

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C12Q 1/25

C12Q 1/68



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94100828.2

[45] 授权公告日 2003 年 7 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 1114702C

[22] 申请日 1994. 1. 11 [21] 申请号 94100828.2

[30] 优先权

[32] 1993. 1. 11 [33] US [31] 08/002,559

[71] 专利权人 PE 股份有限公司 (纽约)

地址 美国加利福尼亚州 94404

[72] 发明人 恩里科·皮科赞

蒂莫西 M·沃登伯格

罗伯特·拉古萨 拉尔夫基塞

[56] 参考文献

EP - A - 0285496 1988. 10. 05 B01L3/14

EP - A - 0388159 1990. 09. 19 B01L3/00

EP - A - 0488769 1992. 08. 03 C12Q1/68

审查员 贾书瑾

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

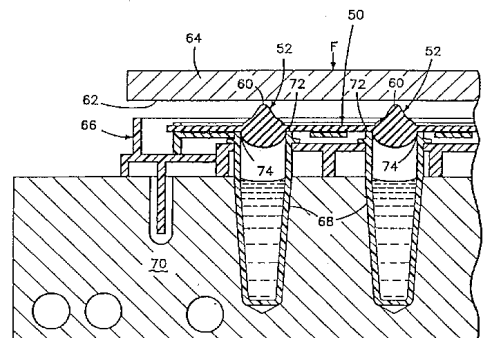
代理人 张恒康

权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 3 页

[54] 发明名称 阵列式反应管的盖板

[57] 摘要

一种阵列的反应管盖板，它们适合于封住众多反应管，反应管则包括一具有众多柔软塑料球状体的柔软材料的单元本体。各个球状体是整体的腹板以预定平面间隔关系横列柔性固定的，腹板还具有众多透孔。每个球状体一般设有一从腹板突出的向下凸面的、半球形下部，一在下部上面自腹突出的向上曲面的上部和一从上部向上突出的同心拱曲形乳头状突起。



ISSN 1008-4274

1. 一种反应管盖板平面阵列, 适合于密封一些以预定间隔布置方式放置的反应管, 所述阵列包括:

若干球状体以彼此之间预定间隔关系固定在腹板上, 每个所述球状体适合于装配入和密封所述反应管之一的开口, 每个所述球状体具有一装入所述一开口用的下部和一位于所述下部上方的向上的凸面形上部。

2. 根据权利要求 1 所述的阵列, 其特征在于所述上部和下部与所述腹板连为一体。

3. 根据权利要求 1 所述的阵列, 其特征在于所述腹板具有一些在所述球状体之间隔开的孔。

4. 根据权利要求 1 所述的阵列, 其特征在于所述阵列是一模压的单元橡胶体。

5. 根据权利要求 4 所述的阵列, 其特征在于所述单元橡胶体为硅橡胶。

6. 根据权利要求 1 所述的阵列, 其特征在于所述下部具有一整体的半球形形状。

7. 一种反应管盖板平面阵列, 适于密封许多以预定间隔布置方式放置的反应管, 所述阵列包括:

许多柔软塑性球状体以彼此之间预定间隔关系连接在腹板上, 每个所述球状体适合于装配入和密封所述反应管之一的一开口, 每一所述球状体具有一向下凸面形的下部, 一处于所述下部上面的向上凸面形的上部和一从所述向上凸面形部向上延伸的乳头状突起。

8. 根据权利要求 7 所述的阵列, 其特征在于所述腹板具有许多在所述球状体之间隔开的通孔。

9. 根据权利要求 7 所述的阵列, 其特征在于所述阵列是一由硅橡胶制成的模压单元体。

10. 根据权利要求 9 所述的阵列, 其特征在于所述乳头状突起的

中心位于所述上部和下部的上方,且具有圆顶的形状。

11. 根据权利要求7所述的阵列,其特征在于所述下部通常具有半球形形状。

12. 一种适合于密封多个反应管的反应管盖板的阵列,其特征在于包括一具有许多柔软塑料球状体的单元本体,各个球状体适合于密封所述反应管之一,各个球状体沿横行和纵列方向、以彼此之间预定平面间隔关系而挠性固定在一整体式腹板上,腹板具有众多穿孔,各个所述球状体具有一向下凸面、一般为从所述腹板突出的半球形下部,一在所述下部的上面从所述腹板中突出的向上凸面形上部,以及一从所述向上凸面形部向上突出的同心圆顶形乳头状突起。

13. 一种适合于密封多个以预定空间布置方式配置的反应管的反应盖板的平面阵列,其特征在于一有弹性的柔软的塑料盖板,该塑料盖板具有多个以预定空间布置的、彼此间隔开的盖板部分,以及具有众多位于所述盖板部分之间、穿过所述盖板的孔。

### 阵列式反应管的盖板

本发明一般涉及化学反应管的盖板,尤其是关系到二维阵列式反应管的盖板,它主要用作进行聚合酶链式反应(PCR)的器械。

本申请是1992年4月20日所提出的美国专利申请序号07/871,264的部分连续申请,该申请又是1990年11月29日所提交的美国专利申请序号07/620,606和1991年3月14日提交的美国专利申请序号07/670,545的部分连续申请,各个申请都转让给了本发明的受让人且每个申请都用作参考结合于本文中。

在美国专利号5,038,852和上述的专利申请中都公开了同时对一些样品进行聚合酶链式反应(PCR)的自动热循环控制装置。简言之,聚合酶链式反应是一种酶催过程,在此反应中少量的特定的DNA序列可在相当短的时间周期中得以大量扩大。该方法利用两种低核苷酸引物,此引物杂化相对的股且沿目标DNA的有利区域侧面相接。包括模板变性,引物退火和经退火的引物用DNA聚合酶延伸的一系列重复热循环导致特定的DNA片断(软)的指数积累,而该指数积累的终端是由引物的5'端所形成的。

由待扩大的目标DNA,低核苷酸引物,缓冲剂,核苷酸三磷酸酯,最好还有泰格(Taq)聚合酶那样的耐热酶构成的一反应混合物进行混和且放入诸反应管中。接着,将管中所盛装的反应混合物经受称为热循环控制装置的PCR程序的某些热转换和浸湿周期,以产生扩大的目标DNA。

一般,反应管的阵列由多达48或96个反应管组成,它们在托盘中以阵列6×8阵列和8×12阵列布置。阵列反应管被放置在金属制的热循环控制装置部分中,各个反应管的下部与热循环控制装置部分直接热接触。然后,对于预定的一些循环,根据PCR程序的预定温度和时间分布图改变该装置部分的温度。

PCR 程序的变性步骤包括将反应混合物加热和保持于约 95°C, 以将双股 DNA 分离成为单股。在这升高的温度下, 蒸发成为一个问题。为了防止反应管里面的含量在 PCR 过程中被蒸发, 在每个管子的混合物的上面放一层蜡或油, 或者将加热盖和盖帽一起放在每一反应管中。

放盖帽要比放油或蜡层要来得好, 因为加蜡层是很费时的和很脏的, 还会招致混合物的污染。这些盖帽可以是各个分离的盖帽, 也可以与管子连成一整体。另外, 一系列塑料盖帽从 8 或 12 个的线性条方式连接在一起。每一盖帽包括一管状的下部和一向上的圆顶形上部。盖帽通过整体薄片连接在一起, 构成盖帽的带条。

一盘反应管一般充装适量的试样液, 而单个带条中的每一单独的盖帽被插入一反应管中, 因而盖帽的向上的圆顶形部分和向下塞入反应管内的管状部分构成一密封。在托盘内的反应管用固定器(架)固定后盖帽可通过对单个盖帽带条的一端向上拔起而加以卸除, 因为需要将各个盖帽的管状部分专门插入到每个单独管子中, 所以将这些普通盖帽安装在反应管上是相当乏味, 很费时的作业。

安上管帽的反应管托盘插入到一热循环控制装置部分, 而一加热压板盖则下压到该装置部分上面, 把圆顶形管帽压向下, 从而均匀地座落在所有反应管上并在各个反应管和热循环控制装置部分之间建立起良好的热接触。加热压板盖在突出于热循环控制装置部分之上的反应管部分的位置形成了一个封闭的环境。这种加热压板盖在热循环程序中保持其温度大于任一热循环的温度, 以防止在管子的上部范围内或管帽的下面的蒸汽冷凝, 因为这两部位都突出在热循环控制装置部分的本体之上。这样, 蒸发的耗损可通过管帽得以防止, 而内部蒸汽冷凝则可通过压板盖下的高温加以防止。

加热压板盖还防止了影响反应管内的试样温度的回流。回流是反应管内试样上面的封闭空间内的周期性蒸发和冷凝现象。一般, 在热循环程序中, 回流会降低试样的温度。

在热循环程序完成之后, 安有盖帽的反应管的托盘从热循环控

制装置中移出且可使它回复到室温。然后,从诸反应管中小心地把管帽的带条拿去,以防止反应管之间的交叉污染,而把该阵列(件)转移到其它器械上,用以检测聚合酶链式反应(PCR)产物或作进一步的处理。

由各个曲拱(圆顶)形管帽的带条构成的塑料管帽的构成十分适合于小规模聚合酶链式反应,因为在那种情况下并不需要很高的产率。本结构提供了将各个单独反应管隔离开的优点,但对在固定就位中安装和拆卸则将是令人生厌的。因此,需要有满板的盖子或覆盖层,这样可提供给使用者更方便和更快捷的将整个阵列反应管密闭的方法,以及更方便和更有效在聚合酶链式反应过程完成时使用反应管。

本发明提供了一种反应管盖板平面阵列,适合于密封一些以预定间隔布置方式放置的反应管,所述阵列包括:若干球状体以彼此之间预定间隔关系固定在腹板上,每个所述球状体适合于装配入和密封所述反应管之一的开口,每个所述球状体具有一装入所述一开口用的下部和一位于所述下部上方的向上的凸面形上部。

本发明还提供了一种反应管盖板平面阵列,它适于密封许多以预定间隔布置方式放置的反应管,所述阵列包括:许多柔软塑性球状体以彼此之间预定间隔关系连接在腹板上,每个所述球状体适合于装配入和密封所述反应管之一的一开口,每一所述球状体具有一向下凸面形的下部,一处于所述下部上面的向上凸面形的上部和一从所述向上凸面形部向上延伸的乳头状突起。

本发明还提供了一种适合于密封多个反应管反应管盖板的阵列,其特征在于包括一具有许多柔软塑料球状体的单元本体,各个球状体适合于密封所述反应管之一,各个球状体沿横行和纵列方向、以彼此之间预定平面间隔关系而挠性固定一整体式腹板上,腹板具有众多穿孔,各个所述球状体具有一向下凸面、一般为从所述腹板突出的半球形下部,一在所述下部的上面从所述腹板中突出的向上凸面形上部,以及一从所述向上凸面形部向上突出的同心圆顶形乳头

状突起。

本发明还提供了一种适合于密封多个以预定空间布置方式配置的反应管的反应盖板的平面阵列,其特征在于一有弹性的柔软的塑料盖板,该塑料盖板具有多个以预定空间布置的、彼此间隔开的盖板部分,以及具有众多位于所述盖板部分之间、穿过所述盖板的孔。

根据本发明的盖板是一种平面阵列的反应管盖板,该盖板适合于将一些以预定空间布置方式配置的反应管密封。在其最简单的形式中,根据本发明的盖板是一块具有众多间隔通孔的柔软塑料的平板,在这些管盖部分的阵列的通孔之间形成一以预定空间分布的各个反应管用的管盖部分的阵列。这种平板状盖板安放在平面阵列反应管的上端,使得诸孔位于遍及各个反应管顶部的反应管和盖部分之间。然后,可将一加热压板下降在反应管上的盖板上,将盖板和反应管紧压成与热循环控制部分紧密接触,从而可进行聚合酶链式反应操作。在移去加热压板后,盖板只需要化费很短时间的单一升起移动便可离开阵列的反应管。

本发明的这种最简单形式的盖板在各个反应管的上唇周围构成了单一顶端封闭。盖板中的盖部分之间的诸孔使加热的空气能在诸反应管之间环流且从加热压板向下流进热循环控制装置部分,从而防止了延伸到热循环控制装置部分上面诸反应管部分内的蒸汽冷凝。

第二最佳实施例包括一张盖板,其中盖的部分是柔软塑性球状体,它们通过一腹板彼此之间保持预定的间隔关系。各球状体适合于装配入反应管的开口并在该开口上形成两个密封。各球状体具有一向下凸面形的下部和一直接位于下部上的向上凸面形的上部。连接各球状体的腹板具有众多间隔在球状体之间且穿过腹板的孔,可以供盖板的上下面进行热环流之用。

间隔关系是平面阵列,而该平面阵列是用来覆盖安装在矩形托盘中的二维阵列的反应管,诸球状体以线性间隔的横行和纵列方式对准,孔最好对角地位于球状体之间。在诸球状体之间的孔使空气

能在加热压板和伸出热循环控制装置部分的反应管上侧面之间环流。

各个球状体具有从中心板或腹板的平面朝外延伸的凸面形上部和下部。各个球状体的下部最好是半球形的,其直径具有等于或略大于反应管开口的内径。这种半球形状使各个球状体能以两种方式装配入或同心地密封反应管。

首先,第一种方式,半球形部分向下装配入反应管内,使在邻接开口的反应管内表面周围有一环状密接。第一种方式,在半球形下部的的外周边或基底周围的腹板部分提供了相对于反应管开口的顶表面的一环形平面密接。

球状体上部是向外凸面形的且最好具有从向上凸面部向上延伸的一中心的乳头状突起。这个乳头状突起可以是圆筒体形状,最佳为凸面形上部垂直延伸的一光滑的、曲线的、穹形突起。

在帕金-埃尔默 GeneAmp™ 聚合酶链式反应系统热循环控制装置中,利用根据本发明的盖板进行试验,产生了与以上所讨论的用普通单独盖帽条的聚合酶链式反应的同样结果,而无明显试样降解现象。本发明的盖板对反应管保持了有效的密封性,从而防止了任何液体或蒸汽的泄漏。球状体上部的乳头状突起不会粘到加热压板上,并为确保所有反应管紧密地座落在热循环控制装置部分上提供了有效的向下传递的力。

本发明的这样和那样的优点和特点从下列说明的详细记载且同所附的权利要求结合在一起时将成为更明显的。

图 1 是一根据本发明的第一实施例的盖板的俯视图;

图 2 是一热循环控制装置和反应管托盘,以及图 1 中所示的安装在反应管上的盖板的局部截面视图;

图 3 是一根据本发明的第二实施例的盖板的俯视图;

图 4 是一图 3 所示的本发明第二实施例部分的放大的侧视图;

图 5 是一使用根据本发明的第二实施例的盖板的热循环控制装置组件和反应管托盘的局部截面视图。

在图 1 的俯视图中示出了一根据本发明的盖板的第一实施例, 该盖板则配置在图 2 的热循环控制装置部分中所安放的一反应管阵列上。盖板 10 最好是一片柔软的硅橡胶, 它包括一由各反应管盖板部分 12 构成的平面阵列, 管盖板部分相对于托盘中所安放的一系列相对平面反应管中心以预定的矩形空间布置方式配置并彼此隔开。在图 1 中以短划线表示若干有代表性的盖板部分, 而散置在盖板部分 12 之间的是一些孔 14。所述阵列是一模压的单元橡胶体, 并且最好是由硅橡胶制成的模压单元体。

图 2 表示通过装有反应管 18 的托盘 16 的热循环控制装置所作的一局部截面视图, 托盘可伸展到热循环控制装置部分 20 中。各个反应管 18 最好装有反应混合物 22, 其水平面则最好不高于热循环控制装置部分 20 的上表面, 并且该反应管设有一开口 24。

盖板 10 厚度略大于反应管 18 的开口 24 和托盘组件 16 的上表面 26 之间的距离。这样, 当将加热压板 28 降低到托盘组件 16 的上表面上时, 盖板 10 会向下紧压住反应管 18 的顶端, 使反应管顶端与热循环控制装置部分 20 牢固地接触。同时盖板 10 通过紧压住各个反应管 18 的开口 24 的环形上表面 30 而在各个反应管 18 的开口 24 上提供了密封作用。

加热压板 28 用来加热在环形上表面部分 30 之上延伸的反应管 18 部分的周围空气, 以防止反应管上部的蒸汽冷凝。由于硅橡胶盖板 10 是一热阻挡层, 因此孔 14 对提供在加热压板 28 下方的空气环流是极需要的。在加热压板搁靠在托盘 16 的上缘时, 截获的大气层(空间)很快地被加热且维持在大于通过孔 14 辐射和对流传热传导给热循环控制装置部分的温度。为此, 根据本发明的第一实施例的盖板 10 在阵列中的各个反应管的开口周围起到了单一环形密封作用。盖板的厚度必须大到足以伸出托盘 16 的上缘 26。不过, 厚度不应大到足以减少环形密封部分内通过硅橡胶盖的传导热, 为的是防止盖板部分下面的蒸汽冷凝。可认为厚度约比反应管开口 24 和托盘 16 的上表面 26 之间的距离大 1/8 英寸是最佳的。

对于一般中心距为 9 毫米的  $8 \times 12$  阵列的诸反应管而言, 孔最好应该具有近似等于 4 毫米的直径。盖板的厚度应尽可能薄, 而还要具有一适当的厚度, 以便在将加热压板降低时为阵列中的管子提供适当的密封。

柔软塑性板最好是硅橡胶。但是, 任一具有耐高温性能和肖氏硬度范围在 35 和 65 度之间的柔软塑板, 最好肖氏硬度约 50 度硅橡胶是较佳的。这种类型的材料在高温下具有长的使用寿命。盖板具有至少.001 瓦/厘米.K 的导热系数, 最好是.002 至.004 厘米.K 的范围内, 这可防止受到反应管容量(容积)影响的盖板下面的冷凝作用, 而适合于 PCR 操作规程。

在图 3 的顶视图和图 4 的局部侧视图中示出了一根据本发明的盖板的第二实施例。盖板 50 为一平面阵列的专用反应管盖或球状体 52, 这些球状体相对于托盘中所安放的一相应的平面阵列反应管的中心以预定矩形空间布置方式配置。各个专用反应盖板或球状体 52 由柔软塑料制成并通过一整体式腹板 54 以保持彼此之间的预定间隔关系。腹板 54 可与球状体形成为一整体且由同一材料制成, 或者由不同材料制成, 球状体 52 是模压的或粘附到腹板 54 的适当位置上。

如图 4 所详示, 各个球状体 52 最好具有一自腹板突出的向下凸面体, 例如圆顶(穹形)的下部 56, 可是也可采用其它表面形状, 放在球状体 52 下部 56 上面的是一自腹板突出的向上凸面形的上部 58。自上部 58 向上延伸是一整体的乳头状突起 60。所述乳头状突起的中心位于所述上部和下部的上方, 且具有圆顶的形状。通常, 乳头状突起 60 可以是一如图 4 所示的圆锥形的隆起部, 或者可以是带圆尖的圆(管形)柱。乳头状突起 60 上的圆尖的作用是为了在用力 F 将加热压板 64 下压到盖板 50 上时使乳头状突起不致粘附到图 5 所示的加热压板 64 的下表面上。

图 5 表示通过具有插进热循环控制装置部分 70 内的反应管 68 托盘 66 的热循环控制装置所作的一局部截面视图。当把加热压板

64 下压到托盘 66 上后, 乳头状突起 60 被向下推压而放入或密封每个反应管 68 的开口, 并再把反应管 68 推(入)热循环控制装置部分 70 中, 使它们彼此牢固地接触。

对于乳头状突起以上部圆尖为较佳, 以便当在 PCR 操作程序(protocol)完成以后, 使加热压板从与托盘 66 脱离接合时, 阻止相对于加热压板 64 的下面产生吸力。这将使盖板 52 不致于随压板 64 而被偶然地提起。

加热压板 64 用来加热在热循环控制装置部分 70 上面延伸的反应管 68 部分的周围的空气, 以防止反应管 68 上部的蒸汽冷凝。根据本发明: 因为硅橡胶盖板是一种绝热体, 所以在乳头状突起 52 的横行和纵列之间设有孔 72。这些孔允许加热压板 64 下方和部分 70 的上表面以上的空气的辐射传热和对流环流。因此, 当加热压板 64 搁靠在托盘 66 的上缘时, 产生位于其间的截获的大气层(空间), 该大气层(空间)会很快地被加热, 且保持大于部分 70 的温度。

根据本发明的第二实施例在各个反应管上设有两个分离的密封。第一个密封是处在反应管 68 开口的上表面和乳头状突起 52 基部周围的腹板 54 部分之间。第二个密封位于半球形下部 56 的环形部和相对于反应管 68 开口周围的内表面 74 之间。在另一实施例中, 第二密封可通过凸面形下部的圆柱延伸而达到, 而为密封提供较大的表面接触。

当将力 F 从加热压板 64 上释放后, 压板升高, 因此可移动托盘, 盖板 50 仍然留在反应管 68 阵列位置上。整个反应管 68 可只通过一次移动将盖板 50 提升而加以取出。因而, 装卸盖板是一需要最少时间的简易工序, 而且, 可确保适当的密封, 使操作时间减至最少且因而节约每次分析的成本。

相对于标准阵列的 96 个反应管的盖板部分 12 或乳球形体 52 按 9 毫米的中心距加以间隔开来。孔直径均 4 毫米。要理解按照反应管托盘的结构可以采用其它间距和尺寸。较佳的是硅橡胶必须在化学上是耐稀硝酸, 而稀氢氧化钠, 耐次氯酸钠(漂白)和耐乙醇

的,具有肖氏硬度 A50 的材料硬度和必须是可热压的。因为硅橡胶对 PCR 产品和试剂不起化学作用,所在它在这种应用中是最好的,又是可热压的且在次氯酸盐溶液中是耐洗的而无明显有害的作用。一种适用的硅橡胶可从加利福尼亚州,安纳汉姆市的高技术橡胶公司买到。

其它的材料也可加以利用,只要它们是柔软的,且与所使用的一些试剂不起化学反应,并能在 100 °C 以上温度经受得住反复热循环。此外,各球状体可具有象金属“B—B”那样的高导热物质的内部填料,以增加从加热压板经球状体的总传热。对于装满托盘的反应管来说,不必使用根据本发明的盖板 10 和 50。举例来说,在根据本发明的盖板的情况下,可有效地利用一 8 横行×12 纵列,总计 96 管的阵列。但是,对于本发明的任一种盖板而言,将适宜地密封住装有任何数量反应管的同一试样托盘。因此,根据本发明的盖板可有效地替代常用的管帽条,而在处理的过程中可导致明显的时间节约。

所有盖板的实施例对各个反应管起到了良好的气密性密封且防止了任何泄漏,因此使反应管仍可保持无油操作,易于从托盘中取出并且不粘连到加热压板上。尽管本发明结合以上作出说明的具体实施例,但很明显仍可作许多变化,修饰和改变而不脱离其中所揭示的发明的概念。例如,所示的盖板 10 和 50 的实施例是矩形阵列。阵列也可以是圆形,其它的多边形或环形布置,取决于托盘的构成。此外,孔可以直线地位于靠近球状体之间或对角地位于如图 1 和 3 所示的球状体之间。另外,孔不必是圆的。它们也可以是切槽或其它的结构,只要盖板部分是连接在一起的。因此,意图是把属于所附权利要求的精神和范围内的这些变化,修饰和改变包含进去。所引援的专利申请,专利和其它的出版物结合在本文中供全面的参考。

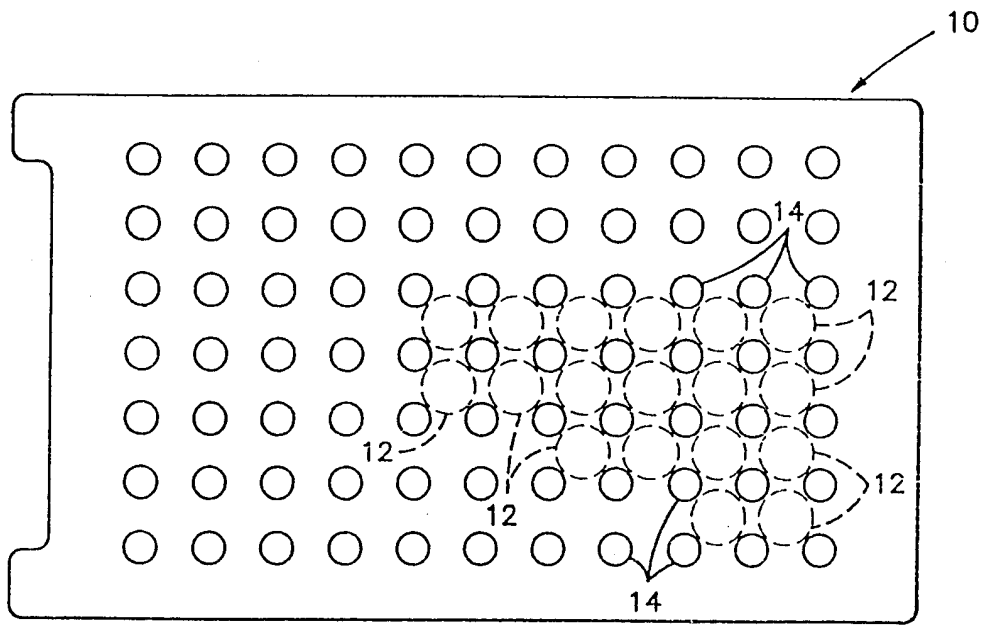


图 1

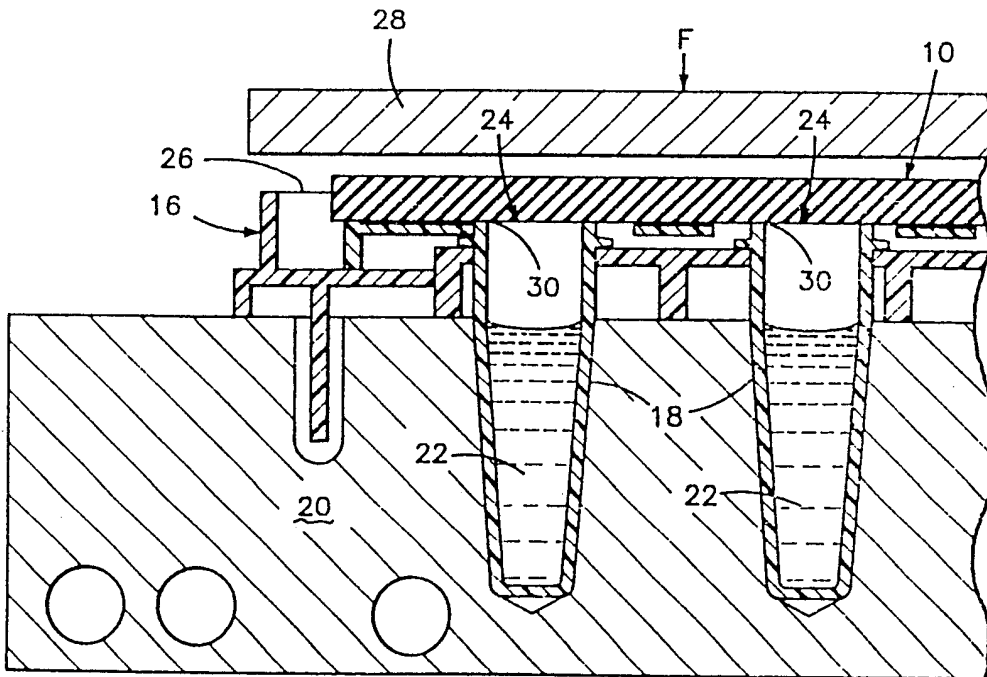


图 2

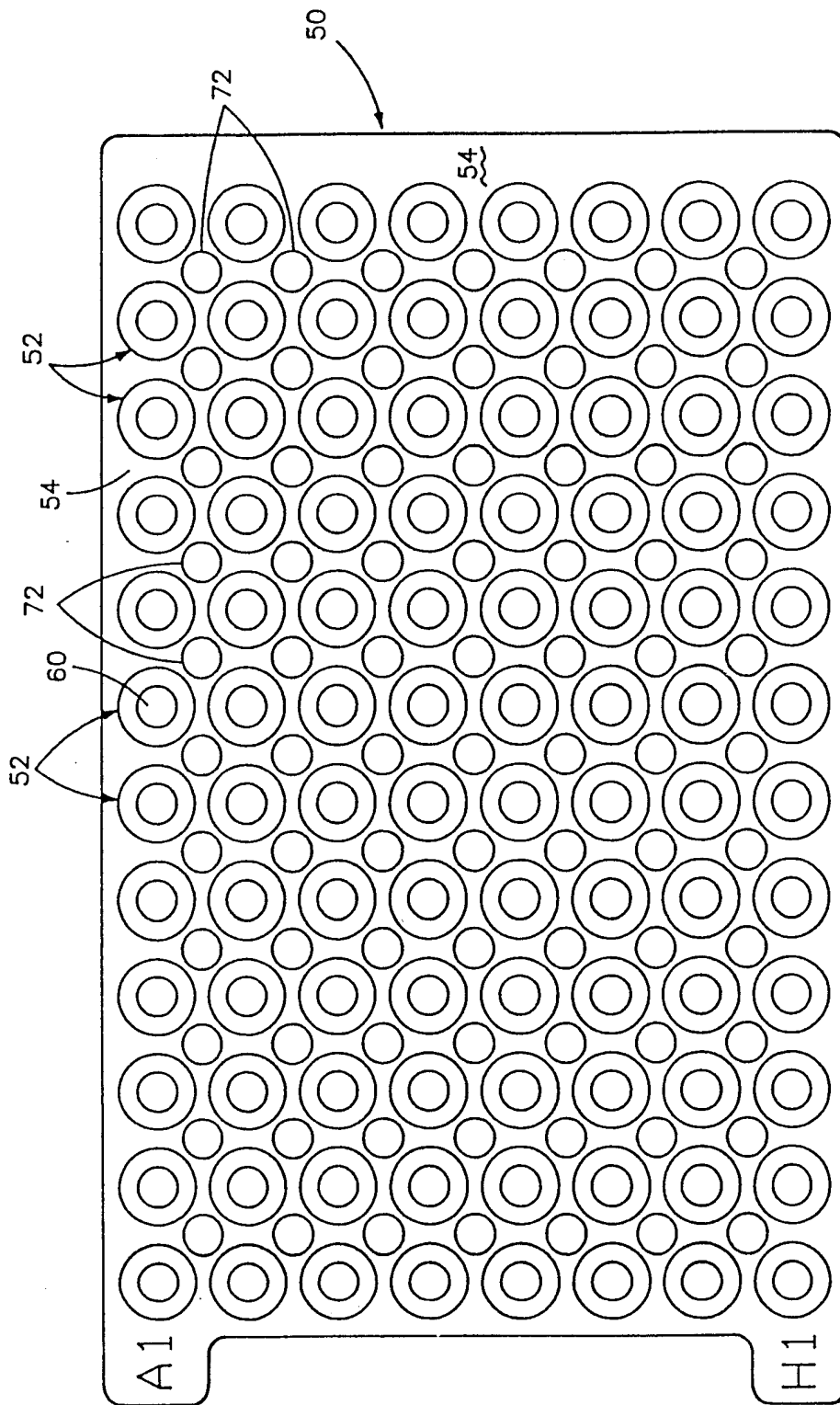


图 3

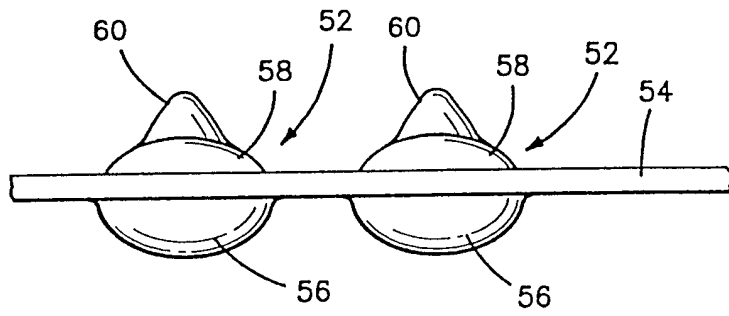


图 4

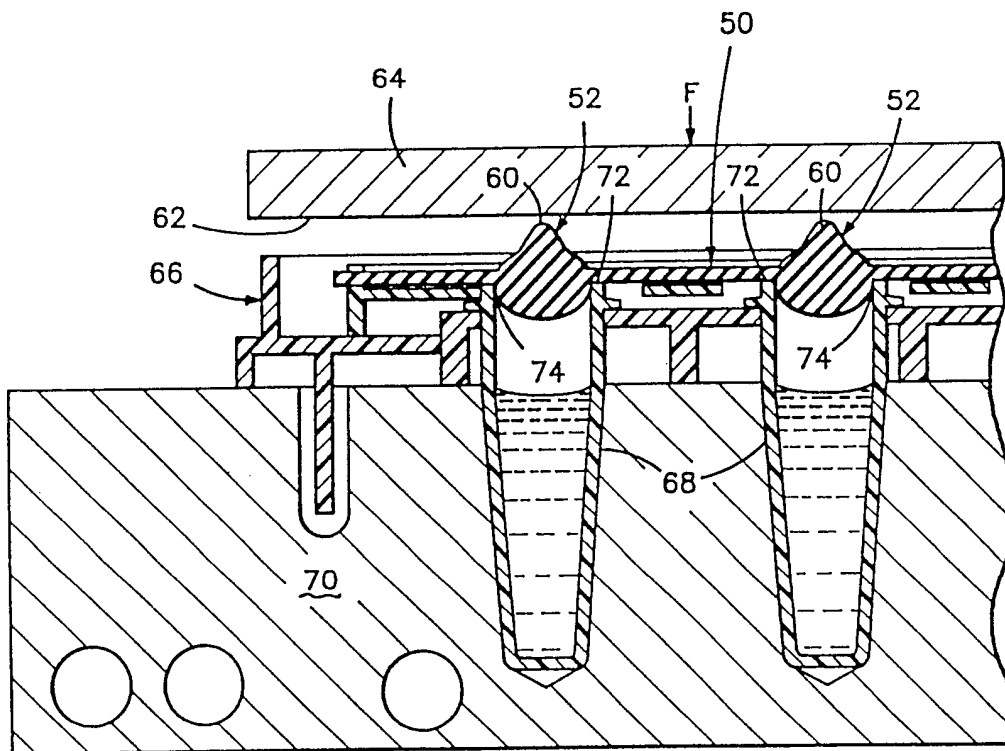


图 5