

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03817566.5

[51] Int. Cl.

G01N 1/31 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

G02B 21/34 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 7 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 100507496C

[22] 申请日 2003.6.20 [21] 申请号 03817566.5

[30] 优先权

[32] 2002.6.20 [33] AU [31] PS3114

[32] 2003.3.31 [33] AU [31] 2003901871

[86] 国际申请 PCT/AU2003/000779 2003.6.20

[87] 国际公布 WO2004/001390 英 2003.12.31

[85] 进入国家阶段日期 2005.1.24

[73] 专利权人 视觉生物体系有限公司

地址 澳大利亚维多利亚

[72] 发明人 S·埃里奥特 A·麦克莱兰

C·亨德森 M·多克里尔

S·哈里斯 P·里德尔

[56] 参考文献

US4731335A 1988.3.15

US5573727A 1996.11.12

US5595707A 1997.1.21

US6337490B1 2002.1.8

WO01/40760A1 2001.6.7

US6070476A 2000.6.6

WO01/04634A 2001.1.28

EP1174702A1 2002.1.23

审查员 孙春梅

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 吴明华

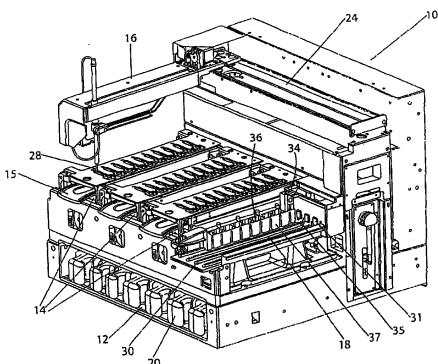
权利要求书 1 页 说明书 17 页 附图 16 页

[54] 发明名称

带有排放机构的生物反应装置及方法

[57] 摘要

本发明提供一生物反应装置，其用来接受至少一个滑动片和一单独的盖，滑动片具有位于试样区域内的一试样，这样，一反应室形成在盖和滑动片之间的试样区域上方，其中，装置包括一滑动片定位器；一盖的保持器，用来相对于滑动片定位和移动盖；一流体分配器，用来将流体分配到反应室内；以及一排放机构，与反应室流体接触，以通过毛细作用从反应室吸取流体。本发明还相应地提供一对保持有试样的滑动片进行排放的方法。



1. 一生物反应装置，其用来接受至少一个滑动片和一单独的盖，滑动片具有位于试样区域内的一试样，这样，一反应室形成在盖和滑动片之间的试样区域上方，其中，装置包括

—滑动片定位器；

—盖的保持器，用来相对于滑动片定位和移动盖；

—流体分配器，用来将流体分配到反应室内；以及

—排放机构，与反应室流体接触，以通过毛细作用从反应室吸取流体。

2. 如权利要求1所述的生物反应装置，其特征在于，排放机构包括与滑动片接触的多个接触点，以提供一流体路径来从滑动片排除流体。

3. 如权利要求1或2所述的生物反应装置，其特征在于，滑动片从下面支承在装置内。

4. 一反应装置，其具有一用于滑动片的支承突出、一流体分配器以及一排放机构，其中，支承突出从下面支承一滑动片，而排放机构接触滑动片的周缘，这样，排放机构提供一通过毛细作用的吸液路径来从滑动片的上表面移去流体。

5. 如权利要求4所述的反应装置，其特征在于，支承突出相对于水平方向倾斜角在0和10度之间，提供给装置一流体移去区域。

6. 如权利要求4或5所述的反应装置，其特征在于，排放机构是吸液柱。

7. 如权利要求6所述的反应装置，其特征在于，吸液柱定位在排放区域。

8. 如权利要求4或7所述的反应装置，其特征在于，排放机构适于横贯滑动片宽度的大部分延伸。

9. 一对保持有试样的滑动片进行排放的方法，包括以下步骤：

在一滑动片和一盖之间形成一反应室，该反应室含有试样；

将流体分配入反应室；

用一物体接触滑动片或盖，以通过毛细作用对反应室进行排放。

10. 如权利要求9所述的方法，其特征在于，接触滑动片或盖的物体是一柱。

11. 如权利要求9或10所述的方法，其特征在于，还包括在不需要从反应室排放流体时使滑动片或盖与该物体分离的步骤。

## 带有排放机构的生物反应装置及方法

### 技术领域

本发明涉及一用来为化学反应提供一反应室的方法或装置。本发明还涉及一填充反应室的方法和用于此目的的流体。

### 背景技术

存在有许多应用场合，其中，要求在一试样上开始一化学反应。通常该试样位于一显微镜的滑动片上。典型的反应包括细胞材料的免疫—组织化学的反应，或 DNA 或 RNA 的就地—杂交。在其它形式中，上千个小试样材料的微排列，其中包括 DNA、RNA 蛋白质或小的化学化合物，它们附在显微镜的滑动片上，其中，要求促使滑动片上的材料和其它化学品或流体之间发生化学反应。这些反应要求有控制的条件，包括控制的反应时间、温度和化学品的浓度。重要的是，横贯滑动片的反应是均匀的，还需滑动片到滑动片的反应是一致性的。

还为重要的是，最大程度地减小蒸发和全部使用的流体量。

过去，在滑动片上发生的化学反应，由技术人员添加和混合反应剂来进行控制。这对每一滑动片需控制反应剂的反应时间和反应量。然而，该程序既化费时间，又要求有高技术的操作者，并可在滑动片与滑动片之间产生不一致的结果。

### 发明内容

在一种形式中，本发明是一生物反应装置，其用来接受至少一个滑动片和一单独的盖，滑动片具有位于试样区域内的一试样，这样，一反应室形成在盖和滑动片之间的试样区域上方，其中，装置包括一滑动片定位器；一盖的保持器，用来相对于滑动片定位和移动盖；一流体分配器，用来将流体分配到反应室内；以及一排放机构，与反应室流体接触，以通过毛细作用从反应室吸取流体。

较佳地，排放机构包括与滑动片接触的多个接触点，以提供一流体路径来从滑动片排除流体。

较佳地，滑动片从下面支承在装置内。从下面支承基底可从基底周缘的周围移去吸液路径，这可减少流体的使用和损耗。

在另一形式中，本发明涉及一反应装置，其具有一用于滑动片的支承突出、一流体分配器以及一排放机构，其中，支承突出从下面支承一滑动片，而排放机构接触滑动片的周缘，这样，排放机构提供一通过毛细作用的吸液路径来从滑动片的上表面移去流体。

较佳地，支承突出相对于水平方向倾斜角在0和10度之间，提供给装置一流体移去区域。这提供一梯度来促进流体流动。

较佳地，排放机构是吸液柱。

较佳地，吸液柱定位在排放区域。在一种形式中，排放机构适于横贯基底宽度的大部分延伸。

在又一方面，本发明提供一对保持有试样的滑动片进行排放的方法，包括以下步骤：在一滑动片和一盖之间形成一反应室，该反应室含有试样；将流体分配入反应室；用一物体接触滑动片或盖，以通过毛细作用对反应室进行排放。

较佳的，接触滑动片或盖的物体是一柱。

较佳的，上述方法还包括在不需要从反应室排放流体时使滑动片或盖与该物体分离的步骤。

### 附图说明

借助于非限制性的实例，参照诸附图来描述本发明，在诸附图中：

图1示出一反应装置的实例；

图2示出用于图1的反应装置的一托盘的实例；

图3示出部分地加载到图1的反应装置的接受端口内的图2的托盘；

图4示出反应装置的反应剂容器架和架接受区域的一实例；

图5示出图1的反应装置的机械手和分配机构；

图6示出加载到图1的反应装置的诸工位上的滑动片和盖；

图7示出加载到图2所示的托盘内的一盖；

图8(a)-(c)示出相对于一滑动片处于三个位置的盖；

图9示出一接合装置的第一视图，一盖位于图1的反应装置的接受端口内；

图10示出形成在一盖和一滑动片之间的反应室的示意的部分；

图11示出用于反应装置的一冲洗工位；

图12示出一托盘接受端口和吸液装置的工位；

图13示出安装在一滑动片上的盖的局部切去的部分；

图 14 示出图 1 的反应装置的托盘接受端口的俯视图；

图 15 示出一工位的安装座上的滑动片和盖的截面图；

图 16 示出图 15 的滑动片、盖和安装座的部分的局部剖开图；以及

图 17 是混合工位的立体图。

### 具体实施方式

图 1 示出一自动反应装置 10，其具有散装反应剂容器接受区域 12、基底托盘接受端口 14、一机械臂 16 和一反应剂架接受区域 18。

体积容器接受区域 12 适于保持许多散装反应剂容器 20。这些容器 20 通常保持诸如三缓冲盐、PBS、柠檬酸盐、EDTA、有机溶液、非反应剂、去离子水，以及脱蜡溶液之类的流体。装置 10 的散装反应剂容器保持 1 至 4 升的流体。机械臂 16 沿着导向件 24 可移动，其由电机（未示出）驱动和由诸如计算机的控制器（未示出）控制。如图 5 所示，一分配装置 26 可移动地安装在机械臂 16 上，并包括一诸如吸液管 28 的用来分配流体的流体导管。吸液管 28 通过管路 29 附连到一泵（未示出）上，在本实例中，该泵是一能够抽吸、保持和供应精确流体量的电动的注射泵。当抽吸和供应时，吸液管 28 可以下降，而当横贯装置 10 移动时，吸液管可以上升。一用来读取条形码的传感器 33 也包括在机械臂 16 上。反应剂架接受区域 18 包括 4 个架座 30，架定位夹 31 和用于检测各反应剂架 34 的安装的传感器 35 最清晰地显示在图 4 中。反应剂架 34 各包括 9 个容器，各适于接受一反应剂容器 39。当需要移去、重新填充或变化一容器 39 时，反应剂架 34 可从架接受区域 18 中移去。

在图 1 和 3 中，有三个滑动片托盘接受端口 14，且各适于保持一单一的滑动片托盘 15。

滑动片托盘 15（示于图 2 中）包括 10 个滑动片接受装置 37，其呈具有支承装置 38 的诸孔的形式。如图 3 所示，呈滑动片 1 的形式的一个或多个基底可放置到滑动片托盘 15 内，以使滑动片 1 围绕周缘而不是在中心内被支承。盖 2 放置在如图 7 所示的滑动片 1 上。当滑动片托盘 15 放置到托盘接受端口 14 内时，各接受装置 37 对应于如图 6 所示的装置 10 内的一滑动片工位 35a（将在下文中作详细描述）。当滑动片托盘 15 沿轨道 39a 完全地插入装置 10 内时，托盘接受端口 14 内的一系列块体 40 适于支承滑动片 1。当滑动片托盘 15 完全地插入接受端口 14 内时，它可下降，以使滑动片与块体 40 接触并被块体 40

支承。滑动片托盘 15 然后与滑动片不接触，让滑动片被块体 40 从下面支承。尽管仅示出两个滑动片 1 和盖 2 加载到如图 3 所示的滑动片托盘 15 上，但可以有任何数量的滑动片和盖，直到由滑动片托盘 15 包含的接受装置 37 的数量。

块体 40 通常是金属的，可以有控制地进行加热或冷却，块体 40 支承滑动片 1，并结合呈如图 12 所示的吸液柱 42 形式的吸液装置 41。块体 40 的上表面相对于水平方向夹有一很小的角（通常为 5 度），以在装置 10 的操作过程中，促进流体沿滑动片的流动。

盖 2（最清晰地显示在图 8 和 13 中）是多个可能变体中的一个，其它变体可见本申请人的题为“用于滑动片的盖”的未决的国际专利申请，本文援引该专利以供参考。盖 2 由透明塑料制成，其宽度基本上与它所安装的滑动片 1 的宽度相同。一凹腔 51 定位在面向试样的盖 2 的侧 a 上，该凹腔 51 结合侧面 52 和滑动片的试样保持表面 53 一起形成一如图 10 所示的反应室 32，其中，为了清晰起见，z 轴线已经夸大处理。图 10 是覆盖一滑动片 1 的盖的截面图，示出反应室 32、试样 5、侧面 52 和滑动片表面 53。通常，滑动片是 25mm 宽 76mm 长，而凹腔是 100 微米高。侧面 52 紧靠或沿如图 13 所示的接触面 54 接触滑动片表面 53，因此，限制流体从反应室 32 泄漏到反应室外面。毛细力有助于保持反应室 32 内的流体。

一定位器臂 3 通过一如图 9 所示的定位器接合装置 43，能使盖 2 沿着滑动片 1 移动。各定位器臂 3 被一支架 44 接合。盖相对于滑动片的位置的范围示于图 8 中，其中，图 8 (a) 是完全打开，图 8 (b) 是局部打开，图 8 (c) 是完全关闭。一反应室 32 形成在盖 2 和滑动片 1 之间，并当盖处于关闭或局部打开位置时，位于滑动片 1 上的试样 5 的上方。盖 2 包括一其中流体可进行分配的流体容器 19。如上述未决申请中所述的，存在有若干种形式的流体容器。当盖与滑动片接触时，盖和滑动片能够将流体保持在容器 19 内。

当盖在滑动片上方从如图 8 (a) 所示的打开位置移动到如图 8 (c) 所示的关闭位置时，容器内的流体被抽吸到凹腔 51 内。容器 19 可保持足够的体积，以使在盖处于关闭位置时容器内仍有流体，在延长的反应事件或持续的高温过程中，这样提供流体的一容器来减小对流体顶的要求。可以相信，通过包括毛细力在内的多个因素流体可以被吸入到凹腔内。

盖 2 包括从盖 2 突出的翼 50，如图 7 所示，诸翼适于接合滑动片托盘 15 上的斜坡 52。当盖 2 上的翼 50 接合呈斜坡 52 形式的提升装置时，翼从滑动片

1 提升足盖 2。可以将盖 2 移动到某一位置，其中，试样被揭开，但盖仍沿导向件 56 保持与滑动片接触。根据斜坡 52 和翼 50 的结构，在盖失去与滑动片 1 接触之前，可以不必完全地打开反应室。

臂 3 通过诸如一凸轮结构（未示出）的致动器而移动，凸轮结构有控制地接合定位件 45，以使盖能沿如图 8 所示的 x 轴线相对于滑动片精确地定位。尽管图 9 示出所有盖一下子移动，但在反应装置的其它实例中，通过各自地移动臂盖可具有各自的控制。

在图 6 中，具有条形码 6 的滑动片 1 示于其对应的块体 40 上。为此图示的目的，为清晰起见滑动片托盘 15 和接合装置 43 已从图中略去。在处理过程中，使用一夹具 60 来将盖 2 稳固地保持在滑动片 1 上的合适位置内。夹具 60 包括多个腿部 62，它们围绕滑动片 1 的周缘定位，并具有弹簧那样的特性以便围绕盖的周缘提供一均匀的力。夹具 60 可由塑料制成，在另一实例（未示出）中，诸腿部可由金属制成，其呈弹簧（片弹簧或盘簧）的形式。腿或夹具的其它形式还可为压缩泡沫或气动的夹具。

当盖 2 将移动时，用于各盖 2 的夹具 60 可以提升，或在一流体分配操作过程中，可以下降而接合盖 2。在本实例中，在一特殊接受端口 14 内的所有夹具 60 和盖 2 一起移动。各自的接受端口 14 可彼此独立地进行操作。

在使用中，在散装反应剂容器 20 中的散装反应剂加载到装置 10 内。具有反应剂容器 39 的反应剂架 34 加载到架座 30 内。传感器 35 检测它们的存在，而条形码传感器 33 读取各反应剂容器 39 上的条形码，以相对于其在反应剂架 34 内的位置识别各反应剂容器 39 的内容。涉及滑动片 1 上至滑动片 1 上的试样的条形码 6 的信息，以及涉及它们各自内容的反应剂容器 39 上的条形码 6 的信息，输入到控制器（未示出）内，其通常是一具有合适软件界面和驱动器的计算机工作站。包含至少一个滑动片 1 但高达 10 个滑动片的滑动片托盘 15 放置到接受端口 14 内，一传感器（未示出）对此检测滑动片托盘 15 并启动工位 35a 的扫描。当扫描时，机械臂 16 上的条形码传感器 33 移动到各工位 35a 并试图读取一条形码 6。如果带有一条形码 6 的滑动片 1 存在的话，则控制器将条形码 6 与已知滑动片的清单和由使用者输入的信息进行比较，以确定应用那个协议到各自的滑动片 1。或者，一旦条形码已经扫描，使用者输入装置所需要的信息，来处理滑动片。各滑动片可具有不同的协议。控制器比较执行由协议要求的反应所需要的反应剂和位于反应剂架 34 内的容器 39 内的反应剂。

任何差异将导致一送给使用者的错误信息。如果一反应剂容器 39 不见，则反应剂架 34 可移去，而将正确的容器 39 放置在架 34 内，对此，检测架 34 并进行反应剂容器 39 的其它的扫描。

如果不存在错误，则机械臂 16 移动分配装置 26 的吸液管 28 到合适的反应剂容器 39，并抽吸要求的流体量。此时，分配装置 26 检查吸液管 28 的容量，当吸液管与一反应剂容器 39 的流体表面接触时，该容量发生变化。这样，可确定反应剂容器 39 内剩余流体的体积，而使用者可根据需要更换容器 39。机械臂然后将吸液管 28 移动到第一滑动片（由控制器所确定）并将流体分配到滑动片 1 的表面时。相对于滑动片 1 上的试样 5 来更换吸液管 28 和盖 2 有若干种选择，下面将对它们进行讨论。

一旦用于第一滑动片 1 的分配操作已经进行，对其它滑动片重复该过程。对于各滑动片 1 不必在每一步骤填充相同的流体，滑动片可以合适的任何次序进行填充。一示于图 11 中的冲洗工位 120 定位在反应剂架 34 附近，并可在抽吸不同反应剂之前用来清洗吸液管 28。冲洗工位 120 包括一用来接受吸液管 28 的容器 121，其中，来自一个散装反应剂容器 20 的清洗流体被泵送到吸液管 28 外面，以去除先前流体的痕迹。清洗流体也可从散装反应剂容器 20 通过管道进行泵送，以清洗吸液管 28 的内表面。反应剂可从散装反应剂容器 20 通过管道和阀（未示出）泵送到吸液管 28 内。来自散装反应剂容器 20 的散装反应剂也可泵送到一清洗工位 120。

包括在装置 10 的本体 12 内的诸如散装反应剂容器 20 的其它反应剂容器，可添加到可分配到滑动片上的反应剂类型中。某些散装反应剂容器 20 通常包含清洗和水化合试样所需要的流体。

反应剂架 34 可以用来包含一成套检测工具。一成套检测工具包括多个在单独反应剂容器 39 内的反应剂，它们用来在一个或多个试样上执行一特殊的试验。这样一成套检测工具可包括 9 个反应剂容器 39 来执行一单一的试验，这可减少提供给其它滑动片的反应剂容器 39 的数量，数量可减小到 27。

施加到滑动片上的试样的典型的反应剂包括主要的抗体，例如，由 Novocastria Laboratories Ltd. 出售的抗体。这些反应剂通常施加到反应剂容器 39 内，其体积通常在 7ml 和 30ml 之间。诸如缓冲剂和去离子水之类的其它的反应剂和流体可保持在体积储存容器 20 内，它们的体积通常在 1—4 升之间。

某些反应剂一旦准备施加到一试样上，它们具有相当短的保存期限。因此，

或者，反应剂以现用的成分预先混合好进行供应，对此，它必须在订货后的较短时间内使用，或者，在使用前由实验室工作人员进行制备，并放置到一合适的反应剂容器内。诸如 3',3-二氨基对二氨基联苯（DAB）的某些反应剂，在最终的形式中，在制备后不久即开始降级，且在开始制备后的 24 小时之外将不能使用。这要求每天制备新的一批反应剂，并确保旧的一批用后即丢弃。此外，根据诸如组织类型、其它待施加的反应剂等的因素，可需要施加诸如蛋白酶的酶来变化浓度。这可导致在施加到试样之前要求制备许多批的反应剂，涉及到诸多的问题，例如，正确地施加、期限、正确地混合、跟踪和溯源性。

浓缩的主抗体也可要求用前制备，而在施加到试样前进行稀释。主抗体可以浓缩形式或预先稀释待用的方式供应。然而，在单一装置 10 上可要求具有相同抗体的若干种不同的工作稀释，其可以其它方式在反应剂架 34 内占据若干个部位。因此，有利的是，具有抗体的一单一的反应剂容器 39，其中，抗体反应剂的稀释可在反应剂施加到试样上之前发生。主要抗体可用诸如 ABDIL 9352 的主抗体稀释剂进行稀释，所述 ABDIL 9352 的主抗体稀释剂由 Vision BioSystems Ltd. 出售。

在装置 10 的本实施例中，如图 11 所示，设置一混合工位 122。混合工位 122 包括一插入件 130，如图 17 所示，插入件具有多个混合小瓶 132。该插入件 130 具有六个小瓶，各小瓶能够保持一不同的反应剂。小瓶 132 显示为全部是相同的体积，但根据要求体积也可变化。典型的体积可以是每小瓶 7ml。安装在插入件 130 上的还有一短小突出部 134。该短小突出部 134 可用来识别插入件 130，例如，借助于一条形码。可以设想插入件 130 是用后丢弃的，但在装置 10 的几次运行过程中可包含多个不同的反应剂。

插入件 130 上的条形码可用来识别插入件 130，这样，控制器知道何时丢弃插入件 130，并要求一新的插入件加载到混合工位 122。这可以在一组时间段或使用之后预定。

显示在插入件 130 上的还有一溢流孔 135，如果任何的小瓶 132 溢流，它适于允许过多的流体从插入件排走。

在使用中，来自滑动片条形码的信息可以与控制器内的数据库相互校验，以建立反应剂的哪一系列施加到各滑动片。然后，装置 10 将要求的反应剂与目前加载的反应剂进行比较。如果识别出反应剂不是施加到一试样的最终形式，则安排一制备步骤到待在装置 10 实施的诸任务的次序中。

在一实例中，各具有 DAB 的一部件 A、B 和 C 的三个反应剂容器（与定位在反应剂架 34 内的反应剂容器 39 相同）可定位在装置 10 上。在本实例中，DAB 将以 1 份 A 比 25 份 B 比 1 份 C 的比例进行混合。为了混合待用的一批 DAB，机械臂 16 首先移动含有部分 A 的反应剂容器，抽取反应剂的一组量的部分 A。然后，机械臂 16 移动混合工位 122 处的其中一个小瓶 132，并将一组量沉积到其中一个小瓶 132 内。吸液管 28 然后移动到位于混合工位 122 旁边的一清洗工位 120，其中，冲洗吸液管的外面和内部。一旦清洗，机械臂 16 将吸液管 28 移动到包含反应剂部分 B 的反应剂容器。吸液管 28 抽吸反应剂（25 次部分 A 的体积量）并移动到包含部分 A 的小瓶。一旦沉积在小瓶内，吸液管 28 移动到清洗工位，并在移动到保持反应剂部分 C 的反应剂容器之前，再次进行冲洗。移去与从保持部分 A 的容器中移去的量相同的量，而吸液管 28 移动到原始的小瓶并用其它反应剂来沉积反应剂。初始地将反应剂沉积到混合小瓶内导致某种混合，然而，通过从小瓶 132 抽吸某些或全部反应剂到吸液管 28 内，然后，再次将反应剂沉积到小瓶 132 内，由此，可实现附加的混合。吸液管 28 可垂直地移动，以确保在沉积而帮助混合过程时末端位于流体液面的上方。再次沉积的能量致使反应剂更容易地混合。该混合过程可以按要求进行多次。在反应剂已经足够混合之后，如果待施加到试样的下一个反应剂不是 DAB，则吸液管 28 可前进到清洗工位 120。小瓶的该体积量和由吸液管 28 抽吸量为多次施加到试样提供一足够量的 DAB。无论何时需要 DAB，当其中混合特殊反应剂的小瓶被控制器记录时，机械臂 16 移动吸液管 28 到其中混合 DAB 的小瓶。制备的时间也进行记录，这样，在一预定时间段之后，混合的反应剂可丢弃。这防止制备的反应剂在期限之后使用。

在当天试验完成之后，或 DAB 期限结束时，含有 DAB（或任何到期的其它反应剂）的小瓶 132 可按如下所述地清洗。

涉及到一批内的混合的日程安排，计划的具体细节揭示在题为“计划安排的方法”的澳大利亚临时专利申请中，其由本申请人于 2003 年 2 月 24 日提交，本文援引其内容以供参考。

尽管以上过程是自动的，但使用的资源（机械臂 16 和吸液管 28）可以在相当的时间段内用于一般的反应剂施加到试样，因此，要求减少在当天制备若干批反应剂的必要性。为此原因，装置 10 可以编程在没有任何试样加载到装置 10 内的情况下或正常的处理过程中来制备反应剂，体积和浓度由使用者通过一用户界面（未示出）来确定。

在上述的实例中，各小瓶 132 内各反应剂制备的浓度和时间储存在装置 10 的控制器的存储器内，这样，旧的或不正确的混合反应剂没有机会施加到试样上，因而减少操作者错误。

由吸液管 28 的混合确保在施加到试样之前制备的反应剂完全地混合，并较之反应剂成分直接施加到试样和在试样上混合，提供更加均匀的混合。

从在装置 10 上混合得益的其它的反应剂实例包括蛋白酶，其要求被施加到多种浓度中。在上述的实例中，仅要求蛋白酶的一个反应剂容器，若干个浓度的蛋白酶可由装置 10 使用储存在板上的稀释剂在反应剂容器 39 或散装反应剂容器 20 内进行制备。这些不同的浓度可放置在不同的小瓶 132 内以备以后使用。

在上述的实例中，可将混合任务的安排放到将反应剂施加到试样中的步骤内。例如，在滑动片的试样过程中，经常有没有任务需要机械臂的时间段。这些时间可称之为开放时间，当施加到一滑动片的流体在进行下一个步骤之前需要时间进行反应时，通常会发生所述的开放时间。如果开放时间足够长，则可安排在混合步骤中。这最大程度地减小完成流体施加到试样所需要的时间，而使操作者从反应剂制备中解放出来。

在反应剂制备之后，它施加到试样上，残余的或过期的已制备的反应剂用吸出器虹吸出为废液。然后，可清洗小瓶 132。通过在需要制备的反应剂已经分配之后排走任何残余的制备的反应剂，来进行上述的清洗。用吸液管 28 实施排放，排走的流体引导到一内部垂直的体积废液容器内。一旦基本上放空，进行一冲洗的循环。冲洗循环可使用一清洗溶液，例如，溶液可以包含分配到小瓶 132 内的诸如 IMS 的乙醇。然后，清洗溶液通过吸液管 28 排走。可实施一个以上的冲洗循环。在移去最后冲洗的清洗溶液之后，使任何残余的清洁溶液蒸发以完全地净空小瓶。

还可在初始制备后的预定时间之后重访混合小瓶以便再次混合反应剂。这可通过抽取某些制备的反应剂到吸液管 28 内并再次分配到同一的小瓶 132 内来实施。在制备的反应剂的诸成分放置一定时间或在一时间段后不保持混合的情形中，这一点是重要的。就初始混合来说，再混合步骤可安排在机械臂和吸收器不工作的时间过程中。

当一滑动片托盘 15 加载到装置中时，各支架 44 接合滑动片托盘 15 内的各盖 2 的定位器臂 3。如果需要一开放的填充，即，盖 2 基本上或完全地从滑动

片 1 撤出，定位器接合装置 43 将滑动片托盘 15 上的所有盖 2 移离滑动片到一图 8 (a) 中的盖 2 所示的位置。盖 2 的该开放的位置暴露试样 5，由此，吸液管 28 可定位在各种位置内。吸液管 28 的位置包括或者在试样 5 的上方，以将流体直接地分配到吸液管 28 上，或者，邻近盖 2 的前面以进入到如图 8 所示的流体容器 19 内。各位置的理由将在下面进行解释。

在一开放填充的情形中，一旦流体已经分配在所有侧面上，定位器接合装置 43 移动而将反应室 32 定位在滑动片上的试样上方。毛细作用和盖 2 在滑动片 1 的表面上的运动致使分配的流体流入盖 2 和滑动片 1 之间的区域内。可使用夹具 60 来将盖 2 保持就位，并防止其在盖 2 和滑动片 1 之间的液体膜上浮动。

当滑动片 1 位于块体 40 上时，如图 14 和 15 所示，它可接触吸液柱 42。当滑动片长度变化时，滑动片 1 可在块体 40 上运动，盖 2 在滑动片上方的运动可移动滑动片。通常，该运动仅只在 1—2mm 的量级。在另一实例中(未示出)，可使用一致动器来将滑动片移离吸液柱，以便减少从反应室内吸取的流体。

图 15 示出滑动片 1 上的盖 2，两者都位于块体 40 上。吸液柱 42 与滑动片接触，因此，对流体提供一吸液路径。反应室位于滑动片和盖之间，但图 15 的比例是近似的，所以，从此图中不能清楚地可见。进入到流体容器 19 内的流体流入反应室内，并可从反应室向下流动通过与吸液柱 42 相关的排出管 55。为了帮助流体的出空，可用一诸如风扇(未示出)的泵从排出管道 55 抽取空气，从而降低吸液柱周围的空气压力。这将促进流体流过反应室，如果需要的话，流出排出管道 55。从滑动片撤走盖也将促进流体向下流过排出管道 55。

吸液柱即使不接触滑动片也能吸液，因为如果离吸液柱存在压力，或者如果在该区域内的空气压力减小，流体的弯液面将从吸液柱附近的滑动片的边缘延伸出来。

然而，如果需要的话(例如，在孵化时间的过程中)，通过操纵定位器臂 3，以使盖 2 移离吸液柱 42 一足够的距离而防止任何流体从反应室内进一步排出，由此，吸液作用可以中断。

当分配的流体填充反应室 32 时，在反应室内的流体和吸液柱 42 之间可存在流体接触。块体 40 的上表面相对于水平方向大致成 5 度的角，使邻近吸液柱的滑动片的端部低于滑动片的条形码的端部。该角度促进流体朝向吸液柱 42 流动，这仅提供与背离块体 40 的滑动片 1 的接触。当吸液柱 42 在滑动片 1 的

上表面处或靠近上表面处接触滑动片 1 时，在滑动片上表面的最下端处，流体将趋于从反应室内的区域吸液，在邻近吸液柱 42 的滑动片上，而不是从其它区域，因为没有其它的吸液点。

可控制分配器 26 将流体分配到滑动片的各个位置。流体可朝向滑动片的条形码端分配，或如果盖处于一开放位置，则朝向滑动片的吸液柱端。对于分配器还可以“错列的瀑布”布置进行分配，其中，流体沿滑动片向上在多个位置进行分配。当分配器沿滑动片向上移动时，盖可关闭。

流体以控制的体积分配到滑动片 1 上。业已发现，在本结构中，流体不从反应室 32 向下沿吸液柱 42 吸液，除非满足两个条件中的一个。首先，需要容器 19 内的流体来推流体通过反应室 32。该附加的流体排走从反应室移出的先前的流体。该先前的流体通过吸液柱从反应室移去。因此，通过在流体容器内放置流体，可替换反应室内的流体。第二，一泵可围绕吸液柱产生一减小的大气压，造成压差来从反应室抽取液体。也可通过减小吸液柱周围的空气压力来排空反应室。

如果没有新的流体添加到反应室内，则可通过打开反应室来排空反应室。这可通过沿滑动片 1 滑动盖直到试样被揭开得以实现。在反应室内的流体将趋向跟从盖离开试样，通过吸液柱排走流体。或者，可打开风扇从反应室抽取流体，其中，盖可保持在一关闭的位置。也可对上述做法进行组合。

在某些情形中，例如，施加或位于反应室内的流体特别地粘滞，可以利用泵来将流体施加到容器内，致使流体流过反应室。这样，可以变换流体的控制的方式。

当反应完成时，盖 2 和滑动片 1 从装置 10 移去，因此反应室 32 对每个反应是唯一的。这样不需如任何其它装置那样彻底清洗一静态的反应室。此外，反应室基本上对环境是密封的，以减小蒸发和试样干枯的可能性。

当反应室由一滑动片和一可更换的盖形成时，它相对便宜地形成一反应室，而为每个反应形成一新的干净的反应室，减少清洁的成本和时间，以及消除与先前反应或清洁流体的交叉污染的可能性。

采用盖撤回的初始填充（开放填充），提供了一填充反应室同时最大程度地在反应室内减小空穴或气泡形成的方法。由于反应室具有的深度近似为 100 微米，所以，一旦盖在滑动片上方形成反应室，则难于冲洗气泡或空穴的反应室。用于反应中的某些流体极其昂贵并且有危险，因此，要求将其消耗保持在

最少。

已发现一合适的初始填充流体是水和 25 至 30% 甘油的混合物。少量的甘油的确有助于减小气泡形成的影响，然而，当采用大量甘油时，可以发现在某些情形中，25% 的甘油（按体积计）效果很好。可包括诸如洗洁剂（例如，Tween）之类的添加剂来减小表面张力，在某些情形中，对于去除空穴这也可提供好处。

使用甘油可减小流体通过无关的吸液路径从滑动片的表面吸液的倾向。这在初始填充的过程中，减小形成较大空穴的数量。

为了帮助移去初始填充之后会驻留在反应室内的任何空穴，业已发现具有减小的表面张力和粘度但可与水混合的流体。例如，如乙醇样的异丙醇，这样的流体可用作为冲洗流体。

通常，冲洗发生在加热阶段后，因为增加反应室内的温度会导致气泡或空穴形成。使用诸如异丙醇之类的低粘度流体可有助于移去气泡或空穴。

一旦反应室填充流体，则可进一步添加流体而不夹带附加的空气。因此，只要加满流体容器就可变化流体，在某些情形中，可减小吸液柱附近的压力。如此形成的反应室显示出某些理想的流动特性，该特征在于，一新的流体将不趋于与替换的流体混合。反应室的毛细现象本质不允许大的湍流混合，因此，可精确地定时流体的变化，无需反应室或滑动片表面过分地冲洗。这允许在反应和流体的范围内以足够的精度确定反应的起始和结束。

盖运动和压力递减的速度可影响留下的残留流体的体积。

为了促进反应室内在试样上的反应，可通过调制在夹具 60 上的载荷垂直地在滑动片上移动盖（如图 8 所示地沿 z 轴方向）。垂直运动有助于沿垂直方向以及横贯滑动片（y 轴方向）方向而不是沿其长度方向混合流体。填充和排放反应室，沿滑动片长度方向（x 轴方向）移动流体，这可通过移动臂 44 沿滑动片的长度方向（x 轴方向）移动盖而得到帮助。块体 40 可进行加热来促进反应。

在许多反应中，例如，包括就地杂交、抗原决定基恢复，或脱蜡，要求加热反应室内的流体达到 100 摄氏度温度。在此情形中，已知会形成气泡，而气泡难于迁移。如果气泡发生在试样上，则它们减少暴露到试样的流体量，因此，可影响试样内以及不同滑动片上的试样之间的结果的一致性。在这样的情形中，业已发现，使用具有一个或多个涂层的盖可减小气泡形成的影响。

装置 10 的另一特征在于，反应室的尺寸可以变化。通常，当盖完全地位于滑动片上方（称之为关闭位置）时，反应室的体积是 150 微升。然而，如果盖

不完全地关闭，则形成在盖和滑动片之间的反应室可以是减小的体积。在图 8 (b) 中，示出一处于局部关闭位置的盖，其中，反应室的体积将显著地减小，例如，达 80 微米。该实例在下列情形中是有效的：小的试样或朝向滑动片的端部放置，其允许盖形成较小的反应室，而仍覆盖试样。较小的反应室要求较小的流体体积，如果使用的流体昂贵或难于获得，则流体的较小体积是有利的。当流体分配到滑动片上时，反应装置的实例允许盖的位置被参照。因此，当盖处于打开位置时，可将流体分配到组织试样的顶上，或介于组织试样和盖之间，这样，盖移动到一关闭位置的运动横贯试样推动流体，而同时填充反应室。还可沿滑动片在多个位置处分配流体，或可在盖的前边缘上或其附近处分配流体。

以下是建立和使用上述装置的描述。

1. 滑动片加载：安装在玻璃滑动片上的嵌入石蜡的组织部分（试样 5）加载到带有盖 2 的滑动片托盘 15 内，并插入到反应装置 10 的接受区域 14 内。使用者选择要求的协议，运行的类型（即，100  $\mu$  L（经济-2/3 滑动片）或 150  $\mu$  L（标准-全滑动片）），并确保包含必要反应剂容器 39 的反应剂托盘 34 加载到装置 10 内。

2. 脱蜡：在执行染色程序之前，要求切片后从组织部分去除石蜡。对于在仪器上脱蜡，盖仍处于一关闭的位置，而脱蜡溶液由分配装置 26 分配到滑动片上，滑动片由安装块体 40 预热到 70°C。在除去多余的脱蜡溶液之前，滑动片在 70°C 下孵化 4 分钟，通过一泵（未示出）致使吸液柱周围的空气压力降低来去除所述脱蜡溶液。新鲜的脱蜡溶液分配到滑动片上在 70°C 下再孵化 4 分钟。该过程通常对要求脱蜡的托盘内的所有滑动片重复一次。滑动片冷却到环境温度，盖打开和关闭，以去除含有残余溶解石蜡的多余的脱蜡溶液。所有滑动片用异丙醇清洗，用分配装置施加异丙醇一次一个滑动片，以去除残余的脱蜡溶液，然后，所有滑动片用由分配装置分配的蒸馏水再次水合。

3. 抗原决定基恢复：在 IHC 和 ISH 处理可发生之前，必须将在固定过程中已经隐藏起来的抗原决定基（蛋白质、DNA、RNA）暴露在组织内。在仪器上可呈现两个协议：

a. 热诱导的抗原决定基恢复 (HIER)

脱蜡之后，所有的滑动片接受一初始的恢复缓冲剂（初始填充流体）的填充（10mM 柠檬酸钠/30% 甘油/0.05% Tween），使盖处于打开的位置，以便于

溶液沿滑动片向下运动，并减少气泡的形成。盖关闭，安装块体 40 加热滑动片到 100°C 持续要求的恢复时间。在恢复完成之后，通过分配装置用恢复缓冲剂个别地冲洗来冷却滑动片。

**b. 酶诱导的抗原决定基恢复 (EIER)**

蛋白酶溶液（即，蛋白酶 K、胃蛋白酶，以及胰岛素）通过分配装置分配到各滑动片上，并在要求的恢复温度下（例如，环境-50°C 或室温）孵化持续 10-30 分钟。恢复完成之后各滑动片用分配装置分配的蒸馏水进行清洗。

**4. 免疫组织化学 (IHC) :** IHC 是基于活组织检查和样本内的抗体（蛋白质）与抗原（蛋白质）的特殊的连接。在抗原恢复阶段之后，各滑动片从分配装置接受包含 Tween-20 的缓冲剂。各滑动片可在环境温度下用过氧化氢处理 8 分钟，以阻塞内生的过氧化物酶在组织部分内的活动性，并用含有 Tween-20 的 TWB 缓冲剂清洗，再次用分配装置进行分配。一针对特殊目标蛋白质的主抗体通过分配装置施加到组织试样上，并孵化 15-60 分钟。此后是一二次的生物素标志的抗体孵化。通过分配链霉或碱性磷酸酶成对的过氧化酶到每个滑动片上来检测约束的抗体，这通过添加一色原体（即，DAB、BCIP/NBT）显现，所有通过分配装置进行分配。各部分用苏木精进行复染，也通过分配装置进行分配。

**5. 就地杂交 (ISH) :** ISH 允许检测一细胞内的特殊核酸序列。在 EIER 阶段之后，组织部分通过将异丙醇分配到各滑动片的反应室内，且移动盖到打开位置来干燥组织，由此，组织部分脱水。一荧光素或生物素标志的核酸探针施加到滑动片且盖缓慢地关闭，以便横贯组织均匀地分布探针。允许探针在 37-55°C 下杂交到组织部分内的其互补的 DNA/RNA 目标，持续 1.5-2 小时。在目标是 DNA 的情形中，在杂交前，组织部分和探针首先在高温（即，95°C）下持续 5—10 分钟改变本性。滑动片通过从分配装置分配 TWB 进行清洗，使用错列的瀑布冲洗温和地除去未约束的探针。清洗之后，为了程序的其余部分盖移动到关闭位置。通过施加与碱性磷酸酶成对的抗荧光素或抗生物素的抗体，其由分配装置进行分配，通过添加一酶基底 (BCIP/NBT) 即可显现，酶基底也由分配装置进行分配。

**6. 移除:** 一旦已经完成对于一特殊的滑动片托盘的协议，不管其它滑动片托盘的状态如何，可移去该托盘。由于滑动片托盘可包含各具有不同应用协议的滑动片，托盘必须保持在装置内，直到对于该特殊托盘的所有协议已经完

成为止。诸如一光的指示器通知使用者何时所有待施加到滑动片托盘上的滑动片的协议已经完成。

一旦反应室已经填充，可将试样保持在一缓冲剂内持续一延长的时间。例如，如果某些滑动片反应完成，但在一滑动片托盘上的其它滑动片要求附加的处理，则反应室内的流体可以加满。具有三个滑动片托盘允许一定量的灵活性，灵活性在于，要求加强时间处理的试样可放置在一个滑动片托盘内，而较快处理的可在一分离的滑动片托盘上实施。一附加的滑动片托盘可进入，而一个或多个滑动片托盘已经开始处理，能够移去完成的滑动片托盘，而另一滑动片托盘正在处理。在处理运行的过程中，反应剂架 34 可被移去，例如，如果一容器出空。一旦反应剂架 34 更换，条形码传感器 33 再次扫描反应剂容器上的条形码，以确保仅有正确的反应剂被施加。

分配机构使用一传感器来探测反应剂容器内的流体液位，因此，当容器运行低时警告使用者。当未合适地储存且反应剂也是昂贵时，由于反应剂可具有短的使用寿命，所以这一点是重要的，因此，在减少浪费中具有显著的优点。

传感器可附连到吸液管，以在吸液管到达反应剂容器内的流体的表面时进行检测。这允许确定容器的体积，如果流体的液位下落到一预定的水平，则一警告信号可送给使用者。然后，反应剂架可从装置中移去，更换容器，由此，通过读取反应剂容器上的条形码，扫描仪将确定正确的反应剂是否已经替换。这样，可减小操作者的错误。

有许多个所述的变体，但装置设计成允许对流体的应用、反应时间和温度有一灵活的方法。因此，装置不意图局限于可能方法论的具体的实例中，诸如流体的应用、盖的位置和运动的诸变体中。

可被应用的协议是变化的，可应用不同的协议到一单一架内的滑动片上的各个试样。此外，可加载一新的托盘的滑动片或移去一完成托盘的滑动片，同时，装置处理其它托盘的滑动片。

不局限于以上所述，本发明的某些具体方面陈述如下，并连同某些优点的简要描述：

在一反应装置内的滑动片上形成一反应室的方法，其包括：

放置一具有在一滑动片上的凹腔的盖，以形成一反应室；

在托盘的容器内定位盖和滑动片；

提供一在反应装置内的接受部分，反应装置具有一用于托盘内各容器的安装

座；

将托盘加载到反应装置的接受部分内，其中，反应装置的接受部分定位该托盘；可释放地将盖保持到滑动片；以及从滑动片和盖中释放托盘。

上述方法允许一滑动片和盖容易地放置到一托盘的容器中。托盘可具有多个容器，例如，本文所揭示的诸实施例的图中所示的每个托盘 10 个容器。托盘然后可加载到反应装置的接受部分内，这样，例如，由滑动片和盖形成的高达 10 个反应室可放置到反应装置内。由于加载后托盘由反应装置定位，而滑动片和盖由托盘定位，所以，高达 10 个反应室的正确位置可容易地在装置内确定。假定滑动片的尺寸因制造的不准确性而变化，盖不接触滑动片的侧面（以消除无关的吸液点），这样，盖可自由地在滑动片顶上移动，如果不受其它装置的约束，则一下子定位 10 个反应室会是困难的。

一旦托盘加载，而滑动片和盖由夹具固定在位置上，托盘可被移去。在本实例中，托盘下落以使安装座支承滑动片和盖。除了吸液柱之外，这去除围绕滑动片的边缘的所有接触。因此，可利用该结构来容易地和快速地定位多个滑动片和盖，而与滑动片的侧面没有任何接触。由于盖没有一确实的密封结构，而反应室一般地充满流体，所以，该结构有助于加载多个滑动片而没有流体损失，由此，将反应室内的气泡的形成减到最小。

一用来加载多个滑动片和盖的装置包括一具有多个用于滑动片和盖的容器的托盘；

一接受部分用来接受多个托盘；

用于定位在接受部分内的各容器的安装座；

一用于各安装座的夹具；

其中，当一具有滑动片和盖的托盘加载到接受部分内时，各夹具将盖固定在滑动片上从而定位滑动片，托盘从滑动片下落，这样，各滑动片被安装座所支承。

较佳地，设置一排放装置。

较佳地，排放装置包括一吸液装置。

上述装置允许由一操作者容易地加载滑动片和盖，如果要求的话，以批的方式加载。

在滑动片上的试样上进行反应的方法包括多个步骤，其包括：

将具有至少一个滑动片的第一保持器加载到一反应装置内；

扫描滑动片，以确定反应中的诸步骤是否在滑动片上发生；

确定其它保持器是否已经加载到反应装置内；

在与第一保持器相关的至少一个滑动片上进行所要求的多个步骤；

当第二批检测时，继续与第一保持器内至少一个滑动片相关的反应中的多个步骤，然后，进行与第二保持器相关的滑动片有关的多个步骤中的至少一个步骤。

由于在用来开始和停止反应或承担其它任务（诸如安装在机械臂上的吸液管）的装置不是始终被使用的，其中通常存在有间隙，所以在某些情形中这是可能的。

如果装置始终被使用，则发生在与第二保持器相关的至少一个滑动片上的反应的诸步骤在第一批完成之前将不会开始。

一装置，用来在滑动片上实施反应，包括：

一具有多个容器的托盘，适于支承和定位滑动片和相关的盖；

用于托盘的接受端口，接受端口具有与托盘的各容器相关的安装座；

一夹紧机构用来将盖和滑动片夹紧就位；

一流体排放装置，用来从形成在盖和滑动片之间的反应室中排走流体；

流体容器允许至少一个流体被放置在装置上；

流体分配装置用来将流体分配到滑动片上；

其中，一旦托盘被加载，滑动片和盖被夹紧，托盘可移动以使滑动片和盖支承在安装座上，流体可通过分配装置分配到滑动片上，并通过排放装置进行排放。

较佳地，装置包括一定位装置，用来相对于滑动片定位和移动盖。

较佳地，存在有一与托盘中的各容器相关的定位装置。

较佳地，与一特定的托盘相关的所有定位装置都在同一时间移动，相对于滑动片移动盖，以便于流体分配或在一托盘上的所有滑动片的排放。

一装置，用来将反应剂施加到试样滑动片，包括：

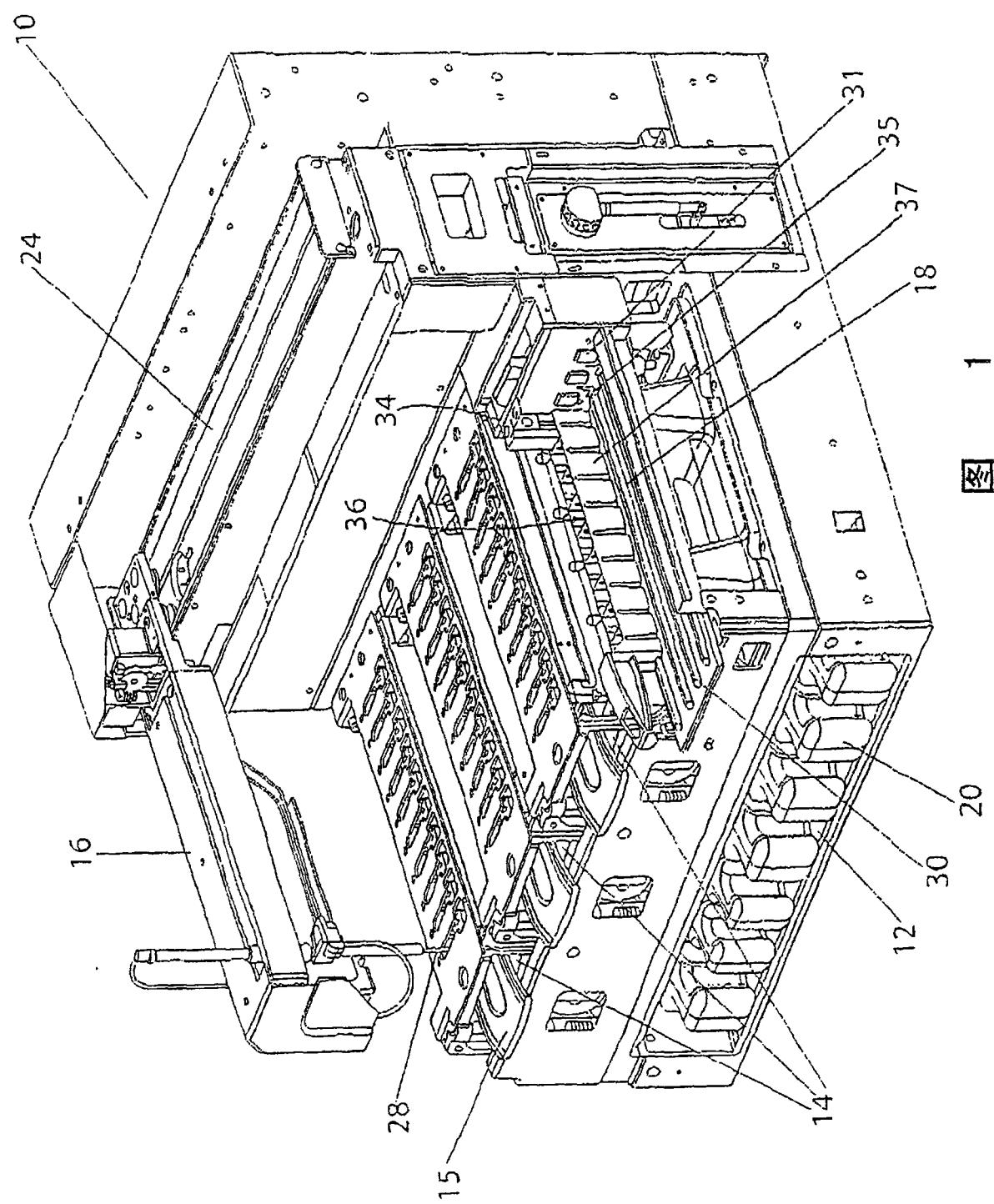
多个用来接受滑动片的端口；

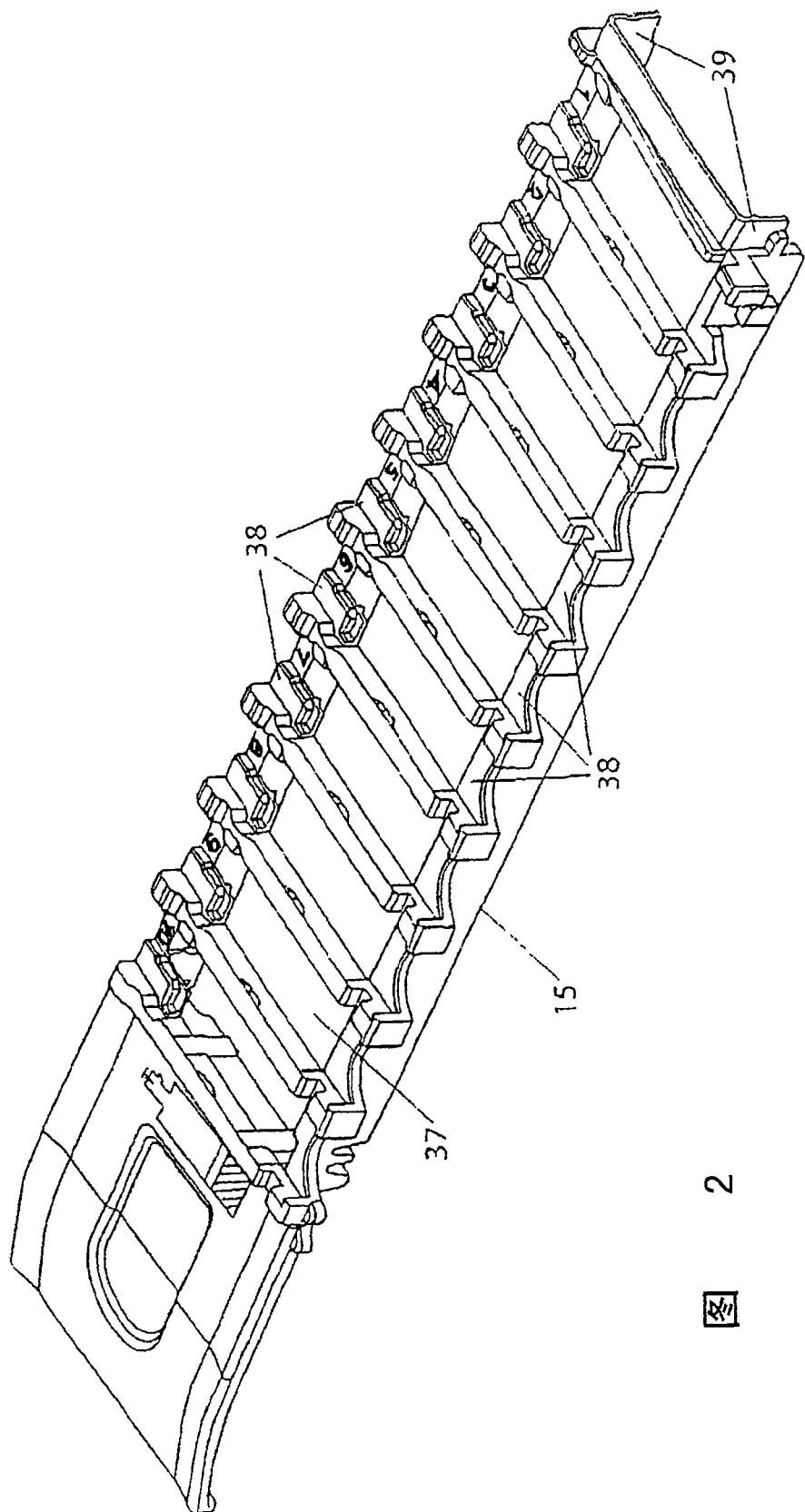
一阅读器，用来读取关于各滑动片的识别信息；以及

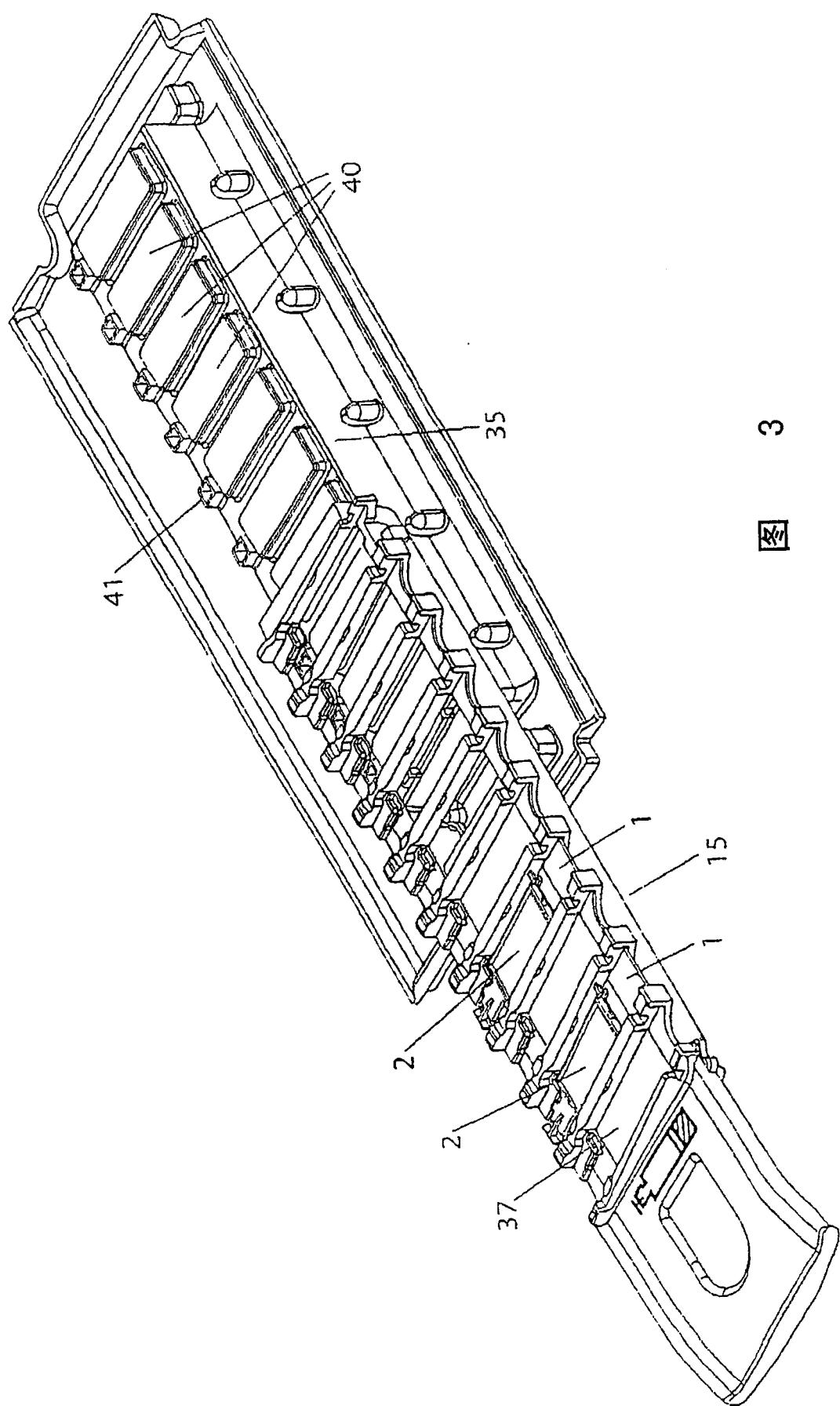
一用来接受反应剂容器的反应剂架，反应剂容器放置反应剂，以备沉积到滑动片上；其中

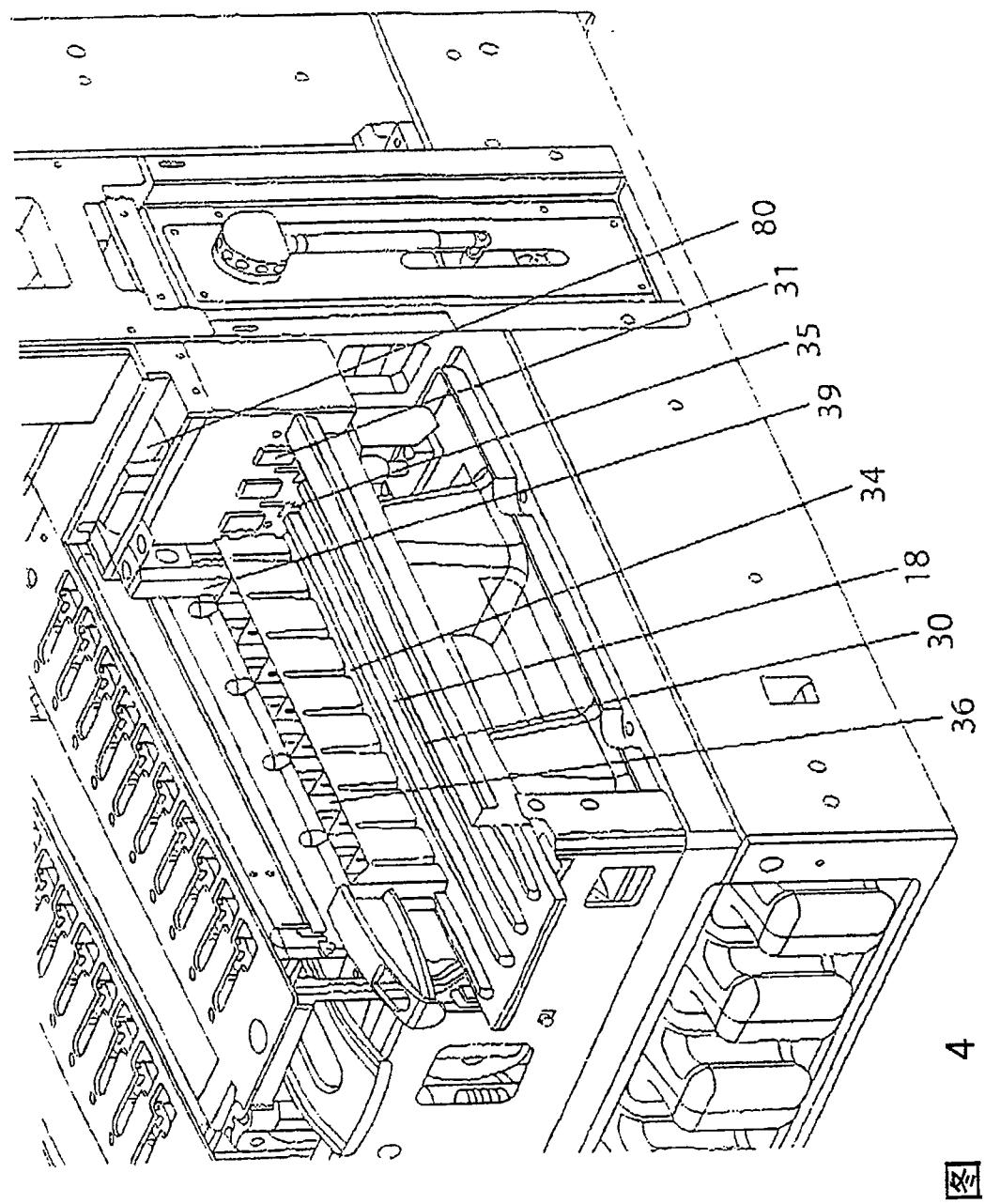
滑动片设置在托盘上，诸托盘被接受在相关的端口内，这样，各托盘代表单独批的滑动片，允许单独托盘添加和移去，在装置的操作过程中便于批处理。

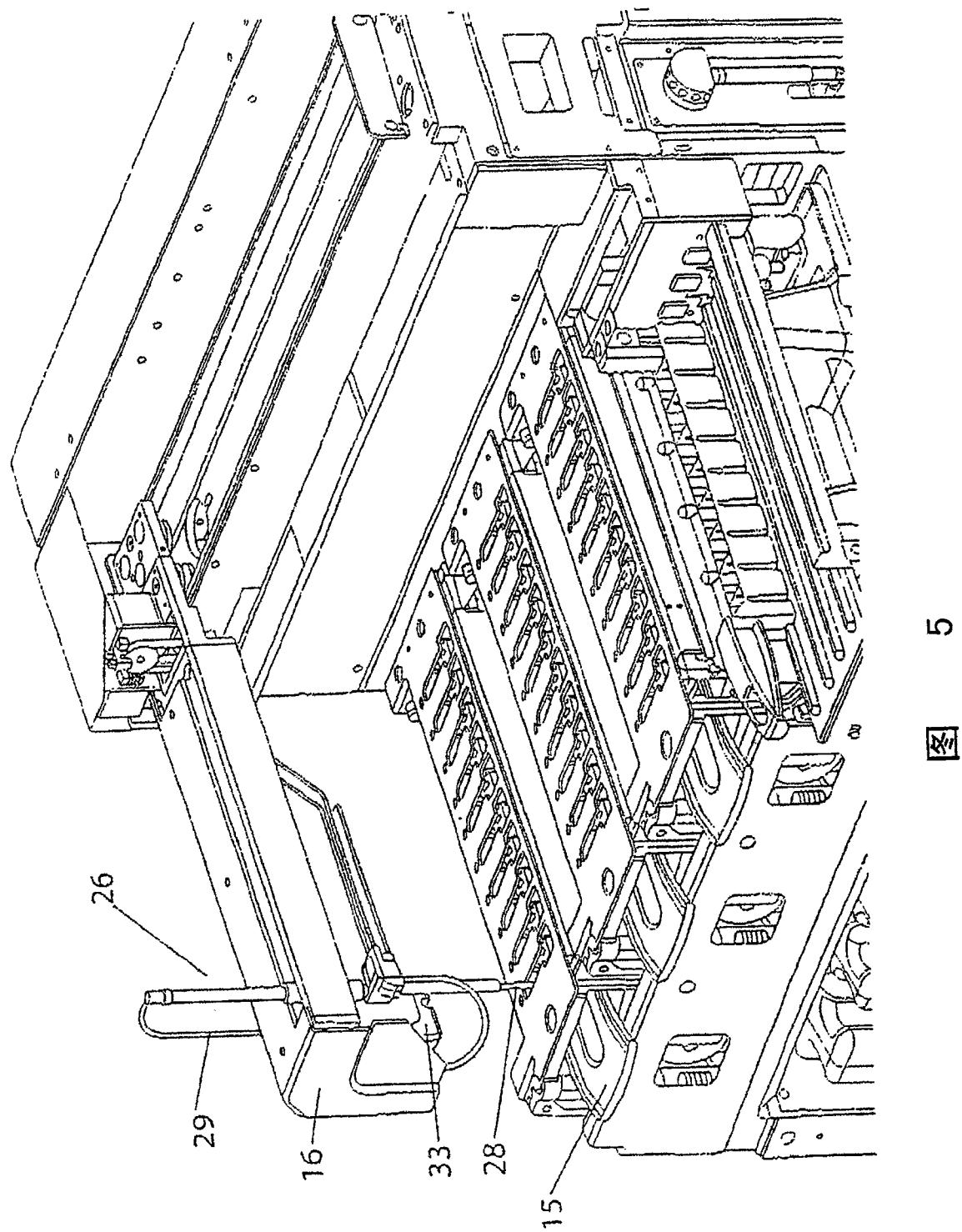
就所涉及的试验和计划安排，批加载又对一操作者提供基本的灵活性。

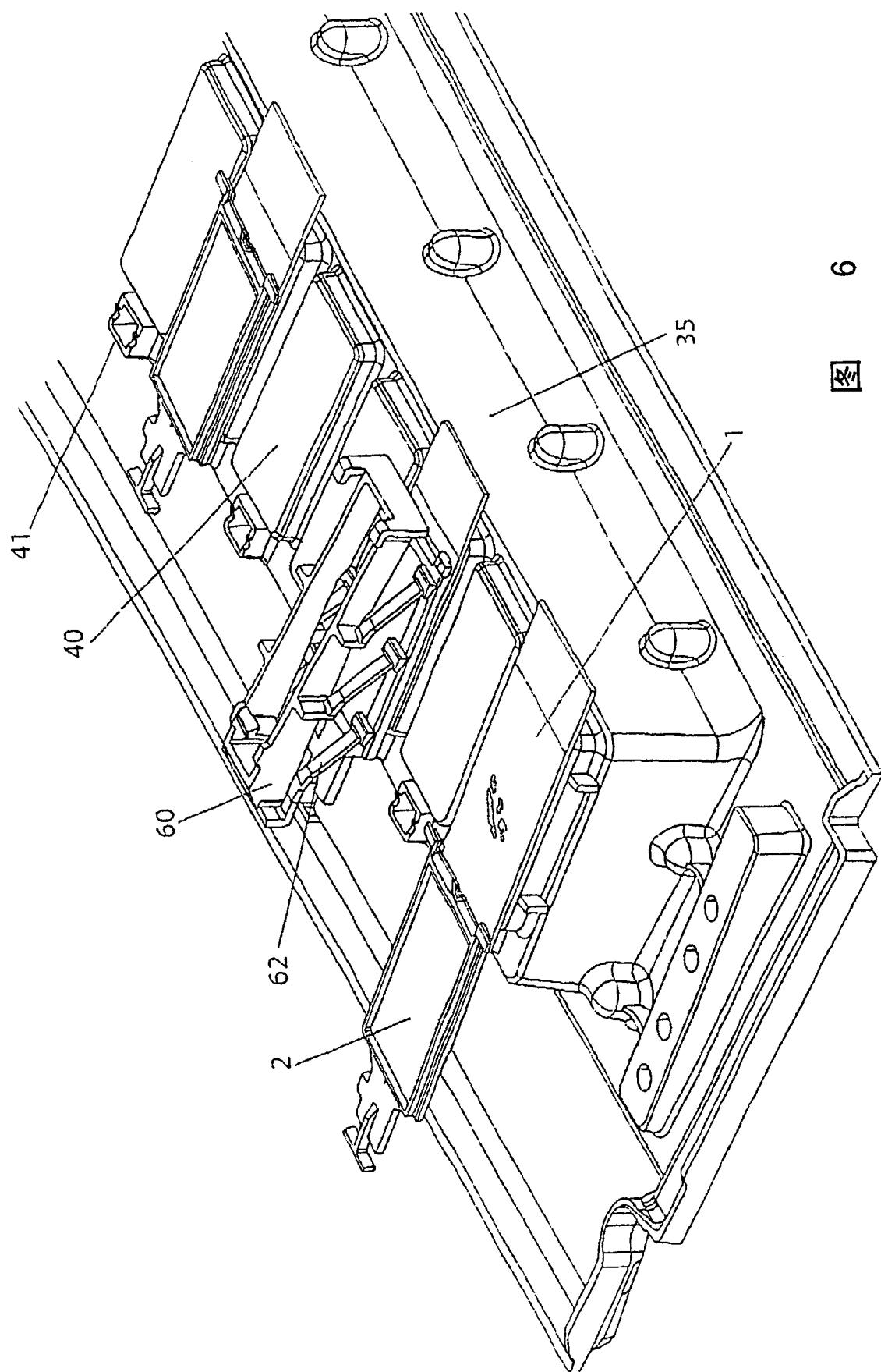


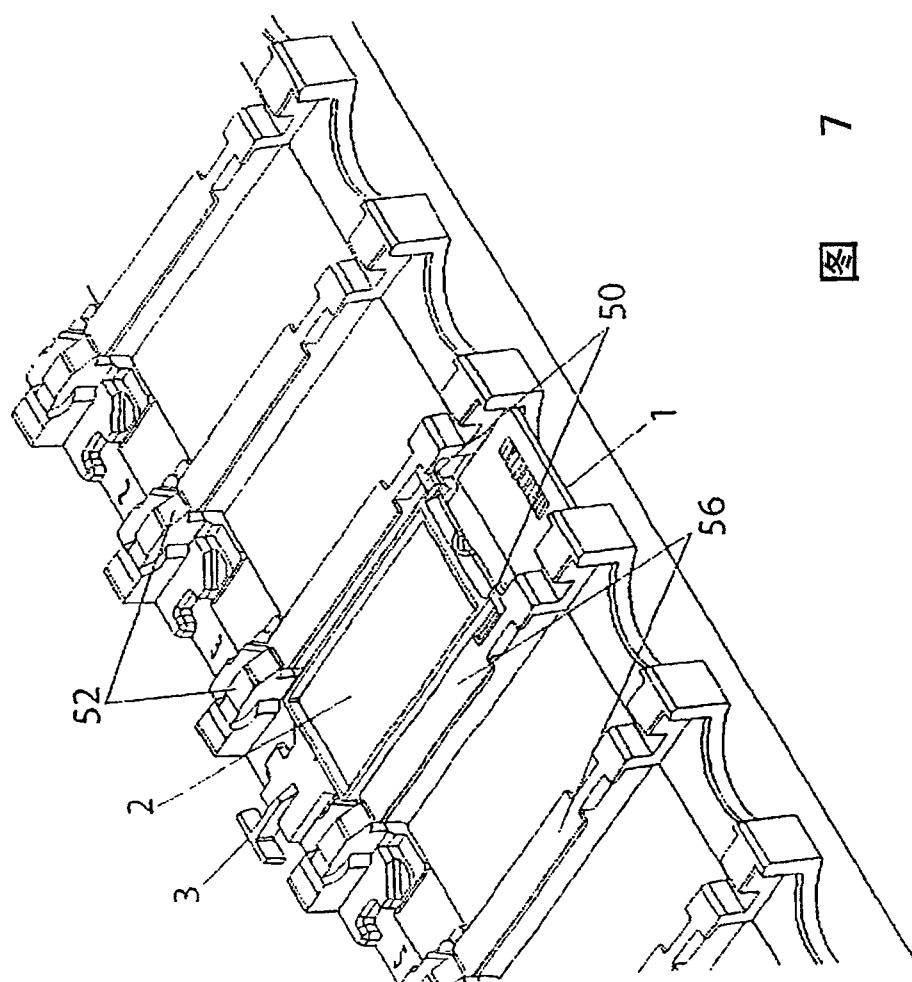


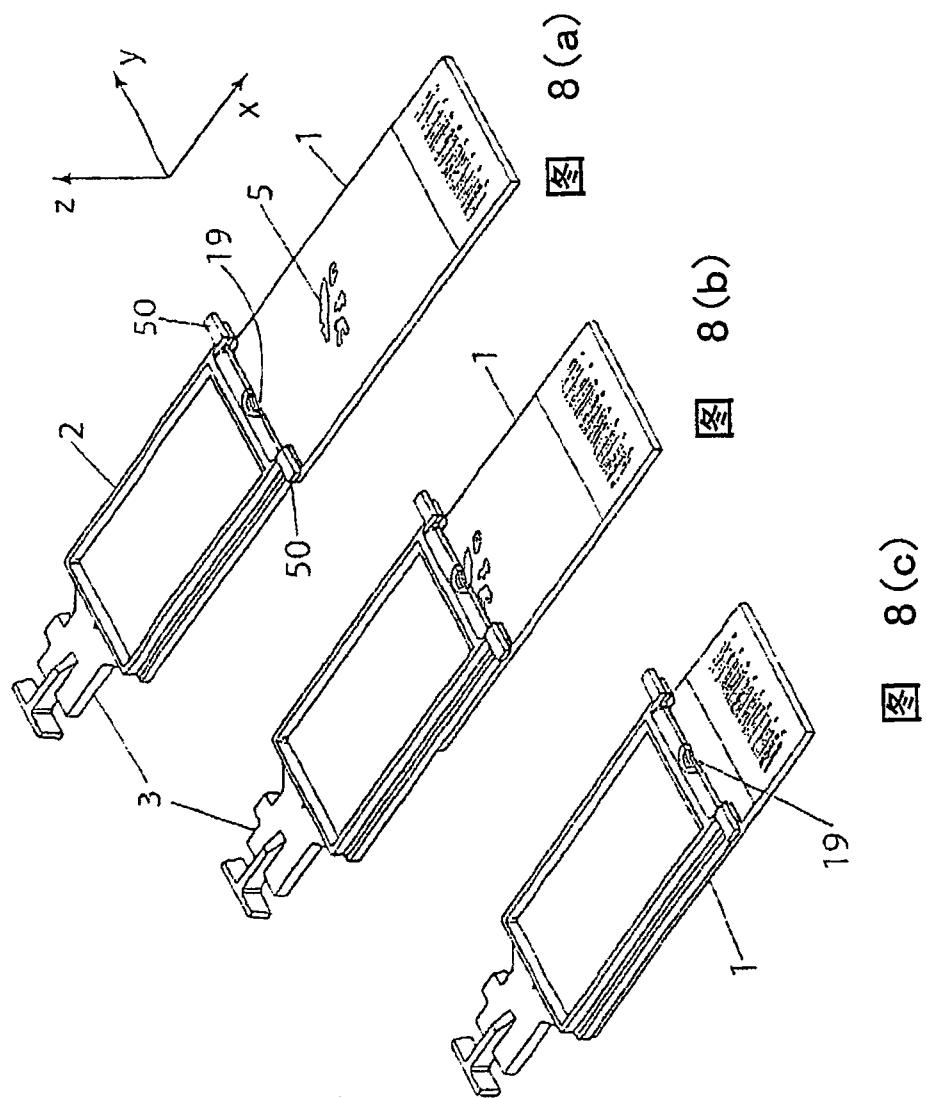


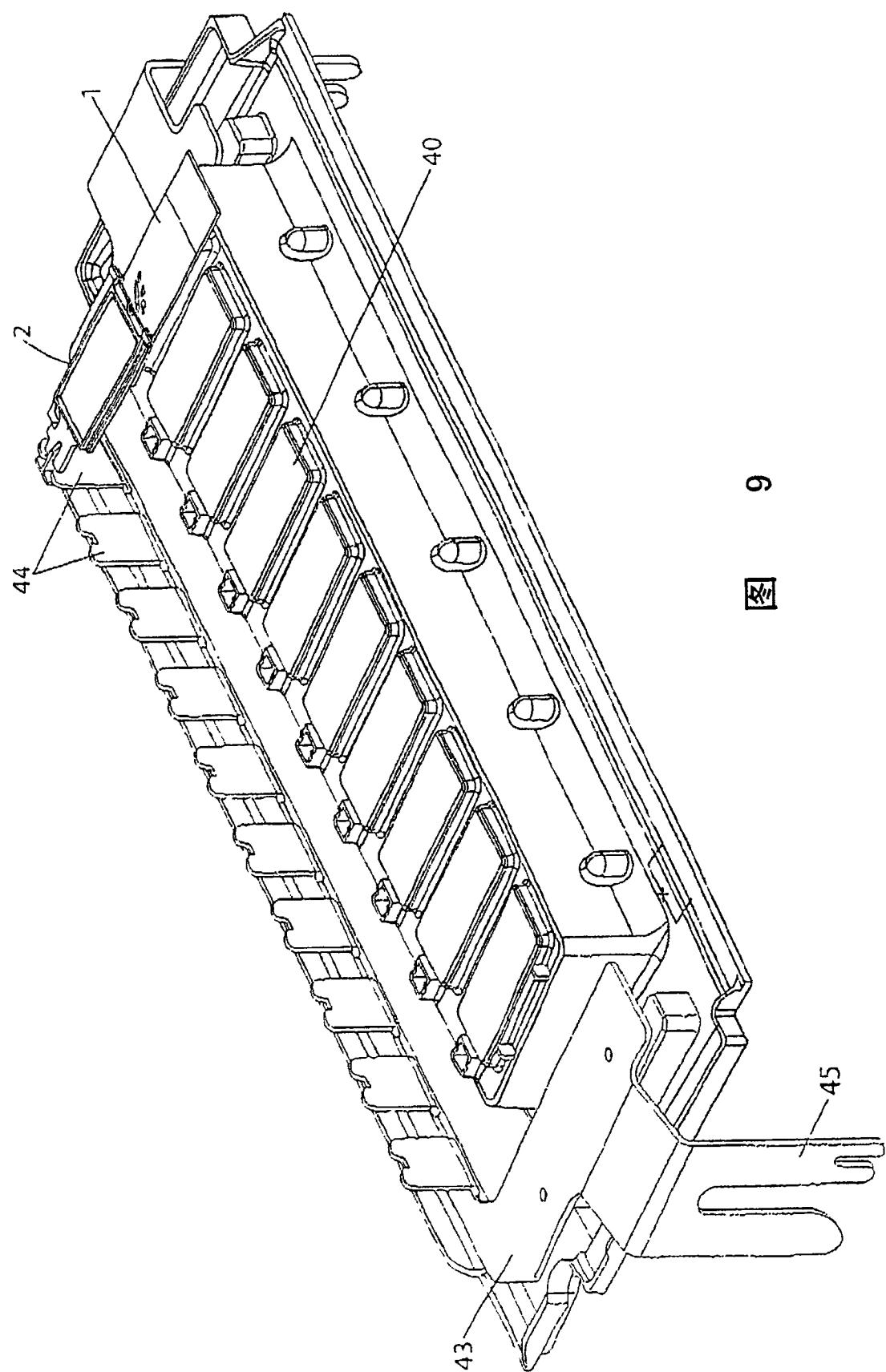




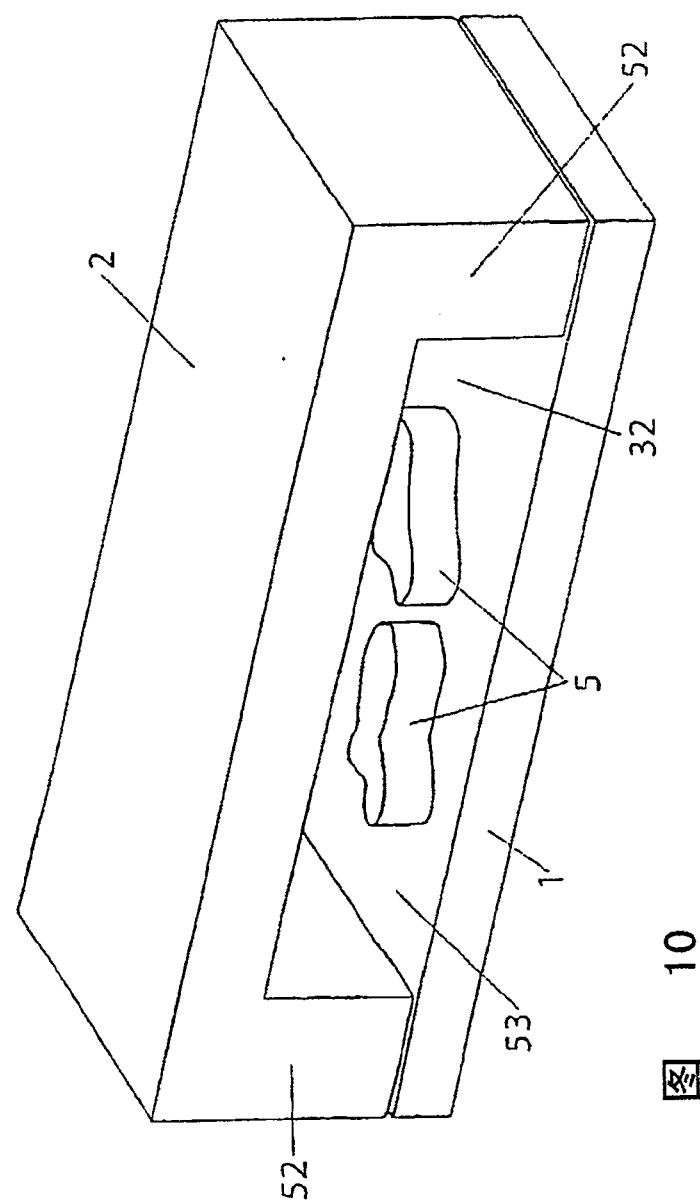


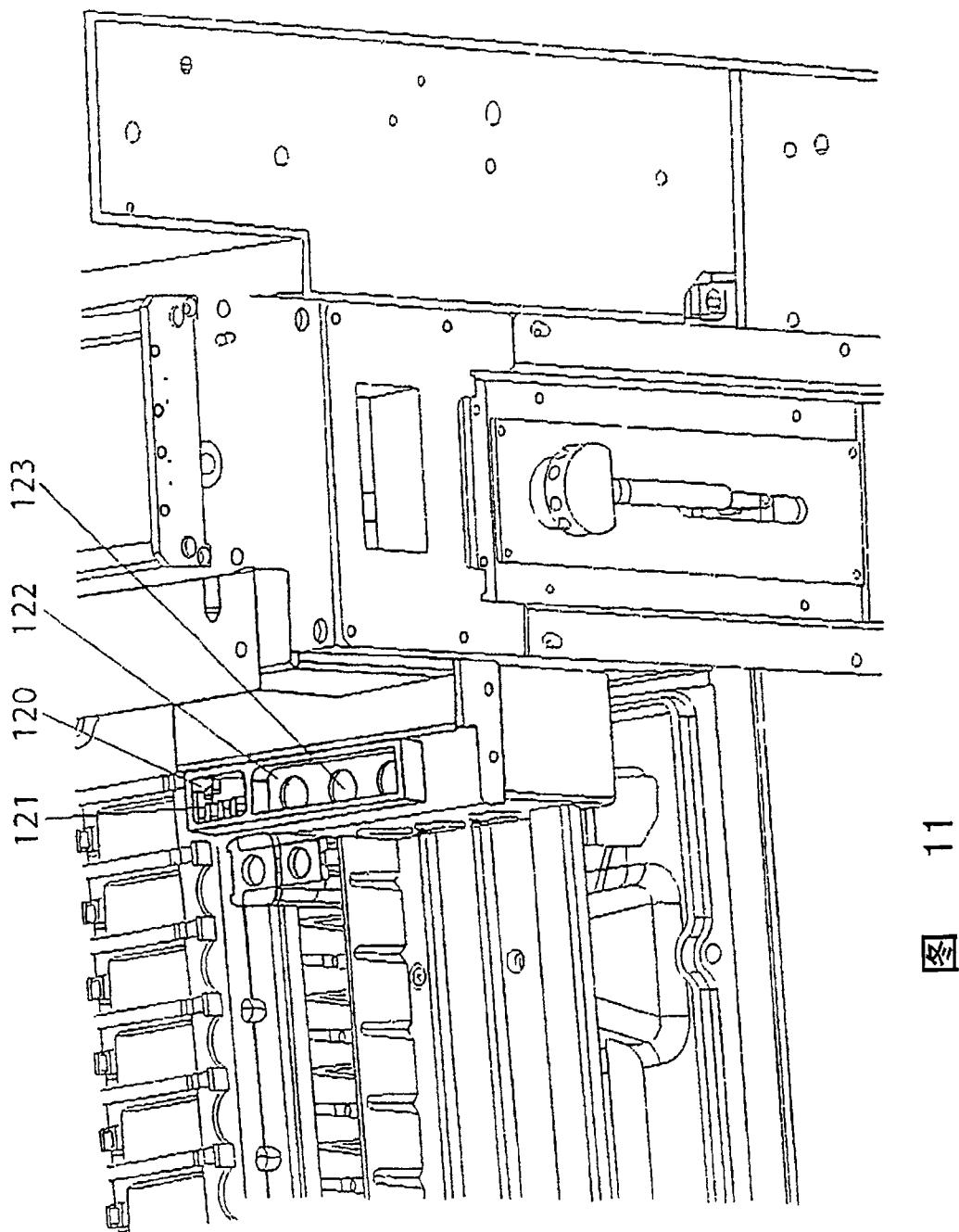


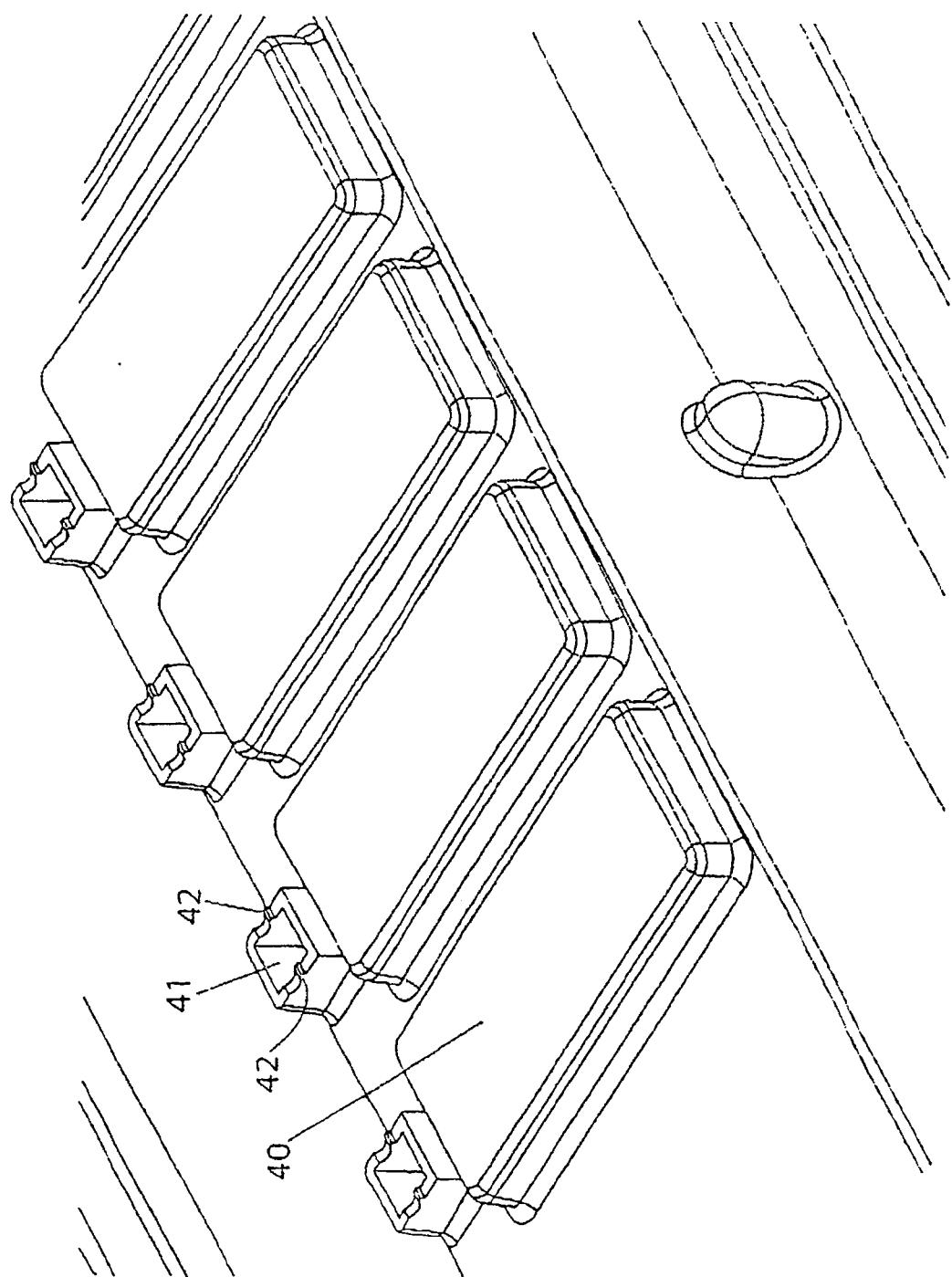




V/V







12

图

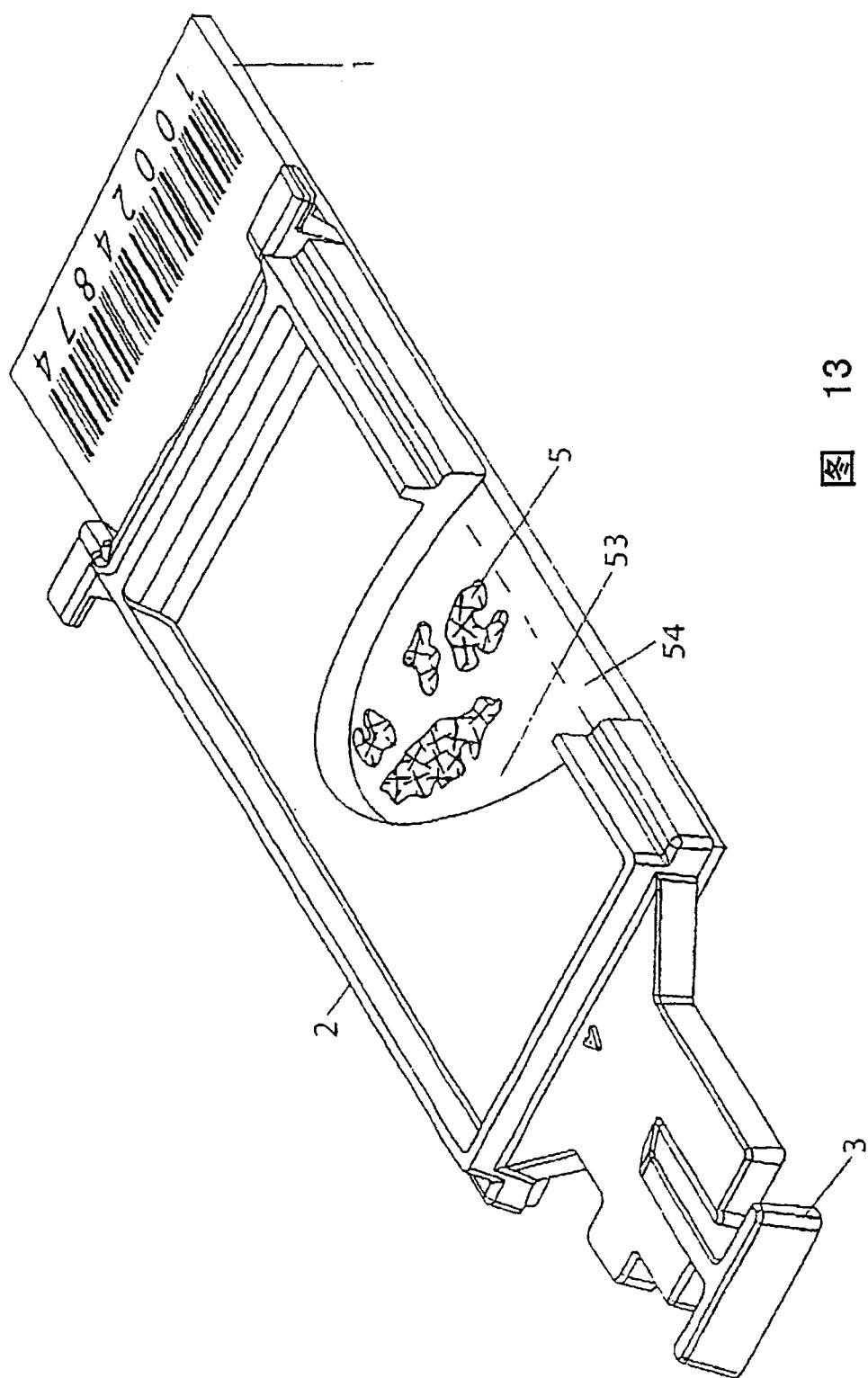


图 13

图 15

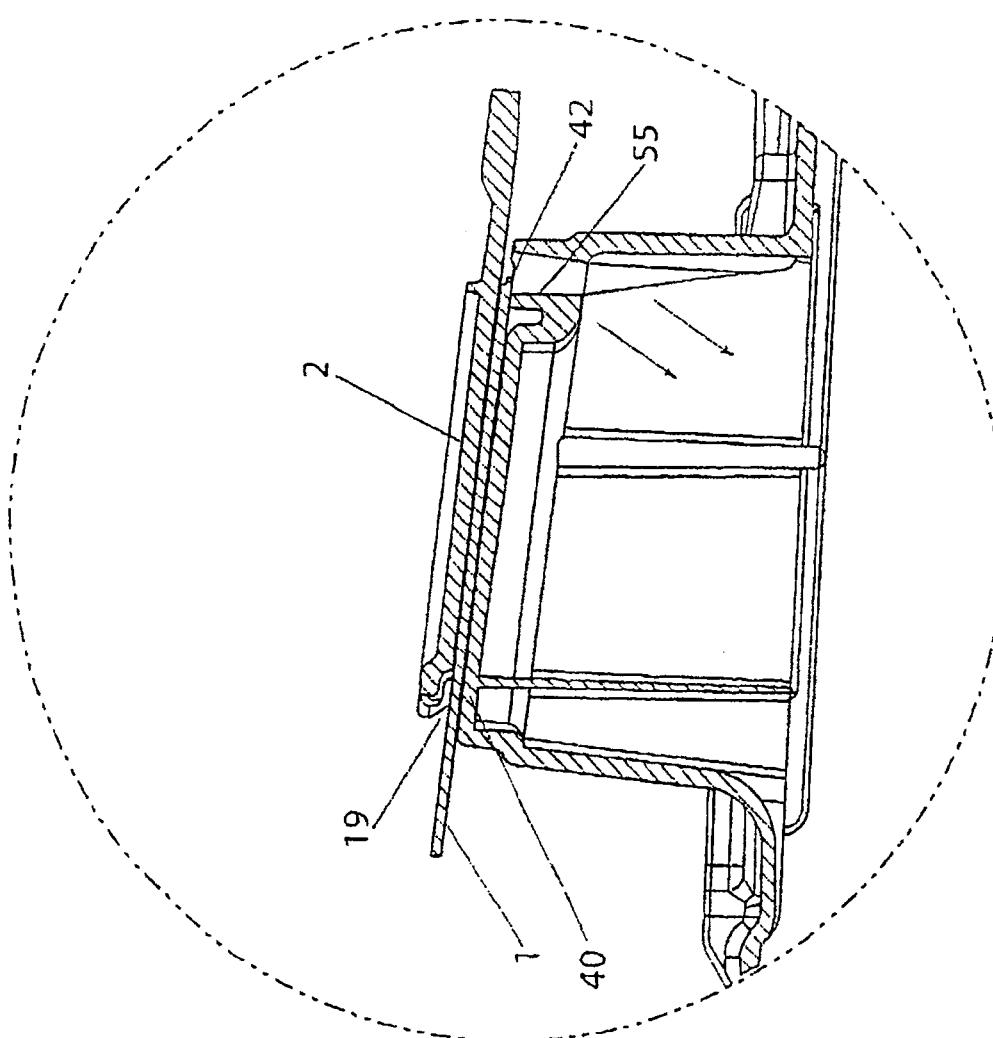
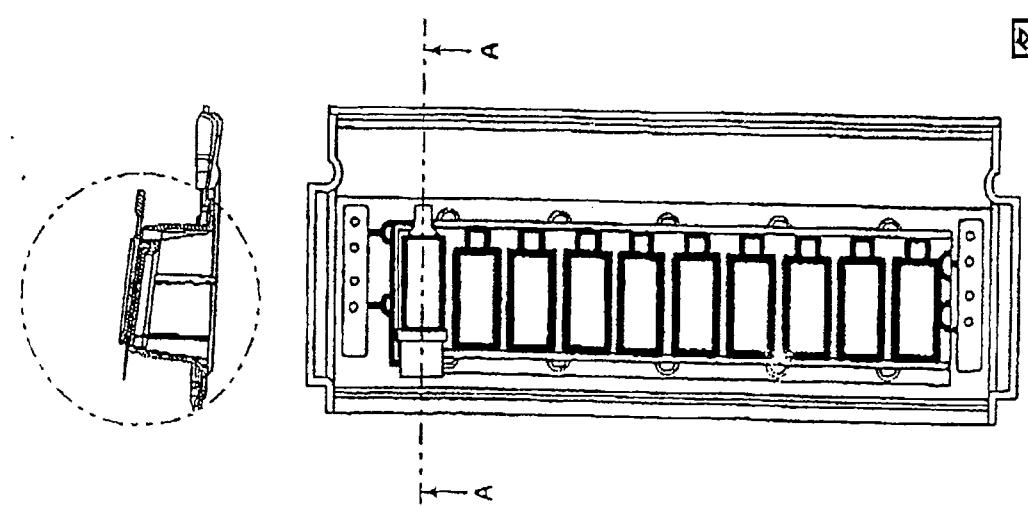


图 14



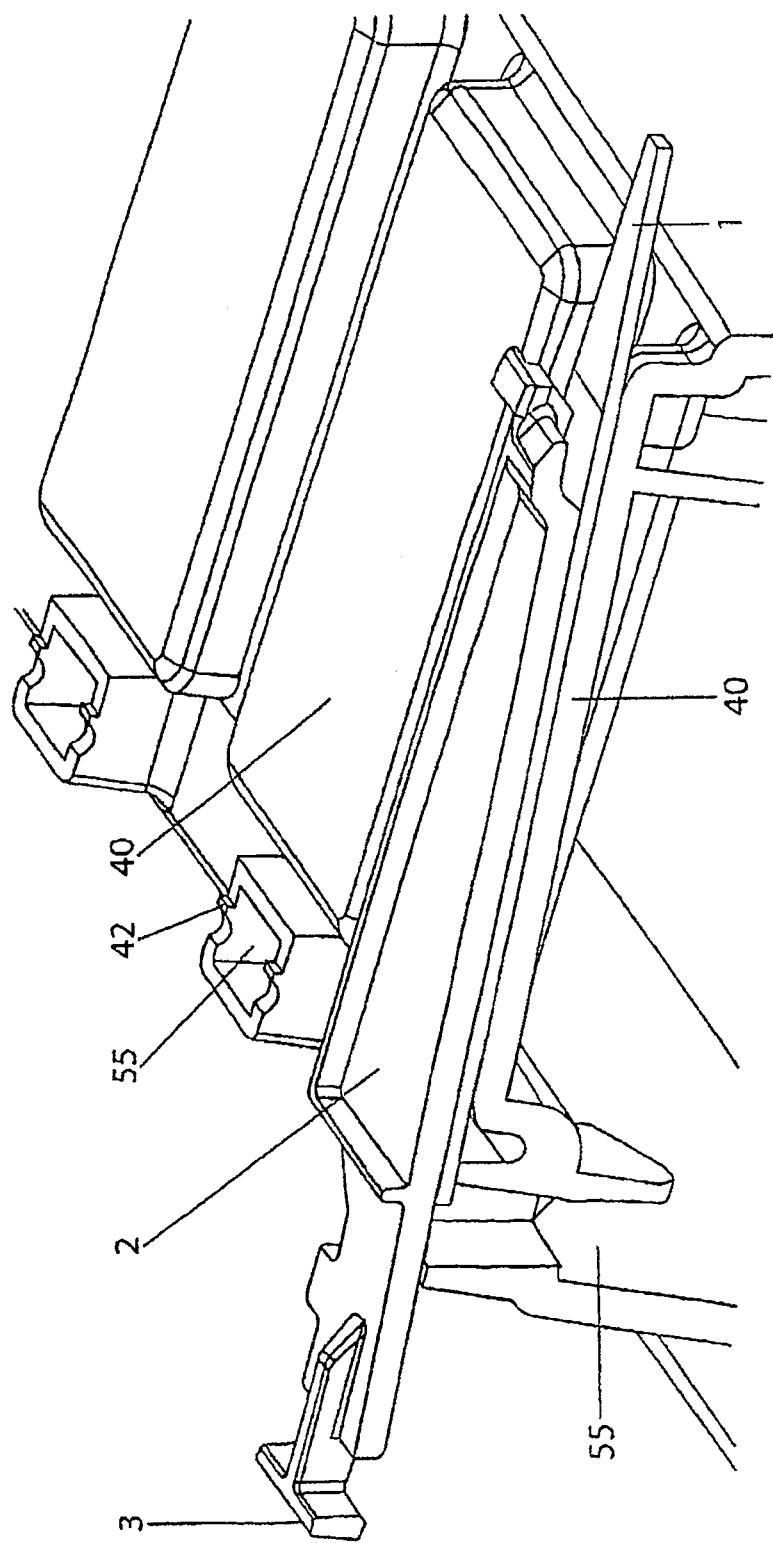


图 16

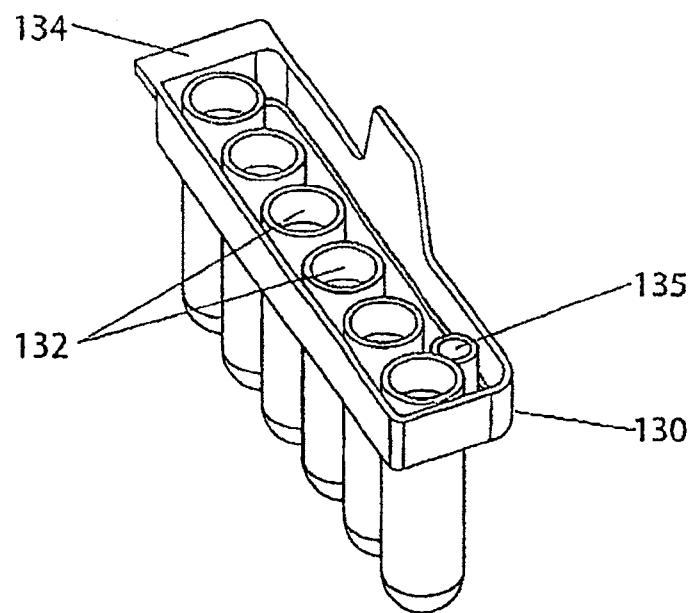


图 17