



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101512018 B

(45) 授权公告日 2013. 06. 19

(21) 申请号 200780033147. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2007. 09. 05

C12Q 1/68 (2006. 01)

C12M 3/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/824, 654 2006. 09. 06 US

(56) 对比文件

US 20080189311 A1, 2004. 09. 30, 全文.

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 03. 06

审查员 张彬

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/019304 2007. 09. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02008/030433 EN 2008. 03. 13

(73) 专利权人 佳能美国生命科学公司

地址 美国马里兰

(72) 发明人 G·A·戴尔 I·T·奈特

(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 王会卿

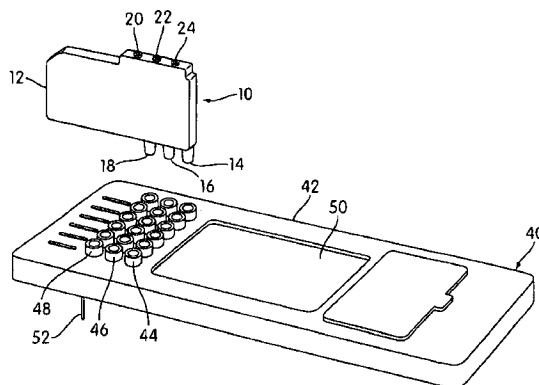
权利要求书2页 说明书8页 附图9页

(54) 发明名称

用于进行微流体化验的化验片和化验盒的结构设计

(57) 摘要

一种用于进行微流体化验的组件, 该组件包括: 微流体化验片和流体化验盒, 该微流体化验片带有入口端口和与该入口端口连通的微通道, 该流体化验盒具有内部的可容纳流体的室和与每一个内室相关联的喷嘴, 该内室构造成与入口端口联接。容纳在化验盒内的比如采样物质、缓冲剂和 / 或试剂的反应流体从化验盒分配到入口端口和微流体化验片的微通道中。本发明的实施例包括化验盒, 该化验盒包括用于在化验结束时接收来自微通道的用过的 DNA 和其他反应流体的废料隔室。



1. 一种用于进行微流体化验的组件,包括:  
微流体化验片,其具有顶面和底面并且包括:  
形成在所述顶面中的一个或多个入口端口;和  
至少一条微通道,所述至少一条微通道从相关联的入口端口延伸通过至少一部分所述微流体化验片,由此每一个入口端口与相关联的微通道连通以使得分配到所述入口端口的流体流入相关联的微通道,其中所述微流体化验片还包括 DNA 放大区域和分析区域;和  
流体化验盒,其具有一个或多个用于容纳流体的内室和与每一个内室相关联的流体喷嘴,所述流体喷嘴用于从相关联的室分配流体或将流体传送到相关联的内室中,每一个流体喷嘴构造成与所述微流体化验片的入口端口可拆地联接,从而将流体从相关联的内室分配到与喷嘴可拆地联接的入口端口或者将流体从与喷嘴可拆地联接的入口端口传送到相关联的内室。
2. 如权利要求 1 所述的组件,其中化验盒包括三个内室和三个喷嘴。
3. 如权利要求 1 所述的组件,其中所述喷嘴和入口端口中的至少一个构造有单向锁定连接件,以使得喷嘴与微流体化验片的入口端口联接之后,喷嘴在此后不能与入口端口分离。
4. 如权利要求 1 所述的组件,其中化验盒是注模而成的。
5. 如权利要求 4 所述的组件,其中化验盒是由选自包括聚丙烯、聚碳酸酯和聚苯乙烯的组中的材料注模而成的。
6. 如权利要求 1 所述的组件,其中所述化验盒内的至少一个内室包含反应流体。
7. 如权利要求 6 所述的组件,其中所述反应流体是选自包括 DNA 采样物质、缓冲剂溶液、试剂或所述 DNA 采样物质、缓冲剂溶液和试剂这些流体中的两种或更多种的混合物的组中的流体。
8. 如权利要求 7 所述的组件,其中所述试剂包括 PCR 基液。
9. 如权利要求 1 所述的组件,其中所述微流体化验片包括多个布置成三排的入口端口。
10. 如权利要求 9 所述的组件,其中化验盒包括三个喷嘴,所述三个喷嘴构造成与三排入口端口中的一列三个对准的入口端口配合。
11. 如权利要求 1 所述的组件,其中所述微流体化验片包括从所述微流体化验片的底面伸出的一个或多个吸管,每一个所述吸管与至少一条微通道连通。
12. 如权利要求 11 所述的组件,其中所述微流体化验片包括两个或更多个吸管。
13. 如权利要求 1 所述的组件,其中所述微流体化验片包括一个或多个真空端口,每一个真空端口与至少一条微通道连通。
14. 如权利要求 1 所述的组件,其中每一条微通道从入口端口伸出并且构造成终止于另一个不同的入口端口。
15. 如权利要求 1 所述的组件,其中化验盒包括与喷嘴连通的真空端口。
16. 如权利要求 1 所述的组件,其中化验盒内的至少一个内室是废料容器,所述废料容器构造成容纳来自所述至少一条微通道的反应流体。
17. 如权利要求 1 所述的组件,其中位于所述微流体化验片中的所述微通道具有基本上 U 形构造。

18. 一种构造用于与如权利要求 1 所述的组件中的微流体化验片可拆地对接的化验盒装置,包括:

输送室,所述输送室与输送端口处于流体连通,其中所述输送室构造成容纳反应流体,并且所述输送端口构造成与包括 DNA 放大区域和分析区域的微流体化验片可拆地对接;和

回收室,所述回收室与回收端口处于流体连通,其中所述回收室构造成接收来自所述微流体化验片的废弃物质,而且所述回收端口构造成与所述微流体化验片可拆地对接。

19. 如权利要求 18 所述的化验盒装置,其中化验盒是可抛弃的。

20. 如权利要求 18 所述的化验盒装置,其中所述微流体化验片结合有吸管以将试剂吸到化验片中。

21. 一种构造用于与如权利要求 1 所述的组件中的微流体化验片可拆地对接的化验盒装置,包括:

试剂输送室,其中所述试剂输送室与试剂输送端口连接;

缓冲剂输送室,其中所述缓冲剂输送室与缓冲剂输送端口连接;

采样输送室,其中所述采样输送室与采样输送端口连接;

废料回收室,其中所述废料回收室与废料回收端口连接;并且

其中,所述试剂输送端口、所述缓冲剂输送端口、所述采样输送端口和所述废料回收端口构造成与所述微流体化验片可拆地对接。

22. 如权利要求 21 所述的化验盒装置,其中化验盒是可抛弃的。

23. 如权利要求 21 所述的化验盒装置,其中所述微流体化验片结合有吸管以将试剂吸到化验片中。

24. 如权利要求 21 所述的化验盒装置,其中所述微流体化验片包括一条或多条微通道,试剂、缓冲剂和 / 或采样中的一种或多种从所述试剂输送室、缓冲剂输送室和 / 或采样输送室流经所述一条或多条微通道并且进入所述废料回收室。

25. 一种用于 DNA 分析应用的在如权利要求 1 所述的组件中使用的具有 DNA 放大区域和分析区域的微流体化验片,其中通过负压控制,DNA 采样经由化验盒引入并且 PCR 试剂通过与微孔板连接的吸管引入。

## 用于进行微流体化验的化验片和化验盒的结构设计

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2006 年 9 月 6 日提交的美国临时申请 No. 60/824, 654 的优先权, 在此将其引入以作参考。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及一种用于进行微流体化验的容器, 更特别地, 本发明涉及一种用于容纳采样物质和可选的化验试剂、缓冲剂和废料的化验盒 (cartridge), 所述化验盒可与具有微通道的微流体化验片 (chip) 连接, 在微流体化验片内对在化验盒内运送的采样物质进行比如实时的聚合酶链反应的化验。

### 背景技术

[0004] 核酸检测是医学、法医学、工业过程、农作物和动物的繁殖和许多其它领域的核心。对疾病情况 (例如癌症)、传染性有机体 (例如艾滋病)、遗传谱系、遗传标记等的检测能力是用于疾病诊断和预测、标记辅助选择、犯罪现场特征的勘验、工业有机体的繁殖能力和许多其他工艺的普通技术。对核酸整体性测定的关注可能与传染病或癌症的病理学相关。用于检测小量核酸的最有力和最基本的技术之一是多次复制一些或全部核酸序列, 然后分析放大的产物。聚合酶链反应 (“PCR”) 可能是大量不同放大技术中最众所周知的技术。

[0005] PCR 是一种用于放大 DNA 短段的最有力的技术。利用 PCR, 人们能够从单一模板 DNA 分子开始快速产生上百万的 DNA 复制品。PCR 包括三个阶段的温度循环: DNA 变性为单链、将基液 (primer) 退火到变性链温度和通过耐热的 DNA 聚合酶酶素使基液延伸。重复进行该循环使得具有足够的用于检测和分析的复制品。原则上, PCR 的每一个循环能够使复制品的数量加倍。实际上, 每次循环后获得的倍增系数总是小于 2。而且, 随着 PCR 循环的继续进行, 当所需的反应物浓度减小时, 最终停止放大 PCR 产物的形成。关于 PCR 的总的详细内容参见 Sambrook and Russell, *Molecular Cloning—A Laboratory Manual* (3rd Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y. (2000); *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., (supplemented through 2005) and *PCR Protocols A Guide to Methods and Applications*, M. A. Innis et al., eds., Academic Press Inc. San Diego, Calif. (1990)。

[0006] 实时 PCR 涉及一组发展中的技术, 其中一种技术随着反应进程 (通常是每个 PCR 循环测量一次) 测量放大 DNA 产物的形成。长期监控产物的积累允许人们测定反应效率以及估计 DNA 模板分子的初始浓度。关于 PCR 的总的详细内容参见 *Real-Time PCR: An Essential Guide*, K. Edwards et al., eds., Horizon Bioscience, Norwich, U. K. (2004)。

[0007] 有若干不同实时检测化学方法用于指示放大 DNA 的存在。这些检测化学中的大多数依赖于荧光指示器, 该荧光指示器根据 PCR 处理的结果而改变性质。这些检测化学方法

中有根据对双链 DNA 的耦合来增加荧光效果的 DNA 耦合染料（比如**SYBR®**绿色）。其它检测化学方法利用 Foerster 共振能量转移 (FRET)，根据 Foerster 共振能量转移现象，染料的荧光效果极大地依赖于其接近另一个光吸收部分或猝光剂的程度。这些染料和猝光剂通常附接到 DNA 序列专用的探针或基液上。基于 FRET 的检测化学方法中有水解探针或构象探针。水解探针（比如**TaqMan®**深针）使用聚合酶酶素来使报告染料分子与附接到核苷酸探针上的猝光剂染料分子分开。构象探针（比如分子信标）利用附接到低核苷酸上的染料，其荧光放射根据与目标 DNA 杂交的低核苷酸的构象变化而改变。

[0008] 共同受让的、共同待决的、名称为“微通道中的实时 PCR”的美国申请 No. 11/505, 358 描述了一种用于在流经微通道并且通过非反应流体（比如通常所说的流动标记的缓冲剂溶液）的液滴彼此分离来的离散液滴中进行 PCR 的方法，在此引入其公开内容以作参考。

[0009] 现有技术已知了用于在微通道内进行比如 PCR 的在线化验的装置，所述装置包括形成于化验片内的一条或多条微通道的微流体化验片。这些化验片利用采样吸管和位于化验片最上面的开放端口 (openport) 来接收试剂和采样物质（例如 DNA）并将试剂和采样物质（例如 DNA）输送到化验片内的微通道。化验片平台设计用于在位于化验片顶部的开放端口处接收试剂（通常由吸液管分配），试剂通常在真空的影响下从开放端口流入微通道，所述真空施加在每一条微通道的相对端部处。DNA 采样从微孔板经由吸管供应到微通道，该吸管伸到化验片之下并且由于施加给微通道的真空通过该吸管从孔中抽吸采样物质。

[0010] 该开放设计易于受污染 - 既有采样和化验之间的交叉污染又有暴露于潜在的传染性药剂的实验人员的污染。因而，需要有一种用于进行微流体化验的改进容器。

## 发明内容

[0011] 本发明涉及使用化验盒对接微流体化验片，所述化验盒容纳或适于容纳反应流体或副产品，所述微流体化验片为在微流体化验片内进行的 DNA 分析测试和其他化验提供了使用的灵活性和容易性。化验盒容纳 DNA 采样并且还可包括缓冲剂和 / 或要在化验中使用的一种或多种试剂，该化验盒还可包括能够形成“闭合”微流体系统的废料容纳室，通过该“闭合”微流体系统使 DNA 采样和其他反应产物返回到同一采样容纳盒，从而消除了单独管理有害生物废料的需要。将患者的采样经由化验盒引入微流体通道（或微通道）和将化验专用探针 / 基液引入每一滴采样液滴确保在保持在线、连续 PCR 化验处理的优点同时不存在患者之间的采样 - 采样夹带。

[0012] 本发明的方面体现在一种用于进行微流体化验的组件中，该组件包括微流体化验片和流体化验盒。微流体化验片具有顶面和底面并且包括形成在顶面的一个或多个入口端口和至少一条微通道，该至少一条微通道从相关联的入口端口延伸通过至少一部分微流体化验片。每一个入口端口与相关联的微通道连通，使得分配到入口端口的流体流入相关联的微通道中，流体化验盒具有一个或多个用于容纳流体的内室和与每个内室相关联的流体喷嘴，所述喷嘴用于从相关联的室分配流体或者将流体传送到相关联的内室。每一个流体喷嘴构造成与微流体化验片的入口端口联接，从而将流体从相关联的内室分配到与喷嘴联接的入口端口，或者将流体从与喷嘴联接的入口端口传送到相关联的内室中。

[0013] 在其它实施例中，提供了一种构造成与微流体化验片对接的化验盒装置，其中化

验盒装置包括输送室和回收室。输送室与输送端口流体连通并且构造成容纳反应流体。输送端口构造成与微流体化验片对接。回收室与回收端口流体连通并且构造成接收来自微流体化验片的废弃物质。回收端口构造成与微流体化验片对接。

[0014] 仍然在其它实施例中,提供了一种构造成与微流体化验片对接的化验盒装置,所述化验盒装置包括与试剂输送端口连接的试剂输送室、与缓冲剂输送端口连接的缓冲剂输送室、与采样输送端口连接的采样输送室和与废料回收端口连接的废料回收室,其中试剂输送端口、缓冲剂输送端口、采样输送端口和废料回收端口都构造成与微流体化验片对接。在该实施例中,微流体化验片包括一条或多条微通道,试剂、缓冲剂和 / 或采样中的一种或多种从试剂输送室、缓冲剂输送室和 / 或采样输送室流经该一条或多条微通道并且进入所述废料回收室。

[0015] 本发明的其他方面包括结构的操作方法、功能和元件的相互关系,在参照附图、考虑下述说明和所附的权利要求的情况下,将变得更显而易见,所有这些内容形成了本发明的一部分,其中相同的附图标记在各幅图中表示相应的部件。

#### 附图说明

[0016] 图 1a 是体现本发明方面的微流体化验片和化验盒的一个实施例的透视图,其中化验盒显示为与微流体化验片分离;

[0017] 图 1b 是图 1a 所示的微流体化验片和化验盒的透视图,其中化验盒显示为与微流体化验片联接;

[0018] 图 2a 是图 1b 所示的由微流体化验片和化验盒构成的组件的透视图,其中组件可操作地位于微孔板上方;

[0019] 图 2b 是图 1b 所示的由微流体化验片和化验盒构成的组件的侧视图,其中组件可操作地位于微孔板上方;

[0020] 图 3 是微流体化验片的微通道和吸管的示意图,其中吸管与微孔板的孔接合;

[0021] 图 4 是在微通道内进行微流体化验的过程中容纳在微通道内的反应流体的示意图;

[0022] 图 5 是用于说明在用与图 2a 和 2b 所示的微孔板可操作地布置在一起的由微流体化验片和化验盒构成的组件进行微流体化验的过程中所进行步骤的流程图;

[0023] 图 6 是体现本发明方面的微流体化验片和化验盒的一个替代实施例的透视图,其中化验盒显示为与微流体化验片联接;

[0024] 图 7 是微通道和多吸管化验片结构的示意图;

[0025] 图 8 是用于体现本发明方面的微流体化验片和化验盒的一个替代实施例的无吸管的微流体化验片的微通道的示意图;

[0026] 图 9 是体现本发明方面的无吸管的微流体化验片和化验盒的一个替代实施例的示意图;

[0027] 图 10 是用图 8 或 9 所示的由微流体化验片和化验盒构成的组件进行微流体化验的过程中所进行步骤的流程图;

[0028] 图 11 是体现本发明方面的微流体化验片和多个化验盒的一个替代实施例的透视图,其中化验盒显示为与微流体化验片联接。

## 具体实施方式

[0029] 图 1a 和 1b 显示了体现本发明方面的微流体和试剂盒结构的第一实施例。该结构包括与微流体化验片 40 联接的化验盒 10。化验盒 10 和微流体化验片 40 可用在一种用于进行比如在美国申请 No. 11/505, 358 中所述的在线、实时 PCR 化验的系统中, 在此引入其内容以作参考。

[0030] 化验盒 10 包括主体部分 12, 其中多个喷嘴或出口端口 14、16、18 从主体部分伸出。图示的实施例不用于进行限制。化验盒可具有多于或少于所图示的三个喷嘴。在主体部分 12 内, 化验盒 10 包括与相应喷嘴流体连通的内室 (未显示), 这些内室可容纳用于输送到微流体化验片 40 内的相应微通道或从微流体化验片 40 内的相应微通道移出的不同流体。这些流体可包括例如采样 DNA 物质、缓冲剂或试剂 (包括化验专用试剂) 和反应废弃产物或其它反应流体和 / 或副产品。化验盒 10 还可包括比如端口 20、22 的输入端口, 其与相关联的内室连通用于将流体注入该室。这些端口优选包括在流体已经注入化验盒之后关闭该端口的盖。该盖优选包括某一类型的疏水性通风口, 其防止流体穿过该盖住的端口从该室流出但是允许通风口在流体从该室抽出时平衡周围大气压力和内室压力之间的压力。化验盒 10 还可包括与负压源 (即真空) 连接的真空端口 24, 用于通过喷嘴 14、16 或 18 中的一个或多个将流体 (例如反应废弃产物) 抽吸到与真空端口 24 连通的废料室。

[0031] 在一个实施例中, 化验盒 10 由适当的优选惰性材料注模而成, 该惰性材料比如聚丙烯、聚碳酸酯或聚苯乙烯。化验盒 10 还可包括用于流体容纳 (即室)、流体输送、压力控制和采样制备 (未显示) 的内部设计特征。化验盒也可由其它合适材料构造而成。

[0032] 每一个内室的流体容量可在  $20 \mu\text{L}$  到  $5\text{mL}$  之间, 优选在  $50 \mu\text{L}$  到  $1000 \mu\text{L}$  之间, 最优选在  $100 \mu\text{L}$  到  $500 \mu\text{L}$  之间。当然, 也可使用其它室容积。如果废料隔室与化验盒设计结合, 则该废料隔室可具有高达大约  $5\text{mL}$  或更多的容量。

[0033] 微流体化验片 40 包括主体 42, 该主体带有入口端口排, 比如入口端口 44、46 和 48。与入口端口 44、46 和 48 连通的微通道延伸通过微流体化验片 40。微流体化验片 40 包括微通道部分 50, 微通道形成在该微通道部分 50 中, 并且如下更详细的描述, 该微通道部分 50 提供了用于对在微通道内流动的物质进行不同与化验相关的操作的位置。微通道部分 50 可由比如玻璃或塑料的任何合适材料制成。在共同受让德、共同待决的美国申请 No. 11/505, 358 中公开了一条微通道部分的实例, 在其引入其内容已作参考。

[0034] 化验盒 10 通过将喷嘴 14、16 和 18 与来自排 44、46 和 48 的一列入口端口连接在一起而联接到微流体化验片 40 上。喷嘴和入口端口之间的连接可以通过将每个喷嘴 14、16 和 18 插入相应入口端口 44、46 和 48 的摩擦配合方式进行的。替代地, 该连接可以是路厄 (luer) 锁定连接或一些其他类型的锁定连接, 这允许化验盒附接到微流体化验片上, 但是一旦连接好, 化验盒不能从微流体化验片上拆下来。

[0035] 微流体化验片 40 可包括用于从外部容器抽吸流体 (例如试剂) 的吸管 52。如图 2a 和 2b 所示, 由微流体化验片 40 和化验盒 10 构成的结构可位于具有多个独立孔 82 的微孔板 80 的上方。微流体化验片 40 和微孔板 80 相对彼此运动 (例如, 在计算机控制下通过自动设备使微流体化验片 40 和 / 或微孔板 80 运动), 从而将在微流体化验片下方延伸的吸管 52 放置在孔 82 的选定孔中以将该井中的内容物抽吸到吸管中并且因而进入微流体化验

片 40。

[0036] 图 3 示意性图示了一种形成在微流体化验片 40 中的微通道 62。微通道 62 包括输入端口 70, 该输入端口与微流体化验片 40 的入口端口排 48 或 46 (或二者) 相对应, 来自化验盒 10 的流体通过该输入端口注入微通道。在该实施例中, 微通道 62 还包括输出 (废料) 端口 72, 该输出端口与微流体化验片 40 的入口端口排 44 相对应, 来自微通道 62 的物质通过该输出端口注入化验盒 10。吸管 52 通过连接件 60 与微通道联接。在一个实施例中, 一条微通道 62 与微流体化验片 40 的入口端口排 44、46 和 48 内的每一列入口端口相关联。因此, 在如图 1a 所示的实施例中, 微流体化验片 40 将包括六条微通道, 其每一条通道与六列入口端口中的每一列相关联。

[0037] 在具有单个吸管 52 的一个实施例中, 吸管 52 通过连接件 60 与每一条微通道 62 联接, 使得通过吸管 52 抽吸到微流体化验片 40 上的物质被分给包含在微流体化验片 40 内的每一条微通道中。如图 3 由虚线 80 所表示的, 微流体化验片 40 和微孔板 80 相对彼此运动, 使得吸管 52 可放置多孔板 80 中的多个孔  $82_1$ 、 $82_2$ 、 $82_i$  中的任一个孔中。

[0038] 在一个实施例中, 微通道 62 包括用于混合经由端口 70 和吸管 52 引入微通道 62 中的物质的混合部分 64。混合部分 64 可包括微通道的蜿蜒部分或用于混合微通道的内容物的其他已知装置。在其他实施例中, 微通道 62 不包括混合部分。

[0039] 而且, 微通道 62 还包括位于微流体化验片 40 的微通道部分 50 内的在线 PCR 部分 66 和分析部分 68。分析部分 68 可设置用于进行微通道内容物的光学分析, 比如检测添加到反应物质中的染料荧光或比如高分辨率溶解分析 (HRTm) 的其它分析。在美国申请 No. 11/505, 358 中描述了这种在线 PCR 和微流体分析, 在此并入其内容以作参考。在一个实施例中, 微通道 62 在微流体化验片 40 内制成 U 形转弯, 从而返回到化验盒 10, 使得完成在线 PCR 和分析时反应产物可通过输出端口 72 注入化验盒 10 内的废料室。在其他实施例中, 也可使用微通道的其他结构。

[0040] 本发明的结构可用于进行多个按顺序的化验, 由此在包含在微通道内的 DNA 液滴或其它采样物质内进行不连续化验。按顺序布置的液滴可包含不同的 PCR 基液或其它化验专用试剂, 而且该按顺序布置的液滴可由通常称作流动标记的非反应物质的液滴将它们彼此分隔开。在共同受让、共同待决的申请 No. 11/505, 358 中也描述了用于在单一微通道中进行多个不连续化验的技术。

[0041] 图 4 示意性图示了微通道的内容物, 其中根据一个实施例在 DNA 或其它采样物质的不连续液滴内进行多个不连续化验。参照图 4, 并且在图中从右向左移动, 对于在微通道中从左向右移动的流体, 附图标记 108 表示最初注入微通道以便填充微通道的基础流体 (priming fluid)。在添加基础流体之后, 包含与 PCR 基液混合的控制采样 (例如, 包含已知 DNA 和 / 或已知 DNA 浓度的采样) 的液滴或一团试剂 (bolus) 104 被注入微通道。控制液滴 104 通过流动标记流体 106 与基础流体 108 分离开。流动标记 106 可包括非反应流体, 比如, 例如缓冲剂溶液。附图标记 100 和 98 分别表示第一采样液滴和第 n 采样液滴。每一个采样液滴通常具有大约 8 纳升的体积, 也可具有 2-50 纳升的体积, 并且包括一定量的与特定 PCR 基液或其它化验专用试剂相结合的 DNA 或其它采样物质, 用于进行每个液滴内的化验和分析每个液滴内的化验结果。液滴 98-100 中的每一个通过流动标记彼此分离开。如图 4 所示, 控制液滴 104 通过流动标记 102 与采样液滴 100 分离开。附图标记 94 表示第二控

制液滴,该第二控制液滴包括与 PCR 基液相结合的第二控制采样或其它化验专用试剂。控制液滴 94 通过流动标记 96 与第 n 个测试液滴 98 分离开。

[0042] 图 4 显示了分别位于测试液滴 98-100 之前和之后的仅两个控制液滴 104、94。但是应该理解的是可使用多于或少于两个控制液滴,并且控制液滴可置于测试液滴之间,通过流动标记与测试液滴分离开。再者,图 4 显示了布置成直线的液滴,但是微通道可以是非直线的而且可以例如形成如图 3 所示的 U 形转弯。

[0043] 附图标记 92 表示冲洗溶液,该冲洗溶液经过微通道冲洗出微通道的内容物。附图标记 90 表示最终使流体泵送通过微通道以迫使微通道的内容物进入废料容器。注意在图 4 中,清楚起见,显示为每一个方块与邻近方块分离开。然而,事实上,不存在用于使流动标记的各液滴和采样液滴分离的间隙;通过微通道的流动通常是基本上连续的。

[0044] 图 5 显示了根据一个实施例的在线化验的定时步骤 (timing step)。通常在系统计算机的控制下实现该定时步骤的执行。在步骤 122,用缓冲剂溶液填装微通道。缓冲剂溶液可容纳在化验盒 10 内的隔室内,或者它可通过吸管 52 从多孔板 80 的一个孔 82 中吸取。其间,如步骤 120 所表示的通过箭头与所有其他步骤连接,比如 DNA 物质的采样物质从化验盒 10 内的采样隔室连续注入微通道。在填装步骤 122 之后,在步骤 124 将一定量的流动标记缓冲剂物质吸到微通道。接下来,在步骤 126 将负控制采样和 PCR 基液吸到微通道以形成控制测试液滴。在步骤 128 将另一一定量的流动标记缓冲剂溶液吸到微通道。如上所注意到的,如在步骤 120 所指出的,在整个过程中将 DNA 采样连续注入微通道。在步骤 130,PCR 化验基液或其他化验专用试剂通过吸管 52 从多孔板 80 的孔 82<sub>i</sub> 吸取进入微通道并且与连续流动的 DNA 采样的一部分混合,从而形成测试液滴。在步骤 132,流动标记缓冲剂被吸入微通道并且与连续流动的 DNA 采样的一部分混和,从而形成连续标记液滴以使在前一步骤中形成的测试液滴与随后的测试液滴分离开。在步骤 134,执行逻辑判断步骤以确定是否已经完成了对采样物质要进行的所有化验。如果否,过程返回到步骤 130,另一一定量的 PCR 化验基液或其它化验专用试剂被吸到微通道并且与连续流动的 DNA 采样的一部分混和,从而形成随后的测试液滴。接下来,重复步骤 132 以形成另一个流动标记液滴。当已经完成所有化验时,在步骤 136 将正控制液滴和 PCR 基液吸到微通道以形成第二控制测试液滴。如上所注意到的,然而,控制液滴在测试液滴之前和之后不是必然需要的。而且,在步骤 138,微通道的内容物被冲洗到废料容器。

[0045] 图 6 显示了一种布置,其中化验盒 10 与具有三个吸管 142、144 和 146 的微流体化验片 140 连接。在该布置中,输入端口排 44、46 和 48 中的每一列将与三个不同微通道联接,每一个微通道将与三个吸管 142、144 和 146 中的一个连接。因而,在图 6 所示的布置中,微流体化验片 140 将包括 18 条微通道、3 条微通道用于 6 列入口端口中的每一列。该布置允许增加并行总处理能力。例如,在药物基因 (pharmacogenomic) 应用中,单个 DNA 采样可与若干个 PCR 基液组并行处理。该并行构造还可设计有四个或更多个吸管。

[0046] 图 7 示意性图示了在图 6 的多吸管构造中形成在微流体化验片 40 中的微通道 62。每一条微通道 62 优选构造成基本上如上所述的图 3 的连接。然而,在该实施例中,输入端口排 44、46 和 48 的每一列将与三个不同微通道联接,而且每一条微通道将与三个吸管 142、144 和 146 中的一个连接。

[0047] 图 8 和 9 显示了本发明的一个替代布置,其不包括吸管。在该无吸管的布置中,包

括缓冲剂、DNA 采样物质和化验专用试剂的所有物质可能自动容纳在化验盒内。在该设计中,试剂盒提供所有功能:DNA 采样制备、试剂供应、缓冲剂 / 试剂供应和废料容纳。

[0048] 图 8 和 9 是不包括吸管的微流体化验片 182 的微通道 170 的示意图。如图 8 所示,微通道 170 包括缓冲剂输入端口 160,缓冲剂溶液的连续流通过缓冲剂输入端口注入微通道 170。DNA 采样物质或其它采样物质通过 DNA 输入端口 162 注入微通道 170,PCR 基液或其它化验专用试剂通过试剂输入端口 164 注入微通道 170。反应废弃物质通过输出口 166 退出微通道 170 并且进入化验盒 10 的废料隔室。微通道 170 可包括混合部分 172、在线 PCR 部分 174 和分析区域 176。通过输入端口 162 和 164 的物质注入由注入端口阀 178 和 180 控制。该阀可以是例如压电或气泡喷射类型的阀。阀 178 和 180 的目的是用于以选定间隔将采样物质和化验专用试样注入缓冲剂溶液的连续流中以形成不连续的测试液滴,例如如图 4 所示。

[0049] 如图 9 所示,化验盒 10 的喷嘴 18 与微通道的端口 A 连通。图 9 图示了一种结构,其中如图 8 所示的输入端口 160 和 162 被有效地结合在该结构中,使得容纳在化验盒 10 内的 DNA 采样材料和缓冲剂溶液的混合物通过端口 A 注入微通道 170。替代地,如图 8 所示,可在离散端口处从第四喷嘴和化验盒(未显示)的相关隔室或者从缓冲剂溶液的外部源注入缓冲剂溶液。化验盒 10 的喷嘴 16 与输入端口 B 连通,该输入端口 B 与图 8 的输入端口 164 相对应。化验盒 10 的喷嘴 14 与微流体化验片 182 的端口 C 连通,该端口 C 与图 9 所示的输出口 166 相对应。为了通过微通道 170 抽吸 DNA 采样物质和试剂以及缓冲剂溶液并且进入化验盒 10 的废料隔室,真空源与化验盒 10 在真空端口 24 处连接。

[0050] 比如缓冲剂和试剂的反应流体可在工厂装载到化验盒中,附随优选设在化验盒本身上的比如批号和产品有效期的信息。然后,使用者在使用化验盒之前可将 DNA 采样物质添加到适当的室中。替代地,可提供空化验盒而且可由实验人员在将化验盒附接到微流体化验片上之前为该化验盒充满希望的化验流体(例如采样物质、缓冲剂、试剂)。

[0051] 图 10 图示了一个计时程序,其使用如图 9 所示的由无吸管化验盒和微流体化验片构成的结构来实现。在步骤 190,向化验盒废料端口(即真空端口 24)施加负压以在微通道 170 内形成负压。在步骤 192,DNA 和缓冲剂溶液在 A 点处连续流入微通道。在步骤 194,PCR 基液 / 试剂或其它化验专用试剂在 B 点(即端口 164)处注入微流体流中。在步骤 196,使反应流体到微通道的输入延时。在步骤 198,在微通道 170 的部分 174 处对微通道内的物质进行热循环(或其它化验处理)。在步骤 200,在微通道 170 的部分 176 处对微通道的内容物进行 HRTm 测试或其它分析。在步骤 202,确定是否需要进一步进行其他化验。如果需要进一步进行重复化验,则过程返回步骤 194,另外的 PCR 基液 / 试剂在 B 点处注入流中,随后进行延时(步骤 196)、PCR 热循环(步骤 198)和测量或分析(步骤 200)。当已经完成所有希望的化验时,在步骤 204 在端口 C(输出口 164)处冲洗微通道 170 到废料隔室。除了 DNA 采样物质通过 DNA 输入端口 162 注入微通道 170 和 PCR 基液通过试剂输入端口 164 注入微通道 170 之外,图 10 所图示的定时程序类似于如图 8 所示的使用由无吸管的化验盒和微流体化验片构成的结构所完成的定时程序。

[0052] 图 11 图示了由附图标记 240 所表示的微流体化验片的一个替代实施例。微流体化验片 240 包括主体 242 和带有三排入口端口 244、246 和 248 的微通道窗 250。多个化验盒 210 与入口端口 244、246 和 248 联接(注意多化验盒可以类似于先前描述的实施例的方

式与微流体化验片联接)。微流体化验片不同于先前描述的微流体化验片是由于微流体化验片 240 内的微通道没有制成 U 形转弯并且没有返回用于将用过的反应流体从微通道传送到化验盒 210 的废料隔室的废料端口,而是,微流体化验片 240 包括真空度端口 224,该真空端口设在从入口端口 244、246 和 248 来看窗 259 相对侧的主体 240 上。可存在用于每一条微通道的专用真空端口 224,或者一个或多个真空端口可与两个或更多个(或所有)微通道联接。

[0053] 在使用图 11 所示的实施例的过程中,外部真空源(未显示)可与端口 224 连接以通过微流体化验片 240 的微通道抽吸流体,代替将真空端口附接到化验盒 210 上用于将流体抽吸到包含在化验盒内的废料隔室中。也与本实施例有关的是,来自微通道的用过的反应流体被传送到与微通道(未显示)流体连通的废料隔室中,该废料隔室未包含在化验盒 210 内。

[0054] 虽然已经通过某些优选实施例的公开内容相当详细地描述和显示了本发明,但是,本领域的技术人员将很容易想到本发明的其他实施例。因而,本发明被认为包括在随后所附的权利要求书的精神和范围内的所有修改和变型。

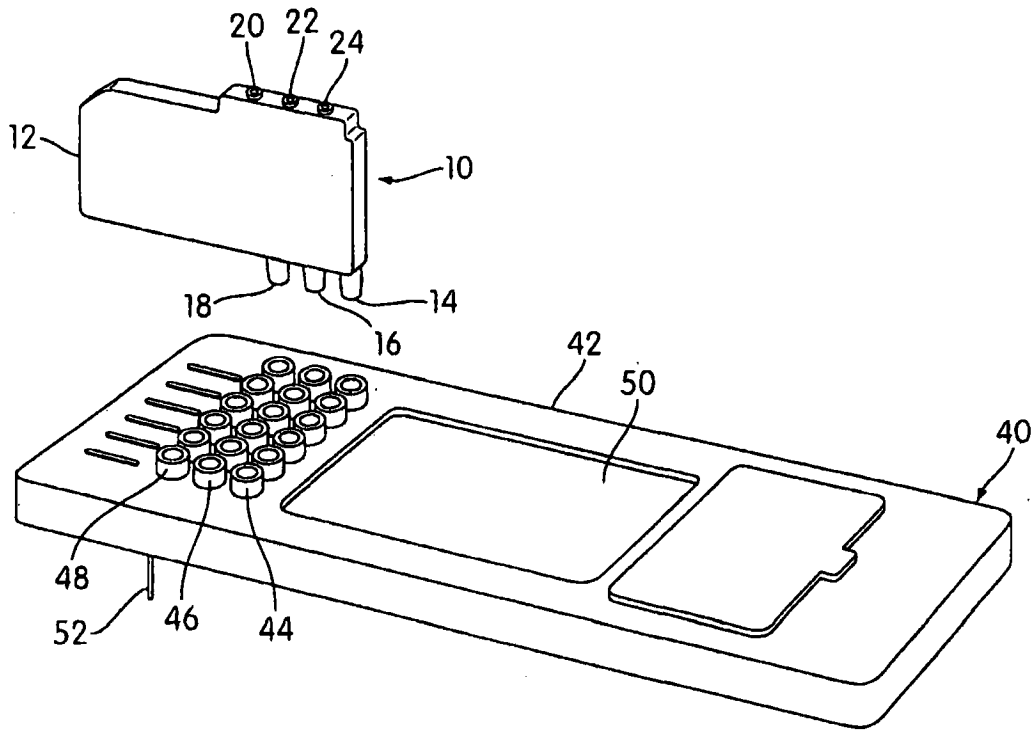


图 1a

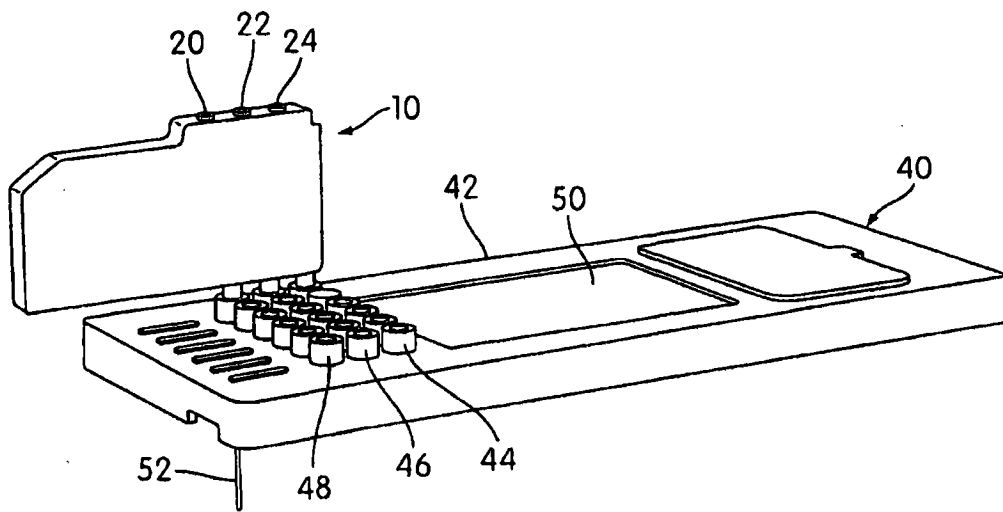


图 1b

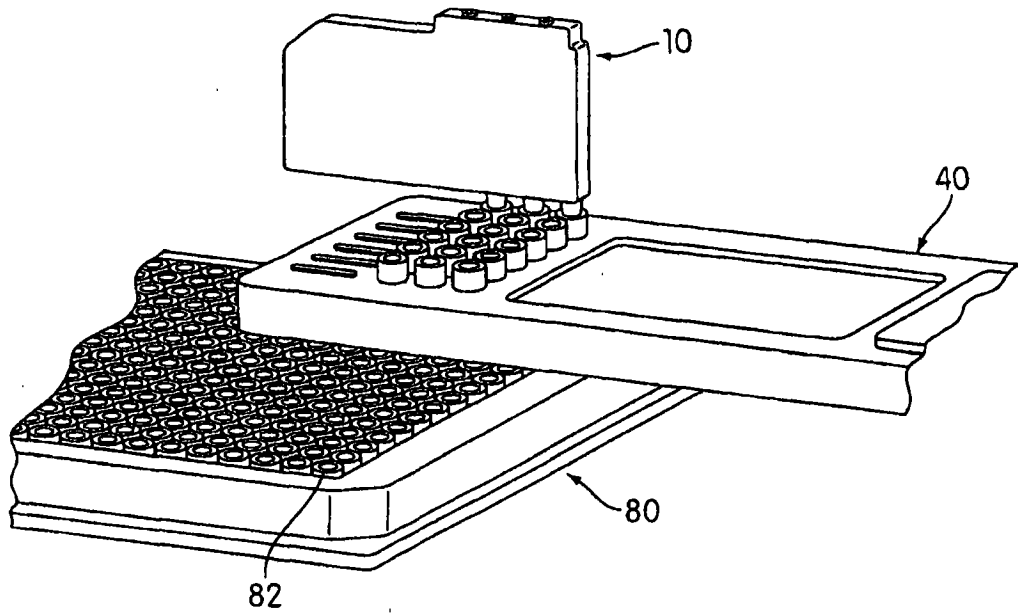


图 2a

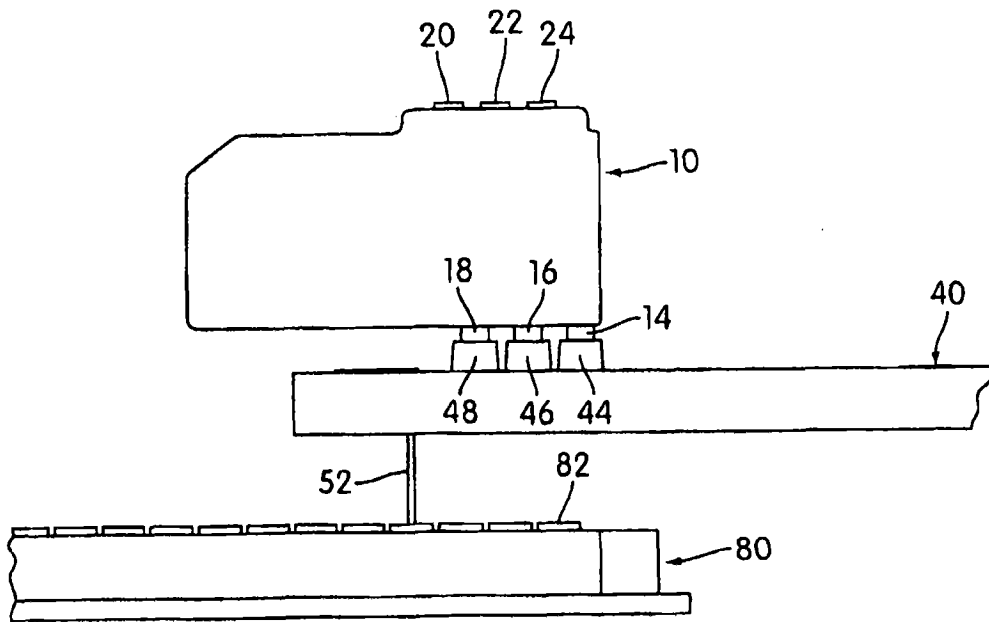


图 2b

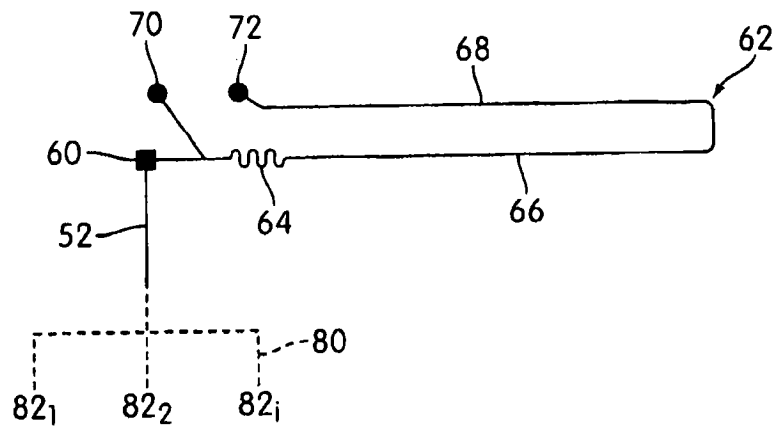


图 3

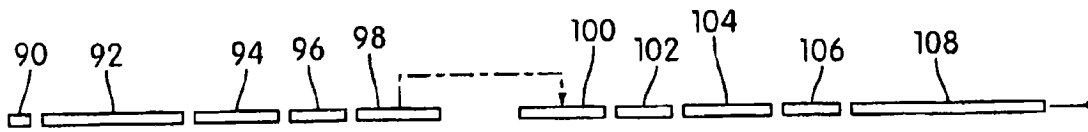


图 4

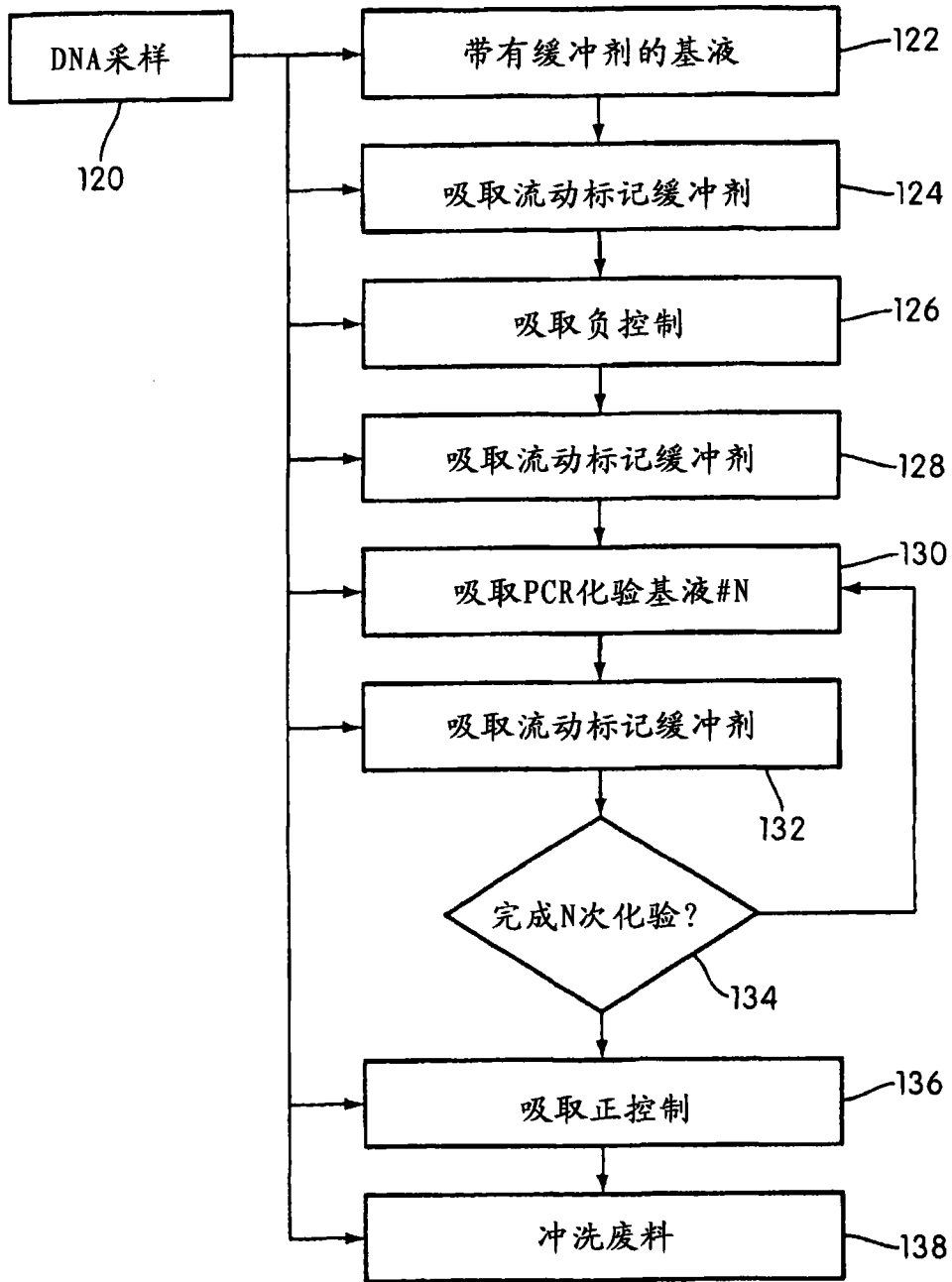


图 5

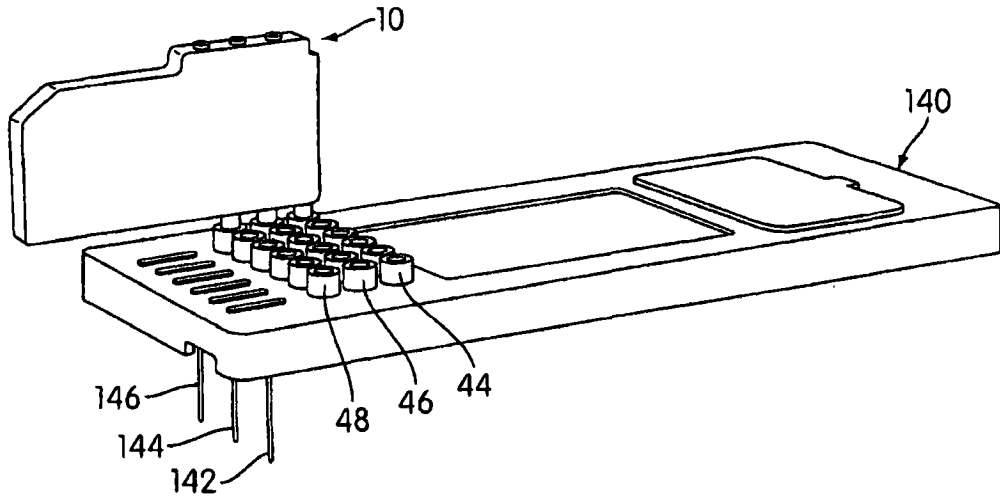


图 6

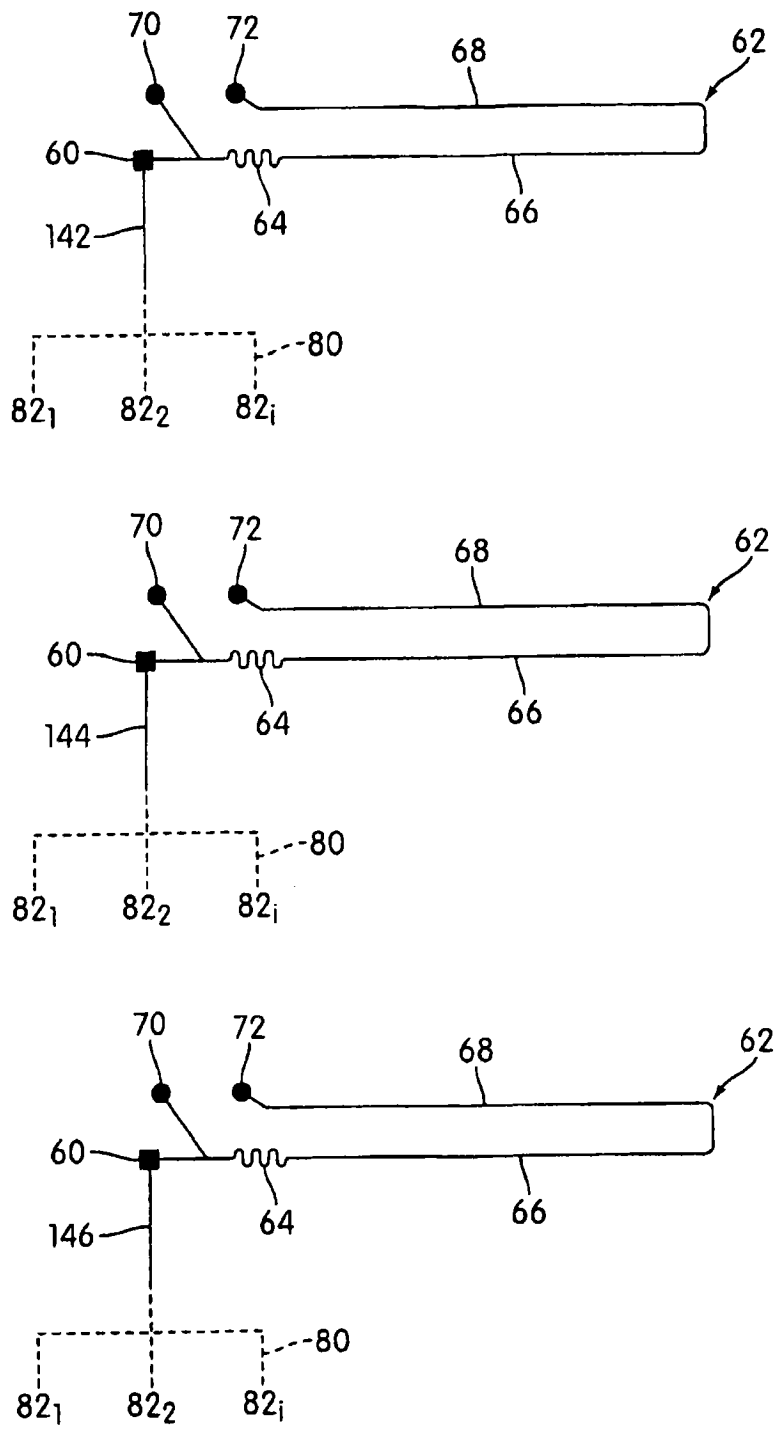


图 7

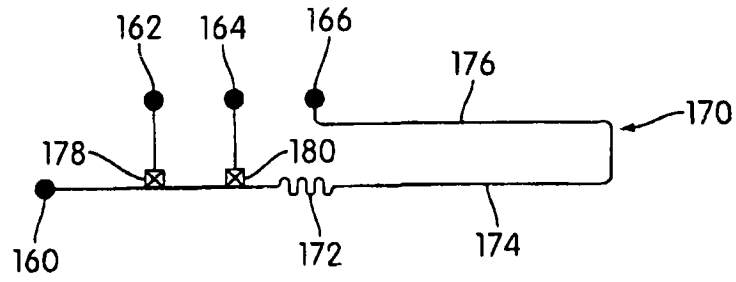


图 8

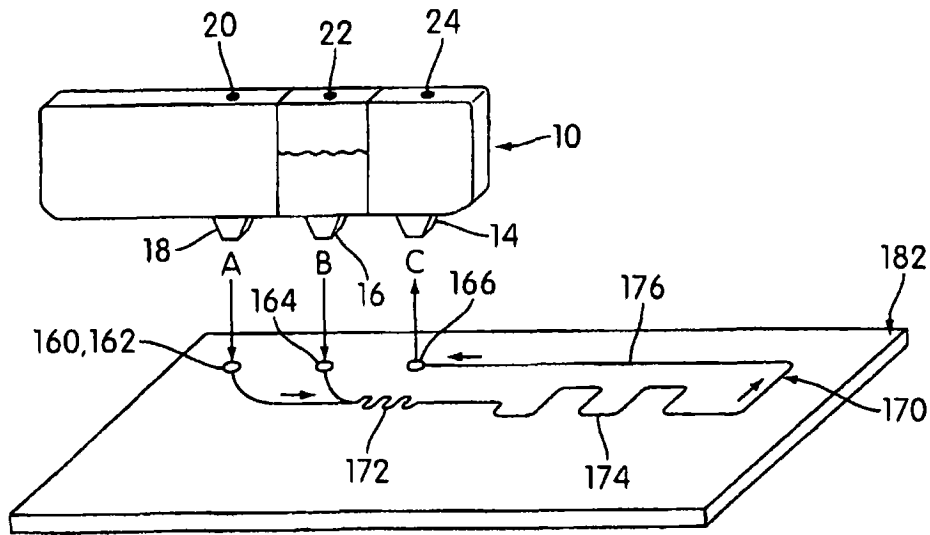


图 9

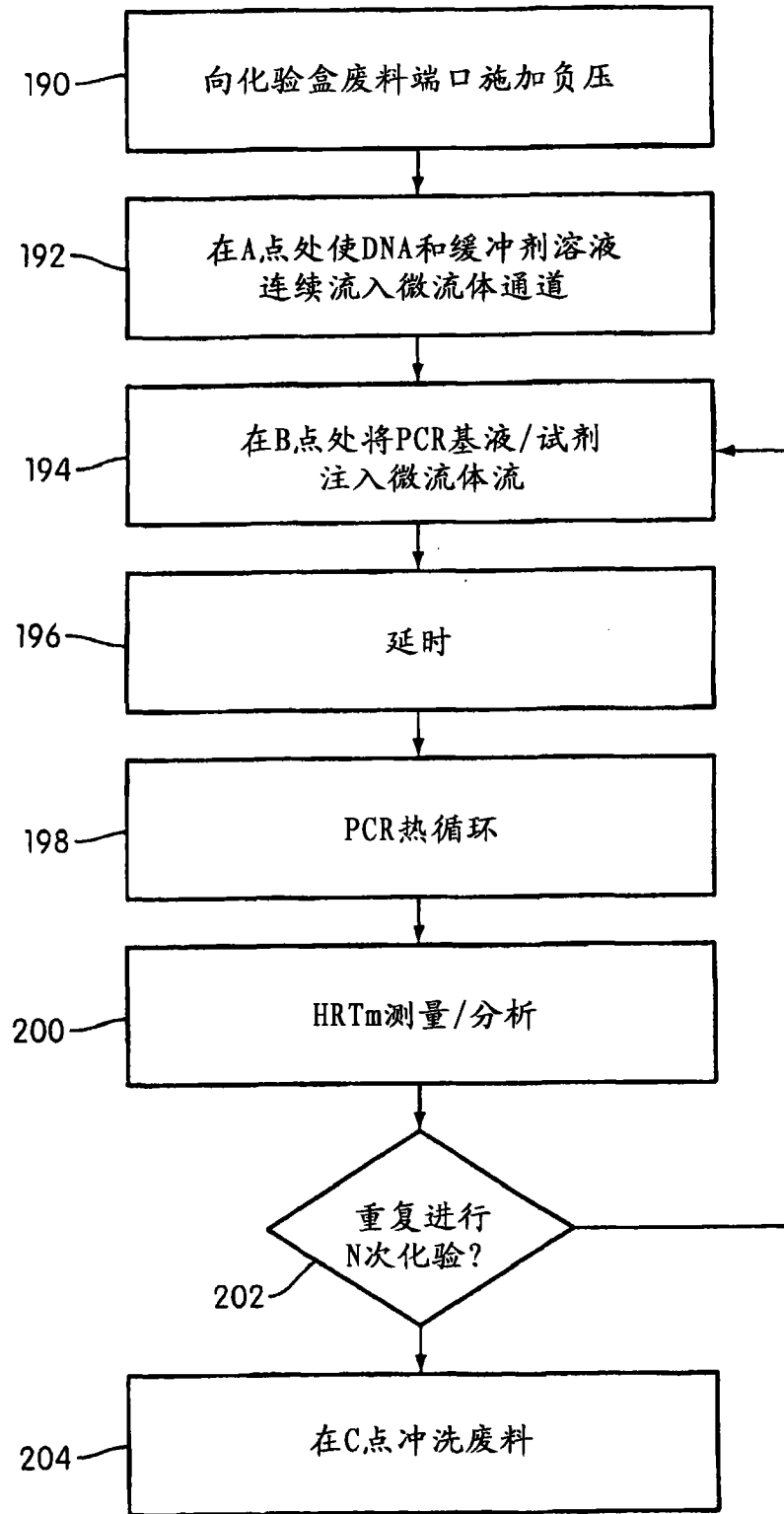


图 10

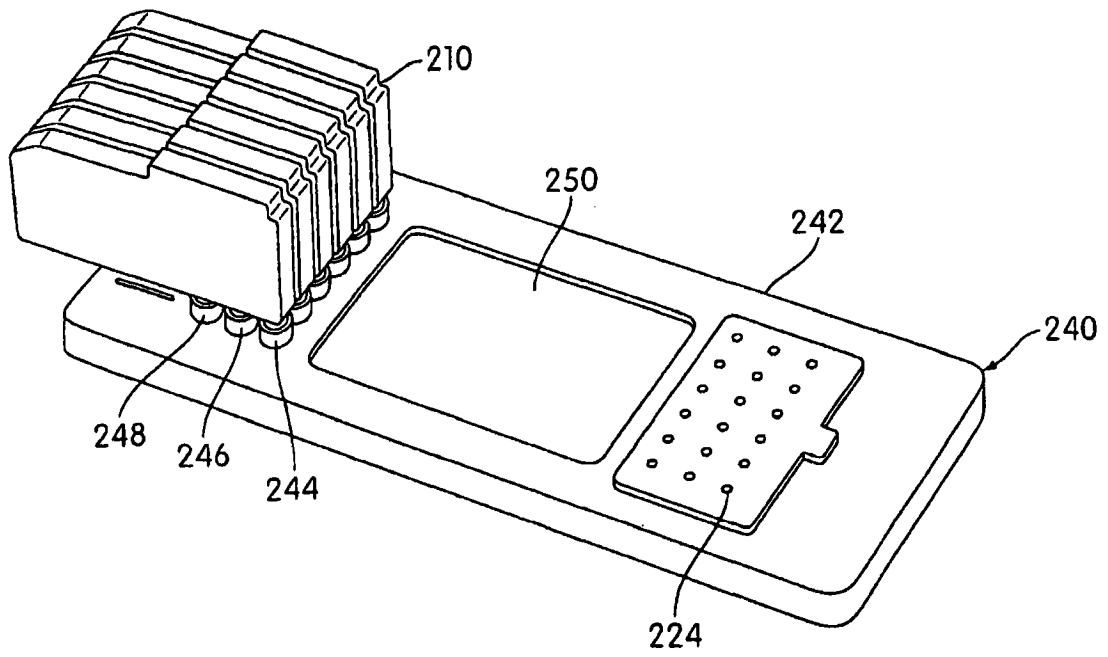


图 11