

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 35/00 C12N 15/09

C12P 19/34



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410043573.9

[43] 公开日 2004 年 11 月 24 日

[11] 公开号 CN 1548957A

[22] 申请日 2004.5.12

[21] 申请号 200410043573.9

[30] 优先权

[32] 2003.5.14 [33] US [31] 10/437,046

[71] 申请人 洹艺科技股份有限公司

地址 台湾省新竹市科学工业园区工业东九路 7 号 1 楼

[72] 发明人 韦雅各 张 平 王绍祖 陈启桢
洪荣一

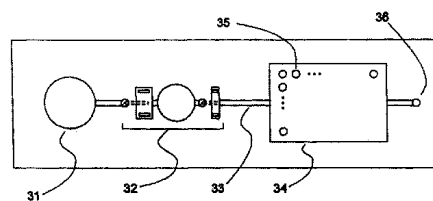
[74] 专利代理机构 上海开祺专利代理有限公司
代理人 高毓秋

权利要求书 7 页 说明书 8 页 附图 3 页

[54] 发明名称 微流体传送及分析系统

[57] 摘要

一种微流体传送及分析系统。包括一具至少一个透过毛细通道的流体单向流动控制结构及外接式线性致动的塑胶流体装置，其连接至灌注结构的反应室。此装置包括二个塑料基层及密闭于二基层界面之间的可弯曲的中间层隔板，以在其中形成一个或多个毛细尺寸口管道、至少一个流体贮存槽、至少一接口、至少一泵室及至少一透过该管道连接至该泵室的反应室。此系统宜用于进行免疫分析和进行 DNA 杂交分析，或用来在反应室中合成一系列的寡核苷酸。并能避免普遍使用的自动化滴管所造成的交叉污染问题。



ISSN 1008-4274

1. 一种流体传送及分析系统，其特征在于，包括：

一流体匣，其包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面的可弯曲性中间层隔板以在其中形成一或多个毛细尺寸的管道、至少一流体贮存槽、至少一接口、至少一泵室，及至少一透过该等管道连接至该泵室的反应室；

一流体流动控制结构，其在该流体匣中形成，限制流体仅单向地经由该等管道流动通过该反应室；及

一线性制动器，其系在该泵室中提供一泵作用以将该流体自该流体贮存槽通过该反应室及该等管道而灌注至该接口。

2. 如权利要求1的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该泵室含有在该第一基层上形成的一基质室及在第二基层上形成的一孔洞，以释放该中间层以作为泵中间层隔板，其中该线性制动器在该孔洞中移动以弯曲该泵中间层隔板且因此提供一种必要力量以使该泵中间层隔板变形，以在该泵室中提供该泵作用以将该流体自该流体贮存槽以泵灌注通过该反应室及该等管道而至该接口。

3. 如权利要求1的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中位于该泵室前及后的被动检查阀，以提供较低阻抗至该流体自该流体贮存槽通过该反应室并经由该等管道而流动至该接口，及提供较高阻抗至该流体自该接口流至该流体贮存槽。

4. 如权利要求2的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中位于该泵室前及后的被动检查阀，以限制流体自该第二基层上的一个该通道流动至该第一基层上的另一该通道，其系由该泵中间层隔板的弯曲以控制该流体自该流体贮存槽流动至该开口，其中自该开口的该流体的任何流动流回至该流体贮存槽系由以该第二基层限制该泵中间层隔板的弯曲所控制。

5. 如权利要求3的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该二个被动检查阀的每一个包括由该中间层分隔的一个第一基层管道及一个第二基层管道，其中通过在该中间层形成的孔洞是包含在该第一基层管道但不包含在第二基层管道。

6. 如权利要求4的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该二个被动检查阀的每一个包括由该中间层一个第一基层管道及一个第二基层管道，其中通过在该中间层形成的孔洞是包含在该第一基层管道但不包含在第二基层管道。

7. 如权利要求1至4任一的流体传送及分析系统，其特征在于，其中该反应室包含数个与该流体进行独特固相反应的固定化的生物分子，其中在一预定反应时间后，该流体经泵灌注通过该反应室及通出该开口。

8. 如权利要求 7 任一的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该数个固定化的生物分子是选自包括固定化抗体、固定化抗原及固定化的生物分子核酸所构成群组。

9. 如权利要求 1 至 4 任一的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该第一基层及第二基层是自选自包括聚甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、聚丙烯及聚乙烯氯所构成群组的塑胶材料。

10. 如权利要求 1 至 4 任一的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该第一基层是由透明塑胶材料所制成, 其中该等管道、该反应室及该泵室是由选自包括注射成形、压缩成形、热压成形及机械加工所构成群组的方法所制得。

11. 如权利要求 10 的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该第一基层及第二基层的每一个具有厚度 1 厘米至 3 厘米。

12. 如权利要求 10 的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该中间层是由选自包括聚合物、乳胶、矽弹性体、聚乙烯氯及氟弹性体所构成群组的材料所制得。

13. 如权利要求 1 至 4 任一的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该中间层是由选自包括模切、旋转模切、雷射雕刻、注射成形及反应注射成形所构成群组的方法所制得。

14. 如权利要求 1 至 4 任一的流体传送及分析系统, 其特征在于, 其中该线性致动器包括一选自包括电磁螺线管、马达 / 凸轮 / 活塞结构、压电线性致动气及马达 / 线性齿轮结构所构成群组的线性作用来源。

15. 一种用于流体传送及分析系统的流体装置, 其特征在于, 包括:

第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面的可弯曲性中间层隔板以在其中形成一或多个毛细尺寸的管道, 及至少一连接至该等管道的反应室;

限制流体仅单向地经由该等管道流动通过该反应室的工具。

16. 如权利要求 15 的流体装置, 其特征在于, 其进一步含有一泵室, 其中该泵室含有在该第一基层上形成的一基质室及在第二基层上形成的一孔洞, 以释放该中间层以作为泵中间层隔板, 藉此使得该流体传送及分析系统的线性制动器能在该孔洞中移动以弯曲该泵中间层隔板且因此提供一种必要力量以使该泵中间层隔板变形, 以在该泵室中提供该泵作用以将该流体自该流体贮存槽以泵灌注通过该反应室及该等管道而至该接口。

17. 如权利要求 16 的流体装置, 其特征在于, 其中该工具包括二个在该流体匣中位于该泵室前及后的被动检查阀, 以提供较低阻抗至该流体自该流体贮存槽通过该反应室并经由该等管道而流动至该接口, 及提供较高阻抗至该流体自该接口流至该流体贮存槽。

18. 如权利要求 16 的流体装置, 其特征在于, 其中该工具包括二个在该流体装置的被动检查阀, 以限制流体自该第二基层上的一个该通道流动至该第一基层上的另一该通道, 其是由该泵中间层隔板的弯曲以控制该流体自该流体贮存槽流动至该开口, 其中该流体的任何相对方向流动系由限制该泵中间层隔板及第二基层的弯曲所控制。

19. 如权利要求 17 的流体装置, 其特征在于, 其中该二个被动检查阀的每一个包括由该中间层分隔的一个第一基层管道及一个第二基层管道, 其中通过在该中间层形成的孔洞是包含在该第一基层管道但不包含在第二基层管道。

20. 如权利要求 18 的流体装置, 其特征在于, 其中该二个被动检查阀的每一个包括由该中间层分隔的一个第一基层管道及一个第二基层管道, 其中通过在该中间层形成的孔洞是包含在该第一基层管道但不包含在第二基层管道。

21. 如权利要求 15 至 18 任一的流体装置, 其特征在于, 其中该反应室包含数个与该流体进行独特固相反应的固定化的生物分子, 其中在一预定反应时间后, 该流体经泵灌注通过该反应室。

22. 如权利要求 21 的流体装置, 其特征在于, 其中该数个固定化的生物分子是选自包括固定化抗体、固定化抗原及固定化的生物分子核酸所构成群组。

23. 如权利要求 15 至 18 任一的流体装置, 其特征在于, 其中该第一基层及第二基层系自选自包括聚甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、聚丙烯及聚乙烯氯所构成群组的塑胶材料。

24. 如权利要求 15 至 18 任一的流体装置, 其特征在于, 其中该第一基层系由透明塑胶材料所制成, 其中该等管道、该反应室及该泵室系由选自包括注射成形、压缩成形、热压成形及机械加工所构成群组的方法所制得。

25. 如权利要求 24 的流体装置, 其特征在于, 其中该第一基层及第二基层的每一个具有厚度 1 厘米至 3 厘米。

26. 如权利要求 24 的流体装置, 其特征在于, 其中该中间层是由选自包括聚合物、乳胶、矽弹性体、聚乙烯氯及氟弹性体所构成群组的材料所制得。

27. 如权利要求 15 至 18 任一的流体装置, 其特征在于, 其中该中间层系由选自包括模切、旋转模切、雷射雕刻、注射成形及反应注射成形所构成群组的方法所制得。

28. 一种进行含有未知浓度的数种生物分子的流体样品免疫分析的方法, 其特征在于, 包括下列步骤:

(a) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品放至流体匣中的至少一个流体贮存槽;

(b) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品自该流体贮存槽以泵灌注至该流体匣中含有数种的固定化抗原或抗体的反应室中;

(c) 使得该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品与该固定化抗原或抗体反应一段预定反应时间; 及

(d) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品自该反应室排出通过排出口。

29. 如权利要求 28 的方法, 其特征在于, 进一步包括下列步骤:

(e) 将含有与可侦测分子共轭化的特异性二级抗体溶液放至该流体贮存槽中;

(f) 将该抗体溶液自该流体贮存槽以泵灌注至该反应室;

(g) 在一段预定反应时间后将该抗体溶液以泵灌注排出该开口;

(h) 提供一可侦测的讯号。

30. 如权利要求 28 的方法，其特征在于进一步包括将放在该流体贮存槽中的清洗缓冲液以泵灌注通过该反应室及排出该开口的清洗步骤。

31. 如权利要求 29 的方法，其特征在于，在步骤(d)及步骤(g)之后，进一步包括将放在该流体贮存槽中的清洗缓冲液以泵灌注通过该反应室及排出该开口的清洗步骤。

32. 如权利要求 28 或 30 的方法，其特征在于，其中该流体样含有多种不同的抗体。

33. 如权利要求 29 或 31 的方法，其特征在于，其中该可侦测分子是选自包括辣根过氧化物酵素、碱性磷酸酶酵素及萤光标签所构成群组。

34. 如权利要求 29 或 31 的方法，其特征在于，其中该抗体溶液为一基质溶液，可与在步骤(g)中被提供可侦测讯号的固定化抗体所捕获的任何酵素反应。

35. 如权利要求 28 或 30 的方法，其特征在于，其中该流体贮存槽、该反应室及该排出口是由一或多个毛细尺寸的管道所连接，其中该流体匣包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面以在其中形成该流体贮存槽、该等管道、该反应室及该排出口的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该流体样品仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

36. 如权利要求 28 或 30 的方法，其特征在于，其中在该泵灌注步骤(b)及(d)中，该流体样品系由线性致动器在流体匣中的泵室提供泵作用，将该流体自该流体贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该反应室而至该排出口。

37. 如权利要求 29 或 31 的方法，其特征在于，其中该流体贮存槽、该反应室及该排出口系由一或多个毛细尺寸的管道所连接，其中该流体匣包括包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间之界面以在其中形成该流体贮存槽、该等管道、该反应室及该排出口的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该流体样品及抗体溶液仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

38. 如权利要求 37 的方法，其特征在于，其中在该泵灌注步骤(b)、(d)、(f)及(g)中，该流体样品及该抗体溶液系分别由线性致动器在流体匣中的泵室提供泵作用，将该流体及该抗体溶液自该流体贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该反应室至该排出口。

39. 如权利要求 36 的方法，其特征在于，其中该泵室含有在该第一基层上形成的一基质室及在第二基层上形成的一孔洞，以释放该中间层以作为泵中间层隔板，其中该线性制动器在该孔洞中移动以弯曲该泵中间层隔板且因此提供一种必要力量以使该泵中间层隔板变形，以在该泵室中提供该泵作用以将该流体样品自该流体贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该反应室至该排出口。

40. 如权利要求 38 的方法，其特征在于，其中该泵室含有在该第一基层上形成的一基质室及在第二基层上形成的一孔洞，以释放该中间层以作为泵中间层隔板，其中该线性制动器在该孔洞中移动以弯曲该泵中间层隔板且因此提供一种必要力量以使该泵中间层隔板变

形,以在该泵室中提供该泵作用以将该流体样品自该流体贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该反应室至该排出口。

41. 如权利要求 36 的方法,其特征在于,其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中位于该泵室前及后的被动检查阀,以提供较低阻抗至该流体样品自该流体贮存槽通过该反应室并经由该等管道而流动至该排出口,及提供较高阻抗至该流体样品自该排出口流至该流体贮存槽。

42. 如权利要求 38 的方法,其特征在于,其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中位于该泵室前及后的被动检查阀,以提供较低阻抗至该流体样品及该抗体溶液自该流体贮存槽通过该反应室并经由该等管道而流动至该排出口,及提供较高阻抗至该流体样品及该抗体溶液自该排出口流至该流体贮存槽。

43. 如权利要求 36 的方法,其特征在于,其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中的被动检查阀,以限制流体样品自该第二基层上的一个该通道流动至该第一基层上的另一该通道,其系藉由该泵中间层隔板的弯曲以控制该流体样品自该流体贮存槽流动至该排出口,其中自该排出口的该流体样品的任何流动流回至该流体贮存槽系由以该第二基层限制该泵中间层隔板的弯曲所控制。

44. 如权利要求 38 的方法,其特征在于,其中该流体流动控制结构包括二个在该流体匣中的被动检查阀,以限制流体样品及该抗体溶液自该第二基层上的一个该通道流动至该第一基层上的另一该通道,其是由该泵中间层隔板的弯曲以控制该流体样品及该抗体溶液自该流体贮存槽流动至该排出口,其中自该排出口的该流体样品及该抗体溶液的任何流动流回至该流体贮存槽是由以该第二基层限制该泵中间层隔板的弯曲所控制。

45. 一种进行含有未知浓度的数种生物分子的样品免疫分析的方法,其特征在于,包括下列步骤:

- (a') 将该样品放至流体匣中的至少一个样品贮存槽;
- (b') 将清洗缓冲液放至流体匣中的缓冲液贮存槽;
- (c') 在该流体匣中提供一个保持空的空气清洗贮存槽以提供空气清洗;
- (d') 将对二级抗体共轭物特异的基质溶液放至该流体匣的一个基质贮存槽中;
- (e') 将二级抗体共轭物放至该流体匣的一个抗体贮存槽中;
- (f) 将该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物以泵结构灌注通过第一反应室一段预定反应时间;
- (g') 提供一个第二反应室作为对照并由检查阀自该第一贮存槽的该样品分离出;
- (h') 提由光学测量确认免疫分析结果。

46. 如权利要求 45 的方法,其特征在于,其中该步骤(f)进一步包括下列步骤:

(f-1)将该样品自该样品贮存槽以泵灌注至该第一反应室直到该样品充满该第一反应室;

- (f-2)将该样品在一段第一预定反应时间后自该第一贮存槽以泵灌注至该废液槽；
- (f-3)将该清洗缓冲液自该缓冲液贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；
- (f-4)将该二级抗体共轭物自该抗体贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；
- (f-5)将该二级抗体共轭物在一段第二预定反应时间后自该第一反应室以泵灌注至该废液槽中；
- (f-6)将该基质溶液自该基质贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；及
- (f-7)将该基质溶液在一段第三预定反应时间后自该第一反应室以泵灌注至该废液槽中，并将该第一反应槽以自该清洗缓冲液贮存槽的清洗缓冲液取代。

47. 如权利要求 46 的方法，其特征在于，其中该泵结构包括数个分别连接至该样品贮存槽、该清洗缓冲液槽、该空气清洗贮存槽、该基质贮存槽及该抗体贮存槽的泵，分别将该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物以泵灌注通过该第一反应槽至该废液贮存槽中。

48. 如权利要求 46 的方法，其特征在于，其中样品贮存槽为一循环贮存槽，且该泵结构连接至该循环贮存槽以提供液体自该循环贮存槽通过该第一反应室连续循环至该废液贮存槽中并流回至该循环贮存槽中，使得该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物能够循环通过该第一反应而不停止。

49. 如权利要求 46、47 或 48 的方法，其特征在于，其中该流体贮存槽及该反应室由一或多个毛细尺寸的管道所连接，其中该流体匣包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面以在其中形成该流体贮存槽、该缓冲液贮存槽、该空气清洗贮存槽、该基质贮存槽、该抗体贮存槽、该等管道及该反应室的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液、该二级抗体共轭物仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

50. 如权利要求 49 的方法，其特征在于，其中在该泵灌注步骤(f)中，该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物，分别由数个线性致动器在流体匣中的泵室提供泵作用，将该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物分别自该样品贮存槽、该缓冲液贮存槽、该空气清洗贮存槽、该基质贮存槽及该抗体贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该反应室。

51. 一种进行 DNA 杂交分析的方法，其特征在于，包括下列步骤：

- (a")将数种 DNA 探针固定在流体匣中的反应室；
- (b")将含有一或多种经萤光标记并增幅 DNA 的未知序列的流体样品放至流体匣的样品贮存槽中；
- (c")将第一严格清洗缓冲液放至该流体匣的第一清洗缓冲液贮存槽中；
- (d")将第二严格清洗缓冲液放至该流体匣的第二清洗缓冲液贮存槽中；
- (e")在一恒定温度下维持一反应室；

(f')将该流体样品自该样品贮存槽以泵灌注通过该反应室至该流体匣的一循环贮存槽中一段预定杂交时间;

(g'')将该流体样品自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出;

(h'')将该第一严格清洗缓冲液自该第一清洗缓冲液贮存槽以泵灌注至该循环贮存槽并循环该第一严格清洗缓冲液通过该反应室一段第一预定清洗时间;

(i'')将该第一严格清洗缓冲液自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出;

(j'')将该第二严格清洗缓冲液自该第二清洗缓冲液贮存槽以泵灌注至该循环贮存槽并循环该第二严格清洗缓冲液通过该反应室一段第二预定清洗时间;

(k'')将该第二严格清洗缓冲液自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出; 及

(l'')达成 DNA 杂交。

52. 如权利要求 46 的方法, 其特征在于, 其中该样品贮存槽、该第一缓冲液清洗贮存槽、第二缓冲液清洗贮存槽、该循环贮存槽及该反应室是由一或多个毛细尺寸的管道所连接, 其中该流体匣包括包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间之界面以在其中形成该样品贮存槽、该第一清洗缓冲液贮存槽、第二清洗缓冲液贮存槽、该循环贮存槽及该反应室的可弯曲性中间层隔板, 其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该流体样品、该第一及第二严格清洗缓冲液仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

53. 如权利要求 52 的方法, 其特征在于, 其中在该泵灌注步骤(f'')至(k'')中, 该流体样品及该第一及第二严格清洗缓冲液, 由线性致动器在流体匣中的至少一个泵室提供泵作用, 将该流体样品及该第一及第二严格清洗缓冲液自该样品贮存槽、该第一严格清洗缓冲液贮存槽、该第二严格清洗缓冲液贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该循环贮存槽及该反应室。

54. 如权利要求 53 的方法, 其特征在于, 其中该其中该泵室含有在该第一基层上形成的一基质室及在第二基层上形成的一孔洞, 以释放该中间层以作为泵中间层隔板, 其中该线性制动器在该孔洞中移动以弯曲该泵中间层隔板且因此提供一种必要力量以使该泵中间层隔板变形, 以在该泵室中提供该泵作用以将该流体样品及第一及第二严格清洗缓冲液自该样品贮存槽、该第一严格清洗缓冲液贮存槽、该第二严格清洗缓冲液贮存槽以泵灌注经由该等管道通过该循环贮存槽及该反应室。

55. 如权利要求 28 的方法, 其特征在于, 在步骤(d'')之后, 进一步包括将基质缓冲液放入使得基质与该与共轭物掺合的流体样品混合的步骤。

56. 如权利要求 51 的方法, 其特征在于, 其中该达成 DNA 杂交系以萤光显影、色计检测、发光检测或生物素-链霉抗生素蛋白-酵素检测进行。

微流体传送及分析系统

技术领域

本发明涉及一种流体传送及分析匣及一外接式线性致动器。特别是一种在微流体传送及分析匣中进行不同程序的系统，该程序包括筛选、免疫学诊断、DNA 诊断。

背景技术

近年来，高度并行方法已被发展用于生物物质(例如蛋白质及 DNA)的分析。大量的不同结合物质可被固定化于固体表面，且在此等物质及其它化合物的交互反应可以高度并行方式测得。近年来，尽管固体表面的大小已被显著地降低，且被固定化物种的密度亦已被戏剧性地增加，但典型地，此种分析仍需要一些液体操作步骤，在没有液体操作的自动控制装置或类似的装置下，使得其自动化变得困难。

最近，已发展一些微流体平台，以解决此等液体操作问题，降低反应试剂消耗及增加此等方法的速度。此种平台的范例叙述于美国专利第 5,856,174 及 5,922,591 号中。如 Anderson 等人在 1997 年的 Transducers '97, 1997 International Conference on Solid-State Sensors and Actuators 的议程中所发表的「微流体生化分析系统」第 477-480 页所述，此装置后来显示可针对 HIV 病毒样品进行核酸抽取、增幅及杂交。藉由利用气体控制的阀、疏水性排气孔及差别的压力来源，液体反应物可在微流体匣中操作以进行核酸分析。

此种微流体平台的另一范例是描述于美国专利第 6,063,589 号中，其中向心力的使用系用于灌注液体以通过一个包含在光盘上液体流体匣的毛细网络中。被动缺口阀是用以控制液体流动以进行生物分析，如 Kellog 等人在 2000 年的 uTas 2000 讨论会议程中的 Micro Total Analysis System 2000 所发表的「Centrifugal Microfluidics: Applications」所叙述。被动表面在此种微型及微流装置的进一步利用，已被叙述于美国专利第 6,296,020 号中，以控制微型装置的液体。

另一种压力驱动液体操作装置是藉由电场的利用，以控制液体及分子移动。利用此等电动方法以驱动反应物通过液体介质，及利用电泳方法在此种系统中分离及进行特定分析中，在微流体传送及分析系统中已有许多工作已被完成。利用此种方法的装置已被叙述于美国专利第 4,908,112 号、美国专利第 6,033,544 号及美国专利第 5,858,804 号中。

其它利用静电阀矩阵(美国专利第 6,240,944 号)，含铁流体微泵(美国专利第 6,318,970 号)，及流体流量调节器(美国专利第 5,839,467 号)的微流体操作装置亦已被叙述。

此种微流体操作装置的应用，具有增加分析产率、降低反应物消耗、简化诊断设备及降低分析成本的潜力。

发明内容

本发明的目的在于提供一种进行流体样品免疫学诊断分析或 DNA 分析程序的微流体传送及分析系统。

本发明的系统包括一具有至少一个透过毛细通道及外接式线性致动器的塑料流体装置，其连接至灌注结构的反应室。此装置包括二个塑料基层，一第一基层及一第二基层，其含有毛细通道，反应室及泵 / 阀室，及一介于第一及第二基层的可弯曲中间隔板，其可提供流体结构及阀及泵隔板的密闭界面。被动止回阀结构在此三层装置中形成，其是由提供一种用于气体或流体元件，利用中间隔板的弯曲，自下基层的通道流至第一基层的通道。再者，在相反方向的流动是以第二基层限制隔板弯曲动作。或者，被动止回阀结构可被做成藉由轻击该装置结构可使第一基层流动至第二基层。泵结构在该装置的形成是由组合泵室及二个操作相同方向的被动止回阀结构而成。在底层也有对应于泵室的孔洞。线性致动器 - 在塑料流体装置的外部 - 可置于该孔洞中以弯曲泵中间隔板，因此可提供泵作用至装置中的流体。此种泵结构本来就为单向的。

本发明的有益效果在于：在一较佳实例中，上述系统可用于进行免疫分析，其是以泵灌注来自入口贮存槽的不同的反应物，通过一个含有一或多种固定化抗体或抗原反应室，最后流至出口。在另一较佳实例中，此系统可用于进行 DNA 分析的检测，例如对固定在反应室的 DNA 探针的杂交。此系统可用于在反应室中合成一系列的寡核苷酸。尽管本发明的系统非常适合在反应室中进行固相反应及提供分散来自反应室的不同反应物及将不同反应物分散至反应室，其并非限制至仅进行固相反应。

本发明的系统也非常适合用于丢弃式诊断应用。本系统的利用可减少消耗品至仅为塑料流体匣，并去除普遍在高量应用时使用固定吸管尖式自动化滴管造成的交叉污染问题。

附图说明

图 1A 为在本发明塑料流体装置的泵结构的俯视图。

图 1B 为在本发明塑料流体装置的泵结构的横切面图。

图 2 为本发明塑料流体装置装配为单一流体传送及分析装置的俯视图。

图 3 为本发明塑料流体装置装配为五种流体传送及分析装置的俯视图。

图 4 为本发明塑料流体装置装配为再循环三种流体传送及分析装置的俯视图。

具体实施方式

本发明的流体传送及分析系统，包括

一流体匣，其包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面的可弯曲性中间层隔板以在其中形成一或多个毛细尺寸的通道、至少一流体贮存槽、至少一接口、至少一泵室，及至少一透过该等管道连接至该泵室的反应室；一流体流动控制结构，其在该

流体匣中形成，限制流体仅单向地经由该等管道流动通过该反应室；及一线性制动器，其系在该泵室中提供一泵作用，以将该流体自该流体贮存槽通过该反应室及该等管道而灌注至该接口。

本发明另提供一种用于流体传送及分析系统的流体装置，其包括：第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面的可弯曲性中间层隔板以在其中形成一或多个毛细尺寸的通道，及至少一连接至该等管道的反应室；及限制流体仅单向地经由该等管道流动通过该反应室的元件。

图 1B 显示在本发明塑料流体装置的泵结构的横切面图。如图 1B 所示，该塑料流体匣包括三个主要基层：第一基层 21、第二基层 22，及一个可弯曲性中间层 23。此三层可由不同塑料组装方法所组装，例如螺钉组装、热压、超音波结合、夹模、或适当的反应性 / 粘着性结合方法。该第一及第二基层均含有在匣中不同定义为毛细尺寸通道及泵室、阀室、反应室、贮存槽及入口 / 出口的特征。图 1A 为图 1B 的泵结构的俯视图。该泵结构定义为一泵室 14 及二个被动止回阀 15 可提供高阻抗使流动仅为单向。被动止回阀 15 包括一第二基层通道 13 及一第一基层通道 11，由中间层所分隔，使得通过中间层 12 的孔洞包含在第一基层通道 11 但不在第二基层通道 13 中。此种被动止回阀结构可提供低阻抗使气体 / 流体自第二基层通道 13 流动至第一基层通道 11，同样地也提供高阻抗使气体 / 流体自第一基层通道 11 流动至第二基层通道 13。泵室 14 具有一个第一基层室及一个在第二基层的入口孔洞以释放中间层作为隔板。外接在流体匣的线性致动器 24 可提供必要的力量使隔板变形。其中该二个被动检查阀的每一个包括由该中间层分隔的一个第一基层管道及一个第二基层管道，其中通过在该中间层形成的孔洞系包含在该第一基层管道但不包含在第二基层管道。

图 2 显示本发明塑胶流体装置装配为单一流体传送及分析装置的俯视图。首先将流体以人工或自动方式利用滴管或相似的设备放入贮存槽 31 中，类似图 1A 的泵结构 32 包括在此装置中。藉由重复地致动外部线性致动器，在贮存槽 31 中的流体经泵灌注经过泵结构 32、毛细通道 33 并进入反应室 34。反应室 34 包括数个与该流体进行独特固相反应的固定化生物分子 35。在一特定反应时间后，该流体经泵灌注通过反应室 34 及通出开口 36。

本发明塑胶流体匣的第一及第二基层可利用不同塑胶材料，例如甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚丙烯或聚乙烯氯所制成。由于在反应室中反应结果的光学特性，第一基层较佳为用透明塑胶材料所制成。毛细管、反应室及泵室可利用例如注射成形、压缩成形、热压成形或机械加工的方法在此种基层中形成。第一及第二基层的厚度较适合但不限制在 1 厘米至 3 厘米范围的厚度。可弯曲中间层可以多种聚合物及橡胶材料所形成，例如乳胶、矽弹性体、聚乙烯氯及氟弹性体所形成。在中间层形成此种特征的方法，包括模切、旋转模切、雷射雕刻、注射成形及反应注射成形。

本发明的线性致动器较佳为但不限制为电磁螺线管。其它适合的线性致动器包括马达 / 凸轮 / 活塞结构、压电线性致动气及马达 / 线性齿轮结构。

本发明另提供一种进行含有未知浓度的数种生物分子的流体样品免疫分析的方法，其包括下列步骤：

- (a) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品放至流体匣中的至少一个流体贮存槽；
- (b) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品自该流体贮存槽以泵灌注至该流体匣中含有一种或数种的固定化抗原或抗体的反应室中；
- (c) 使得该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品与该固定化抗原或抗体反应一段预定反应时间；及
- (d) 将该流体样品或该与共轭物掺合的流体样品自该反应室通过排出口排出。

较佳地，该方式可进一步包括下列步骤：

- (e) 将含有与可侦测分子共轭化的特异性二级抗体溶液放至该流体贮存槽中；
- (f) 将该抗体溶液自该流体贮存槽以泵灌注至该反应室；
- (g) 在一段预定反应时间后将该抗体溶液以泵灌注通过排出口排出；
- (h) 产生一可侦测的讯号。

此外，该方可进一步包括至少一个将放在该流体贮存槽中的清洗缓冲液以泵灌注通过该反应室及通过排出口排出的清洗步骤。或在步骤（d）之后，进一步包括将基质缓冲液放入使得基质与该与共轭掺合的流体样品混合的步骤。

在上述方法中，该流体贮存槽、该反应室及该排出口是由一或多个毛细尺寸的通道所连接，其中该流体匣包括包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面以在其中形成该流体贮存槽、该等管道、该反应室及该排出口的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该流体样品仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

本发明另提供一种进行含有一或数种未知浓度的生物分子的样品免疫分析方法，其包括下列步骤：

- (a') 将该样品放至流体匣中的至少一个样品贮存槽；
- (b') 将清洗缓冲液放至流体匣中的缓冲液贮存槽；
- (c) 在该流体匣中提供一个保持空的空气清洗贮存槽以提供空气清洗；
- (d') 将对二级抗体共轭物特异的基质溶液放至该流体匣的一个基质贮存槽中；
- (e') 将二级抗体共轭物放至该流体匣的一个抗体贮存槽中；
- (f) 将该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液及该二级抗体共轭物以泵结构灌注通过第一反应室一段预定反应时间；
- (g') 提供一个第二反应室作为对照并由止回阀自该第一贮存槽的该样品分离出；
- (h') 由光学测量方法确认免疫分析结果。

较佳地，在该方法中的步骤(f)进一步可包括下列步骤：

(f-1')将该样品自该样品贮存槽以泵灌注至该第一反应室直到该样品充满该第一反应室；

(f-2)将该样品在一段第一预定反应时间后自该第一贮存槽以泵灌注至该废液槽；

(f-3)将该清洗缓冲液自该缓冲液贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；

(f-4)将该二级抗体共轭物自该抗体贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；

(f-5)将该二级抗体共轭物在一段第二预定反应时间后自该第一反应室以泵灌注至该废液槽中；

(f-6)将该基质溶液自该基质贮存槽以泵灌注至该第一反应室中；及

(f-7)将该基质溶液在一段第三预定反应时间后自该第一反应室以泵灌注至该废液槽中，并将该第一反应槽以自该清洗缓冲液贮存槽的清洗缓冲液取代。

在上述方法中，其中该流体贮存槽及该反应室由一或多个毛细尺寸的通道所连接，其中该流体匣包括包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面以在其中形成该流体贮存槽、该缓冲液贮存槽、该空气清洗贮存槽、该基质贮存槽、该抗体贮存槽、该等管道及该反应室的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该样品、该清洗缓冲液、该基质溶液、该二级抗体共轭物仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

本发明另提供一种进行 DNA 杂交分析的方法，其包括下列步骤：

(a")将数种 DNA 探针固定在流体匣中的反应室；

(b")将含有一或多种经萤光标记并扩增的未知序列 DNA 的流体样品放至流体匣的样品贮存槽中；

(c")将第一严格清洗缓冲液放至该流体匣的第一清洗缓冲液贮存槽中；

(d")将第二严格清洗缓冲液放至该流体匣的第二清洗缓冲液贮存槽中；

(e")在一恒定温度下维持一反应室；

(f")将该流体样品自该样品贮存槽以泵灌注通过该反应室至该流体匣的一循环贮存槽中一段预定杂交时间；

(g")将该流体样品自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出；

(h")将该第一严格清洗缓冲液自该第一清洗缓冲液贮存槽以泵灌注至该循环贮存槽并循环该第一严格清洗缓冲液通过该反应室一段第一预定清洗时间；

(i")将该第一严格清洗缓冲液自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出；

(j")将该第二严格清洗缓冲液自该第二清洗缓冲液贮存槽以泵灌注至该循环贮存槽并循环该第二严格清洗缓冲液通过该反应室一段第二预定清洗时间；

(k") 将该第二严格清洗缓冲液自该循环贮存槽及该反应室以泵灌注排出；及

(l") 达成 DNA 杂交。

在上述方法中，其中该样品贮存槽、该第一缓冲液清洗贮存槽、第二缓冲液清洗贮存槽、该循环贮存槽及该反应室是由一或多个毛细尺寸的通道所连接，其中该流体匣包括第一基层、第二基层及密闭位于该第一及第二基层间的界面以在其中形成该样品贮存槽、该第一清洗缓冲液贮存槽、第二清洗缓冲液贮存槽、该循环贮存槽及该反应室的可弯曲性中间层隔板，其中该流体匣进一步提供流体流动控制结构以限制该流体样品、该第一及第二严格清洗缓冲液仅单向地经由该等管道流动通过该反应室。

本发明将利用本发明的塑胶流体匣及外部致动器，在一系列叙述进行不同分析的不同结构的实例中进一步描述。

本发明经由下列实施例进一步加以详细描述，但这些实施例仅用以例示说明本发明的具体实施态样，并非用以对本发明范围作任何限制。任何熟悉此项技术的专家可轻易达成的修饰及改变均包含在说明书及权利要求的范围内。

实施例 1：免疫分析

图 2 的塑胶流体匣可在反应室 34 中固定化一或多种抗体 35 而用于进行免疫分析。首先，将含有未知浓度的一或多种抗原或抗体或生物分子核酸放入贮存槽 31 中，然后将线性致动器重复地驱动将样品自贮存槽 31 以泵灌注至反应室 34。然后使样品与固定化抗体 35 反应一段设定时间。在一段设定的反应时间后，然后将样品自反应室 34 经过出口 36 排出。然后将清洗缓冲液放入贮存槽 31 中并重复驱动外部线性致动器将清洗缓冲液以泵灌注经过反应室 34 并排出口 36。此种清洗步骤可视需要重复进行。含有与可侦测分子，例如辣根过氧化物酵素、碱性磷酸酵素及萤光标签共轭化的特异性二级抗体溶液，放入贮存槽 31 中，然后将二级抗体溶液重复地驱动线性致动器以泵灌注至反应室 34 中。在一段预定时间后，将溶液以泵灌注排出口 36。然后将反应室 34 以前述的相似方式清洗。使用酵素共轭物时，将基质溶液放入贮存槽 31 中并以泵灌注至反应室 34 中。然后基质将与先前与提供可侦测分子的固定化抗体反应所捕获的酵素进行反应。为增进分析效果，反应室 34 可维持在恒定 37℃ 下。

根据本发明，塑胶流体匣不需构装成单一流体传送及分析装置。图 3 显示构装成五种流体传送及分析装置的塑胶匣。此种装置可由在反应室 34 中提供固定化抗体而进行免疫分析。在此反应室并不构装成广角矩形区域，而为类似毛细尺寸的弯曲通道空间。此种构形以浪费的空间提供更均匀的流动通过反应室。为进行免疫分析，将含有未知浓度的一或多种抗体放入贮存槽 34 中，并将清洗缓冲液放入贮存槽 42 中。贮存槽 43 保持空的以提供空气清洗，并将对二级抗体共轭物特异的基质溶液放入贮存槽 45 中。将所有的贮存槽连接至相似于图 1 的泵结构并自所连接的贮存槽经过反应室 46 提供泵灌注至废液槽 49。另提供第二反

反应室 47 作为对照,并由止回阀 48 将贮存槽 41 的样品分离出。在此装置中进行免疫分析的方法相当于前述用于单一流体构形,但不同的是每种个别分离的反应试剂系包含在个别的贮存槽中,并利用个别的外部线性致动器以个别的泵结构灌注。首先,连接至贮存槽 41 相对于泵的外部线性致动器重复地驱动,直到样品填满反应室 46。在一段预定反应时间后,将样品利用连接至相对于样品贮存槽 41 的泵或连接至空气清洗槽 43 的泵灌注至废液贮存槽 49 中。随后将清洗缓冲液由重复地驱动连接至相对于清洗贮存槽 42 的泵结构的外部线性致动器,以泵灌注至反应室 46 中。清洗循环及空气清洗可视需要重复。然后将二级抗体藉由重复地驱动连接至相对于贮存槽 45 的泵结构的外部线性致动器,以泵灌注至反应室 46 中。在一段预定反应时间后,将此二级抗体利用连接至贮存槽 45 的泵或连接至空气清洗槽 43 的泵自反应室 46 排出。反应室 46 随后以如前方式清洗。将基质由重复地驱动连接至相对于贮存槽 44 的泵结构的外部线性致动器,以泵灌注至反应室 46 中。在一段预定反应时间后,将基质自反应室排出并以贮存槽 42 的清洗缓冲液取代。免疫分析的结果可随后透过第一基层以光学测量方法确定。

再者,以本发明塑胶流体匣进行的反应,不需限定为在静止液体中所进行的反应。图 4 显示根据本发明塑胶流体匣建构成提供经过反应室的连续流体移动。在此构形中,贮存槽 51, 52 及 53 连接至相似于图 3 的五种流体构形的个别泵结构,但在此为连接至中间循环贮存槽 56。泵结构 57 连接至循环贮存槽 56 以提供流体连续循环,自循环贮存槽 56 通过反应室 55 再流回至循环贮存槽 56 中。以此种方式,流体可循环通过反应室而不停止。此种流体移动可提供较好的混合效果,较快的反应时间及使样品与反应室 55 的固定化物质反应完全。将泵结构 58 连接使得其可提供流体自循环贮存槽 56 以泵灌注至废液槽 54 中。相似于前述的免疫分析可藉由在反应室 55 中固定抗体在此装置中进行。

将含有未知浓度的抗原或抗体样品放入循环贮存槽 56 中,将二级抗体共轭物溶液放入贮存槽 52 中,将基质溶液放入贮存槽 53 中,并将清洗缓冲液放入贮存槽 51 中。剩余的方法与前述方法相同,并加上将流体转移至循环贮存槽 56 及自循环贮存槽 56 转移,并在所有反应时间内连续地循环。

实例 2: DNA 杂交

本发明的系统也可用于进行 DNA 杂交分析。利用图 4 的塑胶流体匣,将一或多种 DNA 探针固定在反应室 55 中。将含有一或多种萤光标记并扩增的未知序列的 DNA 流体样品放入贮存槽 52 中。将第一严格清洗溶液放入贮存槽 51 中,将第二严格清洗溶液放入贮存槽 53 中。将反应室维持在 52℃ 的恒定温度下。将样品藉由重复地驱动连接至相对于贮存槽 52 的泵结构的线性致动器,移转至循环贮存槽 56 中。然后将样品藉由重复地驱动连接至相对于泵结构 57 的线性致动器,循环经过反应室 55。将样品连续循环一段预定杂交时间,一般为三十分鐘至二小时。然后将样品利用驱动泵结构 57 及 58 以相反方式自循环贮存槽 56 及反

应室 55 排出。然后将第一严格清洗溶液由重复地驱动对应于连接至贮存槽 51 的泵结构的线性致动器，移转至循环贮存槽中。随后将缓冲液以前述相同方式循环经过反应室 55。在一段预定清洗时间后，将缓冲液自反应室 55 及循环贮存槽 56 排出。然后将第二严格清洗缓冲液以相似于前述的方式移转至循环贮存槽 56 并循环经过反应室 55。在第二清洗缓冲液排出后，DNA 杂交的结果可以荧光显影、比色法、冷光检测或生物素-链霉抗生素蛋白-酵素检测读出。

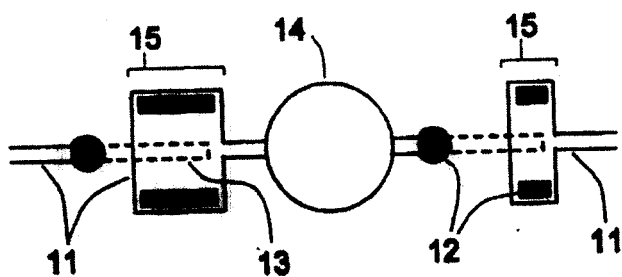


图1A

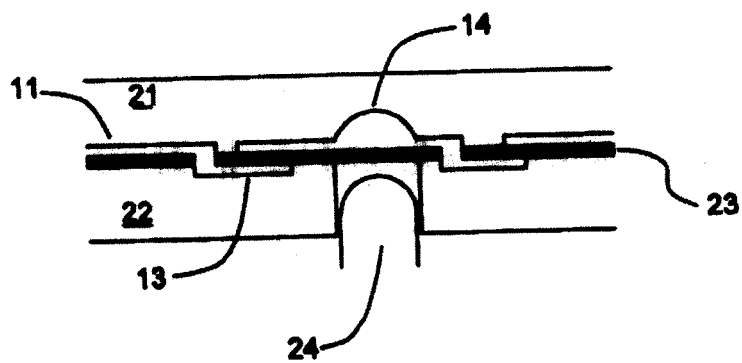


图1B

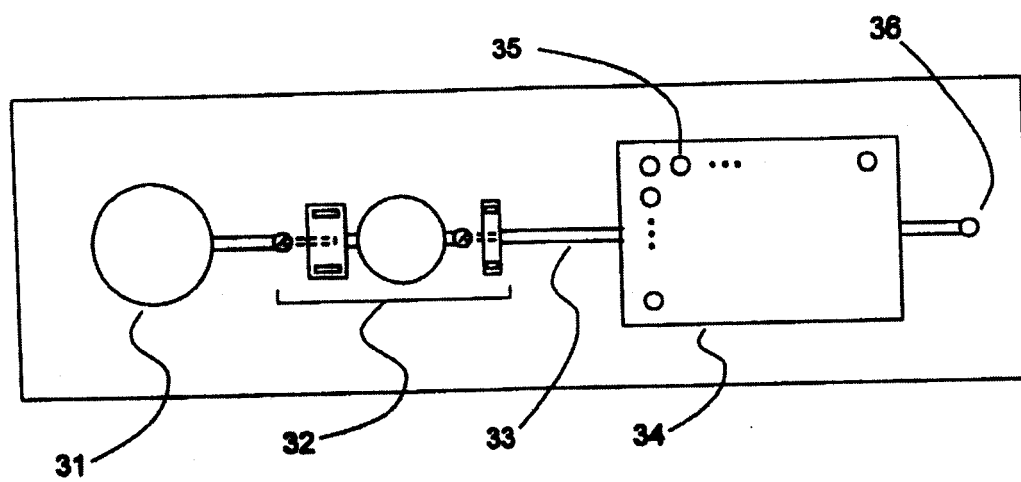


图2

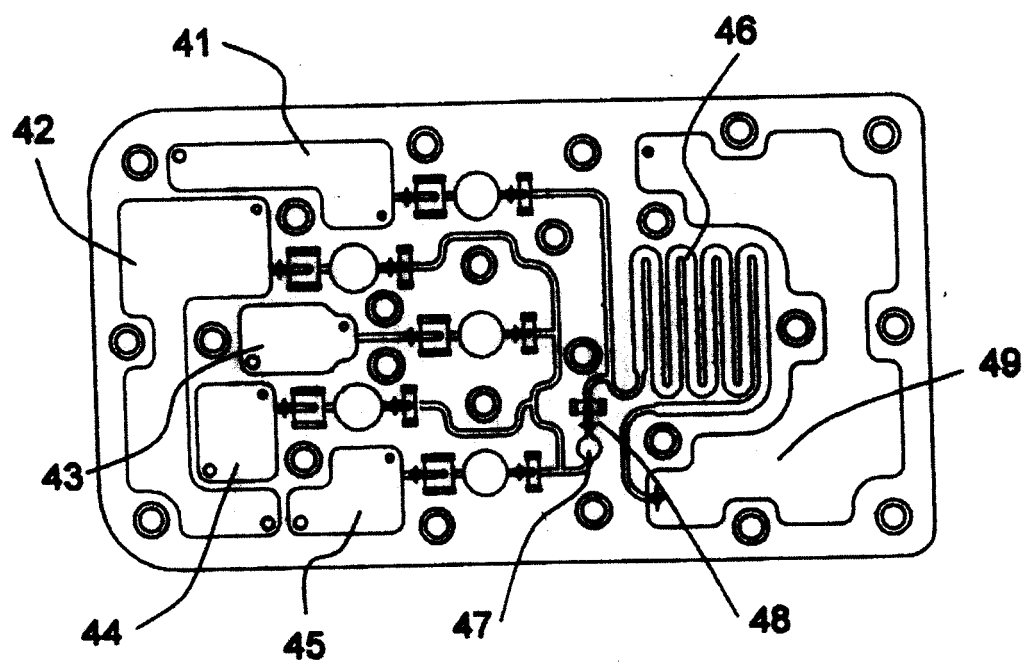


图3

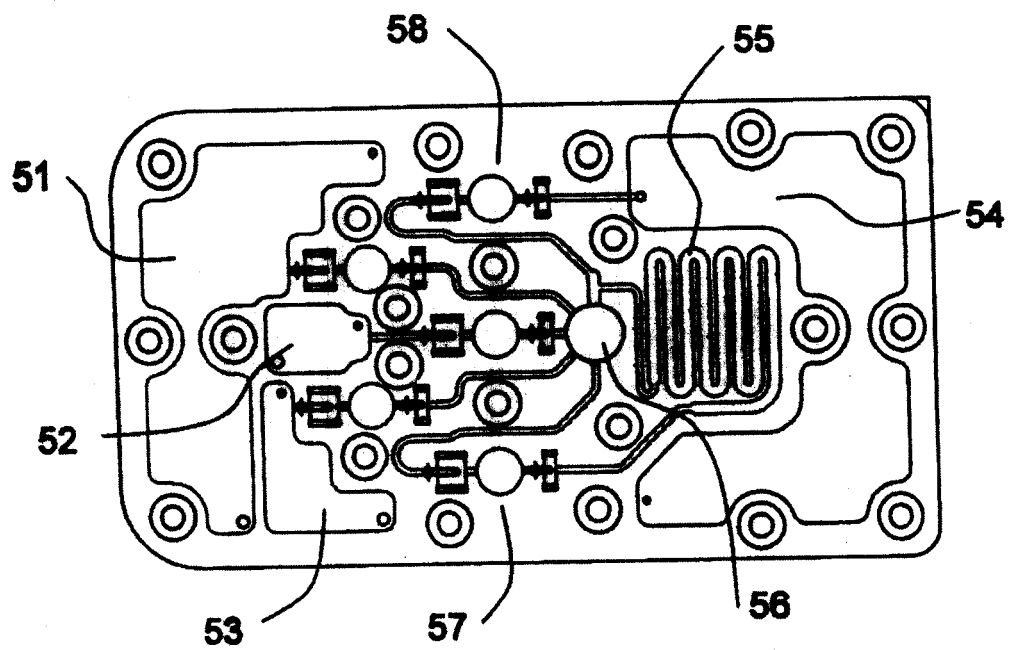


图4

专利名称(译)	微流体传送及分析系统		
公开(公告)号	CN1548957A	公开(公告)日	2004-11-24
申请号	CN200410043573.9	申请日	2004-05-12
申请(专利权)人(译)	洹艺科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	洹艺科技股份有限公司		
[标]发明人	韦雅各 张平 王绍祖 陈启桢 洪荣一		
发明人	韦雅各 张平 王绍祖 陈启桢 洪荣一		
IPC分类号	B01L3/00 F04B43/02 F04B43/04 G01N33/53 G01N35/00 C12N15/09 C12P19/34		
CPC分类号	B01L2300/0816 B01L2300/0867 B01L2300/0883 B01L2400/0481 F04B43/02 B01L2400/0605 B01L2200/10 F04B43/043 B01L2400/0638 B01L2300/0887 B01L3/502738 B01L3/50273 Y10T436/2575		
优先权	10/437046 2003-05-14 US		
其他公开文献	CN100394184C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种微流体传送及分析系统。包括一具至少一个透过毛细通道的流体单向流动控制结构及外接式线性致动的塑胶流体装置，其连接至灌注结构的反应室。此装置包括二个塑料基层及密闭于二基层界面之间的可弯曲的中间层隔板，以在其中形成一个或多个毛细尺寸口管道、至少一个流体贮存槽、至少一接口、至少一泵室及至少一透过该管道连接至该泵室的反应室。此系统宜用于进行免疫分析和进行DNA杂交分析，或用来在反应室中合成一系列的寡核苷酸。并能避免普遍使用的自动化滴管所造成的交叉污染问题。

