



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101287845 B

(45) 授权公告日 2012. 07. 18

(21) 申请号 200680025497. 6

C12P 19/34 (2006. 01)

(22) 申请日 2006. 05. 10

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

60/679, 714 2005. 05. 11 US

US 2004/0055536 A1, 2004. 03. 25, 全文 .

CN 2697102 Y, 2005. 05. 04, 全文 .

US 2002/0043463 A1, 2002. 04. 18, 全文 .

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 01. 11

审查员 张鑫蕊

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/018088 2006. 05. 10

(87) PCT申请的公布数据

W02006/124458 EN 2006. 11. 23

(73) 专利权人 先进液体逻辑公司

地址 美国北卡罗来纳

专利权人 杜克大学

(72) 发明人 A·D·申德罗夫 M·G·波拉克

(74) 专利代理机构 北京德恒律师事务所 11306

代理人 陆鑫 房岭梅

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 2 页

(54) 发明名称

用于在多个温度下进行生化或化学反应的方法和设备

(57) 摘要

本发明描述了用于进行需要多个反应温度的化学或生化反应的方法和设备。所述方法涉及在微流体装置上移动一个或多个反应液滴或反应体积,使其通过具有不同温度的各反应区域。所述设备包括微流体装置,该微流体装置包括能移动反应液滴或反应体积使其通过各反应区域的适当驱动器。

1. 一种进行需要不同温度的核酸扩增反应的方法,该方法包括如下步骤:
 - (a) 向包括至少两个反应区域的电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,每一个反应区域具有核酸扩增反应所需的不同温度,反应液滴含有目标核酸以及实现该核酸扩增所需的试剂;
 - (b) 通过采用电润湿移动所述至少一个反应液滴使其通过所述至少两个反应区域来进行核酸扩增反应,从而完成核酸扩增反应的第一次循环;
 - (c) 任选地重复步骤 (b) 来进行核酸扩增反应的进一步循环。
2. 一种用于扩增目标核酸的方法,其包括如下步骤:
 - (a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,所述反应液滴含有目标核酸以及实现核酸扩增所需的试剂,该试剂包括核酸引物;
 - (b) 采用电润湿移动液滴,使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,从而使目标核酸变性;
 - (c) 采用电润湿移动液滴,使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,从而使引物与目标核酸退火;
 - (d) 采用电润湿移动液滴,使其通过电润湿阵列的具有第三温度的第三反应区域,从而发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸;并且
 - (e) 任选地重复步骤 (b)、(c) 和 (d)。
3. 如权利要求 2 所述的方法,其进一步包括:
 - (f) 采用电润湿将液滴从第三反应区域移动到检测点;
 - (g) 检测反应液滴中已扩增核酸的存在。
4. 如权利要求 3 所述的方法,其进一步包括:

沿电润湿阵列的返回通道,将反应液滴从检测点移动到第一个反应区域,并且重复步骤 (b)、(c) 和 (d)。
5. 一种用于扩增目标核酸的方法,其包括如下步骤:
 - (a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,该反应液滴含有目标核酸以及实现核酸扩增所需试剂,该试剂包括核酸引物;
 - (b) 采用电润湿移动液滴,使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,使得目标核酸变性;
 - (c) 采用电润湿移动液滴,使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,使得引物与目标核酸退火并且使得发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸;并且
 - (d) 任选地重复步骤 (b) 和 (c)。

用于在多个温度下进行生化或化学反应的方法和设备

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于 2005 年 5 月 11 日提交的美国临时申请第 60/679,714 号的权益,该文献全文在此引入作为参考。

[0003] 背景技术

[0004] 生化和化学反应速率的温度依赖性,给通过微型化来增加反应效率和速度的努力带来了特殊的挑战。不仅将反应体积而且将整个反应室保持在所需温度下的时间域方法仅仅只适合于等温情况。如果温度需要以快速并且受控的方式改变或者循环,则反应室增加的热量限制了能够达到的速率和 / 或精确性。

[0005] 在空间域方法中(参见,例如, Kopp, M. U., de Mello, A. J., Manz, A., Science 1998, 280, 1046-1048; Burns, M. A., Johnson, B. N., Brahmansandra, S. N., Handique, K., Webster, J. R., Krishnan, M., Sammarco, T. S., Man, P. M., Jones, D., Heldsinger, D., Mastrangelo, C. H., Burke, D. T., Science 1998, 282, 484-487; Chiou, J., Matsudaira, P., Sonn, A., Ehrlich, D., Anal. Chem. 2001, 73, 2018-2021; 以及 Nakano, H., Matsuda, K., Yohda, M., Nagamune, T., Endo, I., Yamane, T., Biosci. Biotechnol. Biochem. 1994, 58, 349-352), 将反应室的不同部分保持在不同的温度下, 并且引入反应体积使其与反应室中所期望的部分热接触, 从而将其保持在该部分的温度下。必要时, 可以将反应体积移动到反应室的不同部分以改变温度; 并且, 依照反应体积的轨迹, 可以根据需要来调整或者循环其温度分布。迄今为止, 大多数空间域动态热控制的实现都与微型化 PCR 热循环有关。已经证实, 跨温度区域设置的连续的弯曲或者涡形通道可用于连续的通量扩增(参见, 例如, Fukuba T, Yamamoto T, Naganuma T, Fujii T Microfabricated flow-through device for DNA amplification-towards in situ gene analysis CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL 101(1-3):151-156 AUG 12004); 已经描述了具有来回移动的反应块的直接路径的布置(参见, 例如, Chiou, J., Matsudaira, P., Sonn, A., Ehrlich, D., Anal. Chem. 2001, 73, 2018-2021); 并且最后, 已经证实了通过回路的单独反应循环(参见, 例如, Jian Liu Markus Enzelberger Stephen Quake A nanoliter rotary device for polymerase chain reaction Electrophoresis 2002, 23, 1531-1536)。

[0006] 现有设备不能在每一热循环期间使反应体积通过检测点, 这可以提供实时 PCR 的能力。它们也不使用多个各自包含多个反应体积的平行通道来提高生产量。

[0007] 发明内容

[0008] 一方面, 本发明公开了一种用于进行需要不同温度的核酸扩增反应的方法。该方法包括如下步骤: (a) 向包括至少两个反应区域的电润湿阵列中加入至少一个反应液滴, 每一个反应区域具有核酸扩增反应所需的不同温度, 该反应液滴含有目标核酸以及实现该核酸扩增所需要的试剂; (b) 通过采用电润湿, 移动至少一个反应液滴使其通过至少两个反应区域来进行核酸扩增反应, 从而完成核酸扩增反应的第一次循环; 以及 (c) 任选地重复步骤 (b) 来进行核酸扩增反应的进一步循环。

[0009] 另一方面, 本发明公开了一种用于扩增目标核酸的方法。该方法包括如下步骤:

(a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,该反应液滴含有目标核酸以及实现该核酸扩增反应所需的试剂,该试剂含有核酸引物;(b) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,从而使目标核酸变性;(c) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,从而使引物与目标核酸退火;(d) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第三温度的第三反应区域,从而发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸;并且任选地重复步骤(b)、(c)和(d)。

[0010] 本发明还提供了上述用于扩增目标核酸方法的一个方面。该方法包括如下步骤:(a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,该反应液滴含有目标核酸以及实现该核酸扩增所需的试剂,该试剂含有核酸引物;(b) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,从而使目标核酸变性;(c) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,从而使得引物与目标核酸退火,并且从而发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸;并且任选地重复步骤(b)和(c)。

[0011] 另一方面,本发明公开了一种用于在各种温度下进行化学或生化反应的设备。该设备包括含有至少一个反应通道、至少一个检测点、和至少一个返回通道的微流体装置,以及用于驱动反应液滴或反应体积通过反应通道(一个或多个)、检测区域(一个或多个)、和返回通道(一个或多个)的装置。该设备还包括至少两个反应区域,每个反应区域能够保持和其它反应区域不同的温度,其中,反应通道穿过至少两个反应区域。

[0012] 本发明还提供了上述设备的一个方面。该设备包括含有多个反应通道、至少一个检测点、至少一个返回通道的微流体装置,以及用于驱动反应液滴或反应体积通过这些反应通道、检测区域(一个或多个)、返回通道(一个或多个)的装置。该设备还包括至少两个反应区域,每个反应区域能保持和其它反应区域不同的温度,其中,每个反应通道穿过至少两个反应区域,并且至少一个反应通道流动地与至少一个检测区连接。

[0013] 另一方面,本发明公开了一种用于在各种温度下进行化学或生化反应的设备。该设备包括含有多个电润湿电极的电润湿阵列,该电润湿阵列形成至少一个反应通道、至少一个检测点、以及至少一个返回通道。该设备进一步包括至少两个反应区域,每个反应区域能够保持和其它反应区域不同的温度,其中,反应通道至少穿过两个反应区域并且电润湿阵列能够操控反应液滴通过反应通道(一个或多个)、检测区域(一个或多个)和返回通道(一个或多个)。

[0014] 另一方面,本发明公开了一种用于进行需要不同温度的反应的方法。该方法包括:(a) 向包括至少两个反应区域的电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,每个反应区域都具有反应所需要的不同温度,所述反应液滴含有实现反应所需要的试剂;(b) 通过采用电润湿移动至少一个反应液滴使其通过至少两个反应区域来进行反应,从而完成反应的第一次循环;以及(c) 任选地重复步骤(b)来进行反应的进一步循环。

[0015] 本发明还提供上述用于进行需要不同温度反应的方法的一个方面。该方法包括:(a) 向微流体装置中加入至少一个反应液滴或反应体积,该微流体装置包括至少两个反应区域和至少一个检测点,每个反应区域都具有反应所需的不同温度,反应液滴含有实现反应所需的试剂;(b) 通过使用驱动装置移动至少一个反应液或反应体积使其通过至少两个

反应区域,从而完成反应的第一次循环;以及(c) 任选地重复步骤(b) 来进行反应的进一步循环。

[0016] 附图说明

[0017] 图 1 说明了用于进行需要多个反应温度的化学或生化反应的设备的—个具体实施方式的部分横截面。

[0018] 图 2 说明了采用电润湿阵列进行实时聚合酶链式反应的设备的—个具体实施方式。

[0019] 具体实施方式

[0020] 本发明涉及用于进行需要多个反应温度的化学或生化反应的方法和设备。所述方法包括:在微流体装置上移动—个或多个反应液滴或反应体积使其通过具有不同温度的各反应区域。所述设备包括微流体装置,该微流体装置包括能够移动反应液滴或反应体积使其通过各反应区域的适当驱动器。

[0021] 采用电润湿的方法和设备

[0022] 在—个具体实施方式中,所述设备包括含有多个电润湿电极的电润湿阵列,并且所述方法包括:采用电润湿来移动—个或多个反应液滴,使其通过位于电润湿阵列上的各种反应区域,该电润湿阵列具有进行反应的不同温度。

[0023] 该设备的电润湿阵列可以包括—个或多个穿过该设备的至少两个反应区域的反应通道。为了将反应液滴暴露于所需的温度下从而进行需要多个反应温度的反应,可以将每个反应区域保持在独立的温度下。每—反应通道可以包括,例如,多个位于电润湿阵列上的电极,它们—起能够将单个的液滴从—个电极移动到下一个电极,从而可以采用电润湿驱动将反应液滴移过整个反应通道。可以使用的电润湿阵列、电润湿电极以及结合有它们的设备包括美国专利第 6,565,727 和 6,773,566 号,以及美国专利申请公开第 2004/0058450 和 2004/0055891 号中所描述的那些,这些文献的内容在这里特此引入作为参考。

[0024] 可以用于进行需要多个反应温度的反应的设备—般包括第—平面底层,以及基本上和第—底层平行的第二平面底层。通常,在第—底层上具有多个基本上平面的电极。通常,在第二个底层上具有多个基本平面的电极或者—个大的基本上平面的电极。优选地,位于第—或第二底层上的单个或多个电极中的至少—个上涂有绝缘体。第—底层上的电极(或者包覆电极的绝缘体)和第二底层上的多个或—个电极(或包覆电极的绝缘体)之间的区域形成间隙,其中充满了基本上与被设备操控的液体不会混合的填充流体。这种填充流体包括空气、苯类或者硅油。在—些具体实施方式中,该间隙为约 0.01mm 至 1mm,尽管也可以使用更大或更小的间隙。通过间隙相对两侧电极所形成的穿越间隙的电场来控制需要被操控的液滴的形成和移动。图 1 显示了用于进行需要多个反应温度的化学或生化反应的设备的—个具体实施方式的部分横截面,其中附图标记含义如下:22- 第—底层;24- 第二底层;26- 液滴;28a 和 28b- 疏水绝缘涂层;30- 填充流体;32a 和 32b- 电极。

[0025] 同样也可以使用仅在—个底层上含有电极的设备(或者仅含有—个底层的设备)来进行需要多个反应温度的反应。美国专利申请公开第 2004/0058450 和 2004/0055891 号描述了仅在—个底层上具有电润湿电极阵列的设备,其内容在这里特此引入作为参考。该设备包括第—底层以及包埋于其上或与其连接的控制电极阵列。—层介电层覆盖着这些控

制电极。在该电极阵列上,铺设在参比电位下的导线的二维网格,每根导线(例如,线或棒)位于相邻的驱动电极之间。

[0026] 用于进行化学或生化反应的设备的每一反应通道包括至少两个反应区域。这些反应区域保持在特定的温度下,从而可以进行需要多个反应温度的反应。根据正在进行的特定反应,在适当的时间使反应液滴移动通过每一反应区域(或者使其保持在其中)。使用任何加热或者冷却的方式(包括,例如,电阻、感应或者红外线加热)将反应区域中的温度保持基本恒定。进行反应的设备可以进一步包括用于产生或维持将反应区域保持在基本恒定温度所需热或冷的机构。

[0027] 用于进行化学或生化反应的设备可以任选地具有位于反应通道之中或之后的检测点。在一个具体实施方式中,该设备在每一反应通道的最后一个反应区域之后都具有检测点。可以设计同样属于设备中电润湿阵列一部分的检测点,以使得在该检测点处能够检测反应的标记(例如,指示反应发生或没有发生的标记)或者反应液滴中的分析物(用于定量,等等)。例如,检测点可以包括设备中的透明或半透明的区域,使得能在光学上或视觉上检测到作为反应特征的光学标记。另外,在检测点可以设置检测器,使得在有或者没有透明或半透明区域的情况下都能检测到反应标记。可以使用由例如玻璃或塑料制成的底层以及由例如氧化铟锡或薄的透明金属薄膜制成的电极来构造透明或半透明的检测点。反应标记可以包括,例如,荧光或者放射等等,并且可以使用的标记包括荧光性和放射性标记。另外,检测点可以包括结合酶或者其它试剂使得能够检测反应液滴中的分析物。

[0028] 如上所述,设备的反应通道(一个或多个)可以包括电润湿电极的阵列。此外,该反应通道可以更进一步包括用于帮助限定流体路径的导管或管道。该管道或导管可以是电润湿电极本身的一部分,可以是电极上绝缘涂层的一部分,或者可以是和电极分离的。

[0029] 反应通道可以具有各种几何形状。例如,反应通道可以是包括至少两个反应区域的环形通道,或者是穿过至少两个反应区域的直线通道,或者是其它形状的通道。此外,该设备可以包括电润湿电极阵列,该电润湿电极阵列包括多个可能的反应通道以及多个反应区域的,使得该设备可以为各种反应而重构。

[0030] 该设备也可以包括从反应通道末端或从检测点(如果该设备包括位于反应通道末端之后的检测点)至相同反应通道起点(或至新的、相同的反应通道)的返回通道,从而使得使用相同的试剂就可以进行反应的多次循环。也就是说,该设备可以包含返回通道,从而可以使用环形或弯曲通道作为反应液滴的总通道来进行多次反应循环。如同反应通道和检测点一样,返回通道含有一个或多个电润湿电极,并且是设备中电润湿阵列的一部分。返回通道可以包括用于帮助限定流体路径的导管或者管道。返回通道可以穿过一个或多个反应区域,或者可以整个绕开反应区域。此外,返回通道可以具有基本上恒定的温度(与反应区域中保持的温度之一相同或不同),该恒定的温度通过适当的加热或冷却机构来保持。此外,可以操作返回通道,使得反应液滴回到相同或另一个反应通道起点快于这些反应液滴在反应通道中的时间。

[0031] 当在一个设备中含有多个反应通道时,可以具有多个返回通道(例如,每个反应通道具有一个返回通道)或者返回通道的数量少于反应通道(例如,只有一个返回通道)。当返回通道少于反应通道时,可以在电润湿阵列上操控液滴,使得在第一次反应循环中穿过特定通道的反应液滴回到相同的反应通道来进行第二次反应循环,因此使得特定反应液

滴每一渐进循环的结果能够与该相同液滴以前循环的结果进行比较。

[0032] 在其它具体实施方式中,为了进行相同反应的循环,可以在没有返回通道的情况下将反应液滴移动到相同反应通道的起点。当反应通道和任何检测点形成一个环路,或者当反应通道和任何检测点不形成环路(例如,直线通道)并且反应液滴沿相同通道被反方向移回相同反应通道的起点时,可以不需要这样的返回通道。如需要,为了实现一些反应,含有电润湿阵列的设备能使反应液滴在阵列中单向移动以及在通道中双向移动。此外,这种设备能使液滴在进行特定反应所需的阵列中沿着任何方向的组合移动,并且这种设备并不仅限于在电润湿阵列中做直线运动。

[0033] 该设备也可以包括将液体(例如,反应液滴、填充液体,或者其它液体)分配入设备以及将液体(例如,反应液滴、废液、填充液体)从设备中排出所需要的适当结构和机构。这种结构可以包括位于设备的壳体或底层中的一个或多个孔,从而从电润湿阵列中的间隙放置或排出液体。从设备中分配或排出液体的适当机构包括那些使用抽吸、压力等的机构,并且也包括吸液管、毛细管等等。此外,在这里所述的设备中,也可以使用例如,如美国专利第 6,565,727 号中所描述的由电润湿阵列形成的储液槽以及由电润湿阵列形成的滴量计。

[0034] 进行需要多个反应温度的化学或生化反应的方法包括:向这里所述设备的电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,然后通过采用电润湿移动该至少一个反应液滴使其穿过至少两个反应区域来进行反应。所述至少两个反应区域保持在反应所需的不同温度下。如果需要,通过采用电润湿阵列再一次移动该至少一个反应液滴使其穿过至少两个反应区域,可以使用相同的液滴重复该反应。为了特的反应需要或优选多个反应循环时,有可能会需要这种重复操作。

[0035] 反应液滴(一个或多个)含有进行所期望反应所需要的试剂,并且该反应液滴(包括任何待测样品)可以在设备外制备,或者通过采用电润湿阵列在设备中混合一个或多个液滴来制备。此外,可以在反应期间,或者在反应循环之后以及进行新的反应循环之前将其它试剂加入到反应液滴中(例如,通过混入一种含有适当试剂的新反应液滴)。

[0036] 这里所述的设备适合于,但不仅限于进行需要温度循环的核酸扩增反应。也就是说,该设备适用于进行扩增核酸的反应,该反应需要多于一种的温度来进行总反应中的部分反应,例如,核酸(一种或多种)的变性,核酸引物与核酸(一种或多种)的退火,以及核酸的聚合(即,核酸引物的延伸)。

[0037] 很多核酸扩增方法需要反应温度从较高的变性温度到较低的聚合温度的循环,并且其它方法需要这样的反应温度循环,即,从较高的变性温度到较低的退火温度,再到处于变性温度和退火温度之间的聚合温度。一些这样的核酸扩增反应包括,但不限于,聚合酶链式反应(PCR)、连接酶链式反应、以及转录依赖扩增反应。

[0038] 在一个特定的具体实施方式中,提供了一种用于进行需要不同温度的反应的方法。该方法包括(a)在包括至少两个反应区域的电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,以及(b)通过采用电润湿移动该至少一个反应液滴使其通过至少两个反应区域,从而完成反应的第一次循环。每一反应区域具有反应所需的不同温度。反应液滴含有实现反应所需的试剂。为了进行反应的进一步循环,可以任选地重复步骤(b)。

[0039] 在另一个特定的具体实施方式中,提供了一种用于进行需要不同温度的核酸扩增反应的方法。该方法包括(a)在包括至少两个反应区域的电润湿阵列中加入至少一个反应

液滴,以及 (b) 通过采用电润湿移动该至少一个反应液滴使其通过至少两个反应区域,从而完成核酸扩增反应的第一次循环。每一反应区域具有核酸扩增反应所需的不同温度。反应液滴含有目标核酸以及实现核酸扩增所需的试剂。这种试剂可以包括适当的核酸引物、核苷酸、酶(例如,聚合酶)、以及其它试剂。为了进行核酸扩增反应的进一步循环,可以任选地重复步骤 (b)。

[0040] 在一个进一步的具体实施方式中,提供了扩增目标核酸的另一种方法。该方法包括以下步骤:(a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,该反应液滴含有目标核酸以及实现核酸扩增所需的试剂,该试剂包括核酸引物;(b) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,从而使目标核酸变性;(c) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,从而使引物与目标核酸退火;以及(d) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第三温度的第三反应区域,从而发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸。为了进行核酸扩增反应的进一步循环,可以任选地重复步骤 (b)、(c) 和 (d)。

[0041] 在又一具体实施方式中,提供了另一种扩增目标核酸的方法,该方法包括如下步骤:(a) 向电润湿阵列中加入至少一个反应液滴,该反应液滴含有目标核酸以及实现核酸扩增反应所需的试剂,该试剂包括核酸引物;(b) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第一温度的第一反应区域,从而使目标核酸变性;(c) 采用电润湿移动液滴(一个或多个),使其通过电润湿阵列的具有第二温度的第二反应区域,从而使引物与目标核酸退火并因此发生核酸引物的延伸,由此扩增目标核酸。为了进行核酸扩增反应的进一步循环,可以任选地重复步骤 (b) 和 (c)。

[0042] 当该方法用于进行 PCR 时,反应液滴中的试剂可以包括脱氧核苷三磷酸盐、核酸引物、以及聚合酶,例如,耐热聚合酶如 Taq DNA 聚合酶。

[0043] 示例性具体实施方式

[0044] 本发明公开了一种用于在各种温度下进行化学或生化反应的方法,该方法通过以下方式进行:移动多个反应液滴使其通过保持在所要求温度下的壳体的某些部分,在所期望的时间点,这些反应液滴既可以通过也可以不通过检测点。为达到上述目的所使用的设备包括:用于移动这些反应使其通过具有控制温度的区域的通道(一个或多个)、任选的检测点、以及任选的用于将温度循环重复所需次数的返回通道。

[0045] 图 2 显示了一个用于实现实时 PCR 的特定具体实施方式。如图 2 所示,电润湿控制电极的十四条平行线为移动反应液滴使其通过三个温度区域提供了驱动力。每一通道一开始被加入最多十滴 PCR 反应液滴。当液滴离开最后一个温度控制区域时每个通道穿过一个专用检测点。进行荧光测量,然后特定液滴或者被排出或者通过返回通道回到第一温度区域。在该特定的布局中,所有的十四条活动通道都使用一条返回通道。优选地,当返回环形通道可以在比每一通过温度控制区域的通道更高的通过量下操作时,可是使用该方案。例如,如果液滴在 20Hz 下从一个电极移动到下一个电极,十四个正向通道和一个返回通道的相应转换频率是 280Hz。同样优选地,在正向通道的之前或之后,或者在两端,采取措施使液滴重新排列,从而使它们以相同的顺序进出每一循环。这种方法尤其适用于定量 PCR(当所有反应都应处于非常类似的、理论上相同的温度变化过程时)。

[0046] 使用其它流体或微流体驱动器的方法和设备

[0047] 为了驱动反应液滴通过设备上的反应区域,除了采用电润湿阵列和电极以外,这里所述的方法和设备也可以使用其它的驱动装置。也就是说,在这里所述的设备和方法中,可以使用任何用于驱动反应液滴或反应体积的机构,其包括,但不限于:热驱动器、基于气泡的驱动器、以及基于微阀的致动器。这里,这里对于采用电润湿来操控流体进行反应的方法和设备的说明也同样适用于使用其它驱动装置的方法和设备。

[0048] 因此,用于进行需要多个反应温度的化学或生化反应的设备可以包括一个微流体装置,该微流体装置包括至少一个穿过该设备的至少两个反应区域的反应通道。该设备可以包括一个或多个检测点以及一个或多个返回通道。该设备进一步包括用于驱动反应液滴或反应体积通过反应通道(一个或多个)、检测点(一个或多个)、和/或返回通道(一个或多个)的装置;设备的反应通道(一个或多个)、检测点(一个或多个)、和/或返回通道(一个或多个)可以以各种方式流动地连接。

[0049] 在一个具体实施方式中,该设备包括多个穿过至少两个反应区域的反应通道,其中每一反应通道可以包含多个的反应液滴/体积。在另一个具体实施方式中,该设备包括至少一个位于一个或多个反应通道之中或之后的检测点。在这样的具体实施方式中,检测点(一个或多个)和一个或多个反应通道可以流动地连接。

[0050] 如上所述,反应通道可以具有各种几何形状。例如,反应通道可以是包括至少两个反应区域的环形通道,穿过至少两个反应区域的直线通道,或者其它形状通道。

[0051] 该设备也可以包括从反应通道末端或从检测点(如果该设备包括位于反应通道末端之后的检测点)到相同反应通道起点(或者到新的、相同的反应通道)的返回通道,从而使得可以使用相同的试剂来进行反应的多次循环。也就是说,该设备可以包含返回通道,从而可以使用环路或弯曲通道作为反应液滴/体积的总路径来进行多次反应循环。返回通道可以穿过一个或多个反应区域,或者可以整个绕开反应区域。此外,返回通道可以具有基本上恒定的温度(和反应区域中所保持的温度之一相同或不同),该温度由适当的加热或冷却机构来保持。此外,可以操作返回通道,使得反应液滴/体积回到相同或新的反应通道起点快于该反应液滴/体积在反应通道中的时间。

[0052] 当设备中含有多个反应通道时,可以具有多个返回通道(例如,每一反应通道具有一个返回通道)或者可以返回通道的数量少于反应通道(例如,只有一个返回通道)。当返回通道少于反应通道时,可以在装置上操控液滴/体积,使得在第一次反应循环中穿过特定通道的反应液滴/体积回到用于进行第二次反应循环的相同反应通道,因此使得特定反应液滴/体积的每一渐进循环的结果能够与该相同反应液滴/体积以前循环的结果进行比较。

[0053] 在其它的具体实施方式中,为了进行相同反应的循环,可以在没有返回通道的情况下将反应液滴/体积移动到相同反应通道的起点。当反应通道和任何检测点形成环路,或者当反应通道和任何检测点不形成环路(例如,直线通道)并且反应液滴/体积沿相同通道反向移动返回相同反应通道的起点时,可能不需要这样的返回通道。

[0054] 可以将多个反应体积/液滴同时移动通过微流体装置。此外,可以使用具有多个反应体积/液滴的多个反应通道。

[0055] 在一个特定的具体实施方式中,该设备包括多个反应通道、至少一个位于反应通道之中或之后的检测点、以及至少一个返回通道。在这样的具体实施方式中,当使用一个

返回通道时,该多个反应通道、至少一个检测点以及返回通道可以流动地连接,从而形成环路。当使用多个返回通道时,可以形成多个环路。

[0056] 同样如上所述,进行需要多个反应温度的化学或生化反应的方法包括向这里所述微流体装置中加入至少一个反应液滴/体积,然后通过使用任何驱动装置移动该至少一个反应液滴/体积使其穿过至少两个反应区域。所述至少两个反应区域保持在反应所需的不同温度下。如果需要,通过使用驱动装置再次移动该至少一个反应液滴使其通过至少两个反应区域,可以使用相同的反应液滴重复所述反应。当特定反应需要或者优选多个反应循环时,可能需要这种重复操作。

[0057] 虽然上文已经参照本发明特定的具体实施方式对本发明做出了详细地说明,但是本领域技术人员应当理解,在不背离本发明精神和范围的前提下,可以对其作出各种变化及改变。

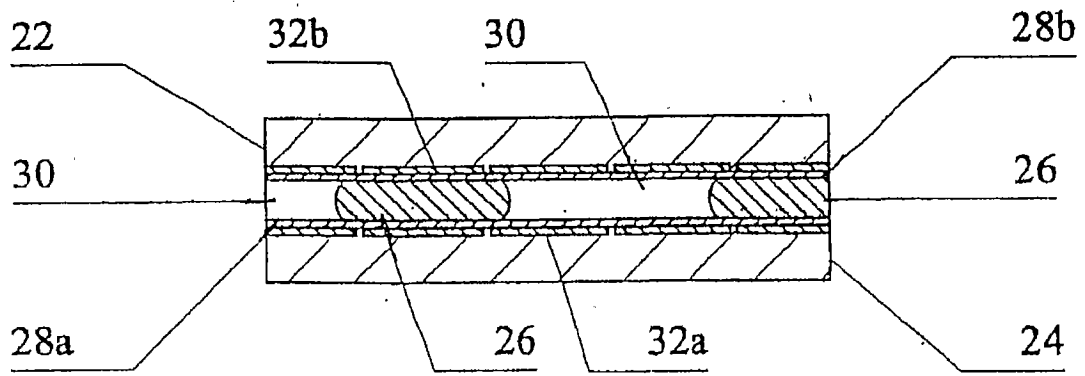


图 1

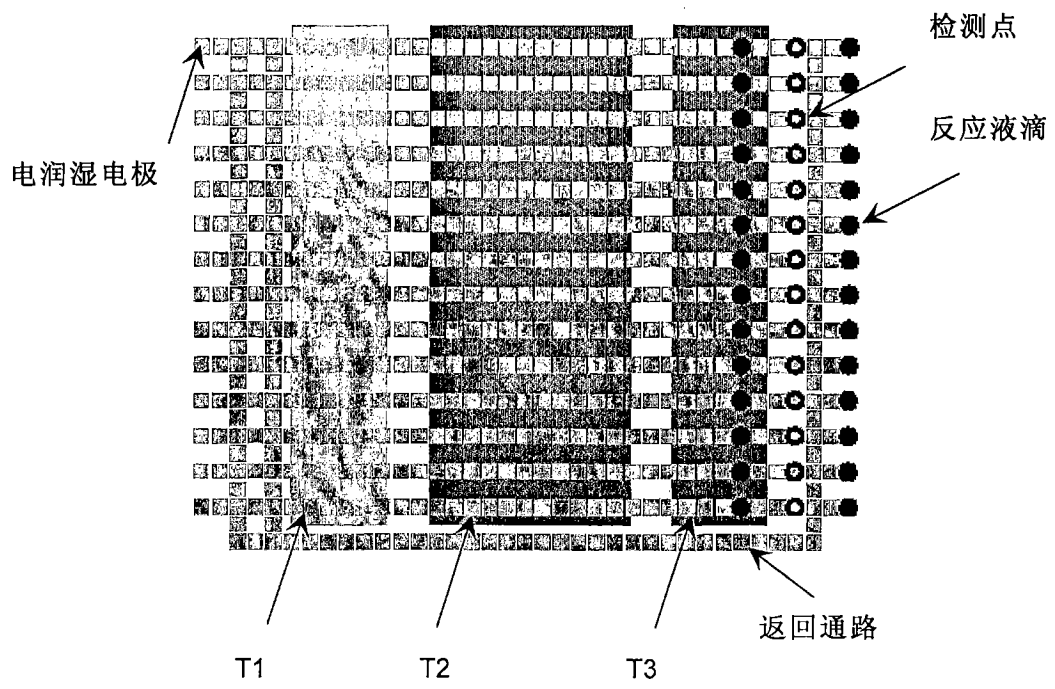


图 2