水化合物,盐,金属,表面活性剂,溶剂或以上。

[1278] 在一些实施方案中,以液体,固体,分子蒸气或其组合的形式存在于板上的试剂。试剂的添加包括但不限于添加,放置,打印,冲压,液体喷射,蒸发(热蒸发,蒸气蒸发,人呼吸),化学气相沉积和/或溅射。不同的试剂可以在不同的位置。试剂可以以小点状试剂印刷和/或喷射。

[1279] 在一些实施方案中,首先将试剂以液体或蒸气形式添加在板上,然后在CROF过程之前干燥以成为板上的干燥试剂。

[1280] 控制试剂释放时间.A方法可以进一步包括控制试剂释放时间的步骤(即,时间测量试剂可以以多快的速度溶解在样品中)。在控制试剂的试剂释放时间的一些实施方案中包括在试剂顶部上混合或涂覆一种或多种影响试剂向样品中释放(向样品中)的“释放控制材料”的步骤。在一些实施方式中,释放控制材料可以是另一种试剂,例如,存在两种试剂A和B(一种或多种),其中一种或多种“释放控制材料”影响试剂释放(进入样品),试剂A被涂覆在试剂B的顶部,在一定条件下,试剂A将在试剂B之前溶解在样品中。

[1281] 此外,第一板和第二板的表面性质可用于控制试剂释放。一个例子是控制表面润湿性能。对于许多试剂,疏水性表面能很好地结合试剂,因此导致试剂缓慢释放或不释放到样品中(取决于试剂层的厚度),而亲水性表面结合试剂能力差,因此导致快速释放进入样品。

[1282] 试剂干燥.在一些实施方案中,在试剂添加步骤(c)之后但在样品添加步骤(d)之前,A-方法还包括步骤(c)中将一些或全部试剂干燥的步骤。

[1283] 试剂的位置.可以将试剂施加和/或布置在一个或两个板上。试剂可以在板上的存储位置(位置)中,每个存储位置都包含一种或多种试剂。不同的储存位点可以包括不同的试剂,相同的试剂或一种或多种常用试剂。

[1284] 控制添加试剂的浓度.在一些实施例中,所述方法进一步包含通过控制存储位点(例如.具有试剂的表面)的样品厚度控制所加试剂的浓度的步骤。

[1285] 用于本发明的试剂可以是用于测定所需的任何合适的试剂,例如标记的或未标记的抗体,标记的或未标记的核酸,可能含有或不含有亲和部分的酶等。在一些实施方案中和如上所述,所存储的试剂可以是设计用于测试血液或其他液体样品中分析物存在的测定的组分。例如,可以通过以下任何方法测量氯化物离子,并且这些测定的组分可以存在于储存位点中:比色法:氯离子从硫氰酸汞中置换硫氰酸盐。游离硫氰酸盐与三价铁离子反应形成有色络合物-硫氰酸铁,用光度法测定。库仑法:在银电极之间通过恒定直流电流产生银离子,银离子与氯化物反应形成氯化银。在所有氯化物与银离子结合后,游离银离子累积,导致电极两端的电流增加并且指示反应的终点。汞离子滴定方法:氯化物用汞离子的标准溶液滴定并形成HgCl 2可溶性复合物。当过量的汞离子与指示剂染料二苯基咔唑结合形成蓝色时,反应的终点用比色法检测。同样地,可以使用钙镁辉石进行比色测量镁,钙镁辉石与镁反应后变成红紫色;通过formazan染料测试;在与镁反应或使用与镁结合形成蓝色复合

物的甲基百里酚蓝发射波长600nm。同样,钙可以通过使用O-甲酚酞的比色技术来检测,当O-甲酚酞络合物与钙反应时其变为紫色。同样地,碳酸氢盐室由于碳酸氢盐(HCO3-)和磷酸烯醇式丙酮酸盐(PEP)在由磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)催化的反应中转化为草酰乙酸和磷酸盐而双色测试。苹果酸脱氢酶(MD)催化草酰乙酸还原为苹果酸,伴随还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的氧化。NADH的这种氧化导致在380/410nm双色测量的与样品的碳酸氢盐含量成比例的反应混合物的吸光度降低。血液尿素氮可以在比色测试中检测到,其中二乙酰或fearon与尿素形成黄色色原体,并且可以通过光度法定量,或者多次使用将尿素转化为氨和碳酸的酶脲酶,其可以通过,例如i)当氨与α-酮戊二酸反应时在340nm处的吸光度降低,ii)测量尿素水解的溶液的电导率增加速率。同样,肌酸酐可以用比色法测量,用碱性苦味酸盐溶液处理样品得到红色复合物。另外,肌酸可以使用测量当肌酸酐被肌酸酐亚氨基水解酶水解时产生的氨的非Jaffe反应来测量。葡萄糖可以通过在血液在一定时间内暴露于固定量的葡萄糖氧化酶的测试中以估计浓度。在规定的时间过后,过量的血液被去除并且颜色产生变化,以此用来估计葡萄糖浓度。例如,葡萄糖氧化酶与葡萄糖反应形成新生氧气,其将碘化钾(在滤纸中)转化为碘,形成棕色。糖化血红蛋白的浓度作为血液中葡萄糖水平的间接读数。当对红细胞的溶血产物进行色谱分析时,在主血红蛋白A峰之前会洗脱出三个或更多个称为血红蛋白A1a,A1b和A1c的小峰。这些“快速”血红蛋白是通过由两步反应组成的反应中葡萄糖与血红蛋白的不可逆连接形成的。己糖激酶可以在葡萄糖被己糖激酶(HK)磷酸化并在三磷酸腺苷(ATP)和镁离子存在下产生葡萄糖-6-磷酸和腺苷二磷酸(ADP)的测定中测量。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6P-DH)将葡萄糖-6-磷酸特异性氧化为葡糖酸-6-磷酸,同时还原NAD+至NADH。340nm处吸光度的增加与样品中的葡萄糖浓度成比例。高密度脂蛋白,低密度脂蛋白,甘油三酯可以使用Abell-Kendall方案进行测量,该方案涉及在水解和提取胆固醇后,在620nm下用Liebermann-Burchard试剂(乙酸酐,冰醋酸和浓硫酸的混合试剂)进行颜色显影。可以使用荧光分析来确定甘油三酯参考值。血浆高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的测定是通过肝素-氯化锰在整个血浆中沉淀出含载脂蛋白B的脂蛋白(低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白)后,按照与血浆总胆固醇相同的程序进行的。。这些化合物也可以在基于量化胆固醇酯和游离胆固醇的酶驱动反应的测定中用比色法检测。胆固醇酯通过胆固醇酯酶水解成胆固醇,胆固醇酯然后被胆固醇氧化酶氧化成酮胆甾-4-烯-3-酮加上过氧化氢。然后用高度特异的比色探针检测过氧化氢。辣根过氧化物酶催化探针和过氧化氢之间的反应,其以1:1的比例结合。样品可以与已知浓度的胆固醇标准进行比较。

[1286] 24应用,样品和更多生物/化学生物标志物

[1287] 本发明的应用包括但不限于:(a)与某些疾病的阶段相关的化合物或生物分子的检测,纯化和定量,所述疾病例如感染和寄生虫病,损伤,心血管疾病,癌症,精神障碍,神经精神障碍和器质性疾病,例如肺病,肾病,(b)检测,纯化和定量微生物,例如来自环境的病毒,真菌和细菌,例如水,土壤或生物样品,例如,组织,体液,(c)对食品安全或国家安全构成危害的化学化合物或生物样品的检测,定量,例如有毒废物,炭疽,(d)医学或生理监测中重要参数的量化,葡萄糖,血氧水平,总血细胞计数,(e)来自生物样品例如细胞,病毒,体液的特定DNA或RNA的检测和定量,(f)测序以及比较染色体和线粒体中DNA的基因序列进行基因组分析,或(g)检测反应产物,例如在药物的合成或纯化过程中产生的反应产物。本发明还可以用于各种领域,包括但不限于人类,兽医,农业,食品,环境,药物测试等。

[1288] 检测可以在各种样品基质中进行,如细胞,组织,体液和粪便。所涉及的体液包括但不限于羊水,房水,玻璃体液,血液(例如全血,分离的血液,血浆,血清等),母乳,脑脊液(CSF),耳垢(耳垢),乳糜,食糜,内淋巴液,外淋巴液,粪便,胃酸,胃液,淋巴液,粘液(包括鼻腔引流和痰),心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,发炎性分泌物,唾液,皮脂(皮肤油)精液,痰,汗液,滑液,泪液,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。在一些实施方案中,样品包含人体液体。在一些实施方案中,样品包含细胞,组织,体液,粪便,羊水,房水,玻璃体液,血液,全血,分离后的血液,血浆,血清,母乳,脑脊髓液,耳垢,乳糜中的至少一种,内淋巴液,外淋巴液,粘液,鼻腔引流,痰,心包液,腹膜液,胸膜液,脓液,大便,唾液,皮脂,精液,痰,汗液,滑液,眼泪,呕吐物,尿液和呼出的冷凝物。

[1289] 在实施方案中,样品是生物样品,环境样品和生物化学样品中的至少一种。

[1290] 在任何实施例中,CROF装置可以被放置在微流体装置中,并且应用步骤b)可以是将样品添加到包括CROF装置的微流体装置中。

[1291] 在任何实施例中,读取步骤d)可包括检测来自CROF装置的荧光或发光信号。

[1292] 在任何实施例中,读取步骤d)可以包括利用配置为读取CROF设备的手持设备来读取CROF设备。手持设备可以是移动电话,例如智能电话。

[1293] 在任何实施例中,CROF装置可以含有能够结合CROF装置上的分析物捕获剂复合物的标记剂。

[1294] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法还可以在步骤c)和d)之间包括向CROF装置施加与CROF装置上的分析物-捕获剂复合物结合的标记剂的步骤,并清洗CROF装置。

[1295] 在任何实施例中,读取步骤d)可以包括读取CROF设备的标识符。标识符可以是光学条形码,射频ID标签或其组合。

[1296] 在任何实施方案中,本发明中的装置,系统和方法可进一步包括将对照样品施加至包含结合分析物的捕获剂的对照CROF装置,其中对照样品包含已知可检测量的分析物,读取对照CROF装置,由此获得样品中已知可检测量的分析物的对照测量值。

[1297] 在任何实施方式中,样品可以是从受试者获得的诊断样品,分析物可以是生物标志物,并且样品中分析物的测量量可以诊断疾病或病症。

[1298] 样品的量可以约为一滴样品。样品的量可以是从刺破的手指或指尖收集的量。样品的量可以是从微针或静脉抽取收集的量。

[1299] 样品可以在从来源获得之后不经进一步处理而使用,或者可以被处理,例如富集感兴趣的分析物,除去大颗粒物质,溶解或重新悬浮固体样品等。

[1300] 可以采用将样品施加到CROF装置的任何合适的方法。合适的方法可以包括使用移液管,滴管,注射器等。在某些实施方案中,当CROF装置以浸渍棒形式位于支撑物上时,如下所述,可以通过浸渍样品-将浸渍棒的区域接收到样品中。

[1301] 样品可以一次收集或多次收集。随着时间的推移收集的样品可以被聚集和/或处理(通过应用于CROF装置并且如本文所述获得样品中分析物的量的测量值)。在一些情况下,随着时间的推移获得的测量值可以被汇总,并且可以用于随时间的纵向分析以促进筛选,诊断,治疗和/或疾病预防。

[1302] 如上所述,可以以任何方便的方式清洗CROF装置以除去未结合的样品组分。在某

些实施方案中,使用结合缓冲液洗涤CROF装置的表面以除去未结合的样品组分。

[1303] 分析物的可检测标记可以通过任何方便的方法完成。分析物可以直接或间接标记。在直接标记中,样品中的分析物在样品应用于CROF装置之前进行标记。在间接标记中,如下所述,将样品应用于CROF设备以捕获未标记的分析物后,标记样品中未标记的分析物。

[1304] 数据处理

[1305] 在某些实施例中,主要设备被配置为处理从读取CROF设备获得的数据。该设备可以以任何合适的方式配置以处理用于主要方法的数据。在某些实施例中,设备具有用于存储数据的储存位点和/或用于处理数据和/或存储数据库的存储指令。数据可以以任何合适的格式存储在存储器中。

[1306] 在某些实施例中,该设备具有处理该数据的处理器。在某些实施例中,用于处理数据的指令可以被存储在处理器中,或者可以被存储在单独的存储器位置中。在一些实施例中,该设备可以包含用于实现处理的软件。

[1307] 在某些实施例中,用于处理从CROF设备获取的数据的设备包含用于执行处理的软件。软件实现的方法可以包括以下中的一个或多个:图像获取算法;图像处理算法;用户界面方法,便于用户和计算设备之间的交互,并作为数据收集,传输和分析手段,通信协议;和数据处理算法。在某些实施例中,图像处理算法包括以下一项或多项:粒子计数,LUT(查找表)过滤器,粒子过滤器,模式识别,形态学确定,直方图,线轮廓,地形图表示,二进制转换或颜色匹配配置文件。

[1308] 在某些实施例中,设备被配置了显示页面以便当安装在设备的存储器中的软件处理时在视频显示器或触摸屏显示器上显示信息。这里描述的显示页面可以使用任何合适的软件语言来创建,例如超文本标记语言(“HTML”),动态超文本标记语言(“DHTML”),可扩展超文本标记语言(“XHTML”),可扩展标记语言(“XML”)或可用于以用户可感知的方式创建可在视频或其他显示器上显示的计算机文件的另一种软件语言。任何具有逻辑,代码,数据,指令的计算机可读介质都可以用于实现任何软件或步骤或方法。在网络包括因特网的情况下,显示页面可以包括适当类型的网页。

[1309] 根据本发明的显示页面可以包括嵌入式功能,该嵌入式功能包括存储在存储设备上的软件程序,例如VBScript例程,JScript例程,JavaScript例程,Java小程序,ActiveX组件,ASP.NET,AJAX,Flash小程序,Silverlight小程序或AIR例程。

[1310] 显示页面可以包括图形用户界面技术的众所周知的特征,诸如例如框架,窗口,滚动条,按钮,图标和超链接以及众所周知的特征,诸如“点击”界面或触摸屏界面。指向并点击图形用户界面按钮,图标,菜单选项或超链接也称为“选择”按钮,选项或超链接。根据本发明的显示页面还可以包含多媒体特征,多点触摸,像素感测,基于IR LED的表面,具有或不具有相机的基于视觉的交互。

[1311] 用户界面可以显示在视频显示器和/或显示页面上。如下面进一步描述的,用户界面可以显示基于与样本有关的分析数据生成的报告。

[1312] 处理器可以被配置为以用于主题方法中的任何合适方式来处理数据。例如,数据被处理成分箱数据,变换数据(例如,通过傅立叶变换变换到频域的时域数据),或者可以与其他数据组合。处理可以将数据转换成期望的形式,并且可能涉及修改数据的格式。处理可以包括检测来自样品的信号,基于特定于用于检查样品的装置或试剂的数学操作或校正

和/或校准来校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式,这些组合可一起表示存在异常情况。在某些实施例中,处理可以涉及将处理的数据与存储在设备中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。

[1313] 在某些实施例中,设备可以被配置为通过将输入数据与存储在存储器中的数据库进行比较来处理输入数据,以检索主体对象下一步要进行的动作的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值可用于确定一种或多种分析物的存在或浓度。阈值对于在有必要提供检测警报的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括对于生成与样本相关的报告可能有用的记录或其他信息。

[1314] 在某些实施例中,该设备可以被配置为接收从CROF设备导出的数据。因此,在某些情况下,该装置可以被配置为接收与受试者提供的样品无关的数据,但仍可能与该诊断相关。这样的数据包括但不限于年龄,性别,身高,体重,个人和/或家庭病史等。在某些实施方案中,设备被配置为处理来自或独立于应用于CROF的样品的数据设备。

[1315] 网络

[1316] 在某些实施例中,该设备可以被配置为通过诸如局域网(LAN)之类的网络,诸如因特网之类的广域网(WAN),个域网,诸如电话网络的电信网络,蜂窝电话网络,移动网络,无线网络,数据提供网络或任何其他类型的网络。在某些实施例中,该设备可以被配置为利用无线技术,诸如蓝牙或RTM技术。在一些实施例中,设备可以被配置为利用各种通信方法,诸如与调制解调器的拨号有线连接,诸如TI的直接链路,综合业务数字网络(ISDN)或电缆线路。在一些实施例中,无线连接可以使用诸如蜂窝,卫星或寻呼网络,通用分组无线电服务(GPRS)之类的示例性无线网络或诸如以太网之类的本地数据传输系统或LAN上的令牌环。在一些实施例中,设备可以使用红外通信组件进行无线通信。

[1317] 在某些实施例中,该设备被配置以用于接收可以存储在存储器中的,通过网络从服务器发送的计算机文件。设备可以接收有形的计算机可读介质,其可以包含可以存储在设备的永久或临时存储器中的指令,逻辑,数据或代码,或者可以影响或启动设备的动作。一个或多个设备可以传送那些可以提供对其他计算机文件的访问的计算机文件或链接。

[1318] 在一些实施例中,设备是个人计算机,服务器,笔记本电脑,移动设备,平板电脑,移动电话,手机,卫星电话,智能电话(例如iPhone,Android,黑莓,Palm,Symbian,Windows),个人数字助理,蓝牙设备,寻呼机,地面线路电话或其他网络设备。这样的设备可以是启用通信的设备。这里使用的术语“移动电话”指的是可以使用蜂窝网络,诸如会话发起协议(SIP)的语音IP(VoIP)网络或无线局域网(WLAN)使用的电话手机802.11x协议或其任何组合。在某些实施例中,该装置可以是手持式的和紧凑的,使得其可以装配到消费者的钱包和/或口袋(例如口袋大小)中。

[1319] 环境测试

[1320] 如上所述,本发明中的装置,系统和方法可用于分析环境样品,例如来自水,土壤,工业废物等的样品中是否存在环境标记。环境标记可以是任何合适的标记,例如下表B8中

所示的那些标记,其可以被捕获剂捕获,所述捕获剂特异性结合配置有捕获剂的CROF装置中的环境标记。环境样品可以从诸如河流,海洋,湖泊,雨水,雪,污水,污水处理径流,农业径流,工业径流,自来水或饮用水等任何合适的来源获得。在一些实施例中,或不存在,或者样品中环境标记的定量水平可以指示从中获得样品的环境状态。在一些情况下,环境标志物可能是对暴露于环境的生物体例如人类,伴侣动物,植物等有毒或有害的物质。在某些情况下,环境标志物可能是一些过敏原,可能会导致一些暴露于环境中的人发生过敏反应。在一些情况下,样本中环境标记的存在或不存在或定量水平可能与环境的一般健康相关。在这种情况下,环境的一般健康状况可以在一段时间内测量,例如一周,几个月,几年或几十年。

[1321] 在一些实施例中,本发明中的装置,系统和方法进一步包括接收或提供报告,所述报告指示对象暴露于从其获取样本的环境的安全性或危害性,所述信息包括测量的环境标志。用于评估环境安全风险或健康的信息可能包括环境标志的类型和测量量以外的数据。这些其他数据可以包括位置,高度,温度,一天中的时间/月份/年份,压力,湿度,风向和速度,天气等。数据可以表示一定时期内的平均值或趋势(分钟,小时,几天,几周,几个月,几年等)或较短时间段(毫秒,秒,分钟等)的瞬时值。

[1322] 报告可以由配置为读取CROF设备的设备产生,或者可以在发送包括测量的环境标记量的数据时在远程位置产生。在某些情况下,专家可能在远程位置或可以访问发送到远程位置的数据,并且可能会分析或审查数据以生成报告。专家可能是政府机构的科学家或管理人员,如美国疾病控制中心(CDC)或美国环境保护局(EPA),研究机构(如大学)或私人公司。在某些实施例中,专家可以基于由设备发送的数据和/或在远程位置处分析的数据向用户发送指令或推荐。

[1323] 食品检测

[1324] 如上所概述,本发明中的装置,系统和方法可用于分析食物样品,例如来自生食物,加工食物,熟食物,饮用水等的样品中存在食物标记物。食物标记可以是任何合适的标记,例如下面的表B9中所示的那些,其可以被捕获剂捕获,所述捕获剂特异性结合配置有捕获剂的CROF装置中的食物标记。环境样品可以从任何合适的来源获得,例如自来水,饮用水,预制食品,加工食品或生食品等。在一些实施方案中,样品中食物标记物的存在或不存在或定量水平如果食物被食用,可能表示对受试者的安全性或危害性。在一些实施方案中,食物标记物是源自致病微生物或微生物生物体的物质,其指示从其获得样品的食物中存在生物体。在一些实施方案中,如果受试者食用,则食物标记物是有毒或有害物质。在一些实施方案中,食物标记物是生物活性化合物,如果受试者消耗,其可能无意或意想不到地改变生理机能。在一些实施方案中,食品标志物指示在其中获得所述食品的方式(生长,采购,抓住,收获,加工,蒸煮等)。在一些实施例中,食物标记指示食物的营养成分。在一些实施方案中,食物标记物是过敏原,如果从其获得样品的食物被受试者消耗,该过敏原可诱发过敏反应。

[1325] 在一些实施方式中,本发明中的装置,系统和方法进一步包括接收或提供指示受试者消耗获得样品的食物的安全性或危害性的报告,所述报告基于包括所测量的食品标记。用于评估用于消费的食品的安全性的信息可以包括除了食品标记的类型和测量量之外的数据。这些其他数据可能包括与消费者相关的任何健康状况(过敏,妊娠,慢性或急性疾

病,当前处方药等)。

[1326] 该报告可以由被配置为读取CROF设备的设备产生,或者可以在发送包括食物标记的测量量的数据时在远程位置产生。在某些情况下,食品安全专家可能在远程位置或可以访问发送到远程位置的数据,并可能分析或审查数据以生成报告。食品安全专家可能是政府机构的科学家或管理员,如美国食品和药物管理局(FDA)或CDC,研究机构(如大学)或私人公司。在某些实施例中,食品安全专家可以基于由设备传送的数据和/或在远程位置分析的数据向用户发送指令或建议。

[1327] 25血检

[1328] 本发明的应用的一些示例性实施例是使用智能手机进行简单,快速的血细胞计数。

[1329] 在一些实施方案中,第一板和第二板选自相对平坦表面的薄玻璃载玻片(例如0.2mm厚)或薄塑料膜(例如15mm厚),并且每个具有长度为10cm宽约0.5cm的区域。间隔件由玻璃,塑料或其他在按压时不会明显变形的材料制成。在样品添加之前,间隔件放置在第一板,第二板或两者上;并且第一板,第二板或两者任选地用促进血液计数的试剂(染色染料和/或抗凝血剂)涂覆。第一块板和第二块板可以选择密封在袋子中,以便于运输和延长保质期。

[1330] 在血细胞计数测试中,样品只需要约1uL(微升)(或约0.1uL至3uL)的血液,其可以从手指或其他人体位置取得。血样可以直接从人体(例如手指)添加到第一板和第二板上,而不需要任何稀释。然后使第一板和第二板相互面对,使得血样位于第一板和第二板的内表面之间。如果可选试剂预先添加(染色染料或抗凝血剂),它们会沉积在内表面上与样品混合。然后用手指或简单的机械装置(例如使用弹簧按压的夹子)按压第一板和第二板。在压力机下,内部间距减小,最终减小量将停止在间隔件高度设定的值处,并达到最终样品厚度,其通常等于最终内部间距。由于最终的内部间距是已知的,所以最终样品厚度变得已知,即通过该方法进行量化(测量)。

[1331] 如果血样未被稀释,则在按压(样品变形)之后,间隔件以及因此最终样品厚度可能很薄,例如,小于1μm,小于2μm,小于3μm,小于4μm,小于5μm,小于7微米,小于10微米,小于15微米,小于20微米,小于30微米,小于40微米,小于50微米,小于60微米,小于80微米,小于100微米,小于150微米,或任何两者之间的任何范围数字。薄的最终样品可能是有用的,因为如果最终样品厚度很厚,那么在成像期间许多红细胞可能重叠,这可能使得细胞计数不准确。例如,约4微米厚的全血未经稀释将产生约一层血红细胞。

[1332] 在按压之后,可以直接或通过附加的光学元件(例如,根据需要透镜,过滤器或光源)通过智能手机对样品成像。样品的图像将被处理以识别细胞的类型以及细胞数量。图像处理可以在同一个智能手机上完成,该智能手机拍摄图像或者远程传输图像,然后将最终结果传输回智能手机(将图像传输到远程位置并在该处处理。)智能手机将显示特定细胞的数量。在某些情况下,会显示某些建议。建议可以在测试前存储在智能手机上,也可以来自远程机器或专业人员。

[1333] 在某些实施方案中,使用第5节(试剂混合)中所述的方法和装置将试剂放置在第一板和/或第二板的内表面上。

[1334] 用于血液测试的装置或方法包括(a)本文描述的段落中的装置或方法和(b)处于

闭合构型的板间隔(即,两个板的内表面之间的距离),或者这样的间隔,其中板间距中未稀释的全血具有红细胞(RBC)的横向平均细胞间距离大于RBC盘形的平均直径的平均细胞间距离。

[1335] 用于布置非球形单元的取向的装置或方法包括(a)如本文所述的装置或方法,和(b)在所述装置或方法中的板间隔(即,两个板的内表面之间的距离)闭合构型或使用这种间隔,其中间隔小于单元在其长方向上的平均尺寸(长方向是单元的最大尺寸方向)。这样的布置可以改进样品体积的测量(例如红细胞体积)。

[1336] 在本发明中,血液检查中的分析物包括蛋白质标记物,其列表可以在美国临床化学协会的网站上找到)。

[1337] 26包装

[1338] 本发明的另一方面涉及包装,该包装会延长使用的试剂的使用寿命并且便于使用。

[1339] 在一些实施方案中,将CROF中含有或不含试剂的平板置于包装内,每个包装一个平板或每个包装多于一个平板。在一个实施例中,第一板和第二板在使用之前被包装在不同的包装中。在一些实施方案中,不同的测定共享共同的第一板或共同的第二板。

[1340] 在一些实施例中,每个包装都是密封的。在一些实施例中,密封件用于防止来自包装外部的空气,化学物质,湿气,污染物或它们的任何组合进入包装内部。在一些实施例中,封装被真空密封或填充有氮气或内部气体。在一些实施方案中,可以延长板和/或试剂(包括捕获剂,检测剂等)的保存期限的材料与板一起包装在包装内。

[1341] 在一些实施例中,包装材料是薄层形式,使得包装容易被人的手撕开。

[1342] 27PoC,智能手机和网络

[1343] 本发明的一个方面涉及用于监测对象的健康状态的方法,所述方法包括:将从对象提供的样本应用于基于CROF的检测器,所述基于CROF的检测器被配置为指示代表所述样本的输出;用配置成获取检测器输出的装置作为输入数据来处理检测器输出,并分析输入数据以生成报告;并接收报告。信号增强检测器具有快速检测,简化阅读器(例如用smarphone替代大型常规阅读器)的优点,并且损失成本。

[1344] 体液

[1345] 在某些实施方案中,样品可以包括各种流体或固体样品。在一些情况下,样品可以是来自受试者的体液样品。在某些情况下,可以提供固体或半固体样品。样品可以包括从受试者收集的组织和/或细胞。样品可以是生物样品。生物样品的实例可以包括但不限于血液,血清,血浆,鼻拭子,鼻咽洗液,唾液,尿液,胃液,脊髓液,泪液,粪便,粘液,汗液,耳蜡,油,腺分泌物,脑脊液,组织,精液,阴道液,源自肿瘤组织的间质液,眼液,脊髓液,咽拭子,呼吸,头发,指甲,皮肤,活组织检查,胎盘液,羊水,脐带血,淋巴液,腔液,痰,脓液,微生物群,胎粪,母乳和/或其他排泄物。样品可能包括鼻咽清洗液。可以在提取缓冲液中处理鼻拭子,咽拭子,粪便样品,毛发,指甲,耳蜡,呼吸和其它固体,半固体或气体样品,例如预先固定或可变的时间量到他们的分析。如果需要,那么提取缓冲液或其等分试样可以类似于其他流体样品进行处理。受试者的组织样品的实例可以包括但不限于结缔组织,肌肉组织,神经组织,上皮组织,软骨,癌样品或骨。

[1346] 在某些实施方案中,受试者可以是人类或非人类动物。受试者可以是哺乳动物,脊

椎动物,如鼠类,猿猴,人类,农场动物,运动动物或宠物。在一些实施例中,受试者可以是患者。在其他实施方案中,受试者可以被诊断患有疾病,或者受试者可能不被诊断患有疾病。在一些实施例中,受试者可以是健康的受试者。

[1347] 设备读取

[1348] 如上所述,该方法的各个方面包括用配置成获取检测器输出作为输入数据的设备处理信号增强检测器输出,并处理输入数据以生成报告。可以使用任何适合于获取检测器输出作为输入数据并处理输入数据以生成报告的设备。在一些实施例中,该设备包括被配置为获取光学检测器输出作为输入数据的光学记录设备。在某些情况下,光学记录设备是相机,例如数码相机。术语“数码相机”表示包括作为其主要部件的图像拍摄设备的任何相机,该图像拍摄设备设置有用于形成光学图像的图像拍摄透镜系统,用于将光学图像转换为电信号的图像传感器,以及其他部件,包括数字静态照相机,数字电影照相机和网络照相机(即,公开地或私人地连接到连接到网络以允许图像交换的设备的相机的示例,包括直接连接到网络以及通过具有信息处理能力的诸如个人计算机的设备连接到网络的那些)。在一个示例中,输入数据可以包括可以捕捉随时间变化的视频成像。例如,可以获取视频以提供对样本中动态变化的评估。

[1349] 在某些实施例中,设备借助形成设备与检测器之间的接口的适配器来获取检测器输出。在某些实施例中,界面通用以与适合于执行主题方法的任何装置兼容。感兴趣的接口包括但不限于USB,火线,以太网等。在某些实施例中,设备通过无线通信获取检测器输出,包括蜂窝,蓝牙,WiFi等等

[1350] 在某些实施例中,该设备可以具有视频显示器。视频显示器可以包括可以以用户可感知的方式(例如,计算机监视器,阴极射线管,液晶显示器,发光二极管显示器,触摸板或触摸屏显示器)显示显示页面的组件,以及/或本领域已知的用于发射视觉可感知输出的其他手段。在某些实施例中,该设备配备有用于显示信息的触摸屏,诸如从检测器获取的输入数据和/或从处理的数据生成的报告,并允许信息由对象输入。

[1351] 在某些实施例中,该装置配备有振动能力作为提醒对象例如在处理检测器输出时产生的报告或准备从检测器获取输出的方式。

[1352] 在某些实施例中,主题设备被配置为处理从信号增强检测器获取的输入数据。该设备可以以任何合适的方式配置以处理用于主题方法的数据。在某些实施例中,设备具有用于存储数据的储存位点和/或用于处理数据和/或存储数据库的存储指令。数据可以以任何合适的格式存储在存储器中。

[1353] 在某些实施例中,该设备具有处理该数据的处理器。在某些实施例中,用于处理数据的指令可以被存储在处理器中,或者可以被存储在单独的存储器位置中。在一些实施例中,该设备可以包含用于实现处理的软件。

[1354] 在某些实施例中,被配置为处理从检测器获取的输入数据的设备包含用于执行处理的软件实现的方法。软件实现的方法可以包括以下中的一个或多个:图像获取算法;图像处理算法;用户界面方法,其促进用户与计算设备之间的交互并用作数据收集,传输和分析的手段,通信协议;和数据处理算法。在某些实施例中,图像处理算法包括以下一项或多项:粒子计数,LUT(查找表)滤波器,粒子滤波器,模式识别,形态学确定,直方图,线轮廓,地形表示,二进制转换或颜色匹配配置文件。

[1355] 在某些实施例中,设备被配置为当显示页面被驻留在设备的存储器中的软件解释时在视频显示器或触摸屏显示器上显示信息。这里描述的显示页面可以使用任何合适的软件语言来创建,例如超文本标记语言(“HTML”),动态超文本标记语言(“DHTML”),可扩展超文本标记语言(“XHTML“),可扩展标记语言(”XML“)或可用于以用户可感知的方式创建可在视频或其他显示器上显示的计算机文件的另一种软件语言。任何具有逻辑,代码,数据,指令的计算机可读介质都可以用于实现任何软件或步骤或方法。在网络包括因特网的情况下,显示页面可以包括适当类型的网页。

[1356] 根据本发明的显示页面可以包括嵌入式功能,该嵌入式功能包括存储在存储设备上的软件程序,诸如例如VBScript例程,JScript例程,JavaScript例程,Java小程序,ActiveX组件,ASP.NET,AJAX,Flash小程序,Silverlight小程序或AIR例程。

[1357] 显示页面可以包括图形用户界面技术的众所周知的特征,诸如例如框架,窗口,滚动条,按钮,图标和超链接以及众所周知的特征,诸如“点击”界面或触摸屏接口。指向并点击图形用户界面按钮,图标,菜单选项或超链接也被称为“选择”按钮,选项或超链接。根据本发明的显示页面还可以包含多媒体特征,多点触摸像素基于红外LED的表面,带或不带摄像头的基于视觉的交互。

[1358] 用户界面可以显示在视频显示器和/或显示页面上。如下面进一步描述的,用户界面可以显示基于与样本有关的分析数据生成的报告。

[1359] 处理器可以被配置成以任何合适的方式处理数据以用于主题方法。数据例如被处理成合并数据,变换数据(例如,通过傅立叶变换变换到频域的时域数据),或者可以与其他数据组合。处理可以将数据转换成期望的形式,并且可能涉及修改数据的格式。处理可以包括检测来自样品的信号,基于数学操纵或校正和/或专用于设备的校准或用于检查样品的试剂校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,这些组合可一起表示存在异常情况,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式。在某些实施例中,处理可以涉及将处理的数据与存储在设备中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。

[1360] 在某些实施例中,设备可以被配置为通过将输入数据与存储在存储器中的数据库进行比较来处理输入数据,以检索要由对象执行的动作过程的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值对于确定一种或多种分析物的存在或浓度可能是有用的。阈值对于检测警报可能有用的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括对于生成与样本相关的报告可能有用的记录或其他信息。

[1361] 在某些实施例中,该设备可以被配置为获取不是来自信号增强检测器的输出的数据。因此,在某些情况下,该装置可以被配置为获取不代表受试者提供的样品但仍然可以代表受试者的数据。这样的数据包括但不限于年龄,性别,身高,体重,个人和家庭病史等。在某些实施例中,该设备被配置为处理从检测器输出获取的输入数据以及所获取的数据与检测器输出无关。

[1362] 在某些实施例中,该设备可以被配置为通过诸如局域网(LAN)之类的网络,诸如因

特网之类的广域网(WAN),个域网,诸如电话网络的电信网络,蜂窝电话网络,移动网络,无线网络,数据提供网络或任何其他类型的网络。在某些实施例中,该设备可以被配置为利用无线技术,诸如蓝牙或RTM技术。在一些实施例中,设备可以被配置为利用各种通信方法,诸如与调制解调器的拨号有线连接,诸如TI,ISDN或电缆线路的直接链路。在一些实施例中,无线连接可以使用示例性无线网络,例如蜂窝,卫星或寻呼网络,GPRS,或本地数据传输系统,例如以太网或LAN上的令牌环。在一些实施例中,设备可以使用红外通信组件进行无线通信。

[1363] 在某些实施例中,该设备被配置为接收可以存储在存储器中的,通过网络从服务器发送的计算机文件。设备可以接收有形的计算机可读介质,其可以包含可以存储在设备的永久或临时存储器中的指令,逻辑,数据或代码,或者可以以某种方式影响或启动设备的动作。一个或多个设备可以传送可以提供对其他计算机文件的访问的计算机文件或链接。

[1364] 在一些实施例中,设备是个人计算机,服务器,膝上型计算机,移动设备,平板电脑,移动电话,手机,卫星电话,智能电话(例如iPhone,Android,黑莓,Palm,Symbian,Windows),个人数字助理,蓝牙设备,寻呼机,地面线路电话或其他网络设备。这样的设备可以是启用通信的设备。这里使用的术语“移动电话”是指可以使用蜂窝网络,诸如会话发起协议(SIP)的语音IP(VoIP)网络,或者无线局域网(WLAN)来使用的电话手机802.11x协议或其任何组合。在某些实施例中,该装置可以是手持式的和紧凑的,使得它可以装入消费者的钱包和/或口袋(例如口袋大小)中。

[1365] 在某些实施例中,该方法包括将样本导出的数据发送到远程位置以进行分析。远程位置可能是与设备所在位置不同的位置。远程位置可以包括但不限于医院,医生办公室或其他医疗机构或研究实验室。在一些情况下,远程位置可以具有计算机,例如服务器,其被配置为通过网络与设备进行通信(即从设备接收信息并将信息发送到设备)。在一些实施例中,设备可以将数据传输到云计算基础设施。该设备可以访问云计算基础设施。在一些实施例中,按需提供计算资源(数据,软件)可以经由计算机网络而不是来自本地计算机。该设备可能包含非常少的软件或数据(可能只有最低限度的操作系统和Web浏览器),作为连接到Internet的基本显示终端。由于云可能是潜在的交付机制,因此基于云的应用程序和服务可能支持任何类型的软件应用程序或服务。由设备提供和/或由设备访问的信息可以分布在各种计算资源上。或者,信息可以存储在一个或多个固定数据存储单元或数据库中。

[1366] 在某些实施例中,远程位置包括存储在数据存储单元中的中央数据库,该数据存储单元接收并分析从设备发送的数据。数据存储单元可以能够存储计算机可读介质,该计算机可读介质可以包括用于处理器执行一个或多个步骤的代码,逻辑或指令。在一些实施例中,以与中央数据库中包含的数据相比较的方式分析所接收的数据,并将结果发回给对象。分析可以包括基于数学操纵或校正和/或对于用于检查样品的装置或试剂特定的校准来校正原始数据;计算值(例如浓度值),比较(例如,与基线,阈值,标准曲线,历史数据或来自其他传感器的数据),确定测试是否准确,突出显示值或结果是异常值或可能是引起关注的原因(例如,高于或低于正常或可接受的范围,或指示异常情况)或结合的组合,这些组合可一起表示存在异常情况,曲线拟合,使用数据作为数学或其他分析推理(包括演绎,归纳,贝叶斯或其他推理)的基础,以及其他合适的处理形式。

[1367] 在某些实施例中,分析可涉及将分析的数据与存储在远程位置处的数据存储单元

中的数据库进行比较,以检索要由对象执行的动作过程的指令。在一些实施例中,数据库可以包含存储的信息,其包括感兴趣的分析物的阈值。阈值对于确定一种或多种分析物的存在或浓度可能是有用的。阈值对于在检测警报可能有用的情况可能是有用的。数据存储单元可以包括与可以在样本上运行的样本制备或临床测试有关的任何其他信息。数据存储单元可以包括可用于生成与分析的数据有关的报告的记录或其他信息。

[1368] 在某些实施例中,卫生保健专业人员在远程位置。在其他实施例中,卫生保健专业人员可以在与远程位置或设备位置不同的第三位置访问由设备发送的数据。卫生保健专业人员可以包括与卫生保健系统相关联的个人或实体。卫生保健专业人员可以是医疗卫生保健提供者。卫生保健专业人员可以是医生。卫生保健专业人员可以是个人或机构,以系统的方式向个人,家庭和/或社区提供预防,治疗,促销或康复卫生保健服务。卫生保健专业人员的示例可以包括医师(包括全科医生和专家),牙医,医师助理,护士,助产士,药师,营养师,理疗师,心理学家,按摩师,临床人员,物理治疗师,抽血师,职业治疗师,视光师,急救医务人员,医护人员,医学检验技术,医学假肢技师,放射技师,社会工作者,以及各种各样的其他训练有素的人力资源提供某种类型的医疗服务。卫生保健专业人员可能会或可能不会获得处方证明。卫生保健专业人员可以在医院,卫生保健中心和其他服务提供点工作或与之关联,也可以从事学术培训,研究和管理。一些医疗保健专业人员可能会为私人住宅中的患者提供护理和治疗服务。社区卫生工作者可以在正规卫生保健机构之外工作。卫生保健服务的管理人员,病历和卫生信息技术人员以及其他支持人员也可以是卫生保健专业人员或与卫生保健提供者有联系。

[1369] 在一些实施例中,卫生保健专业人员可能已经熟悉受试者或已经与受试者通信。受试者可以是卫生保健专业人员的患者。在某些情况下,卫生保健专业人员可能已处方该受试者进行临床测试。在一个示例中,卫生保健专业人员可以是受试者的初级保健医生。卫生保健专业人员可以是该受试者的任何类型的医生(包括全科医生和专科医生)。

[1370] 因此,卫生保健专业人员可以分析或查看从设备传输的数据和/或在远程位置执行的分析结果。在某些实施例中,卫生保健专业人员可以基于由设备传输和/或在远程位置处分析的数据向受试者发送指令或推荐。

[1371] 28在不使用间隔件的情况下控制和测量样品厚度

[1372] 在本发明的一些实施方式中,用于调节样品或样品的相关体积的间隔件被(a)可以测量板内部间距的定位传感器和(b)可以根据传感器提供的信息将板移动到所需的板内部空间来控制样品内部间距。在一些实施例中,所有间隔件都被平移台,监测传感器和反馈系统所代替。

[1373] 使用光学方法测量间距和/或样品厚度。在一些实施例中,内表面之间的间距的测量值(f)包括光学干涉的使用。光学干涉可以使用多个波长。例如,由于在第一板和第二板的内表面处反射的光的干涉而导致的光信号随着光的波长而振荡。根据振动,可以确定内表面之间的间距。为了增强干涉信号,可以在内表面之一或两者上涂上光反射材料。

[1374] 在一些实施例中,内表面之间的间距的测量值(f)包括拍摄光学成像(例如,拍摄样本的2D(二维)/3D(三维)图像,并且该图像可以是多次成像。不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振)和图像处理。

[1375] 使用光学方法测量整个样品区域或体积.在一些实施例中,对整个样本区域或体

积的测量(f)包括对光学成像(例如,对样本的2D(二维)/3D(三维)图像进行拍摄,并且图像的拍摄可以是多次)。不同的视角,不同的波长,不同的相位和/或不同的偏振)和图像处理。样品面积是指在大致平行于第一板和第二板的方向上的面积。3D成像可以使用条纹投影轮廓测定法(FPP),这是获取对象的三维(3D)图像的最流行的方法之一。

[1376] 在一些实施例中,通过成像对样本区域或体积的测量包括:(a)通过使用已知区域或体积的样本对图像比例进行校准(例如,成像器是智能电话,并且由成像仪拍摄的图像的尺寸)。可以通过比较同一手机上已知尺寸样本的图像来校准手机);(b)将图像与放置在第一块板和第二块板(在此进一步讨论)上或附近的刻度标记(标尺)进行比较,以及(c)它们的组合。

[1377] 如本文所使用的,光可以包括可见光,紫外光,红外光和/或近红外光。光可以包括20nm至20,000nm范围内的波长。

[1378] 29实施例的其他描述

[1379] 提供以下方法,设备和系统。可以使用上面或下面描述的任何组件,材料,参数或步骤来实现这些实施例。以下实施例使用CROF板。

[1380] 实施例1.一种分析液体样品的方法,包括:

[1381] (a)获得含有分析物的样品;

[1382] (b)获得可相对移动到不同构型的第一板和第二板,其中每个板的样品接触表面基本是平面的,一个或两个板都是柔性的,并且一个或两个板都包含间隔件,固定有各自的样品接触表面,并且其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定间隔间距,该间隔间距比分析物的尺寸大至少约2倍,最高达200μm(微米);

[1383] (c)当板被构型成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由间隔件调节;

[1384] (d),在(c)之后,使用两个板将至少一部分样品压缩成基本上均匀厚度的层,该厚度由板的样品接触表面限制,其中该层的均匀厚度由间隔件和板,其中压缩包括:

[1385] 将两个面板放在一起;和

[1386] 平行地或顺序地对至少一个板的区域进行适形按压,以将板压在一起以形成闭合构型,其中,适形按压在至少一部分样品上的板上产生基本均匀的压力,以及加压使样品的至少一部分在板的样品接触表面之间横向地扩展,并且其中闭合构型是其中在均匀厚度区域的层中板之间的间隔由间隔件调节的构造;和

[1387] (e)在板处于闭合构型时分析均匀厚度层中的分析物;

[1388] 其中,贴合按压是使板的外表面的形状不依赖于形状而使施加在区域上的压力大致恒定的方法。和

[1389] 其中,平行按压同时在目标区域上施加压力,而连续按压在目标区域的一部分上施加压力并逐渐移动到其他区域。

[1390] 实施例2.一种分析液体样品的装置,包括:

[1391] 第一板和第二板,其中:

[1392] 板可相对于彼此移动成不同的构造;

[1393] 一个或两个板是柔性的;

[1394] 每个板在其各自的表面上均具有样品接触区域,用于接触包含分析物的样品,

[1395] 一块板或两块板包括用各自的样品接触区域固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定间隔间距,该间距至少是分析物尺寸的约2倍,高达200μm,并且其中至少一个间隔件位于样品接触区域内;

[1396] 其中一种构型是敞开构型,其中:两块板分开,两块板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品放置在一块或两块板上;和

[1397] 其中另一个构型是闭合构型,其在样品放置之后以开放构型构型;在闭合构型下:至少一部分样品被两块板压缩成高度均匀的层,其中该层的均匀厚度由板的样品接触面限制,并由板和间隔件。

[1398] 实施例3.一种分析血液样本的方法,包括:

[1399] (a)取得血液样本;

[1400] (b)获得可相对移动到不同构型的第一板和第二板,其中每个板的样品接触表面基本是平面的,一个或两个板都是柔性的,并且一个或两个板都包含间隔件,用各自的样品接触表面固定,并且其中间隔件具有:

[1401] i.预定的基本均匀的高度,

[1402] ii.具有基本均匀横截面和平坦顶面的柱形;

[1403] iii.宽度与高度之比等于或大于1;

[1404] iv.预定的恒定间隔件间距离,该距离在10μm至200μm的范围内;

[1405] v.等于1%或更大的填充因子;和

[1406] vi.填充系数与间隔件的杨氏模量之积为2MPa以上,

[1407] 和

[1408] c)当板被构型成开放构型时将血液样本放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔为不受间隔件限制;

[1409] (d),在(c)之后,使用两个板将至少一部分血液样品压缩成基本上均匀厚度的层,该厚度由板的样品接触表面限制,其中调节该层的均匀厚度由间隔件和板,并且平均值为1.8~3μm且具有小于10%的变化,其中,所述压缩步骤包括:

[1410] 将两个面板放在一起;和

[1411] 平行地或顺序地对至少一个板的区域进行适形按压,以将板压在一起以形成闭合构型,其中,适形按压在至少一部分样品上的板上产生基本均匀的压力,以及加压使样品的至少一部分在板的样品接触表面之间横向地扩展,并且其中闭合构型是其中在均匀厚度区域的层中板之间的间隔由间隔件调节的构造;和

[1412] (e)在板处于闭合构型时分析厚度均匀的层中的血液;

[1413] 其中填充因子是间隔件接触面积与总板面积之比;

[1414] 其中,贴合按压是使板的外表面的形状不依赖于形状而使施加在区域上的压力大致恒定的方法,和

[1415] 其中,平行按压同时在目标区域上施加压力,而连续按压在目标区域的一部分上施加压力并逐渐移动到其他区域。

[1416] 实施例4.一种分析液体样品的装置,包括:

[1417] 第一板和第二板,其中:

[1418] v.板可相对于彼此移动成不同的构型;

[1419] vi.一个或两个板是柔性的;

[1420] vii.每个板在其相应的表面上具有用于接触血液样本的样本接触区域;

[1421] viii.一个或两个板包括与相应的板固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距,该间隔件的距离在7μm至200μm的范围内,并且其中至少其中一个间隔件位于样品接触区域内;

[1422] 其中一种构型是敞开构型,其中:两块板分开,两块板之间的间隔不受间隔件的限制,并且样品放置在一块或两块板上;和

[1423] 其中另一个构型是闭合构型,其在样品放置之后以开放构型构型;在闭合构型下:至少一部分样品被两块板压缩成高度均匀的层,其中该层的均匀厚度由两块板的内表面限制,并由两块板与间隔件调节,并且平均值为1.8~3μm,具有小的变化。

[1424] 实施方案5.一种在液体样品的一部分中局部结合靶实体的方法,包括:

[1425] (a)获得一个样本,该样本包含能够扩散到样本中的被检测物;

[1426] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中,一个或两个板包括固定在相应板上的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度,并且其中第一板在其表面上包括具有预定面积的结合位点,该结合位点结合并固定靶标实体;

[1427] (c)当板被构型成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由间隔件调节;

[1428] (d)在(c)之后,通过使两个板处于闭合构型来压缩样品,其中闭合构型是其中至少一部分样品被压缩成与并且接触的均匀厚度的层的构造;由两块板的内表面限制并与结合部位接触,其中层的均匀厚度由间隔件和板调节,小于250微米,并且实质上小于板的线性尺寸结合位点的预定区域;

[1429] (e)在(d)之后且板处于关闭状态时,可以:

[1430] (1)将样品孵育一定的时间,然后停止孵育;要么

[1431] (2)孵育样品的时间等于或大于相关时间长度的最小值,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估靶标的结合实体在结合位点;

[1432] 其中相关时间长度为:

[1433] i.等于或大于被检测物在闭合构型下在均匀厚度层的厚度上扩散所需的时间;和

[1434] ii.大大短于被检测物在结合位点的最小横向尺寸上横向扩散所需的时间;

[1435] 其中在(1)中的孵育结束时或在(2)中的评估期间,结合至结合位点的大部分靶实体来自相关体积的样品;

[1436] 其中孵育允许靶实体结合至结合位点,并且其中相关体积是样品的在闭合构型处在结合位点上方的一部分。

[1437] 实施方式6.一种用于在一部分液体样品中局部结合靶标实体的装置,包括:

[1438] 第一板和第二板,其中:

[1439] i.板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个板是柔性的;

[1440] iii.每个板在其各自的表面上均具有样品接触区域,用于接触样品,该样品接触区域包含能够在样品中扩散的实体;

[1441] iv.其中一个板在其样品接触区域上具有结合位点,该结合位点具有预定的面积并结合并固定靶实体;

[1442] v.一块板或两块板包括用各自的板固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定间隔距离,并且其中至少一个间隔件在样品接触区域内;

[1443] 其中一种构型是开放构型,其中:两块板部分或完全分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品放置在一块或两块板上,并且

[1444] 其中另一个构型是闭合构型,其在开放构型中的加样之后以构型;在闭合构型下:至少一部分样品被两块板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分在结合位点上方,并且该层均匀厚度为由两个板的内表面限制的,由板和间隔件调节的,小于250μm并且基本上小于结合位点的预定区域的平均线性尺寸。

[1445] 实施方案7.一种将试剂局部释放到液体样品的一部分中的方法,包括:

[1446] (a)取得样本;

[1447] (b)获得可彼此相对移动成不同构型的第一板和第二板,其中:

[1448] (i)一块板或两块板均包含与相应板固定的间隔件,

[1449] (ii)间隔件具有预定的均匀高度,并且

[1450] (iii)第一板在其表面上包括具有预定面积的存储位置,该存储位置包括试剂,该试剂在接触样品时溶解于样品中并在样品中扩散;

[1451] (c)当板被构型成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由间隔件调节;

[1452] (d)在(c)之后,通过使两个板处于闭合构型来压缩样品,其中闭合构型是其中至少一部分样品被压缩成均匀厚度的层的构造,该厚度由内部限定两个板的表面并且覆盖存储位置,其中该层的均匀厚度由间隔件和板调节,小于250μm,并且基本上小于存储位置的预定区域的线性尺寸;

[1453] (e)在(d)之后,并且当板处于关闭状态时,将样品孵育一段时间,然后停止孵育,

[1454] 其中相关时间长度为:

[1455] i.大约等于或长于被检测物在闭合构型下在均匀厚度层的厚度上扩散所需的时间;和

[1456] ii.短于被检测物在结合位点的预定区域的线性尺寸上横向扩散所花费的时间;

[1457] 因此,在孵育后,最初在存储位置的大部分试剂都在样品的相关体积中,

[1458] 其中孵育是允许试剂与样品结合或与样品混合的过程,并且其中相关体积是样品的在封闭结构处在结合位点上方的一部分。

[1459] 实施方案8.一种用于将试剂局部释放到液体样品的一部分中的装置,包括:

[1460] 第一板和第二板,其中:

[1461] 板可相对于彼此移动成不同的构造;

[1462] 一个或两个板是柔性的;

[1463] vi.每个板在其各自的表面上具有用于接触样品的样品接触区域。

[1464] vii.其中一个板在其样品接触区域上包括具有预定面积的存储位点,并且包括试剂,该试剂在与样品接触时溶解于样品中,在样品中扩散并结合至靶标实体;

[1465] viii.一个或两个板包括被固定与相应的板隔离件,其中,所述间隔件具有(a)一种预定的大致均匀的高度是250μm或更小,基本上小于的所述预定区域的平均线性尺寸试剂部位,和(b)一个预定的恒定间隔件间距离为200μm或更小,并且其中,所述间隔件中的至

少一个是所述样品的接触面积内;

[1466] 其中一种构型是开放构型,其中:两块板部分或完全分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品放置在一块或两块板上,并且

[1467] 其中另一个构型是闭合构型,其在开放构型下样品放置之后发生;在闭合构型下:至少一部分样品被两块板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分在结合位点上方,并且该层均匀厚度为由两个板的内表面限制,由板和间隔件调节。

[1468] 实施方案9.一种减少在板表面的结合位点上的相关体积的样品中结合靶标实体的时间的方法,其包括:

[1469] (a)获得一个样本,该样本包含能够扩散到样本中的被检测物;

[1470] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一板和第二板,其中,一个或两个板包括固定在相应板上的间隔件,并且一个或两个板是柔性的,其中,所述间隔件具有基本预定的均匀高度和预定的恒定间隔距离,并且其中,第一板在其表面上包括具有预定面积的结合位点,该结合位点结合并固定到被检测物上;

[1471] (c)当板被构型成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由间隔件调节;

[1472] (d)在(c)之后,通过使两个板处于闭合构型来压缩样品,其中闭合构型是与在开放构型下相比减小样品的相关体积的厚度的状态。将板分成具有至少1平方微米的侧向面积的基本上均匀的厚度的层,该侧向面积由两个板的内表面限制并且覆盖结合部位,其中该层的均匀厚度由间隔件和所述板小于250μm,并且显著小于结合位点的预定区域的线性尺寸;其中相关体积是样品的一部分或全部体积;

[1473] 其中减小样品的相关体积的厚度减少了相关体积中结合位点与靶标实体之间的结合时间以达到平衡。

[1474] 实施方案10.一种用于在液体样品的一部分中局部结合靶实体的装置,包括:

[1475] 第一板和第二板,其中:

[1476] i.板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个板是柔性的;

[1477] iii.每个板在其各自的表面上均具有样品接触区域,用于接触样品,该样品接触区域包含能够在样品中扩散的实体,

[1478] iv.其中一个板在其样品接触区域上具有结合位点,该结合位点具有预定的面积并结合并固定靶实体;

[1479] v.一块板或两块板包括用各自的板固定的间隔件,其中间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定间隔距离,并且其中至少一个间隔件在样品接触区域内;

[1480] 其中一种构型是开放构型,其中:两块板部分或完全分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品放置在一块或两块板上,并且

[1481] 其中另一个构型是闭合构型,其在样品放置之后以开放构型构型;在闭合构型下:至少一部分样品被两块板压缩成均匀厚度的层,其中均匀厚度层的至少一部分在结合位点上方,并且该层均匀厚度为由两块板的内表面限制,由两块板和间隔件调节,小于250μm,并且基本上小于结合位点预定区域的平均线性尺寸;和

[1482] 其中减小样品的相关体积的厚度减少了相关体积中结合位点与靶标实体之间的结合时间以达到平衡。

[1483] 实施方案11.一种在不进行流体分离的情况下并行,多重测定液体样品的方法,包括:

[1484] (a)获得包含一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物的样品;

[1485] (b)获得可彼此相对移动成不同构型的第一板和第二板,其中:

[1486] i.一个或两个板包括用各自的板固定的间隔件,并且一个或两个板是柔性的,

[1487] ii.间隔件具有预定的基本均匀的高度和预定的恒定的间隔件间距离,

[1488] iii.第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,每个结合位点具有预定的区域,该区域包括捕获剂,该捕获剂结合并固定(a)的相应靶分析物;和

[1489] iv.第二板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置,每个存储位置均具有预定面积,并包括浓度与样品接触后溶解到样品中并在样品中扩散的浓度的检测剂其中每种捕获剂、目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹心;

[1490] (c)当板被构型成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由间隔件调节;

[1491] (d)在(c)之后,通过使两个板处于闭合构型来压缩样品,其中闭合构型是其中:

[1492] i.至少将样品的一部分压缩成厚度均匀的层,该厚度与两个板的内表面接触并受其限制,并且与一个或多个结合位点以及一个或多个结合位点接触储存地点

[1493] ii.所述一个或多个相应的存储位点在所述一个或多个结合位点之上,和

[1494] iii.该层的均匀厚度由间隔件和板调节,小于250μm,并且基本上小于每个存储位置的预定区域的线性尺寸;

[1495] (e)在(d)之后且板处于关闭状态时,可以:

[1496] (1)将样品孵育一定的时间,然后停止孵育;要么

[1497] (2)孵育样品的时间等于或大于相关时间长度的最小值,然后在等于或小于相关时间长度的最大值的时间段内评估每个靶标的结合分析物到结合位点;

[1498] 其中相关时间长度为:

[1499] i.等于或大于(a)的目标分析物在闭合构型下扩散穿过均匀厚度层的厚度所需的时间;且

[1500] ii.明显短于(a)的目标分析物横向扩散穿过存储位点或结合位点的预定区域的最小线性尺寸的时间;

[1501] 从而产生一种反应,其中在(1)中孵育结束时或在(2)中评估期间,结合到每个结合位点的大部分捕获剂-目标分析物-检测剂夹心来自相应的相关体积样本

[1502] 其中孵育允许每种靶分析物结合至结合位点和检测剂,其中相应的相关体积是样品的一部分在闭合构型下在相应的存储位点上方,其中相邻边缘之间的分离储存位点和相邻结合位点边缘之间的距离大于目标分析物或检测剂在相关时间内可以扩散的距离,并且在结合位点和/或储存位点之间没有流体隔离。

[1503] 实施方案12.一种用于在不进行流体分离的情况下平行,多重测定液体样品的装置,其包括第一板和第二板,其中:

[1504] i.板可相对于彼此移动成不同的构造;一个或两个板是柔性的;

[1505] ii.一块板或两块板包括与各自的板固定的间隔件;间隔件具有预定的基本均匀

的高度和预定的恒定间隔间距。

[1506] iii.每个板在其各自的表面上都有一个样品接触区域,用于接触样品,该样品接触区域包含一个样品,该样品包含一种或多种能够在样品中扩散的目标分析物,

[1507] iv.第一板在其表面上具有一个或多个结合位点,每个结合位点具有预定的区域,该区域包括捕获剂,该捕获剂结合并固定样品的相应靶分析物;和

[1508] v.第二块板在其表面上具有一个或多个相应的存储位置,每个存储位置均具有预定面积,并包含浓度与样品接触后溶解到样品中并在样品中扩散的浓度的检测剂,

[1509] 其中每个捕获剂,目标分析物和相应的检测剂能够在第一板的结合位点中形成捕获剂-目标分析物-检测剂夹心;

[1510] 其中一种构型是开放构型,其中:两块板部分或完全分开,两块板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品放置在一块或两块板上,并且

[1511] 其中另一个构型是闭合构型,其在样品开放构型构型放置之后形成;在闭合构型中:

[1512] i.至少将样品的一部分压缩成厚度均匀的层,该厚度与两个板的内表面接触并受其限制,并覆盖一个或多个结合位点和一个或多个存储位,

[1513] ii.所述一个或多个相应的存储位点在所述一个或多个结合位点之上,和

[1514] iii.该层的均匀厚度由间隔件和板调节,小于250μm,并且基本上小于每个存储位置的预定区域的线性尺寸;且

[1515] iv.在结合位点和/或存储位点之间没有流体隔离;

[1516] 其中相邻存储位点的边缘之间的间隔和相邻结合位点的边缘之间的间隔大于目标分析物或检测剂在相关时间内可以扩散的距离,并且其中结合位点和/或存储位点。

[1517] 实施方案13A.一种使用手机快速分析样品的系统,包括:

[1518] (a)CROF装置,其中CROF装置的一个或两个板可相对于彼此移动成不同的构造;其中:

[1519] i;一种构型是开放构型,其中:两个板部分或完全分开,两个板之间的间隔不受间隔件限制,并且样品放置在一个或两个板上,并且

[1520] ii.所述构型中的另一种是闭合构型,其在样品以开放构型构型放置之后形成,在闭合构型下,至少一部分样品被两块板压缩成厚度均匀的层,其中该层的均匀厚度与两块板的内表面接触并受其限制。通过板和间隔件;

[1521] (b)一种移动通信设备,包括:

[1522] i.一个或多个用于检测和/或成像样品的照相机;

[1523] ii.电子设备,信号处理器,硬件和软件,用于接收和/或处理检测到的信号和/或样本图像并进行远程通信;和

[1524] (c)来自移动通信设备或外部光源的光源。

[1525] 实施方案13B.一种使用手机快速分析样品的方法,包括:

[1526] (a)在实施例13A的系统的CROF装置上放置样品;

[1527] (b)分析放置在CROF设备上的样品以产生结果;和

[1528] (c)将结果从移动通信设备传送到远离移动通信设备的位置。

[1529] 实施方案14.一种分析液体样品的方法,包括:

[1530] (a)获得包含能够在样品中扩散的分析物的样品;

[1531] (b)获得可相对于彼此移动成不同构型的第一和第二板,其中,一个或两个板包括用相应的板固定的垫片,其中,所述垫片具有预定的均匀高度,并且其中,面板在其表面上包括具有预定面积的分析物测定区;

[1532] (c)当板被配置成开放构型时将样品放置在一个或两个板上,其中,开放构型是其中两个板被部分或完全分开并且板之间的间隔不被分开的构造。由垫片调节;

[1533] (d),在(c)之后,使用两块板将至少一部分样品压缩成厚度均匀的层,该厚度由两块板的内表面限制,其中至少一部分层位于样品的上方分析物测定区域,其中该层的均匀厚度由垫片和板调节,并且基本上小于分析物测定区域的预定横向区域的线性尺寸,其中压缩包括:

[1534] 将两个板放在一起;和

[1535] 在板的外表面上施加外力以将板压在一起以形成闭合结构,其中该力在至少部分样品上的板上产生压力,并且压力使至少部分样品横向扩展其中,闭合构型是通过间隔件来调节均匀厚度区域的层中的板之间的间隔的构造。

[1536] (e)在平板处于关闭状态时孵育样品的时间为:(i)大约等于或更长的时间,该时间等于分析物在均匀厚度层的厚度上扩散所需的时间,并且(i)大大短于分析物扩散到分析物测定区域区域的时间;和

[1537] (f)在(e)之后立即停止孵育并测量

[1538] 分析区域中的分析物,或在板为闭合构型时继续孵育,并在分析区域中测量分析物的时间大大短于分析物扩散到分析区域整个区域的时间区域。

[1539] 如上所述,以下描述可以应用于实施例1-14。

[1540] 在使用CROF的任何实施例中,垫片可以在样品区域内和样品的相关区域内,以实现样品厚度控制的良好均匀性。

[1541] 在使用CROF的任何实施方案中,两个板中的至少一个可以是厚度为1微米至50微米的塑料膜。

[1542] 在使用CROF的任何实施方案中,两个板中的至少一个可以是厚度为50微米至100微米的塑料膜。

[1543] 在使用CROF的任何实施方案中,两个板中的至少一个可以是厚度为100微米至150微米的塑料膜。

[1544] 在使用CROF的任何实施例中,两个板中的至少一个可以是厚度为150微米至250微米的塑料膜。

[1545] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以是塑料膜,其厚度使得它们各自独立地选自10微米至300微米。

[1546] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以是塑料膜,该塑料膜的厚度使得它们各自独立地选自100微米至200微米。

[1547] 在使用CROF的任何实施例中,两个板都可以是塑料膜,该塑料膜的厚度使得它们各自独立地选自10微米至100微米。

[1548] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在5nm至100nm的范围内。

[1549] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在100nm至500nm的范围内

[1550] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在500nm至1微米的范围内。

[1551] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在1-2微米的范围内。

[1552] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在2至5微米的范围内。

[1553] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在5至10微米的范围内。

[1554] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在10至30微米的范围内。

[1555] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在30至50微米的范围内。

[1556] 在使用CROF的任何实施例中,板上隔板的高度可以在50至100微米的范围内。

[1557] 在使用CROF的任何实施例中,垫片间距离(IDS)不大于200微米。

[1558] 在使用CROF的任何实施例中,垫片间距离(IDS)不大于150微米。

[1559] 在使用CROF的任何实施例中,垫片间距离(IDS)不大于100微米。

[1560] 在使用CROF的任何实施例中,垫片间距(IDS)不大于80微米,例如,不大于60微米,不大于40微米或不大于20微米。

[1561] 在使用CROF的任何实施例中,垫片的宽度与高度之比为至少1.5(例如,至少2,至少3,至少4或至少5)。

[1562] 在使用CROF的任何实施例中,支柱宽度与支柱高度的比率可以为至少1,至少2,至少5或至少10。

[1563] 在任何实施例中使用CROF,板之间的距离可在2-50微米的范围内,任何测定可具有更小的饱和时间,然后1分钟。

[1564] 在使用CROF的任何实施方案中,该方法包括洗涤。

[1565] 在使用CROF的任何实施方案中,该方法不包括洗涤。

[1566] 在任何实施例中使用CROF,所述方法具有小于1nm,例如0.1nmol,10pmol,1pmol,0.1pmol,10fmole,1fmole或0.1fmol灵敏度,更小的温育后接着1分钟。

[1567] 在使用CROF的任何实施例中,周期与垫片宽度的比率可以小于大约7.0(例如,大约7.0至1.0),特别是当柱高小于大约100微米时。

[1568] 在使用CROF的任何实施例中,板的厚度可以为20-200微米,例如10-50或50-200微米。

[1569] 在使用CROF的任何实施方案中,样品体积可以小于0.5微米,例如小于0.5微米,小于0.4微米,小于0.3微米,小于0.2微米或小于0.1微米。

[1570] 在使用CROF的任何实施例中,间隔距离可以小于200微米,例如20-200微米,20-50微米或50-200微米。

[1571] 其他实施例。在用于减少结合过程,试剂混合过程,两者的结合或其他过程的饱和孵育时间的优选实施方案中,处于闭合构型的最终样品厚度小于0.5微米(微米)。在另一个优选的实施方案中,最终样品厚度在0.5微米至1微米的范围内。在另一个优选的实施方案中,最终样品厚度在1微米至4微米的范围内。在另一个优选的实施方案中,最终的样品厚度在范围4微米至10微米。在另一个优选的实施方案中,最终样品厚度在10微米至30微米的范围内。在另一个优选的实施方案中,最终样品厚度在30微米至100微米的范围内。

[1572] 在用于减少结合过程,试剂混合过程,两者的结合或其他过程的饱和孵育时间的优选实施方案中,选择最终样品厚度以使饱和孵育时间小于2秒。在另一个优选的实施方案中,选择最终样品厚度以使饱和孵育时间在小于4秒,小于8秒,小于12秒,小于20秒,小于30

秒,小于40秒的范围内。,小于60秒,小于120秒,小于300秒,小于420秒或任意两个值之间的范围。

[1573] 在使用CROF的任何实施例中,可以用手压缩设备少于1分钟的时间,例如少于10秒。

[1574] 在某些实施例中,CROF设备被集成为微流体平台或设备。可以将微流体装置配置为具有不同的区域,以用于接收样品,使用CROF装置检测样品中的分析物,在容器中收集废料等。因此,在某些实施例中,微流体通道平台可以包括流体处理组件,以用于如上所述,将施加到微流体设备的样品接收区域的样品引导到配置成检测分析物的CROF设备。流体处理部件可以被配置为引导一种或多种流体通过微流体装置。在一些情况下,流体处理部件被配置为引导流体,例如但不限于样品溶液,缓冲液等。液体处理组件可包括但不限于被动泵和微流体通道。在一些情况下,无源泵被配置为用于毛细管作用驱动的微流体处理和通过本文公开的微流体装置的流体路由。在某些情况下,微流体流体处理部件被配置成递送的流体小体积,如1毫升或更小,例如500微升或更小,包括100微升或更少,例如50μL或更少,或25μL或更少或10μL或更少,或5μL或更少,或1μL或更少。因此,在某些实施例中,不需要外部动力来操作微流体装置并执行本发明中的装置,系统和方法。

[1575] 在某些实施例中,微流体装置的尺寸在5毫米×5毫米至100毫米×100毫米的范围内,包括50毫米×50毫米或更小,例如25毫米×25毫米或更小,或10毫米×x。10毫米或更小。在某些实施例中,微流体装置的厚度在5毫米至0.1毫米的范围内,例如3毫米至0.2毫米,包括2毫米至0.3毫米,或1毫米至0.4毫米。

[1576] 在某些实施例中,CROF装置设置在容器例如多孔板的孔内。CROF设备还可以集成到多孔板的孔的底部或壁中。

[1577] 在一些实施例中,包含CROF装置的支撑物,例如微流体装置或多孔板,可以具有包含在支撑物中的CROF装置的标识符。标识符可以是形成在支撑物上的物理对象,例如微流体装置。例如,如上所述,标识符可以由诸如移动电话或智能电话之类的手持设备读取。

[1578] 在一些实施例中,照相机可以捕获标识符的图像,并且可以对该图像进行分析以识别微流体设备中包含的CROF设备。在一示例中,标识符可以是条形码。条形码可以是一维或二维条形码。在一些实施例中,标识符可以发射一个或多个可以标识信号增强检测器的信号。例如,标识符可以提供红外,超声波,光学,音频,电或其他信号,这些信号可以指示CROF设备的身份。标识符可以利用射频识别(RFID)标签。

[1579] 标识符可以包含允许确定存在于微流体装置或多孔板中的CROF装置的特定类型的信息。在某些实施例中,标识符向数据库提供密钥,该数据库将每个标识符密钥与特定于微流体设备或多孔板中存在的CROF设备的类型的信息相关联。特定于CROF设备类型的信息可能包括但不限于CROF设备配置为检测的分析物的身份,特定分析物在CROF设备上可能结合的位置的坐标,数据库中可能包含与特定CROF设备相关的其他信息,包括到期日期,批号等。数据库可能存在于手持设备上,或者位于计算机可读介质上,或者可能位于可通过手持设备访问的远程服务器上。

[1580] 在某些实施例中,当CROF卡(例如CROF板)处于闭合配置比时,CROF卡的总厚度为10微米至3毫米(例如10微米至100微米,100到500)微米,500微米to 1毫米,1毫米to 2毫米or 2毫米to 3毫米);CROF卡的横向尺寸在2毫米至50毫米的范围内(例如2毫米至5毫米,5

毫米至10毫米,10毫米至20毫米,20毫米至30毫米,30毫米至40毫米或40毫米至50毫米),其中x和y方向分别取该范围内的值。

[1581] 在某些实施例中,CROF板滑入和滑出光学适配器以进行测试。

[1582] 在某些实施例中,光学适配器的厚度在2毫米至40毫米(例如2至5毫米,5至10毫米,10至20毫米,20至30毫米或30至40毫米)的范围内尺寸在10毫米到100毫米的范围内(例如10到20毫米,20到30毫米,30到40毫米,40到50毫米,50到60毫米,50到60毫米,60到70毫米,70到80毫米毫米或80至100毫米),其中特定厚度,x侧向尺寸和y侧向尺寸分别取该范围内的值之一

[1583] 在某些实施方案中,用于测试白细胞的垫片的范围为2微米至40微米(例如2微米至10微米,10微米至20微米,20微米至30微米或30微米至40微米)。

[1584] 30.使用信号放大表面的均匀测定

[1585] 在测定的许多应用中,特别是在PoC或其他快速测定中,希望避免洗涤步骤。本发明的一个方面涉及可避免测定洗涤的装置,系统和方法。

[1586] 通过合并和/或使用信号放大表面,所公开的装置,系统和方法可以有助于在没有洗涤的情况下进行测定。表面放大表面可以仅放大距表面小距离发射的光(例如20nm,或50nm,或100nm)。表面放大层的一个例子是D2PA。

[1587] 31.使用具有环形间隔件的CROF进行测定加速的示例

[1588] 已经进行了用于测定加速的实验,该实验使用聚苯乙烯薄膜作为CROF板之一,使用薄玻璃作为另一个板,并且蜡环作为间隔件,并固定在聚苯乙烯板上。在CROF过程中,将2uL(微升)样品滴入环形间隔件内(并在中心,滴落时形成小滴),并由两块板压缩成更薄的薄膜,调节板之间的间距通过环形间隔件(即两个CROF板的闭合配置)。用手压板。发现在板的闭合配置下样品厚度均匀。均匀性的一个主要原因是样品的体积与环形间隔件和两个板之间的体积相同。免疫测定和DNA杂交测定均被测试。

[1589] 在免疫测定测试中(~40 μm高,直径为0.8cm直径的蜡环间隔件),蛋白A被用作捕获剂并被包被在聚苯乙烯表面,标记的IgG被用作分析物。温育蛋白A和标记的IgG之间的结合后,洗去未结合的IgG,并测量捕获的IgG的标记。测试了不同的孵育时间。我们的实验发现,在不到1分钟的孵育时间(即1分钟或更短的时间后,结合的IgG信号不会随孵育时间变化)而达到饱和。如此短的饱和孵育时间预计为40μm间隔(因此样品厚度),因为IgG在40μm距离内在溶液中的扩散时间约为几秒钟。

[1590] 我们还测试了这种直接测定法在普通96孔板中的3毫米厚样品厚度的孵育,发现典型的饱和孵育时间约为120分钟。如果孵育过程受到标记IgG扩散的限制,则可以将样品厚度从3mm减小至40μm,从而将孵育时间从~120 min降低至1.28sec,这与我们对亚1min饱和孵育时间的观察一致。

[1591] 在DNA杂交测试(~52μm高,直径为0.7cm的蜡环间隔子)中,抗生蛋白链菌素-BSA是聚苯乙烯底物上的分子连接层,并与生物素化的捕获链相连,捕获链通过杂交捕获标记的目标链。孵育后,将未杂交的靶链洗掉,并测试标记信号。测试了不同的孵育时间。我们的实验发现,杂交会在30秒的孵育时间内饱和(即1分钟或更短的时间后,捕获的IgG的信号不会随孵育时间变化)。如此短的饱和孵育时间可预期为52μm(因此样品厚度),因为目标探针在52μm距离内在溶液中的扩散时间约为几秒钟。(实验的更多细节公开在例如临时申请序列

号62/202,989中)

[1592] 作为参考,测试了具有更厚样品厚度的相同测定,我们发现对于1毫米厚的样品,大约需要20分钟才能达到饱和孵育。

[1593] (实验的更多细节公开在例如临时申请序列号62/202,989中)

[1594] 32.用CROF和柱形间隔件加速测定(QAX和QMAX)的例子

[1595] E-1.1 使用30μm高度的柱状间隔阵列的CROFF装置的QAX测试,达到小于30秒的饱和孵育时间。

[1596] 测试CROF的QAX并达到约30秒的饱和时间。实验如图13A和13B所示。在实验中,所述捕获剂和所述标记的检测剂在CROF过程前预涂摸在一对CROF板之一上干燥,然后将试样滴加在平板上,并与使用CROF过程的另一板封闭。滴下样品需要几秒钟,CROF过程不到10秒。我们的实验发现,对于30微米的间隔件高度,饱和孵育时间在30秒内。

[1597] 板,样品,试剂.(1)使用自保持CROF装置的CROF包括:(i)在样品接触区域中具有间隔阵列的由175μm厚的PMMA膜制成的2.5cm×2.5cm区域X板,其中间隔件阵列具有矩形晶格与120μm/110μm的恒定周期(分别在x和y横向),所有的间隔件都是支柱,并且具有相同间隔件高度30μm高度和40μm宽度x和30μm宽度y的相同间隔件的矩形形状,并且间隔件由样品材料(PMMA)制成,并通过用模具纳米压印PMMA膜来制造(因此间隔件以预定的间隔件高度和间隔80μm的间隔固定在平板上);和(ii)平面表面(1mm厚,3cm×5cm)的玻璃板。X板和玻璃板的表面未经处理,对样品具有亲水性。(2)在样品滴加和CROF过程之前,在玻璃板上预涂覆干燥捕获剂(cAb)抗IgG;(3)将干燥的测试剂抗IgG的(dAb)在样品滴落前和CROF过程前被预涂覆在X板上;和(4)样品是具有不同常规浓度的BSA缓冲液中的人IgG。

[1598] 实验步骤和结果.将少量含分析物的样品(人IgG)滴在E2-1所述的CROF装置之一的平板表面上。最初,平板上的样品形成水坑,但通过将CROF装置的另一个平板置于桨上并将两个平板压在一起,原始血液包将扩散到大面积样品膜中,但是超薄(~30μm)厚度被通过位于展开样品内部的间隔件阵列所固定。然后,人手将X板均匀地压在玻璃板上的液滴(中心到中心)上5-10秒,释放手,等待30秒,并且板保持其闭合构型。

[1599] 然后不同的样品(具有不同的CROF装置)在不同时间孵育并洗涤并测量(光学信号)。结果在图13B中,其显示了对于图13A中描述的QAX测定,小于30秒的饱和孵育时间。

[1600] E.1.2 QMAX测定和均匀测定

[1601] QMAX已经通过实验用M-Plate(即D2PA)进行放大信号的测试。此外,将QMAX测定与QAX测定进行比较,其中没有M-Pate来放大信号。测试了非均质(洗涤)和均匀(不洗涤)。测试分析是使用QAX&QMAX的人IgG荧光免疫分析。

[1602] 材料和方法:X板(30μm柱高,30μm×40μm柱尺寸,80μm ISD)25mm×25mm;M板,尺寸25mm×25mm;(a)DSU,蛋白质-A,抗-人IgG(包被并在底物板上干燥),(b)人IgG(分析物)和(c)抗人IgG-IR800试剂(在x-板的储存位点上涂布并干燥)

[1603] 结果(也示于图14):我们的实验表明,对于30微米的闭合构型CROF装置中,所述饱和孵育时间在1分钟之内,并且对于总计数读数方法的灵敏度的LoD=2pM在QMAX洗涤条件下,LoD=10pM,用于QMAX不洗(均质);LoD=200PM为QAX用洗涤,没有洗涤的QAX(均质)的LoD=(无法读取,对于不同的分析物浓度没有区别)。

[1604] 33.附加示例性实验测试和优选实施例

[1605] 在本节中,给出了附加的示例性实验测试和观察结果,以及本发明的附加的优选实施例,其是使用以下条件并共享以下共同的观察结果而进行的。

[1606] 沉积样品的体积.除非另有说明,否则沉积在CROF板上的所有样品都具有未知的体积,即在沉积时确切的体积是未知的。

[1607] 板.在本节使用的CROF设备中,除非另有说明,否则称为"X-Plate"的两个板中的一个是唯一具有间隔件的板。称为"基板"的另一块板具有平坦表面并且没有任何间隔件。已经测试了用于板和间隔件的不同材料(包括玻璃,PMMA(聚甲基丙烯酸酯)和PS(聚苯乙烯)),不同的板厚度和间隔件几何形状(形状和尺寸)。每个板的样本接触表面是平面表面(除了突出的间隔件之外),其表面平滑度变化典型地小于30nm,但是许多平面表面具有表面平坦度变化,这是由板的柔性引起的,内在的表面平坦度(与板的柔韧性无关)或两者兼而有之。一些板的内表面光滑度变化大于30nm。除非另有说明,实例中使用的板的典型尺寸至少25mm宽并且至少25mm长。

[1608] 间隔件.除非另有说明,否则本节中的所有间隔件:(i)固定在X板的样品表面上并通过压印表面进行制造(因此间隔件的材料与X板相同);(ii)是具有矩形或正方形截面几乎一致的具有圆角的立柱的阵列,具有从法线倾斜角度小于5度的几乎直的侧壁,平坦的顶表面和均匀间隔件高度;和(iii)在每个X和Y方向上都有一个固定的内部间隔距离(注意,X中的间距可能不同于Y中的间距)(见图17(b))。此外,柱状间隔件的侧面形状为正方形和具有圆角的矩形;测试不同的间隔件高度,尺寸,间隔件间距,形状和材料。

[1609] 间隔件的制作.压印在X板表面上的间隔件是通过纳米压印制造的,其中将模具直接压入板中并将原本完全平坦的表面压印到平坦表面上,但具有从表面突出的柱间隔件。压花使用的温度高于塑料材料的玻璃化转变温度,塑料材料可以在压花下流动。模具通过光刻和蚀刻制造,并且在一些情况下,通过在母模上电镀。模具由硅,二氧化硅或镍制成。

[1610] 图17显示了在板上制造的间隔件的例子。间隔件通过使用模具直接压印塑料板表面来制造。图17(a)和(b)是方形间隔格子的光学显微照片的顶视图。(a)46μm×46μm支柱间隔件尺寸和54μm支柱间距的照片俯视图,以及(b)10um×70μm支柱间隔件尺寸和10μm支柱距离;(c)30μm×40μm柱间隔件尺寸为2μm间隔件高度的前景视图SEM和(d)30μm×40μm间隔件尺寸为30μm间隔件高度的前景视图SEM。显微照片显示(1)柱间隔件的顶部非常平坦,(2)间隔件具有几乎一致的横截面,以及(3)柱间隔件的角为圆形,具有约1μm的曲率半径。较大的曲率半径(例如较小的锐边)是优选的,因为锐边可以裂解细胞或影响流体流动而不是圆形边缘。

[1611] 使用表面轮廓仪,我们测量了X-Plate 2cm×2cm区域的立柱高度。我们发现使用上述方法制造的X板的柱间隔件高度的典型均匀性具有4nm,10nm和100nm的平均变化,并且相对平均变化为0.2%,0.2%和0.33%,分别为2微米,5微米和30微米的间隔件高度。

[1612] 典型的实验程序.如图15所示,首先,将小体积(几uL或更少)的样品沉积在基板或形成小桨的x板上。其次,将板与板的样品表面的重叠放在一起。第三,使用手将板压入闭合构型,在此处样品变成薄膜,其面积比原始大得多。第四,手是相关的。第五,各种测量都是在闭合式构型下进行的。下面给出了这些步骤的某些细节。

[1613] 样品沉积方法.使用两种样品沉积方法。一种方法是通过移液管将样品沉积在板上。在另一种方法中,通过使受试者的血液和接触的板上的血液从受试者手指(通过工具拾

取)直接沉积血液样本。没有稀释到血液直接从手指沉积到平板上。在我们的实验中,我们发现最终的实验结果,除非指定特殊情况,独立于样品沉积方法。

[1614] 样品沉积在室内和标准室内条件下进行,没有任何特殊的温度控制或防尘过滤器。我们发现在这样的条件下,样品上的灰尘落在样品上并不会影响最终的测量结果,因为(1)柔性板与灰尘相适应,允许其他区域的样品厚度仍然受到间隔件的调节,并且不会影响样品厚度自我保持,(2)有粉尘的面积只是总有效样品面积的非常小的部分,并且测量是在不受灰尘影响的区域进行的。非灰尘区域的选择是通过光学成像完成的

[1615] 在某些情况下,两块印版具有表面保护盖,以减少落在印版上的灰尘数量。在某些情况下,两块板与样品表面放在一起,以防止灰尘和其他污染物。

[1616] 板的表面润湿性能.我们已经测量了我们的示例性实验中使用的不同板表面的润湿性能。下表给出了对于不同样品类型的不同板材(玻璃,PMMA和PS)以及不同样品表面(平面和X板样品表面)的未处理或经过处理的表面的5uL样品的测量接触角(水,PBS缓冲液(磷酸盐缓冲盐水)和血液),其中X板是175μm厚的PMMA,并且其样品表面具有2μm高度的间隔件,30μm×40μm侧壁的柱状物(即间隔件)大小和110μm/120μm周期(即80个间隔距离)。

[1617]

板材和表面	水	PBS	血液
未经处理的平板玻璃	45 o	46 o	46 o

[1618]

未经处理的平面 PMMA	60 o	57 o	59 o
未经处理的平面 PS	61 o	59 o	58 o
未处理的 X 板（PMMA）	62 o	60 o	58 o

[1619] 实验表明:(1)玻璃,PMMA和PS的所有未处理表面都具有亲水性表面(即接触角小于90度);(2)未处理的玻璃表面具有比未处理的PMMA和PS更小的润湿角(更亲水);(3)水PBS和血液的接触角相似,并且血液比水和PBS具有稍好的润湿性;(4)未处理的PMMA X板与未处理的PMMA板具有接近的样品接触角;和(5)如预期的那样,表面润湿性能可以通过表面处理显著改变以变得更亲水或更疏水。

[1620] 通过表面处理可以改变板的表面疏水性。例如,对于PMMA X-plate,我们通过在氧等离子体中暴露表面来使其更亲水,并且通过用十三氟烷-1,1,2,2-四氢辛基三氯硅烷处理表面来进行更疏水处理。疏水处理的X-Plate的接触角分别为25,27,28度,亲水处理的X-板的接触角分别为105,104和103度,分别用于水,PBS缓冲液和血液的样品。

[1621] 在下面的讨论中,除非特别说明,板的所有样品表面(即与样品接触的内表面)未经处理。

[1622] 沉积样品的面积和高度。当使用移液管将水样沉积在处于开放构型的平板上时,我们测量了平板上的样品面积和高度。

[1623]

液体体积	基质：	未经处理的玻璃	未处理PMMA
1微升	直径（毫米）：	2.4	2
	估计高（毫米）：	0.5	0.6
2微升	直径（毫米）：	3.0	2.5
	估计高（毫米）：	0.6	0.8
5微升	直径（mm）：	4.1	3.5
	估计高（毫米）：	0.9	1.0

[1624] 实验表明,在开放构型下沉积在板上的典型样品的厚度远大于闭合构型下的厚度。

[1625] 我们观察到,在板的闭合构型下,(1)总样品面积从几毫米直径膨胀到几cm(取决于间隔件高度),以及(2)如果间隔件阵列具有正方形晶格,则在板的闭合构型下样品的面积也接近正方形,样品的边缘与间隔件正方晶格的方向对齐。因此,它表明可以通过使用间隔件的不同空间布置来控制处于闭合构型的最终样品区域。如果间隔件有一个矩形格子,那么闭合构型的最终样品区域应该是矩形。如果间隔件是径向圆形图案,那么闭合构型的最终样品区域可以是圆形的。

[1626] 手压.在第30节的所有实验中,将CROF处理中的板材放在一起并用人手将其压缩成板的闭合形状。在大面积的CROF板上最后按压均匀的样品厚度时,通常拇指按压一个区域并摩擦CROF板的不同区域。使用手将CROF装置(板)压入闭合构型的过程称为“手压”。

[1627] 自保持.除非另有说明,我们观察到,在将CROF板压入最终构型并释放压缩力(例如压紧手)之后,两个板之间的样品厚度仍然受到间隔件高度的调节并保持在长时间保持恒定厚度(直至样品最终干燥)。这个观察被称为“自持”。自我保持是由表面张力引起的板,液体样品和环境(例如空气)之间的毛细作用力。我们观察到,CROF装置的手压和自握使样品厚度极佳,如E-1所示。

[1628] 测量板间距和样品厚度.在下面的所有实验中,通过由板的内表面引起的法布里-珀罗空腔共振(FP共振)测量处于闭合构型的两个板的内表面(即样品表面)之间的间距。由于样品(和空气)与内表面之间的光学折射率差异,板的每个内表面充当光学反射器并且两个内表面形成光学腔。FP共振谱是周期性的,并且光学测量点处的内表面间距h(因此样品厚度)可以由下式计算:

[1629] $$h = \frac{c}{2n\Delta v}$$

[1630] 其中c是光速,v是频域中的周期,并且n是板之间的样本的折射率。

[1631] 在我们的FP共振测试中,光源的面积约为2微米×2微米。典型地,我们测量了在CROF设备的圆心1.6cm×1.6cm区域内的25个不同点处的板内表面间距,其中25点是具有周期的5×5方格(即,两个相邻点之间的距离)4毫米。测量结果远离间隔件占据的区域(即支柱)。

[1632] 由于内表面和样品在板的闭合构型下接触,因此测量的内表面间距与测量点处的样品厚度相同。

[1633] 平均样品厚度,H.平均样品厚度H使用在25点测量的板间距和公式计算:

[1634] $H = \frac{\sum_{i=1}^{25} h_i}{25}$.

[1635] 样品的厚度偏差是指样品的平均厚度,H,在给定区域的从预定的间隔的高度,H 0的偏差:(H-H0)。并且相对样本厚度偏差是偏差除以预定间隔件高度:[(H-H0)/H0]。正厚度偏差意味着样品的平均厚度大于间隔件高度,负厚度偏差意味着样品的平均厚度小于间隔件高度。

[1636] 样品厚度均匀.在给定区域上样品厚度的均匀性D被定义为样品厚度在给定区域上的标准偏差。

[1637] $\Delta = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{25} (h_i - H)^2}{25}}$

[1638] 32.1手压自保持CROF的样品厚度偏差和均匀性

[1639] 在实验中,我们研究了CROF装置和工艺中的参数,这些参数可以在释放手后在板的闭合构型下影响样品厚度偏差和均匀性。我们发现参数包括但不限于间隔件间距(IDS),间隔件的形状和尺寸(例如间隔件横向尺寸,间隔件高度,间隔件宽度与高度的比率,间隔件区域填充因子(隔板面积与总面积之比或隔板周期与宽度之比),隔板和板的材料机械强度(杨氏模量),板的厚度和每块板的表面平整度得到的某些发现和优选实施例从下面给出实验,间隔件高度的定义,间隔件的IDS,周期和横向尺寸在图16中给出。

[1640] E-1.1IDS(间隔距离)和板厚以及材料对样品厚度的影响。在实验中,我们观察到周期性间隔件阵列的间隔距离(ISD)可以显著影响样品厚度偏差(从间隔件高度)和CROF处理的闭合构型的均匀性。

[1641] 图18显示了IDS和板厚以及材料对样品厚度的影响。对于不同的板材和间隔材料,不同的板材厚度和不同的样品,所测量的样品厚度偏差和均匀性对间隔件间距(IDS)。间隔件是周期性阵列,并具有5μm间隔件高度,平顶和方形(10×10μm柱侧向尺寸,几乎均匀的横截面和圆角)。IDS分别为20μm,50μm,100μm,200μm和500μm。衬底是未经处理的250μm厚平坦表面的PMMA板(1×1的面积)。直接制造间隔件的X板分别是175微米和50微米厚的非处理PMMA板,以及125微米和25微米厚的未处理PS。样品分别是2uL血液(通过直接接触手指滴下),唾液或PBS(通过移液管滴下)。CROF装置通过手压按压并在1英寸的区域上摩擦,并后自行保持。样品厚度在CROF装置的闭合构型下测量。

[1642] 图18显示对于给定的实验条件和方形间隔件(10×10μm支柱横向尺寸,几乎均匀的横截面和圆角):

[1643] (1)当ISD为20微米,50微米,100微米时,平均最终样品厚度为5.1微米至5.2微米,这非常接近预定间隔件高度5微米,并且具有小于4%的厚度偏差和均匀性(即如果ISD等于或小于约120μm,则偏差和均匀性可以小于4%)。

[1644] (2)但是,当ISD为200微米和500微米时,平均最终样品厚度分别为4.3微米和3.5微米,明显小于预定间隔件高度(5微米),并且厚度偏差为-13.9%和-30.9%和均匀性分别为10.9%和27.7%。这意味着当ISD大于约200μm时,不仅平均厚度显著减小,而且均匀性变得非常差。

[1645] 对于40μm×40μm的横向尺寸柱状间隔阵列(图18),当ISD为60μm和150μm,100μm时,平均最终样品厚度为5.1μm至5.2μm,这非常接近预定的间隔柱高度为5μm,并且厚度偏

差和均匀度均小于4％(即,如果ISD等于或小于约100μm,则偏差和均匀性可以小于4％)。

[1646] E-1.2IDS/(Eb^3)对样品厚度的影响

[1647] 我们的实验显示(例如图19)可以实现小样品厚度偏差和良好的均匀性,X-Plates的$SD^4/(h\times E)$(图中x＝1)值应小于10^6μm^3/GPa,其中ISD是间距距离,h是材料的高度(厚度),E是材料的杨氏模量。

[1648] 在使用CROF,在某些实施方案中的所有方法和设备,$SD^4/(h\times E)$值(X＝在区1)小于10^6微米^3/GPA,小于5×10^5,小于1×10^6,小于5×10^6等。

[1649] 在任何实施例中,柔性板可具有20μm至250μm(例如50μm至150μm的范围)内的厚度和0.1至5GPa范围内的杨氏模量(例如,在0.5-2GPa)。

[1650] 在任何实施例中,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量可以在60至750GPa-μm的范围内。

[1651] E-1.3间隔尺寸和高度对样品厚度的影响

[1652] 我们的实验显示(例如图20)为了实现小的样品厚度偏差和对于给定的板厚度,样品和按压,IDS应该约为150μm或更小。

[1653] E-1.4对样品厚度的间隔宽度与高度比的影响

[1654] 我们的实验显示(例如图21),为了获得小样品厚度偏差,对于给定的板厚,样品和按压,以及对于20μm到150μm之间的ISD,柱宽高比(WRH)应大于1,并且在某些实施例中,优选等于大于2。

[1655] 这表明,当柱宽高比WHR大于或等于1时,间隔件的强度足以承受手压时的挤压和摩擦,否则所有ISD的偏差和均匀性都会很差并且很大。

[1656] E-1.5间隔填充因子对样品厚度的影响

[1657] 我们的实验显示(例如图22),为了获得小的样品厚度偏差和良好的厚度均匀性,对于给定的样品厚度,样品的间隔件填充因子应该在2.3或更大。

[1658] 例如,图22中实现的小于4％的偏差和均匀性意味着对于给定的支柱面积和IDS以及对于给定的间隔区域填充因子(即支柱横向面积与总面积的比率),PS柱子足够坚固,可以承受手压的压力和摩擦。PS柱的变形可以估算如下:来自拇指的压力约为1-10kg/cm^2(10^5Pa),PS的杨氏模量约为3GPa,20μm宽的柱的填充因子间隔和100μm的ISD约为4％,导致拇指按压下柱体的相对变形(应变)为1％～0.1％,这与我们的实验观察结果一致。

[1659] E-1.6板厚对样品厚度的影响

[1660] 我们的实验显示(例如图23),(i)为了获得小样品厚度偏差(等于或小于5％)和良好的厚度均匀性,对于给定的板厚度,样品,至少一个板应该具有板厚小于200微米;(ii)如果X板和基板都厚于200μm,则它们太刚性,不能克服灰尘,导致更差的间距均匀性/偏差。

[1661] E-1.7.基板对样品厚度的影响

[1662] 我们的实验发现(如图25),如果使用较厚(1mm)的玻璃基板,对于较小的样品厚度偏差和良好的样品厚度均匀性,最大IDS可从150μm延伸至PMMA基板至200μm。

[1663] E-1.8板面润湿性能的改变及其对自持力的影响

[1664] 我们的实验发现(例如图24):(1)CROF装置良好的自持性要求CROF装置的两个内表面中的至少一个具有亲水性。(2)如果CROF装置的两个内表面都是亲水性的,它提供了最佳的自持和样品厚度调节和均匀性。(3)如果CROF装置的一个内表面是亲水的并且另一个

内表面是疏水的,则样品区域需要大于0.5cm2以获得良好的自保持性。(4)如果两个内表面都是疏水的,则自保持不良或失败(不稳定)。(图中的线是出于引导观察的目的。)

[1665] E-1.9手压时间对样品厚度的影响

[1666] 我们的实验发现CROF装置可以在按压时间1s到60s内自持,并具有相似的良好性能。CROF设备性能不佳,如果不按(按0s),则无法自行保持。

[1667] E-1.10.周期性柱状间隔件与随机球状间隔件对样品厚度的影响比较

[1668] 图27中的测量结果显示,对于给定的实验条件,具有周期性柱间隔件的CROF装置具有小得多的样品厚度偏差以及与无规球(即珠)间隔件更好的均匀性(均小于5%)。具体而言,对于20μm,50μm和100μm ISD,具有周期性,均匀截面柱隔体的平均厚度偏差和均匀性分别为2.3%和~3.4%。然而,当使用平均ISD为20μm,50μm和100μm的随机球隔片时,使用220μm厚玻璃盖板的平均厚度偏差和均匀度面积分别为11.2%和12.5%,使用175μm厚的PMMA时为10.8%和20%样板厚度偏差约5倍,均匀性差。

[1669] E1.12.其他调查结果

[1670] 图28显示了不同X板厚度和衬底厚度对样品厚度的影响。

[1671] 我们的实验发现,通过移液管滴下并直接从手指取出的液体在最终样品厚度和均匀性方面具有类似的性能。

[1672] 我们的实验还发现,在基板或X板上滴落的液体在测量样品厚度和均匀性方面具有相似的性能。

[1673] 32.2使用自持CROF的未稀释全血中的全血计数

[1674] E2.1使用的CROF设备

[1675] 实施例32,2中的所有测试中使用的CROF装置包括X板和平板玻璃板。X-Plate是厚度为175μm,厚度为2.5cm×2.5cm的PMMA薄膜,在样品接触区有一个周期性的间隔阵列。玻璃板厚1毫米,具有平面和3cm×5cm的面积。X板上的间隔件直接压印到最初平坦的PMMA膜上,因此它们由PMMA(与X板相同的材料)制成并附着到X板上。

[1676] 每个间隔件是具有在x和y横向方向上分别具有几乎一致的横向横截面,平顶部和40μm和30μm宽的矩形形状的柱。给定X板上的所有间隔件具有相同的间隔件高度。周期性的间隔件阵列具有120μm和110μm的恒定周期的矩形晶格(分别在x和y中),给出80μm的恒定的间隔件间隔(IDS)。

[1677] X板和玻璃板的表面未经处理,并且对于以大约40至50度的接触角滴落在表面上的人血是亲水的。两块板对可见光都是透明的。

[1678] E2.2样品,制备,沉积,CROF处理,自保持

[1679] 除非另有说明,否则所有血液样本来自健康受试者,新鲜和直接沉积在CROF板上,无需稀释,且不添加抗凝剂。

[1680] 在实施例3的所有实验中,除非另外具体说明,否则血液来自采摘人类手指,血液通过血液和板之间的直接接触而沉积在CROF板上。通常,直接触摸在板的表面上沉积约0.1至1uL体积的血液。在血液沉积后约60秒内,应用CROF过程将血样压缩成薄膜,然后进行测量。除非特别说明,否则抗凝剂和液体稀释剂都不会加入血样中。

[1681] 在血液测试之前需要对WBC进行染色的某些实验中,将试剂(干燥的吖啶橙染料层)预涂布在CROF装置的一个板的内表面(样品接触表面)上。干染料层的涂层依次包括以

下步骤:(a)将30uL吖啶橙染料在20ug/mL浓度的水中滴加到玻璃板上,(b)将其分散到约1cm^{2}的面积中,并且(c)干燥约1小时。

[1682] 不管在其中一个CROF板上沉积约1uL或更少体积的血液的方法,板上沉积的血液形成几毫米或更小直径的水坑。然后用手将CROF装置的两个平板置于闭合形态并用手压几秒钟,其中原始血液被两个平板压缩成大面积薄血膜(约1-3cm的横向尺寸)。我们发现,在所有实施例3中,除非另有说明,用手按压的CROF装置具有均匀的样品厚度,由样品间隔件调节,并且在手释放后能够自我保持均匀的样品厚度。样品存放在普通房间条件下。我们发现,在大样本区域内,灰尘不会影响达到预定的最终样本厚度。我们还发现最终的血液样本散布成带有圆角的矩形,我们认为这是由周期性间隔件的矩形格造成的。该步骤如图15所示。

[1683] 对于使用在板上使用干染料的样品,在进行任何测量之前,将样品等待30秒。

[1684] 直接沉积在平板上的血液样本没有任何液体稀释(即没有液体稀释),只是将干燥的试剂混合在平板上。

[1685] 所有间隔件都具有相同间隔件高度2μm高度的矩形形状

[1686] 选择2微米间隔件高度以使得CROF装置的闭合构型上的最终血液样品间隔为约2μm,其大约等于红血细胞(RBC)的厚度(2-2.5μm),但比RBC的直径(6.2-8.2微米)小。这样的最终样品厚度使得在CROF的闭合构型下,每个RBC都与其他RBC很好地分开,并且在不同的RBC之间没有重叠或r形成钱串状,从而通过拍摄样品区域的图像来准确计算RBC。

[1687] E2.3血细胞成像

[1688] 除非另有说明,实施例3中的血液样品的成像在处于闭合构型的两个CROF板之间以及分别通过使用商业DSLR相机(尼康)和iPhone进行。每种相机的结果都是相似的。除非另有说明,图像是通过其中一块透明板(即平行于板表面的平面中的样品中的二维图像)的样品的顶视图。

[1689] 尼康相机。样品由普通商用数码单反相机(Nikon)用两个滤光片(470±20nm带通滤光片作为激发滤光片和500nm长通滤光片作为发射滤光片),一个光源(氙灯)和一个光源放大/对焦镜头组。在明场模式下,不使用任何滤光片的宽带白光源。在荧光模式下,将470±20nm滤光片放置在氙灯前,以创建一个围绕470nm波长的窄带激发光源,并将500nm长通滤光片置于照相机前,以阻挡波长较小的光超过500纳米进入相机。

[1690] 移动电话。iPhone-6被用于我们的实验。

[1691] E2.4间隔件高度(样品厚度)对血细胞和红细胞计数的影响

[1692] 在我们的实验中,样品厚度被控制为与间隔件高度相同。我们通过实验研究了CROF过程中间隔件高度(因此样品厚度)对血细胞的影响以及它们的成像和计数。所使用的CROF装置和过程以及血液沉积是在实施例2的本节开始时描述的那些。血液样品来自同一健康受试者。在我们的一个实验中测试了四种不同的间隔件高度(1μm,2μm,3μm和5μm)。

[1693] 图29显示了在四个不同的CROF装置内CROF的血液样品的顶视光学显微照片(明场光学显微镜),其中每个CROF装置具有周期性周期性间隔件的矩形晶格和不同的恒定间隔件高度:1μm(a),2微米(b),3微米(c)和5微米(d)。血液样本直接由受试者手指沉积在CROF装置的一个平板上,抗凝血剂和液体稀释剂都不添加到血液中。

[1694] 在明视场光学显微镜中,可以比WBC更容易看到RBC细胞。红细胞(RBC)也被称为红

血球,其盘直径约为6.2-8.2微米,最厚处的厚度为2-2.5微米(靠近盘的边缘),最小厚度为0.8-1μm。

[1695] 我们的光学显微镜观察显示,对于1微米间隔件高度,约99%的RBCS被裂解。例如,图29(a)显示只有RBC留在观察区域。1微米隔离垫高度明显小于平均红细胞厚度。该实验证明,通过使最终的板间隔件(通过控制间隔件高度)小于细胞的最小尺寸,CROF装置和工艺可用于裂解细胞。

[1696] 我们的光学显微镜观察(例如图29)显示,对于2微米间隔件高度(样品厚度),RBC全部彼此分离,它们之间几乎没有重叠,并具有接近圆形和对称的形状。每个RBC的完整圆形黑色边界线(即边界线完全循环每个(并且只有一个)细胞)在2D显微镜图像中可以清楚地看到每个RBC之间的分离。此外,显微镜观察还显示,细胞中心的红细胞比边缘的红细胞暗,说明在2微米的间隔件高度(样本厚度),红细胞的中心仍然比边缘处的细。

[1697] 我们的光学显微镜观察显示(例如图29),当间隔件高度(因此样品厚度)为3μm时,血样的图像在几个方面与2μm间隔件高度大不相同,包括但不限于不限于:(1)红细胞变得明显重叠,并且大多数红细胞没有完全圆形的黑色边界线,它们分隔每个细胞,因为它们存在于2微米间隔件高度,而是几个红细胞共享单个黑色边界线,不长的是圆形的;和(2)一些红细胞没有像在2微米间隔件高度那样接近圆形,而是呈现更多椭圆形,并且每个红细胞的中心暗盘在2微米间隔件高度上变得清晰,变得难以看见。当间隔件高度变为5μm时,红细胞有更多的重叠,更多的红细胞具有非圆形形状和几乎看不见的暗中心(例如图29)。

[1698] 众所周知,在没有空间限制的血液中,红血细胞想要相互重叠(例如包括rouleaux)。通过使用间隔件高度和板将血液样本限制在两个平面板之间,间隔为2微米,血液厚度约等于RBC的最厚点(其为2-2.5μm),因此在板表面上的给定位置处,限制力只有一个RBC可以在两个板之间离开并且迫使RBC以其盘平行于板表面取向,导致RBC之间的良好分离,完整的圆形黑色边界线和近似圆形,当使用顶视光学显微镜观察时。

[1699] 随着间隔件高度以及因此样品厚度变大(例如在3μm和5μm间隔件高度中),样品厚度允许两个板之间在板的位置处存在多于一个的RBC,从而导致RBC重叠并消失,每个RBC的界定边界;并且允许RBC在两个板之间旋转并且平行于板表面位置远离盘旋转,导致RBC顶视图图像中的非圆形形状。

[1700] 为了计算RBC值(例如用于RBC浓度测量),我们的实验清楚地表明,将样品厚度设置为2μm厚(例如使用2μm间隔件高度)可以比3μm样品厚度更容易和更准确和5微米。

[1701] 通过使间隔件的高度(因此两个板和血液样品厚度之间的间隔)为约2微米,这约等于血细胞的厚度(红细胞)(2-2.5微米),但远小于红细胞直径(6.2-8.2微米),血细胞计数比较大的样品厚度更容易和更准确。

[1702] 在最终样品厚度为(2-2.5μm)或优选1.9至2.2μm时,使得在CROF的闭合构型下,每个RBC都与其他RBC完全分离,并且在不同的RBC之间没有重叠或钱串状,允许通过拍摄样本区域的图像准确计算红细胞。

[1703] 另一方面,我们观察到1微米间隔件高度的CROF装置,大多数红细胞被裂解,但白细胞或血小板没有。在我们的实验中,CROF顶部的光学成像(即CROF平板几乎平行于显微镜或相机成像仪的成像平面)确定(a)一个区域中的细胞数量和(b)确切的该区域的横向尺寸。CROF装置的横向尺寸可以通过预校准来确定。或者可以在成像期间使用间隔件的横向

尺寸作为标记来确定CROF装置的区域的横向尺寸。在我们的实验中,我们使用了两者。

[1704] 在实施例2的实验中,对于给定的CROF板,两个CROF板之间的间距(因此血样厚度)与间隔件高度相同,差距在5%或更好。使用该样本厚度信息,连同由光学成像确定的给定面积的横向尺寸,确定与给定面积相关的样本体积,其等于样本横向面积乘以样本厚度。了解样本体积和体积内的细胞数量(通过成像确定),我们能够确定该样本体积中的细胞浓度。

[1705] 图29(b)显示(b)红细胞面积(从2D俯视图测量)与CROF板的总横向面积之比。2微米板间距(即样品厚度)有最大值,因为低于2微米的一些红细胞被裂解,高于2微米的红细胞被重叠和旋转,所有这些都在二维图像中产生较小的红细胞面积。

[1706] 以下实验的一个结论是,用于血细胞计数(RBC和WBC)的CROF装置优化的间隔尺寸为1.9μm-2.2μm,或者2μm至2.2μm,或者2μm至2.1μm。

[1707] 另一个我们的实验发现是两个平板之间间距为1微米的CROF装置裂解大部分红细胞,但不溶解白细胞:CROF装置

[1708] 我们发现,当CROF装置的间隙距离远小于RBC的厚度(例如1μm板间距)时,红细胞被裂解。WBC更具弹性,其中大多数仍可观察到,并且可能不会被裂解。

[1709] E3.5计数红细胞(红细胞)。

[1710] 在一个实施方案中,在没有任何过滤器的情况下用明场模式计数RBC。使用4倍,10倍,20倍或40倍放大倍数拍摄照片。由于X板(t)的间隙间距和每个放大倍数的视场(A)都是已知的(间隔件和它们的周期被用作刻度标记(即标尺)),血样中的RBC浓度例如,对于一个视野中的N RBC计数,血液中的红细胞浓度(C)为C=N/t/A,这种计算方法对于WBC,PLT浓度测量也是相同的。

[1711] E2.6.计数WBC和血小板

[1712] 每个白细胞(WBC),也称为白细胞或白细胞,具有约10-15μm的典型直径。典型的血小板(PLT)具有1-2μm的典型尺寸。由于WBC和PLT本身没有可见的色素,因此它们在普通显微镜下难以观察到而不是红细胞。为了使WBC和PTL在计数中更清楚可见,在一个实施方案中,它们用吖啶橙(AO)染料染色。

[1713] 吖啶橙是一种对核酸具有天然亲和力的稳定染料。当与DNA结合时,AO插入DNA作为单体,在蓝色激发下产生强烈的绿色荧光(470nm激发,WBC为525nm波长绿色光)。当与RNA和蛋白质结合时,它形成聚合物形式的静电复合物,其在蓝色激发(470nm激发,WBC,PLT的685nm红色)下产生红色荧光。红细胞没有核酸,因此不能染色。WBC具有DNA核和RNA核,因此强烈染色。PLT具有少量的RNA,因此染色较弱。参见图33。

[1714] WBC在荧光模式下用470±20nm激发滤光片计数,发射滤光片是500nm长通滤光片,并且选择4×,10×,20×或40×放大倍数来拍摄照片。使用这些实施例,WBC和PLT被适当计数。

[1715] E2.7不同WBC的测量

[1716] 白细胞可分为五个主要亚类:嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞,淋巴细胞和单核细胞;或者有时有三个主要类别:粒细胞,淋巴细胞和单核细胞。受试者血液中每一类的浓度可能具有临床意义,因为不同病毒,细菌或真菌感染或过敏可能改变某些WBC亚类浓度的浓度。

[1717] WBC是有核的,它们将它们与无核红细胞和血小板区分开来。此外,不同亚类的WBC具有不同的DNA与RNA和蛋白质的比例,因此可以通过使用合适的染料分别染色DNA和RNA来区分它们。

[1718] 例如,AO染料插入DNA作为单体,在蓝色激发下产生强烈的绿色荧光(470nm激发,WBC为525nm绿色)。当与RNA和蛋白质结合时,它形成聚合物形式的静电复合物,其在蓝色激发(470nm激发,WBC,PLT的685nm红色)下产生红色荧光。因此,不同的WBC在AO染料染色后将具有不同的R/G色比(绿色发射vs.红色发射)。

[1719] AO染料可以区分3种WBC:粒细胞(包括嗜中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜碱性粒细胞),淋巴细胞,单核细胞。此外,我们可以直接使用摄像头(或iPphone)的内置RGB滤镜组来区分从拍摄的一张照片中的G通道和R通道的绿色和红色发射。因此我们不需要使用2个独立的滤波器组(如525nm和685nm带通滤波器)。

[1720] 如图34所示,总共有594个WBC计数并绘制。我们可以清楚地看到细胞聚集成三个不同的区域(阴影区域作为眼睛的指导),对应于三个主要的白细胞亚群。表中给出了每个亚群的百分比,与正常人血液值相匹配。

[1721] E2.8.血细胞比容测量

[1722] 血细胞比容(Ht或HCT)也被称为压缩细胞体积(PCV)或红细胞体积分数(EVF),是血液中红细胞的体积百分比(%)。在X-CBC设置中,我们使用2μm间隙距离,它将通过底物和X-Plate紧密压住每个RBC。因此,在这种情况下HCT等于整个血容量上的RBC体积。

[1723] E2.10.干AO染料染色WBC速度

[1724] WBCs在被干燥AO染料染色后30s,10min,30min,90min。在AO板表面干燥AO染料的CROF处理中,AO染料可将WBC完全染色不超过1min,不会影响其他染色或长时间过度染色其他区域。而且,因为结合的AO比未结合的染料更强烈地发出荧光,所以不需要洗涤步骤。

[1725] E2.11.其他用于染色WBC的非荧光染料

[1726] 用于染色WBC的非荧光染料可以简化WBC计数设置。结晶紫或龙胆紫(又名甲基紫10B或六甲基副玫瑰苯胺氯化物)是一种三芳基甲烷染料,可用来染色白细胞核。与AO染料类似,我们将1mg/mL,30uL吖啶橙染料水溶液在1cm 2的玻璃片上干燥1小时。然后,重复X-CBC实验过程。白细胞将被染成紫色。这种方法的一个缺点很难区分WBC亚群。

[1727] E2.12.CROP不需要抗凝血剂

[1728] 本发明的一个优点是不需要使用抗凝剂来帮助计数,如实验观察到的那样。在我们的实验中,用2μm,3μm和10μm间距X-Plates和1cm×1cm血液面积在CROF装置中测试血样。在0分钟到80分钟的时间内,每隔10分钟采集从样品中心到边缘的5个典型点的图片。所有测试的样品均不含抗凝剂。据观察,对于给定的实验条件,在观察期间在闭合构型下血样没有粘连。这是因为(1)间距约2微米的CROF(样品厚度在闭合构型下)将血细胞彼此分开,(2)CROF板保护大部分血细胞不受氧气影响。

[1729] E2.13.使用CROF和iPhone进行血细胞计数的进一步实验。

[1730] 在其他实验中,我们已经测试并验证了一项技术和一种简洁易用的设备,可以让一个人在20秒内完全由自己完成血细胞计数,使用的智能手机血滴量不到一滴(<1uL)。所有人需要做的就是让被刺的手指上的少量(任意未知量)的血液接触卡片,合上卡片并用智能手机拍照。

[1731] 本发明的一个方面是这样的观察结果,即通过将血滴精确地重新塑形成只有一个红血细胞厚(~2μm)且被限制在两个板之间的均匀血液层中,其在血细胞中提供了前所未有的优势数数。其优点包括(i)对于未添加任何抗凝血剂的新鲜未稀释全血,血细胞将彼此充分分离,不凝固,因此可通过成像容易地识别;和(ii)样品几乎没有蒸发(在测试区域),使血细胞浓度保持恒定很长一段时间。我们开发的第二项关键技术被称为"压缩调节开放式流动"(CROF),该技术使用CROF-Card(手动操作的可折叠的一次性邮票大小(1英寸宽,薄纸)塑料薄膜)进行血液重塑,测量重新形成的血液样本厚度(因此体积),并将预涂覆的干燥试剂混合(如果需要)到血液中(并且在一次中和5秒内完成所有功能)。这里报告的最后两种技术是用于智能手机成像的小型匹配盒大小的光学适配器,以及用于控制智能手机和分析图像的软件。通过与标准商业机器,商业手动Hamocytometer和显微镜成像(代替智能手机)相比较,通过智能手机的方法("使用CROF和成像的血细胞计数"或BCI)被验证。对于每种方法,使用两种类型的血液(从受试者储存并新鲜)进行超过42次测试,并且红血细胞(RBC),白细胞(WBC),血小板,三种WBC差异,血细胞比容(HCT)和平均值测量了微粒体积(MCV)。验证表明智能手机BCI的准确度与商用手动血细胞计数器(可进一步改进)相同,甚至更好,并且具有与商业仪器相同的日常稳定性。显然,BCI技术在细胞成像,免疫分析,核酸分析,个人健康监测和其他生物化学检测方面具有广泛而重要的应用。

[1732] BCI设备包括三个硬件组件:一次性邮票大小的塑料CROF卡(1×1英寸面积,薄纸),一部智能手机和一个匹配盒大小的光学适配器(1.5×1.5英寸×0.7英寸(长宽高));以及控制智能手机的软件,创建用户界面并分析血细胞。所有这些(智能手机除外)都是由作者设计和开发的。光学适配器("适配器"),包括透镜,镜子和滤波器;并且被安装在智能手机上,使智能手机的闪光灯和相机分别成为测试的光源和成像器。光学适配器还有一个槽,用于将CROF-Card滑动到相机前部的适当位置(图30)。我们的目前测试中使用了iPhone-6。

[1733] 在使用BCI的血液测试中(图30),一个人首先刺她/他的手指,然后将少量(任意未知体积)的血液(例如直接从手指上少于一滴(<1uL))沉积到通过触摸卡片,闭合卡片,将卡片插入光学适配器,最后使用智能手机拍摄该卡片的照片,从拍摄的照片中,软件进行分析并给出血细胞计数和其他参数。

[1734] 将血液存入CROF-Card到在智能手机上显示血细胞计数结果的总时间约为12至19秒,其中1-2秒用于存放CROF卡上的血液,3-5秒闭合卡片,将卡片插入适配器~2-4秒,拍摄图像约3-5秒,完成分析以显示血细胞计数结果3秒钟。

[1735] BCI的一项关键创新是我们开发的CROF-Card技术。CROF-Card包括两块薄塑料,每块约1英寸×1英寸面积,厚度厚的纸,在另一边与另一块铰接(图30)(注意,铰链不是必需的,但方便)。CROF-Card卡在处理血液样本方面提供以下关键功能:(i)将血液样本从沉积的形状(例如直径2mm和高度0.4mm的水坑)迅速(例如1秒)扩散到统一在相当大的面积上(约500平方毫米)覆盖2μm厚(~原始厚度的1/200)的薄膜,并由CROF的两个板限制;(ii)一旦达到2微米厚度就停止进一步减小样品厚度;(iii)即使手从压缩中释放(即自持,这是由于血液和板之间的毛细作用力),保持均匀的2μm厚度;和(iv)防止样品在这样薄的厚度下蒸发(即,通过两块板的闭合,蒸发仅发生在血膜边缘,并且样品的测试区域在很长时间内具有零蒸发)。在实验中,使用光学干涉(即CROF-Card的两个内表面的法布里-珀罗腔效

应),我们发现Essenlix的CROF-Card可以将均匀厚度保持在2微米,5%(即100纳米)的均匀性至少超过20毫米×20毫米的面积。

[1736] CROF-Card为现有方法的血细胞计数提供了几个关键和前所未有的优势。最重要的是我们的观察结果,当血滴重新形成一个均匀的血液层时,血液层只有一个红细胞厚(约2微米)并被限制在两块板之间,(i)新鲜未稀释的血细胞无任何抗凝剂的全血,彼此分离良好,无凝血,血细胞运动少得多,并且易于通过成像识别;和(ii)血液样本在测试区域中的蒸发几乎为零,因此长时间保持该区域中的血细胞浓度恒定。

[1737] CROF-Card的第二个关键优势是血液样本量的"自动"测量(因为样本厚度已确定)。第三个优点是它使用最少量的血液样本(因为没有流体入口或出口,或任何样本转移通道和/或装置)。其他优点是(i)它可以在几秒钟内将CROF-Card表面上的干燥试剂与样品混合;(二)操作简单快捷,手动操作;(三)方便,成本低。

[1738] 通过对限制在两块板之间的血样进行成像来进行血细胞计数的方法已有150多年的历史,并且是商用手动血细胞计数器的基础。据我们所知,没有人使用厚度只有一个红血球厚的板厚血样进行血细胞计数,也没有人检查过处于或接近一个红细胞厚度均匀血样中的血细胞行为。在以前的基于成像的方法中,由于血液样本的限制间隔大于红细胞厚度,因此必须稀释血液样本(通常使用抗凝剂),以避免红细胞重叠(从而导致计数错误)。我们的研究已经观察到全血样本中的血细胞有趣的行为,该样本被限制在两块板之间,并且样本厚度均匀,只有一个红血球厚度或稍大于或小于该厚度。取决于CROF卡的限制间隙(即样本厚度)血细胞行为完全不同。

[1739] 让我们先看一下未经稀释的全血,新鲜地从刺痛的手指放入CROF卡,并且不添加任何抗凝剂(图31(a))。对于2μm的限制间隙,光学显微镜图像显示所有血细胞(RBC,WBC,PLT)在样品平面中彼此分离(即,没有重叠),并且每个RBC具有明确界定的边界周围每个细胞都有一个阴影中心,每个边界不会跨越到其他RBC的边界。此外,在成像期间,几乎没有可观察到的细胞运动。对这种行为的一种解释是,由于2微米限制间隔略小于红细胞的平均厚度,所以每个红细胞被限制板轻微夹住,不留下其他细胞重叠并且不能移动的空间。显然,间隙为2微米的细胞的行为为通过成像对细胞进行计数提供了最佳条件。

[1740] 然而,在2.2微米缺口处,一些红细胞开始与另一红细胞重叠,但没有可观察到的血小板重叠。可能的原因是血小板没有足够的空间与PLT重叠。对于2.6微米和3微米的缺口,更多的红细胞重叠,三重红细胞重叠变得可见,并且血小板与红细胞重叠。这些重叠会随着差距而增加。通过成像计算血细胞可能在2.2,2.6和3微米的差距,但准确性越来越差,随着差距越来越大。在5μm和10μm间隙处,大量细胞重叠(例如凝固),红细胞的红细胞可见,并且许多RBC具有狭窄的椭圆形状,这是由于红细胞相对于成像平面的旋转(大间隙使得旋转成为可能)。显然,在这些差距处准确计数血细胞是非常困难的,如果不是不可能的话。

[1741] 现在让我们看看储存的未稀释的全血与抗凝剂(由商业服务机构收集的对象(Bioreclamation Inc.))。我们的研究显示(图31(b))它对CROF-Card限制间隙有不同的响应,与新鲜未稀释的血液,不含抗凝剂。对于2微米的缺口,储存血液中的血细胞表现与没有抗凝剂的新鲜血液相似。但对于较大的间隙,储存的抗血凝剂与不含抗凝剂的新鲜血液具有不同的二维图像行为。使用抗凝剂和大于2μm的限制间隙,尽管RBC不会凝结在一起,但它们可以(a)彼此重叠并且(b)在2D俯视图成像中旋转成狭窄的椭圆形状,所有这些大大降低

细胞计数的准确性。

[1742] 在这里介绍的智能手机BCI的血细胞计数中,CROF-Card的限制间隙(因此样品厚度)预设为2微米,精度优于5%。样品量由CROF-Card预设的样品厚度和智能手机拍摄的相关区域图像决定。通过从智能手机拍摄的图像中计算相关区域中的细胞,然后除以相关体积来确定血细胞浓度(RBC,WBC,PLT)。通过测量2D顶视图图像中每个RBC的面积和每个RBC相关的平均总体积,同时使用预先设定的2μm样品厚度来确定RBC的平均红细胞体积(MCV)。血细胞比容由MCV和RBC浓度的乘积确定。

[1743] 为了计数三种WBC差异(粒细胞,淋巴细胞,单核细胞),我们通过在CROF-Card表面之一上放置干燥的吖啶橙(AO)染料层来染色血样。由于AO染色核酸并且以不同的方式染色DNA和RNA,因此仅限于WBC和PLT被染色,并且根据每个细胞中DNA和RNA的量和比例被不同地染色,而RBC不被染色。染色的差异给出了不同的荧光波长(例如染色DNA的525nm绿色发射和染色RNA的685nm红色发射)和强度,允许识别三种WBC差异和PLT中的每一种。我们发现使用CROF-Card,由于样品厚度小,因此染料扩散时间短,WBC在不到5秒内就被预涂AO染料层染色。除明场显微镜外,WBC的染料染色及其荧光提供了另一种测量WBC的方法,并用于以下验证中。

[1744] 光学适配器可以为RBC提供0.84mm×0.63mm的有效视野,为WBC提供2.8mm×2.1mm的视场,PLT提供圆圈的0.2mm半径。目前,光学适配器需要在滑块中移动以分别摄取RBC和WBC,并增加约5秒的操作时间。在下一代中,将开发不需要滑块的组合式光学适配器。所有用于图像分析,用户界面和iPhone控制的软件都是通过编写我们自己的代码和使用某些开源代码来构建的。目前,这里介绍的所有血细胞分析都是由我们的软件在从图像到血液计数的2秒内完成的,PLT分析除外,我们的下一代将少于5秒。

[1745] 为了验证智能手机BCI,我们将其与以下四种不同的参考方法(RM)进行了比较。RM-1使用高分辨率显微镜显微镜(尼康Diaphot倒置显微镜)和数码单反相机(尼康D5100),而不是利用iPhone和光学适配器来读取与当前iPhone BCI相同读取区域的CROF卡。RM-2与RM-1相同,只是CROF-Card上的读取区域扩展为3×3阵列,周期为8mm(共9个读取区域),均匀分布在16mm×16mm的CROF-卡区域。RM-3使用商业手动血细胞计数器(购自Sigma-Aldrich,Z359629)加上通过与RM 1和2相同的显微镜和相机成像,但是成像面积为3mm×3mm。手动血细胞计数器有两个腔室,每个3毫米×3毫米在测量区域和100微米间隙)。它需要将血液稀释100倍,并裂解红细胞来测量PLT。RM-4使用商业PoC血细胞计数机(由最大的血液检测仪器公司之一制造);它使用流式细胞仪,体积约1立方英尺,重约20磅,成本约为20,000美元。PoC机器需要至少10uL体积的血液(超过10滴),血液稀释液,三种液体试剂(裂解,稀释和清洁),5分钟的操作时间和每天30分钟的校准。比较使我们能够检查每个单独的功能以及CROF-Card的成像效果1立方英尺,通过光学适配器和智能手机,以及通过显微镜对其在血细胞计数中的表现进行成像。

[1746] 在验证中,使用两种类型的血液:(i)从商业供应商(Boreclamation.inc)购买的储存血液,其与抗凝剂(EDTA)混合;和(ii)新鲜血液,这是来自两名志愿者的挑选血液(在每次测试中,新鲜手指刺血立即直接从手指放置到(a)用于CROF卡片测试的CROF卡和(b)用于商业PoC和手动血细胞计数器的EDTA管。每种方法共测试42个样品,历时数天。

[1747] 共有24个样本在4天内进行检测(3个,3个,3个和15个样本),前三天的血样来自同

一批次,但最后一天的检测结果不同。在新鲜血液样本中,共有18个样本在3天内(6,6和6个样本)进行测试。

[1748] 测试结果显示了一些重要的事实。(1)对于给定的血液样本,智能手机BCI(p-BCI)和全部四种参考方法的血细胞计数的日平均值在其CV范围内彼此一致(CV变异系数,比率的标准偏差与平均值)。

[1749] (2)p-BCI与RM-1的比较显示,对于给定的CROF-Card样品,使用我们开发的iPhone和光学适配器的血细胞计数具有与使用高分辨率显微镜和数码单反相机类似CV(例如,红细胞的CV均为∽12%)(图32)。

[1750] (3)RM-1和RM-2的比较表明,CROF-Card的多个领域的成像比单个领域的当前成像提供更好的准确性。红细胞的CV从∽12%提高到∽6%。多场观看能力将在我们的下一代智能手机BCI中实现,以获得更高的准确性。

[1751] (4)RM-2和RM-3的比较表明(i)CROF-Card不仅使用简单,而且细胞计数准确度与商业手工血细胞计数器相同或更好(ii)考虑到(i)中的事实和RM1与RM2的比较,得出结论:多场智能手机BCI应该具有与商业手册相同或甚至更好的准确性血细胞计数器。我们也想指出,虽然现在的CROF-Card和手动血细胞计数器的误差是一样的,但是这种误差来自不同的原因。对于血细胞计数器,误差来自稀释,溶解和手动计数,但对于血细胞计数器来说CROF-Card,现在误差(RBC约7%)主要是由于样品厚度变化(∽5%),可以进一步改善。

[1752] (5)智能手机BCI可以通过染色鉴定三种WBC差异中的每一种,并测量作为绿色荧光强度与红色之比的函数的每种WBC细胞强度的比率。标准偏差与其他血细胞测量的标准偏差相似。这是因为每种白细胞的亚型都有特定的荧光颜色比例(取决于它们的相对数量和比例(RNA(红色荧光)和DNA(绿色荧光));粒细胞含有大量的RNA和颗粒(因此高红色荧光和低绿色荧光);淋巴细胞具有低量的RNA和大量的DNA(因此低红色但高绿色荧光);单核细胞在粒细胞和淋巴细胞之间具有红色至绿色比例。

[1753] (6)在统计学意义上,所有五种测试方法的日间(即日常)误差基本相同,表明智能BCI在进行测试的多天期间非常稳定。

[1754] 最后,(7)利用我们目前的光学成像硬件和软件,通过成像进行血细胞计数还不如商业流式细胞仪PoC机器准确(例如∽7%比1%的RBC)。然而,人们必须认识到两个重要的事实:(i)就目前的准确性而言,这里显示的p-BCI在监测偏远地区或发展中国家的健康和临床价值方面已经具有重要价值,(ii)可以进一步改进p-BCI以具有更好的准确性。毫无疑问,BCI技术在细胞成像,免疫分析,核酸分析,个人健康监测和其他生物化学检测方面具有广泛而重要的应用。

[1755] 在以下文献中已经描述了本发明的某些方面,并且出于所有目的将所有这些文献通过引用并入本文:

[1756] 美国申请序列号2013年3月15日提交的美国临时专利申请序列号13/838,600(NSNR-003)。2012年4月10日提交的美国专利申请No.61/622,226,并且是美国专利申请序列号No.61/622,226的部分继续申请。2013年6月13日提交的美国临时专利申请13/699,270的优先权,该申请是2011年5月20日提交的US2011/037455的第371号申请,2010年5月21日提交的61/347,178;

[1757] 美国申请序列号2013年6月13日提交的美国专利申请13/699,270(NSNR-001),该

申请是国际申请序列号第371号申请。2011年5月20日提交的US2011/037455,该申请要求2010年5月21日提交的美国临时专利申请序列号61/347,178的权益;和

[1758] 美国临时申请序列号2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/801,424(NSNR-004PRV)61/801,096,2013年3月15日提交(NSNR-005PRV),临时申请序列号2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/800,915(NSNR-006PRV),2013年3月15日提交的临时申请序列号61/793,092(NSNR-008PRV)2013年3月15日提交的美国临时申请序列号61/801,933(NSNR-009PRV)2013年3月15日提交的美国临时专利申请61/794,317(NSNR-010PRV),2013年3月15日提交的临时申请序列号61/802,020(NSNR-011PRV)和3/15提交的临时申请序列号61/802,223/2013(NSNR-012PRV)。

[1759] 在以下列举的段落中描述了根据本公开的发明主题的其他示例。

[1760] 如本文所使用的,术语“适应的”和“配置的”是指元件,组件或其他主题被设计和/或旨在执行给定功能。因此,术语“适应”和“配置”的使用不应解释为意味着给定的元素,组件或其他主题只是“能够”执行给定的功能,而是该元素,组件和/或其他主题出于执行功能的目的,专门选择,创建,实现,利用,编程和/或设计。在本公开内容的范围内,被列举为适于执行特定功能的元件,组件和/或其他所列举的主题可以附加地或替代地被描述为被配置为执行该功能,反之亦然。类似地,被叙述为被配置为执行特定功能的主题可以附加地或替代地被描述为可操作为执行该功能。

[1761] 如本文所使用的,短语“例如”,短语“作为示例”和/或简单地术语“示例”和“示例性”在参考一个或多个组件,特征,细节,结构,根据本公开的实施例和/或方法旨在传达所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法是组件,特征,细节,结构的说明,非排他性示例,根据本公开的实施例和/或方法。因此,所描述的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法并非旨在进行限制,要求或排他/穷举。以及包括结构和/或功能上相似和/或等效的组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法的其他组件,特征,细节,结构,实施例和/或方法也在本发明的范围内。

[1762] 如本文所使用的,关于多于一个实体的列表的短语“中的至少一个”和“一个或多个”意指实体列表中的任何一个或多个实体,并且不限于在实体清单内具体列出的每个实体中的至少一个。例如,“A和B中的至少一个”(或者等同地,“A或B中的至少一个”,或者等同地,“A和/或B中的至少一个”)可以单独指A,B单独或A和B的组合。

[1763] 如本文所使用的,放置在第一实体和第二实体之间的术语“和/或”表示(1)第一实体,(2)第二实体,以及(3)第一实体和第二实体中的一个。用“和/或”列出的多个实体应该以相同的方式解释,即如此连接的实体的“一个或多个”。其他实体可以可选地存在,除了由“和/或”子句具体标识的实体之外,不管与具体标识的那些实体相关还是不相关。因此,作为非限制性示例,当与诸如“包括”的开放式语言结合使用时,对“A和/或B”的引用在一些实施例中可以仅指代A(可选地包括除B);在某些实施例中仅限于B(可选地包括除A之外的实体);在又一些实施例中,涉及A和B(可选地包括其他实体)。这些实体可以指元素,动作,结构,步骤,操作,值等。

[1764] 如果任何专利,专利申请或其他参考文献通过引用并入本文,并且(1)以与以下内容之一不一致的方式定义术语,和/或(2)与以下内容中的任何非合并部分不一致:在本公开或任何其他结合的参考文献中,应以本公开的非结合部分为准,并且其中的术语或结合

的披露应仅以定义了该术语的参考和/或结合的披露为准。

[1765] 相信以下权利要求特别指出了针对所公开的发明之一的某些组合和子组合,并且是新颖的和非显而易见的。在本申请或相关申请中,可以通过对本权利要求的修改或对新权利要求的介绍来主张以特征,功能,要素和/或特性的其他组合和子组合体现的发明。不管是针对不同发明还是针对同一发明,无论是与原始权利要求不同,更宽,更窄或等同的范围,这些经修改或新的权利要求也被视为包括在本发明的主题内。

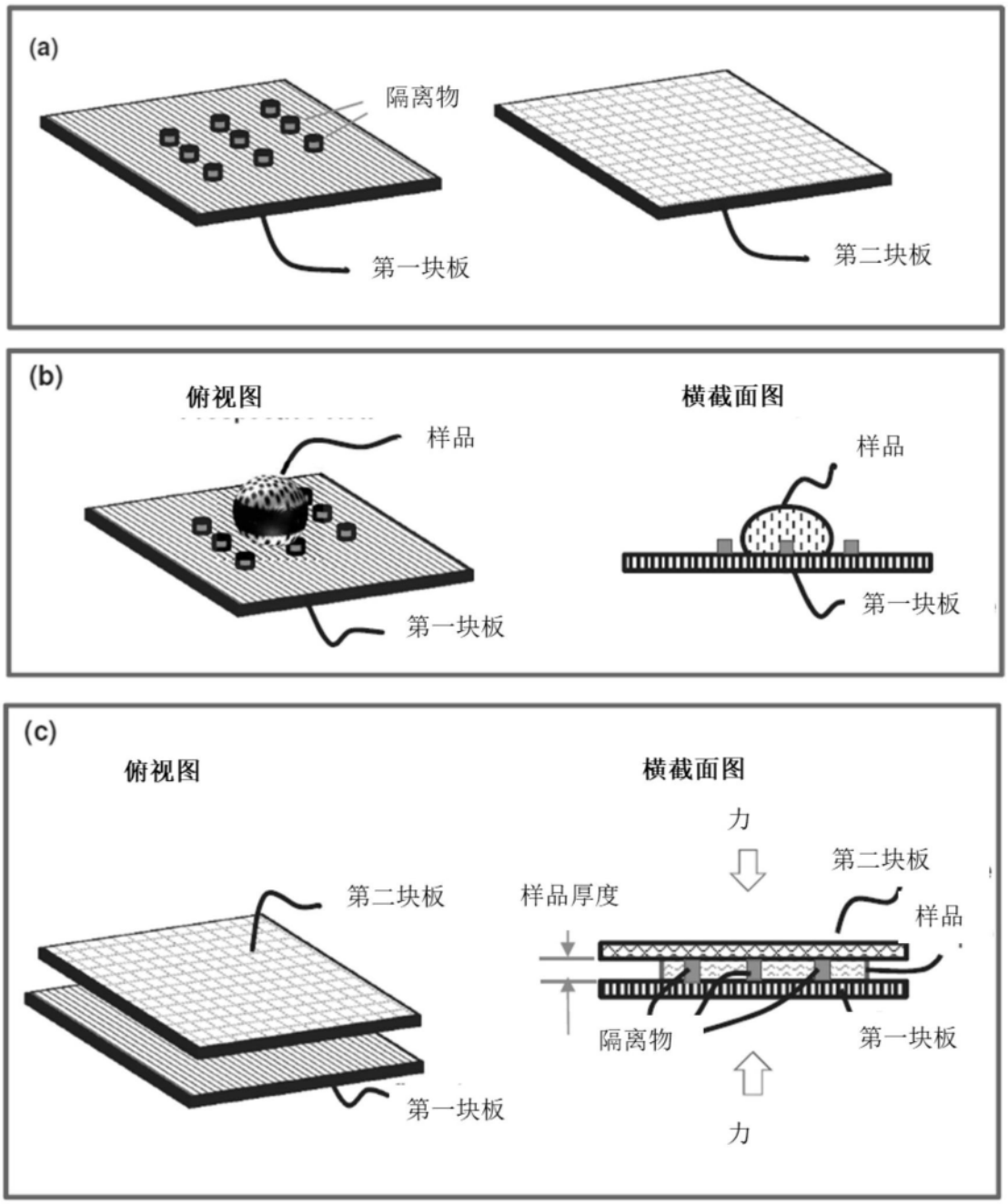

(a)
隔离物
第一块板
第二块板
(b)
俯视图
样品
第一块板
横截面图
样品
第一块板
(c)
俯视图
第二块板
第一块板
横截面图
力
第二块板
样品厚度
样品
隔离物
第一块板
力

图1

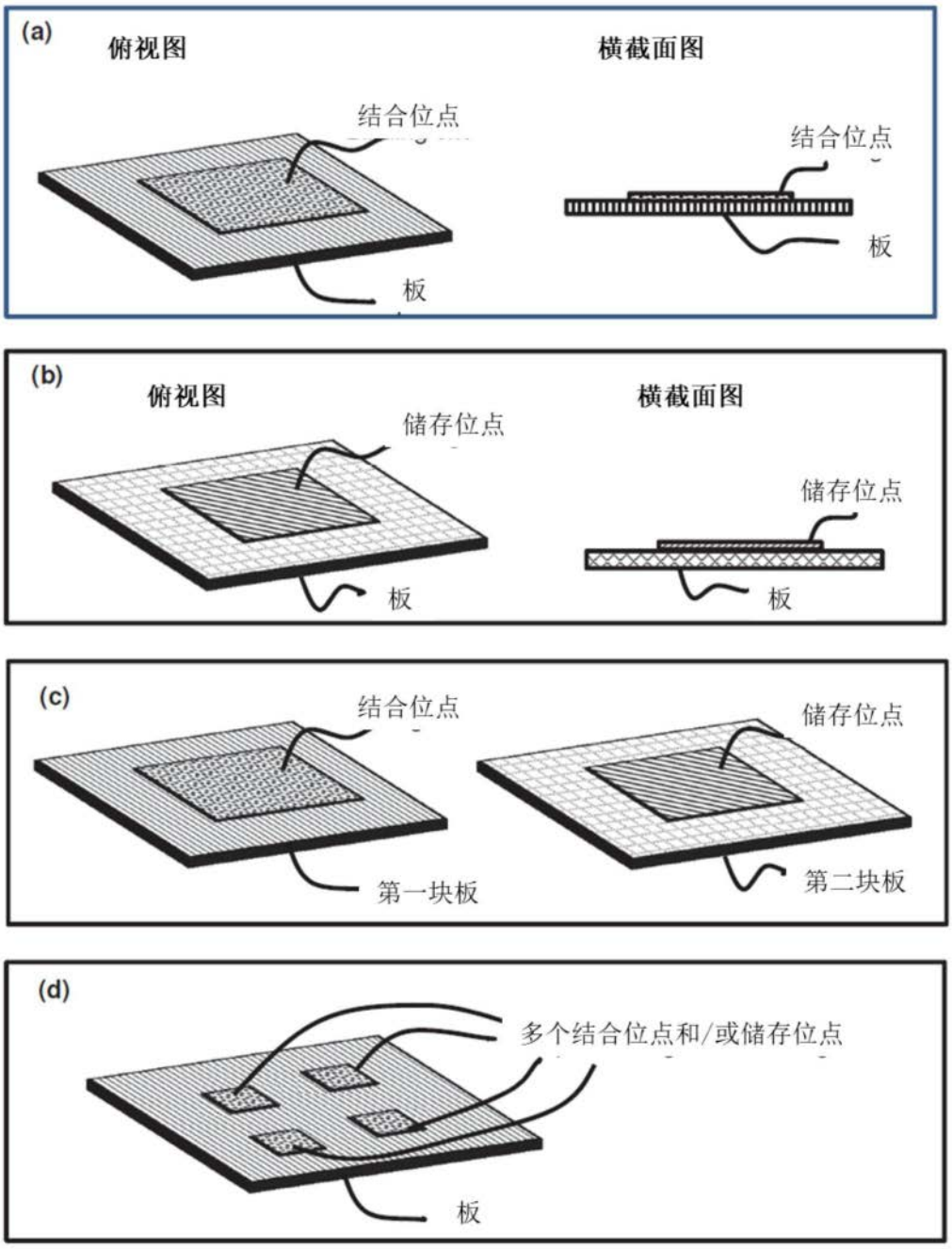

(a)
俯视图
横截面图
结合位点
结合位点
板
板
(b)
俯视图
横截面图
储存位点
储存位点
板
板
(c)
结合位点
储存位点
第一块板
第二块板
(d)
多个结合位点和/或储存位点
板

图2

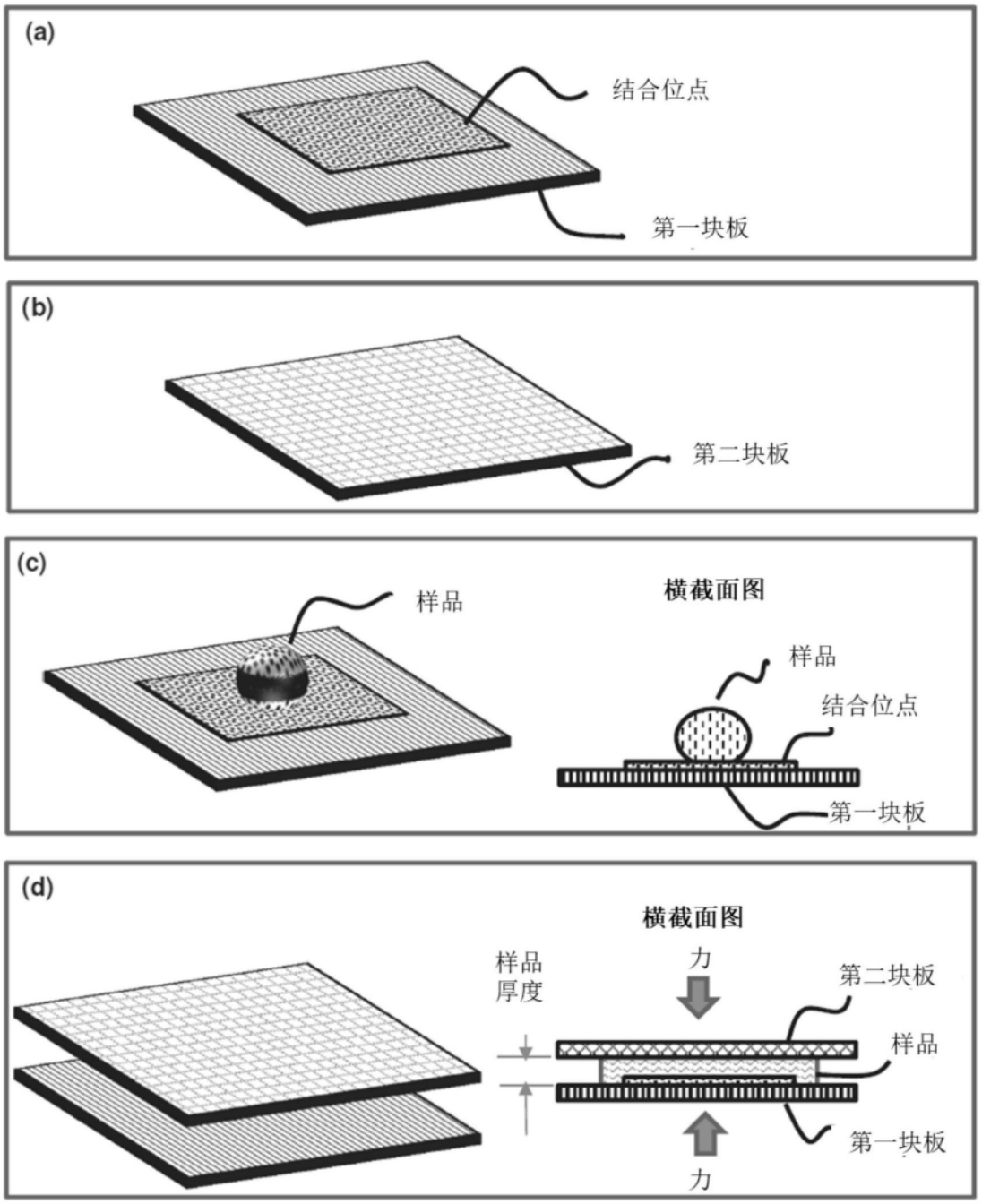

(a)
结合位点
第一块板
(b)
第二块板
(c)
样品
横截面图
样品
结合位点
第一块板
(d)
横截面图
样品
厚度
力
第二块板
样品
第一块板
力

图3

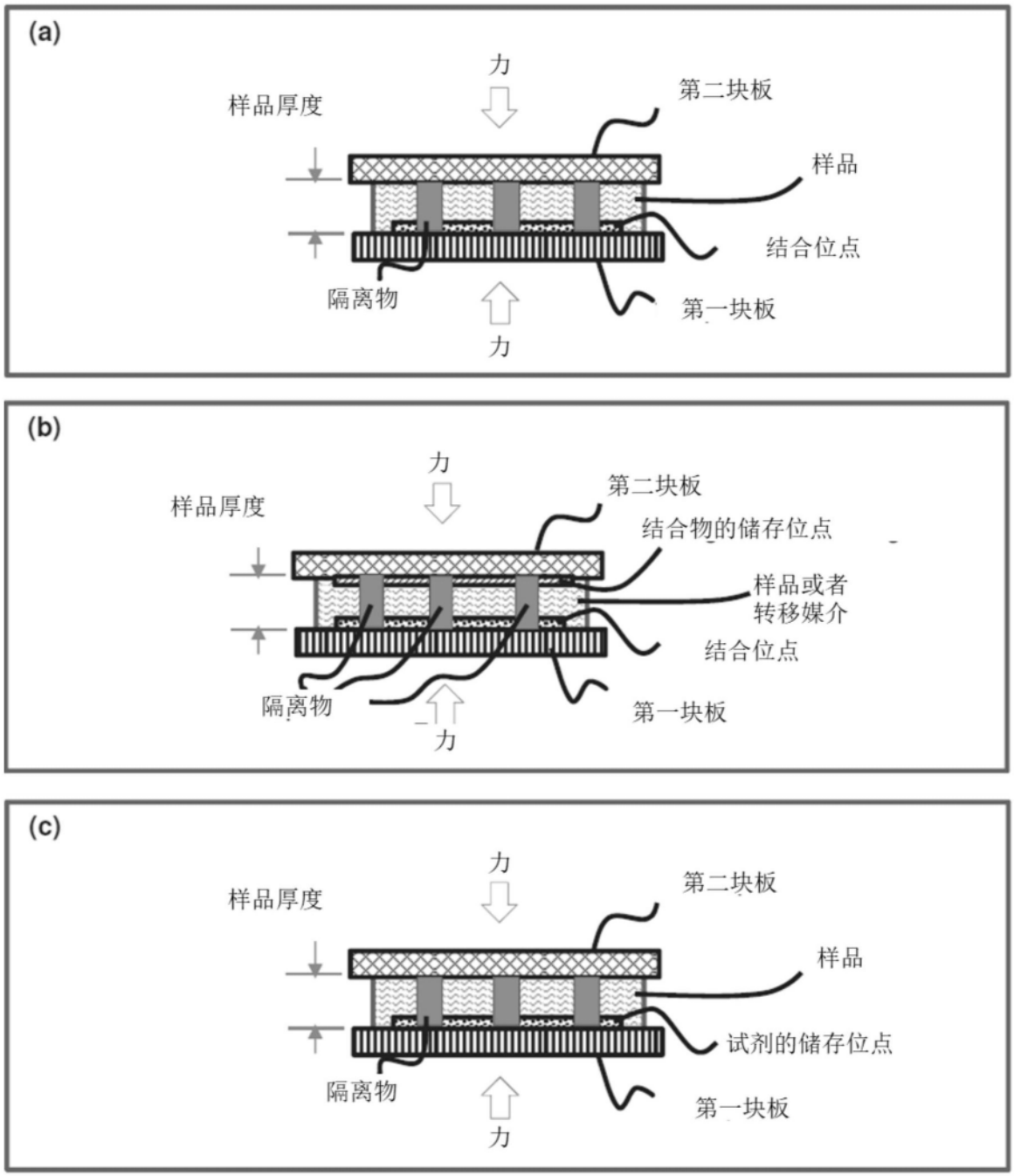

(a)
力
样品厚度
第二块板
样品
结合位点
隔离物
第一块板
力
(b)
力
样品厚度
第二块板
结合物的储存位点
样品或者
转移媒介
结合位点
隔离物
第一块板
力
(c)
力
样品厚度
第二块板
样品
试剂的储存位点
隔离物
第一块板
力

图4

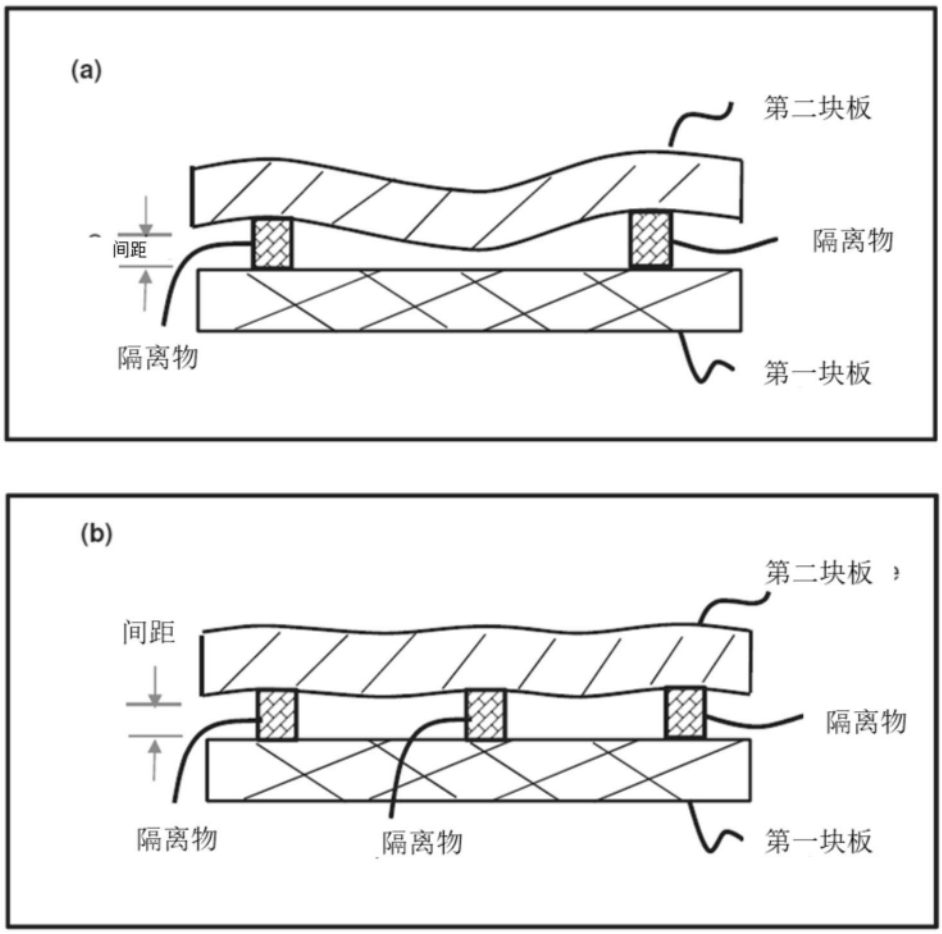


图5

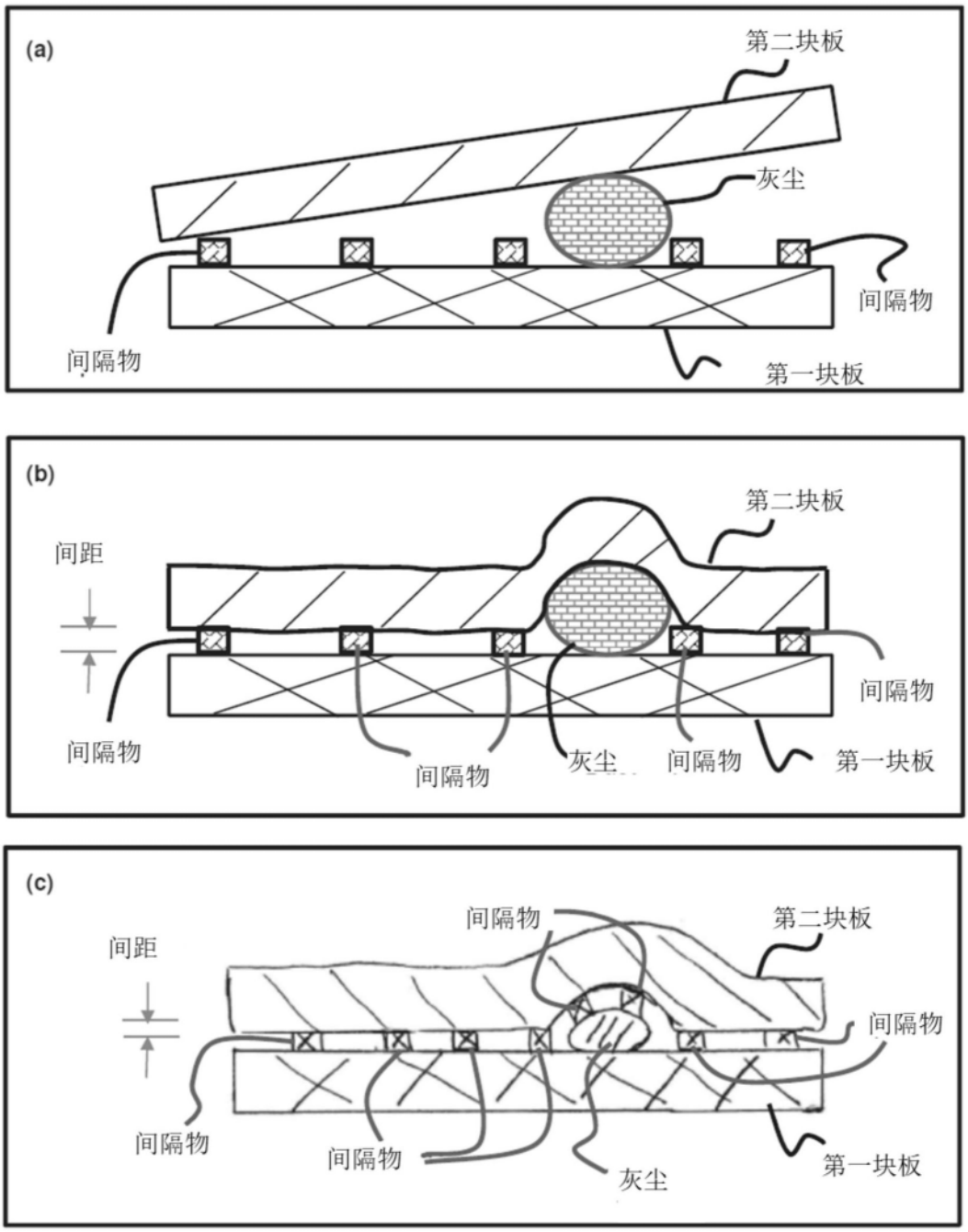

(a)
第二块板
灰尘
间隔物
间隔物
第一块板
(b)
第二块板
间距
间隔物
间隔物
间隔物
灰尘
间隔物
第一块板
(c)
间隔物
第二块板
间距
间隔物
间隔物
间隔物
灰尘
第一块板

图6

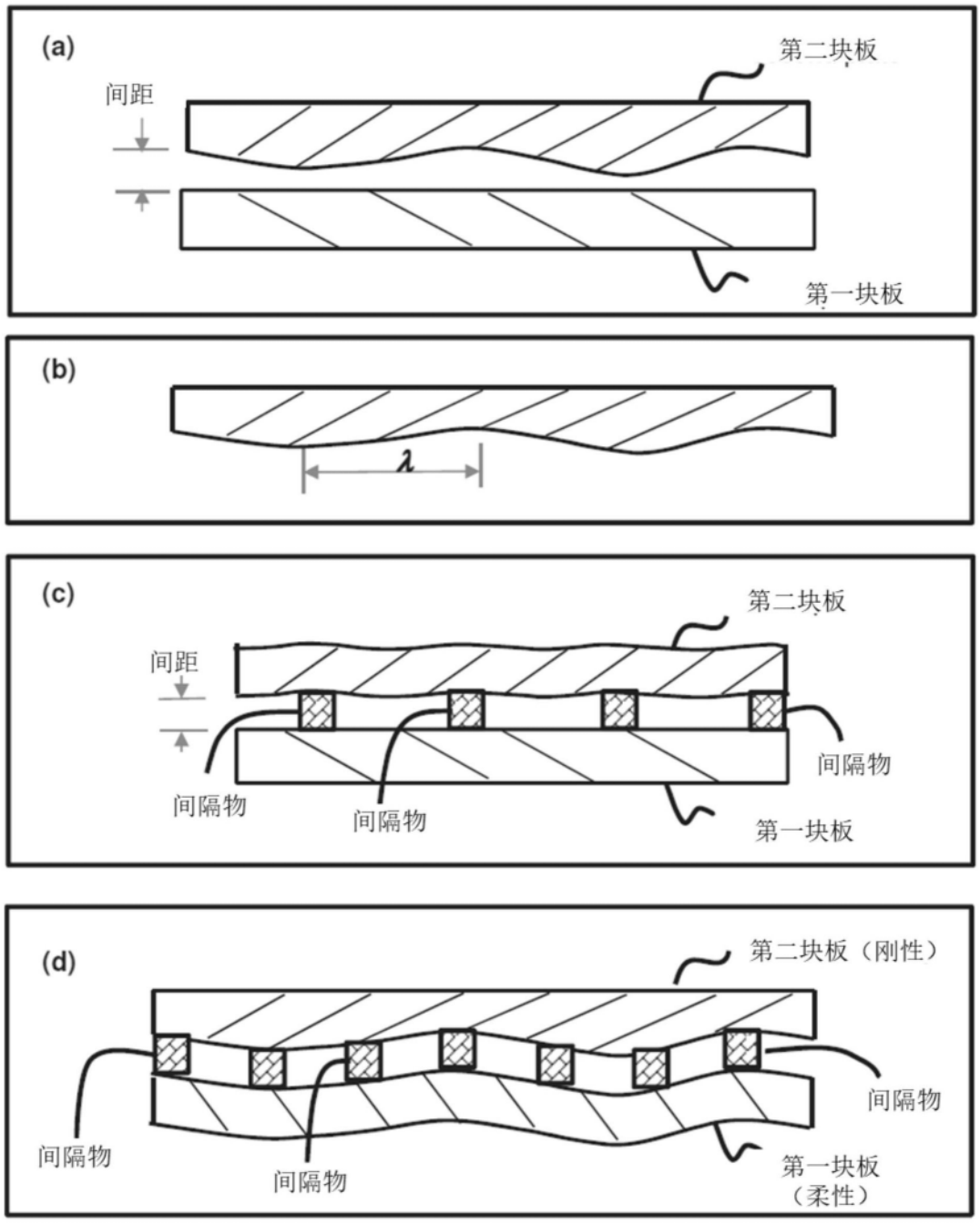

(a)
第二块板
间距
第一块板
(b)
λ
(c)
第二块板
间距
间隔物
间隔物
间隔物
第一块板
(d)
第二块板（刚性）
间隔物
间隔物
间隔物
第一块板
（柔性）

图7

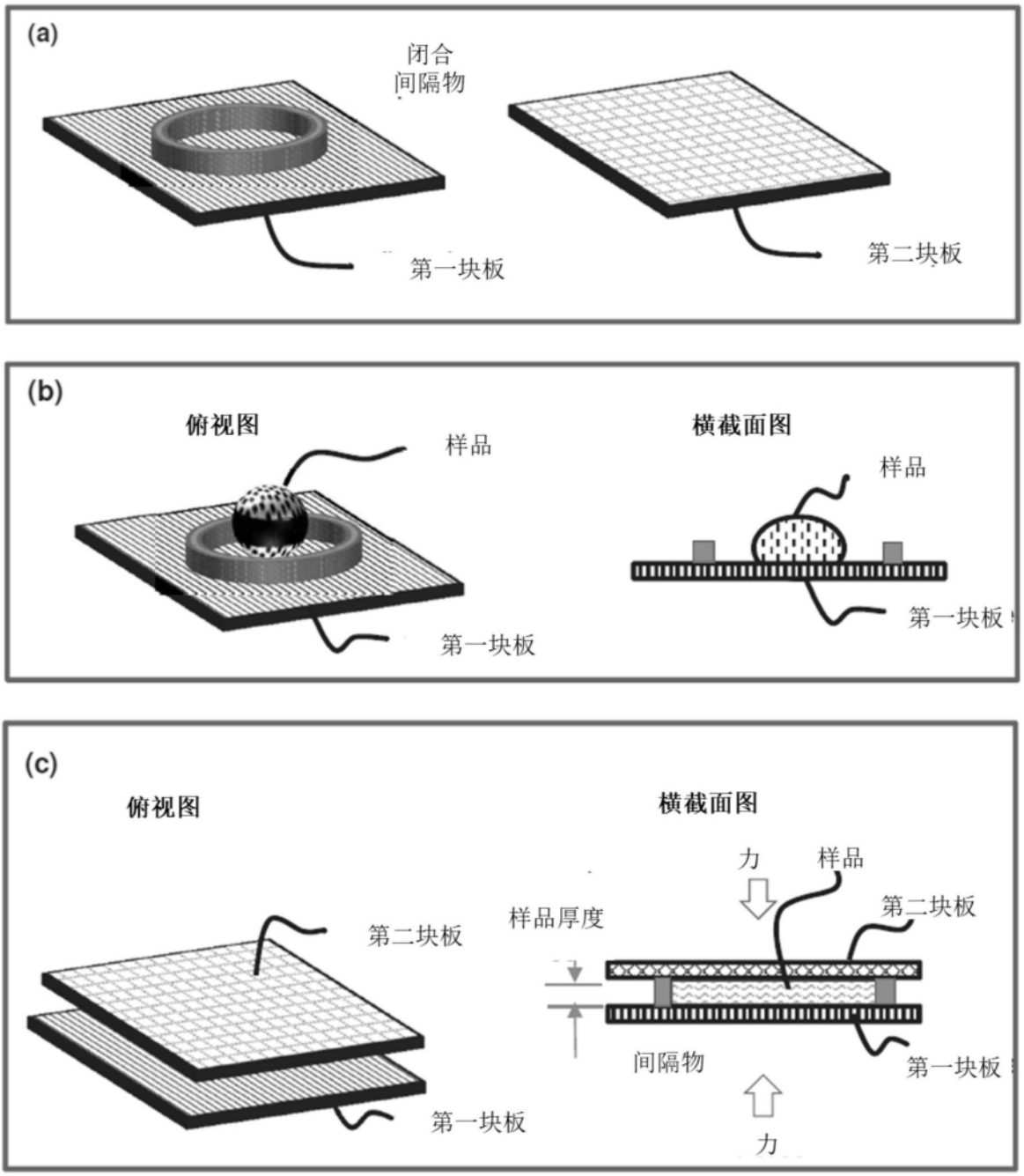

(a)
闭合
间隔物
第一块板
第二块板
(b)
俯视图
样品
第一块板
横截面图
样品
第一块板
(c)
俯视图
第二块板
第一块板
横截面图
力
样品
第二块板
样品厚度
间隔物
第一块板
力

图8

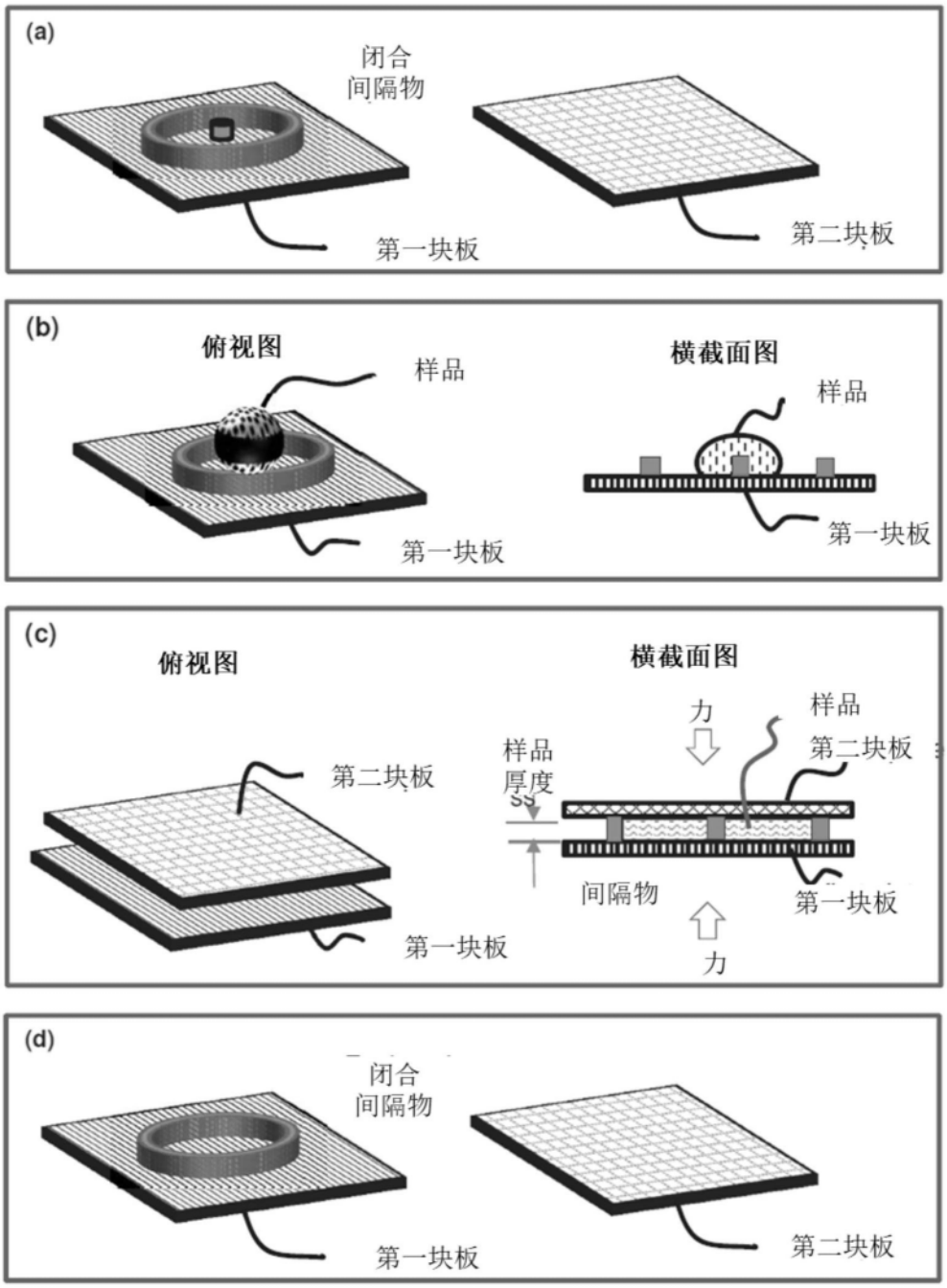

(a)
闭合
间隔物
第一块板
第二块板
(b)
俯视图
样品
第一块板
横截面图
样品
第一块板
(c)
俯视图
第二块板
第一块板
横截面图
力
样品
第二块板
样品
厚度
间隔物
第一块板
力
(d)
闭合
间隔物
第一块板
第二块板

图9

案例1. 多重测定. 一个结合位点对一个或者多个储存位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

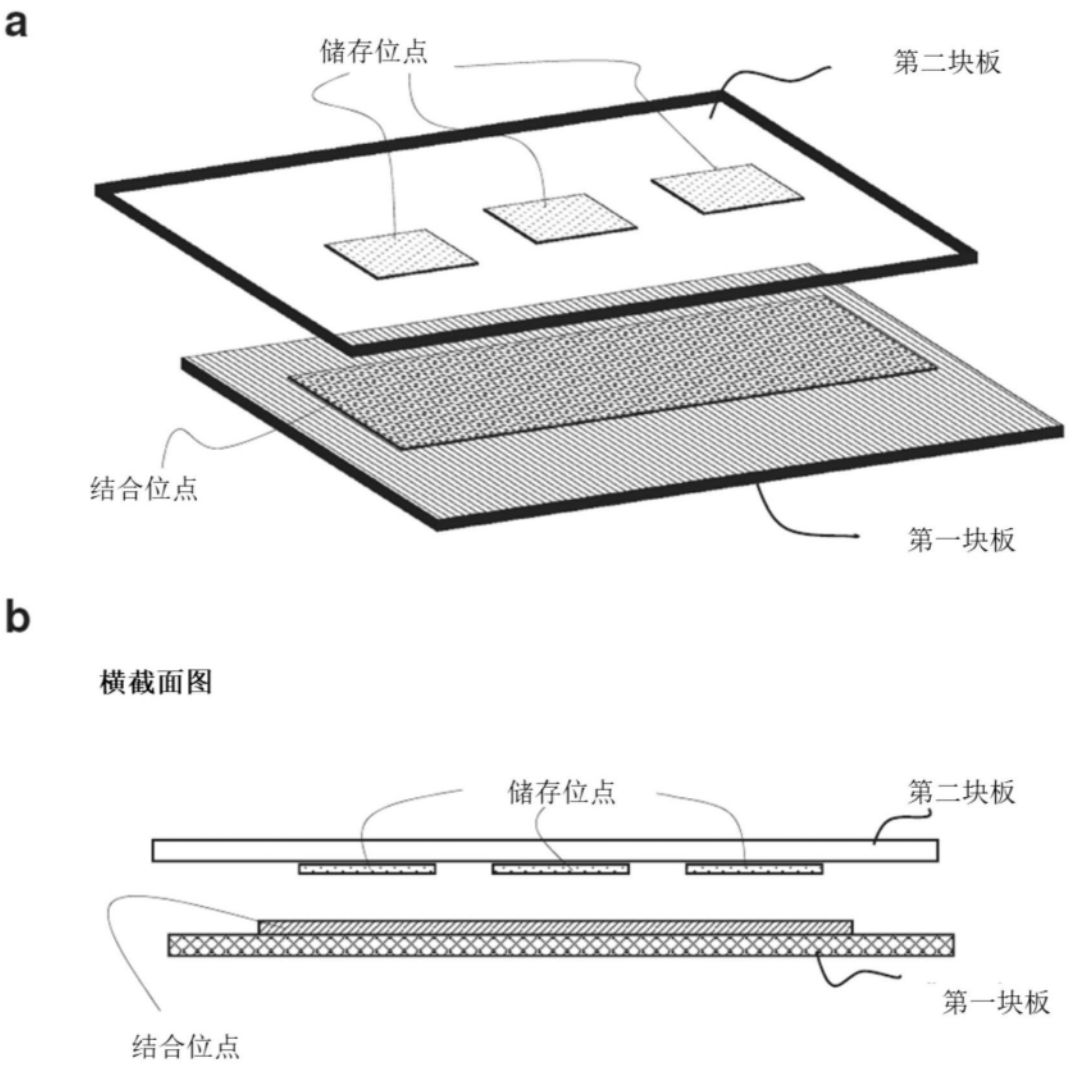


图10

案例2. 多重测定.一个储存位点对一个或者多个结合位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

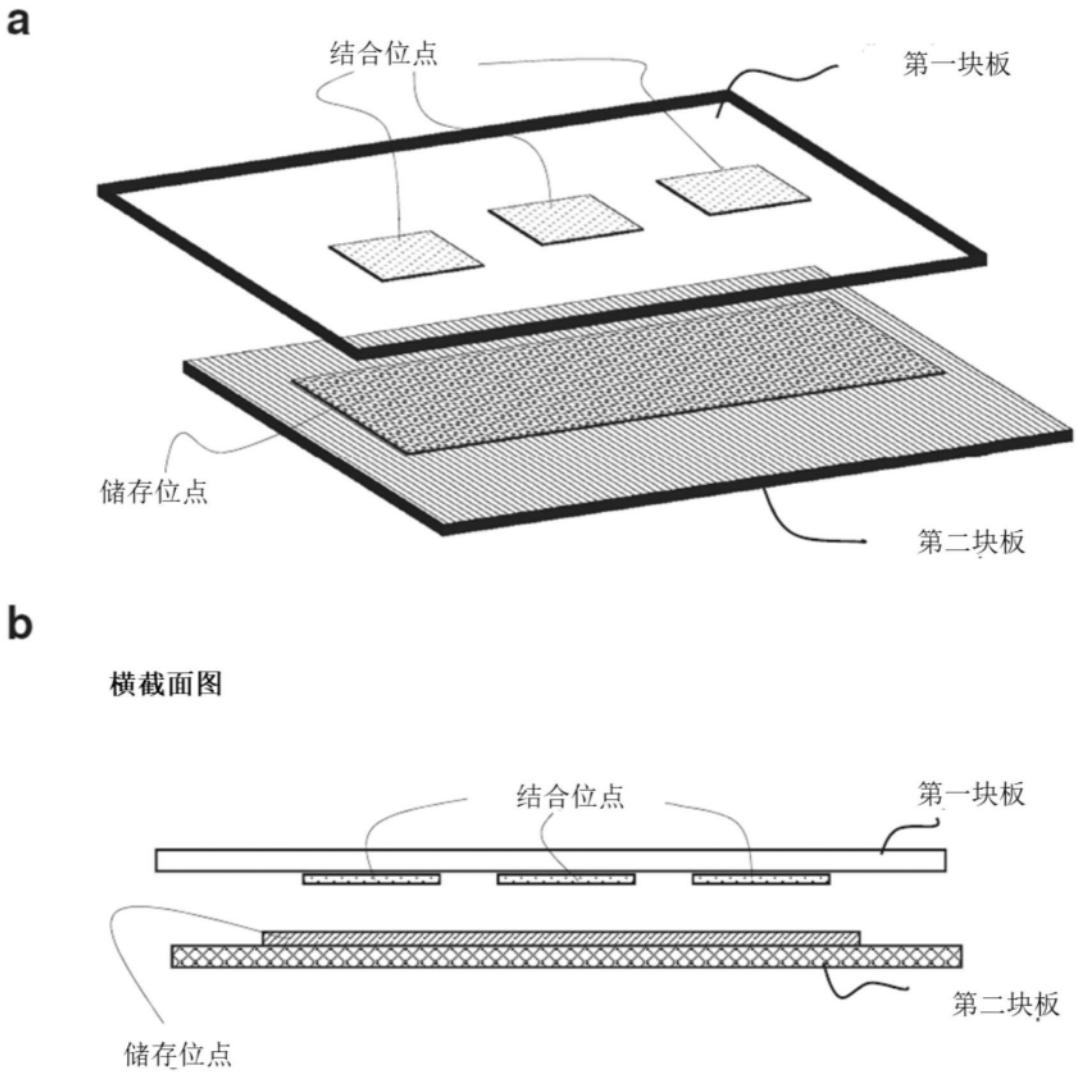


图11

案例3. 多重测定. 多个结合位点对应多个储存位点

不同的储存位点可以有相同检测剂但是不同浓度，或者不同检测剂但是有相同或者不同浓度。

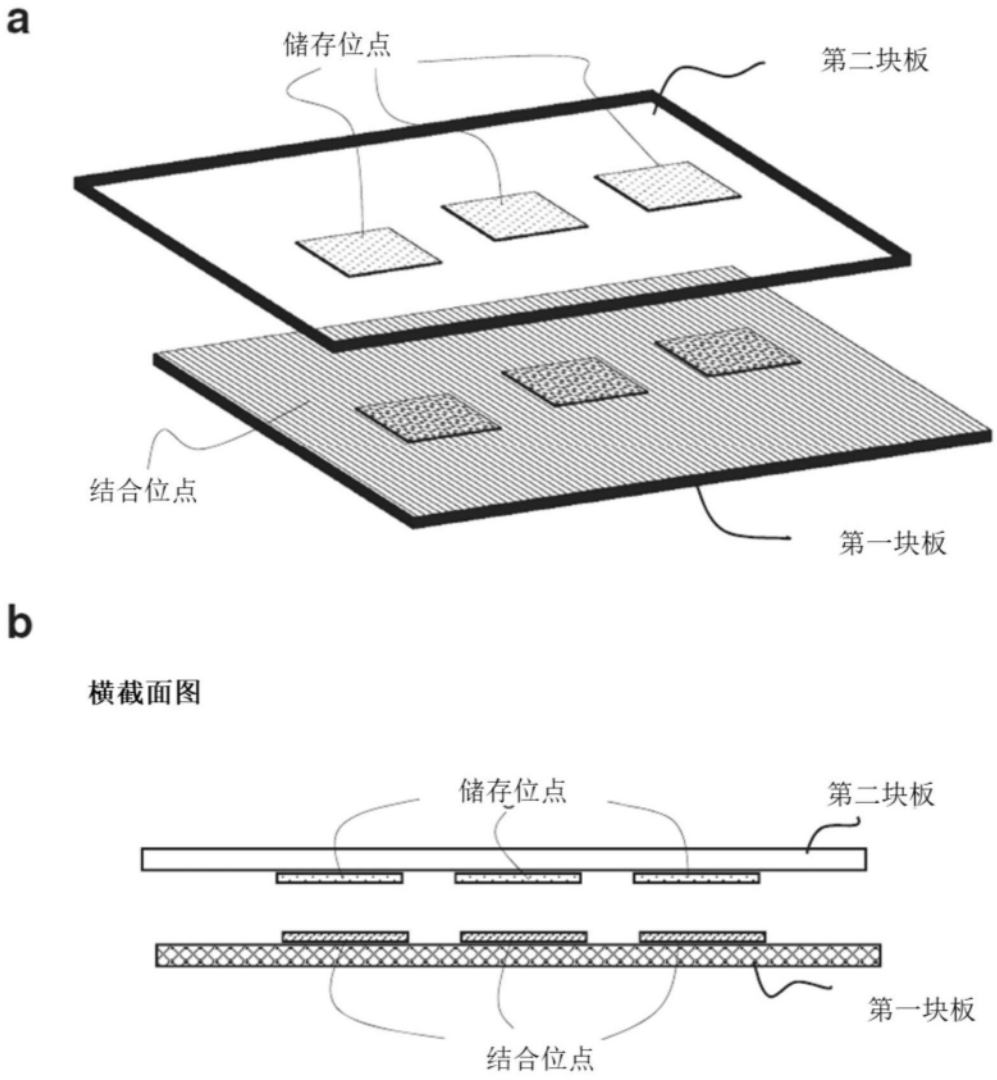


图12

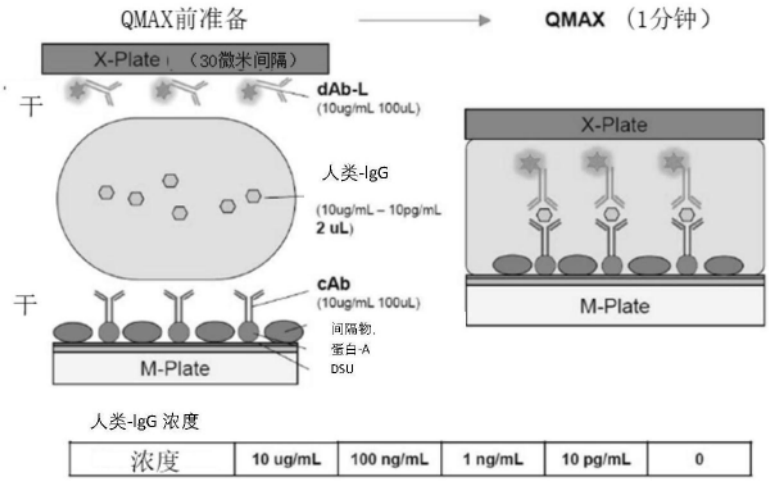

QMAX前准备
QMAX （1分钟）
X-Plate （30微米间隔）
干
dAb-L
(10ug/mL 100uL)
人类-IgG
(10ug/mL – 10pg/mL
2 uL)
干
cAb
(10ug/mL 100uL)
间隔物,
蛋白-A
DSU
M-Plate
X-Plate
M-Plate
人类-IgG 浓度
浓度
10 ug/mL
100 ng/mL
1 ng/mL
10 pg/mL
0

图13A

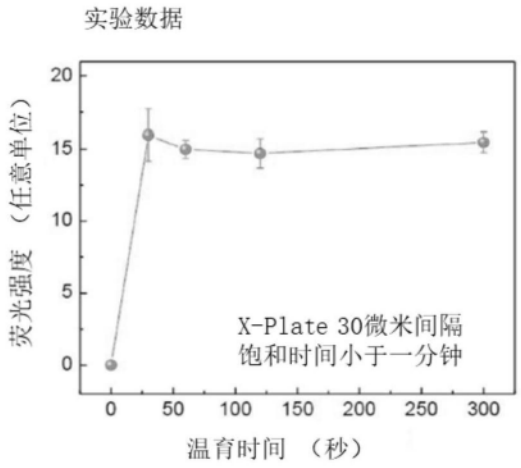
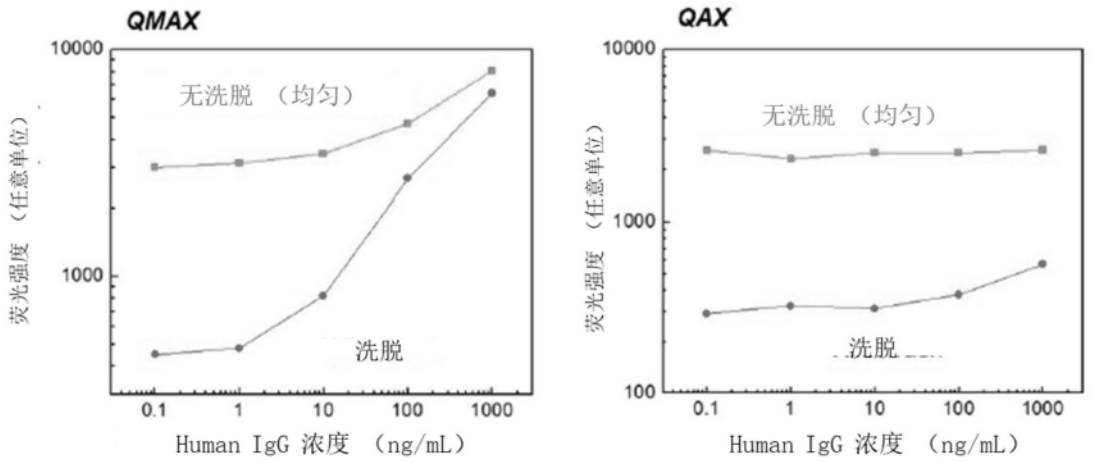

实验数据
荧光强度 （任意单位）
温育时间 （秒）
X-Plate 30微米间隔
饱和时间小于一分钟
0
5
10
15
20
0
50
100
150
200
250
300

图13B



No.	设备	洗脱或者无洗脱	探测极限
1	QMAX	洗脱	2 pM (300 pg/mL)
2	QMAX	无洗脱	10 pM (1.5 ng/mL)
3	QAX	洗脱	200 pM (30 ng/mL)
4	QAX	无洗脱	---

图14

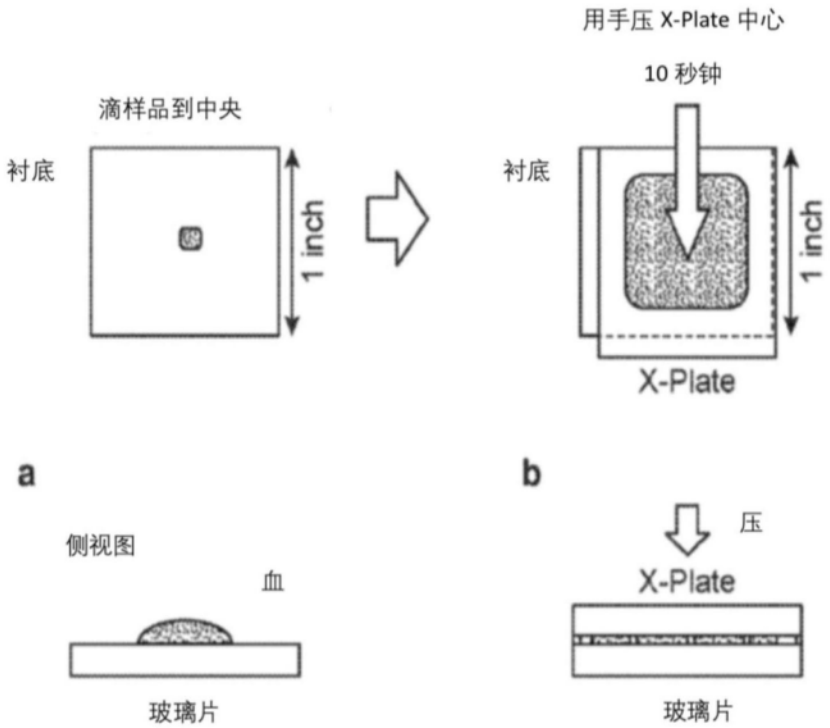


图15

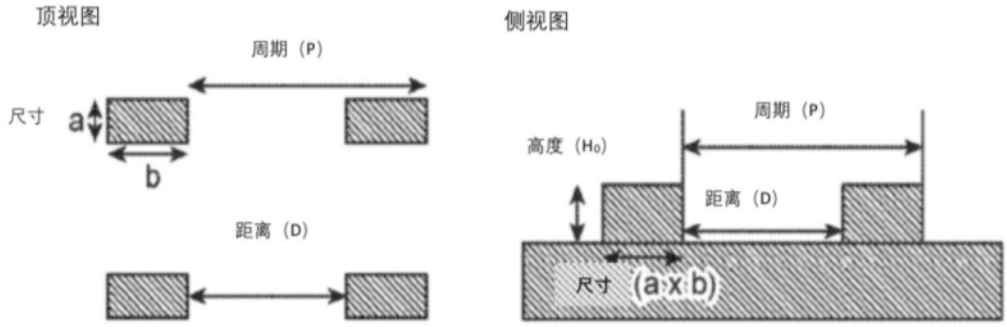

顶视图
周期（P）
尺寸
a
b
距离（D）
侧视图
周期（P）
高度（H0）
距离（D）
尺寸 (a x b)

图16

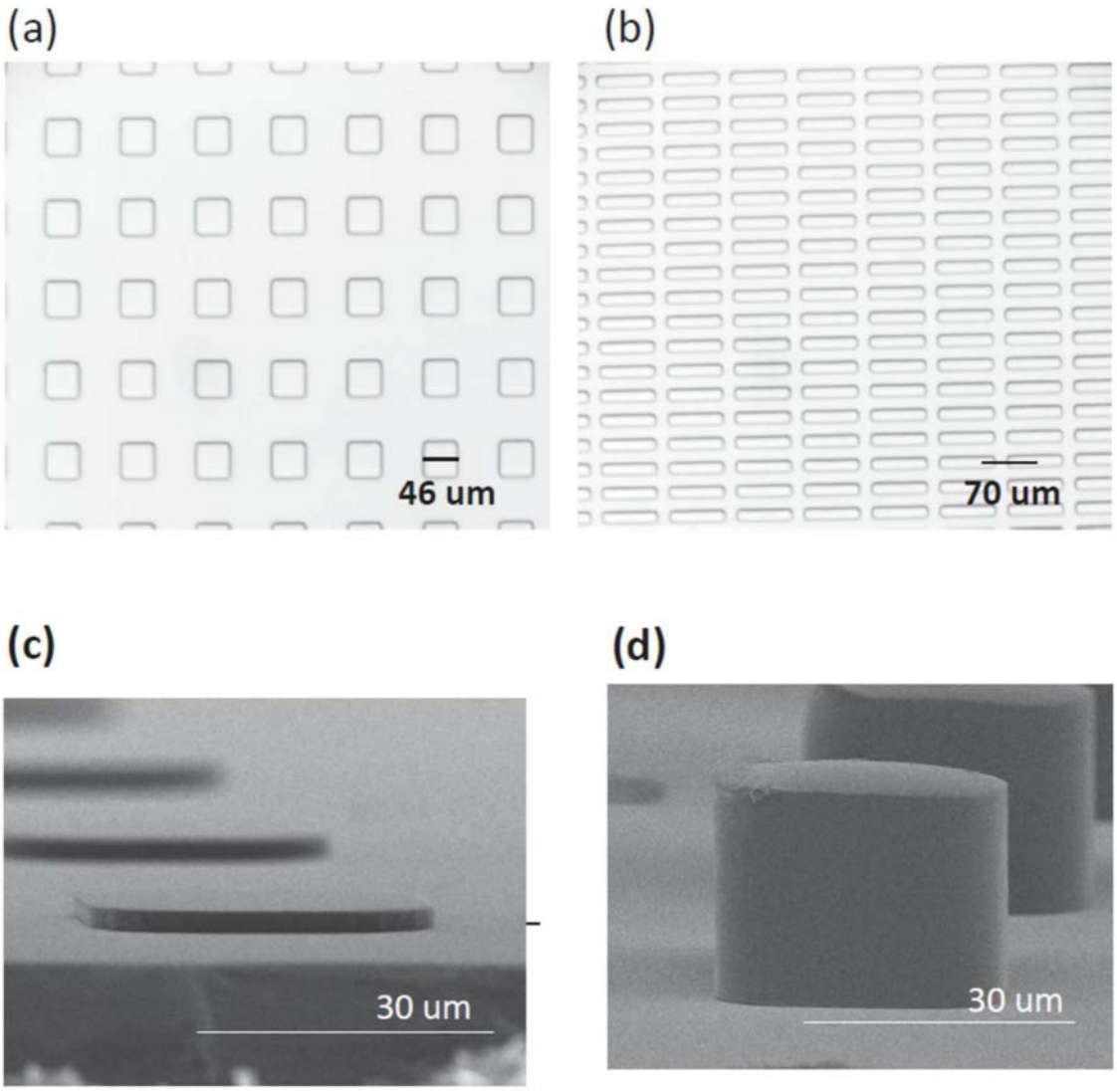

(a)
46 um
(b)
70 um
(c)
30 um
(d)
30 um

图17

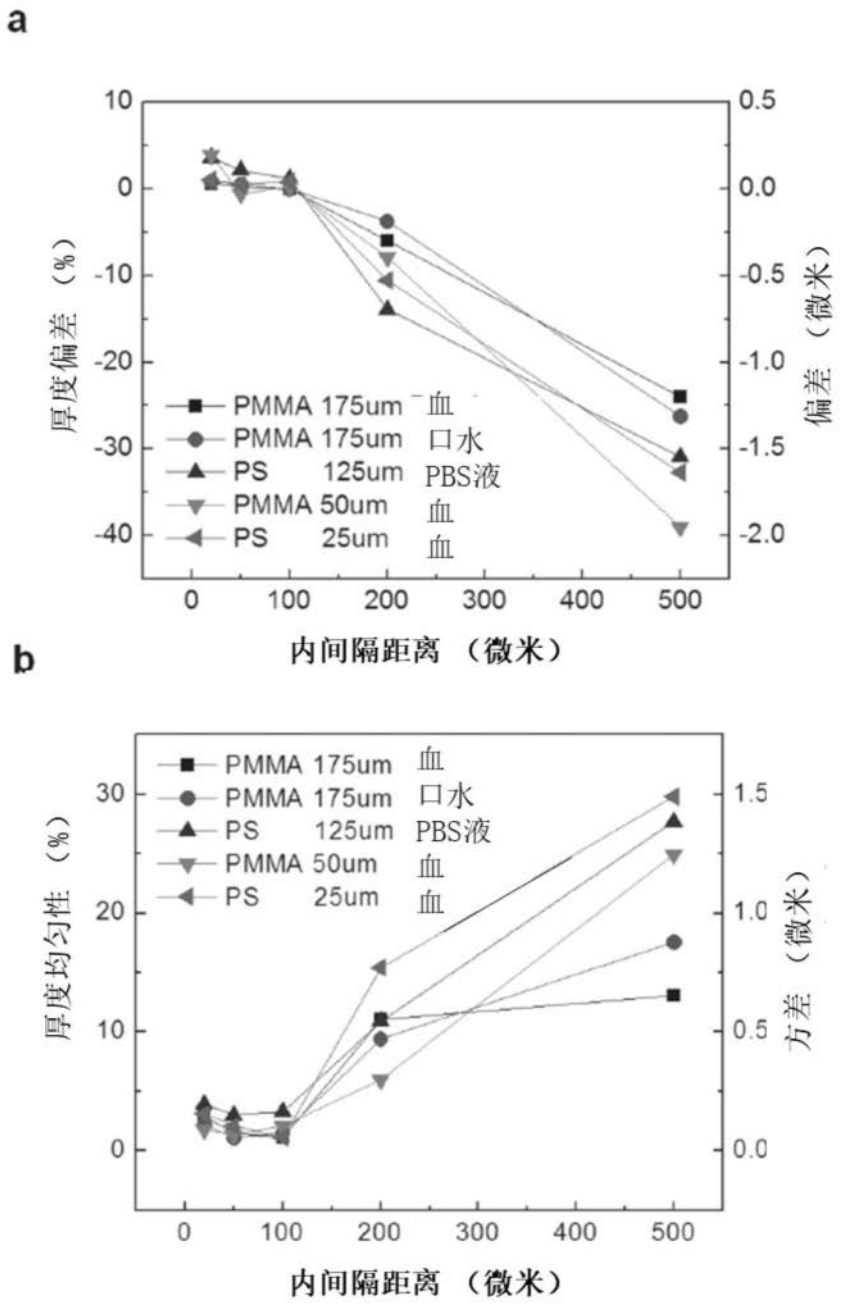

a
厚度偏差（%）
偏差（微米）
内间隔距离（微米）
PMMA 175um 血
PMMA 175um 口水
PS 125um PBS液
PMMA 50um 血
PS 25um 血
b
厚度均匀性（%）
方差（微米）
内间隔距离（微米）
PMMA 175um 血
PMMA 175um 口水
PS 125um PBS液
PMMA 50um 血
PS 25um 血

图18

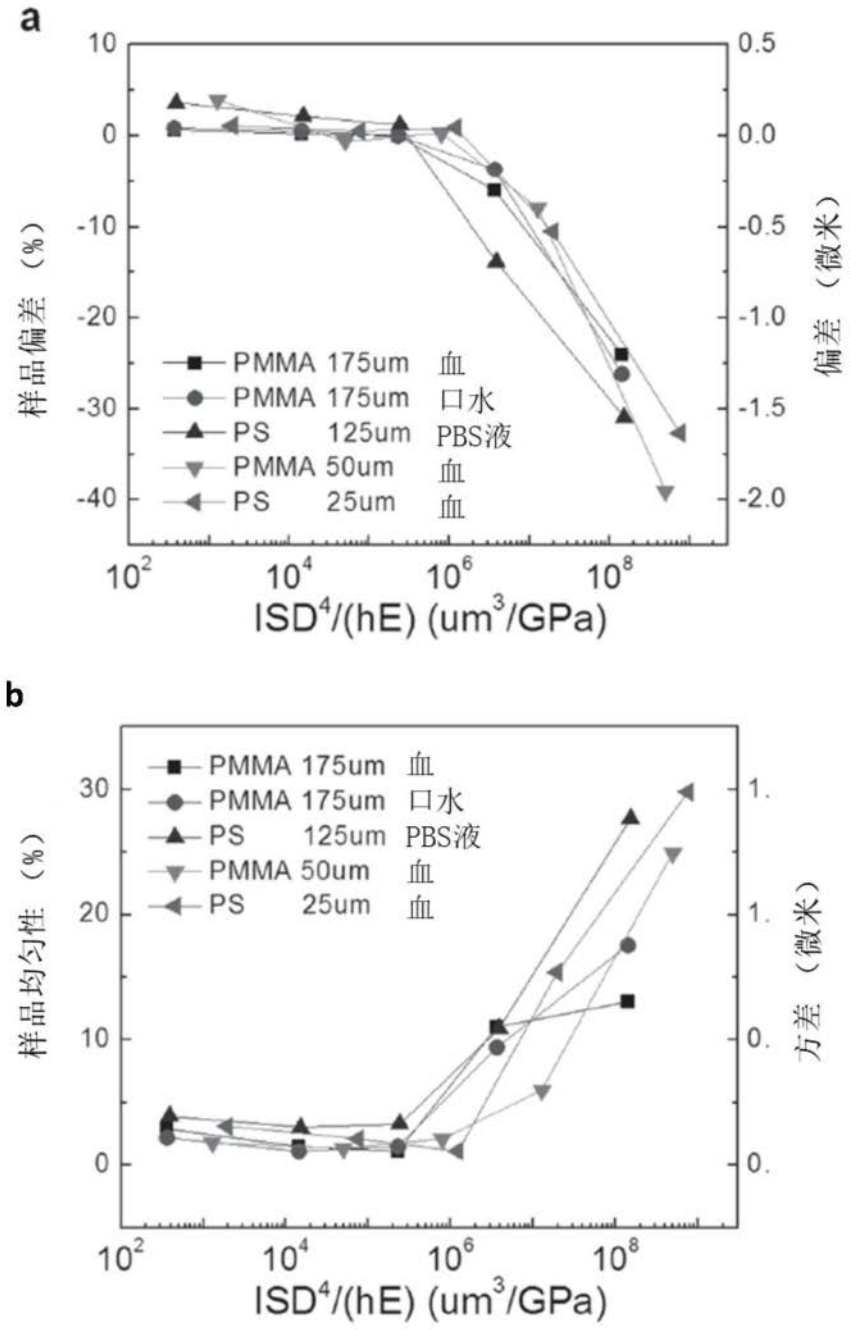

a
样品偏差（%）
偏差（微米）
PMMA 175um 血
PMMA 175um 口水
PS 125um PBS液
PMMA 50um 血
PS 25um 血
ISD⁴/(hE) (um³/GPa)
b
样品均匀性（%）
方差（微米）
PMMA 175um 血
PMMA 175um 口水
PS 125um PBS液
PMMA 50um 血
PS 25um 血
ISD⁴/(hE) (um³/GPa)

图19

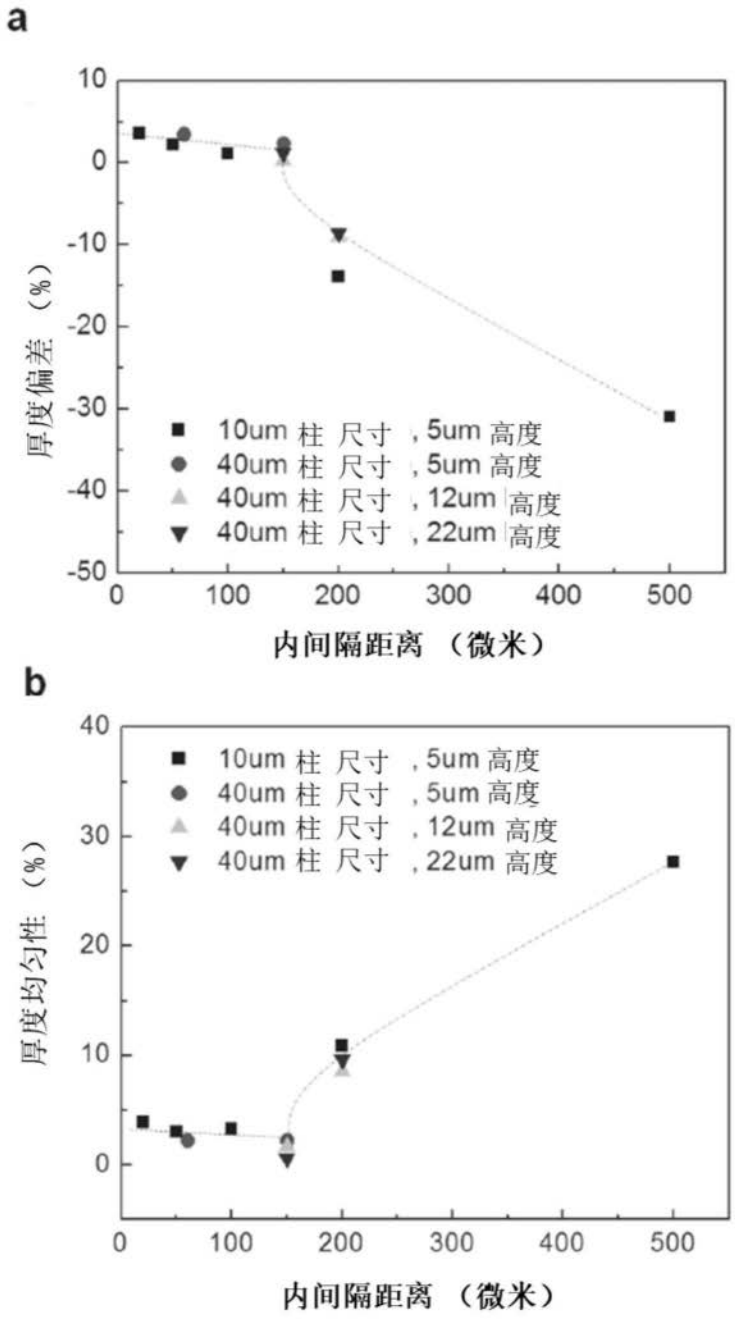

a
厚度偏差 （%）
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
0
100
200
300
400
500
内间隔距离 （微米）
10um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，12um 高度
40um 柱 尺寸 ，22um 高度
b
厚度均匀性 （%）
40
30
20
10
0
0
100
200
300
400
500
内间隔距离 （微米）
10um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，12um 高度
40um 柱 尺寸 ，22um 高度

图20

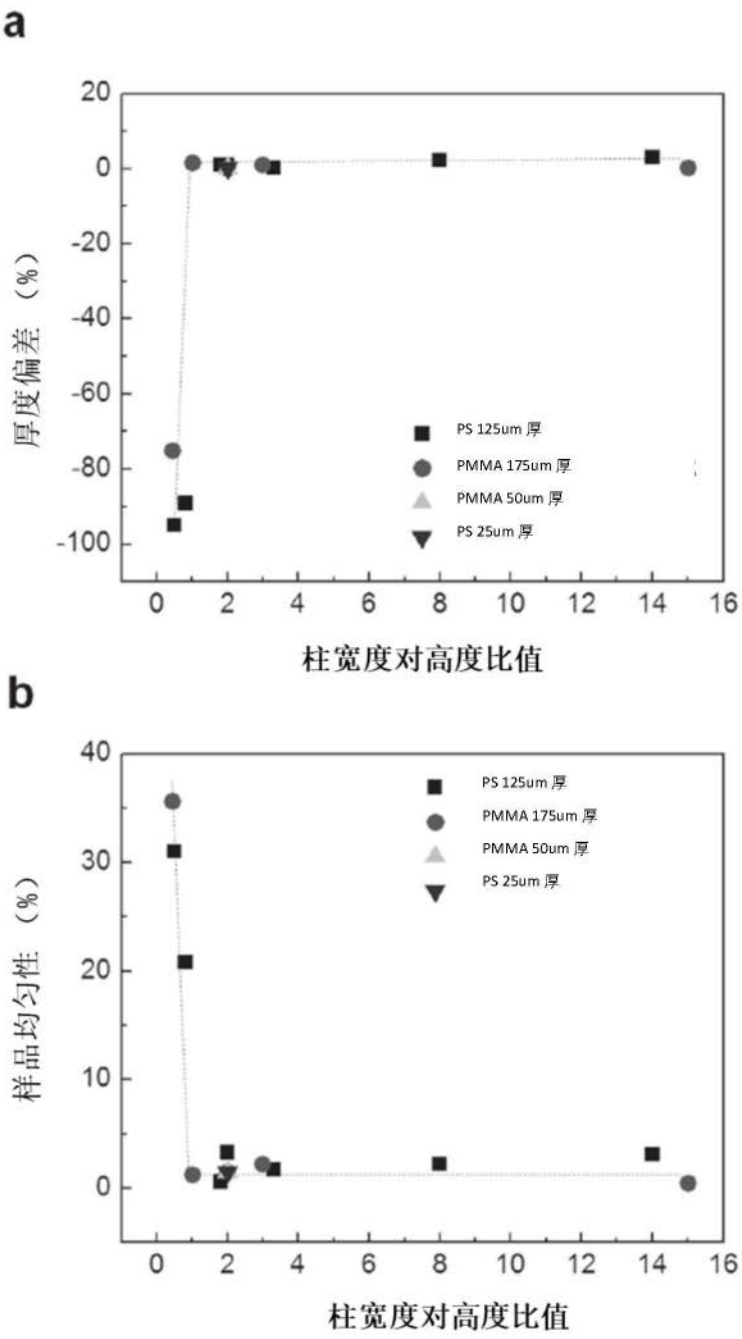

a
厚度偏差（%）
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
2
4
6
8
10
12
14
16
柱宽度对高度比值
PS 125um 厚
PMMA 175um 厚
PMMA 50um 厚
PS 25um 厚
b
样品均匀性（%）
40
30
20
10
0
柱宽度对高度比值
PS 125um 厚
PMMA 175um 厚
PMMA 50um 厚
PS 25um 厚

图21

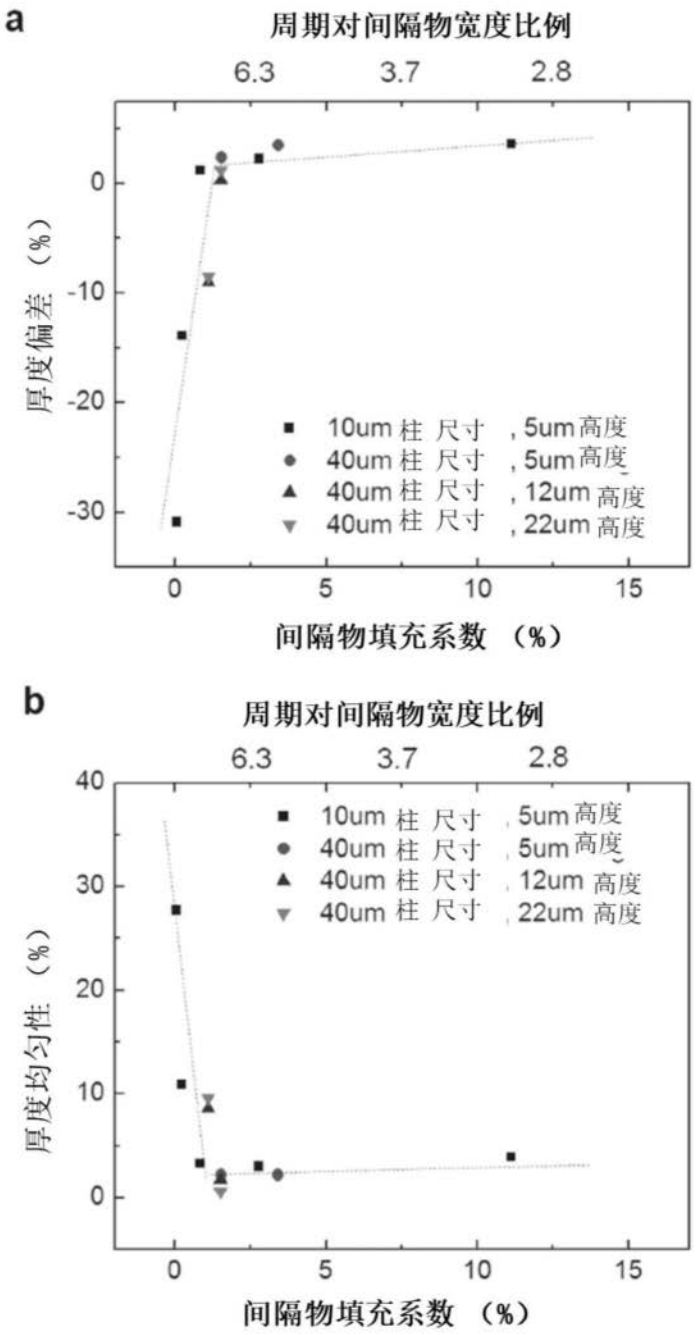

a
周期对间隔物宽度比例
6.3
3.7
2.8
厚度偏差（%）
0
-10
-20
-30
10um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，12um 高度
40um 柱 尺寸 ，22um 高度
0
5
10
15
间隔物填充系数 （%）
b
周期对间隔物宽度比例
6.3
3.7
2.8
厚度均匀性（%）
40
30
20
10
0
10um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，5um 高度
40um 柱 尺寸 ，12um 高度
40um 柱 尺寸 ，22um 高度
0
5
10
15
间隔物填充系数 （%）

图22

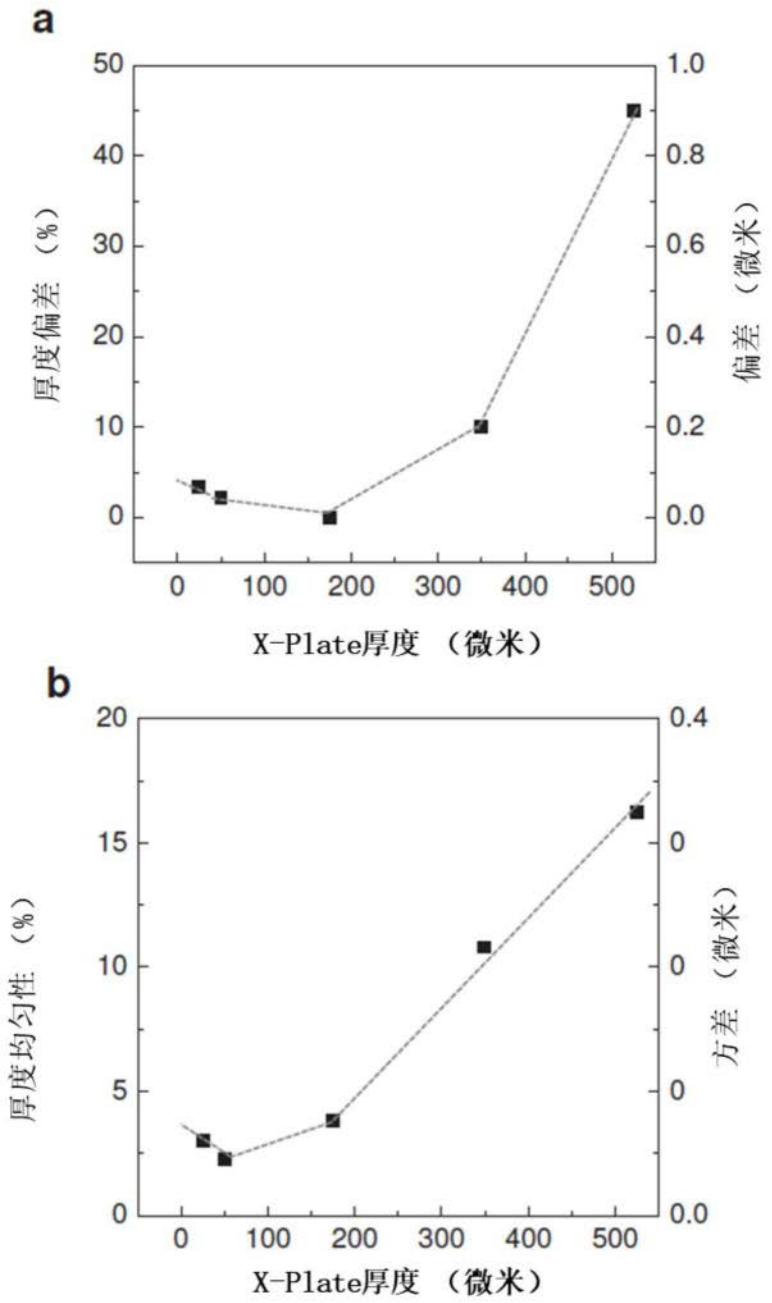


图23

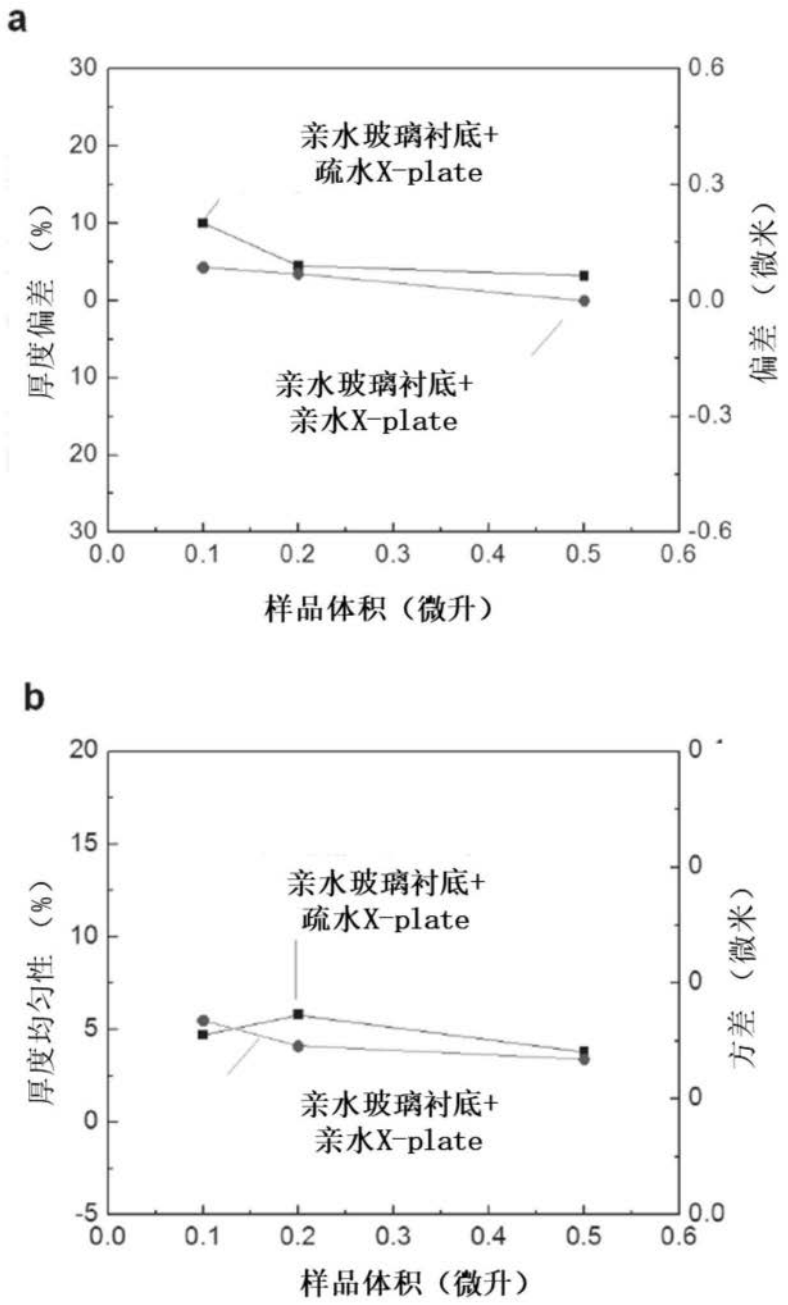

a
30
20
10
0
10
20
30
厚度偏差（%）
0.6
0.3
0.0
-0.3
-0.6
偏差（微米）
亲水玻璃衬底+
疏水X-plate
亲水玻璃衬底+
亲水X-plate
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
样品体积（微升）
b
20
15
10
5
0
-5
厚度均匀性（%）
0
0
0
0
0.0
方差（微米）
亲水玻璃衬底+
疏水X-plate
亲水玻璃衬底+
亲水X-plate
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
样品体积（微升）

图24

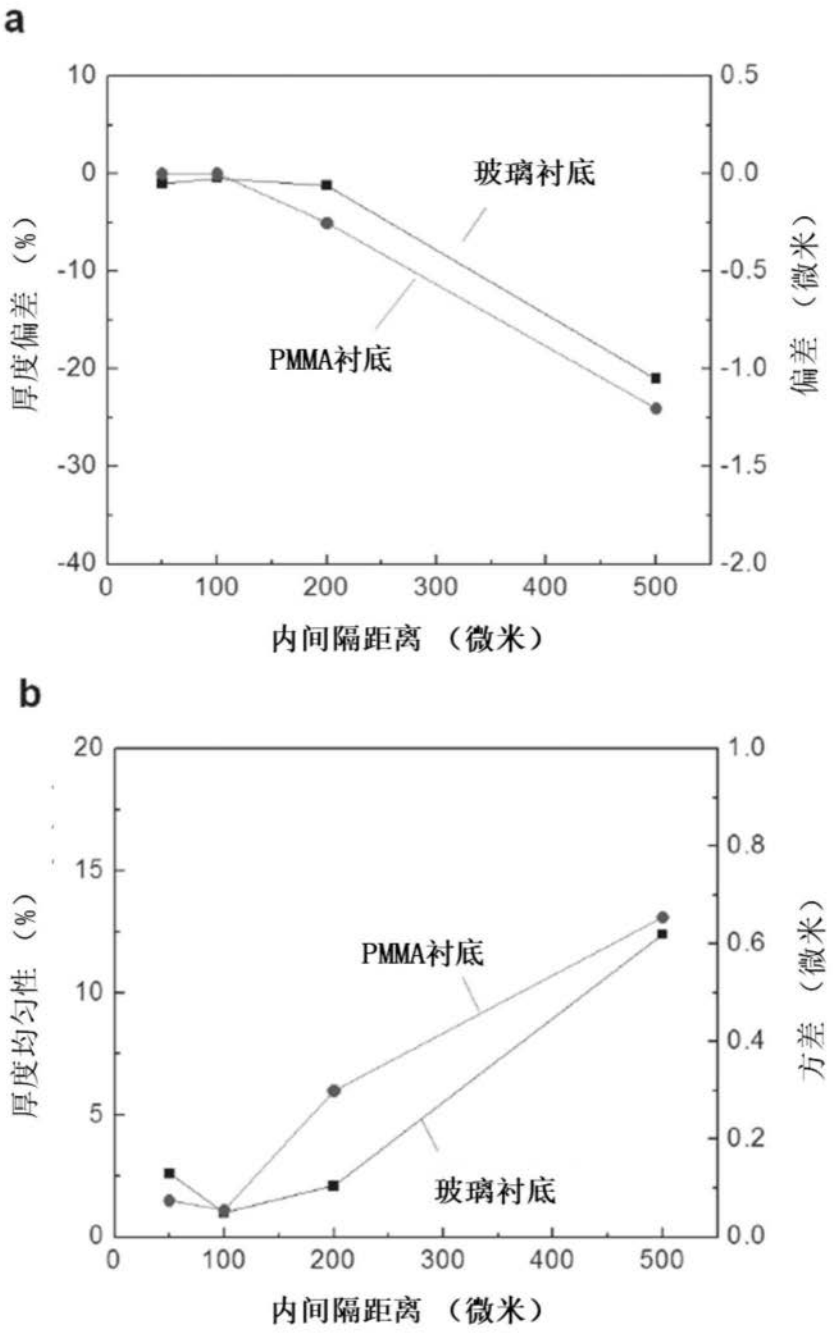

a
10
0
-10
-20
-30
-40
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
0
100
200
300
400
500
玻璃衬底
PMMA衬底
厚度偏差 （%）
偏差 （微米）
内间隔距离 （微米）
b
20
15
10
5
0
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
PMMA衬底
玻璃衬底
厚度均匀性 （%）
方差 （微米）
内间隔距离 （微米）

图25

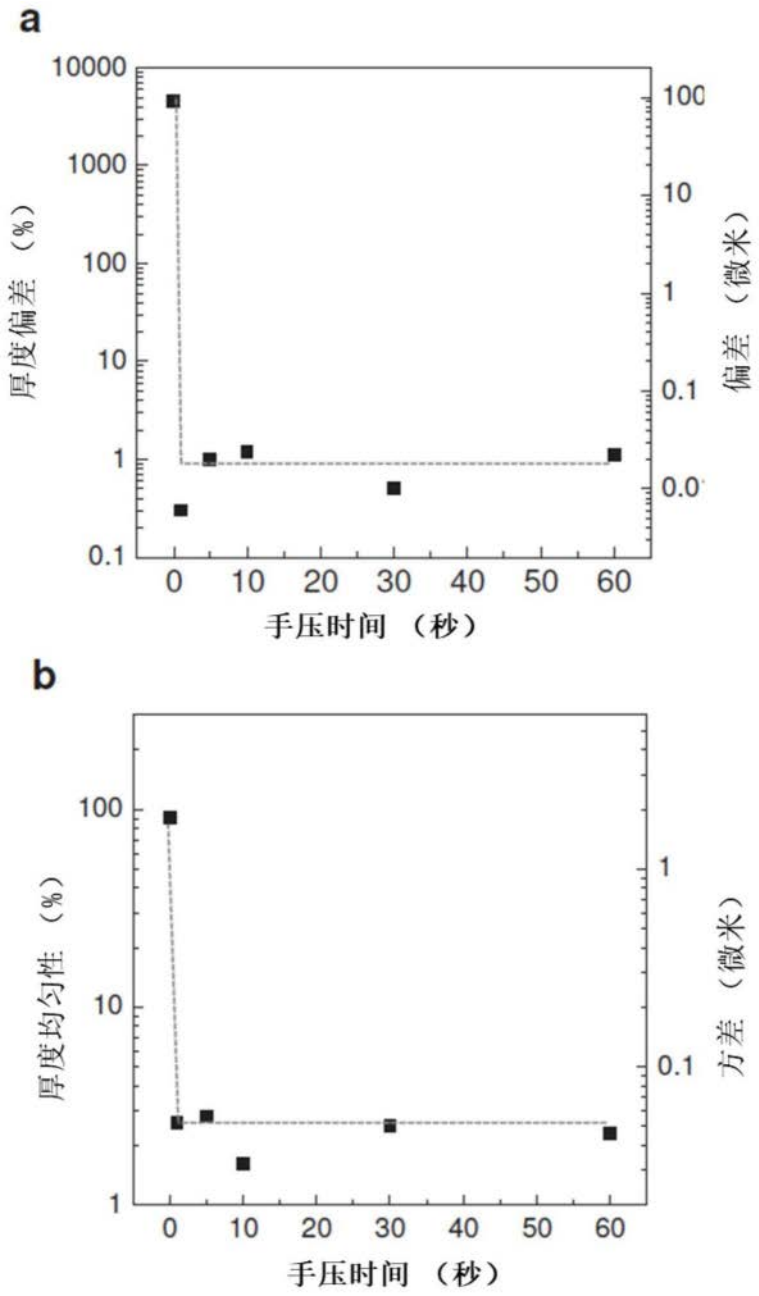

a
10000
1000
100
10
1
0.1
厚度偏差（%）
100
10
1
0.1
偏差（微米）
0
10
20
30
40
50
60
手压时间（秒）
b
100
10
1
厚度均匀性（%）
1
0.1
方差（微米）
0
10
20
30
40
50
60
手压时间（秒）

图26

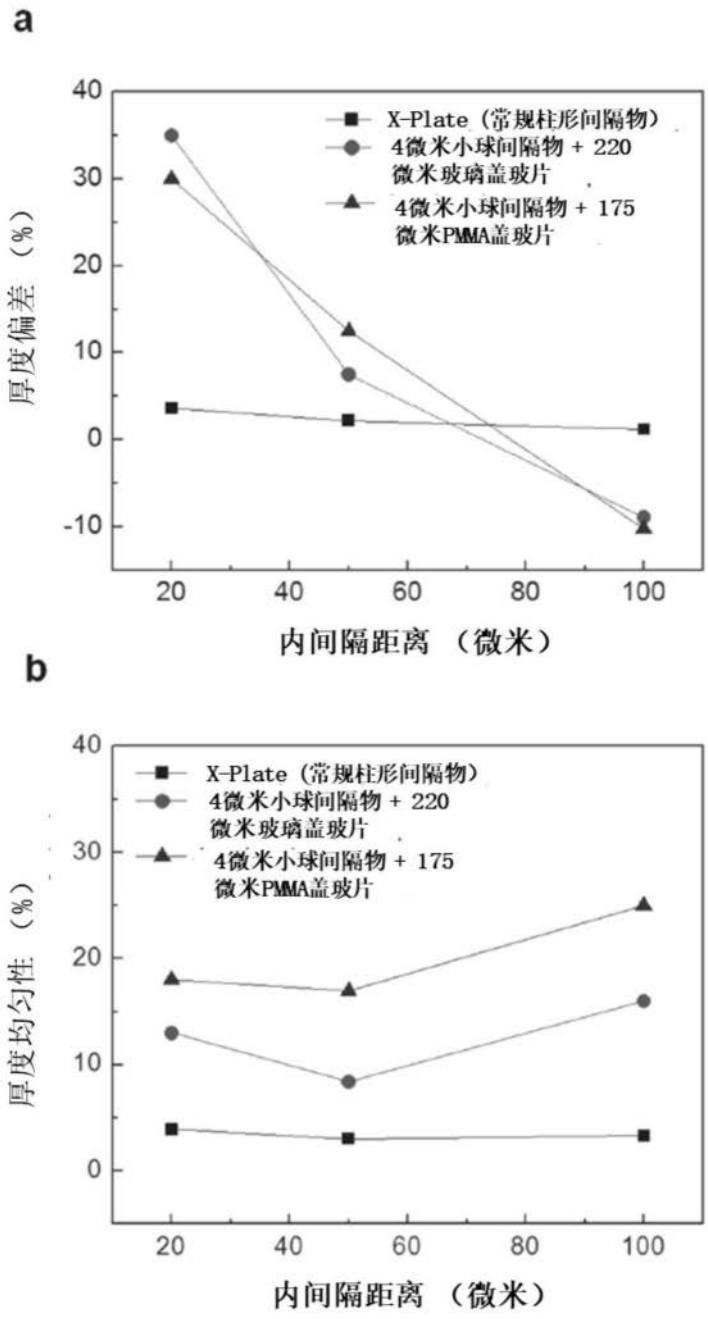

a
厚度偏差 （%）
40
30
20
10
0
-10
20
40
60
80
100
内间隔距离 （微米）
X-Plate（常规柱形间隔物）
4微米小球间隔物 + 220
微米玻璃盖玻片
4微米小球间隔物 + 175
微米PMMA盖玻片
b
厚度均匀性 （%）
40
30
20
10
0
20
40
60
80
100
内间隔距离 （微米）
X-Plate（常规柱形间隔物）
4微米小球间隔物 + 220
微米玻璃盖玻片
4微米小球间隔物 + 175
微米PMMA盖玻片

图27

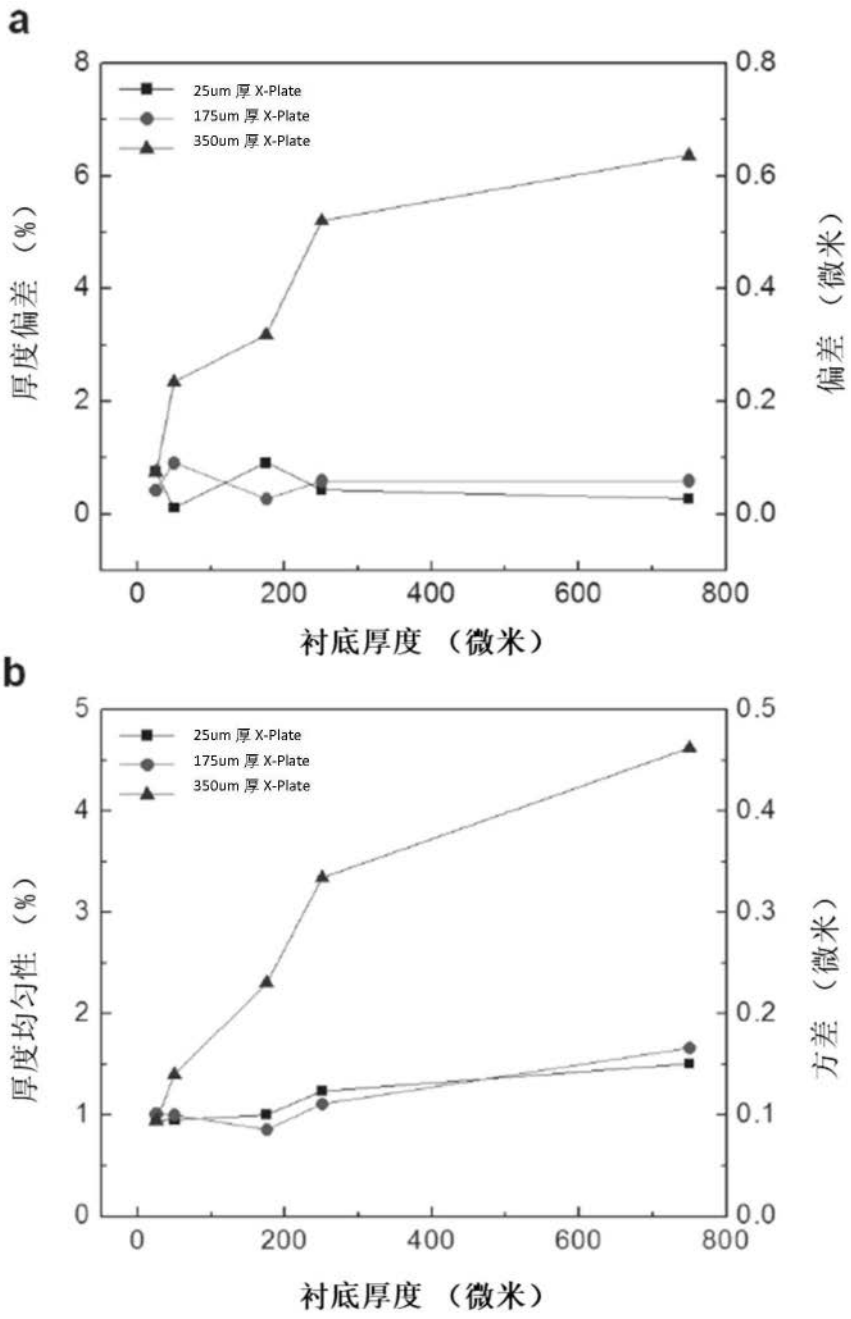

a
25um 厚 X-Plate
175um 厚 X-Plate
350um 厚 X-Plate
厚度偏差 （%）
偏差 （微米）
衬底厚度 （微米）
b
25um 厚 X-Plate
175um 厚 X-Plate
350um 厚 X-Plate
厚度均匀性 （%）
方差 （微米）
衬底厚度 （微米）

图28

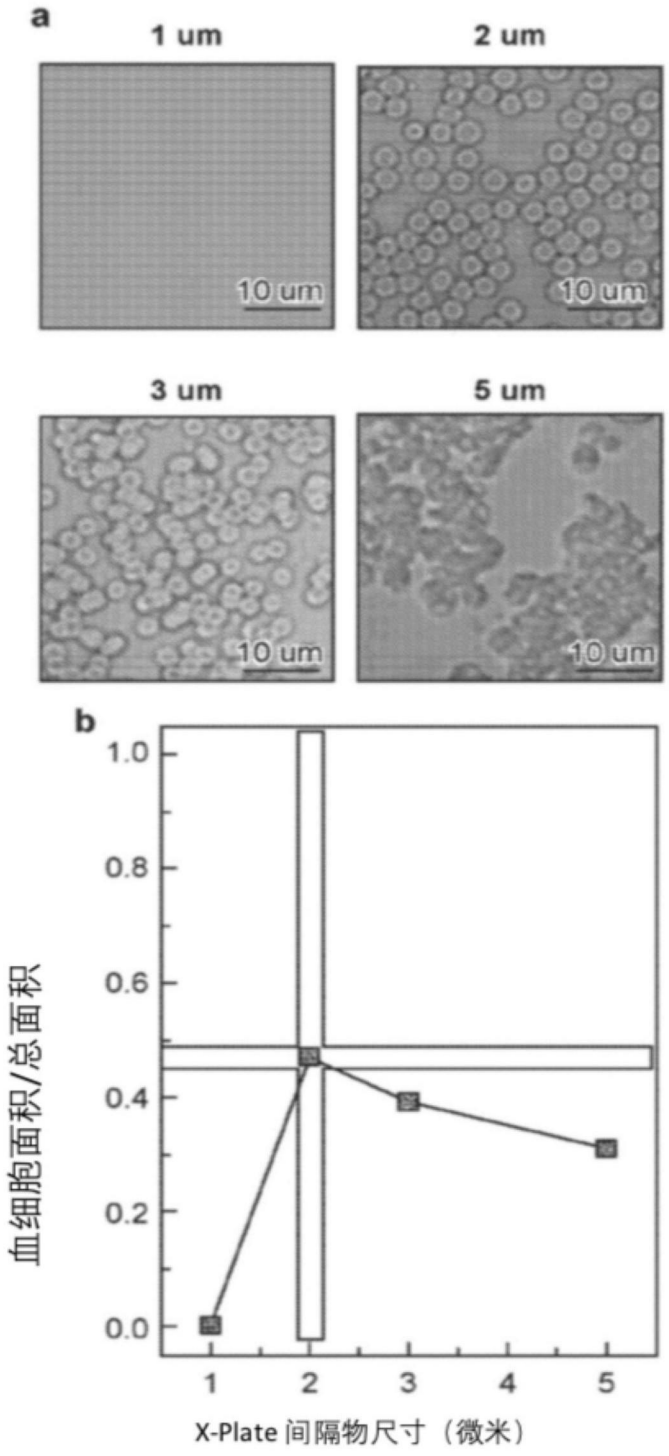
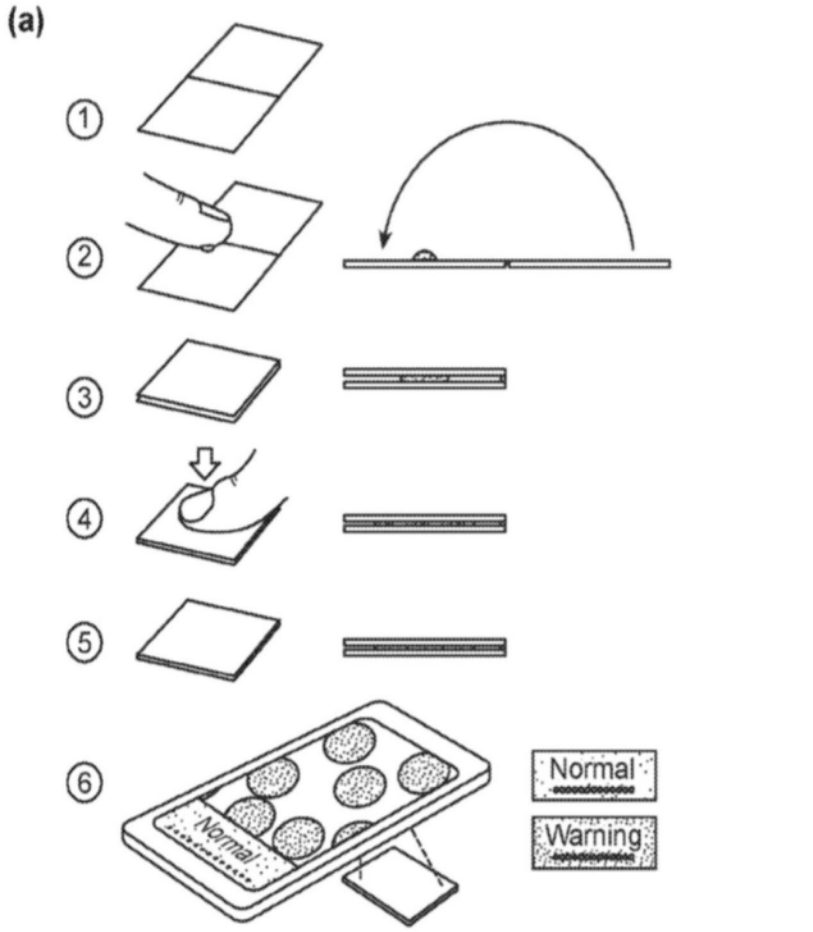

a
1 um
2 um
3 um
5 um
10 um
10 um
10 um
10 um
b
血细胞面积/总面积
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1
2
3
4
5
X-Plate 间隔物尺寸（微米）

图29



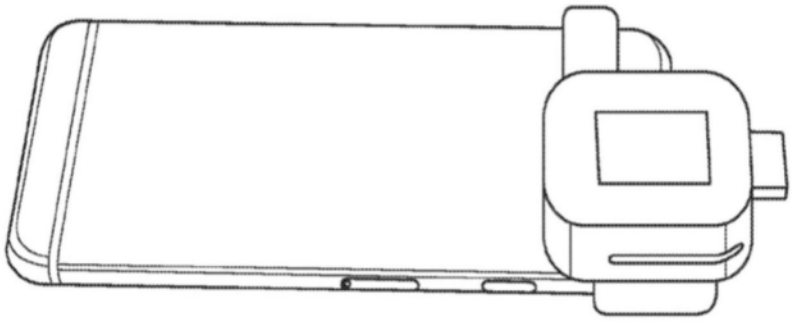


图30

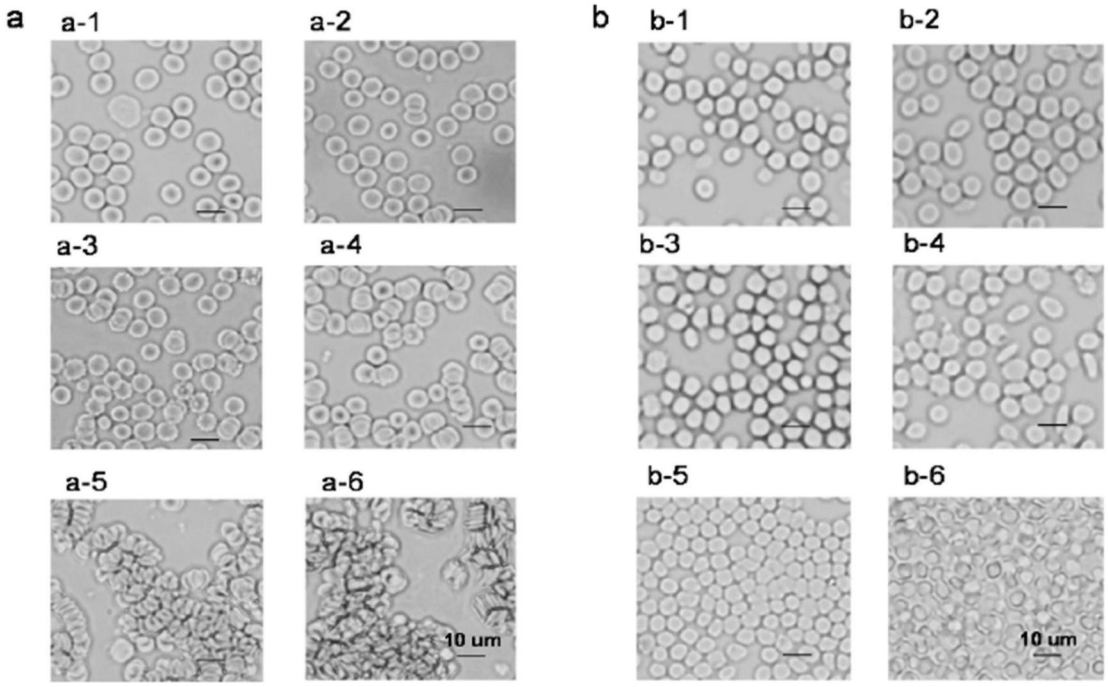


图31

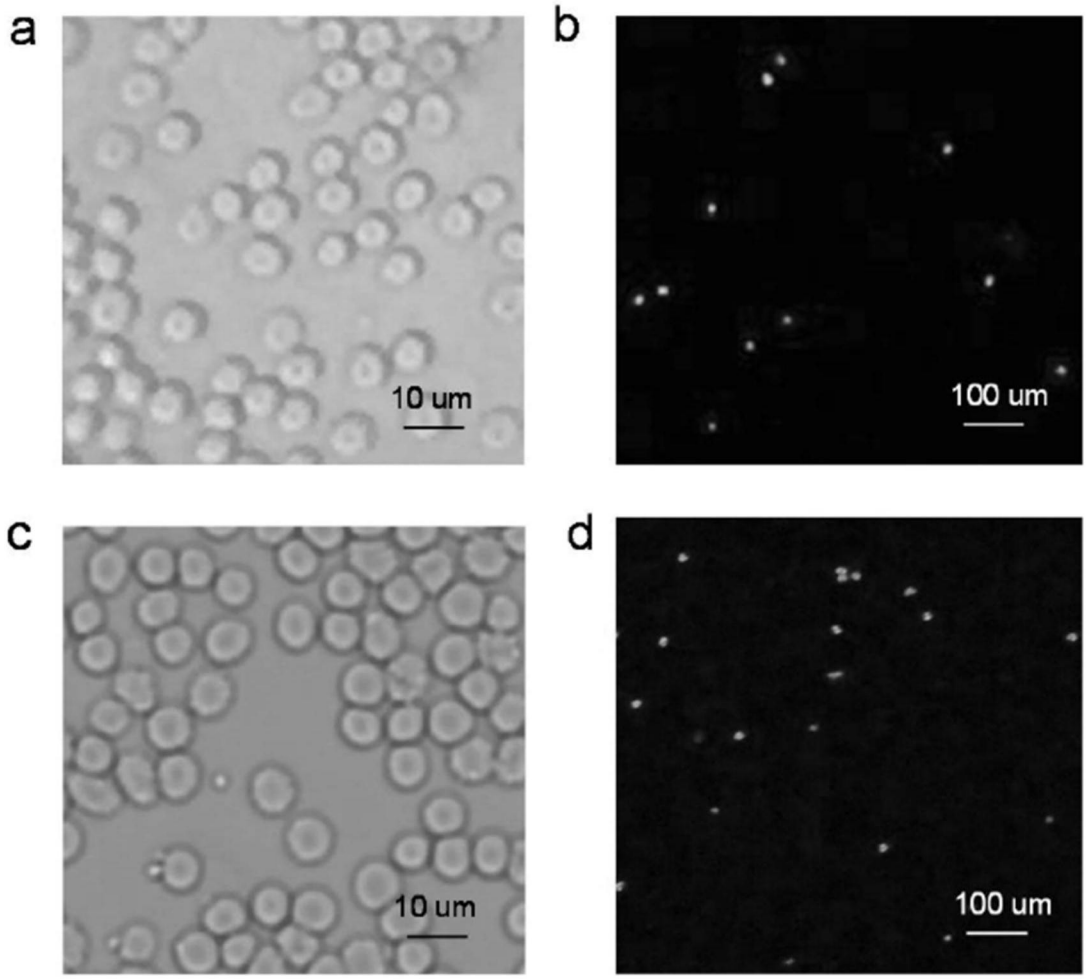

a
10 um
b
100 um
c
10 um
d
100 um

图32

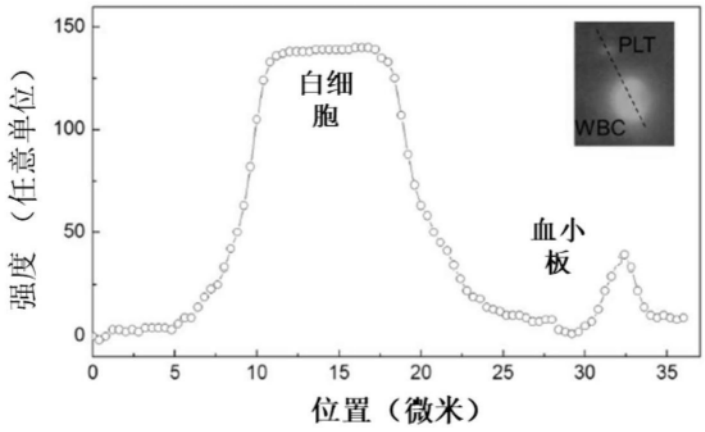
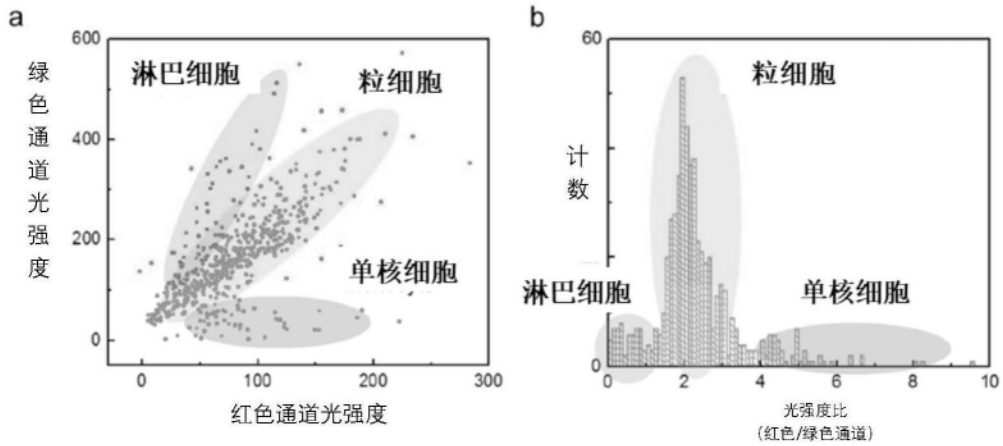

强度（任意单位）
150
100
50
0
0
5
10
15
20
25
30
35
位置（微米）
白细胞
血小板
PLT
WBC

图33



	粒细胞	淋巴细胞	单核细胞
测定值	70 %	22 %	8 %
正常范围	50-70 %	25-35 %	3-9 %

图34