



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103210079 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 22

(21) 申请号 201180047876. 6

C12M 1/38(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 08. 01

C12Q 1/68(2006. 01)

C12N 15/10(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/369, 925 2010. 08. 02 US

(56) 对比文件

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 04. 02

CN 101262948 A, 2008. 09. 10, 说明书第 28 页第 6 行— 29 页第 19 行、第 36 页、第 41 页第 15 行— 43 页第 28 行, 图 5、图 6.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2011/046156 2011. 08. 01

CN 101715429 A, 2010. 05. 26, 说明书第 5 — 7 段、第 23 — 25 段, 图 1.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/018741 EN 2012. 02. 09

US 5681741 A, 1997. 10. 28, 全文.

JP 2010130925 A, 2010. 06. 17, 全文.

WO 2009067518 A1, 2009. 05. 28, 全文.

CN 1720333 A, 2006. 01. 11, 全文.

(73) 专利权人 B · L · 韦特

地址 美国犹他州

专利权人 W · D · 比克莫尔 D · K · 西廷

审查员 刘红霞

(72) 发明人 B · L · 韦特 W · D · 比克莫尔

D · K · 西廷

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

公司 11245

代理人 赵蓉民 张全信

(51) Int. Cl.

C12M 1/34(2006. 01)

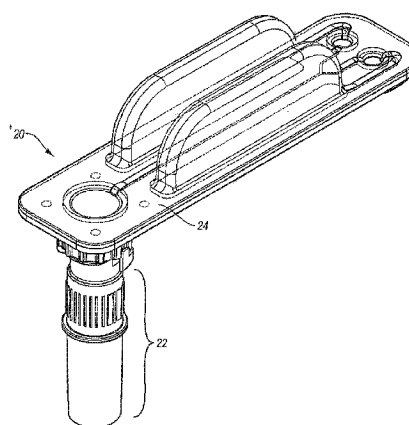
权利要求书1页 说明书9页 附图7页

(54) 发明名称

用于聚合酶链式反应的可增压筒

(57) 摘要

提供了结合进行聚合酶链式反应使用的方法和装置。描述了示例性样品处理模块, 其包括样品组件和 PCR 组件, 该样品处理模块被配置为在高于环境压力的压力下在其中容纳样品。样品在使用时被添加到样品组件中, 该样品组件然后被连接到 PCR 组件。筒的实施方式包括流动限制装置, 该流动限制装置能够或帮助在反应瓶内产生较高的压力。将样品引入 PCR 反应瓶, 该 PCR 反应瓶含有处理该样品以及如果该 DNA 在该样品中存在提供扩增的感兴趣 DNA 所必需的 PCR 反应混合物的所有成分。



1. 样品处理模块,其包括:

PCR 组件,所述 PCR 组件包括至少一个 PCR 反应瓶;

样品组件,所述样品组件被配置为在其中容纳流体样品,所述样品组件被联结到所述 PCR 组件以便形成封闭系统;

输送通道,所述输送通道在所述 PCR 组件中形成,所述输送通道与所述 PCR 反应瓶和所述样品组件流体连通;

增压装置,所述增压装置被配置为在所述样品组件中增加所述流体样品的压力并引导至少部分所述流体样品通过所述输送通道到达所述 PCR 反应瓶;以及

渗透膜,所述渗透膜与所述 PCR 反应瓶流体连通,所述渗透膜被配置为能够使所述压力的所述增加施加于被输送至所述 PCR 反应瓶的所述流体样品,和

密封的通风室,所述密封的通风室与所述 PCR 反应瓶流体连通,所述密封的通风室帮助获得所述 PCR 反应瓶内的期望压力。

2. 根据权利要求 1 所述的模块,进一步包括通风通道,所述通风通道与所述 PCR 反应瓶和所述密封的通风室流体连通。

3. 根据权利要求 1 所述的模块,其中所述密封的通风室防止气体直接排放到环境。

4. 根据权利要求 1 所述的模块,进一步包括与所述渗透膜相关联的支撑结构,所述支撑结构可操作以当所述渗透膜遭受所述渗透膜两侧之间的压力差时阻挡所述渗透膜的偏斜。

5. 根据权利要求 4 所述的模块,其中所述支撑结构包括在所述渗透膜内的承载负荷的纤维矩阵。

6. 根据权利要求 4 所述的模块,其中所述支撑结构邻近所述渗透膜一侧布置。

用于聚合酶链式反应的可增压筒

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2010 年 8 月 2 号提交的美国临时申请第 61/369,925 号的权益,整个该申请出于所有目的通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及聚合酶链式反应(PCR)实践中使用的循环变温器领域。

背景技术

[0004] 分子生物学领域中重要的工具是被称为“聚合酶链式反应”(PCR)的过程。PCR 从少量的遗传物质样品产生大量的遗传物质。

[0005] PCR 过程在含有下列 DNA 复制成分的小反应瓶中进行:待复制的 DNA 和通常在载流中携带的 PCR 反应试剂,所述 PCR 反应试剂包括被组装形成 DNA 的四种核苷酸、两种不同类型的被称为“引物”的合成 DNA(每条 DNA 互补链一种引物),以及被称为 DNA 聚合酶的酶。

[0006] DNA 是双链的。PCR 过程开始于将 DNA 的双链分成单个互补链,这个步骤被称为“变性”。这通常通过将 PCR 反应混合物加热至大约 94 到 96 摄氏度持续数秒到超过 1 分钟的时间段而完成。

[0007] 在将 DNA 分成单链后,将混合物冷却至大约 45 到大约 60 摄氏度(通常选定为低于引物将熔解的温度大约 5 度),以便允许引物在混合物中结合到 DNA 的每个对应单链。这个步骤通常被称为“退火”。退火步骤通常花费从大约几秒到高达几分钟之间的任何时间。

[0008] 接下来,将反应容器加热至大约 72 到 73 摄氏度,反应混合物中的 DNA 聚合酶在该温度发挥作用,以通过将核酸增加到引物上从而在单链上建立 DNA 的第二条链,使得形成与 DNA 的原始链相同的双链 DNA。这个步骤通常被称为“延伸”。延伸步骤通常花费几秒到几分钟来完成。

[0009] 这连续的三个步骤有时也被称为“阶段”,限定一个“循环”。PCR 循环的完成导致在反应瓶中使 DNA 的量加倍。重复循环导致在反应瓶中使 DNA 的量再一次加倍。通常,该过程被重复多次,例如 10 到 40 次,导致大量相同的 DNA 片段。进行 20 次循环产生超过一百万原始 DNA 样品的拷贝。进行 30 次循环产生超过十亿原始 DNA 样品的拷贝。“循环变温器”被用来使反应容器在期望的温度之间变动期望时间段的过程自动化。

[0010] 用于扩增的 DNA 必须从生物样品获得,其包括破坏生物组织、细胞壁、衣壳等,以便释放感兴趣的特定 DNA。在一些实例中,特定 RNA 是感兴趣的,尽管 RNA 必须被转变为 DNA 以便使用 PCR 进行扩增。

[0011] 当变性发生的温度范围接近载流的沸腾温度时,管理 PCR 反应的难题发生。例如,在较高海拔下,例如在像丹佛这样的城市中可见的,水——常用的载流——在 97 摄氏度下沸腾。将样品从大约 94 摄氏度加热到大约 96 摄氏度可能引起水汽气泡和 / 或溶解的气体形成。这些气泡在 PCR 期间造成难题,特别是依靠光学探测系统的那些系统。换句话说,光学探测系统发射光信号通过反应容器和样品。然而,气泡可以至少部分地阻塞和 / 或扭曲

和 / 或折射光信号,并且这样一来,降低信号质量和 / 或引入在光学探测器处接收的噪声。现有技术方案试图通过使用非常精确并且因此非常昂贵的热控制器以尝试并且阻止沸腾发生来解决这个问题,但常常具有有限的成功。

[0012] 气泡也可能在热循环过程之前存在,诸如随着样品流入反应容器而可在样品的湍流中形成的那些气泡或当样品进入反应容器时被捕集在反应容器内的气囊。这类气泡造成与温度循环期间产生的那些相同的问题。

[0013] 另外,流体内气泡的存在和发展改变该流体的体积。这在当温度循环期间气泡体积变化比流体和样品体积变化更加显著时发生。气泡体积的变化导致流体和携带的 DNA 样品流入和流出反应容器。流体这种流入和流出反应容器可以改变和 / 或稀释反应容器内 DNA 样品和 / 或 PCR 反应试剂的浓度。

[0014] 因此,存在对改进信号质量的 PCR 过程和系统的需要。另外,存在对减少样品内气泡存在的 PCR 系统的需要。

发明内容

[0015] 传统的 PCR 系统和方法需要使用实验室设备和熟练技术人员。本发明涉及这样的方法和装置,其可以减少对实验室设备和熟练技术人员的需要并且甚至可以在不存在熟练技术人员的场地的应用中使用。

[0016] 描述示例性样品处理模块,其包括样品组件和 PCR 组件。在使用时将样品添加到样品组件中,然后将该样品组件连接到 PCR 组件。将样品引入 PCR 组件内的 PCR 反应瓶中,该 PCR 反应瓶含有处理该样品以及如果 DNA 存在于该样品中提供扩增的感兴趣 DNA 所必需的 PCR 反应混合物的所有成分。

[0017] 本发明的实施方式包括:PCR 反应瓶组件内的样品可通过使用流动限制装置而增压超过环境压力。流动限制装置与至少一个 PCR 反应瓶流体连通。流动限制装置的一个实施方式包括渗透膜,该渗透膜至少部分允许至少第一流体穿过该膜并且至少部分阻止至少第二流体流动穿过该膜。流动限制装置的另一实施方式包括各种类型的阀。

[0018] 参照如下描述和所附权利要求,本发明的这些和其它目标以及特征将变得更加显而易见,或可以通过如下文中提出的发明实践而了解。

附图说明

[0019] 为进一步阐明本发明的上述和其它优点与特征,通过参考在附图中图解的其具体实施方式,进行本发明更具体的描述。应当理解,这些附图仅仅描绘本发明的典型实施方式,并且因此不被认为限制其范围。通过使用附图,描述和解释本发明的额外的特征和细节,其中:

[0020] 图 1 是样品处理模块实施方式的透视图。

[0021] 图 2 是样品组件的侧视图。

[0022] 图 3 是沿图 2 的剖面线 3-3 取的横截面侧视图。

[0023] 图 4 是图 2 的样品组件和棉签 (swab) 的侧视图。

[0024] 图 5 是图 2 的样品组件和棉签的另一个侧视图。

[0025] 图 6 是 PCR 组件的透视图。

- [0026] 图 7 是图 6 的 PCR 组件的俯视图。
- [0027] 图 8 是图 6 的 PCR 组件的横截面侧视图。
- [0028] 图 9 是图 6 的 PCR 组件的仰视图。
- [0029] 图 10 是图 1 的样品处理模块和任选关联结构的侧视图。
- [0030] 图 11 是图 6 的 PCR 组件的实施方式的部分截面图。
- [0031] 图 12 是图 6 的 PCR 组件的实施方式的部分俯视图。
- [0032] 图 13 是对应于图 12 的仰视图。
- [0033] 图 14 是 PCR 组件的另一实施方式的横截面图。
- [0034] 图 15 是沿图 2 的剖面线 3-3 取的样品组件的另一个实施方式的横截面侧视图。

具体实施方式

[0035] 聚合酶链式反应是用作多种活动的前体的重要工具,所述多种活动诸如鉴定样品中小量的特定遗传物质、测定样品中存在多少遗传物质或产生足够的用于各种应用的遗传物质。

[0036] 传统的循环变温器采取多种形式。最常用的循环变温器使用放入大的固体导热块中的多个样品瓶。每个瓶手动加载期望被扩增的样品 DNA——在下文中有时也被称为“模板 DNA”——和聚合酶链式反应必需的化学成分。PCR 过程的步骤在实验室由熟练的技术人员进行。

[0037] 参照图 1,本发明提供简化 PCR 过程的样品处理模块 20,其各方面在 2007 年 12 月 17 号提交并且题目为“PCR Sample Processing Module (PCR 样品处理模块)”的共同未决的美国专利申请第 11/958,332 号中公开,其出于所有目通过引用以其整体并入本文。样品处理模块 20 包括样品组件 22 和 PCR 组件 24。样品组件 22 用于收集和任选地处理生物样品、模板 DNA 或模板 RNA。PCR 组件 24 用于进行模板 DNA 的 PCR 扩增。

[0038] 图 2 是样品组件 22 在被连接到 PCR 组件 24 之前的侧视图。如在沿图 2 的剖面线 3-3 取的样品组件 22 的横截面视图中更容易看见的,图 3 示出样品组件 22 具有主体 26,该主体 26 包含圆柱内腔 28,其具有用于接收生物材料样品或含有模板 DNA 或 RNA 的溶液诸如载流的开口端 31。样品组件 22 有利地设置有可拆卸的螺帽 34,以便在使用之前保护腔 28 免受污染并且在样品放入腔 28 内之后但在样品组件 22 被固定到 PCR 组件 24 前紧闭内容物,所述螺帽 34 具有与样品组件 22 的主体 26 上的对应的主体螺纹 17 配合的帽螺纹 33。当然,可以使用将主体 26 配合到盖 34 和 PCR 组件 24 的其它方式,诸如摩擦配合、密封件、扣钩、碰锁等,均落于本公开的范围。腔 28 的上端可以设置有防溅污结构 36。

[0039] 腔 28 的底端由可移动活塞 30 密封,可移动活塞 30 在其上端配备有防止腔内容物漏出的密封件 32。可移动活塞 30 被机械地连接到线性致动器 38,线性致动器 38 沿轴 39 将可移动活塞 30 移入或移出腔 28。在一些实施方式中,线性致动器被手动致动,诸如使用者压下活塞(未示出)。在其它实施方式中,线性致动器 38 被连接到控制器 35,控制器 35 产生移动信号并将其传递到线性致动器 38,线性致动器 38 可以包括任意各种类型的电动机、螺杆驱动器(screw drive)和等同系统。控制器 35 可以是具有为实现所描述动作而写入的程序的通用计算机,和/或它可以是特定指令计算机或芯片。任选地,在给定的时间段后,控制器 35 停止发送移动信号和/或传递停止信号,可计算在给定的时间段内行进的距离以

得到线性致动器 38 移动可移动活塞 30 的速率。

[0040] 任选地,可操作地连接到样品组件 22 和 / 或 PCR 组件 24 (图 8)的压力传感器 41 被连接到控制器 35。任选地,压力传感器 41 被配置为产生反映腔 28 和 / 或 PCR 组件 24 的一个或多个区域诸如 PCR 反应瓶 56 (图 8)中的压力的压力信号,并将该压力信号传递到控制器 35。控制器 35 响应压力信号停止发送移动信号和 / 或将停止信号传递到线性致动器 38。任选地,配置为探测由线性致动器 38 作用于可移动活塞 30 的力并产生表示该力的力信号的测力计 43 被连接到控制器 35。测力计的实施方式包括电力、机电、机械开关和当所选力或目标力满足时改变状态的二进制装置。测力计 43 将力信号传递到控制器 35。控制器 35 响应力信号停止发送移动信号和 / 或将停止信号传递到线性致动器 38。

[0041] 除了可移动活塞 30,图 15 中图解的样品组件 122 的另一个实施方式包括柔性膜或气囊 132,柔性膜或气囊 132 并入或被机械地连接到样品组件 122 的主体 126。柔性膜 132 与可移动活塞 30 类似地起作用,因为柔性膜向内朝样品组件 122 的腔 128 偏斜,并且这样一来推动样品进入 PCR 组件 24,如下描述。与由可移动活塞 30 相对于主体 26 提供的密封相比,使用柔性膜 132 的潜在优点是其可以降低柔性膜 132 连接到主体 126 的界面处较高压力下发生泄漏的风险。通过使用施加于柔性膜 132 的空气压缩或其它力作为线性致动器 38 的替代,使柔性膜 132 向内偏斜。

[0042] 样品组件 22 可以用溶液或干燥的成分、反应物、基本化学试剂诸如脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)等预加载,或可以被设置为空的直至使用。尽管模板 DNA 可以放入样品组件 22 用于 PCR 样品处理模块 20,但考虑样品组件 22 可以使用完整生物样品。图 4 和 5 描绘使用棉签 38,棉签 38 被用来例如从患者咽喉收集生物样品。棉签顶端 40 可以在削弱区域 42 处与棉签 38 分开,这允许棉签顶端 40 落入样品组件 22 的腔 28 内。样品组件 22 然后可以经受超声处理以便根据 2007 年 12 月 17 日提交且并题目为“Ultrasonic Release of DNA and RNA (DNA 和 RNA 的超声释放)”的共同未决的美国专利申请第 11/958,299 号的方法和装置从生物样品中释放 DNA 和 RNA,该申请的公开内容出于各种目的以其整体通过引用并入本文。

[0043] 图 6-9 和 11-13 描绘图 1 的 PCR 组件 24 的不同视图。PCR 组件 24 设置有接口 44,其与在图 3 中最佳示出的样品组件 22 的开口端 31 和主体螺纹 27 配合。正如在图 8 中最佳所见的,提供密封元件 46 诸如 O 型圈(密封圈,0-ring)、橡胶垫片等以作为 PCR 组件 24 与样品组件 22 之间的密封件起作用。

[0044] 优选地,接口 44 和样品组件 22 设置有图 9 中示出的锁定结构 48,在样品组件 22 被固定到 PCR 组件 24 后,该锁定结构 48 防止样品组件 22 脱离,以便防止样品组件的内容物随后暴露于样品处理模块 20 的使用者或操作者,当处理剧毒物质时这个特征尤其是期望的。例如,锁定结构 48 任选地包括疾齿凹口(ratchet notch),该疾齿凹口与样品组件 22 上的凸缘 50 (见图 5)接合,以便允许样品组件 22 与 PCR 组件 24 密封附连,但在此后防止样品组件 22 从 PCR 组件 24 脱离。

[0045] PCR 组件 24 中的流体管道 47 提供样品组件 22 的腔 28 内含有的流体和样品行进的路线。过滤器 52 被设置在流体管道 47 上以防止固体物质从样品组件 22 进入 PCR 组件 24 的流体输送通道 54。换句话说,通过将可移动活塞 30 向上升高入腔 28,推动样品组件 22 的腔 28 内含有的溶液——所述溶液含有待被扩增的模板 DNA——通过过滤器 52 并进入

输送通道 54,使得将溶液从腔 28 注射进输送通道 54。输送通道 54 将样品溶液从样品组件 22 运送到一个或多个 PCR 反应瓶 56。所示的 PCR 组件 24 示出使用两个 PCR 反应瓶 56,每个反应瓶经由在参考数字 54a 处所示的输送通道 54 中的分支而被提供样品。

[0046] 优选地,在将样品组件 22 附连到 PCR 组件 24 之后,将样品处理模块 20 永久地固定到适当位置,以便防止释放潜在危险物质。由于这导致封闭的不通风空间——其总体体积随着可移动活塞在腔 28 内推进而减小,优选提供一个或多个气室用于容许体积的减小而不阻止溶液从样品组件 22 流到 PCR 反应瓶 45,并且该气室也用作 PCR 反应瓶 56 内形成的气泡的通风位置。所示的实施方式出于这个目的使用通风室 58,通风室 58 通过通风通道 60 与 PCR 反应瓶 56 连通,但是通风室 58 在其它方面是密封的。

[0047] 尽管图 6-9 示出对每个 PCR 反应瓶 56 使用独立的通风室 58,但应当理解这不是必需的并且其他构造能够提供与通风室 58 相同的功能。例如,并且将在下面讨论的,图 14 中示出的 PCR 组件 124 的实施方式任选地完全摒弃通气室而提供了可将气体直接排放到环境的结构。

[0048] 优选地,每个 PCR 反应瓶 56 含有冻干的珠 62,冻干的珠 62 包括扩增从样品组件 22 供应的模板 DNA 所需的多种成分,在下文中被称为“PCR 反应混合物”。冻干的珠 62 内的 PCR 反应混合物将包括扩增模板 DNA 必需的引物、聚合酶、dNTP 和其它必需的成分。如果更方便或如果 PCR 反应混合物的各种成分需要在使用之前彼此分开,则可以提供超过一种的冻干珠 62。

[0049] 取决于待被扩增的模板 DNA,PCR 反应混合物将不同。由于 PCR 组件 24 以预加载的形式因素 (form factor) 提供,应当贴上识别该预加载的 PCR 组件的标签。图 8 和 9 示出使用射频识别 (RFID) 标签 64,射频识别 (RFID) 标签 64 也可以被用来向使用样品模块的循环变温器提供信息。最佳运行条件和协议——诸如由控制器 35 使用的那些——可以不同,这取决于模板 DNA 或 PCR 反应混合物的成分,因此 RFID 识别信息也可以被用来选择循环变温器程序,该循环变温器程序可以包括关于诸如目标温度和循环次数的参数的指令,这些参数对于 PCR 反应混合物的内含物是最佳的。

[0050] 实时监测并控制 PCR 是优选的。图 7 描绘提供透镜 66 以帮助直接视觉观察 PCR 反应瓶 56 的内容物。图 10 描绘使用激发光源 68 和照片接收器 70,激发光源 68 用于激发 PCR 反应混合物的荧光成分,照片接收器 70 通过透镜 66 监测荧光发射物。题目为“Fluorescence Detection System (荧光探测系统)”的共审未决的美国专利申请公开申请第 US2006/0152727 号包括可实现供 PCR 组件 24 使用的荧光探测系统的额外细节,该申请出于所有目的以其整体通过引用并入。题目为“Methods and Apparatus for Controlling DNA Amplification (控制 DNA 扩增的方法和装置)”的共同未决的美国专利申请公开第 US2006/018889 号提供关于利用来自光学探测系统的实时信息控制 PCR 的信息,该申请出于所有目的以其整体通过引用并入。

[0051] 如上所述,气泡可能随着样品和载流在填充反应瓶 56 期间和 / 或在温度循环过程期间形成,特别是如果样品和载流的蒸汽压接近变性过程发生的温度,因此增加了非故意使样品沸腾的风险。例如,典型地,理想变性温度为大约 94 摄氏度到大约 96 摄氏度。然而,例如,在科罗拉多州丹佛的海拔高度的城市,水的沸点大约为 97 摄氏度。因此,为避免在 PCR 反应在丹佛进行期间非故意使样品沸腾,需要使用非常精确并且因此非常昂贵的热

控制系统。另外,由于载流将溶解的气体保留在溶液中的能力在温度循环的加热阶段期间降低,溶解气体的气泡可能在温度循环过程期间从溶液中出来。此外,流体内气泡的存在和发展改变该流体的体积。当在温度循环期间,气泡体积变化明显大于流体和样品体积变化时,这种情况发生。气泡体积的改变导致流体和携带的 DNA 样品流入和流出反应容器。流体流入和流出反应容器可改变和 / 或稀释反应容器内 DNA 样品和 / 或 PCR 反应试剂的浓度。

[0052] 这些气泡在精度复制与分析经历 PCR 反应的样品方面造成若干潜在的困难。举例来说,已经发现气泡常常在透镜 66 下方形成,并且这些气泡可导致照片接收器 70 不准确读取。

[0053] 为了管理和减轻气泡形成后任何气泡可能存在的影响,图 11-13 描绘透镜 66 的构造和关联结构,该关联结构可用于引导气泡远离透镜,使得不妨碍读取的准确性。图 11 示出使用在反应瓶 56 之上的 PCR 组件的结构中形成的成角度部分 80。这个成角度部分 80 用于引导气泡远离透镜 66 之下的区域,并朝向连接的通向通风室 58 的通风通道 60。如参照图 11 和 13 最佳可见的,使用泪珠形腔 82 进一步有助于引导气泡朝向通风通道 60。

[0054] 在第一实例中,尽管成角度部分 80 在气泡形成后起领导和引导气泡远离透镜 66 的作用,但是希望减少产生的气泡的数量。此外,希望在气泡形成后减小任意单个气泡的体积。这样,成角度部分 80 领导和引导产生的气泡的效率可能被改进。

[0055] 申请人已经发现,在反应瓶 56 下游和反应瓶 56 与通风室 58 之间包括任选的流动限制装置 57(图 6 和 8)。在一个实施方式中,图 6 和 8 中的流动限制装置 57 是被密封——诸如通过加热、激光、超声波等焊接——到 PCR 组件 24 的渗透膜。在图 6 和 8 中示出的实施方式中,每个渗透膜 57 与相关联的通风室 58 的长度和宽度基本上是相同的。当然,应理解渗透膜 57 的尺寸可以适当地选择。另外,渗透膜的位置可以位于不同的位置处,其包括在通风通道 60 的内径之内。

[0056] 在另一个实施方式中,渗透膜 157 可以形成反应瓶 56 的壁 55 的至少一部分,如在图 11 中所示的。渗透膜 157 形成壁 55 的一部分的实施方式的优点是其可以在填充和 / 或增压过程期间防止 PCR 反应物、样品和 / 或载流被冲刷或稀释到反应瓶 56 外。此外,从溶液中出来的任何气泡可以经过渗透膜并进入通风通道 60。

[0057] 渗透膜 57 的实施方式的特征是其是可选择性渗透的。换句话说,渗透膜 57 对所选流体是可渗透的,诸如水蒸汽以及从样品和载流的溶液中出来的之前溶解的气体。同时,渗透膜阻止和 / 或防止其它流体诸如水、载流以及其它液体流动经过渗透膜 57。因此,气体能够流动通过渗透膜 57 并进入通风室 58,而样品和载流被保留在反应瓶 56 内和取决于渗透膜 57 的位置在通风通道 60 内。

[0058] 任选地,膜 57 和它的其它实施方式包括当在渗透膜 57 两侧之间存在压力差时最小化或减少渗透膜 57 的任何膨胀或偏斜的框架或结构 59,如图 6 所示的。渗透膜 57 的偏斜如果未被制止,可能引起通风室 58 的相对体积与通风室 58 上游的体积(即反应瓶 56 和相关联的流体通道)的扭曲或改变。换句话说,随着渗透膜 57 使大部分的载流膨胀并且样品流动通过反应瓶 56,这可能造成大部分的任意 PCR 反应物被冲刷到反应瓶 56 外并进入通风通道 60。相对体积的这种变化可能需要更高或更低的流体压力,并因此比期望获得所选压力更多或更少的流体。因此,框架或支撑结构 59 诸如肋或格构(lattice)任选地被插入渗透膜内或渗透膜 57 的一侧或两侧上。当渗透膜 57 遭受其两侧之间的压力差时,支撑结

构 59 阻挡渗透膜 57 偏斜。在一些实施方式中,除了物理结构 59,渗透膜 57 任选地包括承载负荷的纤维矩阵和改进渗透膜的弹性和刚度的其它类似增强。

[0059] 流动限制装置的另一个实施方式是图 12 中示出的位于通风通道 60 内的阀 67,以及任选地,位于流体输送通道 54 内的阀 69。阀可以由使用者或来自控制器 35 的命令选择性地操作以部分地和 / 或完全地打开以及选择性地关闭阀。在任何气体已被排放到通风室 58 后关闭阀 67 允许超过环境的压力施加于反应瓶 56 内的样品,这将在下面更详细地被描述。阀的实施方式包括由弹性体元件制成的那些阀。

[0060] 流动限制装置允许压力施加于反应瓶 56 内包含的样品和载流。换句话说,反应瓶 56 内的压力可以维持在环境压力之上,诸如从大约大气 / 环境压力到环境压力之上大约 80 磅每平方英寸 (psi),并且在一些实施方式中,压力甚至更高。在其它实施方式中,流动限制装置提供维持反应瓶内的压力从环境压力之上大约 15psi 到 60psi 的能力。

[0061] 在包含渗透膜 57 的流动限制装置的实施方式中,以如下方式提供压力。如上所述,线性移动可移动活塞 30,推动样品和携带的载流流动通过流体输送通道 54,进入反应瓶 56,流过通风通道 60 直至其到达渗透膜 57。样品和载流内的气体、空气和其它气泡通过渗透膜,同时该样品和载流挤压渗透膜 57。超过环境的压力可以在反应瓶 56 内通过使可移动活塞 30 进一步前进而产生。如上面讨论的,可移动活塞 30 的运动可以由控制器响应不论样品组件 22 和 / 或反应瓶 56 处的力信号或压力信号进行控制。换句话说,使流体相对于渗透膜 57 加压用作探测何时所选体积或量的样品和载流已进入反应瓶 56 的方法,因为任意气体将已经透过渗透膜 57 并进入通风室 58。当这发生并且流体到达渗透膜 57 而不能穿过该渗透膜时,立即发生压力的可探测的增加。在一些实例中,压力增加可能是相当突然的,从而表明 PCR 组件 24 被充分填充以进行 PCR 反应。因此,压力上升部分用作探测样品和载流何时到达渗透膜 57 的方法。

[0062] 相对于渗透膜 57 使样品和载流加压的另一个益处是测得的压力和 / 或力的稳定性用作探测泄漏的方法。换句话说,如果在可移动活塞 30 处测得的压力和 / 或力减小,则是暗示泄漏的指示,该泄漏允许流体从样品组件 22 和 PCR 组件 24 中的至少一个中漏出。这样的指示将允许使用者调查原因、运行新的样品和 / 或采取其他补充措施,特别是如果待测样品是危险性的话。

[0063] 另外,通风室 58 的体积可以部分调整以获得反应瓶 56 内的期望压力和由迁移到通风室 58 内的任何气体在通风室 58 内产生的压力。换句话说,在一些实施方式中,通风室 58 的体积是样品组件 22 的腔 28 和反应瓶 56 的尺寸与通风室 58 和反应瓶 56 中获得的期望或所选压力以及样品和载流的类型以及反应容器内发生的反应的函数。通过当使用时校准通风室 58 和反应瓶 56 的体积和每个内的压力,可以管理和优化横跨渗透膜 57 的压力差,以改进渗透膜 57 的效率,并确保该压力差不超过渗透膜 57 的设计限制。

[0064] 在一些实施方式中,通风室 58 的体积充分小,使得气体进入通风室 58——如上面讨论的,产生足够的背压以便消除对流动限制装置如渗透膜 57 或阀 67 的需要。在这样的实施方式中,通风室 58 的设计是使通风通道 60 向上弯曲并离开进入通风室 58,产生 U 型管静水压力效应。在气体到达通风室 58 后,U 型管防止气体迁移回到反应瓶 56 中。

[0065] 在反应瓶 56 内对样品和载流施加超过环境的压力提供若干益处。例如,在反应瓶 56 中对样品施加压力增加样品和载流的沸腾温度。因此,在之前针对科罗拉多州丹佛的描

述的实例中,不加压的样品在大约 97 摄氏度沸腾,这个温度非常接近从大约 94 摄氏度到大约 96 摄氏度的所选变性温度。然而,压力下的样品在更高的温度下沸腾,并且取决于压力,有时显著高于 97 摄氏度。换句话说,因为沸腾温度被提高显著远离期望的变性温度,所以摒弃 (forego) 非常精确并且因此非常昂贵的温度控制方法是可能的。这样,由于溶液的沸腾或从溶液中出来而可能不利地产生的气泡不被产生,并且因此避免如上面所讨论的气泡对光学扫描系统造成的问题。

[0066] 建立如所公开的可增压筒 (增压柱体,pressurizable cartridge) 的另一个优点是样品和载流被维持的较高压力减小存在的气泡的尺寸,并减少这些气泡的体积随着温度循环过程发生而产生的变化。如上所述,气泡体积的变化引起泵送行为,通过该泵送行为样品和载流可以通过改变气泡体积移进或移出反应瓶。因此,使用压力使气泡的体积最小化减小可能导致反应瓶 56 中 PCR 反应物稀释的该泵送行为。另外,减小气泡的体积减少了那些气泡对光学扫描系统的影响。换句话说,较小气泡将造成荧光探测系统使用的光信号中的较少噪声,如上面所讨论的。

[0067] 另一个优点是反应瓶 56 任选地由薄塑料制成并具有锥形的形状,以确保与被用来在温度循环过程期间加热和冷却反应瓶 56 和其中样品的加热 / 冷却块的良好接触。在反应瓶 56 内以较高压力容纳样品和载流引起反应瓶 56 的薄塑料壁 55 (图 11) 轻微膨胀并更紧紧地挤压加热和冷却块,因此改进向其传热和温度循环过程的效率。

[0068] 图 10 描绘与样品组件关联的声传感器 72 的任选使用。2007 年 12 月 17 日提交的并且题目为“Ultrasonic Release of DNA and RNA (DNA 和 RNA 的超声释放)”的共同未决的美国专利申请第 US11/958,299 号出于所有目的通过该引用以其整体并入,并且公开了利用声能从生物材料释放 DNA 或 RNA 的方法和装置。

[0069] 如已描述的,PCR 过程对 DNA 操作。当必需探测 RNA 而不是 DNA 时,在使用 PCR 之前,必须将 RNA 首先转变为 DNA。2007 年 4 月 9 号提交、题目为“Rapid Reverse Transcription of PCR (PCR 的快速逆转录)”并且通过引用以其整体并入本文的共同未决的美国专利申请第 11/733,035 号公开了用于从模板 RNA 形成模板 cDNA 的方法和装置,并且进一步公开了将这个过程的适当成分并入 PCR 反应混合物并在 PCR 之前进行转录步骤。

[0070] 任何合适的循环变温器可被用于使样品和 PCR 反应混合物达到期望的 PCR 目标温度,但是目前优选使用在与此同时提交的并且名称为“Rapid Thermocycler (快速循环变温器)”的美国专利申请第 11/697,917 号中公开类型的循环变温器,该申请通过引用以其整体并入本文。

[0071] 本发明的方法和装置允许以多种形式因素进行样品处理,该形式因素基于任意期望数量的样品、可携带要求、可使用的 PCR 探测组件的类型、待使用的化学成分、处理条件和步骤以及基于此处所教对普通技术人员将是显而易见的其它特征而被优化。

[0072] 应理解,用于描述本发明的示例性实施方式的各种方面的附图是这些示例性实施方式的概略和示意图,并且不限制本发明,它们也不必按比例绘制。此外,已给出在以上描述中提出的具体细节,以便提供本发明的彻底理解,但是对本领域技术人员显而易见的是本发明可以在不具有这些具体细节或具有不同细节的情况下实施。在许多方面,PCR 和循环变温器的公知方面已被以具体细节描述,以便避免不必要地模糊本发明。

[0073] 在不违背本发明的精神或必要特征的情况下,本发明可以以其它具体形式体现。

所描述的实施方式在所有方面仅仅被认为是示范性的和非限制性的。因此,本发明的范围由所附权利要求指出,而不是由上述描述指出。权利要求的等同性的含义和范围内出现的所有变化被包含在它们的范围内。

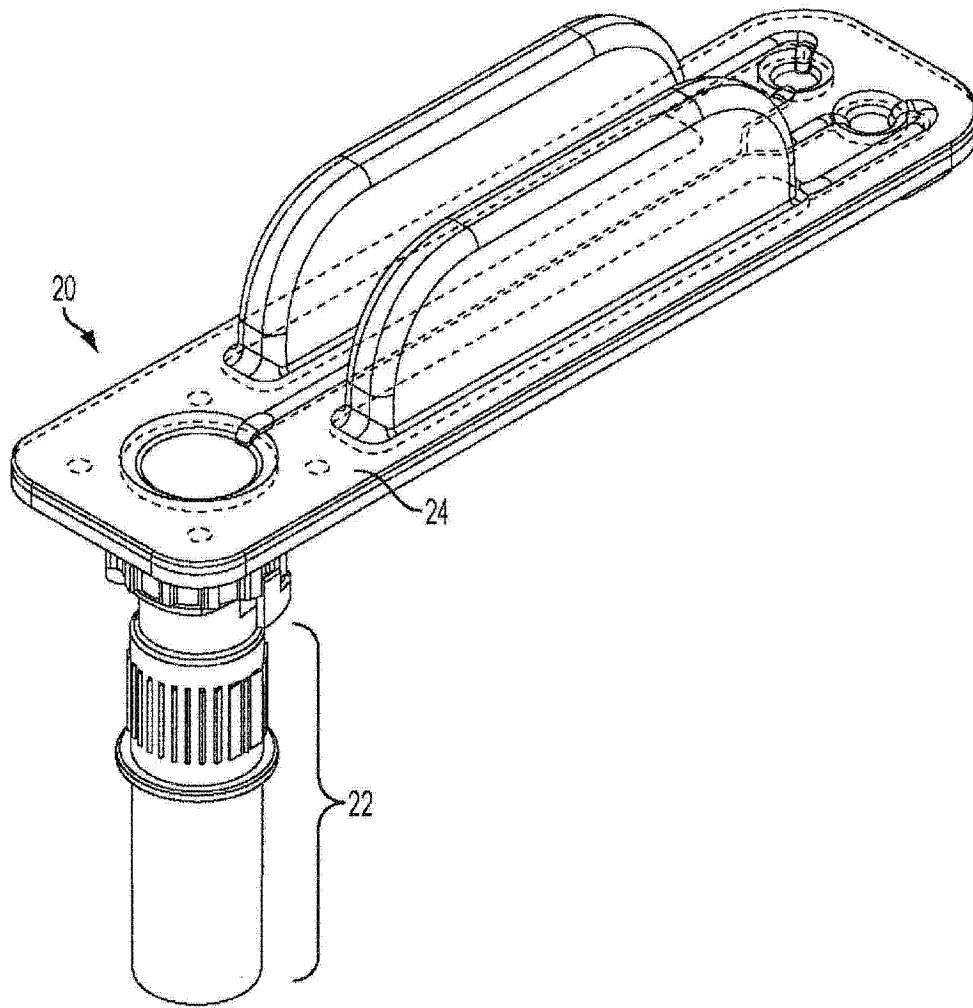


图 1

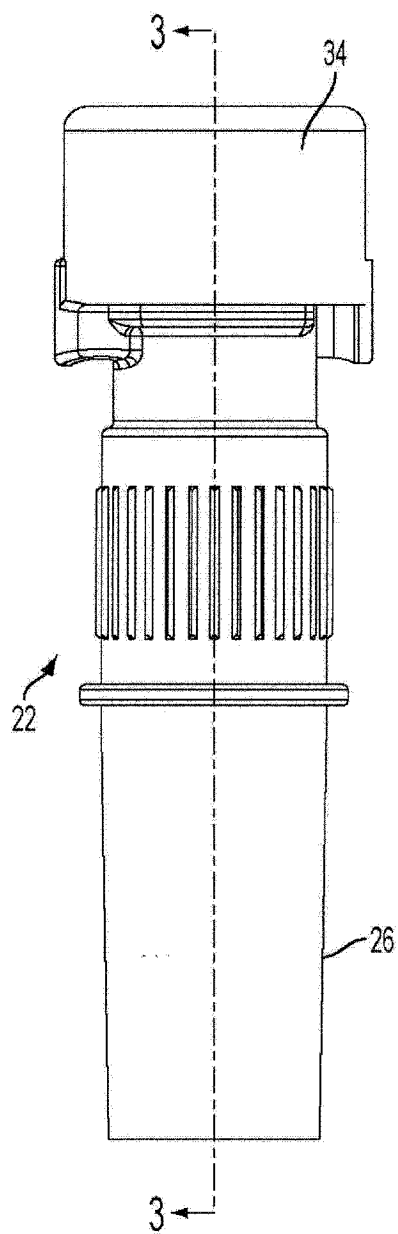


图 2

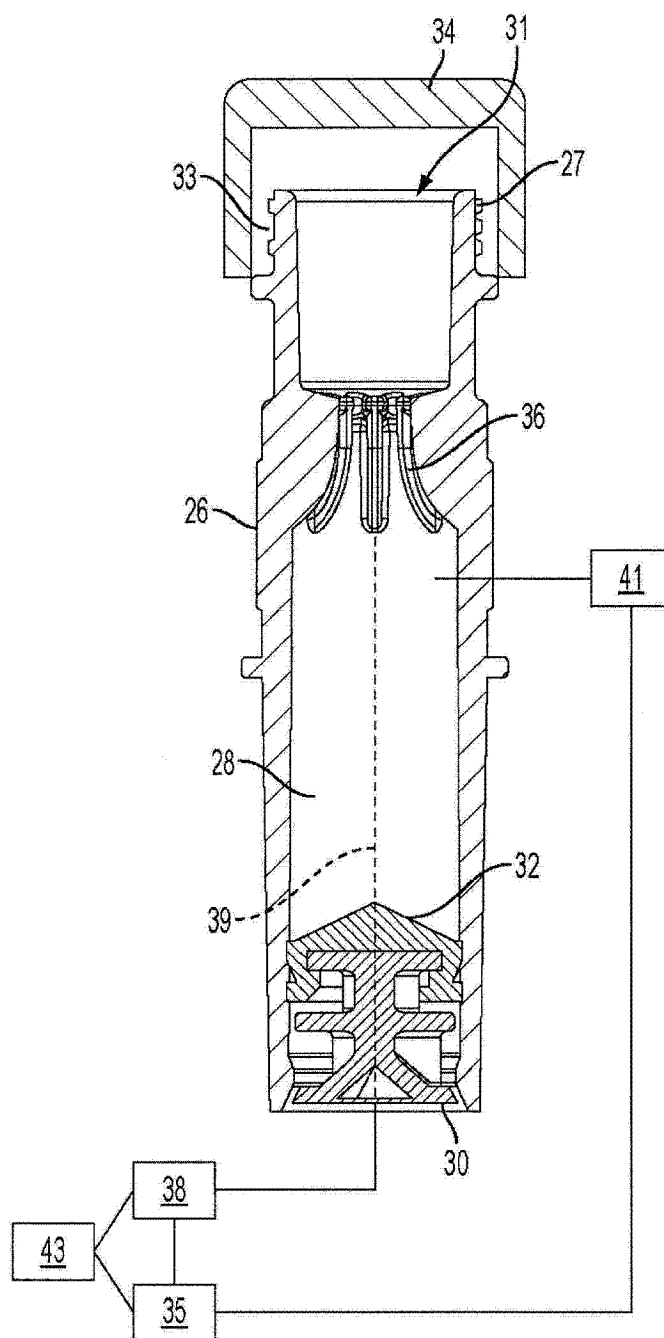


图 3

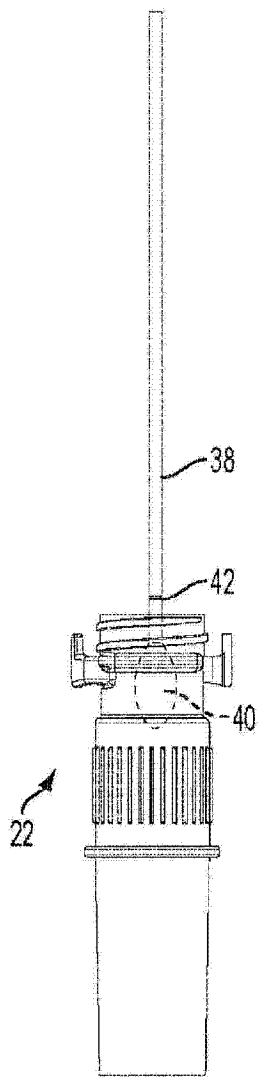


图 4

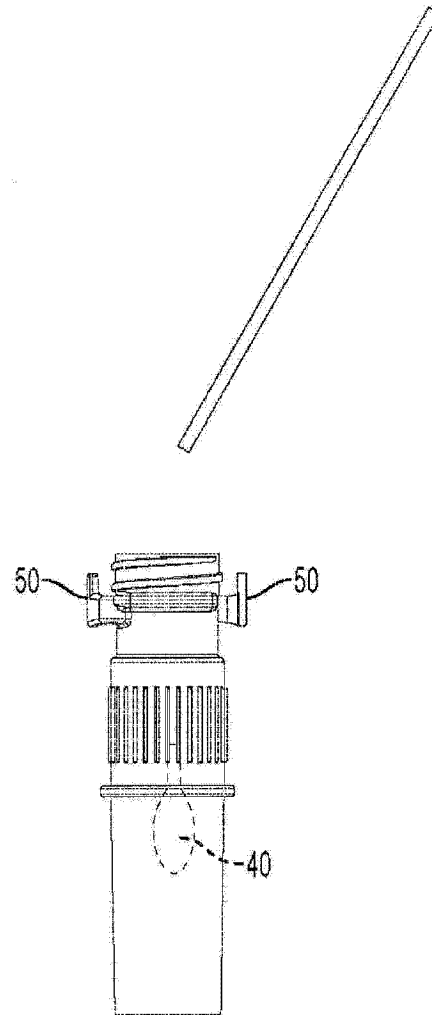


图 5

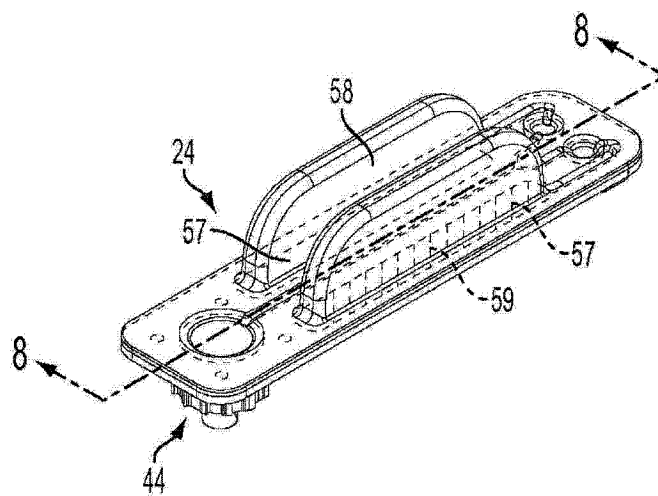


图 6

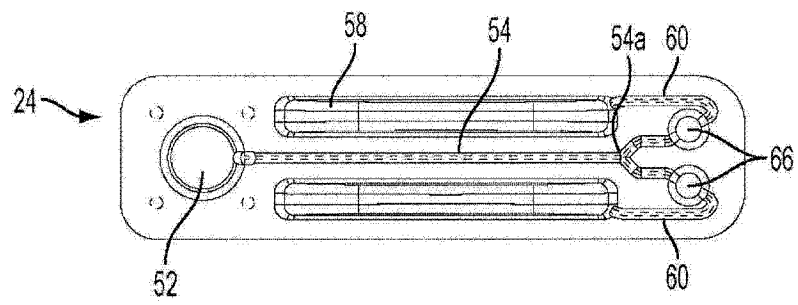


图 7

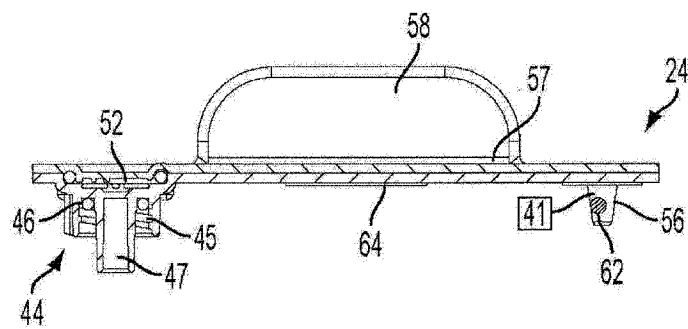


图 8

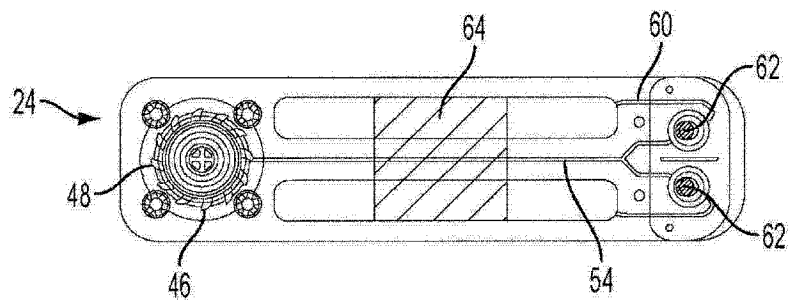


图 9

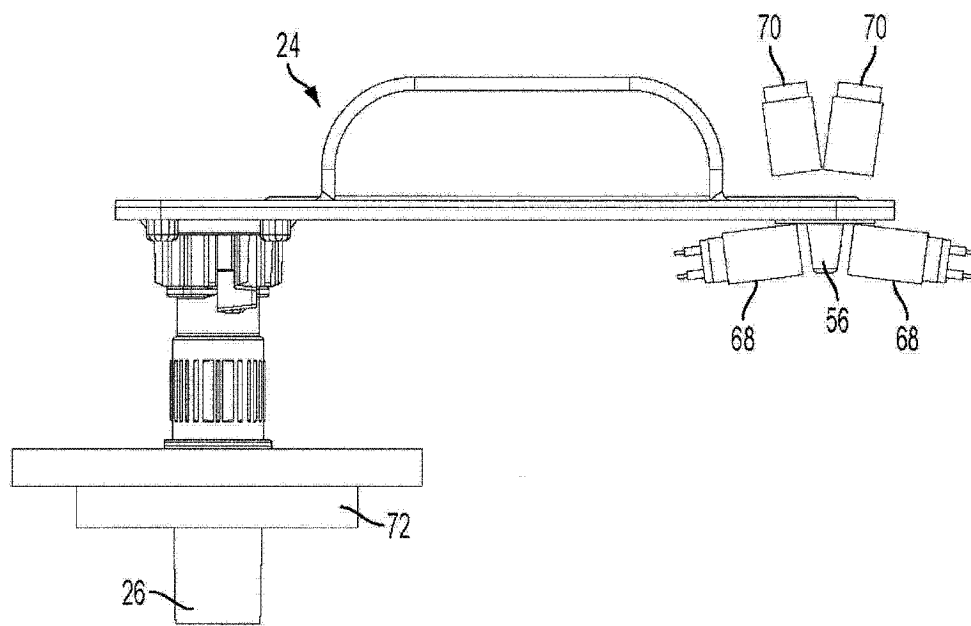


图 10

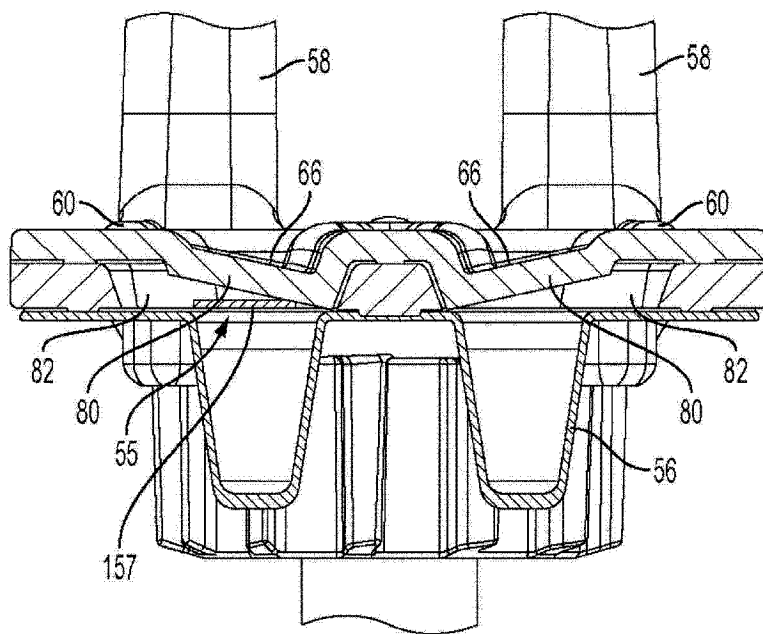


图 11

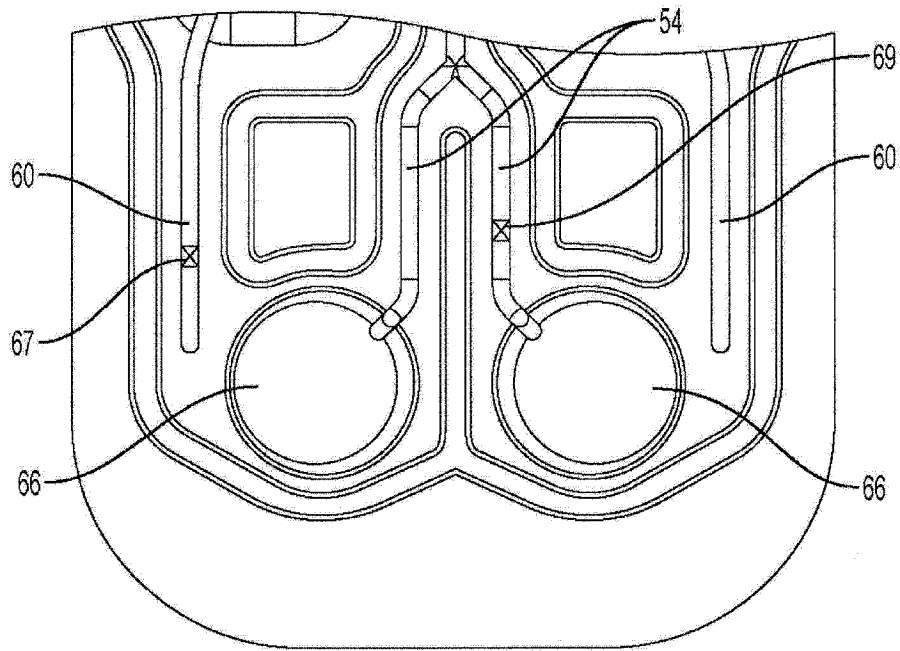


图 12

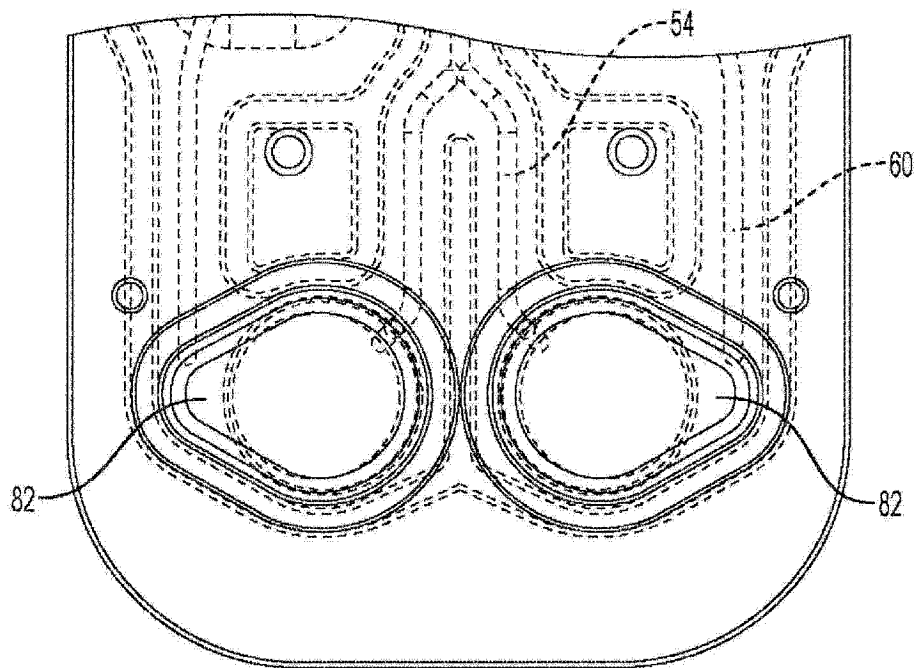


图 13

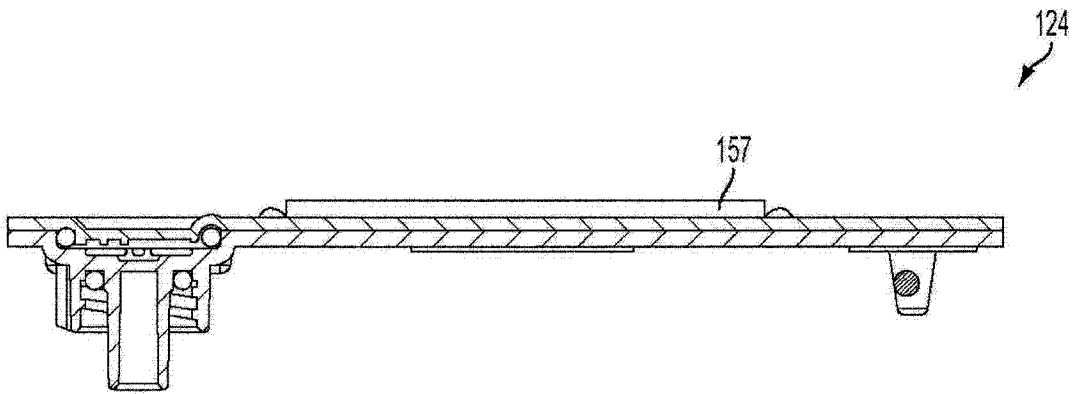


图 14

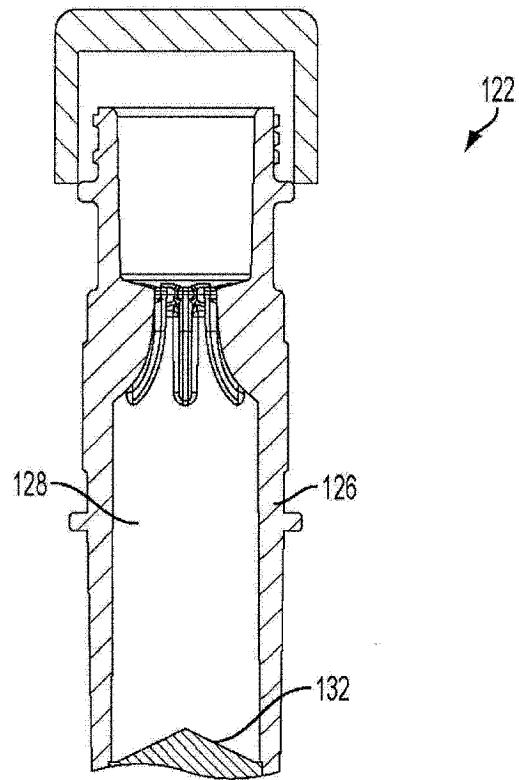


图 15