



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106999936 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(21)申请号 201480082500.2

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2014.11.14

B01L 3/02(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.04.06

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/065713 2014.11.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/076888 EN 2016.05.19

(71)申请人 西托斯科莱顿股份有限公司

地址 美国科罗拉多州

(72)发明人 阿什利·米德尔顿戴维斯

金·米德尔顿戴维斯

(74)专利代理机构 深圳永慧知识产权代理事务

所(普通合伙) 44378

代理人 宋鹰武

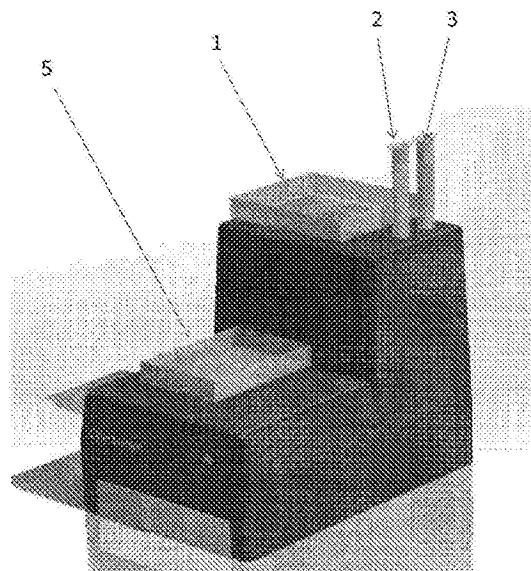
权利要求书2页 说明书12页 附图11页

(54)发明名称

模块化流体分配装置

(57)摘要

本公开提供了按预定计划将流体从若干个储存器递送到反应容器并且最终递送到废物室的装置。所述装置提供了改进的简易性,同时提高了操作稳健性和灵活性。



1. 一种液体分配装置,其包括:

洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器,每个储存器包括储存器控制阀门,其中每个储存器控制阀门与电子控制板电连通;

反应容器,其与所述洗涤缓冲液储存器和所述至少一个试剂储存器流体连通,其中所述反应容器包括一个或多个挡板;

废物盘,其与所述反应容器流体连通;

电动凸轮,其与所述反应容器物理连接;以及

任选的中心泵。

2. 如权利要求1所述的装置,其中所述洗涤缓冲液储存器和所述至少一个试剂储存器的每个包括与所述反应容器的第一端口流体连通的端口,并且其中所述装置还包括中心泵。

3. 如权利要求2所述的装置,其中所述至少一个试剂容器的所述端口和所述洗涤缓冲液储存器的所述端口比所述储存器控制阀门中的每个高至少0.5cm、高至少1cm或高至少2cm。

4. 如权利要求2或权利要求3所述的装置,其中所述储存器控制阀门中的每个比所述反应容器的所述第一端口高至少0.5cm、高至少1cm或高至少2cm。

5. 如权利要求2至4中任一项所述的装置,其中所述洗涤缓冲液储存器的所述端口和所述至少一个试剂存储器的所述端口中的每个通过管路与所述反应容器的所述第一端口流体连通。

6. 如权利要求2至5中任一项所述的装置,其中每个储存器控制阀门控制所述洗涤缓冲液储存器和所述至少一个试剂储存器的所述端口,或控制所述相应管路内的流体连通。

7. 如权利要求5或权利要求6所述的装置,其中来自所述洗涤缓冲液储存器的所述管路和来自所述至少一个试剂储存器的所述管路与多路连接器和所述中心泵流体连通。

8. 如权利要求7所述的装置,其中所述多路连接器通过管路与所述反应容器流体连通。

9. 如权利要求1至7中任一项所述的装置,其中所述废物盘中的端口通过管路与所述反应容器中的第二端口流体连通。

10. 如权利要求9所述的装置,其中所述反应容器中的所述第二端口比所述废物盘中的所述端口高至少0.5cm、高至少1cm或高至少2cm。

11. 如权利要求9或权利要求10所述的装置,其中反应容器控制阀门控制所述反应容器的所述第二端口,或控制从所述反应容器到所述废物盘的所述管路内的所述流体连通。

12. 如权利要求1至11中任一项所述的装置,其中所述电子控制板控制每个控制阀门的打开和关闭,使所述中心泵打开和关闭,并且控制每个控制阀门打开的时间长度。

13. 如权利要求12所述的装置,其中所述电子控制板含有可编程以控制控制阀门打开和关闭的顺序以及每个控制阀门打开的时间长度的软件。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的装置,其中所述电子控制板可编程以控制所述电动凸轮的速度。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的装置,其中所述反应容器在一端被栓系,并且通过与所述凸轮的相互作用而定位成在远端上下摇摆。

16. 如权利要求1至15中任一项所述的装置,其中所述凸轮包括凸缘形状。

17. 如权利要求1至16中任一项所述的装置,其还包括符合ISO9000型的通信端口。

18. 如权利要求1至17中任一项所述的装置,其中所述电子控制板包括蓝牙远程控制能力。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的装置,其中所述反应容器关于所述反应容器的所述第二端口和旋转轴线是不对称的。

20. 如权利要求1至19中任一项所述的装置,其中所述反应容器还包括随着所述凸轮的动作上下移动的圆筒。

21. 如权利要求1至20中任一项所述的装置,其中所述反应容器包括多个分析部分。

22. 如权利要求1至21中任一项所述的装置,其中所述整个装置小于30cmx50cm、小于20cmx30cm或小于16cmx24cm,并且重量小于10kg、或小于5kg或小于2kg。

23. 如权利要求1至22中任一项所述的装置,其中所述管路中的每个约1/8英寸内径和约3/16英寸外径。

24. 如权利要求1至23中任一项所述的装置,其中所述至少一个试剂储存器中的每个包括能够容纳多达5ml、多达10ml或多达20ml试剂的内部。

25. 如权利要求1至24中任一项所述的装置,其中机箱连接所述洗涤缓冲液储存器、试剂储存器、反应容器、洗涤盘和凸轮电机中的每个,并且也是所述装置的外壳。

26. 一个系统,其包括如权利要求1至25中任一项所述的多个装置。

27. 一种使用如权利要求1至25中任一项所述的装置来分析膜的方法,其包括:

将洗涤缓冲液装载到所述洗涤缓冲液储存器中;

将第一试剂装载到所述至少一个试剂储存器中的一个中;

任选地将第二试剂装载到所述至少一个试剂储存器中的不同的一个中;

将所述膜和封闭试剂装载在所述反应容器中;

从所述电子控制板选择程序;和

将所述膜从所述反应容器中去除,以供进行随后的信号显影和结果获取。

模块化流体分配装置

技术领域

[0001] 本公开部分地涉及按预定计划将流体从若干储存器递送到反应容器并且最终递送到废物室的装置,并且涉及执行所述装置的方法。

背景技术

[0002] 在分析化学领域,需要改进的液体分配装置来探测所关注的样品。特别是在生物化学中,称为蛋白质印迹分析的技术需要定时施加至少三种水溶液来探测含有所关注的样品的膜。样品通常是蛋白质,但也可以是DNA或碳水化合物。样品通常通过SDS-PAGE电泳分离成单独的分子物质,然后电印迹到膜上。纯样品或复杂样品的直接施加也通过移液到膜上而被使用。膜由于其疏水性(PVDF膜)或共价交联(硝酸纤维素膜)而结合样品分子。然后可以用鉴定特定的所关注的化学物质的各种检测过程来探测所述膜。该最后步骤需要按定时计划顺序施加两种至五种溶液。

[0003] 目前存在四种探测上述膜的方法:1)在约四小时的时期内手动施加具有若干定时孵育物的溶液;2)施加与手动操作者类似的程序的自动化机器;3)应用一个程序的滤纸毛细管装置(例如Life Technologies的iBind装置);和4)通过抽吸使溶液移动穿过膜的基于真空的方法(例如,由EMD Millipore Inc.的SNAP id装置)。所有四种方法都旨在实现类似的程序:第一,用蛋白质、DNA或碳水化合物的非特异性溶液封闭膜,这将最终降低背景噪声;第二,在某些情况下包括洗涤步骤;第三,添加特异性分析试剂(SAR)或第一试剂,所述试剂结合到所需的待测靶分子;第四,一至六个洗涤步骤以去除过量的SAR;第五,施加放大第一信号的第二通用试剂;并且最后,用缓冲液施加洗涤1至6次以去除过量的试剂。然后膜准备在比色、荧光、辐射或发光模式下进行信号显影。

[0004] 这个六步骤过程非常费时费力。操作者必须在试剂孵育步骤中每小时返回一次膜,并在洗涤步骤中每隔3至5分钟返回一次膜,总共10至17次。另外,不同的操作者喜欢运行不同的过程。例如,第一操作者可能希望使用3x5次洗涤和2小时SAR步骤以及1小时第二试剂步骤,而第二操作者可能使用16小时SAR并且仅使用一次洗涤步骤。

[0005] 迄今为止开发的机器允许使用者控制洗涤时间和试剂孵育时间,并解决自动化需求。然而,在泵、加压空气供应和/或致动器的各种组合的情况下机器是高度复杂的,并且需要经过训练的个人来操作它们。例如美国专利号4,859,419、8,404,198、5,567,595、5,559,032、6,194,160、4,585,623和8,758,687以及iBind机器(网址:tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/ibind_man.pdf)和Snap id机器(网址:emdmillipore.com/US/en/life-science-research/protein-detection-quantification/SNAP-i.d.-2.0-Protein-Detection-System-/snap-id-system-western-blotting/m9Wb.qB.wzoAAAFBr8RRkwt.nav)报告了各种机器,其中一些机器复杂和/或不灵活,并且需要经过训练的人员进行操作和维护,这使得操作和维修成本昂贵。因此,需要降低制造的复杂性和成本。

[0006] 本公开解决当前可用装置的许多缺点。

发明内容

[0007] 本公开提供了液体分配装置,其包括:洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器,每个储存器包括储存器控制阀门,其中每个储存器控制阀门与电子控制板电连通;反应容器,其与所述洗涤缓冲液储存器和所述至少一个试剂储存器流体连通,其中所述反应容器包括一个或多个挡板;废物盘,其与反应容器流体连通;电动凸轮,其与所述反应容器物理连接;以及如本文所述的任意的中心泵。

[0008] 本公开还提供了包括如本文所述的多个装置的系统。

[0009] 本公开还提供了使用本文所述的任何装置分析膜的方法,所述方法包括:将洗涤缓冲液装载到洗涤缓冲液储存器中;将第一试剂装载到所述至少一个试剂储存器中的一个中;任选地将第二试剂装载到所述至少一个试剂储存器中的不同的一个中;将膜和封闭试剂装载到所述反应容器中;从电子控制板选择程序;并且将膜从反应容器中去除,以供进行随后的信号显影和结果获取。

附图说明

[0010] 图1示出了装置的代表性CAD 3D示意图。

[0011] 图2示出了没有机箱盖的代表性装置,其展示了若干内部部件。

[0012] 图3示出了支撑反应容器(已经从视图中去除)的装置的代表性平台。

[0013] 图4示出了代表性装置的下面视图。

[0014] 图5示出了代表性凸轮设计和反应容器波,指示不对称的和对称的两点凸轮设计。

[0015] 图6示出了反应容器设计的第一代表。

[0016] 图7示出了反应容器设计的第二代表。

[0017] 图8示出了反应容器设计的第三代表。

[0018] 图9示出了装置的代表性电路布局,指示控制板、阀门和电机控制的简单化设计。

[0019] 图10A和10B示出了使用装置的标准操作过程的代表性流程图。

[0020] 图11示出了使用本文所述的装置处理的被放置在暗相机室中的PVDF膜的代表性图像。

具体实施方式

[0021] 本公开的目的是为可用的装置创建一种低成本的替代方案,所述可用的装置在过程上灵活,但是编程复杂并且购买、操作和维护昂贵。为了实现此目标,采取极简主义的方法来设计阀门和泵的管道方案,所述方案利用重力势或中心泵以通过阀门和管推进液体。由于所述方法的简易性,不需要来自传感器的反馈回路来维持稳健的操作,并且最小化的部件允许与其他装置相比显著地减少占地面积(例如,美国专利号4,859,419、8,404,198、5,567,595、5,559,032、6,194,160、4,585,623和8,758,687,以及iBind机器和Snap id机器。另外,通过利用先进的低摩擦塑料,所述设计简化了搅拌膜的方法。

[0022] 当没有中心泵配置时,所述装置可以分为四个重力级别。最高级别包含洗涤储存器和至少一个试剂储存器。第二级别处于储存器控制阀门的高度。第三级别处于反应容器高度。第四级别是废物沉积的地方。通过有意设计具有相似高度的这些级别,可以在任何两

个阶段之间创建可靠的液体流动,同时用阀门控制来停止和启动所述流动。

[0023] 本公开提供了液体分配装置。液体分配装置包括洗涤缓冲液储存器、至少一个试剂储存器、多个储存器控制阀门、任选的中心泵、电子控制板、包括一个或多个挡板的反应容器、废物盘和电动凸轮。图1示出了具有洗涤缓冲液储存器(1)、试剂储存器(2和3)和反应容器(5)的代表性液体分配装置。图2示出了代表性液体分配装置,其示出了洗涤缓冲液储存器(1)、试剂储存器(2、3)、反应容器(5)、反应容器的第一端口(6)和反应容器控制阀门(23)。图3示出了其中已经去除了反应容器的代表性液体分配装置,其示出了齿轮电机(7)、凸轮(8)和反应容器夹(9)。图4示出了代表性液体分配装置的底面,其示出了四个储存器控制阀门(4)、齿轮电机(7)、凸轮(8)、多路连接器(12)以及各种连接管(13)和接线。

[0024] 在一些实施方案中,洗涤缓冲液储存器(1)充当其中倾倒洗涤缓冲液的室。可以使用任何洗涤缓冲液。洗涤缓冲液储存器可以具有任何形状和尺寸,但通常设计成容纳约50ml至约500ml、约100ml至约400ml或约200ml至约300ml的液体。洗涤缓冲液储存器还包括端口(未示出),其充当洗涤缓冲液可以离开洗涤缓冲液储存器的开口。所述端口可以位于洗涤缓冲液储存器的底部的任何位置。在一些实施方案中,所述端口位于储存器一端处的洗涤缓冲液储存器的底部。在一些实施方案中,洗涤缓冲液储存器被设计成可移除的并且允许通过盘的底层中的梯度进行完全排出。

[0025] 在一些实施方案中,所述装置包括至少一个试剂储存器(2、3)。在一些实施方案中,所述装置包括两个或三个试剂储存器(即第一试剂储存器和第二试剂储存器)。每个试剂储存器充当其中倾倒各种试剂的室。可以使用任何试剂。合适的试剂包括例如用于检测的一抗和二抗。试剂储存器可以具有任何形状和尺寸,但通常设计成至少1cm、至少2cm或至少4cm高,和/或设计成容纳多达0.5ml、多达2ml、多达5ml、多达10ml、多达20ml或多达50ml的试剂。每个试剂储存器还包括端口(未示出),其充当试剂可以离开试剂储存器的开口。所述端口可以位于试剂储存器的底部的任何位置。部分地因为第一试剂和第二试剂通常是昂贵的,并且因此通常采用小体积(1至10ml)。

[0026] 在一些实施方案中,所述装置包括反应容器(5),其充当其中放置膜的室。可以使用任何膜,包括PVDF膜和硝酸纤维素膜。反应容器也可以用于容纳针对特定方案添加的各种缓冲液,诸如封闭溶液。反应容器可以具有任何形状和尺寸,但通常设计成容纳约5cm至约30cm、约8cm至约20cm或约10cm至约15cm尺寸的膜的正方形片或矩形片。反应容器还设计成容纳约0.5ml至约100ml、约2ml至约75ml、约5ml至约20ml或约8ml至约20ml的液体。在一些实施方案中,反应容器包括一个或多个挡板。挡板可以具有任何形状并且可以具有任何长度以适于装配在反应容器内,每个挡板基本上平行于一个或多个其他挡板。反应容器还包括充当开口的第一端口(6)(见图2),任何流体可以从洗涤缓冲液储存器和/或试剂储存器中的一个或两个经由所述开口中进入反应容器。第一端口可以位于反应容器侧面的任何位置,或者可以简单地是反应容器在顶部的开口。在一些实施方案中,反应容器包括充当反应容器中的开口的第二端口(22)(见图6、7和8),反应容器内的任何流体可以从所述开口中离开反应容器。在一些实施方案中,反应容器的第二端口位于反应容器一端处的反应容器的底部。挡板还将膜保持在流体区域中,同时防止膜阻塞反应容器中的第二端口。在一些实施方案中,反应容器关于反应容器的第二端口和旋转轴线是不对称的。在一些实施方案中,反应容器包括多个分析部分,每个分析部分可以包括单独的膜。反应容器可以由低摩擦塑

料制成,或者低摩擦塑料条带粘附到反应容器底座以与凸轮相互作用。反应容器设计不限于本文公开的任何图中的设计;具有更小的或更大的表面积和体积、或包含充当低($<5\text{ml}$)液体的分配机构的材料的圆筒、或包含用于孵育不同尺寸或数量的膜的多个室的其他设计也是可能的。在一些实施方案中,反应容器可通过一个或多个反应容器夹(9)保持在适当位置(见图3)。

[0027] 洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器各自与反应容器流体连通。因此,流体可以从洗涤缓冲液储存器流到反应容器,并且可以仅通过没有中心泵的装置中的重力从洗涤缓冲液储存器流到反应容器。同样地,流体可以从至少一个试剂储存器流到反应容器,并且可以仅通过没有中心泵的装置中的重力从至少一个试剂储存器流到反应容器。如上所述,流体通过洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器的相应的端口离开所述洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器。离开洗涤缓冲液储存器和/或至少一个试剂储存器的流体通过反应容器的第一端口进入反应容器。洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器的每个端口经由管路与反应容器的第一端口流体连通。在一些实施方案中,流体连通通过管路来实现。在一些实施方案中,管路中的每个约 $1/8$ 英寸内径和约 $3/16$ 英寸外径。可以使用任何管路。在一些实施方案中,管路轮廓是平滑的,使得阻力不会因扭结而增加。图4示出了将装置的一部分连接到装置的另一部分的管路(13)。

[0028] 用一个或多个储存器控制阀门(4)和任选的中心泵(27)控制流体从洗涤缓冲液储存器和至少一个试剂储存器中的一个或两个到反应容器的流动。用于洗涤缓冲液储存器的储存器控制阀门可以控制洗涤缓冲液储存器的端口的打开和关闭。或者,当洗涤缓冲液储存器的端口可以总是打开时,用于洗涤缓冲液储存器的储存器控制阀门可以是从小于洗涤缓冲液储存器到反应容器的管路的内嵌部件,并且因此控制一旦在管路中的流体的流动。同样地,用于至少一个试剂储存器的储存器控制阀门和任选的中心泵可以控制试剂储存器的端口的打开和关闭。或者,当试剂储存器的端口可以总是打开并且任选的中心泵运行时,用于至少一个试剂储存器的储存器控制阀门可以是从小于至少一个试剂储存器到反应容器的管路的内嵌部件,并且因此控制一旦在管路中的流体的流动。任选的中心泵与控制板电连通,并且可以用于拉动或推动流体通过装置中的各种端口和管路。中心泵还可以与电源连通。

[0029] 在一些实施方案中(诸如但不限于没有中心泵的装置),至少一个试剂容器的端口和洗涤缓冲液储存器的端口都比各自相应的储存器控制阀门高至少 0.5cm 、高至少 1cm 、高至少 2cm 、高至少 3cm 、高至少 4cm 或高至少 5cm 。在一些实施方案中,每个储存器控制阀门比反应容器的第一端口高至少 0.5cm 、高至少 1cm 、高至少 2cm 、高至少 3cm 、高至少 4cm 或高至少 5cm 。

[0030] 在一些实施方案中,离开相应的储存器控制阀门的管路(即,来自洗涤缓冲液储存器通向其储存器控制阀门的管路,和来自每个试剂储存器通向其储存器控制阀门的管路;以及离开储存器控制阀门的管路)会聚到多路连接器(12)(见图4)。多路连接器通过另外的管路与任选的中心泵和反应容器流体连通,所述另外的管路通过反应容器的第一端口进入反应容器或者简单地将其内容物置于反应容器的开口中。在一些实施方案中,多路连接器为4路连接器。在一些实施方案中,接收储存器溶液的多路连接器以一定角度安装并靠近反应容器。以这种方式,因为连接多路连接器和反应容器的管路较短并且向下倾斜,因此过程中不同步骤的不同溶液之间存在较低概率的交叉污染。因为连接器,特别是通向反应容器

的连接器的部分,成角度的向下连接到反应容器中,所以无论哪种流体流经连接器都将继续流动直到所有流体都已经移动到反应容器中。

[0031] 在一些实施方案中,废物盘充当室,来自反应容器的流体排入所述室。废物盘可以具有任何形状和尺寸,但通常被设计成容纳约100ml至约2000ml、约150ml至约1500ml、约200ml至约800ml或约250ml至约400ml的流体。在一些实施方案中,废物盘包括充当开口的端口,来自反应容器(通过其第二端口)的流体可以从所述开口中进入废物盘。所述端口可以位于废物盘的顶部部分的任何位置。废物盘通过管路与反应容器流体连通。在一些实施方案中(诸如但不限于没有中心泵的装置),反应容器的第二端口比废物盘中的端口高至少0.5cm、高至少1cm、高至少2cm、高至少3cm、高至少4cm或高至少5cm。

[0032] 在一些实施方案中,流体从反应容器到废物盘反应的流动由反应容器控制阀门(23)来控制(见图2)。反应容器控制阀门可以控制反应容器的第二端口的打开和关闭。或者,当反应容器的第二端口可以总是打开时,反应容器控制阀门可以是从反应容器到废物盘的管路的内嵌部件,并且因此控制一旦在管路中的流体的流动。

[0033] 所述装置还包括由与反应容器物理连接的由齿轮电机(7)驱动的凸轮(8)。凸轮被设计成对于电机输出的每次旋转将反应容器倾斜一至四次,或两次。凸轮还可以使用1、2、3、4、5或更多个高点用于倾斜。电机输出以约40rpm的速度以12V的功率旋转,因此每次回转执行两次倾斜上下循环并且每分钟80次,但是频率不限于此速度,并且也可以更高或更低。凸轮可以由低摩擦塑料制成,所述凸轮与反应容器的底面相互作用,所述反应容器也可以与低摩擦塑料接合,并且因此创建低摩擦倾斜机构。在一些实施方案中,凸轮包括凸缘(off-set)形状。在一些实施方案中,反应容器在一端被栓系,并且通过与凸轮的相互作用而定位成在远端(即,未栓系的端部)上下摇摆。因此,在一些实施方案中,反应容器被设计成通过与容器的一端上的轴线的小角度来回倾斜。倾斜幅度有助于良好的波形以维持适当的穿过膜的液体运动,这改进了分析物的检测并降低了背景信号。在一些实施方案中,反应容器还包括随着凸轮的动作上下移动的圆筒。具有低摩擦塑料凸轮的简单齿轮电机创建低摩擦倾斜机构,其被编程为在程序开始时打开并在结束时关闭。因此,不需要用于倾斜的开/关控制开关。电机与控制板和电源(未示出)电连通。

[0034] 图5示出了代表性凸轮设计和反应容器波,指示不对称的和对称的两点凸轮设计。每个凸轮的宽度可以为约2至约20mm并且可以具有多种半径设计,根据反应容器所需的倾斜程度选择半径设计。不对称设计通过在倾斜向上的位置花费更多时间以及快速下降到与没有波的恒定倾斜相比在液体中产生波所需的最低水平,来创建良好的排出和良好的波形。不对称凸轮可以制成各种形状,诸如:两个高点,其具有比与它们成直角的第二高点宽3mm的半径,所述第二高点具有比与第二高点相对的最低点宽2mm的半径。如果反应盘水平(无倾斜)时认为反应盘在参考位置,则倾斜的高点在水平位置之上9mm,第二高点在水平位置之上2mm并且最低点在水平位置之下2mm。凸轮的设计允许发生这些不同的倾斜幅度。其他半径可以用于创建不同的倾斜幅度和频率。

[0035] 图6、7和8示出了反应容器的代表性设计,以及它如何与液体分配装置中的其他部件相互作用。在一些实施方案中,引入的流体来自多路连接器,其将流体从上方(其中第一端口实际上是开口通向反应容器)引导到反应容器中。通过倾斜膜和流体在反应容器中被搅拌,并且挡板将膜保持偏离位于旋转轴线处的第二端口排出口。由于凸轮形状,反应容器

可以在其远端向上倾斜用于大部分的倾斜循环,这有助于将流体排出到废物盘。

[0036] 参考图6,示出了第一个反应容器设计。基本设计具有平坦的下表面,其具有将膜探测区域(15)与反应容器的第二端口(22)分离的挡板(14),并且旋转轴线处于紧邻机箱隔板端的盘固定夹的位置。盘在其远端仅向下倾斜1或2mm且向上倾斜8至10mm。其他倾斜角度和幅度也是可能的并且有效。在一些实施方案中,反应容器可以包括腿部(17)中的一个或多个夹子,如在隔板端上所示。其他反应容器设计也是可能的,其允许较小体积的SAR、不同尺寸和数量的膜(例如,使用塑料圆筒作为用于小体积的分散机构(见图7)或使用例如用于在一个反应容器内孵育0.3cm x 8cm的条带的十五个微室(见图8)。

[0037] 参考图7,示出了第二个反应容器设计。在SAR限制的一些情况下(例如用昂贵的抗体溶液或当使用小鼠血清时),必需小体积的SAR。此设计包括一个塑料圆筒(19),当容器上下倾斜时,所述圆筒适当地加重并且具有足够的直径以在膜的顶部上下滚动反应容器。低至1ml的SAR的液体体积可以均匀地分布在正常尺寸的膜上,从而节省贵重的试剂。在一些实施方案中,分离器(18)位于远端以阻止导致圆筒粘附到容器的壁上的表面张力。

[0038] 参考图8,示出了第三个反应容器设计。在某些情况下,操作者可能需要测量非常小的体积(例如200 μ l或更少)的抗体的活性。在这种情况下,反应容器具有由壁(20)隔开的单独的微室,并且任选地具有坝(21)以阻止SAR溶液移出微室并与其他溶液混合。在洗涤步骤期间,大量(例如20ml或更多)的洗涤缓冲液流过坝并进入整个反应容器,并立即排出第二端口,因此不允许SAR污染彼此的室的时间。

[0039] 在本文公开的每个实施方案中,每个控制阀门与电子控制板(10)电连通(见图9),所述电子控制板包括可用于启动特定程序的启动按钮(26)以及可用于选择特定程序的旋转开关(25)。因此,电子控制板控制每个控制阀门(4)的打开和关闭(见图9中的V1、V2、V3、V4、P1)以及流体泵送,并控制每个控制阀门打开的时间长度,并且因此控制被运输的流体的体积。在一些实施方案中,电子控制板是可商购获得的,诸如,例如Arduino Uno或Mega等。在一些实施方案中,控制阀门中一个或多个可以是手动操作的。在一些实施方案中,电子控制板含有可编程以执行特定程序来控制控制阀门打开和关闭的顺序以及每个控制阀门打开的时间长度的软件。在一些实施方案中,控制板将具有电源开关以控制用于凸轮的电机的操作。在一些实施方案中,电子控制板可编程以控制电动凸轮的速度。在一些实施方案中,电子控制板还包括对于另一装置的通信端口,诸如符合ISO9000型的USB端口。在一些实施方案中,在特定过程期间包括用于装置事件的ISO9000型报告的USB端口。在一些实施方案中,电子控制板包括蓝牙远程控制能力,其可以允许装置的远程编程和控制。

[0040] 控制板的控制软件程序非常灵活,可以对所有步骤进行修改和重新编程。然而,程序的简要列表可以涵盖大多数实际过程。因此,并入了这个简短列表的基本程序设计可以通过提供几个按钮或在若干位置的旋转开关来简化最终使用者的界面。例如,一个程序提供了仅使用两种试剂(例如洗涤试剂和第一试剂)来处理膜的机会,这为其他应用(诸如用预先标记的第一试剂探测)提供了灵活性。预编程的程序可以在时间和步骤数方面变化。

[0041] 本文公开的装置可以是紧凑的且可携带的。在一些实施方案中,整个装置小于30cm x 50cm、小于20cm x 30cm或小于16cm x 24cm,并且重量小于10kg、或小于5kg或小于2kg。在一些实施方案中,所述装置为约15cm x 约22cm。在一些实施方案中,机箱连接洗涤缓冲液储存器、试剂储存器、反应容器、洗涤盘和凸轮电机中的每一个,并且也是装置的外壳。

在一些实施方案中,所述装置包括大体垂直以允许紧密包装的圆角、高倾斜壁和/或下壁。

[0042] 反应容器以不对称的幅度倾斜以在流体中创建波形,所述波形可以通过将凸轮从中心位置放置到多个偏心位置中的任何一个来调节。这允许搅拌和改进的分析物检测,并且还有助于在每个步骤结束时排出流体。

[0043] 本公开还提供了包括多个本文公开的装置中的任何一个或多个的系统。所述系统可以由控制每个装置的所有阀门、电机和任选的中心泵的单个电子控制板来控制。

[0044] 本公开还提供了使用如本文所述的装置分析膜的方法。在一些实施方案中,诸如蛋白质印迹实施方案,将洗涤缓冲液装载到洗涤缓冲液储存器中。将第一试剂装载到至少一个试剂储存器中的一个中。将第二试剂任选地装载到至少一个试剂储存器中的一个中。将膜和封闭试剂放置在反应容器中。选择来自电子控制板的程序并运行预定量的时间。将膜从反应容器中取出,用于随后的信号显影和结果获取。例如,操作者将预先从蛋白质印迹实验中获得分析物结合膜,并且将准备四种溶液:1) 封闭试剂(20ml)、2) 洗涤缓冲液(300ml)、3) SAR(5ml)和4) 第二放大试剂(15ml)。操作者将洗涤缓冲液添加到洗涤缓冲液储存器中,并且将第一试剂和第二试剂加入其适当的试剂储存器中。然后将膜放置在反应容器中,并在膜上倒入封闭溶液。通过按下开关选择所需的程序,并且不间断地运行所述程序。操作者可以在约4小时后(或程序结束时)或另一程序的全长时间后返回,并通过任何已知方法去除膜以用于随后的信号显影和结果获取。操作者可以去除在洗涤缓冲液储存器中剩余的过量的洗涤缓冲液,并将nanopure超纯水施加到任何储存器,并且运行保留部件以供将来使用的编程的洗涤程序。

[0045] 参考图10A,示出了具有可变方面的标准操作过程的代表性流程图。所述流程图表示标准操作过程中的典型步骤。例如,洗涤封闭的膜(30),与第一试剂(35)孵育,洗涤(40),与第二试剂(45)孵育,并且再次洗涤(50)。图10B示出了蛋白质印迹的变化的典型范围以及在控制器中编程的示例性程序。

[0046] 为了可以更有效地理解本文公开的主题,以下提供实施例。应理解,这些实施例仅出于说明性目的且不应解释为以任何方式限制要求保护的主体。

[0047] 实施例

[0048] 实施例1:蛋白质印迹(实际的实例)

[0049] 执行典型的免疫印迹过程。首先,制备含有粘附的蛋白质的膜,所述蛋白质通过使用含SDS的聚丙烯酰胺凝胶的电泳分离。制备若干含蛋白质的样品;用以下对十条泳道进行上样:1) 分子量标准(MWM)(泳道1);2) 各种量的纯化的重组RhoA蛋白(RH01)(泳道2至7);和3) 各种量的血小板细胞蛋白质提取物(泳道8、9和10)。电泳在150V下执行1.5小时。将凝胶放置在含有25mM Tris碱、180mM甘氨酸和15%甲醇的于nanopure超纯水中的印记缓冲液中平衡。然后将凝胶夹在滤纸和凝胶带正电侧(SDS包围的蛋白质朝向正极迁移)的膜之间,并在350mA下执行电印迹45分钟。将膜转移到如本文所述的装置,并进行以下流程。

[0050] 制备四种溶液:1) 磷酸盐缓冲盐水加Tween20(PBST):1.44g Na_2HPO_4 、0.24g KH_2PO_4 、0.20g KCl、8g NaCl、995ml nanopure超纯水;与1M HCl混合直到溶解并且pH至7.4;2) 封闭溶液:20ml的PBST中1g(5%重量/体积)干奶粉;3) PBST中的一抗:5ml的PBST中5 μl 抗RhoA(来自Cytoskeleton Inc.,(CO,USA)的目录号#ARH04);和4) PBST中的二抗(辣根过氧化物酶标记的,HRP):20ml的PBST中1 μl 的抗小鼠IgG HRP(来自Jackson免疫研究实验室

(PA,USA)的目录号#115-035-164)。

[0051] 打开所述装置,并且将旋转按钮转到为蛋白质印迹的正常程序的方案号1。在程序启动时所有阀门处于关闭位置。将三百(300)ml PBST倒入洗涤缓冲液储存器中。将二十(20)ml封闭溶液倒入反应容器中,并将膜添加到此溶液中。将一抗(在5ml溶液中)倒入第一试剂储存器中,并将二抗(在20ml溶液中)倒入第二试剂储存器中。通过按启动按钮启动程序。

[0052] 约4小时后,将膜从反应容器中取出并放置在纸巾上。将膜轻擦干燥并放置在4密耳聚乙烯片上,向所述膜上吸移1ml的HRP检测试剂(例如,来自ThermoFisher Scientific公司(MA,USA)的目录号#34076)以显影化学发光信号。另一层聚氨酯夹在上边。将聚氨酯膜夹层放置在暗相机室中,并拍摄图像(结果见图11)。在30秒曝光时观察到具有10ng检测极限的28kDa1分子量的纯化重组RhoA的检测,并且在5分钟曝光时下降至5ng。观察到21kDa1分子量的天然RhoA的检测,其中在40 μ g血小板细胞提取物中检测到约10ng的RhoA。黑暗的背景指示在孵育步骤之间膜的非常好的洗涤。

[0053] 程序步骤:

[0054] 第一个版本含有操作者看到的内容,而第二个版本含有软件程序的阀门定时。

[0055] 物理程序

[0056] 1. 启动倾斜机构;

[0057] 2. 封闭一小时;

[0058] 3. 在PBST中洗涤一次持续3min;

[0059] 4. 第一试剂持续一小时;

[0060] 5. 在PBST中洗涤5min(总计重复3次);

[0061] 6. 第二试剂持续一小时;

[0062] 7. 在PBST中洗涤5min(总计重复5次);

[0063] 8. 取出膜并用化学发光基质显影信号。

[0064] 软件程序阀门命令

| | |
|------------|----------------------------------|
| 启动时间 | 程序 1 (1-1-1) |
| 00:00:00.0 | 运动平台开启和打开 V1 (排出) |
| 00:00:00.0 | 等待 3600 秒。 |
| 01:00:00.0 | 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。 |
| 01:00:10.0 | 关闭 V1 |
| 01:00:11.0 | 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启 12.0 秒。 |
| 01:00:23.0 | 关闭 V2 并且 P1 关闭 |
| 01:00:24.0 | 等待 180 秒。 |
| 01:03:24.0 | 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。 |
| [0065] | |
| 01:03:34.0 | 关闭 V1 |
| 01:03:35.0 | 打开 V3 (一抗)并且任选的泵(P1)开启持续 10.0 秒。 |
| 01:03:45.0 | 关闭 V3 并且泵关闭 |
| 01:03:46.0 | 等待 3600 秒。 |
| 02:03:46.0 | 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。 |
| 02:03:56.0 | 关闭 V1 |
| 02:03:57.0 | 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 14.0 秒。 |
| 02:04:11.0 | 关闭 V2 并且泵关闭 |
| 02:04:12.0 | 等待 300 秒。 |

- 02:09:12.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 02:09:13.0 关闭 V1
- 02:09:14.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 14.0 秒。
- 02:09:28.0 关闭 V2 并且泵关闭
- 02:09:29.0 等待 300 秒。
- 02:14:29.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 02:14:39.0 关闭 V1
- 02:14:30.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 14.0 秒。
- 02:14:44.0 关闭 V2 并且泵关闭
- [0066] 02:14:44.0 等待 300 秒。
- 02:19:44.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 02:19:54.0 关闭 V1
- 02:19:55.0 打开 V4 (二抗)并且任选的泵(P1)开启持续 10.0 秒。
- 02:21:05.0 关闭 V4 并且泵关闭
- 02:21:05.0 等待 3600 秒。
- 03:21:05.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 03:21:15.0 关闭 V1
- 03:21:16.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 17.0 秒。
- 03:21:33.0 关闭 V2 并且泵关闭

- 03:21:33.0 等待 300 秒。
- 03:26:33.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 03:26:43.0 关闭 V1
- 03:26:44.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 17.0 秒。
- 03:27:01.0 关闭 V2 并且泵关闭
- 03:27:02.0 等待 300 秒。
- 03:32:02.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 03:32:12.0 关闭 V1
- 03:32:13.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 17.0 秒。
- [0067] 03:32:30.0 关闭 V2 并且泵关闭
- 03:32:30.0 等待 300 秒。
- 03:37:30.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 03:37:40.0 关闭 V1
- 03:37:41.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 17.0 秒。
- 03:37:58.0 关闭 V2 并且泵关闭
- 03:37:58.0 等待 300 秒。
- 03:42:58.0 打开 V1 (排出)持续 10.0 秒。
- 03:43:08.0 关闭 V1
- 03:43:09.0 打开 V2 (洗涤)并且任选的泵(P1)开启持续 17.0 秒。

03:43:26.0 关闭 V2 并且泵关闭

[0068] 03:43:26.0 等待 300 秒。

03:48:26.0 程序 1 (1-1-1)结束。

[0069] 关闭所有阀门并关闭运动平台

[0070] 根据以上描述,除本文所述的那些修改之外,所述主题的各种修改也将对本领域的技术人员是显而易见的。这些修改也意在属于随附权利要求书的范围内。在本申请中引用的每个参考文献(包括但不限于期刊文章、美国和非美国专利、专利申请出版物、国际专利申请出版物等)以引用的方式整体并入本文。

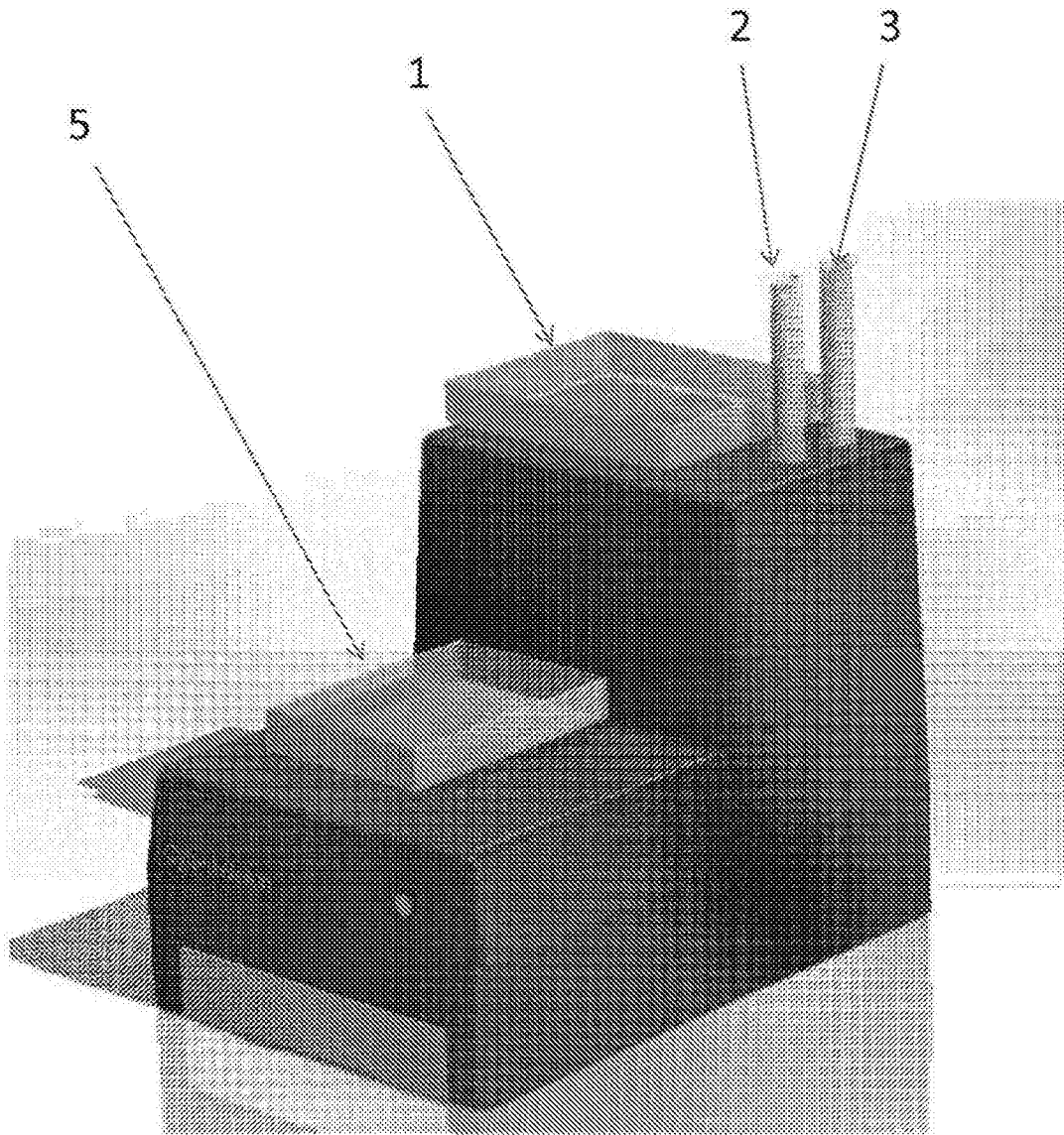


图1

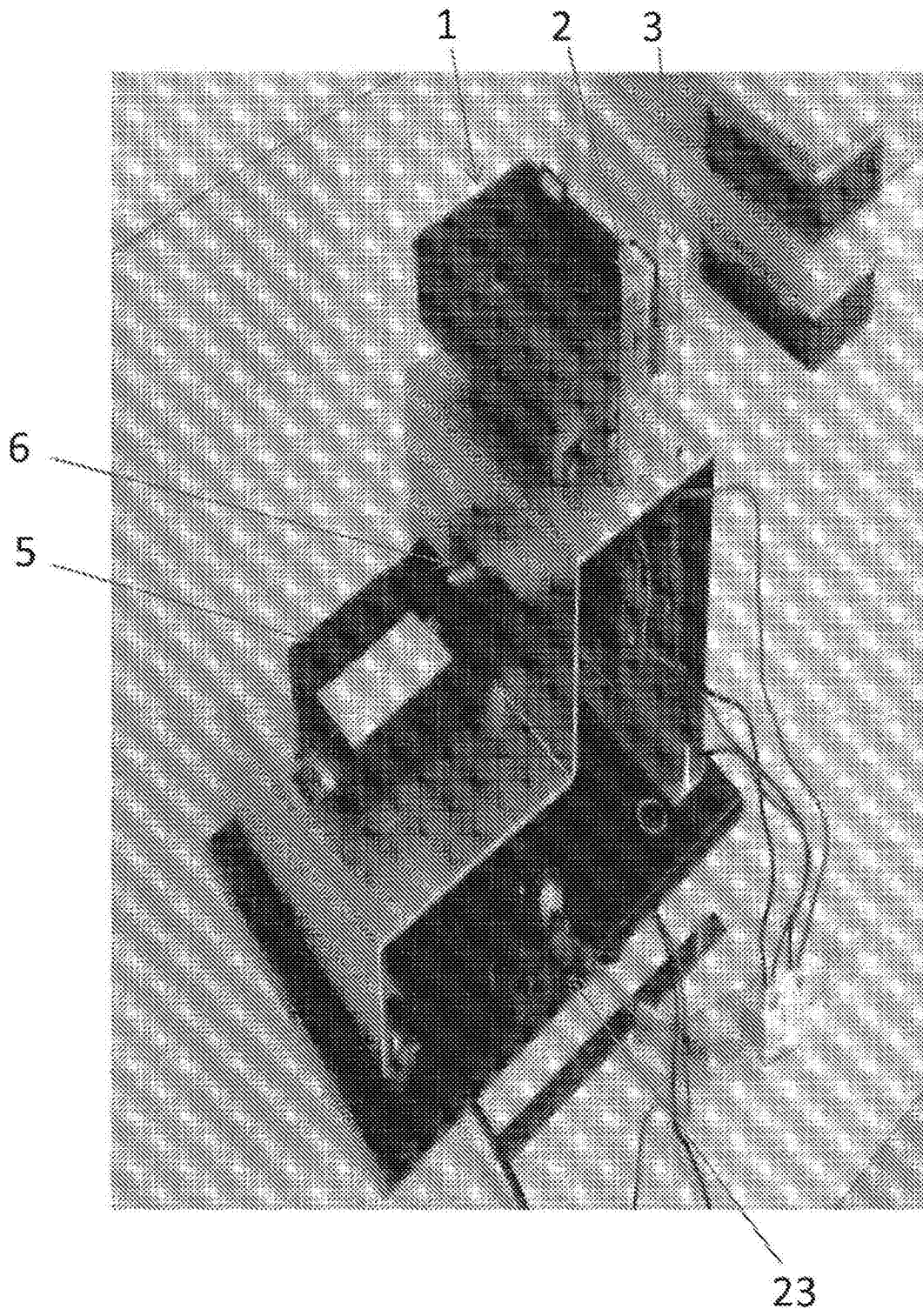


图2

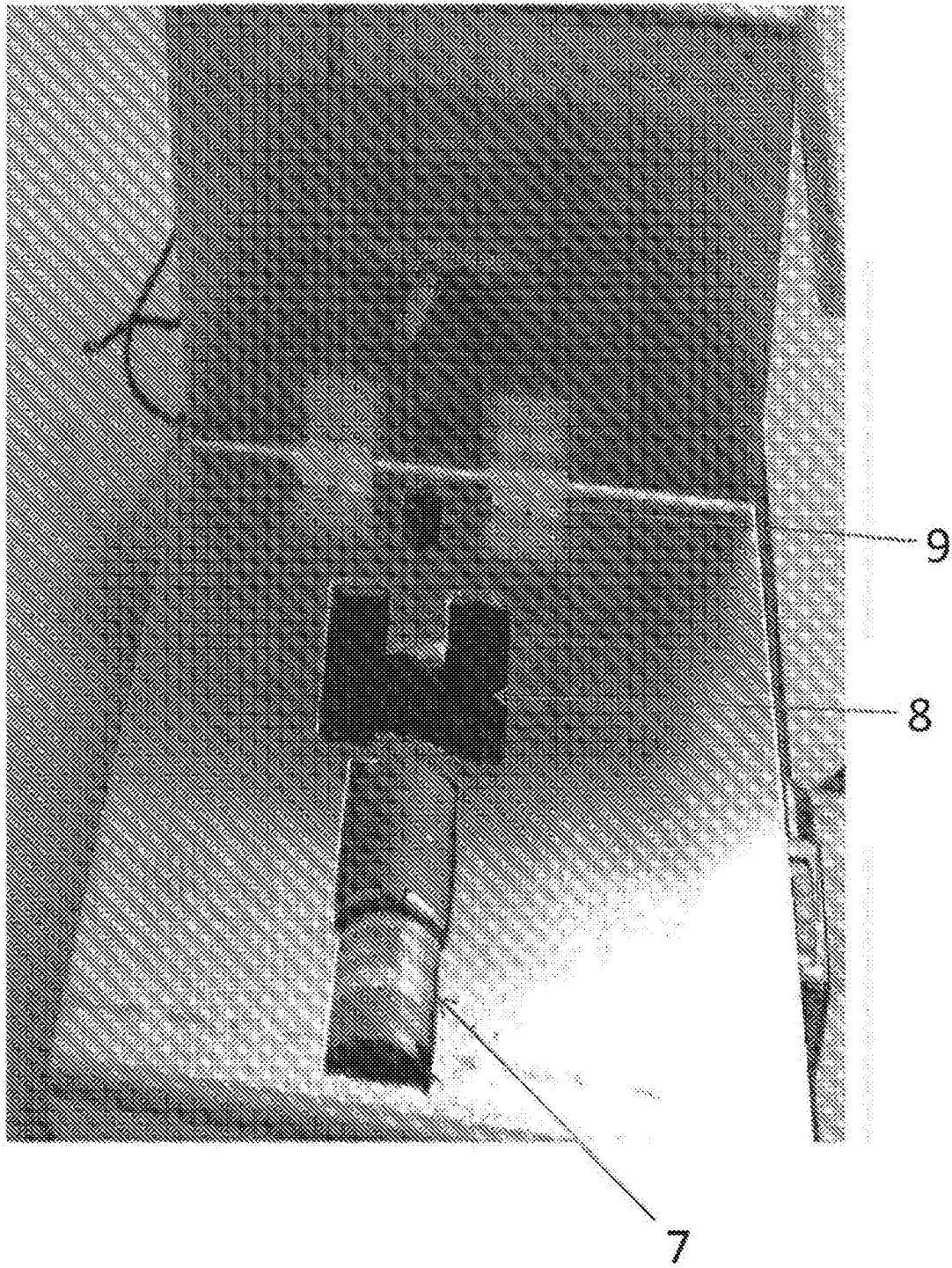


图3

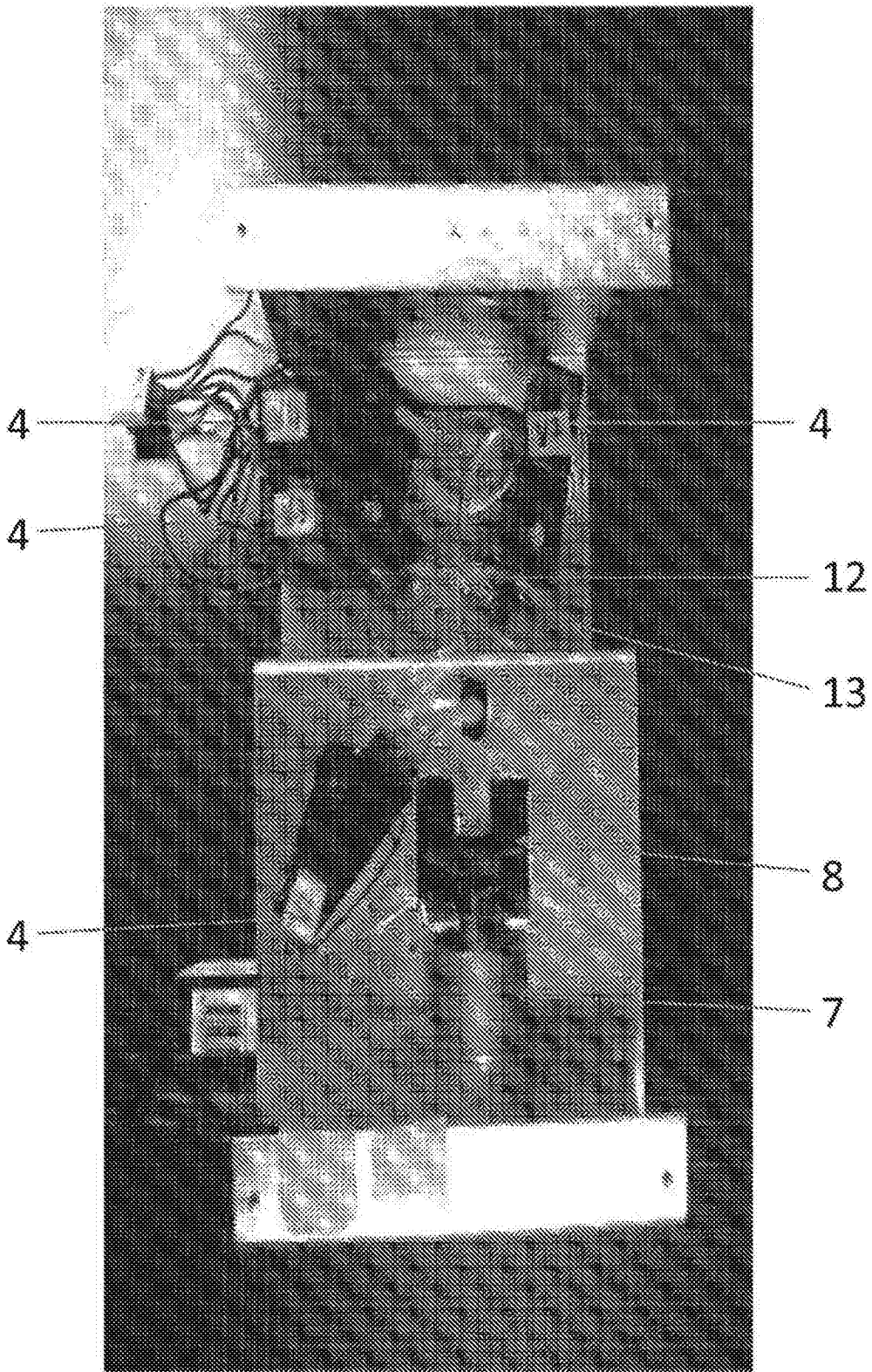
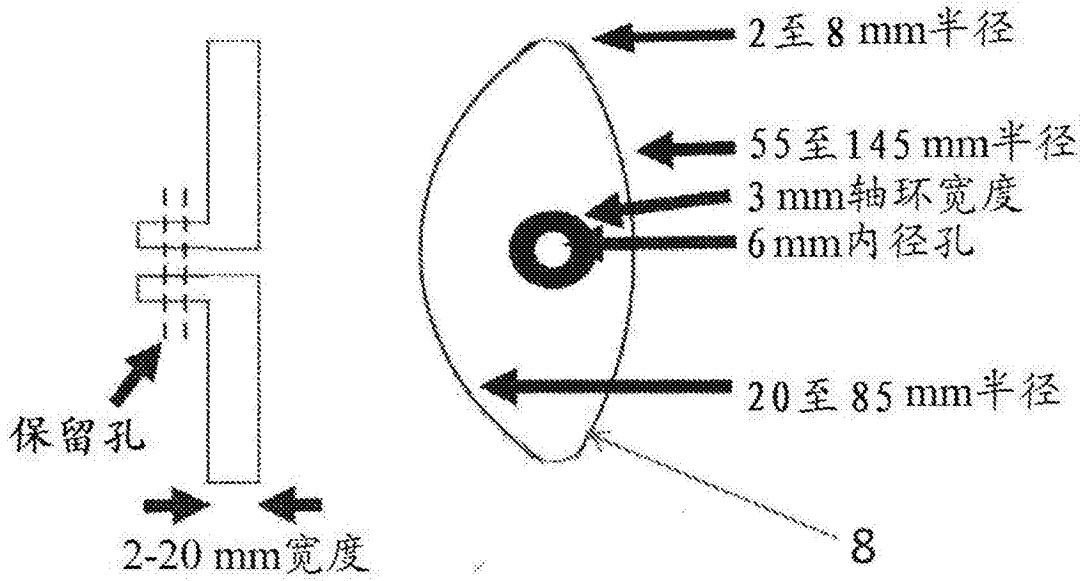


图4

凸缘两点凸轮



规则两点凸轮

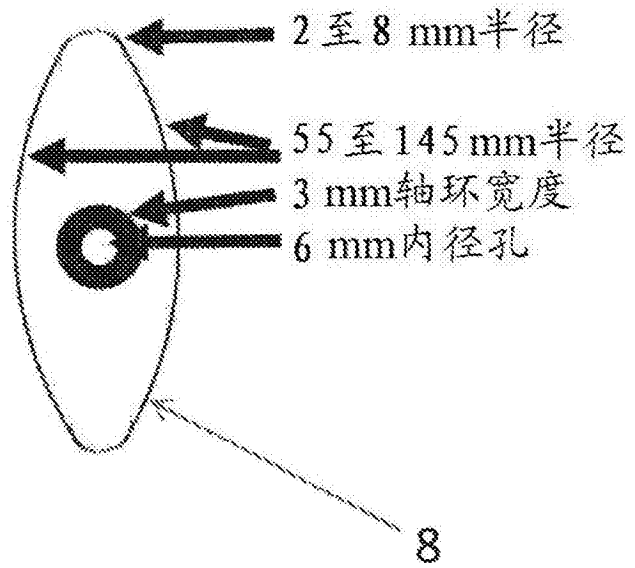


图5

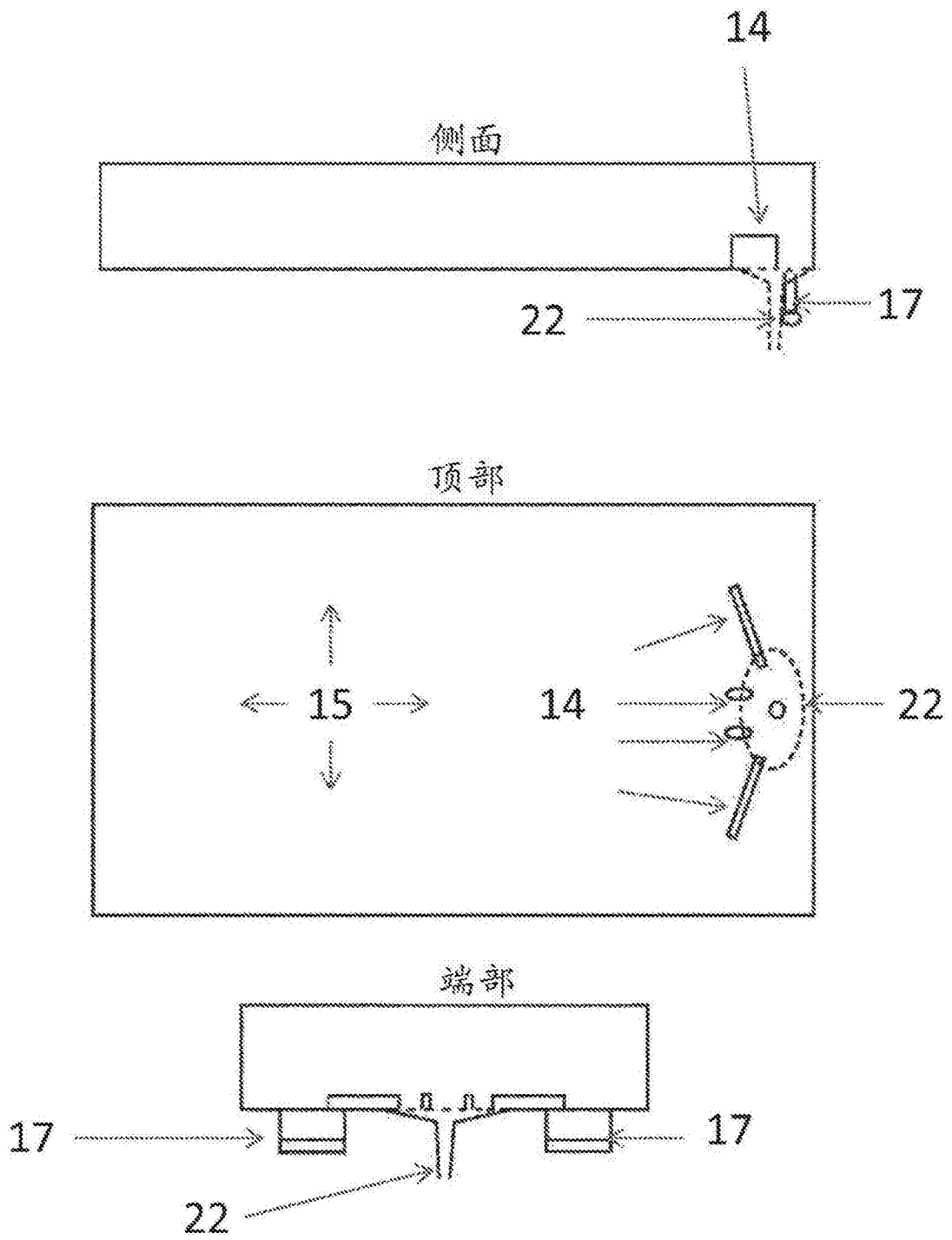


图6

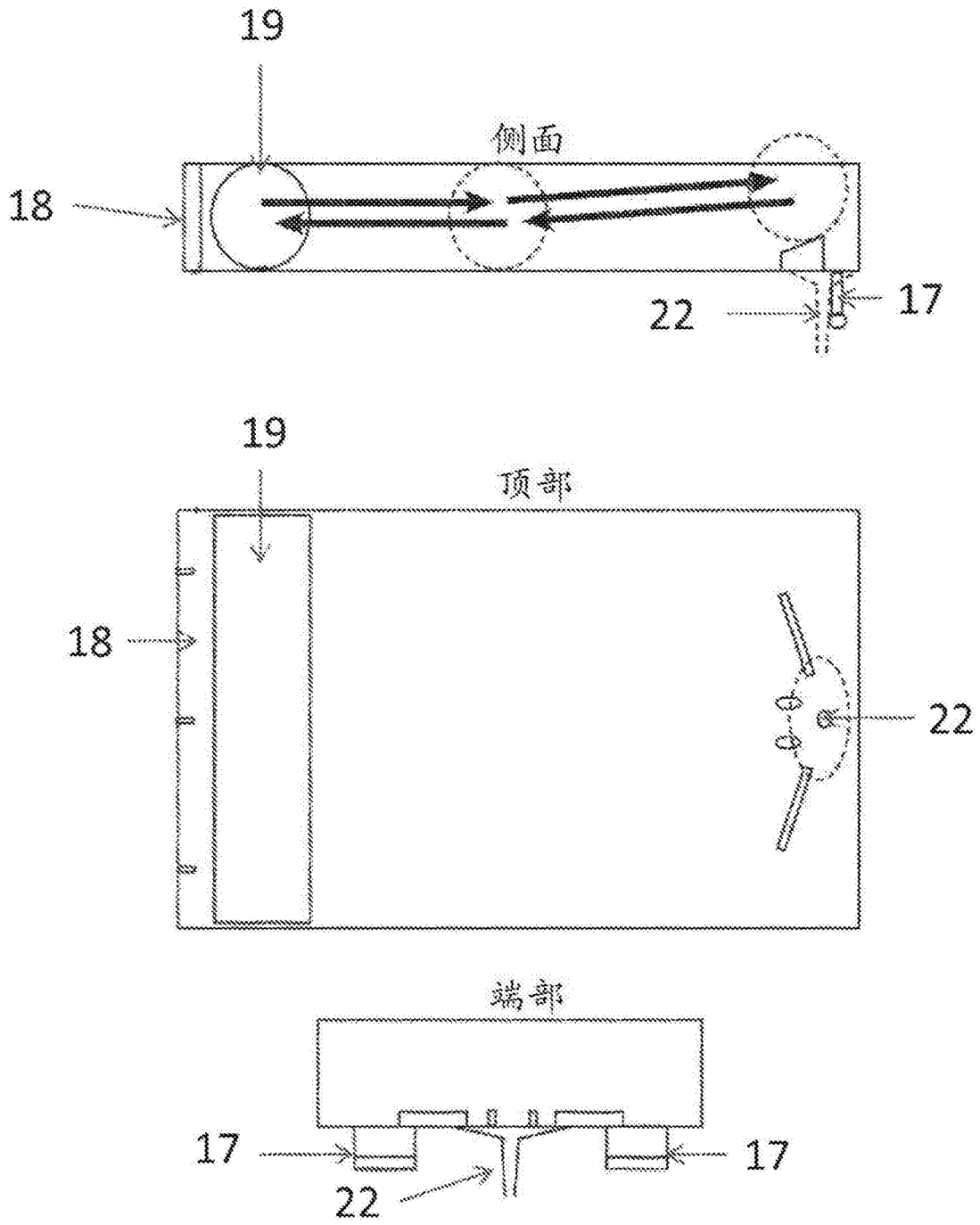


图7

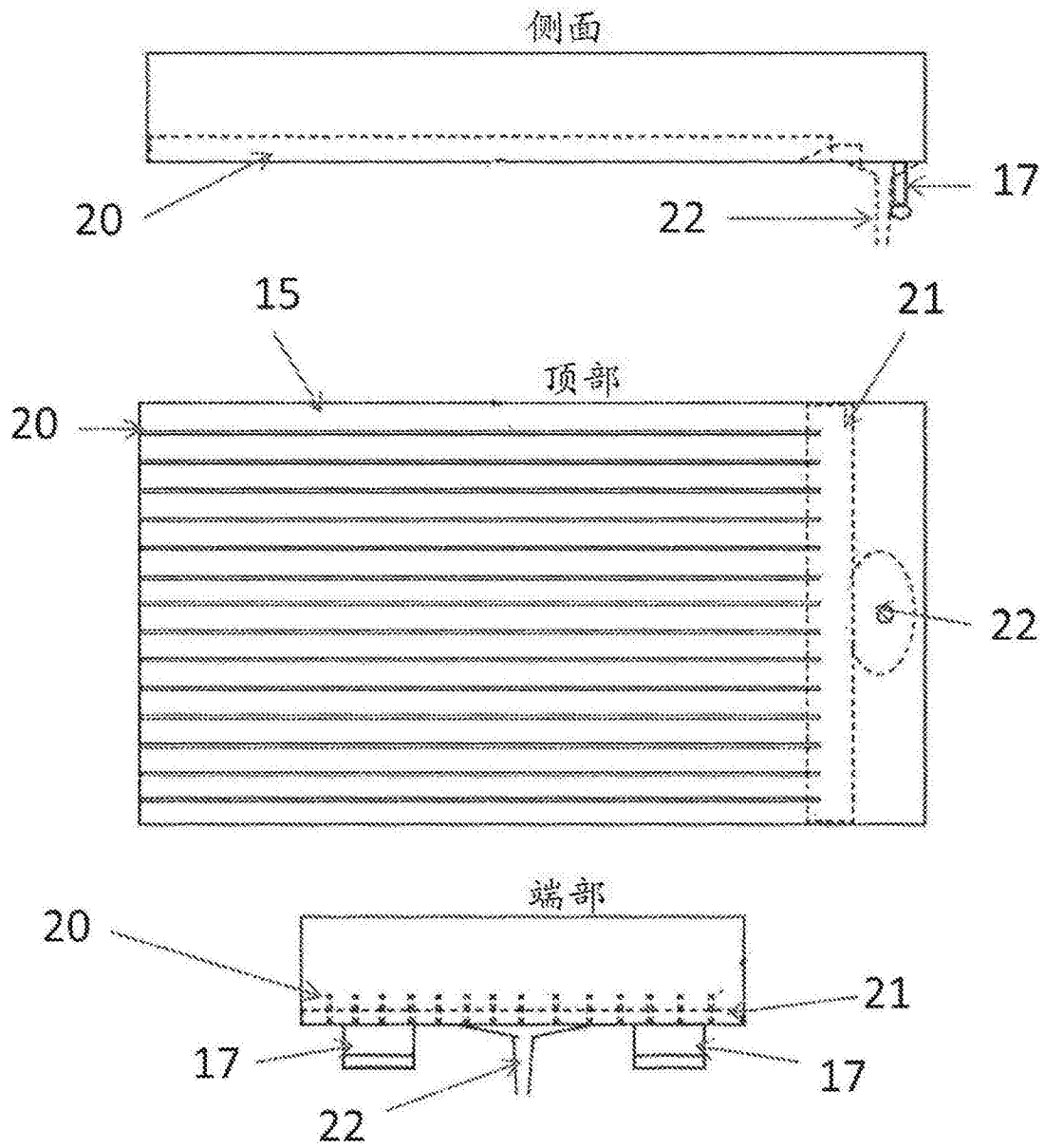


图8

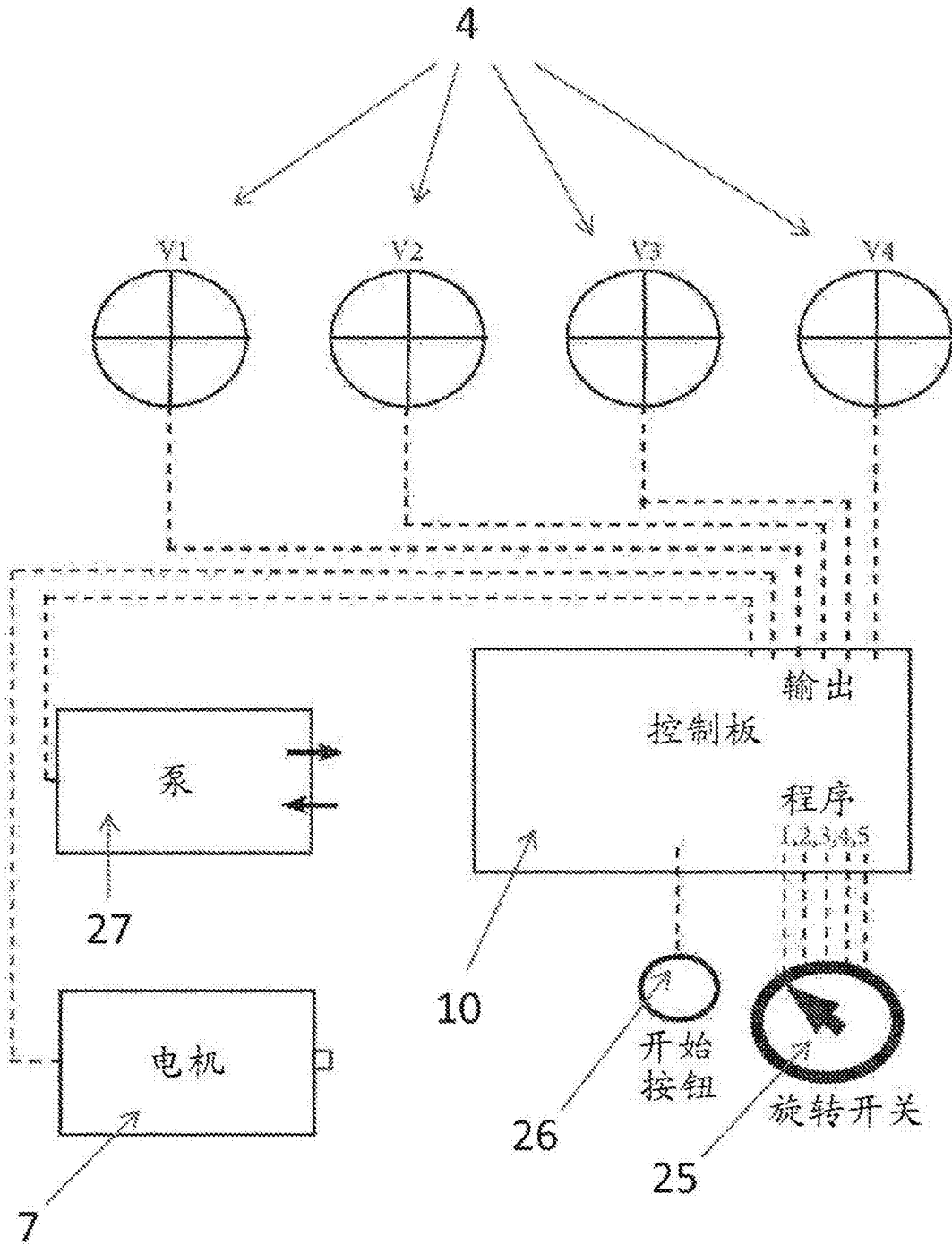
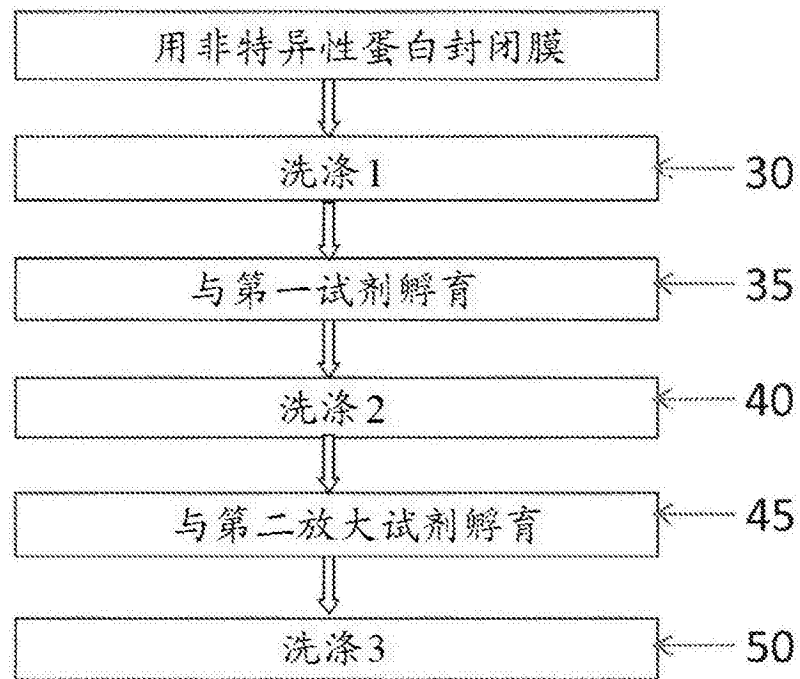


图9

A) 步骤的流程图



B) 用于编程的步骤数和时间长度的范围总结。

| 步骤 | 重复次数 | 时间范围 (min) | 优先程序的 时间段 (min) |
|-----|------|---------------|-----------------------|
| 封闭 | 1 | 10-240 | 60 |
| 洗涤1 | 1 | 1-30 | 3 |
| 第一 | 1 | 20-900 | 60 |
| 洗涤2 | 3至6 | 1-30 | 5 |
| 第二 | 1 | 20-240 | 60 |
| 洗涤3 | 3至6 | 1-30 | 5 |

图10

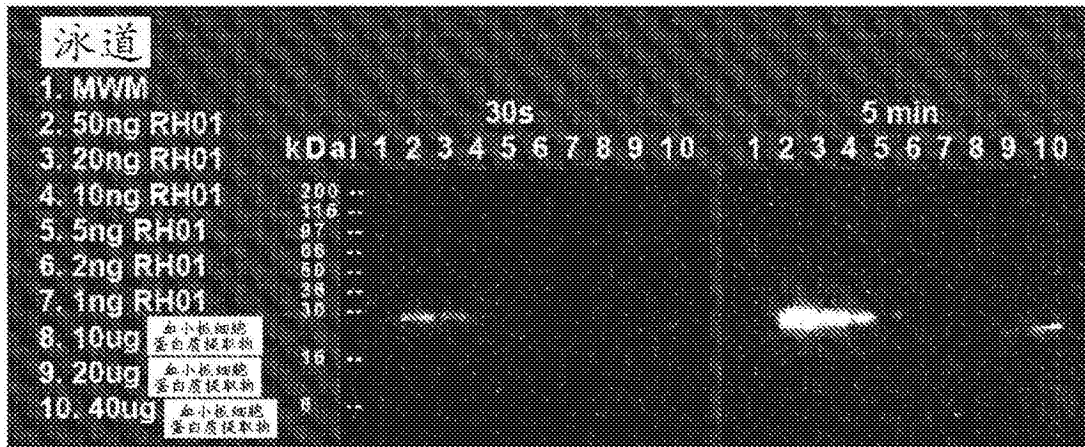


图11