

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 27/447 (2006.01)

G01N 1/10 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02106172.6

[45] 授权公告日 2007年3月21日

[11] 授权公告号 CN 1306266C

[22] 申请日 2002.4.8 [21] 申请号 02106172.6

[30] 优先权

[32] 2001.4.9 [33] JP [31] 110106/01

[73] 专利权人 株式会社岛津制作所

地址 日本京都市

[72] 发明人 山本林太郎

[56] 参考文献

JP20000-74880A 2000.3.14

US6120666A 2000.9.19

US5858187A 1999.1.12

US6033546A 2000.3.7

JP2000227414A 2000.8.15

审查员 宋海峰

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 李晓舒 魏晓刚

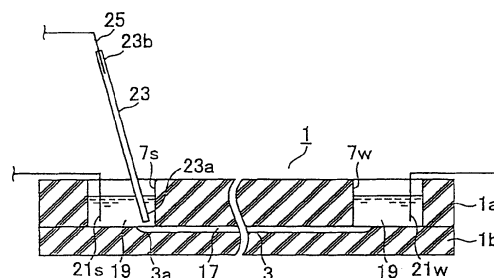
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 3 页

[54] 发明名称

将试样引入微芯片电泳的装置和方法

[57] 摘要

本发明公开了内部存储有试样的毛细管，其一端插入到微芯片中的试样容器中并置于与试样容器连接的沟槽入口附近。电极放在毛细管的另一端和废液容器中。在电极之间施加预定的电压，从而在毛细管的另一端和废液容器之间产生了电势。结果，毛细管中的试样电泳地引入到沟槽内的分离介质中。特定时间过会之后，试样已引入到沟槽中，停止施加在各电极之间的电压，并从试样容器中抽出毛细管。无须以满量状态将试样放入到试样容器中，就可将试样引入到沟槽中。



1. 一种将试样引入微芯片电泳中的方法，其中微芯片具有形成在平面型基片内部中的沟槽和形成在沟槽相对端部相应位置的多个容器，使用微芯片时沟槽和所述多个容器充有迁移介质，从而试样在沟槽中被电泳，该方法包括：

将存储试样的毛细管的一端插入微芯片中的其中一个容器中，其中微芯片的沟槽和所述多个容器中充满有迁移介质；且

通过给所述毛细管的另一端和另一个容器之间施加电压来使存储在所述毛细管中的试样电泳地引入到沟槽中，其中所述另一个容器经由沟槽与插有所述毛细管的所述一个容器连通。

2. 根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述毛细管的端部定位于容器中所述沟槽的入口附近。

3. 一种将试样引入微芯片电泳中的装置，该装置包括：

具有形成在平面型基片内部中的沟槽和形成在沟槽相对端部相应位置的多个容器的微芯片，沟槽和容器中充有迁移介质；

毛细管，该毛细管中存储有试样，毛细管的一端插入到微芯片中的其中一个容器中，其中微芯片的沟槽和所述多个容器中充有迁移介质；且

两个分别设置在所述毛细管的另一端和另一个容器中的电极，所述另一个容器经由沟槽与插有所述毛细管的所述一个容器连通。

将试样引入微芯片电泳 的装置和方法

技术领域

本发明涉及一种将试样引入微芯片电泳(electrophoresis)的装置和方法,其中微芯片有形成在平面型基片内部中的沟槽和形成在沟槽相对端部相应位置的容器,使用微芯片时沟槽和容器充有迁移介质,从而试样在沟槽中被电泳。

背景技术

微芯片电泳通常用来实现试样的快速、高溶解度分析,试样中包含有极少量的蛋白质、核酸和药剂等。

电泳技术已经影响了蛋白质、核酸等的微量分析,其中作为代表性示例将会提到毛细管电泳。在毛细管电泳中,使用内径不超过 100 微米的玻璃毛细管(下文简称作“毛细管”)。玻璃毛细管中充有分离介质,且毛细管一端引入试样。毛细管的两端与供电用电泳缓冲液(running buffer)接触,在毛细管的两端之间通过供电用电泳缓冲液施加高电压,从而毛细管中试样的分析物被溶解。因为在给定容量下,毛细管有大的表面积(即,可高效的冷却),故可以施加足够高的电压,使极少量的试样,如 DNA(脱氧核糖核酸),高速、高溶解度的分析。

这种技术的问题是细如约 100-500 μm 的毛细管容易断裂,使得用户在更换毛细管操作时十分困难,有时热散失不充分,分离效率就会受到负面影响。更进一步的问题是,为了通过供电用电泳缓冲液给毛细管的相对两端施加电压,毛细管必须至少具有两端都与供电用电泳缓冲液接触的长度,故不能将其设计得短于特定长度。

在 D. J. Harrison 等人于 1993 年在《Anal. Chem.》第 283 期,第 361-366 页中已经提出:由两个连接的基片形成的微芯片(电泳芯片)可代替毛细管,

该微芯片具有用较小的装置能更快分析的电势。图 2A 至 2C 示出了这种微芯片的一种示例。微芯片 1 包括一对透明平板型的基片 1a 和 1b, 基片由无机材料(例如玻璃、石英或硅)或塑料材料制成。用通常在半导体制造工艺中使用的光刻法、微切削加工或其它技术在一个基片 1b 的表面上形成两个交叉的迁移毛细凹槽(沟槽)3 和 5。阳极容器 7a、阴极容器 7c、试样容器 7s 和废液容器 7w 以通孔的形式形成在另一个基片 1a 中, 位置在沟槽 3 和 5 两端的相应处。如图 2C 中所示, 使用微芯片 1 时基片 1a 重叠在基片 1b 上。

作为用微芯片 1 进行电泳分析时的第一步, 用适当的抽吸装置如注射器将分离介质强行注入到容器中的任何一个, 如阳极容器 7a, 直到分离介质充满了沟槽 3、5 和容器 7a、7c、7s 及 7w。然后, 消除容器 7a、7c、7s 和 7w 中的分离介质, 试样充入到对应于较短沟槽(试样充入沟槽)3 的一端的试样容器 7s 中, 供电用电泳缓冲液充入到其它的容器 7a, 7c 和 7w 中。

充有分离介质、试样和供电用电泳缓冲液微芯片 1 置于电泳装置中。预定的电压施加在容器 7a、7c、7s 和 7w 上, 以便试样穿过沟槽 3 迁移直到其到达两个沟槽 3 和 5 的相交处 9。接通容器 7a、7c、7s 及 7w 上的电压, 以便作用在较长沟槽(分离沟槽)5 相对端的容器 7a 和 7c 之间的电压使在相交处 9 的试样电泳地引入到沟槽 5 中。

将试样引入到沟槽 5 中后, 通过用与存储在容器 7a、7c 和 7w 中相同的供电用电泳缓冲液替换容器 7s 中的试样, 将电泳中不稳定的元素消除掉, 其中不稳定的元素是容器 7a、7c、7s 和 7w 中溶液之间电解质导电性的差异导致的。

然后施加电泳电压到容器 7a、7c、7s 及 7w, 以便充入到沟槽 5 中的试样在沟槽 5 中分离成各个组元。用设置在沟槽 5 中适当位置的检测器检测并分析试样中的电泳分离的组元。检测方法包括“吸收光度测定法”、“荧光测定法”、“电化学法”和“电导法”。

这种引入试样的方法叫作“交叉充入”法。在上文交叉充入法的解释中, 供电用电泳缓冲液存储在容器 7a、7c 及 7w 中, 及试样替换后的试样容器 7s 中。如果需要, 可以存储分离介质以替代供电用电泳缓冲液。

图 3A 至 3C 示出了这种微芯片另一个示例。微芯片 11 包括一对透明平板型的基片 11a 和 11b, 基片由无机材料(例如玻璃、石英或硅)或塑料材料制成。用通常在半导体制造工艺中使用的光刻法、微切削加工或其它技术

在一个基片 11b 的表面上形成迁移毛细凹槽(沟槽)13。试样容器 15s 和废液容器 15w 以通孔的形式形成在另一个基片 11a 中，位置在沟槽 13 两端的相应处。如图 3C 中所示，使用微芯片 11 时基片 11a 重叠在基片 11b 上。

作为用微芯片 11 进行电泳分析时的第一步，用适当的抽吸装置如注射器将分离介质强行注入到容器中的任何一个中，如试样容器 15s，直到分离介质充满了沟槽 13 和容器 15s 和 15w。然后消除容器 15s 和 15w 中的分离介质，试样充入到试样容器 15s 中，供电用电泳缓冲液充入到废液容器 15w 中。

充有分离介质、试样和供电用电泳缓冲液的微芯片 11 置于电泳装置中，预定的电压施加在容器 15s 和 15w 上，以便试样引入到沟槽 13 中。

将试样引入到沟槽 13 中后，通过用与存储在容器 15w 中相同的供电用电泳缓冲液替换容器 15s 中的试样，将电泳中不稳定的元素消除掉，其中不稳定的元素是容器 15s 和 15w 中溶液之间电解质导电性的差异的结果。

然后施加电泳电压到容器 15s 和 15w，以便充入到沟槽 13 中的试样在沟槽 13 中分离成各个组元。用设置在沟槽 13 中适当位置的检测器检测并分析试样中的电泳分离组元。

这种引入试样的方法叫作“动电”法，在上文动电法的解释中，供电用电泳缓冲液存储在废液容器 15w 中及试样替换后的试样容器 15s 中。如果需要，可以存储分离介质以替代供电用电泳缓冲液。

不论是用动电法或交叉充入法将试样引入微芯片电泳，存储在试样容器中的试样最终必须被与其它容器中的溶液相同的溶液(分离介质或供电用电泳缓冲液)所代替。这种在试样容器中溶液的替代是费时的步骤。而且，在试样容器中溶液替代过程中，可能会形成气泡。

更进一步的问题是，为了确保电泳过程不被试样容器中溶液的耗干中断，试样容器的容量就必须足够大。在试样引入的相关技术方法中，试样的容量必须与试样容器的容量相等，这限制了减少试样容量的努力。

发明内容

本发明的一个目的是提供一种将试样引入微芯片电泳中的装置和方法，通过这种装置和方法可将试样引入沟槽，无需将其以满量状态放入微

芯片的容器中。

通过将试样引入微芯片电泳的方法，本发明的这个目的可以实现，其中微芯片有形成在平面型基片上的沟槽和形成在沟槽相对端部相应位置的多个容器，使用微芯片时沟槽和所述多个容器充有迁移介质，从而试样在沟槽中被电泳。在将试样注入到微芯片电泳的方法中，存储试样的毛细管的一端插入到微芯片中容器中的其中一个容器中，微芯片的沟槽和所述多个容器中充满了迁移介质。然后，通过给毛细管的另一端和另一个容器之间施加电压使存储在毛细管中的试样电泳地引入到沟槽中，其中所述另一个容器经由沟槽与插有毛细管的所述一个容器连通。

此处用到的术语“迁移介质”包括分离介质和供电用电泳缓冲液，及试样通过其迁移的其它介质。

根据本发明，存有试样的毛细管的一端插入到微芯片中容器中的任一个中，微芯片的沟槽和容器中充满了迁移介质。然后，通过给毛细管的另一端和容器之间施加电压使存储在毛细管中的试样电泳地引入到沟槽中，其中容器经由沟槽与插有毛细管的容器连通。这样在本发明中，无须将试样以满量状态放入微芯片的容器中，就可将试样引入到沟槽中。当说到“试样以满量状态存放在微芯片的容器中”时，意思并不限于将试样充满容器的全部容量这种情况，还包括将所需容量的试样放入容器中这种情况，在将毛细管从容器中抽出后，引入的试样被电泳，并分离成组元。

优选地，毛细管的一端放在容器中靠近沟槽的入口处。一个结果是，随着试样穿过毛细管从毛细管的一端向沟槽迁移，可以消除容器中试样的渗出。

本发明还提供了一种将试样引入微芯片电泳中的装置，该装置包括：具有形成在平面型基片内部中的沟槽和形成在沟槽相对端部相应位置的多个容器的微芯片，沟槽和容器中充有迁移介质；毛细管，该毛细管中存储有试样，毛细管的一端插入到微芯片中的其中一个容器中，其中微芯片的沟槽和所述多个容器中充有迁移介质；且两个分别设置在所述毛细管的另一端和另一个容器中的电极，所述另一个容器经由沟槽与插有所述毛细管的所述一个容器连通。

附图说明

- 图 1 示出了图 2A 至 2C 中微芯片的 X-X 剖面图；
图 2A 是构成微芯片示例的两个基片中的一个的顶视图；
图 2B 是另一基片的顶视图；
图 2C 是这两个基片一个放在另一个上面的侧视图；
图 3A 是构成微芯片另一示例的两个基片中的一个的顶视图；
图 3B 是另一基片的顶视图；
图 3C 是这两个基片一个放在另一个上面的侧视图。

具体实施方式

图 1 是本发明的微芯片的横截面图，它示出了图 2A 至 2C 的 X-X 剖面。结合图 1 和 2A 至 2C，下边描述本发明将试样引入微芯片电泳的方法的操作步骤。

首先，在微芯片 1 中，沟槽 3 和 5 充有分离介质 17，容器 7a、7c、7s 和 7w 充有供电用电泳缓冲液 19。电极 21s 和 21w 分别存放在容器 7a、7c、7s 和 7w 中，并与容器 7a、7c、7s 和 7w 中的供电用电泳缓冲液 19 接触，在图 1 中与容器 7a 和 7c 连接的电极未示出。

试样存放在毛细管 23 中。毛细管 23 由诸如玻璃或树脂的非导体材料制成，并且外径为 250-365 μm ，内径为 50-100 μm ，长度为 50-70mm。本实施例中，毛细管 23 的外径为 365 μm ，内径为 100 μm ，长度为 50mm。毛细管 23 的一端部 23a 插入到试样容器 7s 中，置于与试样容器 7s 连通的沟槽 3 的入口 3a 的近处。电极 25 放在毛细管 23 的另一端 23b 中。

预定电压施加在电极 21w 和 25 之间，及与容器 7a 和 7c 连接的各电极之间，从而在毛细管 23 的另一端 23b 和废液容器 7w 之间就会产生电势能。结果经由试样容器 7s 中的供电用电泳缓冲液 19，毛细管 23 中的试样电泳地引入到沟槽 3 中的分离介质 17 中。指定时间过去后，当试样已经引入到沟槽 3 中时，中断施加在电极 21w 和 25 之间、与容器 7a 和 7c 连接的各电极之间的电压，并从试样容器 7s 中抽出毛细管 23。随后的步骤与相关技术中的通过电泳溶解的方法相同。

这样在上述的本实施例中，无须将试样以满状态放入试样容器 7s 中，

就可将试样引入到沟槽 3 中。因为这消除了将试样引入到试样容器 7s 中溶液替换的需要，所以不但可以实现省时，否则在溶液替换步骤会费时，而且可避免产生泡泡及在溶液替换期间漂移到试样容器 7s 中的风险。

在试样引入的相关技术方法中，试样必须以与其容器相同的容量存储到试样容器中，这限制了减少试样容量的努力。根据上述本发明的实施例，用小容量的毛细管能减少所需试样容量。

上述实施例中，供电用电泳缓冲液存储在容器 7a、7c、7s 和 7w 中，但这不是本发明的唯一情况，也可以使用其它的迁移介质，正如由与存储在沟槽 3 和 5 中相同的分离介质所示例的。

在本实施例中，毛细管 23 的端部 23a 置于沟槽 3 的入口 3a 附近，但这不是本发明的唯一情况，端部 23a 可以置于容器中迁移介质内的任何地方。但是优选的微芯片的端部置于沟槽的入口附近。

本发明中使用的微芯片不限于图 2A 至 2C 示出的类型，也可以用图 3A 至 3C 中的微芯片 11，因为它有形成在沟槽相对端相应位置的容器，而沟槽形成在平面型基片的内部。

在本发明试样引入的方法中，存有试样的毛细管的一端插入到微芯片中任一容器中，微芯片的沟槽和容器中充满了迁移介质，然后，通过给毛细管的另一端和容器之间施加电压使存储在毛细管中的试样电泳地引入到沟槽中，其中容器经由沟槽与插有毛细管的容器连通。这样无须将试样以满量状态放入容器中就可将试样引入到沟槽中。这就消除了将试样引入到沟槽中溶液替换的需要，而相关技术中溶液替换在试样引入到沟槽后是例行的步骤。所以不但可以实现省时，否则在溶液替换步骤会费时，而且可避免产生泡泡及在溶液替换期间漂移到容器中的风险。在试样引入的相关技术方法中，试样必须以与其容器相同的容量存入到容器中，这限制了减少试样容量的努力。但是根据本发明，用小容量的毛细管能减少所需试样容量。

如果毛细管的一端放在容器中靠近沟槽的入口处，结果是，随着试样穿过毛细管从毛细管的一端向沟槽迁移，可以消除容器中试样的渗出。

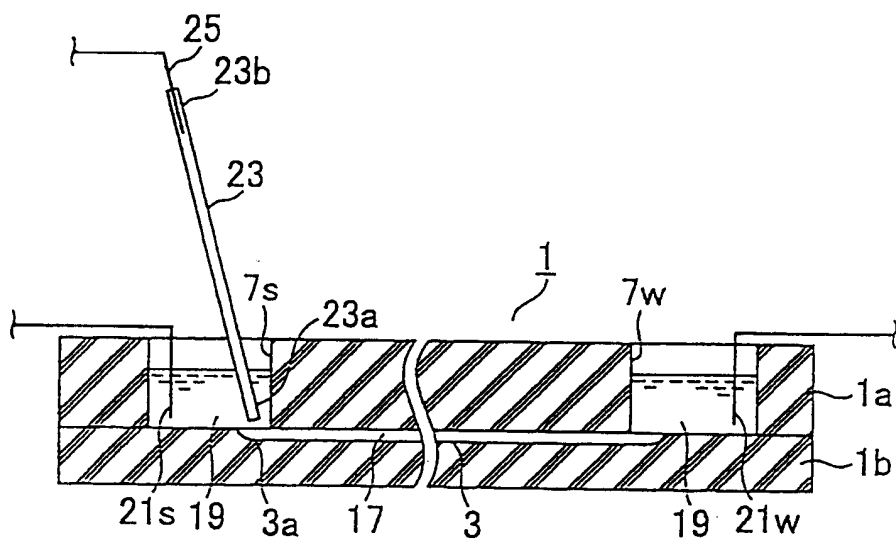


图 1

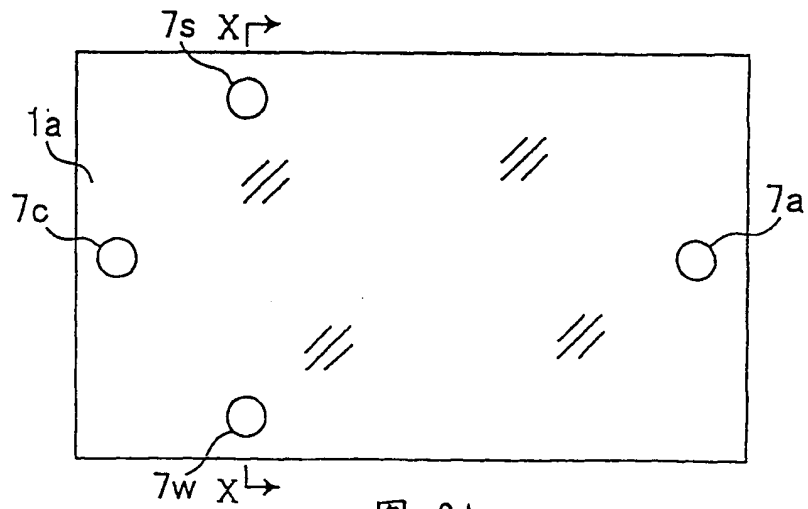


图 2A

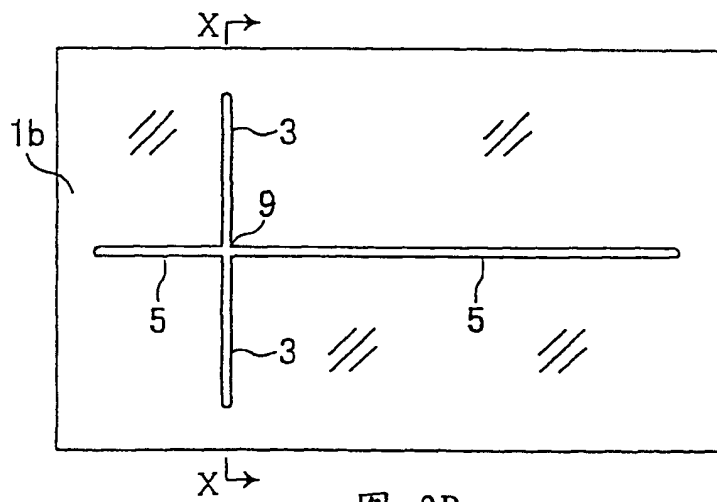


图 2B

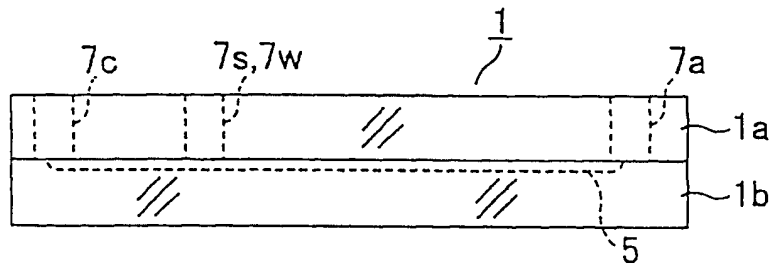


图 2C

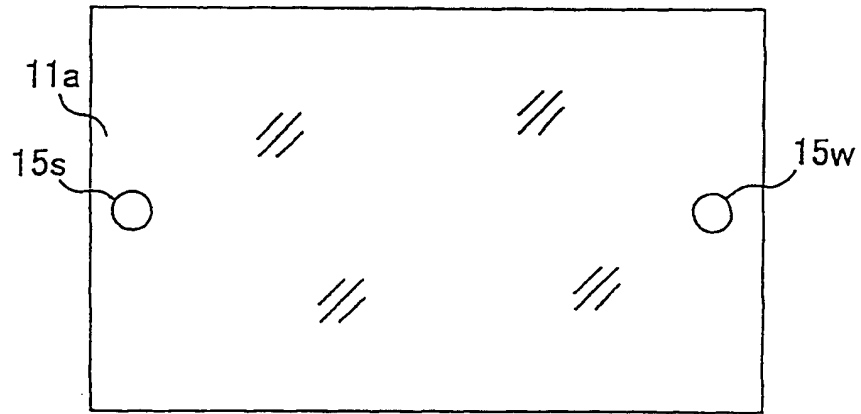


图 3A

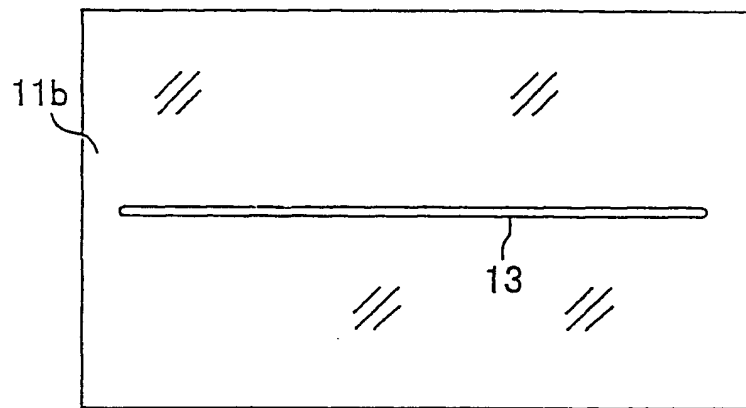


图 3B

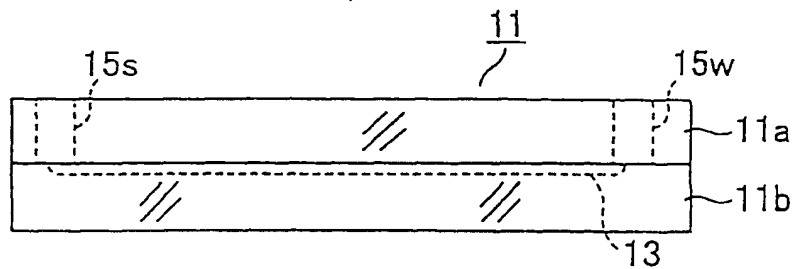


图 3C