



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107106983 B

(45) 授权公告日 2021.04.16

(21) 申请号 201580070426.7

(22) 申请日 2015.10.21

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107106983 A

(43) 申请公布日 2017.08.29

(30) 优先权数据

62/067,404 2014.10.22 US

62/067,429 2014.10.22 US

62/069,752 2014.10.28 US

62/161,156 2015.05.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.06.22

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2015/056764 2015.10.21

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02016/065073 EN 2016.04.28

(73) 专利权人 尹特根埃克斯有限公司  
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 亚历山大·欣德瓦尔  
忠洙·查尔斯·朴  
费多尔·埃尔科夫

斯蒂文·乔瓦诺维奇 大卫·金  
特里斯坦·罗伯特·利特尔哈勒  
大卫·格兰特·尼尔森  
里克·皮塔罗  
罗伯特·A·舒艾伦  
马蒂亚斯·万格博  
菲利普·贾斯特斯·万德利

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理  
有限公司 11262

代理人 张瑞 郑霞

(51) Int.Cl.

B01D 59/42 (2006.01)

G25B 11/02 (2021.01)

G01N 27/447 (2006.01)

G01N 27/49 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101165472 A, 2008.04.23

CN 103328964 A, 2013.09.25

US 5993626 A, 1999.11.30

JP H11258208 A, 1999.09.24

审查员 徐汝隆

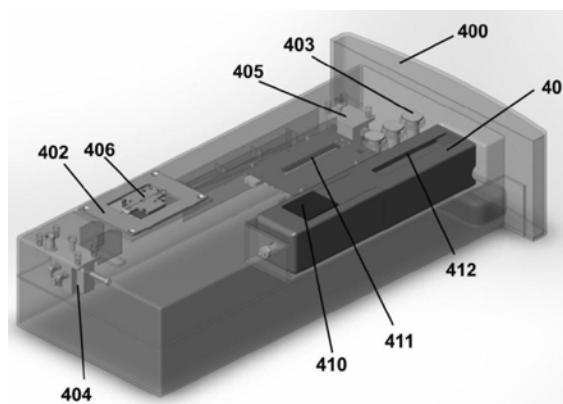
权利要求书4页 说明书32页 附图20页

(54) 发明名称

用于样品制备、处理和分析的系统和方法

(57) 摘要

本公开提供了用于样品制备、处理和分析的系统和方法。本公开还提供了一种完全集成的电泳盒，其具有小的覆盖面积并配置为与系统可移除地接合。提供了一种适于与系统的盒接口可释放地接合的电泳盒。该电泳盒包括：电泳组件，其包括：(1) 阳极子组件，其包括阳极；(2) 阴极子组件，其包括阴极；和 (3) 至少一个电泳毛细管，其具有第一端部和第二端部，其中阴极和阳极配置为在至少一个电泳毛细管的第一端部和第二端部之间提供电压梯度。



1. 一种电泳盒,其适于与系统的盒接口可释放地接合,其中所述电泳盒包括:
  - (a) 电泳组件,其包括:
    - (1) 阳极子组件,其包括阳极;
    - (2) 阴极子组件,其包括阴极;和
    - (3) 至少一个电泳毛细管,其具有第一端部和第二端部,其中所述阴极和所述阳极配置为在所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部和所述第二端部之间提供电压梯度;
  - (b) 试剂容器,其包括电泳缓冲液;
  - (c) 泵,其配置为通过流体管道将保存在所述试剂容器中的电泳缓冲液转移到所述阴极子组件;以及
  - (d) 样品入口端口和至少一个样品管线,其中所述样品管线使所述样品入口端口通过所述阴极子组件中的通路与所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部连通并且所述样品入口端口配置为与所述盒接口连通,其中所述电泳盒是与所述盒接口可接合的,以允许自动地建立以下项中的至少一项:
  - (i) 所述系统和所述至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通;
  - (ii) 所述系统和所述阳极以及所述阴极之间的电连通;
  - (iii) 所述系统和所述至少一个电泳毛细管之间的流体连通;
  - (iv) 所述系统和所述电泳盒或所述至少一个电泳毛细管之间的热连通;
  - (v) 所述系统和所述电泳盒之间的电磁连通;和
  - (vi) 所述系统和所述电泳盒之间的磁连通。
2. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括用于保持电泳分离介质的电泳分离介质容器,其中所述电泳分离介质容器与所述阳极流体连通。
3. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒是与所述盒接口可接合的,以使所述电泳盒的至少一个样品入口端口与所述系统的样品出口端口流体连通。
4. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括流体处理设备,所述流体处理设备配置为将电泳分离介质移动到所述至少一个电泳毛细管中。
5. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括与所述阳极子组件连通的毛细管再生流体源。
6. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括与所述阴极子组件连通电泳介质源。
7. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括将所述至少一个电泳毛细管的至少一部分暴露的检测窗口,其中所述电泳盒是与所述盒接口可接合的,以使所述系统的光源与所述检测窗口光学连通。
8. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括与所述阳极和所述阴极连通的电接口,其中所述电泳盒的所述接合使所述电接口与电源电连通,以用于在所述阳极和所述阴极之间施加电压梯度。
9. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括与所述阴极子组件流体连通的第一废物容器。
10. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括与所述阳极子组件流体连通的第二废物容器。
11. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括裂解缓冲液容器,所述裂解缓冲液容器与所述阴极子组件中的第一试剂端口流体连通,所述第一试剂端口接合所述系统中的端口。
12. 根据权利要求1所述的电泳盒,还包括水容器,所述水容器与所述阴极子组件中的

第二试剂端口流体连通,所述第二试剂端口接合所述系统中的端口。

13. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒与所述盒接口的所述接合自动地建立多个所述连通。

14. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒与所述盒接口的所述接合自动地建立(i)。

15. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒与所述盒接口的所述接合自动地建立(ii)。

16. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒与所述盒接口的所述接合自动地建立(iii)。

17. 根据权利要求1所述的电泳盒,其中所述电泳盒与所述盒接口的所述接合自动地建立(iv)。

18. 一种电泳盒,包括:

(a) 集成电泳组件,其包括:

(1) 阳极子组件,其包括阳极;

(2) 阴极子组件,其包括阴极;和

(3) 至少一个电泳毛细管,其具有第一端部和第二端部,其中所述阴极和所述阳极在所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部和所述第二端部之间提供电压梯度;

(b) 试剂容器,其包括电泳缓冲液;

(c) 泵,其配置为通过流体管道将保存在所述试剂容器中的电泳缓冲液转移到所述阴极子组件;以及

(d) 样品入口端口和至少一个样品管线,其中所述样品管线使所述样品入口端口通过所述阴极子组件中的通路与所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部连通并且所述样品入口端口配置为与电泳系统的盒接口连通。

19. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括:

(e) 电泳分离介质容器,其用于保持电泳分离介质并通过流体管线与所述阳极连通;和

(f) 流体处理设备,其将所述电泳分离介质移动到所述至少一个电泳毛细管。

20. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括与所述阳极子组件流体连通的毛细管再生流体源。

21. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括与所述阴极流体连通的电泳介质源。

22. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括与所述阴极子组件流体连通的第一废物容器。

23. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括与所述阳极子组件流体连通的第二废物容器。

24. 根据权利要求18所述的电泳盒,其中所述电泳盒具有至多12英寸×12英寸的覆盖面积,以及在1kg和7kg之间的重量。

25. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括至少一个配合构件,所述至少一个配合构件使所述电泳盒能够与所述电泳系统的所述盒接口可释放地配合。

26. 根据权利要求18所述的电泳盒,还包括凝胶盒接口,所述凝胶盒接口与用于为所述至少一个电泳毛细管提供电泳凝胶的凝胶盒可释放地接合。

27. 根据权利要求18所述的电泳盒, 其中所述集成电泳组件是单件式的。

28. 一种用于制备、处理和分析样品的方法, 包括:

提供一种系统, 该系统包括与电泳盒可释放地接合的电泳盒接口, 所述电泳盒包括:

(a) 电泳组件, 其包括:

(1) 阳极子组件, 其包括阳极;

(2) 阴极子组件, 其包括阴极; 和

(3) 至少一个电泳毛细管, 其与所述阳极和所述阴极流体连通;

(b) 试剂容器, 其包括电泳缓冲液;

(c) 泵, 其配置为通过流体管道将保存在所述试剂容器中的电泳缓冲液转移到所述阴极子组件; 以及

(d) 样品入口端口和至少一个样品管线, 其中所述样品管线使所述样品入口端口通过所述阴极子组件中的通路与所述至少一个电泳毛细管的端部连通并且所述样品入口端口配置为与所述电泳盒接口连通; 以及

在所述电泳盒接口处接纳所述电泳盒; 以及

自动地建立以下项中的至少一项:

(i) 所述系统的光学检测组件和所述至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通;

(ii) 所述系统和所述阳极以及所述阴极之间的电连通;

(iii) 所述系统和所述至少一个电泳毛细管之间的流体连通;

(iv) 所述系统和所述电泳盒或所述至少一个电泳毛细管之间的热连通;

(v) 所述系统和所述电泳盒之间的电磁连通; 和

(vi) 所述系统和所述电泳盒之间的磁连通。

29. 根据权利要求28所述的方法, 还包括在所述至少一个电泳毛细管的具有所述阳极的第一端部和所述至少一个电泳毛细管的具有所述阴极的第二端部之间提供电压梯度。

30. 根据权利要求28所述的方法, 其中所述系统还包括电压控制组件、光学模块、至少一个热控制组件、至少一个样品出口和至少一个流体控制组件。

31. 根据权利要求28所述的方法, 还包括提供控制模块, 所述控制模块测试在 (i) - (vi) 中建立的至少一个连通的鲁棒性。

32. 根据权利要求28所述的方法, 还包括从所述电泳盒接口移除所述电泳盒。

33. 根据权利要求28所述的方法, 其中所述自动地建立包括自动地建立 (i) - (vi) 中的至少两项。

34. 根据权利要求28所述的方法, 其中所述自动地建立响应于提供到所述系统的控制模块的用户指令。

35. 根据权利要求28所述的方法, 还包括借助于至少一个流体控制组件引导至少一种试剂通过流体管线从所述电泳盒到所述系统的流动。

36. 根据权利要求28所述的方法, 还包括在所述系统中执行样品分离, 接着进行样品分析。

37. 一种电泳系统, 包括:

(a) 样品盒接口, 其与样品盒接合;

(b) 样品制备模块, 其 (1) 对来自所述样品盒的样品执行样品分析以产生分析物, 和 (2)

将所述分析物引导到样品出口端口,所述分析在所述样品盒与所述样品盒接口接合时执行;和

(c) 电泳盒接口,其是与电泳盒可释放地接合的,所述电泳盒包括集成电泳组件,所述集成电泳组件具有:(1) 阳极子组件,其包括阳极;(2) 阴极子组件,其包括阴极;和(3) 至少一个电泳毛细管,其具有第一端部和第二端部,其中所述阴极和所述阳极配置为在所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部和所述第二端部之间提供电压梯度,所述电泳盒还包括:试剂容器,其包括电泳缓冲液;泵,其配置为通过流体管道将保存在所述试剂容器中的电泳缓冲液转移到所述阴极子组件;以及样品入口端口和至少一个样品管线,其中所述样品管线使所述样品入口端口通过所述阴极子组件中的通路与所述至少一个电泳毛细管的所述第一端部连通并且所述样品入口端口配置为与所述样品盒接口连通,

其中所述电泳盒接口是与所述电泳盒可接合的,以自动地建立以下项中的至少一项:

- (i) 所述电泳系统和所述至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通,
- (ii) 所述电泳系统和所述阳极以及所述阴极之间的电连通,
- (iii) 所述电泳系统和所述至少一个电泳毛细管之间的流体连通,
- (iv) 所述电泳系统和所述电泳盒或所述至少一个电泳毛细管之间的热连通,
- (v) 所述电泳系统和所述电泳盒之间的电磁连通,和
- (vi) 所述电泳系统和所述电泳盒之间的磁连通。

38. 根据权利要求37所述的电泳系统,还包括流体处理系统,当所述电泳盒与所述电泳盒接口接合时,所述流体处理系统将所述分析物从所述样品出口端口移动到所述至少一个电泳毛细管。

39. 根据权利要求37所述的电泳系统,还包括控制模块,所述控制模块被编程为测试至少一个连通的鲁棒性。

40. 根据权利要求37所述的电泳系统,其中所述自动地建立响应于提供到所述电泳系统的控制模块的用户指令。

41. 根据权利要求37所述的电泳系统,其中所述电泳盒接口是与所述电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的至少两项。

42. 根据权利要求37所述的电泳系统,其中所述电泳盒接口是与所述电泳盒可接合的,以自动地建立所述电泳系统的至少一个样品出口和所述至少一个电泳毛细管之间的流体连通。

43. 根据权利要求37所述的电泳系统,还包括指示用户更换所述电泳盒的指示机构。

## 用于样品制备、处理和分析的系统和方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2014年10月22日提交的序列号为62/067,404的美国临时专利申请、2014年10月22日提交的序列号为62/067,429的美国临时专利申请、2014年10月28日提交的序列号为62/069,752的美国临时专利申请、以及2015年5月13日提交的序列号为62/161,156的美国临时专利申请的权益,其每个通过引用以其整体并入本文。

[0003] 背景

[0004] 电泳是在空间均匀电场的影响下分散颗粒相对于流体的运动。其可以由颗粒表面和周围流体之间的带电界面的存在所引起。电泳是生物化学中用于通过大小、电荷或结合亲和力分离分子的许多分析技术的基础。

[0005] 包括样品盒和用于样品提取和分析的流体系统的各个形式的系统在以下项被描述:例如,美国专利6,190,616;6,551,839;6,870,185;7,244,961;8,394,642和8,431,340;美国专利申请2006/0073484;2009/0253181;2011/0039303;2011/0126911;2012/0181460;2013/0139895和2013/0115607;以及国际专利申请PCT/US2013/130910和PCT/EP2012/001413。

[0006] 美国专利公布2003/0197139涉及用于微流体结构的阀。

[0007] 美国专利公布2009/0314970涉及机械致动的微流体夹管阀。

[0008] 美国专利公布2013/0240140涉及用于生产微流体装置和相关层压设备的工艺。

[0009] 国际公布W02012/136333涉及用于给塑料聚合物反应管贴标签的可热焊接的薄膜。

[0010] 美国专利6,883,774涉及微型阀以及形成微型阀的方法。

[0011] 美国专利7,318,912涉及用于组合离散的流体体积的微流体系统和方法。

[0012] 美国专利8,313,941涉及采用可编程触觉致动器的集成微流体控制。

[0013] 美国专利8,501,305涉及层压板。

[0014] 美国专利5,085,757涉及与高效毛细管电泳装置一起使用的集成温度控制/对准系统,该高效毛细管电泳装置包括用于安装毛细管柱的由电绝缘、高导热性材料形成的一对互补的毛细管柱安装板。

[0015] 美国专利6,660,148涉及电泳方法及用于该方法的电泳仪器。

[0016] 美国专利7,081,191涉及毛细管电泳设备。

[0017] 美国专利7,419,578涉及毛细管电泳装置。

[0018] 美国专利7,531,076涉及毛细管匣及其制造方法。

[0019] 美国专利7,749,365涉及微流体分离中优化的样品注射结构。

[0020] 美国专利8,398,642涉及包含电泳组件的系统。

[0021] 美国专利8,512,538涉及毛细管电泳设备,其中毛细管在附接到电绝缘电路板的热响应电路上进行热调节。

[0022] 美国专利8,748,165涉及包含电泳组件的系统。

[0023] 美国专利公布2004/0146452涉及能够在重复使用相同凝胶时保持高可靠性的电

泳方法和装置。

[0024] 美国专利公布2004/0217004涉及设置在电泳装置的主体上的样品板的电极板,同时将插头插入迁移高压线路连接孔并连接到高压配电电缆。

[0025] 美国专利公布2009/0183990涉及毛细管电泳装置,具有毛细管阵列的毛细管阵列单元包括具有毛细管头和检测单元的毛细管、用于支撑毛细管阵列的框架、和用于保持毛细管的阴极端负载管座(load header)。

[0026] 美国专利公布2013/0115607涉及集成的和自动化的采样-反馈系统,该采样-反馈系统从包含生物材料的样品着手,在不到两小时内产生基因谱。

[0027] 美国专利公布2014/0065628涉及用于分离和检测核酸片段的方法和装置,该核酸片段由使用单个光源或多个光源的多个可光谱分辨染料来标记。

[0028] 概述

[0029] 本公开提供了可用于各种应用(例如样品制备、处理和分析)的系统。本文还提供了与这种系统可释放地接合的集成电泳盒(integrated electrophoresis cartridge)。

[0030] 在本公开的一个方面中,提供了一种适于与系统的盒接口可释放地接合的电泳盒。该电泳盒包括:电泳组件,其包括:(1)阳极子组件,其包括阳极;(2)阴极子组件,其包括阴极;和(3)至少一个电泳毛细管,其具有第一端部和第二端部,其中阴极和阳极配置为在至少一个电泳毛细管的第一端部和第二端部之间提供电压梯度,其中电泳盒是与盒接口可接合的,以允许自动地建立以下项中的至少一项:(i)系统和至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通;(ii)系统和阳极以及阴极之间的电连通;(iii)系统和至少一个电泳毛细管之间的流体连通;(iv)系统和电泳盒或至少一个电泳毛细管之间的热连通;(v)系统和电泳盒之间的电磁连通;和(vi)系统和电泳盒之间的磁连通。在一些实施方案中,电磁连通是系统和电泳盒之间的无线连通(例如,射频识别、WiFi连通或蓝牙连通),该无线连通可以用于例如识别盒,或者用于从系统发送信息和/或指令到盒,或反之亦然。

[0031] 在一些实施方案中,电泳盒还包括用于保持电泳分离介质的电泳分离介质容器,其中该电泳分离介质容器与阳极流体连通。

[0032] 在一些实施方案中,电泳分离介质容器容纳在可移除地插入电泳盒中的盒中。

[0033] 在一些实施方案中,电泳盒是与盒接口可接合的,以使电泳盒的至少一个样品入口端口与系统的样品出口端口流体连通。

[0034] 在一些实施方案中,电泳盒还包括流体处理设备,该流体处理设备配置为将电泳分离介质移动到至少一个电泳毛细管中。在一些实施方案中,流体处理设备包括泵。

[0035] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阳极子组件连通的毛细管再生流体源。在一些实施方案中,再生流体是无机流体。在一些实施方案中,再生流体是有机流体。在一些实施方案中,再生流体是碱性流体。在一些实施方案中,再生流体包含碱金属类氢氧化物。

[0036] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阴极子组件连通的电泳介质源。在一些实施方案中,电泳盒还包括将至少一个电泳毛细管的至少一部分暴露的检测窗口,其中电泳盒是与盒接口可接合的,以使系统的光源与检测窗口光学连通。

[0037] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阳极和阴极连通的电接口,其中电泳盒的接合使电接口与电源电连通,以用于在阳极和阴极之间施加电压梯度。

[0038] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阴极子组件流体连通的第一废物容器。在一

些实施方案中,电泳盒还包括与阳极子组件流体连通的第二废物容器。在一些实施方案中,电泳盒还包括裂解缓冲液容器,该裂解缓冲液容器与阴极子组件中的第一试剂端口流体连通,第一试剂端口接合系统中的端口。在一些实施方案中,电泳盒还包括水容器,该水容器与阴极子组件中的第二试剂端口流体连通,第二试剂端口接合系统中的端口。

[0039] 在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立多个连通。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(i)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(ii)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(iii)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(iv)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(v)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(vi)。在一些实施方案中,电泳盒与盒接口的接合自动地建立(i)-(vi)中的任意两项、三项、四项、五项或全部。

[0040] 在本公开的另一方面中,电泳盒包括:集成电泳组件,该集成电泳组件包括:(1)阳极子组件,其包括阳极;(2)阴极子组件,其包括阴极;和(3)至少一个电泳毛细管,其具有第一端部和第二端部,其中阴极和阳极在至少一个毛细管的第一端部和第二端部之间提供电压梯度。

[0041] 在一些实施方案中,电泳盒还包括:(a)电泳分离介质容器,其用于保持电泳分离介质并通过流体管线与阳极连通;和(b)流体处理设备,其将电泳分离介质移动到至少一个电泳毛细管。

[0042] 在一些实施方案中,流体处理设备包括泵。在一些实施方案中,电泳分离介质容器容纳在可移除地插入电泳盒中的盒中。

[0043] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阳极组件流体连通的毛细管再生流体源。在一些实施方案中,毛细管再生流体是无机流体。在一些实施方案中,毛细管再生流体是有机流体。在一些实施方案中,毛细管再生流体是碱性流体。在一些实施方案中,毛细管再生流体包含碱金属类氢氧化物。

[0044] 在一些实施方案中,电泳盒还包括与阴极流体连通的电泳介质源。在一些实施方案中,电泳盒还包括与阴极子组件流体连通的第一废物容器。在一些实施方案中,电泳盒还包括与阳极子组件流体连通的第二废物容器。

[0045] 在一些实施方案中,盒具有至多约12英寸×12英寸的覆盖面积(footprint),以及在约1kg和约7kg之间的重量。

[0046] 在一些实施方案中,电泳盒还包括至少一个配合构件,该至少一个配合构件使盒能够与电泳系统的盒接口可释放地配合。在一些实施方案中,该至少一个配合构件使盒能够卡接到盒接口中的安置位置中。

[0047] 在一些实施方案中,电泳盒还包括凝胶盒接口,该凝胶盒接口与用于为至少一个电泳毛细管提供电泳凝胶的凝胶盒可释放地接合。在一些实施方案中,集成电泳组件是单件式的。

[0048] 在本公开的另一方面中,一种方法包括:(a)提供一种系统,该系统包括与电泳盒可释放地接合的电泳盒接口,该电泳盒包括:(1)阳极子组件,其包括阳极;(2)阴极子组件,其包括阴极;和(3)至少一个电泳毛细管,其与阳极和阴极流体连通;(b)在电泳盒接口处接纳电泳盒;以及(c)自动地建立以下项中的至少一项:(i)系统的光学检测组件和至少一个

电泳毛细管的一部分之间的光学连通；(ii) 系统和阳极以及阴极之间的电连通；(iii) 系统和至少一个电泳毛细管之间的流体连通；(iv) 系统和电泳盒或至少一个电泳毛细管之间的热连通；(v) 系统和电泳盒之间的电磁连通；和(vi) 系统和电泳盒之间的磁连通。

[0049] 在一些实施方案中，该方法还包括在至少一个电泳毛细管的具有阳极的第一端部和至少一个电泳毛细管的具有阴极的第二端部之间提供电压梯度。

[0050] 在一些实施方案中，系统还包括电压控制组件、光学模块、至少一个热控制组件、至少一个样品出口和至少一个流体控制组件。

[0051] 在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立以下项中的至少一项：(i) 电压控制组件和阳极以及阴极之间的电连通，(ii) 光学模块和至少一个电泳毛细管的至少部分之间的感测连通(sensing communication)，(iii) 至少一个热控制组件和至少一个电泳毛细管之间的热连通，和(iv) 至少一个流体控制组件和至少一个电泳毛细管之间的流体连通。

[0052] 在一些实施方案中，该方法还包括借助于至少一个流体控制组件，引导来自至少一个样品出口的样品流动通过至少一个电泳毛细管。在一些实施方案中，光学模块包括光源和光学检测组件。在一些实施方案中，光源是激光器。

[0053] 在一些实施方案中，该方法还包括在样品流动通过至少一个电泳毛细管时，使用光学检测组件检测来自至少一个电泳毛细管的至少部分的信号。在一些实施方案中，该方法还包括提供用于保持电泳分离介质并通过流体管线与阳极连通的电泳分离介质容器。在一些实施方案中，电泳分离介质容器容纳在可移除地插入电泳盒中的盒中。

[0054] 在一些实施方案中，该方法还包括提供控制模块，该控制模块测试在(c)中建立的至少一个连通的鲁棒性。在一些实施方案中，该方法还包括从电泳盒接口移除电泳盒。

[0055] 在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立(i)-(vi)中的至少两项。在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立(i)-(vi)中的至少三项。在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立(i)-(vi)中的至少四项。在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立(i)-(vi)中的至少五项。在一些实施方案中，自动地建立包括自动地建立(i)-(vi)中的全部。在一些实施方案中，自动地建立响应于提供到系统的控制模块的用户指令。

[0056] 在一些实施方案中，该方法还包括借助于至少一个流体控制组件引导至少一种试剂通过流体管线从电泳盒到系统的流动。在一些实施方案中，至少一种试剂包含裂解缓冲液。在一些实施方案中，至少一种试剂包括水。

[0057] 在一些实施方案中，该方法还包括在系统中执行样品分离，接着进行样品分析。

[0058] 在本公开的另一方面中，一种系统包括：(a) 样品盒接口，其与样品盒接合；(b) 样品制备模块，其(1)对来自样品盒的样品执行样品分析以产生分析物，和(2)将分析物引导到样品出口端口，所述分析在样品盒与样品盒接口接合时执行；和(c)电泳盒接口，其是与电泳盒可释放地接合的，电泳盒包括集成电泳组件，该集成电泳组件具有：(1)阳极子组件，其包括阳极；(2)阴极子组件，其包括阴极；和(3)至少一个电泳毛细管，其具有第一端部和第二端部，其中阴极和阳极在至少一个毛细管的第一端部和第二端部之间提供电压梯度，其中电泳盒接口是与电泳盒可接合的，以自动地建立以下项中的至少一项：(i)系统和至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通，(ii)电泳系统和阳极以及阴极之间的电连通，(iii)电泳系统和至少一个电泳毛细管之间的流体连通，(iv)电泳系统和电泳盒或至少一个电泳毛细管之间的热连通，(v)系统和电泳盒之间的电磁连通，和(vi)系统和电泳盒之间

的磁连通。

[0059] 在一些实施方案中,系统还包括流体处理系统,当电泳盒与电泳盒接口接合时,该流体处理系统将分析物从样品出口端口移动到至少一个电泳毛细管。在一些实施方案中,系统还包括控制模块,该控制模块被编程为测试自动连通中的至少一个连通的鲁棒性。

[0060] 在一些实施方案中,自动地建立响应于提供到系统的控制模块的用户指令。

[0061] 在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的至少两项。在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的至少三项。在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的至少四项。在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的至少五项。在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立(i)-(vi)中的全部。

[0062] 在一些实施方案中,电泳盒接口是与电泳盒可接合的,以自动地建立系统的至少一个样品出口和至少一个电泳毛细管之间的流体连通。

[0063] 在一些实施方案中,系统还包括指示用户更换电泳盒的指示机构(signaling mechanism)。在一些实施方案中,系统还包括具有用户界面(user interface)的电子显示器,其中用户界面提供指示机构。

[0064] 本公开的另一方面提供了一种盒,该盒包括:(a)主体,其包括可延展材料;和(b)层,其包括结合到主体的表面并密封一个或多个流体通道的可变形材料,该一个或多个流体通道与形成在主体的表面中的一个或多个阀主体连通;其中:(i)该一个或多个阀主体包括:(A)通道段,其包括具有一对脊的壁和凹入表面中的底板;和(B)凹凸部(relief),其凹入表面中并界定凹陷部(depression),该凹陷部与通道段两侧上的脊相接;以及(ii)该层结合到主体的表面并接合到脊,使得一个或多个通道、通道段和凹部被密封;并且其中使用层密封的阀主体通过迫使层抵靠在通道段的底板上而形成可闭合的阀。在一个实施方案中,盒包括流体回路的元件,流体回路包括流体入口、流体出口和至少一个隔室,元件通过流体通道流体地连接,其中至少一个流体通道包括阀主体。在另一个实施方案中,盒包括选自试剂隔室、样品隔室、混合隔室、反应隔室和废物隔室的至少一个隔室。在另一个实施方案中,流体入口或流体出口包括穿过主体的渠道(via)。在另一个实施方案中,盒包括配置为接收棉签(cotton tipped swab)的至少一个样品隔室。在另一个实施方案中,盒包括至少一个混合室,该混合室配置为用于通过该混合室使空气鼓泡。在另一个实施方案中,盒包括反应室,该反应室包括用于保持来自样品的分析物的固体基底,例如固相提取材料。在另一个实施方案中,盒包括构造为表面中的凹陷部的泵。在另一个实施方案中,固体基底包含结合核酸的材料。在另一个实施方案中,固体基质包括瓦特曼纸(Whatman paper)、羧化颗粒、海绵状材料、聚合物膜、可磁吸性颗粒或玻璃颗粒。在另一个实施方案中,固体基底结合预定量的材料。在另一个实施方案中,盒包括反应室,该反应室包括一个或多个导热壁并且配置为用于热循环。在另一个实施方案中,盒包括至少一个废物隔室。在另一个实施方案中,盒包括废物室,其中该废物室包括降解核酸的材料。在另一个实施方案中,降解核酸的材料包括次氯酸盐。在另一个实施方案中,盒还包括穿过主体的引导渠道。在另一个实施方案中,主体还包括筒体,该筒体包括柱塞并与流体通道中的至少一个流体连通。在另一个实施方案中,主体还包括包含试剂的至少一个试剂隔室,其中该隔室包括

可打开的密封件,该可打开的密封件当打开时使隔室通过渠道与表面上的流体通道流体连通。在另一个实施方案中,主体还包括包含试剂的一个或更多个试剂隔室,试剂包括足以进行聚合酶链式反应(PCR)的核酸引物、核苷酸和DNA聚合酶。在另一个实施方案中,试剂足以在STR基因座上进行多重PCR。在另一个实施方案中,主体还包括构造为表面中的凹陷部的泵。在另一个实施方案中,可变形材料具有在10邵氏D(Shore D)至80邵氏D之间的硬度值。在另一个实施方案中,可变形材料包括热密封材料。在另一个实施方案中,可变形材料包括选自聚丙烯、聚乙烯、聚苯乙烯、环烯烃共聚物(COC)、聚酯薄膜(mylar)、聚醋酸酯和金属的材料。在另一个实施方案中,覆盖阀座的可变形材料层的一部分不包括弹性体材料,例如不是PDMS。在另一个实施方案中,可变形材料层具有比可延展材料更高的屈服强度。在另一个实施方案中,可变形材料通过粘合剂附接到主体。在另一个实施方案中,可变形材料被焊接到主体。在另一个实施方案中,盒包括(i)表面,(ii)形成在表面中的一个或更多个通道以及流体回路的元件,流体回路包括流体入口、流体出口和至少三个室,其中元件通过流体通道流体地连接,其中每个连接到室中的两个的流体通道包括阀主体。在另一个实施方案中,其中一个室配置为裂解室,该裂解室配置为接收生物样品,其中一个室配置为混合室,该混合室配置为当液体包含在该混合室中时使空气鼓泡,并且其中一个室配置为反应室,该反应室包括一个或更多个导热壁并配置为用于热循环。在另一个实施方案中,盒还包括至少一个试剂隔室,该至少一个试剂隔室包含用于执行PCR的试剂(例如,PCR引物、核苷酸和DNA聚合酶),其中至少一个试剂室包括可打开的密封件,该可打开的密封件当打开时使试剂室与反应室流体连通。在另一个实施方案中,至少一个试剂室包括被选择用于扩增多个STR基因座的PCR引物。在另一个实施方案中,其中一个室构造为裂解室,该裂解室配置为接收生物样品,其中一个室构造为分离室,该分离室配置为接收磁响应捕获颗粒并配置为当磁力施加到该分离室时固定所述颗粒,并且其中一个室配置为反应室,该反应室包括一个或更多个导热壁并配置为用于热循环。在另一个实施方案中,盒还包括至少两组试剂隔室,其中第一组试剂隔室包含用于执行PCR的试剂,并且其中第二组试剂隔室包含用于执行循环测序的试剂,其中每个试剂隔室包括可打开的密封件,该可打开的密封件当打开时使试剂隔室与反应室流体连通。在另一个实施方案中,盒还包括试剂隔室,该试剂隔室包含用于降解PCR引物和核苷三磷酸的试剂。在另一个实施方案中,盒还包括至少两组试剂隔室,其中第一组试剂隔室和第二组试剂隔室都包含用于执行PCR的试剂,并且其中每个试剂隔室包括可打开的密封件,该可打开的密封件当打开时使试剂隔室与反应室流体连通。在另一个实施方案中,其中一组试剂隔室中的PCR试剂包含用于执行适于执行人类DNA定量的试剂。在另一个实施方案中,盒包括分支流体回路,该分支流体回路包括通过流体通道连接的室并且包括共用部分以及多个分支,其中该共用部分包括流体入口和裂解室,并且其中每个分支包括至少一个反应室、至少一个分离室和流体出口,该至少一个反应室包括一个或更多个导热壁并且配置为用于热循环,其中连接反应室与分离室的至少流体通道包括阀主体。在另一实施方案中,共用部分包括共用的分离室。在另一个实施方案中,每个分支还包括至少一个试剂隔室,该至少一个试剂隔室包括可打开的密封件,该可打开的密封件当打开时使试剂隔室与分支中的反应室流体连通。在另一个实施方案中,盒包括两个分支,其中第一分支包括用于对靶多核苷酸执行正向循环测序反应的试剂,并且第二分支包括用于对靶多核苷酸执行反向循环测序反应的试剂。

[0065] 本公开的另一方面提供了一种物品,其包括:(a)主体,其包括可延展材料并且包括:(i)表面,(ii)形成在表面中并与一个或多个阀主体流体连通的一个或多个通道,(iii)形成在表面中的一个或多个阀主体,该一个或多个阀主体包括:(A)通道段,其包括壁和凹入表面中的底板,壁具有从表面凸起的一对脊;和(B)凹凸部,其凹入表面中并界定凹陷部,该凹陷部与通道段两侧上的脊相接。在一个实施方案中,可延展材料包括塑料、蜡或软金属。在另一个实施方案中,可延展材料包括热塑性塑料、热固性塑料、单组分树脂或多组分树脂。在另一个实施方案中,可延展材料包括聚丙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚酯、聚酰胺、乙烯基、聚氯乙烯(PVC)、聚碳酸酯、聚氨酯、聚偏氯乙烯、环烯烃共聚物(COC)或其任何组合。在另一个实施方案中,主体被注塑成型或3D打印而成。在另一个实施方案中,表面基本上界定在平面中。在另一个实施方案中,通道中的一个或多个具有不大于1mm、2mm、3mm、4mm或5mm中的任一个的至少一个面。在另一个实施方案中,通道中的一个或多个包括壁和凹入表面中的底板,壁具有从表面凸起的一对脊。在另一个实施方案中,脊具有在表面之上约50 $\mu$ 和约300 $\mu$ 之间的高度。在另一个实施方案中,通道段的底板具有在表面之下约50 $\mu$ 和约300 $\mu$ 之间的深度。在另一个实施方案中,阀主体具有基本上长方形的形状。在另一个实施方案中,通道段包括力集中区。在另一个实施方案中,通道段包括带纹理的底板(例如,波纹状或涟漪状的)。在另一个实施方案中,凹凸部在表面以下的深度介于100 $\mu$ 和300 $\mu$ 之间。在另一个实施方案中,阀主体具有不超过100mm<sup>2</sup>、50mm<sup>2</sup>、25mm<sup>2</sup>、20mm<sup>2</sup>、15mm<sup>2</sup>或10mm<sup>2</sup>中的任一个的面积。

[0066] 本公开的另一方面提供了一种制造物品的方法,包括:(a)提供一种主体,其包括可延展材料并且包括:(i)表面,(ii)形成在表面中并与一个或多个阀主体流体连通的一个或多个通道,(iii)形成在表面中的一个或多个阀主体,该一个或多个阀主体包括:(A)通道段,其包括壁和凹入表面中的底板,该壁具有从表面凸起的一对脊;和(B)凹凸部,其凹入表面中并界定凹陷部,该凹陷部与通道段的两侧上的脊相接;(b)提供包括可变形材料的层;以及(c)将层结合到表面和脊,其中结合使一个或多个通道、通道段和凹凸部密封。在一个实施方案中,主体包括热塑性塑料。在另一个实施方案中,可变形材料层包括热密封件。在另一个实施方案中,其中接合包括对抵靠主体表面的热密封件施加热和压力,以足以将热密封件紧靠表面的脊或区域焊接,该表面的脊或区域与一个或多个通道和凹凸部相接。在另一个实施方案中,使用加热的模具施加压力。

[0067] 本公开的另一方面提供了一种制造物品的方法,该方法包括:(a)提供主体,其包括可延展材料并且包括:(i)表面,(ii)形成在表面中并与一个或多个阀主体流体连通的一个或多个通道,(iii)形成在表面中的一个或多个阀主体,该一个或多个阀主体包括:(A)通道段,其包括具有一对脊的壁和凹入表面中的底板;和(B)凹凸部,其凹入表面中并界定凹陷部,该凹陷部与通道段的两侧上的脊相接;(b)提供包括可变形材料的层;以及(c)将层结合到表面和脊,其中结合使一个或多个通道、通道段和凹凸部密封。在一个实施方案中,结合包括热结合(例如热密封、焊接、激光焊接)、化学结合(例如,氧化物与聚二甲硅氧烷(PDMS)的化学结合、蒸气结合)或施加选择性放置的粘合剂。

[0068] 本公开的另一方面提供了一种仪器,其包括盒接口以及与盒接口接合的盒,其中:(I)盒是本公开的盒;(II)盒接口包括多个撞杆(ram),每个撞杆定位成致动阀并包括头部,该头部具有宽于通道段且窄于凹凸部的最宽尺寸,使得当朝向阀致动时,撞杆头部将可变

形材料按压在脊和底板上,从而闭合阀,但消除了凹部。在一个实施方案中,盒接口具有配置为与流体盒的基本上平的表面配合的基本上平的表面。在另一个实施方案中,撞杆可朝向接口缩回并朝向盒弹簧偏压。在另一个实施方案中,撞杆头部具有的长宽比为以下中的至少任一个:2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1或10:1。在另一个实施方案中,撞杆头部沿着其最长的方向上具有边缘,该边缘是基本上直的且基本上是平坦的或弯曲的,该弯曲不超过阀凹凸部的深度。在另一个实施方案中,至少一个撞杆包括在凸轮机构中,其中凸轮的旋转致动撞杆使其朝向或远离阀。在另一个实施方案中,盒接口还包括盖板,该盖板配置为接纳盒并且包括至少一个柱塞,该至少一个柱塞定位成致动盒中的至少一个阀。在另一个实施方案中,盒接口还包括盖板,该盖板包括接合盒上的入口端口的流体入口管线和/或接合盒上的出口端口的流体出口管线。在另一个实施方案中,样品盒配置为接收一个或多个样品,并且配置为当盒与盒接口接合时,执行核酸提取和分离以及DNA扩增。在另一个实施方案中,仪器还包括样品分析模块,该样品分析模块与盒接口中的端口流体连通,盒接口与所接合的盒的反应室连通。在另一个实施方案中,样品分析模块包括电泳组件,该电泳组件包括毛细管以及阴极和阳极,毛细管包括适于毛细管电泳的介质,阴极和阳极配置为在毛细管上设置电压。在另一个实施方案中,样品分析模块还包括用于检测毛细管中的分子的检测组件。在另一个实施方案中,检测组件包括激光器和用于检测激光的检测器。在另一个实施方案中,样品分析模块包括色谱仪、DNA测序仪、静电计、电泳仪、椭圆偏振仪、干涉仪、质谱仪、NMR光谱仪、光谱仪、温度计、电压表。在另一个实施方案中,该仪器还包括磁力源,该磁力源配置为对盒中的室施加磁力。在另一个实施方案中,该仪器包括致动器,例如柱塞,该致动器配置为将一种或更多种试剂从盒上的密封的隔室移动到盒的流体通道中。

[0069] 本公开的另一方面提供了一种控制流体在流体盒的流体通道中流动的方法,包括:(A)提供本公开的仪器,其中流体通道中的至少一个包括液体;(B)通过致动撞杆头部使其抵靠阀以迫使可变形层抵靠通道段的底板来闭合阀;(C)通过使撞杆头从该层缩回而释放阀;以及(D)通过对流体通道中的液体施加压力而使液体移动通过阀,其中流体在压力下将阀打开。在一个实施方案中,该方法在步骤(D)之后还包括:(E)通过致动撞杆头使其抵靠阀以迫使可变形层抵靠通道段的底板来再次闭合阀。在另一个实施方案中,压力通过盒内部的泵或盒外部的泵(例如,注射器)产生,并可选地通过连接到盒中的流体通道的盒中的入口递送。在一个实施方案中,几乎不可压缩的流体仅在一个方向上移动通过任何流体通道。在另一个实施方案中,在液体穿过阀之前,没有阀被关闭并然后打开。

[0070] 本公开的另一方面提供了一种使流体在流体盒的流体通道中移动的方法,该方法包括:(I)提供流体盒,该流体盒包括:(a)主体,其包括可延展材料;和(b)泵,其包括界定泵室并至少部分地由可延展材料的一部分形成的泵主体,其中泵室容纳液体或气体;(c)流体通道,其在盒的内部并流体地连接到泵室,其中流体通道容纳液体;以及(II)(例如使用活塞)使泵主体变形,使得泵室中的液体或气体对流体通道中的流体施加压力,由此流体通道中的流体移动通过该流体通道。

[0071] 本公开的另一方面提供了一种使用本公开的盒来执行的方法,该方法包括:a)使提取介质通过盒中的至少一个打开的阀移动到盒中的包括生物样品的提取室,以及使该生物样品中的细胞裂解以产生提取物;b)使提取物通过盒中的至少一个打开的阀移动到盒中的反应室;c)将用于执行生化反应的试剂移动到反应室中以产生混合物;d)对混合物执行

生化反应以产生反应产物;以及e)对反应产物执行分析。在一个实施方案中,提取介质包含裂解缓冲液且提取物包括裂解物。在另一个实施方案中,分析是毛细管电泳。在另一个实施方案中,执行毛细管电泳包括将反应产物移出盒并将其注入电泳毛细管中。在另一个实施方案中,一个或更多个靶序列是STR序列。在另一个实施方案中,试剂包括用于执行循环测序的试剂,生化反应是靶序列的循环测序,并且反应产物是一组双脱氧终止的多核苷酸。在另一个实施方案中,生化分析包括通过执行毛细管电泳来对该组进行测序。在另一个实施方案中,试剂包括用于执行PCR的试剂,并且生化反应是一个或更多个靶序列的PCR扩增。在另一个实施方案中,该方法还包括,在循环测序之前,将用于执行PCR的试剂移动到反应室中并对靶序列执行PCR,以及可选地在执行循环测序之前纯化PCR产物。在另一个实施方案中,该方法包括,使液体从盒中的第一室通过包括至少一个打开的阀的流体通道移动到盒中的第二室,并且在液体已经移动通过打开的阀之后,将阀闭合。在另一个实施方案中,该方法包括,使液体从盒中的入口移动通过盒中的流体回路并离开盒中的出口,其中流体回路包括多个阀,并且其中对盒中的液体执行生化反应;并且其中在液体通过阀之前,没有阀被关闭并然后打开。

[0072] 本公开的另一方面提供了一种使用以上或本文其他地方所描述的系统来执行的方法,该方法包括:a)将提取介质移动到盒中的包括生物样品的提取室,以及使该生物样品中的细胞裂解以产生提取物;b)将提取物移动到盒中的反应室;c)将用于执行生化反应的试剂移动到反应室中以产生混合物;d)对混合物执行生化反应以产生反应产物;以及e)对反应产物执行生化分析。

[0073] 在一些实施方案中,生化分析是毛细管电泳。在一些实施方案中,执行毛细管电泳包括将反应产物移出盒并将其注入电泳毛细管中。在一些实施方案中,试剂包括用于执行PCR的试剂,并且生化反应是一个或更多个靶序列的PCR扩增。在一些实施方案中,一个或更多个靶序列是STR序列。在一些实施方案中,试剂包括用于执行循环测序的试剂,生化反应是靶序列的循环测序,并且反应产物是一组双脱氧终止的多核苷酸。在一些实施方案中,生化分析包括通过执行毛细管电泳来对该组进行测序。在一些实施方案中,该方法还包括,在循环测序之前,将用于执行PCR的试剂移动到反应室中并对靶序列执行PCR,以及可选地在执行循环测序之前纯化PCR产物。在一些实施方案中,该方法还包括,使液体从盒中的第一室通过包括至少一个打开的阀的流体通道移动到盒中的第二室,并且在液体已经移动通过打开的阀之后,将阀闭合。在一些实施方案中,该方法还包括,使液体从盒中的入口移动通过盒中的流体回路并离开盒中的出口,其中流体回路包括多个阀,并且其中对盒中的液体执行生化反应;并且其中在液体穿过阀之前,没有阀被关闭并然后打开。在一些实施方案中,该方法还包括:在步骤(b)之前:将提取物分成多个等分试样,将每个等分试样移动到不同的反应室中;在步骤(d)之后:从每个反应产物中移除未使用的试剂;将每个反应产物移动到第二反应室中;并对反应产物进行第二生化反应。在一些实施方案中,步骤(d)的生化反应包括核酸扩增,并且第二生化反应包括循环测序以产生一组双脱氧终止的多核苷酸。在一些实施方案中,生化分析包括通过毛细管电泳来对该组进行测序。

[0074] 根据以下详细描述,本公开内容的附加方面和优点将会变得对本领域技术人员显而易见,其中仅示出和描述了本公开内容的说明性实施方案。如将会意识到的,本公开内容能够具有其他实施方案以及不同的实施方案,并且其若干细节能够在都不偏离本公开内容

的情况下具有在各个明显方面的修改。因此,附图和描述在本质上被认为是说明性的,而不是限制性的。

[0075] 通过引用并入

[0076] 本说明书中所提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用而并入本文,其程度犹如具体地和个别地指出要通过引用而并入每一单个出版物、专利或专利申请一样。

[0077] 附图简述

[0078] 本发明的新颖特征在所附权利要求中具体地阐述。通过参考对其中利用到本发明原理的说明性实施方案加以阐述的以下详细描述和附图(本文中亦为“图 (figure)”和“图 (FIG.)”),将会获得对本发明的特征和优点的更好的理解,在附图中:

[0079] 图1A示出了包括用于样品处理和分析的电泳盒的系统的示例;

[0080] 图1B和图1C是图1A的系统的等距视图;

[0081] 图2示出了包括电泳盒的示例性系统的示意图;

[0082] 图3示意性地示出了接合电泳盒的示例性系统;

[0083] 图4A和图4B是示例性电泳盒的等距视图;

[0084] 图5示出了示例性电泳盒的示意图;

[0085] 图6A示出了示例性阴极子组件;

[0086] 图6B示出了示例性阳极子组件;

[0087] 图7示出了示例性样品盒;

[0088] 图8示出了被编程或以其他方式配置为促进样品制备、处理和/或分析的计算机系统;

[0089] 图9示出了带有流体回路的元件的本公开的示例性样品盒主体的面貌 (face);

[0090] 图10示出了本公开的示例性样品盒构造;

[0091] 图11A示出了本公开的示例性样品盒的回路面貌;

[0092] 图11B示出了本公开的示例性样品盒构造的外部视图;

[0093] 图12示出了具有带有三个分支的回路的示例性样品盒构造;

[0094] 图13示出了配置为执行实时PCR以用于定量样品中的DNA的量的示例性样品盒;

[0095] 图14A-14E示出了处理样品以用于分析的方法;

[0096] 图15示出了样品制备中的步骤的顺序。“0”表示撞杆没有按压阀。“C”表示撞杆按压阀并将阀闭合;和

[0097] 图16示出了本公开的示例性样品盒构造。

[0098] 详细描述

[0099] 虽然本文已经示出和描述了本发明的各种实施方案,但对于本领域技术人员显而易见的是,这样的实施方式仅以示例的方式提供。本领域技术人员可以在不偏离本发明的情况下想到许多更改、改变和替代。应当理解,可以采用对本文所描述的本发明的实施方式的各种替代方案。

[0100] 如本文所使用的单数形式“一个 (a)”、“一个 (an)”和“该 (the)”包括复数引用,除非上下文另外明确地指出。

[0101] 每当术语“至少”或“大于”位于两个或更多个数值的序列中的第一数值之前时,术语“至少”或“大于”适用于该数值序列中的每个数值。

[0102] 每当术语“至多”或“小于”位于两个或更多个数值的序列中的第一数值之前时,术语“至多”或“小于”适用于该数值序列中的每个数值。

[0103] 如本文所使用的术语“样品”是指含有生物材料的样品。样品可以是例如流体样品(例如,血液样品)或组织样品(例如,颊拭子)。样品可以是较大样品的一部分。样品可以是具有核酸(例如脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)或蛋白质)的生物样品。样品可以是法医样品或环境样品。样品在被引入系统之前可以进行预处理;预处理可以包括:从不适合该系统的材料进行提取;定量细胞、DNA或其他生物聚合物或分子的量;浓缩样品;分离细胞类型,例如分离精子与上皮细胞;使用极光系统(Aurora system)(Boreal Genomics)或珠处理(bead processing)或其他浓缩方法来浓缩DNA或样品的其他操作。样品可以携载于载体中,该载体例如为:拭子、擦拭物、海绵、刮刀、冲出材料的试片(a piece punched out a material)、在其上喷溅靶分析物的材料、食品样品、在其中溶解分析物的液体(例如水、苏打水)。样品可以是直接的生物样品,例如为液体,如血液、精液、唾液;或者为固体,例如固体组织样品、肌肉或骨骼。

[0104] 本公开中提供的系统还可以应用于处理和分析先前已经预处理过的样品,例如,通过在将预处理过的样品输入系统的样品盒之前,从诸如床单或椅子等大的物体提取DNA或通过其他处理(可以包括定量DNA浓度、细胞浓度,或其他操作)来进行。

#### [0105] I. 系统

[0106] 本文认识到需要用于样品制备、处理和分析的高度集成和自动化的系统和方法。本文提供的系统可能够制备、处理和分析单个样品或多个样品。通过本文提供的系统,可以执行若干操作,例如,(a)接收一个或更多个样品;(b)从所接收的样品中分离和提取靶材料;(c)纯化和扩增整个靶材料或靶材料的选择性部分以产生准备检查的分析物;和(d)分离、检测和分析所制备的分析物。这些操作可以在包括若干个集成子系统(例如,至少约1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、20个、30个、40个、或50个子系统)的系统中进行和执行。在一些情况下,系统可以包括用户界面、样品盒接口(sample cartridge interface)和电泳接口(electrophoresis interface)。样品盒接口和电泳接口配置为分别与用于样品处理的样品盒和用于样品分析的电泳盒可释放地接合。本文提供的系统可以完全自动化,使得用户能够接收、处理和分析样品,而无需大量的工作和输入。样品的制备、处理和分析可以在所提供的系统中完成,而不需要在系统的不同部分之间手动地移除和转移样品、试剂和分析物。由于所包含子单元(例如,样品盒和电泳盒)是高度集成的并且负担小的尺寸,因此本文提供的系统可以被设定尺寸成使覆盖面积最小化,以在广泛的应用背景中实现便携性和实用性。例如,系统可以在路上的任意地点如远程位置使用,或者它们可以在用于不容易获得运输或需要用户移动性的地点,例如战场场景和犯罪现场。

[0107] 图1A示出了用于样品处理和分析的系统。系统1900可以包括数个功能元件。系统1900可以包括样本制备子系统、样品分析子系统和控制子系统。

[0108] 系统1900的样品制备子系统可以包括样品盒接口103、试剂源、流体组件,样品盒接口103配置为接合样品盒102,试剂源用于执行生化协议(biochemical protocol),流体组件配置为移动样品制备子系统内的试剂。流体组件可以包括泵,例如注射泵。泵通过阀可流体连接到试剂(例如,水和裂解缓冲液)的出口和空气源。泵可以配置为将裂解缓冲液和水分别通过流体管线1910和1911递送到样品盒中的入口端口1912。由泵施加到入口端口

1912的空气或液体压力可以泵送分析物离开出口端口1913或通过管线1912泵送到电泳盒中的分析物入口中。

[0109] 在图7中示出了示例性样品盒。盒主体1801包括以下阀主体:1841循环仪出口(A0),1842裂解液(A1),1843废物阻断(A3),1844废物进入(A4),1845循环仪入口(B0),1846裂解液转移(B1),1847产物底部(B2),1848产物顶部(B3)和1850通气口(B4)。

[0110] 阀主体可以包括各种类型的阀,例如在2014年3月21日提交的序列号为62/001,533的美国临时专利申请和2014年10月22日提交的序列号为62/067,120的美国临时专利申请中描述的借助于撞杆来致动的阀,每个申请通过引用以其整体并入本文。作为可选方案,阀主体可以包括例如在美国专利号8,394,642和8,672,532中所描述的微机器人芯片上阀(Micro-Robotic on-Chip Valve)和泵阀(MoVe),每个申请通过引用以其整体并入本文。

[0111] 如图7中所示,盒主体1801包括裂解室1820。盒1801可以包括试剂室,这些试剂室分别填充有例如核酸尺寸标准物(已知尺寸的分子)、PCR主混合物(PCR master mix)和PCR引物,并且用例如使用用作球阀的封闭物的球密封。当打开时,试剂室与样品盒1801中的流体通道例如通过端口1852(泳道内标)、1853和1854(PCR主混合物和PCR引物混合物)流体连通。活塞可以致动球阀,推动流体通过端口并进入与该端口连接的通道中。样品盒1801还可以包括入口端口1812和输出端口1813。在与盒接口接合时,入口端口1812和出口端口1813各自接合流体管线。连接到入口端口1812的流体管线可以附接到压力源,例如注射器,以通过入口端口向流体通道施加正压或负压,将液体(例如裂解缓冲液、水或空气)输送到盒中或从盒中输送出。连接到输出端口1813的流体管线可以将分析物从盒中引导到用于分析物分析的子系统。

[0112] 在一些示例中,盒主体1801包括裂解室1820,并且可选地包括可闭合帽以闭合裂解室1820。盒1801包括泵1884。泵1884(例如,空气泵)构造为由盒主体的壁限定的室。泵1884流体地连接到盒主体中的至少一个流体通道。泵的壁至少部分地包括盒主体的可延展材料。因此,壁可以例如通过机械力、室中的增加的压力而变形,以泵送与泵流体连通的流体通道中的液体或空气。泵1884可以使用柱塞或活塞来致动,该柱塞或活塞压下泵1884的壁,并迫使例如来自泵主体的空气通过泵所连接的流体通道。泵1884可以用于从流体通道清除流体。例如,在该实施方案中,从端口1852引入反应室1822的试剂可能在通道1831中留下死体积(dead volume)。泵1884可用于将该死体积的试剂泵送到反应室1822中。

[0113] 样品分析子系统可以包括电泳组件和样品入口,该电泳组件包括阳极、阴极和与阳极和阴极电连通且流体连通的电泳毛细管,样品入口在样品盒中的样品出口和到毛细管的入口之间连通。这些可以例如容纳在电泳盒104内。样本分析子系统还可以包括:光学组件,其包括相干光源(例如激光器1988)、光学列,其包括,例如透镜1955;和检测器,其配置为与电泳毛细管对齐并检测其中的光信号,例如,荧光。在一个示例中,电泳盒还包括电泳分离介质源,并且在一些情况下为液体试剂源,例如通过电泳盒中的出口递送到系统的水或裂解缓冲液。电泳的分离通道可以采用两种主要形式。一种形式是“毛细管”,其指的是长的并通常为圆柱形的结构。另一种形式是“微通道”,其指的是微流体设备中的微流体通道,例如微流控芯片或板。

[0114] 控制子系统可以包括被编程为操作系统的计算机1973。控制子系统可以包括接收来自用户的指令的用户界面101,该指令被发送到计算机并向用户显示来自计算机的信息。

用户界面101可以是如在2014年10月22日提交的序列号为62/067,429的美国临时专利申请中所描述的,该申请通过引用以其整体并入本文。在一些情况下,控制子系统包括被配置为向远程服务器发送信息并从远程服务器接收信息的通信系统。

[0115] 图1B和图1C更详细地展现了图1A的系统。如上所述,样品盒接口103和电泳接口105包括在该系统中,用于接合样品盒和电泳盒。本文提供的样品盒和电泳盒都可以与系统可释放地或可移除地接合。图1A-1C的系统可用于法医分析,以解码单个样品的基因信息。在一些情况下,该系统可用于在小于约6小时、5小时、4小时、3小时、2.5小时、2小时、1.5小时、1小时、30分钟、20分钟、10分钟、5分钟、1分钟或更少时间内确定样品的基因谱。这样的时间可以取决于例如包括在样品处理操作中的步骤的数量。

[0116] 图2中示出了图1A-1C的系统的示意图。包括用于结构支撑的机架200,该机架200可以由金属材料(诸如铝或钢)、聚合物材料或其组合形成。在一些情况下,机架可以构造成使系统的重量最小化。用户界面包括在该系统中,该用户界面包括系统电子控制器201、嵌入式计算机202、以及能够识别并读取指纹的用户界面屏幕204和识别并读取样品条形码的用户界面屏幕205。用户界面接收并处理来自用户的请求或指令并向用户传递信息。用户界面可以包括被编程为执行用于执行上述操作的程序并从远程位置例如在网络上发送和接收信息(例如计算机文件)的软件。如果测量值不在选定的参数内,用户界面还可以使用户能够监控操纵进度并改变系统的操作。提供样品盒接口206用于接纳用于样品处理的样品盒。当样品盒与系统的样品盒接口接合时,本文所述的样品盒可以配置为接收一个或更多个样品并执行样品分离、提取、纯化、扩增或稀释中的至少一项。样品扩增可以包括聚合酶链式反应(PCR)。用于执行一个或更多个样品处理步骤所需的一种或更多种试剂,例如洗涤缓冲液、裂解缓冲液、稀释试剂或扩增试剂可以预先装载或包括在样品盒中。系统中还包括完全集成电泳盒207,该完全集成电泳盒207是通过电泳盒接口与系统可释放地接合的。电泳系统包括用于执行电泳分析的所有必要的部分,例如电泳毛细管、电极(例如,阳极和阴极)、电泳分离介质或电泳缓冲液。在一些情况下,电泳系统可以包括可用于执行STR分析的试剂。其还可以包括用于保持用于样品处理的试剂的一个或更多个试剂容器,例如,裂解缓冲液容器。裂解缓冲液可以与样品盒流体连通并用于在样品处理期间、在样品盒和电泳盒都与系统接合之后将靶材料从样品分离出。一旦电泳盒的接合完成,就可以建立电泳盒和系统之间的至少一个自动连通,例如,电泳盒和系统电子控制器201之间的电连通213、电泳盒中的电泳毛细管的一部分和系统的光学模块203之间的光学连通214、电泳盒的样品入口端口和样品盒的样品出口端口之间的流体连通215、电泳盒和系统的电动驱动及冷却模块208之间的机械及热连通216。

[0117] 在一个示例中,集成电泳盒207在紧凑的单元中具有电泳所必需的所有的或基本上所有的部件,该紧凑的单元可容易地插入到电泳盒接口中或从电泳盒接口移除。这可以允许用户容易地将盒207与系统接合,而不必打开系统。在一些示例中,电泳所需的所有的或基本上所有的部件(例如,阳极、阴极和至少一个电泳毛细管)都包括在单个板或单个支撑件或彼此固定地形成一体的多个板或多个支撑件上。

[0118] 各种化学物质是可商购得到的,用于执行STR分析并且,特别地用于CODIS-兼容的STR分析。这些化学物质包括,例如来自Life Technologies/Thermo Fisher Scientific(纽约,格兰德岛)(全球网址:[lifetechnologies.com/us/en/home/industrial/human-](http://lifetechnologies.com/us/en/home/industrial/human-)

identification/globalfiler-str-kit.html)的Globalfiler®和Globalfiler®Express (6色荧光,24个基因座的STR试剂盒),和来自Promega Corporation (威斯康星州,麦迪逊) (全球网址:promega.com/Products/Genetic-Identity/STR-Analysis-for-Forensic-and-Paternity-Testing/PowerPlex-Fusion-STR-Kits?utm\_medium=print&utm\_source=ishi\_poster&utm\_campaign=powerplex&utm\_content=October)的PowerPlex® Fusion。

[0119] 本文提供的系统还可以包括用于为系统供电的电源212、用于在阳极和阴极之间施加电压梯度的交流电源211、用于为系统的一个或多个部分散发热量的一个或多个风扇210、和用于在系统内或在系统外收集和传递数据的一个或多个USB端口209。

[0120] 本公开还提供了电泳盒,该电泳盒可以包括可移除地插入到电泳盒中的一个或多个子容器或子盒,例如,用于保持电泳分离介质、用于样品处理的试剂、或用于样品分析的试剂的子容器。图3示出了包括电泳分离介质的子容器的电泳盒的示例。如图3中所示,电泳盒被制造成具有空间302,该空间302配置为专门接收并容纳次级或子容器。用于保持电泳分离介质的子容器301可以在电泳盒与系统接合之前储存在电泳盒303的外部。保持电泳分离介质的子容器可以在电泳盒与系统接合之前的短时间内,例如在电泳盒与系统接合之前少于1小时、50分钟、40分钟、30分钟、20分钟、15分钟、10分钟、5分钟内安装到电泳盒中305。一旦电泳盒安装到系统中306,可以使子容器与系统的热控制模块热连通,系统的热控制模块可以将子容器的温度调节至期望值并将其保持一段时间。

[0121] II.电泳盒

[0122] (1) 总体概述

[0123] 本公开还提供了用于样品分析的集成电泳盒,该集成电泳盒具有小的覆盖面积并配置成与用于样品制备、处理和分析的系统可移除地接合。电泳盒可以包括毛细管电泳组件,该毛细管电泳组件包括阳极子组件、阴离子组件和具有第一端部和第二端部的至少一个电泳毛细管,可以在第一端部和第二端部之间施加电压梯度。阳极子组件可以包括单个阳极或多个阳极。阴离子子组件可以包括一个阴极或多个阴极。电泳毛细管的第一端部和第二端部可以分别与阳极子组件和阴离子子组件连通。

[0124] 如本文所述,术语“覆盖面积”通常是指当电泳盒放置在表面上时,所被覆盖的表面的水平表面积或面积。在一些情况下,电泳盒可具有小于或等于约1m<sup>2</sup>、9000cm<sup>2</sup>、8000cm<sup>2</sup>、7000cm<sup>2</sup>、6000cm<sup>2</sup>、5000cm<sup>2</sup>、4500cm<sup>2</sup>、4000cm<sup>2</sup>、3500cm<sup>2</sup>、3000cm<sup>2</sup>、2500cm<sup>2</sup>、2000cm<sup>2</sup>、1900cm<sup>2</sup>、1800cm<sup>2</sup>、1700cm<sup>2</sup>、1600cm<sup>2</sup>、1500cm<sup>2</sup>、1400cm<sup>2</sup>、1300cm<sup>2</sup>、1200cm<sup>2</sup>、1100cm<sup>2</sup>、1000cm<sup>2</sup>、900cm<sup>2</sup>、800cm<sup>2</sup>、700cm<sup>2</sup>、600cm<sup>2</sup>、500cm<sup>2</sup>、450cm<sup>2</sup>、400cm<sup>2</sup>、350cm<sup>2</sup>、300cm<sup>2</sup>、250cm<sup>2</sup>、200cm<sup>2</sup>、150cm<sup>2</sup>、100cm<sup>2</sup>、90cm<sup>2</sup>、80cm<sup>2</sup>、70cm<sup>2</sup>、60cm<sup>2</sup>、50cm<sup>2</sup>、40cm<sup>2</sup>、30cm<sup>2</sup>、20cm<sup>2</sup>或10cm<sup>2</sup>的覆盖面积。在一些情况下,电泳盒可以具有本文所述的任意两个值之间的覆盖面积。在一个示例中,电泳盒具有在约625cm<sup>2</sup>和3600cm<sup>2</sup>之间的覆盖面积。

[0125] 在一些情况下,电泳盒还可以包括电泳分离介质容器,该电泳分离介质容器用于保持电泳分离介质并通过流体管线与阳极子组件中的至少一个阳极连通。在一些情况下,电泳盒中可以包括流体处理设备,借助于该流体处理设备,可以将电泳分离介质移动到至少一个电泳毛细管中。可以使用能够移动流体的任何类型的设备,例如阀、泵、静电流体加速器和各种其它形式的处理设备。

[0126] 电泳盒还可以包括样品入口端口,该样品入口端口能够接收来自系统的样品出口端口的样品并与阴极子组件中的至少一个阴极以及电泳毛细管的开口流体连通。

[0127] 图4A和图4B示出了本公开的电泳盒的示例的清楚的外壳视图。一般地,电泳盒可以包括盒壳体400、子容器(或子盒)壳体401、用于提供光源并检测来自分析物的信号的光学接口402、一个或更多个流体动力设备(例如,液力耦合器)403、阳极子组件404、阴极子组件405,电泳毛细管406、电接口407、用于在电泳盒的部分上施加压力或力的一个或更多个机械接口(例如,408、409、412和413)、用于控制子容器401的温度的热接口410、以及用于在阳极子组件中的至少一个阳极和阴极子中的至少一个阴极之间提供电压的电接口411。

#### [0128] (2) 阴极子组件

[0129] 图6A中示出了可以包括在本公开的电泳盒中的阴极子组件的示例。三个阴极节点602包括在阴极子组件中并与电泳毛细管端口606电连通。在一些情况下,阴极节点可以布置在电泳毛细管端口附近,例如至少一个阴极节点定位成与电泳毛细管端口相对,如图6A中所示。阴极节点还可以通过阴极子组件的通路 with 样品入口端口603、第一试剂端口604、第二试剂端口605以及废物端口601流体连通。样品入口端口603还可以与样品盒接口的至少一个样品出口端口连通并从其接收所制备的样品。所接收的样品可以通过样品管线流动到阴极子组件的通路中,并通过施加电压梯度,将所接收的样品推入电泳毛细管中。可以提供可能有助于执行电泳分析的一种或更多种试剂(例如,电泳缓冲液、水等),并且该一种或更多种试剂与电极和电泳端口连通。提供废物容器,并且该废物容器通过废物端口和阴极子组件的通路 with 所有其他的流体端口(例如,样品入口端口、电泳毛细管端口以及第一试剂端口和第二试剂端口)流体连通。来自任何一个端口和阴极子组件的过多的流体或液体泄露物可以流入废物容器中并被收集。

#### [0130] (3) 阳极子组件

[0131] 图6B中示出了包括在本公开的电泳盒中的阳极子组件的示例。阳极子组件包括与电泳毛细管端口614电连通的阳极节点612。阳极子组件还可以包括电泳分离介质端口611、一个或更多个试剂端口(607和613)以及废物端口609。所有这些端口都通过阳极子组件的通路 with 阳极节点612和电泳毛细管端口614流体连通。阳极子组件中还包括两个机械接口,该两个机械接口与阳极子组件的其余部分机械连通并有助于在阳极子组件的不同部分之间递送和转移电泳分离介质的流体流和试剂。

[0132] 在一些示例中,机械接口可以包括可垂直地移动并在阳极子组件的通路上施加高压的高压活塞608。机械接口可以包括水平移动并能够缓解来自高压活塞的压力的阳极主活塞610。电泳分离介质端口611可以从电泳介子容器接收电泳分离介质。然后,所接收的电泳分离介质可以通过流体管线移动到阳极子组件的通路中并与电泳毛细管端口614连通。然后,高压活塞608向下移动以在通路上施加高压,并通过电泳毛细管端口614将电泳分离介质推入至少一个电泳毛细管中。可以通过试剂端口607和613接收一种或更多种试剂(例如,水、电泳缓冲液)并将其泵送至用于之后的样品分析的电泳毛细管中。在一些情况下,试剂端口中的一个可用于接收再生流体并与阳极子组件的通路以及一个或更多个其它部分连通。如本文其他地方所描述的,再生流体可用于冲洗和清洗使用了一次或更多次后的电泳毛细管并恢复和还原其功能或性能。施加再生流体的时间周期和频率可以根据许多因素变化。这些因素的非限制性示例可以包括温度、再生流体的性质(例如,粘度)、再生流

体的类型、再生流体的量、用于驱动再生流体的压力或力、电泳毛细管的开口尺寸、要再生的电泳毛细管的总表面积、需要移除的吸附在电泳毛细管的内壁或表面上的物质或材料、或其组合。能够清洁电泳毛细管的内壁或表面的任何类型的流体可以用于本公开中。再生流体可以是有机流体、含水流体 (aqueous fluid)、不含水无机流体、或其混合物。在一些情况下,再生流体可以包括一种或更多种碱金属类氢氧化物,例如LiOH、NaOH、KOH、RbOH或CsOH。在一些情况下,再生流体可以包含一种或更多种盐,例如四硼酸钠和磷酸三钠。在一些情况下,在某些应用中可以使用多于一种类型的再生流体。例如,在第一再生流体清洗之后,可以使用第二再生流体和第三再生流体来进一步清洁电泳毛细管。在一些情况下,再生流体可以具有高的pH值,例如11。在一些情况下,再生流体可以具有低的pH值,例如2.5。在一些情况下,再生流体的pH值可以根据不同的应用而变化。

[0133] 类似于阴极子组件,提供废物容器以通过包括在阳极子组件中的废物端口609接收和收集来自阳极子组件的任何多余的流体或可能的泄露物。

### [0134] III. 电泳盒和系统

[0135] 电泳盒可以配置成与样品分析系统的盒接口可释放地接合。如进一步提供的,电泳盒的接合可以自动地在电泳盒和系统之间建立至少一个连通。连通的非限制性示例可以包括流体连通、电连通、光学连通、机械连通、电磁连通、热连通、电化学连通、射频连通、磁连通及其组合。电磁连通可以包括例如光学连通和/或无线连通(例如,射频识别(RFID)、WiFi、蓝牙)。可以在电泳盒的至少一部分与系统的至少一个部件之间建立自动连通。例如,在一些情况下,可以在至少一个电泳毛细管的一部分和系统的光学模块之间进行光学连通。在一些示例中,可以在系统的电压控制组件和电泳盒的阳极和阴极之间进行电连通。在一些情况下,可以在电泳盒的至少一个样品入口和系统的至少一个样品出口之间建立流体连通。在一些情况下,可以在系统的一个或更多个机械接口和电泳盒的阳极子组件和阴极子组件之间建立一个或更多个机械连通。

[0136] 光学模块可以包括至少一个光源和一个光学检测器。光源可以包括灯,例如白炽灯、卤素灯、荧光灯、气体放电灯,电弧灯、激光灯、UV灯或LED灯。光源可以包括激光器。光源可以产生特定的波长或特定范围的波长,包括但不限于可见光、红外光、UV光及其组合。光源可以包括可单独使用或组合使用的相同或不同类型的多个光源。在一些情况下,可以在电极(即,阳极和阴极)和系统的电压控制组件之间进行电连通。在一些情况下,可以在至少一个电泳毛细管和系统的热控制组件之间进行热连通。在一些情况下,可以在至少一个电泳毛细管和系统的流体控制组件之间进行流体连通。在一些情况下,电泳盒的接合和至少一个自动连通的建立可以同时发生。在一些情况下,电泳盒的接合和至少一个自动连通的建立可以顺序地发生。例如,可以在电泳盒与系统接合之后自动地建立至少一个连通。在进行多于一个自动连通的情况下,该多于一个自动连通可以同时地或顺序地进行,或者在一些情况下,这些自动连通可以被分组,并且不同组的连通可以同时地或者顺序地发生。在一些情况下,可以响应于提供给系统的控制模块的用户指令来进行自动连通。在一些情况下,可以通过一些手动操作,例如由用户按下按钮来触发自动连通。在一些情况下,通过盒与系统的机械接合来建立自动连通。例如,这种接合可以通过在接合期间将流体管道滑入或卡入适当位置来使流体管道连通。当接合物理地将电端子连接到盒和接口上时,可以实现自动电连通。当盒放入接口中使检测元件(例如毛细管)放入仪器中的光学组件的光学列的路

径中时,可以发生自动光学连通。可选地,系统可以配置成一旦系统感测到盒被接合就建立连通。例如,一旦盒被接合,系统就可以自动地将流体管道移动到与盒中的流体端口接合。可选地,一旦盒被接合,系统就可以配置成自动地建立与盒的无线电连通。

[0137] 一旦建立了至少一个自动连通,可能需要检查或测试连通的鲁棒性。例如,在一些情况下,可能需要检查自动连通是否正确。在进行多于一个自动连通的情况下,检查已经进行的正确且准确的连通的数量可能是有用的。可以使用内置电路将检查结果转换成输出信号,该输出信号随后可以显示在系统的用户界面屏幕上。在一些情况下,自动连通中的每个可以具有单独的内置电路。在一些情况下,信号内置电路可用于所有的连通。在一些情况下,许多连通可能共享一个内置电路。可以输出各种信号并在这里将其用作检查结果的指示,例如音频指示、视觉指示、触觉指示或其组合。在一些情况下,输出的信号可以包括指示灯,该指示灯可以点亮以指示准确连通的数量。详细地,可以使用与各个自动连通相对应的多个指示灯,并且在总的数量的指示灯中点亮的指示灯的数量可以指示不准确地建立的连通的数量。例如,如果要检查总共五个自动连通,并且在检查之后,五个中的三个指示灯点亮,则可以指示仅两个自动连通被正确地建立。在一些情况下,可以显示指示正确建立的连通的数量数值。例如,一个数字可能指示五个连通中的两个是正确进行的。在一些情况下,可以显示指示正确连通的颜色。例如,绿色可以指示连通被准确地建立。黄指示灯可以指示连通可接受进一步操作但不是最佳的,且红指示灯可以表示连通被不正确地进行并需要重新进行。在一些情况下,可以使用诸如条(bar)的视觉指示器。连通的量可以根据条有多满来指示。在一些情况下,可以输出指示连通的准确度的音频信号。例如,当连通不正确地进行并且需要修复时,可以产生嘟嘟声或警告语。在一些情况下,如果连通不正确地进行,系统可振动或提供任何其他类型的触觉警告。

[0138] 参考图5,示出了电泳盒500的示意图。如本文其他地方所描述的,电泳盒500可以包括电泳组件,该电泳组件包括阳极子组件507、阴极子组件510和用于至少一个样品的样品分离和分析中的至少一个电泳毛细管509。在一些情况下,至少一个毛细管是一个毛细管或一个至10个毛细管。在一些情况下,多个电泳毛细管可用于对多个样品执行电泳分析。例如,在一些情况下,多个是指可以使用少于或等于约1000个、900个、800个、700个、600个、500个、400个、300个、200个、175个、150个、125个、100个、95个、90个、85个、80个、75个、70个、65个、60个、55个、50个、45个、40个、35个、30个、25个、20个、15个、10个、5个电泳毛细管。在一些情况下,可以使用多于或等于约1个、5个、10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个、55个、60个、65个、70个、75个、80个、85个、90个、95个、100个、125个、150个、175个、200个、300个、400个、500个、600个、700个、800个、900个或1000个电泳毛细管。在一些情况下,电泳毛细管的数量可以落入本文所述的任意两个值的范围内,例如66。

[0139] 阴极子组件可以包括至少约1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个阴极节点。阳极子组件可以包括至少约1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个阳极节点。在图5的说明性示例中,三个阴极节点511包括在阴极子组件中并且与电泳毛细管的第一端部流体连通且电连通。至少一个阳极节点529被包括在阳极子组件中并且与电泳毛细管的第二端部流体连通且电连通。尽管在本公开中展示了包括一个阳极节点和三个阴极节点的阳极子组件和阴极子组件,但应当理解,可以基于不同的应用使用任意数量的阳极和阴极。例如,在一些情况下,可以使用等于或少于约20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5

个、4个、3个、2个或1个阳极或阴极。在一些情况下,可以使用多于或等于约1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、15个或20个阳极或阴极。在一些情况下,在某个应用中使用的阳极或阴极的数量可以在本文所述的任意两个值之间,例如11。

[0140] 电泳盒还可以包括用于保持电泳分离介质和用于保持用于样品处理和分析的多于一种试剂的多于一个容器。如图5中所示,电泳盒500中包括电泳分离介质容器501、第一试剂容器502、第二试剂容器503、第三试剂容器504和第四试剂容器505。如本公开中所提供的,一个或更多个容器可以配置成可移除地插入到电泳盒中。在样品分析的每次运行完成后,根据应用,一个或更多个容器可以被替换或重新使用。在一些情况下,例如,如果使用热敏电泳分离介质或电泳试剂,并且微小的温度变化可能损害其性能且之后导致整个分析失败,则可能期望在预定温度下储存或运输一个或更多个容器。在一些情况下,容器可以在室温下储存或运输。在一些情况下,容器可以在高温下储存或运输。在一些情况下,容器可以在低温下储存或运输。在一些情况下,容器可以在小于或等于约50℃、40℃、30℃、25℃、20℃、15℃、10℃、5℃、0℃、-5℃、-10℃、-20℃、-30℃、-40℃、-50℃、-60℃、-70℃、-80℃、-90℃或-100℃的温度下储存和运输。在一些情况下,容器可以在大于或等于-20℃、-10℃、-5℃、0℃、5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃的温度下储存或运输。在一些情况下,容器可以在本文所述的任意两个值之间的温度例如4℃下储存或运输。一旦将容器安装在电泳盒中,则它们可以保持在相同或不同的温度下。容器的安装可以手动地或自动地实现。

[0141] 可以在电泳分析中使用分离通道来移动和分离样品的任何类型的电泳分离介质可在此用于本公开。电泳分离介质可以是固体、半固体、液体(例如,凝胶),例如有机材料、天然高分子、合成或半合成聚合物(例如,线型的均聚物或嵌段共聚物、交联的均聚物或嵌段共聚物)、或其组合。电泳分离介质的非限制性示例可以包括琼脂糖、蔗糖、乙酸钠纤维素、淀粉-凝胶、聚丙烯酰胺(例如,LPA系列(包括LPA-1)的分离凝胶(Beckman Coulter),POP™系列(包括POP-4™、POP-6™和POP-7™)的分离聚合物(Life Technologies)、和具有自包被聚合物的改进的LPA(例如,LPA V2E(IntegenX Inc.))、羟乙基纤维素和其它生物聚合物。为了分离单链核酸片段,可以使用包括化学变性剂(例如尿素、甲酰胺或N-甲基-吡咯烷酮)的分离聚合物或凝胶或在使双链核酸片段变性的温度(例如至少约65℃、75℃、85℃或90℃或更高)下执行变性凝胶电泳。

[0142] 一旦电泳分离介质容器501与电泳盒正确地接合,借助于用于控制一个或更多个流体处理设备(例如,泵)的第一机械接口515,可以驱动电泳分离介质并将其移动到阳极子组件507。应用第二机械接口514和第三机械接口516,通过在高压活塞506和阳极主活塞(未示出)上施加力(或压力),可以将电泳分离介质进一步推入到至少一个电泳毛细管中。

[0143] 任何合适的试剂可以用于本公开中。试剂可以是固体、半固体或液体。在使用液体试剂的情况下,液体试剂可以包括有机流体、无机流体或其混合物。例如,试剂可以包括水、电泳缓冲液、样品处理缓冲液(例如,裂解缓冲液)、加载缓冲液、再生流体或其组合。例如,试剂可以以水溶液提供(例如,储存)、或可以以固体或干燥(例如,冻干)形式提供(例如,储存)并然后通过适当地添加液体(例如,水溶液)而被置于溶液中。可选地,试剂可以以基本上无水的非离子型有机溶剂(例如,乙醇溶剂)或以基本上无水的离子型有机溶剂(例如,深共晶溶剂)来提供(例如,储存),并可通过适当地添加水溶液而被再水合(re-hydrated),如

在PCT专利申请号W02014/055936中所描述的,该申请通过引用以其整天并入本文。如本公开中所使用的,术语“再生流体”通常是指能够恢复和还原电泳盒的一个或更多个部分(例如,电泳毛细管)的功能或性能的流体。在一些情况下,再生流体可以包括水溶液。在一些情况下,再生流体可以包括碱性流体。在一些情况下,再生流体可以包括一种或更多种碱金属类氢氧化物。

[0144] 为了收集可能从例如电泳毛细管、阳极子组件或阴极子组件泄漏的任何液体或流体,两个废物容器512和513可以包括在电泳盒中并分别与阳极子组件和阴极子组件连通。废物容器的收集容量(例如,容积)可以根据应用而变化。在一些情况下,可能需要高的收集容量,例如,如果要分析大量的样品并且预期消耗大量的试剂。在一些情况下,低收集容量可能就足够了。在一些情况下,收集容量可以小于或等于约500毫升(mL)、400mL、300mL、200mL、100mL、90mL、80mL、70mL、60mL、50mL、40mL、30mL或20mL。在一些情况下,废物容器的收集容量可以大于或等于约5mL、10mL、20mL、30mL、40mL、45mL、50mL、55mL、60mL、65mL、70mL、75mL、80mL、85mL、90mL、95mL、100mL、150mL或200mL。在一些情况下,废物容器的收集容量可以在本文所述的任意两个值之间,例如25mL。如本公开中所提供的,任何数量的水容器(例如,至少1个、2个、3个、4个或5个)可以包括在电泳盒中。例如,除了与阳极子组件和阴极子组件连通的废物容器之外,每个试剂容器和电泳分离介质容器都可以设置有其自己的水容器。

[0145] 在本公开的一些方面,电泳盒还可以包括多个流体处理设备,该多个流体处理设备使电泳盒的各个部分或部件流体连通。如以上以及本文其他地方所描述的,可以使用能够移动或转移流体的任何类型的设备,例如阀、泵、静电流体加速器和各种其它形式的处理装备。如图5中所示,泵520和521用于通过其相应的流体管道将储存在第一试剂容器502和第二试剂容器503中的试剂驱动到阳极子组件507。类似地,泵522和523用于通过两个单独的流体管道将保存在第二试剂容器503和第三试剂容器504中的试剂转移到阴极子组件510。

[0146] 在一些情况下,可能希望至少一个试剂容器与电泳盒或系统的多于一个部分连通。例如,如图5中所示,第二试剂容器503和第三试剂容器504除了其如上所述的与电泳盒的阴极子组件510的连通之外,还与电泳盒外部的部分连通。详细地,这两个试剂容器通过流体管线与样品盒接口519和流体处理设备518流体连通。四通阀528和三通阀527用于引导、控制和调节流体管线中不同类型的流体流动。可选地或另外地,具有安装在电泳盒的内部而仅与电泳盒的外部的部分或部件连通的一个或更多个试剂容器可以是有利的。例如,在如图5中所示的本示例中,第四试剂容器505与电泳盒接合并通过流体管线与样品盒接口519流体连通。在一些情况下,电泳盒中可以包括一个或更多个流体动力设备(例如,液力耦合器524、525和526),该一个或更多个流体动力设备可以有助于通过流体管线递送和转移试剂、分析物或样品。

[0147] 电泳盒还可以包括样品递送组件,该样品递送组件包括至少一个样品入口端口和至少一个样品管线,其中每个样品管线使样品入口端口通过阴极子组件中的通路与电泳毛细管的第一端部连通。样品入口端口还可以配置为与包括在样品盒接口519中的样品出口端口通过流体动力设备526(例如,液力耦合器或液压耦合器)连通。使用样品递送组件,来自与样品盒接口接合的样品盒的经处理的样品可以通过样品管线被引导到分离通道(例

如,电泳毛细管)。用于将所制备的样品移动到分离通道中的任何合适的方法可以用于本公开的上下文中。例如,可以通过在电泳样品管线中在包括较高盐浓度或较高离子强度的电泳缓冲液的区域之间定位包括较低盐浓度或较低离子强度的样品的稀释混合物来执行场放大堆叠(field-amplified stacking) (FAS)。在另一个示例中,可以将材料(例如,空气)团块定位在样品管线中的样品的下游,其中该材料具有与电泳缓冲液或样品的电导率不同的电导率。当样品定位在整个分离通道上时,样品可以在合适的电压(例如,约3kV至约5kV,或约4kV)下经过适量的时间(例如,约10秒至约20秒,或约15秒)被电动地注射到分离通道中。在一些其他示例中,可以使用泵来驱动样品进入分离通道。在一个实施方案中,可以将毛细管插入到样品管线中,使得样品流动通过毛细管的开口。在另一个实施方案中,样品管线可以与电泳毛细管同轴。

[0148] 一旦所制备的样品移动到分离通道中,则样品可以借助于(如在阳极529和阴极511之间施加的电压梯度下可产生的)电场在分离通道内进行样品分离和分析。在电场的影响下,电泳毛细管中的分析物以不同的速率移动通过基质(即电泳分离介质),该不同的速率由一种或更多种因素(例如质量、电荷或其组合)确定。

[0149] 电泳毛细管的一部分可以用作光学窗口508,该光学窗口508能够接收来自光源的光并发射可由包含在检测组件中的一个或多个检测器捕获和检测的信号。在一些情况下,可以提供可以包括光源和检测组件的光学模块。光源定位成通过光学窗口将光束递送到至少一个电泳毛细管。一个或多个光学检测器(例如,电荷耦合设备(CCD)、互补金属氧化物半导体(CMOS)、光检测器、光电二极管或光电倍增检测器)可以光学地耦合,以通过光学窗口接收从至少一个电泳毛细管发射的信号。如在本公开的其他地方所讨论的,电泳盒中的光学窗口与光源和光学模块之间的光学连通可以在电泳盒的接合发生的同时自动地建立。在一个实施方案中,毛细管可以由顺从性构件可移动地支撑,该顺从性构件可以被朝向光学组件弹簧偏压。系统中的光学模块物理地接合顺从性构件,使毛细管与光学器件大致横向对齐。当光学模块接合顺从性构件时,光学模块的接合组件上的特征可以通过毛细管穿过顺从性构件的移动而提供精准的对齐。

[0150] 毛细管可以被热调节,例如被加热,以保持适当的运行温度。通过使毛细管与电热加热器(例如,珀耳帖(Peltier))热接触,或者通过使毛细管与电阻加热器热接触,毛细管可以通过例如温度控制的空气在毛细管上流动来进行加热。在美国专利8,512,538中描述了使用电阻加热器加热毛细管的组件的示例。在另一个实施方案中,毛细管加热器组件可以包括柔性加热器电路,该柔性加热器电路包括聚合物基底中的电阻加热器(例如,线材迹线(wire trace))。这种柔性加热器电路可从Mod-Tronic (Thermofoil)、Kapton (聚酰亚胺加热器) 和McMaster-Carr (超薄加热片) 商购获得。毛细管热调节组件的一个实施方案包括以下元件:毛细管被夹在织物钩环紧固件(例如, **Velcro®** 条带)的钩环层之间。电阻加热器(例如镍铬合金线材)通过织物层中的一层与毛细管热接触,例如物理地接触层的外表面。该组件可以由热散布器(thermal spreader),比如石墨(例如柔性石墨)来支撑。在另一个实施方案中,毛细管夹在两个热导性凝胶条带,例如Thermacool TC3008(圣戈班,库尔布瓦,法国)之间。这种夹层又被夹在热散部器(比如石墨薄膜(例如, **KERATHERM®** 石墨薄膜, Kerafol, Eschenbach, 德国))之间。这个夹层又夹在条带状加热器(例如, Kapton)之间。

[0151] 在样品处理和分析的每个循环完成之后,不需要更换和丢弃电泳盒。本公开提供了可重复使用至少2次、4次、6次、8次、10次、12次、14次、16次、18次、20次、21次、22次、23次、24次、25次、26次、27次、28次、29次、30次、35次、40次、45次、50次、60次、70次、80次、90次或100次的电泳盒。如本文其他地方所讨论的,再生流体包含在电泳盒中,并用于在每次使用后冲洗和清洗电泳毛细管。

#### [0152] IV. 方法

[0153] 本公开中还提供了用于使用本文所述的系统来制备、处理和分析包括样品的基因材料的方法。通常,该方法可以包括:(a) 提供一种系统,该系统包括与电泳盒可释放地接合的电泳盒接口,该电泳盒包括:(1) 阳极子组件,其包括阳极,(2) 阴极子组件,其包括阴极,和(3) 至少一个电泳毛细管,其与阳极和阴极流体连通;(b) 在电泳盒接口处接纳电泳盒;(c) 自动地建立以下项中的至少一项:(i) 电泳系统的光学检测组件和至少一个电泳毛细管的一部分之间的光学连通,(ii) 系统和阳极以及阴极之间的电连通,(iii) 系统和至少一个电泳毛细管之间的流体连通,(iv) 系统和电泳盒或至少一个电泳毛细管之间的热连通,和(v) 系统和电泳盒之间的磁连通;(d) 在至少一个电泳毛细管的与阳极连通的第一端部和至少一个电泳毛细管的与阴极连通的第二端部之间提供电压梯度。

[0154] 在一些情况下,系统还可以包括电压控制组件(例如,电源)、至少一个热控制组件、至少一个样品出口、光学模块和至少一个流体控制组件,电压控制组件能够在阳极和阴极之间施加电压梯度。光学模块可以包括光源和检测组件,该检测组件包括一个或多个光学检测器。流体控制组件可以包括用于保持样品制备、处理和分析所需的一种或更多种试剂或流体的流体容器和能够移动电泳盒或系统内的流体的至少一个流体处理设备。

[0155] 在一些情况下,自动建立的连通包括以下中的至少一个:(i) 电压控制组件和阳极以及阴极之间的电连通,(ii) 光学模块与电泳毛细管的至少部分之间的感测连通,(iii) 至少一个热控制组件和电泳毛细管之间的热连通,(iv) 至少一个样品出口和电泳毛细管之间的第一流体连通,和(v) 至少一个流体控制组件和电泳毛细管之间的第二流体连通。

[0156] 如本文其他地方所讨论的,电泳盒的接合和至少一个自动连通的建立可以同时地或顺序地发生。例如,可以在电泳盒与系统接合之后自动地建立至少一个连通。在进行多于一个自动连通的情况下,该多于一个自动连通可以同时地或顺序地进行。在一些情况下,这些自动连通可以被分组,并且不同组的连通可以同时地或顺序地发生。在一些情况下,自动连通响应于提供给系统控制模块的用户指令而进行。在一些情况下,可以通过一些手动操作,例如由用户按下按钮来触发自动连通。

#### [0157] V. 使用方法

[0158] 本公开的样品盒可以用在用于制备样品(例如,DNA分离和扩增)的集成系统中。例如,在一个示例(图9)中,可以将包含在例如拭子或卡片穿孔器上的样品引入样品室120中。盒可以与样品盒接口103接合。包含在芯片外储存器(off-chip reservoir)中的细胞裂解缓冲液可以通过端口112供给到盒中的流体通道中,并通过关闭阀141、142、143和147进入样品室120。端口112可以连接到注射器或另一个正压或负压源。在裂解后,裂解物可以例如,通过打开阀147、148、149和142,且关闭阀146、145、143、144和141,借助于柱塞移动通过盒上的流体通道,该柱塞通过端口112施加真空以将流体吸入反应室122中。在一个实施方案中,DNA反应室可以包括捕获预定量分析物的材料。当反应室填满时,过多的流体可以移

动到废物室123中。用于执行PCR或其他反应的试剂可通过端口115和116引入反应室中。在一个实施方案中,如美国专利申请公开号US2013/0115607和国际专利申请公开号W02013/130910中所详述的,致动器推动球阀(未示出),以将主混合物推入端口115中,并将端口116中的引物推入反应室122中。系统中的热控制机构可以施加热量以在阀148和149关闭的情况下在盒的反应室122中执行热循环。在热循环之后,阀148、145、143和141打开且阀149、146、147、144、142关闭,并且泳道内标从端口114分配到反应室122中并被推入混合室121中。在混合之后,阀141、142、145、146关闭,阀143和144打开,并且带有泳道内标的扩增的STR混合物通过端口113被推到用于分离、检测和分析的毛细管电泳分析模块中。

#### [0159] A. 扩增和循环测序—一个通道

[0160] 在一些情况下,本公开的盒可用于进行DNA扩增和随后的循环测序准备。用于测序的靶可以是例如诊断靶,例如用于基因型分型的基因、携带例如来自肿瘤的体细胞突变的多核苷酸、或来自感染性微生物例如细菌或病毒的多核苷酸。

[0161] 图10中示出了用于这种实施方案的示例性盒2100。盒2100具有输入2110。样品2105可以被引入到样品室2120中。盒可以与仪器2180的接口接合,该仪器2180配置为供应试剂和动力。包含在芯片外存储器2182中的细胞裂解缓冲液可以通过端口2112供给到盒中的流体通道中,并通过打开阀2114进入样品室2120中。端口2112可以连接到注射器2170或另一个正压或负压源。

[0162] 裂解后,通过打开阀2116,裂解物可以通过盒上的流体通道移动到分离室2130中;如果需要的话,可以通过打开阀2118由注射器2170施加真空。通过打开阀2118,可以在引入裂解物之前或之后将磁响应颗粒,例如珠2184引入分离室中。在另一个实施方案中,珠可以被预装载到分离室2130中。可以通过磁致动器2135施加磁力到分离室2130而将多核苷酸捕获在颗粒上并将其固定。可以使用例如乙醇2186来洗涤颗粒,并且洗涤剂可以移动到盒上的废物室(未示出)或盒外的废物室2188。

[0163] 然后通过打开阀2122将多核苷酸移动到反应室2140中用于进行PCR。用于扩增特异性核苷酸序列的试剂可以通过端口2113和2115从密封隔室引入反应室中,或者这些密封隔室可以包含例如由聚四氟乙烯球密封的在集成小瓶中的试剂。这些试剂包括引物、核苷酸和热启动DNA聚合酶。引物通常在“引物混合物”中与混合为“主混合物”的其它成分保持分离。系统中的热控制机构,例如热循环仪2160,可以施加热以在盒的反应室2140中执行热循环。在热循环后,残留的引物和核苷三磷酸可以通过从密封的隔室通过端口2117添加例如外切核酸酶I和虾碱性磷酸酶来降解。在反应后,外切核酸酶I和虾碱性磷酸酶可以通过由热循环仪2160加热至80℃来降解。

[0164] 然后通过端口2119和2121将用于执行循环测序的试剂从盒上的密封隔室引入反应室中。这些试剂包括测序引物、核苷酸、热启动DNA聚合酶、和用于染料终止子测序的标记的双脱氧核苷酸(例如来自Life Technologies®的BigDye®终止子(terminator))。通常引物在“引物混合物”中与混合为“主混合物”的其它成分保持分离。热循环产生具有碱基特异性荧光标记的双脱氧核苷酸终止的多核苷酸。

[0165] 然后将该混合物移回到分离室2130中。可以将磁响应颗粒引入分离室2130中,用于多核苷酸捕获和清洗。

[0166] 然后可以例如使用空气2192将清洗的多核苷酸通过输出端口2123推入毛细管电

泳分析模块中以用于分离、检测和分析。

[0167] 在一些情况下,一些或所有试剂储存在盒上的隔室中,以便根据需要移动到流体回路中。

[0168] 图11A和图11B中描述了配置为执行该方法的样品盒的另一个示例。盒3200包括入口3210、压力端口3212、裂解室3220、过滤室3236、分离室3230、反应室3240、反应室中的磁吸引珠3285、用于PCR试剂的端口3213和3215、用于循环测序试剂的端口3219和3221、出口端口3213、和阀3213、3214、3241、3243、3244、3245、3248、3249和3250。图11B中的盒外观示出了端口3212和3213,以及用于端口3213、3215、3217、3219和3221的开放隔室。

[0169] B. 扩增和循环测序-多通道

[0170] 在一些情况下,本公开的样品盒具有包括多个分支的流体回路,每个分支适于执行单独的生化反应。例如,两个分支中的每个可以用于对样品执行正向和反向链循环测序中的一个。可以制备正向链用于在第一分支中进行测序,并且可以制备反向链用于在第二分支中进行测序。可选地,不同的分支可以用于扩增来自相同样品的不同的靶核苷酸序列。

[0171] 图12中示出了用于这种实施方案的示例性盒2200。盒2200具有输入2210。样品2205可以被引入到样品室2220中。盒可以与配置为供应试剂和动力的仪器2280的接口接合。包含在芯片外储存器2282中的细胞裂解缓冲液可以通过端口2212供给到盒中的流体通道中,并通过打开阀2214进入样品室2220中。裂解溶液可以与用于捕获多核苷酸的颗粒相容。端口2212可以连接到注射器或另一个正压或负压源。

[0172] 裂解后,通过打开阀2216,裂解物可以通过盒上的流体通道移动到分离室2230中。通过打开阀2218,可以在引入裂解物之前或之后将磁响应颗粒(例如,珠2284)引入分离室中。可以通过磁致动器2235施加磁力到分离室2230而将多核苷酸捕获在颗粒上并将其固定。可以使用例如乙醇2286来洗涤颗粒,并且洗涤剂可以移动到盒外的废物室2288。

[0173] 然后,通过打开阀2222a-c,将多核苷酸的等分试样移入反应室2240a-c中以用于进行PCR。这可以例如通过顺序地打开和关闭这些阀,并将材料移动到每个打开的室中来完成。用于扩增特异性核苷酸序列的试剂可以从密封隔室引入反应室中,或者可以以冻干的形式存在。系统中的热控制机构,例如热循环仪2260,可以施加热以在盒的反应室2240中执行热循环。

[0174] 在热循环之后,通过打开阀2242a-c可以将产品移动到室2250a-c中。这里,引物和核苷三磷酸由例如以冻干形式存在或从密封隔室中加入的外切核酸酶I和虾碱性磷酸酶降解。在反应后,外切核酸酶I和虾碱性磷酸酶可以通过由热循环仪2260加热至80°C来降解。

[0175] 然后通过打开阀2251a-c将样品移动到反应室2250a-c中,以准备循环测序。再次,可以将例如来自盒上的密封隔室或可以以冻干形式存在的用于执行循环测序的试剂引入反应室中。热循环产生具有碱基特异性标记的双脱氧核苷酸终止的多核苷酸。

[0176] 然后通过打开阀2253a-c将热循环反应的产物移动到清洗室2254a-c中。可以将磁响应颗粒引入到清洗室2254a-c中,以用于多核苷酸捕获和清洗。

[0177] 然后通过打开阀2255a-c例如使用空气2292将清洗的多核苷酸通过输出端口2223推入毛细管电泳分析模块中以用于分离、检测和分析。

[0178] C. DNA定量

[0179] 在一些情况下,本公开的样品盒包括DNA定量功能。这种功能可用于计量确定适合

于下游应用(例如STR扩增)的扩增的DNA量。

[0180] 图13中示出了用于这种实施方案的示例性盒2300。盒2300具有输入2310。样品2305可以被引入到样品室2320中。盒可以与配置为供应试剂和动力的仪器2380的接口接合。包含在芯片外储存器2382中的细胞裂解缓冲液可以通过端口2312供给到盒中的流体通道中,并通过打开阀2314进入样品室2320中。端口2312可以连接到注射器2370或另一个正压或负压源。

[0181] 裂解后,通过打开阀2316,裂解物可以通过盒上的流体通道移动到分离室2330中。通过打开阀2318,可以在引入裂解物之前或之后将磁响应颗粒(例如珠2384)引入分离室中。可以通过磁致动器2335施加磁力到分离室2330而将多核苷酸捕获在颗粒上并将其固定。可以使用例如乙醇2386来洗涤颗粒,并且洗涤剂可以移动到盒外的废物室2388。

[0182] 然后,通过打开阀2322可以将预定量的带有捕获的DNA的颗粒移动到反应室2340中。磁致动器2335将使珠在反应室2340中固定。通过端口2319和2321将人类特异性qPCR试剂(例如,来自Thermo Fisher Scientific™的Quantifiler或来自Promega™的Plexor HY系统)从密封隔室引入反应室中。为了进行qPCR,系统中的热控制机构,例如热循环仪2360,可以施加热以在盒的反应室2340中执行热循环。检测设备2370例如使用照明来确定反应的进程。该信息用于确定每单位珠体积捕获多少DNA。计算携带预定量的DNA所需的珠的量。

[0183] 然后可以例如使用空气2392推动反应室2340中的材料通过输出端口2323。

[0184] 接下来,将确定为携带期望量的DNA的来自分离室2330的一定体积的珠移动到反应室2340中。然后可以通过端口2313和2315将用于执行PCR的试剂从盒上的密封隔室引入反应室中,并且进行反应热循环。

[0185] 然后可以例如使用空气2392将阶梯内标(internal ladder standard)通过输出端口2323推入毛细管电泳分析模块中以用于分离、检测和分析。

[0186] 本公开的盒可以用在用于分析样品(例如,通过实时或终点检测进行DNA分离和扩增)的集成系统中。对于实时测量,样品可以由光学检测系统查询同时在反应室122中扩增。读出可以是荧光或熔点的变化。探针可以是人类特异性的,用于人类识别、法医或分子诊断应用,或是病原体特异性的,用于分子诊断应用,或是生物武器(bioagent)特异性的,用于生物防卫应用,或是非特异性嵌入剂,用于确定存在的DNA的量。扩增方法包括,例如热或等温扩增反应(例如PCR)、滚环扩增、全基因组扩增、基于核酸序列的扩增、和单链置换扩增、单引物等温线性扩增(SPIA)、环介导的等温扩增、连接介导的滚环扩增等。

[0187] 本公开的样品盒可以用在用于分析样品的集成系统中。测定可以检测多肽(例如,免疫测定)或核酸(例如,PCR或逆转录,随后扩增)。为了检测免疫测定,在样品裂解和裂解的样品移动到反应室121之后,端口115和116可以用于向样品添加初级抗体和二级抗体。检测可以在样品室121中,或者样品可以通过端口113移动到检测器。

[0188] 测定可以是多个或单个分析物。测定可以涉及测量样品的存在、量、活性或其他特征的任何测定。这些包括涉及通过荧光、发冷光、化学发光、吸光度、反射率、透光度、双折射率、折射率、比色及其组合进行检测的测定。在本公开中,酶主混合物和底物可以单独加入到反应和光学监测的测定的过程或终点中。

[0189] 在一些情况下,本公开的样品盒可以用于为另外的分析设备制备样品。分析方法可以包括测序、色谱分析法(例如,气体或尺寸排除色谱法)、测电法、椭圆偏振法、折射测量

法、干涉测量法(例如,背散射干涉测量法)、光谱测定法(例如质谱测定法、核磁共振谱法、拉曼光谱、表面增强拉曼光谱)、表面等离子体共振。测序方法可以包括高通量测序、焦磷酸测序、合成测序、单分子测序、纳米孔测序、半导体测序、连接测序、杂交测序、转录组测序(RNA-Seq)(Illumina)、数字基因表达谱(Digital Gene Expression)(Helicos)、下一代测序、单分子合成测序(SMSS)(Helicos)、大规模并行测序、克隆单分子阵列(Solexa)、鸟枪法测序、Maxim-Gilbert测序、桑格测序(Sanger sequencing)、引物步移法、使用PacBio、SOLiD、Ion Torrent或Nanopore平台的测序。

[0190] 对于STR应用而言,热循环后,其他试剂,如分子量标志物(尺寸标准)可以与PCR产物合并。PCR的产物可以通过连接到端口113的输出管线(样品输出)移出芯片进行分析。

[0191] 在反应是短串联重复序列(STR)反应的情况下,在个案作业样品的某些管辖区域中,可能需要对人类DNA的量进行定量。典型的法医过程是在样品被STR扩增之前,在单独的仪器中使用实时聚合酶链式反应(PCR)来定量所提取的样品。在本公开中,将人类特异性探针添加到在STR试剂盒所使用的范围之外具有荧光的STR混合物中。当STR被PCR扩增时,通过用于人类特异性探针的合适波长的光来查询反应室122。人类特异性探针可以是诸如Black Hole Quencher®或TaqMan®探针的猝灭剂或本领域技术人员熟知的其它化学物质。随着PCR循环增加,来自人类特异性探针的荧光被监测,以定量反应中的人类DNA的量。在优选的实施方案中,可以基于所测量的人类DNA的量来调整扩增循环的次数;如果使用独立的热循环,则可以逐个盒监测。一个优点是,人类特异性探针将允许同时进行的STR扩增实现最优的扩增并产生对于试剂盒而言最优的STR产物量。第二个优点是,与STR扩增同时进行的实时监测,允许集成采样反馈系统,而无需另外单独的定量过程。第三个优点是,对于其中几乎没有足够的样品产生良好的STR图谱的低拷贝数量的样品而言,定量与STR扩增的集成避免了通常用于定量的等分试样引起剩余样品不具有足够的DNA来进行良好的STR扩增。

[0192] VI. 计算机控制系统

[0193] 本公开提供了被编程为实施本公开的方法的计算机控制系统。图8示出了被编程或以其他方式配置为促进样品制备、处理和/或分析的计算机系统801。计算机系统801可以调节本公开的样品制备、处理和/或分析的各个方面,诸如,例如将电泳盒与用于样品制备、处理和/或分析的系统的电泳接口接合(例如,见图1A-1C)。计算机系统801可以与这样的系统集成。

[0194] 计算机系统801包括中央处理单元(CPU,在本文中也称为“处理器”和“计算机处理器”)805,其可以是单核或多核处理器或用于并行处理的多个处理器。计算机系统801还包括存储器或存储位置810(例如,随机存取存储器、只读存储器、闪速存储器)、电子存储单元815(例如,硬盘)、用于与一个或多个其他系统进行通信的通信接口820(例如,网络适配器)、和诸如高速缓冲存储器、其他存储器、数据存储和/或电子显示适配器的外围设备825。存储器810、存储单元815、接口820和外围设备825通过诸如母板的通信总线(实线)与CPU 805进行通信。存储单元815可以是用于存储数据的数据存储单元(或数据储存库)。借助于通信接口820,计算机系统801可以可操作地联接到计算机网络(“网络”)830。网络830可以是因特网、因特网和/或外联网、或者与因特网通信的内联网和/或外联网。在一些情况下,网络830是电信网络和/或数据网络。网络830可以包括一个或更多个计算机服务器,该一个

或更多个计算机服务器可以实现诸如云计算的分布式计算。在一些情况下,借助于计算机系统801,网络830可以实现对等网络(peer-to-peer network),该对等网络可以使联接到计算机系统801的设备能够作为客户机或服务器。

[0195] CPU 805可以执行可包含在程序或软件中的机器可读指令序列。指令可以储存在诸如存储器810的存储器位置中。指令可以被引导到CPU 805,CPU 805可以随后编程为或以其他方式配置为实施本公开的方法。由CPU 805执行的操作的示例可以包括获取、解码、执行和回写。

[0196] CPU 805可以是诸如集成电路的电路的一部分。系统801中的一个或多个其他部件可以包括在电路中。在一些情况下,电路是专用集成电路(ASIC)。

[0197] 存储单元815可以储存文件,例如驱动程序、程式库和保存的程序。存储单元815可以储存用户数据,例如用户偏好和用户程序。在一些情况下,计算机系统801可以包括在计算机系统801外部(例如位于通过内联网或因特网与计算机系统801通信的远程服务器上)的一个或多个另外的数据存储单元。

[0198] 计算机系统801可以通过网络830与一个或多个远程计算机系统通信。例如,计算机系统801可以与用户(例如,操作者)的远程计算机系统通信。远程计算机系统的示例包括个人计算机(例如,便携式PC)、平板或板型PC(例如,Apple®iPad、Samsung®Galaxy Tab)、电话、智能手机(例如,Apple®iPhone、支持Android的设备,Blackberry®)或个人数字助理。用户可以通过网络830访问计算机系统801。

[0199] 本文所述的方法可通过储存在计算机系统801的电子储存位置上(诸如,例如储存在存储器810或电子储存单元815上)的机器(例如,计算机处理器)可执行代码来实现。机器可执行或机器可读代码可以以软件的形式提供。使用期间,代码可由处理器805执行。在一些情况下,可从存储单元815取回代码,并为了处理器805轻易地获取代码而将其储存在存储器810上。在一些情况下,可排除电子存储单元815,并将机器可执行指令储存在存储器810中。

[0200] 代码可被预编译并配置成供具有适应于执行该代码的处理器器的机器使用,或可在运行时间期间被编译。代码可以编程语言的形式提供,该编程语言可被选择以便使得代码能以预编译的或同时编译的方式执行。

[0201] 本文提供的系统(例如计算机系统801)和方法的各个方面可在编程中被具体化。技术的多个方面可被视为通常以在一种机器可读介质中携带或具体化的机器(或处理器)可执行代码和/或相关数据的形式“产品”或“生产的物品”。机器可执行代码可被储存在诸如存储器(例如,只读存储器、随机存取存储器、闪速存储器)或硬盘的电子存储单元上。“存储器”类型的介质可包括任何或所有的计算机、处理器或诸如此类的有形存储器,或可在任意时刻为软件编程提供非临时存储器的诸如各种半导体存储器、磁带驱动器、磁盘驱动器和诸如此类的其相关模块。所有或部分的软件有时可通过互联网或各种其他电信网络进行通信。这种通信,例如,可使软件能够从一个计算机或处理器加载到另一个计算机或处理器,例如,从管理服务器或主机加载到应用服务器的计算机平台。因此,能够承载软件元素的另一种类型的介质包括例如在本地设备之间的物理接口上使用的、通过有线和光学的陆上网络和各种空中链路上的光波、电波或电磁波。例如,携带这些波的物理元件,例如有线或无线链路、光链路等也可被视为承载软件的介质。如本文所用的,除非被限制为非暂时

性的、有形的“存储”介质,否则,例如计算机或机器“可读介质”的术语是指参与向处理器提供用于执行的指令的任何介质。

[0202] 因此,诸如计算机可执行代码的机器可读介质可采用许多形式,包括但不限于有形的储存介质、载波介质或物理传输介质。非易失性存储介质包括,例如,光盘或磁盘,诸如任何计算机或类似物中的任何存储设备,例如可用于实现数据库等的附图中所示的存储设备。易失性存储介质包括动态存储器,例如这种计算机平台的主存储器。有形的传输介质包括:同轴电缆;铜线和光纤,其包括包含在计算机系统内的总线的线材。载波传输介质可采用诸如在射频(RF)和红外(IR)数据通信中产生的那些电子或电磁信号或声波或光波的形式。因此计算机可读介质的常见形式包括例如:软盘、可折叠磁盘、硬盘、磁带、任何其他磁介质、CD-ROM、DVD或DVD-ROM、任何其他光学介质、穿孔卡片纸带、具有孔形式的任何其他物理存储介质、RAM、ROM、PROM和EPROM、FLASH-EPROM、任何其他记忆芯片或盒、传送数据或指令的载波、传送这种载波的线缆或链路、或计算机可以从其读取编程代码和/或数据的任何其他介质。许多这些形式的计算机可读介质可能涉及将一个或多个指令的一个或多个序列传送给处理器执行。

[0203] 计算机系统801可以包括电子显示器835或可以与电子显示器835通信,该电子显示器835包括例如用于使用户能够指示计算机系统801开始样品制备、处理和/或分析的用户界面(UI)840。UI的示例包括但不限于图形用户界面(GUI)和基于web的用户界面。用户界面840可以是如在2014年10月22日提交的美国临时专利申请序列号62/067,429中所描述的,该申请通过引用以其整体并入本文。

[0204] 本公开的方法和系统可以通过一种或更多种算法来实现。算法在由中央处理单元805执行时可以通过软件来实现。算法可以例如实现用于样品制备、处理和/或分析的系统的一般操作。在一些示例中,算法可以调节阀的顺序的打开和关闭或电泳盒的操作。

## VII. 实施例

### [0205] 实施例1

[0206] 样品盒是具有集成的注射器筒和样品室的聚丙烯模制件,样品室在流体的区域上具有聚乙烯热密封件。在废物室中有吸收剂材料,在反应室中有一小块捕获材料。桶中装载有大量的裂解溶液(500-1000 $\mu$ E),该裂解溶液隔离在两个橡胶柱塞之间。在芯片上具有由顶部和底部聚四氟乙烯球密封的试剂容器;两个用于装载有7-10 $\mu$ E的溶液的Global Filer主混合物/引物的两个部分,一个容纳在转移到阴极之前被用作稀释剂的水/泳道内标溶液(ILS solution)。

### [0207] 过程步骤

#### [0208] 1. 装载盒

[0209] a. 用户从包装中取出盒并将其装入仪器中。仪器感测盒并接合。撞杆处于缩回状态。

[0210] b. 初始阀冲制(coining)。撞杆移动到闭合状态。

#### [0211] 2. 装载样品

[0212] a. 样品被记录并装载。

#### [0213] 3. 裂解(见图14A中液体的路径)

- [0214] a. 打开裂解加热器。
- [0215] b. 将阀设置到从注射器递送到裂解室的适当位置。
- [0216] c. 后橡胶柱塞被仪器上的泵轴接合。
- [0217] d. 将注射器的全部内容物递送到裂解室。
- [0218] e. 将阀移动到通风位置。
- [0219] f. 抽拉注射器柱塞, 并且将注射器充满空气。
- [0220] g. 将阀移动到递送位置。
- [0221] h. 将空气注入裂解室中以进行混合。
- [0222] 4. 转移和捕获 (见图14B。由注射器入口从样品室抽吸到反应室中。)
- [0223] a. 将阀设定到其中穿过反应室的路径在裂解室和废物容器之间打开的状态。
- [0224] b. 在废物容器上抽真空。
- [0225] c. 将裂解物从室中吸出, 通过反应室并从而经过捕获介质, 并且进入废物室, 在那里裂解物被室中的物质吸收。
- [0226] d. 将阀切换到递送位置并且柱塞被向前推动。
- [0227] e. 再次执行抽吸, 以确保所有游离的裂解物材料都离开室, 通过反应室并进入废物室。
- [0228] 5. 主混合物/引物加载以及热循环。(见图14C。试剂被泵送到反应室中。)
- [0229] a. 将阀设置为路径经废物室通向通气口的状态。
- [0230] b. 将两个PCR混合物小瓶排空至反应室中。
- [0231] c. 关闭所有的阀。
- [0232] d. 开始热循环。
- [0233] 6. 聚合物填充, 其与循环同时进行
- [0234] a. 打开阳极输入和阳极输出阀
- [0235] b. 冲洗阳极
- [0236] c. 关闭阳极输出阀
- [0237] d. 填充毛细管
- [0238] e. 清洗阴极
- [0239] 7. 混合样品和稀释剂 (见图14D。样品和稀释剂到达混合隔室。)
- [0240] a. 将阀设置为其中路径在反应室和混合室之间打开以连通的状态。
- [0241] b. 将稀释剂小瓶倒空到混合室中。
- [0242] 8. 样品递送到阴极 (见图14E。产物被推动到出口端口。)
- [0243] a. 将阀设置为从注射器到混合室的路径通到样品出口的状态。
- [0244] b. 驱动注射器以装入样品。
- [0245] 9. 样品注射和运行
- [0246] a. 将样品注入毛细管中
- [0247] b. 缓冲液泵将样品从毛细管清理出并冲洗管线
- [0248] c. 进行电泳和检测。
- [0249] 实施例2
- [0250] 在盒1801上执行的另一个协议包括以下步骤。图15中示出了阀的状态。

- [0251] 1 装载样品盒
- [0252] 2 将裂解液引至废物室\*
- [0253] 3 将裂解液分配到裂解室
- [0254] 4 将裂解液与空气混合
- [0255] 5 混合并加热裂解液
- [0256] 6 将裂解物经反应室抽取到废物室
- [0257] 7 将引物混合物和主混合物推入反应室
- [0258] 8 热循环
- [0259] 9 将泳道内标和产物经反应室推动到混合室
- [0260] 10 使用空气泵将残留的泳道内标和产物推动到混合室
- [0261] 11 将产物推动到阴极
- [0262] 12 用水清洗混合室并将产物输出到阴极
- [0263] 13 用水清洗混合室和反应室
- [0264] 14 将水从样品盒冲入废物室
- [0265] 15 将水从样品盒和管线冲到阴极
- [0266] 16 释放
- [0267] 1. 所有500ul将被分配到裂解室中,并然后在步骤5之后推入废物室中。
- [0268] 2. 正好低于B0的在到反应室的管线中的残留引物混合物和主混合物将在运行之后保留在样品盒中。
- [0269] 3. 冲洗样品盒使其无水。
- [0270] 实施例3
- [0271] 在图16的盒上执行的另一个协议,包括以下步骤。开始时所有阀门处于打开状态
- [0272] 1. 关闭阀2543和2548。装载样品盒。
- [0273] 2. 将裂解缓冲液从端口2512通过阀2542推动到裂解室2520。
- [0274] 3. 将裂解液与空气混合:推动空气通过以下打开的阀并迫使空气通过以下回路:  
2512->(打开) 2543->2523->2541->2522->2545->2520
- [0275] 4. 混合并加热裂解液
- [0276] 5. 通过反应室2520->2545->2522->2523->2543->2512将裂解物抽取到废物室
- [0277] 6. 关闭阀2545;将引物混合物2554和主混合物2553推动到反应室2522
- [0278] 7. 关闭阀2541;热循环
- [0279] 8. 打开阀2541;将泳道内标2552和产物经反应室2522推动到混合室2521
- [0280] 9. 将产物推动到阴极2512->2548->2521->2547->2513
- [0281] 实施例4
- [0282] 该实施例示出了对核酸进行循环测序的方法。(参考图10)
- [0283] 原始样品
- [0284] • 使用离液剂(chaotroph)裂解
- [0285] 珠纯化DNA
- [0286] • 移动到磁珠处理室
- [0287] • 添加顺磁珠

- [0288]     • 用稀释的乙醇洗2次
- [0289]     • 洗脱DNA或将珠移动到反应室
- [0290]     进行PCR扩增(对足够的靶区域进行测序;如果对多个区域进行测序,则样品必须是每个基因座的分裂或平行的样品)
- [0291]     • 添加PCR引物并将其与来自小瓶2113和2115的酶预混合
- [0292]     • 热循环
- [0293]     ExoI/SAP (破坏PCR引物和核苷三磷酸)
- [0294]     • 添加Exo/SAP试剂(核酸外切酶I/虾碱性磷酸酶)
- [0295]     • 在37℃下培养15分钟
- [0296]     • 加热至80℃持续15分钟
- [0297]     循环测序
- [0298]     • 添加循环测序引物并将其与酶和BigDye终止子预混合
- [0299]     • 热循环
- [0300]     使用顺磁珠清洗循环测序产物
- [0301]     • 移动到磁珠处理室
- [0302]     • 添加珠和离液剂
- [0303]     • 用稀释的乙醇洗2次
- [0304]     • 在水或缓冲液中洗脱
- [0305]     将产物送至毛细管电泳
- [0306]     实施例5
- [0307]     该实施例显示了对扩增产物循环测序后执行标志物(例如诊断标志物)扩增的方法。(参考图12)
- [0308]     原始样品
- [0309]     • 使用离液剂裂解(在盒或仪器上)
- [0310]     • 珠纯化DNA
- [0311]     o将珠添加到分离室
- [0312]     o用稀乙醇洗2次
- [0313]     o洗脱DNA或移动珠
- [0314]     • 产生纯化的DNA
- [0315]     • 将纯化的DNA以等分试样分摊到各反应室在单独的室内对每个感兴趣的基因座进行PCR扩增
- [0316]     • 添加PCR引物并将其与酶预混合
- [0317]     • 热循环
- [0318]     破坏PCR引物和核苷三磷酸
- [0319]     • 添加Exo/SAP试剂(核酸外切酶I/虾碱性磷酸酶)
- [0320]     • 在37℃培养~15分钟,加热至80℃持续15分钟
- [0321]     循环测序
- [0322]     • 添加循环测序引物并将其与DNA聚合酶和标记的双脱氧终止子预混合
- [0323]     • 热循环

- [0324] 清洗循环测序产物
- [0325] • 将循环测序产物移动到清洗室,并执行基于珠的清洗
- [0326] o添加珠和离液剂
- [0327] o洗两次
- [0328] o洗脱
- [0329] 将产物送至毛细管电泳
- [0330] 实施例6
- [0331] 该实施例示出了在用于人类识别或诊断片段大小的STR扩增之前定量人类DNA的方法(参见图13)。
- [0332] 原始样品
- [0333] • 使用裂解缓冲液(离液剂或其他物质)裂解-鼓泡+加热
- [0334] 珠纯化DNA
- [0335] • 将裂解物移动到磁珠处理室
- [0336] • 添加珠
- [0337] • 洗两次
- [0338] • 将10%的珠移动到反应室,在那里珠被另一个磁体捕获
- [0339] 执行PCR定量
- [0340] • 添加定量引物和主混合物
- [0341] • 热循环
- [0342] • 激发和检测信号并确定Ct
- [0343] • 在达到Ct后停止并计算珠稀释度(针对下游STR化学物优化)
- [0344] • 清洗反应室
- [0345] 在反应室中进行STR扩增
- [0346] • 将珠从磁珠处理室通过反应室泵送到废物室中,以调节通过使用qPCR光学器件(具有分束器)所捕获的珠的量—即给珠“计数”。
- [0347] 激活磁体,以捕获反应室中正确稀释度的珠。
- [0348] • 添加STR预混合物和主混合物
- [0349] • 热循环
- [0350] 使用基于珠的清洗(可基于定量选择)清洗STR扩增产物
- [0351] • 向反应室中添加珠和离液剂
- [0352] • 用稀乙醇洗2次
- [0353] • 洗脱并保持磁铁上的珠
- [0354] 添加1LS
- [0355] 将扩增产物移动到毛细管电泳系统
- [0356] 实施例7
- [0357] 电泳盒是聚丙烯模制件,其包括阳极子组件、阴极子组件、电泳毛细管、和包含交联聚丙烯酰胺的凝胶子盒。电泳毛细管具有第一端部和第二端部,每个端部分别与阳极子组件和阴极子组件电连通。电泳毛细管的一部分用作光学窗口用于从光源接收光并提供分析物的信号以用于检测和进一步分析。阴极子组件包括阴极和阴极主活塞,并且与电泳毛

细管的第一端部、水容器、缓冲液容器和第一废物容器流体连通。阳极子组件包括阳极主活塞和高压活塞,并且与电泳毛细管的第二端部、凝胶子盒、水容器、再生流体容器和第二废物容器流体连通。电泳盒还包括裂解缓冲液容器、样品入口端口,该样品入口端口与具有样品出口端口的样品盒接口流体连通。

#### [0358] 实施例8

[0359] 电泳系统是高度集成的并且配置为与用于样品制备、处理和分析的系统可移除地接合。通常,该系统包括三个完全集成的且自动化的组件,即用户接口、样品盒接口和电泳盒接口。样品盒接口和电泳盒接口配置为可释放地接合用于样品处理的样品盒和用于样品分析的电泳盒。用户接口还包括控制模块、用户界面屏幕和嵌入式计算机系统。用户界面配置为读取和识别用户的指纹和样品包装的条形码。用户通过用户界面屏幕输入一个或多个指令或请求,并且嵌入式计算机处理该请求并将请求转换成之后启动系统操作的信号。

[0360] 用户从包装中取出电泳盒,并将其装载到仪器中。仪器感测盒并接合。电泳盒与系统之间的多个连通包括:(i)电泳盒的入口端口和包括在系统中的样品盒的出口端口之间的流体连通,(ii)电泳盒的电极(即阳极和阴极)和系统的电源之间的电连通(iii)电泳盒的光学窗口和系统的光学模块之间的光学连通,(iv)电泳毛细管和系统的第一热控制组件之间的第一热连通,(v)电泳盒的凝胶子盒和系统的第二热控制组件之间的第二热连通,(vi)电泳盒的阳极子组件和系统的第一机械接口之间的第一机械连通,(vii)电泳盒的阴极子组件和系统的第二机械接口之间的第二机械连通,以及(viii)电泳盒与系统之间的磁连通,这些连通与电泳盒的接合同时地建立。

[0361] 储存在凝胶子盒中的电泳凝胶通过包括在阳极子组件中的高压活塞被泵送并注入到电泳毛细管中。一旦完成凝胶的注射,将洗涤缓冲液泵送到阴极子组件的通路中,以用于移除残留在阴极子组件中的过多的凝胶。随后,将所制备的分析物从阴极子组件中的样品管线引导到电泳毛细管中。然后在电泳毛细管的两个端部之间施加电压梯度以进行电泳分析,并将分析物的不同成分分离,在激光的照射下,该分析物的不同成分发出可辨别的光学信号。这些信号由包括在光学模块中的CCD照相机检测并进行进一步的分析。根据结果得出结论。

[0362] 虽然本文已经示出和描述了本发明的优选实施方案,但对于本领域技术人员显而易见的是,这样的实施方案仅以示例的方式提供。本文并不旨在通过说明书中提供的特定示例来限制本发明。尽管已经参考前述说明书描述了本发明,但本发明的实施方案的描述和图示不应以限制性的意义来解释。本领域技术人员现将会在不偏离本发明的情况下想到许多更改、改变和替代。此外,应当理解,本发明的所有方面并不限于本文阐述的特定描绘、配置或相对比例,而是取决于多种条件和变量。应当理解,在实践本发明的过程中可以采用对本文所描述的本发明的实施方案的各种替代方案。因此可以设想,本发明还应当覆盖任何这样的替代、修改、改变或等同物。以下权利要求旨在限定本发明的范围,并因此覆盖这些权利要求及其等效物范围内的方法和结构。

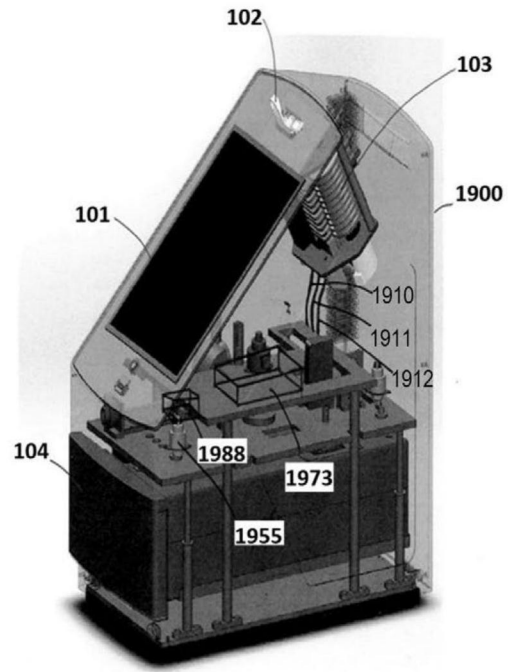


图1A

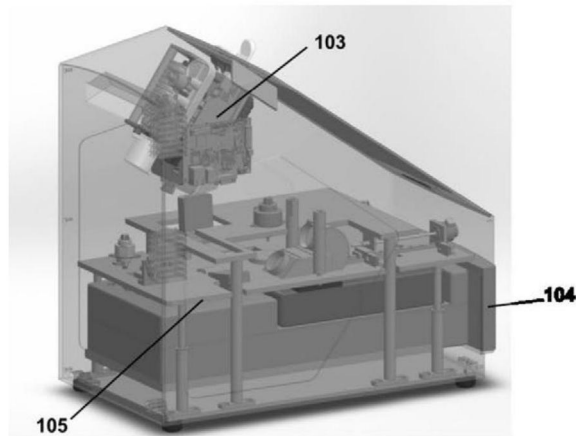


图1B

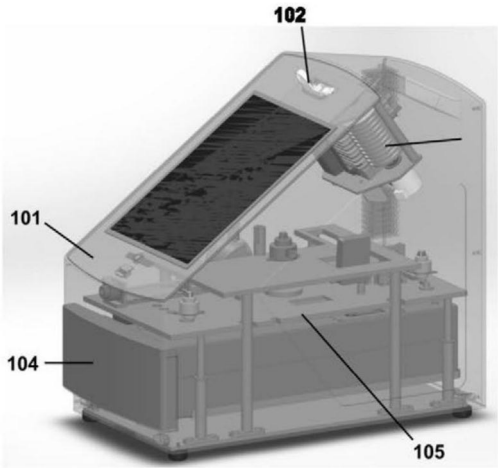


图1C

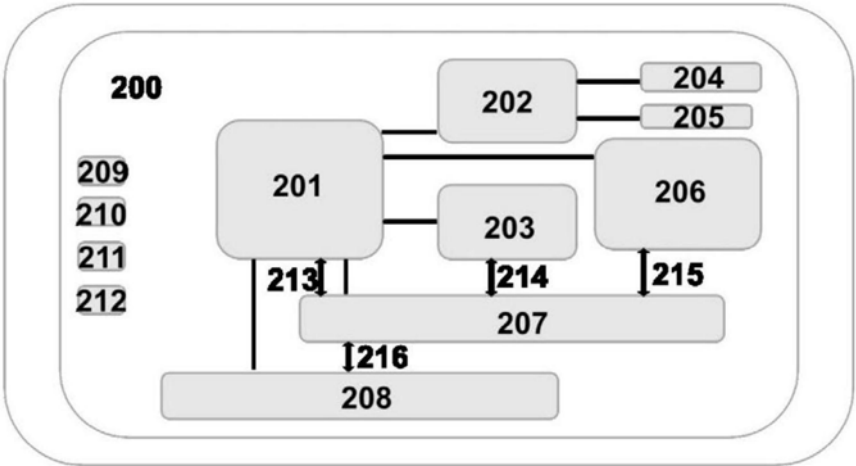


图2

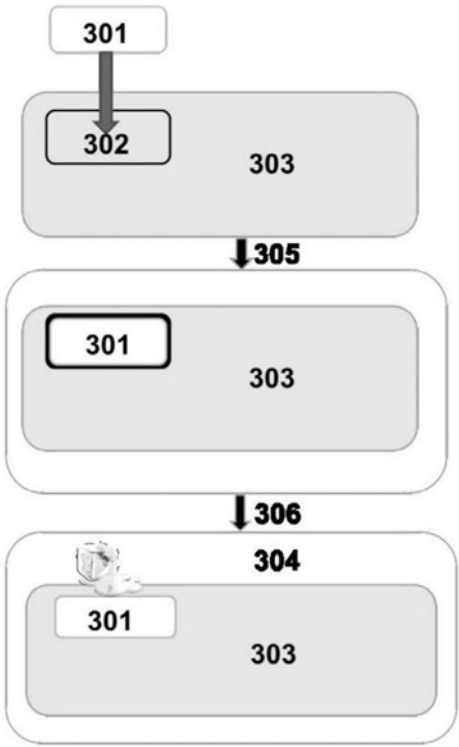


图3

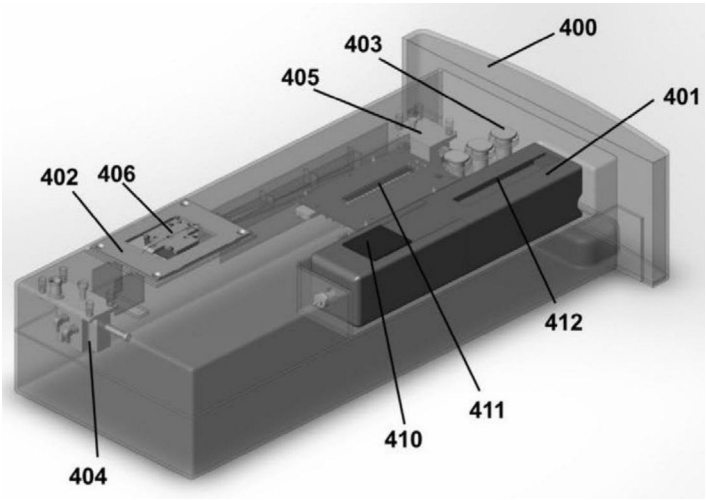


图4A

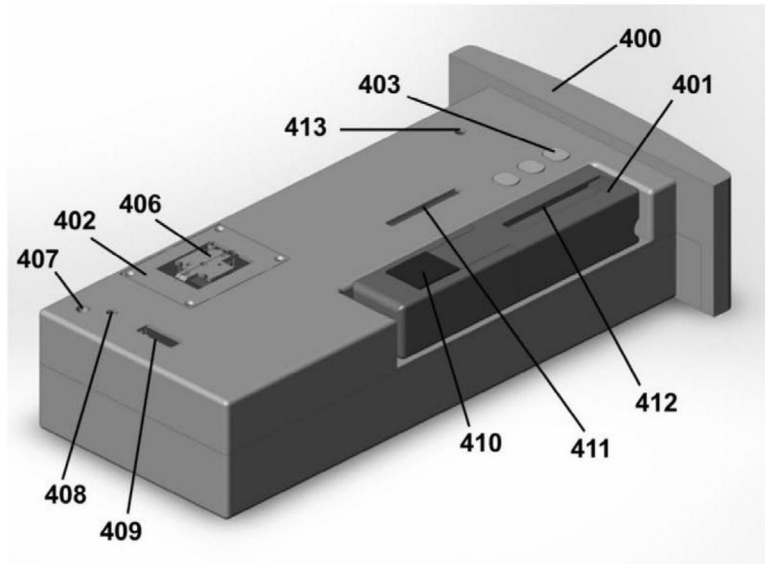


图4B

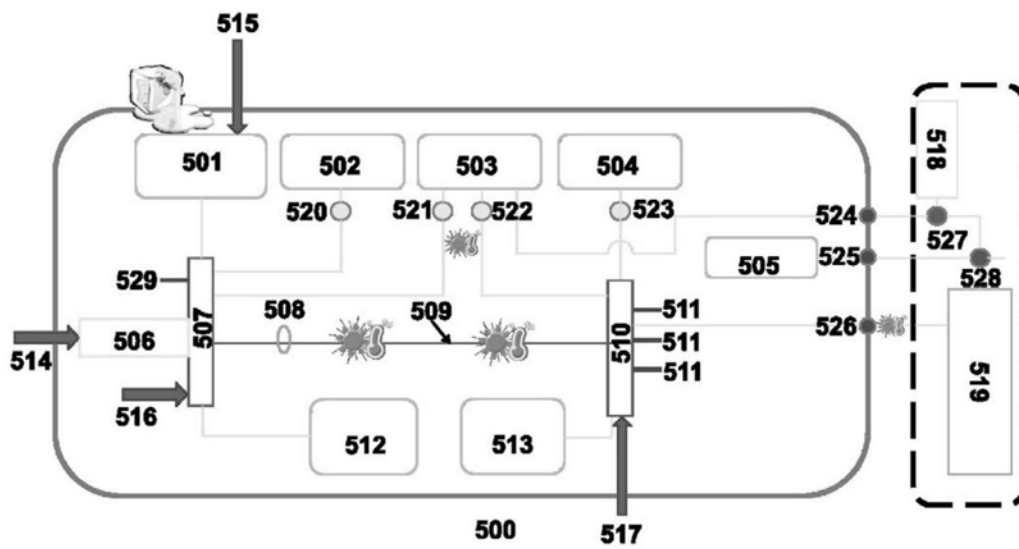


图5

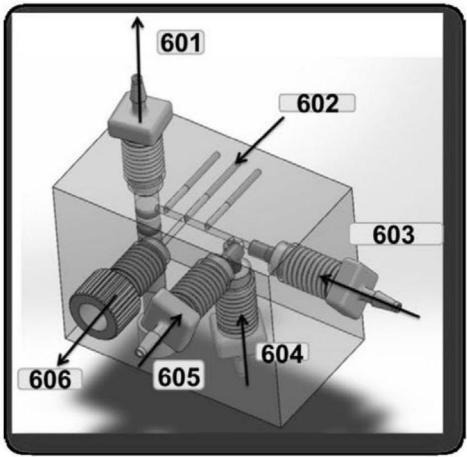


图6A

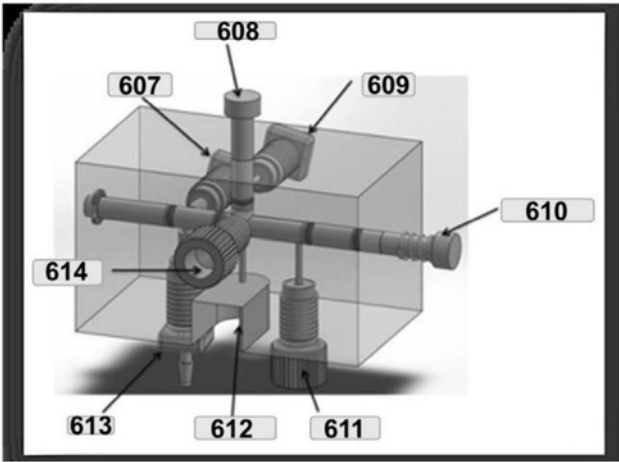


图6B

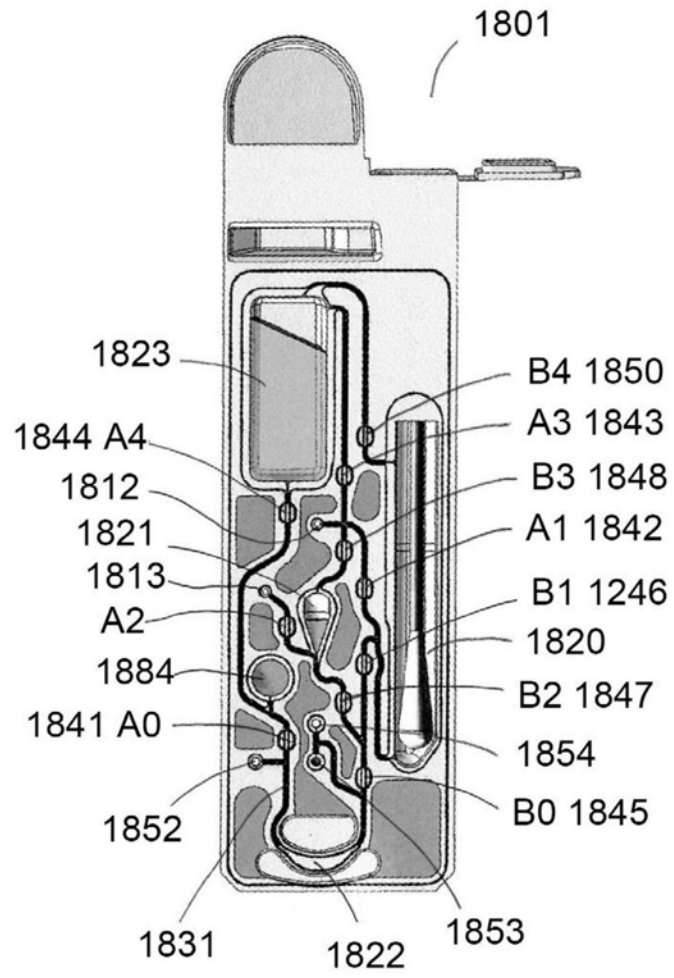


图7

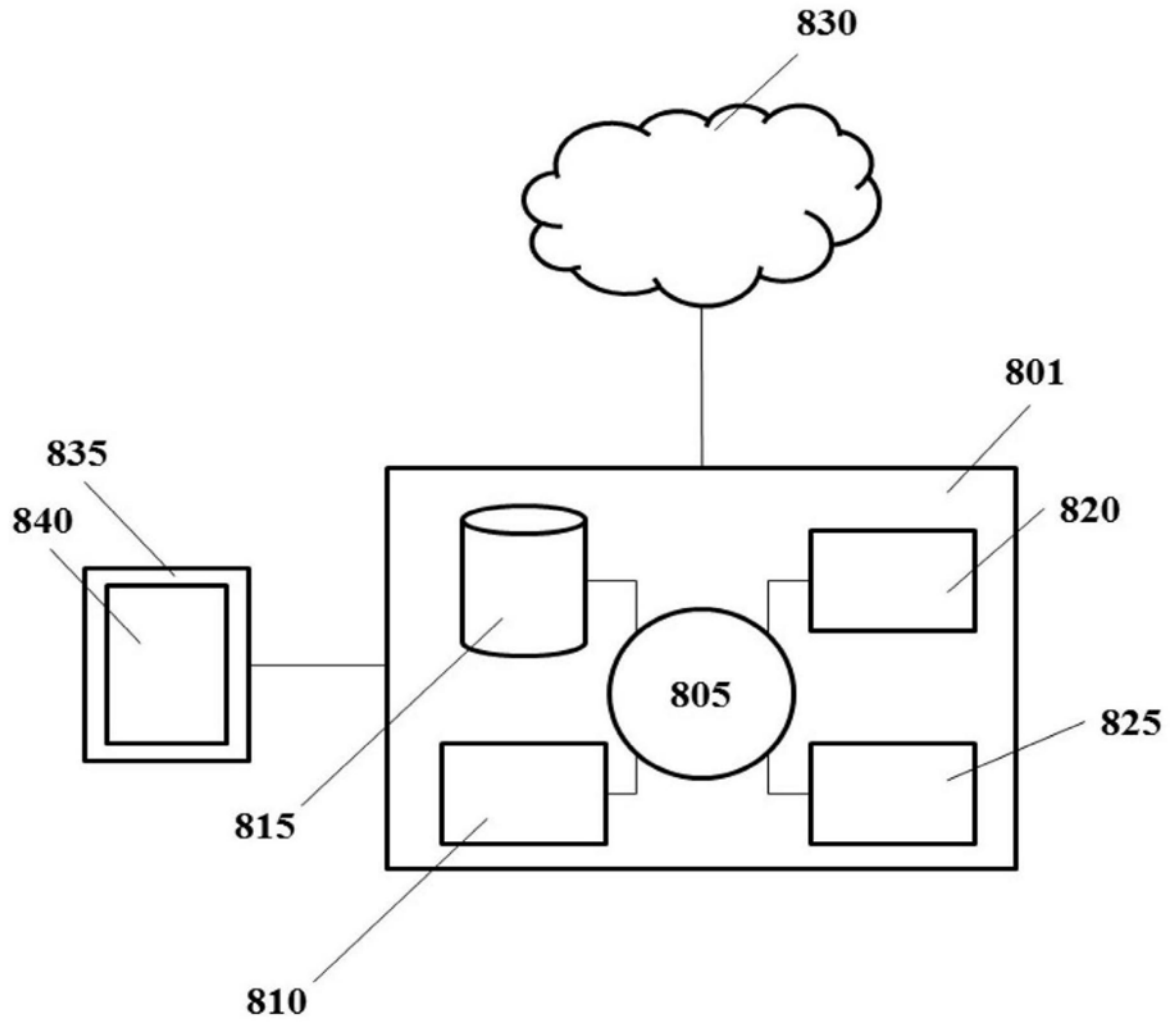


图8

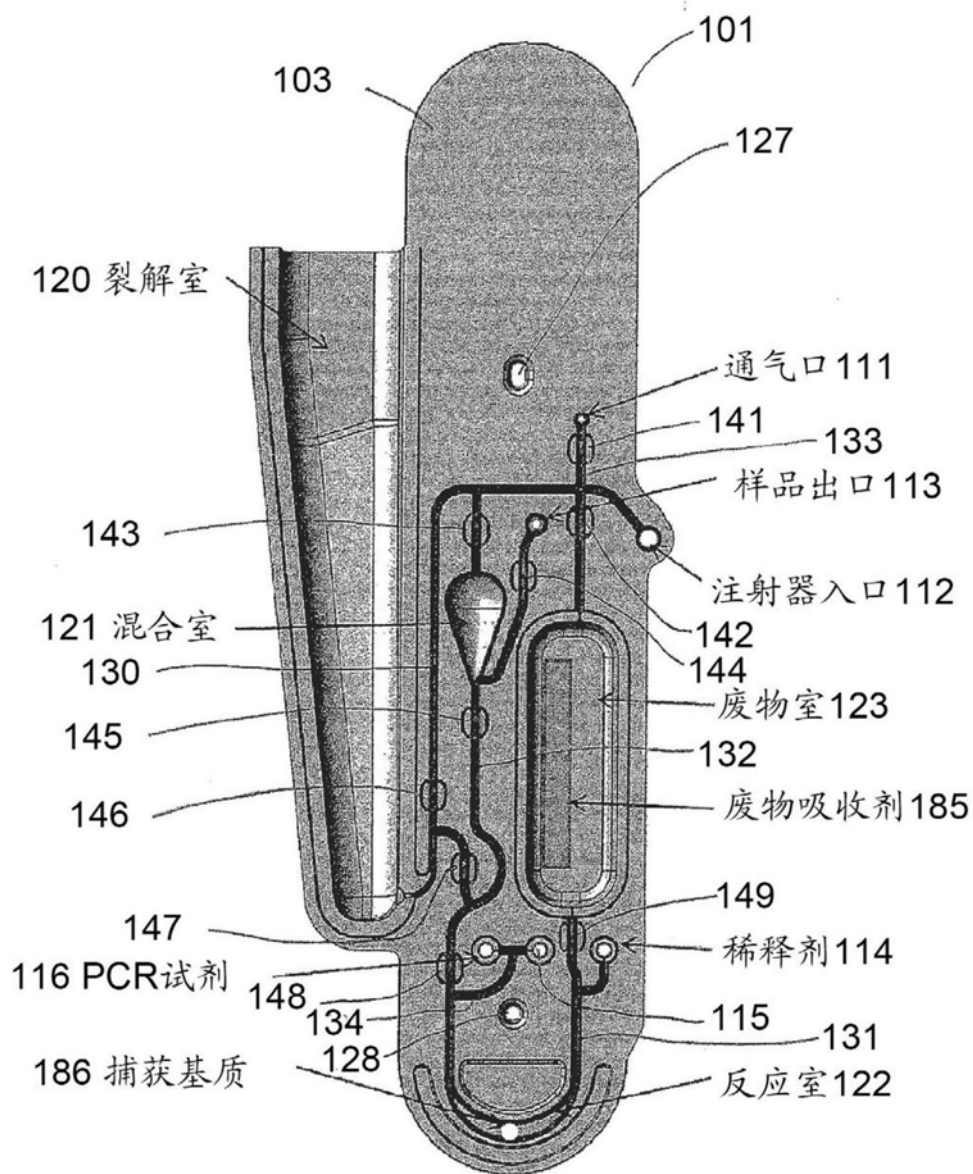


图9

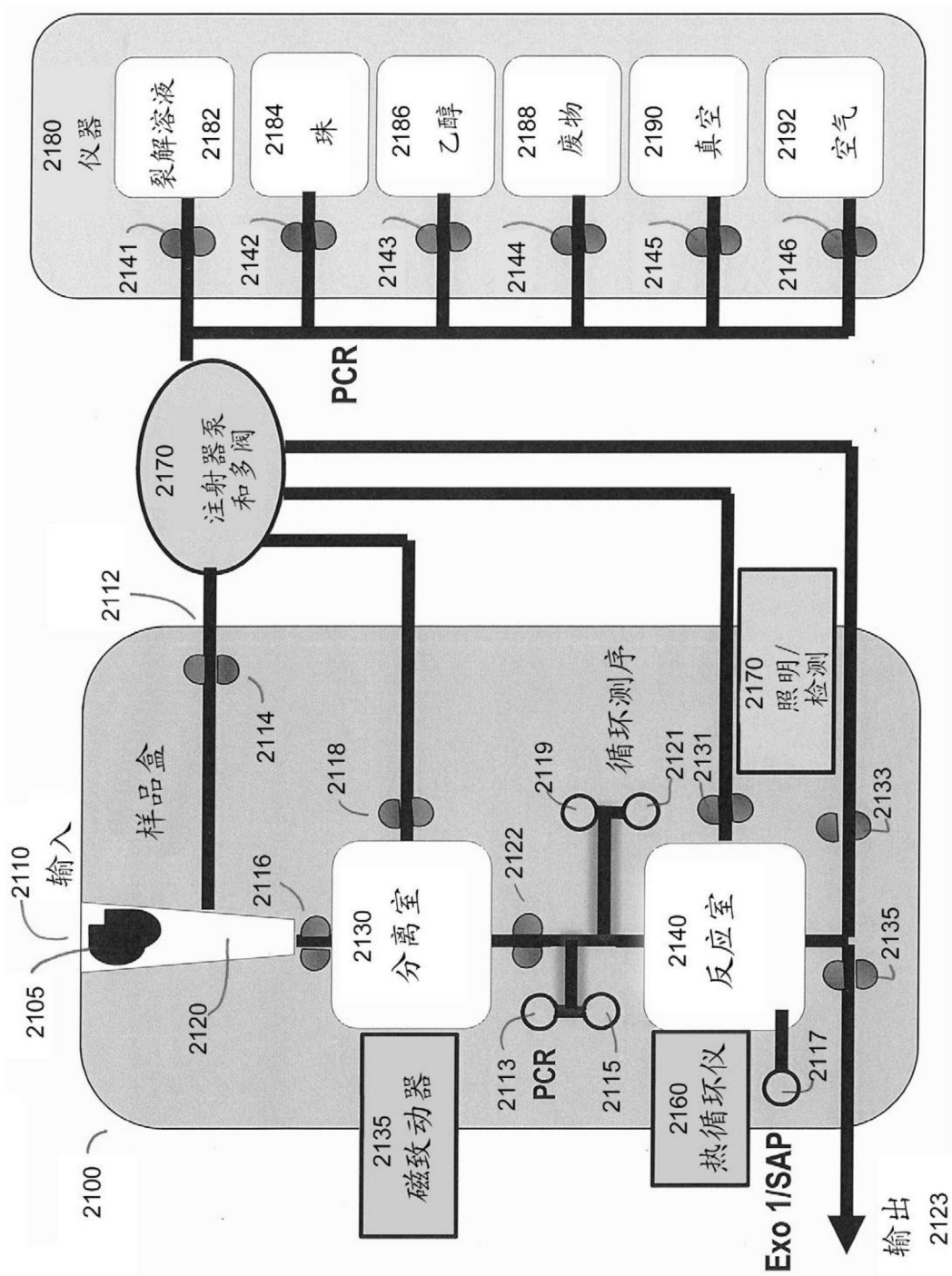


图10

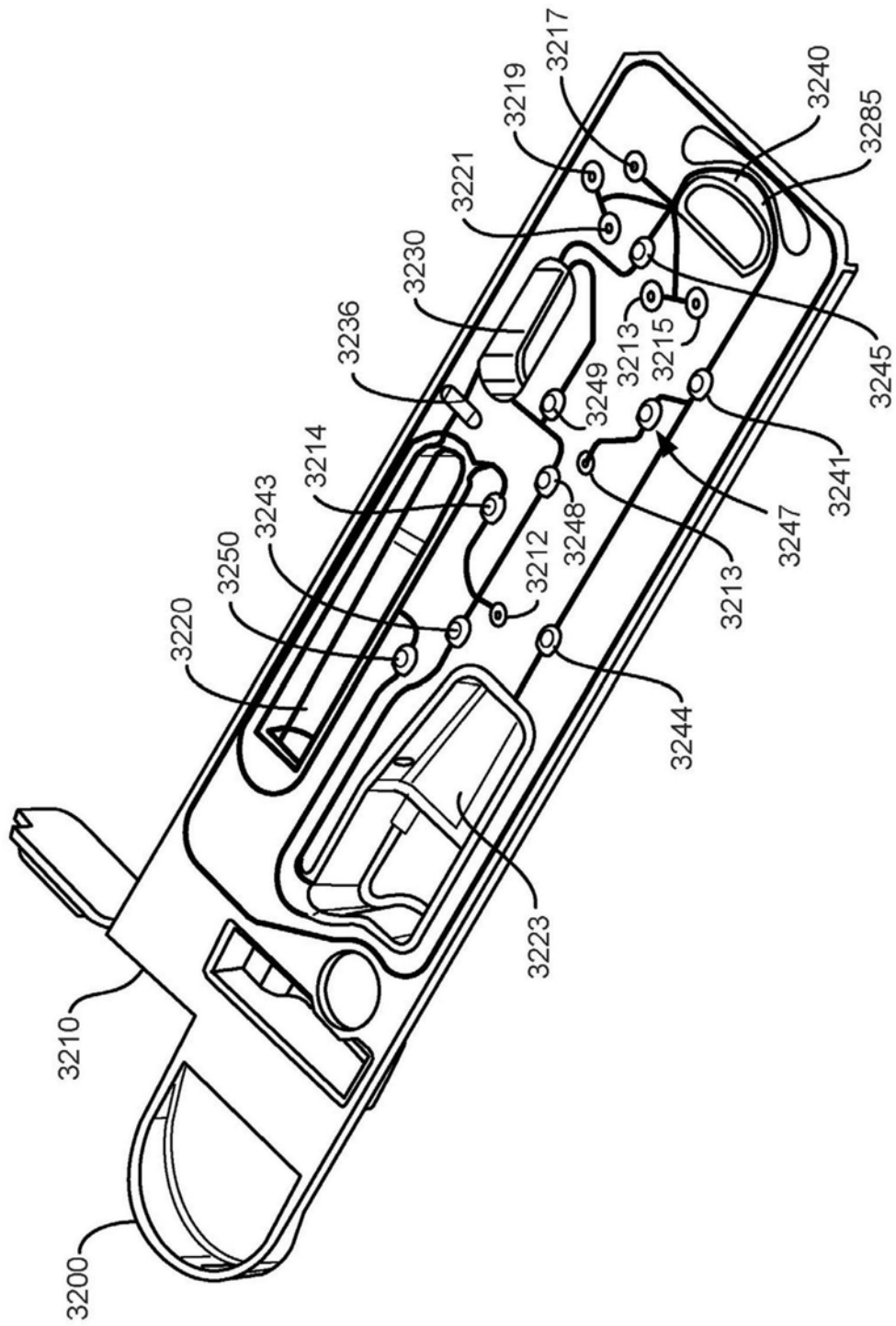


图11A

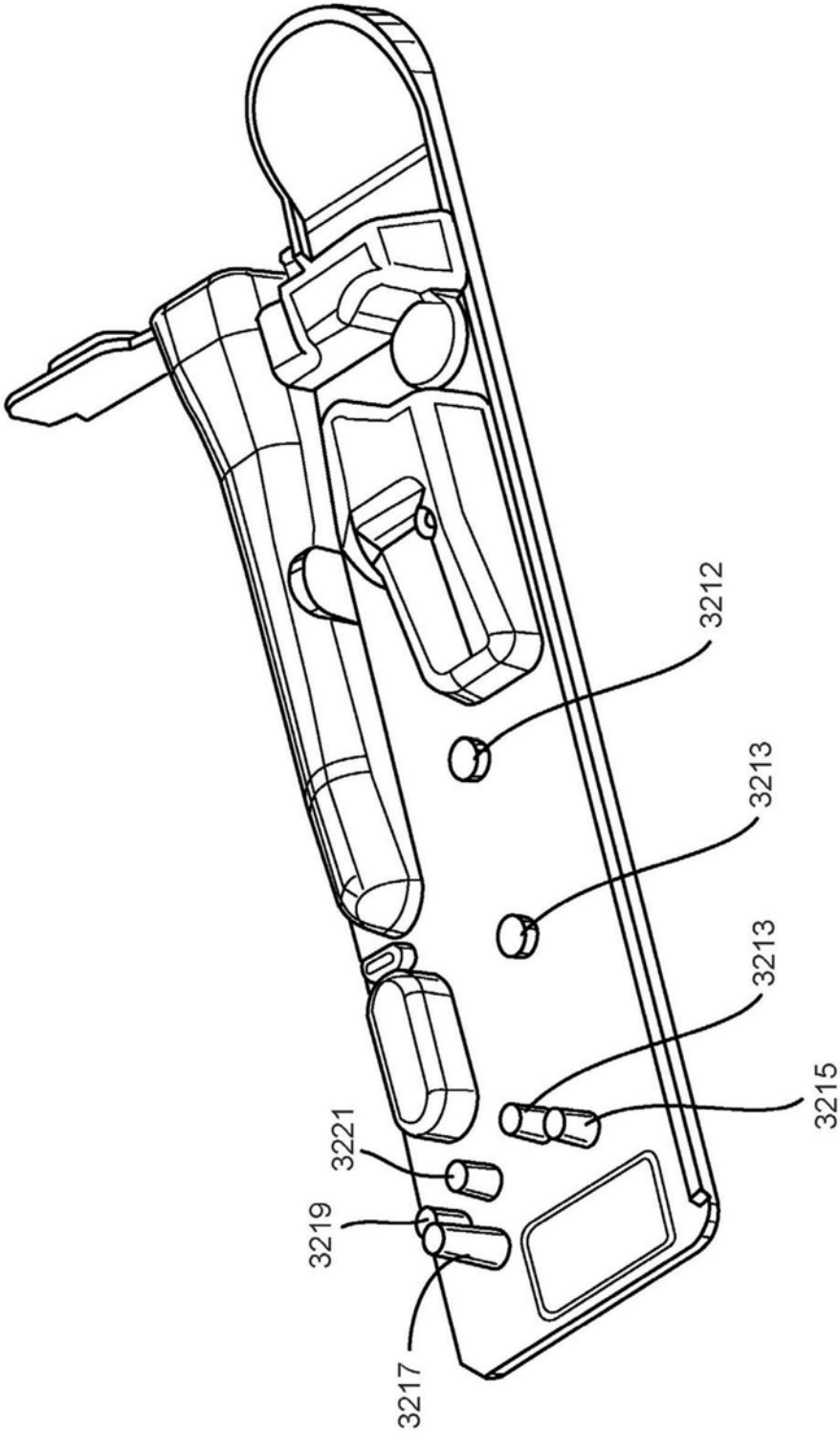


图11B

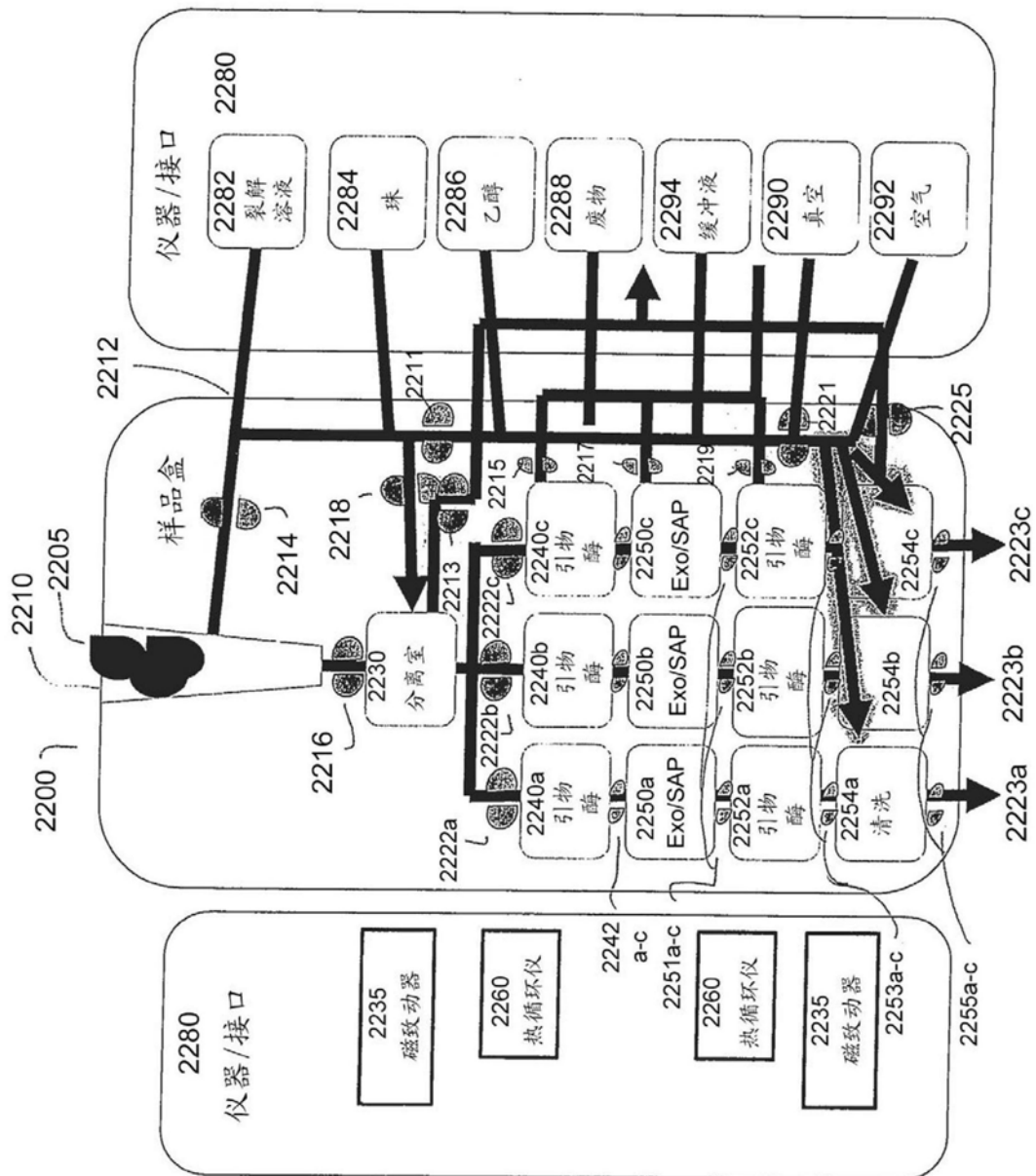
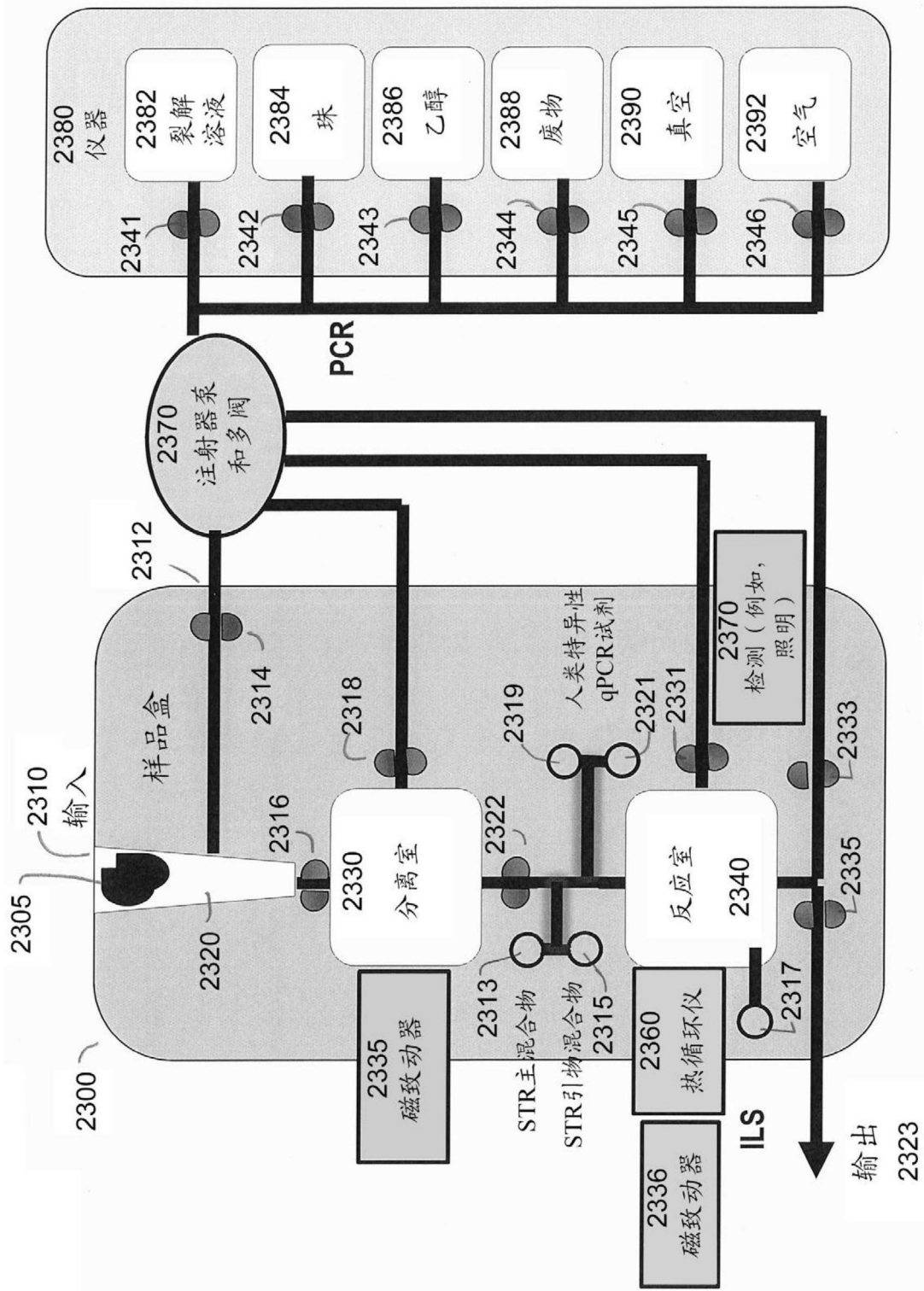


图12



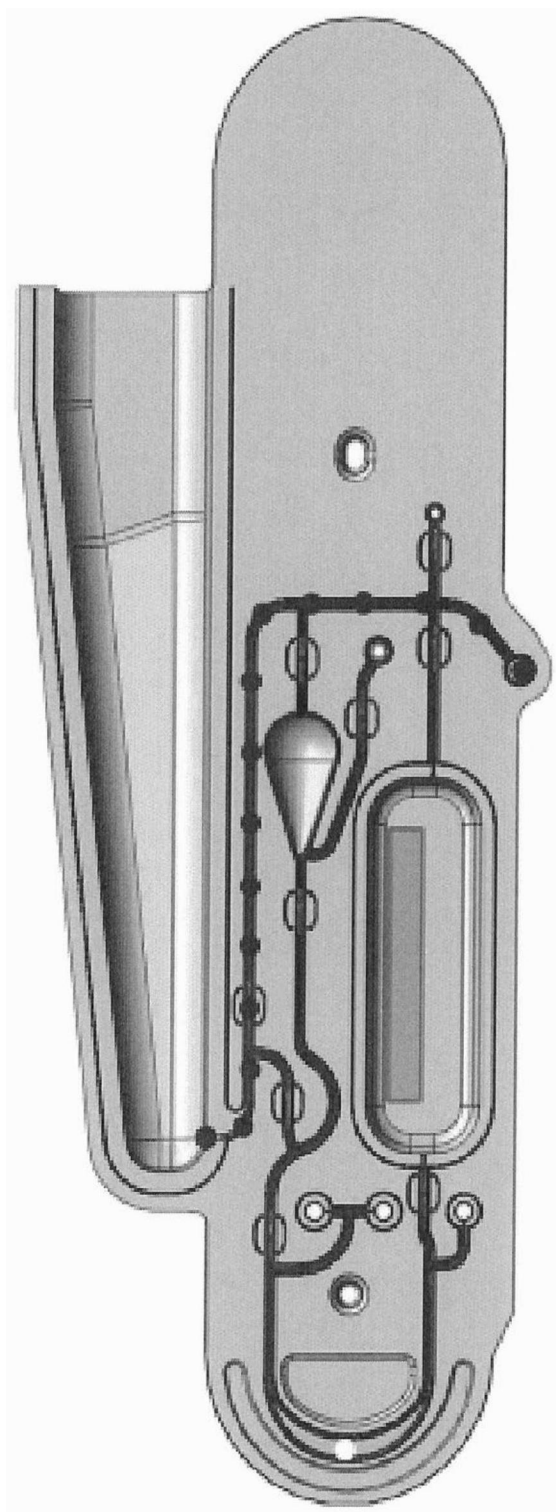


图14A

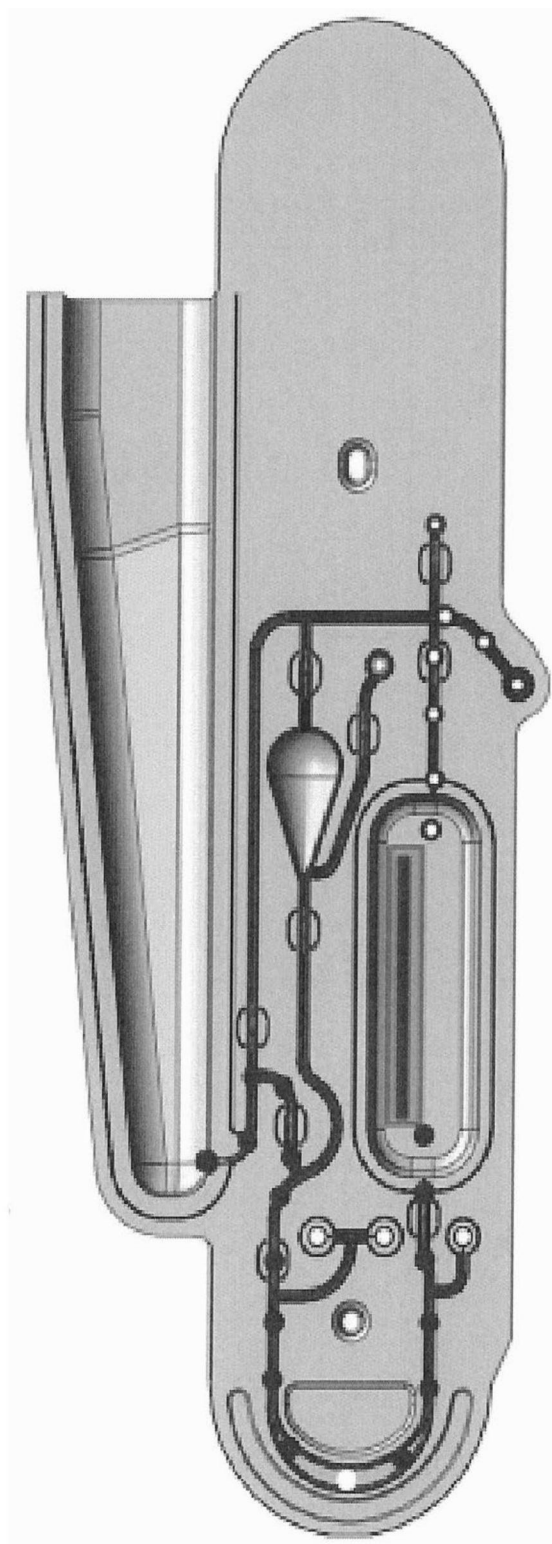


图14B

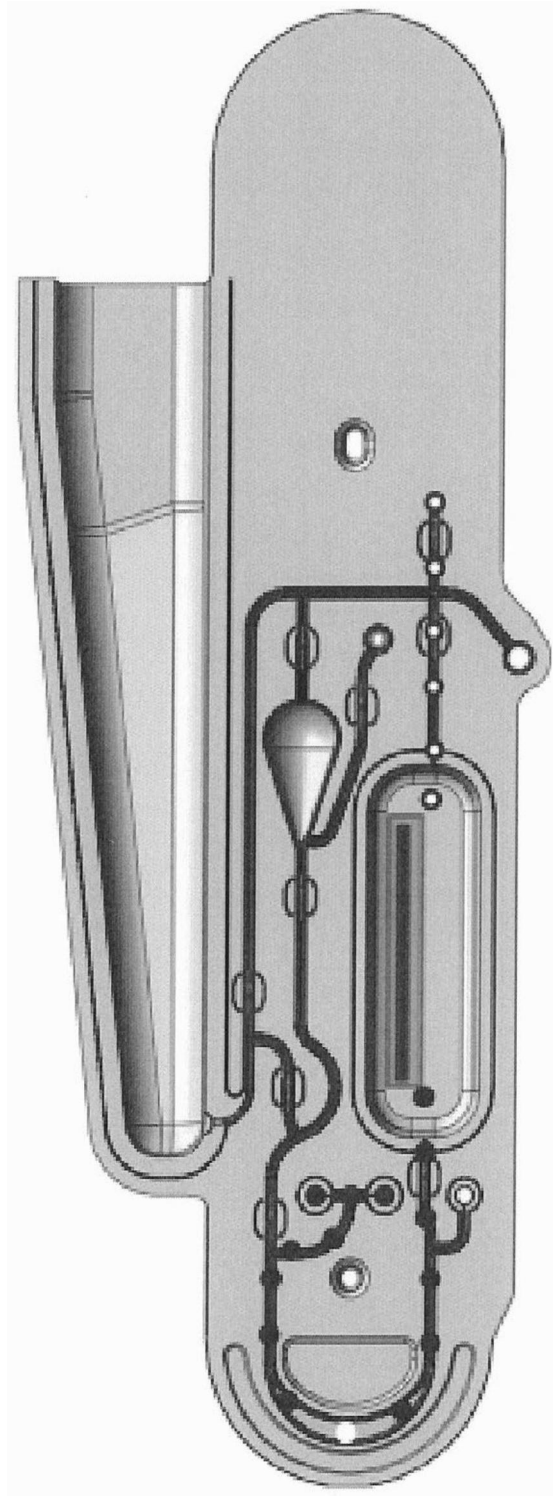


图14C

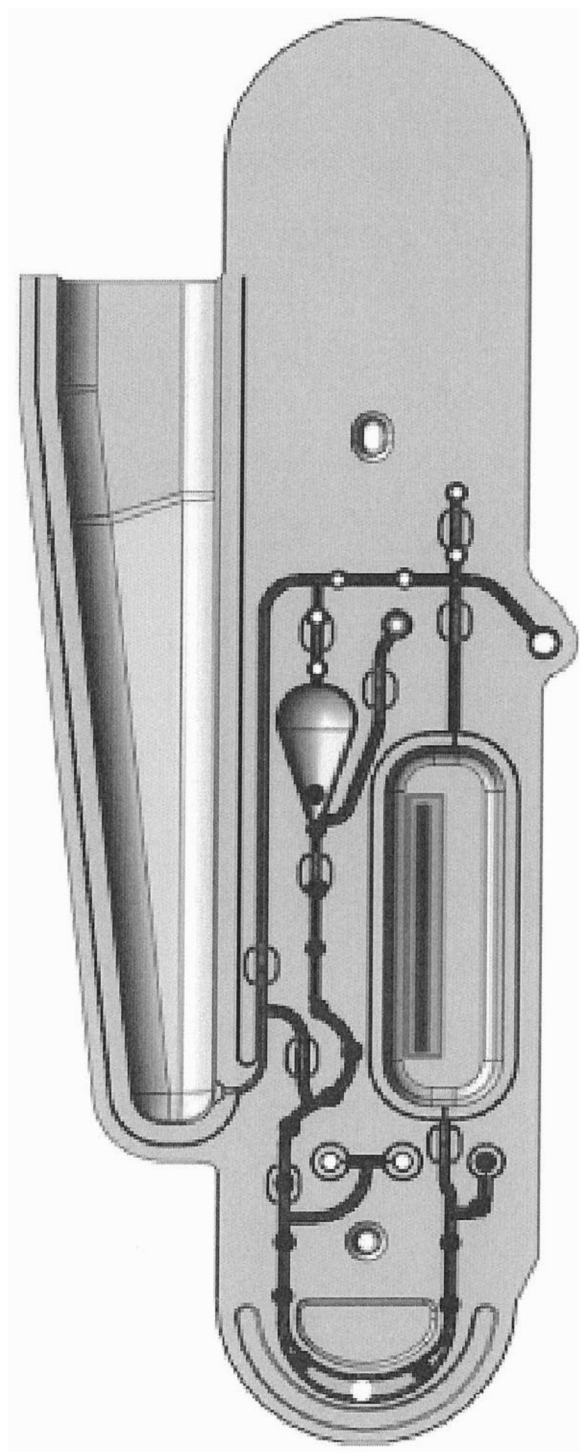


图14D

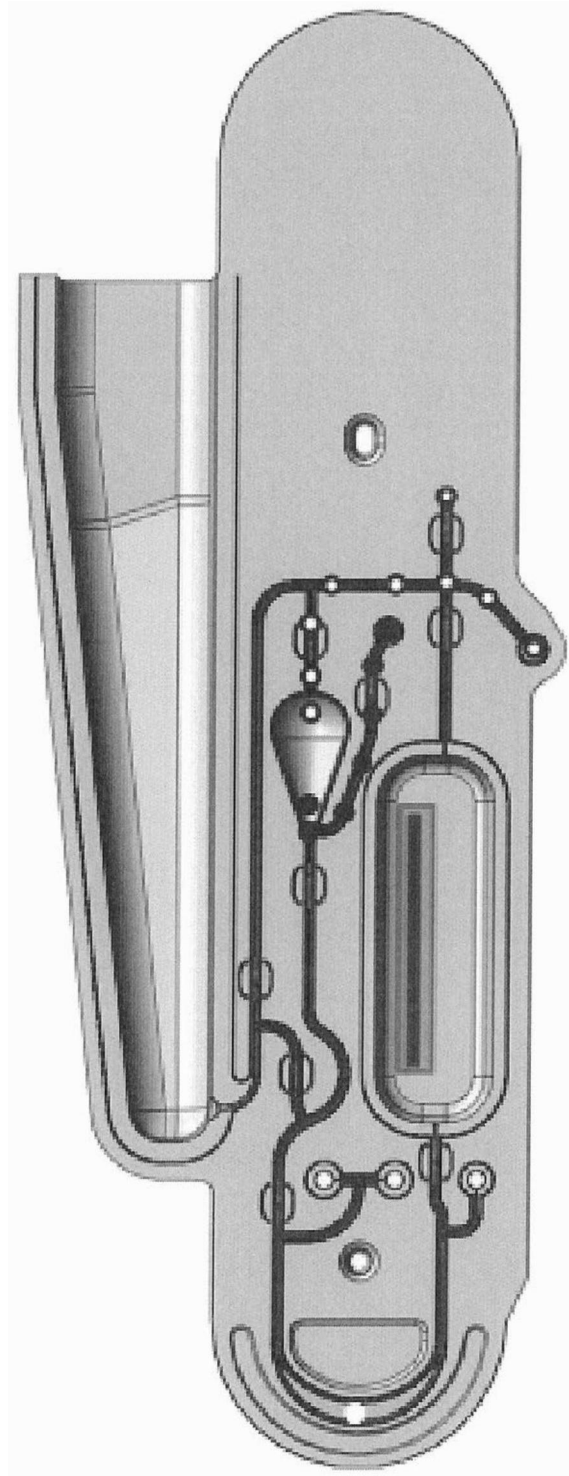


图14E

| 步骤编号 | 化学步骤                       | 循环仪出口<br>(A0) | 裂解液<br>(A1) | 裂解液<br>(A1) | 裂解液<br>(A1) | 废物<br>阻断<br>(A3) | 废物<br>进入<br>(A4) | 循环仪<br>入口<br>(B0) | 裂解液<br>转移<br>(B1) | 产物<br>底部<br>(B2) | 产物<br>顶部<br>(B3) | 通气口<br>(B4) |
|------|----------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------|
| 1    | 装载样品盒                      | 0             | 0           | 0           | 0           | 0                | 0                | 0                 | 0                 | 0                | 0                | 0           |
| 2    | 将裂解液引至废物室*                 | 0             | C           | C           | 0           | 0                | C                | 0                 | 0                 | 0                | C                | 0           |
| 3    | 将裂解液分配到裂解室                 | 0             | 0           | 0           | 0           | C                | 0                | 0                 | C                 | 0                | C                | 0           |
| 4    | 将裂解液与空气混合                  | 0             | 0           | 0           | 0           | C                | 0                | 0                 | C                 | 0                | C                | 0           |
| 5    | 混合并加热裂解液                   | 0             | 0           | 0           | 0           | C                | 0                | 0                 | C                 | 0                | C                | 0           |
| 6    | 将裂解物经反应室抽取到废物室             | 0             | C           | C           | 0           | 0                | 0                | 0                 | 0                 | C                | C                | 0           |
| 7    | 将引物混合物和主混合物推入反应室           | 0             | C           | C           | 0           | 0                | 0                | C                 | 0                 | C                | C                | 0           |
| 8    | 热循环                        | C             | C           | C           | C           | 0                | C                | C                 | C                 | C                | 0                | 0           |
| 9    | 将泳道内标和产物经反应室<br>推动到混合室     | C             | C           | C           | C           | 0                | C                | 0                 | C                 | 0                | 0                | 0           |
| 10   | 使用空气泵将残留的泳道内标<br>和产物推动到混合室 | 0             | C           | C           | C           | 0                | C                | 0                 | C                 | 0                | 0                | 0           |
| 11   | 将产物推动到阴极                   | 0             | C           | C           | 0           | C                | C                | 0                 | C                 | C                | 0                | 0           |
| 12   | 用水清洗混合室并将<br>产物输出到阴极       | 0             | C           | C           | 0           | C                | C                | 0                 | C                 | C                | 0                | 0           |
| 13   | 用水清洗混合室和反应室                | 0             | C           | C           | C           | C                | 0                | 0                 | C                 | 0                | 0                | 0           |
| 14   | 将水从样品盒冲入<br>废物室            | 0             | C           | C           | C           | C                | 0                | 0                 | C                 | 0                | 0                | 0           |
| 15   | 将水从样品盒和管线冲到<br>阴极          | 0             | C           | C           | 0           | C                | C                | 0                 | C                 | C                | 0                | 0           |
| 16   | 释放                         | 0             | 0           | 0           | 0           | 0                | 0                | 0                 | 0                 | 0                | 0                | 0           |

图15

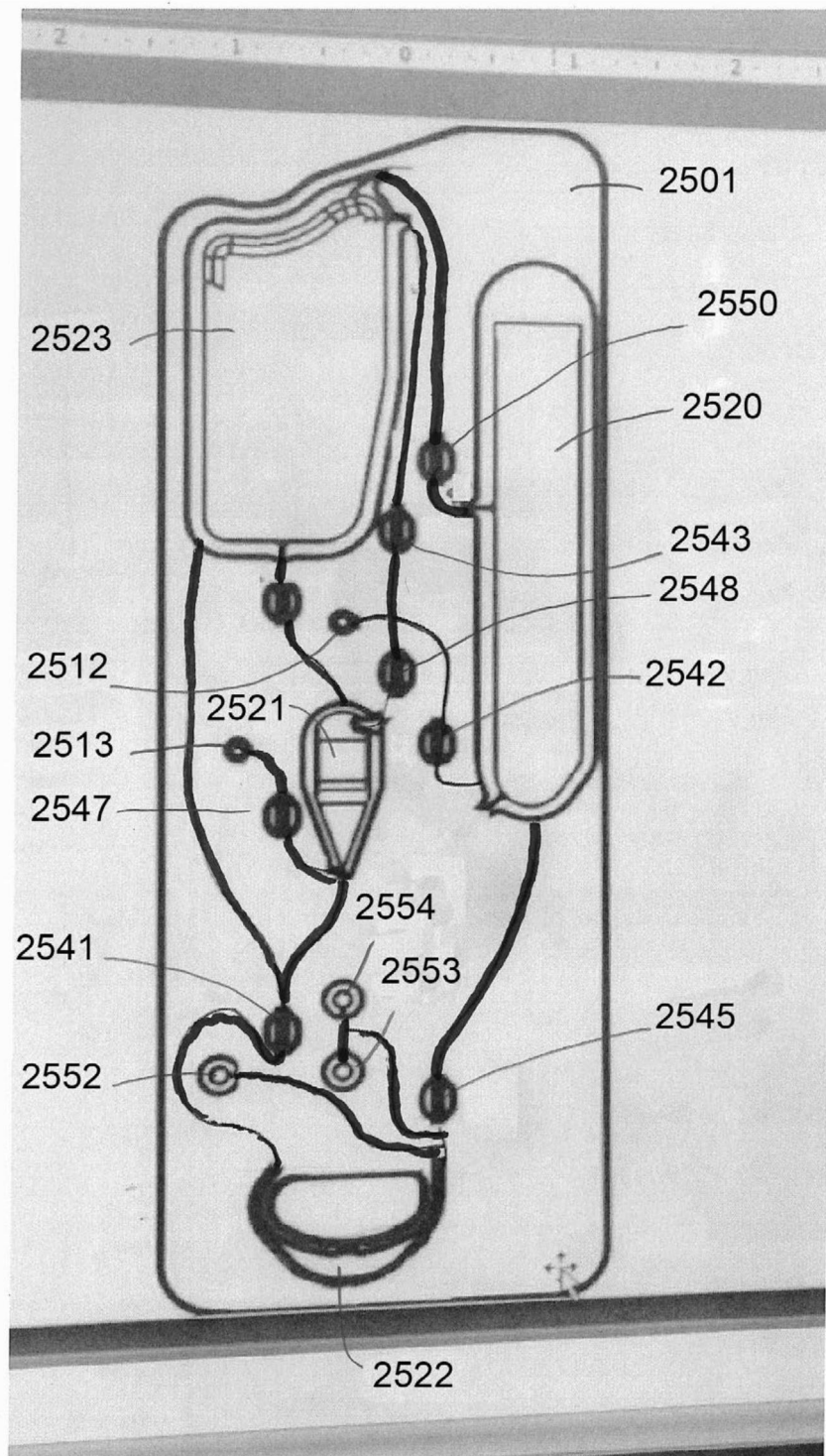


图16