



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102713621 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 03

(21) 申请号 201080062107. 9

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(22) 申请日 2010. 11. 23

代理人 王岳 卢江

(30) 优先权数据

61/263, 572 2009. 11. 23 US

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

G01N 33/00(2006. 01)

2012. 07. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/057860 2010. 11. 23

(87) PCT申请的公布数据

WO2011/063408 EN 2011. 05. 26

(71) 申请人 西维克公司

地址 美国康涅狄格州

(72) 发明人 M. A. 普特纳姆 A. D. 克尔塞

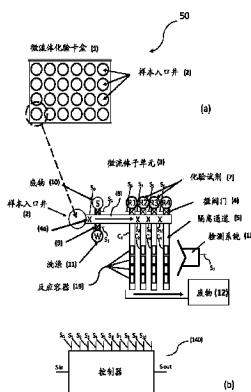
权利要求书 4 页 说明书 14 页 附图 20 页

(54) 发明名称

用于施行化验的方法和设备

(57) 摘要

提供了一种用于对样本施行化学、生物化学或生物化验的设备,其包括:微流体化验卡盒(1),包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2);以及与微流体化验卡盒(1)相关联的微流体子单元(3),包括微流体通道(8)、微阀门(4, 4a, 9)和至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)以及至少一个中空元件(14);利用捕获部分或分子(15)来使得所述至少一个中空元件(14)功能化,以便形成至少一个反应容器(19);所述微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且以可控方式在所述至少一个反应容器(19)中接收样本和至少一种试剂,以及从所述至少一个反应容器(19)提供光,所述光包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个反应容器(19)内部对样本施行的化验的信息。



(a) 一种用于施行生物化验的方法:

Flowchart describing the method for performing a bioassay, including steps like sample introduction, reaction, and detection.

1. 一种用于对样本施行包括化学、生物或生物化学化验在内的化验的设备,包括:
微流体化验卡盒或器件(1),包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2);以及
与微流体化验卡盒或器件(1)相关联的微流体子单元(3),包括微流体通道(8)、微阀门(4,4a,9)和至少一个中空元件(14),利用捕获部分或分子(15)来使得所述至少一个中空元件(14)功能化以便形成至少一个反应容器(19);

所述微流体通道(8)和微阀门(4,4a,9)被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且以可控方式在所述至少一个反应容器(19)中接收样本和至少一种试剂,以及从所述至少一个反应容器(19)提供光,所述光包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个反应容器(19)内部对样本施行的化验的信息。

2. 根据权利要求1的设备,其中,所述微流体通道(8)和微阀门(4,4a,9)被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且将以下各项当中的一项或更多项引入到所述至少一个反应容器(19)中:

包括多种化验试剂(R1, R2, R3, R4)的化验试剂(7),其中包括被标记抗体;以及
包括酶底物(10)的试剂,用于产生所发出的信号;并且

所述至少一个反应容器(19)被配置成允许发生反应以便施行化验。

3. 根据权利要求2的设备,其中,所述微流体通道(8)和微阀门(4,4a,9)被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且将洗涤溶液(11)引入到所述至少一个反应容器(19)中以便去除任何非特异结合的蛋白质或抗体。

4. 根据权利要求1的设备,其中,所述微流体子单元(3)被配置成包含化验试剂(7),其中包括比如被标记抗体之类的至少一种试剂(R1, R2, R3, R4);或者所述微流体子单元(3)被配置成包含比如酶底物(10)之类的试剂以便产生所发出的信号;或者所述微流体子单元(3)被配置成包含洗涤溶液(11)以便去除任何非特异结合的蛋白质或抗体;或者上述各项的某种组合。

5. 根据权利要求3的设备,其中,所述设备包括板载废物箱(12),所述板载废物箱(12)被配置成捕获洗涤溶液(11)连同非特异结合的蛋白质或抗体。

6. 根据权利要求1的设备,其中,所述微流体化验卡盒(1)是一次性的。

7. 根据权利要求1的设备,其中,所述设备包括检测系统(13),所述检测系统(13)被配置成对所发出的信号做出响应并且提供包含关于所施行的化验的信息的检测系统信号。

8. 根据权利要求1的设备,其中,所述设备包括控制器(140),所述控制器(140)被配置成执行计算机程序代码并且向微流体通道(8)和微阀门(4,4a,9)提供信令以便施行化验。

9. 根据权利要求1的设备,其中,包括微流体子单元(3)的多条微流体通道(8)当中的每一条对应于所述至少一个样本入口井(2)当中的对应的一个。

10. 一种被配置成控制由化验设备或器件施行包括化学或生物化验在内的化验的控制器(140),所述化验设备或器件包括:微流体化验卡盒或器件(1),包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2);以及与所述微流体化验卡盒或器件(1)相关联的微流体子单元(3),包括微流体通道(8)、微阀门(4,4a,9)以及至少一个中空元件(14),其中包括至少一个中空元件(14),利用捕获部分或分子(15)使得所述至少一个中空元件(14)功能化以便形成至少一个反应容器(19),所述控制器(140)包括:

至少一个处理器和包括计算机程序代码的至少一个存储器器件;

利用所述至少一个处理器将所述至少一个存储器器件和计算机程序代码配置成使得所述控制器(140)至少向微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)提供包含关于施行化验的信息的信令,

其中所述微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)被配置成对所述信令做出响应、将样本从所述至少一个样本入口井(2)引导到所述至少一个分开的并且流体隔离的反应容器(19)以及将至少一种试剂引入到所述至少一个分开的并且流体隔离的反应容器(19)中,以便从所述至少一个反应容器(19)提供包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个中空元件(14)内部对样本施行的化验的信息的光。

11. 根据权利要求10的控制器,其中,利用所述至少一个处理器将所述至少一个存储器器件和计算机程序代码配置成使得所述控制器至少接收包含关于所发出的光的信息的检测系统信号以及提供包含关于所施行并查询的化验的信息的输出控制器信号。

12. 根据权利要求10的控制器,其中,从所述控制器提供的信令使得微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)将以下各项的某种组合引入到所述至少一个分开的并且流体隔离的反应容器(19)中:

包括多种化验试剂(R1, R2, R3, R4)的化验试剂(7),其中包括被标记抗体;

包括酶底物(10)的试剂,用于产生所发出的信号;以及

用于去除任何非特异结合的蛋白质或抗体的洗涤溶液(11);并且

所述至少一个分开的并且流体隔离的反应容器被配置成允许发生化学反应以便施行化验。

13. 一种用于对样本施行包括化学或生物化验在内的化验的方法,包括:

提供:微流体化验卡盒或器件(1),包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2);以及与微流体化验卡盒或器件(1)相关联的微流体子单元(3),被配置成以可控方式从所述微流体化验卡盒(1)接收所述样本;所述微流体子单元(3)包括多条微流体通道(8)、微阀门(4, 4a, 9)和至少一个中空元件(14),其中包括至少一个中空元件(14),利用捕获部分或捕获分子来使得所述至少一个中空元件(14)功能化以便形成至少一个分开的并且流体隔离的反应容器(19);

利用所述微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)对包含关于施行化验的信息的信令做出响应,并且以可控方式在所述至少一个反应容器(19)中接收样本和至少一种试剂,以便提供包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个中空元件(14)内部对样本施行的化验的信息的光。

14. 根据权利要求13的方法,其中,所述方法还包括:

利用所述微流体通道(8)和微阀门(4, 4a, 9)对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且将以下各项当中的一项或更多项引入到所述至少一个反应容器(19)中:

包括多种化验试剂(R1, R2, R3, R4)的化验试剂(7),比如被标记抗体;以及

包括酶底物(10)的试剂,用于产生可见信号;以及

用于去除任何非特异结合的蛋白质或抗体的洗涤溶液(11);以及

利用所述分开的并且流体隔离的反应容器(19)允许发生化学反应以便施行化验,并且提供包含关于所施行的化验的信息的所发出的光以供查询,其中包括由检测系统(13)查询。

15. 根据权利要求 13 的方法,其中,所述方法还包括检测包含关于所施行并查询的化验的信息的所发出的光,以及提供包含关于所发出的光的信息的检测系统信号。

16. 一种用于施行包括化学或生物化验在内的化验的方法,包括:

引入精确体积的样本,其中包括包含血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等的患者样本,这是通过包括利用正压力或负压力将所述材料流入具有至少一个中空元件(14)的反应容器(19)中而实现的,其中包括利用捕获部分功能化的至少一个中空元件(14),在此期间,感兴趣的目标被分析物通过特异结合到涂覆在所述至少一个中空元件(14)的表面上的捕获抗体而得以保留;

利用缓冲溶液清洗所述反应容器(19),以便洗除未结合的蛋白质;

将第二抗体流入所述反应容器(19)中,所述第二抗体被称作检测抗体至少部分地基于所述第二抗体耦合到能够发出光信号的荧光标签的事实,于是第二抗体结合到通过捕获抗体保留在所述至少一个中空元件(14)的表面上的目标被分析物;或者替换地流动不具有荧光缀合物的第二抗体、利用缓冲液清洗反应容器(19)以便洗除未结合的蛋白质以及随后在后续步骤中添加荧光缀合物;

利用缓冲溶液清洗反应容器(19),以便去除未结合的蛋白质;

利用去到反应容器(19)上的适当激发波长照射荧光化学标签;

检测作为照射的结果由检测抗体发出的荧光的数量;

通过作为利用去到反应容器(19)上的适当激发波长照射荧光化学标签的结果由检测抗体发出的荧光的数量来量化所捕获的目标被分析物的数量,其中反应容器(19)内的至少一个中空元件(14)的表面上的被分析物的数量与第二抗体荧光标签发出的光的数量成比例,因此与患者样本内的被分析物的数量成正比。

17. 根据权利要求 16 的方法,其中,所述方法还包括:

通过把特定于感兴趣的目标被分析物的捕获抗体化学交联到中空元件(14)的表面上来使得至少一个中空元件(14)功能化。

18. 一种用于对样本施行包括化学或生物化验在内的化验的设备,包括:

微流体化验卡盒或器件(1),包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2);以及与微流体化验卡盒或器件(1)相关联的微流体子单元(3),包括微流体通道(8)和至少一个中空元件(14),其中包括至少一个中空元件(14),利用捕获部分或分子来使得所述至少一个中空元件(14)功能化以便形成至少一个反应容器(19);

所述微流体通道(8)被配置成对包含关于施行化验的信息的控制脉冲做出响应并且在所述至少一个反应容器(19)中接收样本和至少一种试剂,以及从所述至少一个反应容器(19)提供光,所述光包含关于作为所述至少一种试剂的结果针对所述至少一个中空元件(14)对样本施行的化验的信息。

19. 根据权利要求 19 的设备,其中,所述控制脉冲采取至少一个控制信号的形式,所述至少一个控制信号打开或关闭关于微通道(8)设置的微阀门,这使得样本和至少一种试剂流入所述分开的并且流体隔离的反应容器(19)中以便施行化验,或者所述至少一个控制信号使得关于微通道(8)设置的器件在微通道(8)中提供正压力或负压力,这使得样本和至少一种试剂流入反应容器(19)中以便施行化验。

20. 根据权利要求 19 的设备,其中,利用内管表面、外管表面或者全部两个表面上的捕

获部分或分子使得所述至少一个中空元件(14)功能化,以便形成至少一个分开的并且流体隔离的反应容器(19)。

21. 根据权利要求 1 的设备,其中,所述至少一个反应容器被包含在流体隔离的通道内。

22. 根据权利要求 1 的设备,其中,所述至少一个中空元件被配置成具有多个轴向空腔或腔室的蜂巢。

用于施行化验的方法和设备

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求 2009 年 11 月 23 日提交的临时专利申请序列号 61/263,572 的权益,其被全文合并在此以作参考。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种用于施行化验的方法和设备;更具体来说涉及一种用于使用微流体技术施行化学、生物或生物化学化验的方法和设备。

背景技术

[0003] 影响多路复用系统的数据质量的其中一个主要因素是生物交叉反应性,这是在单一反应容器中将多种被分析物与多试剂检测混合剂混合时而导致的。举例来说,在蛋白质化验中,将被分析物(蛋白质)与检测混合剂(被标记抗体)混合可能导致使得测量失真并且严重危害数据质量的非意定的次要交叉反应或干扰。可以通过尝试设计具有不发生负面反应的组成部分的化验来减轻这种生物交叉反应性;但是随着多路复用水平提高,这变得越来越不实际且困难(这是由于所引入的大量变量而造成的)。此外,即使对于具有不发生负面反应的组成部分的化验中的各个抗体集合,多路复用结果相对于任何其中一个单独的组成部分的性能仍然通常是次优的,这是因为在所有抗体上施加了共同的化验缓冲液,其对于每一种抗体而言在 pH、盐度等方面通常不是最优的缓冲液。

发明内容

[0004] 本发明提供一种用于对样本施行化学、生物化学、或生物化验的新型且独特的方法和设备,其中包括例如对比如血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等等之类的患者样本施行生物化验。

[0005] 根据本发明的一些实施例,所述设备可以采取化验器件或设备的形式,其包括:微流体化验卡盒或器件,其包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井;以及微流体子单元,与所述微流体化验卡盒相关联并且包括微流体通道、微阀门和至少一条分开的且流体隔离的隔离通道以及至少一个中空元件,例如包括至少一个中空玻璃圆筒、管道或颗粒。可以通过捕获部分(capture moiety)或分子来使得所述至少一个中空元件功能化,从而形成至少一个反应容器。所述微流体通道和微阀门可以被配置成:对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且以可控方式在至少一个反应容器中接收样本和至少一种试剂,以及从所述至少一个反应容器提供光,所述光包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个反应容器内部对样本施行的化验的信息。

[0006] 举例来说,所述微流体通道和微阀门还可以被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且将以下的某一组合引入到至少一个反应容器中:

化验试剂,包括比如被标记抗体之类的多种试剂;
包括酶底物的试剂,用于产生所发出的光信号;以及

引入洗涤溶液以便去除任何非特异结合的蛋白质或抗体以及 / 或者利用缓冲液水合干试剂；

其中,所述至少一个反应容器可以被配置成允许发生化学反应以便施行化验,并且至少部分地基于所接收到的信令提供包含关于所施行的化验的信息的所发出的光以供查询。

[0007] 根据一些实施例,本发明可以包括以下特征当中的一项或更多项:所述微流体子单元可以被配置成:以板载方式包含化验试剂,其中包括比如被标记抗体之类的多种试剂;以板载方式包含比如酶底物之类的试剂以便产生所发出的光信号,以及 / 或者以板载方式包含洗涤溶液以便去除任何非特异结合的蛋白质或抗体。这些微流体子单元还可以被配置成使得以已脱水形式包含比如上面定义的那些之类的板载试剂并且通过去到微流体系统的控制信号将所述板载试剂再水合,其将缓冲液流体引入到所述已脱水试剂。还设想到一些实施例,其中所述化验试剂、酶底物或洗涤溶液不是以板载方式包含的,而是形成另一个器件、设备或装备的一部分并且被提供到化验器件或设备。所述设备可以被配置成具有至少一个共同板载废物箱或单独的板载废物箱,其被配置成捕获洗涤溶液连同非特异结合的蛋白质或抗体。所述微流体化验卡盒可以被配置成一次性的。所述设备可以包括检测系统,其被配置成对提供自至少一个反应容器的所发出的光信号做出响应,并且提供包含关于与所述至少一个反应容器有关的所施行的化验的信息的信号。所述设备可以包括控制器,其被配置成执行计算机程序代码并且向微流体通道和微阀门提供信令以便施行化验。一系列微流体通道当中的每一条可以被配置成对应于所述至少一个样本入口井当中的对应的一个。还设想到用于一些化验的实施例,其中洗涤是可选的,并且只引入化验试剂和酶底物而不引入洗涤。所述至少一个反应容器可以被包含在一条通道中,所述通道可以被配置成实施独立的化验,其中所述通道可以被理解为与其他通道分开并且流体隔离以便基本上消除在对应的通道中施行的化验之间的交叉反应性。可以利用相同的捕获部分或捕获分子来使得包含在每一条隔离通道中的至少一个反应容器功能化;或者可以利用不同的捕获部分或捕获分子来使得包含在每一条隔离通道中的至少一个反应容器的每一个功能化;或者其某种组合。所述至少一个中空元件可以被配置成具有多个轴向空腔或腔室的蜂巢。所述至少一种试剂可以包括多种试剂。

[0008] 根据本发明的一些实施例,所述设备可以采取控制器的形式,其可以被配置成控制由化验器件施行化验,所述化验器件包括:微流体化验卡盒,其包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井;以及微流体子单元,与所述微流体化验卡盒相关联并且包括微流体通道、微阀门以及至少一个中空元件,利用捕获部分或分子使得所述至少一个中空元件功能化从而形成至少一个反应容器。

[0009] 在该实施例中,所述控制器可以包括:

至少一个处理器和包括计算机程序代码的至少一个存储器器件;可以利用所述至少一个处理器将所述至少一个存储器器件和计算机程序代码配置成使得所述控制器至少向微流体通道和微阀门提供包含关于施行生物化验的信息的信令,其中所述微流体通道和微阀门被配置成对所述信令做出响应、将样本从所述至少一个样本入口井引导到所述至少一个反应容器以及将至少一种试剂引入到所述至少一个反应容器中,以便从所述至少一个反应容器提供包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个反应容器内部对样本施行的化验的信息的光。

[0010] 根据一些实施例,本发明还可以采取一种用于使用与上述的一致的新型且独特的分离技术来施行化验过程的方法的形式。可以通过以下措施来实施所述方法:提供上述的用于自动分离其中可能发生负交叉反应的各个组成部分的装置,以及采用将使得通常与这些类型的测试相关联的一些人工步骤自动化的微流体化验卡盒或器件。这里所阐述的用于施行化验过程的分离技术将基本上最小化对规避设计(design around)交叉反应性的需求。举例来说,所述方法可以包括以下措施的某种组合:

使得至少一个中空元件功能化,这是通过将特定于感兴趣的目标被分析物的捕获抗体化学交联或被动粘附到所述中空元件的表面上而实现的;

引入精确体积的样本,其可能包含包括血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等的患者样本,这是通过包括利用正压力或负压力将所述样本流入包含至少一个反应容器的通道中而实现的,在此期间,感兴趣的目标被分析物通过特异结合到涂覆在所述至少一个反应容器的表面上的捕获抗体而被保留;

利用缓冲溶液清洗所述反应容器,以便洗除未结合的目标被分析物(例如蛋白质);

流动第二抗体,其被称作检测抗体至少部分地基于所述检测抗体耦合到能够发出光信号的荧光标签(缀合物)的事实,于是检测抗体结合到通过捕获抗体保留在所述至少一个反应容器的表面上的目标被分析物;或者替换地流动不具有荧光缀合物的第二抗体、利用缓冲液清洗反应容器以便洗除未结合的检测抗体以及随后在后续步骤中添加荧光缀合物;

利用缓冲溶液清洗反应容器,以便去除任何未结合的荧光缀合物;

利用去到反应容器上的适当激发波长照射荧光化学标签;

检测作为照射的结果由加了标签的检测抗体发出的荧光的数量;以及

通过作为利用去到反应容器上的适当激发波长照射荧光化学标签的结果由加了标签的检测抗体发出的荧光的数量来量化所捕获的目标被分析物的数量,其中反应容器的表面上的被分析物的数量将与由被荧光标记的检测抗体发出的光的数量成比例,因此与患者样本内的被分析物的数量成正比。

[0011] 根据一些实施例,本发明还可以采取一种与上述的一致的设备的形式,但是其中微流体通道被配置成对包含关于施行化验的信息的控制脉冲做出响应并且在反应容器中接收样本和至少一种试剂。举例来说,所述控制脉冲可以采取至少一个控制信号的形式,所述控制信号使得气动控制线打开或关闭关于微通道设置的微阀门,这使得样本和至少一种试剂流入所述至少一个反应容器中以便施行化验;或者所述控制信号使得关于微通道设置的器件在微通道中提供正压力或负压力,这使得样本和至少一种试剂流入所述至少一个反应容器以便施行化验。

[0012] 在本发明的精神内还设想了一些实施例,其中取代使用具有捕获部分或分子的至少一个中空元件,可以使用与2010年11月12日提交的序列号12/945,549(其被全文合并在此以作参考)中公开的一致的具有例如通过涂覆而利用捕获部分或分子功能化的外表面的已编码或未编码微颗粒。

[0013] 优点

本发明采用了一种新颖的反应容器,其自身且自发实现非常低成本的制造、快速的反应时间、小样本体积、高灵敏度、以及大动态范围。所述新颖的中空反应容器可以采取利用捕获部分或捕获分子功能化的至少一个中空元件的形式。

[0014] 本发明的各个实施例的优点包括基本上最小化对规避设计交叉反应性的需求,这是通过提供用于自动分离其中发生负交叉反应的组成部分的装置而实现的。此外,该化验器件将通过采用一次性微流体化验卡盒而改进使用便利性,所述一次性微流体化验卡盒将使得通常与这些类型的测试相关联的一些人工步骤自动化。该化验器件将优化缓冲液条件以便产生独立优化的化验。优化的缓冲液条件可以包括关于 pH、盐度或全部二者的优化。该化验器件还将允许关于每一条通道利用缓冲溶液独立地稀释样本。

[0015] 本发明的目的是给出一种提供多样本、多路复用化验的设备或方法,其中数据质量相对于当前的方法得到显著改进而同时提供更好的使用便利性。

附图说明

[0016] 附图不一定是按比例绘制的,包括以下各图:

图 1 包括以下:图 1 (a),示出了根据本发明的一些实施例的微流体化验卡盒或器件;图 1 (b),示出了根据本发明的一些实施例的对应于图 1 (a)中所示的微流体卡盒的至少一个样本入口井的微流体子单元;以及图 1 (c),示出了具有例如使用图 1 (a)中所示的微流体化验卡盒或器件与图 1 (c)中所示的微流体子单元的组合来施行生物化验的各个步骤的流程图。

[0017] 图 2 是示出了根据本发明的一些实施例的形成图 1 (b)中所示的微流体子单元的一部分的具有嵌入式反应容器的隔离通道的细节的图示。

[0018] 图 3 示出了根据本发明的一些实施例的可以形成图 1 (b)中所示的微流体子单元的一部分的隔离通道的通道几何结构,其中包括:图 3a,示出了正方形通道、部分填充的通道和气动通道的例子放大照片;图 3b,示出了没有填充的通道的一个例子;图 3c,示出了具有 20%填充的通道的一个例子;图 3d,示出了具有 60%填充的通道的一个例子;图 3e(1),示出了从顶部看去的装配在隔离通道的壁面内的中空元件的图示;图 3e (2),示出了从沿着所述中空元件的纵轴的末端看去的图 3e (1)中所示的装配在隔离通道的壁面内的中空元件的图示;图 3f (1),示出了从顶部看去的装配在具有填充材料的隔离通道的壁面内的中空元件的图示;图 3f (2),示出了从沿着所述中空元件的纵轴的末端看去的图 3f (1)中所示的装配在具有填充的隔离通道的壁面内的中空元件的图示;以及图 3g 是关于各列参数示出了各行环氧树脂的环氧树脂向下选择矩阵,所述参数包括对类型、黏度、可分发、荧光度、硬化方法、评价和可接受的指示。

[0019] 图 4 示出了根据本发明的一些实施例的具有阀门、活塞、流体通道和气动线的气动致动泵浦的一个例子的放大照片。

[0020] 图 5 示出了根据本发明的一些实施例的关于设置在入口贮存库与目的地之间的阀门和活塞的泵浦操作的一个例子。

[0021] 图 6a (1) 示出了根据本发明的一些实施例的具有独立泵浦控制和单独的废物贮存库的 4 路复用体系结构的一个例子;图 6a (2) 示出了根据本发明的一些实施例的用于图 6a (1) 中所示的 4 路复用体系结构的缓冲液泵浦(1 个完整循环)的正常关闭(NC)(真空致动)状态的一个例子;图 6b 示出了根据本发明的一些实施例的具有独立泵浦控制和共同的废物贮存库的 4 路复用体系结构的一个例子;图 6c 示出了根据本发明的一些实施例的具有共同的泵浦控制、共同的废物贮存库和旁路通道的 4 路复用体系结构的一个例子;以及

图 6d 示出了根据本发明的一些实施例的具有共同的泵浦控制、共同的废物贮存库、旁路通道和抗体再水合通道的 4 路复用体系结构的一个例子。

[0022] 图 7 包括以下：图 7a 是根据本发明的一些实施例的微流体芯片的照片；图 7b 示出了根据本发明的一些实施例的嵌入在如图 7a 中所示的微流体芯片的隔离通道中的三个反应容器的展开并放大的视图；图 7c (1) 是由于次要抗体 (IL6) 结合到所述三个嵌入式反应容器内部的所捕获抗原而导致的实时信号演变的每秒计数与时间的关系曲线图；图 7c (2) 示出了 15 分钟之后的三个嵌入式反应容器的荧光图像；以及图 7d 示出了与以批处理模式对各个反应容器施行的 IL6 夹心法化验的剂量响应曲线有关的每秒平均荧光强度与皮克 / 毫升计的 IL6 的关系曲线图。

[0023] 图 8 包括以下：图 8a, 是根据本发明的一些实施例的具有六角形蜂巢配置的中空元件的视图, 所述配置具有多个反应空腔或腔室；以及图 8b 是根据本发明的一些实施例的具有圆形蜂巢配置的中空元件的视图, 所述配置具有多个反应空腔或腔室。

具体实施方式

[0024] 图 1

在图 1 中, 本发明采取了总体上如图 1 中所示被表示为 50 的设备的形式, 其可以包括微流体化验卡盒或器件(1), 所述微流体化验卡盒或器件(1) 将包含至少一个样本入口井(2), 正如图 1 (a) 中所示出的那样。每一个样本入口井(2) 将例如至少部分地基于某种控制逻辑馈送到嵌入在微流体化验卡盒或器件(1) 内的对应的微流体子单元(3) 中, 正如图 1 和 1 (b) 中所示出的那样。在图 1 (a) 中, 举例来说将微流体化验卡盒或器件(1) 示为具有 4 乘 6 矩阵形式的多个样本入口井(2), 即总共 24 个样本入口井。本发明的范围不意图限于样本入口井(2) 的数目, 而意图包括任何数目的样本入口井(2), 其范围从 1 个样本入口井(2) 到 N 个样本入口井(2)。微流体化验卡盒或器件(1) 和 / 或微流体子单元(3) 可以由一种材料构造和 / 或制作成一次性的或可重复使用的, 并且本发明的范围不意图限于现在已知的或者未来以后开发的被用来构造或制作微流体化验卡盒或器件(1) 和 / 或微流体子单元(3) 的材料类型或种类。

[0025] 微流体子单元(3) 包含一系列微流体通道和微阀门(4), 其将包括比如血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等的患者样本在内的样本从至少一个样本入口井(2) 引导到包含一个或更多反应容器(19) 的单独的且流体隔离的通道(5), 所述反应容器(19) 已经利用比如抗体、抗原或低聚物之类的捕获部分或捕获分子功能化, 正如图 1 (b) 中所示出的那样。在图 1b 中, 每一条隔离通道(5) 被示为具有四个反应容器(19), 从而通道 C1、C2、C3、C4 合计 16 个反应容器, 但是本发明的范围不意图限于与这里描述的一致的一条隔离通道(5) 中任何特定数目的反应容器(19)。包括试剂 R1、R2、R3、R4 (比如被标记抗体) 的化验试剂(7) 将通过微流体通道(8) 和微阀门(4) 被引入到单独的隔离通道(5) 中。此外, 微流体通道(8) 和微阀门(9) 被提供来引入比如酶底物(10) 之类的试剂以便产生所发出的光信号并且引入洗涤溶液(11) 以便去除任何非特异结合的蛋白质或抗体。洗涤溶液(11) 连同非特异结合的蛋白质或抗体被捕获在板载废物箱(12) 中。通过检测系统(13) 来查询发生在反应容器(19) 中的化学反应。(提到的是, 酶底物(10) 的添加形成一种施行生物化验的技术的一部分, 其可以不同于下面关于图 6 描述的替换技术。还参见关于图 1 (c) 描述的替换

实施例)。

[0026] 正如总体上由(6)所表示的那样,图2更加详细地示出了隔离通道(5)以及嵌入其中的反应容器(19),其被设计成使其可以容许大共焦区段或共焦区(18)并且作为结果可能不需要高分辨率光学器件从而避免了背景荧光。此外,所述隔离通道和反应容器被设计成实现非常低成本的制造,并且可以包括利用现有的光纤和注模塑料技术。实现该低成本而同时提供了非常好的光学质量、提高的灵敏度、降低的反应时间、大动态范围和低样本体积要求。

[0027] 生物反应发生在已经利用捕获部分或分子(15)功能化从而形成反应容器(19)的至少一个中空元件(14)的内部。举例来说,可以通过拉伸具有外直径和内直径的玻璃管材并且例如利用切割锯对其进行切削或切割来配置或制作至少一个中空元件(14)。还可以通过蚀刻出能够买到的高NA熔融硅石光纤或条杆的核心来配置或制作所述至少一个中空元件(14),这以非常低的成本提供极高的光学质量。举例来说,以由玻璃制成的至少一个中空元件(14)描述了本发明;但是本发明的范围意图包括用现在已知的或者未来以后开发的其他类型或种类的材料来制作所述至少一个中空元件(14),其中包括其他类型或种类的非玻璃材料。所述至少一个中空元件(14)可以被悬置在外罩(16)中,其中大量空气空间(17)围绕所述至少一个中空元件(14)的外直径。该空气空间(17)通过提供一个没有任何所引入的背景荧光的区域而提供了大共焦区(18)。可以通过按压装配或摩擦装配而将所述至少一个中空元件(14)安装到外罩(16)的壁面内并且由其接收,这在下面更加详细地描述,其将把样本引导穿过所述至少一个中空元件(14)的内直径,并且防止样本进入围绕所述至少一个中空元件(14)的空气空间(17)。所述至少一个中空元件(14)可以被配置或设计成具有空腔或腔室,其具有非常小的内直径(例如近似 $10\mu\text{m}$ 的内直径(ID))和例如近似20:1的长度与I.D.纵横比(近似 $200\mu\text{m}$ 的L)。这种配置为反应容器(19)提供了非常高的表面积与体积比,这又驱动快速反应动力学。此外,将样本强制穿过非常低体积的反应容器的效果使结合事件的概率提高,这是因为更高比例的样本与中空元件的功能化表面发生接触,从而提高灵敏度。在图2中,隔离通道和反应容器细节被理解为采取至少一个中空元件(14)的形式,其利用捕获部分或分子(15)被功能化,并且如图所示被设置在隔离通道(5)中的外罩(16)内并与之耦合。

[0028] 如图2中所示,来自光源(20)的光 L_{in} 可以穿过二色分束器(22)、透镜(24)和空气空间(17)到达大共焦区段或共焦区(18);并且光 L_{out} 可以向回穿过空气空间(17)、透镜(24)、二色分束器(22)、透镜(26)到达检测器(13)。

[0029] 在本发明的一个替换实施例中,可以将内直径降低的多个中空元件(14)功能化并且放置成一系列以便解决变化的被分析物密度、防止过饱和并且扩展系统分析能力的动态范围。替换地,可以将利用捕获部分或分子的不同加载密度功能化的相同直径的多个中空元件放置成一系列以便解决变化的被分析物密度、防止过饱和并且扩展动态范围。还设想到可以采用上述配置的组合来获得优化的结果。

[0030] 本发明的范围不意图限于形成化验过程的一部分的任何特定类型或种类的样本,并且意图包括现在已知的以及未来以后开发的物质样本。

[0031] 至少一个样本入口井(2)

在图1中,所述一次性微流体化验卡盒或器件(1)的至少一个样本入口井(2)当中的每

一个对应于嵌入在所述一次性微流体化验卡盒(1)内的对应的微流体子单元(3)。但是本发明的范围还意图包括其中一次性微流体化验卡盒或器件(1)的多个样本入口井(2)被配置成通过例如歧管器件对应于一个对应的微流体子单元(3)的实施例。

[0032] 化验试剂和通道

在图1中,每一种化验试剂R1、R2、R3、R4可以对应于、馈送到并且被指派给对应的隔离通道C1、C2、C3、C4。但是本发明的范围还意图包括其中每一种化验试剂R1、R2、R3、R4被馈送到多条通道C1、C2、C3、C4的实施例。

[0033] 检测系统(13)

在图1中,嵌入在一次性微流体化验卡盒(1)内的每一个微流体子单元(3)具有对应的检测系统(13)。但是本发明的范围还意图包括其中多个微流体子单元(3)被配置成对应于一个对应的检测系统(13)的实施例。举例来说,第一列或第一组的四个微流体子单元(3)可以对应于第一检测系统(13);第二列或第二组的四个微流体子单元(3)可以对应于第二检测系统(13);...;并且第六列或第六组的四个微流体子单元(3)可以对应于第六检测系统(13)。替换地,举例来说,第一行或第一组的六个微流体子单元(3)可以对应于第一检测系统(13);第二行或第二组的六个微流体子单元(3)可以对应于第二检测系统(13);...;并且第四行或第四组的六个微流体子单元(3)可以对应于第四检测系统(13)。本发明的范围还意图包括其中N个微流体子单元(3)(其中对应于图1中所示的,N例如等于24)被配置成对应于单个检测系统(13)的实施例。本发明的范围还意图包括其中检测系统(13)是板载的并且形成微流体子单元(3)的一部分的实施例以及其中检测系统(13)不是板载的而是形成现在已知的或者未来以后开发的另一个器件、设备或装备的一部分的实施例。

[0034] 控制器(140)

所述设备还可以包括控制器(140)以用于实施与嵌入在一次性微流体化验卡盒或器件(1)内的微流体子单元(3)所施行的化验相关联的功能。控制器(140)可以被配置成执行计算机程序代码并且沿着各条信号路径(例如 S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、...、 S_{10})向每一条微流体通道(8)和/或微阀门(4,9)提供信令以便施行化验。在操作中,控制器(140)可以被配置成执行计算机程序代码并且沿着信号路径 S_7 与检测系统(13)交换信令,其中包括接收包含关于正在由检测系统(13)查询的反应容器(19)内正在发生的反应的信息的检测系统信号。控制器(140)还可以被配置成沿着信号路径 S_{in} 接收(一个或多个)输入信号并且沿着信号路径 S_{out} 提供(一个或多个)输出信号。举例来说,沿着信号路径 S_{out} 的输出信号可以包含:原始检测系统信号,包含关于正在由检测系统(13)查询的反应容器(19)内正在发生的反应的信息;或者经处理的检测系统信号,包含关于正在由检测系统(13)查询的反应容器(19)内正在发生的反应的信息。举例来说,沿着信号路径 S_{in} 的输入信号可以包含用以控制或修改控制器(140)的功能的信息,其中包括请求沿着信号路径 S_{out} 提供输出信号的信号。本发明的范围不意图限于现在已知的或者未来以后开发的、通过沿着信号路径 S_{in} 的输入信号被提供到控制器(140)或者由其接收的信息的类型或种类、或者通过沿着信号路径 S_{out} 的输出信号从控制器(140)提供的信息的类型或种类。此外,举例来说,控制器(140)可以使用硬件、软件、固件或其组合来实施。在典型的软件实施方式中,控制器(140)将包括一种或更多种基于微处理器的体系结构,其具有处理器或微处理器、比如随机存取存储器(RAM)和/或只读存储器(ROM)之类的存储器、输入/输出器件和控制、以及连接所

述各项的数据和地址总线。本领域技术人员将能够在无需过多实验的情况下利用计算机程序代码对这样的基于微控制器或微处理器的实施方式进行编程,从而施行这里所描述的功能。本发明的范围不意图限于使用现在已知的或者未来以后开发的技术的任何特定的基于微处理器的体系结构实施方式。

[0035] 设想到这样的实施例:其中控制器(140)是板载的并且形成设备(50)的一部分,或者不是板载的而是形成在利用这里讨论的微流体技术实施化验过程方面与设备(50)协作的另一个设备、器件、系统或装备的一部分。

[0036] 在图 1 (a) 中举例来说将微流体子单元(3)示为具有关于底物(10)、洗涤液(11)和化验试剂(7)设置的微阀门(4,9),以便响应于沿着信令路径 S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、 \dots 、 S_{10} 的信令使用下面所描述并且在图 1 (c) 所示的流程图中阐述的步骤 3 - 8 控制将化验试剂引入到隔离通道(5)。还设想到这样的实施例:其中微阀门(4)通过沿着信令路径 S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、 \dots 、 S_{10} 的相应信令将信息提供回到控制器(140),以便控制引入化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(11)。还设想到这样的实施例:其中其他微阀门被设置在关于每一条微流体通道(8)的其他各点处,例如比如关于每一条微流体通道(8)与至少一个样本入口井(2)之间的接口设置的图 1 (b) 中的微阀门(4a) 以便利用沿着信号路径 S_0 的信令控制将样本提供到微流体通道(8)中。还设想到这样的实施例:其中关于隔离通道(5)设置其他微阀门,其中包括设置在任一个或全部两个末端处,以便控制溶液、试剂或缓冲液经过隔离通道(5)。本发明的范围不意图限于微阀门比如(4)或(4a)或(9)的数目、位置或设置。

[0037] 举例来说,微阀门(4,4a,9)、隔离通道(5)、检测系统(13)连同这里关于图 1 所示出并描述的其他组件或器件是本领域内已知的,或者可以被实施来由本领域技术人员在无需过多实验的情况下施行所期望的功能;并且本发明的范围不意图限于现在已知的或者未来以后开发的其任何特定类型或种类。此外,基于这里的公开内容,本领域技术人员可以实施图 1 中所示的设备 50,其中包括图 1 (a) 中所示的微流体化验卡盒(1)和图 1 (b) 中所示的嵌入在其中的微流体子单元(3),以便在无需过多实验的情况下施行所期望的功能。

[0038] 通过使用被配置成控制样本、化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(13)当中的一项或更多项流入至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)中的微阀门,描述了本发明。但是本发明的范围意图包括使用现在已知的或未来以后开发的其他类型或种类的技术来控制样本、化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(13)当中的一项或更多项流入至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)中,例如比如通过使用提供正压力的配置以便推送并且使得样本、化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(13)当中的一项或更多项流入至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)中,或者比如通过使用提供负压力(例如真空)的配置以便拉取(或者吸取)并且导致样本、化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(13)当中的一项或更多项流入至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)中,或者比如通过使用推送和/或拉取的某种组合以使得样本、化验试剂(7)、底物(10)和洗涤液(13)当中的一项或更多项流入至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)中。用以提供正压力的配置可以关于化验试剂(7)和通道 C1、C2、C3、C4 被配置在所述至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)的上端(如图 1 (b) 中所示),而用以提供负压力的配置则可以关于废物(12)和通道 C1、C2、C3、C4 被配置在所述至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5)的下端(如图 1 (b) 中所示)。

[0039] 用于夹心法 ELISA 的免疫化验过程

举例来说,使用夹心法酶联免疫吸附剂化验(ELISA)在根据本发明的卡盒内实施免疫化验的过程可以牵涉以下步骤的某种组合:

步骤 1:将特定于感兴趣的目标被分析物的捕获抗体化学交联到图 2 中的中空元件(14)的表面上,从而形成反应容器(19)。

[0040] 步骤 2:反应容器(19)一旦被放置到隔离通道(5)中随后就准备好接收患者样本(血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等等)。

[0041] 步骤 3:随后通过例如利用正压力或负压力将材料流入反应容器(19)中而引入精确体积的患者样本,在此期间,感兴趣的目标被分析物通过特异结合到涂覆在反应容器(19)的内表面上的捕获抗体而被保留。

[0042] 步骤 4:随后利用缓冲液清洗反应容器(19),以便洗除未结合的蛋白质。

[0043] 步骤 5:随后把第二抗体(由于其耦合到能够发出光信号的荧光标签而被称作检测抗体)流入反应容器(19)中,于是其结合到通过捕获抗体而被保留在所述内表面上的目标被分析物。

[0044] 步骤 5a:该过程的一个替换实施例可以是使用不具有荧光缀合物的第二抗体,并且随后在后续步骤中添加荧光缀合物。提到的是,这还可以包括在添加荧光缀合物之前的附加清洗步骤。

[0045] 步骤 6:随后利用缓冲液再次清洗反应容器(19),以便去除未结合的蛋白质和过剩的荧光标签。

[0046] 步骤 7:随后通过作为利用去到反应容器(19)上的适当激发波长照射荧光化学标签的结果而由检测抗体发出的荧光的数量来量化所捕获的目标被分析物的数量。

[0047] 步骤 8:反应容器(19)内的被分析物的数量与检测抗体荧光标签发出的光的数量成比例,因此与患者样本内的被分析物的数量成正比。

[0048] 图 1(b)中所示的控制器(140)可以被实施并配置成提供信令,以便例如使用上述的步骤 3—8 来施行生物化验。

[0049] 举例来说使用夹心法 ELISA 生物化验技术来描述本发明的范围。但是本发明的范围不意图限于使用夹心法 ELISA 生物化验技术,例如还设想使用现在已知的或者未来以后开发的其他类型或种类的生物化验技术的实施例,其中包括“间接”ELISA、竞争性 ELISA、反向 ELISA 以及其他非 ELISA 技术。

[0050] 图 3:通道几何结构

举例来说,图 3 示出了根据本发明的一些实施例的可以形成图 1(b)中所示的微流体子单元(3)的一部分的隔离通道(5)的通道几何结构。

[0051] 图 3a 示出了正方形通道、部分填充的通道以及气动通道的例子。

[0052] 在一些实施例中,所述通道可以部分地填充有聚二甲基硅氧烷(PDMS)圆角(fillet)以便形成用于隔膜密封的共形表面,其被配置成接合中空元件(14)的外表面。例如参见图 3c。举例来说,利用 PDMS 部分地填充通道可以被用来接合中空元件的外表面,从而减少围绕圆筒的自由体积。

[0053] ■ 如果不使用填充(正方形通道),则所述通道无法被隔膜闭合,其中所述隔膜可能采取非常薄的 PDMS 层的形式。参见图 3b,其中例如来自微阀门的气动控制的气压可以部

分地将隔膜下推到通道中,但是可能仍然导致流体泄漏路径,正如图中所示出的那样。

[0054] ■ 替换地,更程度的填充的使用减小隔膜上的应力、降低所需的气压但是产生通道阻塞。

[0055] PDMS 是属于被统称作硅酮的一组聚合有机硅化合物的一种材料。PDMS 材料不会发出荧光,这在处理从反应容器(19)接收回的光信号时是重要的。

[0056] 图 3e (1) 和 3e (2) 示出了装配在形成隔离通道(5)的一部分的外罩(16)的壁面 W1、W2 内的中空元件(14)。参见图 1b 和 3b。中空元件(14)通过与壁面 W1、W2 的摩擦装配被保留在通道内。在中空元件(14)外部与通道壁面 W1、W2 之间存在自由空间。

[0057] 图 3f (1) 和 3 (f)2 示出了装配在形成具有填充物的隔离通道(5)的一部分的外罩(16)的壁面 W1、W2 内的中空元件(14)。参见图 1b 以及图 3b 和 3c。中空元件(14)通过在插入中空元件装配(14)之前放置在通道底面中的填充材料而被保留在通道(5)中,所述填充材料可以采取环氧树脂类材料、硅酮橡胶等形式。替换地,可以围绕中空元件装配(14)完全填充隔离通道(5),以便完全阻断围绕颗粒的流动。

[0058] 在图 3g 中,一个环氧树脂向下选择矩阵关于各列参数示出了各行环氧树脂,所述参数包括对类型、黏度、可分发、背景荧光度、硬化方法、评价和可接受的指示。PDMS 材料包括所列出的 Sylgard 184、Sylgard 186 以及 Nusil 材料。

[0059] 图 4 :气动致动的泵浦

图 4 举例来说示出了根据本发明的一些实施例的一种气动致动的泵浦原型,其具有阀门、活塞、流体通道以及气动线。在图 4 中,该原型的活塞位移是大约 200n1 (纳升),这可能远高于可能需要的数量。

[0060] 图 5 :泵浦操作

图 5 示出了根据本发明的一些实施例的关于设置在入口贮存库与目的地之间的阀门和活塞的泵浦操作的一个例子。在图 5 中,所述泵浦操作包括通过将 2 个气动致动阀门 V1、V2 与位于两个阀门 V1、V2 之间的至少一个气动致动活塞相组合而实现的泵浦。所述活塞的目的仅仅是移位流体,这是通过将其从贮存库中拉出或者在流动的方向上推送而实现的。夹持活塞的阀门 V1、V2 确保单向流动。通过按照特定序列致动所述 3 个组件,实现完整的操作。举例来说,为了把流体从入口贮存库移动到目的地,如图 5 中所示,一个阀门序列可以牵涉以下:关闭阀门 V1,对活塞加压,关闭阀门 V2,打开阀门 V1,对活塞减压,关闭阀门 V1,打开阀门 V2,以及对活塞加压。在通道和阀门的更大网络中,可以通过组合 2 个阀门和 1 个活塞的任何集合来生成流动。换句话说,阀门可以双重被用作简单的开关阀门,或者它们可以被合并到这里所描述的泵浦中。

[0061] 图 6 :各种 4 路复用体系结构

举例来说,图 6a (1)、6b、6c 和 6d 示出了根据本发明的一些实施例的用于施行化验的各种 4 路复用体系结构。例如根据本发明的一些实施例,图 6a (1) 示出了具有独立泵浦控制和单独废物贮存库的 4 路复用体系结构,而图 6a (2) 示出了用于图 6a (1) 中所示的 4 路复用体系结构的缓冲液泵浦(1 个完整循环)的 NC (真空致动)状态。在图 6a (1) 所示的流体网络中存在若干条流体通道 C1、C2、C3、C4,其具有位于沿着所述通道的各个位置处的气动致动阀门 V。彼此连接的阀门 V 被同时致动。阀门集合 3 是活塞而阀门集合 4 是出口阀门,这些阀门集合被用于所有泵浦操作而不管流体来源如何。取决于哪一种流体正被泵

浦(样本、缓冲液或检测抗体),组合地用来提供泵浦的特定阀门可以分别是 1、8 或 7。图 6a (2) 示出了将缓冲液从来源泵浦通过主通道并且离开其对应的废物贮存库所需的一个完整序列的状态图。

[0062] 举例来说,图 6b 示出了具有类似于图 6a (1) 中的 4 路复用的独立泵浦控制但是具有从各条隔离通道(5) 馈送的共同废物贮存库 W 的 4 路复用体系结构。

[0063] 举例来说,图 6c 示出了具有类似于图 6b 中的 4 路复用的共同泵浦控制和共同废物贮存库但是具有从微通道馈送到共同废物贮存库的旁路通道的 4 路复用体系结构的一个例子。

[0064] 举例来说,图 6d 示出了具有类似于图 6c 中的 4 路复用的共同泵浦控制、共同废物贮存库和旁路通道但是具有抗体再水合通道的 4 路复用体系结构的一个例子。

[0065] 使用分离技术施行化验的方法

本发明还可以采取一种使用与上述的一致新型且独特的分离技术来施行化验过程的方法。可以通过以下措施来实施所述方法:提供上述的用于自动分离其中发生负交叉反应的各个组成部分的装置,以及采用将使得通常与这些类型的测试相关联的一些人工步骤自动化的一次性微流体化验卡盒。这里所阐述的用于施行化验过程的分离技术将消除对规避设计交叉反应性的需求。

[0066] 举例来说,可以使用图 1 中的微流体技术如下实施所述用于施行化验的方法:

提供包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井(2) 的微流体化验卡盒(1) 以及与微流体化验卡盒(1) 相关联并且被配置成以可控方式从微流体化验卡盒(1) 接收样本的微流体子单元(3);微流体子单元(3) 包括微流体通道(8)、微阀门(4, 4a, 9) 和至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道(5) 以及至少一个反应容器(19),所述反应容器(19) 包括利用捕获部分或捕获分子(15) 功能化的至少一个中空元件(14);

对包含关于利用微流体通道(8) 和微阀门(4, 9) 施行化验的信息的信令做出响应,并且以可控方式在至少一个反应容器(19) 中接收样本和至少一种试剂,以便提供包含关于作为所述至少一种试剂的结果对所述至少一个中空元件(14) 内的样本施行的化验的信息的光。

[0067] 所述方法还可以包括对包含关于利用微流体通道(8) 和微阀门(4, 9) 施行化验的信息的信令做出响应并且将以下各项引入到反应容器(19) 中:

包括多种试剂(R1, R2, R3, R4) 的化验试剂(7), 比如被标记抗体;

包括酶底物(10) 的试剂, 用于产生所发出的信号; 以及

用于去除任何非特异结合的蛋白质或抗体的洗涤溶液(11); 以及

利用所述至少一个反应容器(19) 允许发生化学反应以便施行化验, 并且提供包含关于所施行的化验的信息的所发出的光以供例如检测系统(13) 查询。

[0068] 此外, 举例来说, 所述用于施行化验的方法还可以使用图 2 中的微流体技术来实施。

[0069] 此外, 举例来说, 所述用于施行生物化验的方法还可以使用上面所阐述的步骤来实施, 其中包括关于图 1 (c) 所阐述的那些步骤。

[0070] 化验

使用本发明可以施行许多不同类型和种类的化验, 其中包括化学化验或生物化验。

[0071] 举例来说,通过使用不同隔离通道(5)中的至少一个功能化的中空玻璃圆筒、管道或颗粒(14),通过使用相同隔离通道(5)中的多个功能化的中空玻璃圆筒、管道或颗粒(14),或者通过使用多条隔离通道(5)中的多个功能化的中空玻璃圆筒、管道或颗粒(14),可以施行单个、多路复用的生物化验。

[0072] 此外,通过使用全部位于单条隔离通道中的每个具有不同捕获分子浓度的多个反应容器,可以施行多路复用的生物化验。举例来说,第一隔离通道 C1 可以包括三个反应容器,其中一个具有固定在其上的低捕获分子浓度,第二反应容器具有固定在其上的更高捕获分子浓度,并且第三反应容器具有固定在其上的甚至更高的捕获分子浓度。第二隔离通道可以包括具有相同的捕获浓度范围或者完全不同的捕获浓度范围的反应容器,或者全部为相同反应浓度的反应容器集合。此外,通过使用全部位于相同隔离通道中的每个具有不同内直径的多个反应容器,可以施行多路复用的生物化验。举例来说,第一隔离通道 C1 可以包括三个反应容器,其中一个具有小内直径和表面积,第二反应容器具有较大内直径和表面积,并且第三反应容器具有甚至更大的内直径和表面积,以便引入不同的反应动力学。第二隔离通道 C2 可以包含具有相同内直径范围的相同反应容器集合,或者包含具有不同内直径范围或者全部为相同直径的完全不同的反应容器集合。

[0073] 此外,可以通过正控制和负控制来施行多路复用的生物化验。举例来说,第一隔离通道 C1 可以包括使用正控制和负控制,同时第二隔离通道 C2 也可以包括使用不应当反应的正控制和负控制。此外,具有 +/- 控制的生物化验可以包括使用具有不同抗体的功能化的中空玻璃圆筒、管道或颗粒(14),其中 + 控制尖峰与 - 控制不反应,而是可以被用来例如获得关于背景荧光的信息。

[0074] 此外,可以通过使用具有不同数目的被分析物的不同通道来施行多路复用的生物化验,例如第一隔离通道 C1 可以包括第一数目的被分析物(例如 1),第二隔离通道 C2 可以包括第二数目的被分析物(例如 3),并且第三隔离通道 C3 可以包括第三数目的被分析物, ..., 第 N 隔离通道具有第 N 数目的被分析物。

[0075] 此外,可以通过使用具有不同生物化验的不同隔离通道来施行多路复用的生物化验。举例来说,第一隔离通道 C1 可以包括第一生物化验 A,第二隔离通道 C2 可以包括第二生物化验 B,而第三隔离通道 C3 可以包括第三生物化验 A+B,使得可以单独或者一起审视各条通道,并且通道 B 生物化验和通道 A+B 生物化验可以被用来提供关于通道 A 生物化验的进一步信息。

[0076] 总而言之,本发明提供了宽范围的混合(或传统)多路复用概念的可能性,其中包括:(1)相同隔离通道中的多个反应容器,利用不同加载浓度被功能化以便扩展动态范围;(2)相同隔离通道中的具有不同内直径的多个反应容器,以便引入不同的反应动力学;(3)在相同隔离通道中具有正和负控制的反应容器的多个反应容器;(4)相同隔离通道中的具有不同捕获分子的多个反应容器,以用于提供多路复用的(传统)反应;以及(5)用以实施单路或多路复用反应的多个反应容器,使得可以对结果进行比较。

[0077] 本发明的范围还意图包括现在已知的或者未来以后开发的其他类型或种类的化验,其中包括化学化验或生物化验。

[0078] 图 7

在图 7a 和 7b 中,微流体芯片由流体通道(其中包括具有三个嵌入式反应容器的隔离通

道)、气动控制线以及入口 / 出口端口构成,其中三个反应容器被嵌入在隔离通道中。举例来说,所述反应容器为大约 500 微米长,其外直径(OD)= 大约 150 μm ,其内直径(ID)= 大约 30 μm 。

[0079] 图 7c (1)和图 7c (2)示出了由于次要抗体(IL6)结合到 3 个嵌入式反应容器内部的先前捕获的抗原而得到的实时信号演变、以及在把检测抗体流经隔离通道和嵌入式反应容器之后 15 分钟取得的三个嵌入式反应容器的荧光图像。

[0080] 图 7d 示出了以批处理模式对各个反应容器施行的 IL6 夹心法化验的剂量响应曲线。每一个数据点代表反应容器的一个子集,其从反应容器的相同原始批次取得但是与从 0pg/ml 到 100000pg/ml 范围内的不同 IL6 抗原浓度混合。清楚地示出了对抗原的变化浓度的响应。该批处理模式过程将被用来表征反应容器的特定集合以及在非常便宜的组成部分上检验所述批次的质量。

[0081] 嵌入式反应容器的优点包括以下:

(1) 反应容器是通过将具有优选的外尺寸和内尺寸的长股中空玻璃管材切割成近似 100 - 500 μm 长的短节段而制成的。

[0082] (2) 由于玻璃起始材料是利用在过去的 20 年里已经高度优化的光纤制造工艺制成的并且是利用精准钻石切削机切割的,因此对反应容器的尺寸控制相当优越。

[0083] (3) 由于反应容器的内部是在批处理中功能化的,这意味着利用相同的抗体溶液同时涂覆多达 1000 个容器,因此可以实现对活性结合部分的严格统计控制。

[0084] (4) 反应容器的大批次意味着能够以非常低的成本和高统计显著性施行对生物化验的活性元素的严格质量控制和表征。

[0085] (5) 反应容器的内部受外表面保护,这实现容易做到的用于拾取反应容器到隔离通道中而没有损坏脆弱表面的风险的鲁棒技术。

[0086] 图 8

图 8 示出了可以把中空元件配置成具有多个轴向空腔或腔室的蜂巢,其在被功能化时提供与具有单个轴向空腔或腔室的反应容器相比时高度提高的表面与体积比从而获得了更高反应动力学的好处,并且其还对于相同的有效体积提供提高的信号查询。

[0087] 微流体技术

举例来说,术语“微流体”通常被理解成意味着或者涉及在几何方面被约束到通常是亚毫米的小尺度的流体的行为、精确控制和操纵。在本申请中,这里描述的微流体技术意图包括其尺寸处在大约 20 微米到大约 1000 微米范围内的技术,但是本发明的范围不意图限于任何特定范围。

[0088] 发明范围

这里所示出并详细描述的实施例仅仅是作为例子提供的;本发明的范围不意图限于这里包括的这些部件或元件的特定配置、尺寸和 / 或设计细节。换句话说,本领域技术人员将认识到可以做出对这些实施例的设计改变,使得所得到的实施例将不同于这里所公开的实施例,但是仍然将落在本发明的总体精神内。

[0089] 应当理解的是,除非在这里另行声明,否则在这里关于特定实施例所描述的任何特征、特性、替换方案或修改也可以被应用、使用于这里所描述的任何其他实施例或者与之合并。此外,这里的附图不是按比例绘制的。

[0090] 虽然本发明关于其示例性实施例进行描述和说明,但是可以在其中和对其做出前述以及其他各种添加和省略而不背离本发明的精神和范围。

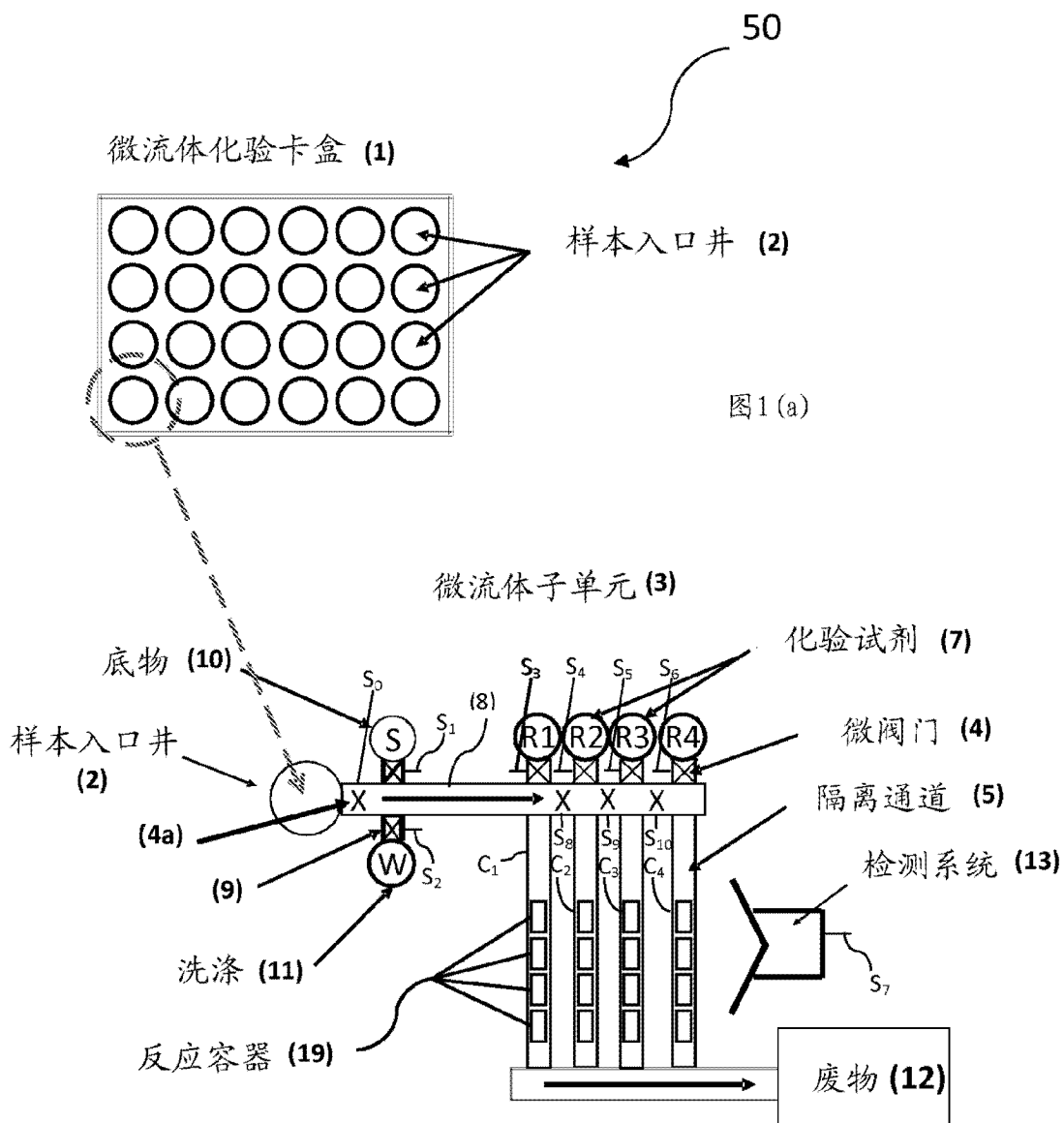


图1(a)

图1(b)

一种用于施行生物化验的方法:

使得中空元件 (14) 功能化, 这是通过将特定于感兴趣的目标被分析物的捕获抗体化学交联到中空元件 (14) 的表面上从而形成功能化中空元件 (14) 而实现的

将功能化中空元件 (14) 放置到准备好接收患者样本的流动池或反应容器 (19) 中, 所述患者样本例如是血清、血浆、脑脊髓液、尿液、血液等等

引入精确体积的患者样本, 这是通过包括利用正压力或负压力将所述材料流入到反应容器 (19) 而实现的, 在此期间, 感兴趣的目标被分析物通过特异结合而被保留到涂覆在功能化中空元件 (14) 的表面上上的捕获抗体

利用缓冲溶液清洗反应容器 (19), 以便洗除未结合的蛋白质

将第二抗体流入反应容器 (19), 所述第二抗体被称作检测抗体至少部分地基于所述第二抗体耦合到能够发出光信号的荧光标签的事实, 于是检测抗体结合到通过捕获抗体保留在功能化中空元件 (14) 的表面上上的目标被分析物; 或者替换地流动不具有荧光缀合物的第二抗体、利用缓冲液清洗反应容器 (19) 以便洗除未结合的蛋白质以及随后在后续步骤中添加荧光缀合物

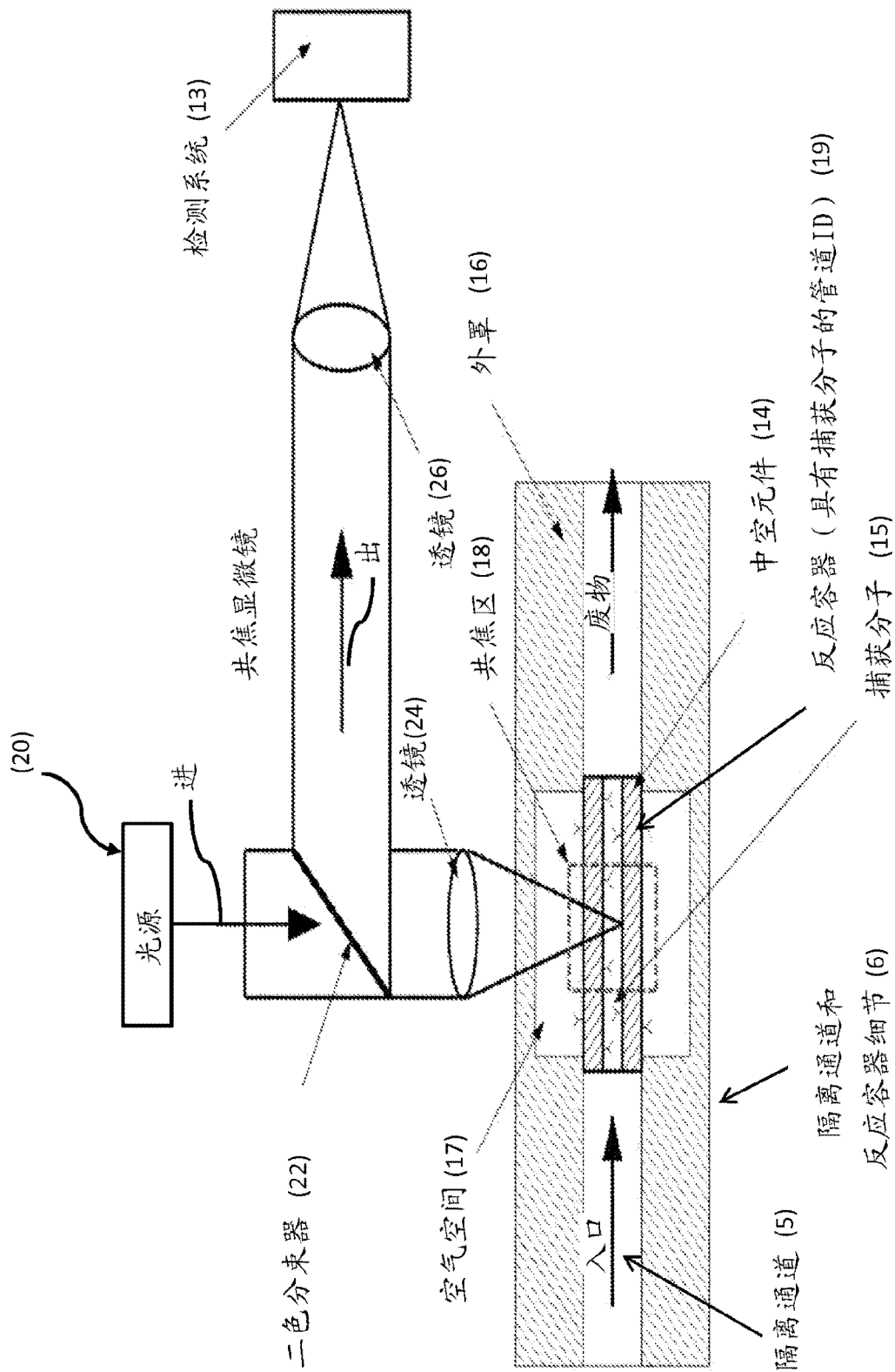
利用缓冲溶液清洗反应容器 (19), 以便去除未结合的蛋白质

利用去到反应容器 (19) 上的适当激发波长照射荧光化学标签

检测作为照射的结果由检测抗体发出的荧光的数量

通过作为利用去到反应容器 (19) 上的适当激发波长照射荧光化学标签的结果由检测抗体发出的荧光的数量来量化所捕获的目标被分析物的数量, 其中反应容器 (19) 内的功能化中空元件 (14) 的表面上上的被分析物的数量与由被荧光标记的检测抗体荧光标签发出的光的数量成比例, 因此与患者样本内的被分析物的数量成正比

图 1(c)



隔离通道和反应器细节 (6)

图 2

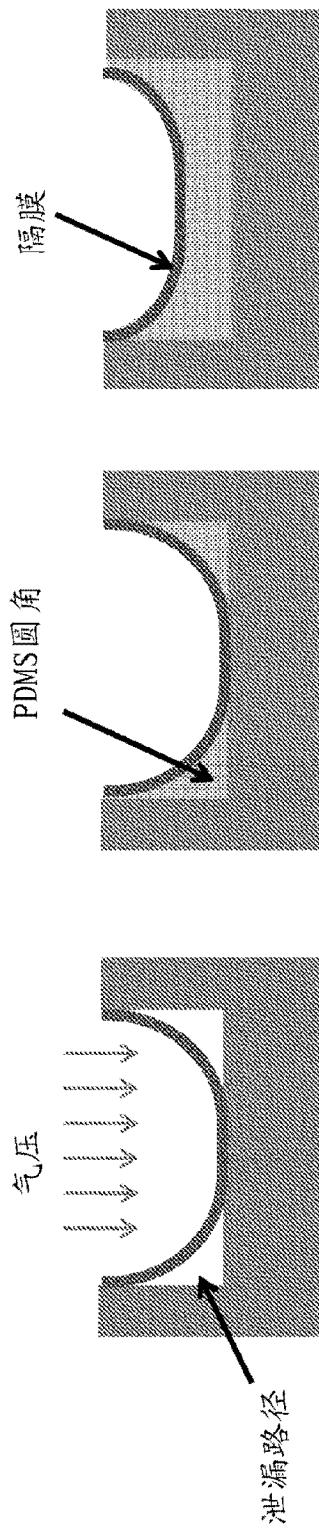
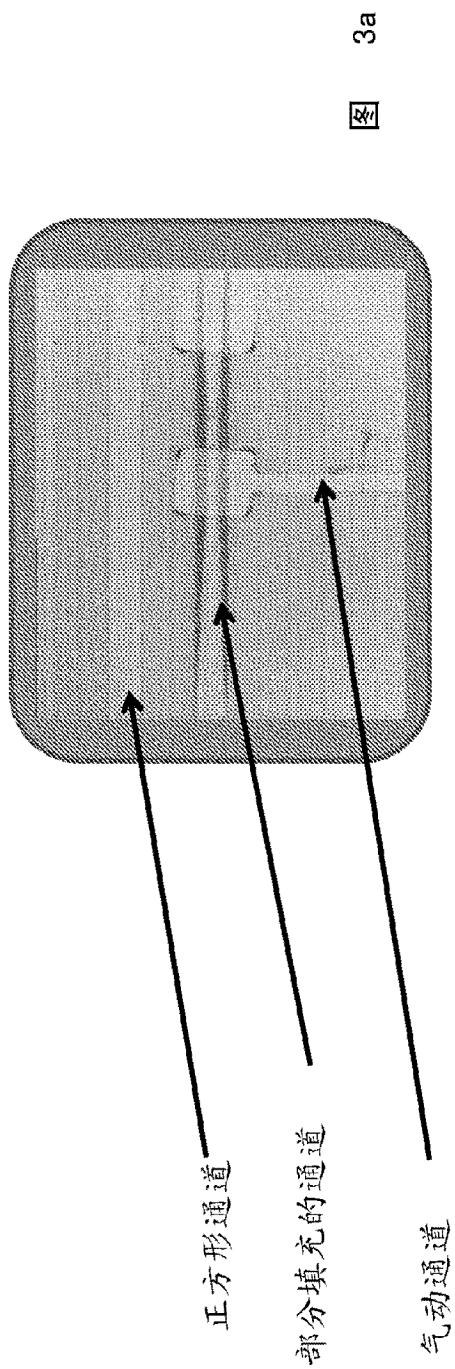


图 3

通道几何结构

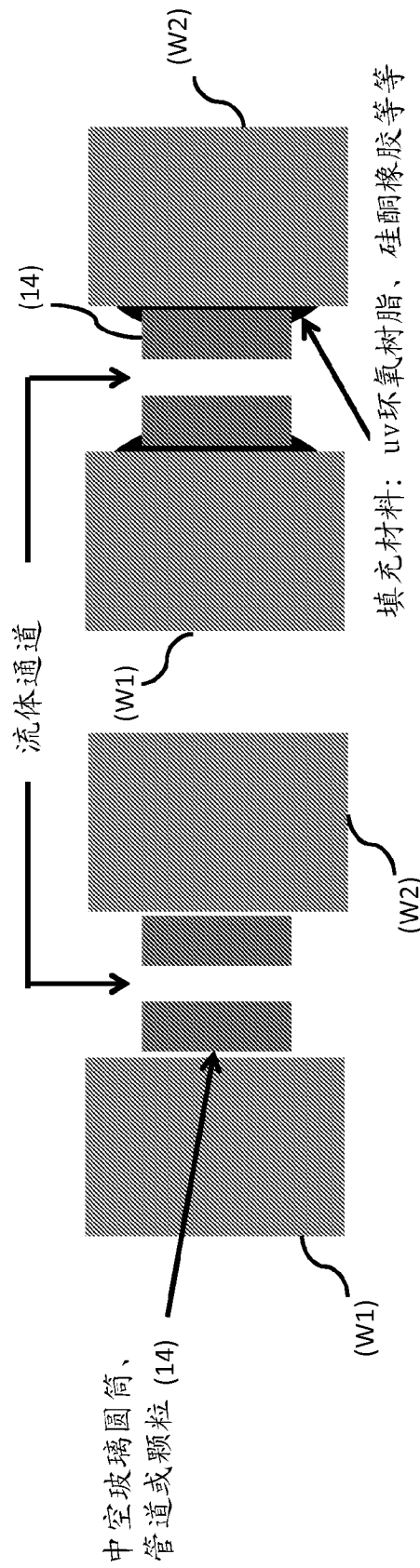


图 3e(1)

图 3f(1)

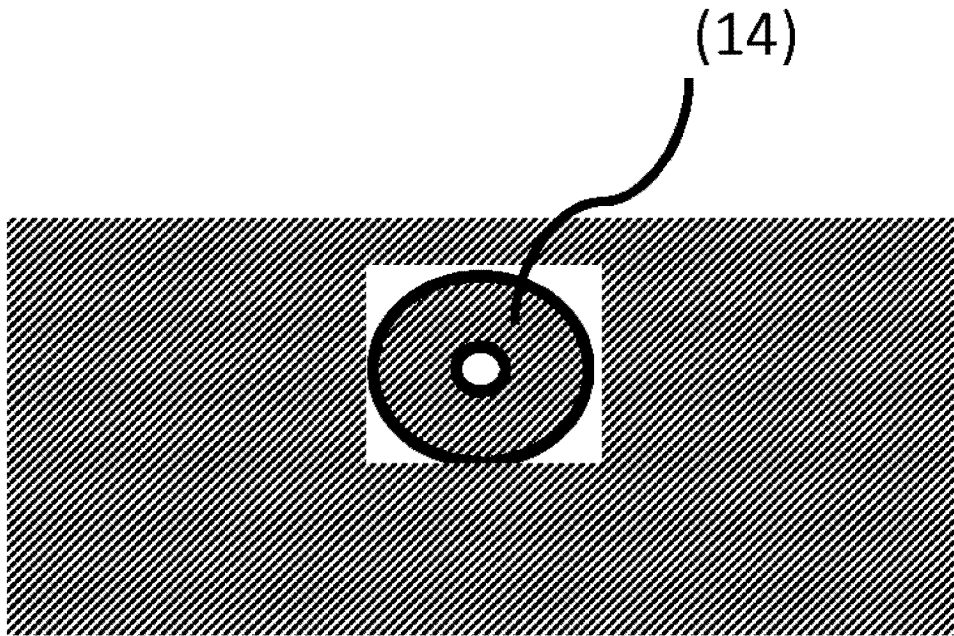


图 3e(2)

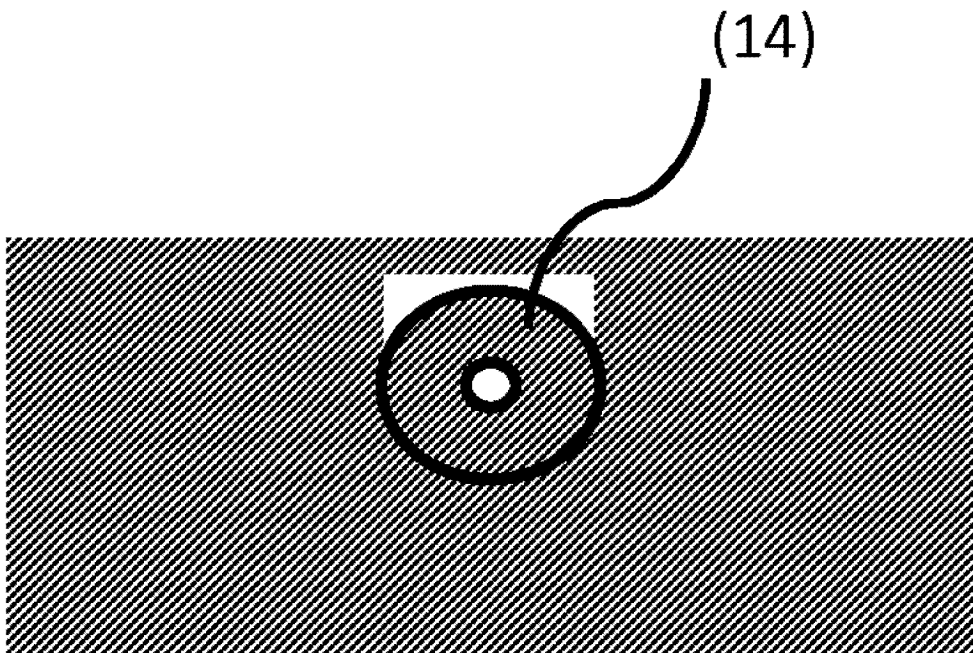


图 3f(2)

环氧树脂	类型	黏度	可分发	荧光度	硬化方法	评价	可接受
Dymax 921 Gel	uv可硬化环氧树脂	25,000	是	高	uv/热	良好黏度但是非常 高荧光度	否
Loctite 3211	uv可硬化环氧树脂	10,000	是	中	uv	中等荧光度	否
Dymax 9622	uv可硬化环氧树脂	12,000	是	低	uv	低荧光度	是
Sylgard 184	硅酮密封剂	3,900	是	低	热	室温下24小时, 黏度过低	是
Sylgard 186	硅酮密封剂	7,800	是	低	热	室温下24小时, 黏度过低	是
RTV 118	RTV硅酮粘合剂	~ 25,000	是	低	热	30分钟尖端硬化, 清晰度存疑	可能
"Clear RTV"	RTV硅酮粘合剂	~ 40,000	是	低	热	非常厚并且尖端硬化	否
Nusil CF15-2186	硅酮弹性体	80,000	TBD	TBD	24小时-温下		TBD
Nusil R31-2186	硅酮粘合剂	80,000	TBD	TBD	24小时-温下		TBD
Nusil R33-2186	硅酮粘合剂	80,000	TBD	TBD	24小时-温下		TBD
Nusil LS1-6941	LSR粘合剂	75,000	TBD	低	30分钟 @ 75C	会室温硬化	TBD
Nusil LS-6946	光学弹性体	40,000	TBD	TBD	30分钟 @ 75C	会室温硬化	TBD
Dymax 9621	uv可硬化环氧树脂	20,000	TBD	低	uv		TBD

环氧树脂向下选择矩阵

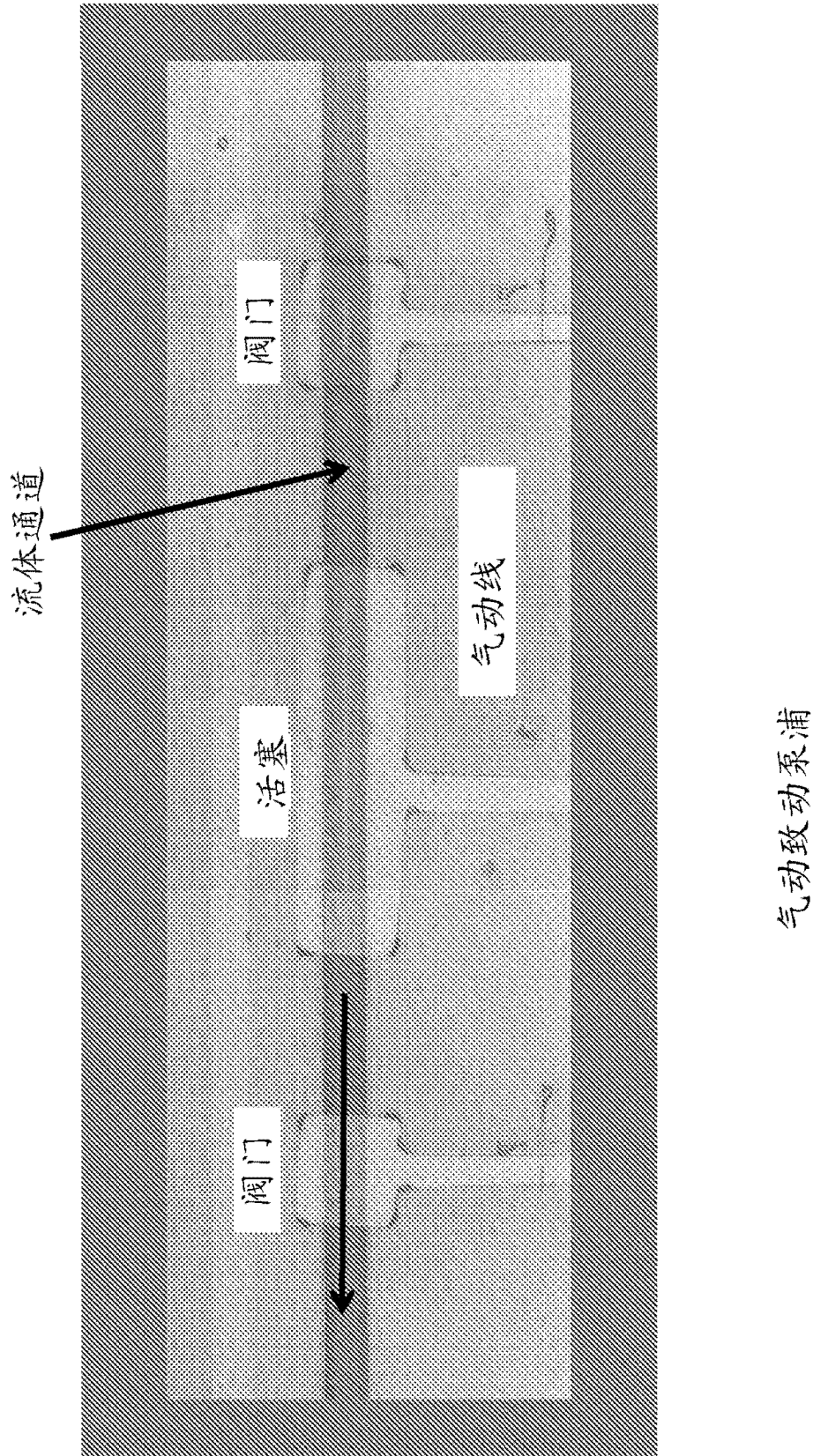


图 4

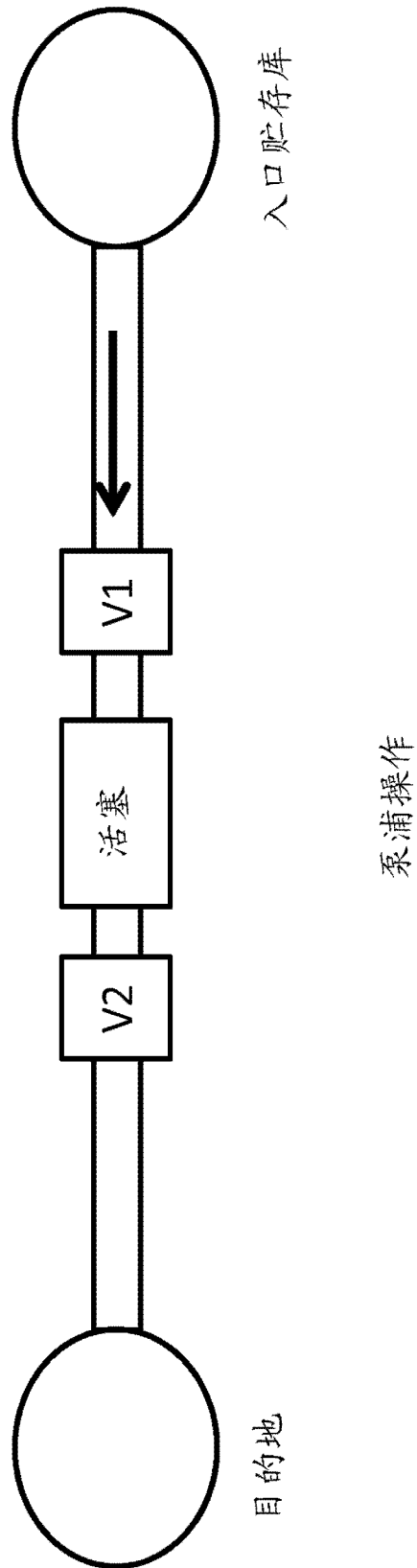


图 5

图 6 多路复用体系结构独立通道泵浦

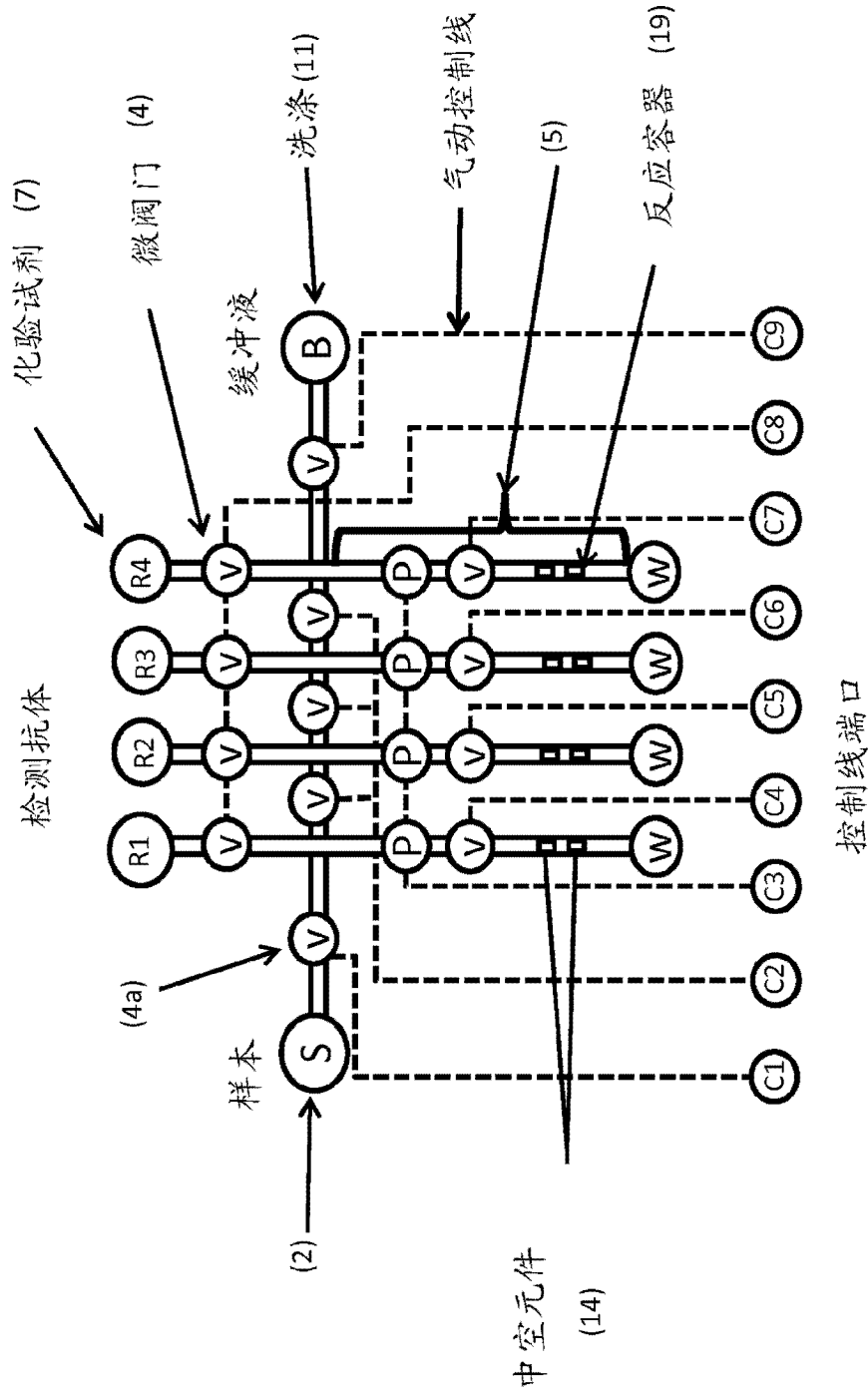


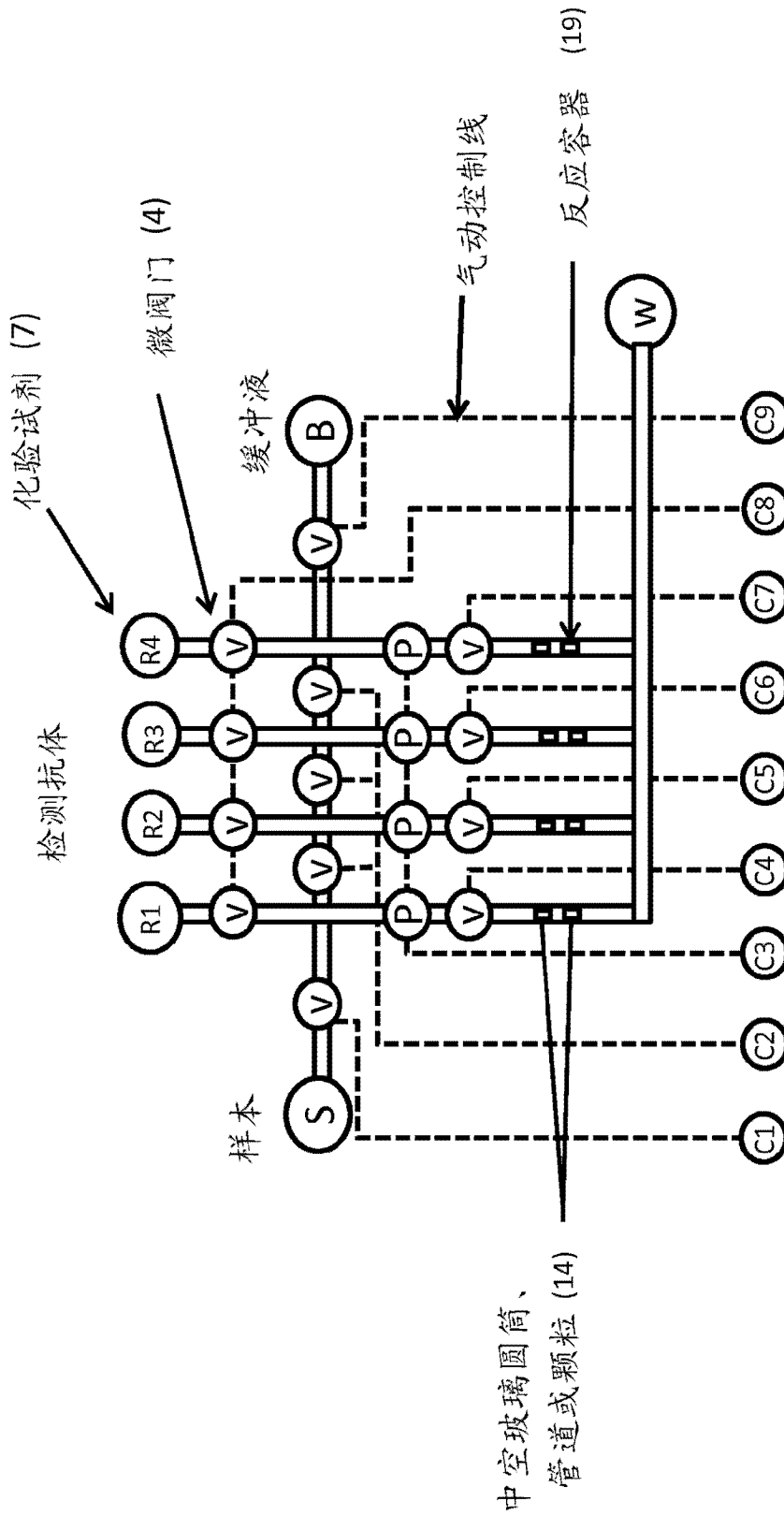
图 6a(1)

具有独立泵浦控制和单独的废物贮存库的4路复用体系结构

用于缓冲液泵浦的NC（真空致动的）状态（1个完整循环）

状态	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	0	0	0	0	1
3	0	1	1	0	0	0	0	0	1
4	0	1	1	0	0	0	1	0	1
5	0	1	1	0	0	0	1	0	0
6	0	1	0	0	0	0	1	0	0
7	0	1	0	0	0	0	0	0	0

图 6a(2)



具有独立泵浦控制和共同的废物贮存库的4路复用体系结构

图 6b

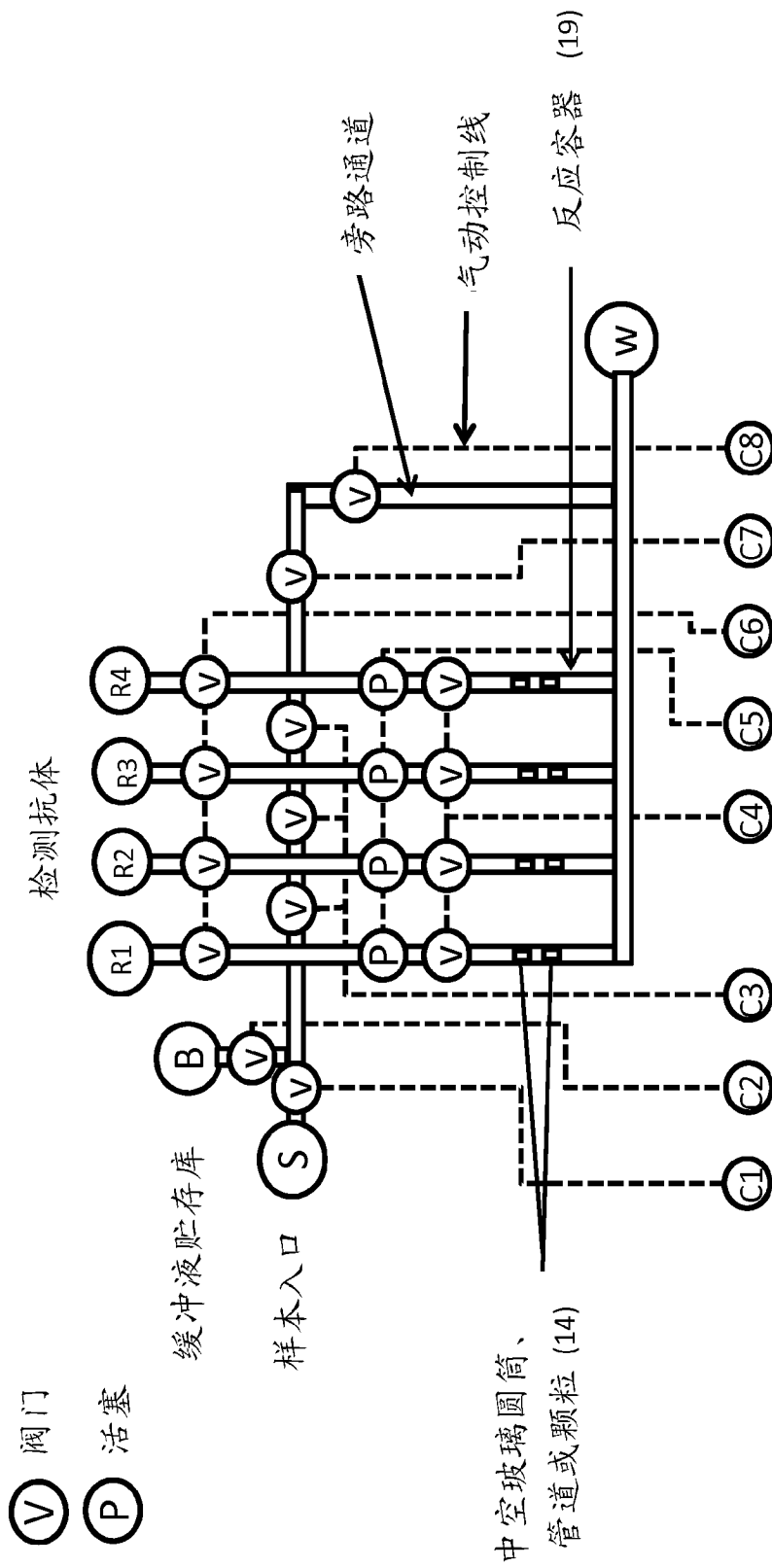


图 6c

具有共同的泵浦控制、共同的废物贮存库和旁路通道的4路复用体系结构

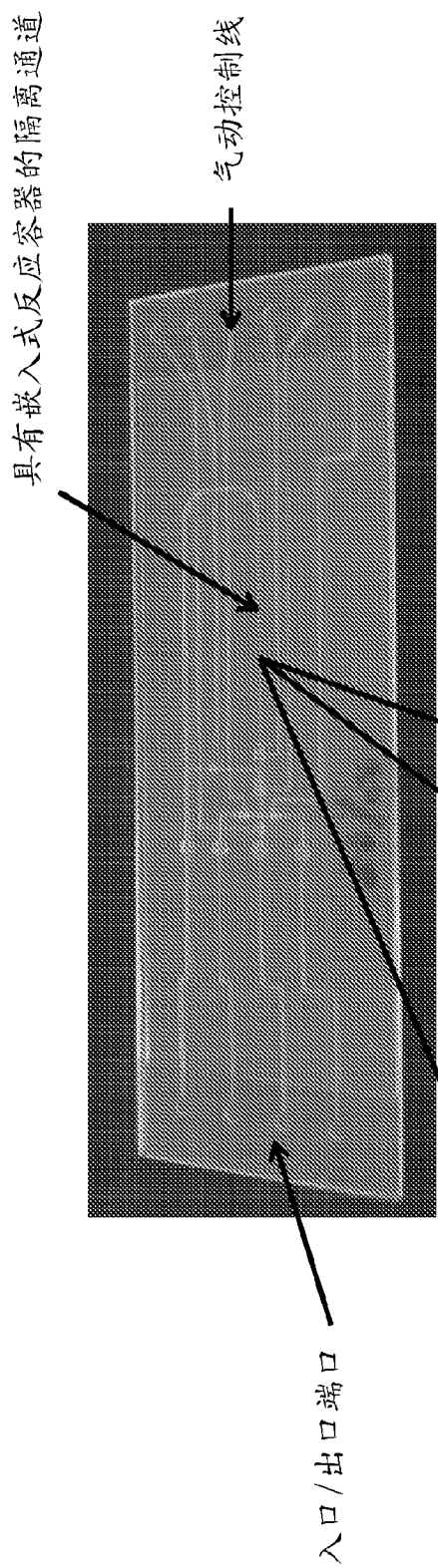


图7a: 原型微流体子单元.

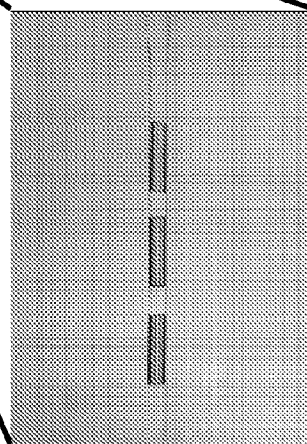


图7b: 嵌入在隔离通道中的3个反应容器的放大图像

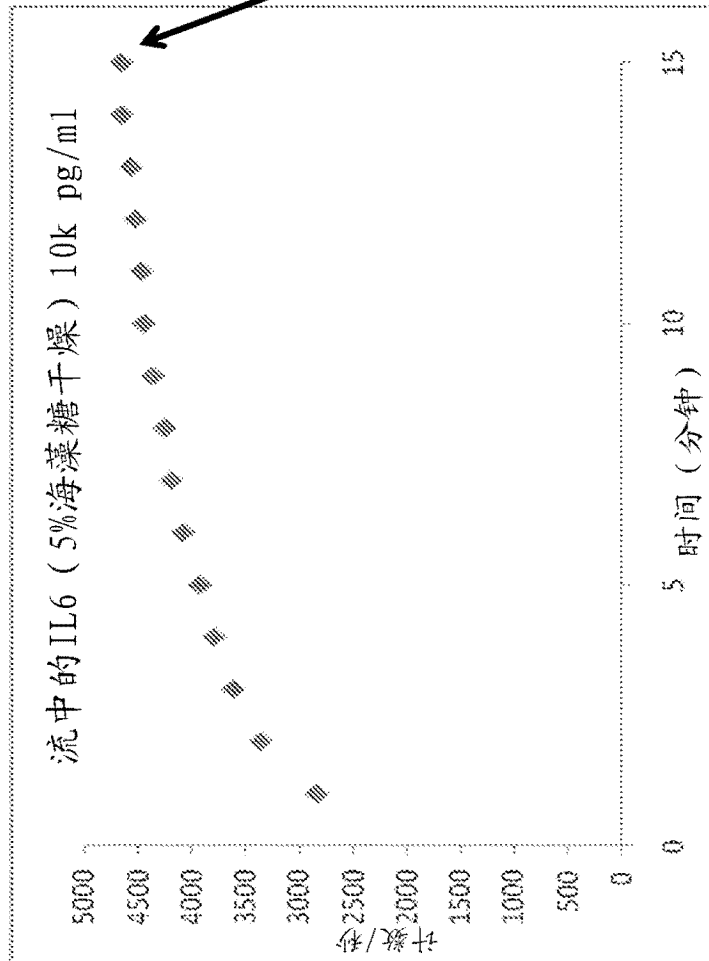


图 7c(1)

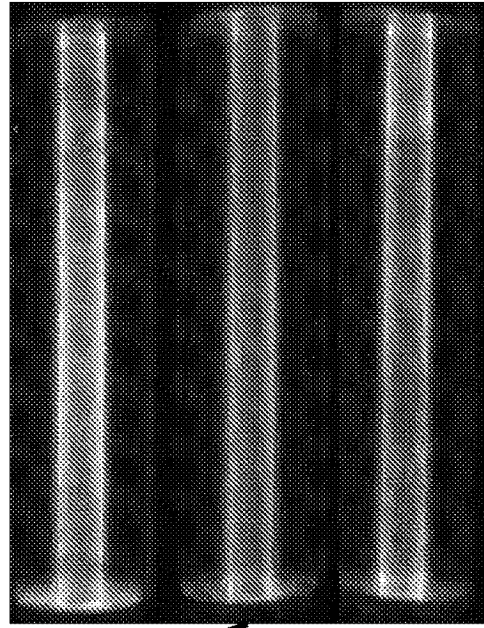


图 7c(2)

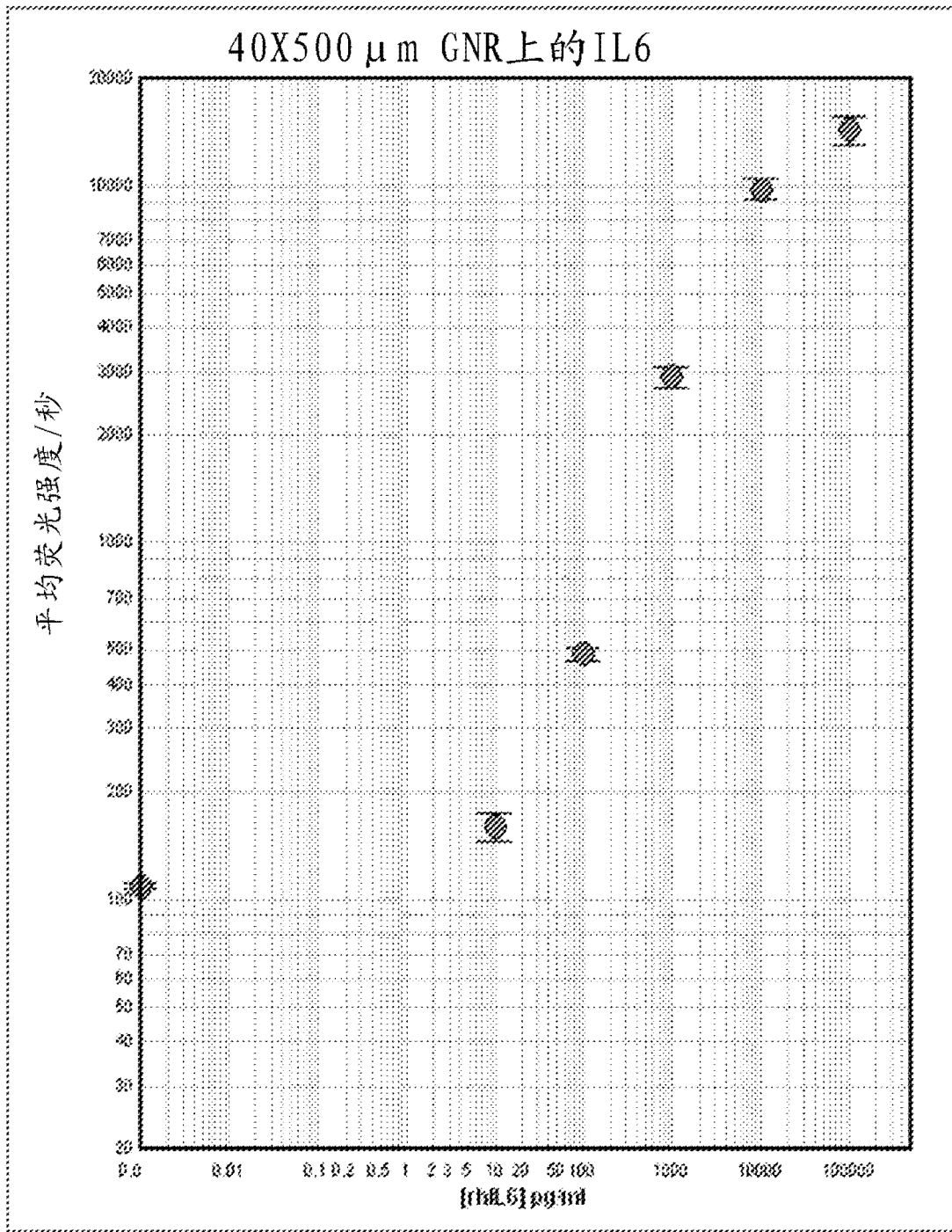


图 7d

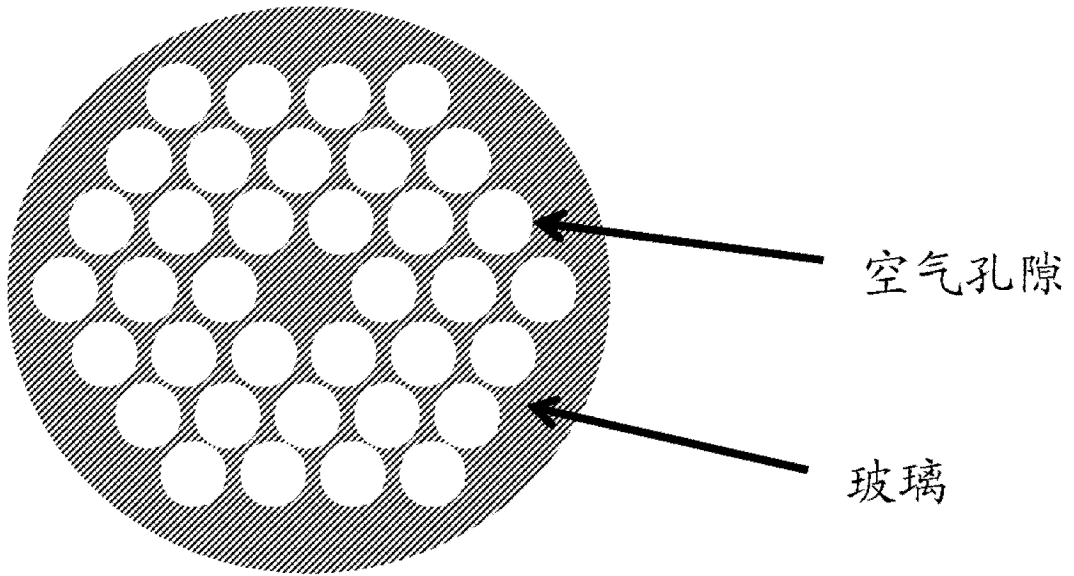


图 8a

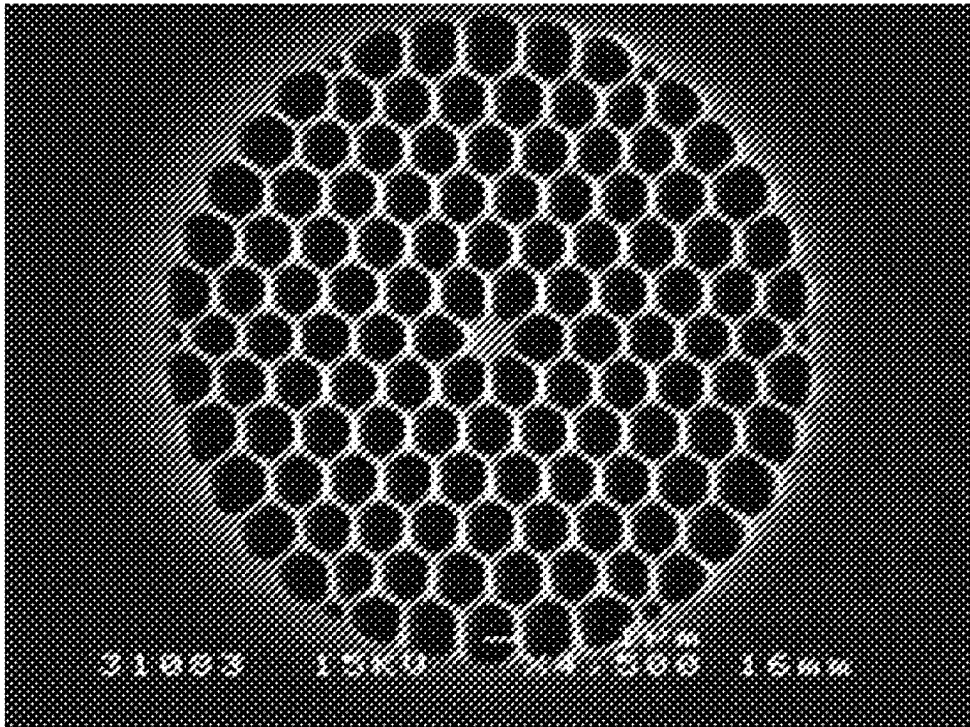
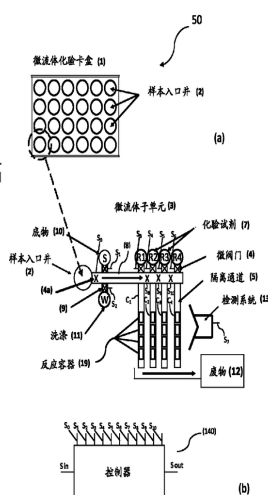


图 8b

专利名称(译)	用于施行化验的方法和设备		
公开(公告)号	CN102713621A	公开(公告)日	2012-10-03
申请号	CN201080062107.9	申请日	2010-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	西维克公司		
申请(专利权)人(译)	西维克公司		
当前申请(专利权)人(译)	西维克公司		
[标]发明人	M A 普特纳姆 A D 克尔塞		
发明人	M.A.普特纳姆 A.D.克尔塞		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/00		
CPC分类号	B01L2300/0636 G01N33/54366 B01L3/527 G01N35/1097 B01L3/502784 B01L2200/10 B01L2400/0633 B01L3/502715		
代理人(译)	王岳 卢江		
优先权	61/263572 2009-11-23 US		
其他公开文献	CN102713621B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

提供了一种用于对样本施行化学、生物化学或生物化验的设备，其包括：微流体化验卡盒（1），包含被配置成接收样本的至少一个样本入口井（2）；以及与微流体化验卡盒（1）相关联的微流体子单元（3），包括微流体通道（8）、微阀门（4，4a，9）和至少一条分开的并且流体隔离的隔离通道（5）以及至少一个中空元件（14）；利用捕获部分或分子（15）来使得所述至少一个中空元件（14）功能化，以便形成至少一个反应容器（19）；所述微流体通道（8）和微阀门（4，4a，9）被配置成对包含关于施行化验的信息的信令做出响应并且以可控方式在所述至少一个反应容器（19）中接收样本和至少一种试剂，以及从所述至少一个反应容器（19）提供光，所述光包含关于作为所述至少一种试剂的结果在所述至少一个反应容器（19）内部对样本施行的化验的信息。



c) 一种用于施行生物化验的方法：

- 获得中空元件（14）功能化，这是通过将特定于感兴趣的靶标结合物的捕获抗体化学交联到中空元件（14）的表面上从而形成功能化中空元件（14）而实现的
- 将功能化中空元件（14）设置到准备好的接收器杯中的流液池或反应容器（19）中，所述接收器杯例如是血清、血液、脑脊液、尿液、血液等等
- 引入目标物的悬液样本，这是通过包括利用正压力或负压将所述材料流入到反应容器（19）而实现的，在此期间，感兴趣的靶标结合物通过特异结合而被保留到功能化中空元件（14）的表面的捕获抗体
- 利用缓冲液清洗反应容器（19），以便洗除未结合的蛋白质
- 将第二液体流入反应容器（19），所述第二液体用作检测试剂至少部分地基于所述第二液体耦合到能够发出光信号的荧光标签的事实，于是检测试剂结合到通过捕获抗体保留在功能化中空元件（14）的表面的靶标结合物；或者替换地流动不具有荧光标签的第二液体，利用缓冲液清洗反应容器（19）以便洗除未结合的蛋白质以及随后在后续步骤中增加荧光标签
- 利用缓冲液清洗反应容器（19），以便去除未结合的蛋白质
- 利用去到反应容器（19）上的适当激发波长照射荧光化学标签
- 检测作为照射的结果由检测试剂发出的荧光的数量
- 通过作为利用去到反应容器（19）上的适当激发波长照射荧光化学标签的结果由检测试剂发出的荧光的数量来量化所捕获的靶标结合物的数量，其中反应容器（19）中的功能化中空元件（14）的表面上被分析物的数量与由荧光标签的检测试剂发光标签发出的光的数量成比例，因此与患者样本中的被分析物的数量成正比