



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114072490 A

(43) 申请公布日 2022. 02. 18

(21) 申请号 202080049950.7

(22) 申请日 2020.05.05

(30) 优先权数据

62/844,470 2019.05.07 US

62/866,726 2019.06.26 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/031502 2020.05.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/227309 EN 2020.11.12

(71) 申请人 伯乐实验室有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 卡利安·翰迪克 奥斯丁·佩恩

王思达

帕特里克·迈克尔·特格尔斯

威尔·科德里兹 丹尼尔·杰诺德

格雷·帕克 布莱恩·博尼费斯

凯特琳·科廷·梅纳

亚力克·威廉·希切纳

(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 白天明 牛利民

(51) Int.Cl.

G12M 1/00 (2006.01)

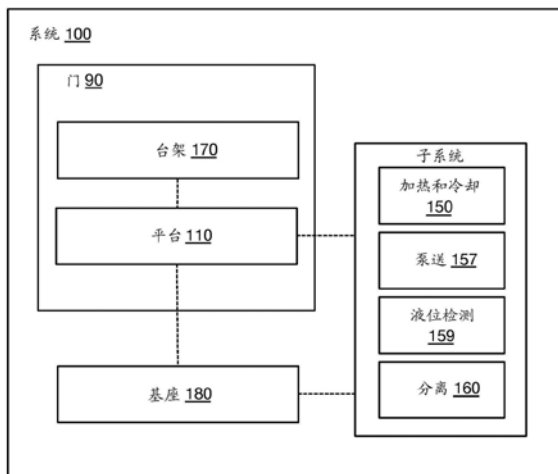
权利要求书5页 说明书40页 附图49页

(54) 发明名称

用于自动化的单细胞加工的系统和方法

(57) 摘要

描述了一种用于自动化的单细胞捕获和加工的系统和方法,其中该系统包括平台,其支撑和定位样品加工元件的集合;台架,其用于致动工具以用于与由平台支撑的样品加工元件的集合接合;以及基座,其支撑多种加工子系统和与加工子系统通信的控制子系统。该系统可以自动地执行与单细胞加工相关联的工作流程,包括 mRNA 捕获、cDNA 合成、蛋白质相关测定和文库制备,用于下一代测序。



1. 一种用于自动加工样品的系统,所述系统包括:  
平台,其被配置为支撑和定位:  
试剂盒,其在所述平台的第一侧的第一区域处;  
样品加工盒,其在所述第一侧的第二区域处;以及  
工具容器,其在所述第一侧的第三区域处;  
台架,其被耦接到所述平台并且包括:  
轨道的集合,其在由所述平台的所述第一侧界定的三维容积内界定用于移液器接口的沿着轴线的集合的移动路径;以及  
基座,其与所述平台的所述第一侧相对并且支撑:  
加热和冷却子系统,其包括用于将热量传递至所述试剂盒和所述样品加工盒的热主体的集合;  
分离子系统,其包括耦接到磁体致动器的磁体的集合,所述磁体致动器被配置为在缩回状态和伸展状态之间转换所述磁体的集合,其中在所述伸展状态中,所述磁体的集合进入所述平台的所述第一区域;  
泵送子系统,其包括进入所述第二区域的真空端口。
2. 根据权利要求1所述的系统,其中所述试剂盒包括域的集合,所述域的集合包括第一域和第二域,所述第一域被配置为与传递到所述平台的所述第一侧的所述第一区域的所述热主体的集合中的被配置用于材料冷却的第一热主体配合,所述第二域被配置为与传递到所述平台的所述第一侧的所述第一区域的所述热主体的集合中的被配置为用于热循环的第二热主体匹配。
3. 根据权利要求1所述的系统,其中所述样品加工盒包括耦接到样品加工芯片的基础基底,所述样品加工芯片包括微孔区域,所述微孔区域包括被配置为以单细胞形式捕获细胞的微孔的集合。
4. 根据权利要求3所述的系统,其中所述热主体的集合包括第三热主体,所述第三热主体通向所述平台的所述第一侧的所述第二区域,用于加热所述微孔的集合处的材料。
5. 根据权利要求3所述的系统,其中所述样品加工盒还包括弹性体阀,所述弹性体阀将所述样品加工芯片沿着从所述微孔区域到所述样品加工芯片的出口进入所述样品加工盒的废物容纳区域的流动路径耦接到所述基础基底。
6. 根据权利要求5所述的系统,还包括阀致动子系统,所述阀致动子系统包括阀致动器和耦接到所述阀致动器的尖端,所述尖端与通向所述平台的所述第二区域的阀开口对齐,其中所述阀致动子系统包括接合模式和脱离模式,在所述接合模式中所述尖端延伸到所述阀开口中以使所述弹性体阀变形,从而关闭所述流动路径,在所述脱离模式中所述尖端被缩回,从而打开所述流动路径。
7. 根据权利要求3所述的系统,其中所述样品加工盒包括覆盖进入所述样品加工芯片的所述微孔区域的进入区域的盖,所述盖包括打开模式和关闭模式,在所述打开模式中,所述进入区域未被覆盖,在所述关闭模式中,所述进入区域被覆盖。
8. 根据权利要求7所述的系统,还包括被配置为耦接到所述移液器接口的开盖工具,所述系统还包括开盖模式,在所述开盖模式中,所述台架传送所述开盖工具以用于与所述盖的释放主体接合,从而将所述盖从所述关闭模式转换到所述打开模式。

9. 根据权利要求8所述的系统,其中所述平台包括在所述第二区域处的保持元件的集合,所述保持元件被配置为可逆地接合所述样品加工盒、提供对抗所述开盖工具的反作用力以及以至少0.5lbs的保持力提供与所述热主体的集合中的热主体的热接触。

10. 根据权利要求8所述的系统,其中所述热主体的集合和所述真空端口中的至少一个与所述样品加工盒耦接,以提供对抗所述开盖工具的反作用力。

11. 根据权利要求7所述的系统,其中在所述关闭模式中,所述盖和所述进入区域界定与所述样品加工芯片的所述微孔区域相邻的流体路径的边界,所述边界由耦接到所述盖的衬垫密封。

12. 根据权利要求1所述的系统,还包括液位检测子系统,所述液位检测子系统被耦接到所述平台并且与所述样品加工盒的入口储器对齐,所述液位检测子系统被配置为检测穿过所述入口储器传输的光。

13. 根据权利要求1所述的系统,其中所述分离系统还包括磁性主体,所述磁性主体被配置为在第一端与所述移液器接口耦接,并且在第二端与所述工具容器的磁性套筒耦接,所述系统还包括分离模式,在所述分离模式中,所述台架在所述样品加工盒和所述试剂盒之间传送耦接到所述磁性套筒的所述磁性主体,用于从所述样品中磁性分离靶材料。

14. 根据权利要求1所述的系统,其中所述分离系统的所述磁体的集合包括沿着第一轴线以线性阵列布置的磁体的第一子集,用于在所述试剂盒处执行纯化操作。

15. 根据权利要求14所述的系统,其中所述分离系统的所述磁体的集合还包括偏离所述第一轴线的第二磁体,用于在所述试剂盒的分离储器处执行靶材料分离操作。

16. 根据权利要求15所述的系统,其中所述分离储器包括平坦表面和弯曲表面,所述平坦表面在所述磁体的集合的伸展状态下被配置为邻近所述第二磁体,所述弯曲表面在所述磁体的集合的伸展状态下远离所述第二磁体。

17. 根据权利要求1所述的系统,还包括支撑在所述平台和所述基座之间的处理和控制子系统,所述处理和控制子系统包括存储在计算机可读介质中的非暂时性指令,用于执行自动样品加工操作,所述自动样品加工操作包括以下中的至少一个:

控制在所述加热和冷却子系统、所述试剂盒和所述样品加工盒之间的热传递;

在所述缩回状态和所述伸展状态之间转换所述磁体的集合;

通过所述真空端口控制由所述泵送子系统施加到所述样品加工盒的压力。

18. 一种用于自动加工样品的系统,所述系统包括:

平台,其被配置为支撑和定位:

试剂盒,其在所述平台的第一侧的第一区域处;和

样品加工盒,其在所述第一侧的第二区域处;

台架,其被耦接到所述平台并且包括:

轨道的集合,其在由所述平台的所述第一侧界定的三维容积内界定用于移液器接口的沿着轴线的集合的移动路径;以及

基座,其与所述平台的所述第一侧相对并且支撑:

分离系统,其包括耦接到磁体致动器的磁体的集合,所述磁体致动器被配置为在缩回状态和伸展状态之间转换所述磁体的集合,其中在所述伸展状态中,所述磁体的集合进入所述平台的所述第一区域。

19. 根据权利要求18所述的系统,其中所述分离系统还包括磁性主体,所述磁性主体被配置为在第一端与所述移液器接口耦接,并在第二端与磁性套筒耦接,所述系统还包括分离模式,在所述分离模式中,所述台架在所述样品加工盒和所述试剂盒之间传送耦接到所述磁性套筒的所述磁性主体,用于从所述样品中磁性分离靶材料。

20. 根据权利要求18所述的系统,其中所述样品加工盒包括耦接到样品加工芯片的基础基底,所述样品加工芯片包括微孔区域,所述微孔区域包括被配置为以单细胞形式捕获细胞的微孔的集合,并且所述样品加工盒还包括弹性体阀,所述弹性体阀沿着从所述微孔区域到所述样品加工芯片的出口进入所述样品加工盒的废物容纳区域的流动路径将所述样品加工芯片耦接到所述基础基底。

21. 一种用于加工样品的方法,所述方法包括:

在运行准备操作完成时,引发系统的样品加工盒;

在引发完成时,在所述样品加工盒的微孔的集合处以单细胞形式共同捕获所述样品的细胞的集合和功能化颗粒的集合;

进行所述细胞的集合的裂解,从而允许来自所述细胞的集合的生物标记物与所述功能化颗粒的集合结合;

在样品加工盒的所述微孔的集合处执行逆转录操作,其中内容物结合到所述功能化颗粒的集合;

从所述样品加工盒回收所述功能化颗粒的集合,所述功能化颗粒的集合具有来自所述细胞的集合的相关联的结合的靶内容物;

对与所述功能化颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作;

对所述体积的细胞衍生的内容物进行链变性和第二链合成操作;

对所述体积的细胞衍生的内容物进行cDNA扩增操作;以及

对所述cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中引发所述样品加工盒包括将与包含引发缓冲液的第一尖端耦接的移液器接口传送至所述样品加工盒的入口储器,将所述引发缓冲液传送到所述入口储器中,以及在耦接至所述样品加工盒的真空端口处从所述样品加工盒抽取所述引发缓冲液。

23. 根据权利要求21所述的方法,其中所述样品加工盒还包括弹性体阀,所述弹性体阀沿着从所述微孔的集合到所述样品加工芯片的出口的流动路径将界定所述微孔的集合的样品加工芯片耦接至基础基底,其中在所述样品加工盒处捕获细胞的集合、捕获功能化颗粒的集合、裂解所述细胞的集合和执行逆转录操作中的至少一种包括将所述弹性体阀从变形状态转换到未变形状态,从而打开流体流向所述出口的所述流动路径。

24. 根据权利要求21所述的方法,其中所述样品加工盒包括覆盖所述微孔的集合的进入区域的盖,所述盖包括打开模式和关闭模式,在所述打开模式中,所述进入区域未被覆盖,在所述关闭模式中,所述进入区域被覆盖,其中回收所述功能化颗粒的集合包括传送开盖工具,所述开盖工具被耦接到移液器接口,用于与所述盖的释放主体接合,从而将所述盖从所述关闭模式转换到所述打开模式。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中回收所述功能化颗粒的集合包括在所述打开模

式下将被套筒包围并被耦接到所述移液器接口的磁性主体递送到未被所述盖覆盖的所述进入区域,以及将所述功能化颗粒的集合从所述微孔的集合朝向所述磁性主体吸引。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中回收所述功能化颗粒的集合包括将所述功能化颗粒的集合从所述样品加工盒传送到分离储器,从所述磁性主体中释放所述套筒,以及朝向所述分离储器的表面致动磁体,从而朝向所述表面吸引所述功能化颗粒的集合。

27. 根据权利要求21所述的方法,其中执行所述核酸外切酶处理操作包括将所述体积的细胞衍生的内容物和核酸外切酶缓冲液转移到热循环容器中,以及在所述热循环容器内加热所述体积和所述核酸外切酶缓冲液。

28. 根据权利要求21所述的方法,其中执行所述cDNA扩增操作包括将所述体积的细胞衍生的内容物传送到不同于所述样品加工盒的试剂盒的热循环容器的集合中,并储存用于执行所述方法的试剂的集合,在所述热循环容器的集合和热主体之间建立热连通,以及在所述热循环容器的集合处使所述体积的细胞衍生的内容物热循环。

29. 根据权利要求21所述的方法,其中执行所述颗粒纯化操作包括将所述cDNA扩增操作的PCR产物运送到具有纯化颗粒的集合的分离储器中,并且朝向所述分离储器的表面致动磁体,从而朝向所述表面吸引所述纯化颗粒的集合。

30. 根据权利要求21所述的方法,还包括对所述颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合,用于利用蛋白质加工方案来执行单细胞细胞术。

31. 根据权利要求21所述的方法,进一步包括对所述颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合,用于执行CITE-seq单细胞多组学方案。

32. 根据权利要求21所述的方法,还包括在不同于所述样品加工盒的试剂盒处,对所述颗粒纯化操作的输出执行文库制备操作,所述试剂盒包含用于所述文库制备操作的试剂的集合。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中执行所述文库制备操作包括确定源自所述颗粒纯化操作的产物的浓度;基于所述浓度,在所述试剂盒处稀释所述颗粒纯化操作的产物;在所述试剂盒处将cDNA材料片段化;以及在所述试剂盒处扩增片段化的cDNA材料。

34. 根据权利要求33所述的方法,还包括对纯化颗粒的集合在所述试剂盒的分离储器的集合处纯化片段化的和扩增的cDNA材料,并且朝向所述分离储器的表面致动磁体,从而朝向所述表面吸引所述纯化颗粒的集合。

35. 根据权利要求21所述的方法,还包括:在完成所述颗粒纯化操作时执行运行完成操作,其中所述运行完成操作包括从所述系统释放经加工的内容物用于存储。

36. 根据权利要求21所述的方法,还包括:执行运行准备操作,其中所述运行准备操作包括扫描与所述方法相关联的所述样品加工盒和试剂盒的标签的集合,以及将源自所述标签的集合的信息与预期待执行的方案进行比较。

37. 一种用于加工样品的方法,所述方法包括:

在样品加工盒的微孔的集合处以单细胞形式共同捕获所述样品的细胞的集合和功能化颗粒的集合;

在所述样品加工盒处进行所述细胞的集合的裂解,从而允许来自所述细胞的集合的释放的生物标记物与所述功能化颗粒的集合结合;

在所述样品加工盒的微孔的集合处执行逆转录操作,其中内容物结合到所述功能化颗

粒的集合；

将所述功能化颗粒的集合与来自所述细胞的集合的相关联的结合的靶内容物一起从所述样品加工盒运送到试剂盒中；

在所述试剂盒处对该体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作、链变性和第二链合成操作以及cDNA扩增操作；

在所述试剂盒处对所述cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作；以及

对所述颗粒纯化操作的输出执行文库制备操作。

38. 根据权利要求37所述的方法，其中所述样品加工盒包括覆盖所述微孔的集合的进入区域的盖，所述盖包括打开模式和关闭模式，在所述打开模式中，所述进入区域未被覆盖，在所述关闭模式中，所述进入区域被覆盖，其中回收所述功能化颗粒的集合包括传送开盖工具，所述开盖工具被耦接到移液器接口，用于与所述盖的释放主体接合，从而将所述盖从所述关闭模式转换到所述打开模式。

39. 根据权利要求38所述的方法，其中回收所述功能化颗粒的集合包括在所述打开模式下将被套筒包围并耦接到所述移液器接口的磁性主体传送到未被所述盖覆盖的所述进入区域，以及将所述功能化颗粒的集合从所述微孔的集合朝向所述磁性主体吸引。

40. 根据权利要求39所述的方法，其中执行所述文库制备操作包括确定源自所述颗粒纯化操作的产物的浓度；基于所述浓度，在所述试剂盒处稀释所述颗粒纯化操作的产物；在所述试剂盒处将cDNA材料片段化；以及在所述试剂盒处扩增片段化的cDNA材料。

## 用于自动化的单细胞加工的系统和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2019年5月7日提交的美国临时申请号62/844,470和于2019年6月26日提交的美国临时申请62/866,726的权益,其均通过该引用以其整体并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明总体上涉及细胞捕获和细胞加工领域,并且更具体地,涉及用于细胞捕获和细胞加工领域中单细胞捕获和加工的新的和有用的自动化系统和方法。

[0004] 背景

[0005] 随着对细胞特异性药物测试、诊断和其他测定的增加的兴趣,允许单独的细胞分离、鉴定和回收(retrieval)的系统和方法变得高度期望。单细胞捕获系统和方法已经显示出对这些应用特别有利。然而,用于单细胞捕获和后续分析的相关工艺和方案通常必须以特定的顺序且以高精度进行,以便适当地维持细胞。因此,这些工艺对于用户来说可能是耗时的,以及如果它们没有被适当地执行(例如,由于移液中的错误、由于试剂的混合等),则导致对细胞的损坏或其他不利的结果。特别是,这些新颖的高吞吐量单细胞细胞术测定在转化医学、个性化疗法选择、临床诊断和/或其他用途应用中具有巨大的效用,但是缺乏自动化阻碍了新手用户的正确操作,从而限制了吞吐量。

[0006] 因此,在细胞捕获和细胞加工领域中存在对创建新的和有用的用于单细胞捕获和加工的系统和方法的需求。

[0007] 附图简述

[0008] 图1A-图1D描绘了用于自动化的单细胞样品加工的系统的实施方案的示意图;

[0009] 图2A-图2F描绘了图1A-图1D中所示的系统的变型的视图;

[0010] 图3A-图3C描绘了与用于自动化的单细胞样品加工的系统相关联的试剂盒(reagent cartridge)的变型;

[0011] 图4A-图4C描绘了与用于自动化的单细胞样品加工的系统相关联的样品加工盒的变型的视图;

[0012] 图5A-图5C描绘了与图4A-图4C中所示的样品加工盒相关联的开盖工具(lid-opening tool)的操作模式;

[0013] 图6A-图6B描绘了与图4A-图4C中所示的样品加工盒相关联的阀和加热子系统的操作模式;

[0014] 图7A和图7B描绘了与用于自动化的单细胞样品加工的系统相关联的工具容器和内容物的变型;

[0015] 图8A-图8I描绘了用于在用于自动化的单细胞样品加工的系统平台上保持元件的特征的变型;

[0016] 图9描绘了用于自动化的单细胞样品加工的系统液位检测子系统的实例;

[0017] 图10A-图10C描绘了用于在用于自动化的单细胞样品加工的系统材料分离的第一组分子集的变型;

[0018] 图11A-图11B描绘了用于在用于自动化的单细胞样品加工的系统中材料分离的第二组分子集的变型；

[0019] 图12A-图12J描绘了与用于自动化的单细胞样品加工的系统相关联的分离分子系统的操作模式；

[0020] 图13A-图13D描绘了与用于自动化的单细胞样品加工的系统相关联的分离分子系统的变型的部件的视图；

[0021] 图14A-图14C描绘了用于自动化的单细胞样品加工的系统的部件之间的功能耦接的实施方案；

[0022] 图15描绘了用于自动化的单细胞样品加工的方法的实施方案的流程图；

[0023] 图16描绘了用于自动化的单细胞样品加工的方法的第一变型；

[0024] 图17描绘了用于自动化的单细胞样品加工的方法的第二变型；

[0025] 图18描绘了用于自动化的单细胞样品加工的方法的第三变型；以及

[0026] 图19描述了用于自动化的单细胞样品加工的方法的第三变型。

[0027] 优选实施方案的描述

[0028] 下面对本发明的优选实施方案的描述不意图将本发明限制于这些优选的实施方案，而是使本领域中的任何技术人员能够做出并且使用本发明。

[0029] 1. 益处

[0030] 本发明可以赋予优于常规的系统和方法的若干益处。

[0031] 特别地，本发明赋予能够实现在单细胞捕获和后续加工中涉及的方案的至少部分自动化的益处，从而优化运行成功和一致性。更详细地说，用户可以从部分或全部方法（例如，装载样品、盖上盖、仪器上裂解、逆转录过程、cDNA扩增、珠或cDNA产物回收、仪器上文库制备和清洁（cleanup）等）中被移除。此外，相对于常规的系统和方法，该系统和/或方法能够实现更好的方案的准确性（例如，在添加正确试剂方面更好的准确性、试剂的更好温度控制、关键液体处理步骤的快速加工、精确的孵育时间、最佳的珠清洗和分离、自动条形码读取等）。此外，该系统和/或方法可以赋予防止事故（例如，敲打系统、试剂的溢出、样品或仪器的污染等）的益处，这通常可以发生在方案的手动执行期间。

[0032] 此外，通过使用有限用途和/或预装载的和组合的试剂盒，该系统和/或方法可以赋予提供具有优化的质量控制和设计架构的流线型用户体验以适应测定和未来应用的持续发展的益处。因此，该系统赋予独立或接近独立控制试剂或试剂组的益处。在这种变型的具体实例中，该系统包括具有以下专用区域中的任何一个或全部的试剂盒：室温区域、冷却区域、加热区域、磁性区域（例如，与加热区域重叠）、废物捕获区域、中间试剂停放区域或任何其他合适的区域。在相关的益处中，该系统和/或方法可以赋予使用户能够购买较小体积的试剂的益处，诸如通过按照特定的自动化的方案以方案特定的类型和数量分配待使用的试剂。这可以起到节约成本、减少试剂浪费或具有任何其他合适结果的作用。

[0033] 此外，通过使用流体处理和分离元件（例如，磁分离部件），该系统和/或方法可以赋予提供自动化的样品和文库清洁步骤的益处。相关地，该系统和/或方法可以赋予在整个系统中建立更好的流体流动的益处。在第一实例中，这是通过自动化的移液系统（例如，移液器、台架和多种移液器尖端）实现的，该自动化的移液系统可以监控和/或引导流体流动（例如，以保持最佳流量，以建立最佳的试剂体积等）而无需用户干预。用于单细胞制备和/



或其他测定的流体处理系统部件可以包括使用以下两者：(a) 液体移液器，其被耦接到台架用于流体分配和泵送到（例如，样品加工盒的）流体通道或流体储器中；和/或(b) 内置芯片上可加压废物室，其通过与流体网络集成的阀连接和控制，如下文更详细描述。这样的组合的双液体处理系统对通过流体系统的试剂的流量（例如，微升每秒至数十毫升每秒）、递送（例如，1至100,000微升）和停留时间（例如，毫秒至小时）给出前所未有的控制。另外地或可选择地，系统可以在用户干预的情况下（例如，在最小的用户干预的情况下，以鼓励最佳的用户干预等）监控和/或引导流体流动。

[0034] 此外，通过软件和工作流的改进，该系统和/或方法可以使由用户执行的手动操作的数量最小化，并且提供相关的系统状态报告以确保平稳操作和样品加工。

[0035] 此外，关于样品加工一次性用品，该系统和/或方法可以赋予对于具有较高数量的样品加工室的一次性用品可扩展的方式合并多个部件的益处。此外，该系统可以赋予将两个或更多个常规上分离的加工平台部件合并成单个单元的益处，这可以减小系统的整体尺寸（例如，能够实现台式模型）、减小系统的机构（例如，移液器台架）的整体占地面积、能够实现系统之间更有效的材料的转移或者执行任何其他合适的功能。在这种变型的具体实例中，入口、微孔的集合、出口阀、盖机构（例如，盖机构的盖、全盖机构等）和废物室都被局限于单件。

[0036] 此外，本发明通过允许具有多种技能水平的标准用户（例如，新手、专家）操作平台部件来解决低参数流动应用、高参数流动应用、大规模细胞计数应用、蛋白基因组学应用、单细胞RNA应用、蛋白质检测应用、单细胞多原子应用和其他应用中的需求。下面更详细地描述由系统的实施方案实现的特定工作流。

[0037] 关于性能，该系统和/或方法可以在一天内加工细胞以产生纯化的文库、执行下一代测序(NGS)制备和以简化的过程执行其他过程（例如，通过专用消耗品的集合，其包括高效装载的试剂盒、样品加工盒和流体处理一次性用品的容器）。

[0038] 此外，该系统还赋予部件诸如移液器的三维移动性的益处。在这种变型的具体实例中，该系统包括为移液器提供X-Y-Z移动性的台架，使得移液器能够以自动化的方式执行多种任务（例如，刺穿试剂管的箔覆盖物、在孔的集合之间转移材料等）。

[0039] 另外地或可选择地，该系统和/或方法可以赋予任何其他合适的益处。

## [0040] 2. 系统

[0041] 如图1A-图1D所示，用于自动化的单细胞捕获和加工的系统100的实施方案包括：平台110，其支撑和定位样品加工元件的集合；台架170，用于致动工具以用于与由平台110支撑的样品加工元件的集合接口；以及基座180，其支撑多种加工子系统和与加工子系统通信的控制子系统，其中控制子系统控制平台110、样品加工元件的集合和台架170的状态，以便在多种操作模式之间转换系统100。提供多种工作流的操作模式的实施方案、变型和实例将在下面的第3节中进一步详细地描述。

[0042] 系统100的实施方案用于实现自动化的单细胞捕获和捕获的细胞的任何或所有相关联的加工。更详细地说，用户可以从部分或全部方法（例如，装载样品、盖上盖、仪器上裂解、逆转录过程、cDNA扩增、珠或cDNA产物回收、仪器上文库制备和清洁等）中被移除。该系统可以另外地或可选择地用于提高细胞捕获和样品加工方案的准确性（例如，通过使人工过程最小化）。此外，通过使用有限用途和/或预装载的试剂盒，系统100可以提供具有优化

的质量控制和设计架构的流线型用户体验,以适应测定和未来应用的持续发展。因此,该系统赋予独立或接近独立控制试剂或试剂组的益处。在这种变型的具体实例中,该系统包括试剂盒,该试剂盒具有以下专用区域中的任何一个或所有:室温区域、冷却区域、加热/热循环区域、磁性区域(例如,与加热区域重叠)、提供细胞样品输入的区域、用于制备的文库输出的区域或任何其他合适的区域。在相关的益处中,该系统和/或方法可以赋予使用户能够购买较小体积的试剂的益处,例如通过按照特定的自动化的方案以方案特定的类型和数量分配待使用的试剂。这可以起到节约成本、减少试剂浪费或具有任何其他合适结果的作用。

[0043] 此外,通过使用流体处理和分离元件(例如,磁分离部件),系统100的实施方案可以用于提供自动化的样品和文库清洁步骤。相关地,系统100可以赋予在整个系统中建立更好的流体流动的益处。在第一实例中,这是通过自动化的移液系统(例如,移液器、台架和各种移液器尖端)实现的,该自动化的移液系统可以在没有用户干预的情况下或在最少的用户干预的情况下监控和/或引导流体流动(例如,以保持最佳流量,以建立最佳的试剂体积等)。

[0044] 此外,通过允许具有多种技能水平的标准用户(例如,新手、专家)操作平台部件,系统100可以实现低参数流动应用、高参数流动应用、质量细胞计数应用、蛋白基因组学应用、单细胞RNA应用、蛋白质检测应用和其他应用。此外,关于性能,系统100可以加工细胞或其他生物材料以快速生成纯化的文库、执行下一代测序(NGS)制备和在简化的过程中执行其他过程(例如,通过专用消耗品的集合,其包括高效装载的试剂盒、样品加工盒和流体处理一次性用品的容器)。

[0045] 在特定实施方案中,系统100可以符合使用要求,包括以下中的一种或更多种:提供用于核酸文库制备的自动化过程,在运行的期望点处提供质量控制的能力,提供用于多种测定的完整和单次使用的试剂盒,提供验证和锁定的方案,提供多种系统部件的对齐和保持,提供用于监控和控制系统操作的手段(例如,用触摸显示器),提供远程监控能力,提供在24小时内的样品加工,提供视觉和/或听觉系统通知,提供用标准实验室清洁剂清洁且无需拆卸的能力,安装在标准实验室工作台上,提供易于安装,提供具有稳定保存期限的测定材料,返回维护历史的报告,提供数据存储(例如,关于外部存储介质,关于云存储等),提供训练,以及根据多种要求提供其他合适的功能。

[0046] 如上文所描述的,关于样品加工,系统100的实施方案可以包括或可以被配置为加工细胞、细胞来源的材料和/或其他生物材料(例如,无细胞核酸)。细胞可以包括哺乳动物细胞(例如,人类细胞、小鼠细胞等)、胚胎、干细胞、植物细胞或任何其他合适种类的细胞中的任何一种或全部。细胞可以包含靶材料(例如,靶裂解物、mRNA、RNA、DNA等),其来源于细胞内并且任选地被细胞捕获系统捕获用于加工。此外,包含细胞的容器可以由多个包含细胞的样品(例如,12个样品、24个样品、48个样品、96个样品、384个样品、1536个样品、其他数量的样品)制备,其中在将多种样品混合到单个容器(或减少数量的容器)中之前,对所述多种样品进行散列或条形编码。该特征能够在同一自动化的运行中实现多个样品的自动化加工,用于它们相应的单细胞制备和文库制备操作。另外地或可选择地,系统100可以被配置为与颗粒(例如,珠、探针、核苷酸、寡核苷酸、多核苷酸等)、液滴、包封的细胞、包封的生物标记物、试剂或任何其他合适的材料交互。

[0047] 该系统可以进一步另外地或可选择地包括如在以下申请中描述的系统部件中的

任何一种或全部:2018年7月27日提交的美国申请第16/048,104号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,057号;2017年9月29日提交的美国申请第15/720,194号;2017年2月13日提交的美国申请第15/430,833号;2017年11月22日提交的美国申请第15/821,329号;2017年10月12日提交的美国申请第15/782,270号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,240号;2017年11月16日提交的美国申请第15/815,532号;2018年8月28日提交的美国申请第16/115,370号、2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号和2020年3月12日提交的美国申请第16/816,817号,这些美国申请各自通过该引用以其整体并入。

#### [0048] 2.1系统:平台

[0049] 如图1A-图1D所示,平台(deck)110用作支撑和定位系统100的一个或更多个部件的平台(platform)(例如,在顶部宽表面、在顶部和底部宽表面、在侧表面等)用于自动化的样品加工。此外,平台110可以用于定位系统100的一个或更多个部件,以与流体加工子系统、加热子系统、分离子系统(例如,磁分离系统)和/或耦接到台架170和/或基座180的其他子系统对齐或者以其他方式与它们接口,如下文描述的。在这点上,平台110可以作为参考平台(reference platform)是静止的,而其他部件被致动到位用于与平台110的元件接合。可选择地,平台110可以被耦接到一个或更多个致动器,用于定位平台110的元件,以用于与其他子系统接口。

[0050] 在图1A-图1D所示的实施方案中,平台110提供支撑该样品加工元件的集合的平台,其中样品加工元件可以包括一次性的和/或可重复使用的部件,其中部件包括用于容纳样品加工材料的容器和/或用于加工样品的工具(例如,关于流体处理、关于材料分离、关于加热和冷却等)。在实施方案中,平台110可以支撑样品加工元件的集合,该样品加工元件的集合包括以下的一个或更多个单元:试剂盒120、样品加工盒130、工具容器140、加热和冷却子系统150、泵送子系统157、液位检测子系统159和分离子系统160。另外地或可选择地,平台110可以包括其他合适的部件(例如,荧光检测子系统、共焦显微镜子系统、光谱检测子系统、全内反射荧光(TIRF)子系统、核磁共振(NMR)子系统、拉曼光谱(RS)RS子系统等)。

[0051] 样品加工元件可以由平台110以共面的方式支撑,或者可选择地在不同的平面被支撑。优选地,由平台支撑的离散元件是非重叠的,但是平台110的替代实施方案可以以重叠的方式支撑样品加工元件(例如,为了节省空间等,用于操作效率等)。

[0052] 如图1A和图1D所示,平台110可以通过门90是可接近的,其中系统100的门90可以在打开模式和/或关闭模式之间转换,以便提供对平台110和由平台110支撑的元件的接近。然而,在其他变型中,通过门90可能无法接近平台110。

[0053] 由平台110支撑的元件的实施方案、变型和实例的细节在下面的第2.1.1至2.1.5节中进一步描述。

#### [0054] 2.1.1平台支撑的元件:试剂盒

[0055] 平台110包括至少一个区域111(在图2A和图2B中示出),用于支撑试剂盒120的单元,其中区域111用于相对于加热和冷却子系统150和分离子系统160的部分定位试剂盒120,下面更详细地描述。在这点上,区域111可以包括一个或更多个开口、凹部和/或突起,用于在试剂盒120的互补部分与加热和冷却子系统150和分离子系统160的相关联部分之间提供接口,并且另外促进和保持这样的部分之间的对齐。

[0056] 根据用于多种应用的一个或更多个工作流,试剂盒120用于在一个或更多个隔室

中容纳用于细胞捕获和/或样品的加工的材料。这样,试剂盒120可以界定跨域的集合分布的存储容积的集合,其中域的集合可以被配置为用于为每个域的材料内容物提供合适的环境。该存储容积的集合可以直接容纳样品加工材料,和/或可以可选择地被配置为接收和保持单独的容器(例如,管等)的位置,所述容器包含样品加工材料。每个域的存储容积可以分布在阵列中,或者以其他方式布置。取决于用途的应用(例如,冷藏、热传递、磁分离等),存储容积可以具有圆形横截面、矩形横截面或其他形态(例如,横截面、宽度、深度等)。

[0057] 域的集合可以另外地或可选择地被配置为提供模块化,其中一个或更多个域可以预包装有经较长的保存期稳定的材料,而其他域可以被配置为接收具有短保存期(例如,在使用之前立即)的材料。域的集合可以另外地或可选择地被配置为提高与试剂盒120的材料接口的设备的操作效率(例如,关于分组相似材料等)。域的集合可以另外地或可选择地界定用于接收和/或加工从样品加工盒130提取的材料(例如,核酸材料)的区域,其在下面更详细地描述。

[0058] 另外地或可选择地,域的集合中的域可以是分离的(例如,用于接收热量的域与用于其他存储温度或需要不同温度的应用的域是分离的)、重叠的或以其他方式布置的。域的集合中的域可以另外地或可选择地通过形态(例如,每个域的存储容积的长度、用于接近平台的其他元件或与平台的其他元件接口的存储容积的深度、被配置用于有效热传递的域的宽度或深度等)来彼此区分。在一些变型中,域的集合还可以包括至少一个支撑吸收性或多孔性材料垫的域,该吸收性或多孔性材料垫可以用于在加工期间接收液滴(例如,来自移液器的尖端,如下文描述的)。某些域的内表面性质(例如,用于PCR反应、用于磁分离等)可以被配置为具有高表面光洁度,以能够实现生物分子(例如,核酸或蛋白质)的低结合或保留。多种域也可以被混合和匹配,以向客户提供大量可用的测定。

[0059] 试剂盒120的存储容积的集合中的单独的存储容积还可以包括一个或更多个密封件,所述密封件用于隔离试剂盒120内的材料,防止单独的存储容积内的材料之间的交叉污染,防止污染物进入单独的存储容积和/或防止在存储和运输期间的蒸发损失。所述密封件可以是可刺穿的密封件(例如,由纸构成、由金属箔构成和/或由任何其他合适的材料构成)。然而,所述密封件可以可选择地被配置为不可刺穿的(例如,所述密封件可以被配置为从试剂盒120剥离)。在实施方案中,某些试剂容器也可以由铰接盖密封,该铰接盖可以由工具打开或关闭(例如,如下面更详细描述),如在方案的适当步骤中加工所需要的。

[0060] 在变型中,域的集合可以包括用于存储需要冷冻环境(例如,在从1°C到15°C的温度)的试剂的第一域、用于存储可以在环境条件中存储的材料第二域、存储具有用于进行聚合酶链反应(PCR)操作并与下文描述的加热元件接合的材料的管的第三域、用于存储功能化的颗粒(例如,带有具有条形码区域和其他功能区域的探针的珠,如在美国申请号16/115,370等中描述)的第四域以及用于执行分离操作(例如,通过磁力将靶与非靶材料分离)的第五域。在变型中,为存储容积提供不同环境的域可以被不同地配置。例如,第一域(即,用于冷藏)可以包含绝热材料和/或可以包括关于域的存储容积(例如,单独地,关于整个域)的绝热材料。另外地或可选择地,用于分离的域可以包括被配置为提供用于分离的适当磁场特性的导磁材料。另外地或可选择地,用于热循环应用或其他热传递应用的域可以被配置有导热材料,以促进到试剂盒和来自试剂盒的有效热传递。在实施方案中,可以最佳地定位多种域,使得在某些操作之间存在最小的串扰。例如,用于冷冻试剂存储容积的域可以

在运行期间保持一温度(例如,4℃),而用于PCR反应的域可能需要加热(例如,在变性期间高达95℃)。因此,为了使PCR热循环对冷冻试剂的影响最小化,包含在环境温度储存的试剂的域可以被配置在PCR热循环域和冷冻域之间。为了进一步防止热串扰,在需要独立温度控制的关键域之间,可以使用仅含空气的额外缓冲管。

[0061] 在变型中,由试剂盒120的域支持的工艺材料可以包括以下中的一种或更多种:缓冲液(例如,乙醇、引发缓冲液、裂解缓冲液、定制裂解缓冲液、样品洗涤缓冲液、具有RNA酶抑制剂的盐水、珠洗涤缓冲液、RT缓冲液、缓冲液等)、油(例如,全氟惰性油)、PCR主混合物、细胞、珠(例如,功能化的珠)或用于细胞捕获和/或样品加工的任何其他合适的材料。另外地或可选择地,存储容积的集合中的一个或多个可以是空的(例如,最初是空的,在一个或多个过程中是空的,在由操作员填充之前是空的,等)。试剂盒的不同域中的不同存储区域可以具有从几微升(例如,5微升)至50毫升的初始试剂体积。工艺材料和用途的应用的另外的细节在下文关于第3节的工作流程进行描述。

[0062] 在具体的实例中,如图3A所示,试剂盒120'包括:第一域121',其在试剂盒120'的第一外围区域处,用于储存需要冷藏环境的试剂;第二域122',其在试剂盒120'的中心区域处,用于储存可以在环境条件下储存的材料;第三域123',其在盒的外围区域、靠近第二域122,用于储存具有用于进行聚合酶链反应(PCR)操作的材料的管;第四域124',其在试剂盒120'的外围区域,用于储存功能化的颗粒(例如,带有具有条形码区域和其他功能区域的探针的珠,如在美国申请号16/115,370中等所描述的);以及第五域125',其在试剂盒120'的外围区域,用于执行分离操作(例如,通过磁力将靶与非靶材料分离)。在特定的实例中,第四域124'可以是模块化元件,由此第四域124'可以与试剂盒120'的其余部分分开储存,直到功能化的颗粒准备好使用,此时第四域124'被设置就位并与试剂盒120'耦接。

[0063] 在特定的实例中,第一域121'和第二域122'被由金属箔构成的第一密封件覆盖,第三域123'和第五域125'被由纸构成的第二密封件覆盖,并且第四域124'被由金属箔构成的第三密封件覆盖。然而,试剂盒120'的实例的变型可以以另一种合适的方式配置。

[0064] 在图3B所示的3' RNA加工方案的另一具体实例中(例如,对应于下文第3.1节的工作流程),试剂盒120"可以包括:用于100%分子级乙醇的第一存储容积1201(例如,具有4.46mL的体积);用于第一洗涤缓冲液的第二存储容积1202(例如,具有6.6mL的体积);用于颗粒结合缓冲液的第三存储容积1203(例如,具有1.1mL的体积);用于裂解缓冲液的第四存储容积1204(例如,具有1.1mL的体积);用于全氟惰性油的第五存储容积1205(例如,具有1.1mL的体积);用于颗粒结合洗涤溶液的第六存储容积1206(例如,具有6.63mL的体积);用于RT前反应洗涤缓冲液的第七存储容积1207(例如,具有1.1mL的体积);用于0.1M氢氧化钠溶液的第八存储容积1208(例如,具有1mL的体积);用于第二洗涤缓冲液的第九存储容积1209(例如,具有2.5mL的体积);用于矿物油的第十存储容积1210(例如,具有1mL的体积);用于80%分子级乙醇的第11存储容积1211(例如,具有1.1mL的体积);用于无核酸酶水的第12存储容积1212(例如,具有2.2mL的体积);用于废物的第13存储容积1213(例如,具有12.36mL的体积);用于0.1M DTT的第14存储容积1214(例如,具有0.15mL的体积);用于没有SuperScript IV的RT混合物的第15存储容积1215;用于SuperScript IV酶的第16存储容积1216(例如,具有0.011mL的体积);用于核酸外切酶缓冲液的第17存储容积1217(例如,具有0.22mL的体积);用于核酸外切酶的第18存储容积1218(例如,具有0.022mL的体积);用于第

二链合成混合物的第19存储容积1219 (例如,具有0.128mL的体积);用于第二链合成引物的第20存储容积1220 (例如,具有0.072mL的体积);用于mRNA扩增的PCR主混合物的第21存储容积1221 (例如,具有0.22mL的体积);用于混合物 (例如,Kapa Biosystems<sup>TM</sup> HiFi热启动就绪混合物 (2x)) 的第22存储容积1222 (例如,具有0.33mL的体积);用于mRNA产物的第23存储容积1223 (例如,具有0.025mL的体积);用于功能化的颗粒的第24存储容积1224 (例如,具有0.11mL的体积);用于磁性回收颗粒的第25存储容积1225 (例如,具有0.03mL的体积);用于AMPure XP颗粒的第26存储容积1226 (例如,具有0.66mL的体积);用于磁性颗粒回收收集的第27存储容积1227;用于磁性颗粒制备的第28存储容积1228;用于磁性颗粒第二链合成的第29存储容积1229;用于PCR后cDNA扩增的磁性颗粒回收的第30存储容积1230;用于AMPure XP颗粒纯化的第31存储容积1231;用于第一核酸外切酶处理的第32存储容积1232;用于第二核酸外切酶处理的第33存储容积1233;用于第二链合成的第34存储容积1234;用于第一cDNA扩增操作的第35存储容积1235;用于第二cDNA扩增操作的第36存储容积1236;用于第三cDNA扩增操作的第37存储容积1237;用于第四cDNA扩增操作的第38存储容积1238;和用于细胞悬浮液的第39存储容积1239。

[0065] 在图3C所示的CITE-Seq加工方案的另一具体实例中 (例如,对应于下面第3.3节中的工作流程),试剂盒120'''' 可以包括:用于100%分子级乙醇的第一存储容积1201' (例如,具有4.46mL的体积);用于第一洗涤缓冲液的第二存储容积1202' (例如,具有6.6mL的体积);用于颗粒结合缓冲液的第三存储容积1203' (例如,具有1.1mL的体积);用于裂解缓冲液的第四存储容积1204' (例如,具有1.1mL的体积);用于全氟惰性油的第五存储容积1205' (例如,具有1.1mL的体积);用于颗粒结合洗涤溶液的第六存储容积1206' (例如,具有6.63mL的体积);用于RT前反应洗涤缓冲液的第七存储容积1207' (例如,具有1.1mL的体积);用于0.1M氢氧化钠溶液的第八存储容积1208' (例如,具有1mL的体积);用于第二洗涤缓冲液的第九存储容积1209' (例如,具有2.5mL的体积);用于矿物油的第十存储容积1210' (例如,具有1mL的体积);用于80%分子级乙醇的第11存储容积1211' (例如,具有1.1mL的体积);用于无核酸酶水的第12存储容积1212' (例如,具有2.2mL的体积);用于废物的第13存储容积1213' (例如,具有12.36mL的体积);用于0.1M DTT的第14存储容积1214' (例如,具有0.15mL的体积);用于没有SuperScript IV的RT混合物的第15存储容积1215';用于SuperScript IV酶的第16存储容积1216' (例如,具有0.011mL的体积);用于核酸外切酶缓冲液的第17存储容积1217' (例如,具有0.22mL的体积);用于核酸外切酶的第18存储容积1218' (例如,具有0.022mL的体积);用于第二链合成混合物的第19存储容积1219' (例如,具有0.128mL的体积);用于第二链合成引物的第20存储容积1220' (例如,具有0.072mL的体积);用于cDNA扩增的PCR主混合物的第21存储容积1221' (例如,具有0.22mL的体积);用于混合物 (例如,Kapa Biosystems<sup>TM</sup> HiFi热启动就绪混合物 (2x)) 的第22存储容积1222' (例如,具有0.33mL的体积);用于索引引物的第23存储容积1223';用于mRNA扩增的PCR主混合物的第24存储容积1224' (例如,具有0.11mL的体积);用于ADT产物的第25存储容积1225' (例如,具有0.2mL的体积);用于mRNA产物的第26存储容积1226' (例如,具有0.025mL的体积);用于功能化的颗粒的第27存储容积1227' (例如,具有0.11mL的体积);用于磁性回收颗粒的第28存储容积1228' (例如,具有0.03mL的体积);用于AMPure XP颗粒的第29存储容积1229' (例如,具有0.66mL的体积);用于磁性颗粒回收收集的第30存储容积1230';用于磁性

颗粒制备的第31存储容积1231'；用于磁性颗粒第二链合成的第32存储容积1232'；用于PCR后cDNA扩增的磁性颗粒回收的第33存储容积1233'；用于AMPure XP颗粒纯化的第34存储容积1234'；用于第一抗体衍生的标签纯化操作的第35存储容积1235'；用于第二抗体衍生的标签纯化操作的第36存储容积1236'；用于PCR后纯化的AMPure XP颗粒ADT的第37存储容积1237'；用于mRNAAMPure XP颗粒纯化的第38存储容积1238'；用于PCR后纯化的mRNA AMPure XP颗粒的第39存储容积1239'；用于第一核酸外切酶处理的第40存储容积1240'；用于第二核酸外切酶处理的第41存储容积1241'；用于第二链合成的第42存储容积1242'；用于第一cDNA扩增操作的第43存储容积1243'；用于第二cDNA扩增操作的第44存储容积1244'；用于第三cDNA扩增操作的第45存储容积1245'；用于第四cDNA扩增操作的第46存储容积1246'；用于抗体衍生的标签级分扩增的第47存储容积1247'；用于mRNA扩增的第48存储容积1248'；和用于细胞悬浮液的第49存储容积1249'。

[0066] 2.1.2平台支撑的元件：样品盒

[0067] 如图2A和图2B所示，平台110还包括至少一个用于支撑样品加工盒130的单元的区域112，其中区域112用于相对于加热和冷却子系统150、泵送子系统157和液位检测子系统159的部分定位样品加工盒130，其在下面更详细地描述。在这点上，区域112可以包括一个或更多个开口、凹部和/或突起用于在样品加工盒130的互补部分与加热和冷却子系统150、泵送子系统157和液位检测子系统159的相关部分之间提供接口，并且另外促进和保持这样的部分之间的对齐。

[0068] 样品加工盒130用于提供一个或更多个样品加工区域，在所述样品加工区域中，细胞被捕获并且任选地被分类、加工或以其他方式处理用于下游应用，其中下游应用可以在样品加工盒130上（例如，在芯片上）和/或远离样品加工盒130（例如，芯片外）执行。样品加工盒130的部分可以被配置在单个基底内，但是可以另外地或可选择地包括跨过多个基底的多个部分（例如，通过流体路径连接）。

[0069] 如图4A-图4C所示，样品加工盒130'的实例可以包括基础基底（base substrate）131，其他元件被耦接到基础基底131和/或在基础基底131中界定其他元件。此外，关于涉及微流体元件的样品加工，基础基底131可以用作歧管，用于将流体转移到微流体元件，在处理的阶段进入样品加工体积，以及转移在样品加工期间产生的废物材料。在变型中，基础基底131支撑以下中的一种或更多种：样品加工芯片132；入口储器133，所述入口储器133用于接收样品材料（例如，包含细胞、包含颗粒等）并将样品材料递送到样品加工芯片132中；进入区域134，所述进入区域134用于进入样品加工芯片132的一个或更多个区域；盖135，其覆盖进入区域并包括提供密封功能的衬垫（gasket）136；以及废物容纳区域137，其用于接收来自样品加工芯片132的废物材料。盒可以具有另外的衬垫端口，以还与仪器中存在的盒外（off-cartridge）泵送系统连接。然而，基础基底131的变型可以包括其他元件。例如，如下文更详细描述，基础基底可以包括一个或更多个开口、凹部和/或突起，其提供与样品加工芯片132的另外的耦接，以便共同界定用于打开和关闭通过样品加工芯片132的流动的阀区域。

[0070] 如图4A和图4C（仰视图）所示，样品加工芯片132（在本文中被等同地称为微孔装置或载玻片（slide））界定孔的集合（例如微孔）。孔的集合中的每一个孔可以被配置为捕获单个细胞和/或一个或更多个颗粒（例如，探针、珠子等）、任何合适的试剂、多个细胞或任何其他

材料。在变型中,样品加工芯片132的微孔可以被配置成用于单细胞与单个功能颗粒的共同捕获,以便能够分析单细胞和/或来自单细胞的材料而没有跨孔污染。样品加工芯片132的实施方案、变型和实例在以下的一个或多个中描述:2018年7月27日提交的美国申请第16/048,104号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,057号;2017年9月29日提交的美国申请第15/720,194号;2017年2月13日提交的美国申请第15/430,833号;2017年11月22日提交的美国申请第15/821,329号;2017年10月12日提交的美国申请第15/782,270号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,240号;2017年11月16日提交的美国申请第15/815,532号;2018年8月28日提交的美国申请第16/115,370号、2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号和2020年3月12日提交的美国申请第16/816,817号,这些美国申请各自在上面通过引用以其整体并入。

[0071] 在材料组成中,样品加工芯片132可以由微制造的硅或玻璃熔凝二氧化硅材料构成,所述材料用于实现孔的集合的更高分辨率,例如,通过在孔的集合中界定更尖锐的边缘(例如,更薄的孔壁、以接近90度的角度布置的孔壁等)来实现。与常规的芯片设计相比,所描述的材料和制造工艺可以进一步实现一个或多个较小的特征尺寸(例如,长度、宽度、总占地面积等)。另外地或可选择地,基底包括任何其他合适的材料,诸如但不限于聚合物、金属、生物材料或任何其他材料或材料的组合。样品加工芯片132可以通过多种工艺诸如精密注射模制、精密压花、微光刻蚀刻、基于LIGA的蚀刻或通过其他合适的技术来制造。

[0072] 在一些变型中,孔的集合的一个或多个表面(例如,底表面、侧表面、底表面和侧表面、所有表面等)可以与寡核苷酸分子反应,用于将生物标记物从单独的细胞捕获到单独的微孔中。在每个微孔和单独的微孔上存在的寡核苷酸分子可以被条形编码,以允许在每个微孔中加工的生物标记物被连接回到特定的孔,并且因此连接回到特定的单细胞。在一种变型中,孔的集合包括微孔的集合,所述微孔具有横向于孔的纵向轴线截取的六边形横截面,如在上面通过引用并入的一个或多个申请中所描述的。

[0073] 在一个变型中,如图4C所示,样品加工芯片132可以包括入口开口32;第一流体分配网络33,其在入口开口的下游,用于将流体分配到微孔的集合34;第二流体分配网络35,其在微孔的集合34下游;以及出口开口36,其被耦接到第二流体分配网络35的终端部分,用于从样品加工芯片132转移废流体。在该变型中,样品加工芯片132被耦接到基础基底131的第一侧(例如,下侧)(例如,通过激光焊接、胶结合、溶剂结合、超声焊接或另一种技术)。将样品加工芯片132耦接到基础基底131的侧面能够将热量从加热和冷却子系统150传递到该微孔的集合34和/或样品加工芯片132的其他区域,其中加热和冷却子系统150将在下面更详细地描述。

[0074] 如上文所描述的,基础基底131还可以包括入口储器133(例如,界定在基础基底131的与样品加工芯片132被耦接到的第一侧相对的第二侧)。入口储器用于从上文描述的试剂盒120接收样品材料(例如,包含细胞的样品、包含条形码细胞的样品、包含包封材料的样品、包含颗粒的样品等)和/或样品加工材料,用于递送到样品加工芯片132的入口开口32中。在变型中,入口储器133可以被界定为基础基底131的表面内的凹陷区域(recessed region),其中凹陷区域包括与样品加工芯片132的入口开口32对齐和/或用该入口开口32密封的孔隙。基础基底131的入口储器133可以与包含组分和/或气泡缓解组分的上游流体交界,如在以下的一个或多个中描述的:2018年7月27日提交的美国申请第16/048,104



号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,057号;2017年9月29日提交的美国申请第15/720,194号;2017年2月13日提交的美国申请第15/430,833号;2017年11月22日提交的美国申请第15/821,329号;2017年10月12日提交的美国申请第15/782,270号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,240号;2017年11月16日提交的美国申请第15/815,532号;2018年8月28日提交的美国申请第16/115,370号、2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号和2020年3月12日提交的美国申请第16/816,817号,这些美国申请各自在上面通过引用以其整体并入。

[0075] 入口储器133还可以被配置为与由平台110支撑的或者以其他方式与平台110接口的液位检测子系统159,如下面更详细描述。特别地,入口储器133的部分可以由能够感测入口储器133内的液位的材料构成(例如,通过光学询问、通过压力感测、通过重量感测等)。例如,入口储器133可以由对可见光谱电磁辐射和/或非可见光谱电磁辐射光学透明或半透明的材料构成(例如,通过用不同材料制造,通过制造以在入口储器133处产生薄的材料区域,等等),其中液位检测子系统159的感测元件可以被配置为相应地查询入口储器133内的液位。

[0076] 在变型中,基础基底131的入口储器133和样品加工芯片132的入口32中的一个或更多个可以包括阀部件,所述阀部件可以被系统100的一个或更多个部件打开或关闭。在第一变型中,入口储器132包括孔隙,该孔隙可以由移液器尖端或耦接到台架170的流体处理子系统的任何其他合适的附接件进入(在下面更详细地描述)。在一些实施方案中,孔隙可以被关闭,并且因此防止流体从入口储器132行进到样品加工芯片132。然而,入口储器132可以以另一种合适的方式配置。与入口储器133相关联的开口可以具有朝向顶部开口的圆锥形表面,允许连接和密封移液器尖端,使得流体(水溶液或油或空气)可以被直接泵入到图4C中以33定义的微通道中。

[0077] 如图4A和图4B所示,基础基底131还可以界定用于进入样品加工芯片132的一个或更多个区域的进入区域134,其中该进入区域可以允许在样品加工的不同阶段观察样品加工芯片132的区域和/或从样品加工芯片132中提取样品加工芯片132的区域。如图4A和图4B所示,进入区域134可以被界定为基础基底131内的凹陷区域,并且包括与包括微孔的集合的样品加工芯片132的区域对齐的开口37。样品加工芯片132可以具有少至100个微孔至多至1亿个微孔。因此,在微孔区域对环境开放(例如,没有覆盖物来密封孔)的变型中,进入区域134的开口37可以用作微孔,以提供进入微孔的内容物用于观察和/或材料提取(例如,通过磁分离,如下面进一步详细描述)。开口37可以匹配微孔区域的形态和覆盖区,并且在第一变型中,如图4B所示,可以是方形开口。然而,在其他变型中,开口37可以具有另一种合适的形态。

[0078] 如图4A-图4C所示,基础基底131可以包括或以其他方式耦接到覆盖进入区域134的盖135,其中盖135可以包括提供密封功能的衬垫136,并且其中盖135用于在打开模式和关闭模式之间转换进入区域134,从而防止操作期间蒸发的样品损失和/或样品加工芯片132的内容物的污染。盖135可以另外地或可选择地用于保护样品加工芯片132的微孔或其他加工区域的内容物免受碎片的影响,使得能够加工样品加工芯片132的内容物(例如,通过将区域与周围环境隔离),启动方案的开始(例如,通过打开以接受来自移液器的试剂),防止用户操纵样品加工芯片132(例如,通过在已经添加所有必需的试剂之后关闭),界定

(例如,用盖135)部分或全部流体路径、空腔或储器(例如,用作入口和微孔的集合之间的流体路径的顶表面,用作邻近微孔区域的流体路径的边界,用作微孔的集合和废物室之间的流体路径的顶表面,等等),或者执行任何其他合适的功能。

[0079] 如图4B所示,在至少一个变型中,盖135可以在形态上与进入区域134的特征互补,使得盖135与进入区域134匹配,同时提供与样品加工芯片132的间隙。此外,在变型(在图4B和图4C示出)中,当盖135处于关闭位置时,盖135可以在顶表面处与基础基底131基本上齐平。然而,盖135可以在形态上以另一种合适的方式配置。

[0080] 在变型中,盖135的突起38可以与进入区域134的开口37接口,从而当盖处于关闭位置时,基本上防止进入开口37。如图4B所示,在一些变型中,突起38可以具有被衬垫136包围的基部(或其他区域),衬垫136用于在盖135的关闭位置密封进入区域134的开口37。然而,盖135的变型可以省略衬垫,并且以另一种合适的方式促进进入区域134的密封。

[0081] 在一些变型中,盖135可以包括锁定或闩锁机构,该锁定或闩锁机构允许盖135与基础基底131一起被保持在关闭位置,直到锁定/闩锁机构被释放。在图5A-图5C所示的变型中,盖135的外围部分可以包括一个或更多个连接片(tab) 39,连接片39与基础基底131的相应连接片接收部分接口,其中,连接片39被构造成当被推入基底131中时弯曲,直到它们与基础基底131的连接片接收部分接口并从弯曲的配置返回到闩锁状态。另外地或可选择地,在图5A-图5C所示的变型中,锁定/闩锁机构可以包括释放体41(例如,杆、凹部、钩等),所述释放体41可以与其接口以便从连接片接收部分释放连接片39,并且相对于基础基底131将盖135从关闭模式转换到打开模式。这样,盖135为盖提供打开模式和关闭模式,在打开模式中,进入区域134未被覆盖,在关闭模式中,进入区域134被覆盖。在图5A-图5C所示的变型中,释放元件41包括远离基础基底131的进入区域134凹陷的杆,其中杆可以被可逆地耦接到开盖工具145。在变型中,开盖工具145可以包括第一区域(例如,第一端),该第一区域与致动器(例如,致动尖端、耦接到下文描述的台架170的流体处理子系统的移液器等)接口;以及包括连接元件42的第二区域(例如,第二端),连接元件42被配置为与盖135的释放元件41接口。然后,随着移液器/移液器接口的移动,开盖工具145可以被配置为拉动释放元件41和/或推动盖135,以便在打开模式和/或关闭模式之间转换盖。这样,关于耦接到下文描述的台架170的流体处理元件,系统100可以提供操作模式,用于:将开盖工具145耦接到致动器(例如,其被耦接到台架170),开盖工具包括链接元件42;将开盖工具移动到与盖135的释放元件41对齐,将连接元件42与释放元件41可逆地耦接;并且向释放元件41施加力,从而将盖135从闩锁状态释放,并将盖135从关闭模式转换到打开模式。为了有效地施加解锁力(例如,通过致动器(例如,其被耦接到台架170),基础基底131可以被保持就位(例如,通过第2.1.4节中描述的保持元件、通过加热和冷却子系统的保持元件、通过液位检测子系统的保持元件、通过平台的保持元件等),其被动地或主动地施加反作用力对抗通过开盖工具145施加的解锁力)。

[0082] 然而,在变型中,锁定/闩锁机构可以另外地或可选择地包括或通过以下方式操作:锁和钥匙机构、磁性元件或另一种合适的机构。此外,在可选择的变型中,盖135可以包括另一个盖致动器,例如,包括围绕平行于样品加工盒130的宽表面的入口旋转盖的马达。致动器可以另外地或可选择地被配置为平移盖135(例如,平行于样品加工盒130的宽表面滑动盖135,垂直于宽表面平移盖135,等等)或者以其他方式移动盖135以选择性地覆盖和

露出一个或多个预定区域(例如微孔的集合)。这样,盖135可以被配置为以自动或半自动的方式操作,使得盖135在一个或多个触发时自动关闭(例如,细胞捕获方案由用户启动,细胞加工方案由用户启动,用于所选方案的所有试剂已经从试剂盒120中添加,等)并在一个或多个触发时打开(例如,细胞捕获方案已经完成,根据用户请求,已经确定细胞是活的,已经确定单细胞已经被捕获,等)。另外地或可选择地,盖135的操作可以由用户启动和/或完成,根据时间表或其他时间模式操作,或者以其他方式操作。

[0083] 如图4A-图4C所示,基础基底131还可以包括废物容纳区域137,用于接收来自样品加工芯片132的废物材料。废物容纳区域137还可以用于在样品加工芯片132内保持期望的压力(例如,真空压力等),从而使得液体能够从入口储器133流过样品加工芯片132并到达废物容纳区域137。废物容纳区域137可以被界定为用于从样品加工芯片132接收废物或其他材料的容积(例如,凹入到基础基底131中,从基础基底132延伸,被耦接到基础基底131的出口,等等)。在图4A-图4C所示的变型中,废物容纳区域137被界定在基础基底131的与样品加工芯片132被耦接的一侧相对的一侧,使得来自样品加工芯片132的废物被泵送子系统157的力向上推入或拉入废物容纳区域137,其在下面更详细地描述。然而,废物容纳区域137可以另外地或可选择地被配置在相对于基础基底131和样品加工芯片132的另一个合适的位置,以便接收废物。

[0084] 废物容纳区域137可以具有10mL-100mL的体积容量或另一合适的体积容量。

[0085] 如图4A-图4C所示,废物容纳区域137可以包括覆盖物48(例如,与盖135大致共面的覆盖物),这有助于将废物容纳在废物容纳区域137内。可选择地,废物容纳区域137可以不包括覆盖物。此外,如图4C所示,废物容纳区域137的实例可以包括不同于覆盖物的泵出口51,其中泵出口51可以允许废物室中的剩余空气由非筒式泵加压(例如,通过泵送机构等);然而,废物容纳区域137的变型可以可选择地省略废物出口。

[0086] 关于废物容纳区域137,系统100可以进一步包括阀43,该阀43被配置为允许和/或阻止从样品加工芯片132到废物容纳区域137的流动。阀43可以与上文描述的样品加工芯片132的出口开口36接口,以便能够实现和/或阻止流出出口开口36并进入废物容纳区域137。阀43可以具有常开状态,并在与阀致动机构接口时转换到关闭状态。可选择地,阀43可以具有常闭状态,并且在与阀致动机构接口时转换到打开状态。

[0087] 在图4A和图6A-图6B所示的变型中,阀43包括弹性体主体,并且被配置为通过样品加工芯片132的开口44将样品加工芯片132耦接到基础基底131,该开口44与基础基底131的相应阀接收部分对齐。在该变型中,阀43的可转换部分被配置为沿着从样品加工芯片132的出口开口36到基础基底132的废物容纳区域137的入口的流动路径(例如,沿着从微孔区域到样品加工芯片的出口进入样品加工盒的废物容纳区域的流动路径)定位。在实例中,样品加工芯片132的开口44与样品加工芯片132的出口开口37邻接;然而,在其他变型中,出口开口37和开口44可以彼此分开,并通过另一个微流体通道连接。这样,阀43的关闭可以阻止从出口开口37到废物容纳区域137的流动,并且阀43可以被打开以允许从出口开口37到废物容纳区域137的流动。

[0088] 在图6B所示的基础基底131的横截面图像中所示的变型中,阀致动器45可以从下方(例如,从平台下方)进入基础基底131,并穿过基础基底132的通道或其他凹部/开口,以便与阀43接口。具体而言,如图6B(顶部)所示,当阀致动器45的尖端46(与基础基底中的开

口对齐)推压在阀(例如,阀43的弹性体膜)时,阀43可以转换到关闭状态,以便将样品加工芯片132的出口开口37与废物容纳区域137流体分离。另外地或可选择地,如图6B(底部)所示,通过阀致动器45移除力可以从阀43移除压力,并将其转换到打开状态,以将样品加工芯片132的出口开口36与废物容纳区域137流体耦接。这样,阀致动子系统包括接合模式和脱离模式,在接合模式中,尖端延伸到阀开口中以使弹性体阀变形,从而关闭流动路径,在脱离模式中,尖端被缩回,从而打开流动路径。然而,阀43可以另外地或可选择地以另一合适的方式来配置。

[0089] 在其他变型中,该系统可以包括用于将阀耦接到样品加工芯片132的其他流动路径和/或基础基底131的类似机构。

[0090] 然而,基础基底131的变型可以包括其他元件。例如,如下文更详细描述,基础基底131可以包括一个或更多个开口、凹部和/或突起,其提供与样品加工芯片132的另外的耦接,以便促进或抑制流动通过样品加工芯片132。例如,如图6A所示,基础基底可以包括泵开口46,该泵开口46将基础基底131耦接到泵送子系统157的泵送元件(例如,通过平台110),以便驱动和/或停止流体流动通过样品加工芯片132。

[0091] 然而,样品加工盒130的基础基底131可以包括其他合适的元件。

[0092] 2.1.3平台支撑的元件:工具容器

[0093] 如图2A和图2B所示,平台110包括至少一个用于支撑工具容器140的单元的区域113,其中区域113用于相对于下文描述的台架170的流体处理设备定位工具容器140。区域113还可以将工具容器140定位在所使用的试剂盒120和样品加工盒130附近,以便提供更紧凑的系统并改进涉及试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140中的一个或更多个的内容物的自动化操作的效率。区域113还可以包括开口,该开口允许工具容器140至少部分地凹陷于平台110的表面之下。

[0094] 根据用于多种应用的一个或更多个工作流程,工具容器140用于在一个或更多个隔室中容纳多种工具的一个或更多个单元,样品加工盒开盖工具145和/或其他工具,所述一个或更多个单元用于流体抽吸、流体递送、样品的靶材料与非靶材料的分离。这样,工具容器140可以促进试剂与样品的转移和/或混合,在平台110的多个区域流体耦接和/或分离元件,或者以其他方式与系统100的一个或更多个部件接口。

[0095] 在变型中,变型之一在图7A中示出,工具容器140'可以包括用于流体抽吸和/或流体递送(例如,去往和来自试剂盒120,去往和来自样品加工盒130等)的尖端的集合141。该尖端的集合141可以包括以下中的任何一个或全部:标准移液器尖端(例如,P20尖端、P200尖端、P1000尖端等);另外地或可选择地,该尖端的集合可以包括刺穿工具(例如,以通过密封件获得进入试剂管)、钝的尖端(例如,用于促进流体流动、用于阻塞孔隙、用于界定流体路径等),或任何其他合适的尖端。尖端可以被配置或以其他方式用于以下中的任何一个或全部:刺穿(例如刺穿试剂条箔)、转移和/或混合试剂的集合(例如,用于混合乙醇和引发缓冲液的尖端、用于转移SPRI乙醇的尖端、用于转移SPRI上清液的尖端、用于转移SPRI洗脱缓冲液的尖端等),将细胞分配到样品加工盒130的单元中,将功能化的颗粒分配到样品加工盒的单元中,促进预定的过程的集合(例如,颗粒洗涤、细胞裂解、油分配、预逆转录洗涤、下面描述的其他工作流程等)的执行,或者可以具有任何其他合适的功能。

[0096] 如图7A所示,尖端的集合141可以在工具容器140内被布置成阵列(例如,根据类

型、根据尺寸等),其中工具容器140的内部基座可以包括用于捕捉从多种流体处理操作中离开尖端的抽吸/递送端的液滴的液滴捕捉部分。此外,工具容器140可以包括间隔元件,用于防止尖端的集合141的单独的尖端相互接触,从而防止交叉污染。此外,用于与移液器接口的一个或更多个尖端的区域可以是传导的(例如,导热的、导电的、由金属组成的、由导电聚合物组成的、由半导体材料组成的等)。

[0097] 在图7B所示的3'加工方案的特定实例中,工具容器140"可以包括:用于转移乙醇、清洗缓冲液和/或引发溶液的第一尖端1401(例如,具有200mL的尖端容积,具有200 $\mu$ L的尖端容积);用于转移细胞悬浮液的第二尖端1402(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移功能化的颗粒的第三尖端1403(例如,具有200mL的尖端容积,具有200 $\mu$ L的尖端容积);用于转移洗涤缓冲液的第四尖端1404(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移颗粒结合缓冲液的第五尖端1405(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移DTT和/或裂解缓冲液的第六尖端(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移全氟惰性油的第七尖端1407(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移DTT、颗粒结合溶液和/或清洗溶液的第八尖端1408(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移DTT和/或RT前反应洗涤溶液的第九尖端1409(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于磁性回收的一个或更多个磁性套筒1410;用于转移DTT和/或RT混合物溶液的第11尖端1411(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移核酸外切酶治疗的第12尖端1412(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于递送矿物油的第13尖端1413(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移核酸外切酶处理的第14尖端1414;用于转移氢氧化钠溶液的第15尖端1415(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移第二洗涤缓冲液第16尖端1416(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移第二链合成溶液的第17尖端1417;用于转移颗粒溶液的第18尖端1418(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移第二洗涤缓冲液的第19尖端1419(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移PCR主混合物和/或颗粒溶液的第20尖端1420(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移矿物油的第21尖端1421(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移PCR产物的第22尖端1422(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移AMPure和/或上清液的第23尖端1423(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移乙醇的第24尖端1424(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移乙醇的第25尖端1425(例如,具有1000mL的尖端容积,具有1000 $\mu$ L的尖端容积);用于转移乙醇的第26尖端1426(例如,具有50mL的尖端容积,具有50 $\mu$ L的尖端容积);和用于转移无核酸酶的水和/或衍生产物的第27尖端1427(例如,具有50mL的尖端容积,具有50 $\mu$ L的尖端容积)。

[0098] 在变型中,工具容器140可以另外地或可选择地包括其他样品加工工具。在一种变型中,工具容器140可以包括分离工具尖端142的一个或更多个单元,用于磁性分离靶材料与非靶材料(在下文中更详细地描述)。另外地或可选择地,在变型中,工具容器140可以另外地或可选择地包括用于将上文描述的盖135转换到打开配置的开盖工具145的单元。然而,关于工具容器140和/或其内容物的可处置性,工具容器140可以被配置为仅包含一次性

元件,并且省略可重复使用的元件(例如,开盖工具145的单元,如图2B所示)。

[0099] 此外,工具容器140的内容物的单元可以另外被包括在试剂盒120、样品加工盒130中的一个或更多个中,以其他方式被布置在平台110处、与平台110分离、与系统100分离或者以其他方式被布置。在其他变型中,在工具容器140中使用的可重复使用的工具可以包括其他工具,所述其他工具使用电、电磁、光学或不同模态的组合来与台架170接口并被移动到试剂盒120和/或样品加工盒130上的特定位置以提供特定能量(例如,热、光学信号、电磁波等)和/或感测特定信号(例如,光、热、电磁等)。这些工具可以被有线连接到控制电子设备,或者可以被无线充电和控制/通信。

[0100] 2.1.4平台支撑的元件-注册和保持功能

[0101] 如图8A至图8I所示,平台110可以包括保持元件的集合,该保持元件的集合相对于用于试剂盒120的区域111、用于样品加工盒130的区域112和用于工具容器140的区域113被定位,其中该保持元件的集合用于在操作期间将试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140注册和保持在平台110处,以处理样品,并且在适当的时候能够从平台110释放试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140。该保持元件的集合可以包括机械保持元件(例如,凹部、突起等),所述机械保持元件被配置为通过卡扣配合、压制配合、棘轮或其他合适的机构来提供保持。另外地或可选择地,该保持元件的集合可以包括磁性保持元件或其他合适的保持元件。在包括磁性保持元件的变型中,相关联的磁体可以远离试剂盒120和平台110的磁分离区域定位(下文关于2.1.8所描述的),以便不干扰相关联的磁性分离机构。可选择地,相关联的磁体可以被定位成在试剂盒120和平台110的磁分离区域附近,以便促进在试剂盒120(和/或系统的其他合适部分)处执行的磁分离操作。

[0102] 保持元件可以为试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140中的每一个提供统一的机构。可选择地,试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140可以各自包括不同的保持元件,这些保持元件通过不同的机构适当地操作。由该保持元件的集合支撑的保持机构可以手动操作(例如,用户与保持元件接合以使保持部件与平台110脱离和/或接合)。另外地或可选择地,由该保持元件的集合支撑的保持机构可以是非手动操作的(例如,具有耦接到保持元件的致动器,以便将它们接合模式和脱离模式之间转换)。保持机构被配置为以适当的形态(例如,以促进通过手动操作员或设备的接合)、加载和卸载的力和/或传递的力(例如,传递到平台110的其他敏感元件)操作。

[0103] 在图8A所示的变型中,平台110可以包括对应于用于试剂盒120的区域111的保持元件21的第一子集、对应于用于样品加工盒130的区域112的保持元件22的第二子集以及对应于用于工具容器140的区域113的保持元件23的第三子集。

[0104] 关于图8A,区域111处的保持元件21的第一子集可以包括以与试剂盒120的相应保持接口31互补的方式被定位在区域111周围(例如,在区域111的对侧)的卡扣凸缘的集合。更详细地,如图8B和图8C所示,试剂盒120'的保持接口31可以包括连接片(例如,柔性连接片)的集合,其可以从基线位置被压缩以被定位在区域111处,其中从压缩配置的释放允许该连接片的集合与卡扣凸缘解锁。保持接口31的该连接片的集合还可以包括抓握特征(例如,凸起等),该抓握特征允许用户轻松地压缩该连接片的集合。在相关的变型中,试剂盒120'的保持元件21的第一子集和相应的保持接口可以以另一种方式被定位。例如,试剂盒的连接片的集合可以被定位在试剂盒120的非外围区域(例如,具有手指和/或拇指孔切

口),与平台110的保持元件21对应对齐。关于提供稳固的接触,保持元件21可以被配置为提供抵靠与试剂盒120接口的平台元件(例如,加热和冷却子系统元件、磁分离子系统元件等)的偏置力,以便在表面之间提供稳固的接触。抵靠平台元件使用的偏置力可以是至少0.5lbs或至少1lbs或至少2lbs或至少3lbs。

[0105] 关于图8A,区域112处的保持元件22的第二子集可以包括以与样品加工盒130的相应保持接口32互补的方式被定位在区域112周围的卡扣凸缘的集合(例如,在区域112的对侧和区域112的第三外围侧)。更详细地,如图8D至图8G所示,样品加工盒130的保持接口32可以包括连接片(例如,柔性连接片)的集合,该连接片的集合可以从基线位置被压缩以被定位在区域112处,其中从压缩配置的释放允许该连接片的集合与卡扣凸缘啮锁。在该变型中,在另一个保持接口22b与对侧卡扣凸缘锁定之前,样品加工盒130可以被配置为插入到第一保持元件22a中/与第一保持元件22a接口(例如,在样品加工盒靠近入口储器的一侧,在样品加工盒靠近废物容纳区域的一侧等)。类似于试剂盒120的连接片的集合,样品加工盒130的保持接口32的连接片的集合还可以包括抓握特征(例如,凸起等),该抓握特征允许用户轻松地压缩该连接片的集合。关于提供稳固的接触,保持元件22可以被配置为提供抵靠与样品加工盒130接口的平台元件(例如,加热和冷却子系统元件、泵送子系统元件等)的偏置力,以便在表面之间提供稳固的接触。此外,平台110的保持元件22的集合可以被构造为可逆地接合样品加工盒120,并提供抵抗关于开盖操作模式所描述的开盖工具145的反作用力。

[0106] 关于图8A,区域113处的保持元件23的第三子集可以包括以与工具容器的相应保持接口33互补的方式被定位在区域113周围(例如,在区域113的对侧)的卡扣凸缘的集合。更详细地,如图8H和图8I所示,工具容器140的保持接口33可以包括连接片(例如,柔性连接片)的集合,该连接片的集合可以从基线位置被压缩以被定位在区域113处,其中从压缩配置的释放允许该连接片的集合与卡扣凸缘啮锁。保持接口33的该连接片的集合还可以包括抓握特征(例如,凸起等),该抓握特征允许用户轻松地压缩该连接片的集合。

[0107] 然而,在上文描述的平台110的保持元件的变型中,可以包括其他合适的特征或者可以以另一种合适的方式相对于相关元件被配置。

[0108] 2.1.5平台支撑的元件:加热和冷却子系统

[0109] 如图1A-图1D和图2B所示,系统100可以包括加热和冷却子系统150,其用于向和/或从试剂盒120和/或样品加工盒130的所需区域传递热。加热和冷却子系统150可以另外地或可选择地用于在系统100的内部体积内保持期望的温度。在变型中,加热和冷却子系统150可以包括以下的一个或更多个单元:加热元件(例如,珀尔帖(Peltier)加热元件、电阻加热元件、其他加热元件)、冷却元件(例如,珀尔帖冷却元件、冷却铝块、使冷却剂循环的流体路径系统等)、用于将热量传递到加热和冷却元件或将热量从加热和冷却元件传递到其他物体的热接触或非接触体、散热器、风扇、温度传感器和热控制电路(例如,具有电耦接到下文更详细描述基座180的加工元件)。在变型中,冷却元件可以将存储容积和/或样品保持在2摄氏度和8摄氏度之间,进一步优选地保持为4摄氏度。另外地或可选择地,冷却元件可以将一个或更多个存储容积/样品保持在任何合适的温度(例如,低于2摄氏度、高于8摄氏度等)。

[0110] 加热和冷却子系统150的一个或更多个部分可以进入平台110的开口,以与由平台

110支撑的其他系统元件(例如,试剂盒、样品加工盒、工具容器等)的期望部分以热的方式接合或以其他方式耦接),以便为多种应用提供热传递功能。可选择地,平台110可以在用于热传递应用的期望区域由导热材料构成,并且加热和冷却子系统150的部分可以被配置为接触用于热传递的平台110的导热材料区域。

[0111] 在图2B所示的具体实例中,加热和冷却子系统150包括热主体的集合,热主体的集合将加热元件与由平台110支撑的试剂盒120和样品加工盒130的期望部分以热的方式接合。热主体的集合包括第一热主体156'(例如,热板),第一热主体穿过平台110'的开口并被配置为与上文描述的试剂盒130'的第一域121'接口,其中第一热主体156'包括用于包围第一域121'的存储容积的凹部的阵列(例如,以向存储在在第一域121'的存储空间中的材料提供冷却环境)。如图2B所示,热主体的集合还可以包括第二热主体157'(例如,热板),该第二热主体穿过平台110'的开口并被配置为与上文描述的试剂盒130'的第三域123'接口,其中第二热主体157'包括用于包围第三域123'的存储容积的凹部的阵列(例如,以向在第三域123'的存储容积内进行的工艺的PCR和/或其他加热操作传递热量)。如图2B和图6A所示,热主体的集合还可以包括第三热主体158'(例如,热板),该第三热主体穿过平台110'的开口并被配置为与上文描述的样品加工芯片132的微孔的集合34接口,其中第三热主体158'提供了基本上平坦的基底,用于向样品加工盒130的微孔均匀传热和从该微孔均匀传热。

[0112] 在变型中,热主体的集合可以被耦接到散热器元件155(例如,在远离与试剂盒/样品加工盒的接口的热主体的侧面),以便为热传递提供更大的表面区域。此外,如图2D-图2F所示,下面更详细描述的平台110和基座180之间的区域可以包括一个或多个风扇154和/或导管153,以便根据需要为远离该热主体的集合的对流热传递提供热机制。此外,在上文描述的变型中,加热和冷却子系统150的一个或多个部分(例如,热主体等)可以包括有助于保持相应的盒(例如,试剂盒、样品加工盒等)就位的特征。

[0113] 在变型中,热主体和/或加热和冷却子系统150的其他部分中的一个或多个可以被耦接到致动器,该致动器将热主体移入和移出与由平台110支撑的元件的热连通;然而,系统100的变型可以省略加热和冷却子系统150的致动器。

[0114] 2.1.6平台支撑的元件:泵送子系统

[0115] 如图1A、图2B和图6A所示,系统100可以包括泵送子系统157(例如,其被耦接到平台110和/或基座180),所述泵送子系统157用于向上文描述的样品加工盒130的期望部分提供正压和/或负压。更详细地,泵送子系统157可以用于驱动流体从样品加工盒130的入口储器133流动并流入样品加工盒130的样品加工芯片132。另外地或可选择地,泵送子系统157可以用于从样品加工盒130的废物容纳区域137移除流体并进入外部废物容器。在变型中,泵送子系统157可以包括:一个或多个端口58(例如,真空端口),该端口58被配置为通过平台110中的开口与样品加工盒130接口;耦接到端口58一个或多个泵(例如,真空泵、蠕动泵等);一个或多个歧管,所述一个或多个歧管提供耦接到所述泵的压力驱动路径;一个或多个压力传感器,其被配置为检测沿着压力路径的压力水平;和/或一个或多个控制电路元件,其被配置为控制泵送子系统157的操作(例如,通过电耦接到下文更详细描述基座180的加工元件)。因此,在变型中,泵送子系统157的不直接耦接到样品加工盒130的部分可以位于平台110和基座180之间。

[0116] 在变型中,泵送子系统157的端口58可以被耦接(例如,物理连接、流体连接等)到



样品加工盒130的合适区域(例如,入口、孔等),并且可以另外地或可选择地被耦接到试剂盒120、系统100的另一流体路径或系统100的任何其他合适的部件。

[0117] 在第一具体实例中,如图2F和图6A所示,泵送子系统157包括泵59(例如蠕动泵),该泵59被布置在平台110和基座180之间,并且通过布置在样品加工盒130的基础基底131的底部宽表面处的耦接器在废物出口51处耦接到废物容纳区域,其中泵59可以通过相应地施加负压和/或正压在正向方向和反向方向抽吸流体通过样品加工芯片132。另外地或可选择地,泵送子系统157可以根据与下文更详细描述液位检测子系统159相关联的触发事件,以预定的压力(例如,-0.25psi或-1psi或-2.5psi)从入口储器133抽吸流体并通过样品加工芯片132。

[0118] 关于样品加工盒130和由开盖工具145施加的用于在关闭状态和打开状态之间转换盖135的力,上文在第2.1.4节中描述的保持元件可以提供保持力,该保持力平衡/抵消由开盖工具145施加的用于打开盖135的力,如上文所描述的。另外地或可选择地,泵送子系统157的一个或更多个部分可以将样品加工盒130保持就位,并提供保持力,该保持力平衡/抵消由开盖工具145施加的用于打开盖135的力,如上文所描述的。在具体的实例中,端口58可以与样品加工盒130耦接,以向开盖工具145提供反作用力。然而,系统110的其他部分可以另外地或可选择地提供反作用力。

[0119] 2.1.7平台支撑的元件:液位检测子系统

[0120] 如图1A、图2B和图9所示,系统100可以包括液位检测子系统159,该液位检测子系统159至少部分地由平台110支撑,并且被配置为与样品加工盒130接口。液位检测子系统159用于检测和/或测量与系统100的样品加工盒130和/或其他流体加工元件处的流体相关联的流体参数(例如,流体的二元存在、流体的体积、流体流量、流体类型等)。在变型中,液位检测子系统159可以包括耦接到液位控制电路的液位传感器63(例如,通过电耦接到下文更详细描述的基座180的加工元件)。

[0121] 液位传感器63的单元可以确定与样品加工盒130的入口储器133相关联的流体参数(例如,从入口储器流到微孔的流体)。液位传感器63的单元可以另外地或可选择地确定与样品加工盒130的出口相关联的流体参数(例如,从微孔流到出口的流体、从出口流到废物容纳区域的流体等)。液位传感器63的单元可以另外地或可选择地确定与样品加工盒130的废物容纳区域(例如,废物容纳区域中的流体的体积)相关联的流体参数,或任何其他合适的流体参数。液位传感器63可以包括以下中的任何一种或全部:光学传感器、压力传感器、温度传感器(例如,用于检测流体路径中某一温度的流体),或者被配置为检测在样品加工盒中的流体的存在并任选地确定与该流体相关联的值(例如,体积流量等)的任何其他合适的传感器。

[0122] 在第一变型中,该系统包括光学传感器63,该光学传感器63被配置为检测从入口转移到孔的集合的流体的存在。在实例中,红外(IR)发射器/检测器对用于确定样品加工盒130的入口储器133处流体的存在和被转移的流体的体积(例如,进一步基于流体存在的持续时间)。

[0123] 在图2B和图9所示的具体实例中,液位检测子系统159包括IR发射器63a,该IR发射器63a跨过样品加工盒130的入口储器133与IR检测器63b移位并与之相对,其中IR发射器63a和IR检测器63b被配置为定位在样品加工盒130的基础基底131的下侧内部部分中,以使

IR辐射穿过入口储器133的孔和内部体积,从而能够实现液位检测。然而,液位传感器63的变型可以以另一种合适的方式配置。

[0124] 2.1.8平台支撑的元件:分离系统 and 操作模式

[0125] 如图1A、图2B和图10A-图10C所示,系统100可以包括分离系统160,其用于促进靶材料与非靶材料的分离(例如,使用磁力、使用其他力)。在变型中,分离系统160可以包括在标题为“System and Method for Target Material Retrieval from Microwells”并且于2019年6月26日提交的美国申请62/866,726中描述的部件的实施方案、变型和实例,该美国申请通过该引用以其整体并入本文。然而,分离系统160的变型可以另外地或可选择地包括其他部件。

[0126] 在一个变型中,如图10A-图10C所示,分离系统160可以包括第一主体161和磁性远端区域163,该第一主体161包括到下面描述的台架170的流体加工子系统(例如,移液器接口)的接口162,该磁性远端区域163被配置为提供用于靶材料分离的磁力。在该变型中,磁性远端区域163可以被配置为与上文描述的磁性套筒1410的(例如,工具容器140的)一个或更多个单元耦接,其中磁性套筒1410可以是一次性元件。此外,接口162可以被配置为耦接到移液头,所述移液头被耦接到下面更详细描述在台架170,以便于通过磁力、流体抽吸和/或由移液头提供的流体递送操作来回收靶材料或非靶材料。这样,系统100可以包括分离模式,在分离模式中,台架170在样品加工盒130和试剂盒120之间传送耦接到磁性套筒1410的第一主体161,用于从样品中磁性分离靶材料。此外,使用分离系统160实现的方法的实施方案可以产生靶材料的快速回收,其中回收效率>90%,其中仅回收与样品的靶材料(或非靶材料)耦接的磁性颗粒。分离系统160因此可以用于产生增加的选择性回收效率,因此可以降低关于加工试剂和其他材料成本(由于所需的减少的体积的,由于生物化学反应中减少的分裂)的下游成本和加工负担。

[0127] 如图10A所示,第一主体161可以包括到下面描述的台架170的流体处理子系统的接口162,其中该接口包括与流体处理子系统的对应耦接区域互补的耦接区域。接口162的耦接区域可以通过以下来操作:磁耦接机构;压配合;卡扣配合、螺纹机构;凸出-凹入连接件;或者用于提供与流体处理子系统的可逆耦接的另一种合适的机构。

[0128] 第一主体161的磁性远端区域163可以包括用于提供永磁体的材料或者由用于提供永磁体的材料组成,或者可以可选择地被配置为电磁体(例如,通过与系统100的合适的电子器件耦接)。在变型中,磁性远端区域163可以由以下中的一种或多种组成:铝镍钴、钕、钕铁硼、钕、铁氧体和任何其他合适的磁性材料。在形态上,磁性远端部分163可以补充磁性套筒1410的形态,使得磁性套筒1410的单元可以与磁性远端部分耦接(例如,可逆地耦接)。此外,磁性远端部分163的形态和磁极配置使得几乎正常的磁力被施加到大部分靶微孔,从这些微孔中去除截留的颗粒。

[0129] 磁性套筒1410可以包括第一区域1410a,该第一区域1410a被配置为例如通过进入区域134与样品加工芯片132接口,以便能够从样品加工芯片132转移材料。磁性套筒1410还可以包括用于与第一主体161的磁性远端部分163耦接的第二区域1410b,以及从第一区域穿过到第二区域的内部空腔1410c。磁性套筒1410用于提供将第一主体163与样品加工芯片132的物理接触孔或其他敏感材料分开的结构,并且支持将磁场施加到期望的区域以用于回收靶材料(或非靶材料)。磁性套筒1410还可以通过用作在系统100的使用之间可以丢弃

的一次性部件来防止样品交叉污染。

[0130] 磁性套筒1410可以是具有内部空腔1410c的形态上的棱柱形,其中磁性套筒1410沿着其纵向轴线的横截面由多边形周界、椭圆形周界、无定形周界或任何其他合适形状(例如,封闭形状、开放形状)的边界界定。磁性套筒1410的横截面可以与样品加工芯片132的微孔区域的覆盖区的形状互补,但是也可以不与对应于样品加工芯片132的形状互补。磁性套筒1410优选地具有支持磁力从磁性远端部分163施加到与磁性套筒1410的第一区域1410a接口的样品加工芯片132的壁厚度。壁厚度沿着适配器210的长度可以是恒定的或非恒定的。在实例中,壁厚度可以在从0.2至3mm厚的范围内;然而,在其他实例中,壁厚度可以具有任何其他合适的厚度。接收磁性颗粒的磁性套筒1410的表面被制成光滑的(比如说表面光洁度比SPIB1好),使得小的磁性颗粒(1-3微米)在珠捕获到其表面上并随后释放到另一个容器期间不被截留在表面中。

[0131] 磁性套筒1410可以另外地或可选择地包括能够实现分离系统160的分离操作模式的结构特征。例如,关于磁性套筒1410从移液头的释放(在下面更详细地描述),磁性套筒1410可以包括突起1410d,该突起1410d被配置为允许另一个对象(例如套筒剥离工具165)提供抵靠突起1410d的力,以从第一主体161释放磁性套筒1410。

[0132] 如上文所描述的,磁性套筒1410在第一区域1410a处耦接到样品加工芯片132的通过进入区域134暴露的区域,以便于将磁力施加到该区域,并且使得能够将材料(例如,耦接到磁性颗粒的靶材料或非靶材料)拉入到磁性套筒1410中用于进一步的下游加工。磁性套筒1410因此可以在第一区域1410a处包括密封件,以便于用于将靶材料从样品加工芯片132拉入到磁性套筒1410中的机构。密封件可以是单独的元件或与磁性套筒1410集成的元件。然而,磁性套筒1410可以省略第一区域1410a处的密封件。

[0133] 磁性套筒1410可以由聚合物材料(例如,塑料)构成,该聚合物材料在操作期间不会不利地影响由磁性远端部分163施加的磁场。磁性套筒1410可以另外地或可选择地包括为磁性的材料(例如,金属材料)(例如,包括为磁性的材料(例如,金属材料)的颗粒)或为磁性的材料(例如,金属材料)构成,或者可以产生感应磁场以支持使用系统100的应用。磁性套筒1410可以另外地或可选择地由任何其他合适的材料构成。相对于样品加工芯片132的捕获区域处的期望的磁效应,磁性套筒1410的材料的分布在适配器的主体中可以是均匀的或非均匀的。磁性套筒1410的内部空腔1410c可以包括介质(例如,磁性介质等),或者可以可选择地不包括任何介质。

[0134] 如图1A、图2B和图11A-图11B所示,在变型中,分离系统160可以包括磁体子系统166,该磁体子系统166包括在壳体168内的磁体的集合167,其中磁体子系统166还包括磁体致动器169,该磁体致动器169被配置为相对于平台110移动磁体的集合167(例如,穿过平台110中的开口),并且与上文描述的试剂盒120的一个或更多个分离储器129对齐/不对齐。磁体致动器169也可以被耦接到下面更详细地描述的控制电路(例如,在基座180处)。此外,磁体致动器169可以被配置为在缩回状态和伸展状态之间转换磁体的集合,其中在伸展状态,磁体的集合进入平台的第一区域(例如,如图11A和图11B所示)。这样,分离系统160还可以包括由平台110和/或基座180支撑的元件,以便能够实现用于将靶材料与非靶材料分离的操作。

[0135] 在变型中,磁体的集合167可以包括一个或更多个永磁体和/或电磁体(例如,通过

耦接到系统100的合适的电子器件)。永磁体可以由以下中的一种或更多种构成:铝镍钴、钕、钕铁硼、钐钴、铁氧体和任何其他合适的磁性材料。

[0136] 在图11A-图11B所示的实例中,磁体的集合167可以包括以线性阵列布置的磁体的第一子集167a(例如,用于在试剂盒120处执行纯化操作),其中磁体的第一子集167a的位置对应于用于颗粒分离/纯化的第五域125'的体积的位置,如上文关于试剂盒120'和下文关于第3节中的工作流程所描述的。在图11A-图11B所示的实例中,磁体的集合167还包括磁体的第二子集167b(例如,一个或更多个磁体),该第二子集从与磁体的第一子集167a相关联的轴线移位或以其他方式偏离该轴线,以便与试剂盒120的分离储器129a接口(例如,用于初始珠回收)。然而,关于提供与试剂盒120或其他盒的分离储器129的适当接口,磁体的集合167可以以另一种合适的方式(例如,关于分布式阵列、关于数量等)被布置。

[0137] 壳体168用于包围磁体的集合167,并提供与使磁体的集合167转变成与试剂盒120的对应部分对齐/不对齐相关的平滑操作。因此,如图11B所示,关于存在磁体的第一子集167a和磁体的第二子集167b的配置,壳体168可以包括追踪磁体的第一子集167a的第一表面(例如,第一平坦表面)和追踪磁体的第二子集167b的第二表面(例如,第二平坦表面),其中第一表面168a和第二表面168b彼此成角度远离。在该变型中,一对相对的壁可以从第一表面和第二表面延伸,以便促进壳体168和磁体通过平台110的平滑操作(例如,滑动操作),以便与试剂盒120接口。

[0138] 关于试剂盒120',如图3A和图11B所示,被配置用于磁分离的试剂盒120的容积可以各自包括平坦表面128a,或者在被配置为在操作期间(例如,在伸展磁体状态下)在最靠近壳体168的侧处与壳体168互补的其他表面。此外,被配置用于磁分离的试剂盒120的容积可以各自包括远离壳体168移位的第二表面128b(例如,弯曲的表面),用于通过耦接到下面描述的台架170的移液器抽吸和/或递送流体。通过试剂盒120的分离容积/储器129纵向截取的横截面可以进一步朝向试剂盒120的基座逐渐变细,使得分离操作需要较低体积的流体和/或提供更有效的靶与非靶材料的抽吸和分离。

[0139] 如图12A至图12J所示,分离系统160可以提供用于材料分离的一系列操作模式,其中,如图12A所示,操作模式涉及以下的特定系统结构配置:与移液头或其他可致动部件(例如,关于下面的台架170描述的)耦接的第一主体161,第一主体具有磁性远端区域163、磁性套筒1410、套筒剥离工具165、分离储器129和上文描述的磁体的集合167中的磁体167b。

[0140] 更详细地,如图12B所示,分离系统160可以提供第一操作模式164a,其中第一操作模式164a是基线操作模式,在基线操作模式中,第一主体161与移液器接口或其他可致动部件(例如,关于下面的台架170描述的)脱离,并且第一主体161的磁性远端区域163与磁性套筒1410脱离。磁性套筒1410被套筒剥离工具165进一步保持在分离储器129上方(或在变型中,在另一位置),并且磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0141] 如图12C所示,分离系统160可以提供第二操作模式164b,其中第二操作模式164b是初始化操作模式,在该初始化操作模式中,第一主体161与移液器接口或其他致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且第一主体161的磁性远端区域163与磁性套筒1410脱离。磁性套筒1410由套筒剥离工具165进一步保持在分离储器129上方,并且

磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0142] 如图12D所示,分离系统160可以提供第三操作模式164c,其中,在第三操作模式164c中,第一主体161与移液器接口或其他致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并移动到与分离储器129对齐。在第三操作模式164c中,第一主体161的磁性远端区域163在磁性套筒1410的保持位置与分离储器129上方的磁性套筒1410耦接。在第三操作模式164c中,磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0143] 如图12E所示,分离系统160可以提供第四操作模式164d,其中,在第四操作模式164d中,第一主体161与移液器接口或致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且第一主体161的磁性远端区域163与分离储器129上方的磁性套筒1410耦接。在第四操作模式164d中,移液头(或其他可致动部件)将第一主体161和磁性套筒1410移出由套筒剥离工具165提供的保持位置,以准备将材料(例如,来自样品加工盒的功能化颗粒)提取和/或将材料从耦接到第一主体和磁性套筒的移液接口递送到分离储器129中。在第四操作模式164d中,磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0144] 如图12F所示,分离系统160可以提供第五操作模式164e,其中,在第五操作模式164e中,第一主体161与移液器接口或致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且第一主体161的磁性远端区域163与分离储器129上方的磁性套筒1410耦接。在第五操作模式164d中,移液器接口(或其他可致动部件)将流体从移液头递送到分离储器129中,并且将仍然与第一主体161耦接(并且耦接到功能化的颗粒)的磁性套筒1410浸没在分离储器129中的流体内。在第五操作模式164e中,磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0145] 如图12G所示,分离系统160可以提供第六操作模式164f,其中,在第六操作模式164f中,第一主体161与移液器接口或致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且第一主体161的磁性远端区域163与分离储器129上方的磁性套筒1410耦接。在第六操作模式164f中,移液器接口(或其他可致动部件)将仍然与第一主体161耦接的磁性套筒1410移回到套筒剥离工具165处的保持位置中,并且将磁性套筒1410(仍然与功能化的颗粒耦接)浸没在分离储器129中的流体内。在第六操作模式164f中,磁体167b远离分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169)。

[0146] 如图12H所示,分离系统160可以提供第七操作模式164g,其中,在第七操作模式164g中,第一主体161与移液器接口或致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且第一主体161的磁性远端区域163与分离储器129上方的磁性套筒1410耦接。在第七操作模式164g中,仍然与第一主体161耦接的磁性套筒1410处于套筒剥离工具165处的保持位置,并且磁性套筒1410(具有功能化的颗粒)被浸没在分离储器129中的流体内。在第七操作模式164g中,磁体167b朝向分离储器129移动(例如,通过上文描述的磁体致动器169),以准备将耦接到流体的功能化的颗粒的靶材料或非靶材料吸引和保持靠在分离储器129的壁128a上。

[0147] 如图12I所示,分离系统160可以提供第八操作模式164h,其中,在第八操作模式164h中,第一主体161与移液器接口或致动器接口6(例如,关于下面的台架170描述的)耦接,并且被移动远离分离储器129,以从上文描述的工具容器中移除并用合适的尖端替换。在第八操作模式164h中,通过使移液头移动第一主体161远离磁性套筒1410,同时将磁性套

筒1410保持在套筒剥离工具165处的适当位置,第一主体161的磁性远端区域163与分离储器129上方的磁性套筒1410脱离。在第八操作模式164h中,磁性套筒1410被浸没在分离储器129中的流体内。在第八操作模式164h中,磁体167b仍然被定位成邻近分离储器129(例如,通过上文描述的磁体致动器169),用于将耦接到流体的功能化的颗粒的靶材料或非靶材料保持靠在分离储器129的壁128a上。在第八操作模式164h中,磁体167b朝向分离储器129的底部抽吸靶材料(例如,用于稍后由移液器从底部提取,用于在移液器抽吸未被磁体167b束缚的材料时保持)。

[0148] 如图12J所示,分离系统160可以提供第九操作模式164i,其中,在第九操作模式164i中,移液头/致动器接口6与合适的尖端耦接,并移动到分离储器129中,以从分离储器129中抽吸材料。在第九操作模式164i中,磁性套筒1410仍然在套筒剥离工具165处被保持在分离储器129上方的位置,并被浸没在分离储器129中的流体内。在第九操作模式164i中,磁体167b(例如,通过上文描述的磁体致动器169)与通过移液头抽吸材料相协调地远离分离储器129移动。

[0149] 图13A至图13D描绘了关于上文描述的操作模式的磁性套筒1410相对于试剂盒120的分离储器129的套筒剥离工具165的配置的另外的视图。

[0150] 然而,分离系统160的变型可以包括元件,并且基于以下中的一个或多个提供靶材料回收的操作模式:重力、浮力、离心力、化学分离和/或任何其他合适的分离方法。在又另一种实施方案中,通过分离系统160的靶材料回收操作可以用于将靶颗粒从微孔芯片转移到另一基底或另一新的、空的微孔芯片,同时保持被转移的不同颗粒的相对空间位置。

## [0151] 2.2系统-台架

[0152] 如图1A-图1B、图2A和图2C-图2F所示,系统100可以包括耦接到平台110的台架170,台架170用于支持和/或实现一个或多个工具的致动,用于沿着轴线的集合与平台110的元件进行各种接合。在变型中,台架170提供一个或多个轨/轨道,用于在三维空间(例如,由平台的第一侧界定的三维容积)中移动工具,例如具有下文描述的移液器接口的移液器174。在变型中,使用台架170致动的工具可以相对于样品加工盒130、试剂盒120、工具容器140或其他元件移动,用于材料(例如细胞、试剂、颗粒等)跨过由平台110支撑的不同部件的转移。另外地或可选择地,由台架170支撑的工具可以用于读取与由平台110支撑的各种一次性物品相关联的条形码(例如,关于识别运行的正确设置、关于库存管理等)。台架170优选地能够使一个或多个工具沿着平行于试剂盒120、样品加工盒130和工具容器140的宽表面的一个或多个轴线(例如,图2A所示的X和Y轴)移动,并且另外沿着垂直于宽表面的轴线(例如,图2A所示的Z轴)移动。台架170可以另外地或可选择地能够沿着这些方向的子集或沿着任何其他合适的方向移动。为了能够实现移动,台架170包括或以其他方式耦接到一个或多个马达(例如,用于每个轴或移动方向的马达)、一个或多个用于在每个轴或移动方向的位置识别的编码器、和/或一个或多个用于控制台架170的开关(例如,用于每个轴的光学开关)(例如,其中开关与下面关于基座180描述的控制电路电耦接)。

[0153] 在第一变型中(例如,如图2A-图2B和图2D-图2F所示),台架170包括三维轨道组件(X-Y-Z轨道组件),所述三维轨道组件包括用于工具沿着X轴移动的X轨171、用于工具沿着Y轴移动的Y轨172和用于工具沿着Z轴移动的Z轨173。在图2A所示的变型中,X轨171与Y轨172

耦接并沿着Y轨172滑动,Z轨173与X轨171耦接并沿着X轨171滑动;然而,在其他变型中,X轨171、Y轨172和Z轨173可以以另一种合适的方式彼此耦接和接合。在图2A所示的变型中,台架170被配置为使用X轨171和Y轨172移动工具,使其与平台110的元件对齐,并且被配置为使用Z轨173移动工具,用于接近平台的元件(例如,试剂盒120的部分、样品加工盒130的元件、工具容器140的工具等)。在一些变型中,台架170可以被配置为返回到停放位置(例如,一旦方案完成,当系统关闭时,在盖打开之前等),其中停放位置允许用户接近平台的适当区域(例如,用于再填充尖端、用试剂填充管、移除微孔盒等)。然而,台架170可以具有另一个合适的基线位置。台架170的多种操作模式将结合下文第3部分的工作流程进一步描述。

#### [0154] 2.2.1台架-移液器

[0155] 如图2A所示,台架170可以包括移液器174和/或可以被配置为与移液器174接口,移液器174用于保持、移动和/或以其他方式与任何数量的尖端或其他工具接口,例如上文描述的工具容器140的尖端或其他工具。在变型中,移液器174组件可以包括以下中的一种或更多种:用于为流体的递送和抽吸提供压差的泵(例如,排量泵)、用于感测吸移压力的压力传感器、用于感测移液器174内的液位的液位传感器、尖端检测器(例如,用于实现确定耦接到移液器174的尖端是否存在)以及耦接到尖端排出器以用于从移液器174移除尖端的尖端排出马达。如图2A所示,移液器174可以被耦接到台架170的Z轨173;然而,在其他变型中,移液器174可以另外地或可选择地被耦接到台架170的其他部分。

[0156] 移液器174优选地以自动化方式(例如,机动化、机械化、自动操作等)是可操作的并且可以被配置为控制以下预定参数中的任何一种或全部:体积(例如,分配精确体积、抽吸精确体积)、每种材料被分配的孔上方的高度(例如,引发缓冲液被分配在每个孔顶部上方0.25毫米和0.3毫米之间,细胞悬浮液被分配在每个孔顶部上方0.25毫米的高度等),或者可以根据任何合适的参数控制任何其他合适的属性。另外地或可选择地,移液器174可以被配置为以手动方式(例如,根据用户,在用户干预下,由用户握持和使用等)或以任何合适的方式操作。在又另一种实施方案中,移液器174可以用于拾取与工具容器相关联的一个或多个工具,例如以下工具中的任何一种或全部:机械工具、磁性工具、光学工具和任何其他合适的工具。工具可以由移液器174移动到试剂盒和/或微孔盒,使得工具可以相对于试剂盒或微孔盒的特定内容物执行特定的机械功能/磁性功能和/或光学功能。

#### [0157] 2.2.2台架-其他工具

[0158] 此外,台架170可以包括或支撑一个或多个上面关于其他元件描述的工具。例如,台架170可以与开盖工具145的单元(在图2B中示出)耦接,用于在打开状态和关闭状态之间转换样品加工盒130的盖135。台架170可以另外地或可选择地与磁头致动器175(其在图2B中示出)耦接,该磁头致动器175与上文描述分离系统160相关联(例如,关于具有磁性远端区域163的第一主体161的致动),用于将靶材料与非靶材料分离。

[0159] 在一些变型中,台架170可以直接或间接地与相机176(例如,与灯耦接的相机)耦接,相机176用于能够实现与由平台110支撑的多种一次性物品相关联(例如,关于识别运行的正确设置,关于库存管理等)的标签(例如,条形码)的读取。另外地或可选择地,相机176可以包括用于传输图像数据的功能,该图像数据捕获平台110处的元件的配置,而不读取特定的标签。如图2A和图2F所示,相机176可以通过上文描述的移液器174被耦接到Z轨173,使得相机176具有与移液器174对齐的对象相关联的视野。然而,相机176的运动可以可选择地

与移液器174脱离,使得相机176可以独立于移液器174移动。在变型中,相机176可以包括在以上通过引用并入的申请中描述的部件。相机图像还可以用作台架170和/或其部件(例如,移液器、工具等)到达所需位置的精确移动的附加反馈机构,从而显著地提高运动系统的准确度和精度(例如,达到小于100微米、小于50微米、小于25微米、小于10微米、小于5微米、小于1微米等)。

[0160] 另外地或可选择地,如图1A和图1B所示,台架170可以包括用于监控系统100的环境或其他参数的多种传感器。例如,在变型中,传感器可以包括以下中的一种或更多种:温度传感器、湿度传感器、压力传感器、光学传感器、振动传感器和其他合适的传感器。然而,传感器可以以另一种合适的方式相对于系统100定位(例如,与台架170脱离、被定位在平台110处、被定位在基座180处等)。

[0161] 2.3系统基座

[0162] 如图1A所示,系统100可以包括基座180,其用于支持与上文描述的平台110和台架170的元件相关联的控制和加工架构。在变型中,基座180可以支持用于一个或多个系统功能的控制和加工架构,其包括:用于整个样品加工盒130和/或移液器174的流体递送的压力修改;液位感测(例如,在样品加工盒130处、在移液器174处、在试剂盒120的多种存储容积处等);样品加工盒130的盖打开机构的致动;试剂盒120和/或样品加工盒130的热循环和/或其他加热功能;试剂盒120和/或样品加工盒130的冷却功能;分离功能(例如,洗脱、磁分离、其他分离等);用于控制台架170的功能;涉及接收传感器信号和返回输出的功能;涉及接收传感器信号和执行多种动作的功能;用于在多种状态(例如,打开状态、关闭状态、锁定状态、解锁状态等)之间转换系统门的功能;与系统功率管理相关联的功能;与系统状态指示元件(例如,灯、音频输出装置、视觉输出装置等)相关联的功能;与系统输入装置(例如,按钮、键盘、小键盘、鼠标、操纵杆、开关、触摸屏等)相关联的功能;与显示装置相关联的功能;与系统数据存储装置相关联的功能;与系统传输装置(例如有线传输装置、无线传输转折等)相关联的功能;和其他合适的功能。

[0163] 在变型中,基座180因此可以支撑与加工架构相关联(例如,在系统上、与系统分离等)的电子子系统(例如,PCB、功率源、通信模块、编码器等),或者任何其他合适的部件,其中加工架构可以包括以下中的任何一种或全部:处理器(例如,微处理器)、控制器(例如,微控制器)、存储器、存储装置、软件、固件或任何其他合适的部件。此外,加工子系统可以包括机器视觉模块,其用于读取标签、验证方案、执行误差检测(例如,检测该试剂与分配的方案不匹配)或执行任何其他功能。

[0164] 例如,在示例性的操作流中,操作员可以启动方案的执行(例如,通过按下系统的按钮,通过与系统的触敏显示器接口来进行选择等)。条形码读取器通过扫描平台元件(例如,试剂盒、样品加工盒、工具容器等)的标签并与由用户选择的方案进行比较来执行误差检测方案;如果标签与所选的方案不匹配,则可以向用户发送通知,并且如果标签正确,则可以开始方案。此时,可能不再需要操作员。根据一个或多个工作流,其中一些在下面的第3节中描述,正确的材料(例如,试剂/样品)的类型和体积在正确的时间以自动化方式被添加到样品加工盒中或从样品加工盒中移除。一旦方案完成,操作员可以根据需要继续收集和/或加工微孔盒的内容物,和/或继续建立新的运行。由系统100实现的方法和工作流的变型在下面进一步描述。



[0165] 控制和加工架构的实施方案、变型和实例在以下申请中进一步描述：2018年7月27日提交的美国申请第16/048,104号；2018年7月30日提交的美国申请第16/049,057号；2017年9月29日提交的美国申请第15/720,194号；2017年2月13日提交的美国申请第15/430,833号；2017年11月22日提交的美国申请第15/821,329号；2017年10月12日提交的美国申请第15/782,270号；2018年7月30日提交的美国申请第16/049,240号；2017年11月16日提交的美国申请第15/815,532号；2018年8月28日提交的美国申请第16/115,370号、2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号和2020年3月12日提交的美国申请第16/816,817号，如在上面通过引用并入。

[0166] 2.4系统-平台、台架和基座之间的功能耦接

[0167] 在变型中，系统的平台110、台架170和基座180可以功能性地耦接以提供多种功能。根据多种操作模式，功能耦接可以是机电的、机械的、电气的、磁的、气动的、流体的、光学的和/或其他耦接方式。图14A-图14C描绘了如下面描述的系统的变型的功能耦接。

[0168] 图14A描绘了平台110、台架170和基座180的多种元件之间的机械连通、电气连通、气动连通、光学连通和磁连通的实例。更详细地，如图14A所示，台架170支撑与致动相关联的元件，该元件包括与上文描述的Z轨173相关联的Z轴臂801、3轴台架马达802、3轴编码器803、3轴光学开关804、磁性致动器805和开盖工具806。台架170还支撑移液元件，所述移液元件包括：移液器174、排量泵808、移液器尖端检测器809、移液器尖端排出马达810、水平传感器811和压力传感器812。台架170还支撑相机和灯176以及包括温度传感器和湿度传感器的传感器的集合814。如图14A所示，平台110支撑样品加工盒130、试剂盒120和工具容器140（包括工具的集合865）。如图14A所示，基座180支撑第一计算子系统815、一个或多个接口板816和台架控制电路817。在图14A中，平台110、台架170和基座180的多种元件之间的机械连通、电气连通、气动连通、光学连通和磁连通用多种线类型来描述。

[0169] 图14B描绘了平台110和基座180的多种元件之间的机械连通、流体连通、磁连通和气动连通的实例。更详细地，如图14B所示，平台110支撑试剂盒120，试剂盒120包括：用于环境试剂和功能珠818的存储容积，用于接收原始样品820的样品存储容积819，用于储存冷冻试剂和/或样品加工结果的存储容积821，用于分离颗粒和相关联的分离储器822的存储容积的集合，和用于PCR的存储容积823的集合，以及相关联的PCR覆盖物824；工具容器140，其包括工具的集合（例如移液器尖端）825；样品加工盒130；和平台工具826的集合，其包括加热器头827、吸头828和磁头829。如图14B所示，元件的集合使平台110与基座180接口，其中该元件的集合可以包括以下中的一个或多个：真空端口830、挤压致动器831、样品加工盒热主体832（被配置为与样品加工盒130的微孔区域或样品加工盒130的其他区域匹配）、第一试剂盒热主体833（被配置为在第一区域111处与试剂盒120的域匹配，用于冷冻试剂）、第二试剂盒热主体834（配置为在第一区域111处与试剂盒120的域匹配，用于PCR热循环）、液位传感器836和用于分离工艺的磁体835。在图14B中，平台110和基座180的多种元件之间的机械连通、流体连通、磁性连通和气动连通用多种线类型描绘。

[0170] 图14C描绘了平台110和基座180的多种元件之间的电连通的实例。更详细地，如图14C所示，平台110支撑样品加工盒130；试剂盒120，其包括：用于储存冷冻试剂和/或样品加工结果的存储容积821、用于分离颗粒和相关联的分离储器的存储容积的集合822、以及用于PCR的存储容积的集合823和相关联的PCR覆盖物；和平台工具826的集合，其包括加热器

头827。如图14C所示,元件的集合使平台110与基座180接口,其中该元件的集合可以包括以下中的一种或更多种:真空端口830、挤压致动器831、样品加工盒热主体832、第一试剂盒热主体833、第二试剂盒热主体834、用于分离过程的磁体835和液位传感器836。

[0171] 更详细地,真空端口830被耦接到泵送子系统837,该泵送子系统837包括排气阀歧管838和压力传感器839。样品加工盒热主体832被耦接到加热和冷却子系统的热循环器840,其包括加热器841(例如,珀尔帖加热器、热电偶、散热器和风扇)和热控制电路842。第一试剂盒热主体833被耦接到加热和冷却子系统的冷却装置843,其包括冷却元件844(例如,珀尔帖冷却器、热电偶、散热器和风扇)和热控制电路845。第二试剂盒热主体834被耦接到加热和冷却子系统的加热装置(例如,用于车载PCR),其包括第一加热器846(例如,珀尔帖加热器、热电偶、散热器和风扇)、耦接到散热器的第二加热器847、和热控制电路848。磁体835被耦接到磁体致动器849。最后,液位传感器836被耦接到液位控制器850。

[0172] 如图14C所示,基座180还支撑第一计算子系统815、一个或更多个接口板816、扬声器851、门锁元件852(与门磁体853接合以提供门90的操作模式,如上文所描述的)、耦接到耦接到AC干线856的电源855的电源入口854、电源开关857、指示灯858(例如,用于电源/接地效果)、排气扇859、端口的集合(例如,包括以太网端口860和USB端口861)和显示器862(例如,触摸屏显示器)。基座的元件还可以与系统外附件(例如,输入装置863、存储装置864)接合。在图14C中,平台110和基座180的多种元件之间的电连通用多种线类型来描绘。

[0173] 3. 方法

[0174] 如图15所示,用于样品加工的方法300的实施方案包括:将试剂盒、工具容器和样品加工盒定位在样品加工系统的平台上S310;通过在操作顺序中使用工具容器的工具在样品加工盒之间传送试剂盒的内容物S320;以及在样品加工盒和/或试剂盒处加工样品S330。另外地或可选择地,方法300可以包括在以下申请中描述的工艺中的任何一个或所有:2018年7月27日提交的美国申请第16/048,104号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,057号;2017年9月29日提交的美国申请第15/720,194号;2017年2月13日提交的美国申请第15/430,833号;2017年11月22日提交的美国申请第15/821,329号;2017年10月12日提交的美国申请第15/782,270号;2018年7月30日提交的美国申请第16/049,240号;2017年11月16日提交的美国申请第15/815,532号;2018年8月28日提交的美国申请第16/115,370号、2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号和2020年3月12日提交的美国申请第16/816,817号,这些美国申请各自通过该引用以其整体并入。

[0175] 该方法优选地通过上文描述的系统的实施方案、变型或实例来执行(例如,关于多种元件之间的内容的传输和/或样品加工),但是可以另外地或可选择地通过任何其他合适的系统来执行。该方法还优选地至少部分地自动化(例如,需要用户装载试剂和选择方案,不需要用户干预等),但是一个或更多个部分可以另外地或可选择地手动执行(例如,对于质量控制步骤、对于所有方案、对于罕见的方案等)。

[0176] 与上文描述的方法300和系统元件相关联的特定工作流程将在下面进一步详细描述,其中样品(例如,包括细胞衍生的材料、蛋白质、mRNA、蛋白质和mRNA的样品;包括多个样品的样品,每个样品都标记有复用条形码;包括来自细胞或非细胞衍生的生物标记物的包封颗粒的样品等)可以根据工作流程(例如下面第3.1至3.3节中的工作流程),然后通过文库制备工作流程(例如下面第3.4节中的工作流程)进行加工,接着是下一代测序(NGS)。

[0177] 3.1方法-用于mRNA合成/cDNA扩增的3'方案的示例性工作流程

[0178] 如图16所示,被配置用于mRNA合成/cDNA扩增的方法的变型300'可以包括:执行运行准备操作,其中运行准备操作配置用于执行mRNA合成/cDNA扩增方案的系统S305';在运行准备操作完成时,引发系统的样品加工盒S310';在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能性颗粒的集合S315';裂解该细胞的集合,随后用功能性颗粒(例如条形编码的微球)的结合从裂解的细胞释放的mRNA(例如,伴随相关地将任何未结合的mRNA从功能性颗粒洗涤掉)S320';执行逆转录操作;从样品加工盒中回收具有相关联的结合的靶内容物的功能性颗粒的集合S325';对与该功能性颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330';对一定体积的细胞衍生的内容物进行链变性和第二链合成操作S335';对一定体积的细胞衍生的内容物进行cDNA扩增操作S340';对cDNA扩增操作的PCR产物进行mRNA颗粒纯化操作S345';以及在完成mRNA颗粒纯化操作时执行运行完成操作S360'。

[0179] 更详细地,执行运行准备操作S305'可以包括与以下中的一个或多个相关联的子步骤:准备细胞悬浮液;初始化和执行系统子系统(例如,与平台相关联、与台架相关联、与基座相关联等)的操作检查;将台架返回到初始位置;从试剂盒中移除一个或多个密封件和/或将试剂装载到试剂盒上;定位样品加工盒单元;从定位在平台处的工具容器中移除一个或多个密封件;在使用前将细胞悬浮液分配到储存容器中;在用相机(例如,机器视觉相机)扫描一次性物品的标签时,验证方案的一次性物品的正确定位和状态(例如,关于到期日期);接收样品识别信息(例如,来自操作员);以及开始运行样品。S305'的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多种子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0180] 更详细地,在运行准备操作完成时引发系统的样品加工盒S310',并在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能性颗粒的集合S315'可以包括以下中的一个或多个:将引发溶液(例如,以防止气泡被截留在样品加工盒内的方式)分配到样品加工盒的入口储器中;在样品加工盒内孵育引发溶液;将一种或多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将细胞悬浮液分配到样品加工盒的入口储器中,并在样品加工盒的孔内以单细胞形式捕获细胞;将功能性颗粒的集合分配到样品加工盒的入口储器中,并共同捕获该功能性颗粒的集合与该细胞的集合;孵育样品加工盒的孔的内容物;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具(例如,通过耦接到移液器接口的台架)。步骤S310'和步骤S315'优选地由系统自动地执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多种子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0181] 更详细地说,在样品加工盒处,在存在功能性颗粒(例如条形编码的微球)的情况下,对细胞的集合的裂解物进行逆转录操作S320'可以包括以下中的一个或多个:将一种或多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将颗粒结合缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将DTT溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将裂解溶液分配到样品加工盒的入口储器中;用油置换样品加工盒的孔上方的流体,从而隔离孔的内容物并防止不希望的材料跨过孔转移(例如,如在2019年9月9日提交的第美国申请16/564,375号中,该申请通过该引用以其整体并入本文);用来自入口储器的空气置换油;将颗粒结合清洗缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将RT前反应洗涤缓

冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将cDNA合成溶液(例如,SuperScript IV™)分配到样品加工盒的入口储器中;将RT混合物分配到样品加工盒的入口储器中;孵育样品加工盒的内容物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S320' 优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多种子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0182] 更详细地说,从样品加工盒中回收具有相关联的结合的靶内容的功能化颗粒的集合S325' 可以包括使用手动操作或自动操作来执行磁分离操作(例如,如上文所描述的)。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复。

[0183] 更详细地说,与该功能化颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330' 可以包括以下中的一个或多个:混合水和核酸外切酶缓冲液以产生具有所需浓度的核酸外切酶溶液;将含有功能化颗粒的核酸外切酶溶液分配到第一PCR容器中;将油(例如矿物油)分配到第一PCR容器中;热循环和孵育第一PCR容器的内容物;提取第一PCR容器的产物;对第一PCR容器的产物进行分离操作;丢弃来自分离操作的废物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S330' 优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0184] 更详细地,执行链变性和第二链合成操作S335' 可以包括以下中的一个或多个:将氢氧化物溶液(例如,氢氧化钠溶液)转移到第二磁分离容器;混合第二磁分离容器的内容物;致动第二磁分离容器附近的磁分离系统(例如,耦接到致动器的磁体的集合,如上文所描述),从而朝向磁体分离功能化的磁性颗粒;丢弃来自第二磁分离容器的废物材料;将清洗溶液分配到第二磁分离容器中;在第二磁分离容器附近的处理容器中混合第二链合成引物酶;将第二链合成引物酶与第二磁分离容器的内容物混合;将第二磁分离容器的产物分配到第二PCR容器中;在混合的情况下将第二PCR容器的内容物热循环;将第二PCR容器的产物转移到第三磁分离容器;将第三磁分离容器的产物与废物磁分离并丢弃废物;将清洗溶液转移到第三磁分离容器;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S335' 优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0185] 更详细地,执行cDNA合成操作S340' 可以包括以下中的一个或多个:在冷的存储容积内混合聚合酶混合物(例如,Kapa Biosystems HiFi热启动就绪Mix™);将来自冷的存储容积的PCR主混合物与第三磁分离容器的内容物混合;将第三磁分离容器的内容物等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;将油(例如矿物油)等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;运行第三PCR操作;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S340' 优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0186] 更详细地,用cDNA扩增操作的PCR产物进行mRNA颗粒纯化操作S345' 可以包括以下中的一个或多个:将来自第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器的产物分配到第四磁分离容器中;将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP™)混合并转移到第四磁分离容器中;在第十磁分离容器中将乙醇用无核酸酶的水稀释并混

合;在孵育后,从第十磁分离容器中移除废物;将无核酸酶的水与第十磁分离容器的靶内容物混合;从第十磁分离容器中磁性分离靶mRNA-cDNA产物;将靶mRNA-cDNA产物从第十磁分离容器转移至冷的存储装置;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S345' 优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0187] 更详细地,在完成mRNA颗粒纯化操作时执行运行完成操作S360' 可以包括以下中的一个或更多个:将台架返回到初始配置;提供样品加工完成的通知;从系统中释放试剂盒和/或样品加工盒,用于非机载存储;丢弃系统废物;执行系统清洁操作;以及将系统转换到停用(例如,空闲、关闭)状态。S360' 的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0188] 方法300' 的步骤的示例性细节在附录A的表1中进一步描述。关于方法300' 的步骤,环境温度和冷冻试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录A的表2中描述。关于附录A的表2,试剂的体积可以根据所使用的样品加工芯片的尺寸和/或反应运行的次数来缩放。关于磁分离操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录A的表3中描述。关于扩增(例如,PCR)操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录A的表4中描述。关于流体抽吸和递送操作,设备以及与上文描述的工具容器的实施方案相关联的位置的描述在附录A的表5中描述。关于用于方案方面的自动化的部件的致动,台架臂和移液器操作(例如,关于与一次性装置耦接的设备、与一次性装置脱离的设备、流体混合、废物丢弃、抽吸、递送、等分等)在附录A的表6中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录A的表7中描述了样品加工盒操作。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录A的表8中描述了加热和冷却子系统操作模式。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录A的表9描述了磁分离系统的操作。关于扩增操作,在附录A的表10中描述了与方法300' 相关联的PCR程序细节。

[0189] 3.2方法-用于单细胞细胞术的示例性工作流程

[0190] 如图17所示,为单细胞细胞术配置的方法的变型300"可以包括:执行运行准备操作,其中运行准备操作配置用于执行单细胞细胞术方案的系统S305";在运行准备操作完成时,引发系统的样品加工盒S310";在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能性颗粒的集合S315";裂解该细胞的集合,随后将从裂解的细胞释放的抗体标记的寡核苷酸结合到功能性颗粒(例如条形编码的微球)S320"(例如,其中洗涤未结合的材料,并且然后进行逆转录操作);从样品加工盒中回收具有相关联的结合的靶内容物的功能性颗粒的集合S325";对该功能性颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330";对该体积的细胞衍生的内容物进行链变性和第二链合成操作S335";对该体积的细胞衍生的内容物进行cDNA扩增操作S340";对cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作S345";对颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合S350";对抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合的输出执行mRNA纯化和扩增操作的集合S355";以及在完成mRNA纯化和扩增操作的集合后执行运行完成操作S360"。

[0191] 更详细地,执行运行准备操作S305"可以包括与以下中的一个或更多个相关联的子步骤:准备细胞悬浮液;初始化和执行系统子系统(例如,与平台相关联、与台架相关联、

与基座相关联等)的操作检查;将台架返回到初始位置;从试剂盒中移除一个或更多个密封件和/或将试剂装载到试剂盒上;定位样品加工盒单元;从定位在平台处的工具容器中移除一个或更多个密封件;在使用前将细胞悬浮液分配到储存容器中;在用相机(例如,机器视觉相机)扫描一次性物品的标签时,验证用于方案的一次性物品的正确定位和状态(例如,相对于到期日期);接收样品识别信息(例如,来自操作员);以及开始运行样品。S305”的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0192] 更详细地说,在运行准备操作完成时引发系统的样品加工盒S310”以及在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能性颗粒的集合S315”可以包括以下中的一个或更多个:将引发溶液分配到样品加工盒的入口储器中;在样品加工盒内孵育引发溶液;将一种或多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将细胞悬浮液分配到样品加工盒的入口储器中,并在样品加工盒的孔内以单细胞形式捕获细胞;将功能性颗粒的集合分配到样品加工盒的入口储器中,并共同捕获该功能性颗粒的集合与该细胞的集合;孵育样品加工盒的孔的内容物;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S310”和S315”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0193] 更详细地说,在样品加工盒处通过裂解细胞的集合进行逆转录操作S320”可以包括以下中的一个或更多个:将一种或更多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将颗粒结合缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将DTT溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将裂解溶液分配到样品加工盒的入口储器中;用油置换样品加工盒的孔上方的流体,从而隔离孔的内容物并防止不期望的材料跨过孔转移(例如,如在2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号中,该申请通过该引用以其整体并入本文);用来自入口储器的空气置换油;将颗粒结合清洗缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将RT前反应洗涤缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将cDNA合成溶液(例如,SuperScript IV™)分配到样品加工盒的入口储器中;将RT混合物分配到样品加工盒的入口储器中;孵育样品加工盒的内容物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S320”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0194] 更详细地说,从样品加工盒S325”中回收具有相关联的结合靶的内容物的功能性颗粒的集合可以包括使用手动操作或自动操作来执行磁分离操作(例如,如上文所描述的)。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0195] 更详细地说,对该功能性颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330”可以包括以下中的一个或更多个:混合水和核酸外切酶缓冲液以产生具有所需浓度的核酸外切酶溶液;将含有功能性颗粒的核酸外切酶溶液分配到第一PCR容器中;将油(例如矿物油)分配到第一PCR容器中;热循环和孵育第一PCR容器的内容物;提取第一PCR容器的产物;对第一PCR容器的产物进行分离操作;丢弃来自分离操作的废物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S330”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0196] 更详细地,执行链变性和第二链合成操作S335”可以包括以下中的一个或多个:将氢氧化物溶液(例如氢氧化钠溶液)转移到第二磁分离容器中;混合第二磁分离容器的内容物;致动第二磁分离容器附近的磁分离系统(例如,耦接到致动器的磁体的集合,如上文所描述),从而朝向磁体分离功能化的磁性颗粒;丢弃来自第二磁分离容器的废物材料;将清洗溶液分配到磁分离容器中;在第二磁分离容器附近的加工容器中混合第二链合成引物酶;将第二链合成引物酶与第二磁分离容器的内容物混合;将第二磁分离容器的产物分配到第二PCR容器中;在混合的情况下,使第二PCR容器的内容物热循环;将第二PCR容器的产物转移到第三磁分离容器中;将第三磁分离容器的产物与废物磁分离并丢弃废物;将清洗溶液转移到第三磁分离容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S335”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0197] 更详细地,执行cDNA合成操作S340”可以包括以下中的一个或多个:在冷的存储容积内混合聚合酶混合物(例如,Kapa Biosystems HiFi热启动就绪Mix™);将来自冷的存储容积的PCR主混合物与第三磁分离容器的内容物混合;将第三磁分离容器的内容物等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;将油(例如矿物油)等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;运行第一PCR操作;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S340”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0198] 更详细地,用cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作S345”可以包括以下中的一个或多个:将来自第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器的产物分配到第四磁分离容器中;分离第四磁分离容器的靶内容物并将靶内容物传送到第五磁分离容器中;将PCR纯化颗粒(例如AMPure beads XP™)混合并转移到第五磁分离容器中;将第五磁分离容器的产物转移到第六磁分离容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S345”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0199] 更详细地,对颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合S350”可以包括以下中的一个或多个:将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP™)混合并转移到第六磁分离容器中;丢弃来自第六磁分离容器的废物;在加工容器中将乙醇用无核酸酶的水稀释并混合;将乙醇转移到第六磁分离容器中;在进行磁分离时,从第六磁分离容器中丢弃废物;将第六磁分离容器的靶内容物转移到第七磁分离容器中;将PCR纯化颗粒(例如AMPure beads XP™)混合到第七磁分离容器中;将乙醇转移到第七磁分离容器中;在进行磁分离时,丢弃来自第七磁分离容器的废物;将水分配到第七磁分离容器中;将纯化的cDNA从第七磁分离容器转移到第七PCR操作容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S350”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0200] 更详细地说,用抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合的输出执行mRNA纯化和扩增操作的集合S355”可以包括以下中的一个或多个:将PCR索引引物转移到第七PCR操作容器中;将聚合酶共混物转移到第七PCR操作容器中;混合第七PCR操作容器的内容物;将油

(例如矿物油)转移到第七PCR操作容器中;启动第二PCR操作;将PCR产物从第七PCR操作容器转移到第八磁分离容器;将PCR纯化颗粒(例如AMPure beads XP)转移到第八磁分离容器中;将乙醇转移到第八磁分离容器中;在进行磁分离时,丢弃来自第八磁分离容器的废物;将水分配到第八磁分离容器中;将纯化的cDNA从第八磁分离容器转移到储存容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S355”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0201] 更详细地,在完成mRNA纯化和扩增操作的集合后执行运行完成操作S360”可以包括以下中的一个或多个:将台架返回到初始配置;提供样品加工完成的通知;从系统中释放试剂盒和/或样品加工盒,用于非机载存储;丢弃系统废物;执行系统清洁操作;以及将系统转换到停用(例如,空闲、关闭)状态。S360”的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0202] 方法300”的步骤的示例性细节在附录B的表1中进一步描述。关于方法300”的步骤,在附录B的表2中描述了环境温度和冷冻试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述。关于附录B的表2,试剂的体积可以根据所使用的样品加工芯片的尺寸和/或反应运行的次数来缩放。关于磁分离操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录B的表3中描述。关于扩增(例如,PCR)操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录B的表4中描述。关于流体抽吸和递送操作,设备以及与上文描述的工具容器的实施方案相关联的位置的描述在附录B的表5中描述。关于用于方案方面、台架臂和移液器操作的自动化的部件的致动(例如,关于与一次性装置连接的设备、与一次性装置分离的设备、流体混合、废物丢弃、抽吸、递送、等分等)在附录B的表6中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,样品加工盒操作在附录B的表7中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,加热和冷却子系统操作模式在附录B的表8中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录B的表9中描述了磁分离系统的操作。关于扩增操作,与方法300”相关联的PCR程序细节在附录B的表10中描述。

[0203] 3.3方法-用于CITE-Seq方案的示例性工作流程(单细胞多组学)

[0204] 如图18所示,配置用于单细胞多组学的方法的变型300”可以包括:执行运行准备操作,其中运行准备操作配置用于执行单细胞多组学方案的系统S305” ;在运行准备操作完成时,引发系统的样品加工盒S310” ;在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能化颗粒的集合S315” ;在样品加工盒处,随着该细胞的集合的裂解,将来自裂解的细胞的mRNA和抗体标记的寡聚体结合到该功能化的颗粒的集合上,其中洗涤未结合的材料,随后进行逆转录反应S320” ;从样品加工盒中回收具有相关联的结合的靶内容物的功能化颗粒的集合S325” ;对与该功能化颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330” ;对该体积的细胞衍生的内容物进行链变性和第二链合成操作S335” ;对该体积的细胞衍生的内容物进行cDNA扩增操作S340” ;对cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作S345” ;对颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合S350” ;对抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合的输出执行纯化和扩增操作的集合S355” ;执行mRNA颗粒纯化和扩增操作的集合S360” 以及在完成mRNA纯化和扩增操作的集合后,执行运行完成操作S365” 。



[0205] 更详细地,执行运行准备操作S305”可以包括与以下中的一个或多个相关联的子步骤:准备细胞悬浮液;初始化和执行系统子系统(例如,与平台相关联、与台架相关联、与基座相关联等)的操作检查;将台架返回到初始位置;从试剂盒中移除一个或多个密封件和/或将试剂装载到试剂盒上;定位样品加工盒单元;从定位在平台处的工具容器上移除一个或多个密封件;在使用前将细胞悬浮液分配到储存容器中;在用相机(例如,机器视觉相机)扫描一次性物品的标签时,验证用于方案的一次性物品的正确定位和状态(例如,相对于到期日期);接收样品识别信息(例如,来自操作员);以及开始运行样品.S305”的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0206] 更详细地说,在运行准备操作完成时引发系统的样品加工盒S310”,并在样品加工盒处以单细胞形式共同捕获样品的细胞的集合和功能性颗粒的集合S315”可以包括以下中的一个或多个:将引发溶液分配到样品加工盒的入口储器中;在样品加工盒内孵育引发溶液;将一种或多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将细胞悬浮液分配到样品加工盒的入口储器中,并在样品加工盒的孔中以单细胞形式捕获细胞;将功能性颗粒的集合分配到样品加工盒的入口储器中,并将该功能性颗粒的集合与该细胞的集合共同捕获;孵育样品加工盒的孔的内容物;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S310”和步骤S315”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0207] 更详细地说,在样品加工盒处通过裂解细胞的集合S320”执行逆转录操作可以包括以下中的一个或多个:将一种或更多种清洗溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将溶液传送到样品加工盒的废物容纳区域;将颗粒结合缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将DTT溶液分配到样品加工盒的入口储器中;将裂解溶液分配到样品加工盒的入口储器中;用油置换样品加工盒的孔上方的流体,从而隔离孔的内容物并防止不期望的材料跨过孔转移(例如,如在2019年9月9日提交的美国申请第16/564,375号中,该申请通过该引用以其整体并入本文);用来自入口储器的空气置换油;将颗粒结合清洗缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将RT前反应洗涤缓冲液分配到样品加工盒的入口储器中;将cDNA合成溶液(例如,SuperScript IV™)分配到样品加工盒的入口储器中;将RT混合物分配到样品加工盒的入口储器中;孵育样品加工盒的内容物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S320优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0208] 更详细地说,从样品加工盒中回收具有相关联的结合的靶内容的功能性颗粒的集合S325”可以包括使用手动操作或自动操作来执行磁分离操作(例如,如上文所描述)。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0209] 更详细地,对与该功能性颗粒的集合相关联的一定体积的细胞衍生的内容物进行核酸外切酶处理操作S330”可以包括以下中的一个或多个:混合水和核酸外切酶缓冲液以产生具有所需浓度的核酸外切酶溶液;将含有功能性颗粒的核酸外切酶溶液分配到第一PCR容器中;将油(例如矿物油)分配到第一PCR容器中;热循环和孵育第一PCR容器的内容物;提取第一PCR容器的产物;对第一PCR容器的产物进行分离操作;丢弃来自分离操作的废

物;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S330”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0210] 更详细地,执行链变性和第二链合成操作S335”可以包括以下中的一个或多个:将氢氧化物溶液(例如氢氧化钠溶液)转移到第二磁分离容器;混合第二磁分离容器的内容物;致动第二磁分离容器附近的磁分离系统(例如,耦接到致动器的磁体的集合,如上文所描述),从而朝向磁体分离功能化的磁性颗粒;丢弃来自第二磁分离容器的废物材料;将清洗溶液分配到磁分离容器中;在第二磁分离容器附近的处理容器中混合第二链合成引物酶;将第二链合成引物酶与第二磁分离容器的内容物混合;将第二磁分离容器的产物分配到第二PCR容器中;在混合的情况下,使第二PCR容器的内容物热循环;将第二PCR容器的产物转移到第三磁分离容器;将第三磁分离容器的产物与废物磁分离并丢弃废物;将清洗溶液转移到第三磁分离容器;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S335”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0211] 更详细地,执行cDNA合成操作S340”可以包括以下中的一个或多个:在冷的存储容积内混合聚合酶混合物(例如,Kapa Biosystems HiFi热启动就绪Mix™);将来自冷的存储容积的PCR主混合物与第三磁分离容器的内容物混合;将第三磁分离容器的内容物等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;将油(例如矿物油)等分到第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器中;运行第一PCR操作;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S340”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0212] 更详细地,对cDNA扩增操作的PCR产物进行颗粒纯化操作S345”可以包括以下中的一个或多个:将来自第三PCR操作容器、第四PCR操作容器、第五PCR操作容器和第六PCR操作容器的产物分配到第四磁分离容器中;分离第四磁分离容器的靶内容物并将靶内容物传送到第五磁分离容器中;将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP™)混合并转移到第五磁分离容器中;将第五磁分离容器的产物转移到第六磁分离容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S345”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0213] 更详细地,对颗粒纯化操作的输出执行抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合S350”可以包括以下中的一个或多个:将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP™)混合并转移到第六磁分离容器中;丢弃来自第六磁分离容器的废物;在加工容器中将乙醇用无核酸酶的水稀释和混合;将乙醇转移到第六磁分离容器中;在进行磁分离时,丢弃来自第六磁分离容器的废物;将第六磁分离容器的靶内容物转移到第七磁分离容器中;将PCR纯化颗粒(例如AMPure beads XP™)混合到第七磁分离容器中;将乙醇转移到第七磁分离容器中;在进行磁分离时,丢弃来自第七磁分离容器的废物;将水分配到第七磁分离容器中;将纯化的cDNA从第七磁分离容器转移到第七PCR操作容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S350”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0214] 更详细地说,对抗体衍生的标签纯化和扩增操作的集合的输出执行纯化和扩增操作的集合S355”可以包括以下中的一个或多个:将PCR索引引物转移到第七PCR操作容器中;将聚合酶混合物转移到第七PCR操作容器中;混合第七PCR操作容器的内容物;将油(例如矿物油)转移到第七PCR操作容器中;启动第二PCR操作;将PCR产物从第七PCR操作容器转移到第八磁分离容器;将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP)转移到第八磁分离容器中;将乙醇转移到第八磁分离容器中;在进行磁分离时,丢弃来自第八磁分离容器的废物;将水分配到第八磁分离容器中;将纯化的cDNA从第八磁分离容器转移到储存容器中;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S355”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0215] 更详细地说,执行mRNA颗粒纯化和扩增操作的集合S360”可以包括以下中的一个或多个:将无核酸酶的水转移到第五磁分离容器中,进行混合和孵育;将第五磁分离容器的产物转移到第九磁分离容器;将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP<sup>TM</sup>)混合并转移到第九磁分离容器中;将乙醇转移到第九磁分离容器中;在孵育后,从第九磁分离容器中除去废物;将无核酸酶的水与第九磁分离容器的靶内容物混合;混合和孵育第九磁分离容器的内容物;将纯化的cDNA产物从第九磁分离容器转移到第八PCR操作容器;将用于mRNA扩增的PCR主混合物转移到第八PCR操作容器中;混合第八PCR操作容器的内容物;将聚合酶混合物(例如,Kapa Biosystems HiFi热启动就绪混合物)转移到第八PCR操作容器中;混合第八PCR操作容器的内容物;将油(例如矿物油)转移到第八PCR操作容器中;在第八PCR操作容器内进行第三PCR操作;将第三PCR操作的产物从第八PCR操作容器转移到第十磁分离容器;将PCR纯化颗粒转移到第十磁分离容器中;混合第十磁分离容器的内容物;将乙醇转移到第十磁分离容器中;丢弃来自第十磁分离容器的废物;将无核酸酶的水转移到第十磁分离容器中;混合第十磁分离容器的内容物,并进行孵育;从第十磁分离容器中磁性分离靶mRNA-cDNA产物;将靶mRNA-cDNA产物从第十磁分离容器转移至冷的储存装置;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S360”优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0216] 更详细地说,在完成mRNA纯化和扩增操作的集合后执行运行完成操作S365”可以包括以下中的一个或多个:将台架返回到初始配置;提供样品加工完成的通知;从系统中释放试剂盒和/或样品加工盒,用于非机载存储;丢弃系统废物;执行系统清洁操作;以及将系统转换到停用(例如,空闲、关闭)状态。步骤S365”可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0217] 方法300”的步骤的示例性细节在附录C的表1中进一步描述。关于方法300”的步骤,在附录C的表2中描述了环境温度和冷冻试剂以及与上文描述试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述。关于附录C的表2,试剂的体积可以根据所使用的样品加工芯片的尺寸和/或反应运行的次数来缩放。关于磁分离操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录C的表3中描述。关于扩增(例如,PCR)操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录C的表4中描述。关于流体抽吸和递送操作,设备以及与上文描述的工具容器的实施方案相关联的位置的描述在附录C的表5中描述。关于用于方案方面的自动化的部件的致动,台架臂和移液器的操作(例如,关于与一次性装置耦接

的设备、与一次性装置分离的设备、流体混合、废物丢弃、抽吸、递送、等分等)在附录C的表6中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,样品加工盒的操作在附录C的表7中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,加热和冷却子系统操作模式在附录C的表8中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录C的表9描述了磁分离系统的操作。关于扩增操作,在附录C的表10中描述了与方法300”相关联的PCR程序细节。

[0218] 3.4方法-用于文库准备的示例性工作流程

[0219] 如图19所示,被配置用于文库准备的方法的变型300””可以包括:执行运行准备操作,其中运行准备操作配置用于执行文库准备方案的系统S305””;在运行准备操作完成时执行文库制备操作S310””;对文库制备操作的输出执行文库纯化操作S315””;以及在文库纯化操作完成时执行运行完成操作S360””。

[0220] 更详细地,执行运行准备操作S305””可以包括与以下中的一个或多个相关联的子步骤:量化产物的浓度(例如,从先前方案产生的产物的DNA浓度;在冷冻储存状态下解冻用于文库制备的试剂盒;加工试剂盒的存储容积(例如,通过涡旋、通过离心等);用稀释缓冲液稀释测序衔接子(例如,NEBNext Illumina™衔接子)溶液;将测序衔接子溶液和先前移除的存储物返回到试剂盒;对系统子系统(例如,与平台相关联、与台架相关联、与基座相关联等)执行操作检查;将台架返回到初始位置;将试剂盒定位在系统的平台处;从试剂盒中移除一个或多个密封件和/或将试剂装载到试剂盒上;将样品加工盒单元定位在系统的平台处;从定位在平台处的工具容器上移除一个或多个密封件;接收操作员装载的容器(例如,在试剂盒的存储容积处),用于执行文库制备操作;初始化加热和冷却子系统(例如,用初始温度设定点);在用相机(例如,机器视觉相机)扫描一次性物品的标签时,验证用于方案的一次性物品的正确定位和状态(例如,相对于到期日期);接收样品识别信息(例如,来自操作员);以及开始运行样品.S305””的步骤可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0221] 更详细地,在运行准备操作完成时执行文库制备操作S310””可以包括与以下中的一个或多个相关联的子步骤:将稀释的cDNA从操作员装载的管转移到包含缓冲液的第一冷的储存容器中;将第一冷的储存管的内容物转移到第二冷的储存容器;孵育第二冷的储存容器的内容物;将cDNA混合物从第二环境储存容器转移到第一PCR操作容器中;在所述第一PCR操作容器处进行热循环操作时,使所述第一PCR操作容器的内容物片段化;在混合的情况下,将片段化的DNA从第一PCR操作容器转移到第四冷的储存容器;在混合的情况下,将第四冷的储存容器的内容物转移到第五冷的储存容器;在混合和孵育的情况下,将稀释的衔接子从第三冷的储存容器转移到第五冷的储存容器;在孵育的情况下,将第五冷的储存容器的内容物转移到第二PCR操作容器中;在混合的情况下,将第二PCR操作容器的内容物转移到第六冷的储存容器中;在孵育的情况下,将第六冷的储存容器的内容物转移到第二PCR操作容器中;将第六冷的储存容器的内容物转移到第二磁分离容器;在混合的情况下,将PCR纯化颗粒(例如,AMPure beads XP)转移到第二磁分离容器中;丢弃来自第二磁分离容器的废物;将乙醇转移到第二磁分离容器中;丢弃来自第二磁分离容器的废物;在孵育和磁分离的情况下,将TE缓冲液转移到第二磁分离容器中;将纯化的cDNA从第二磁分离容器转移到第三PCR操作容器;在混合的情况下,将索引PCR主混合物转移到第三PCR操作容器;进行第四PCR操作;进行混合步骤;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工

具。步骤S310””优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0222] 更详细地,对文库制备操作的输出执行文库纯化操作S315””可以包括与以下中的一个或更多个相关联的子步骤:在混合的情况下,将第四PCR操作的产物从第三PCR操作容器转移到第三磁分离容器;在混合、孵育和磁分离的情况下,将PCR纯化颗粒(例如,AMPure Beads XP)转移到第三磁分离容器中;在孵育的情况下,将乙醇转移到第三磁分离容器中;从第三磁分离容器中去除废物;在混合、孵育和磁分离的情况下,将无核酸酶的水转移到第三磁分离容器中;在混合的情况下,将第三磁分离容器的内容物转移到第四磁分离容器;在混合、孵育和磁分离的情况下,将PCR纯化颗粒(例如,AMPure Beads XP)转移到第四磁分离容器中;从第四磁分离容器中去除废物;在孵育的情况下,将乙醇转移到第四磁分离容器中;丢弃来自第四磁分离容器的废物;重复用于另外的纯化的步骤,其中将靶材料从第四磁分离容器转移到第五磁分离容器,转移到第六磁分离容器;在孵育和磁分离的情况下,将无核酸酶的水转移到第六磁分离容器中;将用于文库构建的纯化的cDNA转移到第八冷的储存容器中;进行混合步骤;执行孵育步骤;以及拾取/释放子步骤所涉及的多种工具。步骤S315””优选地由系统自动执行,但是可以可选择地以另一种合适的方式执行。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0223] 更详细地,在完成文库净化操作时执行运行完成操作S360””可以包括以下中的一个或更多个:将台架返回到初始配置;提供样品加工完成的通知;从系统中释放试剂盒和/或样品加工盒,用于非机载存储;丢弃系统废物;执行系统清洁操作;以及将系统转换到停用(例如,空闲、关闭)状态。步骤S360””可以由系统自动地实施和/或由操作员实施。此外,多个子步骤可以执行一次,或者按照建议被重复执行。

[0224] 方法300””的步骤的示例性细节在附录D的表1中进一步描述。关于方法300””的步骤,在附录D的表2中描述了环境温度和冷冻试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述。关于附录D的表2,试剂的体积可以根据所使用的样品加工芯片的尺寸和/或反应运行的次数来缩放。关于磁分离操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录D的表3中描述。关于扩增(例如,PCR)操作,所使用的设备和相关联的试剂以及与上文描述的试剂盒的实施方案的存储容积相关联的位置的描述在附录D的表4中描述。关于流体抽吸和递送操作,设备以及与上文描述的工具容器的实施方案相关联的位置的描述在附录D的表5中描述。关于用于方案方面的自动化的部件的致动,台架臂和移液器的操作(例如,关于与一次性装置耦合的设备、与一次性装置分离的设备、流体混合、废物丢弃、抽吸、递送、等分等)在附录D的表6中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,样品加工盒的操作在附录D的表7中描述。关于方案方面的自动化模式之间的转换,加热和冷却子系统操作模式在附录D的表8中描述。关于方案方面的自动化的模式之间的转换,在附录D的表9中描述了磁分离系统的操作。关于扩增操作,在附录D的表10中描述了与方法300””相关联的PCR程序细节。

[0225] 然而,系统的实施方案可以被配置为实现其他工作流,包括所描述的那些的变体,和/或其他工作流。

[0226] 4. 结论

[0227] 附图示出了根据优选的实施方案、示例性配置及其变型的系统、方法和计算机程

序产品的可能的实施方式的架构、功能和操作。就这一点而言,流程图或框图中的每个块可以表示模块、段或代码的一部分,其包括用于实现指定的逻辑功能的一个或更多个可执行指令。还应当指出的是,在一些可选择的实施方式中,在块中提到的功能可以在附图中指出的顺序以外的顺序发生。例如,连续地显示的两个块事实上可以基本上同时执行,或者块有时可以以相反的顺序执行,这取决于所涉及的功能。还应当指出的是,框图和/或流程图说明中的每个方框以及框图和/或流程图说明中的方框的组合可以由执行指定功能或动作的基于专用硬件的系统或专用硬件和计算机指令的组合来实施。

[0228] 如本领域技术人员将从先前的详细描述以及从附图和权利要求中认识到的,可以对本发明的优选的实施方式做出修改和改变而不偏离在所附权利要求中限定的本发明的范围。

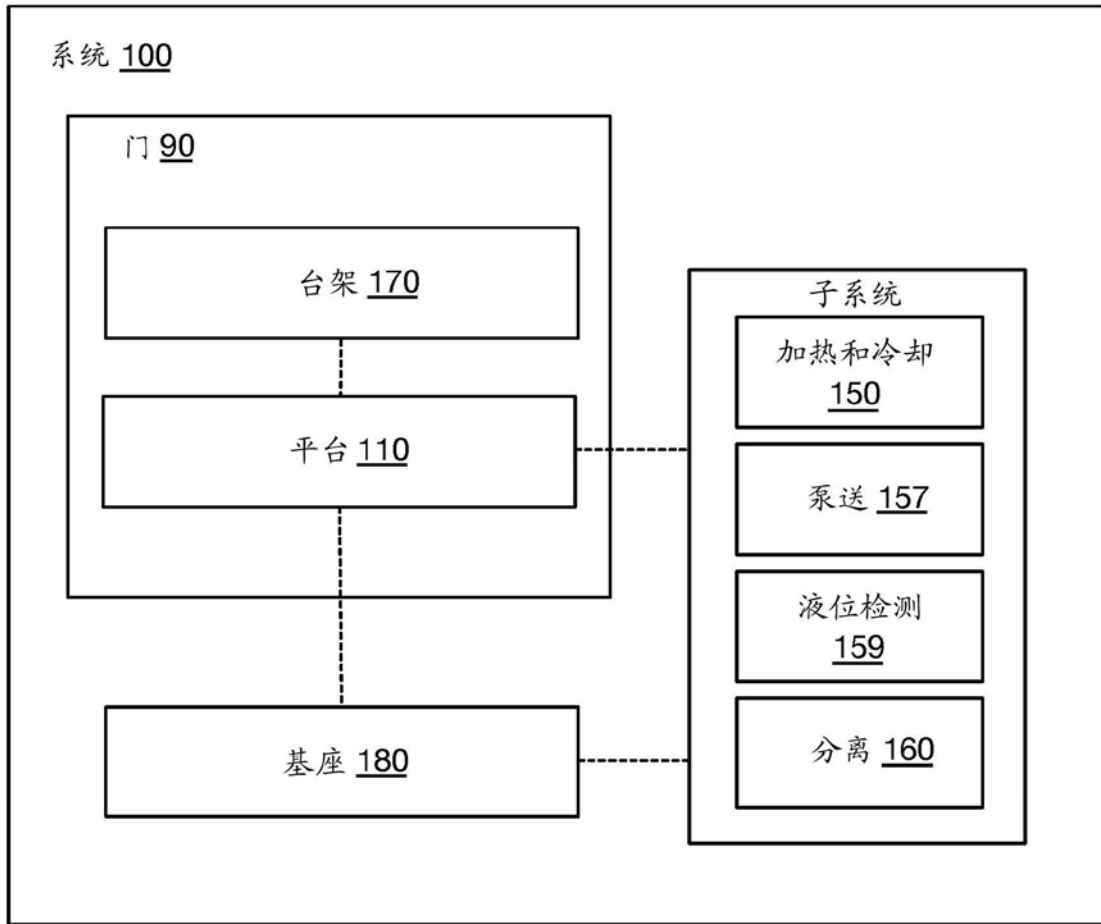


图1A

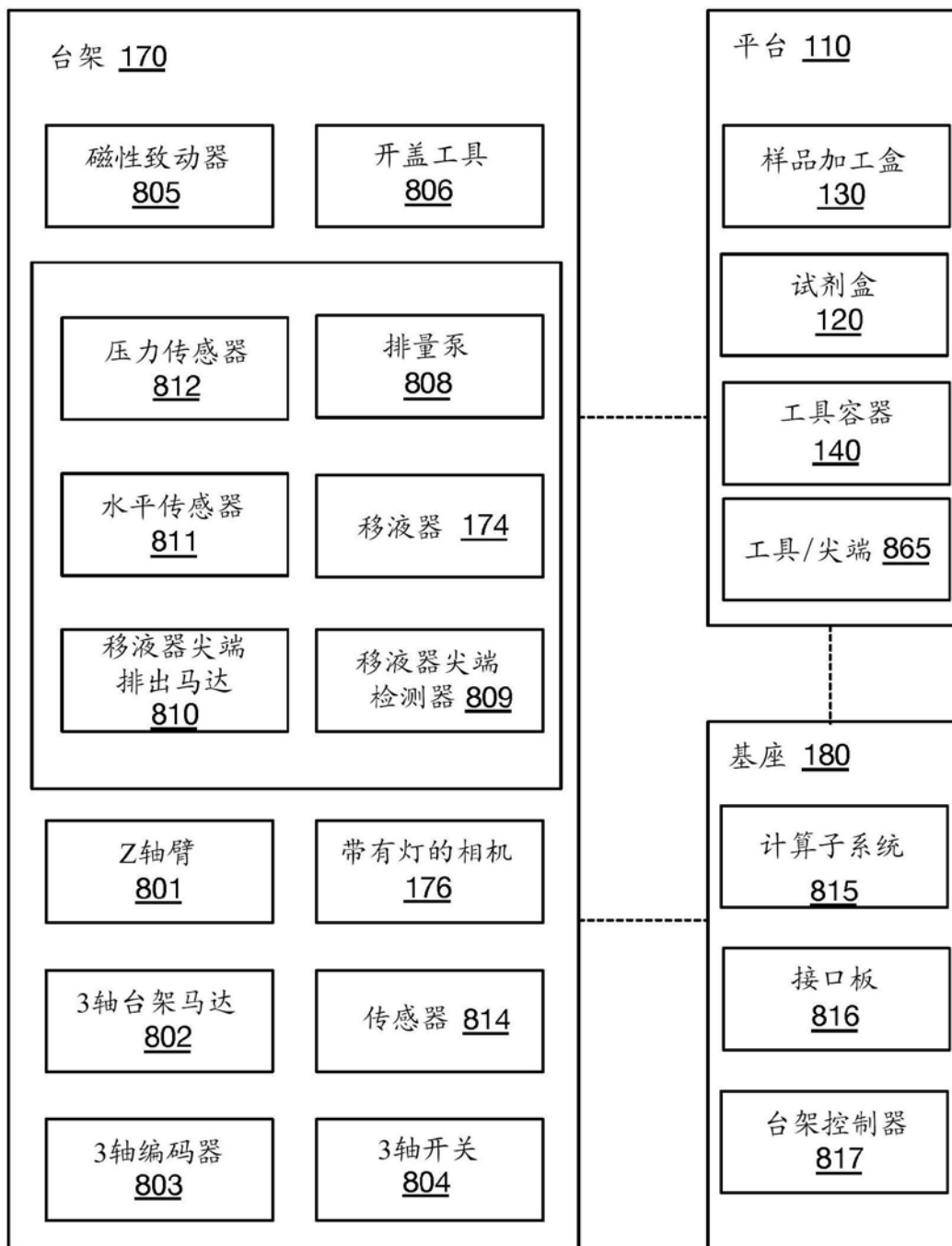


图1B



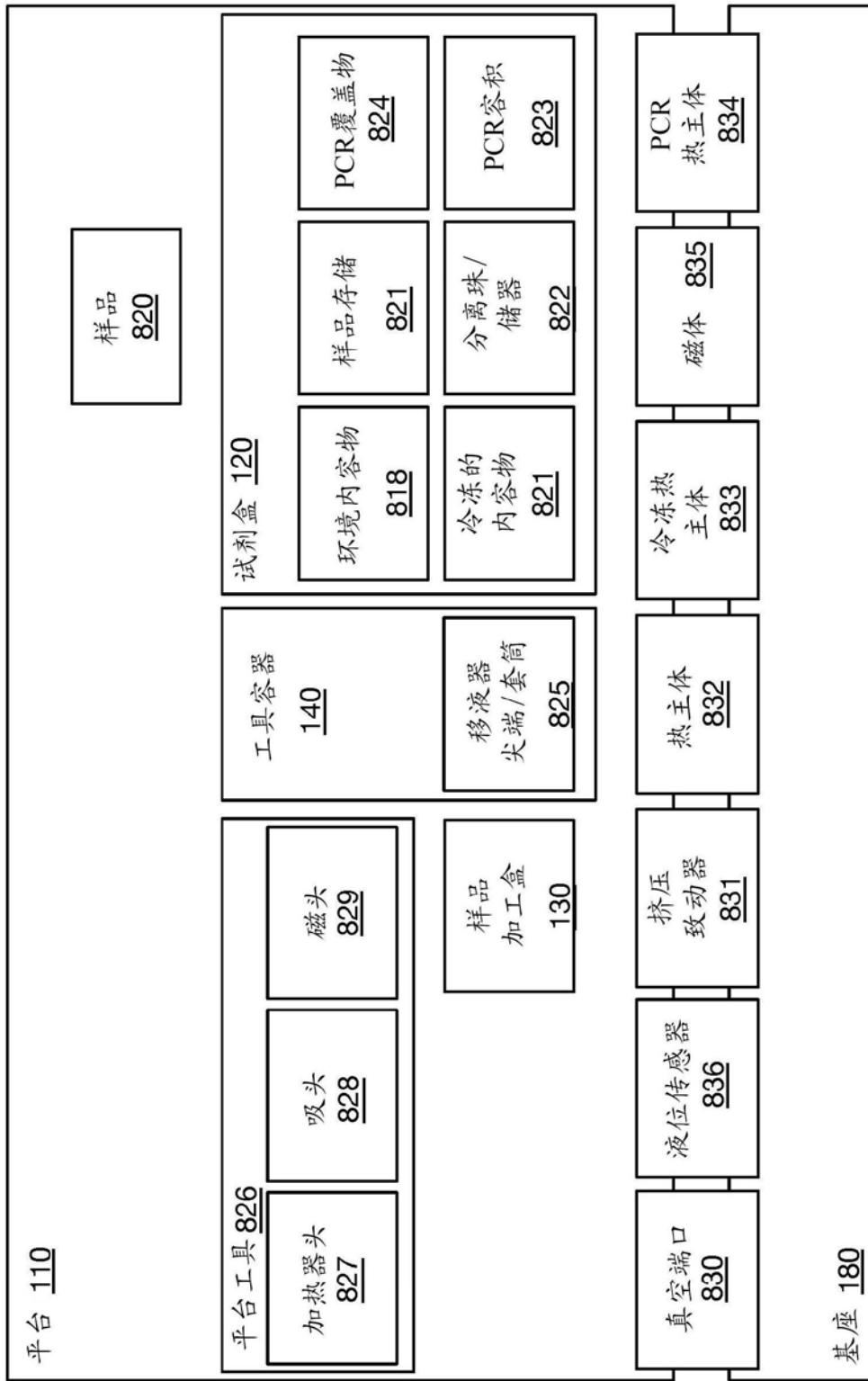


图1C

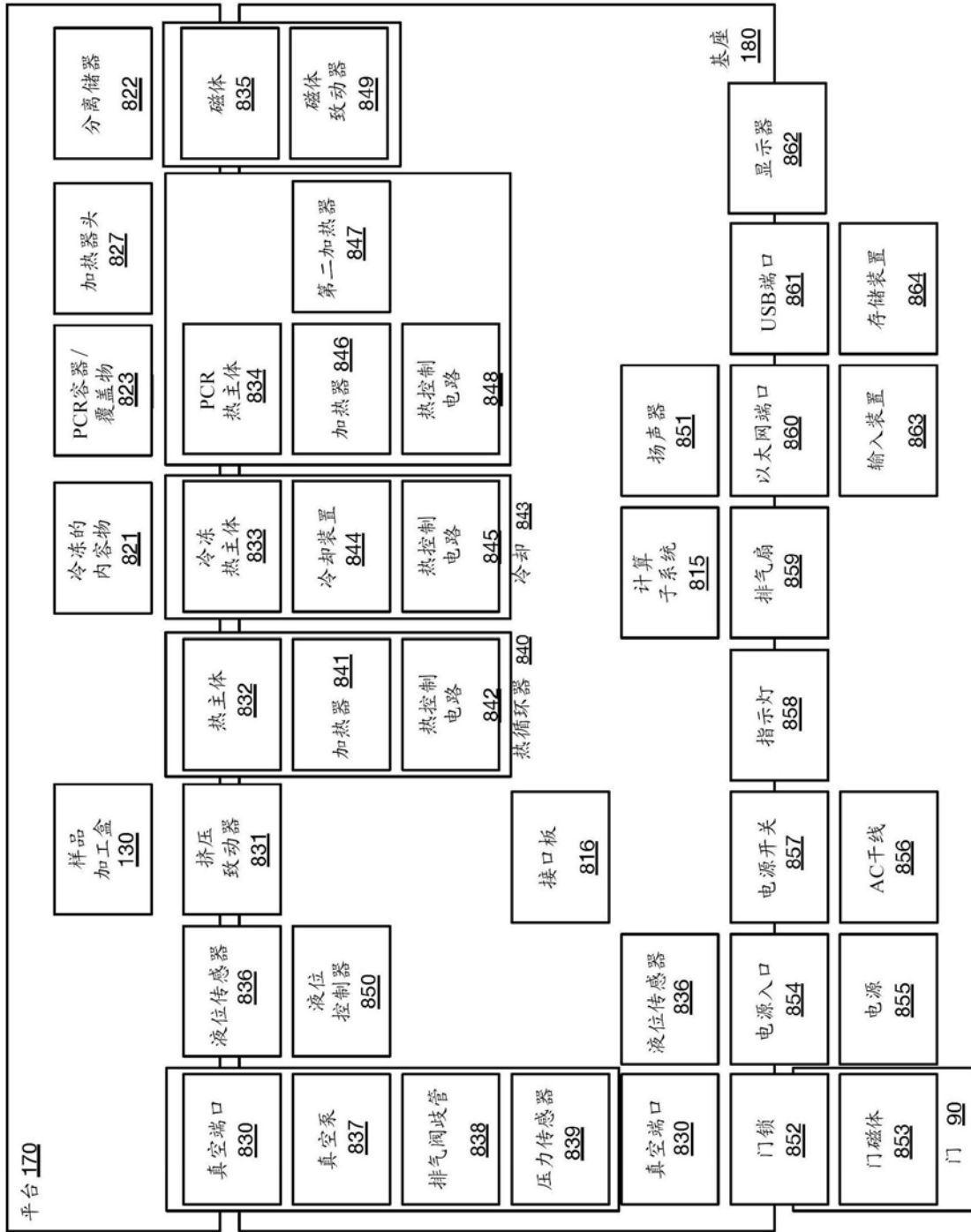


图1D

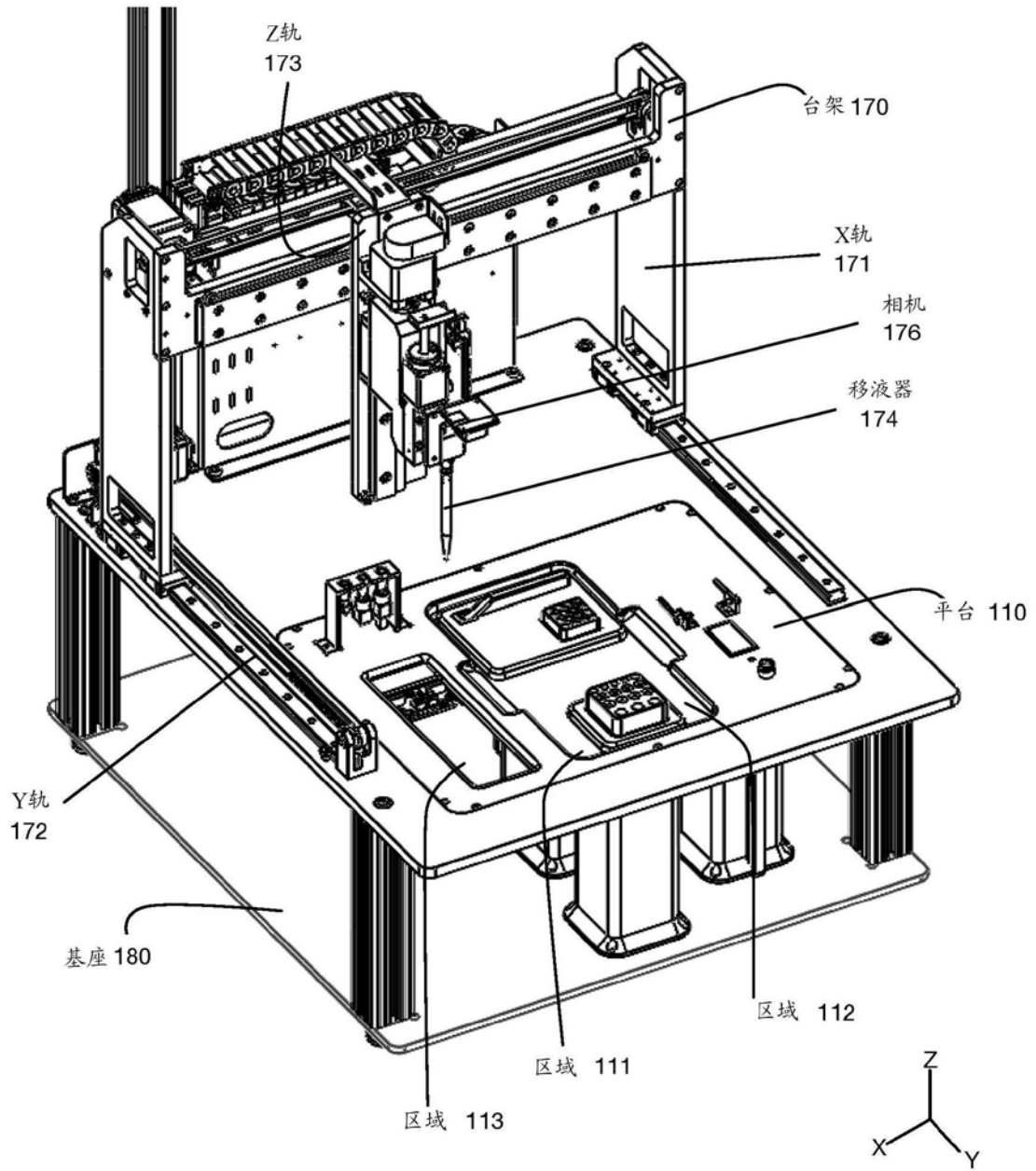


图2A

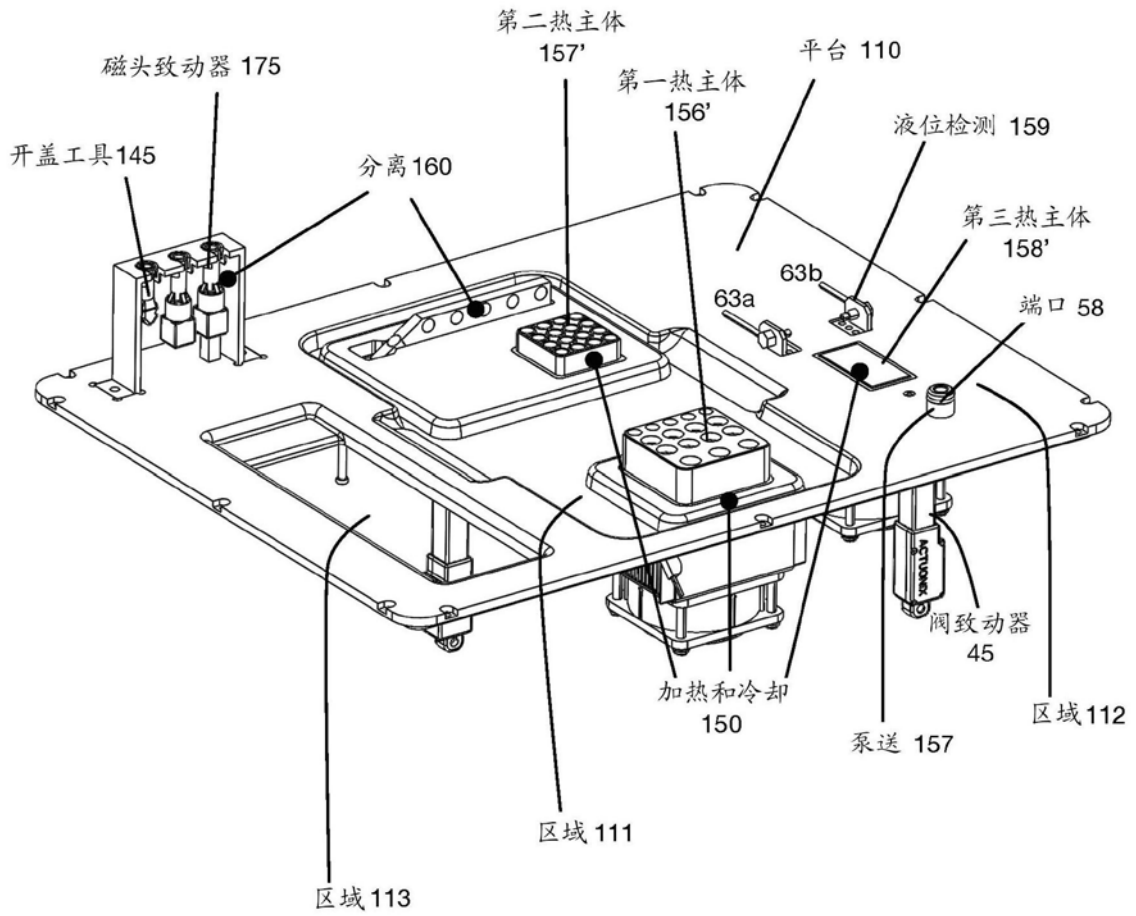


图2B

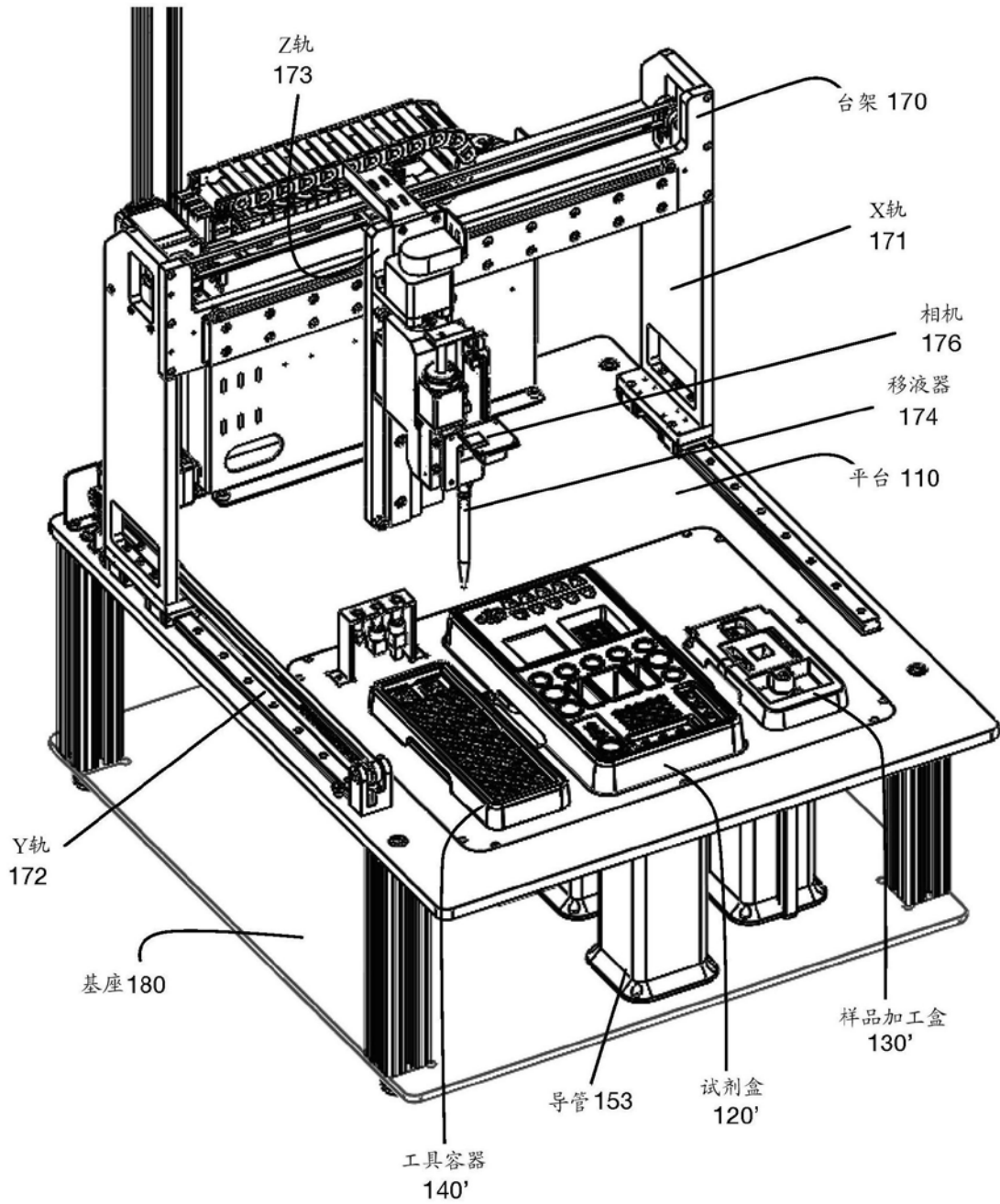


图2C

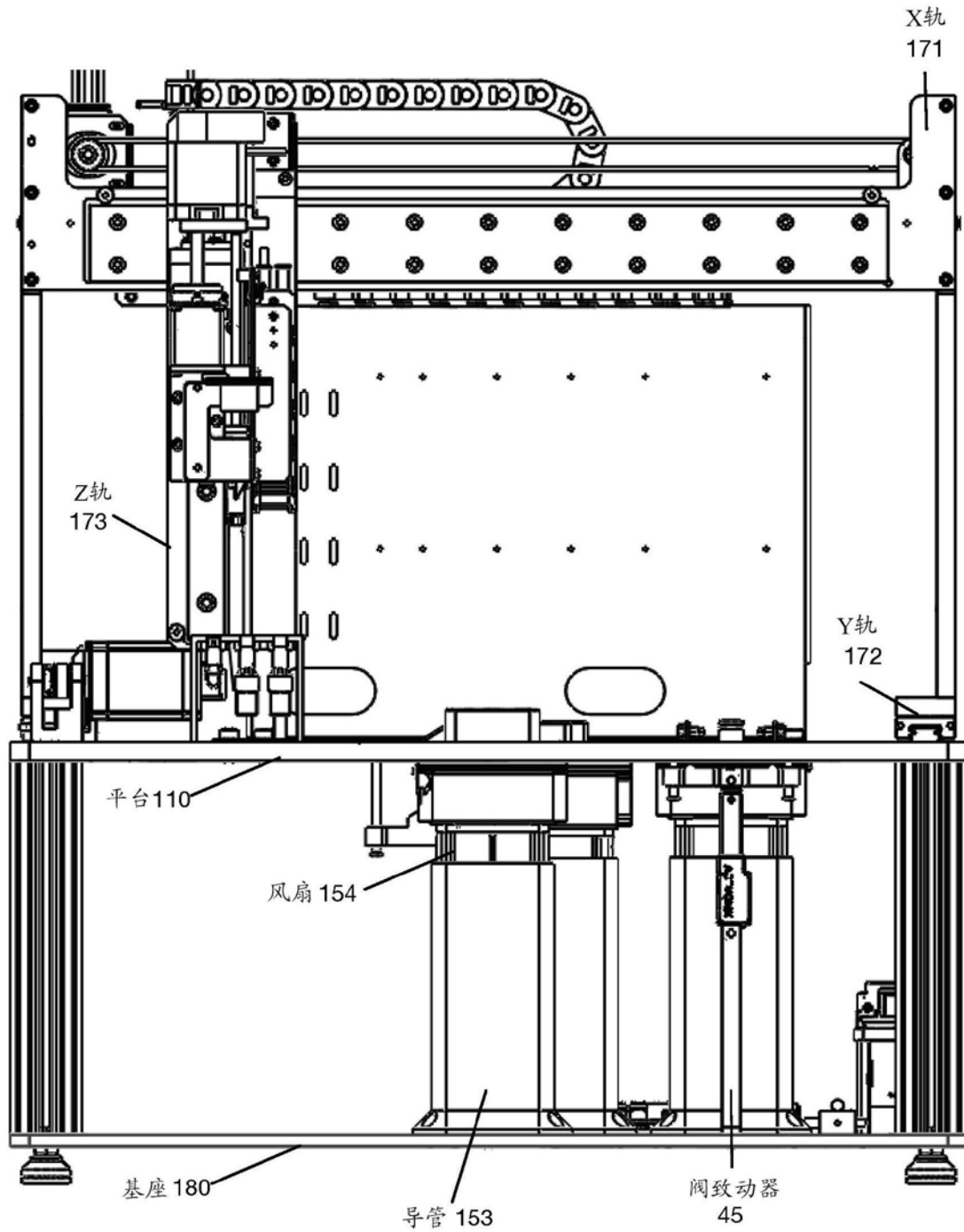


图2D

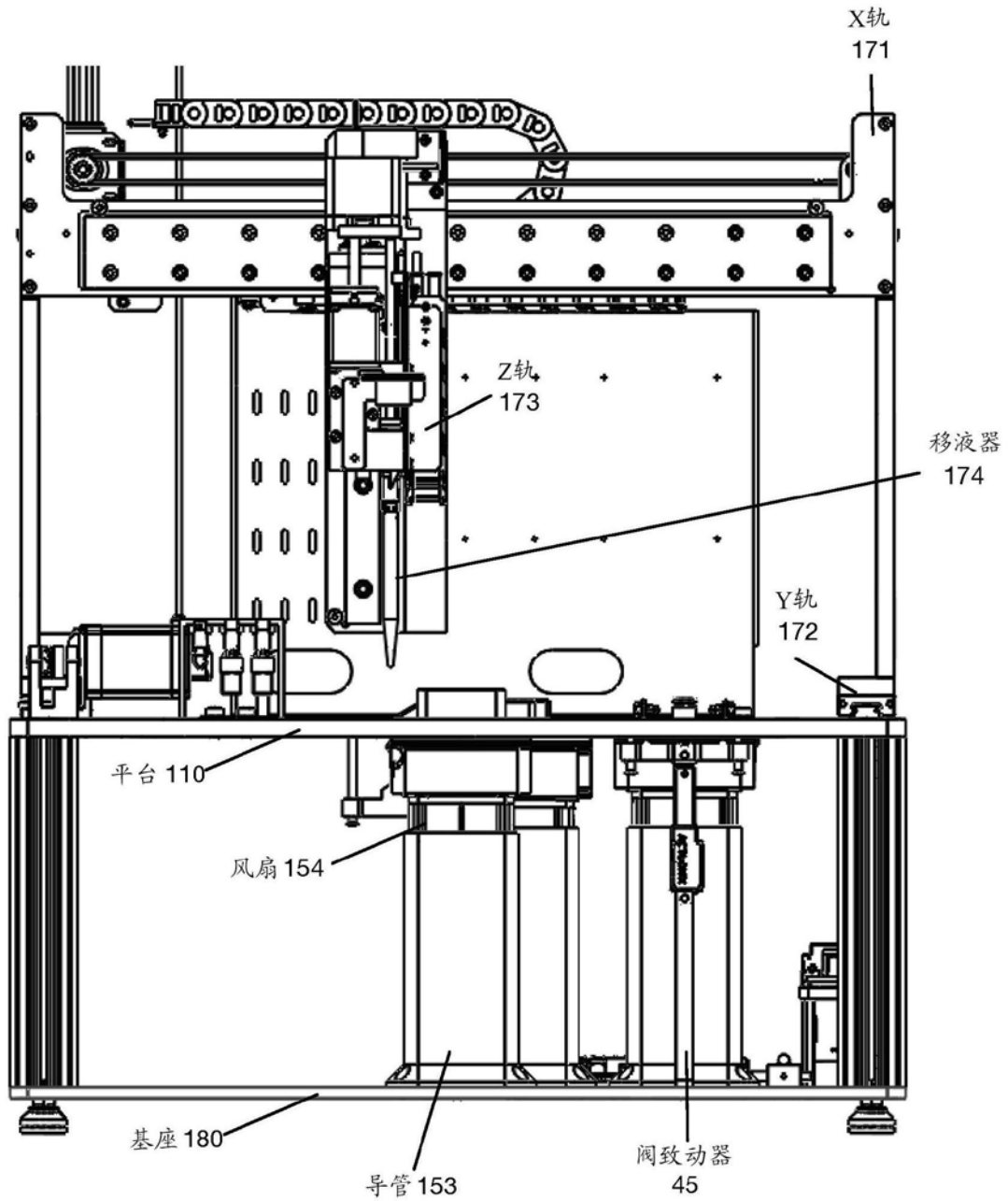


图2E

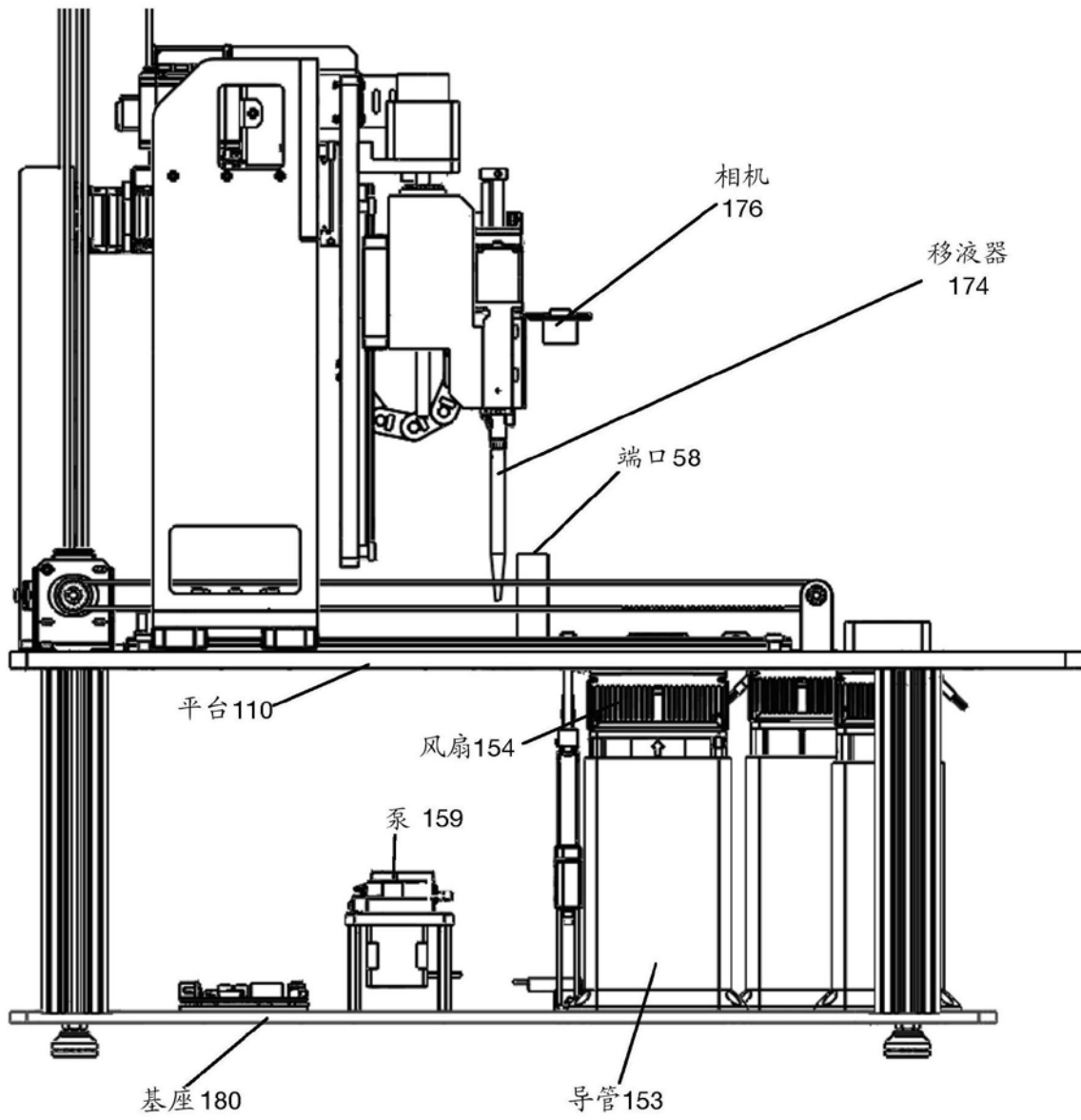


图2F



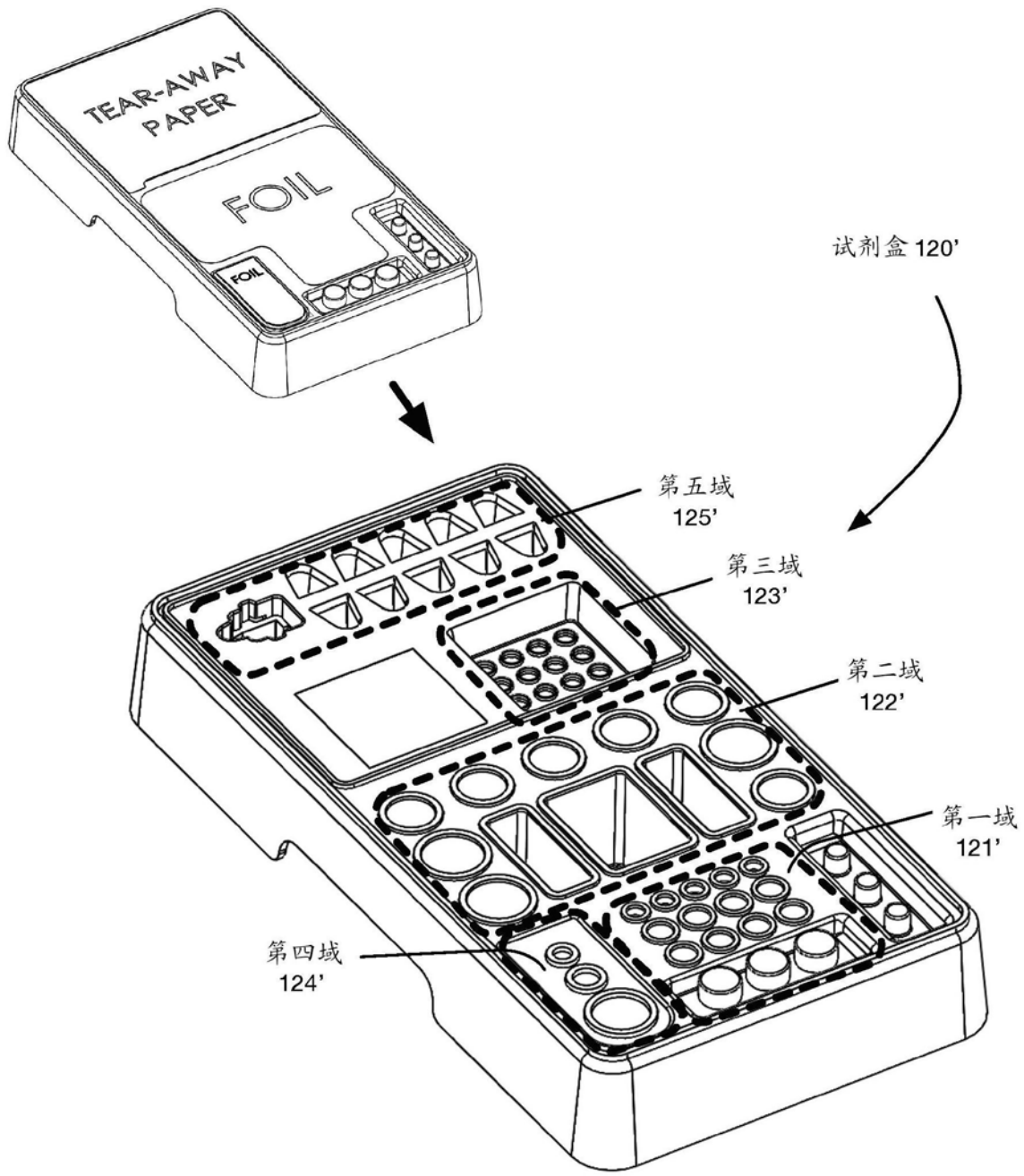


图3A

试剂盒 120”

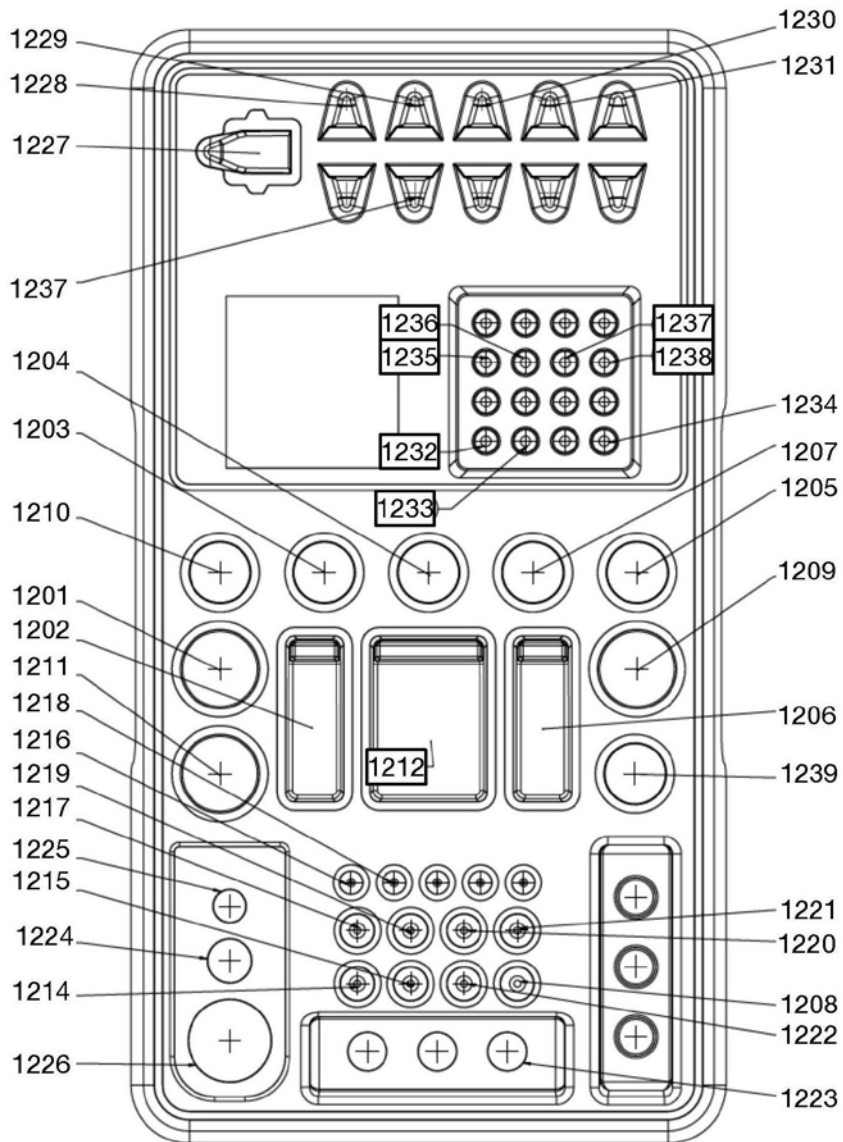


图3B

试剂盒120'''

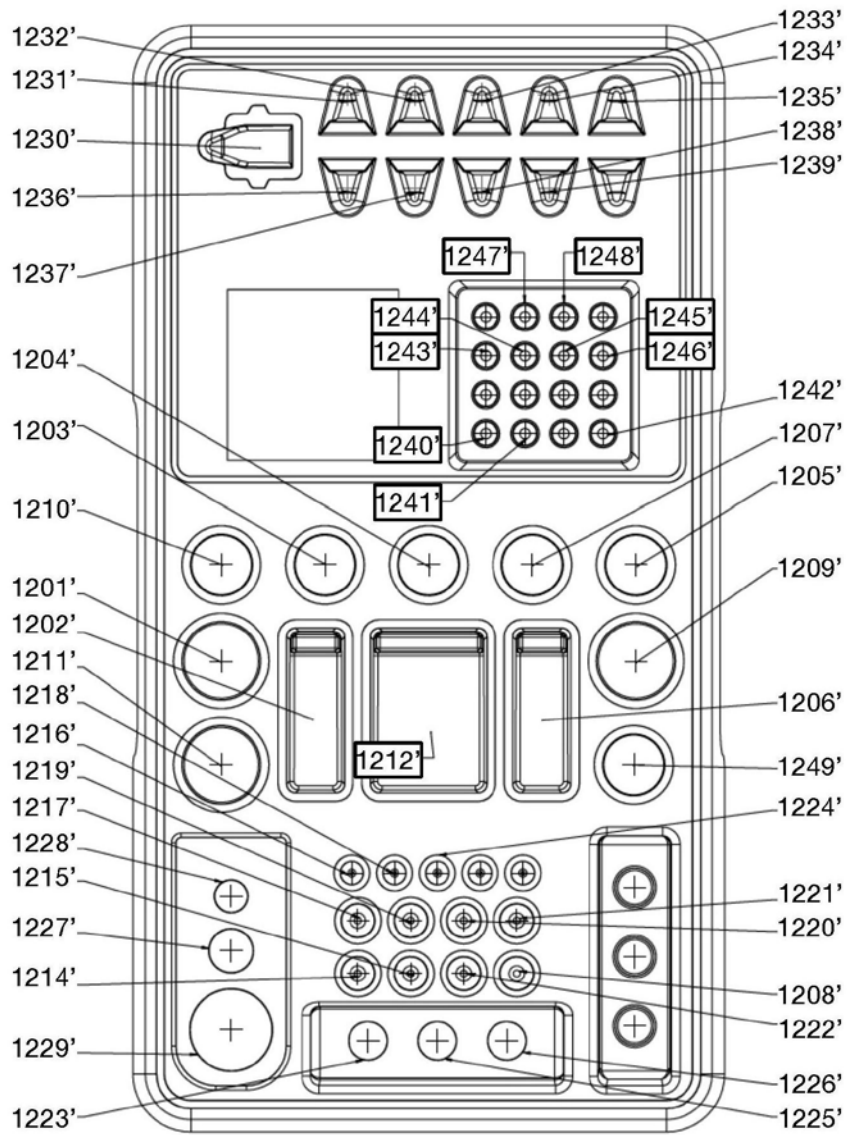


图3C

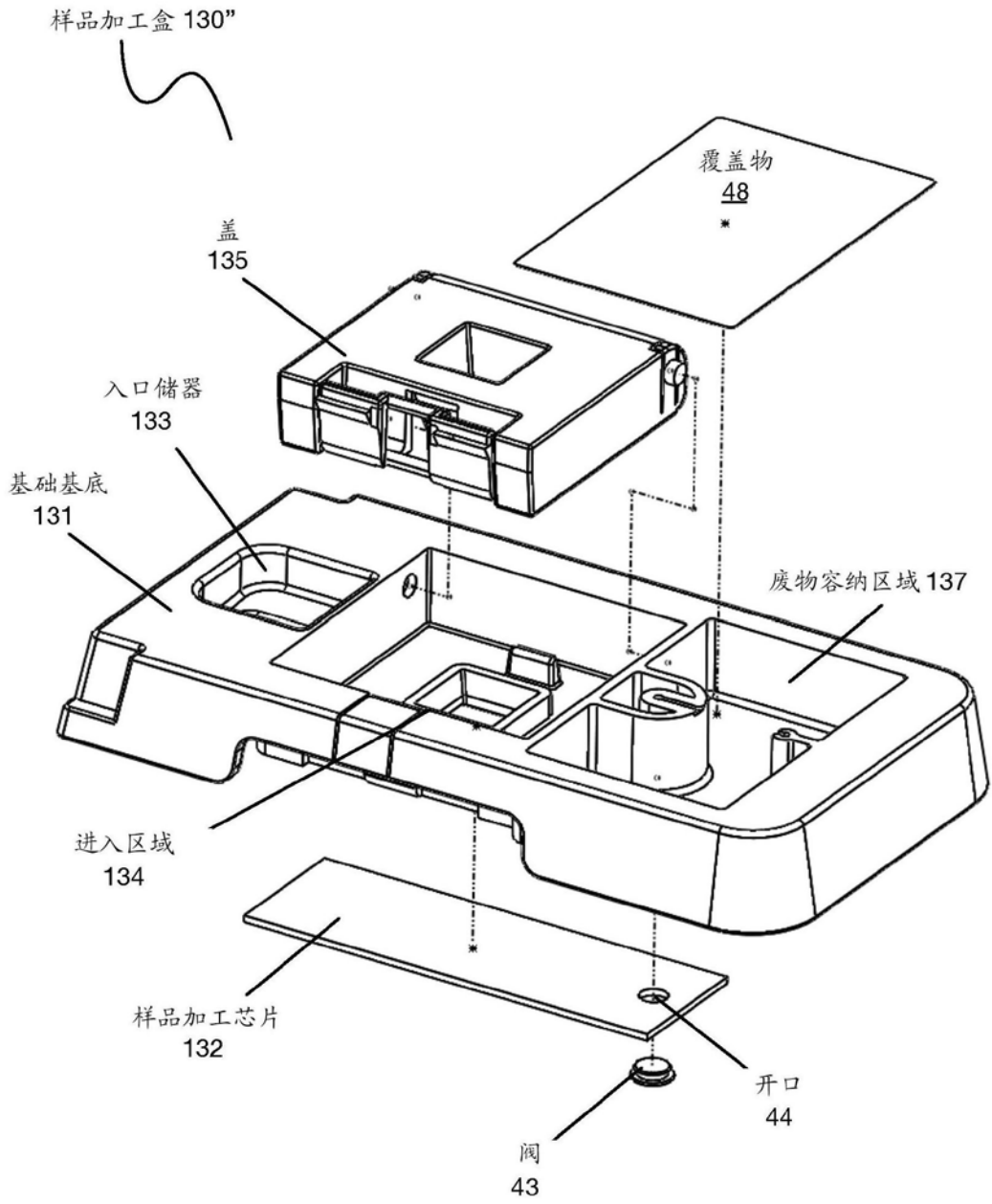


图4A

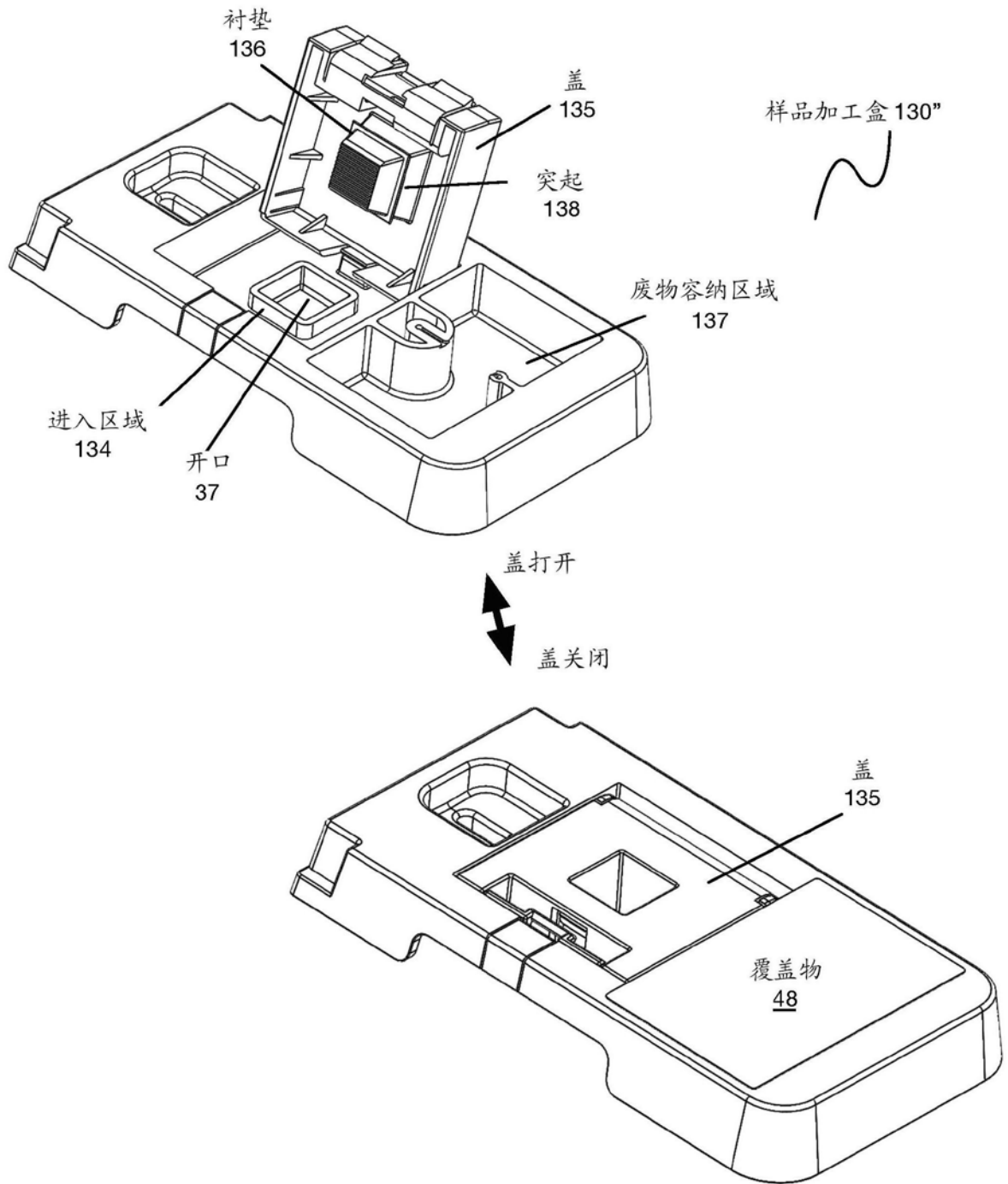


图4B

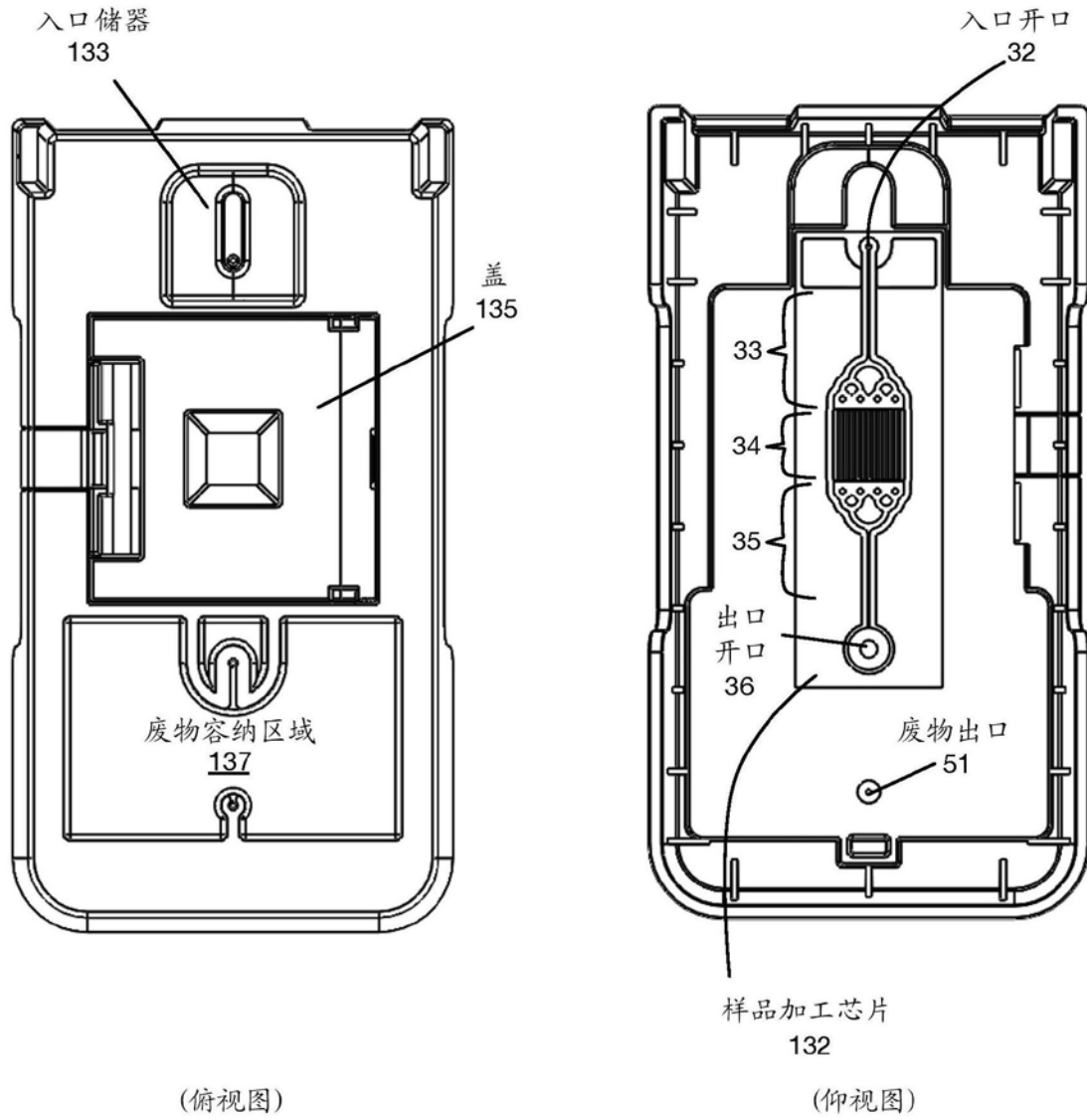


图4C

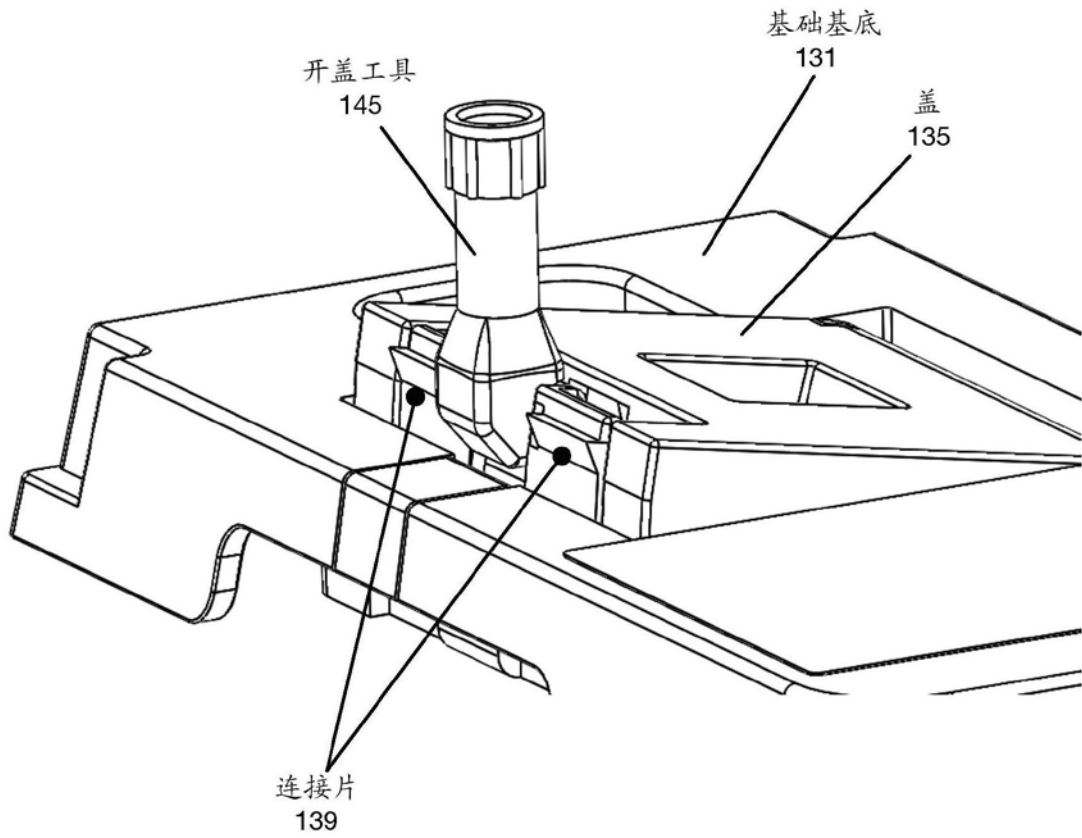


图5A

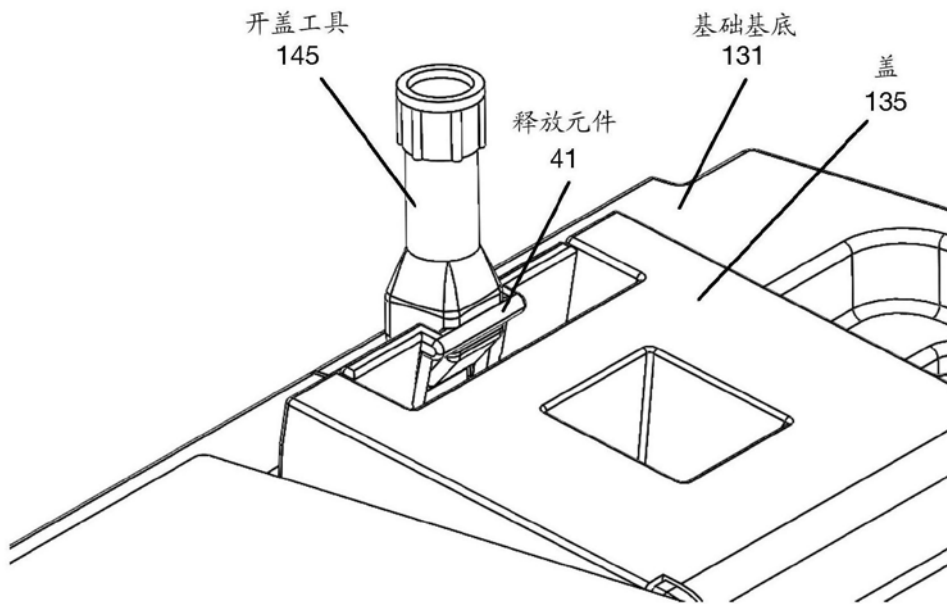


图5B

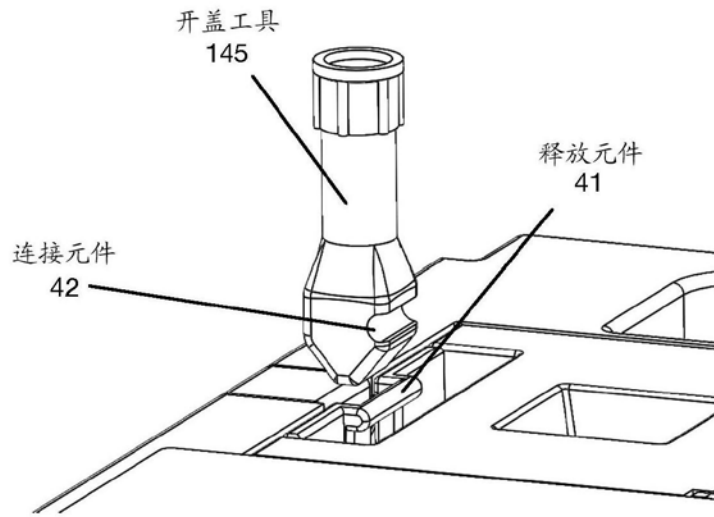
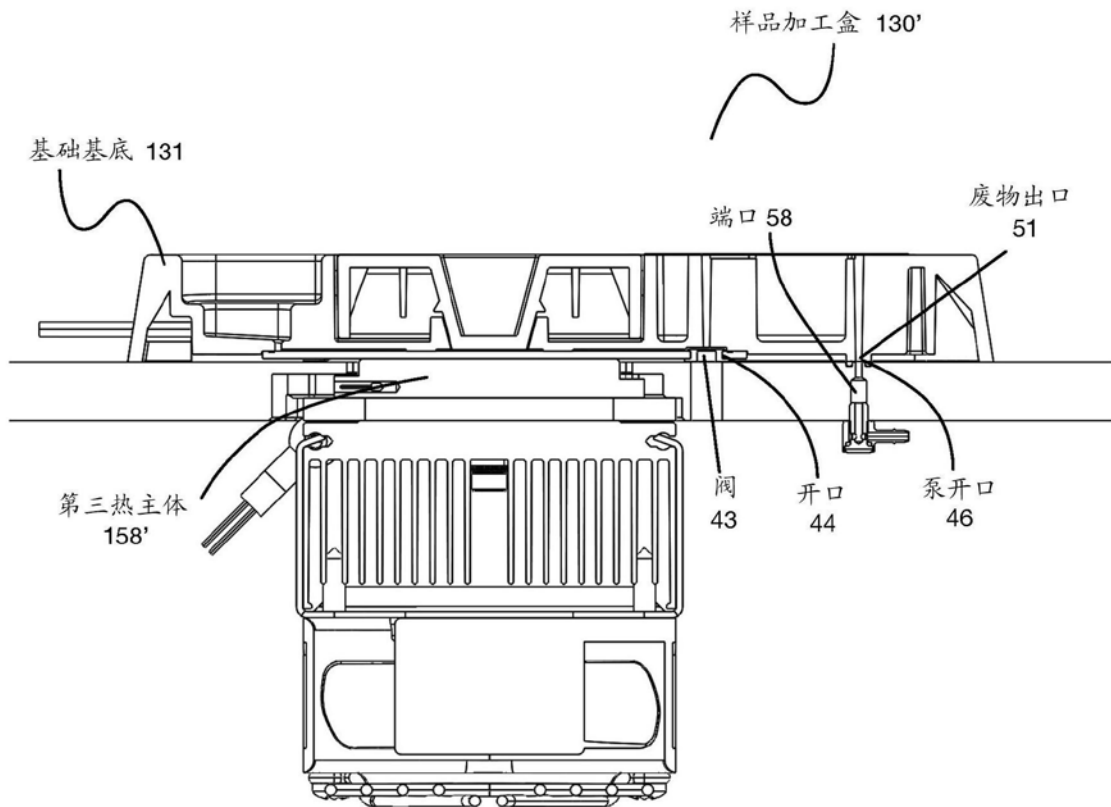


图5C



(正视图，横截面)

图6A



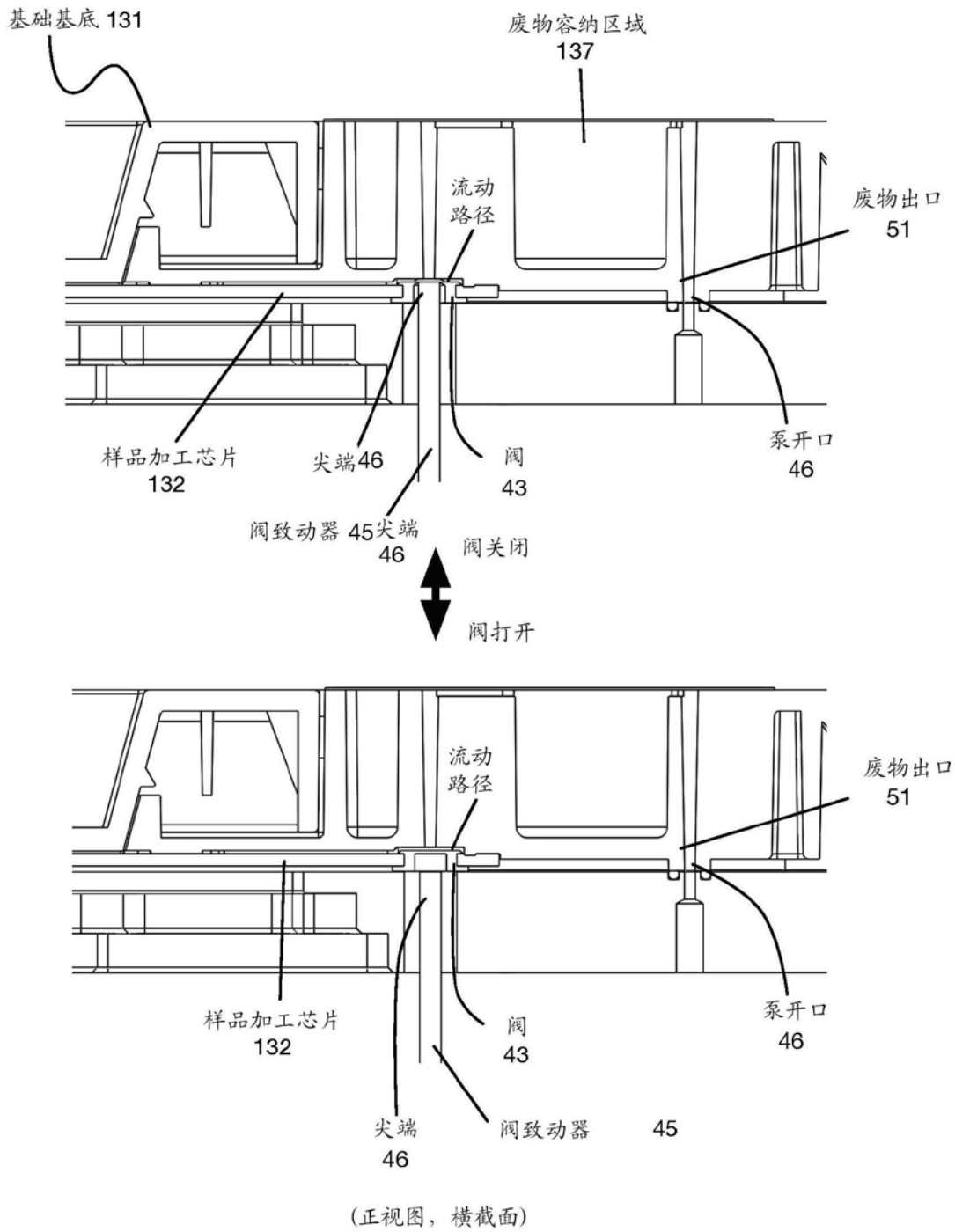


图6B

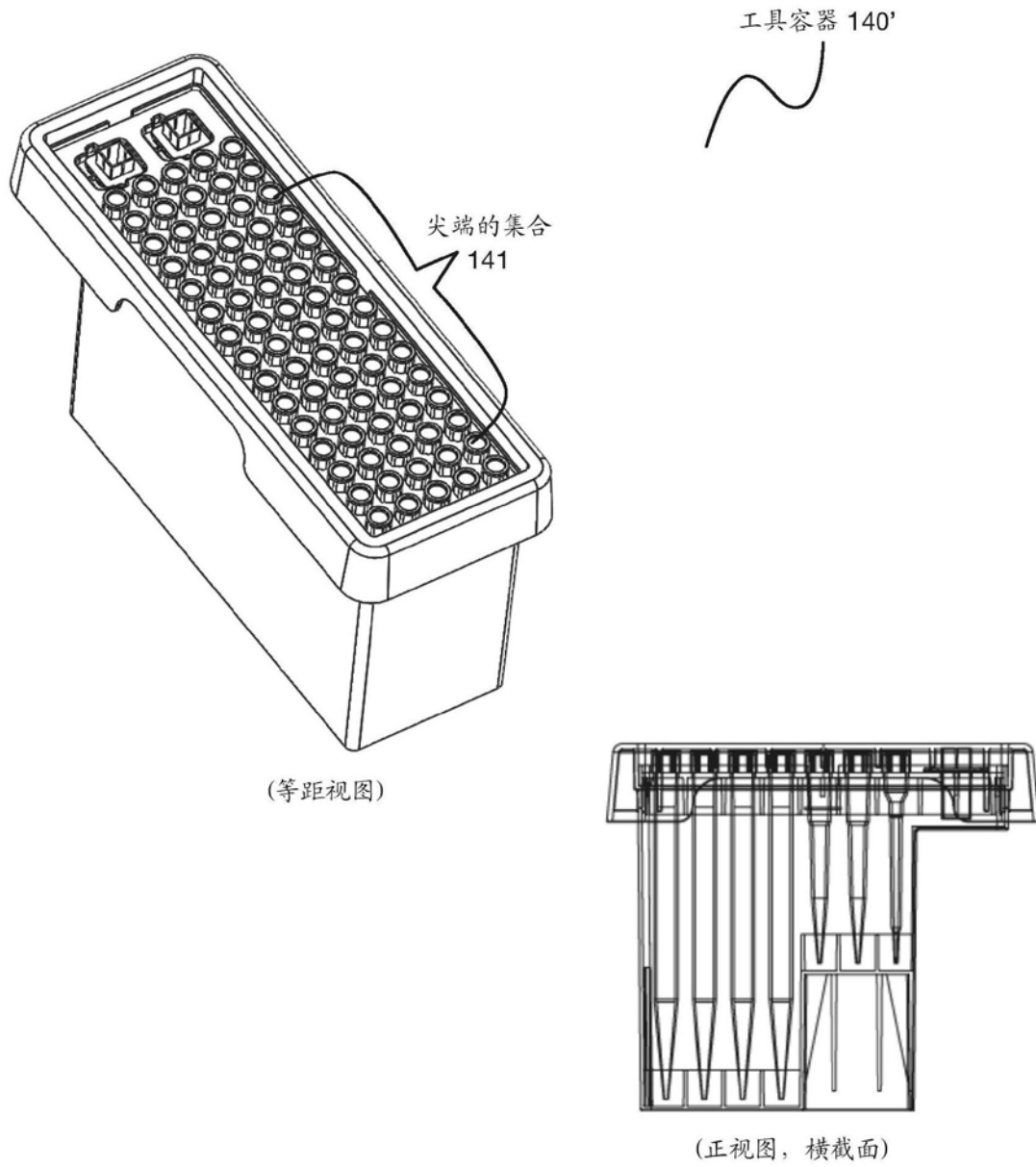


图7A

工具容器 140"

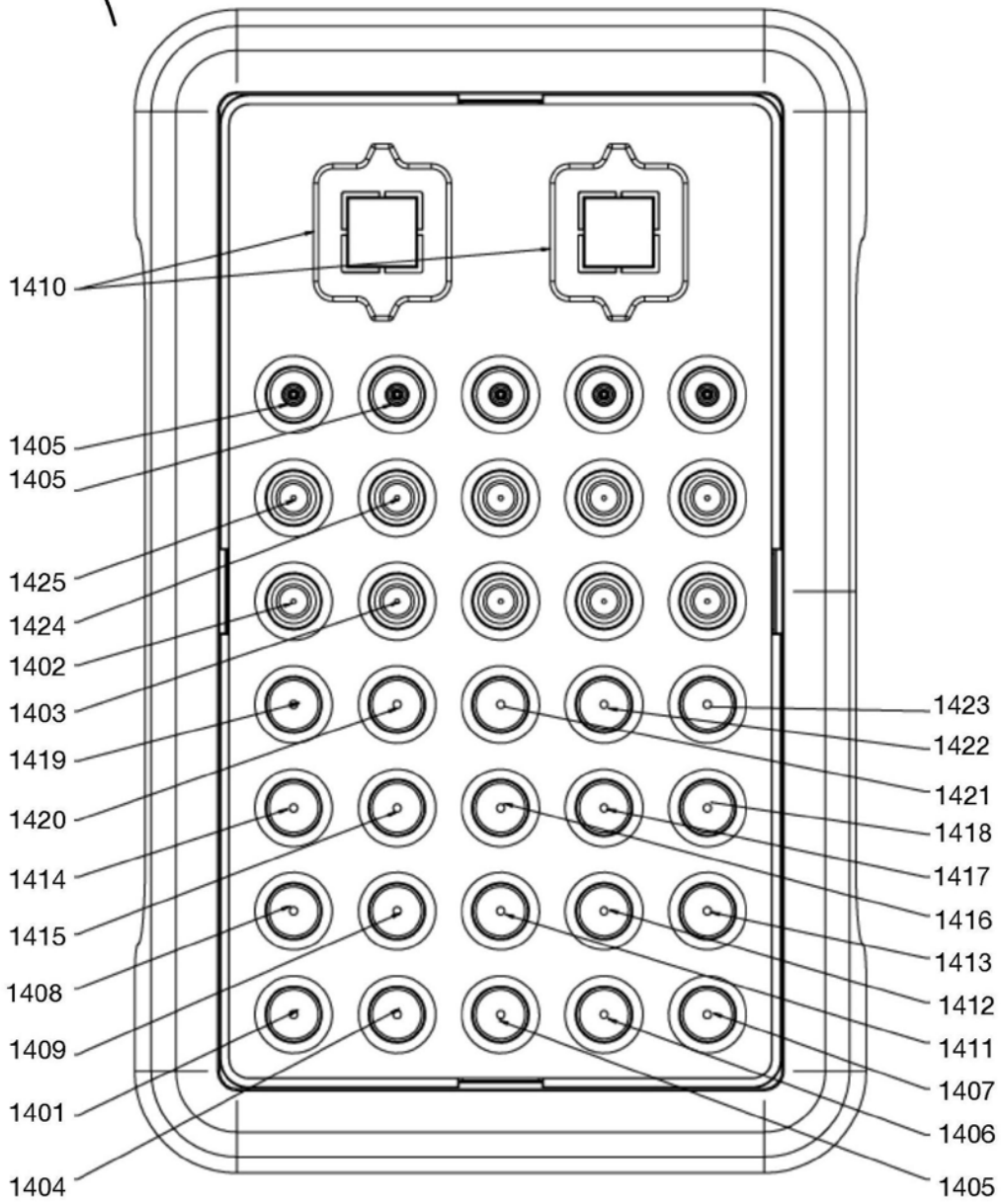


图7B

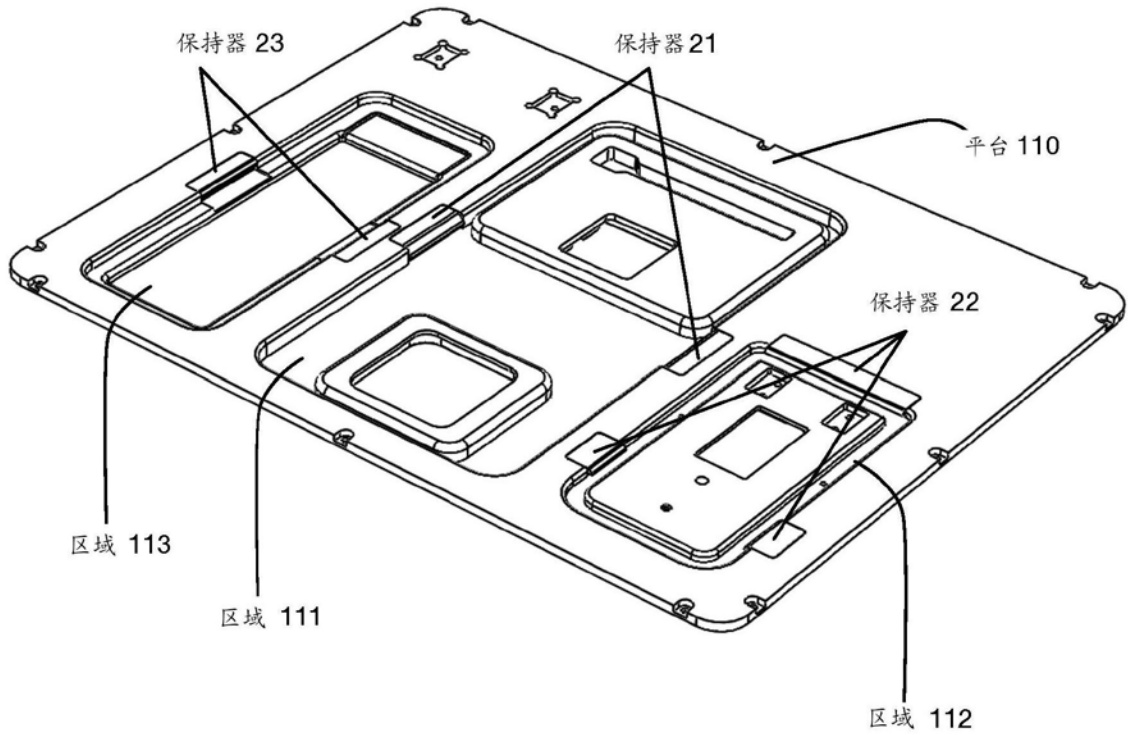


图8A

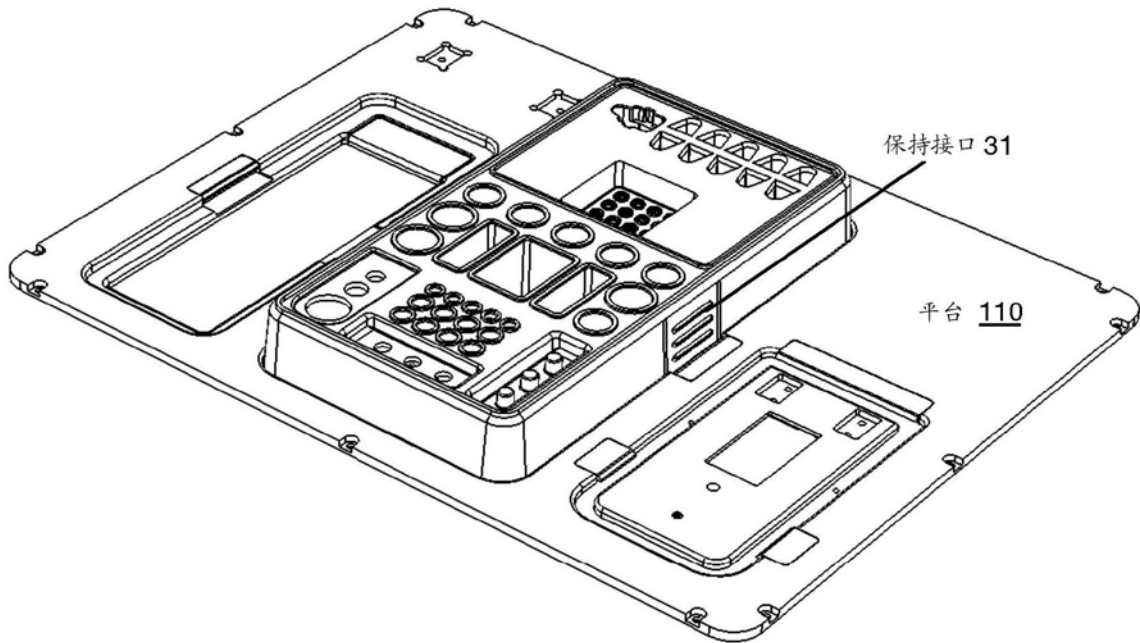


图8B

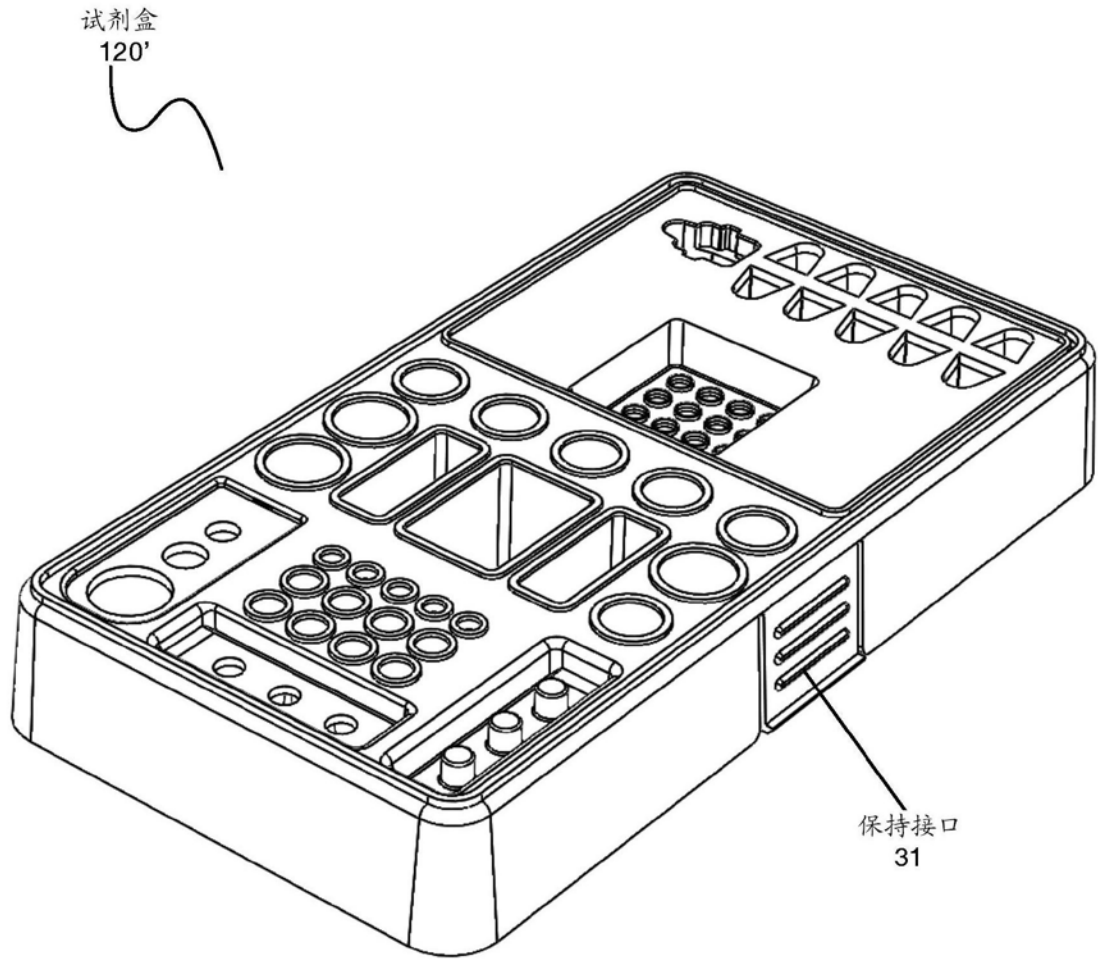


图8C

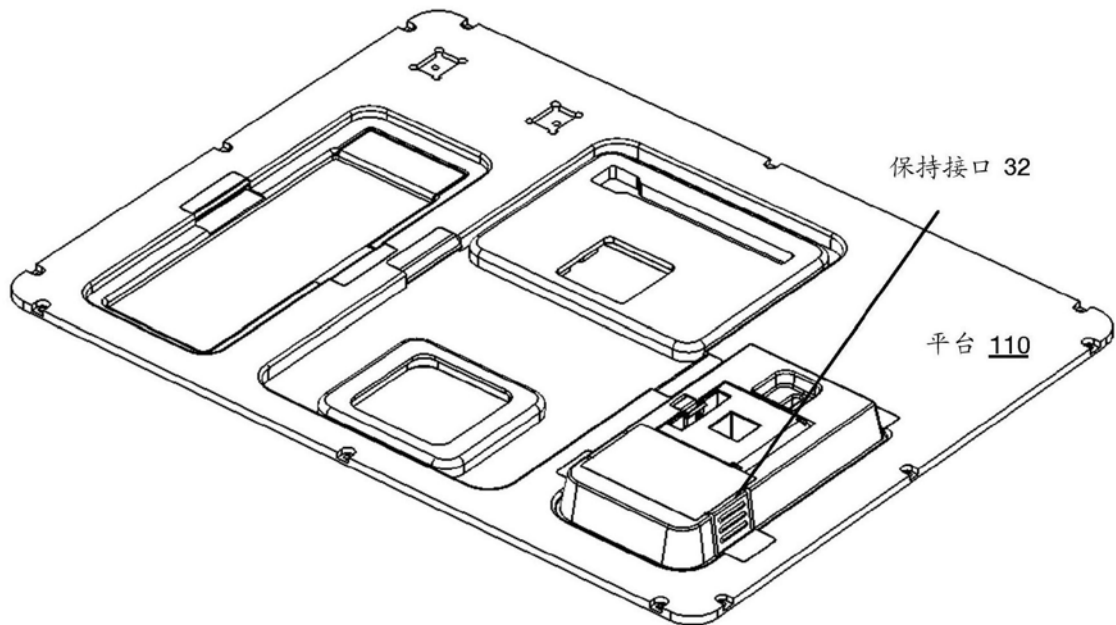


图8D

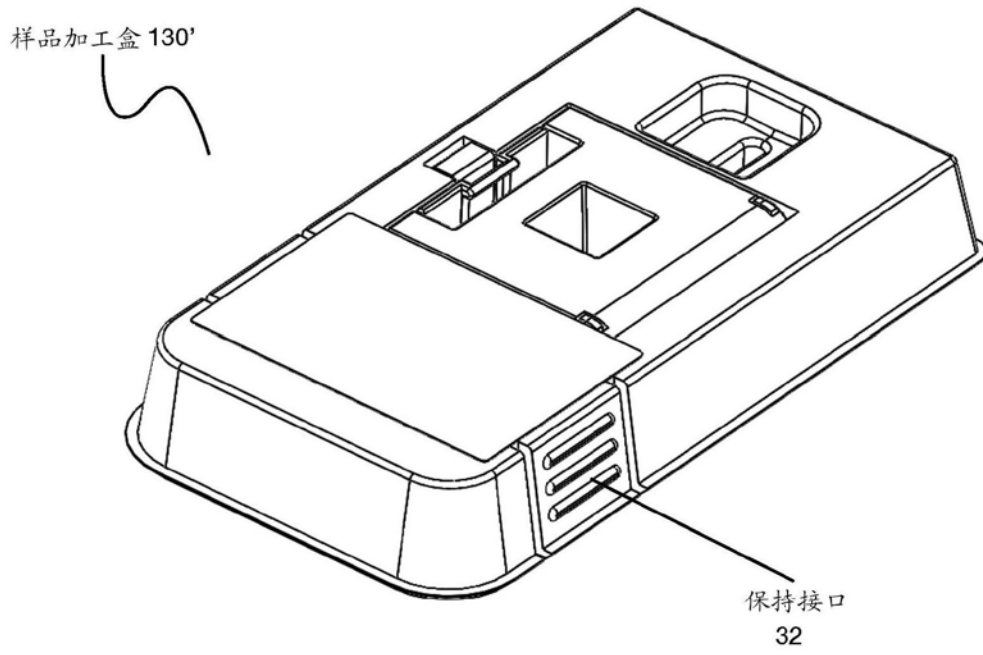


图8E

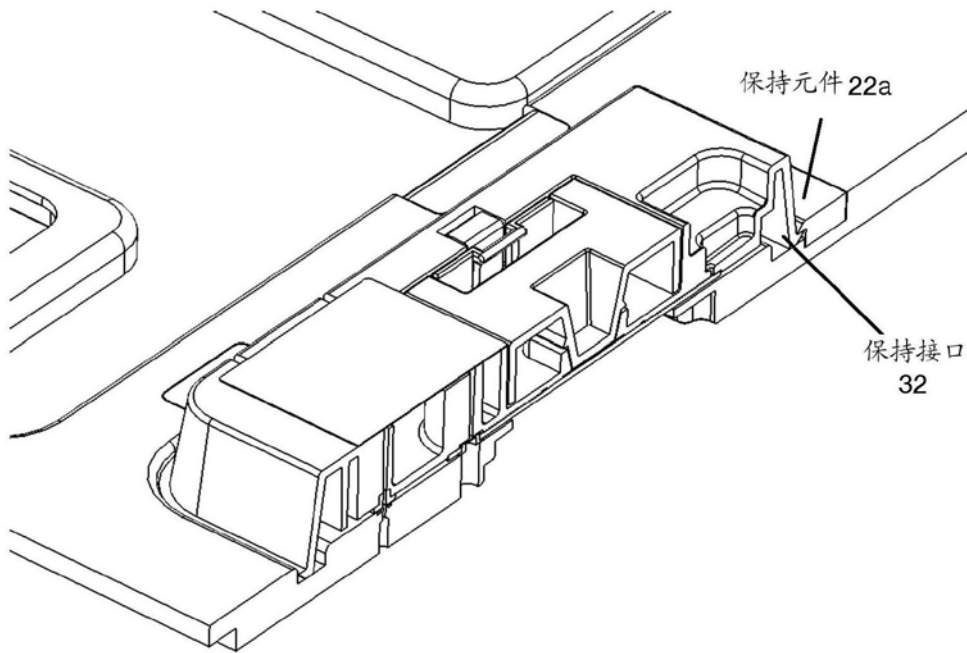


图8F

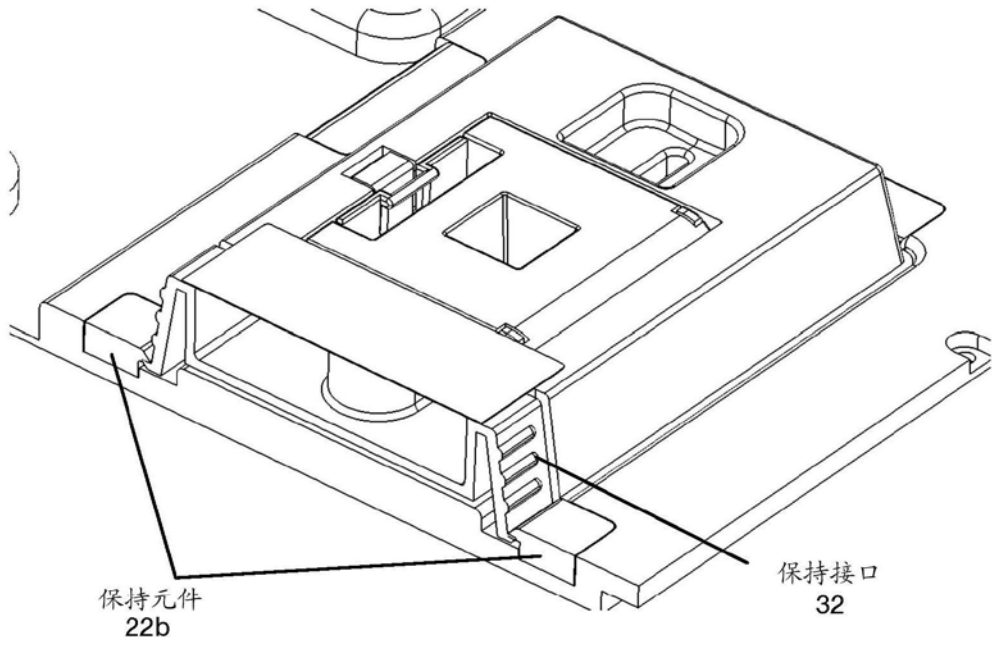


图8G

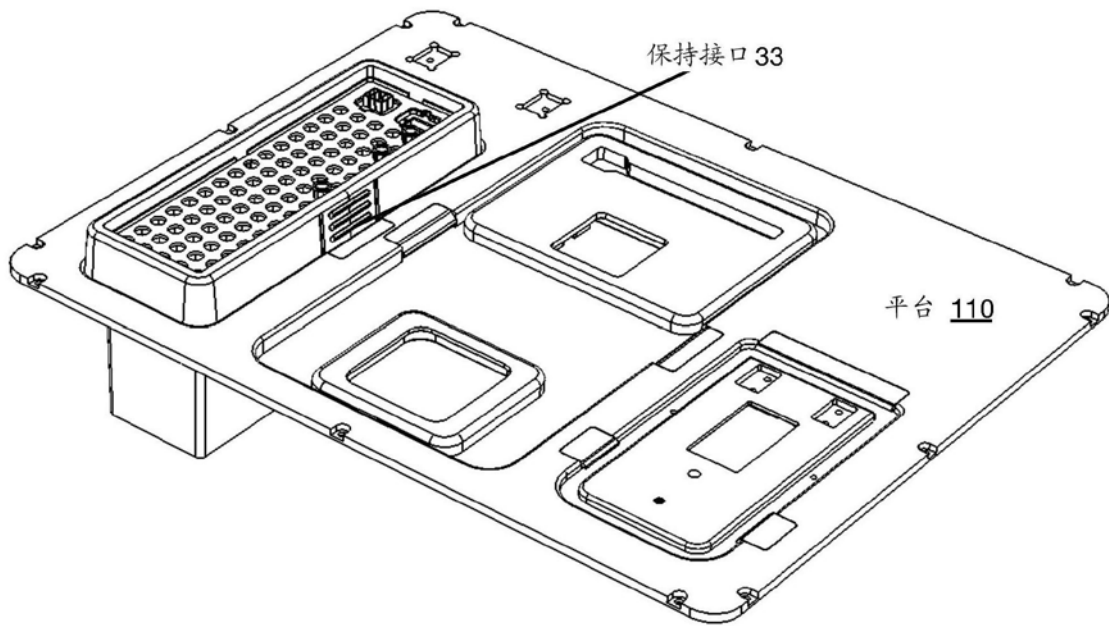


图8H

工具容器 140'

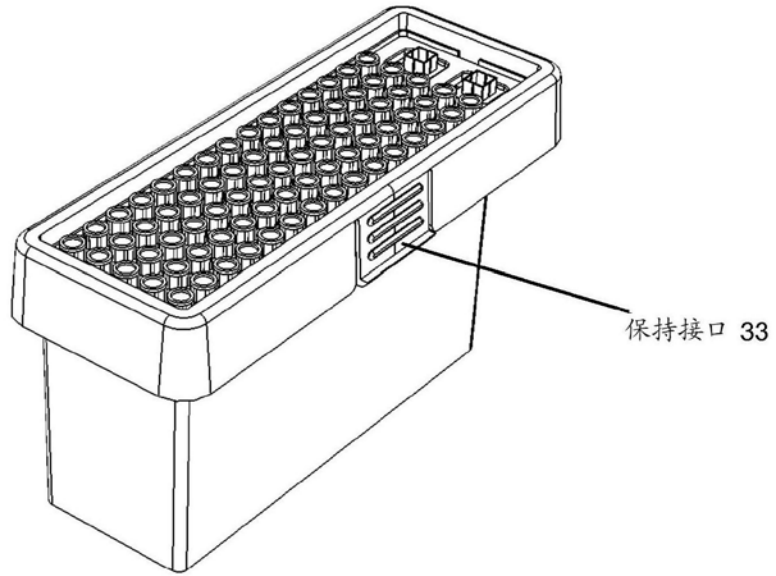


图8I

样品加工盒 130'

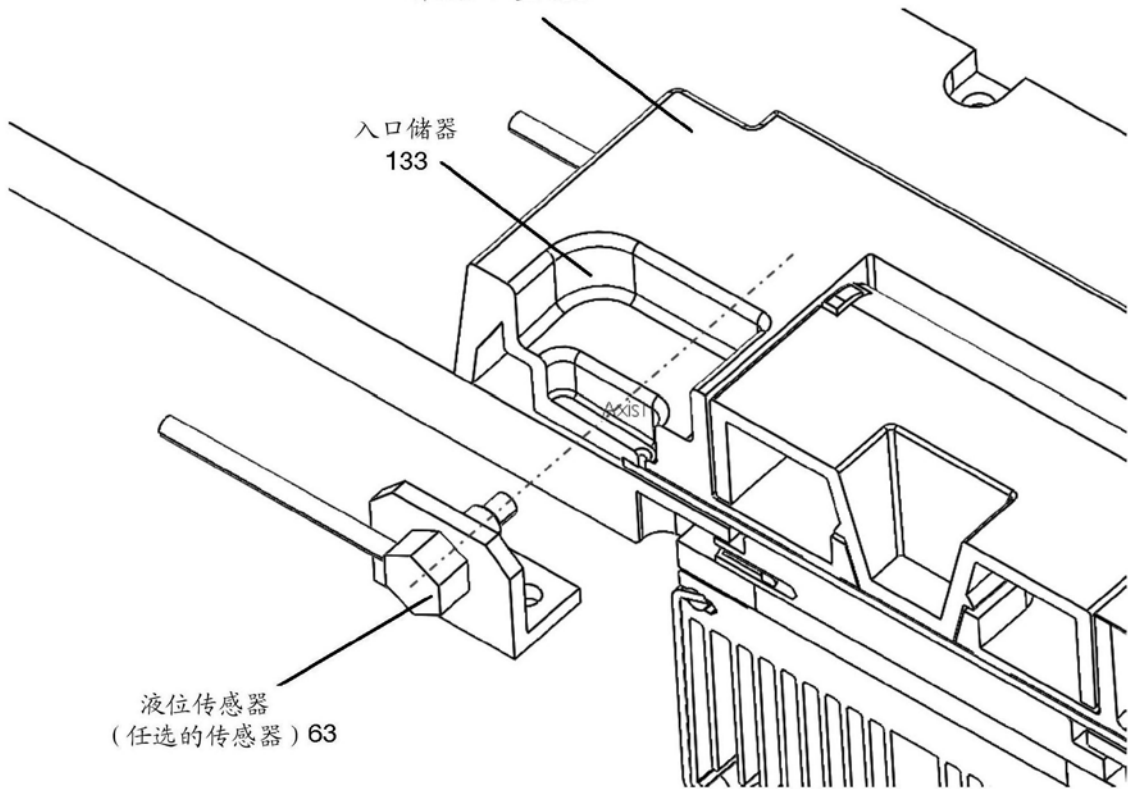


图9



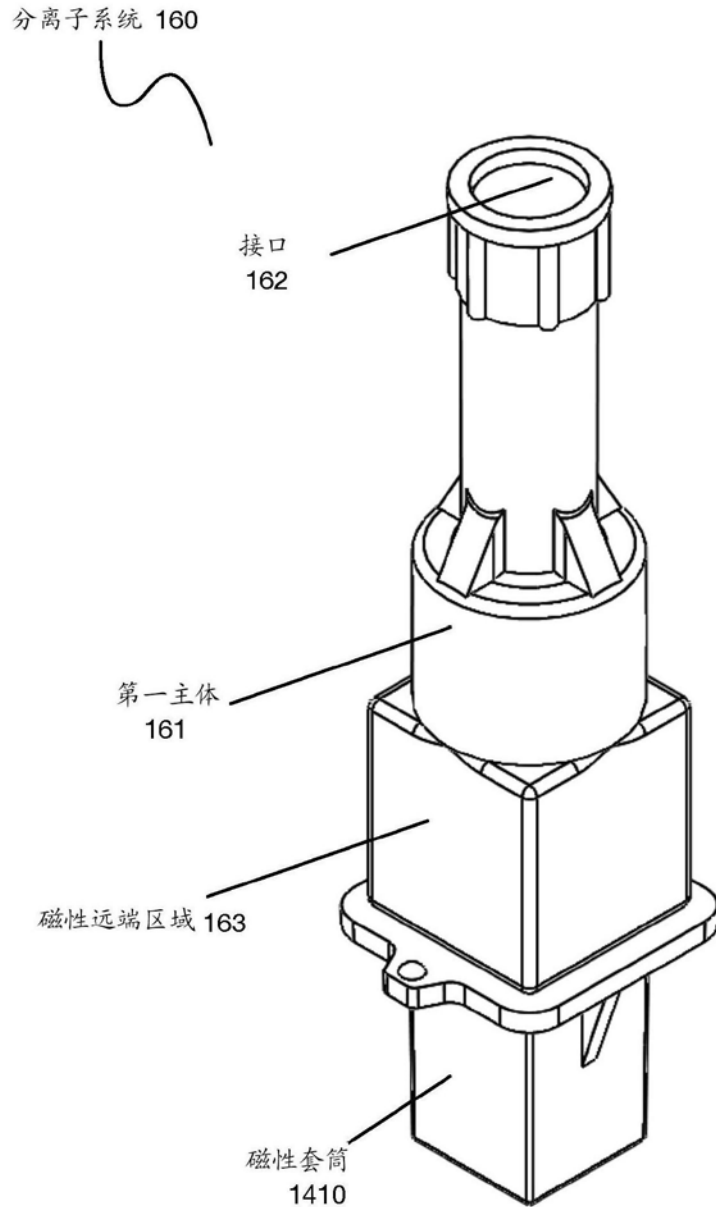


图10A

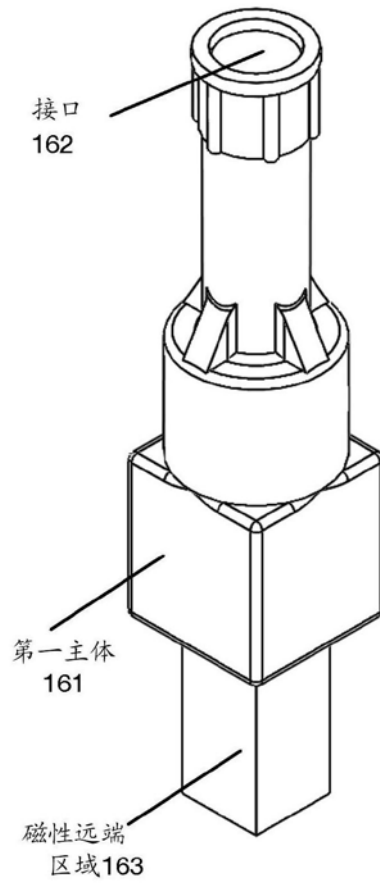


图10B

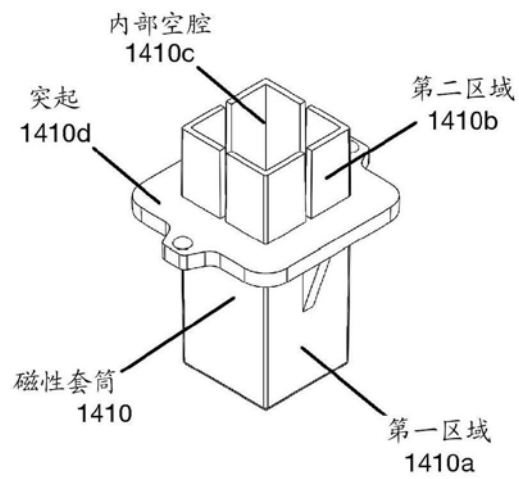


图10C

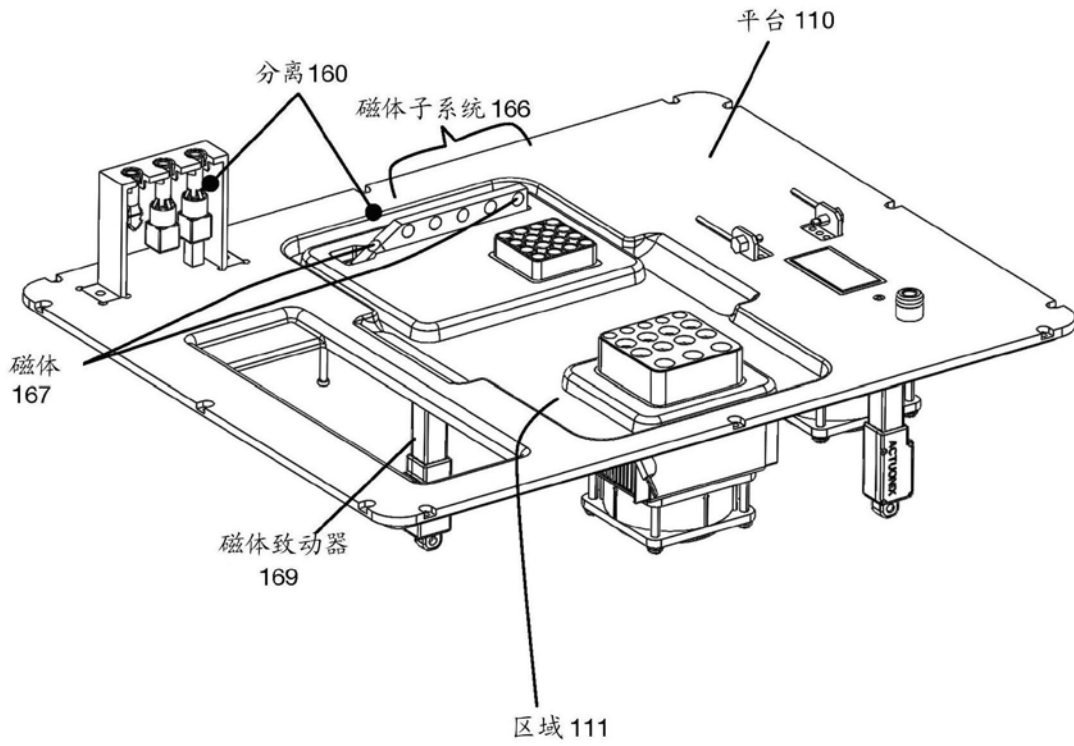


图11A

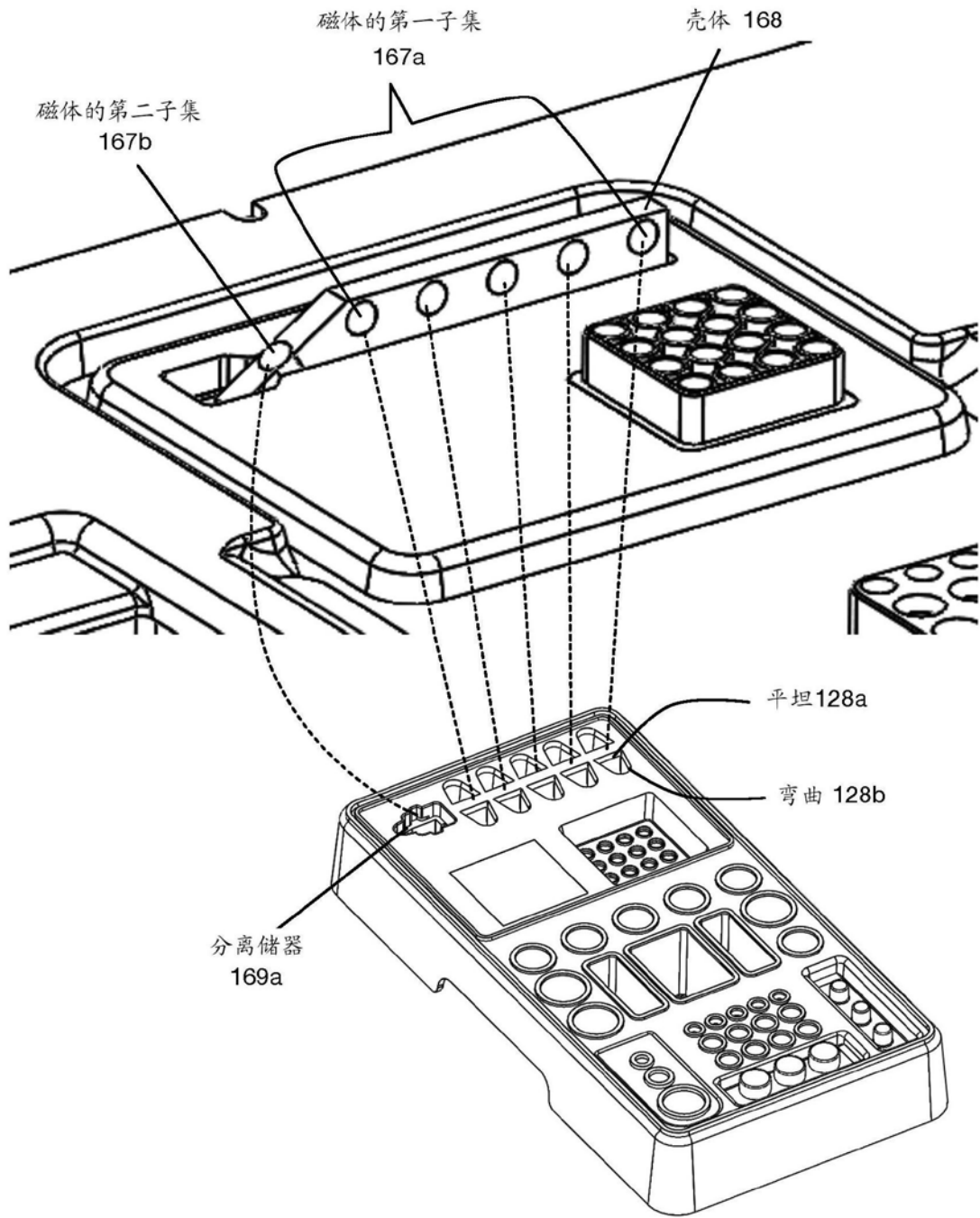


图11B

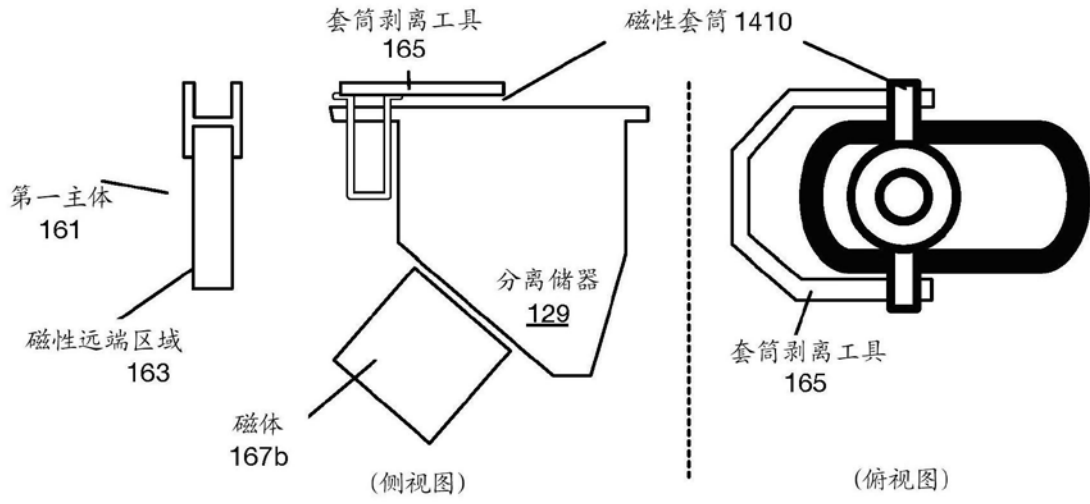


图12A

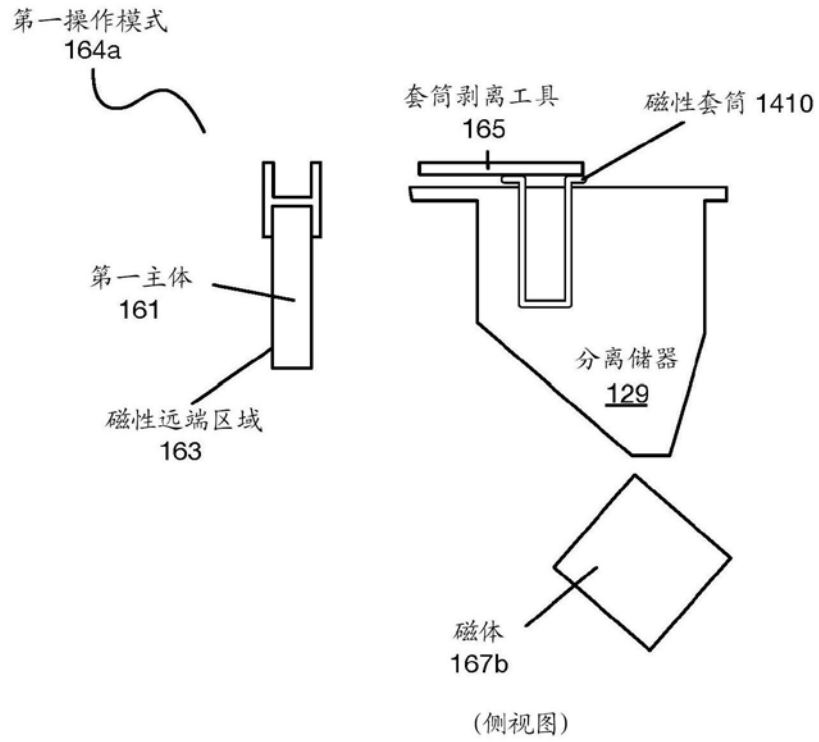


图12B

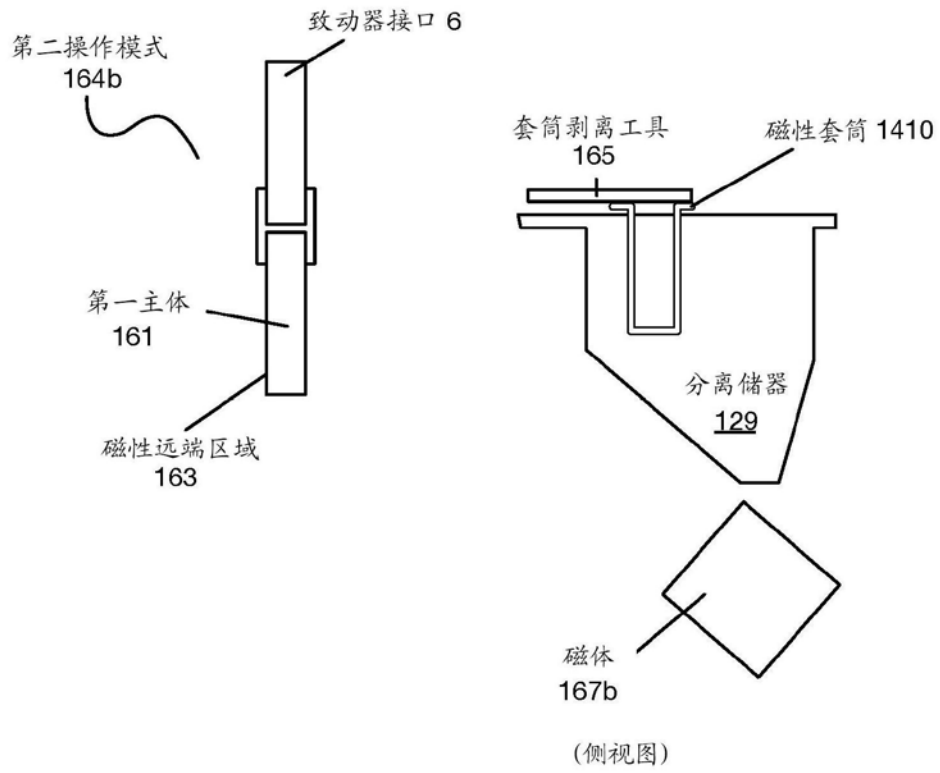


图12C

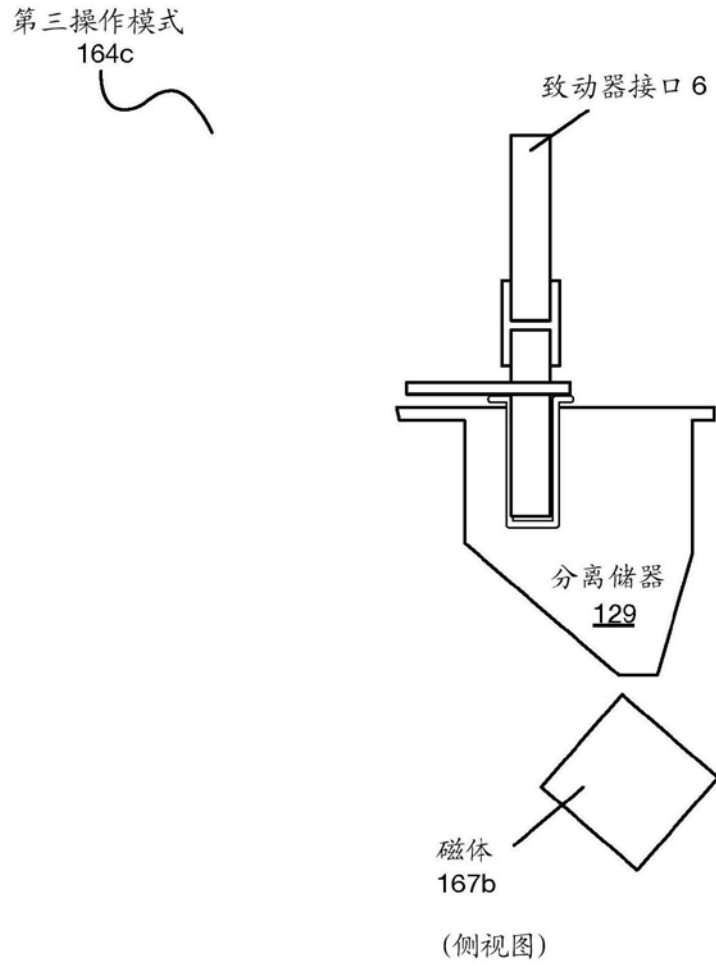


图12D

第四操作模式  
164d

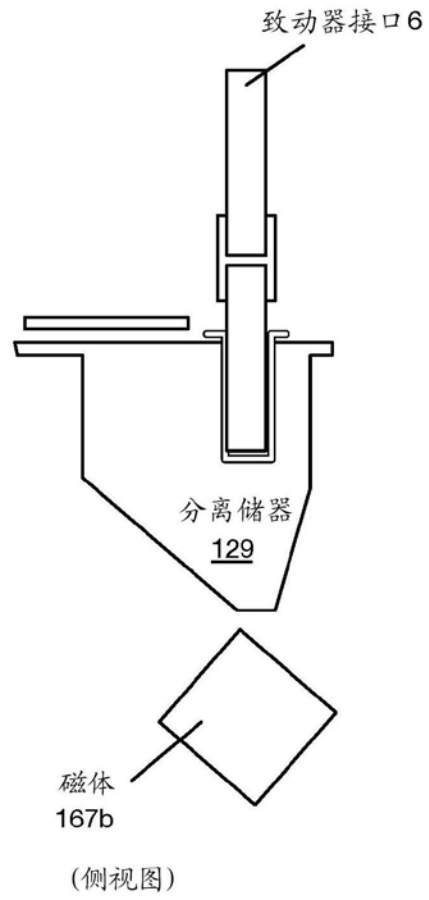


图12E



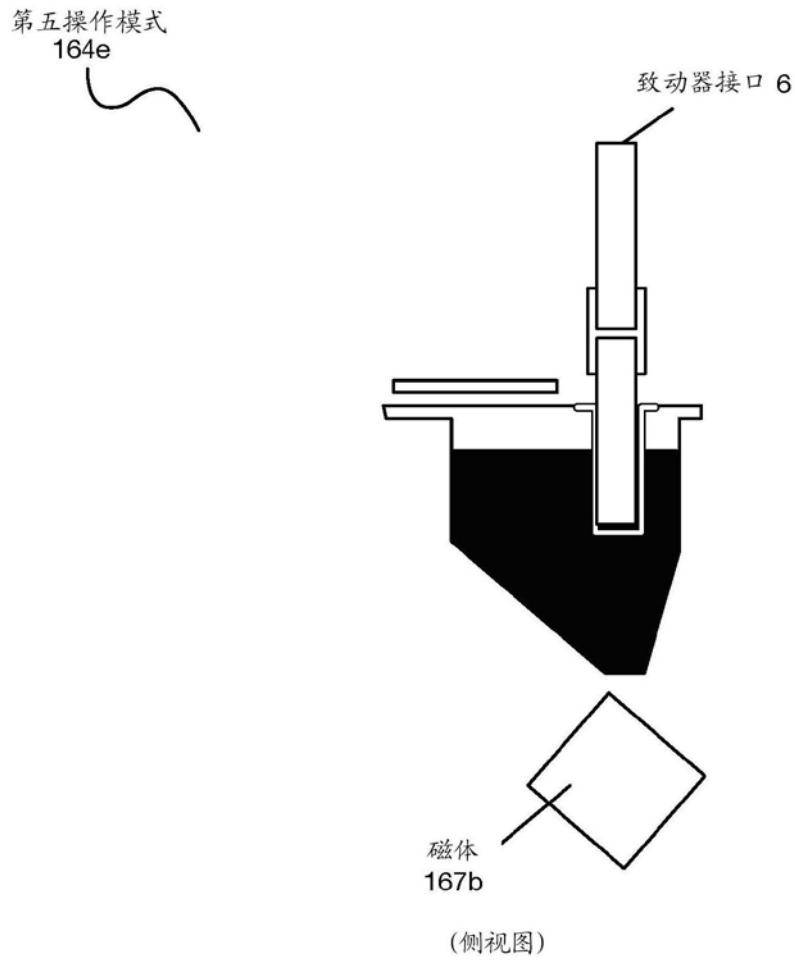


图12F

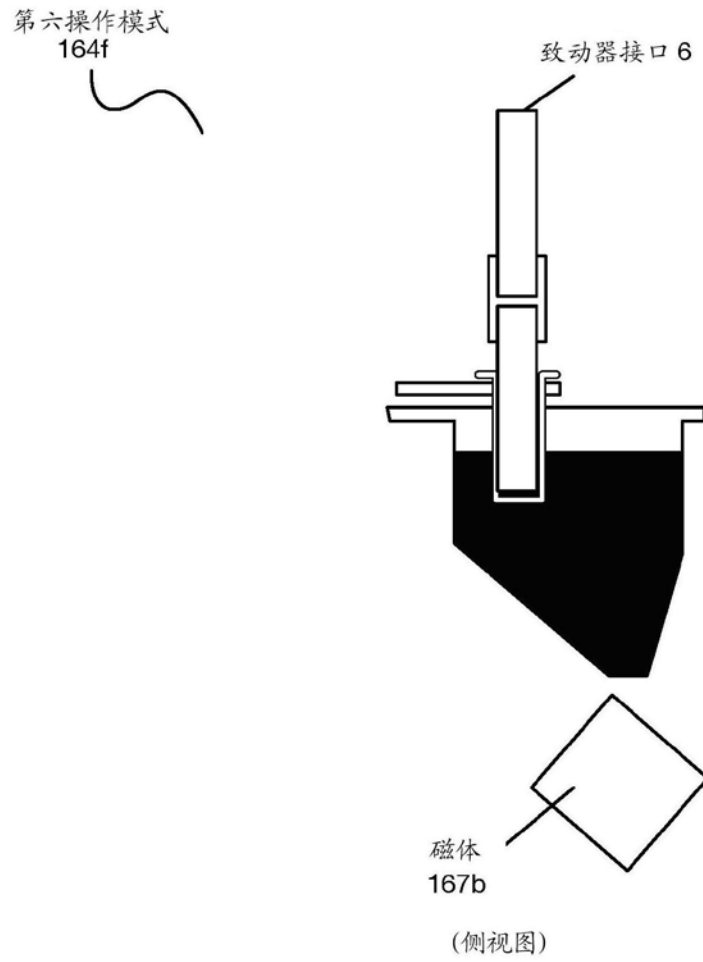
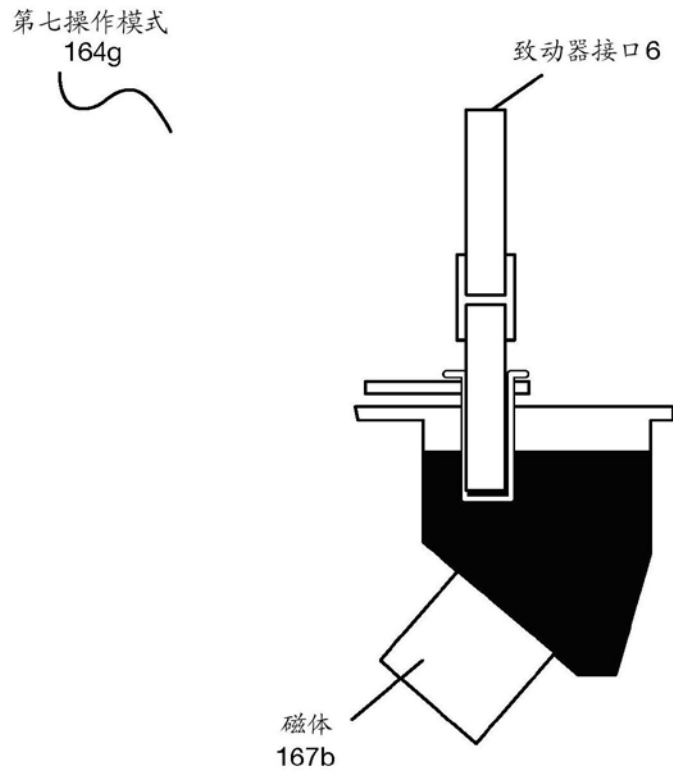
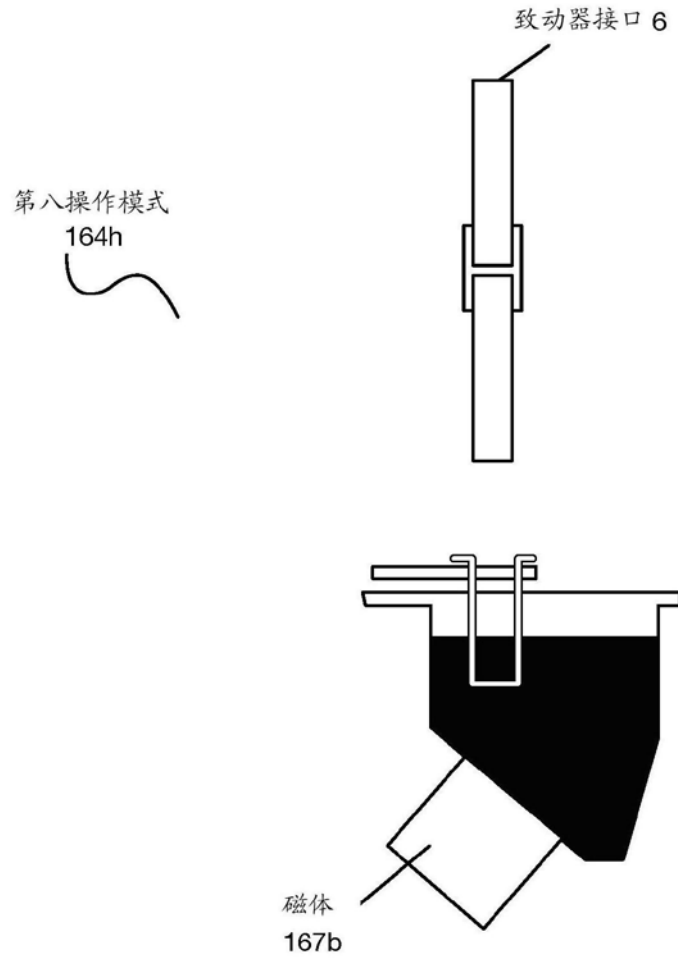


图12G



(侧视图)

图12H



(侧视图)

图12I

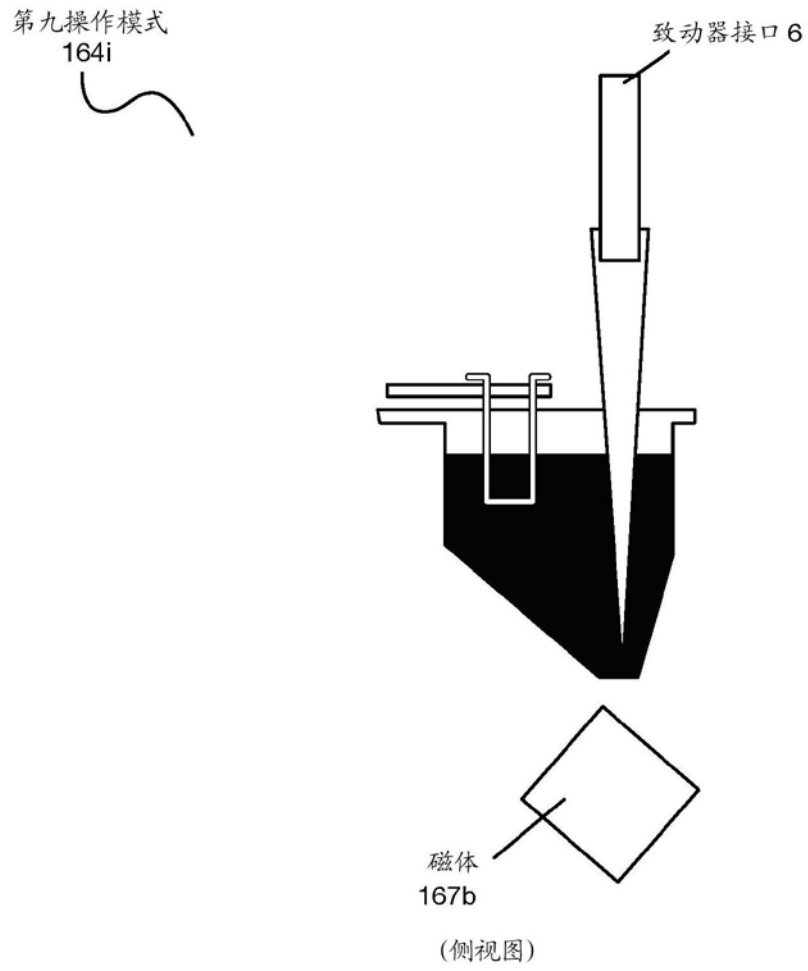


图12J

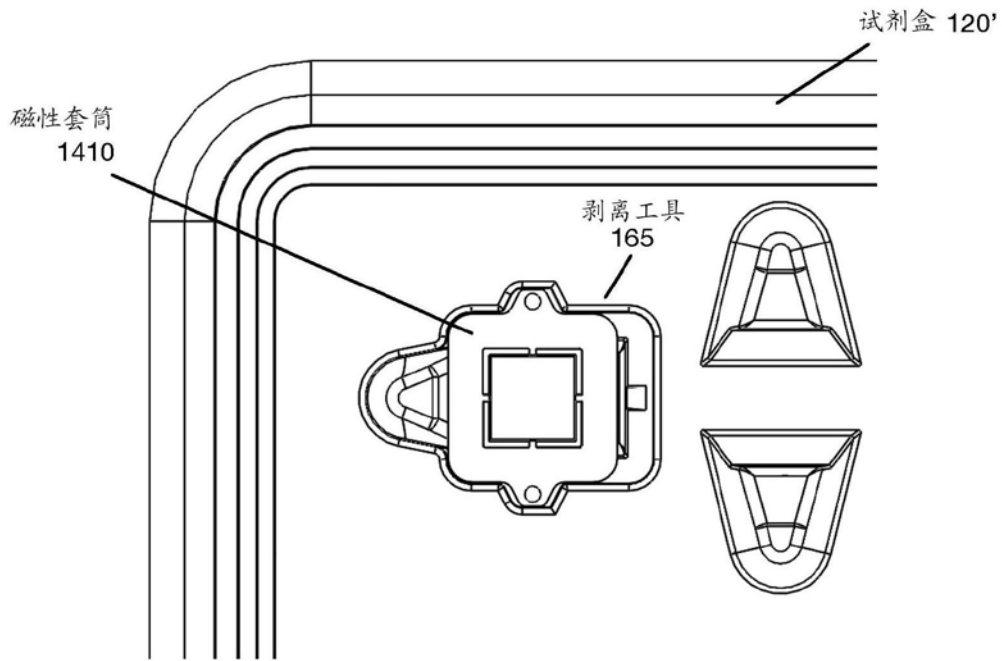


图13A

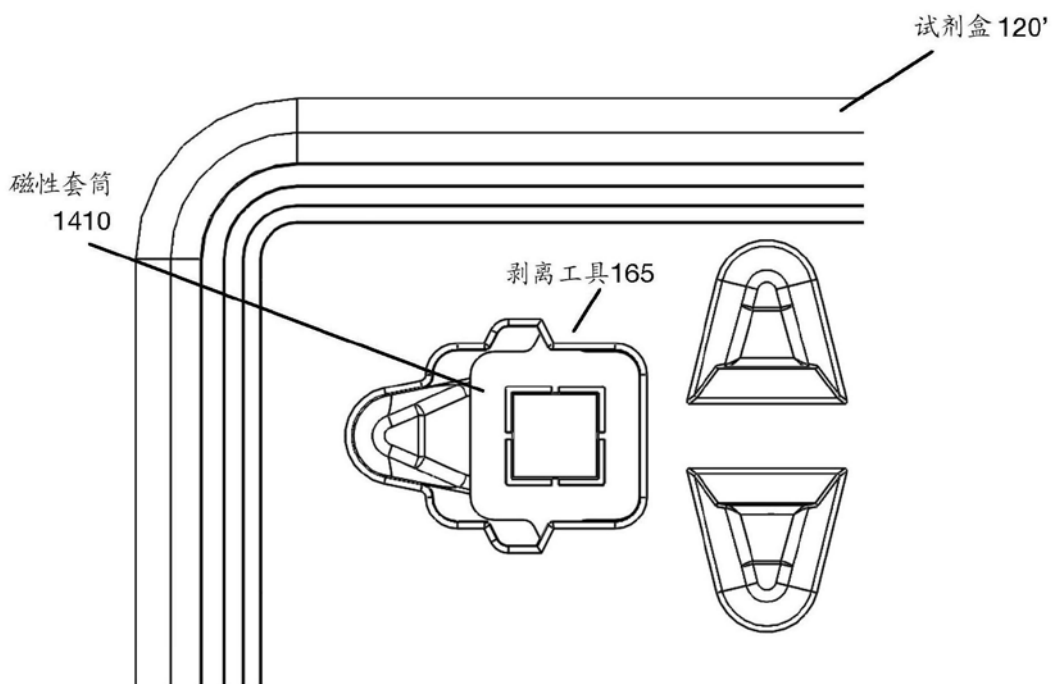


图13B

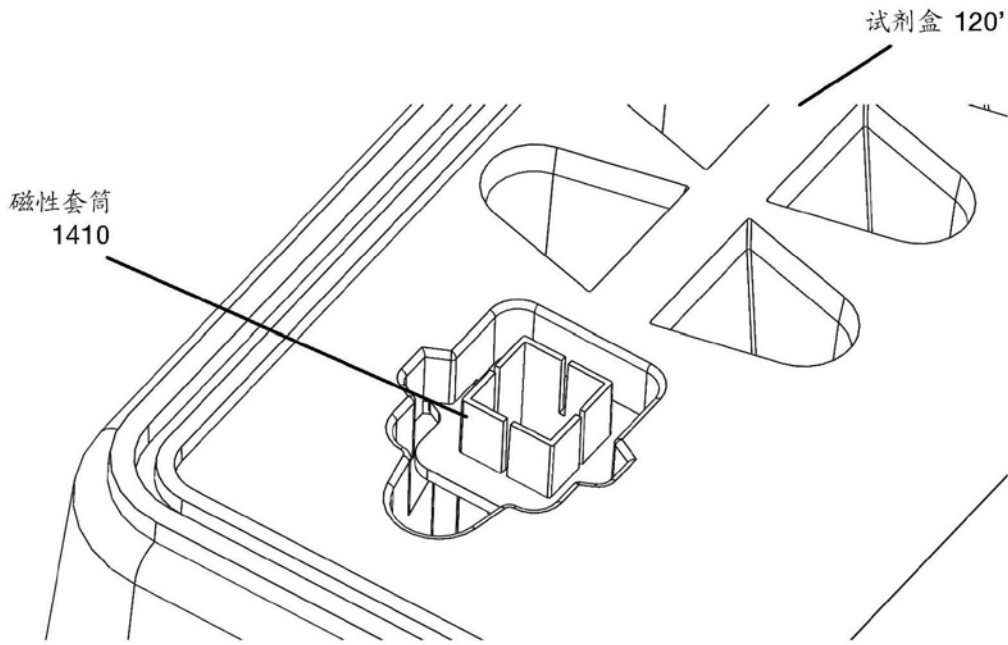


图13C

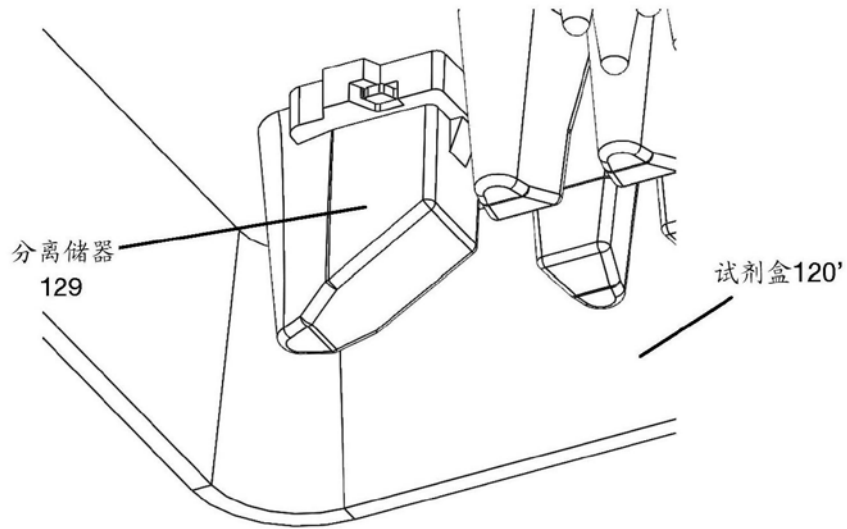


图13D

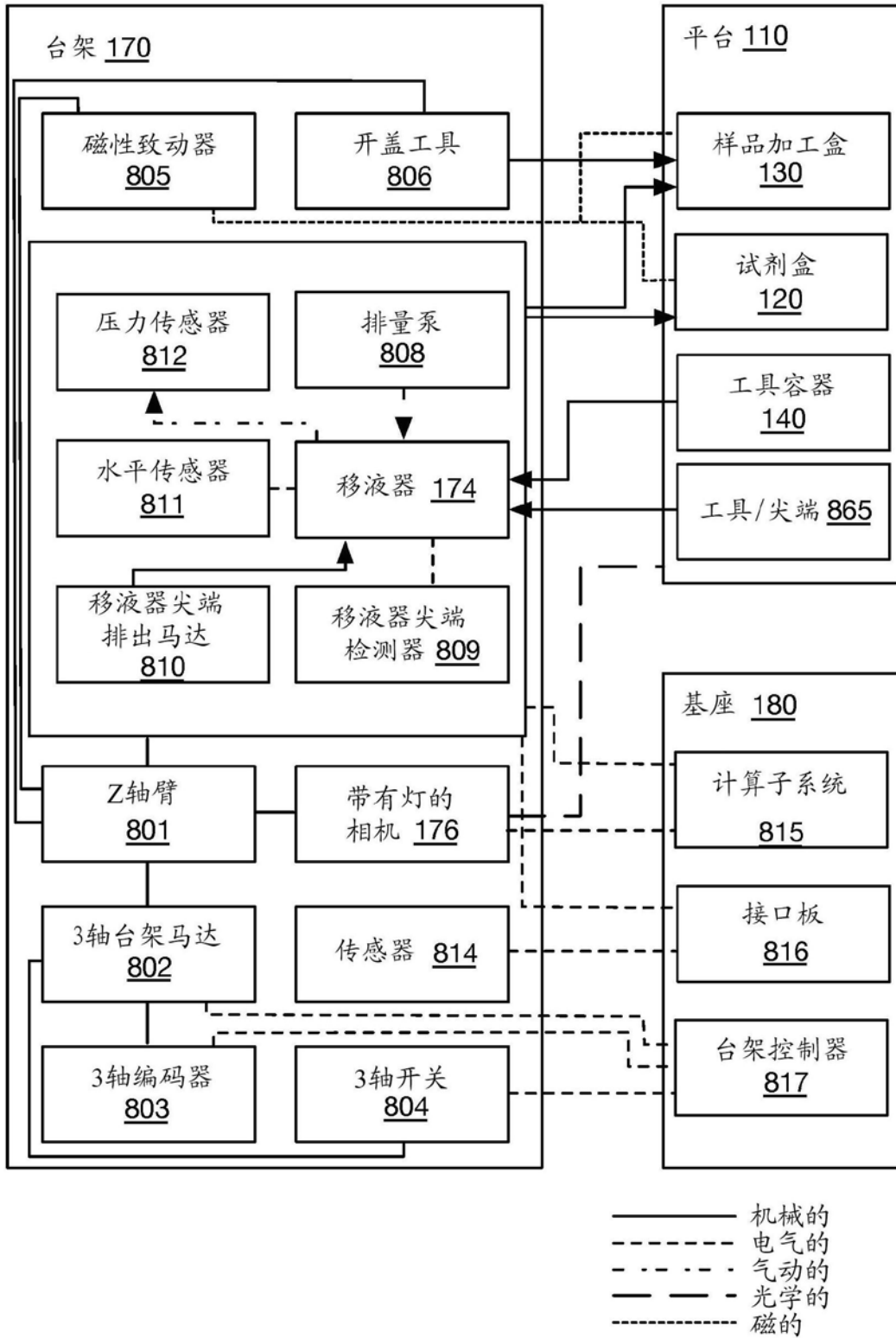


图14A



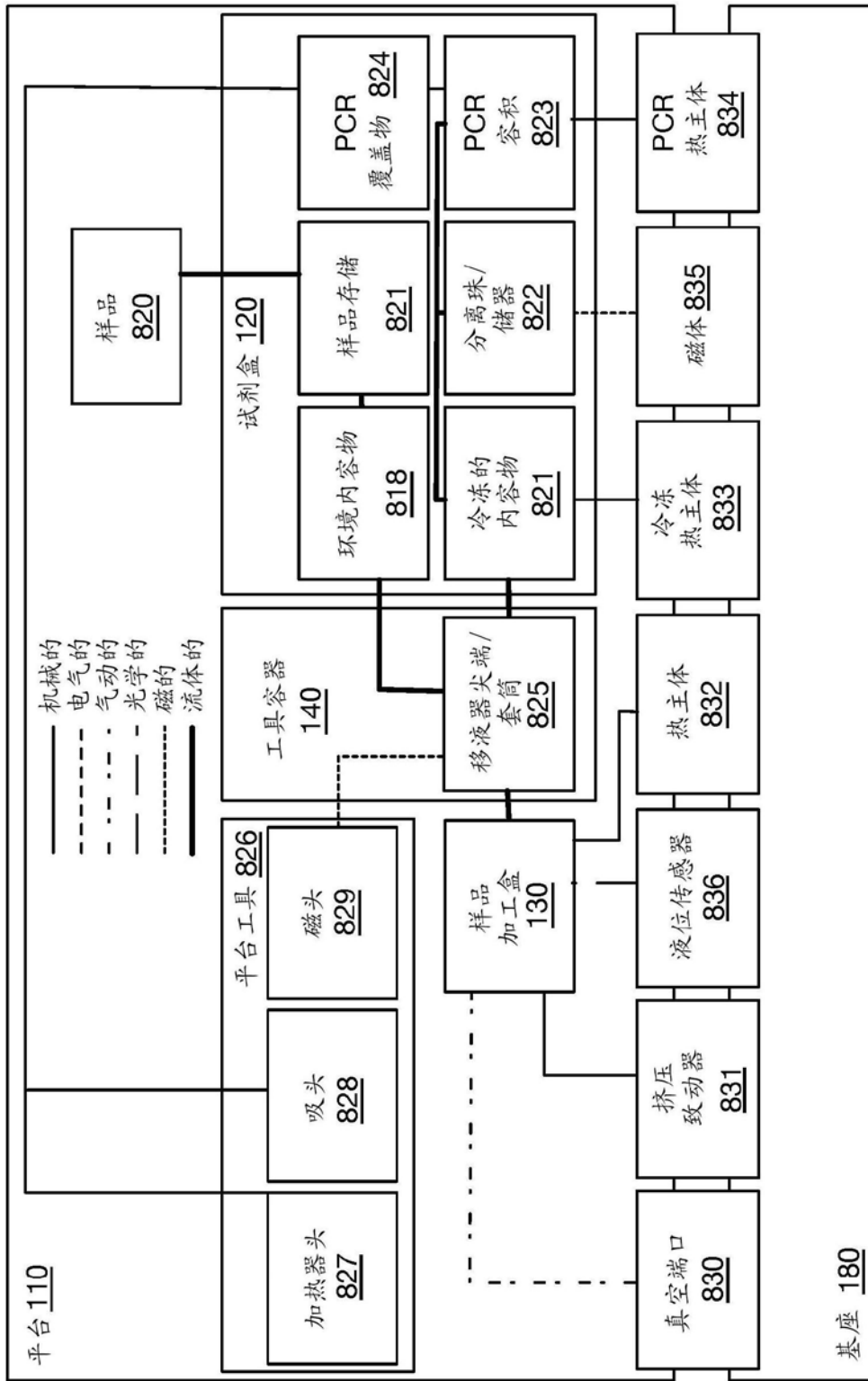


图14B

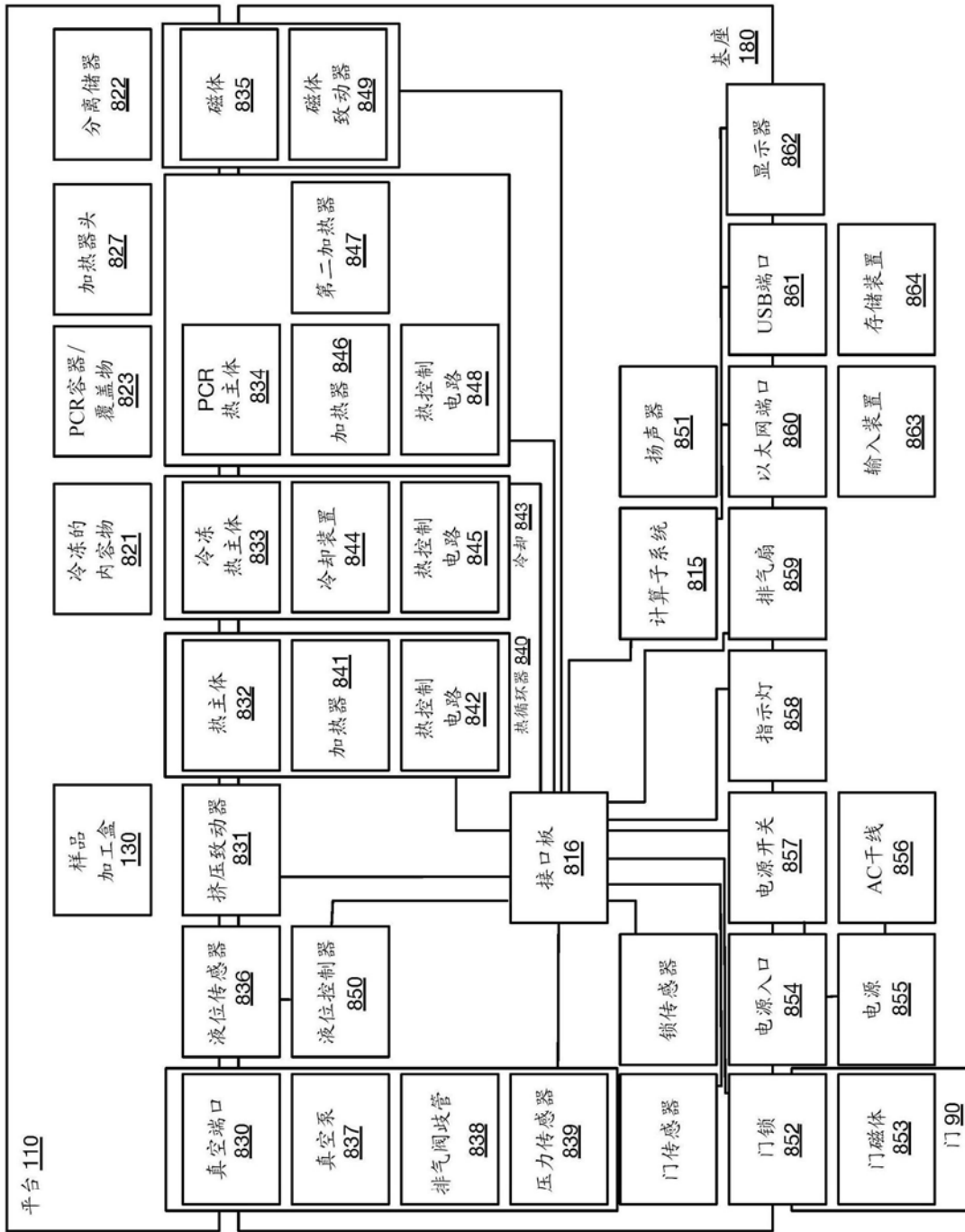


图14C

方法 300

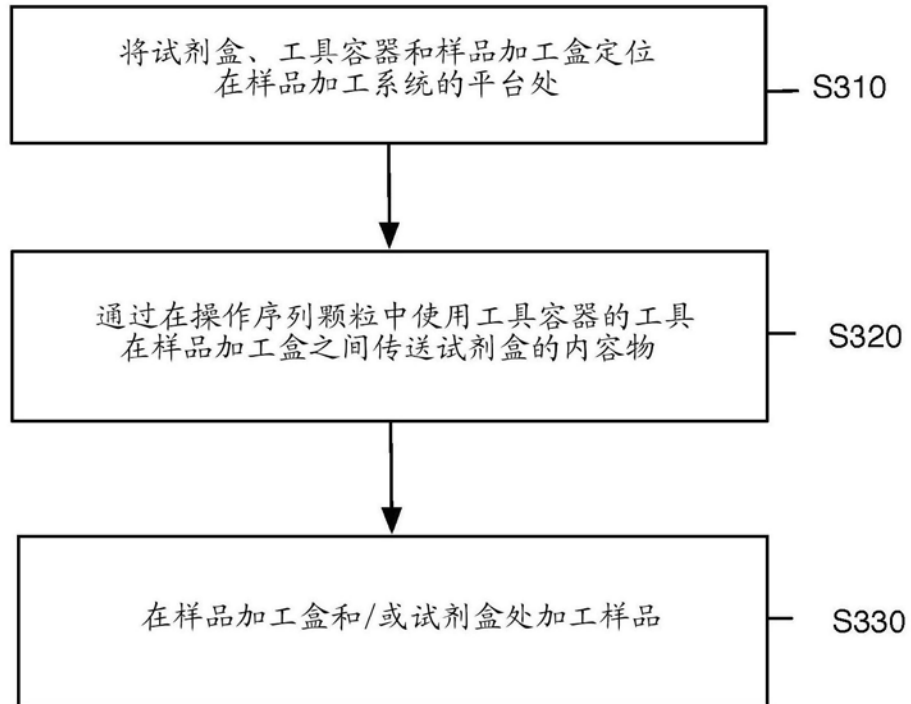


图15

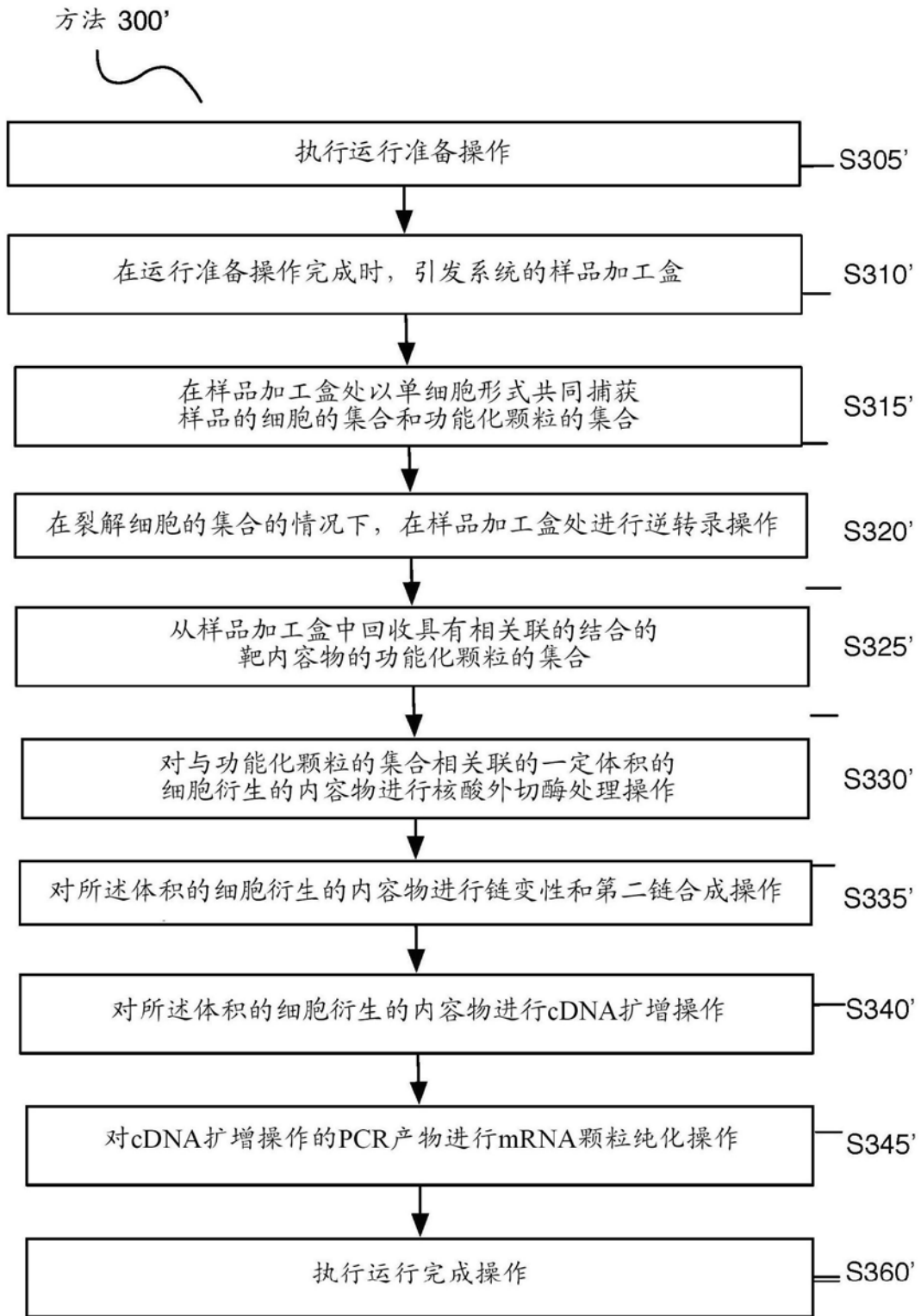


图16

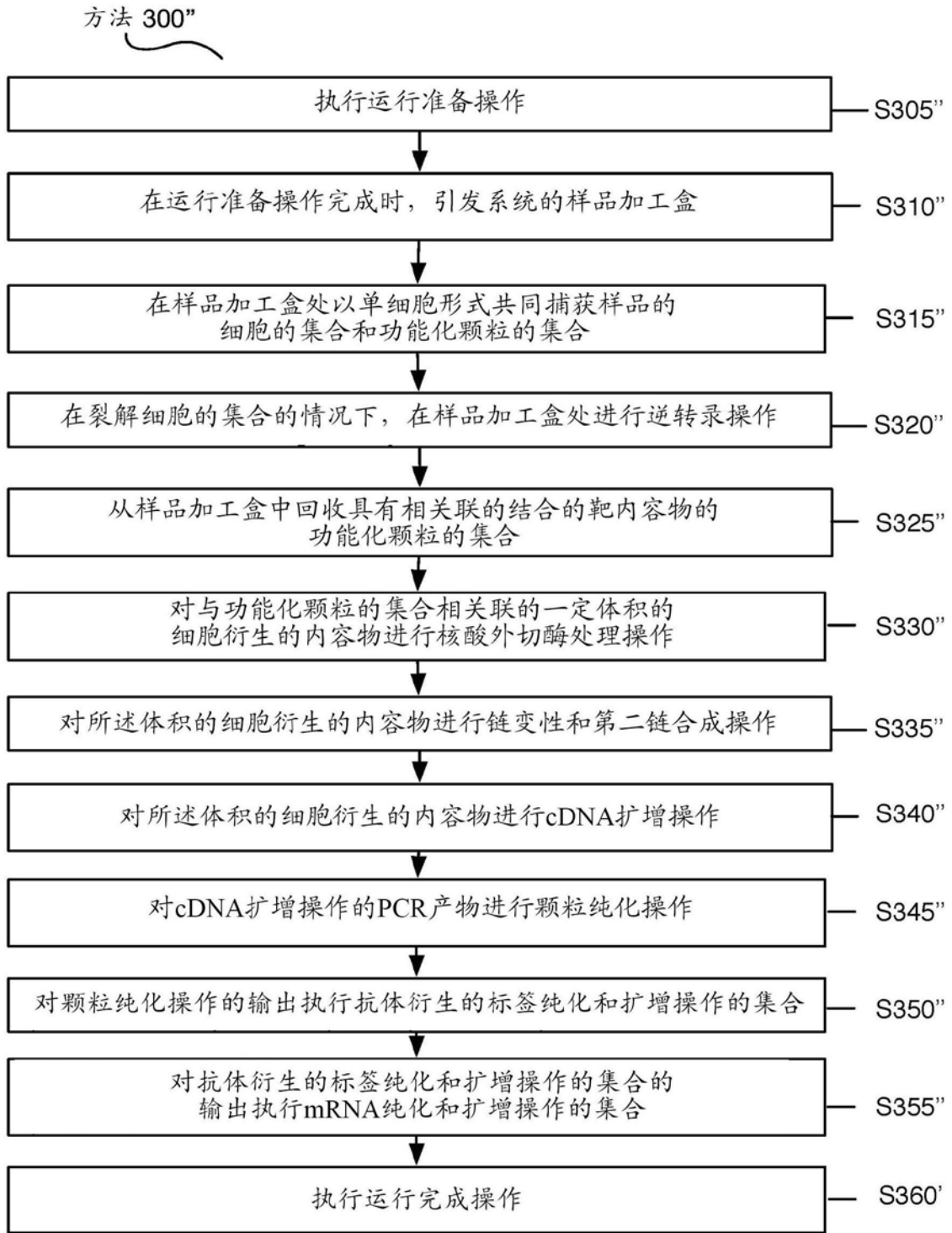


图17

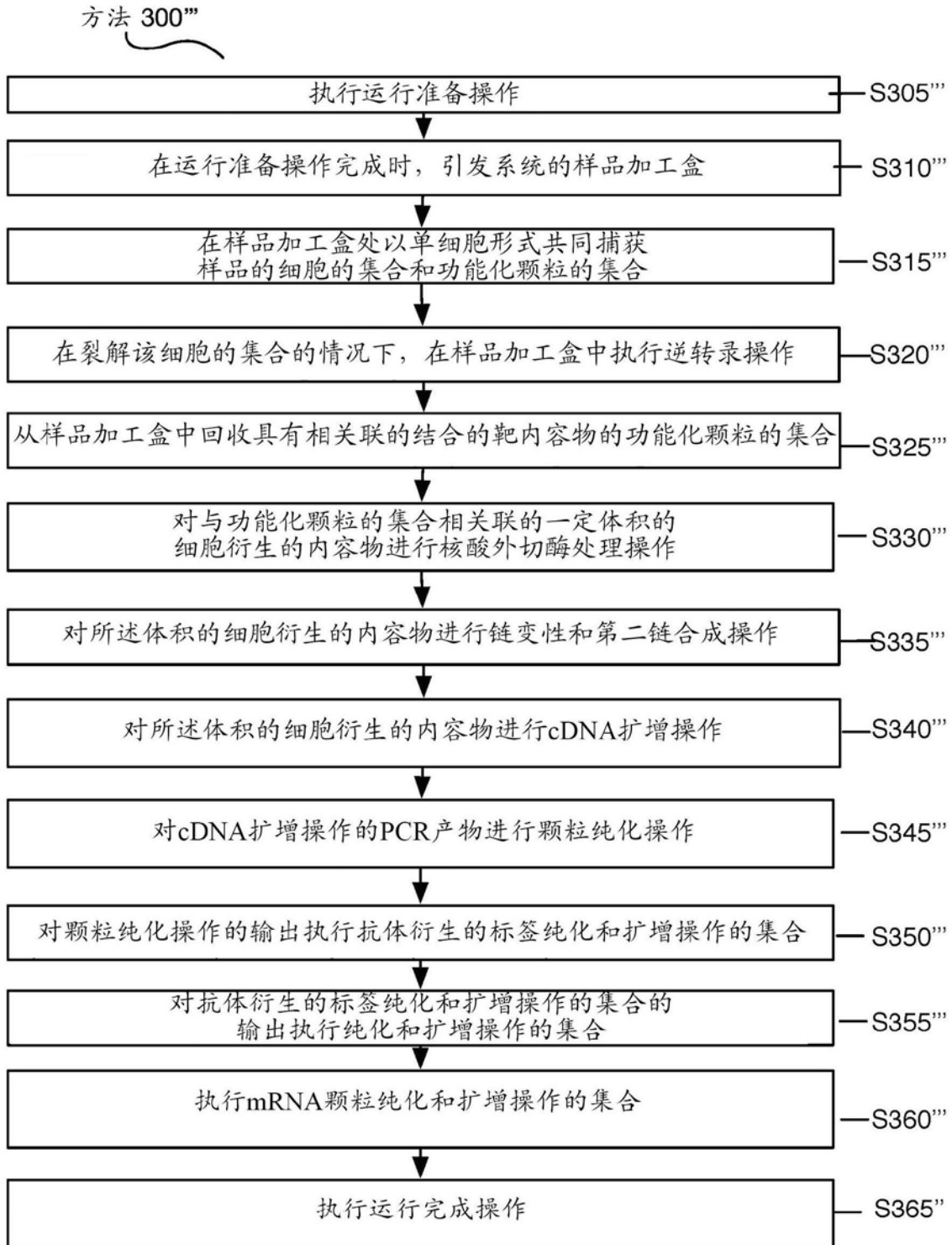


图18

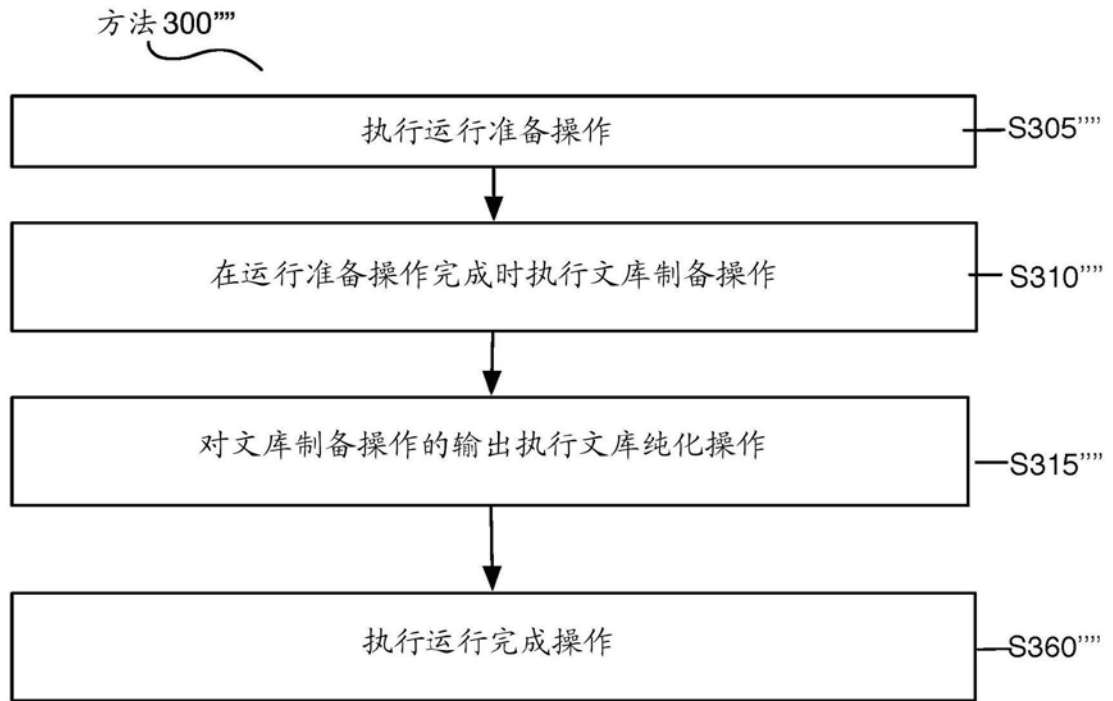


图19