(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101606063 B
(45)授权公告日 2014.01.15

(21)申请号 200780048349.0

(22)申请日 2007.12.20

(30)优先权数据
356195/2006 2006.12.28 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2009.06.26

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2007/075230 2007.12.20

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2008/081912 EN 2008.07.10

(73)专利权人 佳能株式会社
地址 日本东京

(72)发明人 青柳孝阳 牧平朋之

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 钱亚卓

(51)Int.Cl.
G01N 33/543(2006.01)
G01N 33/53(2006.01)
G01N 37/00(2006.01)
C12M 1/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 1597119 A,2005.03.23, 权利要求1,4,16,19,22,26-34,说明书第11页第12段至第14页第4段,实施例1-6,图1-4.
US 5922604 A,1999.07.13, 说明书第5栏第40行至第8栏第34行,图1-4.
JP 2006322822 A,2006.11.30, 说明书第76至97段,图7-12.
EP 1473085 A1,2004.11.03, 全文.

审查员 胡晓佳

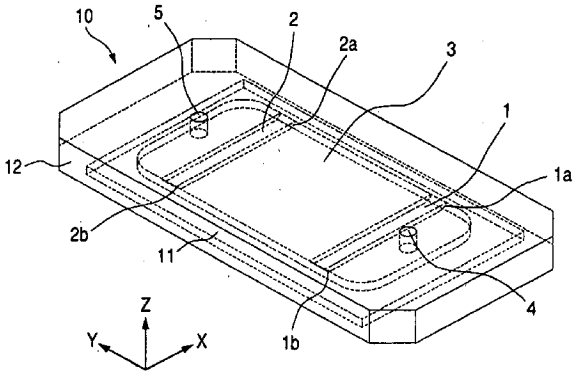
权利要求书2页 说明书9页 附图7页

(54)发明名称

生化反应盒

(57)摘要

本发明提供了一种生化反应盒,其具有用简单的额外布置实现反应室中的液体流均匀化的结构。流体阻力段被布置在被构造成包括注入口、反应室和排出口的通道中。所述流体阻力段减小所述通道的横截面面积,以便在流速被降低的所述流体阻力段的宽度方向上的端部和远离所述注入口和排出口的位置处减小流体阻力。



CN 101606063 B

1. 一种用于检测目标物质的生化反应盒 (10)，所述生化反应盒包括：用于使试样与探针固定区域 (13) 接触以检测目标物质的反应室 (3)；用于将试样注入反应室的注入口 (4)；用于将试样从反应室中排出的排出口 (5)；和设置在被构造成包括所述注入口、所述反应室和所述排出口的通道中的流体阻力段 (1,2)，所述流体阻力段减小所述通道的横截面面积，其中：

所述流体阻力段具有在设置所述流体阻力段的部分中提供流体阻力差异的结构，使得在所述通道的宽度方向上的至少一个端部的流体阻力低于其他部分的流体阻力，以及

其中，所述流体阻力段包括流体阻力在所述通道的宽度方向上从中部朝向端部逐渐减小的渐变区域；

其特征在于，在从注入口到排出口的流动方向上，流体阻力段设在反应室的上游侧和下游侧，以及

在反应室下游侧的流体阻力段设置成使得在所述通道中形成缓冲区域 (3b)，排出口通过该缓冲区域连接到反应室。

2. 根据权利要求 1 所述的生化反应盒，其中所述反应室被构造成包括顶部和底部；所述探针固定区域被布置成包含所述顶部或底部在所述反应室的宽度方向上的中部；并且在布置有所述探针固定区域的部分中的顶部和底部之间的距离小于在所述反应室的宽度方向上的端部处的顶部和底部之间的距离。

3. 根据权利要求 2 所述的生化反应盒，其中所述距离的差异通过在布置所述探针固定区域的部分的顶部或底部设置突起而实现。

4. 根据权利要求 2 所述的生化反应盒，其中在所述反应室的宽度方向上的端部处的顶部和底部之间的距离朝向所述排出口倾斜地增大。

5. 根据权利要求 2 所述的生化反应盒，其中在所述反应室的宽度方向上的端部处的顶部和底部之间的距离在一渐变区域中从布置有所述探针固定区域的部分中的顶部和底部之间的距离的水平逐渐增大。

6. 根据权利要求 1 所述的生化反应盒，其中所述流体阻力段向在反应室的宽度方向上与探针固定区域合适对应的位置提供特定的流体阻力。

7. 根据权利要求 1 或 6 所述的生化反应盒，其中所述通道被构造成包括顶部和底部；并且所述流体阻力段包括从所述通道的顶部和 / 或底部在竖直方向上延伸的突起元件。

8. 根据权利要求 7 所述的生化反应盒，其中所述突起元件在所述反应室的宽度方向上的端部比中部具有更小的突起量，从而提供流体阻力的差异。

9. 根据权利要求 1 或 6 所述的生化反应盒，其中所述流体阻力段由排列在所述通道的宽度方向上的多个柱形元件形成。

10. 根据权利要求 9 所述的生化反应盒，其中流体阻力的差异由在所述通道的宽度方向上的所述柱形元件形成的排列间隙提供。

11. 根据权利要求 9 所述的生化反应盒，其中流体阻力的差异由在所述通道的宽度方向上的各个柱形元件的宽度提供。

12. 根据权利要求 9 所述的生化反应盒，其中流体阻力的差异由各个柱形元件的形状提供。

13. 根据权利要求 1 或 6 所述的生化反应盒，其中所述流体阻力段被构造成包括设有微

孔的隔板元件。

14. 根据权利要求 13 所述的生化反应盒，其中所述通道包括用于调节通道宽度的侧壁；并且，在所述侧壁和所述隔板元件之间设置有间隙。

15. 根据权利要求 13 所述的生化反应盒，其中流体阻力的差异通过部分地控制设置在所述隔板元件上的微孔的孔密度提供。

16. 根据权利要求 13 所述的生化反应盒，其中流体阻力的差异通过部分地控制设置在所述隔板元件上的微孔的孔尺寸提供。

17. 根据权利要求 7 所述的生化反应盒，其中所述突起元件包括在与所述通道中的流体流大致对应的方向上的斜面形状。

18. 根据权利要求 17 所述的生化反应盒，其中所述斜面形状包括一区域，在所述区域中，突起元件的突起量在所述探针固定区域侧逐渐减小。

生化反应盒

技术领域

[0001] 本发明涉及包括例如DNA微阵列的探针载体的生化反应盒。该生化反应盒适用于检测试样（例如血液），以确定例如是否存在由病原微生物导致的遗传因子并且该结果可用作确定检查对象的健康状况的一个因素。更具体地，本发明涉及一种改进反应室中的液体或气体的流动的生化反应盒的结构。

背景技术

[0002] 对于通过采用以DNA阵列为代表的探针载体的杂交反应来用作迅速且准确地分析核酸的碱基序列或检测核酸试样中的目标核酸的方法，已提出许多方案。DNA微阵列是通过使具有与目标核酸互补的核苷酸序列的探针高密度地固定在例如焊珠或玻璃片等的固相上而形成的。利用DNA微阵列来检测目标核酸的操作一般包括以下步骤。

[0003] 在第一步骤中，利用以PCR方法为代表的扩增方法扩增目标核酸。具体地，首先，把第一和第二引物加入核酸试样溶液中，并对混合物施加热循环。第一引物特别地同目标核酸的一部分结合，而第二引物特别地同与该目标核酸互补的核酸的一部分结合。含有目标核酸的双链核酸与第一和第二引物结合使得该含有目标核酸的双链核酸经由延伸反应扩增，在充分扩增含有目标核酸的双链核酸以后，把第三引物加入核酸试样溶液中，并对所得混合物施加热循环。第三引物用酶、荧光物质、发光物质和类似物作标记，且特别地同核酸的与目标核酸互补的一部分结合。第三引物同与目标核酸互补的核酸结合使得所述用酶、荧光物质、发光物质或类似物作标记的目标核酸经由延伸反应扩增。即，当核酸试样溶液中含有目标核酸时生成带标记的目标核酸。而当核酸试样溶液中不含有目标核酸时不生成带标记的目标核酸。

[0004] 在第二步骤中，使核酸试样溶液与DNA微阵列接触，以令试样溶液与DNA微阵列的探针之间发生杂交反应。当核酸试样溶液中含有与探针互补的目标核酸时，该探针和目标核酸形成杂交体。

[0005] 在第三步骤中，对目标核酸进行检测。可利用已标记的目标核酸的标记物质检测探针与目标核酸是否已经形成杂交体。由此，可确认是否存在特定的碱基序列。

[0006] 人们期待这种利用杂交反应的DNA微阵列在鉴别病原微生物的医疗诊断领域以及检查患者基因结构的基因诊断领域获得应用。然而，核酸的扩增步骤、杂交步骤以及检测步骤大多采用各自的设备分别进行。因此，总体操作复杂且因此花费较长诊断时间。特别地，当在载玻片上进行杂交反应时，探针固定面露出。因此，用手指触碰该载玻片等使探针可能丢失和/或被污染。因此，需要极其小心地操作。为消除上述问题，已提出一些针对生化反应盒结构的方案，其中反应室设有DNA微阵列，以在该反应室内进行杂交反应以及随后的检测步骤。

[0007] 日本专利申请公开No.2003-302399公开了一种防止在填充液体的最初阶段中气泡残留的室结构。此外，日本专利申请公开No.2002-243748公开了一种用于形成液体的均匀扩散和均匀流动的结构。

[0008] 这些生化反应盒的反应室通常高度低并且具有平坦地延伸的空间，并且其容积小。由于反应室的容积小，液体（例如所使用的核酸试样溶液）的量也小。由于反应室的高度低，因此在反应室中产生层流。此外，目标核酸和探针在固相上的杂交反应能够通过在反应室中搅拌核酸试样溶液而加速。作为最简单的方式，反应室中的核酸试样溶液可以通过在注入口处推拉液体而被搅拌。

[0009] 探针和目标核酸的反应应当在DNA微阵列上均匀地执行。因此，需要通过使流体在反应室中均匀流动来降低杂交反应的不均衡。

[0010] 日本专利申请公开No.2003-302399中描述的结构能够在填充液体的最初阶段允许液体在反应室中均匀地扩展，但当液体在反应室被填满液体的状态下流动时，在某些情况下，反应室中部的流速变快。

[0011] 类似地，当液体在反应室被填满液体的状态下流动时，在某些情况下，日本专利申请公开No.2002-243748中描述的结构将在反应室中形成流速分布。

发明内容

[0012] 本发明的目的是提供一种生化反应盒，其具有通过采用简单的额外构造使反应室中的液体流均匀化的结构。

[0013] 根据本发明的第一方面的用于检测目标物质的生化反应盒包括：用于使试样与探针固定区域接触以检测目标物质的反应室；用于将试样注入反应室的注入口；用于将试样从反应室中排出的排出口；和设置在被构造成包括所述注入口、反应室和排出口的通道中的流体阻力段。所述流体阻力段减小所述通道的横截面面积并且具有在设置该流体阻力段的部分提供流体阻力差异的结构，使得在所述通道的宽度方向上的至少一个端部的流体阻力低于其他部分中的流体阻力。

[0014] 根据本发明的第二方面的用于检测目标核酸的生化反应盒包括用于检测目标核酸的探针固定区域；用于使试样与所述探针固定区域接触的反应室；用于将试样注入反应室的注入口；和用于将试样从反应室中排出的排出口。所述探针固定区域被布置在所述反应室的宽度方向上的中部，并且所述反应室被构造成包括顶部和底部。所述探针固定区域被布置成包含顶部或底部在所述反应室的宽度方向上的中部。布置有所述探针固定区域的部分的顶部和底部之间的距离小于在所述反应室的宽度方向上的端部处的顶部和底部之间的距离。

[0015] 根据本发明的第三方面的生化反应盒包括根据所述第一和第二方面的结构。

[0016] 根据本发明，通过在被构造成包括注入口、反应室和排出口的通道中设置流体阻力段以减小所述通道的横截面面积，能够均匀地控制流体流。然而，在所述流体阻力段的宽度方向上的端部以及远离所述注入口和排出口的部分中，流速被降低。因此，流体阻力被减小以防止流速的降低。通过在所述通道的宽度方向上的中部布置所述注入口和排出口，和在所述通道的宽度方向上的两端减小流体阻力使两端的流体阻力比所述中部低大致相同的程度，所述流速可被简单地控制均匀。此外，通过调整反应室的结构使得在所述反应室的宽度方向上的流速较低的两端附近的流体阻力小于中部的流体阻力，以防止反应室两端的流速降低从而使得反应室中的流速可被均匀化。通过同步地调整反应室的这种结构和流体阻力段的上述构造可实现更均匀的流速。

[0017] 通过下文中参照附图对示例性实施例作出的描述，本发明的其他特征将变得显而易见。

附图说明

[0018] 图 1 是透视图，其描绘了根据本发明第一实施例的生化反应盒的结构；

[0019] 图 2A 是平面图并且图 2B 和 2C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第一实施例的生化反应盒的结构；

[0020] 图 3 是透视图，其描绘了根据本发明第二实施例的生化反应盒的结构；

[0021] 图 4A 是平面图并且图 4B 和 4C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第二实施例的生化反应盒的结构；

[0022] 图 5 是透视图，其描绘了根据本发明第三实施例的生化反应盒的结构；

[0023] 图 6A 是平面图并且图 6B 和 6C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第三实施例的生化反应盒的结构；

[0024] 图 7 是透视图，其描绘了根据本发明第四实施例的生化反应盒的结构；

[0025] 图 8A 是平面图并且图 8B，8C，8D 和 8E 是剖视图，它们描绘了根据本发明第四实施例的生化反应盒的结构；

[0026] 图 9 是透视图，其描绘了根据本发明第五实施例的生化反应盒的结构；

[0027] 图 10A 是平面图并且图 10B 和 10C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第五实施例的生化反应盒的结构；

[0028] 图 11 是透视图，其描绘了根据本发明第六实施例的生化反应盒的结构；

[0029] 图 12A 是平面图并且图 12B 和 12C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第六实施例的生化反应盒的结构。

具体实施方式

[0030] 现在将结合附图描述本发明的优选实施例。

[0031] 第一实施例

[0032] 图 1 是透视图，其描绘了根据本发明第一实施例的生化反应盒的结构。图 2A 是平面图并且图 2B 和 2C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第一实施例的生化反应盒的结构。图 2B 是沿图 2A 中的截面 2B-2B 的剖视图，图 2C 是沿截面 2C-2C 的剖视图。

[0033] 首先，说明盒的结构。盒 10 包括相互结合的玻璃基板 11 和外壳 12。外壳由聚碳酸酯制成并且可以被形成为各种形状（包括所示的形状）以便与玻璃基板结合。外壳 12 的材料不仅限于聚碳酸酯，也可以是例如聚碳酸酯以外的其他塑料，玻璃，橡胶，硅橡胶，或这些材料中的至少两种构成的复合材料。外壳 12 设置有凹口，该凹口在其面对着玻璃基板 11 的表面中具有预定的横截面形状，从而反应室 3 被形成在玻璃基板 11 和外壳 12 之间。因此，玻璃基板 11 的表面的一部分用作反应室 3 的底面。当填充反应室 3 的核酸试样溶液包含目标核酸时，目标核酸与设置在玻璃基板 11 的表面的一部分上的探针固定区域 13 的探针反应。目标核酸与探针的组合可根据检测的目的进行选择，例如，目标核酸和探针都可以是 DNA。探针固定区域可以通过使用探针载体（例如 DNA 芯片）形成，其中大量的探针被布置和固定在支撑结构上。

[0034] 外壳 12 设置有通过缓冲区域 3a 和 3b 连接反应室 3 和盒 10 外部空间的注入口 4 和排出口 5。在该实施例中，顶部和底部在反应室 3 和缓冲区域 3a 和 3b 中具有平坦的表面，并且顶部距离底部的高度因此是恒定的。

[0035] 此外，具有突起元件 1 和 2 的流体阻力段被设置在反应室 3 附近。突起元件 1 和 2 设有在两端都具有小突起量的小突起 1a，1b，2a 和 2b。因此，在设有突起元件 1 和 2 的部分中，顶部的高度在中部小，在两端大。液体由注入口 4 通过缓冲区域 3a 注入反应室 3。液体流经由突起元件 1 和 2 形成的狭缝部并且经由缓冲区域 3b 从连接到反应室 3 的排出口 5 排出到盒 10 的外部。也就是说，液体的通道由这些部分形成。所述突起既可以设置到顶部或底部上，也可以同时设置到所述两者上。

[0036] 在该例子中，由于反应室 3、缓冲区域 3a 和 3b 以及突起元件 1 和 2 被设置到外壳 12，因此反应室 3 的底部具有平坦的表面。然而，该结构并不仅限于此。反应室 3、缓冲区域 3a 和 3b 和突起元件 1 和 2 中的一些或全部可以被设置到玻璃基板 11 上，从而反应室 3、缓冲区域 3a 和 3b 和突起元件 1 和 2 中的两个或多个的底部不位于相同的平面上。

[0037] 在图 1 和图 2A、2B 和 2C 中，反应室在通道方向上具有固定的宽度（图 1 中的 X 轴方向上的长度）。每个部分的宽度不是必须相同，但从使制造过程简化和在反应室中实现更有效地实现均匀流速的方面来看，它们可以相同。

[0038] 在图 1 和图 2A、2B 和 2C 所示的实施例中，小突起 1a、1b、2a 和 2b 具有不设有突起的部分。小突起 1a、1b、2a 和 2b 中的每一个都具有有限量的突起，只要突起量小于每个突起元件 1 和 2 在中部的突起量即可。此外，在图 1 所示的 XZ 平面中的突起元件 1 和 2 的横截面形状中，所述突起量在整个所述中部的宽广范围保持恒定，但并非仅限于此，而是可以改变，从而在中部及其周围的突起量最大。此外，图 1 所示的 XZ 平面中的突起元件 1 和 2 的横截面形状具有逐渐变化的部分，其中突起量朝向两端逐渐减少，但也不仅限于此。突起量可以从中间向两端阶跃改变。然而，图 1 和图 2A、2B 和 2C 所示的形状仅为能够在反应室 3 中，尤其是在反应室 3 的中部使流速均匀化的结构的优选实例中的一种。此外，在能够实现突起元件的功能的范围内，突起元件 1 的突起量可与突起元件 2 的突起量不同。在该例子中，设置了两个突起元件。然而，突起元件的数目也可以是一个或三个或更多。

[0039] 该实施例中的宽度方向是由垂直于流体流动方向的平面和反应室的底部形成的直线方向。流体流动方向在图 2A 中为线 2B-2B（中心轴线）。在该实施例中，通道的宽度方向的中心位于该中心轴线上，并且探针布置区域被设置在中部上并且从中心轴线沿所述宽度方向朝向两端延伸预定的距离。如图所示，所述探针固定区域 13 可以被设置成在宽度方向上对称，以使所述中心轴线位于中部。这些特征同样应用于下文描述的每个实施例。

[0040] 流体阻力段被设置在能够在反应室中形成合适的流体流的位置。该流体阻力段可以被设置在反应室附近。也就是说，部分地构成所述反应室的流体阻力段可以直接影响反应室中的流体以实现良好的效果。例如，如图 1 中所示的结构，所述流体阻力段可以被设置在反应室的上游侧并且跨过所述宽度从一个端部延伸到另一端部。

[0041] 流体阻力段可以被设置在探针固定区域沿液体流动方向的上游或下游。优选地，流体阻力段至少被设置在探针固定区域的上游。术语“液体流动方向”包括洗涤液的流动方向以及液体试样的流动方向。因此，参见图 1 中所示的结构，可以根据所述盒的使用目的选择采用 1 或 2 或两者都采用的结构。

[0042] 现在说明直到使用所述盒检测目标核酸之前的步骤。首先，制备核酸试样溶液，并且如果需要的话，通过上文所述的方法扩增目标核酸。当核酸试样溶液包含目标核酸时，在所述扩增步骤中生成标有荧光物质的目标核酸。所述标记物质为前文所述的荧光物质，但也可以是发光物质、酶或类似物。核酸试样溶液通过使用液体注射装置（未示出）由注入口 4 注入盒 10 的反应室 3。在反应室 3 中已经充满核酸试样溶液之后，该核酸试样溶液被加热并且保持在高温下以允许核酸试样溶液中的目标核酸与探针固定区域 13 上探针发生杂交反应。在该步骤中，通过来回移动溶液在反应室 3 中搅动核酸试样溶液，以增加核酸试样溶液中的目标核酸与探针固定区域 13 上的探针接触的频率。在该步骤中，反应室 3 需要始终充满核酸试样溶液。

[0043] 如果通道不具有任何阻力，从注入口 4 一侧施加用于搅拌的核酸试样溶液将从注入口 4 以基本上直线的方式流向排出口 5。因此，反应室 3 的中心部分的流速变高。然而，突起元件 1 用作阻挡，从而使核酸试样溶液以扩散到整个缓冲区域 3a 的方式流动。接下来，其结果是缓冲区域 3a 处的压力增加，并且因此压力被均匀地施加到由突起元件 1 形成的狭缝部。迫使从突起元件 1 形成的狭缝部排出的核酸试样溶液在反应室 3 中具有均匀的流速。然而，在所述流的两端，侧壁很大程度上影响所述流动从而降低流速。因此，狭缝部的高度被小突起 1a 和 1b 改变以便比中心部分的高度更大。因此，溶液主动地流动并且因此流速在整个反应室 3 中均匀化。在从注入口 4 传递搅拌所需量的核酸试样溶液之后，核酸试样溶液接下来从排出口 5 一侧传递。在从注入口 4 一侧传递核酸试样溶液的过程中，通过突起元件 2 和小突起 2a 和 2b 的作用在反应室 3 中产生均匀的流速。在从排出口 5 传递搅拌所需量的核酸试样溶液之后，核酸试样溶液再次从注入口 4 传递。在此之后，从排出口 5 和从注入口 4 进行的溶液传递被重复执行，以搅拌反应室 3 中的核酸试样溶液。由于在反应室 3 中产生均匀的流速，因此核酸试样溶液中的目标核酸与探针接触的频率也是均匀的，与探针固定区域 13 中的位置无关。换言之，可以降低由探针固定区域 13 中的位置造成的杂交反应过程中的差异。

[0044] 此外，实现了以下效果。当反应室 3 两端的流速低时，气泡倾向于在反应室 3 的角落聚集。所述气泡例如是由于核酸试样溶液不能在逐渐升高的温度下保持溶解的空气而形成的。角落处聚集的气泡通过聚集或膨胀而增长并且因此干扰反应室 3 中的核酸试样溶液的流动。然而，由于小突起 1a、1b、2a 和 2b 的作用，反应室 3 两端的流速并不降低。因此，气泡被有效地传递并且防止停留在角落中。

[0045] 如果反应室 3 处于充满核酸试样溶液的状态或者如果含有荧光物质的核酸试样溶液处于粘附到反应室 3 的壁表面的状态，则检测时背景噪声增大。因此，这些产生背景噪声的材料需要被清洗掉。在清洗步骤中洗涤液可以从注入口 4 连续地流入一段预定的时间。同样在该步骤中，如上文所述，通过突起元件 1 和小突起 1a 和 1b 的作用在反应室 3 中产生均匀的流速。由于洗涤液的流速是均匀的，因此粘附到反应室 3 的壁表面上的核酸试样溶液被清洗至相同程度，与在反应室 3 中的位置无关。粘附到探针上的目标核酸也同样被洗涤液流剥离。然而，即使目标核酸被从探针固定区域部分地剥离，由于洗涤液的流速是均匀的，因此在探针固定区域 13 的任意区域中目标核酸被剥离的可能性比率是相同的。因此，可以减小使用光学系统检测是否存在被荧光物质标记的目标核酸中的荧光强度的变化。

[0046] 此外，清洗之后，执行从反应室 3 中排出洗涤液和干燥所述探针固定区域 13 的干燥步骤。在这种情况下，空气从注入口 4 供入并从排出口 5 排出。如果液体或水滴未被清除而残留下来，则在该部分荧光物质发射的光的强度相对于探针固定区域 13 的干燥区域降低。因此，和液体流的情况相同，空气能够在第一突起元件 1 和小突起 1a 和 1b 的作用下在反应室 3 中以均匀的流速流动，并且反应室 3 中的液体因此在均匀力的作用下排放到盒 10 的外部。在这一阶段，由于反应室 3 两端的流速不降低，因此倾向于残留在反应室 3 的角落的液体可以被主动地排出。

[0047] 如上文所述，反应室 3 中流动的核酸试样溶液和洗涤液的流速被控制得均匀，并且因此目标核酸与探针的结合率在任何位置都是相同的。因此，提高了检测的精度。此外，在包括干燥步骤的情况下，可以减少液体或水滴在探针固定区域 13 上的残留。

[0048] 此外，设置了缓冲区域 3a 和 3b。因此，即使在从注入口 4 注入核酸试样溶液时注射压力改变，这种改变也可以被缓冲区域 3a 吸收。

[0049] 此外，根据该实施例的生化反应盒的每个部件的尺寸可以根据该盒的使用目的来确定，例如，从而可以执行使用少量试样的分析。该特征适用于下文所述的每个实施例。

[0050] 此外，所述盒具有所述探针固定区域可与所述盒分离的结构。该特征适用于下文所述的每个实施例。

[0051] 第二实施例

[0052] 图 3 是透视图，其描绘了根据本发明第二实施例的生化反应盒的结构。图 4A 是平面图并且图 4B 和 4C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第二实施例的生化反应盒的结构。图 4B 是沿图 4A 中的截面 4B-4B 的剖视图，图 4C 是沿截面 4C-4C 的剖视图。

[0053] 盒 10 的结构具有采用了柱形元件 21 和 22 而不是第一实施例中的突起元件 1 和 2 的结构。溶液穿过由柱形元件 21 形成的间隙和由柱形元件 22 形成的间隙。由柱形元件 21 形成的间隙在其两端 21a 和 21b 处较大。类似地，由柱形元件 22 形成的间隙在其两端 22a 和 22b 处较宽。在该例子中，由柱形元件 21 和 22 形成的各个间隙的尺寸是不同的，但各个柱形元件 21 和 22 的直径（宽度）可以不同。此外，在图 3 和图 4A、4B 和 4C 所示的柱形元件 21 和 22 中，具有相同直径的圆柱被设置在相对于图 3 的 X- 方向相同的位置。然而，柱形元件 21 和 22 可以不在直径和布置上彼此对应。此外，宽度方向上的流体阻力的差异可通过控制柱形元件的形状实现。此外，和第一实施例一样，可以沿宽度方向设置使流体阻力逐渐或阶跃减小的部分。除此之外，该实施例具有与第一实施例相同的结构。

[0054] 在根据该实施例的盒中，外壳 12 通过整体模制制造，但制造的方法不仅限于此。柱形元件 21 和 22 可以例如通过粘结固定。

[0055] 通过上述结构，柱形元件 21 和 22 减小通道的横截面面积以实现与第一实施例中的突起元件 1 和 2 类似的效果。此外，与第一实施例中的那些小突起 1a、1b、2a 和 2b 类似的效果是通过在两端 21a、21b、22a 和 22b 加宽由柱形元件形成的间隙而实现的。换言之，由于核酸试样溶液和洗涤液在反应室 3 中流动的流速是均匀的，因此目标核酸与探针的结合率在任意位置都是相同的。因此，能够提高检测的精度。此外，在包括干燥步骤的情况下，可以减少液体或水滴在探针固定区域 13 上的残留。

[0056] 第三实施例

[0057] 图 5 是透视图，其描绘了根据本发明第三实施例的生化反应盒的结构。图 6A 是平

面图并且图6B和6C是剖视图，它们描绘了根据本发明第三实施例的生化反应盒的结构。图6B是沿图6A中的截面6B-6B的剖视图，图6C是沿截面6C-6C的剖视图。

[0058] 盒10的结构具有采用了隔板元件31和32分别替代第一实施例中的突起元件1和2的结构。隔板元件31和32设有大量的通孔，以便液体从图5中所示的Y-方向穿过。在隔板元件31的两端31a和31b和隔板元件32的两端32a和32b中设有小间隙，以减小流体阻力。该例子描述了这样一种结构，其中间隙被设置在两端31a、31b、32a和32b，但隔板元件可以被设置成横跨反应室3的宽度（图5中的X-方向）从一端延伸至另一端并且设有通孔，其中通孔的直径或密度在两端增加。图5示出了一个例子，其中隔板元件31和32具有相同密度的通孔，但隔板元件31和32不具有相同密度的通孔也是可以接受的。也就是说，在宽度方向上的流体阻力的差异可通过部分地控制通孔的尺寸和/或密度而获得。此外，和第一实施例一样，通过部分地控制通孔的尺寸和/或密度在宽度方向上设置流体阻力逐渐或阶跃减小的部分。除此之外，该实施例具有与第一实施例相同的结构。

[0059] 现在将描述制造根据该实施例的盒的方法的例子。外壳12设有槽（未示出），并且隔板元件31和32被装配到所述槽中并且被外壳12和玻璃基板11夹紧，但是制造方法并不仅限于此。可替换地，隔板元件31和32例如可通过粘结固定到外壳12上。

[0060] 通过上述结构，隔板元件31和32减小通道的横截面面积以实现与第一实施例中的突起元件1和2类似的效果。此外，通过在两端31a、31b、32a和32b设置间隙实现与第一实施例中的小突起1a、1b、2a和2b类似的效果。换言之，由于核酸试样溶液和洗涤液在反应室3中的流动的流速是均匀的，因此目标核酸与探针在任意位置的结合率都是相同的。因此，能够提高检测的精度。此外，在包括干燥步骤的情况下，可以减少液体或水滴在探针固定区域13上的残留。

[0061] 第四实施例

[0062] 图7是透视图，其描绘了根据本发明第四实施例的生化反应盒的结构。图8A是平面图并且图8B、8C、8D和8E是剖视图，它们描绘了根据本发明第四实施例的生化反应盒的结构。图8B是沿图8A中的截面8B-8B的剖视图，图8C是沿截面8C-8C的剖视图，图8D是沿截面8D-8D的剖视图，图8E是沿截面8E-8E的剖视图。

[0063] 首先将描述盒的结构。盒60包括彼此结合的玻璃基板61和外壳62。外壳由聚碳酸酯制成并且可以被形成为各种形状（包括所示的形状）以便与玻璃基板结合。外壳62的材料不仅限于聚碳酸酯，也可以是例如聚碳酸酯以外的其他塑料、玻璃、橡胶、硅橡胶或这些材料中的至少两种构成的复合材料。外壳62设置有凹口，该凹口在其面对着玻璃基板61的表面中具有预定的横截面形状，从而反应室53被形成在玻璃基板61和外壳62之间。因此，玻璃基板61的表面的一部分用作反应室53的底面。当填充反应室53的核酸试样溶液包含目标核酸时，目标核酸与设置在玻璃基板61的表面的一部分上的探针固定区域63的探针反应。目标核酸与探针的组合可根据检测的目的进行选择，例如，目标核酸和探针都可以是DNA。

[0064] 外壳62设置有连接反应室53和盒60外部空间的注入口54和排出口55。此外，反应室53包括围绕反应室53的槽51a、51b和51c。由于反应室53的高度在设有槽51a和51b的部分增大，因此反应室53的中部和两端的流体阻力彼此不同。

[0065] 通过从注入口54注入液体使反应室53充满液体。在初始阶段，通过将液体注入

反应室 53，将存在于反应室 53 中的空气推入所述槽 51a，51b 和 51c。槽 51a、51b 和 51c 具有朝向排出口 55 的小倾斜。从而通过向反应室 53 注入液体使空气被逐步地推向排出口 55 并且从反应室 53 排出，并且反应室 53 最终充满液体。

[0066] 现在，将说明从注入口 54 传送核酸试样溶液时反应室 53 中的流速分布。首先，反应室 53 中部的高度被减小，以增加其流体阻力。因此，可以防止反应室 53 中部的流速增加。反应室 53 两端的流体阻力不仅受反应室 53 的顶面和底面的影响，还受侧面的影响。因此，通过槽 51a 和 51b 减小反应室 53 的顶面和底面的影响，以在图 7 的 X- 方向上使流体阻力均匀化。随后，均匀的流速被分布在整个反应室 53 中。通过上述作用，可以在探针固定区域 63 上均匀地执行核酸试样溶液的搅拌和利用清洗液的清洗。因此，可以减小使用光学系统（未示出）检测是否存在被荧光物质标记的目标核酸中的荧光强度的变化。

[0067] 此外，在包括干燥步骤的情况下，可以实现与第一至第三实施例类似的效果。也就是说，和液体注入过程相同，由于槽 51a 和 51b 的作用，从注入口 54 注入的空气以均匀的速度在反应室 53 中流动，以利用均匀的力将反应室 53 中的液体从排出口 55 排出到盒 60 的外部。在该步骤中，由于反应室 53 两端的流速不降低，倾向于残留在反应室 53 的角落中的液体被主动地排出。在该例子中，仅通过调节反应室 53 的高度控制反应室 53 中的流体阻力，但也可以通过改变反应室 53 的高度和使用第一至第三实施例中所示的流体阻力元件的结合控制反应室 53 中的流体阻力。

[0068] 如上文所述，在反应室 53 中流动的核酸试样溶液和洗涤液的流速被控制得均匀。因此目标核酸与探针的结合率在任何位置都是相同的。因此，提高了检测的精度。此外，在包括干燥步骤的情况下，可以减少液体或水滴在探针固定区域 63 上的残留。

[0069] 第五实施例

[0070] 图 9 是透视图，其描绘了根据本发明第五实施例的生化反应盒的结构。图 10A 是平面图并且图 10B 和 10C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第五实施例的生化反应盒的结构。图 10B 是沿图 10A 中的截面 10B-10B 的剖视图，图 10C 是沿图 10A 的截面 10C-10C 的剖视图。

[0071] 盒 10 的结构与第一实施例中的大致相同。区别仅在于突起元件 71 和 72。因此，这里将仅说明突起元件 71 和 72 的作用。

[0072] 突起元件 71 和 72 在两端设有具有较小的突起量的小突起 71a、71b、72a 和 72b。因此，在设有突起元件 71 和 72 的各个区域中，顶部的高度在中部小，在两端大。此外，如图 10B 所示，突起元件 71 和 72 设有斜面 71c、71d、72c 和 72d。

[0073] 在该例子中，这些斜面被设置在突起元件 71 和 72 的上游和下游。然而，也可以只设置邻近反应室 3 的斜面 71d 和 72c。此外，在该例子的结构中，设有两个突起元件。然而，突起元件的数目也可以是一个或三个或更多个。

[0074] 如上文所述，由于缓冲区域 3a、反应室 3 以及随后的缓冲区域 3b 中的流体流在突起元件 71 和 72 附近产生的漩涡或湍流，可通过在突起元件 71 和 72 上设置斜面 71c、71d、72c 和 72d 而减少。在突起元件 71 和 72 附近产生的漩涡或湍流扰乱所述流。然而，通过斜面 71c、71d、72c 和 72d 的作用，被突起元件 71 和 72 和斜面 71c、71d、72c 和 72d 均匀化的流可以在不被扰乱的情况下传送到反应室 3。

[0075] 第六实施例

[0076] 图 11 是透视图，其描绘了根据本发明第六实施例的生化反应盒的结构。图 12A 是平面图并且图 12B 和 12C 是剖视图，它们描绘了根据本发明第六实施例的生化反应盒的结构。图 12B 是沿图 12A 中的截面 12B-12B 的剖视图，图 12C 是沿图 12A 的截面 12C-12C 的剖视图。

[0077] 盒 10 的结构与第一实施例中的大致相同。区别仅在于注入口 4 和排出口 5 的位置。因此，这里将仅说明适用于所述位置的突起元件 81 和 82 的形状。

[0078] 注入口 4 和排出口 5 被设置在反应室 3 的壁表面附近，并且突起元件 81 和 82 被布置在注入口 4 和排出口 5 之间作为流体阻挡。在突起元件 81 和 82 的两端中，位于注入口 4 和排出口 5 附近的突起元件端部 81a 和 82a 具有与突起元件 81 和 82 的中部相同的高度。在突起元件 81 和 82 的两端中，远离注入口 4 和排出口 5 的突起元件端部 81b 和 82b 具有比突起元件 81 和 82 的中部低的高度。

[0079] 在第一实施例中，注入口 4 和排出口 5 被布置在反应室 3 的宽度方向的中心处或中心周围，并且因此在反应室 3 宽度方向上的流动扩展到两侧。因此，压力被很容易地降低。然而，在注入口 4 和排出口 5 被布置在反应室 3 的侧壁附近的结构中，在反应室 3 宽度方向上的流动只在一侧产生。因此，在这种结构中，压力难以降低。换言之，注入口 4 和排出口 5 附近的流速难以被降低。因此，如果突起元件端部 81a 和 82a 的流体阻力减小，则突起元件端部 81a 和 82a 处的流速增加。从而，反应室 3 中的流速不能被控制得均匀。因此，突起元件端部 81a 和 82a 的高度被调节成与突起元件 81 和 82 的中部的高度相同，以防止突起元件端部 81a 和 82a 的部分中的流速增加。

[0080] 在该例子中，突起元件端部 81a 和 82a 的高度被控制成与突起元件 81 和 82 的中部的高度相同，但也不仅限于此。突起元件端部 81a 和 82a 的高度也可以根据注入口 4 和排出口 5 的布置以及根据流体的物理特性和流速有选择性地确定。在该例子中，注入口 4 和排出口 5 都被设置在相同侧，但其布置也不仅限于此。注入口 4 和排出口 5 可以被布置在彼此不同的侧，或者注入口 4 和排出口 5 之一被设置在反应室 3 的宽度方向的中部。

[0081] 如上文所述，同样在注入口 4 和 / 或排出口 5 被布置在侧壁附近的例子中，可通过调节突起元件 81 和 82 的高度以控制注入口 4 和 / 或排出口 5 附近的流体阻力，从而使流速均匀化。

[0082] 本发明不仅限于上面的实施例，并且可以在本发明的精神和范围内作出各种变化和修改。因此，为告知公众本发明的范围，特作出以下权利要求。

[0083] 本发明要求申请日为 2006 年 12 月 28 日的日本专利申请 No. 2006-356195 的优先权，其全文被结合于此作为参考。

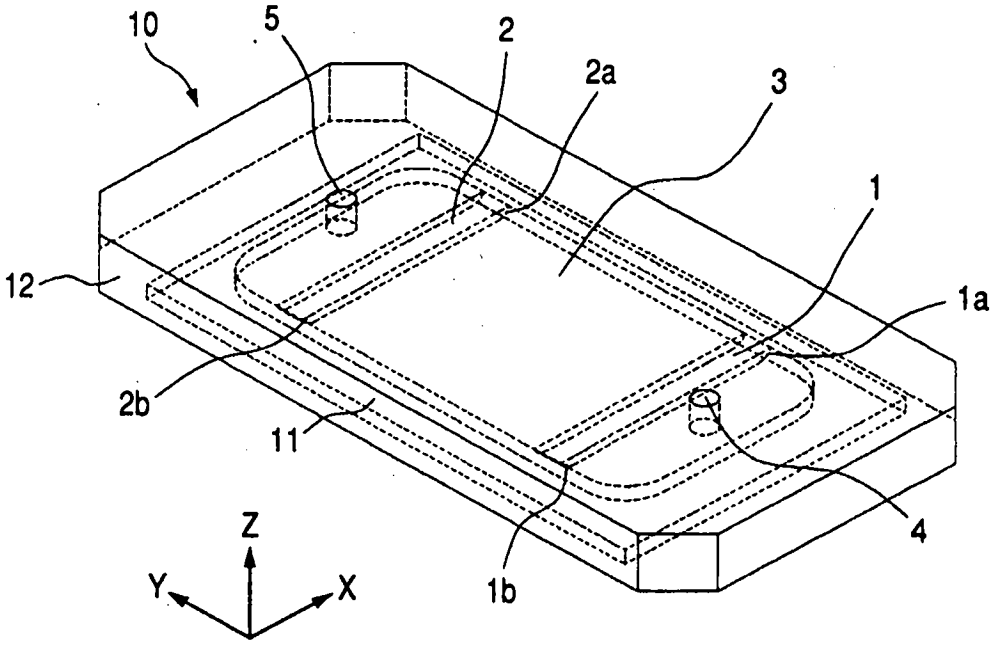

10
5
2
2a
3
1
1a
12
2b
11
4
1b
Z
Y
X

图 1

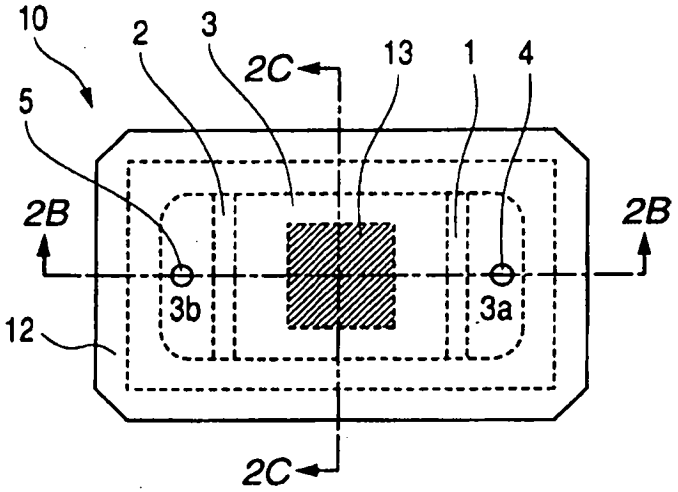

10
2
3
2C
13
1
4
5
2B
2B
3b
3a
12
2C

图 2A

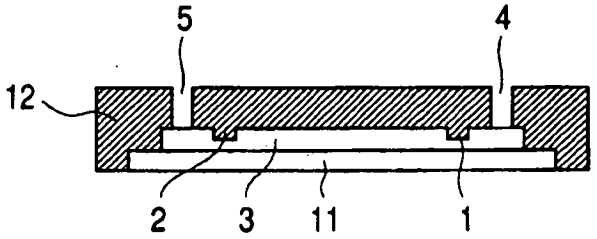

5
4
12
2
3
11
1

图 2B

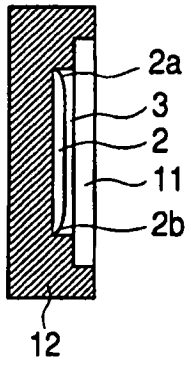


图 2C

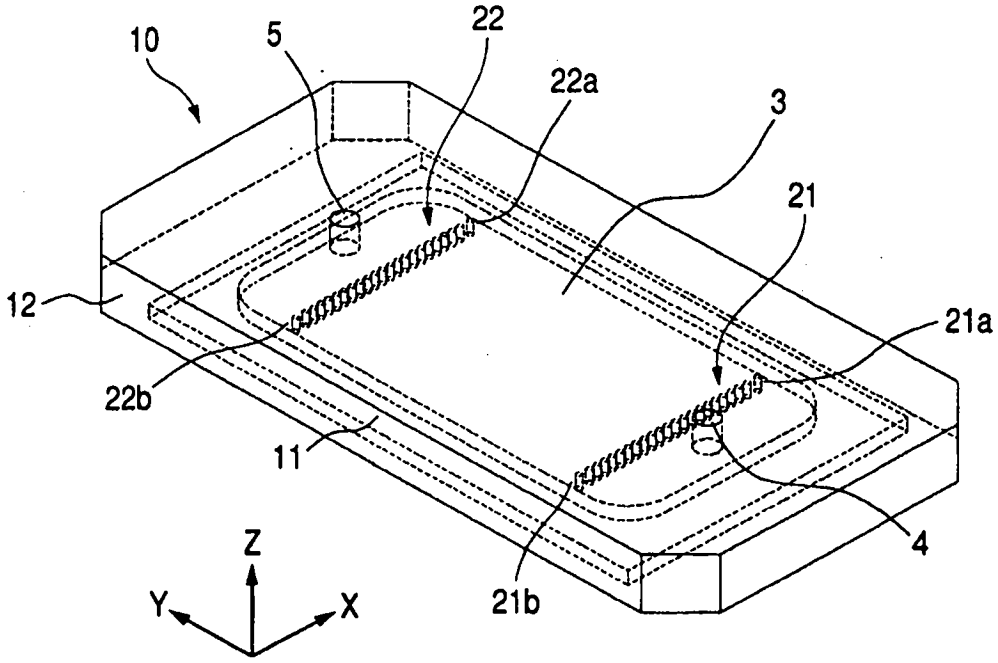


图 3

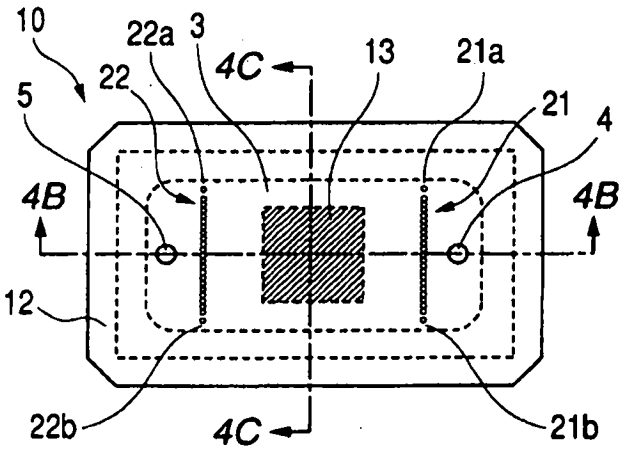


图 4A

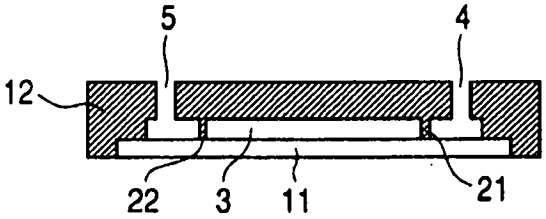


图 4B

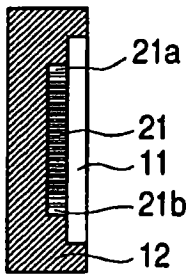


图 4C

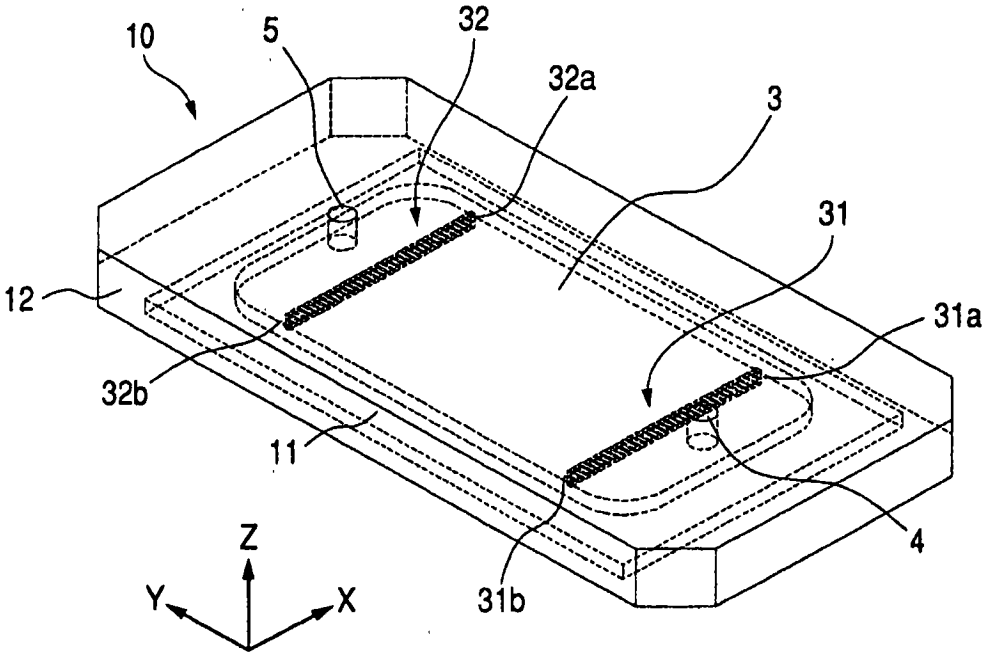


图 5

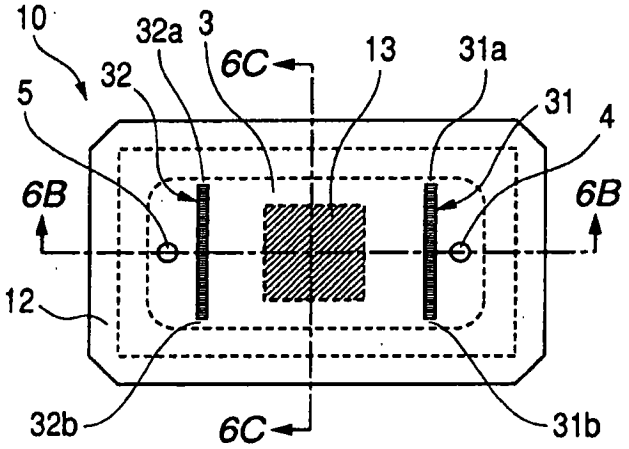


图 6A

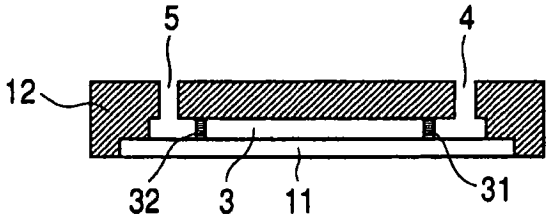


图 6B

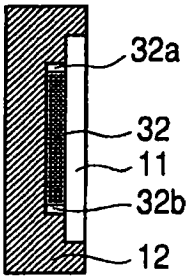


图 6C

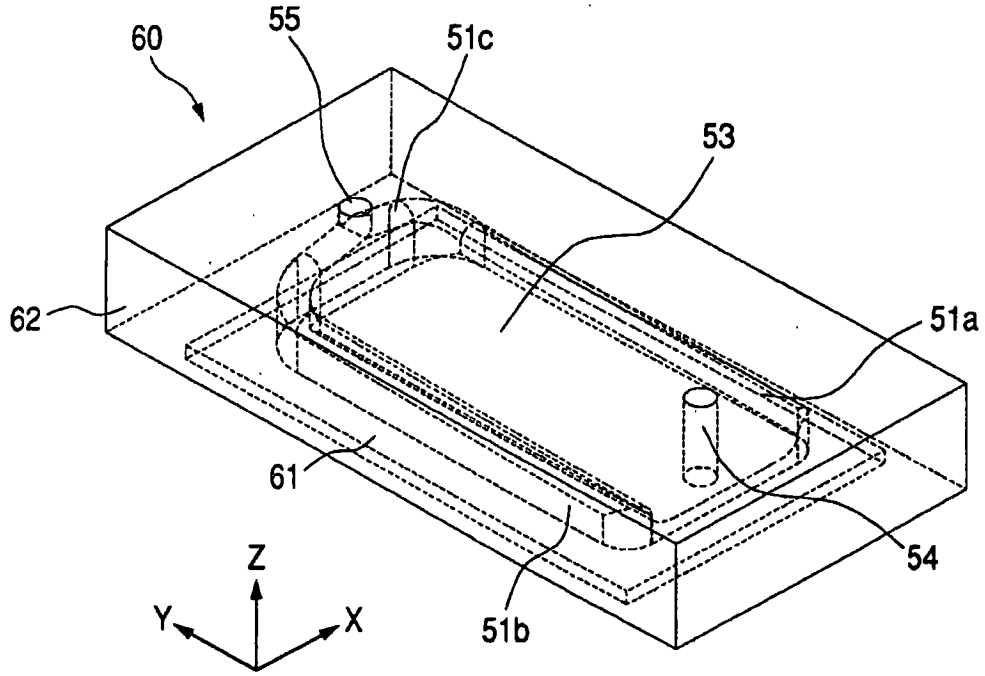


图 7

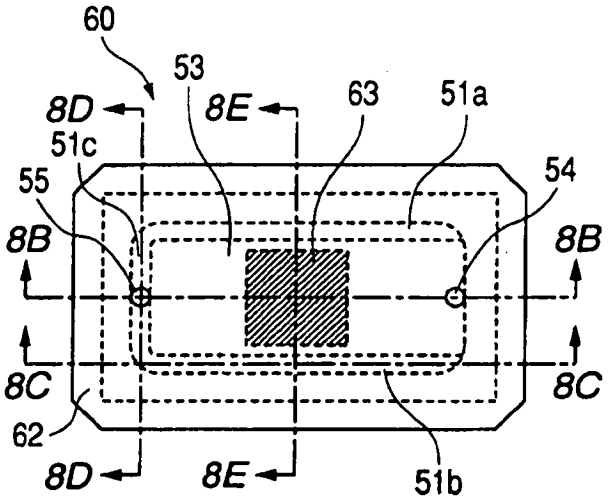


图 8A

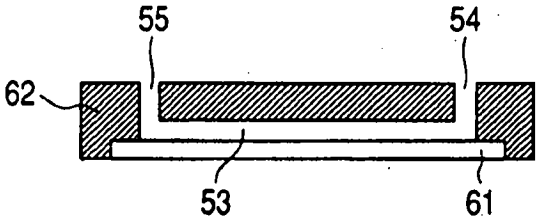


图 8B

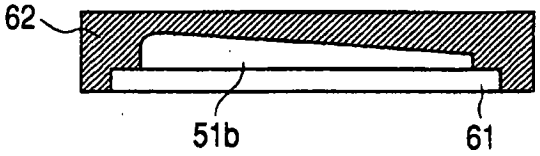


图 8C

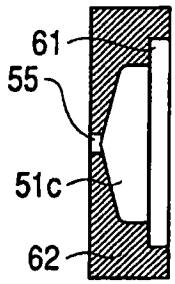


图 8D

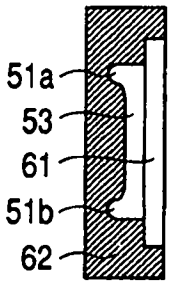


图 8E

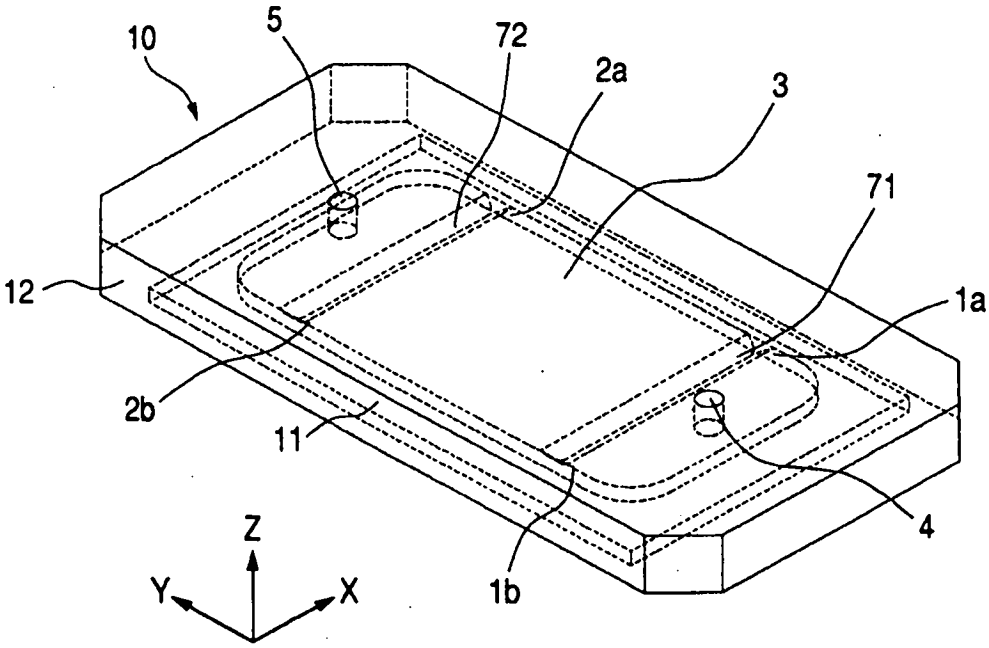


图 9

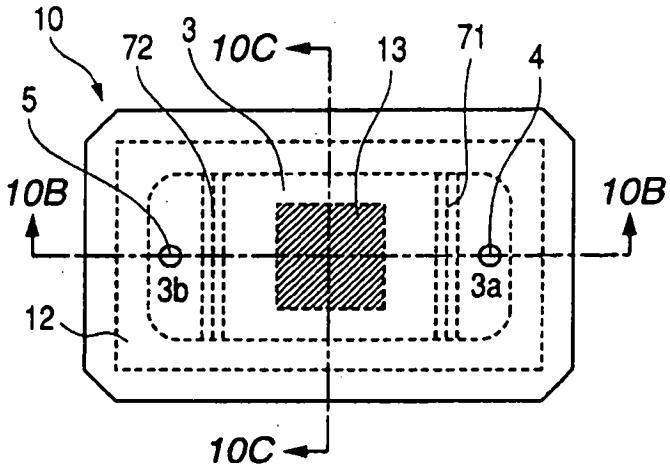


图 10A

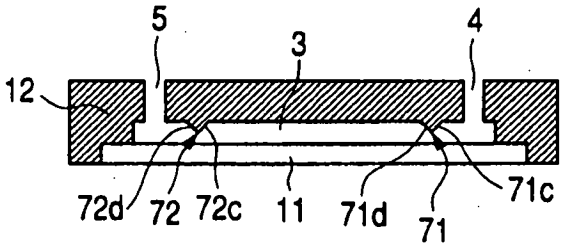


图 10B

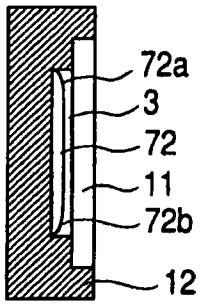


图 10C

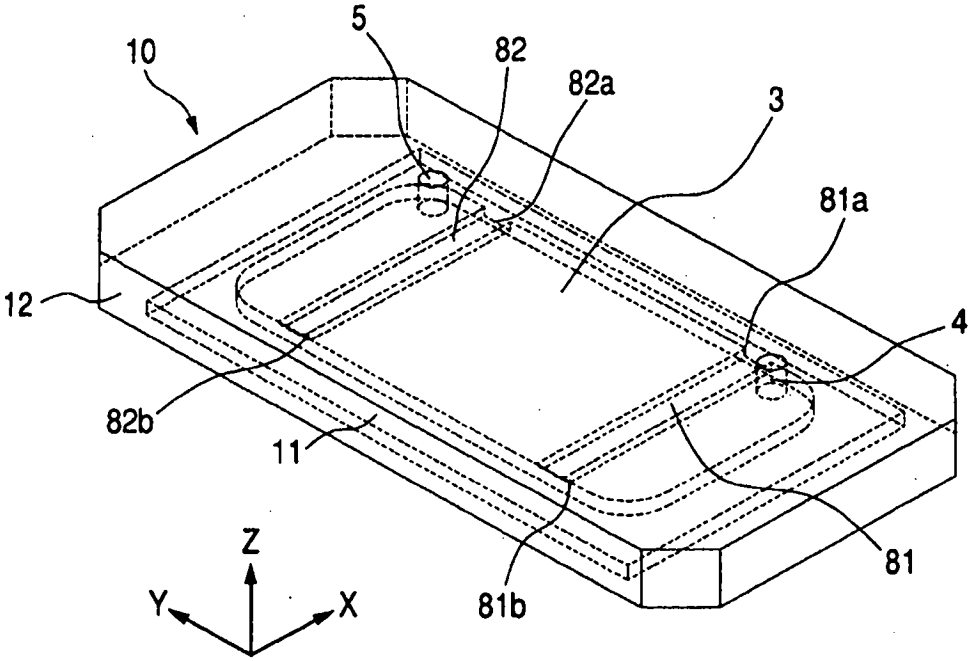


图 11

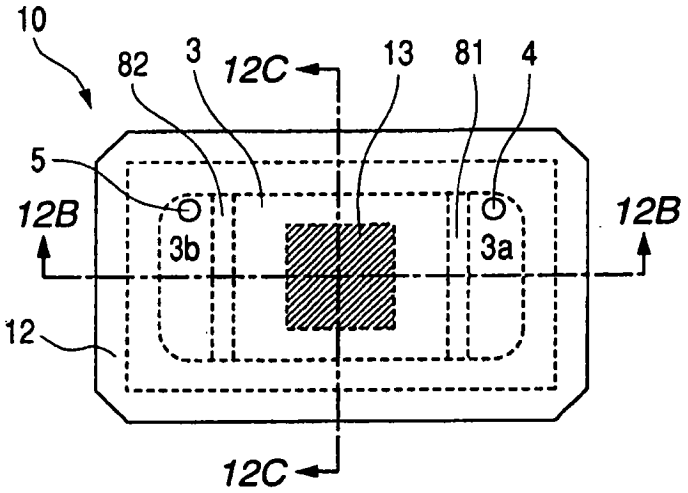


图 12A

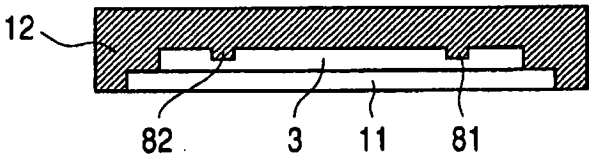


图 12B

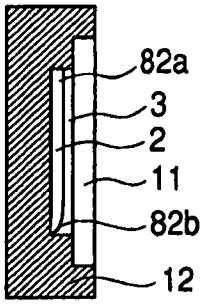


图 12C