(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111970970 A
(43)申请公布日 2020.11.20

(21)申请号 201880083650.3
(22)申请日 2018.10.26
(30)优先权数据
62/577,456 2017.10.26 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.06.24
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/057873 2018.10.26
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/084513 EN 2019.05.02
(71)申请人 ESSENLIX公司
地址 美国新泽西州蒙茅斯章克申
(72)发明人 斯蒂芬·Y·周 丁惟
(74)专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129
代理人 吴泳历
(51)Int.Cl.
A61B 5/083(2006.01)
A61B 5/093(2006.01)
A61B 5/097(2006.01)
G01N 21/01(2006.01)
G01N 33/497(2006.01)

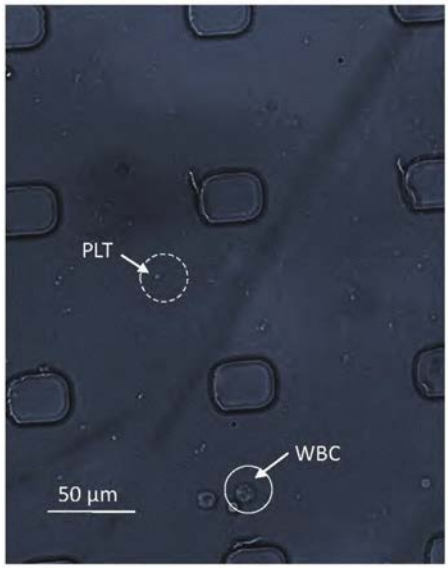
权利要求书8页 说明书49页 附图9页

(54)发明名称

血小板的快速测量

(57)摘要

除其他事项外,本发明涉及进行生物和化学测定(特别是血小板)的装置和方法。



CN 111970970 A

1.一种用于评估血液样品中血小板质量的装置,包含:

第一板;第二板;间隔件;和活性染料,其中:

i.所述板可相对于彼此移动成不同的构造,其包括开放构造和闭合构造,

ii.每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域,

iii.板中的一个或两个包含所述间隔件,并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上,

iv.所述间隔件各自具有柱状形状,平顶,在0.5μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距,并且

v.将所述活性染料涂覆在板中的一个或两个上,在其各自的样品表面上,并且配置为对所述血液样品的无活性的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号,

其中在开放构造中,两个板是部分或完全分开的,板之间的间距不由间隔件调节,并且血液样品沉积在板中的一个或两个上,以及

其中在所述闭合构造中,其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层,并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

2.一种用于评估血液样品中血小板质量的试剂盒,包含:

第一板;第二板;间隔件;和活性染料,其中:

a)所述板可相对于彼此移动成不同的构造,其包括开放构造和闭合构造,

b)每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域,

c)板中的一个或两个包含所述间隔件,并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上,

d)间隔件具有在0.5μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距,并且

e)活性染料被配置为对所述血液样品的无活性的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号,

其中在开放构造中,两个板是部分或完全分开的,板之间的间距不由间隔件调节,并且血液样品沉积在板中的一个或两个上,以及

其中在所述闭合构造中,其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层,并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

3.一种用于评估血液样品中血小板质量的系统,包含:

a)如权利要求1所述的装置;

b)成像器,其包含相机和光源,用于在暴露于至少包括预定的第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像;以及

c)处理器,其包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。

4.一种用于评估血液样品中血小板质量的方法,包含以下步骤:

a)获得包括血小板的血液样品;

b)获得所述第一板和所述第二板,其可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造,其中

i)每个板在其各自的样品表面上具有用于接触血液样品的样品接触区域,并且

ii)所述板中的一个或两个包含固定至其样品接触区域的间隔件,

其中所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距,

c)当所述板为开放构造时将所述样品沉积在板中的一个或两个上,其中在开放构造中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节;

d)在(c)之前或之后,将所述血液样品与活性染料混合,所述活性染料被配置为对所述无活性的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号;

e)在(c)和(d)之后,将所述两个板结合在一起并将所述板按压成闭合构造,其中在所述闭合构造中,至少一部分所述血液样品被所述两个板压缩成厚度非常均匀的层,所述层的均匀厚度由所述两个板的样品接触区域限定并且由所述间隔件和所述板调节;

f)在所述板处于闭合构造时,在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由活性染料渲染的血小板的光信号的图像;以及

g)识别所获取的图像中的血小板并评估血小板的质量。

5.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述活性染料选自由以下各项组成的组:碘化丙锭、7-AAD、锥虫蓝、钙黄绿素紫AM、钙黄绿素AM、可固定活性染料、SYTO9和其它核酸染料、刃天青和甲瓒(MTT/XTT)和其它线粒体染料及其任何组合。

6.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的样品接触区域上并且配置为在接触所述血液样品时在所述血液样品中溶解和扩散。

7.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述活性染料是荧光标记的并且所述光信号是荧光信号。

8.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述活性染料是着色剂并且渲染不同活性状态的所述染色的血小板呈现不同的颜色。

9.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述光信号是:

i)荧光;

ii)光吸收、反射、透射、衍射、散射或漫射;

iii)表面拉曼散射;或

iv)i至iii的任意组合。

10.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件的高度是约2μm。

11.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件的高度被选择成使得在所述闭合构造中,所述均匀厚度的层中的大部分RBC被裂解,并且所述均匀厚度的层中的大部分血小板不被裂解。

12.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件高度在0.5μm到1.2μm的范围内。

13.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中在一个或两个所述样品接触区域上，所述相应的板进一步包含裂解试剂层，所述裂解试剂层促进所述血液样品中的RBC、WBC或其它细胞的裂解。

14.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中相应板的一个或两个样品接触区域进一步包含用于血小板的生物/化学测定的试剂层。

15.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组：氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐及其任何组合。

16.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述大部分是所述样品的相关体积中的组分的至少51％、60％、70％、80％、90％、95％或99％。

17.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述非常均匀厚度层在相关体积的横向区域上的厚度变化等于或小于40％、30％、20％、15％、10％、7％、5％、3％或1％，或在任何两个值之间的范围内，其中所述厚度变化相对于所述横向区域的平均厚度。

18.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述非常均匀层的面积等于或大于0.1mm^2、0.5mm^2、1mm^2、3mm^2、5mm^2、10mm^2、20mm^2、50mm^2、70mm^2、100mm^2、200mm^2、500mm^2、800mm^2、1000mm^2、2000mm^2、5000mm^2、10000mm^2、20000mm^2、50000mm^2或100000mm^2；或在任何两个值之间的范围内。

19.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述血液样品是稀释的或未稀释的全血。

20.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述血液样品是部分血液样品。

21.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件高度等于或小于2μm、1.9μm、1.8μm、1.7μm、1.6μm、1.5μm、1.4μm、1.3μm、1.2μm、1.1μm、1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。

22.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，所述样品的相关体积中的大部分白细胞(WBC)被裂解，并且所述间隔件高度等于或小于1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。

23.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述板中的至少一个是透明的。

24.如任一前述权利要求所述的系统，其中所述相机和所述处理器是移动通信装置的一部分。

25.如权利要求24所述的系统，其中所述光源是所述移动通信装置的内部光源。

26.如权利要求24所述的系统，其中所述光源是所述移动通信装置外部的光源。

27.如任一前述权利要求所述的系统，其中所述移动通信装置是移动电话。

28.如任一前述权利要求所述的系统，进一步包含壳体，所述壳体被配置为用于保持所述样品并且有待安装到所述移动通信装置上。

29.如任一前述权利要求所述的系统,其中所述壳体包含用于促进移动通信装置对样品的成像和/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装置上的底座。

30.如任一前述权利要求所述的系统,其中移动通信装置被配置为将测试结果传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。

31.如任一前述权利要求所述的系统,其中移动通信装置进一步被配置为将关于对象的信息传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。

32.如任一前述权利要求所述的系统,其中移动通信装置被配置为从医学专业人员接收处方、诊断或建议。

33.如任一前述权利要求所述的系统,其中移动通信装置经由Wi-Fi或蜂窝网络与远程位置通信。

34.如任一前述权利要求所述的系统,其中所述移动通信装置是移动电话。

35.如任一前述权利要求所述的方法,其中步骤(f)包含以下步骤:

i)在明场照明下对均匀厚度的层中的血小板进行成像;以及

ii)对在暴露于第一波长的光时由活性染料渲染的均匀厚度的层中的血小板的荧光信号成像。

36.如任一前述权利要求所述的方法,其中步骤(g)通过以下步骤进行:

(i)识别并获得获取的图像的第一区域中的血小板的总数;

(ii)基于来自通过活性染料渲染的个体血小板的光信号,将第一区域中的血小板分类;以及

(iii)通过计算每一类中血小板相对于总数的百分比来量化血小板的质量。

37.如权利要求36所述的方法,其中所述步骤(i)通过在明场照明下处理和分析所获取的所述血小板的图像来执行,以识别和获得所述明场图像的所述第一区域中的所述血小板的总数。

38.如任一前述权利要求所述的方法,其中步骤(g)中的所述识别步骤包含使用用于边缘检测和圆检测的算法来处理和分析所述图像。

39.如任一前述权利要求所述的方法,其中步骤(g)是由移动通信装置执行的,所述移动通信装置被配置为接收或处理所述血小板的图像,或两者。

40.如任一前述权利要求所述的方法,其中所述活性染料是分开提供的并且在所述血液样品被沉积在所述板上之前被添加到所述血液样品中。

41.如任一前述权利要求所述的方法,其中将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的所述样品接触区域上,并且配置为在接触所述样品时在所述样品中溶解和扩散。

42.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件具有:

i.具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状;

ii.宽度与高度之比等于或大于1;

iii.等于1%或更大的填充因子;以及

iv.填充因子与所述间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大,

其中所述填充因子是所述间隔件接触面积与所述总板面积的比例。

43.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件高度在0.5

μm到62.5μm的范围内。

44.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件的一部分具有固定间隔的间距。

45.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述层的均匀厚度的平均值与所述间隔件的均匀高度基本相同，偏差小于10％。

46.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，至少90％的所述RBC被裂解并且至少90％的所述血小板不被裂解。

47.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，至少99％的所述RBC被裂解并且至少99％的所述血小板不被裂解。

48.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述均匀厚度的层的变化小于30nm。

49.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件是截面形状选自圆形、多边形、环形、正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。

50.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件具有：

i)具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状；

ii)宽度与高度之比等于或大于1；

iii)在10μm至200μm的范围内的预定的恒定间隔件间距；

iv)等于1％或更大的填充因子；以及

v)填充因子与所述间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大。

其中所述填充因子是所述间隔件接触面积与所述总板面积的比例。

51.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中将所述板按压成闭合构造是平行地或顺序地进行的，所述平行按压同时在目标区域上施加外力，并且所述顺序按压在目标区域的一部分上施加外力并且逐渐移动至另一个区域。

52.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中通过以下分析所述血液样品：

i)照射所述厚度均匀的层中的至少一部分所述血液样品；

ii)使用CCD或CMOS传感器获得细胞的一个或多个图像；

iii)使用计算机识别图像中的血小板；以及

iv)对图像区域中的血小板数量进行计数。

53.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述均匀厚度的层具有高达+/-5％的厚度均匀性。

54.一种用于量化血液样品中的血小板的装置，包含：

第一板；第二板；间隔件；和染色染料，其中：

a)所述板可相对于彼此移动成不同的构造，其包括开放构造和闭合构造，

b)每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域，

c)板中的一个或两个包含所述间隔件，并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上，

d)间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间

隔件间距,并且

e)将所述染色染料涂覆在所述板中的一个或两个上,在其各自的样品表面上,并且被配置为对所述血液样品的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述血液样品中的血小板的总量的光信号,

其中在开放构造中,两个板是部分或完全分开的,板之间的间距不由间隔件调节,并且血液样品沉积在板中的一个或两个上,以及

其中在所述闭合构造中,其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层,并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

55.一种用于量化血液样品中的血小板的试剂盒,包含:

第一板;第二板;间隔件;和染色染料,其中:

a)所述板可相对于彼此移动成不同的构造,其包括开放构造和闭合构造,

b)每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域,

c)板中的一个或两个包含所述间隔件,并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上,

d)间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距,并且

e)所述染色染料被配置为对所述血液样品的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述血液样品中的血小板的总量的光信号,

其中在开放构造中,两个板是部分或完全分开的,板之间的间距不由间隔件调节,并且血液样品沉积在板中的一个或两个上,以及

其中在所述闭合构造中,其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层,并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

56.一种用于量化血液样品中的血小板的系统,包含:

a)如权利要求52或53所述的装置;

b)成像器,其包含相机和光源,用于在暴露于至少包括预定的第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像;以及

c)处理器,其包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。

57.一种用于量化血液样品中的血小板的方法,包含以下步骤:

a)获得包括血小板的血液样品;

b)获得所述第一板和所述第二板,其可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造,其中

iii)每个板在其各自的样品表面上具有用于接触血液样品的样品接触区域,和

iv)所述板中的一个或两个包含固定至其样品接触区域的间隔件,

其中所述间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距,

c)当所述板为开放构造时将所述样品沉积在板中的一个或两个上,其中在开放构造中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节;

d)在(c)之前或之后,将所述血液样品与染色染料混合,所述染色染料被配置为对所述血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述血液样品中的血小板的总量的光信号;

e)在(c)和(d)之后,将所述两个板结合在一起并将所述板按压成闭合构造,其中在所述闭合构造中,至少一部分所述血液样品被所述两个板压缩成厚度非常均匀的层,所述层的均匀厚度由所述两个板的样品接触区域限定并且由所述间隔件和所述板调节;

f)在所述板处于闭合构造时,在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由血小板染色染料渲染的血小板的光信号的图像;以及

g)识别所获取的图像中的血小板并评估血小板的质量。

58.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件具有在2μm至5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度。

59.如权利要求56所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件具有5μm的预定的基本上均匀的高度。

60.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是选自吖啶橙、YOYO-1和亚甲蓝的染料。

61.如权利要求58所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是吖啶橙。

62.如权利要求59所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述吖啶橙的浓度为0.4mg/mL。

63.如权利要求58所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是YOYO-1。

64.如权利要求61所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述YOYO-1的浓度为5μM-20μM。

65.如权利要求62所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述YOYO-1的浓度为10μM。

66.如权利要求58所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是亚甲蓝。

67.如权利要求64所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述亚甲蓝的浓度为0.01%-0.05%。

68.如任何前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料以具有0.65mm固定间隔的15mm×15mm液滴阵列涂覆,每个液滴具有11nL体积。

69.如权利要求66所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有吖啶橙和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐。

70.如权利要求67所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有的吖啶橙浓度为0.4mg/mL和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐浓度为0.15mg/mL。

71.如权利要求66所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有YOYO-1和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯。

72.如权利要求69所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有的YOYO-1浓度为5μM-20μM和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。

73.如权利要求66所述的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有亚甲蓝和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯。

74.如权利要求71所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中每个液滴含有的亚甲蓝浓度为0.01％-0.05％和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。

75.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，进一步包含裂解剂，所述裂解剂被配置为用于裂解所述血液样品中的红细胞。

76.如权利要求73所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述裂解剂涂覆在所述板中的一个或两个上。

77.如权利要求73所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组：氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐和去污剂。

78.如权利要求73所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组中的至少一种：氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐、去污剂及其任何组合。

79.如权利要求75所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述去污剂包含3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐。

80.如权利要求77所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐的浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。

81.如权利要求78所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐的浓度为1mg/mL。

82.如权利要求55所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中步骤(a)-(e)是在小于10分钟内执行的。

83.如权利要求55所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中步骤(a)-(e)是在小于5分钟内执行的。

84.如权利要求55所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中步骤(a)-(e)是在小于1分钟内执行的。

85.如任一前述权利要求所述的装置、试剂盒、系统或方法，其中通过机器学习来分析图像。

血小板的快速测量

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2017年10月26日提交的美国临时申请第62/577,456号的权益,其公开内容出于所有目的以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 除了别的之外,本发明涉及进行生物和化学测定(特别是血小板)的装置和方法。

背景技术

[0004] 在生物和化学分析中,观察血液样品(全血或部分血液样品,未稀释或稀释)中的血小板通常是困难和不准确的,而在许多情况下,确定血液样品中血小板的量和质量是重要的。例如,在血库中,通常需要快速知道储存的血小板的质量以确定血小板是否可以用于输血。本发明允许快速测量血小板量和质量。

[0005] 本发明提供了用于改善对血小板的观察和/或计数,以及用于确定未稀释或略稀释的全血或其它类型的血液样品中的血小板质量的装置和方法。

发明内容

[0006] 在本公开的某些实施例中,用于评估血液样品中血小板质量的装置可以包含第一板;第二板;间隔件;和活性染料。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造,其包括开放构造和闭合构造。在某些实施例中,每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域。在某些实施例中,板中的一个或两个包含所述间隔件,并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上。在某些实施例中,所述间隔件各自具有柱状形状,平顶,在0.5μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距。在某些实施例中,将所述活性染料涂覆在板中的一个或两个上,在其各自的样品表面上,并且配置为对所述血液样品的无活性的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号。在某些实施例中,在开放构造中,两个板是部分或完全分开的,板之间的间距不由间隔件调节,并且血液样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中,在所述闭合构造中,其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层,并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

[0007] 在本公开的某些实施例中,用于评估血液样品中血小板质量的试剂盒可以包含第一板;第二板;间隔件;和活性染料。在某些实施例中,板可相对于彼此移动成不同的构造,其包括开放构造和闭合构造。在某些实施例中,每个板在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域。在某些实施例中,板中的一个或两个包含所述间隔件,并且所述间隔件被固定到相应的样品接触区域上。在某些实施例中,所述间隔件具有在0.5μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距。在某些实施例中,活性染料被配置为对所述血液样品的无活性的血小板进行染色并且在暴露于

预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号。在某些实施例中，在开放构造中，两个板是部分或完全分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且血液样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，在所述闭合构造中，其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的，至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层，并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。

[0008] 在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的系统可以包含本公开的任何实施例的装置。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的系统可以包含成像器，其包含相机和光源，用于在暴露于至少包括预定的第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的系统可以包含处理器，其包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。

[0009] 在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含获得包括血小板的血液样品。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含获得所述第一板和所述第二板，其可相对于彼此移动成不同的构造，包括开放构造和闭合构造。在某些实施例中，每个板在其各自的样品表面上具有用于接触血液样品的样品接触区域。在某些实施例中，所述板中的一个或两个包含固定至其样品接触区域的间隔件。在某些实施例中，所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含当板处于开放构造时将样品沉积在板中的一个或两个上，其中在开放构造中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中的血小板质量的方法可以包含将所述血液样品与活性染料混合，所述活性染料被配置为对所述无活性的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述染色的血小板中的每一个的活性状态的光信号。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含将所述两个板结合在一起并将所述板按压成闭合构造，其中在所述闭合构造中，至少一部分所述血液样品被所述两个板压缩成厚度非常均匀的层，所述层的均匀厚度由所述两个板的样品接触区域限定并且由所述间隔件和所述板调节。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含在所述板处于闭合构造时，在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由活性染料渲染的血小板的光信号的图像。在本公开的某些实施例中，用于评估血液样品中血小板质量的方法可以包含识别所获取的图像中的血小板并评估血小板的质量。

[0010] 本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述活性染料选自由以下各项组成的组：碘化丙锭、7-AAD、锥虫蓝、钙黄绿素紫AM、钙黄绿素AM、可固定活性染料、SYTO9和其它核酸染料、刃天青和甲瓒(MTT/XTT)和其它线粒体染料及其任何组合。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的样品接触区域上并且配置为在接触该血液样品时在该血液样品中溶解和扩散。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述活性染料是荧光标记的并且所述光信号是荧光信号。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述活性染料是着色剂并且渲染不同活性状态的所述染色的血小板呈现不同的颜色。

[0011] 本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述光信号是：

[0012] 荧光；

[0013] 光吸收、反射、透射、衍射、散射或漫射；

[0014] 表面拉曼散射;或

[0015] i至iii的任意组合。

[0016] 本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件的高度是约2μm。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件的高度被选择成使得在所述闭合构造中，所述均匀厚度的层中的大部分RBC被裂解，并且所述均匀厚度的层中的大部分血小板不被裂解。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件高度在0.5μm到1.2μm的范围内。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中在一个或两个所述样品接触区域上，所述相应的板进一步包含裂解试剂层，所述裂解试剂层促进所述血液样品中的RBC、WBC或其它细胞的裂解。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中相应板的一个或两个样品接触区域进一步包含用于血小板的生物/化学测定的试剂层。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组:氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐及其任何组合。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述大部分是所述样品的相关体积中的组分的至少51％、60％、70％、80％、90％、95％或99％。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述非常均匀厚度层在相关体积的横向区域上的厚度变化等于或小于40％、30％、20％、15％、10％、7％、5％、3％或1％，或在任何两个值之间的范围内，其中所述厚度变化相对于所述横向区域的平均厚度。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中非常均匀的层的面积等于或大于0.1mm^2、0.5mm^2、1mm^2、3mm^2、5mm^2、10mm^2、20mm^2、50mm^2、70mm^2、100m^2、200mm^2、500mm^2、800mm^2、1000mm^2、2000mm^2、5000mm^2、10000mm^2、20000mm^2、50000mm^2或100000mm^2;或在任何两个值之间的范围内。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述血液样品是稀释的或未稀释的全血。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述血液样品是部分血液样品。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件高度等于或小于2μm、1.9μm、1.8μm、1.7μm、1.6μm、1.5μm、1.4μm、1.3μm、1.2μm、1.1μm、1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，所述样品的相关体积中的大部分白细胞(WBC)被裂解，并且所述间隔件高度等于或小于1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述板中的至少一个是透明的。本公开的任何实施例的系统，其中所述相机和所述处理器是移动通信装置的一部分。本公开的任何实施例的系统，其中所述光源是所述移动通信装置的内部光源。本公开的任何实施例的系统，其中所述光源是所述移动通信装置外部的光源。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置是移动电话。本公开的任何实施例的系统，进一步包含壳体，所述壳体被配置为用于保持所述样品并且有待安装到所述移动通信装置上。本公开的任何实施例的系统，其中所述壳体包含用于促进移动通信装置对样品的成像和/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装置上的底座。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置被配置为将测试结果传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置进一步被配置为将关于

对象的信息传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置被配置为从医学专业人员接收处方、诊断或建议。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置经由Wi-Fi或蜂窝网络与远程位置通信。本公开的任何实施例的系统，其中移动通信装置是移动电话。

[0017] 本公开的任何实施例的方法，其中步骤(f)包含以下步骤：

[0018] 在明场照明下对均匀厚度的层中的血小板进行成像；以及

[0019] 对在暴露于第一波长的光时由活性染料渲染的均匀厚度的层中的血小板的荧光信号成像。

[0020] 本公开的任何实施例的方法，其中步骤(g)通过以下步骤执行：

[0021] 识别并获得获取的图像的第一区域中的血小板的总数；

[0022] 基于来自通过活性染料渲染的个体血小板的光信号，将第一区域中的血小板分类；以及

[0023] 通过计算每一类中血小板相对于总数的百分比来量化血小板的质量。

[0024] 本公开的任何实施例的方法，其中所述步骤(i)通过在明场照明下处理和分析所获取的所述血小板的图像来执行，以识别和获得所述明场图像的所述第一区域中的所述血小板的总数。本公开的任何实施例的方法，其中步骤(g)中的所述识别步骤包含使用用于边缘检测和圆检测的算法来处理和分析所述图像。本公开的任何实施例的方法，其中步骤(g)是由移动通信装置执行的，所述移动通信装置被配置为接收或处理所述血小板的图像，或两者。本公开的任何实施例的方法，其中所述活性染料是分开提供的并且在所述血液样品被沉积在所述板上之前被添加到所述血液样品中。本公开的任何实施例的方法，其中将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的所述样品接触区域上，并且配置为在接触所述样品时在所述样品中溶解和扩散。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件具有：具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状；宽度与高度之比等于或大于1；等于1％或更大的填充因子；填充因子与间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大，其中填充因子是间隔件接触区域与总板区域的比例。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中该间隔件高度在0.5μm至62.5μm的范围内。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中间隔件的一部分具有有固定间隔的间距。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述层的均匀厚度的平均值与所述间隔件的均匀高度基本相同，偏差小于10％。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，至少90％的所述RBC被裂解并且至少90％的所述血小板不被裂解。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中在所述闭合构造中，至少99％的所述RBC被裂解并且至少99％的所述血小板不被裂解。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述均匀厚度的层的变化小于30nm。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件是截面形状选自圆形、多边形、环形、正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述间隔件具有：具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状；宽度与高度之比等于或大于1；在10μm至200μm的范围内的预定的恒定间隔件间距；等于1％或更大的填充因子；以及填充因子与所述间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大。其中所述填充因子是所述间隔件接触面积与所述总板面积的比例。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中将所述板按压成闭合构造

是平行地或顺序地进行的，所述平行按压同时在目标区域上施加外力，并且所述顺序按压在目标区域的一部分上施加外力并且逐渐移动至另一个区域。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中通过以下分析所述血液样品：照射所述厚度均匀的层中的至少一部分所述血液样品；使用CCD或CMOS传感器获得细胞的一个或多个图像；使用计算机识别图像中的血小板；以及对图像区域中的血小板数量进行计数。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法，其中所述均匀厚度的层具有高达+/-5％的厚度均匀性。一种用于量化血液样品中的血小板的装置，包含：第一板；第二板；间隔件；和染色染料，其中：所述板可相对于彼此移动成不同的构造，包括开放构造和闭合构造，所述板中的每一个在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域，所述板中的一个或两个包含所述间隔件，并且所述间隔件固定到相应的样品接触区域上，间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距，并且染色染料被涂覆在板中的一个或两个上，在其各自的样品表面上，并且被配置为对血液样品的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示该血液样品中的血小板的总量的光信号，其中在该开放构造中，两个板是部分地或完全地分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且该血液样品被沉积在板中的一个或两个上，并且其中在闭合构造中，其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的，至少一部分样品被两个板压缩成具有厚度非常均匀的层，并且该层的均匀厚度由板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。一种用于量化血液样品中的血小板的试剂盒，包含：第一板；第二板；间隔件；和染色染料，其中：所述板可相对于彼此移动成不同的构造，包括开放构造和闭合构造，所述板中的每一个在其各自的样品表面上具有用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域，所述板中的一个或两个包含所述间隔件，并且所述间隔件固定到相应的样品接触区域上，间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距，并且所述染色染料被配置为对所述血液样品的血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述血液样品中的血小板的总量的光信号，其中在该开放构造中，两个板是部分地或完全地分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且该血液样品沉积在板中的一个或两个上，并且其中在该闭合构造中，其是在所述血液样品沉积在所述开放构造之后配置的，至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层，并且层的均匀厚度被板的样品表面限定并且由板和间隔件调节。一种用于量化血液样品中的血小板的系统，包含：本公开的任何实施例的装置；成像器，其包含相机和光源，其用于在暴露于至少包括预定的第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像；以及处理器，其包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。一种用于量化血液样品中的血小板的方法，包含以下步骤：获得包括血小板的血液样品；获得所述第一板和所述第二板，其可相对于彼此移动成不同的构造，包括开放构造和闭合构造，其中：每个板在其各自的样品表面上具有用于接触血液样品的样品接触区域，并且所述板中的一个或两个包含固定至其样品接触区域的间隔件，其中间隔件具有在0.2μm至6μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距，当所述板为开放构造时将所述样品沉积在板中的一个或两个上，其中在开放构造中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节；在(c)之前或之后，将所述血液样品与染色染料混合，所述染色染料被配置为对所述血小板进行染色并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示所述血

液样品中的血小板的总量的光信号;在(c)和(d)之后,将所述两个板结合在一起并将所述板按压成闭合构造,其中在所述闭合构造中,至少一部分所述血液样品被所述两个板压缩成厚度非常均匀的层,所述层的均匀厚度由所述两个板的样品接触区域限定并且由所述间隔件和所述板调节;在所述板处于闭合构造时,在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由血小板染色染料渲染的血小板的光信号的图像;以及识别所获取的图像中的血小板并评估血小板的质量。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件具有在2μm至5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述间隔件具有5μm的预定的基本上均匀的高度。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是选自吖啶橙、YOYO-1和亚甲蓝的染料。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是吖啶橙。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述吖啶橙的浓度为0.4mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是YOYO-1。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述YOYO-1的浓度为5μM-20μM。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述YOYO-1的浓度为10μM。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料是亚甲蓝。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述亚甲蓝的浓度为0.01%-0.05%。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述染色染料以具有0.65mm固定间隔的15mm×15mm液滴阵列涂覆,每个液滴具有11nL体积。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有吖啶橙和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有的吖啶橙浓度为0.4mg/mL和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐浓度为0.15mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有YOYO-1和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有的YOYO-1浓度为5μM-20μM和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有亚甲蓝和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸酯。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中每个液滴含有的亚甲蓝浓度为0.01%-0.05%和3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,进一步包含裂解剂,所述裂解剂被配置为用于裂解所述血液样品中的红细胞。本公开的任一实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述裂解剂涂覆在所述板中的一个或两个上。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组:氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐和去污剂。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述裂解剂选自由以下各项组成的组中的至少一种:氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐、去污剂及其任何组合。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述去污剂包含3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐的浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中所述3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐的浓度为1mg/mL。本公开的任何实施例的装置、试剂盒、系统或方法,其中通过机器学习来分析图像。

附图说明

[0025] 本领域技术人员将理解，下面描述的附图仅用于说明的目的。附图不旨在以任何方式限制本教导的范围。一些附图未按比例绘制。在给出实验数据点的图中，连接数据点的线仅用于引导观察数据，而没有其它意义。

[0026] 图1示出了通用QMAX(Q:量化;M:放大;A:加入试剂;X:加速;也称为压缩调节开放流(CROF))装置的实施例。

[0027] 图2示出了根据本发明一些示例性实施例的血小板测定中白细胞(WBC)和血小板(PLT)的示例性荧光图像。

[0028] 图3示出了使用具有荧光标签并且没有RBC裂解剂的装置的血小板测试的结果的图像。

[0029] 图4示出了使用具有荧光标签和RBC裂解剂的装置的血小板测试结果的图像。

[0030] 图5示出了使用具有比色标签和RBC裂解剂的装置的血小板测试结果的图像。

[0031] 图6A示出了在1分钟之后使用具有荧光标签并且没有RBC裂解剂的装置的血小板测试的结果的图像。

[0032] 图6B示出了在30分钟之后使用具有荧光标签并且没有RBC裂解剂的装置的血小板测试的结果的图像。

[0033] 图6C示出了在180分钟之后使用具有荧光标签并且没有RBC裂解剂的装置的血小板测试的结果的图像。

[0034] 图7示出了描绘染色染料随时间衰变的图。注意，在30分钟后染色染料的衰变是显著的。

[0035] 图8示出了描绘染色染料随时间衰变的图。注意，染色染料稳定10分钟。

[0036] 图9示出了比较使用具有荧光标签并且没有RBC裂解的装置的血小板计数方法、使用具有荧光标签和RBC裂解的装置的血小板计数方法和使用市售血细胞计数器的血小板计数方法的表。

[0037] 示例性实施例的详细说明

[0038] 以下详细描述通过示例而非限制的方式示出了本发明的一些实施例。本文使用的章节标题和任何副标题仅用于组织目的，而不应被解释为以任何方式限制所描述的主题。章节标题和/或字幕下的内容不限于章节标题和/或字幕，而是适用于本发明的整个描述。

[0039] 任何出版物的引用是为了在申请日之前公开，并且不应被解释为承认本权利要求无权凭借在先发明而先于此类出版物。此外，所提供的公开日期可以不同于实际的公开日期，实际的公开日期可能需要被独立地确认。

[0040] 根据一个方面，本发明提供：(a)两个板以将血液样本压缩成一定厚度的薄层，以及(b)在(a)之后进行成像处理以观察和/或计数血小板。间隔件用于控制最终样品厚度并因此帮助确定血小板浓度。

[0041] 本发明的另一方面提供了一种有区别地标记不同活性状态的血小板的活性染料。

[0042] 本发明的另一方面提供了标记血小板的核酸选择性染料作为快速量化血小板计数的手段。

[0043] 本发明的另一方面提供了用于区别地标记不同活性状态的血小板的活性染料以及用于标记血小板的核酸选择性染料作为快速量化血小板计数的手段。同时染色提供了人

血液样品中准确的血小板质量信息。

[0044] 本发明的另一方面提供了一种用于活性测试的快速染色方法,其中将所述活性染料涂覆在所述板上,并且通过所述两个板将所述样品压缩成薄层加速并简化染色过程。

[0045] 本发明的另一方面提供了两个板之间的间隙尺寸的均匀性,因此导致在显著区域上特定细胞类型(例如红细胞)的均匀裂解。

[0046] 本发明的另一方面提供了对血液样品中的一种类型的细胞(例如红细胞和/或白细胞)的选择性裂解,同时使样品中的血小板保持完整。

[0047] 本发明的另一个方面提供了一种裂解剂,其涂覆在一个或两个板的表面上,以促进裂解样品中的红细胞和/或白细胞,和/或不裂解血小板。

[0048] 本发明的另一方面提供了成像技术以明场模式和/或荧光模式观察/计数样品中的血小板。

[0049] 本发明的另一方面提供了实现用于血小板测量的图像处理和分析算法。

[0050] 本发明的另一方面提供了实现用于血小板测量的图像处理人工智能和/或机器学习算法。

[0051] 本发明的另一个方面提供了移动通信装置,以促进装置的用户的成像和计数,以及在一些情况下,远程健康监测。在许多领域和应用中,例如输血领域,捐献的血液在用于受体之前通常储存较长时间。在输血至目标受体前,需要对捐赠的血液的质量进行监测。血液质量确保血液样品中血液组分的良好质量,以及红细胞(RBC)、白细胞(WBC)和血小板的良好数量。出于本申请的目的,可以通过血液样品中存在的血小板的数目和/或血液样品中存在的血小板的活性来评估血小板质量。

[0052] 在人类中,血小板浓度范围在1.5-4.5×10^5细胞/μL之间。低血小板浓度是1.5×10^5细胞/μL,正常血小板浓度是3.0×10^5细胞/μL,并且高血小板浓度高于4.5×10^5细胞/μL。

[0053] 在此引入的这些申请中的实施例可以被认为彼此组合或作为单个发明,而不是作为离散和独立的文件。此外,本文公开的示例性实施例适用于包括但不限于以下的实施例:生物/化学测定,QMAX卡和系统,具有铰链、凹口、凹槽边缘和滑块的QMAX,具有均匀样品厚度的测定和装置,智能手机检测系统,云计算设计,各种检测方法,标签,捕获剂和检测剂,分析物,疾病,应用和样品;在上述申请中公开、描述和/或参考了各种实施例,其全部内容通过引用整体并入本文。

[0054] 本发明涉及可成像以用于某些分析(例如生物/化学测定)的任何装置的识别、跟踪和/或监测。公开了QMAX卡

[0055] 1.可视化和计数血小板

[0056] 1.1.用于血小板分析的通用装置和方法

[0057] 本发明的一个方面是提供了一种用于评估血液样品中的血小板质量的装置。在一些实施例中,该装置是QMAX装置。

[0058] 图1示出了通用QMAX(Q:量化;M:放大;A:加入试剂;X:加速;也称为压缩调节开放流(CROF))装置的实施例。通用QMAX装置包含第一板10和第二板2。特别地,图(A)示出了第一板10和第二板20的透视图,其中第一板具有间隔件。然而,应当注意,间隔件也可以固定在第二板20(未示出)上或第一板10和第二板20(未示出)两者上。图(B)示出了在开放构造

下将样品90沉积在第一板10上的透视图和截面图。然而，应当注意，样品90也可以沉积在第二板20(未示出)上，或者沉积在第一板10和第二板20(未示出)两者上。图(C)示出了(i)使用第一板10和第二板20来散布样品90(样品在板的内表面之间流动)并减小样品厚度，以及(ii)在QMAX装置的闭合构造下使用间隔件和板来调节样品厚度。每个板的内表面具有一个或多个结合位点和或储存位点(未示出)。

[0059] 在一些实施例中，间隔件40具有预定的均匀高度和预定的均匀间隔件间距。在闭合构造中，如图1的图(C)所示，板之间的间距以及因此样品90的厚度由间隔件40调节。在一些实施例中，样品90的均匀厚度基本上类似于间隔件40的均匀高度。应当注意，尽管图1示出了要固定在板之一上的间隔件40，但是在一些实施例中，间隔件不是固定的。例如，在某些实施例中，将间隔件与样品混合，使得当将样品压缩成薄层时，作为具有均匀尺寸的刚性珠粒或颗粒的间隔件调节样品层的厚度。

[0060] 在一些实施例中，优选将血液样品中的血小板限定为均匀厚度层中的单层。在一些实施例中，在闭合构造下两个板之间的间距是0.2μm或以上、0.3μm或以上、0.4μm或以上、0.5μm或以上、0.6μm或以上、0.7μm或以上、0.8μm或以上、0.9μm或以上、1μm或以上、1.1μm或以上、1.2μm或以上、1.3μm或以上、1.4μm或以上、1.5μm或以上、1.6μm或以上、1.7μm或以上、1.8μm或以上、1.9μm或以上、2.0μm或以上、2.1μm或以上、2.2μm或以上、2.3μm或以上、2.4μm或以上、2.5μm或以上，或在这些值中任何两个之间的范围内。

[0061] 在一些实施例中，处于闭合构造的两个板之间的间距等于或大致等于间隔件的均匀高度并具有小偏差。在某些实施例中，间隔件的高度在0.2μm-6μm的范围内。在某些优选实施例中，间隔件的高度在2μm-5μm的范围内。在某些优选实施例中，间隔件的高度是5μm。在又一些优选实施例中，间隔件的高度是0.2μm或以上、0.3μm或以上、0.4μm或以上、0.5μm或以上、0.6μm或以上、0.7μm或以上、0.8μm或以上、0.9μm或以上、1μm或以上、1.1μm或以上、1.2μm或以上、1.3μm或以上、1.4μm或以上、1.5μm或以上、1.6μm或以上、1.7μm或以上、1.8μm或以上、1.9μm或以上、2.0μm或以上、2.1μm或以上、2.2μm或以上、2.3μm或以上、2.4μm或以上、2.5μm或以上，或在这些值中任何两个之间的范围内。

[0062] 在某些实施例和应用中，6um或以下的样品厚度是优选的，因为对于未稀释的人血液中的正常血小板浓度范围，这样的厚度使得血小板形成单层而没有实质性重叠，提高了血小板计数准确度或使得血小板计数更简单(在许多情况下)，

[0063] 在一些实施例中，装置的间隙尺寸为0.2um、0.4um、1um、2um、5um、10um、20um、30um、40um、50um，或在这些值中任何两个之间的范围内。

[0064] 在一些实施例中，装置的间隙尺寸在0.2um至30um的范围内。

[0065] 在一些实施例中，装置的优选间隙尺寸在0.2um至6um的范围内。

[0066] 在一些实施例中，装置的优选间隙尺寸为2um至5um。

[0067] 在一些实施例中，装置的优选间隙尺寸为5um。

[0068] 在一些实施例中，非常均匀的层的面积等于或大于0.1mm^2、0.5mm^2、1mm^2、3mm^2、5mm^2、10mm^2、20mm^2、50mm^2、70mm^2、100mm^2、200mm^2、500mm^2、800mm^2、1,000mm^2、2,000mm^2、5,000mm^2、10,000mm^2、20,000mm^2、50,000mm^{2}或100,000mm^2；或在任何两个值之间的范围内。

[0069] 在一些实施例中，在明场照明下使血小板可视化。在一些实施例中，血小板用染料染色。在一些实施例中，染料是荧光标记的，因此染色的血小板在荧光照明下可视化。

[0070] 在一些实施例中，在一个或两个样品接触区域上，相应的板进一步包含用于血小板的生物/化学测定的试剂层。在一些实施例中，板中的一个或两个在各自的样品接触区域上包含用于染色血小板的染料。在一些实施例中，染料是荧光标记的。

[0071] 成熟血小板不含有细胞核，并且没有基因组DNA。然而，血小板从它们的亲代细胞中继承了一系列不同的功能性编码或非编码RNA和翻译机制，使得活化的血小板能够合成蛋白质，这表明血小板中它们的RNA转录物的转录后基因调节的可能性是功能性保持所需的。血小板RNA可以衍生自血小板产生过程中的巨核细胞。为了检测血小板，我们使用与血小板中的RNA选择性结合的荧光标记的试剂。

[0072] 在一些实施例中，获取被荧光标记的试剂染色的血小板的荧光图像。荧光标记的试剂在QMAX装置分析之前预先添加到血液样品中和/或涂覆在QMAX装置的一个或两个板上。与上述着色剂类似，在一些实施例中，荧光标记的试剂区别地染色血小板，例如，其仅染色血小板，仅使样品中的血小板在刺激时发射荧光，或其染色除血小板以外的更多物质，但使血小板以与周围物质不同的参数(例如激发或发射光谱、强度)发射荧光。在一些实施例中，荧光标记的试剂对血小板和其他周围物质进行染色而无明显区别。在一些实施例中，着色剂选自由以下各项组成的组：酸性品红、阿尔新蓝8GX、茜素红S、苯胺蓝WS、金胺O、偶氮洋红B、偶氮洋红G、天青A、天青B、天青C、碱性品红、俾斯麦棕Y、亮甲酚蓝、亮绿、胭脂红、氯唑黑E、刚果红、C.I.甲酚紫、结晶紫、达罗红、伊红B、伊红Y、藻红、乙基伊红、乙基绿、固绿FCF、异硫氰酸荧光素、姬姆萨染色剂、苏木精、苏木精&伊红、靛蓝洋红、健那绿B、詹纳尔染色剂1899、浅绿SF、孔雀绿、马休黄、甲基橙、甲基紫2B、亚甲蓝、亚甲蓝、亚甲紫、(亚甲青莲)、中性红、苯胺黑、尼罗蓝A、核固红、油红、橙G、橙II、地衣红、副玫瑰苯胺、根皮红B、强蛋白银S、派若宁B、派若宁、刃天青、玫瑰红、番红O、苏丹黑B、苏丹III、苏丹IV、四铬染色剂(MacNeal)、硫堇、甲苯胺蓝、Weigert、瑞氏染色剂及其任何组合。

[0073] 在一些实施例中，荧光标记的试剂包含荧光分子(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基酯、荧光素的琥珀酰亚胺基酯、荧光素二氯三嗪的5-异构体、笼状羧基荧光素-丙氨酸-甲酰胺、Oregon Green 488、Oregon Green 514;荧光黄、吖啶橙、罗丹明、四甲基罗丹明、德克萨斯红、碘化丙锭、JC-1(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羰花菁碘化物)、四溴罗丹明123、罗丹明6G、TMRM(四甲基罗丹明甲酯)、TMRE(四甲基罗丹明乙酯)、四甲基罗斯胺(tetramethylrosamine)、罗丹明B和4-二甲基氨基四甲基罗斯胺、绿色荧光蛋白、蓝移绿色荧光蛋白、蓝绿移绿色荧光蛋白、红移绿色荧光蛋白、黄移绿色荧光蛋白、4-乙酰氨基-4'-异硫氰酸二苯乙烯-2,2'-二磺酸;吖啶和衍生物，例如吖啶、异硫氰酸吖啶;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;邻氨基苯甲酰胺;4,4-二氟-5-(2-噻吩基)-4-硼-3a,4a二氮杂-5-引达省-3-丙酸BODIPY;级联蓝;亮黄色;香豆素和衍生物: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;四氯四溴荧光素;4',6-二氨基-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′-异硫氰酸苯基)-4-甲基香豆素;二亚乙基三胺五乙酸酯;4,4'-二异氰硫基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;4,4'-二异氰硫基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;5-(二甲基氨基)萘-1-磺酰氯(DNS,丹磺酰氯);4-二甲基氨基苯基偶氮苯基-4′-异硫氰酸酯(DABITC);伊红和衍生

物:伊红、伊红异硫氰酸酯,藻红和衍生物:藻红B、藻红、异硫氰酸酯;乙锭;荧光素和衍生物: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;孔雀绿异硫氰酸酯;4-甲基伞形酚酮邻甲酚酞;硝基酪氨酸;碱性副品红;酚红;B-藻红蛋白;邻苯二甲醛;芘和衍生物:芘、丁酸芘、琥珀酰亚胺基1-芘;丁酸酯量子点;活性红4(Cibacron™Brilliant Red 3B-A)罗丹明和衍生物:6-羧基-X-罗丹明(ROX)、6-羧基罗丹明(R6G)、丽丝胺罗丹明B磺酰氯罗丹明(Rhod)、罗丹明B、罗丹明123、罗丹明X异硫氰酸酯、磺基罗丹明B、磺基罗丹明101、5磺基罗丹明的磺酰氯衍生物(德克萨斯红);N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA);四甲基罗丹明;四甲基罗丹明异硫氰酸酯(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)、玫红酸;CAL荧光橙560;铽螯合物衍生物;Cy 3;Cy 5;Cy 5.5;Cy 7;IRD 700;IRD 800;La Jolla蓝;酞菁;和萘酞菁、香豆素和相关染料,吨染料,例如罗多尔(rhodols)、试卤灵(resorufins)、bimanes、吖啶、异吲哚、丹酰染料,氨基邻苯二甲酰肼,例如鲁米诺,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、二氰基氢醌、荧光铕和铽络合物;其组合等。合适的荧光蛋白和显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(Aequoria victoria)的GFP或其衍生物,例如"人源化"衍生物(如增强的GFP);来自另一物种的GFP,所述另一物种例如海肾Renilla reniformis、Renilla mulleri或Ptilosarcus guernyi;"人源化"重组GFP(hrGFP);来自珊瑚虫(Anthozoan)物种的多种荧光和有色蛋白中的任一种;其任何组合;等等。

[0074] 在一些实施例中,荧光标记的核酸染料用于染色血小板,其能够通过突出显示存在于前一类型细胞而不是后一类型细胞中的细胞核来区分血小板与成熟RBC。在一些实施例中,荧光标记的核酸染料包括但不限于吖啶均二聚物、吖啶橙、7-AAD(7-氨基-放线菌素D)、放线菌素D、ACMA、DAPI、二氢乙锭、溴化乙锭、乙锭均二聚物-1(EthD-1)、乙锭均二聚物-2(EthD-2)、单叠氮乙锭、碘化己锭、Hoechst 33258(双苯酰亚胺)、Hoechst33342、Hoechst 34580、羟芪巴胨、LDS 751、核黄、碘化丙锭(PI);Quant-iT PicoGreen、Quant-iT OliGreen、SYBR Gold、SYBR Green I、SYBR Safe DNA stain、SYTOX Blue、SYTOX Green、SYTOX Orange、SYTOX Red、POPO-1、BOBO-1、YOYO-1、TOTO-1、JOJO-1、OPO-3、LOLO-1、BOBO-3、YOYO-3、TOTO-3、PO-PRO-1、YO-PRO-1、TO-PRO-1、JO-PRO-1、PO-PRO-3、YO-PRO-3、TO-PRO-3、TO-PRO-5、SYTO 40、SYTO 41、SYTO42、SYTO 45、SYTO 81、SYTO 80、SYTO 82、SYTO 83、SYTO 84、SYTO 85、SYTO 64、SYTO 61、SYTO 17、SYTO 59、SYTO 62、SYTO 60、SYTO 63及其任何组合。

[0075] 在某些优选的实施例中,荧光标记的核酸染料是吖啶橙。吖啶橙是核酸选择性荧光阳离子染料。当与DNA结合时,其在光谱上与荧光素非常相似,激发最大为502nm,发射最大为525nm(绿色)。当与RNA结合时,激发最大位移至460nm(蓝色),发射最大位移至650nm(红色)。该染料可以分别通过嵌入或静电吸引进入血小板并与DNA/RNA相互作用。吖啶橙染色后,血小板表现为明亮的绿黄色体,具有致密且几乎位于中心的内含物,可见为浅橙色颗粒。用吖啶橙进行血小板染色通常不会显示明显的锐边。

[0076] 吖啶橙衍生自二甲基氨基苯甲醛和N,N-二甲基-1,3-二氨基苯。吖啶染料通过1,3-二氨基苯与合适的苯甲醛缩合制备。

[0077] 图2示出了根据本发明一些示例性实施例的血小板测定中白细胞(WBC)和血小板(PLT)的示例性荧光图像。中间和右侧列中的图片是由同一样品的实线或虚线圆包围的各个区域的放大图像，如左侧列中的各个图片所示。在该示例性测定中，将新鲜血液样品施加到QMAX卡上并通过该卡压制，而WBC和PLT通过涂在QMAX卡内表面上的吖啶橙染色。在图像上，箭头表示PLT，而星形表示WBC，其尺寸明显更大，荧光强度更亮。

[0078] 1.2选择性裂解红细胞和/或白细胞

[0079] 在一些实施例中，选择性地裂解血液样品中丰富的红细胞和/或白细胞对于血小板可视化和分析是有益的。RBC和WBC的选择性裂解的具体实施例在美国临时专利62/539,672中公开，在此引用作为参考并全文并入。

[0080] 在一些实施例中，所述间隔件的高度被选择成使得在所述闭合构造中，所述均匀厚度的层中的大部分RBC被裂解，并且所述均匀厚度的层中的大部分血小板不被裂解。

[0081] 在一些实施例中，相应板进一步包含试剂层，其促进：(a)裂解所述样品中的RBC、WBC和/或其他细胞；和/或(b)不裂解血小板。

[0082] 在一些实施例中，裂解剂选自由以下各项组成的组：氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐、两性洗涤剂或其任何组合。在一些优选的实施例中，裂解剂是两性洗涤剂(或3-[十六烷基(二甲基)铵基]丙烷-1-磺酸盐)。

[0083] 在某些实施例中，裂解剂涂覆在一个板上(例如，QMAX装置的)。在某些实施例中，裂解剂涂覆在QMAX装置的两个板上。在一个优选的实施例中，将裂解剂(例如，两性洗涤剂)涂覆在QMAX装置的第二板上。

[0084] 涂覆可通过将裂解剂印刷到板上实现。用于涂覆裂解剂的示例性方法是液滴印刷方法。裂解剂被配置为足以裂解其他血细胞组分，如红细胞。以足以诱导红细胞裂解的量涂覆所述裂解剂。优选地，所述裂解剂的浓度为0.5mg/mL-2.0mg/mL。更优选地，裂解剂浓度为1mg/mL。

[0085] 在一些实施例中，所述大部分是所述样品的相关体积中的组分的至少51％、60％、70％、80％、90％、95％或99％。

[0086] 在一些实施例中，所述非常均匀厚度层在相关体积的横向区域上的厚度变化等于或小于40％、30％、20％、15％、10％、7％、5％、3％或1％，或在任何两个值之间的范围内，其中所述厚度变化相对于所述横向区域的平均厚度。

[0087] 2.血小板活性测试

[0088] 2.1用于血小板活性测试的试剂盒

[0089] 本发明的另一方面是提供了一种用于评估血液样品中血小板质量的试剂盒。

[0090] 在一些实施例中，该试剂盒包含本发明的装置，以及活性染料，该活性染料被配置为染色血小板并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示个体血小板的活性状态的光信号。

[0091] 在一些实施例中，活性染料与装置分离。

[0092] 在一些实施例中，将活性染料涂覆在板中的一个或两个的样品接触区域上。

[0093] 在一些实施例中，将活性染料(亚甲蓝)和荧光染料(吖啶橙)都涂覆在板中的一个或两个的样品接触区域上。具体地，将亚甲蓝(0.01-0.05％)和吖啶橙(0.4mg/mL)涂覆在板中的一个或两个的样品接触区域上。

[0094] 在一些实施例中，活性染料被配置为染色活血小板，但不染色将死亡或死亡血小板。在一些实施例中，活性染料被配置为染色将死亡或死亡血小板，但不染色活血小板。在一些实施例中，活性染料染色几乎所有血小板，但是在不同活性水平的血小板中以不同方式染色，从而产生不同血小板的不同光信号。例如，染料掺入量可以在活血小板和死血小板之间不同。或者在一些情况下，染料与血小板中的某些生物/化学物质相互作用，所述生物/化学物质在不同活性水平的血小板之间以不同的量或形式存在。或者在一些情况下，细胞死亡期间细胞膜或细胞内膜结构的降解或其它变化在将死亡和死亡血小板中提供与活血小板不同的染料掺入模式。

[0095] 在一些实施例中，所述活性染料包括但不限于碘化丙锭、7-AAD、锥虫蓝、钙黄绿素紫AM、钙黄绿素AM、可固定活性染料、SYTO9和其它核酸染料、刃天青和甲瓒(MTT/XTT)和其它线粒体染料及其任何组合。

[0096] 在一些实施例中，将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的所述样品接触区域上，并且配置为在接触所述样品时在所述样品中溶解和扩散。

[0097] 在一些实施例中，所述活性染料是荧光标记的并且所述光信号是荧光信号。在一些实施例中，所述活性染料是着色剂并且渲染不同活性状态的所述染色的血小板呈现不同的颜色。

[0098] 2.2用于血小板活性测试的方法

[0099] 本发明的另一方面是提供了用于评估血液样品中血小板质量的方法。

[0100] 在一些实施例中，所述方法包含：

[0101] (a)获得包括血小板的血液样品；

[0102] (b)获得本发明提供的装置；

[0103] (c)当板处于开放构造时将样品沉积在板中的一个或两个上；

[0104] (d)在(c)之前或之后，将所述样品与活性染料混合，所述活性染料被配置为染色血小板并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示个体血小板的活性状态的光信号；

[0105] (e)在(c)和(d)之后，将两个板结合在一起并且将板按压成闭合构造；

[0106] (f)在所述板处于闭合构造时，在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由活性染料渲染的血小板的光信号的图像；以及

[0107] (g)识别获取的图像中的血小板并分析血小板的质量。

[0108] 在一些实施例中，所述活性染料是分开提供的并且在所述样品被沉积在所述板上之前被添加到所述血液样品中。在一些实施例中，将所述活性染料涂覆在所述板中的一个或两个的所述样品接触区域上，并且配置为在接触所述样品时在所述样品中溶解和扩散。因此，在样品沉积并接触涂覆的活性染料后，将活性染料加入样品中。

[0109] 在一些实施例中，步骤(f)包含：(i)在明场照明下对均匀厚度的层中的血小板进行成像；以及(ii)对在暴露于第一波长的光时由活性染料渲染的均匀厚度的层中的血小板的荧光信号成像。

[0110] 在一些实施例中，步骤(g)包含：

[0111] (i)识别并获得获取的图像的第一区域中的血小板的总数；

[0112] (ii)基于来自通过活性染料渲染的个体血小板的光信号，将第一区域中的血小板分类；以及

[0113] (iii)通过计算每一类中血小板相对于总数的百分比来量化血小板的质量。

[0114] 在一些实施例中,识别和获得的步骤(i)包含在明场照明下处理和分析获取的血小板的图像,并且获得在明场图像的第一区域中的血小板的总数。

[0115] 在一些实施例中,步骤(g)中的识别包含使用用于边缘检测和圆检测的算法来处理和分析所述图像。

[0116] 3.用于血小板活性测试的系统

[0117] 本发明的另一方面是提供了一种用于评估血液样品中血小板质量的系统。在一些实施例中,该系统包含:(a)本发明的装置;(b)成像器,其包含相机和光源,其用于在暴露于至少包括第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像;以及(c)处理器,其包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。

[0118] 在一些实施例中,成像器和处理器属于显微镜系统,其被配置为在明场和荧光模式下获取和分析血小板的图像。在一些实施例中,显微镜系统配备有适当的光源、光路(由例如激发和发射滤光器、反射镜、聚光器、成像相机和图像数据传输、处理和分析系统组成)。

[0119] 在一些实施例中,成像器和相机以及处理器是移动通信装置的一部分。在一些实施例中,移动通信装置是移动电话。

[0120] 在一些实施例中,光源是移动通信装置的内部光源。在一些实施例中,光源是移动通信装置外部的光源。

[0121] 在一些实施例中,该系统进一步包含:(d)壳体,该壳体被配置为用于保持该样品并且有待安装到该移动通信装置上。如在此使用的术语“壳体”与术语“适配器”是可互换的。在一些实施例中,该壳体包含用于促进移动通信装置对样品的成像和/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装置上的底座。

[0122] 在一些实施例中,移动通信装置可以被配置为将测试结果传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。在一些实施例中,移动通信装置进一步被配置为将关于对象的信息传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。在一些实施例中,移动通信装置被配置为从医学专业人员接收处方、诊断或建议。在一些实施例中,移动通信装置经由Wi-Fi或蜂窝网络与远程位置通信。

[0123] 在本公开的某些实施例中,样品沉积是在不使用任何转移装置的情况下直接从对象到板的沉积。在某些实施例中,在的沉积期间,沉积在所述板上的样品的量是未知的。

[0124] 在某些实施例中,方法还包含分析样品的分析。在某些实施例中,分析包含通过测量相关样品体积的横向区域并从横向区域和预定间隔件高度计算体积来计算相关样品体积的体积。在某些实施例中,处于闭合构造的两个板之间的样品位置处的pH值通过该位置的体积和通过分析从该位置取得的图像来确定。在某些实施例中,通过分析图像的确定使用人工智能和机器学习

[0125] 用于改善成像的人工智能和/或机器学习

[0126] 在本发明的某些实施例中,在测定操作期间拍摄的图像和/或由测定测量的样品通过人工智能和机器学习来分析。样品包括但不限于医学样品、生物学样品、环境样品和化学样品。

[0127] 在本发明的某些实施例中，样品由QMAX装置保持。QMAX装置连同成像加人工智能和/或机器学习可以克服现有技术中的某些限制。

[0128] 本发明的一个重要方面是提供一种机器学习框架以增强使用QMAX装置进行测定的功能性、应用范围和准确性，尤其是当使用计算机程序时。

[0129] 在本发明的某些实施例中，利用QMAX连同成像加上机器学习和/或人工智能的用于测定样品和/或测定操作(例如，跟踪标签识别)的装置和方法包含：

[0130] (1)使用具有柱形式的辅助结构的QMAX装置来精确控制测定中样品的分布和体积，其中将用于测定的样品装入QMAX装置中并保持在QMAX装置上的两个平行板之间，其中上板对于成像器成像是透明的；

[0131] (2)QMAX装置中的两个平行板之间的间隙间隔很窄-该间隙的距离与待分析物的尺寸成比例-通过该间隙，样品中的分析物在所述板之间形成单层，该单层可通过QMAX装置上的成像器成像；

[0132] (3)由于QMAX装置中板之间的间隙均匀，可以用AoI和间隙精确地描述与QMAX装置上板上AoI(感兴趣区域)相对应的样品体积；

[0133] (4)夹在QMAX装置中的AoI x间隙之间的用于测定的样品上的图像是伪2D图像，因为它具有2D图像的外观，但是它是3D样品的图像，其深度是事先已知的或通过其它方式表征的；

[0134] (5)在QMAX装置的AoI上拍摄的所捕获的伪2D样品图像可以表征用于测定的样品中的分析物的位置、颜色、形状、计数和浓度；

[0135] (6)基于上述特性，所捕获的用于测定的QMAX装置的伪2D图像可修改为机器学习框架，该框架可应用于分析物检测、定位、识别、分割、计数等，以在各种应用中进行测定；或

[0136] (7)其任何组合。

[0137] 4.用于分析的人工智能和/或机器学习

[0138] 在本发明的某些实施例中，基于QMAX的装置的机器学习框架被实现为能够运行诸如深度学习之类的算法的装置，以基于QMAX成像器捕获的伪二维图像来区别地定位、识别、分割和计数分析物(例如血细胞)。

[0139] 在本发明的某些实施例中，机器学习改善了由QMAX装置上的成像器捕获的图像，并减少了噪声和伪像的影响-包括但不限于空泡、灰尘、阴影和柱。

[0140] 在本发明的某些实施例中，机器学习的训练使用QMAX卡的间隔件来减少训练集的数据量。

[0141] 深度学习。在某些实施例中，使用深度学习，其中分析物检测和定位工作流由训练和预测两个阶段组成。

[0142] (i)训练阶段。在本发明的训练阶段，将带有注释的训练数据馈入卷积神经网络。卷积神经网络是用于处理数据的专用神经网络，其具有网格状、前馈和分层网络拓扑。数据的示例包括时间序列数据和图像数据，时间序列数据可以被认为是以规则的时间间隔进行采样的1D网格，图像数据可以被认为是像素的2D网格。卷积网络在实际应用中取得了成功。名称“卷积神经网络”表示该网络采用称为卷积的数学运算。卷积是一种专用的线性运算。卷积网络仅仅是神经网络，其使用卷积来代替其至少一层中的一般矩阵乘法。

[0143] 在本发明的一些实施例中，在训练机器学习模型时，其接收由成像器在样品保持

QMAX装置上获取的含有分析物的样品的一个或多个图像作为训练数据。为要测定的分析物注释训练数据，其中注释指示分析物是否在训练数据中以及它们在图像中的位置。可以用完全框住分析物的紧边框的形式注释，也可以注释分析物的中心位置。在后一种情况下，中心位置进一步转化为覆盖分析物的圆圈或点图中的高斯核。

[0144] 当训练数据量较大时，训练机器学习模型面临两个挑战：注释(通常由人完成)耗时，以及训练在计算上是昂贵的。为了克服这些挑战，可以将训练数据分割成小块，然后注释这些块或其一部分，并在其上训练。术语“机器学习”是指人工智能领域中的算法、系统和设备，其通常使用统计技术和从数据训练的人工神经网络而没有明确编程。

[0145] 在本发明的一些实施例中，经注释的图像被馈送到机器学习(ML)训练模块，并且机器学习模块中的模型训练器将根据训练数据(经注释的样品图像)来训练ML模型。将所述输入数据多次迭代地馈送到所述模型训练器，直到满足特定停止准则。ML训练模块的输出是ML模型-根据机器学习中的训练过程从数据建立的计算模型，该数据给予计算机独立地执行某些任务(例如，检测和分类物体)的能力。

[0146] 在预测(或推理)阶段期间由计算机应用经训练的机器学习模型。机器学习模型的示例有ResNet、DenseNet等，由于其网络结构中连通层的深度，其也被称为“深度学习模型”。在一些实施例中，使用具有全卷积网络(FCN)的Caffe库进行模型训练和预测，并且还可以使用其他卷积神经网络架构和库，诸如TensorFlow。

[0147] 训练阶段产生将在预测阶段中使用的模型。该模型可在预测阶段重复使用，用于测定输入。因此，计算单元只需要访问所产生的模型。它不需要访问训练数据，也不需要在计算单元上再次运行训练阶段。

[0148] (ii)预测阶段。在预测/推理阶段，检测组件被应用于输入图像，并且输入图像被馈送到预加载有从训练阶段生成的训练模型的预测(推理)模块。预测阶段的输出可以是含有检测到的分析物及其中心位置的边界框，或指示每个分析物的位置的点图，或含有检测到的分析物的信息的热图。

[0149] 当预测阶段的输出是边界框的列表时，用于测定的样品的图像中的分析物的数量由检测到的边界框的数量来表征。当预测阶段的输出是点图时，用于测定的样品的图像中的分析物的数量通过点图的积分来表征。当预测的输出是热图时，定位组件用于识别位置，并且检测的分析物的数量通过热图的条目来表征。

[0150] 定位算法的一个实施例是将热图值从最高值到最低值排序成一维有序列表。然后挑选具有最高值的像素，将该像素连同其相邻者一起从列表中除去。重复该过程以挑选列表中具有最高值的像素，直到从列表中除去了所有像素。

[0151] 在使用热图的检测组件中，输入图像连同从训练阶段生成的模型一起被馈送到卷积神经网络，并且检测阶段的输出是以热图的形式的像素级预测。热图可以具有与输入图像相同的尺寸，或者它可以是输入图像的按比例缩小的版本，并且它是定位组件的输入。我们公开了一种定位分析物中心的算法。主要思想是根据热图迭代地检测局部峰。在峰被定位之后，我们计算围绕峰但具有较小值的局部区域。我们从热图中去除这个区域并且从剩余像素中找到下一个峰。重复该过程，直至从热图中去除所有像素。

[0152] 在某些实施例中，本发明提供了定位算法以将热图值从最高值到最低值排序成一维有序列表。然后挑选具有最高值的像素，将该像素连同其相邻者一起从列表中除去。重复

该过程以挑选列表中具有最高值的像素，直到从列表中除去了所有像素。

[0153] 算法全局搜索(热图)

```
Input:
    heatmap
Output:
    loci
loci ←{}
```

[0154]
```
sort(heatmap)
while (heatmap is not empty) {
        s ← pop(heatmap)
        D ← {disk center as s with radius R}
        heatmap = heatmap \ D // remove D from the heatmap
        add s to loc}
```

[0155] 排序后，热图为一维有序列表，其中热图值从高到低排序。每个热图值与其对应的像素坐标相关联。热图中的第一项是具有最高值的项，即弹出(热图)函数的输出。创建一个盘，其中中心是具有最高热图值的盘的像素坐标。然后从热图中除去像素坐标位于盘内的所有热图值。该算法反复弹出当前热图中的最高值，除去其周围的盘，直到项目被从热图中除去。

[0156] 在有序列表热图中，每个项目都知道继续进行项目和以下项目。从有序列表中移除项目时，我们进行以下更改：

[0157] • 假设移除项目是xr，其进行项目是xp，其后续项目是xf。

[0158] • 对于进行项目xp，将其后续项目重新定义为移除项目中的后续项目。因此，xp的后续项目现在是xf。

[0159] • 对于移除项目xr，取消定义其进行项目和后续项目，从有序列表中将其移除。

[0160] • 对于后续项目xf，将其进行项目重新定义为移除项目中的进行项目。因此，xf的进行项目现在是xp。

[0161] 从有序列表中除去所有项目后，定位算法结束。集合基因座中元素的数目将是分析物的计数，位置信息是集合基因座中每个s的像素坐标。

[0162] 另一个实施例搜索局部峰，其不一定是具有最高热图值的局部峰。为了检测每个局部峰，我们从随机起始点开始，并搜索局部最大值。发现峰后，计算峰周围的局部面积，但数值较小。我们从热图中去除这个区域并且从剩余像素中找到下一个峰。重复该过程，直至从热图中去除所有像素。

[0163] 算法局部搜索(s，热图)

```
Input:
    s: starting location (x, y)
    heatmap
```

[0164]
```
Output:
    s: location of local peak.
We only consider pixels of value > 0.
```

[0165] 算法覆盖(s，热图)

```
Input:
    s: location of local peak.
    heatmap:
Output:
    cover: a set of pixels covered by peak:
```

[0167] 这是一种从s开始的宽度优先搜索算法，具有一个改变的访问点条件：仅在热图[p]>0且热图[p]<=热图[q]的情况下添加当前位置q的相邻者p以进行覆盖。因此，覆盖中的每个像素具有通向局部峰s的非下降路径。

[0168] 算法定位(热图)

```
Input:
    heatmap
Output:
    loci
loci ←{}
pixels ←{all pixels from heatmap}
```

[0169]

```
while pixels is not empty {
    s ←any pixel from pixels
    s ←LocalSearch(s, heatmap)          // s is now local peak
    probe local region of radius R surrounding s for better local peak
    r ←Cover(s, heatmap)
    pixels ← pixels \ r                 // remove all pixels in cover
    add s to loci
```

[0170] 在某些实施例中，图像分析包含深度学习和计算机视觉方法的组合，其中检测和定位通过计算机视觉算法实现，并且分类通过深度学习算法实现，其中计算机视觉算法检测并定位分析物的可能候选物，并且深度学习算法将每个可能候选物分类为真分析物和假分析物。所有真实分析物的位置(连同真实分析物的总计数)将被记录为输出。

[0171] 检测。计算机视觉算法基于分析物的特性来检测可能的候选物，所述特性包括但不限于强度、颜色、尺寸、形状、分布等。预处理方案可以改善检测。预处理方案包括对比度增强、直方图调整、颜色增强、去噪声、平滑、散焦等。预处理后的输入图像送入检测器。检测器告知存在分析物的可能候选物并给出其位置的估计。检测可以基于分析物结构(例如边缘检测、线检测、圆检测等)、连通性(例如斑点检测、连接分量、轮廓检测等)、强度、颜色、形状等，使用诸如自适应阈值化等方案。

[0172] 在检测之后的定位，计算机视觉算法通过提供其边界或含有其的紧边框定位分析物的每个可能的候选物。这可以通过物体分割算法来实现，诸如自适应阈值化、背景减除、漫水填充、均值偏移、分水线等。通常，定位可与检测组合以产生检测结果以及分析物的每个可能候选物的位置。

[0173] 分类，如卷积神经网络等深度学习算法，实现了视觉分类的起步。我们采用深度学习算法对分析物的每种可能的候选物进行分类。各种卷积神经网络可用于分析物分类，例如VGGNet、ResNet，、MobileNet、DenseNet等。

[0174] 给定分析物的每个可能的候选物，深度学习算法通过神经元层经由卷积过滤器和非线性过滤器计算以提取将分析物与非分析物区分开的高级特征。一层完全卷积网络将高级特征结合到分类结果中，其告知它是否是真实的分析物，或者是分析物的概率。

[0175] 5.本发明的优点

[0176] 本发明具有许多优于现有技术方法的优点。本发明的一个优点是血液样品中血小板的量化可以使用血小板染色染料进行而不需要任何冲洗步骤。另一个优点是测试所需的血液量小(通常为1-5μL)。该测试提供小于5分钟,优选小于1分钟的性能时间。iPhone与计算机服务器的耦合使得患者的血小板信息能够通过万维网传输并在远程医疗领域中建立效用。

[0177] 出人意料地,我们观察到使用吖啶橙染色血小板需要新鲜分离的血液。在短时间内(例如,小于5-10分钟)从血液循环中分离的血液是最佳的。另一方面,已经从血液循环中分离较长时间(例如,高于10分钟)的血液不是最佳的。我们观察到,吖啶橙在老化血液中显著失去(例如,～50%)其染色。血小板染色的失去与吖啶橙不能结合DNA/RNA无关。

[0178] 不受理论的约束,认为老化血液中的血小板可能例如通过酶促降解而失去其DNA/RNA。还可能的是,血小板中的微量DNA/RNA仅仅分解并留下细胞组分。

[0179] 预料不到的发现是吖啶橙染色对抽取血液的新鲜度敏感。吖啶橙对血小板的染色能力取决于血液的新鲜度(即,在抽血后10分钟内)。染色对老化血液次之。本测定法具有确定抽取的血液是否新鲜的应用和实用性。

[0180] 我们进一步观察到,一旦血液样品与吖啶橙染剂接触,荧光染剂将仅缓慢衰变。用新鲜血液进行吖啶橙染色是重要的。

[0181] 6.本发明的示例

[0182] 在本公开的一个实施例中,本发明包含用于评估血液样品中血小板质量的装置,所述装置包括第一板、第二板和间隔件,其中所述板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造。每个板在其各自的样品表面上包括用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域。间隔件被设置在板中的任一个或两个上并且被固定到相应的样品接触区域上。所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距。在开放构造中,两个板是部分或完全分开的并且板之间的间距不通过间隔件调节。当板处于开放构造时,将样品沉积在板中的一个或两个上。在闭合构造中,其在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层。层的均匀厚度由板的样品表面限定,并由板和间隔件调节。

[0183] 在本公开的另一个实施例中,本发明包含用于评估血液样品中血小板质量的试剂盒,其包括第一板、第二板、间隔件和活性染料,其中所述板可相对于彼此移动成不同的构造,包括开放构造和闭合构造。每个板在其各自的样品表面上包括用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域。间隔件被设置在板中的任一个或两个上并且被固定到相应的样品接触区域上。所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度,以及预定的恒定间隔件间距。在开放构造中,两个板是部分或完全分开的并且板之间的间距不通过间隔件调节。当板处于开放构造时,将样品沉积在板中的一个或两个上。在闭合构造中,其在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的,至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层。层的均匀厚度由板的样品表面限定,并由板和间隔件调节。该活性染料被配置为染色血小板并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示个体血小板的活性状态的光信号。

[0184] 在本公开的又一个实施例中,本发明包含用于评估血液样品中血小板质量的系统,其包括包括第一板、第二板、间隔件、成像器和处理器,其中所述板可相对于彼此移动成

不同的构造，包括开放构造和闭合构造。每个板在其各自的样品表面上包括用于接触包括血小板的血液样品的样品接触区域。间隔件被设置在板中的任一个或两个上并且被固定到相应的样品接触区域上。所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距。在开放构造中，两个板是部分或完全分开的并且板之间的间距不通过间隔件调节。当板处于开放构造时，将样品沉积在板中的一个或两个上。在闭合构造中，其在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的，至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层。层的均匀厚度由板的样品表面限定，并由板和间隔件调节。成像器包含相机和光源，用于在暴露于至少包括第一波长的波长的光时对所述均匀厚度的层中的所述血小板成像。处理器包含用于接收和处理图像以及识别和分析图像中的血小板的电子器件、信号处理器、硬件和软件。

[0185] 在本公开的另一个实施例中，本发明包含评估血液样品中血小板质量的方法，所述方法包括以下步骤：获得包括血小板的血液样品，获得所述第一板和所述第二板，其可相对于彼此移动成不同的构造，包括开放构造和闭合构造，其中每个板在其各自的样品表面上具有用于接触样品的样品接触区域，并且其中板中的一个或两个包含固定至相应的样品接触区域的间隔件。所述间隔件具有在0.5μm至2.5μm的范围内的预定的基本上均匀的高度，以及预定的恒定间隔件间距。

[0186] 该方法进一步包含当板处于开放构造时将样品沉积在板中的一个或两个上，其中在开放构造中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节，将所述样品与活性染料混合，所述活性染料被配置为染色血小板并且在暴露于预定的第一波长的光时产生指示个体血小板的活性状态的光信号，将两个板结合在一起并且将板按压成闭合构造，其中在所述闭合构造中，至少一部分所述样品被所述两个板压缩成厚度非常均匀的层，所述层的均匀厚度由所述两个板的样品表面限定并且由所述间隔件和所述板调节，在均匀厚度的层中获取血小板的明场图像和由活性染料渲染的血小板的光信号的图像；以及识别获取的图像中的血小板并分析血小板的质量。

[0187] 在本公开的任何实施例中，活性染料可以包含碘化丙锭、7-AAD、锥虫蓝、钙黄绿素紫AM、钙黄绿素AM、可固定活性染料、SYTO9或其它核酸染料，或其任何组合。在本公开的其他实施例中，活性染料可以包含刃天青和甲瓒(MTT/XTT)，或其他线粒体染料，或其任何组合。

[0188] 在本公开的任何实施例中，活性染料可以是荧光标记的。在本公开的任何实施例中，活性染料可以是着色剂，其渲染不同活性状态的所述染色的血小板呈现不同的颜色。

[0189] 在本公开的任何实施例中，将活性染料设置在板中的一个或两个上。在一个实施例中，将活性染料设置在板中的一个或两个的样品接触区域上。在一个实施例中，将活性染料设置在板中的一个或两个的样品接触区域的一部分上。在另一个实施例中，将活性染料设置在板中的一个或两个的整个样品接触区域上。在一个实施例中，将活性染料涂覆到板中的一个或两个的样品接触区域上。在另一个实施例中，将活性染料印刷到板中的一个或两个的样品接触区域上。在另一个实施例中，将活性染料浸渍到板中的一个或两个的样品接触区域上。在接触样品时，活性染料被配置为在样品中溶解和扩散。

[0190] 在本公开的任何实施例中，光信号可以是荧光信号。在本公开的任何实施例中，光信号可以包含荧光、光吸收、反射、透射、衍射、散射或漫射、表面拉曼散射或其任何组合。

[0191] 在本公开的任何实施例中，间隔件的高度可以包括在1μm至50μm的范围内的高度。在本公开的任何实施例中，间隔件的高度可以包括在2μm至30μm的范围内的高度。在本公开的任何实施例中，间隔件的高度可以是2μm。在本公开的又另一个实施例中，间隔件的高度可以包括0.5μm至1.2μm的范围。在本公开的任何实施例中，间隔件高度可以等于或小于2μm、1.9μm、1.8μm、1.7μm、1.6μm、1.5μm、1.4μm、1.3μm、1.2μm、1.1μm、1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。

[0192] 在本公开的任何实施例中，所述间隔件的高度被选择成使得在所述闭合构造中，所述均匀厚度的层中的大部分RBC被裂解，并且所述均匀厚度的层中的大部分血小板不被裂解。

[0193] 在本公开的任何实施例中，板中的一个或两个的样品接触区域可以包含裂解试剂层，其促进样品中的RBC、WBC和/或其它细胞的裂解和/或血小板的不裂解。本文定义的“不裂解”是指血小板不被裂解。在本公开的任何实施例中，板中的任一个或两个的样品接触区域可以包含用于血小板的生物/化学测定的试剂层。在一个实施例中，将裂解剂涂覆到板中的一个或两个的样品接触区域上。在另一个实施例中，将裂解剂印刷到板中的一个或两个的样品接触区域上。在又一个实施例中，将裂解剂设置在样品接触区域的一部分上。在又一个实施例中，将裂解剂设置在板中的一个或两个的整个样品接触区域上。

[0194] 在本公开的任何实施例中，裂解剂可以是选自由以下各项组成的组的裂解剂：氯化铵、有机季铵表面活性剂、氰化物盐及其任何组合。

[0195] 在本公开的任何实施例中，该血小板或RBC的大部分可以是该样品的相关体积中的组分的至少51％、60％、70％、80％、90％、95％或99％。

[0196] 在本公开的任何实施例中，所述非常均匀厚度层在相关体积的横向区域上的厚度变化等于或小于40％、30％、20％、15％、10％、7％、5％、3％或1％，或在任何两个值之间的范围内，其中所述厚度变化相对于所述横向区域的平均厚度。

[0197] 在本公开的任何实施例中，非常均匀的层的面积可以等于或大于0.1mm^2、0.5mm^2、1mm^2、3mm^2、5mm^2、10mm^2、20mm^2、50mm^2、70mm^2、100mm^2、200mm^2、500mm^2、800mm^2、1000mm^2、2000mm^2、5000mm^2、10000mm^2、20000mm^2、50000mm^2或100000mm^2，或在任何两个值之间的范围内。

[0198] 在本公开的任何实施例中，血液样品可以是稀释的或未稀释的全血。在本公开的任何实施例中，血液样品可以是部分血液样品。

[0199] 在本公开的任何实施例中，在闭合构造中，所述样品的相关体积中的大部分白细胞(WBC)可以被裂解，并且所述间隔件高度可以等于或小于1.0μm、0.9μm、0.8μm、0.7μm、0.6μm、0.5μm、0.4μm、0.3μm或0.2μm，或在任何两个值之间的范围内。

[0200] 在本公开的任何实施例中，板中的一个可以是透明的。在本公开的任何实施例中，两个板都可以是透明的。

[0201] 在本公开的任何实施例中，相机和处理器可以是诸如平板、计算机或智能电话的电子装置的一部分。在另一个实施例中，相机和处理器可以是移动通信装置的一部分。在本公开的任何实施例中，移动通信装置可以是移动电话，诸如智能电话。

[0202] 在本公开的任何实施例中，光源可以是移动通信装置的内部光源。

[0203] 在本公开的任何实施例中，光源可以是移动通信装置外部的光源。

[0204] 在本公开的任何实施例中，本发明可以进一步包含壳体，所述壳体被配置为用于保持所述样品并且有待安装到所述移动通信装置上。在本公开的任何实施例中，壳体可以包含用于将壳体可移除地安装到移动通信装置和/或电子装置的托架。在本公开的任何实施例中，所述壳体包含用于促进移动通信装置对样品的成像和/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装置上的底座。

[0205] 在本公开的任何实施例中，移动通信装置可以被配置为将测试结果传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。

[0206] 在本公开的任何实施例中，移动通信装置可以被配置为将关于对象的信息传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。

[0207] 在本公开的任何实施例中，移动通信装置可以被配置为从医学专业人员接收处方、诊断或建议。

[0208] 在本公开的任何实施例中，移动通信装置可以经由Wi-Fi或蜂窝网络与远程位置通信。

[0209] 在本公开的任何实施例中，步骤(f)可以包含以下步骤：在明场照明下对均匀厚度的层中的血小板进行成像，以及对在暴露于第一波长的光时由活性染料渲染的均匀厚度的层中的血小板的荧光信号成像。

[0210] 在本公开的任何实施例中，步骤(g)可以包含以下步骤：识别并获得所获得的图像的第一区域中的血小板的总数，基于来自通过活性染料渲染的个体血小板的光信号，将第一区域中的血小板分类，并且通过计算每个类别中的血小板相对于总数的百分比来量化血小板的质量。

[0211] 在本公开的任何实施例中，步骤(g)的步骤(i)可以包含在明场照明下处理和分析获取的血小板的图像，并且获得在明场图像的第一区域中的血小板的总数。

[0212] 在本公开的任何实施例中，步骤(g)中的识别步骤可以包含使用用于边缘检测和圆检测的算法来处理和分析所述图像。

[0213] 在本公开的任何实施例中，步骤(g)的识别和分析步骤可以由移动通信装置执行，该移动通信装置被配置为接收和/或处理血小板的图像。

[0214] 在本公开的任何实施例中，间隔件可以包含具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状，其中宽度与高度之比等于或大于1，等于1％或更大的填充因子，其中填充因子与间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大。填充因子是所述间隔件接触面积与所述总板面积的比例。

[0215] 在本公开的任何实施例中，所述层的均匀厚度的平均值可以与所述间隔件的均匀高度基本相同，偏差小于10％。

[0216] 在本公开的任何实施例中，在所述闭合构造中，至少90％的所述RBC可以被裂解并且至少90％的所述血小板可以不被裂解。

[0217] 在本公开的任何实施例中，在所述闭合构造中，至少99％的所述RBC可以被裂解并且至少99％的所述血小板可以不被裂解。

[0218] 在本公开的任何实施例中，均匀厚度的层的变化可以小于30nm。

[0219] 在本公开的任何实施例中，均匀厚度样品层可以具有高达+/-5％的厚度均匀性。

[0220] 在本公开的任何实施例中，这些间隔件可以是截面形状选自圆形、多边形、环形、

正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。

[0221] 在本公开的任何实施例中，间隔件可以包含具有基本上均匀的横截面和平顶表面的柱的形状，其中宽度与高度之比等于或大于1，在10μm至200μm的范围内的预定的恒定间隔件间距，等于1％或更大的填充因子，并且其中填充因子与所述间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大。填充因子是所述间隔件接触面积与所述总板面积的比例。

[0222] 在本公开的任何实施例中，将所述板按压成闭合构造可以平行地或顺序地进行，其中所述平行按压同时在目标区域上施加外力，并且所述顺序按压在目标区域的一部分上施加外力并且逐渐移动至另一个区域。

[0223] 在本公开的任何实施例中，可以通过以下分析所述血液样品：照射所述厚度均匀的层中的至少一部分所述血液样品，使用CCD或CMOS传感器获得细胞的一个或多个图像，使用计算机识别图像中的血小板，以及对图像区域中的血小板数量进行计数。

[0224] 7.其它示例和定义

[0225] 本发明包括只要各种组件彼此不矛盾就可以以多种方式组合的各种实施例。实施例应当被认为是单个发明文件：每个申请具有作为参考文献的其它申请，并且也出于所有目的而整体地引用，而不是作为离散的独立文件。这些实施例不仅包括当前文件中的公开内容，而且包括在此引用、并入或要求优先权的文件。

[0226] (1)定义

[0227] 在本申请中或在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中定义了用于描述本文公开的装置/设备、系统和方法的术语，所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0228] (2)样品

[0229] 本文公开的装置/设备、系统和方法可用于操纵和检测各种类型的样品。在本文中公开了，在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和/或总结了样品，所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0230] 本文公开的装置、设备、系统和方法可用于样品，例如但不限于诊断样品、临床样品、环境样品和食物样品。样品的类型包括但不限于分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号中列出、描述和/或总结的样品，其全部内容通过引用整体并入本文。

[0231] 例如，在一些实施例中，本文公开的装置、设备、系统和方法用于包括细胞、组织、体液和/或其混合物的样品。在一些实施例中，样品包含人体液。在一些实施例中，样品包含细胞、组织、体液、粪便、羊水、房水、玻璃体液、血液、全血、分馏的血液、血浆、血清、母乳、脑脊髓液、耳垢、乳糜、食糜、内淋巴、外淋巴、粪便、胃酸、胃液、淋巴液、粘液、鼻引流液、痰液、心包液、腹膜液、胸膜液、脓液、风湿液、唾液、皮脂、精液、痰液、汗液、滑液、泪液、呕吐物、尿液和呼出的冷凝物中的至少一种。

[0232] 在一些实施例中，本文公开的装置、设备、系统和方法用于获自任何合适来源的环境样品，例如但不限于：河流、湖泊、池塘、海洋、冰川、冰山、雨、雪、污水、水库、自来水、饮用水等；固体样品，获自土壤、堆肥、砂、岩石、混凝土、木材、砖、污水等；以及气体样品，获自空气、水下排气孔、工业废气、车辆废气等。在某些实施例中，环境样品是从来源新鲜的；在某些实施例中，环境样品是经处理的。例如，在应用题述装置、设备、系统和方法之前，将非液体形式的样品转化成液体形式。

[0233] 在一些实施例中，本文所公开的装置、设备、系统和方法用于食物样品，该食物样品适合于或可能变得适合于动物食用，例如人类食用。在一些实施例中，食物样品包括原料、烹制或处理的食品、植物和动物来源的食品、预处理的食品以及部分或完全处理的食品等。在某些实施例中，在应用题述装置、设备、系统和方法之前，将非液体形式的样品转化成液体形式。

[0234] 题述装置、设备、系统和方法可用于分析任何体积的样品。体积的示例包括但不限于约10mL或以下、5mL或以下、3mL或以下、1微升(μL，本文也是“uL”)或以下、500μL或以下、300μL或以下、250μL或以下、200μL或以下、170μL或以下、150μL或以下、125μL或以下、100μL或以下、75μL或以下、50μL或以下、25μL或以下、20μL或以下、15μL或以下、10μL或以下、5μL或以下、3μL或以下、1μL或以下、0.5μL或以下、0.1μL或以下、0.05μL或以下、0.001μL或以下、0.0005μL或以下、0.0001μL或以下、10pL或以下、1pL或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内。

[0235] 在一些实施例中，样品的体积包括但不限于约100μL或以下、75μL或以下、50μL或以下、25μL或以下、20μL或以下、15μL或以下、10μL或以下、5μL或以下、3μL或以下、1μL或以下、0.5μL或以下、0.1μL或以下、0.05μL或以下、0.001μL或以下、0.0005μL或以下、0.0001μL或以下、10pL或以下、1pL或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内。在一些实施例中，样品的体积包括但不限于约10μL或以下、5μL或以下、3μL或以下、1μL或以下、0.5μL或以下、0.1μL或以下、0.05μL或以下、0.001μL或以下、0.0005μL或以下、0.0001μL或以下、10pL或以下、1pL或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内。

[0236] 在一些实施例中，样品的量约为一滴液体。在某些实施例中，样品的量是从刺破的手指或手指针刺收集的量。在某些实施例中，样品的量是从微针、微量移液管或静脉抽吸中收集的量。

[0237] 在某些实施例中，样品保持器配置为保持流体样品。在某些实施例中，样品保持器配置为将至少一部分流体样品压缩成薄层。在某些实施例中，样品保持器包含配置为加热和/或冷却样品的结构。在某些实施例中，加热源提供电磁波，该电磁波可被样品保持器中的某些结构吸收以改变样品的温度。在某些实施例中，信号传感器被配置为检测和/或测量来自样品的信号。在某些实施例中，信号传感器被配置为检测和/或测量样品中的分析物。在某些实施例中，散热器被配置为用于从该样品保持器和/或该加热源吸收热量。在某些实施例中，散热器包含至少部分地包围样品保持器的腔。

[0238] (3)Q卡、间隔件与均匀样品厚度

[0239] 本文所公开的装置/设备、系统和方法可包括或使用Q卡、间隔件和用于样品检测、分析和量化的均匀样品厚度实施例。在一些实施例中，Q卡包含间隔件，其有助于使至少一部分样品成为非常均匀的层。在本文中公开了，在分别于2016年8月10日和2016年9月14日

提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和/或总结了间隔件的结构、材料、功能、变化和尺寸以及间隔件和样品层的均匀性,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0240] (4)铰链、开放凹口、凹槽边缘和滑块

[0241] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以包括或使用用于样品检测、分析和量化的Q卡。在一些实施例中,Q卡包括铰链、凹口、凹槽和滑块,其有助于促进Q卡的操纵和样品的测量。在本文中公开了,在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2016年12月9日提交的美国临时申请第62/431639号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号和第62/456504号、2017年8月1日提交的美国临时申请第62/539660号中列出、描述和/或总结了铰链、凹口、凹槽和滑动件的结构、材料、功能、变化和尺寸,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0242] 在一些实施例中,QMAX装置包含开放机构,例如但不限于板边缘上的凹口或附接到板的条带,使得用户更容易操纵板的定位,例如但不限于用手分离板。

[0243] 在一些实施例中,QMAX装置包含在板中的一个或两个上的沟槽。在某些实施例中,沟槽限制板上样品的流动。

[0244] (5)Q卡和适配器

[0245] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以包括或使用用于样品检测、分析和量化的Q卡。在一些实施例中,Q卡与适配器一起使用,该适配器被配置为容纳Q卡并连接到移动装置,使得Q卡中的样品可以由移动装置成像、分析和/或测量。在本文中公开了,在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号和第62/456590号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号、2017年2月15日提交的美国临时申请第62/459,544号、2017年2月16日提交的美国临时申请第62/460075号和第62/459920号中列出、描述和/或总结了Q卡、适配器和移动的结构、材料、功能、变化、尺寸和连接,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0246] 在一些实施例中,适配器包含插座插槽,该插座插槽被配置为当装置处于闭合构造时容纳QMAX装置。在某些实施例中,QMAX装置具有沉积在其中的样品,并且适配器可以连接到移动装置(例如智能电话),使得样品可以由移动装置读取。在某些实施例中,移动装置可以检测和/或分析来自样品的信号。在某些实施例中,当样品位于QMAX装置中并且位于相机的视野(FOV)中时,移动装置可以捕获样品的图像,在某些实施例中,相机是移动装置的一部分。

[0247] 在一些实施例中,该适配器包含多个光学组件,这些光学组件被配置为用于增强、放大和/或优化来自该样品的信号的产生。在一些实施例中,这些光学组件包括被配置为用于增强、放大和/或优化提供给该样品的照明的部分。在某些实施例中,照明由作为移动装置一部分的光源提供。在一些实施例中,这些光学组件包括被配置为用于增强、放大和/或

优化来自该样品的信号的部分。

[0248] (6)智能手机检测系统

[0249] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以包括或使用用于样品检测、分析和量化的Q卡。在一些实施例中，Q卡与能够将Q卡与智能电话检测系统连接的适配器一起使用。在一些实施例中，智能电话包含相机和/或照明源。在本文中公开了，在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号和第62/456590号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号、2017年2月15日提交的美国临时申请第62/459,544号、2017年2月16日提交的美国临时申请第62/460075号和第62/459920号中列出、描述和/或总结了智能电话检测系统以及相关联的硬件和软件，所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0250] 在一些实施例中，智能电话包含相机，当样品位于相机的视野中时(例如通过适配器)，相机可用于捕获图像或样品。在某些实施例中，相机包括一组透镜(例如，如在iPhone™6中)。在某些实施例中，相机包括至少两组透镜(例如，如在iPhone™ 7中)。在一些实施例中，智能电话包含相机，但是相机不用于图像捕获。

[0251] 在一些实施例中，智能电话包含光源，例如但不限于LED(发光二极管)。在某些实施例中，当样品位于相机的视野中时(例如通过适配器)，光源用于向样品提供照明。在一些实施例中，来自光源的光被适配器的光学组件增强、放大、改变和/或优化。

[0252] 在一些实施例中，智能电话包含被配置为处理来自样品的信息的处理器。智能电话包括软件指令，当由处理器执行时，该软件指令可以增强、放大和/或优化来自样品的信号(例如图像)。处理器可包括一个或多个硬件组件，例如中央处理单元(CPU)、专用集成电路(ASIC)、专用指令集处理器(ASIP)、图形处理单元(GPU)、物理处理单元(PPU)、数字信号处理器(DSP)、现场可编程门阵列(FPGA)、可编程逻辑装置(PLD)、控制器、微控制器单元、精简指令集计算机(RISC)、微处理器等，或其任何组合。

[0253] 在一些实施例中，智能电话包含通信单元，其被配置和/或用于将与样品相关的数据和/或图像传输到另一装置。仅作为示例，通信单元可以使用电缆网络、有线网络、光纤网络、电信网络、内联网、因特网、局域网(LAN)、广域网(WAN)、无线局域网(WLAN)、城域网(MAN)、广域网(WAN)、公共电话交换网络(PSTN)、蓝牙网络、ZigBee网络、近场通信(NFC)网络等，或其任何组合。

[0254] 在一些实施例中，智能电话是iPhone™、Android™电话或Windows™电话。

[0255] (7)检测方法

[0256] 本文公开的装置/设备、系统和方法可包括或用于各种类型的检测方法。在本文中公开了，在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、第62/456528号、第62/456631号、第62/456522号、第62/456598号、第62/456603号和第62/456628号、2017年2月9日提交的美国临时申请第62/459276号、第62/456904号、第62/457075号和第62/457009号，和2017年2月15日提交的美国临时申请第62/459303号、第62/459337号和第62/459598号，和2017年2月16日提交的美国临时申请第62/460083号、第62/460076号中列出、描述和/或

总结了检测方法,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0257] (8)标签、捕获剂和检测剂

[0258] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以使用各种类型的用于分析物检测的标签、捕获剂和检测剂。在本文中公开了,在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和/或总结了标签,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0259] 在一些实施例中,标签是光学可检测的,例如但不限于荧光标签。在一些实施例中,标签是光学可检测的,例如但不限于荧光标签。在一些实施例中,标签包括但不限于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基酯、荧光素的琥珀酰亚胺基酯、荧光素二氯三嗪的5-异构体、笼状羧基荧光素-丙氨酸-甲酰胺、Oregon Green 488、Oregon Green 514;荧光黄、吖啶橙、罗丹明、四甲基罗丹明、德克萨斯红、碘化丙锭、JC-1(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羰花菁碘化物)、四溴罗丹明123、罗丹明6G、TMRM(四甲基罗丹明甲酯)、TMRE(四甲基罗丹明乙酯)、四甲基罗斯胺(tetramethylrosamine)、罗丹明B和4-二甲基氨基四甲基罗斯胺、绿色荧光蛋白、蓝移绿色荧光蛋白、蓝绿移绿色荧光蛋白、红移绿色荧光蛋白、黄移绿色荧光蛋白、4-乙酰氨基-4'-异硫氰酸二苯乙烯-2,2'-二磺酸;吖啶和衍生物,例如吖啶、异硫氰酸吖啶;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;邻氨基苯甲酰胺;4,4-二氟-5-(2-噻吩基)-4-硼-3a,4a二氮杂-5-引达省-3-丙酸BODIPY;级联蓝;亮黄色;香豆素和衍生物: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;四氯四溴荧光素;4',6-二氨基-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′-异硫氰酸苯基)-4-甲基香豆素;二亚乙基三胺五乙酸酯;4,4'-二异氰硫基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;4,4'-二异氰硫基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;5-(二甲基氨基)萘-1-磺酰氯(DNS,丹磺酰氯);4-二甲基氨基苯基偶氮苯基-4′-异硫氰酸酯(DABITC);伊红和衍生物:伊红、伊红异硫氰酸酯,藻红和衍生物:藻红B、藻红、异硫氰酸酯;乙锭;荧光素和衍生物: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;孔雀绿异硫氰酸酯;4-甲基伞形-酚酮邻甲酚酞;硝基酪氨酸;碱性副品红;酚红;B-藻红蛋白;邻苯二甲醛;芘和衍生物:芘、丁酸芘、琥珀酰亚胺基1-芘;丁酸酯量子点;活性红4(Cibacron™Brilliant Red 3B-A)罗丹明和衍生物:6-羧基-X-罗丹明(ROX)、6-羧基罗丹明(R6G)、丽丝胺罗丹明B磺酰氯罗丹明(Rhod)、罗丹明B、罗丹明123、罗丹明X异硫氰酸酯、磺基罗丹明B、磺基罗丹明101、磺基罗丹明101的磺酰氯衍生物(德克萨斯红);N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA);四甲基罗丹明;四甲基罗丹明异硫氰酸酯(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)、玫红酸;CAL荧光橙560;铽螯合物衍生物;Cy 3;Cy 5;Cy 5.5;Cy 7;IRD 700;IRD 800;La Jolla蓝;酞菁;和萘酞菁、香豆素和相关染料,吨染料,例如罗多尔(rhodols)、试卤灵(resorufins)、bimanes、吖啶、异吲哚、丹酰染料,氨基邻苯二甲酰肼,例如鲁米诺,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、二氰基氢醌、荧光铕和铽络合物;其组合等。合适的荧光蛋白和显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(Aequoria victoria)的GFP或其衍生物,例如"人源化"衍生物(如增强的GFP);来自另一物种的GFP,所述另一物种例如海肾Renilla reniformis、Renilla mulleri或Ptilosarcus guernyi;"人源化"重组GFP(hrGFP);来自珊瑚虫(Anthozoan)物种的多种荧光和有色蛋白中的任一种;其组合;等等。

[0260] 在任何实施例中,QMAX装置可含有各自结合选自美国临时申请第62/234,538号和PCT申请第PCT/US2016/054025号的表B1、B2、B3和/或B7的生物标记物的多种捕获剂和/或检测剂,其中读取步骤d)包括获得样品中多种生物标记物的量的测量,并且其中样品中多种生物标记物的量是疾病或状况的诊断。

[0261] 在任何实施例中,捕获剂和/或检测剂可以是抗体表位,生物标记物可以是结合抗体表位的抗体。在一些实施例中,抗体表位包括选自美国临时申请第62/234,538号和/或PCT申请第PCT/US2016/054025号中的表B4、B5或B6的生物分子或其片段。在一些实施例中,抗体表位包括选自表B5的过敏原或其片段。在一些实施例中,抗体表位包括选自美国临时申请第62/234,538号和/或PCT申请第PCT/US2016/054025号中的表B6的传染原衍生的生物分子或其片段。

[0262] 在任何实施例中,QMAX装置可以含有选自美国临时申请第62/234,538号和/或PCT申请第PCT/US2016/054025号中的表B4、B5和/或B6的多个抗体表位,其中读取步骤d)包括获得样品中多个表位结合抗体的量的测量,并且其中样品中多个表位结合抗体的量是疾病或状况的诊断。

[0263] (9)分析物

[0264] 本文公开的装置/设备、系统和方法可用于操纵和检测各种类型的分析物(包括生物标记物)。在本文中公开了或在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和总结了分析物,所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0265] 本文公开的装置、设备、系统和方法可用于各种分析物的检测、纯化和/或量化。在一些实施例中,分析物是与各种疾病相关的生物标记物。在一些实施例中,分析物和/或生物标记物指示疾病的存在、严重性和/或阶段。可用本发明的装置、设备、系统和/或方法检测和/或测量的分析物、生物标记物和/或疾病包括于2016年8月10日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号,和2016年9月27日提交的PCT申请第PCT/US2016/054025号,和2015年9月29日提交的美国临时申请第62/234,538号、2015年9月28日提交的第62/233,885号、2016年2月9日提交的第62/293,188号,和2016年3月8日提交的第62/305,123号中列出、描述和/或总结的分析物、生物标记物和/或疾病,其全部内容通过引用整体并入本文。例如,本文公开的装置、设备、系统和方法可用于(a)与某些疾病阶段相关的化合物或生物分子的检测、纯化和量化,所述疾病例如传染病和寄生虫病、损伤、心血管疾病、癌症、精神障碍、神经精神障碍和器质性疾病(例如肺病、肾病),(b)来自环境(例如水、土壤)的微生物(例如病毒、真菌和细菌)或生物样品(例如组织、体液)的检测、纯化和量化,(c)对食品安全

或国家安全造成危害的化合物或生物样品(例如有毒废物、炭疽)的检测、量化,(d)在医学或生理监测中的生理参数(例如葡萄糖、血氧水平、总血细胞计数)的量化,(e)来自生物样品(例如细胞、病毒、体液)的特异性DNA或RNA的检测和量化,(f)用于基因组分析的染色体和线粒体中DNA的遗传序列的测序和比较,或(g)检测反应产物(例如在药物合成或纯化期间)。

[0266] 在一些实施例中,分析物可以是生物标记物、环境标记物或食物标记物。在一些情况下,样品是液体样品,并且可以是诊断样品(例如唾液、血清、血液、痰液、尿液、汗液、泪液、精液或粘液);环境样品,获自河流、海洋、湖泊、雨、雪、污水、污水处理径流、农业径流、工业径流、自来水或饮用水;或食物样品,获自自来水、饮用水、制备的食品、处理的食品或生食品。

[0267] 在任何实施例中,样品可以是获自对象的诊断样品,分析物可以是生物标记物,并且样品中分析物的测量量可以是疾病或状况的诊断。

[0268] 在任何实施例中,本发明中的装置、设备、系统和方法可以还包括基于包括样品中生物标记物的测量量的信息诊断对象。在一些情况下,诊断步骤包括将包含所测量的生物标记物的量的数据发送到远程位置,并基于包括来自远程位置的测量的信息接收诊断。

[0269] 在任何实施例中,生物标记物可选自如美国临时申请第62/234,538号、第62/293,188号和/或第62/305,123号和/或PCT申请第PCT/US2016/054025号中所公开的表B1、2、3或7,其全部内容通过引用整体并入本文。在一些情况下,生物标记物是选自表B1、2或3的蛋白质。在一些情况下,生物标记物是选自表B2、3或7的核酸。在一些情况下,生物标记物是选自表B2的传染原衍生的生物标记物。在一些情况下,生物标记物是选自表B7的微小RNA(miRNA)。

[0270] 在任何实施例中,应用步骤b)可以包括从样品中分离miRNA以产生分离的miRNA样品,并将分离的miRNA样品应用于磁盘耦合柱点天线(QMAX装置)阵列。

[0271] 在任何实施例中,QMAX装置可含有各自结合选自表B1、B2、B3和/或B7的生物标记物的多种捕获剂,其中读取步骤d)包括获得样品中多种生物标记物的量的测量,并且其中样品中多种生物标记物的量是疾病或状况的诊断。

[0272] 在任何实施例中,捕获剂可以是抗体表位,生物标记物可以是结合抗体表位的抗体。在一些实施例中,抗体表位包括选自表B4、B5或B6的生物分子或其片段。在一些实施例中,抗体表位包括选自表B5的过敏原或其片段。在一些实施例中,抗体表位包括选自表B6的传染原衍生的生物分子或其片段。

[0273] 在任何实施例中,QMAX装置可以含有选自表B4、B5和/或B6的多个抗体表位,其中读取步骤d)包括获得样品中多个表位结合抗体的量的测量,并且其中样品中多个表位结合抗体的量是疾病或状况的诊断。

[0274] 在任何实施例中,样品可以是环境样品,并且其中分析物可以是环境标记物。在一些实施例中,环境标记物选自美国临时申请第62/234,538号和/或PCT申请第PCT/US2016/054025号中的表B8。

[0275] 在任何实施例中,所述方法可包括接收或提供报告,所述报告指示暴露于从中获得样品的环境的对象的安全性或危害性。

[0276] 在任何实施例中,该方法可以包括将包含所测量的环境标记物的量的数据发送到

远程位置，并且接收指示对暴露于从中获得样品的环境的对象的安全性或危害性的报告。

[0277] 在任何实施例中，QMAX装置阵列可以包括多个捕获剂，每个捕获剂结合选自表B8的环境标记物，并且其中读取步骤d)可以包括获得样品中多个环境标记物的量的测量。

[0278] 在任何实施例中，样品可以是食物样品，其中分析物可以是食物标记物，并且其中样品中食物标记物的量可以与供食用的食物的安全性相关。在一些实施例中，食物标记物选自表B9。

[0279] 在任何实施例中，该方法可以包括接收或提供报告，该报告指示对象食用从中获得样品的食品的安全性或危害性。

[0280] 在任何实施例中，该方法可以包括将包含所测量的该食物标记物的量的数据发送到远程位置并且接收指示对象食用从中获得样品的食物的安全性或危害性的报告。

[0281] 在任何实施例中，本文公开的装置、设备、系统和方法可包括各自结合选自表B9的食物标记物的多种捕获剂，所述表B9来自美国临时申请第62/234,538号和PCT申请第PCT/US2016/054025号，其中该获得可以包括获得该样品中的该多个食物标记物的量的测量，并且其中该样品中的该多个食物标记物的量可以与供食用的食物的安全性相关。

[0282] 本文还提供了用于实践本发明中的装置、系统和方法的试剂盒。

[0283] 样品的量可以是约一滴样品。样品的量可以是从刺破的手指或手指针刺收集的量。样品的量可以是从微针或静脉抽吸中收集的量。

[0284] 样品可在从来源获得后无需进一步处理而使用，或可被处理，例如以富集感兴趣的分析物、除去大颗粒物质、溶解或再悬浮固体样品等。

[0285] 可以采用将样品施加到QMAX装置的任何合适的方法。合适的方法可包括使用移液管、滴管、注射器等。在某些实施例中，当QMAX装置位于量计形式的支架上时，如下所述，可以通过将量计的样品接收区域浸入样品中来将样品施加到QMAX装置上。

[0286] 可以一次或多次收集样品。可以单独聚集和/或处理随时间收集的样品(如本文所述，通过应用于QMAX装置并获得样品中分析物的量的测量)。在一些情况下，随时间获得的测量可被聚集并且可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。

[0287] 冲洗QMAX装置以除去未结合的样品组分可以以任何方便的方式进行，如上所述。在某些实施例中，使用结合缓冲液冲洗QMAX装置的表面以除去未结合的样品组分。

[0288] 分析物的可检测标记可以通过任何方便的方法进行。分析物可以直接或间接标记。在直接标记中，在将样品施加到QMAX装置之前标记样品中的分析物。在间接标记中，样品中的未标记分析物在样品施加到QMAX装置以捕获未标记分析物后被标记，如下所述。

[0289] (10)应用

[0290] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以用于各种应用(领域和样品)。在本文中公开了或在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和总结了应用，所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0291] 在一些实施例中，本文公开的装置、设备、系统和方法用于各种领域的各种不同应用中，其中需要确定样品中一种或多种分析物的存在或不存在、量化和/或扩增。例如，在某

些实施例中，题述装置、设备、系统和方法用于检测蛋白质、肽、核酸、合成化合物、无机化合物、有机化合物、细菌、病毒、细胞、组织、纳米颗粒及其它分子、化合物、混合物及其物质。可以使用题述装置、设备、系统和方法的各种领域包括但不限于：人类疾病和状况的诊断、管理和/或预防、兽医疾病和状况的诊断、管理和/或预防、植物疾病和状况的诊断、管理和/或预防、农业用途、兽医用途、食品测试、环境测试和净化、药物测试和预防等。

[0292] 本发明的应用包括但不限于：(a)与某些疾病或疾病的某些阶段相关的化合物或生物分子的检测、纯化、量化和/或扩增，所述疾病例如感染性和寄生虫病、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)来自环境(例如水、土壤)的细胞和/或微生物(例如病毒、真菌和细菌)或生物样品(例如组织、体液)的检测、纯化、量化和/或扩增，(c)对食品安全、人类健康或国家安全构成危害的化合物或生物样品(例如有毒废物、炭疽)的检测、量化，(d)在医学或生理监测中的生理参数(例如葡萄糖、血氧水平、总血细胞计数)的检测和量化，(e)来自生物样品(例如细胞、病毒、体液)的特异性DNA或RNA的检测和量化，(f)用于基因组分析的染色体和线粒体中DNA的遗传序列的测序和比较，或(g)反应产物(例如在药物的合成或纯化期间)的检测和量化。

[0293] 在一些实施例中，题述装置、设备、系统和方法用于检测样品中的核酸、蛋白质或其它分子或化合物。在某些实施例中，所述装置、设备、系统和方法用于快速、临床检测和/或量化生物样品中的一种或以上、两种或以上，或三种或以上疾病生物标记物，例如用于诊断、预防和/或管理对象中的疾病状况。在某些实施例中，所述装置、设备、系统和方法用于检测和/或量化环境样品中的一种或以上、两种或以上，或三种或以上环境标记物，所述环境样品例如获自河流、海洋、湖泊、雨、雪、污水、污水处理径流、农业径流、工业径流、自来水或饮用水的样品。在某些实施例中，所述装置、设备、系统和方法用于检测和/或量化来自食物样品的一种或以上、两种或以上，或三种或以上食物标记物，所述食物样品获自自来水、饮用水、制备的食品、处理的食品或生食品。

[0294] 在一些实施例中，题述装置是微流体装置的一部分。在一些实施例中，题述装置、设备、系统和方法用于检测荧光或发光信号。在一些实施例中，题述装置、设备、系统和方法包括通信装置或与通信装置一起使用，通信装置例如但不限于：移动电话、平板计算机和膝上型计算机。在一些实施例中，题述装置、设备、系统和方法包括标识符或与标识符一起使用，所述标识符例如但不限于光学条形码、射频ID标志或其组合。

[0295] 在一些实施例中，样品是获自对象的诊断样品，分析物是生物标记物，并且样品中分析物的测量量是疾病或状况的诊断。在一些实施例中，题述装置、系统和方法还包括向所述对象接收或提供报告，所述报告指示在没有患有所述疾病或状况或处于患有所述疾病或状况的低风险的个体中所述生物标记物的测量量和所述生物标记物的测量值范围，其中相对于所述测量值范围的所述生物标记物的测量量是疾病或状况的诊断。

[0296] 在一些实施例中，样品是环境样品，并且其中分析物是环境标记物。在一些实施例中，所述题述装置、系统和方法包括接收或提供报告，所述报告指示暴露于从中获得样品的环境的对象的安全性或危害性。在一些实施例中，本题述装置、系统和方法包括将包含所测量的环境标记物的量的数据发送到远程位置，并且接收指示对暴露于从中获得样品的环境的对象的安全性或危害性的报告。

[0297] 在一些实施例中，样品是食物样品，其中分析物是食物标记物，并且其中样品中食

物标记物的量与供食用的食物的安全性相关。在一些实施例中，题述装置、系统和方法包括接收或提供报告，该报告指示对象食用从中获得样品的食物的安全性或危害性。在一些实施例中，题述装置、系统和方法包括将包含所测量的该食物标记物的量的数据发送到远程位置并且接收指示对象食用从中获得样品的食物的安全性或危害性的报告。

[0298] (11)尺寸

[0299] 本文公开的装置、设备、系统和方法可包括或使用QMAX装置，其可包括板和间隔件。在一些实施例中，于2016年8月10日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号，和2016年12月9日提交的美国临时申请第62,431,639号，和2017年2月8日提交的第62/456,287号中列出、描述和/或总结了QMAX装置及其适配器的各个组件的尺寸，其全部内容通过引用并入本文。

[0300] 在一些实施例中，尺寸列于下表中：

[0301] 板：

[0302]

参数	实施例	优选实施例
形状	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；QMAX卡的两个(或多个)板可具有相同的尺寸和/或形状，或不同的尺寸和/或形状；	QMAX卡的两个(或多个)板中的至少一个具有用于用户安全考虑的圆角，其中圆角的直径为100um或以下、200um或以下、500um或以下、1mm或以下、2mm或以下、5mm或以下、10mm或以下、50mm或以下，或在任何两个值之间的范围内。
厚度	板中的至少一个的平均厚度是2nm或以下、10nm或以下、100nm或以下、200nm或以下、500nm或以下、1000nm或以下、2μm(微米)或以下、5μm或以下、10μm或以下、20μm或以下、50μm或以下、100μm或以下、150μm以下小于，200μm或以下、300μm或以下、500μm或以下、800μm或以下、1mm(毫米)或以下、2mm或以下、3mm或以下、5mm或以下、10mm或以下、20mm或以下、50mm或以下、100mm或以下、500mm或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内。	对于板中的至少一个是在0.5至1.5mm的范围内；约1mm；在0.15至0.2mm的范围内；或约0.175mm
横向面积	对于板中的至少一个是1mm^2(平方毫米)或以下、10mm^{2}或以下、25mm^{2}或以下、50mm^{2}或以下、75mm^{2}或以下、1cm^2(平方厘米)或以下、2cm^{2}或以下、3cm^{2}或以下、4cm^{2}或以下、5cm^{2}或以下、10cm^{2}或以下、100cm^{2}或以下、500cm^{2}或以下、1000cm^{2}或以下、5000cm^{2}或以下、10,000cm^{2}或以下、10,000cm^{2}或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内	对于QMAX卡的至少一个板，在500至1000mm^{2}的范围内；或约750mm^2。
横向线性尺寸(宽度、长度	对于QMAX卡的板中的至少一个是1mm或以下、5mm或以下、10mm或以下、15mm或以下、20mm或以下、25mm或以下、30mm或以	对于QMAX卡的板中的至少一个是在20至30mm的范围内；或约24mm

	或直径等）	下、35mm 或以下、40mm 或以下、45mm 或以下、50mm 或以下、100mm 或以下、200mm 或以下、500mm 或以下、1000mm 或以下、5000mm 或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内	
[0303]	凹槽宽度	1μm 或以下、10μm 或以下、20μm 或以下、30μm 或以下、40μm 或以下、50μm 或以下、100μm 或以下、200μm 或以下、300μm 或以下、400μm 或以下、500μm 或以下、7500μm 或以下、1mm 或以下、5mm 或以下、10mm 或以下、100mm 或以下、1000mm 或以下，或在这些值中的任何两个之间的范围内。	在 1mm 至 10mm 的范围内；或 约 5mm

[0304] 铰链：

参数	实施例	优选实施例
数量	1、2、3、4、5 或更多	1 或 2
铰链接头长度	1mm 或以下、2mm 或以下、3mm 或以下、4mm 或以下、5mm 或以下、10mm 或以下、15mm 或以下、20mm 或以下、25mm 或以下、30mm 或以下、40mm 或以下、50mm 或以下、100mm 或以下、200mm 以下或 500mm 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内	在 5mm 至 30mm 的范围内。
比例（铰链接头长度相对于对准板边缘长度）	1.5 或以下、1 或以下、0.9 或以下、0.8 或以下、0.7 或以下、0.6 或以下、0.5 或以下、0.4 或以下、0.3 或以下、0.2 或以下、0.1 或以下、0.05 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内。	在 0.2 至 1 的范围内；或约 1
[0305] 面积	1mm^2 或以下、5mm^2 或以下、10mm^2 或以下、20mm^2 或以下、30mm^2 或以下、40mm^2 或以下、50mm^2 或以下、100mm^2 或以下、200mm^2 或以下、500mm^2 或以下，或在任何两个值之间的范围内	在 20 至 200mm^2 的范围内；或约 120mm^2
比例（铰链面积相对于板面积）	1 或以下、0.9 或以下、0.8 或以下、0.7 或以下、0.6 或以下、0.5 或以下、0.4 或以下、0.3 或以下、0.2 或以下、0.1 或以下、0.05 或以下、0.01 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内	在 0.05 至 0.2 的范围内，约 0.15
最大开放度	15 或以下、30 或以下、45 或以下、60 或以下、75 或以下、90 或以下、105 或以下、120 或以下、135 或以下、150 或以下、165 或以下、180 或以下、195 或以下、210 或以下、225 或以下、240 或以下、255 或以下、270 或以下、285 或以下、300 或以下、315 或以	在 90 至 180 度的范围内

[0306]

	下、330 或以下、345 或以下或 360 或以下度，或在这些值中任何两个之间的范围内	
层数	1、2、3、4、5 或更多	1 或 2
层厚度	0.1μm 或以下、1μm 或以下、2μm 或以下、3μm 或以下、5μm 或以下、10μm 或以下、20μm 或以下、30μm 或以下、50μm 或以下、100μm 或以下、200μm 或以下、300μm 或以下、500μm 或以下、1mm 或以下、2mm 或以下，以及这些值中任何两个之间的范围	在 20μm 至 1mm 的范围内；或 约 50μm
角度保持	将角度调节限制为不超过±90、±45、±30、±25、±20、±15、±10、±8、±6、±5、±4、±3、±2 或±1，或在这些值中任何两个之间的范围内	不超过±2

[0307] 凹口：

[0308]

参数	**实施例**	**优选实施例**
数量	1、2、3、4、5 或更多	1 或 2
形状	圆形、椭圆形、矩形、三角形、多边形、环形或这些形状的任何重叠或部分。	圆的一部分
定位	沿着除了铰链边缘之外的任何边缘的任何位置，或者通过非铰链边缘接合的任何角	
横向线性尺寸（沿边缘的长度、半径等）	1mm 或以下、2.5mm 或以下、5mm 或以下、10mm 或以下、15mm 或以下、20mm 或以下、25mm 或以下、30mm 或以下、40mm 或以下、50mm 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内	在 5mm 至 15mm 的范围内；或约 10mm
面积	1mm^2（平方毫米）或以下、10mm^2 或以下、25mm^2 或以下、50mm^2 或以下、75mm^2 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内。	在 10 至 150mm^2 的范围内；或约 50mm^2

[0309] 沟槽：

[0310]

参数	**实施例**	**优选实施例**
数量	1、2、3、4、5 或更多	1 或 2
形状	闭合（圆形、椭圆形、矩形、三角形、多边形、环形，或这些形状的任何重叠或部分）或开放式（直线、曲线、弧形、分支树，或具有开放式的任何其他形状）；	
长度	0.001mm 或以下、0.005mm 或以下、0.01mm 或以下、0.05mm 或以下、0.1mm 或以下、0.5mm 或以下、1mm 或以下、2mm 或以下、5mm 或以下、10mm 或以下、20mm 或以下、50mm 或以下、100mm 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内	
横截面面积	0.001mm^2 或以下、0.005mm^2 或以下、0.01mm^2 或以下、0.05mm^2 或以下、0.1mm^2 或以下、	

	0.5mm² 或以下、1mm² 或以下、2mm² 或以下、5mm² 或以下、10mm² 或以下、20mm² 或以下，或在这些值中任何两个之间的范围内。	
体积	0.1μL 或以上、0.5μL 或以上、1μL 或以上、2μL 或以上、5μL 或以上、10μL 或以上、30μL 或以上、50μL 或以上、100μL 或以上、500μL 或以上、1mL 或以上，或在这些值中任何两个之间的范围内	在 1μL 至 20μL 的范围内；或 约 5μL

[0311]

[0312] 插座插槽

参数	实施例	优选实施例
接收区域形状	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；	
滑轨间隙尺寸与卡厚度的差异	100nm、500nm、1μm、2μm、5μm、10μm、50μm、100μm、300μm、500μm、1mm、2mm、5mm、1cm，或在这些值中任何两个之间的范围内。	在 50 至 300μm 的范围内；或约 75μm
接收区域和卡区域的差异	1mm²（平方毫米）或以下、10mm² 或以下、25mm² 或以下、50mm² 或以下、75mm² 或以下、1cm²（平方厘米）或以下、2cm² 或以下、3cm² 或以下、4cm² 或以下、5cm² 或以下、10cm² 或以下、100cm² 或以下，或在任何两个值之间的范围内。	

[0313]

[0314] (12)云

[0315] 本文公开的装置/设备、系统和方法可以采用云技术进行数据传输、存储和/或分析。在本文中公开了，在分别于2016年8月10日和2016年9月14日提交的PCT申请(指定美国)第PCT/US2016/046437号和第PCT/US2016/051775号、2017年2月7日提交的美国临时申请第62/456065号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456287号、2017年2月8日提交的美国临时申请第62/456504号中列出、描述和总结了相关的云技术，所有这些申请的全部内容出于所有目的并入本文。

[0316] 在一些实施例中，云存储和计算技术可以涉及云数据库。仅作为示例，云平台可包括私有云、公共云、混合云、社区云、分布式云、云间云、多云等，或其任何组合。在一些实施例中，移动装置(例如智能电话)可以通过任何类型的网络连接到云，包括局域网(LAN)或广域网(WAN)。

[0317] 在一些实施例中，与样品相关的数据(例如，样品的图像)被发送到云中而无需移动装置的处理，并且可以远程地进行进一步的分析。在一些实施例中，与样品相关的数据由移动装置处理，并且结果被发送到云。在一些实施例中，原始数据和结果都被传输到云。

[0318] 柱间隔件平顶

[0319] 在本发明的某些实施例中，间隔件是具有平顶和固定在一个板上的脚部的柱，其中平顶具有表面变化小的平滑度，且变化小于5、10nm、20nm、30nm、50nm、100nm、200nm、300nm、400nm、500nm、600nm、700nm。800nm、1000nm，或在任何两个值之间的范围内。优选的平柱顶部平滑度是50nm或以下的表面变化。

[0320] 此外，表面变化是相对于间隔件高度的，且柱平顶表面变化与间隔件高度的比例小于0.5%、1%、3%、5%、7%、10%、15%、20%、30%、40%，或在任何两个值之间的范围

内。优选的平柱顶平滑度具有小于2%、5%或10%的柱平顶表面变化与间隔件高度的比例。

[0321] 柱间隔件侧壁角

[0322] 在本发明的某些实施例中，间隔件是具有侧壁角的柱。在一些实施例中，侧壁角小于5度(从表面的法线测量)、10度、20度、30度、40度、50度、70度，或在任何两个值之间的范围内。在优选实施例中，侧壁角小于5度、10度或20度。

[0323] 通过不精确力按压形成均匀的薄流体层

[0324] 在本发明的某些实施例中，通过使用具有不精确力的按压形成均匀的薄流体样品层。术语“不精确按压力”没有增加细节，然后增加不精确按压力的定义。如本文所用，在力(例如，“不精确按压力”)的上下文中，术语“不精确”是指力

[0325] (a)具有在施加力时未精确知道或精确预测的量值；(b)具有在0.01kg/cm^2(平方厘米)至100kg/cm^{2}范围内的压强，(c)大小随着力的一次到下一次的施加而变化；以及(d)(a)和(c)中的力的不精确度(即变化)是实际施加的总力的至少20%。

[0326] 不精确的力可以由人手施加，例如，通过在拇指和食指之间将物体夹在一起，或者通过在拇指和食指之间将物体夹在一起并摩擦在一起。

[0327] 在一些实施例中，手动按压的不精确力具有0.01kg/cm^2、0.1kg/cm^2、0.5kg/cm^2、1kg/cm^2、2kg/cm^2、kg/cm^2、5kg/cm^2、10kg/cm^2、20kg/cm^2、30kg/cm^2、40kg/cm^2、50kg/cm^2、60kg/cm^2、100kg/cm^2、150kg/cm^2、200kg/cm^2，或任何两个值之间的范围；以及0.1kg/cm^{2}至0.5kg/cm^2、0.5kg/cm^{2}至1kg/cm^2、1kg/cm^{2}至5kg/cm^2、5kg/cm^{2}至10kg/cm^2(压强)的优选范围的压强。

[0328] 间隔件填充因子.

[0329] 术语“间隔件填充因子”或“填充因子”是指间隔件接触区域与总板区域的比例，其中间隔件接触区域在闭合构造下是指间隔件的顶表面接触到板的内表面的接触区域，总板区域是指间隔件平顶接触的板内表面的总区域。由于存在两个板并且每个间隔件具有两个接触表面，每个接触表面接触一个板，所以填充因子是最小的填充因子。

[0330] 例如，如果间隔件是具有正方形(10μm×10μm)的平顶、几乎均匀的横截面和2μm高的柱，并且间隔件是固定间隔的，固定间隔为100μm，则间隔件的填充因子是1%。如果在上述示例中，柱间隔件的脚部是15μm×15μm的正方形，则填充因子仍是定义的1%。

[0331] IDS^4/hE

[0332] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含第一板。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含第二板。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含间隔件。在某些实施例中，板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中，一个或两个板是柔性的；在某些实施例中，每个板包含具有用于接触流体样品的样品接触区域的内表面。在某些实施例中，每个板在其各自的外表面上包含力区域，该力区域用于施加按压力，该按压力迫使板在一起。在某些实施例中，板中的一个或两个包含永久固定在相应板的内表面上的间隔件。在某些实施例中，间隔件具有等于或小于200微米的预定的基本上均匀的高度和预定的固定间隔件间距。在某些实施例中，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E)(ISD^4/(hE))为5×10^{6}um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件中的至少一个位于样品接触区域

内。在某些实施例中，所述构造中的一个是开放构造，其中：两个板是部分或完全分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，构造中的另一个是闭合构造，闭合构造是在样品沉积在开放构造并且通过在力区上施加按压力迫使板达到闭合构造之后配置的；并且在闭合构造中：至少一部分样品被两个板压缩成厚度非常均匀的层并且相对于板基本上是停滞的，其中层的均匀厚度是由两个板的样品接触区域限定的并且是由板和间隔件调节的。

[0333] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含当板被配置为开放构造时将流体样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，开放构造是其中两个板部分地或完全地分开，并且板之间的间距不通过间隔件调节的构造。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含迫使两个板进入闭合构造，其中：至少一部分样品被两个板压缩成基本上均匀厚度的层，其中该层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0334] 在本公开的某些实施例中，用于分析流体样品的装置可包含第一板。在本公开的某些实施例中，用于分析流体样品的装置可包含第二板。在本公开的某些实施例中，用于分析流体样品的装置可包含间隔件。在某些实施例中，板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中，一个或两个板是柔性的；在某些实施例中，每个板在其各自的内表面上具有用于接触流体样品的样品接触区域。在某些实施例中，板中的一个或两个包含间隔件，并且间隔件固定在相应板的内表面上。在某些实施例中，间隔件具有等于或小于200微米的预定的基本上均匀的高度，并且间隔件间距是预先确定的。在某些实施例中，间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa。在某些实施例中，间隔件中的至少一个位于样品接触区域内。在某些实施例中，所述构造中的一个是开放构造，其中：两个板是部分或完全分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，所述构造中的另一个是在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的闭合构造；以及在闭合构造中：至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层，其中层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0335] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含当板被配置为开放构造时将流体样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，开放构造是其中两个板部分地或完全地分开，并且板之间的间距不通过间隔件调节的构造。在本公开的某些实施例中，一种通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含迫使两个板进入闭合构造。在某些实施例中，至少一部分样品被两个板压缩成基本上均匀厚度的层，其中该层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0336] 在本公开的某些实施例中，用于分析流体样品的装置可包含第一板。在本公开的某些实施例中，用于分析流体样品的装置可包含第二板。在某些实施例中，板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中，一个或两个板是柔性的；在某些实施例中，每个板在其各自的表面上具有用于接触含有分析物的样品的样品接触区域。在某些实施例中，板中

的一个或两个包含永久固定于样品接触区域内的板上的间隔件，其中间隔件具有基本上均匀的预定高度和预定的固定间隔件间距，间隔件间距比分析物的尺寸大至少约2倍，至多200um，并且其中间隔件中的至少一个在样品接触区域内。在某些实施例中，构造中的一个是开放构造，其中：两个板是分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，所述构造中的另一个是在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的闭合构造；以及在闭合构造中：至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层，其中层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0337] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含将流体样品沉积在板中的一个或两个上；当所述板被配置为开放构造时，其中所述开放构造是其中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节的构造。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含迫使两个板进入闭合构造，其中：至少一部分样品被两个板压缩成基本上均匀厚度的层，其中该层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0338] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含第一板。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含第二板。在本公开的某些实施例中，一种用于通过按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的装置可包含间隔件。在某些实施例中，板可相对于彼此移动成不同的构造。在某些实施例中，一个或两个板是柔性的。在某些实施例中，每个板在其各自的内表面上包含用于接触和/或压缩流体样品的样品接触区域。在某些实施例中，每个板在其各自的外表面上包含用于施加迫使板在一起的力的区域。在某些实施例中，板中的一个或两个包含永久固定在相应板的内表面上的间隔件。在某些实施例中，间隔件具有等于或小于200微米的预定的基本上均匀的高度、预定的宽度和预定的间隔件间距。在某些实施例中，间隔件间距与间隔件宽度之比为1.5或更大。在某些实施例中，间隔件中的至少一个位于样品接触区域内。在某些实施例中，所述构造中的一个是开放构造，其中：两个板是部分或完全分开的，板之间的间距不由间隔件调节，并且样品沉积在板中的一个或两个上。在某些实施例中，所述构造中的另一个是在所述样品沉积在所述开放构造之后配置的闭合构造；以及在闭合构造中：至少一部分样品被两个板压缩为厚度非常均匀的层，并且相对于板基本上是停滞的，其中层的均匀厚度由两个板的样品接触区域限定并且由板和间隔件调节。

[0339] 在本公开的某些实施例中，一种用于通过用不精确的按压力按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含获得本公开的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于通过用不精确的按压力按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含获得流体样品。在本公开的某些实施例中，一种用于通过用不精确的按压力按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含将所述样品沉积在板中的一个或两个上；当所述板被配置为开放构造时，其中所述开放构造是其中所述两个板部分地或完全地分开并且所述板之间的间距不由所述间隔件调节的构造。在本公开的某些实施例中，一种用于通过用不精确的按压力按压形成具有均匀预定厚度的薄流体样品层的方法可包含迫使两个板进

入闭合构造，其中：至少一部分样品被两个板压缩成基本上均匀厚度的层，其中该层的均匀厚度被板的样品接触表面限定并且由板和间隔件调节。

[0340] 在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部和用于接触另一个板的平顶表面。在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部，用于接触另一板的平顶表面，基本上均匀的横截面。在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部和用于接触另一个板的平顶表面，其中柱的平顶表面的变化小于10nm。在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部和用于接触另一个板的平顶表面，其中柱的平顶表面的变化小于50nm。在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部和用于接触另一个板的平顶表面，其中柱的平顶表面的变化小于50nm。在某些实施例中，间隔件为柱的形状，该柱具有固定于其中一个板上的脚部和用于接触另一个板的平顶表面，其中柱的平顶表面的变化小于10nm、20nm、30nm、100nm、200nm，或在任两个值范围内。

[0341] 在某些实施例中，间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa。在某些实施例中，样品包含分析物，并且预定的恒定间隔件间距比分析物的尺寸大至少约2倍，至多200um。在某些实施例中，样品包含分析物，预定的恒定间隔件间距比分析物的尺寸大至少约2倍，至多200um，并且间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa。

[0342] 在某些实施例中，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度(h)和杨氏模量(E)(ISD^4/(hE))为5×10^6um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量(ISD^4/(hE))为1×10^6um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量(ISD^4/(hE))为5×10^5um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量(ISD^4/(hE))为1×10^5um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa，间隔件间距(IDS)的四次方除以柔性板的厚度和杨氏模量(ISD^4/(hE))为1×10^4um^3/GPa或以下。在某些实施例中，间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为20MPa。

[0343] 在本公开的某些实施例中，间隔件间距与间隔件的平均宽度的比例为2或更大。在某些实施例中，间隔件间距与间隔件的平均宽度的比例为2或更大，并且间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子至少为2MPa。在某些实施例中，间隔件间距比分析物的尺寸大至少约2倍，至多200um。在某些实施例中，间隔件间距与间隔件宽度的比例为1.5或更大。在某些实施例中，间隔件的宽度与高度的比例为1或更大。在某些实施例中，间隔件的宽度与高度的比例为1.5或更大。在某些实施例中，间隔件的宽度与高度的比例为2或更大。在某些实施例中，间隔件的宽度与高度的比例为大于2、3、5、10、20、30、50，或在任两个值的范围内。

[0344] 在某些实施例中，将两个板按压成闭合构造的力是不精确的按压力。在某些实施例中，将两个板按压成闭合构造的力是由人手提供的不精确的按压力。在某些实施例中，迫使两个板将至少一部分样品压缩成具有基本上均匀厚度的层包含平行地或顺序地适形按压所述板中的至少一个板的区域以将板按压在一起至闭合构造，其中适形按压在至少一部分样品上的板上产生基本上均匀的压力，并且按压使至少一部分样品在板的样品接触表面之间横向地展开，并且其中闭合构造是其中在均匀厚度区域层中的板之间的间距是由间隔件调节的构造；并且其中样品的减小的厚度减少了用于将储存位点上的试剂与样品混合的

时间。在某些实施例中，按压力是不精确力，不精确力具有在施加力时(a)未知并且不可预测，或(b)不能知道并且不能在等于或优于所施加的平均按压力的20％的精度内预测的量值。在某些实施例中，按压力是不精确力，不精确力具有在施加力时(a)未知并且不可预测，或(b)不能知道并且不能在等于或优于所施加的平均按压力的30％的精度内预测的量值。在某些实施例中，按压力是不精确力，不精确力具有在施加力时(a)未知并且不可预测，或(b)不能知道并且不能在等于或优于所施加的平均按压力的30％的精度内预测的量值；并且其中厚度非常均匀的层具有20％或以下的均匀厚度变化。在某些实施例中，按压力是不精确力，不精确力具有在施加力时不能在等于或优于30％、40％、50％、70％、100％、200％、300％、500％、1000％、2000％或在任两个值之间的范围内确定的量值。

[0345] 在本公开的某些实施例中，柔性板的厚度在10um到200um的范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度在20um到100um的范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度在25um到180um的范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度在200um到260um的范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度等于或小于250um、225um、200um、175um、150um、125um、100um、75um、50um、25um、10um、5um、1um，或在任两个值之间的范围内。在某些实施例中，样品具有的粘度在0.1至4(mPa s)范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度在200um到260um的范围内。在某些实施例中，柔性板的厚度在20um到200um范围内和杨氏模量在0.1到5GPa范围内。

[0346] 在本公开的某些实施例中，样品沉积是在不使用任何转移装置的情况下直接从对象到板的沉积。在某些实施例中，在的沉积期间，沉积在所述板上的样品的量是未知的。在某些实施例中，方法还包含分析样品的分析。在某些实施例中，分析包含通过测量相关样品体积的横向区域并从横向区域和预定间隔件高度计算体积来计算相关样品体积的体积。在某些实施例中，处于闭合构造的两个板之间的样品位置处的pH值通过该位置的体积和通过分析从该位置取得的图像来确定。在某些实施例中，通过分析图像的确定使用人工智能和机器学习。

[0347] 在某些实施例中，分析步骤(e)包含测量：i.成像，ii.选自光致发光、电致发光和电化学发光的发光，iii.表面拉曼散射，iv.选自电阻、电容和电感的电阻抗，或v.i-iv的任何组合。在某些实施例中，分析包含读取，图像分析，或计数分析物，或其组合。在某些实施例中，样品包含一种或多种分析物，并且一个或两个板样品接触表面包含一个或多个结合位点，每个结合位点结合并固定各自的分析物。在某些实施例中，一个或两个板样品接触表面包含一个或多个储存位点，每个储存位点储存一种或多种试剂，其中试剂在样品中溶解和扩散。在某些实施例中，一个或两个板样品接触表面包含一个或多个扩增位点，当分析物或标签距离扩增位点500nm内时，扩增位点各自能够扩增来自分析物或分析物的标签的信号。在某些实施例中，i.一个或两个板样品接触表面包含一个或多个结合位点，每个结合位点结合并固定相应的分析物；或ii.一个或两个板样品接触表面包含一个或多个储存位点，每个储存位点储存一种或多种试剂；其中所述试剂溶解并扩散在所述样品中，并且其中所述样品含有一种或多种分析物；或iii.一个或多个扩增位点，当所述分析物或标签距离所述扩增位点500nm时，扩增位点各自能够扩增来自所述分析物或所述分析物的标签的信号；或iv.i-iii的任何组合。

[0348] 在某些实施例中，液体样品是生物样品，生物样品选自羊水、房水、玻璃体液、血液(例如，全血、分馏的血液、血浆或血清)、母乳、脑脊髓液(CSF)、耳垢(耳屎)、乳糜、食糜、内

淋巴、外淋巴、粪便、呼吸、胃酸、胃液、淋巴液、粘液(包括鼻引流液和痰液)、心包液、腹膜液、胸膜液、脓液、风湿液、唾液、呼出的冷凝物、皮脂、精液、痰液、汗液、滑液、泪液、呕吐物和尿液。

[0349] 在某些实施例中,在闭合构造中均匀厚度层小于150um。在某些实施例中,按压由加压液体、加压气体或保形材料提供。在某些实施例中,分析包含计数均匀厚度层中的细胞。在某些实施例中,分析包含在均匀厚度的层中进行测定。在某些实施例中,测定是结合测定或生物化学测定。在某些实施例中,沉积的样品具有小于0.5uL的总体积。在某些实施例中,将多滴样品沉积在板中的一个或两个上。

[0350] 在某些实施例中,所述间隔件间距在1μm至120μm的范围内。在某些实施例中,所述间隔件间距在120μm至50μm的范围内。在某些实施例中,所述间隔件间距在120μm至200μm的范围内。在某些实施例中,柔性板的厚度在20um至250um范围内和杨氏模量在0.1至5GPa范围内。在某些实施例中,对于柔性板,柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量在60到750GPa-um的范围内。

[0351] 在某些实施例中,均匀厚度样品层在至少1mm^2的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度样品层在至少3mm^2的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度样品层在至少5mm^2的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度样品层在至少10mm^2的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度样品层在至少20mm^2的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,均匀厚度样品层在20mm^2至100mm^2范围内的横向区域上是均匀的。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-5%或更高。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-10%或更高。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-20%或更高。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-30%或更高。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-40%或更高。在某些实施例中,厚度均匀的样品层的厚度均匀性高达+/-50%或更高。

[0352] 在某些实施例中,间隔件是截面形状选自圆形、多边形、环形、正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。在某些实施例中,间隔件具有柱状形状,具有基本上平顶表面,且具有基本上均匀的横截面,其中对于每一间隔件,所述间隔件的横向尺寸与其高度的比例至少为1。在某些实施例中,间隔件间距是固定间隔的。在某些实施例中,间隔件具有1%或更高的填充因子,其中填充因子是间隔件接触区域与总板区域的比例。在某些实施例中,间隔件的杨氏模量乘以间隔件的填充因子等于或大于20MPa,其中填充因子是间隔件接触区域与所述总板区域的比例。在某些实施例中,在闭合构造下两个板之间的间距小于200um。在某些实施例中,在闭合构造下两个板之间的间距是选自1.8um和3.5um之间的值。在某些实施例中,其中间距通过直接压印板或注塑成型板而固定在板上。在某些实施例中,板和间隔件的材料选自聚苯乙烯、PMMA、PC、COC、COP或另一塑料。在某些实施例中,间隔件具有柱状形状,且间隔件的侧壁拐角具有曲率半径至少为1μm的圆形形状。在某些实施例中,间隔件具有至少1000/mm^2的密度。在某些实施例中,板中的至少一个是透明的。在某些实施例中,用于制造间隔件的模具由含有特征的模具制造,特征通过(a)直接反应性离子蚀刻或离子束蚀刻或(b)通过重复或多次重复反应性离子蚀刻或离子束蚀刻的特征来制造。

[0353] 在某些实施例中,间隔件被配置为使得填充因子在1%到5%的范围内。在某些实施例中,表面变化是相对于间隔件高度的,且柱平顶表面变化与间隔件高度的比例小于

0.5%、1%、3%、5%、7%、10%、15%、20%、30%、40%，或在任何两个值之间的范围内。优选的平柱顶平滑度具有小于2%、5%或10%的柱平顶表面变化与间隔件高度的比例。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子在1%到5%的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子在5%到10%的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子在10%到20%的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子在20%到30%的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子为5%、10%、20%、30%、40%、50%，或在任何两个值之间的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子为50%、60%、70%、80%，或在任何两个值之间的范围内。

[0354] 在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在2MPa与10MPa的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在10MPa与20MPa的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在20MPa与40MPa的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在40MPa与80MPa的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在80MPa与120MPa的范围内。在某些实施例中，间隔件被配置为使得填充因子乘以间隔件的杨氏模量在120MPa到150MPa的范围内。

[0355] 在某些实施例中，装置进一步包含涂覆在一个或两个板上的干燥试剂。在某些实施例中，装置在一个或两个板上进一步包含具有预定区域的干结合位点，其中干结合位点结合并固定样品中的分析物。在某些实施例中，装置在一个或两个板上进一步包含可释放干燥试剂和释放时间控制材料，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。在某些实施例中，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。在某些实施例中，试剂包含抗凝血剂和/或染色试剂。在某些实施例中，试剂包含细胞裂解试剂。在某些实施例中，装置在一个或两个板上进一步包含一个或多个干结合位点和/或一个或多个试剂位点。在某些实施例中，分析物包含分子(例如，蛋白质、肽、DNA、RNA、核酸或其它分子)、细胞、组织、病毒和具有不同形状的纳米颗粒。在某些实施例中，分析物包含白细胞、红细胞和血小板。在某些实施例中，分析物是染色的。

[0356] 在某些实施例中，调节所述均匀厚度的层的所述间隔件具有至少1%的填充因子，其中所述填充因子是与所述均匀厚度的层接触的所述间隔件区域跟与所述均匀厚度的层接触的所述总板区域的比例。在某些实施例中，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，其中填充因子是与均匀厚度的层接触的间隔件区域跟与均匀厚度的层接触的总板区域的比例。在某些实施例中，对于柔性板，柔性板的厚度乘以柔性板的杨氏模量在60到750GPa-um的范围内。在某些实施例中，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$10^6 um^3/GPa$。

[0357] 在某些实施例中，一个或两个板包含位于板的表面上或内部的位置标记物，位置标记物提供板的位置的信息。在某些实施例中，一个或两个板可以包括在板的表面上或内部的刻度标记，其提供样品和/或板的结构的横向尺寸的信息。在某些实施例中，一个或两个板在板的表面上或内部包含成像标记物，其有助于样品的成像。在某些实施例中，间隔件可用作位置标记物、比例标记物、成像标记物或其任何组合。

[0358] 在某些实施例中，均匀厚度层的平均厚度约等于样品中分析物的最小尺寸。在某

些实施例中，所述间隔件间距在7μm至50μm的范围内。在某些实施例中，所述间隔件间距在50μm至120μm的范围内。在某些实施例中，所述间隔件间距在120μm至200μm(微米)的范围内。在某些实施例中，所述间隔件间距基本上是固定间隔的。在某些实施例中，间隔件是截面形状选自圆形、多边形、环形、正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。

[0359] 在某些实施例中，间隔件具有柱状形状且具有基本上平顶表面，其中对于每一间隔件，间隔件的横向尺寸与其高度的比例至少为1。在某些实施例中，每一间隔件具有间隔件的横向尺寸与其高度的比例至少为1。在某些实施例中，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。在某些实施例中，间隔件的最小横向尺寸在0.5um至100um的范围内。在某些实施例中，间隔件的最小横向尺寸在0.5um至10um的范围内。

[0360] 在某些实施例中，样品是血液。在某些实施例中，样品是未经液体稀释的全血。在某些实施例中，样品是生物样品，生物样品选自羊水、房水、玻璃体液、血液(例如，全血、分馏的血液、血浆或血清)、母乳、脑脊髓液(CSF)、耳垢(耳屎)、乳糜、食糜、内淋巴、外淋巴、粪便、呼吸、胃酸、胃液、淋巴液、粘液(包括鼻引流液和痰液)、心包液、腹膜液、胸膜液、脓液、风湿液、唾液、呼出的冷凝物、皮脂、精液、痰液、汗液、滑液、泪液、呕吐物和尿液。在某些实施例中，样品是生物样品、环境样品、化学样品或临床样品。

[0361] 在某些实施例中，间隔件具有柱状形状，且间隔件的侧壁拐角具有曲率半径至少为1μm的圆形形状。在某些实施例中，间隔件具有至少100/mm^2的密度。在某些实施例中，间隔件具有至少1000/mm^2的密度。在某些实施例中，板中的至少一个是透明的。在某些实施例中，板中的至少一个是由柔性聚合物制成。在某些实施例中，对于压缩板的压力，间隔件是不可压缩和/或独立地，板中只有一个是柔性的。在某些实施例中，柔性板的厚度在10um到200um的范围内。在某些实施例中，变化小于30％。在某些实施例中，变化小于10％。在某些实施例中，变化小于5％。

[0362] 在某些实施例中，第一板和第二板连接且被配置为通过折叠板而从开放构造改变到闭合构造。在某些实施例中，第一板和第二板通过铰链连接且被配置为通过沿着铰链折叠板而从开放构造改变到闭合构造。在某些实施例中，第一板和第二板通过铰链连接到板，铰链是单独材料，且被配置为通过沿着铰链折叠板而从开放构造改变到闭合构造。在某些实施例中，第一板和第二板由单片材料制成且被配置为通过折叠板而从开放构造改变到闭合构造。在某些实施例中，均匀厚度样品层在至少1mm^2的横向区域上是均匀的。

[0363] 在某些实施例中，装置被配置为在60秒或更短时间内分析样品。在某些实施例中，在闭合构造下，最终样品厚度装置被配置为在60秒或更短时间内分析样品。在某些实施例中，在闭合构造下，最终样品厚度装置被配置为在10秒或更短时间内分析样品。

[0364] 在某些实施例中，干结合位点包含捕获剂。在某些实施例中，干结合位点包含抗体或核酸。在某些实施例中，可释放的干燥试剂是标记的试剂。在某些实施例中，可释放的干燥试剂是荧光标记的试剂。在某些实施例中，可释放的干燥试剂是荧光标记的抗体。在某些实施例中，可释放的干燥试剂是细胞染色剂。在某些实施例中，可释放的干燥试剂是细胞裂解剂。

[0365] 在某些实施例中，检测器是检测光信号的光检测器。在某些实施例中，检测器是检测电信号的电检测器。在某些实施例中，其中间距通过直接压印板或注塑成型板而固定在板上。在某些实施例中，板和间隔件的材料选自聚苯乙烯、PMMA、PC、COC、COP或另一塑料。

[0366] 在本公开的某些实施例中，一种用于使用移动电话快速分析样品的系统可以包含任一前述实施例的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于使用移动电话快速分析样品的系统可以包含移动通信装置。在某些实施例中，移动通信装置可以包含用于对该样品进行检测和/或成像的一个或多个相机。在某些实施例中，移动通信装置可以包含用于接收和/或处理所检测的信号和/或样品的图像并且用于远程通信的电子器件、信号处理器、硬件和软件。在某些实施例中，该系统还包含来自移动通信设备或外部源的光源。在同样的实施例中，如任一前述实施例的装置或方法的检测器由移动通信装置提供，并且在闭合构造中检测样品中的分析物。

[0367] 在某些实施例中，板中的一者具有结合分析物的结合位点，其中至少一部分均匀样品厚度层在结合位点上方，且基本上小于结合位点的平均横向线性尺寸。在某些实施例中，本公开的任何系统可包含壳体，所述壳体被配置为用于保持所述样品并且有待安装到所述移动通信装置上。在某些实施例中，该壳体包含用于促进移动通信装置对样品的成像和/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装置上的底座。在某些实施例中，壳体中的光学器件的元件可相对于壳体移动。在某些实施例中，移动通信装置可以被配置为将测试结果传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。在某些实施例中，移动通信装置进一步被配置为将关于测试和对象的信息传送到医学专业人员、医疗机构或保险公司。在某些实施例中，移动通信装置进一步被配置为将测试的信息传送到云网络，且云网络处理该信息以改进测试结果。在某些实施例中，移动通信装置进一步被配置为将测试和对象的信息传送到云网络，云网络处理该信息以改进测试结果，且改进的测试结果将发送回对象。在某些实施例中，移动通信装置被配置为从医学专业人员接收处方、诊断或建议。在某些实施例中，移动通信装置配置有硬件和软件以捕获样品的图像。在某些实施例中，移动通信装置配置有硬件和软件以分析图像中的测试位置和控制位置。在某些实施例中，移动通信装置配置有硬件和软件以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。

[0368] 在某些实施例中，板中的至少一个包含储存测定试剂的储存位点。在某些实施例中，至少一个相机从装置读取信号。在某些实施例中，移动通信装置经由wifi或蜂窝网络与远程位置通信。在某些实施例中，移动通信装置是移动电话。

[0369] 在本公开的某些实施例中，一种用于使用移动电话快速分析样品中的分析物的方法可以包含将样品沉积在任一前述系统实施例的装置上。在本公开的某些实施例中，一种用于使用移动电话快速分析样品中的分析物的方法可以包含测定沉积在该装置上的样品中的分析物以产生结果。在本公开的某些实施例中，一种用于使用移动电话快速分析样品中的分析物的方法可以包含将结果从移动通信装置传送到远离移动通信装置的位置。

[0370] 在某些实施例中，分析物包含分子(例如，蛋白质、肽、DNA、RNA、核酸或其它分子)、细胞、组织、病毒和具有不同形状的纳米颗粒。在某些实施例中，分析物包含白细胞、红细胞和血小板。在某些实施例中，测定包含进行白细胞差异测定。在某些实施例中，本公开的方法可以包含在远程位置分析结果以提供分析结果。在某些实施例中，本公开的方法可以包含将分析结果从远程位置传送到移动通信装置。在某些实施例中，分析由远程位置处的医学专业人员完成。在某些实施例中，移动通信装置可以从远程位置处的医学专业人员接收处方、诊断或建议。

[0371] 在某些实施例中，样品是体液。在某些实施例中，体液是血液、唾液或尿液。在某些实施例中，样品是未经液体稀释的全血。在某些实施例中，测定步骤包含检测样品中的分析物。在某些实施例中，分析物是生物标记物。在某些实施例中，分析物是蛋白质、核酸、细胞或代谢物。在某些实施例中，方法包含计数红细胞的数目。在某些实施例中，方法包含计数白细胞的数目。在某些实施例中，方法包含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、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的数目。在某些实施例中，步骤(b)中进行的测定是结合测定或生物化学测定。

[0372] 在本公开的某些实施例中，一种用于分析样品的方法可以包含获得任一前述装置实施例的装置。在本公开的某些实施例中，一种用于分析样品的方法可以包含将样品沉积到装置的一个或两个板上。在本公开的某些实施例中，一种用于分析样品的方法可以包含将板置于闭合构造并且向板的至少一部分施加外力。在本公开的某些实施例中，一种用于分析样品的方法可以包含在板处于闭合构造时分析均匀厚度层。

[0373] 在某些实施例中，第一板在其表面上还包含第一预定测定位点和第二预定测定位点，其中当板处于闭合位置时，测定位点的边缘之间的距离显着大于均匀厚度层的厚度，其中至少一部分均匀厚度层在预定的测定位点上，并且其中样品具有一种或多种能够在样品中扩散的分析物。在某些实施例中，第一板在其表面上具有至少三个分析物测定位点，以及当板处于闭合位置时，任何两个相邻测定位点的边缘之间的距离远大于均匀厚度层的厚度，其中至少一部分均匀厚度层在测定位点上，并且其中样品具有一种或多种能够在样品中扩散的分析物。在某些实施例中，第一板在其表面上具有至少两个相邻的分析物测定位点(没有分开一定距离)，当板处于闭合位置时，该距离基本上大于均匀厚度层的厚度，其中至少一部分均匀厚度层在测定位点上，并且其中样品具有一种或多种能够在样品中扩散的分析物。在某些实施例中，分析物测定区域位于一对电极之间。在某些实施例中，测定区域由干燥试剂贴片界定。在某些实施例中，测定区域结合并固定分析物。在某些实施例中，测定区域由结合试剂贴片界定，结合试剂贴片在接触样品时，溶解到样品中，扩散到样品中并结合到分析物。在某些实施例中，所述间隔件间距在14μm至200μm的范围内。在某些实施例中，所述间隔件间距在7μm至20μm的范围内。在某些实施例中，间隔件是截面形状选自圆形、多边形、环形、正方形、矩形、卵形、椭圆形或其任何组合的柱。在某些实施例中，间隔件具有柱状形状且具有基本上平顶表面，其中对于每一间隔件，间隔件的横向尺寸与其高度的比例至少为1。在某些实施例中，间隔件具有柱状形状，且间隔件的侧壁拐角具有曲率半径至少为1μm的圆形形状。在某些实施例中，间隔件具有至少1000/mm^2的密度。在某些实施例中，板中的至少一个是透明的。在某些实施例中，至少一个板由柔性聚合物制成。在某些实施例中，板中只有一个是柔性的。在某些实施例中，区域确定装置是相机。在某些实施例中，板的样品接触区域中的区域，其中该区域小于样品接触区域的1/100、1/20、1/10、1/6、1/5、1/4、1/3、1/2、2/3，或在任两个值之间的范围内。在某些实施例中，区域确定装置包含相机和板的样品接触区域中的区域，其中该区域与样品接触。

[0374] 在某些实施例中，可变形样品包含液体样品。在某些实施例中，不精确力的变化为实际施加的总力的至少30％。在某些实施例中，不精确力的变化为实际施加的总力的至少20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％、150％、200％、300％、500％，或在任何两个值之间的范围内。在某些实施例中，间隔件具有平顶。在某些实施例中，装置进一步

被配置为在移除按压力之后具有厚度和均匀性与施加力时的厚度和均匀性基本上相同的样品厚度。在某些实施例中，不精确力由人手提供。在某些实施例中，间隔件间距基本上恒定。在某些实施例中，间隔件间距在均匀样品厚度区域的区域中基本上是固定间隔的。在某些实施例中，填充因子与所述间隔件的杨氏模量的乘积为2MPa或更大。在某些实施例中，力通过手直接或间接施加。在某些实施例中，所施加的力在1N至20N的范围内。在某些实施例中，所施加的力在20N至200N的范围内。在某些实施例中，非常均匀层的厚度变化小于平均厚度的15％、10％或5％。在某些实施例中，不精确力通过将装置夹在拇指和食指之间而施加。在某些实施例中，预定样品厚度大于间隔件高度。在某些实施例中，装置在移除按压力之后将其自身保持在闭合构造中。在某些实施例中，均匀厚度样品层区域大于施加按压力的区域。在某些实施例中，间隔件在施加按压力的过程中不显著变形。在某些实施例中，按压力不是预先确定的并且不被测量。在某些实施例中，流体样品由可变形样品代替，并且用于使至少一部分流体样品制成均匀厚度层的实施例可以使至少一部分可变形样品制成均匀厚度层。在某些实施例中，间隔件间距是固定间隔的。在某些实施例中，间隔件具有平顶。在某些实施例中，间隔件间距比样品中目标分析物的尺寸大至少两倍。

[0375] Q卡制造

[0376] 在本公开的某些实施例中，Q卡可以包含第一板。在本公开的某些实施例中，Q卡可以包含第二板。在本公开的某些实施例中，Q卡可以包含铰链。在某些实施例中，第一板，其厚为约200nm至1500nm，在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，以及(b)围绕样品接触区域的样品溢流坝，配置为呈现坝外的样品流。在某些实施例中，第二板，其厚10um至250um，并且在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，以及(b)在样品接触区域上的间隔件。在某些实施例中，连接第一板和第二板的铰链。在某些实施例中，第一板和第二板是围绕铰链的轴线相对于彼此可移动的。

[0377] 在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第一板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第二板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含铰链。在某些实施例中，第一板，其厚为约200nm至1500nm，在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，(b)围绕样品接触区域的样品溢流坝，配置为呈现坝外的样品流，以及(c)在样品接触区域上的间隔件。在某些实施例中，第二板，其厚10um至250um，在其内表面上包含用于接触样品的样品接触区域。在某些实施例中，铰链连接第一板和第二板。在某些实施例中，第一板和第二板是围绕铰链的轴线相对于彼此可移动的。

[0378] 在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第一板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第二板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含铰链。在某些实施例中，第一板，其厚为约200nm至1500nm，在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，以及(b)在样品接触区域上的间隔件。在某些实施例中，第二板，其厚为10um至250um，在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，以及(b)围绕样品接触区域的样品溢流坝，配置为呈现坝外的样品流。在某些实施例中，铰链连接第一板和第二板。在某些实施例中，第一板和第二板是围绕铰链的轴线相对于彼此可移动的。

[0379] 在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第一板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含第二板。在本公开的某些实施例中，Q卡的实施例可以包含铰链。在某些实施例中，第一板，其厚为约200nm至1500nm，在其内表面上包含(a)用于接触样品的

样品接触区域。在某些实施例中，第二板，其厚为10um至250um，在其内表面上包含(a)用于接触样品的样品接触区域，(b)围绕样品接触区域的样品溢流坝，配置为呈现坝外的样品流，以及(c)样品接触区域上的间隔件。在某些实施例中，铰链连接第一板和第二板。在某些实施例中，第一板和第二板是围绕铰链的轴线相对于彼此可移动的。

[0380] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含注塑成型第一板。在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含纳米压印或挤压印刷第二板。

[0381] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含激光切割第一板。在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含纳米压印或挤压印刷第二板。

[0382] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含注塑成型和激光切割第一板。在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含纳米压印或挤压印刷第二板。

[0383] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含纳米压印或挤压印刷以制造第一板和第二板两者。

[0384] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含使用注塑成型，激光切割第一板，纳米压印，挤压印刷或其组合来制造第一板或第二板。

[0385] 在本公开的某些实施例中，一种用于制造本公开的任何Q卡的方法可以包含在制造第一板和第二板之后将铰链附接到第一板和第二板上的步骤。

[0386] 6.本发明的示例

[0387] 示例1 QMAX装置的制备

[0388] 使用上述Q-卡的制造协议，我们制备了QMAX装置。QMAX装置包括两个板。制备尺寸为24mm×32mm×1mm的第一板。制备尺寸为22mm×27mm×175mm的第二板。在该第一板上，创建多个尺寸为30μm×40μm×5μm的间隔件，并且每个间隔件间隔80μm的间隔件间距。

[0389] 示例2 QMAX装置包括用于计数血液样品中血小板的荧光标签(不裂解红细胞)

[0390] 在此研究中，我们使用如示例1中所制备的QMAX装置。使用液滴印刷方法，将11nL大小的荧光染料(荧光标签)液滴的15mm×15mm阵列以0.65mm的固定间隔印刷到第二板上。印刷到第二板上的每个液滴包括0.4mg/mL浓度的吖啶橙染料。我们还将0.15mg/mL浓度的两性洗涤剂印刷到第二板上。注意，在该浓度下，我们观察到该浓度下的两性洗涤剂不引起红细胞裂解，但提供了更好的成像结果。

[0391] 获得人全血(5μL)并立即将其沉积到第二板上。将第一板和第二板轻轻按压在一起以允许血液样品在5分钟内与涂覆的荧光染料(在第一板上)接触。在不冲洗的情况下，使用iPhone拍摄荧光染色的图像。分析荧光染色，其指示血小板计数。

[0392] 如图3所示，血小板是容易看到的，并且与白细胞相比更小(圆圈)。分析血小板计数。注意在背景中可以看到红细胞并且它们是完整的。

[0393] 示例3 QMAX装置，包括用于计数血液样品(具有裂解的红细胞)中的血小板的荧光标签

[0394] 在此研究中，我们使用如示例1中所制备的QMAX装置。使用液滴印刷方法，将11nL大小的液滴的15mm×15mm阵列以0.65mm的固定间隔印刷到第二板上。印刷到该第二板上的

每个液滴包括的YOYO浓度在5-20μM范围内和两性洗涤剂浓度在0.5-2.0mg/mL范围内。注意，在该浓度范围，当与血液样品接触时，两性洗涤剂可容易地引起红细胞裂解。发现红细胞裂解为更好的荧光图像提供了更清晰的背景。

[0395] 在此，获得人全血(5μL)并且立即将其沉积到第二板上。将第一板和第二板轻轻按压在一起以允许血液样品在5分钟内与涂覆的荧光染料(在第一板上)接触。在不冲洗的情况下，使用iPhone拍摄荧光染色的图像。分析荧光染色，其指示血小板计数。

[0396] 如图4所示，容易观察血小板以及白细胞(圆圈)。分析图像的血小板计数。注意在背景中没有红细胞(与上述实施例3相比)，因为它们被两性洗涤剂(0.5-2.0mg/mL)裂解。

[0397] 示例4 QMAX装置，包括用于计数血液样品(具有裂解的红细胞)中血小板的量热标签

[0398] 我们使用示例1中制备的QMAX装置。使用液滴印刷方法，将11nL大小的液滴的15mm×15mm阵列以0.65mm的固定间隔印刷到第二板上。

[0399] 在本研究中，我们使用亚甲蓝的量热染料(量热标签)来染色血小板(代替荧光染料)。印刷到第二板上的每个液滴包括亚甲蓝染料浓度为0.01-0.05％和两性洗涤剂浓度为0.5-2.0mg/mL。如图5所示，几乎没有血小板染色，表明样品中的大部分血小板是活的。亚甲蓝在活细胞中减少(血小板)减少，使它们不染色。然而，死亡的血小板不能还原氧化的亚甲蓝并且血小板被染成蓝色。

[0400] 注意，在该浓度范围，当与血液样品接触时，两性洗涤剂可容易地引起红细胞裂解。发现红细胞裂解为更好的量热图像提供了更清晰的背景(参见图5)。

[0401] 示例5 血小板染色随时间的衰变

[0402] 在本系列研究中，我们检验了老年血液对血小板染色的影响。

[0403] 我们使用示例1中制备的QMAX装置。使用液滴印刷方法，将11nL大小的荧光染料(荧光标签)液滴的15mm×15mm阵列以0.65mm的固定间隔印刷到第二板上。印刷到第二板上的每个液滴包括0.4mg/mL浓度的吖啶橙染料。我们还将0.2-2mg/mL浓度的两性洗涤剂印刷到第二板上。

[0404] 获得人全血(5μL)并在不同时间点沉积在第二板上。在沉积之后，将第一板和第二板轻柔地压在一起以允许血液样品与涂覆的荧光染料(在第一板上)接触。在不冲洗的情况下，使用iPhone拍摄荧光染色的图像。分析荧光染色，其指示血小板计数。

[0405] 如图6A、6B和6C所示，在血液样品之间的1分钟、30分钟和180分钟后，获得使用具有荧光标签并且没有RBC裂解剂的装置的血小板测试结果的图像。时间间隔定义为在血液沉积后通过将第一板和第二板按压在一起而获得血液样品并使其与染色试剂接触的时间之间。

[0406] 令人感兴趣的是我们观察到血小板中存在的DNA/RNA的荧光染色(例如，吖啶橙染料)随时间而减少。观察到快速(10分钟后发生)和显著降低(～50％降低)。本研究表明，为了使用荧光染色进行准确的血小板计数，使用新鲜分离的血液(即，未老化的血液)是必要的。优选地，超过20分钟的血液应当被丢弃。另一方面，本装置的一个优点是评价血液样品是否已经老化(例如，从人身上抽出后在室温下放置一段时间(例如，超过10分钟))。

[0407] 评价了使用吖啶橙的血小板染色中的衰变动力学。如图7所示，发现血小板染色剂的衰变在10分钟内是稳定的。如图8所示，血小板染色剂的衰变在30分钟以上是显著的。如

图9中的表所示,我们比较了使用具有荧光标签并且没有RBC裂解的装置的血小板计数方法、使用具有荧光标签和RBC裂解的装置的血小板计数方法和使用市售血细胞计数器的血小板计数方法。

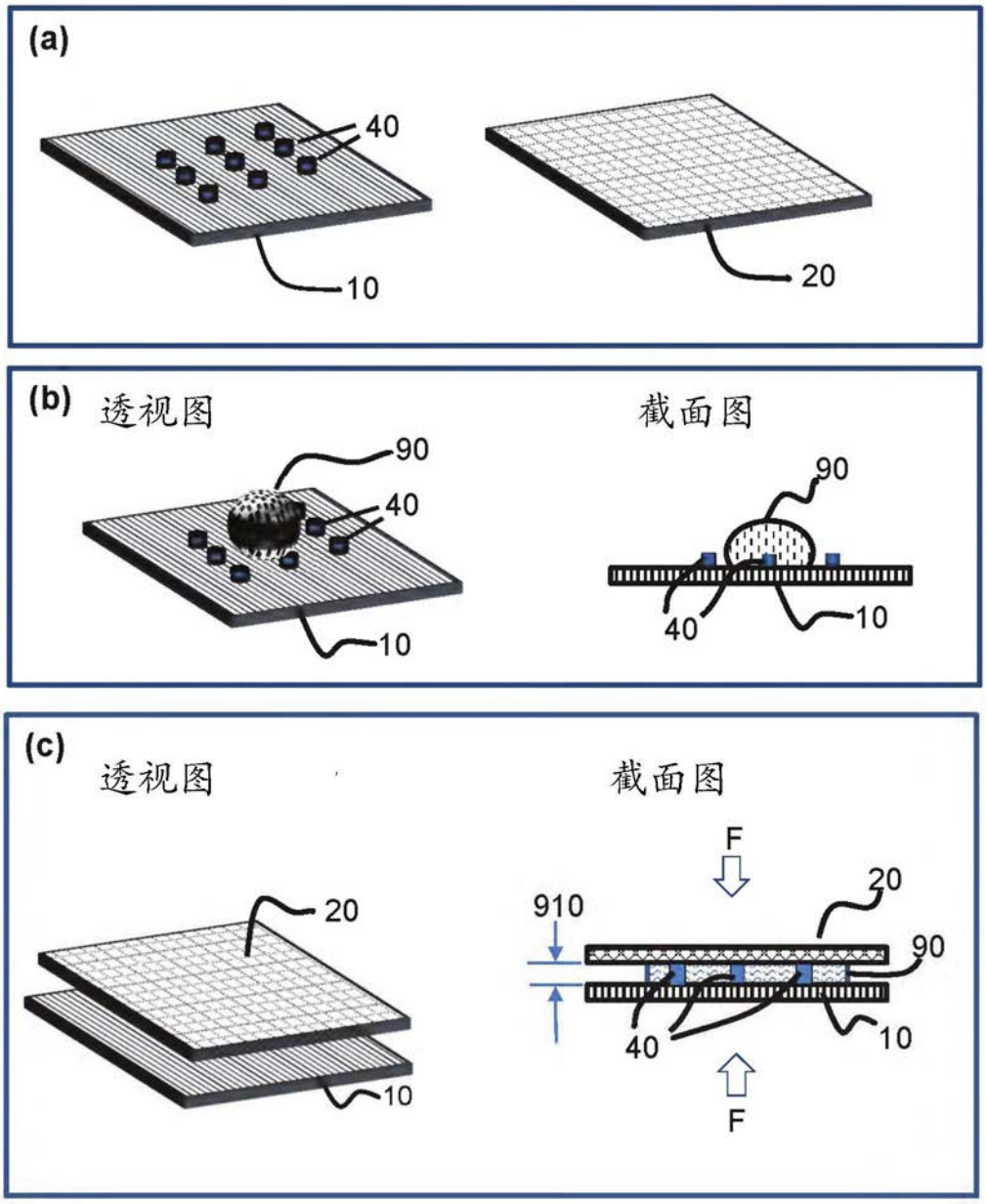

(a)
40
10
20
(b)
透视图
截面图
90
40
10
90
40
10
(c)
透视图
截面图
20
10
F
910
20
90
40
10
F

图1

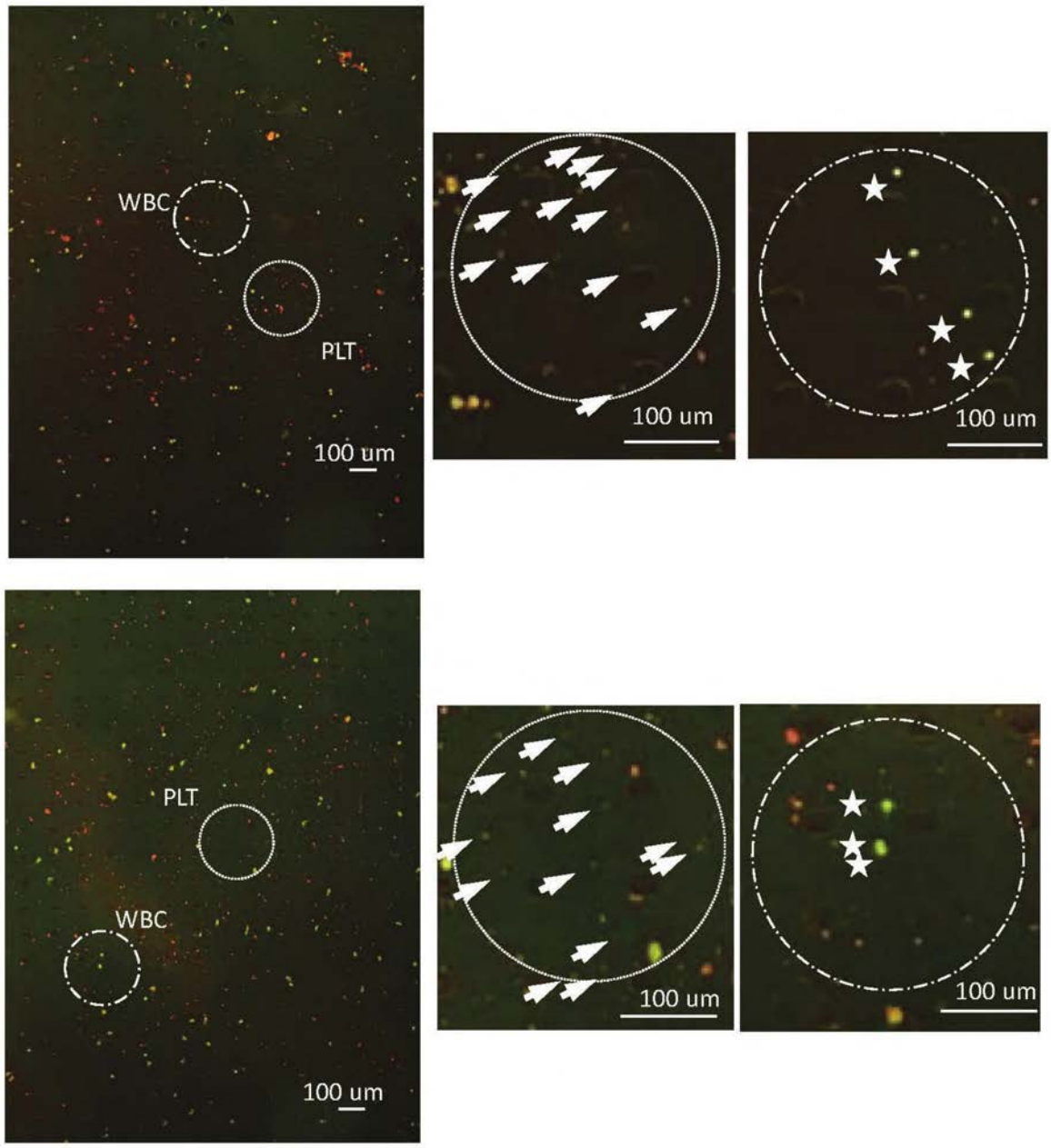


图2

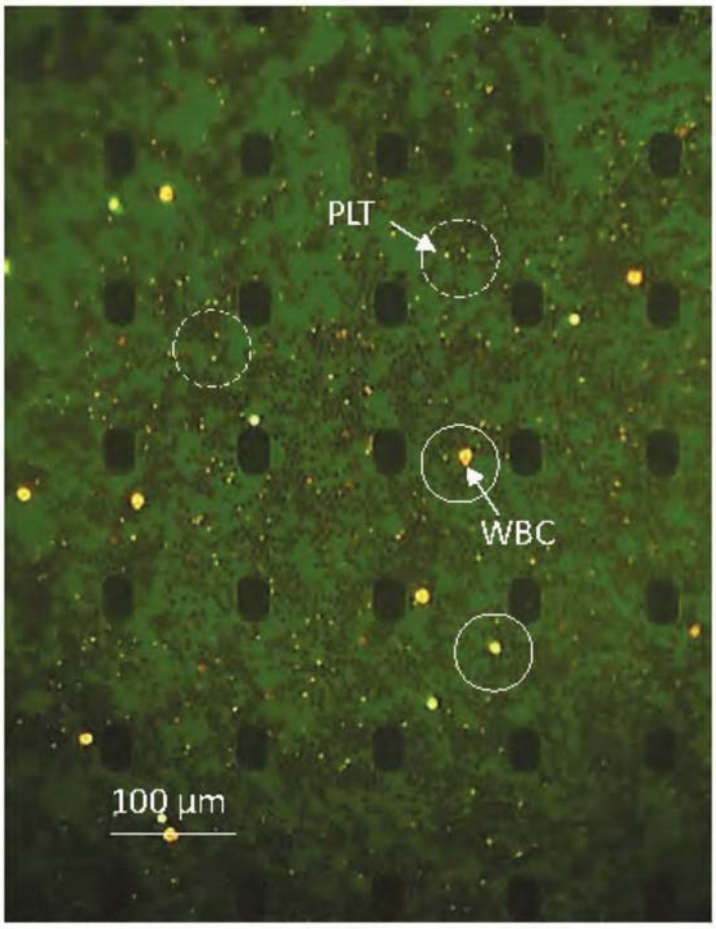


图3

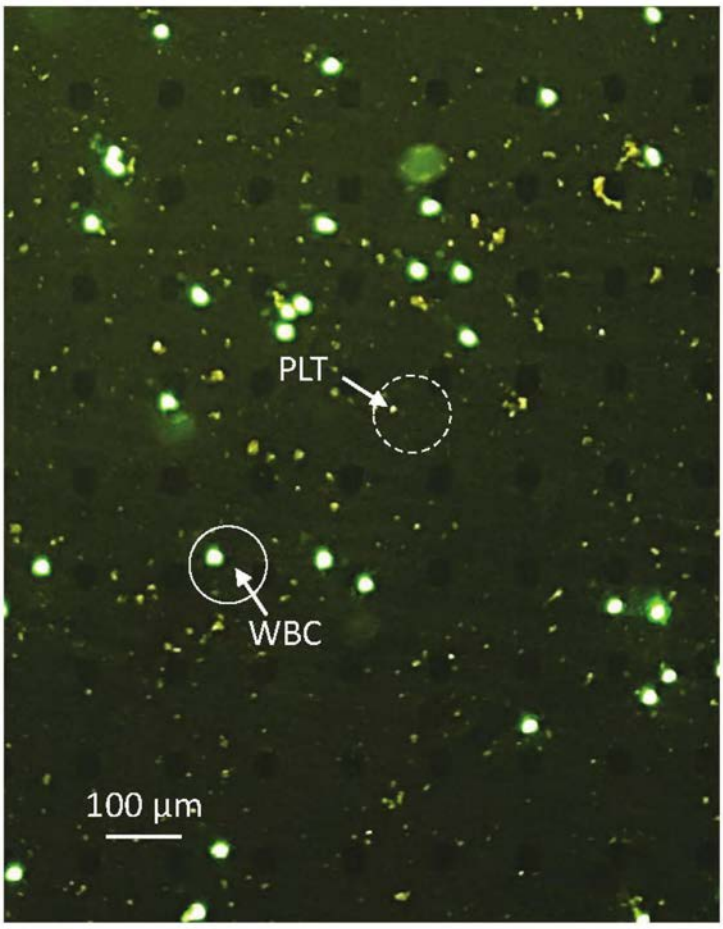


图4

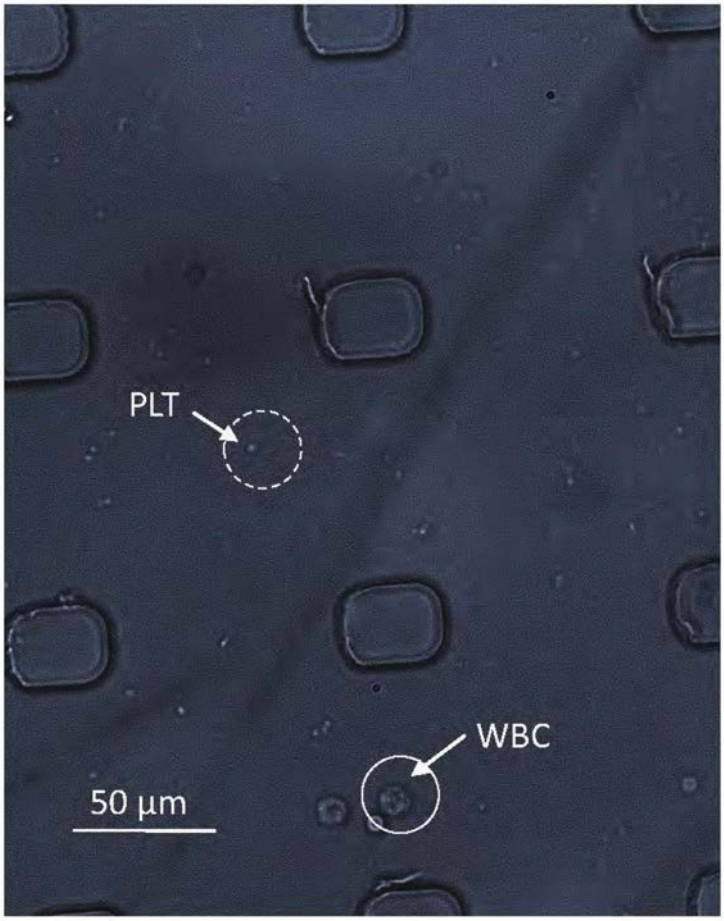


图5

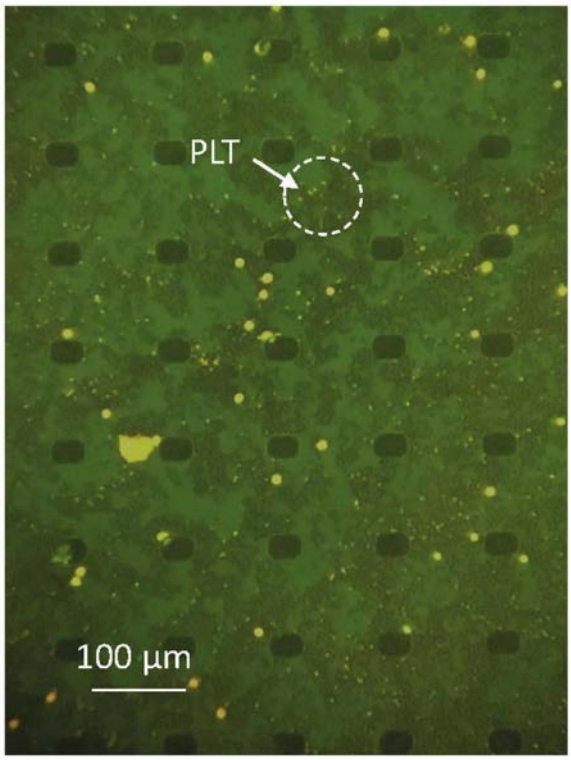


图6A

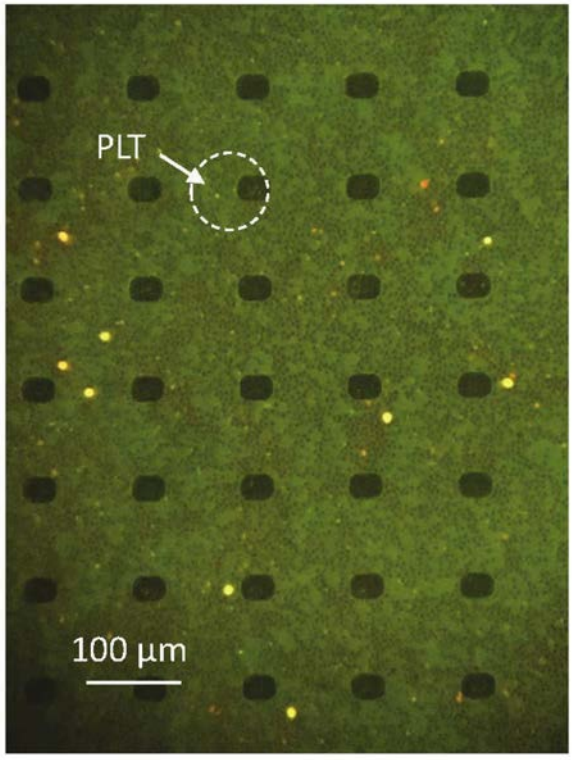


图6B

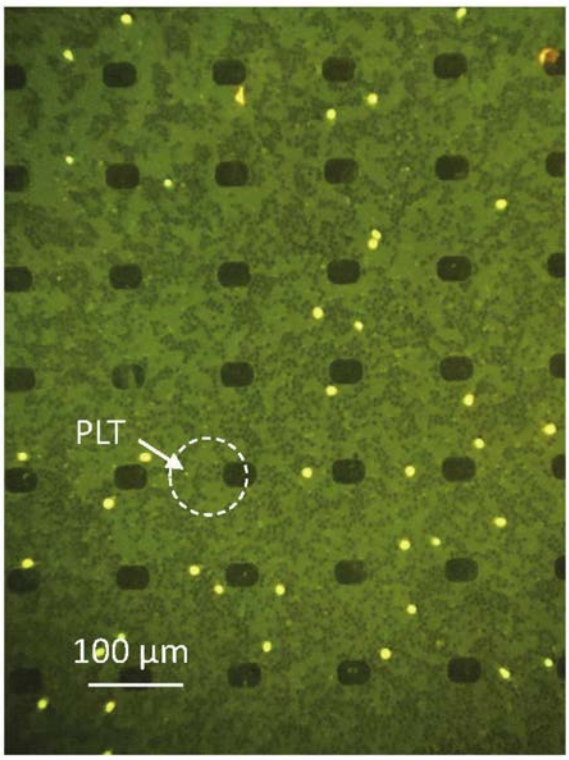


图6C

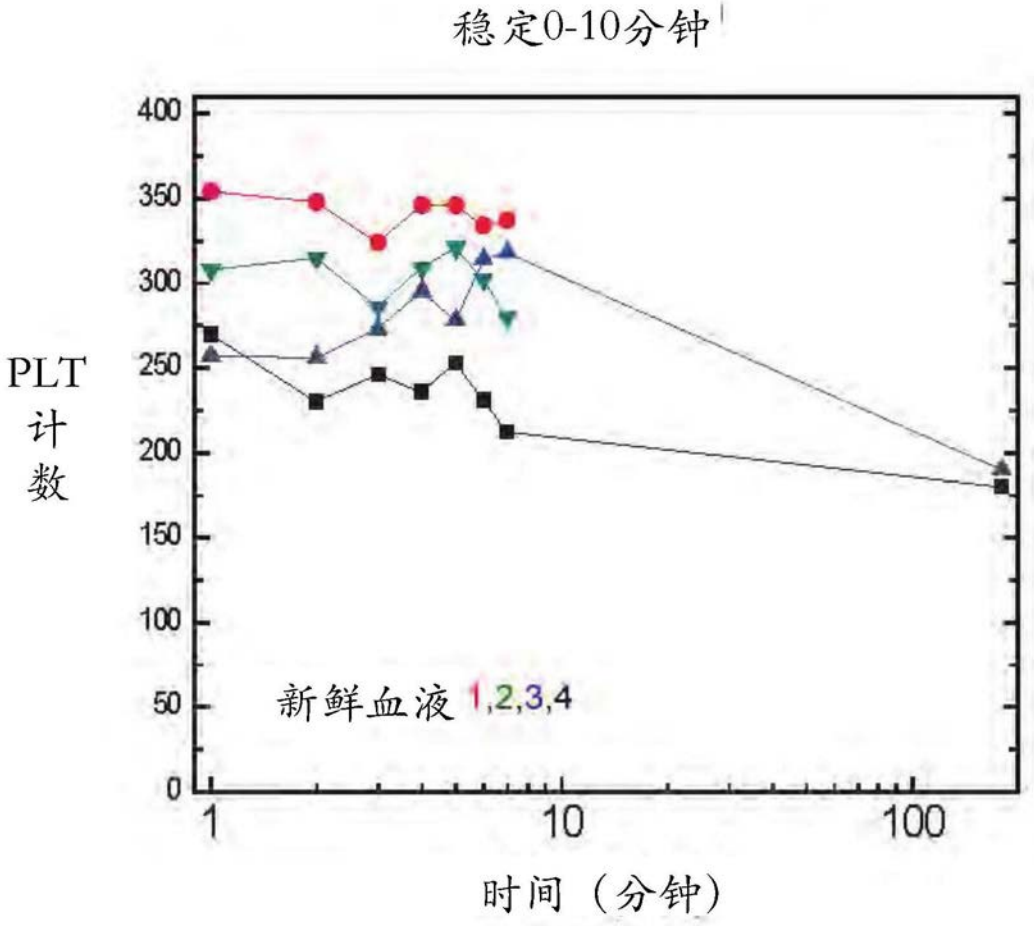

稳定0-10分钟
PLT
计
数
400
350
300
250
200
150
100
50
0
1
10
100
新鲜血液 1,2,3,4
时间（分钟）

图7

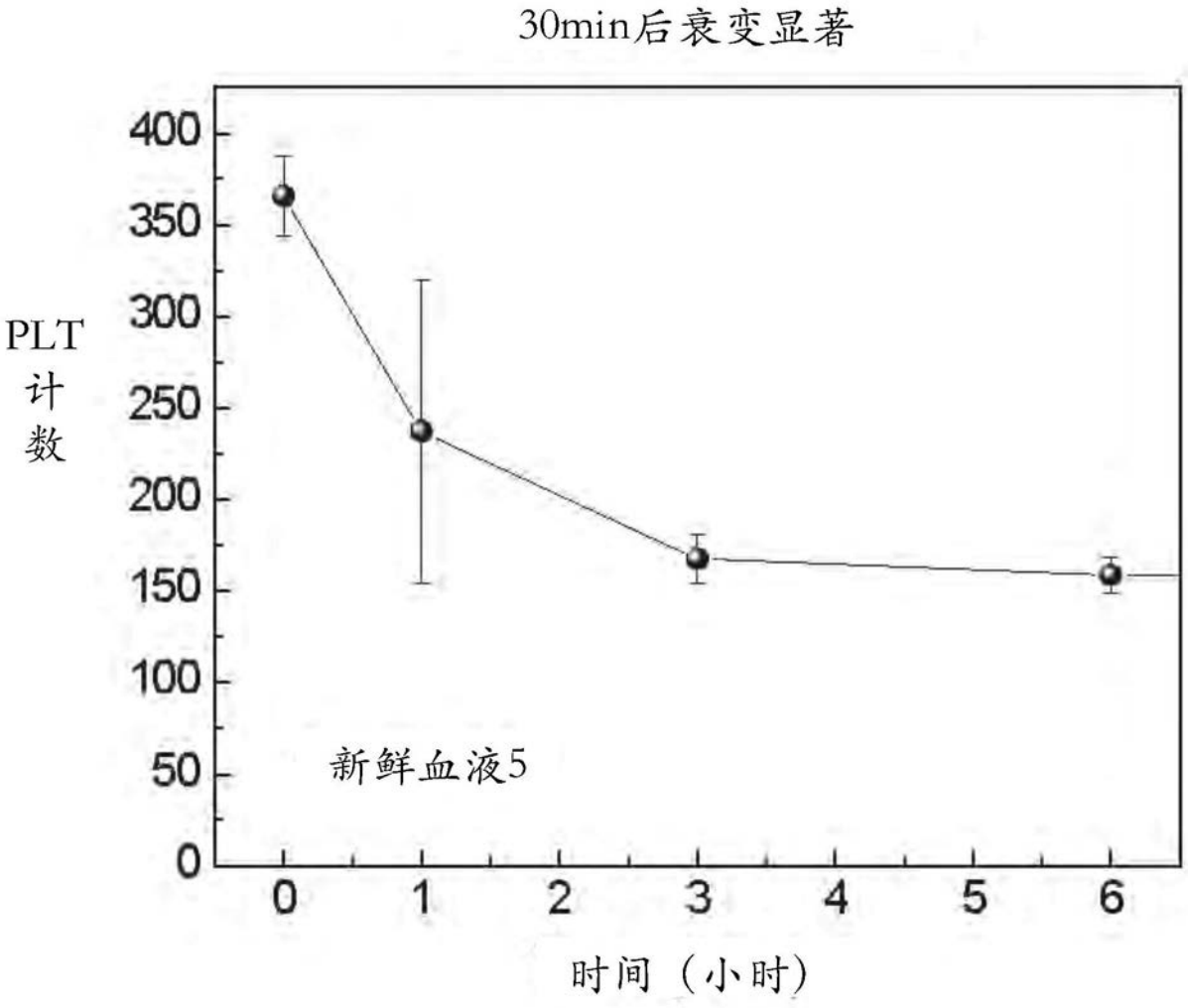


图8

文本	荧光染色	裂解RBC	PLT conc. (x 10^3 /uL)	
			样品 #1	样品 #2
iMOST	吖啶橙 (DNA + RNA)	否	141	216
	YOYO (DNA)	是	123	205
Honba Pentra 60 商业血细胞计数器			130	210

样品#1和样品#2是新鲜指尖血

图9