

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000 - 304754

(P2000 - 304754A)

(43)公開日 平成12年11月2日(2000.11.2)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 35/10			G 0 1 N 35/06	K
B 0 1 F 3/08			B 0 1 F 3/08	Z
G 0 1 N 1/00	101		G 0 1 N 1/00	101 K
	1/36			33/48 E
	33/48			H

審査請求 未請求 請求項の数 29 O L (全 67数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 38177(P2000 - 38177)

(22)出願日 平成12年2月10日(2000.2.10)

(31)優先権主張番号 60/119807

(32)優先日 平成11年2月12日(1999.2.12)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 594199337

オルソ - クリニカル ダイアグノスティクス,
インコーポレイティド
アメリカ合衆国,ニューヨーク 14650,ロチェスター,
インディゴ クリーク ドライブ 100

(72)発明者 メリット エヌ . ジャコブス

アメリカ合衆国,ニューヨーク 14450,フェアポート,
フォックスボロー テラス 3

(74)代理人 100077517

弁理士 石田 敬 (外 4名)

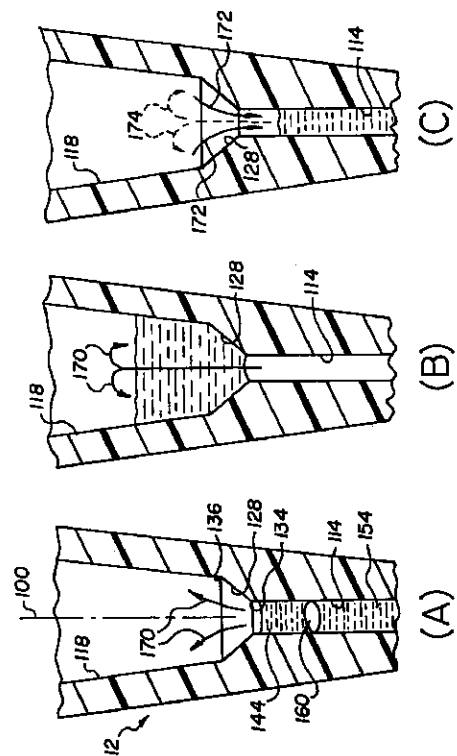
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 液体を混合するための方法及び装置

(57)【要約】

異なる二つの内径間の過渡区域を通過するように液体の大部分を強制的に移動させて回転混合を引き起こすようにした、使い捨て吸引プローブ先端部の内部で液体を混合するための装置及び方法。本装置及び方法は、血液を凝集させるのに使用することができ、ひいては血液型分類に使用することができる。プローブ先端部は単一の一体部品を含むこと、又は独立した二つの部分を含むことができる。過渡区域は、内径間の境界がシャープであっても滑らかであってもよい。

図 2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 a) 異なる複数の内径を有する内部キャピティを具備したプローブ先端部を用意し、

b) 前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c) 前記液体の少なくとも大部分を、前記キャピティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

液体の速度×粘度の表面張力に対する比として定義される、前記工程 c) における混合から得られる毛管数が約 0.01 を上回ることがないため、前記混合工程 c) の際に形成されたいかなるテール部も最小となることを特徴とする方法。

【請求項 2】 工程 c) の毛管数が約 0.001 を上回ることがないため、前記液体が混合される際に連行されたいかなる気泡もより容易に前記液体から除去されることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】 前記いかなる気泡も、前記複数の液体の間に、前記キャピティの前記内径の大きい方を有する部分における液体の混合を妨害する量よりも少ない容量で前記プローブ先端部に吸引されることを特徴とする、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】 a) 異なる複数の内径を有する内部キャピティを具備したプローブ先端部を用意し、

b) 前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c) 前記液体の少なくとも大部分を、前記キャピティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

前記キャピティ部は、独立しているが結合可能な二つの先端部を含み、さらに液体の吸引の間に、前記内径の一方の搭載可能な先端部をその他方の内径の前記先端部の上に搭載する工程を含み、液体間のキャリーオーバー汚染が防止されることを特徴とする方法。

【請求項 5】 追加の各液体を吸引した後に前記先端部を取り外し、そして前記プローブ先端部に追加の液体を吸引する前に新規な先端部を取り付けることを特徴とする、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】 前記搭載可能な先端部が、それが搭載される前記先端部の内径よりも大きな内径を有することを特徴とする、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】 前記搭載可能な部分が搭載されている前

記先端部が、さらに有意に異なる値の二つの内径を含むため、前記異なる値を有する内径間の境界区域を通過する前記液体の流れがさらに液体の回転混合を提供することを特徴とする、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】 前記異なる値を有する内径の大きい方が、前記搭載可能な先端部の最大内径と少なくとも同等の大きさであることを特徴とする、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】 前記異なる値を有する内径の大きい方が、前記異なる値を有する内径の小さい方の値の少なくとも 3 倍であることを特徴とする、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 前記搭載可能な先端部の前記内径の最大値が、前記異なる値を有する内径の小さい方の値の少なくとも 3 倍であることを特徴とする、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 11】 a) 異なる複数の内径を有する内部キャピティを具備したプローブ先端部を用意し、

b) 前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c) 前記液体の少なくとも大部分を、前記キャピティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

前記内径は各々前記キャピティ部のフロースルー横断面積測定値であり、そして前記内径の大きい方の前記フロースルー横断面積は前記内径の小さい方のフロースルー横断面積の少なくとも 3 倍であることを特徴とする方法。

【請求項 12】 前記液体の一方が全血であり、そして前記移動工程が凝集した細胞がばらばらになりにくいような混合のみを引き起こすことを特徴とする、請求項 1、4 又は 11 に記載の方法。

【請求項 13】 a) 異なる複数の内径を有する内部キャピティを具備したプローブ先端部を用意し、

b) 前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c) 前記液体の少なくとも大部分を、前記キャピティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

前記より大きな内径が、(1) 第一先端部としてその少なくとも一部がプローブ先端部のより小さな内径よりもはるかに大きな内径を有するテーパ付き先端を選択

し、そして(2)前記テーパ付き先端を、工程bの前記先端部の周囲に搭載した結合カラーを使用して、より小さな内径を有する前記プローブ先端に結合することによって得られることを特徴とする方法。

【請求項14】 a)異なる複数の内径を有する内部キャビティを具備したプローブ先端部を用意し、
b)前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c)前記液体の少なくとも大部分を、前記キャビティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

工程bで提供される液体の全量が、すべての液体がより大きな内径を有する前記部分中に移動した場合に、当該より大きな内径が移動した全液体の高さよりも大きい方が、移動した全液体の高さの2倍よりは小さいため、工程cでの混合が最高となることを特徴とする方法。

【請求項15】前記混合をプローブ先端の実質的な攪動又は振動を伴わずに行うことを特徴とする、請求項13又は14に記載の方法。

【請求項16】 a)異なる複数の内径を有する内部キャビティを具備したプローブ先端部を用意し、
b)前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c)前記液体の少なくとも大部分を、前記キャビティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、

工程cが、前記液体の少なくとも大部分を、少なくとも前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分と、前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分の両端部に位置した前記キャビティのより大きな内径の部分との間で前後に移動させる工程を含むため、液体が、前記より小さな内径のキャビティ部分の一端ではなく前記両端部を越えて移動するので液体の回転による混合効率が高くなることを特徴とする方法。

【請求項17】前記液体を、前記前後移動の反復回数7.5回以内で、1秒当たり約50マイクロリットルの流速で、約10秒以内に完全に混合することを特徴とする、請求項16に記載の方法。

【請求項18】先端部内に液体を吸引した後に液体を混合するためのプローブ先端部であって、

内径の異なる3つの連結されたキャビティを画定する壁を含み、その区画の一つは中央区画として末端区画を形

成する他の二つの間に挟まれており、隣接する二つのキャビティは各々過渡区域壁により連結されており、そして前記内径は、前記二つの隣接キャビティにおいて、液体が前記過渡区域壁を通過して移動する際に液体の回転混合を引き起こすのに十分なほど異なり、一つのキャビティの前記過渡区域は、最中央のキャビティが他の二つの末端キャビティのいずれかに向けて過渡するにつれ増加する前記内径の分散によって形成されていることを特徴とするプローブ先端部。

【請求項19】前記末端キャビティの一つが、前記中央キャビティを画定している壁に着脱可能に取り付けられた壁部分によって画定されていることを特徴とする、請求項18に記載のプローブ。

【請求項20】前記末端キャビティの少なくとも一つの内径が、前記値の異なる内径のより小さい方の値の少なくとも3倍であることを特徴とする、請求項18又は19に記載のプローブ。

【請求項21】所定の波長の光を透過することができる壁を含む中空容器の内部で凝集反応の強度を測定する方法であって、

a)第一の内径を有する前記容器の第一キャビティの内部に試料と凝集剤との混合物を用意し、

b)前記混合物を、前記第一の内径よりも実質的に小さい第二の内径を有する第二キャビティに移し、

c)前記工程bの際に前記所定の波長の光線の前記第二キャビティ内部の液体を走査し、前記10%部分は前記第一キャビティに最も近い部分であり、

d)前記工程cの走査後、前記光線による前記10%部分により吸収又は散乱された光の量を検出し、

e)前記混合物を前記第一キャビティに移して戻し、

f)工程b~dを、凝集した材料の一部が凝集していない材料から分離されるまで少なくとも一回繰り返し、そしてg)前記工程dで検出された吸光度又は散乱から凝集量を算出する各工程を含む方法。

【請求項22】前記移し工程が液体を第一キャビティから前記第二キャビティへ下方に移動させるものであるため、工程fの分離において重力が助力となることを特徴とする、請求項21に記載の方法。

【請求項23】前記工程gが、起こった凝集の%、すなわち強度を示すものとして、凝集反応を表示する走査された容量の予め選定されたパーセントにおいて可能な全吸光度の何%が検出されるかを測定する工程を含むことを特徴とする、請求項21又は22に記載の方法。

【請求項24】前記検出工程dが、ヘモグロビンのピーク吸収波長の約540nmの輻射線を使用することを特徴とする、請求項21に記載の方法。

【請求項25】前記検出工程dが、散乱した輻射線の量を検出して、溶血による干渉を回避することを特徴とする、請求項21に記載の方法。

【請求項26】全血において血球細胞を凝集させる方

法であって、

a) プローブに取り付けた使い捨て先端部に全血を吸引し、前記先端部は、過渡区域によって互いに連結された、内径が有意に異なる少なくとも二つの部分を有し、

b) その後、同一の先端部内に凝集試薬を吸引し、そして

c) 前記血液と試薬を、液体全体として、まず全体を前記部分の一方に、次いで全体を前記部分の他方に、全血の細胞の凝結を引き起こすに十分な回数、前後に動かし、凝結した細胞と血漿とを分離する各工程を含む方法。

【請求項27】 前記細胞を前記先端部の出口オリフィスの近傍に沈降させ、d) その後、前記細胞を前記先端部から分出して先端部に血漿のみを残留させることを特徴とする、請求項26に記載の分離方法。

【請求項28】 さらに、e) 前記先端部から前記残留血漿の少なくとも一部を、その血漿の免疫アッセイを実施するのに適した反応ウェルの中に分出する工程を含むことを特徴とする、請求項27に記載の分離方法。

【請求項29】 前記凝集試薬が高分子電解質又は抗体であることを特徴とする、請求項26に記載の分離方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、吸引プローブの先端部の内部で二種の液体をそれらの間の反応を確実にしめるために混合するための装置及び方法に関する。

【0002】

【従来の技術】米国特許第5,773,305号及び同第5,174,162号明細書により、血液のような液体試料と希釈剤とをプローブ先端部の内部で、まず双方の液体を当該先端部内に吸引し、次いでこれらの液体を当該先端部の残部よりも内径の大きな混合チャンパーへとさらに引き上げることによって混合することが知られている。その混合は、例えば、液体の大部分を上下に何回も往復させることにより達成することができる。

【0003】米国特許第5,773,305号明細書中の実施例では、液体を拡大チャンパーに保持し、そのチャンパー内で単に前後に振動を与えることにより混合を行っている。その図3を見ると、単に内径の拡大により創出された不連続ステップを越えて液体を拡大チャンパーに吸引するだけでは、混合物を創成するには非効果的であることが明らかである。すなわち、不連続ステップを越える単一の動きは、流体を均質には混合しないように示される。液体間には、最初に吸引された時に気泡も含まれ得る。吸引された液体の本体間のクロスオーバー汚染を、先端部の外側の周囲の不活性オイルシールドを放逐することにより防止することが好ましい(図7~図11)。

【0004】一般に、このような構成は、ピペットから

二種の液体をより直径の大きな容器(混合チャンパー)に移し入れ、その容器の内部で液体を垂直方向に振動させて混合しようとするものと同等である。混合は比較的多い容量についてこのように起こり得るが、少量、例えば、全体で100~600マイクロリットルの容量については効果的でない。すなわち、直径が一定の流路においては、本発明のように容量が小さい場合には慣性混合が抑えられる。この現象のため、均質混合を達成するためには、液体を混合チャンパー内で前後に20回も繰り返し動かす必要がある。このような混合工程の繰り返しは時間の無駄となるため、改良が望まれる。

【0005】さらに、交差汚染はこのようなオイルシールドを用いることによるのみ防止可能であるというのは実情ではない。すなわち、場合によっては、最初に吸引された液体は、単に希釈剤による反復洗浄により、又は拭き取りにより、先端部から除去され得る。いずれにしても、洗浄が不十分であることがわかる場合には、オイルシールドの使用よりも信頼できる汚染防止法が必要であった。(オイルシールドは、先端部の外部周辺には複数の分配ノズルが配置されるため、先端部の周囲で完全に形成されることが保証されているものではない。)その上、タンパク質の中にはオイルのシールド効果を破壊するものもある。

【0006】米国特許第5,174,162号明細書の実施例では、混合すべき液体の全部を拡大混合チャンパー内に完全に移動させ、当該チャンパーの外部へ完全に移動させ、次いでその中に戻す、等を行う。表面15におけるシャープな移行は乱流混合16を引き起こす(図2)。これは上記'305号特許の方法よりも効率的な混合法である。にもかかわらず、上記'162号特許に記載されているような混合装置においても改良が必要である。例えば、図2の形状についての最適化が何ら記載されていない。吸引される際の複数の液体を分離するために気泡を使用することについては何も記載がない。しかしながら、上記'305号特許に記載されているように、このような気泡は交差汚染を有効に防止する。ただ、どのような気泡も、混合中に迅速に排除されなければならない。

【0007】さらに、上記'162号特許は、液体6のバルク容器の内部の二種の液体間の、液体4の直後に液体6を吸引した時の交差汚染を防止することについては、明らかに何ら教示がない。上記'305号特許のオイルシールドを上記'162号特許のプローブに適用することができるようにも見えるが、このようなオイルシールドには上述のような欠点がある。したがって、オイルシールド法以外に、交差汚染から防護する別の方法が望まれる。

【0008】上記'162号特許の教示の別の欠点は、異なる二種の液体を境界15を横断して前後に移動させた場合、液体の一方又は両方の混合されない「テール

部」が拡大チャンバー又はより狭い吸引部のいずれかにコーティングとして残留し得ることである。このような残留テール部は、液体の本体が境界15を横断して移動した時に混合されないため、そのようなテール部は望ましくない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】このように、二種の液体を専らプローブで混合するように設計されたプローブにおいて既に実質的な開発がなされているが、改良の必要性が残っている。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上述の必要な改良を提供する混合方法及びその混合を内部で行うためのプローブ先端部を発明した。より詳細には、本発明の一側面によると、

a) 異なる複数の内径を有する内部キャビティを具備したプローブ先端部を用意し、

b) 前記プローブ先端部の一部の内側に複数の液体を吸引により提供し、

c) 前記液体の少なくとも大部分を、前記キャビティのより小さな内径を有する部分とより大きな内径を有する部分との間で少なくとも数回前後に移動させ、前記より大きな内径とより小さな内径とは、液体がこれらの内径間を移動する際に混合されるに十分な液体の回転を提供するに十分なものである各工程を含む複数の液体を混合する方法であって、液体の速度×粘度の表面張力に対する比として定義される、前記工程cにおける混合から得られる毛管数が約0.01を上回ることがないため、前記混合工程cの際に形成されたいかなるテール部も最小となることを特徴とする方法が提供される。

【0011】本発明の別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、前記キャビティ部は、独立しているが結合可能な二つの先端部を含み、さらに液体の吸引の間に、前記内径の一方の先端部をその他方の内径の先端部の上に搭載する工程を含み、液体間のキャリオーバー汚染が防止されることを特徴とする方法が提供される。

【0012】本発明のさらに別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、前記内径は各々前記キャビティ部のフロースルー横断面積であり、そして、混合効率を最大化するために、前記内径の大きい方の前記フロースルー横断面積は前記内径の小さい方のフロースルー横断面積の少なくとも3倍であることを特徴とする方法が提供される。

【0013】本発明のまたさらに別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、前記より大きな内径が、(1)第一先端部としてその少なくとも一部がプローブ先端部のより小さな内径よりもはるかに大きな内径を有するテーパ付き先端を選択し、そして(2)前記テーパ付き先端を、より小さ

な内径を有するプローブ先端に結合することによって得られることを特徴とする方法が提供される。

【0014】本発明のまたさらに別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、工程bにおける液体の全量が、すべての液体がより大きな内径を有する前記部分中に移動した場合に、当該より大きな内径が全液体の高さよりも大きい、全液体の高さの2倍よりは小さいため、工程cでの混合が最高となることを特徴とする方法が提供される。

10 【0015】本発明のまたさらに別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、工程cにおいて、前記液体の少なくとも大部分を、少なくとも前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分と、前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分の両端部に位置した前記キャビティのより大きな内径の部分との間で前後に移動させるため、液体が、前記より小さな内径のキャビティ部分の一端ではなく前記両端部を越えて移動するので液体の回転による混合効率が高くなることを特徴とする方法が提供される。

20 【0016】本発明のまたさらに別の側面によると、上記工程a～cを含む複数の液体を混合する方法であって、工程cにおいて、前記液体の少なくとも大部分を、少なくとも前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分と、前記より小さな内径を有する前記キャビティ部分の両端部に位置した前記キャビティのより大きな内径の部分との間で前後に移動させるため、液体が、前記より小さな内径のキャビティ部分の一端ではなく前記両端部を越えて移動するので液体の回転による混合効率が高くなることを特徴とする方法が提供される。

30 【0017】本発明のまたさらに別の側面によると、先端部に液体を吸引した後に液体を混合するためのプローブ先端部であって、内径の異なる3つの連結されたキャビティを画定する壁を含み、その区画の一つは中央区画として末端区画を形成する他の二つの間に挟まれており、隣接する二つのキャビティは各々過渡区域壁により連結されており、そして前記内径は、前記二つの隣接キャビティにおいて、液体が前記過渡区域壁を通過して移動する際に液体の回転混合を引き起こすのに十分なほど異なり、一つのキャビティの前記過渡区域は、最中央のキャビティが他の二つの末端キャビティのいずれかに向けて過渡するにつれ増加する前記内径の分散によって形成されていることを特徴とするプローブ先端部が提供される。

【0018】本発明のまたさらに別の側面によると、所定の波長の光を透過することができる壁を含む中空容器の内部で凝集反応の強度を測定する方法であって、

a) 第一の内径を有する前記容器の第一キャビティの内部に試料と凝集剤との混合物を用意し、

50 b) 前記混合物を、前記第一の内径よりも実質的に小さい第二の内径を有する第二キャビティに移し、

c) 前記工程 b の際に前記所定の波長の光線で前記第二キャビティ内部の液体を走査し、その 10% 部分は前記第一キャビティに最も近い部分であり、

d) 前記工程 c の走査後、前記光線による前記 10% 部分により吸収又は散乱された光の量を検出し、

e) 前記混合物を前記第一キャビティに移して戻し、

f) 工程 b ~ d を、凝集した材料の一部が凝集していない材料から分離されるまで少なくとも一回繰り返す、そして

g) 前記工程 d で検出された吸光度又は散乱から凝集量 10 を算出する各工程を含む方法が提供される。

【0019】本発明のまたさらに別の側面によると、全血において血球細胞を凝集させる方法であって、

a) プロープに取り付けた使い捨て先端部に全血を吸引し、前記先端部は、過渡区域によって互いに連結された、内径が有意に異なる少なくとも二つの部分を有し、

b) その後、同一の先端部に凝集試薬を吸引し、そして

c) 前記血液と試薬を、液体全体として、まず全体を前記部分の一方に、次いで全体を前記部分の他方に、全血 20 の細胞の凝結を引き起こすに十分な回数、前後に動かし、凝結した細胞と血漿とを分離する各工程を含む方法が提供される。

【0020】本明細書中の用語「プロープ先端部」又は「プロープ先端部分」とは、記載した特徴、すなわちオリフィス、当該オリフィスから間隔を置いた内部チャンパー及び当該オリフィスとチャンパーとを結ぶ通路とを含み、吸引プロープに取り付け可能であり、その内部に液体を吸引することができる、使い捨てが可能であってもなくてもよい容器のすべてを意味する。したがって、 30 先端部又は先端部分は、Columbus の米国特許第 4,347,875 号に記載されているような常用の使い捨て可能な先端部であること、又は底にオリフィスがあるカップもしくはウェル、例えば、米国特許第 5,441,895 号に記載されているカップの底にオリフィスを付けたもの、であることができる。先端部は、一体型であってもよいし、複数の部分で構成されていてもよい。

【0021】したがって、本発明の有利な特徴は、従来の装置に比べ、先端部に吸引された二種の液体の混合が 40 先端部の内部でより一層迅速に起こるといことである。本発明の関連する有利な特徴として、吸引のために用いられる先端部の先に、混合するための追加の装置は一切必要がないことが挙げられる。

【0022】本発明の別の有利な特徴は、実施態様の中に、洗浄を繰り返す方法よりも時間の浪費が少ない安価な機械装置によって、吸引される液体間のキャリオーバー汚染を防止できるものがあることである。上記のキャリオーバー汚染を防止するための機械装置の関連する利点は、本発明の先端部の製造適性をより高めることである。その他の有利な特徴については、添付の図面に照ら 50

して実施態様の詳細な説明を参照することにより明らかとなる。

【0023】

【発明の実施の形態】好ましい実施態様の説明

以下、本発明を特定の好ましい実施態様との関連で説明する。ここで、一つは体液である一種以上の液体の混合を、好ましい形状の一つ又は二つの部分を有する使い捨て可能な先端部を用いて実施する。第一液体が吸引された後の第二の液体のキャリオーバー汚染を防止するため、第二を第一から分離又は第一へ添加することが好ましく、第一液体は血液であることが好ましく、第二液体は凝集溶液であり、そして混合は、好ましくは血液型分類を起こさせるために好適な流速及び剪断速度において行う。さらに、本発明は、先端部が分割される部分の数や形状に関わらず、第二部分が独立して付加されるか既に存在するか、又は汚染を防止するために用いられるか否かに関わらず、液体の組成物に関わらず、それらの添加順序に関わらず、先端部内部での流速や剪断速度に関わらず、そして混合の最終結果が何であるかに関わらず、有用である。但し、先端部の形状は、液体がキャビティ部分間を流れる際に液体の回転混合が引き起こされるに十分な異なる直径を有するキャビティ部分間を強制的に混合液体を移動させることにより混合を誘発することが条件である。すなわち、迅速混合を引き起こすのは、一定の内径の内部で液体を振動させるのではなく、径の変化における反復移動である。このため、体液と相互作用する試薬は、例えば、免疫アッセイ用の試薬とすることができる。

【0024】あまり効果的ではない方法は、図 1 に示した従来技術の方法である。これは、実質的に上記米国特許第 5,773,305 号の教示によるものである。このような構成では、吸引プロープ 12 は、端部 36 の開口部 34 から、内径がキャビティ 14 よりも有意に幅広い混合キャビティ 18 にかけて延びている狭いキャビティ又は通路 14 を含む。これら二つの内径の間には、比較的なシャープな境界を有する過渡領域 28 が設けられている。通路 40 に部分真空を適用して、まず液体 44 を、次いで第二の液体 54 を、それらの間に気泡（図示なし）を伴うか又は伴わずに、キャビティ 18 の中に吸引する。最初の '305 号特許に記載されているように、両方の液体が通路 14 からキャビティ 18 に移動する最初は、二つの液体が分離されたままであるため、完全な混合を生ぜしめることはない。実際の混合は、二つの液体を、キャビティ 18 の内部で、過渡領域 28 の端部とキャビティ 18 の反対端部 32 との間で振動（矢印 30）させることにより達成される。さらに、液体 44 が表面 36 を被覆しないように、また液体 54 を吸引する時にその本体を汚染しないように、プロープの外部表面 36 にオイルシールドが存在すると有用であると教示されている。上述のように、このような技法では、混合

を達成するのに20回もの多数の振動(矢印30)が必要である。

【0025】'305号特許においても本発明においても、先端部内の液体の動きは、先端部がピペットに付いている間に、ピストンシリンダー(図示なし)内部のピストンの動作により、部分圧又は部分真空を生ぜしめることにより達成される。例えば、ピストンは手動で作動させることができる。

【0026】本発明(図2A~2C)によると、単に、液体の大部分を強制的に毎回過渡区域128を通過する10ように流動させることにより、振動の回数を3回程度に削減することができる。これは、順に、両方の液体の大部分を強制的に過渡区域に隣接した一つのキャビティからそのように隣接した他のキャビティに流し込み、その後戻すことにより確実となる。本明細書中の用語「液体の大部分」が移動するとは、液体の90%以上を意味する。

【0027】より具体的には、好ましくは使い捨て可能な先端部112の形態にあるプローブは、従来技術のものと同様に構築され、より狭いキャビティ114は過渡区域128によってそのより狭いものに連結されたより広いキャビティ118に通じている。双方のキャビティを通して共通の対称軸100が伸びていることが好ましい。この例では、過渡区域は、各キャビティとの接合部における比較的シャープな縁部134、136によって画定されている。「比較的シャープな」とは、接合部における曲率半径が25 μ m未満であることを意味する。これより大きな半径は、区域128と各キャビティとの間に滑らかな過渡を生ぜしめる傾向がある。実際には、このような比較的大きな曲率半径を使用することによる滑らかな過渡は好ましいが、必須ではない。このような滑らかな過渡は、血液型分類のための血液凝集が混合の目的である場合には、より良好な結果を与える。すなわち、比較的大きな曲率半径を使用する滑らかな過渡は、本体の流速、等その他すべての事項が同等である場合に、凝集物を破壊させにくくする。このような比較的大きな曲率半径を使用した滑らかな過渡の一例を図4に示す。例えば、図4の R_1 及び R_2 は、それぞれ1.2mmとすることができる。

【0028】構造は、一般的に従来技術の図1のものと10同一であるため、主な違いは、少なくとも図2(A)~(C)に関しては、プローブ112の使用にある。すなわち、第一の液体144をキャビティ114の中に吸引し、次いで気泡160を吸引する。その後、第二の液体154を、両方共依然としてキャビティ114の中に存在するように(図2A)、吸引する。

【0029】次に、両方の液体の大部分、好ましくは全部を、区域128を越えてキャビティ118の中に吸引する(図2B)。過渡区域128によって、液体が混合し始めるに十分な回転(矢印170)が発生する。しか

しながら、図1に示したように、この工程だけでは十分ではない。次に、液体の大部分、好ましくは全部を、キャビティ118から過渡区域128を越えてキャビティ114の中に排出する(図2C矢印172)。さらに、このプロセスを、完全な混合が起こるまで繰り返す(幽霊矢印174)。含まれる液体に依存して、完全な混合に必要なキャビティ114からキャビティ118への通過回数が3回だけの場合もあるが、それ以上行うことは可能である。

【0030】図3は、一般に最適な混合にとって好ましい特定のパラメーターを説明するものである。プローブ112は、従来技術のものと同様に、開口部134とその開口部に隣接した外部表面136とを有する。しかしながら、内径 D_2 により与えられるキャビティ118のフロースルー横断面積 A_2 は、キャビティ114の内径 D_1 により与えられるフロースルー横断面積 A_1 の9倍以上であることが好ましい。さらに、内径 D_1 及び D_2 は一般には一定であるため、それぞれのキャビティは円筒形である。したがって、 D_2 は D_1 の3倍以上であることが好ましい。 D_1 及び D_2 の有用な例として、全高 H_2 (図5)を約3mmとした場合に、例えば、それぞれ0.8mmと3.2mmが挙げられる。

【0031】さらに、混合中の気泡160(図2A)の分散を助長するために、少なくともキャビティ118の、また必要に応じてキャビティ114についても、壁面を問題の液体で濡れやすい、すなわちメニスカスの接触角が小さくなる材料から選択する。このため、周知のように、その表面に用いられる材料は混合すべき液体が関係してくる。最も好ましくは、(第二の吸引中の液体間の交差汚染を防止する上で助けになるように存在する)気泡を最大限に分散させるため、系の毛管数が0.001を上回らないようにする。ここで毛管数は、常用されているように、液体の移動速度(矢印170)を液体混合物の表面張力で割った値である。

【0032】しかしながら、汚染を回避するために気泡を存在させることは必須ではない。'305号特許に記載されているようにオイルシールドを使用してもよいし、また別法として、第二の液体を吸引する前にプローブ112を拭き取ることもできる。その場合、毛管数をより高くすることができるが、0.01を上回らないことが好ましい。これより高くなると、キャビティ間の液体の動きが、出口キャビティに液体の「テール部」を残留せしめ、これが混合過程を遅延させ、さらには荒廃させる可能性があるからである。

【0033】気泡を使用する場合にはさらに、気泡の大きさ又は容積が、液体が過渡区域を通過して流れる際の液体の混合を妨げるようなものよりも小さくしなければならないことも考慮事項となる。このため、気泡は、プローブ内容物がキャビティ118(図3)の中に吸引された後には、気泡(図3中、図示なし)が二種の液体を完

全に分離し続けるような大きさ、すなわちキャピティ118の内径に等しい直径を有してはならない。したがって、図3の場合、気泡の容積は $(D_2)^3 / 6$ 未満でなければならない。

【0034】血液型分類のために混合を行う場合には、上記の項目の他、さらなる因子が重要となる。すなわち、回転作用(図3、矢印170)が所望の血液細胞凝集を著しく破壊することを防止するため、過渡区域128を通過するいずれの方向における流速も、壁に沿った剪断速度が約 20 sec^{-1} を超えない速度であることが好ましい。これは、もちろん、液体の粘度の、直径 D_1 、 D_2 の、及び角度 θ の関数にもなる。

【0035】混合の最終用途とは関係なく、図3の実施態様を、乾燥形態でキャピティ114又は118のいずれかに体液と反応する試薬をコーティングすることにより、一つの液体のみ、すなわち体液のみを開口部134において吸引する必要があるように使用することも可能である。このため、凝集用試薬溶液を、キャピティ114又は118のいずれか又は両方をコーティングすることにより製造中に提供することができる。その後、このコーティングは、適当なキャピティに全血が吸引された時に再溶解される。他の用途のため、免疫アッセイ用抗体のような他の試薬をキャピティ壁面に永久的に結合させることもできる。

【0036】プローブがすべて一物品である必要はなく、また汚染をオイルシールドや拭き取りだけで防止する必要もない。その代わりに(図4)、プローブが二つの部分112A及び112Bを含み、その一方(112B)が他方(112A)の内径の少なくとも一部とは異なる、例えば、これより小さい、内径を有するものが有用である。その目的は、第一部分の上から嵌合する部分に、残留性の第一の液体44が残留し得る開口部134に隣接した外部表面136を被覆させることである。図示したように、部分112Bのキャピティ165の内径 D_3 は内径 D_1 と実質的に同等であるが、部分112Aの内径 D_2 よりも小さい。使用する際には、部分112Bを存在させずに液体44を部分112Aに吸引する。次いで、部分112Aの上に部分112Bを滑り摩擦のあるはめあいによって取り付けられる。この時点で、液体44を下方(矢印180)に動かして部分112Bの幽霊位置182にまで下げ、160に一定量の空気を残存させて次の工程における気泡を形成させる。その工程は、先端部を合体したプローブを、部分112Bのみが液体54(図示なし)の本体中に挿入されるように動かすことである。次いで、吸引により、182に位置した液体44と、気泡160と、一定量の第二の液体とをプローブ内に吸引させる。所望の量の第二液体を存在させた時点でプローブを液体54の本体から離し、そして上述のように液体の大部分を過渡区域128を通過するように繰り返し動かして混合を進める。

【0037】この構成は、部分112Aに残留する第一液体が液体54の本体と接触しないようにすることと、得られる部分112A及び112Bの長さが容易に型どられることとの両方を確実にする。この実施態様では、また曲率半径 R_1 及び R_2 で与えられる二つのキャピティと区域128との間の滑らかな過渡を利用するいずれの態様でも、上記の角度 θ は、二つの半径により与えられる壁の定義の間にある区域128の壁のある点に引いた接線A-Aに対して測定される。

【0038】図5に、プローブ112の別の好ましい態様を示す。すなわち、部分112又は112Aのキャピティ118は、その中に吸引された全液体の高さ H_2 よりも値が大きくなるように選ばれた直径 D_2 を有する。この関係の利点は、混合効率を高めることが見い出されたことである。しかしながら、同時に、 D_2 は H_2 の2倍よりも小さくすべきである。そうでない場合には、キャピティ118における容量が少なくなり、液体をキャピティ114の中に押し込む(矢印200)ために圧力をかけた時に、中央でバーストする危険があるからである。このようなバーストは、もちろん、混合過渡区域を横断する液体の移行を妨害する。

【0039】このため、好適な特徴のすべてを上述のように利用する場合には、全血試料及び凝集溶液を、液体の大部分をキャピティ118に移動させ且つ液体の大部分をキャピティ114に戻すサイクルを3回だけ行った後に十分に混合することができる。上述したように、プローブが二つの部分を含む場合、付加される部分の内径が、被覆されるプローブ部分の内径と同等であることは必須ではない。残りの実施態様は、実際にそれが当てはまらないものを説明する。既述のものと同等の部分には同一の参照番号を付し、それに識別記号として'又は"を付した。

【0040】このため、図6Aの実施態様では、第二部分112B'は、キャピティ165'の内径 D_3 がキャピティ118'の内径 D_2 よりもかなり小さい。実際には、プローブ112'はキャピティ118'及び165'を有する分離可能な二つの部分112A'及び112B'に分割され、その間に混合を引き起こす過渡区域128'が設けられる。すなわち、区域128'は、 270° である外角(図5に示す)によって形成される。

【0041】使用時には、液体44'を部分112A'の中にそれ自身で吸引する。次いで、図6Aに示したように、部分112B'を部分112A'に固定し、そして液体44'を部分112B'の中に押し下げる(矢印200)。次いで、部分112B'が液体54'の本体の中に、好ましくは開口部134'において気泡160'を伴いながら、挿入するようにプローブを動かす(図6B)。吸引(矢印202)によって、液体44'、気泡160'及び液体54'のすべてをキャピテ

ィ165'を介して過渡区域128'を通過し、キャビティ118'の中に移動させ、よって回転による混合(矢印170')を開始する。その後、矢印200及び202によるすべての液体の振動運動を、混合を完了するのに必要な回数繰り返す。

【0042】別法として(図6C)、付加部分112B'を外部表面136A'の開口部134A'の近傍に配置した時に設けられる過渡区域を、図4の実施態様のような滑らかな過渡区域128'とすることもできる。この場合には、内径の過渡が滑らかなものとなるよう10に、部分112A'及び112B'が開口部134A'において適切に整合することが確実になるよう注意しなければならない。しかしながら、同時に、開口部134A'において実質的に正確に整合することを除き、より小さい内径は、部分112A'ではなく部分112B'と共に残存する。

【0043】図6(A)及び(B)の反対を図7(A)~(H)に示す。すなわち、付加される第二の先端部分の内径が、過渡区域において、既に液体を吸引するのに用いた第一の先端部分の内径よりも実質的に大きい。さ10らに、この実施態様は、過渡区域に隣接した二つのキャビティが円筒である必要はなく、それらの対称軸100に沿ってテーパが付いていてもよいことを説明する(図7B)。

【0044】このように(図7A)、プローブ部112A"は、開口部134A"からポンプ(図示なし)に連結される上部132A"の方へ、キャビティ118"の内径が開口部から遠くに離れるにつれ大きくなるように拡張している円錐形キャビティ118"を含む。二つの部分112A"及び112B"を互いに結合するため、30コルクカラーを部分112A"の残部に固定する方式のように、開口部134A"に隣接した外部表面136A"が、テーパ形状と共に、拡大している。開口部134A"における内径は比較的小さく、例えば、約1mmである。

【0045】第二のプローブ部分112B"(図7B)は、表面136A"と摩擦的に結合するような形状にされた、すなわち拡大した内径を有する上部132B"を有する。部分112B"は、開口部134B"が位置する下部に向けてテーパ付けられ、前記拡大された内径40から大幅に縮小され、実際には開口部134A"とほぼ同一であることが好ましい内径を有するキャビティ165"を形成する。

【0046】この実施態様の使用法は図6(A)~(B)について説明したものと同様である。このため、部分112A"がそれ自身で液体44"の本体に挿入され、アリコートを吸引する(図7A)。次いで、プローブ部分112B"をカラーの表面136A"の上に取り付ける(図7B)。その後、液体44"を部分112A"から部分112B"のキャビティの中に押し込む又50

は排出する(図7C)。次いで(図7D)、合体したプローブの部分112B"の開口部134B"を液体54"の本体に挿入し、気泡160"(図7E)をキャビティ165"の中に吸引する。

【0047】ここで、実際の混合工程のためのステージがセットされる。すなわち、図7(F)~(H)、開口部134A"における狭い内径により形成された過渡区域を通過するように液体のすべてを前後に吸引、排出する。図7(F)において、まずキャビティ118"の中に引き込み(矢印202")、図7(G)に示した状態を作りだす。次いで、それをキャビティ165"の中に排出し戻し(図7H、矢印200")、回転混合が起こる。この過程を、液体の性質により、二つの液体が均質になるまで、又はできるだけ均質になるまで、必要により繰り返す。

【0048】上述した第二の液体を吸引する前に第一部分112A"の上に第二のプローブ部分112B"を取り付ける実施態様のすべてにおいて、別の態様は、このような第二の吸引とすべての液体の第一部分への吸引に続いて、第二部分を取り外し、そしてその第二部分の代わりに第一部分の上に、第二液体の吸引と同様の方法でさらに別の第三の液体をプローブ中に吸引する目的で、内径の等しい、小さい又は大きい清浄な第三の部分を取り付けるというものである。

【0049】異なる内径間の混合過渡区域を追加することができる。すなわち、内径の変化する隣接区画は二つしか存在しない、ということは必須ではない。実際、このような区画を三つ連続して連結したものを含むプローブ先端(図8、9)は、上述のすべての実施態様の混合において最も効率的であることが証明された。最も好ましくは、このような構成において、中央の区画は過渡区域の内径が最も小さい。既述のものと同等の部分には同一の参照番号を付し、それに識別記号として上付き添字' "を付した。

【0050】こうして(図8)、図4の設計と同様、プローブ112'"は、永久プローブ(図4)の上に取り付けられたキャビティ118'"の上部と、過渡区域壁128'"によりキャビティ118'"に一体連結された下部キャビティ114'"とを含み、キャビティ118"の内径 D_2 は D_1 よりも大きく、好ましくは D_1 の3倍以上である。図4に記載したように、キャビティ114"の外側部分に追加のキャビティ165"を設け、矢印210において吸引が起こる。しかしながら、キャビティ165'"はキャビティ114'"に一体連結されており、三つのキャビティのすべては共通の壁、好ましくは成形された壁で形成されている。さらに、キャビティ165'"の内径 D_3 は内径 D_1 よりも有意に大きく、図4の実施態様には存在しない過渡区域220を作り出している。 D_3 の値は、 D_2 の値と同様、先端部112'"に吸引された液体の大部分、好ましくは全部がキ

ャピティ114' " からキャピティ165' " の中へ過渡区域220を通過して移動する時に回転混合が引き起こされるように選定される。したがって、 D_2 と同様、 D_3 'は D_1 'の3倍以上であることが最も好ましい。 D_3 'と D_1 'とは、同一であっても異なってもよい。必須ではないが、キャピティ165' " の内径は、液体が最初に吸引される(矢印210)端部において D_3 ' " まで狭くなってもよい。

【0051】さらに、図9に示したように、先端部112' " のキャピティ165' " を、最初の液体が吸引された後に部分112B' " を付加でき、部分112B' " が外部表面136' " の上に残存している第一液体を被覆するように、図4の実施態様にあるように着脱可能な先端部分112B' " の壁によって形成することができる。次いで、第二液体の吸引を、図9の矢印210' " に示したように行う。しかしながら、図4の実施態様とは異なり、キャピティ114' " 及び165' " の接合部における内径 D_3 'は内径 D_1 'よりも大きく、図4にあるように同等ではないので、図8の区域220と同様の過渡区域220' " が形成され、液体がキャピティ114' " からキャピティ165' " に移動する際に回転混合を有効に引き起こす。この例では、過渡区域における D_3 'は、 $D_1 + T$ の値の2倍に等しい。ここで「T」は外部表面136' " を与える壁の厚さである。このような例では、 D_3 'は、Tの値に応じて、 D_1 'の3倍以上であってもなくてもよい。図8の実施態様の場合と同様に、キャピティ165' " の内径は、液体が最初に吸引される端部において D_3 ' " まで狭くなってもよい。

【0052】過渡区域を通過するように前後に繰り返し移動させる最少のサイクル数で完全に混合される上で最も効率的であることが立証されたのが図8及び図9の実施態様である。例えば、図9の実施多様では、全体で20 μ Lの二種の液体が、50 μ L/秒の流速で、このような前後の移動を7.5回繰り返すだけで、約10秒で完全に混合された。

【0053】凝集反応

上述したように、この混合作用の好ましい用途は、血液型分類を可能ならしめるに十分な血液細胞の凝集を作り出すことである。この目的のため、液体の一方はもちろん全血とし、その他方は凝集試薬とし、どちらかの順序で先端部に吸引する。このような溶液のいずれを使用してもよい。非常に好ましい例は、細胞上清から処方された抗-B IgMクローン(濃度1、20及び31 μ g/mL)と0.004%のFD&C青色素第1番とを含有する0.1モル/Lのリン酸で緩衝化された生理食塩水に3%のウシ血清アルブミンを含むものである。濃度はすべて質量%である。

【0054】このような血液型分類の強い反応、弱い反応又は陰性反応の検出を混合先端部の外側で行う必要は

ない。代わりに、先端内部での凝集分離の量、すなわち血液型分類反応の強度を検出することによって達成することができる。

【0055】図8に目を向けると、この検出は、より狭い先端部114' " におけるある位置において吸光度又は光散乱を走査することによって行うことが好ましい。(本発明の他のいずれの実施態様でも使用することもできる。)すなわち、矢印300の位置において、適当な光学素子、例えば、常用のファイバーオプティクスを使用して、所定の波長の光を送り、次いで先端部を透過させる。混合が完了してから約10分後に測定した吸光度を、矢印302に概略的に示したように検出するか、又は、光散乱量を矢印304に示したように検出する。後述するように、これらの結果は発生した凝集量に応じて異なる。吸光度を使用する場合、適当な波長として540nm及び/又は830nmが挙げられる。前者は、ヘモグロビンのピーク吸収であるため、特に有用である。304における光散乱量の検出は、溶血による干渉を回避するために特に有用である。

【0056】図10及び図11に、吸光度及び照射波長540nmを使用した方法を示す。図10の場合には、液体を、十分に混合されてから10分間経過後に部分118' " から下方へ部分114' " まで通過させる。通過量の0~約18%において、吸光度は空気の通過のため0から上昇する。その後、液体のみがスキャナーにより通過され、そして液体の最初の部分は、反応が陰性か、弱いか又は強いかに関わらず、非常に吸収性である。しかしながら、液体の約50%が走査された後は、達成された凝集量に応じて結果が離れてくる。強い反応は赤血球を十分に凝集させるので、約65%後は、液体は実質的に細胞を含まずに透明となる。弱い反応は、吸光度が減少するが、容量の65%を走査した後でもなお強い反応よりはるかに高い。

【0057】別法として、液体を、部分165' " から上方に狭い部分114' " の中に、そして続けて上方に部分118' " の中に移動させて走査を行うこともできる。結果を図11に示す。結果の差別化は、容量の0~18%を走査した時点で起こる。すなわち、スキャナーを通過して流れる最初の部分は、強い反応の場合、細胞のほとんどすべてが互いに凝集しているため、赤血球細胞を含まない液体部分である。しかし、弱い反応の場合、図11の中央の曲線が示すように、容量の最初の部分には一部の赤血球細胞が未凝集のまま残存する。

【0058】本発明の先端部における凝集反応として有用なものは、血液型分類の凝集だけではない。凝集剤により引き起こされる凝集は、全血の細胞画分の血漿からの分離を先端部で行うことを可能にする。すなわち、凝集試薬を、高分子電解質のような常用の凝集試薬、例えば、ポリリジン、又は抗グリコフォリンのような抗体から選ぶ場合、上述の先端部内の混合は、すべての赤血球

細胞の凝集を引き起こすだけでなく、凝集した細胞を血漿から物理的に分離することにもなる。細胞は先端部の底部、例えば、図9の先端部又はキャピティ165' "に沈降する。この際、これらの細胞を、先端部のオリフィスから小出しすることにより放出し、血漿のみを残留させることができる。次いで、その血漿を適当な試験用プラットフォームに、例えば、米国特許第5,441,895号に記載されているような免疫アッセイ用のウェル又はカップの中に、分配することができる。

【0059】

【実施例】以下は本発明の混合工程の非限定的な実施例である。

例1

内径の異なる二つの毛管を有するプローブを構築した。小さい方の毛管の内径は0.557mmとした。大きい方の毛管の内径は2.29mmとした。小さい方の毛管の長さは41mmとし、最大で10 μ Lの液体を保持する。大きい方の毛管の長さは30mmとした。B型の血液4 μ Lを小さい方の毛管の底部末端からポンプで吸引した。次いで、そのポンプで小さい方の毛管に1 μ Lの空気を吸引し続けた。その後、上記の凝集試薬4 μ Lを吸引した。気泡は、小さい方の毛管において二種の液体を分離した。

【0060】次いで、ポンプを駆動して液体のすべてを小さい毛管と大きい毛管との間を過渡区域を横断するように0.5 μ L/秒の流速で移動させた。大きい方の毛管において球形の気泡が表面張力によって発生し、そして二種の液体が出会い混合し始めた。ポンプが流体を下方に小さい方の毛管に0.5 μ L/秒の流速で流し込むと、気泡は排除された。

【0061】二種の流体の混合物を二つの毛管間で0.5 μ L/秒の一定流速で振動させた。この運動の最初のサイクルの終了時には凝集構造の形成が目視できた。第二サイクルの終了時には小さい毛管において相分離が非常に顕著となり、透明な上清が上部に、そして凝集した細胞構造物が底部に存在した。この段階では、上清中、なお非常に小さな凝集細胞が多少は目視できた。第三サイクルの終了時には相分離は完全となり、上清に残存する細胞構造物はほとんど皆無であった。3回のサイクルの総時間は2分であった。弱い反応の場合にはさらに長時間を要することが予測できる。

【0062】完全な混合が達成された後には、凝集結果から血液型を決定することがもちろん必要である。本発明を構成するものではないが、これを実施する方法の一つは、凝集反応の一定時間内に凝集量を測定するために混合物を透過する光透過率を目視測定する方法である。チャートに対比用に使用し、ユーザーは、合体した液体がその時間に存在しているプローブ部分において観測された凝集又は凝集量から、血液型を推定する。

【0063】例2

*図9に示したようなプローブを構築したが、但し、先端部165' "を線C-Cのところで切断し、D₃の内径が約2.54mmで、切断線C-Cが約1mmで、円錐角が約20°で、そして長さが10mmの円錐形の先端部を製作した。先端部114' "の長さは約15mmで、そして内径D₁は約1mmとした。先端部118' "の内径D₂は約4.7mmとした。10 μ Lの量の血液を円錐部分165' "を介して先端部の全体に吸引し、その後、円錐部をきれいに拭った。次いで、10 μ Lの試薬を同様に先端部に吸引し、液体の全体容量を20 μ Lとした。次いで、この全体容量を前後に移動させて、混合が完了するまで、部分118' "の中に全体を入れ、次いで部分165' "の中に全体を入れる、等を進行させた。このために要した反復回数(サイクル)は、50 μ L/秒の流速において7.5回であった。流体の全排出量は各移動方向において40 μ Lであり、完全混合に要した時間は約15秒であった。

【0064】ここに開示した本発明は、ここには具体的に開示されていない要素がなくても実施することができる。本発明をその好ましい実施態様を特に参照しながら詳細に説明してきたが、本発明の精神及び範囲内の変更及び変形が可能であることを理解されたい。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、従来技術により構築されたプローブ先端部の破断立断面図である。

【図2】図2(A)~(C)は、本発明の方法を示す、図1と類似の破断立断面図である。

【図3】図3は、特定の好適な実施態様を示す、図2と類似の破断立断面図である。

【図4】図4は、特定の好適な実施態様を示す、図2と類似の破断立断面図である。

【図5】図5は、特定の好適な実施態様を示す、図2と類似の破断立断面図である。

【図6】図6は、図2~5と類似の破断立断面図であるが、(A)は、吸引間に付加される第二先端部が第一先端部よりも狭い内径を有する別態様を示し、(B)は後続の混合工程を示し、そして(C)は別の態様を示す。

【図7】図7(A)~(H)は、図6(A)~(C)と類似の立断面図であるが、混合のための第二先端部から第一先端部への液体の流れが、内径の広い方ではなく狭い方へ動くように強制されているさらに別の実施態様を示す。

【図8】図8は、図4と類似の立断面図であるが、本発明のさらに別の実施態様を示す。

【図9】図9は、図4と類似の立断面図であるが、本発明のさらに別の実施態様を示す。

【図10】図10は、凝集反応の強度を検出する方法を示すための、先端部を介して走査する光線により走査した吸光度を液体量に対してプロットしたグラフである。

*50 【図11】図11は、凝集反応の強度を検出する方法を

示すための、先端部を介して走査する光線により走査し* *た吸光度を液体量に対してプロットしたグラフである

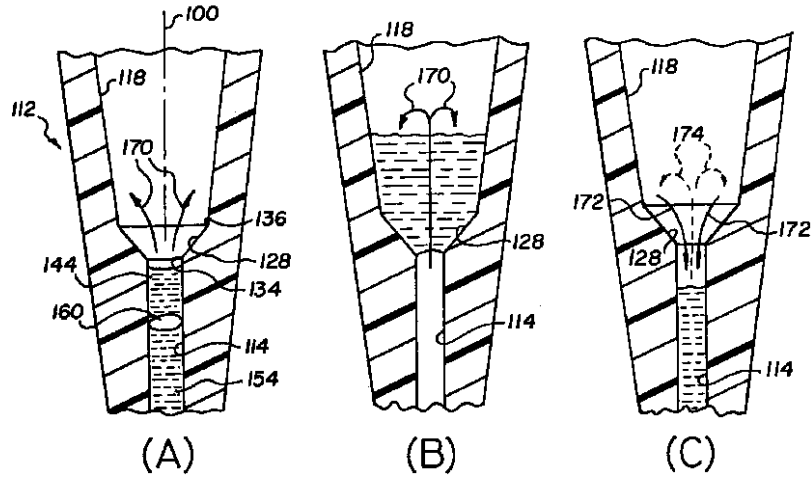
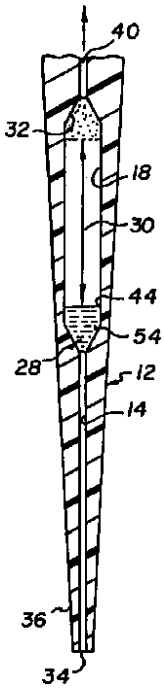
【図1】

【図2】

図1

(従来技術)

図2



【図4】

【図5】

図3

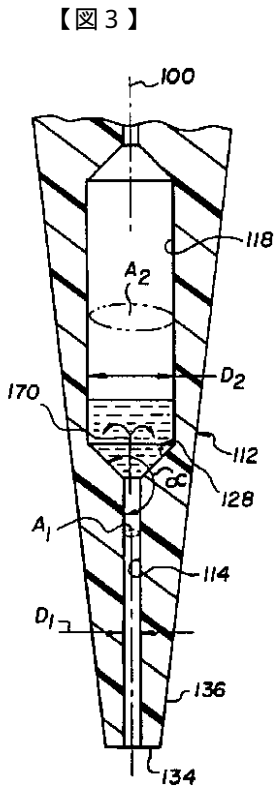
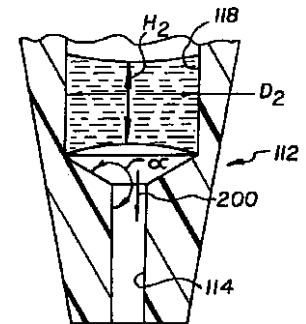
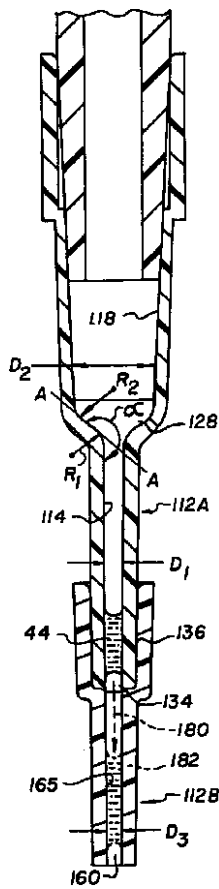
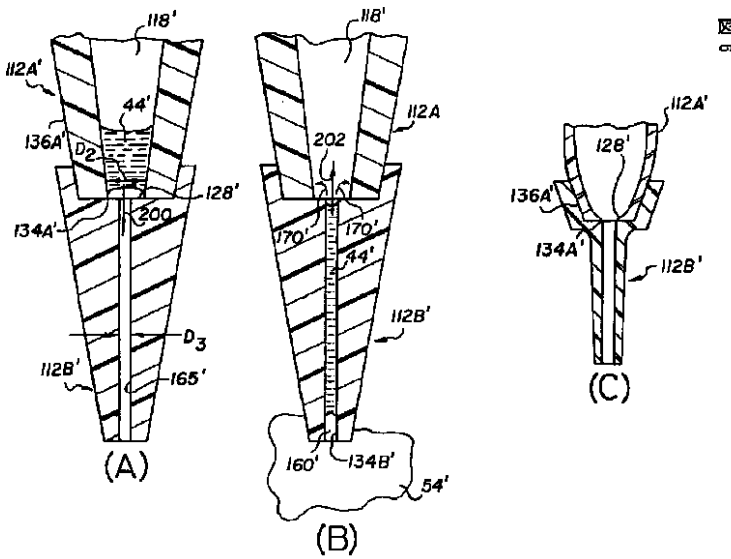


図4

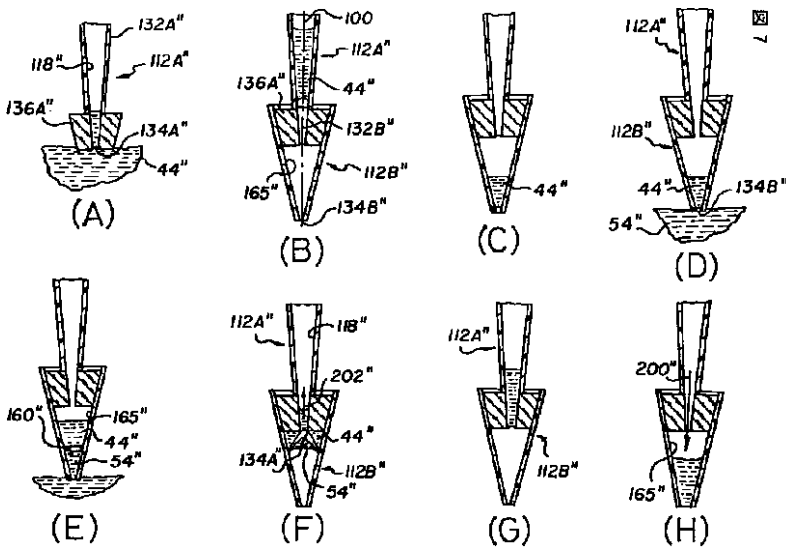
図5



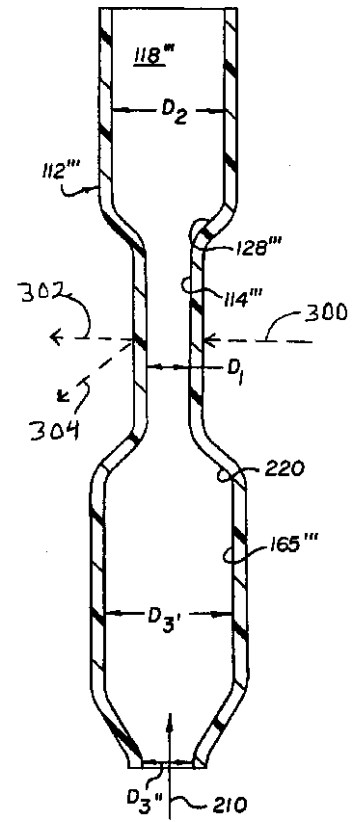
【図6】



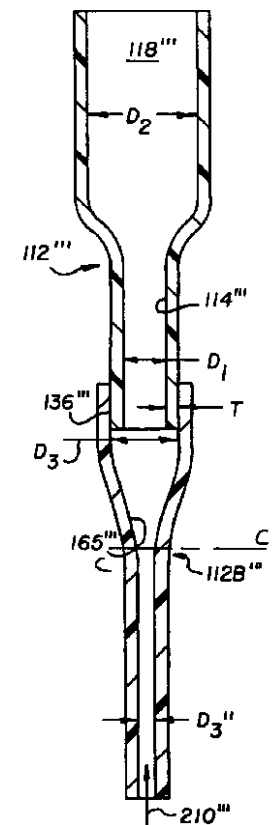
【図7】



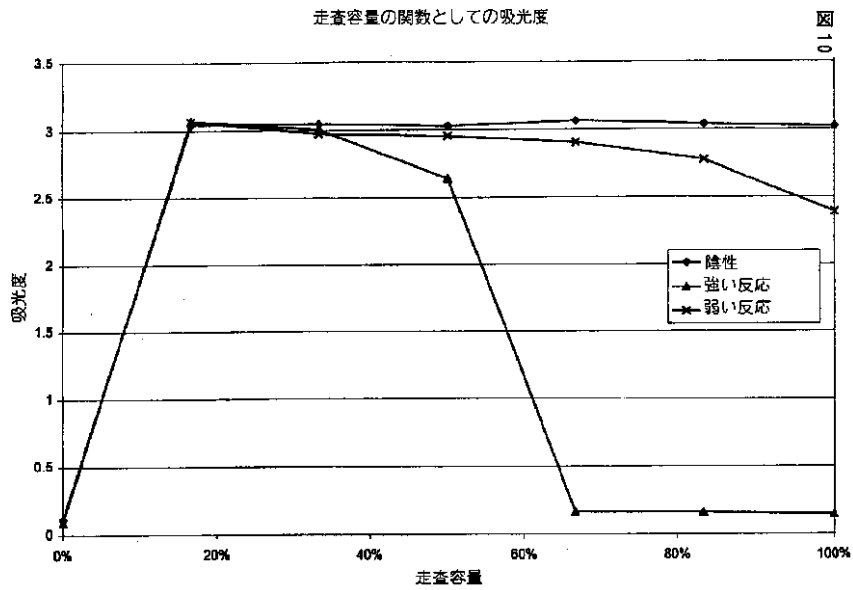
【図8】



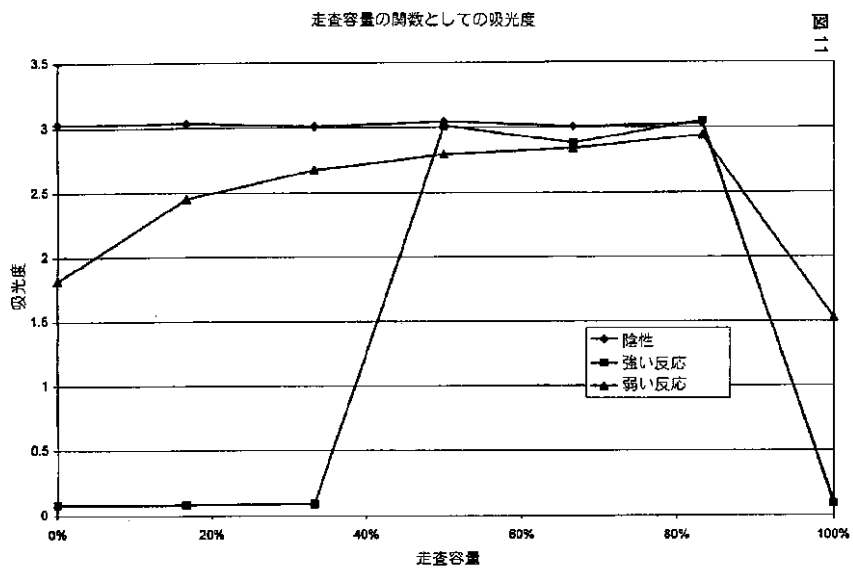
【図9】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード ⁸ (参考)
G 0 1 N 33/48		G 0 1 N 33/53	T
33/53		33/543	5 2 1
33/543	5 2 1		5 8 1 Z
	5 8 1	33/72	A
// G 0 1 N 33/72		33/80	
33/80		1/28	Y
		35/06	G

(72)発明者 ゾン デイン
アメリカ合衆国, ニューヨーク 14450,
フェアポート, ブリーズウッド コート
2

(72)発明者 ロナルド エフ・ブルックス
アメリカ合衆国, ニューヨーク 14514 -
9742, ノース チリ, ユニオン ステーシ
ョン ロード 55

【外国語明細書】

1. Title of Invention

Method and Apparatus for Mixing Liquids

2. Claims

1. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;

b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;

c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein the capillary number resulting from the mixing in said step c) does not exceed about 0.01, said capillary number being defined as the ratio of liquid velocity times viscosity and surface tension, so that any tails formed during said mixing step c) are minimized.

2. A method as defined in claim 1, wherein the capillary number of step c) does not exceed about 0.001, so that any entrained air bubble is more readily removed from said liquids as they are mixed.

3. A method as defined in claim 2, wherein said any bubble is aspirated into said probe tip in-

between said plural liquids, with a volume that is less than that which prevents mixing of the liquids in the part of said cavity having the larger of said inside diameters.

4. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

- a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;
- b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;
- c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein said cavity parts comprise two separate but matable tip portions, and said method further includes the step of mounting a mountable tip portion of one of said inside diameters onto said tip portion of the other inside diameter in-between aspiration of liquids, such that carry-over contamination between liquids is prevented.

5. A method as defined in claim 4, and further including the steps of removing said tip portion after each additional liquid is aspirated, and attaching a new tip portion before aspirating into said probe tip an additional liquid.

6. A method as defined in claim 4, wherein said mountable tip portion has a larger inside diameter than that of said tip portion on which it is mounted.

7. A method as defined in claim 6, wherein said tip portion on which said mountable portion is mounted, further includes two inside diameters of significantly different values,

so that flow of said liquids past a demarcation zone between said differently valued inside diameters also provides rotational mixing of the liquids.

8. A method as defined in claim 7, wherein the larger of said differently valued inside diameters is at least as large as the largest inside diameter of said mountable tip portion.

9. A method as defined in claim 8, wherein said larger of said differently valued diameters is at least equal to three times the value of the smaller of said differently valued inside diameters.

10. A method as defined in claim 6, wherein the largest of said inside diameter of said mountable tip portion is at least equal to three times the value of the smaller of said differently valued inside diameters.

11. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;

b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;

c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein said inside diameters are each a measure of a cross-sectional flow-through area of said cavity part, and the cross-sectional flow-through area of said larger inside diameter is at least three times the cross-sectional flow through area of said smaller inside diameter.

12. A method as defined in claim 1, 4, or 11, wherein said one liquid is whole blood and wherein said moving step causes only mixing such that cells that have agglutinated are less likely to break apart.

13. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;

b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;

c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of

liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein said larger inside diameter is obtained by i) selecting as a first tip portion a tapered tip at least a portion of which has an inside diameter that is much larger than the smaller inside diameter of the probe tip, and ii) joining said tapered tip to said probe tip having the smaller inside diameter using a joining collar mounted around said tip portion of step b).

14. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;

b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;

c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein the total amount of liquid provided by said step b) is such that if all liquid is moved into said part with the larger inside diameter, the larger inside diameter is greater than the height of the total moved liquid, but less than twice the height of the total moved liquid, so that mixing as per step c) is maximized.

15. A method as defined in claim 13 or 14, wherein said mixing is accomplished without any substantial agitation or shaking of the probe tip.

16. In a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of:

- a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;
- b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;
- c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein said step c) comprises moving at least most of the liquids back and forth at least between said cavity part with said smaller inside diameter and a part of said cavity of a larger inside diameter located at opposite ends of said cavity part of said smaller inside diameter, so that mixing efficiency is enhanced by rotation of the liquid as it moves past said opposite ends, rather than a single end of said smaller inside diameter cavity part.

17. A method as defined in claim 16, wherein said liquids are completely mixed within 7.5 repetitions of said movement back and forth at a flow rate of about 50 microliters per sec., within about 10 sec.

18. A probe tip for mixing liquids within the tip after aspiration of the liquids therein to, said tip comprising

a wall defining 3 connected cavities of unequal inside diameters one of the compartments being sandwiched as a middle compartment between the other two which form end compartments, each two adjacent cavities being connected by a transition zone wall and said inside diameters being sufficiently unequal in said adjacent 2 cavities as to cause rotational mixing of liquids as they move past said transition zone wall,

wherein said transition zone of the one cavity is formed by a variance of said inside diameter that increases in value as the middlemost cavity is transited outward into either of said other two end cavities.

19. A probe as defined in claim 18, wherein one of said end cavities is defined by a wall portion removably mounted on a wall defining said middle cavity.

20. A probe as defined in claim 18 or 19, wherein the inside diameter of at least one of said end cavities is at least equal to three times the value of the smaller of said differently valued inside diameters.

21. A method of determining the strength of an agglutination reaction within a hollow container comprising walls capable of transmitting light at certain predetermined wavelengths, comprising the steps of:

a) providing a mixture of a sample and an agglutinating reagent within a first cavity of the container, said cavity having a first inside diameter,

b) transferring the mixture to a second cavity having a second inside diameter substantially smaller than said first inside diameter,

c) scanning the liquid within said second cavity during said step b) with a beam of light at said predetermined wavelengths, said 10% portion being that portion closest to said first cavity;

d) after said scanning step c), detecting the amount of light absorbed within or scattered by said 10% portion by said beam,

e) transferring said mixture back into said first cavity,

f) repeating steps b)-d) at least once until some agglutinated material has separated from non-agglutinated material, and

g) calculating the amount of agglutination from the absorbance or scattering detected in said step d).

22. A method as defined in claim 21, wherein said transfer step moves the liquid down from the first cavity to said second cavity, so that gravity assists in said separation of step f).

23. A method as defined in claim 21 or 22, wherein said step g) comprises determining what percentage of the total possible absorbance is detected at a preselected percent of the volume scanned that is indicative of agglutinating reactions, as an indication of the % and therefore the strength, of the agglutination that has occurred.

24. A method as defined in claim 21, wherein said detecting step d) uses radiation at about 540 nm, the peak absorption wavelength of hemoglobin.

25. A method as defined in claim 21, wherein said step d) comprises detecting the amount of scattered radiation, so that any hemolysis interference is avoided.

26. A method of agglutinating blood cells in whole blood, comprising the steps of

a) aspirating whole blood into a disposable tip mounted on a probe, said tip having at least two portions with significantly different inside diameters, connected to each other by a transition zone,

b) aspirating into the same tip thereafter, an agglutinating reagent, and

c) moving said blood and reagent back and forth as a total liquid, first entirely into one of said portions and then entirely into the other of said portions, a sufficient number of times so as to cause coagulation of the cells of the whole blood, and then subsequent separation of plasma from the coagulated cells.

27. A method of separating as defined in claim 26, wherein said cells are allowed to settle adjacent to an exit orifice of said tip, and d) thereafter, dispensing said cells out of said tip, leaving only plasma remaining therein.

28. A method of separating as defined in claim 27, and further comprising the step of e) dispensing at least a portion of said remaining plasma from said tip into a reaction well adapted for carrying out an immunoassay of the plasma.

29. A method of separating as defined in claim 26, wherein said agglutinating reagent is a polyelectrolyte or an antibody.

3. Detailed Description of Invention

Field of the Invention

The invention relates to apparatus and a method for mixing two liquids within a tip on an aspirating probe, to ensure a reaction between the liquids.

Background of the Invention

It is known from U.S. Patent Nos. 5,773,305 and 5,174,162 to mix a fluid sample such as blood and a diluent, inside a probe tip by first aspirating both liquids into the tip, and then drawing said liquids further up into the tip into a mixing chamber having an enlarged inside diameter compared to the rest of the tip. The mixing can be achieved, for example, by reciprocating the mass of liquids up and down numerous times.

In the examples shown in U.S. Patent No. 5,773,305, the liquids are retained in the enlarged chamber and simply sloshed back and forth in that chamber to achieve mixing. Fig. 3 thereof makes it clear that simply aspirating the liquids into the enlarged chamber past a step discontinuity created by the enlarged inside diameter, is ineffective in creating a mixture. That is, a single movement past the step discontinuity is shown as not mixing the fluids homogeneously. An air bubble can also be included between the liquids when first aspirated. Cross-over contamination between bodies of liquid being aspirated is preferably prevented by ejecting an inert oil shield around the outside of the tip, Figs. 7 through 11 thereof.

Such a construction is generally equivalent to transferring two liquids from a pipette into a larger

diameter container (the mixing chamber) and attempting mixing by sloshing the liquids vertically within the container. Although mixing can occur in such a fashion for relatively large volumes, it is not as effective for small volumes, e.g., volumes that total 100 to 600 microliters. That is, in a constant diameter channel, inertial mixing is reduced if the volumes are small, as here. It is this phenomenon that requires the movement of the liquids back and forth in the mixing chamber, as much as 20 times, to achieve homogeneous mixing. Such reiterations of the mix step are time-consuming, and beg for an improvement.

Furthermore, it is not the case that cross-contamination is preventable only by using such an oil shield. That is, in some cases, the first-aspirated liquid can be removed from the tip simply by repeated washing with a diluent, or by wiping. In any event, should washing prove to be unsatisfactory, there has been a need for a more reliable method of preventing contamination than by using the oil shield. (The oil shield is not guaranteed to form completely around the tip just because a plurality of dispensing nozzles are disposed about the circumference of the exterior of the tip.) Furthermore, some proteins can destroy the shield effect of the oil.

In the examples of U.S. Pat. 5,174,162, all the liquids to be mixed are moved completely into the enlarged mixing chamber, completely out of the chamber, then back into it, and so forth. The sharp transition at surface 15 causes turbulent mixing, 16, Fig. 2 thereof. This is a more efficient mixing method than that of the '305 patent. Nevertheless, there are improvements that

are needed in such a mixing system as described in the '162 patent. For example, no optimization is described for the geometry of Fig. 2. Nothing is described regarding any use of air bubbles to separate the liquids as they are aspirated. As noted however in the '305 patent, such an air bubble provides an effective prevention against cross-contamination. Yet, any air bubble must be rapidly eliminated during mixing.

Furthermore, the '162 patent is notably deficient in any teaching to prevent cross-contamination when aspirating liquid 6 immediately after liquid 4, between the two liquids within the bulk container of liquid 6. Although the oil shield of the '305 patent might seem to be applicable to the probe of the '162 patent as well, such a shield has disadvantages as noted above. Alternative protection methods against cross-contamination, besides the oil-shield method, are thus desirable.

Yet another disadvantage of the teachings of the '162 patent is that when the two disparate liquids are moved back and forth across the boundary 15, unmixed "tails" of one or both liquids can be left behind as coatings on either the enlarged chamber or the narrower intake portion. Such residual tails do not get mixed when the main body of liquids is moved across boundary 15, so that the tails are undesirable.

Thus, although substantial development has already occurred in probes designed to mix two liquids entirely with the probe, there remains the need for improvements.

Summary of the Invention

We have devised a mixing method and a probe tip for doing the mixing therein, that provide the above-noted needed improvements.

More specifically, in accord with one aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids, comprising the steps of:

- a) providing a probe tip with an internal cavity having a plurality of different inside diameters;
- b) providing by aspiration a plurality of liquids inside a portion of the probe tip;
- c) moving at least most of said liquids back and forth at least several times between a part of said cavity with a smaller inside diameter and a part with a larger inside diameter, said larger and smaller diameters being sufficient to provide a sufficient rotation of liquid as it moves between diameters to cause mixing of said liquids;

the improvement wherein the capillary number resulting from the mixing in step c) does not exceed about 0.01, the capillary number being defined as the ratio of liquid velocity times viscosity and surface tension, so that any tails formed during the mixing step c) are minimized.

In accord with another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises that the cavity parts comprise two separate but matable tip portions, and the method further includes the step of mounting a tip portion of one of the inside diameters onto the tip

portion of the other inside diameter in-between aspiration of liquids, such that carry-over contamination between liquids is prevented.

In accord with still another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises the inside diameters each provide a cross-sectional flow-through area of the cavity part, and the cross-sectional flow-through area of the larger inside diameter is at least three times the cross-sectional flow through area of the smaller inside diameter, for maximum mixing efficiency.

In accord with yet another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises the larger inside diameter being obtained by i) selecting as a first tip portion a tapered tip at least a portion of which has an inside diameter that is much larger than the smaller inside diameter of the probe tip, and ii) joining the tapered tip to the probe tip having the smaller inside diameter.

In accord with yet another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises providing a total amount of liquid in step b) such that if all liquid is moved into the part with the larger inside diameter, the larger inside diameter is greater than the height of the total liquid, but less than twice

the height of the total liquid, so that mixing as per step c) is maximized.

In accord with yet another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises moving in the step c) at least most of the liquids back and forth at least between the cavity part with the smaller inside diameter and a part of the cavity of a larger inside diameter located at opposite ends of the cavity part of the smaller inside diameter, so that mixing efficiency is enhanced by rotation of the liquid as it moves past the opposite ends, rather than a single end of the smaller inside diameter cavity part.

In accord with yet another aspect of the invention, there is provided a method of mixing a plurality of liquids comprising the steps of a) through c) listed above, wherein the improvement comprises moving in the step c) at least most of the liquids back and forth at least between the cavity part with the smaller inside diameter and a part of the cavity of a larger inside diameter located at opposite ends of the cavity part of the smaller inside diameter, so that mixing efficiency is enhanced by rotation of the liquid as it moves past the opposite ends, rather than a single end of the smaller inside diameter cavity part.

In accord with yet another aspect of the invention, there is provided a probe tip for mixing liquids within the tip after aspiration of the liquids therein to, the tip comprising

a wall defining 3 connected cavities of unequal inside diameters one of the compartments being sandwiched

as a middle compartment between the other two which form end compartments, each two adjacent cavities being connected by a transition zone wall and the inside diameters being sufficiently unequal in the adjacent 2 cavities as to cause rotational mixing of liquids as they move past the transition zone wall,

wherein the transition zone of the one cavity is formed by a variance of the inside diameter that increases in value as the middlemost cavity is transited outward into either of the other two end cavities.

In accordance with yet another aspect of the invention, there is provided a method of determining the strength of an agglutination reaction within a hollow container comprising walls capable of transmitting light at certain predetermined wavelengths, comprising the steps of:

- a) providing a mixture of a sample and an agglutinating reagent within a first cavity of the container, the cavity having a first inside diameter,
- b) transferring the mixture to a second cavity having a second inside diameter substantially smaller than the first inside diameter,
- c) scanning the liquid within the second cavity during the step b) with a beam of light at the predetermined wavelengths, the 10% portion being that portion closest to the first cavity;
- d) after the scanning step c), detecting the amount of light absorbed within or scattered by the 10% portion by the beam,
- e) transferring the mixture back into the first cavity,

f) repeating steps b)-d) at least once until some agglutinated material has separated from non-agglutinated material, and

g) calculating the amount of agglutination from the absorbance or scattering detected in step d).

In accordance with yet another aspect of the invention, there is provided a method of agglutinating blood cells in whole blood, comprising the steps of

a) aspirating whole blood into a disposable tip mounted on a probe, said tip having at least two portions with significantly different inside diameters, connected to each other by a transition zone,

b) aspirating into the same tip thereafter, an agglutinating reagent, and

c) moving said blood and reagent back and forth as a total liquid, first entirely into one of said portions and then entirely into the other of said portions, a sufficient number of times so as to cause coagulation of the cells of the whole blood, and then subsequent separation of plasma from the coagulated cells.

As used herein, "probe tip" or "probe tip portion" means any vessel, disposable or not, into which liquid can be aspirated, mountable on an aspirating probe, that comprises the features noted, namely an orifice, an interior chamber spaced from the orifice, and a passageway connecting the orifice and the chamber. Thus, the tip or tip portion can be a conventional disposable tip such as is shown in U.S. Patent No. 4,347,875 by Columbus, or even a cup or well with an orifice in the bottom, such as the cup shown in U.S. Patent No. 5,441,895 but with an orifice in the bottom.

The tip can be one integral piece or provided in several portions.

Accordingly, it is an advantageous feature of the invention that more rapid mixing of two liquids aspirated into the tip, takes place within the tip than occurs with conventional devices.

It is a related advantageous feature of the invention that no additional device is needed beyond the tip that is used anyway for aspiration, to provide mixing.

It is another advantageous feature of the invention that, in some embodiments, carry-over contamination between liquids aspirated is preventable by an inexpensive mechanical device that is less time consuming than repeated washing.

A related advantage of the aforesaid mechanical device for preventing carry-over contamination, is that it renders the tip of the invention more manufacturable.

Other advantageous features will become apparent upon reference to the Detailed Description of the Embodiments, when read in light of the attached drawings.

~~Brief Description of the Drawings~~

~~Fig. 1 is a fragmentary elevational view in section of a probe tip constructed in accordance with the prior art;~~

~~Figs. 2A, 2C are fragmentary elevational views in section, similar to that of Fig. 1, but illustrating a method of the invention;~~

~~Figs. 3 - 5 are fragmentary elevational views similar to that of Fig. 2, but illustrating certain preferred embodiments;~~

Fig. 6A is a fragmentary elevational view similar to Figs. 2 - 5, except it illustrates an alternative embodiment wherein the second tip portion that is added between aspirations, has a narrower inside diameter than the first tip portion;

Fig. 6B is a view similar to that of Fig. 6A, showing the subsequent steps of mixing;

Fig. 6C is an elevational view similar to that of Fig 6A, but of an alternate embodiment;

Figs. 7A - 7H are elevational views in section similar to Figs. 6A - 6C, except showing a further additional embodiment wherein liquid flowing from the second tip portion to the first tip portion is constrained to move into a narrower, rather than wider, diameter for mixing;

Figs. 8 and 9 are elevational views in section similar to that of Fig. 4, but showing still further embodiments of the invention; and

Figs. 10 and 11 are plots of absorbance versus amount of liquid scanned by a light beam scanning through the tip, to illustrate a method of detecting the strength of an agglutinating reaction.

Description of the Preferred Embodiments

The invention is hereinafter described in connection with certain preferred embodiments, wherein mixing of one or two liquids, one of which is body liquid, is achieved using a disposable tip with one or two portions of preferred shapes, the second being

preferably separate from and added to the first to prevent carry-over contamination of a the second liquid after the first liquid is aspirated, wherein the first liquid is preferably blood and the second is an agglutinating solution, and mixing is accomplished at preferred flow and shear rates, preferably to allow blood typing to occur. In addition, the invention is useful regardless of how many and what shape portions the tip is divided into, whether a second portion is separately added or already present, or is used to prevent contamination or not, what the liquid compositions are, what order they are added, what the flow and shear rates within the tip are, and what the end result of the mixing is; provided that the tip shape induces mixing by forcing the mixing liquids to move between cavity parts with differing diameters sufficient to cause rotational mixing of the liquids as they flow between the cavity parts. That is, it is repeated movement between the transition in diameters that causes rapid mixing, rather than sloshing the liquids within a constant inside diameter. Thus, the reagent interacting with the body liquid can be reagents for an immunoassay, for example.

The less successful approach is that of the prior art, shown here as Fig. 1. This is substantially the teaching of the aforesaid U.S. Patent No. 5,773,305. In such an arrangement, an aspiration probe 12 comprises a narrow cavity or passageway 14 that leads from an aperture 34 at end 36, to a mixing cavity 18 having a significantly wider inside diameter than that of cavity 14. A transition region 28 with relatively sharp demarcations is provided between the two diameters. A partial vacuum is applied at passageway 40 to aspirate

first a liquid 44, and then a second liquid 54, into cavity 18, with or without a bubble (not shown) between them. As shown in the original '305 patent, the first time both liquids are moved from passageway 14 into cavity 18 fails to produce complete mixing, since the two liquids still remain separated. The actual mixing is achieved by oscillating the two liquids, arrows 30, within cavity 18, from an end at transition zone 28, to the opposite end 32 of cavity 18. Additionally, an oil shield is taught as useful on the exterior surface 36 of the probe, to prevent liquid 44 from coating surface 36 and contaminating bulk liquid 54 when the latter is aspirated. As noted above, such a techniques requires as much as 20 oscillations, arrows 30, to achieve mixing.

In both the '305 patent and the instant invention, movement of liquids within the tip is achieved while the tip is on a pipette, by actuation of a piston within a piston cylinder, not shown, to create a partial pressure or partial vacuum. For example, the piston can be operated manually.

In accordance with the invention, Figs. 2A - 2C, the number of oscillations can be reduced to as few as three, by simply forcing most of the liquid to flow past the transition zone 128 each time. This, in turn, is ensured by forcing most of both liquids to flow from one cavity adjacent the transition zone, into the other cavity so adjacent, and then back. As used herein, "most of the liquids" being moved means, at least 90% of the liquids.

More specifically, a probe preferably in the form of a disposable tip 112, is constructed substantially the same as that of the prior art, with a

narrower cavity 114 leading to a wider cavity 118 connected to the narrower one by a transition zone 128. A common axis of symmetry 100 preferably extends through both cavities. In this example, the transition zone is defined by relatively sharp edges 134 and 136 at the junction with the respective cavities. "Relatively sharp" means, having a radius of curvature at the junction that is less than 25 microns. Any radii greater than that tend to produce a smooth transition between zone 128 and the respective cavities. In fact, a smooth transition through the use of such greater radii of curvature is preferred, but not essential, as such a smooth transition gives better results when blood agglutination for blood typing is the goal of the mixing. That is, the smooth transition using greater radii of curvature is less likely to cause the agglutinates to be broken up, all other things such as bulk flow rates, being equal. An example of a smooth transition using such greater radii of curvature is shown in Fig. 4. For example, R_1 and R_2 for Fig. 4 can be, respectively, 1.2 mm each.

Since the structure is generally the same as for Fig. 1 of the prior art, the main distinction, at least with respect to Figs. 2A - 2C, is in the use of probe 112. That is, a first liquid 144 is aspirated into cavity 114, followed by an air bubble 160. Thereafter, second liquid 154 is aspirated in so that both are still in cavity 114, Fig. 2A.

Next, most and preferably all of both liquids are aspirated past zone 128 and into cavity 118, Fig. 2B. Transition zone 128 produces sufficient rotation, arrows 170, of the liquids as to start them to mix. As shown in

Fig. 1, however, just this step is not enough. Next, most and preferably all of the liquids are ejected from cavity 118 past transition zone 128 and into cavity 114, arrows 172, Fig. 2C. Still further, the process is repeated, phantom arrows 174, until complete mixing has occurred. Depending on the liquids involved, only three passages from cavity 114 into cavity 118 may be necessary for complete mixing, although more can be used.

Fig. 3 illustrates certain preferred parameters for optimal mixing in general. Probe 112 has an aperture 134 and an exterior surface 136 adjacent to that aperture, similar to that of the prior art. However, the cross-sectional flow-through area A_2 of cavity 118, provided by inside diameter D_2 , is preferably no smaller than nine times that of the cross-sectional flow-through area A_1 provided by inside diameter D_1 , of cavity 114. Furthermore, the diameters D_1 and D_2 are generally constant so that their respective cavities are cylindrical. Thus, D_2 is preferably at least equal to three times D_1 .

Useful examples of D_1 and D_2 include, e.g., 0.8 mm and 3.2 mm, respectively, for use with a total height H_2 , Fig. 5, of about 3 mm.

Still further, to aid in the dispersal of air bubble 160, Fig. 2A, during mixing, the wall surface of at least cavity 118, and optionally also cavity 114, is selected from materials that are easily wetted by the liquids in question, that is, produce a low contact angle at the meniscus. Thus, the materials used for the surfaces are a function of the liquids to be mixed, as is well-known. Most preferably, for maximum dispersal of

the air bubble (present to aid in preventing cross-contamination between liquids during the second aspiration), the capillary number for the system does not exceed 0.001, where capillary number, as is conventional, equals liquid velocity of movement, arrow 170, divided by surface tension of the liquid mixture.

However, it is not essential that an air bubble be present to avoid contamination. An oil shield can be used as in the '305 patent, or alternatively, probe 112 can be wiped off before aspirating the second liquid. In that case, the capillary number can be larger, but preferably not exceeding 0.01, since above that, the movement of the liquids between cavities can produce "tails" of liquid remaining in the exit cavity that delay or even ruin the mixing process.

If an air bubble is used, a further consideration is that the size or volume of the bubble must be less than that which will prevent mixing of the liquids as they flow past the transition zone. Thus, the air bubble must not be so large that, after aspiration of the probe contents into cavity 118, Fig. 3, the bubble (not shown in Fig. 3) continues to totally separate the two liquids - that is, has a diameter equal to the inside diameter of cavity 118. Thus, for Fig. 3, the bubble volume must be less than $\pi(D_2)^3/6$.

In the event the mixing is being done for blood typing, a further factor is important in addition to those noted above. That is, to prevent the rotational action, arrows 170, Fig. 3, from significantly breaking apart the desired blood cell agglutination, the flow velocity in either direction past the transition zone 128 is preferably that which provides a shear rate along the

wall which does not exceed about 20 sec^{-1} . This, of course, is also a function of the viscosity of the liquids, of the diameters D_1 , D_2 , and of angle α .

Regardless of the end use of mixing, the embodiment of Fig. 3 can also be used by coating either cavity 114 or 118 in dry form, with the reagent that is to react with the body liquid, so that only one liquid namely the body liquid, need be aspirated in at aperture 134. Thus, the agglutinating reagent solution can be provided during manufacturing by coating either or both cavities 114 or 118. This coating is then redissolved when the whole blood is aspirated into the appropriate cavity.

For other uses, other reagents, such as an antibody for an immuno-assay, may be permanently attached to the cavity walls.

It is not essential that the probe be all in one piece, or that contamination be prevented by only an oil shield or by wiping. Instead, Fig. 4, it is useful to have the probe comprise two portions, 112A and 112B one of which (112B) has an inside diameter that is different from, e.g., smaller than, at least part of the inside diameter of the other portion (112A), and which fits over the other portion adjacent aperture 134. The purpose is to allow the portion that over-fits the first portion, to cover up the exterior surface 136 adjacent to aperture 134 where residual first liquid 44 might remain. As shown, inside diameter D_3 of cavity 165 of portion 112B is substantially identical to diameter D_1 , but less than diameter D_2 , of portion 112A. In use, liquid 44 is aspirated into portion 112A with portion 112B absent.

Portion 112B is then mounted onto portion 112A with a sliding friction fit. At this point, liquid 44 is moved down, arrow 180, into portion 112B to the phantom position 182, leaving an amount of air at 160 to form an air bubble in the next step. That step is to move the probe of combined tip portions so as to insert only portion 112B into a bulk quantity of liquid 54 (not shown). Aspiration then causes liquid 44 at position 182, bubble 160, and an amount of the second liquid to be aspirated in the probe. When the desired amount of the second liquid is present, the probe is removed from the bulk liquid 54, and mixing proceeds as described above using repeated movement of most of the liquids past transition zone 128.

This construction ensures both that residual first liquid amounts on portion 112A are prevented from contacting said bulk liquid 54, and that the resulting length of portions 112A and 112B are easily moldable.

In this embodiment, and any embodiment using a smooth transition between zone 128 and the two cavities provided by the radii of curvature R_1 and R_2 , angle alpha described above is measured against the tangent line A-A drawn to a point on the wall of zone 128 that is between the definition of the wall provided by the two radii.

In Fig. 5, another preferred aspect of the probe 112 is illustrated. That is, cavity 118 of portion 112 or 112A has a diameter D_2 that is selected to be larger in value than the height H_2 of the total liquids aspirated thereinto, one those liquids have been moved into cavity 118. The advantage of this relationship is that it has been found to enhance the mixing efficiency.

At the same time, however, D_2 should be less than twice H_2 , as otherwise the volume in cavity 118 becomes so thin that it is in danger of bursting at the middle when pressure is applied to push the liquid, arrow 200, into cavity 114. Such bursting will of course prevent transfer of the liquid across the mixing transition zone.

Thus, if all of the preferred features are utilized as described above, it has been found that a whole blood sample and an agglutinating solution can be thoroughly admixed after only three cycles of drawing most of the liquids into cavity 118 and returning most of the liquids to cavity 114.

As noted above, when the probe comprises two portions, it is not essential that the inside diameter of the added-on portion equal the inside diameter of the probe portion that is covered. The remaining embodiments illustrate wherein, in fact, this is not the case. Parts similar to those previously described bear the same reference numeral to which the distinguishing mark ' or " is appended.

Thus, in the embodiment of Fig. 6A, the second portion 112B' has an inside diameter D_3 for cavity 165' that is considerably smaller than inside diameter D_2 of cavity 118'. In effect, probe 112' is now divided into two separable portions 112A' and 112B' having cavities 118' and 165' which between them provide the transition zone 128' that causes mixing. That is, zone 128' is formed by an external angle alpha (shown in Fig. 5) which is 270° .

In use, liquid 44' is aspirated into portion 112A' by itself. Portion 112B' is then affixed to

portion 112A' as shown, Fig. 6A, and liquid 44' is pushed down into portion 112B', arrow 200. The probe is then moved so that portion 112B' is inserted into a bulk quantity of liquid 54', preferably with an air bubble 160' at aperture 134', Fig. 6B. Aspiration, arrow 202, causes all of liquid 44', bubble 160', and liquid 54' to move through cavity 165', past transition zone 128', and into cavity 118', thus starting mixing by rotation, arrows 170'. The oscillating movement of all the liquid via arrows 200 and 202 is then repeated as many times as is needed to complete the mixing.

Alternatively, Fig. 6C, the transition zone provided by the add-on portion 112B', when placed around exterior surface 136A' adjacent aperture 134A', can be a smooth transition zone 128' in the manner of the embodiment of Fig. 4. In such a case, care needs to be taken to ensure that a proper match of the inside diameters of portions 112A' and 112B' occurs at aperture 134A', so that indeed the transition in inside diameters is a smooth one. At the same time, however, the smaller inside diameter remains with probe portion 112B', rather than portion 112A', except where they match substantially exactly at aperture 134A'.

The opposite of Figs. 6A and 6B is illustrated in Figs. 7A - 7H. That is, the inside diameter of the added-on, second tip portion is substantially larger, at the transition zone, than the inside diameter of the first tip portion already used to aspirate liquid. Additionally, this embodiment illustrates that the two cavities adjacent the transition zone need not be cylindrical, but can be tapered instead along their axis of symmetry 100, Fig. 7B.

Thus, Fig. 7A, probe portion 112A" comprises a conical cavity 118" extending from an aperture 134A", to an upper portion 132A" that connects to a pump, not shown, the inside diameter of cavity 118" increasing with increasing distance from the aperture. To allow the two portions 112A" and 112B" to join together, the exterior surface 136A" adjacent to aperture 134A" is enlarged, also with a tapered shape, such as by securing a cork collar to the rest of the portion 112A". The inside diameter at aperture 134A" is relatively small, e.g., about 1 mm.

The second probe portion 112B", Fig. 7B, has an upper portion 132B" shaped to frictionally mate with surface 136A", that is, with an enlarged inside diameter. Portion 112B" tapers down to a lower portion at aperture 134B" producing a cavity 165" having an inside diameter that is greatly reduced from said enlarged inside diameter, and in fact, preferably is about the same as that of aperture 134A".

The use of this embodiment is similar to that described for Figs. 6A - 6B. Thus, portion 112A" by itself is inserted into a bulk quantity of liquid 44" and an aliquot is aspirated, Fig. 7A. Next, probe portion 112B" is fitted over the surface 136A" of the collar, Fig. 7B. After that, liquid 44" is pushed or ejected from portion 112A" into the cavity of portion 112B", Fig. 7C.

Next, Fig. 7D, the combined probe has aperture 134B" of portion 112B" inserted into a bulk quantity of liquid 54", and that and an air bubble 160", Fig. 7E, is aspirated into cavity 165".

The stage is now set for the actual mixing steps. That is, Figs. 7F - 7H, all of the liquid is aspirated and ejected back and forth past the transition zone created by the narrower inside diameter at aperture 134A". Fig. 7F, it is first drawn into cavity 118", arrow 202", to produce the condition shown in Fig. 7G. It is then ejected back into cavity 165", Fig. 7H, arrow 200", so that rotational mixing occurs. This process is repeated as necessary, until the two liquids become homogeneous, or as homogenous as is possible, given the nature of the liquids.

In all of the embodiments above wherein a second probe portion 112B is fitted onto the first portion 112A prior to aspirating a second liquid, another alternative, following such second aspiration and aspiration of all liquids into the first portion, is to remove the second portion and to fit onto the first portion in the place of the second, a clean third portion of equal, smaller, or larger inside diameter, for the purpose of aspirating into the probe yet another, third liquid in a manner similar to the aspiration of the second liquid.

Additional mixing transitional zones between unequal inside diameters can be provided - that is, it is not essential that there be only two adjacent compartments of varying inside diameters. Indeed, a probe tip that comprises three such compartments serially connected, Figs. 8-9, has proven to be most efficient in mixing, of all the embodiments described herein. Most preferably, in such an arrangement the middlemost compartment has the smallest inside diameter at the transition zone. Parts similar to those previously

describe bear the same reference numeral, to which the distinguishing superscript suffix''' has been appended.

Thus, Fig. 8, like the design of fig. 4, probe 112''' comprises an upper portion or cavity 118''' that is mounted onto the permanent probe (Fig. 4), and a lower cavity 114''' integrally connected to cavity 118''' by a transition zone wall 128''', the inside diameter D_2 of cavity 118 being larger than D_1 , and preferably at least equal to three times D_1 . An additional cavity 165 is provided at exterior portion 136''' of cavity 114, with aspiration occurring at arrow 210, also as described for Fig. 4. However, cavity 165''' is integrally connected to cavity 114''' in that all 3 cavities are formed from a common wall, preferably one that is molded. Further, inside diameter D_3 of cavity 165''' is significantly larger than inside diameter D_1 , creating a transition zone 220 not present in the embodiment of Fig. 4. The value of D_3 , like that of D_2 , is selected to cause rotational mixing when most, and preferably all, of the liquids aspirated into tip 112''', is moved from cavity 114''' into cavity 165''' past transition zone 220. Hence, like D_2 , D_3 ' is most preferably at least equal to three times D_1 . D_3 can be the same as or different from D_1 .

Although it is not essential, the inside diameter of cavity 165''' can be narrowed to D_3'' at the end into which liquid is first aspirated, arrow 210.

Additionally, as shown in Fig. 9, cavity 165''' of tip 112''' can be formed by the wall of tip portion 112B''', removable as in the embodiment of Fig. 4, so that portion 112B''' can be added after the first liquid is aspirated, and portion 112B''' covers any first liquid remaining on exterior surface 136'''. Aspiration of a

second liquid then occurs as shown by arrow 210''', Fig. 9. However, unlike the Fig. 4 embodiment, inside diameter D_3' at the junction of the cavities 114''' and 165''', is greater than the inside diameter D_1 , rather than equal thereto as in Fig. 4, creating a transition zone 220''' similar to zone 220, Fig. 8, effective to cause liquids to rotationally mix as they move from cavity 114''' into cavity 165'''. In this example, D_3' at the transition zone equals $D_1 +$ twice the value of T , where "T" is the thickness of the wall providing exterior surface 136'''. In such an example, D_3' may or may not be at least equal to three times D_1 , depending on the value of T .

As in the case of the embodiment of Fig. 8, the inside diameter of cavity 165''' can be narrowed to D_3'' at the end into which liquid is first aspirated.

It is the embodiments of Figs. 8 and 9 that have proven to be most efficient in mixing, that is, in producing complete mixing in the fewest cycles of repeated back and forth movement past the transition zones. For example, the embodiment of Fig. 9 produced complete mixing of two liquids totaling 20 microliters in only 7.5 cycles of such back and forth movement, at a flow rate of 50 microliters per sec., in about 10 sec.

Agglutination Reactions

As noted above, a preferred use of this mixing action is to produce sufficient blood cell agglutination as to allow blood typing. To that end, one of the liquids is, of course, whole blood and the other is a solution of agglutinating reagent, aspirated into the tip, in either order. Any such solution can be used. A highly preferred example comprises a 3% bovine serum

albumin in a 0.1 molar phosphate buffered saline solution containing anti-B IgM clones formulated from tissue culture supernatant (1, 20, and 31 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentrations) plus 0.004% FD&C blue dye number 1. All concentrations are % by weights.

It is not necessary that the detection of a strong, weak, or negative reaction of such blood typing be done outside of the mixing tip. Instead, it can be achieved by detecting the amount of agglutination separation within the tip, and thus the strength of the blood typing reaction.

Turning to Fig. 8, this detection is preferably done by scanning for absorbance or light scattering at a position in narrower tip portion 114". (Any other embodiment of the invention can also be used.) That is, at the position of arrow 300, an appropriate optics such as a conventional fiber optics is used to deliver light of a predetermined wavelength that is then transmitted into the tip. The amount of light that is absorbed, measured approximately 10 minutes after mixing has been completed. is then detected as shown schematically by arrow 302, or the amount of light scattered is detected as shown by arrow 304. The results differ depending on how much agglutination has occurred, as shown below. If absorbance is used, suitable wavelengths include 540 nm, and/or 830 nm. The former is particularly useful since that is the peak absorption of hemoglobin. Detection of the amount of light scattered, as at 304, is particularly useful to avoid interference from any hemolysis.

Figs. 10 and 11 illustrate the method using absorbance and an illuminating wavelength of 540 nm. In the case of Fig. 10, the liquid is passed down from

portion 118''' to portion 114''', after 10 minutes have passed after it has been mixed sufficiently. At the zero to about 18% of the volume that passes, the amount of absorbance rises from zero due to the passage of air. After that, only liquid is passed by the scanner, and the first part of that liquid is very absorbent, regardless of whether the reaction is negative, weak, or strong. However, after about 50% of the liquid has been scanned, the results deviate depending on the amount of agglutination achieved. A strong reaction clumps the red cells so well that after about 65%, the volume is essentially free of cells and is clear. A weak reaction has less absorption, but still much more than the strong, after 65% of the volume scanned.

Alternatively, the liquid can be moved upward from portion 165''' into narrower portion 114''' and on upward into portion 118''', to do the scanning. The results are shown in Fig. 11. Differentiation of the results occurs when from zero to 18% of the volume has been scanned. That is, the first portion to flow past the scanner is the liquid portion free of red cells, in the event of a strong reaction, because almost all of the cells have coagulated together. But in the case of the weak reaction, some red cells are still unagglutinated and remain in that first portion of the volume, as shown by the middle curve of Fig. 11.

It is not only blood typing agglutination that is useful as an agglutination reaction in the tip of the invention. Agglutination caused by a coagulating reagent allows separation of the cellular fraction of whole blood from the plasma, to occur in the tip. That is, when the agglutinating reagent is selected from conventional

coagulating reagents such as a polyelectrolyte, eg, polylysine, or an antibody such as anti-glycophorin, the mixing within the tip as described above will not only cause coagulation of all the red cells, but it will also lead to a physical separation of those coagulated cells from the plasma. The cells settle to the bottom of the tip, e.g., tip portion or cavity 165'' of Fig. 9. At this juncture, those cells can then be expelled by dispensing them out of the orifice of the tip, leaving only plasma remaining behind. That plasma can then be dispensed onto a suitable platform for testing, for example, into a well or cup adapted for immunoassay, such as is described in US Pat. No. 5,441,895.

The following are non-limiting working examples of the mixing steps of this invention:

Example No. 1

A probe was constructed having two capillaries with different inner diameters. The smaller capillary had an inner diameter of 0.557 mm. The larger capillary had an inner diameter of 2.29 mm. The length of the smaller capillary was 41 mm, which holds up to 10 micro-liter of fluid. The larger capillary had a length of 30 mm.

A type B blood of 4 micro-liters was aspirated from the bottom end of the small capillary by the pump. The pump then continued to withdraw 1 micro-liters of air in the small capillary. 4 micro-liters of the agglutinating reagent described above was aspirated thereafter and the air bubble separated the two liquids in the smaller capillary.

The pump was then driven to move all the fluids across the transition zone between the small and large

capillary with a flow rate of 0.5 micro-liter/second. Once in the larger capillary, a spherical air bubble was created by the surface tension, and the two liquids started to encounter and mix. As the pump drove the fluids to flow down into the smaller capillary with a flow rate of 0.5 micro-liter/second, the bubble was eliminated.

The mixture of the two fluids was oscillated between the two capillaries with a constant flow rate of 0.5 micro-liters/second. The agglutinated structure formation was visible at the end of the first cycle of this motion. Phase separation was very significant at the end of the second cycle in the small capillary, with clear supernatant in the up portion and the agglutinated cell structure in the bottom portion. Some very small agglutinated cells were still visible in the supernatant at this stage. The phase separation was completed by the end of the third cycle, with almost zero cell structure left in the supernatant.

The total time period for the three cycles was 2 minutes. Weaker reactions can be expected to take longer.

Once complete mixing has been achieved, it is then necessary, of course, to achieve a determination of the blood type from the agglutinated results. Although that is not part of this invention, one method of doing this is to make a visual observation of light transmittance through the mixture to determine the amount of agglutination within a fixed time of the agglutination reaction. A chart is used for comparison, and the user estimates the blood type from the amount of clumping or

agglutination observed in whichever probe portion that the combined liquids are in at the time.

Example 2:

A probe was constructed similar to shown in Fig. 9, except that the tip portion 165''' was cut off at line C- C to create a cone-shaped tip portion having an inside diameter at D_1 of about 2.54 mm, and at cut line C- C of about 1 mm, with a cone angle of about 20 degrees and a length of 10 mm. Tip portion 114''' had a length of about 15 mm and an inside diameter D_1 of about 1 mm. Tip portion 118''' had a diameter D_2 of about 4.7 mm. Blood in an amount of 10 microliters was aspirated into the entire tip ensemble through cone portion 165''', after which the cone was wiped clean. Then 10 microliters of reagent were aspirated into the tip in the same manner, producing a total liquid volume of 20 microliters. This total volume was then moved back and forth so as to proceed entirely into portion 118''' and then entirely into portion 165''', and so forth, until mixing was complete. This required 7.5 repetitions (cycles) at a flow rate of 50 microliters per sec. Total displacement of fluids was 40 microliters in each direction of motion, and the time required for complete mixing was about 15 sec.

The invention disclosed herein may be practiced in the absence of any element which is not specifically disclosed herein.

The invention has been described in detail with particular reference to preferred embodiments thereof, but it will be understood that variations and modifications can be effected within the spirit and scope of the invention.

~~The tip can be one integral piece or provided in several portions.~~

Accordingly, it is an advantageous feature of the invention that more rapid mixing of two liquids aspirated into the tip, takes place within the tip than occurs with conventional devices.

It is a related advantageous feature of the invention that no additional device is needed beyond the tip that is used anyway for aspiration, to provide mixing.

It is another advantageous feature of the invention that, in some embodiments, carry-over contamination between liquids aspirated is preventable by an inexpensive mechanical device that is less time consuming than repeated washing.

A related advantage of the aforesaid mechanical device for preventing carry-over contamination, is that it renders the tip of the invention more manufacturable.

Other advantageous features will become apparent upon reference to the Detailed Description of the Embodiments, when read in light of the attached drawings.

4. Brief Description of Drawings

Fig. 1 is a fragmentary elevational view in section of a probe tip constructed in accordance with the prior art;

Figs. 2A - 2C are fragmentary elevational views in section, similar to that of Fig. 1, but illustrating a method of the invention;

Figs. 3 - 5 are fragmentary elevational views similar to that of Fig. 2, but illustrating certain preferred embodiments;

Fig. 6A is a fragmentary elevational view similar to Figs. 2 - 5, except it illustrates an alternative embodiment wherein the second tip portion that is added between aspirations, has a narrower inside diameter than the first tip portion;

Fig. 6B is a view similar to that of Fig. 6A, showing the subsequent steps of mixing;

Fig. 6C is an elevational view similar to that of Fig 6A, but of an alternate embodiment;

Figs. 7A - 7H are elevational views in section similar to Figs. 6A - 6C, except showing a further additional embodiment wherein liquid flowing from the second tip portion to the first tip portion is constrained to move into a narrower, rather than wider, diameter for mixing;

Figs. 8 and 9 are elevational views in section similar to that of Fig. 4, but showing still further embodiments of the invention; and

Figs. 10 and 11 are plots of absorbance versus amount of liquid scanned by a light beam scanning through the tip, to illustrate a method of detecting the strength of an agglutinating reaction.

~~Description of the Preferred Embodiments~~

~~The invention is hereinafter described in connection with certain preferred embodiments, wherein mixing of one or two liquids, one of which is body liquid, is achieved using a disposable tip with one or two portions of preferred shapes, the second being~~

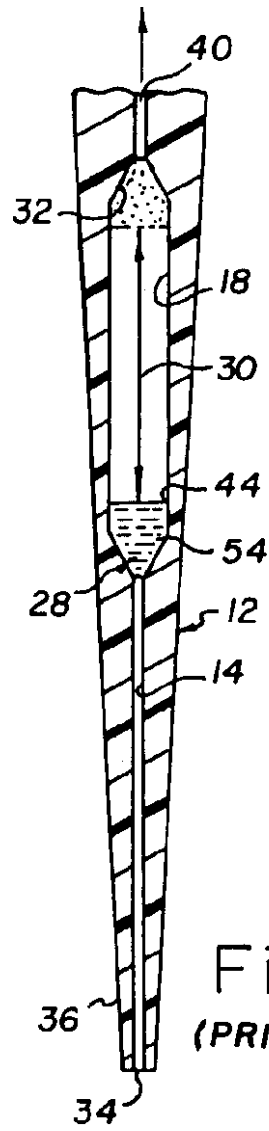
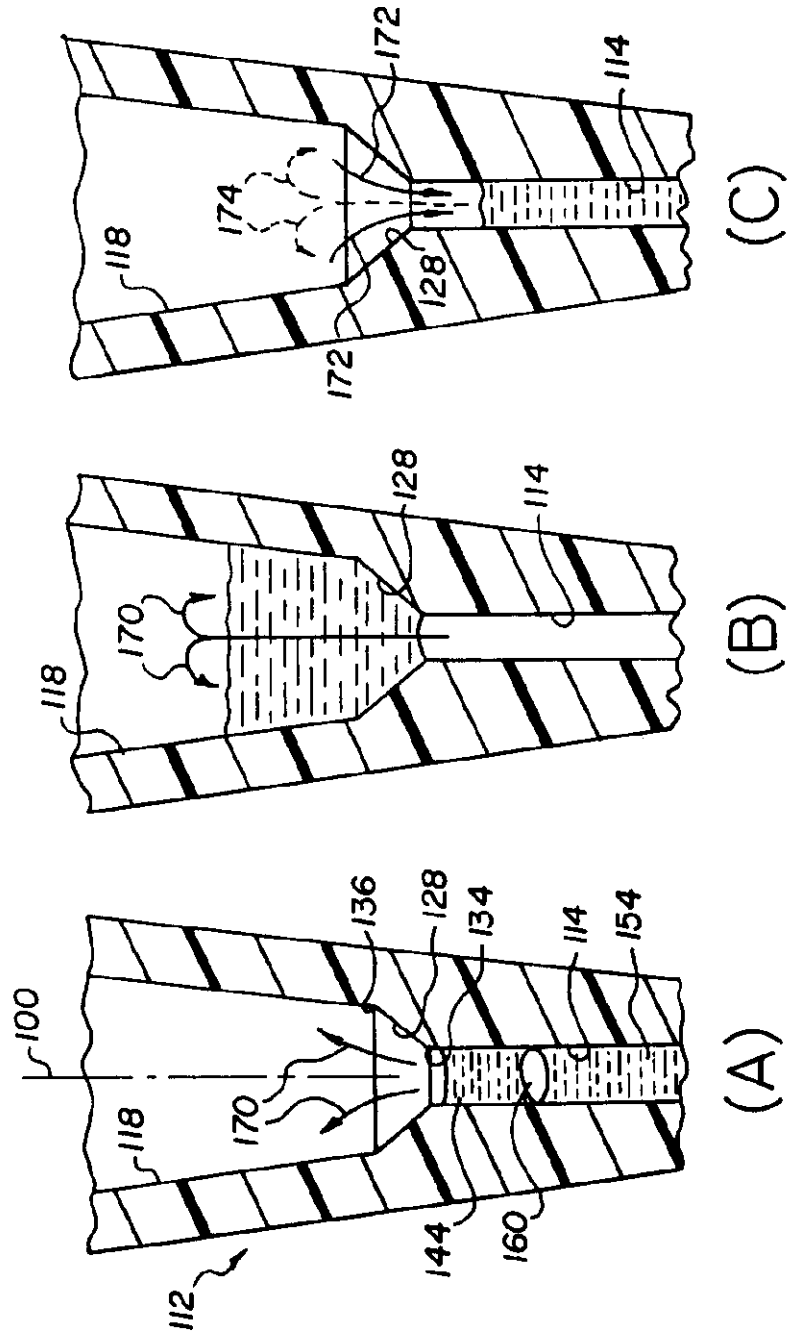


Fig.1
(PRIOR ART)

Fig.2



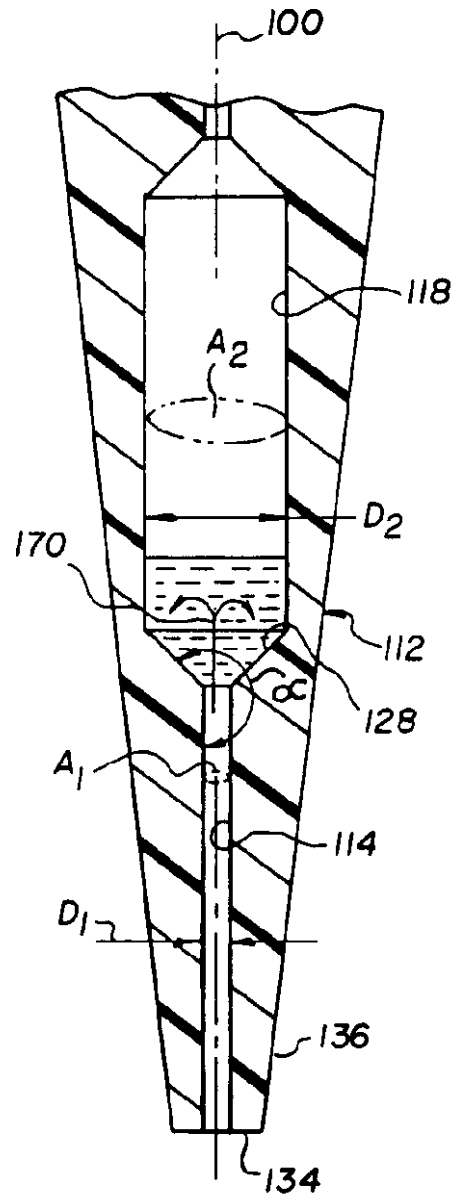


Fig.3

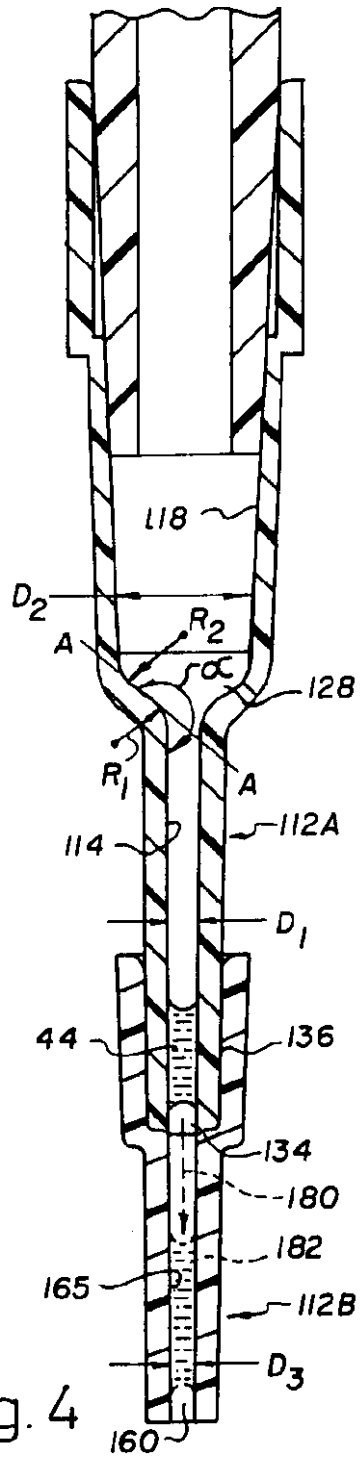


Fig. 4

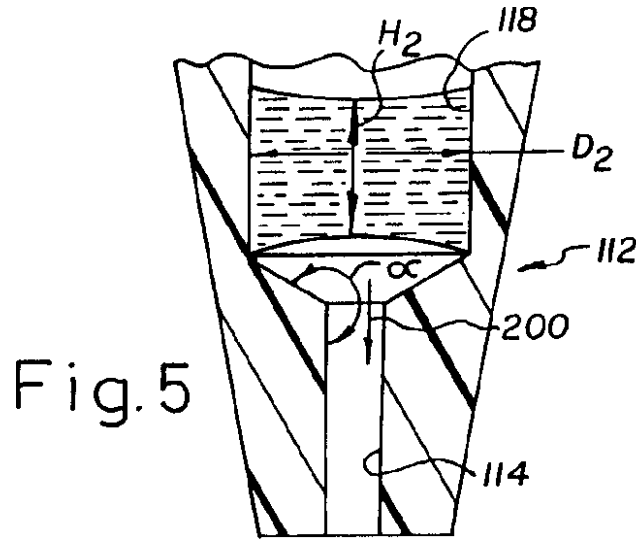


Fig. 5

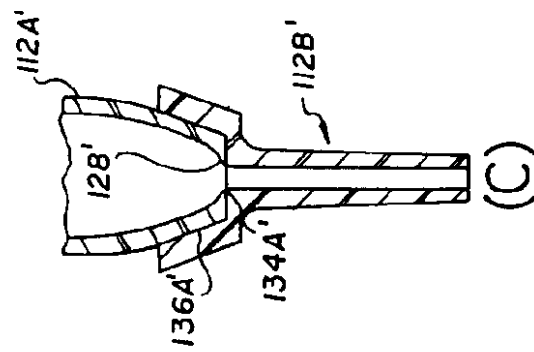


Fig. 6

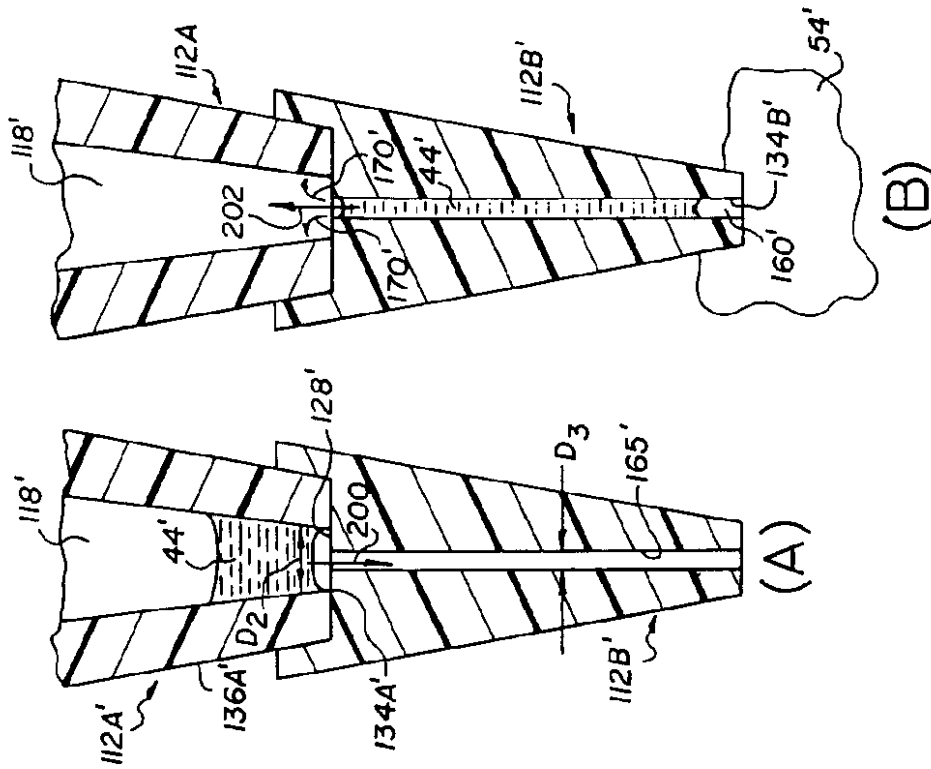
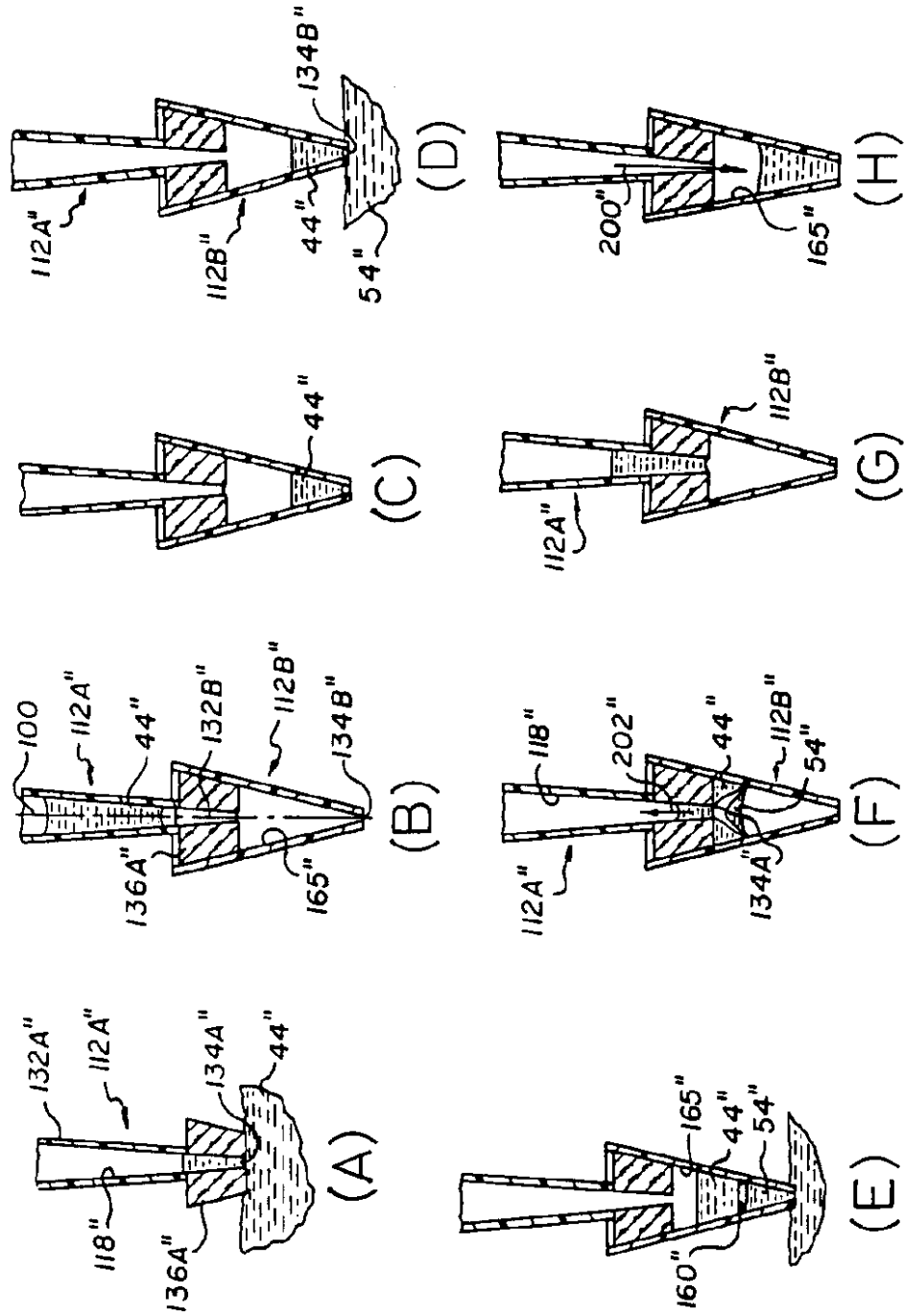


Fig.7



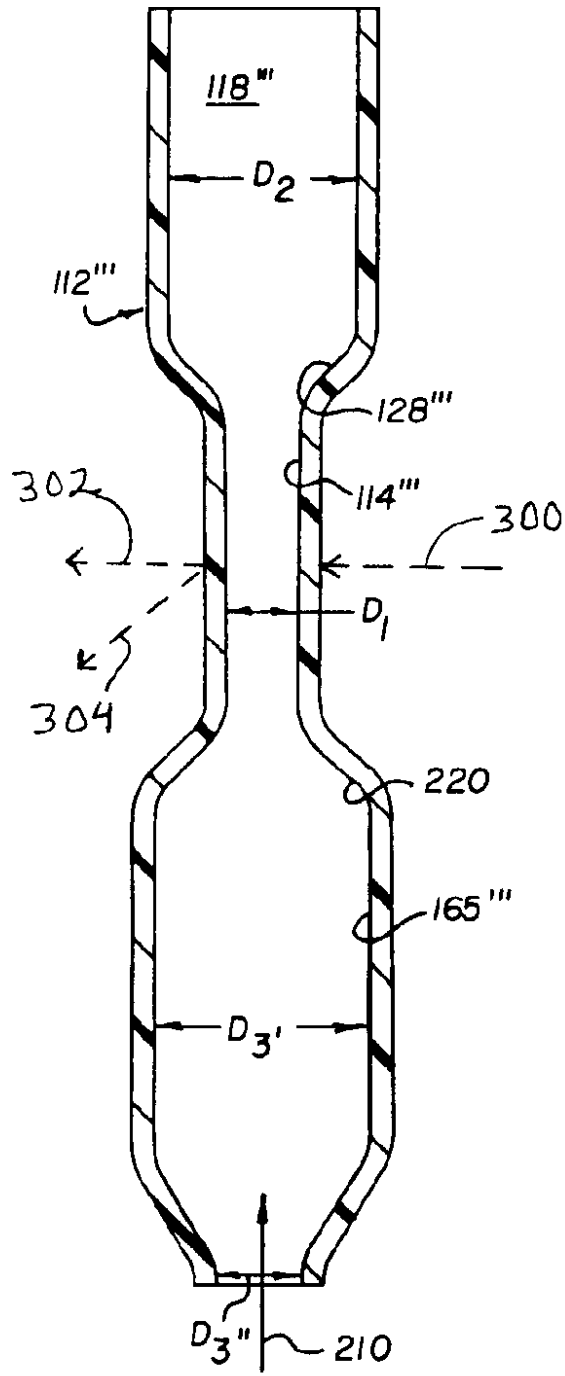


Fig.8

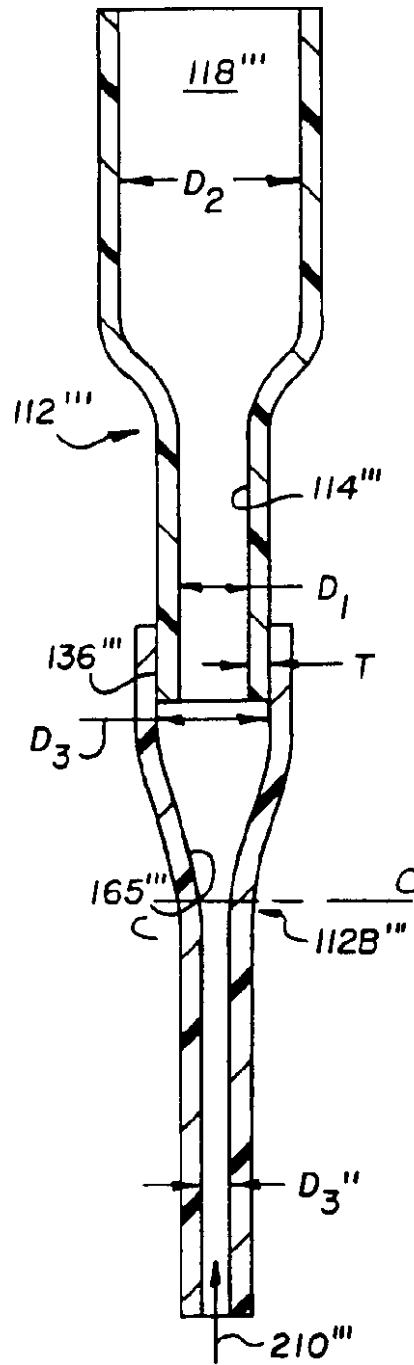


Fig.9

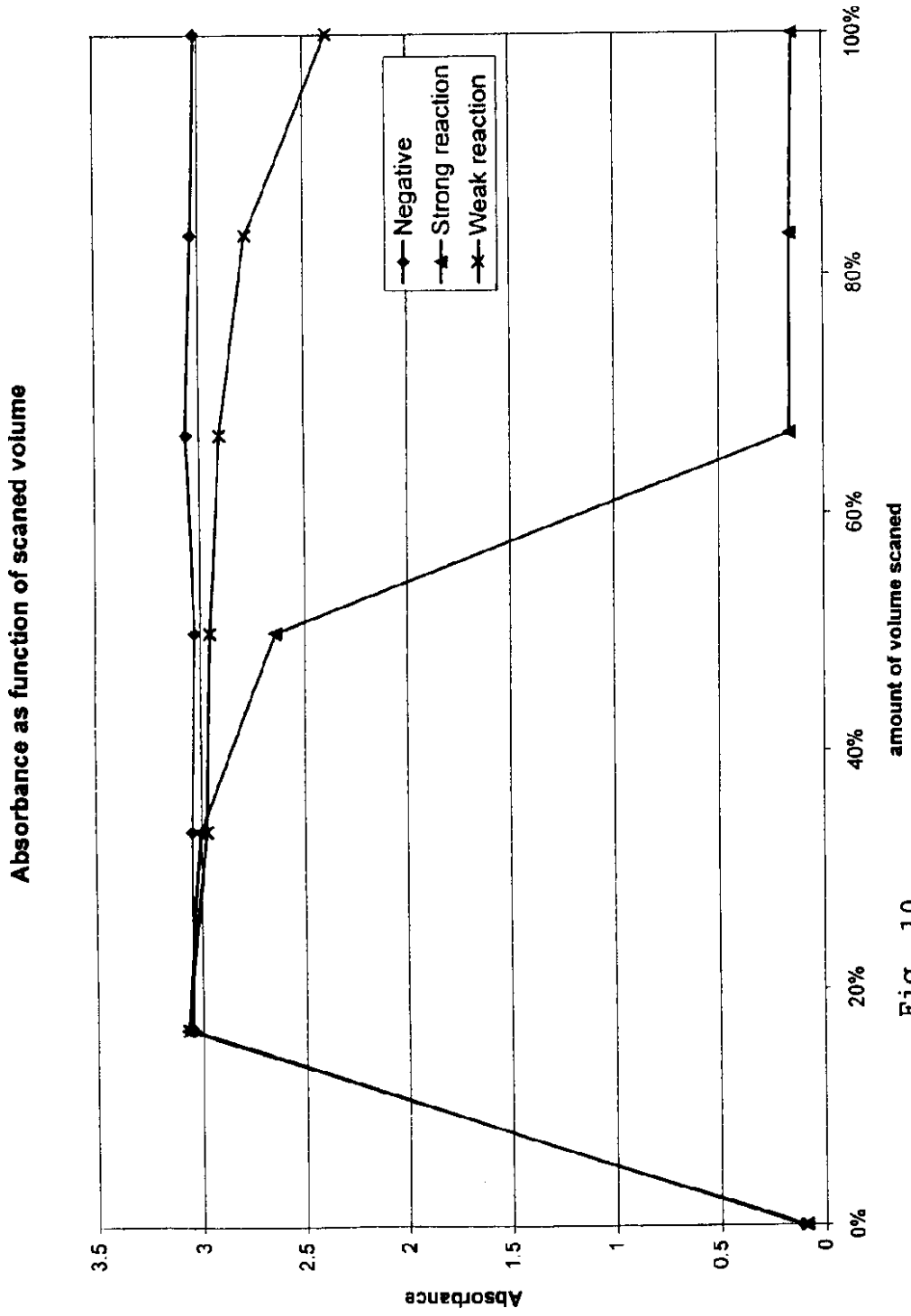


Fig. 10

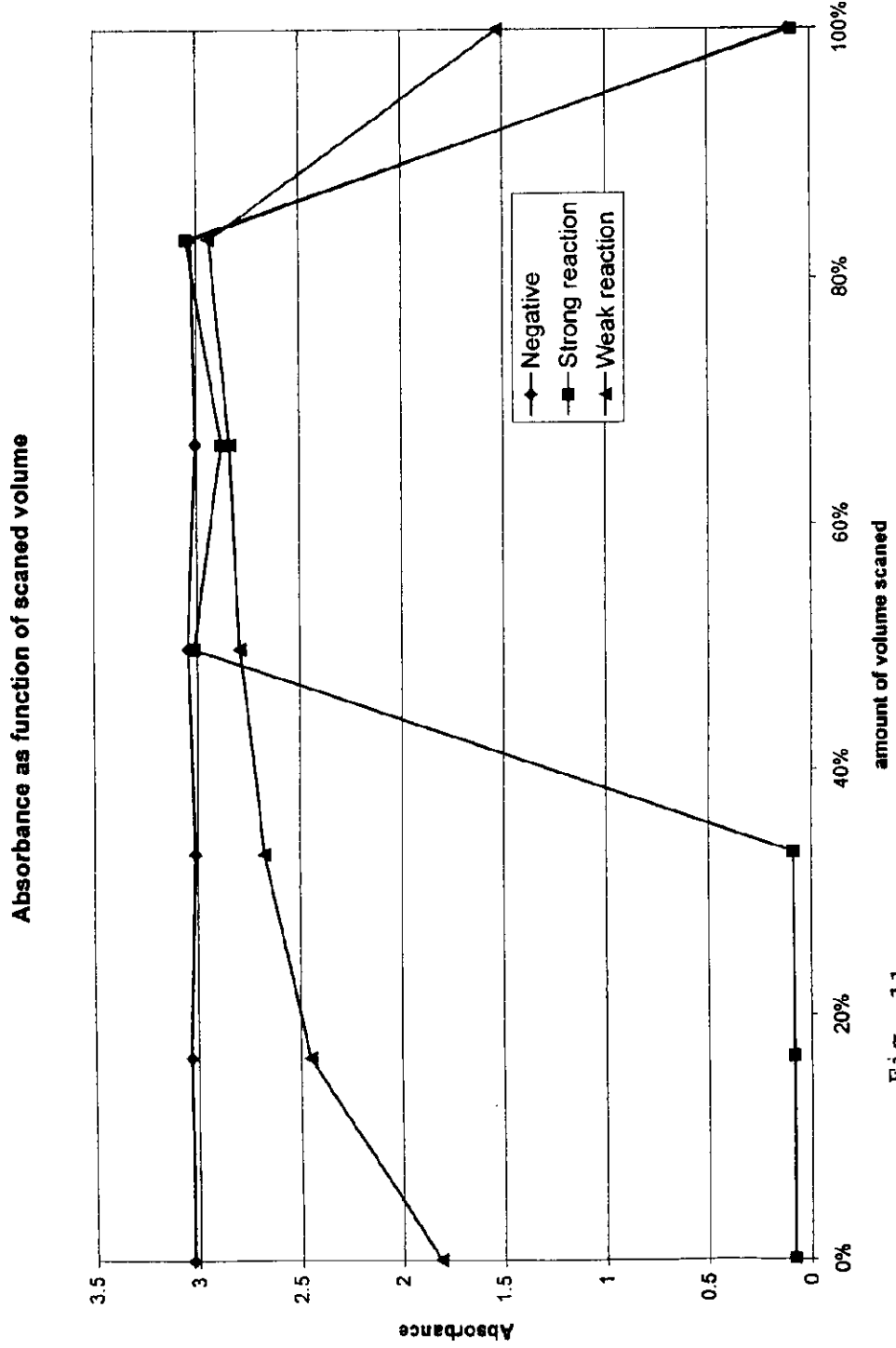


Fig. 11

1. Abstract

Apparatus and a method for mixing a liquid within a disposable aspirating probe tip so that most of the liquid is forced to move past a transition zone between two different inside diameters to cause rotational mixing. The apparatus and method can be used to provide agglutination of blood, which in turn can be used for blood typing. The probe tip can comprise a single integral piece, or two separate portions. The transition zone can comprise a sharp demarcation between inside diameters, or a smooth one.

2. Representative Drawing

Fig. 2

专利名称(译)	用于混合液体的方法和设备		
公开(公告)号	JP2000304754A	公开(公告)日	2000-11-02
申请号	JP2000038177	申请日	2000-02-10
[标]申请(专利权)人(译)	奥索临床诊断有限公司		
申请(专利权)人(译)	奥索 - 临床诊断, 雷法团去开球		
[标]发明人	メリットエヌジャコブス ゾンディン ロナルドエフブルックス		
发明人	メリット エヌ.ジャコブス ゾン デイン ロナルド エフ.ブルックス		
IPC分类号	G01N33/48 B01F3/08 B01F11/00 B01L3/02 G01N1/00 G01N1/36 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/72 G01N33/80 G01N35/10		
CPC分类号	B01F11/0074 B01F11/0071 B01L3/0275 G01N35/10 G01N2035/1058 G01N2035/106 G01N2035/1062		
FI分类号	G01N35/06.K B01F3/08.Z G01N1/00.101.K G01N33/48.E G01N33/48.H G01N33/53.T G01N33/543. 521 G01N33/543.581.Z G01N33/72.A G01N33/80 G01N1/28.Y G01N35/06.G G01N1/38 G01N35/10.G G01N35/10.K		
F-TERM分类号	2G045/AA02 2G045/AA08 2G045/AA09 2G045/BA08 2G045/BB03 2G045/CA01 2G045/CA25 2G045 /DA51 2G045/FA08 2G045/FA29 2G045/FB03 2G045/GC10 2G045/HA05 2G045/HA14 2G045/JA09 2G052/AA29 2G052/AA30 2G052/AD09 2G052/AD29 2G052/AD49 2G052/BA14 2G052/CA02 2G052 /CA03 2G052/CA04 2G052/CA19 2G052/CA23 2G052/CA24 2G052/CA25 2G052/CA33 2G052/DA02 2G052/DA03 2G052/DA06 2G052/DA15 2G052/ED16 2G052/FB02 2G052/FB09 2G052/FC05 2G052 /FC10 2G052/FD06 2G052/FD09 2G052/GA11 2G052/GA30 2G052/JA05 2G052/JA07 2G052/JA11 2G052/JA23 2G058/AA09 2G058/EA02 2G058/ED14 2G058/FA04 4G035/AB37 4G035/AB54		
优先权	60/119807 1999-02-12 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：通过在小的内径腔和大的内径腔之间来回移动（振动）多个液体几次来制造具有少量振动的可快速混合的液体。解决方案：在探针的尖端部分112处形成的具有小内径的窄腔114的部分和具有大内径的宽腔118通过过渡区域128连接。过渡区域128被分成腔体。如图114和118所示，相对尖锐的边缘部分134和136的曲率半径小于约25微米。然后，依次进行抽吸，使得第一液体144，气泡160和第二液体154同时存在。然后，当液体144和154都被过渡区128吸入腔118中时，产生足以使液体144和154开始在过渡区128处混合的旋转170。然后，液体144和154在空腔118的过渡区128上方卸载172进入空腔114。重复该操作以完全混合液体144和154。

