(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114272964 B
(45)授权公告日 2024.04.23

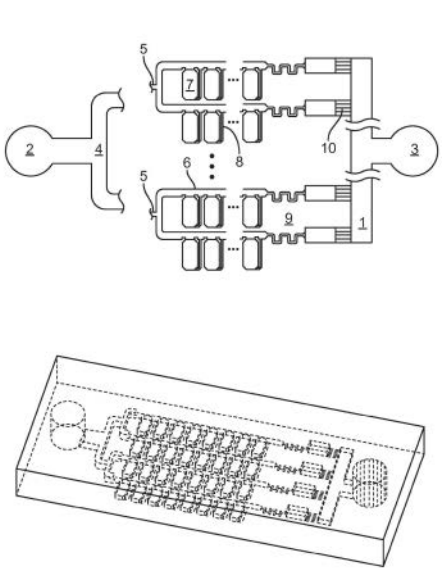
(21)申请号 202111601955.9
(22)申请日 2014.06.25
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114272964 A
(43)申请公布日 2022.04.05
(30)优先权数据
61/839,250 2013.06.25 US
61/875,311 2013.09.09 US
(62)分案原申请数据
201480042392.6 2014.06.25
(73)专利权人 华盛顿大学商业中心
地址 美国华盛顿州
(72)发明人 D·T·邱 T·施奈德
J·E·科鲁兹
(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
专利代理师 茅翊忞
(51)Int.Cl.
B01L 3/00(2006.01)
B01L 7/00(2006.01)
G01N 27/447(2006.01)
(56)对比文件
KR 100581356 B1,2006.05.17
WO 2007090620 A2,2007.08.16
WO 2012131556 A1,2012.10.04
CN 1208464 A,1999.02.17
US 2008237151 A1,2008.10.02
CN 102187216 A,2011.09.14
US 2008108120 A1,2008.05.08
WO 2010019388 A2,2010.02.18
审查员 王鑫
权利要求书9页 说明书37页 附图26页

(54)发明名称

样品体积的自数字化

(57)摘要

提供了一种用于样品体积的离散化和操作的装置、系统和设备。还提供了相关方法。



CN 114272964 B

1.一种微流体装置,包括:

盘形体,具有中心区域和外边缘,所述盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:

流体入口端口,位于所述盘形体的所述中心区域中;

流动通道,具有近端、远端和流动轴线,所述流动通道与所述流体入口端口流体连通,所述流动通道相对于所述微流体装置的旋转轴线径向定位;

多个流体港,所述多个流体港与所述流动通道流体连通并且偏离于所述流动轴线,所述多个流体港中的每个流体港包括至少一套希腊钥匙排放管,每套排放管具有至少一个排放端口,以帮助从所述流体港移走流体;

流体出口端口,与所述流动通道连通,其中,所述流体出口端口定位成相比于所述流动通道的所述远端更靠近所述盘形体的所述中心区域;以及

出口储器,所述出口储器在所述微流体装置的最外部处储存/收集流体并且与所述流动通道和所述流体出口端口在流体上连通。

2.一种微流体装置,包括:

盘形体,具有中心区域、外边缘和中心轴线,所述盘形体构造成用于绕所述中心轴线转动,并且还包括:

流体入口端口,位于所述盘形体的所述中心区域中;

流动通道,具有流动轴线和最外区域,其中,所述流动通道的最外区域是所述流动通道的距离所述中心区域最远的区域,并且其中,所述流动通道与所述流体入口端口流体连通,所述流动通道相对于所述微流体装置的旋转轴线径向定位;

多个流体港,所述多个流体港与所述流动通道流体连通并且偏离于所述流动轴线,所述多个流体港中的每个流体港包括至少一套希腊钥匙排放管,每套排放管具有至少一个排放端口,以帮助从所述流体港移走流体;

流体出口端口,与所述流动通道流体连通,其中,从所述中心区域到所述流体出口端口之间的距离小于从所述中心区域到所述流动通道的所述最外区域的距离;以及

出口储器,所述出口储器在所述微流体装置的最外部处储存/收集流体并且与所述流动通道和所述流体出口端口在流体上连通。

3.如权利要求1或2所述微流体装置,其特征在于,还包括流动单元,其中,所述流动单元包括所述流体入口端口、所述流体出口端口和多个所述流动通道,其中,每个所述流动通道与所述流体入口端口和所述流体出口端口流体连通。

4.如权利要求3所述微流体装置,其特征在于,多个所述流动通道构造成使得每个流动通道的流动轴线垂直于所述盘形体的外边缘。

5.如权利要求3所述微流体装置,其特征在于,多个所述流动通道构造成使得各所述流动通道平行布置和/或以径向方式定位在所述盘形体上。

6.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体港中的至少一个与所述流动轴线成一角度,所述角度不是直角。

7.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体港中的至少一个与所述流动轴线成一角度,所述角度是直角。

8.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,每个所述流体港藉由敞开管道与

所述流动通道流体连通。

9.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体港中的至少一个还包括与所述流动通道流体连通的至少一个通道。

10.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述装置包括选自以下的材料:聚二甲基硅氧烷(PDMS)、热固性聚酯(TPE)、聚甲基丙烯酸甲脂(PMMA)、聚氨酯甲基丙烯酸酯、聚乙烯、聚酯(PET)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚碳酸酯、聚对二甲苯、聚氯乙烯、氟乙烯丙烯共聚物、lexan、聚苯乙烯、环烯烃共聚物、聚氨酯、混合有聚丙烯酸酯的聚氨酯、聚酯碳酸酯、聚丙烯、聚丁烯、聚丙烯酸酯、聚已酸内酯、聚酮、聚邻苯二甲酰胺、醋酸纤维素、聚丙烯腈、聚砜、环氧聚合物、热塑性塑料、聚偏二氟乙烯、聚酰胺、聚酰亚胺、玻璃、石晶、砷化镓、氮化硅、熔融石英、陶瓷、金属或者它们的组合。

11.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述多个流体港和所述流动通道中的至少一个包括疏水表面。

12.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述盘形体的至少一部分包括天然疏水或经表面处理的聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚氯三氟乙烯(PCTFE)、多层材料或者它们的组合。

13.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述多个流体港和所述流动通道中的至少一个包括亲氟表面。

14.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述装置由第一流体加载。

15.如权利要求14所述的微流体装置,其特征在于,所述第一流体包括油。

16.如权利要求14所述的微流体装置,其特征在于,所述第一流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

17.如权利要求3所述的微流体装置,其特征在于,还包括共用流体储器,其中,所述共用流体储器与每个所述流动通道的远端流体连通,并且其中,所述共用流体储器与所述流体出口端口流体连通。

18.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体出口端口定位成相比于所述流体入口端口更靠近所述盘形体的中心。

19.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体出口端口定位成相比于所述流体入口端口更远离所述盘形体的中心。

20.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,所述流体出口端口定位成与所述流体入口端口距离所述盘形体的中心一样近。

21.如权利要求1或2所述的微流体装置,其特征在于,还包括多个流动单元,其中每个所述流动单元包括:

多个流动通道;

流体入口端口;和

流体出口端口,其中,所述流体出口端口相比于所述流动通道的远端更靠近所述盘形体的所述中心区域。

22.如权利要求3所述的微流体装置,其特征在于,还包括多个流动单元。

23.如权利要求21所述的微流体装置,其特征在于,每个所述流动单元包括多个所述流

体入口端口、多个所述流体出口端口,或者它们的组合。

24.一种用于将流体引入微流体装置的方法,所述方法包括:

提供如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;并且

将第二流体提供到所述微流体装置的第二流体入口端口。

25.如权利要求24所述的方法,其特征在于,还包括使所述微流体装置绕其中心轴线转动,以由所述第二流体加载所述微流体装置的所述流动通道。

26.如权利要求24所述的方法,其特征在于,还包括将压力施加到所述第二流体,其中,所述压力足以推动所述第二流体通过所述微流体装置的所述流动通道。

27.如权利要求26所述的方法,其特征在于,所述压力是正压或负压。

28.如权利要求24至27中任一项所述的方法,其特征在于,所述第二流体包括水溶液。

29.如权利要求24至27中任一项所述的方法,其特征在于,还包括将第一流体引入到所述微流体装置的第一流体入口端口中,其中,所述第一流体入口端口和所述第二流体入口端口是独立的相同的端口或不同端口,并且其中,所述第一流体包括油。

30.如权利要求24至27中任一项所述的方法,其特征在于,还包括将第三流体引入到所述微流体装置的第三流体入口端口中,其中,所述第一流体入口端口、所述第二流体入口端口和所述第三流体入口端口是独立的相同的端口或不同端口,并且其中,所述第三流体包括油。

31.如权利要求30所述的方法,其特征在于,所述第三流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

32.一种分析系统,包括:

旋转部件,构造成用于使权利要求1至23中任一项所述的微流体装置绕其中心轴线旋转;

光学检测部件,构造成光学地分析所述微流体装置的所述流体港中的至少一个;以及

处理单元,构造成用于控制所述旋转部件和所述光学检测部件,并且构造成用于存储由所述光学检测部件所产生的数据。

33.如权利要求32所述的分析系统,其特征在于,还包括多个流体储器,每个流体储器能够包含流体,其中,所述多个流体储器构造成将所述流体提供到所述微流体装置的所述流体入口端口。

34.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,还包括热控部件,构造成将热量施加到所述多个流体港。

35.如权利要求34所述的分析系统,其特征在于,所述热控部件构造成充分地加热所述多个流体港,以执行聚合酶链反应(PCR)、等温扩增或者它们的组合。

36.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,还包括流体引入部件,构造成使流体移动通过所述流动通道。

37.如权利要求36所述的分析系统,其特征在于,所述流体引入部件包括与所述流体入口端口中的至少一个流体连通的压力源,其中,所述压力源构造成施加足以使流体移动通过所述流动通道的正压或负压,并且其中,所述正压或负压选自以下压力:空气压力、气动压力、液压或者它们的组合。

38.如权利要求36所述的分析系统,其特征在于,所述流体引入部件构造成藉由毛细作

用、芯吸或者离心力驱动流动以使流体移动通过所述流动通道。

39.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件构造成分析以50RPM至2000RPM的速度旋转的所述微流体装置。

40.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件包括显微镜、激光扫描器、光盘驱动或者它们的组合。

41.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,所述旋转部件构造成调整所述微流体装置的旋转速度,以匹配所述光学检测部件的读取速度。

42.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,所述旋转部件构造成使所述微流体装置以50RPM至5000RPM的速度进行旋转。

43.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,还包括光盘驱动。

44.如权利要求43所述的分析系统,其特征在于,所述光盘驱动是压缩盘(CD)驱动、数字视频盘(DVD)驱动、蓝光驱动或者它们的修改版本,或者它们的组合。

45.如权利要求32或33所述的分析系统,其特征在于,所述分析系统构造成用于容纳、旋转和处理多个微流体装置。

46.一种将流体引入微流体装置的方法,所述方法包括:

提供如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;并且

将第一流体引入到所述微流体装置的流动通道中。

47.如权利要求46所述的方法,其特征在于,所述第一流体包括油。

48.如权利要求47所述的方法,其特征在于,所述油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

49.如权利要求46所述的方法,其特征在于,所述方法包括:

将第二流体引入到所述微流体装置的流动通道中。

50.如权利要求49所述的方法,其特征在于,所述第二流体包括分析物,并且所述方法还包括在所述流体港中的至少一个中进行对所述分析物的分析。

51.如权利要求50所述的方法,其特征在于,所述分析物包括生物材料。

52.如权利要求51所述的方法,其特征在于,所述生物材料选自细胞、细菌、病毒、朊病毒、核酸、蛋白质、基因材料的表达产物、结晶分子、微粒或者它们的组合。

53.如权利要求49至52中任一项所述的方法,其特征在于,所述第二流体包括第一核酸分子和第二核酸分子,并且所述方法还包括将所述第一核酸分子分布到第一流体港中,其中,所述第一流体港不包括所述第二核酸分子。

54.如权利要求49所述的方法,其特征在于,在将所述第二流体引入到所述流动通道中之前将所述第一流体引入到所述流动通道中。

55.如权利要求54所述的方法,其特征在于,所述第一流体包括油。

56.如权利要求55所述的方法,其特征在于,所述油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

57.如权利要求49所述的方法,其特征在于,还包括将第三流体引入到所述微流体装置的所述流动通道中。

58.如权利要求57所述的方法,其特征在于,在将所述第二流体引入到所述流动通道中之后,将所述第三流体引入到所述流动通道中。

59.如权利要求57或58所述的方法,其特征在于,所述第一流体是油,所述第二流体是水溶液,并且所述第三流体是油。

60.如权利要求57或58所述的方法,其特征在于,还包括将第四流体引入到所述微流体装置的所述流动通道中。

61.如权利要求60所述的方法,其特征在于,在将所述第一流体引入到所述流动通道中之后并且在将所述第二流体引入到所述流动通道中之前,将所述第四流体引入到所述流动通道中。

62.如权利要求60所述的方法,其特征在于,在将所述第二流体引入到所述流动通道中之后并且在将所述第三流体引入到所述流动通道中之前,将所述第四流体引入到所述流动通道中。

63.如权利要求60所述的方法,其特征在于,在将所述第三流体引入到所述流动通道中之后,将所述第四流体引入到所述流动通道中。

64.如权利要求60所述的方法,其特征在于,所述第一流体是油,所述第二流体是水溶液,所述第三流体是油,并且所述第四流体是油,并且其中,所述第一流体、所述第三流体和所述第四流体独立地彼此相同或彼此不同。

65.如权利要求64所述的方法,其特征在于,所述油独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

66.如权利要求60所述的方法,其特征在于,还包括将第五流体引入到所述微流体装置的所述流动通道中。

67.如权利要求66所述的方法,其特征在于,在将所述第二流体引入到所述流动通道中之后,将所述第五流体引入到所述流动通道中。

68.如权利要求66或67所述的方法,其特征在于,在将所述第三流体引入到所述流动通道中之后,将所述第五流体引入到所述流动通道中。

69.如权利要求66或67所述的方法,其特征在于,所述方法还包括将所述第四流体引入到所述流动通道中,其中,在将所述第一流体引入到所述流动通道中之后并且在将所述第二流体引入到所述流动通道中之前,将所述第四流体引入到所述流动通道中。

70.如权利要求66或67所述的方法,其特征在于,所述第一流体是油,所述第二流体是水溶液,所述第三流体是油,所述第四流体是油,并且所述第五流体是油,并且其中,所述第一流体、所述第三流体、所述第四流体和所述第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

71.如权利要求70所述的方法,其特征在于,每种所述油独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

72.一种将流体引入微流体装置的方法,所述方法包括:

提供如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;

将第一流体引入到所述微流体装置的流动通道中;

将第二流体引入到所述微流体装置的流动通道中;

将第三流体引入到所述微流体装置的流动通道中;

将第四流体引入到所述微流体装置的流动通道中;并且

将第五流体引入到所述微流体装置的流动通道中,其中所述第一流体是油,所述第二流体是水溶液,所述第三流体是油,所述第四流体是油,并且所述第五流体是油,并且其中,

所述第一流体、所述第三流体、所述第四流体和所述第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

73.如权利要求72所述的方法,其特征在于,每种所述油独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

74.如权利要求72或73所述的方法,其特征在于,所述第一流体是引入到所述流动通道中的初始流体,在所述第一流体之后引入所述第二流体,在所述第二流体之后引入所述第四流体,在所述第四流体之后引入所述第三流体,并且在所述第三流体引入所述第五流体。

75.如权利要求72或73所述的方法,其特征在于,所述第一流体是引入到所述流动通道中的初始流体,在所述第一流体之后引入所述第四流体,在所述第四流体之后引入所述第二流体,在所述第二流体之后引入所述第三流体,并且在所述第三流体之后引入所述第五流体。

76.一种将流体引入微流体装置的方法,所述方法包括:

提供如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;

将第一流体引入到所述微流体装置的流动通道中;

将第二流体引入到所述微流体装置的流动通道中;以及

将第三流体引入到所述微流体装置的流动通道中。

77.如权利要求76所述的方法,其特征在于,将第四流体引入到所述微流体装置的流动通道中。

78.如权利要求77所述的方法,其特征在于,将第五流体引入到所述微流体装置的流动通道中,其中所述第一流体是油,所述第二流体是水溶液,所述第三流体是油,所述第四流体是油,并且所述第五流体是油,并且其中,所述第一流体、所述第三流体、所述第四流体和所述第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

79.如权利要求78所述的方法,其特征在于,首先引入所述第一流体,在所述第一流体之后引入所述第二流体,在所述第二流体之后引入所述第四流体,在所述第四流体之后引入所述第三流体,并且在所述第三流体之后引入第五流体。

80.如权利要求78所述的方法,其特征在于,首先引入所述第一流体,在所述第一流体之后引入所述第四流体,在所述第四流体之后引入所述第二流体,在所述第二流体之后引入所述第三流体,并且在所述第三流体之后引入所述第五流体。

81.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,将流体引入到所述流动通道中的顺序选自:

(a)油、水溶液和油;

(b)油、油、水溶液、油和油;

(c)油、油、水溶液和油;或者

(d)油、水溶液、油和油,其中所述油中的每个的成分独立地相同或不同。

82.如权利要求81所述的方法,其特征在于,还包括在所述顺序中的任何点处引入一种或多种附加流体,所述附加流体选自油或水溶液。

83.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,待引入到所述流动通道中的所述第一流体是油。

84.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,待引入到所述流动通道中的所述第一流体不是水溶液。

85.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,通过施加流体压力而将所述流体引入到所述流动通道中,所述流体压力选自空气压力、气动压力、液压或者它们的组合,并且其中,所述流体压力是正流体压力或负流体压力。

86.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,通过毛细作用或者芯吸将所述流体引入到所述流动通道中。

87.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,通过离心力驱动流将所述流体引入到所述流动通道中。

88.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,还包括将所述流体经由所述微流体装置的流体入口端口引入所述流动通道中。

89.如权利要求46、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,将所述流体经由所述微流体装置的流体港引入所述流动通道中。

90.如权利要求51、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,还包括在所述多个流体港中执行数字聚合酶链反应(PCR)。

91.如权利要求51、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,还包括在所述多个流体港中执行等温扩增。

92.如权利要求50、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,所述分析物在所述流体港中经历结晶化。

93.如权利要求50、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,所述分析物包括至少一个稀有细胞,所述稀有细胞选自表达恶性表型的细胞、胚胎细胞、循环内皮细胞、肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、由相关基因转染的细胞、免疫细胞的其它亚型,或者存在于受自身免疫或自体反应紊乱困扰的主体的周边血液中的T细胞和B细胞。

94.如权利要求49、72和76中任一项所述的方法,其特征在于,还包括将所述第一流体引入第一流体入口,将所述第二流体引入第二流体入口,其中,所述第一流体入口和所述第二流体入口是相同的端口或不同的端口。

95.如权利要求94所述的方法,其特征在于,还包括将所述第三流体引入第三流体入口,将所述第四流体引入第四流体入口,将所述第五流体引入第五流体入口,其中,所述第三流体入口、所述第四流体入口和所述第五流体入口是独立地相同的端口或不同的端口,并且其中,所述第三流体入口、第所述四流体入口和所述第五流体入口与所述第一流体入口和所述第二流体入口是独立地相同的端口或不同的端口。

96.一种分析系统,包括:

腔室,构造成接收如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;

流体加压单元,构造成将压力施加到流动通道,所述压力足以推动流体穿过所述流动通道;

光学检测部件,用于在光学上分析所述微流体装置的所述流体港中的至少一个;以及

处理单元,构造成控制所述光学检测部件并且构造成存储由所述光学检测部件所产生的数据。

97.一种分析系统,包括:

腔室,构造成接收如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置;

流体引入部件,构造成将流体引入通过流动通道的至少一部分;

光学检测部件,构造成在光学上分析流体港;以及

处理单元,构造成控制所述光学检测部件并且构造成存储由所述光学检测部件所产生的数据。

98.如权利要求97所述的分析系统,其特征在于,所述流体引入部件构造成将流体移动通过多个流动通道中的至少一个。

99.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述流体引入部件选自空气压力源、气动压力源、液压源或者它们的组合,并且其中,所述流体引入部件包括足以将流体移动到流动通道中的正压或负压源。

100.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述流体引入部件构造成通过毛细作用、芯吸、离心力或者它们的组合而将所述流体至少部分地移动通过流动通道。

101.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件构造成在光学上分析多个流体港。

102.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,还包括热控部件,构造成将热量施加到所述多个流体港中的至少一个。

103.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件包括成像装置、光盘驱动、激光扫描器或者它们的组合。

104.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,还包括用于包含流体的多个流体储器,其中,所述多个流体储器构造成将所述流体提供到所述微流体装置的所述流体入口端口。

105.如权利要求96至98中任一项所述的分析系统,其特征在于,还包括第二流体储器和第三流体储器,其中,所述第二流体储器包括第二流体,所述第三流体储器包括第三流体,其中,所述第二流体包括水溶液,而所述第三流体包括油。

106.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述微流体装置由第一流体加载,其中,所述第一流体包括油。

107.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件构造成在检测存在于流体港中的分析物。

108.如权利要求97或98所述的分析系统,其特征在于,所述光学检测部件和所述处理单元构造成确定位于所述流体港中的至少一些中的水溶液的体积。

109.如权利要求96至98中任一项所述的分析系统,其特征在于,每个所述流体港藉由敞开管道而与所述流动通道流体连通。

110.如权利要求96至98中任一项所述的分析系统,其特征在于,所述流体港中的至少一个包括与所述流动通道流体连通的至少一个通道。

111.一种设备,所述设备包括微流体装置,所述微流体装置包括:

盘形体,具有中心区域和外边缘,所述盘形体构造成用于绕中心轴线转动;

流体入口端口,位于所述盘形体的所述中心区域中;

流动通道,具有流动轴线、近端和远端,所述流动通道相对于所述微流体装置的旋转轴线径向定位;

多个流体港,所述多个流体港与所述流动通道流体连通并且偏离所述流动轴线,其中,所述多个流体港中的每个具有上游端和下游端,并且其中,所述流动通道包括位于所述多

个流体港中的每个的上游和/或下游处的限制部,所述多个流体港中的每个流体港包括至少一套希腊钥匙排放管,每套排放管具有至少一个排放端口,以帮助从所述流体港移走流体;

流体出口端口,与所述流动通道连通,其中,所述流体出口端口定位成相比于所述流动通道的所述远端更靠近所述盘形体的所述中心区域;以及

出口储器,所述出口储器在所述微流体装置的最外部处储存/收集流体并且与所述流动通道和所述流体出口端口在流体上连通。

112.如权利要求111所述的设备,其特征在于,所述限制部的宽度等于所述流动通道的最大宽度的1/3。

113.如权利要求111所述的设备,其特征在于,所述多个流体港定位在包括所述流动通道的装置的平面上方或下方的平面中。

114.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,所述流动通道与第二流体源和第三流体源流体连通,所述第三流体不能与所述第二流体混溶。

115.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,所述多个流体港和所述流动通道中的任一个由第一流体加载,其中所述第一流体是油。

116.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,每个所述流体港在所述下游端上逐渐变小。

117.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,在所述流动通道的宽度和流体港的宽度之间的差是所述流体港的宽度的0.001倍至1.5倍。

118.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,流体港的高度大于所述流动通道的高度。

119.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,流体港的长度大于所述流体港的宽度。

120.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,第一流体港的下游端和第二流体港的上游端间隔开一距离,其中所述距离是所述第一流体港的长度的0.1倍至3倍。

121.如权利要求111至113中任一项所述的设备,其特征在于,所述流动通道的宽度大于所述流体港的宽度,并且其中,流体港的下游端不与另一流体港的上游端重叠。

122.一种设备,包括如权利要求1至23中任一项所述的微流体装置。

样品体积的自数字化

[0001] 本申请是申请人为华盛顿大学商业中心、申请日为2014年6月25日、申请号为201480042392.6(国际申请号为PCT/US2014/044167)、题为“样品体积的自数字化”的PCT国际发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关文件的交叉引用

[0003] 本申请要求于2013年6月25日提交的美国临时专利申请第61/839,250号以及于2013年9月9日提交的美国临时专利申请第61/875,311号的权益,为了所有目的,各所述申请的全部内容以参见的方式纳入本文。

背景技术

[0004] 将样品离散成小流体港所限定的各体积在诸多化学和生物应用中是有价值的。诸多机制存在以实现此过程,具有非常重要的意义。喷雾器和基于搅拌的乳液产生器是易于使用的,但是不能够提供对诸多应用提供足够的控制。开发了基于微流体科技的诸多方法,这些方法赋予非常精确的控制,但通常非常复杂并且成本昂贵。

[0005] 因此,需要用于为进一步分析而产生样品离散容积的方法、系统和装置。

发明内容

[0006] 本发明提供了用于例如样品体积离散和操作的装置、系统和设备。还提供了相关方法。在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:盘形体,其具有中心区域和外边缘,该盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:流体入口端口,其位于该盘形体的中心区域中;流动通道,其具有近端、远端和流动轴线,该流动通道与流体入口端口流体连通;多个流体港,所述多个流体港与该流动通道流体连通并且偏离于该流动轴线;以及流体出口端口,其与该流动通道连通,其中,该流体出口端口定位成相比于流动通道的远端更靠近盘形体的中心区域。

[0007] 在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:盘形体,其具有中心区域、外边缘和中心轴线,该盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:流体入口端口,其位于盘形体的中心区域中;流动通道,其具有流动轴线和最外区域,其中,该流动通道的最外区域是流动通道的距离该中心区域最远的区域,并且其中,该流动通道与流动入口端口流体连通;多个流体港,所述流体港与流体通道连通并且偏离于该流动轴线;以及流动出口端口,其与流动通道流体连通,其中,从中心区域到流体出口端口之间的距离小于从中心区域到流动通道的最外区域的距离。

[0008] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供本公开的微流体装置的任一个,并且将第二流体提供到该微流体装置的第二流体入口端口。在某些方面,所述方法还包括使微流体装置绕其中心轴线旋转,以由第二流体加载该微流体装置的流动通道。在其它方面,所述方法还包括将压力施加到第二流体,其中,该压力足以推动第二流体通过该微流体装置的流动通道。在其它方面,该压力是正压或负压。

[0009] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:旋转元件,其构造成用

于使本公开的任意微流体装置绕其中心轴线旋转;光学检测部件,其构造成光学地分析微流体装置的流体港中的至少一个;以及处理单元,该处理单元构造成用于控制旋转部件和光学检测部件,并且构造成用于存储由光学检测部件所产生的数据。

[0010] 在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:微孔板,其包括多个孔,其中每个所述孔还包括:流体入口端口,其与该孔流体连通;流体出口端口,其与该孔流体连通;流动通道,其具有流动轴线,该流动通道与流体入口端口和流体出口端口流体连通;以及多个流体港,其与该流动通道流体连通并且偏离该流动轴线。

[0011] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第一流体引入到该微流体装置的流动通道。

[0012] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第二流体是水溶液。

[0013] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中;并且将第五流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

[0014] 在各个方面,本公开提供了将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中;可选地,将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中;并且可选地,将第五流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

[0015] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:腔室,其构造成接收根据本发明的微流体装置;流体加压单元,其构造成将压力施加到流动通道,该压力足以推动流体穿过流动通道;光学检测部件,其用于在光学上分析该微流体装置的流体港中的至少一个;以及处理单元,其构造成控制该光学检测部件并且构造成存储由光学检测部件所产生的数据。

[0016] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:腔室,其构造成接收根据本发明的微流体装置;流体引入部件,其构造成将流体引入通过流动通道的至少一部分;光学检测部件,其构造成在光学上分析流体港;以及处理单元,其构造成控制该光学检测部件并且构造成存储由光学检测部件所产生的数据。

[0017] 在各个方面,本公开提供了设备,所述设备包括:流动通道,其具有流动轴线、上游端和下游端;以及多个流体港,它们与该流动通道流体连通并且偏离该流动轴线,其中,流体港中的每个具有上游端和下游端,并且其中,该流动通道包括位于每个流体港的上游和下游处的限制部。

[0018] 通过引用纳入本文

[0019] 本说明书中提及的所有公开案、专利案及专利申请案以引用的方式全部并入本文中,该引用的程度就如同将每个个体的各公开案、专利案及专利申请案特定且单独揭示的内容以引用的方式并入一般。

附图说明

[0020] 通过参照以下阐述了其中使用本发明的原则的示例实施例的详细说明以及附图,会获得对本发明的特征和优点的更好理解,其中:

[0021] 图1a示出了总体自数字化设计部件的示例性概览示意图;这些部件可以包括例如出口储器(共用流体储器)1、入口端口/出口储器2、出口端口3、入口端口通道4、分支元件5、主填充通道6、流体港7、排放通道8、出口通道9和电阻器通道10。图1b示出了根据本发明的实施例的装置的简化形式。

[0022] 图2a至图2b提供了简化示意图,所述示意图示出了流体港位于每个主通道的单侧上的可能装置布局(图2a)和流体港位于每个主通道的两侧上的可能装置布局(图2b)。图2c至图2d是示出了流体港位于两侧上的装置。图2c示出了该装置的一个实施例的装置主体的一区域的明视场图像。图2d示出了该装置设计的一个实施例的数字化阵列的荧光图像。

[0023] 图3A示出了位于SD芯片中的数字化方案,其中流体港位于该主通道的底部(或者,如果流体港/通道或芯片上下翻转,则是顶部)。图3B示出了流体港位于主通道的该侧上和底部上的各装置的示意性比较。黑色区域表示流体港和通道重叠的区域。图3C至图3E示出了具有底部流体港的该装置设计的各个实施例。

[0024] 图4a至图4e示出了位于主通道和流体港之间的不同连接几何形状,以及主通道的不同特征。流体港可以与主通道(图4a)重叠,与主通道平齐(图4b)或者藉由从主通道的突出部来连接(图4c)。另外,可以在主通道的相同侧上具有凹口(图4d),或者在主通道的相对侧上具有凹口(图4e)。

[0025] 图5a至图5e示出了示出了本发明的自数字化过程的示例性步骤顺序。图5a是示出了用油填充该装置,并且将样品加载到该入口中。图5b示出了使用力将样品驱动到各通道中,在各通道中该样品自发地分流到各流体港中。图5c示出了另外的油跟随样品通过该通道,并且使通道中的而非流体港中的流体移走。图5d示出了所获得的个体隔离样品。图5e示出了用于加载单个流体港的示意性机制。该流体港比通道深,此有助于将样品驱动进入流体港并且保持它包含在其中。“希腊钥匙(GK)”排放管用于帮助从流体港移走油,以增加样品加载速率。

[0026] 图6a至图6k示出了根据本发明的各个实施例的示例性排放/GK通道。

[0027] 图7a至图7c示出了根据本发明的实施例的各装置设计的实例结果的概览,所述各装置设计的流体港位于主通道的底部上,包含限制条件。

[0028] 图8a至图8d提供了根据本发明的实施例的用于一装置的比例增大的实例结果的概览,该装置的流体港位于受限主通道的底部上,并且其中流体港具有锥形几何形状。

[0029] 图9a至图9c示出了根据本发明的实施例对增大到更大数量流体港的附加研究。

[0030] 图10a至图10b示出了流体港位于通道的底部上的装置设计。图10a示出了通过平行填充包含n个流体港的主通道段而产生流体港阵列。主通道通过分支而连接到单个入口

和单个出口。图10b示出了另一实施例的每个主通道单独地连接到较大出口储器,每个通道经受流体限制器以用作电阻器,该电阻器帮助保持各通道之间的流动均匀。

[0031] 图11a至图11d提供了根据本发明的各个实施例的用于多个不同设计的装置主体和加载装置的图像。

[0032] 图12a示出了离心设计,其中各流体港以径向方式定位(主通道垂直于该装置的盘形体的外边缘),并且出口端口位于在入口端口附近的内部位置处,其具有个体通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图12b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。。图12c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。

[0033] 图13a示出了离心设计,其中流体港定位成线性阵列(各个主通道彼此平行),并且出口端口位于在入口端口附近的内部位置处,其具有再连接通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图13b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。图13c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。

[0034] 图14a示出了离心设计,其中各流体港相对于主通道成45°的角度,并且定位成线性阵列(各个主通道彼此平行),并且出口端口定位在入口端口附近的内部位置处,其具有再连接通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图14b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。。图14c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。

[0035] 图15示出了用于执行数字PCR的示例性示意图,该数字PCR包括能够同时加载多个样品的基于离心的填充机制。各样品被加载到位于该装置的内部处的入口端口中。在装置旋转期间,离心力驱动样品进入各通道和流体港,由此产生多个阵列的隔离港。在热循环以及PCR扩增后,个体阵列基于所加载的样品而给出独特的结果。

[0036] 图16示出了一示意图,该示意图示出了将出口端口定位在离心装置的外部或外边缘(顶排)处的可能缺陷。内部出口端口(底排)将所有溶液保持在该装置中并且用于自计量作用,在流体港被破坏之前,该自计量作用能减缓并且随后停止流体流。

[0037] 图17A示出了一个台式离心机,该离心机具有定制插入件以旋转SD装置。图17B至图17E示出了加载开始时(图17B)、加载进行时(图17C和图17D)以及加载之后(图17E)的时间序列的装置。

[0038] 图18A和图18B示出了用于紧凑圆盘(CD)多刻度装置的两个示例性阵列。图18A示出了由于所处理的相对较大样品体积而用于高敏感度应用的24组304×200nL的流体港阵列。图18B示出了用于高分辨率应用的48组6,050×0.5nL的流体港阵列。

[0039] 图19a示出了包括8组1024×～4nL的流体港阵列的原型设备。图19b示出了装置入口的示例性示意图。

[0040] 图20示出了根据本发明的实施例的用于高通量仪器的示例性设计,该仪器能够一次加载和热循环多个圆盘,并且然后快速地为它们成像,

[0041] 图21A至图21C示出了光盘型加载和成像系统。图21A示出了光盘运动/跟踪系统,该系统用作基于SD的加载和成像系统的模板/模型。图21B示出了用于加载和成像系统的试验板比例设计。图21C示出了更加紧凑的系统,该系统包含现有光盘系统的运动控制部件。

[0042] 图22A示出了与用于执行SD实验的96—孔板形式兼容的流体港阵列设计。图22B至图22C示出了每个孔具有用作入口的内区和用作出口的外区,使得该孔可以与市场上现有的自动96—孔板加载系统兼容。该流体港阵列位于该孔下方,其中容积为大约80皮升的、大

于10,000个流体港配装在96—孔板的一个孔的范围中。

[0043] 图23示出了离心SD加载、成像和分析原型系统。

[0044] 图24a示出了来自图13的离心设计的8x阵列的示意图。图24b示出了由于填充包含来自图12和图13的设计的8x装置而得到的结果。

[0045] 图25a示出了在1024流体港芯片中的样品数字化的荧光图像序列。图25b示出了在微滴破裂之前(t0)、之时(t1)和之后(t2)由三维油包水填充的流体港多相流CFD分析的实例。

[0046] 图25c至图25e总结了不同设计参数的特征,具体为:规范化主通道突出(W/w)(图25c)、规范化的各流体港之间的间隔(δ/w)(图25d)以及相对于流动方向的流体港纵横比(l/w),以及它对填充效率(f_{total})和样品留存比率(R_{total})的影响(图25e)。

[0047] 图25f示出了组合的结果,所述结果示出了在流体港中的样品留存的趋势,该趋势是相对于基于R_{total}的1024流体港的芯片上研究的Ca而言的。图25g示出了从具有不同Hm(白色标记等于25μm,灰色标记等于50μm)的参数化CFD研究而得到的结果。

具体实施方式

[0048] 本发明提供了用于例如样品体积的离散化和操作的装置、系统和设备。还提供了相关方法。

[0049] 在一些实施例中,本发明提供了用于样品体积的离散化(也称作数字化)、操作以及分析的方法、系统、装置和设备,该发明是稳定的而且是通用的。在一些方面,流体装置可以通过利用各流体力之间的相互作用、交界张力、通道几何形状以及所形成的微滴和/或已离散的容积的最终稳定性来分流样品。这些分隔的容积允许样品隔离并且分流到局部阵列,随后可以操作并且分析该局部阵列。可以使用多种方法来填充本发明的装置,例如通过离心力或流体压力或者同时通过二者。

[0050] 本发明的一些实施例可以包括用于通过使用流体网格以形成流体包从而来分析各种物质的方法和设备,所述物质包括但不限于化学品、生化药剂、基因材料或生物细胞。本发明的可能的应用包括但不限于聚合酶链式反应(PCR)、基于核酸序列的扩增(例如,环介导等温扩增(LAMP)和基于核酸序列的扩增(NASBA))、蛋白质和小分子结晶以及在生物流体中的细胞(例如,稀有细胞或单个细胞)和生物颗粒(例如,分离线粒体)的分析。在一些实施例中,本发明的装置、方法和系统可以用于聚合酶链式反应(PCR)、逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)、连接酶链式反应(LCR)、环介导等温扩增(LAMP)(RT-LAMP)、解链酶扩增(HAD)(RT-HAD)、重组酶聚合酶扩增(RPA)(RT-RPA)以及/或者链置换扩增(SDA)(RT-SDA).在某些实施例中,本发明的装置、方法和系统可以用于基于核酸序列的扩增(NASBA)、转录介导扩增(TMA)、自持续序列复制(3SR)以及单个引物等温扩增(SPIA)。其它的可用技术包括例如RNA信号介导扩增技术(SMART)、滚环扩增(RCA)、超支化滚环扩增(HRCA)、指数扩增反应(EXPAR)、智能扩增(SmartAmp)、核酸的等温和嵌合引物初始扩增(ICAN)以及多置换扩增(MDA)。

[0051] 在一些方面,本发明包括用于样品体积离散化和操作的装置,所述装置可以定制成适于各种不同应用和分析方法。该装置的部件可以包括例如主通道或流动通道,主通道或流动通道排有相邻的样品室阵列。术语“主通道”和“流动通道”在本文可以互换使用。在

一个实施例中,样品室可以定位在主通道的侧部上,并且连接到该侧部,并且可以称为侧港设计。在一个实施例中,样品室可以定位在主通道的侧部上,并且连接到该侧部,并且可以称为侧港设计。样品室和主通道的尺寸可以变化以限定离散样品的容积、室位置和总体阵列大小。在下文中,与流动通道流体连通的样品室或腔也称为“流体港”。这些流体港可以偏离于通过主通道的流动轴线,并且可以沿一通道定位,该通道提供对该通道中的流动的遮蔽,使得流体包可以形成在流体港中。

[0052] 如本文所使用的,术语“流体连通”(及其变型)是指在各部件之间存在流体路径,并且不暗示也不排除存在任何中间结构或部件,也不暗示路径对流体流总是敞开或可用的。

[0053] 用于样品体积的自数字化的装置和设备

[0054] 在某些实施例中,本公开的发明包括这样的装置和设备,即所述装置和设备包括多个通道、流体港和储器。参照图1a,本发明的装置可以包括例如储器(1),该储器(1)可以包括大腔室,所述大腔室用以储存至少在一个入口端口(2)和出口端口(3)附近的油和含水样品。可以根据设计来选择储器。所述装置也可以包括多种类型的流动通道。例如,入口端口通道(4)位于可以将各个流体和样品引到芯片上的位置处。分支元件(5)也可以用于分布流体并且同时对多组流动通道和流体港进行采样。主填充通道(6)可以将样品递送到流体港(7),并且可以与流体港直接接触。在一些实施例中,该主通道可以具有特征(例如凹口或突出)来帮助导引流体流并且将流体流与流体港进行连接。在主通道与流体港之间的连接也可以根据流体港相对于主通道的的形状、偏距和定向而变化。排放通道(8)可以是较小的,并且从流体港连接到主填充通道,以提供用于油的、在填充期间排出的路径。排放通道不总是必要的,并且通过具有连接到给定流体港的一个或多个排放接合部而可以具有不同复杂度。流体港在各通道的侧部上的一些实施例利用排放通道,而流体港在通道的底部/顶部上的实施例不利用排放通道。出口通道(9)能够将任何过量的样品或油递送离开流体港到达出口或出口储器。它们包括“电阻器”通道(10)以帮助在各主通道之间建立更加均匀的流动。它们可以以除分支的方式共同地连接到该出口端口(储器)或者单独地连接到该出口端口。在一些实施例中,流体港可以例如连接到主通道或者任何排放通道。图1b示出了本发明的装置的简化形式。

[0055] 在一些方面,流体港也可以作用以藉由流体港和通道之间的不同几何形状以及由于流体港和通道之间的不同位置(例如流体港可以偏离于通道)而离散各样品。

[0056] 在某些实施例中,流体港尺寸的一个或多个大于主通道的相应尺寸。在此类实施例中,在流体港尺寸和流动通道之间的相应尺寸之间的差便于加载在该装置上的水溶液扩充到该流体港的较大容积中。不受限于理论,可以认为,由于该流体港的较大尺寸使两个流体之间的交界能量低于它们在主通道中的能量,该扩充过程自发地发生。

[0057] 在包括位于流动通道上方或下方的流体港的某些实施例中,流体港的竖直尺寸或高度大于该通道的高度。对于流体刚位于主通道的侧部上的实施例,流体港的竖直尺寸和侧向尺寸都可以大于该流动通道的尺寸。

[0058] 在一些实施例中,位于流体港的一个的下游端和下游流体港的上游端之间的间距是流体港的长度的0.1倍至3.0倍。在某些实施例中,位于流体港的一个的下游端和下游流体港的上游端之间的间距是流体港的长度的0.1倍至1倍。

[0059] 在某些实施例中,流动通道的宽度大于流体港的宽度。在其它某些实施例中,在流动通道的宽度和流体港的宽度之间的差是流体港的宽度的0.1倍至3.0倍。在某些优选实施例中,在流动通道的宽度和流体港的宽度之间的差是流体港的宽度的0.01倍至1.5倍。

[0060] 流体港可以以多种不同的定向进行定位。在某些实施例中,流体港连接到该主通道的顶部/底部。在其它实施例中,流体港连接到该主通道的侧部。在某些实施例中,流体港的“长”轴线仍平行于主轴线延伸,但是流体港偏离于该通道。(“长”线指流体港的最长尺寸的方向)。在其它某些实施例中,长轴线与段轴线之间的比值在1至5之间。

[0061] 对于流体港位于主通道的顶部/底部上的实施例,可以增大竖直尺寸。对于流体港位于主通道的侧部上的实施例,可以同时增大竖向尺寸和横向尺寸。在某些实施例中,流体港位于主通道的仅一侧上。在某些实施例中,流体港可以位于主通道的两侧上,如图2b所示。在主通道的两侧上具有流体港可以应用于侧港设计和底港设计,并且在某些实施例中,流体港可以位于三侧或四侧上。流体港可以呈多种几何形状,包括但不限于这样的形状,即该形状的横截面是圆形的、椭圆形的、正方形的、矩形的、三角形的,或者具有某些其它多边形尺寸。流体港也可以具有倒圆角或斜角,并且形状上可以是不对称的。

[0062] 流体港可以以多种不同的定向进行定位。在某些实施例中,流体港连接到该主通道的顶部/底部。在其它实施例中,流体港连接到该主通道的侧部。在某些实施例中,流体港的“长”线仍平行于主轴线延伸,但是流体港偏离于该通道。(“长”轴线指流体港的最长尺寸的方向)。在其它实施例中,流体港的“长”轴线垂直于该主通道。在其它实施例中,流体港的“长”轴线定位成与主流动轴线成某个其它角度。如果在流体港的中心和流动通道的中心线之间画的线比通道壁和它的中心线之间的最短距离长,则也可以认为流体港偏离于流动通道的流动轴线。

[0063] 在一些实施例中,主通道可以具有恒定的矩形横截面。在某些实施例中,在流动通道中的其它限制性或扩展性特征可以用来方便将样品运送到流体港,并且用以离散流体港中的样品。例如,图3A和图3B示出了在该装置中可以定位在流动通道之上或之下的流体港。如图3C至图3E所示,例如,流体港和/或流动通道可以设计成根据所需应用而具有不同的尺寸。在某些实施例中,流体港可以与通道重叠(参见例如图4a),在其它实施例中,流体港可以与通道壁平齐(参见例如图4b),而在其它实施例中,流体港可以通过突出部连接到该通道(参见例如图4c)。对于这些连接,可替代地或附加地,在该通道中的凹口可以实际上再现与该通道的重叠,或者再现使用突出部,或使通道和流体港平齐相遇,而不必调整流体港相对于该通道的主轴线的位置。在某些实施例中,在通道中的这些附加通道特征(例如,凹口或突出部)用以重定向流动和/或帮助隔离各流体港。凹口和突出部可以具有各种形状和尺寸,以适应具体性能要求。在诸如侧部港设计的某些实施例中,这些特征可以位于该通道的与流体港相联的相同侧部上。在一些实施例中,限制性和扩展性特征可以位于该通道的相对侧上(参见例如图4e)。在其它实施例中,也可以具有在其它通道侧上的特征。在诸如底部港设计的某些实施例中,限制性和扩展性特征可以与底部港相邻,但是位于该通道的平面上(参见例如图3D和图3E)。

[0064] 为了辅助改善的加载,本发明也包括微流体装置,该微流体装置可以包括例如具有中心区域和外边缘的主体(例如盘形体)。该主体可以构造成绕中心轴线旋转,并且可以包括多个部件。该主体可具有多种形状。例如,该主体可以基本盘形的。该盘形体可以是圆

形、扁圆形、椭圆形、正方形或矩形的。该主体具有可以位于该盘形体中的一轴线(例如中心轴线),以允许绕该轴线转动。

[0065] 在一些方面中,微流体装置可以包括一个或多个流体入口端口。流体入口端口可以位于该盘形体的中心区域中。所述装置也可以包括一个或多个流动通道。各流动通道可以包括近端、远端和流动轴线。各流动通道也可以与流体入口端口流体连通。在一些实施例中,流动通道的近端在中心区域的附近,而远端在该主体的外边缘附近。流体入口端口在主体的中心区域中的位置可以设计成例如使得:当该盘形体旋转时,将流体导引到流动通道中并且朝向盘形体的外边缘导引。可替换地,也可以使用用于将流体加载在通道中的其它方法,例如通过压力加载。各装置还可以包括与流动通道连通并且偏离流动轴线的多个流体港。在下文中将更详细地解释所述流体港。

[0066] 本发明的微流体装置也可以包括一个或多个流体出口端口。流体出口端口可以与流动通道流体连通。在一些实施例中,所述一个或多个流体出口端口可以定位成相比于流动通道的远端更靠近盘形体的中心区域。流体出口端口的位置可以影响用流体加载流动通道和流体港的过程。在一些实施例中,该出口可以与入口处于相同的径向位置处,或者相比于该入口更靠近该装置的外部或边缘,或者甚至比该入口更靠近该装置的内部或中心。使该出口定位在盘形体的中心区域中而不是外边缘附近可以提供例如对加载流动通道和流体港的额外水平的控制。

[0067] 在一些实施例中,本文所述的装置可以具有这样的盘形体,即,该盘形体可以具有圆形,并且可以构造成旋转以用于例如填充所述装置中的通道。在一些方面,可以根据该圆盘形体的半径来限定该装置的中心区域和外边缘。该盘形体的半径从该盘形体的中心延伸到该盘形体的外边缘。可以根据沿该盘形体的半径上的位置来限定该盘形体的中心区域。例如,该中心区域可以是在该圆盘形体内的圆。在一些实施例中,该中心区域可以包括该盘形体的死点(dead center),即该圆的死点。如果从该盘形体的中心到外边缘的该半径的长度为1,则可以根据长度为1的该半径的百分比或比率可以确定该中心区域。在某些方面,在该盘形体上的中心区域可以由具有这样的半径的圆来限定,即,相对于长度为1的半径,该圆的半径为大约0至大约0.8、大约0.01至大约0.8以下、大约0.01至大约0.7以下、大约0.01至大约0.6以下、大约0.01至大约0.5以下、大约0.01至大约0.4以下、大约0.01至大约0.3以下、大约0.01至大约0.2以下、或者大约0.01至大约0.1以下。在一些方面,在该盘形体上的中心区域可以由具有这样的半径的圆来限定,即,相对于长度为1的半径,该圆的半径为大约0.1至大约0.40、大约0.2至大约0.3、大约0.1大约0.3或者大约0.1至大约0.2。

[0068] 如本文所提供的,在所述装置中的一个或多个流体出口端口可以定位在该盘形体的中心区域中。流体出口端口可以位于流体入口端口的相同径向位置中。例如,流体入口端口和流体出口端口可以位于该中心区域中,在相对于长度为1的半径的大约0.05至大约0.50以下的径向位置处。在一些方面,在该盘形体上的中心区域可以由具有这样的半径的圆来限定,即,相对于长度为1的半径,该圆的半径为大约0.1至大约0.40、大约0.2至大约0.3、大约0.1大约0.3或者大约0.1至大约0.2。在一些方面,该装置可以包括位于装置的死点(dead center)处的一个入口端口,该装置例如是圆形装置。一个或多个出口端口可以联接到该入口端口,并且定位在该装置中的多个径向位置处。可替换地,流体出口端口可以定位在该中心区域中,但是在流体入口端口的不同径向位置处。例如,流体出口端口可以定位

在沿长度为1的该整个半径的0.1的径向位置处,而流体入口端口可以在沿长度为1的该整个半径的0.2的径向位置处。在一些实施例中,流体出口端口可以定位在沿长度为1的该整个半径的0.2的径向位置处,而流体入口端口可以在沿长度为1的该整个半径的0.1的径向位置处。在一些实施例中,不同的流体入口端口和流体出口端口可以定位在该中心区域中的不同位置处。例如,一个流体出口端口可以定位在0.1的径向位置处,而另一个流体入口端口可以定位在0.2的径向位置处。一个流体出口端口可以定位在0.15的径向位置处,而另一个可以定位在0.25的径向位置处。

[0069] 在另一方面,本发明也包括微流体装置,所述微流体装置可以包括一个或多个微孔板。微孔板可以包括多个孔(例如96个孔板),所述孔可以设计成提供流体系统以例如加载和分析每个孔中的样品。在一些方面,各孔可以包括一个或多个流体入口端口、一个或多个流动通道以及一个或多个流体出口端口。各部件的每个可以是流体连通的。各孔也包括流体港,所述流体港可以例如沿一个或多个流动通道布置,流动通道从各个孔吸收样品。

[0070] 各孔可以以多种方式布置在所述装置或微孔板上。例如,各孔可以布置成阵列格式,以允许例如流体港的高吞吐量(throughput)分析。在一些实施例中,各孔可以以方阵阵列或矩形矩阵阵列布置,该矩形矩阵阵列的列数和行数的比例是2:3或者3:4。如果需要,微流体装置可以包括能够适当配合在装置上的任意数量的孔。例如,存在的孔的数量可以例如是6、12、24、48、96、384或1536个孔。可以使用其它孔构造和数量。

[0071] 在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:盘形体,其具有中心区域和外边缘,该盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:流体入口端口,其位于该盘形体的中心区域中;流动通道,其具有近端、远端和流动轴线,该流动通道与流体入口端口流体连通;多个流体港,所述多个流体港与该流动通道流体连通并且偏离于该流动轴线;以及流体出口端口,其与该流动通道连通,其中,该流体出口端口定位成相比于流动通道的远端更靠近盘形体的中心区域。

[0072] 在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:盘形体,其具有中心区域、外边缘和中心轴线,该盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:流体入口端口,其位于盘形体的中心区域中;流动通道,其具有流动轴线和最外区域,其中,该流动通道的最外区域是流动通道的距离该中心区域最远的区域,并且其中,该流动通道与流动入口端口流体连通;多个流体港,所述流体港与流体通道连通并且偏离于该流动轴线;以及流动出口端口,其与流动通道流体连通,其中,从中心区域到流体出口端口之间的距离小于从中心区域到流动通道的最外区域的距离。

[0073] 在一些方面,该微流体装置还包括流动单元,其中,该流动单元包括流体入口端口、流体出口端口和多个流动通道,其中每个流动通道与流体入口端口和流体出口端口流体连通。在其它方面,所述装置包括多个流动通道,流动通道构造成使得每个流动通道的流动轴线垂直于盘形体的外边缘。在其它方面,多个流动通道构造成使得各流动通道平行排列。在某些方面,流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度不是直角。

[0074] 在一些方面,流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度是直角。在其它方面,每个流体港藉由敞开管道而与该流动通道流体连通。在其它方面,流体港中的至少一个还包括与流动通道流体连通的至少一个通道。

[0075] 在一些方面,该装置包括选自以下的材料:聚二甲基硅氧烷(PDMS)、热固性聚酯

(TPE)、聚甲基丙烯酸甲脂(PMMA)、聚氨酯甲基丙烯酸酯、聚乙烯、聚酯(PET)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚碳酸酯、聚对二甲苯、聚氯乙烯、氟乙烯丙烯共聚物、lexan、聚苯乙烯、环烯烃共聚物、聚氨酯、混合有聚丙烯酸酯的聚氨酯、聚酯碳酸酯、聚丙烯、聚丁烯、聚丙烯酸酯、聚已酸内酯、聚酮、聚邻苯二甲酰胺、醋酸纤维素、聚丙烯腈、聚砜、环氧聚合物、热塑性塑料、聚偏二氟乙烯、聚酰胺、聚酰亚胺、玻璃、石晶、砷化镓、氮化硅、熔融石英、陶瓷、金属或者它们的组合。[73]在某些方面,多个流体港和流动通道中的至少一个包括疏水表面。在其它方面,盘形体的至少一部分包括天然疏水或经表面处理的聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚氯三氟乙烯(PCTFE)、多层材料或者它们的组合。在某些方面,多个流体港和流动通道中的至少一个包括亲氟表面。

[0076] 在一些方面,本公开提供由第一流体加载的微流体装置。在多个方面,第一流体包括油。在其它方面,第一流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0077] 在一些方面,微流体装置还包括共用流体储器,其中该共用流体储器与每个流动通道的远端流体连通,并且其中,该共用流体储器与流体出口端口流体连通。在其它方面,流体出口端口定位成相比于流体入口端口更靠近盘形体的中心。在其它方面,该流体出口端口定位成相比于流体入口端口更远离盘形体的中心。

[0078] 在其它方面,流体出口端口定位成与流体入口端口距离盘形体的中心一样近。

[0079] 在一些方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括多个流动单元,其中每个流动单元包括:多个流动通道;流体入口端口;和流体出口端口,其中流体出口端口相比于流动通道的远端更靠近盘形体的中心区域。

[0080] 在其它方面,本公开提供了多个流动单元,其中每个流动单元包括:多个流动通道;流体入口端口;和流体出口端口,其中从中心区域到流体出口端口的距离小于从中心区域到流动通道的最外区域的距离。

[0081] 在一些方面,每个流动单元包括多个流体入口端口、多个流体出口端口或者它们的组合。

[0082] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:旋转元件,其构造成用于使本公开的任意微流体装置绕其中心轴线旋转;光学检测部件,其构造成光学地分析微流体装置的流体港中的至少一个;以及处理单元,该处理单元构造成用于控制旋转部件和光学检测部件,并且构造成用于存储由光学检测部件所产生的数据。

[0083] 在某些方面,分析系统还包括多个流体储器,每个流体储器能够包含流体,其中,所述多个流体储器构造成将流体提供到微流体装置的流体入口端口。在一些方面,分析系统还包括热控部件,其构造成将热量施加到所述多个流体港。

[0084] 在一些方面,该热控部件构造成充分地加热所述多个流体港,以执行聚合酶链反应(PCR)、等温扩增或者它们的组合。

[0085] 在一些方面,分析系统还包括流体引入部件,其构造成使流体移动通过流动通道。在某些方面,该流体引入部件包括与至少一个流体入口端口流体连通的压力源,其中该压力源构造成施加足以使流体移动通过流动通道的正压或负压,并且其中该正压或负压选自以下压力:空气压力、气动压力、液压或者它们的组合。在其它方面,该流体引入部件构造成藉由毛细作用、芯吸或者离心力驱动流动来使流体移动通过流动通道。

[0086] 在一些方面,该光学检测部件构造成分析以50RPM至2000RPM的速度旋转的微流体装置。在某些方面,该光学检测部件包括显微镜、激光扫描器、光盘驱动或者它们的组合。

[0087] 在一些方面,该旋转部件构造成调整该微流体装置的旋转速度,以匹配该光学检测部件的读取速度。在某些方面,该旋转部件构造成使微流体装置以50RPM至5000RPM的速度进行旋转。在其它方面,分析系统还包括光盘驱动。在其它方面,该光盘驱动是压缩盘(CD)驱动、数字视频盘(DVD)驱动、蓝光驱动或者它们的修改版本,或者它们的组合。

[0088] 在一些方面,分析系统构造成用于容纳、旋转和处理多个微流体装置。

[0089] 在各个方面,本公开提供了微流体装置,所述微流体装置包括:微孔板,其包括多个孔,其中每个所述孔还包括:流体入口端口,其与该孔流体连通;流体出口端口,其与该孔流体连通;流动通道,其具有流动轴线,该流动通道与流体入口端口和流体出口端口流体连通;以及多个流体港,其与该流动通道流体连通并且偏离该流动轴线。

[0090] 在一些方面中,这些孔中的至少一个包括多个流动通道。在其它方面中,这些孔中的至少一个包括多个流体入口端口。在其它方面中,这些孔中的至少一个包括多个流体出口端口。在某些方面,所述多个孔以阵列方式布置。在其它方面,所述多个孔以方形矩阵阵列的方式布置。在其它方面,所述多个孔以矩形矩阵阵列的方式布置,该矩形矩阵阵列的列数和行数的比例是2:3或者3:4。在其它方面,该微流体装置包含6、12、24、48、96、384或1536个孔。在一些方面,流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度不是直角。在其它方面,流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度是直角。在其它方面,每个流体港藉由敞开管道而与该流动通道流体连通。在其它方面,流体港中的至少一个包括与流动通道流体连通的通道。

[0091] 在某些方面,流动通道和流体港中的至少一个包括疏水表面。在某些方面,本公开的微流体装置包括选自以下的材料:聚二甲基硅氧烷(PDMS)、热固性聚酯(TPE)、聚甲基丙烯酸甲脂(PMMA)、聚氨酯甲基丙烯酸酯、聚乙烯、聚酯(PET)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚碳酸酯、聚对二甲苯、聚氯乙烯、氟乙烯丙烯共聚物、lexan、聚苯乙烯、环烯烃共聚物、聚氨酯、混合有聚丙烯酸酯的聚氨酯、聚酯碳酸酯、聚丙烯、聚丁烯、聚丙烯酸酯、聚已酸内酯、聚酮、聚邻苯二甲酰胺、醋酸纤维素、聚丙烯腈、聚砜、环氧聚合物、热塑性塑料、聚偏二氟乙烯、聚酰胺、聚酰亚胺、玻璃、石晶、砷化镓、氮化硅、熔融石英、陶瓷、金属或者它们的组合。

[0092] 在某些方面,每个孔还包括内腔和外腔,其中该内腔与入口端口流体连通,而该外腔与出口端口流体连通。在其它方面,内腔和外腔的构造足以产生通过流动通道的非圆流动方向。图22B示出了根据某些方面的内腔和外腔。

[0093] 在一些方面,该装置的至少一部分包括天然疏水或经表面处理的聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚氯三氟乙烯(PCTFE)或多层材料,以为流动通道、所述多个流体港或者它们的组合提供疏水表面。

[0094] 在某些方面,该装置由第一流体加载,该第一流体包括油。在其它方面,该第一流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0095] 用于样品体积的数字化的材料

[0096] 在某些实施例中,本发明的装置可以由具有合适表面性质以便于数字化过程的材料构成。例如,本发明的装置可以由聚二甲基硅氧烷(PDMS)或/和玻璃制成。其它基底材料

可以包括点不限于硅、热固性聚酯(TPE)、聚甲基丙烯酸甲脂(PMMA)、聚氨酯甲基丙烯酸酯、聚乙烯、聚酯(PET)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚碳酸酯、聚对二甲苯、聚氯乙烯、氟乙烯丙烯共聚物、lexan、聚苯乙烯、环烯烃共聚物、聚氨酯、混合有聚丙烯酸酯的聚氨酯、聚酯碳酸酯、聚丙烯、聚丁烯、聚丙烯酸酯、聚已酸内酯、聚酮、聚邻苯二甲酰胺、醋酸纤维素、聚丙烯腈、聚砜、环氧聚合物、热塑性塑料、含氟聚合物、聚偏二氟乙烯、聚酰胺、聚酰亚胺、无机材料(玻璃、石晶、硅、砷化镓、氮化硅)、熔融石英、陶瓷、玻璃(有机)、金属和/或其它材料以及它们的组合。

[0097] 对于生物测定,一装置可以基于聚合材料,所以该装置是一次性的以用于一次性使用。在一些实施例中,本发明的装置的一部分(例如盘形体)可以包括天然疏水或经表面处理的聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚氯三氟乙烯(PCTFE)或多层材料,各材料可以例如为流动通道、所述多个流体港或者它们的组合提供疏水表面。

[0098] 所述装置(例如通道和/或流体港)的表面性质可以定制用于指定的应用。例如,各装置的一些或所有表面可以是疏水的或亲水的。在一些实施例中,某些表面可以是疏水的,而某些表面可以是亲水的。在某些实施例中,一些或所有表面可以是亲氟的。亲水的或疏水的表面可以设计成允许将油加载在某些通道中,并且/或者允许将流体港和水溶液加载在该装置中的某些通道和/或流体港中。

[0099] 在一些实施例中,一些或所有流体港和/或通道可以随化学或生物试剂而改变,以使与各流体接触的表面优选地由选定的流体(例如上述第一流体或第三流体,诸如油)湿润。例如,所述表面可以修改成允许油(例如第一流体)优选地湿润通道和流体港。该湿润可以使该装置的表面做好准备,该表面可以例如便于离散化,因为此使得由第二流体(例如水溶液)排出和移走第一流体(例如油)更加容易,并且使第三流体(例如油)移走第二流体更加困难。

[0100] 用于样品体积的自数字化的流体

[0101] 不同种类的流体或液体可以用于本发明的各装置、系统和方法。各流体例如可以包括水基溶液或水溶液。在一些实施例中,所述流体可以包括难溶于水溶液的液体。例如,所述流体可以包括油,所述油例如是氟化油、烃油、硅酮油或者矿油。也可采用有机溶剂。在一些方面,本发明的装置可以至少作为两相系统起作用,该两相系统利用两种或更多种不能混溶的流体。例如,第一流体(如油相流体)可以在开始时填充装置以移走所有空气。第一流体可以选择以比第二流体更优地湿润该装置的表面。然后,第二流体可以流过该装置并且进入该流体港,从而移走油,第二流体例如是包含相关样品的水相,其通常不能与第一流体混溶。然后,第三流体可以流过该装置以移走主通道中的水相而非流体港中的水相,该第三流体可以但不必与第一流体相同,并且可以但不必能与第一流体混溶,并且通常不能与第二流体混溶。在某些方面,流体港可以用作遮蔽件以隔离和数字化位于流体港中的水相的个体流体包。流体港可以但不必需地由水相基本占据,使得流体包基本呈流体港的形状,并且该流体包的容积可以基本由该流体港的尺寸限定。例如,如果流体港是矩形的,则包含在其中的流体包应当基本呈矩形。

[0102] 在一个实施例中,用作第一流体和/或第三流体的油是矿油基的。在另一实施例中,该油是碳氟化合物基的。在另一实施例中,该油是硅酮油基的油。其它实施例可以使用

其它的“油”相或可替换材料。第一/第三流体通常也包括表面活性剂和/或湿润剂以改善与该装置表面和第二流体的所需相互作用。在某些实施例中,第一流体和第三流体是相同的。当在其它实施例中时,第一流体和第三流体可以由相同基的材料构成,但是具有不同的表面活性剂/添加剂浓度或成分。当在给定的操作方法中(例如第一流体、第三流体和/或第四流体)使用多种油时,各种油的成分可以是相同或不同的。油成分的每个是独立选择的,而不管使用中的其它油的成分。当在其它实施例中时,第三流体可以具有完全不同的成分,并且可以但不必能与第一流体混溶。在某些实施例中,第一流体和/第三流体可以包含与第二流体和/或第二流体中的组分相互作用的组分。

[0103] 在一些方面,提供了第四流体。在其它方面,该第四流体包括油,所述油诸如是氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。在其它方面,能够与诸如PCR或等温扩增等扩增反应兼容的流体用作第四流体。在一些方面,第四流体可以用于在开始扩增反应以扩增数字化分析物之前移出位于流动通道中的第三流体。第四流体可以与第一流体、第二流体和/或第三流体中任一个混溶或者不混溶。在某些方面,第四流体可以与第一流体是相同的。

[0104] 在一些方面,提供了第五流体。在一些方面,该第五流体包括油,所述油诸如是氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。在某些方面,该第五流体可以用以从该装置冲洗第一流体、第二流体、第三流体和/或第四流体。

[0105] 在一些方面,可以将第一流体、第二流体、第三流体、第四流体和第五流体中的任意个都提供到位于微流体装置上的流体入口端口处。可以将第一流体、第二流体、第三流体、第四流体和第五流体提供到相同的流体入口端口或不同的流体入口端口处。在某些方面,按一顺序将第一流体、第二流体、第三流体、第四流体和第五流体提供到装置,该顺序不同于本文所提供的顺序。可以以任何顺序将第一流体、第二流体、第三流体、第四流体和第五流体提供到装置,而且在该方法的一些方面中,可以省略第一流体、第二流体、第三流体、第四流体和第五流体中的任一个。本文所述的顺序是示例性的,并且不限于所公开方法的实践。

[0106] 在一些方面,该第二流体包括水溶液。在某些方面,所述方法还包括将第一流体提供到所述流体入口端口,或者提供到位于该微流体装置上的不同的流体入口端口。在其它方面,所述方法还包括将第三流体提供到所述流体入口端口,或者提供到位于该微流体装置上的不同的流体入口端口,其中该第三流体包括油。在其它方面,该第三流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0107] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中。

[0108] 术语“提供(provide)”和“引入”在本文中可以互换地使用以表示流体到一结构或穿过该结构的运动,该结构诸如是入口端口或通道。

[0109] 在一些方面,第一流体包括油。在其它方面,该油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0110] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第二流体是水溶液。

[0111] 在一些方面,该第二流体包括分析物,并且该方法还包括在流体港中的至少一个

中进行对该分析物的分析。在某些方面,该分析物包括生物材料。在其它方面,该生物材料选自细胞、细菌、病毒、朊病毒、核酸、蛋白质、基因材料的表达产物、结晶分子、微粒或者它们的组合。在其它方面,第二流体包括第一核酸分子和第二核酸分子,并且该方法还包括将第一核酸分子分布到第一流体港中,其中第一流体港不包括第二核酸分子。

[0112] 在一些方面,这些方法还包括将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中,在将第二流体引入到流动通道中之前将第一流体引入到流动通道中,。在一些方面,第一流体包括油。在其它方面,该油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0113] 在一些方面,该方法还包括将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后,将第三流体引入到该流动通道中。在其它方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,并且该第三流体是油。

[0114] 在一些方面,该方法还包括将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第一流体引入到该流动通道中之后并且在将第二流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在其它方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后并且在将第三流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在一些方面,在将第三流体引入到该流动通道中之后,将第四流体引入到该流动通道中。在其它方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,并且该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。在其它方面,这些油的每个独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0115] 在一些方面,这些方法还包括将第五流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后,将第五流体引入到该流动通道中。在其它方面,在将第三流体引入到该流动通道中之后,将第五流体引入到该流动通道中。在一些方面,该方法还包括将第四流体引入到该流动通道中,其中在将第一流体引入到该流动通道中之后并且在将第二流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在某些方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。在其它方面,这些油的每个独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0116] 在某些实施例中,本文中的流体(例如,水溶液)可以包含多种分析物,这些分析物包括但不限于化学品、生化药剂、基因材料(例如DNA、RNA等)或基因材料的表达产物(例如蛋白质和/或代谢物)、结晶分子、生物细胞、外来体、线粒体、致幻剂、在周边血液或淋巴系统中循环的生物微粒、稀有细胞或微粒。可以用作例如第二流体的、可能的含水样品包括但不限于多种PCR和RT-PCR溶液、诸如用于LAMP和NASBA等的等温扩增溶液、血液样品、血浆样品、血清样品、包含细胞溶解物或分泌物或者细菌溶解物或者分泌物的溶液,以及包含蛋白质、细菌、病毒颗粒和/或细胞(真核细胞、原核细胞或者它们的颗粒)等其它生物样品。在某些实施例中,水溶液还可以包括表面活性剂或其它试剂,以便于与该装置的材料和/或不混溶的流体(例如第一流体/第三流体)的所需相互作用和/或兼容性。在某些实施例中,加载在所述装置上的水溶液可能具有表达恶性表型的细胞、胚胎细胞、循环内皮细胞、肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、由相关基因转染的细胞、或者存在于受自身免疫或自体反应紊乱困扰的主体的周边血液中的T细胞和B细胞,或者免疫细胞的其它亚型,或者在周边血液中或者在淋巴系统或脊髓液或者其它体液中的循环的稀有细胞或生物颗粒(例如外来体、线粒

体)。所述细胞和生物颗粒在一些情形下在样品中是稀少的,并且可以使用离散化来在空间上隔离这些细胞,从而允许检测所述稀有细胞和生物颗粒。

[0117] 在一些方面中,提供了包括一个或多个本文公开的装置的设备。

[0118] 用于样品体积的自数字化的方法

[0119] 图5a至图5e描述了用于加载流体港的示例性顺序。如图所示,该装置操作可以包括提供第一流体,该第一流体在储器、通道和流体港中示出为以更深的灰色示出。在某些实施例中,第一流体可以包括油,该油可以被引入装置中,以例如移走任何的气泡。在某些实施例中,将诸如含水样品等的第二流体经由加载机构提供通过入口/入口储器(参见例如图5b),并且由分支入口端口分布到主通道中,然后,在主通道中,第二流体进入各流体港,从而移走第一流体(例如油)。在某些实施例中,排放通道便于排放油(参见例如图5e)。在加载含水样品之后,提供第三流体,该第三流体可以是与第一流体是相同的油或者是不同的油,该第三流体将含水样品从通道中而不是从流体港中移走(参见例如图5c)。此将含水样品隔离或者分流到由流体港尺寸决定的离散容积中(参见图5d)此隔离或分流特征是数字化和离散化。被分流的容积可以称为离散容积或数字化容积。在一个实施例中,将所有含水样品分流到流体港中,使其“无损(loss-less)”填充,但是不是所有流体港都完全充满。在另一实施例中,所有流体港被完全充满,但是某个样品损失到出口端口/出口储器中。

[0120] 排放通道可以通过含水样品影响排油速率,并且可以影响装置加载速率以及流体港填充完整性。在一些实施例中,在侧港设计中利用排放通道。由于侧港和底港设计可以共同具有很多相似的特征,所以如图3B中所示,在流体港和主通道之间的连接件的相对尺寸可以影响油排放/流体交换的速率。底港设计可能不会得益于排放通道,而侧港设计可以得益于排放通道的存在。

[0121] 在某些实施例中,特别地用于侧港设计的实施例中,可以根据诸如流体港容积和样品流量等参数来使用一系列不同排放的几何形状。例如,图6a示出了具有单个排放通道的流体港。图6b示出了具有两个排放通道的流体港,在流体港的每一侧上具有一个排放通道进行排放。图6c示出了具有两个排放通道的流体港,两个排放通道都在流体港的下游排放。图6d示出了具有多个(两个)排放通道的流体港,所述多个(两个)排放通道在连接到主通道之前合并。图6d示出了具有多个(三个)排放通道的流体港,所述多个(三个)排放通道在连接到主通道之前合并,但是在与主通道的连结处进行分支,以维持较小的连结几何机构。图6f示出了具有单个排放通道的流体港。图6g示出了具有两个排放通道的流体港,在流体港的每一侧上具有一个排放通道进行排放。图6h示出了具有两套排放通道的流体港,每套通道具有两个端口,这两个端口合并,并且然后在连接到主通道之前分开。各套通道在该流体港的各侧上排放。图6i示出了具有两套排放通道的流体港,每套通道具有三个端口,这三个端口合并,并且然后在连接到主通道之前分成两个。各套通道在该流体港的各侧上排放。图6j示出了具有两套排放通道的流体港,每套通道具有两个端口,这两个端口合并,并且然后在连接到主通道之前分开。两套通道排放到该流体港的相同下游侧。图6k示出了具有一套排放通道的流体港,该套通道具有三个端口,这三个端口合并,并且然后在连接到主通道之前分开。

[0122] 虽然在通道和侧港设计之间的较小界面可能影响排放通道的使用,此可能增加该设计的复杂性,但是它也帮助明确地将各个流体港彼此隔开并且实现完全的数字化和离散

化。对于底港设计,不具有排放通道可以导致更简单的设计,此与通道的覆盖区中的孔的位置一起导致更大密度的流体港。该增加的界面还可以增加各个流体港之间的流体连接的机会。通过引入相对于流体港宽度的通道突出部、通过引入各流体港之间的主通道中的限制部、通过沿通道轴线调整流体港之间的间距并且通过修改流体港的几何形状,该设计的不同实施例可以提高数字化。图3C至图3E示出了例如通道中的限制部。各通道的尺寸由主通道高度H_m和宽度W_{main}限定,W_{main}=w+2W,其中W是垂直于该流动方向(z向)测量的、该主通道的突出部。具有宽度、长度和深度(w×1×d)的底部流体港间隔开δ或者由具有宽度W_c和长度l_c的限制部分开,该限制部位于每个流体港之前和之后、与该流体港的距离为δ_c处。在主通道中的突出部和限制部(图3D和图3E)改善了各流体港之间的各小容积的隔离。改变流体港的尺寸和/或形状(相对于图3D和图3E)也可能影响样品体积的隔离。在将限制部包含到流动通道的实施例中,可以实现更大的微滴隔离。

[0123] 图7至图9示出了多个实施例,它们描述了在所述装置中正在被填充的高比例流体港。图7a是示出了通过将限制部定位在每个流体港(δ_C)之前和之后的、主通道几何形状的设计修改的示意图。限制部的长度为1C以及它的通道宽度为W_C。图7b示出了1024流体港芯片的明视场(BF)图像和荧光(F)图像,在主通道中具有限制部($l_C=\delta_C=25\mu m$,W_C=w=100μm),该主通道以Ca(毛细管数)=0.004被填充,并且导致99.5%的样品留存和91.8%的填充效率f_{total}。比例尺对应于1.0mm。图7c示出了在图(b)中示出的芯片的直方图,其基于对单个、两个和多个流体港填充的分析。在图8a中,位于主通道中的限制部是最大宽度的1/3,并且各流体港具有仅位于下游端上的锥形。图8b示出了具有4,096流体港(V_w=2nL)的SD芯片的实例。图8c示出了在该实例中的样品留存是99.9%,其中98.8%的流体港以个体微滴存在。图8d提供了具有不同数量(1,024、4,096或25,600)的流体港的底部流体港SD芯片中的样品留存和填充效率的比较。图9a至图9c示出了每个阵列包括1,024至38,400个流体港的装置。图9a是示出了具有2nL流体港的微流体底部流体港芯片中的数字化样品的荧光图像,而图9b示出了该芯片的比例放大的照片。图9c提供了留存和数字化效率的概览。

[0124] 在某些实施例中,入口端口、出口端口和对应的通道可以用以将流体递送到通道/流体港阵列。在其它实施例中,入口和出口储器用以在数字化之前和之后储存/收集流体。在某些实施例中,入口端口和入口储器可以引到单个通道,该单个通道将流体递送到所有流体港,其中,如同在其它实施例中,该入口端口可以分叉/分支成多个主通道,以使该过程同时进行并且增加该数字化的吞吐量。类似地,在某些实施例中,各出口通道可以以脱支方式再结合成单个出口端口(参见例如图10a)。但是在其它实施例中,每个主通道连接到出口通道,该出口通道个体地与该出口端口连接(参见例如图10b)。在某些实施例中,使用小的电阻器通道,小的电阻器通道可以帮助产生各通道之间更均匀的流动。

[0125] 在一些实施例中,本发明还包括用于填充所述装置的方法,在本文中进一步描述所述方法。例如,可以通过将流体提供到位于该装置上的流体入口端口的一个或多个而简单地填充所述装置。在某些方面,本文所述的平台可以是稳定的,并且样品可以在一系列加载条件上被数字化/离散化。加载条件可以包括但不限于流体成分、流量和流动诱导机构。另外,不同的样品可以使用相同或者非常相似的加载条件来进行数字化/离散化。进一步,相似的条件可以用以在一系列流体港容积和/或流体港阵列的数量上实现在装置中的数字化/离散化。例如,参见图9以及图11至图14。已经实现每个阵列达约38000的数字化,并且已

经实现具有从约50pL至约100nL的数字化容积的阵列,并且全部阵列容积从约0.5μL至约60μL。例如,图11a示出了一种设计,该设计的每个流体港包括两套GK排放管,每个排放管具有三个排放端口,并且640×约100nL的流体港的阵列由PCR混合物填充。图11b示出了一种设计,该设计的每个流体港包括两套GK排放管,每个排放管具有两个排放端口,并且1024×约8nL的流体港的阵列由PCR混合物填充。图11c示出了一种设计,该设计的每个流体港包括两套GK排放管和来自较大阵列的约10,000×约1nL的区域,每个排放管具有一个端口。图11b示出了一种设计,该设计的每个流体港包括一个GK排口,每个排口具有一个端口,并且10,240×约50nL的流体港的阵列由PCR混合物填充。

[0126] 可以通过使用较大范围的通道加载或填充机制来实现数字化。任何合适的通道填充机制或通道填充部件都可以用以将流体移动通过该流动通道。不同的加载机制包括但不限于注射器泵驱动流动、正压或负压(真空)驱动流动,并且通过离心力驱动流动。在一些方面,可以通过使本文的微流体装置绕其中心轴心旋转以藉由离心力驱动流体加载到通道中,而执行加载过程。也可以通过使用例如正压或负压来驱动流体进入到该装置上的流体入口端口中,而施加流体压力。在其它方面,通道填充部件可以是空气压力源、气动压力源、液动压力源或液压源,或类似物,或者它们的组合。在其它方面,压力源与该装置的流体入口端口或流体出口端口流体连通。

[0127] 可以使用其它合适的通道填充机制和部件来将流体加载到装置中。例如,可以使用毛细作用来实现流体的加载。在一些方面,使用具有这样的几何特征的结构来产生毛细作用,即,所述几何特征足以使液体与该结构流体连通,以由于液体表面张力和/或液体与该结构的内表面之间的粘结力而进入该结构。在一些方面,通过使用诸如毛细电泳(CE)管等毛细管来实现此。在其它方面中,毛细作用可以通过诸如过滤纸等芯吸材料而产生,该芯吸材料通过吸收流体而将该流体传送通过该装置的流动通道。

[0128] 如本文所使用的,术语“流体压力”意为能够将流体诱导以移动到通道中的任何压力或力,其包括但不限于正空气压力或负空气压力、气动压力、液动压力、液压、离心力、毛细作用、芯吸作用、界面或表面张力梯度、温度梯度或者它们的组合。

[0129] 用以加载流体而施加的压力可以定制用于给定的芯片设计。例如,流体通道尺寸可以影响需要多少压力来将流体加载到本发明的微流体装置中。对于离心加载,旋转速度可以定制,以提供对微流体装置上的各种结构的填充。在一些实施例中,用于使本发明的装置旋转的旋转速度可以是在例如数百转每分(RPM)至数千转每分的数量级上。在某些方面中,旋转速度可以在以下范围内:例如大约1至5000RPM、大约100至大约3000RPM、大约100至大约1000RPM、大约100至大约500RPM、大约500至大约2000RPM、大约1000至大约2000RPM或者大约500至大约1500RPM。在某些方面中,旋转速度可以在以下范围内:例如1至500RPM、500至1000RPM、1000至1500RPM、1500至2000RPM、2000至2500RPM、2500至3000RPM、3000至3500RPM、3500至4000RPM、4000至4500RPM或者4500至5000RPM。

[0130] 通过使用流体入口端口中的一个或多个可以执行不同类型的流体的加载和加载顺序。在一些实施例中,通过相同的流体入口端口来加载各在可以换实施例中流体。在可替换实施例中,流体可以加载到所有不同的流体入口端口上,或者一些流体可以加载到一个流体入口端口中,而一些流体可以加载到不同的流体入口端口中。

[0131] 本发明提供了多个装置实施例,通过使用本文所述的各种加载机构可以填充这些

装置。例如,图12a示出了一种离心设计,其中,流体港以径向方式定位,出口端口定位在入口端口附近的内部位置处,其具有个体通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图12b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。图12c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。图13a示出了另一离心设计,其中流体港定位成线性阵列(各个主通道彼此平行),并且出口端口定位在入口端口附近的内部位置处,其具有再连接通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图13b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。图13c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。在一些装置方面(例如图12和图13),多个流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度是直角。在其它装置方面(例如图12和图13),多个流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度不是直角。图14a示出了另一离心设计,其中各流体港相对于主通道成45°的角度,并且定位成线性阵列(各个主通道彼此平行),并且出口端口定位在入口端口附近的内部位置处,其具有再连接通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图14b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。。图14c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。可以对这些实施例进行各种修改。

[0132] 在一些实施例中,本发明包括用于在本文进一步所述的装置中执行聚合物链反应(PCR)的方法。PCR可通过多种方式来实现。在一个方面,可以通过使用合适的加载机制将包括多个核酸分子的流体加载在所述装置中。可以将核酸分子分配到在所述装置中布置的流体港中,使得例如至少一个核酸分子存在于流体港的至少一些中。在一些实施例,可以将核酸分子分配到在所述装置中布置的流体港中,使得仅有一个核酸分子存在于流体港的至少一些中。在每个流体港中的核酸分子的数量可以取决于例如在所加载的样品中的核酸分子的浓度和/或流体港的大小。在加载并且在流体上隔离核酸分子后,可以在芯片上执行PCR。用于对核酸分子执行PCR的试剂也可以存在于加载在该装置上的样品中。然后,分析系统的加热部件可以用以在用于执行PCR的温度周期中循环运行。如果核酸分子分布在装置中,则也可以执行数字PCR并且可以将数字PCR应用到多种应用中,这些应用可以用于例如生物和/或化学分析。

[0133] 参照图15,本发明可以包括用于一反应的预加载、填充、扩增和检测(例如成像和/或分析)的方法。本发明的微流体装置可以例如用于执行数字PCR,其可以包括能够同时加载多个样品的基于离心的填充机构。可以执行预加载步骤以例如用初始物(第一流体)来装填该装置,该初始物是油。含水样品(包括例如核酸和扩增试剂)可以加载到位于该装置中心区域的入口端口中。在装置旋转期间,离心力驱动样品进入各通道和流体港,由此产生多个阵列的隔离港。可以驱动初始油(第一流体)离开该装置。可替换地,可以在加载第一流体之前以及在后来加载含水样品之前干燥该装置。可以执行扩增步骤,以产生来自流体港的可检测信号,所述流体港包含来自该样品的核酸。在热循环之后,个体阵列可以基于所加载的样品而给出唯一的结果。例如,阳性对照和阴性对照可以与包含核酸的各个样品一起被运行并分析。

[0134] 在一些方面,对于离心填充,可以将含水样品加载到位于该装置中心附近的入口或入口储器中,流体港阵列定位在该装置的外部区域中,出口储器位于该装置的最外部处,但是实际出口可以位于该装置上的内部或外部位置处(参见图16)。在一些方面,出口储器是共用流体储器,其中,多个流动通道与该装置上的共用流体储器在流体上连通,并且该共

用流体储器与流体出口端口在流体上连通。

[0135] 图16示出了将出口端口定位在离心装置的外部或外边缘(顶排)处的可能缺陷。当样品和油位于该装置的外边缘处时,样品和油可能从出口端口漏出,从而产生混乱;另外,样品也更容易从流体港被移走。内部出口端口(底排)将所有溶液保持在该装置中并且用于自计量作用,其在流体港被破坏之前减缓并且随后停止流体流。

[0136] 开始时,出口储器可以包含油或空气。当该装置旋转时,离心力将样品驱动离开入口储器,并最终进入流体港,并且所有被移走的流体进入该出口储器。由于该出口端口位于外部位置,如果该储器由流体充满,则它可能容易经由该出口端口逸出,该出口端口允许连续的流动并且能够更快速地进行样品加载(参加例如图16顶部)。该设计会导致油或样品释放到该装置外部并且进入外部环境中。如果该出口处于内部位置,则流动速率可能随着储器充满而减慢,因为该流体不能够从该出口端口逃逸(参见例如图16底部)。该设计特征提供了自计量系统,其中,已设定容积的样品/油会穿过该流体港区域,然后流动自动停止。此然后放置水或油的进一步流动,使得能够进行旋转成像,而不会有扰乱数字化样品的风险。典型的加载速度是大约1000RPM,此能够通过改型的台式离心机或光盘平台而容易地获得。

[0137] 如图所示,例如在图18和图19中,离心力也可以提供同时加载多个样品的能力。例如,每个装置同时加载24至48或更多的个体样品的设计是可能的,并且图17示出了能够加载8个样品的实际装置。该加载机构也会允许同时加载多个装置,此进一步增加了吞吐量(产量)。例如,图20示出了根据本发明的实施例的用于高通量仪器的示例性设计,该仪器能够一次加载和热循环多个圆盘,并且然后快速地为它们成像。在图20中,该系统可以包括用于提供微流体装置的端口。在第一步骤时,可以如本文所述加载微流体装置并且用流体填充微流体装置。如图所示,例如,可以根据所需的指令来设置旋转时间和旋转RPM。然后,在第二步骤时,将微流体装置转移到该系统的另一部分,以经历诸如用于PCR的热循环等反应条件。在终止反应后,第三步骤可以包括分析在微流体装置上的反应的结果。例如,该系统可以包括成像和旋转部件,以允许分析存在于微流体装置中的扩增DNA。该系统也可以与能够处理和存储所记录的分析数据的计算机系统联接。图21A至图21C提供了本发明的其它方面,所述其它方面可以包括使用现有生产和仪器设施以减少仪器和消耗品成本的可能性。可以通过使用在现有光盘生产过程中的材料和设备来制造装置而产生该可能性。也可以通过使用来自光盘阅读器的运动控制平台的部件而产生该可能性。图23示出了根据本发明的实施例的离心SD加载、成像和分析原型系统的另一实例。

[0138] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供本公开的微流体装置的任一个,并且将第二流体提供到该微流体装置的第二流体入口端口。在某些方面,所述方法还包括使微流体装置绕其中心轴线旋转,以由第二流体加载该微流体装置的流动通道。在其它方面,所述方法还包括将压力施加到第二流体,其中,该压力足以推动第二流体通过该微流体装置的流动通道。在其它方面,该压力是正压或负压。

[0139] 在一些方面,该第二流体包括水溶液。在某些方面,所述方法还包括将第一流体引入到微流体装置的第一流体入口端口中,其中,该第一流体入口端口和第二流体入口端口是独立的相同的端口或不同端口,并且其中,第一流体包括油。在其它方面,所述方法还包括将第三流体引入到微流体装置的第三流体入口端口中,其中,第一流体入口端口、第二流体入口端口和第三流体入口端口是独立的相同的端口或不同端口,并且其中,第三流体包

括油。在其它方面,该第三流体包括氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0140] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第一流体引入到该微流体装置的流动通道。

[0141] 在一些方面,第一流体包括油。在其它方面,该油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0142] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;并且将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第二流体是水溶液。

[0143] 在一些方面,该第二流体包括分析物,并且该方法还包括在流体港中的至少一个中进行对该分析物的分析。在某些方面,该分析物包括生物材料。在其它方面,该生物材料选自细胞、细菌、病毒、朊病毒、核酸、蛋白质、基因材料的表达产物、结晶分子或微粒。在其它方面,第二流体包括多个核酸分子,并且该方法还包括将核酸分子中的至少一些分布到流体港的独立流体港中,使得仅有一个核酸分子包含在流体港的至少一些中。

[0144] 在一些方面,这些方法还包括将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中,在将第二流体引入到流动通道中之前将第一流体引入到流动通道中。在一些方面,第一流体包括油。在其它方面,该油选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0145] 在一些方面,该方法还包括将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后,将第三流体引入到该流动通道中。在其它方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,并且该第三流体是油。

[0146] 在一些方面,所述方法还包括将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第一流体引入到该流动通道中之后并且在将第二流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在其它方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后并且在将第三流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在一些方面,在将第三流体引入到该流动通道中之后,将第四流体引入到该流动通道中。在其它方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,并且该第三流体是油,并且该第四流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、和第四流体独立地彼此相同或彼此不同。在其它方面,这些油的每个独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0147] 在一些方面,这些方法还包括将第五流体引入到该微流体装置的流动通道中。在某些方面,在将第二流体引入到该流动通道中之后,将第五流体引入到该流动通道中。在其它方面,在将第三流体引入到该流动通道中之后,将第五流体引入到该流动通道中。在一些方面,该方法还包括将第四流体引入到该流动通道中,其中在将第一流体引入到该流动通道中之后并且在将第二流体引入到该流动通道中之前,将第四流体引入到该流动通道中。在某些方面,该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。在其它方面,这些油的每个独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。

[0148] 在各个方面,本公开提供了用于将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中;并且将第五流体引入到该微流体装置的流动

通道中,其中该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

[0149] 在一些方面,这些油的每个独立地选自氟化油、烃油、硅酮油或者它们的组合。在某些方面,该第一流体是引入到该流动通道中的初始流体,在第一流体之后引入第二流体,在第二流体之后引入第四流体,在第四流体之后引入第三流体,并且在第三流体之后引入第五流体。在其它方面,该第一流体是引入到该流动通道中的初始流体,在第一流体之后引入第四流体,在第四流体之后引入第二流体,在第二流体之后引入第三流体,并且在第三流体之后引入第五流体。

[0150] 在各个方面,本公开提供了将流体引入到微流体装置中的方法,该方法包括:提供根据本公开的微流体装置;将第一流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第二流体引入到该微流体装置的流动通道中;将第三流体引入到该微流体装置的流动通道中;可选地,将第四流体引入到该微流体装置的流动通道中;并且可选地,将第五流体引入到该微流体装置的流动通道中,其中该第一流体是油,该第二流体是水溶液,该第三流体是油,该第四流体是油,并且该第五流体是油,并且其中,第一流体、第三流体、第四流体和第五流体独立地彼此相同或彼此不同。

[0151] 在一些方面,首先引入第一流体,在第一流体之后引入第二流体,在第二流体之后引入第四流体,在第四流体之后引入第三流体,并且可选地在第三流体之后引入第五流体。在其它方面,首先引入第一流体,在第一流体之后引入第四流体,在第四流体之后引入第二流体,在第二流体之后引入第三流体,并且可选地在第三流体之后引入第五流体。

[0152] 在一些方面,将流体引入到流动通道中的顺序选自:(a)油、水溶液和油;(b)油、油、水溶液、油和油;(c)油、油、水溶液和油;或者(d)油、水溶液、油和油,其中各油中的每个的成分独立地相同或不同。在某些方面,所述方法还包括在该顺序中的任何点处引入一种或多种附加流体,这些附加流体选自油或水溶液。在一些方面,待引入到流动通道中的该第一流体是油。在其它方面,待引入到流动通道中的该第一流体不是水溶液。在某些方面,通过施加流体压力而将流体引入到流动通道中,该流体压力选自空气压力、气动压力、液压或者它们的组合,并且其中,流体压力是正流体压力或负流体压力。在其它方面,通过毛细作用或者芯吸作用将该流体引入到流动通道中。在其它方面,通过离心力驱动流动将该流体引入到流动通道中。在其它方面,所述方法还包括将流体经由该微流体装置的流体入口端口引入该流动通道中。在其它方面,将流体经由该微流体装置的流体港引入该流动通道中。

[0153] 在一些方面中,所述方法还包括在多个流体港中执行数字聚合酶链反应(PCR)。在某些方面,所述方法还包括在所述多个流体港中执行等温扩增。在其它方面,分析物在流体港中经历结晶化。在其它方面,分析物包括至少一个稀有细胞,该稀有细胞选自表达恶性表型的细胞、胚胎细胞、循环内皮细胞、肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、由相关基因转染的细胞、免疫细胞的其它亚型,或者存在于受自身免疫或自体反应紊乱困扰的主体的周边血液中的T细胞和B细胞。

[0154] 在一些方面,所述方法还包括将第一流体引入第一流体入口端口,将第二流体引入第二流体入口端口,其中,第一流体入口端口和第二流体入口端口是相同的端口或不同的端口。在某些方面,所述方法还包括将第三流体引入第三流体入口端口,将第四流体引入

第四流体入口端口,将第五流体引入第五流体入口端口,其中,第三流体入口端口、第四流体入口端口和第五流体入口端口是独立地相同的端口或不同的端口,并且其中,第三流体入口端口、第四流体入口端口和第五流体入口端口与第一流体入口端口和第二流体入口端口是独立地相同的端口或不同的端口。

[0155] 用于样品体积的自数字化的系统

[0156] 本文所述的装置和方法还可以包括检测、成像和/或分析。在某些方面,本发明可以包括分析系统,该分析系统可以包括例如腔室,该腔室构造成接收或容纳本文所述的微流体装置。在某些方面,该分析系统构造成用于容纳、旋转和处理多个微流体装置。图20示出了根据本发明的一个方面的示例性系统。分析系统也可以包括用于包含一种或多种流体的多个流体储器。所述多个流体储器可以例如构造成将流体提供到该微流体装置的流体入口端口。所述系统还可以包括便于将流体加载到这些装置上的部件。例如,所述系统可以包括流体加压单元,该流体加压单元构造成将压力施加到流动通道,以驱动或推动流体通过流动通道。所述系统还可以包括旋转部件(例如电机),该旋转部件联接到各装置,并且构造成旋转各装置,例如绕该微流体装置的中心轴线旋转各装置。在一些方面,该旋转部件是修改的光盘驱动的部分,该光盘驱动诸如是压缩盘(CD)驱动、数字视频盘(DVD)驱动、蓝光驱动或者它们的修改版本,或者它们的组合。

[0157] 可以使用所述分析系统来执行多种反应。对于各反应,所述系统可以包括热控制部件,该热控制部件构造成将热施加到流体港中的至少一个。通过使用光学检测部件可以提供检测和/或成像,该光学检测部件用于在光学上分析该微流体装置的流体港中的至少一个。所述系统还可以联接到计算机系统,该计算机系统例如可以包括处理单元,该处理单元构造成控制该热控制部件和光学检测部件,并且构造成存储由光学检测部件产生的数据。

[0158] 在一些实施例中,基本广域显微成像设备(setup)可以用以获得SD装置的明视场和或荧光成像。对于具有多个阵列的装置,自动分级/定位系统可以用以快速地使在单个装置中的所有阵列成像,该单个装置例如是具有多个阵列的离心装置(参见例如图20),或者基于96孔板的装置(参见例如图22)或者其它自动支承布局。在另一实施例中,可以通过使用具有高旋转分辨率的编码器将该成像与装置的旋转位置联接,此使得在它们旋转时能够对装置进行成像。此还可以加速数据采集,并且还可以用以实时检测离心装置的加载。

[0159] 在其它实施例中,可以使用点检测(例如,基于激光的激励或者基于发光二级管(LED)的激励)来扫描各装置而不是使各装置成像。一个实施例会使用激光扫描(线性扫描)系统,该激光扫描系统诸如是用于商业激光扫描器中的系统,该商业激光扫描器诸如是Typhoon FLA 7000。在另一实施例中,该扫描系统可以类似于由光盘(例如CD、DVD、蓝光盘)系统所使用的系统(参见例如图21和图23)。在一些方面,该光学检测部件是改型的光盘驱动的部分,该光盘驱动诸如是压缩盘(CD)驱动、数字视频盘(DVD)驱动、蓝光驱动或者它们的修改版本,或者它们的组合。

[0160] 在一些方面,本公开提供了一种测量仪器,包括点检测器、成像检测器或者其它合适的测量装置。在一些方面,点检测器可以是光电倍增管(PMT)。在某些方面,该成像检测器可以是CCD。

[0161] 在一些方面,该光学检测部件包括电磁辐射源,其诸如是激光或发光二级管,构造

成通过光激励聚焦束来激励该装置上的一点。在一些方面,当盘形装置旋转时,该电磁辐射源扫描该盘形装置的径向轴线。在其它方面,诸如透镜等光学部件可以用于聚焦激励源。在其它方面,该光学检测部件还包括传感器,该传感器构造成检测从该装置上的激励点发射的信号。在某些方面,该传感器将所检测到的信号转发给处理器,其中,处理器构造成存储所检测到的信号以用于后续分析。

[0162] 在一些方面,该旋转部件构造成调整该微流体装置的旋转速度,以匹配该光学检测部件的读取速度。在某些方面,旋转部件构造成当该激励点在该装置的外边缘的附近时,减小该装置的旋转速度,并且/或者当该激励点在该装置的中心边缘的附近时,增加该装置的旋转速度。

[0163] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:腔室,其构造成接收根据本发明的微流体装置;流体加压单元,其构造成将压力施加到流动通道,该压力足以推动流体穿过流动通道;光学检测部件,其用于在光学上分析该微流体装置的流体港中的至少一个;以及处理单元,其构造成控制该光学检测部件并且构造成存储由光学检测部件所产生的数据。

[0164] 在各个方面,本公开提供了分析系统,所述分析系统包括:腔室,其构造成接收根据本发明的微流体装置;流体引入部件,其构造成将流体引入通过流动通道的至少一部分;光学检测部件,其构造成在光学上分析流体港;以及处理单元,其构造成控制该光学检测部件并且构造成存储由光学检测部件所产生的数据。

[0165] 在一些方面,该流体引入部件构造成将流体移动通过多个流动通道中的至少一个。在其它方面,该流体引入部件选自空气压力源、气动压力源、液压源或者它们的组合,并且其中,该流体引入部件包括足以将流体移动到流动通道中的正压或负压源。在其它方面,该流体引入部件构造成通过毛细作用、芯吸、离心力或者它们的组合而将流体至少部分地移动通过流动通道。在其它方面,该光学检测部件构造成在光学上分析多个流体港。在一些方面,这些设备还包括热控部件,其构造成将热量施加到所述多个流体港中的至少一个。在一些方面,该光学检测部件包括成像装置、光盘驱动、激光扫描器或者它们的组合。

[0166] 在一些方面,所述系统还包括用于包含流体的多个流体储器,其中,所述多个流体储器构造成将流体提供到微流体装置的流体入口端口。在一些方面,所述系统还包括第二流体储器和第三流体储器,其中,该第二流体储器包括第二流体,该第三流体储器包括第三流体,其中,第二流体包括水溶液,而第三流体包括油。在某些方面,该微流体装置由第一流体和第二流体加载,该第一流体包括油。在其它方面,该光学检测部件构造成检测存在于流体港中的分析物。在其它方面,该光学检测部件和处理单元构造成确定位于该流体港中的至少一些中的水溶液的体积。在一些方面,每个流体港藉由敞开管道而与流动通道流体连通。在某些方面,流体港中的至少一个包括与流动通道流体连通的至少一个通道。

[0167] 在各个方面,本公开提供了设备,所述设备包括:流动通道,其具有流动轴线、上游端和下游端;以及多个流体港,它们与该流动通道流体连通并且偏离该流动轴线,其中,流体港中的每个具有上游端和下游端,并且其中,该流动通道包括位于每个流体港的上游和下游处的限制部。

[0168] 在一些方面,该限制部的宽度大约等于流动通道的最大宽度的1/3。在其它方面,流体港定位在包括该流动通道的装置的平面上方或下方的平面中。在某些方面,该流动通

道与第二流体源以及第三流体源流体连通，该第三流体不能够与第二流体混溶。在一些方面，流体通道或多个流体港中的至少一者由第一流体加载，其中，该第一流体是油。在其它方面，每个流体港在下游端上逐渐变小。在某些方面中，在流动通道的宽度和流体港的宽度之间的差是流体港的宽度的0.001倍至1.5倍。在其它方面，流体港的高度大于流动通道的高度。在其它方面，流体港的长度大于该流动港的宽度。

[0169] 在某些方面中，第一流体港的下游端和第二流体港的上游端间隔开一距离，其中该距离是第一流体港的长度的0.1倍至3倍。在某些方面中，流动通道的宽度大于流体港的宽度，并且其中一个流体港的下游端不与所述流体港的另一个的上游端重叠。在一些方面，该设备包括本公开的装置。

[0170] 本文所示的细节是示例性的，并且仅为了说明性地讨论本发明的优选实施例，并且呈现为提供被认为是对本发明的各实施例的原理和构思方面最有用和易于理解的描述。在此点上，并不试图比对本发明作最基本理解所需更详细地示出本发明的结构细节，利用这些附图和/或所进行的描述使本领域技术人员对如何实际实施本发明的若干形式显而易见。

[0171] 除非特别指定，否则本文所述的方法和过程可以以任何顺序执行。例如，描述步骤(a)、(b)和(c)的方法可以通过首先进行步骤(a)、接着进行步骤(b)，然后进行步骤(c)而执行。或者，该方法可以以不同的顺序执行，该顺序诸如是首先步骤(b)，接着步骤(c)，然后步骤(a)此外，除非特殊指定，否则这些步骤可以同时或分开执行。

[0172] 如本文所使用的并且除非有另外说明，否则术语“一”和“一个”应理解为“一个”、“至少一个”或者“一个或多个”。除非上下文中另外要求，否则本文所使用的单数应当包括复数，并且复数术语应当包括单数。

[0173] 除非上下文清楚地另作要求，在整个说明书和权利要求书中，词语“包括”、“包含”等应诠释为包含的含义，而不是排它或穷尽的含义，即，“包括但不限于”的含义。使用单数或复数的词语也分别包括复数或单数。另外，词语“本文”、“上”和“下”以及类似词语，当用在该申请中时，应当涉及该申请整体，并且不应当仅涉及该申请的任何具体部分。

[0174] 对该公开的实施例的描述并不意味着穷举或将本公开局限于所披露的准确形式。尽管为了说明的目的而描述了本发明的特定实施例和例子，在本发明的范围之内可以有各种等效的变型，如那些熟悉本领域的人们会认识到的那样。

[0175] 任何前述实施例的具体元件可以组合或者由在其它实施例中的元件替代。此外，尽管在这些实施例的上下中描述了与本发明的某些实施例相关的优点，但其它实施例也可呈现这些优点，且不是所有的实施例都必需呈现这些优点才落入本发明的范围内。

[0176] 虽然本文示出并描述了本发明的优选实施例，对本领域技术人员来说显而易见的是这些实施例仅作为示例提供。在不脱离本发明的情况下，本领域的技术人员目前可以想到许多变化、改变及替换。应当理解，在本发明的实践中可采用对在本文所描述的本发明的实施例所做的各种替代方案。所附权利要求旨在限定本发明的范围，且藉此涵盖这些权利要求及其等同变换的范围之内的方法和结构。

[0177] 实例

[0178] 包括以下实例以进一步描述本发明的一些方面，并且不应当用以限制本发明的范围。

[0179] 实例1

[0180] 大容积范围上的样品数字化

[0181] 该实例描述了用于在大容积范围上使样品数字化的装置。

[0182] 如本文所述,本发明的自数字化(SD)平台的一个特征能够在大容积范围和阵列尺寸上将样品数字化。此使得能够处理用于高敏感度测定的大样品体积、用于高分辨率测定的大流体港数量(小流体港容积)以及用于标准实验应用的中等流体港容积和/或数量。在一个实施例中,图11a示出了包括640个流体港的设计,所述流体港的容积为大约90nL。在大约60μL的总体容积时,实现约50摩尔/毫升的检测极限。流体港可以是例如520μm宽X1000μm长,具有100μm的斜边,并且可以具有大约175μm的高度。该流动通道可以是大约200μm宽且大约40μm高。每个流体港可以例如具有两个排放通道,并且每个通道可以具有三个接合部,以更好地便于油的排放。排放通道接合部可以是大约8μm宽。在一些方面,排放通道随着接合部会聚而扩宽,并且随着它遇到流动通道而分开,以保持最小的横截面,从而放置含水样品行进穿过该排放通道。可以在大约五分钟之内以20μL/min的速率填充各装置。

[0183] 例如在图11b中所示的另一实施例包括一设计,该设计包括1024个流体港,这些流体港的容积可以是大约7.5nL。所需的总体样品体积(大约8μL)能够与用于诸多测定的合理最小样品体积相当。流体港可以是例如200μm宽×400μm长,具有500μm的斜边,并且可以具有大约100μm的高度。流动通道可以是大约80μm宽,大约25μm高,并且在两侧上都具有小凹口(大约20μm×大约30μm),以帮助为流体流动导向,并且当最终油流(第三流体)经过时促使含水样品(第二流体)稳定地破裂以使该样品数字化。一对排放通道(宽度为大约8μm)的每个通道具有两个接合部,该一对排放通道可以用于每个流体港。此提供了快速足够的油排放,以产生几乎逐步的样品加载。可以在例如小于2分钟之内以大约8μL/min的流动速率实现加载。已经填充装置,其中变差系数(CV)是大约3%以下。

[0184] 例如在图11c中所示的另一实施例包括一设计,该设计包括大于10,000个流体港,这些流体港的容积是大约1nL。通过该数量的流体港,浓度不同的、因子为大约1.05-1.1的各样品可以实现为在95%的功率水平时具有至少95%的置信水平。已将用于25,600个流体港和用于10,240个流体港的设计填充并且数字化,所述25,600个流体港是80μm×160μm,斜边20μm且80μm,并且所述10,240个流体港是100μm×200μm,斜边为25μm且高度为80μm。流动通道的宽度是50μm,并且高度是大约20μm。因为必须移走更小的体积,该排放通道是更简单的,每个流体港具有两套单个接合排放通道(宽度为大约8μm)。在小于5分钟之内以15μL/min的速率将各装置进行填充和数字化。

[0185] 另一实施例包括一设计,该设计包括容积大约为150pL的10240个流体港。通过该数量的流体港,浓度不同的、因子为大约1.05-1.1的各样品可以实现为在95%的功率水平时具有至少95%的置信水平。已将用于10,240个流体港的设计填充并且数字化,所述10,240个流体港是50μm×80μm,斜边是10μm且高度为大约40μm。流动通道的宽度是大约25μm,并且高度是大约17μm。因为移走更小的体积,该排放通道是更简单的,每个流体港具有一个单个的接合排放通道(宽度为大约8μm)。在小于5分钟之内以2μL/min的速率填充各装置。

[0186] 例如在图11d中所示的另一实施例包括一设计,该设计包括小于10,240个流体港,这些流体港的容积是大约50nL。通过该数量的流体港,浓度不同的、因子为大约1.05-1.1的各个样品可以实现为在95%的功率水平时具有至少95%的置信水平。已将用于10,240个流

体港的设计填充并且数字化,所述10,240个流体港是50μm×30μm,斜边是10μm且高度为大约40μm。该流动通道的宽度是大约25μm,并且高度是大约17μm。因为移走更小的体积,该排放通道是更简单的,每个流体港具有一个单个接合排放通道(宽度为大约8μm)。在小于5分钟之内以2μL/min的速率填充各装置。

[0187] 所有这些实施例通过多个油系统进行作用,油系统包括基于硅酮油的油系统、基于矿油的油系统或者基于碳氟化合物的油系统。该碳氟化合物系统的一个实施例包括比例为10:1的FC-40与1H,1H,2H,2H-全氟辛醇(PFO)。另一实施例使用来自伯乐(BioRad)公司的具有PFO的微滴式PCR(ddPCR)油。另一实例使用试剂FC-40中的PFO和Pico-Surf 1。矿油系统的一个实施例包括将Abil WE 09作为表面活性剂,将Tegosoft DEC作为润湿剂,并且也用以降低粘度,而且该实施例还可以包括十六烷以进一步降低粘度。通常在大约0.02%体积/体积时使用Abil。如果Abil的浓度太高,它可能导致微滴(可以在流动过程中产生)不结合。微滴形成可以在入口端口处或在流动通道/流动港接合部处发生。在流动通道/流动港接合部处的微滴形成在较大的流体港中更显著,因为增加的油排放产生双重水:油流动,此可以导致微滴形成。Tegosoft在较大范围上(大约3.5至大约83%)使用,但是不限于该范围。在一些方面使用十六烷以降低粘度,并且通常在大约30%时使用,但是十六烷可能引起PDMS膨胀。矿油系统的另一实施例包括在矿油中具有0.02%的失水山梨醇油酸酯(司盘80)。硅酮油系统的一个实施例包括50厘沲硅酮油,其具有质量百分数为0.01%的Gransurf 77表面活性剂。

[0188] 用于成功数字化的一些参数包括装置的油可润湿性,油/含水表面张力、流量、油粘度和装置尺寸。当装置由氟硅酸盐(1H,1H,2H,2H-全氟辛基三氯硅烷)合适地硅烷化时,FC-40:PFO的表面张力和粘度适于实现快速的油排放,该油排放能够使各流体港逐步地充满,并且当最终油从流动腔室移走水从而获得最终充满的流体港时,清洁油/水界面的破裂。在矿油系统中,Tegosoft为该装置提供了优良的油可润湿性,但是如果粘度太高,排放会减慢,从而导致个体流体港更慢的填充和更大微滴产生,从而导致更少的步骤填充。

[0189] 实例2

[0190] 在出口靠近盘形装置中心之处的离心设计

[0191] 该实例描述了盘形装置,该盘形装置具有流动通道和出口端口,其中从该装置的中心至流动通道的至少一部分的距离大于从该装置的中心至该出口端口的距离。

[0192] 在SD平台的一个实施例中,个体阵列以径向方式位于一盘上。该盘可以被旋转,通过该旋转所产生的离心力可以驱动油和样品通过该装置,从而使得样品数字化。该方法使多个阵列能够同时得到填充。该入口和入口储器位于该盘的内段处,因为离心力会朝向该盘的外侧部驱动样品。较大的入口储器能够存储所有的样品和油,使得在该填充过程期间不需要额外的加载步骤并且防止所有液体穿过该芯片。在图19b中示出了入口/入口储器设计,其中大腔室朝向该入口逐渐减小以导引流体流,并且该大腔室的顶盖部装有两个小孔。一个孔用以加载油和样品,而另一个允许空气逃逸,同时该顶盖的存在保持包含在该装置中的样品。然后,该入口向外分支到流动通道。

[0193] 在一个实例中,各通道以径向方式定位。在另一实施例中,各通道以类似于实例1的装置的线性方式(参加图13)定位。各流体港已经充满,此时它们定位在该通道的一侧上,但是它们也可以定位在该旋转方向的另一侧上。排放通道可以定位在该流体港的一侧或两

侧上,但是可以定位在该流体港的下游侧上,此有时提供更好的数字化。所测试的流体港是150μm宽x300μm长,具有25μm斜边,并且高度大约为85μm。

[0194] 对于该出口通道,在一个实施例中,每个流动通道具有单独的出口通道,该出口通道直接连接到该出口储器(参见例如图12)。在另一实施例中,该出口通道通过分支网络再连接,并且在单个点处连接到出口储器(参见例如图13)。

[0195] 使过量流体(空气或液体)从该出口储器中逸出的实际出口可以定位在多个位置处(参见例如图16)。在一个实施例中,出口定位在该装置的外部处。此为待释放的过量流体提供了低阻路径,该路径可以加速样品加载的速率,然而,此也导致油以及可能地样品以不受控的方式退出该芯片。在另一实施例中,该出口定位成背向该装置的内部(如图12至图14中的设计所示)该出口可以与入口处于相同的径向位置处,或者相比于该入口端口更靠近该装置的外部或边缘,或者甚至比该入口更靠近该装置的内部或中心。出口储器可以是足够大的以包含足够的油和过量的样品,以允许该装置被完全充满和数字化,因为流体不能退出该盘。该液体可以将空气经由该出口驱出,但是不能在标准加载速度下将大量的液体向上驱回到出口。此实施例产生闭合系统,防止样品泄漏以及可能地污染其它样品和设备,并且也用于自计量功能。一旦出口储器充满,则流体流在该装置中基本停止。此有助于防止所有的液体排出,液体排出会引入气泡,并且此保持数字化样品稳定,即使在发生连续旋转的情形下也是如此(例如在成像或检测期间)。

[0196] 实例3

[0197] 倾斜流体港

[0198] 此实例描述了装置,该装置具有定位成与流体通道成一角度的流体港,该角度不是直角。

[0199] 虽然流体港通常定位成垂直于流动通道,以帮助最大化流体港的包装密度,但是此不是该机构的必然要求。流体港可以定位成相对于流体通道成一角度(参见例如图14),但仍旧被充满且被数字化。图14a示出了离心设计,其中各流体港相对于主通道成45°的角度,它们定位成线性阵列(各个主通道彼此平行),并且出口端口定位在入口端口附近的内部位置处,其具有再连接通道出口。该视图示出了排放通道的设计。图14b示出了填充有PCR混合物的装置的荧光图像。。图14c示出了填充有包含食用染料的PCR混合物的装置的明视场图像。

[0200] 实例4

[0201] 离心加载

[0202] 该实例描述了通过使用离心力由流体加载或填充盘形装置的方法。

[0203] SD盘装置的加载和数字化可以使用在所进行的某些示例性实验中的以下协议。所使用的该典型的油系统是0.02%的Abil、33%的Tegosoft以及67%的矿物油。也可以使用碳氟化合物。在该实施例中,使用台式离心机旋转SD盘装置,该离心机具有设计用于各盘的定制电机,例如,如图17A所示。在另一实施例中,可以使用包括光盘驱动的其它旋转机构。并且在另一实施例中,一次可以加载多个盘(参见例如图20)。在真空干燥器中对PDMS装置排气5分钟以上;也可以使用除了PDMS之外的其它塑料材料。将油(大约20-30μL)加载到每个入口储器中并且以大约1250RPM的转速旋转该盘1分钟。然后,加载含水样品(大约10μL),并且其余储器由油填充。对于出口端口在该盘的外部的装置,可以通过以大约1250RPM的转

速旋转2分钟而填充它们。对于出口端口在该盘的内部的装置,可以通过以大约1250RPM的转速旋转4分钟而填充它们。一旦充满,这些装置在达大约3000RPM的转速下是稳定的。在例如图12至图14的部分B和C中,可以看到所充满的阵列,而在图24A和图24B中示出了包括若干阵列的已填充装置。可以在图17B至图17E中看到在填充期间的时间序列。

[0204] 实例5

[0205] 盘检测和扫描方法

[0206] 该实例描述了一种用于检测来自旋转盘形装置的光学信号的方法和系统。

[0207] 对于数据分析,可以测得个体流体港的荧光强度。标准荧光显微技术适用于该申请,并且个体阵列的所有图像以此方式获得。通过使用标准DSLR相机来获得整个芯片图像。诸如Typhoon FLA 9000的扫描器也适用于图像检测。然而,对于最大化数据采集效率并且最小户成本,更个性化的图像或检测设备可以是合适的。现有光盘(OD)平台(例如CD、DVD、蓝光)提供了用于如何可以实现快速成像和检测的模型。光盘的标准读取速度是大约200-500RPM,但是写入速度可以快若干倍,可从导致低成本系统,该低成本系统可以实现用于加载和读取SD盘装置的合适的速度范围和控制。由于所有OD平台需要将激光扫描器(限定扫描器)定位到亚微米级,所以OD平台的运动控制系统更适用于对使SD盘装置成像的要求。图21示出了用于对SD盘系统的成像或检测以及运动控制的两个可能的平台。在一个实施例中,所有光学部件会减到OD部件的比例,并且所有光学部件会配装在标准OD运动控制驱动的跟踪平台上。

[0208] 在另一实施例中(参见例如图21C),光纤用以减少必须由线性运动控制装置移动的部件的数量。一个光缆会将激光从光源导向到荧光过滤设备。该激光穿过第一过滤器并且离开分色滤器到达第二光缆中,第二光缆将该光传送到附连到该光纤上的透镜,以将光聚焦到该盘上。相同的光纤也可以收集荧光,该荧光穿过该分色滤器和第二过滤器进入到第三过滤器,该第三过滤器连接到检测器,该检测器诸如是雪崩光电二极管(APD)或者常规二极管或者光电倍增管或者CCD传感器或者CMOS传感器。在该实施例中,通向该样品的光纤可以附连到线性运动控制台。在其它实施例中(类似于图21B),激光和APD(或者其它检测器)是稳定的,并且光纤将它们联接到该运动控制台,其中最小化的过滤器、分色过滤器和透镜将该激光导向样品,并且从该样品导向激光。

[0209] 如果光学反馈不能提供到该运动控制部件,则可能减少对旋转速度和线性位置的控制。可以制作一些修改。旋转编码器可以附连到该旋转电机(通常是无刷DC)以获得对速度的准确测量,并且此可以在随后用以反馈并控制该电机速度。一些线性电机是步进电机,并且因此具有一些固有的位置控制能力。虽然此仅靠自身可能不足以用于OD系统的亚微米定位分辨率,但是它可以足以对SD盘成像/检测要求进行定位控制。可替换地,具有更多螺纹数量的丝杠也可以用于获得更好的位置控制。最终,该分辨率取决于流体港尺寸以及是否必须扫描整个流体港或者每个流体港进行较少的线扫描是否足够。此可以在很大程度上取决于该填充机构的稳定性。如果仅需要少线扫描,则数量级为10-20μm的位置控制可以是足够的,但是即使需要充足的流体港,2-5μm的像素(即因此定位尺寸)也应该提供足够的分辨率。成像或检测不会必然地跟随OD系统所跟随的螺旋轮廓,并且对于一个完全旋转,可以以逐步的方式在设定位置处进行扫描,然后移动到下一位置。

[0210] 实例6

[0211] 盘成像方法

[0212] 该实例描述了用于使多个流体港成像的方法。

[0213] 在某些实施例中,实例5所描述的该扫描方法可以为从流体港获得测定信息提供较低成本的选择。在另一实施例中,可以一次使整个阵列或者大部分阵列成像。安装有广域光学部件的相机可以使得能够在瞬间采集整个阵列的数据。在一个实施例中,当图像采集发生时,该装置会是稳定的。在另一实施例中,该图像采集可以与特定的旋转位置和当该装置旋转时所采集的图像结合。此可用于在离心填充期间监测装置加载过程,或者用以快速地将位于一个径向装置上的多个阵列成像。

[0214] 实例7

[0215] 孔板设计

[0216] 该实例描述了集成孔板微流体装置设计。

[0217] 数字PCR与现有实验室设备/设施的集成可以显著增加该技术的应用。当在例如96孔板形式中处理的自动样品以及与该技术兼容的热循环仪和成像仪存在时,此使得发展利用它的SD技术有意义。如此,SD平台的一个实施例是可以利用96孔板技术(参见例如图22)的装置。在该实施例中,每个孔具有两个同心定位的室。该内部圆形孔用于样品加载,并且通过定位在该孔结构的中心中并具有相当于384孔的设计的几何形状,应当能够与多通道移液管或者自动样品处理系统进行无缝工作。然后,该外环会是出口。在装置填充期间,可以(通过垫圈/歧管)将压力提供到该入口,并且/或者可以将真空施加到该出口。然后,该力会将样品从入口端口驱动到微流体通道中,各微流体通道分叉并且将样品递送到流动通道中,并且进入流体港中。此可以包括多水平通道网络以适应在96孔板的每个孔的大约9mm×大约9mm的覆盖区中。在该实施例中,可以实现10,240个流体港的阵列,所述流体港的容积大约为50pL。流体港尺寸可以是大约30μm×大约50μm×大约40μm,并且在流体港的下游会定位有单个排放通道。对于该平台的实施,可能需要用于将压力/真空递送到该孔的仪器,但是现有荧光成像系统应当是足够的。在该实施例中,该装置的一层(在流体港上方但是在入口端口、出口端口和上通道的下方)可以制成黑色的以消除背景信号。为了可视的目的,在图22中省略了该层,但是该层可以位于具有竖直通道的层中,所述竖直通道将上分支连接到下分支。

[0218] 实例8

[0219] 制造工艺

[0220] 该实例描述了制造微流体装置的方法。

[0221] 制造SD装置可以是例如两步骤的过程并且有时是三步骤的过程。第一步骤建立流动通道和排放通道的高度。第二步骤建立流体港和入口以及端口通道的高度。对于离心SD装置,可以增加第三步骤以建立入口和出口储器的高度,以适应必须储存的相对较大体积。如果每个步骤独立完成,则它可能增加将气泡/缺陷引入第二层的风险,因为灌注当SU-8的第二层(在此情形下,SU-8用以制造在硅特征部上的SU8,但是也可以使用其它过程,例如深反应离子蚀刻,该过程不包含使用SU-8)在第一层中的小的紧密包装的特征部可以刺穿气泡..为了避免此,第二步骤与第一步骤结合,然后进行所有特征的显影。可以使用以下协议。SU-8层旋转并被烘烤,然后通过仅包含对齐标记的掩膜被暴露,在此之后,晶片进行后续烘烤显影和硬化烘烤。此为第一层和第二层提供了对齐标记。对齐标记由带子覆盖,并且

第一SU-8层旋转。然后移除该带子,并且对晶片进行预烘烤。然后通过第一层掩膜暴露该晶片并且对该晶片进行后续烘烤。在该新带子用以覆盖对齐标记之后,第二SU-8旋转。然后移除该带子,并且对晶片进行预烘烤。然后通过第二层掩膜暴露该晶片并且对该晶片进行后续烘烤。然后显影并硬化烘烤该晶片。对于两层装置,该过程完成。合适的是,缩短第一层的暴露时间,并且/或者后暴露烘烤时间,以最小化可能在第二层烘烤步骤期间发生的任何加宽。对于三层装置,由于第三层在入口和出口处是非常有帮助的,所以由流体港/通道特征所困的任何气泡不会处于已暴露区域,所以可以将第三层应用于之前显影的芯片。此进一步防止在第一层和第二层中的细微特征的显影。除了使用SU-8进行制造外,在本领域众所周知的硅微机械加工、诸如深反应离子蚀刻也可以用于制造母机,以用于复制SD装置。如本领域中已知的,浮凸部和注射成型也可以用以制作SD装置的复制品。

[0222] 实例9

[0223] 具有与流动通道的底部流体连通的流体港的装置

[0224] 该实例描述了一种装置,该装置具有定位在流动通道下方的流体港。

[0225] 流体港可以在主通道的侧部或流动通道的底部/顶部连接到流动通道(见图3B)。当位于底部/顶部时,位于所述两个区域之间的界面是较大的,从而允许更快的流体交换。

[0226] 在一个实施例中,如果流动通道没有限制部,则流体港是100μm宽×200μm长×100μm深,从而给出2nL的体积。该主通道的深度是20μm,并且宽度至少与流体港相等,并在每个侧上具有1μm、25μm、50μm或100μm的突出长度,并且在各流体港之间的间距是50μm、100μm或200μm。每个阵列的流体港的数量包括1024、4096、10240和25600。通过该设计,包含含水样品的流体港的数量通常在80%至90%之间,流体港的80%至90%隔开,而其余显示在各流体港之间的某些数量的互连。

[0227] 在另一实施例中,各流体港的尺寸是相同的,但是主通道包括位于每个流体港上游的限制部。在一个实施例中,限制部的长度是25μm且宽度是100μm(该通道的最大宽度的一半)。在流体港之前,在限制部的每侧上具有25μm的更宽的主通道。每个通道的流体港的数量可以是例如1024、4096、10240、25600或更多。由于该限制部,包含样品的流体港的数量增长到大约99%,隔离的流体港的数量大约为90%。

[0228] 在另一实施例中,在限制部处的通道的宽度仅50μm宽或者是流动通道的最大宽度的1/3。流体港也显示有在该装置的下游端具有锥形(图8a)。在阵列中的流体港的数量包括每个阵列1024、4096、25600或38400个流体港。通过该实施例,隔离的流体港的百分数进一步增加到大约95%。

[0229] 实例10

[0230] 样品数字化的系统性研究

[0231] 该实例描述了流体港在流动通道的底部上的设计中的样品数字化的系统性研究。

[0232] 执行三维多相计算流体动态(CFD)模拟以研究多个设计参数。该模型是单个通道和一个或多个流体港。所研究的参数包括但不限于毛细管数(ca)和若干比率,所述比率考虑通道和流体港的尺寸和间距。

[0233] 对于计算机研究,在底部流体港中的样品数字化的三维多相流体模拟通过计算流体动态(CFD)包(Fluent,版本6.3.26;Fluent公司;新罕布什尔州莱巴嫩市ANSYS公司)来执行。模拟微滴数字化以用于不同的粘性/界面性质(Ca),并且具有底部流体港的主通道的变

化的尺寸(Wm、Hm)测定为100μm×200μm×100μm(w×l×d)。通过使用六面体网格战略来将所述设计转换成有限元,在结点之间的分辨率为2.5μm至5.0μm。在模拟中,水(ρ=998kg m^{-3},μ=1.003×10^{-3}kg $m^{-1}s^{-1}$)和硅酮油(50cSt;ρ=980kg m^{-3},μ=0.049kg $m^{-1}s^{-1}$)分别用作水溶液和油相。通过绝对速度公式和非迭代时间推进的一阶隐式不稳定公式,该模型解算程序限定为基于压力的、三维的。

[0234] 流体容积(VOF)解算程序用于具有两相、显式VOF程序和0.25的柯朗数。各相的相互作用由壁附着性质和用于水—油界面的范围在5-30mN m-1之间的不同值限定。如下设定边界条件:根据所研究的参数,单个入口端口由平坦速度界面限定;出口端口限定为以恒定压力流出(POutlet=Patm=101325Pa);包围主通道的所述壁和流体港设定成具有175°的疏水接触角度。然后通过使用Fluent的"Adapt"工具来为主通道和底部流体港预填充油相和水溶液,从而导致水塞,该水塞的体积是流体港容积的1.5-2.0倍,并且在流体港之前达到25μm。该流体流动轮廓和体积分数可以藉由用于压力-速度联接的分开步骤进行模拟。该空间离散化通过一阶迎风(upwind)程序和压力晃动(staggering)选项(PRESTO!)来实现,该一阶迎风程序用于扭矩,该压力晃动选项设定成用于压力。通过使用几何重构选项来使体积分数数字化。径向误差设定到0.01。随后用0.1μs至5.0μs的时间步骤来迭代该模拟。

[0235] 在流体港位于直主通道下方的芯片中的样品体积的自数字化显示为很强地独立于主通道的尺寸和毛细管数量(Ca)。研究了装置设计的不同参数。在一个实施例中,每个芯片的具有1024个流体港的整列用以检查影响填充和数字化的不同参数。这些参数包括主通道的突出部W相对于流体港的宽度w的比值(W/w)、在各个流体港之间的规范间距(δ/w)以及流体港的相对于流动方向的纵横比(1/w)。来自参数研究的结果基于已填充的流体港的荧光显微图像(在图25a中是明亮的)相对于已填充油的非荧光芯片(在图25a中是黑色的)。图25a示出了当Ca=0.015时在1024流体港芯片中的样品数字化的荧光图像序列。所示为在x-z中平面处成像的三个流体港中,含水样品(补充有荧光素)由带有质量百分数为0.01%的Gransurf 77的50cSt硅酮油去除。注意在从大量水溶液数字化之前在各流体港之间的水相痕迹。比例尺对应200μm。

[0236] 图25b示出了三维油包水填充的流体港多相流动CFD分析在微滴破裂之前(t0)、期间(t1)以及之后(t2)的实例;所示为从油至水的范围中的水体积分数的在x-z和y-z中面处的立体图、俯视图和侧视图中的轮廓和示出为等位面的水/油界面。在图25a和图25b中的流动是从左向右的。

[0237] 所述结构呈现为留存比率(R)和总体填充(或数字化)效率(f_{total})。留存比率可以限定为每个芯片中已填充的流体港的数量,此不依赖于保持连接到主通道的流体港(当由阈值程序筛选出通过主通道的连接时),并且该留存比率规范化成每个芯片的流体港的总体数量。相反,填充效率或数字化效率涉及通过含水桥部保持连通主通道的流体港。扩散到若干流体港上并且保持连接通过该主通道的含水样品被认为是一个微滴。该填充效率也可以由每个芯片的流体港的总体数量规范化。填充效率为1表示充满整个芯片,其中含水样品占据单个流体港,而没有通过主通道互连到相邻的流体港(最优的数字化)通过降低填充效率,比单个流体港体积更大的含水样品的分数增大(例如由于含水桥部连接相邻的流体港)。因此,留存比率描述每个SD芯片有多少流体港填充有含水样品,并且填充效率是数字化质量的量度(即低f对应于许多互连的微滴,而高f对应于很少或没有互连的微滴)。该研

究的目标是用数字化的样品实现对整个芯片的完全填充,每个样品具有单个流体港的容积。

[0238] 图25c至图25e概览了不同设计参数的特征,具体为:规范化的主通道突出部(W/w)(图25c)、规范化的各流体港之间的间隔(δ/w)(图25d)以及相对于流动方向的流体港纵横比(l/w),以及它对填充效率(f_{total})和样品留存比率(R_{total})的影响(图25e)。在具有20μm高(Hm)的主通道的芯片中执行所述研究,在该主通道下方具有流体港。数据示出为平均SD(n=2)。

[0239] 在一个方面,实验研究显示对于所研究的通道突出(W)的整个范围和Ca范围,实现50%以上的样品留存,除了最高的Ca和W/w之外(在图25c中的右面板)。同时,填充效率表现为随着增加的W/w而降低(在图25中的左面板)。在假设没有突出部(W/w为0)的实验性研究中,填充效率显示为随着增加的Ca而提高。总体上,可以期望该填充效率随着减小的Ca和增大的W/w而降低。此是由于当与较宽的通道(高W/w)对比时在较薄的通道中油相的较高剪切流动。对于参数W/w,实验表示,对于W/w值为0至0.5并且对于高Ca(0.02-0.03),可以实现相对较高样品留存和填充效率。在数字化期间所使用的高Ca值也可以有利于最小化填充和数字化芯片所需的时间,因为Ca与油相的线性流动速度的直接成比例。然而,在研究最高Ca时,剪切流动导致每个流体港产生许多小乳化微滴,并且人工地将填充效率提高到所计算的留存率之上(图25c)。该乳化仅视为用于假设没有突出部和高Ca的参数。

[0240] 图25g示出了从具有不同Hm(白色标记等于25μm,灰色标记等于50μm)的参数化CFD研究而得到的结果。注意在Ca>0.02之上的样品留存中的明显隔断,以及在f)和g)之间的留存隔断(Ca)中的相似性,尽管它们所使用的数据不同(保留的样品的面积相比于体积)。样品数字化的CFD模拟示出当没有突出部时,即当W/w=0时,实际上没有样品保留,除了当Ca非常低时(参加图25g中的圆形标记)。该模拟也表示需要小的W以允许样品数字化和保留。该模拟结果与上述的芯片上实验相反,其示出了样品留存,即使当W/w大概为0也是如此。此明显的矛盾可以通过在多层微型品制造过程中的不完美来解释。在制造过程中,在第一层(主通道)和包含流体港的第二层之间的轻微偏差可能导致支持微滴留存的边缘。事实上,如由明视场显微检查所测定的大约1μm至2μm的偏差存在可能不具有任何突出部的主体中;该细微的偏差难以通过当前制造工艺来克服。从所述模拟,该细小的突出部会允许样品数字化到流体港中,此与实验观察一致。

[0241] 相反,较大的W将高填充效率的效果反转,此通过大量水溶液在每个流体港中数字化来得到解释(图25a、图25b)。通过位于相邻流体港之间的油相的剪切,在每个流体港中的含水隔室从该大量水溶液夹断。较宽的主通道导致较弱的剪切力,因此在含水微滴填充在流体港中之后减少了含水微滴的夹断,由此在相邻流体港中的含水微滴保持由位于主通道中的含水桥部互连,此也增加了通过在主通道中的流动从流体港移除它们的机会。

[0242] 基于来自突出部研究(W/w)的结果,容易认为大的流体港间的间距(δ)可以有利于方便数字化,并且实现高样品留存和填充效率。为了检查流体港的影响,间距W/w可以固定在0.5,并且用于不同的这些结果按流体港宽度进行规范化。实验结构显示,小的δ/w导致用于所研究的Ca范围的高样品留存,但是随着Ca增加,R_{total}减小(图25d)。用于大的δ/w的结果显示Ca对样品留存的明显影响。在此,小的Ca允许含水样品的留存,同时在大Ca(大于等于0.02)时,可以将含水样品冲出SD芯片。在小δ/w且低Ca时,具有低f_{total},其表示许多含水隔

室通过相邻流体港之间的桥部保持互连。使用较高的Ca并且因此使用较高的油相剪切率，允许提高的填充效率。但是这些提高限于低δ/w。这些结果暗示在对来自大量水溶液的个体微滴的破裂上，δ具有与主通道突出部相似的效果(即在由油相剪切期间，通过刻痕或夹紧)。小δ倾向于支持流体港大小的含水微滴的数字化，同时较大的δ导致大幅减小样品留存。另外，流体港间的间距对处于微流体通道下方的流体港的密度具有强烈的影响。较大的流体港间距减小了可以在芯片中用于给定芯片区域的被数字化或保留的总体样品体积。

[0243] 影响样品保留的另一参数是流体港长度(l)，该长度是沿着主通道流动的方向的。对于W/w为0.5的情况，l/w为0.5(即，垂直于流动方向的宽流体港)可能非常不利于高f_{total}和R_{total}。具有正方形横截面(l/w为1.0)的流体港显示为随着Ca的增加而具有更高的f_{total}和R_{total}。样品数字化和保留的总体趋势暗示矩形流体港沿流动方向(l/w)定位，使得该流体港的“长”轴线平行于该流动方向，非常有利于高的f_{total}和R_{total}(图25e)。

[0244] 为了突出Ca对样品留存的重要性，来自参数化研究的数据结合成单个点区(图25f)。该点区显示随着Ca的增大，样品留存(R_{total})的明显趋势。样品的几乎100％可以在Ca小于0.020时保留在芯片中。在较高的Ca时，通过剪切油相可以将大部分的含水样品冲出芯片，由此降低R_{total}。

[0245] CFD可以是研究用于侧腔室SD芯片的工艺参数的有力工具。使用相似的方法来调查检查能够改善SD芯片中样品数字化的参数，所述SD芯片中流体港位于主通道下方。对具有变化主通道高度(Hm)的底部流体港SD芯片的初步模拟和实验研究显示了临界高度，在该临界高度以上，样品数字化会大幅减少。在这些研究中，使用流体港容积为2nL的底部流体港SD芯片。这些芯片的规范化通道突出部(W/w)为0.25，规范化流体港间距(δ/w)为0.5，并且流体港纵横比(l/w)为2.0。实验研究表示当Hm大于30μm至40μm时Rtotal和f_{total}接近零。为了进一步检查主通道几何形状和Ca的改变对样品数字化的影响，使用CFD模型来模拟单个流体港的填充。在图25b中示出了CFD研究的实例，其具有在流体港由水溶液填充之前和期间(t0、t1)以及在由油相剪切后(t2)的步骤。用于芯片上的实验中的材料性质(油和水)也用于CFD研究。不像是芯片上研究，CFD研究允许直接读出保留的含水样品体积；所述结果规范化为在Ca点区中的流体港体积V_w(图25g)。

[0246] 在主通道高度为25μm(在图25g中为敞开标记)的研究中，发现V/V_w随着Ca的增大而减小，并且在Ca为0.020时接近零(除了W/w＝0的研究之外)。另外，随着W/w增大，保留的样品体积的比率增大。在W/w为0时，该样品仅在低Ca时保留。该结果表示用于小主通道突出部的要求，以允许该样品保留在该流体港中。当Ca用作流体港中的样品的保留或非保留的指示器时，发现图25中所示的芯片上数据和CFD数据之间总体趋势类似。在保留的微滴容积的改变可以由CFD数据直接量化。因此，必须注意图25f中所示的保留数据是基于样品横截面面积的，而在图25g中，考虑所保留的微滴的整个样品体积。

[0247] 当Hm增加到50μm时(图25g中的灰色标记)，更大比例的数字化样品扩张到主通道中，因为样品微滴充满位于流体港上方的主通道容积(因此V/V_w远远大于1.0)。在相比于H_m为25μm时(在Ca为0.020下是的留存)低得多的Ca(约0.0065)时，样品留存突然接近零。然而，在W/w小于0.25时，当H_m是50μm时并且对于在CFD研究中所使用的Ca范围(Ca＝0.0016-0.0196)，没有含水样品保留在流体港中。

[0248] 由用于主通道高度变化的CFD研究的结果表示样品留存和样品数字化不仅依赖于

主通道的突出部(W),但是也受主通道高度的很大影响。该观察报告暗示水溶液受剪切油相的夹紧由主通道几何形状(Hm和Wm¬)主导。该数据也显示如果Hm超过临界值,则没有水溶液样品可以被数字化。

[0249] 其它方面

[0250] 在一些方面,该本公开提供一种微流体装置,其包括盘形体,该盘形体具有中心区域和外边缘,该盘形体构造成用于绕中心轴线转动,并且还包括:流体入口端口,其位于该盘形体的中心区域中;流动通道,其具有近端、远端和流动轴线,该流动通道与流体入口端口流体连通;多个流体港,所述多个流体港与该流动通道流体连通并且偏离于该流动轴线;以及流体出口端口,其与该流动通道连通,其中,该流体出口端口定位成相比于流动通道的远端更靠近盘形体的中心区域。

[0251] 在一些方面,微流体装置包括多个流动通道,每个流动通道与流体入口端口和流体出口端口流体连通。在一些方面,所述流动通道构造成使得每个流动通道的流动轴线垂直于盘形体的外边缘。在一些方面,所述流动通道平行布置。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度不是直角。在一些方面,所述多个流体港中的每个藉由敞开管道而与该流动通道流体连通。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个还包括与流动通道流体连通的至少一个通道。在一些方面,流动通道和多个流体港包括疏水表面。在一些方面,该盘形体的至少一部分包括天然疏水或经表面处理的聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)和多层材料,以为流动通道、所述多个流体港或者它们的组合提供疏水表面。在一些方面,所述多个流体港和流动通道中的至少一个包括亲氟表面。在一些方面,该装置由初始流体加载。

[0252] 在一些方面,该流体包括含水液体、不能与该含水液体混溶的流体、有机溶剂、氟化油、烃油、硅酮油、矿物油或者任何其它合适的油。在一些方面,所述多个流动通道的每个的远端与位于该装置上的共同流体储器流体连通,其中,该共同流体储器与流体出口端口流体连通。在一些方面,流体出口端口定位成相比于流体入口端口更靠近盘形体的中心。在一些方面,该流体出口端口定位成相比于流体入口端口更远离盘形体的中心。在一些方面,该至少一个流体出口端口定位成与该至少一个流体入口端口一样地靠近盘形装置的中心。在一些方面,该微流体装置包括多个流动单元,每个流动单元包括多个流动通道并且独立地包括至少一个流动入口端口和至少一个流动出口端口,其中该至少一个流动出口端口定位成比所述多个流动通道的远端更靠近该盘形体的中心区域。

[0253] 在一些方面,本公开提供了用于填充微流体装置的方法,其包括提供如先前所述的微流体装置;将第一流体提供到流体入口端口。在一些方面,该方法包括使微流体装置绕其中心轴线旋转以将第一流体加载在微流体装置上。在一些方面,所述方法还包括将压力施加到第一流体,其中,该压力足以推动第一流体通过该微流体装置的流动通道。在一些方面,该压力是正压或负压。在一些方面,该微流体装置由初始流体加载,并且第一流体包括水溶液。在一些方面,所述方法包括将第二流体提供到所述流体入口端口,或者提供到位于该微流体装置上的不同的流体入口端口。在一些方面,所述方法包括将第三流体提供到所述流体入口端口,或者提供到位于该微流体装置上的不同的流体入口端口。在一些方面,第一流体包括油,并且该方法还包括将第二和第三流体提供到流体入口端口或者位于该微流

体装置上的不同流体入口端口,其中,第二流体包括水溶液,而第三流体包括油。在一些方面,该第二流体包括分析物,并且该方法还包括对在所述多个流体港中的至少一个中的第二流体进行分析。在一些方面,该分析物包括生物材料。在一些方面,该生物材料选自细胞、细菌、病毒、朊病毒、核酸、蛋白质、基因材料的表达产物、结晶分子或微粒。在一些方面,第二流体包括多个核酸分子,并且该方法包括将核酸分子中的至少一些分布到所述多个流体港中,使得仅有一个核酸分子包含在所述多个流体港的至少一些中。在一些方面,第二流体包括多个核酸分子,并且该方法包括将所述多个核酸分子中的至少一些分布到所述多个流体港中,使得至少一个核酸分子包含在所述多个流体港的至少一些中。在一些方面中,所述方法还包括在多个流体港中执行数字聚合酶链反应(PCR)。在一些方面,所述方法还包括在所述多个流体港中执行等温扩增。在一些方面,分析物在流体港中经历结晶化。在一些方面,分析物包括至少一个稀有细胞,该稀有细胞选自表达恶性表型的细胞、胚胎细胞、循环内皮细胞、肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、由相关基因转染的细胞、免疫细胞的其它亚型,或者存在于受自身免疫或自体反应紊乱困扰的主体的周边血液中的T细胞和B细胞。在一些方面,该方法包括将第二流体提供到流体入口端口或者位于该微流体装置上的不同流体入口端口,其中,第一流体包括油,而第二流体包括水溶液。

[0254] 在一些方面,本公开提供了一种分析系统,其包括:旋转元件,其构造成用于使如先前所述的微流体装置绕其中心轴线旋转;光学检测部件,其构造成光学地分析微流体装置的所述多个流体港中的至少一个;以及处理单元,其构造成用于控制旋转部件和光学检测部件,并且构造成用于存储由光学检测部件所产生的数据。在一些方面,该分析系统包括多个流体储器,每个流体储器能够包含流体,其中,所述多个流体储器构造成将流体提供到微流体装置的流体入口端口。在一些方面,该分析系统还包括热控部件,其构造成将热量施加到所述多个流体港。在一些方面,该热控部件构造成将所述多个流体港加热到足以执行聚合酶链反应。在一些方面,该分析系统包括压力施加部件,其与所述多个流体通道中的至少一个流体连通,其中,该压力施加部件构造成施加足以推动流体通过该流动通道的压力。在一些方面,该光学检测部件构造成分析以1RPM至5,000RPM的速度旋转的微流体装置。在一些方面,该旋转部件构造成调整该微流体装置的旋转速度,以匹配该光学检测部件的读取速度。在一些方面,该分析系统构造成用于容纳、旋转和处理多个微流体装置。

[0255] 在一些方面,本公开提供了一种微流体装置,其包括:微孔板,其包括多个孔,其中所述多个孔中的每个还包括:至少一个流体入口端口,其与所述多个孔中的至少一个流体连通;至少一个流体出口端口;至少一个流动通道,其具有流动轴线,该流动通道与至少一个流体入口端口和至少一个流体出口端口流体连通;以及多个流体港,其与该至少一个流动通道流体连通并且偏离该流动轴线。在一些方面,所述多个流体港以阵列方式布置。在一些方面,所述多个流体港以方阵阵列的方式布置。在一些方面,所述多个孔以2:3的矩形矩阵的阵列布置。在一些方面,该微流体装置包含标准孔板形式的6、12、24、48、96或384个孔。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度不是直角。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个与流动轴线成一角度,该角度是直角。在一些方面,所述多个流体港中的每个藉由敞开管道而与该流动通道流体连通。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个包括与流动通道流体连通的至少一个通道。在一些方面,流动通道和多个流体港包括疏水表面。在一些方面,该装置的至少一部分包括天然疏水或经表面处理的

聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)、醇化聚对苯二甲酸乙二醇(PETG)、环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚氯三氟乙烯(PCTFE)和多层材料,以为流动通道、所述多个流体港或者它们的组合提供疏水表面。如先前所述的微流体装置,其中入口端口与流体在流体上连通。在一些方面,该流体包括含水液体、不能与该含水液体混溶的流体、有机溶剂、氟化油、烃油、硅酮油、矿物油或者任何其它合适的油,或者它们的组合。

[0256] 在一些方面,本公开提供了一种填充微流体流动单元的方法,包括:提供如先前所述的微流体装置;将第一流体提供到所述多个流动通道中的至少一个;将压力施加到所述多个孔中的至少一个,其中,该压力足以将第一流体推动通过所述多个流动通道中的至少一个。在一些方面,该填充微流体流动单元的方法还包括将第二流体提供到所述多个孔中的至少一个;并且将压力施加到所述多个孔中的至少一个,该压力足以将第二流体推动通过所述多个流动通道中的至少一个。在一些方面,该第二流体包含分析物,并且该方法还包括对在所述多个流体港中的至少一个中的第二流体进行分析。在一些方面,该分析物包括生物材料。在一些方面,该生物材料选自细胞、细菌、病毒、朊病毒、核酸、蛋白质、基因材料的表达产物、结晶分子或微粒。在一些方面,第二流体包括多个核酸分子,并且该方法包括将核酸分子中的至少一些分布到所述多个流体港中,使得仅有一个核酸分子包含在所述多个流体港的至少一些中。在一些方面,第二流体包括多个核酸分子,并且该方法包括将所述多个核酸分子中的至少一些分布到所述多个流体港中,使得至少一个核酸分子包含在所述多个流体港的至少一些中。在一些方面中,所述方法还包括在多个流体港中执行数字聚合酶链反应(PCR)。在一些方面,所述方法还包括在所述多个流体港中执行等温扩增。在一些方面,分析物在流体港中经历结晶化。在一些方面,分析物包括至少一个稀有细胞,该稀有细胞选自表达恶性表型的细胞、胚胎细胞、循环内皮细胞、肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、由相关基因转染的细胞、免疫细胞的其它亚型,或者存在于受自身免疫或自体反应紊乱困扰的主体的周边血液中的T细胞和B细胞。在一些方面,该微流体装置由初始流体加载,并且第一流体包括水溶液。

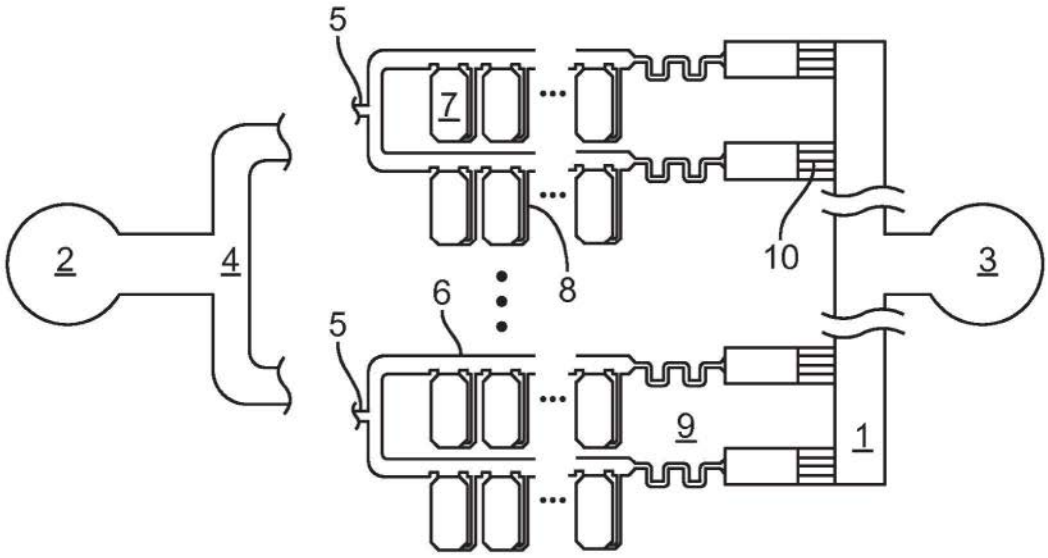
[0257] 在一些方面,本公开提供了一种分析系统包括:腔室,其构造成接受如先前所述的微流体装置;流体加压单元,其构造成将压力施加到流动通道,该压力足以将流体推动通过流动通道;光学检测部件,其用于光学地分析微流体装置的多个流体港中的至少一个;以及处理单元,该处理单元构造成用于控制该光学检测部件,并且构造成用于存储由光学检测部件所产生的数据。在一些方面,该分析系统还包括用于包含流体的多个流体储器,其中,所述多个流体储器构造成将流体提供到微流体装置的流体入口端口。在一些方面,该分析系统还包括热控部件,其构造成将热量施加到所述多个流体港中的至少一个。在一些方面,该光学检测部件包括成像装置。在一些方面,所述多个流体储器的不同流体储器包含第一流体和第二流体。在一些方面,该微流体装置由初始流体加载,并且第一流体包括水溶液。在一些方面,该光学检测部件构造成使包含水溶液的所述多个流体港的至少一些成像。在一些方面,该光学检测部件和处理单元构造成确定位于所述多个流体港的至少一些中的水溶液的体积。在一些方面,所述多个流体港中的每个藉由敞开管道而与该流动通道流体连通。在一些方面,所述多个流体港中的至少一个包括与流动通道流体连通的至少一个通道。

[0258] 在一些方面,本公开提供了一种设备,该设备包括:流动通道,其具有流动轴线、上游端和下游端;以及多个流体港,它们与该流动通道流体连通并且偏离该流动轴线,其中,

所述多个流体港中的每个具有上游端和下游端,并且其中,该流动通道包括位于所述多个流体港中的每个的上游和/或下游处的限制部。在一些方面,该限制部的宽度是流动通道的最大宽度的1/3。在一些方面,所述多个流体港定位在包括该流动通道的装置的平面上方或下方的平面中。在一些方面,该流动通道与第一流体源以及第二流体源流体连通,该第二流体不能够与第一流体混溶。在一些方面,至少该流动通道和/或所述多个流体港由第一流体加载。在一些方面,所述多个流体港的每个在下游端上逐渐变小。在一些方面,本公开提供了一种设备,该设备包括:流动通道,其具有流动轴线、上游端和下游端、宽度、以及高度;和多个流体港,它们具有上游端和下游端,并且具有平行于流动轴线的长度、宽度和高度,其与流动通道连通,并且偏离于该流动轴线,其中流动通道的宽度大于所述多个流体港的宽度,并且其中所述多个流体港的任一个的下游端与流体港的另一个的上游端重叠。在某些方面中,在流动通道的宽度和所述多个流体港的宽度之间的差是所述多个流体港的宽度的0.001倍至1.5倍。在一些方面,所述多个流体港定位在包括该流动通道的装置的平面上方或下方的平面中。在一些方面,该流动通道与第一流体源以及第二流体源流体连通,该第二流体不能够与第一流体混溶。在一些方面,至少该流动通道和/或所述多个流体港由第一流体加载。在一些方面,所述多个流体港的每个在下游端上逐渐变小。在一些方面,流体港的高度大于流动通道的高度。在一些方面,流体港的长度大于该流动港的宽度。在一些方面,所述多个流体港的第一个的下游端和位于该第一流体港的下游的、所述多个流体港的第二个的上游端之间的间距是所述多个流体港的长度的0.1至3倍。

[0259] 在一些方面,本公开提供了一种设备,该设备包括:流动通道,其具有流动轴线、上游端和下游端、宽度和高度;和多个流体港,它们具有宽度和高度,与流动通道连通并且偏离于该流动轴线,其中,所述多个流体港的每个具有上游端和下游端,其中,流体港的高度大于流动通道的高度。在一些方面,所述多个流体港定位在包括该流动通道的装置的平面上方或下方的平面中。在一些方面,该流动通道与第一流体源以及第二流体源流体连通,该第二流体能够与第一流体混溶。在一些方面,至少该流动通道和/或所述多个流体港加载有第一流体。在一些方面,所述多个流体港的每个在下游端上逐渐变小。在一些方面,流体港的长度大于该流动港的宽度。在一些方面,所述多个流体港的第一个的下游端和位于该第一流体港的下游的、所述多个流体港的第二个的上游端之间的间距是所述多个流体港的长度的0.1至3倍。在一些方面中,流动通道的宽度大于所述多个流体港的宽度,并且其中所述多个流体港的任一个的下游端不与所述流体港的另一个的上游端重叠。

a)



b)

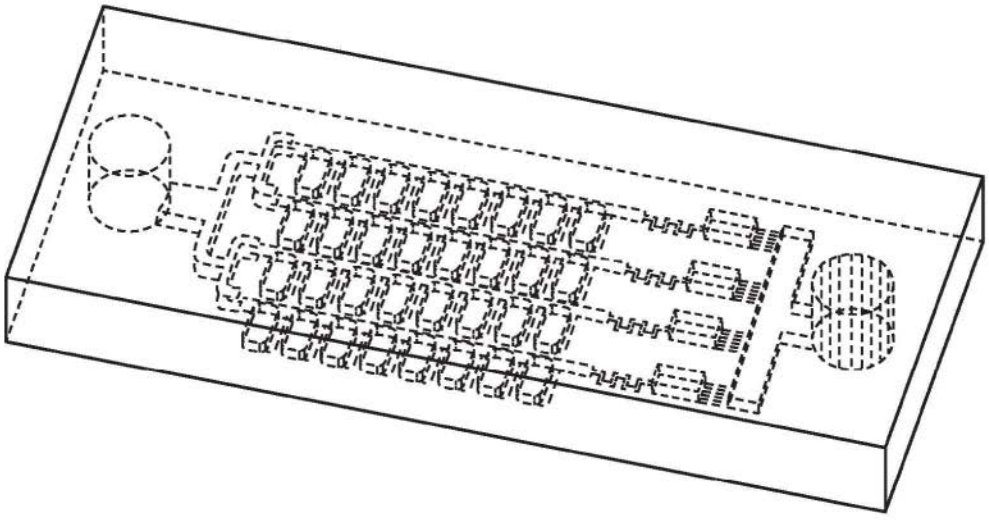


图1

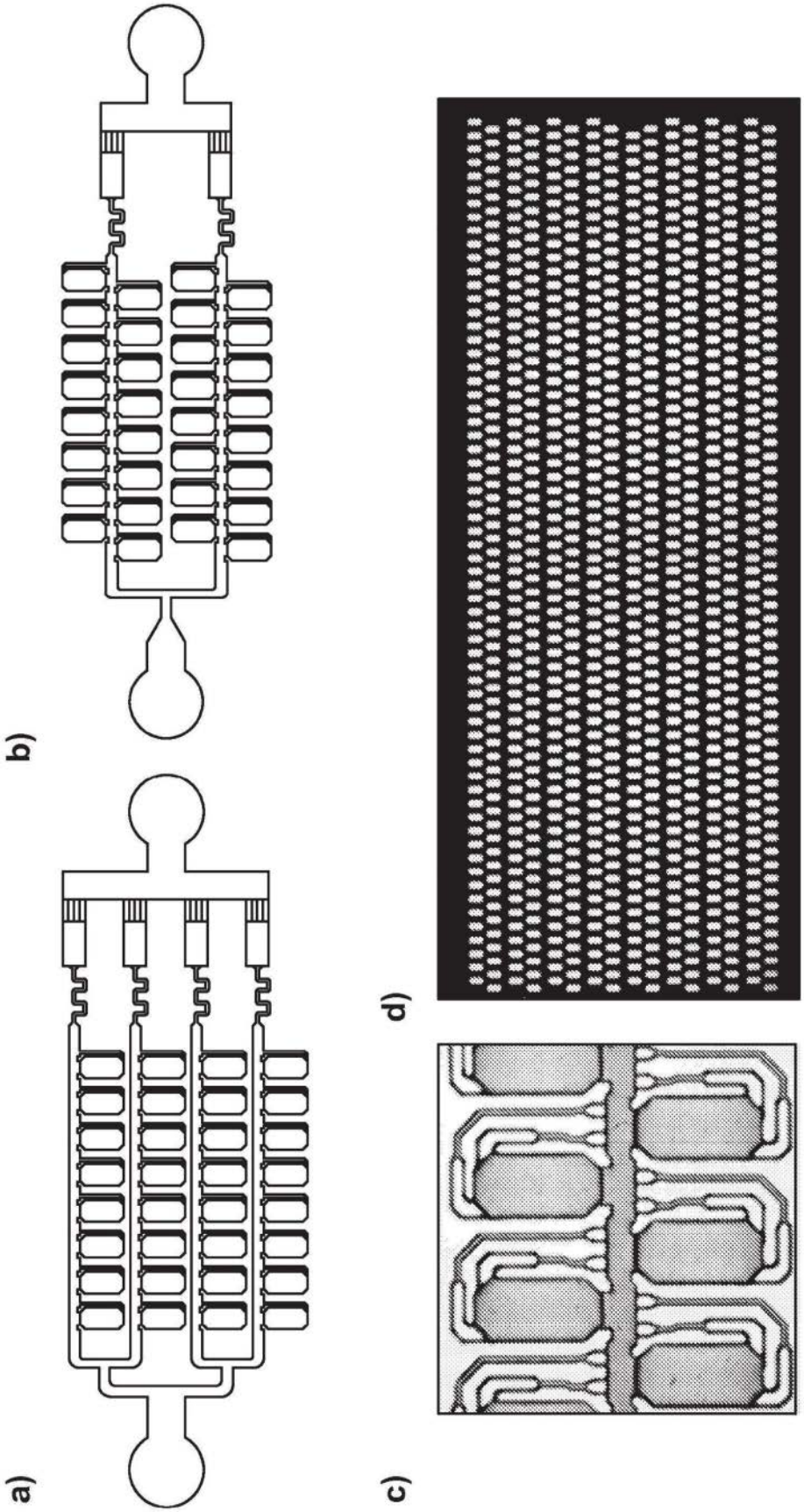


图2

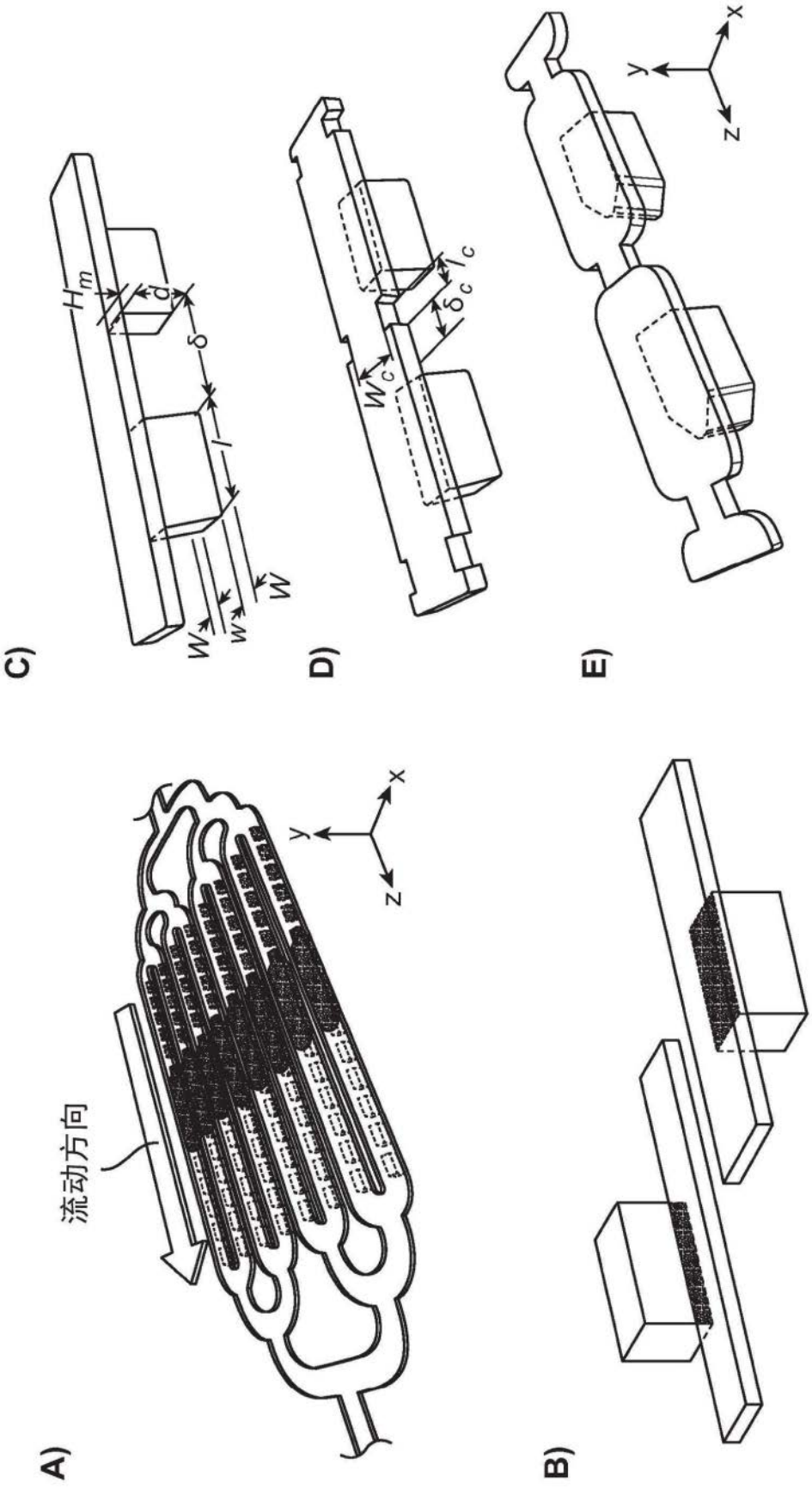


图3

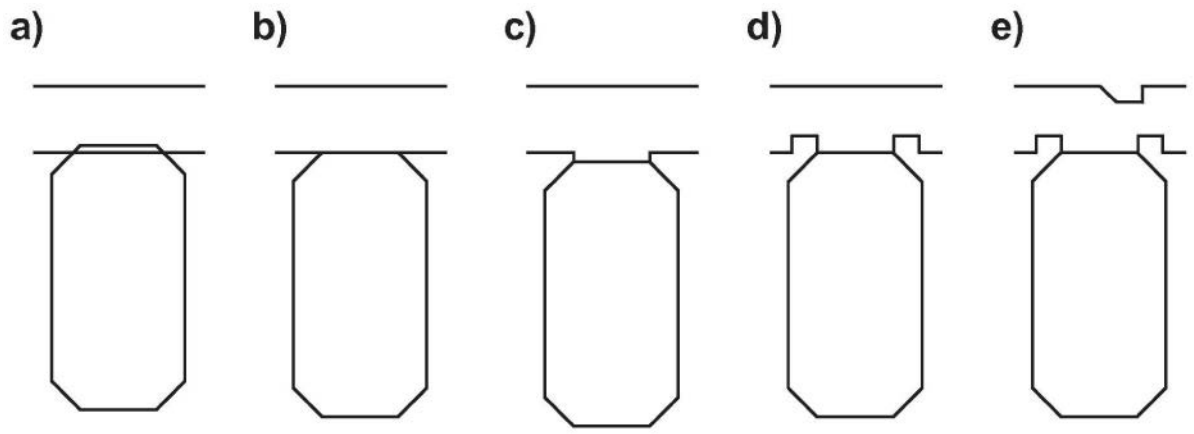


图4

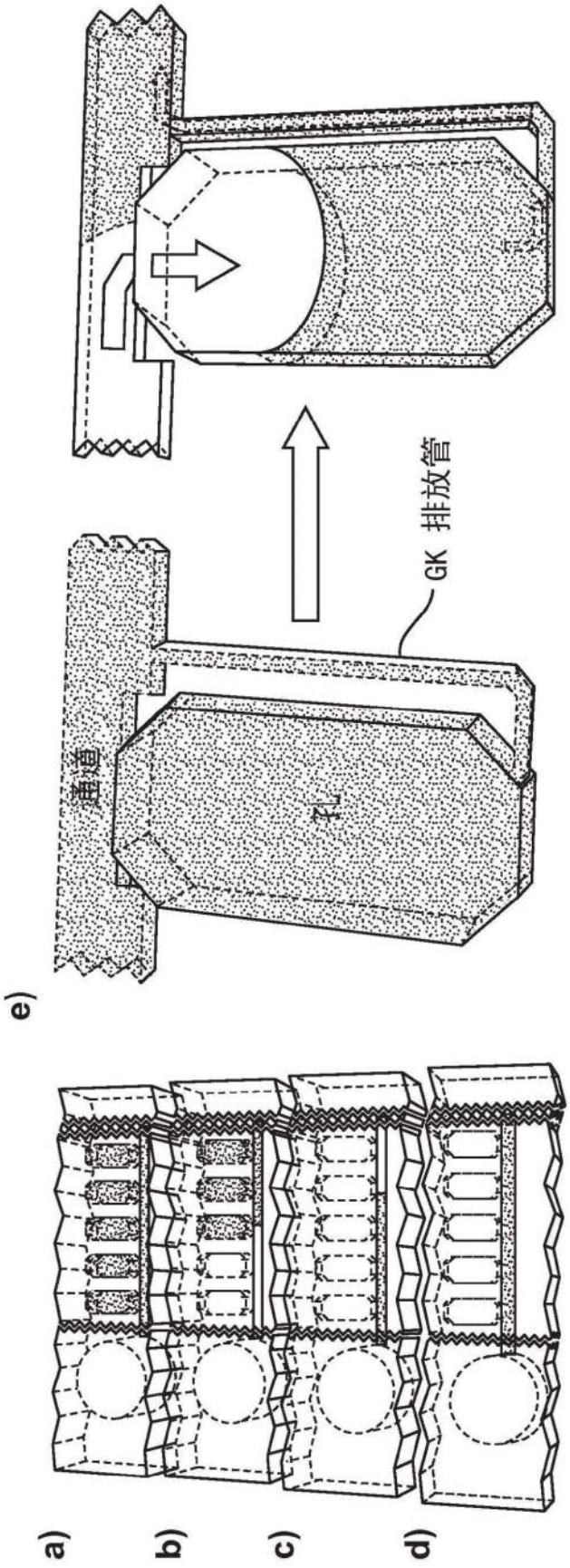


图5

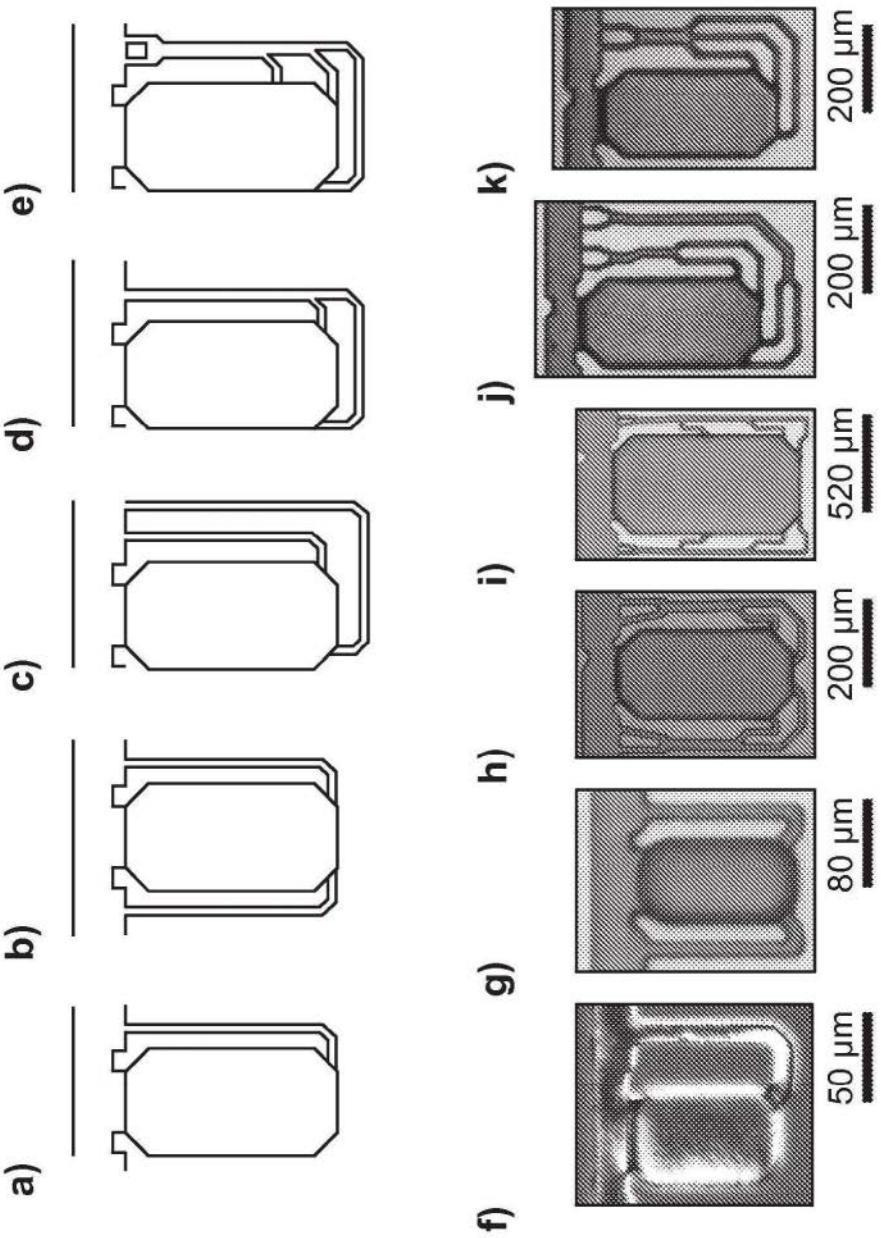


图6

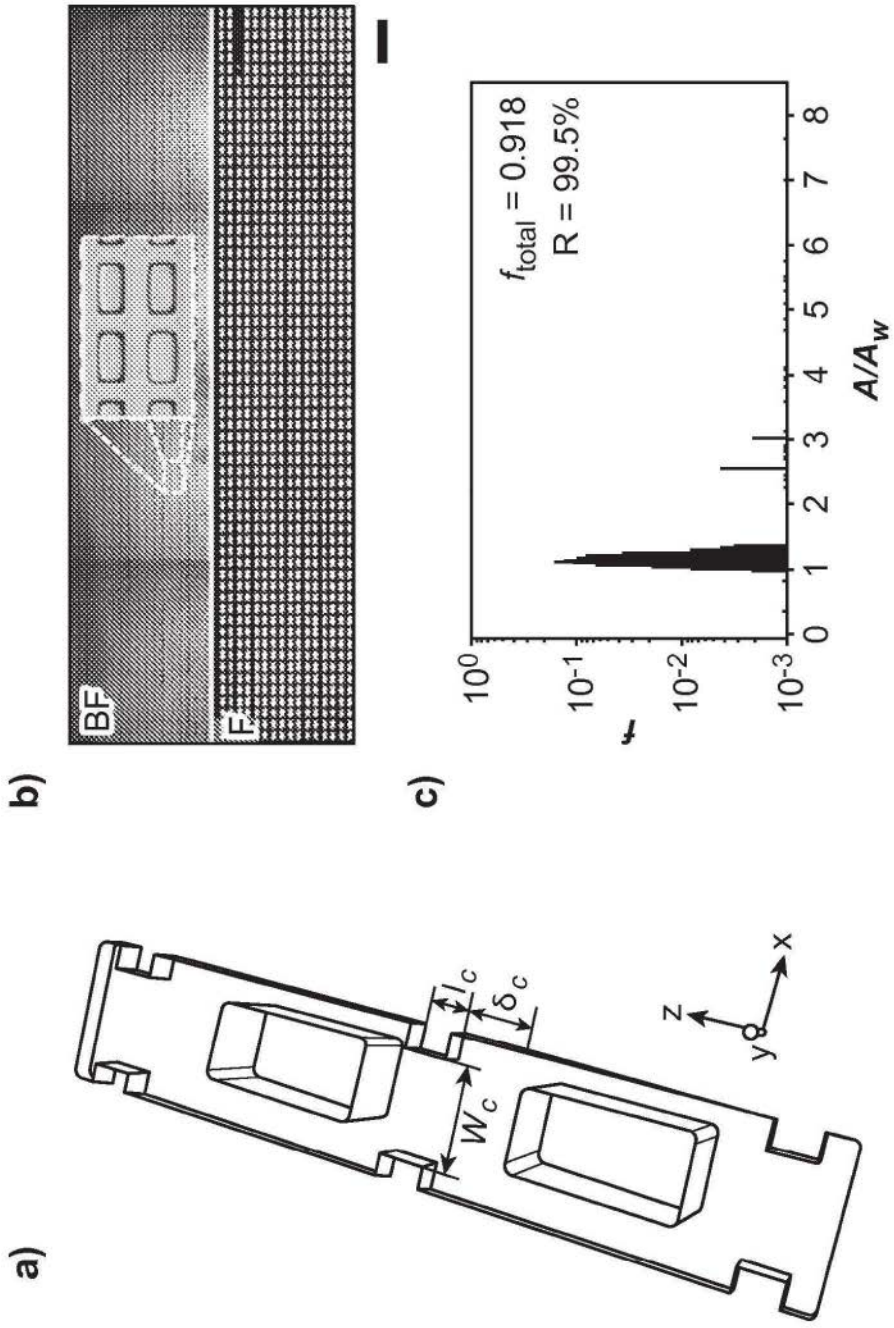

b)
BF
F
c)
f_{total} = 0.918
R = 99.5%
10^0
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
f
0 1 2 3 4 5 6 7 8
A/A_w
a)
l_c
δ_c
W_c
x
z
y

图7

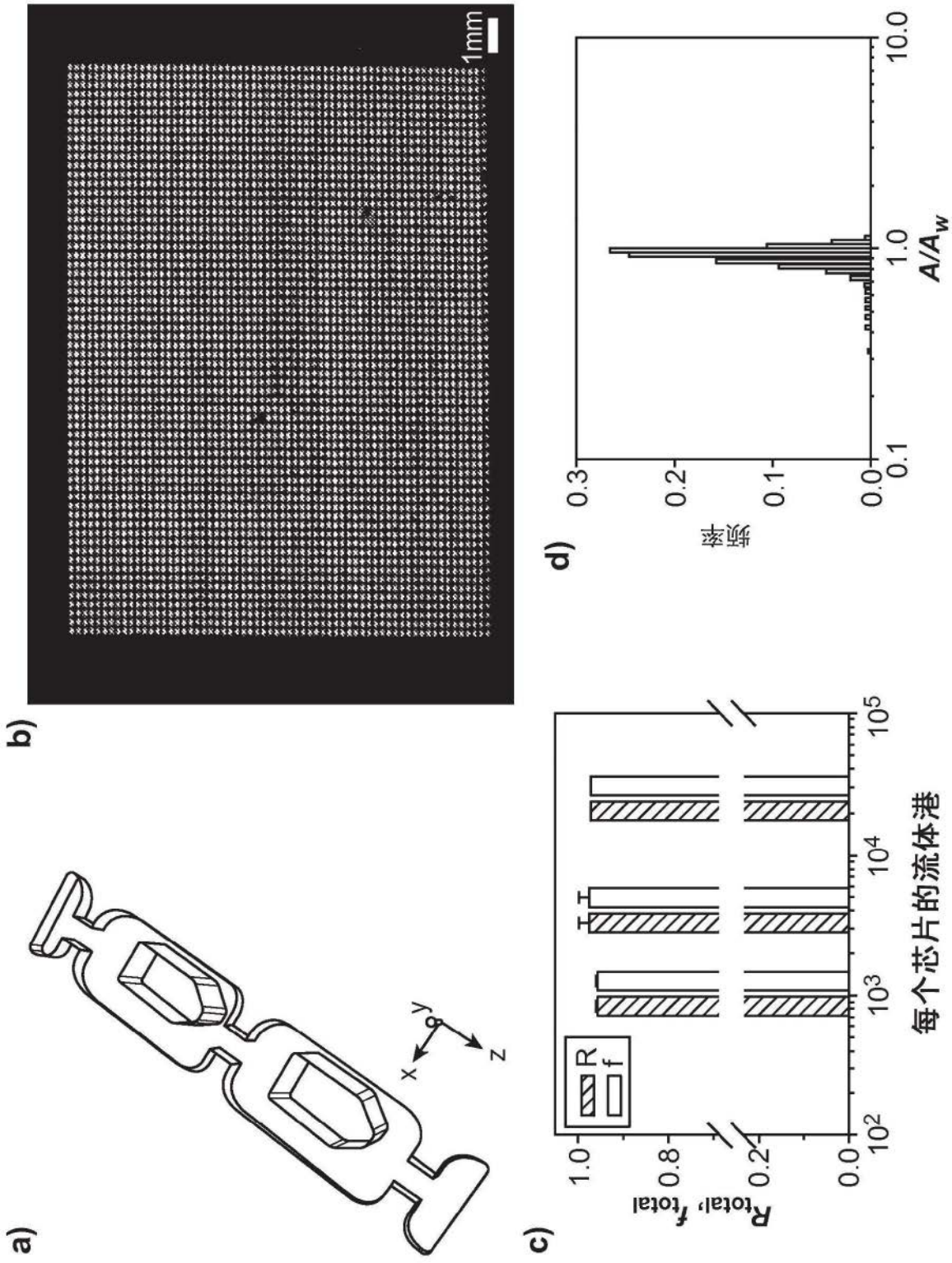


图8

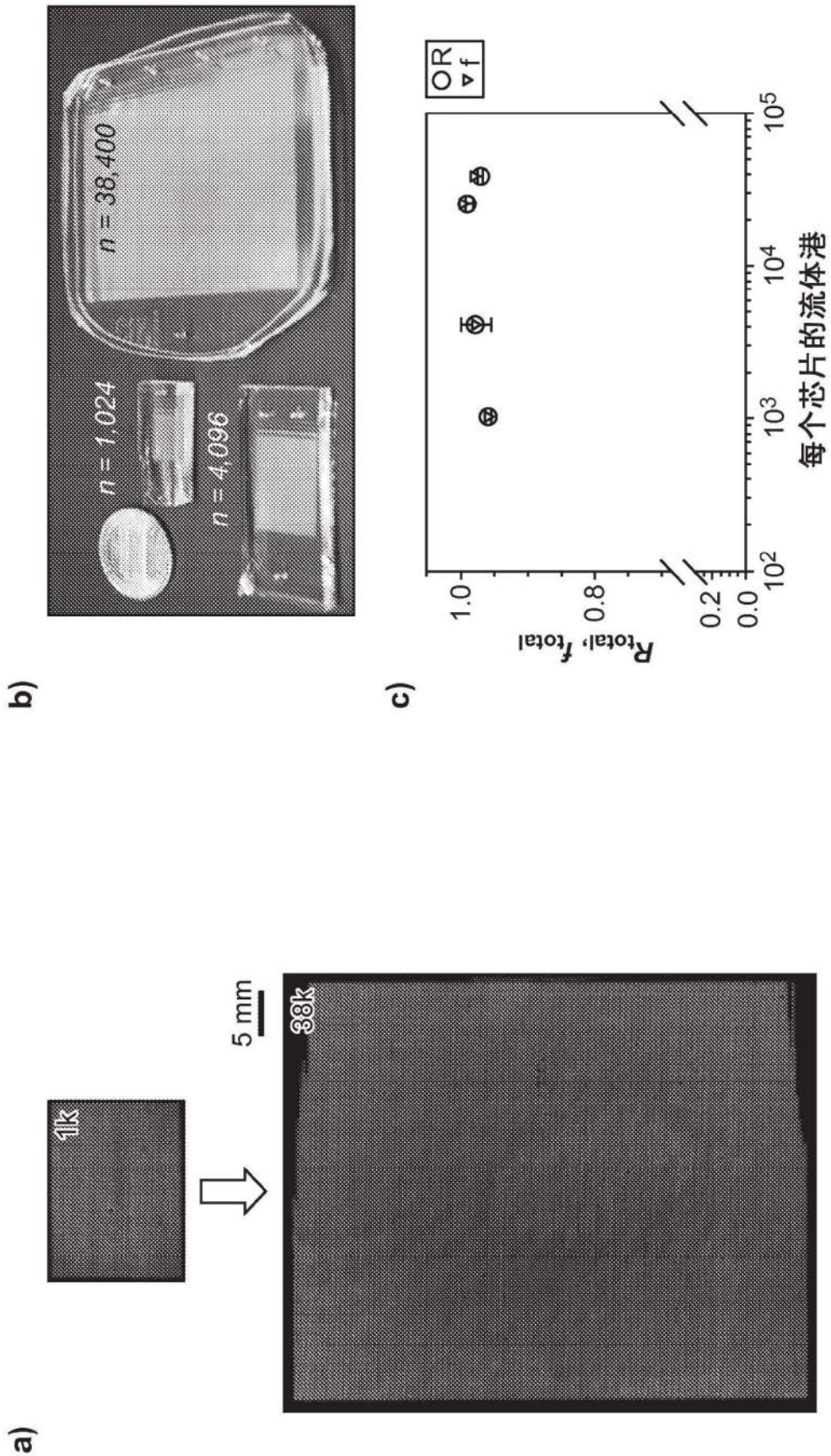

a)
1k
5 mm
38k
b)
n = 1,024
n = 4,096
n = 38,400
c)
OR
▽f
R_{total}, f_{total}
1.0
0.8
0.2
0.0
10^2
10^3
10^4
10^5
每个芯片的流体港

图9

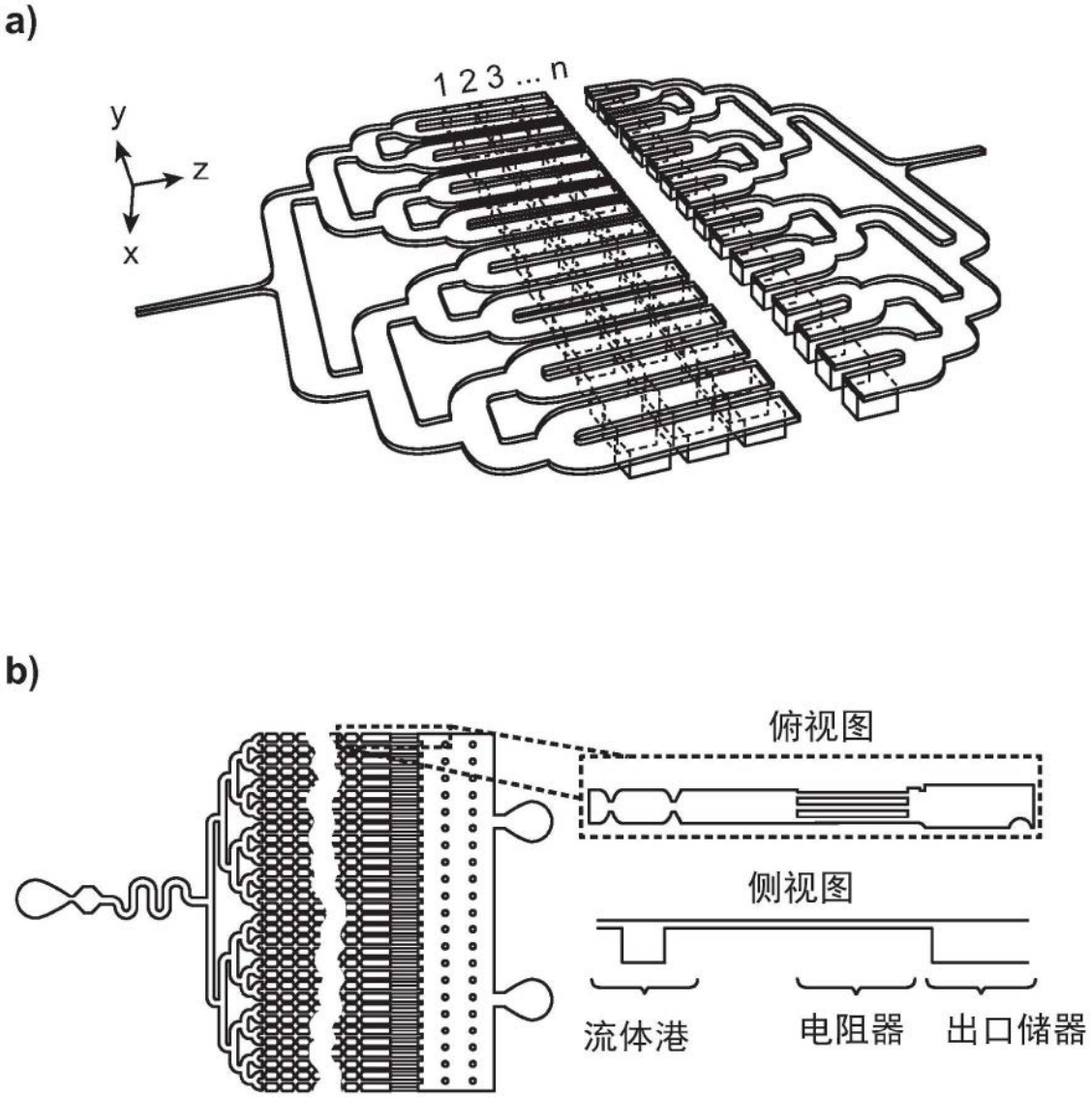


图10

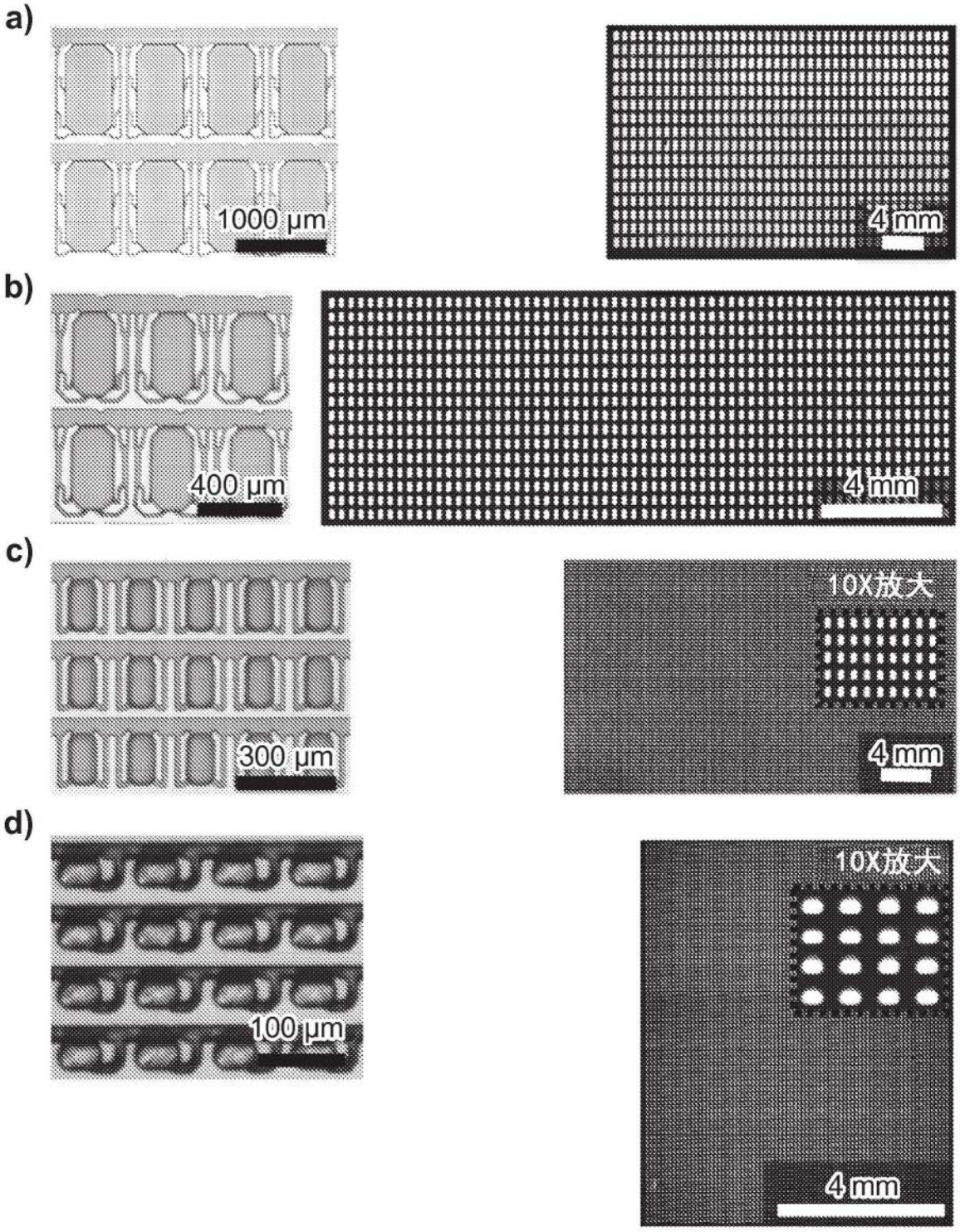


图11

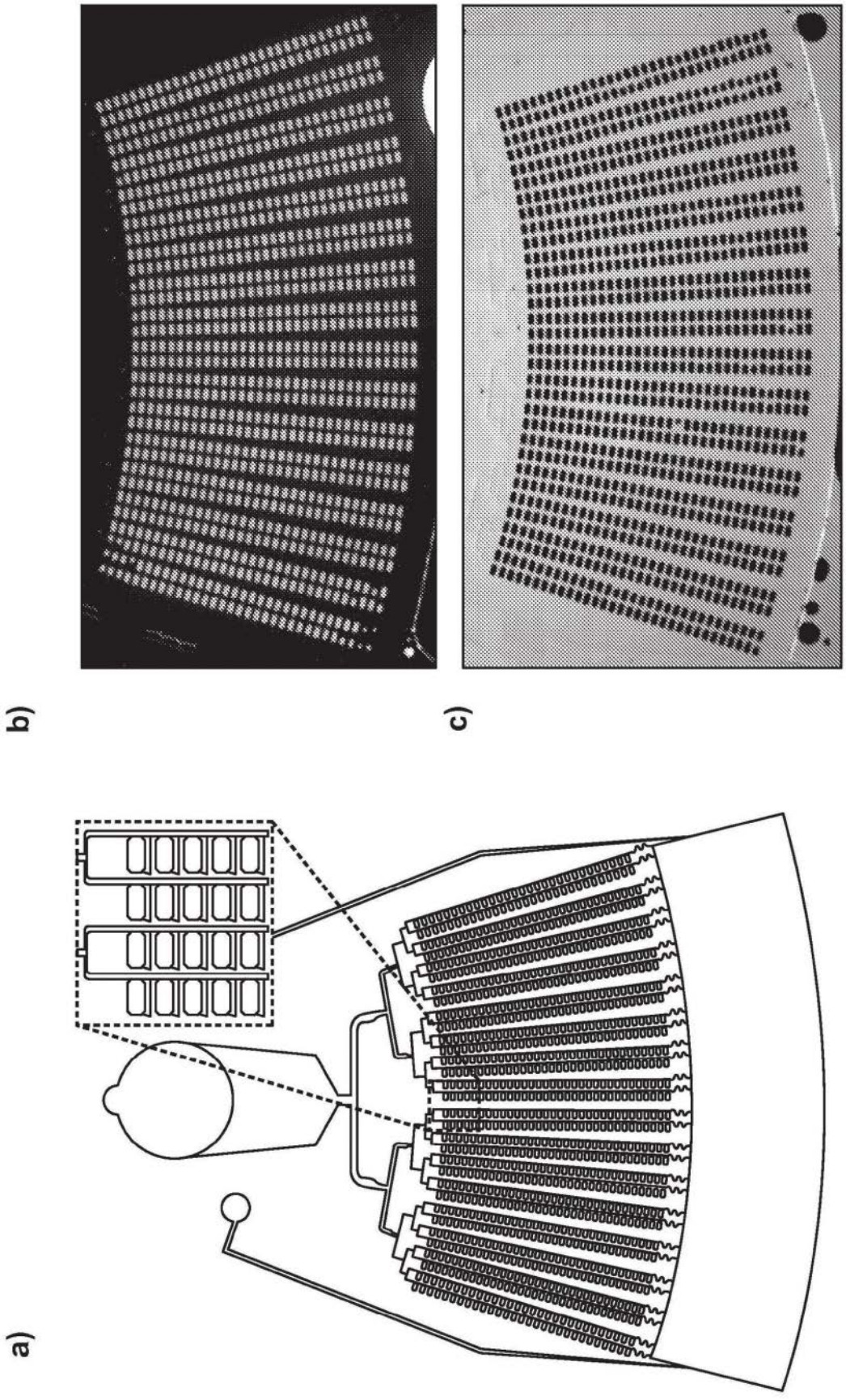


图12

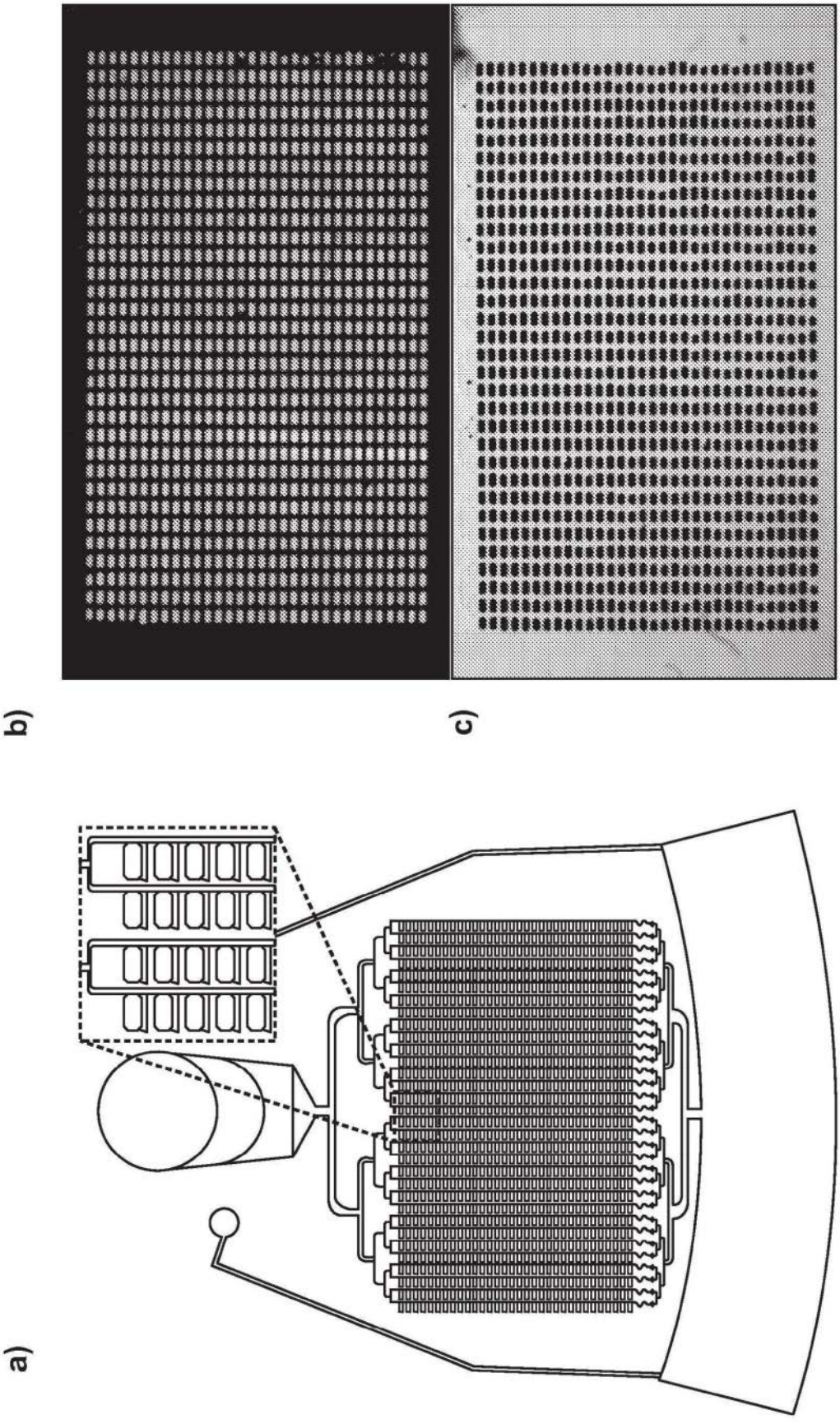


图13

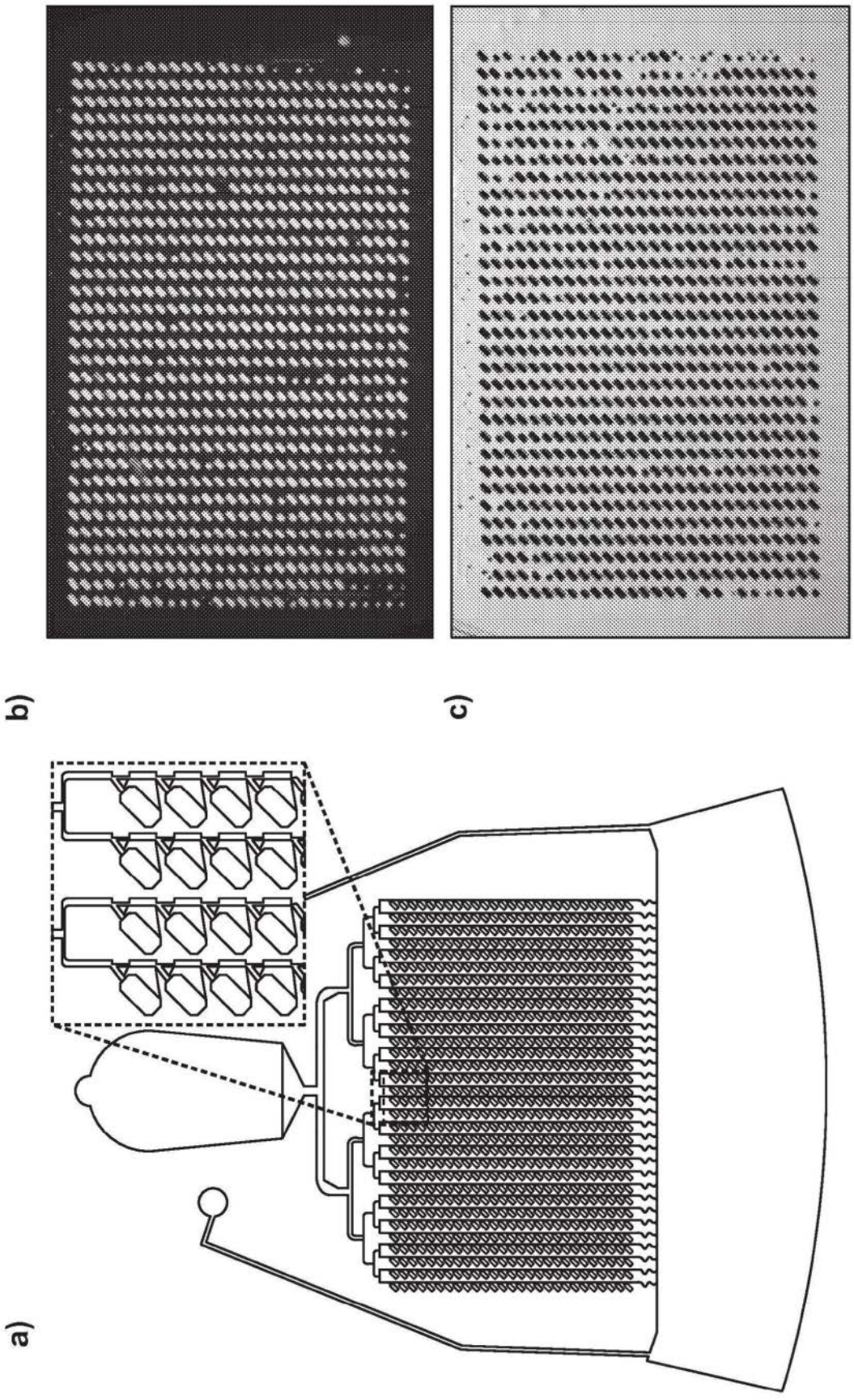


图14

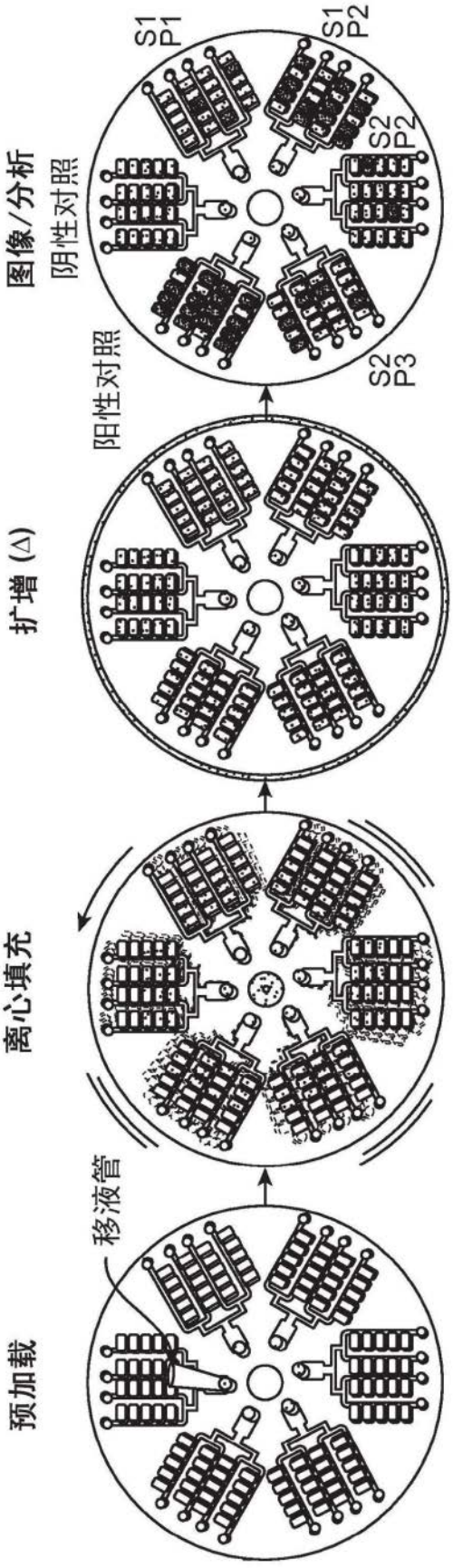


图15

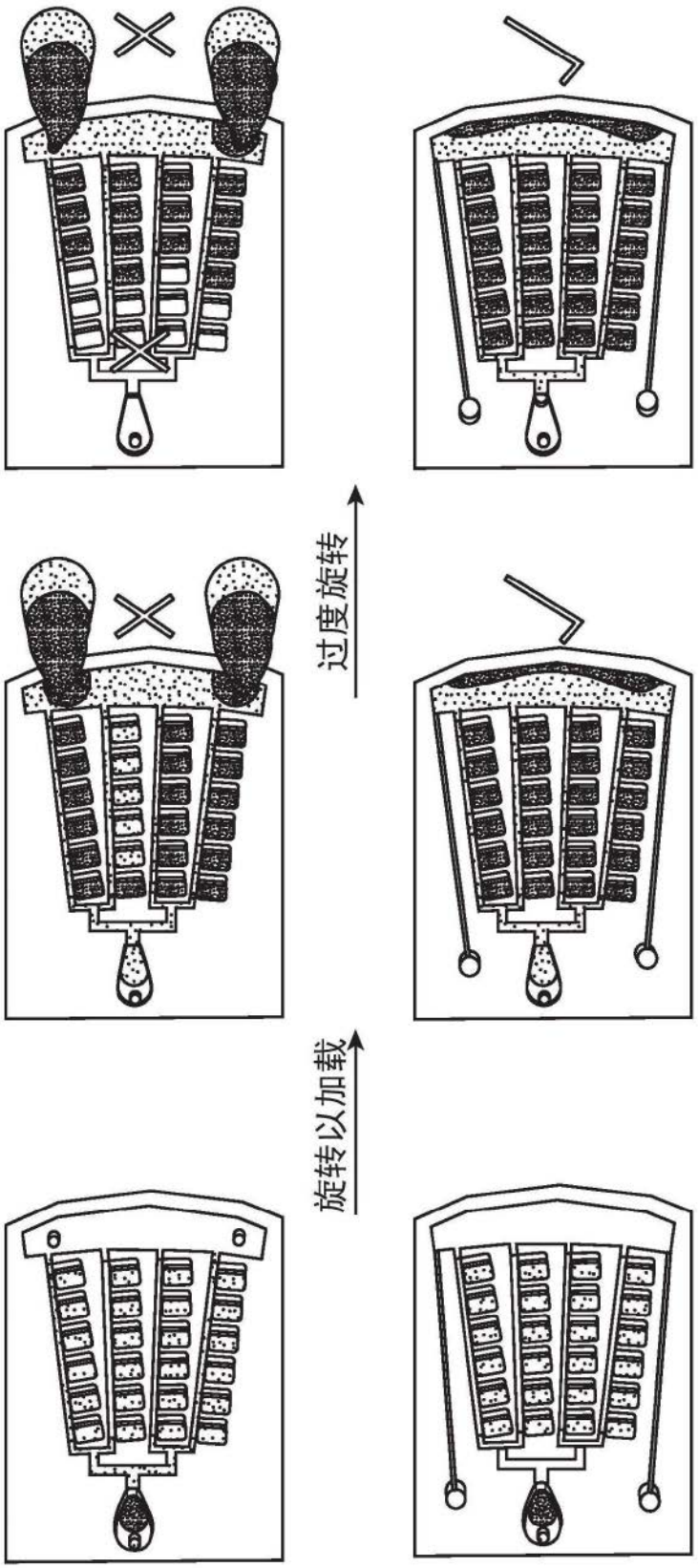


图16

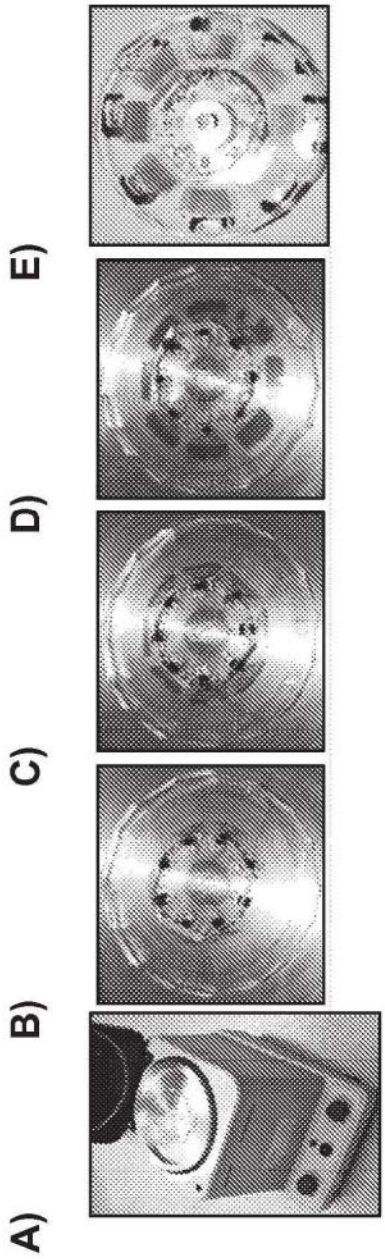


图17

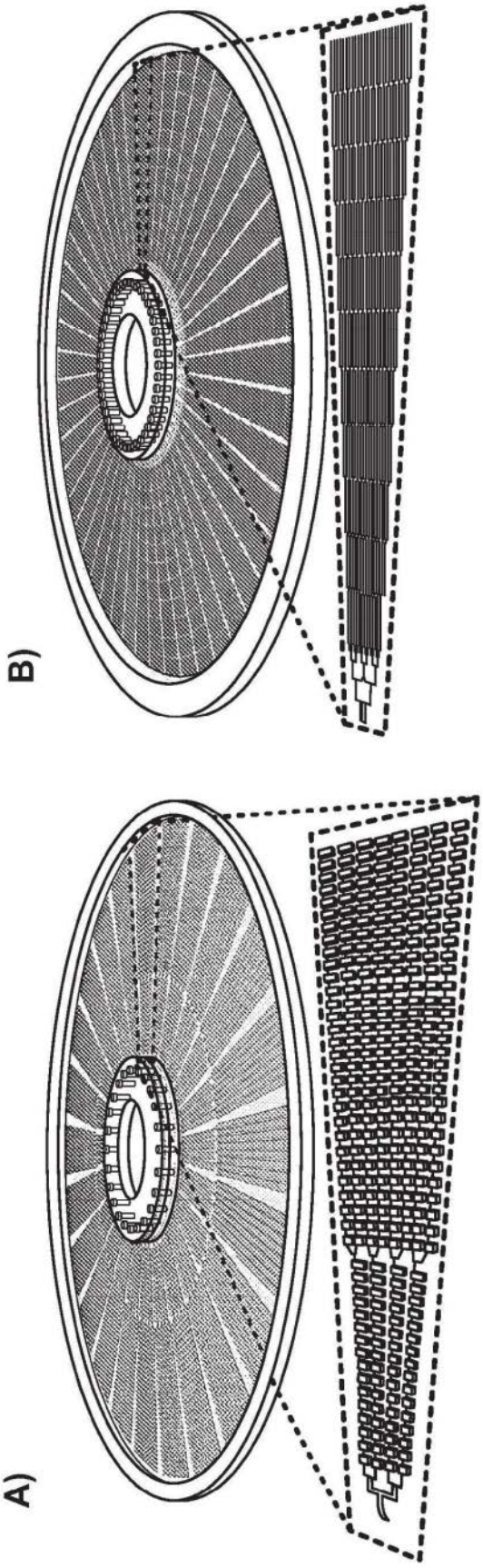


图18

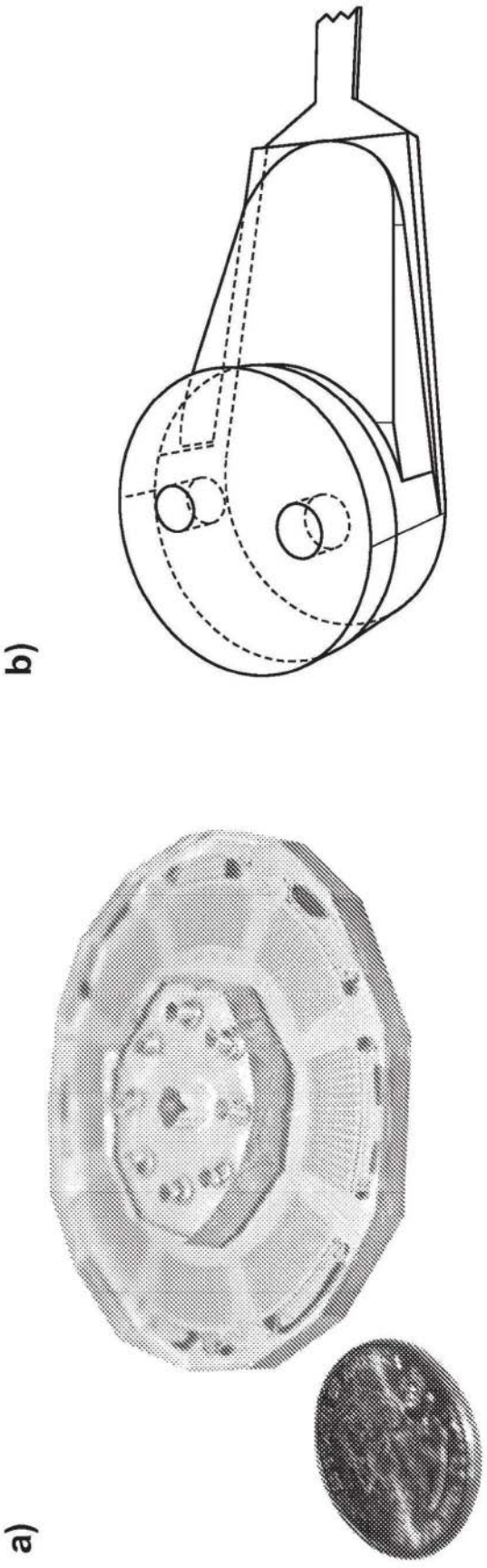


图19

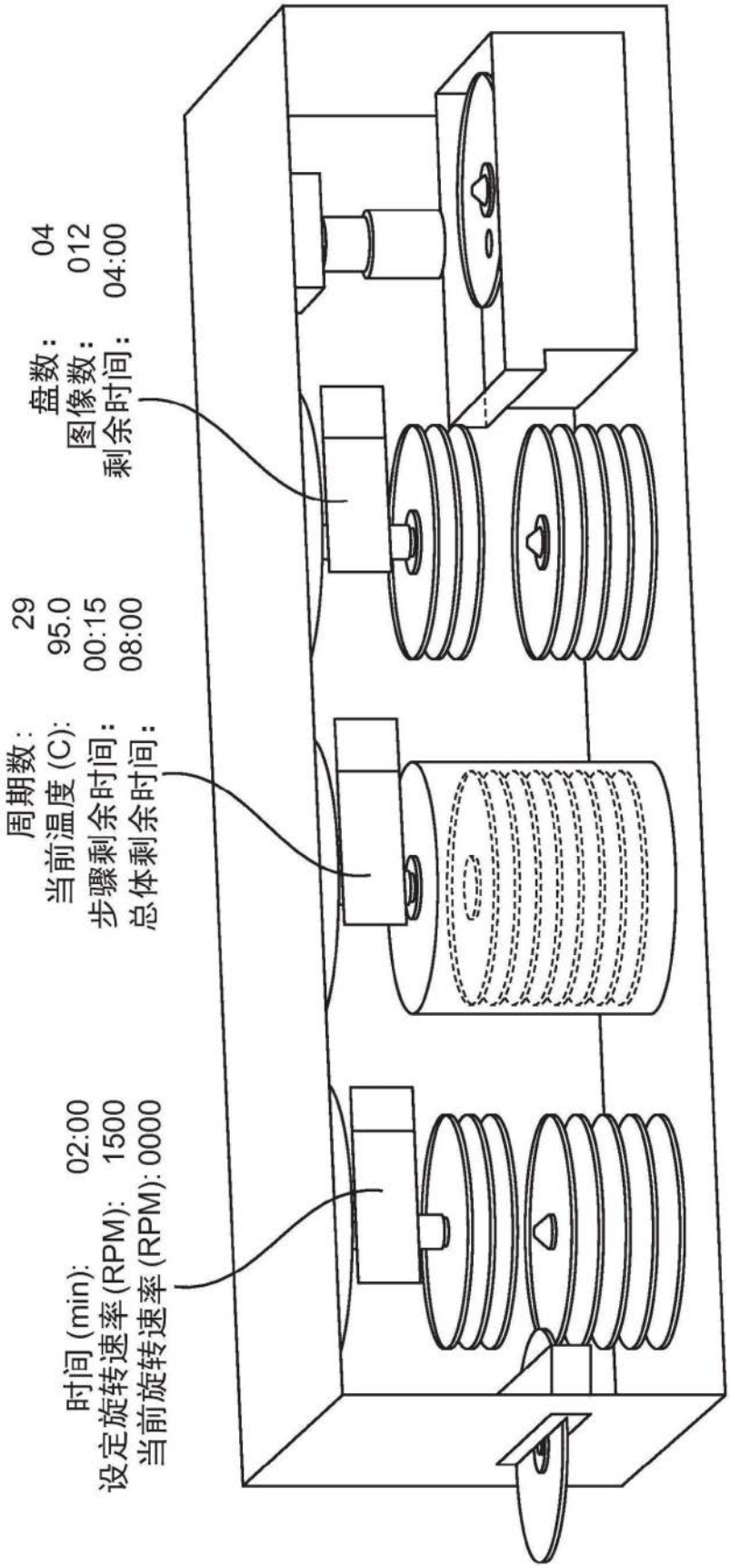

盘数： 04
图像数： 012
剩余时间： 04:00
周期数： 29
当前温度 (C): 95.0
步骤剩余时间： 00:15
总体剩余时间： 08:00
时间 (min): 02:00
设定旋转速率 (RPM): 1500
当前旋转速率 (RPM): 0000

图20

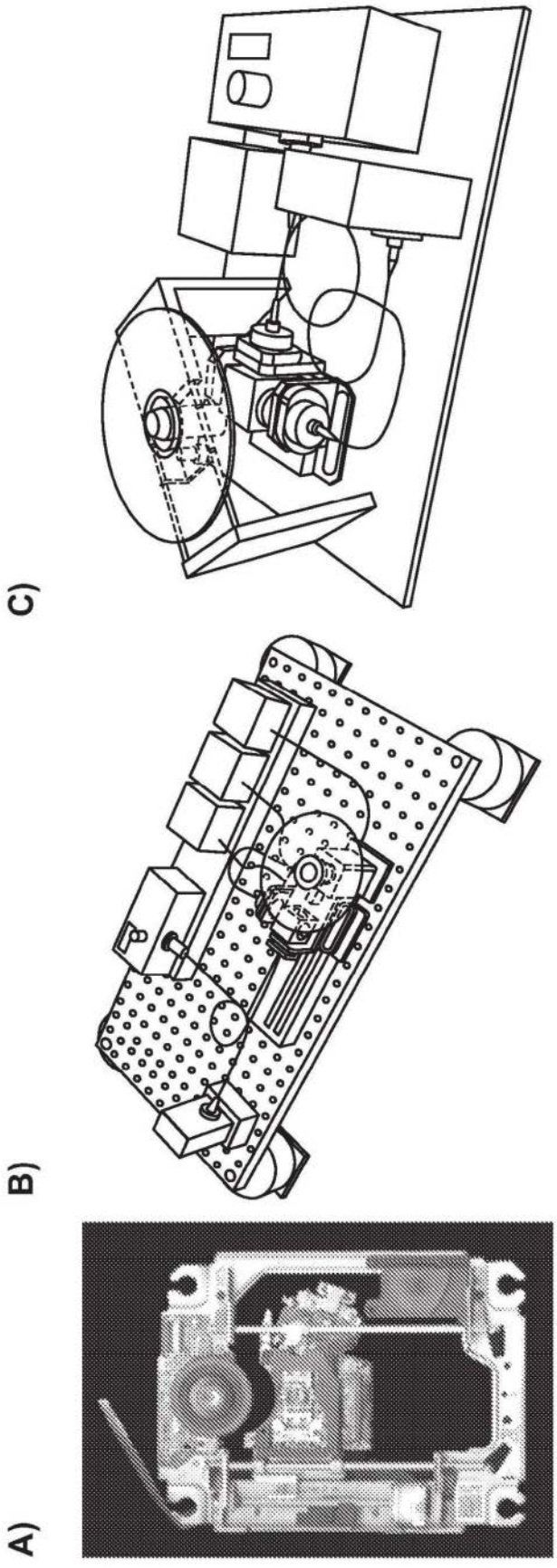


图21

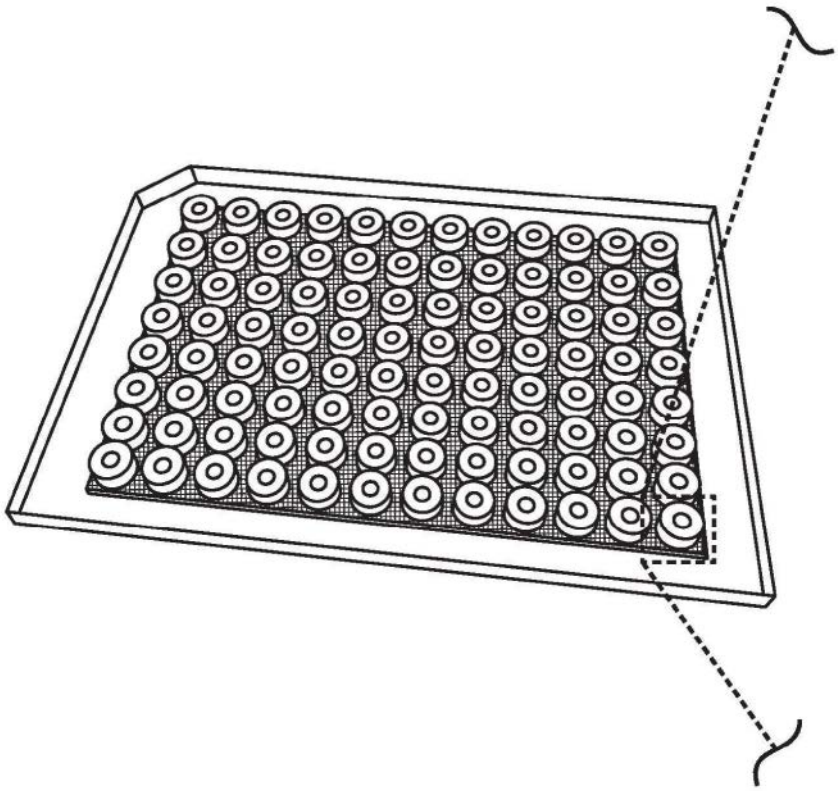


图22A

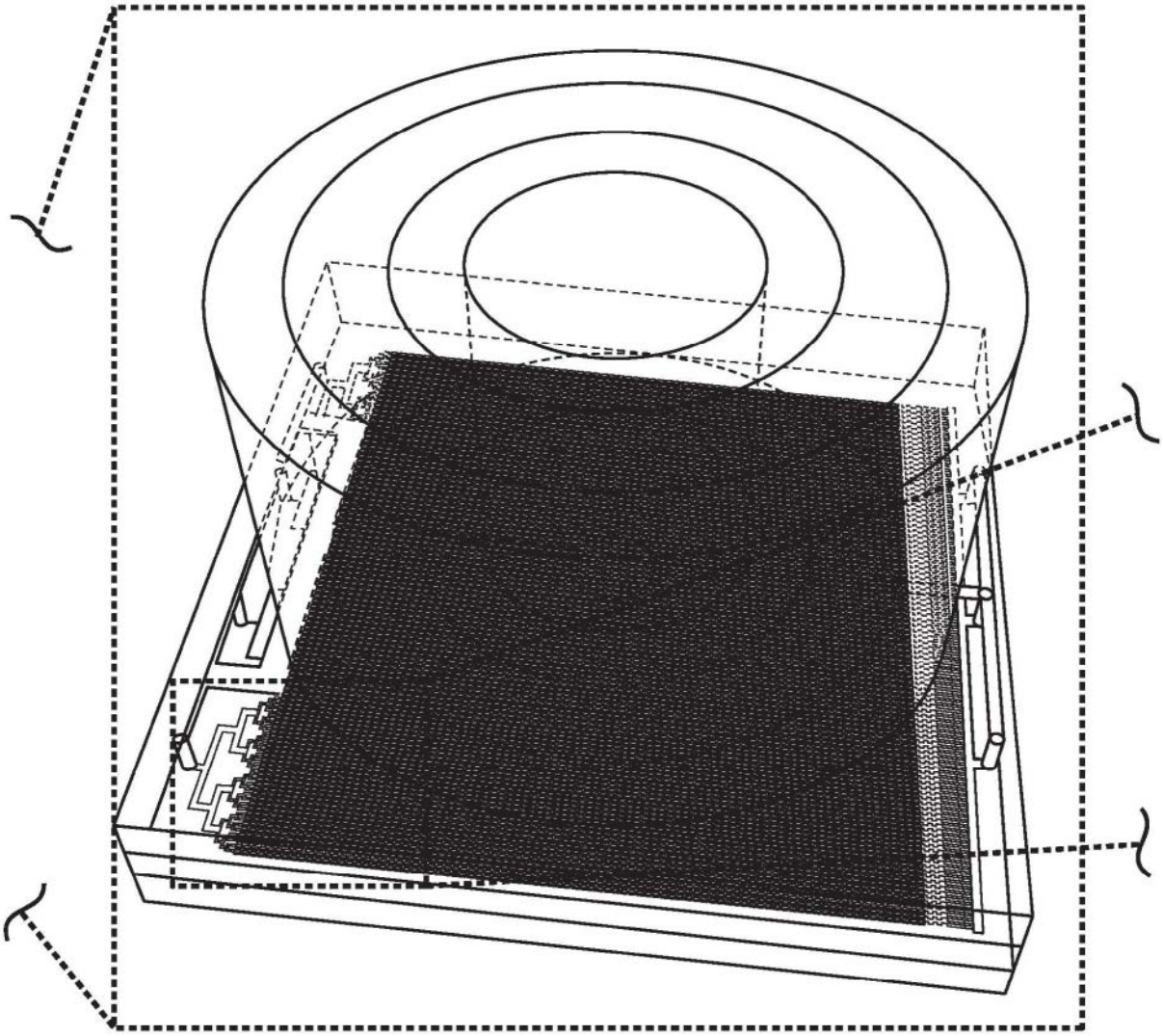


图22B

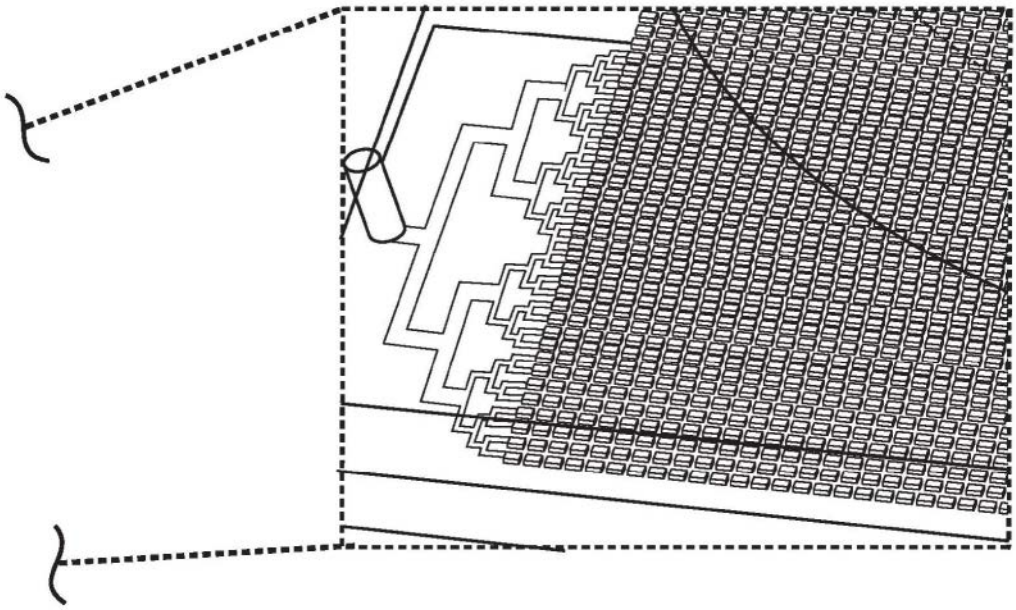


图22C

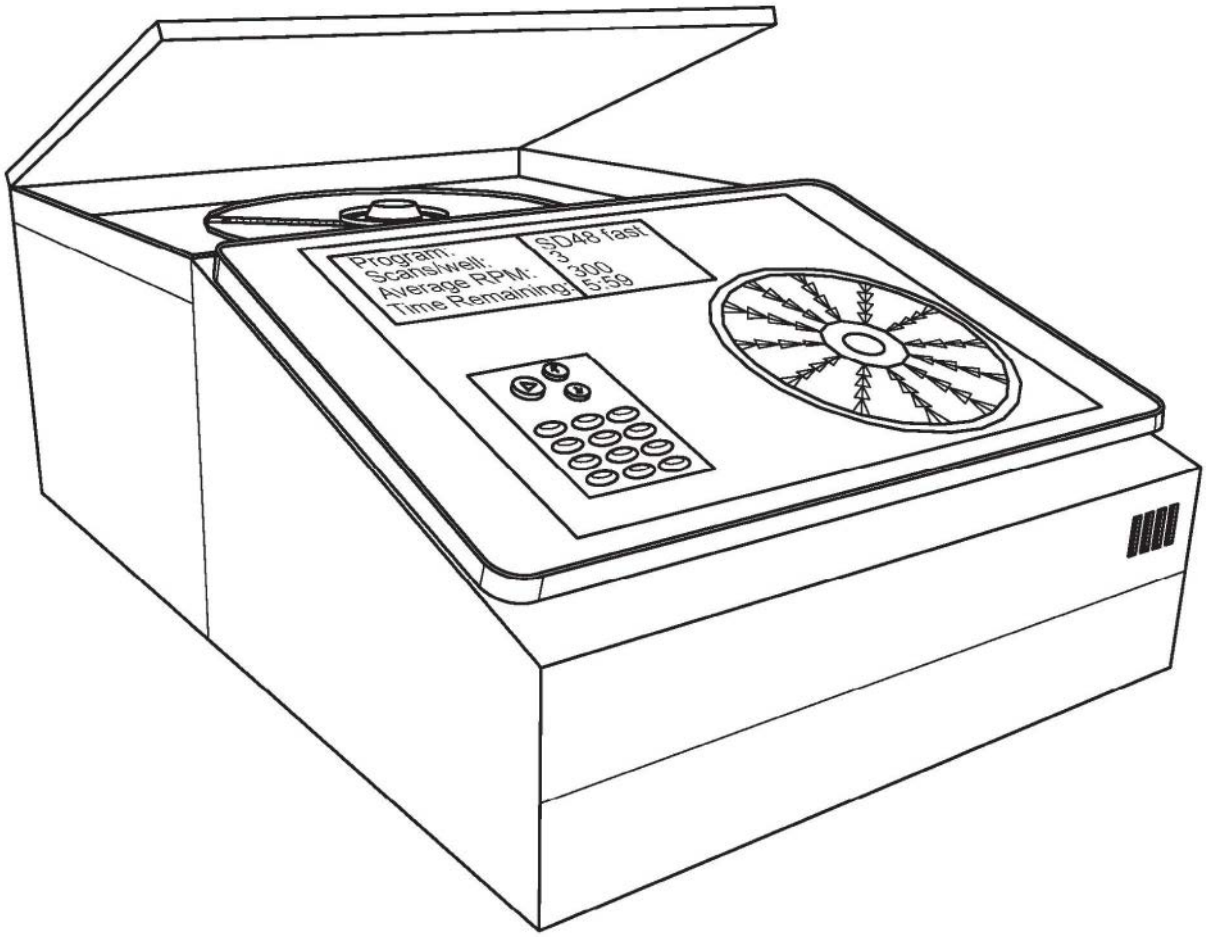

Program:
Scans/well:
Average RPM:
Time Remaining:
SD48 fast
3
300
5:59

图23

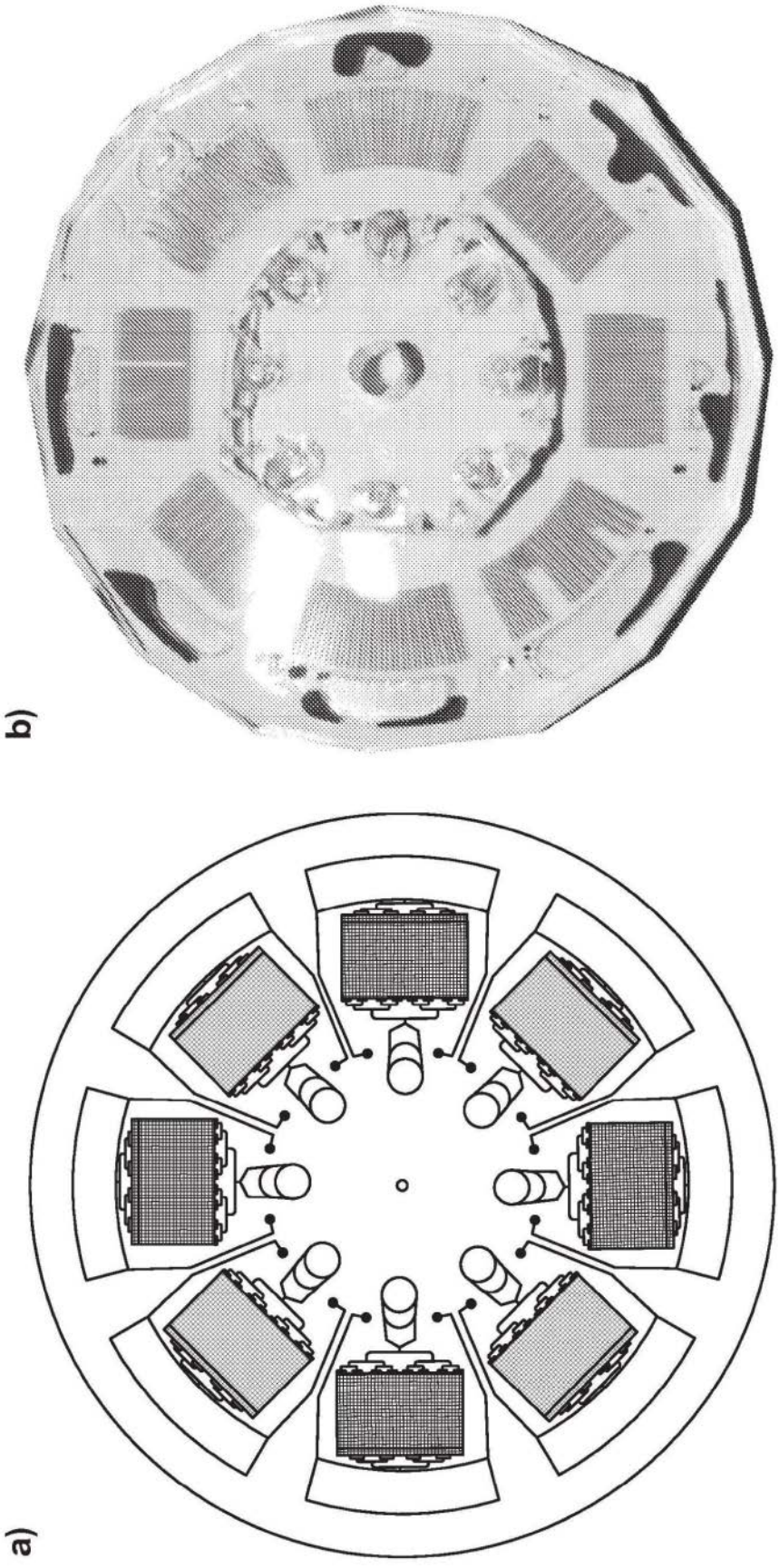


图24

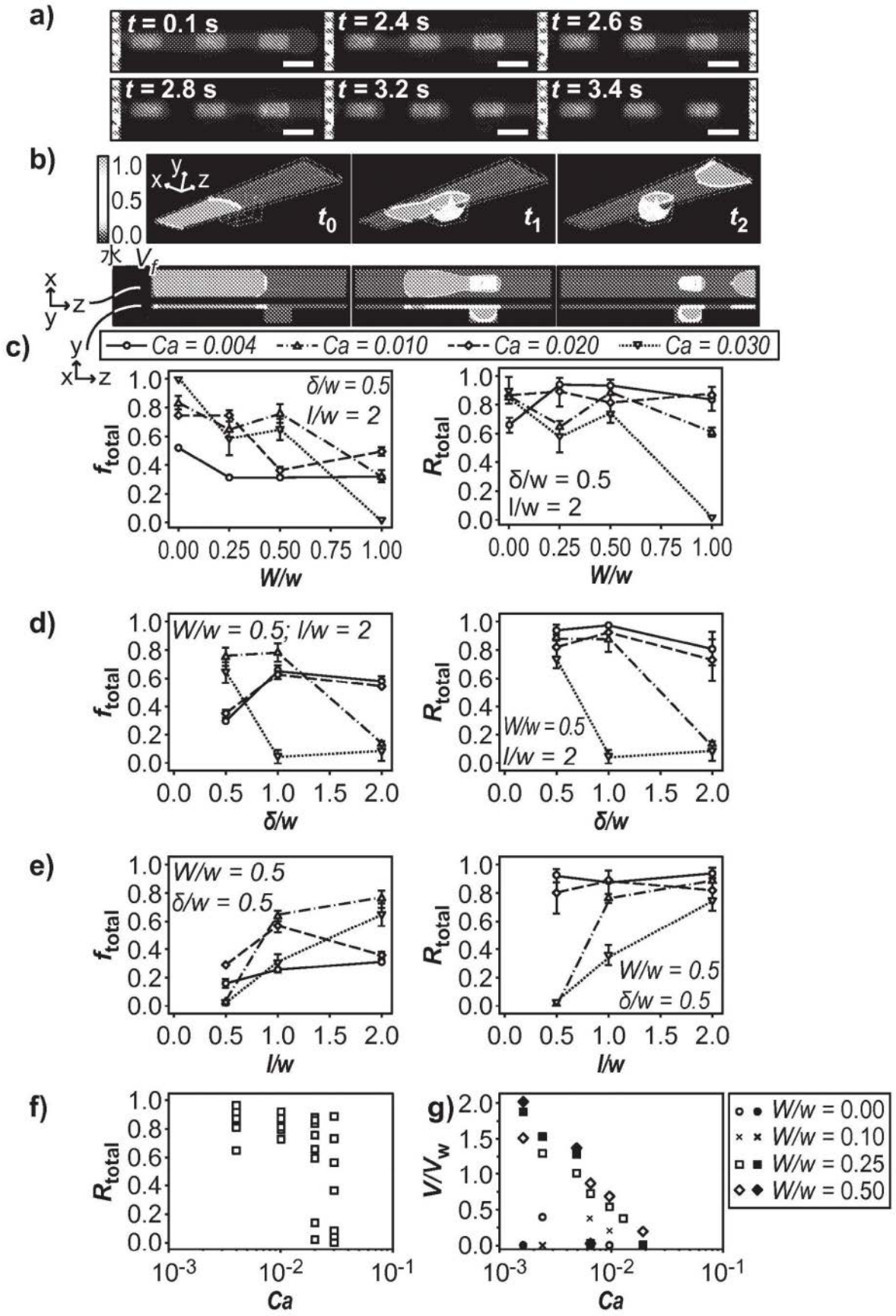

a)
t = 0.1 s
t = 2.4 s
t = 2.6 s
t = 2.8 s
t = 3.2 s
t = 3.4 s
b)
1.0
0.5
0.0
水
V_f
t_0
t_1
t_2
c)
Ca = 0.004
Ca = 0.010
Ca = 0.020
Ca = 0.030
f_{total}
δ/w = 0.5
l/w = 2
W/w
R_{total}
d)
W/w = 0.5; l/w = 2
δ/w
e)
W/w = 0.5
δ/w = 0.5
l/w
f)
Ca
g)
V/V_w
W/w = 0.00
W/w = 0.10
W/w = 0.25
W/w = 0.50

图25