



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510102436.2

[45] 授权公告日 2010年1月6日

[11] 授权公告号 CN 100578228C

[22] 申请日 2005.9.9

[21] 申请号 200510102436.2

[73] 专利权人 博奥生物有限公司

地址 102206 北京市昌平区生命科学园路
18号

共同专利权人 清华大学

[72] 发明人 王东 邹鲲 程京

[56] 参考文献

CN1603009A 2005.4.6

JP2004-325329A 2004.11.18

CN1231621A 1999.10.13

US20020094304A1 2002.7.18

EP1388369A2 2004.2.11

审查员 张沫

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

代理人 关畅

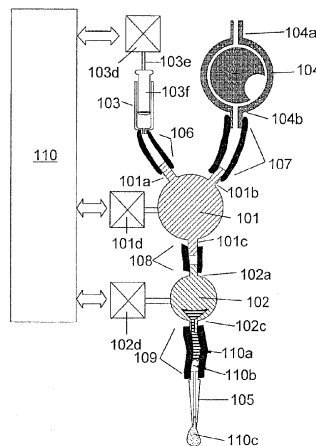
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 5 页

[54] 发明名称

一种微量液体精密分配仪器及其使用方法

[57] 摘要

本发明公开了一种微量液体精密分配仪器及其使用方法，用于精准的重复分配微量样品，特别是用于制备用来进行生化实验的微阵列。一个压力生成模块用来控制吸样量和喷样压力，和一个微阀相连；微阀用来在给定压力下精确地控制喷样量。一个压力源用来高效地排出流路内的残液。为提高样品利用率，可以在吸取样品前，先吸入一定体积的工作液。本发明简化了压力调整过程，缩短取样和清洗过程；通过独立的排气泡和液珠部件，最大程度减少气泡对微喷性能的影响；并采用多种加样模式以节省样品；多路微喷通道可以采用同一个压力生成模块，从而大大降低成本。



1、一种微量液体精密分配仪器，其特征在于：它包括有喷头、微阀、两位三通阀门、压力生成模块以及压力源；其中，所述两位三通阀有三个口，分别和微阀、压力生成模块和压力源相连；所述喷头和所述微阀相连。

2、根据权利要求1所述的微量液体精密分配仪器，其特征在于：所述压力生成模块为注射泵。

3、根据权利要求1所述的微量液体精密分配仪器，其特征在于：所述压力源为空压机、压缩气体罐或者液压容器。

4、根据权利要求1所述的微量液体精密分配仪器，其特征在于：在所述两位三通阀门和微阀间联接一个多通接头，用来把压力分配到各个微喷通道。

5、根据权利要求1所述的微量液体精密分配仪器，其特征在于：所述微阀、两位三通阀和压力生成模块分别和其致动元件相联，各致动元件通过可编程的控制器控制。

6、根据权利要求5所述的微量液体精密分配仪器，其特征在于：所述微阀和喷头固定在机械运动系统实现上下运动的Z轴的滑块上。

7、根据权利要求6所述的微量液体分配仪器，其特征在于：喷样和运动定位由控制器协调控制。

8、吸取样品的方法，包括：

控制两位三通阀，连通压力生成模块和微阀；

打开微阀，连通两位三通阀和喷头；

把喷头插入到工作液容器液面下；

控制压力生成模块，吸入一定体积的工作液，至少充满微阀的部分内腔；

把喷头从工作液容器抬起；

控制压力生成模块，吸入一定体积的空气；

把喷头插入到样品容器液面下；

控制压力生成模块，吸入一定体积的样品；

关闭微阀，关闭压力生成模块和喷头间的通路；

把喷头从样品容器抬起。

9、根据权利要求8所述的吸取样品的方法，其特征在于：吸样方法的各步都由可编程控制器控制。

10、根据权利要求8或9所述的吸取样品的方法，其特征在于：所述工作液充满

压力生成模块的部分内腔。

11、分配样品的方法，包括：

控制两位三通阀，连通压力生成模块和微阀；

控制压力生成模块，生成设定幅度的喷样压力；

打开微阀以一定时间，连通两位三通阀和喷头，使喷样压力施加到喷头处的样品上，从而将设定体积的样品从喷头喷出来。

12、根据权利要求 11 所述的分配样品的方法，其特征在于：打开微阀前，先通过机械手运动系统把喷头移动到微阵列的第一个点位。

13、根据权利要求 12 所述的分配样品的方法，其特征在于：通过机械手运动系统把喷头移动到微阵列的第二个点位，第二次打开微阀，喷出第二个样品液滴。

14、根据权利要求 12 所述的分配样品的方法，其特征在于：还包括：

把喷头移动到废液容器处；

打开微阀；

控制两位三通阀，连通微阀和压力源；

通过喷头把流路内的残留样品排出。

15、根据权利要求 14 所述的分配样品的方法，其特征在于：还包括把工作液从喷头排出。

16、根据权利要求 11-15 任意一项所述的分配样品的方法，其特征在于：喷样方法的各步通过可编程控制器控制。

一种微量液体精密分配仪器及其使用方法

技术领域

本发明涉及一种连续准确分配微量液体且样品损耗少的仪器及其使用方法，其可用于制备用来进行生化实验的微阵列芯片。

背景技术

生物芯片微阵列是在玻璃、膜和其他材料等基片上的生物样品二维阵列，通过把各种溶有样品的微量溶液分别点制在基片上相应的点位而成。目前，用于生物芯片微阵列制备的技术有光学原位合成、接触式钢针点样和非接触式喷样三种。

原位合成方法通过光掩膜制备微阵列，与半导体加工有一些相似之处，所以微阵列也被称为“芯片”。采用原位合成方法，在一块1.3cm x 1.3cm的基片区域上，可以制备一个超过100,000点的微阵列。但这种方法成本高昂、步骤繁琐，只适用于制备20~30个碱基的寡核苷酸探针的微阵列。

接触式钢针点样法原理简单，易于构建。钢针头部开有狭缝，通过毛细作用可以把液体吸到缝内；当钢针和基片表面接触时，可以把缝内的样品涂在基片上。接触式钢针点样法是目前最为流行的一种技术，但是样品分配量依赖于钢针预先加工好的狭缝尺寸而难于控制，且点样稳定性差。

非接触式喷样技术，与打印机的喷墨原理有一些相似之处，可以实现纳升和微升级体积的微量液体的高精度、高重复度分配。相比于接触式点样法，喷样工作头不需要在阵列制备过程中与芯片基片接触，从而大大提高制备速度，可实现100点/秒、甚至更高的喷样速度。目前非接触式喷样法的原理有微阀控制、压电喷射和热气泡喷射三种。前两种源于喷墨打印技术，已有产品用于生物芯片微阵列的构建，但成本昂贵。基于微阀原理的微喷产品中，由液体压缩部件、管路、微线圈电磁阀（下简称微阀）和喷头依次相连组成，成本较为低廉。通常微阀和喷头间直接相联，以提高喷样量的准确度和重现度；喷样量大小通过控制微阀开关时间和施加在管路内液体上的压力大小来调节。

基于微阀微喷原理的典型产品有美国加州埃尔文德BioDot公司的BioJet Plus™系列。该系列产品用注射泵作为液体压缩部件，即通过注射泵活塞杆的推进来直接压缩充满于管路内的液体，液体所承受的压力由注射泵活塞杆的推进量控制；注射泵除起到压缩管路内液体的作用外，还用来进行管路内样品的更换和通道清洗。

采用液压力致动的BioJet Plus系列由于需要液体充满整个管道，需要的样品量大，

更换样品时需要将管路内的液体全部排出，操作时间长；每一个喷样通道都需要一个注射泵；排液时管路内残留的液珠和产生的气泡难以排干净，会影响喷样效果。

发明内容

本发明的目的是一种基于微阀控制的、连续准确分配微量液体且样品损耗少的微量液体精密分配仪器及其使用方法。

为实现上述目的，本发明采取技术方案：一种微量液体精密分配仪器，它包括有喷头、微阀、两位三通阀门、压力生成模块以及压力源；其中，所述两位三通阀有三个口，分别和微阀、压力生成模块和压力源相连；所述喷头和所述微阀相连。

在实际操作中，所述压力生成模块为注射泵；所述压力源为空压机、压缩气体罐或者液压容器。

此外，还可以在所述两位三通阀门和微阀间联接一个多通接头，用来把压力分配到各个微喷通道。

上述的微量液体精密分配仪器中，所述微阀、两位三通阀和压力生成模块分别和其致动元件相联，各致动元件通过可编程的控制器控制。

上述的微量液体精密分配仪器中，所述微阀和喷头固定在机械运动系统实现上下运动的Z轴的滑块上。

上述的微量液体分配仪器中，喷样和运动定位由控制器协调控制。

本发明还提供了一种吸取样品的方法，其包括：

控制两位三通阀，连通压力生成模块和微阀；

打开微阀，连通两位三通阀和喷头；

把喷头插入到工作液容器液面下

控制压力生成模块，吸入一定体积的工作液，至少充满微阀的部分内腔；

把喷头从工作液容器抬起；

控制压力生成模块，吸入一定体积的空气；

把喷头插入到样品容器液面下

控制压力生成模块，吸入一定体积的样品；

关闭微阀，关闭压力生成模块和喷头间的通路；

把喷头从样品容器抬起。

上述的吸取样品的方法中，吸样方法的各步都由可编程控制器控制。

上述的吸取样品的方法中，工作液应至少充满微阀的部分内腔。

上述的吸取样品的方法中，工作液可充满压力生成模块的部分内腔。

本发明又提供了一种分配样品的方法，其包括：

控制两位三通阀，连通压力生成模块和微阀；

控制压力生成模块，生成设定幅度的喷样压力；

打开微阀以一定时间，连通两位三通阀和喷头，使喷样压力施加到喷头处的样品上，从而将设定体积的样品从喷头喷出来；

上述的分配样品的方法中，在打开微阀前，先通过机械手运动系统把喷头移动到微阵列的第一个点位。

上述的分配样品的方法中，通过机械手运动系统把喷头移动到微阵列的第二个点位，第二次打开微阀，喷出第二个样品液滴。

上述的分配样品的方法中，还包括：

把喷头移动到废液容器处；

打开微阀；

控制两位三通阀，连通微阀和压力源；

通过喷头把流路内的残留样品排出。

上述的分配样品的方法中，还包括把工作液从喷头排出。

上述的分配样品的方法中，喷样方法的各步通过可编程控制器控制。

本发明由于采取以上设计，其具有以下优点：简化压力调整过程，缩短取样和清洗过程；通过独立的排气泡和液珠部件，最大程度减少气泡对微喷性能的影响；并采用多种加样模式以节省样品；多路微喷通道可以采用同一个压力生成模块，从而大大降低成本。

附图说明

图 1 为本发明一个微喷系统实施例的原理图；

图 2 为本发明一个微喷系统实施例的控制电路框图；

图 3 为本发明一个微喷系统实施例的吸样方法流程图；

图 4 为本发明一个微喷系统实施例的喷样方法流程图；

图 5 为本发明一个多通道微喷系统实施例的原理图。

具体实施方式

除特殊申明，本发明所采用技术和科学用语均为通用用语，且用法一致。与本发明相关的专利、专利申请书以及相关文献都已经列为本发明的参考文献。如果本文中用语有与这些文献相悖或者不一致的地方，以本文为准。

文中的“一”表示“不少于一”或者“一或者多个”。

图 1 是本发明一个实施例的原理图。喷头 105 用来吸取、携带和喷出样品 110c。喷头 105 与微阀 102 的口 102c 通过联接件 109 相连。联接件 109 可以采用螺纹连接

或者管联接方式，如小内径的 Teflon®管。此外，联接件 109 应该尽可能短、以减少微阀 102 和喷头 105 间的流路体积，使微阀精密地控制喷样量。微阀 102 的开关状态通过致动元件 102d 实现。在不同的实施例中，致动元件 102d 可以是机电式的，如线圈或电机，也可以基于气动或者液动原理。致动元件 102d 通过控制器 110 控制。

微阀 102 的口 102a，通过联接件 108 和两位三通阀 101 的公共口 101c 相联。联接件 108 类似于联接件 109，但其长度和内径都无特别要求。两位三通阀 101 在其致动元件 101d 的作用下可以切换状态，使公共口 101c 和口 101a 或者口 101b 相通。致动元件 101 通过控制器 110 控制。在一些实施例中，致动元件 101d 也可以手动控制。在吸样和喷样时，控制两位三通阀，使其公共口 101c 和通过管路与压力生成模块 103 相连的 101a 口相通。（在实施例的原理图中，压力生成模块 103 用一个注射泵表示。但实际上，压力生成模块 103 也可以是风箱泵、活塞泵或者类似机构。尽管下文用注射泵标示压力生成模块，但在类似的实施例中也可采用类似机构提供可控的压力）。排除残留样品和气泡操作时，控制两位三通阀 101，使其公共口 101c 和与压力源 104 通过联接件 107 相通的 101b 口接通。

注射泵 103 的运动单元是 103d，通过控制器 110 控制，以吸取和/或排出一定体积的空气或者工作液，调节喷样压力。典型的运动单元 103d 是机电式的，通过联接件 103e 固定在注射泵 103 的活塞 103f 上。运动单元 103d 可以有一个步进电机或者伺服电机，和一个精密控制注射泵 103 内的活塞 103f 位置的齿轮齿条或者丝杠滑块组成。在一些实施例中，运动单元 103d 还包括位置和极限位置传感器，其反馈用来提高控制精度。

在不同的实施例中，压力源 104 可以采用空压机、压缩气体罐、液压容器或者类似机构。采用空压机时，需要在 101b 口和 104b 口间接空气过滤和减压阀。

图 2 是本发明实施例中，可编程控制器 110 的控制框图。嵌入式微处理器 204 可以是 Philip 公司一个 80C552 8 位微处理器。微处理器 204 通过其 I/O 口及扩展电路 205 和驱动电路 206、208 和 210 通讯。显然，也可以用其它方式实现同样的功能。驱动电路 208 控制注射泵 103 的运动单元 103d。驱动电路 206 控制两位三通阀 101，驱动电路 210 控制微阀 102。微处理器 204 通过 PC 机 201 的串行通信端口 202 和 RS232 通信单元 203 和 PC 机 201 通讯。控制喷样系统的软件可以通过微控制器 204 或 PC 机 201 执行，或者两者配合执行。操作人员通过 PC 机 201 的用户界面设置移液参数。在实施例中，微处理器 204 可以配以简单的用户界面，界面提供一些简单的按钮和仪器状态显示。

图 3 是本发明实施例吸取样品方法的流程图。在吸取样品过程开始（步骤 301）

后，两位三通阀 101 的状态切换到 101a 和 101c 口相通（步骤 302）。然后打开微阀 102（步骤 303），控制注射泵 103 开始吸液（步骤 304）。此时，注射泵 103、两位三通阀 101、微阀 102 和喷头 105 都处于相通状态。吸入的液体可以全部是样品，也可以先吸入一部分工作液以增大样品的利用率。图 3 中，步骤 305 先吸入工作液，然后喷头从工作液面下抬起到空气中。步骤 306 和 307 中，少量的空气（或者其他合适的气体或液体）被吸入用来隔开工作液和下一步要吸入的样品。步骤 308 和 309 中，喷头 105 伸入到样品液面下吸取样品。微阀 102 在步骤 310 被关闭。

工作液可以是水、缓冲液或者其他廉价液体。微阀 102 在工作液或者样品至少充满微阀内腔的一部分时，才能正常工作。如果要连续喷很多次、要分配的样品量较大，可以不使用工作液，直接用样品填充微阀；完成喷样后，剩余样品可以喷回到样品源位置以重新利用。如果仅需少量样品或者样品量很少，可以先吸入一定体积的工作液（图 1 中的 110a），然后在吸入一定体积的空气间隙 110b，最后再吸入样品 110c。空气间隙 110b 用来隔开样品和工作液，防止其混合。110c 的吸入量足够用于喷样即可，可以减少样品的浪费。

作为一种选项，工作液也可充满包括注射泵 103 和喷头 105 在内的整个流路的大部分。工作液的可压缩性小于空气或者其他替代气体，可以减小吸样和喷样时的瞬间体积变化。至少，工作液应该充满微阀 102 的部分内腔，因为微阀 102 在其内腔有一定体积的液体时才能正常工作。

图 4 是本发明实施例喷样和排出残液方法的流程图。在开始的 401 步骤，足够的样品（图 1 中 110c）应该已经被吸入喷头 105。同时，也假定喷头 105 正处于基片上将要喷样位置的上方。步骤 402 中，控制注射泵 103 压缩流路内的气体，在流路内产生喷样压力。步骤 403 中，打开微阀，使注射泵 103 产生的压力传递到喷头 105 处的样品 110c，从而排出样品。所述喷样压力的大小可通过注射泵 103 控制。步骤 405 中，关闭微阀，从而完成一次喷样动作。喷样压力大小和微阀 102 开关时间长短决定喷样量的大小。注射泵动作引起的体积变化用来控制吸样量和喷样量，减少多余的样品被吸入而浪费。

图 4 中步骤 406 用来排出流路中残余的液体。执行此步骤时，喷头 105 应该已经离开微阵列基片，并置于废液容器上方。步骤 406 中微阀 102 被打开，接下来的步骤 407 中，控制两位三通阀 101，使其 101b 口和 101c 口相通；步骤 408 中，通过气压源 104 的气压把残留样品和工作液（如果使用）从喷头 105 排出到废液容器。

在另一实施例中，在步骤 406 后，控制两位三通阀 101，使其 101a 口和 101c 口相通。喷头 105 被置于清洗池上方，注射泵重复动作，把清洗液吸入和排出喷头 105。

然后再进行步骤 407 和 408。

图 1 中采用机器人自动制备微阵列时，喷头 105 可以和微阀 102、致动元件 102d 和联接件 109 可以固定在机械手运动系统上下运动的 Z 轴滑块上。两位三通阀 101 也可装在机械手上，并与微阀 102 相连。可编程控制器 110 用来协调控制运动定位和吸样、喷样和排出残液等操作。

图 5 为本发明的另一个实施例。实施例中，两位三通阀 101 的 101c 口通过一个多通接头 501 和多组微阀/喷头组合相联通。每个微阀都有一个致动元件，由控制器 110 控制。此实施例用来同时吸取和分配多个样品（如图 5 中的四通道实施例）。因为每个微阀都配有一个微阀，因此每个喷头的喷样量可以通过控制各自微阀开关时间单独调节。这可用于调控不同样品的喷样量，使其均一；也可有意从各喷头喷射不同体积的样品。

显然，基于本发明可以有不同的实施例，或者对实施例进行扩展。比如图 1 中，喷头 105 可以用一个连有多个喷头/微阀的多通接头代替，以同时分配多种样品。此外，除制备微阵列外，本发明也可用于其他液体精密分配场合。

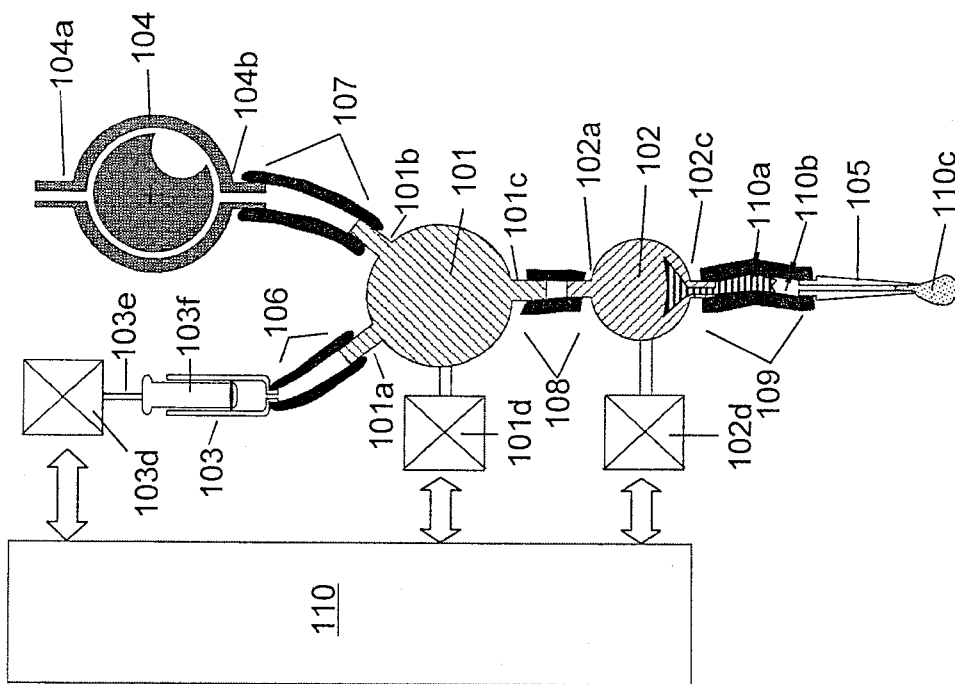


图1

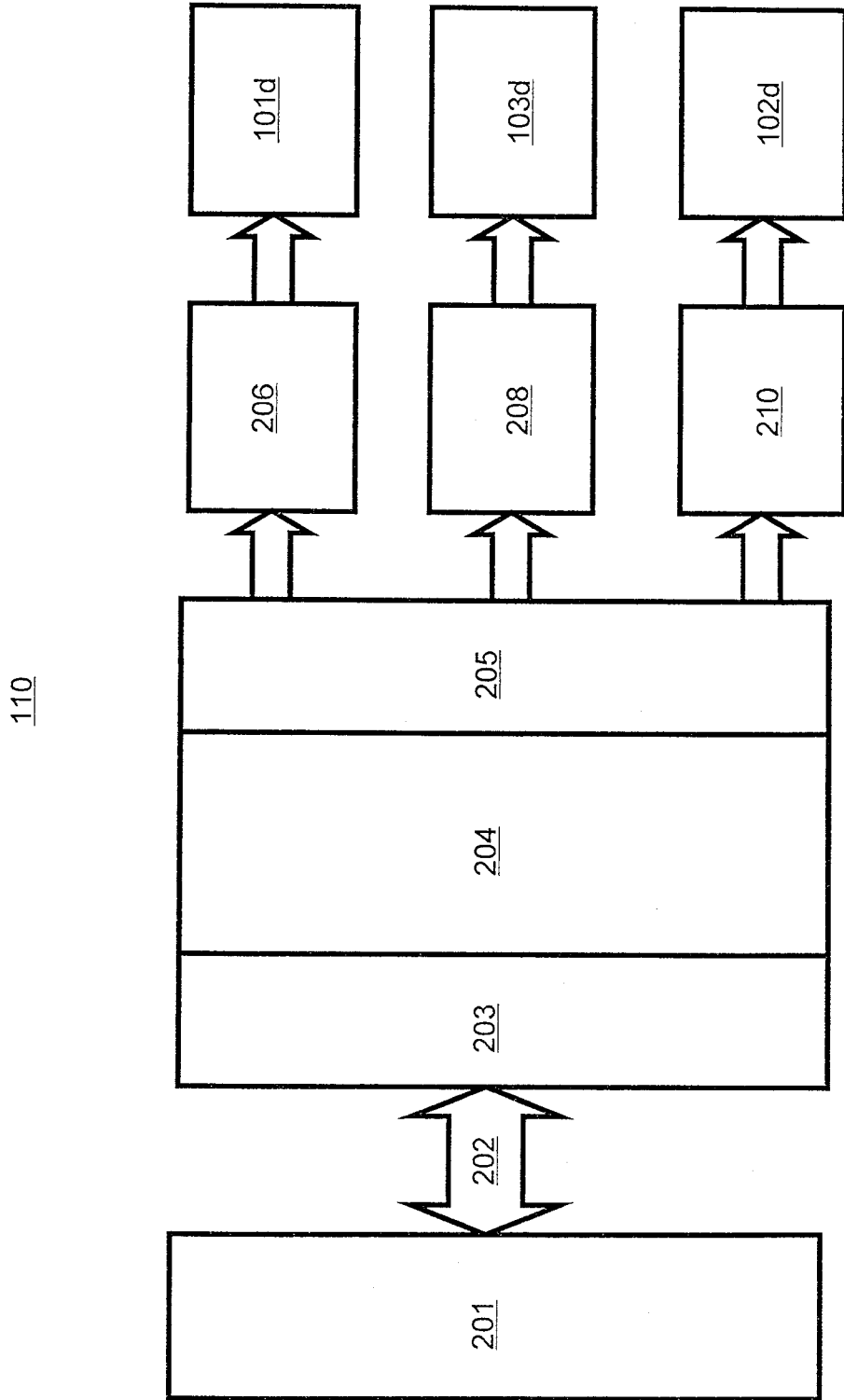


图 2

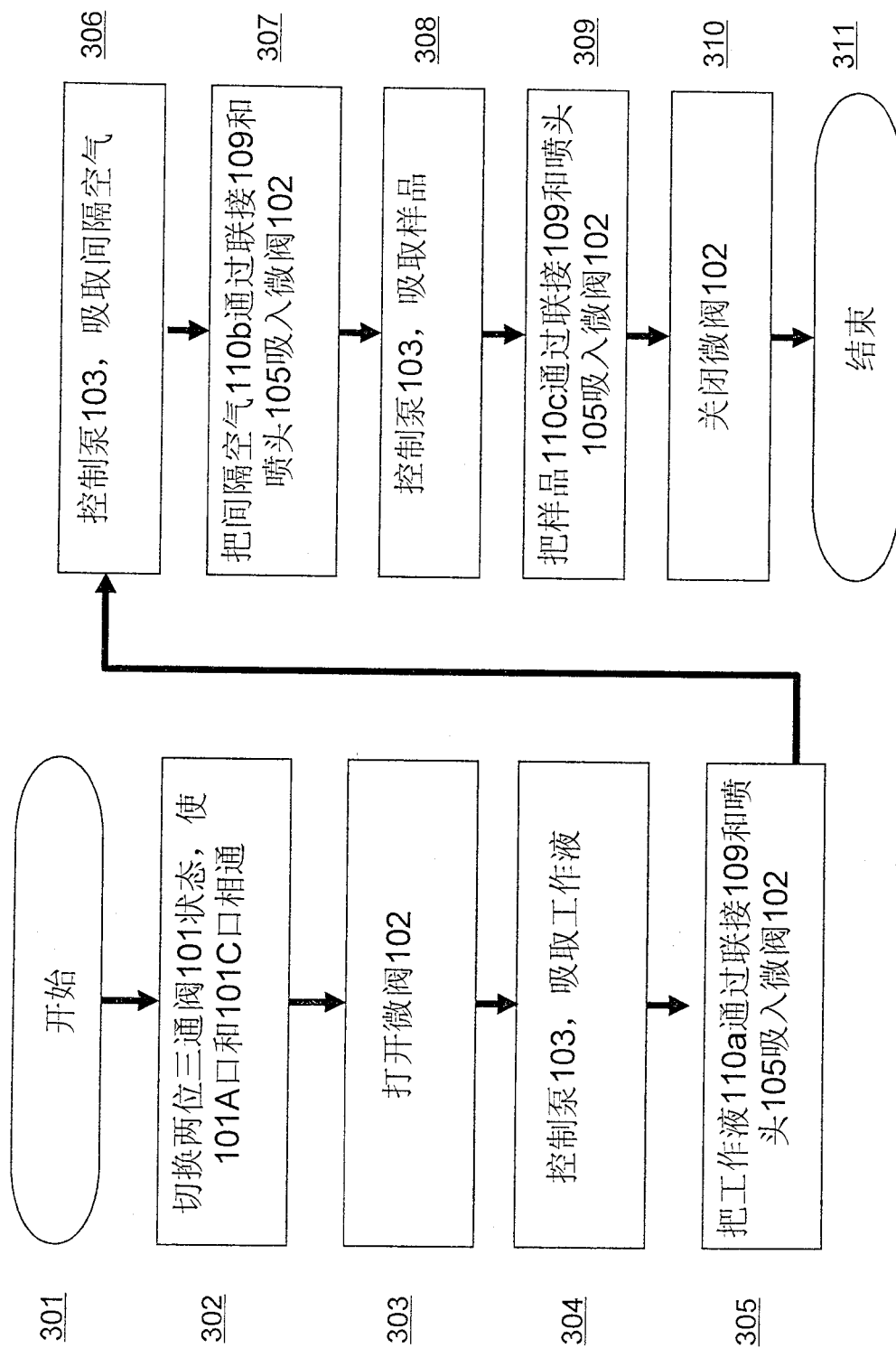


图 3

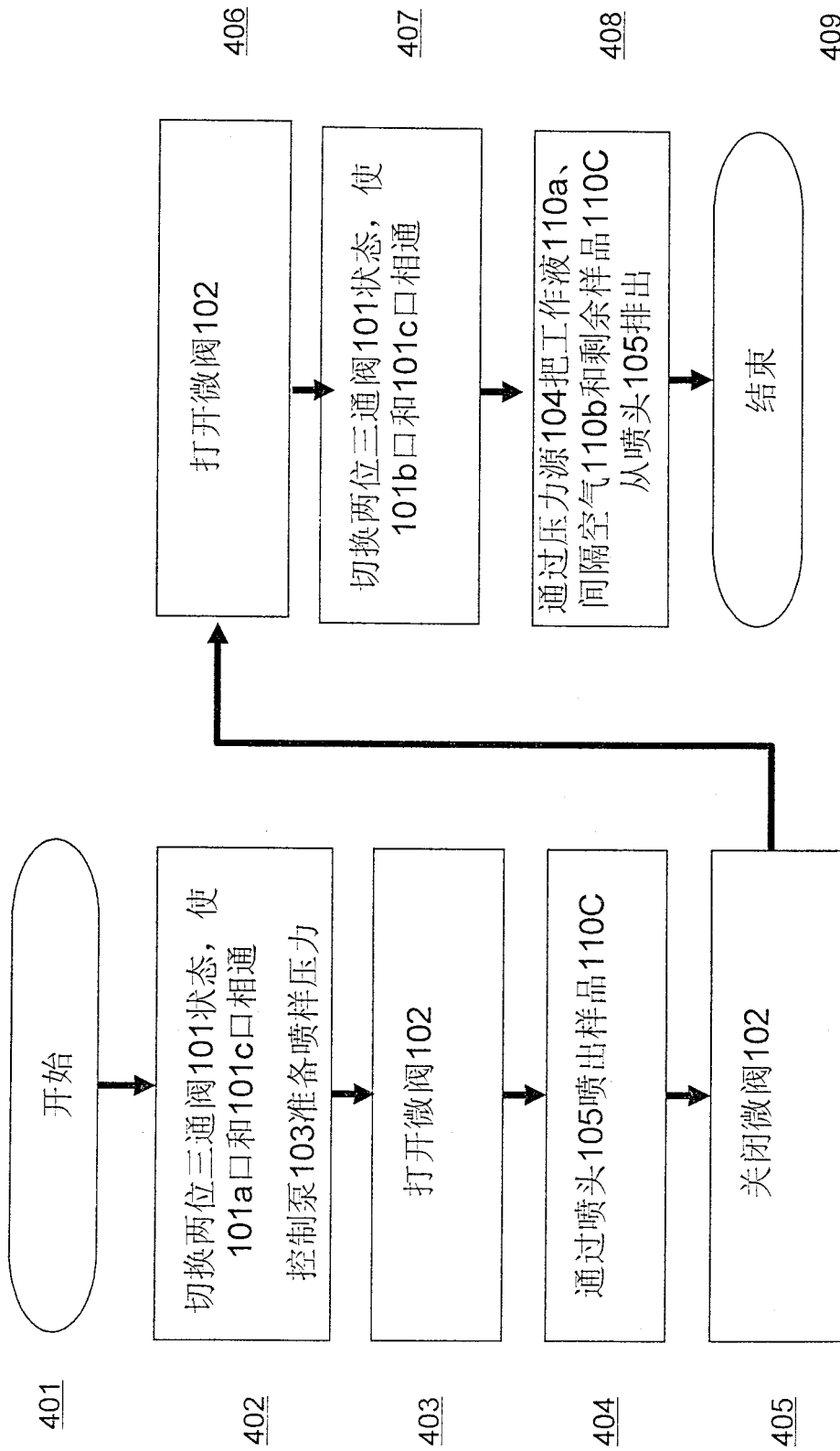


图 4

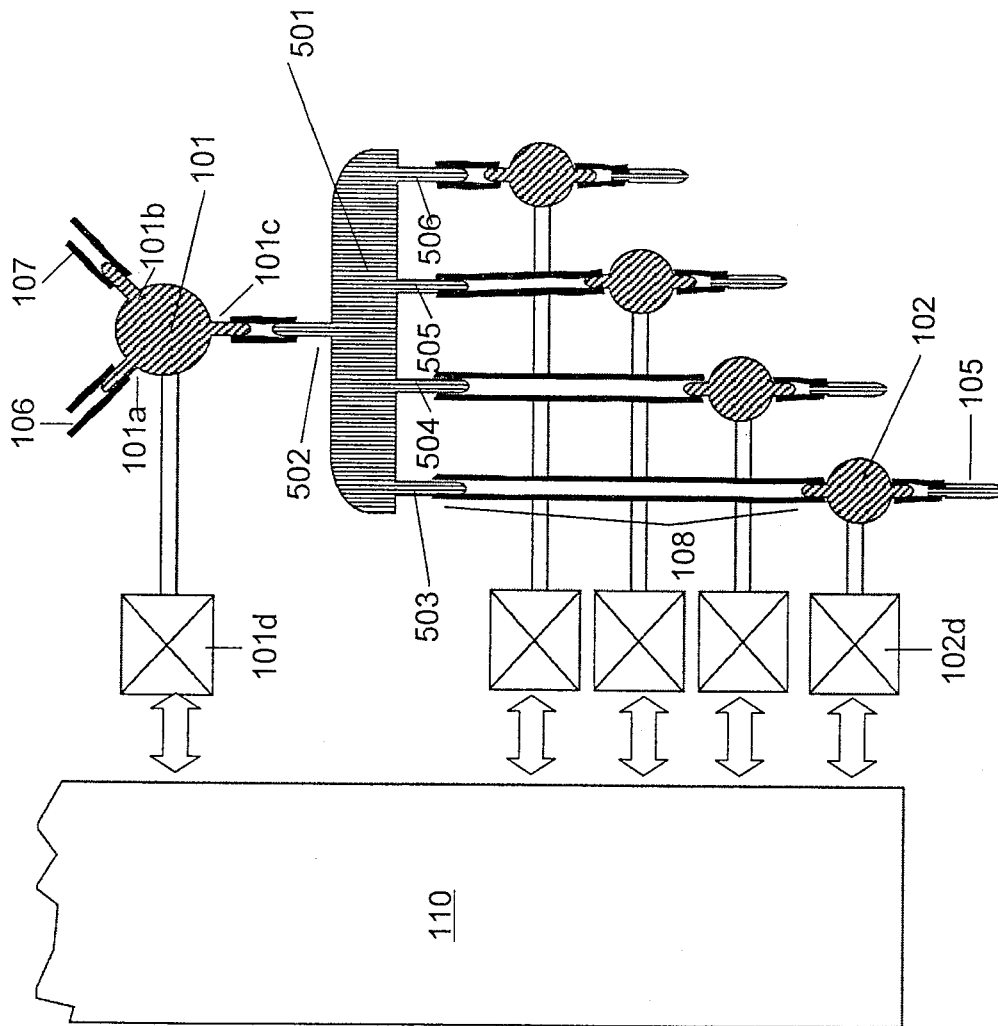


图5