



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I748368 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：109107870

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 01 月 20 日

(51)Int. Cl. : C12Q1/00 (2006.01)

G01N21/05 (2006.01)

(30)優先權：2011/01/21 美國

61/435,250

(71)申請人：美商拉布拉多診斷有限責任公司 (美國) LABRADOR DIAGNOSTICS LLC (US)
美國(72)發明人：吉伯森 伊安 GIBBONS, IAN (US)；紐建特 湯尼 NUGENT, TONY (IE)；德拉
庫茲 安東尼 DELACRUZ, ANTHONY (US)；揚恩 丹尼爾 YOUNG, DANIEL
(US)；荷姆斯 伊莉莎白 HOLMES, ELIZABETH (US)；德瑞克 安卓 DRAKE,
ANDREW (US)；坎普 提摩西麥可 KEMP, TIMOTHY MICHAEL (US)；巴瓦尼
桑尼 BALWANI, SUNNY (US)；潘賈卡爾 琴梅 PANGARKAR, CHINMAY (IN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2010/0027868A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：11 項 圖式數：151 共 242 頁

(54)名稱

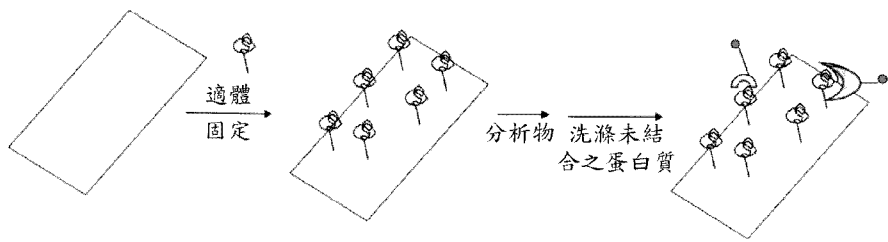
樣本使用最大化之系統及方法

(57)摘要

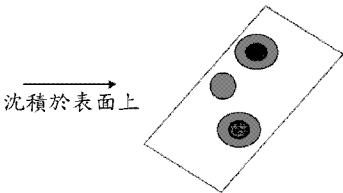
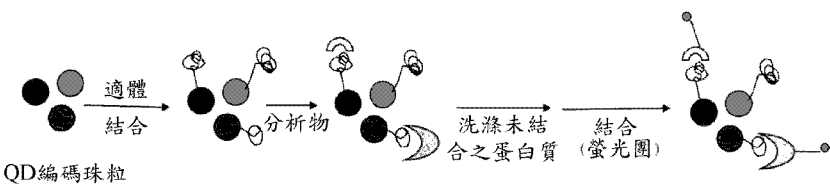
本發明提供用於重點照護及/或分散式測試服務之系統、器件及方法。本發明之方法及器件係針對體液中分析物之自動偵測。器件之組件可經改進以使得其可更靈活且穩固地用於所揭示之方法供各種醫學、實驗室及其他應用之用。本發明之系統、器件及方法可藉由改良樣本製備及分析有效使用樣本。

The present invention provides systems, devices, and methods for point-of-care and/or distributed testing services. The methods and devices of the invention are directed toward automatic detection of analytes in a bodily fluid. The components of the device can be modified to allow for more flexible and robust use with the disclosed methods for a variety of medical, laboratory, and other applications. The systems, devices, and methods of the present invention can allow for effective use of samples by improved sample preparation and analysis.

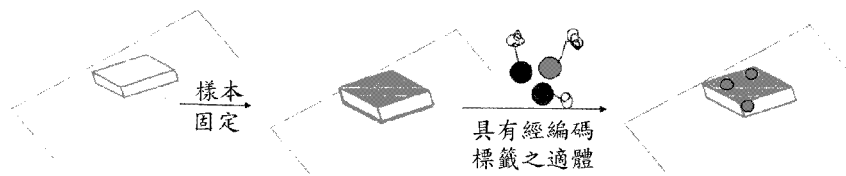
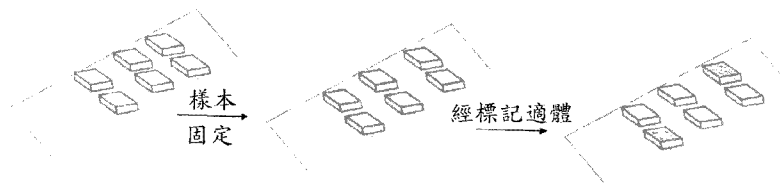
指定代表圖：



【圖 136】



【圖 137】



【圖 138】



I748368

【發明摘要】

【中文發明名稱】

樣本使用最大化之系統及方法

【英文發明名稱】

SYSTEMS AND METHODS FOR SAMPLE USE MAXIMIZATION

【中文】

本發明提供用於重點照護及/或分散式測試服務之系統、器件及方法。本發明之方法及器件係針對體液中分析物之自動偵測。器件之組件可經改進以使得其可更靈活且穩固地用於所揭示之方法供各種醫學、實驗室及其他應用之用。本發明之系統、器件及方法可藉由改良樣本製備及分析有效使用樣本。

【英文】

The present invention provides systems, devices, and methods for point-of-care and/or distributed testing services. The methods and devices of the invention are directed toward automatic detection of analytes in a bodily fluid. The components of the device can be modified to allow for more flexible and robust use with the disclosed methods for a variety of medical, laboratory, and other applications. The systems, devices, and methods of the present invention can allow for effective use of samples by improved sample preparation and analysis.

【指定代表圖】

圖136、137、138

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

樣本使用最大化之系統及方法

【英文發明名稱】

SYSTEMS AND METHODS FOR SAMPLE USE MAXIMIZATION

【技術領域】

【先前技術】

大量疾病生物標記物之發現、新穎療法及小型化醫療系統之建立開關重點照護或其他分散式測試環境中預測、診斷及監測疾病療法的新途徑。重點照護系統可向醫療人員、其他醫學專家及患者快速傳遞測試結果。疾病或疾病進展之早期診斷及療法之監測通常對於治療致命病狀(諸如某些癌症及感染性疾病)很關鍵。

診斷及治療疾病可利用多重生物標記物量測結果，其提供有關患者病狀之額外資訊。舉例而言，在監測藥物之作用時，可同時量測三個或三個以上生物標記物。通常，使用微量滴定盤及其他類似裝置執行基於分離之多重分析。微量滴定盤(例如384孔微量滴定盤)可同時執行大量分析。

在重點照護(POC)器件中，可同時執行之分析之個數通常受限於器件之尺寸及待分析樣本之體積。在許多POC器件中，所執行之分析數為約1至10。需要能夠對小樣本執行多重分析的POC器件。

許多多重POC分析器件之一個缺陷為製造器件組件之成本很高。若器件為可拋棄的，則組件之成本可令POC器件之製造不切實際。此外，對於所有必需試劑均併入器件上之多重POC器件，若此等試劑中之任一者展現不穩定性，則整個製造批次之器件可能必須丟棄，即使所有其他試劑仍

可用。

當用戶對為一組特定分析物定製POC器件感興趣時，多重POC分析系統之製造商通常需要混合且匹配該器件之分析及試劑。適合於各用戶之多重POC分析可能極昂貴，難以校準且難以維持品質控制。

已證明POC方法在監測疾病及療法(例如糖尿病療法中之血糖系統、使用華法林(Warfarin)之抗凝血療法中之凝血酶原時間量測)方面極有效。藉由量測多個標記物，咸信可對需要多藥物療法之複雜疾病(諸如癌症)進行更好地監測及控制。

需要使用多個資訊來源來監測個體之健康狀況或疾病病狀以及各種疾病之治療。尤其重要地，需量測數種所選分析物隨時間變化之濃度(生物標記物、抗體、基因表現量、代謝物、治療性藥物濃度及其類似資訊)。為使此方法適宜且最大限度地有效，允許使用小血液樣本(藉由手指刺戳獲得之血滴)或其他適合樣本量測任何及所有所要分析物(任何類型)的技術尤其有用。該技術理論上可由未經技術訓練之使用者在分散式測試環境(例如家、診所、醫生辦公室、藥房及零售店)中操作。本發明可解決此等問題且使個人可常規地在患者家中或其他非實驗室環境中進行該等量測。

亦需要最大限度地利用可獲得之樣本，尤其在樣本(例如血液樣本)受限於樣本尺寸之情況下。血液樣本用於大多數醫學/臨床測試。在大多數類型之分析前必須將血細胞與血漿(或血清)分離，因為細胞之存在將有損分析化學法。舉例而言，葡萄糖及膽固醇通常藉由顏色形成化學法量測，該等化學法會因所形成要素(尤其紅血球或血色素(來自溶解之紅血球))之存在而受干擾。

分散式測試系統理論上需要藉由手指刺戳法獲得之小血液樣本。該等樣本可小至20微升(μL)(1滴)或20 μL 以下。較大體積之樣本(如高達200 μL)通常無法藉由手指刺戳法，在不重複不適宜地(「擠壓」)手指下獲得。或者可獲得數毫升(mL)靜脈樣本，但此需要經醫學訓練之抽血者。

使用20 μL 或20 μL 以下之小血液樣本通常極難執行超過一個單一分析。當血液樣本必須經過濾以移除細胞且無法自該等小體積回收可用血漿時尤其如此。通常僅可回收約5 μL 或5 μL 以下之血漿。大至200 μL 之樣本可藉由自動POC系統(Abaxis、Biosite等)有效分離，但此無法常規進行，除非技術人員來抽吸樣本。

【發明內容】

鑒於當前方法之侷限性，迫切需要改良將血漿及/或其他物質與血細胞自動分離之方法。亦需要改良此等分析物濃度量測之準確度。在出於監測療法及診斷之目的量測生物標記物及其他血液組分時，使用恰當體積之樣本很重要。在實驗室環境中，此藉由使用複雜的自動化儀器及熟練專業工作人員達成。相比之下，在「重點照護」環境(諸如家、零售藥房及商店及其類似環境)中，該等方法及所用設備必須使未經技術訓練之人員能夠可靠地獲得及處理樣本。

本發明解決上述需要且提供相關優勢。

在一些實施例中，本發明係關於重點照護及/或重點服務器件。在一些實施例中，本發明係關於使用重點照護及/或重點服務器件分析樣本之系統、器件、使用者介面及方法。

在一個態樣中，本文所揭示之器件及方法設計成可鑑別樣本類型(血液與血漿等)以足夠早地在分析程序中量測樣本體積，從而確保使用適當

樣本進行所欲分析。在另一態樣中，本發明亦使個人能夠校正執行分析中所發生之顯著體積誤差。

在另一態樣中，本發明允許以高準確度同時量測不同類型之若干分析物。

本發明之一態樣可針對一種用於分離生物流體中之一或多種組分的自動化系統。自動化系統可包含適合於與吸氣器嚙合之吸管尖端或封閉管，其中該吸管尖端或管包含兩個相對末端，其中至少一者封閉或可密封；及經組態以容納該經密封之吸管尖端或封閉管，實現該分離生物流體中之一或多種組分的離心機。在一實施例中，該一或多種組分係選自由血漿、血清、血細胞及微粒組成之群。在另一實施例中，當吸管尖端與吸氣器嚙合時可實現生物流體之汲取。在另一實施例中，吸管尖端具有與吸氣器形成氣密密封之開放端。在另一實施例中，系統進一步包含成像器件；及至少一個其他吸管尖端，該至少一個其他吸管尖端經尺寸化以向(a)之吸管尖端或管施配液體或自(a)之吸管尖端或管抽吸液體。在另一實施例中，吸管尖端或封閉管在離心機靜止時垂直定向。在另一實施例中，吸管尖端或封閉管在離心機以預定旋轉速度旋轉時水平定向。

本發明之另一態樣可為一種分離樣本中之組分的方法，其包含一或多個如下步驟：將樣本負載於包含兩個相對末端之吸管尖端或管中，該等相對末端中之至少一者可密封或密封；在吸管尖端之至少一個末端上密封吸管尖端；離心經密封之吸管尖端，從而形成將樣本分離成上清液與集結粒的界面區；使經離心之吸管尖端成像以確定界面區之位置；及基於界面區之位置自動抽吸上清液。在一實施例中，方法進一步包含藉由該成像步驟確定上清液之位置及基於上清液之位置自動抽吸上清液。在另一實施例

中，該確定藉助於處理器進行，且該處理器向執行自動抽吸步驟之抽吸器件提供指令。在另一實施例中，成像藉由使用經組態以捕捉吸管尖端或管之側面輪廓之影像的相機進行。在另一實施例中，上清液包括以下中之一或多者：血漿或血清。在另一實施例中，集結粒包括以下中之一或多者：血細胞或微粒。

根據本發明之另一態樣，可提供表徵懷疑存在於樣本中之分析物的電腦輔助方法。電腦輔助方法可包含獲得樣本之數位影像，其中數位影像包含至少一個像素二維陣列，且其中各像素包含複數個各對應於不同偵測光譜區之強度值；藉助於可程式化器件將所得強度值與界定各偵測光譜區之動態範圍的一組預定值關聯；及基於所得強度值與一組預定值的該關聯預測樣本中該分析物之存在及/或數量。在一實施例中，複數個強度值包含紅色、綠色及藍色偵測光譜區之強度值。在另一實施例中，方法進一步包含選擇照射波長，及在獲得數位影像前及/或同時用所選照射波長照射樣本。在另一實施例中，方法進一步包含在獲得數位影像後，(a)選擇另一照射波長；(b)用另一所選照射波長照射樣本；(c)獲得樣本之另一數位影像，其中數位影像包含至少一個像素二維陣列，且其中各像素包含複數個各對應於不同偵測光譜區之強度值；及(d)基於自數位影像及該另一數位影像獲得之強度值預測樣本中該分析物之存在及/或數量。

此外，本發明之一態樣可針對一種量測樣本流體中之分析物濃度的方法，其包含提供容器內所含之樣本，該容器經尺寸化以具有複數個不同寬度，從而允許光沿對應於複數個不同寬度之複數個不同路徑長度透射；沿複數個路徑長度中之至少一者照射容器；及使容器成像以量測穿過複數個路徑長度中之該至少一者透射之第一光強度，以基於所量測之第一光強

度確定分析物之濃度。

根據本發明之另一態樣，偵測容器(例如比色管)內所含之樣本流體中分析物之存在或濃度的方法可包含沿具有第一路徑長度之第一區域照射容器以產生穿過第一路徑長度透射之光強度的第一量測值；若第一量測值落在透射光強度之預定動態範圍外，則將樣本流體移至容器中具有另一路徑長度之另一區域；沿另一區域照射容器以產生穿過另一路徑長度透射之光強度的另一量測值；及視情況重複第二及第三步驟，直至光強度之量測值落在預定動態範圍內，從而偵測分析物之存在或濃度。在一實施例中，方法進一步包含將影像之線掃描解卷積，從而偵測分析物之存在或濃度。在另一實施例中，藉由抽吸樣本將樣本自容器之具有第一路徑長度之第一區域移至容器之具有另一路徑長度之第二區域。在另一實施例中，容器之一末端附接至經組態以抽吸樣本之吸管。在另一實施例中，樣本沿容器之長度向上或向下移動。在另一實施例中，容器為吸管尖端。在另一實施例中，容器呈圓錐形。在另一實施例中，容器具有兩個開放端。在另一實施例中，第一開放端之直徑大於第二開放端。在另一實施例中，容器具有複數個不同寬度以允許光沿複數個不同路徑長度透射。在另一實施例中，容器體積小於100微升。在另一實施例中，複數個不同路徑長度同時成像。

可提供一種方法作為本發明之另一態樣。可提供該方法來表徵懷疑存在於生物流體之樣本中的分析物，該方法包含：提供生物流體之該樣本；使該分析物與一或多種與該分析物特異性反應之試劑反應，以產生光學可偵測信號；及用複數個偵測光譜區量測該光學可偵測信號，其中該光學可偵測信號存在於至少一個偵測光譜區之動態範圍內指示該分析物在生物流體之該樣本中的濃度。在一實施例中，量測藉由經組態以量測複數個

偵測光譜區之成像器件執行。在另一實施例中，成像器件經組態以同時量測複數個偵測光譜區。在另一實施例中，成像器件經組態以依序量測複數個偵測光譜區。

本發明之一態樣提供一種提高分析準確度之方法，其包含使第一尖端中之樣本成像以測定第一樣本之體積；使第二尖端中之一或多種試劑成像以測定一或多種試劑之體積；將樣本與一或多種試劑混合以形成反應混合物；使反應混合物成像；基於樣本及一或多種試劑之該等測定體積校正校準；及使用經校正之校準計算分析物之濃度。在一實施例中，方法進一步包含使反應混合物成像以測定反應混合物之體積。在另一實施例中，第一尖端中樣本之成像使用經組態以捕捉第一尖端之側面輪廓的相機進行。在另一實施例中，第二尖端中一或多種試劑之成像使用經組態以捕捉第二尖端之側面輪廓的相機進行。在另一實施例中，基於所捕捉之輪廓計算樣本及一或多種試劑之高度。在另一實施例中，測定體積係基於樣本及一或多種試劑各自之高度及樣本及一或多種試劑各自之已知橫截面積。在另一實施例中，校準亦基於反應混合物之測定體積。

本發明之另一態樣提供一種裝備，其包含：經組態以接納及限制樣本之器皿，其中器皿包含內表面、外表面、開放端及相對封閉端；及經組態以穿過開放端延伸至器皿中之尖端，其中尖端包含第一開放端及第二開放端，其中第二開放端插入器皿中，其中器皿或尖端進一步包含防止尖端之第二開放端接觸器皿封閉端之內表面底部的凸出表面特徵。在一實施例中，該表面特徵整體形成於器皿之底部內表面上。在另一實施例中，表面特徵包含複數個在器皿之底部內表面上的凸塊。在另一實施例中，凸出表面特徵在封閉端處或其附近。

本發明之另一態樣提供一種樣本處理裝置，其包含樣本製備站、分析站及/或偵測站；具有電腦可執行命令以在指定地點藉助於該樣本製備站、分析站及偵測站中之至少一者執行重點服務的控制單元；及至少一個經組態以執行來自手指刺戳之樣本之離心的離心機。在一實施例中，離心機包含在樣本製備站及/或分析站內。在另一實施例中，電腦可執行命令經組態以在選自由零售場所、個體家中或健康評定/治療地點組成之群之場所執行重點服務。

本發明之另一態樣提供一種動態反饋之方法，該方法包含：使用偵測機構獲得容器內樣本之初始量測值；基於該初始量測值，使用處理器判定樣本濃度是否落在所要範圍內，且(a)若樣本濃度高於所要範圍，則使用處理器確定欲執行之稀釋的程度，或(b)若樣本濃度低於所要範圍，則使用處理器確定欲執行之濃縮的程度；及根據所確定之稀釋程度或所確定之濃縮程度調節樣本濃度。在一實施例中，方法進一步包含獲得容器內樣本之後續量測值。在另一實施例中，方法進一步包含基於後續量測值，使用處理器判定樣本濃度是否落在所要範圍內。在另一實施例中，後續量測值使用偵測機構獲得。在另一實施例中，方法進一步包含基於後續量測值確定樣本之特徵。在另一實施例中，特徵係選自以下中之一或多者：分析物之存在或濃度、細胞之存在或濃度及細胞之形態。在另一實施例中，後續量測值使用有別於初始偵測機構之偵測機構獲得。在另一實施例中，初始量測值提供樣本之粗細胞濃度量測值。在另一實施例中，後續量測值提供解析度大於初始量測值之樣本細胞濃度量測值。在另一實施例中，初始量測值藉由使樣本成像獲得。在另一實施例中，調節樣本濃度允許偵測分析物，否則濃度將落在所要範圍外。

本發明之另一態樣提供一種提供品質控制之方法，該方法包含捕捉偵測機構量測樣本特徵所處條件之影像；及基於該影像，使用處理器判定偵測機構操作條件是否存在不適宜。在一實施例中，不適宜條件包括存在一或多種不適宜物質。在另一實施例中，不適宜物質包括以下中之一或多者：氣泡、粒子、纖維、碎屑及沈澱物，其干擾樣本特徵之量測。在另一實施例中，偵測機構為與用於捕捉影像之機構不同之機構。在另一實施例中，影像使用相機捕捉。在另一實施例中，方法進一步包含在偵測到不適宜條件時提供警報。在另一實施例中，方法進一步包含在偵測到不適宜條件時調節樣本。在另一實施例中，影像包括樣本之影像。在另一實施例中，影像包括以下中之一或多者的影像：樣本容器或偵測機構。

本發明之另一態樣為一種用於分離生物流體中之一或多種組分的自動化系統，其包含包括一或多個經組態以容納容器之桶以實現該分離流體樣本中之一或多種組分的離心機；及容器，其中容器包括一或多個與桶之形狀特徵互補之形狀特徵。在一實施例中，桶之形狀特徵包括一或多個攔板，容器之凸出部分經組態以攔置在其上。在另一實施例中，桶經組態以能夠接納複數個具有不同組態之容器，且其中桶之形狀特徵包括複數個攔板，其中具有第一組態之第一容器經組態以攔置在第一攔板上，且具有第二組態之第二容器經組態以攔置在第二攔板上。

本發明之另一態樣提供一種分析單元，其包含第一末端及第二末端；外表面；及內表面，其包含一或多個所選圖案，各圖案用能夠捕捉懷疑存在於生物樣本中之分析物的捕捉劑固定在內表面上或內表面中，其中第一末端及第二末端具有不同尺寸。

本發明之另一態樣提供一種分析單元，其包含(a)用於確定固定在內

表面上之一或多種捕捉劑；及(b)在分析單元含有該樣本時用於確定生物樣本之來源的識別符。

本發明之另一態樣提供一種包含複數個所選圖案之分析單元，該複數個圖案中之各圖案包含不同捕捉劑。

當結合以下描述及隨附圖示考慮時將進一步瞭解且理解本發明之其他目的及優勢。儘管以下描述可含有描述本發明之特定實施例的特定詳情，但此不應視為對本發明之範疇限制，而應視為較佳實施例之例證。對於本發明之各態樣，如本文中所表明，可進行一般技術者已知之多種變化。可在本發明範疇內在不背離其精神之情況下進行多種變化及修改。本文所揭示之各種化合物/器件可分別或以任何組合形式結合用於本文所揭示之單獨或任何組合形式的任何方法中。

以引用的方式併入

本說明書中所提及之所有公開案、專利及專利申請案皆以引用的方式併入本文中，其引用的程度如同特定且個別指明各個別公開案、專利或專利申請案以引用的方式併入本文中一般。

【圖式簡單說明】

圖1展示離心機之側視圖。

圖2展示觀察離心機之面。

圖3展示離心機背面之透視圖。

圖4展示樣本尖端之俯視圖。

圖5展示樣本尖端之側視圖。

圖6展示樣本尖端之橫截面圖。

圖7展示置放於樣本中血漿/堆積細胞界面上方之樣本尖端之圖。

圖8展示離心時間隨每分鐘轉數變化之曲線圖。

圖9展示離心時間隨離心機轉子之半徑變化之曲線圖。

圖10展示空的加帽樣本尖端。

圖11展示含有體液(例如血液)樣本之加帽樣本尖端。

圖12展示含有離心後血球比容為約23%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖13展示含有離心後血球比容為約31%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖14展示含有離心後血球比容為約40%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖15展示含有離心後血球比容為約52%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖16展示含有離心後血球比容為68%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖17展示藉由數位成像系統使用經離心樣本量測之血球比容(「血球比容，報導%」)與藉由標準微量血球比容裝置量測之血球比容(「血球比容，目標%」)的比較。

圖18展示用於反應之尖端及用於血液/血漿之尖端的圖(尺寸以mm展示)。

圖19展示含有樣本之圓柱形毛細管。

圖20展示在圓錐形容器(例如毛細管)內計算體積之角度及尺寸。

圖21展示在圓錐形容器(例如毛細管)內計算體積之角度及尺寸。

圖22展示計算球形帽之體積的角度及尺寸。

圖23展示計算圓柱形尖端內所含樣本之體積的尺寸，其中樣本具有單一彎液面。

圖24展示計算圓柱形尖端內所含樣本之體積的尺寸，其中樣本具有兩個彎液面。

圖25展示計算圓柱形尖端內所含及/或與圓柱形尖端結合之樣本之體積的尺寸，其中樣本具有兩個彎液面，且其中之一在圓柱形尖端以外。

圖26展示計算圓柱形尖端內所含樣本之體積的尺寸，其中樣本中存在氣泡。

圖27展示計算圓柱形尖端內所含樣本之體積的尺寸，其中樣本中不存在跨越圓柱形尖端之寬度的氣泡。

圖28展示計算圓柱形尖端內所含及/或與圓柱形尖端結合之樣本之體積的尺寸，其中樣本在圓柱形尖端以外包括樣本之一懸垂液滴。

圖29展示計算圓柱形尖端內所含之殘餘樣本之體積的尺寸。

圖30展示在與磁性試劑混合前尖端內之血液樣本。

圖31展示正與磁性試劑混合之血液樣本。

圖32展示與磁性試劑混合之血液樣本。

圖33展示尖端內所含之與磁性試劑混合之血液樣本。

圖34展示移至尖端內所選位置之與磁性試劑混合之血液樣本。

圖35展示由磁體(M)向與磁性試劑混合之血液樣本施加之磁力。

圖36展示已使用磁力分離成紅血球組分與血漿組分之血液樣本。

圖37展示置放在含有已分離成紅血球組分與血漿組分之血液樣本之尖端下的孔。

圖38展示血漿自尖端傳遞至孔之描述。

圖39展示向孔施配血漿後之尖端。

圖40展示含有低吸光度液體之圓柱形尖端的高對比度影像。

圖41展示含有高吸光度液體之圓錐形尖端的影像。

圖42展示具有高吸光度液體之尖端，在尖端內展示兩個彎液面。

圖43展示具有樣本液體及跨越尖端直徑之大氣泡的尖端。

圖44展示含有水之尖端，在透明尖端或毛細管中展示透明上彎液面。

圖45展示計算之蛋白C濃度隨樣本體積變化的曲線圖。

圖46展示具有毛細管、外殼、活塞、凹槽及凸起特徵之樣本傳遞器件的影像。凸起特徵可有助於使活塞定位於外殼中。

圖47展示樣本傳遞器件之毛細管內所含之樣本。

圖48展示樣本已由活塞噴射後之樣本傳遞器件。

圖49展示樣本不完全噴射後之樣本傳遞器件。

圖50展示含有樣本之圓錐形尖端，其中位置L3由所示箭頭指示。

圖51展示L2與L1之間的距離與L3與L1之間的距離之比率隨樣本體積變化之曲線圖。

圖52展示產生有色產物之化學反應之示意圖。

圖53展示自膽固醇產生有色產物之化學反應之示意圖。

圖54展示使用還原等效物產生有色產物之化學反應之示意圖。

圖55展示在與金屬離子錯合後改變顏色之化合物的實例。

圖56展示一系列尖端影像，該等尖端中自右至左白蛋白濃度以兩倍遞減，除不含白蛋白之最左側尖端以外。

圖57展示一系列尖端影像，該等尖端中自右至左膽固醇濃度以兩倍

遞減，除不含膽固醇之最左側尖端以外。

圖58展示自一塊白色不透明塑膠機械加工之一系列半球形孔，各孔中自右至左分析物濃度以兩倍遞減，除不含分析物之最左側孔以外。在一些實施例中，分析物可為鈣。

圖59展示自一塊白色不透明塑膠機械加工之一系列半球形孔，各孔中自右至左分析物濃度以兩倍遞減，除不含分析物之最左側孔以外。在一些實施例中，分析物可為鎂。

圖60展示自一塊白色不透明塑膠機械加工之一系列半球形孔，各孔中自右至左分析物濃度以兩倍遞減，除不含分析物之最左側孔以外。在一些實施例中，分析物可為尿素。

圖61展示一系列含有溴酚藍溶液之尖端。

圖62為具有複數個不同光學路徑長度之尖端的圖解。

圖63展示穿過矩形比色管之光徑。

圖64展示穿過微量滴定孔之光徑。

圖65展示穿過圓錐形比色管之光徑。

圖66展示對於紅色、綠色及藍色通道，如在含有具有不同濃度溴酚藍溶液之樣本之尖端上所量測，光強度隨位置變化的曲線圖。

圖67展示圖66中分析之尖端的影像。

圖68展示如由紅色、綠色及藍色通道所量測，信號隨溴酚藍濃度變化之曲線圖。光學密度可在589 nm下量測。

圖69展示如由藍色(菱形)及紅色(正方形)通道所量測，信號反應隨溴酚藍濃度變化之對數標度曲線圖。

圖70展示藉由數位影像之顏色分析量測之濃度隨實際濃度變化的曲

線圖。

圖71展示如由紅色(正方形)、綠色(菱形)及藍色(三角形)通道量測的信號反應隨白蛋白濃度變化的曲線圖。

圖72展示如針對綠色、紅色及藍色通道量測之聚苯乙烯乳膠粒子之信號反應的三個曲線圖。

圖73展示各分別含有試劑NADH、WST-1、PMS之尖端及兩個含有該等試劑之混合物的尖端。

圖74展示自左至右含有以兩倍遞減之濃度的乳酸去氫酶(LDH)之尖端的數位影像。

圖75展示在450 nm下量測之光學密度隨LDH變化之曲線圖。

圖76展示添加至鉀分析帶中之氯化鉀溶液。

圖77展示含有與血型鑑定試劑抗A、抗B、抗D及對照(自左至右)混合之血液樣本的尖端。

圖78展示對於與抗A、抗B、抗D及對照試劑混合之樣本，隨紅色(左欄)、綠色(中欄)及藍色(右欄)之位置變化之信號的量測信號。

圖79展示使用紅色、綠色及藍色通道對窄及寬路徑長度量測之隨相對濃度變化的經標準化之信號。

圖80展示量測濃度之對數隨實際濃度之對數變化的曲線，說明量測演算法之準確度。

圖81展示管中分析產物之螢光影像。

圖82展示尖端中反應產物之影像。

圖83展示尖端中反應產物之影像。

圖84展示尖端中反應產物之影像。

圖85展示尖端中反應產物之影像。

圖86展示尖端中反應產物之影像。

圖87展示尖端中反應產物之影像。

圖88展示為校準而獲得之背景色影像。

圖89展示尖端中反應產物之螢光影像。

圖90展示隨DNA複本數變化之紅色及藍色通道反應及螢光反應。

圖91展示經轉化三色信號隨螢光信號變化之曲線圖。

圖92展示綠色通道信號反應隨像素位置變化之曲線圖。

圖93展示含有溴酚藍溶液及水之尖端的影像。

圖94展示可含有溴酚藍溶液及水之其他尖端的影像。

圖95展示含有反應混合物以執行多個分析之尖端的示意圖。

圖96展示含有溴酚藍溶液及水之尖端的影像。

圖97展示多個標準物中樣本、水及對照之信號反應的曲線圖。樣本可為含有已知濃度分析物之水性校準物。

圖98展示含有 Ca^{2+} (尖端之上部區域)與 Mg^{2+} (尖端之下部區域)之分析物的尖端。

圖99展示具有各種類型血清樣本之四個尖端：溶血(顏色為紅色)、脂血(灰色)、黃疸(顏色為黃色)及正常(自左至右)。

圖100展示相機及光學組件之示意圖。

圖101展示包括白光光源、光圈及感測器之相機及光學組件之橫截面圖。

圖102展示使用(A)置放成以與激發光束呈直角偵測光之感測器及(B)置放成與激發光束成直線之感測器量測光信號之光學裝備的示意圖。

圖103展示使用(A)垂直於感測器之激發光束及(B)與感測器成直線之激發光束獲得之影像。

圖104展示可用於校準光學裝備之印刷染料陣列。

圖105展示信號隨樣本體積變化之曲線圖。系列1-5可對應於不同分析物濃度，諸如分別為0、20、40、60及80。

圖106展示信號隨樣本體積變化之曲線圖。系列1-5可對應於不同分析物濃度，諸如分別為0、20、40、60及80。

圖107展示信號隨樣本體積變化之曲線圖。系列1-5可對應於不同分析物濃度，諸如分別為0、20、40、60及80。

圖108展示量測之分析物濃度隨實際分析物濃度變化之曲線圖。

圖109展示量測之分析物濃度隨實際分析物濃度變化之曲線圖。

圖111展示靜止時轉子之一實例，其中桶為垂直的。

圖112展示在一速度下轉子之一實例，其中桶相對於水平面呈小角度。

圖113展示桶組態之一實例。

圖114展示與桶配合之離心器皿之一實例。

圖115展示可與桶配合之另一離心器皿之一實例。

圖116展示離心器皿之一實例。

圖117展示提取尖端之一實例。

圖118提供離心器皿及提取尖端如何配合之一實例。

圖119為初始反應混合物在離心前所獲得之影像。

圖120為初始反應混合物在離心前所獲得之另一影像。

圖121為初始反應混合物在離心前所獲得之另一影像。

圖122展示作為界面距血漿彎液面之距離的結果。

圖123提供展示經標記白血球之螢光顯微圖的一實例。

圖124提供使用暗視野影像之細胞內圖案之一實例。

圖125提供自經標記細胞樣本多參數獲取資料之一實例。

圖126提供人類全血之明視野影像之一實例。

圖127提供定量多參數資料獲取及分析之一實例。

圖128展示光分佈之變化。

圖129展示五種分析之資料。

圖130展示相對於分析物濃度繪圖之參數，以及關於準確度、精度及預測濃度之曲線圖。

圖131展示藉由數位相機收集之影像。

圖132說明反應產物所獲得之影像的實例。

圖133提供在離心機中旋轉前及在離心機中旋轉後分析之影像的實例。

圖134說明反應產物所獲得之影像的實例。

圖135說明若干個血清樣本之光譜圖。

圖136說明使用陣列進行之本發明偵測方法之一實例。

圖137說明使用珠粒進行之本發明偵測方法之一實例。

圖138說明使用經標記適體進行之本發明偵測方法之一實例。

圖139說明結合於互補探針之適體的偵測。

圖140說明適體與非互補探針之間不存在結合。

圖141說明陣列上適體之結合特異性。

圖142展示陣列上分析物偵測之更詳細圖。

圖143展示陣列之一實例。

圖144展示對於維生素D分析，化學發光相對於濃度之圖。

圖145展示對於雌二醇分析，化學發光相對於濃度之圖。

圖146展示WBC濃度之分光光度量測。

圖147展示濁度隨時間變化之圖。

圖148為800個複本/微升及80個複本/微升下之三個實驗之回折點的圖。

圖149示意性說明ELISA分析之例示性方法。

圖150為使用磁性珠粒經由ELISA分析來分析蛋白質及小分子之實例的圖。

圖151為使用磁性珠粒經由ELISA分析來分析蛋白質及小分子之實例的圖。

【實施方式】

本申請案主張2011年1月21日申請之美國臨時專利申請案第61/435,250號之優先權，該申請案以全文引用的方式併入本文中。

本發明之新穎特徵詳細闡述於隨附申請專利範圍中。藉由參考闡述利用本發明原理之說明性實施例的如下實施方式以及以下附圖可更好地瞭解本發明之特徵及優勢。

儘管本文已展示且描述本發明之較佳實施例，但熟習此項技術者應顯而易見該等實施例僅以實例之方式提供。熟習此項技術者現在可在不背離本發明之情況下進行多種改變、變化及替換。應瞭解本文所述之本發明實施例之各種替代物可用於實踐本發明。

本發明提供樣本使用最大化之系統及方法的移動應用。本文所述之

本發明之各種態樣可用於任何下述特定應用或任何其他類型之診斷或治療應用。本發明可作為獨立系統或方法應用或作為整合之臨床前、臨床、實驗室或醫學應用的一部分應用。應瞭解，本發明之不同態樣可個別地、整體地或彼此組合地理解。

本文之器件及系統可提供即時偵測個體體液中所存在之分析物的有效方法。該等偵測方法可用於多種情形，包括鑑別及定量與特定生物過程、生理條件、病症或病症階段有關之分析物。因此，該等系統在如下領域具有廣泛應用：例如藥物篩選、疾病診斷、系統分類、親本及法醫學鑑別、疾病發作及復發、相對於人群基數個體對治療之反應及/或療法監測。本發明之器件及系統亦尤其適用於推進開發治療劑之臨床前及臨床階段、改良患者順應性、監測與指定藥物有關之ADR、開發個別化藥物、自中心實驗室向家或基於處方進行的外包式血液測試及/或調控部門批准後的治療劑監測。本發明之器件及系統可由購買者自中心實驗室進行外包式血液測試。該等器件及系統可提供個別化藥物之靈活系統。在使用相同系統時，器件可與系統之可程式化處理器之協定或指令一起改變或交換而執行所述多種分析。本文所述之系統及器件儘管小很多及/或為攜帶型，但可包含新穎特徵且提供實驗室儀器之多個功能。

在一態樣中，本發明之系統包含如下器件，其包含分析單元及包括試劑(例如液相及/或固相試劑)之試劑單元。在一些實施例中，整個器件、分析單元、試劑單元或其組合中之至少一者為可拋棄的。在本發明之系統中，用本發明之器件偵測分析物通常自動進行。該自動化可藉由嵌入式協定或製造商向系統提供之協定實現。

如本文所述之器件及系統可提供多個現有POC系統或整合分析系統

中不存在之特徵。舉例而言，多個POC筒依靠於封閉射流系統或迴路而以有效方式處理小體積之液體。射流器件(諸如本文所述之筒)可在既定筒內之單元之間具有開放之流體移動。舉例而言，試劑可儲存於一單元中，樣本儲存於樣本收集單元中，稀釋劑儲存於稀釋劑單元中且捕捉表面可在分析單元中，其中在筒之一種狀態下，所有單元與任一其他單元均不能流體連通。單元可相對於彼此移動以使用系統之流體傳遞器件使一些單元流體連通。舉例而言，流體傳遞器件可包含嚙合分析單元且使分析單元與試劑單元射流連通的頭部。在一些情況下，頭部為吸管頭部，其使分析單元(例如尖端)移動而與試劑單元流體連通。

因此，在一實施例中，本發明提供一種偵測及/或量測體液或組織樣本中之分析物之濃度的方法，該方法通常包含如下步驟：向本發明之器件或系統提供樣本(例如血液、尿液、唾液、組織)，使樣本在器件之至少一個分析單元內反應，及偵測由血液樣本中之分析物產生的可偵測信號。

本發明之一態樣提供使用經組態以最大化樣本使用之重點照護器件分析樣本。舉例而言，可對體積小於約1、20、50、100或500 μL 之樣本執行超過約15、25、50、75或100個分析。樣本可為由手指刺紮獲得之血液樣本。樣本可收集在可密封毛細管或尖端中。可藉由對樣本進行分離(例如離心)及/或稀釋處理而將樣本製備用於一或多個分析。一或多個分析物可藉由將可能經分離且稀釋之樣本與一或多種試劑在反應室中組合製備。反應室可為吸管尖端、小瓶、樣本傳遞器件及/或比色管。一或多個分析可經組態以使得可量測光信號，該光信號指示樣本中之一或多種分析物之濃度。反應室可含有複數個分析物，其可在空間上分離。可由一個分析物或複數個空間上分離之分析物在單一反應室內產生複數個光信號。一

或多個光信號可藉由可量測複數個偵測光譜區或偵測帶(例如紅色、綠色及藍色)之數位成像相機量測。光信號可對可為吸管尖端或其他樣本容器之反應室中的分析反應產物量測。系統、器件及方法可藉由可程式化邏輯完全自動化或半自動化。

本發明之另一態樣提供用於製備樣本以供分析之用的系統、器件及方法。樣本可藉由一或多個分離器件製備用於分析。舉例而言，樣本可藉由在離心機內離心製備用於分析。亦可實施基於電荷、尺寸、疏水性/親水性及/或揮發性之其他分離。

本發明之一個態樣提供使用基於影像之分析的樣本及反應產物分析。系統可包括可使用一或多個偵測光譜區量測光信號之相機。舉例而言，相機可使用紅色、綠色及藍色偵測光譜區量測光信號。量測之信號可包括三個量測值，其可使用本文所述之一或多個演算法說明。相較於使用單一偵測光譜區量測，使用一個以上偵測光譜區可增大分析之動態範圍且可提高量測之準確度。

本發明亦提供對反應室內所含之樣本及分析反應產物執行光學量測的系統、器件及方法，該等反應室各具有複數個不同路徑長度。反應室可具有複數個不同路徑長度，使得可觀察較大或較小之吸光度量。複數個不同路徑長度(諸如穿過樣本及/或反應室)使得可增大所選分析協定之動態範圍。反應室之影像可如本文所述分析以獲得樣本或分析反應產物之資訊。在單一反應室內使用複數個有用路徑長度與使用三通道偵測光譜區的組合極大地增大既定分析之動態範圍。

執行樣本製備及分析之系統可包括儀器、拋棄型組件及試劑。系統可接納樣本且無需使用者介入即可自動執行複數個分析。必要時，儀器可

包括圖形使用者介面、引入可拋棄之筒的機構、可在三維空間中移動之電動平台、一或多個單頭液體處理器件、一或多個多頭液體處理器件、一或多個執行樣本製備之器件、可包括PMT及/或成像器件之光感測器、溫度控制器及通信器件。拋棄型組件可包括含有樣本尖端、尖端密封件及試劑之拋棄型筒。在一些實施例中，拋棄型筒亦可含有經組態以吸收且中和液體分析產物之中和組件。

儀器、拋棄型組件及試劑可置於可封閉環境(諸如外殼或箱)內。在一些實施例中，外殼之橫截面積為小於約4 m²、2 m²、1 m²、0.5 m²、0.1 m²、0.05 m²或0.05 m²以下。本發明提供分散式測試系統，諸如重點照護器件，其可包括一或多個如下態樣：

- 1.有效(離心)分離血液且回收經分離血漿
- 2.稀釋血漿樣本至一或多個水準(例如1:10、1:100、1:1000)以使各分析可以最佳稀釋度執行。
- 3.使樣本最佳地分配於可能涉及數個不同方法之數個不同分析
- 4.最佳分析協定
- 5.使用末端開放的圓形截面比色管進行樣本分析，與試劑混合，培育且向光學系統呈現
- 6.使用成像技術(掃描及/或攝影術及/或顯微術)對分析進行分析。

在一個實施例中，本發明之器件為自持式，且包含同時執行複數個分析所要之所有試劑，即液相及固相試劑。必要時，器件經組態以執行至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100、200、500、1000個或1000個以上之分析。必要時亦可將一或多個對照分析併入器件中以同時執行。亦可提供校準物以進行分析系統校準。適用於分析系統校

準之乾燥對照及校準物之一些實例可包括具有已知含量之分析物的分析物、血清或血漿樣本之水溶液，已知量之該等校準物及對照亦可藉由凍乾、真空乾燥及其他製造方法乾燥(且在分析期間溶解)。

藉由在重點照護系統內併入此等組分，患者或使用者可在小於約0.5、1、2、3、4、5、10、20、30、60、120、180、240、480或600分鐘內定量複數種分析物，例如超過約10、20、30、50、75、100、150或200種分析物。

本發明之器件及系統可用於進行定量免疫分析，其可在短時間內完成。可用本發明器件執行之其他分析類型包括(但不限於)量測核酸序列及量測代謝物(諸如膽固醇)或電解質(諸如鎂離子及氯離子)。在一些實施例中，分析在不超過1小時，較佳小於120、60、30、15、10、5、4、3、2或1分鐘內完成。在其他實施例中，分析在小於5分鐘內執行。分析偵測之持續時間可根據欲用本發明器件進行之分析類型相應調節。舉例而言，若需要較高靈敏度，則可培育分析物一小時以上或長達一天以上。在一些實施例中，需要長持續時間之分析在其他POC應用(諸如家用)中比在臨床POC環境中更實用。

在本發明之其他實施例中，本發明器件之試劑單元經組態以成為一組混合-匹配式組件。試劑單元通常儲存進行偵測既定分析物之分析所必需的液體或固體試劑。分析單元有時可(或視情況未必)包含至少一個能夠與體液樣本之分析物反應的捕捉表面。分析單元可為尖端內具有捕捉表面之管狀尖端。本文描述本發明尖端之實例。各個別分析及試劑單元可經組態以用於獨立地完成分析功能。為組裝器件，單元可以即時方式組裝以用於整合之器件(其可採用筒之形式)。

本發明器件之外殼可由聚合材料、金屬材料或複合材料(諸如鋁、聚苯乙烯或其他可模製或可機械加工塑膠)製成，且可具有指定位置來放置分析單元及試劑單元。外殼可包括金屬或任何其他材料。外殼可部分或完全密封分析單元及/或試劑單元。外殼可支撐分析單元及/或試劑單元之重量。在一實施例中，外殼具有沾吸尖端或分析單元以移除過量液體之構件。沾吸之構件可為多孔膜(諸如乙酸纖維素)或片狀吸收性材料(諸如濾紙)。

在一些實施例中，器件之至少一個組件可由聚合材料建構。聚合材料之非限制性實例包括聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚丙烯、聚二甲基矽氧烷(PDMS)、聚胺基甲酸酯、聚氯乙烯(PVC)、聚矽、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯(ABS)及玻璃。

器件或器件之子組件可藉由各種方法製造，包括(但不限於)壓印、射出成形、模壓、鑄造、吹塑、機械加工、焊接、超音波焊接及熱黏合。在一實施例中，器件藉由射出成形、熱黏合及超音波焊接製造。器件之子組件可藉由熱黏合、超音波焊接、摩擦配合(壓入配合)、黏著劑彼此附著，或在某些基板(例如玻璃或半剛性及非剛性聚合物基板)之情況下，兩個組件之間天然黏著。

所述系統可執行各種分析，與自體液樣本偵測之分析物無關。取決於器件特性之協定可自可儲存其之外部器件傳遞至讀取組件以使得讀取組件可在器件上執行特定協定。在一些實施例中，器件具有由本文所述之識別符(ID)偵測器偵測或讀取之識別符。識別符使得器件與感測器或接收系統之間可雙向通信。識別符偵測器與通信組件可經由控制器通信，該控制器將識別符傳輸至外部器件。必要時，外部器件根據識別符將外部器件上

所儲存之協定發送至通信組件。在系統上執行之協定可包含系統之控制器執行該協定之指令，包括(但不限於)欲執行之特定分析及欲執行之偵測方法。系統執行分析後，產生指示體液樣本中之分析物的信號且由系統之偵測組件偵測。偵測信號可隨後傳達至通信組件，在此處其可傳輸至外部器件中進行處理，包括(但不限於)計算樣本中之分析物濃度。

使用重點照護器件執行樣本分析之系統、器件及方法以及可充當反應室之尖端描述於美國專利公開案第2009/0088336號及美國臨時申請案第60/997,460號中，該等案各以全文引用的方式併入本文中以用於達成所有目的。

樣本處理及反應室

本文所述之樣本、試劑及集合之分析物可由各種反應室類型處理及包含。樣本處理器件及反應室可為孔、管或末端開放之尖端，其亦可為比色管。如本文所用之尖端亦可稱作樣本尖端、比色管尖端、反應室、比色管、毛細管、樣本處理器件或樣本傳遞器件。樣本可自來源收集至尖端或管中。尖端可密封。該等密封可為永久的或可逆的。經稀釋樣本可與一種或多種試劑在「分析元件」(諸如尖端(末端開放之比色管)或開放或經覆蓋之孔)內組合且混合(如前述申請案中所述)。一旦準備讀取分析，即可向光學系統呈現分析元件以進行影像分析或其他類型之讀取。或者，可將分析反應混合物自一類元件傳遞至另一類元件。舉例而言，可將在尖端中培育之分析物沾吸於吸收劑或吸收性介質上，或可將在孔中培育之分析物抽吸至尖端中。可同時處理多個分析物。視分析協定及/或培育時間而定，分析讀取可連續或同時進行。對於涉及變化速率量測之分析，可在不同時間向光學系統不止一次地呈現分析元件。

流體及物質傳遞器件

流體傳遞器件可為系統之一部分。流體傳遞器件可包含複數個頭部。本發明之流體傳遞器件預期包括偵測樣本中之複數種分析物所需之大量頭部。在一實例中，流體傳遞器件具有約8個頭部，其安裝成列且相隔一定距離。在一實施例中，頭部具有逐漸變細之管口，該管口藉由壓入配合與各種尖端(諸如本文所述之分析單元或樣本收集單元)嚙合。尖端可具有使其在使用後可由儀器自動移出且安置於所述器件之外殼中的特徵。在一實施例中，分析尖端清晰透明且可類似於其中執行分析之比色管，其可由光學偵測器(諸如光電倍增管或相機感測器)偵測。

在一實例中，系統之可程式化處理器(例如中央處理單元，CPU)可包含或經組態以接受(諸如來自記憶體位置之)指令或命令，且可根據該等指令操作流體傳遞器件以藉由抽回活塞(以汲取液體)或將活塞伸入封閉空氣空間中(以排出液體)來傳遞液體樣本。處理器可經組態以促進抽吸及/或施配。移動空氣之體積與移動速度均可例如由可程式化處理器精確地控制。

樣本(或試劑)與稀釋劑(或其他試劑)之混合可藉由將欲混合組分抽吸至常用管中，隨後重複上下抽吸大部分組合液體體積至尖端中達成。將乾燥試劑溶解於管中可以類似方式進行。在上面結合捕捉劑(例如抗體)之捕捉表面存在下培育液體樣本及試劑可藉由將適當液體抽吸至尖端中且使其在此處保持預定時間達成。移除樣本及試劑可藉由將液體排至所述器件中之儲集器或吸收墊中達成。隨後可根據可程式化處理器之指令或協定將另一試劑汲取至尖端中。

系統可包含用於移動分析單元或尖端之固持器或嚙合件。嚙合件可包含真空組件或設計成可緊密地配合於分析單元尖端之突起中的組件。舉

例而言，移動尖端之構件可以類似於流體傳遞器件頭部之方式移動。該器件亦可在平台上根據嚙合件或固持器之位置移動。

在一實施例中，移動尖端之儀器與移動一定量樣本之儀器(諸如本文所述之流體傳遞器件)相同。舉例而言，樣本收集尖端可根據收集尖端上之突起配合於吸管頭部上。隨後可使用收集尖端在器件及系統內分配液體。液體分配後，可棄去收集尖端，且吸管頭部可根據分析單元上之突起配合於分析單元上。隨後分析單元尖端可自試劑單元移至試劑單元，且試劑可根據吸管頭部所提供之抽吸或吸取型動作分配給分析單元。吸管頭部亦可在收集尖端、分析單元或試劑單元內藉由抽吸或注射型動作執行混合。

在另一實施例中，含有包括分析反應混合物之液體的尖端可與吸取器件斷開且「停放」在儀器或拋棄型單元內之特定位置。必要時，尖端可使用密封件(如離心機中所用)封口以防止液體流出。在一些實施例中，密封件可為乙烯基密封件。

例示性樣本尖端

可使用各種容器形狀作為樣本尖端、反應室及比色管。舉例而言，比色管可為圓形、圓柱形、正方形、矩形、立方形、圓錐形、棱錐形或能夠固持流體樣本之任何其他形狀。可使用如**圖63**中之平面圖及剖視圖所示，光束以直角照射於比色管表面之矩形比色管。在該等矩形比色管中，照射之液體樣本亦呈矩形且由比色管界定。亦可使用具有圓形橫截面之比色管。例如一些類型之微量滴定盤，其中照射之樣本體積由樣本彎液面部分界定，如下在**圖64**中之平面圖及剖視圖中所示。

可使用不用路徑長度比色管最佳化且擴展分析反應且最小化量測分

析所需之樣本體積。比色管之橫截面在至少一個區域中可較長。在一些情況下，比色管之路徑長度可基於比色管幾何形狀及/或材料選擇。可選擇不同比色管用於不同分析。

在本發明中，分析比色管之一個較佳型式沿光束方向具有圓形橫截面，如圖65所示。使用具有圓形橫截面之比色管具有若干優勢，包括(但不限於)以下：

1.可精確地界定光路徑長度。發現注射成型部件之尺寸精度優於1-2% CV。在習知微量滴定盤中，不受拘束之彎液面可使路徑長度不精確。

2.尖端之末端開放之特徵及圓形截面賦予極佳流體處理特徵，使得可極精確地抽吸液體。

3.尖端之光學影像提供鑑別尖端位置及液體柱邊界及極精確地定位信號最大之尖端中心的能力。

4.一種以上液體樣本可在同一尖端中培育且分析。此係因為在尖端之狹窄部分，相鄰液體「塊」之間極少發生物質傳遞(沿軸線方向)。

例示性尖端可具有如下一般特徵：

尖端長度：0.5-4 cm

尖端OD：0.2-1.0 cm

尖端ID：0.1-0.5 cm

尖端之液體容量：5-50 μ L

尖端尺寸精度：一般優於2%或 ± 0.001 cm

尖端組態：尖端一般具有與吸管(圓柱形)嚙合之特徵以形成流體緊密封。存在用於成像之一般圓柱形或圓錐形區域。一般而言，尖端之光學部件具有至少兩個具有不同路徑長度之不同截面。尖端之下端通常狹窄以

有助於在重力下保留垂直液體柱。

尖端材料：透明或均勻反射之塑膠(聚苯乙烯、聚丙烯等)(可見光中之光的透射率>80%)

出於成像目的，尖端可一般為透明或半透明的，但在使用三色分析時，欲很好地用作分析比色管，尖端不必為透明。呈現「渾濁」之尖端比色管可類似於透明尖端起作用。渾濁尖端在具有未拋光或紋理化表面之注射模具中或藉由向用於製造尖端之塑膠添加一些光散射材料製造。該等渾濁尖端之光散射強度經選擇，不會大至模糊欲量測之有色液體。一般而言，相對於有色材料之影響，可選擇光散射對透射光之影響小於10%(20%及30%)。光散射作用經選擇，使得渾濁尖端之光散射均一。

本文所述之尖端及反應室可包含長度為約2 cm且內徑為約1-5 mm，對應於約10-50 μ L之容量的圓柱形(或圓錐形)軸。

在一個實例中，圓柱體之上端為經截短之圓柱形「突起」，該突起流體連接至圓柱體且經改適以能夠與吸管之逐漸變細之特徵嚙合。尖端之下端可變窄以提供使尖端在其液體內含物垂直定向且不附著於吸管時可固持該等內含物的特徵。尖端可為尖形尖端。尖端下端之外部形狀通常亦略呈尖形，且直徑自圓柱形軸之主要部分向末端減小以能夠用與尖端末端壓入配合之可撓性(乙烯基)帽流體密封。尖端通常由模製塑膠(聚苯乙烯、聚丙烯及其類似物)製成。尖端可為透明或半透明的，以使得關於樣本之資訊可藉由成像獲得。

圖4、圖5及圖6展示尖端之一實例。尖端經組態以具有(1)可與吸管頭部嚙合形成氣密密封之上部特徵，(2)基本上圓柱形(實際上為圓錐形，具有極小牽引角)之軸及狹窄尖形下部尖端。此尖端可與帽形成液體緊密

密封。尖形形狀有助於與帽在中等力下產生良好一致性。所用材料為注射成型之聚苯乙烯。整體尺寸為：長度為32 mm，最大外徑為約7.6 mm，有用容量為約20 μL 。尖端之尺寸可按比例增至較大體積。舉例而言，對於50 μL 樣本，ID可增加約1.6倍。

密封可使用由乙烯基或其他材料製成之帽達成，該帽易於使用由沿z軸方向運動動儀器平台所產生之力壓入配合於樣本收納構件之狹窄端。在尖端加帽時氣泡可陷入尖端內。可使用離心步驟將氣泡驅至血液柱之頂部以消除氣泡之影響。尖端之尺寸及/或離心機中尖端固持器之尺寸可匹配以使得尖端可緊固進行離心。

樣本製備

本發明提供處理及分析可自各種來源收集之樣本的系統、方法及器件。舉例而言，樣本可自患者、動物或環境收集。樣本可為體液。懷疑含有相關分析物之任何體液可與本發明之系統或器件結合使用。常用體液包括(但不限於)血液、血清、唾液、尿液、胃液、眼淚、糞便、精液、陰道液、源自腫瘤組織之間質液及腦脊髓液

在一些實施例中，體液為人類患者之血液樣本。血液來源可由手指刺扎收集，且具有小於約0.5、1、5、10、20、50、100、200、300、400、500或1000 μL 之體積。

可自患者汲取體液且以各種方式提供給器件，包括(但不限於)刺戳、注射或吸取。

如本文所用之術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用，且係指脊椎動物，較佳指哺乳動物，更佳指人類。哺乳動物包括(但不限於)鼠類、猴、人類、農用動物、運動型動物及寵物。

在一個實施例中，刺血針刺穿皮膚且使用例如重力、毛細作用、抽吸或真空力取出樣本。刺血針可為器件之一部分或系統之一部分或獨立組件。必要時，刺血針可由各種機械、電學、機電或任何其他已知啟動機制或該等方法之任何組合啟動。在不需要啟動機制之另一實施例中，患者可簡單地向器件提供體液，例如可用唾液樣本進行。可將收集之流體放置於器件內之樣本收集單元中。在另一實施例中，器件包含至少一個可刺穿皮膚之顯微針。

欲用於器件之體液體積可小於約500微升，通常為約1微升至100微升。必要時，1微升至50微升、1微升至40微升、1微升至30微升、1微升至10微升或甚至1微升至3微升之樣本可用於使用該器件偵測分析物。在一實施例中，用於使用本發明之器件或系統偵測分析物之體液體積為1滴流體。舉例而言，來自經刺扎手指之一滴血液可提供欲用本文所述之器件、系統或方法分析之體液樣本。

體液樣本可自個體直接收集於本文所述之尖端中，或可隨後傳遞至尖端中。

樣本稀釋

在一些情況下，將處理器組態成可引導流體傳遞可在分析單元陣列中實現使指示複數種分析物之信號在可偵測範圍內偵測到，從而使得該複數種分析物可用該系統偵測的體液樣本之稀釋程度。在一實例中，體液樣本包含至少兩種分析物，其以相差至少1、2、5、10、15、50、100、500、1000、10,000、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 或 10^{10} 倍之濃度存在。在一實例中，體液樣本為一滴血液。在一實施例中，樣本中存在之至少兩種分析物之濃度相差多達10個數量級(例如第一分析物以0.1 pg/mL存在，且

第二分析物以500 µg/mL存在)。在另一實施例中，發現一些蛋白質分析物之濃度大於100 mg/mL，其可將相關範圍擴展至約十二個數量級。在使用指數擴增法(諸如聚合酶反應)量測核酸分析物(諸如DNA及RNA)之情況下，在量測前，分析物之複本數可增加十億倍。

必要時，體液樣本之稀釋程度可使指示至少兩種分析物之信號在可偵測範圍內。

如所述，本文之系統及器件可使諸多特徵在POC環境中具有實驗室環境之靈活性。舉例而言，樣本可在台面尺寸或更小器件或系統中自動收集且操作。POC器件中之常見問題為在進行複數個分析(其中該等分析可具有顯著不同之靈敏度或特異性)時達成不同稀釋範圍。舉例而言，樣本中可能存在兩種分析物，但一種分析物在樣本中具有高濃度，且另一種分析物具有極低濃度。如所提供，本文之系統及器件可將樣本稀釋至顯著不同水準以偵測兩種分析物。或者，可將樣本分成兩個或兩個以上樣本，從而使得個別分析物可以各種稀釋水準偵測。

舉例而言，若分析物為高濃度，則樣本可連續稀釋至適當偵測範圍且提供至捕捉表面進行偵測。在同一系統或器件中，分析物濃度低之樣本可能無需稀釋。以此方式，本文所提供之POC器件及系統之分析範圍可自多個當前POC器件擴大。

在使用含有稀釋劑之拋棄型筒之POC分析系統中，稀釋程度通常存在實際極限。舉例而言，若欲稀釋藉由手指刺戳獲得之小血液樣本(例如約20微升)，且可放置於管中之稀釋劑的最大體積為250微升，則整個樣本稀釋之實際極限為約10倍。在本文之一實例中，系統可抽吸較小體積(例如約2微升)之樣本，使得最大稀釋因子為約100倍。對於多個分析，該等

稀釋因子可接受，但對於如CRP(如本文實例中所述)之分析，需要程度高得多的樣本稀釋。基於分離之ELISA分析在捕捉表面結合分析物之能力方面(例如對於典型蛋白質分析物，每毫升為約數百奈克)可具有固有極限。一些分析物以每毫升數百微克存在於血液中。即使在稀釋100倍時，分析物濃度仍可能超出校準範圍。在本文之系統、器件及流體傳遞器件的一例示性實施例中，藉由向個別分析單元或樣本收集單元中執行多次稀釋劑之流體傳遞可獲得多個稀釋度。舉例而言，若如上所述樣本中分析物之濃度極高，則可多次稀釋樣本，直至分析物之濃度在可接受之偵測範圍內。本文之系統及方法可提供稀釋度之準確量測或估算以計算分析物之初始濃度。

樣本分離

在本發明之一些實施例中，樣本可藉由初始分離步驟製備用於分析。舉例而言，若分析為DNA分析，則可使用DNA分離步驟去除或減少污染物或非所需源材料。分離步驟可使用層析、離心液-液萃取、固-液萃取、親和力結合或熟習此項技術者已知之任何其他機制。

在一些實施例中，欲分析血液樣本首先藉由自血液樣本分離血漿組分來處理。此步驟可使用各種技術(諸如過濾、離心及親和力結合)執行。離心可為分離血液樣本組分之有效方法，且可用於本發明中。

血漿分離

可將血液以各種方式引入末端封閉或可密封之尖端中，例如樣本可提供於管中，且可密封尖端經由毛細作用或經由氣動力自管接收樣本。引入之一較佳方式為使用毛細作用。或者，用於固持樣本以進行離心分離之容器可如習知離心機中一般僅組態有一個孔。

尖端在用血液填充後可自動移至拋棄型筒中存在密封元件之位置。密封元件可為由可變形(柔韌性)材料(乙烷基、聚矽氧或其類似物)製成之小「杯」，其可適合於配合於尖端之下端上且將其密封。尖端藉由儀器壓至密封件中，由此形成不透液接面。隨後將經密封尖端移至小離心機(通常定位於該儀器中且形成該儀器之一部分)中，且壓入配合至離心機轉子中之定位特徵中以使尖端之下端(密封)對接於在離心步驟期間支撐尖端之剛性擱板。

離心機轉子可為圓形，直徑為約10 cm。含有血液之尖端的質量(1)相對於轉子而言很小，或(2)必要時，藉由定位於轉子之相對部分的配衡重量平衡以最小化離心步驟期間的任何振動。離心機轉子之一個例示性定向為垂直(旋轉軸為水平)。將轉子安裝於由電動馬達驅動之驅動軸中。

離心可藉由在約15,000 rpm下旋轉轉子5分鐘達成。在此處理期間，血液中之特定成分(紅血球及白血球)沈降於尖端之密封端且形成緊密堆積之柱，而無細胞血漿分離在尖端之遠離密封件之部分處。

隨後含有經分離樣本之尖端可垂直地放置於流體處理器件可進入之位置中，該流體處理器件包含安裝在吸取器件上之狹窄吸管尖端(「樣本獲取尖端」)，該吸取器件又安裝在x-y-z平台上。

現在可自經離心樣本有效地回收血漿。此藉由沿離心機尖端之軸垂直移動樣本獲取尖端以使其與血漿流體接觸且可使用例如氣動方式向上抽取血漿來達成。

視情況，此操作可使用相機或另一成像器件監測，相機或另一成像器件可用於量測樣本血球比容與向平台/吸管控制器提供關於血漿/紅血球邊界之位置的資訊。藉助於使經分離血液成像，垂直向下緩慢移動配合於

吸管之狹窄吸管尖端，以使該尖端沿樣本收納構件向下軸向引導，直至其接觸血漿。隨後進一步移動尖端直至其接近(在小於約3、2、1、0.5或0.1 mm內)堆積細胞界面。同時，在電腦控制下將血漿抽吸至狹窄吸管尖端中。血漿可在移動狹窄吸管尖端至血漿柱中之同時抽吸以使血漿不會轉移至樣本收納構件之上部中。在血漿移出步驟期間可控制抽吸以避免抽吸空氣。

一般而言，可使用具有極狹窄末端之吸管尖端(諸如用於將樣本施用於電泳系統之吸管尖端)自離心樣本尖端抽吸血漿。狹窄尖端通常呈圓錐形或逐漸變細，尺寸為1-3×0.1-0.5 cm(長度×直徑)且由各種材料(聚丙烯、聚苯乙烯等)中之任一者製成。材料在可見光中可為透明或半透明的。尖端之一端與吸取器件嚙合。另一端極狹窄(0.05-0.5 mm OD)以使其可移至樣本尖端中而不會接觸樣本尖端之內表面。即使血漿抽吸尖端與樣本尖端之間存在接觸，血漿抽吸亦不受阻礙。

在平台上進行血漿抽吸過程之一示意圖展示於圖7中，其中在抽吸步驟期間血漿抽吸尖端剛好位於血漿-堆積細胞界面上方。

以此方式發現可移出幾乎所有血漿，僅在離心樣本尖端中留下極少量，例如1 μL 。此對應於來自20 μL 血球比容為40%之血液的約11 μL 血漿(90%回收率)。另外，可自經離心樣本之影像測定血漿樣本之品質(在溶血、脂血及黃疸方面)。

所抽吸血漿可移至其他位置以稀釋且與分析試劑混合，以便可執行分析物(包括但不限於代謝物、電解質、蛋白質生物標記物、藥物及核酸)的分析。

分離白血球

本發明之另一用途為自血液分離且濃縮白血球。在本發明之一態樣中，首先藉由向血液添加試劑(例如 BD Pharmlyse™ 555899 或 BD FACS™ 溶解溶液 349202)且混合對血液樣本進行溶解紅血球(且視情況固定白血球)之處理。短暫培育後，如上所述對經溶解樣本進行離心以使白血球濃縮在血液尖端之密封端。隨後可藉由抽吸移出經溶解紅血球溶液。回收白血球藉由如下方法達成：(1)添加少量緩衝溶液且重複上下抽吸以使細胞再懸浮，繼而轉移至容器中，或(2)移除密封件且使用空氣壓力將堆積細胞向下轉移至容器中。

替代性方案使得可不經紅血球溶解回收白血球。血液離心(如所熟知)後，白血球在堆積紅血球之頂部形成層，稱作膚色血球層(Buffy Coat)。移除大多數血漿(如上所述)後，白血球可藉由如下方法有效回收：(1)視情況添加少量(例如約 5 μ L)等張緩衝液，或(2)使用殘餘血漿且藉由使用樣本獲取尖端重複抽吸及/或機械攪拌再懸浮白血球。懸浮後，可藉由抽吸獲得所得白血球與亦再懸浮之少量紅血球之混合物以分析白血球。以此方式，可回收大多數白血球(通常為所有白血球)，僅存在少量(污染量)之紅血球(通常小於初始紅血球之 5%)。

離心

圖1、圖2及圖3展示可整合於系統中之離心機的按比例繪製之透視圖(圖1-側視圖，圖2-正面圖，圖3-背視圖)。離心機可含有能夠以 15,000 rpm 轉動轉子之電動馬達。一類離心機轉子之形狀略似扇葉，其在垂直平面中安裝在馬達軸上。一元件附接於轉子，其固持樣本固持構件(尖端)且提供上面可擱置尖端之遠離馬達軸之末端且在離心期間提供支撐以使樣本不會逸出的凸緣或擋板。尖端可在其近端由轉子中之機械止動器進一步支

撐。可提供此機械止動器以使離心期間所產生之力不會穿過柔軟的乙烯基帽。尖端可藉由標準抓取及放置機構，但較佳藉由吸管插入且移出。轉子為單件丙烯酸(或其他材料)，其經成型以在操作離心機期間最小化振動及雜訊。轉子(視情況)經成型，使得在其以與垂直方向呈特定角定向時，儀器中之其他可移動組件可穿過離心機移動。樣本固持構件藉由轉子對側之配衡質量離心平衡以使轉動慣量之中心相對於馬達在軸向。離心機馬達可向電腦提供位置資料，電腦可隨後控制轉子之其餘位置(通常在離心之前及之後為垂直的)。

如由圖8及圖9中之兩條曲線可見，根據公開標準(DIN 58933-1；對於美國，CLSI標準H07-A3「Procedure for Determining Packed Cell Volume by the Microhematocrit Method」；已批准標準-第三版)，為最小化離心時間(在離心期間不產生過多機械應力)，轉子之適宜尺寸在約5-10 cm範圍內，在約10-20千轉/分鐘下旋轉，從而堆積紅血球之時間為約5分鐘。

計算離心力之例示性方程如下所示：

$$RCF = \frac{r(2\pi N)^2}{g}$$

其中

g 為地球之重力加速度，

r 為旋轉半徑，

N 為轉速，以轉/單位時間為單位量測。

其中：

r_{cm} 為旋轉半徑，以公分(cm)為單位量測，

N_{RPM} 為轉速，以轉/分鐘(RPM)為單位量測。

$$\text{RCF}=1.118 \times 10^{-5} r_{\text{cm}} N_{\text{RPM}}^2$$

在一些實施例中，離心機可為具有擺動桶設計之水平定向離心機。在一些較佳實施例中，離心機之旋轉軸為垂直的。在替代性實施例中，旋轉軸可為水平的或處於任何角度。離心機能夠同時旋轉兩個或兩個以上器皿，且可設計成完全整合於使用電腦控制之吸管的自動化系統中。在一些實施例中，器皿可具有封閉底部。擺動桶設計可使離心器皿在停止時被動地定向於垂直位置中，且在旋轉時旋轉至固定角度。在一些實施例中，擺動桶可使離心器皿旋轉至水平定向。或者，其可旋轉至垂直至水平位置之間的任何角度(例如約距垂直方向15、30、45、60或75度)。具有擺動桶設計之離心機可滿足使用多個定位系統之機器人系統之位置準確性及重現性要求。

基於電腦之控制系統可使用來自光學編碼器之位置資訊以受控之低速度旋轉轉子。因為適當馬達可設計成用於高速度效能，故準確靜止位置無需僅使用位置反饋固持。在一些實施例中，可使用凸輪與螺線管致動之控制桿的組合達成在固定數目之位置處極準確且穩定地停止。可使用各別控制系統及來自嵌入馬達內之霍爾效應感測器(Hall-Effect sensor)的反饋極精確地以高速度控制轉子之速度。

因為分析儀器系統內之多個靈敏儀器必須同時起作用，故離心機之設計較佳最小化或減少振動。轉子可根據空氣動力學設計成具有平滑外部，其在桶處於其水平位置時完全密封桶。在外殼設計中振動抑制亦可用於多個位置中。

轉子

離心機轉子可為可固持且旋轉離心器皿之系統組件。旋轉軸可為垂直的，由此轉子自身可水平置放。然而，在替代性實施例中，可使用不同旋轉軸及轉子位置。在轉子之任一側對稱置放兩個稱作桶之組件，其固持離心器皿。可為如下替代性組態，其中桶徑向對稱地定向，例如三個桶以120度定向。可提供任何數目之桶，包括(但不限於)1、2、3、4、5、6、7、8個或8個以上桶。該等桶可彼此均勻間隔。舉例而言，若提供 n 個桶(其中 n 為整數)，則桶可彼此間隔約 $360/n$ 度。在其他實施例中，桶無需彼此均勻間隔或徑向對稱地均勻間隔。

在轉子靜止時，此等桶受重力影響可能被動地落下，以使器皿可垂直置放且可由吸管進入。圖111展示靜止時轉子之一實例，其中桶為垂直的。在一些實施例中，桶可被動地落至可能為或不為垂直之預定角度。當轉子旋轉時，藉由離心力使桶呈近似水平位置或預定角度。圖112展示在某一速度下轉子之一實例，其中桶相對於水平位置呈小角度。垂直位置與水平位置均存在實體硬性止動器以用於加強其準確性及位置重現性。

轉子可根據空氣動力學設計成具有圓盤形狀及儘可能少的實體特徵以最小化由空氣渦流引起之振動。為達成此目的，桶之外部幾何形狀可精確地匹配轉子之幾何形狀，使得當轉子旋轉且可使桶水平時桶與轉子可完全對準。

為有利於血漿提取，轉子可相對於水平線朝向地面呈向下角度。因為桶之角度可與轉子匹配，故此可加強桶之固定旋轉角度。來自該組態之所得集結粒可在器皿直立放置時相對於器皿呈一定角度。可使用狹窄提取尖端自離心器皿之頂部抽吸血漿。藉由接近由一定角度集結粒產生之斜坡

的底部置放提取尖端，可更有效地提取最終體積之血漿而不會擾動敏感的膚色血球層。

各種管設計可容納於器件之桶中。在一些實施例中，各種管設計可能末端經封閉。一些形狀如同具有圓錐形底部之習知離心管。其他管設計可為圓柱形。具有低高度與橫截面積比率之管可能有利於細胞處理。具有大比率(>10:1)之管可能適用於準確量測血球比容及其他成像要求。然而，可使用任何高度與橫截面積比率。桶可由數種塑膠(聚苯乙烯、聚丙烯)中之任一者或本文別處所述之任何其他材料製成。桶之容量在數微升至約1毫升範圍內。管可使用「抓取及放置」機構插入離心機中且自離心機移出。

控制系統

歸因於離心機器件之旋轉及置放要求，可使用雙重控制系統法。為指明轉子之特定旋轉定向，可實施基於位置之控制系統。在一些實施例中，該控制系統可使用PID(比例積分微分)控制系統。可使用此項技術中已知之其他反饋控制系統。位置控制器之位置反饋可由高解析度光學編碼器提供。為以低速度至高速度操作離心機，可實施速度控制器，同時使用經調諧以用於速度控制之PID控制系統。可由一組簡單的放置於馬達軸上之霍爾效應感測器提供速度控制器之旋轉速率反饋。電機軸每旋轉一圈各感測器可產生一個方波。

止動機構

為可靠且穩固地將轉子置放在特定位置，可使用實體止動機構。在一個實施例中，止動機構可使用耦接至轉子之凸輪以及螺線管致動之控制桿。凸輪之形狀可如同圓盤，其具有多個圍繞周邊機械加工的「C」形凹

□。為置放離心機轉子，其旋轉速度可首次降至至多30 RPM。在其他實施例中，旋轉速度可降至任何其他量，包括(但不限於)約5 rpm、10 rpm、15 rpm、20 rpm、25 rpm、35 rpm、40 rpm或50 rpm。速度足夠慢之後，可致動控制桿。在控制桿之末端為凸輪從動件，其可沿凸輪之周邊以最小摩擦滑行。凸輪從動件到達凸輪中特定凹口之中心後，螺線管致動之控制桿之力可克服馬達之力，且可使轉子停止。此時，馬達可以電子方式制動且與止動機構組合使得可極準確且穩固地無限期固持旋轉位置。

離心機桶

離心機擺動桶可經組態以容納不同類型之離心管。在較佳實施例中，各種管類型可在其上端(開放)具有軸環或凸緣。此軸環或凸緣特徵可擱置於桶之上端上且在離心期間支撐管。如圖113、114及115所示，可容納各種長度及體積之圓錐形及圓柱形管。圖113、114及115提供桶之實例，且可使用其他桶設計。舉例而言，圖113展示桶組態之一實例。桶可具有與離心機配合且使得桶可自由擺動之側面部分。桶可具有封閉底部且在頂部具有孔。圖114展示與桶配合之離心器皿的一實例。如先前所述，桶經成型以接納各種組態之離心器皿。離心器皿可具有一或多個可擱置在桶上之凸出構件。離心器皿可經成型，具有一或多個可與離心桶配合之特徵。該特徵可為器皿之形狀特徵或一或多個凸出物。圖115展示可與桶配合之另一離心器皿的一實例。如先前所述，桶可具有一或多個形狀特徵，其可使得不同組態之離心器皿可與桶配合。

離心管及樣本提取構件：

離心管及提取尖端可個別地提供且可配合在一起以在離心後提取物質。離心管及提取尖端可經設計以處理自動化系統中之複雜過程。圖116

展示離心器皿之一實例。圖117展示提取尖端之一實例。圖118提供離心器皿及提取尖端如何配合之一實例。任何尺寸僅以實例之方式提供，且可使用相同或不同比例之其他尺寸。

系統可進行一或多個如下操作：

1. 快速處理小血液樣本(通常5-50 μL)
2. 準確且精確量測血球比容
3. 有效移出血漿
4. 有效再懸浮所形成之要素(紅血球及白血球)
5. 濃縮白血球(在用螢光抗體標記且固定並溶解紅血球後)
6. 以光學方法確證紅血球溶解且回收白血球。

離心器皿及提取尖端概述

可使用常用器皿及尖端操作離心機以滿足對系統之各種限制。離心器皿可為底部封閉管，其設計成可在離心機中旋轉。在一些實施例中，離心器皿可為圖116中所說明之器皿或可具有一或多個圖116中所說明之特徵。其可具有多個可具有廣泛所要功能，包括血球比容量測、RBC溶解、集結粒再懸浮及有效血漿提取的獨特特徵。提取尖端可設計成插入離心器皿中以精確提取流體及再懸浮集結粒。在一些實施例中，提取尖端可為圖117中所說明之尖端，或可具有一或多個圖117中所說明之特徵。各尖端之例示性規格如本文所述。

離心器皿

離心器皿可經設計以處理兩種各與不同抗凝血劑及全血體積有關之各別使用情形。

第一使用情形可需要集結40 μL 具有肝素之全血，回收最大體積之血

漿且使用電腦視覺量測血球比容。在60%或60%以下之血球比容的情況下，所要或較佳血漿體積可為約 $40\text{ }\mu\text{L} \times 40\% = 16\text{ }\mu\text{L}$ 。

在一些實施例中，不可能回收100%之血漿，因為不能擾動膚色血球層，由此尖端底部與集結粒頂部之間必須維持最短距離。此最短距離可經實驗確定，但隨所要安全距離(d)變化而犧牲之體積(V)可使用下式估算： $V(d) = d \times \pi 1.25\text{mm}^2$ 。舉例而言，對於0.25 mm之所要安全距離，60%血球比容情況下之犧牲體積可為1.23 μL 。此體積可藉由減小離心器皿之血球比容部分之內半徑而減小。然而，因為在一些實施例中，狹窄部分必須完全容納提取尖端之可能不小於1.5 mm之外半徑，故離心器皿之現有尺寸可接近最小值。

在一些實施例中，除血漿提取以外，亦可能需要使用電腦視覺量測血球比容。為有助於此過程，對於既定體積之血球比容，總高度可藉由最小化器皿狹窄部分之內徑而最大化。藉由最大化該高度，可最佳化血球比容體積變化與柱高度之實體變化之間的關係，由此增加可用於量測之像素的數目。器皿之狹窄部分的高度亦可能足夠長至容納80%血球比容之最糟情形，同時仍在柱頂部留下少部分血漿以允許有效提取。由此， $40\text{ }\mu\text{L} \times 80\% = 32\text{ }\mu\text{L}$ 可為準確量測血球比容之所要體積容量。所設計尖端之狹窄部分的體積可為約35.3 μL ，其可允許保留一些體積之血漿，甚至在最糟情況下。

第二使用情形涉及得更多，且可能需要以下中之一者、多者或全部：

- 全血集結
- 血漿提取

- 集結粒再懸浮於溶解緩衝液中且染色
- 保持白血球(WBC)集結
- 移出上清液
- WBC再懸浮
- 完全提取WBC懸浮液

為完全再懸浮堆積之集結粒，實驗展示可用能夠完全到達含有集結粒之器皿之底部的尖端實體上擾動集結粒。用於再懸浮之器皿之底部的較佳幾何形狀似乎為類似於標準市售PCR管之半球形形狀。在其他實施例中，可使用其他器皿底部形狀。離心器皿以及提取尖端可經設計以藉由遵循此等幾何學要求同時亦允許提取尖端實體上接觸底部來促進再懸浮過程。

在手動再懸浮實驗期間，注意到器皿底部與尖端底部之間的實體接觸可能產生阻止流體移動之密封。可使用精密間隔在允許流體流動同時充分擾動集結粒。為在機器人系統中促進此過程，可向離心器皿之底部添加實體特徵。在一些實施例中，此特徵可包含四個圍繞器皿底部之周邊放置的半球形小塊。當提取尖端完全插入器皿中且允許進行實體接觸時，尖端之末端可擱置在小塊上且使得流體可在小塊之間自由流動。此可能引起少量體積(約.25 μL)損耗在間隙中。

在溶解過程期間，在一些實施例中，最大期望流體體積為60 μL ，其與由提取尖端轉移之25 μL 一起可能需要85 μL 之總體積容量。具有100 μL 當前最大體積之設計可能超出此要求。第二使用情形之其他態樣需要類似或已述之尖端特徵。

離心器皿之上部幾何形狀可設計成與吸管管口配合。可使用本文別

處描述或此項技術中已知之任何吸管管口。器皿上部之外部幾何形狀可精確匹配反應尖端之幾何形狀，當前管口與筒可圍繞該反應尖端設計。在一些實施例中，小凸紋可圍繞上部之內表面。此凸紋可為最大流體高度之可見標記物以有利於使用電腦視覺系統進行自動誤差偵測。

在一些實施例中，完全配合管口之底部至最大流體線之頂部的距離為2.5 mm。此距離比提取尖端遵循之建議距離4 mm短1.5 mm。此縮短之距離可為在遵循最小體積要求同時最小化提取尖端長度之需要所驅動。此縮短距離之理由源自器皿之特定用途。因為，在一些實施例中，流體可與器皿僅自頂部交換，器皿在與管口配合時其曾經具有的最大流體為任何既定時間所期望之全血最大量(40 μ L)。此流體之高度可充分低於管口之底部。另一問題為在其他時間，器皿中之流體的體積可能比此體積大得多且潤濕高達管口高度之壁。在一些實施例中，將取決於使用器皿者，以確保器皿內所含之任何流體之彎液面不超出最大流體高度，即使總體積小於所規定之最大值。在其他實施例中，可提供其他特徵以保持流體包含在器皿內。

本文所提供之任何尺寸、大小、體積或距離僅以實例之方式提供。可使用任何其他尺寸、大小、體積或距離，其可能與或不與本文所提及之量成比例。

在交換流體及快速插入及移除尖端之過程期間，離心器皿可經受多個力。若器皿不受限制，則此等力可能足夠強而將器皿自離心機桶拔起或以其他方式移出。為防止移動，器皿應以某種方式緊固。為實現此目的，添加圍繞器皿之外底部之小環。此環可容易地與桶上之順應性機械特徵配合。只要小塊之保持力大於流體操作期間所經受之力但在與管口配合時小

於摩擦力，則問題即可解決。

提取尖端

提取尖端可設計成與離心器皿接面，以有效提取血漿及再懸浮集結之細胞。必要時，其總長(例如34.5 mm)可精確地匹配另一血液尖端之總長(包括(但不限於)美國第12/244,723號(以引用的方式併入本文中)中所述)，但可足夠長至實體接觸離心器皿之底部。在一些實施例中，對於再懸浮過程與完全回收白血球懸浮液，需要能夠接觸器皿底部。

提取尖端之所要體積可由預期在任何既定時間自離心器皿抽吸之最大體積決定。在一些實施例中，此體積可能約60 μL ，其可能小於尖端之最大容量85 μL 。在一些實施例中，可提供體積大於所要體積之尖端。如同離心器皿一般，可使用圍繞尖端上部之內部的內部特徵以標記此最大體積之高度。最大體積線與所配合管口之頂部之間的距離可為4.5 mm，認為此距離為防止管口污染之安全距離。可使用任何足夠防止管口污染之距離。

可使用離心機沈降沈澱之LDL-膽固醇。可使用成像來證實上清液透明，從而表明完全移除沈澱物。

在一個實例中，可用硫酸聚葡萄糖(25 mg/dL)與硫酸鎂(100 mM)之混合物稀釋(例如1:10)血漿，隨後可培育1分鐘以使LDL-膽固醇沈澱。反應產物可抽吸至離心機之管中，隨後加帽且在3000 rpm下旋轉3分鐘。圖119、120及121分別為初始反應混合物在離心前(展示白色沈澱物)、離心後(展示透明上清液)及LDL-膽固醇集結粒(移除帽後)所獲得之影像。

可用於本發明之離心機之其他實例描述於美國專利第5,693,233號、第5,578,269號、第6,599,476號及美國專利公開案第2004/0230400號、第

2009/0305392號及第2010/0047790號中，該等案以全文引用的方式併入本文中以用於達成所有目的。

實例協定

可使用協定之多個變化形式離心且處理。舉例而言，使用離心機處理且濃縮白血球以用於細胞測量術之典型協定可包括一或多個如下步驟。如下步驟可以不同次序提供或其他步驟可替代如下步驟中之任一者：

1. 接收10 μL 用EDTA抗凝結之血液(用吸管將血液注射至離心機桶之底部中)
2. 藉由離心沈降紅血球及白血球(<5分鐘 $\times$ 10,000 g)。
3. 藉由成像量測血球比容
4. 在不擾動細胞集結粒下藉由抽吸至吸管中緩慢地移除血漿(對應於最糟情形[60%血球比容]為4 μL)。
5. 添加20 μL 多達5種經螢光標記之抗體¹溶解於緩衝生理食鹽水+BSA(1 mg/mL)中之適當混合物後使集結粒再懸浮(總反應體積為約26 μL^2)。
6. 在37°C下培育15分鐘。
7. 藉由混合紅血球溶解溶液(氯化銨/碳酸氫鉀)與白血球固定劑(甲醛)製備溶解/固定劑。
8. 添加30 μL 溶解/固定劑(總反應體積為約60 μL)。
9. 在37°C下培育15分鐘
10. 藉由離心(5分鐘，10,000 g)沈降白血球。
11. 移除上清液溶血產物(約57 μL)。

¹ 適當地調節濃度以處理相對於標準實驗方法不同之體積比(尤其為約5 $\times$ 以下)

² XZCX 必要時，此體積可更大以具有最佳染色，但不超過 50 μL 。

12. 藉由添加8 μL 緩衝液(等張緩衝生理食鹽水)使白血球再懸浮。
13. 準確地量測體積。
14. 對樣本(c 10 μL)進行細胞測量。

該等步驟可包括接收樣本。樣本可為體液(諸如血液)或本文別處所述之任何其他樣本。樣本可具有小體積，諸如本文別處所述之任何體積量測值。在一些情況下，樣本可具有抗凝血劑。

可進行分離步驟。舉例而言，可進行基於密度之分離。該分離可經由離心、磁性分離、溶解或此項技術中已知之任何其他分離技術進行。在一些實施例中，樣本可為血液，且可分離紅血球及白血球。

可進行量測。在一些情況下，量測可經由成像或本文別處所述之任何其他偵測機制進行。舉例而言，可藉由成像量測經分離血液樣本之血球比容。成像可經由數位相機或本文所述之任何其他影像捕捉器件進行。

可移出樣本之一或多種組分。舉例而言，若樣本分離成固體及液體組分，則可移出液體組分。可移出血液樣本之血漿。在一些情況下，液體組分(諸如血漿)可經由吸管移出。液體組分可在不擾動固體組分下移出。成像可有助於移出液體組分或樣本之任何其他所選組分。舉例而言，可使用成像確定血漿位於何處且可有助於放置吸管以移出血漿。

在一些實施例中，試劑或其他物質可添加至樣本中。舉例而言，可使樣本之固體部分再懸浮。可向物質添加標記。可進行一或多個培育步驟。在一些情況下，可添加溶解及/或固定劑。可進行其他分離及/或再懸浮步驟。視需要，可進行稀釋及/或濃縮步驟。

可量測樣本之體積。在一些情況下，樣本之體積可以精確及/或準確方式量測。可在具有低變異係數(諸如本文別處所述之變異係數值)之系統

中量測樣本之體積。在一些情況下，可使用成像量測樣本之體積。可捕捉樣本之影像且可由影像計算樣本之體積。

樣本可進行所要過程。舉例而言，樣本可進行細胞測量。

在另一實施例中，可能利用或不利用離心機進行核酸純化之典型協定可包括一或多個如下步驟。可使系統進行DNA/RNA提取以使核酸模板進行指數擴增反應供偵測。該過程可設計成自各種樣本提取核酸，包括(但不限於)全血、血清、病毒傳遞介質、人類及動物組織樣本、食物樣本及細菌培養物。該過程可完全自動且可以可靠且定量方式提取DNA/RNA。如下步驟可以不同次序提供或其他步驟可替代如下步驟中之任一者：

1. **樣本溶解**。可使用離液鹽緩衝液溶解樣本中之細胞。離液鹽緩衝液可包括如下中之一或多者：離液鹽，諸如(但不限於)3-6 M鹽酸胍或硫氰酸胍鎂；典型濃度為0.1-5% v/v之十二烷基硫酸鈉(SDS)；典型濃度為1-5 mM之乙二胺四乙酸(EDTA)；典型濃度為1 mg/mL之溶菌酶；典型濃度為1 mg/mL之蛋白酶K；且可使用緩衝液(諸如HEPES)將pH值設定為7-7.5。在一些實施例中，可在20-95°C之典型溫度下在緩衝液中培育樣本0-30分鐘。溶解後可向混合物中添加異丙醇(50%-100% v/v)。

2. **表面負載**。可使經溶解樣本暴露於官能化表面(通常為珠粒之填充床形式)，諸如(但不限於)裝填於層析型管柱中之樹脂支撐物、與樣本以分批型方式混合之磁性珠粒、樣本以流化床模式穿過懸浮樹脂泵送及樣本以切向流方式穿過封閉通道之表面泵送。表面可經官能化以在溶解緩衝液存在下結合核酸(例如DNA、RNA、DNA/RNA混合物)。表面類型可包括二氧化矽及離子交換官能基(諸如二乙基胺基乙醇(DEAE))。可使經溶解

混合物暴露於表面且核酸進行結合。

3.洗滌。用鹽溶液(諸如0-2 M氯化鈉)及乙醇(20-80% v/v)在pH 7.0-7.5下洗滌固體表面。洗滌可以與負載相同之方式進行。

4.溶離。可藉由在pH 7-9下使表面暴露於水或緩衝液使核酸自表面溶離。可以與負載相同之方式執行溶離。

系統可使用此等協定之多個變化形式或其他協定。該等協定可組合使用或替代本文所述之任何協定或方法使用。

在一些實施例中，能夠回收藉由離心堆積且濃縮之細胞以進行細胞測量很重要。在一些實施例中，此可藉由使用吸取器件達成。可將液體(通常為等張緩衝生理食鹽水、溶解劑、溶解劑與固定劑之混合物或經標記抗體於緩衝液中之混合物)施配至離心機桶中且重複抽吸及再施配。可將吸管之尖端用力推入堆積細胞中以促進該過程。影像分析藉由客觀地證實所有細胞已再懸浮而促進該過程。

在分析前使用吸管及離心機處理樣本：

根據本發明之一實施例，系統可具有吸取、抓取-及-放置及離心能力。該等能力使得可用極小體積之樣本有效執行幾乎任何類型之樣本預處理及複雜分析程序。

特定言之，系統可使所形成要素(紅血球及白血球)與血漿分離。系統亦可使所形成成分再懸浮。在一些實施例中，系統可自經固定且溶血之血液濃縮白血球。系統亦可使細胞溶解而釋放核酸。在一些實施例中，系統可藉由經裝填有(通常經粒化)固相試劑(例如二氧化矽)之尖端過濾而純化且濃縮核酸。系統亦可在固相萃取後溶離經純化核酸。系統亦可移出且收集沈澱物(例如使用聚乙二醇沈澱之LDL-膽固醇)。

在一些實施例中，系統可進行親和力純化。小分子(諸如維生素D及血清素)可吸附於經粒化(微粒狀)疏水性基板上，隨後使用有機溶劑溶離。可在塗佈抗體之基板上提供抗原且用酸溶離。可使用相同方法濃縮以低濃度存在之分析物(諸如血栓素B₂及6-酮-前列腺素F₁ α)。可在塗佈抗體或適體之基板上提供抗原且隨後溶離。

在一些實施例中，在分析前，系統可對分析物進行化學改質。例如為分析血清素(5-羥基色胺)，可能需要使用試劑(諸如乙酸酐)將分析物轉化為衍生物(諸如乙醯基化形式)。進行此以產生分析物之可由抗體識別之形式。

可使用吸管(真空抽吸及泵送)移動液體。吸管可限制在相對低之正壓及負壓(約0.1-2.0個大氣壓)下。必要時，可使用離心機產生高得多的壓力迫使液體穿過經粒化之固相介質。舉例而言，在10,000 rpm之速度下使用半徑為5 cm之轉子可產生約5,000 $\times$ g(約7個大氣壓)的力，足以迫使液體穿過阻擋介質(諸如堆積之床)。可使用本文別處所述或此項技術中已知之任何離心機設計及組態。

可用極小體積之血液進行血球比容量測。舉例而言，廉價數位相機能夠獲得小物體之良好影像，即使在對比度不良時。利用此能力，本發明之系統可用極小體積之血液自動量測血球比容。

舉例而言，可將1 μ L血液抽吸至麥卡(microcap)玻璃毛細管中。可隨後用可固化黏著劑密封毛細管，接著在10,000 $\times$ g下進行離心5分鐘。可容易地量測堆積細胞體積，且亦可見血漿彎液面(由箭頭表示)，故可準確地量測血球比容。此使得系統不會浪費相對大體積之血液來進行此量測。在一些實施例中，可「原樣」使用相機而不用顯微鏡操作以獲得較大影像。

在其他實施例中，可使用顯微鏡或其他光學技術放大影像。在一個實施例中，使用數位相機在無另一光學干擾下測定血球比容，且所量測之血球比容與藉由需要多微升樣本之習知微量血球比容實驗室法測定之血球比容一致。在一些實施例中，可極精確地量測樣本柱及堆積紅血球柱之長度($\pm < 0.05$ mm)。假定血液樣本柱可為約10-20 mm，則血球比容之標準偏差可比由標準實驗室法獲得之標準偏差匹配的1%好得多。

系統可量測紅血球沈降速率(ESR)。可利用數位相機量測極小距離及距離變化速率之能力量測ESR。在一個實施例中，將三個血液樣本(15 μ L)抽吸至「反應尖端」中。經一小時以2分鐘間隔捕捉影像。使用影像分析量測紅血球與血漿之間的界面的移動。圖122展示作為界面距血漿彎液面之距離的結果。

量測精度可藉由將該等資料擬合多項式函數且計算該等資料與擬合曲線之間差值的標準偏差估算(所有樣本)。在該實施例中，當關於經1小時移動之距離時，其經測定為0.038 mm或 $< 2\%$ CV。因此，可藉由此方法精確地量測ESR。測定ESR之另一方法為量測距離與時間關係之最大斜率。

分析準備

在一些實施例中，尖端可設計成容納複數個反應或分析。可在本發明之一個尖端內同時量測若干種不同分析混合物及一或多種對照或一或多種校準物。在進行此操作時，利用藉由依序抽吸液體至同一尖端中對若干種液體來源進行取樣之能力。藉由依續抽吸少量空氣及少量在抽吸下一相關液體前清洗尖端表面之洗滌溶液，極大地改良液體之有效分隔及分離。

如上所述，尖端可具有圓錐形形狀。在一些實施例中，分析可需要氧氣作為反應物。在該等反應中，可藉由將樣本及/或分析混合物移至尖

端之寬部以增大表面積與體積比來提高反應內氧氣之可用性。

在圖93及圖94中，將溴酚藍溶液抽吸至尖端中。最上區(最先抽吸)之6 µL來自兩倍稀釋系列(除作為水空白之最左側尖端以外，右側影像為最高濃度(0.0781 mg/mL))。隨後分別抽吸空氣(2 µL)、洗滌溶液(2 µL)，繼而抽吸6 µL體積之固定濃度對照溶液(0.625 mg/mL)。

使用此方法可獲得若干個替代性分析組態，例如：

- 1.同時量測試劑及/或樣本空白及分析物
- 2.同時量測樣本、空白及對照
- 3.分析之尖端內校準。

下表說明一些「多重類型」，其中在尖端內集合分析物、對照及校準物之較佳組合。

多重 類型	區域編號										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	頂部										底部
用對照分析	空氣	對照1	空氣	洗滌液	空氣	分析物	空氣	洗滌液	對照2		
三種分析物	空氣	分析物1	空氣	洗滌液	空氣	分析物2	空氣	洗滌液	空氣	分析物3	空氣
校準系列	空氣	校準物1	空氣	洗滌液	空氣	校準物2	空氣	洗滌液	空氣	校準物3	空氣
用空白分析	空氣	分析物	空氣	洗滌液	空氣	空白	空氣				

第2種情況展示於圖95中。

亦可用單一尖端進行空白溶液、樣本、對照及校準物之連續量測。在此情形下，用第一溶液填充尖端，讀取，隨後排空。尖端隨後可依續用其他樣本等再填充且讀取。藉由以下中之任一者或兩者最小化有色產物自一個樣本「攜帶」至下一樣本的影響：

- 1.在充分遠離與前一樣本首先接觸之部分的中間部分讀取液體柱

2.在兩個樣本之間洗滌尖端。

為量測自一個液體區「攜帶」至下一區之程度，執行如下程序。將少量(例如6 μL)高濃度溴酚藍(例如0.625 mg/mL)抽吸至尖端中，繼而抽吸2 μL 空氣及2 μL 洗滌液。最後抽吸6 μL 溴酚藍之連續兩倍稀釋液，結果如下(右側為最高濃度(0.0781 mg/mL)；最左側尖端為水空白)。

如由圖96所示之影像及圖97所示之三色分析可見，可量測量之高濃度溶液被傳遞至洗滌溶液中。

平均攜帶量(自高濃度對照至水洗滌液)經計算為1.4%。因為實際上，後一液體塊之前導區(接近先前塊)充當第二洗滌步驟，且在遠離此前導區之位置(通常在該塊之中心區域)進行顏色讀取，故自一個塊至下一塊之有效攜帶通常甚小於1%，因此一般無足輕重。在僅使用稀釋系列樣本填充尖端量測稀釋系列時，結果與以上所得一致。以上代表經設計以評估攜帶程度之「應力測試」。

圖98展示含有抽吸至尖端中以進行量測之離子化鈣 Ca^{2+} (上區)及鎂 Mg^{2+} (下區)之兩種市售分析的反應產物之尖端。此實驗中所用之 Ca^{2+} 濃度為0、2.5、5、10、20及40 mg/dL； Mg^{2+} 濃度為0、1.25、2.5、5、10、20 mg/dL。分析反應混合物(6 μL [Ca^{2+}]及4 μL [Mg^{2+}])使用2 μL 空氣、3 μL 洗滌液及另一4 μL 空氣充分分離。以此方式讀取之各分析的結果與每個尖端僅具有一種分析反應混合物之情況所量測之結果基本上相同。

如上所述，本發明允許同時評估複數種分析物。可在同一視野中獲得多個分析比色管之影像。特定言之，可在同一分析比色管中同時評估分析物及對照。亦可在同一分析比色管中同時評估若干種分析物。

反應環境

系統可包含加熱套以加熱分析物或分析單元及/或控制分析溫度。加熱可用於分析反應之培育步驟中以促進反應且縮短培育步驟所需之持續時間。系統可包含經組態以容納本發明之分析單元的加熱套。加熱套可經組態以容納本發明器件之複數個分析單元。舉例而言，若欲在器件上執行8個分析，則加熱套可經組態以容納8個分析單元。在一些實施例中，可使用移動分析單元之構件移動分析單元，使其與加熱套熱接觸。可藉由此項技術中已知之加熱構件執行加熱。

協定最佳化

可以各種方式最佳化分析樣本之分析協定。當對一個樣本執行多個分析時，所有協定可根據最嚴格反應條件最佳化，或各分析協定可基於特定分析之所要效能最佳化。

在一些實施例中，單一協定可設計成在所有可能使用情況下滿足測試要求。舉例而言，在多重筒上，可基於執行筒上之所有測試時之情況(亦即極限情況)規定單一協定。此協定可設計成滿足最小測試要求，諸如筒上各測試之精度及動態範圍。然而，對於替代使用情況，此方法可能為次最佳，例如當僅在筒上執行測試之子集時。在此等情況下，藉由使用較多樣本，一些分析可達成靈敏度及精度方面之效能改良。多少樣本分配至分析與分析靈敏度之間可存在平衡。舉例而言，若稀釋因子提高至1:10，則當樣本1:100稀釋時靈敏度為1個單位/毫升之分析能夠偵測0.1個單位/毫升。在使用有限樣本體積之多重分析系統中使用較低稀釋因子之一個不利因素可為即使在使用最小體積執行分析時此分析所需之樣本分率亦提高10倍。同樣，可藉由使用較高樣本濃度改良分析精度。舉例而言，在偵測極限產生(如)0.1吸光度 $\pm$ 0.02之信號(20%信號不精確度)的分析物可藉由

使用10倍樣本濃度改良，使得所產生信號為前述信號之10倍，從而在1/10分析物濃度下產生 0.1 ± 0.02 OD之信號，且在 1.0 ± 0.02 之信號下，不精確度現在僅為2%。此情況之原因為通常分析信號(在較低範圍之分析物濃度下)與分析物濃度(因此與樣本濃度)成正比，而信號不精確度通常可能與信號之平方根有關，因此隨著分析物濃度(及樣本濃度)之平方根提高而提高。由此，信號之變異係數(CV)可與信號之平方根成反比；使得信號增加10倍對應於信號CV降低約三倍。因為濃度CV通常與信號CV直接相關，故濃度CV隨樣本濃度提高(稀釋度降低)而降低。

可針對特定使用情況最佳化，而非上述一體通用(one-size fits all)方法。舉例而言，協定可最佳化以提高在多重器件中執行之各測試的精度。此外，一些測試可相對於其他測試優先最佳化。對於先驗已知之使用情況，可預先計算協定最佳化。對於先驗未知之新穎使用情況，亦可即時執行協定最佳化。可對該組使用情況執行系統驗證。

協定最佳化之一個實例如下藉由比較兩種使用情況所述。對於兩種使用情況，可使用8 μ L未稀釋樣本執行所要測試。在此實例中，多重筒同時具有20個測試，其中5個測試需要1:5稀釋且15個測試需要1:25稀釋。

在第一使用情況下，需要對樣本執行所有測試。此使用情況(使用情況B)中之協定如下：

1)製備1:5稀釋液(8 μ L樣本+32 μ L稀釋劑)

2)製備1:25稀釋液(15 μ L 1:5樣本+60 μ L稀釋劑)

3)對於各測試(n=20)，將5 μ L經適當稀釋之樣本與10 μ L試劑混合。

對於所有20個測試，此協定產生10% CV之濃度不精確度，從而滿足最小要求。對於各1:5稀釋液分析，樣本用量為1 μ L，且對於各1:25稀釋液分

析為0.2 μL(總共 $5*1+15*0.2=8$ μL，使用所有現有樣本)。

在使用同一筒類型之第二使用情況(使用情況「B」)下，僅需要對樣本執行10個測試，而非20個。此外，所有此等10個測試應在使用情況A中之1:25稀釋水準下執行。該協定對於此使用情況最佳化以藉由使用較低稀釋度(1:5)對於所有測試最大化精度。此特定使用情況之最佳化協定如下：

1)製備1:5稀釋液(8 μL樣本+32 μL稀釋劑)

2)對於各測試($n=10$)，將4 μL經稀釋樣本與11 μL試劑混合。

樣本用量為每個分析0.8 μL未稀釋樣本，總共8 μL。因為相對於使用情況A，分析中之樣本濃度提高5倍，故分析靈敏度改良5倍，且分析不精確度降低約 $2.4(5^{0.5})$ 倍至約4.5%。

藉由使協定再最佳化，在使用情況B中，使用5倍初始樣本進行各測試，從而改良整體效能。請注意，上述論述不能說明因體積計量誤差所致之任何不精確度，而僅解決由於光信號量測之不精確產生之誤差。使用情況B將具有較低由於體積不精確而產生之不精確度，因為其使用較少吸取步驟。舉例而言，若在兩種使用情況下體積不精確在報導之分析物濃度中引入5%不精確度，則在使用情況A下總分析物不精確度為11.2% $(10^2+5^2)^{0.5}$ ，相比之下，使用情況B下為6.5% $(4.5^2+5^2)^{0.5}$ (假定(一般為如此)產生分析物中不精確度之因子總計為不精確度各來源之平方的總和的平方根)。

上文說明之作用在基於發光之分析的情況下更容易見到，其中分析信號表示為每單位時間發射之光子數。對於在例如放射免疫分析中計數放射性發射亦如此，信號不精確度等於信號之平方根，由此信號CV為

100/(信號之平方根)。舉例而言，10,000計數之信號的CV為1%。在多個產生光子之分析(例如化學發光免疫分析)中，信號幾乎與分析物濃度精確地成比例，至少在較低濃度範圍下。由此，對於顯著高於偵測極限之濃度，所量測之分析物不精確度為對1/(信號之平方根)按比例放大。在使用樣本稀釋液之分析中，所量測之分析物不精確度按比例放大為1/(樣本稀釋度)倍。舉例而言，使用樣本之1:100稀釋液的分析物之信號及濃度CV為使用1:10稀釋液分析物的約3.2($10^{0.5}$)倍(且靈敏度亦為約10倍)。

反應化學法

可在本發明之射流器件上執行各種分析以偵測樣本中之相關分析物。若在分析中使用標記，則標記可選自此項技術中可獲得且可用於進行本發明之分析的各種標記。在一些實施例中，標記可藉由光譜、光化學、生物化學、電化學、免疫化學或其他化學方法偵測。舉例而言，有用之核酸標記包括螢光染料、電子緻密試劑及酶。已知多種適用於標記生物學組分之標記且廣泛報導於科學與專利文獻中，且一般適用於本發明中標記生物學組分。適合標記包括酶、螢光部分、化學發光部分、生物發光標記或有色標記。定義分析物特異性之試劑視情況包括例如單株抗體、多株抗體、適體、蛋白質、核酸探針或其他聚合物(諸如親和力基質、碳水化合物或脂質)。偵測可藉由各種已知方法中之任一者進行，包括以分光光度法或在光學上追蹤螢光或發光標記物，或基於尺寸、電荷或親和力追蹤分子之其他方法。可偵測部分可具有擁有可偵測物理或化學特性之任何物質。該等可偵測標記已在凝膠電泳、管柱層析、固體受質、光譜技術領域及其類似領域中得到良好開發，且一般而言，適用於該等方法之標記可應用於本發明。由此，標記包括(但不限於)可由光譜法、光化學法、生物化

學法、免疫化學法、基於核酸探針之方法、電學方法、光熱法或其他化學方法偵測的任何組合物。

在一些實施例中，根據此項技術中熟知之方法，標記(諸如有色化合物、螢光劑或酶)直接或間接偶合於欲偵測分子。在其他實施例中，標記附接於分析物之受體(諸如抗體、核酸探針、適體等)。如上所示，可使用多種標記，其中標記之選擇取決於所要敏感性、化合物結合之簡易性、穩定性要求、量測儀器之可用性及處理規定。非放射性標記通常藉由間接方法附接。一般而言，分析物特異性受體連接於信號產生部分。有時，分析物受體連接於接附分子(諸如生物素或抗生物素蛋白)，且分析試劑組包括結合於接附分子及結合於分析物之結合部分(諸如經生物素標記之試劑或抗生物素蛋白)。分析物在反應位點結合於特異性受體。標記試劑可形成分析物在中間之夾心複合物。該試劑亦可在反應位點與分析物競爭受體或在反應位點結合於分析物未佔據之空受體。標記天生可偵測或結合於信號系統，諸如可偵測酶、螢光化合物、化學發光化合物或致化學發光實體(諸如具有致發光受質之酶)。可使用多種配體及抗配體。若配體具有天然抗配體，例如生物素、甲狀腺素、地高辛(digoxigenin)及皮質醇，則其可與經標記之抗配體結合使用。或者，任何半抗原或抗原化合物可與抗體組合使用。

作為標記之相關酶主要為水解酶，尤其磷酸酶、酯酶及醣苷酶，或氧化還原酶，尤其過氧化酶。螢光化合物包括螢光素及其衍生物、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹磺醯基類及傘酮。化學發光化合物包括二氧雜環丁烷、吡啶鎘酯、螢光素及2,3-二氫酞嗪二酮(諸如魯米諾(luminol))。

偵測標記之方法為熟習此項技術者所熟知。因此，舉例而言，若標記為螢光標記，則其可藉由用適當波長之光激發螢光染料且藉由例如顯微術、目視檢測、經由攝影膠片、藉由使用電子偵測器(諸如數位相機、電荷耦合器件(CCD)或光電倍增管及光電管)或其他偵測器件偵測所得螢光來偵測。類似地，酶標記藉由提供酶之適當受質且利用光譜法或藉由數位成像(本發明之標的物)偵測所得反應產物來偵測。最後，簡單比色標記通常藉由觀察與標記有關之顏色簡單地偵測。舉例而言，膠體金溶膠通常呈現粉色，而摻雜有染料之各種珠粒經濃厚著色。

在一些實施例中，可偵測信號可藉由發光來源提供。發光為通常用以指由於除自身溫度升高以外的任何原因而自物質發射光的術語。一般而言，當原子或分子自激發態躍遷至較低能態(通常基態)時其發射具有電磁能之光子(例如光)。若激發劑為光子，則發光過程稱作光致發光或螢光。若激發原因為電子，則發光過程可稱作電致發光。更特定言之，電致發光由電子直接注入及逸出，形成電子-電洞對，隨後電子-電洞對重組發射光子而引起。由化學反應引起之發光通常稱作化學發光。由活有機體產生之發光通常稱作生物發光。若光致發光為自旋允許躍遷(例如單態-單態躍遷、三重態-三重態躍遷)之結果，則該光致發光過程通常稱作螢光。通常，螢光發射在激發原因移除後不會持續，因為激發態生命期短，其經由該等自旋允許躍遷可能快速弛豫。若光致發光為自旋禁戒躍遷(例如三重態-單態躍遷)之結果，則該光致發光過程通常稱作磷光。通常，磷光發射在激發原因移除後會持續很久，因為激發態生命期長，其可能僅經由該等自旋禁戒躍遷弛豫。發光標記可具有任一上述特性。

適合化學發光來源包括如下化合物，其藉由化學反應而經電子激發

且可隨後發射充當可偵測信號或向螢光受體提供能量的光。已發現多個化合物家族可在各種條件下提供化學發光。一個化合物家族為2,3-二氫-1,4-酞嗪二酮。常用化合物為魯米諾，其為5-胺基化合物。該家族之其他成員包括5-胺基-6,7,8-三甲氧基-及二甲基胺基[ca]苯類似物。可用鹼性過氧化氫或次氯酸鈣及鹼使此等化合物發光。另一化合物家族為2,4,5-三苯基咪唑，其中咯吩為母產品之通用名稱。化學發光類似物包括對二甲基胺基及對甲氧基取代基。化學發光亦可在鹼性條件下用草酸酯、通常乙二醯基活性酯(例如對硝基苯酯)及過氧化物(諸如過氧化氫)獲得。亦已知之其他有用化學發光化合物包括-N-烷基吡啶鎘酯及二氧雜環丁烷。或者，螢光素可與螢光素酶或光澤精(lucigenin)結合用於提供生物發光。尤其較佳之化學發光來源為「致發光」酶受質，諸如二氧雜環丁烷-磷酸酯。其不發光，但當經磷酸酶(諸如鹼性磷酸酶)作用時產生發光產物。使用致發光酶受質為尤其較佳，因為該酶可充當能夠每秒將數千個受質分子轉化為產物的擴增物。發光方法亦較佳，因為信號(光)可使用PMT極靈敏地偵測且在巨大動態範圍內。

如本文所用之術語分析物包括(但不限於)藥物、前藥、藥劑、藥物代謝物、生物標記物(諸如表現之蛋白質及細胞標記物)、抗體、血清蛋白、膽固醇及其他代謝物、電解質、金屬離子、多醣、核酸、生物學分析物、生物標記物、基因、蛋白質、激素或其任何組合。分析物可為多肽、醣蛋白、多醣、脂質及核酸之組合。

可使用系統偵測及/或定量各種分析物。舉例而言，可偵測及/或定量之分析物包括白蛋白、鹼性磷酸酶、ALT、AST、膽紅素(直接)、膽紅素(總)、血液尿素氮(BUN)、鈣、氯、膽固醇、二氧化碳(CO₂)、肌酐、 γ -麩

胺醯基-轉胺酶(GGT)、球蛋白、葡萄糖、HDL-膽固醇、血色素、高半胱胺酸、鐵、乳酸去氫酶、鎂、磷、鉀、鈉、總蛋白、三酸甘油酯及尿酸。偵測及/或定量此等分析物可使用光學、電學或任何其他類型之量測執行。

尤其關注與特定疾病或特定疾病階段有關之生物標記物。該等分析物包括(但不限於)與以下有關之物質：自體免疫疾病、肥胖、高血壓、糖尿病、神經元及/或肌肉退化性疾病、心臟疾病、內分泌病症、代謝失調、發炎、心血管疾病、敗血症、血管生成、癌症、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、運動併發症及其任何組合。

亦關注以不同豐度存在於一或多個包括以下之身體組織中的生物標記物：心臟、肝、前列腺、肺、腎臟、骨髓、血液、皮膚、膀胱、腦、肌肉、神經及受各種疾病(諸如不同類型之癌症(惡性或非轉移性)、自體免疫疾病、發炎或退化性疾病)影響之所選組織。

亦關注指示微生物、病毒或衣原體科(*Chlamydiaceae*)之分析物。例示性微生物包括(但不限於)細菌、病毒、真菌及原蟲。可藉由本發明方法偵測之分析物亦包括血液產生之選自由以下組成之非限制性群的病原體：表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、抗二甲氧苯青黴素之金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)(MSRA)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)、糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、頭狀葡萄球菌(*Staphylococcus capitis*)、沃氏葡萄球菌(*Staphylococcus warneri*)、肺炎克雷伯氏桿菌(*Klebsiella pneumoniae*)、流感嗜血桿菌(*Haemophilus influenzae*)、模仿葡萄球菌

(*Staphylococcus simulans*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)及白假絲酵母(*Candida albicans*)。

可藉由本發明方法偵測之分析物亦涵蓋選自以下之各種性傳播疾病：淋病(淋病雙球菌，*Neisseria gonorrhoeae*)、梅毒(梅毒螺旋菌，*Treponema pallidum*)、衣原體(沙眼衣原體，*Chlamydia trachomatis*)、非淋菌性尿道炎(解脲支原體，*Ureaplasma urealyticum*)、酵母感染(白假絲酵母)、軟下疳(杜克氏嗜血桿菌，*Haemophilus ducreyi*)、滴蟲病(陰道毛滴蟲，*Trichomonas vaginalis*)、生殖器疱疹(I型及II型HSV)、HIV I、HIV II及A、B、C、G型肝炎以及由TTV引起之肝炎。

可藉由本發明方法偵測之其他分析物涵蓋多種呼吸病原體，包括(但不限於)綠膿桿菌、抗二甲氧苯青黴素之金黃色葡萄球菌(MSRA)、肺炎克雷伯氏桿菌、流感嗜血桿菌、金黃色葡萄球菌、嗜麥芽窄食單胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、副流感嗜血桿菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、大腸桿菌、糞腸球菌、黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、副溶血嗜血桿菌(*Haemophilus parahaemolyticus*)、陰溝腸球菌(*Enterococcus cloacae*)、白假絲酵母、卡他莫拉菌(*Moraxiella catarrhalis*)、肺炎鏈球菌、弗氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)、屎腸球菌(*Enterococcus faecium*)、產酸克雷伯氏菌(*Klebsella oxytoca*)、螢光假單胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、腦膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)、膿腫鏈球菌(*Streptococcus pyogenes*)、肺炎肺囊蟲(*Pneumocystis carinii*)、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsella pneumoniae*)、嗜肺性退伍軍人桿菌(*Legionella pneumophila*)、肺炎黴漿菌(*Mycoplasma pneumoniae*)及結核分枝桿菌(*Mycobacterium tuberculosis*)。

下列為本發明之其他例示性標記物：茶鹼、CRP、CKMB、PSA、肌血球素、CA125、孕酮、TxB2、6-酮-PGF-1- α 及茶鹼、雌二醇、黃體生成激素、三酸甘油酯、類胰蛋白酶、低密度脂蛋白膽固醇、高密度脂蛋白膽固醇、膽固醇、IGFR。

例示性肝標記物包括(但不限於)LDH、(LD5)、丙胺酸胺基轉移酶(ALT)、精胺酸酶1(肝型)、 α -胎蛋白(AFP)、鹼性磷酸酶、乳酸去氫酶及膽紅素。

例示性腎臟標記物包括(但不限於)TNFa受體、胱抑素C、脂質運載蛋白型尿前列腺素D合成酶(LPGDS)、肝細胞生長因子受體、多囊素(Polycystin)2、多囊素1、纖囊素(Fibrocytin)、尿調節素(Uromodulin)、丙胺酸、胺基肽酶、N-乙醯基-B-D-葡萄糖胺酶、白蛋白及視網醇結合蛋白(RBP)。

例示性心臟標記物包括(但不限於)肌鈣蛋白I(TnI)、肌鈣蛋白T(TnT)、肌酸激酶(CK)、CKMB、肌血球素、脂肪酸結合蛋白(FABP)、C反應蛋白(CRP)、血纖維蛋白原D-二聚體、S-100蛋白質、腦利鈉肽(BNP)、NT-proBNP、PAPP-A、髓過氧化物酶(MPO)、糖原磷酸化酶同功酶BB(GPBB)、凝血酶可活化纖維蛋白溶解抑制劑(TAFI)、血纖維蛋白原、缺血修飾性白蛋白(IMA)、心營養素-1及MLC-I(肌凝蛋白輕鏈-I)。

例示性胰臟標記物包括(但不限於)澱粉酶、胰臟炎相關蛋白(PAP-1)及再生蛋白(REG)。

例示性肌肉組織標記物包括(但不限於)肌肉抑制素。

例示性血液標記物包括(但不限於)紅血球生成素(EPO)。

例示性骨標記物包括(但不限於)骨I型膠原蛋白之交聯N端肽(NTx)、

骨膠原之羧基端交聯端肽、離胺醯基-吡啶啉(去氧吡啶啉)、吡啶啉、抗酒石酸酸性磷酸酶、原膠原蛋白I型C原肽、原膠原蛋白I型N原肽、骨鈣蛋白(Osteocalcin/bone gla protein)、鹼性磷酸酶、組織蛋白酶K、COMP(軟骨寡聚基質蛋白)、成骨細胞分化素、骨保護素(OPG)、RANKL、sRANK、TRAP 5(TRACP 5)、骨母細胞特異性因子1(OSF-1, 多效生長因子)、可溶性細胞黏著分子sTfR、sCD4、sCD8、sCD44及骨母細胞特異性因子2(OSF-2, 骨膜素)。

在一些實施例中，本發明之標記物為疾病特異性標記物。例示性癌症標記物包括(但不限於)PSA(總前列腺特異性抗原)、肌酐、前列腺酸性磷酸酶、PSA複合物、前列腺特異性基因-1、CA 12-5、癌胚抗原(CEA)、 α 胎蛋白(AFP)、hCG(人絨毛膜促性腺素)、抑制素、CAA卵巢C1824、CA 27.29、CA 15-3、CAA乳房C1924、Her-2、胰臟CA 19-9、CAA胰臟、神經元特異性烯醇酶、血管抑制素DcR3(可溶性誘餌受體3)、內皮生長抑素、Ep-CAM(MK-1)、游離免疫球蛋白輕鏈 κ 、游離免疫球蛋白輕鏈 λ 、表皮生長因子受體抑素、染色顆粒素A、腎上腺髓素、整合素、表皮生長因子受體、表皮生長因子受體-酪胺酸激酶、腎上腺髓素原N端20肽、血管內皮生長因子、血管內皮生長因子受體、幹細胞因子受體、c-kit/KDR、KDR及中期因子。

例示性感染性疾病病狀包括(但不限於)：病毒血症、菌血症、敗血症，及標記物：PMN彈性蛋白酶、PMN彈性蛋白酶/ α 1-PI複合物、界面活性蛋白D(SP-D)、HBVc抗原、HBVs抗原、抗HBVc、抗HIV、T-抑制細胞抗原、T細胞抗原比、T-輔助細胞抗原、抗HCV、熱原質、p24抗原、胞壁醯基-二肽。

例示性糖尿病標記物包括(但不限於)C-肽、血色素A1c、糖化白蛋白、高級糖基化終產物(AGE)、1,5-去水葡萄糖醇、抑胃多肽、葡萄糖、血色素A1c、ANGPTL3及4。

例示性發炎標記物包括(但不限於)類風濕因子(RF)、抗核抗體(ANA)、C反應蛋白(CRP)、克拉拉細胞蛋白(Clara Cell Protein, 子宮珠蛋白)。

例示性過敏標記物包括(但不限於)總IgE及特異性IgE。

例示性自閉標記物包括(但不限於)血漿銅藍蛋白、金屬硫蛋白、鋅、銅、B6、B12、麩胱甘肽、鹼性磷酸酶及apo-鹼性磷酸酶之活化。

例示性凝血障礙標記物包括(但不限於)b-血小板球蛋白、血小板因子4、馮維勒布蘭德因子(Von Willebrand factor)。

在一些實施例中，標記物可為治療特異性標記物。指示COX抑制劑之作用的標記物包括(但不限於)TxB2(Cox-1)、6-酮-PGF-1- α (Cox 2)、11-去氫-TxB-1a(Cox-1)。

本發明之其他標記物包括(但不限於)瘦素、瘦素受體及原降鈣素、腦S100蛋白、物質P、8-異-PGF-2a。

例示性老人病標記物包括(但不限於)神經元特異性烯醇酶、GFAP及S100B。

營養狀況之例示性標記物包括(但不限於)前白蛋白、白蛋白、視網醇結合蛋白(RBP)、轉鐵蛋白、醯基化刺激蛋白(ASP)、脂聯素、刺鼠相關蛋白(AgRP)、血管生成素樣蛋白4(ANGPTL4, FIAF)、C肽、AFABP(脂肪細胞脂肪酸結合蛋白, FABP4)、醯基化刺激蛋白(ASP)、EFABP(表皮脂肪酸結合蛋白, FABP5)、腸高糖素、升糖素、升糖素樣肽-1、升糖素

樣肽-2、胃內激素、胰島素、瘦素、瘦素受體、PYY、RELMs、抵抗素及sTfR(可溶性轉鐵蛋白受體)。

脂質代謝之例示性標記物包括(但不限於)Apo-脂蛋白(數種)、Apo-A1、Apo-B、Apo-C-CII、Apo-D、Apo-E。

例示性凝血狀態標記物包括(但不限於)因子I：血纖維蛋白原，因子II：凝血酶原，因子III：組織因子，因子IV：鈣，因子V：前加速素，因子VI，因子VII：前轉化素，因子VIII：抗溶血因子，因子IX：克氏因子(Christmas factor)，因子X：斯圖亞特因子(Stuart-Prower factor)，因子XI：血漿促凝血酶原激酶前體，因子XII：哈格曼因子(Hageman factor)，因子XIII：纖維蛋白穩定因子，前激肽釋放酶，高分子量激肽原，蛋白C，蛋白S，D-二聚體，組織纖維蛋白溶酶原活化因子，血纖維蛋白溶酶原，a2-抗纖溶酶，血纖維蛋白溶酶原活化因子抑制劑1(PAI1)。

例示性單株抗體包括EGFR、ErbB2及IGF1R之抗體。

例示性酪胺酸激酶抑制劑包括(但不限於)Ab1、Kit、PDGFR、Src、ErbB2、ErbB 4、EGFR、EphB、VEGFR1-4、PDGFRb、FLt3、FGFR、PKC、Met、Tie2、RAF及TrkA。

例示性絲胺酸/蘇胺酸激酶抑制劑包括(但不限於)AKT、Aurora A/B/B、CDK、CDK(泛)、CDK1-2、VEGFR2、PDGFRb、CDK4/6、MEK1-2、mTOR及PKC-β。

GPCR標靶包括(但不限於)組胺受體、血清素受體、血管緊張素受體、腎上腺素受體、蕁毒鹼乙醯膽鹼受體、GnRH受體、多巴胺受體、前列腺素受體及ADP受體。

膽固醇

量測代謝物可藉由使用氧化酶(諸如膽固醇氧化酶)(製備 H_2O_2)及辣根過氧化酶加上色素原(諸如N-乙基-N-(2-羥基-3-磺基丙基)-3,5-二甲氧基苯胺鈉鹽[「DAOS」加上胺基安替比林]形成有色產物，諸如崔德染料(Trinder dye))產生有色產物執行。該等化學法之一個實例展示於圖52及圖53中。

NADH或NADPH

產生或消耗NADH或NADPH常用於臨床分析中。此係因為此等輔酶為酶之通用受質。舉例而言，臨床關注之酶(諸如乳酸去氫酶(LDH))可藉由NADH產生率量測。因為NADH吸收最大340 nm之光，且(1)聚苯乙烯及其他塑膠不良地透射近UV中之光，(2)白光光源產生極少近UV中之光，且(3)相機及掃描儀感測器對近UV光具有低靈敏度，故藉由三色影像分析量測NADH不可行。為處理此問題，可使用四唑鎢鹽(諸如水溶性四唑鎢，例如WST-1(Dojindo Molecular Technologies)加上「電子介體」(諸如1-甲氧基吩嗪甲基硫酸酯，PMS))將NADH轉化為有色產物。

在一些實施例中，產生或消耗NADH或NADPH之分析可與其他允許比色量測之反應配對。舉例而言，如圖54所示，可藉由使用吩嗪甲基硫酸酯作為電子介體，使用NADH或NADPH將化合物(諸如2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺基苯基)-2H-四唑鎢單鈉鹽(WST-1))還原為如下所示之有色甲臍染料。

如圖73所示，當NADH、WST-1及PMS以毫莫耳濃度組合時，形成黃色產物(在尖端中指示為混合物形式)。

使用此化學法可建立LDH之分析。將乳酸鹽(mM)、NAD(mM)及LDH組合且在37°C下培育10分鐘，隨後添加WST-1及PMS。如圖74所

示，對於LDH之兩倍連續稀釋液(1000 IU/L)(自左至右)，獲得對LDH之良好劑量-反應，對應於圖75中曲線中所示之OD 450 nm值。

鹼性磷酸酶

在其他實施例中，可使用發色受質(諸如磷酸對硝基苯酯)量測使用酶(諸如鹼性磷酸酶)之分析。酶促反應可製備在鹼性條件下呈黃色之對硝基酚。

金屬離子

亦可對形成有色錯合物(諸如金屬離子與螯合染料之間，其在結合時改變顏色)之分析執行量測。舉例而言，鄰甲酚酞胺羧錯合劑(圖55中所示)與鈣形成錯合物，其具有與該試劑不同之顏色。該分析之通用方案為：螯合染料(顏色1)+ $M^{N+} \rightleftharpoons$ 螯合染料： M^{N+} ：(顏色2)。

對於使用金屬依賴性酶之金屬離子分析，亦可量測光信號。舉例而言，可經由鈉依賴性 β -半乳糖苷酶活性，以鄰硝基苯基半乳糖苷(ONPG)為受質，酶法測定鈉離子。產物鄰硝基酚在405 nm下之吸光度與鈉濃度成比例。

ELISA

可藉由形成顏色之ELISA對分析物執行分析。已知多種ELISA方法，其使用酶(諸如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶及 β -半乳糖苷酶，發色受質分別為諸如鄰苯二胺、磷酸對硝基苯酯及鄰硝基苯基半乳糖苷)產生顏色。該等分析可藉由本發明容易地執行且讀取。

致發光免疫分析

亦可執行致發光免疫分析。分析可使用致化學發光實體，諸如酶與致發光受質。舉例而言，化學發光化合物包括二氧雜環丁烷、吡啶鎘酯、

螢光素及2,3-二氫酞嗪二酮(諸如魯米諾)。

此外，適合化學發光來源包括如下化合物，其藉由化學反應而經電子激發且可隨後發射充當可偵測信號或向螢光受體提供能量的光。已發現多個化合物家族可在各種條件下提供化學發光。一個化合物家族為2,3-二氫-1,4-酞嗪二酮。常用化合物為魯米諾，其為5-胺基化合物。該家族之其他成員包括5-胺基-6,7,8-三甲氧基-及二甲基胺基[ca]苯類似物。可用鹼性過氧化氫或次氯酸鈣及鹼使此等化合物發光。另一化合物家族為2,4,5-三苯基咪唑，其中咯吩為母產品之通用名稱。化學發光類似物包括對二甲基胺基及對甲氧基取代基。化學發光亦可在鹼性條件下用草酸酯、通常乙二醯基活性酯(例如對硝基苯酯)及過氧化物(諸如過氧化氫)獲得。亦已知之其他有用化學發光化合物包括N-烷基吡啶鎘酯及二氧雜環丁烷。或者，螢光素可與螢光素酶或光澤精結合用於提供生物發光。

核酸擴增

可執行之分析亦包括核酸擴增。此等分析之實例為等溫擴增及環介導之等溫擴增分析(LAMP)。可使用核酸擴增產生分析物(諸如核酸標靶(基因等))之明顯混濁、螢光或有色分析反應產物。核酸擴增技術可用於等溫擴增特定DNA及RNA標靶。等溫核酸擴增之其他資訊描述於Goto等人, 「Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue」, BioTechniques, 第46卷, 第3期, 2009年3月, 167-172中。

核酸擴增可用於量測DNA且結合使用反轉錄酶量測RNA。反應進行後，經擴增產物可使用與作為擴增副產物產生的所釋放焦磷酸鹽反應之嵌入染料或發色劑光學偵測。

反應可藉由顏色、螢光或濁度變化(提高)觀察。可在不到1小時內偵測極少複本數之DNA。此技術可在本發明中使用三色影像分析有利地讀取。如下所示，等溫核酸擴增分析反應產物之影像可藉由如下方法量測：(1)量測光吸光度之背光照射(透射光)，(2)藉由數位相機捕捉之穿過反應產物透射之光的影像或(3)藉由用UV來源(或任何其他適當光源)照射反應產物產生且藉由數位相機捕捉的螢光影像。

核酸擴增分析一般以「一鍋」格式執行，其中將樣本及試劑在密封管中組合且在高溫下培育。在一些形式中，反應可藉由光學特性變化即時監測。在其他分析形式中，在添加發色或螢光試劑後中止反應且觀察反應產物。本發明可在反應器皿中直接讀取核酸擴增分析產物或在抽吸至本文所述之尖端中後讀取。

濁度

本發明亦提供光學濁度測定分析。舉例而言，免疫分析可藉由量測小乳膠粒子(50-300 nm)之凝集建立。在此等分析中，粒子可用抗原及/或抗體塗佈且在添加樣本中之結合對應物(諸如抗體或抗原)時發生凝集。分析物可以直接方式(例如粒子上之抗體與多抗原決定基蛋白質或生物標記物反應)或競爭方式(例如粒子上之藥物半抗原以與樣本中之游離藥物競爭之方式與抗藥物抗體反應)建立。乳膠之分散液變得更混濁且隨著光透射率降低，可使用三色光學法量測濁度。

類似地，可量測基於大乳膠粒子(直徑為約1 μm)或紅血球凝集之分析。分析組態類似於上文所揭示之濁度測定分析，但量測可藉由影像分析(掃描儀或相機量測)使用軟體說明凝集之數量及尺寸進行。

執行反應化學法之試劑可包含於本文所述之筒中，諸如吸管尖端

中。試劑可以液體或乾燥、凍乾或玻璃狀形式儲存。

定位試劑

在一些實施例中，反應位點之位置及組態為分析器件中之重要因素。大多數(若非所有)拋棄型免疫分析器件經組態以使其捕捉表面作為器件之整合部分。

在一個實施例中，經模製塑膠分析單元可購得或可藉由射出成形製造具有精確形狀及尺寸。舉例而言，特徵尺寸可為直徑為0.05-3 mm或可為長度為3至30 mm。該等單元可用捕捉劑使用類似於塗佈微量滴定盤所用之方法塗佈，但優勢為其可藉由將其放置於大器皿中、添加塗佈試劑且使用篩網、固持器及其類似物回收碎片且視需要對其進行洗滌來處理而成批處理。

分析單元(例如涵蓋本文所揭示之尖端、尖端、器皿或任何其他容器)可提供上面可固定反應物之剛性支撐物。分析單元亦經選擇而提供關於與光之相互作用的適當特徵。舉例而言，分析單元可由如下材料製成：諸如官能化玻璃、Si、Ge、GaAs、GaP、SiO₂、SiN₄、經修飾矽或如下多種凝膠或聚合物中之任一者，諸如(聚)四氟乙烯、(聚)亞乙烯基二氟、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚丙烯、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯(ABS)或其組合。在一實施例中，分析單元包含聚苯乙烯。在一些實施例中，分析單元可由均質材料、非均質材料、被覆材料、塗佈材料、浸漬材料及/或包埋材料形成。可根據本發明使用其他適當材料。宜為透明反應位點。另外，在存在使光可到達光學偵測器之光學透射性窗的情況下，表面宜不透明及/或較佳可光散射。在一些實施例中，分析單元可由透明材料形成。或者，分析單元之一部分可由透明材料形成。

分析單元上面可塗佈試劑及/或浸漬在試劑中。在一些實施例中，試劑可為能夠將反應物固定在捕捉表面上之捕捉劑。反應物可為細胞及/或分析物或本文別處所述之任何其他反應物。在一些實施例中，試劑可為可作為細胞捕捉劑之分子。細胞捕捉劑可在流體傳輸期間錨定於所要細胞之表面。在一些實施例中，捕捉劑可為可與細胞膜相互作用之抗體、肽、有機分子(例如其可具有脂質鏈、親脂性分子)、聚合物基質、蛋白質、蛋白質複合物、醣蛋白。捕捉劑可為分子、交聯分子、奈米粒子、奈米結構及/或骨架。在一些實施例中，可提供微結構，其可成為器皿中之分析機構。捕捉劑(其可包括由分析單元材料形成之捕捉結構)可繫栓、結合及/或捕捉細胞。

捕捉劑可在處理期間固定反應物(諸如細胞)。捕捉技術可為化學、物理、電學、磁、機械、尺寸相關、密度相關技術或其組合。在一些實施例中，捕捉劑可用於在所要位置濃縮反應物(諸如細胞)。舉例而言，分析單元可塗佈有捕捉劑，其可在分析單元表面捕捉細胞，由此在捕捉表面濃縮細胞。捕捉劑可使所捕捉反應物保持固定在細胞表面上。此可有助於使反應物(例如細胞、分析物)在成像期間保持靜止。

固定反應物可用於反應及/或偵測可能需要長獲取時間之應用。舉例而言，多種成像應用可能需要延長暴露時間(約1分鐘)或使可具有顯著布朗運動(Brownian motion)之小物體(<1 μm)成像。

在一些實施例中，捕捉劑可由幾乎不提供成像背景之物質形成。在一些情況下，分析單元之材料幾乎不提供成像背景。捕捉劑可經選擇以使其不干擾或僅微小地干擾成像及/或偵測。

固定在捕捉表面之反應物可為適用於偵測體液樣本中之相關分析物

的任何物質。舉例而言，該等反應物包括(但不限於)與特定分析物反應之核酸探針、抗體、細胞膜受體、單株抗體、抗血清及適體。可使用各種市售反應物，諸如為特定分析物開發之大量多株及單株抗體。

熟習此項技術者應瞭解有多種方式將各種反應物固定在可進行反應之支撐物上。固定可為共價或非共價的，經由連接子部分進行或將其繫栓於固定部分。用於將核酸或蛋白質分子(諸如抗體)附接於固體支撐物的非限制性例示性結合部分包括抗生蛋白鏈菌素或抗生物素蛋白/生物素鍵、胺基甲酸酯鍵、酯鍵、醯胺、硫醇酯、(N)-官能化硫脲、官能化順丁烯二醯亞胺、胺基、二硫基、醯胺、胺鍵。另外，可使用此項技術中已知之方法將矽烷基部分附接於直接連接於基板(諸如玻璃)之核酸。亦可經由聚L離胺酸繫栓達成表面固定，其向表面提供電荷-電荷偶合。

分析單元可在併入捕捉表面之最後步驟後乾燥。舉例而言，乾燥可藉由被動暴露於乾燥氛圍或經由使用真空歧管及/或穿過歧管施用潔淨乾燥空氣或藉由凍乾執行。

捕捉表面可使用任何技術施用於分析單元。舉例而言，捕捉表面可塗覆於、印刷於、電噴霧於、包埋於材料上，浸漬材料或任何其他技術。捕捉劑可塗佈於分析單元材料、併入材料中、共滲透材料或可由該材料形成。舉例而言，試劑(諸如捕捉劑)可包埋於聚合物基質中而可用作感測器。在一些實施例中，一或多個小粒子(諸如奈米粒子、微粒及/或珠粒)可用試劑塗佈及/或浸漬。在一些實施例中，捕捉劑可為分析單元材料自身之一部分，或可為添加至材料中之物質。

在許多實施例中，分析單元設計成使單元可以大體積快速製造方法製造。舉例而言，尖端可安裝於大型陣列中以將捕捉表面分批塗佈於尖端

中或尖端上。在另一實例中，尖端可放置於移動帶或旋轉平台中以連續處理。在另一實例中，大量尖端可連接於真空及/或壓力歧管以簡單處理。

捕捉劑可在處理中之任何點期間施用於分析單元。舉例而言，捕捉劑可在製造期間施用於分析單元。捕捉劑可在分析單元運輸至目的地前施用於分析單元。或者，捕捉劑可在已運輸分析單元後施用於分析單元。在一些情況下，捕捉劑可在使用點(諸如服務位置點)施用於分析單元。

在一些實施例中，捕捉劑可覆蓋分析單元之整個表面或區域。可在分析單元之內表面上提供捕捉劑。在一些實施例中，捕捉劑可覆蓋分析單元表面之部分。捕捉劑可以一種圖案提供於表面上。單元之部分表面上面可施用捕捉劑，且部分表面上面未施用捕捉劑。舉例而言，可存在塗佈區及未塗佈區。捕捉劑可根據捕捉劑如何施用之幾何選擇施用於表面中。舉例而言，捕捉劑可以點、列、柱、陣列、區域、圓圈、環或任何其他形狀或圖案施用。捕捉劑可施用於表面上之所要位置處。

複數種捕捉劑可視情況施用於分析單元。在一些實施例中，可施用複數種捕捉劑以使不同捕捉劑不重疊(例如不同捕捉劑不施用於同一區域)。或者，其可重疊(例如不同捕捉劑可施用於同一區域)。具有不同捕捉劑之區域之間可能提供或不提供無任何捕捉劑之空間。可使用不同捕捉劑固定不同反應物。舉例而言，可使用不同捕捉劑在捕捉表面上固定不同細胞及/或分析物。藉由使用複數種在所選區域中圖案化之捕捉劑，可由同一分析單元偵測複數種反應物。在一些實施例中，兩種或兩種以上、三種或三種以上、四種或四種以上、五種或五種以上、七種或七種以上、十種或十種以上、十五種或十五種以上、二十種或二十種以上、三十種或三十種以上、四十種或四十種以上、五十種或五十種以上、100種或100種

以上、150種或150種以上、200種或200種以上或300種或300種以上不同捕捉劑可施用於分析單元之表面。不同捕捉劑可以任何圖案或形狀施用。舉例而言，不同捕捉劑可以環陣列或系列形式施用於分析單元之內表面上。舉例而言，不同捕捉劑可施用於尖端、器皿、容器、比色管或本文別處所述之任何其他容器之內表面上。

分析單元上不同捕捉劑之位置可在偵測所捕捉反應物前已知。在一些實施例中，分析單元可具有可指示分析單元之類型及/或其中捕捉劑之圖案的識別符。或者，分析單元之不同捕捉劑之位置在偵測所捕捉反應物前可能未知。不同捕捉劑之位置可基於所捕捉反應物之偵測模式確定。

捕捉劑可使用任何技術(諸如本文別處所述之技術)施用。在一些情況下，可使用遮蔽或微影技術施用不同捕捉劑。

本文中施用於分析單元之捕捉劑及/或塗層之任何描述適用於本文別處所述之任何其他單元或容器，包括(但不限於)尖端、器皿、比色管或試劑單元。

試劑組件

在本發明之許多實施例中，試劑單元呈模組式。試劑單元可設計成使單元可以大容量快速製造製程製造。舉例而言，多個試劑單元可在大型製程中同時填充且密封。試劑單元可根據由器件執行之分析類型填充。舉例而言，若一名使用者需要不同於另一使用者之分析，則可根據各使用者之偏好製造試劑單元而無需製造整個器件。在另一實例中，試劑單元可放置於移動帶或旋轉平台中供連續處理。

在另一實施例中，試劑單元直接容納於器件外殼之空腔中。在此實施例中，可對包圍該等單元之外殼區域進行密封。

本發明之試劑包括(但不限於)洗滌緩衝液、酶受質、稀釋緩衝液、結合物、酶標記之結合物、DNA擴增物、樣本稀釋劑、洗滌溶液、樣本預處理試劑(包括添加劑，諸如清潔劑)、聚合物、螯合劑、白蛋白結合試劑、酶抑制劑、酶、抗凝血劑、紅血球凝集劑、抗體或在器件上執行分析所需之其他物質。酶標記之結合物可為用酶標記之多株抗體或單株抗體，該酶在與適當受質反應後可產生可偵測信號。該等酶之非限制性實例為鹼性磷酸酶及辣根過氧化酶。在一些實施例中，試劑包含免疫分析試劑。一般而言，試劑、尤其在與液體混合時相對不穩定之試劑單獨限制在器件內之指定區域(例如試劑單元)中。

在一些實施例中，試劑單元含有約5微升至約1毫升液體。在一些實施例中，單元可含有約20-200微升液體。在另一實施例中，試劑單元含有100微升液體。在一實施例中，試劑單元含有約40微升液體。試劑單元中液體之體積可視執行之分析類型或所提供之體液樣本而變化。在一實施例中，試劑體積不必預定，但必須大於已知最小量。在一些實施例中，試劑最初以乾燥形式儲存且在開始在器件上執行之分析後溶解。

在一實施例中，試劑單元可使用虹吸管、漏斗、吸管、注射器、針或其組合填充。試劑單元可使用填充通道及真空汲取通道填充液體。試劑單元可個別填充或作為整體製造製程之一部分填充。

在一實施例中，個別試劑單元包含不同試劑作為使試劑彼此分離之方式。亦可使用試劑單元含有洗滌溶液或受質。另外，可使用試劑單元含有致發光受質。在另一實施例中，試劑單元內含有複數種試劑。

在一些情況下，器件之裝備具有在組裝本發明器件之可拋棄件前預校準分析單元及試劑單元之能力。

適體結合分析

本發明可基於使用特異性結合於樣本中之一或多種分析物的結合要素進行各種分析方法。一般而言，結合要素為結合對之一個成員，其能夠在複數種不同分子存在下特異性且選擇性結合於結合對之另一成員。結合要素之實例包括(但不限於)抗體、抗原、結合金屬之配體、核酸探針及引子、本文所述之受體及反應物以及適體。在一些實施例中，用於偵測分析物之結合要素為適體。術語「適體」用以指出於特異性結合一或多種標靶分析物之能力而選擇的肽、核酸或其組合。肽適體為親和劑，其一般包含一或多個呈現於骨架蛋白質之表面上的可變環域。核酸適體為特異性結合寡核苷酸，其為能夠與所欲標靶分析物選擇性形成複合物之寡核苷酸。該複合在其他物質(諸如伴隨標靶分析物之其他分析物)不與適體以同樣大之親和力複合的意義上具有標靶特異性。應認識到複合及親和力為程度問題；然而，在此情形下，「標靶特異性」意謂適體結合於標靶之親和力程度比其結合於污染性物質高得多。由此，在此情形下，特異性之含義類似於例如用於抗體之含義。適體可藉由任何已知方法(包括合成、重組及純化方法)製備。此外，術語「適體」亦包括含有來源於既定標靶之兩種或兩種以上已知適體比較之共同序列的「二次適體」。

一般而言，核酸適體之長度為約9個至約35個核苷酸。在一些實施例中，核酸適體之長度為至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、80、90、100個或100個以上殘基。儘管適體之寡核苷酸一般為單股或雙股，但預期適體有時可假定為具有三股或四股結構。在一些實施例中，核酸適體為圓形的，諸如在US 20050176940中。適體之特異性結合寡核苷酸應含有賦予

特異性之序列，但可延伸有側接區且以其他方式衍生或修飾。發現結合於標靶分析物之適體可進行分離、測序，隨後再合成為習知DNA或RNA部分，或可為經修飾之寡聚物。此等修飾包括(但不限於)併入：(1)經修飾之糖或糖之類似形式(例如核糖及去氧核糖)；(2)替代性鍵聯基團；或(3)嘌呤及嘧啶鹼基之類似形式。

核酸適體可包含DNA、RNA、官能化或經修飾核酸鹼基、核酸類似物、經修飾或替代性骨架化學物質或其組合。適體之寡核苷酸可含有習知鹼基腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶或尿苷。合成適體包括在術語適體內，其併入嘌呤及嘧啶之類似形式。嘌呤及嘧啶之「類似」形式為此項技術中一般已知，其中諸多者用作化學治療劑。嘌呤及嘧啶之類似形式(亦即鹼基類似物)之非限制性實例包括氮丙啶基胞嘧啶、4-乙醯基胞嘧啶、5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-羧基氨基氨基-2-硫尿嘧啶、5-羧基氨基-氨基氨基尿嘧啶、肌苷、N6-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基腺嘌呤、1-甲基假尿嘧啶、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-甲基腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-氨基氨基氨基-尿嘧啶、5-甲氧基氨基氨基-2-硫尿嘧啶、β-D-甘露糖基Q核苷、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲基-硫-N6-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、假尿嘧啶、Q核苷、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸、5-戊炔基-尿嘧啶及2,6-二氨基嘌呤。認為使用尿嘧啶作為去氧核糖核酸(下文稱作「dU」)中胸腺嘧啶之取代鹼基為本發明中之嘧啶的「類似」形式。

適體寡核苷酸可含有此項技術中已知之核糖或去氧核糖之類似形

式，包括(但不限於)2'取代糖，諸如2'-O-甲基-核糖、2'-O-烯丙基-核糖、2'-氟-核糖或2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、 α -變旋異構糖、差向異構糖(諸如阿拉伯糖、木糖或來蘇糖、嘔喃糖、呋喃糖、景天庚酮糖)、鎖核酸(LNA)、肽核酸(PNA)、非環狀類似物及鹼性核苷類似物(諸如甲基核糖苷)。

適體亦可包括其合成中之中間物。舉例而言，通常存在之任何羥基可經磷酸酯基、磷酸酯基置換，經標準保護基保護或經活化以製備與其他核苷酸或受質之其他鍵。5'端OH通常游離，但可經磷酸化；3'端之OH取代基亦可經磷酸化。羥基亦可衍生為標準保護基。一或多個磷酸二酯鍵可經替代性鍵聯基團置換。此等替代性鍵聯基團包括(但不限於)如下實施例，其中P(O)O經P(O)S(「硫代酸酯」)、P(S)S(「二硫代酸酯」)、P(O)NR₂(「醯胺化物」)、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH₂(「甲縮醛」)置換，其中各R或R'獨立地為H或經取代或未經取代之視情況含有醚(-O-)鍵之烷基(1-20C)、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳烷基。

適用於本發明之適體之一個特定實施例係基於美國專利第5,270,163號及第5,475,096號中所揭示之RNA適體，該等專利以引用的方式併入本文中。上述專利揭示SELEX方法，其包含使用相同通用選擇方案自備選寡核苷酸之混合物選擇且將結合、分離及擴增逐步反覆以基本上達成結合親和力及選擇性之任何所要標準。以核酸之混合物(較佳包含隨機化序列之區段)作為起始物，SELEX方法包括如下步驟：使混合物與標靶(諸如標靶分析物)在有利於結合之條件下接觸，分離未結合核酸與對標靶分子具有結合特異性之核酸，解離核酸-標靶複合物，擴增自核酸-標靶複合物解離之核酸以產生核酸之富含配體混合物，隨後經由需要次數之循環再反覆

結合、分離、解離及擴增之步驟而產生標靶分子之高度特異性高親和力核酸配體。在一些實施例中，使用陰性篩選，其中使複數種適體暴露於分析物或可能與標靶分析物一起存在於欲分析樣本中的其他物質，且僅保留不結合之適體。

SELEX方法涵蓋鑑別高親和力核酸配體，該等高親和力核酸配體含有在配體上賦予改良特徵(諸如改良之活體內穩定性或改良之傳遞特徵)之經修飾核苷酸。該等修飾之實例包括在核糖及/或磷酸酯及/或鹼基位置之化學取代。在一些實施例中，兩個或兩個以上適體接合形成單一多價適體分子。多價適體分子可包含各複本靶向相同分析物之多個複本適體，兩個或兩個以上靶向不同分析物之不同適體，或其組合。

適體可用作診斷劑及預後劑，用作發現新穎治療劑之試劑，用作監測個體中之藥物反應的試劑，且用作發現新穎治療標靶之試劑。適體可用於偵測一或多種標靶分析物，改良一或多種標靶分析物之功能，或干擾或抑制一或多種標靶分析物之功能。如本文所用之術語「分析物」包括(但不限於)藥物、前藥、藥劑、藥物代謝物、生物標記物(諸如表現之蛋白質及細胞標記物)、抗體、血清蛋白、膽固醇及其他代謝物、電解質、金屬離子、多醣、核酸、生物學分析物、生物標記物、基因、蛋白質、激素或其任何組合。分析物可為多肽、醣蛋白、多醣、脂質及核酸之組合。適體可藉由(但不僅限於)如下機制中之任一者抑制基因產物之功能：(i)調節蛋白質-蛋白質相互作用之親和力；(ii)在轉錄層面調節蛋白質之表現；(iii)在轉錄後層面調節蛋白質之表現；(iv)調節蛋白質之活性；及(v)調節蛋白質之位置。肽適體之精確作用機制可藉由生物化學及遺傳方法確定其在與其他基因及基因產物相互作用之情形下之特定功能來確定。

適體可用於在本文所述之任何偵測方案中偵測分析物。在一個實施例中，適體共價或非共價偶合於基板。適體可偶合之基板的非限制性實例包括微陣列、微珠粒、吸管尖端、樣本傳遞器件、比色管、毛細管或其他管、反應室或與本發明之偵測系統相容之任何其他適合格式。生物晶片微陣列製造可使用各種半導體製造技術，諸如固相化學法、組合化學法、分子生物學技術及機器人技術。一種常用方法為在單一晶片上製造具有數百萬個探針之微陣列的光微影製造製程。或者，若探針經預先合成，則其可使用技術(諸如微通道泵送、「噴墨」沾點、模板壓印或光致交聯)附接於陣列表面。一例示性光微影方法由用感光性化學化合物塗佈石英晶圓以防止石英晶圓與產生之DNA探針之第一核苷酸之間偶合起始。使用微影遮罩以抑制或允許光透射於晶圓表面之特定位置上。隨後使表面與可含有腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或鳥嘌呤之溶液接觸，且僅在玻璃上經由照射去除保護基之區域中發生偶合。偶合之核苷酸產生感光性保護基，從而使得循環可重複。以此方式，在經由重複去除保護基及偶合之循環合成探針時產生微陣列。該方法可重複直至探針達到其全長。市售陣列通常以每個陣列超過130萬個獨特特徵之密度製造。視實驗要求及每個陣列所要之探針個數而定，各晶圓可切割成數十個或數百個個別陣列。

可使用其他方法製造生物晶片。生物晶片可為朗繆爾-布洛傑特膜(Langmuir-Bodgett film)、官能化玻璃、鍍、矽、PTFE、聚苯乙烯、砷化鎵、金、銀、膜、耐綸、PVP或此項技術中已知能夠在表面上併入官能基(諸如胺基、羧基狄爾斯-阿德耳反應物(Diels-Alder reactant)、硫氫基或羟基)之任何其他材料。此等基團可隨後共價附接於交聯劑，使得隨後可在溶液中發生核酸配體附接及其與標靶分子相互作用而不受生物晶片妨

礙。典型交聯基團包括乙二醇寡聚物、二胺及胺基酸。或者，適體可使用酶促程序偶合於陣列，諸如US 20100240544中所述。

在一些實施例中，適體偶合於微珠粒之表面。適用於偶合於寡核苷酸之微珠粒為此項技術中已知，且包括磁性、可磁化及非磁性珠粒。微珠粒可用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10種或10種以上染料標記以有利於編碼珠粒且鑑別與其連接之適體。編碼微珠粒可用於在單一分析中區分至少10、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、5000個或5000個以上不同微珠粒，各微珠粒對應於對不同分析物具有特異性之不同適體。

在一些實施例中，試劑偶合於反應室(諸如尖端)之表面。舉例而言，尖端之內表面可用對單一分析物具有特異性之適體塗佈。或者，尖端之內表面可用對不同分析物具有特異性之兩個或兩個以上不同適體塗佈。當兩個或兩個以上不同適體偶合於同一尖端內表面時，各不同適體可偶合於不同已知位置，諸如在不同位置沿尖端之軸形成不同有序環或帶。在此情況下，可藉由沿尖端向上汲取樣本且使樣本中所含之分析物與沿尖端塗佈在連續位置的適體結合來分析同一樣本中之多種不同分析物。結合事件可隨後如本文所述觀察，條帶圖案中之各帶的位置對應於特定已知分析物。

在一些實施例中，使用光學特徵偵測一或多種適體結合於一或多種標靶分析物。在一些實施例中，光學特徵為螢光。在一些實施例中，用標記化合物處理含有欲分析分析物之樣本以使分析物與螢光標籤結合。可隨後藉由螢光與偶合於陣列之適體的組合(諸如圖136中所說明)及與偶合於經編碼珠粒之適體的組合(圖137中)偵測一或多種分析物之存在及視情況數量而量測結合。在一些實施例中，用標記化合物處理樣本以使分析物與

連接子結合。結合後，用螢光標籤官能化連接子且藉由螢光量測陽性事件。在一些實施例中，適體之分析物結合域部分雜交於經螢光標記之互補探針。結合於分析物後，互補探針釋放，從而使螢光信號發生光學可量測之減少。在一些實施例中，適體經螢光標記且部分雜交於用接近螢光標記之淬滅劑標記之互補探針。結合於分析物後，互補探針釋放，從而使結合於適體之標記的螢光發生可量測之增加。在一些實施例中，適體部分雜交於互補探針，該雜交佔據含有二級結構之域。結合於分析物後，互補探針釋放，且使用於產生可量測信號之嵌入染料獲得二級結構。適用於偵測結合對中適體與分析物之間的結合的標記可包括例如螢光素、四甲基若丹明、德克薩斯紅(Texas Red)或此項技術中已知之任何其他螢光分子。在生物晶片上各位置偵測之標記之含量隨後隨所分析混合物中之標靶分析物之量而變化。

在一些實施例中，置換之互補探針結合於親和力對之一個成員，諸如生物素。可偵測分子隨後結合於親和力對之另一成員，例如抗生物素蛋白。測試混合物施用於生物晶片後，添加結合之可偵測分子。生物晶片上各位點之可偵測分子之量與測試混合物中所存在的標靶分子之量成反比。在另一實施例中，置換之互補探針經生物素標記，且可藉由添加經螢光標記之抗生物素蛋白偵測；抗生物素蛋白自身隨後連接於另一經螢光標記之結合生物素之化合物。置換之寡核苷酸上之生物素基團亦可用於結合抗生物素蛋白連接之報導酶；該酶隨後催化使可偵測化合物沈積之反應。或者，報導酶催化不溶性產物之產生，該不溶性產物局部淬滅固有螢光生物晶片之螢光。在置換分析之另一實施例中，置換之互補探針用免疫可偵測探針(諸如地高辛)標記。置換之互補探針隨後由特異性識別探針之第一組

抗體結合。此等第一抗體隨後由經螢光標記或結合於報導酶之第二組抗體識別且結合。熟習此項技術者已知或現在可發現此等實例之多個變化。亦可使用抗體與作為受體之適體的組合建立類似於「雙重夾心」ELISA之分析。舉例而言，捕捉表面可用適體官能化，且偵測試劑可為經酶標記之抗體。相反地，抗體可在捕捉表面上且偵測試劑為經標記適體。

在一些實施例中，使含有欲分析分析物之樣本分散於三維水凝膠基質中。水凝膠基質可經活化以共價捕捉蛋白質及小分子。洗滌過量且未結合之樣本後，可引入經螢光標記之適體以偵測所存在之特定分析物，諸如圖138中所說明。在一些實施例中，三維水凝膠基質分成小子集或微孔，可向其中添加單一適體以進行所存在分析物之特定分析。在一些實施例中，用一組對應於獨特信號之經編碼量子點或螢光標籤標記適體。在一些實施例中，將經標記適體與樣本同時添加至三維基質中。

在一些實施例中，在ELISA分析中使用適體而非抗體。一般而言，使樣本暴露於表面且特異性或非特異性地與之偶合。在夾心ELISA中，分析物藉由結合於偶合於表面之第一抗體而特異性偶合於表面。在典型ELISA中，特異性或非特異性結合之分析物隨後藉由結合於具有標記之第二抗體而偵測。在適體ELISA中，第一抗體、第二抗體或兩者經對分析物具有特異性之適體置換。

樣本及分析反應產物之成像分析

在本發明之一些實施例中，樣本及分析反應產物之分析可使用數位成像執行。分析比色管可對準以進行量測且在單一操作中掃描或成像。在本發明之儀錶系統中，此藉由機械組件自動達成。分析比色管定位於筒中之指定位置且在維持相同定向及間隔下移至掃描儀。圖92中所示之曲線圖

對應於相對於比色管寬度之綠色通道反應。如所示，比色管之邊緣界限清晰，對應於比色管中央之位置亦如此。

藉由掃描或成像獲得之影像可為二維像素陣列，其中各像素包含複數個對應於不同偵測光譜區(例如紅色、藍色、綠色)之強度值。影像可藉由可對應於尖端之水平部分的線掃描說明。若尖端為圓形，則有效吸光度可藉由經適當函數將線掃描解卷積來測定。函數實例包括拋物線函數及圓函數。在一些實施例中，影像可經由對在一系列實體位置上獲取之尖端或樣本之多個影像進行資料平均而獲得。

在一實施例中，可提供感測器以在偵測分析物時相對於偵測器定位分析單元。

如圖61及圖62所示，將溴酚藍溶液抽吸至一組圓錐形尖端中且用正面照射成像(光源及偵測器在物體之同一側)。使用少量(5 μ L)0.78 mg/mL 溶液之連續稀釋液，其中最高濃度在影像頂部。在圖61中，左側之尖端中樣本位於圓錐形尖端中之最寬位置，而右側之尖端中樣本位於最狹窄位置。圖61中之影像使用掃描光學系統獲得。

圖62展示使用背光組態(光源及偵測器在成像物體之對側)成像之尖端。背光組態由於較高影像品質而為較佳。

如圖61及圖62所示，有色溶液之有效光學路徑長度可藉由改變尖端設計而變化。詳言之，路徑長度可在單一尖端內變化以提高光吸光度量測之靈敏度(長路徑長度)或提高量測之動態範圍。路徑長度可例如藉由改變尖端之直徑而改變。

尖端設計之另一特徵可為其使分析物能夠在極小體積之分析反應產物下讀取，從而需要極小體積之樣本。通常，將分析反應混合物在尖端之

狹窄部分中培育，該狹窄部分提供高的液體/空氣表面積與體積比，從而使蒸發最小化。隨後可將小體積移至尖端之寬部分以量測有色產物，從而使既定反應混合物體積可獲得之光學路徑長度最大化(從而提高吸光度)。

舉例而言，在下表中，比較讀取10 μL分析反應混合物，其中對1 μL樣本進行1:10稀釋。在本發明之尖端中，培育分析混合物可在13 mm長之直徑為1 mm之尖端區域中達成，隨後移至3 mm直徑區域以進行顏色量測。相較於使用標準尺寸之微量滴定盤(通常為384孔盤)培育及讀取相同分析物，暴露於空氣(允許蒸發)之液體表面面積為約1/5，且光學路徑長度為約兩倍。

樣本體積	1.00	μL	
稀釋因子	10.00	倍	
反應體積	10.00	μL	
尖端			
尖端直徑	1.00	mm	用於培育
暴露之表面積	1.57	mm ²	用於培育
液體柱之長度	12.73	mm	用於培育
尖端直徑	3.00		用於讀取之路徑長度
液體柱之長度	1.41	mm	用於讀取
微量滴定盤			
孔直徑	3.00	mm	
暴露之表面積	7.07	mm ²	
液體柱之長度	1.41	mm	路徑長度

最佳化光學路徑長度

有色溶質之光譜量測傳統上藉由記錄最大吸收波長下光透射過比色管之分率量測。該等資料隨後經轉化，得到吸光度(A)或光學密度(OD)

值。根據比耳定律(Beer's law)， $A(\lambda_{\max}) = \epsilon M * l * \text{濃度}$ ，其中 ϵM 為莫耳消光係數(molar extinction product)(L/Mole.cm)， l 為光學路徑長度(cm)且濃度單位為莫耳濃度。對於 $l=1$ ， $OD=A$ 。進行此可得到量度 A ，其與溶質濃度成正比。

用於分析溶質濃度之吸光度量測存在兩個顯著限制。在低濃度下，透射率變化小，因此由於背景(或空白)透射率變化而不精確。在高濃度下，透射率極低(例如在 $A=3$ 下，透射光為輸入光之 $1/1000$)。任何「雜散」光或信號雜訊之其他形式對量測均具有顯著影響，且對濃度之反應變成非線性且不精確。通常，認為吸光度量測在約0.1至約2.0範圍(20倍範圍)內為精確且準確的。

本發明之方法藉由能夠在極寬動態範圍(多達1000倍)內易於進行顏色量測而在很大程度上克服此等問題：

1.在不同路徑長度下：低濃度可在長路徑長度下量測，且高濃度可在短路徑長度下量測。

2.在不同顏色通道中：低濃度可在完全匹配之顏色通道中量測且高濃度可在與顏色不匹配之顏色通道中量測。

此藉由圖79中所示之資料說明。使用三色法在尖端之兩個位置處分析自5 mg/mL儲備液連續稀釋之溴酚藍溶液，一個位置為最大路徑長度(本文亦稱作「路徑長度」)約5 mm(「寬」)，另一位置為約1 mm(「窄」)。如以下曲線圖所示，將三色通道中之信號相對於其最高及最低水準校正。最佳提取分析物(溴酚藍)之濃度的演算法如下建立：

1.對於在最大值之10%<信號<最大值之90%範圍內之經標準化之信號，計算濃度值 $=a+b*\text{Log}(\text{信號})+c*(\text{Log}(\text{信號}))^2$ ，其中 a 、 b 及 c 為任意常

數。對於各顏色在兩種路徑長度下均執行此操作。

2.使用熟知之最佳化常式(例如Microsoft Excel中之「Solver」)計算所有顏色及路徑長度之a、b及c之最佳配合值。

3.對所有顏色及兩種路徑長度之計算濃度值進行平均。

如圖80所示，在1000倍濃度範圍內，該方法產生準確結果。當使用該演算法計算重複量測(N=3)之濃度值時，平均CV為3.5%。

可在各種路徑長度下進行量測。在一些情況下，路徑長度至少部分取決於容器(例如比色管、尖端、小瓶)之幾何形狀。容器幾何形狀及/或容器中之特徵(諸如散射特徵)可影響容器中之光徑及路徑長度。

多色分析

掃描儀及相機具有可量測複數個不同顏色通道偵測光譜區(例如紅色、綠色及藍色)的偵測器。因為此等通道各自之譜寬很寬，且顏色化學法產生具有寬帶寬之有色產物，故可使用複數個通道偵測光譜偵測有色反應產物。舉例而言，圖71展示紅色(正方形)、綠色(菱形)及藍色(三角形)偵測通道光譜隨分析物濃度變化之反應。藉由各偵測器產生之信號對應於各偵測光譜內之光強度且通常表示為0至255之數值。當如上所示白光穿過含有有色溶質之圓形截面比色管透射時，光被吸收且光強度降低，使得偵測器反應變化。

舉例而言，當溴酚藍以在0至5 mg/mL範圍內之濃度溶解於鹼性緩衝液中且在圖62中指示為「C3」之位置掃描時，信號展示於圖66中，其為在對應於沿比色管之長度之七像素之區域內進行平均之偵測器反應。信號在Epson背光掃描儀上記錄。圖66展示一組11個比色管之三色反應，該等比色管含有5 mg/mL溴酚藍溶液之2倍連續稀釋液及「空白」溶液(在影像

上自左至右排列)。經掃描尖端之影像展示於圖67中。對應於溶液之各通道中之信號降低，程度與光徑有關。因此，在比色管中心可見最大信號變化。當對比色管中心區域中之信號進行平均(在由自左開始第四個比色管之小矩形展示之區域內)且相對於溴酚藍濃度繪圖時，觀察到圖68所示之劑量-反應。在各顏色「通道」中，信號隨濃度平穩地下降。綠色信號改變最多且藍色信號改變最小。亦展示在M5光譜儀(Molecular Devices)中在最大吸收波長(例如589 nm)下量測之相應光學密度。在最高濃度下，分光光度計反應變成非線性且幾乎不隨濃度變化。在掃描儀綠色及紅色通道反應中注意到類似效應。相比之下，藍色通道反應極細微，直至最高濃度。

根據比耳定律，溶液之吸光度等於 $\epsilon M \times \text{濃度} \times \text{路徑長度}$ 。吸光度定義為 $\text{Log}_{10}(\text{透射率}/\text{空白透射率})$ ，其中空白透射率對應於溶劑之透射率。嚴格地說，比耳定律適用於通常穿過矩形比色管之單色光(實際上帶寬為數奈米)之平行光束。分光光度計對濃度呈線性反應，直至吸光度值為約1.5。在較高吸光度下，儀器反應由於「雜散光」及其他作用而變成非線性。光學密度定義為1 cm光學路徑長度之吸光度。

當上述實驗之顏色信號資料根據線性化光透射率以獲得在習知分光光度測定法中與濃度成比例之吸光度值的表達式($-\text{Log}(\text{信號}/\text{空白信號})$)轉化時，對於綠色(正方形)及紅色(菱形)通道獲得圖69中所示之曲線圖。

綠色通道資料遵循比耳定律，但紅色通道資料不遵循，其在約2 mg/mL之樣本下以類似於分光光度計之OD反應的方式達到平台水準。

藉由三色分析及最佳化光學路徑長度改良分析利用

由提供不可說明之資料之反應裝備產生的分析結果可使用本發明補

救。本發明可藉由光學路徑長度最佳化與三色分析之組合增大動態範圍及分析靈敏度。不能補救遭受動態範圍縮小之資料為分析管理中之主要問題，尤其在出於診斷或治療管理之目的評估樣本之情形下，在於分析具有可以良好信賴度報導的分析物值之有限動態範圍或有限範圍。分析結果不可自基於實驗室之分析系統或分散式測試情形獲得存在兩個主要原因。亦即報導之分析物值過高或過低。在一些情況下，此可在臨床實驗室中藉由使用不同稀釋度再分析保留樣本之一部分糾正。在分散式測試中，通常無重複過程(recourse)，而再召回患者，獲得新穎樣本且使用不同(實驗室)方法。此係因為分析系統使用固定協定及固定樣本稀釋水準。在任一情形下，糾正該問題極不便利且昂貴。此外，與適當診斷及/或治療管理有關之有用資訊可能丟失，從而導致對患者產生傷害。

在本發明之系統中，此等問題藉由在分析執行期間監測分析、識別任何問題及根據分析物顏色以及分析物靈敏度修改用於量測分析產物之光學路徑長度或利用不同靈敏度水準之三色通道而消除。

特定言之，當量測分析反應產物時，若所量測信號過高或過低，則系統可藉由以下作出反應：

- 1.以不同路徑長度進行量測(相對於光學系統移動光學比色管使得路徑長度變大或變小)。此可藉由以下執行：(a)在標準第一位置進行量測，(b)向管理分析之軟體(儀器中及/或遠程伺服器)報導結果，(c)識別問題條件，及(d)修改讀取位置及進行第二量測；及/或

- 2.在信號分析中加強或多或少靈敏顏色通道。此可藉由適合分析物分析演算法自動實施。

顏色校準

信號反應可經校準以使得可由成像資料計算有色物質之濃度。為獲得可預測有色溶質之濃度的資料轉化形式，可使用如下程序。在其他實施例中，亦可使用其他方法。

- 1.對於各通道，對於所有濃度，計算轉化形式- $\text{Log}(\text{信號}/\text{空白信號})$ 且稱為「A」。
- 2.對於所有濃度，以 $a \cdot A + b \cdot A^2 + c \cdot A^3$ 形式計算另一轉化形式（「C」）（a、b及c之初值設定為任意值）。
- 3.對於所有濃度，對三色通道之C值求和且稱為C估算值。
- 4.對所有濃度計算標靶(已知)濃度與C估算值之間的平方差和。
- 5.所有通道的a、b及c參數之值藉由使平方差和最小化之熟知演算法產生。

圖70中所示之結果證實在整個濃度範圍內準確校準掃描儀反應。

已開發其他自動校準演算法且發現同等有效。舉例而言，以下為在反應尖端中執行之膽固醇分析之校準的一實例。

量測信號分解成紅色(R)、綠色(G)及藍色(B)通道。計算校準方程以根據分析設計要求最佳化準確度、精度及動態範圍。

在此分析實例中，僅紅色及綠色通道用於計算濃度。此兩個信號經轉化以計算如下中間變數(F)：

$$F = p_1 + p_2 \cdot G + p_3 \cdot G^2 + p_4 \cdot R + p_5 \cdot R^2 ,$$

其中 p_i 為校準參數。

最後，使用信號F經由線性轉化計算濃度(C)：

$$C = \frac{(F - p_6)}{p_7} ,$$

其中 C 為計算濃度，且 p_6 及 p_7 為校準參數，在此情況下，分別表示線性關係之截距及斜率參數。

當對於產生跨越整個可見光譜($\lambda_{\max}$ 為400-700 nm)之有色產物之各種分析物的一大組分析遵循相同方法時，獲得類似結果。

在習知透射率分光光度量測中，使用「空白」值校正量測值。方法(1)空白通常藉由量測如下樣本建構，該樣本等效於上述樣本，但不具有欲量測之任何組分。通常在與用於樣本相同之比色管或光學等效比色管中進行量測。由此，在分光光度分析中，可以相同濃度使用相同協定但用零分析物溶液替代樣本來組合所有試劑。方法(2)使用兩步方法，相對於絕對參照物(諸如空氣，其吸光度不會變化)進行量測及相對於絕對參照物量測樣本與空白。隨後藉由自樣本吸光度減去空白值計算樣本吸光度。方法(3)為收集樣本或分析反應產物之光譜，且相對於在欲量測物質已知具有零吸光度之波長下之吸光度參考在最佳波長(通常產生所量測物質之最大吸光度)下之量測吸光度(或透射率)。吸光度為在兩個波長下記錄之吸光度之間的差值。

可使用數位成像及三色分析，但在一些實施例中，可根據分析信號之數位(像素化)特徵修改。亦即：

1.對於影像中之各像素且對於各顏色，使白色標準物成像且將信號之強度調節至對應於無吸光度之值。此可藉由如下例示性程序進行：

- a.調節光源之強度
- b.調節偵測器之靈敏度(較佳)或
- c.軟體調節(自身非較佳)。

較佳方法為以上(b)與(c)之組合。首先，在類比區域中調節偵測器，

隨後在數位區域中對結果精調。

對於類比調節，調節光感測器與類比/數位部分之間的放大器的增益及偏移以確保數位化之解析度最大。相關光範圍之下限應設定為零，且該範圍之上限應設定為僅低於感測器之飽和值。

隨後，可在數位域中精調影像。具體而言，較佳方法為對 $m \times n$ 影像使用所謂的「二影像校準」。其機制為首先藉由阻斷通向偵測器之所有光來收集黑色影像。此影像稱作 $BLACK[m,n]$ 。記錄第二校準影像，其由靈敏度範圍之上限之光組成。此影像稱作 $WHITE[m,n]$ 。由此，校正影像 $a[m,n]$ 可以如下方式逐像素地建構：

$$a[m,n] = \frac{c[m,n] - BLACK[m,n]}{WHITE[m,n] - BLACK[m,n]}。$$

應注意，此數位校正並不改良數位化資料之動態範圍，而是調節該等值以使得完全白色及黑色參照物穩定。

2. 尖端中之實體空白之影像可用作像素/像素及顏色/顏色空白。該空白可為：

- a. 空氣；
- b. 水；
- c. 空白分析反應產物(無分析物)；
- d. 樣本空白(無分析試劑)；或
- e. 以上之一些組合；

3. 存在零反應或弱反應之顏色通道之信號可用於校正其他通道之信號。

控制及校正光學裝置之另一方法為在分析之前或期間使一組實體(穩

定)標準物成像。舉例而言，可製備對應於一組具有標準強度之標準色(類似於用於校準相機及掃描儀之標準色「輪」)的印刷染料陣列(圖104中所示)。

該等標準物可使用自不透明表面反射或(較佳)藉由穿過透明膜透射量測。

視光學裝置之穩定性而定，校準及校正光學裝置可(1)運行一次，(2)以規則間隔執行或(3)對各分析執行。

校準數位成像器範圍

在一些實施例中，可提供校準用於使光學密度成像之數位成像器之方法。

在測試分析物之光學密度中，可能需要利用儘可能大之成像器動態範圍。在正常使用下，裝備可包含相對均勻照射之白色背景、成像器及其間之透明比色管中的欲測試分析物。操作上，測試可包含將比色管放置在成像器與白色背光來源之間，且量測由比色管中之分析物吸收的光之量。為最大化感測器之全動態範圍，背景可作為可量測之最大強度感測。可能需要注意不能使感測器飽和，因為自感測器飽和開始，隨後可能丟失資訊，且可能不能正確地量測衰減。系統可經組態以有效地最大化背光之量測值而最小化飽和像素之數目。

照射之背景可在其整個表面上發射相等強度之白光。光輸出可略微變化，產生如成像器偵測之像素強度的常態分佈。此藉由圖128中所示之曲線說明。對於此實例，感測器可自各像素恢復0至256之值作為其所接收之光之量的指示。各像素在256之值下可為飽和的。亦即，無論怎樣進一步提高光強度或感測器靈敏度，僅可記錄256之值。圖128中之系列1(點

線)展示其中光過強，從而使常態曲線中斷。系列3(短劃線)展示所有像素均可正確地進行強度讀取，但成像器靈敏度低於對於最大動態範圍其可具有之靈敏度。大多數像素為小於200之值。系列2表示所要設定，其中分佈平均值儘可能高，但足夠少數目之像素飽和。

在一個實施例中，背光之強度可保持恆定，同時可調節成像器之設定。出於成像器靈敏度之目的，可使用兩個對照：暴露時間及增益。暴露時間可為在讀取值前感測器像素允許收集光子之時間。對於既定光量，當使暴露時間較長時讀取值可能較大。此對照可為應用之「粗」對照。增益可為調節施用於感測器信號之放大之量的對照。提高增益可提高感測器之信號值。增益可為「精細」對照。

設定成像器之靈敏度參數的一例示性程序可包括一或多個如下步驟：

1. 對已知低於飽和之值設定暴露時間。對於最高可用值設定增益。
2. 二元搜索開始向上調節暴露時間以發現影像之相關區域中並非所有像素均飽和之設定。此可藉由觀察平均像素值變成小於256之點來偵測。
3. 背景增益逐漸下降直至存在足夠少之在飽和極限的像素。藉由分佈之形狀測定可接受水準之像素數目。寬標準偏差提高允許為飽和之像素的數目。

隨後，可校正白色平衡。數位成像器中存在三組感測器。各組之成員收集不同波長之光，紅光、綠光或藍光。在偵測白光時，感測器較佳可見等效值或紅色、綠色及藍色。白色平衡對照調節紅色及藍色通道之相對增益。因為來自背光之光定義為白光，故程序將簡單地調節白色平衡直至

通道讀取相同值。在實踐中，通常使綠色通道保持未調節，且紅色及藍色通道在對照改變時彼此以相反方向改變。然而，在其他實施例中，可使另一通道(諸如紅色通道或藍色通道)保持未調節，而可改變其他兩個通道。

最後，可在數位域中精調影像。具體而言，較佳方法使用如先前所述針對 $m \times n$ 影像之所謂「二影像校準」。

在本發明中分析產生各種有色產物之分析。已成功地量測具有低波長吸收最大值(黃色)至高波長最大值(藍色)之顏色。一些代表性分析之波長最大值為：405、450、500、510、540、570、612及620 nm，從而證實在整個可見光譜內讀取顏色之能力。

顏色可使用多個像素(通常約1000個)之平均資料定量。可選擇對劑量-反應資料產生良好擬合(例如最大之 R^2)之參數(f)。參數可首先擬合成形式 $a_1 + b_1 * R + c_1 * R^2 + b_2 * G + c_2 * G^2 + b_3 * B + c_3 * B^2$ ，其中a、b、c為常數，且R、G及B分別為紅色、綠色及藍色通道之顏色強度值。參數f可隨後藉由使其具有最大值1及最小值0而產生。參數f與光穿過有色反應產物之透射率相關。如所期望，f可與分光光度測定法中所用之定量吸收物質之參數光學密度(OD)密切相關。當將藉由三色成像量測之 $1-f$ 相對於在吸收最大值下在分光光度計中對微量滴定板中之相同分析反應產物量測之OD繪圖時， $1-f$ 基本上與OD線性相關。在圖129中，提供五種分析之該等資料。OD可校正為「相對OD」 $= (OD - OD_{min}) / (OD_{max} - OD_{min})$ 。在一些情況下，存在略呈曲線狀之關係，但相關係數(R)通常 >0.99 。

參數f可用於校準藉由三色影像分析量測之分析。當相對於分析物之濃度繪圖時，代表性膽固醇分析的平滑校準關係可展示於圖130中。產生使濃度與f相關之形式濃度 $= a + b * f + c * f^2$ (其中a、b及c為常數)之方程，且如

圖130所示，計算濃度基本上與「標稱」(期望、所要)值一致(回歸線斜率接近於1.0，截距接近於0.0且 $R^2=0.998$)。圖130中亦展示分析準確度及精度之曲線。精度接近100%(平均值為100.2%)且不精確度(由CV%表示)很低(小於10%，平均CV為3.9%)。

分析之同時成像

如圖56、圖57、圖58、圖59及圖60所示，可使數個分析元件(尖端、孔、沾吸構件)同時成像。一般而言，可將元件放置在筒中之已知位置或安裝在儀器之子系統上，使得特定元件可與特定分析關聯。即使元件未理想地定向或定位，亦可使用影像分析藉由分析元件之定位特徵糾正任何該錯誤置放。

根據製造商之說明使用白蛋白(圖56)及膽固醇(圖57)之市售分析。使用一系列校準物量測臨床相關範圍內之一系列分析物濃度，其中分析物濃度自最高濃度以兩倍減小。在圖56及圖57中，右側之分析物濃度為最高，且最左側之尖端對應於零分析物。抽吸至尖端中之分析反應混合物之體積為20 μL 。

圖58、圖59及圖60展示可同時成像之孔。藉由機械加工一塊白色不透明塑膠製造一組淺半球形孔。在此等孔中執行三個市售顏色形成分析且使反應產物成像。如上所述，最右側之孔具有最高分析物濃度，且各相鄰孔具有1/2濃度，除具有零分析物之最左側孔以外。將7 μL 分析反應產物引入各孔中。

反應產物亦可在將其沾吸於多孔膜或紙張上且在液體滲透於介質中後成像。亦可使用浸漬於紙張或膜中之各種分析化學物質中之任一者且在添加樣本後使所得反應產物成像。

分析濁度

藉由在入射光穿過量測樣本後量測入射光強度降低來執行濁度測定。此技術在分析結果為增強液體不透性之分散沈澱物時使用。

濁度測定可在乳膠凝集分析中量測。作為乳膠凝集分析反應之模型，將聚苯乙烯乳膠粒子(直徑為1 μm)以既定(w/v)濃度分散於緩衝液中且進行三色影像分析。如圖72中可見，在所有三個通道中均發現良好反應，且可用於量測乳膠粒子濃度及乳膠之凝集。

分析凝集

類似於濁度分析，可使用該系統量測凝集、血球凝集及其抑制。

可使用系統藉由紅血球凝集執行血型鑑定。稀釋血液且與市售血型鑑定套組之血型鑑定劑(抗A、抗B、抗D)混合。如下對於B+血液所示，當混合物成像時可容易地觀察到適當凝集反應。此外，當圖77中所示之影像沿尖端之縱軸掃描時，可如圖78所示藉由量測三色信號之變化獲得凝集之定量量測。較大變化表明凝集且可在各顏色通道中偵測。顯然可使用該方法量測該等凝集反應之程度。

形狀識別

可分析影像以進行形狀識別。形狀識別可在正常放大率及極高放大率下執行。在高放大率下，可使用影像分析識別細胞之尺寸及形狀。此等技術常用於細胞計數以測定紅血球、白血球及血小板之相對濃度。在正常放大率下，使用形狀識別觀察樣本之狀態。使用氣泡及其他缺陷識別方法以確保抽吸量測之液體量且正確地施配。

在固相基板上分析樣本

如圖76所示，在正面照射下數位成像亦可用於讀取固相基板上之分

析反應。將氯化鉀溶液(0、2、4及8 mM)添加至設計用於在反射率分析系統中使用的Reflotron™鉀分析帶(Boehringer-Mannheim/Roche)中。

分析樣本品質

某些樣本特徵可使分析結果無效。舉例而言，溶血使鉀離子自紅血球漏至血漿中，使所量測血漿或血清鉀離子濃度虛高。類似地，黃疸及脂血可藉由改變所量測之吸光度而干擾數個顏色形成化學法。在本發明中，可使用影像分析偵測且定量該等干擾物質。產生假結果之分析可隨後(1)自分析系統傳遞之結果清單去除，或(2)可校正光信號以說明所量測之干擾物含量。圖99中展示不同類型血清樣本之影像(自左至右：溶血、脂血、黃疸(黃色)及「正常」)。

數位資料分析

產生及/或改變顏色之分析方法中用於資料產生及校準的習知方法通常量測類比信號，其表示藉由混合樣本與試劑所產生之分析混合物之吸光度特徵變化。照射反應混合物之某部分，且穿過該部分透射或自該部分反射之光照射於偵測器上且評估為類比信號。由樣本之體積及品質、樣本處理、分析在分析混合物中組裝決定的分析品質及用於將混合物呈遞於光學系統之實體元件之品質依賴於所用實體系統之假定品質。

在本發明中，可使(1)樣本、(2)樣本處理過程及(3)分析混合物成像且收集資料作為一組一或多個數位影像。分析混合物之影像中各像素代表整體之極小部分，但藉由對多個像素之三色信號進行平均，可收集至少與藉由習知類比法所得同等優良之分析信號。然而，儘管習知方法因平均化而丟失資訊，但本發明可聚集資訊且保留由習知方法丟失之詳情。在此情形下，基於顏色之分析包括以下之分析：代謝物、電解質、酶、生物標記

物(使用免疫分析)、藥物(使用免疫分析)及核酸標靶(使用「LAMP」技術)。相同原理可用於使用螢光及/或發光之分析。

體積確證及校正

樣本或任何其他物質(諸如液體或固體)之體積可以光學方法測定。此可藉由使內部尺寸已知之容器成像且以數學方法自容器之經佔據觀察區測定樣本體積執行。固體量測主要用於量測經離心下降之固體。最常見情況為讀取經離心紅血球之體積以測定血球比容水準。實例6-11及實例16描述使用成像分析計算樣本體積及其他量測。此可改良分析結果。舉例而言，若欲使用之目標體積為10 μL ，且本發明之技術確定實際體積為8 μL ，則分析系統可校正體積之結果(在此實例中，在假定10 μL 樣本時計算之分析物濃度應乘以10/8)。

實際樣本及試劑體積之資訊可藉由使樣本及試劑成像獲得，且可用於校正用於偵測及/或定量樣本中之分析物的計算值。

如上述諸多實例所示，使用成像可評估樣本及分析混合物之品質及分析反應。另外，使用作反應容器之「尖端」成像及樣本獲取方法可(1)準確且精確量測樣本及試劑體積，及(2)使用該等資料校正分析結果中由體積誤差所致之任何不準確及或不精確。為達成此目的，尖端可具有準確且精確已知之幾何形狀(對於由射出成形製造之尖端亦如此)。使用成像重複量測尖端證實其尺寸很精確，優於約1%。由此可在該等尖端中以相應精度量測液體樣本及試劑之體積。若樣本及試劑之吸取不太準確及精確，則可校正已知實際體積(藉由影像量測)之結果。

舉例而言，考慮如下分析，其中反應與分析物濃度成正比(對於本文所述之諸多分析為如此)。10%之樣本體積誤差造成分析系統報導之值的

10%誤差。然而，若準確量測經不準確施配之樣本體積(意謂在實際值之2%內)，則可校正系統反應以使誤差自10%降至2%。可對試劑體積之體積誤差進行相應校正。校正演算法可取決於分析系統對體積之反應或有關各分析組分(樣本、試劑)之知識，但此資訊可在分析開發及驗證期間容易地確定。

由此，本發明提供各種優於習知技術之優勢。在「分析信號」產生中，本發明可偵測分析比色管中之實體缺陷、分析混合物中之缺陷(氣泡及其類似物)。鑑別此等缺陷(影像分析)後，可丟棄分析結果，使得假結果不會出現，或(較佳)可去除缺陷之作用且計算準確分析信號。

在分析混合物之集合中，可偵測任何及所有缺陷，包括：不正確之樣本類型(例如血液與血漿)；不正確之樣本體積；對於血液樣本，不能分離血漿與所形成成分(紅血球及白血球)；可能損害分析結果之品質的樣本因素(例如脂血、黃疸、溶血、存在沈澱物或其他未鑑別之不均勻性)；組合分析混合物之缺陷(例如存在氣泡，不能充分混合(顏色不均一))；回顧品質評估及保存詳細檔案資訊之機構；量測樣本及試劑體積之機構(且校正該等體積之不準確度及/或不精確度)。

評定治療劑

在一各別實施例中，提供監測一個以上適用於評定治療劑之功效及/或毒性之藥理學參數的器件及方法。舉例而言，治療劑可包括具有治療效用及/或潛力之任何物質。該等物質包括(但不限於)生物學或化學化合物，諸如簡單或複雜有機或無機分子、肽、蛋白質(例如抗體)或聚核苷酸(例如反義聚核苷酸)。可合成大量化合物，例如聚合物，諸如多肽及聚核苷酸，以及基於各種核心結構之合成有機化合物，且亦可包括該等物質作為

治療劑。另外，各種天然來源可提供化合物以進行篩選，諸如植物或動物提取物及其類似物。應瞭解，但未必明確說明試劑可單獨使用或與另一試劑組合使用，該另一試劑與藉由本發明之篩選鑑別之試劑具有相同或不同生物活性。預期該等試劑及方法亦與其他療法組合。舉例而言，小分子藥物通常藉由可能不精確之質譜測定法量測。ELISA(基於抗體)分析可能準確且精確得多。

本發明之生理學參數包括(但不限於)諸如溫度、心率、脈搏、血壓及呼吸率之參數。藥效學參數包括生物標記物(諸如蛋白質、核酸、細胞及細胞標記物)之濃度。生物標記物可表明疾病或可為藥物作用之結果。本發明之藥物動力學(PK)參數包括(但不限於)藥物及藥物代謝物濃度。對於藥物之適當安全性及功效，極需要即時鑑別及定量樣本體積之PK參數。若藥物及代謝物濃度超出所要範圍及/或由於對藥物之意外反應產生意外代謝物，則可能需要即刻行動以確保患者之安全性。類似地，若在治療協定期間任何藥效學(PD)參數落在所要範圍外，則亦可能必須採取即刻行動。

能夠監測單一個體中分析物濃度或PD或PK參數在一段時間內之變化率或對濃度、PD或PK參數(無論其是否為藥物或其代謝物之濃度)執行趨勢分析可有助於防止潛在危險情形。舉例而言，若葡萄糖為相關分析物，則既定時間下樣本中之葡萄糖濃度以及在既定時間內葡萄糖濃度之變化率可能高度適用於預測及避免例如低血糖事件。該趨勢分析在藥物給藥協定中具有廣泛有益暗示。當涉及多種藥物及其代謝物時，通常需要預先發現趨勢及進行前瞻性量測之能力。

在一些實施例中，本發明提供一種輔助臨床醫師提供個別化醫學治

療之商業方法。商業方法可包含在開處方後，藉由監測生物標記物隨時間之趨勢監測藥物療法。商業方法可包含自接受藥物之個體收集至少一個藥理學參數，該收集步驟藉由使體液樣本經受射流器件中所含之反應物實現，向該個體提供該射流器件以產生指示該至少一個藥理學參數之可偵測信號；及藉助於電腦交叉參考該個體之醫療記錄，該等醫療記錄具有該個體之該至少一個藥理學參數，從而輔助該臨床醫師提供個別化醫學治療。

本文之器件、系統及方法可自動定量患者之藥理學參數以及自動比較該參數與例如患者之可能包括所監測參數之歷史的醫療記錄或另一組個體之醫療記錄。即時分析物監測與可儲存資料以及執行任何類型之資料處理或演算法的外部器件偶合例如提供可有助於典型患者護理的器件，其可包括例如比較當前患者資料與過往患者資料。因此，本文亦提供一種有效執行患者之至少部分監測的商業方法，該監測當前由醫療人員執行。

樣本及反應產物成像之光學裝備

樣本及反應產物分析可使用光學裝備執行。光學裝備可包括光源、光圈及感測器或偵測器。光學裝備之示意圖展示於圖100及圖101中。在一些實施例中，相機可為Logitech C600 Webcamera，相機感測器可為1/3" 2.0 MP (1600×1200)CMOS:(MI-2010-SOC)，透鏡可為具有標準物距之玻璃網路攝影機透鏡(透鏡與物體距離：35 mm)。光源可為在9.4伏特(volt)下操作之Moritex White Edge照明器MEBL-Cw25(白光)。相機影像可以1、2、3、4個或4個以上尖端由x-y-z平台移動至光徑中之次序獲得。

在一實施例中，偵測器為安置有偵測組件之讀取組件，該偵測組件用於偵測由器件上至少一種分析物產生之信號。基於例如執行之分析類型及使用之偵測機構，偵測組件可在器件上或相對於器件處於不同定向。偵

測組件可經移動而與分析單元通信，或分析單元可經移動而與偵測組件通信。

感測器可為PMT、寬範圍光電二極體、雪崩光電二極體、單頻率光電二極體、影像感測器、CMOS晶片及CCD。照射來源可為雷射、單色LED、螢光燈或LED之寬頻光、LED陣列、紅光、綠光及藍光來源之混合物、經LED活化之磷光體、螢光管、白熾燈及弧光源(諸如閃光管)。

在諸多情況下，提供光學偵測器且用作偵測器件。非限制性實例包括光電二極體、光電倍增管(PMT)、光子計數偵測器、雪崩光電二極體或電荷耦合器件(CCD)。在一些實施例中，可使用pin型二極體。在一些實施例中，pin型二極體可耦接至放大器以建立具有與PMT相當之靈敏度的偵測器件。如本文所述，一些分析可產生發光。在一些實施例中，偵測化學發光。在一些實施例中，偵測組件可包括複數個以束形式連接至CCD偵測器或PMT陣列之光纖電纜。光纖束可由個別纖維或許多小纖維融合在一起形成實心束建構。該等實心束可購得且易於接至CCD偵測器。

偵測器亦可包含光源，諸如燈泡或發光二極體(LED)。光源可照射分析以偵測結果。舉例而言，分析可為螢光分析或吸光度分析，如核酸分析所常用。偵測器亦可包含向分析傳遞光源之光學裝置，諸如透鏡或光纖。

在一些實施例中，偵測系統可包含用於偵測個體之特定參數的非光學偵測器或感測器。對於經氧化或還原之化合物(例如 O_2 、 H_2O_2 及 I_2)或可氧化/可還原之有機化合物，該等感測器可配置來檢測溫度、電導率、電位測定信號及電流測定信號。

照射可為背光、前光及斜(側)光照射。背面照明可用於一般化學法中達成偵測光吸收(比色測定)或散射(濁度)之目的。該配置採取兩種形式，

寬廣均勻照射後部區域與由目標物中斷之特別成形光束。前光照射可用於反射率及螢光激發。在反射率情況下，目標物由光源自正面照明，藉由觀察自目標物反射之光量測反射率。所吸收之顏色產生與由背光照射之液體相同之資訊。在反射率情況下，亦可使用斜向照明照射目標物。使用斜向(自側面)照射給與影像三維外觀且可突顯以其他方式不可見之特徵。基於此方法之新近技術為霍夫曼之調節對比度(Hoffmann's modulation contrast)，此為在用於細胞培養之倒置顯微鏡上發現之系統。斜向照明具有與明視野顯微術相同之限制(許多生物樣本之對比度低；由物體離焦所致之低表觀解析度)，但可突顯以其他方式不可見之結構。

在螢光激發情況下，可出於螢光照射之目的自正面照射目標物。其通常為單色光，最常為雷射。共焦雷射掃描顯微鏡為其一常見實施例。斜向照明亦可用於螢光激發中。在螢光細胞測量術中，目標物通常以一角度(通常90度)激發，自該角度會出現衰變光子。此照明形式使得可直接在目標物後偵測散射(背光)以及發射之螢光可自側面離開。

在一些實施例中，螢光以相對於激發光束之90度成像。在圖102A中，光子源(S)(通常為高強度LED)穿過光束擴散器(D)及成形透鏡(L1)，產生準直或緩慢發散之激發光束。激發光束穿過帶通濾波器(F1)且照射樣本，樣本由含有具有經螢光標記樣本之溶液的器皿(管、比色管或吸管尖端)組成。用適合於斯托克斯位移螢光(Stokes-shifted fluorescence)穿過之長通或帶通濾波器(F2)使各向同性發射之螢光與激發光光譜分離。隨後光穿過透鏡(L2)於數位相機(C)或其他偵測器上成像。經由影像分析自所得影像提取螢光強度。

使用圖102A中所示之光學裝備獲得之影像產生單管影像(如圖103A

所示)。連續實驗使用嵌入染料展示陰性與陽性LAMP實驗之螢光強度差異。

在其他實施例中，透射光在濾光移除激發波長之光後成像。在圖102B中，光子源(S)(通常為高強度LED)穿過光束擴散器(D)及成形透鏡(L1)，產生緩慢發散之橢圓形激發光束。激發光束穿過帶通濾波器(F1)且照射樣本，樣本呈現為各含有具有經螢光標記樣本之溶液的樣品器皿(管、比色管或吸管尖端)陣列。用適合於斯托克斯位移螢光穿過之長通或帶通濾波器(F2)使各向同性發射之螢光與激發光光譜分離。隨後光穿過相機透鏡(L2)於數位相機(C)上成像。經由影像分析自所得影像提取螢光強度。圖103中所示之光學裝備可用於同時產生多個管之影像陣列(如圖103B所示)。

對於比色測定，感測之較佳實施例為用白光對目標物進行背部照明，其中結果由成像感測器感測。在此情況下，量測透射顏色吸收。

對於濁度測定，感測之較佳實施例為用白光對目標物進行背部照明，其中結果由成像感測器感測。對於濁度測定，量測透射光強度之降低。

發光測定不使用照射方法，因為目標物發射其自身光子。發射光可能很微弱且可使用極靈敏感測器(諸如光電倍增管(PMT))偵測。

在一些實施例中，成像可使用螢光、暗視野照射或明視野照射進行。該成像可用於細胞測量術或其他應用。落射螢光照射可藉由使用三個具有不同波長之照射來源達成。此外，必要時可同時使用兩個不同來源。因此，可使用成像平台使各種螢光染料成像。照射來源與發射光學裝置之組合可經組態以獲得複數個光譜上獨立之成像通道。

暗視野照射可藉由使用以下達成：環形光(位於樣本上方或下方)、暗視野阿貝聚光器(darkfield abbe condenser)、具有環形鏡之暗視野聚光器、在物鏡周圍之套筒內構建的落射暗視野聚光器、或環形光與配備有暗遮擋件之平台聚光器的組合。基本上，此等光學組件產生數值孔徑(NA)大於所用物鏡之NA的光錐。照射方案之選擇取決於多個考慮因素，諸如所要放大率、機械設計考慮因素、成像感測器之尺寸等。基於環形光之照射方案一般在較寬面積上提供均一暗視野照射，同時為整個系統之機械設計提供足夠靈活性。

明視野照射可藉由使用白光光源以及平台聚光器產生科勒照射(Koehler illumination)達成。

在一些實施例中，可使用自動濾光輪。自動濾光輪可控制成像光徑以使得多個螢光團可在同一視野成像。

在一些實施例中，可進行基於自聚焦之成像。可使用基於影像之演算法控制物鏡之z-位置(例如垂直位置)(亦即其距樣本之距離)以達成自聚焦。簡言之，可使用暗視野照射以快速速率捕捉小影像(例如128×128像素)。可對此影像進行分析，產生自聚焦函數，其為影像清晰度之量度。基於快速搜索演算法，計算物鏡之下一z-位置。物鏡可移至新的z-位置且可捕捉另一小影像。此閉環系統不需要使用任何其他硬體來聚焦。顯微鏡平台可連接至電腦控制之步進馬達以使得可沿X及Y方向(例如水平方向)平移。在每個位置，捕捉所要數目之影像，且將平台移至下一XY位置。

成像或其他感測可藉助於偵測器執行。偵測器可包括相機或經組態以將電磁輻射轉化為電子信號之其他感測裝置。在一實例中，相機可為電荷耦合(CCD)相機或電子倍增CCD(EMCCD)相機。偵測器可為感測器，

諸如主動式像素感測器或CMOS感測器。偵測器可包括用於偵測信號之光電倍增管。

偵測器可與樣本容器(例如比色管、尖端、小瓶)光通信。在一些情況下，偵測器在樣本容器之直接視線中。在其他情況下，偵測器與樣本容器藉助於一或多個光學裝置(諸如透鏡、鏡、視準儀或其組合)光通信。

可使用成像及細胞測量術執行細胞計數。在目標物可經明視野照射之情形下，較佳實施例為用白光自正面照射目標物且用成像感測器感測細胞。隨後數位處理對細胞計數。若細胞很少或很小，則較佳實施例為附接螢光標記物，隨後用雷射照射目標物區域。共焦掃描成像為較佳。對於流動式細胞測量術，目標物用螢光標記物標記且流過感測器件。存在兩種感測器，一種經放置以使得目標物經背光照射，從而量測光束散射而判定細胞之存在。另一種感測器經對準以自側面照射，量測自經標記目標物發射之螢光。下文提供與用於細胞測量術之成像方法有關之進一步說明。

終端使用者系統

器件及系統可在製造後一起或個別地運輸至終端使用者。本發明之器件或系統可包裝有使用者手冊或使用說明書。在一實施例中，本發明之系統對於不同器件上執行之分析類型通用。因為器件之組件可為模組式的，故使用者可能僅需要一個系統及各種器件或分析單元或試劑單元即可在重點照護或另一分散式測試環境中執行多個分析。在此情形下，系統可用多個器件重複使用，且可能需要在器件與系統上均具有感測器以偵測例如運輸期間之該等變化。在運輸期間，壓力或溫度變化可能影響本發明系統之多個組件之效能，因此位於器件或系統上之感測器可將此等變化傳達至例如外部器件以使得可在校準期間或在外部器件上進行資料處理期間進

行調節。舉例而言，若在運輸期間射流器件之溫度變至特定水準，則位於器件上之感測器可偵測此變化且在使用者將器件插入系統中時向系統傳送此資訊。在系統中可能存在另一偵測器件執行此等任務，或該器件可併入另一系統組件中。在一些實施例中，資訊可無線傳輸至系統或外部器件，諸如個人電腦或電視。系統中之感測器同樣可偵測類似變化。在一些實施例中，亦可能需要在運輸包裝中而非系統組件中或除此以外之處具有感測器。舉例而言，可感測之使分析筒或系統無效之不利條件可包括暴露於高於最大可耐受溫度之溫度或破壞筒完整性而使水分滲透。

在一實施例中，系統包含能夠自外部器件無線傳輸及接收資訊之通信組件。該無線通信可為藍芽(Bluetooth)或RTM技術。可使用各種通信方法，諸如用數據機進行撥號有線連接、直接連接(諸如T1)、ISDN或電纜線。在一些實施例中，使用例示性無線網路(諸如蜂巢式、衛星或尋呼機網路)、GPRS或區域網路上之區域資料傳輸系統(諸如乙太網(Ethernet)或符記環)建立無線連接。在一些實施例中，資訊在其經無線網路傳輸前經加密。在一些實施例中，通信組件可含有無線紅外通信組件以輸送及接收資訊。系統可包括整合繪圖卡以有利於呈現資訊。

在一些實施例中，通信組件可具有記憶體或儲存器件，例如本地化RAM，其中可儲存所收集資訊。若資訊由於例如暫時不能無線連接於網路而不能在既定時間傳輸，則可能需要儲存器件。資訊可與儲存器件中之器件識別符關聯。在一些實施例中，通信組件可在特定時間後再次嘗試輸送所儲存資訊。

在一些實施例中，外部器件與通信組件在讀取組件內通信。外部器件可與系統無線或實體通信，但亦可與第三方通信，包括(但不限於)患

者、醫療人員、臨床醫師、實驗室人員或護理行業中之其他人員。

在一些實施例中，系統可包含外部器件，諸如電腦系統、伺服器或能夠儲存資訊或處理資訊之其他電子器件。在一些實施例中，外部器件包括一或多個電腦系統、伺服器或能夠儲存資訊或處理資訊之其他電子器件。在一些實施例中，外部器件可包括患者資訊之資料庫，例如(但不限於)醫療記錄或患者歷史、臨床試驗記錄或臨床前試驗記錄。外部器件可儲存欲在系統上執行之協定，該等協定可在外部器件接收到表明該器件已插入系統中之識別符時傳輸至系統的通信組件。在一些實施例中，協定可取決於器件識別符。在一些實施例中，外部器件儲存各器件之一個以上的協定。在其他實施例中，外部器件上之患者資訊包括一個以上的協定。在一些情況下，外部伺服器儲存數學演算法以處理自通信組件輸送之光子數，且在一些實施例中計算體液樣本中之分析物濃度。

在一些實施例中，外部器件可包括一或多個此項技術中已知且可購得之伺服器。該等伺服器可在伺服器或外部器件之其他組件之一或多者失效的情況下提供負載平衡、任務管理及備份容量，從而改良伺服器之可用性。伺服器亦可於此項技術中已知之儲存及處理單元之分散式網路上實施，其中本發明之資料處理存在於工作站(諸如電腦)上，從而無需伺服器。

伺服器可包括資料庫及系統方法。資料庫可存在於伺服器內，或其可存在於可由該伺服器存取之另一伺服器系統上。因為資料庫中之資訊可能含有敏感資訊，故可實施安全系統以防止未授權使用者存取資料庫。

本文所述之一些特徵的一個優勢為資訊不僅可自外部器件傳輸返回讀取組件，而且可返回其他方或其他外部器件，例如(但不限於)PDA或蜂

巢式電話。該通信可經由本文所揭示之無線網路實現。在一些實施例中，所計算之分析物濃度或其他患者資訊可輸送至例如(但不限於)醫療人員或患者。

因此，藉由使用本發明之器件及系統產生的資料可用於對個體中隨時間變化之分析物濃度執行趨勢分析。

本文所述之另一優勢為分析結果可實質上立即傳達至可能受益於獲得結果之任何第三方。舉例而言，在外部器件中測定分析物濃度後，其可傳輸至可能需要採取進一步行動之患者或醫療人員。傳達至第三方之步驟可以本文所述之無線方法且藉由將資料傳輸至第三方之手持式器件執行，第三方可在基本上任何時候及任何地點報告分析結果。由此，在時間敏感情形下，若可能需要緊急醫療行動，則可立即聯繫患者。

如本文別處所述，可使用成像偵測。可使用成像偵測樣本之一或多個特徵。舉例而言，可使用成像偵測樣本之存在或不存在。可使用成像偵測樣本之位置、方位、體積或濃度。可使用成像偵測樣本中一或多種分析物之存在、不存在及/或濃度。

在一些實施例中，可使用單次量測捕捉關於樣本及/或分析物之各種資訊。舉例而言，可使用單次量測捕捉關於樣本體積及樣本內之分析物濃度的資訊。可使用單次量測捕捉關於樣本內複數種分析物之存在及/或濃度及/或分析物類型的資訊。可使用單一影像捕捉與一個、兩個或兩個以上本文所述之資訊或資訊類型有關的資訊。

該成像及偵測可提供更精確及準確之分析，此在具有小樣本體積之情形(諸如本文別處所述之情形)下可能有利。樣本體積之其他實例可包括 500 μL 或 500 μL 以下、250 μL 或 250 μL 以下、200 μL 或 200 μL 以下、

175 μL 或175 μL 以下、150 μL 或150 μL 以下、100 μL 或100 μL 以下、80 μL 或80 μL 以下、70 μL 或75 μL 以下、60 μL 或60 μL 以下、50 μL 或50 μL 以下、30 μL 或30 μL 以下、20 μL 或20 μL 以下、15 μL 或15 μL 以下、10 μL 或10 μL 以下、8 μL 或8 μL 以下、5 μL 或5 μL 以下、1 μL 或1 μL 以下、500 nL或500 nL以下、300 nL或300 nL以下、100 nL或100 nL以下、50 nL或50 nL以下、10 nL或10 nL以下、1 nL或1 nL以下、500 pL或500 pL以下、250 pL或250 pL以下、100 pL或100 pL以下、50 pL或50 pL以下、10 pL或10 pL以下、5 pL或5 pL以下或1 pL或1 pL以下。在一些實施例中，樣本體積可包括小於或等於約3個來自手指刺戳之滴、小於或等於約2個來自手指刺戳之滴或小於或等於約1個來自手指刺戳之滴。該等小體積可用於重點服務應用。

該成像及/或偵測可產生具有低變異係數之分析。變異係數可為標準偏差與平均值之絕對值之間的比率。在一實施例中，反應及/或分析之變異係數(CV)(本文亦稱作「相對標準偏差」)可為小於或等於約20%、15%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.3%或0.1%。單一反應及/或分析或具有複數個反應及/或分析之程序的變異係數可為小於或等於約20%、15%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.3%或0.1%。在一些實施例中，成像及/或偵測步驟或具有複數個成像及/或偵測步驟之程序的變異係數可為小於或等於約20%、15%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.3%或0.1%。

在一些實施例中，以可放置在重點服務地點之器件成像可改良器件之整體效能。可改良準確度及/或精度及/或可降低變異係數。在處理小樣

本(諸如本文所述之體積)時可改良器件之效能。成像可與其他偵測系統組合使用，可與其他方法組合使用，或作為獨立系統使用。效能改良可包括變異係數降低約15%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.3%或0.1%。

成像可用於一或多種分析或樣本處理程序中之各種偵測類型。該等分析或樣本處理程序之實例可包括離心、分離、細胞測量術、免疫分析、ELISA、核酸分析、酶促分析、比色測定或本文別處所述之任何其他類型之分析或反應。

對於資料收集、資料處理及結果說明，成像系統可提供多個優於其他方法之優勢。成像系統可最大化或提高使用小樣本及提高系統層面效能之效率。成像系統可作為獨立系統用於偵測或可與其他偵測系統或機構組合使用。

在一些系統中，可使用通常不提供任何關於所詢問樣本之空間資訊的感測器及系統(諸如光電二極體及光電倍增管及相關光學裝置/器件)。相反地，此等系統可在關於樣本之資訊已在空間上整合後收集該資訊，而通常失去與樣本有關之空間資訊。儘管在空間整合樣本之信號可加強感測器偵測之信號位準，但光學及其他感測器之靈敏度的發展可能無需該整合。偵測用成像可替代該等感測器使用或可與該等感測器結合使用。

可使用宜具有一或多個如下特徵之成像系統。成像感測器之靈敏度及動態範圍可能滿足及/或超出習知非成像感測器。成像器件可維持所詢問樣本之空間態樣，從而提供顯著後處理能力。後處理可包括QA/QC(例如品質控制，諸如自動誤差偵測及/或由病理學家復核)及/或提取特定樣本特徵之影像分析。成像器件可使用3D、2D、1D(線感測器)及/或點感測

器，其具有相對於收集光學裝置/感測器轉化樣本以使得可將樣本空間重建的構件。自成像器件收集之資料可經處理而提取極特定資訊，諸如樣本之形態特徵(諸如細胞計數)、影像所選區域之資料(整個樣本中或影像內之細胞中的峰值螢光)。自成像器件收集之資料可經處理而改良量測之靈敏度及解析度。自成像器件收集之資料可評定穿過所成像樣本之信號變化。資料可經後處理而計算整個樣本之或樣本影像中所鑑別之任何相關區域內之平均值、標準偏差、最大值、最小值及/或其他統計數值。成像器件可藉由收集多個影像且比較影像隨時間及空間之變化來探測樣本隨時間之變化，諸如在凝集處理(諸如凝血酶原時間分析)中顯而易見之變化或樣本隨時間及空間之其他(例如化學、物理、生物、電學、形態學)變化。成像器件可更快獲取有關陣列、組織切片及其他分析/樣本組態之資料。

細胞測量術應用

在一些實施例中，本文所述之任何實施例可經改適而使系統可執行細胞測量術。可使用影像分析在系統中執行細胞測量術(例如細胞點計及細胞之功能分析)。可使用本文先前所述之吸管及離心機處理血液。通常，可首先離心已知量測體積之血液(1-50 μL)且移除血漿部分。隨後可藉由使用吸管重複施配及抽吸使細胞部分再懸浮於緩衝液中。可引導螢光抗體混合物至所選細胞標記物(諸如CD45、CD4等)。短暫培育後，可添加可充當白血球之固定劑及紅血球之溶解劑的試劑。再培育後，可藉由離心收集白血球且藉由抽吸移除上清溶血產物。經染色白血球可再懸浮於量測體積之緩衝液(通常小於初始血液體積(如1-20 μL))中且施配於透明毛細管道中以用於影像分析。通常可使用具有不同螢光標記之抗體或及/或具有不同螢光劑/蛋白質比率的經標記抗體使多達三種或甚至五種或五種以

上細胞類型成像。當必須計數或分析更多細胞類型時，可使用一種以上反應混合物。在一些實施例中，可使用反應混合物計數或分析各種數目之細胞類型。

在一些實施例中，毛細管道通常為約10-100 μm 深，0.5-2 mm寬及0.5-5 cm長。毛細管道可具有其他尺寸，包括但不限於本文別處所述之其他尺寸。經染色細胞分散液可通常藉由毛細作用填充通道，且使細胞沈降於通道下表面上。可用一或多個雷射或其他光源(例如LED)照射通道。光學元件串可具有一或多個光學元件，諸如二向色鏡或透鏡，且可能放大或不放大視野。在一些實施例中，視野可放大2-100倍。可收集一系列影像，其通常呈現約1 mm $\times$ 0.5 mm之視野，且含有1-10,000個在具有約1000 $\times$ 1000像素(總共1百萬個)之面積的感測器上成像之細胞(理論上300個相關細胞)。

可收集一系列呈現通道之相鄰部分的影像。可使用機械平台相對於光源移動通道。在一些情況下，伺服機構可沿垂直方向移動平台以使影像聚焦。在一些實施例中，光源或一或多個光學元件可相對於平台移動以使影像聚焦。成像通常使用光源與濾光片之一或多個組合進行。視需要光源可開啟及關閉且濾光片可移至光徑中。較佳可計數多達1000個任何既定類型之細胞。在其他實施例中，可計數各種數目之任何既定類型之細胞，包括(但不限於)大於、小於或等於約1個細胞、5個細胞、10個細胞、30個細胞、50個細胞、100個細胞、150個細胞、200個細胞、300個細胞、500個細胞、700個細胞、1000個細胞、1500個細胞、2000個細胞、3000個細胞、5000個細胞。可使用可獲得之計數演算法對細胞計數。細胞可藉由其特徵性螢光、尺寸及形狀識別。可使用圖案識別演算法去除經染色之

細胞碎片，且在大多數情況下，在存在凝集細胞之處可將此等細胞自分析中去除或作為凝集物說明。

細胞測量平台可為整合之自動顯微器件，其能夠在完全自動之受控環境中執行如下任務。在細胞測量術應用中可執行一或多個如下任務。如下任務可以其呈現之次序執行，或以交替次序執行，或其他任務可視需要進行替代。

1. 分離所要類型之血細胞
2. 用螢光及/或有色染料及/或珠粒標記細胞
3. 將細胞懸浮液限制在光學相容性比色管中
4. 使用螢光顯微術、暗視野照射及/或明視野照射使細胞成像
5. 自動分析影像以提取所要細胞特徵
6. 使用先進統計及分類方法自動分析所提取資訊以產生臨床上可報導資訊。

在以下部分中，對此等任務各進行更詳細論述；在認為需要之處提供影像及略圖。

1. *分離所要類型之血細胞*。可根據本文別處所述之一或多個實施例分離所要類型之血細胞。舉例而言，該分離可參考先前關於細胞測量術或離心之描述進行。

2. *用螢光及/或有色染料及/或珠粒標記細胞*。

可使用特定螢光染料。可將相關細胞與預等分之經螢光標記結合物(例如抗體、適體等)之溶液一起培育，該等結合物對此等細胞上之標記物具有特異。關鍵考慮因素可為使「明亮」或高消光係數及高量子產量螢光劑與細胞對其具有較低結合能力之標記物配對；且反之亦然。舉例而言，

標記物CD22可在B-淋巴細胞上以CD45之量的約1/10表現。假定存在此相對表現，則CD22可用「明亮」染料標記，且CD45可用「較暗淡」染料標記。欲使用此技術標記之標記物可為細胞內或細胞表面標記物。低表現標記物之偵測及定量之靈敏度可藉由使用二次標記方案改良。簡言之，第一結合物可與可由第二結合物特異性識別之另一分子結合。用較高數目之螢光團標記之第二結合物可隨後當場結合第一結合物且提高螢光信號。達成此目的之一個方案可使用生物素結合之抗CD22抗體，其又可由用異硫氰酸螢光素(FITC)標記之抗生物素抗體識別。該用法可顯著提高螢光信號。圖123提供展示經標記白血球之螢光顯微圖的一實例。該實例說明經固定溶解之血液樣本中經Alexa-Fluor 647-抗CD45標記之人類白血球的螢光顯微圖。使用偽彩色方案提高『明亮』細胞(具有高CD45表現)與『暗淡』細胞(具有低CD45表現)之間的不同感覺。

在系統內亦可使用細胞塗片之染色。舉例而言，*StainRITE™*賴特-吉姆薩染色(Polysciences Inc.)中所提供之手動程序可在本發明之器件中自動運行且讀取。

在一些實施例中，可使用非特異性螢光染料。出於區別白血球子群之目的，該平台亦可使用可結合於核酸之螢光染料(例如SYTO、Hoechst)或結合於脂膜之螢光染料(例如DiI、DiD、FM-4-64)。

3. 將細胞懸浮液限制在光學相容性比色管中。

在一些實施例中，細胞測量比色管可設計成可將固定體積之預標記細胞懸浮液限制在『通道』中，該『通道』製造成可在細胞之上方及下方提供光學透明成像材料。樣本可經由樣本入口引入通道中。在距樣本入口某距離處，排氣口可釋放空氣壓力且使樣本可流至通道中。

通道尺寸可設計成可固持預定已知體積之流體，與在樣本入口施配之體積無關。各比色管可含有具有相同及/或不同體積之多個通道，該等通道各具有至少一個樣本入口及至少一個排氣口。

在樣本製備期間可調節樣本中相關細胞之濃度，以使得在限制於比色管中後，在成像系統中每個視野具有所要數目之細胞。進行此之一個方法可為使具有細胞分散液之容器成像且量測濁度。使用預先建立之濁度與細胞計數之間的關係，可計算細胞密度。通常，在一定量之緩衝液中製備細胞分散液，使得其具有可能最低之細胞數，且細胞濃度應大於用於基於影像之細胞計數的最佳濃度。可隨後再添加緩衝液以使分散液達最佳水準。

比色管之成像區域可設計成可為相關應用提供足夠數目之細胞。舉例而言，計數豐富的RBC可能僅需要計數1000-2000個細胞，從而需要經稀釋樣本且比色管中僅需要小成像區域。然而，在一些情況下，計數罕見的骨髓母細胞可能需要能夠使超過100,000個(總)細胞成像。在該情形下，系統可濃縮細胞懸浮液以使得在合理數目之視野下可使100,000個細胞成像。因此，專用於RBC成像之比色管上之通道應小於專用於骨髓母細胞成像之通道。

比色管可設計成由標準吸取機構以自動方式撿拾以使比色管傳遞至成像平台。吸取機構之尖端噴射器可將比色管自吸取機構噴射至成像平台上。使比色管定位於成像平台可以兩步進行。比色管傳遞至成像平台後，比色管上之靜止定位特徵可與成像平台上之配合特徵相接以平行於成像平台之光軸對準比色管(X,Y定位)。定位可隨後藉由位於成像平台上之機構完成。此機構可相對於垂直於成像平台之光軸的平面表面偏壓比色管(Z定

位)，從而將樣本限制在成像平面之焦深(focal range)內。

4. 使用螢光、暗視野照射及/或明視野照射使細胞成像。使細胞成像之方法亦可用於本文別處所述之本發明其他應用。如先前所述之成像技術可用於其他成像用途。

照射能力：細胞測量平台可設計成具有三類照射方案：落射螢光、暗視野及明視野。裝備之模組性質亦使得可整合相差及微分干涉差(DIC)。

落射螢光照射可藉由使用三種雷射線(例如488 nm、532 nm及640 nm)達成，但系統之模組性質亦可整合其他光源，諸如其他雷射來源、LED及標準弧光燈(例如氬氣燈、汞燈及鹵素燈)。此外，必要時可同時使用兩個不同來源。因此，可使用細胞測量平台使各種螢光染料成像。照射來源與發射光學裝置之組合可經組態以達成各種數目(例如3-5個)之成像之光譜獨立通道。

暗視野照射可藉由使用以下達成：環形光(位於樣本上方或下方)、暗視野阿貝聚光器、具有環形鏡之暗視野聚光器、在物鏡周圍之套筒內構建的落射暗視野聚光器、或環形光與配備有暗遮擋件之平台聚光器的組合。基本上，此等光學組件可產生數值孔徑(NA)大於所用物鏡之NA的光錐。照射方案之選擇取決於多個考慮因素，諸如所要放大率、機械設計考慮因素或成像感測器之尺寸。基於環形光之照射方案一般在較寬面積上提供均一暗視野照射，同時為整個系統之機械設計提供足夠靈活性。圖124提供使用暗視野影像的細胞內圖案之一實例。該實例展示人類白血球之暗視野影像中之不同細胞內圖案。(a)由於嗜伊紅血球中存在顆粒而產生之強散射圖案，(b)具有特徵性核仁葉之多型核嗜中性白血球，及(c)散射光之程

度不顯著之細胞(淋巴細胞或嗜鹼性血球)。

明視野照射可藉由使用白光光源以及平台聚光器產生科勒照射達成。圖126提供人類全血之明視野影像之一實例。該實例展示用賴特-吉姆薩染色法染色之人類全血塗片之明視野影像。人類白血球染色之特徵性圖案很明顯。亦可在此等影像中鑑別具有特徵形狀之紅血球。

自動濾光輪：自動濾光輪可控制成像光徑以使得多個螢光團可在同一視野成像。

基於影像之自聚焦：細胞測量平台可使用基於影像之演算法控制物鏡之z-位置(例如垂直位置)(亦即其距樣本之距離)而達成自聚焦。簡言之，可使用暗視野照射以快速速率捕捉小影像(例如128×128像素)。可對此影像進行分析，產生自聚焦函數，其可用於量測影像清晰度。可基於快速搜索演算法，計算物鏡之下一z-位置。樣本可移至新的z-位置且可捕捉另一小影像。在一些實施例中，此閉環系統不需要使用任何其他硬體來聚焦。

平台平移：顯微鏡平台可連接至電腦控制之步進馬達以使得可沿X及Y方向(例如水平方向)平移。在每個位置，可捕捉所要數目之影像，且可將平台移至下一XY位置。

成像感測器：可使用具有CCD、EMCCD、CMOS或在一些情況下光電倍增管之相機偵測信號。

5. 分析影像以提取所要細胞特徵。

細胞測量平台可使用不同照射技術來獲得揭示細胞之不同特性及特徵的影像。用細胞標記物特異性結合物標記可揭示細胞表面上或細胞中該特定標記物之表現量。暗視野影像可揭示細胞之光散射特性。在暗視野影

像中，散射較多光之細胞內部及外部特徵呈現出較明亮，且散射較少量之光特徵呈現出較暗。細胞(諸如顆粒球)具有尺寸範圍為100-500 nm之內部顆粒，其可散射大量光且一般在暗視野影像中呈現出較明亮。此外，任何細胞之外部邊界可散射光且可呈現為明亮光環。此環之直徑可直接提供細胞之尺寸。細胞之明視野影像可揭示細胞尺寸、細胞內之相緻密物質及細胞中之顏色特徵(若細胞先前經染色)。

影像處理文庫可提取各細胞之一或多個如下資訊((但不限於)如下資訊)：

- 1.細胞尺寸
- 2.細胞粒度(基於流動式細胞測量術說法，亦通俗地稱作側向散射)之定量量測
- 3.在補償光譜通道之間的串擾後，成像之各光譜通道中螢光之定量量測
- 4.細胞形狀，如由標準及常用形狀屬性(諸如縱橫比、斐瑞特直徑(Feret diameters)、峰度(Kurtosis)、慣性矩、圓度、固性等)定量。
- 5.在細胞用染料(不附接於抗體或其他受體類型)染色之情況下，細胞之顏色、顏色分佈及形狀。
- 6.染色或散射或顏色之細胞內圖案，其定義為生物學特徵之定量量度，例如暗視野影像中細胞內之顆粒密度，或多型核嗜中性白血球之吉姆薩-賴特染色影像中核仁葉之數目及尺寸等。
- 7.各別影像中揭示之細胞之特徵的共定位。

此步驟中所用之影像處理演算法可使用影像過濾、邊緣偵測、模板匹配、自動閾值處理、形態操作及物體之形狀分析之組合。

6. 使用先進統計及分類方法分析所提取資訊以產生臨床上可報導資訊。

可自細胞之影像提取諸多量測屬性。舉例而言，自影像提取之各細胞的量測屬性可介於7-15個，由此產生7至15維空間，在其中各細胞為一個點。若自影像提取 n 個量測屬性，則可提供 n 維空間，在其中各細胞為一個點。

基於對大量細胞(例如100-100,000個細胞)獲得之資料，可產生複雜的 n 維離散資料組。

可使用統計方法將細胞群集成此 n 維空間中之各個別群體。此等方法亦可使用細胞生物學及血液學之最新知識以有助於群集及細胞群體鑑別。

圖125提供自經標記細胞樣本多參數獲取資料之一實例。用泛白血球標記物抗CD45-Alexa Fluor 700(此處以綠色展示)及B細胞標記物抗CD22-APC(此處以紅色展示)標記人類白血球。個別通道展示CD45、CD22表現及側向散射之不同模式。CD22及CD45陽性細胞(B-淋巴細胞)展示特徵性低側向散射。另一方面，具有高側向散射之細胞(諸如嗜中性白血球及嗜伊紅血球)不展示CD22標記。

圖127提供定量多參數資料獲取及分析之一實例。舉例而言，可提供可展示人類白血球上CD45強度分佈之直方圖。可使用任何其他圖解資料分佈技術展示該分佈。在一些實施例中，可提供側向散射之散佈圖。側向散射可藉由暗視野影像分析相對於人類白血球樣本之CD45螢光強度測定。側向散射曲線可展示兩種主要群體顆粒球(左上側)及淋巴細胞(右下側)。

前面部分描述細胞測量平台及應用之主要組件及能力。基於此等能

力，可設計寬泛的基於細胞之分析用於此平台。舉例而言，可提供執行5份白血球分類之分析。在此情況下可報導之資訊可為每微升血液中如下類型之白血球的細胞數：單核細胞、淋巴細胞、嗜中性白血球、嗜鹼性血球及嗜伊紅血球。在細胞測量平台上開發此分析之基本策略可轉化為如下問題，其中量測白血球之一些屬性(諸如側向散射、CD45螢光強度或CD20螢光強度)以使得白血球可在此n維空間中分成(例如5種)不同群體。圍繞細胞群集獲得且可位於二維空間中之散佈圖上之區域根據流式細胞測量術說法稱作「閘」。標記及「閘控」策略之一實例如下：

標記物	標記	目的
CD2/CRTH2/CD19/CD3 混合物	PE-Cy7	鑑別淋巴細胞，標記嗜鹼性血球及嗜伊紅血球
CD45	Alexa-Fluor 647	標記所有白血球之泛白血球標記物
CD14/CD36混合物	FITC	鑑別單核細胞

細胞類型	「閘」
嗜鹼性血球	CD2/CRTH2/CD19/CD3陽性，SSC低，CD45中等，CD14/CD36低
嗜伊紅血球	CD2/CRTH2/CD19/CD3陽性，SSC高，CD45高，CD14/CD36低
嗜中性白血球	CD2/CRTH2/CD19/CD3陰性，SSC高，CD45中等(少於嗜伊紅血球)
淋巴細胞	CD2/CRTH2/CD19/CD3陽性，SSC低，CD45高，CD14/CD36低
單核細胞	CD2/CRTH2/CD19/CD3陰性，SSC中等，CD45中等，CD14/CD36陽性

本文所述之細胞測量平台及分析系統可有利地進行自動樣本製備及基於有序樣本實行。相對於VCS(體積、電導率及散射)，所述系統及方法亦可特異性鑑別細胞，其可提高鑑別之信賴度且減少確證測試之情況。本文所述之影像分析亦可保存細胞影像以視需要進行後期確證、分析。亦可有利地獲得細胞之形態特徵。在一些實施例中，可動態調節樣本製備及成

像參數以處理廣泛範圍濃度之細胞樣本。

在一些實施例中，可使用離心機製備及濃縮細胞群體。方法可包括使用離心機進行細胞製備及本文別處所述之成像及分析系統。

在一些實施例中，可使用暗視野成像與使用多種螢光抗體染色之細胞成像的組合。相較於其他技術，該組合可在簡單得多且更低廉之器件中提供等效FACS分析。

根據本發明之一些實施例，本文所述之系統及方法可具有一或多個如下特徵。該等特徵可有利於各種應用。在一些實施例中，可進行自動樣本檢測及處理。該樣本檢測及處理可包括以下中之一或多者：樣本品質、樣本體積量測、稀釋(及量測稀釋因子)及使紅血球及白血球與血漿分離。

亦可使用自動化學/分析相關過程。此可包括沈澱、混合或沈降。

在一些實施例中，可自動量測任何及所有產生發光或改變光之分析(例如顏色化學法)。其可包括以下中之一或多者：分光光度測定法、螢光測定法、發光測定法、濁度測定法、比濁法、折射測定法、三色影像分析、旋光測定法、量測凝集、影像分析(其可使用以下中之一或多者：相機、數位相機、掃描儀、無透鏡攝影術、3D攝影術、視訊攝影術)或顯微術。

亦可在本文所述之系統及方法內提供自動品質控制及/或分析校準。

在一些實施例中，可提供雙向通信。該通信可對所有分析步驟進行記錄。雙向通信亦可改變分析協定以最佳化或促進完成多個分析。

品質控制/互補應用

在一些實施例中，成像可與一或多個其他量測或偵測步驟結合使用。成像可與其他技術、程序、反應及/或分析互補。舉例而言，可使用

成像執行一或多個品質控制檢驗或任何其他行動步驟(諸如樣本製備、分析或偵測步驟)。可使用成像促進其他偵測。可使用成像改良所收集資料之準確度及/或精度。成像可為證實資料、結果及/或任何量測值之品質控制態樣。成像可為控制機制或改良機制。可使用成像偵測一或多個可能影響所收集資料及/或資料之準確度及/或精度的條件。由此，成像可改良樣本製備、分析及/或偵測程序。此在存在小樣本體積(諸如本文別處所述之體積)之情形下可尤其有利。

在一實例中，可進行偵測步驟以確定分析物之存在及/或濃度。可進行一或多個信號之偵測，該一或多個信號可代表可能適用於後續定性及/或定量評估的資料。偵測可能包括或不包括可見光偵測。偵測可包括量測來自沿電磁波譜任何位置之能量(例如紅外線、微波、紫外線、 γ 射線、x射線、可見光)。可使用任何類型感測器進行偵測，該感測器可包括光感測器、溫度感測器、運動感測器、壓力感測器、電感測器、聲音感測器、化學感測器、光譜儀或本文別處所述之任何其他感測器或其任何組合。在一些實施例中，偵測可能包括或不包括光及/或能量之空間分佈。在一些情況下，偵測可能包括或不包括能量密度分佈。

成像能夠偵測一或多個進行偵測之條件。可使用成像偵測樣本、試劑、容器、可用於偵測之器件部分的條件。在一些實施例中，成像可為可見光成像。舉例而言，成像可包括捕捉快照、相片及/或圖片。成像可包括捕捉沿電磁波譜之能量的空間分佈。沿電磁波譜之能量可包括可見光或可包括其他範圍(例如紅外線、紫外線或本文所述之任何其他範圍)。舉例而言，可見光之空間分佈可包括二維影像。在一些實施例中，成像可包括使用影像捕捉器件，其在本文別處進行更詳細描述。影像捕捉器件之一些

實例可包括相機，諸如無透鏡(計算)相機(例如Frankencamera)或開源相機。影像捕捉器件能夠捕捉能夠產生成像物品之一維、二維或三維圖像的信號。在一些情況下，影像捕捉器件可為運動感測性輸入器件，其經組態以提供物體之三維或偽三維圖像。

成像技術可與所用偵測機構相同或不同。在一些情況下，在偵測步驟與品質控制成像步驟之間使用不同類型之偵測機構。在一些情況下，偵測可包括能量帶評定或能量密度分佈(諸如來自光譜儀)，而品質控制成像可包括可見光之空間分佈(諸如來自相機)。

可藉由成像達成靈敏偵測。舉例而言，成像器件能夠捕捉在1 mm、500微米(μm)、200 μm 、100 μm 、75 μm 、50 μm 、25 μm 、15 μm 、10 μm 、7 μm 、5 μm 、1 μm 、800奈米(nm)、700 nm、500 nm、300 nm、100 nm、50 nm、30 nm、10 nm、5 nm、1 nm、500皮米(pm)、300 pm或100 pm內之影像。在一實例中，成像可藉由相機達成，該相機之解析度可大於或等於約2兆像素、4兆像素、6兆像素、8兆像素、10兆像素、12兆像素、15兆像素、20兆像素、25兆像素、30兆像素、40兆像素或50兆像素或50兆像素以上。

可使用成像偵測誤差或其他故障狀態。可使用成像判定可能提高誤差之可能性及/或產生不準確度及/或不精確度的條件。舉例而言，可使用成像判定一或多種不適宜物質之存在及/或不存在。不適宜物質之實例可包括氣泡、粒子、纖維、微粒、碎屑、沈澱物或可能影響量測之其他物質。在另一實例中，可使用成像判定樣本、試劑或其他物質之體積是否落在所要範圍內或樣本、試劑或其他物質是否位於所要位置。可使用成像測定樣本、試劑或其他物質之濃度或判定樣本、試劑或其他物質是否落在所

要濃度範圍內。

在一個實例中，可對小體積之樣本執行酶促分析。體積值之實例可在本文別處提供。可使用本文所述之光譜儀或其他偵測方法或機構執行偵測步驟以供酶促分析。可進行成像步驟以確定進行偵測之條件。舉例而言，成像步驟可判定是否存在不適宜微粒(諸如氣泡)或任何其他不適宜條件。成像步驟可證實分析是否以其應該之方式操作。成像步驟可證實進行分析之操作條件及/或偵測是否在所要容許限度或最佳化條件內執行。在一些實施例中，成像可包括獲得容器中進行之反應的快照。可針對任何不適宜及/或適宜條件分析所捕捉影像。在一些情況下，所捕捉影像可在電腦輔助之方法中自動分析。一或多個處理器可輔助分析所捕捉影像，在一些情況下使用一或多個經由儲存於記憶體位置中之機器可實行碼實施的常式進行。可使用成像進行品質控制而無需人類介入。

成像可向系統提供智慧。成像步驟可提供關於進行樣本製備、分析及/或偵測之條件的資訊。當在品質控制程序中使用成像時，偵測方法可自重點服務器件或器件之組件提供更可靠、準確及/或精確之量測值。在使用小體積時品質控制可有益。

動態反饋

在一些實施例中，在樣本處理步驟期間可提供動態反饋。舉例而言，可在樣本製備步驟、分析步驟及/或偵測步驟期間進行動態反饋。在一些實施例中，可經由成像提供動態反饋。或者，可經由任何其他偵測機制進行動態反饋，諸如本文別處所述之偵測機制。在一些實施例中，動態反饋機制可使用光學偵測、機電學、阻抗、電化學、微射流學或任何其他機制或其組合。

動態反饋可視情況使用成像或其他偵測機制。動態反饋可參與系統之自動決策制定。舉例而言，可捕捉影像，且可捕捉在步驟確定中可能考慮之資料。感測器(諸如成像感測器)可捕捉實體資訊，其可用於確定後續步驟或程序。該等後續步驟或程序可以自動方式即時確定。

在一實例中，可進行動態稀釋。容器(諸如比色管或本文所述之任何其他容器)中可具有樣本。動態反饋機制(例如成像、分光光度計或其他偵測機制)可測定樣本之濃度。在一些實施例中，該測定可為粗略測定或粗測定。初始測定可為大概測定，其可提供可使樣本處於供更精確或精調偵測及/或分析之條件下的反饋。在一實例中，動態反饋機制可為成像方法，其可使用初始螢光偵測進行濃度之初始估算。

動態反饋機制可判定樣本濃度是否落在可接受之範圍內。在一個實例中，濃度可為細胞濃度。可執行粗略細胞計數以測定細胞濃度。可使用來自動態反饋機制之一或多個信號進行細胞計數。在一些實施例中，細胞可以廣泛範圍濃度提供。在一些情況下，濃度可以1、2、3、4、5、6、7個或7個以上數量級變化。在一些實施例中，視欲量測及/或分析之細胞或分析物而定，可在相同樣本中提供不同濃度。基於所測定濃度，樣本可經稀釋或濃縮及/或濃集。舉例而言，若濃度高於所要範圍，則可稀釋樣本。若濃度低於所要範圍，則可濃縮及/或濃集樣本。可基於估算濃度即時確定稀釋及/或濃縮/濃集之程度。

稀釋及/或濃縮/濃集之程度可以自動方式確定。可自動進行動態反饋。動態反饋機制(例如成像或其他偵測機制)可提供經分析以確定操作條件之資料。舉例而言，可基於動態反饋機制測定樣本濃度。可提供能夠接收及/或處理一或多個來自動態反饋機制之信號的處理器。處理器可基於

所接收之信號確定濃度且判定該濃度是否落在所要範圍內。若濃度落在所要範圍內，則處理器可確定無需進一步稀釋或濃縮/濃集。若濃度高於所要範圍，則處理器可確定需要稀釋。處理器可基於濃度落在所要範圍外之程度來確定所要稀釋程度。若濃度低於所要範圍，則處理器可確定需要濃縮(或濃集)。處理器可基於濃度低於所要範圍之程度來確定所要濃集程度。該等確定可基於有形電腦可讀媒體，其可包括執行一或多個步驟之代碼、邏輯或指令。該等確定可為自動的，由此無需人類介入即可進行。此適用於任何操作條件，且不必受限於樣本濃度，諸如細胞濃度。

在一些實施例中，在初始反饋量測及稀釋或濃縮/濃集步驟後，可進行更精確量測。舉例而言，在確定樣本處於所要範圍內後，可進行細胞計數之更精確量測。在一些實施例中，在單一稀釋及/或濃縮/濃集步驟後，樣本可達到所要範圍。在其他實施例中，可進行額外反饋步驟且視需要可提供額外稀釋及/或濃縮/濃集步驟。舉例而言，若初始確定得出樣本具有高濃度，則可進行稀釋步驟。稀釋步驟後，可視情況進行另一反饋步驟。若樣本濃度不落在所要(或預定)範圍內，則可視所量測濃度高於還是低於所要範圍，分別進行另一稀釋或濃縮/濃集步驟。此可視需要重複多次以使樣本落在所要範圍內。或者，反饋步驟可重複或不重複，或可重複固定次數。在一些實施例中，各反饋步驟可以較大精度進行。或者，可在各反饋步驟中使用相同精度。

在一些實施例中，當樣本濃度(例如細胞濃度、分析物濃度)落在所要範圍內時，則可有效地分析樣本。舉例而言，樣本細胞濃度可具有可有利於成像之所要範圍。可提供每個視野所要數目之細胞。

藉由成像進行之細胞定量及點計可藉由在成像期間控制細胞密度，

由此限制細胞之集聚及群集來加強。因此，可最大化或增大分析呈線性之分析物濃度範圍。為增大分析線性範圍，動態系統可使用具有高動態範圍之方法對樣本執行預先的非破壞性量測以確定樣本中之粗略細胞濃度。演算法隨後可計算使細胞濃度在主要量測可接受之範圍內所需的稀釋比。可相應地提供稀釋及/或濃縮/濃集，從而提供動態稀釋及/或濃縮。

該動態反饋(諸如動態稀釋)在使用小體積之系統中可為有利的。在一些實施例中，總樣本體積可包括本文別處所述之任何體積。在一些情況下，欲分析樣本之特定部分的體積可具有本文別處所述之任何體積。動態稀釋可有助於提供低變異係數。舉例而言，樣本製備、分析及/或偵測步驟之變異係數可具有如本文別處所述之變異係數值。此在可能使用小體積及/或具有低變異係數之重點服務器件中可為有利的。

動態反饋可有利地進行樣本之非破壞性測試。此在使用小體積之系統中可為有利的。可使用同一樣本進行初始反饋偵測及後續偵測。同一樣本可在同一容器(例如比色管、小瓶、尖端)內進行初始反饋偵測及後續偵測。器皿可具有在初始狀態下超出所要及/或可偵測範圍之樣本。舉例而言，一或多種分析物及/或細胞之濃度最初可落在所要及/或可偵測濃度範圍外。可在同一器皿中在該範圍內量測同一樣本。在一些實施例中，一或多種分析物及/或細胞之濃度可隨後在同一器皿中落在所要及/或可偵測範圍內。在一些實施例中，可對樣本執行一或多個插入步驟(諸如稀釋及/或濃縮/濃集)以使樣本進入所要及/或可偵測範圍。該等插入步驟可以自動方式執行。

在一些實施例中，可以自動方式向樣本提供稀釋。舉例而言，稀釋劑可施配於固持樣本之容器中且與樣本混合以獲得新的樣本體積。在一些

情況下，稀釋劑包括單一稀釋劑。在其他情況下，稀釋劑包括複數種稀釋劑。稀釋劑可藉助於有利於流動之泵送系統、閥及/或流體流動通道(諸如具有一或多個微射流通道及/或一或多個微射流泵的微射流系統)施配於容器中。微射流系統可包括一或多個機械及/或機電組件，諸如具有一或多個致動(例如氣動)閥以有利於流體流動的機械泵送系統。在一些情況下，泵送系統包括經組態以有利於流體流動之機械泵。泵送系統可包括一或多個感測器以量測及傳達操作參數(諸如流體流動速率、濃度、溫度及/或壓力)至控制系統。在一實例中，稀釋劑藉助於具有耦接至微射流通道之機械泵的微射流系統施配於容器中，該微射流系統使容器與稀釋劑儲集器流體連通。

在一些情況下，提供泵送系統以基於所量測之樣本稀釋度釋放稀釋劑。樣本稀釋度可藉助於感測器(諸如光感測器)量測。在一實例中，光感測器與光源耦接以引導光束穿過樣本，隨後至少部分基於穿過樣本之光的散射量測樣本稀釋度。若量測之樣本(例如細胞、組織)濃度高於預定極限(或臨限值)，則泵送系統自稀釋劑儲集器引導稀釋劑(例如水)至固持樣本之容器。

在一些實施例中，動態稀釋藉助於流體流動系統以電子方式自動進行，該流體流動系統具有與流體流動通道(例如微射流通道)流體連通之泵(例如微射流泵)且進一步包括一或多個調節流體流量之閥。可使用自動稀釋測試及/或調節校準設定，諸如用於實現所要濃度之預設稀釋流體體積。

在一些情形下，泵包含一或多個閥，諸如氣動閥。泵、流體流動通道及一或多個閥使稀釋劑儲集器與經組態以固持樣本之容器流體連通。一

或多個閥及/或泵可與具有處理器之控制系統電通信以調節稀釋劑自稀釋劑儲集器流出，從而調節樣本之濃度。

動態反饋可有利地自動調節樣本濃度同時最小化(若未消除)用戶參與。在一些情況下，樣本之濃度在無任何用戶參與下自動調節(例如稀釋或濃集)。該最低程度之用戶參與可在如本文別處所述之成像及整個系統使用中提供低變異係數。

在一實例中，動態反饋系統用於使用成像調節流體樣本中細胞之濃度。在樣本提供於樣本容器(諸如比色管)之情況下，使用成像量測流體樣本中細胞之濃度。量測之濃度可為濃度之粗略(或大概)量測值。動態反饋系統隨後藉由向樣本容器提供稀釋劑來稀釋流體樣本。此可最小化(若未消除)在稀釋後對細胞產生之任何干擾(或破壞)。隨後可視情況量測流體樣本中細胞之濃度以量測稀釋後濃度。在一些情形下，稀釋後，在同一樣本容器中可能發生用於稀釋樣本之反應。在一些情形下，反應可能在稀釋未達最佳之情況下發生。

在一些情況下，在動態反饋期間，藉助於光譜儀粗略量測樣本濃度，且藉助於成像器件更精確量測樣本濃度。成像器件可包括光源(例如相干光(諸如雷射)或非相干光)及相機(諸如電荷耦合器件(CCD)相機)。在一實例中，粗略量測後，動態反饋系統藉由提供稀釋劑粗調節樣本之濃度，隨後進行更精確量測。樣本濃度可藉由提供相對於粗調期間所提供之稀釋劑體積較小體積之稀釋劑進一步調節(亦即微調)。或者，藉助於成像器件粗略量測樣本濃度，且藉助於光譜儀進行更精確量測。從而設置動態反饋系統以粗調及微調

本文所提供之動態反饋系統可經組態以濃縮/濃集(亦即提高濃度)樣

本，諸如流體樣本中之細胞。在一些情況下，此藉助於離心或場誘導之分離(例如電場分離、磁力分離)實現。

在一些情形下，樣本之濃度使用成像器件獲得，其中成像器件之位置經選擇以選擇到所要路徑長度及/或焦點。在一些情況下，可調節與成像器件關聯之一或多個光學裝置的位置以提供所要路徑長度及/或焦點。在一些情況下，使用無透鏡相機捕捉影像，其可以計算方法提供影像分析及各種焦點。

可對各種樣本體積執行動態稀釋。在一些情況下，若樣本體積高於預定極限，則樣本可分配於多個樣本容器(例如比色管)中進行依序或同時處理及/或成像。

自學

動態反饋機制可使系統自學。舉例而言，對於動態稀釋/濃縮系統，可進行初始反饋量測。基於反饋量測，可對樣本無行動，可稀釋樣本或可濃縮/濃集樣本。隨後可進行量測及/或偵測。隨後之量測及/或偵測可為或不為額外反饋量測。基於隨後之量測，可判定採取之行動(例如無行動、稀釋、濃縮/濃集)是否正確，及/或是否採取正確的行動程度(例如充分稀釋或濃縮/濃集)。舉例而言，初始反饋機制可確定樣本濃度高且需要稀釋。樣本可稀釋特定量。可進行下一量測(例如可獲得樣本之影像)。若稀釋程度未能使樣本達所要範圍(例如稀釋過多或過少)，則系統可接收指示：對於使用相同或類似初始反饋機制之的後續動態稀釋/濃縮，可使用不同稀釋程度。若稀釋程度能使樣本達所要範圍，則系統可接收確證：該稀釋之量應用於相同或類似類型之初始反饋量測的後續稀釋。

可基於初始條件及後續行動收集資料點，其可有助於確定在後續動

態反饋情形下採取適當行動。此可使系統在特定動態情形下設法隨時間自學。自學可適用於個別化情形。舉例而言，自學系統可學習抽吸樣本之特定個體可能需要不同於另一個體之稀釋/濃縮程度。自學可適用於具有一或多個特徵之個體之組。舉例而言，自學系統可學到使用特定類型藥物之個體可能需要不同於另一個體之稀釋/濃縮程度。自學系統亦可為通用的。舉例而言，系統可覺察如下模式：特定人口統計或具有特定特徵之人可能需要或不需要不同稀釋及/或濃縮程度。系統可利用過往資料點、個體之記錄、其他個體之記錄、一般健康資訊、公用資訊、醫療資料及統計資料、保險資訊或其他資訊。一些資訊可在網際網路(例如網站、論文、雜誌、資料庫、醫學統計資料)上公開得到。系統可視情況搜找網站或資料庫以更新資訊。在一些實施例中，自學可在器件、雲或外部器件上進行。在收集到其他資料時，其可上傳至雲或外部器件，且可由自學系統存取。

影像捕捉及/或操作器件

在一些實施例中，樣本製備、處理及/或分析藉助於影像捕捉及/或操作器件執行，包括電磁輻射(或光)捕捉及/或操作器件，諸如成像器件或光譜儀。在一些情況下，成像器件可與光譜儀關聯使用。可使用光譜儀量測電磁波譜所選部分內之光的特性，該等特性可用於光譜分析(諸如材料分析)。可使用成像(或影像捕捉)器件量測樣本濃度、組成、溫度、濁度、流速及/或黏度。

在一實例中，影像捕捉器件可為數位相機。影像捕捉器件亦可包括電荷耦合器件(CCD)或光電倍增管及光電管，或光偵測器或其他偵測器件，諸如掃描顯微鏡，無論背光或前光。在一些情況下，相機可使用

CCD、CMOS，可為無透鏡(計算)相機(例如Frankencamera)、開源相機，或可使用此項技術中已知之任何其他視覺偵測技術。在一些情況下，成像器件可包括可為透鏡之光學元件。舉例而言，光學元件為透鏡，其捕捉來自偵測器上之透鏡之焦平面的光。相機可包括一或多個光學元件，其可在使用期間聚焦光或可捕捉可隨後聚焦之影像。在一些實施例中，成像器件可使用2-d成像、3-d成像及/或4-d成像(併入隨時間之變化)。成像器件可捕捉靜止影像或動態影像(例如視訊)。靜止影像可在一或多個時間點捕捉。成像器件亦可捕捉視訊及/或動態影像。視訊影像可在一或多個時段內連續捕捉。

在一些情況下，影像捕捉器件為計算相機，其用於量測相對短時段內(諸如即刻)複數種樣本之濃度。在一些實施例中，計算相機可具有可能不同於透鏡之光學作用。在一實例中，計算相機為無透鏡相機，其獲得疊壓之樣本容器(例如比色管)中複數個樣本之照片。隨後可藉由例如以數學方法提供影像以選擇在具有特定樣本容器之影像部分或與該部分相鄰的焦點且自所提供影像獲得樣本濃度來計算特定樣本容器中之濃度。如藉助於無透鏡相機獲得之該影像數學操作可提供無透鏡相機視野內各種空間點之其他資訊，其可包括可自散射光外推之空間點。在一些實施例中，最終信號可藉由複雜演算法分析。該裝備之一個實例為具有可在偵測器上產生傅里葉(Fourier)轉化影像之光學元件的計算相機。所得「影像」可經分析以提取所要資訊。該偵測器能夠自成像之目標物獲得豐富資訊。自影像獲得不同特徵(例如不同焦距之資訊)可僅經由軟體、簡化成像硬體且提供更快速且資訊性之資料獲取進行。

電磁輻射捕捉及/或操作器件可用於本文所提供之各種應用，諸如量

測樣本濃度，包括動態稀釋。在一實例中，光捕捉及/或操作器件包括光源，諸如與光感測器(諸如CCD相機)耦接以捕捉可能在光源引導穿過樣本後自樣本發出之散射光的相干光來源(例如雷射)。其可用於量測樣本之濃度。光感測器可經組態以捕捉(或感測)光之各種波長，諸如紅色、綠色及藍色或其他顏色組合，諸如紅色、橙色、黃色、綠色、藍色、靛藍色及紫色之組合。在一些情形下，光感測器經組態以感測除可見光譜之光以外波長為或大於紅外線或近紅外線或小於或等於紫外線之光。

光捕捉及/或操作器件可用於在特定時間點或在各種時間點收集資訊，其可用於建構具有複數個靜止影像及/或與影像關聯之聲音(或其他資料，諸如文字資料)的視訊。

光捕捉及/或操作器件(包括計算(或無透鏡)相機)可用於捕捉二維影像或三維(或偽三維)影像及/或視訊。

在一些實施例中，影像捕捉及/或操作器件擾動物體且量測由擾動引起之反應。擾動可經由光(例如x射線、紫外光)、聲音、電磁場、靜電場或其組合進行。舉例而言，藉由聲音擾動可用於聲音成像。聲音成像可使用類似於藥物中所用之診斷性超音波的原理。聲音成像可類似於常規顯微鏡起作用，但可使用聲波。超音波之來源可產生可穿過樣本傳播且由於樣本彈性特性中之不均勻性而進行反射/散射的波。反射波可藉由感測器「成像」。此方法之變化形式可包括「光聲成像」，其中穿過樣本傳播之聲波可引起樣本之局部壓縮及延長。此壓縮/延長可引起樣本材料之折射率變化，此變化可藉由量測樣本之雷射束反射/使樣本之雷射束反射成像來偵測。

在一些情形下，成像器件可用於量測細胞之體積。在一實例中，使

用光源與CCD相機之組合捕捉細胞之靜止影像。電腦系統使靜止影像數位化且穿過細胞(諸如穿過細胞之中心)劃線。隨後電腦系統量測線與細胞(或細胞壁或膜)邊界相交之點之間的距離以估算細胞直徑，其可用於估算細胞之體積。

成像器件可使用線掃描顯微術使樣本可用相干雷射光之細線或點照射，使得該光源之功率可集中在小區域中以提供高功率密度。偵測器幾何形狀可與線或點匹配。隨後，線/點可在樣本上掃描而可使其不同部分成像。各掃描線可隨後連接形成整個影像(例如以類似於文件掃描儀之方式)。此方法可出於一或多個如下原因而宜作為分析/成像方法：(1)照射之功率密度高，(2)相較於點掃描，自線掃描可獲得相對高之速度(儘管兩者可能均慢於全框成像或經典成像)，(3)樣本之分析量測值(諸如螢光、吸光度、發光)的精度及/或準確度高，(4)與光譜或高光譜成像組合使得可針對每一像素均獲得樣本之完整光譜，(5)即時調節解析度(亦即在不改變任何元件下，樣本可視需要以低或高側向解析度掃描)，或(6)可提供高視野深度(depth of field)以使得組織樣本可成像。

在一些實施例中，成像器件經組態以偵測自電離(螢光或發光)事件發出(諸如經由閃爍)之光。在一實例中，將閃爍劑塗佈在構成樣本容器之材料上或包埋於其中。樣本結合於閃爍劑(或以其他方式與閃爍劑相互作用)後，閃爍劑發出藉由成像器件之偵測器偵測之光(例如螢光)。此可用於量測特定樣本之放射性衰變(例如 α 及/或 β 衰變)。

在一些情形下，成像器件為偵測帶電粒子(諸如離子)之場效電晶體。或者，成像器件可為量測熱交換之熱偵測器，該熱交換可用於建構例如熱圖。

在一些情形下，樣本容器包含一或多個孔以固定樣本。樣本容器可與成像器件耦接以使固定在一或多個孔中之樣本成像。可藉助於具有表面結合劑(例如抗體)之珠粒或可例如在孔底部去除之表面結合劑促進樣本固定。孔可具有約數奈米至數微米或更大之直徑。

在一些實施例中，樣本偵測及/或分析藉助於影像增強物質(諸如染料)有利地進行。染料可結合於樣本以提供可由成像器件之偵測器偵測的光、電或光電子信號。在一實例中，染料結合於細胞且發螢光而可由偵測器記錄。藉由量測螢光，可量測細胞之空間分佈及/或濃度。影像增強物質可有助於在影像獲取(或捕捉)期間達成信雜比改良。染料可藉助於表面受體及/或抗體結合於細胞。

在一些情況下，使用染料可產生背景螢光，其可扭曲影像，螢光樣本可能難以由發螢光之背景解析。在此情況下，影像獲取可藉由使流體形式之樣本與螢光染料接觸來增強。未結合之染料藉助於離心機(或磁性或電分離，其使樣本與未結合之染料分離)移除。離心機可整合於具有成像器件之重點服務器件中。樣本可隨後再懸浮於流體中，隨後藉助於成像器件成像。

在一些情況下，除使用影像增強物質以外或替代使用影像增強物質，影像獲取可藉由使用動態反饋來增強。在一實例中，樣本之濃度藉助於在影像獲取前稀釋及/或濃集而最佳化。

樣本分離可藉助於離心機有利地進行。作為替代性方法，樣本分離可藉助於磁場或電場執行。舉例而言，磁性粒子可結合於細胞，其在磁場存在下可用於將細胞吸引至磁性吸引源。

本文所提供之系統及方法可應用於各種樣本，諸如可源自組織(例如

皮膚、血液)、唾液或尿液之細胞。在一實例中，動態反饋及/或成像可應用於組織樣本或源自該等組織樣本之細胞樣本。

實例

實例1：藉由環介導之等溫擴增(LAMP)進行核酸擴增

為評估螢光與吸收之三色影像分析方法讀取LAMP分析之能力，執行如下實驗。

Lamp反應條件

在500 μ L PCR管(VWR, West Chester, PA)中以25 μ L之總體積進行LAMP反應。反應混合物包括0.8 μ M引子1及引子2、0.2 μ M引子3及引子4、400 μ M各dNTP(Invitrogen, Carlsbad, CA)、1 M甜菜鹼(Sigma, St. Louis, MO)、1X Thermopol緩衝液(New England Biolabs, Ipswich, MA)、2 mM $MgSO_4$ (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA)、8 U Bst DNA聚合酶大片段(New England Biolabs, Ipswich, MA)及既定量之模板DNA(在約 10 至約 10^9 個複本之間變化)。在陰性對照之情況下，添加約 10^9 個不相關DNA複本。

反應條件

在65°C下在密封管中培育反應物1小時。隨後藉由加熱反應產物至80°C後維持5分鐘使聚合酶不活化。

產物偵測及目測

稀釋SYBR綠色I染色劑(Invitrogen, Carlsbad, CA)儲備液100倍，取5 μ L與10 μ L混合之完全LAMP反應產物混合，且在室溫下培育5分鐘。隨後以如下方式讀取反應產物：

螢光讀取：用302 nm UV光照射含有混合物之PCR管或吸管尖端，

且藉由數位相機(Canon EOS T1i, 18-55 mm, Canon, Lake Success, NY)使螢光發射($\lambda_{\max}$ 為約524 nm)成像。

顏色讀取：將反應產物抽吸於尖端中且使用數位相機成像。

結果：

管中分析產物之螢光影像展示於圖81中。

尖端中分析產物之螢光影像展示於圖89中。

尖端中分析產物之顏色影像展示於圖82、圖83、圖84、圖85、圖86及圖87中。圖88展示為校準而獲得之背景色影像。

圖90展示藉由量測「整體」螢光(習知螢光測定法)獲得之LAMP劑量反應與藉由相機獲得之兩個顏色通道之反應的比較。顯而易見，顏色方法展示與螢光測定法相當之反應。

當顏色影像根據本文所述之方法使用所有三種顏色通道分析及校準時，如圖91所示，顯而易見經校準顏色信號與螢光信號之緊密一致性。

實例2：最大化樣本使用之系統

最大化樣本使用之系統可具有如下特徵：

- 1.將血液有效分離成血漿且有效回收血漿
 - a.藉由在毛細管中離心達成分離
- 2.稀釋血漿至數個預先建立之適合於高靈敏度分析與低靈敏度分析之水準
- 3.最小化各分析所需之各分析反應混合物之體積
 - a.使用適用於分析培育同時防止蒸發之末端開放之小體積比色管
 - i.相對於寬度而言，比色管很長
 - b.在該等小體積比色管內，可藉由修改光學路徑長度提高分析信號靈

敏度

i.比色管呈圓錐形或具有寬度寬與窄之特徵

c.必要時，藉由在光學量測時移動反應產物(其不充滿比色管)至具有較大路徑長度之所選位置達成該分析信號靈敏度提高

i.比色管內體積比分析混合物之體積大得多

4.使用可變路徑長度及三色通道分析中之任一者或兩者增大分析之有用動態範圍。

實例3：重點照護分析器件

重點照護分析器件可包括單次使用之拋棄型筒(處理樣本且操作分析之儀器)及遠離該儀器之伺服器，該量測及偵測系統包含：

- 拋棄型筒，其含有

- 樣本獲取及計量方法(諸如樣本尖端)

- 儀器外殼，其含有

- 光成像感測器(諸如具有光源(例如閃光)之蜂巢式電話相機及CCD影像收集器件)

- 移動該尖端至該光成像感測器可獲得影像之位置的機構

- 無線(或藉由其他方法)上傳該等影像至遠離儀器之伺服器

- 影像說明軟體，其能夠：

- 自二維影像量測體積

- 區分樣本類型

- 使用該樣本類型及/或體積資料作為操作演算法之一部分以：

- 向系統使用者提供關於樣本完整性之提示

- 提供任何必需提示以提供樣本之增加或更換

-根據分析結果，考慮樣本類型及/或樣本體積說明來自該儀器之信號資料

系統可視情況包括用於處理由使用者獲取於「樣本獲取器件(毛細管)」中之樣本及/或使該等樣本成像的其他機構，該等機構包含：

- 在指定位置中容納毛細管且移動該毛細管至可獲取影像之另一指定位置的機構

- 噴射實質上所有樣本於該筒中指定位置的機構。

實例4：分析含有血液樣本之毛細管

樣本由使用者藉由使毛細管之遠端接觸一滴血液(通常以手指刺戳形式)獲取。在存在足夠血液之情況下，毛細管通常藉由毛細作用填充。在本發明之一個型式中，使用者將毛細管放置在筒上之門鎖位置，隨後將筒插於儀器中之滑動件上，接著藉由按壓儀器GUI上之螢幕按鈕啟動分析。所有後續分析步驟均為自動的。儀器在其外殼內移動筒且封閉插入筒之門。在本發明之此型式中，儀器移動一用於握取毛細管且將其移至配備有閃光燈源之數位相機(CCD)前之位置的組件。使用閃光照射獲得毛細管之影像且無線輸送至伺服器，該伺服器根據樣本之類型、位置及數量對影像進行說明。若滿足預設標準，則伺服器指導儀器繼續分析。若樣本不適當，則毛細管返回噴射之筒，且伺服器使GUI顯示適當提示。使用者隨後可(1)再添加樣本或(2)獲得新鮮樣本且使用新的毛細管。一旦使用者藉由GUI指示已採取校正行動且毛細管/筒已再插入儀器中，則伺服器可指導儀器繼續分析處理。適當樣本體積之標準通常為體積大於分析所需之最小值。由此，在一些分析中，可使用例如10 μL 樣本，故若量測體積為 $>12 \mu\text{L}$ ，則通常該樣本視為合適的。

在本發明之第二型式(其可單獨實施或與第一形式組合實施)中，使用影像獲取量測由儀器自初始樣本獲得之樣本的體積。在分析次序中，樣本(1)由使用者或(2)由儀器自毛細管噴射於筒中之樣本孔中。隨後，使用第二尖端，藉由毛細作用或(較佳)氣動方法自樣本孔獲得精確體積。在此階段，藉由使尖端成像量測(如上所述)子樣本之類型及子樣本體積。若樣本類型及體積為可接受的(目標 $\pm$ 5%)，則分析繼續進行。若不可接受，則可中斷分析且提示使用者採取補救行動。可區別之樣本類型為血液及血漿或血清及其他。成像系統藉由觀察如下情況進行區分：相較於血漿及血清之情況，血液(不透明)與尖端(透明)之間的對比度大得多。倘若樣本體積儘管不為目標水準，但仍足夠分析得到滿意結果(在上述實例中，若目標體積為10 μ L，則體積 >5 μ L應為可接受的)，則計算分析物濃度之分析演算法使用校正函數濃度(真實)=濃度(假定目標體積觀察)*目標體積/量測體積。

可藉由產生尖端之像素圖且計數暗像素，隨後與先前建立之目標體積數值比較，容易地偵測血液且量測其體積。即使樣本類型血清及血漿(及其他水性非血液樣本)為透明的，成像系統仍可由於樣本彎液面上發生之折射變化及尖端材料與樣本之間的折射率差異而偵測樣本之存在。或者，染料可藉由提供乾燥染料調配物塗佈在毛細管內且由樣本溶解而添加至樣本中。

量測樣本體積之其他方法包括定位各彎液面之頂部及底部及使用簡單幾何技術(如本文所述)。樣本液體柱內之氣泡可藉由上述方法識別且量測，且將該適當體積自由樣本佔據之總體積減去。

上文提供之方法量測樣本毛細管內或自毛細管末端懸垂之樣本(如本

文所述)。樣本經量測且由系統接納後，其在儀器內藉由吸取/氣動方法噴射。此發生後，可使尖端再次成像且量測任何殘餘樣本。實際用於分析中之體積為總體積與殘餘體積之間的差值。

POC分析系統中之另一特定問題(尤其在由未經技術訓練之使用者使用時)為樣本毛細管外樣本之存在。

此可使用本發明成像且量測並提示使用者移除過量血液。

分析器件中樣本獲取及傳遞之有效性取決於所用液體處理技術。自動器件可使用(1)氣動抽吸及噴射(如在諸多使用拋棄型尖端之實驗室單通道及多通道吸取器件中；氣動方法可使用正壓或負壓(真空))，(2)正位移(如在注射器中)、噴墨樣技術及其類似技術。樣本及其他液體(諸如試劑)可(3)藉由毛細作用自儲集器汲取出或(4)藉由毛細作用傳送至多孔介質中。液體(樣本及/或試劑)可在接觸或不接觸其他液體下噴射。舉例而言，若樣本欲稀釋，則可將樣本尖端浸入稀釋劑中或轉移於空氣中以滴入乾燥孔或含有稀釋劑之孔中。所有上述系統及方法之效能可使用本發明證實及/或量測。

在其他實施例中，毛細管可由使用者在儀器外用外部相機成像。體積量測值可按比例增至毛細管之尺寸。該外部定向相機可用於識別使用者/患者以使得結果可更可靠地歸於正確患者。該方法亦可用於證實正使用適當藥物(使丸劑容器或丸劑成像或者儀器中之條碼讀取器可用於達成此目的)。

本發明亦可用於量測抽吸至分析尖端中之試劑的位置及體積。在一些情況下，可添加染料至試劑中以使其更易於成像(改良對比度)。

在血漿自血液分離之分析中，本發明可用於證實紅血球移除之有效

性及血漿之有效體積。移動含有樣本之尖端的替代性方法為移動相機。

該系統可具有如下優點：

- 1.定量量測樣本
- 2.能夠鑑別樣本類型
- 3.建立樣本體積之客觀定量記錄
- 4.使分析在樣本體積不正確時可提供結果
- 5.改良分析系統之可靠性。

實例5：尖端

圖18展示用於抽吸樣本及試劑之尖端的圖(尺寸以mm計)。

實例6：圓柱形毛細管之幾何形狀量測

圖19展示含有樣本之圓柱形毛細管的尺寸。

R=半徑

L1=圓柱體下端至樣本下彎液面之距離

L2=圓柱體下端至上彎液面之距離

引入體積= $\pi \cdot (R^2) \cdot (L2-L1)$

實例7：圓錐形毛細管之幾何形狀量測

圖20及圖21展示圓錐形毛細管之尺寸。

Rb=錐體底部半徑

L=長度

L₁=錐體頂部(投影)至樣本下彎液面之距離

L₂=錐體頂部(投影)至上彎液面之距離

引入體積= $\pi \cdot (Rb/L)^2 \cdot [(L_1)^3 - (L_2)^3] / 3$

Tan θ =Rb/L

實例8：彎液面之影響

眾所周知，毛細管中之液體通常具有彎曲之彎液面。視接觸角而定，彎液面可相對於液體向內或向外彎曲。當未施加淨外部壓力時，若毛細表面具有親水性(接觸角 $<\pi/2$)，則彎液面指向內，或若表面具有疏水性(接觸角 $>\pi/2$)，則彎液面指向外。當向液體柱施加淨壓力時(毛細管垂直定向或由儀器施加氣動壓力)，下彎液面可能凸出至毛細管下端下方。在小直徑毛細管中，彎液面上之表面張力強於彎液面之微小重力。垂直定向圓形毛細管中彎液面上之表面張力壓力為 $2\pi \cdot R \cdot \gamma \cdot \cos\theta$ ，其中 γ 為表面張力且 θ 為接觸角。由重力引起之彎液面上之壓力為 $\rho g \Delta L / (\pi \cdot R^2)$ ，其中 ρ 為液體密度且 ΔL 為跨越彎液面之距離，且 g 為重力常數。因此，彎液面表面為球形。由彎液面佔據之區段中液體之體積可如下計算且用於更準確地估算體積。

距離自樣本毛細管之底部界定

L1=至下彎液面之底部的距離

L2=至下彎液面之頂部的距離

L3=至上彎液面之底部的距離

L4=至上彎液面之頂部的距離

球形帽之體積

$$\pi h(3a^2 + h^2)/6$$

球形帽之尺寸展示於圖22中。

由彎液面之數目及位置而定可產生數個不同情形。應注意，下文提供之式可解決向內與向外彎曲之彎液面。

情況1：彎液面上部彎曲，下部水平(如圖23所示)

代入： $a=R$ ， $h=L_4-L_3$

L_3 與 L_4 之間的體積 $=\pi*(L_4-L_3)*(3*(R)^2+(L_4-L_3)^2)/6$

總體積 $=\pi*((R^2)*L_3+(L_4-L_3)*(3*(R)^2+(L_4-L_3)^2)/6)$

情況2：兩個彎液面均在毛細管內且彎曲(如圖24所示)

總體積 $=\pi*((R^2)*L_3-(L_2-L_1)*(3*(R)^2+(L_2-L_1)^2)/6+(L_4-L_3)*(3*(R)^2+(L_4-L_3)^2)/6)$

情況3：存在兩個彎曲之彎液面。下部彎曲且在毛細管下端下方(如圖25所示)

總體積 $=\pi*((R^2)*L_3+(L_1)*(3*(R)^2+(L_1)^2)/6+(L_4-L_3)*(3*(R)^2+(L_4-L_3)^2)/6)$

實例9：氣泡

液體樣本或試劑中之氣泡使得所計量液體之體積可變地減小。在小毛細管中，當氣泡小於毛細管橫截面時為球形。當其較大時，其佔據圓柱形空間(在圓柱形毛細管中)且具有半球形末端。

情況1：氣泡未大至足以跨越毛細管之寬度(如圖26所示)

減去氣泡體積 $=(4/3)*\pi*r^3$

情況2：佔據毛細管之整個寬度的氣泡(如圖27所示)

減去氣泡體積 $=4\pi*R^3+\pi*R^2*L$

實例10：毛細管尖端外之血液

情況1：垂直毛細管外之懸垂血液或試劑可在分析中引起嚴重問題，因為其代表不受控制之情形。如圖28所示，成像可易於識別此情形。

情況2：血液以非懸垂方式在毛細管外

毛細管外之殘餘血液亦引起問題，因為其為試劑污染及額外體積之

可能來源。成像亦可識別該情形。

實例11：樣本施配後毛細管內之殘餘血液

此可藉由估算殘餘體積且自總樣本體積減去而解決。圖29展示具有殘餘血液之毛細管的一實例。

$$\text{殘餘體積} = \pi * R^2 * L$$

實例12：評估紅血球自血液樣本之分離

在許多分析中，需要自樣本移除紅血球，從而製備血漿。在進行此操作時，尤其在POC器件中，需要知曉分離有效且確定存在足夠血漿來執行分析。

圖30-圖39展示適合於本發明POC器件之紅血球移除之一個較佳實施例的示意圖。如圖30所示，具有紅血球抗體之可磁化粒子與游離紅血球抗體混合，其以乾燥製劑之形式提供於容納血液樣本之孔中。當添加血液樣本至孔中(圖31中所示)且與磁性試劑混合(圖32、圖33及圖34中所示)時，紅血球與磁性粒子凝集且可藉由放置含血液之孔靠近強磁體來移除(圖35中所示)。藉由相對於磁體適當地移動孔，使紅血球與血漿分離(圖36中所示)，血漿可隨後噴射於容納孔中以用於分析(圖37、圖38及圖39中所示)。顯然成像分析可確定實現之分離的有效性且估算可用於分析之血漿的體積。

實例13：毛細管中液體樣本之影像

圖40展示含有低吸光度液體之圓柱形尖端的高對比度影像。

圖41展示含有高吸光度液體之圓錐形尖端的影像。

圖42展示具有高吸光度液體之尖端，在尖端內展示兩個彎液面。

圖43展示具有樣本液體及跨越尖端直徑之大氣泡的尖端。

圖44展示含有水之尖端，在透明尖端或毛細管中展示透明上彎液面。

分析圖41中液體柱之長度(對應於5 μL)及上彎液面之解析度(信賴度>90%下彎液面位置之清晰度)。彎液面位置之精度對應於小於液體柱長度之1%。

尺寸	像素寬度
長度	276
彎液面之解析度	2
精度	0.7%

實例14：不足樣本體積對分析結果之影響

使用系統量測血液中之蛋白C。當樣本傳遞器件正確使用時，插入系統中之樣本體積設計成20 μL。儀器設定成自此樣本使用10 μL血液。當樣本體積故意自目標水準降低時，由該系統計算之分析物濃度展示於圖45中。結果基本上恆定，直至樣本體積小於所要體積。

實例15：樣本傳遞器件

圖46展示樣本傳遞器件之一實例。器件由以下組成：(a)視情況用抗凝血劑或適於分析前處理樣本之其他試劑塗佈的毛細管(由玻璃或塑膠製成)，(b)固持毛細管之外殼，該外殼配備有(c)可在外殼內滑動且具有在外殼中之凹槽內滑動之凸起特徵的活塞(plunger/piston)，(d)外殼中之凹槽，其嚙合活塞特徵且限制活塞之軸向運動以使其在樣本轉移後停止運動，及(e)外殼中通常開放之排氣孔，其在活塞啟動(向器件遠端移動)時封堵以轉移毛細管中之任何液體。

圖47展示毛細管中填充有樣本之樣本傳遞器件。指示「填充所至」之位置。

圖48展示樣本藉由移動活塞轉移之樣本傳遞器件。

圖49展示樣本不完全噴射後之樣本傳遞器件。

實例16：藉由影像分析量測體積

使用吸取器件抽吸已知體積之液體樣本於樣本尖端中。使用市售平台掃描儀(Dell)收集尖端之影像，且量測尖端之遠端至彎液面之距離(a)及尖端之遠端至以下影像上所標記之特徵的距離(b)。不控制尖端之定向及其相對於掃描儀壓板之位置，因為影像藉由量測作為樣本體積量度的距離(a)與距離(b)之比率分析。尖端、彎液面及特徵之位置使用市售成像軟體(Jasc)量測。在記錄位置前，影像使用軟體水平定向，且可以軟體提供之標度直接讀取。圖50展示例示性影像。

距離L1為尖端之位置

距離L2為彎液面之位置

距離L3為圖50中所示之箭頭的位置。

體積	距離(任意單元)					比率	計算體積
μL	L1	L2	L3	ΔL2-1	ΔL3-1		μL
10.0	120	374	590	254.00	470	0.540426	9.7
12.5	112	400	584	288.00	472	0.610169	12.9
15.0	156	470	636	314.00	480	0.654167	15.2
17.5	171	505	654	334.00	483	0.691511	17.3
20.0	114	469	596	355.00	482	0.736515	20.0
25.0	214	600	694	386.00	480	0.804167	24.5
30.0	165	585	640	420.00	475	0.884211	30.3

如圖51所示，體積與距離比率簡單相關且可進行計算。體積估算值在小於平均實際體積之2%範圍內。

實例17：在尖端中離心之血液的影像

藉由量測堆積紅血球柱之長度與總液體柱(尖端至彎液面)之長度的比率，自數位影像測定血球比容。此易於由特徵識別軟體達成，該軟體使尖端定向於已知方向且計數特徵之間的像素。對於上述尖端，距離對應於數百個像素，從而可進行精確量測。

圖10展示空的加帽樣本尖端。

圖11展示含有血液樣本之加帽樣本尖端。

圖12展示含有離心後血球比容為23%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖13展示含有離心後血球比容為31%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖14展示含有離心後血球比容為40%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖15展示含有離心後血球比容為52%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖16展示含有離心後血球比容為68%之血液之樣本的加帽樣本尖端。

圖17展示藉由數位成像系統使用經離心樣本量測之血球比容(「血球比容，報導%」)與藉由標準技術量測之血球比容(「血球比容，目標%」)的比較。血球比容量測之標準技術之一實例可包括在玻璃毛細管中使用標準實驗室離心機且量測堆積紅血球床之長度及樣本佔據之毛細管之總長度所進行的微量血球比容量測。

實例18：包括用於血液分離之組件的系統

設計用於分離血液之系統可包括如下特徵：

1.尖端形狀之設計。

a.長度:直徑約20:1之縱橫比提供量測樣本、堆積細胞及血漿體積之適宜長度

b.成形尖端使得可用乙烯基帽緊密封且必要時易於移除帽。

c.尖端主要部分之小牽引角圓錐形形狀及尖端之較寬圓錐形上部對於插入血漿回收構件為最佳。應注意，不常用「逆徑向(counter radial)」設計(尖端在遠離旋轉軸之末端較窄)。

d.尖端之較寬圓錐形上部經組態以容納於自動吸取及x-y-z移動平台上。有助於連接形成流體緊密連接且必要時易於移除。

2.使用極精確及準確的x-y-z平台移動血漿回收尖端。

3.自動使用成像技術控制離心及血漿回收之操作。移動血漿回收尖端至小於堆積細胞-血漿界面1毫米以內。

實例19：使用液體體積之影像量測以改良分析校準

自動吸取器件一般在(如)5-50 μL 範圍內準確且精確至約5%或優於5%。在許多分析中，體積準確度及精度均為極佳(如<2%)以獲得分析物量測之所要準確度及精度。計量及傳遞(1)體積小於5 μL 之液體(在需要最大化小體積樣本之使用時極為適宜)及(2)具有「引起問題」之物理特性的液體(諸如黏性溶液、含有清潔劑之溶液等)通常精度及準確度較差，有損分析結果之準確度。本發明對此等問題之一個解決方案為使用液體之影像分析量測液體(樣本、稀釋劑、試劑、校準物及對照)之體積，隨後校正分析校準函數以慮及與所欲體積之偏差(高達[如] 20%)。已展示在具有極精確尺寸之吸管尖端中，小至5 μL 之體積可以極佳準確度及精度(<2%)量測。在下文中，證明(1)體積量測之準確度及精度，及(2)使用分析中所用溶液

(樣本、試劑等)之體積與分析反應之間的已知關係校正分析之校準。

(1) 藉由影像分析量測體積之準確度：

在下表中，抽吸已知體積之溴酚藍溶液於圓錐形尖端中。

將溶液置放在尖端中部且使用掃描儀成像。藉由標準方法測定尖端定向及位置。尖端定向藉由演算法及所量測之液體柱長度調節。使用尖端之已知內部尺寸，計算液體體積。獲得四個尖端中四個等分試樣之四個重複影像。因此，下文提供之誤差反映影像再現性及尖端尺寸準確度及精度。

目標體積	量測體積	總誤差
μL	μL	%
5	5.01	1.39
20	19.98	1.80

應注意，體積量測並不依賴於在尖端中準確置放液體。影像分析提供關於尖端中液體位置之資訊。在已知尖端之尺寸下，總可自尖端之由液體(無論其在何處)佔據之部分計算體積。

(2) 藉由併入液體體積量測校正分析校準

此如以下模擬中所說明達成。考慮樣本與兩種試劑(稱作試劑1及試劑2)組合之分析。樣本、試劑1及試劑2之目標體積為10 μL。分析結果由使量測信號與分析物濃度相關之標準曲線計算。作為分析校準方法之一部分，可執行如下實驗，其中用於樣本及試劑之體積變成除10 μL以外的8 μL及12 μL，且基於適合於10 μL體積之校準計算分析結果。在圖105、圖106及圖107中，將結果對實際體積繪圖。對於樣本體積，分析結果與所用體積基本上成正比(圖105中所示)。對於試劑，觀察到略呈非線性反應(圖106及圖107中所示)。此等反應係基於該領域中熟知之「典型」分析，

且隨體積之變化幅度具有代表性。

隨後模擬如下評估，其中除使用不當體積之影響以外，對分析結果施加隨機誤差度(約5%，以反映「實際世界情形」)。包括如下結果，其中在所有組合中，樣本、試劑1及試劑2體積均設定為8 μL、10 μL及12 μL。當如圖108所示將此演習(exercise)之結果繪圖而不對體積誤差進行校正時，如所預期，報導結果中存在顯著誤差，此係由於忽視所用實際體積不同於用於分析校準之體積。

然而，當使用對體積之已知分析反應考慮體積自目標值之變化且對經校正分析物值繪圖時，獲得圖109中所示之顯著改良結果。此藉由資料之多元回歸分析達成。

下表中呈現比較經體積校正與未經體積校正之結果的概述統計資料，且其反映藉由使用體積校正，所有量度均顯著改良。SEE為估算值之標準誤差。

體積校正	回歸斜率	相關係數	分析物CV	SEE/平均值
		R ²	%	%
無校正	0.994	0.914	13.3	16.5
校正	0.999	0.994	3.6	7.4

實例20：使用顯微術及影像分析進行之血球凝集抑制分析讀取

在室溫下將0.3% w/v戊二醛穩定之火雞紅血球及0.5 mg/mL牛血清白蛋白及(在指示時)2血球凝集單位之不活化流感病毒及15 μg山羊多株抗流感B抗體在磷酸鹽緩衝生理食鹽水(100 μL)中在錐形底PCR管中培育15分鐘。將管底部之反應產物傳遞至透明載片，用白光照射且使用數位相機以4倍放大率成像。如圖131中可見，藉由與未凝集之對照(圖131樣本1)比較，可容易地觀察由紅血球與病毒之血清凝集素反應引起之凝集(圖131樣

本3)。當過量病毒抗體亦存在時，凝集被完全抑制。凝集反應有兩個作用很顯著：(1)相較於對照，在凝集樣本中，由於凝集物之沈降較快而存在較多紅血球，及(2)平均而言，各紅血球與其他紅血球更易群集。凝集反應可在影像識別軟體鑑別、定位及計數紅血球及凝集物後定量。

圖131樣本1展示未凝集對照(無病毒，無抗體)。圖131樣本2展示未凝集樣本(病毒加抗體)。圖131樣本3展示凝集(有病毒，無抗體)。

實例21：樣本製備、檢查上清液品質及估算LDL沈澱物之品質

用硫酸聚葡萄糖(25 mg/dL)與硫酸鎂(100 mM)之混合物稀釋(1:10)血漿，隨後培育1分鐘以使LDL-膽固醇沈澱。可抽吸反應產物至離心機之管中，隨後加帽且在3000 rpm下旋轉3分鐘。獲得初始反應混合物在離心前(展示白色沈澱物)、離心後(展示透明上清液)之影像及LDL-膽固醇集結粒(移除帽後)之影像。舉例而言，圖132、134說明獲得之反應產物影像的實例。

如下分析LDL-沈澱反應產物之影像。繪製像素顏色水準隨其垂直位置變化之圖。量測值之變化且對三種顏色之值求和。由於沈澱LDL之粒子強烈散射光，故沈澱物值(1154)比透明上清液之值(672)大得多。比較上清液之值與未暴露於沈澱試劑之對照之值可評估離心之品質(資料未示)。圖133提供在離心機中旋轉前及在離心機中旋轉後分析之影像的實例。

移除黑色乙烯基帽後，獲得LDL沈澱物之影像。在已知尖端之幾何形狀及影像中像素之尺寸下，可相當準確地量測其體積。在此實驗中，沈澱物之體積估算為 $0.155 \pm 0.015 \mu\text{L}$ 。

實例22：藉由使用對由樣本獲得之光信號的三色影像空白處理改良丙胺酸胺基轉移酶(ALT)分析之效能

可在如下分析中量測血清中之ALT，其中該酶將丙胺酸轉化為丙酮酸，丙酮酸又用於在氧氣及丙酮酸氧化酶存在下製備過氧化氫。隨後使用過氧化物藉由酶辣根過氧化酶、胺基安替比林及N-乙基-N-(3-磺基丙基)苯胺製備有色產物。有色產物在560 nm下最大程度地吸收。

如圖135所示，發現一些血清樣本在此波長下具有顯著吸光度，因此干擾分析。詳言之，當使用相對高樣本濃度(諸如分析中之最終稀釋度為1:10)時，ALT分析之三色影像分析為臨床樣本提供不良結果。

圖135說明若干個用緩衝液1:10稀釋之血清樣本的光譜圖；將OD對波長(nm)繪圖。圖135中說明OD發生很大變化。

在習知光譜法中，此問題藉由對不添加分析成分之樣本進行空白讀取且自分析產生之信號減去空白來解決。在本發明之三色影像分析中，已發現可使用類似方法。可使經稀釋樣本成像且提取三色值。隨後可改變分析校準演算法以包括未反應樣本之信號。尤其在此情況下，初始演算法(不包括樣本空白信號)為ALT濃度 $=a+b*R+c*G+d*B+ e*R^2$ ，其中a、b、c、d及e為憑經驗獲得之常數，且R、G、B分別為紅色、綠色及藍色通道中之信號值。經改良演算法為：ALT濃度 $=a+b*R+c*G+d*B+e*Rs+f*Rs^2$ ，其中Rs為紅色通道中樣本空白之信號(應注意a、b、c、d及e憑經驗獲得之值不同於初始演算法之值)。

當重複三次量測ALT活性在0 U/L至250 U/L範圍內之21個血清樣本且將三色成像分析之結果與由臨床實驗室方法(Teco)提供之結果比較時，獲得如下回歸統計資料，指示結果顯著改良。

校準方法	R ²	斜率	截距(U/L)	SEE
初始	0.922	0.922	4.5	18.9
改良	0.972	0.972	1.6	10.0

實例23：加速抗流感抗體之血球凝集抑制分析及提供該分析之客觀分析

僅培育如實例20中所述製備之反應混合物1分鐘，隨後引入三個各別微通道(如對於以上細胞計量術實例所述)中且成像。對於各樣本獲得約5-10個影像以得到足夠統計資料。各影像平均由約800-900個細胞組成。可藉由使用函數量測圍繞代表性選擇之個別細胞的細胞徑向分佈客觀地評估凝集過程。

處理影像以獲得2D空間中個別細胞之形心位置。使用2D位置計算徑向分佈函數(RDF)(亦稱作對相關函數)。徑向分佈函數 $g(r)$ 定量在距所選細胞距離 r 處發現細胞之可能性。在數學上，

$$g(r)=\rho(r)/\rho_o$$

其中 $\rho(r)2\pi r dr$ 為在距特定細胞距離 r 處發現之細胞的個數，且 ρ_o 為整個影像窗上之平均細胞密度。值 $g(r)$ 以影像中所有粒子及多個影像之平均值形式計算以確保產生統計上有意義之結果。

結果

$g(r)$ 之第一個峰值定量樣本中雙重峰之個數。因此，凝集樣本之 $g(r)$ 相較於其他兩個樣本大小較高。在約20個像素(對應於約12 μm ，紅血球直徑之約兩倍)之距離內 g 之值自0快速升高至最大值，隨後下降至約1.0。如下所示，由病毒所致之凝集可與病毒不存在時之不凝集或抗體抑制病毒誘導之凝集區分。

病毒	抗體	凝集	g_{max}
無	無	不	1.44
存在	無	是	1.67
存在	存在	不	1.47

實例24：使用適體製備分析物偵測系統

兩個寡DNA適體設計成可選擇性捕捉蛋白質(凝血酶及胰島素)。寡DNA適體由以下構成：具有選自公開資料之序列的結合位點、自珠粒或微陣列之表面延長結合位點之惰性部分、及使適體化學固定於表面之反應性基團。適體1(對凝血酶具有特異性)具有如下序列：5'-Am-(T)₄₅GGTTGGTGTGGTTGG-3'。適體2(對胰島素具有特異性)具有如下序列：5'-Am-(T)₃₂ACAGGGGTGTGGGGACAGGGGTGTGGGG-3'。各序列之起始端的「Am」表示胺基。

使兩個適體固定於用羧基官能化之聚苯乙烯珠粒(5 μm)上。隨後洗滌珠粒且移除過量試劑。隨後使珠粒與經螢光標記且互補於適體之結合位點的DNA探針混合。藉由螢光發射偵測探針與適體之雜交。僅互補探針展示陽性雜交事件，陽性雜交事件由平均螢光發射量測。藉由比較展示與互補探針雜交後之珠粒的圖139與展示與非互補探針雜交後之珠粒的圖140說明雜交特異性。在珠粒沈積於分析基板上後，用635 nm下之雷射激發執行偵測，且在650 nm(± 10 nm)下於CCD相機上過濾發射。類似程序可用於塗佈有環氧矽烷以固定適體1及適體2之玻璃表面上。使陣列與螢光探針雜交，且藉由螢光發射偵測用CCD相機裝備及陣列掃描儀(Inopsys)量測適體結合位點之特異性識別。圖141說明適體在陣列上之結合特異性，其中在圖142中進行更詳細說明。圖143展示陣列掃描之一實例。

實例25：使用適體偵測分析物

如實例24中製備包含與經螢光標記之互補探針雜交的適體1的陣列。向陣列引入濃度為約100 nM之凝血酶且使其與適體1-探針複合物反應。陣列上適體1之螢光發射信號減少2.5倍，表明探針因適體1與凝血酶結合

而置換。

實例26：結合物

用生物素標記兩種結合物，且用於在塗佈有抗生物素蛋白之分析單元固相上產生捕捉表面。使用(1)適體及(2)單鏈Fv抗體片段(SCFV)在微量滴定盤上獲得分析試劑產生及發光讀取分析結果。用於基於發光之分析的適體及SCFV適合於本文所提供之尖端及成像系統及器件。可使用相機分析且讀取分析物以藉由在發色受質下將信號產生試劑自鹼性磷酸酶變為例如辣根過氧化酶或使用鹼性磷酸酶以及發色受質來量測顏色。可在任何筒(分析單元)形式中讀取微量滴定盤(或其他形式)中之尖端。

實例27：在微量滴定盤上使用DNA適體進行維生素D分析

在此實例中，使用單股DNA適體執行維生素D分析。將經生物素標記之DNA適體塗佈在具有複數個孔之微量滴定盤的塗佈有超抗生物素蛋白之聚苯乙烯表面上。在塗佈前，藉由在約95℃下加熱隨後立即在冰上冷卻使適體快速變性及複性。隨後將約15微升含再摺疊且經生物素標記之維生素D DNA適體之25 mM Tris(含有NaCl、MgCl₂、10%乙醇，pH 7.5)添加至各孔中以形成捕捉表面。塗佈後，洗滌孔且用約100 μL阻斷試劑阻斷以減少非特異性結合。

用Tris、NaCl、MgCl₂、10%乙醇(pH 7.5)稀釋分析之分析物(維生素D)，且與維生素D-鹼性磷酸酶結合物之溶液以所要分析範圍內之不同濃度混合，且提供於分析單元中以便在室溫下培育10分鐘。隨後用100 μL洗滌緩衝液洗滌分析單元三次。將約40 μL鹼性磷酸酶之受質添加至各分析孔中且在約10分鐘後收集化學發光資料(下表)。圖144為化學發光相對於維生素D之濃度(ng/ml)的圖。

維生素D(ng/ml)	0	1	100	200
化學發光(RLU)	155674.1	113824.3	49346.13	33824.27
	159471	110794.2	49699.04	35794.18
	162650.3	101655.7	53158.25	36655.66
	159920.8	99266.41	50195.63	35166.41
平均值	159429.1	106385.1	50599.76	35360.13
cv%	1.80	6.60	3.44	3.37
B/B0	100%	67%	32%	22%

實例28：在微量滴定盤上進行雌二醇分析

在此實例中，使用單鏈可變片段(scfv)執行類固醇激素(雌二醇)之分析。在此分析中，將分析單元之內表面在具有複數個孔之微量滴定盤的塗佈有超抗生物素蛋白之聚苯乙烯表面上用經生物素標記之scFv塗佈。將約15微升含1 μg/ml經生物素標記之scFv的Tris緩衝生理食鹽水(pH 8)、0.03% BSA、0.05% Thimerasol添加至各分析單元中。洗滌後，用100 μL固定試劑固定各分析單元，繼而用乾燥空氣隔夜乾燥且以乾燥形式儲存。

用Tris緩衝之生理食鹽水(pH 8)、BSA、Thimerasol稀釋分析之分析物(游離雌二醇)，與雌二醇-鹼性磷酸酶結合物在穩定劑(Biostab)中混合，且提供於塗佈有scfv之分析單元中以在室溫下培育約10分鐘。

隨後用100 μL洗滌緩衝液洗滌分析孔5次。洗滌後，將40 μL鹼性磷酸酶之致發光受質(KPL PhosphaGlo)添加至各分析單元中且在約10分鐘後收集化學發光資料(下表)。圖145為化學發光相對於雌二醇之濃度(pg/ml)的圖。

雌二醇(pg/ml)	0	20	200	2000
化學發光(RLU)	5505.454	1997.885	493.864	389.863
	5505.454	2005.112	496.932	374.317

	5659.613	1739.771	503.25	417.021
平均值	5557	1914	498	394
%cv	1.6	7.9	1.0	5.5
b/bo	100%	34%	9%	7%

實例29：白血球計數及差異分析

人類個體周邊血液中之白血球(WBC)濃度可在約1000個細胞/微升至100,000個細胞/微升範圍內。然而，在一些情況下，成像系統之範圍較受限，諸如為約4000個細胞/微升至7000個細胞/微升。若細胞濃度小於4000個細胞/微升，則系統可能不能點計具有10,000個細胞之標靶，而分析可能需要進行該點計。若樣本中之細胞濃度大於7000個細胞/微升，則各視野可能過於擁擠而不能執行準確影像分區及細胞點計。下文提供使WBC成像之例示性方法。

在一實例中，提供經組態以用於螢光分光光度測定法的成像系統(例如細胞儀)。該系統使用螢光分光光度測定法來量測樣本中之細胞濃度。用供成像用之螢光結合抗體(例如AF647-CD45)以及螢光核酸標記物(例如DRAQ5)標記樣本。分光光度計模組上之定量螢光讀取以低靈敏度(LLOQ為約5000個細胞/微升)但高動態範圍(例如5000-100,000個細胞/微升)提供WBC濃度之量測值。分光光度計上量測之濃度可計算使細胞懸浮液之最終濃度在4000-7000個細胞/微升之間的最佳稀釋比。

圖146展示WBC濃度之分光光度量測中螢光的高動態範圍。用波長為約640 nm之紅光激發用經螢光標記之抗CD45及其他抗體標記的WBC，且收集定量螢光發射光譜。將整合螢光繪製於y軸上。

實例30：藉由等溫擴增偵測鏈球菌(Streptococcus)A群

可藉由濁度偵測特定基因組樣本之等溫擴增。在此實例中，藉由等溫擴增使自鏈球菌A群(StrepA)細胞(儲備液濃度=2×10⁸個生物體/毫升，

來自 My biosource)提取之基因組樣本擴增，且反應之進展藉由濁度量測。在約95℃下熱處理約5 μl儲備細菌細胞及45 μl RT PCR級水(儲備液稀釋10倍)約8至10分鐘(使細胞破裂且釋放DNA)。稀釋基因組樣本且在含有擴增用試劑(例如DNA聚合酶、引子、緩衝液)之PCR管中引入約25 μl之樣本體積。在約61℃下培育PCR管約60分鐘，同時藉由濁度記錄反應進展。結果如下，且圖147展示濁度隨時間變化之圖。

濃度(個複本/微升)	T(分鐘)	標準偏差(分鐘)
800	24.0	1.6
80	28.3	2.9
0	n/a	n/a

以800個複本/微升及80個複本/微升進行三個各別實驗。實驗A使用具有合成基因組DNA模板之StrepA(Genescript)執行。實驗B藉由10倍稀釋儲備StrepA，繼而在95℃下約8至10分鐘熱不活化，且繼而連續稀釋熱不活化之十倍稀釋儲備 StrepA執行。實驗C使用不同濃度之儲備StrepA(不活化細菌細胞)，繼而在95℃下約10分鐘熱不活化執行。圖148中展示各實驗之回折點。對於800個複本/微升及80個複本/微升中之每一者，三個圖之組包括左側之實驗A、中間之實驗B及右側之實驗C。下表中提供平均回折點：

	實驗A		實驗B		實驗C	
	平均值	標準偏差	平均值	標準偏差	平均值	標準偏差
800 cp/μL	23.1	0.6	24	1.6	21.1	0.4
80 cp/μL	27	1.4	28.3	2.9	27.2	1.8

實例31：使用磁性珠粒

在此實例中，使用磁性珠粒經由ELISA分析來分析蛋白質及小分

子。圖149示意性說明ELISA分析之例示性方法。分析包括兩種蛋白質，蛋白質1及蛋白質2。蛋白質1之樣本稀釋度為約150倍(尖端協定=30倍)，樣本體積為約0.007 μL ，經稀釋樣本之體積為約1 μL ，反應體積為約3 μL ，且反應時間為約10分鐘(min)(樣本培育及受質培育)。蛋白質1之結果展示於下表中。蛋白質1之測試2的結果展示於圖150中。

濃度 (ng/mL)	測試1	測試2	測試3	計算1	計算2	計算3	回收1	回收2	回收3	% CV
40	59316	46862	57396	40	40	40	99	99	99	0.3
20	25120	25225	25099	21	20	20	104	102	102	1.2
10	10551	11360	11463	9	10	10	92	96	97	2.6
5	5940	5607	5825	5	5	5	106	102	102	2.2
2.5	2476	2588	2497	2.5	2.5	2.5	99	99	100	0.3
0	190	166	166							

蛋白質2之樣本稀釋度為約667倍，樣本體積為約0.0015 μL ，經稀釋樣本之體積為約1 μL ，反應體積為約3 μL ，且反應時間為約10分鐘(樣本培育及受質培育)。蛋白質2之結果展示於下表中。蛋白質2之測試1之結果展示於圖151中。

濃度(ng/mL)	測試1	測試2	計算1	計算2	回收1	回收2	% CV
200000	322161	381202	203030	172490	102	86	12
100000	232455	310876	107910	117056	108	117	6
50000	133290	192460	43286	52415	87	105	13
25000	89282	101643	24919	21908	100	88	9
12500	49856	59574	12576	12041	101	96	3
4000	15926	18350	4117	4059	103	101	1
1000	4547	4722	1140	1124	114	112	1
200	1238	1229	163	172	82	86	4
20	504	458	22	21	109	106	2
0	302	292					

由以上應瞭解，儘管已說明且描述特定實施例，但仍可對其進行各種修改，且該等修改涵蓋於本文中。本發明亦不欲受本說明書中所提供之特定實例限制。儘管已參考上述說明書描述本發明，但本文中較佳實施例之描述及說明並不欲自限制意義上解釋。

此外，應瞭解，本發明之所有態樣並不限於本文所述之特定描述、組態或相對比例，而是取決於各種條件及變數。熟習此項技術者應顯而易見本發明實施例之形式及細節的各種修改。因此本發明預期亦應涵蓋任何該等修改、變化及相等物。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種處理樣本之方法，該方法包含：

(a)將筒插入樣本處理裝置，

其中該筒包含：

第一分析單元及第二分析單元，其中該第一分析單元及該第二分析單元可各自獨立地從該筒移動，其中至少該第一分析單元具有吸管尖端的形狀，其中該筒另包含用於在該第一分析單元中進行第一分析及在該第二分析單元中進行第二分析之試劑；且

其中該樣本處理裝置包含：

偵測站，其包含分光光度計、PMT、光電二極體、相機、CCD感測器或CMOS感測器之至少一種；

流體處理系統，其包含管口，該管口經組態以與吸管尖端接面且經組態以移動樣本；及

成像器件，其經組態以獲得該管口及該吸管尖端之影像；

(b)在該樣本處理裝置中將該樣本分離為至少第一部分及第二部分；

(c)將該樣本的第一部分保留在該第一分析單元中，及藉由該流體處理系統將該樣本的第二部分傳輸到該第二分析單元；

(d)獲取在該樣本處理裝置內之該管口及該吸管尖端的影像，以有效提供關於影像是否存在與該吸管尖端關聯之不適宜條件的資訊；及

(e)處理該樣本。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中該不適宜條件包括以下中之一或多者：在該樣本中的氣泡。

【請求項3】

如請求項1之方法，其中該不適宜條件包括以下中之一或多者：粒子，其干擾該樣本之特徵之量測。

【請求項4】

如請求項1之方法，其中該不適宜條件包括以下中之一或多者：碎屑，其干擾該樣本之特徵之量測。

【請求項5】

如請求項1之方法，其中該不適宜條件包括以下中之一或多者：沈澱物，其干擾該樣本之特徵之量測。

【請求項6】

如請求項1之方法，其中該不適宜條件包括以下中之一或多者：氣泡、粒子、纖維、碎屑及沈澱物，其干擾該樣本之特徵之量測。

【請求項7】

如請求項1之方法，其中該吸管尖端具有圓錐形形狀。

【請求項8】

如請求項1之方法，其中該樣本處理裝置另包含離心機，且至少部分之該樣本係在該離心機中離心。

【請求項9】

如請求項1之方法，其中該樣本處理裝置將資料自該偵測站傳送至外部器件。

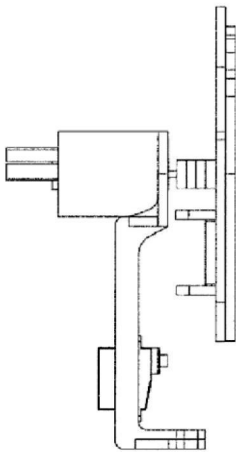
【請求項10】

如請求項1之方法，其中該樣本為血液，且其中將該樣本分離為至少第一部分及第二部分包含將該血液分離為血漿部分及含紅血球細胞部分。

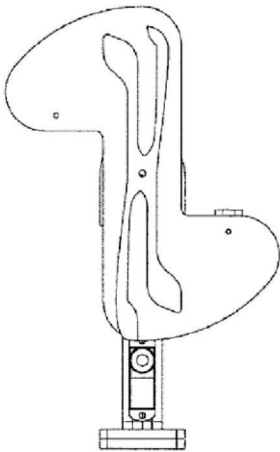
【請求項11】

如請求項10之方法，其中該第一部分包含該血漿部分，及該第二部分包含該含細胞部分。

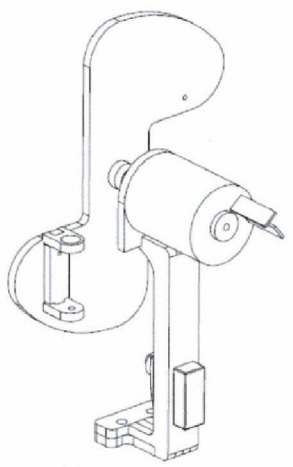
【發明圖式】



【圖 1】



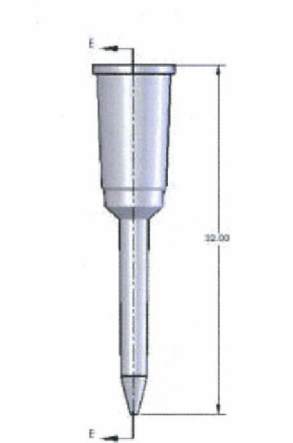
【圖 2】



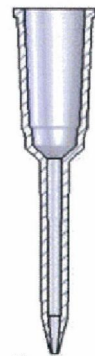
【圖 3】



【圖 4】

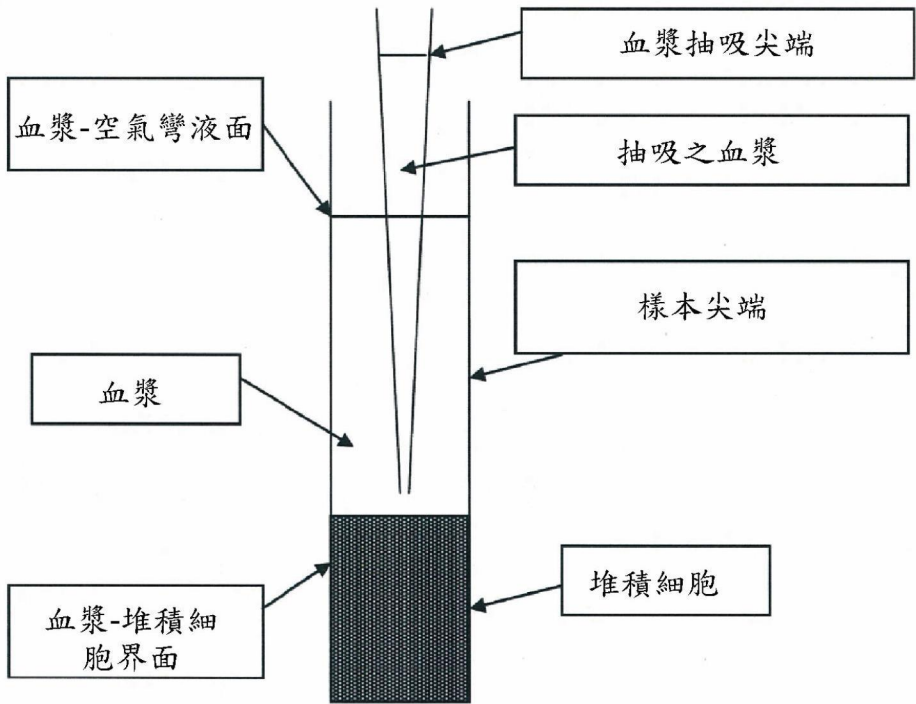


【圖 5】

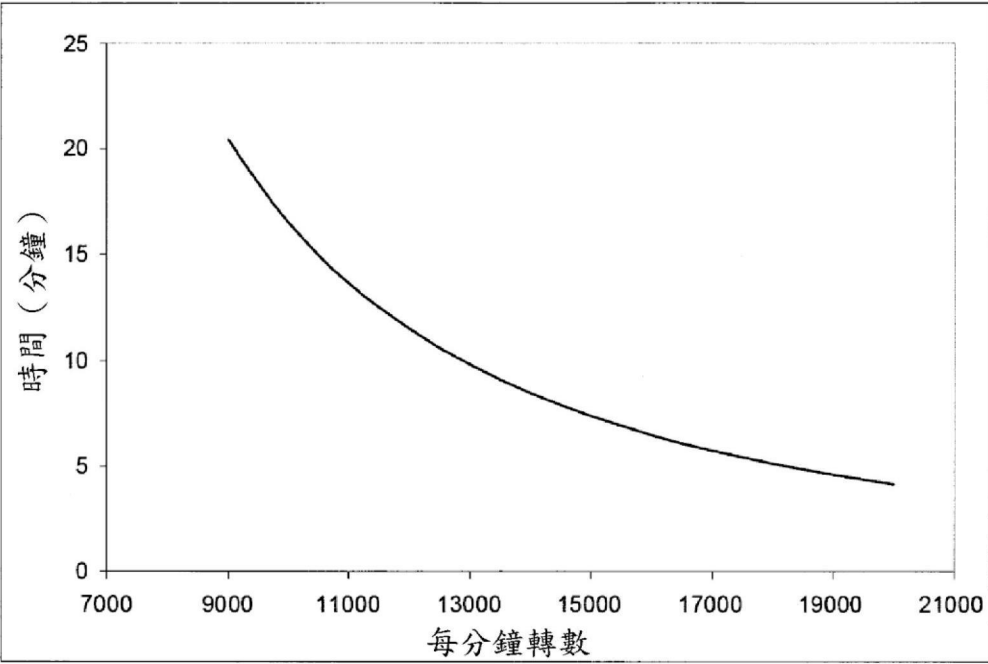


截面

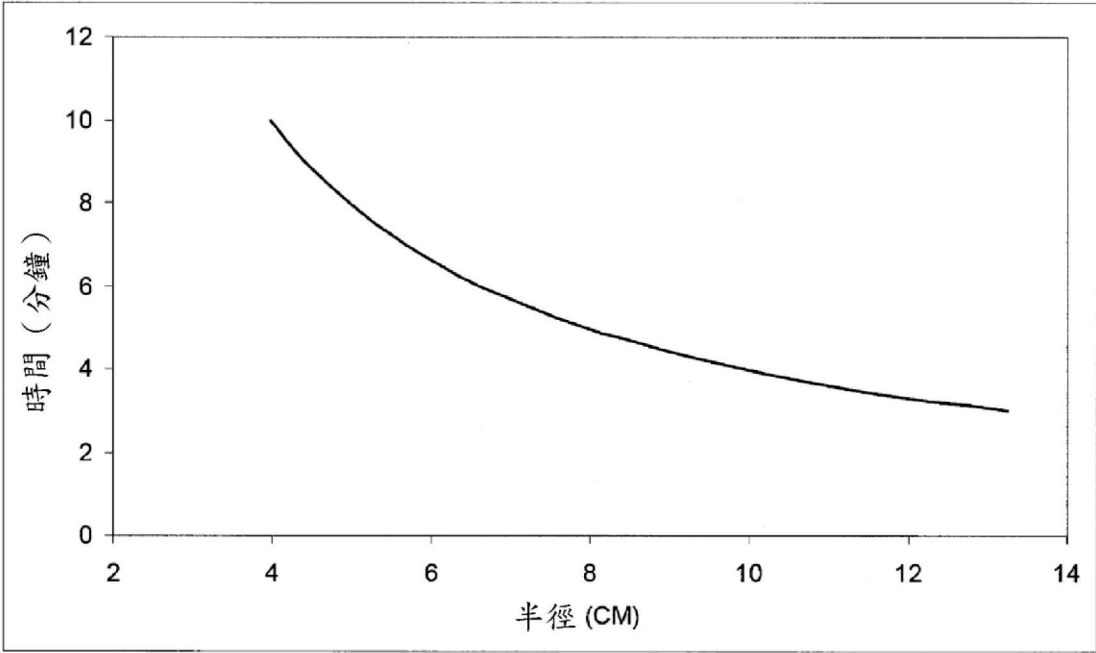
【圖 6】



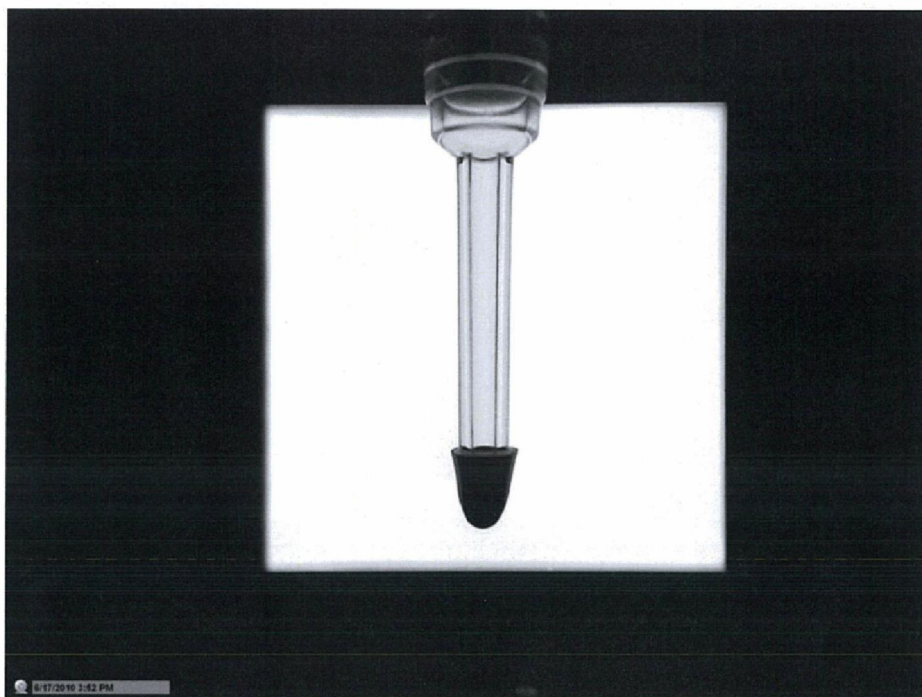
【圖 7】



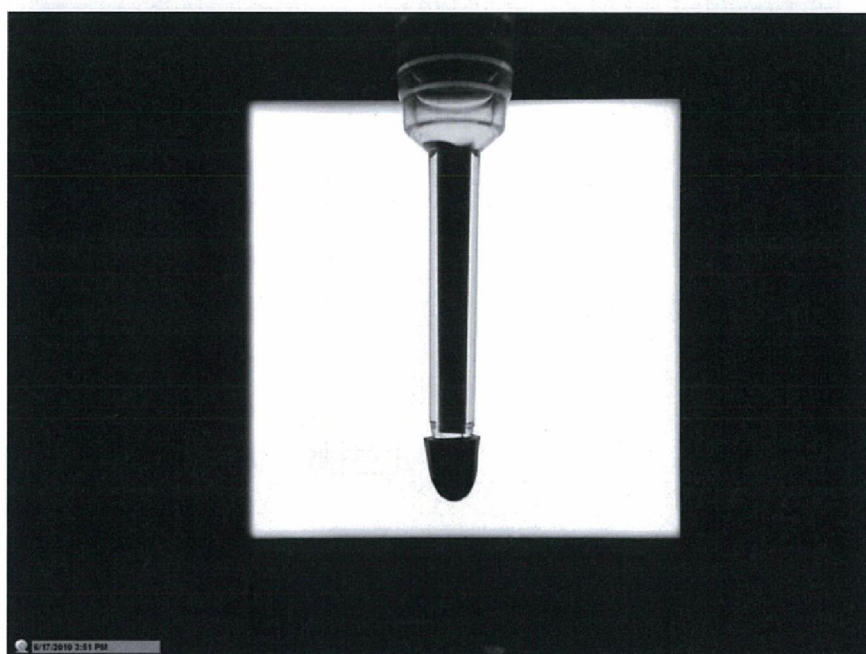
【圖 8】



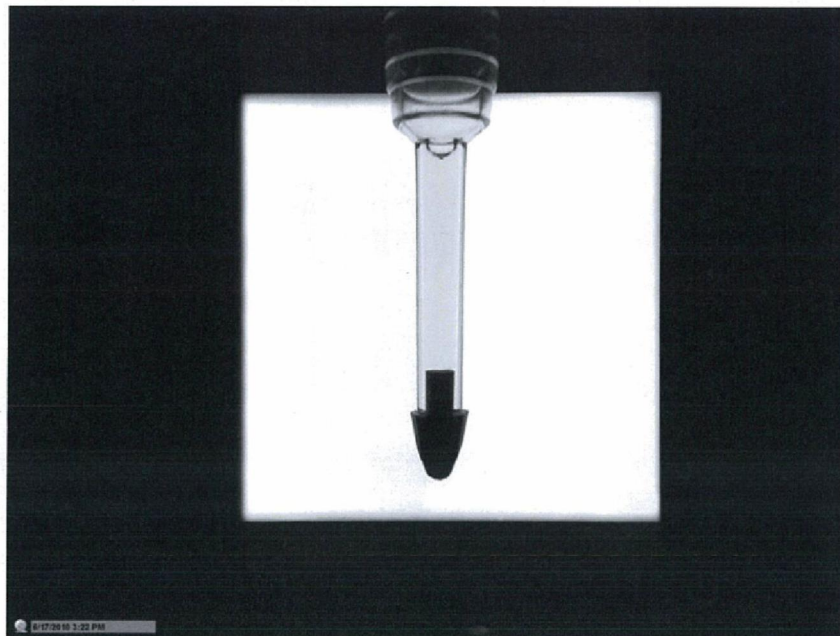
【圖 9】



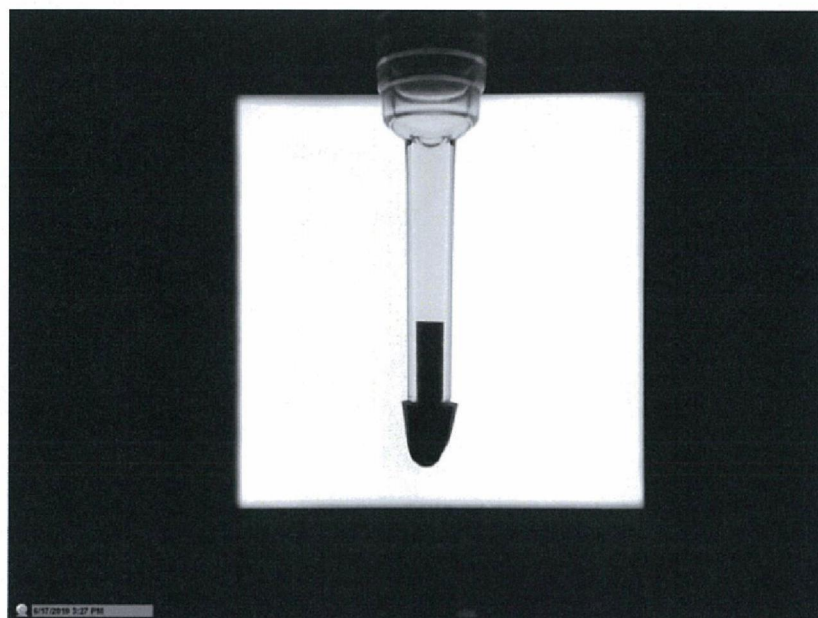
【圖 10】



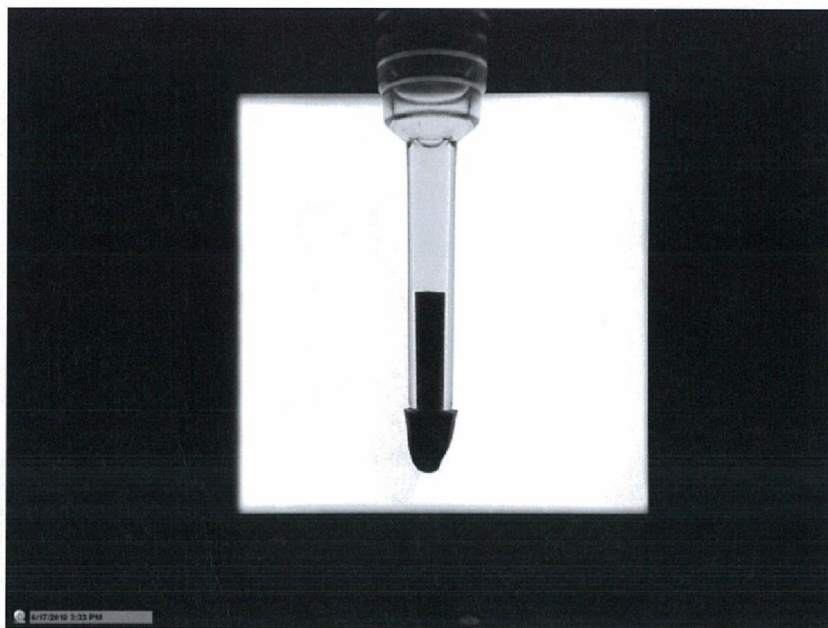
【圖 11】



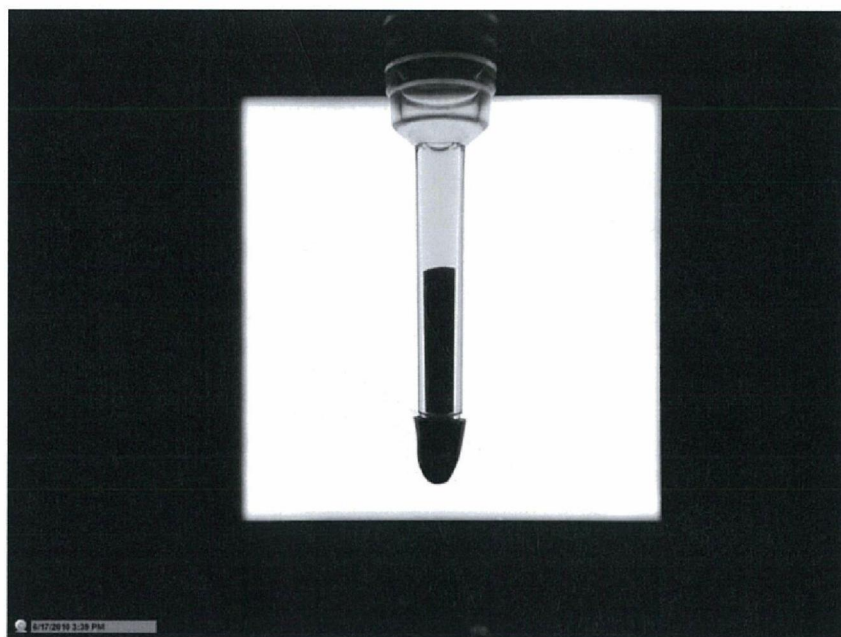
【圖 12】



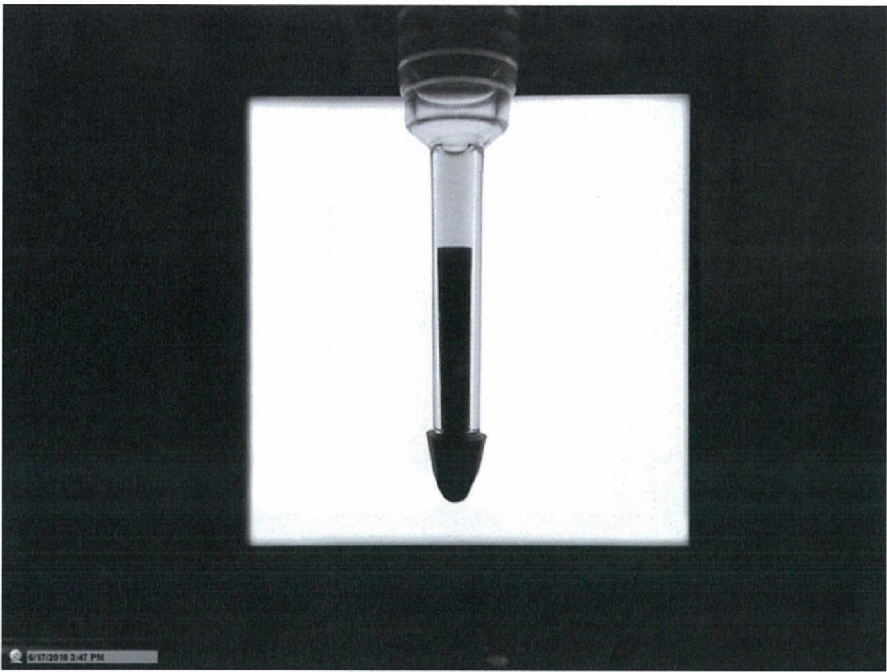
【圖 13】



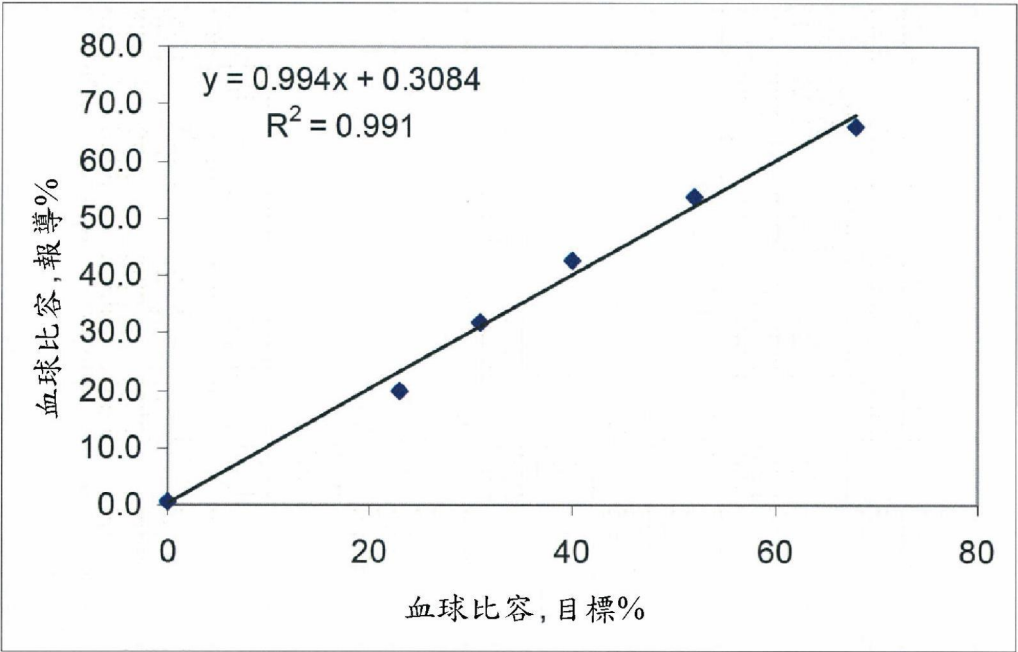
【圖 14】



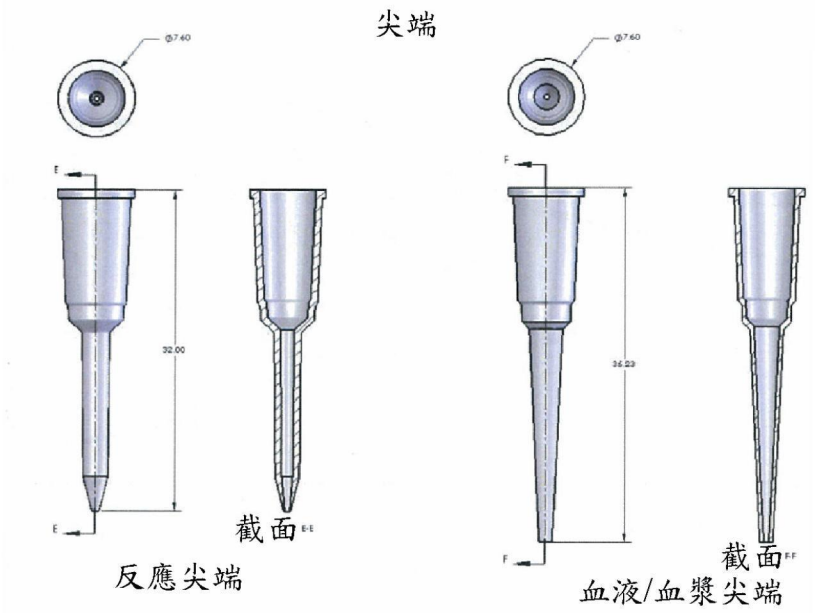
【圖 15】



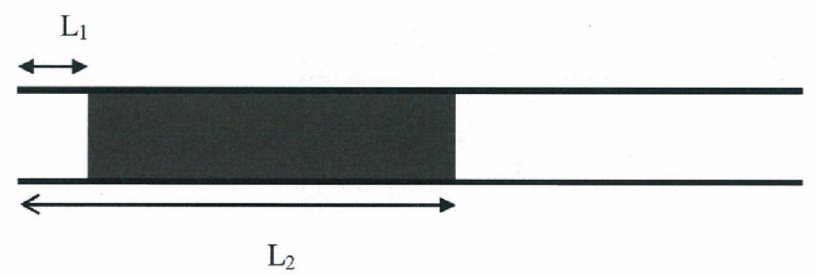
【圖 16】



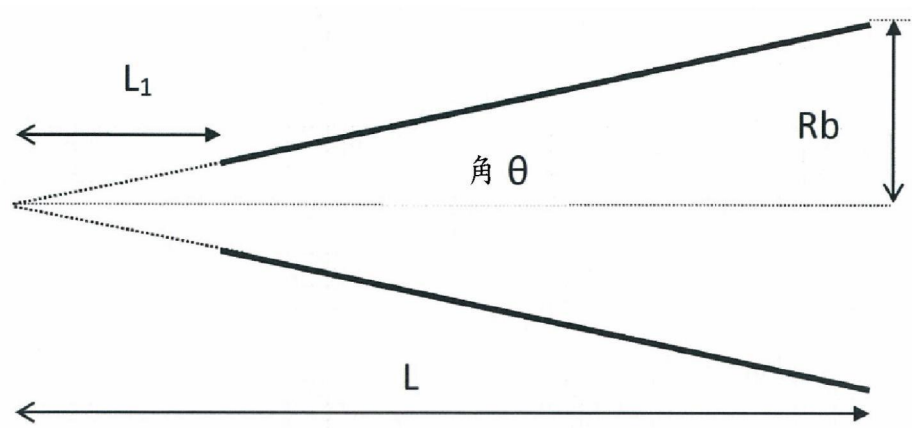
【圖 17】



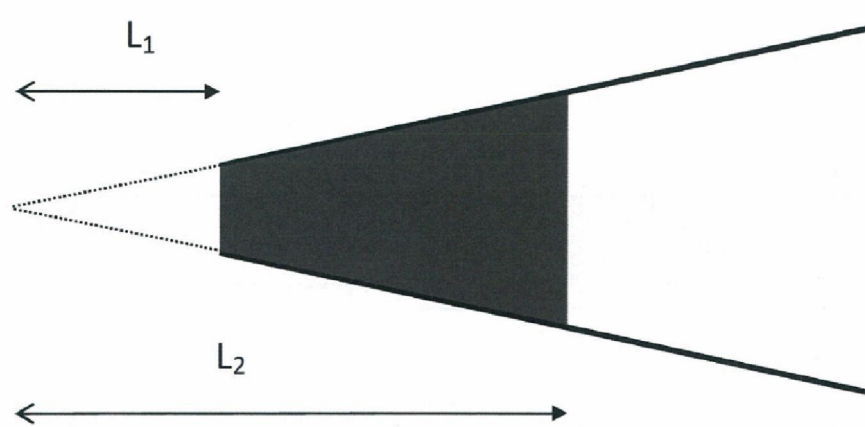
【圖 18】



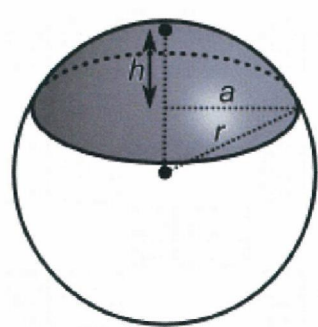
【圖 19】



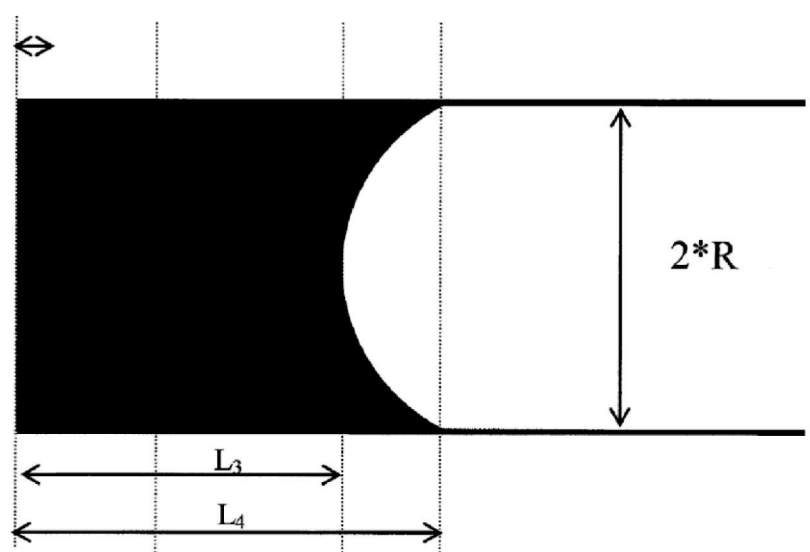
【圖 20】



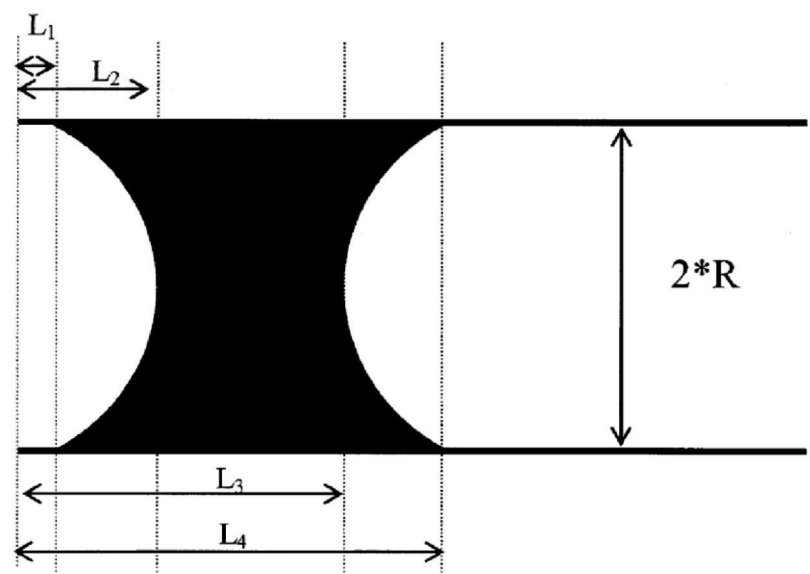
【圖 21】



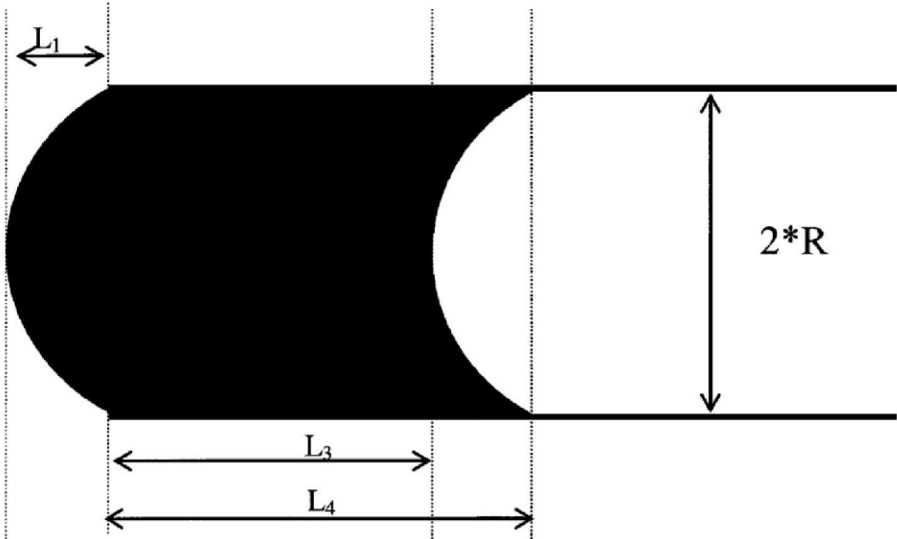
【圖 22】



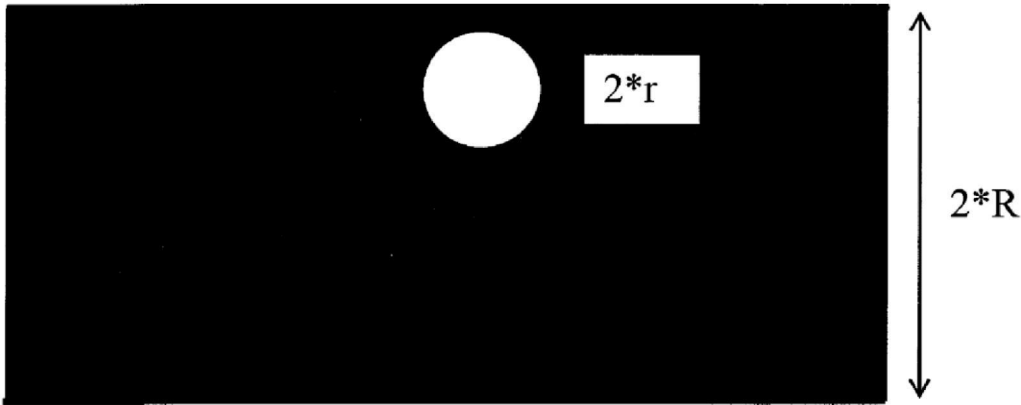
【圖 23】



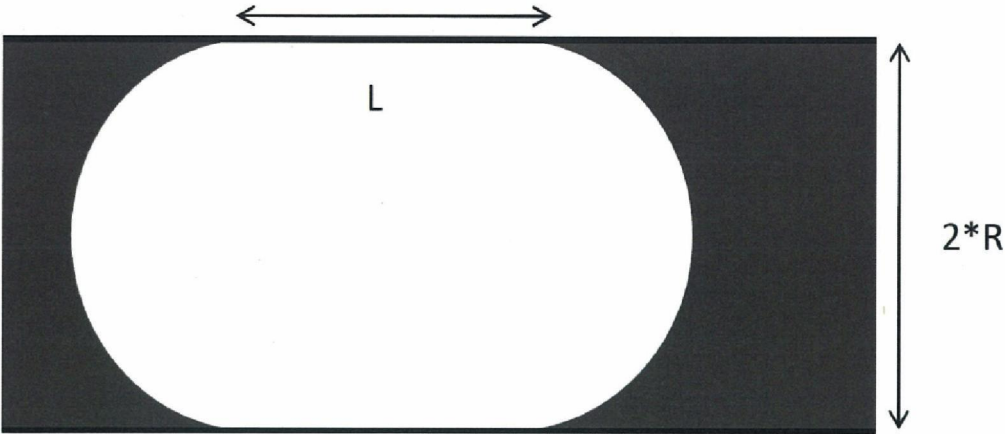
【圖 24】



【圖 25】



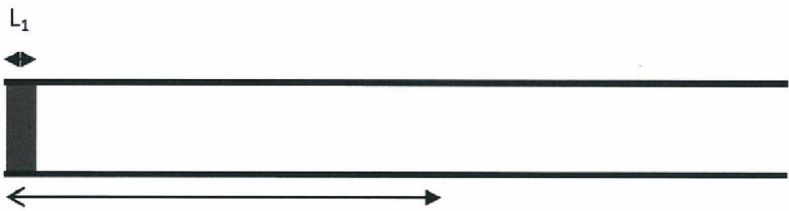
【圖 26】



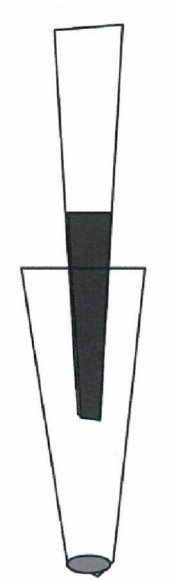
【圖 27】



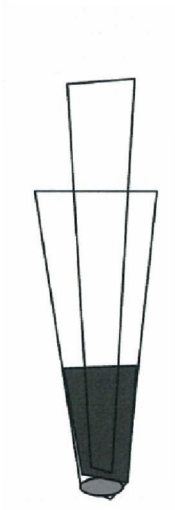
【圖 28】



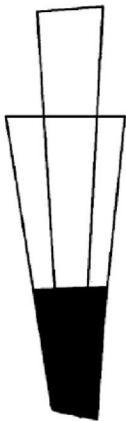
【圖 29】



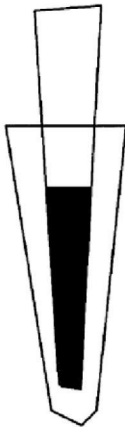
【圖 30】



【圖 31】



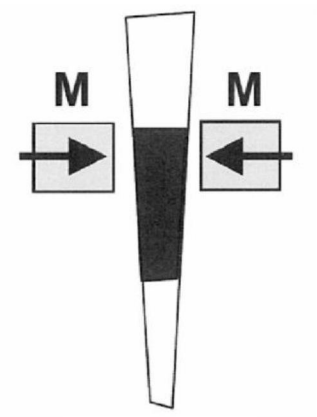
【圖 32】



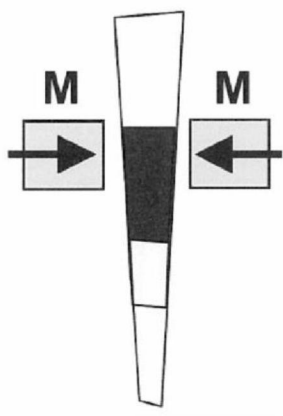
【圖 33】



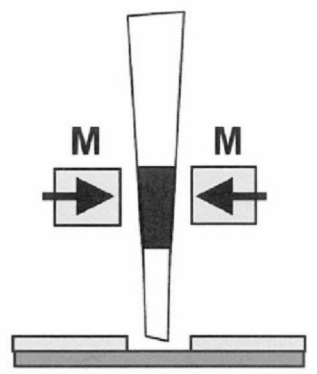
【圖 34】



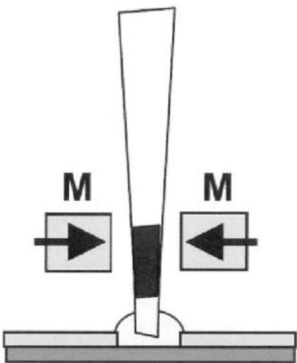
【圖 35】



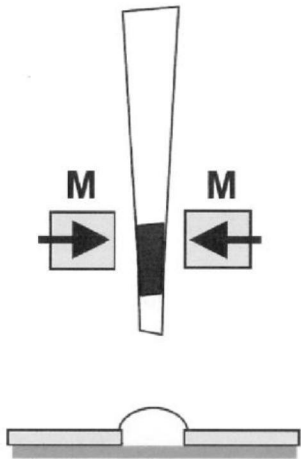
【圖 36】



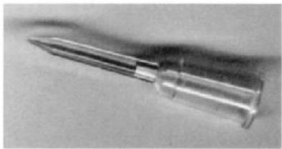
【圖 37】



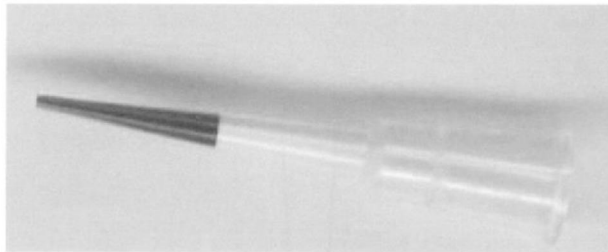
【圖 38】



【圖 39】



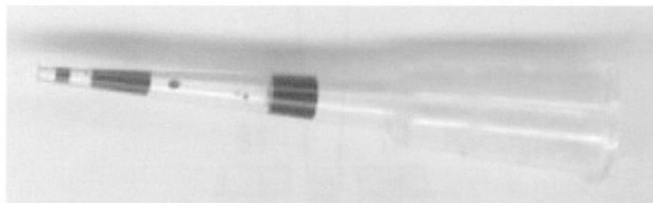
【圖 40】



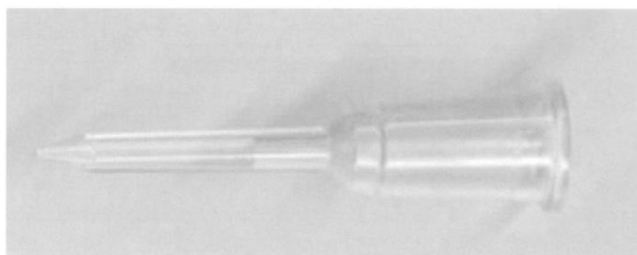
【圖 41】



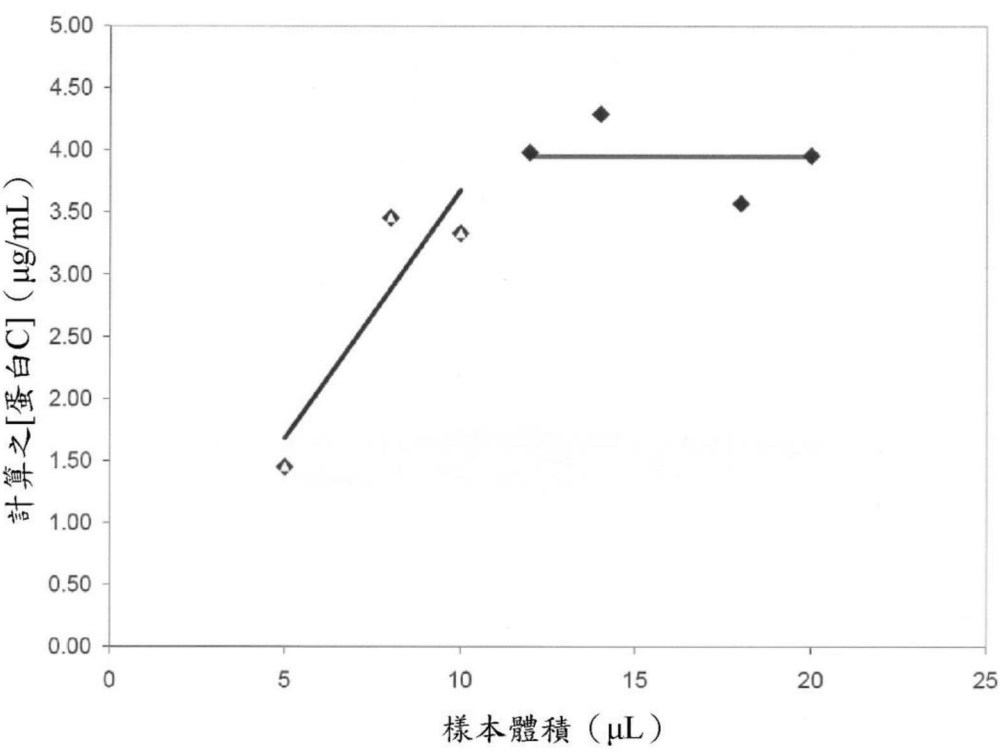
【圖 42】



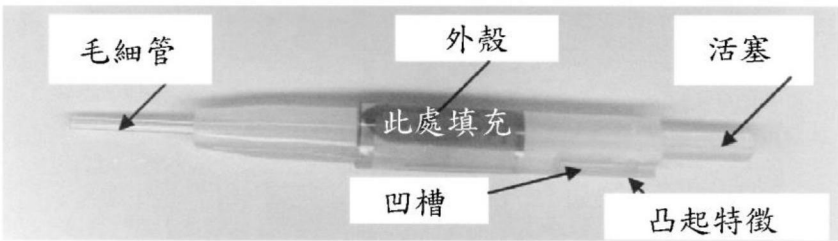
【圖 43】



【圖 44】



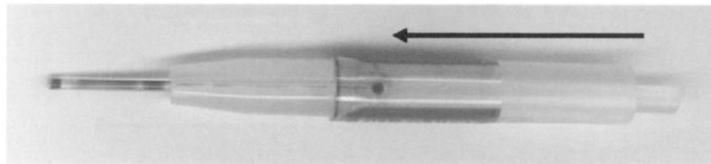
【圖 45】



【圖 46】



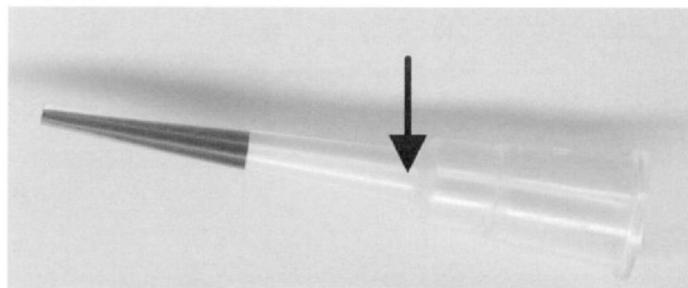
【圖 47】



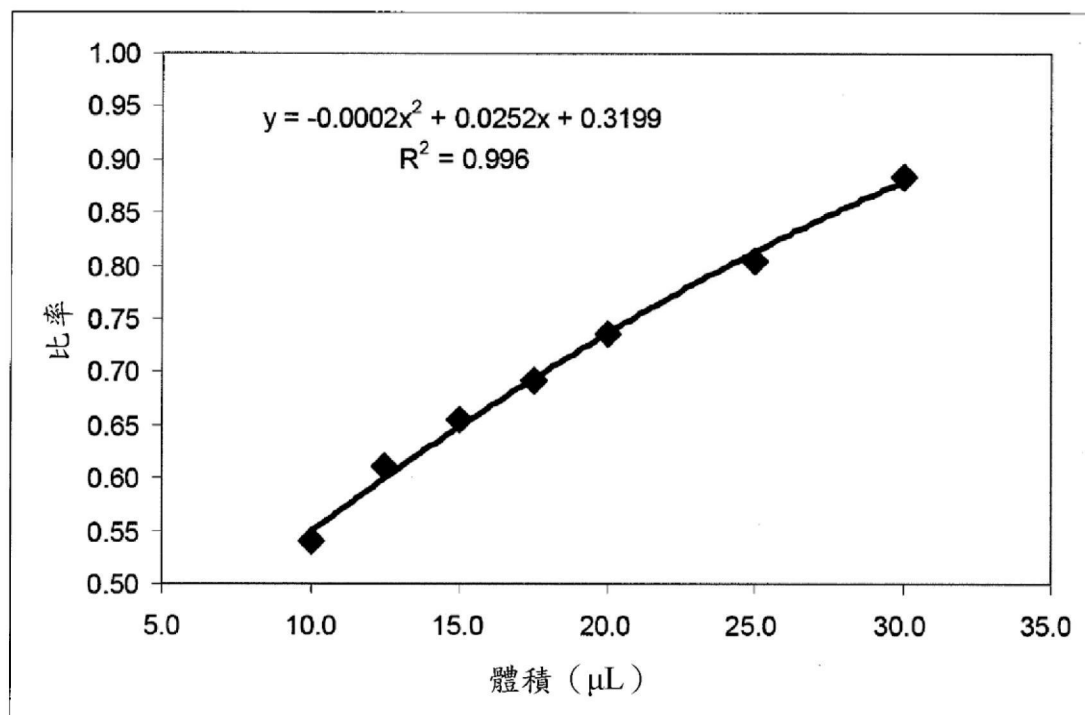
【圖 48】



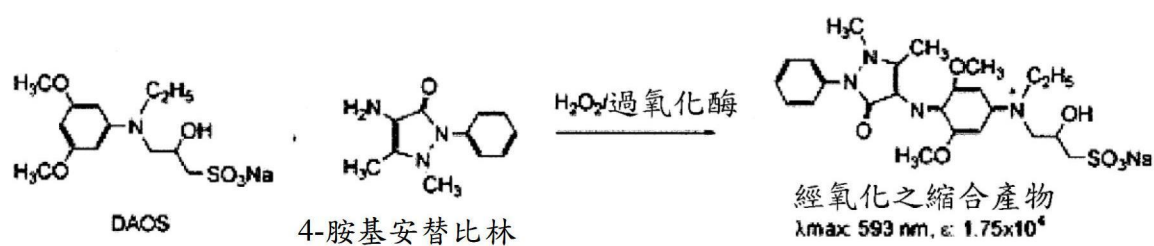
【圖 49】



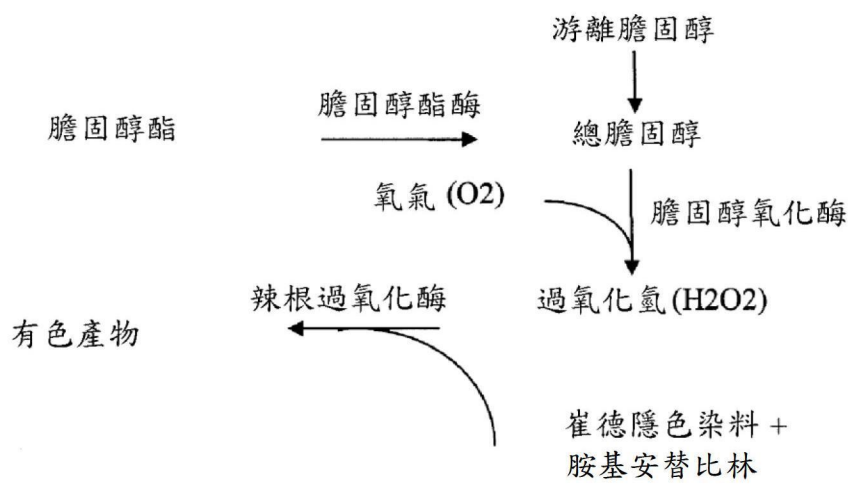
【圖 50】



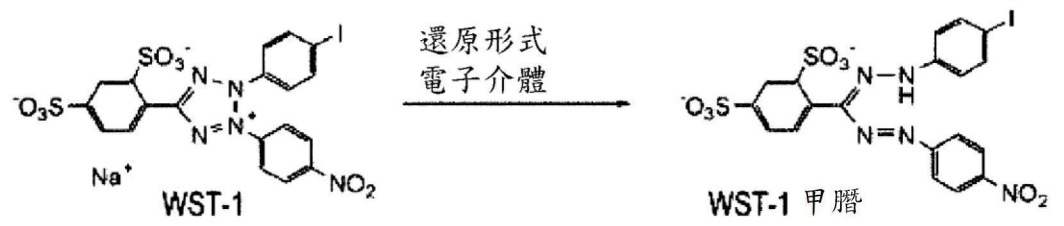
【圖 51】



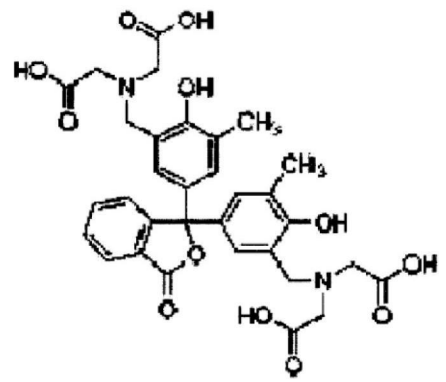
【圖 52】



【圖 53】



【圖 54】



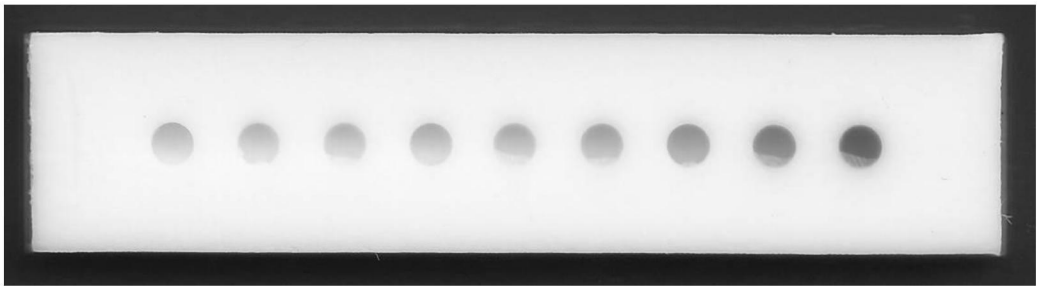
【圖 55】



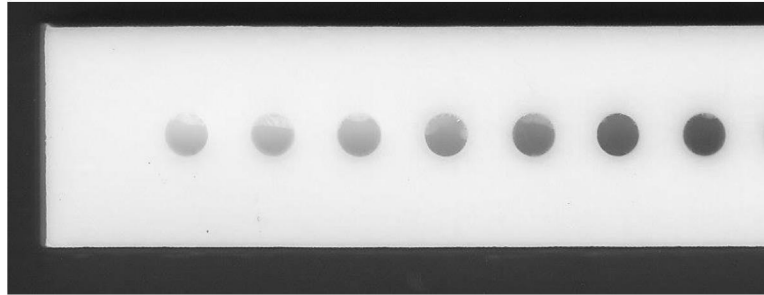
【圖 56】



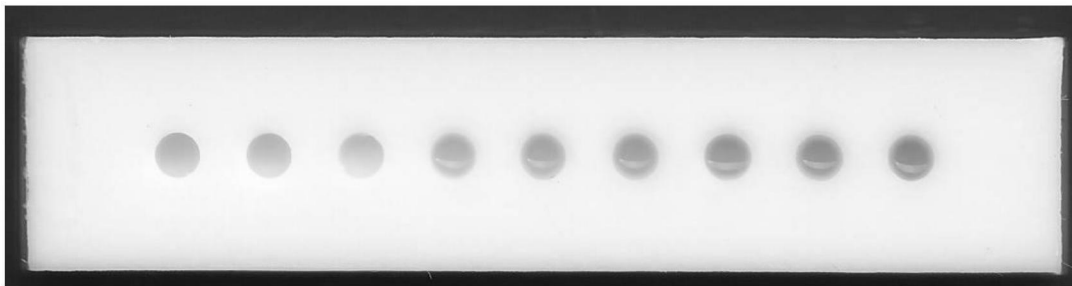
【圖 57】



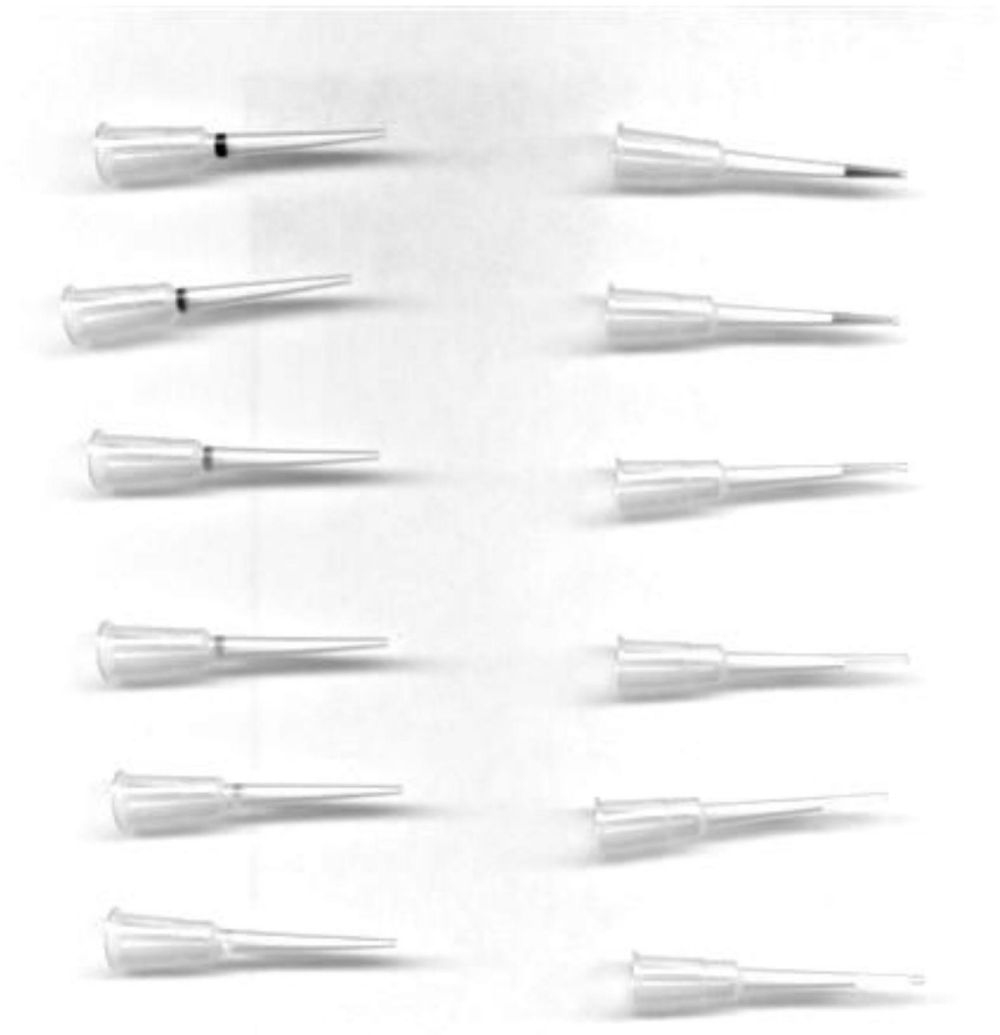
【圖 58】



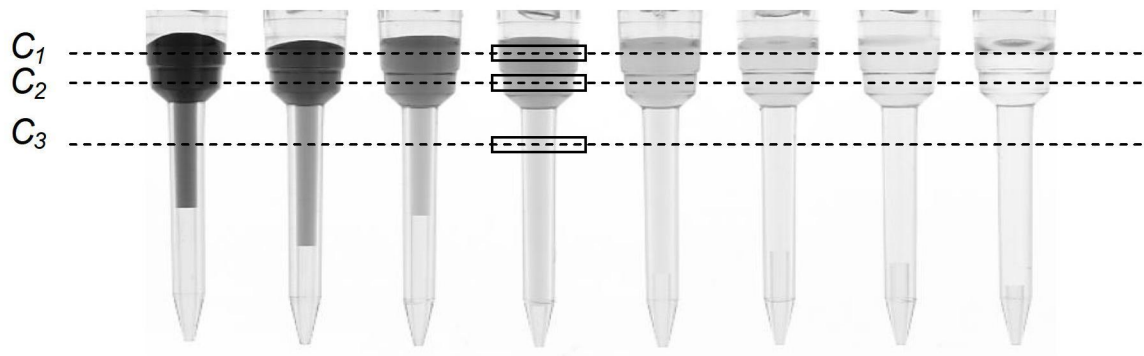
【圖 59】



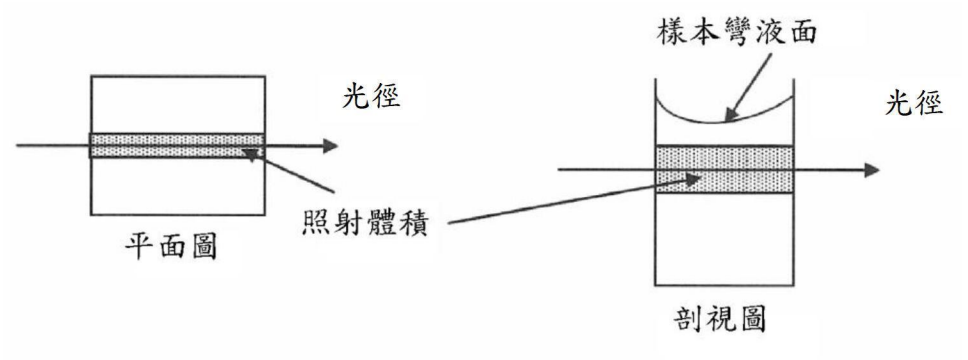
【圖 60】



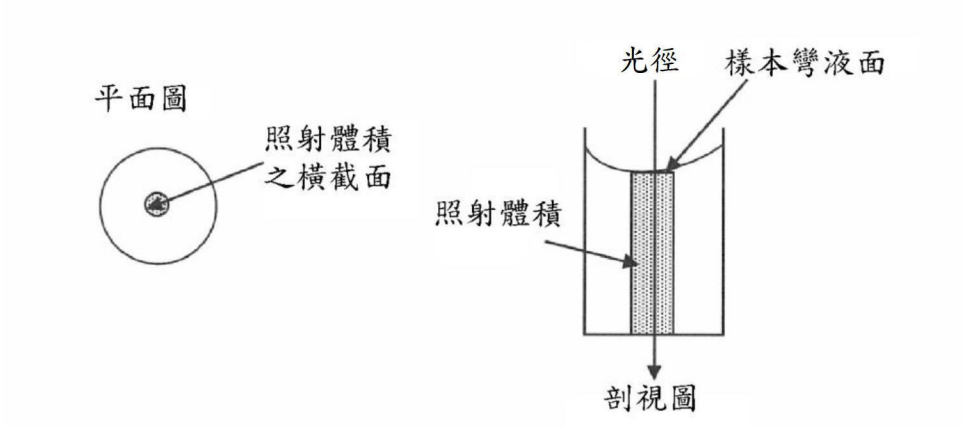
【圖 61】



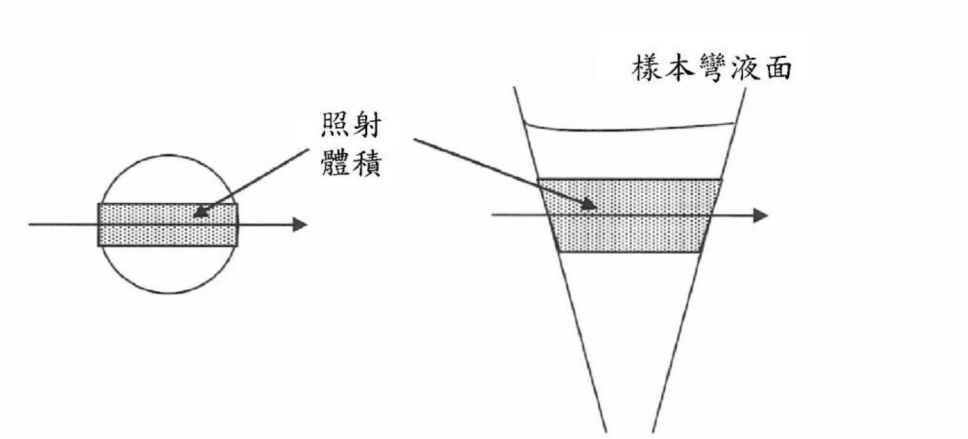
【圖 62】



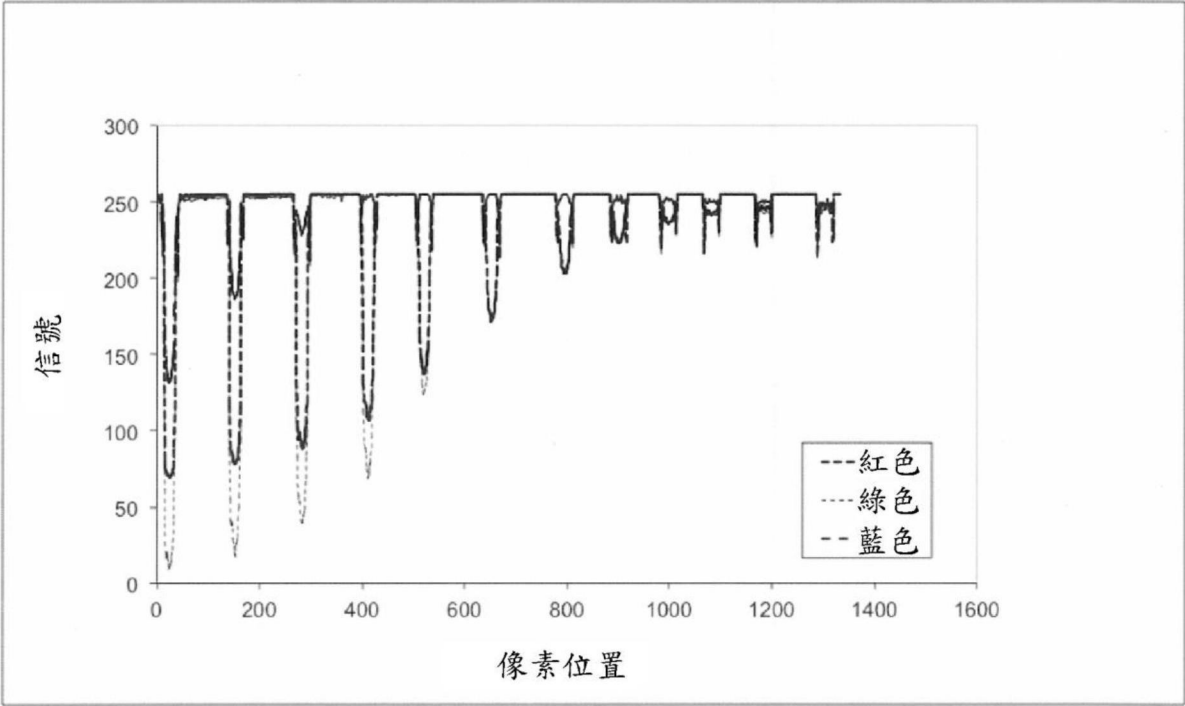
【圖 63】



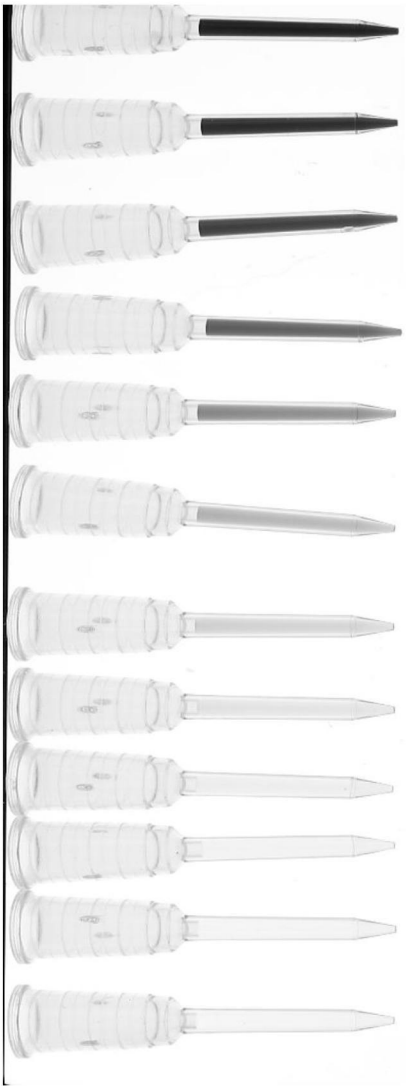
【圖 64】



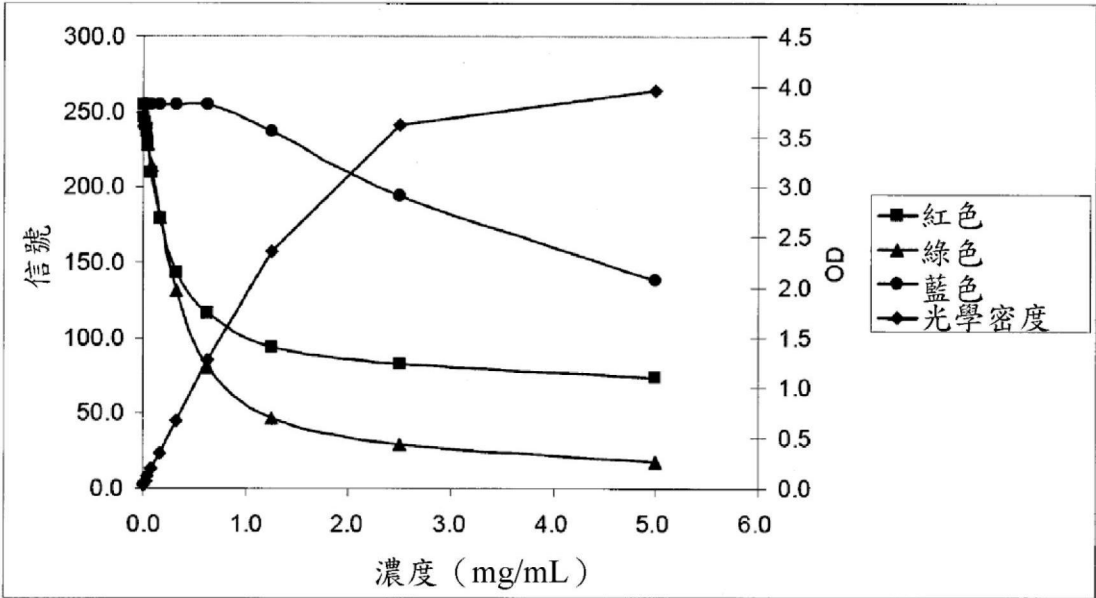
【圖 65】



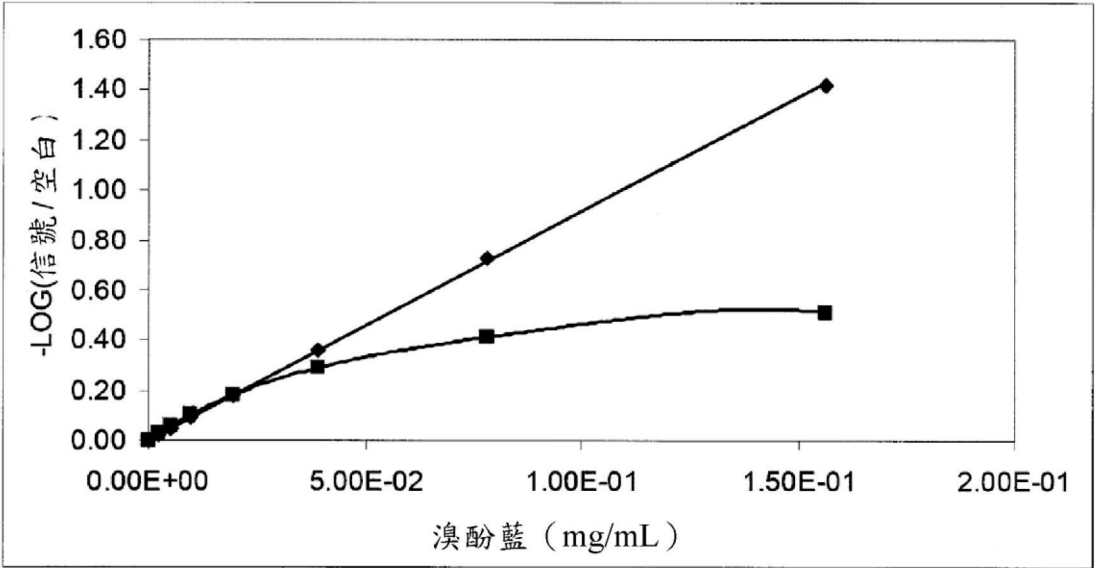
【圖 66】



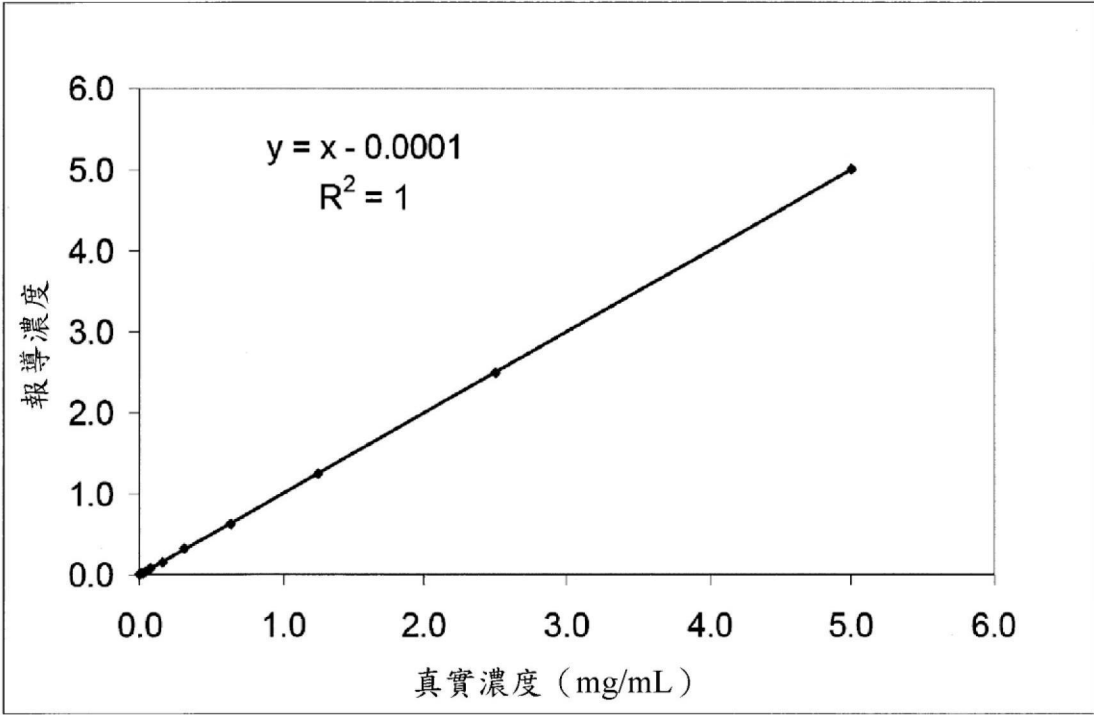
【圖 67】



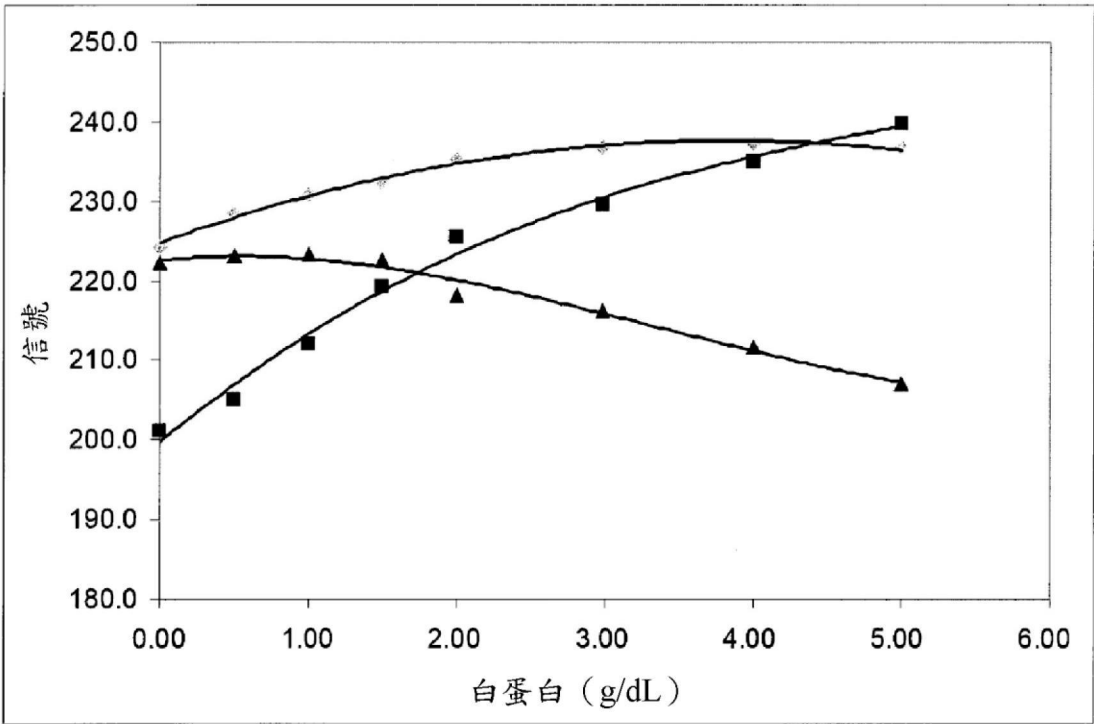
【圖 68】



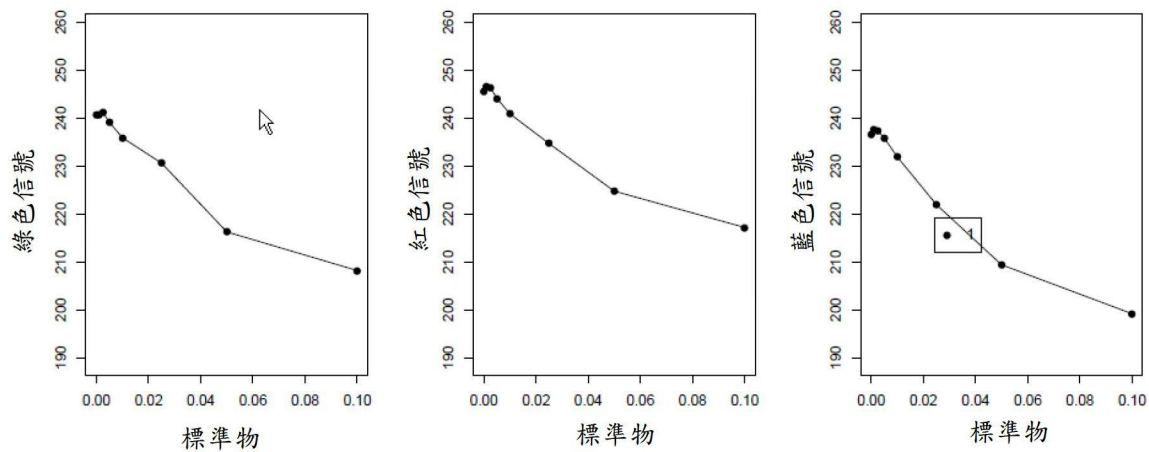
【圖 69】



【圖 70】



【圖 71】



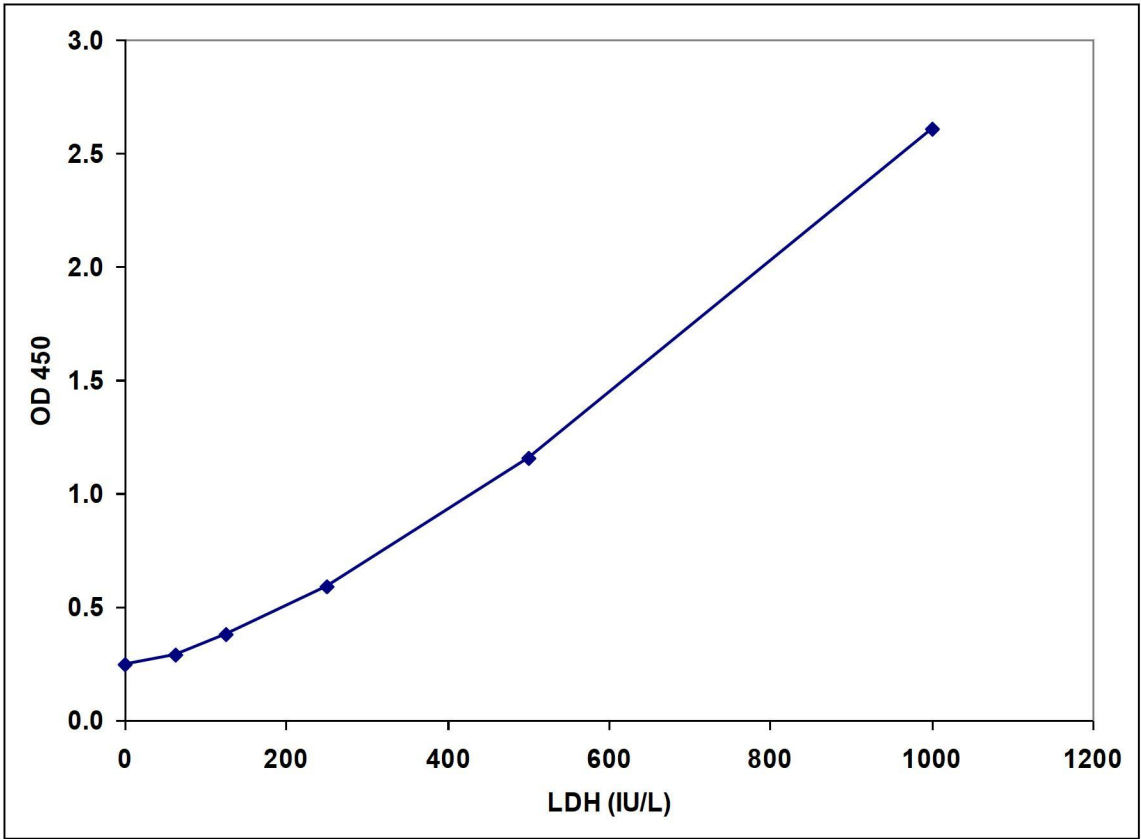
【圖 72】



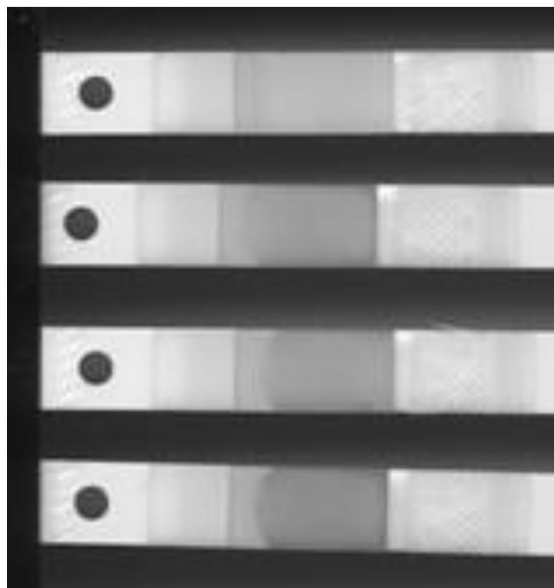
【圖 73】



【圖 74】



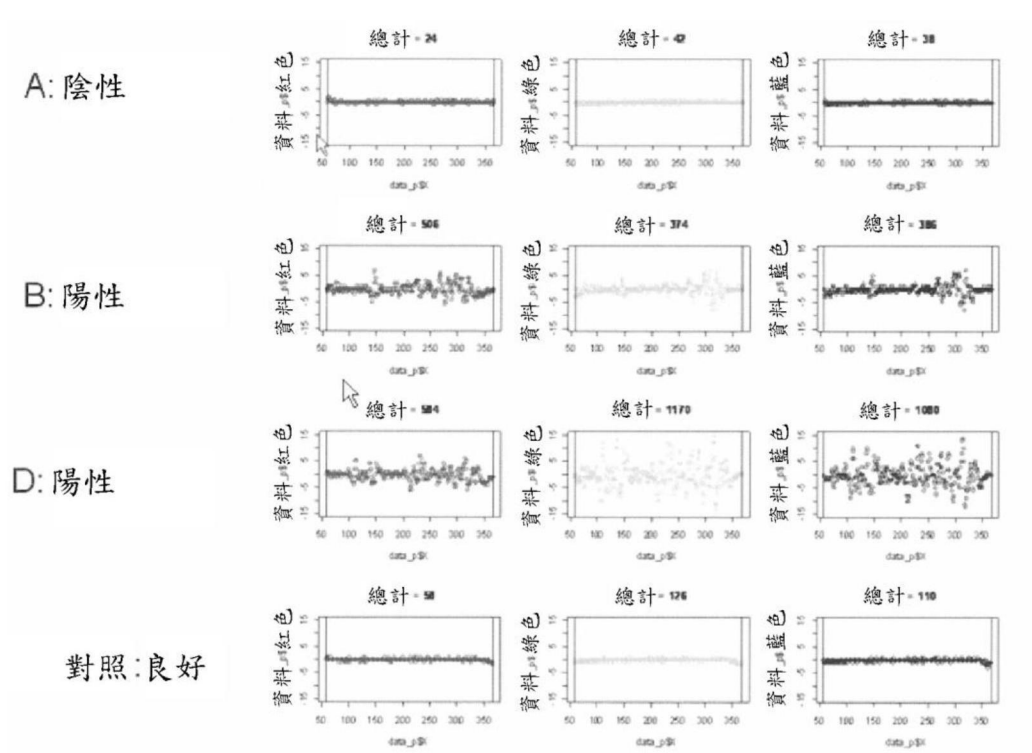
【圖 75】



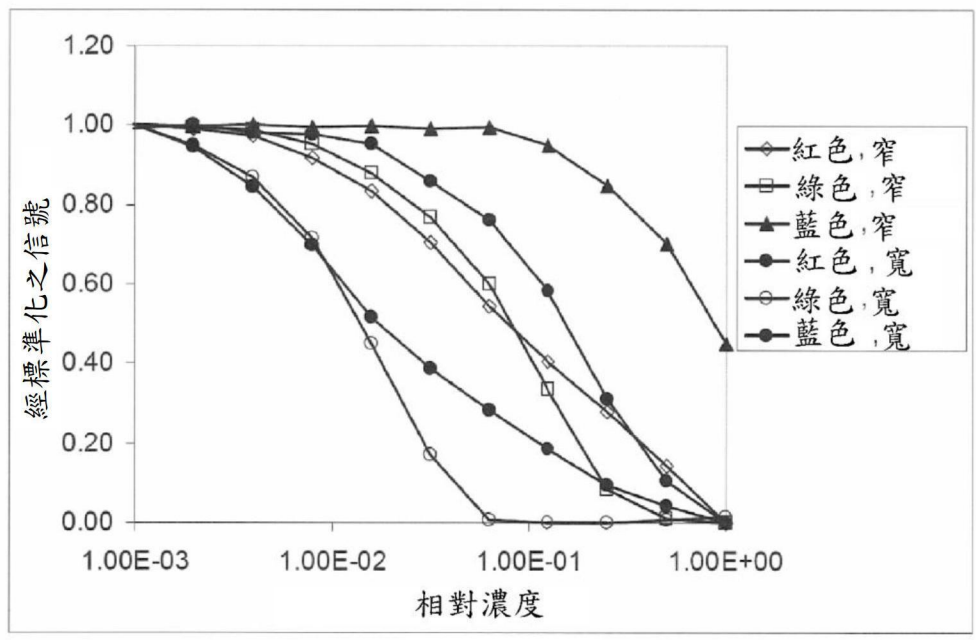
【圖 76】



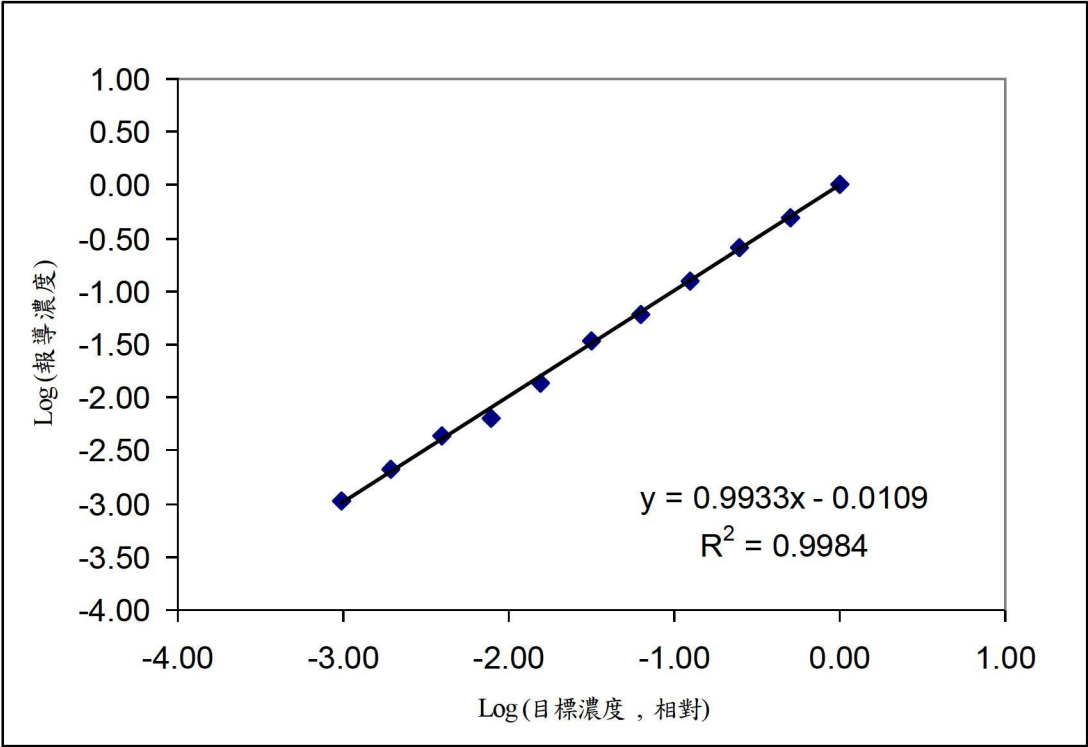
【圖 77】



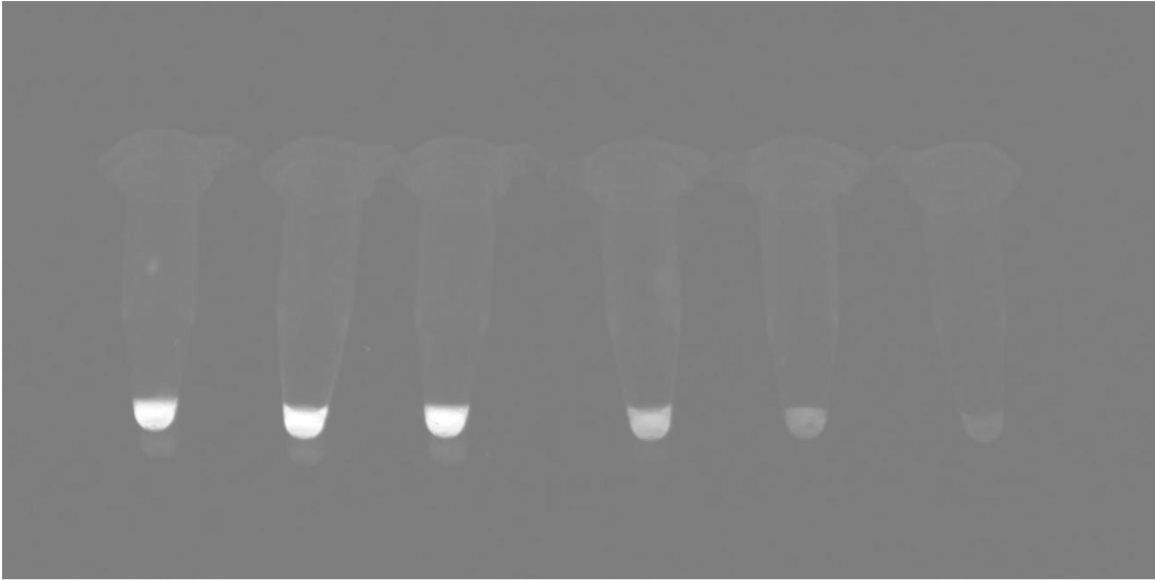
【圖 78】



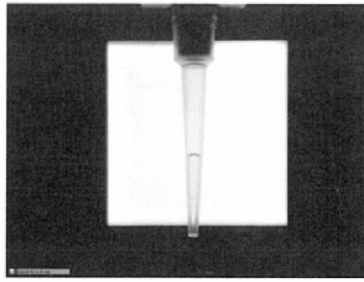
【圖 79】



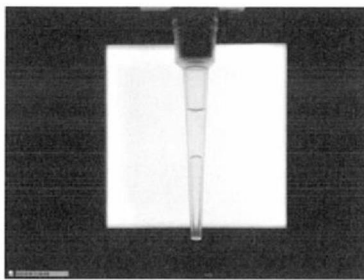
【圖 80】



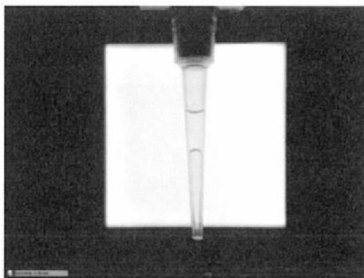
【圖 81】



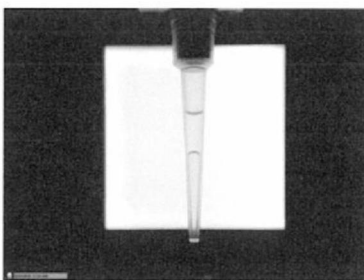
【圖 82】



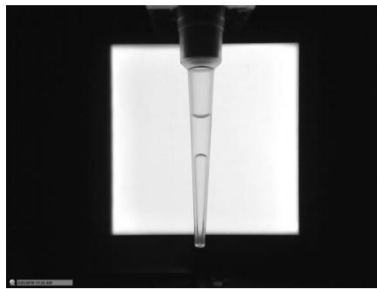
【圖 83】



【圖 84】



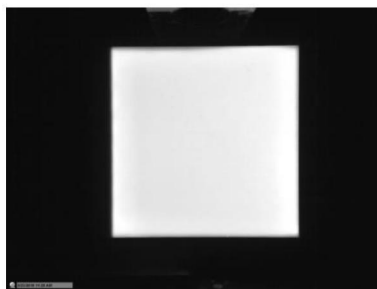
【圖 85】



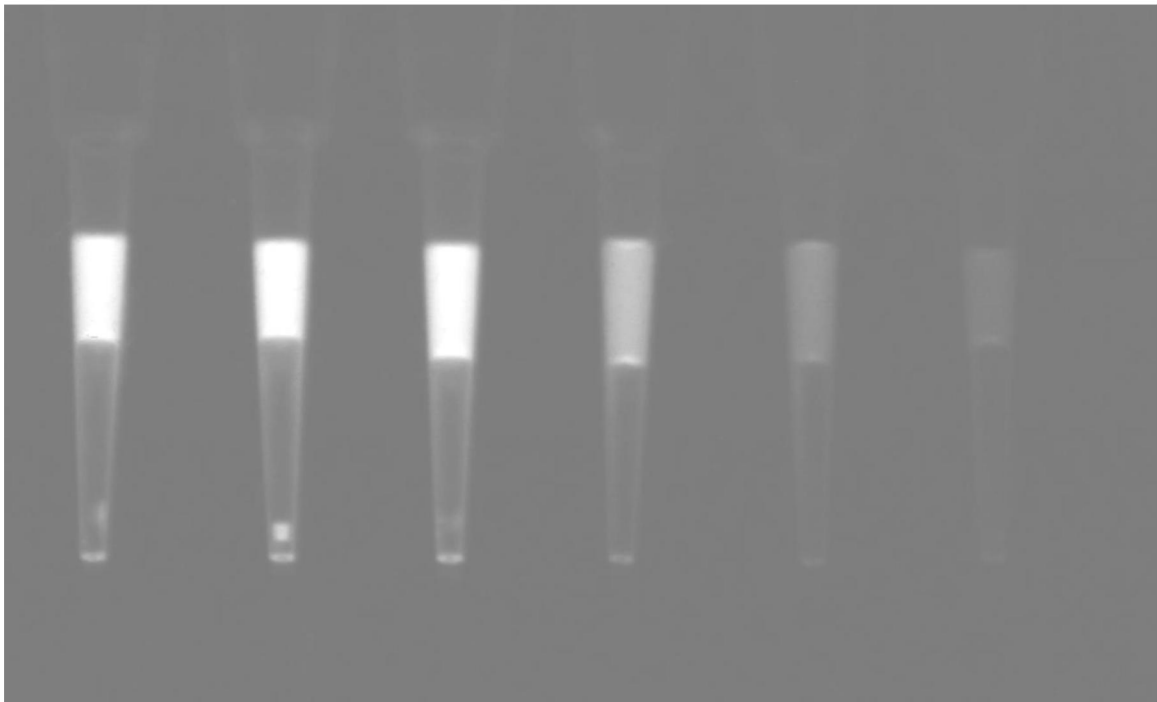
【圖 86】



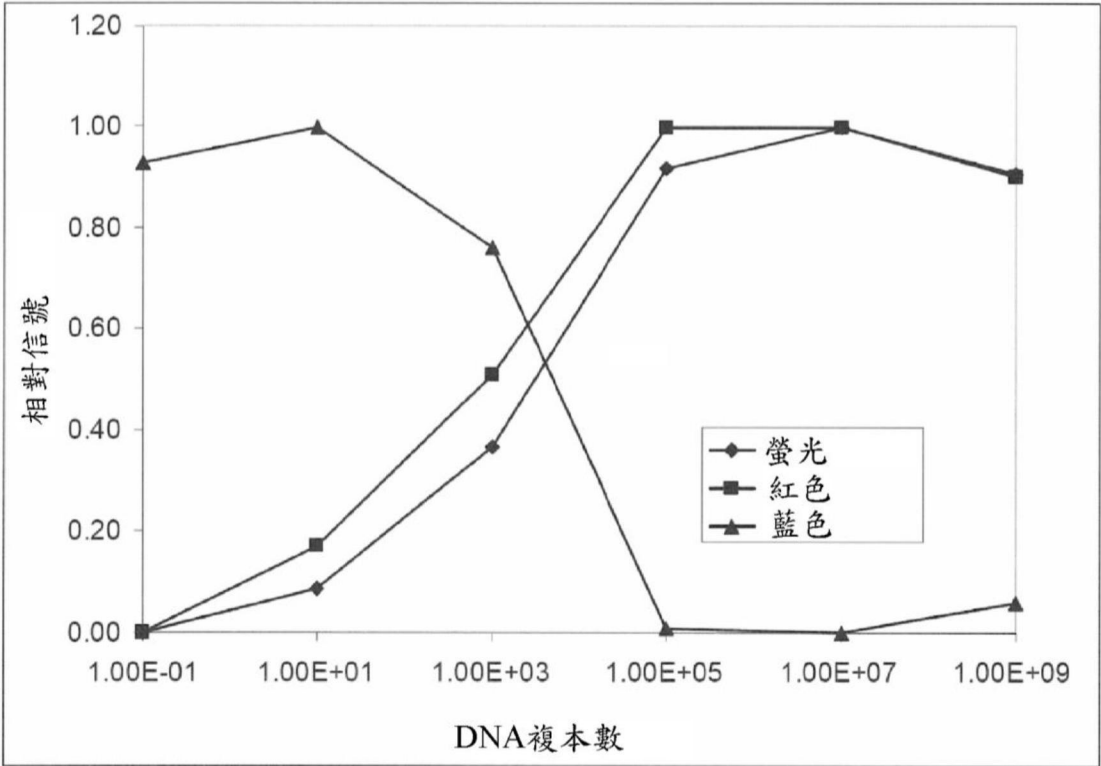
【圖 87】



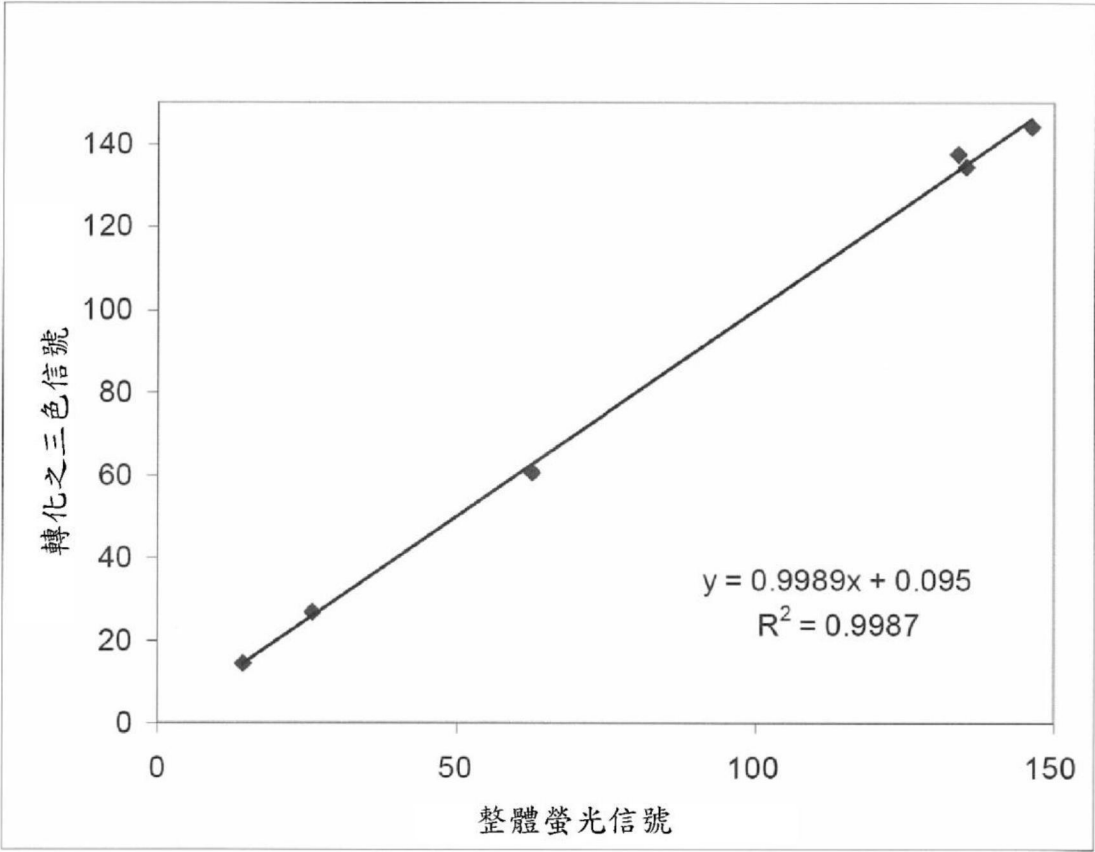
【圖 88】



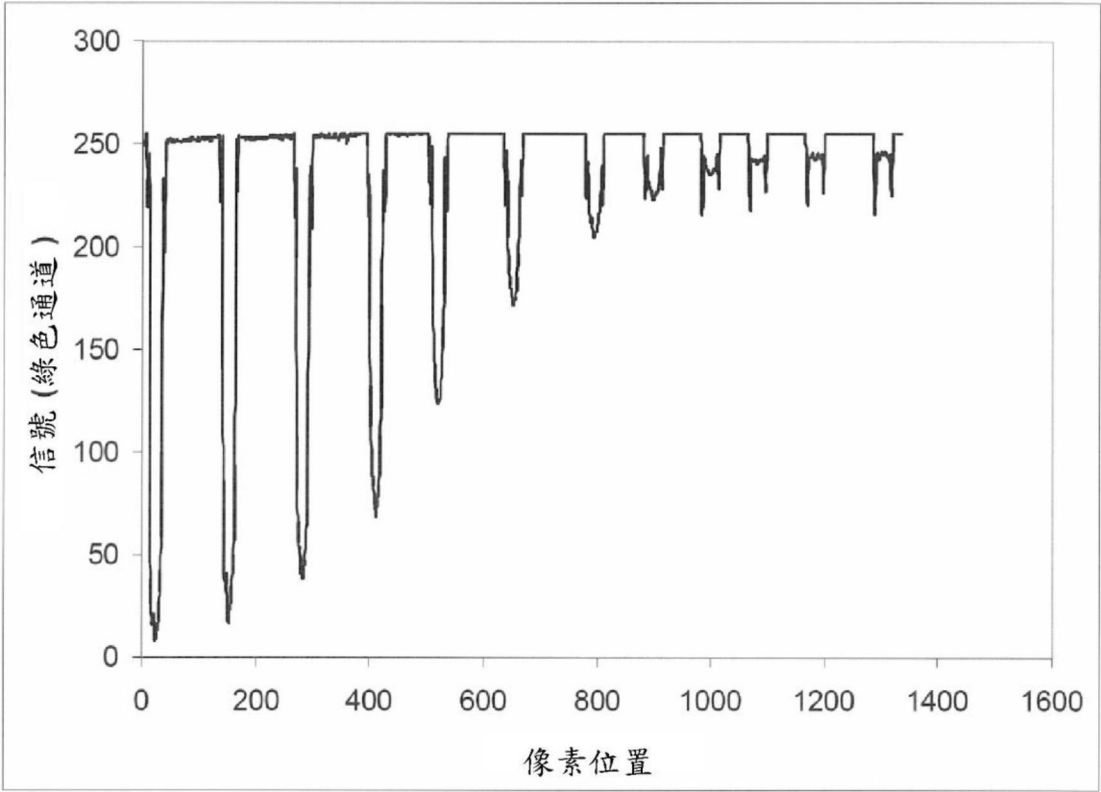
【圖 89】



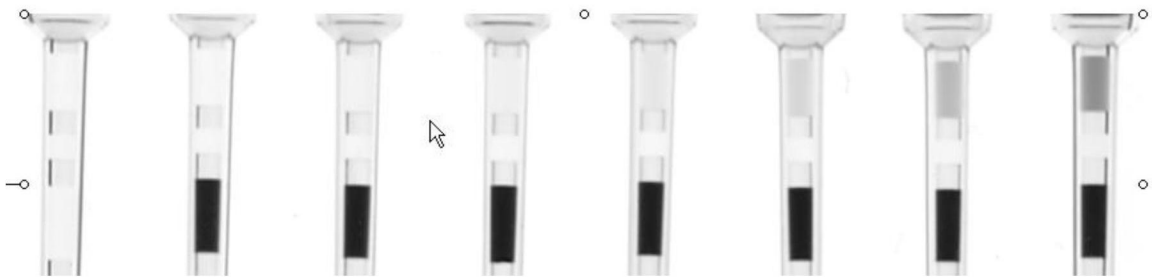
【圖 90】



【圖 91】



【圖 92】



【圖 93】



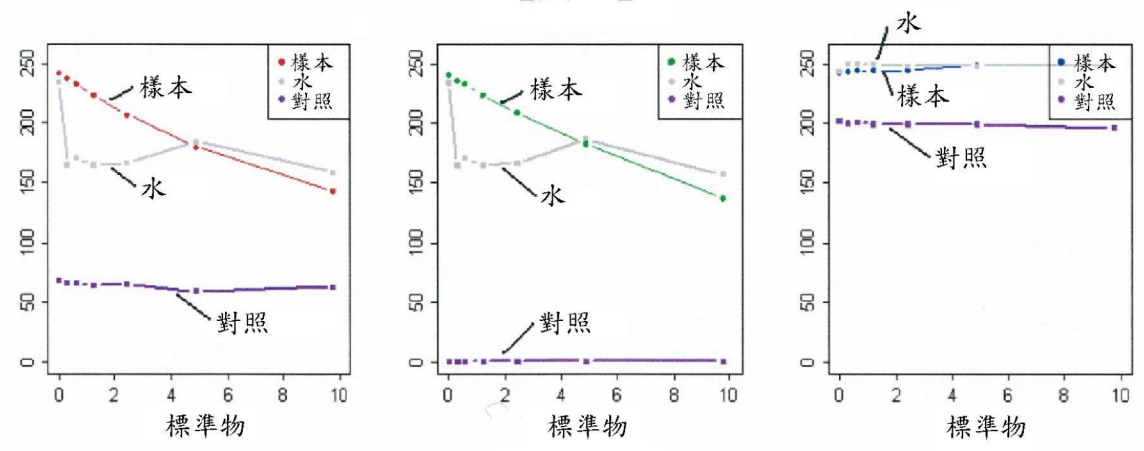
【圖 94】

區域編號										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
空氣	分析物1	空氣	洗滌液	空氣	分析物2	空氣	洗滌液	空氣	分析物3	空氣

【圖 95】



【圖 96】



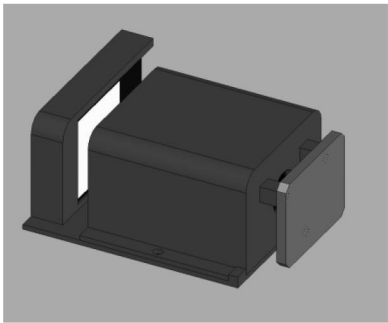
【圖 97】



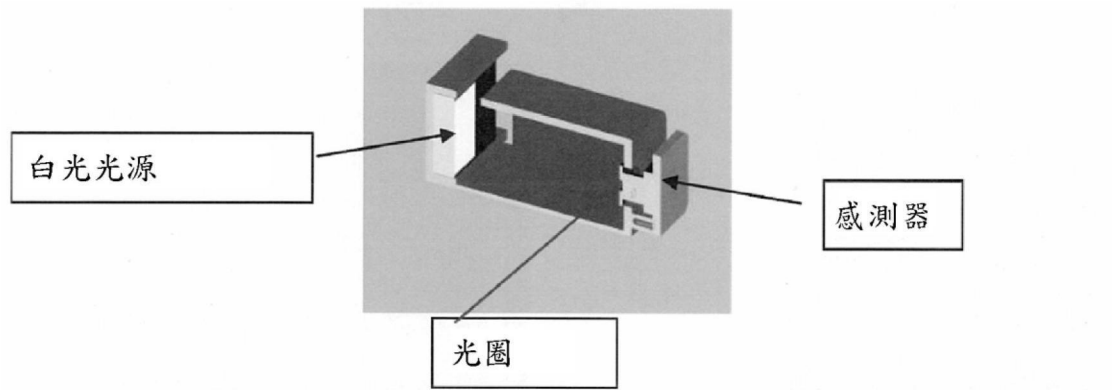
【圖 98】



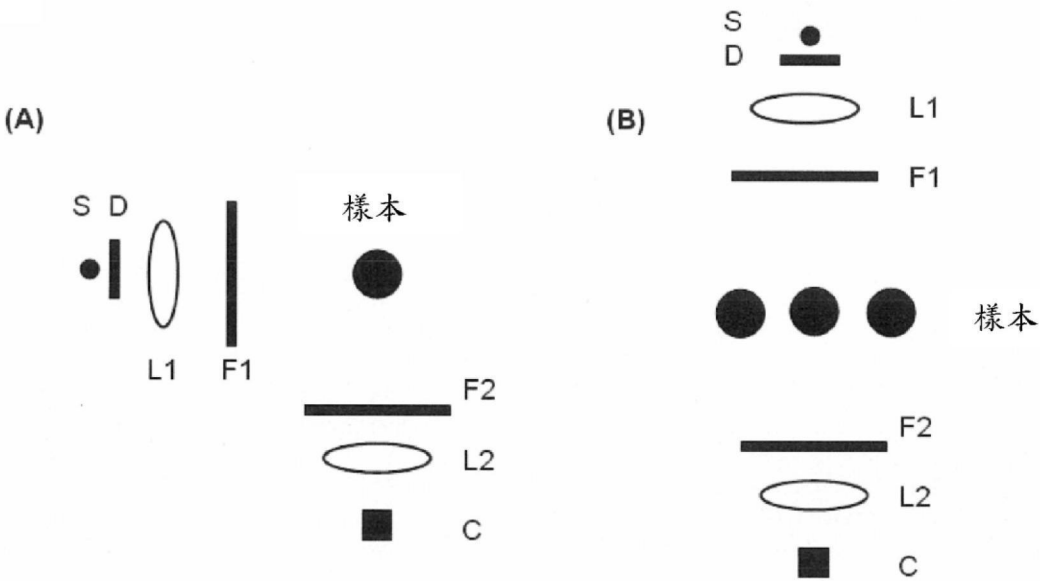
【圖 99】



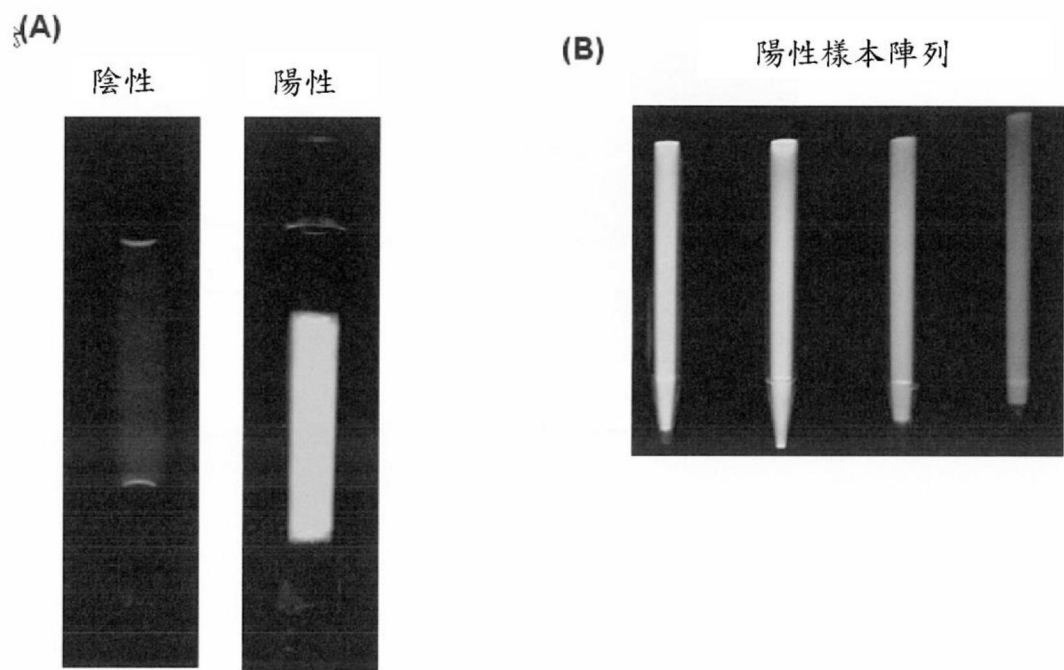
【圖 100】



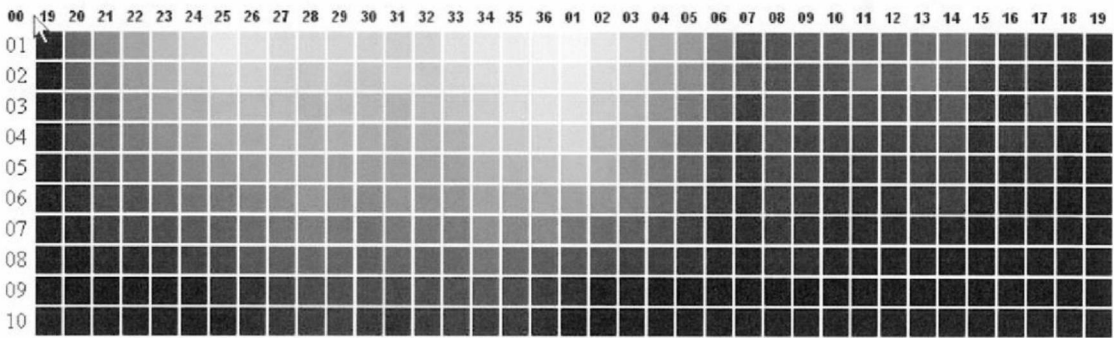
【圖 101】



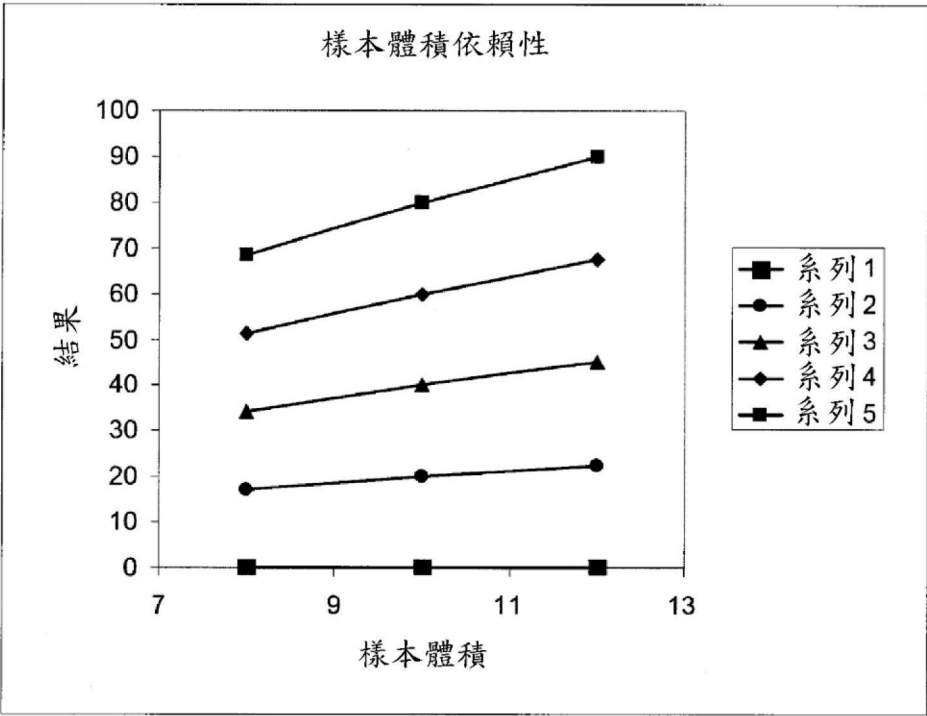
【圖 102】



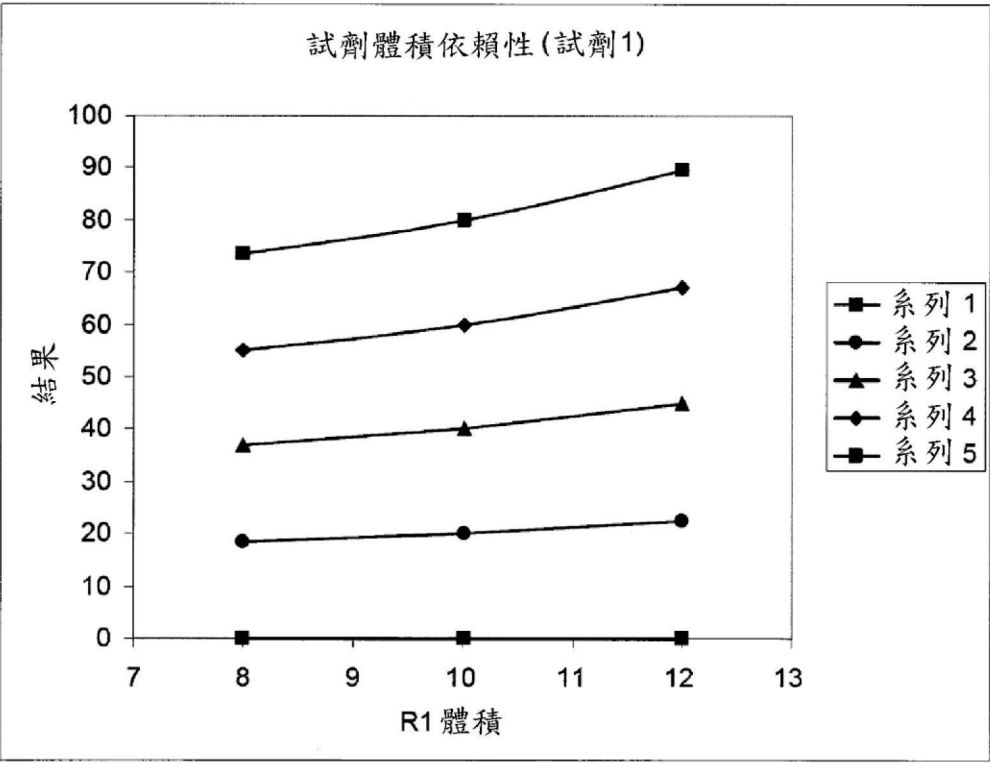
【圖 103】



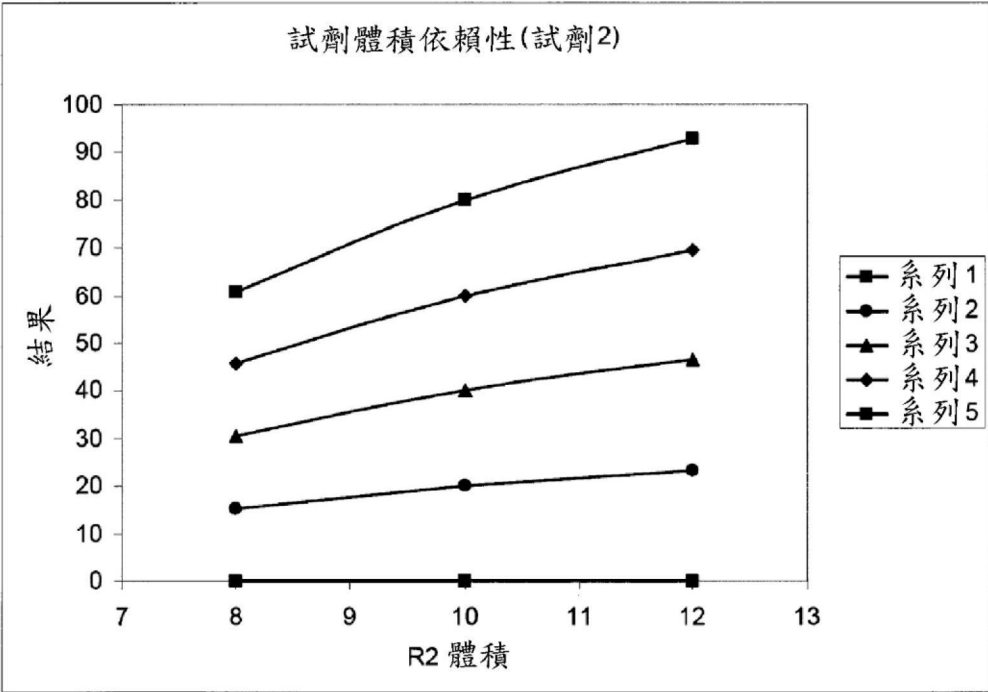
【圖 104】



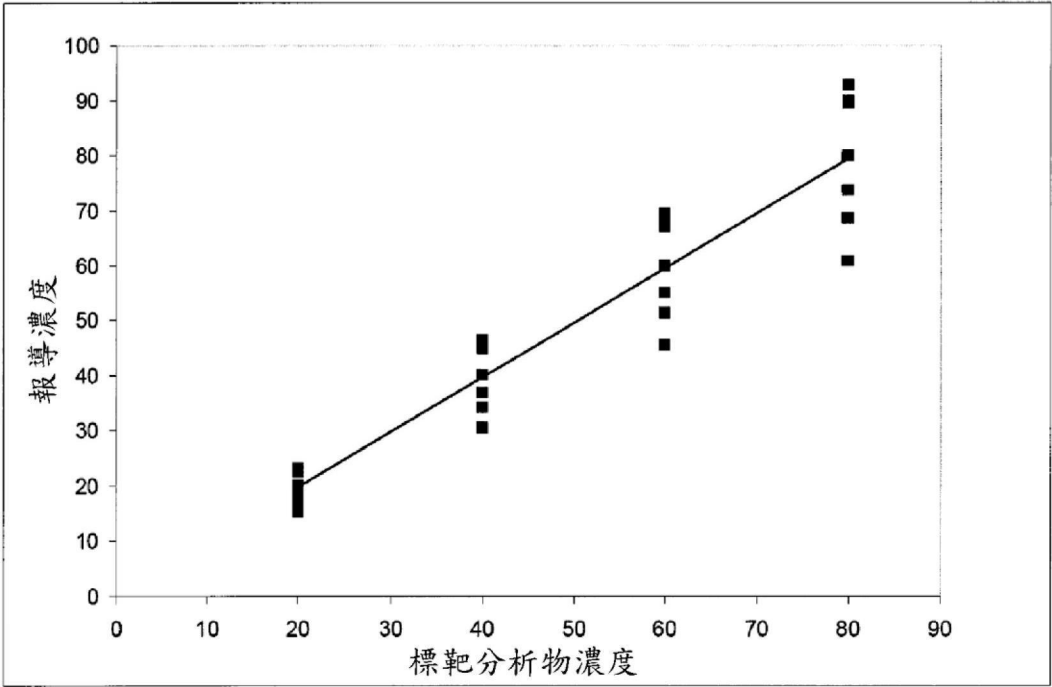
【圖 105】



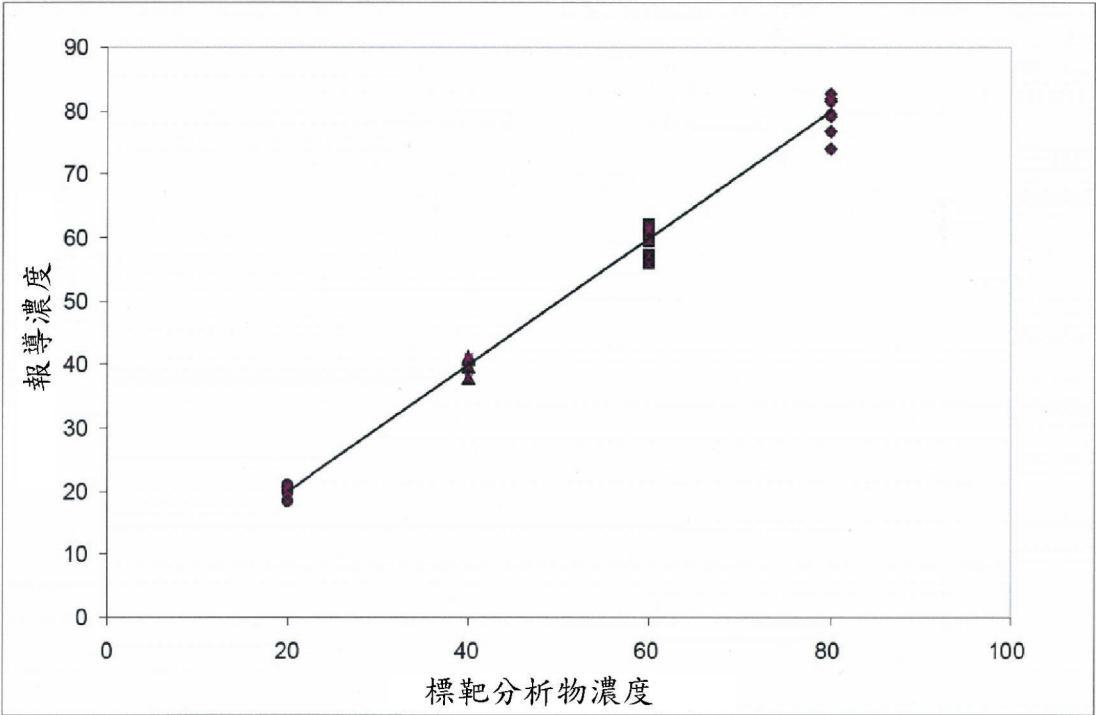
【圖 106】



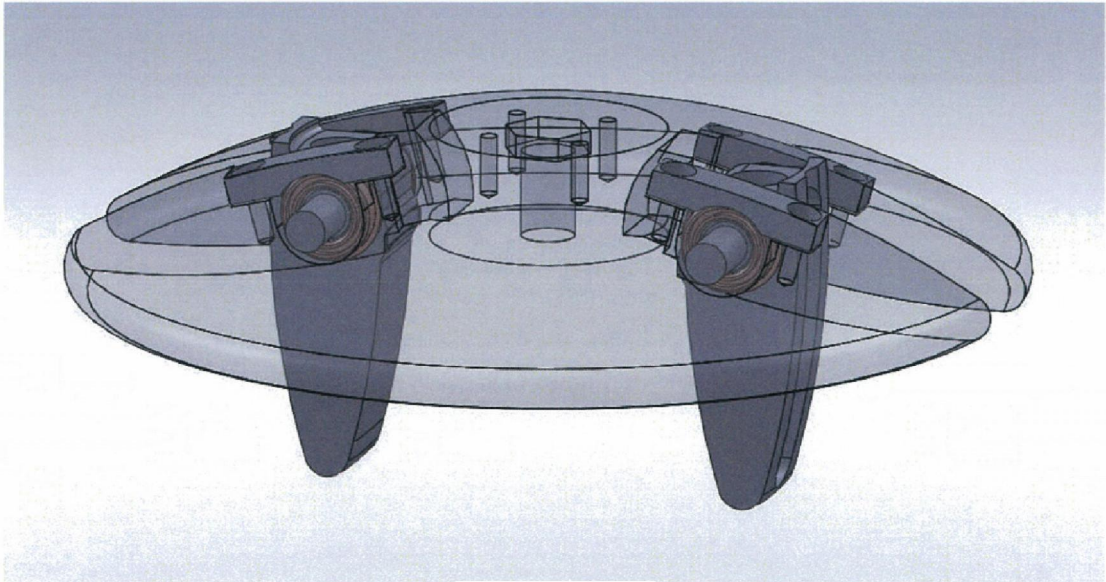
【圖 107】



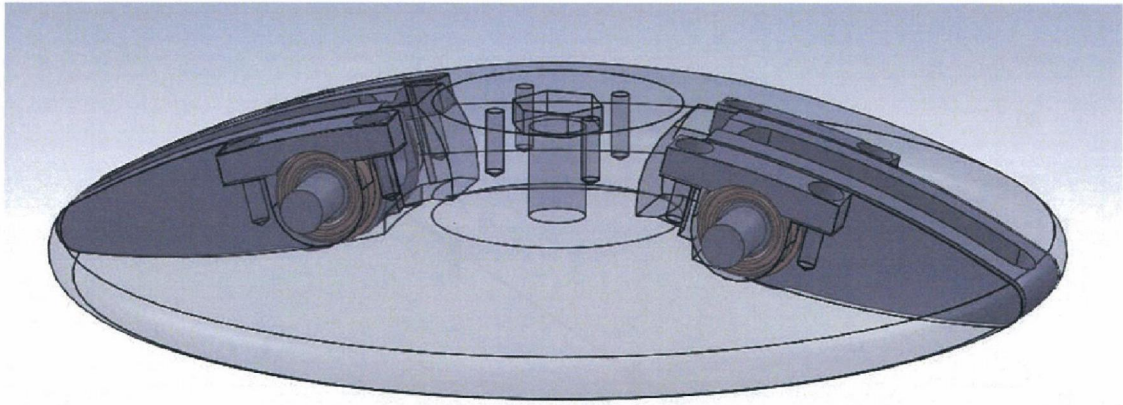
【圖 108】



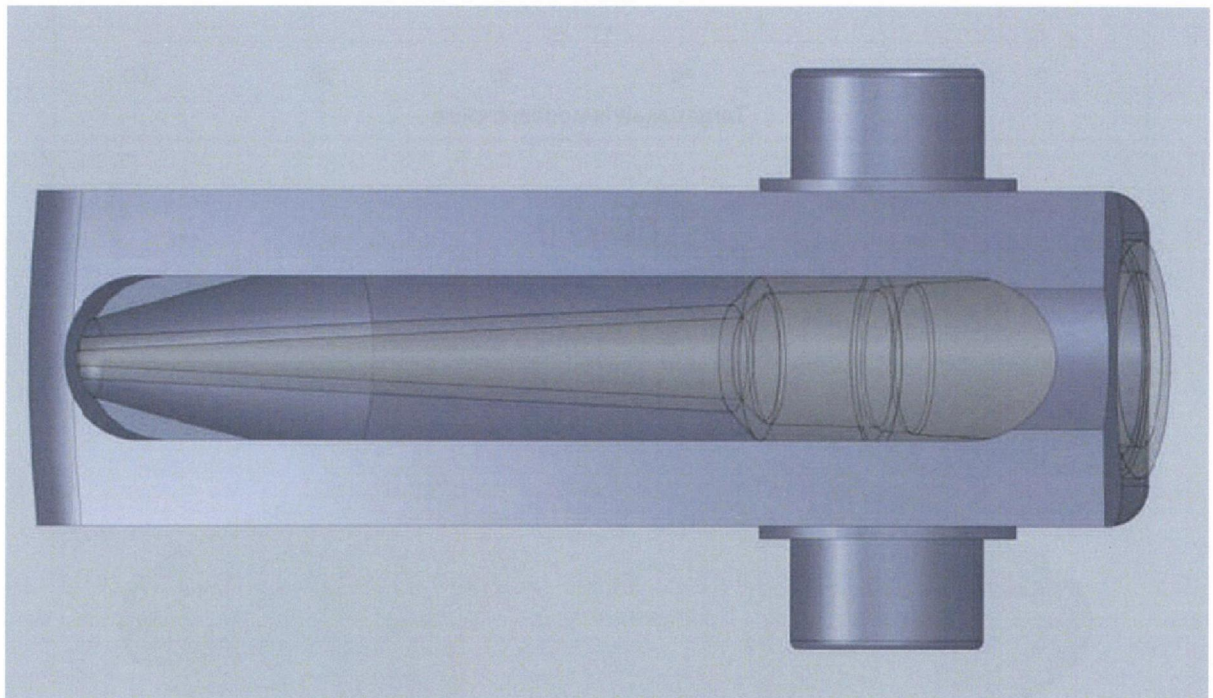
【圖 109】



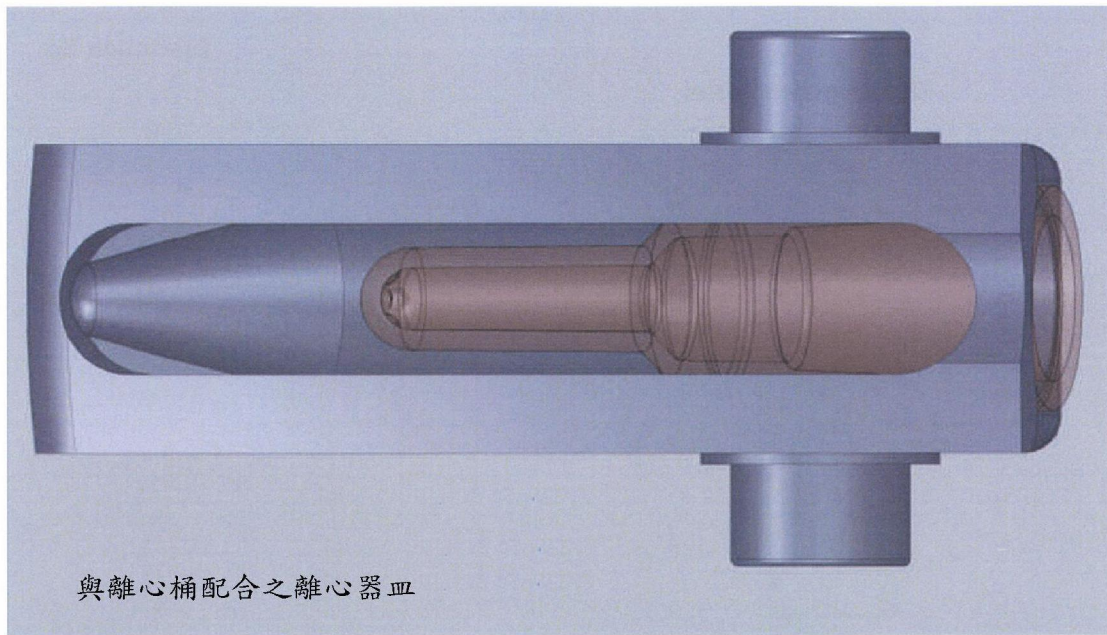
【圖 111】



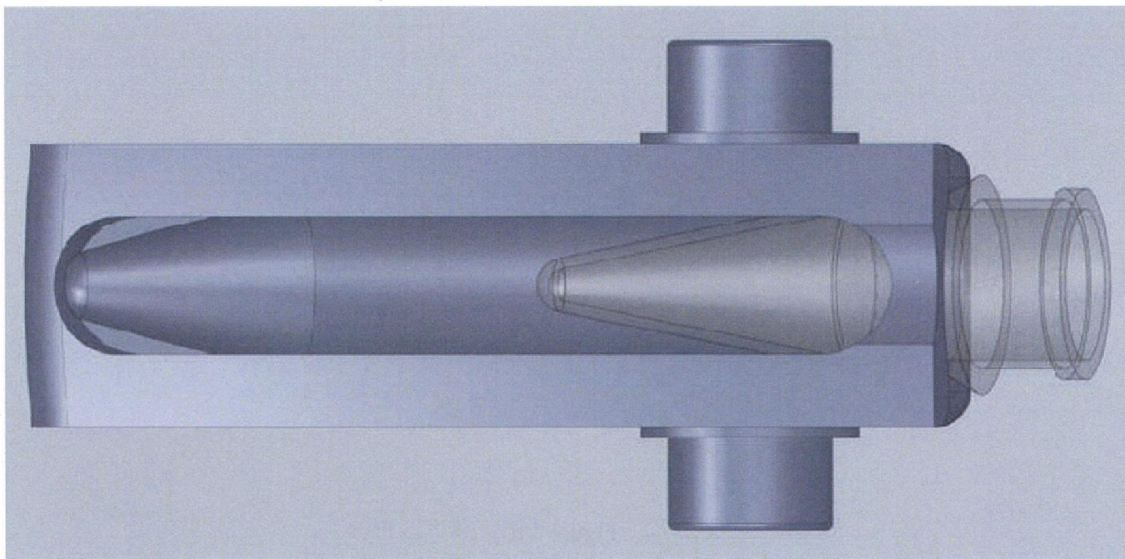
【圖 112】



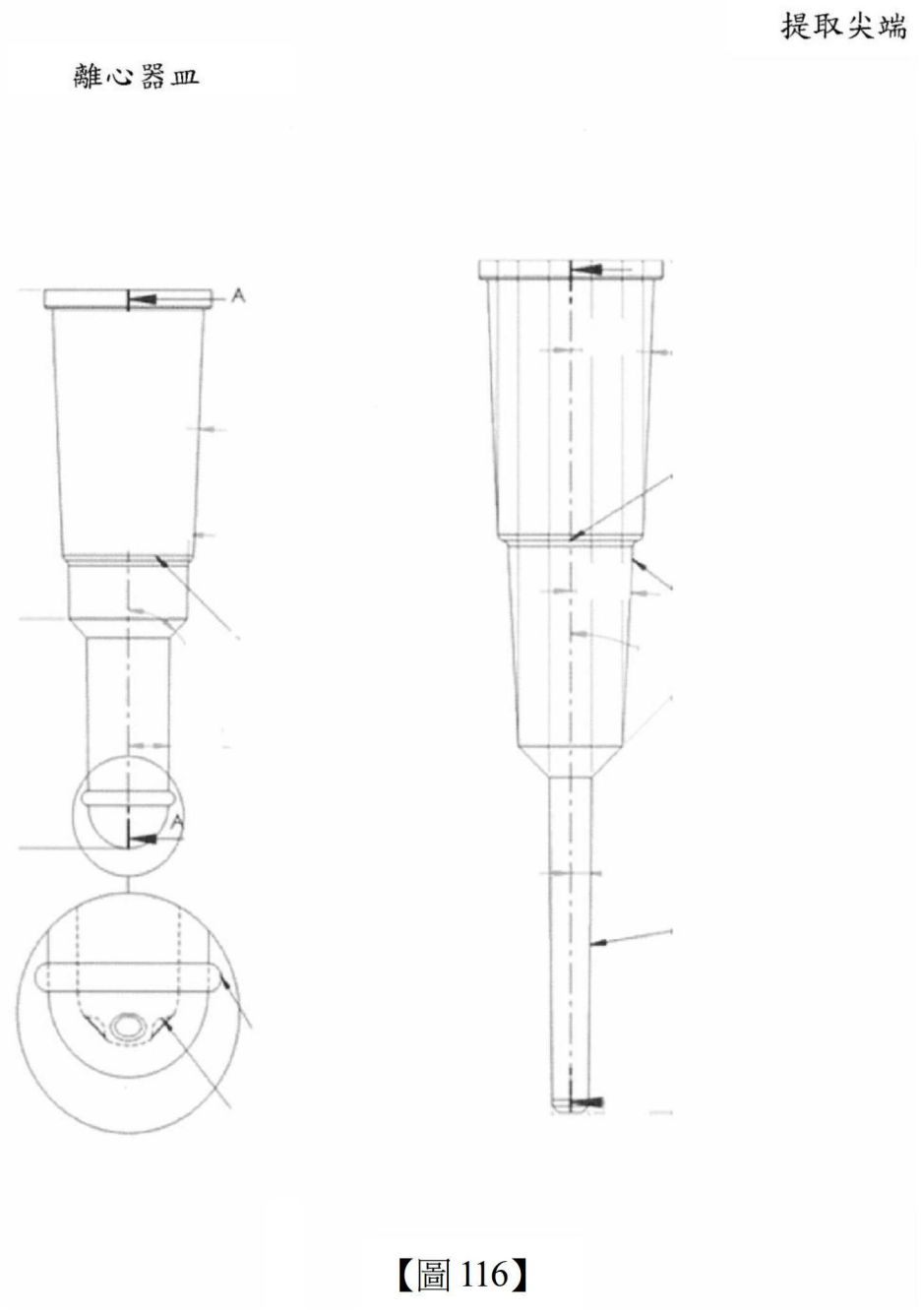
【圖 113】



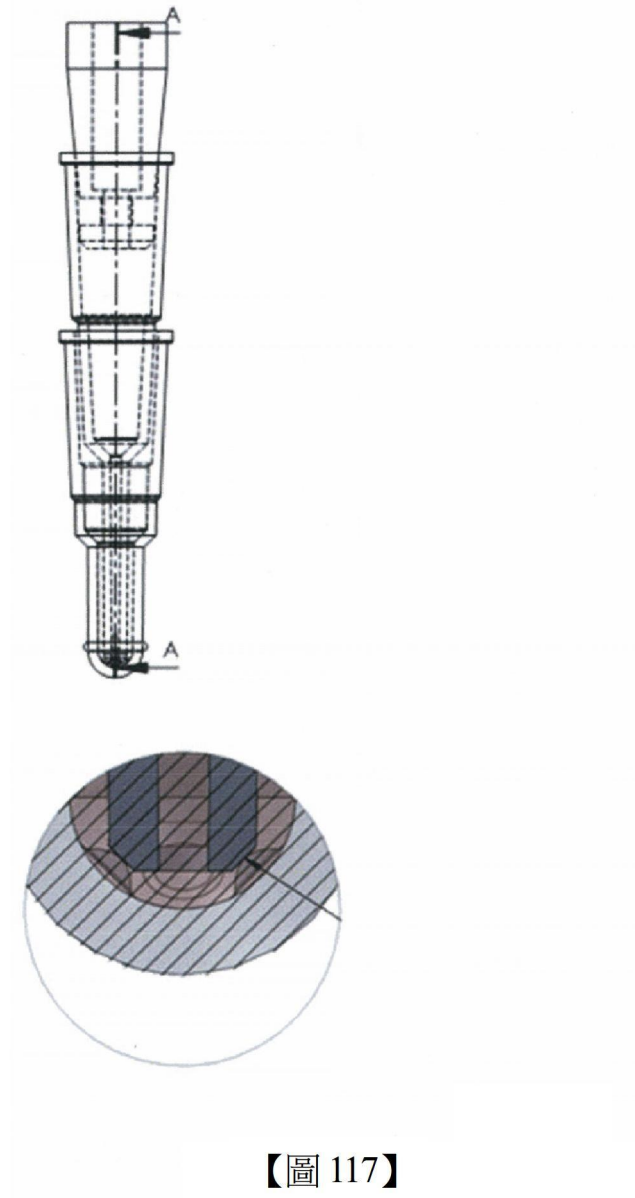
【圖 114】



【圖 115】

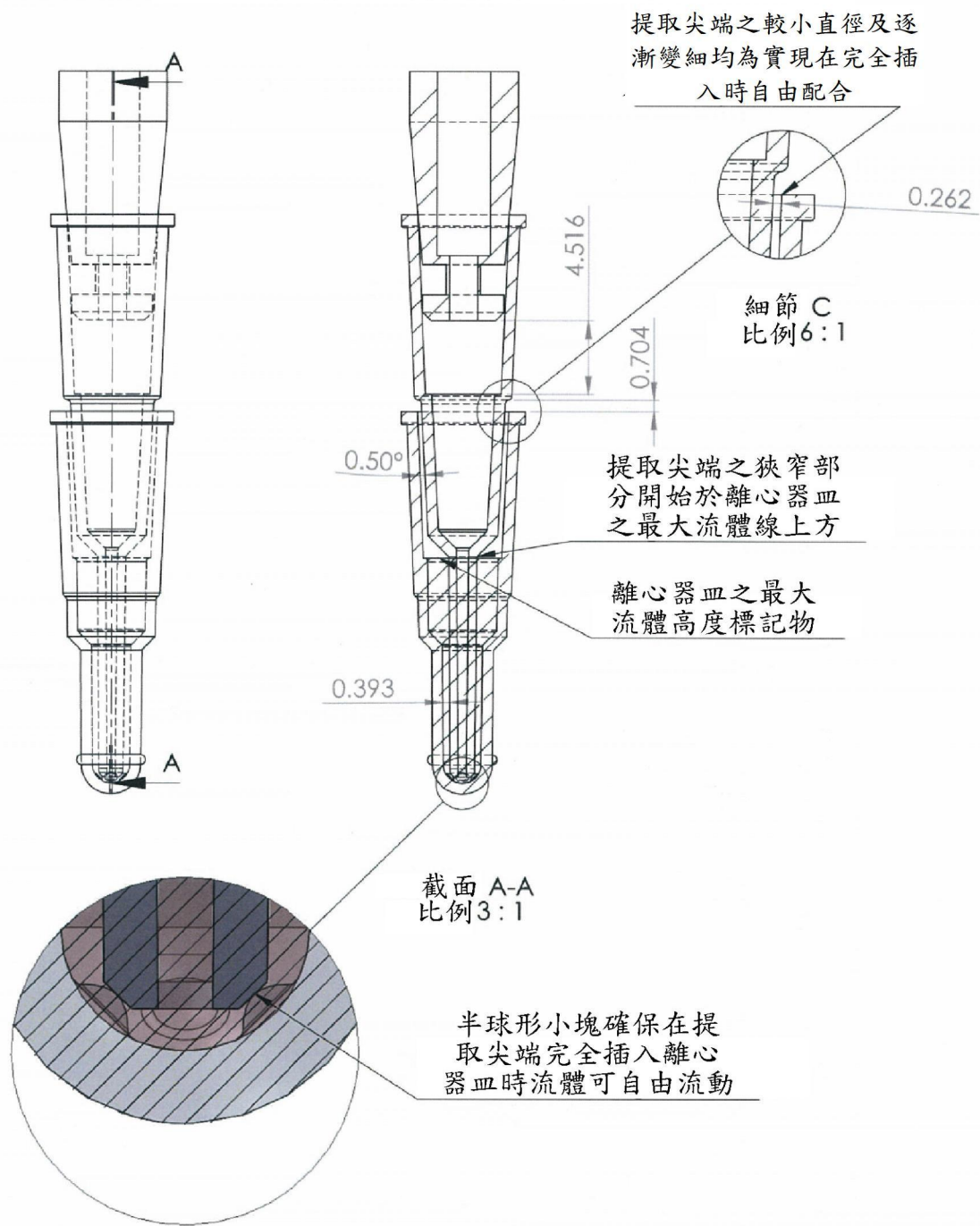


離心器皿、提取尖端及管口配合

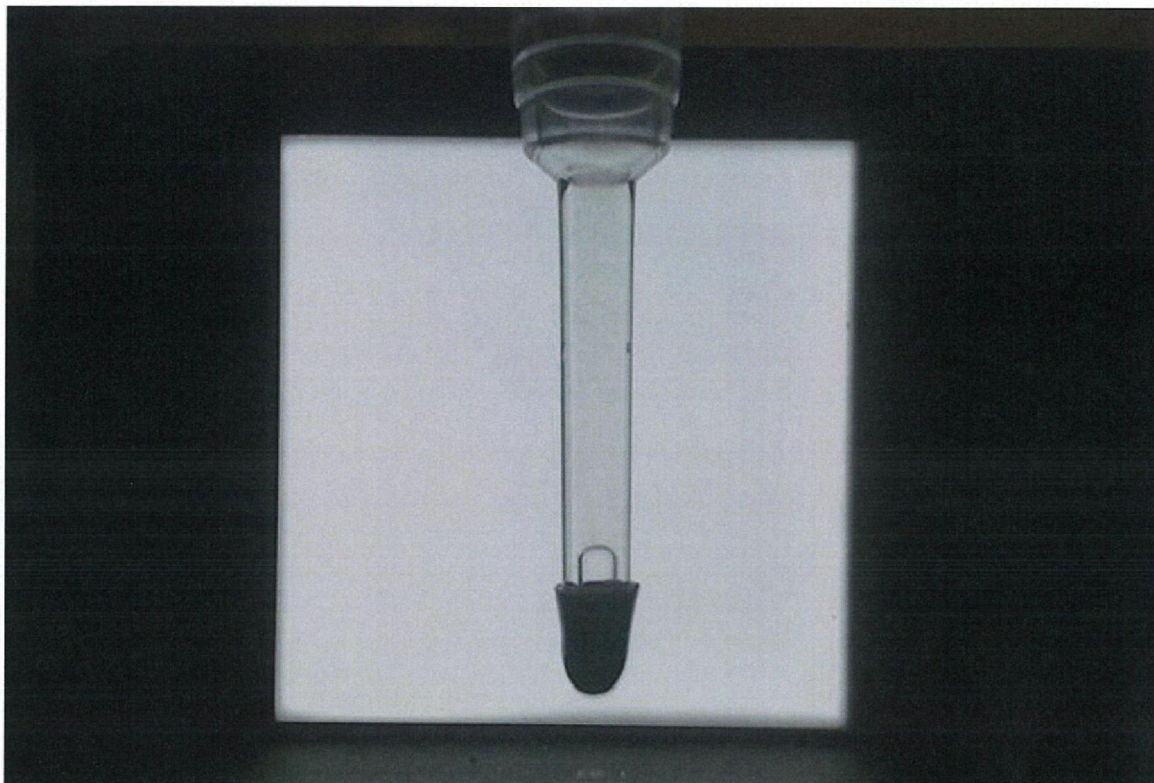


【圖 117】

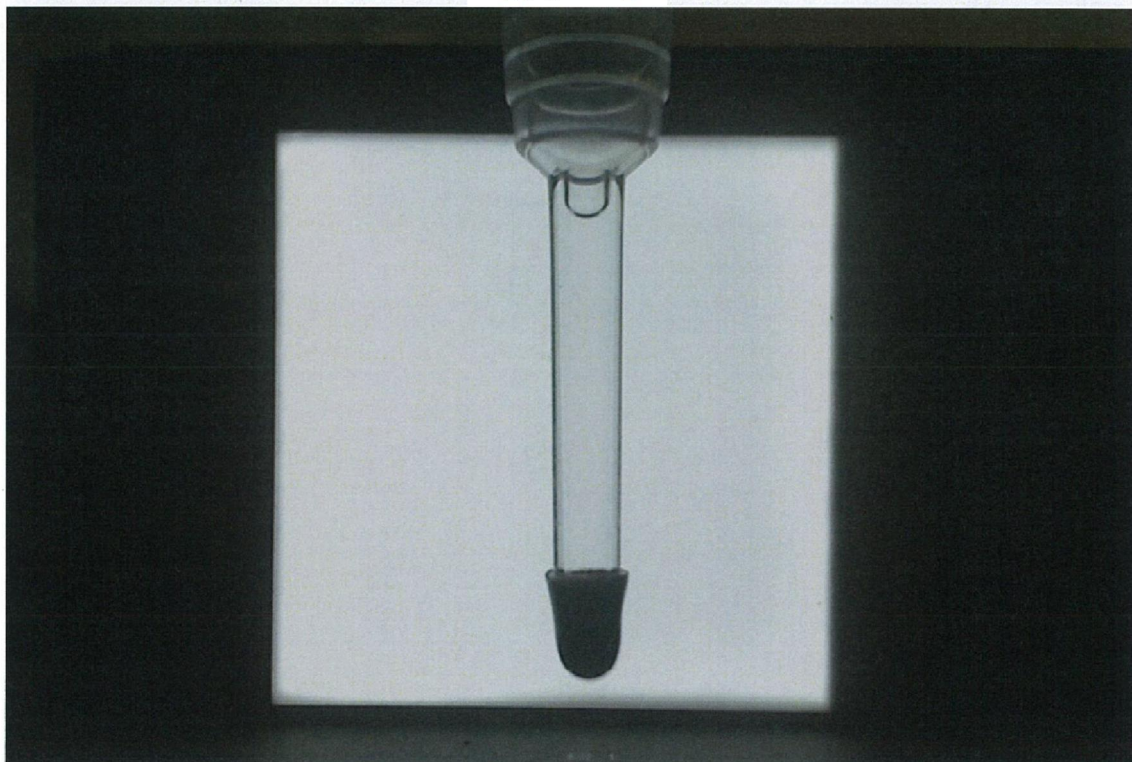
離心器皿、提取尖端及管口配合



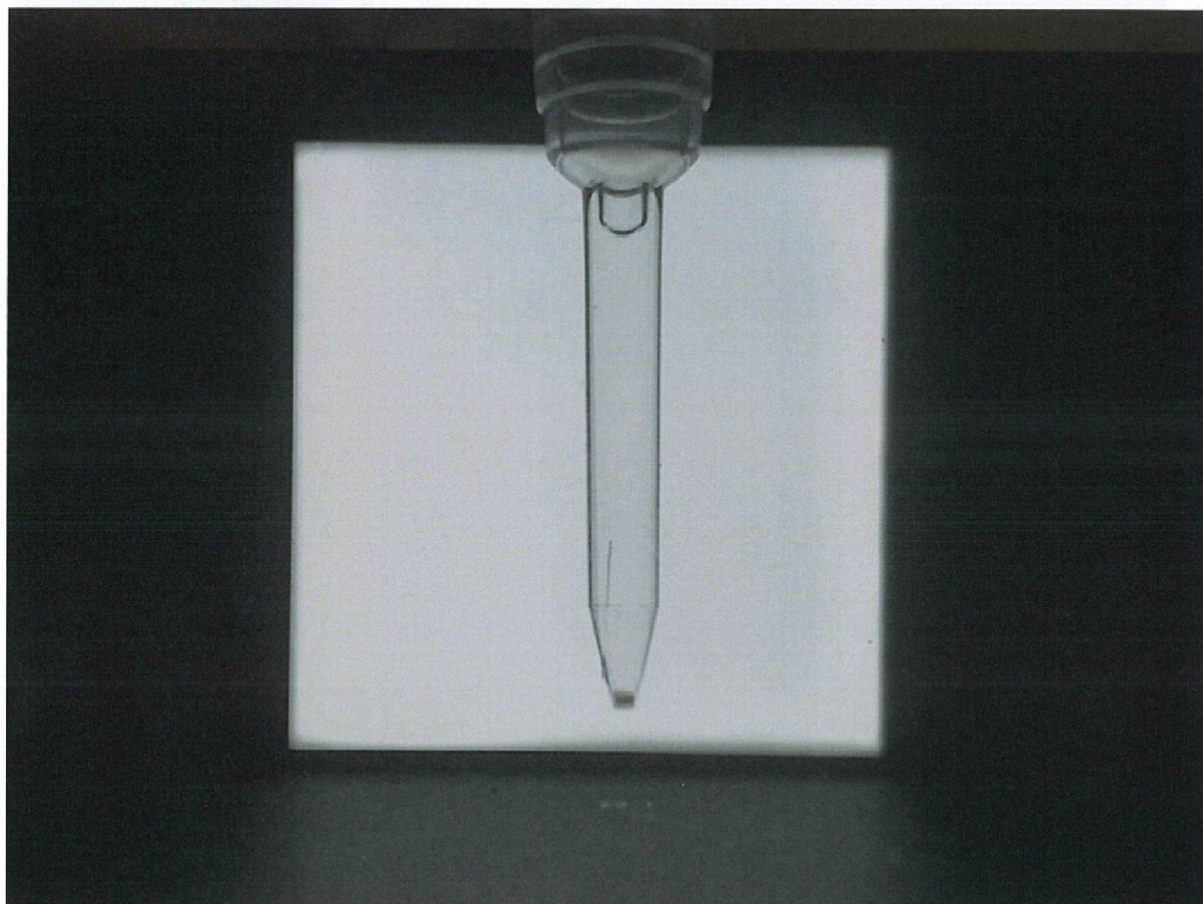
【圖 118】



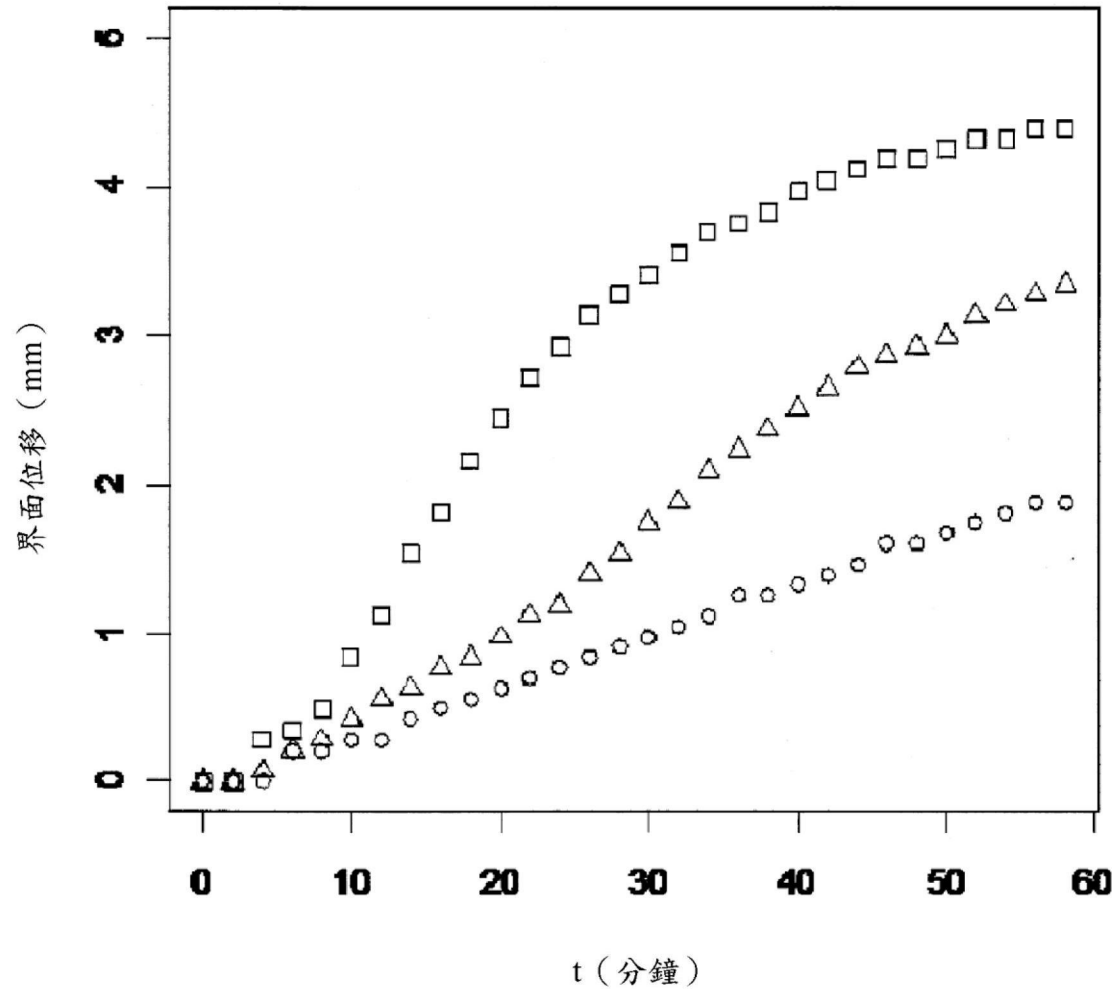
【圖 119】



【圖 120】



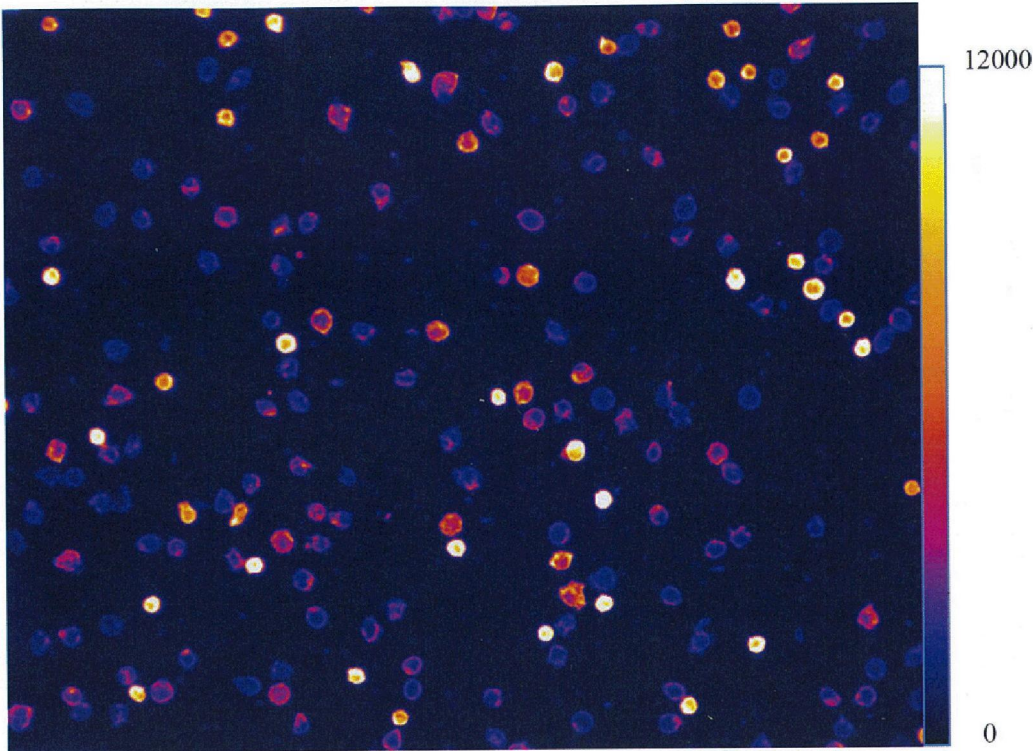
【圖 121】



圖解:

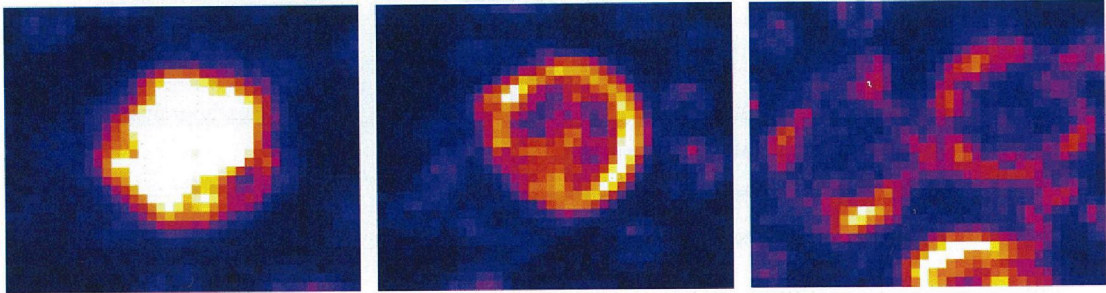
符號	病狀	ESR (毫米/小時, 最大值)
正方形	橋本甲狀腺炎	8.3
圓形	全身性紅斑狼瘡	1.8
三角形	類風濕性關節炎	3.3

【圖 122】



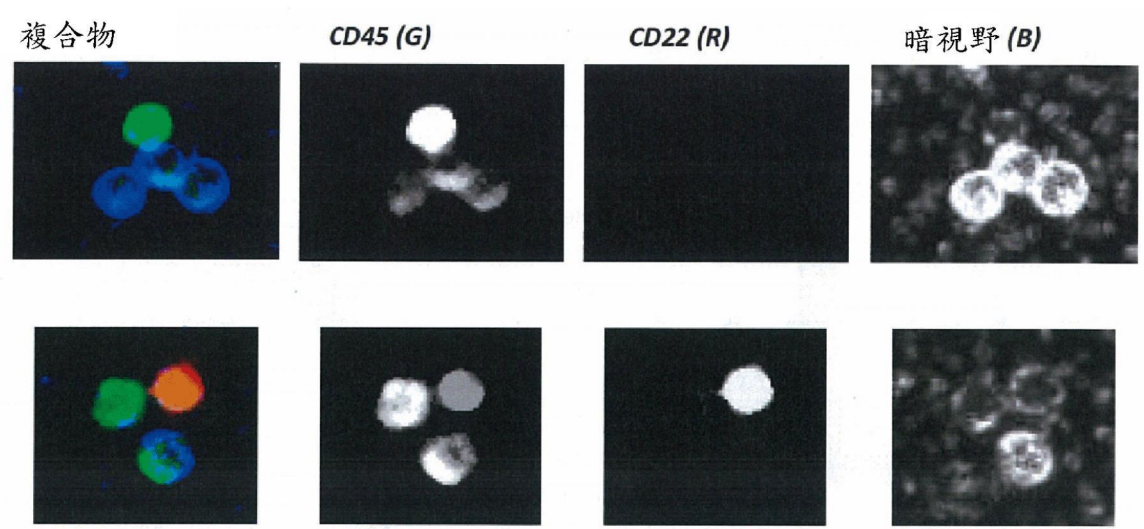
紅血球溶解樣品中經Alexa-Fluor 647-抗CD45標記之人類白血球之螢光顯微圖。使用偽彩色方案提高『明亮』細胞（具有高CD45表現）與『暗淡』細胞（具有低CD45表現）之間的不同感覺

【圖 123】



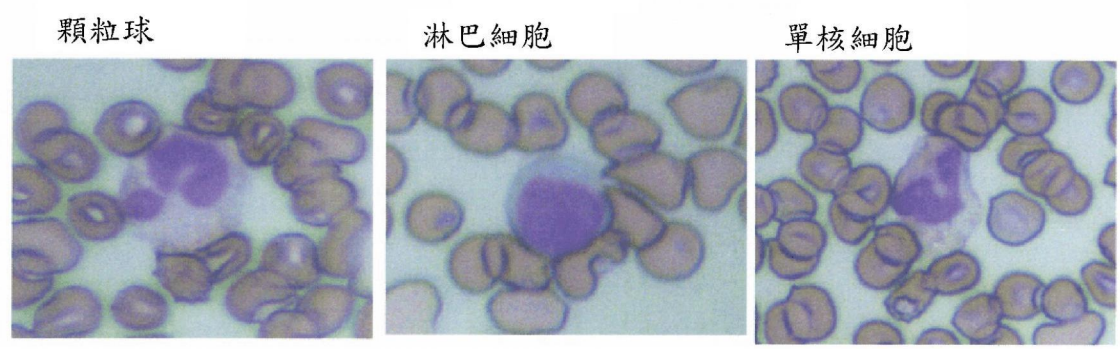
人類白血球之暗視野影像中之不同細胞內圖案。(a) 由於嗜伊紅血球中存在顆粒而產生之強散射圖案，(b) 具有特徵性核仁葉之多型核嗜中性白血球，及 (c) 散射光之程度不顯著之細胞（淋巴細胞或嗜鹼性血球）

【圖 124】



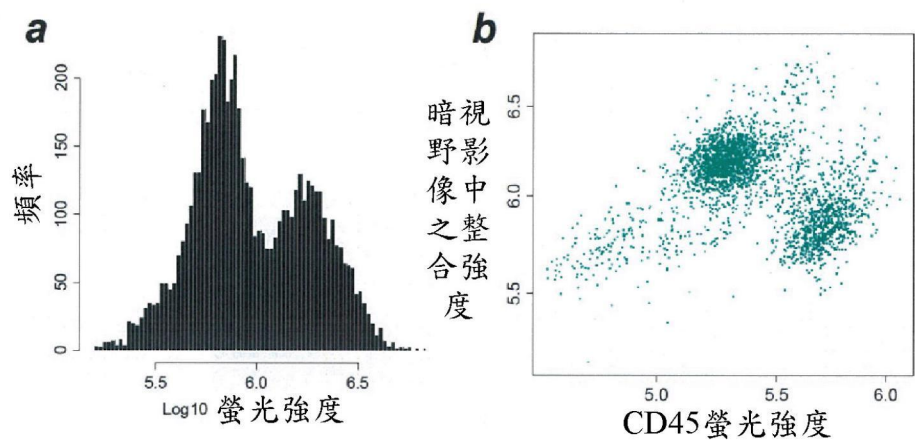
自經標記細胞樣本多參數獲取資料之一實例。用泛白血球標記物抗CD45-Alexa Fluor 700（此處以綠色展示）及B細胞標記物抗CD22-APC（此處以紅色展示）標記人類白血球。個別通道展示CD45、CD22表現及側向散射之不同模式。CD22及CD45陽性細胞（B-淋巴細胞）展示特徵性低側向散射。另一方面，具有高側向散射之細胞（諸如嗜中性白血球及嗜伊紅血球）不展示CD22標記。

【圖 125】



用賴特-吉姆薩染色法染色之人類全血塗片之明視野影像的一實例。人類白血球之染色的特徵性圖案很明顯。亦可在此等影像中鑑別具有特徵形狀之紅血球。

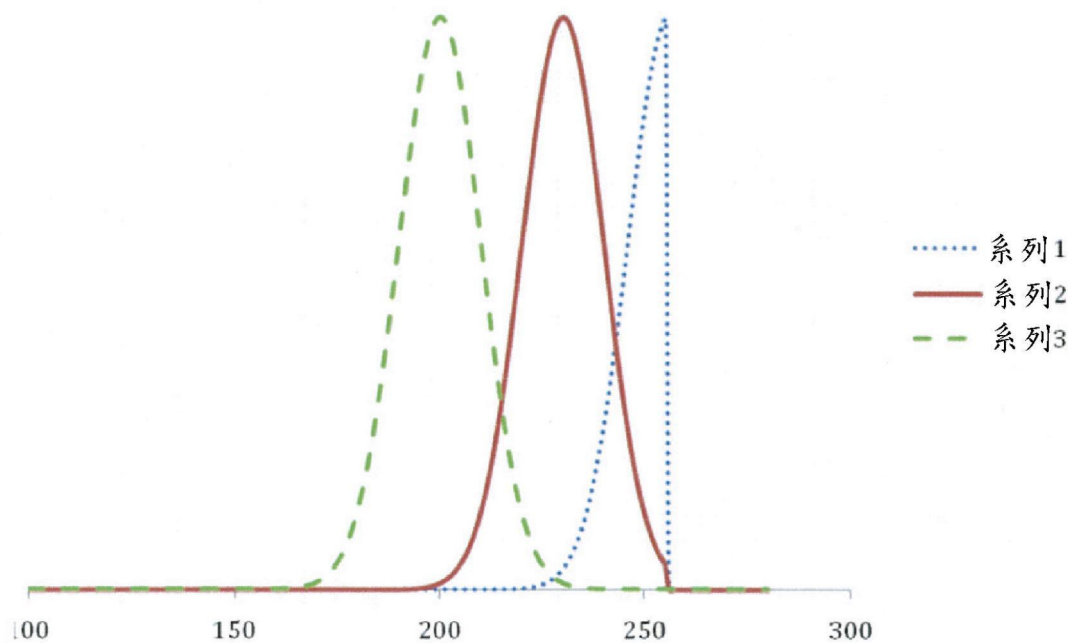
【圖 126】



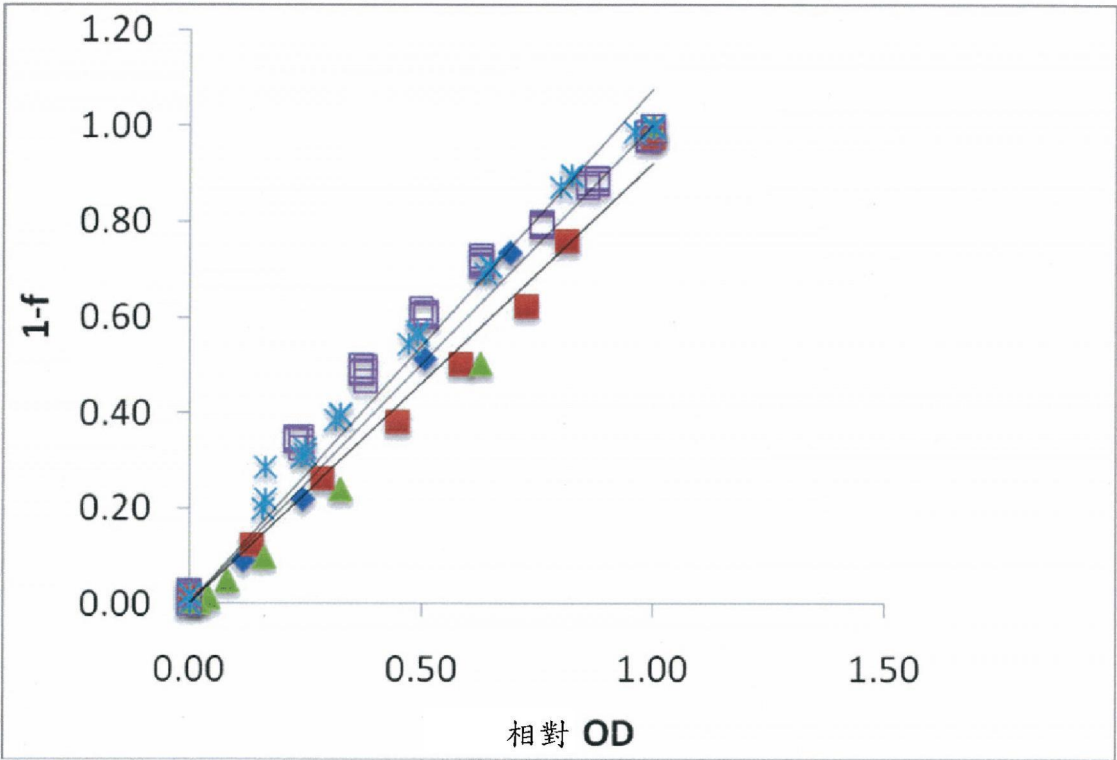
定量多參數資料獲取及分析之一實例。(a) 展示人類白血球上CD45強度分佈之直方圖，(b) 藉由暗視野影像分析測定之側向散射相對於人類白血球樣本之CD45螢光強度的散佈圖展示兩種主要群體顆粒球(左上側)及淋巴細胞(右下側)

【圖 127】

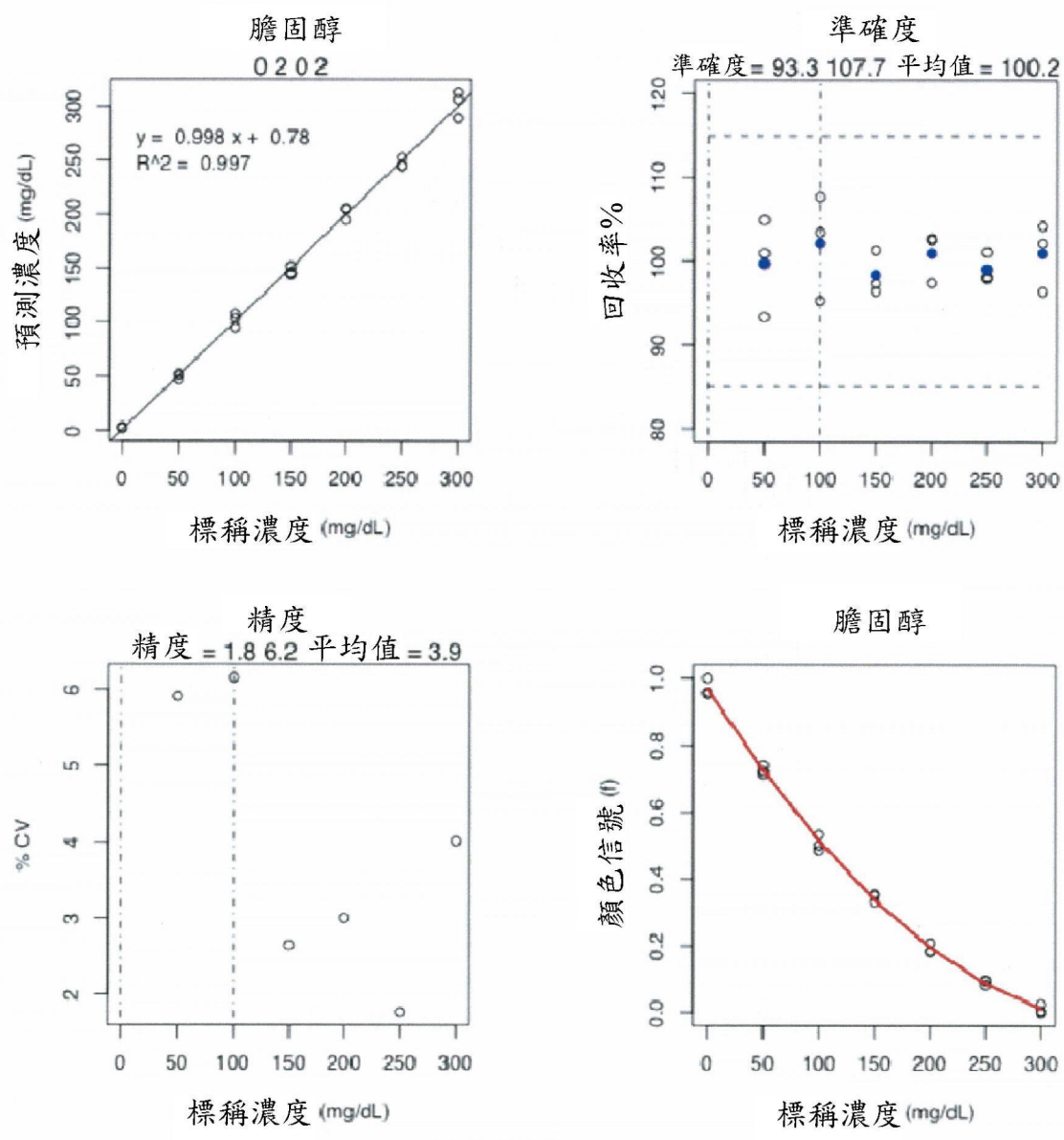
像素強度之分佈



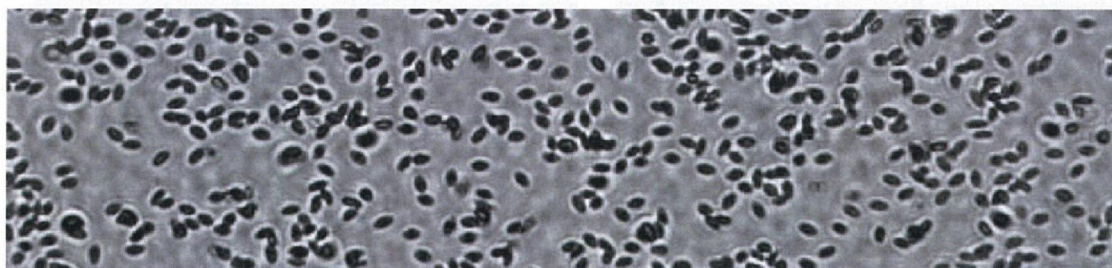
【圖 128】



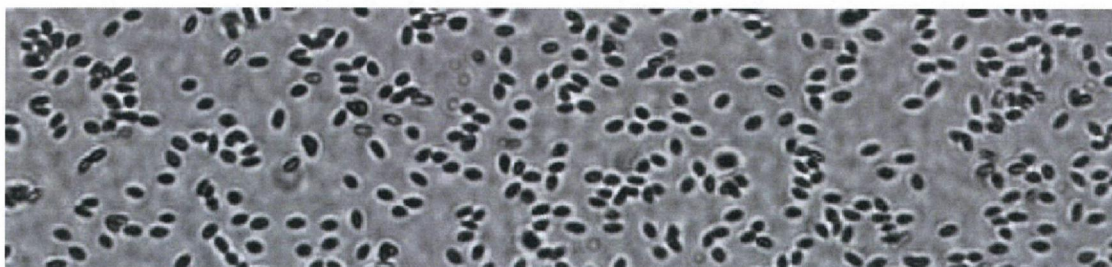
【圖 129】



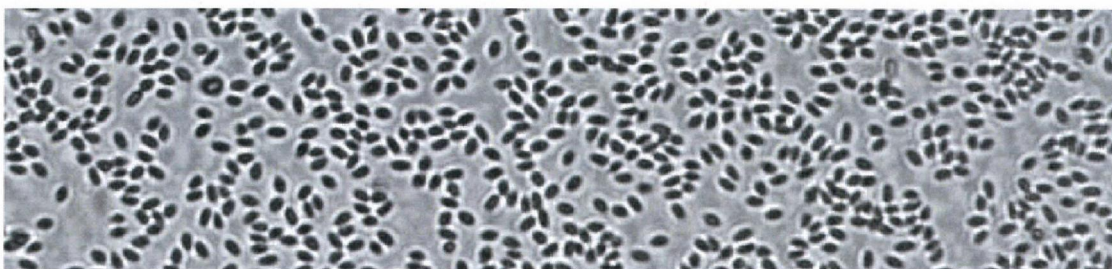
【圖 130】



樣本1-未凝集（無病毒，無抗體）

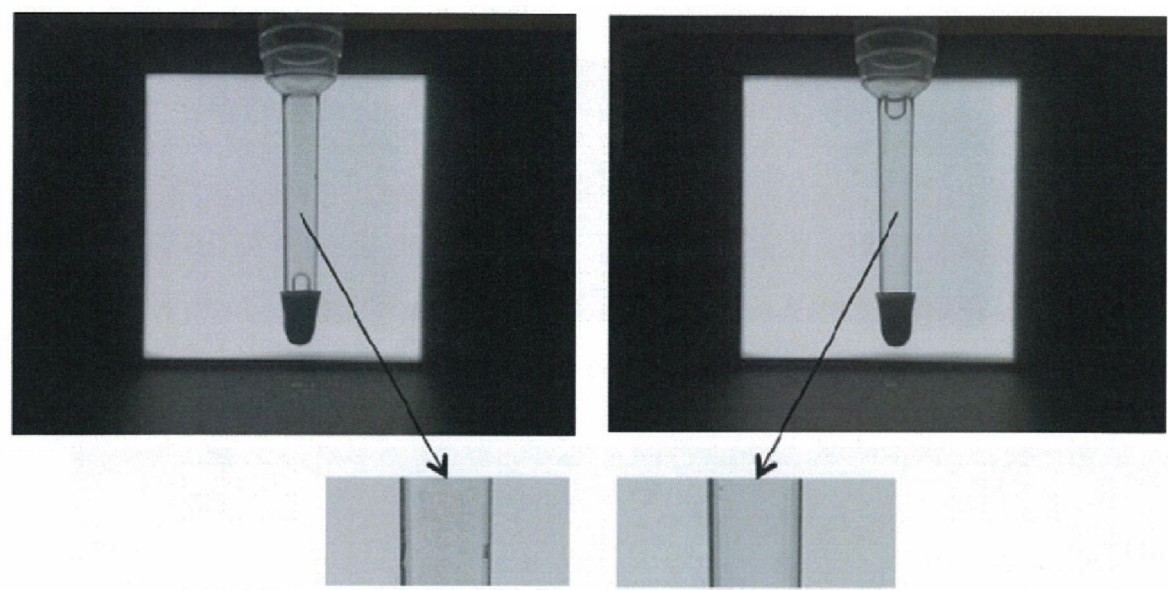


樣本2-未凝集（病毒加抗體）

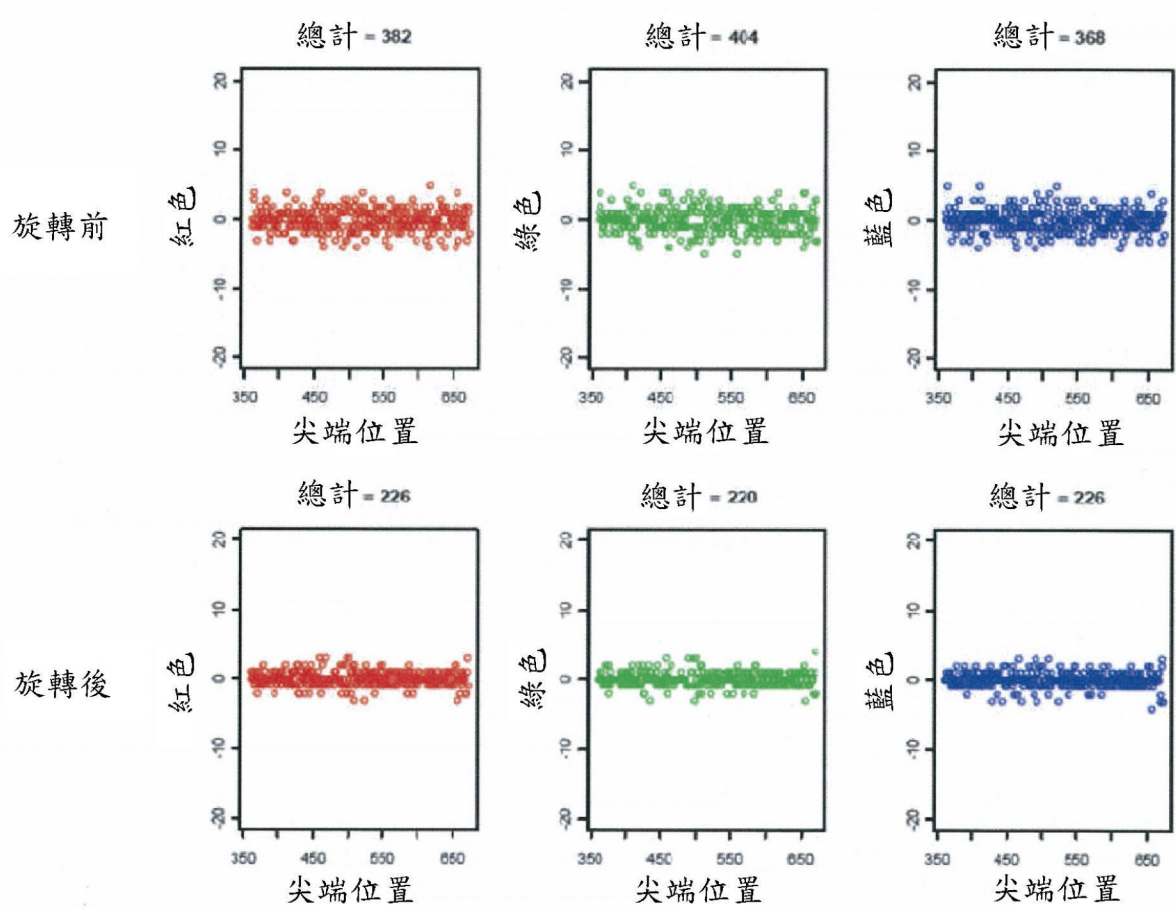


樣本3-凝集（有病毒，無抗體）

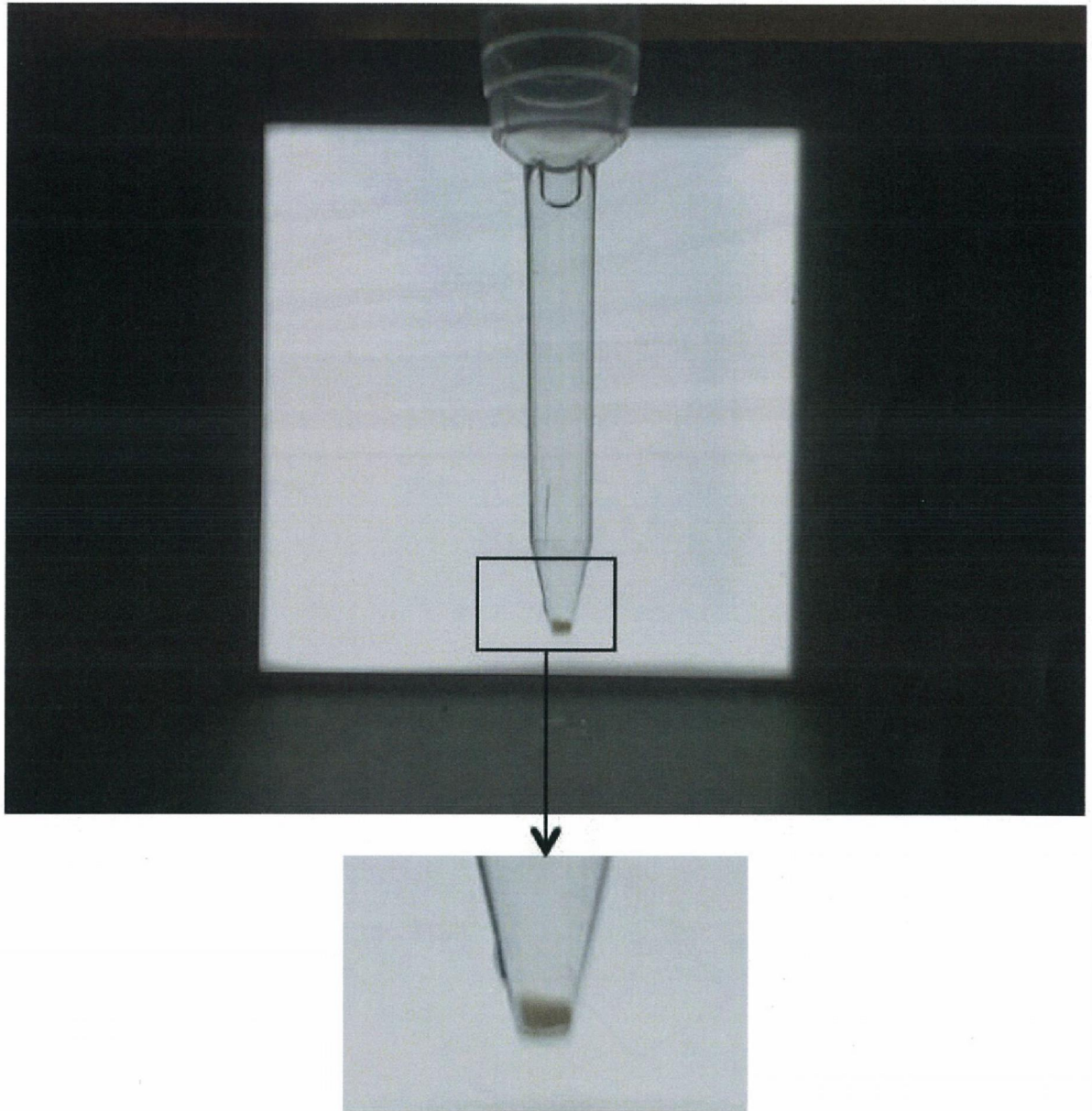
【圖 131】



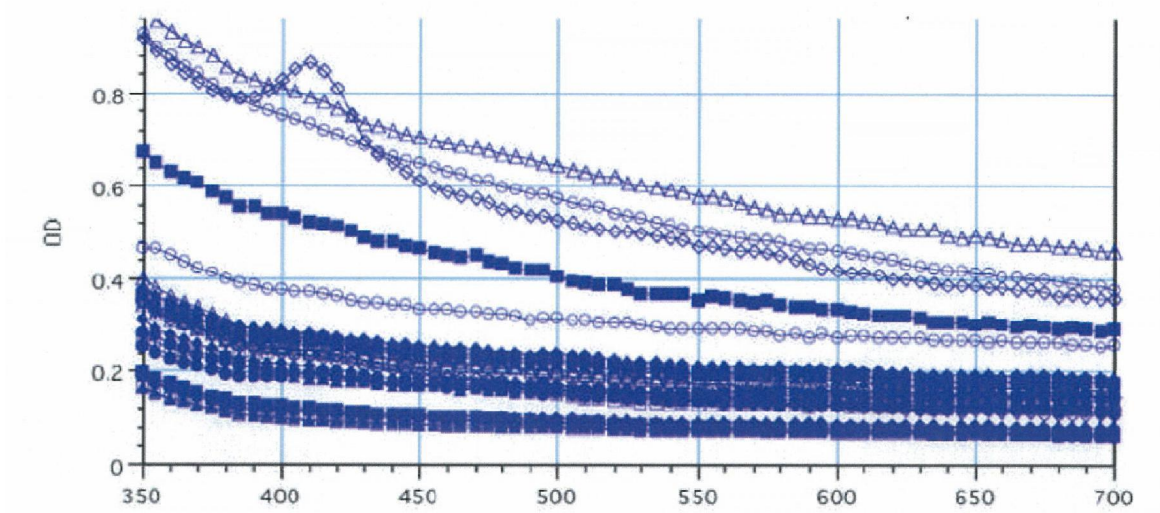
【圖 132】



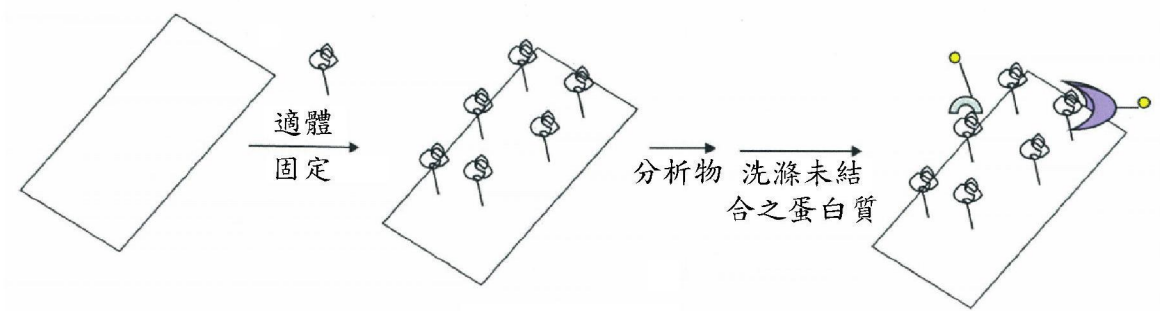
【圖 133】



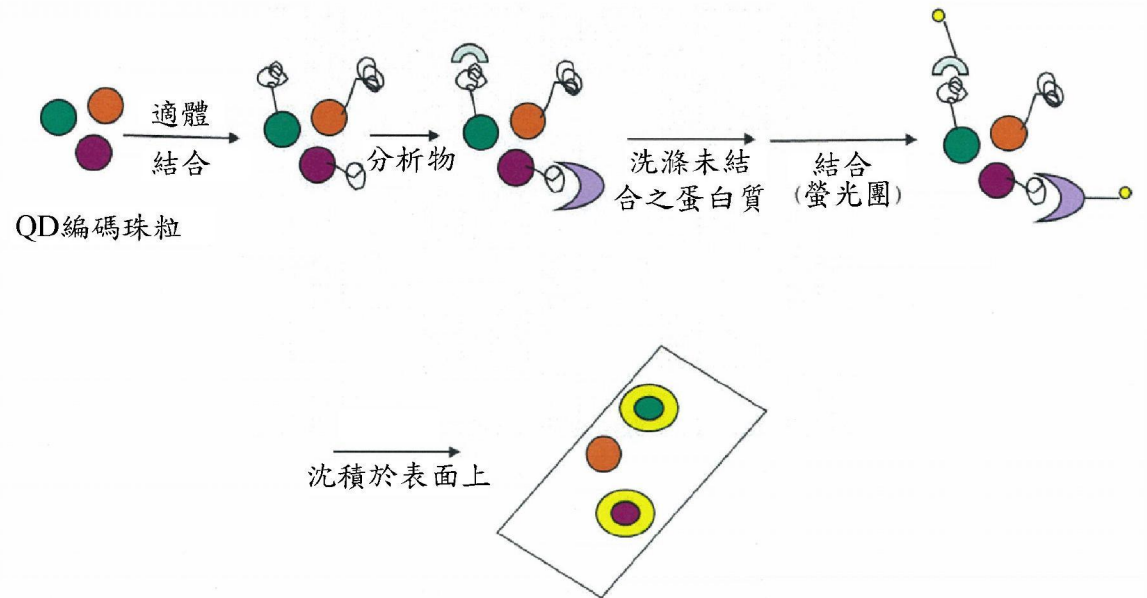
【圖 134】



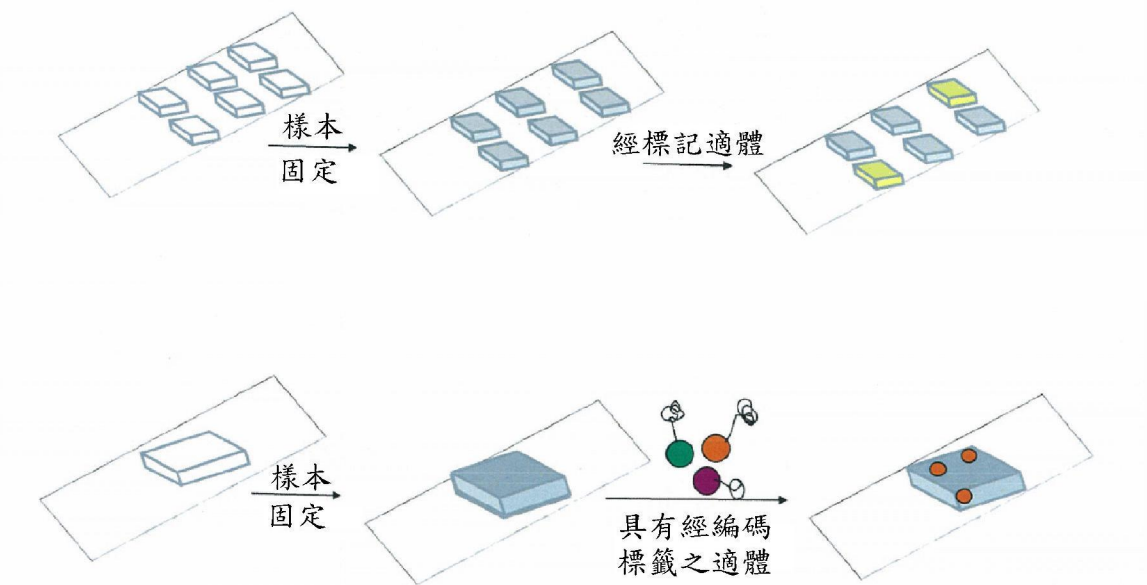
【圖 135】



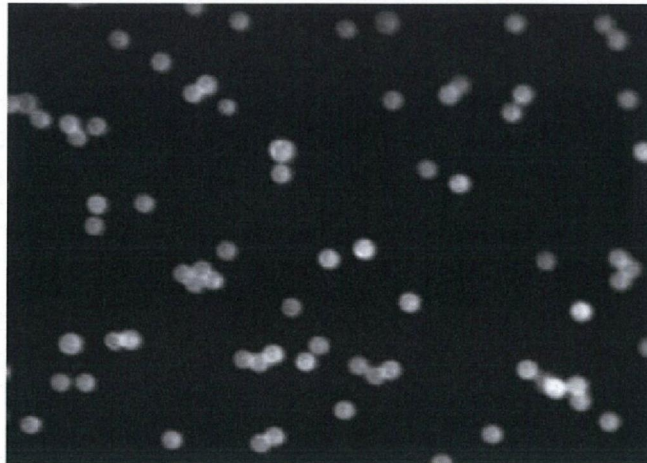
【圖 136】



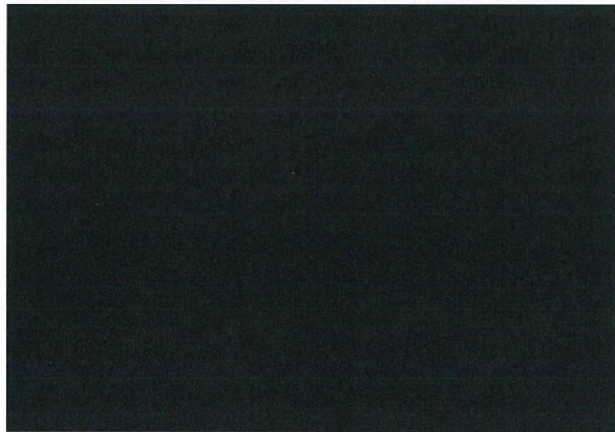
【圖 137】



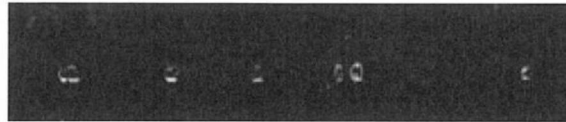
【圖 138】



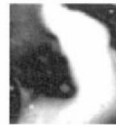
【圖 139】



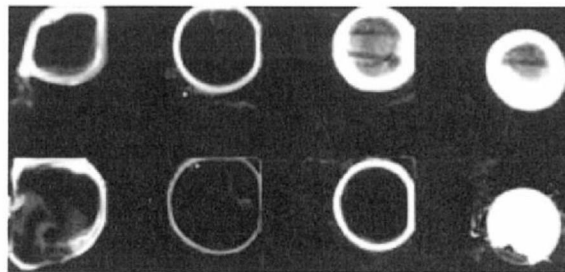
【圖 140】



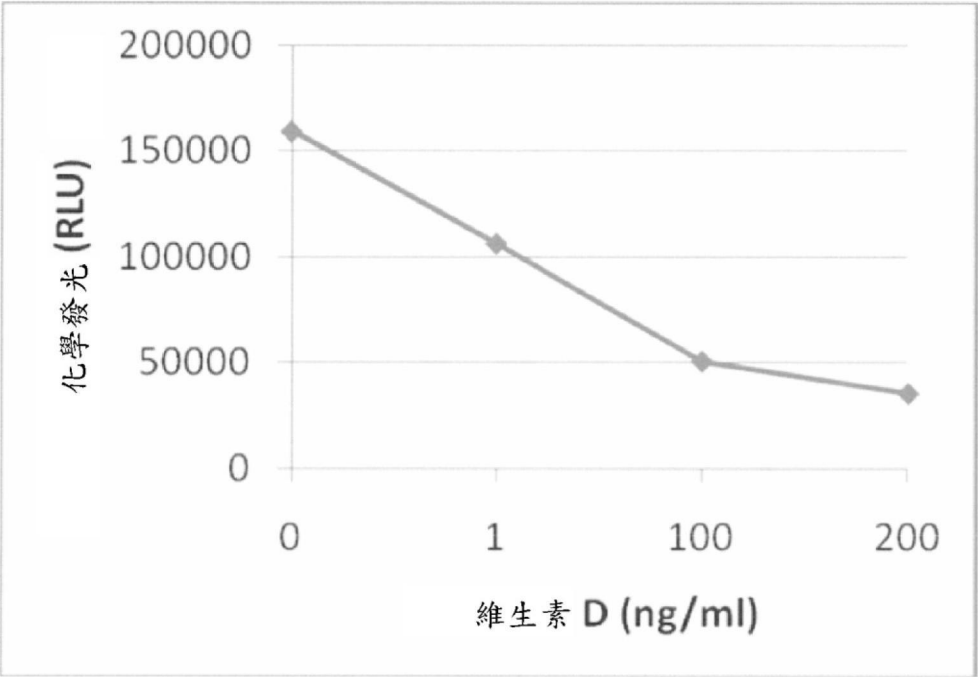
【圖 141】



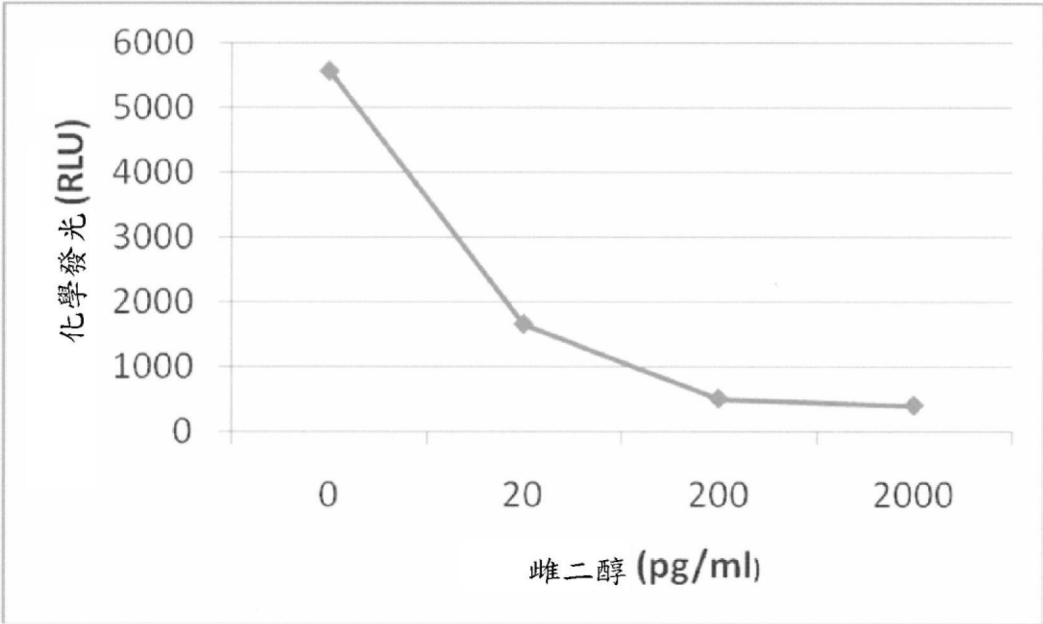
【圖 142】



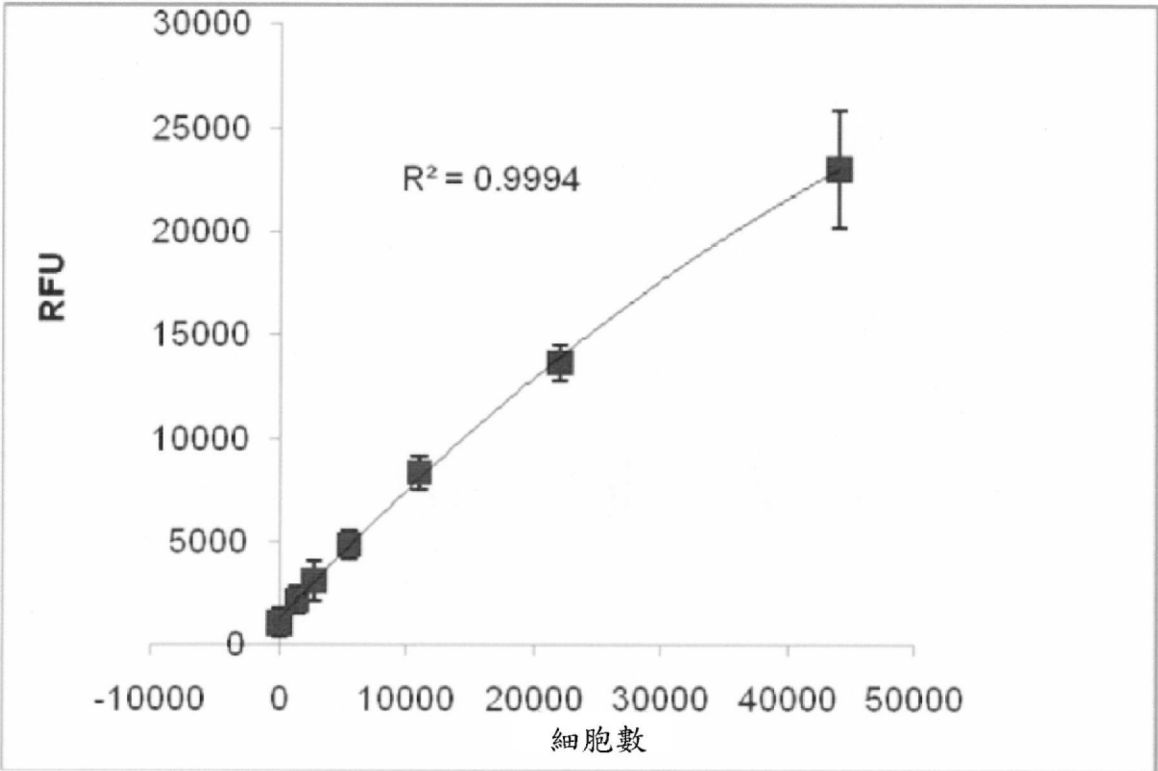
【圖 143】



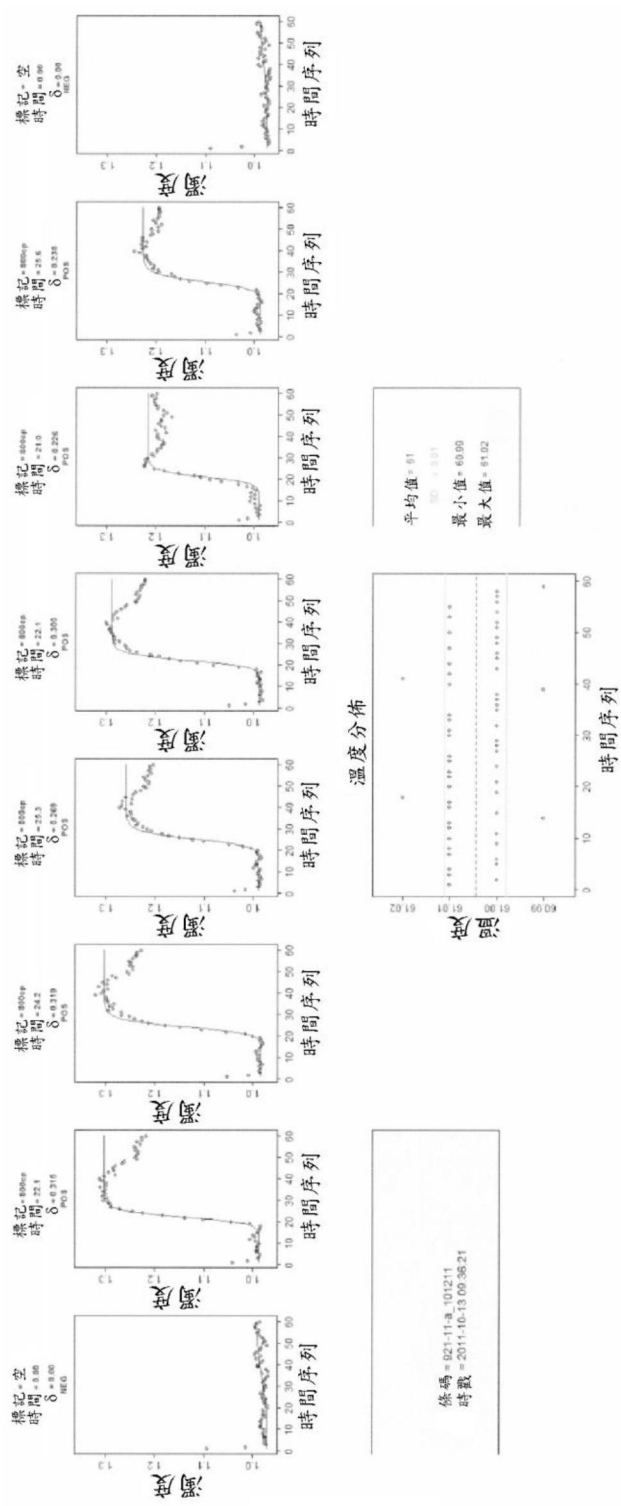
【圖 144】



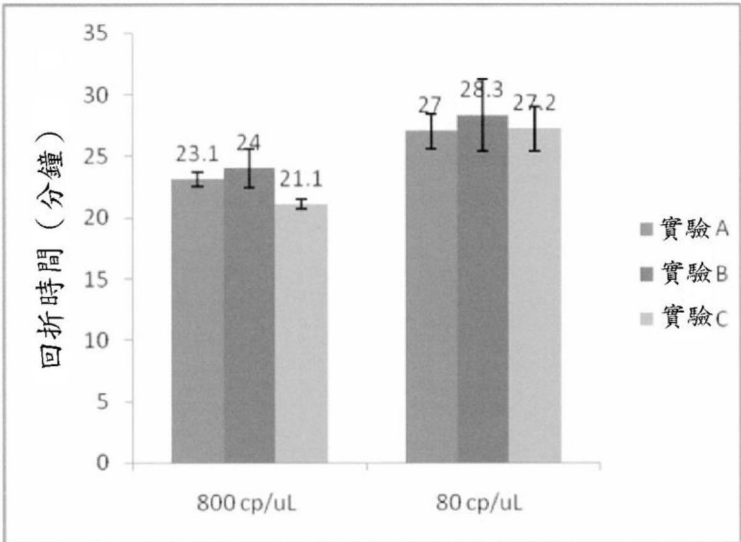
【圖 145】



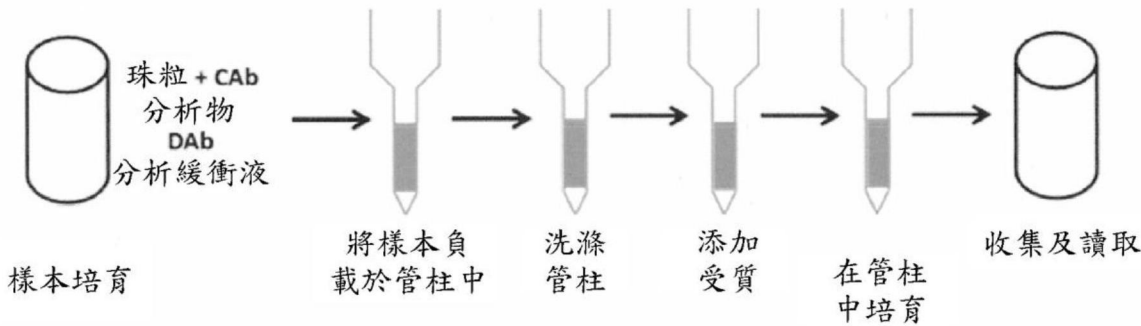
【圖 146】



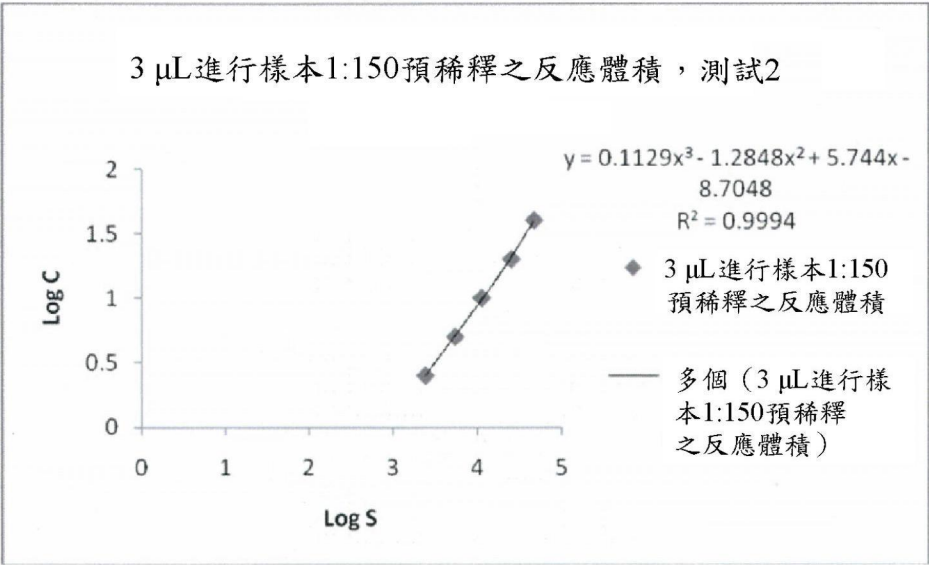
【圖 147】



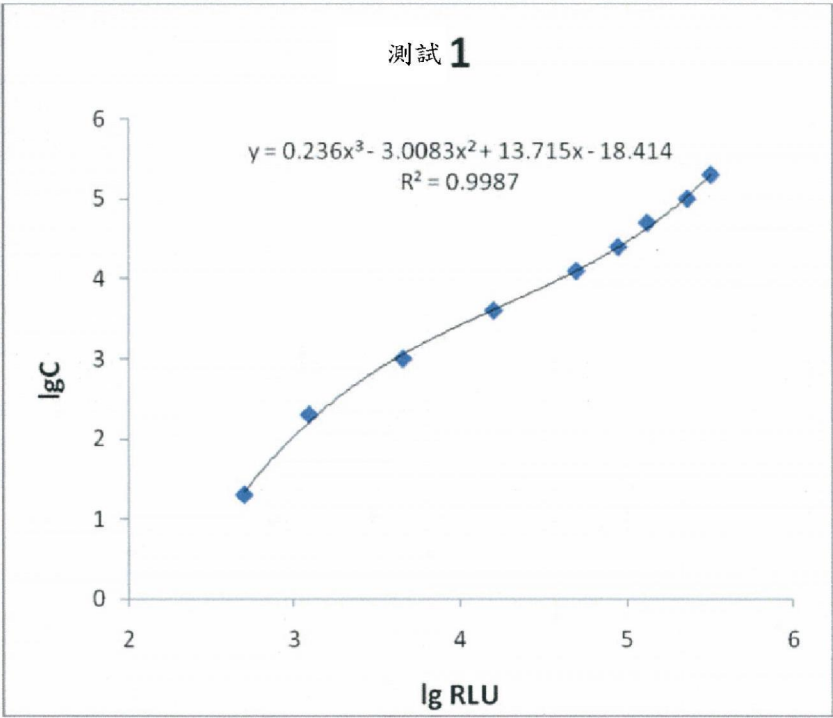
【圖 148】



【圖 149】



【圖 150】



【圖 151】