



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113167785 B

(45) 授权公告日 2024. 09. 03

(21) 申请号 201980063512.3

(22) 申请日 2019.09.05

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113167785 A

(43) 申请公布日 2021.07.23

(30) 优先权数据
1830253-9 2018.09.06 SE
1950149-3 2019.02.08 SE

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.26

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/SE2019/050837 2019.09.05

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/050770 EN 2020.03.12

(73) 专利权人 卡皮台内尔公司

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 A·奥兰德 H·P·斯塔克-约翰逊
J·豪泽 G·斯特默
N·洛克希德

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

专利代理师 张志华 王小东

(51) Int. Cl.
G01N 33/49 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2015044454 A2, 2015.04.02
WO 2016209147 A1, 2016.12.29

审查员 李倩

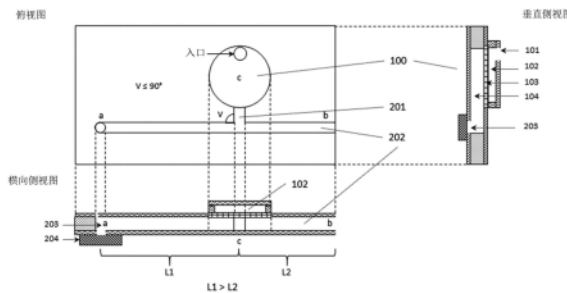
权利要求书2页 说明书6页 附图8页

(54) 发明名称

微流体装置

(57) 摘要

本文中公开了用于输送和采样限定体积的血浆的微流体装置和方法,其提供从入口到出口的流体通路,该流体通路包括第一区域和第二区域,第一区域具有所述入口,具有第一高流动阻力,被配置为接收和收集全血样本并分离出血浆,第二区域具有所述出口,具有较低流动阻力。第二区域与第一区域流体连接并被配置为通过包括计量通道来计量分离出的血浆。



1. 一种用于输送和采样限定体积的血浆的微流体装置,该微流体装置提供从入口(101)到出口(203)的流体通路,所述微流体装置包括:

第一区域,所述第一区域包括血浆提取隔室(100),所述血浆提取隔室具有所述入口(101)、全血容器(102)、血浆分离膜(103)和用于收集分离出的血浆的血浆滤液室(104),所述血浆提取隔室(100)被配置为接收和收集全血样本并分离出血浆,所述第一区域具有第一流动阻力;

第二区域,所述第二区域包括计量通道(202),所述计量通道(202)与所述出口(203)流体连通并且借助在所述第一区域与所述第二区域之间的流体连接器与所述血浆提取隔室(100)流体连通,所述第二区域具有第二流动阻力并且被配置为对分离出的血浆进行计量;以及

毛细管装置(204),所述毛细管装置(204)与所述出口(203)流体连通并被配置为施加足够强的毛细管作用力以输送和吸收所述第二区域中的计量出的血浆体积;

其特征在于,

所述微流体装置包括通气口,所述通气口位于所述血浆滤液室(104)与所述计量通道(202)之间并且布置成将所述第二区域中的血浆与所述第一区域中的血浆分离;并且

在输送血浆的任何给定时间,所述第一区域中的有效的第一流动阻力是所述第二区域中的有效的第二流动阻力的值的至少两倍。

2. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述计量通道(202)的容积在 $0.5\mu\text{l}$ 和 $50\mu\text{l}$ 之间。

3. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述流体连接器是连接通道(201),所述连接通道(201)和所述计量通道(202)在横截面面积和/或长度方面具有不同的尺寸。

4. 根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述连接通道(201)以尺寸突变的方式连接到所述计量通道(202)。

5. 根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述连接通道(201)以尖拐角与所述计量通道(202)相交,因此所述连接通道(201)和所述计量通道(202)的纵向对称轴以 90° 或更小的角度(V)交叉。

6. 根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述计量通道(202)具有带死端(b)的至少一个分支。

7. 根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述连接通道(201)与所述计量通道(202)在点(c)处相交,该点将所述计量通道(202)分成两个不对称部分,连接到所述出口(203)的第一部分比第二部分具有更长的填充时间。

8. 根据权利要求7所述的微流体装置,其中,所述第一部分是连接到所述出口(203)的较长部分(L1),并且所述第二部分是连接到死端(b)的较短部分(L2)。

9. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述流体连接器是在所述血浆提取隔室(104)的出口孔和所述计量通道(202)的进出口之间的连接部。

10. 根据权利要求9所述的微流体装置,其中,所述连接部从所述进口线性延伸到所述出口。

11. 根据权利要求9所述的微流体装置,其中,所述流体连接器设置有通气口。

12. 根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述连接通道(201)的横截面面积小于所述计量通道(202)的横截面面积。

13. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述毛细管装置是多孔基质。

14. 根据权利要求13所述的微流体装置,其中,所述多孔基质由可溶解膜覆盖。

15. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述全血容器被布置为限制血液流入所述血浆分离膜,并且其中,所述全血容器被配置为使得所述计量通道仅能被填充一次。

16. 根据权利要求1所述的微流体装置,所述微流体装置包括在所述出口和所述毛细管装置之间延伸的桥接元件。

17. 根据权利要求1所述的微流体装置,所述微流体装置包括至少一个通气口,所述至少一个通气口布置在选自以下中的至少一个的位置:所述全血容器、所述计量通道、出口区域。

18. 根据权利要求17所述的微流体装置,所述微流体装置包括布置在连接到所述血浆分离膜的所述全血容器中的通气口、布置在所述计量通道的分支中的通气口和布置成与所述出口连接的通气口。

19. 一种从全血样本中获得计量体积的血浆的方法,该方法包括以下步骤:

(a) 在提供血浆微流体通路的结构(101)处接收全血样本;

(b) 从全血中分离出血浆,并以第一流动阻力将血浆从所述流体通路中的血浆提取室(100)输送到计量通道(202);

(c) 准许血浆以比所述第一流动阻力低的第二流动阻力填充所述计量通道(202),并准许血浆通过与毛细管装置(204)建立液体接触的出口(203),其中,在输送血浆的任何给定时间,所述第一区域中的有效的第一流动阻力是所述第二区域中的有效的第二流动阻力的至少两倍;

(d) 在准许空气通过位于所述计量通道(202)与所述血浆提取室(100)的血浆滤液室(104)之间的通气口受控地流入并且切断留在所述流体通路中的血浆的同时,在所述毛细管装置(204)的毛细管作用力下排空所述计量通道(202);并且

(e) 在所述毛细管装置(204)中获得具有计量体积的血浆样本。

20. 根据权利要求19所述的方法,所述方法包括:填充所述计量通道(202)的包括死端(b)的至少一个短分支,并随后填充所述计量通道(202)的包括所述出口(203)的较长分支,由此与所述毛细管装置(204)建立液体接触。

微流体装置

技术领域

[0001] 本发明涉及在全血中进行微流体血浆提取并且对血浆进行计量。

背景技术

[0002] 从全血中分离出血浆是用于临床诊断和生物医学研究目的的全血检验中的关键步骤。常规地,通过进行静脉穿刺并在试管中收集5-10ml的全血来进行血液采样。为了进行分析,血浆常常是优选的物质并在分析之前通过在中心化实验室(centralized laboratory)中进行离心来获得。处理试管中的液体样本的替代采集方法是将血液涂在纸材料上,然后让样本在纸上干燥。在实验室中,干燥后的血液可被重新溶解,以备通过湿化学进行分析。这种方法称为干血斑(DBS)分析,并且在与针对保留血细胞的分离技术相结合时,也可获得干血浆斑点(DPS)。这种方法已广受欢迎,因为它带来的优势是在输送到实验室期间无需保持冷链。储藏格式的简单性也为通过手指刺入进行的毛细血管原位采样(capillary home sampling)打开了方便之门。

[0003] 微流体系统和芯片实验室(Lab-on-Chip)是减少生化分析时间和成本的解决方案。通过小型化,使待分析的体积减小,从而缩短了反应时间并减少了昂贵试剂的消耗,还有其他。微流体技术已被应用于血浆提取目的。可要么主动(诸如电场或磁场这样的外部施加的力)要么被动(由微特征引起的沉降、过滤或流体动力学效应)地实现血细胞与血浆的微观分离。也可应用其他基于纸的离心微流体。

[0004] 许多生化分析需要对分析物进行定量。为了确定样本中分析物的精确浓度,需要获悉精确的样本体积。在微流体层面上,液体的计量可再次被主动地或被动地实现。将一定体积的流体分成两个或更多个体积的主动装置的示例是通过引入诸如机械地干预液体体积以将其分割成多单元的主动阀或与可撕裂液体的部分的加压空气组合的被动阀这样的部件。在液滴微流体中,利用在某些微流体几何形状(T型结)中在两种不混溶的液相(油和水)之间出现的剪切力来进行液体分隔。被动计量在文献中报道得较少。W02016/209147展示了使用集成在微通道中的两个可溶解膜进行的被动计量。另外,US2015/0147777A1在包含用于计量的吸收材料的溢流通道结构上使用交汇。W02015/044454公开了用于收集和输送生物流体(优选地,全血)的微流体装置,该微流体装置包括用于收集所计量样本的计量通道。该装置具有包括入口特征的具有低流动阻力的第一区域以及包括具有高流动阻力的计量通道的第二区域,这是会引起与获得适于因血液特性差异造成的不同流动的稳定性能相关的问题的布置。

[0005] 期望的是使得用于血浆采样的完全自主系统能够带来的优点是,运行该过程对与用户的交互的要求最小,由此使用户的训练水平能够下降并使采样期间的误差风险能够降低。借助微流体层面的被动手段的自主系统将进一步降低系统的复杂性和成本,因为不需要要求电力源等的外部驱动力来运行微流体功能。然而,开发这样的系统将涉及为了适应因个体间差异大的不同的血细胞比容、脂质含量和凝血因子方面的各式各样的全血特性的容差的设计挑战,因为这些不同在通过允许主动流动操纵而将更容易操纵的系统中的流动

特性差异。本发明涉及解决所提及问题的改进,同时得到限定体积的血浆样本。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种输送和计量源自全血的样本的微流体装置,该装置的改进在于相对于血液特性变化的独立性。

[0007] 本发明的目的是提供一种输送和计量源自全血的样本的微流体装置,该装置不含时间依赖性的部件并且是自主的且自支撑的。

[0008] 在一个总体方面,本发明涉及一种用于输送和采样限定体积的血浆的微流体装置,该微流体装置提供从入口到出口的流体通路。该装置包括具有入口的第一区域,所述第一区域具有第一流动阻力,并且所述第一区域被配置为接收和收集全血样本并分离出血浆。该装置还包括具有出口的第二区域,所述第二区域具有第二流动阻力,并且所述第二区域与第一区域流体连接并被配置为对分离出的血浆进行计量。该装置还包括:用于分离第一区域与第二区域的装置;以及毛细管装置,该微流体装置与出口流体连通并被配置为施加足够强的毛细管作用力以在将第二区域中的血浆与第一区域中的血浆分离的同时输送和吸收第二区域中的计量出的血浆体积。第二区域布置有至少一个通气口,并且根据该方面的装置准许:在输送血浆的任何给定时间,第一区域中的有效的第一流动阻力是第二区域中的有效的第二流动阻力的值的至少两倍。

[0009] 在这个方面,术语“有效的流动阻力”涉及以下事实:因为在流体流中液体被替换为空气,所以在通过装置进行的整个微流体输送的过程中的流动阻力是动态的并逐渐改变。

[0010] 在本发明的该总体方面,装置的第一区域可包括含入口的血浆提取隔室。血浆提取隔室被配置为接收和收集全血样本,并从样本中分离出血浆,以供在装置中进一步输送。第二区域包括计量通道,所述计量通道与出口流体连接并借助流体连接器与血浆提取隔室流体连接,优选地,计量通道的容积在 $0.5\mu\text{l}$ 和 $50\mu\text{l}$ 之间。更优选地,计量通道的容积在1和 $30\mu\text{l}$ 之间。

[0011] 计量通道的限定容积通常确定了根据本发明的微流体装置的背景和术语“微流体”。

[0012] 在本发明的该总体方面,血浆提取隔室包括全血容器、血浆分离膜和用于收集并进一步输送分离出的血浆的血浆滤液室中的至少一者。优选地,但并不一定是,该装置设置有全血容器、血浆分离膜和用于收集并进一步输送分离出的血浆的血浆滤液室中的每个。

[0013] 在微流体装置的一个实施方式中,用于分离第一区域与第二区域的装置是在血浆提取室和计量通道之间的连接通道。在该实施方式中,连接通道优选地具有从血浆提取隔室(例如,从血浆滤液室)到计量通道的线性延伸部。优选地,连接通道和计量通道具有不同的尺寸。这样的尺寸包括但不限于横截面面积和长度,优选地,连接通道的横截面面积小于计量通道的横截面面积。

[0014] 在一个实施方式中,连接通道以尺寸突变的方式连接到计量通道。

[0015] 在一个实施方式中,连接通道以尖拐角与计量通道相交,因此所述连接通道和所述计量通道的纵向对称轴以 90° 或更小的角度交叉。

[0016] 在一个实施方式中,该装置包括计量通道,计量通道具有带死端的至少一个分支。

[0017] 在一个实施方式中,该装置具有连接通道,连接通道与计量通道相交,使得将计量通道分成两个不对称部分,连接出口的第一部分比第二部分具有更长的填充时间。这样的系统可以被配置为大体T形。

[0018] 在该装置的一个实施方式中,计量通道的第一部分是连接到出口的较长部分(L1),并且计量通道的第二部分是连接到死端的短部分(L2),例如,L1:L2的关系为5:4或4:3或从5:4到4:3,或者在另一个示例中,与较短部分(L2)的长度相比,较长部分(L1)具有至少两倍的长度。

[0019] 在根据本发明的微流体装置的另一个实施方式中,用于分离第一区域与第二区域的装置是在血浆提取隔室的出口孔和计量通道的入口之间延伸的流体连接器,流体连接器设置有通气口(图8)。优选地,计量通道具有从计量通道的入口到计量通道的出口的线性延伸部。因此,计量通道未设置有分支。

[0020] 在根据本发明的微流体装置的另一个实施方式中,用于分离第一区域与第二区域的装置是位于血浆滤液室和计量通道之间的通气口,由此充当具有不同流动阻力的第一区域和第二区域之间的接口。

[0021] 在一个实施方式中,装置的毛细管装置是多孔基质,多孔基质诸如为纸,所述纸可选地被可溶解膜覆盖,所述可溶解膜诸如为含PVA的膜。

[0022] 在一个实施方式中,装置的毛细管装置是毛细管通道,所述毛细管通道诸如为能够从计量通道中排空血浆的亲水性微流体通道。

[0023] 在任何之前实施方式中定义的装置中,全血容器可被布置为限制血液流入血浆分离膜。全血容器被适当地配置为适于计量通道的容积,并被配置为使得计量通道仅可被填充一次。优选地,全血容器的容积在1-200 μ l之间,更优选地在5-200 μ l之间,并且进一步更优选地在10-100 μ l之间。

[0024] 如任何之前实施方式中定义的装置可包括在出口和毛细管装置之间延伸的桥接元件。桥接元件用作用于支持出口与毛细管装置之间的流体连通的装置。

[0025] 如任何之前实施方式中定义的装置可包括一个或数个通气口,通气口布置在选自以下中的至少一个的合适位置:全血容器、计量通道、出口区域。优选地,在连接到血浆分离膜的全血容器中布置有通气口,在计量通道的分支中布置有通气口,并且布置有与出口连接的通气口。

[0026] 在本发明的另一个总体方面,它涉及从具有未限定体积的全血样本中获得计量体积的血浆的方法。该方法包括以下步骤:(a)在提供血浆微流体通路的结构入口处接收全血样本;(b)从全血中分离出血浆,并以第一流动阻力将血浆从所述流体通路中的血浆提取室输送到计量通道;(c)准许血浆以比所述第一流动阻力低的第二流动阻力填充所述计量通道,并准许血浆通过与毛细管装置建立液体接触的出口;(d)在切断留在所述流体通路中的血浆的同时,在毛细管装置的毛细管作用力下排空所述计量通道;以及(e)在所述毛细管装置中获得具有计量体积的血浆样本。

[0027] 在如此描述的一种方法或多种方法中,描述了具有微流体通路的微流体装置如何能够分割或切出计量体积的血浆,因此在毛细管装置中提供了限定体积的样本并将任何剩余血浆保留在系统中,优选地,保留在血浆提取室中并且基本上保留在该通路的具有较高流动阻力的区域中。

[0028] 在该种方法或该多种方法的不同实施方式中,其可包括填充计量通道的带死端的至少一个短分支,并随后填充计量通道的具有出口的较长分支,由此与毛细管装置建立液体接触。

[0029] 可用任何之前实施的装置来执行这里被适当概述的不同方法。

[0030] 下面详细的示例部分描述了目的是例示性的而不应该被视为限制权利要求书中概述的本发明的范围的本发明的特定实施方式。

附图说明

[0031] 现在,将以举例方式参考附图来描述本发明,在附图中:

[0032] 图1以俯视图、横向侧视图和垂直侧视图示出了根据本发明的微流体装置。

[0033] 图2示出了在全血容器的入口处施加全血。

[0034] 图3示出了将血浆提取在血浆提取隔室中并进入连接通道。

[0035] 图4示出了计量通道的双向填充:朝向计量通道的出口(a)和计量通道的端部(b)。

[0036] 图5示出了当流体已经到达了b处仅朝向a的单向填充。

[0037] 图6示出了与出口处的毛细管装置的接触如何启动对计量通道进行排空。

[0038] 图7示出了计量通道怎样开始被第二次填充。

[0039] 图8示出了根据本发明的微流体装置的另一个实施方式。

具体实施方式

[0040] 图1示出了具有血浆提取隔室(100)和计量通道(202)的所发明装置的实施方式的整体草图,血浆提取隔室通过短连接通道(201)连接到计量通道(202),短连接通道以在图1中被表示为 V 的 90° 或更小的角度附接到计量通道。角度 V 可被配置为准许在连接通道(201)和计量通道(202)之间的尖拐角。用于将连接通道附接到计量通道的点相对于计量通道的长度的中间是偏心的,使得形成长度 $L1$ 和 $L2$,其中, $L1 > L2$ 。计量通道的容积由其长度、宽度和高度定义。计量通道在 $L2$ 的端部(b)通向环境,并在 $L1$ 的端部(a)连接到毛细管装置的纸, $L1$ 的端部(a)形成系统的出口。所提出装置中的血浆分离是借助过滤进行的,其中,分离膜(103)置于全血容器(102)和血浆滤液室(104)之间。全血被施加在全血容器(102)的入口(101)处。为了启动被动血浆分离,众所周知,分离膜(103)需要与底基板(图1中未示出)进行毛细管接触。这可借助例如Thorslund等人的(10.1007/s10544-006-6385-7)的引入接触膜的微结构或者通过如W02009106331A2中提出的将膜弯曲成凹形或者通过如W02016/209147A1中建议在膜和通道底部之间引入楔形来实现。一旦启动血浆提取,血浆滤液室(104)就开始填充。一旦充满,血浆就经由连接通道(201)进入计量通道(202)。计量通道(202)开始在朝向点a的方向和朝向点b的方向二者上填充。一旦血浆已经到达 $L2$ 的端部(b),血浆就仅在朝向出口(a)的方向上流动。当血浆到达出口(203)时,开始与毛细管装置(这里由纸(204)体现)接触。纸的强毛细管作用力由于其强大芯吸力将填充在计量通道中的液体拉入纸(204)中,并将所述液体与血浆提取隔室(104)和连接通道(201)中的其余血浆切断。将所计量的血浆排空到纸中之后,血浆提取持续进行并且计量通道开始第二次填充。为了避免血浆第二次到达出口,在膜的前方存在全血容器,从而只允许足以用于一个所计量体积的血液。该过程的基本步骤可见于图2至图7。已证明所提出的方法用于从 $65\mu\text{L}$ 的

HCT 30、40和50的全血中采样13 μ l的血浆。

[0041] 图2示出了在布置有全血容器的入口处施加全血。

[0042] 图3示出了将血浆提取到血浆提取隔室中并进入连接通道。

[0043] 图4示出了计量通道的双向填充:朝向计量通道的出口 (a) 和计量通道的端部 (b)。

[0044] 图5示出了到达 (b) 时流动如何从双向改变为单向,由此仅朝向 (a) 填充。

[0045] 图6示出了在出口处与毛细管装置 (这里,纸) 的接触如何由于纸的强大毛细管作用力而启动对计量通道进行排空并且如何将计量通道中的液体与提取隔室和连接通道中的血浆切断。

[0046] 图7示出了现在如何将所计量的样本分配到纸中并持续进行血浆提取并造成计量通道被重新填充。

[0047] 图8示出了具有线性计量通道的根据本发明的微流体装置的另一实施方式的俯视图和横向侧视图,该装置具有与图1至图7中所示的相同的具有全血容器、膜和血浆滤液室的血浆提取隔室。流体连接器是在血浆提取隔室的出口孔和计量通道的入口之间延伸的连接部,流体连接器在图8的位置b处设置有通气口。

[0048] 在图8中描绘的装置的另一替代实施方式中,具有相同的特征,但没有任何流体连接器,但具有采用位于计量通道 (202) 和血浆滤液室 (104) 之间的通气口形式的空气夹断结构,该通气口用作具有不同流动阻力的第一区域和第二区域之间的接口。该通气口将准许当计量通道 (202) 被填充时有夹断效果,并且由于空气受控制地通过通气口流入以及纸基质 (204) 的毛细管作用力,导致流体到达纸基质。通气口使得液体能够被受控制地夹断,从而在最小毛细管作用力的点处提供通气。由此,来自计量通道的血浆被收集在用于DBS的纸基质中,并被准许与过量血浆分离。

[0049] 系统的特定设计通过被动手段解决了微流体系统中血浆的提取和计量中的几个有挑战性的问题:

[0050] 通过在计量通道-连接通道相交处切断液体来实现计量出的血浆与过剩的血浆的分割。由于多种共存因素,出现了切断。与在计量通道中相比,(通过血浆提取隔室中的膜的阻力出现的) 连接通道中的较高流动阻力使得在与纸接触后,流体被在计量通道中从点b朝向a拉动而非从点c (血浆提取隔室) 拉动。通入计量通道的入口的尖拐角以及在连接通道与计量通道之间的90°或更小的V角在弯液面经过它时割断液面,从而使计量通道与连接通道中的血浆之间的凝聚力丧失。

[0051] 所示例的系统容忍计量通道的填充时间的变化,该变化可能是因个体之间的诸如 (例如) 血细胞比容这样的血液特性的变化引起的。这是因为该系统没有事件时间依赖性的部件 (例如,用于夹断/切断的可溶解阀)。

[0052] 所示例的系统还容忍计量通道的填充时间的变化,该变化可能是由通道的机械变化和公差引起的。通过从连接通道通向计量通道的入口的不对称布置 (其中, $L_1 > L_2$) 来实现该特征,使得对于首先完成填充的开放通道路径有余量。

[0053] 膜提取隔室与计量通道的交叉处朝向计量通道的中间 (但不在中间处) 的示例放置需要充当用于血浆提取隔室的毛细管泵的较强毛细管作用力,而非将血浆提取隔室置于计量通道的端部 (b) 处。这是因为两个通道的毛细管作用力比一个强并促成了更快的提取速度。

[0054] 在进行计量和纸盘中进行吸收之后,计量通道开始重新填充。通过限制通过封闭血浆提取隔室的输入量,防止了第二次计量过剩的血浆。封闭的血浆提取隔室还防止了可以长达30分钟的提取过程期间样本被蒸发和污染。

[0055] 本发明可用于例如生化分析、治疗药物监测、诸如维生素D这样的营养物的筛选、铁蛋白以及毒理学筛选。

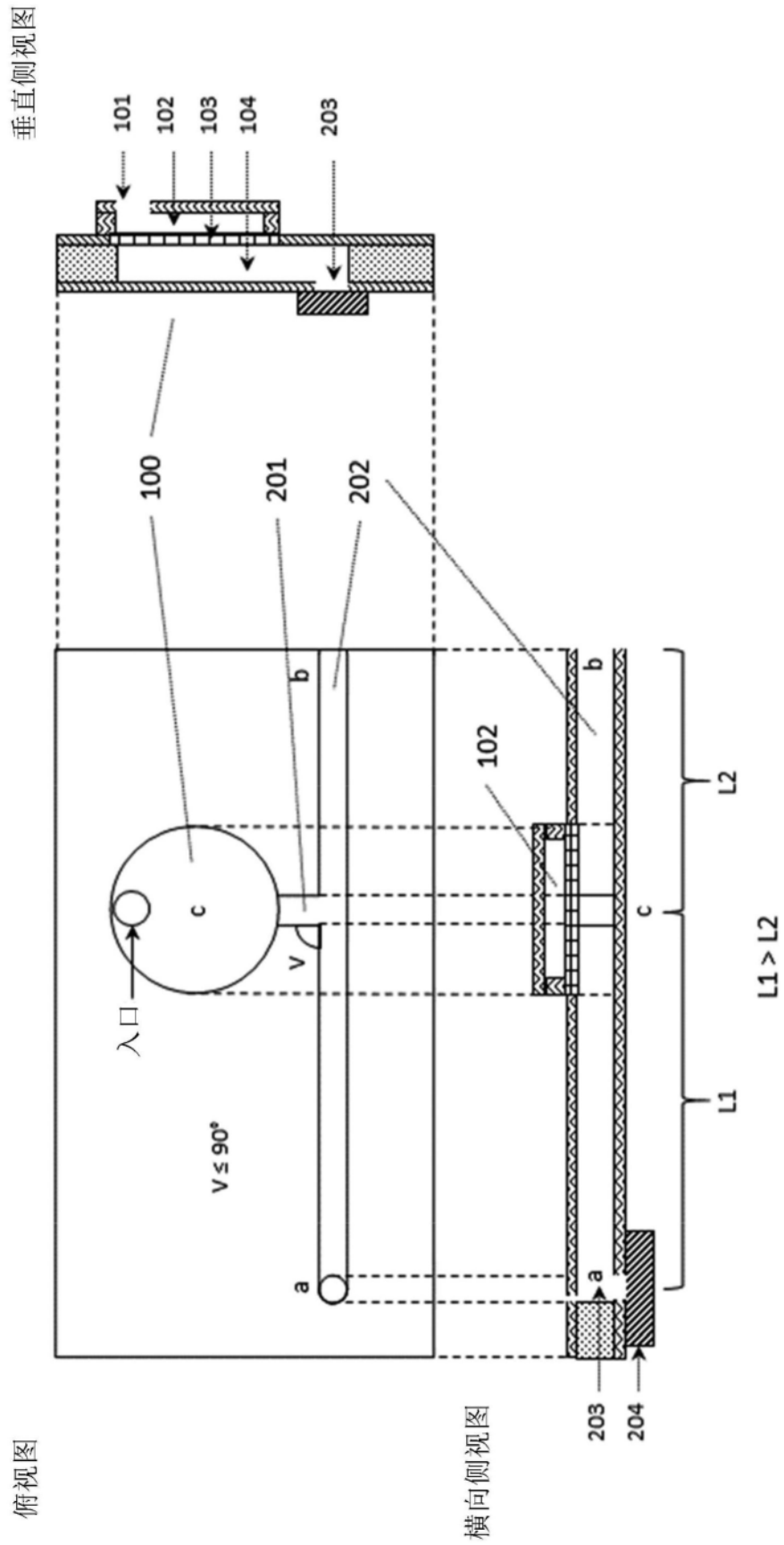


图1

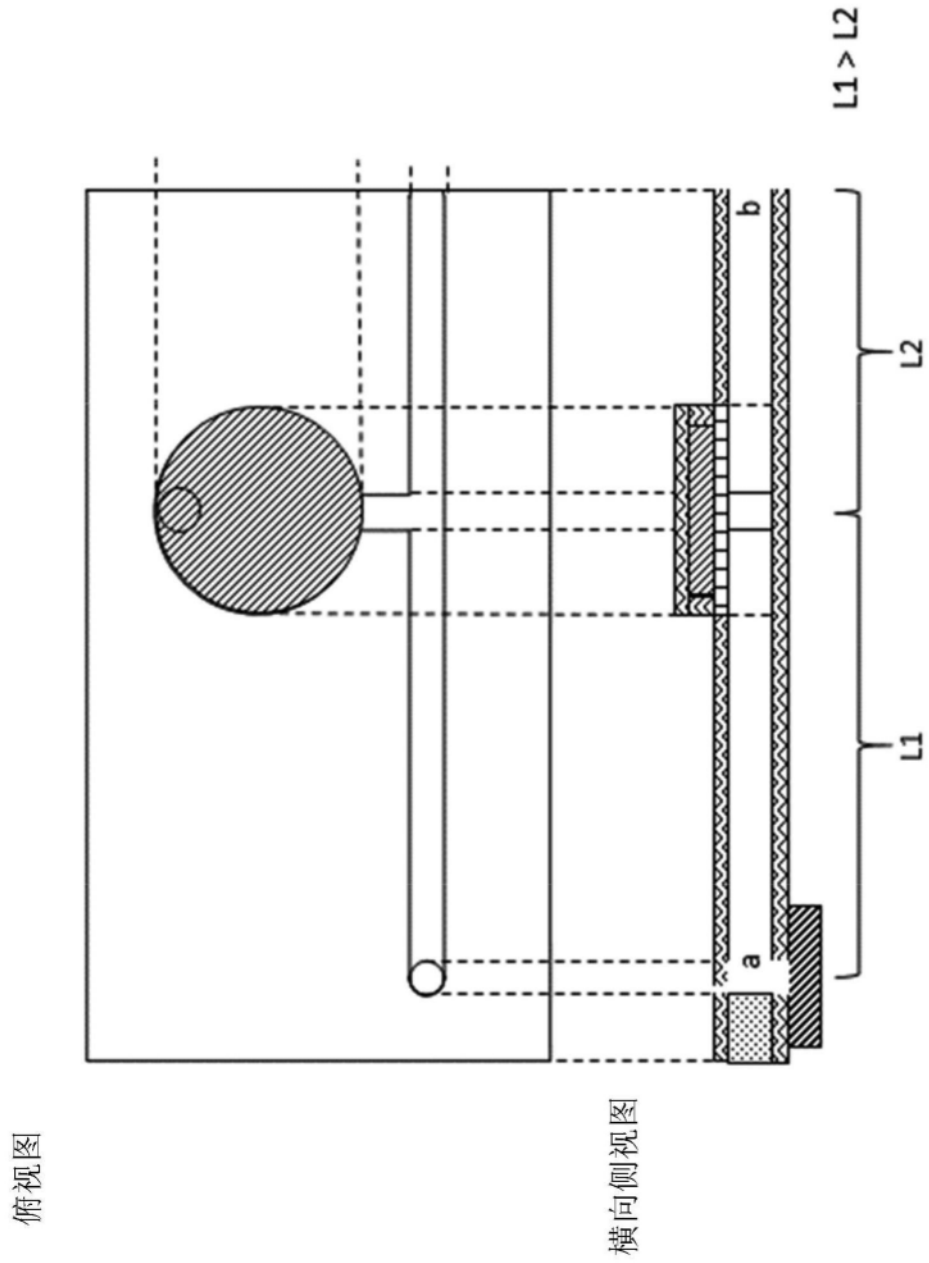


图2

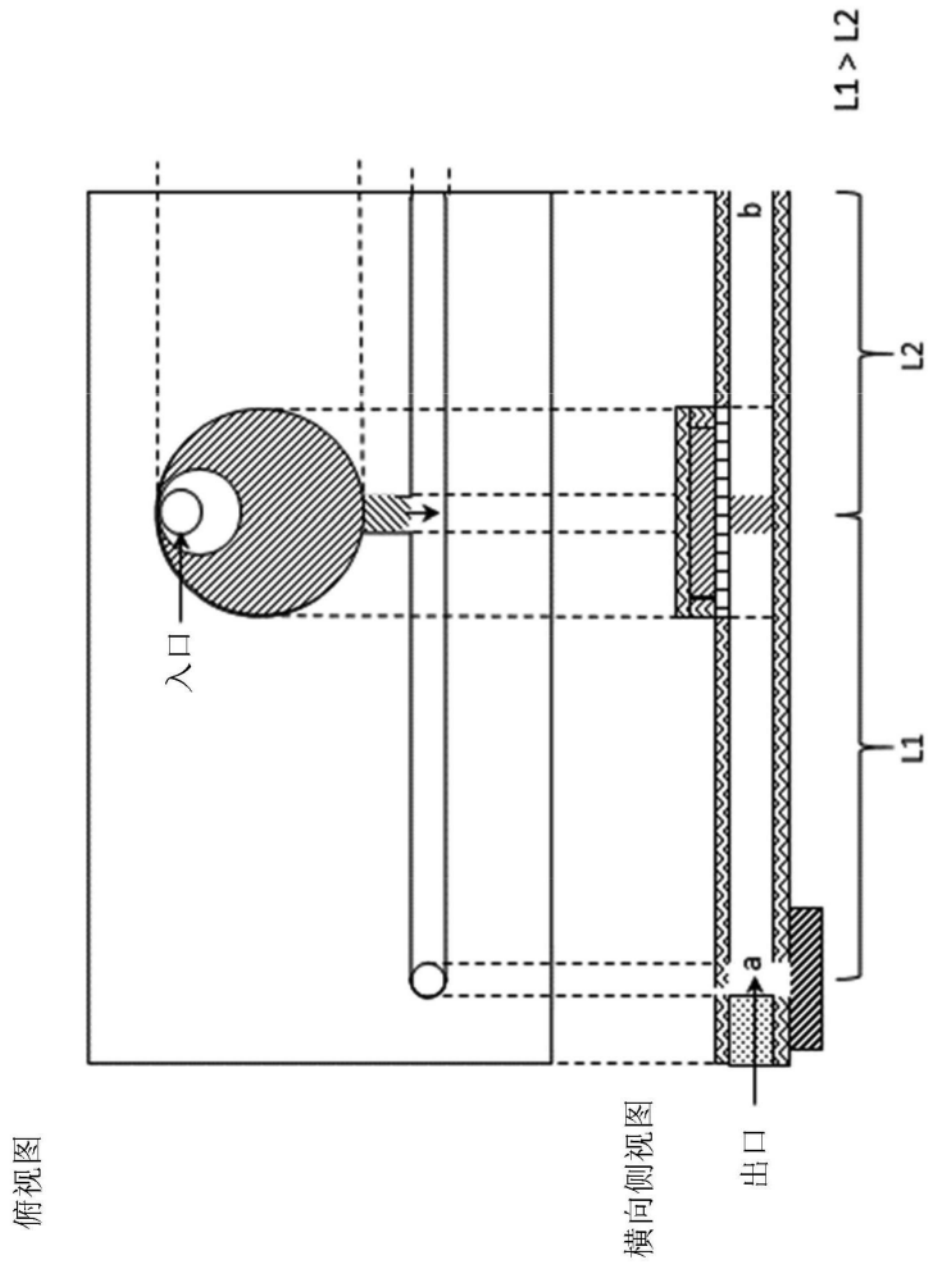


图3

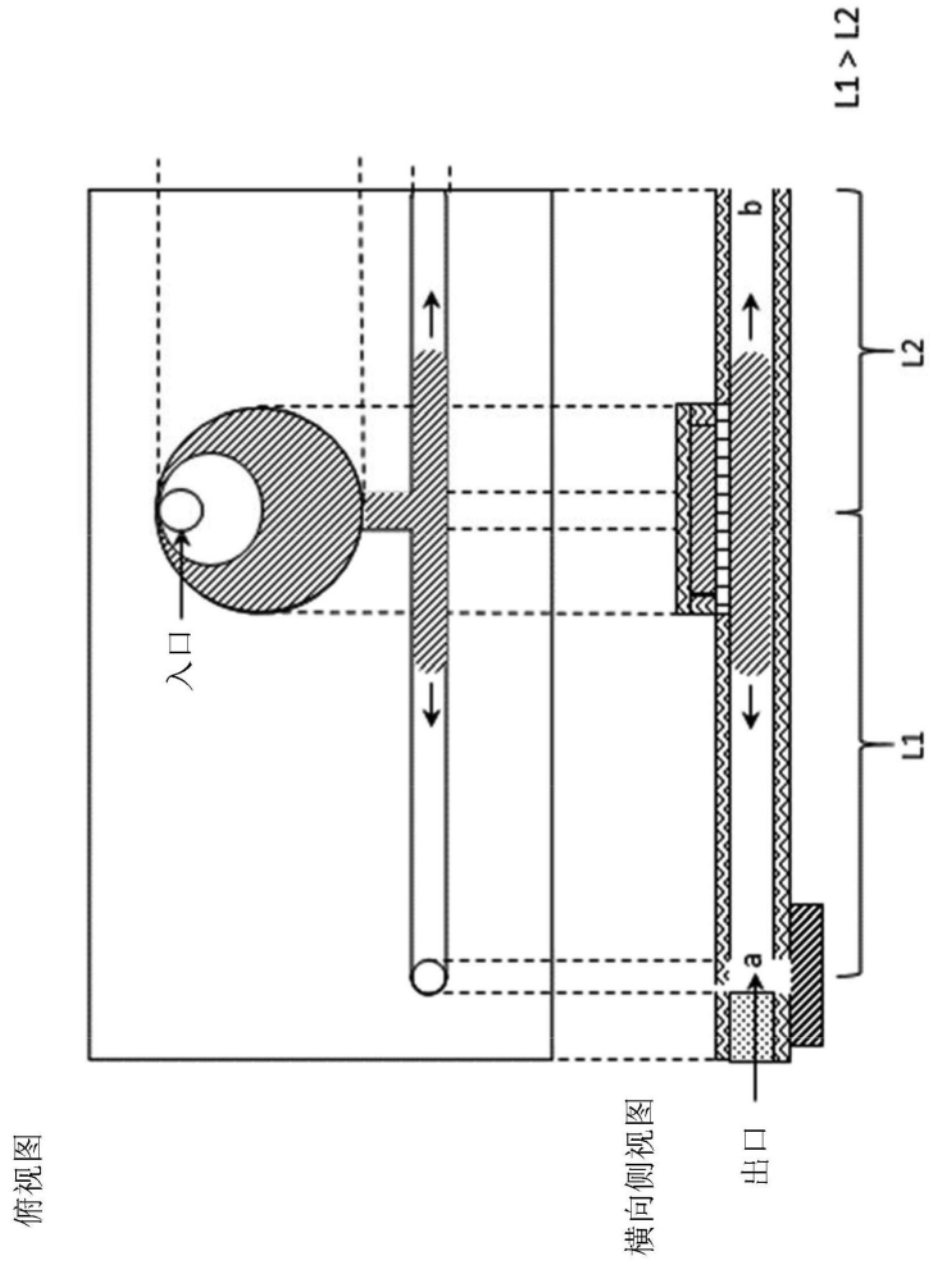


图4

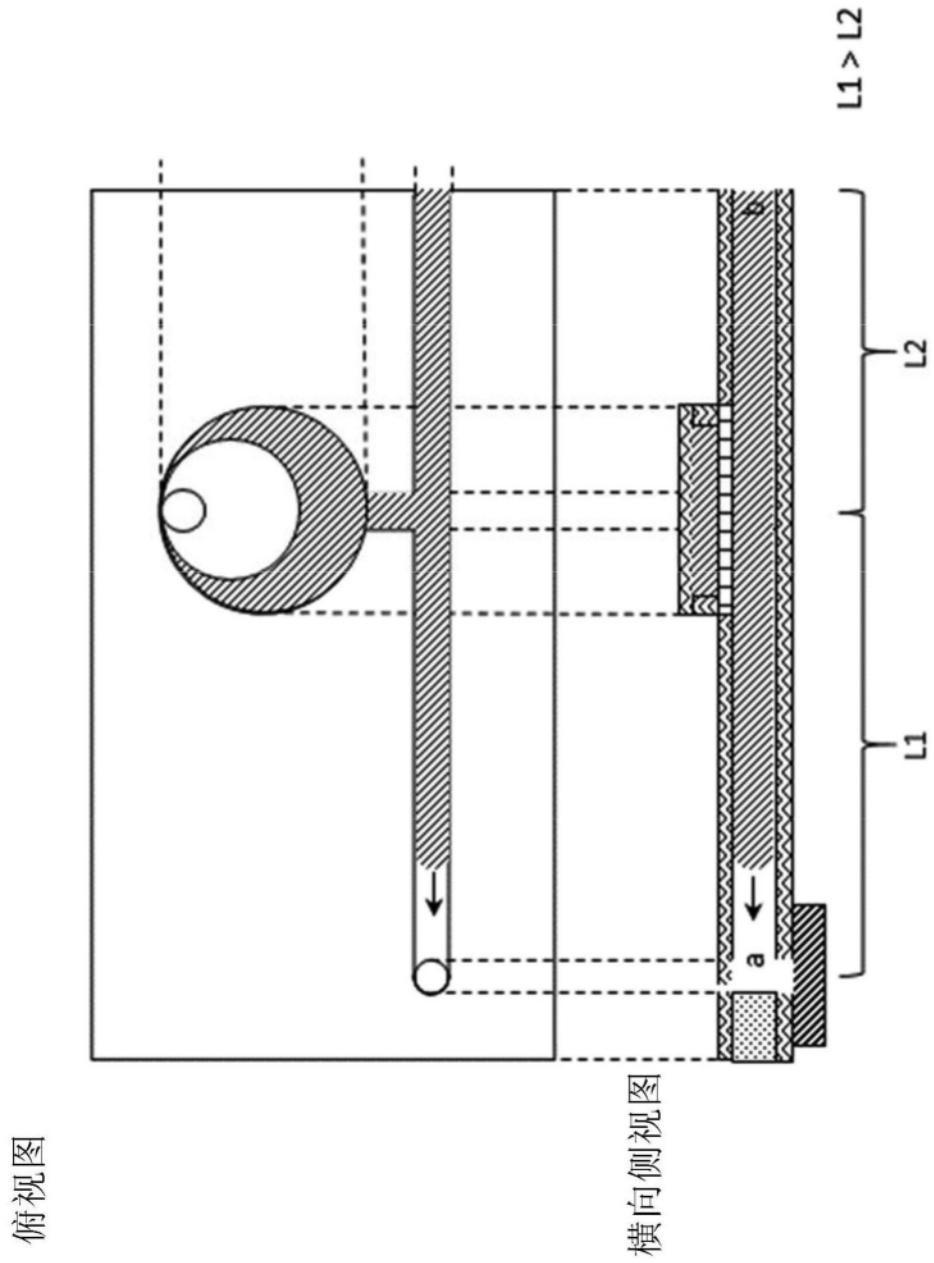


图5

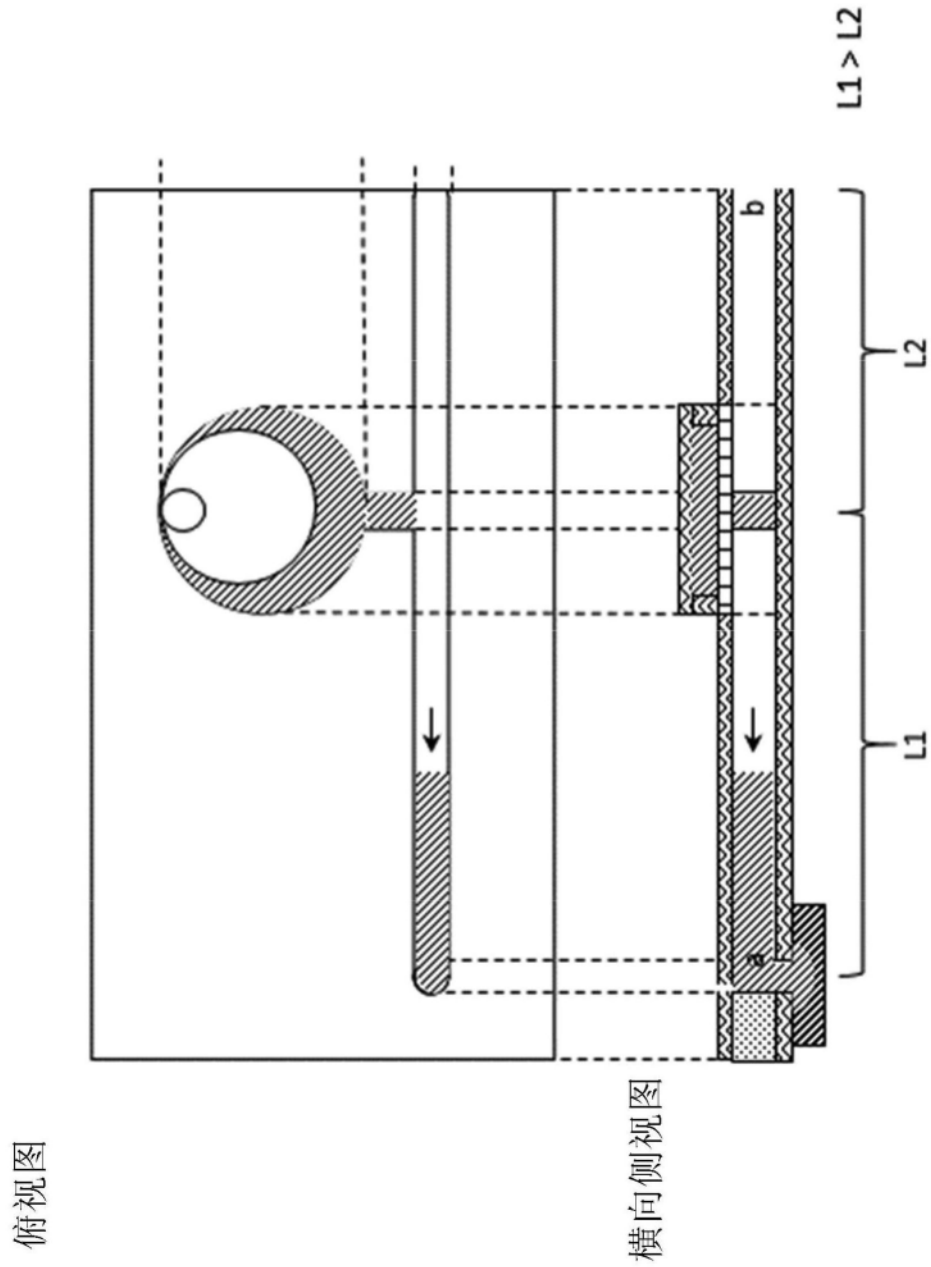


图6

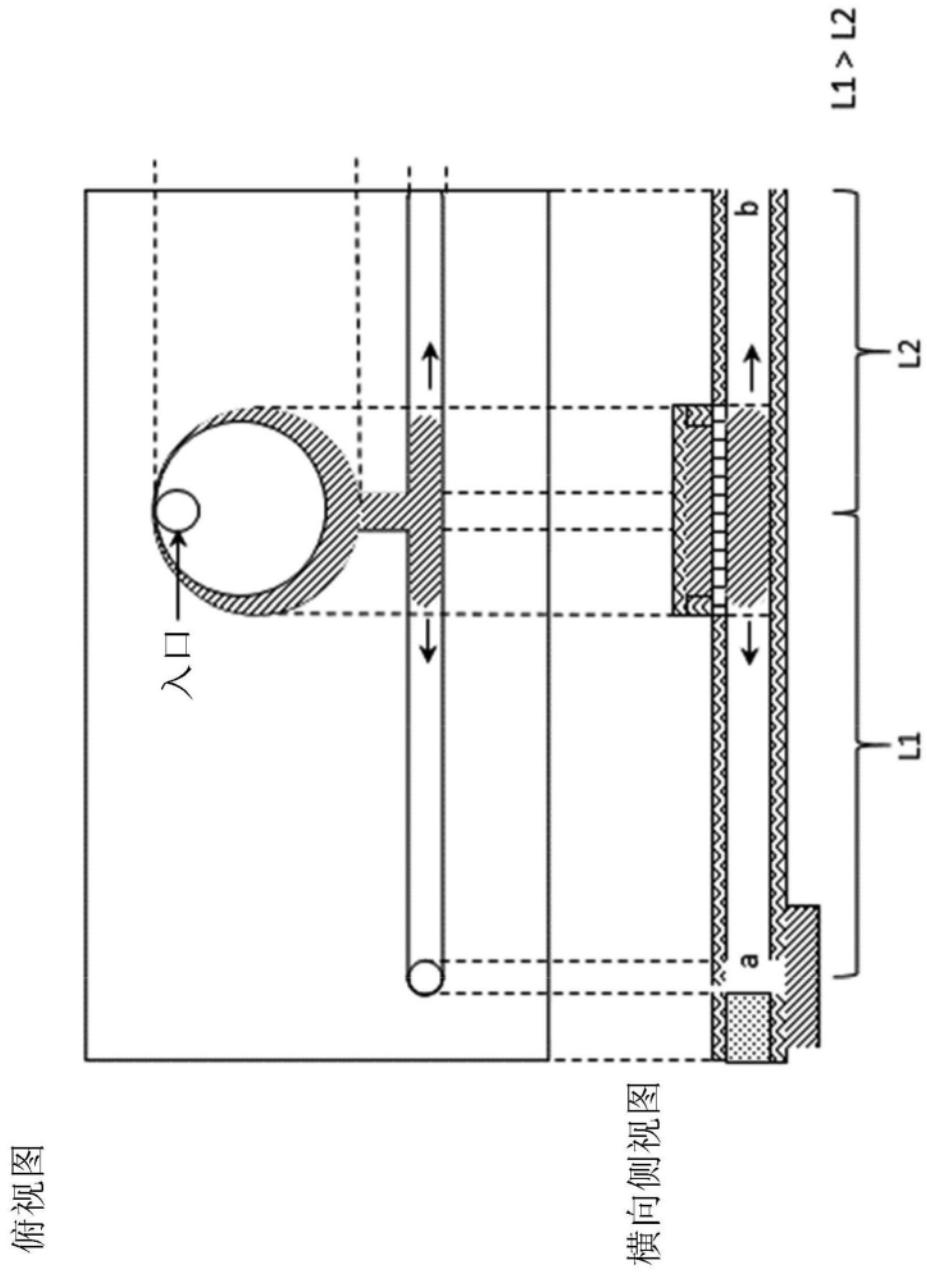


图7

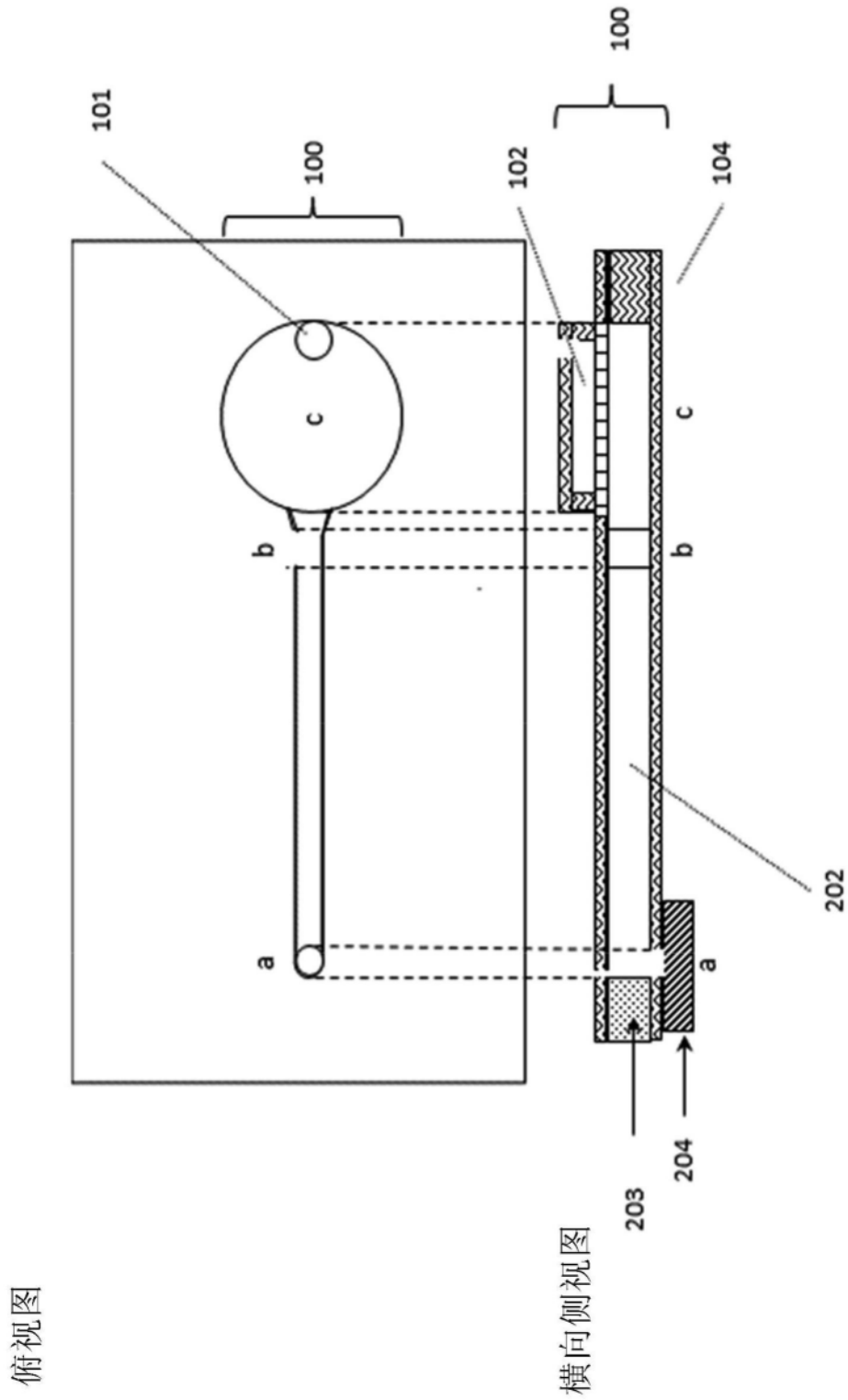


图8