(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115867389 A
(43)申请公布日 2023.03.28

(21)申请号 202180050189.3
(22)申请日 2021.07.23
(30)优先权数据
10-2020-0092326 2020.07.24 KR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.02.15
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2021/009538 2021.07.23
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/019699 KO 2022.01.27
(71)申请人 高丽大学校算学协力团
地址 韩国首尔
(72)发明人 申世铉
(74)专利代理机构 北京金宏来专利代理事务所(特殊普通合伙) 11641
专利代理师 李子光
(51)Int.Cl.
B01L 7/02(2006.01)

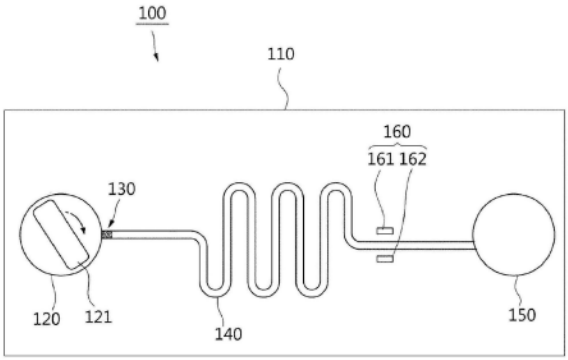
权利要求书2页 说明书9页 附图6页

(54)发明名称

用于检测核酸的微流体装置

(57)摘要

本发明涉及用于检测核酸的微流体装置，该微流体装置包括：芯片主体；形成在芯片主体内部并且样品被注入其中的样品腔室；与样品腔室间隔开并且形成在芯片主体内部的废料腔室；形成在芯片主体内部的连接导管，该连接导管连接样品腔室和废料腔室从而形成样品腔室中的样品的流动路径，并且具有连接到样品腔室的入口和连接到废料腔室的出口；核酸检测层，该核酸检测层被提供在连接导管的入口处并且具有在样品的流动方向上穿过核酸检测层的至少一个微孔；以及形成在核酸检测层的表面上的探针连接体，其中，探针连接体通过与样品中的目标核酸互补结合来扩增以检测目标核酸。因此，通过在连接导管的入口处安装核酸检测层以使得当从样品腔室流到连接导管时能够流过核酸检测层的微孔，能够消除气泡产生现象，因此增强检测的再现性。



CN 115867389 A

1.一种用于检测核酸的微流体装置,所述微流体装置包括:

芯片主体;

样品腔室,所述样品腔室限定在所述芯片主体中以便在所述样品腔室中接纳样品;

废料腔室,所述废料腔室与所述样品腔室间隔开并且限定在所述芯片主体中;

连接通道,所述连接通道限定在所述芯片主体中以便将所述样品腔室和所述废料腔室彼此连接,其中,所述连接通道作为所述样品腔室中的所述样品的流动路径,并且具有连接到所述样品腔室的入口和连接到所述废料腔室的出口;

核酸检测层,所述核酸检测层安装在所述连接通道的所述入口中,其中,所述核酸检测层具有在所述样品的流动方向上延伸穿过所述核酸检测层的至少一个或多个微孔;以及

探针连接体,所述探针连接体形成在所述核酸检测层的表面上;

其中,所述探针连接体经由与所述样品中的所述目标核酸的互补结合被扩增并且检测所述目标核酸。

2.根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述核酸检测层的所述微孔由于经由所述探针连接体和所述目标核酸之间的所述互补结合的扩增被阻塞,或所述微孔的尺寸由于通过所述探针连接体与所述目标核酸之间的互补结合的扩增被减小,使得所述样品到所述连接通道的最终到达距离、所述样品到所述最终到达距离的到达时间或所述样品的流动速率中的至少一个被改变,

其中,所述目标核酸是基于所述最终到达距离、所述到达时间或所述流动速率中的至少一个来检测的。

3.根据权利要求1所述的微流体装置,还包括搅拌装置,所述搅拌装置安装在所述样品腔室中以便搅拌注入到所述样品腔室中的所述样品,

其中,当所述搅拌装置搅拌所述样品腔室中的所述样品时,所述核酸检测层的所述探针连接体和所述样品中的所述目标核酸彼此互补结合。

4.根据权利要求3所述的微流体装置,其中,所述样品腔室中的所述样品由所述搅拌装置以预定搅拌持续时间搅拌,并且然后沿着所述连接通道流动。

5.根据权利要求4所述的微流体装置,还包括用于将所述样品腔室中的所述样品加热到预设温度范围的样品加热器。

6.根据权利要求5所述的微流体装置,其中,所述预设温度范围被设定为30℃至37℃的范围内的值,并且所述搅拌持续时间被设定为5分钟至30分钟的范围内的值。

7.根据权利要求4所述的微流体装置,其中,用于使所述样品腔室中的所述样品沿着所述连接通道流动的流动力包括下述中的至少一个:

来自所述废料腔室的负压;

基于所述芯片主体的倾斜的重力;或

在容纳有所述样品的所述样品腔室与处于空状态的所述废料腔室之间的扬程差。

8.根据权利要求7所述的微流体装置,其中,在所述样品被注入到所述样品腔室中之后,与所述样品不混溶的油被注入到所述样品腔室中,

其中,所述油被设置在所述样品的顶面上,以便从外部阻挡所述样品并且增加使所述样品流动到所述连接通道的所述重力或所述扬程差。

9.根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述探针连接体包括:

涂布在所述核酸检测层的表面上的涂布部分；

与所述涂布部分结合的引物;以及

以互补方式与所述引物结合的模板；

其中,所述模板包括：

与所述目标核酸结合的第一结合位点；

以互补方式与所述引物结合的第二结合位点;以及

在所述模板中的互补第三结合位点,以便形成哑铃形状，

其中,所述第一结合位点分别形成在所述模板的两个相对端部处,以便彼此分开，

其中,所述第二结合位点形成在分开的所述第一结合位点之间，

其中,促进与所述目标核酸的互补结合的连接酶存在于所述第一结合位点处。

10.根据权利要求2所述的微流体装置,还包括用于检测沿着所述连接通道流动的所述样品的样品传感器，

其中,所述最终到达距离、所述到达时间或所述流动速率中的至少一个是基于所述样品传感器的检测结果来测量的。

11.根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述连接通道包括限定在所述芯片主体中的多个连接通道,以便单独地将所述样品腔室和所述废料腔室彼此连接，

其中,所述核酸检测层中的每个安装在所述连接通道中的每个的所述入口中；

其中,分别形成在所述核酸检测层的所述表面上的所述探针连接体由分别与不同目标核酸结合的不同材料制成。

12.根据权利要求11所述的微流体装置,其中,所述探针连接体附接到安装在所述多个连接通道中的一个连接通道的所述入口中的所述核酸检测层,其中,所述多个连接通道中的一个连接通道作为负参考通道。

13.根据权利要求11所述的微流体装置,其中,形成在安装在所述多个连接通道中的一个中的所述核酸检测层上的所述探针连接体被配置成使得无论所述目标核酸是否存在,都发生核酸扩增,其中,所述多个连接通道中的一个作为正参考通道。

14.根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述核酸检测层包括形成有所述微孔的膜或网格。

用于检测核酸的微流体装置

技术领域

[0001] 本公开涉及用于检测核酸的微流体装置，并且更具体地，涉及用于检测核酸(能够检测诸如RNA的核酸)的微流体装置。

背景技术

[0002] 诸如病毒的目标核酸的有效扩增不仅对于核酸检测，而且对于DNA测序和克隆都是非常重要的因素。已经提出了用于核酸的扩增的几种方法。核酸的扩增的示例包括聚合酶链式反应(polymerase chain reaction;PCR)、连接酶链式反应(ligase chain reaction;LCR)、自我维持序列复制(self-sustained sequence replication;SSR)、基于核酸序列的扩增(uncleic acid sequence based amplification;NASBA)和链置换扩增(strand displacement amplification;SDA)。

[0003] 这些方法中的许多在定量测量中精度稍低，并且需要昂贵的设备。尤其是当要同时分析一种或多种目标核酸时，定量测量中的精度还会更低。

[0004] 开发了等温核酸扩增反应来弥补这些缺点。在等温反应之中，滚环扩增(rolling circle amplification;RCA)方法受到了广泛关注。即，传统上，已经采用了诸如PCR的几种技术来扩增环状DNA。然而，这些方法具有的缺点是它们耗时长、效率低，并且消耗高成本和人力。

[0005] PCR方法由以下过程组成：变性过程，其中在将温度升高至高温的同时，DNA在包括引物对、模板、聚合酶和dNTP的反应溶液中分离成单链；在降低温度的同时将与每个DNA单链互补的引物与模板结合的退火过程；以及在再次升高温度的同时使用聚合酶在聚合反应下聚合新链的过程。通过这种扩增，DNA链以指数方式生长。然而，由于PCR过程经历上述过程，因此不可避免地伴随温度变化，并且因此，必须在PCR装置中提供温度控制器和加热装置。然而，当在芯片实验室(lab-on-a-chip;LOC)等中使用PCR用于目标核酸的扩增时，除了诸如用于LOC的检测装置的装置之外，还单独需要用于PCR反应的温度控制器和加热器。因此，存在设备复杂和设备成本高的缺点。

[0006] 作为改善这些缺点的方法，已经提出了几种等温扩增方法。环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification;LAMP)方法是这些等温扩增方法之一，并且使用六个扩增引物产生具有分支的多环的产物。这种LAMP方法在用于早期诊断或用作生物传感器时具有一些限制，因为它使用早期逆转录酶(reverse transcriptase;RT)来检测目标RNA。

[0007] 作为另一种等温扩增方法，已经提出了RCA方法。RCA方法的优点是不需要如上述的PCR扩增中所需的温度变化，并且因此能够在等温状态下扩增目标核酸。因此，在需要扩增的过程中，在不需要单独的温度控制装置的情况下进行扩增，并且可以降低装置的复杂性和成本。

[0008] 在线性滚环扩增(linear rolling circle amplification;LRCA)方法中，目标DNA序列和开放式圆形探针彼此杂交(hybridizing)以形成复合体，复合体进而接合

(ligate)以形成扩增目标环,并且然后将引物序列和DNA聚合酶放入扩增目标环中。然后扩增目标环形成模板,在模板上形成新的DNA,并且模板从引物延伸并且延伸到与扩增目标环互补的连续重复序列中,从而在一小时内产生数千份核酸副本。

[0009] 指数RCA(exponential RCA;ERCA)方法是LRCA(线性滚环扩增)的改进方法。ERCA使用额外的引物序列,该额外的引物序列结合到与扩增目标环互补的克隆序列以提供新的扩增中心,从而提供以指数方式增加的扩增。在ERCA方法中,链置换是连续的。然而,ERCA方法限于使用初始单链RCA产物作为用于另一DNA合成的模板,该模板使用附接到产物的单独的单链线性引物,而没有额外的RCA。

[0010] 另一种方法是使用分子锁式探针(molecular padlock probe;MPP)和滚环扩增(RCA)的方法(C.拉森(C.Larsson)等,自然方法(Nat.Methods)2004,1,227)。这种方法有几个优点。即,该方法具有高特异性,并且通过区分目标核酸序列的过程来执行环状MPP中的互补核酸的扩增。特别地,由于RCA产物的直接耦联,在没有单独纯化过程的情况下提供了改进的感测灵敏度。该方法通过简单的化学表面处理将目标核酸探针固定在诸如金或石英的材料的表面上,从而可以在该表面上开始RCA反应。

[0011] 由李浩延(Ho Yeon Lee)等于2015年发表的以下论文:“DhITACT:在流体通道中通过互补目标的等温扩增的DNA水凝胶形成(2015年6月17日,先进材料,第27卷,第23期,第3513-3517页)(DhITACT:DNA Hydrogel Formation by Isothermal Amplification of Complementary Target in Fluidic Channels(June 17,2015,Advanced Materials, Volume 27,Issue 23,Pages 3513-2517))”公开了一种在微通道的底面上制备RCA反应表面并且等待约两小时进行其与样品溶液的反应以生成长的单链DNA的方案。该方案使用多个哑铃形状的自组装,使得DNA像水凝胶一样形成,并且因此,防止到相应通道中的流动。

[0012] 然而,如在李浩延的论文中公开的技术中,RCA反应表面形成在微通道的底面上,并且该方案应当等待反应时段,直到整个微通道由于来自RCA反应表面的扩增被阻塞为止。因此,测试时间为2小时或更长。

[0013] 因此,本申请的申请人提出了如在韩国专利第10-1799192号中公开的“用于检测目标基因的微流体装置”。如在韩国专利中公开的微流体装置中,形成其中填充有微珠的微珠填料和与微珠的目标基因互补的探针连接体,使得目标基因与探针连接体结合。使用其中微珠之间的空隙由于与探针连接体结合的目标基因的扩增而被阻塞的现象来检测目标基因。

[0014] 与现有RCA方法相比,如在韩国注册专利中公开的微流体装置具有将检查时间减少达15分钟的优点。然而,对更快检查的需求与日俱增。这是因为在由病毒引起的传染病传播到大流行状态的情况下,需要更快的检查速度。

[0015] 此外,如在韩国专利中公开的微珠的实际应用中,微珠是基于水凝胶产生的,并且因此不能以干燥状态储存。长期储存会导致性能下降。

发明内容

[0016] 技术目的

[0017] 因此,本公开是为了解决上述问题,并且旨在提供一种用于检测核酸的微流体装置,其中,在检测目标核酸时,减少了测试时间,同时核酸检测层能够以干燥状态储存。

[0018] 技术方案

[0019] 本发明的一个方面提供了一种用于检测核酸的微流体装置，该微流体装置包括：芯片主体；样品腔室，其限定在芯片主体中以便在其中接纳样品；废料腔室，其与样品腔室间隔开并且限定在芯片主体中；连接通道，其限定在芯片主体中以便将样品腔室和废料腔室彼此连接，连接通道作为样品腔室中的样品的流动路径，并且具有连接到样品腔室的入口和连接到废料腔室的出口；核酸检测层，其安装在连接通道的入口中，核酸检测层具有在样品的流动方向上延伸穿过核酸检测层的至少一个或多个微孔；以及形成在核酸检测层的表面上的探针连接体，探针连接体经由与样品中的目标核酸的互补结合被扩增并且检测目标核酸。

[0020] 在一个实现方式中，核酸检测层的微孔由于经由探针连接体与目标核酸之间的互补结合的扩增而被阻塞，或微孔的尺寸由于通过探针连接体与目标核酸之间的互补结合的扩增而被减小，使得样品到连接通道的最终到达距离、样品到最终到达距离的到达时间或样品的流动速率中的至少一个被改变，目标核酸基于最终到达距离、到达时间或流动速率中的至少一个来检测。

[0021] 在一个实现方式中，微流体装置还包括搅拌装置，该搅拌装置安装在样品腔室中以便搅拌注入到样品腔室中的样品，当搅拌装置搅拌样品腔室中的样品时，核酸检测层的探针连接体和样品中的目标核酸彼此互补结合。

[0022] 在一个实现方式中，样品腔室中的样品由搅拌装置以预定搅拌持续时间搅拌，并且然后沿着连接通道流动。

[0023] 在一个实现方式中，微流体装置还包括用于将样品腔室中的样品加热到预设温度范围的样品加热器。

[0024] 在一个实现方式中，预设温度范围被设定为30℃至37℃的范围内的值，并且搅拌持续时间被设定为5分钟至30分钟的范围内的值。

[0025] 在一个实现方式中，用于使样品腔室中的样品沿着连接通道流动的流动力包括下述中的至少一个：来自废料腔室的负压；基于芯片主体的倾斜的重力；或在其中接纳有样品的样品腔室与处于空状态的废料腔室之间的扬程差。

[0026] 在一个实现方式中，在样品被注入到样品腔室中之后，与样品不混溶的油被注入到样品腔室中，油被设置在样品的顶面上，以便从外部阻挡样品并且增加使样品流动到连接通道的重力或扬程差。

[0027] 在一个实现方式中，探针连接体包括：涂布在核酸检测层的表面上的涂布部分；与涂布部分结合的引物；以及以互补方式与引物结合的模板，模板包括：与目标核酸结合的第一结合位点；以互补方式与引物结合的第二结合位点；以及在模板中的互补第三结合位点，以便形成哑铃形状，第一结合位点分别形成在模板的两个相对端部处，以便彼此分开，第二结合位点形成在分开的第一结合位点之间，促进与目标核酸互补结合的连接酶存在于第一结合位点处。

[0028] 在一个实现方式中，微流体装置还包括用于检测沿着连接通道流动的样品的样品传感器，最终到达距离、到达时间或流动速率中的至少一个是基于样品传感器的检测结果来测量的。

[0029] 在一个实现方式中，连接通道包括限定在芯片主体中的多个连接通道，以便单独

地将样品腔室和废料腔室彼此连接，核酸检测层中的每个安装在连接通道中的每个的入口中；分别形成在核酸检测层的表面上的探针连接体由分别与不同目标核酸结合的不同材料制成。

[0030] 在一个实现方式中，探针连接体附接到安装在多个连接通道中的一个的入口中的核酸检测层，其中，多个连接通道中的一个作为负参考通道。

[0031] 在一个实现方式中，形成在安装在多个连接通道中的一个中的核酸检测层上的探针连接体被配置成使得无论目标核酸是否存在，都发生核酸扩增，多个连接通道中的一个作为正参考通道。

[0032] 在一个实现方式中，核酸检测层包括其中形成有微孔的膜或网格。

[0033] 技术效果

[0034] 根据上述配置，根据本公开，核酸检测层安装在连接通道的入口中，使得当样品从样品腔室流到连接通道时，样品直接流过核酸检测层的微孔，从而消除气泡产生现象，并且因此提高检测的再现性。

[0035] 另外，随着气泡产生现象被消除，不仅可以消除流动压力控制的限制，而且使用单个核酸检测层130也可以允许在比使用微珠填料时低的压力下进行流动控制。

[0036] 此外，现有的微珠填料是水凝胶的形式，并且因此难以进行其干燥储存。然而，根据本公开的核酸检测层由尼龙等制成，使得可以进行其干燥储存。

附图说明

[0037] 图1是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置的图，

[0038] 图2是示意性示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置的截面的图。

[0039] 图3是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置的核酸检测层的示例的图。

[0040] 图4是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置的探针连接体的示例的图。

[0041] 图5是用于图示根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置中向样品施加流动力的示例的图。

[0042] 图6是用于图示根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置的样品传感器的示例的图。

[0043] 图7是示出根据本公开的另一实施方式的用于检测核酸的微流体装置的图。

具体实施方式

[0044] 在下文中，将详细结合附图来描述根据本公开的实施方式。

[0045] 图1是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100的图。图2是示意性示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100的截面的图。

[0046] 参考图1和图2，根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100包括芯片主体110、样品腔室120、废料腔室150、连接通道140、核酸检测层130和探针连接体200。

[0047] 芯片主体110以微流体芯片的形式被提供，其中限定了样品腔室120、废料腔室150

和连接通道140。芯片主体的上主体和下主体可以彼此联接，使得样品腔室120、废料腔室150、连接通道140等被限定在其中。

[0048] 样品腔室120限定在芯片主体110中，并且样品S被注入到样品腔室120中。根据本公开，图示了其中样品腔室120被提供在芯片主体110的一侧处的边缘区域中的示例。如图2中所示，图示了其中样品腔室120形成在比连接通道140的高度相对高的高度处的示例。

[0049] 废料腔室150与样品腔室120间隔开，并且形成在芯片主体110的另一边缘区域中并且在芯片主体110中。

[0050] 连接通道140被限定在芯片主体110中，以便将样品腔室120和废料腔室150彼此连接。在这方面，连接通道140作为流动路径，被注入和接纳到样品腔室120中的样品S通过该流动路径朝向废料腔室150流动。

[0051] 即，连接通道140以微通道的形式形成，该微通道将样品腔室120和废料腔室150彼此连通。根据本公开，图出了其中连接通道具有连接到样品腔室120的入口和连接到废料腔室150的出口的示例。

[0052] 核酸检测层130安装在连接通道140的入口中。在这方面，在样品S的流动方向上延伸的至少一个或多个微孔131被限定在核酸检测层130中。因此，即使当核酸检测层130被安装成阻塞连接通道140的入口时，样品S也可能通过微孔131朝向连接通道140流动。

[0053] 图3是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100的核酸检测层130的示例的图。图3中所示的实施方式是其中以网格的形式提供核酸检测层130的示例。多个微孔131限定在方形形状的膜中。核酸检测层130可以通过冲压穿过方形尼龙膜的多个微孔131来制造。在另一示例中，其中限定有多个微孔131的膜可以用作根据本公开的核酸检测层130。

[0054] 在这方面，核酸检测层130的微孔131可以形成为具有取决于目标核酸的尺寸的各种尺寸。除了目标核酸以外的元素能够通过微孔131，从而防止微孔131被其他元素堵塞。根据本公开，举例说明微孔131的直径在50nm至50um的范围内确定。

[0055] 探针连接体200形成在核酸检测层130的表面上。优选地，探针连接体200也可以形成在核酸检测层130上形成的微孔131的内面上。在这方面，经由由形成在核酸检测层130的表面上的探针连接体200与目标核酸之间的互补结合所产生的扩增而形成的水凝胶可以阻塞形成在核酸探测层130中的微孔，或者可以减小微孔的尺寸。因此，当容纳在样品腔室120中的样品S流过连接通道140时，样品S的最终到达距离、到达最终到达距离的到达时间和流动速率可以改变。此外，可以使用最终到达距离、到达时间和流动速率中的至少一个来检测目标核酸。

[0056] 图6是示出根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100的探针连接体200的示例的图。参考图6，图示了根据本公开的探针连接体200包括涂布部分210、引物220和模板230的示例。

[0057] 涂布部分210涂布在核酸检测层130的表面上。涂布部分210由引物220能够附接和固定到其上的材料制成。例如，涂布部分210可以包含羧基或胺基。在一个具体示例中，涂布部分210可以包含从由下述组成的组群中选择的一种或多种:5-羟基多巴胺盐酸盐、去甲肾上腺素、肾上腺素、邻苯三酚胺、多巴(3,4-二羟基苯丙氨酸)(DOPA(3,4-Dihydroxyphenylalanine))、儿茶素、鞣酸、邻苯三酚、邻苯二酚、肝素儿茶酚、壳聚糖儿茶

酚、聚乙二醇儿茶酚、聚乙烯亚胺儿茶酚、聚甲基丙烯酸甲酯儿茶酚、透明质酸儿茶酚、聚赖氨酸儿茶酚(polylysine-catechol)和聚赖氨酸(polylysine)。

[0058] 引物220固定到涂布部分210,并且模板230以互补方式与引物220结合。就此而言,模板230包括以互补方式与目标核酸结合的第一结合位点、以互补方式与引物220结合的第二结合位点以及模板230中的互补第三结合位点,以形成哑铃形状。此外,第一结合位点分别形成在模板230的两个相对端部处,以便彼此分开,并且第二结合位点形成在分开的第一结合位点之间。

[0059] 就此而言,引物220可以包含从下述组成的组群中选择的至少一种:硫醇(thiol)、胺(amine)、羟基(hydroxyl)、羧基(carboxyl)、异硫氰酸酯(isothiocyanate)、NHS酯、醛(aldehyde)、环氧化物(epoxide)、碳酸盐(carbonate)、HOBt酯、戊二醛(glutaraldehyde)、氨基甲酸酯(carbamate)、咪唑氨基甲酸酯(imidazole carbamate),马来酰亚胺(maleimide)、氮丙啶(aziridine)、砜(sulfone)、乙烯基砜(vinylsulfone)、肼(hydrazine)、苯基叠氮化合物(phenyl azide)、二苯甲酮(benzophenone)、蒽醌(anthraquinone)和二烯(diene)基。其终端可以被修改。

[0060] 就此而言,在上述配置下,目标核酸与根据本公开的探针连接体200结合,并且因此被扩增。扩增的目标核酸彼此缠结以形成大尺寸的水凝胶。因此,形成在核酸检测层130中的微孔131被阻塞。

[0061] 上述示例中的探针连接体200例如基于由李浩延等人于2015年发表的论文“DhITACT:在流体通道中通过互补目标的等温扩增的DNA水凝胶形成(2015年6月17日,《先进材料》,第27卷,第23期,第3513-3517页)”中公开的配置来配置。其详细描述如上文所述。

[0062] 如上所述,根据本公开的实施方式的核酸检测层130安装在连接通道140的入口中。因此,容纳在样品腔室120中的样品S通过安装在连接通道140的入口中的核酸检测层130的微孔131流动到连接通道140中。可以防止样品S在沿着连接通道140流动的过程中在穿过微孔131的过程中出现的气泡现象。

[0063] 更具体地,在上述韩国专利第10-1799192号中公开的“用于检测目标基因的微流体装置100”中,微珠填料例如安装在微通道的中间区域中。

[0064] 然而,当样品S穿过形成在微珠填料中的空隙时,当流动速率高时产生气泡。气泡作为干扰样品S的流动的原因。因此,当降低流动压力以防止气泡产生时,不仅降低了检测核酸的再现性,而且需要频繁的流动压力控制,这限制了检测过程。

[0065] 相反,在根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100中,核酸检测层130安装在连接通道140的入口中。当样品从样品腔室120向连接通道140流动时,样品S直接流过核酸检测层130的微孔131,从而消除气泡产生现象,并且因此提高检测的再现性。

[0066] 随着气泡产生现象被消除,不仅可以消除流动压力控制的限制,而且使用单个核酸检测层130可以允许在比使用微珠填料时更低的压力下进行流动控制。

[0067] 就此而言,根据本公开的一个实施方式的用于检测核酸的微流体装置100还可以包括安装在样品腔室120中的搅拌装置121,如图1和图2中所示。

[0068] 搅拌装置121在样品腔室120内旋转,并且搅拌注入到样品腔室120中的样品S。因此,样品腔室120中的样品S在被搅拌装置121搅拌的同时均匀地接触安装在连接通道140的入口中的核酸检测层130。因此,样品S中的目标核酸在搅拌过程中以互补方式结合到形成

在核酸检测层130上的探针连接体200的可能性增加。

[0069] 因此，在根据本公开实施方式的用于检测核酸的微流体装置100中，通过搅拌装置121将样品腔室120中的样品S搅拌预定的搅拌持续时间，然后样品S沿着连接通道140流动。在这方面，搅拌持续时间被设定为例如5分钟至30分钟的范围内的值。搅拌持续时间优选考虑探针连接体200和目标核酸之间的互补结合所需的时间和测试时间来设定。

[0070] 此外，可以将样品腔室120中的样品S加热至预设温度范围。在这方面，温度范围被设定为对于通过探针连接体200和目标核酸之间的互补结合(即PCA反应)的扩增过程的最佳反应温度。根据本公开，温度被设定为30℃至37℃的范围内的值。

[0071] 根据该配置，在搅拌过程中，样品S中的目标核酸与形成在核酸检测层130的表面上的探针连接体200充分结合。此外，当样品S沿着连接通道140流过核酸检测层130的微孔131时，或者微孔131能够在更早的时间被阻塞，或者能够缩短到达预设距离所花费的时间。因此，可以减少检测时间。

[0072] 此外，在样品S穿过微孔131之前，样品S中的目标核酸和探针连接体200彼此连接。因此，可以降低根据样品S通过微孔131的流动而发生气泡现象的可能性。

[0073] 图4是用于图示根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100中向样品S施加流动力的示例的图。

[0074] 在如图4的(a)中所示的实施方式中，在废料腔室150被塞子阻塞的状态下，搅拌装置121在如上所述的搅拌时间期间搅拌样品腔室120中的样品S。然后，用诸如注射针171的物体刺穿废料腔室盖151，使得在盖151中形成排气孔。因此，在空的废料腔室150与样品腔室120之间产生扬程差，使得样品腔室120中的样品S通过核酸检测层130的微孔131流动到连接通道140中。

[0075] 在如图4的(b)中所示的实施方式中，图示出了使用负压装置172(例如，注射泵)为样品S向废料腔室150的流动提供负压的示例。在如图4的(c)中所示的实施方式中，芯片主体110本身朝向废料腔室150向下倾斜，以向样品腔室120的样品S提供流动力，使得样品在重力下朝向连接通道140流动。

[0076] 在这方面，在将样品S注入到样品腔室120中后，可以将未与样品S混合的油O(诸如矿物油O)注入到样品腔室中。因此，设置在样品S的顶面上的油O从外部阻挡样品S。即，油不仅阻挡外来物质从外部流入到样品S中，而且阻挡样品S与外部空气接触，使得样品S在搅拌过程期间不会蒸发到空气中。此外，油O提供了由于前述用于样品S向连接通道140流动的重力或扬程差而增加流动力的效果。

[0077] 再次参考图1，在图1中示出的实施方式中，样品传感器160具有照射光的LED模块161和检测从LED模块161发射的光的光电二极管162。LED模块161定位在连接通道140的一侧上，以便朝向连接通道140的内部照射光。光电二极管162设置在连接通道140的与LED模块161相对的另一侧上，以便接收从LED模块161照射的光。在这方面，LED模块161和光电二极管162可以布置成使得连接通道140设置在它们之间。因此，当样品S沿着连接通道140流动时，样品S阻挡从LED模块161照射的光。因此，可以检测样品S沿着连接通道140流动的最大行进距离或与最大行进距离相对应的到达时间。

[0078] 图5是用于图示根据本公开的实施方式的用于检测核酸的微流体装置100的样品传感器160的示例的图。

[0079] 在如图5的(a)中所示的实施方式中，样品传感器160包括样品感测构件181，诸如由多孔材料制成的棒或安装在连接通道140内的石蕊试纸条。当样品感测构件181与样品S反应时，样品感测构件181的颜色改变。在这方面，样品传感器160可以包括相机，并且可以被配置为基于由相机捕获的图像来检测样品S的流动距离。

[0080] 在图5的(b)中所示的实施方式中，作为样品传感器160的示例，在与样品S反应时颜色发生变化的可变颜色物质182被容纳在废料腔室150中的状态下，样品S到达废料腔室150的时间可以基于可变颜色物质182的颜色变化来确定。

[0081] 图7是示出根据本公开的另一实施方式的用于检测核酸的微流体装置300的图。

[0082] 根据图7中所示的实施方式的用于检测核酸的微流体装置300中的连接通道340包括限定在芯片主体310中的多个连接通道340，以便分别单独地将样品腔室320a和320b以及废料腔室350彼此连接。

[0083] 在这方面，样品腔室320a和320b可以包括样品接纳腔室320a以及多个搅拌腔室320b。搅拌腔室320b分别经由连接通道340连接到废料腔室350。即，每个连接通道340的入口可以连接到相应的搅拌腔室320b。每个核酸检测层330可以安装在每个连接通道340的入口中。

[0084] 在这方面，在分别安装在连接通道340的入口中的核酸检测层330的表面上形成的探针连接体200可以由分别与不同目标核酸结合的不同材料制成。因此，可以使用用于检测核酸的单个微流体装置300同时检测多个目标核酸。

[0085] 在这方面，根据本公开，废料腔室350包括分别连接到连接通道340的多个水腔室。然而，在另一示例中，一个废料腔室350可以被配置为连接到连接通道340。

[0086] 在另一示例中，安装在多个连接通道340中的一个中的核酸检测层330可以不含探针连接体。因此，与之相对应的连接信道可以作为负参考通道。即，在没有附接探针连接体的核酸检测层330中，不发生核酸的扩增反应，以便样品S平滑地流动，这可以与由于其他核酸检测层330的堵塞而导致的流动相比较。

[0087] 在另一示例中，在安装在多个连接通道340中的一个上的核酸检测层330上形成的探针连接体可以被配置成使得无论目标核酸是否存在，都发生核酸扩增。因此，与之相对应的连接通道可以作为正参考通道。即，与负参考通道相反，在正参考通道中，在样品S的流动开始时发生堵塞。这可以与样品S通过其他连接通道340的流动相比较。

[0088] 虽然已经示出和描述了本公开的若干实施方式，但是具有本公开所属领域的普通知识的本领域技术人员将理解，在不背离本公开的精神或原则的情况下，可以对本实施方式进行修改。将基于所附权利要求书及其等同物来限定本公开的范围。

[0089] 附图标记

[0090] 100、300：微流体装置110、310：芯片主体

[0091] 120：样品腔室320a：样品接纳腔室

[0092] 320b：搅拌腔室121、321：搅拌装置

[0093] 140、330：核酸检测层131：微孔

[0094] 140、340：连接通道150、350：废料腔室

[0095] 160：样品传感器161：LED模块

[0096] 162：光电二极管171：注射针

[0097] 172:负压装置181:样品检测构件

[0098] 182:可变颜色物质200:探针连接体

[0099] 210:涂布部分220:引物

[0100] 230:模板

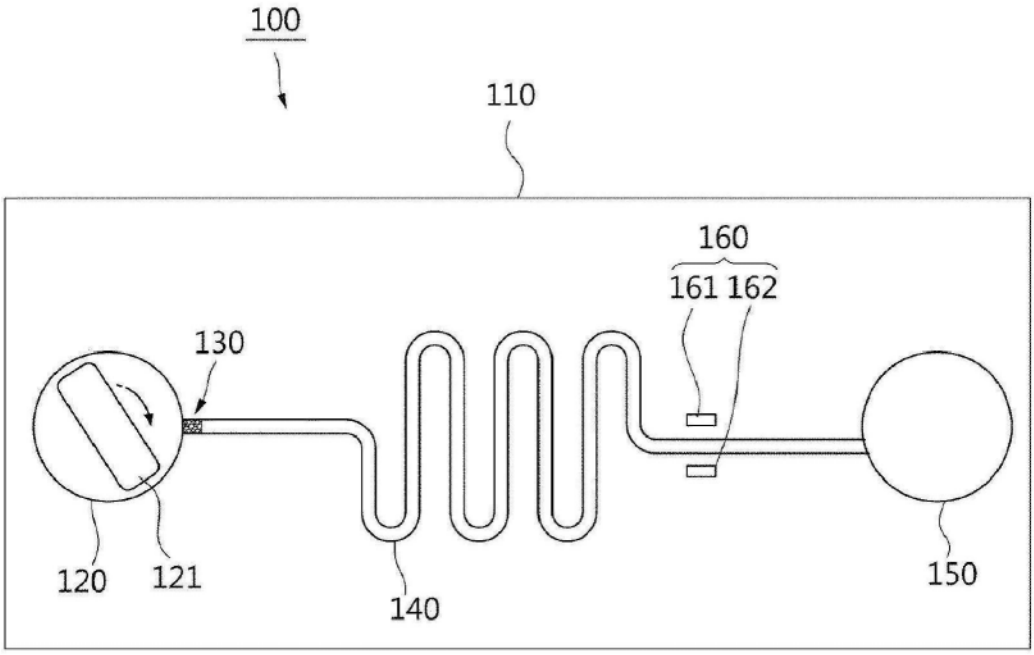

100
110
160
161 162
130
120
121
140
150

图1

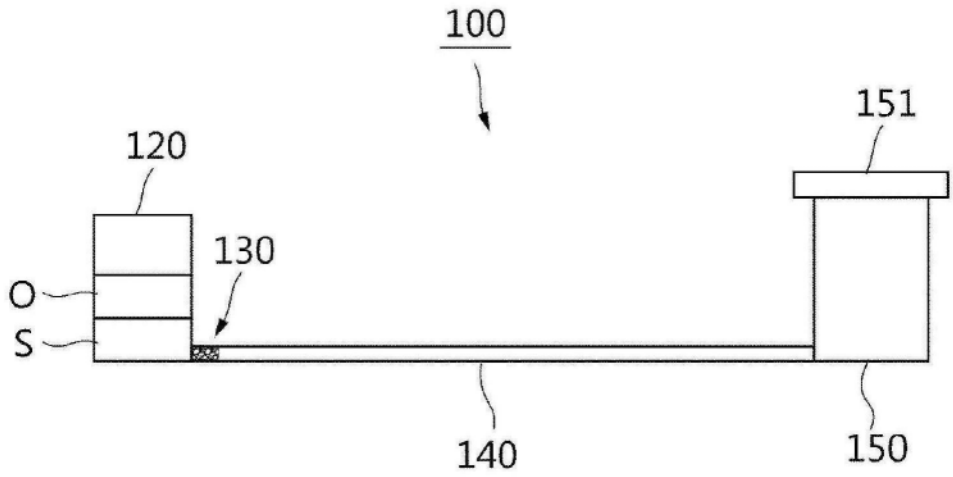

100
151
120
130
O
S
140
150

图2

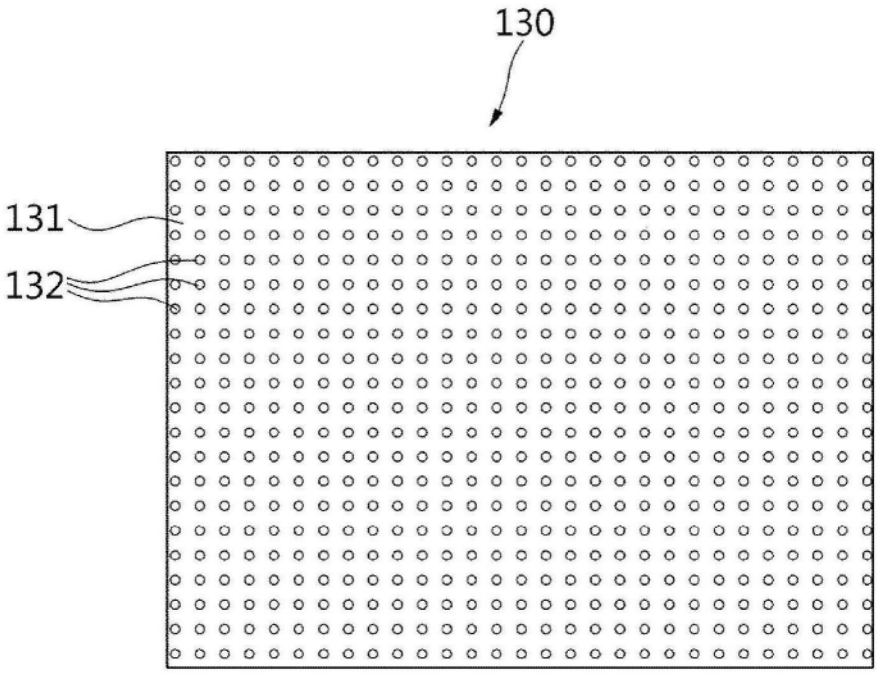


图3

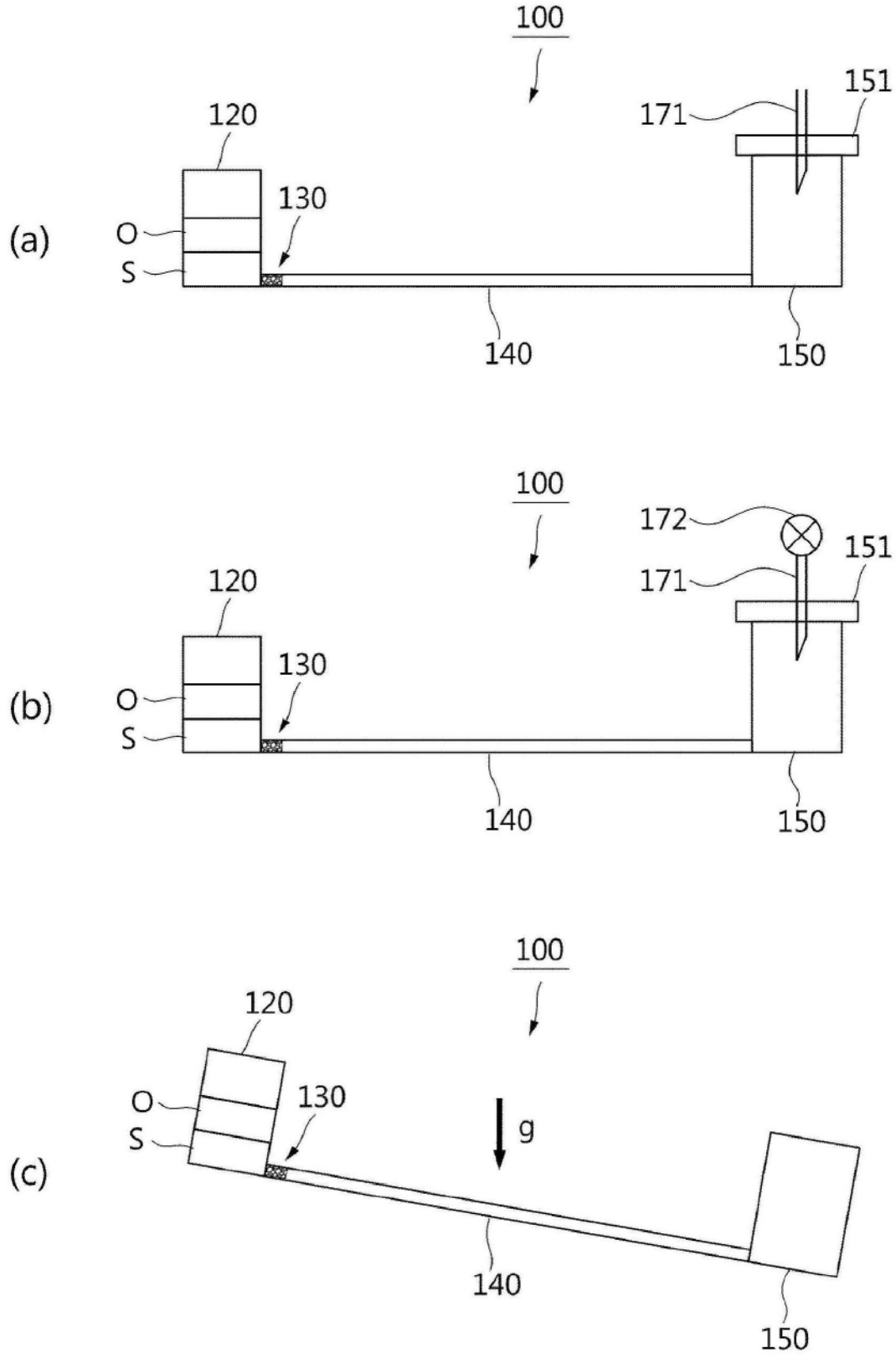

(a)
100
120
130
O
S
171
151
140
150
(b)
100
172
171
151
120
130
O
S
140
150
(c)
100
120
130
O
S
g
140
150

图4

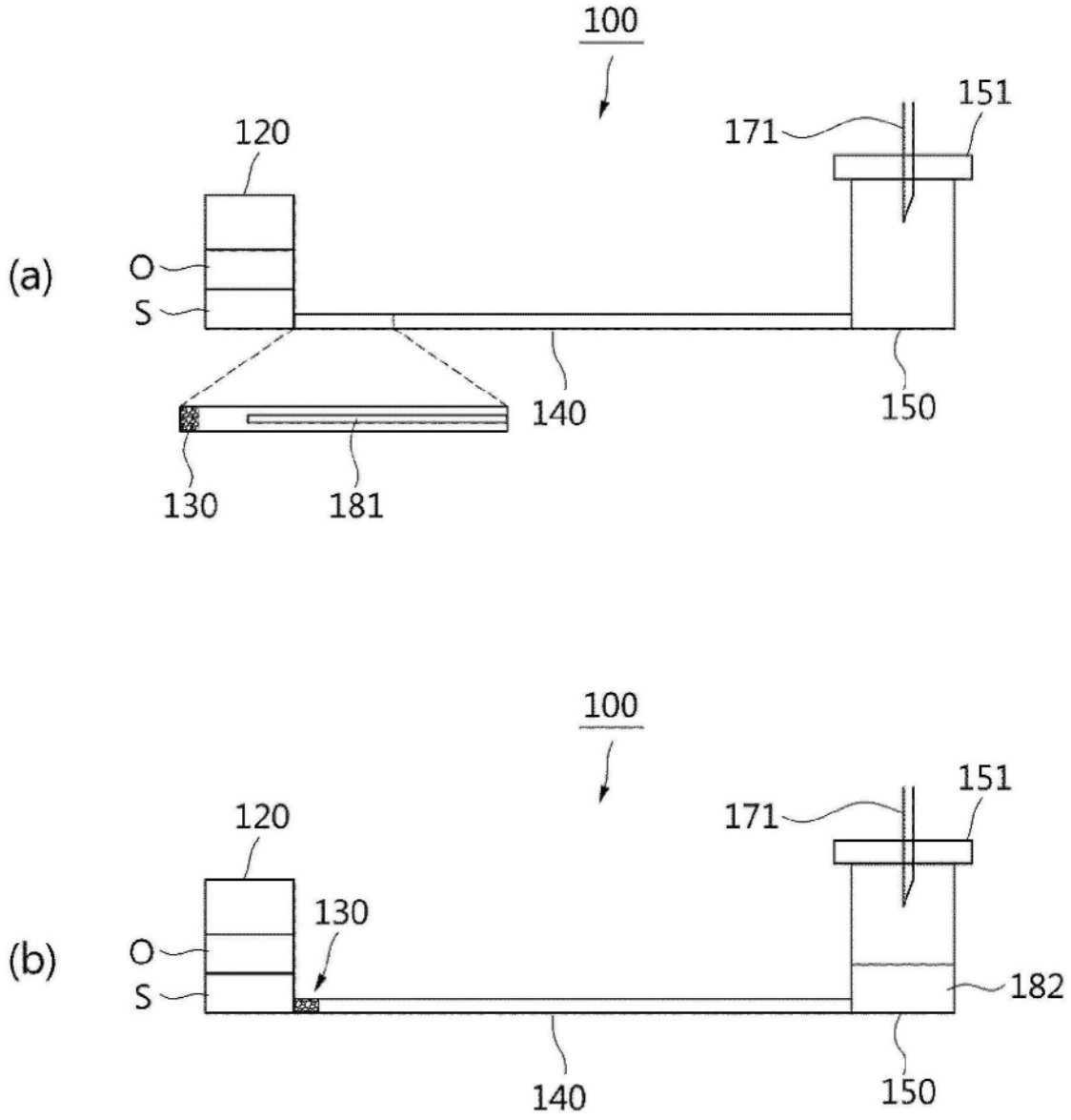

100
120
151
171
(a)
O
S
140
150
130
181
100
151
171
120
130
(b)
O
S
182
140
150

图5

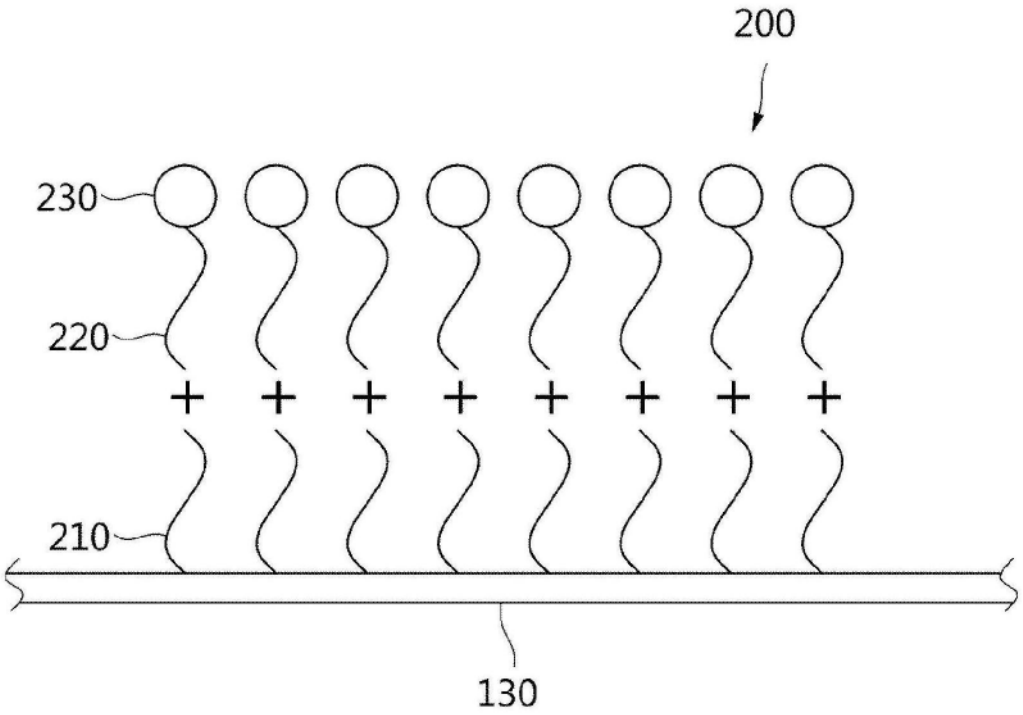


图6

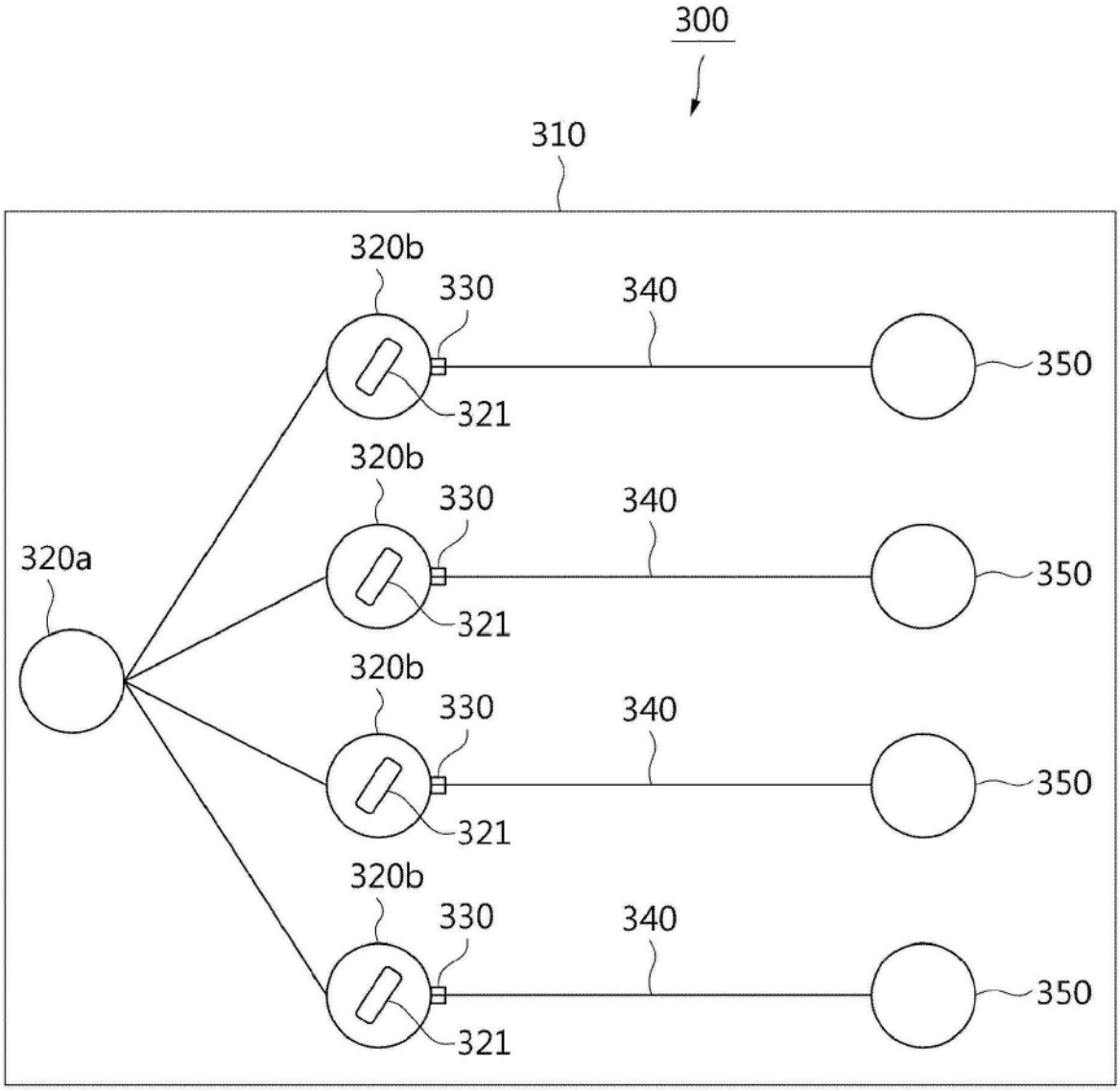

300
310
320a
320b
330
340
350
321
320b
330
340
350
321
320b
330
340
350
321
320b
330
340
350
321

图7