



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년03월19일

(11) 등록번호 10-2090934

(24) 등록일자 2020년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01) **B01J 19/00** (2018.01)
B01J 8/00 (2018.01)
(21) 출원번호 **10-2014-7018969**
(22) 출원일자(국제) **2013년01월09일**
심사청구일자 **2017년12월12일**
(85) 번역문제출일자 **2014년07월08일**
(65) 공개번호 **10-2014-0110925**
(43) 공개일자 **2014년09월17일**
(86) 국제출원번호 **PCT/US2013/020869**
(87) 국제공개번호 **WO 2013/106458**
국제공개일자 **2013년07월18일**
(30) 우선권주장
13/346,615 2012년01월09일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110021999 A
US20110041935 A1
WO2011123801 A1

(73) 특허권자
퍼킨엘머 헬스 사이언시즈, 아이엔씨.
미합중국 매사추세츠 (우편번호 02451) 월샘 윈터 스트리트 940
(72) 발명자
배트렐 씨. 프레더릭
미국 워싱턴 98052 레드몬드 노스이스트 28스 스트리트 18247
클레멘즈 존
미국 워싱턴 98052 레드몬드 174스 애비뉴 노스이스트 2554
스프레이그 이삭
미국 워싱턴 98004 벨뷰 아파트먼트 # 149 115스 노스이스트 3315
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 17 항

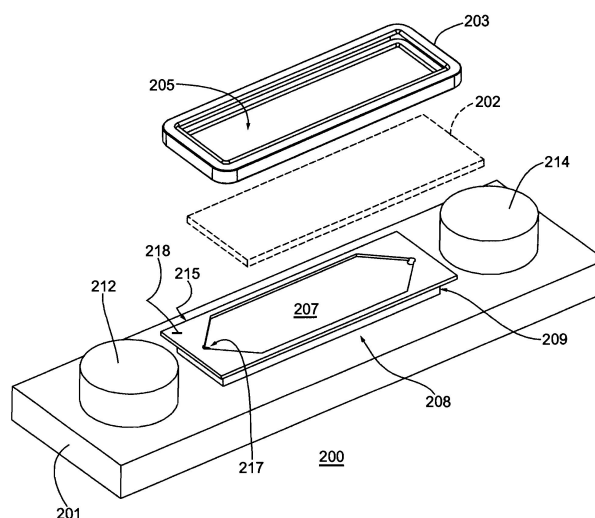
심사관 : 김민석

(54) 발명의 명칭 **마이크로유체 반응기 시스템**

(57) 요약

본 발명은 고체 평면형 기재, 예로서, 유리 슬라이드를 마이크로유체 회로에 작동식으로 결합하고, 평면형 기재의 면에 결합된 유기 물질에 대한 반응 또는 반응들을 수행하기 위한 소형 디바이스에 관한 것이다. 통상적 반응들은 결합, 염색 및/또는 라벨링 반응들을 포함한다. 사용시, 밀봉된 반응 챔버가 형성되고, 챔버는 유기 물질과 고체 기재의 적어도 일부를 수납한다. 고체 기재 사이의 밀봉된 챔버 내의 헤드공간은 일반적으로 마이크로유체 치수로 이루어지며, 다이어프램 펌프 부재들이 챔버 내에 유체들을 주입, 교환 및/또는 혼합하기 위해 사용된다.

대표도 - 도14



명세서

청구범위

청구항 1

반응 챔버 내의 기재 부재의 제1 특징부를 밀봉식으로 수납하기 위한 장치로서,

- a) 제1 표면을 가지는 베이스판 부재로서, 상기 제1 표면은 상부 중간에 배치되는 플랫폼을 포함하고, 상기 플랫폼은 상단 표면과 병치된 상기 기재 부재의 제1 특징부를 접촉식으로 수용하도록 치수설정된 상기 상단 표면과 그 둘레의 외측 에지들 및 외측 측벽 표면들을 가지고, 상기 상단 표면은 상기 상단 표면 상에 형성된 리세스를 갖고, 상기 리세스는 5 내지 100 마이크로미터 범위의 높이를 갖는 내부 벽들, 상기 내부 벽들의 저부 에지들을 연결하는 리세스형 슬래브, 및 상기 내부 벽들의 상단 에지들과 상기 플랫폼의 외측 에지들을 연결하는 경계 리지에 의해 한정되고, 상기 경계 리지는 상기 기재 부재의 제1 특징부를 상부에서 지지하고, 그에 의해, 상기 기재 부재의 제1 특징부가 평탄한 상기 경계 리지 상에 지지될 때 상기 리세스형 슬래브와 상기 기재 부재의 제1 특징부 사이에 헤드공간 체적을 가지는 반응 챔버가 형성되는, 상기 베이스판 부재;
- b) 상기 기재 부재와 상기 플랫폼의 상기 외측 에지들에 정합되어 상기 기재 부재의 제 1 특징부를 상기 경계 리지에 밀봉하는 개스킷 부재; 및
- c) 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프로서, 상기 제1 벨로우즈 펌프는 상기 반응 챔버로의 제1 유체 연결부를 갖고, 상기 제2 벨로우즈 펌프는 상기 반응 챔버로의 제2 유체 연결부를 가지며, 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들 중 적어도 하나는 상기 반응 챔버 외측에 배치된 하나 이상의 반응물 저장부들 또는 환기구들로의 하나 이상의 유체 연결부를 갖는, 상기 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프;를 포함하는 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 벨로우즈 펌프들은 공압식으로 구동되고, 양의 행정과 음의 흡입 행정을 갖는 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 벨로우즈 펌프들 각각에 양의 압력 펄스를 교번적으로 인가시켜 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들을 반복적으로 작동시킴으로써, 상기 제1 유체 연결부와 상기 제2 유체 연결부 사이에서 상기 반응 챔버로의 왕복 유동이 구동되는 장치.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 제1 벨로우즈 펌프에 양의 압력 펄스를 인가하고 상기 제2 벨로우즈 펌프에 흡입 압력 펄스를 인가하며, 그 후, 각 벨로우즈 펌프에 인가되는 상기 펄스들의 압력을 반전시켜 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들을 작동시킴으로써, 상기 제1 유체 연결부와 상기 제2 유체 연결부 사이에서 상기 반응 챔버로의 왕복 유동이 구동되는 장치.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 벨로우즈 펌프들은 자기적으로 구동되고, 양의 펌프 행정과 음의 펌프 행정을 가지며, 또한 상기 제1 벨로우즈 펌프의 제1 펌프 행정과 상기 제2 벨로우즈 펌프의 제2 펌프 행정의 극성을 교번적으로 반전시킴으로써, 상기 제1 유체 연결부와 상기 제2 유체 연결부 사이에서 상기 반응 챔버로의 왕복 유동이 가능해지는 장치.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 복수 쌍의 벨로우즈 펌프를 포함하고, 상기 쌍의 각 벨로우즈 펌프는 상기 반응 챔버에 대한 유체 연결부를 가지며, 상기 쌍들은 상기 반응 챔버를 통해 그리고 상기 반응 챔버를 가로질러 유체 유동을 구동하도록 배치되는 장치.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 장치는 상기 기재 부재 상의 관찰 영역에 액세스하기 위한 관찰 윈도우를 포함하는 장치.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 기재 부재 상의 관찰 영역에 액세스하기 위한 상기 관찰 윈도우는 상기 개스킷에 형성되는 장치.

청구항 9

제 7 항에 있어서, 상기 관찰 윈도우는 상기 관찰 영역의 외측에서 상기 기재 부재에 바 코드 라벨이 적용되도록 비울설정되는 장치.

청구항 10

삭제

청구항 11

제 1 항에 있어서, 상기 벨로우즈 펌프들 중 적어도 하나와 유체 연통하는 폐기물 출구를 더 포함하는 장치.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 기재 부재는 상부에 유기 물질이 접합되는 제1 면을 갖는 유리 슬라이드인 장치.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 상기 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프는 상기 플랫폼에 인접하게 배치되는 장치.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 플랫폼은 용기되는 장치.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 상기 개스킷 부재는 엘라스토머, 비닐 고무, 또는 실리콘으로 형성되는 장치.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 상기 개스킷 부재는 상기 경계 리지의 상단에서 상기 기재 부재를 덮어 밀봉식으로 수납하기 위한 신장가능한 웹 부재와, 그 둘레에서 상기 외측 에지들 및 외측 측벽 표면들을 밀봉식으로 결합하기 위한 주변 스커트 부재를 포함하는 장치.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 상기 개스킷 부재의 측방향 면 상에 컷아웃(cutout)이 형성되고, 상기 컷아웃은 상기 반응 챔버 내측의 상기 기재 부재의 제1 측면과 상기 반응 챔버 외측의 상기 기재 부재의 돌출 세그먼트를 밀봉식으로 수납하는 장치.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 상기 컷아웃은 기재 부재 또는 유리 슬라이드를 수용하도록 구성되되, 상기 기재 부재 또는 유리 슬라이드는 상기 기재 부재 또는 유리 슬라이드의 상기 돌출 세그먼트 상에 장착되는 전기적 접합부를 가지며, 상기 전기적 접합부는 상기 반응 챔버 내의 회로에 연결되는 장치.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생물학적 검정들의 일반적 분야에 관한 것으로, 특히, 고체 기재, 일반적으로, 유리 슬라이드 상에서의 세포, 효소, 화학 및 분자 생물학적 프로세스들을 실시하는 마이크로유체 장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 관리 지점(예로서, 현장, 원격 영역들, 의사 집무실 및 병원의 병상에서 같이)에서 바이오마커들의 검출은 실시간 진단 정보를 제공하고, 환자 관리 결과들을 개선시키고, 샘플 체적들을 감소시키고, 그 중 다수가 비교적 비

침해적으로 취득될 수 있는 폭넓은 범위의 생물학적 샘플들로부터 분석 정보를 제공하는 가능성을 갖는다.

[0003] 마이크로유체 디바이스 테스트 포맷의 임상적 검정들의 개발에 관련한 공동 양도된 특허들 및 특허 출원들은 PCT 공보 제W0200201184호("Fluid Mixing in Microfluidic Structures"), 미국 특허 제6,743,399호("Pumpless Microfluidics"), 미국 특허 제6,488,896호("Microfluidic Analysis Cartridge"), 미국 특허 출원 공보 제 20050106066호("Microfluidic Devices for Fluid Manipulation and Analysis"), 미국 특허 출원 공보 제 20020160518호("Microfluidic Sedimentation"), 미국 특허 출원 공보 제20030124619호("Microscale Diffusion Immunoassay"), 미국 특허 출원 공보 제20030175990호("Microfluidic Channel Network Device"), 미국 특허 출원 공보 제20050013732호("Method and System for Microfluidic Manipulation, Amplification and Analysis of Fluids, For Example, Bacteria Assays and Antiglobulin Testing"), 미국 특허 제6,581,899호("Valve for Use in Microfluidic Structures") 및 PCT 공보 제W02007/064635호("Microfluidic Cell Capture and Mixing Circuit")를 포함하며, 이들 모두는 여기에 그 전문가들이 참조로 통합되어 있다. 또한, 여기에는 마이크로유체 밸브 구조체들에 관한 미국 특허 제6,729,352호가 참조로 통합되어 있다.

[0004] 모세관 작용은 예로서, 미국 특허 제5,415,994호, 미국 특허 제5,658,723호 및 PCT 공보 제W0199633399호에 개시된 바와 같은 작은 일회용 진단 디바이스들을 설계하는 데 유용한 것으로 검증되었다. 그러나, 감수성을 개선하기 위해, 진화성 포획 동안의 혼합은 도움이 될 수 있다. 그러나, 혼합용 작은 체적들은 고유한 문제들이 없지 않다. 마이크로체적에서의 혼합의 문제는 예로서, 미국 특허 제6,468,807호, 제6,916,113호, 제6,872,566호 및 제6,729,352호("슬릿 혼합기"를 개시)와, Hardt, S. 등("Passive Micromixers for Applications in the Microreactor and μ TAS Fields", Microfluid Nanofluid, vol. 1:108-118, 2005)에 의해 다양하게 해결된다.

[0005] 다른 관련 기술은 BioMicro Systems에 의해 판매되고, PCT 공보 제W02003015923호, 미국 특허 출원 공보 제 20050019898호 및 미국 특허 제7,223,363호에 개시되어 있는 Maui® Mixer를 포함한다. 이들 문헌들의 교시는 특허 유리 슬라이드에 대해 챔버를 밀봉하기 위한 개스킷형 조립체와 직선형 마이크로유체 챔버의 각 단부에 장착된 한 쌍의 가요성 블래더(bladder)들의 사용에 관한 것이다. 양호한 치수들이 제공되어 있으며, 청구범위는 일반적으로 평행 측부들을 갖는 직선형 챔버에 관한 것이다. 특히, 챔버의 높이는 일반적으로 10 내지 500 μ m이고, 높이는 길이 및 폭에 비하여 작다. 챔버의 벽들은 감소된 혼합 효율 및 기포들의 포획을 피하도록 유동의 축에 평행하게 연장하고 매끄러워지도록 선택된다. 미국 특허 제5,100,626호 및 제6,303,389호는 또한 평행한 채널 벽들을 교시하고 있다.

[0006] 혼합은 미국 특허 제6,326,211호의 초음파처리 및 미국 특허 제6,309,875호의 교반으로 달성된다. 또한, PCT 공보 제W0200201184호 및 제W0200170381호와 미국 특허 제6,287,850호, 제6,272,939호, 제6,158,712호, 제 5,922,591호 및 제5,639,428호도 참조하라. 그러나, 이들 방법들은 비교적 큰 샘플 체적들, 큰 혼성화 챔버들 및 관리 지점에 쉽게 적응되지 않는 불편하거나 복잡한 장비에 의존한다. 또한, 관련 문헌인 미국 특허 제 5,718,567호는 티타늄 다이아프램과 체크 밸브들을 갖는 마이크로스케일 다이아프램 펌프를 개시하며, Pelrine의 미국 특허 제7,052,594호는 마이크로유체 펌프들에 사용하기 위한 전기 작동식 다이아프램을 개시하며, Koh의 미국 특허 제6,843,263호는 기계적 작동기와 탄성 박막 덮개를 갖는 "변형가능한 챔버"를 구비한 마이크로유체 카드들을 개시하며, 막은 본체를 밀봉하도록 기능하며, 기계적 작동기는 막을 변형시키고 본체 내의 유체의 플러그들을 이동시키도록 기능하며, 유체 플러그의 왕복 유동을 생성하기 위해 환기 개구 및 막의 탄성에 의존한다. 유해한 샘플을 포함하는 개방 환기 시스템의 여압은 미국 특허 제5,718,567호의 교시들의 심각한 단점이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 그러나, 임상적 시편들의 일회용 마이크로유체 디바이스 기반 검정들의 사용을 고려할 때, 완전히 폐쇄된 "단일-도입" 시스템들의 디자인은 적절히 해결되지 않는다. 잠재적 감염성 인간 샘플들을 사용한 작업과 연계된 오염 위험들의 관점에서, 개스킷형 밀봉 수단을 갖는 디바이스 내로의 재밀봉가능한 도입은 종종 간단히 수용될 수 없다. 또한, 검정 포맷은 강인하여야 하며, 관리 지점에서 자동식 및 수동식 검정들 양자 모두에서 광범위한 바이오마커들과 함께 사용하도록 쉽게 적응되어야 한다. 이들 목적들을 달성하기 위해, 마이크로체적들을 위한 혼합 기술들의 추가적 개선이 필요하다.

[0008] 또한, 조직 시편들, 세포 시편들을 장착, 염색 및 검사하기 위해, 그리고, DNA 및 단백질 어레이들을 스크리닝하기 위해 빈번히 사용되는 유리 슬라이드들 같은 고체 평면형 기재들과 공존가능한 디바이스들이 또한 필요하다

며, 이에 한정되지 않고, 마이크로유체 치수를 가질 수 있는 시편들 위의 얇은 유체 층의 혼합을 촉진할 필요가 있다.

[0009] 따라서, 현장에서 진보들이 이루어져 왔지만, 상술한 기준들을 충족하는 마이크로유체 디바이스들에 대한 필요성이 본 기술 분야에 존재한다. 본 발명은 이들 필요성들을 해결하며, 추가적 관련 장점들을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0010] 재료들 및 소형화의 진보들은 이제 마이크로유체들에 기반한 생물검정들을 위한 디바이스들의 새로운 세대에 대한 이들 검정들의 적응을 가능하게 하며, 이들은 수조작 카트리지들(또한 "카드들"이라고도 지칭됨) 또는 자동화된 또는 반자동화된 기계 보조식 테스트들을 위한 카트리지들로서 형성될 수 있다. 마이크로유체 디바이스 기반 검정들은 작은 체적 샘플링이 가능하여 실시간으로 다양한 생물학적 유체들 및 샘플들로부터 관리 지점에서 결과들을 취득할 수 있으며, 선택적으로, 단일 사용 반응물 팩들로 동작하거나 완전 자족식이면서 전체적으로 수조작 작동될 수 있는 검정 카트리지들을 가능하게 한다.

[0011] 마이크로유체 디바이스 포맷의 완전 효소-연결 면역흡착 검정(ELISA) 시스템들은 바이오마커 분자들의 광범위한 스펙트럼의 검출을 위해 제공된다. 이런 디바이스들은 일반적으로 일회용이며 저비용이다. 강인한 마이크로유체 디바이스 포맷에 적응된 생물검정들은 타겟:친화성 포획 쌍들로서 항체/항원, 항원/항체, 항체/단백질 A, 글리코머/렉틴, 그리고, 일반적으로 신호 분자/수용체 같은 고체 상 친화성 포획 검정들을 포함한다. ELISA를 위한 양호한 고체 상 친화성 포획 검정 시스템들은 항체/항원, 항원/항체, 항체/단백질 A, 스트렙타비딘/아비딘 및 히스티딘/NTA 타겟:친화성 포획 쌍들을 포함한다. 효소 연결 항체들, 항원들, 스트렙타비딘 및 히스티딘-농후 단백질들은 일반적으로 입수할 수 있거나 본 기술 분야에 잘 알려진 기술들에 의해 합성될 수 있다. 면역친화성 포획 및 타겟 바이오마커 신호들의 태깅 또는 증폭을 위한 검출 시스템들은 예로서, 효소 연결 복소공액들 및 크로모제닉 기체들(면역 발색성 및 ELISA-유형 검출), 스트렙타비딘-효소 복소공액들(역시 ELISA-유형 또는 면역 발색성 검출에 의한), 항체-결합 비드들, 항원 결합 비드들(면역침전 또는 응집-유형 검출에 의한), 단백질 A-결합 비드들, 스트렙타비딘-결합 비드들 및 효소- 또는 비드-공액결합 단백질-히스티딘-니켈 킬레이트들을 포함한다. 태깅을 위한 비드들은 착색, 형광, 발광, 라디오 주파수 송신자들로 태깅 또는 다른 방식으로 결합이나 응집이 쉽게 검출되도록 라벨링될 수 있다. 적정(titration)들 및 결합 중성화 검정들은 또한 검출가능한 종료점들을 제공한다. 여기에 개시된 마이크로유체 디바이스 기반 면역검정들은 또한 친화성 집중 단계 또는 혼합시 자성 비드들의 사용을 예상한다.

[0012] 타겟 분석물을 고체 상 친화성 포획 작용제 및 반응물들과 접촉시키기 위해 요구되는 바와 같은 작은 체적들의 혼합은 친화성 포획 부위를 가로지른 왕복 유동을 생성하기에 유용한 여기서 "벨로우즈 펌프들"이라 명명되는 다이어프램 펌프들에 의해 달성되며, 친화성 포획 부위는 한 쌍의 이런 펌프들 사이에 배치된다. 정제 액체는 친화성 포획 부위 또는 부위들을 포함하는 중앙 챔버와 펌프들 사이에 위치한 "유동 긴축" 또는 "유동 포커싱" 개구의 사용에 의해 파괴되어 임펠러에 대한 필요성을 제거하고 인큐베이션 시간을 감소시킨다. 평균 유동 속도는 포커싱 개구들에 의해 증가되어 혼합 및 마이크로 스케일의 Penberthy 이덕터의 혁신적 적응을 돕는 난류 또는 근사 난류 유동의 출구 운무 마이크로와류 특성을 유발한다. 이 혼합 방법은 여기서 "마이크로 추출 혼합" 또는 "추출 혼합"이라 지칭된다. 마이크로유체 디바이스의 본체 내부에서 벨로우즈 펌프들을 쌍으로 형성함으로써, 시스템은 동작 동안 완전히 폐쇄될 수 있고(환기 없이), 이는 디바이스의 내용물에 대한 작업자 노출에 대한 유용한 예방조치이다.

[0013] 디바이스 또는 장치로서, 제1 유동 긴축 개구에 의해 검정 챔버에 유체 연결된 제1 벨로우즈 펌프와 제2 유동 긴축 개구에 의해 검정 챔버에 유체 연결된 대향 제2 벨로우즈 펌프의 조합이 여기에 개시되어 있으며, 벨로우즈 펌프들이 직렬 동작을 위한 공압 작동기들로 구성되어 환기 없이 유체가 검정 챔버를 통해 전후로 펌핑되며, 또한, 제1 및 제2 유동 긴축 개구들이 마이크로 추출 혼합을 위해 구성되고, 검정 챔버는 이질 결합 검정을 위한 친화성 포획 부위를 추가로 포함한다.

[0014] 동작 프로세스로서, 마이크로유체 디바이스에서 이질 결합 검정을 위한 방법이 여기에 개시되어 있으며, 이는 환기 없이 친화성 포획 부위를 가로질러 타겟 분석물을 포함하는 유동화된 샘플을 전후로 펌핑하는 단계와 결합된 타겟 분석물을 검출하는 단계를 포함하고, 상기 펌핑 단계는 직렬 벨로우즈 펌프들에 의해 마이크로 추출 혼합하는 단계를 더 포함한다.

[0015] 예로서, 일 실시예에서, 이질 결합 검정들을 수행하기 위한 마이크로유체 카드가 개시되며, 이는 a) 검정 챔버에 제1 유동 긴축 개구에 의해 유체 연결된 제1 벨로우즈 펌프 및 b) 상기 검정 챔버에 제2 유동 긴축 개구에

의해 유체 연결된 제2 벨로우즈 펌프를 포함하고, i) 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들은 직렬 동작을 위한 공압 작동기들을 포함하여 유체가 환기 없이 상기 검정 챔버를 통해 전후로 펌핑되고, ii) 상기 제1 및 제2 유동 긴축 개구들은 마이크로 추출 혼합을 위해 구성되며, iii) 상기 검정 챔버는 이질 결합 검정을 위한 친화성 포획 부위를 더 포함한다.

[0016] 다른 실시예에서, 상기 카드는 a) 외부 표면들을 갖는 플라스틱 카드 본체로서, i) 제1 가요성 다이아프램에 의해 코로널 평면에서 양분되는 제1 펌프 공동을 포함하면서 상기 제1 가요성 다이아프램이 상기 제1 펌프 공동을 상부 절반 챔버와 하부 절반 챔버로 분할하는 상기 제1 벨로우즈 펌프와, ii) 제2 가요성 다이아프램에 의해 코로널 평면에서 양분되는 제2 펌프 공동을 포함하면서 상기 제2 가요성 다이아프램은 상기 제2 펌프 공동을 상부 절반 챔버와 하부 절반 챔버로 분할하는 제2 벨로우즈 펌프와, iii) 체적(V2)을 가지고 부동화된 친화성 작용제를 갖는 테스트 필드와 투명 덮개를 더 포함하는 검정 챔버로서, 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들의 상기 하부 절반 챔버들 양자 모두는 유체를 수용하도록 구성되고 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들의 상기 하부 절반 챔버들 양자 모두는 체적(V1) 및 직경(D1)을 갖는 검정 챔버를 상기 외부 표면들이 둘러싸고 있는 플라스틱 카드 본체와, b) 상기 제1 벨로우즈 펌프의 상기 상부 절반 채널에 공압 연결된 제1 작동기 채널 및 상기 제2 벨로우즈 펌프의 상기 상부 절반 챔버에 공압 연결된 제2 작동기 채널을 포함하고, 상기 제1 및 제2 작동기 채널들은 제1 및 제2 가요성 다이아프램들이 교번적으로 공압식으로 작동되어 상기 검정 챔버와 상기 제1 및 제2 유동 긴축 개구들을 통해, 그리고, 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들의 하부 절반 챔버들 사이에서 유체의 왕복 유동을 생성하도록 카드 외부 공압 압력 소스에 연결되도록 구성되며, x) 상기 제1 유동 긴축 개구는 최대 폭(Y1), 최대 깊이(Z1) 및 길이(L1)를 가지고, 상기 검정 챔버에 상기 제1 벨로우즈 펌프의 상기 하부 절반 챔버를 유체 연결하며, y) 상기 제2 유동 긴축 개구는 또한 최대 폭(Y1), 최대 깊이(Z1) 및 길이(L1)를 가지고 상기 검정 챔버에 상기 제2 벨로우즈 펌프의 상기 하부 절반 챔버를 유체 연결하며, z) 비율 Z1/D1 및 Y1/D1은 0.5 미만이다.

[0017] 또 다른 실시예에서, 상기 제1 및 제2 가요성 다이아프램들 각각은 상기 외부 표면들로부터 상기 플라스틱 카드 본체 내의 유체를 격리시키도록 상기 플라스틱 카드 본체에 밀봉 고착된 엘라스토머 필름으로 구성된다.

[0018] 또 다른 실시예에서, 마이크로유체 카드는 a) 유체 포팅을 위한 위생 수단과, b) 공기 환기를 위한 위생 수단과, c) 밸빙을 위한 위생 수단과, d) 폐기물을 포획하기 위한 위생 수단으로 구성되는 그룹으로부터 선택된 위생 수단을 더 포함한다.

[0019] 또 다른 실시예에서, 유체를 포팅하기 위한 상기 위생 수단은 상기 외부 표면들의 오염 없이 샘플 유체의 단일 도입을 위해 구성된 샘플 입구 포트를 포함한다.

[0020] 또 다른 실시예에서, 공기 환기를 위한 상기 위생 수단은 마이크로유체 카드로부터 유체의 탈출을 방지하도록 구성된 가스 투과성:물 불투과성 필터 배리어를 포함한다.

[0021] 또 다른 실시예에서, 밸빙을 위한 상기 위생 수단은 a) 상기 플라스틱 카드 본체의 마이크로공동으로서, 상부 벽, 하부 림 및 저부 플레이트를 갖는 마이크로공동과, b) 제1 비아에서 상기 저부 판을 통해 상기 마이크로공동에 진입하는 제1 마이크로유체 채널과, c) 제2 비아에서 상기 저부 판을 통해 상기 마이크로공동에 진입하는 제2 마이크로유체 채널로서, 상기 제1 및 제2 비아들은 밸브 문턱(valve sill)에 의해 분리되는 제2 마이크로유체 채널과, d) 상기 마이크로공동의 전체 원주 둘레에 상기 하부 림에 부착된 가요성 필름으로서, 상기 필름은 상기 저부 판에 대면한 제1 표면과 상기 상부 벽에 대면한 제2 표면을 가지며, 상기 가요성 필름은 상기 필름의 상기 제1 표면이 상기 제1 및 제2 비아들 양자 모두에 대해 밀봉 배치되는 제1 위치와 상기 필름의 상기 제2 표면이 상기 상부 벽에 접촉하는 제2 위치 사이에서 교번되도록 구성되는 가요성 필름과, e) 상기 상부 벽을 통해 상기 마이크로공동에 진입하며 상기 마이크로공동에 양 및 음의 압력을 공급하여 상기 외부 표면들로부터 상기 플라스틱 카드 본체 내의 유체를 격리시키면서 상기 제1 위치와 상기 제2 위치 사이에서 상기 가요성 필름을 이동시킴으로써 상기 밸빙을 위한 위생 수단을 작동시키도록 구성되는 마이크로유체 공압 제어 채널을 포함한다.

[0022] 또 다른 실시예에서, 폐기물을 포획하기 위한 상기 위생 수단은 a) 폐기물 유체 채널 단부와 환기 단부를 갖는 폐기물 수용 저장부, b) 상기 폐기물 수용 저장부 내에 배치되고 상기 폐기물 유체 채널 단부와 접촉하는 흡수성 매트 및 c) 폐기물 수용 저장부 내에 배치되고 상기 흡수성 매트와 면하는 제1 측부와 상기 환기 단부에 면하는 제2 측부를 가지는 가요성 필름을 포함하고, 상기 가요성 필름은 상기 플라스틱 본체에 대해 밀봉되고, 그래서, 상기 가요성 필름은 상기 환기 단부 및 상기 폐기물 유체 채널 단부를 분리시키고, 상기 환기 단부는 상기 플라스틱 본체의 상기 외부 표면을 벗어나는 환기구를 포함한다.

[0023] 또 다른 실시예에서, 상기 환기구는 가스 투과성:물 불투과성 필터 배리어를 더 포함한다.

- [0024] 또 다른 실시예에서, 상기 체적(V1), 직경(D1) 및 상기 개구 치수들(Y1, Z1, L1)은 마이크로 추출 혼합을 위해 구성된다.
- [0025] 제2 실시예에서, 온보드 폐기물 유체 격리 장치를 포함하는 마이크로유체 카드가 개시되며, 상기 온보드 폐기물 유체 격리 장치는 a) 폐기물 유체 채널 단부와 환기 단부를 구비하는 폐기물 수용 저장부를 둘러싸면서 외부 표면을 가지는 플라스틱 본체와, b) 상기 폐기물 수용 저장부 내에 배치되고 상기 폐기물 유체 채널 단부와 접촉하는 흡수성 매트(bat)와, c) 상기 폐기물 수용 저장부 내에 개별적으로 배치되고 상기 흡수성 매트에 대면하는 제1 측부와 상기 환기 단부에 대면하는 제2 측부를 가지는 가요성 필름을 포함하고, 상기 가요성 필름은 상기 가요성 필름이 상기 폐기물 유체 채널 단부와 상기 환기구 단부를 격리식으로 분리하도록 상기 플라스틱 본체에 대해 밀봉되고, 상기 환기구 단부는 상기 플라스틱 본체의 상기 외부 표면을 벗어나는 환기구를 더 포함한다.
- [0026] 다른 실시예에서, 상기 환기구는 가스 투과성:물 불투과성 필터 배리어를 더 포함한다.
- [0027] 제3 실시예에서, 임상적 샘플 상에 이질 결합 검정을 수행하기 위한 키트가 개시되며, 이는 상술한 실시예들의 마이크로유체 카드를 포함한다.
- [0028] 제4 실시예에서, 상술한 실시예들의 마이크로유체 카드를 포함하는 임상적 샘플 상에 이질 결합 검정을 수행하기 위한 키트가 개시되어 있다.
- [0029] 제5 실시예에서, 마이크로유체 디바이스의 이질 결합 검정들을 수행하기 위한 방법이 개시되어 있으며, 이는 a) 환기 없이 직렬 벨로우즈 펌프들 사이의 친화성 포획 부위를 가로질러 전후로 타겟 분석물을 포함하는 유동화된 샘플을 펌핑하는 단계와, b) 상기 친화성 포획 부위 상에 결합된 타겟 분석물을 검출하는 단계를 포함하고, 상기 펌핑 단계는 개구를 통해 상기 유동화된 샘플을 펌핑하는 단계와 상기 유동화된 샘플을 마이크로 추출 혼합하는 단계를 더 포함한다.
- [0030] 다른 실시예에서, 상기 친화성 포획 부위 상에 결합된 타겟 분석물을 검출하기 위한 상기 단계는 결합 크로모제닉 또는 형광 태그를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0031] 또 다른 실시예에서, 상기 친화성 포획 부위에 결합된 타겟 분석물을 검출하기 위한 상기 단계는 직접 또는 간접 ELISA에 의한 검출을 포함한다.
- [0032] 제6 실시예에서, 응집 검정들을 수행하기 위한 마이크로유체 카드가 개시되어 있으며, 이는 사형 채널, 비드 또는 셀을 포함하는 친화성 포획 작용제 및 온보드 폐기물 유체 격리 장치로부터 상류의 응집 반응을 검출하기 위한 광학 윈도우를 포함한다.
- [0033] 다른 실시예에서, 상기 온보드 폐기물 유체 격리 장치는 a) 외부 표면을 가지고, 폐기물 유체 채널 단부와 환기 단부를 갖는 폐기물 수용 저장부를 수납하는 플라스틱 본체와, b) 상기 폐기물 수용 저장부 내에 배치되고 상기 폐기물 유체 채널 단부와 접촉하는 흡수성 매트와, c) 상기 폐기물 수용 저장부 내에 개별적으로 배치되고 상기 환기 단부에 면하는 제2 측부와 상기 흡수성 매트에 면하는 제1 측부를 갖는 가요성 필름을 포함하고, 상기 가요성 필름은 상기 폐기물 유체 채널 단부와 상기 환기 단부를 상기 가요성 필름이 격리식으로 분리시키도록 상기 플라스틱 본체에 대해 밀봉되며, 상기 환기 단부는 상기 플라스틱 본체의 상기 외부 표면을 벗어나는 환기구를 추가로 포함한다. 또 다른 실시예에서, 상기 환기구는 가스 투과성:물 불투과성 필터 배리어를 더 포함한다.
- [0034] 대안적 실시예들이 또한 제공된다. 제1 대안적 실시예에서, 반응 챔버 내의 기재 부재의 제1 특징부 및 상부에 결합된 반응 유기 물질을 밀봉식으로 수납하기 위한 장치가 개시되어 있으며, 이 장치는 a) 제1 표면을 갖는 베이스판 부재로서, 제1 표면은 상부 중앙에 배치된 플랫폼을 포함하고, 플랫폼은 그 상단 표면과 병치된 기재 부재의 제1 특징부를 접촉식으로 수용하도록 치수설정된 상단 표면과, 외측 에지들 및 그 둘레의 외측 측벽 표면들을 갖고, 상단 표면은 5 내지 100 마이크로미터의 범위의 높이를 갖는 내부 벽들에 의해 형성되는 리세스, 내부 벽들의 저부 에지들을 연결하는 리세스형 슬래브, 및 플랫폼의 외측 에지들과 내부 벽들의 상단 에지들을 연결하는 평탄한 경계 리지에 의해 중단되며, 평탄한 리지는 상부에 기재 부재의 제1 특징부를 지지하고, 그에 의해, 평탄한 리지에 대해 밀봉될 때 기재 부재의 제1 특징부와 리세스형 슬래브 사이에 헤드공간 체적을 갖는 반응 챔버가 형성되는, 베이스판 부재와, b) 플랫폼의 외측 에지들에 정합되는 개스킷 부재와, c) 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프를 포함하는 한 쌍의 벨로우즈 펌프들을 포함하고, 제1 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 제1 유체 연결부를 가지고, 제2 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 제 2 유체 연결부를 가지며, 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들 중 적어도 하나는 반응 챔버 외측에 배치된 하나 이상의 반응물 저장부들 또는 환기구

들에 대한 하나 이상의 유체 연결부들을 가지며, 상기 쌍들은 상기 반응 챔버 내로, 그를 가로질러, 그리고, 그를 통해 유체 유동을 구동함으로써 챔버 내의 유체들을 주입, 교환 및 혼합하도록 배치된다.

[0035] 기재 부재의 제1 특징부는 일반적으로 유리 슬라이드 또는 실리콘 칩 같은 판형 고체의 평면형 면이다. 일 견지에서, 기재의 평면형 면은 반응 챔버 위의 뚜껑을 형성하고, 다른 견지에서, 반응 챔버는 평면형 면 위의 뚜껑을 형성할 수 있으며, 따라서, 반응 챔버는 두 개의 병치된 표면들 사이의 체적을 둘러싸는 얇은 트레이이다. 반응 챔버는 그 체적을 통과한 액체 반응물들에 의해 습윤되도록 밀봉된 챔버에 대해 노출된 평면형 기재의 면에 결합된 유기 물질을 둘러싸며, 이는 그 길이 및 폭이 가변적이지만 일반적으로 깊이는 마이크로유체 치수로 이루어진다.

[0036] 일반적으로, 제1 벨로우즈 펌프는 상기 헤드공간 체적의 제1 체적에 유체 연결될 것이며, 상기 제2 벨로우즈 펌프는 상기 헤드공간 체적의 제2 체적에 유체 연결될 것이다. 따라서, 벨로우즈 펌프들은 쌍을 형성하며, 벨로우즈 펌프들의 다수의 쌍들이 사용될 수 있다. 벨로우즈 펌프들은 공압식으로 구동될 수 있다. 공압 작용은 양의 행정 및 음의 흡입 행정을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 기재 부재의 면을 가로지른 왕복 유동은 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들을 반복적으로 작동시켜 양의 압력 펄스들을 각 상기 벨로우즈 펌프들에 교번적으로 인가하여 구동된다. 양호한 실시예에서, 왕복 유동은 또한 제1 벨로우즈 펌프에 양의 압력 펄스를 인가하고 제2 벨로우즈 펌프에 흡입 압력 펄스를 인가하며, 그 후, 각 벨로우즈 펌프에 인가된 압력 펄스들의 극성을 반전시킴으로써 구동될 수 있다. 대안적으로, 벨로우즈 펌프들은 전자석들에 의해 동력공급될 때 기계적으로 구동될 수 있다.

[0037] 하나의 옵션에서, 장치는 벨로우즈들의 복수의 쌍들을 포함하고, 상기 쌍의 각 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 유체 연결부를 가지며, 벨로우즈 펌프들의 쌍들은 반응 챔버를 통해, 그리고 그를 가로질러 전후로 유체 유동을 구동하도록 배치된다.

[0038] 반응 챔버에는 관찰 윈도우가 구비될 수 있고, 관찰 윈도우가 개스킷 또는 베이스판 내에 형성되거나 양자 모두에 형성되어 예로서 에피플루오레센트 및/또는 투과 현미경검사를 가능하게 한다. 벨로우즈 펌프들은 베이스판에 대한 플랫폼의 측부, 상단 또는 하부 같이 플랫폼에 대해 인접하게 배치될 수 있다. 플랫폼은 일반적으로 개스킷에 의한 반응 챔버의 밀봉을 촉진하도록 베이스판 위로 융기된다.

[0039] 일 실시예에서, 개스킷 부재는 경계 리지의 상단의 유리 슬라이드 또는 기재 부재의 제1 특징부 또는 세그먼트를 덮고 밀봉식으로 수납하기 위한 웹 부재와 플랫폼의 외측 에지들 및 외측 측벽 표면들과 밀봉식으로 결합하기 위한 주변 스커트 부재를 포함한다. 개스킷은 바람직하게는 실리콘 또는 비닐 고무 같은 엘라스토머로 몰딩되고, 관찰 윈도우는 일반적으로 웹에 형성된다.

[0040] 선택된 용례들에서, 컷아웃이 반응 챔버 내의 기재 부재의 제1 특징부를 밀봉식으로 수납하기 위한 개스킷의 측부 특징부와 반응 챔버 외측의 기재 부재의 돌출 세그먼트 상에 형성됨으로써 밀봉된 반응 챔버 외측으로 돌출 세그먼트를 노출시킨다. 컷아웃은 유리 슬라이드의 노출된 제2 세그먼트 상에 장착된 배선 하네스와 전극 어레이 접합부를 갖는 유리 슬라이드를 수용하도록 구성된다.

[0041] 다른 대안적 실시예에서, 밀봉된 반응 챔버 내의 기재 부재의 면 또는 특징부와 상부에 결합된 반응 유기 물질을 수납하기 위한 장치가 개시되어 있으며, 이는 a) 내부 트레이, 개스킷형 주변 레일들 및 정합된 기재 부재를 밀봉식으로 수용하여 밀봉된 반응 챔버를 형성하기 위한 단부-장착 클램핑 부재들을 갖는 하우징 본체를 구비한 슬라이드 미니카세트로서, 트레이는 제1 유체 연결 어댑터와 제2 유체 연결 어댑터를 구비하고, 어댑터들은 상기 슬라이드 미니카세트가 가역적으로 삽입되는 도킹 베이를 갖는 베이스판 모듈 내의 유체 회로와 상기 밀봉된 반응 챔버 사이에 유체 채널을 형성하는, 슬라이드 미니카세트와, b) 제1 표면을 가진 베이스판 모듈로서, 도킹 베이는 상부 중앙에 배치되고, 도킹 베이는 슬라이드 미니카세트를 수용하도록 치수설정된 리세스형 표면을 가지고, 도킹 베이는 밀봉 부재를 갖는 제1 유체 연결 채널과 밀봉 부재를 갖는 제2 유체 연결 채널을 가지며, 슬라이드 미니카세트의 제1 및 제2 어댑터들과 밀봉 결합될 때 제1 및 제2 채널들은 반응 챔버를 통해 유체 경로를 형성하는 베이스판 모듈과, c) 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프로써, 제1 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 제1 유체 연결부를 가지고, 제2 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 제2 유체 연결부를 가지며, 상기 제1 및 제2 벨로우즈 펌프들 중 적어도 하나는 반응 챔버 외부에 배치된 하나 이상의 반응물 저장부들 또는 환기구들에 대한 하나 이상의 유체 연결부들을 가지는, 제1 벨로우즈 펌프 및 제2 벨로우즈 펌프를 포함한다. 유리하게, 슬라이드 미니카세트는 복수의 동일한 베이스판 모듈들에 교체가능하게 도킹될 수 있도록 구성될 수 있다. 유사하게, 반응물 저장부 또는 복수의 저장부들은 상호교체가능하며, 이는 베이스판과 내부의 유체 회로에 제거가능하게 결합하기 위한 어댑터를 가진다. 반응물 저장부들은 키트들 내에 편리하게 패키징될 수 있으며,

각 반응물 저장부는 밀봉된 유체를 내부에 구비한다. 반응물 저장부를 분리가능하게 부착하기 위한 어댑터는 나사식 니플이며, 이는 베이스판 내의 압형 리셉터클과 밀봉식으로 결합하며, 압형 리셉터클은 베이스판 내의 유체 회로에 대한 유체 연결부를 구비한다. 유체는 벨로우즈 펌프들의 펌핑 작용에 의해 유체 저장부들로부터 인출된다.

[0042] 기재 부재의 제1 특징부는 일반적으로 유리 슬라이드 또는 실리콘 칩 같은 판형 고체의 평면형 면이다. 일 견지에서, 기재의 평면형 면은 하우징 본체 위에 뚜껑을 형성할 수 있고, 다른 견지에서, 하우징 본체는 기재의 평면형 면 위에 뚜껑을 형성할 수 있으며, 반응 챔버는 따라서 두 개의 병치된 표면들 사이의 체적을 둘러싸는 얇은 트레이이다. 미니카세트는 그 체적을 통과한 액체 반응물들에 의해 습윤되도록 밀봉된 챔버에 노출된 평면형 기재의 면에 결합된 유기 물질을 수납하고, 이는 길이 및 폭이 가변적이지만, 일반적으로 깊이가 마이크로 유체 치수로 이루어진다.

[0043] 일반적으로, 제1 벨로우즈 펌프는 상기 헤드공간 체적의 제1 체적에 유체 연결될 것이고, 상기 제2 벨로우즈 펌프는 상기 헤드공간 체적의 제2 체적에 유체 연결될 것이다. 따라서, 벨로우즈 펌프들은 쌍을 형성하고, 벨로우즈 펌프들의 다수의 쌍들이 사용될 수 있다. 벨로우즈 펌프들은 공압식으로 구동될 수 있다. 공압 작용은 양의 행정 및 음의 흡입 행정을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 기재 부재의 면을 가로지르는 왕복 유동은 제 1 및 제2 벨로우즈 펌프들을 반복적으로 작동시켜 양의 압력 펄스들을 각 상기 벨로우즈 펌프들에 교번적으로 인가함으로써 구동된다. 양호한 실시예에서, 왕복 유동은 또한 제1 벨로우즈 펌프에 양의 압력 펄스를 인가하고, 제2 벨로우즈 펌프에 흡입 압력 펄스를 인가하며, 그 후, 각 벨로우즈 펌프에 인가되는 압력 펄스들의 극성을 반전시킴으로써 구동될 수 있다. 대안적으로, 벨로우즈 펌프들은 전자석들에 의해 급전될 때 같이 자기 구동될 수 있다. 반응 챔버는 관찰 윈도우를 구비하며, 이는 개스킷 내에 또는 베이스판 내에 또는 양자 모두에 형성됨으로써 예로서 에피플루오레센트 및/또는 투과 현미경 검사를 가능하게 한다.

[0044] 하나의 옵션에서, 장치는 복수의 벨로우즈 펌프들의 쌍들을 포함하고, 상기 쌍의 각 벨로우즈 펌프는 반응 챔버에 대한 유체 연결부를 가지며, 벨로우즈 펌프들의 쌍들은 반응 챔버를 통해, 그리고 그를 가로질러 전후로 유체를 구동하도록 배치된다.

[0045] 베이스판 모듈 및 슬라이드 미니카세트는 수직 배향, 수평 배향 또는 반전 배향으로 동작되도록 구성되며, 다수의 기재 부재 기반 반응들을 동시에 수행하기 위해 자동화된 장치와 인터페이스연결될 수 있다.

[0046] 이들 및 본 발명의 다른 양태들은 첨부 도면 및 이하의 상세한 설명을 참조하여 명백히 알 수 있을 것이다.

[0047] 도면들에서, 동일한 참조 번호들은 유사한 요소들 또는 작용들을 나타낸다. 도면들 내의 요소들의 크기들 및 상대적 위치들은 반드시 크기대로 그려진 것은 아니다. 예로서, 다양한 요소들의 형상들 및 각도들은 크기대로 그려져 있지 않고, 이들 요소들 중 일부는 도면 식별성을 개선시키도록 임의적으로 확대 및 배치되어 있다. 또한, 도시된 바와 같은 요소들의 특정 형상들은 특정 요소들의 실제 형상에 관한 임의의 정보를 전달하도록 의도된 것은 아니며, 도면들의 식별의 용이성을 위해서만 선택되어 있는 것이다.

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 수동, 자동 또는 반자동 포맷의 면역검정을 위한 간단한 마이크로유체 카드의 일 실시예를 예시하는 도면.

도 2는 단일 샘플로부터 다수의 분석물들의 면역검정을 위한 간단한 마이크로유체 카드에 장착된 "테스트 스트립"을 예시하는 도면.

도 3은 자동 또는 반자동 사용을 위해 구성된 밸브들을 갖는 마이크로유체 면역검정 디바이스의 개략도.

도 4는 마이크로유체 공압 섷오프 밸브의 평면도.

도 5a 및 도 5b는 개방 및 폐쇄 위치들에서 도시되어 있는 마이크로유체, 공압 섷오프 밸브의 단면도들.

도 6은 유체 펌핑 및 혼합을 위한 마이크로유체 "벨로우즈 펌프"의 평면도.

도 7a 및 도 7b는 유체 펌핑 및 혼합을 위한 마이크로유체 "벨로우즈 펌프"의 단면도들.

도 8a 및 도 8b는 엘라스토머 내부 위생 격리 층을 갖는 마이크로유체 "폐기물 팩"의 단면도들.

도 9는 대표적 치수 및 디자인 고려사항들을 갖는 혼합 개구 및 벨로우즈 펌프의 개념적 모델.

도 10은 응집 검정을 위한 마이크로유체 디바이스의 일 실시예를 도시하는 도면.

도 11은 예 2의 검정의 결과들을 도시하는, 본 발명의 검정 챔버의 포토마이크로그래프로서, 양의 검정은 IgG로 라벨링된 테스트 구역(상부 바아)의 TMB 석출의 검은 색상 특성에 의해 표시되어 있는 포토마이크로그래프.

도 12는 예 7의 응집 반응의 결과들을 나타내는 포토마이크로그래프.

도 13a 및 도 13b는 유리 슬라이드의 면 상에 형성된 밀봉된 반응 챔버를 통해 왕복 유동을 생성하도록 직렬로 작용하는 이중 벨로우즈 펌프들을 갖는 장치인, 유리 슬라이드를 염색하기 위한 제1 장치의 평면도 및 단면도. 도 13c는 에지 밀봉 부재의 배치를 도시하는 상세도.

명료성을 위해, 본 기술 분야의 숙련자들에게 알려지고 여기에 인용된 문헌들로부터 참조로 통합되어 있는 유체 회로들의 밸브들 및 종래의 특징들은 도시되어 있지 않다.

도 14는 도 13의 장치의 분해도.

도 15는 수납된 챔버 내의 유체 유동들 및 이중 벨로우즈 펌프들을 도시하는 개략도.

도 16은 벨로우즈 펌프 다이아프램들의 행정들의 교번적 극성을 도시하는 플롯.

도 17a 내지 도 17c는 대략적으로 다른 구성들 및 밀봉된 반응 챔버를 통해 전진하는 유체에 대한 영향을 도시하는 도면들.

도 18a 및 도 18b는 밀봉된 반응 챔버 내의 유동 패턴들 및 쌍을 이룬 벨로우즈 펌프들의 다양한 구성들을 대략적으로 도시하는 도면들.

도 19는 조화된 복합 혼합 패턴들을 달성하기 위한 쌍을 이룬 벨로우즈 펌프들의 또 다른 구성을 도시하는 도면.

도 20a는 밀봉된 반응 챔버의 다수의 유동들의 개략도.

도 20b는 벨로우즈 펌프에 대한 부착을 위한 관상부에 의해 공급될 수 있는 바와 같은 주입 포트의 다른 형태를 도시하는 도면.

도 21a 내지 도 21f는 클램핑을 위한 수단, 밀봉을 위한 수단 및 고정된 실질적 평면형 기재로부터 밀봉된 반응 챔버의 덮개판을 해제하기 위한 수단을 도시하는 도면들.

도 22a 및 도 22b는 밀봉된 반응 챔버를 밀봉식으로 형성하기 위한 마이크로몰딩된 립 밀봉 수단을 도시하는 도면들.

도 23a 및 도 23b는 보드 상에 폐기물 저장 기능을 갖는 다수의 반응물 저장부들 및 분리가능하게 삽입될 수 있는 슬라이드 챔버 미니카세트들을 갖는 본 발명의 대표적 실시예를 도시하는 도면들.

도 24는 도 23의 실시예의 단면도.

도 25는 캐러셀(carousel) 또는 다른 자동화된 시스템에 사용하기 위한 복수의 장치 모듈들을 예시하는 도면으로서, 유리하게는, 모듈들은 파징 기포들을 돕기 위해 수직 위치에 장착되어 있는 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 이하의 정의들은 본 명세서 및 청구범위의 해석을 돕기 위해 제공된다. 본 명세서에 언급되고 및/또는 출원 데이터 시트에 나열되어 있는 모든 미국 특허들, 미국 특허 출원 공보들, 미국 특허 출원들, 외국 특허들, 외국 특허 출원들 및 비특허 공보들은 그 전문이 여기에 참조로 통합되어 있다. 여기에 참조로 통합된 이런 연구들 및 그에 포함되어 있는 정의들이 부분적으로 또는 전체적으로 여기에 제공된 것들과 불일치하는 경우, 이들에서 사용되는 정의는 보조적인 것이며 여기에 제공된 정의를 대신하지 않는다.

[0050] "마이크로-추출 혼합"은 마이크로스케일의 고유한 혼합 방법을 지칭하며, 여기서, 다이아프램 작동식 펌핑 챔버의 배출물이 "포커싱" 또는 "유동 간축" 개구를 통해 인접 채널 또는 챔버로 채널링되며, 따라서, 마이크로스케일 운무를 형성하게 되고, 이 운무는 주변 벌크 유체를 동반시키거나 "추출(educts)" 한다. 이론에 구속되지 않고, 평균 유동 속도 및 이에 따른 전단율이 포커싱 개구들에 의해 증가됨으로써 수용 챔버 내의 난류 또는 근사 난류 유동의 출구 운무 마이크로와류 특성을 유발한다. 이 혼합 방법은 여기서 "마이크로-추출 또는 추출 혼합"이라 지칭된다. 정제 액체가 파괴됨으로써 임펠러들 및 정적 혼합기들의 필요성을 제거한다. 벨로우즈

펌프들을 쌍으로 형성함으로써, 이중 펌프/이중 개구 추출 혼합 장치가 동작 동안 완전히 폐쇄(환기 없이)될 수 있고, 디바이스의 내용물들에 작업자가 노출되는 것에 대한 유용한 예방조치가 이루어지며, 양방향적이어서 효율을 개선시킨다는 것이 여기에 나타나 있다.

- [0051] 달리 말하면, "추출 혼합" 또는 "마이크로 추출 혼합"은 액체가 마이크로스케일 개구를 통해 추진되고, 정체 또는 느리게 이동하는 벌크 유체 내로 운무로서 배출되며, 벌크 유체가 급속하게 이동하는 운무 내로 동반 또는 추출되며, 운무가 추출된 유체와 혼합하는 와류들을 추가로 남기게 되는 공정 단계이다. 이 공정 단계는 기능상 "Penberthy 탱크내 혼합기"에 관련되어 있지만, 여기서는 구조적으로 마이크로스케일 또는 마이크로유체 디바이스 스케일 및 형태로 적응된다.
- [0052] "바이오마커"는 칩의 병리학 또는 건강의 생리학적 상태와 연계된 분자 또는 분자들을 의미한다. 바이오마커들은 칩 호스트의 총단백, 게놈 및 메타볼롬 뿐만 아니라, 박테리아, 원생동물 및 바이러스성 병원균들을 포함하는 칩 본체의 정상균무리 또는 병원성 감염 작용제들의 총단백질, 게놈 및 메타볼롬을 포함할 수 있다. 양호한 바이오마커들은 항원들 및 항체들을 포함한다.
- [0053] "테스트 샘플들"은 혈액, 혈청, 혈장, 버피 코트(buffy coat), 환부 삼출물들, 고름, 폐 및 기타 호흡인물들, 코 흡인물들, 기관지 세정 유체들, 타액, 가래, 의료 및 내이 흡인물들, 낭포 흡인물들, 뇌척수 유체, 배설물들, 소변, 눈물들, 유방 분비물들, 난소 내용물들, 복수 유체, 점액, 위액, 위장 내용물, 요도 배출물, 윤활 유체, 복막 유체, 질 유체 또는 배출물, 양막 유체, 정액 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 대표적인 바이오샘플들을 의미한다. 점막 분비물들 및 상피가 대표적인 세척들 또는 면봉들, 예로서, 모든 종류의 조직 시편들의 균질 현탁액들, 용해물들 및 소화물들에서와 같이, 목, 편도선, 잇몸, 비강들, 질, 요도, 항문 및 눈의 점막 면봉들로부터의 검정이 또한 예상된다. 생물학적 유체들 외에 물, 식재제품들, 공기 여과물들 등의 샘플들도 또한 테스트 시편들일 수 있다.
- [0054] "고상 포획"은 고상 입자, 비드, 표면 또는 다공성 흡수 재료 상의 분석물 또는 분석물:검출 시스템 복합체의 친화성 결합 및 집중을 지칭한다. 고상 포획은 부동화된 항원, 항체, 아비딘, 니켈-NTA, 렉틴 또는 다른 리간드/수용체 시스템들에 의해 달성될 수 있다.
- [0055] "타겟 분석물 또는 항체" : 분석물은 검정에 의해 검출되는 바이오마커를 나타내기 위해 광범위하게 사용되지만, 항체들은 검정의 반응물들일 수 있으면서 또한 분석물들일 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 정의상, 타겟 분석물은 반응물이 아니다. 예로서, 혈액, 점액 분비물들 및 조직 테스트 샘플들 내에서 발견되는 항체들은 임상적 상태에 대한 진단자일 수 있다. 검출 태그들로서 사용되는 항체들은 반응물들이다. 병원체의 혈청진단은 병원체에 대한 항체의 검출에 의해 이루어질 수 있다. 유사하게, 검정들은 타겟 병원체를 직접적으로 검출하도록 설계될 수 있다.
- [0056] "포획 분자 또는 항체"는 반응물들을 지칭한다. 포획 분자들에 의한 타겟 분석물들의 친화성 포획은 마이크로유체 디바이스 기반 검정들에서 유용한 집중 및 검출 수단이다. 타겟들은 분석물들, 리간드들 또는 항체들을 포함한다. 포획 분자들 및 그 각각의 타겟 분석물 쌍들은 항체/항원, 항원/항체, 항체/단백질 A, 글리코머/렉틴, 신호 분자/수용체 및 히스티딘:니켈 켈레이트들을 포함한다. 이들은 "타겟:친화성-포획 쌍들"이라 명명된다.
- [0057] "면역흡착제"는 면역측정에 사용하기 위한 분석물-흡착제 복합체 또는 항체-흡착제 복합체들에 관하여 고상 포획 표면으로서 이해된다. 양호한 흡착제 재료들은 비교적 높은 표면적들을 가지며, 검정 조건들 하에서 습윤 가능하다. 포획 작용제 또는 항체에 성공적으로 "변색"되는 흡착제 재료들은 Sephadex 같은 비드 형태의 아가로스, 텍스트란, 셀룰로오스 및 니트로셀룰로오스 같은 다른 카르보하이드레이트들, 폴리스티렌, 폴리카보네이트, 폴리프로필렌 및 폴리아미드 같은 플라스틱들, 유리, 실리카겔 및 알루미늄 옥사이드 같은 무기 기재들 및 고분자량 가교결합 단백질들을 포함한다. 플라스틱들은 선택적으로 결합을 개선하도록 플라즈마 처리되고, 테스트 필드의 결합 부위들을 국지화하기 위해 플라즈마 처리 동안 마스킹될 수 있다. 면역흡착제 재료들은 입자들, 비드들, 매트들, 스폰지들, 필터들, 섬유들, 판들 등의 형태로 제조 및 사용된다.
- [0058] "부동화: 검정들은 디바이스의 표면 또는 규정된 위치에서 분석물을 포획 및 집중시키도록 기능하는 반응물들로부터, 그리고, 테스트 샘플, 희석제 또는 다른 반응물들 내에서 가습시 용해되거나 용해성인 반응물들로 구성된다. 여기서 사용되는 용어들 "부동화" 또는 "부동화된"은 테스트 분석물 및 친화성 포획 반응물 결합이 검정의 조건들 하에서 사실상 비가역적이라는 것을 나타낸다.
- [0059] "응집"은 콜로이드 플록들 또는 매크로스코픽 응집물들의 형성에 의해 특성화되는 분석물:친화성 포획 분자 결

합 상호작용들의 부류를 지칭한다. 항체들이 포획 분자들일 때, 이런 항체들은 응집소들이라 지칭된다. 침강 소도 입자들과 응집-유사 반응들을 생성한다.

[0060] "종료점"은 여기서 정성적 또는 정량적 검정들 중 어느 하나로부터의 "결과"를 위한 약어로서 사용되며, 일정한 활동 또는 레벨이 달성되는 안정적 종료점들 및 시간의 함수로서 반응제 또는 생성물 농도의 구배가 지속적으로 감시되는 레이트 반응들 양자 모두를 지칭할 수 있다.

[0061] "마이크로유체 디바이스"는 500 미크론보다 작은, 그러나, 샘플이 입자들을 포함하거나 비드 반응물들이 사용될 때 같이 일부 경우에는 그 두배인, 적어도 하나의 치수를 갖는 적어도 하나의 내부 채널, 공극 또는 다른 구조체를 구비한 유압 디바이스, 카트리지 또는 카드이다. 여기에 설명된 디바이스들은 마이크로유체 및 마이크로 스케일 유체 구조체들의 혼성체들일 수 있지만, 일반적으로 1 mL 미만, 더욱 바람직하게는 200 μ L 미만, 가장 바람직하게는 50 μ L 미만인 작은 샘플 체적들을 필요로 한다. 마이크로 스케일은 5 mm 미만, 그러나, 대부분의 경우에는 약 2 mm 미만의 내부 치수를 나타내는 것으로 간주된다. 본 기술 분야에 공지된 바와 같은 펌핑, 희석, 집중, 용해, 확산, 혼합, 반응, 석출, 흡수, 필터링, 라이싱(lysing), 분리, 계량, 가열, 냉각 및 응축의 유체 동작들을 위한 온보드 처리 수단이 디바이스에 통합될 수 있다. 마이크로유체 디바이스들은 레이저 스텐 실링, 엠보싱, 스탬핑, 사출 성형, 마스크링, 에칭 및 3차원 연성 리소그래피 같은 기술들을 사용하여 다양한 재료들로부터 제조될 수 있다. 적층된 마이크로유체 디바이스들은 또한 접착제 간층들을 갖는 상태로 또는 배향 폴리프로필렌의 압력 처리에 의한 것 같은 열적 무접착제 결합 기술들에 의해 제조된다. 사출 성형 마이크로유체 디바이스들의 제조는 부품들의 조립을 위해 소닉 용접 또는 UV-경화 글루들을 포함할 수 있다.

[0062] "마이크로채널"이라고도 지칭되는 "마이크로유체 채널"은 길이가 가변적이지만, 빈번히 500 μ m 미만이며, 샘플이 입자들 또는 비드 반응물을 포함할 때 같이 일부 경우에는 그 두배의 단면적을 갖는 유체 채널을 의미한다. 마이크로유체 채널 내의 마이크로유체 유체 유동 거동은 매우 비이상적이며, Poiseuille 유동에서 같이 층상이며, 압력 강하보다 벽 습윤 특성들 및 직경에 더 의존적일 수 있다. 혼성 마이크로 스케일 및 마이크로유체 디바이스들이 여기에 포함된다. 마이크로유체 채널 표면들은 필요시 패시베이션될 수 있다.

[0063] "마이크로유체 밸브들"은 약 500 μ m보다 작고, 샘플이 입자들을 포함하거나 비드 반응물이 사용될 때 같이 일부 경우에는 그 두 배인 적어도 하나의 치수를 갖는 유압, 기계, 공압, 자기 및 정전 작동기 수단을 포함한다. 이 종류의 대표적 플랩 밸브가 미국 특허 제6,431,212호에 개시되어 있다. 또한, 일방 "체크" 밸브들도 본 기술 분야에 알려져 있으며, 마이크로유체 디바이스 기반 검정들을 위한 샘플 및 용해가능한 반응물들의 유동을 안내하기 위해 사용될 수 있다. 미국 특허 제5,718,567호에 개시된 볼 핀치 밸브들도 미국 특허 제6,729,352호의 밸브들 같이 본 발명의 디바이스들에 유용하다.

[0064] "마이크로유체 펌프들"은 "마이크로 스케일 펌프들"을 포함하며, 예로서, 유체들의 이동을 강요하기 위한 목적의 밸브들, 벨로우즈들, 다이어프램들 및 기포 마이크로작동기들을 포함하고, 펌프의 구조체들은 마이크로유체 채널과 유체 연결된다. 이런 구조체들은 미국 특허 제6,743,399호 및 미국 특허 출원 공보 제20050106066호에 개시된 기계 작동식 재순환 펌프들을 포함한다. 이런 펌프들은 손으로 작동되거나 로봇식으로 작동될 수 있다. 전자삼투 펌프들도 제공된다. 이런 펌프들은 마이크로유체 디바이스 기반 검정들 내에서 용해된 반응물들 및 샘플의 유동을 추진하기 위해 외부 구동부들 대신 사용될 수 있다.

[0065] 공압 실시예에서, "벨로우즈 펌프"는 유체 연결되지 않은 "상부"(또는 제1) 절반 챔버와 "하부"(또는 제2) 절반 챔버를 형성하도록 엘라스토머 다이어프램에 의해 코로날 섹션(coronal section)에서 양분된 형상이 빈번히 원통형인 공동으로서 형성된 디바이스이다. 다이어프램은 일반적으로 상부 절반 챔버에 연결된 공압 펄스 생성기에 의해 제어된다. 다이어프램 위의 양압은 이를 팽창시키고, 제2 절반 챔버의 내용물을 변위시키며, 음의 계기 압력(흡입)은 이를 수축시켜 제2 절반 챔버를 팽창시키고 유체를 내부로 흡인한다. 절반 챔버에서, 상부 및 하부 챔버들은 대략 대칭적이고 다이어프램 위 및 아래의 체적이 균등하다는 것이 이해되어야 한다. 하부 절반 챔버는 유체 입구 포트 및 출구 포트에 연결된다. 유체 입구 포트 및 출구 포트는 별개의 포트들이거나 단일 포트일 수 있다. 상술한 바와 같이, 공압 펄스 생성기는 일반적으로 밸브식인 마이크로채널에 의해 상부 절반 챔버에 공압 연결된다. 완성된 장치에서, 공압 작용은 프로그램될 수 있다. 따라서, 펄스 생성기에 의해 사용되는 프로그램가능한 공압 압력 로직은 신호에 따라 다이어프램을 작동시킬 것이고 신호에 따라 밸브들을 개방 및 폐쇄할 것이다. 펄스 생성기가 카트리지 외측에 있을 때, 니플들 또는 입구들, 공압 매니폴드 및 슬레노이드 밸브들이 제공되어 카드를 제어기와 연결한다.

[0066] 사용시, 유체는 부압이 다이어프램에 인가될 때(또는, 수동적으로, 유체가 제2 벨로우즈 펌프에 의해 추진될 때) 입구를 통해 벨로우즈 펌프의 하부 절반 챔버에 진입한다. 그 후, 하향 행정 동안 양압이 다이어프램에 인

가될 때, 챔버의 유체 내용물이 출구를 통해 외부로 배출된다. 다이어프램에 양압 및 부압 펄스들의 트레인을 공급함으로써, 유체는 벨로우즈 펌프 챔버 내외로 이동될 수 있다. 이 유체 운동은 동기화된 밸브 로직의 적용에 의해 방향성이 될 수 있다.

[0067] 벨로우즈 펌프들의 쌍들, 즉, "이중 벨로우즈 펌프들"은 두 벨로우즈 챔버들 사이의 왕복 운동을 강요하도록 제 1 다이어프램 압력 작동식 및 제2 다이어프램 수동식으로 구성될 때 유체들 또는 현탁체들을 혼합할 수 있다. 또한, 왕복 운동은 교번 또는 반전 공압 펄스들로 양 다이어프램들을 동기식으로 작동시킴으로써 얻어질 수 있다. 유사하게, 다수의 벨로우즈 펌프들이 직렬로 유체 연결되어 혼합 기능을 수행할 수 있다. 벨로우즈 챔버로부터 유체를 추출하기 위해 엄지 또는 손가락으로 가요성 덮개가 간단히 눌러질 수 있도록 벨로우즈 펌프 챔버 위의 덮개에 가요성 멤브레인을 결합시킴으로써 수동 실시예가 얻어지며, 상술한 바와 같이 수동 작동되는 벨로우즈 펌프들의 쌍들은 여기서 설명 및 구현된 바와 같은 추출 혼합으로 중앙 챔버 또는 채널을 통해 전후로 유체를 펌핑하도록 사용될 수 있다는 것을 주의하여야 한다.

[0068] "셀프 프라이밍"은 채널이 습윤성이며 일반적으로 채널을 프라이밍할 필요 없이 모세관 유동이 시작되도록 재료로 제조되고 처리되는 마이크로유체 채널을 암시한다.

[0069] "비아"는 시트 또는 물들로 구성된 적층 디바이스들의 대부분의 특징인 층을 통한 마이크로유체 채널의 스텝을 지칭하지만, 또한, 다수의 층들을 갖는 몰딩된 디바이스들에서도 찾게 될 수 있다.

[0070] "격리" 또는 "격리된"은 감염성 작용제, 독소 또는 알려지지 않은 생물위험요소로 잠재적으로 오염될 수 있는 임상적 재료들에 사용자가 노출되지 않게 하는 밀봉부들 및 수납체들의 시스템을 지칭한다. 예로서, 단일 도입 디바이스는 선택적으로 샘플 분배 디바이스의 인출 이후 자체 밀봉되는 가요성 매개를 포함할 수 있다. 격리 마이크로유체 디바이스들은 또한 디바이스 내에 밀봉식으로 수납된 환기 필터와 온보드 "반응물-", "폐기물-" 또는 "행균 팩"을 포함할 수도 있다. 의료적 격리는 일반적으로 추가로 본 기술 분야의 숙련자들에게 알려진 바와 같은 "가역적 격리" 또는 "전진 격리"를 특징으로 할 수 있다. 노출은 또한 디바이스의 조작자가 샘플과 접촉하는 경우에 발생할 수 있으며, 샘플이 조작자 또는 접촉성 매개물 또는 다른 샘플과 접촉하는 경우 샘플 오염이 발생할 수 있다.

[0071] "단일 도입" 디바이스들은 일회용이며 한번 사용하도록 의도된다. 일반적으로, 디바이스 당 하나의 샘플이 적용되며, 디바이스는 그 후 밀봉되고, 검정이 수행된다. 면봉 포획 디바이스들은 분석 대상 면봉이 디바이스 내로 삽입되고 핸들이 파괴되어 면봉이 디바이스 내부에 밀봉되는 위생 샘플 포획을 위한 수단이다. 혈액, 혈장 또는 다른 체액이나 세척액이 피펫팅, 흡기 또는 모세관 작용 및 그 후 밀봉된 오리피스에 의해 디바이스 내에 취해지는 폐쇄체들(closure)이 여기서 또한 단일 도입 수단으로서 인식된다.

[0072] "폐기물 팩"은 배출된 샘플, 행균 용액 및 폐기물 반응물들의 수용부로서 역할을 하는 공동 또는 저장부이다. 통상적으로 폐기물 팩은 또한 예로서 친수성 폴리머를 갖거나 갖지 않는 섬유질 매트로 구성된 흡수성 패드를 포함하며, 흡수성 발포체들, 흡수성 스폰지들, 초흡수성 폴리머들 또는 흡수성 겔화 재료들을 포함한다. 흡수성 패드는 통상적으로 흡수성 재료이고, 또한, 마이크로유체 펌프들 대신 또는 그와 조화하여 모세관 습윤에 의해 유체 운동을 추진하기 위해 사용될 수도 있다. 다른 재료들은 예로서, 종이들, 스폰지들, 기저귀 재료들, Contec-WipeTM (Contec, Spartanburg S.C. USA)를 포함한다.

[0073] 양호한 실시예에서, 폐기물 팩들은 마이크로유체 디바이스의 본체에 밀봉식으로 부착되어 디바이스 본체 내부의 폐기물 챔버 내에 흡수성 매트를 포함하는 폐기물 팩을 둘러싸는 가요성 또는 엘라스토머 필름 또는 멤브레인을 통합함으로써 생물유해성 재료를 수용하도록 사용될 수 있다. 멤브레인은 흡수성 재료가 팽창할 때 신장된다. 격리 층 외부의 공동은 대기로 환기되지만, 멤브레인은 폐기물 재료가 격리 및 수용되는 것을 보증한다. 흡수성 재료는 추가 예방조치로서 살균제를 포함하도록 전처리될 수 있다.

[0074] "환기구"는 내부 공동과 대기 사이에서 소통하는 공극을 지칭한다. 격리 환기구는 추가로 유체들의 수송을 방지하지만 가스에 대해서는 투과성이어서 액체 배리어를 형성하도록 선택된 멤브레인 조성을 포함하는 하우징으로 제조된다. 일 예는 Porex Porous Products Group(Fairburn Ga., USA)으로부터 입수할 수 있는 다공성 PTFE 조성물인 MuporTM이다.

[0075] "테스트 필드"는 검정 종료점이 관찰 또는 측정되는 마이크로유체 디바이스 기반 검정의 부위 또는 구역을 지칭한다. 양호한 테스트 필드는 예로서, 선택적으로 확대 렌즈를 구비하는 디바이스의 덮개판의 광학 윈도우이다.

[0076] "격리 수단"은 특히 불투과성 카트리지 본체, 가스 투과성 소수성 환기구, 폐기물 챔버 내의 흡수성 패딩, 폐기

물 챔버 내의 살균제, 공압 작동기를 블리스터 팩으로부터 분리시키는 엘라스토머 멤브레인, 흡수성 패딩을 환기구로부터 분리시키는 가요성 멤브레인, 흡입 압력에 의해 작동되는 엘라스토머 멤브레인을 구비한 밸브, 상기 샘플 도입 포트의 흡입 압력, 온보드 반응물 팩, 단일 도입 샘플 포트 및 일회용 디바이스를 포함한다.

[0077] 여기서 사용될 때, "검출 수단"은 종료점, 즉, 검정의 결과를 평가 및 표시하기 위한 디바이스를 지칭하며, 이는 검출 채널 및 시험 패드들을 포함할 수 있다. 검출 종료점은 테스트 필드에서 육안으로 관찰자에 의해 평가되거나 분광 광도계, 형광계, 루미노미터, 포토멀티플라이어 튜브, 광 다이오드, 네플로미터, 광자 계수기, 전압계, 전류계, pH 미터, 용량성 센서, 라디오 주파수 송신기, 자기 저항계 또는 Hall-효과 장치를 구비하는 기계에 의해 평가된다. 색상이 주입되거나 더욱 높은 회절 지수를 갖는 입자, 비드 및 마이크로구체가 검정 종료점의 육안 또는 기계 보강식 검출을 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 덮개판 내의 확대 렌즈들, 광학 필터, 착색 유체들 및 라벨링이 검정 결과의 검출 및 해석을 개선시키기 위해 사용될 수 있다. 입자, 비드 및 마이크로구체의 검출을 위한 수단은 발색단 및 형광단 같은 염료, FRET 프로브("분자 비콘"이라 알려진 것들을 포함), 효소-연결 항체들 및 그 발색 기질, 고주파 태그, 플라즈몬 공진 또는 종래 기술에 알려진 바와 같은 자기 모멘트 같은, 그러나, 이들에 한정되지 않는 "라벨" 또는 "태그"를 포함할 수 있다. 그 자체 연계에 따라서 고유한 크로마토제닉 서명들을 갖는 콜로이드 입자도 검출가능한 종료점을 제공하는 것으로 예상된다.

[0078] 선택적으로, 반전 에멀전에서 준비된 또는 졸 겔 마이크로입자 매트릭스 내의, Qdot들 및 상자성 Fe_3O_4 마이크로입자의 합병체 또는 자성 비드 상에의 변색된 ZnS로 코팅된 CdSe 같은 QDot들은 본 발명의 검정의 감수성을 개선시켜 더 작은 시험 패드들 및 더 큰 어레이를 가능하게 하는 편리한 방법이다. 형광 쉼팅 검정이 예상된다. 효소-연결 면역검정과 연계된 다양한 기재 및 생성물 발색단은 또한 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 검정의 감수성을 향상시키기 위해 검출 신호를 증폭시키기 위한 수단을 제공한다. 검출 시스템은 선택적으로, 정성적, 정량적 또는 반 정량적이다.

[0079] "타겟 바이오마커들": 면역학의 숙련자들은 ELISA 및 응집 검정에 친숙하다. 마이크로유체 검출 검정을 위한 타겟은 내복약의 실시예 유용한 진단 바이오마커들을 포함한다. ELISA에 적합한 바이오마커들의 부류들은 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 병리상태, 호르몬, 조직 및 응고인자와 연계된 단백질 및 펩티드, 그리고, 소분자 등을 포함한다. 이들은 예로서, 방광, 전립선, 유방 또는 폐암과 연계된 암 마커, 그리고, 또한, 크로스매치 공존성을 테스트하기 위해 유용한 혈액형 항원들 및 항체들을 포함한다.

[0080] 타겟은 또한 감염성 및 기생충 작용제를 포함한다. 감염의 초기 및 급성기에, 실험실 진단은 침입 병원체의 직접적 검출에 의존하는 경향이 있다. 이는 시험 시편의 시험관내 배양 또는 현미경 검사를 수반할 수 있다. 시험 튜브 및 마이크로티터 플레이트-포맷 혈청 방법도 유용하다. 냉간-응집소 또는 전혈의 침강을 같은 비특이적 검정도 임상적 견해를 지원하기 위해 사용된다. 결정적 실험실 시험은 주로 생물 배양에 의존한다. 그러나, 다수의 이유로, 이는 완전히 만족스럽지는 못하다. 배양 방법은 지연 기간들, 샘플 오염, 가음성 및 신흥 질환의 경우에는 신뢰성있는 성장 기재 및 생육가능한 유기체의 배양을 위한 프로토콜의 결여의 문제가 있다. 일부 잘 알려진, 그러나, 매우 까다로운 병원체도 일상적으로 배양되지 않는다.

[0081] 특히, 배양을 위한 시간이 불만스럽다. 혈액 배양들은 전형적으로 예로서, 14 내지 20 시간 동안 판독이 불가하며, 액체 브로쓰의 탁도에 의해 표시되는 양성 배양에는 고체 매체 상에서의 원인성 유기체의 단리, 후속 항생제 감수성 시험이 동반되는 생화학적 시험에 의한 식별이 후속하여 이루어져야 한다. 결핵을 위한 배양은 통상적으로 접종 이후 3-6주간 판독된다. 세포 및 조직 배양 또는 에그 용모요막의 접종에 의존하는 바이러스성 배양은 하루 내지 14일이 소요되며, 잘하더라도 어렵다. 원충성 기생충의 검출은 일반적으로 현미경 관찰이나 혈청 진단에 의존하며, 이는 특수화된 임상 실험실들의 외부에서 일반적으로 수행할 수 없는 시험이다. 시험관내 테스트 및 샘플 취급은 또한 본질적으로 안전하지 못하며, 의인성 감염에 기여할 수 있다.

[0082] 따라서, 잘 알려진 신흥 병원체의 계놈, 총단백질 또는 메타볼로로부터 발견되는 바이오마커들에 기초한 실험실 진단 시험, 특히, 샘플 취급을 최소화하고 관리 지점에서 실시간으로 또는 거의 실시간으로 결과를 제공하는 시험을 개발하는 데 현저한 관심이 기울여지고 있다.

[0083] 필요한 검정의 범위는 밀접하게 관련된 미생물 정상균무리 및 환경적 오염물로부터 구별되어야만 하는 잘 알려진 병원체의 이하의 일부 목록으로부터 파악될 수 있다.

[0084] 공기 매개 호흡 병원체는 예로서, 특히, 폐렴연쇄구균, 화농연쇄구균, 폐렴미코플라스마, 폐렴막대균, 결핵미코박테리움, 백일해 보다텔라, 레기울라 프네우모필라, 코리네브 악테리움 디프테리에, 헤모필러스 인플루엔자, 폐렴 클라미디아, 바리셀라 바이러스, 홍역 바이러스, 뎀프스 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 코로나

바이러스, 풍진 바이러스, 헤마글루티닌 그룹 HI-5를 포함하는 인플루엔자 바이러스, 아데노바이러스 및 프네우 모사이티스 카르네이를 포함하고 이들에 대한 혈청 진단이 가능하다.

[0085] 식품 및 수인성 장관 병원체는 예로서, 살모넬라 티피호사, 살모넬라 엔테리디스, 살모넬라 콜레라수이스, 살모넬라 티피무름, 시겔라 다이센테리, 캄피로박터 제주니, 비브리오 콜레라, 헬리코박터 파일로리, 에체리치아 콜리(혈청형 0157:H7 같은 열 안정성 또는 열 불안정성 장독소를 생성하는 균주), 독소의 공급원으로서 클로스트리듐 보툴리눔, 클로스트리듐 페르프린젠스, 리스테리아 모노사이토젠스, 소아마비 바이러스 및 간염 바이러스 A 및 B, 엔타모에바 히스톨리틱, 쉬스토소마 만소니, 클로노르치스 시네시스, 트리치넬라 스피랄리스를 포함한다.

[0086] 혈액 매개 병원체는 예로서, 몇몇을 들자면 살모넬라 타이포사, 살모넬라 파라타이피, 바실러스 안트라시스, 브루셀라 아보르터스, 브루셀라 수이스, 브루셀라 멜리텐시스, 예르시니아(파스테우렐라) 페스티스, 파스테우렐라 물토시다, 프라시셀라 툴라렌시스, 스피릴룸 마이너스, 브루크홀데리아 말레이, 랩토스피룸 익토에로해모르하기에, 콕시엘라 부르네티, 릭킷시아 타이피, 한타바이러스, 뎡기열 바이러스, 황열 바이러스(그리고, 다른 플라비 바이러스 그룹의 바이러스), 웨스트 나일 바이러스, 일본 B 뇌염 바이러스, 세인트루이스 뇌염, 웨스트 말 뇌염, 인간 면역결핍 바이러스 1 및 2, 인간 T-세포 백혈병 바이러스 1 및 2, 개의 디로필라리아 임미티스, 플라스모듐 비박스, 팔시파룸, 말라리아, 오발레 및 베르케이를 포함한다.

[0087] 성병은 예로서, 매독(트레포네마 담창구), 네이세리아 고노르호에, 클라미디아 트라초마티스, 인간 면역결핍 바이러스, 유두종 바이러스, 단순 헤르페스와, 또한, 칸디다 알비칸스, 자낭균을 포함한다.

[0088] 상처 및 물림 병원체는 예로서, 스타필로코커스 아우레우스, 괴사성 근막염의 원인인 스트렙토코커스 화농 혈청형, 수도모나스 애틀기노사, 클로스트리듐 페르프린젠스, 클로스트리듐 테타니, 예르시니아 페스티스, 바실러스 안트라시스 및 박테로이드스 프라길리스를 포함한다. 모기들, 진드기들, 벼룩들 및 기타 절지동물에 의한 물림들로부터 초래되는 감염은 혈액 매개 감염으로서 분류되는 것이 일반적이다.

[0089] 중추 신경계 및 CSF 병원체는 예로서, 네이세리아 멘ingi티스, 스트렙토코커스 폐렴, 리스테리아 모노사이토게네스, 매독, 헤모필루스 인플루엔자 혈청형 B, 아시네토박터 spp, 에세리치아 콜리, 엔테로박터 spp, 수도모나스 애틀기노사, 스타필로코커스 아우레우스, 일본 B 뇌염 같은 바이러스성 뇌염, 뎡프스 바이러스, 소아마비 바이러스, 헤르페스 바이러스(HSV-1, HSV-2), 바리셀라 조스터 바이러스 및 광견병 바이러스 등을 포함한다.

[0090] 대표적 소변 병원체는 그람 음성 로드들이 지배적이며, 예로서, 프로테우스 미라빌리스, 프로테우스 불가리스, 에세리치아 콜리, 클레브시엘라 페렴, 엔테로박터 클로아케 및 수시적 수도모노나스 감염을 포함한다.

[0091] 기도의 정상균류는 예로서, 스트렙토코컬 종, 코리네박테리아시에 및 잠재적 병원체와 구별되어야 하는 네이세리아시에를 포함한다. 위장관 정상균 무리는 예로서 메타노브레비박터 스미티이, 바이피도박테륨 로검, 스트렙토코커스 패사일스, 클로스트리디아 및 패칼리박테리아를 포함하는 퍼미큐츠, 락토바실라세아에, 아시니토박테리아, 프로프리오노박테리아시에, 박테로이다시에 및 엔테로박테리아시에와 식별되지 않은 고세균성 그룹들 및 종을 포함한다.

[0092] 벼룩, 특정 시험 시편에서 발견될 때 일부 유기체가 결정적 병원체이지만, 병원성은 절대적 흑색 또는 백색은 아니다. 예로서, 에세리치아 콜리는 광범위하게 비병원체로서 간주되고, 인간의 결장함량에 편재한다. 그러나, 특정 균주는 고불능성 이질을 초래할 수 있는 시겔라-유사 장독소를 취득한다. 따라서, 격리의 단순 중분화는 오류가 될 수 있으며, 임의의 격리의 병독성에 대한 더욱 완전한 평가는 침해적이고, 유독성이며 숙주 방어들에 저항하는 그 기능의 인벤토리를 필요로 한다. 중요하게는, 대량의 임상적 경험에서 특정 유기체가 전형적으로 질환과 연계되며, 유독한 유기체는 일반적으로 면역 반응을 생성한다는 것이 판명되었다. 이는 백신 접종의 기초이며, 또한, 혈청진단의 기초이다. 따라서, 관리 지점 면역 진단이 필요하다.

[0093] 마이크로유체 디바이스 기반 검정을 위한 면역검정-유형 고체 상 친화성 포획 부위는 선택적으로 패드의 형태로 시험 필드의 평면 상의 진단 카드 구역 또는 부위에서 국지화된다. 검정을 위해 선택된 포획 분자는 본 기술 분야에 공지된 방법에 의해 고체 지지 매트릭스에 흡착 또는 가교결합된다. 지지 기체는 필터 패드들, 스폰지, 비드, 막, 플라스틱들 및 다른 고체를 포함한다. 일부 경우에, 분석물은 고체 상에 화학적으로 또는 비 공유원자 결합될 수 있고, 다른 경우, 이는 고체 표면 상으로 코팅되는 재료 내에 통합될 수 있다. 이 유형의 고체 기체는 딥스틱(dipstick) 기술 및 유사 기술을 위한 것과 동일한 형태로 사용된다. 수동 용도를 위한 마이크로유체 카드에서, 시험 부위의 관찰이 가능한 광학 윈도우가 제공되는 것이 일반적이다.

[0094] 고체 지지체는 때때로 0.1 미크론 내지 약 250 미크론 범위의 가용 기공크기를 갖는 다공성 재료로 구성되며,

깊은 필터를 포함할 수 있고, 여기서, 기공 크기는 재료의 깊이에 따라 변한다. 이런 고체 지지체는 일반적으로 습윤성을 보증하기 위해 친수성이거나 친수성이 되도록 처리된다. 바이블러스 재료들, 즉, 모세관 작용에 의해 수용액을 흡수하는 것들은 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 이런 재료들은 셀룰로오스 재료들(예로서, 목화, 필터 종이, 크로마토그래피 종이, 니트로 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트) 같은 천연 폴리머 재료들, 아가로스 및 가교결합 텍스트란을 포함하지만, 또한, 유리, 실리카 겔, 파생 실리카, 규조토, 산화알루미늄 같은 무기 분말 또는 섬유와, 다른 재료들과 함께 공급되거나 복합체들로서 사용되는 폴리에테르술폰, 폴리에스테르, 폴리(비닐 클로라이드), 비닐 클로라이드-프로필렌 공중합체, 비닐 클로라이드-비닐 아세테이트 공중합체, 폴리아크릴아미드, 폴리아크릴레이트, 폴리아미드, 나일론, 예를 들어, 습윤성 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF), 및 세라믹 재료들이나 익스플로디드 금속을 포함한다. 그러나, 고체 지지체는 검출 신호와 간섭하지 않아야 한다. 다공성 재료는 전형적으로 강성 또는 반 강성 이면체에 부착된다.

[0095] 다공성 재료는 다관능성일 수 있거나, 예를 들어, 알데히드 또는 사산화오스뮴과 포획 분자의 공유원자 결합을 가능하게 하도록 다기능기화 될 수 있다. 포획 분자는 또한 비공유 결합력에 의해 부동화될 수 있다. 표면 활성 고체 지지체에 대해 생물학적 분자를 "고착"하기 위한 수단으로서 건조가 종종 사용된다.

[0096] 고체 상 기체는 또한 플라스틱 표면으로부터 선택될 수 있다. 폴리스티렌, 폴리카르보네이트, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PET) 및 폴리아미드 같은 플라스틱 표면은 음의 표면 활성을 가지며, 생물학적 분자를 밀접하게 흡착하지만, 선택적으로, 기체 플라즈마 처리, 전형적으로, 플라즈마 형태 내의 질소, 산소 또는 공기(코로나 처리) 같은 에칭 기체에 의해 포획 분자의 흡착 긴밀도 및 밀도를 증가시키도록 활성화될 수 있다. 이들 기체는 고체 지지체의 폴리머 백본을 유도(derivatize)하여 이온화가능한 반응성 아민 및 니트로기나 하이드록실 및 카르복실기를 각각 생성하도록 기능한다. 이런 활성화된 표면은 포획 분자의 부착을 돕도록 이중관능성 링커로 유도될 수 있다. 플라스틱 표면의 글루타르알데히드 전처리도 사용되어 왔다. 일반적으로, 사용가능한 고체 상 친화성 포획 복합체를 초래하는 면역흡착제에 대해 포획 분자를 부착하기 위한 본 기술 분야에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0097] 마스킹은 포획 분자가 플라스틱 표면에 고착되어야 하는 경계들을 규정하기 위해 일반적으로 사용된다. 시험 부위를 마스킹 제거하기 위한 마스킹은 양성 검정의 시각적 인식을 도우며, 또한, 자동화된 시험 결과의 기계 보조식 영상 분석을 돕는다. 플라스틱 표면은 마스크의 규정된 경계들 외부에서 패시베이팅될 수 있거나, 음성 마스킹 기술에서는 마스킹되지 않은, 플라스틱 표면이 저압 기체 플라즈마 처리에 의한 방식 등으로 활성화될 것이다.

[0098] 상술한 고체 상 친화성 포획 재료들은 또한 마이크로구체, 비드, 혈소판 및 다른 입자 형상들로 형성될 수도 있다. 본 기술 분야에 잘 알려진 면역흡착성 비드는 라텍스 비드, 비드 형태의 아가로스(세파로스 4B-파마시아 같은), 텍스트란 비드, 마이크로구체로서 준비된 가교결합 단백질, 페라이트 코어를 포함하는 자성 마이크로구체 및 형광단, 양자 점 또는 심지어 고주파 태그를 포함하면서 가교결합을 허용하도록 표면 상에서 변형된 실리카이트 마이크로구체를 포함한다. 라텍스의 다수의 형태들은 에멀전 기술에 의해 준비되며, 염료, 형광 및 착색 양자 점들로 태깅될 수 있다. 항원들은 2 단계 카르보다이미드 프로세스에 의해 루미넥스 코포레이션(Austin Tex., USA)에 의해 제공되는 것들 같은 바이플루오레센트 비드에 결합될 수 있다. 마이크로유체 디바이스 기반 검정에서 비드의 침강이 설명되어 있으며, 크기는 전형적으로 용례를 위해 최적화된다. 따라서, 비드는 친화성 포획을 위한 고체 상 지지체로서 기능할 뿐만 아니라, 또한, 라벨링 작용제나 지지자로서 기능할 수 있다.

[0099] 기술 현황의 최근 예로서, ELISA에 적합한 합성 매트릭스가 이 경우에는 Dengue 바이러스인 플라비바이러스의 비구조 단백질 1의 에피토포로 구성되는 펩티드와 플라스틱 모노머들을 공중합시킴으로써 생성되었다. 이들 분자 인식 폴리머들은 고체 기저부 상에 그 후 증착된다(Dar-Fu Tai 등 "Dengue 바이러스 감염의 조기 진단을 위한 혈청 검사의 인공 수용체" 임상 화학 10:1373(2006)). 이 고체 상 친화성 포획 재료는 CDC에 의해 공급되는 혈청 양성반응 혈청의 검출시 매우 잘 기능한다.

[0100] 블로킹제, 특히, 특정 세제와 단백질은 ELISA의 높은 백그라운드 신호에 기여하는 비특이적 상호작용력들을 약화시킨다. 블로킹제는 선택적으로 메틸화 또는 석시닐레이팅된 소 혈청 알부민, 말 혈청이나 소 태아 혈청 같은 전체 정상 혈청 및 카세인, 젤라틴 및 비지방 건조 우유 같은 다른 상업적으로 입수가 가능한 단백질을 포함한다.

[0101] 세제 기반 블로킹제도 사용될 수 있다. 적절한 세제의 유형은 비이온성, 양쪽성, 양이온성 또는 음이온성 형태들로부터 선택되고, 선택은 블로킹 대상 고체 표면의 성질에 기초한다. 적절한 세제 블로킹제의 선택을 권장하

는 고려사항들은 본 기술 분야에 잘 이해되어 있다. 단백질 기반 블로킹제와 조합하여 세제를 사용하는 것이 바람직하다. 단독으로 또는 단백질 블로킹제와 혼합하여 사용될 수 있는 적절한 세제는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 알코올 세제(즉, 트윈 시리즈), Nonidet P450 같은 폴리옥시에틸렌 알코올 또는 트리톤 X-100 같은 폴리옥시에틸렌 에테르를 포함한다.

[0102] 이제, 도면들을 참조하면, 도 1은 ELISA 면역검정들을 위한 마이크로유체 디바이스를 도시한다. 이 제1 실시예에서, 디바이스는 일반적으로 개재 접착제 층들에 의해 결합된 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PET), 폴리스티렌, 폴리카보네이트들, 폴리아크릴레이트들 또는 폴리에스테르들 같은 투명 플라스틱의 층들로부터 적층 공정에 의해 구성된다. 마이크로채널들, 공극들 및 구멍들은 마이크로유체 네트워크가 형성되도록 조립 이전에 접착제 및 플라스틱 층들로부터 먼저 기계가공된다. 대안적으로, 디바이스는 선택적으로 증가하는 복잡성의 개재 플라스틱 층들과 함께 덮개 및 베이스 층을 사출 성형함으로써 구성될 수 있고, 이 층들은 열 또는 용매로 압력에 융합되거나 접착제로 함께 보유된다.

[0103] 도 1에는 면역검정 전개를 위한 간단한 카드(1)가 도시되어 있다. 카드 본체는 플라스틱이며, 덮개판(14) 및 베이스플레이트(미도시)를 갖는다. 디바이스 포트들 및 하위 마이크로유체 채널들과, 저장부들 및 구조체들의 개략도가 도시되어 있다. 가요성 층들(12, 13)은 벨로우즈 펌프들(4, 8)의 유체 챔버들을 덮으며, 하나의 저장부로부터 다른 저장부로, 그리고, 왕복 운동으로 역방향으로 유체를 추진하도록 탄성적으로 변형될 수 있다. 디바이스는 모든 내부 공동들이 밀봉되도록 강성 재료 시트(미도시)에 의해 이면지지된다.

[0104] 동작시, 마이크로채널(3)을 통해, 샘플 포트(2)는 좌측 벨로우즈 펌프(4)의 저장부 내로 테스트 샘플을 도입하기 위해 사용된다. 유사하게, "폐기물" 포트(9)는 마이크로채널(10)을 통해 우측 벨로우즈 펌프(8)의 유체 챔버들의 내외로 반응제 용액들을 도입 및 폐기하기 위해 사용된다. 포트들(2, 9)은 디바이스 덮개(14)를 통해 연장하고, 벨로우즈 펌프들(4, 8)의 유체 챔버들과 이어진다. 마이크로채널들(3, 10)은 밸브들(미도시)을 포함하도록 변형될 수 있다.

[0105] 우측 및 좌측 저장부들 사이의 유체의 능동적 왕복 유동은 포커싱 개구들(6, 7)을 통해 검정 챔버(5)를 통해 수행된다. 펌프 하향행정 동안 하나의 챔버로부터의 유체의 변위는 다른 챔버로의 유체의 변위에 의해 균형화되기 때문에 이중 펌프 디바이스의 실제 동작을 위해 환기구가 요구되지 않는다는 것을 주의하여야 하며, 가요성 멤브레인은 상하방향 양자 모두로 유연하다. 검정 챔버(5)는 완전히 밀봉되고, 테스트 필드(11)를 포함한다. 테스트 필드(11)는 부동화된 친화성 포획 분자로 코팅된다.

[0106] 조립 이전에, 반응제들은 다양한 방식들로 테스트 필드들 및 마이크로유체 채널들 내에 또는 상에 적용될 수 있다. 다양한 "인쇄" 기술들, 예를 들어, 마이크로 주사기들, 계량 펌프들을 사용한 쥘들, 직접 인쇄, 잉크 제트 인쇄, 에어 브러시 및 접촉(또는 필라멘트) 방법들이 디바이스의 층들에 대한 액체 반응제들의 적용에 적합하며, 층들 또는 시트들은 그 후 완성된 디바이스에 조립된다. 완전히 조립된 카드의 동작을 위해, 샘플이 자체 밀봉 마개를 통해 주입되거나, 피펫 주입 또는 다른 방식으로 디바이스 내에 투입되고, 캡, 스톱퍼, 뚜껑 또는 테이프 같은 위생 폐쇄체로 밀봉될 수 있다. 샘플 입구 포트 내의 핀치(pinch), 볼, 플랩 또는 피넛 밸브(peanut valve)가 추가로 시스템을 밀봉한다. 모든 이런 마이크로유체 카드들은 일반적으로 일회용으로 의도되며, 후속하여 폐기된다.

[0107] 대안적으로, 테스트 샘플은 먼저 검출 항체와 혼합될 수 있으며, 그 후, 혼합물이 고상 매트릭스 또는 테스트 구역 상의 포획 항체 위로 지나간다. 자유 검출 항체가 세정 제거된 이후, 색상 발현은 결합된 분석물 검출 항체 복합체들의 존재를 나타낸다. 미국 특허 출원 공보 제20060127886호는 검출 항체에 직접적으로 테스트 샘플을 추가하는 것을 개시하지 않는다. 본 기술 분야의 숙련자는 검정 프로토콜 내의 단계들의 순서가 변하는 방식들에 친숙하다.

[0108] "간접" ELISA는 감수성을 증가시키기 위해 사용된다. 간접 ELISA가 고상 포획 매트릭스 상에 타겟 분석물을 결합하기 위해 적용되고 타겟 분석물을 인식하는 가교결합 리간드를 사용하는 것이 미국 특허 제4,235,960호에 최초로 소개되어 있다. 부동화된 항원에 대한 항체들 같은 가교결합 리간드들은 분석물 결합 부위에서 면역침전 격자를 구성한다. 다른 세척 이후, 검출 반응물이 그 후 적용된다. 전형적 "간접" ELISA 테스트 포맷에서, 검출 항체는 분석물이 아닌 가교결합 항체의 면역글로블린 미부들에 대해 안내된다. 결합 검출 항체의 양의 5배 이상의 증가들이 달성될 수 있다. 최종 세척 시리즈들 이후, 색상 반응제 추가는 비교적 낮은 분석물 농도들의 존재하에서도 강한 신호를 초래한다.

[0109] "간접" ELISA 포맷은 다른 장점을 갖는다. 각각 물리적으로 별개인 테스트 구역들 상에 가교결합 항체들을 갖

는 복합체들을 형성하는 임의의 수의 타겟 분석물들이 공통의 또는 범용적인 검출 항체로 검출될 수 있다.

- [0110] 도 2에서, 친화성 포획 고상 매트릭스가 더 작은 구역들로 세분될 수 있고 다수의 분석물들의 포획 및 분석을 위한 별개의 친화성 포획 분자들로 전처리될 수 있다. 예로서, 고유한 반응제를 각각 구현하는 밴드들, 스트립들 또는 스팟들로서 5개 테스트 필드 구역들의 열로 구성되는 테스트 스트립은 5개 분석물들의 동시적 검정을 위한 복수의 친화성 포획 매트릭스들을 제공한다. 친화성 포획 분자들을 적용하는 수단은 예로서 도트 매트릭스 프린터 또는 다른 분배기(BioDot)에 의한 밴드들, 스트립들 또는 스팟들의 인쇄를 포함한다. 테스트 필드들은 선택적으로 검정의 제어 및 비준을 위해 제공될 수 있다. 구역들은 그 중요성을 나타내기 위해, 고유 형상들 예로서, "플러스" 부호, "마이너스" 부호 또는 "체크마크"로 규정될 수 있으며, 통상적으로, 광학 스캐너 같은 기구에 의해 판독될 수 있거나 디바이스의 디스플레이에 적용된 디스플레이에 대한 명령들로 라벨링되는 것이 통상적이다.
- [0111] 도 2에는 덮개판(21)과 기부판(미도시)을 갖는 마이크로유체 디바이스(20)와 디바이스 포트들, 챔버들, 연결 마이크로유체 채널들, 저장부들 및 구조체들이 개략적으로 도시되어 있다. 개요성 층들(22, 23)은 벨로우즈 펌프들(24, 25)의 저장부들을 덮으며, 하나의 저장부로부터 다른 저장부로, 그리고, 왕복 운동으로 역방향으로 유체를 추진하도록 탄성적으로 변형될 수 있다.
- [0112] 동작시, 샘플 포트(26)는 마이크로채널(27)을 통해 좌측 벨로우즈 펌프(24)의 유체 챔버 내로 테스트 샘플을 도입하기 위해 사용된다. 유사하게, "폐기물" 포트(28)는 마이크로채널(29)을 통해 우측 벨로우즈 펌프(25)의 유체 챔버의 내외로 반응물 용액들을 도입 및 폐기하기 위해 사용된다. 포트들(26, 28)은 디바이스 덮개(21)를 통해 연장하며, 벨로우즈 펌프들(24, 25)의 유체 챔버와 유체 연결되어 있다. 마이크로채널들(27, 29)은 위생 용례들에 유용할 수 있는 바와 같이 밸브들(미도시)을 도입하도록 변형될 수 있다. 여기에 도시된 혼합 실시예는 모든 외부 환기구들이 폐쇄될 때 동작가능하게 유지된다.
- [0113] 우측 및 좌측 펌프 챔버들 사이의 유체의 능동적 왕복 유동은 포커싱 개구들(31, 32)을 거쳐 검정 챔버(30)를 통해 수행된다. 검정 챔버(30)는 완전히 밀봉되고, 테스트 스트립(33)을 포함한다. 본 실시예에 예시된 바와 같이, 테스트 스트립(33)은 각각 34, 35 및 36으로 표시된 구역들에서 부동화된 친화성 포획 분자들의 3개 층들로 코팅된다. 검정 챔버 체적(V2)은 통상적으로 펌프 벨로우즈 챔버 체적(V1)과 같거나, 그보다 크거나, 그보다 작다. 선택적 윈도우가 통상적으로 이들 디바이스들 내의 검정 챔버 위에 위치된다.
- [0114] 이런 구조에서, 테스트 스트립(33) 및 구역들(34, 35, 36)은 PET 플라스틱으로 준비되고, 접착성 보호 층으로 음성 마스크된다. 그 후, 노출된 플라스틱은 폴리머 백본들을 유도하기 위해 이산화탄소(아르곤) 가스 하에서 플라즈마 에칭을 받게되며, 이는 플라스틱의 습윤 및 표면 흡착 특성들을 증가시킨다. 코팅 버퍼에 포획 분자들을 적용하고 건조한 이후, 마스크는 그 후 제거되고, 플라스틱은 수분 동안, 선택적으로 진공 또는 불활성 가스 하에서 50 내지 60℃로 가열되어 분자들이 플라스틱에 고정된다. 그 후, 테스트 스트립은 도 2의 마이크로유체 디바이스의 테스트 공동 내로의 조립 이전에, 반응물들 또는 분석물들의 비특정 흡착을 제거하기 위해 차단 용액으로 블로킹되고, 건조된다.
- [0115] 또한, 예로서, 도 2의 폐기물 저장부(37)에 위치한 흡수성 패드 또는 배트(38)를 포함할 수 있다. 흡수성 패드들 또는 배트들은 폐기된 샘플 및 반응물들을 보유하기 위해 사용되며, 본 기술 분야에 잘 알려져 있는 바와 같이, 흡수성은 또한 방향성 모세관 작용을 촉진하는 것을 도울 수 있다. 사용될 수 있는 물질들의 예들은 셀룰로오스, 셀룰로오스 니트레이트, 셀룰로오스 아세테이트, 유리 섬유, 나일론, 폴리일렉트로라이트 이온 교환 멤브레인, 아크릴 공중합체/나일론, Whatman 3M, 폴리에테르설폰, Schleicher 및 Schuell로부터의 470 및 740-E(Keen, N.H. USA)를 포함하거나 또는 Whatman(Fairfield, N.J. USA)로부터의 D28이 그 높은 유체 흡착 및 위킹(wicking) 속도를 위해 선택될 수 있다. 또한, 폐기물 수용부(37)는 환기구(39)를 포함한다. 상기 환기구는 수성 유체들의 운송을 방지하지만 유용한 위생 조치인, 가스에 투과성인 격리 필터 또는 멤브레인을 포함하는 하우징으로부터 형성될 수 있다.
- [0116] 도 3은 ELISA 검정 또는 마이크로유체 포맷의 다른 이질성 결합 면역검정의 자동화 또는 반자동화를 위해 적합한 디바이스(40)의 개요를 도시한다. 도 1 및 도 2에 유사하게, 우측 및 좌측 벨로우즈 펌프들(41, 42)은 적절한 포획 분자들이 부동화되어 있는 두 개의 테스트 필드들(양성(44) 및 음성(45), 역시, 도 10 참조)을 포함하는 것으로 여기에 도시되어 있는 검정 챔버(43)를 가로지르는 왕복 유체 유동을 동력공급하기 위해 사용된다. 또한, 샘플 및 반응물 추가, 혼합, 행균 및 샘플 로딩 동안의 공기 환기에 사용되는 마이크로유체 채널들(48, 49, 52, 53)을 제어하는 우측 및 좌측 밸브들(46, 47)이 도시되어 있다. 포커싱 개구들(50, 51)은 여기에 도시된 바와 같이 서로 대향하지만, 중심 축을 벗어난 각도들로 검정 챔버(43)에 진입할 수 있다. 유체 포트(54)는 샘플

플 입구 포트이고, 포트(55)는 샘플 입구와 유체 연결된 공기 환기구이며, 샘플 로딩 동안 시스템으로부터 공기를 퍼징하기 위해 사용되지만, 필수적인 것은 아니며, 마이크로 추출 혼합 프로세스를 위해 폐쇄될 수 있다. 포트(55)는 폐기물 수집 저장부로 대체될 수 있다. 따라서, 유체 회로는 포트들(54, 55), 채널들(48, 49, 50, 51, 52, 53), 벨로우즈 펌프들(41, 42)의 유체 챔버들 및 검정 챔버(43)로 구성된다. 카드의 공압 채널들 및 공압 포트들(미도시)은 벨로우즈 펌프(41)의 다이아프램(58) 및 벨로우즈 펌프(42)의 다이아프램(57)을 구동하기 위해 사용된다. 공기 환기구들(56, 59)은 벨로우즈 펌프들(41, 42)의 다이아프램 위쪽의 압력을 균등화한다. 폐기물 저장부는 도시되어 있지 않다. 대표적 마이크로유체 디바이스들(1, 20, 40)의 공압 밸브들(46, 47), 펌프들(41, 42), 공압 작동기들 및 폐기물 구조체들은 이하의 도면들에 더 상세히 설명되어 있다.

[0117] 도 4는 공압 "피넛" 밸브(70)를 개략적으로 도시하며, 그 작용은 도 5a 및 도 5b(상부 패널-밸브 개방; 하부 패널-밸브 폐쇄)에 카툰 형태로 도시되어 있다. 도 4, 도 5a 및 도 5b에서, 우측 및 상부 좌측으로부터 진입하는 마이크로유체 채널들(71, 72)은 밸브의 플라스틱 본체(77)에 레이저 용접된 가요성 폴리우레탄 또는 PET 다이아프램 층(76)에 의해 덮여진 두 개의 비아들(74, 75)에서 마이크로공동(73)(100-500 미크론 직경)에 진입한다. 엘라스토머는 다이아프램을 위해 바람직하다. 가요성 층에 나란히 배치되지만 유체 경로 위의 밸브 본체의 층 내에 위치되어 있는 제3 공동(78)은 공압 작동기로서 기능한다. 부압(도 5a 및 도 5b 참조)이 제어 공압 작동기 채널(79)을 통해 가요성 층을 상방 및 유체 경로 내의 계단식 비아들(74, 75)로부터 멀어지는 방향으로 견인하여, 도시된 바와 같이 좌측으로부터 우측 마이크로채널들(71, 72)로 유체가 유동하기 위한 경로를 개방한다. 유사하게, 공압 작동기 또는 제어 회로에 양의 공기 압력이 인가될 때, 밸브는 폐쇄되어 유체 유동을 차단한다. 또한, 공압 작동기 회로는 또한 마이크로유체 구조이며, 카드 내에 구성된다. 밸브들(70)은 카드 외측 양 및 부 공기 압력 소스들로부터 독립적으로 동작되거나 동시 작동될 수 있다. 일반적으로 이는 컴퓨터에 의해 취급되지만, 수동 작동도 사용될 수 있다. 이 밸브 구조체는 Microflow 마이크로유체 검정 기구(Micronics, Redmond Wash. USA)에서 유동을 정지시키기 위해 사용된다. 밸브 본체 내로의 샘플의 도입에 후속하여 테스트 유체들과의 어떠한 사용자 접촉도 가능하지 않도록 유로는 격리되며, 엘라스토머 다이아프램에 의한 밸브의 초기 위치는 "폐쇄 상태"라는 것을 주의하여야 한다.

[0118] 도 6은 마이크로유체 벨로우즈 펌프(90)의 평면도이다. 펌프는 도 7a 및 도 7b로부터 볼 수 있는 바와 같이 다이아프램 펌프와 유사하게 동작한다. 참고로, 펌프 공동은 두 개의 대략 균등한 체적의 챔버들 "하부" 절반 챔버(97) 및 "상부" 절반 챔버(98)로 분할되며, 하부 절반 챔버(97)는 유체를 수용하기 위한 것이고, 상부 절반 챔버(98)는 공압 작용을 위한 것이다. 물론, "상부" 및 "하부" 챔버들은 제한 없이 단부 상에 세워지거나 반전될 수 있다. 휴지시, 벨로우즈 펌프 가요성 다이아프램(93)은 코로나 평면에서 펌프 공동을 양분한다. 가요성 다이아프램(93)은 선택적으로 엘라스토머이다. 유체는 가요성 다이아프램(93)이 진공에 의해 견인될 때(또는 수동적으로, 압력 하에 유체로 프라이밍될 때) 플라스틱 본체(92) 내의 마이크로유체 입구 채널(91)을 통해 펌프 공동의 하부 절반 챔버(97)에 진입하고, 가요성 다이아프램(93)이 상부 절반 챔버(98) 내의 공압에 의해 하향 추진될 때 배출된다. 여기서, 상부 절반 챔버(98)와 연결되는 공압 작동기 채널(94), 밸브(95) 및 공압 소스(96)는 펌프를 제어하기 위해 사용된다. 유사하게, 수동 실시예에서, 포위 가요성 층(카드의 상단, 저부 또는 상단 및 저부)이 눌러질 때(손 또는 기계 중 어느 하나에 의해), 유체는 벨로우즈 저장부로부터 변위되고 유체 연결된 마이크로채널들을 통해 탈출한다. 이중 벨로우즈 펌프들이 도 1 내지 도 3에 도시된 바와 같이 직렬로 배치될 때, 하나의 펌프로부터 다른 펌프로 교번되는 썸 압력(thumb pressure)은 왕복 유동을 초래할 것이다. 체크 밸브들은 방향성 유동을 강요하기 위해 벨로우즈 펌프의 각 측부 상의 마이크로채널들 내에 위치될 수 있다. 대안적으로, 체크 밸브들은 추출 혼합 동안 이중 펌프 서브조립체를 완전히 밀봉하기 위해 사용될 수 있다. 추출 혼합에서, 상부 절반 챔버(98)의 작동기 채널(94) 내의 공기 압력은 맥동되고, 가요성 다이아프램(93)을 구동하며, 이는 순차적으로 하부 절반 챔버(97) 내의 유체를 구동한다. 동작 수학적 도 9의 단순화된 개요에서 더 상세히 설명된다.

[0119] 벨로우즈 펌프 재료들은 필요한 강성도 및 탄성을 선택하기 위해 변경될 수 있다. 탄성 층들은 펌프 표면이 눌러질 때 양압을 생성하고, 표면이 해제될 때 부압을 생성한다. 각각 벨로우즈 펌프를 향한 또는 그로부터 멀어지는 양압 및 부압 유도 유동들 양자 모두가 마이크로유체 디바이스 기반 검정들의 동작에 유리하게 사용될 수 있다는 것을 발견하였다. 또한, 사용자는 샘플 및 반응물 유체들과의 접촉으로부터 격리되어 있다는 것을 주의하여야 한다.

[0120] 일 실시예에서, 마이크로유체 디바이스는 키트의 형태로 패키징되고, 단일 임상 테스트 시편의 분석을 위해 충분한 온보드 반응체들을 포함한다. 가장 바람직하게는, 이들 키트 패키징된 카드들은 단일 진입부(즉, 샘플을 도입하기 위한 단일 진입부가 형성됨)이고, 카드는 다른 방식으로 밀봉되거나 자립형이다.

- [0121] 도 8a 및 도 8b는 마이크로유체 검정 카드로부터 오염된 샘플 및 반응물들의 배출을 방지하도록 설계된 폐기물 수용 저장부 또는 장치(100)를 통한 단면을 도시한다. 유체 채널(104)을 통해 진입하는 폐기물은 카드(102)의 플라스틱 본체 내의 폐기물 수용 저장부 내에 위치한 흡수성 재료(흡수성 패드 또는 배트(101) 내로 흡수된다. 패드(101)는 액체가 흡수될 때 도 8b에 도시된 바와 같이 팽창된다. 폐기물 수용 저장부는 폐기물 유체 채널 양태(여기서는 상부) 및 환기구 양태(여기서는 하부)를 갖는다. 가요성 또는 탄성 필름 층(103)은 폐기물 수용 저장부의 환기구 양태로부터 폐기물 유체 채널 양태를 분리시킨다. 환기구(105)는 내부 멤브레인이 팽창될 때, 공기 압력이 저장부 내에서 균등화되도록 폐기물 저장부 내에 제공된다. 환기구에는 추가 안전 조치로서 유체의 배출을 방지하기 위해 액체 배리어 필터 또는 멤브레인(106)이 제공될 수 있다. 폐기물 수용 저장부를 덮는 가요성 층은 저장부가 벨로우즈 펌프로서 기능할 수 있게 한다.
- [0122] 유사하게, 폐쇄된 시스템에서 반응물 투입을 위해, 반응물은 카드 상의 밀봉된 공동 내의 블리스터 파우치 내로 사전측정된다. 필요시 반응물을 해제하기 위해 일 실시예에서, 손가락 또는 기계적 압력이 대향 필름에 인가되어 파우치를 파열하고 내용물을 해체시킬 때 블리스터 파우치 아래에 위치한 날카로운 부분이 파우치와 접촉된다. 반응물이 필요한 방향으로 디바이스를 통해 압력에 의해 동시에 해제되고 밀려지도록 챔버가 마이크로유체 채널과 유체 결합된다.
- [0123] 예로서, 색상 발현 반응물 또는 항체 반응물들은 반응물 포트를 통해 추가되거나 검정에 사용하기 위해 온보드 블리스터 파우치들에 안전하게 저장될 수 있다. 온보드 블리스터 파우치들의 사용에 의해, 사용자는 검정에 사용되는 화학제들 또는 생물학제와의 접촉으로부터 격리된다.
- [0124] 도 9는 추출 혼합을 위한 "제1 절단" 디자인 계산을 예시한다. 도 9는 도 7, 도 1, 도 2 및 도 3에서 관독되는 것으로 의도된다. 도 9는 하부 벨로우즈 펌프 공동(140), 설명에서, 펌프의 유체 측부 또는 "하부 절반 챔버"를 도시한다. 도 7은 상부 및 하부 절반 챔버들(97, 98) 양자 모두와 다이어프램(93)과 벨로우즈 펌프의 완전한 단면도를 도시한다. 도 1 내지 도 3은 이런 벨로우즈 펌프들(4, 8, 24, 25, 41, 42)이 쌍으로 사용되는 방식을 보여준다.
- [0125] 이제 도 9를 참조하면, 벨로우즈 펌프 공동의 하부 절반 챔버(140)는 베이스와 벽들을 가지고, 가요성 덮개 다이어프램(141)을 갖는 실린더로서 모델링된다. 카드 본체(20)의 베이스판 및 덮개판(31)은 내부 유체 공간들이 더 명확하게 도시되도록 여기에 도시되어 있지 않다. 벨로우즈 펌프 공동의 상부 절반(도 7a, 도 7b의 요소 98 참조) 및 공압 작동기 회로(94)도 명료성을 위해 도시되어 있지 않다. 가요성 덮개 다이어프램(141)은 도 7에 예시된 바와 같이 유연하여야만 하며, 바람직하게는 탄성적이고 내구성이 있어야 한다. 실린더는 높이(H1), 직경(D1) 및 공칭 체적(V1)(142)을 갖는다. 벨로우즈 다이어프램의 작동 직경은 공압 압력과 덮개 필름의 순응성에 기초한 "유효 직경"이며, 따라서, 그 휴지 상태에서부터 그 전체적 압축 및 연장 위치(하향 볼록 변형)로의 가요성 멤브레인의 실제 변위 또는 "행정" 체적(Vs)은 통상적으로 불완전한 순응성 및 미사용 체적에 기인하여 절반 챔버(V1)(142)의 공칭 체적 미만이다. 공압 압력이 기계적 작동 대신 사용되기 때문에, 미사용 체적의 감소에 기인하여 행정 체적이 개선된다. 공압 작동식 벨로우즈 펌프의 부분 유효 유체 행정 체적(Vs/V1)은 0.5보다 크고, 바람직하게는 0.8보다 크다. 또한, 활성 하향행정 체적(Vx)에 대해 관심을 가지며, 이는 사실 변위 체적(Vs)보다 클 수 있으며, 그 이유는 이들 펌프들은 항상 도 1 내지 도 3에 도시된 바와 같이 쌍으로 사용된다는 것을 고려하면, 통상적으로 동반 또는 직렬 벨로우즈 펌프의 동력 행정시 유체에 의한 프라이밍에 기인하여 가요성 덮개가 확장된(상향 오목 변형) 상태에서 행정이 통상적으로 시작되기 때문이다. 하나의 다이어프램의 활성 동력 행정시, 다른 챔버의 직렬 다이어프램은 그 패시브 충전 절반 사이클 동안 확장될 것이고, 그 후, 그 동력 하향행정 절반 사이클시 더 큰 활성 행정 체적(Vx)을 전달할 수 있다. 유리하게, Vx는 두 배의 Vs일 수 있다. 사용 방법은 이중 펌프 챔버들을 분리시키는 중앙 챔버를 통해 전후로 왕복 유동을 유발하도록 하나의 펌프, 그 후, 다른 펌프의 가요성 멤브레인을 교번적으로 누르는 것을 수반한다. 교환된 총 체적은 펌프 챔버들 양자 모두의 활성 체적들의 합일 수 있다. 사용시, 직렬로 교번하는 각 절반 사이클 동안 하나의 펌프는 통상적으로 활성 상태이며, 하나는 수동 상태이고, 따라서, 또한, 직렬로 펌프 챔버들의 쌍으로부터 메커니즘을 추가로 차별화한다. 따라서, 공압 작동기는 두 개의 다이어프램들 중 하나에 지향될 수 있으며, 다른 다이어프램은 수동적으로 대기로 환기되는 그 상부 절반 챔버를 추종하도록 구성될 수 있다. 유리하게, 유체 시스템들은 혼합 동작 동안 완전히 폐쇄될 수 있고(즉, 유체 측부 상에서의 환기 없이), 에어로졸들의 형성에 대한, 그리고, 디바이스의 내용물에 대한 우발적 작업자 노출에 대한 유용한 예방조치를 한다.
- [0126] "유동 긴축" 또는 "유동 포커싱" 개구(143)는 폭(Y1), 깊이(Z1) 및 길이(L1)를 갖는다. 도시된 바와 같이, Y1은 Z1보다 작지만, 이는 필수적인 것은 아니다. 유동 긴축의 목적은 디바이스의 이 스케일의 Poiseuille 또는 파라볼릭 유동 체계 특성이 교란되도록 개구의 단면적에서 유체를 가속하는 것이며, 마이크로와류들, 난류, 및

유체 제트들이 형성되어 마이크로스케일에서 Penberthy 이덕터의 작용을 에뮬레이팅한다. 10 내지 500 mm/sec의 평균 속도들은 여기에 설명된 바와 같이 면역검정 개발을 위해 추구되며, 개구 치수들, 활성 하향행정 체적 및 가요성 층 상의 압력 펄스(P1)는 10 내지 500 mm/sec의 범위, 바람직하게는 20 내지 200 mm/sec, 가장 바람직하게는 25-100 mm/sec의 범위의 공칭 평균 속도들을 생성하도록 구성되고, 운무 프린지들에서 명백하게 Reynold 수를 증가시킨다.

[0127] 이들 개구 치수들 및 혼합기 조건들은 5 sec^{-1} 내지 500 sec^{-1} 의 범위에서 전단율들(치수 또는 직경에 걸친 유동 선형 속도)에 대응하도록 구성된다. 3000 sec^{-1} 까지의 전단율들이 고려된다. 전단율은 임계 치수로서 Z 또는 임계 치수로서 Y에 대해 계산될 수 있으며, 임계 치수는 일반적으로 유체의 통로의 가장 좁은 지점이며, 유동 속도는 펌프 챔버 체적, 다이아프램 직경(D1) 및 행정 속도에 의해 결정된다는 것을 주의해야 한다. 개구는 일반적으로 단면이 직사각형, 대체로 단면이 직경(Y)을 갖는 원형 또는 임의의 편리한 형상일 수 있다. Y는 선택적으로 Z와 같을 수 있고, Z는 선택적으로 펌프 챔버(H1)의 높이와 같을 수 있다. 개구 치수(L1)는 일반적으로 유동을 포커스(focus)하도록 선택되며, 수 마이크로미터 내지 수 밀리미터의 범위에 있다. Z1/D1 및 Y1/D1의 비율들은 일반적으로 0.5 미만, 더욱 바람직하게는 0.25 미만, 그리고, 바람직하게는 0.1 미만이 되는 것으로 결정된다. 디자인 최적화는 행정 체적을 증가시키면서 Y 및 Z 양자 모두를 감소시키는 것을 포함한다. 따라서, 개선된 혼합 특성들이 개구 및 다이아프램 구조 양자 모두를 최적화함으로써 얻어진다. 더 복잡한 디자인 계산, 또한, 모델링 속도, 밀도 및 국지화된 난류 유동이 또한 수행될 수 있거나 디자인은 경험적으로 최적화될 수 있다. 역시 경험적으로 최상으로 결정되는 바와 같이, 벽 전단이 검정 타겟들 또는 반응물들의 파괴를 초래할 때 개구 치수의 임계 하한이 교차된다는 것을 주의하여야 한다. 검정 개발 동안 대체로 최적화되는 이차 디자인 고려사항들은 사이클 시간, 사이클링 기간, 인큐베이션 온도, 압력 펄스 간격 및 파형, 그리고, 압력 진폭(P1)을 포함한다. 각 절반 행정시 수동적으로 작동되는 직렬 다이아프램을 갖는 작동기 채널(채널(94), 상부 절반 챔버(98), 도 7b)의 10 psig의 압력 펄스들이 여기에 제공된 예들에서 사용되었지만, 다른 압력들이 작동 실시예들에서 또한 예로서 부압이 나머지에 인가되는 동안 일 다이아프램에 인가되는 양압의 조합을 초래한다. 약 0.1 Atm 내지 약 5 Atm 이상의 범위의 펄스 압력들이 유용하다.

[0128] 도 10으로 돌아가면, 응집 검정에 사용하기 위한 마이크로유체 카드(150)가 도시되어 있다. 샘플 저장부(151)로부터, 세 개의 정합 마이크로유체 채널들은 검정(152, 153, 154)의 3개 채널들 내로 제어된 속도로 샘플 유체를 분배한다. 카드(155, 156, 157)의 상단의 반응물 저장부들로부터, 3개까지의 반응물들이 별개의 분석 채널들에 도입될 수 있다. 더 많거나 더 소수의 채널들이 사용될 수 있다. 사형 마이크로채널들(158, 159, 160)이 도 8에 설명된 바와 같이, 역시 밀봉된 폐기물 저장부(161)일 수 있는 카드의 저부 부근에 도시된 벨로우즈 펌프로 기계적으로 또는 수동으로 프라임된다. 환기구(163)는 폐기물 저장부의 압력을 균형화한다. 환기구(163)는 물 불투과성:가스 투과성 필터 배리어를 포함할 수 있다. 환기 출구는 또한 덮개판의 탄성 덮개 층과 체결된 벨로우즈 펌프(161)에 의한 프라임을 보조하도록 밸브(미도시)를 포함할 수 있다. 응집의 결과들은 테스트 필드(162)(도 12의 결과 참조)를 위한 윈도우에서 판독된다. 친화성 포획 작용제로 코팅된 비드들 또는 세포들을 갖는 반응물들은 응집을 검출하는 것을 돕기 위해 사용될 수 있다. 동일 카드 상의 검정의 대안적 구성에서, 단일 반응물이 "샘플" 저장부 내로 도입될 수 있으며, 다수의 샘플들이 카드의 상단에서 "반응물" 저장부들 내로 도입될 수 있다는 것을 인지하여야 한다. 샘플 및 반응물 추가의 순서 및 수단의 다양한 치환들은 쉽게 고려된다. 이들 응집 검정들은 감염성 질환을 진단하거나 교차정합들을 수행하거나 약물들을 검출하기 위해 사용될 수 있다.

[0129] 도 11 및 도 12는 후술된 예들에서 설명되는 바와 같이 수행되는 검정들을 위한 종료점 데이터이다.

[0130] 층상 시트 구성에 의해 구성된 마이크로유체 채널들은 통상적으로 정사각형 단면 프로파일들을 갖는다. 응집 반응물들에서 비드들을 사용하는 반응물들에 대하여, 채널 직경들은 개별 비드들 및 비드 응집물들의 통과를 허용하도록 조절된다. 비드 직경들은 통상적으로 1-100 미크론, 더욱 바람직하게는 2-15 미크론(평균 크기)의 범위이며, 채널 직경은 이에 따라 크기 설정되어야 한다.

[0131] 압출 성형에 의해 형성된 층들로 구성된 마이크로채널들은 각 "비아" 상의 반경 및 더 둥근 채널 프로파일들을 가질 수 있다. 사출 성형된 부분들의 내부 채널 표면들은 또한 다소 더 매끄럽다. 마이크로유동 체계의 깊은 표면 효과들, 표면 장력 및 점성 화합물 표면 거칠기 효과들에 기인하여 채널들의 유동 특성들은 중요하다. 채널 표면들은 필요에 따라 패시베이션될 수 있다. 채널의 가장 좁은 치수는 유동에 대한 가장 깊은 효과를 갖는다. 정사각형 또는 원형 단면 프로파일들에 기초한 채널들의 유동이 직경 또는 대각선 폭에 의해 제어되고, 디자인은 통상적으로 그 거동의 장점을 취하도록 변화된다. 유동 방향으로의 테이퍼의 감소는 200 미크론 미만의

직경들에 대한 모세관 효과를 초래한다. 반대로, 압력이 인가되지 않는 한 벌브를 형성하기 위한 채널의 개방은 유동을 정지시킨다. 채널 내의 비아는 고체 상태 체크 밸브의 일종으로 방향성 유동을 촉진하도록 설계될 수 있다.

[0132] 응집은 항원:항체 반응을 검출하는 잘 알려진 방식이다. 가시적 검사에 의해 검출될 수 있는 응집이 바람직하다. 이들 가시적 수단 중, 착색된 마이크로입자들, 특히, 본 기술 분야에 "비드"라고 알려져 있는 것이 더욱 바람직하다.

[0133] 착색가능한 비드들 또는 입자들 및 착색가능한 라텍스 비드들이 또한 본 기술 분야에 알려져 있으며, 면역검정들을 위한 검출 수단으로서 유용하다(예로서, 양자 모두가 여기에 참조로 통합되어 있는 미국 특허 제4,373,932호 및 제4,837,168호 참조). 착색된 반응물 용액들은 또한 응집의 시각적 특성을 향상시키고 해석을 돕기 위해 사용될 수 있다. 매우 작은 입자들의 응집들의 가시화를 위해, 확대 렌즈 윈도우가 디바이스의 덮개판 또는 페이스판에 형성될 수 있다.

[0134] 선택적으로, 비드들은 검출의 감수성을 개선시키기 위해 라벨들로 "태깅"될 수 있다. 켄처 분자와 함께 또는 자체적으로 사용되는 로다민, 플루오레세인 또는 엠펠리페론 시리즈 같은 형광 분자들이 사용될 수 있다(예로서, 양자 모두가 여기에 참조로 통합되어 있는 미국 특허 제3,996,345호 및 제4,366,241호 참조). 루미놀, 루시페린, 루시게닌 또는 옥살릴 클로라이드 같은 화학발광 분자들이 신호 수단으로서 사용될 수 있다(예로서, 여기에 참조로 통합되어 있는 미국 특허 제4,104,029호 참조). 기재로서 하이드로젠 퍼옥사이드 및 아미노에틸카르바졸을 갖는 공액결합 호스라디시 퍼옥시다제 같은 석출 착색 생성물을 제공하도록 비착색 기재와 반응하는 효소 시스템들이 또한 신호 수단으로 유용하다. 신호 및 이중 라벨링은 단일 비드 종들 또는 선택적으로, 각각 발색단들 또는 형광체들의 조합의 개별적으로 인식가능한 서명을 포함하는 다수 비드 종들 상에 사용될 수 있다.

[0135] 통상적으로, 이들이 분석물에 더욱 쉽게 결합할 수 있도록 소정 방식으로 입자들의 표면을 변형하는 것이 바람직하다. 이런 예들에서, 입자들은 공액결합 입자들을 형성하도록 소정 특정 친화성 결합 분자들로 변형될 수 있다. 면역반응 친화성 결합 분자들은 항원들, 부착소들, 앵타머들, 항체들(일차 또는 이차) 및 재조합 DNA 방법들에 의해, 융합세포종들에서 또는 펩타이드 합성에 의해 형성된 것들을 포함하는 그 복합체들을 포함한다. 친화성 포획에 기초한 다른 공통 응집 검출 시스템들은 바이오틴 및 아비딘(또는 그 파생체들), 바이오틴 및 스트렙타비딘, 카르보하이드레이트 및 렉틴들, 이펙터 및 일반적으로 수용체 분자들, 그리고, 니켈:히스티딘 시스템을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0136] 친화성 포획 분자, 예로서, 항원 또는 응집소 항체는 일반적으로 다양한 잘 알려진 기술들 중 임의의 것을 사용하여 비드에 부착될 수 있다. 예로서, 검출 프로브들(예를 들어, 입자들)에 대한 특정 결합 멤버들의 공유결합 부착은 카르복실, 아미노, 알데히드, 브로모아세틸, 이오도아세틸, 티올, 에폭시 및 다른 반응성 또는 링킹 기능 그룹들과, 잔류 자유 라디칼들 및 라디칼 양이온들을 사용하여 달성될 수 있고, 이를 통해, 단백질 결합 반응이 달성될 수 있다.

[0137] 현재 제1 멤버들에 효소들을 결합하기 위한 절차들은 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 예로서, J. H. Kennedy 등, Clin. Chim Acta 70:1(1976)에 설명되어 있다. 이 절차를 위해 사용되는 반응물들은 글루타르알데히드, p-톨루엔 디이소시아네이트, 다양한 카르보디이미드 반응물들, p-벤조퀴온 m-페리오데이트, N,N-o-헥실렌디말레이미드, 헤테로바이핑테릴 가교결합자들 등을 포함한다.

[0138] 상기 혼합 기술의 대안적 실시예들이 또한 고려된다. 도 13a 및 도 13b는 유리 슬라이드를 염색하기 위한 제1 장치의 평면 및 단면도이며, 이 장치는 유리 슬라이드의 면 상에 형성된 밀봉된 반응 챔버를 통해 왕복 유동을 생성하도록 직렬로 작용하는 이중 벨로우즈 펌프들을 갖는다. 도 13c는 에지 밀봉 부재의 배치를 도시하는 상세도이다.

[0139] 유리 슬라이드는 제한 없이, 어레이 혼성화, 프로테오믹스, 고 처리량 스크리닝 등을 위해 조직병리학, 종양학 및 세포학을 포함하는 현미경검사를 위해 일반적으로 사용되는 바와 같은 대체로 평면형의 기재 부재들 중 임의의 것을 나타낸다.

[0140] 본 예시적 실시예에서, 본 발명의 장치(200)는 베이스판(201) 상에 형성되고, 이는 유체 회로들을 둘러싸도록 층들로 구성될 수 있거나 하나 이상의 단편들로 사출 성형될 수 있다. 비록 예로서 필요시 스테인레스 스틸로 기계가공될 수 있지만, 일반적으로, 베이스판은 플라스틱으로 이루어진다. 상부에 장착된 시편(들)을 갖는 유리 슬라이드(202)는 더 상세히 도 13b 및 도 13c에 도시된 바와 같은 에지 개스킷(203)을 사용하여 베이스판에

고착된다. 본 예에서 시편(204)은 유리 표면의 아래쪽에 있다. 예지 개스킷의 상단 웹 상의 개구는 본 예에서 사진검사 또는 현미경검사를 위해 유용할 수 있는 바와 같이, 유리 슬라이드의 상부 표면을 통해 관찰 영역(206)을 갖는 관찰 윈도우(205)를 형성한다. 유리 슬라이드 아래의 리세스는 밀봉된 반응 챔버(207)를 형성한다. 또한, 관찰 윈도우는 반응 챔버를 통해 광을 통과시키기 위한 베이스판 부재에 형성될 수 있다.

[0141] 제1 벨로우즈 펌프(212) 및 제2 벨로우즈 펌프(214)는 이하에 더 상세히 설명된 바와 같이, 밀봉된 반응 챔버를 통해 전후로 유체를 추진하기 위해 사용된다.

[0142] 도 13b로 돌아가면, 유리 슬라이드(202)는 유리 슬라이드 아래에 리세스로서 형성된 밀봉된 반응 챔버(207) 위에 배치된 것으로 도시되어 있다. 유리 슬라이드는 베이스판(201)에 결합되는 외측 측방향 벽들(209)에 의해 형성된 용기된 플랫폼(208)에 병치되어 배치된다.

[0143] 리세스는 리세스의 바닥을 형성하는 슬래브(211) 및 내부 측방향 벽들(210)에 의해 형성된다. 슬래브는 선택적으로 경사형성 또는 윤곽형성될 수 있고, 밀봉된 반응 챔버(207)로부터 유체를 배액하기 위한 배액부를 구비할 수 있다. 밀봉된 반응 챔버는 상부에 장착된 시편들을 갖는 유리 슬라이드의 영역을 가로질러 연장하는 얇은 트레이이며, 여기서, 트레이의 깊이는 통상적으로 5 내지 100 마이크로미터의 범위에 있다.

[0144] 반응물 유체는 다이아프램(212a)의 하향 행정에 의해 반응 챔버에 대한 유체 연결을 통해 벨로우즈 펌프(212)로부터 추진된다. 공기가 내부 유압계로부터 퍼징되고 나면, 벨로우즈 펌프(214)를 충전하는 유체는 다이아프램(214a)의 하향 행정에 의해 벨로우즈 펌프(212)로 복귀될 수 있다. 밸빙(valving)은 명료성을 위해 도시되어 있지 않다. 다이아프램(212a, 214a)의 순차적 작동의 이러한 프로세스는 반응 챔버를 통해 직렬 벨로우즈 펌프들(212, 214) 사이의 왕복 유동을 생성하도록 반복될 수 있으며, 따라서, 시편들이 반응물 유체와 완전히 접촉되는 것을 보증한다.

[0145] 반응 챔버의 치수들이 깊이가 마이크로유체성이기 때문에, z-방향으로의 혼합은 주로 확산에 의해 이루어지고, 5 내지 100 마이크로미터의 깊이에서 비교적 신속하다. 펌프 작용은 챔버 내의 유체가 반응제들의 국지적 소진을 야기하지 않고, 시편들과 반응물의 반응을 완성하기 위해 필요에 따라 챔버를 통해 신선한 유체가 주기적으로 세척되는 것을 보증한다. 챔버의 "x" 및 "y" 치수들은 필요에 따라 고 처리량 스크리닝 또는 더 작은 스케일의 실험들을 지원하도록 구성될 수 있다. 필요한 경우, 장치(200)의 다수의 복사체들이 손으로 또는 자동화된 워크스테이션을 사용하여 직렬로 동작될 수 있다.

[0146] 예로서, 시편들(204)이 마이크로어레이들인 경우, 프로브들은 어레이들과 선택적으로 결합하고 그 후 어레이 내의 타겟 분자들을 밝히도록 챔버 내에 도입될 수 있다. 다른 용도들에서, 시편들(204)이 조직 섹션들인 경우, 스테인들 또는 항체들은 특정 세포들에 대한 선택적 결합을 위해 챔버 내로 도입될 수 있으며, 이들 세포들은 그 후 가시화될 수 있다. 다른 예들에서, FISH(형광 현장 혼성화)에서 같이 형광 프로브들이 사용됨으로써, 연구자들이 현장에서 생물학적 활동들을 추적할 수 있게 한다. 유사하게, 폴로니(polony) 시퀀싱 같은 시퀀싱 반응들이 이 종류의 챔버들 내에서 수행될 수 있다. 관찰 윈도우의 두께는 광학 패키지와 인터페이스하기 위한 필요에 따라 선택될 수 있으며, 이미지 분석은 관찰 카메라의 디지털 화상들을 사용하여 쉽게 달성된다.

[0147] 본 예에서, 예지 개스킷(203)은 용기 플랫폼(206) 상에 형성된 립(215)을 둘러싸도록 형성된다. 이는 도 13c에 더 상세히 도시되어 있다. 슬라이드(202)는 개스킷(203)을 사용하여 립(215)에 밀봉식으로 클램핑된다. 밀봉된 반응 챔버(207)를 형성하는 내부 리세스의 내측 측벽(210) 및 용기 플랫폼의 외측 측벽(209)이 도시되어 있다. 내측 측벽(210)과 외측 측벽(209) 사이에 형성된 유체 채널(216)은 밀봉된 반응 챔버(207)와 도 13b에 도시된 유체 반응제 저장부들과 벨로우즈 펌프 사이에서 유체 연통한다. 217에서 반응 챔버에 진입하는 유체(도 14)는 출구 또는 환기구를 구비하지 않는 한 탈출할 수 없다.

[0148] 예지 개스킷 부재는 실리콘 고무 또는 비닐 고무 또는 다른 엘라스토머 같은 일반적으로 연성 및 유연성이지만 강인한 재료인 성형된 물품이다. 이 개스킷에서, 개스킷의 전체 내부 예지를 연장하는 "u-형상" 홈통은 밀봉을 형성하도록 립(215)과 슬라이드 위에서 미끄러진다. 이는 다른 클램핑 시스템들로 관찰되었을 때 수력학을 단 순화하고, 슬라이드의 굴곡을 경감시키지만, 반응 챔버 내로 시편들을 하향 대면시키는 것을 필요로 한다.

[0149] 필요시, 강성 클램프는 여기에 예시된 예지 개스킷(203)을 보강하도록 고착될 수 있다. 강성 클램프는 일반적으로 예지 개스킷의 형상을 따를 것이지만 압력 하에 반응 챔버의 누설을 방지하기 위해 필요시 상부에 연성 클램프를 조일 것이다. 필요 시, 다른 클램핑 시스템들이 사용될 수 있다.

[0150] 편리하게, 가열 디바이스들 또는 Peltier 칩들이 반응 챔버 내에 제어된 온도 및 용기 플랫폼 내에 배치될 수 있다. 가열 디바이스들의 효과는 액체의 온도를 제어하는 것이며, 유리하게는 유리 슬라이드는 도관이 아니고,

여기서, 열은 챔버로 이송됨으로써 과열 또는 결빙에 의한 시편들에 대한 손상의 위험을 최소화한다.

- [0151] 이 구성의 변형에서, 밀봉된 반응 챔버는 개스킷의 일 단부(또는 양 단부들) 상의 슬릿 또는 절결부를 통해 슬라이드를 삽입함으로써 유리 슬라이드의 세그먼트 둘레에 형성될 수 있다. 이는 예로서, 슬라이드의 일 단부의 탭 상의 라벨링이 보호될 때 또는 전기 접합부가 슬라이드의 일 단부에 배선 하네스를 장착하기 위해 필요할 때 유용하다. 결과적 전기 연결부(들)는 이에 한정되지 않고 서미스터를 동작시키기 위해 또는 반응 챔버 내의 전극 어레이를 급전하기 위해 유용할 수 있다.
- [0152] 반응 챔버 내의 표면 장력은 일반적으로 습윤을 용이하게 하도록 및 기포 폐색을 방지하도록 계면활성제들 또는 패시베이션에 의해 제어된다. 펌핑 작용이 강인하기 때문에, 수직 배향이 또한 프라이밍 동안 기포들을 제거하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. 또한, 웨트아웃(wetout) 동안 기포 포획을 최소화하도록 ACO₂ 플러시가 제안되어왔다.
- [0153] 도 14는 도 13의 장치의 분해도이다. 베이스판(201)은 반응 챔버의 저부를 형성하는 리세스형 트레이가 쉽게 관찰되도록 여기에 노출된 상태로 도시되어 있는, 반응 챔버(207)를 통해 유체를 펌핑하기 위한 한 쌍의 벨로우즈 펌프들(212, 214)을 지지한다. 유체 포트(217)는 베이스판에 매설된 유체 회로에 대한 대표적 연결부들이다. 리세스형 트레이는 행균 사이클들 동안 반응물 유체들의 배액을 조장하도록 경사형성 또는 사면 형성될 수 있다. 또한, 리세스형 트레이는 필요시 가열 또는 냉각 요소들을 포함할 수 있다.
- [0154] 조립 동안, 슬라이드(202)는 리세스형 트레이를 지지하는 용기된 평탄한 리지(218) 상에 지지되고, 에지 벽들은 일반적으로 양호한 체결을 위해 치수적으로 합치된다. 슬라이드가 플랫폼 상단 표면 상에 쉽게 정합되도록 필요시 안내 릿이 사용될 수 있다. 에지 개스킷(203)은 리세스형 트레이에 대해 슬라이드를 밀봉하도록 외측 릿(215) 아래 및 슬라이드의 에지들 둘레에 체결되며, 그에 의해, 밀봉된 반응 챔버(207)를 형성한다.
- [0155] 슬라이드 부재(202)를 위한 경질 지지부(218)를 형성함으로써, 반응 챔버의 치수 완전성이 보증된다. 종래 기술의 연성 밀봉 개스킷들은 통상적으로 덮개 하우스징 아래에 배치되고, 제 위치에 압축되며, 이는 반응 챔버 내의 "z" 치수 및 헤드공간 체적이 정밀하게 제어될 수 없어서 따라서, 개스킷이 과압되거나 헤드공간이 너무 큰 경우 문제들을 유발하며, 이는 반응물 소모에 기여하고, 또한, 필요한 확산 경로 길이들을 불필요하게 증가시킴으로써 반응물의 확산 성분을 느리게하기 때문에 바람직하지 못한 행위이다.
- [0156] 예로서, 후속 검사 또는 보관을 위해 슬라이드를 제거하기 위하여 필요할 때 반응 챔버는 이들 단계들을 반전시킴으로써 분해될 수 있다. 대안적으로, 전체 조립체는 단일 유닛으로서 보관될 수 있다. 다이어프램 펌프의 원통형 하우스징들은 베이스판의 저부의 정합 리세스들 내에 끼워지게 될 수 있고, 장치의 적층체들을 보관할 수 있게 한다.
- [0157] 슬라이드는 일반적으로 최종 사용자에게 의해 공급되며, 반응기 장치의 일부로서 공급되거나 그렇지 않을 수 있다.
- [0158] 도 15는 수납 챔버 내의 유체 유동들 및 이중 벨로우즈 펌프들을 도시하는 개략도이다. 화살표들은 왕복 양방향 유동을 나타낸다. 벨로우즈 펌프(212)의 다이어프램의 하향 행정은 벨로우즈 펌프(214)를 향한 유동을 초래한다. 벨로우즈 펌프(214)의 다이어프램의 하향 행정이 유발될 때, 유동은 벨로우즈 펌프(212)의 방향으로 복귀한다.
- [0159] 하나의 벨로우즈 펌프의 하향 행정에는 대향 벨로우즈 펌프의 상향 행정이 동반됨으로써 펌핑 작용의 에너지를 배가시킨다. 대안적으로, 단일 펌프는 일시에 작동될 수 있으며, 다른 펌프는 활성 펌프의 작용에 슬레이브(slave)된다.
- [0160] 일반적 루틴에서, 마이크로프로세서 보조식 장치의 제어하에 통상적으로 실행될 때, 각 벨로우즈 펌프의 펌프 행정들은 양의 극성으로부터 음의 극성으로 교번된다. 도 16은 벨로우즈 펌프 다이어프램의 행정들의 교번 극성을 나타내는 플롯이다. 제2 벨로우즈 펌프는 동시적 반전 신호의 적용에 의해 직렬로 동작된다.
- [0161] 신호는 공압적이거나 전기적일 수 있다. 공압 제어 시스템들의 동작은 위에서 설명되었다. 자기 제어가능한 또는 정전 제어가능한 다이어프램들의 전기적 작동이 또한 본 기술 분야에 알려져 있으며, 본 발명의 다이어프램 작동 시스템들에서 용례를 갖는다.
- [0162] 도 15에 도시된 바와 같이, 다이어프램 펌프들은 또한 유체 저장부로부터 반응 챔버 내로 반응물들을 펌핑하기 위한 것 같은 외부 유체 회로들에 유체 연결될 수 있다. 포트(219)는 외부 회로에 또는 반응물 저장부에 연결

될 수 있다.

- [0163] 도 17a 내지 도 17c는 밀봉된 반응 챔버를 통해 전진하는 유체에 대한 영향 및 다른 구성들을 도시하는 다이어그램들이다. 마이크로유체 유체 시스템들의 문제는 웨트아웃 동안 매니스커스 제어이다. 이들 시스템들의 유동의 균형은 통상적으로 공동양도된 US 특허 공보 제US2010/0112723호에서 분석된 바와 같은 항력 성분 및 모세관 성분에 의해 설명된다. 표면 활성 작용제들, 표면 변형, 형상 및 표면 특징들은 습윤을 제어하는 데 유용하다. 반응 챔버가 아래로부터 프라이밍되도록하는 장치의 수직 배향은 또한 비균등 웨트아웃 및 잔류 포획 기포들을 피하는데 유용하다. 유리하게는, 일부 종래 기술 디바이스들과 달리, 본 발명의 디바이스들, 시스템들 및 장치는 수평, 수직 또는 반전 위치 중 어느 하나에서 동작될 수 있다.
- [0164] 도 18a 및 도 18b는 밀봉된 반응 챔버 내의 유동 패턴들 및 쌍을 이룬 벨로우즈 펌프들의 서로 다른 구성들을 개략적으로 도시한다. 따라서, 벨로우즈 펌프들의 독립적으로 제어가능한 쌍들의 사용은 마이크로유체 특성 치수를 갖는 얇은 유체 층들의 혼합을 위한 강인한, 그리고, 가요성인 플랫폼을 제공한다.
- [0165] 도 18a에서, 유리 기재 상에 배치된 샘플들(204)을 갖는 밀봉된 반응 챔버(207)에 유체 연결된 8개 독립적으로 제어가능한 벨로우즈 펌프 유닛들(221)을 갖는 시스템(220)이 통합된 베이스판 부재(201)에 장착된 것으로 도시되어 있다.
- [0166] 도 19는 프로세스의 유체 반응물들과 시편들(204)을 완전히 접촉시키도록 조화된 복합 혼합 패턴들을 달성하기 위해 10개의 쌍을 이룬 벨로우즈 펌프들로 구성된 또 다른 시스템(230)을 도시한다.
- [0167] 도 20a는 밀봉된 반응 챔버 내의 다수의 유동들의 개략도이다. 유동들은 밀봉된 반응 챔버(207) 내에서 좌측으로부터 우측으로의 벌크 유동 내로 합체되는 층상 유동의 중첩 필드들을 생성하도록 안내된다.
- [0168] 도 20b는 벨로우즈 펌프에 대한 부착을 위한 관상부에 의해 공급될 수 있는 바와 같은 주입기 포트(240)의 대안적 형태이다. 챔버(207)에 진입하는 유체의 필드들은 도 20a의 유체 유동을 초래한다. 또한, 챔버 위에 밀봉 슬라이드(202)에 사용하기 위한 대안적 바브 클램프 시스템이 도시되어 있다. 이 경우에, 슬라이드는 시편들이 유체 충전 챔버(207) 내에 담겨지도록 챔버 내에 직립된다.
- [0169] 도 21a 내지 도 21f는 클램핑을 위한 수단, 밀봉을 위한 수단 및 밀봉된 반응 챔버의 덮개판을 고정되는 실질적으로 평면형의 기재로부터 해제하기 위한 수단을 도시한다.
- [0170] 도 21a는 밀봉된 반응 챔버(207)를 형성하기 위해 덮개판과 유리 슬라이드(202) 사이에 삽입된 O-링(251)을 예시한다. 본 기술 분야에 공지된 다양한 유연성 개스킷 재료들이 내부 밀봉부들을 위해 사용될 수 있다.
- [0171] 도 21b는 밀봉된 반응 챔버(207)와 슬라이드(202) 둘레의 밀봉부를 형성하기 위한 접착제 밀봉 스트립(252a)을 도시한다. 여기서 도시된 바와 같이, 챔버는 외부 포트로부터의 유체(207a)로 충전된다.
- [0172] 도 21c는 제2 접착제 스트립을 도시하며, 여기서, 밀봉된 반응 챔버(207)의 치수 형상은 유리 슬라이드(202)와 접촉하는 경질 립에 의해 보증된다.
- [0173] 도 21d는 유연성 개스킷 재료로 형성된 단부 밀봉부(253)를 도시한다.
- [0174] 도 21e는 해제부(255)를 갖는 클램핑 특징부(254)를 도시한다.
- [0175] 도 21f는 유리 슬라이드(202)를 수용하기 위한 완전히 폐쇄된 챔버를 도시한다. 스페이서들(256a, 256b)은 슬라이드의 저부 및 상단부 양자 모두와 접촉하는 헤드공간 체적(258)을 규정한다.
- [0176] 도 22a 및 도 22b는 열가소체들의 마이크로몰딩에 의해 형성된 립 밀봉부들을 도시한다. 플라스틱 립은 유리 슬라이드(202)와 접촉 밀봉부를 형성하도록 압력하에 항복함으로써 반응 챔버(207)를 밀봉 수납한다.
- [0177] 본 명세서에 참조로 통합되고 일반적으로 알려진 바와 같은 기술의 예시적 기술들은 예로서, Brown의 미국 특허 제6,037,168호, McGarry의 제6,569,674호, Thorne의 제6,773,677호, McNeely의 제7,223,363호, Adey의 제7,235,400호, Loeffler의 제7,318,913호 및 Lee의 제7,906,317호를 포함한다.
- [0178] 이제, 도 23a 및 도 23b를 참조하면, 보드 상에 폐기물 저장 용량을 갖는 다수의 반응물 저장부들 및 분리가능하게 삽입가능한 슬라이드 챔버 미니카세트(300)를 갖는 본 발명의 대표적 실시예(300)를 도시한다.
- [0179] 제1 사시도에서, 장치는 가역적으로 결합가능한 슬라이드 챔버 미니카세트(302) 및 베이스판(301) 모듈(또한, 마이크로유체 카드라 명명됨)을 포함하는 것을 볼 수 있다. 미니카세트 서브조립체(302)에 부분적으로 장착된

유리 슬라이드(303)가 도시되어 있다.

- [0180] 단면도(도 23b)에서, 유리 슬라이드(303)는 카세트 하우징(317)의 래칭 바브 메커니즘(312) 내로 삽입되도록 각지게 위치한 것으로 도시되어 있다. 유연한 내부 개스킷(311)은 슬라이드가 제 위치에 클럭 로킹될 때 밀봉된 반응 챔버(310) 둘레에 밀봉부를 형성한다. 반응물 유체들은 후술된 바와 같이 니플들(316a, 316b)을 통해 도입된다. 도 21 및 도 22에 설명된 바와 같이, 예로서, 밀봉 및 클램핑을 위한 다른 수단이 또한 사용될 수 있다.
- [0181] 베이스판 모듈(301)은 이중 벨로우즈 펌프들(322, 324), 반응물 저장부들 또는 포트들(307a-c) 및 환기구(308)를 갖는 폐기물 유체 저장부(304)로 구성된다. 슬라이드 미니카세트는 베이스판 상의 도킹 베이(305) 내로 교체가능하게 플러그결합될 수 있고, 예로서, 복합 반응 프로토콜이 실행되는 경우 필요시 하나의 베이스판으로부터 다른 베이스판으로 이동될 수 있다. 베이스판은 반응물 포트들(307a 내지 307c)을 통해 반응물들이 탑재되고, 포트들은 카세트가 삽입될 때 도킹 베이의 포트들(306a, 306b)과 밀봉 결합하는 활주 카세트 상의 니플들(316a, 316b) 및 벨로우즈 펌프들을 통해 슬라이드 카세트와 유체 상호연결된다.
- [0182] 이전에 설명된 바와 같이, 벨로우즈 펌프들은 밀봉된 반응 챔버(310)를 통해 순환하는 유체들을 위해, 그리고, 반응물들을 탑재하기 위한 유체 동기력을 제공하기 위해 사용된다. 벨로우즈 펌프 다이아프램들(322a, 324a)은 본 기술 분야에 공지된 정전 기술들을 사용하여 또는 솔레노이드들을 사용하여 전자식으로 작동되거나 공압식으로 작동될 수 있다.
- [0183] 베이스판 내에 도시된 마이크로유체 회로가 설명의 용이성을 위해 비교적 간단하게 이루어지지만, 더욱 복잡한 회로들이 층들을 적층하는 프로세스에 의해 또는 복합 마이크로피쳐들로 몰딩된 단편들을 형성함으로써 또는 본 기술분야에 공지된 바와 같은 솔벤트 용접, 초음파 용접 또는 레이저 용접으로부터 선택된 융합 프로세스에 의해 형성될 수 있다.
- [0184] 반응물 저장부들의 수는 예로서, 염색 단계, 행균 단계 및 상반염색 단계를 수반하는 3 단계 염색 프로토콜을 위해 충분하다. 더 복잡한 프로토콜들이 카드의 반응물들로 또는 추가적 반응물 저장부들로 수행될 수 있다. 또한, 반응물 저장부들은 선택적으로 제거가능하며, 이들이 의지에 따라 교환될 수 있도록 베이스판 내의 연결 유체 채널들 내로 삽입하기 위해 나사식 니플들을 구비할 수 있다. 일 실시예에서, 베이스판 모듈들 및 사전충전된 반응물 저장부들은 개별적으로 판매되거나 키트들로 판매된다.
- [0185] 도 24는 도 23의 실시예의 단면도이다. 슬라이드 미니카세트 서브조립체(302)가 부분 개방 도면에 도시되어 있다. 슬라이드(303)는 클럭 로크 클램프 특장부(312)에 의해 하우징(317)에 대해 밀봉된다. 연성 개스킷(311)은 내부 반응 챔버(310)가 완전히 밀봉되는 것을 보장하도록 제공된다. 이 유닛은 일회용이거나 처리 이후 보관을 위해 저장될 수 있다. 슬라이드의 내부 면 상에 장착된 시편 재료들은 일반적으로 포트들(316a, 316b)을 통해 도입되는 유체 반응물들과 접촉함으로써 반응 챔버(310) 내에서 반응들을 받게 된다.
- [0186] 슬라이드 미니카세트(302)는 베이스판 모듈(301)의 도킹 베이(305) 내로 제거가능하게 삽입되도록 구성되며, 여기서, 포트들(316a, 316b)은 유체 채널들(306a, 306b)과 밀봉식으로 정합한다. 각 유체 채널은 벨로우즈 펌프 조립체(322)와 소통하며, 이는 반응물 저장부(307)로부터 반응 챔버(310) 내로 유체를 흡인하기 위한 작동 수단 및 다이아프램 부재를 포함한다. 일반적으로, 벨로우즈 펌프들(322, 324)은 다른 벨로우즈 펌프가 상향행정일 때 또는 두 개의 펌프들이 교번식으로 작동될 때 하나의 벨로우즈 펌프가 하향 행정 상태에 있도록 동기식으로 반전된 작동 신호들을 수용함으로써 직렬로 동작한다. 또한, 두 개의 펌프들은 하나의 펌프가 마스터이고 다른 펌프가 슬레이브인 상태로 동작될 수도 있다. 슬레이브 펌프가 다이아프램의 신장의 형태로 행정 에너지를 저장하고 이를 상대행정시 해제하기 때문에 이 구성은 엘라스토머 다이아프램들을 위해 특히 유용하다. 일반적으로 그 모듈이 일부인 장치 또는 기구 시스템 내의 메모리 매체 내에 저장되는 프로그램가능한 명령 세트를 실행하는 마이크로프로세서의 제어하에 있는 이들 조화된 작용들을 사용할 때, 밀봉된 반응 챔버를 통해 왕복 유동 체계가 형성될 수 있다. 챔버는 통상적으로 마이크로유체 "z" 치수를 가지며, 여기서, 확산 수송이 주도적이지만, 벨로우즈 펌프들은 교반되지 않은 층 위에 경계 층 농도들을 갱신하는 데 효과적인 것으로 나타나며, 따라서, 신속한 완료를 위해 확산 제한 반응들을 구동한다. 또한, 이들 시스템들은 쉽게 자동화된다.
- [0187] 도 25는 캐러셀 또는 다른 자동화된 시스템에서 사용하기 위한 복수의 장치 모듈들(300)을 예시한다. 유리하게는, 모듈들은 기포들을 피정하는 것을 돕도록 수직 위치로 장착된다. 이는 동시에 다수의 시편들을 처리하기 위한 자동화된 시스템의 동작에서 모듈들의 사용을 위한 적절성을 입증한다.
- [0188] 실시예들

- [0189] 예 1
- [0190] 마이크로유체 검정 디바이스의 준비 및 조립
- [0191] ELISA 면역검정을 위한 마이크로유체 디바이스는 다음과 같이 준비된다:
- [0192] 1. 인간 IgG (pH 9의 바이카보네이트 결합 버퍼에서 0.5 ug)가 PET 시트의 플라즈마 처리된 테스트 필드 상에 투입되었다. 인간 IgM는 제2 테스트 필드에 대한 음성 제어로서 인가되었다. 단백질들은 그 후 60℃에서 5분 동안 건조에 의해 플라스틱에 고착되었다.
- [0193] 2. 고착 이후, 테스트 필드들은 카세인 버퍼(무-바이오틴)로 30분 동안 블로킹되었고, PBST(0.1% TWEEN 20을 갖는 포스페이트 버퍼링된 식염수)로 2회 세척되었다.
- [0194] 3. 건조 이후, 처리된 PET 시트들은 벨로우즈 펌프들을 가압하고 위생 밸브들을 개방 및 폐쇄하기 위해 통합된 공압 회로를 갖는 상태로 도 3의 마이크로유체 디바이스의 접촉제 층들 사이에 조립되었다.
- [0195] 예 2
- [0196] 마이크로유체 디바이스 내의 ELISA 면역검정의 성능
- [0197] 방법 개발에서 벤치마크로서 유용한 ELISA를 위한 표준 검정은 고체 기재 상의 부동화된 인간 IgG의 검출을 수반하고, 후속하는, 바이오틴-라벨링된 비인간 항체에 의한 IgG의 차단 및 검출이 이어진다. 순차적으로 바이오틴은 효소-라벨링된 스트렙타비딘으로 검출된다.
- [0198] 절차:
- [0199] 예 1에서 설명된 바와 같이 준비된 마이크로유체 디바이스를 참조하면, 비-인간 IgG 바이오틴(Pierce, 180 uL, 카세인 버퍼 내에 1:10,000)이 샘플 포트를 통해 추가되었고, 디바이스는 느린 혼합에 의해 1분 동안 인큐베이션되었다. 테스트 필드들은 그 후 PBST로 행워지고, 행굼수를 제거하기 전에 1분 동안 느린 혼합이 이루어진다. 마이크로유체 마이크로유체 검정 기구(Micronics, Redmond Wash. USA)는 혼합 및 세척을 수행하기 위해 사용되었다.
- [0200] 2. 검출 반응물(폴리 SA-HRP)이 느린 혼합에 의해 1분 동안의 인큐베이션으로 추가되었다. 폴리 SA-HRP는 홀스 래디쉬 퍼옥시다제로 라벨링된 스트렙타비딘이다. 테스트 필드들은 다시 세척되었다.
- [0201] 3. TMB(Scytek, TMB 고 감수성 발현 용액, 180 uL, 케이션 버퍼 내의 1:500)가 추가되었다. 색상 발현을 위한 2분 인큐베이션 및 PBST에 의한 1분 세척에 후속하여, 결과들이 계수되었다.
- [0202] 4. 양의 반응은 IgG 테스트 필드를 위한 것이었고, 디이민의 검푸른 석출물에 의해 나타내어졌다.
- [0203] 본 예에서, 시트레이트/아세타이트 버퍼 내의 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘)가 색원체로서 사용되었다. 결과들이 도 11의 클로즈업 삽입 사진에 도시되어 있다. 챔버는 도 3 및 도 9에 설명되어 있다. 테스트 구역의 TMB 석출의 청색 색상 특성은 IgG(상부)로 라벨링되었음에 주의하라. IgM(하부)은 음성 제어부로서 사용되었다.
- [0204] 예 3
- [0205] 스트렙토코커스 화농들의 캡슐식 폴리사카리드들에 대한 항체들의 면역검정을 위한 마이크로유체 디바이스의 조립
- [0206] 테스트 카드의 조립:
- [0207] 1. 그룹 A 스트렙토코커스 화농들로부터 정화된 캡슐식 무코사카리드 항원은 아크릴아미드 모노머와의 공중합에 의해 N₂ 플라즈마 활성화 폴리에스테르 시트 상에 부동화된다. 시트는 테스트 필드 영역을 규정하기 위해 이전에 마스킹된다.
- [0208] 2. 플라즈마 처리된 테스트 필드 및 주변 영역들은 그 후 카세인 버퍼로 30분 동안 차단되고, PBST(0.1% TWEEN 20을 갖는 포스페이트 버퍼링된 식염수)로 2회 세척된다.
- [0209] 3. 건조 이후, 항원 처리된 폴리에스테르 시트의 적층체가 도 9에 설명된 바와 같이 일반적으로 치수설정된 마이크로유체 디바이스에 조립되며, 도 1의 패턴 마다 유체 회로와 조립된다.

- [0210] 예 4
- [0211] 마이크로유체 디바이스 포맷의 번역진단 검정의 성능
- [0212] 절차:
- [0213] 1. 예 3에 설명된 바와 같이 준비된 마이크로유체 디바이스를 참조하면, 홀스래디쉬 퍼옥시다제 200 μL 가 그룹 A-S와 공액결합되었다. 카세인 버퍼 내의 화농 반-캡슐화 항체는 샘플 포트를 통해 추가되고, 용액은 약 1분 동안 마이크로 추출 혼합에 의해 테스트 층과 접촉된다. 테스트 층은 그 후 PBST로 3회 행굼된다.
- [0214] 2. 시트레이트 버퍼, pH 3.3내의 수소 퍼옥사이드 및 200 μL ABTS에 의한 발현. 2분 동안의 혼합 및 인큐베이션에 PBST에 의한 1분 세척이 후속됨.
- [0215] 3. 고체 상 친화성 포획 매트릭스 상에 수집되는 다이민의 검푸른 침전물에 의해 양성 반응들이 표시된다.
- [0216] 본 예에서, 2,2'-아지노-디-(3-에틸벤즈티아졸린 설포닉 산)과 0.1 M 시트레이트 버퍼 pH 4.2 내의 0.03% H_2O_2 는 발현 용액으로서 사용된다. 색상 발현을 개선시키기 위해 HRP 및 o-디아니시딘의 열화를 지연시키기 위해 발현 용액 및 행굼액 내의 0.1% Tween-80(미국 특허 제4,810,630호)의 사용에 의해 검정의 감수성이 개선된다.
- [0217] 예 5
- [0218] 호흡 병원체의 패널에 대한 항체들의 검출을 위한 테스트 스트립
- [0219] 세 개의 테스트 영역들은 마이크로유체 디바이스의 윈도우에 대응하는 폴리스티렌의 시트 상에 음성 마스크되고, 플라스틱은 플라즈마 활성화된다. 2-5 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석된 이하의 항원들이 그 후 테스트 패드들 중 각각의 하나 상에 부동화된다:
- [0220] 1. 스트렙토코커스 폐렴, 혼합된 O-세로타이프스 캡슐식 폴리사카리드 항원들
- [0221] 2. 스트렙토코커스 화농들, 그룹 A 캡슐식 항원
- [0222] 3. 인플루엔자 바이러스, 유형 A, 혼합된 헤마글루티닌스 H1-H5
- [0223] 테스트 스트립은 그 후 블로킹되고 도 2의 밀봉된 마이크로유체 검정 디바이스에 조립된다. 디바이스의 준비에 후속하여, 환자 혈청(PBS, 1% BSA, 0.02% 소듐 아지드 pH 7.4로 구성된 180 μL PAABS 버퍼의 1:10 희석)이 샘플 포트를 통해 완성된 마이크로유체 디바이스 내에 피펫팅된다. 혈청은 테스트 패드들을 습윤하게 되고, 디바이스는 느린 혼합으로 5분 동안 인큐베이션된다. 그 후, 테스트 스트립은 PAABS로 1회 행굼된다. PAABS(200 μL) 내의 적절한 희석들에서 염소 반-인간 IgG 및 염소 반-인간 IgM(2:1)의 용액이 샘플 포트를 통해 추가되고, 20분 동안 RT에서 테스트 스트립 상에서 인큐베이션된다. 인큐베이션에 후속하여, 테스트 스트립은 1회 행굼되고 배액된다. 검출 항체인 글루코스 옥시다제와 공액결합된 반-염소 IgG의 용액이 그 후 적용되고, 10분 동안 RT에서 인큐베이션된다. 인큐베이션 이후, 테스트 스트립은 다시 행굼되고, 배액된다. 발현은 TRIS 버퍼 pH 9.5 내의 니트로블루 테트라졸륨 염료(NBT)의 용액으로 수행된다. 양성 혈청 항체 테스트는 항원 패드들 중 하나의 위치에서 테스트 스트립 상에서 청색 내지 보라 색상으로의 발현에 의해 표시되며, 신규 또는 최근 감염의 진단이다.
- [0224] 예 6
- [0225] 코 세척의 인플루엔자 항원
- [0226] 인플루엔자는 신속한 임상 과정을 받는다. 처음에, 호흡 상피 세척들은 감염성 작용제, 비감염성 뉴클레오캡사이드 및 포위 이물질과 인플루엔자 항원:IgA 복합체들을 포함한다. 여기서 취해지는 진단 방법은 인플루엔자 바이러스에 특정한 IgA의 검출을 수반한다. 여기서, 항체들의 검출이 설명되어 있다.
- [0227] 홀스래디쉬-퍼옥시다제 라벨링된 인플루엔자 바이러스(HPLIV)를 준비하기 위해, Nielsen에 의해 인용된 방법 [Nielsen, S L 등 1986. Detection of Immunoglobulin G Antibodies to Cytomegalovirus Antigens by Antibody Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. J Clin Microbiol, December 1986, p. 998- 1003]이, 그러나, Fitzgerald Industries(Concord Mass., USA)로부터 구매한 인플루엔자 바이러스 입자들을 사용하여 후속된다. 마이크로 유체 디바이스는 테스트 스트립의 표면 상에 모노클로날 쥐 반-인간 IgA를 먼저 부동화하고, 카세인-트윈 블로킹 용액으로 블로킹됨으로써 준비된다. 테스트 스트립은 최종 조립 이전에 디바이스의 공동에 장착된다. 조립 동안, 샘플 저장부(즉, 벨로우즈 펌프 챔버 내의)는 50 μL TBS 1% 보빈 혈청 알부민 0.1%

Tween 80(TBSBT) 내의 HMLIV 반응물의 10 ug으로 습윤되고, 진공 하의 제 위치에서 건조된다. 조립질 필터링된 식염수 코세척 2mL가 0.2 mL TRIS로 pH 7.4까지 버퍼링되고, 전체 체적이 마이크로유체 디바이스의 샘플 저장부로 전달된다. 재료는 항원-복소공액을 완전히 용해하도록 2분 동안 제 위치에서 인큐베이션된다. 샘플 용액은 그 후 2분 동안 느린 왕복 유체를 생성하도록 이중 벨로우즈 시스템을 사용하여, 테스트 필드 포획 부위를 가로질러 전후로 통과된다. 이 프로세스 동안, HRP-라벨링된 바이러스 입자들이 샘플 내의 임의의 IgA 항체들에 의해 코팅되고, 샘플 내의 임의의 IgA가 테스트 스트립 상에 부동화된 초과 반-IgA에 의해 포획된다. 인큐베이션 이후, 디바이스는 TBSBT 버퍼에 의해 3회 세척되고, 행굼수들이 폐기물 저장부로 배액되었다. 테스트 챔버에 유체 연결된 인접한 블리스터 파우치(CDRP)는 색상 발현 반응물을 포함한다. CDRP 위에 있는 다이아프램 상의 가압은 파우치를 파열하고, 테스트 공동 내로 색상 발현 반응물을 해제한다. 테스트 스트립 상의 청색 색상 침전물의 발현은 면역 응답을 나타내며, HRP-복합 인플루엔자 항원을 갖는 부동화된 IgA 복합체들의 존재를 확인한다. 모든 혼합 및 세척 단계들은 추출 혼합을 사용한다.

[0228] 예 7

[0229] 응집 면역검정의 발현

[0230] 본 검정에 사용되는 마이크로유체 디바이스가 도 7에 도시되어 있다. 이 카드는 공용 액체 비드 반응물에 대하여 둘 또는 세 개의 반응물들을 테스트하기 위해 사용될 수 있다. 양성 테스트로서, 반-인간 IgG Fc 부분-특정 바이오틴 공액결합 항체(Pierce)가 24 ug/mL의 농도로 PBS 내에 용해되었다. PBS는 음성 제어부로서 사용되었다. 청색 스트렙타비딘-코팅된 비드들(세라딘, 1% 고체들) 현탁체가 재현탁된 비드들의 3 uL를 50 uL PBS에 추가함으로써 희석되었다. 비드 용액은 각 테스트 채널들과 소통하는 우물 내에 배치되었다. 항체 용액 및 PBS는 카드의 상단의 테스트 우물들 내에 배치되었다. PBS는 좌측 및 우측 채널들 위에 배치되었고, 항체 용액은 중앙 채널 위에 배치되었다. 벨로우즈 펌프에 의해 생성된 흡입 압력을 사용하여, 테스트 용액 및 반응물 비드가 카드 내의 하강 사형 채널들 내로 이동되었고, 지속된 유동으로서 반응하도록 허용되었다. 스트렙타비딘-코팅된 비드들과 항체 바이오틴 복소공액을 포함하는 채널 내에서 즉시 강한 응집 반응이 존재하였다. PBS 채널은 응집에 대해 음성적이었다. 검정 윈도우 내의 결과들의 클로즈업 사진이 도 12에 도시되어 있다.

[0231] 예 8

[0232] 소변 내의 방광 종양 항원(BTA)을 위한 응집 테스트

[0233] 깨끗한 포획 소변이 관리 지점에서 테스트를 위해 수집된다. 1.020보다 큰 비중량을 가지는 시편들이 테스트를 위해 수용된다. 도 10의 마이크로유체 카드는 테스트를 위해 쉽게 적응될 수 있다. 소변은 상부 중앙 우물에 배치된다. 양성 및 음성 테스트 유체들이 측부 우물들 내에 배치된다. 라텍스 비드들과 공액결합된 반-인간 BTA IgG가 더 낮은 반응물 우물 내에 배치된다. 샘플과 반응물 스트림들의 혼합 및 유동을 개시하기 위해 벨로우즈 펌프가 사용된다. 각 유체가 혼합되고 사형 채널들 내에서 인큐베이션될 때, 중앙 채널 위의 광학 윈도우를 통해 관찰된 라텍스 비드들의 응집은 종양 항원의 존재에 대해 양성 면역진단을 나타낸다. 비드 반응물 유체는 검정의 진행에 후속하여 사용자를 돕기 위해 선택적으로 착색된다.

[0234] 예 9

[0235] 장의 병원체들을 위한 응집 테스트

[0236] 대부분 소정 점액을 갖는 전해질인 설사 유체 20 mL가 살균 기술로 수납되고 50mL 폴리프로필렌 원심 튜브에 전달된다. 0.01% 티메로살을 포함하는 TRIS 버퍼 0.1M pH 7.0의 20mL가 추가되었다. 총계 가시적 폐기물 및 점액 스트랜드들을 제거하기 위해 10분 동안 5000 rpm으로 테이블탑 원심기의 가벼운 원심분리 이후, 상청액이 테스트를 위해 깨끗한 샘플 용기에 부어진다. 이 용액은 잠재적으로 감염성 작용제를 포함하고, 적절한 예방조치들로 취급된다. 전처리된 샘플은 본 발명의 진단 카드 내에서 분석된다. 카드의 준비는 다음과 같다. PET의 얇은 층들 상의 컷아웃들은 레이저 리소그래피에 의해 준비된다. 관련 감염성 작용제들에 대한 항체를 갖는 라텍스 비드들(세라딘 블루)이 얻어지고, 시트레이트 1% BSA 0.1 % Triton-X 100 pH 7 동결건조 버퍼 내에 재현탁된다. 비드 현탁체는 검정을 위해 충분한 농도로 카드의 사형 채널들 내에 스폿팅 또는 다른 방식으로 적용되고, 그 후, 제 위치에서 동결건조된다. 테스트들은 이 프로토콜이 샘플 유체에 의해 쉽게 용융되는 건조 비드 층을 초래한다는 것을 나타낸다.

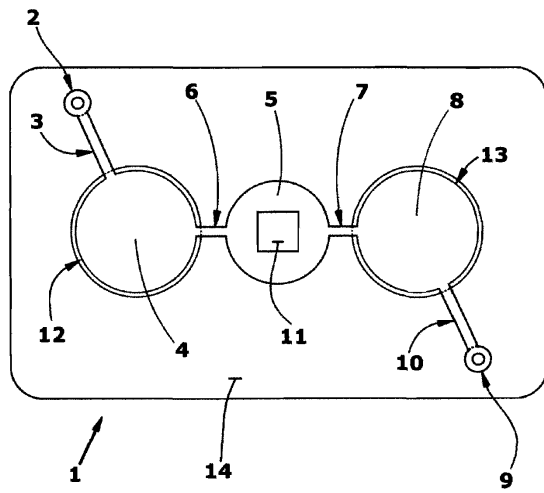
[0237] 본 예에서, 이하의 장 병원체들을 위한 항체와 공액결합된 건조된 비드들이 사용된다:

[0238] 1. 시겔라 다이젠테리아에

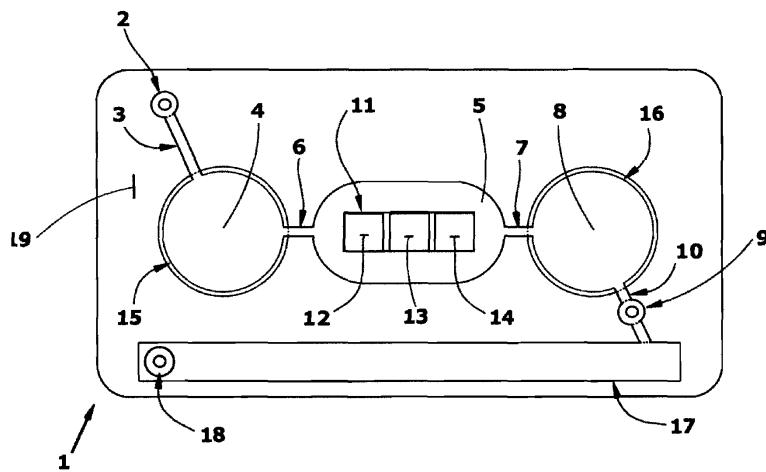
- [0239] 2. 에체리차 콜리 세로타입 0157:H7
- [0240] 3. 살모넬라 sp, 폴리발렌트 반-캡슐식 및 편모 항체
- [0241] 300 μ L의 처리된 샘플이 카드의 샘플 저장부에 도입된다. 이 카드는 상향 기울임되고 유동을 개시하도록 탭핑되며, 그 후, 표면 상에 평탄하게 배설되거나 세워진다. 유체는 하나 이상의 마이크로유체 채널들을 통해 샘플 우물을 벗어나고, 비드 동결건조물을 포함하는 더 큰 직경의 채널들로 그 경로를 형성한다. 적절한 항원:항체 쌍들의 존재하의 응집은 비드들이 유동 스트림 내에 용융되자마자 거의 즉시 시작된다. 유동은 하강 사형 채널 각각을 통해 카드의 윈도우 아래의 테스트 필드까지 이어지고, 여기서, 결과들이 판독 및 해석될 수 있다. 폐기물 저장부에 도달한 유체는 엘라스토머 내부 격리 층에 의해 사용자로부터 격리되고 저장부는 추가적 안전 특징으로서 환기구 내의 액체 배리어 멤브레인으로 추가 격리된다. 폐기물 저장부 내의 흡수성 패드는 모세관 작용에 의해 충전되고 폐기물을 보유한다. 적절히 설계된 샘플 포트의 사용 및 액체 배리어 환기구를 갖는 밀봉된 폐기물 리셉터클의 통합에 의해, 어떠한 잠재적 생물유해성 재료도 검정 동안 방출되지 않는다. 카드는 단일 도입 폐쇄형 시스템이며, 병원성 미소유기체 및 기생충들에 대한 테스트를 수반하는 용례들에 적응된다. 카드는 관리 지점에서의 사용에 적합하다.
- [0242] 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 명세서 및 후속하는 청구범위 전반에 걸쳐 용어 "포함하다" 및 "포함하는" 같은 그 변형어들은 개방적이고 포함적인 개념으로, 즉, "포함하지만 이에 한정되지 않는"으로 해석되어야 한다.
- [0243] 본 명세서 전반에 걸쳐 "하나의 실시예" 또는 "일 실시예"라는 언급은 실시예와 연계하여 설명된 특정 특징, 구조 또는 특성이 본 발명의 적어도 하나의 실시예에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전반에 걸친 다양한 위치들에서 "하나의 실시예에서" 또는 "일 실시예에서"라는 어구들의 존재는 반드시 모두가 동일한 실시예를 지칭하는 것은 아니다. 또한, 특정 특징들, 구조들 또는 특성들은 하나 이상의 실시예들에서 임의의 적절한 방식으로 조합될 수 있다.
- [0244] 상술한 설명이 특정사항들을 포함하지만, 이들 특정사항들은 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 하며, 대신, 본 발명의 실시예들의 예시인 것으로 이해되어야 한다. 즉, 본 발명의 상술한 설명은 예시 및 설명의 목적을 위한 예시이다. 본 발명의 개념 및 범주로부터 벗어나지 않고, 본 기술의 숙련자는 진보성을 동반하지 않고도 다양한 용도들 및 조건들에 이를 적응시키도록 본 발명에 다양한 변경들 및 변형들을 형성할 수 있다. 이 때문에, 이들 변경들 및 변형들은 적절하고 공평하게 이하의 청구범위의 균등물의 전체 범주 내에 있는 것으로 고려된다. 따라서, 본 발명의 범주는 주어진 예들에 의해서가 아니라 첨부 청구범위 및 그 법적 균등물들에 의해 결정되어야 한다.
- [0245] 참조 문헌 통합
- [0246] 본 명세서 및 관련 출원들에 언급된 모든 미국 특허, 미국 특허 출원 공보들, 미국 특허 출원들, 외국 특허들, 외국 특허 출원들 및 비특허 발간물들은 그 전문이 본 명세서에 참조로 통합되어 있다.

도면

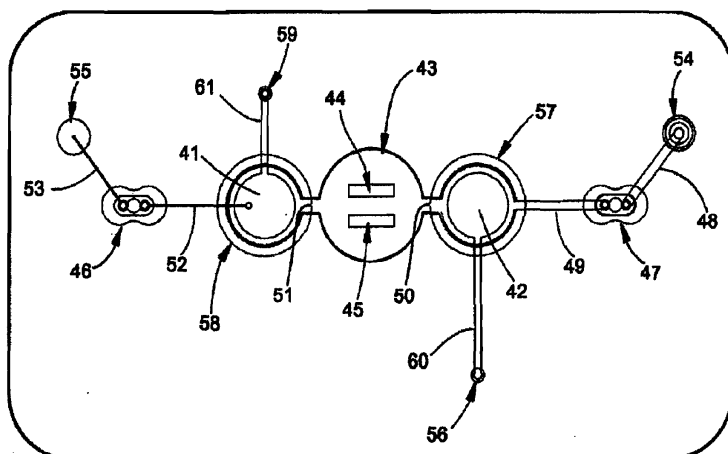
도면1



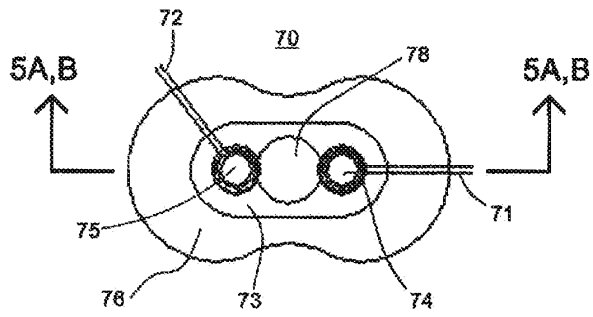
도면2



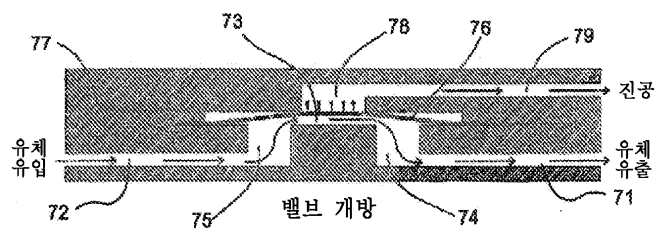
도면3



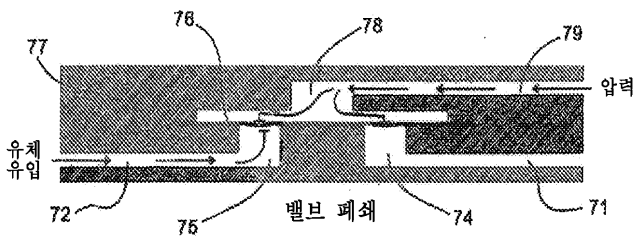
도면4



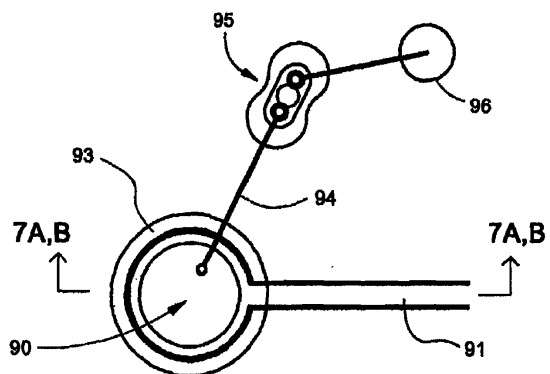
도면5a



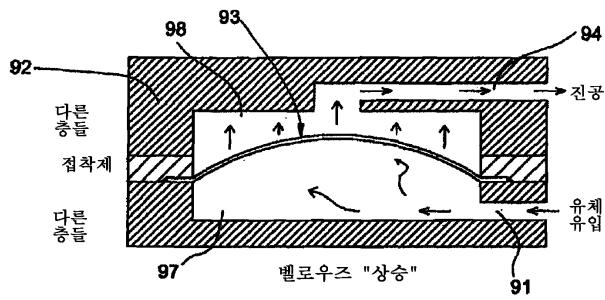
도면5b



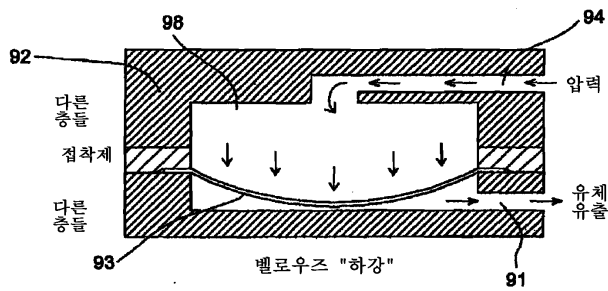
도면6



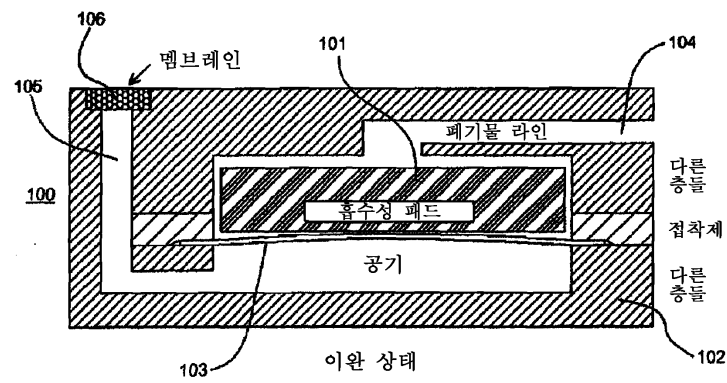
도면7a



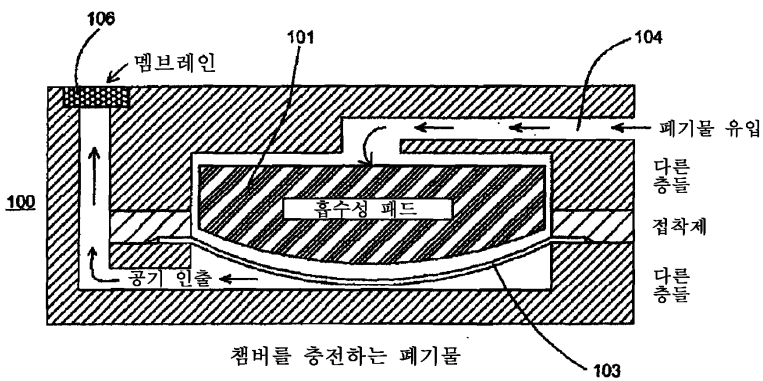
도면7b



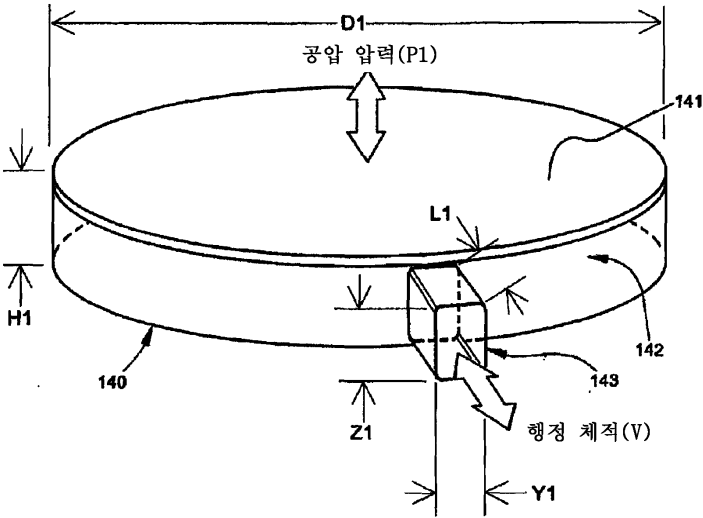
도면8a



도면8b



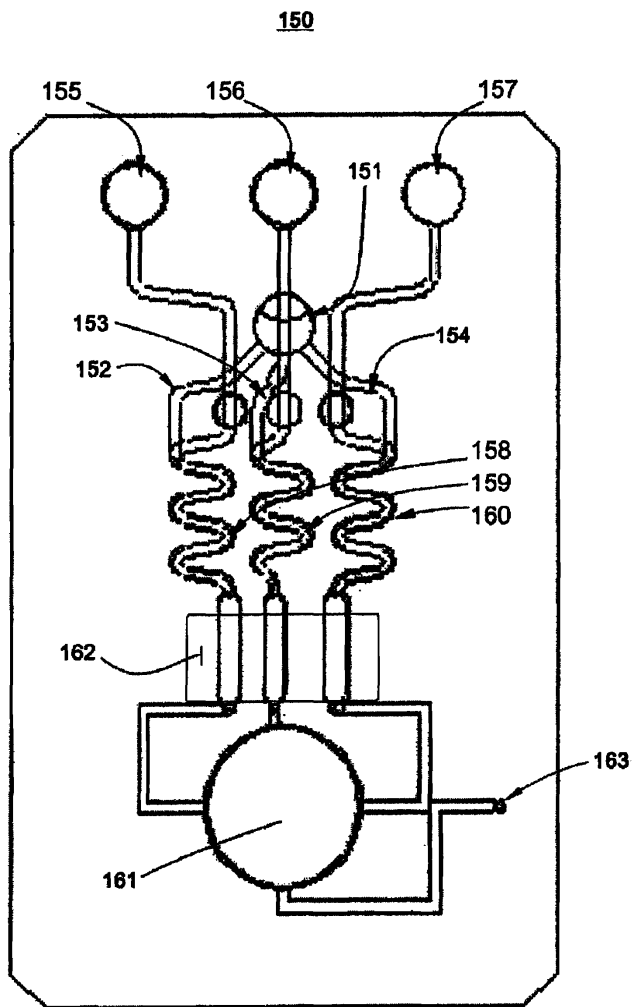
도면9



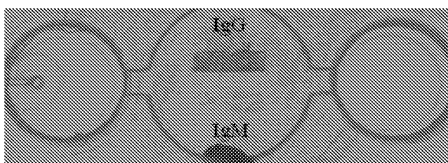
펌프 챔버 직경 D1	펌프 챔버 휴지 체적	펌프 챔버 행정 변위
~5700 μm	~55 μL	$\pm$ ~45 μL

개구 폭 Y1 (μm)	개구 깊이 Z1 (μm)	개구 길이 L1 (μm)
~1000 μm	~1800 μm	~1500 μm

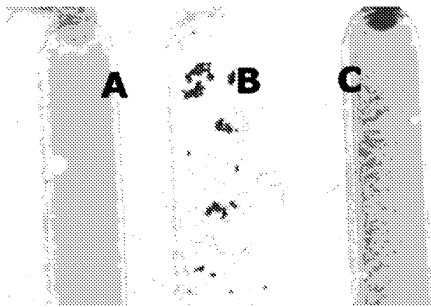
도면10



도면11

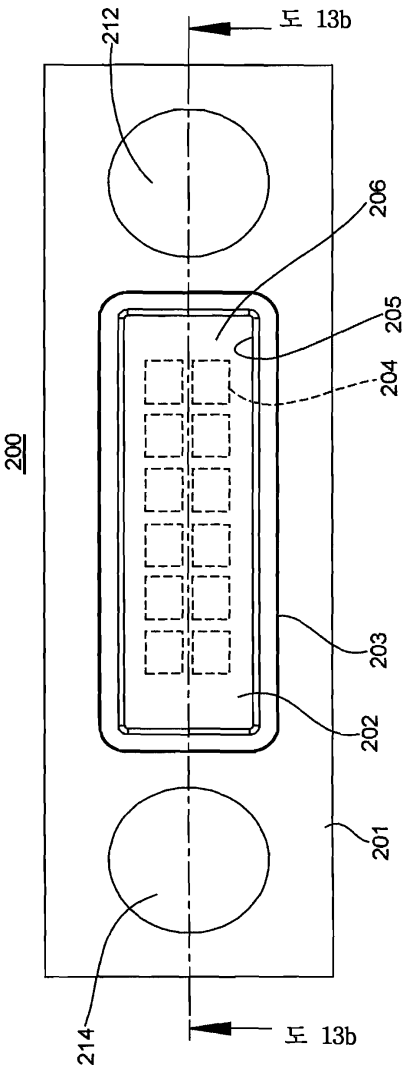


도면12

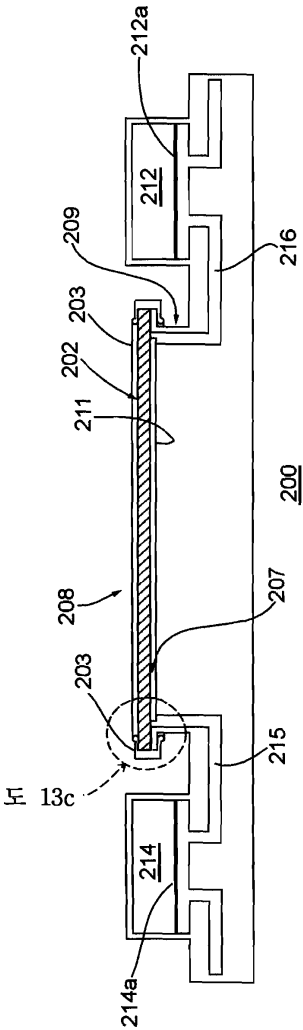


- A. 음성 제어부
- B. 응집에 대해 양성
- C. 음성 제어부

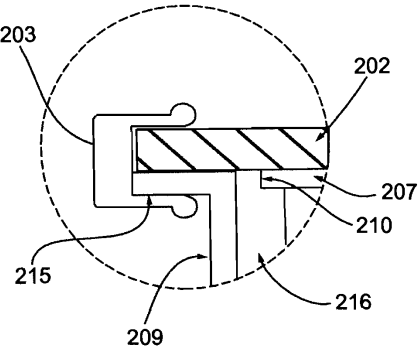
도면13a



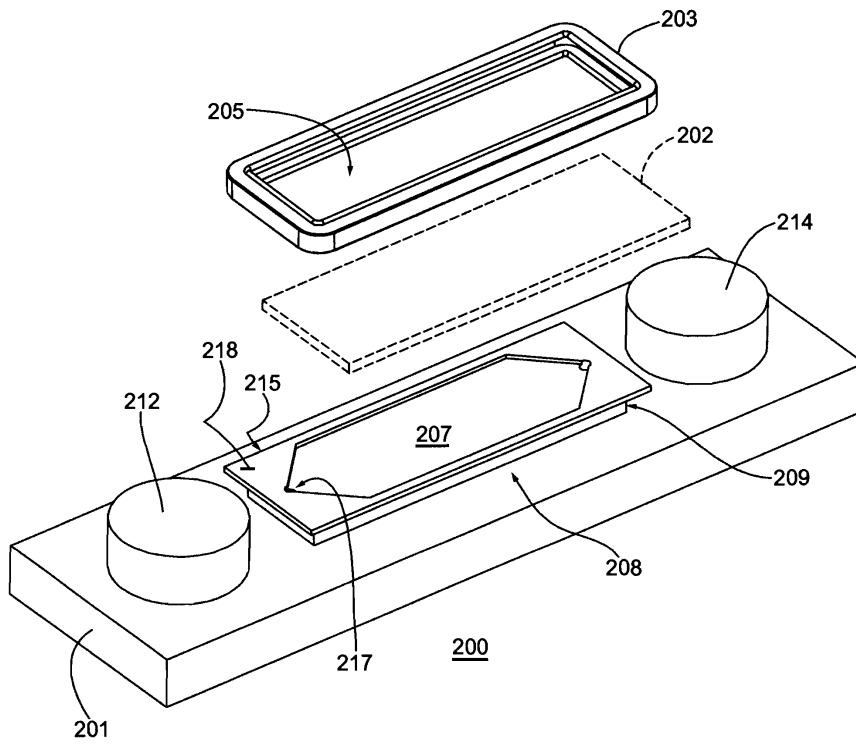
도면13b



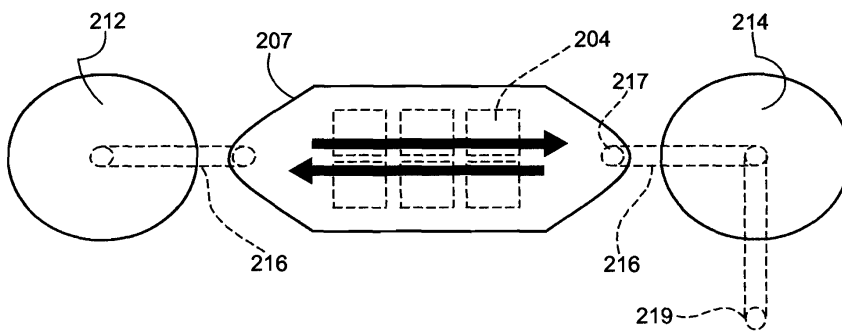
도면13c



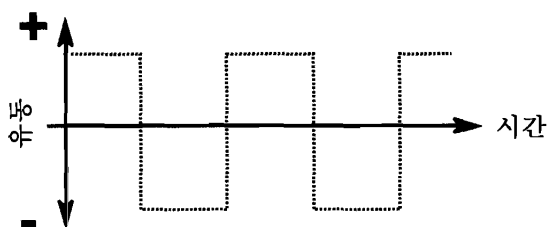
도면14



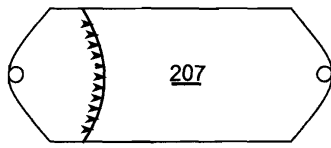
도면15



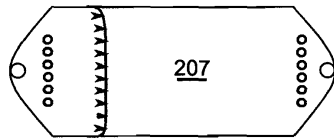
도면16



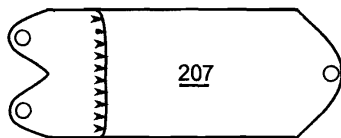
도면17a



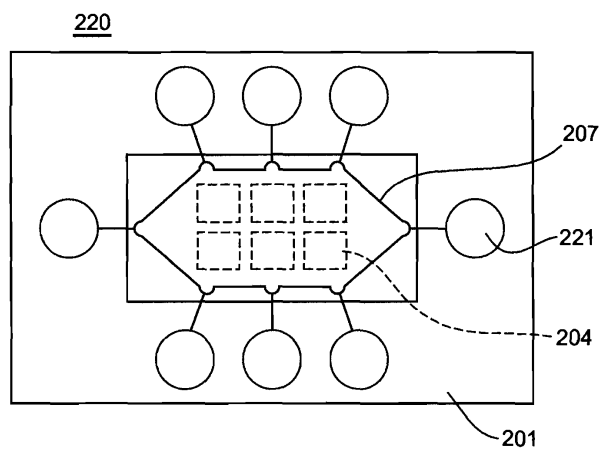
도면17b



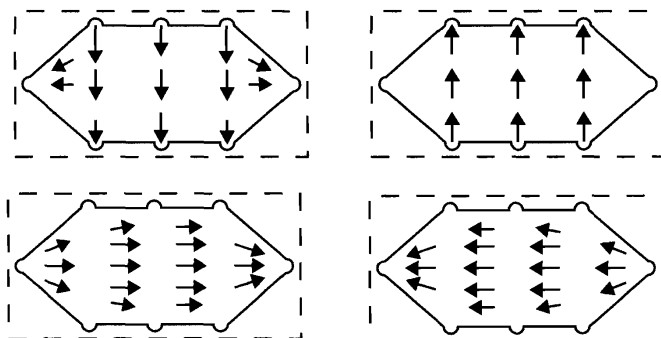
도면17c



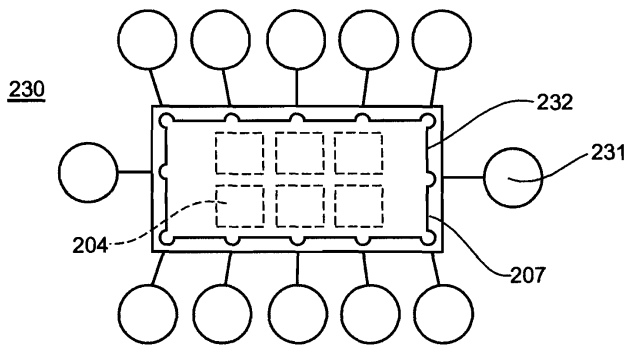
도면18a



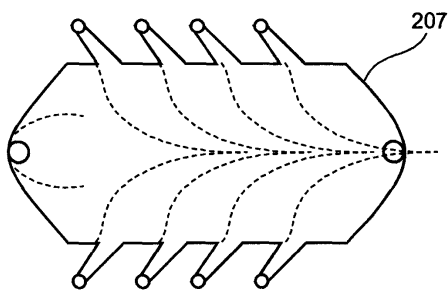
도면18b



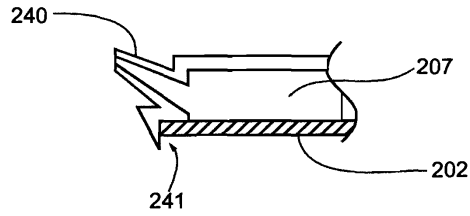
도면19



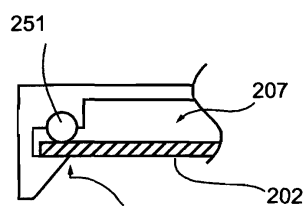
도면20a



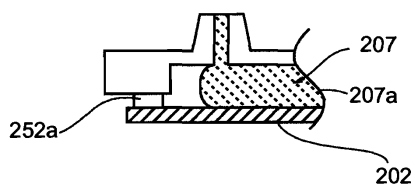
도면20b



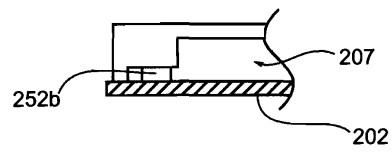
도면21a



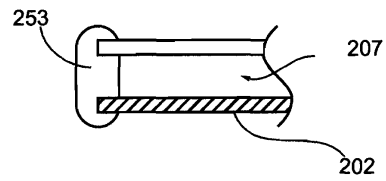
도면21b



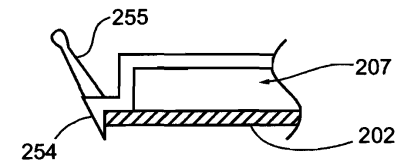
도면21c



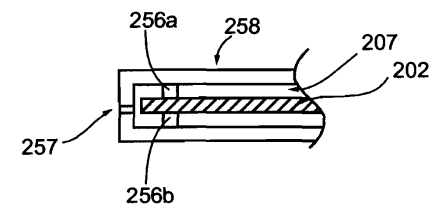
도면21d



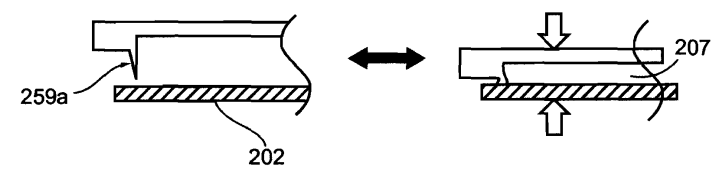
도면21e



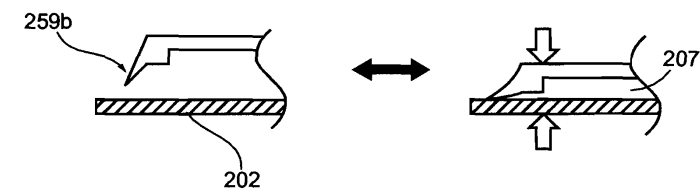
도면21f



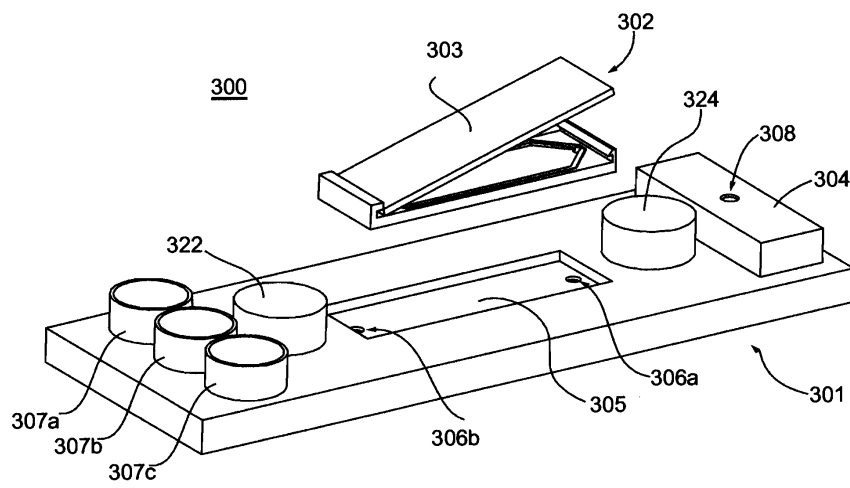
도면22a



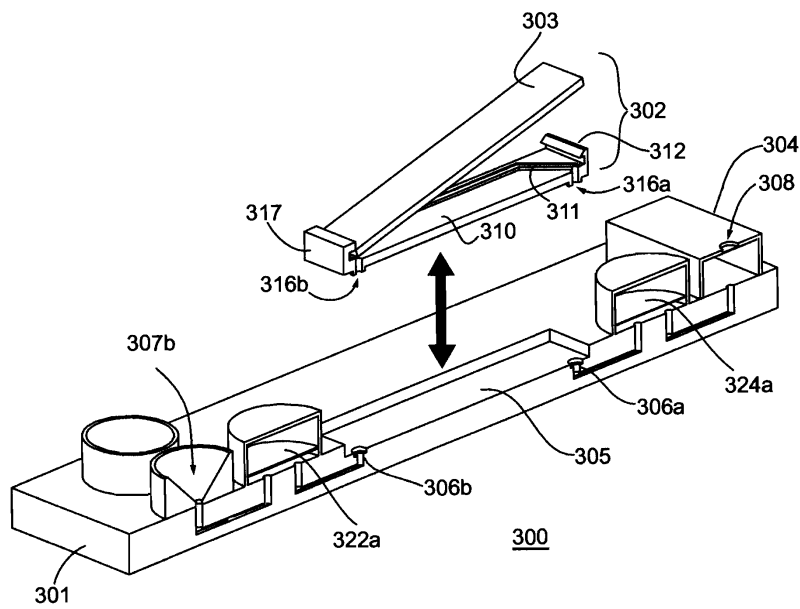
도면22b



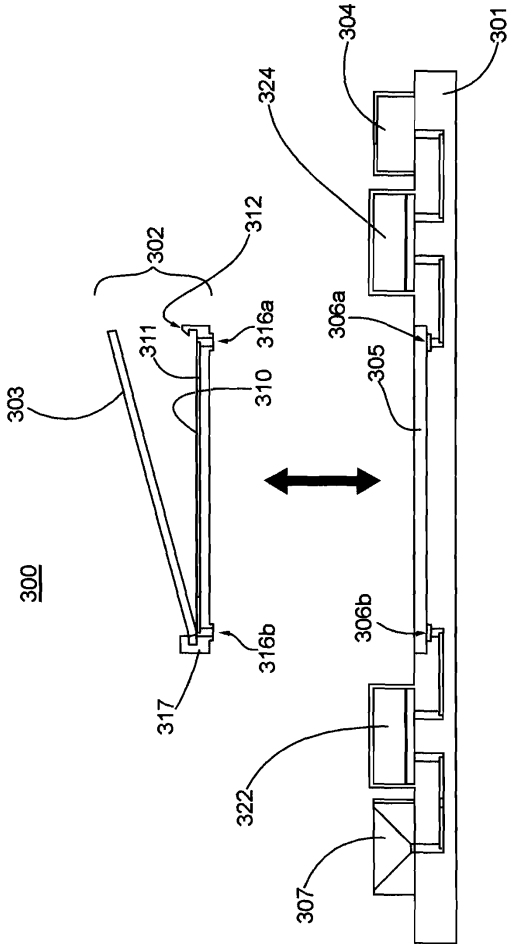
도면23a



도면23b



도면24



도면25

