



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101087656 B

(45) 授权公告日 2012. 10. 10

(21) 申请号 200580044807. 4

(22) 申请日 2005. 09. 23

(30) 优先权数据

11/021, 545 2004. 12. 23 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 06. 25

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2005/034168 2005. 09. 23

(87) PCT申请的公布数据

W02006/071307 EN 2006. 07. 06

(73) 专利权人 金伯利-克拉克环球有限公司

地址 美国威斯康星州

(72) 发明人 D·S·科亨 S·R·费斯特

(74) 专利代理机构 北京泛华伟业知识产权代理

有限公司 11280

代理人 郭广迅 曹津燕

(51) Int. Cl.

B01L 3/00(2006. 01)

(56) 对比文件

US 4756884 A, 1988. 07. 12, 摘要, 说明书第 2 栏第 41 行至第 3 栏第 15 行, 第 5 栏第 18-68 行, 第 16 栏第 6-61 行, 第 20 栏第 52 行至第 21 栏第

18 行, 第 24 栏第 11-59 行, 第 25 栏第 33-60 行, 实施例 2, 附图 3 和 8.

US 4756884 A, 1988. 07. 12, 摘要, 说明书第 2 栏第 41 行至第 3 栏第 15 行, 第 5 栏第 18-68 行, 第 16 栏第 6-61 行, 第 20 栏第 52 行至第 21 栏第 18 行, 第 24 栏第 11-59 行, 第 25 栏第 33-60 行, 实施例 2, 附图 3 和 8.

US 4756884 A, 1988. 07. 12, 摘要, 说明书第 2 栏第 41 行至第 3 栏第 15 行, 第 5 栏第 18-68 行, 第 16 栏第 6-61 行, 第 20 栏第 52 行至第 21 栏第 18 行, 第 24 栏第 11-59 行, 第 25 栏第 33-60 行, 实施例 2, 附图 3 和 8.

US 5922550 A, 1999. 07. 13, 权利要求 1 和 23.

US 2004035792 A1, 2004. 02. 26, 全文.

WO 97/34148 A1, 1997. 09. 18, 摘要, 说明书第 5 页第 11-19 行, 第 9 页第 12 行至第 11 页第 17 行, 第 17 页第 12-16 行, 第 19 页第 7-23 行, 第 20 页第 13-24 行, 实施例 2, 附图 2 和 7.

EP 269240 A1, 1988. 06. 01, 摘要, 说明书第 2 页第 24 行至第 3 页第 14 行, 第 5 页第 27 行至第 6 页第 57 行, 实施例 1.

审查员 郭彦华

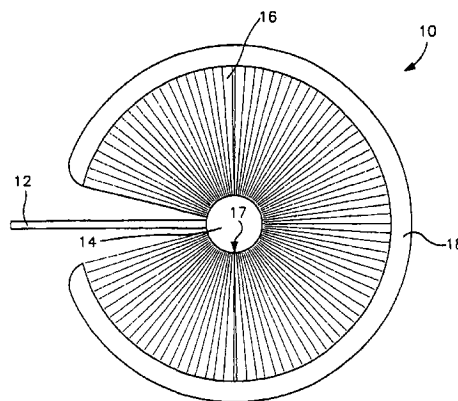
权利要求书 2 页 说明书 16 页 附图 8 页

(54) 发明名称

微流体测定装置

(57) 摘要

本发明提供了一种检测流体试样中是否存在分析物的微流体测定装置。本发明提供了一种通过使用至少一个输入通道、分析区和多个置于分析区周边附近的毛细通道而在微流体装置中获得连续流的技术。例如, 在一个实施方式中, 毛细通道从分析区放射状延伸。作为该微流体装置特殊结构的结果, 测定可以在“单一步骤”中完成而无需作用力, 例如压力源、动电力等, 来诱发流体试样流经装置。同样地, 流速得到了控制以使流体试样在分析区内的停留时间足够长以允许进行期望的反应和 / 或检测。



CN 101087656 B

1. 一种检测流体试样中分析物的存在或浓度的测定装置,所述测定装置包括:
输入通道;
与所述输入通道流体连通的分析区,所述分析区确定了一个周边,其中所述分析区充当检测分析物的场所;
15-200 个从所述分析区周边放射状延伸的微流体毛细通道,其中使测定装置具有使流体试样能够主要通过毛细作用流经所述输入通道和所述分析区的结构;和
基底,在所述基底上部或内部置有所述输入通道、所述分析区和所述毛细通道;以及
位于所有毛细通道内的吸收性材料。
2. 如权利要求 1 所述的测定装置,其中所述输入通道的横截面积小于约 20 平方毫米。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述分析区的大小足以基本上容纳施加到测定装置中的全部体积的流体试样。
4. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述分析区基本上是圆形的。
5. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中流体试样能够从所述输入通道顺序流入到所述分析区。
6. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述毛细通道在向着所述分析区中心的方向逐渐变细。
7. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述毛细通道的纵横比为约 0.1 至约 10。
8. 如权利要求 7 所述的测定装置,其中所述毛细通道的纵横比为约 0.25 至约 5。
9. 如权利要求 8 所述的测定装置,其中所述毛细通道的纵横比为约 0.5 至约 1.5。
10. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述毛细通道的横截面积小于约 20 平方毫米。
11. 如权利要求 10 所述的测定装置,其中所述毛细通道的横截面积为约 0.001 至约 10 平方毫米。
12. 如权利要求 11 所述的测定装置,其中所述毛细通道的横截面积为约 0.01 至约 5 平方毫米。
13. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其进一步包括与所述毛细通道流体连通的溢流区。
14. 如权利要求 1 所述的测定装置,其中所述基底层压有隔离介质,所述隔离介质含有能够与分析物或其络合物结合的接受材料。
15. 如权利要求 14 所述的测定装置,其中所述隔离介质包括具有金属涂层的聚合物膜。
16. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述毛细通道彼此之间等距离间隔。
17. 如权利要求 1 或 2 所述的测定装置,其中所述测定装置包括 20-80 个毛细通道。
18. 一种进行测定的方法,所述方法包括:
将怀疑含有分析物的流体试样引入输入通道;
允许流体试样通过毛细作用从所述输入通道流入确定了一个周边的分析区;
检测是否存在分析物;和
使用 15-200 个微流体毛细通道从分析区吸出流体试样,所述毛细通道从所述分析区的周边放射状延伸;以及其中吸收性材料位于所有毛细通道内。

19. 如权利要求 18 所述的方法, 其中将流体施加到与所述输入通道流体连通的样品孔中, 流体通过毛细作用从所述样品孔流入所述输入通道。

20. 如权利要求 18 或 19 所述的方法, 其中所述毛细通道的纵横比为约 0.1 至约 10。

21. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述毛细通道的纵横比为约 0.5 至约 1.5。

22. 如权利要求 18 或 19 所述的方法, 其中所述毛细通道的横截面积小于约 20 平方毫米。

23. 如权利要求 22 所述的方法, 其中所述毛细通道的横截面积为约 0.01 至约 5 平方毫米。

微流体测定装置

[0001] 发明背景

[0002] 微流体装置已经被用于生物化学领域以完成高通量筛选测定。微流体装置提供了流体网络 (fluidic networks), 在该流体网络中能够实现生物化学反应、试样注射和反应产物的分离。在许多传统的微流体装置中, 流体的流动和试剂的混合是使用电动迁移现象 (电渗和电泳) 实现的。电动迁移通过在微流体装置各通道的终点处调节外加电势而得到控制。在通道网中, 用交叉和混合三通来控制 and 分配具有高容量再生性的流体。混合三通可以用于以任一液流从 0 到 100% 的比例按比例混合两种流体流, 这仅仅通过改变两个通道中的相对场强度即可实现。

[0003] 令人遗憾的是, 使用作用 (或外部) 力来诱导液流费用过高并且过于复杂。因此, 还开发了其它微流体装置。例如, Alajoki 等人的美国专利 No. 6, 416, 642 描述了一种利用毛细管 (在与微流体系统接触的位置, 其可以是预润湿、干燥或润湿的) 的装置, 所述毛细管通过用毛细作用将材料经由通道或孔吸入而起作用, 在所述通道或孔中将所述毛细管流体接触放置。代替性地, 或另外地, 将大量流体选择性地材料的下游或研究区域注射或收回, 并通过在注射位置处制造压差来调节流速。然而, 在这种传统的微流体装置中问题依然存在。例如, 通过装置的流速有时可能太快以至于不能处理采集到的数据或者没有足够的反应时间。

[0004] 同样地, 仍然需要改善的微流体测定装置, 即相对便宜、易于使用、并且能够有效并正确地测定流体试样中分析物的存在或浓度的装置。

[0005] 发明简述

[0006] 根据本发明的一个实施方式, 公开了一种用于检测流体试样中分析物的存在或浓度的测定装置。该测定装置包含输入通道和于其流体连通的分析区。该分析区充当了检测分析物的场所。所述测定装置还包含多个从分析区周边向外延伸的毛细通道, 其中使测定装置具有使流体试样能够通过毛细作用流经输入通道和分析区的结构。

[0007] 根据本发明的另一个实施方式, 公开了一种进行测定的方法。该方法包括向输入通道中引入怀疑含有分析物的流体试样。允许所述流体通过毛细作用从输入通道流入到确定了周边的分析区。检测是否存在分析物。将流体试样用多个从分析区周边向外延伸的毛细通道从分析区吸出。

[0008] 以下更加详细地描述了本发明的其它特征和方面。

附图简介

[0009] 对于本领域普通技术人员来说, 说明书的其余部分更加详细地阐述了本发明的完整和有效的公开, 包括其最佳方式, 所述阐述参考以下附图:

[0010] 图 1 是本发明微流体测定装置的一个实施方式的示意图;

[0011] 图 2-7 是本发明微流体测定装置的其它实施方式的示意图; 和

[0012] 图 8 是从实施例 1 中获得的剂量响应曲线, 其中将相对响应值绘制成对 C- 反应蛋白浓度 (微克每毫升) 的曲线。

[0013] 在本说明书和附图中重复使用附图标记的意图是代表本发明的相同或似的特征或元素。

[0014] 代表性实施方式的详述

[0015] 定义

[0016] 在这里所使用的,术语“分析物”通常是指将被检测的物质。例如分析物可以包括抗原物质、半抗原、抗体以及它们的组合。分析物包括,但不限于,毒素、有机化合物、蛋白质、肽、微生物、氨基酸、核酸、激素、甾体、维生素、药物(包括那些治疗目用药和那些非法目用药)、药物中间体或副产物、细菌、病毒颗粒及其代谢物或者上述任何物质的抗体。一些分析物的具体例子包括铁蛋白;肌酐激酶 MB(CK-MB);地高辛;苯妥英;鲁米那(phenobarbital);酰胺咪嗪;万古霉素;庆大霉素;茶碱;丙戊酸;奎尼定;促黄体生成激素(LH);促卵泡激素(FSH);雌二醇;黄体酮;C-反应蛋白;脂质运载蛋白(lipocalins);IgE 抗体;细胞因子;维生素 B2;微球蛋白;糖化血红蛋白(Gly. Hb);氢化可的松;毛地黄毒苷;N-乙酰普鲁卡因胺(NAPA);普鲁卡因胺;风疹抗体,例如风疹 IgG 和风疹 IgM;弓形虫病抗体,例如弓形虫病 IgG(Toxo-IgG)和弓形虫病 IgM(Toxo-IgM);睾丸激素;水杨酸盐;醋胺酚;乙肝病毒表面抗原(HBsAg);乙肝核心抗原,例如抗-乙肝核心抗原 IgG 和 IgM(抗-HBC);人体免疫缺陷病毒 1 和 2(HIV 1 和 2);人体 T-细胞白血病病毒 1 和 2(HTLV);乙肝抗原(HBeAg);乙肝抗原的抗体(抗-HBe);流感病毒;促甲状腺激素(TSH);甲状腺素(T4);总三碘甲腺原氨酸(总 T3);游离三碘甲腺原氨酸(游离 T3);癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA);脂蛋白,胆固醇和三酸甘油酯;以及甲种胎儿球蛋白(AFP)。药物的滥用和控制物质包括,但并不意味着限于,安非他明;脱氧麻黄碱;巴比妥酸盐,例如异戊巴比妥,司可巴比妥,戊巴比妥,苯巴比妥和巴比妥;苯二氮,例如利眠宁和安定;大麻素(cannabinoids),例如大麻粉(hashish)和大麻(marijuana);古柯碱;芬酞尼;LSD;安眠酮;鸦片剂,例如海洛因、吗啡、可待因、氢化吗啡酮、氢可酮、美沙酮、氧可酮、氧吗啡酮和鸦片;苯西克定;和丙氧芬(propoxyhene)。其它潜在的分析物描述于 Everhart 等人的美国专利 Nos. 6, 436, 651 和 Tom 等人的 4, 366, 241 中。

[0017] 在这里所使用的,术语“流体试样”通常是指被怀疑含有分析物的流体。例如,流体试样可以包括从源头直接获得的材料,以及用技术预处理过的材料,所述技术例如,但不限于,过滤、沉淀、稀释、蒸馏、混合、浓缩、干扰组分的灭活和试剂的添加等。所述流体试样可以源自生物来源,例如生理性液体,包括血液、组织液、唾液、晶状体液、脑脊髓液、汗液、尿液、乳液、腹水液、黏液、鼻分泌液、唾液、骨膜液、腹膜液、阴道液、月经、羊水和精液等。除了生理性液体外,其它流体样品也可以使用,例如水和食品等。

[0018] 详细说明

[0019] 现在详细地给出本发明的多个实施方式作为参考,以下内容阐述了其中的一或多个实施例。每个实施例都是作为本发明的解释而被提供的,并不是对本发明的限制。事实上,可以在本发明中进行各种改进和变化而没有背离本发明的范围或精神,这对于本领域技术人员来说是显而易见的。例如,被图解或描述为某一实施方式的一部分的特征,可以用于另一个实施方式中以产生更进一步的实施方式。因此,本发明意图覆盖这样的改进和变化作为所附权利要求及其等同物所归入的范围。

[0020] 通常,本发明是指一种用于测定流体试样中是否存在分析物的微流体装置。本发

明提供了一种通过使用至少一个输入通道、分析区和置于分析区周边附近的多个毛细通道而在微流体装置中获得连续流的技术。例如,在一个实施方式中,所述毛细通道从分析区放射状延伸。作为该微流体装置特殊结构的结果,测定可以在“单一步骤”中完成而无需作用力,例如压力源、动电力等,来诱发流体试样流经装置。同样地,流速得到了控制以使流体试样在分析区内的停留时间足够长以允许进行期望的反应和 / 或检测。

[0021] A、微流体测定装置

[0022] 本发明的微流体装置含有一个或多个流体能够流动通过的区域。在这里所使用的,术语“微流体装置”包括了使用一个或多个具有“毛细级”尺寸的流体区的任何装置,所述“毛细级”尺寸例如横截面积小于约 20 平方毫米。然而,正如下面将详细论述的,所述微流体装置也可以具有一个或多个为了各种目的而具有大于毛细级尺寸的流体区,所述各种目的例如增加表面积反应量、容纳非常稀的样品和提供检测区域等等。

[0023] 流体区类型和数量的选择取决于所关心的分析物、所使用的检测方法以及其它与装置属性和流体试样有关的因素。例如,参考图 1,现在将更加详细地描述微流体装置 10 的一个实施方式。如图所示,微流体装置 10 包括至少一个输入通道 12,其可以充当使用者施加流体试样的场所。或者,输入通道 12 可以与样品孔(例如室、池、仓等)连接,流体试样在流向输入通道 12 之前被最初地加入到所述样品孔中。该孔在装置体 10 内可以是开启或关闭的。此外,正如本领域所公知的,也可以使用通道 12 网络,所述网络是通过 T 形接头、Y 形接头等相互连接而成的。这种微流体通道网络的例子在 O'Connor 等人的美国专利 Nos. 6, 481, 453 和 Ala joki 等人的 6, 416, 642 中有更加详细地描述,在这里引入它们的全部内容作为参考而不论其目的。通道 12 可以具有任何期望的横截面形状,例如圆形、正方形、矩形、三角形、梯形、v 形、u 形、六边形、八边形和不规则形状等。进一步地,通道 12 可以是直的、锥形的、弯曲的、盘管的、迷宫样的、或者具有任何其它期望的外形。

[0024] 不管所选择的形状如何,通道 12 的尺寸通常是能够使被动的毛细流动驱动流体试样通过通道 12 流向装置 10 的其它区域的。毛细流动通常发生在流体对通道壁的粘着力大于流体分子间的内聚力时。具体地说,毛细压力与通道的横截面尺寸成反比,与流体的表面张力乘以流体与通道形成材料接触的接触角的余弦成正比。因此,为了促进装置 10 中的毛细流动,可以选择性地控制通道 12 的横截面尺寸(例如宽度、直径等),具有较小的尺寸通常导致较高的毛细压力。例如,在一些实施方式中,通道 12 的横截面尺寸小于约 10 毫米,在一些实施方式中为约 0.001 至约 5 毫米,并且在一些实施方式中,为约 0.01 至约 2 毫米。当然,通道 12 的横截面尺寸也可以随长度而改变。通道 12 的高度或深度也可以改变以适应流体试样的不同体积。例如,通道 12 的深度可以是约 0.1 微米至约 1,000 微米,在一些实施方式中为约 5 微米至约 500 微米,并且在一些实施方式中,为约 20 微米至约 100 微米。

[0025] 通道 12 的横截面积也可以改变。例如,横截面积一般小于约 20 平方毫米,在一些实施方式中为约 0.001 至约 10 平方毫米,并且在一些实施方式中,为约 0.01 至约 5 平方毫米。进一步地,通道 12 的纵横比(横截面尺寸 / 深度)可以在约 0.1 至约 200 的范围内,在一些实施方式中为约 0.2 至约 100,并且在一些实施方式中为约 0.5 至约 50。在横截面尺寸(例如宽度、直径等)和 / 或高度随长度而改变的情况下,所述纵横比由平均尺寸决定。同样地,通道 12 的长度可以改变。例如,通道 12 的长度可以为约 1 毫米至约 50 厘米,在一些实施方式中,为约 5 毫米至约 50 毫米。在试剂与流体试样混合的情况下,特别期望具有

较长长度的通道以提供足够数量的混合时间。

[0026] 通道 12 与分析区 14 流体连通,在所述分析区 14 中可以进行分析物的检测。例如,如图 1 所示,流体试样可以顺序地从通道 12 流入到分析区 14。然而,在另一个实施方式中,流体试样也可以在到达分析区 14 之前流经其它流体区(例如清洗区、混合区等等)。一般来说,使分析区 14 具有能容纳全部体积的流体试样,以及进行测定中的任何试剂的结构。这确保了至少流体试样中的大部分分析物能够与分析区 14 内含有的任何期望的试剂相接触,因此改善了所获得结果的准确性。还期望对分析区 14 的尺寸和形状进行选择以使流体试样的流速足够慢以允许进行分析物的检测。因此,在一些实施方式中,分析区 14 的横截面尺寸(例如宽度、直径等)可以在约 0.5 微米至约 20 毫米的范围内,在一些实施方式中,为约 5 微米至约 10 毫米,以及在一些实施方式中,为约 20 微米至约 5 毫米。同样地,分析区 14 的深度可以在约 0.1 微米至约 5 毫米的范围内,在一些实施方式中为约 5 微米至约 3 毫米,并且在一些实施方式中,为约 20 微米至约 1 毫米。此外,分析区 14 的一些合适的横截面形状包括,但不限于,圆形、正方形、矩形、三角形、梯形、v 形、u 形、六边形、八边形和不规则形状等等。例如,在图 1 所示的实施方式中,分析区 14 是圆形的(例如环形),其中区域 14 的横截面尺寸被定义为环的外径和内径之差。

[0027] 微流体装置 10 的一个有利的方面是,它不需要作用力(例如压力源、动电力等)来诱发流体试样经由装置 10 的流体流动。如上所述,这是部分地由于通道 12 和分析区 14 所选择的特别的几何形状。然而,此外,微流体装置 10 还含有多个与分析区 14 流体连通的微流体毛细通道 16。该毛细通道 16 通过调节其从通道 12 和分析区 14 下游的压力来帮助控制流体的流速。例如,在通道 12 的开口处以及在通道 12 与分析区 14 之间等处,流体和空气之间可以形成接触面。一旦形成,空气/流体接触面就降低了流体通过毛细压力流经装置 10 的能力,因此抑制了测定的全面展开。毛细通道 16 有助于迫使空气/流体接触面通过装置 10。同时,当被吸引向毛细通道 16 时,空气/流体接触面实际上可以充当清洗剂,除去在测定开展中来自系统的非结合试剂和其它材料。

[0028] 毛细通道 16 的另外一个好处是,它们有助于减慢流体在存在于分析区 14 时的流速。具体地说,在分析区 14 和毛细通道 16 的接触面处,分析区 14 一般具有比毛细通道 16 大的横截面积。因此,经过分析区 14 到达了毛细通道 16 的流体将经历导致流速降低的压降。分析区 14 和毛细通道 16 之间的流体流速差也产生一些反压力,虽然该反压力没有大到足够克服流体的毛细压力,但其减慢了分析区 14 中的流体流动。例如,在施加到装置 10 后,如果不是所有的,则大部分的流体试样可以在约 1 至约 20 分钟的总停留时间后排出分析区 14,所述总停留时间在一些实施方式中为 2 至约 18 分钟,并且在一些实施方式中,为约 3 至约 15 分钟。当然,基于各种因素,总停留时间可以在很大范围内改变,所述因素例如分析区 14 所需要容纳的流体试样的体积、所采用的流体区域的数量和尺寸,流体试样的属性等。例如,流体的流变性质可以影响它的总停留时间。也就是说,较小粘性的流体(例如尿液、水等)趋向于以比较大粘性的流体(例如血液)更快的速率流动。如果期望,装置 10 的设计参数也可以针对低或高粘性流体而选择性地设定。

[0029] 为了获得对流体流速的预期的控制,选择性地控制毛细通道 16 的尺寸、形状和位置。一般来说,毛细通道 16 可以具有任何期望的横截面形状,例如圆形、正方形、矩形、三角形、梯形、v 形、u 形、六边形、八边形和不规则形状等等。同时,毛细通道 16 的形状可以随长

度而改变,例如在向着分析区 14 中心或外围的方向上逐渐变细。在这种情况下,可以将毛细通道 16 较细的部分置于邻近分析区 14 的位置和 / 或置于分析区 14 内。这在毛细通道 16 和分析区 14 的接触面 17 处产生了一个较高的压降,随后其导致了较低的通过分析区 14 的流体流速。

[0030] 为了提高毛细通道 16 从分析区 14 吸出流体以及减慢通过那里的流体流速的能力,还可以选择性地控制毛细通道 16 的横截面尺寸。例如,较细的毛细通道可以提供比较宽的毛细通道更低的流速。在一些实施方式中,毛细通道 16 的横截面尺寸一般小于约 500 微米,在一些实施方式中为约 5 微米至约 300 微米,并且在一些实施方式中,为约 10 微米至约 200 微米。正如上面所指出的,毛细通道 16 的横截面尺寸可以随其长度而改变,例如在向着分析区 14 中心的方向上逐渐变细。在这种情况下,毛细通道 16 的最大横截面尺寸可以任选地落入上述示例性的范围内。毛细通道 16 的高度或深度也可以改变以容纳不同体积的流体试样。例如,毛细通道 16 的深度可以为约 0.5 微米至约 500 微米,在一些实施方式中为约 5 微米至约 300 微米,并且在一些实施方式中,为约 10 微米至约 100 微米。

[0031] 毛细通道 16 的横截面积也可以改变。例如,横截面积一般小于约 20 平方毫米,在一些实施方式中为约 0.001 至约 10 平方毫米,并且在一些实施方式中,为约 0.01 至约 5 平方毫米。而且,毛细通道 16 的纵横比(横截面尺寸 / 深度)可以在约 0.1 至约 10 的范围内,在一些实施方式中为约 0.25 至约 5,并且在一些实施方式中为约 0.5 至约 1.5。在横截面尺寸(例如宽度、直径等)和 / 或高度随长度改变的情况下,纵横比由平均尺寸决定。同样的,毛细通道 16 的长度也可以在约 1 毫米至约 50 厘米的范围内,并且在一些实施方式中,为约 5 毫米至约 50 毫米。

[0032] 除了选择材料和几何形状之外,毛细通道 16 的物理排列也有助于实现对流速的预期控制。例如,为了便于在分析区 14 内得到较均匀并且可控的流速,通常期望毛细通道 16 从分析区 14 的周边向外延伸。以这种方式,毛细通道 16 可以有效地从分析区 14 以缓慢的速度吸出流体,所述速度足够慢以提供预期的停留时间。例如,在图 1 所示的实施方式中,毛细通道 16 从圆形分析区 14 的周边放射状地延伸。毛细通道 16 之间的间隔也可以根据对流体试样流速期望的影响而改变。例如,可以将毛细通道 16 直接地置于彼此相邻的位置或者置于彼此间隔一个小的距离的位置,例如约 0.1 至约 500 微米,在一些实施方式中为 0.5 至约 100 微米,并且在一些实施方式中,为约 1 至约 50 微米。虽然不是必须的,但一般期望毛细通道 16 彼此之间等距离间隔以便获得均匀的流速。毛细通道 16 的数目也可以根据它们的尺寸、间隔空间和分析区 14 的尺寸和形状而改变。例如,大量的毛细通道可以比少量的毛细通道以更快的速率从分析区 14 中吸出流体。在一些实施方式中,毛细通道 16 的数目可以从约 3 到约 500 变化,在一些实施方式中为约 15 至约 200,并且在一些实施方式中,为约 20 至约 80。

[0033] 虽然不是必须的,但本发明的某些实施方式可以在一个或多个毛细通道 16 中使用吸收性材料以改善流速控制。一些可以用于形成毛细通道的合适的吸收性材料包括,但不限于,硝化纤维、纤维素材料、多孔聚乙烯垫和玻璃纤维滤纸等。吸收性材料在装入微流体测定装置之前可以是润湿的或是干燥的。预润湿可以促进一些流体的毛细流动,但一般并不是必须的。同样,如本领域所公知的,毛细通道 16 可以包括表面活性剂来帮助毛细过程。

[0034] 除了以上提到的流体区域以外,在微流体装置 10 中还可以使用其它任选的区域。例如,如图 1 所示,可以在与毛细通道 16 流体连通的地方设置溢出区 18 以接收穿过毛细通道后的流体。溢出区 18 的形状和 / 或大小可以根据预期的流体体积而广泛地改变。例如,在图 1 所示的实施方式中,溢出区 18 基本上是圆形的。而且,溢出区 18 的横截面尺寸可以在约 0.1 至约 10 毫米的范围内,在一些实施方式中为约 0.5 至约 8 毫米,并且在一些实施方式中,为约 1 至约 4 毫米。例如,较窄的溢出区 18 可以提供较慢的流速。如果期望,溢出区 18 的横截面尺寸可以随其长度改变,例如在向着分析区 14 外围的方向上逐渐变细。溢出区 18 的高度或深度也可以改变以容纳不同体积的流体试样。例如,溢出区 18 的深度可以为约 0.1 微米至约 5 毫米,在一些实施方式中为约 5 微米至约 3 毫米,并且在一些实施方式中,约 20 微米至约 1 毫米。如果期望,溢出区 18 还可以包含小孔以允许排出穿过装置 10 的空气。

[0035] 进一步地,微流体装置 10 还可以包括服务于各种目的的其他区域。例如,微流体装置 10 可以包括清洗区(未示出),其向分析区提供清洗剂流以除去任何非结合的试剂。清洗剂的例子可以包括,例如,水和缓冲溶液等等,所述缓冲液例如 PBS 缓冲剂、HEPES 缓冲剂等。此外,还可以提供试剂区(未示出),亲合性试剂(例如捕获配体、氧化还原介质、粒子、标记物等)可以流经所述试剂区以引发期望的反应。如果期望,可以以上述方式形成另外的清洗和试剂区。通过使用单独的和独特的样品加入、清洗和试剂区域,可以提供不同溶液的可控且连续的运送。

[0036] 很清楚,所描述的实施方式仅仅是示例性的,本发明的微流体装置绝不仅限于以上描绘和描述的特定结构。在这一点上,参考图 2-7,它们图解了本发明的微流体装置的其他几个实施方式。例如,图 2-4 描绘了包含通道 112、分析区 114、多个毛细通道 116 和溢出区 118 的微流体装置 100。这些实施方式中的分析区 114 是圆形的,其中区域 114 的横截面尺寸通过圆的直径被简单地定义。此外,图 5-6 图解了包含通道 212、分析区 214、多个毛细通道 216 和溢出区 218 的微流体装置 200。与之前的实施方式相反,溢出区 218 向外逐渐变细。最后,图 7 图解了包含孔 311 的微流体装置 300,所述孔 311 向多路通道 312 供液。每一个通道 312 都与分析区 314、多个毛细通道 316 和溢出区 318 流体连通。图 7 所示的实施方式可能对检测流体试样中的多种分析物的存在或浓度特别有用。通过整体考虑上述说明书,其它结构的变化对于技术人员来说是显而易见的。

[0037] 再参考图 1,不考虑其所使用的流体区的类型,微流体装置 10 一般使用固体基底(未示出),流体区 12、14、16 和 18 被置于其上或其内。根据材料与微流体装置所处的整体条件的相容性来选择用以形成所述基底的材料,所述整体条件包括 pH 的极值、温度、盐度和电场的施加。这样的材料对于本领域的技术人员来说是公知的。例如,所述基底可以由许多合适的塑料、玻璃、功能化塑料和玻璃、硅片、箔、玻璃等中的任意一种形成。优于刚性基底,热塑性薄膜也可能是合适的。这样的膜包括,但不限于,聚合物例如:聚乙烯-对苯二甲酸酯(MYLAR®),丙烯腈-丁二烯-苯乙烯树脂,丙稀腈-丙烯酸甲酯共聚物,玻璃纸,纤维素聚合物例如乙基纤维素、醋酸纤维素、醋酸丁酸纤维素、丙酸纤维素、三乙酸纤维素、三乙酸纤维素,聚乙烯,聚乙烯-醋酸乙烯酯共聚物,离子交联聚合物(乙烯高聚物)聚乙烯-尼龙共聚物、聚丙烯、甲基戊烯聚合物、聚氟乙烯和芳香聚砜。

[0038] 可以使用多种不同的已知技术在这样的固体基底上和 / 或基底内制造流体区。

例如,一些合适的微组装技术包括光刻法、湿法化学蚀刻、激光烧蚀、空气磨蚀工艺、注模、压花、印刷等。在一个具体实施方式中,可以使用印刷技术以形成一个或多个微流体区。几个合适的印刷技术描述于 Kumar 等人 的美国专利 Nos. 5, 512, 131 ;Everhart 等人 的 5, 922, 550 ;Kuhr 等人 的 6, 294, 392 ;Kennedy 的 6, 509, 085 和 Everhart 等人 的 6, 573, 040 中,在此引入它们的全部内容作为参考而不论其目的。例如,在一个实施方式中,利用“压印印刷 (stamp printing)”在基底上形成微流体区。一些合适的压印印刷技术描述于 Kumar 等人 的美国专利 Nos. 5, 512, 131 和 Everhart 等人 的 5, 922, 550 中。例如,可以使用弹性体印模将墨水通过接触转移到基底表面。印模是通过在具有与预期的印刷图案相反图案的母模上浇铸聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 制造的,所述印模因此将产生预期的通道图案。母模使用标准的光刻技术制备,或者由具有微尺度表面特征 (Microscale surface features) 的现有材料而构建。在一个实施方式中,将光刻法制造的母模置于玻璃或塑料培替氏培养皿 (Petri dish) 中,并且将 SYLGARD[®] 硅氧烷弹性体 184 和 SYLGARD[®] 硅氧烷弹性体 184 固化剂 (DowCorning Corporation) 的混合物倾注于其上。使聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 弹性体置于室温下,然后固化;或替代性地,为了加快固化,可以将所述弹性体在约 60 至约 65°C 的温度下进行固化。当固化时,PDMS 是足够弹性的以使印模与基底 40 的表面之间具有良好的共形接触。

[0039] 所产生的印模通过将印模暴露于用于帮助形成流体通道的预期材料的溶液中而得到“墨化”。这一般是通过将印模正面向下放入所述溶液中约 10 秒至约 10 分钟而完成的。在环境条件下或者通过暴露于空气或氮气流中将所述印模干燥。墨化后,将印模施加于基底表面。使用轻微压力以确保印模和基底之间完全接触。然后在约 1 秒至约 5 分钟后,将印模从基底上轻轻地剥落。除去印模后,可以将基底进行漂洗和干燥。

[0040] 例如以上所描述的,压印印刷可以用于制备各种形式的微流体区。例如,在一个实施方式中,用下述材料墨化弹性体印模,所述材料能显著地改变基底的表面能以致于其对于用以制造所述区域的单体或预聚物(如果二次固化)、或者聚合物来说可以是选择性地“可润湿的”。所述印模可以具有突起的特征以印刷预期的通道图案。示例性的压印印刷方法可以包括用润湿剂墨化印模,所述润湿剂例如亲水性自组装单层 (SAMs),所述亲水性自组装单层包括那些羧基-封端的。这种自组装单层的各种例子描述于 Everhart 等人 的美国专利 No. 5, 922, 550 中。在另一个实施方式中,可以使用疏水性润湿剂。具体地说是,将与预期图案相反的图案压印印刷到亲水性基底上。在暴露于单体或预聚物(如果二次固化)、或者聚合物中时,墨将仅在基底上进行选择性地润湿,因此产生预期的通道图案。

[0041] 另一种压印印刷技术可以仅包括用单体或预聚物(如果二次固化)、或者聚合物溶液墨化弹性体压模。所述压模可以具有与预期的通道图案相匹配的突起的特征以便在基底上发生通道形成材料的直接转移。可使用的又一种合适的接触印刷技术是“丝网印刷”。丝网印刷是手动地或光学机械地进行的。丝网可以包括具有例如约 40 至约 120 丝孔每沿线厘米的网眼的丝或尼龙织物。将丝网材料附着于框架上并且将其绷紧以提供光滑的表面。将镂空模板施加于丝网的底面,即与基底相接触的那一面,将在所述基底上印刷流体区。将印刷材料涂在丝网上,并且通过用橡胶滚轴研磨丝网(其是与基底接触的)将印刷材料转移。

[0042] 除了接触印刷之外,任何各种公知的非接触印刷技术也可以用于本发明。例如,

在一个实施方式中,可以使用喷墨印刷。喷墨印刷是一种非接触印刷技术,其包括强迫墨水通过微型喷嘴(或者喷嘴系列)以形成直接喷向基底的液滴。通常使用两种技术,即“DOD”(按需滴液)或“连续的”喷墨印刷。在连续系统中,墨水在压力下通过至少一个孔或喷嘴以连续流的形式喷射。用增压调节器(pressurization actuator)干扰所述流以在距喷口固定距离处将所述流打为液滴。相反,DOD系统在每个喷口处使用增压调节器以将墨水打为液滴。各系统中的增压调节器可以是压电晶体、声学装置、热学装置等。喷墨系统种类的选择根据由印刷头所要印刷的材料种类而改变。例如,导电材料有时需要连续系统,因为液滴是静电偏斜的。因此,当流体通道由绝缘材料形成的时候,DOD印刷技术可能是更合意的。

[0043] 除了以上提到的印刷技术之外,任何其它的合适的印刷技术均可以用于本发明。例如,其它的合适的印刷技术可以包括,但不限于,例如激光印刷、热转印刷、活字印刷、喷印、胶版印刷、凹版印刷等。进一步地,各种其它的非印刷技术也可以用于本发明。例如,一些可以用在本发明中形成微流体装置的其它技术的例子描述于 Alajolki 等人的美国专利 No. 6, 416, 642 中,在这里将其全部内容引入作为参考而不论其目的。

[0044] B、检测技术

[0045] 一般来说,任何类型的测定都可以用于本发明,包括均质的和非均质的免疫测定。均质的免疫测定是其中未络合的标记物种没有与络合的标记物种分离的测定。非均质测定是其中未络合的标记物种与络合的标记物种相分离的测定。分离可以通过物理分离进行,例如,通过将一类物种转移到另一个反应器、过滤、离心分离、色谱分离、固相捕获和磁力分离等等,并且可以包括一个或多个洗涤步骤。所述分离也可以是非物理性的,其中没有进行一种或两种物种的转移,但是物种在原地相互分离。例如,在一个特别的实施方式中,使用非均质免疫测定。这种免疫测定利用了免疫系统的机理,在所述系统中产生抗体以响应致病的或者与有机体无关的抗原的存在。这些抗体和抗原,即免疫反应物,能够彼此结合,因此产生了非常专一的反应机理,该机理可以用于检测液体试样中特定抗原的存在或浓度。

[0046] 本发明中还可以使用任何的各种各样的检测技术。例如,在一个特别的实施方式中,可以使用基于衍射的检测技术。术语“衍射”是指当波被障碍物阻挡时所观测到的,由超过了物体几何影子区界限的干扰传播而引发的现象。当物体大小与波的波长具有相同的数量级时,该效果明显。对于基于衍射的检测技术来说,所述障碍物是分析物(有或者没有粘附颗粒)并且所述波是光波。例如,基于衍射的测定装置的各种例子描述于 Everhart 等人的美国专利 No. 6, 221, 579 中,在这里引入其全部内容作为参考而不论其目的。仅为了例证的目的,现在将更加详细地描述一个可在本发明中使用的基于衍射的检测技术的实施方式。

[0047] 例如,可以使用隔离介质,例如多孔膜、聚合物膜等进行测定。为了便于基于衍射的检测,隔离介质可以任选地与金属涂层一起使用。这种其上具有金属涂层的隔离介质的光学透明度可以为约 5% 至约 95% 的,并且在一些实施方式中,为约 20% 至约 80%。在一个实施方式中,隔离介质的光学透明度至少为约 80%,并且金属涂层的厚度达到了维持光学透明度大于约 20% 的程度,以致于衍射图案可以通过反射或透射光中的一种而产生。这相当于约 10 至约 20 纳米的金属涂层厚度。然而,在其它实施方式中,金属的厚度可以在约 1 纳米至 1000 纳米之间。用于沉积在膜上的优选的金属是金。然而,也可以使用银、铝、铬、

铜、铁、锆、铂、钛和镍，以及这些金属的氧化物。可以用氧化铬来制造金属化层。除了金属涂层之外，隔离介质的表面也可以用其它材料进行处理，例如衍生化或涂敷表面，以增强它们在微流体系统中的效用，例如提供强化的流体方向。此外，可以在隔离介质上形成绝缘层，例如二氧化硅，特别是在那些向装置或其部件中施加了电场的应用中。

[0048] 接受材料也可以被用于隔离介质，其能够与所关心的分析物或其络合物结合。所述接受材料可以是生物学接受材料。这样的生物学接受材料是本领域所公知的并且可以包括，但不限于，抗体、抗原、半抗原、维生素 H、抗生物素蛋白、抗生物素蛋白链菌素、中性抗生物素蛋白、captavidin、A 蛋白、G 蛋白、碳水化合物、凝集素、核苷酸序列、缩氨酸序列、效应物和受体分子、激素和激素结合蛋白、酶辅助因子和酶、酶抑制剂和酶、以及它们的衍生物。可以使用任何合适的方法来施加接受材料。可以施加接受材料以使其部分地或均匀地覆盖隔离介质表面（例如，上面）。虽然不是必须的，但用非接触的方法施加所述接受材料可能是期望的，以便消除在施加过程中由于接触导致污染的可能性。合适的施加方法包括，但不限于，浸渍、喷雾、滚压、旋涂、以及任何其中接受材料层通常可被均匀地施加在隔离介质整个测试表面上的其它技术。简单的物理吸着可以发生在许多材料上，例如聚乙烯、玻璃、尼龙或者其它为本领域技术人员所公知的材料。一个固定接受材料层的特别的实施方式包括分子附着，例如可能是在硫醇或含二硫化物的化合物与金之间的附着。例如，可以在硅片、玻璃或聚合物膜（例如，MYLAR[®]膜）上负载约 5 至约 2000 纳米厚的金涂层。接受材料通过暴露在它的溶液中而附着在金的表面上。接受材料层也可以作为金属化热塑膜上的烷基硫醇盐、羧酸、羟胺酸和磷酸自组装单层而形成在隔离介质上。所述自组装单层具有结合在其上的接受材料。例如，在此引入其全部内容作为参考而不论其目的的美国专利 No. 5, 922, 550 提供了关于这种自组装单层以及所述单层的制造方法的更加详细的说明。

[0049] 一旦将接受材料层施加到隔离介质上，就接着在介质上放置掩膜（未示出），并用能源辐射所述掩膜。以其基本形式，“掩膜”用来防护或“保护”至少接受材料的一个区域或一部分免受能源辐射，并且将至少一个邻近的部分暴露于能源中。例如，掩膜可以是一般透明或半透明的空白物（例如，材料带），其具有印刷或用其它方式确定在其上面的防护区域的图案。掩膜暴露的非防护区域相当于隔离介质的外露区域。或替代性地，掩膜可以仅为被置于隔离介质上的单独的物体。所述物体下的区域将被保护并因此确定了接受材料的活性区，物体周围的区域将暴露于能源中并因此确定了接受材料的非活性区。或替代性地，所述物体可以具有任意的有孔图案，通过该图案确定相对应的暴露区域。

[0050] 掩膜可以由任何合适的材料形成，所述材料保护了位于其下面部分的隔离介质免受能源辐射。已经被证明了对涂有抗体溶液的镀金 MYLAR[®]膜上活性和非活性接受材料区域图案的确定有效的材料是其上印有防护或保护区域图案的透明或半透明聚合物膜（例如，MYLAR[®]膜）。该类掩膜对波长等于或大于约 330 纳米的光源有效。对于波长小于 330 纳米的光源，可以使用具有确定在其上的铬或其它镀金属防护区的石英或熔融硅掩膜。选择孔的图案和大小以使活性和非活性区域之间的可见衍射差异最大化可能是所期望的。作为一个图案的例子，已经发现如果活性区域被确定为直径为约 10 微米并且彼此间隔为约 5 微米的基本的圆形时是合适的。然而，提供了确定的衍射图像的其他图案也是合适的。

[0051] 选择能源以使通过掩膜暴露的接受材料能够失活或者不能结合分析物。并不被理论所限制，一种可能的机理是能源通过游离基机理本质地破坏了接受材料的键结构。选择

能源以使通过掩膜暴露的接受材料能够失活。所述能源通过游离基机理本质地破坏了接受材料的键结构。掩膜防护区域下的接受材料在辐射步骤中得到保护。因此,通过除去掩膜,确定了活性和非活性接受材料区的图案。应该理解术语“图案”最少包括一个活性区和一个非活性区。在接下来的将基于衍射的测定装置暴露于含有有价值分析物介质中的过程中,这种分析物将与活性区中的接受材料结合。所述分析物在相当于活性区域的可见衍射图案中产生透射和 / 或反射光的衍射。

[0052] 可以选择任何合适的能源来照射掩膜和隔离介质的结合体。例如,所述能源可以是光源,例如紫外 (UV) 光源,电子束,辐射源等。在一个特别的实施方式中,接受材料是一种蛋白质基材料,例如抗体,使之失活的能源是 UV 光源。将传感器暴露于 UV 源中足够长的时间以使抗体失活。波长和曝露时间可以根据特定类型的接受材料而改变。其它合适的能源可以包括可调激光,电子束,各种类型的辐射束包括伽马和 X- 射线源,各种强度和波长的光包括在微波和更小波长下具有足够量级的光束等。值得注意的是,可以特别地制作许多能源以使特殊的抗体或其它类型的生物分子失活。应该注意不要让能源破坏(例如,熔化)下面的隔离介质或掩膜。

[0053] 在一些情况下,例如当分析物太小而不易被检测的时候,可以使用检测探针来标记分析物。可以使用通常能够产生可被视觉或仪器装置检测的信号的任何物质。多种合适的可检测物质可以包括色原体;发光化合物(例如,荧光的、磷光的等);放射化合物;视觉标记(例如,乳胶粒子或胶质的金属粒子,例如金);以及脂质体或其它含有信号产生物质的囊;等等。其它合适的可检测物质被描述于 Jou 等人的美国专利 Nos. 5, 670, 381 和 Tarcha 等人的 5, 252, 459 中,在这里引入其全部内容作为参考而不论其目的。

[0054] 可检测物质可以单独使用或者与微粒(有时称为“球”或“微球”)结合使用。例如,可以使用天然存在的粒子,如核、支原体、质粒、质体、哺乳动物细胞(例如,红细胞)、单细胞微生物(例如,细菌)、多糖(例如,琼脂糖)、和氧化物颗粒(例如,二氧化硅、二氧化钛等)等等。进一步地,还可以使用合成的粒子。例如,在一个实施方式中,使用了用荧光或彩色染料标记的乳胶粒子。虽然本发明中可以使用任何乳胶粒子,但所述乳胶粒子一般由下述物质形成,所述物质为聚苯乙烯、丁二烯苯乙烯、苯乙烯丙烯酸-乙烯基三元聚合物、聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸乙酯、苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚醋酸乙烯酯、聚乙烯基吡啶、聚二乙烯基苯、聚丁烯邻苯二甲酸酯、丙烯腈和乙烯基氯-丙烯酸酯等等,或者它们的醛、羧基、氨基、羟基或酰肼衍生物。其它合适的微粒被描述于 Jou 等人的美国专利 Nos. 5, 670, 381 和 Tarcha 等人的 5, 252, 459 中。可商购获得的合适荧光粒子的例子包括 Molecular Probes, Inc. 销售的商品名为“FluoSphere”(红色 580/605)和“TransFluoSphere”(543/620)的荧光羧基化微球体,以及“Texas Red”和 5- 和 6- 羧基四甲基若丹明,它们也是由 Molecular Probes, Inc. 销售的。此外,可商购获得的合适的有色乳胶微粒的例子包括 Bang's Laboratory, Inc. 销售的羧基化乳胶球。

[0055] 在使用时,粒子的形状通常可以变化。例如,在一个特别的实施方式中,所述粒子的形状是球形的。然而,应该理解其它形状也是可以通过本发明预见的,例如碟形、棒条形、圆盘形、条形、管形、不规则形状等。此外,粒子的大小也可以改变。例如,粒子的平均尺寸(例如,直径)可以在约 0.1 纳米至约 1,000 微米的范围内,在一些实施方式中,为约 0.1 纳米至约 100 微米,并且在一些实施方式中,为约 1 纳米至约 10 微米。例如,“微米级”的粒子

通常是所期望的。在使用时,这种“微米级”的粒子的平均尺寸可以为约 1 微米至约 1,000 微米,在一些实施方式中为约 1 微米至约 100 微米,并且在一些实施方式中,为约 1 微米至约 10 微米。同样地,也可以使用“纳米级”的粒子。这种“纳米级”的粒子的平均尺寸可以为约 0.1 至约 1000 纳米,在一些实施方式中为约 10 至约 600 纳米,并且在一些实施方式中,为约 20 至约 400 纳米。

[0056] 在一些情况下,用一些方法修饰检测探针以使它们能更容易地与分析物结合也是合意的。在这种情况下,检测探针可以用某种特异性结合组分来修饰,所述结合组分附着其上形成共轭探针。特异性结合组分一般是特异性的结合对成分,即,两种不同的分子,其中一种分子与第二种分子化学和 / 或物理结合。例如,免疫活性特异性结合组分可以包括抗原、半抗原、配体、抗体(主要的或次要的)、以及它们的络合物,包括那些由重组 DNA 方法或肽合成所形成的。抗体可以是单克隆或多克隆抗体,重组蛋白或其混合物(复数)或片段(复数),以及抗体与其它特异性结合组分的混合物。这种抗体的制备以及它们用作特异性结合组分的适用性的细节是本领域技术人员所公知的。其它常见的特异性结合对包括但不限于,维生素 D 与抗生物素蛋白(或其衍生物),维生素 D 与抗生物素蛋白链菌素,碳水化合物与凝集素,互补核苷酸序列(包括 DNA 杂交试验中用来检测目标核酸序列的探针和捕获核酸序列),互补肽序列包括那些由重组方法形成的序列,效应物与受体分子,激素与激素结合蛋白,辅酶与酶,以及酶抑制剂与酶等等。此外,特异性结合对可以包括原特异性结合组分的类似物组分。例如,可以使用分析物的衍生物或片段,即,分析物类似物,只要其具有至少一个与分析物相同的抗原表位。

[0057] 通常利用各种公知技术的任何一种就能将特异性结合组分连接到检测探针上。例如,利用羧基、氨基、醛基、溴乙酰基、碘乙酰基、硫醇基、环氧基以及其它反应性或连接官能团,以及自由基残基和自由基正离子可以完成特异性结合组分与检测探针的共价连接,通过该共价连接可以完成蛋白的偶联反应,也可以引入表面官能团作为功能化的共聚单体,这是因为检测探针的表面可以含有相对较高表面浓度的极性基团。此外,虽然检测探针在合成后经常被功能化,但在某些情况下,例如聚(苯硫酚),探针能够直接与蛋白共价连接而不需要进一步的修饰。除了共价结合之外,还可以使用其它连接技术,例如物理吸附作用。

[0058] 为了形成根据本发明的微流体测定装置,可以将隔离介质置于与基底邻接的位置,所述基底具有一个或多个流体区。虽然不是必须的,但通常将隔离介质和基底层压在一起以形成液密封。例如,合适的结合技术可以包括粘结、超声波结合、热扩散结合等。在使用期间,将流体试样施加于样品孔和 / 或输入通道。流体试样可以包含有价值的分析物和任选地包含用于进行测定的试剂(例如,检测探针)。因此,除了充当施加流体试样的场所以外,样品加入孔和 / 或输入通道还可以充当装置中所用试剂混合、稀释或反应的场所。或替代性地,可以将测定试剂施加到隔离介质上(例如,通过脱水),在那里测定试剂可以通过与隔离介质接触而在流体试样中变为再悬浮的。例如,可以将隔离介质层压到基底上以使脱水的测定试剂处于与输入通道邻接的位置。在又一个实施方式中,可以仅将期望的测定试剂施加于分析区。无论如何,在其到达分析区之前流体试样均流过装置。隔离介质通常置于与分析区足够接近的位置以使流体中包含的分析物或其络合物能够与用于检测的接受材料结合。

[0059] 在如上所述的实施方式中,利用单独的部件来形成微流体测定装置。也就是说,所述测定装置使用了由流体区形成的基底和施加了接受材料的隔离介质。基底与隔离介质的结合形成了能够检测分析物的存在或数量的微流体装置。然而,应该理解,本发明也包括其中仅利用了单一部件的实施方式。例如,可以通过使用任何上述的技术将接受材料直接施加于包含流体区的基底表面。在一个实施方式中,接受材料被直接施加到存在于分析区内基底上的金属涂层上。以这种方式,流体试样可以流经输入通道而进入分析区,在那里分析物(或其络合物)可以与接受材料结合。

[0060] 此外,本发明中可以利用任何已知类型的测定或检测技术。例如,可以利用其它已知的光学检测技术,例如磷光、荧光、吸光度等。例如,光学检测器可以使用光源和检测器,任选地使其与在分析区上形成的光学检测窗相邻。进一步地,微流体装置还可以使用电化学检测技术,所述电化学检测技术一般包括对分析物(或其络合物)与电极带上的捕获配体之间的电化学反应的检测。多种示例性的电化学检测系统描述于 Walling 等人 的美国专利 Nos. 5, 508, 171 ; Vreeke 等人 的 5, 534, 132 ; Monbouquette 的 6, 241, 863 ; Crismore 等人 的 6, 270, 637 ; Heller 等人 的 6, 281, 006 和 Feldman 等人 的 6, 461, 496 中,在这里引入它们的全部内容作为参考而不论其目的。

[0061] 不论使用的具体检测机理如何,本发明的微流体装置允许在“单一步骤”中进行测定而不需要作用力,例如压力源,动电力等,来诱发流体试样流经装置。同样地,流速得到了控制以使流体试样在分析区内的总停留时间足够长以允许完成预期的反应和/或检测。

[0062] 参考以下实施例可以更好地理解本发明。

[0063] 实施例 1

[0064] 证明了能够形成根据本发明的一个实施方式的微流体装置。具体地说是,最初由聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 硅橡胶 (“Sylgard 184”,由 Dow Corning of Midland,Michigan 获得) 形成微模制聚合物片。所述 PDMS 预聚物是粘度为 3900 厘泊的液体。通过使用铂基催化剂 (1 份催化剂 :10 份预聚合物) 的自由基传递机理使该 PDMS 预聚合物聚合。PDMS 的原始液态特性使其能够以高精确度和良好的尺寸稳定性复制结构精细的塑模。

[0065] 接着在硅片上形成 50 微米厚的光致抗蚀剂 (由 Dow Chemical 获得,名称为“EPON SU-8”)。具体地说是,将 3 毫升的 SU-8 光致抗蚀剂在 100RPM 下分散到 6”直径的硅片上,缓慢升高到 500RPM,接着迅速升高到 2000RPM 并保持 30 秒。将沉淀的光致抗蚀剂在接触加热板上进行软烘焙 (65°C 2 分钟,接着 95°C 5 分钟)。接着,使用 LS-1000 太阳能模拟器 (Solar Light of Philadelphia,Pennsylvania),将 SU-8 光致抗蚀剂与具有预设计流体区图案的铬 - 图案石英光掩模一起曝光 30 秒。使用 CAD 程序来建立对流体区的设计。所述设计示于图 1 并具有如下尺寸。

[0066] 表 1 :流体区的尺寸

[0067]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	86	400	50	8
分析区	246	2500 (最大)	50	50

毛细通道 (92×)	2370	50	50	1
溢流区	1108	1100	50	22
总计	3810			

[0068] 95 °C 下在接触加热板上进行 7 分钟的曝光后烘焙之后, 通过在 SU-8 显影剂 (MicroChem of Newton, MA) 中浸渍约 6 分钟将母模显影, 随后进行旋转干燥环节 (2000 RPM, 30 秒)。最后, 通过使用上述旋转干燥条件的动力异丙醇漂洗环节 (1mL) 对图案进行清洗。用所得的负突起母模浇铸突起的 PDMS 微流体装置。只要 PDMS 微模制的流体装置一固化, 就将其小心地从模子上取下来然后粘附到膜上。PDMS 部件具有当其处于与膜紧密接触的位置时能够形成液密结合的表面能。

[0069] 所述膜由 CPFilms, Inc. of Martinsville, Virginia 获得, 并且是具有 10- 纳米厚的金涂层 (每平方英寸 ≤ 13 ohms) 的 7-mil Mylar [®] 膜。将所述镀金膜暴露于硫醇盐化的对 CRP (BiosPacific) 反应的单克隆抗体中 2 分钟。然后将膜用蒸馏过的去离子水漂洗并用 0.2- 微米过滤过的空气吹干。将所述涂膜安放在真空压盘上并且将铬- 图案石英光掩模直接与所述膜的涂敷面接触放置。甚至进一步通过抽强真空来减少掩模与膜之间的间隔。然后将涂膜暴露于 222- 纳米光 (单色的, 由一对 KrF 激发态灯泡产生, 所述灯泡由 Heraeus Noblelight of Duluth, georgia 获得) 下 2 分钟。测定装置的流动相由直径为 300- 纳米的羧化物修饰的乳胶微球体 (Bangs Laboratories) 形成。将单克隆抗 -CRP 抗体 (BiosPacific) 共轭到乳胶微球体上并且将粒子保存在 1.25% 固体浓度的 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 和 Triton X-100 (0.3%) 中。

[0070] 为了开始测定, 将所述共轭粒子与含有多种浓度的 C- 反应蛋白样品预混合, 并且将所产生的混合物施加到装配的微流体装置的输入通道中。所述混合物流入输入通道, 充满分析区, 最后开始流入毛细通道。3 至 5 分钟后, 毛细通道被充满到使输入通道和最终分析区没有流体存在的程度。后退的空气 / 流体接触面带走了任何未结合的流动相, 仅在分析区中留下信号粒子, 在所述分析区中存在充足的分析物以形成“三明治”结构。结果用基于衍射的检测技术获得, 所述检测技术例如描述于 Kaylor 等人的 2003/0107740 中, 在此引入其全部内容作为参考而不论其目的。改变分析物的浓度重复试验以产生图 8 所示的剂量 - 反应曲线。

[0071] 实施例 2

[0072] 除了利用图 2 所示的设计并且具有如下尺寸外, 微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0073] 表 2 : 流体区的尺寸

[0074]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	165	400	50	8
分析区	260	3000 (最大)	50	60

毛细通道 (20×)	450	50	50	1
溢流区	9240	2200	50	44
总计	10, 115			

[0075] 实施例 3

[0076] 除了利用图 3 所示的设计并且具有如下尺寸外,微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0077] 表 3 :流体区的尺寸

[0078]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	165	400	50	8
分析区	240	2000(最大)	50	50
毛细通道 (20×)	450	50	50	1
溢流区	9240	2200	50	44
总计	10, 095			

[0079] 实施例 4

[0080] 除了利用图 4 所示的设计并且具有如下尺寸外,微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0081] 表 4 :流体区的尺寸

[0082]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	89	200	50	4
分析区	160	2000(最大)	50	40
毛细通道 (50×)	927	100	50	2
溢流区	1987	2000	50	40
总计	3163			

[0083] 实施例 5

[0084] 除了利用图 5 所示的设计并且具有如下尺寸外,微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0085] 表 5 :流体区的尺寸

[0086]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	219	200	50	5
分析区	163	2000(最大)	50	40
毛细通道 (55×)	3440	50 到 200 (锥形)	50	2 到 4 (锥形)
溢流区	14, 129	5000	50	100
总计	17, 951			

[0087] 实施例 6

[0088] 除了利用图 6 所示的设计并且具有如下尺寸外,微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0089] 表 6 :流体区的尺寸

[0090]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
输入通道	218	250	50	5
分析区	158	2000(最大)	50	40
毛细通道 (55×)	1195	50	50	1
溢流区	14, 123	5000	50	100
总计	15, 694			

[0091] 实施例 7

[0092] 除了利用图 7 所示的设计并且具有如下尺寸外,微流体装置的形成如实施例 1 所述。

[0093] 表 7 :流体区的尺寸

[0094]

	体积 (纳升)	宽度 (微米)	深度 (微米)	纵横比
中心区	1254	3500	50	70
输入通道 (4×)	106	1000	50	20
分析区 (4×)	1552	3000(最大)	50	60

毛细通道 (120×)	6526	100 到 350 (锥形的)	50	2 到 7 (锥形的)
溢流区 (4×)	3456	1100	50	22
总计	12, 894			

[0095] 虽然已经参照其具体实施方式对本发明进行了详细地描述,但是应该清楚,通过完成了对上文的理解,本领域技术人员可以很容易地想到这些实施方式的改变、演变和等同方式。因此,本发明的范围应当被确定为所附的权利要求及其任何等同替换的范围。

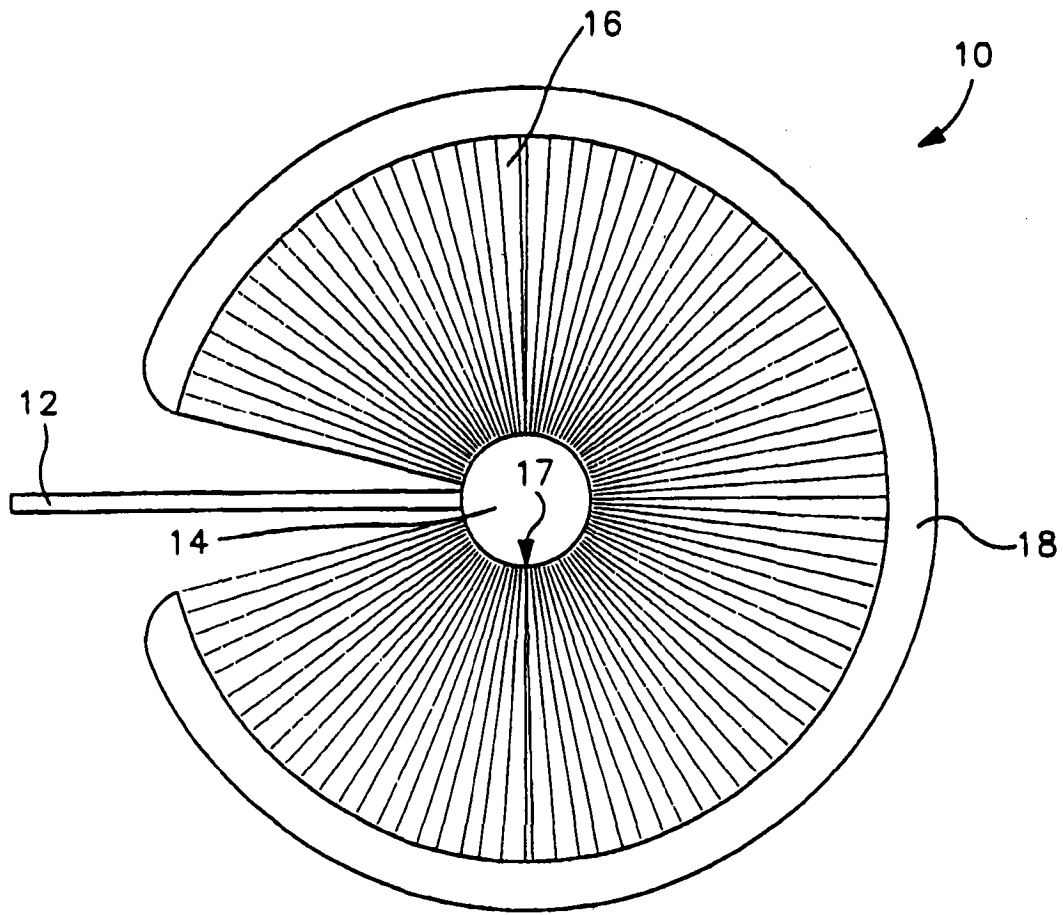


图 1

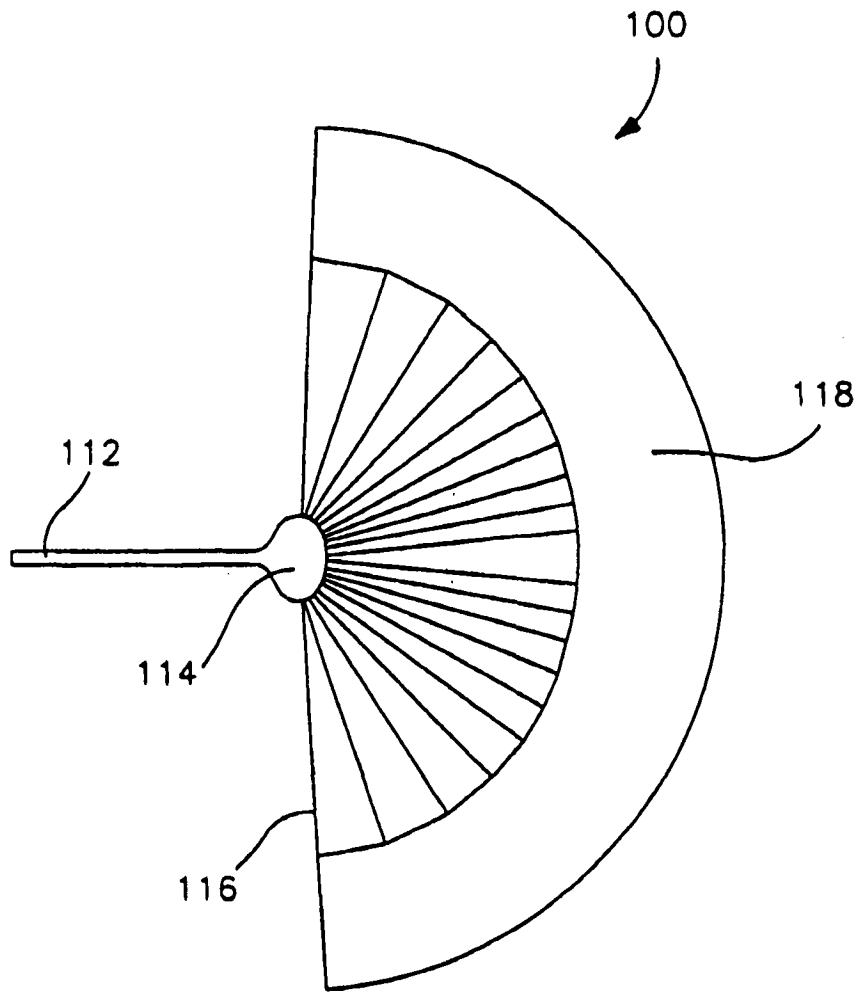


图 2

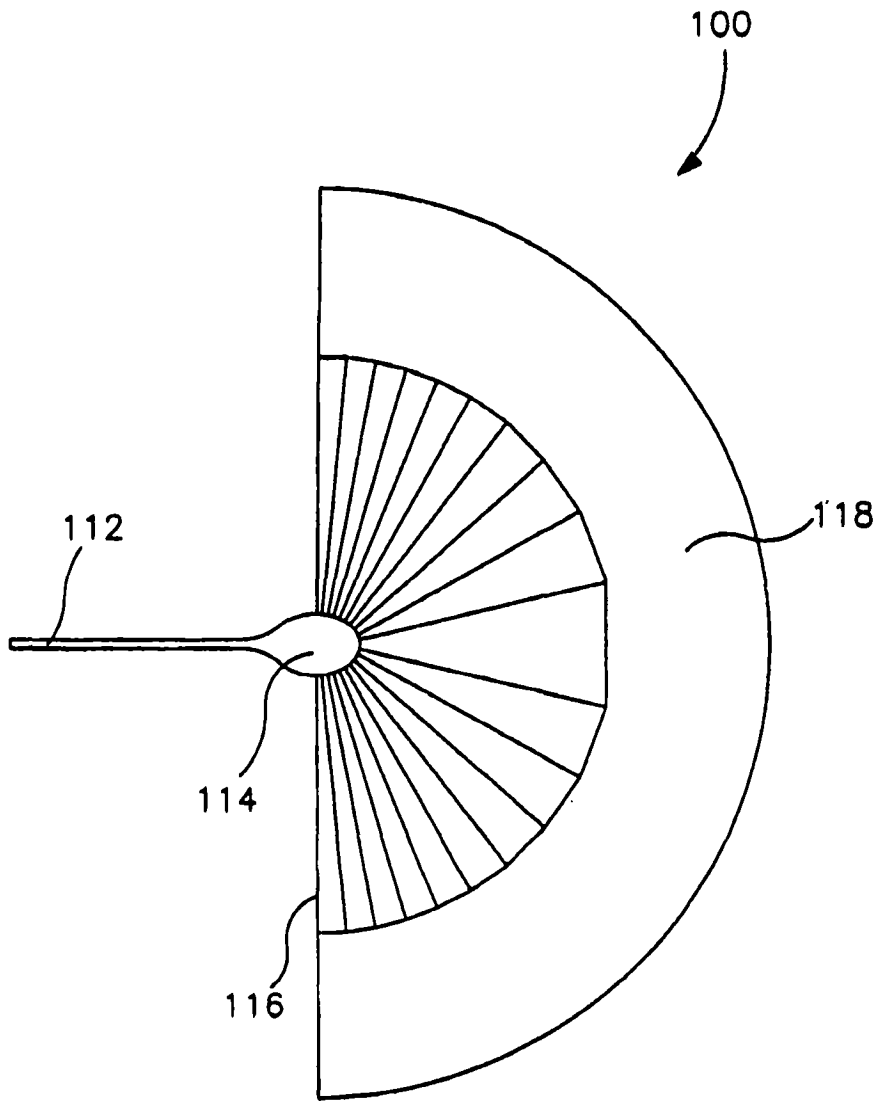


图 3

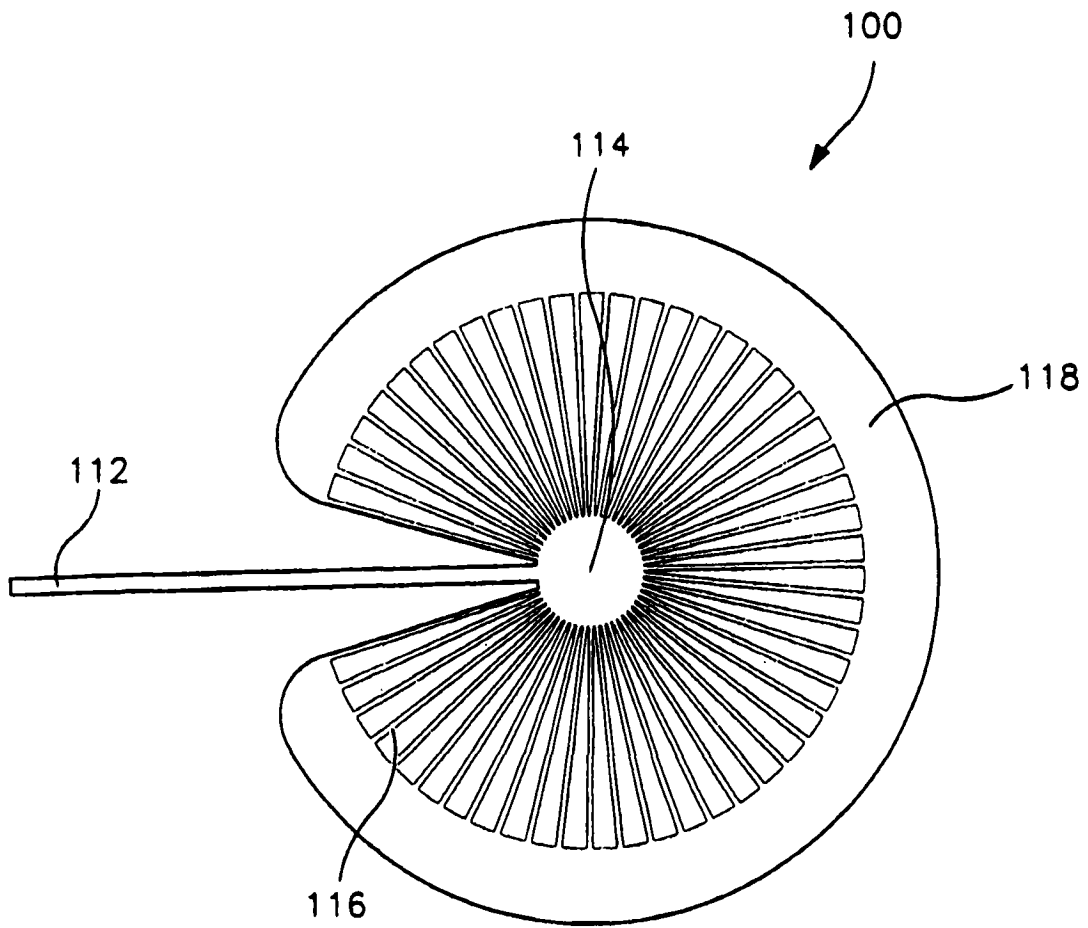


图 4

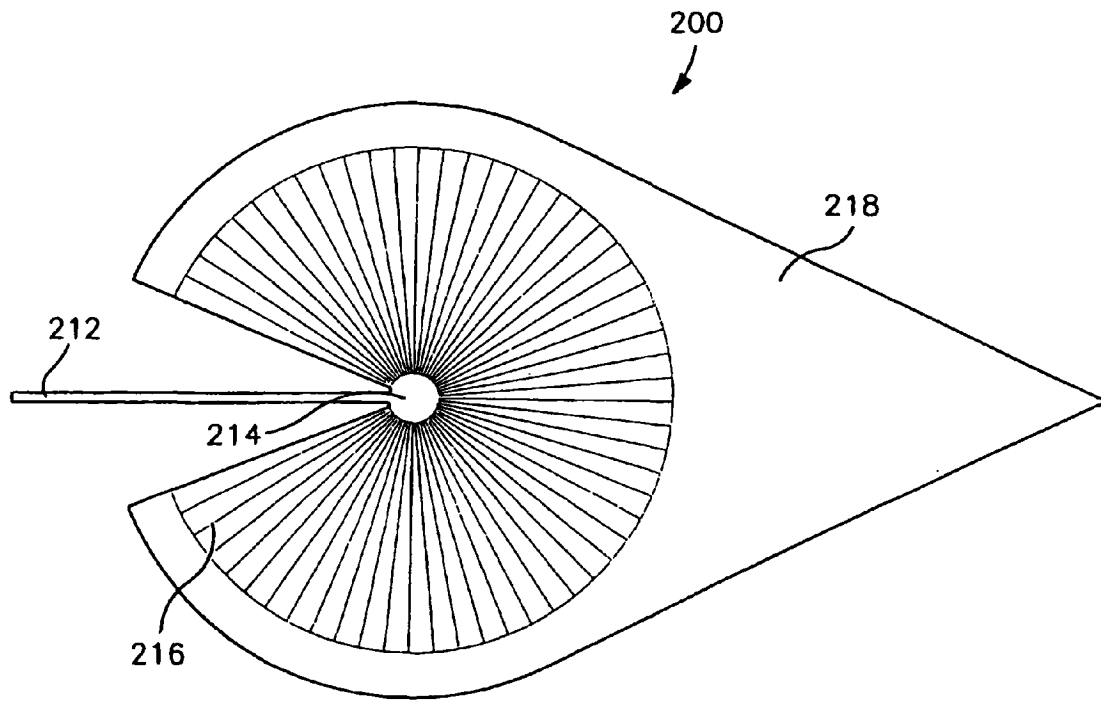


图 5

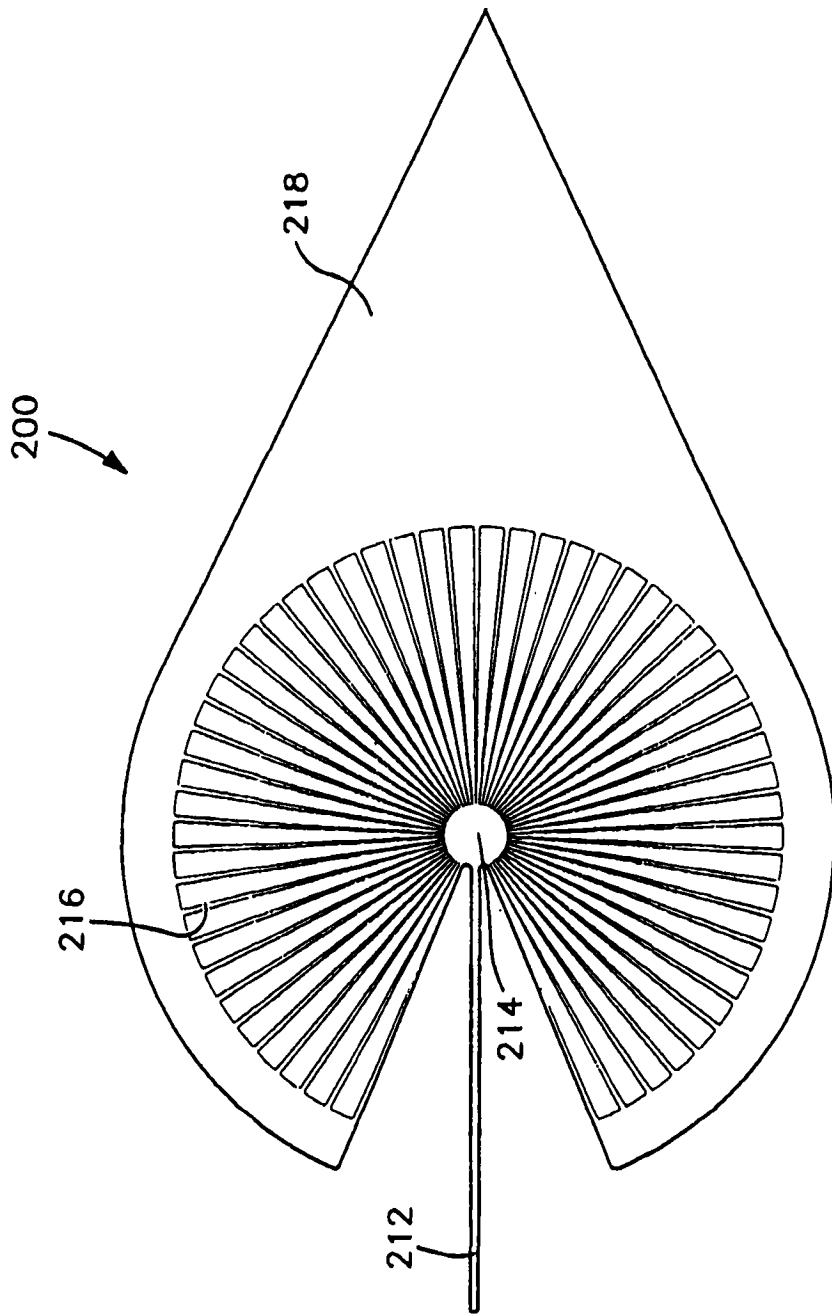


图 6

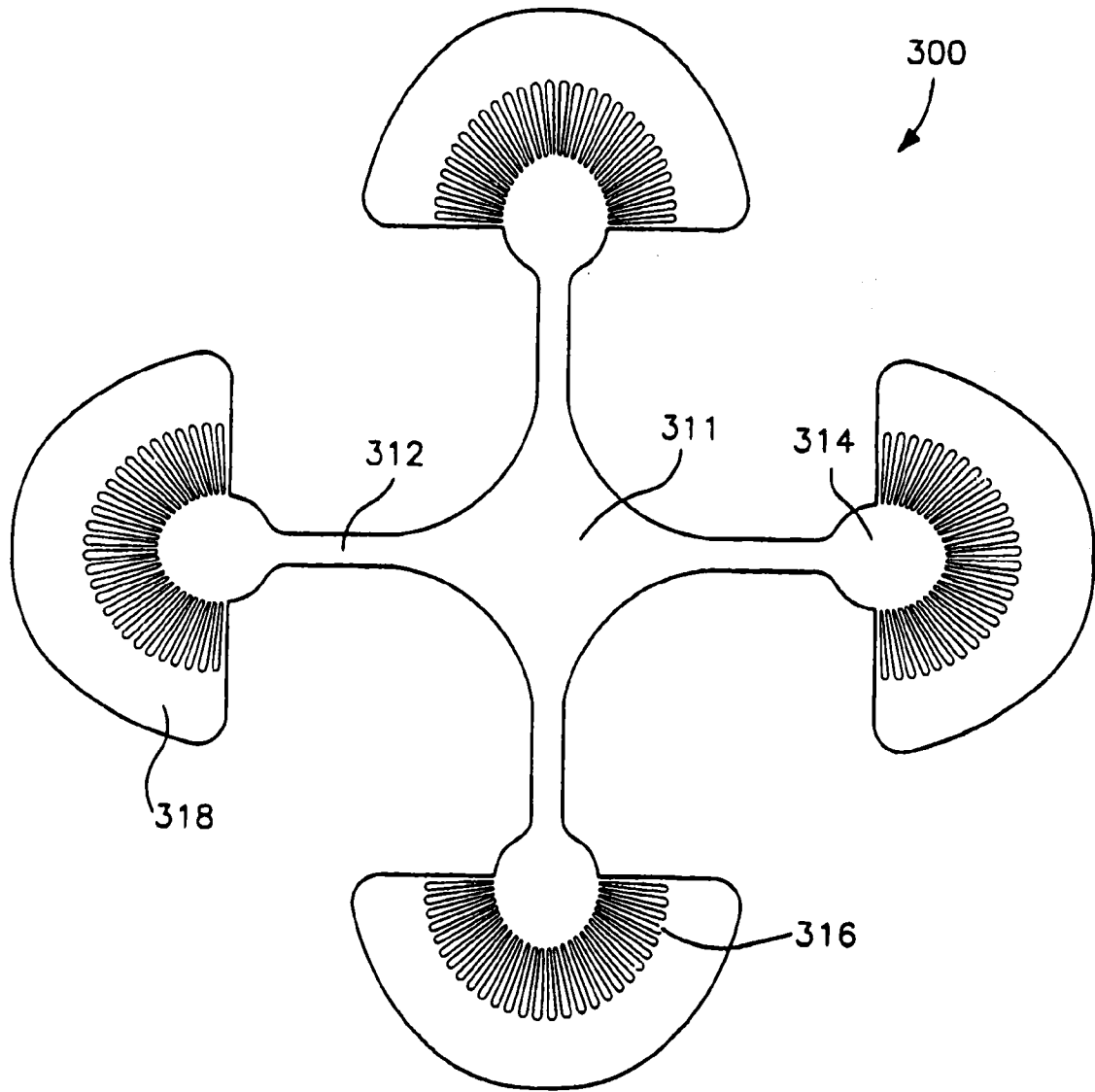


图 7

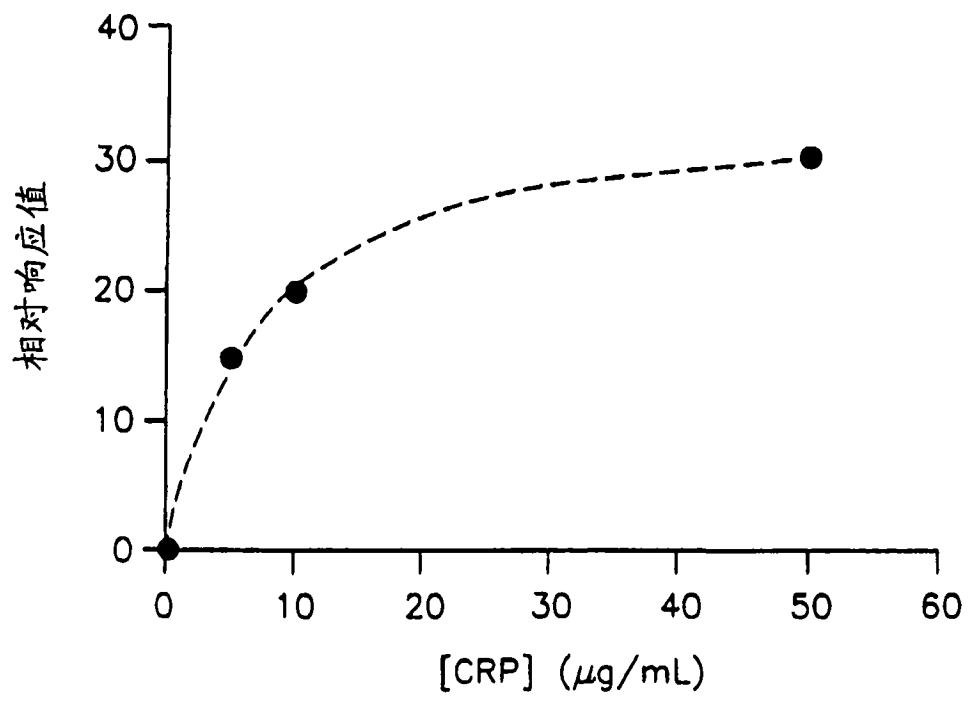


图 8