



# (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105682802 B

(45)授权公告日 2018.03.16

(21)申请号 201380076986.4

(72)发明人 龚海庆

(22)申请日 2013.05.27

(74)专利代理机构 北京驰纳智财知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11367

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105682802 A

代理人 谢亮

(43)申请公布日 2016.06.15

(51)Int.Cl.  
B01L 3/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.11.27

(56)对比文件

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/SG2013/000213 2013.05.27

CN 102527280 A,2012.07.04,  
WO 97/36681 A1,1997.10.09,  
US 5922591 A,1999.07.13,

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02014/193304 EN 2014.12.04

审查员 贾宁

(73)专利权人 星阵私人有限公司  
地址 新加坡余东旋街8号中央广场14楼94  
室

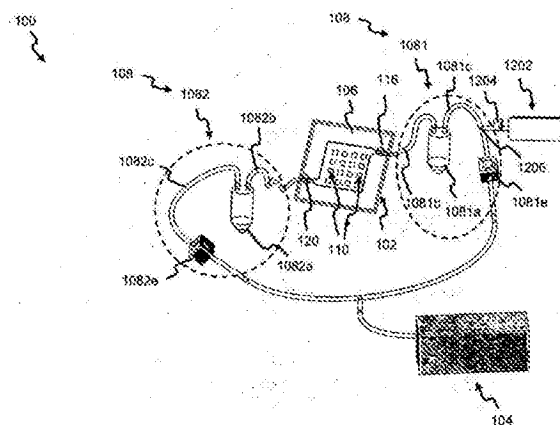
权利要求书4页 说明书24页 附图30页

## (54)发明名称

一种微流控装置及控制其流体流动的方法

## (57)摘要

本发明公开了一种用于疾病检测和分析的微流控装置(100)。所述微流控装置(100)包括一个基底上具有至少一个孔(110)的部件(102)，所述至少一个孔与一个相邻的空间(112)流体沟通，所述空间与至少一个通道(114、118)流体沟通；一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置(108)。所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强，它们中的任意一个均低于大气压，其中第一绝对压强高于第二绝对压强，因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了气压差以控制流体通过所述装置内空间的流动速度，用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。控制流体流动也防止了预先载入孔中的特异生物和/或化学物质的交叉污染。公开了一个相关的热循环仪和方法。



1. 一种微流控装置,其特征在于:包括:

一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置,其中所述真空发生装置被配置为在该微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均比大气压低,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在该微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过该微流控装置的空间的速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气管转向经通气口与第二真空源耦合,分离的所述第一真空源和第二真空源分别地耦合到所述第一真空发生器和第二真空发生器,而不是所述第一真空发生器和第二真空发生器与一个单一的共同的真空源耦合。

2. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于:所述至少一个通道包括至少第一和第二通道,其中第一真空发生器与所述至少第一通道耦合作为流体流入与所述至少一个孔相邻空间的入口通道,和第二真空发生器耦合到所述至少第二通道作为流体流出与所述至少一个孔相邻空间的出口通道。

3. 根据权利要求2所述的装置,其特征在于:所述第一真空发生器被配置为在所述入口通道的附近产生所述第一绝对压强,所述第二真空发生器被配置为在所述出口通道的附近产生所述第二绝对压强,来控制进入与所述至少一个孔相邻空间的流体流动速度。

4. 根据权利要求2或3所述的装置,其特征在于:两个真空发生器至少有一个包括一个压强调节器,所述压强调节器被配置为能够单独调整所述入口通道附近或所述出口通道附近的压强。

5. 根据权利要求2至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述入口通道与一个包括流体贮液器的容器连接。

6. 根据权利要求2至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述出口通道通向一个用于收集流体的容器。

7. 根据权利要求1至3中任一项所述的装置,其特征在于:进一步包括至少一个被配置为与所述至少一个通道相邻的控制阀以控制流体进入所述空间。

8. 根据权利要求2至3中任一项所述的装置,其特征在于:包括至少一个被配置为与所述入口通道相邻、可调节的允许流体进入所述空间的第一控制阀和至少一个被配置为与所述出口通道相邻、可调节的允许流体流出所述空间的第二控制阀。

9. 根据权利要求2至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述压差导致所述流体从所述入口通道通过所述空间流动到所述出口通道。

10. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于:所述至少一个孔通过至少一个通道与所述空间连接,而与所述空间流体沟通。

11. 根据权利要求1至3中任一项所述的装置,其特征在于:进一步包括一个盖子以防止在操作期间压差的影响下产生弯曲,所述盖子用于所述部件和顶部刚性部件和底部刚性部件、并分别与所述装置的所述盖子和部件可拆卸连接。

12. 根据权利要求5所述的装置,其特征在于:进一步包括一个充分密封的室以封装其

内的所述容器,当室内的压强改变时所述容器适于可逆变形。

13. 根据权利要求1至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述第一和第二绝对压强是真空压强。

14. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于:进一步包括一个用于所述部件的盖子,所述盖子适合于被移动用来减小所述空间的尺寸。

15. 根据权利要求1至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述装置适合用于一个热循环仪的热循环。

16. 根据权利要求1至3中任一项所述的装置,其特征在于:所述装置适合于使用可见光或紫外光的荧光检测在所述至少一个孔上被执行。

17. 根据权利要求1所述的微流控装置,其特征在于:所述材料包括细胞、蛋白质和寡核苷酸。

18. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于:所述部件是微量滴定板。

19. 一种包括权利要求18所述装置的热循环仪。

20. 一种使用微流控装置控制流体流动的方法,包括一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置,包括使用所述真空发生装置,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气管转向经通气口与第二真空源耦合,所述方法包括:在所述微流控装置的第一和第二区分别产生比大气压低的第一和第二绝对压强,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过所述装置的的空间的速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。

21. 根据权利要求20所述的方法,其特征在于:包括使用至少一个第一真空发生器与至少一个第一通道耦合作为流体流入与所述至少一个孔相邻空间的一个入口通道,在所述入口通道的附近产生一个第一绝对压强,和使用至少一个第二真空发生器与至少一个第二通道耦合作为流体流出与所述至少一个孔相邻空间的一个出口通道,在所述出口通道的附近产生一个第二绝对压强,用来控制进入与所述至少一个孔相邻空间的流体流动速度,其中所述至少一个通道包括至少第一和第二通道。

22. 根据权利要求21所述的方法,其特征在于:至少一个真空发生器包括一个压强调节器来单独调节所述第一绝对压强或第二绝对压强。

23. 根据权利要求20至22中任一项所述的方法,其特征在于:进一步包括控制流体经至少一个被配置为与所述至少一个通道相邻的控制阀进入所述空间。

24. 根据权利要求21至22中任一项所述的方法,其特征在于:包括允许流体通过使用至少一个被配置为与所述入口通道相邻的第一控制阀进入所述空间,和允许所述流体通过使用至少一个被配置为与所述出口通道相邻的第二控制阀流出所述空间。

25. 根据权利要求24所述的方法,其特征在于:包括:在用所述流体充分填满所述至少一个孔后,引入封闭液充分取代所述空间内的流体;并用所述封闭液填满所述空间,来密封用流体充分填满的所述至少一个孔,其中当所述封闭液填满所述空间时,为了进一步推动填满在所述至少一个孔内的所述流体进入所述至少一个孔内的任何空闲的空间,所述封闭

液通过使用产生的压差或被配置为具有充分高压强的压缩空气被引入。

26. 根据权利要求24所述的方法,其特征在于:包括:在用所述流体充分填满所述至少一个孔后,从所述空间充分地移动所述流体;和引入封闭液进入所述空间来密封用流体充分填满的所述至少一个孔,其中当所述封闭液填满所述空间时,为了进一步推动填满在所述至少一个孔内的所述流体进入在所述至少一个孔内的任何空闲的空间,所述封闭液通过使用产生的压差或被配置为具有充分高压强的压缩空气被引入。

27. 根据权利要求25或26所述的方法,其特征在于:包括:从一个共同的同时包含所述流体和所述封闭液的容器引入所述封闭液,或者,从一个第一容器引入所述流体和从只包含所述封闭液的一个单独的第二容器引入封闭液。

28. 根据权利要求21所述的方法,其特征在于:包括使用压差来指导流体通过所述空间从所述入口通道到所述出口通道。

29. 根据权利要求20至22中任一项所述的方法,其特征在于:进一步包括在用流体填满所述至少一个孔后,充分地从所述空间移除所述流体,并移动一个盖子以减小所述空间,和/或密封被所述流体填满的所述至少一个孔。

30. 根据权利要求20所述的方法,其特征在于:在所述至少一个孔中处理的所述流体和任何材料包括化学成分,所述化学成分能够促使核酸扩增、细胞分析和涉及大多数生物微粒和化学试剂的试验中的一种生物分析。

31. 根据权利要求30所述的方法,其特征在于:所述流体包括核酸分子和/或生物细胞。

32. 根据权利要求30所述的方法,其特征在于:在所述至少一个孔中处理的所述任何材料包括用于核酸扩增的引物和/或探针,或者相同或不同的引物和/或探针。

33. 一种使用微流控装置控制流体流动的方法,所述装置包括一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与入口和出口通道流体沟通;一个与所述入口通道耦合的流体点胶装置;和一个与所述出口通道耦合的真空发生装置,所述方法包括使用所述真空发生装置来在所述出口通道的附近产生一个低于大气压的绝对压强,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气口转向经通气口与第二真空源耦合;和操作所述流体点胶装置来在所述入口通道的附近提供一个绝对压强的,该绝对压强低于大气压但高于位于所述出口通道附近的绝对压强,这样产生一个压差来控制流体进入所述空间的流动速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。

34. 一个微流控装置,包括:一个具有基底的部件,和一个与所述基底和至少一个通道流体沟通的空间;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气口转向经通气口与第二真空源耦合,其中所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此产生了压差以控制流体流动通过所述装置的所述空间的速度。

35. 根据权利要求34所述的装置,其特征在于:所述流体包括不同尺寸的微粒。

36. 根据权利要求34所述的装置,其特征在于:所述至少一个通道包括至少一个入口通

道,和被设计作为与所述至少一个入口通道流体沟通的导管的所述空间,而所述入口通道与一个流体贮藏器流体沟通,同时所述真空发生装置进一步被配置为在所述至少一个入口通道的一个区域产生所述第一绝对压强。

37. 根据权利要求35所述的装置,其特征在于:所述至少一个通道包括至少两个出口通道,和被设计作为与所述至少两个出口通道流体沟通的导管的所述空间,其中所述微流控装置进一步被配置为指导各个尺寸的微粒进入到一个相应的所述出口通道中。

38. 一种使用微流控装置控制流体流动的方法,所述装置包括一个具有基底的部件,和一个与所述基底和至少一个通道流体沟通的空间;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气管转向经通气口与第二真空源耦合,所述方法包括:使用所述真空发生装置来在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,其中第一和第二绝对压强均低于大气压,并且第一绝对压强高于第二绝对压强,因此产生了压差以控制流体流动通过所述装置的所述空间的速度。

39. 一个微流控装置,包括:一个基底上具有多个孔的部件,所述多个孔与附近的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置,所述真空发生装置包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差,第一真空发生器的进气管转向经通气口与第一真空源耦合,第二真空发生器的进气管转向经通气口与第二真空源耦合,其中所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过所述装置的所述空间的速度,用于逐渐地填满所述多个孔和/或促进保留在至少所述多个孔中放置的任何材料,而且所述多个孔中的任何一个孔容纳特定的预先加载的材料,所述材料不同于其他孔中为了促进核酸扩增的材料,和/或与细胞有关的试验的材料。

40. 根据权利要求39所述的装置,其特征在于:所述材料包括细胞、蛋白质和寡核苷酸。

## 一种微流控装置及控制其流体流动的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种微流控装置及控制其流体流动的方法。它也涉及一个包含所述微流控装置的热循环仪。

### 背景技术

[0002] 含有孔阵列的微孔板(也叫微量滴定板)已广泛应用于生物或化学领域,在生物或化学领域中可以使用微孔板执行多种涉及化学和生物样品的测试。例如,不同对的聚合酶链反应(PCR)引物能被预先载入一个微孔板的不同孔中用于对一个给定样品的靶核酸分子的同时扩增。另外,孔阵列能用于其他类型的试验,如细胞或抗体试验。

[0003] 依照高通量检测的最新发展,这样的微孔板配置的孔的数量已由先前的少于一百增加到通常的几千或更多,这相应地导致更小尺寸的孔和较高密度的孔阵列。

[0004] 按照惯例,手工或机械移液操作被用于加载流体样品到孔阵列。然而,由于孔阵列密度的增加,完成孔阵列的加载变得更费时,其通常可以包括几百或几千个孔。此外,一个微孔板的孔阵列的密度越大,相应地每个孔的尺寸就越小,由于严格的技术要求,执行移液操作出现了困难,例如将移液管的末端与所述更小尺寸的孔对齐,产生更小的液滴,以有效的方式,加载到尺寸更小的孔中。

[0005] 另一个问题是,传统的孔通常被配置为死端孔,当孔的尺寸缩小时,在孔底部的角落(多个角落)会困住空气,因为加入孔内的流体样品的液滴会覆盖相关的孔的开口或孔底部附近的部分空间,这样就在孔内困住一个气穴。明显地,被困住的气穴会对试验有负面影响。例如,在核酸扩增(如聚合酶链反应(PCR))所需的加热步骤下,被困的气穴能够引起流体样品蒸发到气穴的附近,因此引起气穴膨胀并将流体样品推出孔。

[0006] 除了上面概述的困住气穴的方式外,在加载流体样品进入孔的过程期间也能进一步困住气穴。特别地,将引起目前上述问题的流体样品加载装置,通常具有与顶部空间的一个共有通道相连接的孔,流体样品通过该共有通道进入孔。由于覆盖在所述孔顶部流体样品的运动(其不被希望地阻碍了流体样品通过开孔进入孔的通道),或者阻止流体样品润湿孔全部表面的孔表面疏水性,空气随后被困在孔中。

[0007] 为了促进流体样品流入孔中,在将样品加载进入孔前,可以通过真空从孔中去除空气。然而,真空处理孔和空间或真空处理一个连接孔的通道能够在真空孔和处于大气压下的流体样品存储室之间产生一个气压差。样品加载期间,这样的气压差会导致样本高速流入孔-连接空间/通道和相关的孔。这样的高速流通常会将孔内部预先加载的材料冲出孔,导致本应在孔内进行的试验失败。

[0008] 保留孔中预先加载的材料很重要。因为许多生物和化学应用使用孔阵列,特异的(如在不同孔中的不同PCR引物或蛋白质或抗体)或者非特异的(如所有孔中的相同PCR引物、Taq聚合酶、细胞、蛋白质、或化学反应成分)材料被预先加载到孔中,并且这些材料中的一些通常在流体样品被引入填满孔前是冻干的。这将是明显的,在流体样品的引导过程中,保留目标孔内的那些材料是很重要的。当一个大的真空应用于孔和孔-连接空间来消除孔

中的空气以促进样本流入孔中时,大的气压差导致流体样品以高速流入孔中,并把(一些)材料冲出孔,造成孔内那些材料的损失或者不被希望地将那些材料从一个孔移动到另一个孔,从而导致特定于某些孔的一些材料的交叉污染。

[0009] 对于打算装入那些孔的流体样品,保留特定孔中的预先加载的材料,是很重要的,因为被装入相关的孔中的部分流体样品的损失会将预先加载的材料冲出并进入近邻的孔或冲出一小片进入相连的通道。

[0010] 真空度要求越高(进一步低于大气压强),样品加载速度就越高从而可能会影响到孔,并将预先加载材料冲出。例如,对于一个规模为 $0.5\text{mm} \times 0.5\text{mm} \times 0.5\text{mm}$ 的孔阵列要求10托的真空水平,在一个与所有孔相连的 $0.5\text{mm}$ 高间隙空间,样品(水)流速度能够达到每秒冲750mm。由被要求的真空度产生的这样高的速度,对于保留孔中预先加载的材料是不理想的。

[0011] 进一步地,传统设备遇到的另一个问题,是在许多填满于流控或微流控流动路径(如流体通室和液体加载口)的液体中会出现气泡。这些气泡能够被位于液体加载口的流体带出并拖进流动路径,或由于位于流动路径表面上的尖角、凹陷、微腔、疏水补丁,气泡能够被位于流动路径表面上的液体流动困住。流动路径里,这些气泡的存在可能对应用该流动路径的设备产生不利影响。例如,流动路径里气泡的运动可能干扰流场,这对于保持一个特定粒子/细胞在流动路径内流场的分布可能是重要的。在一个基于流体力学分离细胞的管道内,如由螺旋通道中二次流产生的力,流动路径内存在的气泡可能扰乱细胞位置,推动不良细胞进入细胞收集出口。流动路径内气泡的另一个不利影响是在加热时气泡尺寸的增长,这个过程中,气泡-水界面促进水在加热时蒸发,并引起气泡变大。

[0012] 所以,需要解决本领域内一些被认同的问题和/或提供本领域内一个有用的选择。

## 发明内容

[0013] 根据本发明的第一个方面,提供了一个微流控装置,所述装置包括一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通;一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置。所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过所述装置内所述空间的速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。

[0014] 例如,真空发生装置可以包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差。具体地,所述至少一个通道可以包括至少第一和第二通道,第一真空发生器可以与所述至少第一通道耦合作为流体流入与所述至少一个孔相邻空间的入口通道,第二真空发生器可以耦合到所述至少第二通道作为流体流出与所述至少一个孔相邻空间的出口通道。此外,所述第一个真空发生器可以被配置为在所述入口通道的附近产生第一绝对压强,所述第二真空发生器可以被配置为在所述出口通道的附近产生第二绝对压强来控制进入与所述至少一个孔相邻空间的流体流动速度。

[0015] 具体地,所述两个真空发生器中的至少一个可以包括压强调节器,所述压强调节器被配置为能够单独调整所述入口通道附近或所述出口通道附近的压强。所述入口通道可

以与包括流体贮液器的容器连接,而所述出口通道可以通向用于收集流体的容器。此外,所述装置可以进一步包括至少一个被配置为与所述至少一个通道相邻的控制阀以控制流体进入所述空间。同时,所述装置可以进一步包括至少一个被配置为与所述入口通道相邻、可调节的允许流体进入所述空间的第一控制阀和至少一个被配置为与所述出口通道相邻、可调节的允许流体流出所述空间的第二控制阀。

[0016] 因此,所述压差导致所述流体通过所述空间从所述入口通道流动到所述出口通道。具体地,所述至少一个孔通过至少一个通道与所述空间连接,并与所述空间流体沟通。所述装置可以进一步包括一个盖子,以防止在操作期间压差的影响下产生弯曲,所述盖子用于所述部件和顶部刚性部件和底部刚性部件、并分别与所述装置的所述盖子和部件可拆卸连接。此外,所述装置可以进一步包括一个充分密封的室以封装其内的所述容器,当所述室内的压强改变时在其中的所述容器适于可逆变形。特别地,第一和第二绝对压强可以是真空压强。所述装置也可进一步包括一个用于所述部件的盖子,所述盖子适合于被移动用来减小所述空间的尺寸。特别地,所述装置适合于在一个热循环仪中热循环。此外,所述部件可以是微量滴定板。所述装置也可以适合于能够让使用可见光或紫外光的荧光检测在所述至少一个孔上被执行。

[0017] 根据本发明的第二个方面,提供了一个包括根据本发明第一个方面所述微流控装置的热循环仪。

[0018] 根据本发明的第三个方面,提供了一种使用微流控装置控制流体流动的方法,所述装置包括一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通;一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置。所述方法包括在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过所述装置内空间的速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。

[0019] 例如,所述方法可以进一步包括使用所述真空发生装置,所述真空发生装置可以包括至少两个协同式设置的真空发生器以产生压差。具体地,所述方法可以包括使用至少一个第一真空发生器与至少一个第一通道耦合作为流体流入与所述至少一个孔相邻空间的入口通道,在所述入口通道的附近产生第一绝对压强,和使用至少一个第二真空发生器与至少一个第二通道耦合作为流体流出与所述至少一个孔相邻空间的出口通道,在所述出口通道的附近产生第二绝对压强,用来控制进入与所述至少一个孔相邻空间的流体流动速度,其中所述至少一个通道包括所述至少第一和第二通道。特别地,至少一个真空发生器可以包括压强调节器来单独对所述第一绝对压强或第二绝对压强进行调节。

[0020] 特别地,所述方法可以进一步包括控制流体流经进入所述空间的至少一个被配置为与所述至少一个通道相邻的控制阀。而且,所述方法可以包括允许流体通过使用至少一个被配置为与所述入口通道相邻的第一控制阀进入所述空间,和允许所述流体通过使用至少一个被配置为与所述出口通道相邻的第二控制阀流出所述空间。

[0021] 进一步地,所述方法可以包括在用所述流体充分填满所述至少一个孔后引入封闭液充分取代所述空间内的流体,并用所述封闭液填满所述空间来密封用流体充分填满的所述至少一个孔,其中当所述封闭液填满所述空间时,为了进一步推动填满在所述至少一个

孔内的所述流体进入所述至少一个孔内的任何空闲的空间,所述封闭液通过使用产生的压差或引入被配置为具有充分高压强的压缩空气。二者择一地,所述方法可以包括在用所述流体充分填满所述至少一个孔后,从所述空间充分地移动所述流体,和引入封闭液进入所述空间来密封用流体充分填满的所述至少一个孔,其中当所述封闭液填满所述空间时为了进一步推动填满在所述至少一个孔内的所述流体进入在所述至少一个孔内的任何空闲的空间,所述封闭液通过使用产生的压差或被配置为具有充分高压强的压缩空气被引入。而且,所述方法可以包括从一个共同的同时包含所述流体和所述封闭液的容器引入所述封闭液或者,从一个第一容器引入所述流体和从只包含所述封闭液的一个单独的第二容器引入封闭液。所述方法可以进一步包括使用压差来指导流体从所述入口通道到所述出口通道通过所述空间。所述方法可以进一步包括在用流体填满所述至少一个孔后充分地与所述空间移除所述流体,并移动一个盖子以减小所述空间和/或密封被所述流体填满的所述至少一个孔。

[0022] 根据本发明的第四个方面,提供了一种使用微流控装置控制流体流动的方法,所述装置包括一个基底上具有至少一个孔的部件,所述至少一个孔与一个相邻的空间流体沟通,所述空间与所述入口和出口通道流体沟通;一个与所述入口通道耦合的流体点胶装置;和一个与所述出口通道耦合的真空发生装置。所述方法包括使用所述真空发生装置来在所述出口通道的附近产生一个低于大气压的绝对压强;和操作所述流体点胶装置来在所述入口通道的附近提供一个绝对压强,该绝对压强低于大气压但高于位于所述出口通道附近的绝对压强,这样产生一个压差来控制流体进入所述空间的流动速度,用于逐渐地填满所述至少一个孔和/或促进保留在所述至少一个孔中放置的任何材料。

[0023] 根据本发明的第五个方面,提供了一个微流控装置,所述装置包括一个具有基底的部件,和一个与所述基底和至少一个通道流体沟通的空间;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置。所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此产生了压差以控制流体通过所述装置内空间的流动速度。

[0024] 所述流体可以包括不同尺寸的微粒。进一步地,所述至少一个通道可以优选地包括至少一个入口通道,和被设计作为与所述至少一个入口通道流体沟通的导管的所述空间,而所述入口通道与一个流体贮藏器流体沟通,同时所述真空发生装置可以进一步被配置为在所述至少一个入口通道的一个区域产生所述第一绝对压强。另外,所述至少一个通道也可以包括至少两个出口通道,和被设计作为与所述至少两个出口通道流体沟通的导管的所述空间,其中所述微流控装置被配置为引导各个尺寸的微粒进入到相应一个所述出口通道中。例如,不同尺寸的微粒可以这样被分开。

[0025] 根据本发明的第六个方面,提供了一种使用微流控装置控制流体流动的方法,所述装置包括一个具有基底的部件,和一个与所述基底和至少一个通道流体沟通的空间;和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置。所述方法包括:使用所述真空发生装置来在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,其中第一和第二绝对压强的任意一个均低于大气压,并且第一绝对压强高于第二绝对压强,因此产生了压差以控制流体流动通过所述装置的所述空间的速度。

[0026] 所述通道可以是任何被希望的形状。例如,所述通道可以大体上是直线形、U形、S

形、曲线形、蛇形或者螺旋形。

[0027] 优选地,在所述至少一个孔中处理的所述流体和任意材料可以包括化学成分,所述化学成分能够引发生物学试验,如核酸扩增、细胞试验和涉及大多数生物微粒和化学试剂的试验中的一种。

[0028] 而且,所述流体可以包括核酸分子和/或生物细胞。另一方面,在所述至少一个孔中处理的所述任意材料可以包括用于核酸扩增的引物和/或探针,或者相同或不同的引物和/或探针。

[0029] 根据本发明的第七个方面,提供了一个微流控装置,所述装置包括一个基底上具有多个孔的部件,所述多个孔与相邻的空间流体沟通,所述空间与至少一个通道流体沟通,和一个与所述至少一个通道耦合的真空发生装置。所述真空发生装置被配置为在所述微流控装置的第一和第二区分别产生第一和第二绝对压强,它们中的任意一个均低于大气压,其中第一绝对压强高于第二绝对压强,因此在所述微流控装置的第一和第二区之间产生了压差以控制流体流动通过所述装置内空间的速度,用于逐渐地填满所述至少多个孔和/或促进保留在所述至少多个孔中放置的任何材料。而且,所述多个孔中的任何一个孔容纳特定的预先加载的材料,所述材料不同于其他孔中为了促进核酸扩增的材料,例如聚合酶链反应和其他扩增引物,和/或与细胞和蛋白质有关的试验。所述材料可以包括细胞、蛋白质和寡核苷酸。

[0030] 应该被理解的是,与本发明的一个方面相关的特性也可以适用于本发明其他的方面。

[0031] 本发明的这些和其他方面将在下文中描述的实施方式中被明显地看出和阐明。

## 附图说明

[0032] 本发明的实施方式和参考附图在下文中被公开,其中:

[0033] 图1a是根据本发明的一个实施方式的微流控装置的等轴视图;

[0034] 图1b是图1a微流控装置的微量滴定板和盖子的放大等轴视图;

[0035] 图2是图1a微流控装置的侧面剖视图;

[0036] 图3描述预先加载了各种类型生物/化学材料的图1a微流控装置的孔阵列的部分,所述各种类型生物/化学材料根据不同的特性应用于所述微流控装置;

[0037] 图4a至4d举例说明一种引导流体样品进入图1a微流控装置的孔阵列和随后密封所述孔阵列的方法;

[0038] 图5a至5e根据进一步的实施方式,举例说明另一种引导流体样品进入图1a微流控装置的孔阵列和随后密封所述孔阵列的方法;

[0039] 图6是根据另外一个实施方式,微流控装置的侧面剖视图

[0040] 图7a和7b根据下一个不同的实施方式,阐明图1a微流控装置的孔阵列可能的两种配置;

[0041] 图8a和8b根据下一个不同的实施方式分别描述,微流控装置的布置的等轴视图和原理图;

[0042] 图9a至9e举例说明一种引导流体样品进入图8a微流控装置的孔阵列和随后密封所述孔阵列的方法;

[0043] 图10a至10c根据一个替换的实施方式,举例说明一种在图1a微流控装置的孔阵列中加载多样生物/化学材料的方法;

[0044] 图11a根据另外一个实施方式,举例说明一种控制样品进入图1a微流控装置的孔阵列的速度的方法;

[0045] 图11b举例说明图11a所述方法的更具体的细节;

[0046] 图12根据图1a微流控装置的一个替换的实施方式展示微流控装置的俯视图;

[0047] 图13a至13d根据一个不同的替换的实施方式,举例说明一种引导流体样品进入微流控装置的孔阵列和随后密封所述孔阵列的方法;

[0048] 以及图14a和14b展示图1a微流控装置的另一个替换的实施方式,其中微流控装置中没有布置孔阵列。

### 具体实施方式

[0049] 根据本发明的第一个实施方式,图1a和2分别描述了微流控装置100的等轴视图和侧面剖视图。所述微流控装置100包括一个部件102(具有基底),一个盖子106和一个包括第一真空器和第二真空发生器1081、1082的真空发生装置108。

[0050] 所述第一真空器和第二真空发生器1081、1082依次与一个单个的普通的真空源104耦合。特别地,所述部件102是一个微量滴定板,在下文中将被涉及。图1b中描述了所述微量滴定板102和所述盖子106的一个放大等轴视图。所述微量滴定板102可由适当的材料加工成形,所述材料包括聚二甲基硅氧烷(PDMS)、塑料、玻璃、金属、陶瓷等等。在本实施方式中,微量滴定板102以薄片的形式实现。所述基底和盖子106形状和尺寸相似,更具体地说实质上为平面矩形形状。此外,所述盖子106被加工成实质上是透明的。在一个典型实施例中,所述基底由具有多个排列在阵列(下文中的孔阵列)中的孔110组成,其中每个孔110具有相同的尺寸且大体上是立方体形,并适于容纳生物/化学材料(干燥的、部分干燥的或液体形式),生物/化学材料例如PCR引物、细胞、病毒、抗体、蛋白质、酶、分子、多肽、核酸分子(如DNA、RNA、mRNA、micro RNA、cDNA等)、多聚核苷酸、寡核苷酸、短基因片断、探针等、反应成分、细菌、原生动植物、病原体、荧光化合物/分子、晶体、例如荧光颗粒的固体微粒、荧光染料化合物等。应注意的是,如果所述生物/化学材料被预先加载到孔110中会部分蒸发(或部分干燥),在孔110中将会提供一个空间以允许样品200在加载其中时流动。然而进一步地,所述生物/化学材料也能够以双乳滴或油包裹水滴混合物的形式,其中所述水滴包括核酸分子(如DNA、RNA、mRNA、microRNA、cDNA等)或核分析(如PCR)所必须的化学成分、细胞、蛋白质、抗体、寡核苷酸、PCR引物等等。然而,应该清楚的是,例如当执行核酸扩增技术(如数字PCR)或单细胞分析时,某些水滴不必要包括所有核酸分子或细胞。具体地,应注意的是,在所述流体样品200被引入前将(i).所述生物/化学材料(例如分子、细胞或药物分子)或(ii).标记物(如PCR引物、细胞、抗体或药物分子)加载进入孔110的阵列通常是有用的。每个通常的立方体形孔110也被安排为与相邻最近的孔110是等距离间隔的,在这种情况下,每个孔110具有一个大约长度为0.05 $\mu$ m到10mm之间的边缘。应该注意的是,为了简要说明,图2中仅展示了孔110阵列中的110a、110b、110c三个孔,并且除非明确说明,下文中无论哪里适合的描述都将参考所述三个孔110a、110b、110c(取代孔110的阵列),但不能以任何方式解释为限定。

[0051] 注意的是,术语“孔”110a、110b、110c在本领域中具有标准的含义。特别地,每个孔110a、110b、110c是凹陷的用来容纳流体样品200的,而且是通过移出部分固体形成的(如使用化学/电化学腐蚀或在固体中雕刻出凹陷)。所述凹陷也能通过浇铸或者铸造可固化液体来生产具有所述凹陷的固体来形成(如使用预制构件冲模来生产互补的形状)。每个孔110a、110b、110c被规定为有两个或是三个表面。孔110a、110b、110c没有限定的可能的形状,包括圆柱体、圆锥体、类金字塔、类菱形和切去顶端的变形体等。定义的孔110a、110b、110c的形状设有一个开口,通过该开口流体能够进/出所述孔110a、110b、110c。显然,所述孔110a、110b、110c的开口在外形上可以是矩形(包括正方形)或圆形。进一步地,需要注意的是,所述开口在尺寸上比孔110a、110b、110c的下表面更大。例如,孔110a、110b、110c被成形为一个切去顶端的正方形金字塔,其中最大的正方形表面为孔110a、110b、110c开口处。本发明的实施方式(在随后的描述中)适合应用于低、中和高密度孔。通常低密度孔每片使用少于50个反应孔,而通常中密度孔每片使用大约50-5000个反应孔。高密度孔通常每片使用超过5000个反应孔,甚至几百万个。本发明的实施方式所使用的孔,每个孔设有大约0.1pL-1mL的体积。孔110a、110b、110c被均匀地分布在微量滴定板102上,在荧光检测阶段以网格或有序排列的形式促进生产或图像识别。尤其,微流控装置100也适用于在孔110a、110b、110c上应用可见光或紫外光的荧光检测。就是说,为了上述涉及的目的,可见光或紫外光能够透射进入孔110a、110b、110c。

[0052] 应该也要注意的,当微量滴定板102被设计为一次性和多次性应用时,微量滴定板102尤其适合于一次性应用。例如,微量滴定板102由相对便宜的天然材料构成,并且微量滴定板102对进入接触的所述生物/化学材料是惰性的。当尤其适合于构成微量滴定板102的补足形状、磨具或冲模存在时,所述天然材料可以是聚合的、交联的和/或混合的。适合的天然材料的例子包括尿烷、天然橡胶、乙烯基和硅树脂。

[0053] 在某些应用时,如基于试验的荧光检测,具有低自发荧光的塑料材料可以被用于减低荧光污染,荧光污染能够干扰来自孔110a、110b、110c中的所述生物/化学材料的荧光。在应用基于方法的荧光检测的试验(或为试验所做的准备)中,这么做的效果尤为突出。

[0054] 这样的试验的一个例子是核酸材料的实时定量PCR扩增。这样的试验的一个实施方式中,来自光源(其可以被带通滤波器过滤来提供具有特定的窄范围的波长)的光进入孔110a、110b、110c,其被一种或几种对那个范围的波长光敏的生物/化学材料处理。所述生物/化学材料发荧光和发射不同范围波长的光,所述生物/化学材料对那个范围波长的光是光敏的。所述发射光(其可以被带通滤波器过滤来提供具有特定的窄范围的波长)使用一种检测方式是可检测的。所述检测方式能够设置在微量滴定板102内/外。因此,微量滴定板102被构造成允许光进入孔110a、110b、110c。进一步地,微量滴定板102被构造成允许光进入孔110a、110b、110c,光也可通过盖子106从孔110a、110b、110c中穿过。盖子106被构造成对特定波长的光是透明的。玻璃能够用于盖子106,例如,使用的玻璃具有低-自发荧光。一个基于试验的荧光检测例子是使用波长范围为465nm-495nm的光源光(使用带通滤波器过滤),和使用能够检测波长范围为515nm-555nm的放射光的检测方法。

[0055] 本发明的另一实施方式中,在孔110a、110b、110c附近形成的空间112被一种物质(如油和一种加工的液体前聚物)密封,典型地,所述密封物质也允许光进入并通过孔110a、110b、110c的传输离开。适合用于形成微量滴定板102的塑料的例子包括聚丙烯(PP)、聚碳

酸酯(PC)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)和某些有机硅材料,聚二甲硅氧烷(PDMS)是尤其适用于形成微量滴定板102的塑料。补足模具适用于本发明部件的制造,尤其是微量滴定板102可以使用精密加工技术制成。这样技术的一个例子是钢板的微细电火花加工(EDM)和硅片的电感耦合等离子体(ICP)刻蚀来形成柱子的阵列,该柱子的阵列被用于通过模具、铸造、热压成型重复由硅树脂和塑料材料组成的孔阵列,或者通过电铸重复由如镍的金属材料组成的孔阵列。

[0056] 进一步地,无论如何需要应注意的是,微量滴定板102也能利用不同的天然材料的混合物被构造。在这方面,天然材料的属性使它们适合用于形成微量滴定板102的某些组件。天然材料适合应用于微量滴定板102的具体组件的属性的例子包括弹性、表面功能、亲水性/疏水性、铸造灵活和天然材料的成本。当某些天然材料能够被选择来给基质反应提供适当的表面功能时,所有的天然材料通常对它们接触的所述化学品/反应混合物是惰性的。尤其,本发明的用于构成装置的所述天然材料和系统将与准备的应用的条件相匹配。例如,PCR技术要求在热源/散热片和每个孔110a、110b、110c之间的有效热传递。因此,对于这个PCR应用,所用的所述天然材料通常应该有能力有效地传递热量、承受热循环并且有能力不变形或融化。一个给定的天然材料的属性也能通过厚度等选择被改良。在这些方面,PDMS表现为一种适合的材料。

[0057] 应该注意的是,微量滴定板102的基底应该足够的薄并且导热以促进孔110a、110b、110c中液体和热源之间的快速热能量传递,例如与微量滴定板102的基底接触的珀尔贴元件。一个例子是微量滴定板102的基底包括一个薄的孔层底部,可选择地,所述孔层(下面将进一步描述)与一个铝板结合。

[0058] 在生物测定如PCR热循环中,为了保持与所述珀尔贴元件良好的热接触,微量滴定板102的基底可选择地与一个平面的大体上为刚性基底部件105(见图2所示)连接。

[0059] 用于形成刚性基底部件105的材料包括金属(如铝)、玻璃、塑料和陶瓷。

[0060] 进一步地,如果微量滴定板102由两种或更多种天然材料形成或由天然材料的层形成,那么微量滴定板102的各种部件通过使用粘合剂连接在一起。

[0061] 例如,所用的所述粘合剂以液体的形式被应用以便粘合横穿表面的平衡的两个组件,所述粘合剂随后经历了状态转化为固态的转变。这样的粘合剂的使用方法的例子为旋涂。在微量滴定板102由玻璃和PDMS组成的地方,所述组件能够被使用液体PDMS前聚物连接。就这一点而言,所述PDMS前聚物的固化物在所述两个组件间形成了半永久结合。在另一个实施方式中,所述基底包括一个玻璃刚性层,玻璃与一个由补足模具形成的PDMS层的固化PDMS相结合,其中,所述PDMS层包括孔110的阵列。

[0062] 特别地,所述PDMS层与每个孔110a、110b、110c的开口不相关的表面是疏水性的,以避免当从空间112中移出流体样品200时俘获任何水溶液样品。这对于盖子106的表面和空间112的孔是一样的。而且,那些表面和孔也与生物测定相配。根据微流控装置100的特定应用(例如聚合酶链反应(PCR),免疫测定等等),孔110的阵列能够被预先加载不同的生物/化学材料。孔110的阵列中预先加载所述生物/化学材料可以通过使用本领域技术人员已知的点样仪或移液管。举例说明,为了下面讨论方便,图3展示了一些例子,引物被作为所述生物/化学材料的例子。然而很重要,要注意,图3中的例子不能被理解为对能够被预先加载到孔110阵列的生物/化学材料类型的限定。例如,根据应用,酶也能被使用。图3a展示了

每个孔110被预先加入不同类型的引物,然而图3b描述了每个孔110被加入多个引物,其中被加入到相对应孔110重的多个引物是不同类型的。另一方面,图3c中展示了孔110的阵列能够全部被加入相同类型的引物,而图3d展示了孔110的阵列被分为多个区(即在此种情况下的两个区302、304),其中每个区302、304被预加入相同类型的引物。进一步地,在此种情况下,孔110的阵列全部被设计为在所述基底的中央部分的一个类正方形区,其中所述类正方形区的每侧安排有十个孔110,但是需要注意的是,根据微流控装置100的预期应用,其他类型和形式的设置是可能的。典型地,孔110的阵列被设计为所述基底上的一个单一的单面层。

[0063] 仍然依据图1和2,现在转向盖子106,具有在一个表面形成的空间112,其中的空间112具有与所述类正方形区相配的形状和尺寸,所述类正方形区由孔110的阵列定义。更具体地,在此种情况下,空间112被设计为具有与所述类正方形区相同的形状和尺寸,所述类正方形区由孔110的阵列定义。空间112也具有一个入口通道114(相邻处配置有一个入口控制阀116)和一个出口通道118(相邻处配置有一个出口控制阀120)。在本实施方式中尤其是,入口通道114支持流体流入空间112,同时出口通道118支持流体流出空间112。也应该注意的是,入口通道114被加工为比出口通道118宽。特别地,出口通道118通向一个收集从空间112流出流体的容器。因此,入口控制阀116可调节地允许流体进入空间112,同时,出口控制阀120可调节地允许流体流出空间112。而且,入口通道114与一个包括流体贮藏器的容器连接,然而出口通道118连接另一个收集从空间112流出流体的容器,下面将详细地说明。可选择地,从出口通道118流出的流体可以简单地被丢弃。在各自的开口位置,所述入口控制阀和出口控制阀116、120能够使流体按照规定流动进入和流出空间112(如上所述),而且一个气压被施加在空间112(使用真空发生装置108)内,因此便利地设置在盖子106的外表面以促进手动调节能够容易地被完成(如通过所述微流控装置的一个操作者)。相反地,在各自的封闭位置,所述入口控制阀和出口控制阀116、120不能够使流体流入/出空间112,这对技术人员是显而易见的。总之,所述入口控制阀和出口控制阀116、120(分别配置在所述入口通道和出口通道114、118上)控制流体进入空间112,即在开口位置,所述入口控制阀和出口控制阀116、120允许流体进入空间112,然而在封闭位置,所述入口控制阀和出口控制阀116、120拒绝流体进入所述空间112。

[0064] 为了安装微流控装置100,空间112形成于其上的盖子106的表面,适合于在微量滴定板102基底的上面,并且对齐,以致于空间112直接与孔110的阵列临近。在此种情况下,空间112被设置在孔110的阵列的上面。因此,需要注意的是,位于孔110的阵列上面的空间112由盖子106限定,其适合于在微量滴定板102基底的上面。

[0065] 在此种情况下明显的是,位于孔110的阵列上面的空间112被放置于所述入口通道和出口通道114、118之间。其后,盖子106和所述基底以支持其内环境压差的方式被牢固地互相连接。在一个实施方式中,所述平面的大体上为刚性的基底部件105与微量滴定板102的基底可拆卸连接,以防止当随后在空间112内产生的气压低于大气压时所述基底发生弯曲。适合于作为刚性基底部件105的材料例子是铝,因为铝允许有效的热传递,这对于微流控装置100的某些应用很重要,如用于核酸扩增技术(如PCR)。需要注意的是,说明书中涉及的任何种类的压力适于流体压力。具体地,使用真空发生装置108随后会产生压差(当需要时),真空发生装置108用于控制通过空间112的流体样品200或封闭液202的流动速度,下

面将详细说明。也需要注意的是,空间112从而在孔110的阵列上面形成顶部空间,因此空间112、入口通道114、出口通道118和孔110的阵列彼此流体沟通。而且,在这种安排下,孔110的开口直接朝向空间112并与其连接,这样在装置被操作和相应地提高微流控装置100的实施的可操作性时,有利于允许任何被相关的孔110困住的气穴释放进入空间112。相应地,孔110的阵列被配置为开口孔安排。

[0066] 现在涉及所述真空发生装置108,第一真空发生器1081配有用于容纳流体样品200和/或封闭液202的室1081a,入口管1081b和进气管1081c。用于产生大气压(或比大气压高)的、拥有相关的气泵阀1204的气泵1202也经进气管1081c(在附件端口1206处)与室1081a耦合。需要清楚的是,室1081a是上面描述的包括流体贮藏器的容器(即流体样品200/封闭液202),入口通道114与其连接。同时需要注意的是,在这个实施方式中,流体样品200和封闭液202被容纳在相同的普通容器内,然而所述封闭液可以与流体样品200分离被另一个容器容纳(即下面所见的第二个实施方式中)。入口管1081b的一端与空间112的入口通道114可拆卸连接,而另一端大体上延伸进入第一真空发生器1081的室1081a并顺着室1081a的长度(朝向所述底部)延伸。另外,第一真空发生器1081的进气管1081c转向经通气口1081d与第一真空源(未示出)耦合,通气口1081d被配置为具有一个相应的压强调节器1081e。所述第一真空源的一个例子是真空泵。

[0067] 进一步地,第一真空发生器1081与一个进气口1081f(具有一个相关的阀)接洽,其直接与进气管1081c连接。换言之,进气口1081f旁路控制所述压强调节器1081e,并且,因此被设置在与通气孔1081d相对的一端。进气孔1081f具体地被配置为当相关的阀打开时,允许大气压的空气被引入第一真空发生器1081的室1081a,当所述阀关闭时则相反。压强调节器1081e能够经所述第一真空泵调整想要的空气压强以适用于第一真空发生器1081的室1081a。流体样品200或封闭液202进入/离开空间112,通过利用在第一真空发生器1081的室1081a和空间112之间或在第一真空发生器1081的室1081a和孔110的阵列之间的配置的压强水平上的差别完成,或者通过在第一真空发生器1081的室1081a应用压缩空气以推动容纳在1081a内的流体样品200或封闭液202通过入口管1081b进入空间112来完成。

[0068] 流体样品200的例子包括含有核酸分子(如DNA、RNA、mRNA、microRNA、cDNA等)、细胞、用于PCR的Taq聚合酶、荧光探针、如荧光颗粒的固体微粒、荧光染料分子/化学品,诸如此类的样品。另一方面,封闭液202通常为一种不与流体样品200融合、粘稠度小于流体样品200的液体,封闭液202适合于在填满流体样品200的孔110a、110b、110c的附近形成液体密封并覆盖110a、110b、110c(通过完全地覆盖被填满的孔110a、110b、110c的开口),但是封闭液202不进入孔110a、110b、110c(通过与流体样品200混合)。因此需要注意的是,当流体样品200和封闭液202一起被第一真空发生器1081的室1081a容纳时,由于不融合性,能够看见两个清晰的流体层。另外,作为封闭液202的液体应该不能明显地抑制流体样品200的化学或生物分析,例如,使用PCR热循环。封闭液202也必须是透明的且具有低自发荧光,以允许由所述孔110a、110b、110c中预先加载的生物/化学材料发射的、具有低背景光学噪音的荧光达到外部光学检测装置(未示出)。作为封闭液202的液体的例子包括油、聚合树脂、硅树脂前聚物等等。封闭液202也能够是固化的液体聚合物(即热固化或紫外光固化),其在固化状态时,在空间112形成固体密封。流体样品200和封闭液202的特殊用法将与有关微流控装置100的使用方法相结合在下面进一步陈述。

[0069] 同样地,第二真空发生器1082也相应地设有用于容纳流体样品200和/或封闭液202的室1082a,出口管1082b和进气口1082c。需要清楚的是,室1082a是上面描述的收集经出口通道118从空间112流出后的流体的容器(即流体样品200/封闭液202)。出口管1082b的一端与空间112的出口通道118可拆卸连接,而另一端大体上延伸进入第二真空发生器1082的室1082a并顺着室1082a的长度延伸。进一步地,第二真空发生器1082的进气口1082c转向经通气口1082d与第二真空源(未示出)耦合,通气口1082d被配置为具有一个相应的压强调节器1082e。所述第二真空源的一个例子是真空泵。进一步地,第二真空发生器1082与一个进气口1082f(具有一个相关的阀)接洽,其直接与相应的进气口1082c连接。即进气口1082f(即图2涉及的)为所述相关的压强调节器1082e的旁路控制,并且,因此被设置在与所述第二真空发生器1082的所述通气孔1082d相对的一端。进气口1082f具体地被配置为当相关阀打开时,允许大气压的空气被引入第二真空发生器1082的室1082a,当所述阀关闭时则相反。如上所述,在此种情况下,压强调节器1082e能够经所述第二真空泵调整想要的空气压强以适用于第二真空发生器1082的室1082a。也需要注意的是,技术人员将理解所用的所述进口管和出口管1081b、1082b选自标准管(如硅树脂、塑料、金属等等制成的)。

[0070] 重要地,所述第一真空发生器和所述第二真空发生器1081、1082协同式设置用于使能够在空间112和110a、110b、110c内产生压差(视情况而定)。

[0071] 具体地,用于产生压差的所述第一真空发生器和所述第二真空发生器1081、1082间的协同式设置通过协调调整各自的压强调节器1081e、1082e而获得,以便控制流体样品200/封闭液202通过空间112的流动速度。更具体地说,通过协调调整各自的压强调节器1081e、1082e,所述第一真空发生器和所述第二真空发生器1081、1082被操作产生不同的绝对压力来促进所述压差的产生,以便控制流体样品200/封闭液202进入空间112的流动速率和速度。

[0072] 在这方面特别地,第一真空发生器1081被配置为在入口通道114的附近产生第一绝对压强,而第二真空发生器1082被配置为在所述出口通道118的附近产生第二绝对压强。应该清楚的是,“入口通道114的附近”意味即为接近入口通道114,同时也可意味在入口通道114内。同样的,“出口通道118的附近”意味即为接近出口通道118,同时也可意味在出口通道118内。进一步地,更需要注意的是,在使用所述第一真空发生器和所述第二真空发生器1081、1082和/或入口控制阀和出口控制阀116、120中,所述压差可被调整以便用来精确地控制所述流体流动进入微流控装置100的速率,以便在需要时停止所述流体流动。

[0073] 微流控装置100也具有配置在盖子之外的液体流动传感器204,更具体地说,是在大体上临近入口控制阀116的位置,以便决定流体样品200/封闭液202的接近并流动通过入口通道114进入/离开空间112。液体流动传感器204通过检测所述入口通道114内折射率的变化而运转。在此种情况下,当入口通道114内的所述空间被进入入口通道114的流体样品200/封闭液202的接近取代时,入口通道114内的折射率发生变化并被检测。

[0074] 进一步地,要注意的是,到目前为止,单独调整所述入口控制阀和出口控制阀116、120使/拒绝空间112与孔110a、110b、110c,以及所述第一真空发生器和所述第二真空发生器1081、1082的各自室1081a、1082a之间流体沟通。

[0075] 根据实施方式,图4a至4d共同说明使用微流控装置100的方法。具体地,所述方法包括步骤4A至4D,也涉及引入流体样品200进入空间112来填满孔110a、110b、110c(在此种

情况下,分别加载不同类型的引物(400、402、404),其后涉及用封闭液202密封被填满的孔110a、110b、110c,(例如)以便PCR热循环无需流体样品200从孔110a、110b、110c中蒸发就能够被执行。图4a所示的步骤4A中,基于微流控装置100的预期的用法,如需要的那样,孔110a、110b、110c首先被加载不同类型的引物400、402、404。然后第一真空发生器1081的室1081a被加载流体样品200和封闭液202,在室1081a内封闭液202浮在流体样品200上(即所述流体样品具有比封闭液202重的流体液体密度)。在步骤4A中,所述入口控制阀和出口控制阀116、120被安排在所述开口位置,通过向环境气压开放所述相关的进气口1082c,大气水平(即 $P_{atm}$ )的第一绝对压强被施加在第二真空发生器1082的进气口1082c。进一步地,稍高于大气压水平(即 $P_{atm} + \Delta P_{atm}$ )的第二绝对压强的另一方面应用,是使用气泵1202经第一真空发生器1081的进气口1081f到第一真空发生器1081的进气管1081c。上述的,气泵1202通过连接端口1206与第一真空发生器1081的进气管1081c耦合。也需要注意的是,所述第二绝对压强高于所述第一绝对压强,并且是不依赖于所述第一绝对压强可调的。结果,流体样品200被较高的空气压强推动,从第一真空发生器1081的室1081a出来,进入进口管1081b,然后进入空间112的入口通道114,停留在入口控制阀116后边的位置,但是优先进入空间112。需要注意的是,流体样品200停留在空间112内入口通道114的位置,是采用液体流动传感器204或可视化方式如照相机或人眼来决定。这样的目的是,有利于防止在入口控制阀116与流体样品200的流体前面之间形成可能的空气柱,如果所述流体前面没有流到设置入口控制阀116的位置,它将产生在这个方法的步骤4C中产生的真空并带来不足的压强。更进一步地,在步骤4B中,目前入口控制阀116被切换到打开位置,同时出口控制阀120仍然保持关闭位置,因此,通过适当的调整经过第二真空发生器1082的进气口1082c,允许空间112内的真空度 $P_v$ 被降低至约 $10^{-8}$ 托至700托。要注意的是,1巴等于100千帕、1000毫帕、750毫米汞柱或750托。进一步地,大气压强(即环境压力)被定义为约101.3千帕。步骤4B中为了获得真空压强 $P_v$ ,第二真空发生器1082的所述相关的压强调节器1082e被调整,这通过使用第二真空发生器1082来完成。因此,所述第一绝对压强变为 $P_v$ 。需要注意的是, $P_v$ 相对于大气压强为负压。

[0076] 在随后步骤4C中,如前面步骤4B执行的,通过第二真空发生器1082的进气口1082c,空间112内的真空度被调整达到 $P_v$ 值后,出口控制阀120被切换到关闭位置。突出的是,出口控制阀120能够被关闭,因为空间112内的真空度被配置为足够高(即大于或等于大约 $10^{-8}$ 托至700托)。特别地,这防止了流体样品200流过和流出空间200会引起样品的过度损失的可能运动,该运动可能污染第二真空发生器1082。因此,当以这种方式设置空间112时是封闭式顶部空间设置。

[0077] 另外,随着保留在第二真空发生器1082的进气口1082c的真空度 $P_v$ ,稍高的真空度 $P_v + \Delta P_v$ 被施加于第一真空发生器1081的进气管1081c,稍高的真空度 $P_v + \Delta P_v$ 通过应用第一真空发生器1081的通气孔1081d处等于或低于 $P_v + \Delta P_v$ 的真空度而获得,和通过使用所述相关的压强调节器1081e调整所述第一真空发生器1081的所述进气管1081c处的真空度而获得。换句话说,目前所述第二绝对压强变为 $P_v + \Delta P_v$ (使用第一真空发生器1081),而所述第一绝对压强仍为 $P_v$ 。需要注意的是, $P_v + \Delta P_v$ 相对于大气压强为负压,并且所述第一和第二绝对压强的调整相互独立。而且,需要注意的是, $\Delta P_v$ 代表第一真空发生器1081的进气管1081c和空间112之间真空度的差。就是说, $P_v$ 的绝对压强水平低于 $P_v + \Delta P_v$ 的水平从而引起

了压差,导致当入口控制阀116随后被打开时,流体样品200被推动进入空间112。而重要地,突出的是,为了控制推动流体样品200(以及封闭液202)以期望的速度(根据需要,它能够慢或快,)进入空间112和孔110a、110b、110c, $\Delta P_v$ 被设为一个合适的(小)值。换句话说,通过 $\Delta P_v$ 的不同值,不依赖于 $P_v$ 的值,流体样品200能够以不同的控制速度被推动进入空间112。例如,为了推动流体样品200以大约11 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 到100 $\text{mm}/\text{秒}$ 的速度流动进入空间112, $\Delta P_v$ 的值被定义约为 $P_v$ 的值0.01%至100%。作为对比,在操作只使用单一真空配的传统装置中,其中所述第一绝对压强被设置为10托,同时所述第二绝对压强被设置为大气压,流体样品200通过空间112的流动速度将达到大约750 $\text{mm}/\text{秒}$ ,其相比当前的实施例高是不被希望的。需要注意的是,这个方法能够使流体样品200以不依赖于空间112和孔110a、110b、110c内被期望的 $P_v$ 值的速度(只由 $\Delta P_v$ 决定)而流动。

[0078] 此后,入口控制阀116被打开以允许流体样品200以可控的慢速从第一真空发生器1081的室1081a移动到空间112和孔110a、110b、110c内来完成用流体样品200填满空间112和孔110a、110b、110c。具体地,如步骤4C所示,流体样品200以慢速被推动进入空间112直到所述流体样品被所述关闭的出口控制阀120或者出口控制阀120中止。因此,由于产生的压差,流体样品200从入口通道114流动到出口通道118。突出的是,流体样品200通过空间112(和进入所述孔110a、110b、110c)具有的慢速度有利于防止预先加载的引物400、402、404(一旦流体样品200填满孔110a、110b、110c时,它们与流体样品200混合/预悬浮)从各自的孔110中被冲击到所述空间112中,以及与不被希望的临近孔110a、110b、110c的交叉污染。需要注意很重要的一点是,如果流体样品200的速度相对高,那么上面提及的临近孔110a、110b、110c的交叉污染就会发生,这将因此产生高剪切力或/和将预先加载的引物400、402、404从相关的孔110a、110b、110c中冲出。

[0079]  $\Delta P_v$ 的选择取决于很多因素,这些因素包括孔尺寸、如存在于孔底部的锐角的孔几何结构、孔深度、材料从底部到孔开口所用的时间、孔中预先加载的材料沉积的位置、孔中预先加载的材料数量、试验中材料损失造成的误差、孔中交叉污染造成的误差等等。

[0080] 首先,真空压差 $\Delta P_v$ 需要足够大,以便推动样本进入所述孔并尽可能多地填满所述空间来与所述孔表面上的预先加载装的材料互相作用并使试验期间形成的气泡减到最小。当样品液体进入所述孔时,它会遇到所述孔表面引起的毛细管作用力。

[0081] 根据所述孔表面能和所述样品以及许多其他因素,所述孔表面能够表现为一个疏水或亲水表面。在物理学中,由于表面张力或壁张力现象,杨氏-拉普拉斯方程用来描述维持在位于两个静态流体之间界面的毛细管压力差,比如水和空气。描述了一个静态流体在遇到界面时的法向应力平衡的,其中所述界面被视为一个表面:

$$\begin{aligned} \Delta p &= -\gamma \nabla \cdot \hat{n} \\ &= 2\gamma H \\ [0082] \quad &= \gamma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \end{aligned}$$

[0083] 其中, $\Delta p$ 为所述流体界面间的压差, $\gamma$ 是表面张力(或壁张力), $\hat{n}$ 是表面外的标准单位, $H$ 是平均曲率, $R_1$ 和 $R_2$ 为主要曲率半径。如图4所示,在足够窄的管或圆形截面(半径

a) 孔110中, 样本200和所述孔110内的空气(利用真空的)之间的界面形成弯液面, 该弯液面为半径为R的球体的部分表面。

[0084] 跨过这个表面的上面的压力或毛细管压, 变为:

$$[0085] \quad \Delta p = \frac{2\gamma}{R}$$

[0086] 球体的半径R只是接触角 $\theta$ 的函数, 这反过来又取决于它们所接触的液体和固体的特性:

$$[0087] \quad R = \frac{a}{\cos\theta}$$

[0088] 所以压差可以写为:

$$[0089] \quad \Delta p = (2\gamma \cos\theta) / a$$

[0090] 对于水性样品200, 如果孔表面是疏水性的, 所述接触角大于 $90^\circ$  (疏水性表面的情况参见图4c (a)), 同时如果孔表面是亲水的, 所述接触角小于 $90^\circ$ 。如图4c (a所示), 为了保持流体静力学平衡, 所述真空压差 $\Delta P_v$ 平衡了所述感应的毛细管压力 $\Delta P$ , 该真空压差 $\Delta P_v$ 可以是正的 (指向下行) 或负的 (指向朝上), 这取决于所述润湿角是小于或大于 $90^\circ$ 。因此, 流体静力学平衡给出了:

$$[0091] \quad \Delta P_v = (2\gamma \cos\theta) / a$$

[0092] 从它可以得出这样的结论: 样品200要填满所述的更小的孔110或所述孔110中的腔, 需要提供更大真空压差 $\Delta P_v$ 。就这一点而言, 在试验中形成的最小化的气泡尺寸需要更高的 $\Delta P_v$ 。

[0093] 另一方面,  $\Delta P_v$ 越高, 所述样品进入所述孔时的流动速度就越高。同时, 在样品填满所述孔后, 所述样品仍然流向所述孔的开口外, 在所述孔内产生剪切诱导涡。所述漩涡强度与所述样品经过所述孔开口的流动速度成正比。所述涡流能够引起所述孔内的流动循环, 这能够运送所述孔表面附近的预先加载的材料到孔开口区, 所述孔表面包括孔底部, 同时通过在所述孔开口区的对流和/或扩散产生的质量传递能够将所述预先加载的材料移动进入所述孔外的空间, 造成所述预先加载的材料的损失和临近孔的交叉污染。因此,  $\Delta P_v$ 不能太高以便使所述孔中预先加载的材料的损失减小到最少, 同时选择一个 $\Delta P_v$ 值, 这样的考虑取决于影响所述孔开口的尺寸和所述孔的深度的孔的规模 (与所述孔底部的材料达到所述孔开口的时间有关), 所述孔中处理所述预先加载材料的位置, 预先加载材料的位置数量, 材料损失造成的试验误差, 孔的交叉污染造成的试验误差。一般来说,  $\Delta P_v$ 必须大于使处于真空下的孔内气泡体积最小化时产生的临界值, 同时, 必须小于具有一个足够低的样品速度以减少所述孔内预先加载材料的冲击时产生的临界值。

[0094] 填满所述孔中小腔同时保持一个小的 $\Delta P_v$ 以便减小冲击所述孔中所述样品200的另一个方法, 是运用一个小的 $\Delta P_v$ 来获得一个低的样品加载速度, 并且在完成所述样品加载进入孔110后, 一个足够高的 $\Delta P_v$ 被施加用于将所述样品推进孔110的底部的任一孔洞。这个方法与图4D所示相类似, 在其的密封加载步骤(图4D)中, 运用一个充分压缩的空气压强 $P_1$ 和/或 $P_2$ , 密封加载步骤在后续的段落中会描述。

[0095] 所述方法的最后步骤4D中, 一旦流体样品200填满孔110a、110b、110c和空间112, 具有第一真空水平的气体压强 $P$ 所述第一真空发生器108所述进气管1081c所述封闭液202

一样)被应用,并且具有第二真空水平的另一气体压强 $P_2$ 的第二真空发生器1082的进气口1082c被应用。

[0096] 需要注意的是,所述气体压强 $P_1$ 比 $P_2$ 高,导致压差,以便封闭液202能够被带入空间112,然后在所述入口控制阀和出口控制阀116、120被转换到打开位置时填满空间112。在这种情况下,所述气体压强 $P_1$ 被定义为在真空压强 $P_v + \Delta P_v$ 下,如前面的在步骤4C中施加于第一真空发生器1081的进气管1081c的,所述气体压强 $P_2$ 被定义为在真空压强 $P_v$ 下,如前面的在步骤4C中施加于第一真空发生器1082的进气口1082c的。需要注意的是,气体压强 $P_1$ 和气体压强 $P_2$ 之间的差越高,空间112内的封闭液202的流动速度越高。特别地,气体压强 $P_1$ 和气体压强 $P_2$ 之间的压差在阈值下被控制,该阈值能够使封闭液202的流动足够慢以防止在形成于封闭液202和孔110a、110b、110c内流体样品200(通过在孔110a、110b、110c的相关开口暴露)之间的流体界面处产生高剪应力,否则该高剪应力会将流体样品200拖出孔110a、110b、110c并使之排空,结果同时也进一步造成封闭液202流动进入已清空的孔110a、110b、110c。需要注意的是,压力大的或压缩的空气也能被用做气体压强 $P_1$ 和气体压强 $P_2$ 。对于 $P_1$ 和 $P_2$ 使用压缩空气的好处之一是,所述高压强 $P_1$ 和 $P_2$ 能够进一步地按压填满孔110a、110b、110c的流体样品200直到填满所述孔表面上的任何小腔或尖角,所述孔表面上的任何小腔或尖角在样品分析的后期阶段的热循环中能够形成气泡成核区域。需要注意的是,前面句子中涉及流体样品200的情况也包括在适当的环境下涉及封闭液202。也需要注意的是,通过空间112的封闭液202的流动速度被单独地控制,在某种意义上,与前面步骤4C描述的对于流体样品200的控制相似。

[0097] 因此,一旦分别具有气体压强 $P_1$ 和气体压强 $P_2$ 的第一真空发生器1081的进气管1081c和第二真空发生器1082的进气口1082c被应用,当转化所述出口控制阀120到打开位置时,所述产生的压差驱使封闭液202(任何剩余的流体样品200也一样)从第一真空发生器1081的室1081a进入空间112。因此,这推动存在于空间112的流体样品200出来后进入第二真空发生器1082的室1082a内并被暂时保存。需要注意的是,在这个过程中,流体样品200与已经在孔110a、110b、110c中的预先加载的引物400、402、404仍然保持在相关的孔110a、110b、110c中并没被封闭液202推出。随后,封闭液202进一步填满并完全占有空间112,这对孔110a、110b、110c的密封有影响。因此,在本实施方式中,封闭液202被引入空间112以便随后移除流体样品200来用流体样品200填满孔110a、110b、110c,然后空间112被封闭液202填满以便密封已被流体样品200填满的孔110a、110b、110c。空间112内任何多余的封闭液202也将流向第二真空发生器1082的室1082a。也需要注意的是,所述真空压差 $\Delta P_v$ 在保持空间112内的封闭液202低速流动以便防止封闭液202分解成滴是很重要的,否则可能会导致流体样品200与空间112内的封闭液202的前面混合。当发生流体样品200与封闭液202的分解滴混合时,这会导致封闭液202流入孔110和/或不可能有效地净化并按原计划由空间112出来并进入第二真空发生器1082的室1082a的流体样品200。

[0098] 本发明的进一步的实施例在下文中将被描述。为了简洁,实施方式间共同的类似原理,功能和操作的描述不重复;参考相关实施方式的相似部分。

[0099] 根据第二个实施方式,图5a至5e共同说明另一个方法,为了引导流体样品200进入空间112来填满孔110a、110b、110c(被分别加载不同类型的引物400、402、404),之后用封闭液202密封被填满的孔110a、110b、110c。突出的是,在此情况下,微流控装置100进一步配置

一个辅助通道500,该辅助通道500进一步与第一真空发生器1081的入口管1081b连接,但是仍然与第一个实施方式中描述的其他方面相似。特别地,辅助通道500是为了引导封闭液202进入空间112,代替经第一真空发生器1081的室1081a引导封闭液202,如前面图4a至4d中描述的。因此,在本实施方式中明显的是,封闭液202没被容纳在第一真空发生器1081的室1081a中,而是在只容纳封闭液202的外部密封胶分配器(未示出)中。这就是说,步骤5A至5C(图5a至5c中所示)与图4a至4c的步骤4A至4C执行相同的方式,因此,为了简洁,下面将不重复。

[0100] 在图5d所示的下一步步骤5D中,出口控制阀120从步骤5C中它的关闭位置被转换到打开位置。因此,为了引导封闭液202进入空间112,通过回收流体样品200进入第一真空发生器1081的室1081a或把流体样品200推入第二真空发生器1082的室1082a,流体样品200首先被移出空间112。具体地,一个稍低于大气压的气压被施加于第一真空发生器1081的通气口1081d,以便回收进入第一真空发生器1081的室1081a内的流体样品200,或选择一个稍高于大气压的气压被施加于第一真空发生器1081的通气口1081d以便把流体样品200推入第二真空发生器1082的室1082a。作为此种情况的一个例子,流体样品200被回收进入第一真空发生器1081的室1081a。在这个方法的最后步骤5E中,封闭液202经辅助通道500进入空间112,以便完全填满并占有空间112。要被注意的是,这对孔110a、110b、110c的密封有影响,与第一个实施方式中的方法相似。因此,在本实施方式中,流体样品200被从空间112中移除并填满孔110a、110b、110c,然后封闭液202被引导进入空间112,以便密封已被流体样品200填满的孔110a、110b、110c。空间112内任何多余的封闭液202也将流向第一真空发生器1081的室1081a或第二真空发生器1082的室1082a。

[0101] 根据第三个实施方式,所有单独的步骤5A至5C和5E与第二个实施方式一样,不同之处只有步骤5D。更具体地说,在当前实施方式的步骤5D中,关于一个静止的上面配置微流控装置100的基底,流体样品200通过首先改变所述空间的方向从空间112中移出,例如可以通过以任何期望的角度倾斜包括盖子106和微量滴定板102的所述装配部分来改变所述空间的方向。例如,空间112确定大体上与所述静止的基底垂直的方向作为理想的结果。然后,由于空间112被倾斜设置而造成的,为了从空间112中抽出流体样品200,通过吸收剂并利用与离心力或重力的辅助设备协同作用的真空或毛细作用力以上面描述的实施方式中被提供。

[0102] 根据第四个实施方式,微流控装置100适合于热循环,并公开了一个包含上面描述的任意实施方式中的微流控装置100的热循环仪(未示出),这取决于与预计的应用的相匹配,将被本领域技术人员理解。

[0103] 根据图6所示的微流控装置600的第五个实施方式,包括盖子106和微量滴定板102的所述装配部分(如第一个实施方式描述的)被容纳在一个被配置为支持真空环境的围封室602内。特别地,围封室602的设置坚固,并包括一个能够使第三真空源(未示出)与它连接的入口604,用于在所述围封室602内产生真空。入口604也包括一个相关的压强调节器606。另外,微流控装置600的其余设置与第一个实施方式相同,因此不再重复。设置围封室602的目的是能够产生期望的真空压强的真空环境且是可调的(利用压强调节器606),当空间112(在微流控装置100中)存在压差(在步骤4A至4D或步骤5A至5D的任一步骤中)。重要地,在特定情况下围封室602内产生的真空压强与在这种情况下空间112内形成的压差相似,盖子

106附近和微量滴定板102的基底的外界空气压强大体上与使盖子106和微量滴定板102的基底的弯曲最小化的压差均衡。另外,如果在所述外界空气压强与空间112内空气压强间存在压强的差别,就会发生盖子106和微量滴定板102的基底的弯曲。进一步地,平面的并大体上为刚性顶部构件608也与微流控装置100的盖子106可拆卸连接,以便提供另外一个额外的措施以使盖子106的弯曲最小化。真正地,顶部构件608是与微量滴定板102的基底连接的刚性基底部件105的一个类似的形式和结构。然而,也要注意的,随着顶部构件608和刚性基底部件105的内含物来使盖子106和基底的弯曲最小化,围封室602的内部反而被配置为以大气压强取代真空压强。

[0104] 根据第六个实施方式,其为第五个实施方式的改进,第一、第二和第三真空源被单独的共同的真空源取代。就是说,第一真空发生器1081的通气孔1081d、第二真空发生器1082的通气孔1082d和围封室602的入口604均与所述单独的共同的真空源耦合。然而需要注意的是,期望的空气/真空压力分别在第一真空发生器1081的入口1081c、所述第二真空发生器1082的气体入口1082c处形成,并且在围封室602内通过调整匹配的相关的可以独立地被调整的压强调节器1081e、1082e、606。

[0105] 根据第七个实施方式,其与第一个实施方式相似,但在个别孔110的结构上有区别。具体地,图7a展示了孔702的第一种可能的结构,其中形成的每个孔702带有一个连接通道7022,该连接通道7022开放进入临近的微流控装置100的空间112。就是说,孔702、连接通道7022和空间112为流体沟通。另一方面,图7b展示了孔704的第二种可能的结构,其中形成的每个孔704代替为带有双连接通道7042,该双连接通道7042开放进入临近的微流控装置100的空间112。就是说,孔704、双连接通道7042和空间112真正的为流体沟通。尽管图7a和7b,然而也将明显的是,所述孔的其他可能适合的结构取决于应用。

[0106] 图8a和8b展示了微流控装置的第八个实施方式。在此种情况下,微流控装置800包括一个孔802的阵列、一个真空室804和一个可逆可形变袋806,该可逆可形变袋806设置在为充分密封结构的真空室804内。特别地,袋806被设计为容纳流体样品200,在高压强环境影响下,袋806引起压缩,从而降低袋806的内部空间,以便将流体样品200挤出。孔802的阵列与第一个实施方式中孔110的阵列的设置和结构相似,并包括进入附近空间112(与第一个实施方式相似)。进一步地,孔802的阵列具有一个入口通道808a和一个出口通道808b,以便允许流体样品200被引入其内。然后,图8b展示了微流控装置800设置850的示意图。特别地,袋806通过第一阀810a与容纳所述流体样品200的第一室812流体沟通。然后,真空室804与真空泵814耦合(通过第二阀810b,其包括真空阀和放气阀),并且孔802的阵列在入口通道808a与两个袋806耦合(通过第三阀),和与容纳封闭液202的第二室816耦合(通过第四阀810d)。孔802的阵列与第二室816流体沟通。第二室816也与一个压缩机818耦合。另一方面,孔802的阵列也在出口通道808b处与一个第三室802耦合,第三室802也与真空泵814耦合(通过第五阀810e)。就是说,孔802的阵列也与第三室流体沟通。

[0107] 根据第八个实施方式,图9a至9e共同地说明微流控装置800的使用方法。需要注意的是,首先在所述方法开始前,所有的阀810a至810e是关闭的。在步骤9A中,第一阀810a和第四阀810d是关闭的,然而第二阀810b的放气阀是打开的,以便将真空室804暴露到大气中。而且,第三阀810c和第五阀810e是打开的,并且随后真空泵814b被开动来产生真空,这因此能够使袋806、入口通道808a、出口通道808b和孔802的阵列的所有空气被吸入第三室

820(即箭头902所示)。突出的是,袋806因此在此种情况下为泄气形状。

[0108] 在下一步骤9B中,第二阀810b的所述放气阀关闭,为了在微流控装置800的真空室804中产生与步骤9A中所产生的相同的真空,而第二阀810b的所述真空阀朝真空泵814b随后被打开,其余的阀810a、810c至810e保持与在步骤9A中相同的状态。由于在袋806的内部和外部形成了平衡压力,袋806随后恢复了它最初膨胀的形状。进行到步骤9C,随后第三阀810c被关闭,为了使容纳在第一室812内的流体样品200被吸引并填满袋806(即箭头904所示),第一阀810a被打开。

[0109] 在步骤9D中,第一阀810a此时被关闭,而第三阀810c被打开,以便允许容纳在袋806内的流体样品200在真空差的影响下移入孔802的阵列内(即箭头906所示),该真空差由微流控装置800的室804内的压力高于第三室820内的压力产生。需要注意的是,在填满孔802的阵列的过程中,空间112被流体样品200填满。为了产生必须的真空差,第二阀810b的所述真空阀被关闭,而第二阀810b的所述放气阀被打开,以便允许少量的空气进入微流控装置800的真空室804。重要地,主要注意的是,流体样品200进入孔802的阵列的流动速度通过调整空气经第二阀810b的放气阀进入微流控装置800的真空室804的流动速率来控制。

[0110] 在步骤9E中,此时第三阀810c被是关闭,而第四阀810d被打开,并且压缩机818运转来产生驱动压强。所产生的驱动压强随后推动容纳在第二室816内的封闭液202进入(空间112和)孔802的阵列来密封孔802(即箭头908所示)。在这个密封过程中,封闭液202将流体样品200推出空间112并进入第三室820。进一步地,孔802的阵列内任何多余的流体样品200均被推进第三室820。

[0111] 根据如图10a至10c所示的第九个实施方式,微流控装置100的结构仍然与第一个实施方式中相同,但在用于加载生物/化学材料进入所述孔110a、110b、110c的步骤中有略微差异。为了说明,引物作为所述生物/化学材料的一个例子。特别地,所述生物材料可以包括细胞。如图10a中描述的,孔110a、110b、110c被预先加载第一组引物1020a、1020b、1020c,并填满流体样品200,与第一个实施方式中的描述类似。然后,每个孔110a、110b、110c中的部分述流体样品200蒸发,从而产生用于加载第二组引物1060a、1060b、1060c的空间1040(分别在引物1020a、1020b、1020c上),如图10b所示。用第二组引物1060a、1060b、1060c加载所产生的空间1040,并且用流体样品200填满空间1040,也通过与所述第一个实施方式中相同的方式实现。然后,像上面的实施方式中,封闭液202被引入并密封孔110a、110b、110c。

[0112] 随后,第一组引物1020a、1020b、1020c与、第二组引物1060a、1060b、1060c分别在孔110a、110b、110c中发生化学/生物反应。需要注意的是,本实施例与所述生物/化学材料的多样样品的加载有关,与前面第一个实施方式中描述的所述生物/化学材料的单一样品的加载形成对比。

[0113] 根据第十个实施方式,图11a描述了一个引导流体样品200进入图1a中微流控装置100的孔110的阵列速度的控制方法。特别地,一个注射器110(带活塞1101)被用于容纳流体样品200,并且注射器110的一个开口端1102适于被耦合于与孔110阵列连接的入口通道114。注射器110的开口端1102允许流体样品200的分配。另一方面,与孔110阵列连接的出口通道118与一个真空源1104耦合。在使用中,真空源1104运转,在出口通道118产生一个真空压强 $P_v$ ,并且然后操作人员(未示出)通过使用一个注射泵1106来抑制注射器110的活塞1101,该注射泵1106被配置为可控制地、以期望的速度向前移动活塞1101,这逐渐地将流体

样品200从注射器110中排出并进入孔110的阵列。作为流体样品200与活塞1101的媒介的流体样品200和大气空间(如果有)的压强,被设计为如图11b(i)中描述的 $P_v + \Delta P_v$ 。可选择地,如果活塞1101立即与流体样品200毗连,只有流体样品200的压强被配置为 $P_v + \Delta P_v$ ,如图11b(ii)中描述。需要注意的是,前面句子的文中的“向前”意味朝向注射器110的开口端1102的方向。技术人员将注意的是,如果没有使用注射泵1106抑制活塞1101,由于产生在活塞1101上的大气压强和出口通道118处真空的存在,将产生压差加快活塞1101向前,活塞1101反而将不可控地向前移动。然而,通过使用注射泵1106抑制活塞1101(即箭头1108所示的向前/向后),使用者能够可控制地移动流体样品200以期望的速度进入孔110的阵列。

[0114] 根据第十一个实施方式,图12显示配置一个纵向通道1202的微流控装置100的微量定量板102,该纵向通道1202沿其长度方向与各自部分的每个相关的孔110流体沟通。就是说,纵向通道1202取代在第一个实施方式中配置在孔110附近的空间112。需要注意的是,在此种情况下,纵向通道1202也被配置在孔110的附近和上部。为了在适应微量定量板102的盖子106'(未示出)上形成纵向通道1202(如第一个实施方式中描述的),纵向通道1202被设置形成一个适当的线圈结构,该线圈结构能够使流体连接到微量定量板102的孔110。然而,线圈结构或平行通道的其他类型也是可能的。突出的是,如描述的,纵向通道1202的设置帮助进一步地降低样品从所述孔的损耗,特别在所述第一个实施方式的步骤4D或所述第二个实施方式的步骤5D被执行的期间。

[0115] 如图13a所示的涉及第十二个实施方式,空间112被配置为只有一个单一入口,与两个入口截然相反(即入口通道114和出口通道118),其所述单一入口被用于促进压差的产生,并促进流体样品200/封闭液202从空间112的引入/收回,与上面描述的入口通道114和出口通道118的功能相似。这也意味着,现在真空发生装置108仅包括一个通过单一入口与空间112耦合的真空发生器。在本实施方式中,入口通道114是上面提及的单一入口,所述第一真空发生器被设计为所述单一真空发生器(即涉及图13a至13d)。因此,明显的是,对于所述单一真空发生器,仅有如下的一组:一个室、一个入口管、一个空气入口、一个通气孔和一个压强调节器。下面的几段描述了本实施方式的较多细节。

[0116] 根据第十二个实施方式,为了引导流体样品200进入所述空间,以便填满所述孔110a、110b、110c(它们分别被预先加载不同类型的引物400、402、404),然后密封所述被填满的孔110a、110b、110c,图13a至13d共同说明了包括步骤13A至13D的另一方法。突出的是,除了第一真空发生器1081的进气口1081f与第二真空发生器1082被拆掉以外,连接第二真空发生器1082的通气孔1082d的出口通道118被密封,本实施例的微流控装置100'与所述第一个实施方式中的微流控装置100相似。另外,第一真空发生器1081的入口管1081b进一步被设为带有一个第一阀1302和一个进气孔1304。进气孔1304被设为带有一个第二阀1306和一个相关的压强调节器1308,其中的第二阀1306被放置的比压强调节器1308更靠近第一真空发生器1081的入口管1081b。进一步地,一个第三阀1310也被设计并放置在压强调节器1308e和第一真空发生器1081的进气孔1081c之间。一个可移动/可变形的盖子106'代替了第一实施方式中的盖子106,而且,一个可移动/可变形的盖子106'能够被可移动地降低靠近所述孔110a、110b、110c,并在孔110a、110b、110c被流体样品200填满后密封它们。就是说,所述可移动/可变形的盖子106'适合于被移动来减小空间112的尺寸。

[0117] 在步骤13A中,所有的阀1302、1306、1310都被打开,同时进气孔1304对大气压强开

放。因此,微流控装置100'的空间112被暴露于大气压强。

[0118] 随后,压缩空气被应用于第一真空发生器1081的通气孔1081d,以便推动流体样品200进入其入口管1081b。注意,在此步骤中,流体样品200仍没有被引入入口通道114。接下来,在步骤13B中,第一阀1302被关闭,并且第一压强 $P_v$ 被施加于进气孔1304。这造成空间112被暴露于所述第一压强 $P_v$ 。突出的是,所述第一压强低于大气压强,并在此种情况下是真空压强。

[0119] 在步骤13C中,第二阀1306被关闭,此时第一阀1302被打开。然后,第二压强 $P_v + \Delta P_v$ 被施加于第一真空发生器1081的通气孔1081d(同时也利用所述压强调节器1081e适当的调节)。突出的是,所述第二压强 $P_v + \Delta P_v$ 低于大气压强,并在此种情况下也是真空压强。由于空间112的所述第一压强和第一真空发生器1081的通气孔1081d的第二压强之间绝对压强的差别,因此产生气压差。然后,这个气压差进一步加快流体样品200从入口管1081b移动进入入口通道114和空间112,直到流体样品200完全填满空间112和孔110a、110b、110c。在最后步骤13D中,一旦获得,此时大气压强取代施加于第一真空发生器1081的通气孔1081d的第二压强,以便停止加快流体样品200进入空间112,并且所述可拆卸/可变形的盖子106'随后被可移动地降低,以密封孔110a、110b、110c。需要注意的是,当所述可拆卸/可变形的盖子106'逐渐地降低到空间112,在空间112的流体样品200因此被挤出(进入排出通道)。可选择地,在所述可拆卸/可变形的盖子106'被降低,去密封孔110a、110b、110c前,空间112内的流体样品200能够被排出(比如进入第一真空发生器1081的室1081a)。

[0120] 根据第十三个实施方式(参考图14a和14b),微流控装置100"的结构仍然与所述第一个实施方式相同,但存在以下差异。首先,微量滴定板102'没有孔阵列,也没有与任何刚性基底部件连接,但是,其余的与所述第一个实施方式相似。第二,流体样品1502(包括不同类型的生物细胞)被容纳在一个外部的封闭液分配器1400中,而第一真空发生器1081的进气口1081f延伸到封闭液分配器1400。就是说,进气口1081f被延伸,并重新设置为将封闭液分配器1400与第一真空发生器1081的通气孔1081d耦合。另外,此时,第一真空发生器1081的室1081a可选择性地容纳隔离流体1504,该隔离流体1504帮助辅助不同大小的生物细胞分离。

[0121] 本实施方式的动机是,在液体流通或加载流体样品1502前,理想的地移除在入口通道114、出口通道118和所述流动通道附近的气泡。需要注意的是,目前实施方式中,利用微流控装置100"加载没有气泡的流体样品1502的方法,与前面第一个实施方式中描述的相同,因此为了简洁,将不重复。然而,需要理解的是,在操作加载流体样品1502的期间,所述第一压强 $P_v$ 被施加于封闭液分配器1400和第一真空发生器1081的所述室1081a。

[0122] 进一步地,也需要注意的是,在可能涉及的其他实施方式中,注射器泵能够被用于代替所述外部的封闭液分配器1400和第一真空发生器1081的室1081a。进一步地,多个管固定器(即参见图15b)与第二真空发生器1082的出口管1082b耦合,为了简洁,在图15a中仅描述了那些管固定器中的两个管固定器1506a,1506b。也需要突出的是,对于本实施方式,为了利用至少两个管固定器1506a、1506b收集生物细胞,微流控装置100"被配置为具有至少两个从真空发生器1082的出口管1082b分支的流动出口。特别地,为了收集不同类型、不同尺寸的生物细胞,所述至少两个流动出口和所述相关的多数管固定器被配置,并且所述多数管固定器被覆盖在第二真空发生器1082的所述室1082a内。另外,此时空间112被设计

为一个类螺旋结构(如果需要,直的其他适合的结构均能够被利用),如图15b中所示。然而,进一步地,当流体样品1502随后被引导流入空间112,空间112也可以适合于颗粒物的分离,如不同类型的生物细胞,例如,基于他们各自的尺寸。在本实施方式中,所述空间被特别地配置为导管。

[0123] 需要注意的是,本实施方式中使用微流控装置100”加载流体样品1502和没有气泡的缓冲液体的方法与前面所述第一实施方式中描述的相同(如图1a)。因此,为了简洁,将不再重复。重要地,本实施方式中所使用的微流控装置100”的当前设置的方法,能够使流体样品1502中的尺寸不同的所述生物细胞随后被储存在沿空间112的长度的不同部分。特别地,当流体样品1502最初被引导进入空间112时,如从图15b(i)中所示,不同的生物细胞首先与流体样品1502一起被混合。随后,当流体样品1502沿空间112向多数管固定器流动,由于不同生物细胞各自的尺寸和重量,不同的生物细胞自动地被储存在沿空间112的长度的不同部分,这会影影响它们沿空间112流动的速度。这在图15b(ii)中被描述。具体地,大的生物细胞更可能被存放在更靠近空间112的内表面,而所述较小的生物细胞更可能被存放在更靠近空间112的外表面。在文中,空间112的内表面被限定为总是比空间112的外表面更靠近空间112的类螺旋设计的中心。就是说,由空间112的类螺旋设计的中心到空间112的内表面而定义的半径总是比到空间112的外表面而定义的半径短。然后,在所述流体中不同分类的生物细胞能够被收集在各自的管固定器中,如图15b(iii)所示。

[0124] 也需要注意的是,所述第十三个实施方式中的微流控装置100”也能够适用于使用所述微粒分离通道,如由Daniel R.Gossett和Westbrook M.Weaver和Albert J.Mach和Soojung Claire Hur和Henry Tat Kwong Tse和Wonhee Lee和Hamed Amini和Dino Di Carlo撰写并刊登在Anal Bioanal Chem的2010年397期3249-3267页,期刊文章名称为“Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems”的图1至6所示。

[0125] 总之,当被压差控制并被引入空间112时,微流控装置100和相关的方法(上面描述的各种实施方式中)有利于使流体样品200/封闭液202开始流动,并且不存在被从述相关的孔110中冲出并导致不被期望的相邻孔的交叉污染的意外风险,而流体样品200/封闭液202被引入时,有利于将预先加载进入孔阵列10的生物/化学材料被保留在那里。具体地,流体样品200/封闭液202的流动速度被控制为一个足够慢的速度以能够获得前面所提及的优点。另外,关于图4c和4d的步骤4C和4D,在封闭液202引入空间112且没有分解成滴时,流体样品200流动的慢速度也能够将封闭液202充分地、无缝地粘附于流体样品200。然而,流体样品200流动的慢速度有利于防止填满孔110的内容物被孔110内的封闭液202和流体样品200之间的液体表面产生的高剪应力推出,否则将从孔110内拖出流体样品200(由于预先加载的生物/化学材料一起)。另一方面,所产生的压差足够高,其也将缓和被困在孔110的阵列内的气穴的问题。

[0126] 并且,需要注意的是,微流控装置100和相关的方法能够控制空间112内和独立于通过空间112的流体样品200/封闭液202的流动速度的连接孔内的绝对真空压强。重要地,流体样品200/封闭液202的流动速度视所述第一绝对压强与所述第二绝对压强的差别结果而定;就是说,所述真空压强 $P_v$ 以被期望的压强水平设定在空间112/孔110a、110b、110c内,同时,流体样品200/封闭液202的流动速度通过改变 $\Delta P_v$ 值独立设定于期望的速度水平

[0127] 也需要注意的是,通过精确地控制,本发明能够减少流体流动通过的损耗量,

[0128] 比较地,目前的具有流入式通道的顶部空间的真空驱动孔加载装置产生样品损耗,在那里一部分样品通过装置操作期间产生的真空从顶部空间被吸收。也需要注意的是,允许封闭液202在流体样品200的上面的第一真空发生器1082的室1081a,有利于清除在流体样品200和封闭液202之间的任何可能存在的空气柱(即空气密封界面)。特别地,当封闭液202随后被引入空间112内,空气密封界面的缺乏利于防止任何气穴的形成(在空间112或孔110的阵列内)。微流控装置100的其它优点包括稳定地重复使用,低成本和利用目前的加工技术制造简单。

[0129] 对于这些实施方式中,进一步需要注意的是,其中在微量滴定板102上没有配置孔110,由这些安排带来的优点为,在流体样品200加载期间,将有利于帮助防止空间112内气穴的引入和形成。在所述入口的滞留空气也能避免。

[0130] 进一步突出的是,在微流控装置100中,孔110的阵列被配置为它们的开口直接朝向空间112,并且与其连接(即所述开口孔的设计)。这种开口孔设计有利于在低成本下使微流控装置100的高密度孔成为可能,也在加工期间提供改进的可靠性。而且,所述开口孔设计也提供改进的工作性能可靠性,因为在装置操作期间被困在任何孔110内的气穴能够更容易地被释放进入空间112。对于微流控装置100的合理应用,包括PCR阵列、qPCR、数字PCR、单细胞分离/分析等等。

[0131] 然而,描述的实施方式不能被理解为限制性的。例如,应该清楚的是,在用流体样品200填满孔110前,孔110的阵列不用必须预先加载任何生物/化学材料。在此情况下,随后被引入的流体样品200于是包含生物/化学材料(已干的、部分干的或液体形式)、生物/化学材料包括PCR引物(即寡核苷酸、基因短片段等)、细胞、病毒、抗体、蛋白质、酶、分子、多肽、多聚核苷酸、反应成分(例如,双乳胶液滴)、核酸分子(例如DNA、RNA、mRNA、microRNA、cDNA等)、细菌、原生动物、病原体、荧光化学品/分子、催化剂等。

[0132] 并且,孔110的阵列上面的空间112可以选择性地由从微量滴定板102的基底充分垂直向上延伸的孔(未示出)定义,与作为适合所述微量滴定板102的基底上的盖子106定义的相反。而且,微流控装置100也可以具有取代盖子106的可变形的/可移动的盖板(例如,由橡胶制成),该盖板(例如,使用活塞)被安排压在微量滴定板102上用来密封孔110的阵列,从而压缩并密封孔110的阵列里的流体样品200。另外,很明显的,微量滴定板102也可选择性地装配有用于识别目的的一个ID芯片或一个条形码。然而进一步,与孔110的阵列相反,微量滴定板102也可以被配置为带有至少一个单一的孔。然而另外地,基于不同目的应用,代替第一个实施方式中描述的具有立方体的形状,每个孔110能够被形成具有任何适合的形状。此外,所述液体流量传感器也可被选择。而且,在某些实施方式中,使用的封闭液202不用必须没有流体样品200稠密。就是说,封闭液202可以比流体样品200更稠密,因为由于孔110的足够小的规模而产生的所述表面张力的存在,实际上将防止所述稠密的封闭液陷入孔110并将流体样品200推出。

[0133] 然而在另一个变化中,微流控装置100可以进一步包括一个含有门(未示出)的主体容器,在微流控装置100中,所述主体容器适合于内部容纳多个沿所述主体容器的高度的各自水平位置的微量滴定板102。特别地,每个微量滴定板102可移动的连接在所述主体容器的各自的水平位置。而且,所述主体容器被形成并配置为支持环境内的压差,与当盖子106被连接到如第一个实施方式中描述的微量滴定板102的基底时的结合相似。而且,所述

主体容器同样地也包括支持使用真空发生装置108在其内产生压差的必需结构(例如进口通道114和出口通道118)。在使用中,所述主体容器被用于以一定的方式共同地向微量滴定板102(被支持在所述主体容器内)的孔110的阵列加载流体样品200,并且为了进一步处理,微量滴定板102于是被从所述主体容器中移出。因此,考虑操作的更方便和更容易,使用所述主体容器的优势是使能够在单独的步骤中向多个微量滴定板102加载流体样品200成为可能。

[0134] 要注意的是,微流控装置100可以与上游的样品制备装置和/或下游的分析装置结合。例如,微流控装置100可以适用于热循环仪的热循环(如第四个实施方式描述的)。作为选择地,只有微量滴定板102,微量滴定板102带有孔110的阵列,可以被拆卸并替换为热循环仪,有利于最佳地通过微量滴定板102有效热传递,以促进核苷酸扩增技术的执行(如PCR)。

[0135] 并且,当空间112内的气压低于大气压强时,如果涉及的基底由一个适合的材料形成,该材料大体上自身为刚性的以抵抗所述基底的弯曲,刚性基底部件105可以不与微量滴定板102的基底连接。另外,刚性基底部件105也可以选择性地由其他适合的材料形成,如玻璃等,不一定必须是铝。

[0136] 进一步可选择地,分离的所述第一真空源和第二真空源可以选择地分别地耦合到所述第一真空发生器和第二真空发生器,而不是所述第一真空发生器和第二真空发生器1081、1082与一个单一的共同的真空源104耦合。然而,要注意的是,如第一个实施方式,空间112和孔110a、110b、110c内压差的产生,仍然被影响并通过所述第一真空发生器和第二真空发生器1081、1082的单独的压强调节器1081e、1082e控制。

[0137] 然而可选择性地,所述第一真空源被配置为一个只输出一个预定的压强水平的固定真空源,并且是不可调节的,然而,所述第二真空源保留与所述第一个实施方式相同的结构。如果所述第一真空源被代替保留与所述第一个实施方式相同的结构,那么此时所述第二真空源被设计为一个固定真空源,前面的陈述相反也是如此。

[0138] 可选择地,因为被引入空间112的流体样品200将不会轻易地从出口通道118中流出(或冲出)并进入第二真空发生器1082的室1082a,在步骤4C中,出口控制阀120可选择地被保留在根据步骤4B的打开位置前,由于在没有应用将流体样品200推出的驱动力下,出口通道118比入口通道114(如所述第一个实施方式描述的)相对窄,以防止流体样品200固有的从空间112容易地流出。

[0139] 作为说明,在所述第一个实施方式的使用步骤4D中,所述气压P1和P2不必被配置为单独的第一和第二真空水平;反而所述气压P1和P2可选择地被分别配置为第一压缩空气压强和第二压缩空气压强。具体地,当所述入口控制阀和出口控制阀106、120被转换到打开位置时,为了驱动封闭液202进入空间112,处于所述第一压缩空气压强的气压P1比处于所述第二压缩空气压强的气压P2高。

[0140] 关于第二个实施方式,封闭液202也可以通过第一真空发生器1081的进气管1081c或第二真空发生器1082的进气口1082c被引入空间112,取代通过连接到第一真空发生器1081的入口管1081b的辅助通道500。然而可选择地,微流控装置100也可进一步地被装配有与第二个实施方式的辅助通道500相似的另一个通道(未示出),该另一个通道与第二真空发生器1082的出口管1082b连接,并且封闭液202因此可以通过这另一个通道引入空间112。

在此种情况下,将清楚的是,封闭液202也被容纳在所述外部封闭液分配器中。

[0141] 关于第二个实施方式的方法步骤5D,在引导封闭液202进入并代替从空间112吸出的流体样品200前,也需要注意,在封闭液202被引入空间112期间,流体样品200可以选择地被移动进入第一真空发生器1081的室1081a或第二真空发生器1082的室1082a。真正地,依赖于封闭液202被引到哪里,空间112将流体样品200推出并进入第一真空发生器1081的室1081a或第二真空发生器1082的室1082a,同时封闭液202被引入空间112。然而进一步地,在第二/三个实施方式的步骤5C中,当流体样品200被引入空间112,出口控制阀120可以选择地继续保持如步骤5B中的打开位置。

[0142] 可选择地,一个特别适合的装置(如一个自动装置)可以被用于抑制和控制活塞1101的向前运动(如图11a的第十个实施方式描述的)。在此种情况下,活塞1101可自动地被控制。可选择地,活塞1101的向前运动也可以通过操作者的手被控制。

[0143] 关于第一个实施方式,在执行步骤4C后步骤4D前,包括一个可选择的步骤。为了有利于克服孔110a、110b、110c内的任何表面张力,从而确保孔110a、110b、110c的全部空间被、流体样品200填满,所述可选择的步骤涉及进一步应用一个高于、第一真空发生器1081的、进气管1081c处的 $P_v + \Delta P_v$ 的压强,以便推动已存在于、孔110a、110b、110c内的流体样品200。需要注意的是,涉及前面语句中的流体样品200的,也包括涉及适合语境下的封闭液202。

[0144] 进一步地,在一些设想的实施方式中,第一个实施方式的步骤4D可以被选择,因为许多以细胞为基础的试验不要求密封孔。在那些情况下,空间112是空的,或者被包含分子和核酸的缓冲溶液填满。

[0145] 需要注意的是,流体样品200包括的成分能够使任何预先加载到孔110中的材料发生生物或化学反应(例如核酸扩增、细胞分析、PCR等)。然而进一步需要注意的是,为了促进核酸扩增,如聚合酶链反应和其他引物延伸,和/或涉及细胞和蛋白质的试验,每一个孔110中可选择地容纳与那些在另一个孔110中容纳的不同的特定的预先加载材料。所述材料可以包括细胞、蛋白质和寡核苷酸。

[0146] 需要进一步注意的是,如果由所述单一的共同真空源104产生的真空压强相对稳定,那么拆除第一真空发生器1081的压强调节器1081e或第二真空发生器1082的压强调节器1082e是可能的,因为第一真空发生器1081和第二真空发生器1082中的任一个能够取代继承所述单一的共同真空源104的真空压强,无需要调整所涉及的真空发生器1081、1082。因此,没有压强调节器1081e、1082e被需要用于相关的真空发生器1081、1082。

[0147] 虽然本发明在附图和之前的描述中,已在细节上被说明和描述,但这样的说明和描述应该被认为是举例说明的或可模仿的,并没有限制的;本发明不被公开的实施方式限制。在实施专利发明的范围时,对于公开的实施方式的改变能够被本领域技术人员理解并受到其影响。

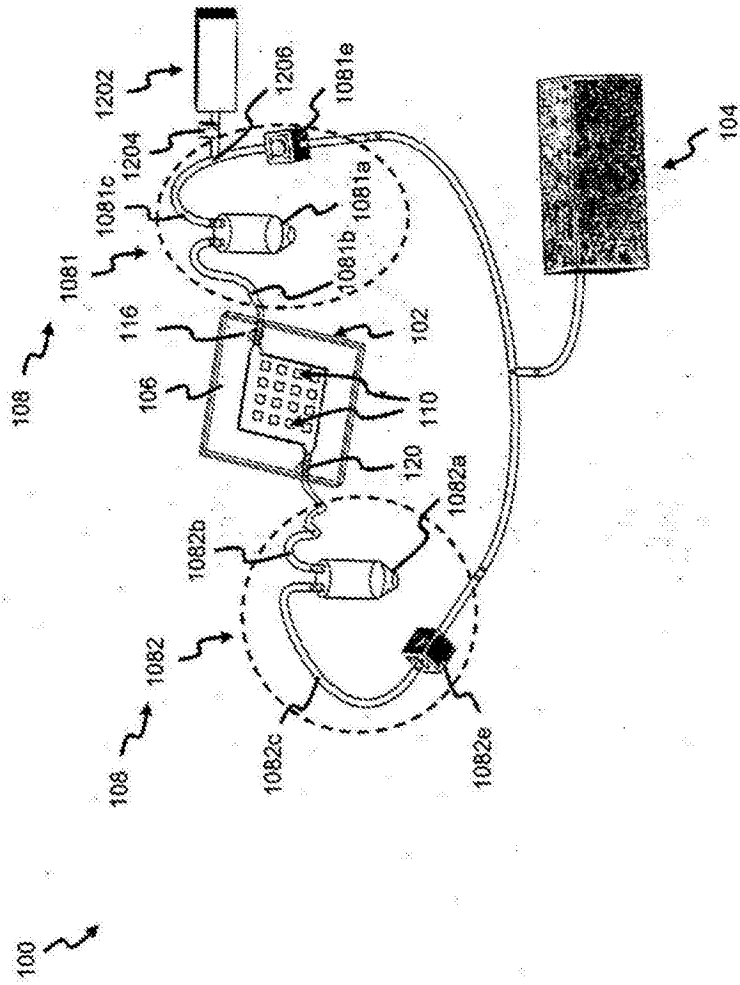


图1a

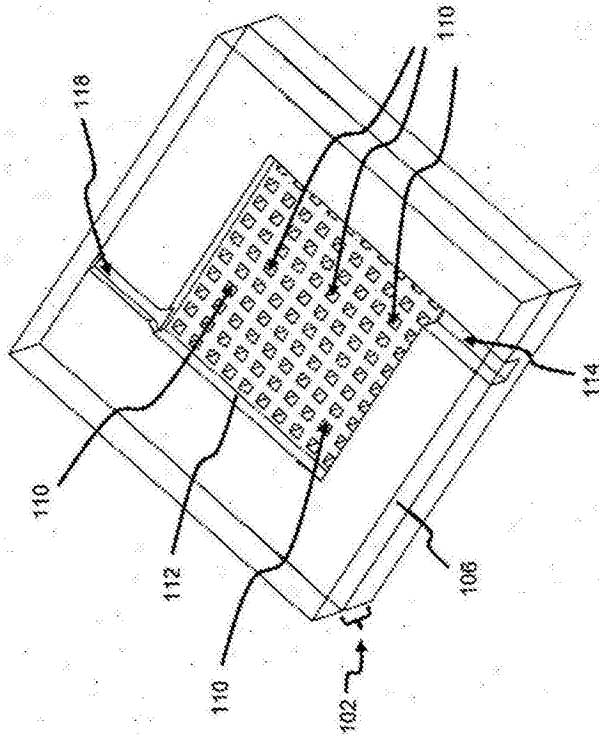


图1b

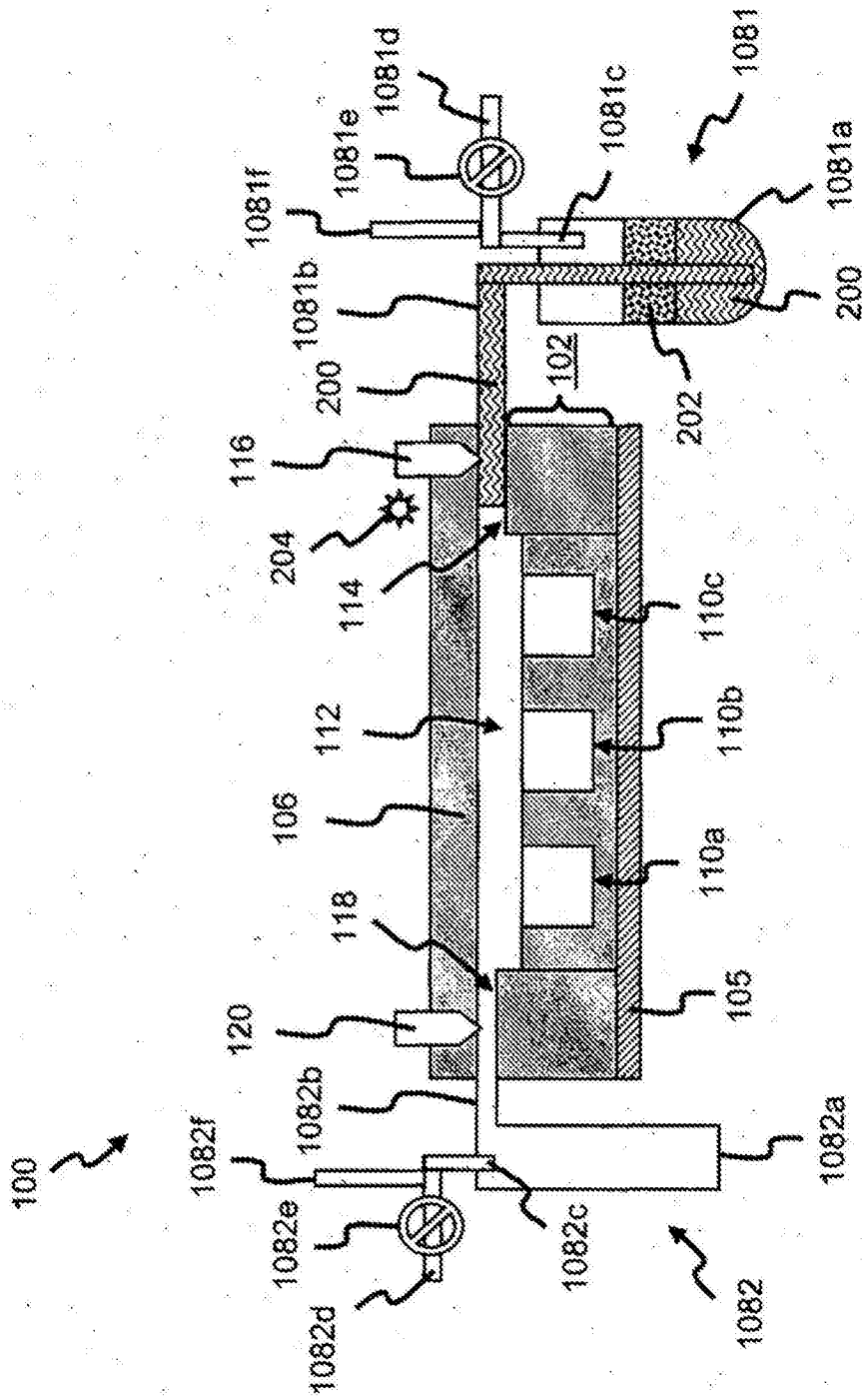


图2

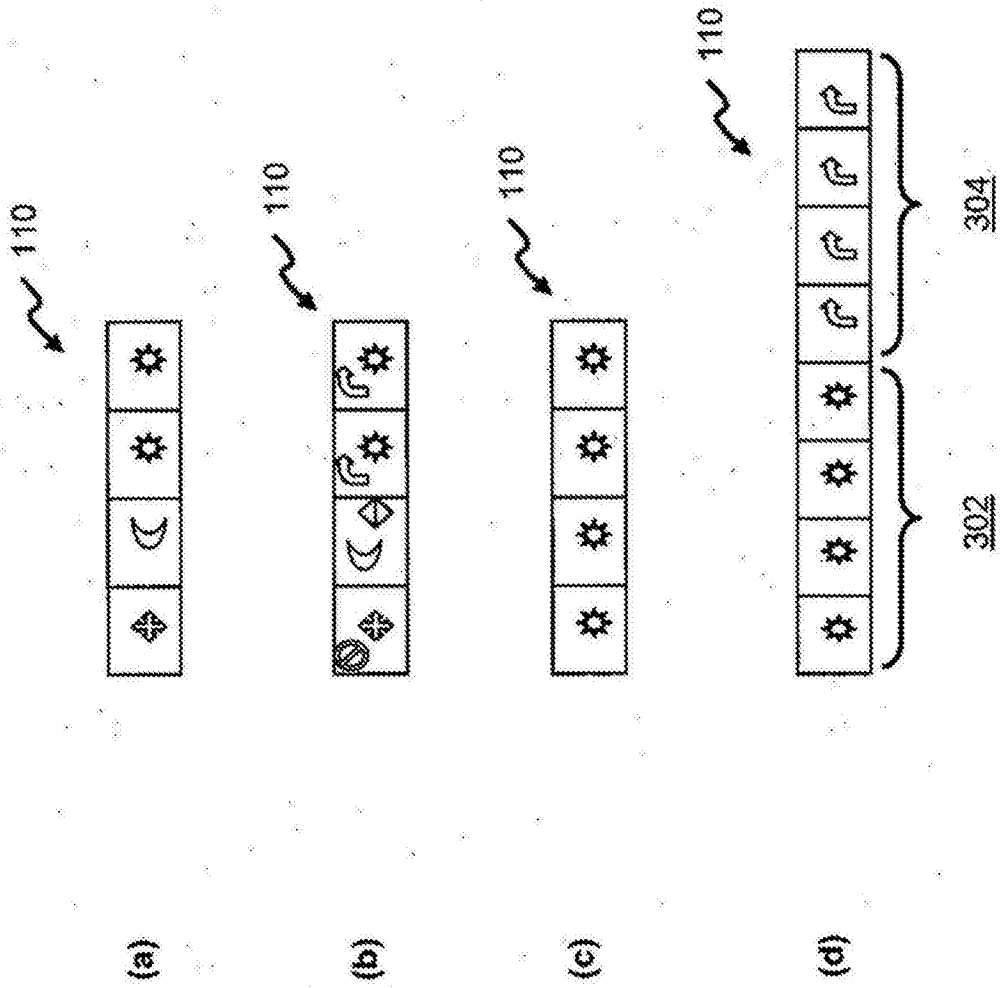


图3

步骤4A

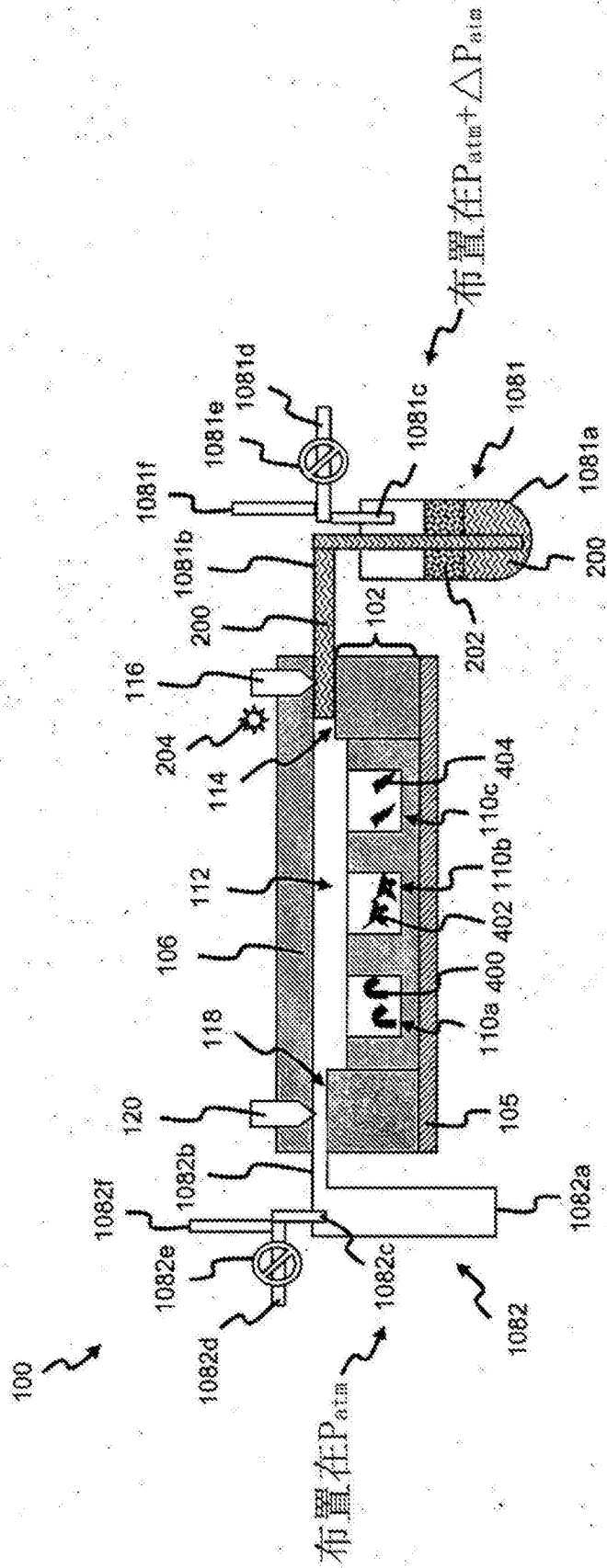


图4a

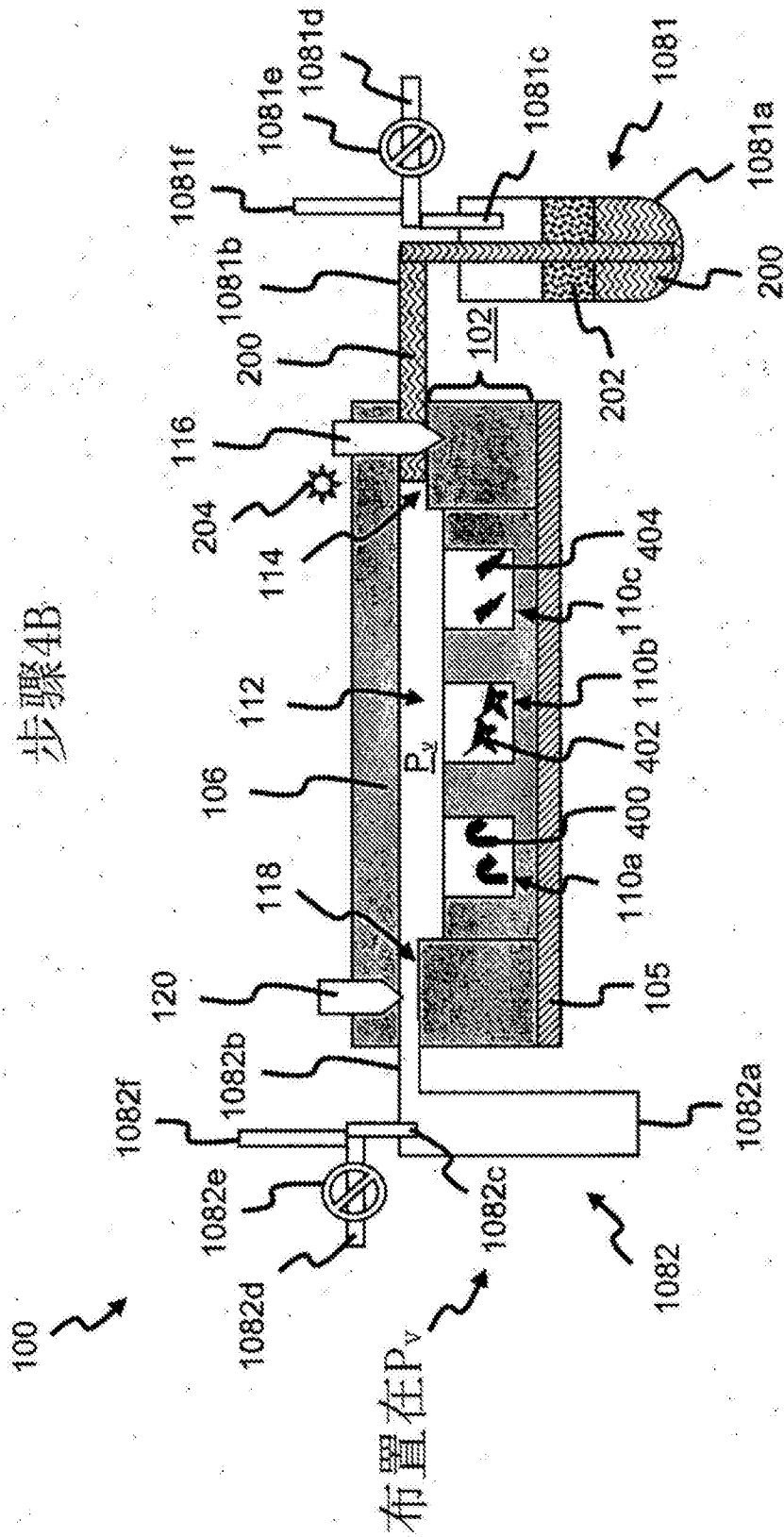


图4b

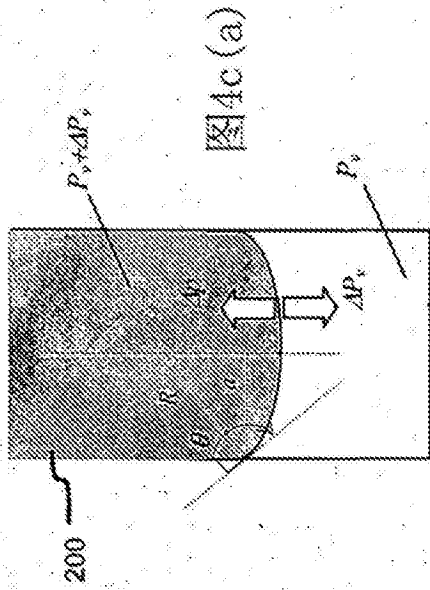


图4c(a)

步骤4C

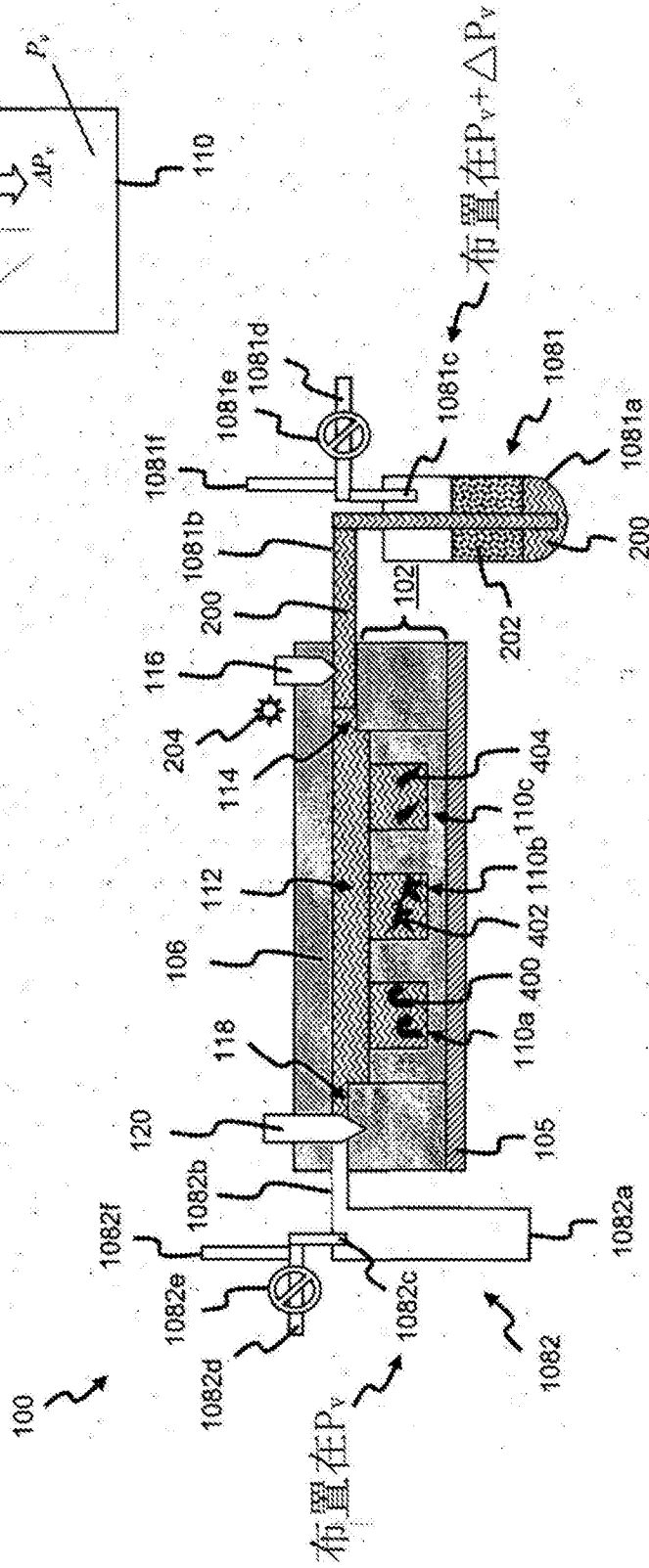


图4c



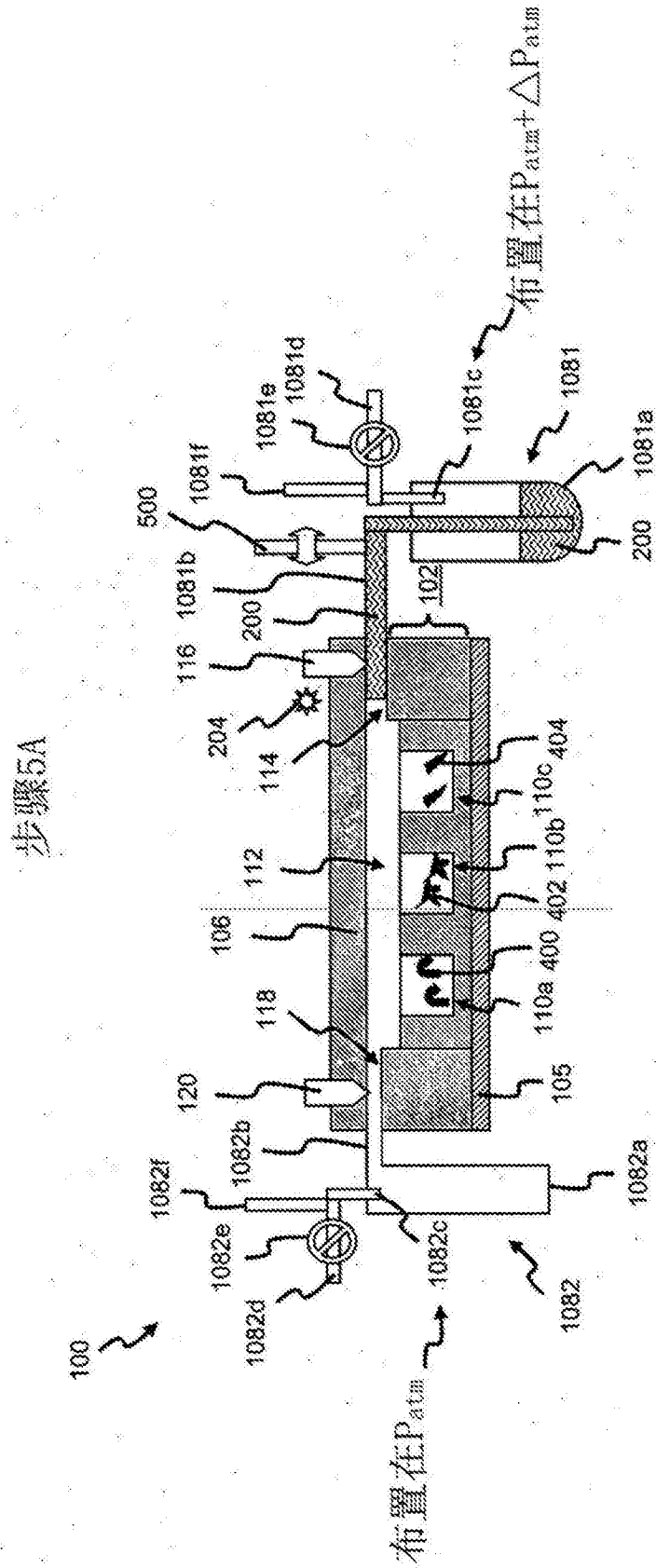


图5a

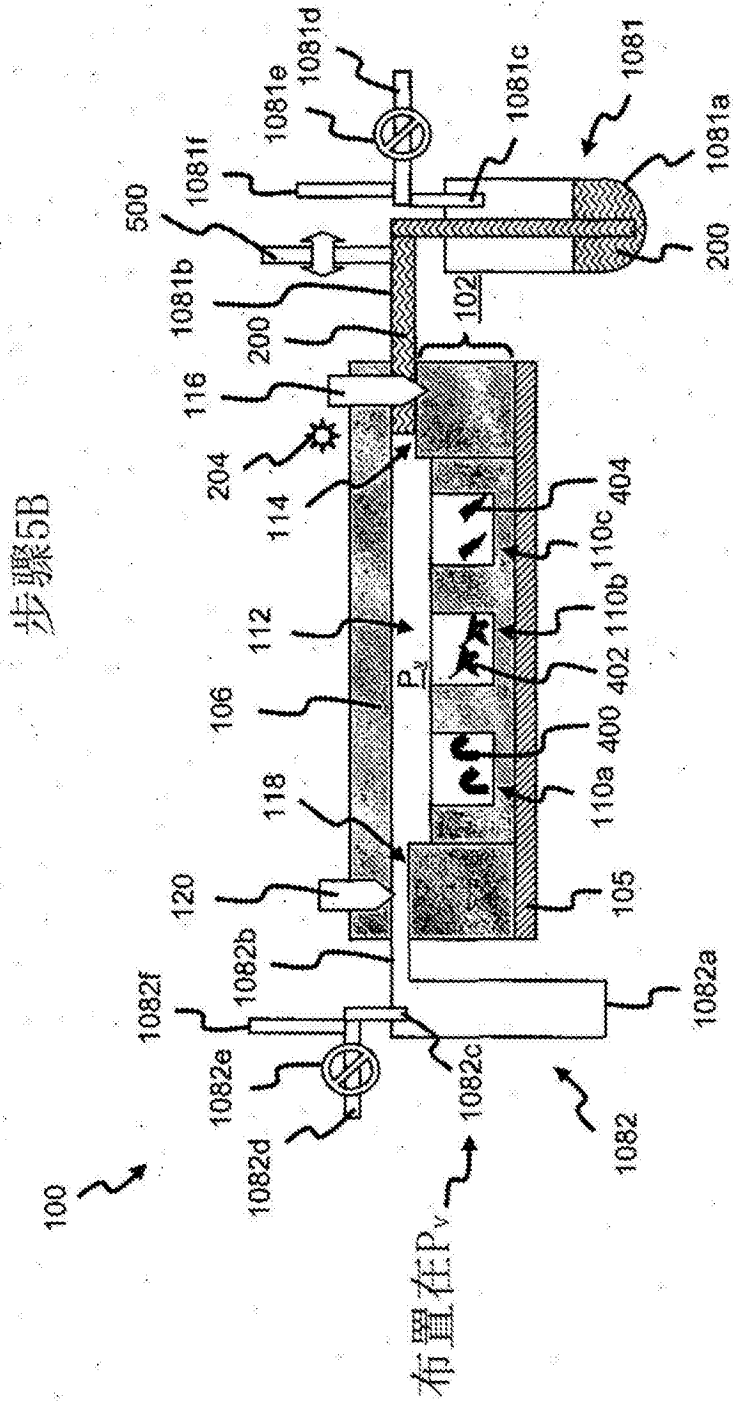


图5b

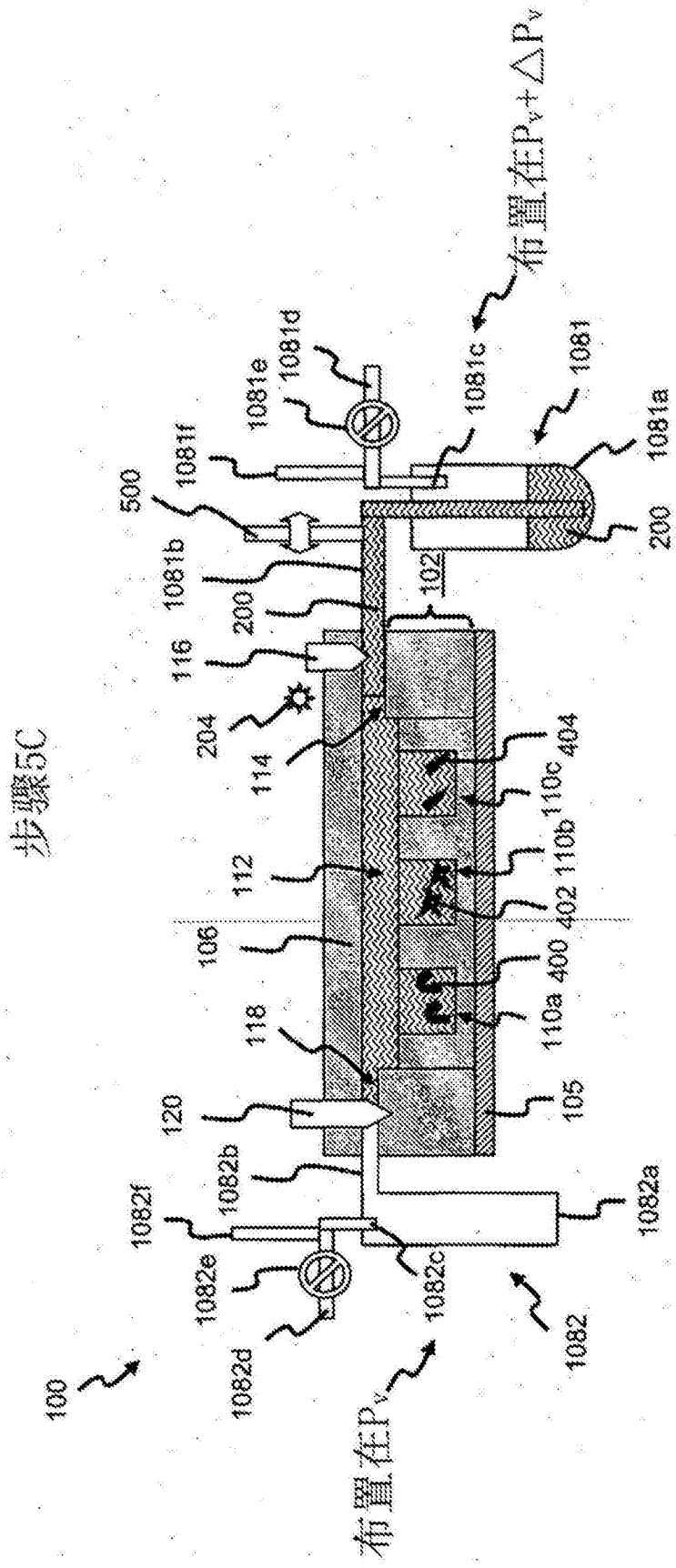


图5c

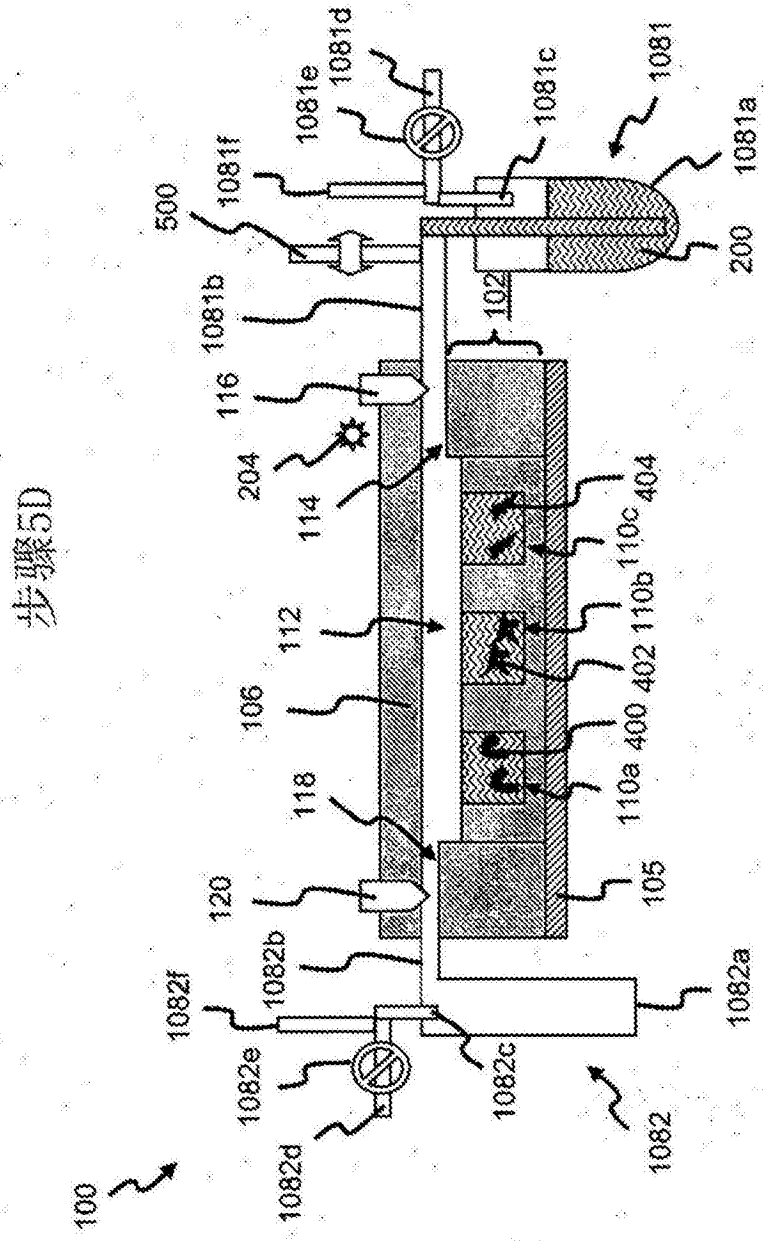


图5d

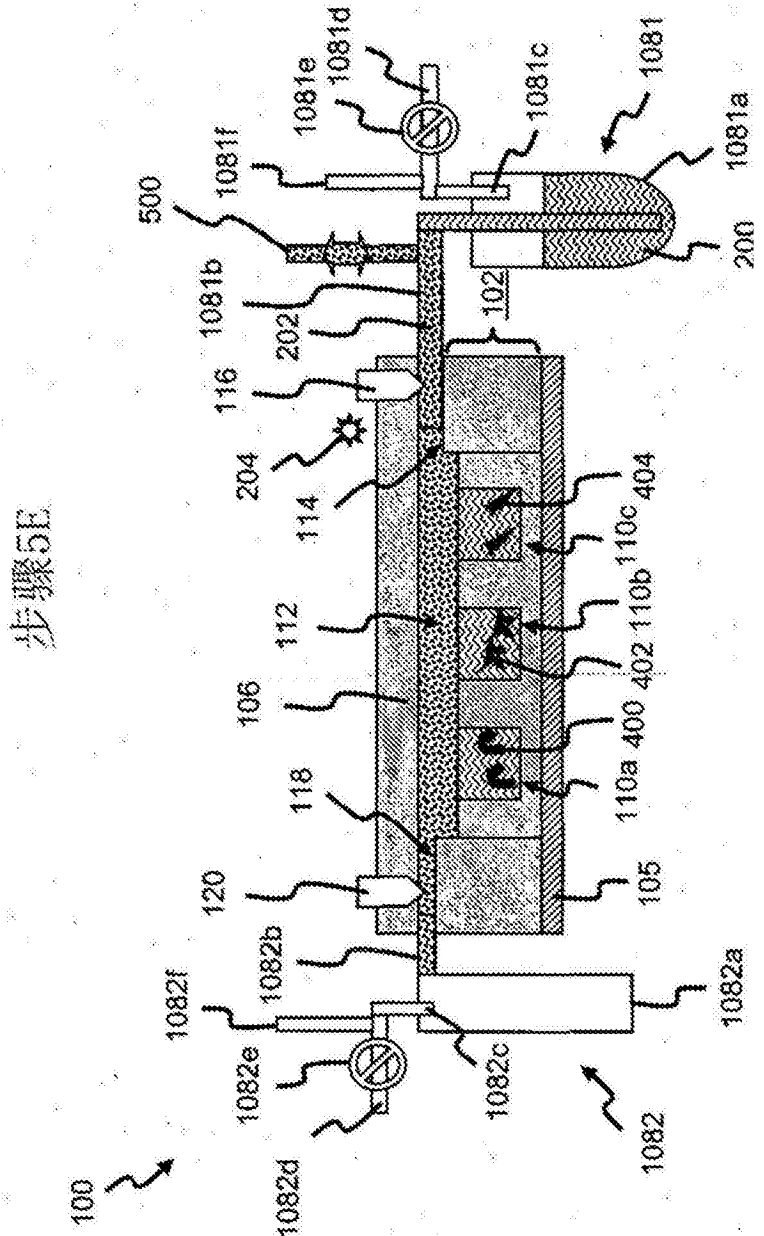


图5e

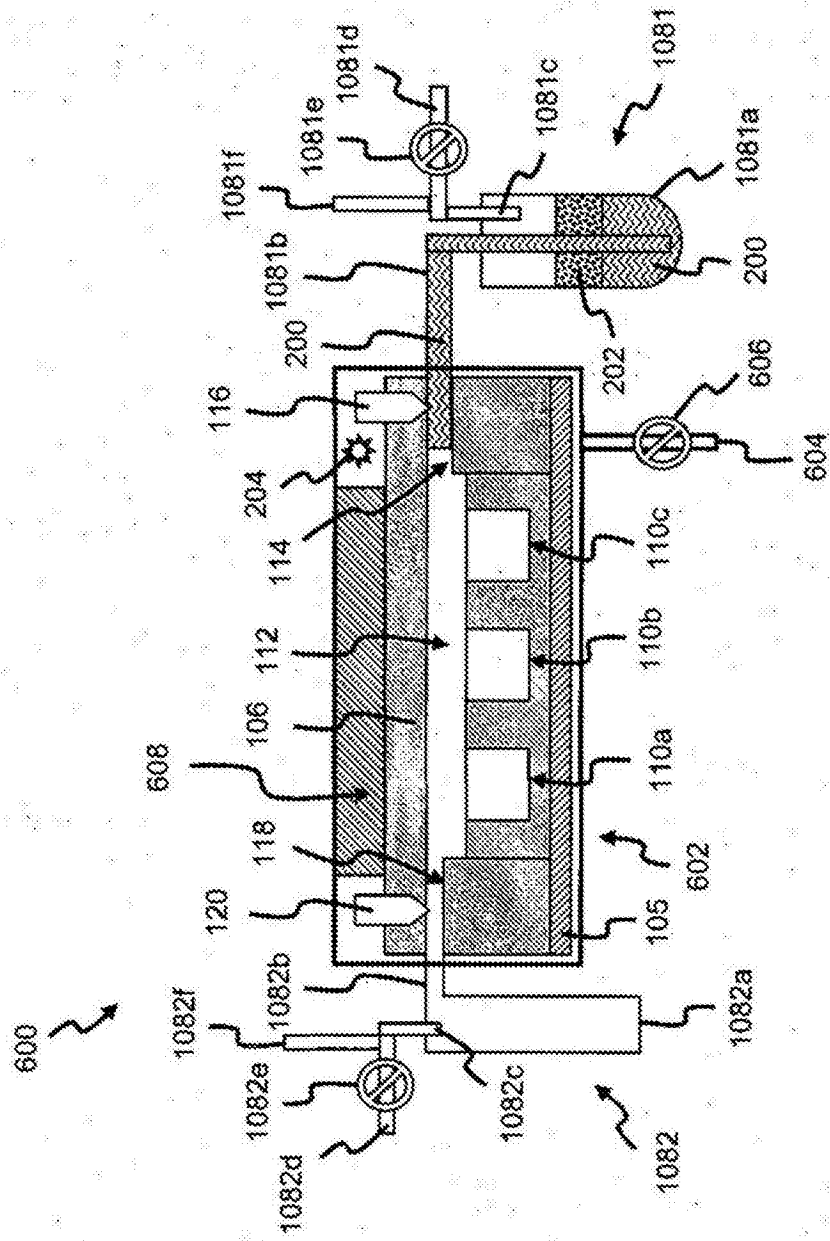


图6

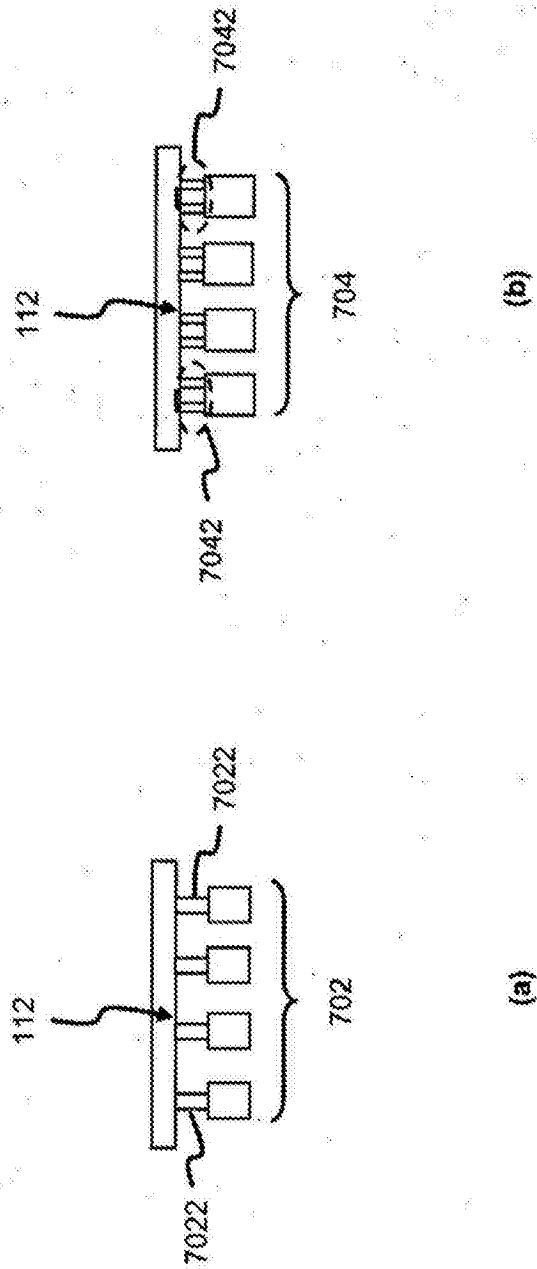
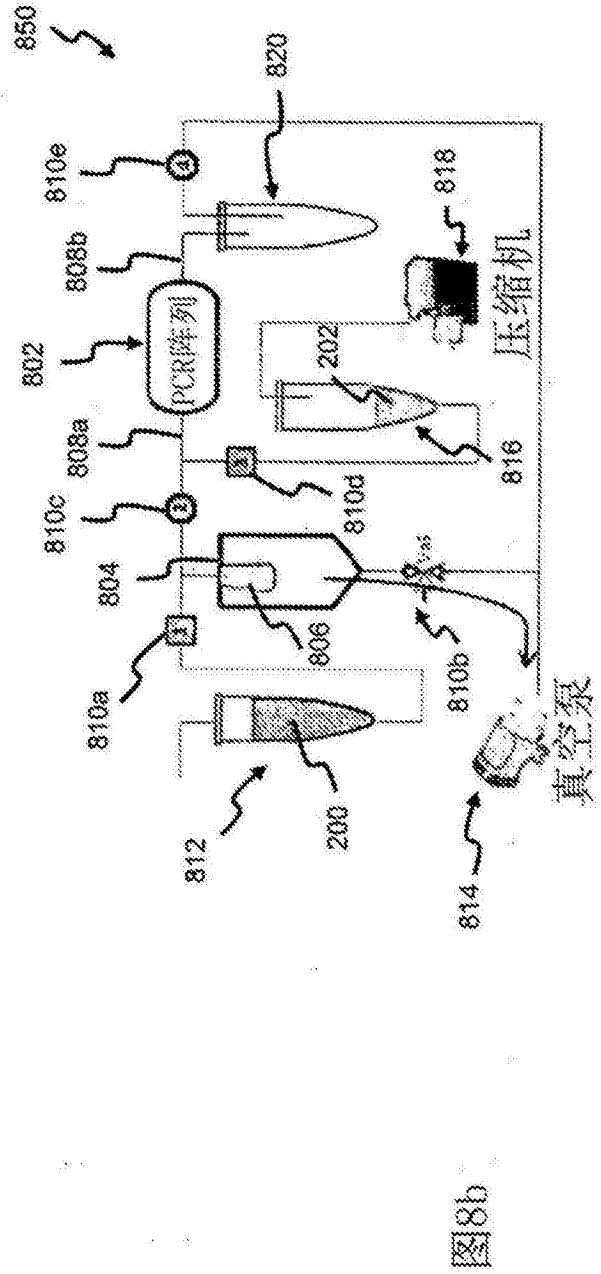
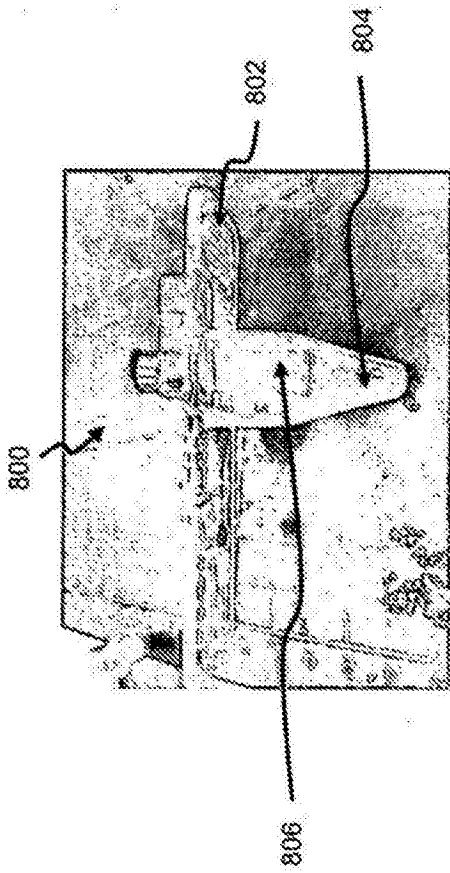
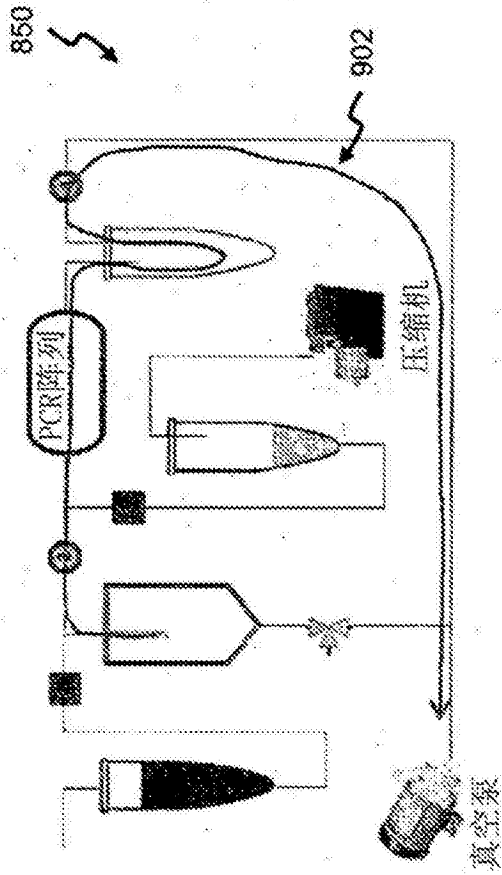
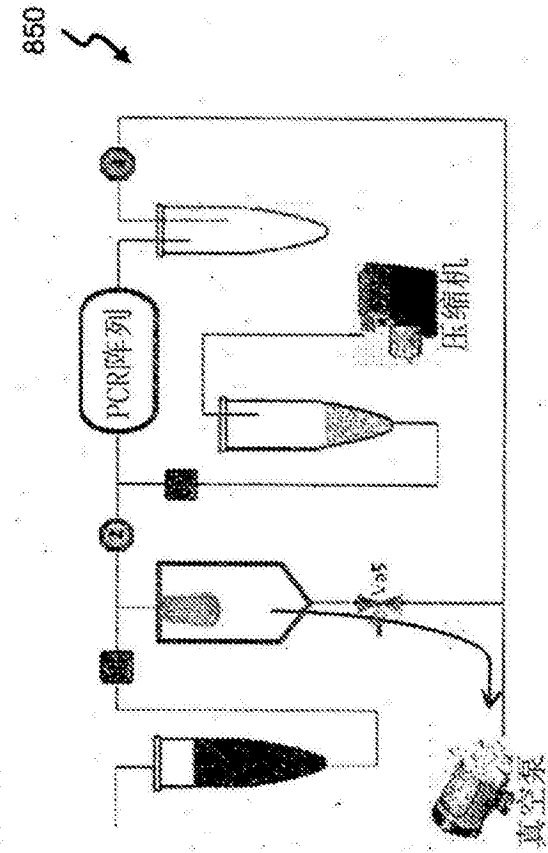


图7

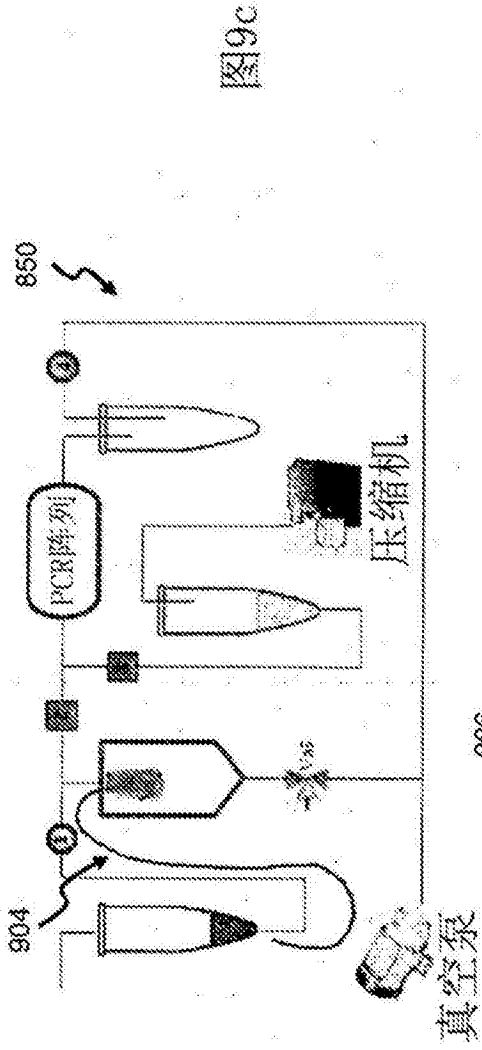




步骤9A

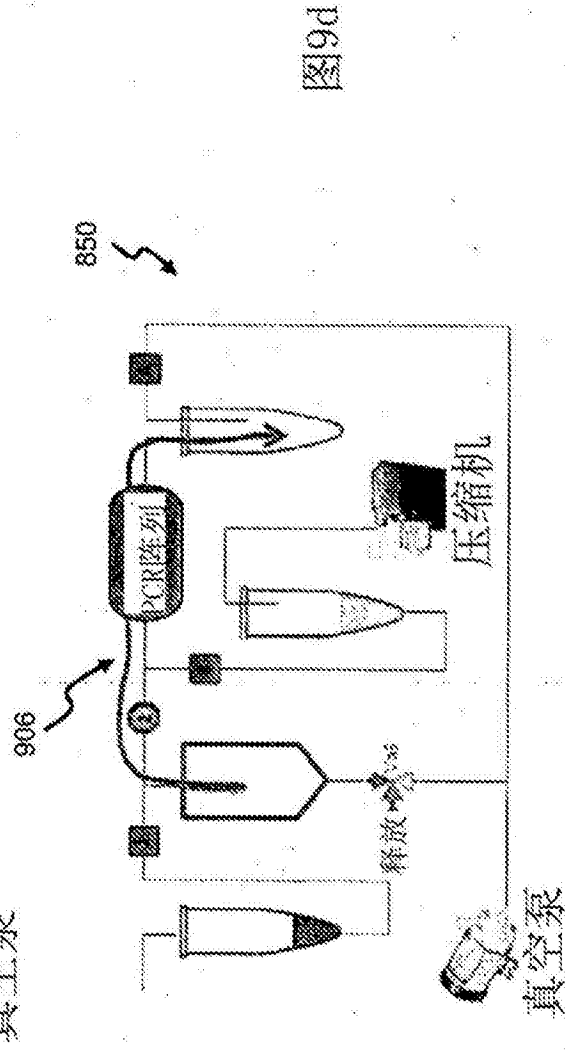


步骤9B



步骤9C

图9c



步骤9D

图9d

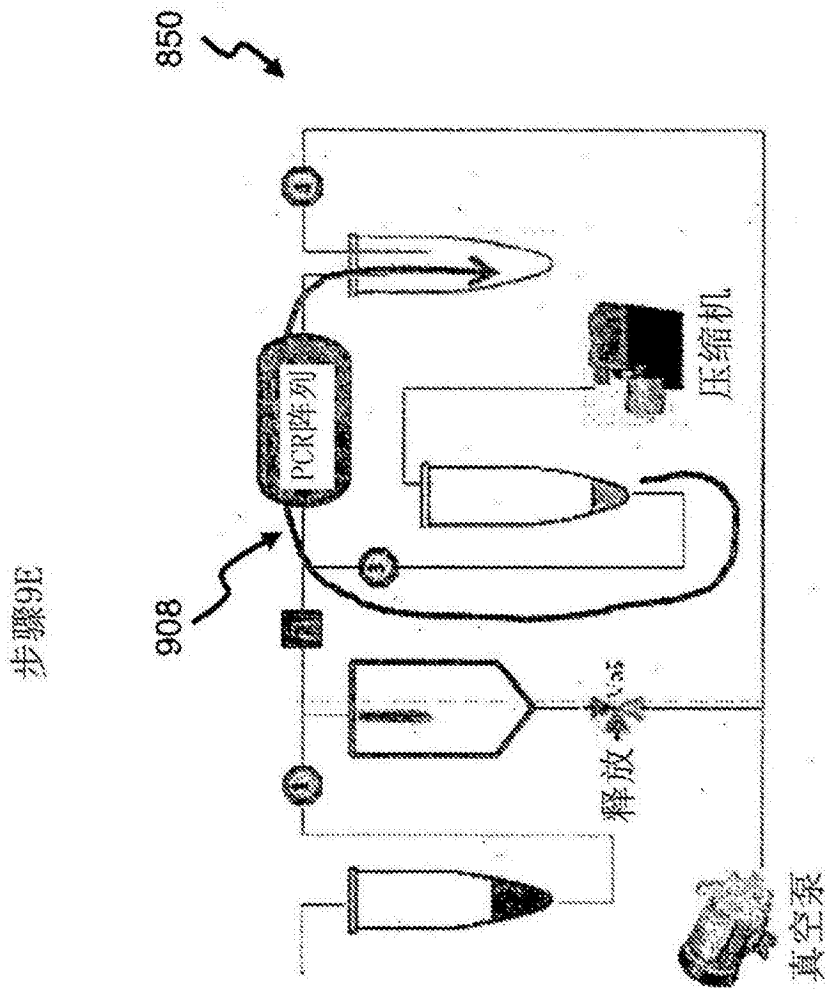


图9e

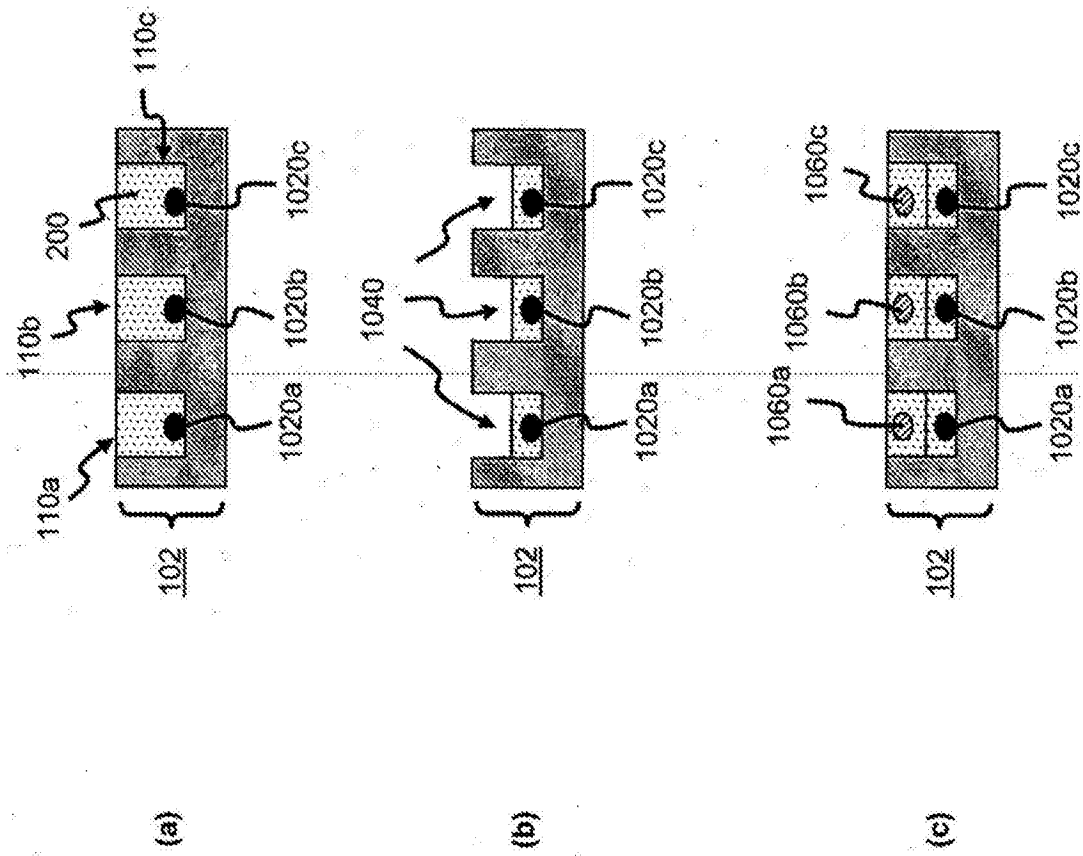


图10

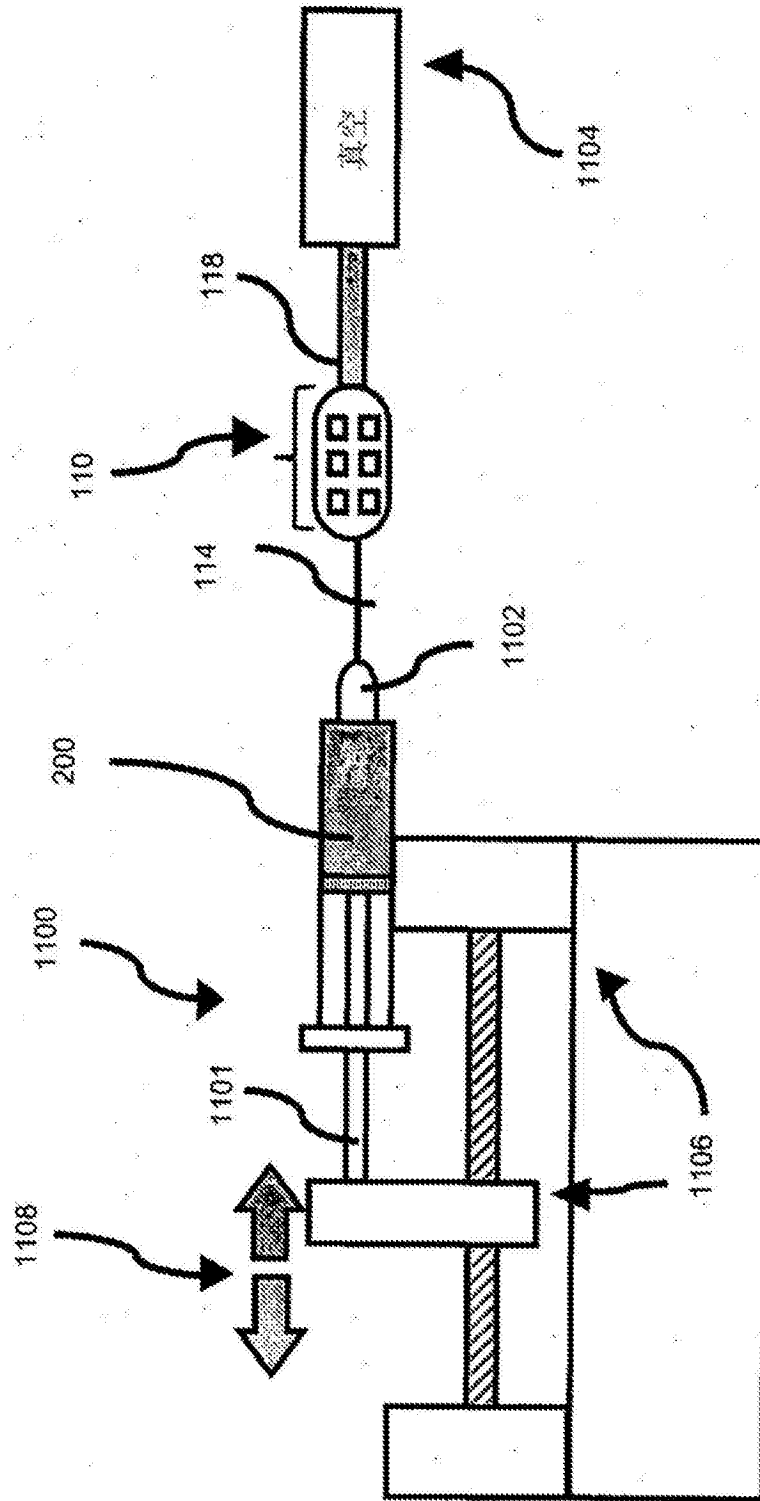


图11a

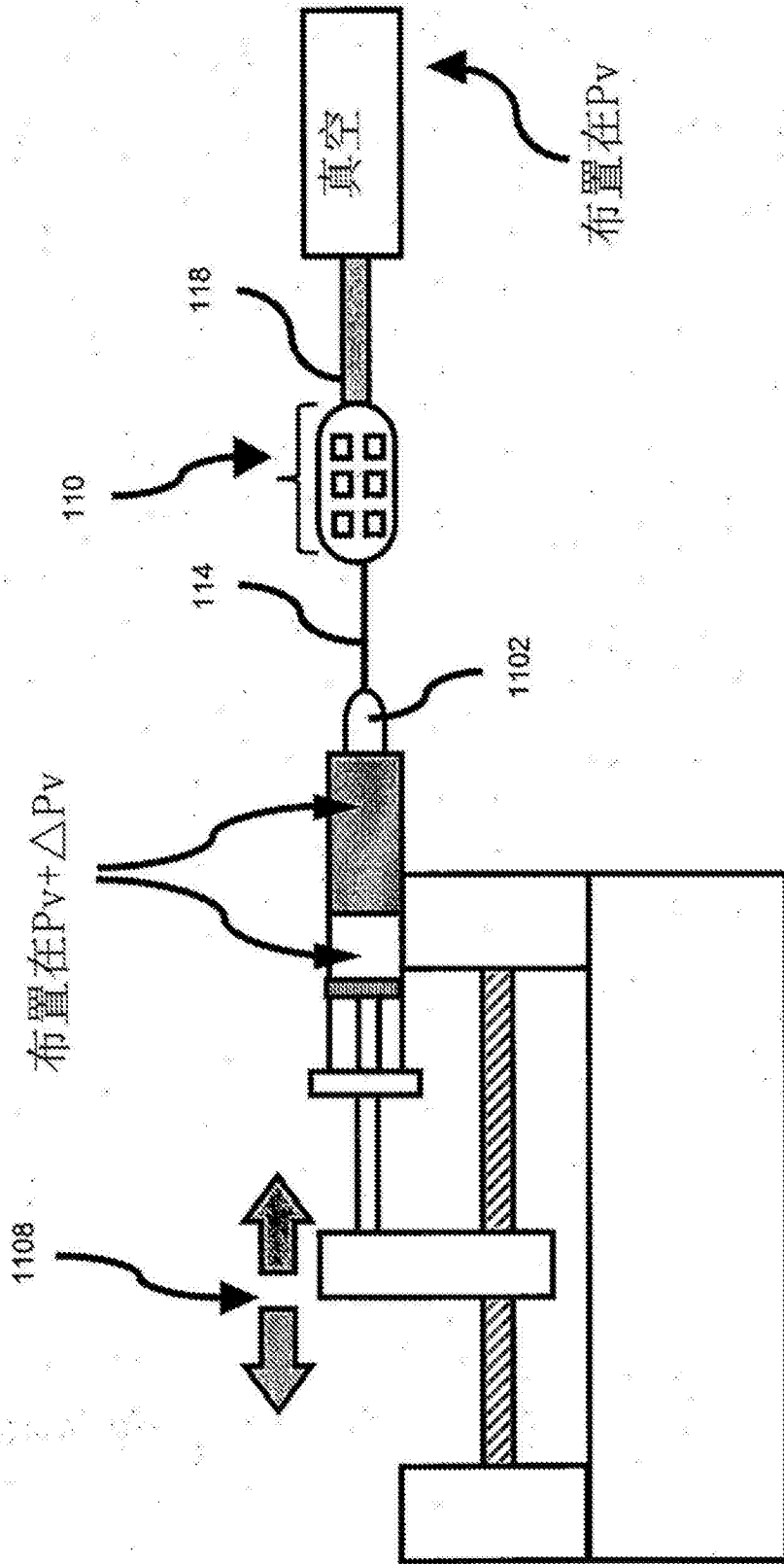


图11b (i)



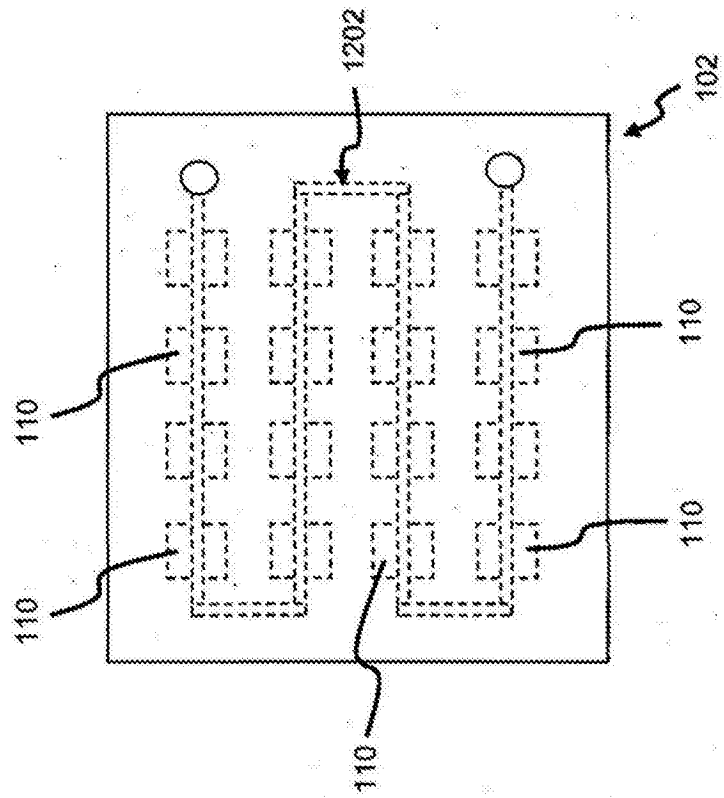


图12



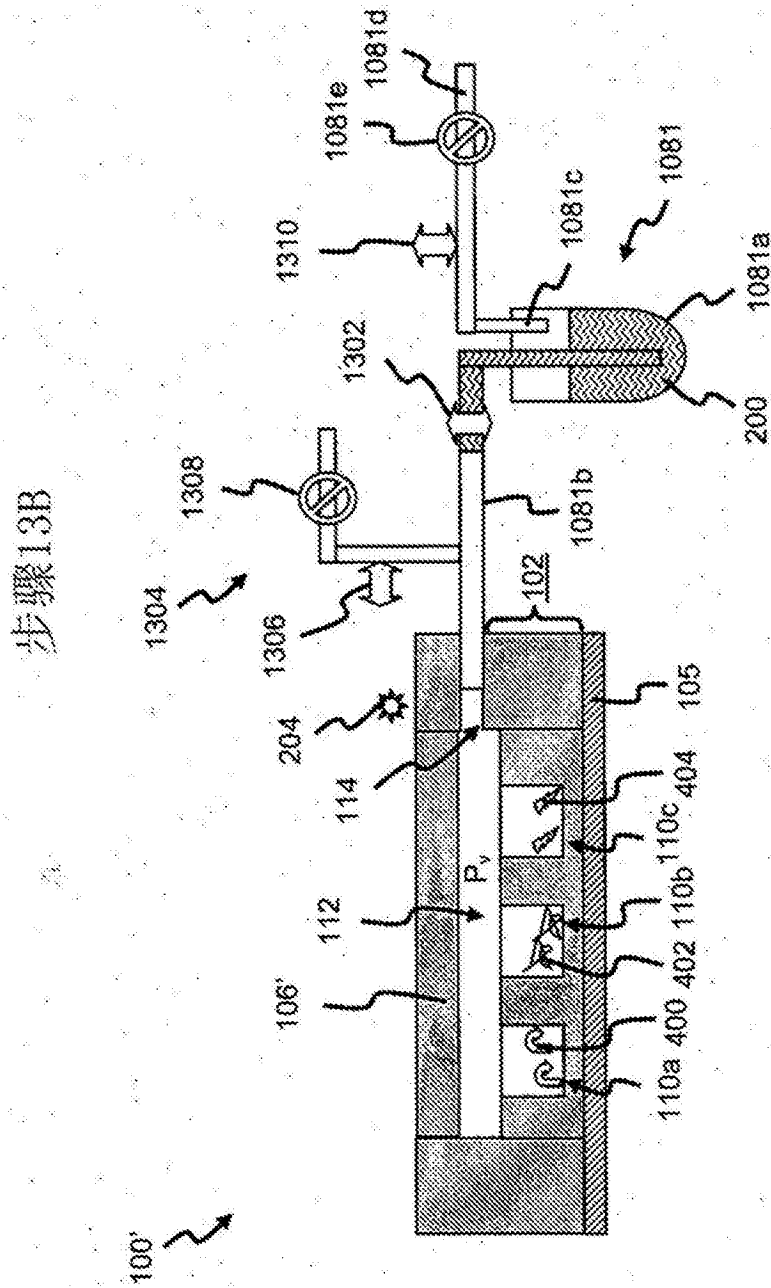


图13b

步骤13C

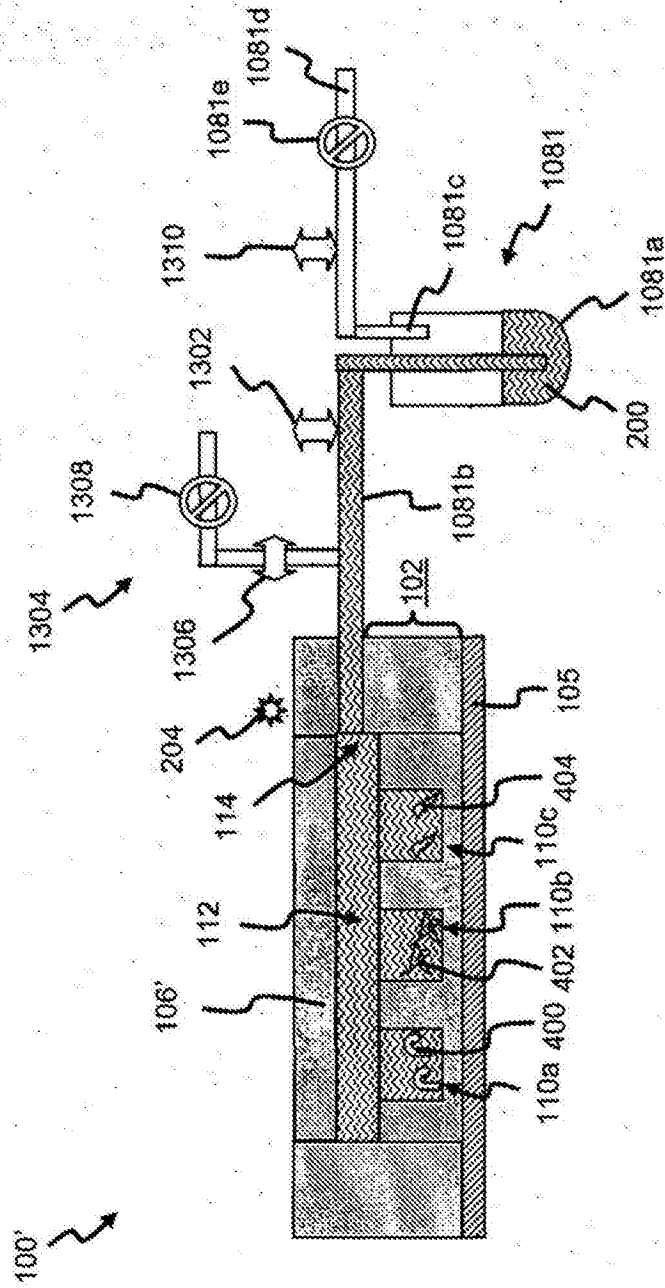


图13c

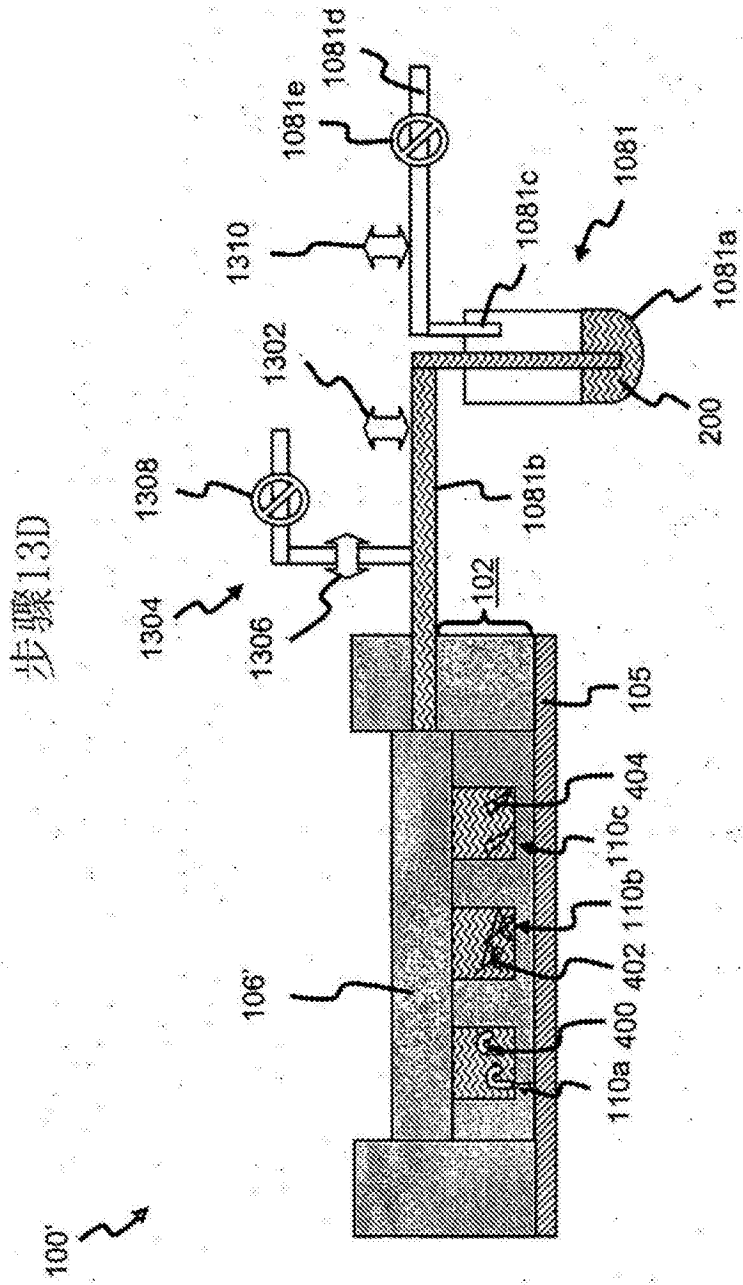


图13d

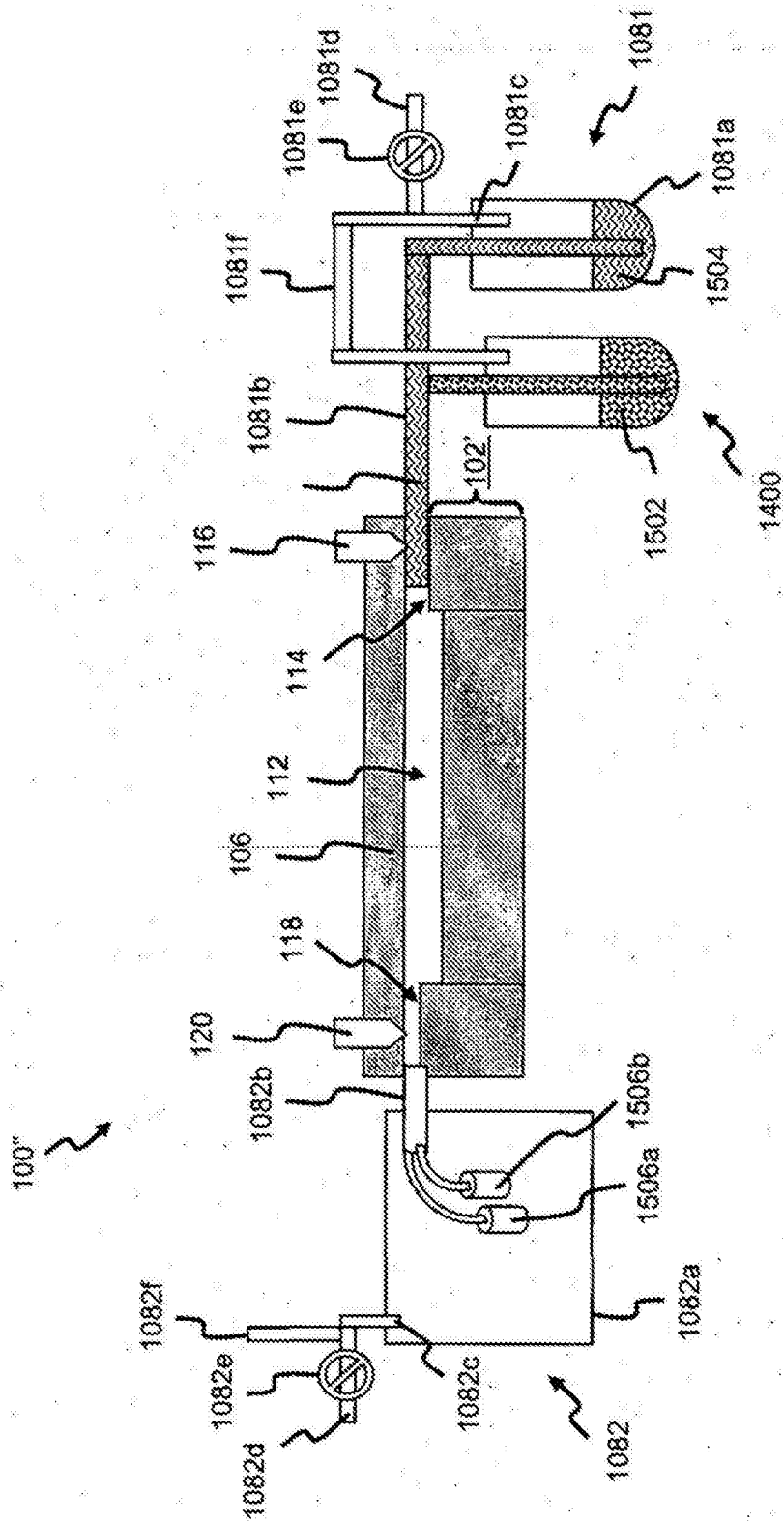


图14a

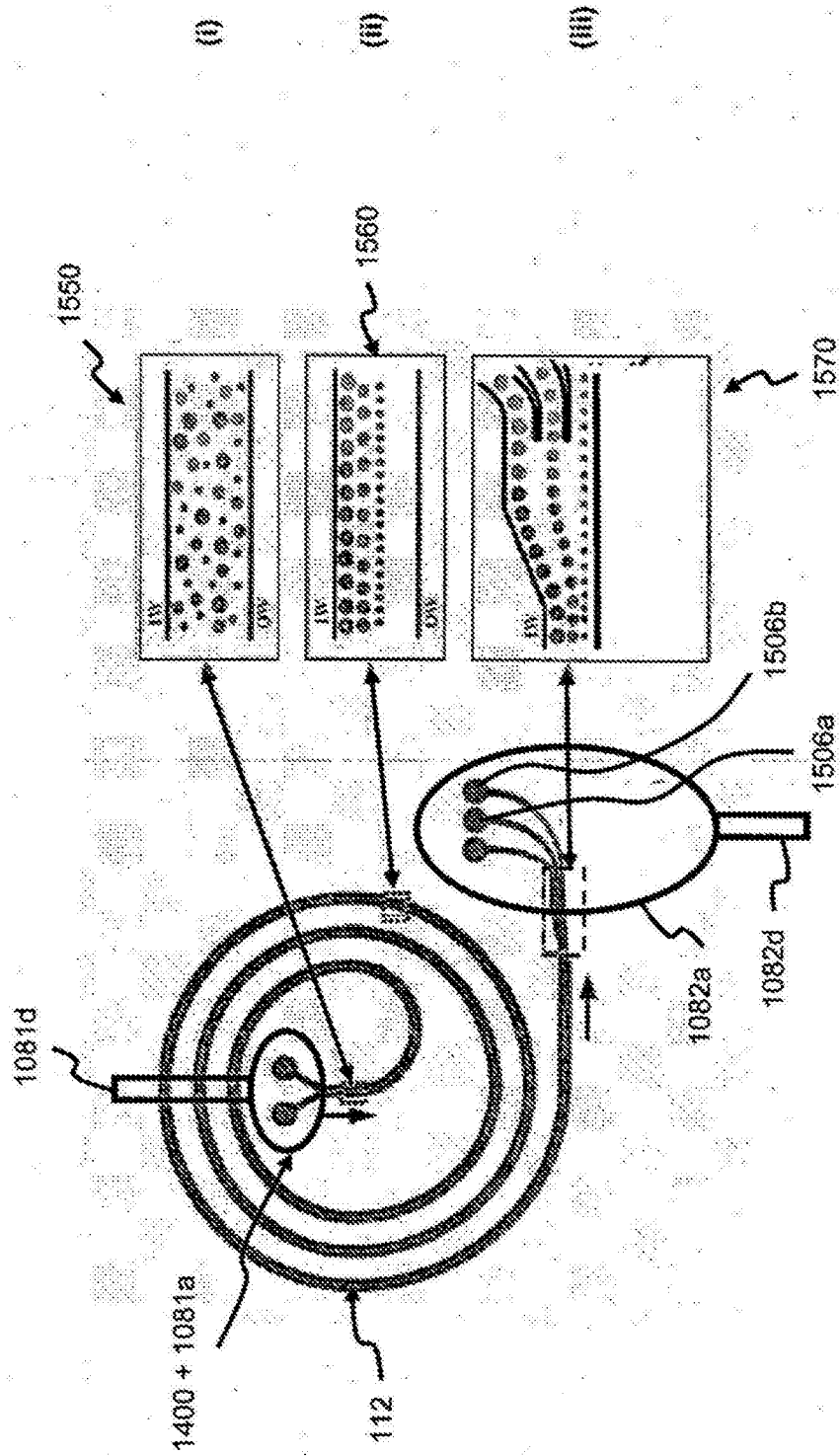


图14b